

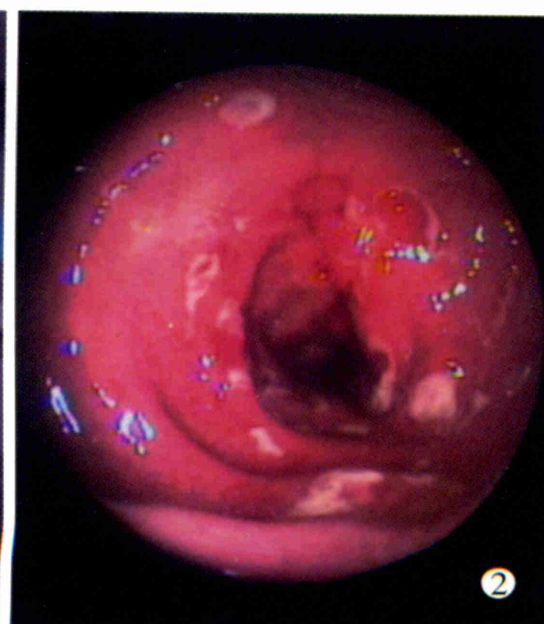
世界华人消化杂志®

**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 - 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 β_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 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 朱丽虹
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.

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.

自1991年Sturgill et al.^[3]从动物细胞中鉴定出细胞外信号调节激酶(ERK), MAPK信号转导通路的研究取得迅速发展. 除ERK外, 还发现克隆了c-jun氨基末端激酶(JNK)/应激激活蛋白激酶(SAPK)、p38和ERK5等MAPK亚族. 该激酶级联首先在促细胞分裂素所致的微管结合蛋白(MAP)激酶活化的途径中发现, 故称MAP激酶级联. MAPK级联的核心由3个Ser/Thr蛋白激酶: MAPK、MAPKK、MAPKKK组成. 级联方向为MAPKKK-MAPKK-MAPK. MAPK信号转导通路采用高度保守的三级激酶级联转导信号, 细胞外刺激通过某些环节使MAPKK激活, 转化MAP激酶激酶(MAP kinase kinase, MAPKK), 然后通过对苏氨酸和酪氨酸双位点磷酸化激活MAPK. 细胞外刺激作用于细胞, 通过多级激酶级联使MAPK激活, 激活的MAPK可通过磷酸化转录因子、细胞骨架相关蛋白、酶类等多种底物调节细胞生理过程. 因此, 促细胞分裂素刺激的胞内信号级联反应概括为4步连续反应: (1)Ras的活化; (2)Raf-1的活化; (3)MAPK级联的活化; (4)核效应. 哺乳动物细胞中, 存在三条平行的MAPK级联反应, 有ERK途径、JNK/SAPK、p38途径. 后两条途径主要对抑制细胞生长的刺激产生应答, 如化学制剂、渗透压改变、热休克、蛋白合成抑制剂、脂多糖(LPS)和肿瘤坏死因子(TNF)等. 三条MAPK级联的Ser/Thr蛋白激酶具有相似的一级结构、活化机制和被底物识别的最小序列(TYY). 同一刺激能引起不同的平行级联的应答, 表明这些平行的途径之间存在互相影响的通路. 三条途径重要的区别在于MAPK级联上游激酶活化的机制不同, ERK途径的MAPK级联上游激酶Raf-1被Ras直接活化, 在凋亡信号启动的细胞凋亡过程中, PAK65可能是JNK和p38途径的MAPK级联上游激酶, 受Ras的间接调节而被活化^[4].

2 MAPKK活性的调节

除了蛋白酪氨酸激酶外, 在信号转导中起着重要作用的是丝氨酸/苏氨酸磷酸化激酶. MAPKK磷酸化并激活MAPK, 而MAPKK被上游的蛋白激酶如Raf、Mos和MAPKK激酶(MAPKKK)激活^[5]. 最常见的如Raf-1, 是已知的许多激活MAPKK的细胞激酶之一, 在细胞对刺激产生增生响应的Ras信号转导通路中起着关键作用. 被激活的Ras(即Ras-GTP)就结合在Raf-1的N-末端域上. 在与Ras-GTP结合并且其酪氨酸被磷酸化后, Raf-1就激活MAPKK. 例如, 在白介素-2(IL-2)刺激下, Raf-1的酪氨酸被激活的SRC激酶(pp60^{SRC})磷酸化. 这个磷酸化作用对于Raf-1与Ras-GTP结合, 并激活激酶MAPKK是绝对必须的^[6]. 许多因子都可以充分地激活Raf-1, 例如, 蛋白激酶C(PKC), ras-GTP和被激活的SRC激酶. 然而, 这些因子并不总是导致同样的最终结果, 相反地, 常常产生各种各样不同的响应. 比如, 蛋白激酶C将Raf-1磷酸化, 随后用佛波酯处理, 尽管这使得Raf-1的自身磷酸化增加了, 但是, MAPKK没有

激活. 而一旦MAPKK被Raf-1激活, 他就会把目标瞄准MAP激酶的异构体. 这些胞质丝氨酸/苏氨酸MAP激酶的异构体, 即Erk-1和Erk-2被激活和向细胞核转移是信号转导通路上游Ras激活的最终结果. 如上所述, Raf-1激活了MAPKK, 后者则将MAPK的苏氨酸和酪氨酸磷酸化而将他激活. 然后, MAPK磷酸化, 并激活细胞核的转录因子, 包括c-myc、c-jun、c-fos、核因子-IL-6(NF-IL-6)、细胞质磷脂酶A2(cPLA2)、表皮生长因子受体(EGF-R)和蛋白质激酶, 如c-Raf-1、MAPKK和p90^{rsk}(蛋白磷酸酯酶-1, PP-1的糖原结合亚基)^[4, 6]. 用MEK2作为酵母双杂交的诱饵, 除c-Raf和KSR外, A-Raf是和MEK2作用的新配体. 体外结合实验证实了这种作用, 作用点位于代表A-Raf激酶区的255-606氨基酸残基(aa)末端^[7]. Mos是生殖细胞特性的丝氨酸/苏氨酸激酶, 是卵母细胞成熟必需的. Mos刺激MAPK通过直接磷酸化和活化MAPKK, MAPK被双特异激酶MEKs激活^[8]. MAPKK是一种双特异蛋白激酶, 磷酸化和激活MAPK, 本研究用四种鼠单克隆抗体(Y1-6、Y1-7、Y3-6和Y3-11)特异结合爪蟾MAPKK. 在体外Y1-6、Y1-7、Y3-6有效的抑制MAPKK活性. Y1-6抑制诱导的MAPK活性, 将其注入爪蟾卵母细胞可致生发中心破裂, 而突变的Y1-6却不能. 三种中和抗体Y1-6、Y1-7、Y3-6与MAPKK的NH2末端1-23 aa结合, 而无中和作用的Y3-11与MAPKK的33 aa和67 aa结合. 合成多肽对应MAPKK的2-17 aa压抑野生型Y1-6的中和作用, 说明中和抗体结合MAPKK的NH2末端抑制MAPKK的激酶活性^[9].

3 MAPKK的生物学作用

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. 在哺乳动物细胞鉴定出细胞外信号调节激酶ERK, c-jun氨基末端激酶(JNK)/应激激活蛋白激酶(SAPK)、p38和ERK5等MAPK亚族. 每种MAPK被不同的信号分子活化, 如ERK被MAPKK的MKK1、MKK2激活; p38MAPK被MKK3和MKK4-MKK6激活; JNK被MKK4激活^[10, 11]. JNK通过苏氨酸-183和酪氨酸-185的双磷酸化而被激活, MKK4是唯一的JNK信号转导通路的成员的MAPKK^[12-14]. 生物化学研究证明MKK4磷酸化和活化JNK^[12-14]. 然而MKK4的功能并不仅仅局限在JNK信号转导通路, 因为MKK4也磷酸化和激活p38MAPK^[10, 11]. MKK4激活JNK和p38MAPK的特性提供一种机制, 其说明用细胞因子或环境应激处理的细胞中这些MAPK活化的统一^[15]. 然而活性统一不总被观察到, 如在肝中用氧化应激观察细胞内的新陈代谢和以AP-1为目标的蛋白-DNA复合体的形成, 证明肝中氧化应激下的JNK和p38MAPK的信号转导路径机制不同^[16]. 原癌基因Raf的产物MAPKK1和MAPKK2在信号通路的功能影响细胞增生和分化. 其亚型以两种途径调节: (1)MAPKK1,

而不是MAPKK2被周期素依赖激酶p34cdc2磷酸化而失活; (2)p21Ras和Raf/MAPKK1形成三重复合体, 而不是和Raf/MAPKK2. 为进一步研究两种形式的调节和功能特性, 比较v-Mos的活化形式, 检测在培养细胞中介导的转录及形态学反应. v-Mos增强全部形式的酶活性, 约有600倍. MAPKK2变异可激活MAPKK1, 说明构象改变导致活性相似^[17]. JNK的酪氨酸和苏氨酸磷酸化而被激活, 报道新的MAPKK家族的MKK7作为JNK的激活剂, 在体外证明MKK7磷酸化JNK, 而不是p38和ERK, MKK7在培养细胞中的表达激活JNK信号转导通路, 因此MKK7是JNK通路中的新成员^[18].

4 乙型和丙型肝炎病毒与MAPKK的信号转导

MAPKK活性在表达HCV核心的细胞. MAPKK是JNK活化的上游调节剂. MAPKK活性的缺陷可显示下游JNK和AP-1功能的缺失. 在表达丙型肝炎病毒核心蛋白的细胞中观察到MAPKK活性被TNF诱导. 不同时间用TNF刺激对照和试验组. TNF处理30和60 min即可检测到磷酸化的提高. 随后, 对照组和转染HCV核心DNA的细胞组用TNF处理30 min, 磷酸化的MAPK用Western blot分析. 在0.1 nmol/L的TNF处理时对照组的MCF-7细胞MAPK活化发生, 但是转染HCV核心DNA的细胞有高的基础活性而用TNF刺激不会进一步激活MAPKK^[19]. HCV基因型1a和3的核心蛋白激活MEK1及Erk1/2, 而且HCV核心的表达导致Raf1和MAPKK高度活化, 体外实验证实Erk1/2和下游的转录因子Elk1对表皮生长因子(EGF)的反应延长^[20]. MAPK在细胞分化、转化及应激反应中起着关键作用, HCV核心蛋白具有致癌作用, 在BALB/3T3表达的核心蛋白激活MEK-ERK通路, 为进一步说明其作用, 在几种细胞系瞬时表达核心蛋白, 用Gal4-Elk1萤虫素酶实验研究信号转导通路, 发现核心蛋白增强MEK下游的Elk1活化作用, 而不影响ERK活性和Elk1的磷酸化^[21]. 乙型肝炎病毒X蛋白对病毒复制是必需的^[22, 23], 被广泛地认为是转录激活者^[24]. X蛋白依赖他的亚细胞定位可以通过两种不同的机制刺激基因表达^[25]. 许多依赖RNA聚合酶II启动子, 如包含AP-1和NF- κ B位点的启动子, 在细胞质X蛋白刺激Ras-Raf-MAPKK (MEK)-MAPK级联反应和JNK通路的活化诱导其表达^[26-28].

5 参考文献

- 1 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, 1997:86-198
- 2 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
- 3 Sturgill TW, Ray LB, Anderson NG, Erickson AK. Purification of mitogen-activated protein kinase from epidermal growth factor-treated 3T3-L1 fibroblasts. *Methods Enzymol* 1991; 200:342-351
- 4 成军. 肿瘤相关基因. 第1版. 北京: 北京医科大学出版社, 1999: 96-100
- 5 Cook JG, Bardwell L, Thorner J. Inhibitory and activating functions for MAPK Kss1 in the *S. cerevisiae* filamentous-growth signalling pathway. *Nature* 1997;390:85-88
- 6 方福德, 杨焕明. 分子生物学前沿技术. 第1版. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1997:54-56
- 7 Yin XL, Chen S, Yan J, Hu Y, Gu JX. Identification of interaction

- between MEK2 and A-Raf-1. *Biochim Biophys Acta* 2002;1589:71-76
- 8 Chen M, Li D, Krebs EG, Cooper JA. The casein kinase II beta subunit binds to Mos and inhibits Mos activity. *Mol Cell Biol* 1997;17:1904-1912
- 9 Darnell JE Jr, Kerr IM, Stark GR. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science* 1994;264:1415-1421
- 10 Whitmarsh AJ, Davis RJ. Transcription factor AP-1 regulation by mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways. *J Mol Med* 1996;74:589-607
- 11 Dérjard B, Raingeaud J, Barrett T, Wu IH, Han J, Ulevitch RJ, Davis RJ. Independent human MAP-kinase signal transduction pathways defined by MEK and MKK isoforms. *Science* 1995;267:682-685
- 12 Opazo P, Watabe AM, Grant SG, O' Dell TJ. Phosphatidylinositol 3-kinase regulates the induction of long-term potentiation through extracellular signal-related kinase-independent mechanisms. *J Neurosci* 2003;23:3679-3688
- 13 Lin A, Minden A, Martinetto H, Claret FX, Lange-Carter C, Mercurio F, Johnson GL, Karin M. Identification of a dual specificity kinase that activates the Jun kinases and p38-Mpk2. *Science* 1995;268:286-290
- 14 Sanchez I, Hughes RT, Mayer BJ, Yee K, Woodgett JR, Avruch J, Kyriakis JM, Zon LI. Role of SAPK/ERK kinase-1 in the stress-activated pathway regulating transcription factor c-Jun. *Nature* 1994;372:794-798
- 15 Davis RJ. MAPKs: new JNK expands the group. *Trends Biochem Science* 1994;19:470-473
- 16 Mendelson KG, Contois LR, Tevosian SG, Davis RJ, Paulson KE. Independent regulation of JNK/p38 mitogen-activated protein kinases by metabolic oxidative stress in the liver. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:12908-12913
- 17 Mansour SJ, Candia JM, Gloor KK, Ahn NG. Constitutively active mitogen-activated protein kinase kinase 1 (MAPKK1) and MAPKK2 mediate similar transcriptional and morphological responses. *Cell Growth Differ* 1996;7:243-250
- 18 Tournier C, Whitmarsh AJ, Cavanagh J, Barrett T, Davis RJ. Mitogen-activated protein kinase kinase 7 is an activator of the c-Jun NH2-terminal kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:7337-7342
- 19 Shrivastava A, Manna SK, Ray R, Aggarwal BB. Ectopic expression of hepatitis C virus core protein differentially regulates nuclear transcription factors. *J Virol* 1998;72:9722-9728
- 20 Giambartolomei S, Covone F, Levrero M, Balsano C. Sustained activation of the Raf/MEK/Erk pathway in response to EGF in stable cell lines expressing the Hepatitis C Virus (HCV) core protein. *Oncogene* 2001;20:2606-2610
- 21 Fukuda K, Tsuchihara K, Hijikata M, Nishiguchi S, Kuroki T, Shimotohno K. Hepatitis C virus core protein enhances the activation of the transcription factor, Elk1, in response to mitogenic stimuli. *Hepatology* 2001;33:159-165
- 22 Chen HS, Kaneko S, Girones R, Anderson RW, Hornbuckle WE, Tennant BC, Cote PJ, Gerin JL, Purcell RH, Miller RH. The woodchuck hepatitis virus X gene is important for establishment of virus infection in woodchucks. *J Virol* 1993;67:1218-1226
- 23 Zoulim F, Saputelli J, Seeger C. Woodchuck hepatitis virus X protein is required for viral infection in vivo. *J Virol* 1994;68:2026-2030
- 24 Yen TS. Hepadnaviral X protein: Review of recent progress. *J Biomed Sci* 1996;3:20-30
- 25 Doria M, Klein N, Lucito R, Schneider RJ. The hepatitis B virus HBx protein is a dual specificity cytoplasmic activator of Ras and nuclear activator of transcription factors. *EMBO J* 1995; 14:4747-4757
- 26 Benn J, Schneider RJ. Hepatitis B virus HBx protein activates Ras-GTP complex formation and establishes a Ras, Raf, MAP kinase signaling cascade. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:10350-10354
- 27 Benn J, Su F, Doria M, Schneider RJ. Hepatitis B virus HBx protein induces transcription factor AP-1 by activation of extracellular signal-regulated and c-Jun N-terminal mitogen-activated protein kinases. *J Virol* 1996;70:4978-4985
- 28 Natoli G, Avantiaggiati ML, Chirillo P, Puri PL, Ianni A, Balsano C, Levrero M. Ras- and Raf-dependent activation of c-Jun transcriptional activity by the hepatitis B virus transactivator pX. *Oncogene* 1994;9:2837-2843



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

