

世界华人消化杂志®

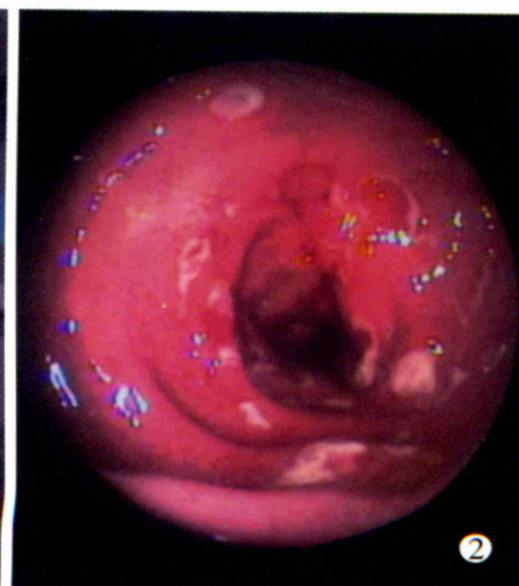
WORLD CHINESE

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, 胡轲, 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 β_1 表达的影响 许君望, 龚均, 冯新利, 苒新明, 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, 金镇勳, 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

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 朱丽虹
 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(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 每份 24.00 元 全年 288.00 元

广告经营 14010040
 50

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

成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩, 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 国家自然科学基金攻关项目, 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
电话: 010-66933391 传真: 010-63801283
收稿日期: 2003-03-08 接受日期: 2003-04-16

成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩. 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. 世界华人消化杂志 2003;11(8):1255-1258
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1255.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)感染与肝细胞癌(HCC)发生发展之间的密切关系, 早已被大量的临床医学和临床流行病学资料所证实^[1]. 随着细胞周期(cell cycle)调节的分子生物学机制研究不断深入, 特别是关于细胞周期素(cyclin)、细胞周期素依赖性激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)的发现, 使得细胞周期这一经典的概念又有了新的内容, 大大促进了肿瘤形成的分子生物学研究的进展^[2]. 多年来积累了丰富的资料表明, HCC与细胞周期调节紊乱有关, HBV、HCV感染可以引起细胞周期调节的紊乱, 这种异常调节, 可以是肝炎病毒蛋白对于细胞周期素、CDK分子的直接调节, 同时也可以通过对CDK激酶活性具有广泛抑制作用的p21蛋白的异常调节^[3-5].

1 肝细胞癌与细胞周期调节异常

哺乳动物细胞的细胞周期受到CDK和CDK抑制因子的共同调节, 这些蛋白表达水平异常或他们之间相互作用的异常, 都将导致肿瘤的发生. Kohzato et al^[6]研究了细胞周期素E和CDK2在肝细胞癌中的作用. 对一系列的HCC、肝硬化组织和肝炎组织进行研究, 对LEC近交大鼠的HCC模型也进行了研究, 石蜡切片免疫组织化学技术检测细胞周期素E和CDK2的表达, 人和大鼠的HCC组织中有细胞周期素E和CDK2的共同表达, Western blot杂交以及CDK2蛋白激酶活性的分析结果表明, 细胞周期素E和CDK2蛋白, 以及CDK2的蛋白激酶活性都随着HCC的发展而逐渐升高, 细胞周期素E和CDK2与临床病理特点之间的相互关系研究结果表明, 细胞周期素E与肿瘤的分级、增生细胞核抗原(PCNA)指数、以及CDK2表达等指标之间密切相关. CDK2的过表达似乎与HCC的低度分化有关. 这些研究

结果表明细胞周期素E和CDK2在HCC中具有十分重要的作用.

在HBV相关的HCC发展中, 通常需要20-40a的肝脏炎症、坏死的持续过程. 但儿童期HCC的发生机制与之明显不同. Kim et al^[7]发现癌基因c-met的突变仅在儿童期HCC中发现, 成人期HCC没有. 对9例儿童期HCC和9例40岁以上的成年期HCC进行对比研究, G1期调节蛋白如细胞周期素D1、E和CDK4的表达以免疫组织化学技术进行了研究. 同时对于染色体8p、13q、17p的杂合子丢失(loss of heterozygosity, LOH)进行调查. 儿童期HCC的细胞周期素D1表达水平显著低于成年期HCC患者, 但细胞周期素E和CDK4表达水平无明显差别. 染色体13q的LOH频率在儿童期HCC稍高, 8p和17p位点没有显著差别. 结果提示儿童期HCC可能与细胞周期素D1表达水平的异常没有显著的相关性, 但是13q的LOH可能与之有关.

在包括HCC的一些肿瘤中, 经常见到细胞周期素基因的放大现象, 特别是细胞周期素D、E, 是正常细胞恶性转化的重要步骤. 但是大多数细胞周期相关的蛋白激酶的变化及其在肿瘤发生中的作用, 目前还不十分清楚. Masaki et al^[8]利用Western blot杂交技术研究了LEC大鼠HCC移植瘤的细胞周期素和CDK的活性, 如细胞周期素D1、E、A、H、CDK1(Cdc2)、CDK4、CDK6. 细胞周期素D1、E、A、CDK4、CDK6、Cdc2、CDK7、Wee1的活性以胶内激酶(in-gel kinase)活性分析法测定. 在HCC移植瘤中, 细胞周期素D1、E、CDK4、细胞周期素A、Wee1蛋白和激酶活性显著升高, 与HCC进展期显著相关, 特别是在慢性肝炎向HCC转化中尤其如此. 尽管Cdc2在正常、肝炎肝组织中轻度升高, 但在慢性肝炎向HCC的转换过程中却没有显著变化, CDK6、CDK7的蛋白激酶活性也保持不变. 表明Cdc2蛋白激酶在慢性肝炎向HCC的转化过程中具有十分重要的作用, 尤其是细胞周期素D1、CDK4、细胞周期素E、细胞周期素A和Wee1的变化, 可能在慢性肝炎逐渐发展为HCC的过程中具有十分重要的作用.

CDK相关的蛋白磷酸酶(CDK-associated protein phosphatase, KAP)是人的一种双特异性蛋白磷酸酶, 可以催化CDK2在苏氨酸160位点发生去磷酸化, 而且是一种细胞周期素依赖性的过程. Yeh et al^[9]对于这种蛋白激酶是否在HCC中有突变的现象, 利用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)技术对HCC组织中KAP mRNA表达进行了分析. 8/14例晚期HCC活检标本和6/13例外科手术切除的HCC标本以及2例肿瘤周围组织中都有异常的KAP转录表达. 随后对于这些突变的KAP基因进行克隆分析, 酵母双杂交技术分析结果, 发现5/7典型的KAP突变体都失去与CDK2的相互作用. 说明在HCC的形成过程中, KAP突变也是参与其中的一个重要因素.

2 乙型肝炎病毒与细胞周期调节异常

有丝分裂细胞周期素组成了组蛋白H1激酶复合物的调节亚单位. 根据细胞周期素的一级结构可以分成A、B2种, 都是细胞有丝分裂调节所必需的调节蛋白. 细胞周期素A激活组蛋白H1激酶的活性, 蛋白裂解破坏在细胞周期素B之前, 在DNA复制过程中具有十分重要的调节作用. 细胞周期素A和B在肿瘤发生中具有一定的作用, 机制不同, 象HBV DNA与细胞周期素A之间的结合及功能异常, 或者作为一种复合物形式产生异常调控, 或在癌基因或癌基因异常情况下, 在CDK催化作用下发生异常磷酸化修饰.

细胞周期素在所有的真核细胞的细胞周期调节中都具有十分重要的意义. 细胞周期素A在HBV DNA的整合以及HCC的发生中具有重要的意义, 此外与细胞周期素A转录因子蛋白E2F结合成复合物形式, 腺病毒的E1A可以阻滞这种蛋白复合物的形成. 这些研究结果表明细胞周期素A是肿瘤形成信号作用的一个靶点. 将抗细胞周期素A的抗体注射入细胞内之后, 细胞的DNA合成及进入有丝分裂的细胞数目受到严重影响. 细胞周期素A与CDK2和Cdc2都能结合, 说明具有2种不同的激酶活性. 一种活性在S期发挥作用, 另一种活性在G2期发挥作用. 这些结果表明, 细胞周期素A是人细胞周期调节的一个重要环节.

HBV的pX蛋白在慢性HBV感染者的HCC发生中有一定的作用. 为了研究pX在细胞恶性转化中的作用, Lee et al^[10]应用永生化的AML12肝细胞建立了分化型细胞模型3pX-1和去分化型细胞模型4pX-1, 但只有3pX-1出现pX介导的恶性转化, 信号转导涉及Ras-Raf-MAPK的激活. 表达pX的非转化型4pX-1细胞表现出持续的、pX依赖性的JNK信号系统的激活. 对于pX介导的这2种不同的生长方式进行比较, 对3pX-1、4pX-1细胞周期的特点进行了研究. 表达pX的转化型3pX-1表现出pX依赖性的G1、S、G2/M期进展, 其标志是细胞周期素D1、A、B1的诱导, Cdc2激酶的激活. 表达pX的非转化型4pX-1细胞系表现出pX依赖性G1、S期的进入, 之后是S期的停滞, 没有Cdc2激酶的激活. 有意思的是4pX-1具有pX诱导的p21(Cip1)、p19(ARF)、bax、胰岛素样生长因子结合蛋白3(IGFBP-3)的表达. 尽管pX介导的生长抑制和细胞凋亡基因的表达, 还有pX依赖性Cdc2激活的缺乏, 4pX-1细胞并没有pX依赖性的G2/M的阻滞或细胞凋亡. 诺考达唑(Nocodazole)处理后, G2/M期阻滞的4pX-1细胞表现出pX依赖性的多形核细胞的形成, 类似表达人T嗜淋巴病毒I(HTLV-I)的Tax蛋白的细胞特征. 因此认为4pX-1细胞中, 因为pX异常调节了G2/M的细胞周期检验点, 因而免于pX表达诱导的细胞凋亡过程的发生.

几项研究结果提示HBxAg可与cAMP应答元件结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)结

合, HBxAg也能促进早期的细胞周期进展, 可能的机制就是代替TATA结合蛋白相关因子250(TATA-binding protein-associated factor 250, TAF(II)250)的功能, 或者刺激细胞质中的信号转导系统. 为了研究HBxAg对于细胞早期阶段的影响机制, Bouchard et al^[11]研究了HBxAg促进处于生长阻滞阶段细胞通过G0和G1期检验点的作用和机制. 结果证实TAF(II)250是HBxAg激活细胞周期素A启动子所必须具备的因子, 也是HBxAg促进细胞从G0到G1期的转变. HBxAg在功能上并不是替代TAF(II)250, 而是HBxAg激活细胞周期素A的启动子转录活性, 诱导细胞周期素A-CDK2复合物蛋白激酶的活性, 促进静止期细胞进入到G1期, 主要机制就是通过Src酪氨酸蛋白激酶的激活. HBxAg刺激Src蛋白激酶的活性以及细胞周期素的基因表达, 强迫处于静止期的细胞进入到G1期, 但在S期速度减慢, 更有利于病毒的复制.

HBxAg是一种分子量很小的转录激活因子, 是病毒感染的必需. HBxAg与HBV基因的转基因小鼠肝脏肿瘤的发生发展有关. HBxAg激活Ras-Raf-MAPK信号转导链, 激活转录因子蛋白AP-1和NF- κ B, 刺激细胞DNA的合成. Benn et al^[12]的研究结果表明HBxAg可以刺激细胞周期的进展, 缩短细胞在G0的时间至少12 h, 加速进入到S期, 同时也加速细胞通过G0/G1和G2/M2个细胞周期检验点. 与血清因子的刺激相比较, HBxAg蛋白可显著增加CDK2和CDC2蛋白激酶的活性, 以及分别与细胞周期素E、A或B结合而成的复合物的蛋白激酶活性. HBxAg基因的表达可以导致细胞克服细胞对于血清的依赖性 or 显著降低由此带来的细胞生长抑制. HBxAg和血清刺激都需要RAS信号转导通路的参与, 但只有HBxAg可以缩短检验点所需要的时间. HBxAg因此通过RAS信号转导途径促进细胞生长, 与此过程相关的另外一种因素可以持续激活JUN或p53蛋白, 也参与了这一调节过程. 这些研究结果表明HBxAg参与了HBV感染引起肝脏肿瘤的过程, 主要机制是导致细胞周期检验点的异常, 对于遗传特性不稳定的细胞进行选择, 并积累不能进行修复的致癌突变.

HBV核心蛋白的磷酸化修饰是前基因组RNA包装成病毒核颗粒的先决条件, 但是究竟是细胞内什么样的蛋白激酶催化HBV核心蛋白的磷酸化修饰一直不十分清楚. Daub et al^[13]对于HuH-7细胞中95和115 kD的2种蛋白激酶的活性进行研究, 因为研究提示这2种蛋白可以与HBV核心蛋白结合, 而且可以使HBV核心蛋白的富含精氨酸残基的羧基末端发生磷酸化修饰. 95 kD的蛋白激酶纯化以后, 发现是与SR蛋白特异性激酶1(SR protein-specific kinase 1, SRPK1), 基于这些发现, 115 kD的蛋白激酶可以看作是相关的一种蛋白激酶, 即SRPK2. 在体外, 这2种SRPK都可以催化HBV核心蛋白的磷酸化修饰, 而且磷酸化修饰的位

点相同, 都是同一个丝氨酸位点, 与体内的磷酸化修饰一样. 在总的细胞裂解液中, 主要的 HBV 核心蛋白激酶活性与 SRPK1、SRPK2 蛋白激酶活性相同. 研究结果还清楚地表明, 以前曾经认为在 HBV 核心蛋白磷酸化修饰中具有重要作用的蛋白激酶 Cdc2、CDK2、PKC 都没有催化 HBV 核心蛋白磷酸化修饰的活性. 研究表明, SRPK1、SRPK2 是 HBV 感染过程中催化 HBV 核心蛋白磷酸化修饰的主要的蛋白激酶, 可能是设计抗 HBV 治疗药物的一个新型靶位.

嗜肝病毒都是具有包膜的病毒, 其基因组 DNA 包裹到核壳体中, 完成病毒 DNA 的复制和合成. 当有病毒包膜蛋白时, 含有 DNA 的核壳体可以装配成完整的病毒, 但当没有病毒的包膜蛋白时, 核壳体就将其中的病毒 DNA 运送到细胞核中, 这一步就象是病毒刚开始感染时病毒 DNA 的运送方式, 但是触发亚病毒核壳体中 DNA 向细胞核运送的机制目前还不十分清楚. Barrasa et al^[14]在 HBcAg 分子的结构中鉴定出一类似丝氨酸或苏氨酸激酶的识别位点, 是核壳体形成的一个关键结构位点. 应用鸭乙型肝炎病毒(DHBV), 证实这一位点的突变对于 DNA 的装配、DNA 的复制和核心蛋白的稳定性等都具有十分显著的影响. 这一结构位点的序列特征还是病毒复制所在的细胞类型依赖性的.

3 丙型肝炎病毒与细胞周期调节异常

HCV 核心蛋白在肝细胞癌中具有十分重要的地位. Cho et al^[15]对 HCV 核心蛋白通过对细胞周期素 E 的调节, 促进细胞增生的作用进行了研究. HCV 核心基因稳定转化的大鼠细胞系 Rat-1 与母本细胞相比较细胞增生率显著升高, 细胞周期素 E 的表达与相关的蛋白激酶的活性在 HCV 核心基因稳定转染的细胞系中显著升高. 在 HCV 核心基因转染的细胞系中, 细胞周期素 E mRNA 的转录水平也显著提高. 认为 HCV 核心蛋白具有促进细胞增生的作用, 主要机制就是通过对细胞周期素 E 表达的调节, 说明 HCV 核心蛋白在 HCC 的形成过程中具有十分重要的作用.

4 肝炎病毒与 p21 基因调节异常

肝细胞增生率的增加是发生肝细胞癌的一个危险因素, Lee et al^[16]研究了小鼠成纤维细胞 NIH 3T3 中 HCV 核心蛋白对于 CDK 抑制因子 p21 蛋白编码基因启动子的活性的抑制作用. 通过 p21 基因启动子报告基因表达载体的瞬时转染实验结果表明, 转化生长因子 β (TGF β) 应答元件(TGF- β -responsive element, T β RE)位于 p21 基因启动子的 -83~-74 nt 之间的核苷酸序列, 是其应答的结构基础. TGF β 诱导 p21 启动子的转录活性, 受到 HCV 核心蛋白的显著抑制, 在 Smad7 存在条件下, 这种抑制作用几乎是完全的. HCV 核心蛋白可以刺激 NIH 3T3 细胞的生长, 可以克服 TGF β 诱导的生长抑制作用, 但不能克服丁酸盐(butyrate)的生长抑制作用,

表明 HCV 核心蛋白是通过 TGF β 信号途经抑制 p21 的转录表达来实现促进细胞的生长作用的.

HBV 和 HCV 重叠感染十分常见, 而且可以引起更重的肝病, 增加罹患 HCC 的几率. Han et al^[17]的研究结果表明, HBxAg 与 HCV 核心蛋白在抑制 p21 基因表达方面具有相加作用, p21 基因启动子序列中的 T β RE 和 Sp1 位点分别是 HCV 核心蛋白和 HBxAg 的调节作用位点. 这 2 种病毒蛋白对于细胞生长的促进作用也具有相加性质, 可以认为是 HBV 和 HCV 共同促进 HCC 的发生.

Yoshida et al^[18]研究了 HCV 核心蛋白对于培养的细胞中的 p21/Waf1/Cip1/Sdi1(p21/Waf1)的调节作用, 尽管没有证据表明 HCV 核心蛋白与 p21/Waf1 蛋白在细胞内分布在同一位点, 表达 HCV 核心蛋白的细胞比正常对照细胞中 p21/Waf1 的表达显著减弱, 但 Northern blot 结果表明 2 种细胞 p21/Waf1 mRNA 水平很接近, 说明 HCV 核心蛋白抑制 p21/Waf1 的表达发生在转录后水平. p21/Waf1 蛋白的降解在 2 种细胞系中没有显著差别, 表明 p21/Waf1 蛋白在 2 种细胞系中的稳定性没有显著差别, 但这种蛋白在细胞中积聚时, HCV 核心蛋白对之没有显著的影响. 因此要考虑到 p21/Waf1 蛋白的合成、成熟、细胞和转运等环节是否有障碍, 或仅仅是对新合成的蛋白有降解作用. 在 2 种细胞系中, p21/Waf1 在细胞内的积聚可以部分地被蛋白体抑制物和钙相关蛋白(calpain)抑制物所抑制. 体外激酶活性分析结果表明, p21/Waf1 对 CDK2 激酶活性具有抑制作用, 而 HCV 核心蛋白可以部分恢复这种抑制作用. 综合上述结果, HCV 核心蛋白抑制 p21/Waf1 蛋白表达的作用是在转录后水平上, 影响 p21/Waf1 在细胞中的功能.

HBV X 蛋白可以改变细胞对于细胞凋亡诱导因素作用的敏感性, 也可以对于细胞周期进行异常调节. Park et al^[19]对于 p53 基因发生突变的 HCC 细胞系 Hep3B 进行了研究, 在稳定表达 X 蛋白的 Hep3B 细胞系中, p21(waf1/cip1)蛋白和 mRNA 水平显著升高, 与 CDK2 之间的结合能力增加, 但显著抑制细胞周期素 E 与 CDK2 之间的结合, 以及组蛋白 H1 的磷酸化修饰. 利用基因突变技术证实, X 蛋白对于 p21 启动子应答的序列在转录起始位点上游的 -1185 至 -1482 nt 之间. 对 p21 启动子基因区的突变研究结果表明, HBV X 蛋白的应答位点位于 ets 因子结合位点处. 这一研究结果表明, 在肝癌细胞中, X 蛋白可以克服 p53 基因丢失的效应, 直接引起其下游信号转导途径的改变, 因此认为 p21 (waf1/cip1)在 HCC 发生过程中, 特别是在 p53 基因缺失条件下, 具有十分重要的地位和作用.

p21 蛋白是一种 CDK 蛋白激酶广谱的抑制因子, 在肝再生过程中对于肝细胞的细胞周期也有显著的调节作用. Crary et al^[20]应用免疫组织化学技术对 p21 蛋白、Ki-67 在肝脏疾病中的作用和意义进行了研究. 正常的肝细胞和非酒精性脂肪肝炎(NASH)肝脏中 p21、Ki-67

表达水平很低,在酒精性肝炎肝脏中表达水平显著升高。在慢性丙型肝炎患者中,p21表达与Ki-67显著相关,而且与炎症和肝纤维化的分级、分期显著相关。说明在炎症中,肝损伤可以诱导p21的表达,而且与肝脏炎症和肝纤维化的程度有关^[21-24]。

5 参考文献

- Hoppe-Seyler F, Crnkovic-Mertens I, Denk C, Fitscher BA, Klevenz B, Tomai E, Butz K. Peptide aptamers: new tools to study protein interactions. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2001;78:105-111
- Pagano M, Pepperkok R, Verde F, Ansorge W, Draetta G. Cyclin A is required at two points in the human cell cycle. *EMBO J* 1992;11:961-971
- Chuang SE, Cheng AL, Lin JK, Kuo ML. Inhibition by curcumin of diethylnitrosamine-induced hepatic hyperplasia, inflammation, cellular gene products and cell-cycle-related proteins in rats. *Food Chem Toxicol* 2000;38:991-995
- Chuang SE, Kuo ML, Hsu CH, Chen CR, Lin JK, Lai GM, Hsieh CY, Cheng AL. Curcumin-containing diet inhibits diethylnitrosamine-induced murine hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis* 2000;21:331-335
- Ramljak D, Jones AB, Diwan BA, Perantoni AO, Hochadel JF, Anderson LM. Epidermal growth factor and transforming growth factor- α -associated overexpression of cyclin D1, CDK4, and c-Myc during hepatocarcinogenesis in *Helicobacter hepaticus*-infected A/JCr mice. *Cancer Res* 1998;58:3590-3597
- Kohzato N, Dong Y, Sui L, Masaki T, Nagahata S, Nishioka M, Konishi R, Tokuda M. Overexpression of cyclin E and cyclin-dependent kinase 2 is correlated with development of hepatocellular carcinomas. *Hepatol Res* 2001;21:27-39
- Kim H, Lee MJ, Kim MR, Chung IP, Kim YM, Lee JY, Jang JJ. Expression of cyclin D1, cyclin E, CDK4 and loss of heterozygosity of 8p, 13q, 17p in hepatocellular carcinoma: comparison study of childhood and adult hepatocellular carcinoma. *Liver* 2000;20:173-178
- Masaki T, Shiratori Y, Rengifo W, Igarashi K, Matsumoto K, Nishioka M, Hatanaka Y, Omata M. Hepatocellular carcinoma cell cycle: study of Long-Evans cinnamon rats. *Hepatology* 2000;32:711-720
- Yeh CT, Lu SC, Chen TC, Peng CY, Liaw YF. Aberrant transcripts of the cyclin-dependent kinase-associated protein phosphatase in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2000;60:4697-4700
- Lee MN, Jung EY, Kwun HJ, Jun HK, Yu DY, Choi YH, Jang KL. Hepatitis C virus core protein represses the p21 promoter through inhibition of a TGF- β pathway. *J Gen Virol* 2002;83:2145-2151
- Bouchard M, Giannakopoulos S, Wang EH, Tanese N, Schneider RJ. Hepatitis B virus HBx protein activation of cyclin A-cyclin-dependent kinase 2 complexes and G1 transit via a Src kinase pathway. *J Virol* 2001;75:4247-4257
- Benn J, Schneider RJ. Hepatitis B virus HBx protein deregulates cell cycle checkpoint controls. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:11215-11219
- Daub H, Blencke S, Habenberger P, Kurtenbach A, Dennenmoser J, Wissing J, Ullrich A, Cotten M. Identification of SRPK1 and SRPK2 as the major cellular protein kinases phosphorylating hepatitis B virus core protein. *J Virol* 2002;76:8124-8137
- Barrasa MI, Guo JT, Saputelli J, Mason WS, Seeger C. Does a cdc2 kinase-like recognition motif on the core protein of hepadnaviruses regulate assembly and disintegration of capsids? *J Virol* 2001;75:2024-2028
- Cho JW, Baek WK, Suh SI, Yang SH, Chang J, Sung YC, Suh MH. Hepatitis C virus core protein promotes cell proliferation through the upregulation of cyclin E expression levels. *Liver* 2001;21:137-142
- Lee S, Tarn C, Wang WH, Chen S, Hullinger RL, Andrisani OM. Hepatitis B virus X protein differentially regulates cell cycle progression in X-transforming versus nontransforming hepatocyte (AML12) cell lines. *J Biol Chem* 2002;277:8730-8740
- Han HJ, Jung EY, Lee WJ, Jang KL. Cooperative repression of cyclin-dependent kinase inhibitor p21 gene expression by hepatitis B virus X protein and hepatitis C virus core protein. *FEBS Lett* 2002;518:169-172

- Yoshida I, Oka K, Hidajat R, Nagano-Fujii M, Ishido S, Hotta H. Inhibition of p21/Waf1/Cip1/Sdi1 expression by hepatitis C virus core protein. *Microbiol Immunol* 2001;45:689-697
- Park US, Park SK, Lee YI, Park JG, Lee YI. Hepatitis B virus-X protein upregulates the expression of p21waf1/cip1 and prolongs G1 \rightarrow S transition via a p53-independent pathway in human hepatoma cells. *Oncogene* 2000;19:3384-3394
- Crary GS, Albrecht JH. Expression of cyclin-dependent kinase inhibitor p21 in human liver. *Hepatology* 1998;28:738-743
- Berasain C, Patil D, Perara E, Huang SM, Mouly H, Brechot C. Oncogenic activation of a human cyclin A2 targeted to the endoplasmic reticulum upon hepatitis B virus genome insertion. *Oncogene* 1998;16:1277-1288
- Zafrullah M, Ozdener MH, Panda SK, Jameel S. The ORF3 protein of hepatitis E virus is a phosphoprotein that associates with the cytoskeleton. *J Virol* 1997;71:9045-9053
- Wolowiec D, Ffrench M. Cyclins A and B: redundancy and specificity. *Pathol Biol (Paris)* 1993;41:547-553
- Wolowiec D, Ffrench M. Mitotic cyclins—new possibilities for examining mechanisms of neoplasm growth. *Postepy Hig Med Dosw* 1993;47:183-191

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

张忠东, 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
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@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

张忠东, 成军, 钟彦伟, 张树林. 乙型和丙型肝炎病毒对 MAPKK 信号转导的影响. 世界华人消化杂志 2003;11(8):1258-1260

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1258.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)和丙型肝炎病毒(HCV)的感染,不仅引起急、慢性病毒性肝炎,而且与肝纤维化、肝细胞癌的发生密切相关。虽然HBV和HCV感染与肝细胞癌之间的关系已经得到确定,但是具体的分子生物学机制还有许多工作要做。肝炎病毒蛋白可以与自身结合形成同二聚体,或者与病毒的其他蛋白、肝细胞蛋白结合形成异二聚体,从而对肝细胞的生长、代谢及恶性转化产生影响^[1, 2]。丝裂原活化蛋白激酶激酶(MAPKK)是信号转导途径中的重要成员,肝炎病毒蛋白与MAPKK作用可以改变信号转导,可对细胞的分化、增生等产生影响。

1 MAPK的级联反应

丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)是介导细胞反应的重要信号,普遍存在于多种生物,包括酵母和哺乳动物细胞。



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

