

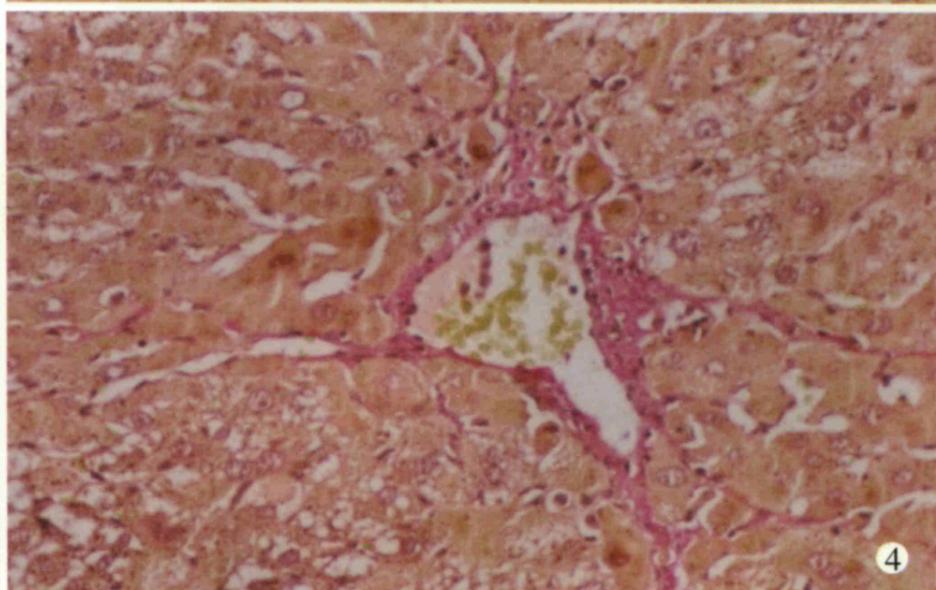
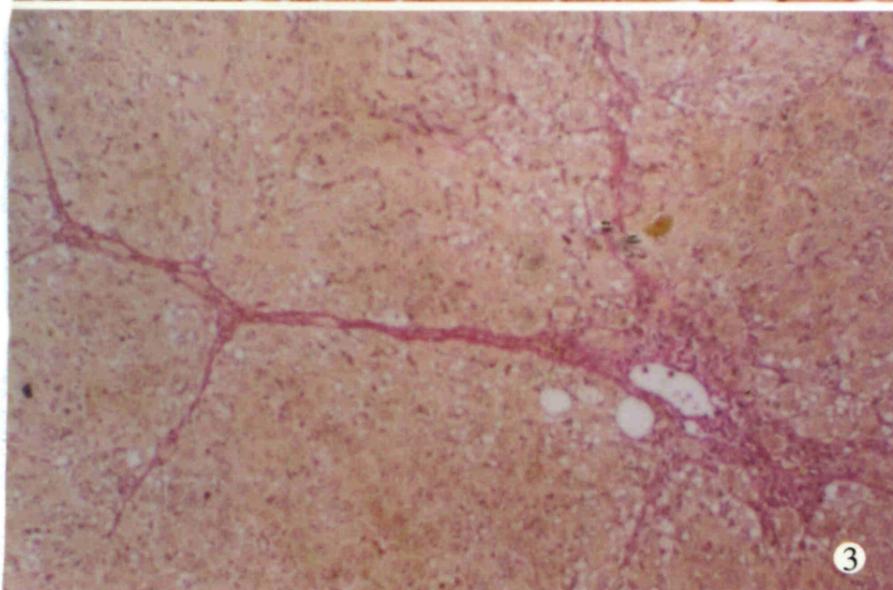
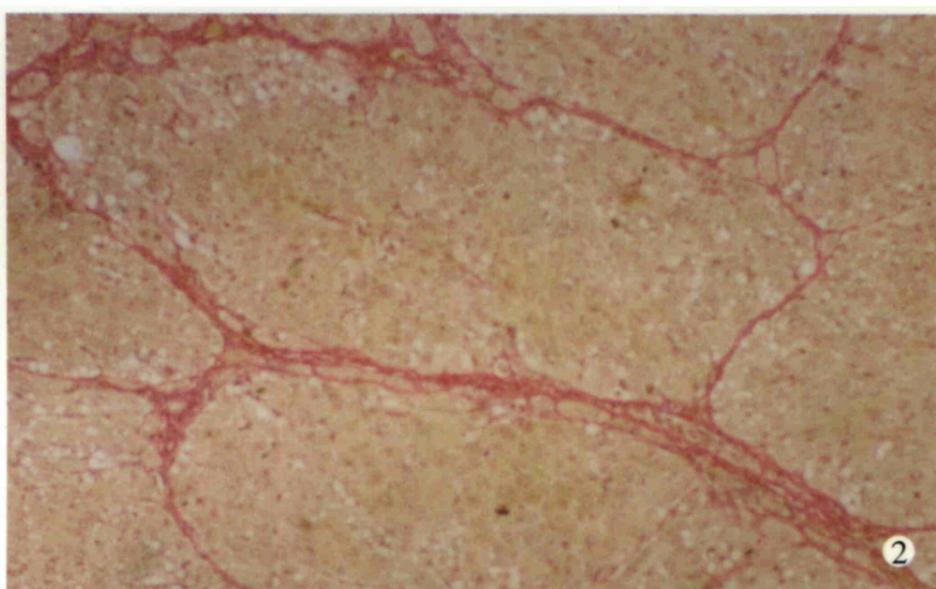
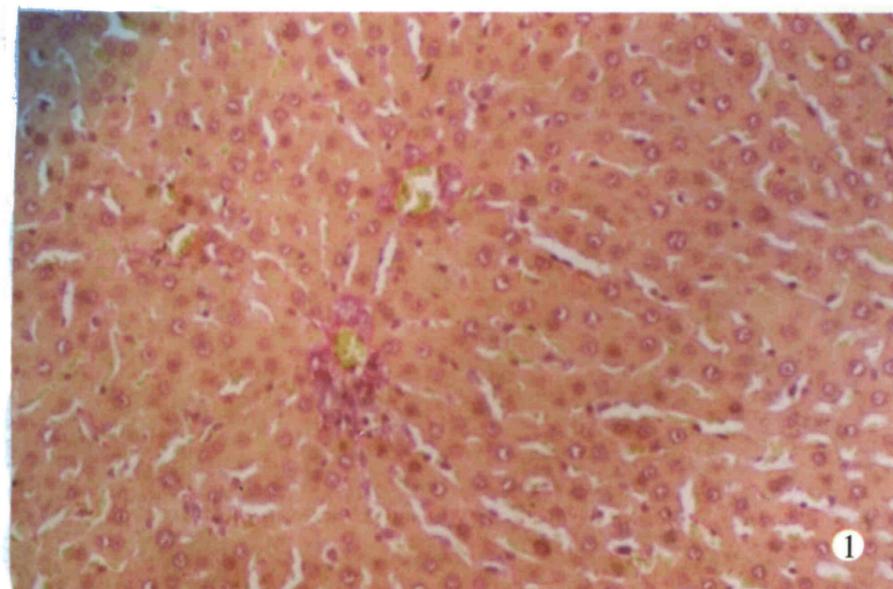
世界华人消化杂志®

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 α 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, 赖箐, 李建国 966 乙型肝炎病毒核壳蛋白变异株在 HepG ₂ 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 ₂ 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 ⁵³ 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 |

焦点论坛

- 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

课堂讨论

- 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

文献综述

- 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

消息

- 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

封面故事

- 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

世界华人消化杂志

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

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

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: wjcd@wjgnet.com

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

http://www.wjgnet.com

电话 (010)85381892

传真 (010)85381893

印刷 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

本刊已被国内外检索系统收录

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)

特别声明

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

- 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 Fukui 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
 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^[1-6]. 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主要晚期启动子有同源序列, 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)^[7-10].

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

启动子的活性, 又能阻断 2.4 kb mRNA 转录延伸作用, 致使 2.4 kb mRNA 表达受限制. Lu et al^[11]发现在 SP-II 启动子内的 CCAAT 元件不仅能增加 S 基因的转录, 而且能降低前 -S1 基因的转录各 5 倍, 从而维持大/主蛋白 <1/5 的正常比例, 因此, 在 CCAAT 元件发生突变时, 大蛋白产生过量, 可抑制毒粒排出, 将导致细胞内表面蛋白分泌减少而大量堆积, 从而影响 HBV 的装配. 所以, CCAAT 元件在病毒的生活史中对维持 S/前 -S1 基因转录的比例起到关键的作用. SP-II 启动子发生缺失变异时, 大蛋白将过度表达, 而中、主蛋白表达减少, 因而病毒及亚病毒颗粒的分泌受到抑制, 但对病毒复制能力无影响, 肝细胞内大蛋白及复制中间产物 cccDNA 等堆积对肝细胞有细胞毒作用, 能增强肝细胞对炎症细胞因子的敏感性, 使肝细胞受损, 可能是慢性乙型肝炎肝细胞毛玻璃样变性的原因之一^[12,13]. 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 grp78 和 grp94 启动子, 改变宿主细胞的生理功能. 转基因小鼠模型也已经证实, 若大蛋白过度表达, 在肝细胞堆积, 将导致肝细胞内质网肿胀、肝细胞变性. 另一些研究观察了大、中、主蛋白比例变化与肝损害之间的关系, 发现在急性肝炎恢复期的患者, 存在正常比例的大、中、主蛋白; 而慢性肝炎患者的大蛋白比例增高, 中蛋白合成减少. 因此, 在感染过程中改变大、中、主蛋白的比例将影响疾病的过程.

Bock et al^[14-16]从前 -S 区突变去研究 SP-II 启动子的转录调控后发现, 当前 S2 区发生 CCAAT 盒点突变 (MUT1)、CCAAT 盒的 3' 第 6 bp 缺失 (MUT2) 及 CCAAT 盒的 3' 第 153 bp 缺失 (MUT3) 变异时, SP-II 启动子功能下降约 30-75%, 并且发现, SP-II 启动子及 MUT3 能被 CCAAT 盒结合因子 (CBF) 调控, 而 MUT1 及 MUT2 则不被 CBF 调控, 可见 CBF 是 SP-II 启动子发挥作用所需, CCAAT 盒和另一未知区域所介导的启动子的功能必需通过 CBF 而起作用. 当发生 MUT1 和 MUT2 或 MUT3 时, 大蛋白将贮留在细胞内质网中, 核心蛋白将贮留在胞核内, MUT3 突变时, 出现有煎蛋样和螺旋丝状物质的畸形病毒颗粒; 并且还发现前 -S 区的不同区域决定着病毒在细胞内的定位和细胞外的表现, 前 -S 区变异可能与 HBV 相关肝病的进展和预后有关. Ha-Lee et al^[17]研究发现, SP-II 启动子的突变, 使基因表达失衡, 是慢性乙肝患者持续感染得以维持的一种途径. 有研究证实位于前 S-ORF 内的 2 995-3 177 nt 的缺失突变减弱了前 -S 的免疫原性, 但仍存在与肝细胞的结合位点, 不但保留了病毒感染肝细胞的能力, 还能使病毒避开宿主的免疫攻击, 导致 HBV 的持续携带状态.

Kajiya et al^[18]在慢性乙肝病毒感染过程中研究发现, 当机体的免疫反应强大时, HBV 病毒基因突变由通常的核心启动子 (CP) 突变 (T(1 762)A(1 764)) 及前 -S1 区缺失变为核心启动子 (CP) 突变及 SP-II 启动子区发生缺失变异; 将其 PCR 产物转染入人肝细胞瘤 HuH-7 细胞, 发现细

胞内病毒复制频率增加, 但 HBsAg 和 HBeAg 分泌减少, 细胞内不含包膜的核心颗粒增多, 提示核心启动子 (CP) 突变及 SP-II 启动子区缺失可能协同参与病情的发展.

乙型肝炎病毒的基因表达受许多转录因子的调控, 参与 HBV 基因组转录调节的有多种反式调节蛋白, 这些调节蛋白既包括来自病毒基因组的表达产物, 也包括来自宿主细胞的各种调节转录因子. SP-II 启动子通过其 -189~+1 间的序列调控元件与 NF1、SP1 和 NF-Y 等转录因子结合来调控前 -S2/S 基因的表达. Raney et al^[19]研究发现肝细胞核因子 HNF3 与 SP-II 启动子的 -231~-240 结合后, 前 -S2/S 基因的转录受到抑制. 转录激活蛋白 Sp1 可与 SP-II 启动子 B、D、E、F 区结合. Li et al^[20]研究发现转录因子 Sp1 能正负调控 S 基因的转录, 其有三个结合位点, Sp1-1 和 Sp1-2 在核心启动子内, Sp1-3 在增强子 EhnII 内. Sp1-1 不影响 S 基因的转录, Sp1-2 负调控 S 基因, 除去 Sp1-2 后, Sp1-1 则正调控 S 基因, Sp1-3 正调控 S 基因, 当其发生突变时, 则抑制基因表达, 然而, 这种抑制作用在 Sp1-1 和 Sp1-2 也发生突变时消失, Sp1 是如何具体调控 S 基因的转录, 有待进一步研究. SP-II 启动子不含有 TATA 盒, 其调控前 -S2/S 基因转录的机制也还不完全清楚, Bogomolski-Yahalom et al^[21]研究发现在 SP-II 启动子的 -25~-32 bp 的核苷酸序列有启动子的特异活性, 类似于 TATA 盒的功能, 含有 TATA 盒结合蛋白 (TBP) 结合位点, 可与胞核提取物特异结合; -13~-16bp 的核苷酸序列为 SP-II 启动子的起始子 (initiator, inr). 总之, 上述两种序列在前 -S2/S 基因转录调控中起到重要作用. 有资料表明增强子 Enh1/Enh2 均能提高 SP-II 启动子的转录水平, 但这方面的报道较少.

总之, 基因表达调控是在多级水平上进行的, 就目前的认识, 转录水平的调控是基因的重要控制方式, 基因的转录起始是基因表达的基本调控点, 而这一阶段的重要事件是 RNA 聚合酶与基因启动子的相互作用, 故对基因启动子的结构及调节研究十分重要. S 基因编码的主蛋白是目前常用乙型肝炎疫苗的主要中和位点, 并且 S 及前 -S 基因组与 HBV 病毒的成熟、分泌及感染性有关. 目前, 对 HBV SP 启动子的结构及调节的了解还比较少, 大大限制了我们对乙肝病毒及其相关疾病的认识, 有待进一步的研究.

3 参考文献

- 1 成军, 董菁. 乙型肝炎病毒前基因组启动子的调节机制. 国外医学·流行病学传染病学分册 2002;29:15-18
- 2 郭晏海. 与 HBV 进入细胞有关的细胞膜分子. 国外医学病毒学分册 2001;8:182-185
- 3 De Meyer S, Gong ZJ, Suwandhi W, van Pelt J, Soumillion A, Yap SH. Organ and species specificity of hepatitis B virus (HBV) infection: a review of literature with a special reference to preferential attachment of HBV to human hepatocytes. *J Viral Hepat* 1997;4:145-153
- 4 Sonveaux N, Thines D, Ruyschaert JM. Characterization of the HBsAg particle lipid membrane. *Res Virol* 1995;146:43-51
- 5 Mangold CM, Unckell F, Werr M, Streeck RE. Analysis of intermolecular disulfide bonds and free sulfhydryl groups in hepatitis B surface antigen particles. *Arch Virol* 1997;142:2257-2267

- 6 Xu Z, Bruss V, Yen TS. Formation of intracellular particles by hepatitis B virus large surface protein. *J Virol* 1997;71:5487-5494
- 7 成军,杨守纯. 现代肝炎病毒分子生物学. 第1版. 北京:人民军医出版社, 1997:25-43
- 8 金奇. 医学分子病毒学. 第1版. 北京:科学出版社, 2001:334-335
- 9 Alka S, Hemlata D, Vaishali C, Shahid J, Kumar PS, Hepatitis B virus surface(S) transactivator with DNA-binding properties. *J Med Virol* 2000;61:1-10
- 10 De Meyer S, Depla E, Maertens G, Soumillion A, Yap SH. Characterization of small hepatitis B surface antigen epitopes involved in binding to human annexin V. *J Viral Hepat* 1999;6: 277-285
- 11 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
- 12 季伟,王慧芬. 乙型肝炎病毒转录后调节机制的研究进展. 国外医学·流行病学传染病学分册 2000;27:120-124
- 13 吴炜,李兰娟. HBV前S基因变异及其临床意义. 国外医学·流行病学传染病学分册 2002;29:200-202
- 14 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
- 15 Bock CT, Tillmann HL, Manns MP, Trautwein C. The pre-S region determines the intracellular localization and appearance of hepatitis B virus. *Hepatology* 1999; 30:517-525
- 16 Bock CT, Tillmann HL, Maschek HJ, Manns MP, Trautwein C. A preS mutation isolated from a patient with chronic hepatitis B infection leads to virus retention and misassembly. *Gastroenterology* 1997;113:1976-1982
- 17 Ha-Lee YM, Lee J, Pyun H, Kim Y, Sohn J, Cho YJ, Kim Y. Sequence variations of hepatitis B virus promoter regions in persistently infected patients. *Arch Virol* 2001;146:279-292
- 18 Kajiya Y, Hamasaki K, Nakata K, Nakagawa Y, Miyazoe S, Takeda Y, Ohkubo K, Ichikawa T, Nakao K, Kato Y, Eguchi K. Full-length sequence and functional analysis of hepatitis B virus genome in a virus carrier: a case report suggesting the impact of pre-S and core promoter mutations on the progression of the disease. *J Viral Hepat* 2002;9:149-156
- 19 Raney AK, McLachlan A. Characterization of the hepatitis B virus major surface antigen promoter hepatocyte nuclear factor 3 binding site. *J Gen Virol* 1997;78:3029-3038
- 20 Li J, Ou JH. Differential regulation of hepatitis B virus gene expression by the SP1 transcription factor. *J Virol* 2001;75: 8400-8406
- 21 Bogomolski-Yahalom V, Klein A, Greenblat I, Haviv Y, Tur-Kaspa R. The TATA-less promoter of hepatitis B virus S gene contains a TBP binding site and an active initiator. *Virus Res* 1997;49:1-7

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

杨艳杰,成军,陈东风,刘妍,杨倩,王建军,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
 陈东风,中国人民解放军第三军医大学大坪医院消化内科 重庆市 400038
 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
 电话:010-66933392 传真:010-63801283
 收稿日期:2003-01-11 接受日期:2003-02-16

杨艳杰,成军,陈东风,刘妍,杨倩,王建军. 乙型肝炎病毒核心启动子的结构及调节研究. 世界华人消化杂志 2003;11(7):1006-1008

<http://www.wjnet.com/1009-3079/11/1006.asp>

0 引言

乙型肝炎是一种严重威胁人类健康的疾病,呈全球性分布,目前全世界有3.5亿人感染乙型肝炎病毒(HBV),其中相当一部分感染者发展为慢性肝炎,少数还发展为肝硬化甚至肝癌,至今仍缺乏有效控制^[1-5].造成这一局面的原因很多,其中关于HBV与肝细胞之间相互作用的分子生物学机制的研究进展相对滞后是严重影响新型治疗技术和新型药物开发与研究的重要原因之一.进一步弄清HBV DNA的复制、转录及调节的过程,对于我们研究乙型肝炎的发病机制具有重要意义.本文仅就乙型肝炎病毒核心启动子(CP)结构及调节近几年的研究进展作一综述.

1 乙型肝炎病毒基因组结构

HBV是很小的包膜病毒. HBV DNA和HBV聚合酶由核壳包裹成为核心颗粒,再由含HBsAg的脂蛋白包裹.病毒基因组是3.2 kb的部分双链DNA.双链的长度不等,负链与病毒的mRNA互补,较短的链为正链. HBV基因组结构精密,仅约3 200 bp(3 182-3 221 nt, 3.2 kb),但可以最小容量发挥高效功能. HBV负链核苷酸序列至少有4个开放读框(open reading frame, ORF): C、P和S基因(相当于逆转录病毒的gag、pol和env基因)分别编码核壳、聚合酶和外膜蛋白;另一ORF因开始鉴定时对其基因产物的功能不明而称X.正链序列上似无保守序列,由双链DNA转录为RNA,是一个需要高度调节的过程.因而病毒基因组不仅含有编码蛋白的结构基因,也有调节元件.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基因组中有多个调节元件(regulatory element),包括4种启动子、2种增强子、包装信号 ϵ 、糖皮质激素应答元件等^[6].

2 乙肝核心启动子(CP)的结构及调节

CP在1 591和1 822nt(从EcoR I位点),包括至少232 bp^[7],结构及功能都十分复杂.与增强子II部分重叠的1 687 nt(Hinc II)下游核苷酸序列对于启动子的活性是非常必要的. CP与X基因的3'末端(1 837-nt)、C基因前-C区的5'末端(1 814 nt)重叠;增强子II(1 687-1 775 nt)和顺向重复序列(DR, direct repeat, 1 826-1 836 nt)完全在CP区域内;前基因组mRNA(1 785-nt)和前基因组-C/P mRNA(1 820-nt)都由此处开始. HBV的C基因调节序列区(C基因前-C区上游约200 bp)包括多个元件,有直接重复序列DR1/DR2、负链缺口、增强子II和C基因启动子(CP).

CP区在1 643-1 849 nt,结构和功能较复杂. CP与X基因远端和C基因的前-C区有部分重叠;DR I和增强子II在其区域内. CP由核心上游调节序列(CURS)和基本启动子(BCP)两部分构成,前者是后者的强激发者. CURS中含2个重复序列(1 668-1 684 nt),是肝细胞核



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
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

