

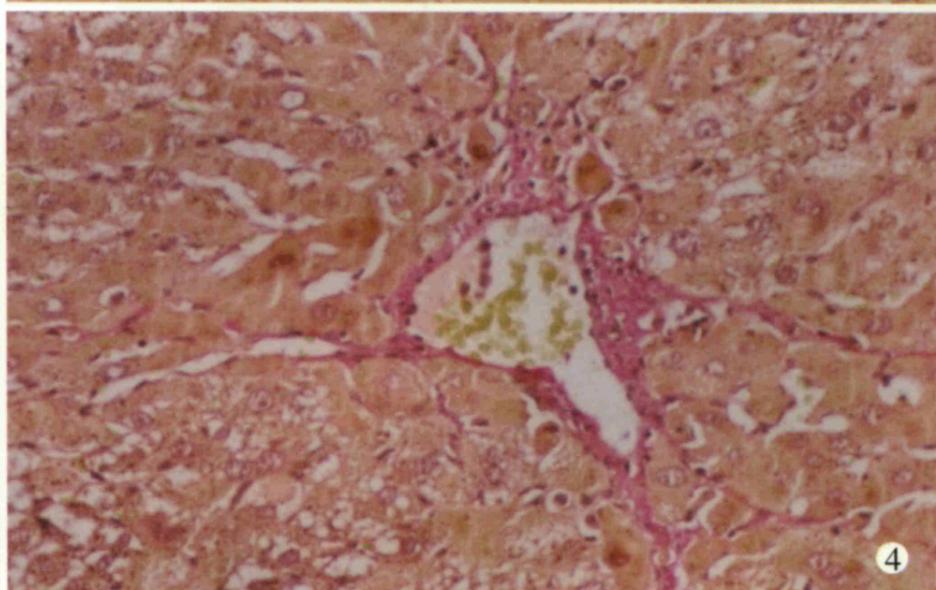
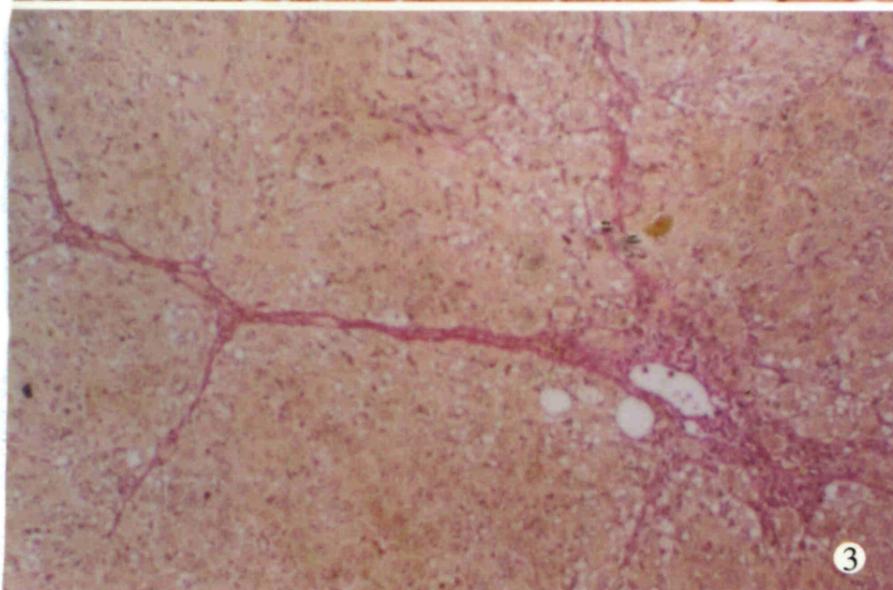
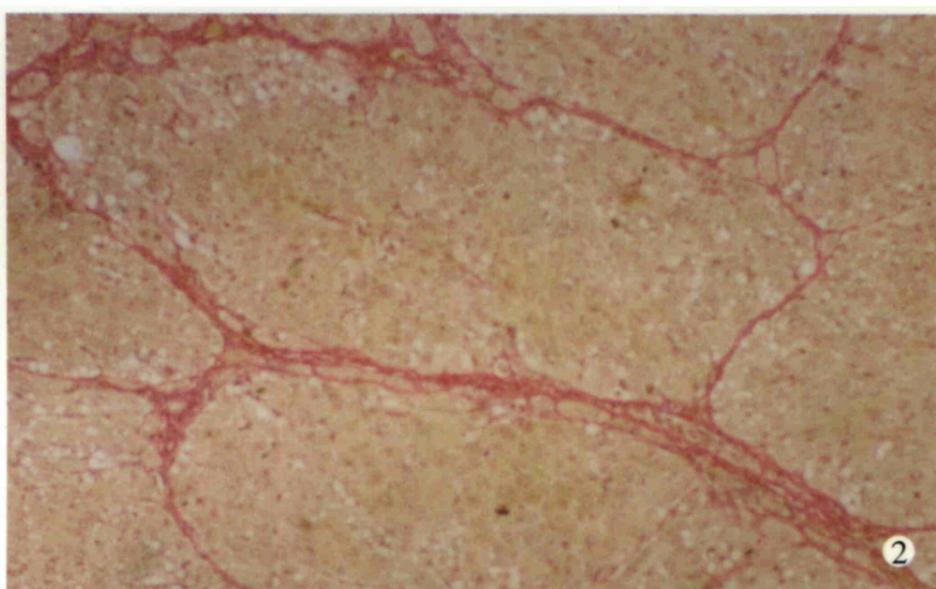
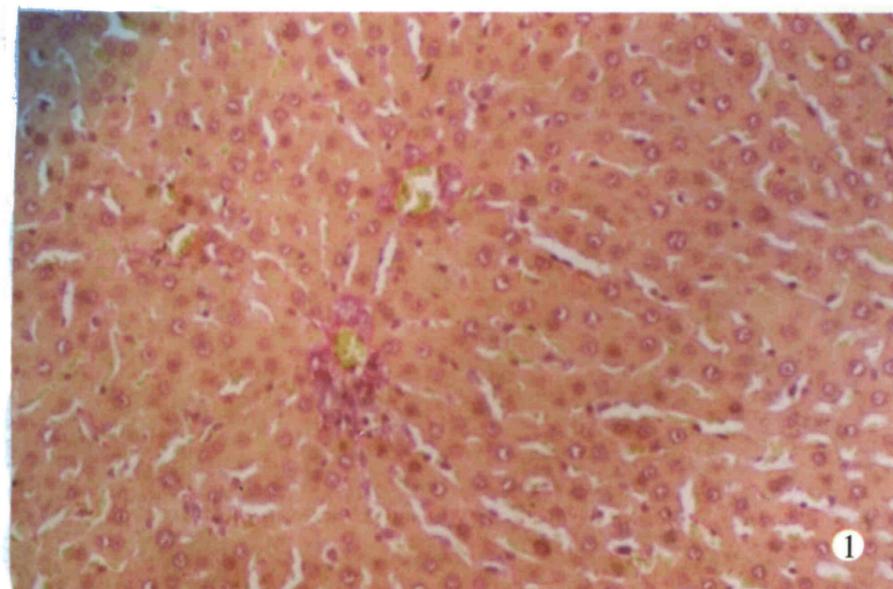
世界华人消化杂志®

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 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
 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

- YJ, Kato N, Omata M, Chang FY, Lee SD. HCV NS5A interacts with p53 and inhibits p53-mediated apoptosis. *Oncogene* 2002; 21:4801-4811
- 18 Polyak SJ, Khabar KS, Paschal DM, Ezelle HJ, Duverlie G, Barber GN, Levy DE, Mukaida N, Gretch DR. Hepatitis C virus nonstructural 5A protein induces interleukin-8, leading to partial inhibition of the interferon-induced antiviral response. *J Virol* 2001;75:6095-6106
- 19 Tan SL, Katze MG. How hepatitis C virus counteracts the interferon response: the jury is still out on NS5A. *Virology* 2001; 284:1-12
- 20 Sato C. Effects of hepatitis C virus proteins on the interferon-stimulated signal transduction. *Nippon Rinsho* 2001 ;59:1271-1276

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

杨倩, 成军, 刘妍, 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
张树林, 西安交通大学第一医院传染科 陕西省西安市 710061
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

杨倩, 成军, 刘妍, 王建军, 张树林. 丙型肝炎病毒5' - 非翻译区的结构与功能研究. 世界华人消化杂志 2003;11(7):1020-1022

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1020.asp>

0 引言

丙型肝炎病毒(HCV)是含外膜蛋白的单股正链RNA病毒, 属黄病毒科肝炎病毒类. 在大多数感染人群中丙型肝炎病毒表现为持续性感染, 并可导致慢性肝炎、肝硬化, 或肝细胞癌^[1,2]. 从不同患者中分离的病毒表现出明显的序列差异, 从同一患者分离的病毒呈现出准种的特点. 然而5' - 非翻译区(5' -NTR, 5' -nontranslated RNA)在HCV不同基因型却相对保守和稳定, 这种序列保守的特点可能在病毒基因组的复制和翻译中起着重要的作用^[3,4].

1 5' - 非翻译区的结构特点

HCV为单股正链RNA, 全长大约9 500核苷酸(nt), 含有一个大的开放读码框架(ORF, open reading frame), 位于ORF上游的是5' -NTR^[5]. 1991年, Han et al^[6]采用引物延长与PCR相结合的方法克隆了HCV 5' -NTR的完整序列, 得到的序列长341 nt, 这一结果亦得到了其他人的证实. 但是, 也有短的HCV 5' -NTR序列的报道, 为319或324 nt^[7,8]. 这些短的5' -NTR可能是HCV基因组在体内被切割或基因变异的结果.

HCV整个基因组与黄病毒属病毒极为相似, 但HCV

5' -NTR结构却类似痘病毒属病毒, 而与黄病毒属病毒明显不同^[9]. 与痘病毒属病毒一样, HCV 5' -NTR有3-5个小的ORF. 有关这些小的ORF是否被翻译和有何功能, 目前尚不清楚, Yoo et al^[10]认为这些小的ORF可能是HCV病毒蛋白前体翻译的一种负性调节结构. Rijnbrand et al^[11]研究发现5' -NTR中含有3-5个AUG三联子, 其中一些AUG在HCV基因组中较为保守, 这5个三联子分别位于13、32、85、96、215 nt. 利用核苷酸诱变方法研究AUG在HCV翻译中的作用, 结果表明13、32、215的AUG变异对蛋白的翻译无明显影响, 而85 nt或96 nt的变异会严重影响内部核糖体进入位点(IRES, internal ribosomal entry site)功能, 并且发现核糖体只能识别342 nt的AUG作为蛋白翻译的起始密码子.

Bukh et al^[12]在HCV 5' -NTR中发现了三个高度保守的结构域, 分别位于3-65、178-199、246-263 nt, 后两个区域与病毒的进化有关, 前一个区域毗邻启动多蛋白翻译的真实启动子AUG, Bukh et al认为, 这个结构域对于HCV RNA多蛋白体的翻译至关重要, 这一假设在以后的体内、外翻译实验中陆续得到了证实. 虽然5' -NTR序列保守稳定, 但也发现了一些位于该区的变异. 5' -NTR有限的序列变异基本位于155-170 nt和117-132 nt, 从而形成两个基元(motif). HCV 5' -NTR发生的核苷酸变异多为互补突变, 两个基元随机发生1-3 nt共突变的机率很小, 说明5' -NTR序列变异不是随机发生的^[13,14].

Brown et al^[15]采用计算机模拟折叠程序对5' -NTR保守区进行处理, 计算热力学自由能, 建立了HCV 5' -NTR的二级结构模型, 该结构模型被双链及单链的RNase敏感实验所证实, 即双链及单链RNase可以分别在HCV 5' -NTR的双链区及单链区切割HCV RNA. 根据HCV 5' -NTR二级结构的特征, 可分为4个RNA结构域^[16-18]: 结构域I呈发夹状, 位于5-20 nt, 目前认为结构域I的缺失可增强RNA的翻译, 表明其可能具有翻译调节作用; 结构域II是一个大的茎-环结构, 对于其功能仍存在争议, 但大数学者认为结构域II可增强RNA的翻译表达. 结构域III所含核苷酸最多, 结构也最复杂, 由一个长的不规则螺旋结构和多个分枝状茎-环结构组成, 结构域III是蛋白翻译的核心部位, 结构高度保守, 参与形成对蛋白翻译有重要作用的RNA假结; 结构域IV的5' -端是一段短的单链区, 3' -端的小茎环结构与真实启动密码子AUG相连, 部分学者认为结构域IV的稳定能够提高翻译效率.

2 5' - 非翻译区的功能

2.1 翻译启动功能 HCV RNA多蛋白前体的翻译启动方式与小RNA病毒相似, 是采用一种不同于一般病毒的独特方式: 核糖体着陆启动病毒多蛋白的翻译. 该领域最早的研究工作是由Tsukiyama-kohara et al^[19]开展的. 为探讨HCV RNA的翻译启动方式, 构建了含有两个表达基

因的双顺反子表达载体. 第一个顺反子由噬菌体 T7 启动子和报告基因氯霉素乙酰转移酶(CAT)组成, 第二个顺反子, 由 HCV cDNA 341-1431 nt 序列组成. 选择 T7 启动子上游酶切位点线性化载体, 在 RNA 多聚酶作用下体外转录为双顺反子 RNA. 然后采用无细胞翻译系统进行体外翻译. 结果发现, HCV C、E1 区特异性结构蛋白 p22 和 pg35 表达正常. 由于在以传统的核苷酸扫描方式启动翻译中, 结合于 mRNA 5' 端帽子上的核糖体不可能在第二个顺反子前如此长距离的滑动, 有理由认为 HCV C、E1 区蛋白的表达是核糖体越过双顺反子 RNA 的 5' - 端直接在其内部着陆, 即是以非帽依赖性方式启动翻译的. 将这种存在于病毒 5' -NTR 上能与核糖体结合的序列称作 IRES.

Pilipenko et al^[20]在微小病毒 IRES 的 5' -NTR 中发现存在一些重要的序列 - 基元(motif), 可以与 18 S rRNA 35' - 端附近的序列互补, HCV IRES 也发现同样的基元存在. 以后很多学者如 Wang et al^[21]陆续证实了以上的发现, 并对 IRES 结构及功能特点进行了深入研究. 因 HCV RNA 5' -NTR 序列较其他微小病毒短, 因此 HCV 的 IRES 可能具有更紧密的结构, 并且与其他微小病毒相比, IRES 占据较多的 5' -NTR. Tsukiyama-kohara et al 认为 IRES 的 5' - 端位于 111 至 257 nt. 然而, Wang et al^[22]和 Rijnbrand et al^[23,24]研究发现 IRES 的 5' - 端位于 29-69 nt. Reynolds et al^[25]的研究认为 IRES 活性所需的最短序列为 HCV RNA 基因组核苷酸序列 42-356 nt. Honda et al^[26]为了解 IRES 的结构特点, 构建一系列 5' -NTR 缺失变异的全长 HCV cDNA 克隆. 当 HCV RNA 发生核苷酸 28-69 nt 缺失变异时, 蛋白的翻译明显下降, 与 Wang 及 Rijnbrand 研究结果相一致. 同时资料显示在蛋白的翻译过程中该区的二级结构是必不可少的, 当茎环结构 IIa 区(28-69 nt)或 IIb 区(70-69 nt)碱基对结构发生改变而致二级结构改变时, IRES 的功能明显下降. Kalliampakou et al^[27]在研究中也发现核苷酸插入或缺失而致结构 II 区茎环结构改变特别是顶端结构发生改变时, IRES 的功能将受到严重的影响, 而在保守的 A-81、C-83、C-84、A-93、A-96 位发生单个核苷酸替换时, IRES 的活性仅受到轻度的影响. 最近的一些研究资料^[28]显示结构 II 区可诱导核糖体 40 S 亚单位发生构象改变, 同时目前的实验模型表明结构 II 区茎环结构的顶端在核糖体的 E 位点或其附近与核糖体发生作用而参与 RNA 的解码过程, 直至翻译机制建立. 根据 5' -NTR 二级结构的模型结构 III 区可进一步分为 6 个包含茎环结构的亚区(即: a-f). 结构 III 区是 IRES 的核心部位, 其结构高度保守, 并参与形成 RNA 假结, 在结构 III 区的功能研究中, Brown et al^[15]发现 249-275 nt 和 296-313 nt 发生变异而致结构 III 区双螺旋结构不稳定时, IRES 的活性下降. 155-171、172-227、229-238 nt 发生变异时, IRES 的翻译启动功能完全丧失; 而且结构 III 区的二级结构茎环结构 IIIa、IIIb、IIIc, 对 IRES 的功能都起着重要的作用. Jubin et al^[29]研

究发现位于 253-279 nt 的 III d 区是结构 III 区中高度保守的区域, 包含两个双链螺旋结构(即: 螺旋结构 1 区和 2 区), 该区体内诱变显示其茎环顶端的 GGG 三联子(266-268 nt)是 IRES 活性必须结构之一, 序列比较中发现茎环顶端的 6 位核苷酸(UUGGGU)在 HCV 基因组中绝对保守, 并且 GGG 三联子在黄病毒属和瘟病毒属的非翻译区中也高度保守. 同时作者也对 III d 区的二级结构特点进行研究, 茎环顶端的单个 G 突变为 C 时会影响 RNA 的折叠方式, 从而导致 IRES 功能的丧失, 其原因可能是由于 G-C 突变使 IRES 与核糖体 40S 亚基的亲合性降低, 作者认为 III d 区的序列及其二级结构均是 IRES 活性的重要因素. 结构 IV 区与起始密码子 AUG 相连, 在 RNA 的翻译中无明显作用. HCV RNA 5' - 端的茎环结构 I 区缺失却能导致 IRES 的翻译效率提高, 该区可能具有调节作用.

2.2 5' -NTR 的复制功能 5' -NTR 在翻译中的作用受到广泛的关注, 并进行了较为细致的研究. 但 5' -NTR 在 RNA 复制中的作用却知之较少, 主要是因为 HCV RNA 缺少有效的细胞复制系统. 2001 年, Friebe et al^[30]构建了 HCV RNA 复制子, 该复制子在人肝细胞系 Huh-7 可以高效表达, RNA 由以下几个元件组成: 5' -NTR-IRES 3' - 末端, 新霉素磷酸转移酶, 启动非结构蛋白翻译的脑心肌炎病毒(EMCV)的 IRES, NS3-5B, HCV 3' -NTR. 5' -NTR 的 IRES 上游区包括结构 I 区与结构 II 区之间的间隔区. IRES 上游区核苷酸序列 5-20 nt 和 24-40 nt 进行缺失变异, 将变异的双顺反子转染 Huh-7 细胞, 并进行 G418 筛选; 与亲代 RNA 复制相比, 变异 RNA 无克隆株生长, 同时将双顺反子中的新霉素磷酸转移酶替换为萤虫素酶, 变异 RNA 萤虫素酶表达活性在 4 h、24 h、48 h 和 72 h 与亲代相比都明显下降, 说明 5' - 非翻译区 5-40 nt 对 HCV RNA 的复制是必须的, 研究也发现复制水平会随着 5' -NTR 5' - 末端序列的延长而不断提高, 当 5' -NTR 为全长时, 嵌合体 RNA 复制水平最高. 这种 5' - 端翻译和复制信号重叠与其他正链 RNA 不同, 例如: 脊髓灰质炎病毒(PV, polioviral), 其 5' -NTR 由两部分组成: 5' - 末端序列 1-88 nt 三叶草样结构是 RNA 复制所必须, 而 IRES 位于 PV 基因组序列 134-556 nt.

HCV 5' -NTR 包含有复制和翻译的作用元件, 为进一步明确复制作用元件, Kim et al^[31]将 PV 的 IRES 插入到 HCV 5' -NTR 与新霉素磷酸转移酶开放读码框架之间, EMCV 的 IRES 与 HCV(NS3-NS5B)连接. 通过一系列 5' -NTR 的缺失变异突变, Yoon et al 发现含有结构 I 区和结构 II 区时 HCV 嵌合体能够在 Huh-7 细胞中复制, 当结构 I 区或结构 II 区发生缺失时, 嵌合体复制停止; 结构 III 区和假结结构与结构 I 区、结构 II 区连接后, 可明显提高复制水平. Yoon et al 认为结构 I 区和结构 II 区是 HCV RNA 复制所必须的结构, 并且 5' -NTR 的其他结构都在 RNA 的复制中发挥重要的作用. 结构 II 区是复制和

翻译都必须具有的结构,这可能是由于结构 II 区介导复制与翻译的转换。在 PV 的研究中发现,当 PV 进行翻译时,其 RNA 的复制即被阻止,这种翻译与复制之间的转换认为是由 RNA 结合蛋白 - 多聚结合蛋白 - 2 (PCBP2, poly(rC)-binding protein-2)所调控。多聚结合蛋白也能够与 HCV 5' -NTR 相结合,如 PCBP-2 能够与结构 I 区和结构 II 区结合,但其在 HCV 复制与翻译中的具体功能目前还不清楚。

5' -NTR 在翻译和复制中的功能受到越来越多的关注,对其深入的研究将为进一步了解 HCV 感染慢性化机制,以及药物开发提供新的方向和基础。

3 参考文献

- 1 成军. 慢性病毒性肝炎发病机制的分子生物学研究. 世界华人消化杂志 2002;10:125-128
- 2 刘妍,成军. 丙肝病毒致肝细胞癌的分子生物学机制. 国外医学·流行病学传染病学分册 2000;27:10-13
- 3 成军,陈菊梅. 丙型肝炎病毒 5' - 非翻译区及其结合蛋白的研究进展. 国外医学微生物学分册 2001;24:7-9
- 4 Bukh J, Purcell RH, Miller RH. Sequence analysis of the 5' noncoding region of hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:4942-4946
- 5 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, 1997:83
- 6 Han JH, Shyamala V, Richman KH, Brauer MJ, Irvine B, Urdea MS, Tekamp-Olson P, Kuo G, Choo QL, Houghton M. Characterization of the terminal regions of hepatitis C viral RNA: identification of conserved sequences in the 5' untranslated region and poly (A) tails at the 3' end. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:1711-1715
- 7 Chen PJ, Lin MH, Tai KF, Liu PC, Lin CJ, Chen DS. The Taiwanese hepatitis C virus genome: sequence determination and mapping the 5' termini of viral genomic and antigenomic RNA. *Virology* 1992;188:102-113
- 8 Choo QL, Richman KH, Han JH, Berger K, Lee C, Dong C, Gallegos C, Coit D, Medina-Selby R, Barr PJ. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:2451-2455
- 9 Borman AM, Bailly JL, Girard M, Kean KM. Picornavirus internal ribosome entry segments: comparison of translation efficiency and the requirements for optimal internal initiation of translation in vitro. *Nucleic Acids Res* 1995;23:3656-3663
- 10 Yoo BJ, Spaete RR, Geballe AP, Selby M, Houghton M, Han JH. 5' end-dependent translation initiation of hepatitis C viral RNA and the presence of putative positive and negative translational control elements within the 5' untranslated region. *Virology* 1992; 191:889-899
- 11 Rijnbrand RC, Abbink TE, Haasnoot PC, Spaan WJ, Bredenbeek PJ. The influence of AUG codons in the hepatitis C virus 5' nontranslated region on translation and mapping of the translation initiation window. *Virology* 1996;226:47-56
- 12 Bukh J, Purcell RH, Miller RH. Sequence analysis of the 5' noncoding region of hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:4942-4946
- 13 Kleter GE, van Doorn LJ, Brouwer JT, Schalm SW, Heijntink RA, Quint WG. Sequence analysis of the 5' untranslated region in isolates of at least four genotypes of hepatitis C virus in The Netherlands. *J Clin Microbiol* 1994;32:306-310
- 14 Psaridi L, Georgopoulou U, Varaklioti A, Mavromara P. Mutational analysis of a conserved tetraloop in the 5' untranslated region of hepatitis C virus identifies a novel RNA element essential for the internal ribosome entry site function. *FEBS Lett* 1999;453:49-53
- 15 Brown EA, Zhang H, Ping LH, Lemon SM. Secondary structure of the 5' nontranslated regions of hepatitis C virus and pestivirus genomic RNAs. *Nucleic Acids Res* 1992;20:5041-5045
- 16 Honda M, Brown EA, Lemon SM. Stability of a stem-loop involving the initiator AUG controls the efficiency of internal initiation of translation on hepatitis C virus RNA. *RNA* 1996; 2:955-968
- 17 Honda M, Beard MR, Ping LH, Lemon SM. A phylogenetically conserved stem-loop structure at the 5' border of the internal ribosome entry site of hepatitis C virus is required for cap-independent viral translation. *J Virol* 1999;73:1165-1174
- 18 Tang S, Collier AJ, Elliott RM. Alterations to both the primary and predicted secondary structure of stem-loop IIIc of the hepatitis C virus 5' untranslated region (5' UTR) lead to mutants severely defective in translation which cannot be complemented in trans by the wild-type 5' UTR sequence. *J Virol* 1999;73:2359-2364
- 19 Tsukiyama-Kohara K, Iizuka N, Kohara M, Nomoto A. Internal ribosome entry site within hepatitis C virus RNA. *J Virol* 1992;66:1476-17483
- 20 Pilipenko EV, Gmyl AP, Maslova SV, Svitkin YV, Sinyakov AN, Agol VI. Prokaryotic-like cis elements in the cap-independent internal initiation of translation on picornavirus RNA. *Cell* 1992;68:119-131
- 21 Wang CY, Dominguez G, Frey TK. Construction of rubella virus genome-length cDNA clones and synthesis of infectious RNA transcripts. *J Virol* 1994;68:3550-3557
- 22 Wang C, Sarnow P, Siddiqui A. Translation of human hepatitis C virus RNA in cultured cells is mediated by an internal ribosome-binding mechanism. *J Virol* 1993;67:3338-3344
- 23 Rijnbrand R, van der Straaten T, van Rijn PA, Spaan WJ, Bredenbeek PJ. Internal entry of ribosomes is directed by the 5' noncoding region of classical swine fever virus and is dependent on the presence of an RNA pseudoknot upstream of the initiation codon. *J Virol* 1997;71:451-457
- 24 Rijnbrand R, Bredenbeek P, van der Straaten T, Whetter L, Inchauspe G, Lemon S, Spaan W. Almost the entire 5' nontranslated region of hepatitis C virus is required for cap-independent translation. *FEBS Lett* 1995;365:115-119
- 25 Reynolds JE, Kaminski A, Carroll AR, Clarke BE, Rowlands DJ, Jackson RJ. Internal initiation of translation of hepatitis C virus RNA: the ribosome entry site is at the authentic initiation codon. *RNA* 1996;2:867-878
- 26 Honda M, Ping LH, Rijnbrand RC, Amphlett E, Clarke B, Rowlands D, Lemon SM. Structural requirements for initiation of translation by internal ribosome entry within genome-length hepatitis C virus RNA. *Virology* 1996;222:31-42
- 27 Kalliampakou KI, Psaridi-Linardaki L, Mavromara P. Mutational analysis of the apical region of domain II of the HCV IRES. *FEBS Lett* 2002;511:79-84
- 28 Lytle JR, Wu L, Robertson HD. The ribosome binding site of hepatitis C virus mRNA. *J Virol* 2001;75:7629-7636
- 29 Jubin R, Vantuno NE, Kieft JS, Murray MG, Doudna JA, Lau JY, Baroudy BM. Hepatitis C virus internal ribosome entry site (IRES) stem loop IIIId contains a phylogenetically conserved GGG triplet essential for translation and IRES folding. *J Virol* 2000;74:10430-10437
- 30 Friebe P, Lohmann V, Krieger N, Bartenschlager R. Sequences in the 5' nontranslated region of hepatitis C virus required for RNA replication. *J Virol* 2001;75:12047-12057
- 31 Kim YK, Kim CS, Lee SH, Jang SK. Domains I and II in the 5' nontranslated region of the HCV genome are required for RNA replication. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;290:105-112



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

