

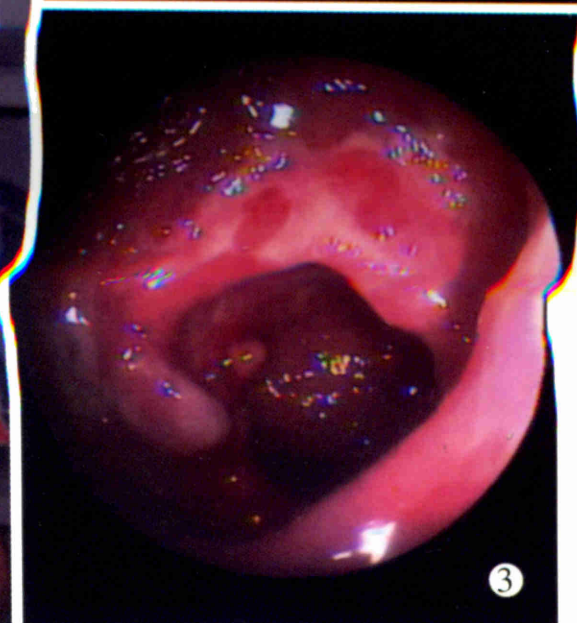
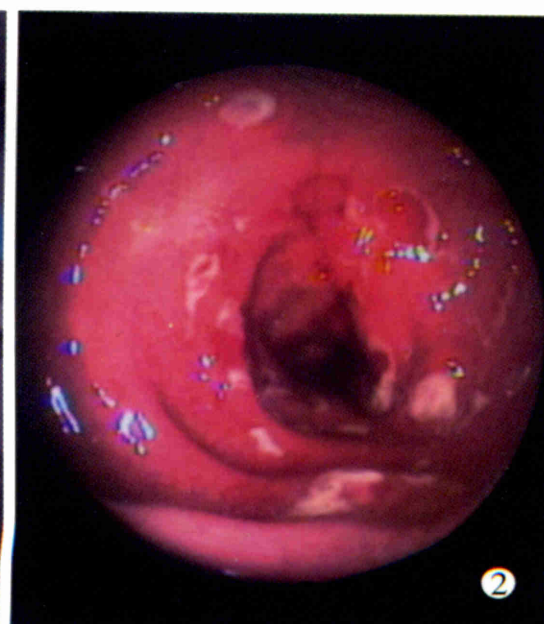
# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003年8月15日 第11卷 第8期

(Volume 11 Number 8)



**8/2003**

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 8 月 15 日 第 11 卷 第 8 期 (总第 112 期)

## 述 评

1073 乙型肝炎病毒基因组结构与功能复杂性的新认识 成军, 董菁

1081 重视溃疡性结肠炎的诊断和个体化规范化治疗 江学良

## 病毒性肝炎

1083 乙型肝炎病毒中国流行株全基因的克隆与序列分析 成军, 董菁, 洪源, 钟彦伟, 刘妍, 王刚, 王琳

1091 乙型肝炎病毒基因组中前-S 区编码基因的界定 董菁, 成军

1097 乙型肝炎病毒基因组中前-X 编码基因的界定 董菁, 成军

1102 羧基末端截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式激活基因 1 的克隆化研究 刘妍, 成军, 王琳, 王建军, 陆荫英, 李克

1107 乙型肝炎病毒 X 蛋白激活基因 1 的克隆化与序列分析 刘妍, 成军, 王琳, 王建军, 陆荫英, 李克

1114 乙型肝炎病毒前-S2 蛋白结合蛋白基因 S2-29 的克隆化研究 陆荫英, 陈天艳, 成军, 梁耀东, 王琳, 刘妍, 李克, 张健, 邵清, 张玲霞

1118 酵母双杂交技术筛选鉴定乙型肝炎病毒 e 抗原结合蛋白 E-19 的研究 陆荫英, 邵清, 成军, 陈天艳, 王琳, 梁耀东, 刘妍, 张健, 李克, 张玲霞

1122 酵母双杂交技术筛选鉴定乙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白新基因 C-12 的研究 陆荫英, 陈天艳, 成军, 邵清, 梁耀东, 王琳, 刘妍, 张健, 李克, 张玲霞

1126 乙型肝炎病毒 X 蛋白与去唾液酸糖蛋白受体 2 突变体相互作用的研究 陆荫英, 陈天艳, 成军, 梁耀东, 王琳, 刘妍, 张健, 邵清, 李克, 张玲霞

1131 羧肽酶 N 调节乙型肝炎病毒核心启动子表达活性的研究 张忠东, 成军, 钟彦伟, 杨倩, 王业东, 董菁, 杨艳杰, 张树林

1135 丙型肝炎病毒 NS5A 基因变异与干扰素疗效的关系 张琳, 赵桂珍, 石理兰, 曹丽

1139 汉族人 IL-12b 和 IL-10 启动子区基因多态性与 HBV 感染的相关性 李永纲, 刘明旭, 王福生, 金磊, 洪卫国

## 基础研究

1144 肝外胆管癌组织 BAG-1 与 BAD 表达与凋亡调控的原位定量研究 闫庆国, 师建国, 黄高昇, 张传山, 李青, 胡沛臻, 王文亮

1148 牛磺酸脱氧胆酸损伤线粒体诱导 HepG2 细胞凋亡 李光明, 谢青, 周霞秋, 俞红, 郭清, 廖丹, 李定国

1152 肝硬化大鼠肝部分切除后肝细胞生长周期的调控 陈平, 李昆, 董家鸿, 韩本立

1156 苦参碱对大鼠原位肝移植冷缺血再灌注中肝窦内皮细胞损伤的影响 仇毓东, 朱新华, 史敏科, 丁义涛

1160 犬肝动脉输注阿霉素联合血液灌流的研究 张志友, 张文怡, 钱绍诚

1164 中国人金属基质蛋白酶组织抑制因子-1 基因的克隆与表达 刘双虎, 谭德明, 侯珏, 胡国龄

1168 卡托普利对肝纤维化模型鼠 MMP-2, 3 TIMP-2, 3 表达的影响 李乾, 张桂英, 李新华, 徐美华

1172 垂体后叶素和特利加压素降低门胆汁性肝硬化大鼠门静脉高压对肝组织氧分压的影响 祝建波, 邓利群, 王思元

1175 电泳法检测肝和血清中醇脱氢酶同工酶 宓庆梅, 曹鲁宁, 高春芳

1178 肝细胞生成素核受体的确定及特性 王阁, 陈东风, 胡铭, 王军, 樊丽琳, 张晓荣

1182 PD98059 对乙醛刺激的大鼠肝星状细胞增生的影响 马洪德, 蒋明德, 钟显飞, 解方为, 曾维政

1185 雌二醇对肝纤维化大鼠 I, III 型胶原及 TGF  $\beta_1$  表达的影响 许君望, 龚均, 冯新利, 茆新明, 罗金燕, 董蕾, 贾皓, 徐贵平

1189 大鼠急性酒精性脂肪肝造模方法的改进 冯志强, 沈志祥, 谭诗云, 罗和生, 漆楚波, 郭洁, 李海霞

1193 丁酸钠联合穿琥宁对人大肠癌细胞 HCT-8 增生的影响 布立民, 纪欣, 韩英, 陈刚, 王志红, 孙淑红

1197 大肠癌组织胸苷磷酸化酶 / 血小板衍生内皮细胞生长因子的表达及意义 余细球, 邓长生, 朱尤庆, 程芳洲

1200 多粘菌素 B 及其模拟肽体外抗内毒素的实验研究 万志红, 王宇明, 刘国栋

1203 肥大细胞在胃嗜酸性肉芽肿发病中的作用 高振军, 罗和生, 操寄望, 余保平, 宋刘来



临床研究	1207 鱼腥草治疗初发型溃疡性结肠炎的临床研究 江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐凤 1211 奥沙拉秦钠治疗慢性反复发作型溃疡性结肠炎随机对照研究 江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐凤 1214 抗栓灵含片治疗伴有血小板活化的难治性溃疡性结肠炎 江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐凤 1219 胃癌前病变演变过程中凋亡相关蛋白和PCNA的表达意义 伍银桥, 王孟薇, 吴本俨, 尤纬缔, 祝庆孚 1223 汉防己甲素抑制肝癌细胞增生的作用 荆绪斌, 李涛, 杨绮华, 郭光华, 胡辉, 陈素钻 1227 美蓝染色放大电子结肠镜观察结肠息肉与组织病理学的关系 苏鲁, 潘洪珍, 翁敬飏, 徐艺华, 陈芳, 洪梅燕 1230 肝硬化患者血浆胃动素、胆囊收缩素、生长抑素及其胃电的改变 张蓉, 闻勤生, 黄裕新, 赵海峰, 田力 1234 肠易激综合征 402 例发病时间分布及症状特征 许小幸, 李定国, 宋光辉, 周惠清, 刘清华
焦点论坛	1237 乙型肝炎病毒基因组结构与功能复杂性的研究进展 成军 1238 准种是乙型肝炎病毒存在的基本方式 成军, 董菁, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚 1240 乙型肝炎病毒 X 基因启动子结构及调节研究 邵清, 成军, 白雪帆 1242 乙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白的研究 梁耀东, 成军, 陆荫英, 吴君, 程明亮 1245 羧基末端截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式激活作用的研究 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩 1248 乙型肝炎病毒 X 蛋白反式激活作用的研究 杨倩, 刘妍, 成军, 王建军, 洪源, 张树林 1250 乙型和丙型肝炎病毒蛋白对于细胞周期素 A 的调节研究 成军, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚 1255 乙型和丙型肝炎病毒对细胞周期素及细胞周期素依赖性蛋白激酶的调节 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩 1258 乙型和丙型肝炎病毒对 MAPKK 信号转导的影响 张忠东, 成军, 钟彦伟, 张树林 1261 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 1264 RNA 干扰与抗肝炎病毒治疗前景的研究 成军, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚
临床经验	1222 一氧化碳中毒伴筋膜间隙综合征的综合治疗 邹淑杭, 马丽萍, 金镇勋, 贺红, 王一玲, 李冰 1267 胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤 21 例 樊丽琳, 陈东风
病例报告	1143 成人不典型郎格罕组织细胞增生症 1 例 王巍峰, 黄启阳, 王志强, 杨云生 1147 慢性酒精性肝损伤致 Gilbert 综合征样改变 1 例 张文瑾, 王晓峰, 赵景民 1192 小肠血管结构不良 2 例 冯瑞娥, 赵大春, 陈杰
消 息	1080 欢迎订阅 2003 年度世界华人消化杂志 1090 欢迎订阅 2003 年度 World Journal of Gastroenterology® 1130 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊 1155 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 1226 WJG 搭建我国消化学基础和临床研究惟一国际交流的平台
封面故事	1138 溃疡性结肠炎的基础和临床研究

# 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 2003-08-15  
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

社长总编辑 马连生  
中文编辑 潘伯荣  
王瑾晖  
英文编辑 朱丽虹  
排版 李少华  
校对 李天华

张金哲  
张学庸  
赵东海  
周殿元

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(PJ)》  
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,  
请与本刊编辑部调换.

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 14010040

50

www.wjgnet.com



- 10 董菁, 施双双, 皇甫竞坤, 成军, 王勤环, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒 X 基因准种特点的研究. 中国病毒学 2002;17:22-26
- 11 董菁, 李进, 施双双, 皇甫竞坤, 成军, 王勤环, 洪源, 王业东, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒基因组准种与变异特点的研究. 解放军医学杂志 2002;27:116-118
- 12 董菁, 成军, 皇甫竞坤, 洪源, 王刚, 陈国凤, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 乙型肝炎病毒序列个体化变异的初步观察. 解放军医学杂志 2002;27:119-121
- 13 刘妍, 董菁, 皇甫竞坤, 成军, 王刚, 王琳, 李莉. 乙型肝炎病毒 X 基因异质性及对其反式激活功能的影响. 解放军医学杂志 2002;27:125-127
- 14 刘妍, 董菁, 皇甫竞坤, 成军, 韩萍, 牟劲松, 李克, 钟彦伟. 乙型肝炎病毒核心启动子区基因异质性及对其转录活性的影响. 解放军医学杂志 2002;27:128-130
- 15 董菁, 施双双, 皇甫竞坤, 成军, 王勤环, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒前 C/C 基因准种与变异特点的研究. 中华微生物学与免疫学杂志 2002;22:27
- 16 董菁, 成军, 王勤环, 刘友昭, 王刚, 施双双, 夏小兵, 邵清, 斯崇文. 慢性乙型肝炎患者体内乙型肝炎病毒准种特点的初步研究. 临床肝胆病杂志 2002;18:17-19
- 17 皇甫竞坤, 董菁, 邓红, 成军, 施双双, 洪源, 任喜民, 李莉. 乙型肝炎病毒前 S2 基因序列异质性的研究. 中华内科杂志 2002;41:233-236
- 18 董菁, 施双双, 张国庆, 皇甫竞坤, 洪源, 成军, 王勤环, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒 C 基因启动子区异质性检测的初步研究. 临床检验杂志 2002;20:72-74
- 19 董菁, 施双双, 张国庆, 皇甫竞坤, 成军, 王勤环, 李莉. 乙型肝炎病毒表面抗原 / 抗体同时阳性患者体内 S 基因序列的分析研究. 中国公共卫生 2002;18:535-537
- 20 董菁, 刘妍, 皇甫竞坤, 施双双, 王刚, 洪源, 陈国凤, 李莉, 陈菊梅, 成军. 乙型肝炎病毒表面抗原基因多态性的初步研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2002;11:130-135
- 21 董菁, 成军, 王勤环, 王刚, 施双双, 夏小兵, 斯崇文. 外周血中乙型肝炎病毒截短型囊膜中蛋白基因的克隆化与分析. 中华肝脏病杂志 2001;9:163-165
- 22 刘妍, 成军, 董菁, 夏小兵, 李克, 杨继珍. 截短型乙肝病毒表面抗原中蛋白反式激活作用的初步研究. 肝脏 2001;6:8-10
- 23 董菁, 成军, 王勤环, 皇甫竞坤, 施双双, 张国庆, 洪源, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒 DNA 序列异质性及准种特点的研究. 中华医学杂志 2002;82:81-85
- 24 刘妍, 董菁, 成军, 夏小兵, 李克, 王琳, 施双双, 段惠娟, 杨继珍. 乙肝病毒 X 基因在真核细胞中的表达及反式激活 SV40 病毒早期启动子的研究. 解放军医学杂志 2001;26:404-406
- 25 Dong J, Cheng J, Wang Q, Liu Y, Wang G, Shi S, Xia X, Shao Q, Si C. The preliminary study on hepatitis B virus (HBV) quasispecies in patients with chronic HBV infection. *Chin J Infect Dis* 2001;19:9-12
- 26 董菁, 成军, 王勤环, 施双双, 洪源, 皇甫竞坤, 王刚, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒逆转录酶基因序列准种与变异特点的研究. 病毒学报 2001;17:270-272
- 27 董菁, 成军, 王勤环, 施双双, 洪源, 皇甫竞坤, 王刚, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒逆转录酶区基因序列准种与变异研究. 解放军医学杂志 2001;26:823-825
- 28 刘妍, 成军, 邵得志, 王琳, 钟彦伟, 夏小兵. 丙型肝炎病毒核心蛋白反式激活 SV40 病毒早期启动子 / 增强子的研究. 军医进修学院学报 2001;22:186-188
- 29 刘妍, 成军, 王刚, 李克, 段惠娟, 王琳, 董菁, 洪源, 张跃新, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 应用抑制性消减杂交技术克隆丙型肝炎病毒核心蛋白反式激活基因. 解放军医学杂志 2001;26:882-885
- 30 皇甫竞坤, 董菁, 邓红, 成军, 施双双, 洪源, 任喜民, 李莉. 乙型肝炎病毒核心基因启动子序列突变及准种. 世界华人消化杂志 2001;9:1323-1325
- 31 董菁, 成军, 王勤环, 施双双, 皇甫竞坤, 王刚, 洪源, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒前 C/C 基因准种与变异特点的研究. 解放军医学杂志 2002;27:122-123
- 32 成军. 乙型肝炎病毒准种研究的意义. 中华传染病杂志 2001;19:5-6
- 33 刘妍, 成军. HBV 截短的表面抗原蛋白 MHBs' 的反式激活作用. 国外医学病毒学分册 2000;7:190-193

## 乙型肝炎病毒 X 基因启动子结构及调节研究

邵清, 成军, 白雪帆

邵清, 成军, 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  
白雪帆, 中国人民解放军第四军医大学唐都医院感染科 陕西省西安市 710038  
国家自然科学基金项目, No. C03011402, No. C30070689  
军队“九、五”科技攻关项目, No.98D063  
军队回国留学人员启动基金项目, No.98H038  
军队“十、五”科技攻关青年基金项目, No.01Q138  
军队“十、五”科技攻关面上项目, No.01MB135  
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](mailto:cj@genetherapy.com.cn)  
电话: 010-66933391 传真: 010-63801283  
收稿日期: 2003-03-08 接受日期: 2003-04-16

邵清, 成军, 白雪帆. 乙型肝炎病毒 X 基因启动子结构及调节研究. 世界华人消化杂志 2003;11(8):1240-1242

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1240.asp>

### 0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)持续感染导致全球性健康问题, 目前全世界有 3.5 亿人感染 HBV, 约占全部人口的 6%。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细胞癌(HCC), 至今仍缺乏有效控制<sup>[1-4]</sup>。造成这一局面的原因多种多样, 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促进作用。既往研究关于 HBxAg 蛋白和 X 基因较多, 对于 X 启动子的研究较少, 本文仅就乙型肝炎病毒 X 基因启动子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。病毒基因组是部分双链 DNA 结构。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 个 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、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确而称 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(regulatory element)。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, 包括 4 种启动子、2 种增强子、包装信号、 $\epsilon$  糖皮质激素

素应答元件等<sup>[5]</sup>. 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、S I、S II 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), 所有其他启动子均缺乏 TATA 盒.

## 2 X 基因启动子结构及调节

X-ORF 在 1 374-1 837 nt 之间. adr 亚型有 27 bp 的缩短, 其基因产物反式激活增强子和启动子的转录功能<sup>[6]</sup>. X 基因启动子(Xp)在 1 235-1 374 nt 区段, 调节转录 0.8 的 mRNA, 无 TATA 盒, 有不同的 5' - 端. Xp 的组织特异性不如 Cp 和 Sp 的严格, 可在肝细胞以外的组织中起转录调节作用. X 启动子调节编码 HBxAg 的 0.9 kb mRNA 转录<sup>[6]</sup>. 这个可调节的转录位于转录开始位点前 140 nt. 并且这个最小的启动子与 3' - 末端的增强子 I 成分相重叠, 由 20 nt 组成<sup>[7, 8]</sup>. 这个最小的启动子象大多数 HBV 启动子一样与增强子 I 的转录是分开的, 他缺乏通常的 TATA- 盒或 GC 丰富的序列结构<sup>[9]</sup>. 但是, X 启动子包含了广泛结合的位点和肝特异性转录因子, 如调节作用蛋白 X 启动子结合蛋白(X-PBP)<sup>[10]</sup> 结合位点. HBxAg 表达具有调节作用的转录包含顺式相互作用位点, 能与转录因子 NF1、C/EBP、ATF 和 AP1/Jun-Fos 结合. 而且肿瘤抑制基因产物 p53 可与之结合并抑制启动子功能<sup>[11]</sup>.

Zhang et al<sup>[7]</sup>用瞬时转染分析的方法在不同的细胞系 Huh7、Hep3B、PLC/PRF/5、HepG2, 从去甲基化的肝细胞瘤细胞系 HepG2.1 和 HeLa S3 中测定了增强子 I 对 X 启动子的作用, 在不同的肝细胞瘤系和 HeLa S3 细胞系, 组合在 HBV 1 071 nt(-239)和 1 238 nt (-72)的增强子 I 可提高组合在 1 239 nt (-71)和 1 376 nt (+67)的 X 启动子超过 30 倍, 在去甲基化肝细胞瘤细胞系 HepG2.1 中大约为 10 倍, 在不同的肝细胞瘤细胞系中组合于 1 117 nt (-193)和 1 204 (-106)增强子 I 亚种对于增强子 I 的功能是很重要的, 同时在所实验细胞系中组合于 1 222 nt (-88)和 1 238 nt (-72)的增强子 I 亚种需要增强子活性. 在所有的细胞系中最小的 X 启动子成分组合于 1 222 nt (-88)和 1 238 nt (-72)之间的 138 nt. 从 X 启动子开始的转录水平是细胞类型特殊机制.

Treinin et al<sup>[8]</sup>将一系列的 X 基因上游质粒连接 CAT 基因, 转染细胞中标记的 CAT 基因表达实验证明 X 基因前序列中包含 1 个活动的启动子. 用引物延伸描绘 RNA 证明编码 RNA 是由 X 基因启动子起始的, 在乙肝病毒基因组 1 250-1 350 nt 的多个位点. HBV 增强子成分区域的缺失使 X 基因启动子活性下降, 提示 X 基因启动子需要增强子成分以达到最大活性.

Takada et al<sup>[10]</sup>测定了一个 HBV X 基因 20 bp 的启动子序列, 并发现 1 个他的结合蛋白, 然后用瞬时表达技术测定从这 20 bp 启动成分开始的 X 基因转录受

HBxAg 蛋白和 p53 肿瘤抑制基因产物的影响程度. X 蛋白表达可促进 X 基因启动子的活性, 正常 p53 转染可抑制其活性. 另一方面, p53 基因突变体产物无抑制作用, 甚至 p53 对 X 基因转录的抑制作用由于 X 蛋白的共同表达而消失. 没有结合 X-PBP 的启动子仍对 X 蛋白和 p53 有应答, 提示 X 蛋白反式激活和 p53 抑制作用不依赖于 X-PBP 与启动子成分的结合. 实验数据提示在 X 基因转染的细胞中, X 蛋白可使正常 p53 蛋白结构破裂.

Nakamura et al<sup>[11]</sup>用迁移率移动和胰脱氧核糖核酸酶印迹实验的方法鉴定出一种蛋白, 用氯霉素乙酰化酶(CAT)测定实验证实这个具有启动子活性的 16 bp (1 102-1 117 nt) 的结合位点在 X 基因中. 包含此结合位点的 58 bp (1 085-1 142 nt) DNA 片段可被 HBV 增强子增强. 用此 58 bp 的 DNA 片段作迁移率移动实验探针, 实验显示 1 105-1 112 nt 之间的回文结构被破坏后, 其丧失结合活性, 启动子活性也显著下降. 结合位点与已知的转录因子靶序列均不同. 因此认定此因子为 HBV X 基因启动子结合蛋白. 经同源性搜索, 此结合位点与人层粘连蛋白受体启动子成分和脂蛋白受体相关蛋白(LRP)基因有高度的同源性.

Yaginuma et al<sup>[12]</sup>用人肝细胞瘤细胞系(HuH-7)发现一种序列特殊的细胞因子, 与 X 开放读框上游第 1 个 ATG(1 248 nt)的启动子区域结合. 胰脱氧核糖核酸酶 I 印迹分析实验显示结合序列位于 1 097-1 119 nt, 内有一个 8 bp 的回文结构. X 基因转录子 S1 核酸酶分析证实结合位点靠近 X mRNA 的两个主要起始位点 1 117 nt 和 1 125 nt. 并进一步证明, 在结合位点导入一个突变可在 8 bp 回文结构以外引起 X mRNA 转录起始端结合功能丧失的伴随变化. 当 X mRNA 翻译成 X 蛋白的时候这个启动子结合蛋白似乎支配 X 启动子.

Guo et al<sup>[13]</sup>报告 HBV 增强子 I 增强子元件与 X 基因启动子重叠, 经甲基化干扰实验发现 4 个集簇在 1 个 120 bp 区域的蛋白因子结合位点, 用来控制 X 启动子活性和增强子 I 能力. 缺失定位实验显示 2 个上游的蛋白因子结合位点构成一个基础增强模块, 此模块可被一个肝特异性因子和一个非特异性因子控制. 可被单纯疱疹病毒胸腺嘧啶激酶基因启动子激活 5-10 倍, 定向依赖于一个肝来源细胞系(Huh7), 在其他试验的细胞类型没有发现. 2 个下游蛋白因子结合位点与上游基础增强模块相互作用, 通过定向和距离依赖机制可另增大增强子活性 10 倍. 除此之外, 2 个下游蛋白因子结合位点中至少有一个是 X 启动子活性所必需的.

Gustin et al<sup>[14]</sup>用接头分区诱变实验和删除分析实验联合确定 HBV 增强子 I -X 启动子(1 042-1 354 nt, HBV adw2)表达单一蛋白结合位点的机制. 在 HuH7 细胞 EF-C 位点接头分区诱变实验中 X 启动子活性下降 67.5%, 但在 HepG2 和 HepSK 中没有作用. 在 HuH7、HepG2 和 HepSK 细胞中 E 成分突变导致 X 启动子大约下降 50 %.

删除分析实验显示 EF-C 位点(mp1163)需要 X 启动子全部活性, 涉及 NF-1a 位点时需足够的 X 启动子基础活性. NF-1a 位点的 PCR 定向接头分区诱变实验中并没有使启动子活性下降, 提示此位点并不是启动子必需成分. 增强子 I 复杂甚至部分重复的蛋白质 DNA 相互作用对于全部 X 启动子活性是必需的. 必需的基础启动子成分的缺乏提示 2 个分离的 HBV 增强子成分是由基因整合作用生成一个原始的增强子成分.

Xu et al<sup>[15]</sup>将 HBV 质粒同 p73  $\alpha$  和 p73  $\beta$  表达载体共转染进 HepG2 细胞, 表面抗原和 e 抗原用 ELISA 检测, 病毒转录合成用 Northern blotting 评价. HBV 调控元件增强子 I /X 启动子活性用萤虫素酶测定来评价. 结果显示 p73  $\alpha$  和 p73  $\beta$  通过下调增强子 I /X 启动子活性来抑制表面抗原和 e 抗原表达, 但 p73  $\beta$  比 p73  $\alpha$  作用更强. p73  $\alpha$  和 p73  $\beta$  均为 p53 家族成员.

Choi et al<sup>[16]</sup>将激活转录因子 2 (ATF2) 表达载体与连接了 CAT 的 X 启动子质粒共转染进 HepG2 细胞, 结果抑制了 X 启动子活性. 通过 HBV E 成分, 活化的激活蛋白 1 (AP1) 介导 HBx 转录高达 35 倍, 当 ATF2 存在时其激活活性被抑制, 提示 X 启动子自活化的作用被 ATF2 所抑制. AP1 介导的基础转录和 HBx 造成 X 启动子自活化. 在 HBV E 成分中由于 AP1 和 ATF2 结合位点是重叠的, ATF2 对 X 启动子活性的抑制作用与 AP1 结合位点是竞争的, 并且形成 ATF2-Jun 异二聚体与 AP1 成分是一致的. X 小启动子有 1 个 ATF2 结合位点, 并可被 ATF2 激活. ATF2 对 X 蛋白有综合调节作用.

Choi et al<sup>[17]</sup>用 5' 串行缺失分析的方法对 X 小启动子进行研究, X 小启动子位于 X-ORF 中间的 5' - 端, 实验发现了 1 个 X 小启动子的阳性调节序列, 2 个细胞的蛋白 p110 和 p33 分别约束此调节序列的 3' 端 - 和 5' - 端. p33 和 p110 分别的结合位点缺失突变分别导致阳性成分活性的下降和升高, 因此对 p33 的功能而言, p33 具有反式激活作用, p110 具有抑制作用. P110 体外磷酸化减少了他的靶 DNA 结合能力可进一步证明这一点.

### 3 参考文献

- Guo SP, Ma ZS, Wang WL. Construction of eukaryotic expression vector of HBV x gene. *World J Gastroenterol* 1999;5: 351-352
- 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
- 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
- Wang Y, Liu H, Zhou Q, Li X. Analysis of point mutation in site 1896 of HBV precore and its detection in the tissues and serum of HCC patients. *World J Gastroenterol* 2000;6:395-397
- 骆抗先, 朱幼芙. 乙型肝炎基础和临床. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001:25-33
- Zheng YW, Riegler J, Wu J, Yen TS. Novel short transcripts of hepatitis B virus X gene derived from intragenic promoter. *J*

- Biol Chem* 1994;269:22593-22598
- Zhang P, Raney AK, McLachlan A. Characterization of the hepatitis B virus X-and nucleocapsid gene transcriptional regulatory elements. *Virology* 1992;191:31-41
- Treinin M, Laub O. Identification of a promoter element located upstream from the hepatitis B virus X gene. *Mol Cell Biol* 1987;7:545-548
- 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
- Takada S, Kaneniwa N, Tsuchida N, Koike K. Hepatitis B virus X gene expression is activated by X protein but repressed by p53 tumor suppressor gene product in the transient expression system. *Virology* 1996;216:80-89
- Nakamura I, Koike K. Identification of a binding protein to the X gene promoter region of hepatitis B virus. *Virology* 1992; 191:533-540
- Yaginuma K, Nakamura I, Takada S, Koike K. A transcription initiation site for the hepatitis B virus X gene is directed by the promoter-binding protein. *J Virol* 1993;67:2559-2565
- Guo WT, Bell KD, Ou JH. Characterization of the hepatitis B virus EnhI enhancer and X promoter complex. *J Virol* 1991; 65:6686-6692
- Gustin K, Shapiro M, Lee W, Burk RD. Characterization of the role of individual protein binding motifs within the hepatitis B virus enhancer I on X promoter activity using linker scanning mutagenesis. *Virology* 1993;193:653-660
- Xu ZH, Zhao MJ, Li TP. p73beta inhibits transcriptional activities of enhancer I and X promoter in hepatitis B virus more efficiently than p73alpha. *World J Gastroenterol* 2002;8:1094-1097
- Choi CY, Choi BH, Park GT, Rho HM. Activating transcription factor 2 (ATF2) down-regulates hepatitis B virus X promoter activity by the competition for the activating protein 1 binding site and the formation of the ATF2-Jun heterodimer. *J Biol Chem* 1997;272:16934-16939
- Choi CY, Park GT, Rho HM. A positive regulatory sequence of hepatitis B viral small X promoter. *Eur J Biochem* 1996;239: 579-587

## 乙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白的研究

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@genetherapy.com.cn  
电话: 010-66933392 传真: 010-63801283  
收稿日期: 2003-03-08 接受日期: 2003-04-16

梁耀东, 成军, 陆荫英, 吴君, 程明亮. 乙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白的研究. 世界华人消化杂志 2003;11(8):1242-1245

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1242.asp>

### 0 引言

基因组研究自从开展以来, 已经取得了举世瞩目的成就. 随着基因组测序工作的完成, 接下来就是研究基因的功能. 因为基因是通过蛋白质之间的相互作用而发挥功能的, 蛋白质之间的相互作用是很多生命现象的基础, 故基因表达的蛋白质的功能研究尤为重要. 乙型肝炎



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

