

# 世界华人消化杂志®

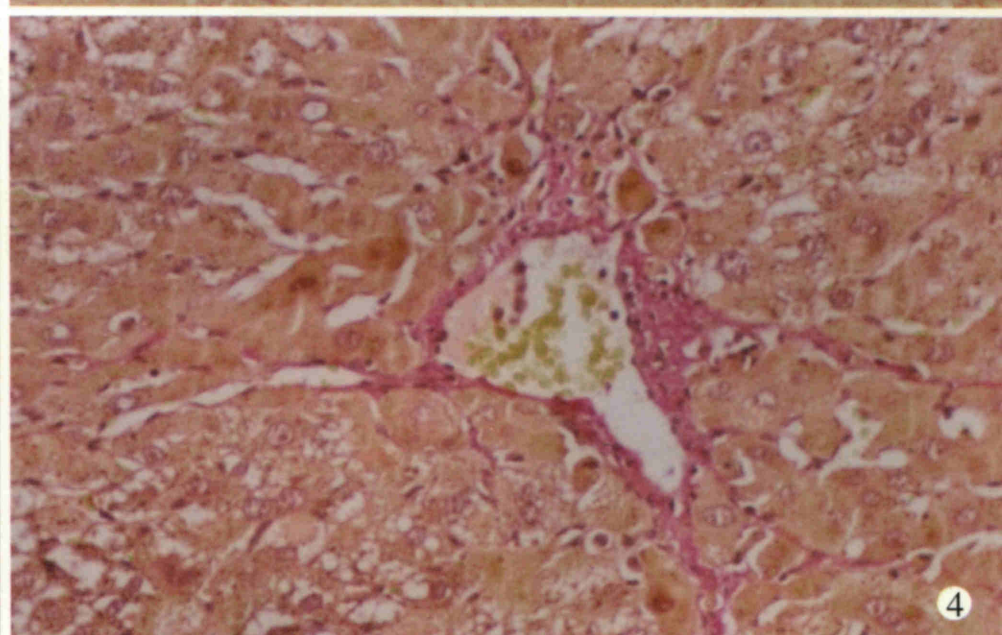
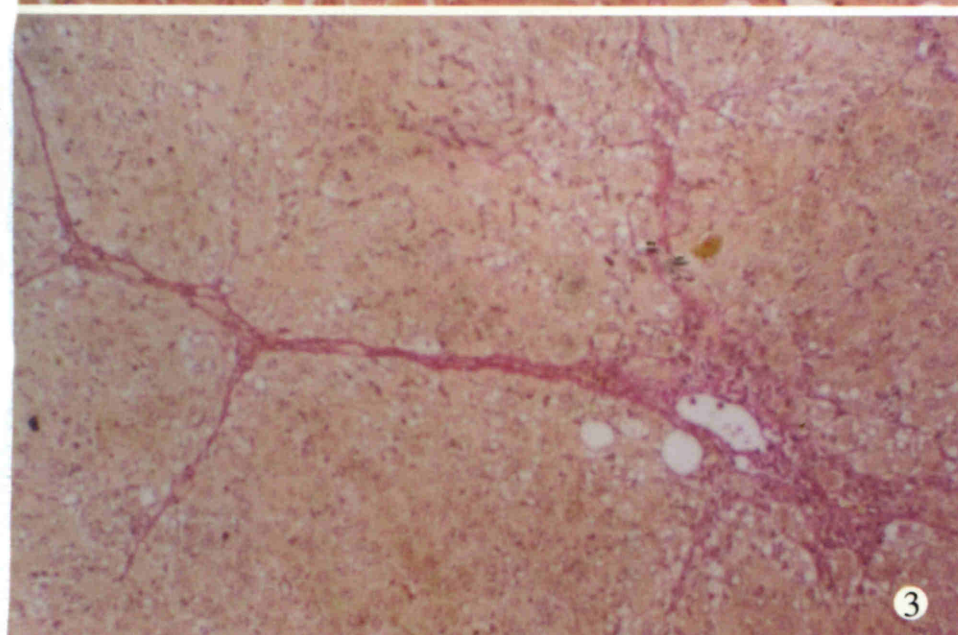
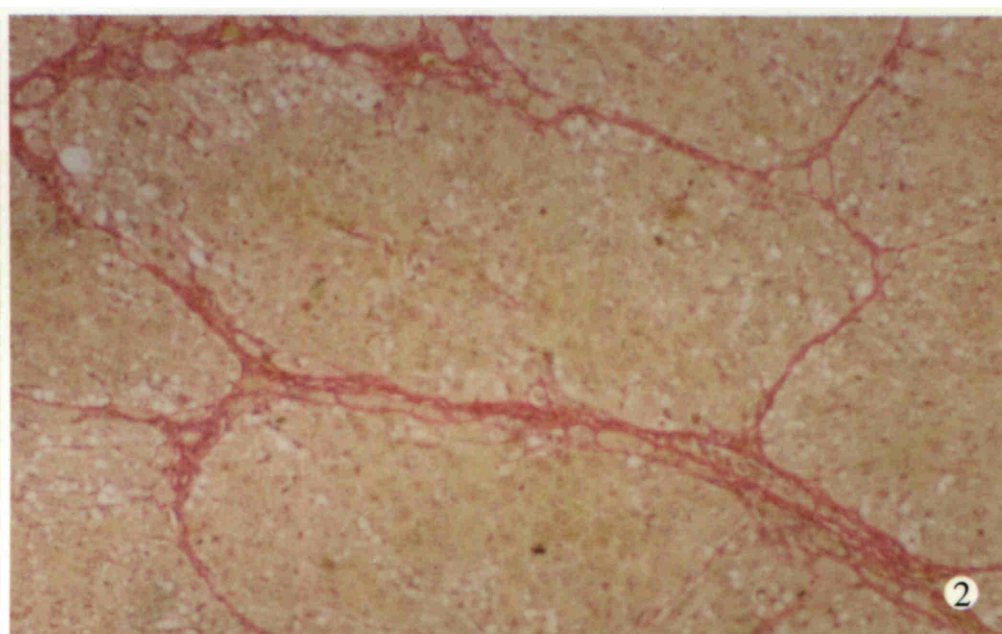
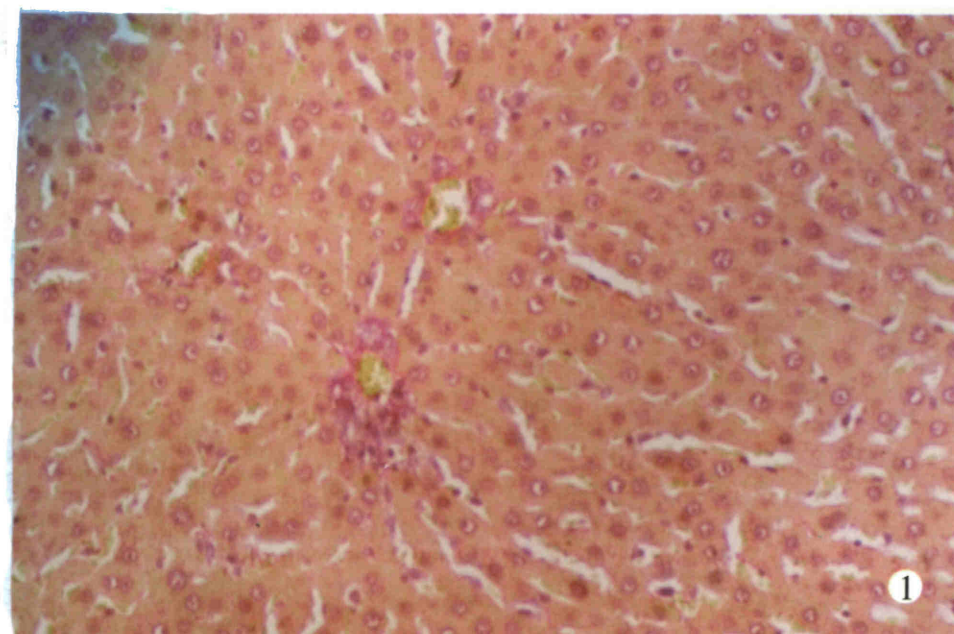
## WORLD CHINESE

## JOURNAL OF DIGESTOLOGY

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003年7月15日 第11卷 第7期

(Volume 11 Number 7)



## 7/2003

ISSN 1009-3079



名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

World Journal of Gastroenterology® 被 SCI®-E, Research Alert, Current Contents®/Clinical Medicine, Journal Citation Reports, Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2002 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 2.532. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告: 世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.



# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●

2003 年 7 月 15 日 第 11 卷 第 7 期 (总第 111 期)

## 述 评

- 881 一种新型传染病: 严重急性呼吸综合征 聂青和, 罗新栋, 惠武利  
888 病毒性肝炎发病机制中的反式调节机制 成军  
897 老年消化系疾病的中西医结合治疗 张万岱

## 肝 癌

- 900 经动脉灌注蜂毒素-聚乳酸/羟乙酸微球治疗大鼠肝肿瘤 凌昌全, 李琦, 刘晓华, 陈庆华, 彭永海, 罗若茵, 黄雪强  
904 大鼠肝癌形成过程中癌基因表达变化的意义 薛玲, 廖冰, 赵国强, 胡瑞德, 车丽洪, 董郡  
908 参白胶囊诱导肝癌 SMMC-7721 细胞凋亡 吴苏冬, 刘长利, 王慧川, 鲍德虎  
912 肝细胞癌肝动脉化疗栓塞后 PCNA 和 nm23-H1/NDPK 的研究 冯勇, 赵玲, 张爱华, 刘康达, 刘来村, 王彦辉, 尹进强, 杨秉辉  
916 TDI-FP 法分析肝细胞癌组织中 HBV 核心启动子双突变 吕贯廷, 卢冰, 白玉杰, 张剑, 阎小君

## 病毒性肝炎

- 920 基因表达谱芯片技术筛选乙型肝炎病毒 X 蛋白反式调节基因 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩  
925 乙型肝炎病毒 X 蛋白反式激活基因 10 的克隆化研究 成军, 刘妍, 洪源, 王琳, 钟彦伟, 董菁, 王刚  
930 基因表达谱芯片技术筛选丙型肝炎病毒非结构蛋白 3 反式调节靶基因 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩  
935 丙型肝炎病毒非结构蛋白 5A 反式激活基因 10 的克隆化研究 成军, 刘妍, 洪源, 王琳, 钟彦伟, 董菁, 王刚  
939 应用表达谱芯片技术对丙型肝炎病毒非结构蛋白 5A 反式调节基因的研究 洪源, 刘妍, 成军, 杨倩, 王建军  
943 应用表达谱芯片技术对截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式调节基因的研究 洪源, 刘妍, 成军, 杨倩, 王建军  
947 丙型肝炎病毒核心蛋白上调细胞周期调节蛋白 Wee1 基因表达研究 王建军, 刘妍, 成军, 杨倩, 杨艳杰  
951 丙型肝炎病毒核心蛋白上调 NIP3 基因表达研究 王建军, 刘妍, 成军, 杨倩, 杨艳杰  
955 丙型肝炎病毒核心蛋白上调层粘蛋白 B1 链基因启动子表达活性的研究 杨倩, 刘妍, 成军, 王建军, 杨艳杰, 张树林  
959 丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白 6 上调新生多肽相关复合物  $\alpha$  多肽基因的表达 杨倩, 刘妍, 成军, 李克, 王建军, 洪源, 张树林  
963 乙型肝炎肝纤维化及癌变时脾脏超声影像, HBV e 系统及 APF 水平 柯伟民, 林国莉, 叶一农, 赖菁, 李建国  
966 乙型肝炎病毒核壳蛋白变异株在 HepG<sub>2</sub> 细胞的 HLA-I 表达 陈伟红, 何海棠, 张明霞, 刘志华, 周永兴

## 基础 研究

- 970 联合应用粉防己碱与甘草酸抑制肝纤维化大鼠细胞外基质表达 王志荣, 陈锡美, 李定国, 魏红山, 黄新, 展玉涛, 陆汉明  
975 复方红景天干预肝纤维化大鼠胶原代谢 曾维政, 吴晓玲, 蒋明德, 邓桂英, 陈晓斌, 张勇, 秦建平, 徐辉  
979 选择性环氧合酶-2 抑制剂 Celebrex 对胰腺癌 PGE<sub>2</sub> 和血管内皮因子表达的影响 谢传高, 王兴鹏, 董育玮, 杜勤, 蔡建庭, 钱可大  
982 早期肠道营养减轻烧伤后肠黏膜损伤的机制研究 彭毅志, 袁志强, 肖光夏  
986 胃肠道平滑肌细胞作为 eNOS 基因转移靶细胞的研究 宁守斌, 张忠兵, 沈茜, 谢渭芬, 杨秀疆, 赵新, 信栓力  
990 内皮素-1 特异性抗体对应激性胃黏膜损伤的保护作用 段义民, 李兆申, 湛先保, 龚燕芳, 许国铭  
994 肠三叶因子在胃黏膜应激性损伤中的修复作用 李兆申, 聂时南, 湛先保, 龚燕芳, 屠振兴, 许国铭  
997 p<sup>53</sup> 突变与 VEGF 在大鼠胃癌中的表达及中药胃康宁的防治作用 李庆明, 余谦, 闵存云

## 焦 点 论 坛

- 1001 乙型和丙型肝炎病毒蛋白反式激活作用机制及其意义的研究进展 成军  
1002 乙型肝炎病毒表面抗原基因启动子 I 结构及调节研究 李强, 成军, 程明亮, 钟彦伟  
1004 乙肝病毒表面抗原基因启动子 II 的结构及调节研究 梁耀东, 成军, 陆荫英, 吴君, 程明亮  
1006 乙型肝炎病毒核心启动子的结构及调节研究 杨艳杰, 成军, 陈东风, 刘妍, 杨倩, 王建军  
1008 乙型肝炎病毒增强子的结构和调控研究 王建军, 成军, 刘妍, 张忠东, 杨倩, 杨艳杰  
1011 丙型肝炎病毒核心蛋白反式激活作用的研究 杨艳杰, 成军, 陈东风, 钟彦伟, 张忠东, 李强



## 文献综述

1014 丙型肝炎病毒复制子的研究 纪冬, 成军, 王建军

1018 丙型肝炎病毒 NS5A 蛋白的反式激活作用研究 王建军, 刘妍, 成军, 杨倩, 杨艳杰

1020 丙型肝炎病毒 5' - 非翻译区的结构与功能研究 杨倩, 成军, 刘妍, 王建军, 张树林

1023 乙型和丙型肝炎病毒蛋白对 14-3-3 蛋白信号转导的影响 成军

1027 乙型和丙型肝炎病毒蛋白对蛋白酪氨酸激酶信号转导的影响 张忠东, 成军, 钟彦伟, 张树林

1031 北京大学医学部研究生分子肿瘤学课堂讨论及学术论坛纪要 吕有勇, 许小青

1035 骨髓源性肝干细胞的研究进展 杨明智, 彭志海

1037 ERK 信号传导通路与肝星状细胞周期调控 蒋明德, 马洪德, 解方为

1040 趋化因子与肝病的研究进展 胡迎宾, 田德安, 刘南植

1043 游离脂肪酸、胰岛素抵抗与非酒精性脂肪性肝炎 高志强, 陆付耳

1046 KAI1 基因在胰腺癌中抗转移作用的研究 任丽楠, 刘民培, 郭晓钟, 徐建华, 安天义

1050 结直肠癌发病率及解剖部位变化趋势 谢正勇, 卿三华

1054 微阵列技术及其在消化系疾病研究中的应用进展 李新华, 张万岱, 肖冰, 张振书

1059 NO 和 VIP 与胃肠电-机械活动的关系 章敏, 曲瑞瑶

1064 TK 基因治疗胃肠道肿瘤的研究进展 刘占奎, 张超

1068 自由基损伤在幽门螺杆菌相关胃病中的作用 陶惠, 朱道银, 邹全明, 毛旭虎

907 欢迎订阅 2003 年度世界华人消化杂志  
915 欢迎订阅 2003 年度 World Journal of Gastroenterology®  
946 世界华人消化杂志和 WJG 获得商标注册  
950 中国科技期刊走向世界的步伐正在加快  
954 世界华人消化杂志和 World J Gastroenterol 电子版目次  
985 美国国立医学图书馆 2002 年度收录中国医学期刊名单  
993 世界胃肠病学杂志英文版获得 2003-2004 年国家自然科学基金重点学术期刊专项基金资助  
1030 世界胃肠病学杂志英文版获得第二届国家期刊奖百种重点期刊  
1053 WJG 搭建我国消化学基础和临床研究惟一国际交流的平台  
1058 提供您使用世界华人消化杂志和 World J Gastroenterol 电子版  
1063 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊  
附 1 Journal Citation Reports 2002-China  
附 2 Journal Citation Reports 2002-GASTROENTEROLOGY & HEPATOLOGY  
附 3 2003 年 Index Medicus 收录中国期刊  
附 4 2003 年 ISI 收录中国科技期刊

970 联合应用粉防己碱与甘草酸抑制肝纤维化大鼠细胞外基质表达 王志荣, 陈锡美, 李定国, 魏红山, 黄新, 展玉涛, 陆汉明

# Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平	题写封面刊名
陈可冀	题写版权刊名
	(月刊)

创刊 1993-01-15

改刊 1998-01-25

出版 2003-07-15

原刊名 新消化病学杂志

总顾问	陈可冀
	黄象谦
	黄志强
	黎介寿
	刘耕陶
	裘法祖
	汤钊猷
	王宝恩
	危北海
	吴孟超
	吴咸中

张哲	张学庸	赵东海	周殿元	马连生	潘伯荣	王瑾晖	张建中	李少华	李天华
社长总编辑	中文编辑	英文编辑	排版	校对					

**编辑** 世界华人消化杂志编辑委员会  
030001, 山西省太原市双塔西街 77 号  
E-mail:wcjd@wjgnet.com

出版 世界胃肠病学杂志社  
100023, 北京市 2345 信箱  
E-mail: wcjd @ wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

电话 (010)85381892

传真 (010)85381893

北京科信印刷厂

**发行** 国内 北京报刊发行局  
国外 中国国际图书贸易总公司  
(100044, 北京 399 信箱)

订购 全国各地邮电局  
邮购 世界胃肠病学杂志社发行部  
(100023, 北京市 2345 信箱)

电话:(010)85381892

传真:(010)85381893

2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

- 美国《化学文摘(CA)》
- 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》
- 俄罗斯《文摘杂志(PЖ)》
- 中国科技论文统计与分析
- 中国学术期刊文摘
- 中国中医药信息服务网
- 中国生物医学文献光盘数据库
- 《中文科技资料目录(医药卫生)》
- 中国生物医学期刊目次数据库
- 中国医学文摘外科学分册(英文版)
- 中国医学文摘内科学分册(英文版)

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点,除非特别声明.本刊如有印装质量问题,请向本刊编辑部调换.

ISSN 1009-3079

**CN 14-1260/R**

邮发代号

82-262

国外代号

M 4481

国内定价

每期 24.00 元 全年 288.00 元

广告经营许可证

1401004000050

*www.wjgnet.com*



# 乙型肝炎病毒表面抗原基因启动子 I 结构及调节研究

李强, 成军, 程明亮, 钟彦伟

李强, 成军, 钟彦伟, 中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心、全军病毒性肝炎防治研究重点实验室 北京市 100039  
程明亮, 贵阳医学院附属医院传染科 贵州省贵阳市 550004  
项目负责人: 成军, 100039, 北京市西四环中路100号, 中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心、全军病毒性肝炎防治研究重点实验室. cj@genetherapy.com.cn  
收稿日期: 2003-01-11 接受日期: 2003-02-16

李强, 成军, 程明亮, 钟彦伟. 乙型肝炎病毒表面抗原基因启动子 I 结构及调节研究. 世界华人消化杂志 2003; 11(7): 1002-1004  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1002.asp>

## 0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)持续感染导致全球性健康问题. 世界人口约6%是病毒携带者, HBV也是导致肝硬化和肝癌的危险因素. HBV要持续感染人体, 必须要有持续的病毒复制, HBV基因表达精确调节对病毒复制起关键作用. HBV基因组分为结构基因序列和调节基因序列两大部分. 调节基因序列和结构基因序列相互重叠, 即使结构基因序列本身也有部分重叠, 因此, HBV具有结构紧密的特点. HBV序列是在C、S1、S2、和X启动子控制下转录的. 除了表面抗原基因启动子 I (SP I), 所有其他启动子缺乏TATA盒. 两个增强子和负调控元件进一步控制HBV RNA合成, 所有转录调控元件插入蛋白编码的基因区. SP I作为指导2.4 kb mRNA转录的启动子序列, 在HBV复制中具有十分重要的作用.

## 1 HBV SP I 启动子的结构

HBV的S基因有两个串联的启动子SP I和SP II. SPI (2 219-2 780 nt)在HBV基因组5'至前S1区, 含有典型TATA盒(TATA box)的序列<sup>[1]</sup>, 并含有特异性肝细胞核因子1(hepatocyte nuclear factor 1, HNF1)的结合位点. HNF1结合位点与TATA盒之间相隔45 bp, 中间还有一个八聚体结合蛋白1结合位点. HNF3结合位点位于HNF1与TATA结合蛋白之间<sup>[2]</sup>. 转录因子蛋白Sp1结合位点与TATA盒结合蛋白位点重合<sup>[2]</sup>. 而且SP I启动子也与其他转录因子相互作用而增加2.4 kb mRNA转录产生. HNF1结合位点主要出现于某些仅在肝细胞中表达基因的启动子区. HNF1的结合是SP I启动子在分化的肝癌细胞株中进行高水平转录的必要条件. 另外, SP I的腺嘌呤(A)、胸腺嘧啶(T)核苷酸丰富区中还有一个AFP-1(一种可与甲胎蛋白基因的增强子及启动子结合的核因子)结合位点, 也可能与肝细胞特异性的转录有关.

## 2 HBV SP I 启动子的调节蛋白

启动子及其基因序列本身并没有活性, 只有结合转录

因子蛋白后才有功能. 转录因子中核受体超家族成员在HBV转录过程中具有十分重要的作用, Raney et al<sup>[3]</sup>研究了HNF4、视黄酸X受体(RXR)、过氧化物酶增强子激活受体(PPAR)等在分化型HepG2细胞系中对于HBV结构中的4段启动子活性的调节作用, 发现CP和HBsAg大蛋白启动子(SP I)受到HNF4的反式激活调节作用, 而增强子 I (ENH I)/X基因, 核心蛋白和HBsAg大蛋白基因启动子则受到RXR和PPAR的反式激活.

Lee et al<sup>[4]</sup>建立了p53抑制HBV复制的HepG2细胞模型, 这一模型证实了p53下调HBV所有4种启动子序列的表达活性. 他通过直接与TATA结合蛋白复合物或CCAAT结合因子作用而发挥抑制功能. 利用报告基因, 用转染实验分析HBV启动子的活性表明XP和CP的活性比SP I和SP II高<sup>[5,6]</sup>, 其原因还不清楚. ENH II能在一定位置和方向上以独立的方式刺激两个表面蛋白基因启动子和X基因启动子的转录活性. ENH I对表面抗原mRNA转录影响有限<sup>[7]</sup>. 这可能与他的位置有关.

## 3 HBV SP I 调节

作为调节元件的一段DNA序列, 可与某些细胞蛋白或病毒蛋白结合, 正性或负性调节转录. 分散在整个HBV基因组中的每个调节元件, 包括4种启动子, 2种增强子(Enh), 包装信号, 糖皮质激素应答元件(GRE)等, 与细胞或病毒产生的调节因子结合后, 分别调节(加强或抑制)不同基因表达; 而不同基因可受同一调节元件控制. 这些调节元件在基因组中的相对位置, 提示可以协同方式, 控制HBV基因的表达. 细胞RNA聚合酶II和转录因子结合于启动子序列, 启动RNA的合成.

反式激活的多种细胞因子(NF1、C/EBP、AP1、HNF1等)结合在增强子的特定部位, 反式激活Enh增强转录的活性. Enh序列上的这些特定的保守部位与其细胞因子相互作用, 才可能有效激活基因的启动子. 细胞核因子NF1对激活S基因的转录很重要.

Enh I的活性对HBsAg的表达影响小, 而Enh II活性对于HBsAg的表达具有显著的影响<sup>[26]</sup>. Enh II对分化的肝细胞和肝癌细胞具有显著的特异性, 可增强SP1、SP2、CP和X启动子的转录, 肝细胞核内有多种因子与Enh II的两个元件特异性的结合, 顺式激活前S1的启动子SP I. 在慢性HBV感染中, 病毒与宿主细胞染色体整合时常导致Enh II的缺失, 从而改变了外膜蛋白的相对量, 大蛋白明显减少.

多聚腺苷酸(PolyA)加尾信号及糖皮质激素反应元件均属于HBV的顺式作用元件, PolyA加尾信号是转录终止及加PolyA尾所必须的序列, GRE序列可与激活受体结合, 从而提高特定基因的转录水平, GRE表现出增强子的基本特征. 在转基因小鼠中表达HBsAg被6种类固醇和糖皮质激素调节, 经地塞米松处理后, ♂转基因小鼠对HBsAg的表达水平高于♀.

乙肝病毒X抗原(HBxAg)能反式激活许多病毒和细

胞基因, 通过结合和修饰包括 AP1、AP2、ATF2、CREB、TBP、TF2H、TF2B 等转录因子的功能起作用<sup>[8,9,17-20]</sup>, HBxAg 刺激所有 HBV 启动子到一个相似程度(2-3.5 倍)<sup>[6,10]</sup>, S1 启动子也不例外. Sp1 转录因子与 SP I 的 Sp1 结合位点结合后, 反式激活 SP I, 但其单独发挥作用小, 而是以协同方式发挥作用<sup>[11]</sup>. TATA 盒结合转录因子 TF II D, TF II D 结合 RNA 聚合酶 II, 即在启动子下游的约 30 bp 处开始转录. Raney et al<sup>[21]</sup>研究表明转录因子 HNF1 和 HNF3 对 SP I 的转录调节具有重要作用, 他们作用的位置在肝脏而不在其他组织. 这两种因子协同作用可能抑制 2.4 kb mRNA 的转录. 在 PolyA 加尾信号、GRE、ENH I、ENH II 和 HBX 及其他的细胞因子作用下顺式或反式激活 SP I, SP I 开始发挥调节功能. SP I 调节 2.4 kb 的 mRNA 转录, 编码大蛋白. 2.4 kb 的 mRNA 开始于 2 812 nt, 其上游 20 bp 是 SP I 的 TATA 盒, 准确控制转录的开始. SP II 调节 2.1 kb mRNA, 编码中、主蛋白, 两种启动子都具有同等的活性, 但是在 HBV 感染细胞中, 2.4 kb mRNA 的表达量明显低于 2.1 mRNA<sup>[22-24]</sup>, 因而细胞内主蛋白的量明显高于大蛋白. 由于大蛋白的增加易导致病毒包膜蛋白在细胞内蓄积, 引起细胞病变效应. 因 HBV 各种包膜蛋白的这种比例不仅有利于感染性 HBV 颗粒成熟于释放, 而且有利于宿主细胞的生存, 使二者能共生共存<sup>[16,25]</sup>. 因此, 三种外膜蛋白的产量有正常比例, 大蛋白过量时, 将顺式干扰 SP II, 从而降低基因的转录水平. Lu et al<sup>[12]</sup>研究表明 SP II 含 CCAAT 序列, 是一种调节蛋白正常比率的重要因素, 正调节 S 转录, 促使主蛋白产量增加, 负调节前 -S1 转录, 使大蛋白的产量减少, 而维持大/中蛋白<1/5 的正常比率. 参与 HBV 基因组转录调节的还有多种反应激活蛋白, 包括来自病毒基因组 X 区和前 -S/S 区的表达产物, 也包括来自宿主细胞的各种转录调节因子. 在对宿主细胞的反应作用因子中, 既有肝细胞特异性的调节蛋白(如 HNF1, C/EBP, 其 mRNA 主要出现于肝组织, 并具有特定的结构域), 也有在各种细胞存在的细胞因子; 既有序列特异性的 DNA 结合蛋白, 也有通过蛋白质-蛋白质相互作用而发挥功能的调节因子.

#### 4 S 基因启动子变异的影响

Xu et al<sup>[14]</sup>从 1 例慢性肝炎患者血清中分离到 S 基因启动子缺失变异株, 转染肝癌细胞后, 大蛋白过度表达, 而中、主蛋白表达减少, 因而病毒及亚病毒颗粒的分泌都受到抑制, 肝细胞内大蛋白堆积, 认为可能是慢性肝炎肝细胞毛玻璃样变性的原因. 他们进一步研究发现, 过度表达的大蛋白在肝细胞内质网通过激活 grp<sup>78</sup> 和 grp<sup>94</sup> 启动子, 改变宿主细胞的生理功能<sup>[15]</sup>. 转基因小鼠模型已经证实, 若大蛋白过度表达, 在肝细胞内堆积, 将导致肝细胞内质网肿胀, 肝细胞变性. 因此, 在感染过程中, 改变大、中、小蛋白的比例将影响疾病的进程.

总之, 有效的 HBV 复制要求有精确调节转录的 HBV 序列. C、S1、S2、X 启动子调节 mRNA 的产量. 两个增强子增加启动子的活性. 肝丰富的转录因子如 HNF-1、HNF-3 和 HNF-4 认为是病毒嗜肝性的决定因素. 因此, SP I 不是单独的起作用, 而是与其他的启动子、增强子和转录因子相互作用, 构成 HBV 转录的平衡系统. 有目的的控制 S1 启动子的启动将打破这种平衡, 是阻断 HBV 复制的有趣治疗模式.

#### 5 参考文献

- Siddiqui A, Jameel S, Mapoles J. Transcriptional control elements of hepatitis B surface antigen gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:566-570
- Raney AK, Zhang P, McLachlan A. Regulation of transcription from the hepatitis B virus large surface antigen promoter by hepatocyte nuclear factor 3. *J Virol* 1995;69:3265-3272
- Raney AK, Johnson JL, Palmer CN, McLachlan A. Members of the nuclear receptor superfamily regulate transcription from the hepatitis B virus nucleocapsid promoter. *J Virol* 1997;71:1058-1071
- Lee H, Kim HT, Yun Y. Liver-specific enhancer II is the target for the p53-mediated inhibition of hepatitis B viral gene expression. *J Biol Chem* 1998;273:19786-19791
- Wang WX, Li M, Wu X, Wang Y, Li ZP. HNF1 is critical for the liver-specific function of HBV enhancer II. *Res Virol* 1998;149:99-108
- Nakatake H, Chisaka O, Yamamoto S, Masubara K, Koshy R. Effect of X protein on transactivation of hepatitis B virus promoters and on viral replication. *Virology* 1993;195:305-314
- Yuh CH, Ting LP. The genome of hepatitis B virus contains a second enhancer: cooperation of two elements within this enhancer is required for its function. *J Virol* 1990;64:4281-4287
- Barnabas S, Andrisani OM. Different regions of hepatitis B virus X protein are required for enhancement of bZip-mediated transactivation versus transrepression. *J Virol* 2000;74:83-90
- Qadri I, Maguire HF, Siddiqui A. Hepatitis B virus transactivator protein X interacts with the TATA-binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:1003-1007
- Xu Z, Yen TS, Wu L, Madden CR, Tan W, Slagle BL, Ou JH. Enhancement of hepatitis B virus replication by its X protein in transgenic mice. *J Virol* 2002;76:2579-2584
- Raney AK, McLachlan A. Characterization of the hepatitis B virus large surface antigen promoter Sp1 binding site. *Virology* 1995;208:399-404
- Lu CC, Chen M, Ou JH, Yen TS. Key role of a CCAAT element in regulating hepatitis B virus surface protein expression. *Virology* 1995;206:1155-1158
- Li J, Ou JH. Differential regulation of hepatitis B virus gene expression by the Sp1 transcription factor. *J Virol* 2001;75:8400-8406
- Xu Z, Yen TS. Intracellular retention of surface protein by a hepatitis B virus mutant that releases virion particles. *J Virol* 1996;70:133-140
- Xu Z, Jensen G, Yen TS. Activation of hepatitis B virus S promoter by the viral large surface protein via induction of stress in the endoplasmic reticulum. *J Virol* 1997;71:7387-7392
- Bock CT, Kubicka S, Manns MP, Trautwein C. Two control elements in the hepatitis B virus S-promoter are important for full promoter activity mediated by CCAAT-binding factor. *Hepatology* 1999;29:1236-1247
- Reifenberg K, Wilts H, Lohler J, Nusser P, Hanano R, Guidotti LG, Chisari FV, Schlicht HJ. The hepatitis B virus X protein transactivates viral core gene expression in vivo. *J Virol* 1999;73:10399-10405
- Haviv I, Shamay M, Doitsh G, Shaul Y. Hepatitis B virus pX targets TFIIB in transcription coactivation. *Mol Cell Biol* 1998;18:1562-1569

- 19 Maguire HF, Hoeffler JP, Siddiqui A. HBV X protein alters the DNA binding specificity of CREB and ATF-2 by protein-protein interactions. *Science* 1991;252:842-844
- 20 Seto E, Mitchell PJ, Yen TS. Transactivation by the hepatitis B virus X protein depends on AP-2 and other transcription factors. *Nature* 1990;344:72-74
- 21 Raney AK, Mclachlan A. Characterization of the hepatitis B virus major surface antigen promoter hepatocyte nuclear factor 3 binding site. *J Gen Virol* 1997;78(Pt 11):3029-3038
- 22 Araki K, Miyazaki J, Hino O, Tomita N, Chisaka O, Matsubara K, Yamamura K. Expression and replication of hepatitis B virus genome in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:207-211
- 23 Cattaneo R, Will H, Schaller H. Hepatitis B virus transcription in the infected liver. *EMBO J* 1984;3:2191-2196
- 24 Farza H, Hadchouel M, Scotto J, Tiollais P, Babinet C, Pourcel C. Replication and gene expression of hepatitis B virus in a transgenic mouse that contains the complete viral genome. *J Virol* 1988;62:4144-4152
- 25 Bruss V, Ganem D. The role of envelope proteins in hepatitis B virus assembly. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:1059-1063
- 26 Fukai K, Takada S, Yokosuka O, Saisho H, Omata M, Koike K. Characterization of a specific region in the hepatitis B virus enhancer I for the efficient expression of X gene in the hepatic cell. *Virology* 1997;236:279-287

## 乙肝病毒表面抗原基因启动子II的结构及调节研究

梁耀东, 成军, 陆荫英, 吴君, 程明亮

梁耀东, 成军, 陆荫英, 中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心、全军病毒性肝炎防治研究重点实验室 北京市 100039  
吴君, 程明亮, 贵阳医学院第一附属医院感染科 贵州省贵阳市 550004  
项目负责人: 成军, 100039, 北京市西四环中路100号, 中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心、全军病毒性肝炎防治研究重点实验室. [cj@genetheray.com.cn](mailto:cj@genetheray.com.cn)  
电话: 010-66933392 传真: 010-63801283  
收稿日期: 2003-01-11 接受日期: 2003-02-16

梁耀东, 成军, 陆荫英, 吴君, 程明亮. 乙肝病毒表面抗原基因启动子II的结构及调节研究. 世界华人消化杂志 2003;11(7):1004-1006  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1004.asp>

### 0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)为含有一段单股区的双链环状DNA病毒, 属嗜肝DNA病毒科, 其基因组结构紧密, 可分为结构基因序列和调节基因序列两部分, 二者可具有相互重叠的特点. HBV基因的负链核苷酸序列中, 至少有4个开放读码框(open reading frame, ORF), 包括编码外膜蛋白的S基因区, 编码核衣壳蛋白的C基因区, 编码聚合酶的P基因区和调节病毒基因转录水平的X基因区, 4种ORF分别有各自的启动子. HBV的外膜蛋白能使病毒由感染的细胞分泌, 并能附着和侵入新的细胞; 同时其也是引起宿主保护性应答的免疫原表位<sup>[1-6]</sup>. 因此, 作为指导S基因组RNA转录的SP启动子序列, 在HBV的生活周期中, 具有较为重要的作用.

### 1 HBV SP-II启动子的结构特点

启动子(promotor)又称启动基因, 是DNA分子上可与RNA聚合酶特异结合, 而使转录开始的一段DNA序列, 位于转录起始点上游, 由RNA聚合酶结合部位及控制转录的调节组件构成. HBV至少有4个启动子, 转录出3.5 kb、2.4 kb、2.1 kb和0.7 kb mRNA等, 这4条RNA均有一个共同的多聚腺苷酸(PolyA)尾, 在此终止转录. S基因有两个串联的启动子, SP-I启动子(2219-2780 nt)调节2.4 kb的mRNA转录, 编码大蛋白; SP-II启动子(2809-3152 nt)调节2.1 kb的mRNA转录, 编码中蛋白和主蛋白. SPII启动子不含典型的TATA盒, 但含不典型的TATA样序列(-25~-32 nt), 有启动子的特异活性, 可与胞核提取物特异结合. SP-II启动子与猴病毒40(SV40)晚期启动子相类似, 富含鸟嘌呤(G)和胞嘧啶(C)核苷酸, 对其进行精细的突变分析表明, 位于RNA转录起始位点上游200个核苷酸内的SP-II启动子可分为A至G 7个区段, 其均能通过序列特异性的DNA结合蛋白相互作用而影响转录水平, 其中-188~-68远端的A、B和C区是正调控区, 如果同时去除A、B和C区可使转录水平下降3倍, 但仅有B和C区均可保持较高水平; 位于-6~-49的D区是SPII启动子的必需元件, 与SV40复制起点有一定程度的同源性; E-G区位于主要转录起始位点的45个核苷酸内, 与SV40主要晚期启动子有序列同源性, E区可抑制F区对转录的负调节, 并可补偿G区的突变对转录的影响, 而删除F区后, G区可补偿E区的缺失对转录的影响. 总之, SPII启动子至少有6个负责正调节的转录因子结合位点(A-E、G)和一个负调节的转录因子结合位点(F)<sup>[7-10]</sup>.

### 2 HBV SP-II启动子的调节

S基因的三种蛋白的主要功能是以一定的比例在内质网内与核心颗粒一起装配成成熟的病毒颗粒, 再分泌到细胞外. 中、主蛋白在没有其他病毒颗粒时, 可以小球型或丝状的亚病毒颗粒形式分泌, 而大蛋白则不能单独分泌. 当大蛋白与其他表面蛋白一起表达时, 病毒颗粒是否能组装并分泌取决于大蛋白的数量; 当大蛋白数量相对少时, 病毒颗粒成熟并分泌; 而当大蛋白数量多时, 抑制病毒颗粒的组装与分泌. 因此, 在HBV感染中, 大蛋白的含量明显低于中蛋白和主蛋白, 这是通过两个独立的启动子SP-I及SP-II来调节的; 上游是SP-I启动子, 主要控制大蛋白的转录与翻译, 下游的SP-II启动子主要控制中、主蛋白的转录与翻译. 通常前-S1 mRNA的量远少于S mRNA, 因此大蛋白的量通常不足以阻止病毒成熟和分泌. 由于大蛋白的增加易导致病毒包膜蛋白在宿主内蓄积, 引起细胞病变效应, 因此, HBV膜蛋白的这种比例不仅有利于感染性HBV颗粒的成熟与释放, 而且也有利于宿主细胞的生存.

SP-II启动子中含CCAAT短序列, 是一种调节外膜蛋白正常比率的重要因素. CCAAT序列既能增强SP-II



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8243  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

