

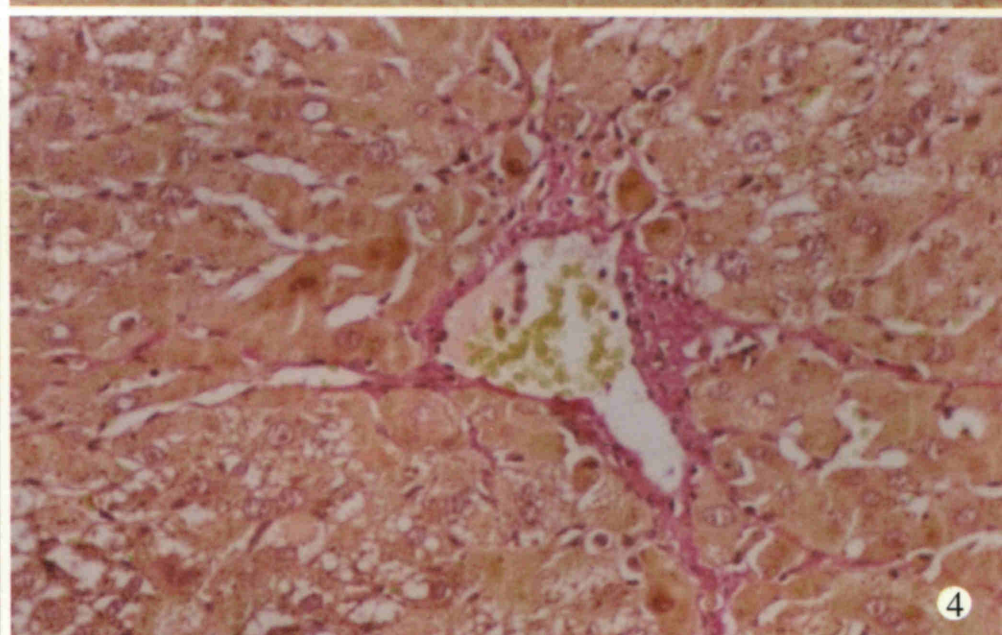
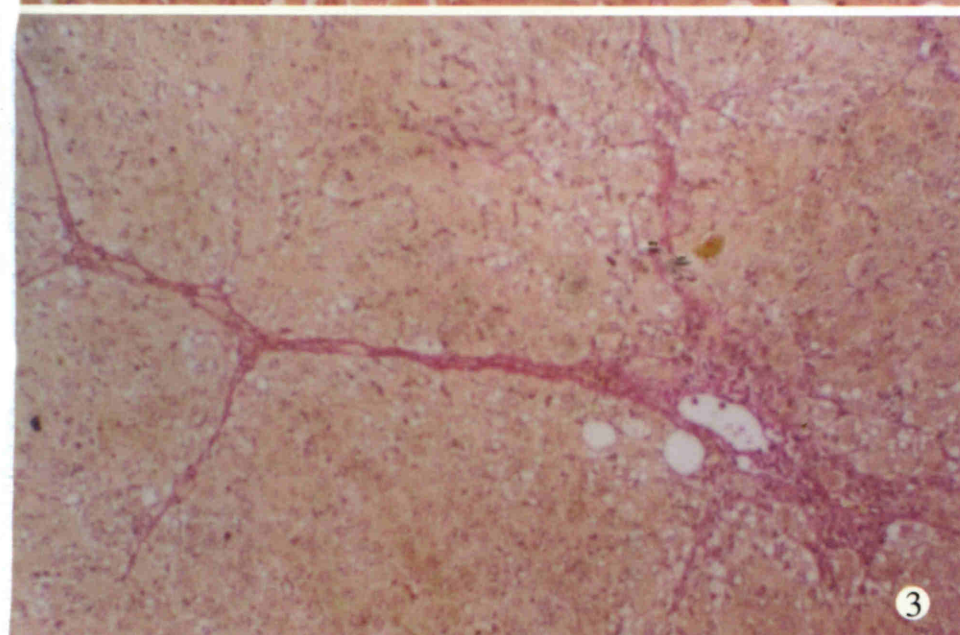
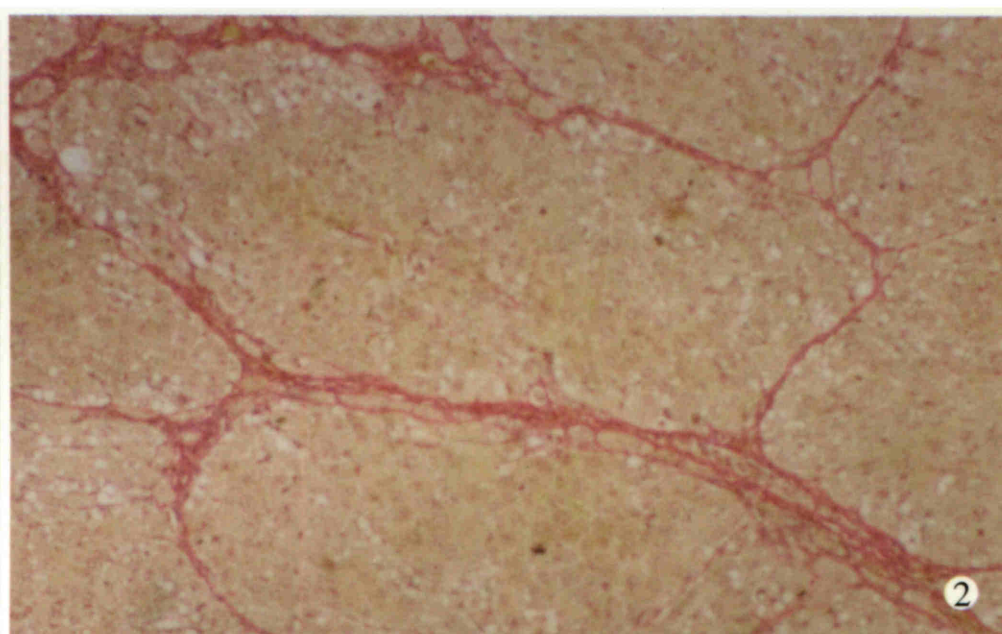
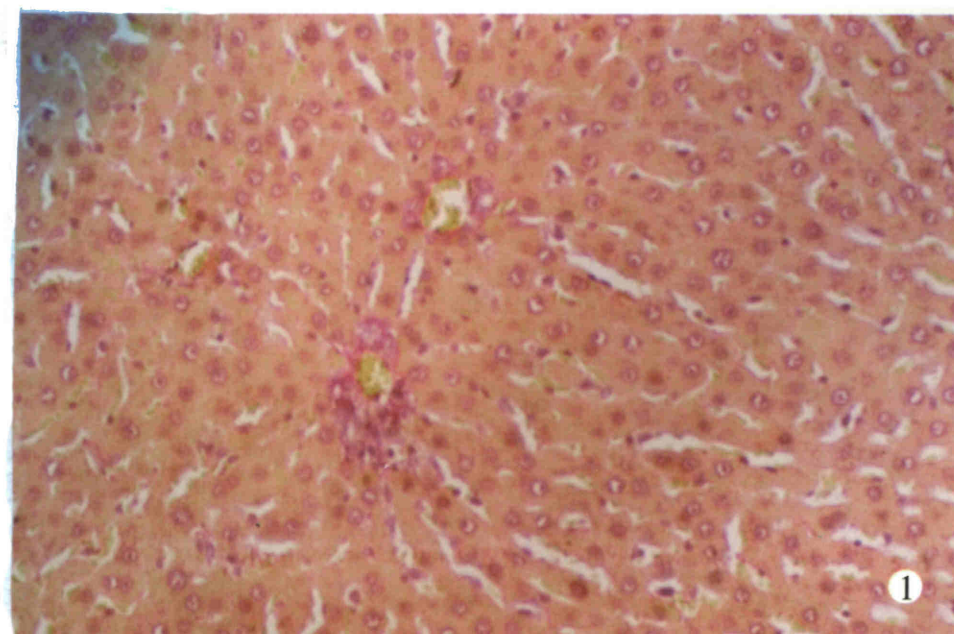
世界华人消化杂志®

**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, 赖菁, 李建国
966 乙型肝炎病毒核壳蛋白变异株在 HepG₂ 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 PGE₂ 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 p⁵³ 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 张金哲
 黄象谦 张学庸
 黄志强 赵东海
 黎介寿 周殿元
 刘耕陶 社长总编辑 马连生
 裘法祖 中文编辑 潘伯荣
 汤钊猷 王瑾晖
 王宝恩 英文编辑 张建中
 危北海 排 版 李少华
 吴孟超 校 对 李天华
 吴咸中

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
 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.

- 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, Turkaspa 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.wjgnet.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

因子的结合部位. 在 CP 上游还有一个顺式抑制元件(cis-acting repressing element, NRe), 负调节 CP 活性. BCP 在 1 742-1 849 nt 区段, 包含 DR I 区、前 -C 和 C 基因的 2 种 mRNA 的起点; BCP 区段中有 4 个 TATA 盒样序列(TA), 其对于前 C mRNA 和前基因组 RNA 在体内的精确转录的起始是很重要的.

CP 调节 3.5 kb mRNA 的合成, 编码 HBeAg 前体和前基因组 C/P 蛋白, C 基因附近区段是 HBV 复制的关键性部位, 有多种调节序列. CP 和增强子 II 调节核壳蛋白的合成. CP 与 HBV 的肝细胞特异表达有关, 如以一种在大多数细胞中都有功能的金属硫蛋白(metallothionein)启动子代替 CP, HBV DNA 即可在一种人的非肝细胞系 HeLa 细胞中表达. Lopez-Cabrera et al^[7]指出从老鼠肝细胞核提取物纯化的 CCAAT/ 增强子结合蛋白(C/enhancer binding protein, C/EBP), 是一个肝脏特异性的核因子, 在 CP 上至少结合了 5 个位点, 而其中的 3 个位点与增强子 II 重叠. C/EBP 在一定程度上激活了 CP 低浓度的表达, 但在高浓度反而抑制其表达. 肝细胞核因子 1 (hepatocyte nuclear factor I, HNF 1) 具有肝特异性, 能够激活许多肝特异性基因的转录活性. Wang et al^[8]研究了 HNF 1 对增强子 II 的影响, 他们指出 HNF1 可以激活 HeLa 细胞中增强子 II 的活性而这个细胞并不表达 HNF1, 并且抗检测的 HNF1 抑制其在 HepG2 细胞中的表达. 已鉴定 1 718-1 736 nt 区域是 HNF1 活性的靶位点. 这个区域与 HNF3 结合位点重叠, HNF3 是另一个通过增强子 II 调节 CP 活性的肝富集因子^[9]. HNF4 在增强子 I /X 基因启动子区有 1 个结合位点, 另 2 个结合位点则位于 CP 区内^[10]. 尽管 HNF4 与前面位点结合, 但其对病毒的转录无明显影响, 而另外两个位于 BCP 的位点都独立介导 HNF4 依赖的转录活性^[11].

3 C 基因启动子的突变及其生物学意义

乙肝的 X 基因在 1 643-1 850 nt, 增强子 II 在 1 627-1 774 nt 大部分重叠. 这一区段是病毒复制的重要调节区, 是转录、反转录和正链合成的起点, 也是多种细胞因子的结合部位. 这一区段的变异较易对病毒转录、复制等生物学特性产生影响.

CP 区变异并非独立的突变位点, 常是多位点变异的组合. BCP 上的双变异 1 762 nt 的 A2→T 和 nt 1 764 的 G→A 在慢性 HBV 感染中较常见, 在肝衰竭的患者 1 638 nt T→C、1 673 nt C→T、1 727 nt A→T、1 730 nt C→G 变异出现的也较多. 变异涉及前 -C mRNA (1 790 ± 1 nt) 起始位点上游 28 bp AT 富集区的 TTAAA 序列 (1 758-1 762 nt), 而前基因组 RNA 起始位点 (1 818 nt) 上游 23 bp 的 ATAAATT 序列 (1 789-1 795 nt) 仍然完整. 用于前 -C 和前基因组 RNA 合成的启动子元件不同, 是分开调节的. BCP 控制前 -C 和 C RNA 的转录. 前 -C RNA 编码分泌的 HBeAg; 而 C RNA 编码核心蛋白、DNAp 和前基因组 RNA. 变异株合成 HBeAg 的水平降低, 合成 HBcAg

无影响, 而病毒复制反可增强, 核心颗粒也比野毒株多 2-4 倍^[12]. Kidd-Ljunggren et al^[13]从不同基因型的 59 株 HBV 和不同 HBeAg/ 抗 HBe 状态的患者分析, 前 -C 和前基因组 RNA 的起始密码和 TATA 元件高度保守, CP 区的绝大多数缺失会导致转译读框迁移和终止, 截短 X 蛋白的 C 末端. CP 中 1 762-1 764 nt 变异抑制 HBeAg 产生而病毒产生增强. 1 762 nt 及 / 或 1 764 nt 变异常伴随 1 751-1 755 nt 的点突变. 对 HBeAg 表达的抑制作用: Buckwold et al^[14]研究发现肝内富集的转录因子可结合于 DNA 覆盖 1 762 nt 和 1 764 nt, 变异的 BCP 可能改变这种结合, 降低前 -C RNA 的转录, 最终使 HBeAg 平均降低 70 %. 这一双变异抑制, 并不终止 HBeAg 的表现型. 前 -C 基因表达减少但不影响前基因组 RNA 的合成. 增强前基因组 RNA 的包装, 子代病毒产生增加. Gunther et al^[15]发现, HBV 1 762 nt 和 1 764 nt 变异株与活动性肝炎、移植后的严重肝病、肝细胞癌相关, 联合 1 653 nt 变异、与急性暴发性过程相关. 这些变异降低前 -C mRNA 水平 (低 55 %) 和 HBeAg 分泌, 但对前基因组 /C 和前 -S/S mRNA、细胞内核心、聚合酶和前 -S/S2 蛋白和 S 抗原分泌无显著影响. 在细胞内和培养液中的子代病毒 DNA 量稍增加. 对病毒复制的调节作用: 一方面, HBV/CP 的转录活性可被炎症因子调节. 肿瘤坏死因子 TNF α、IFN γ 和 IFN α 都可降低病毒的转录活性 40 %. Romero et al^[16]证实 HBV DNA 含有与转录蛋白相一致的元件, 其结合活性可由炎症细胞因子调节. TNF α、IFN γ 和 IFN α 各降低报告构件虫萤光素酶活性 40 %, TNF α 和 IFN γ 合用抑制程度倍增. 为维持 TNF α 效应必须保留 C/P 转录开始部位上游 330 bp, 以 TNF α 处理转染 HBV DNA 的 HepG2 细胞, 在细胞内核心颗粒中的复制型 HBV 降低 60 %. 这些细胞因子的抑制作用, 提示一种非细胞溶解机制在感染肝细胞中由抗原非特异免疫应答部分调节 HBV 的复制. 另一方面, BCP 变异导致高水平复制, 这一变异株显示为前基因组 RNA 增强的表现型. HBV 复制只能在核心颗粒内, 是在前基因组 RNA、HBcAg 和 DNAp 之间相互作用而装配成的. BCP 变异使前基因组 RNA 转录仅稍有增强 (2-3 倍), 而病毒包装则有很大增强 (>10 倍), BCP 变异因包装功能增强而提高复制水平. Baumert et al^[17]曾在暴发性肝炎相关的一株 HBV 的核心启动子中鉴定出 2 处变异 (1 768 nt C 变 T 和 1 770 nt T 变 A), 因前基因组 RNA 进核心颗粒的病毒包装增加使复制提高. 这两处变异增加核心蛋白合成 15 倍, 从而增加病毒包装; 而前基因组 RNA 的转录只增加 2 倍, 反转录的聚合酶也只增加 2 倍, 复制增强也只在核心蛋白增加时. 这些结果提示 HBV/CP 在转录和转录后水平调节核心蛋白表达.

另一解释是 CP 区变异产生了肝细胞核因子 (HNF-1) 的结合位点, 因这一转录因子的介导, 使前 -C mRNA 水平下降, 从而使 HBeAg 减少; 而 C mRNA 和前基因组 RNA 水平则增高, 因而病毒复制增加^[18]. Chan et al^[19]研究表明, 慢性 HBV 感染 45 例患者 HBeAg/ 抗 -HBe 转换后 92 % 有

CP 或前 C 变异, 其中 42 % 仅 CP、38 % 仅终止密码子、12 % 同时有 2 种变异. 血清 HBeAg/ 抗 -HBe 转换后 73 % 的患者持续血清转氨酶正常, 仅 8 % 有多次增高. 1 858 nt 是 C 的基因型感染 CP 变异较常见(91 % : 27 %, $P < 0.01$); 而前 -C 终止密码子仅见于 1 858 nt, 是 T 的基因型(87 % : 0 $P < 0.01$). CP 变异选择妨碍发生前 C 终止密码子的基因型.

HBV 在覆盖 CP 的区域利用其基因组的经济性是非常明显的, 跨越 CP 区域(1 591-1 849 nt)的 DNA 一定数量的重要功能. 首先, 他包含了在体内具有双重功能的增强子 II: 其激活下游位点的 S 及 X 基因启动子活性和上游位点的 CP 启动子活性. 其次, 在这个区域内的 BCP 调控前 -C mRNA 和前基因组 RNA 的转录. 而且, CP 的 3' 末端与编码 HBeAg 的前 C/C ORF 的 5' 末端相互重叠, DR1 也包括在此区域内. 再者, CP 区与编码 X 蛋白的 X ORF 序列重叠, 而 X 蛋白的 C 末端以证明具有反式激活作用. 因此一些在 CP 内的 DNA 基因序列突变可以影响病毒的复制、HBeAg 的生成以及 X 蛋白的氨基酸序. CP 区基因序列的保守性对于维持病毒的活跃复制是非常关键的, 而且他的变异与病毒在宿主体内持续表达导致乙型肝炎慢性感染、最终引起肝细胞癌的发生是密不可分的^[20].

4 参考文献

- 1 Yu SJ. A comparative study on proliferating activity between HBV related and HCV related small HCC. *China Natl J New Gastroenterol* 1997;3:236-237
- 2 Guo SP, Ma ZS, Wang WL. Construction of eukaryotic expression vector of HBV x gene. *World J Gastroenterol* 1999;5:351-352
- 3 Tang RX, Gao FG, Zeng LY, Wang YW, Wang YL. Detection of HBV DNA and its existence status in liver tissues and peripheral blood lymphocytes from chronic hepatitis B patients. *World J Gastroenterol* 1999;5:359-361
- 4 Qin LL, Su JJ, Li Y, Yang C, Ban KC, Yian RQ. Expression of IGF- II, p53, p21 and HBxAg in precancerous events of hepatocarcinogenesis induced by AFB1 and/or HBV in tree shrews. *World J Gastroenterol* 2000;6:138-139
- 5 Wang Y, Liu H, Zhou Q, Li X. Analysis of point mutation in site 1 896 of HBV precore and its detection in the tissues and serum of HCC patients. *World J Gastroenterol* 2000;6:395-397
- 6 骆抗先. 乙型肝炎基础和临床. 第 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2001:25-33
- 7 Lopez-Cabrera M, Letovsky J, Hu KQ, Siddiqui A. Transcriptional factor C/EBP binds to and transactivates the enhancer element II of the hepatitis B virus. *Virology* 1991;183:825-829
- 8 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
- 9 Johnson JL, Raney AK, McLachlan A. Characterization of a functional hepatocyte nuclear factor 3 binding site in the hepatitis B virus nucleocapsid promoter. *Virology* 1995;208:147-158
- 10 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
- 11 YU X, Mertz JE. Differential regulation of the pre-C and pregenomic promoter of human hepatitis B virus by members of the nuclear receptor superfamily. *J Virol* 1997;71:9366-9374
- 12 Scaglioni PP, Melegari M, Wands JR. Biologic properties of hepatitis B viral genomes with mutations in the precore promoter and precore open reading frame. *Virology* 1997; 233: 374-381
- 13 Kidd-Ljunggren K, Oberg M, Kidd AH. Hepatitis B virus X gene 1 751 to 1 764 mutations: implications for HBeAg status and disease. *J Virol* 1997;78:1469-1478
- 14 Buckwold VE, Xu Z, Chen M, Yen TS, Ou JH. Effects of a naturally occurring mutation in the hepatitis B virus basal core promoter on precore gene expression and viral replication. *J Virol* 1996;70:5845-5851
- 15 Gunther S, Piwon N, Will H. Wild-type levels of pregenomic RNA and replication but reduced pre-C RNA and e-antigen synthesis of hepatitis B virus with C(1 653)→T, A(1 762)→T and G(1 764)→A mutations in the core promoter. *J Gen Virol* 1998;79:375-380
- 16 Romero R, Lavine JE. Cytokine inhibition of the hepatitis B virus core promoter. *Hepatology* 1996;23:17-23
- 17 Baumert TF, Marrone A, Vergalla J, Liang TJ. Naturally occurring mutations define a novel function of the hepatitis B virus core promoter in core protein expression. *J Virol* 1998;72:6785-6795
- 18 Pult I, Chouard T, Wieland S, Klemenz R, Yaniv M, Blum HE. A hepatitis B virus mutant with a new hepatocyte nuclear factor 1 binding site emerging in transplant-transmitted fulminant hepatitis B. *Hepatology* 1997;25:1507-1509
- 19 Chan HL, Hussain M, Lok AS. Different hepatitis B virus genotypes are associated with different mutations in the core promoter and precore regions during hepatitis Be antigen seroconversion. *Hepatology* 1999;29:976-984
- 20 Kramvis A, Kew MC. The core promoter of hepatitis B virus. *J Viral Hepat* 1999;6:415-427

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

王建军, 成军, 刘妍, 张忠东, 杨倩, 杨艳杰, 中国人民解放军第 302 医院传染病研究所基因治疗中心、全军病毒性肝炎防治研究重点实验室 北京市 100039 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

王建军, 成军, 刘妍, 张忠东, 杨倩, 杨艳杰. 乙型肝炎病毒增强子的结构和调控研究. 世界华人消化杂志 2003;11(7):1008-1011

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1008.asp>

0 引言

HBV 属嗜肝 DNA 病毒, 其基因组为 3.2 kb 部分双链的环状 DNA. 他的复制需要一个 RNA 中间物 - 前基因组 RNA, 经过反转录产生新的 DNA 分子. HBV 基因组的功能单位十分密集, 高度压缩, 重复利用. 目前已确定有四个主要的开放阅读框架, 分别负责编码核心抗原(pre-C/C)、核酸聚合酶(P)、表面抗原(preS/S)和 X 蛋白(X). 这些基因的表达受到顺式元件 - 启动子和增强子的调控. 目前在 HBV 基因组已发现并鉴定的顺式元件有四个启动子(C、X、SP I、SP II)、两个增强子(Enh I 和 Enh II)和糖皮质激素应答元件^[1-4]. 其中增强子的作用主要是调控 HBV 的转录和复制.

1 HBV 增强子的结构

增强子是指能使他连锁的基因转录频率明显增加的 DNA



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

