

# 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  $\beta_1$  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 14010040

50

www.wjgnet.com



## 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

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蛋白对蛋白酪氨酸激酶信号转导的影响. 世界华人消化杂志 2003;11(8):1261-1264

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1261.asp>

### 0 引言

生物细胞每时每刻都在接触着来自细胞内或者细胞外的各种各样信号. 信号只是个诱因, 生理反应是信号作用于细胞的最终结果. 相同的信号作用于不同的细胞可以引发完全不同的生理反应; 不同的信号作用于同一种细胞却可以引发出相同的生理反应. 细胞的一切生命活动都与信号有关, 信号是细胞一切活动的始作俑者. 因此, 对信号转导的研究非常重要. 由于肝炎病毒可以影响细胞信号转导, 引起细胞的病变及恶性转化<sup>[1]</sup>, 而蛋白酪氨酸激酶是重要的细胞信号转导激酶, 因此深入研究二者的相互关系对肝炎病毒的发病机制会有进一步的了解.

### 1 蛋白酪氨酸激酶的分类

蛋白酪氨酸激酶(protein tyrosine kinase, PTK)是一组催化酪氨酸残基磷酸化的酶, 他们通过从三磷酸腺苷上转移一个磷原子到酪氨酸残基上, 而使底物蛋白活化. 目前, 已发现 PTK 有 100 多个家族成员, 他们通过活化底物蛋白, 参与细胞的信号转导, 最终, 这些信号转导入细胞核内, 引起某些基因表达水平的改变, 使诸如细胞生长之类的复杂的细胞功能得以调节. 因此在调节细胞的分化、生长和激活中起到重要作用. 根据 PTK 的结构, 可分为受体型和非受体型 PTK 两大类, 前者又称跨膜 PTK, 后者又称细胞内 PTK. 生长因子受体 PTK(受体型酪氨酸激酶或 RTK): 这一类蛋白酪氨酸激酶为跨膜蛋白, 其胞外部分为配体结合区, 中间有跨膜区, 胞内部分含有蛋白酪氨酸激酶的催化结构域. 根据他们的结构不同可分为表皮生长因子受体(EGFR)家族、胰岛素受体家族、血小板衍生生长因子(PDGF)受体家族和成纤维细胞生长因子受体(FGFR)家族. 这些信号转导分子的结构有利于信息从细胞外单向地流入细胞内, 这个过程有配体-受体的专一性. RTK 的胞内域都有一个或者几个专一的酪氨酸残基, 他们在配体与 RTK 胞外域结合时被磷酸化. 这些酪氨酸

残基通常位于 PTK 域的 C-末端和蛋白分子的 C-末端尾之间的区域内<sup>[1-3]</sup>. 蛋白酪氨酸激酶受体与配体结合后往往形成二聚体, 继而发生酶活性的增高, 使受体胞内部分的酪氨酸磷酸化增强, 磷酸化的受体酶活性进一步增强. 此外更重要的是, 磷酸化的受体可以募集含有 SH2 结构域的信号分子, 从而将信号转导至下游分子. 非受体型的蛋白酪氨酸激酶: 非受体型的蛋白酪氨酸激酶有 8 个亚族, 即 Src、Tec、Csk、Fes、Abl、Syk/ZAP-70、Fak 和 JAK. 其中 Src 家族有 Src、Fyn、Lck、Lyn 等<sup>[1,2]</sup>, 与受体结合存在, 当配体与受体结合后被激活; Tec 家族有 Btk、Itk、Tec 等, 与受体结合或不结合存在, 配体结合后被激活; ZAP70 家族有 ZAP70 和 Syk, 与磷酸化的受体结合后被激活. JAK 家族有 JAK1、JAK2、JAK3 和 TYK2 等. 这些 PTKs 或者直接与受体形成复合物, 或者间接地依次被激活, 在转导受体信号过程中起着接力棒的作用. 其中经典的是 Src 和 JAK 家族, SRC 激酶家族具有 3 个基本结构域: SH1、SH2 和 SH3. SH 结构域是 Src 同源性结构域的简称, 非受体型 Src 的 N 端是由 70-80 个氨基酸残基组成的 M 段, 结构因不同 PTK 而异, 随后的两个功能区 SH3 和 SH2 结构相对稳定, 其中 SH3 和富含脯氨酸的基序结合, SH2 则专门识别并结合发生了磷酸化的酪氨酸. SH1 是一个结构高度保守的功能区, 特点是带有一个能发生自身磷酸化的酪氨酸残基(Y)和一个结合着 ATP 的赖氨酸残基, 后者通过释放 ATP 使底物发生磷酸化, 因而 SH1 是激酶 PTK 的活性中心. 另外, PTK 的 C 端还有一个具有负调节功能的酪氨酸残基(Y), 当他发生磷酸化时, PTK 活性处于抑制状态. JAK 激酶其近羧基端的结构域具酪氨酸蛋白激酶的全部保守序列, 可能有酪氨酸蛋白激酶的活性, 其氨基端是另一个酪氨酸激酶样结构域, 包含全部激酶的各个亚结构域, 但可能不会有激酶活性, 其功能有待证明. 大部分的酪氨酸蛋白激酶位于胞膜上或胞质内, 近年来却发现核内也存在着酪氨酸蛋白激酶, 这对于信号在核内的转导有重要意义. 重要的细胞核内 PTKs 有 Abl 和 Wee. Abl 既存在于胞核内, 也存在于胞质中, 已发现其参与转录过程和细胞周期的调节; Wee 只存在于核内, 他可调节细胞周期素-2(CDK2)的活性, 抑制其磷酸化, 对细胞进入有丝分裂期具有调节作用<sup>[1]</sup>.

### 2 蛋白酪氨酸激酶的活化

受体型的 PTK 被分子间二聚机制激活, 而非受体型的 PTK 被分子间和分子内 2 种二聚机制激活<sup>[1,3]</sup>. 蛋白酪氨酸激酶的活化过程可包括两步反应: 第一步是配体结合诱导的受体二聚化作用, 受体二聚化可能是由于二价的配体结合作用导致受体二聚化; 或由于配体的结合诱导受体发生构象改变, 成为稳定的活化型二聚体. 受体的二聚作用对于激活他们内在的催化活性和生长因子受体的自身磷酸化作用是必须的. 聚合可以是同源的,

也可以是异源的,由于聚合体中的每个成员都能够罗织不同的信号转导分子.二聚作用提高受体型PTK催化活性的机制是其催化域内的活性环(A环)中的一个或者多个酪氨酸被磷酸化了.许多细胞质型PTK的催化活性也因其A环中酪氨酸残基的转磷酸化作用而被激活;PTK活化作用的第二步是受体的自动磷酸化作用,磷酸化作用主要发生在PTK二聚体中2个受体分子胞质激酶结构域内保守的酪氨酸(Tyr)残基上,磷酸化酪氨酸残基(Tyr<sup>P</sup>)不仅可大大提高激酶的活性,并且每个受体分子可有多磷酸化位点,为下游含SH2结构域蛋白或激酶提供停泊位点<sup>[3]</sup>.

SH2是无催化功能的蛋白组件,其大小约100 aa. PTK发现之初,认为仅仅是一种分布胞质中保守的结构域,后来在病毒癌基因v-fps/fes和v-src中也有发现.虽然他们看来不具有内在的催化活性,但是很快就发现这个亚域在信号转导过程中是非常重要的,因为在被激活的、癌基因来源的PTK的下游分子中都有这个结构域.在正常情况下,Fujinami肉瘤病毒编码的转化蛋白p130gag-/fps可以将细胞转化为癌细胞,但是,如果这个蛋白的SH2域发生突变,其转化细胞的能力就被抑制<sup>[4]</sup>.因此,PTK的信号转导既需要有功能的、活化的PTK域,又需要有功能的SH2域.总而言之,PTK域/SH2域组合对于真核细胞中信号转导专一性的产生是至关重要的.

### 3 PTK对细胞信号转导的影响及机制

许多生长因子和细胞因子通过激活PTK转化信号.大多数生长因子受体内部都具有酪氨酸激酶结构域,因而细胞因子受体能够与细胞内酪氨酸激酶耦联,通过一些递质和衔接于酪氨酸激酶能进一步激活一系列下游丝氨酸/苏氨酸激酶,后者又能进一步刺激细胞核和细胞质中转录因子<sup>[5,6]</sup>.大量的证据表明,激酶级联反应通路在细胞分化、增生和生存方面起着十分重要的作用.由配体-受体、二聚体激活的PTK能够导致一系列下游信号通路的激活,包括PI3激酶通路和Ras-Raf-MAP激酶通路.PI3激酶和MAP激酶被认为可能介导细胞生存和细胞分裂反应<sup>[6,7]</sup>.大多数生长因子能够激活PTK-PI3激酶和PTK-Ras-MAP激酶通路,这样他们可以作为促分裂剂作用各种细胞,剥夺生长因子或细胞因子,可以导致细胞生长停止或凋亡,因此生长因子IGF-1、EGF和FDGF又被认为是存活因子,但是EGF也能诱导细胞发生凋亡<sup>[8]</sup>.因此PTK信号转导可能在细胞生长存活方面具有双重作用.在研究干扰素诱发基因表达时发现了一条从细胞表面受体到转录因子的直接信号通路<sup>[9,10]</sup>.在这条通路中,STAT介导了信号转导. STAT具有SH2结构域,能够直接与酪氨酸磷酸化修饰的受体结合<sup>[11]</sup>.然后STAT蛋白被PTK(如JAK酪氨酸激酶)磷酸化和活化<sup>[12,13]</sup>,被激活的STAT转换成有活性的转录因子,并转移至核内,可与核内DNA结合因

子形成一个有活性的转录复合体,从而调控细胞的基因表达<sup>[8,14]</sup>.

ABL基因编码一个非受体型PTK,即ABL蛋白.c-ABL原癌基因最初是作为Abelson鼠白血病病毒基因在人类细胞的同源基因而引起注意的.目前已证实,BCR-ABL和TEL-ABL这两种融合基因与人类白血病有关.BCR-ABL融合基因由9和22号染色体相互易位形成.体外实验的结果表明:BCR-ABL融合基因产物可使造血细胞由生长因子依赖性转变为非依赖性,从而发生恶性变<sup>[15]</sup>.BCR-ABL融合基因产物还阻止髓系细胞发生凋亡<sup>[16]</sup>.多项体内实验都表明,单是BCR-ABL融合基因产物就足以使实验动物发生CML样的骨髓增生性疾病.

和T细胞激活信号转导有关的两类PTK,src家族:Ick蛋白(p56<sup>Ick</sup>)和fyn蛋白(p59<sup>fyn</sup>),皆为细胞癌基因产物;Syr家族:ZAP-70.T细胞通过两条主要途径识别信号胞内转导,T细胞受体(TCR) $\alpha/\beta$ 链识别抗原肽和主要组织相容性复合物(MHC)分子后,发生TCR/CD3、CD4和CD45的分子多聚现象,使结合于CD4分子胞内段的56<sup>Ick</sup>和结合于TCR/CD3的p56<sup>fyn</sup>两种PTK激活.激活的Ick和fyn蛋白藉SH1使CD3 $\zeta$ 链胞内段上的酪氨酸发生磷酸化形成酪氨酸激活基序(TAM),后者通过与SH2的结合,一方面使带有SH2结构的ZAP-70活化,引发信号转导的第一途径,即磷脂酰肌醇途径;同时,TAM和SH2的结合可以活化其他带有SH2结构的蛋白(SH2-containing protein, SHC),引发信号转导的第二条途径,又称ras信号转导途径<sup>[1-3]</sup>.

脂多糖(Lps)是一类具有高度活性的大分子物质,可依赖LBP/CD14系统作用于细胞,特别是单核细胞、巨噬细胞和中性粒细胞(PMNS)等通过一系列胞内信号转导系统诱导细胞产生多种生物活性分子,如:肿瘤坏死因子(TNF) $\alpha$ ,白介素,前列腺素等,在革兰氏阴性菌感染的发病机制中扮演着十分重要的角色.Lps与CD14的结合导致PTK的活化,从而激活下游的MAPK.一些实验表现,PTK抑制剂能抑制Lps诱导巨噬细胞产生TNF- $\alpha$ 、IL-b及其杀瘤细胞活性.

Ito et al<sup>[17]</sup>为研究c-Src在肝细胞癌(HCC)和肝内胆管癌中的致癌作用,运用免疫组化技术识别活化的c-Src,结果提示活化的c-Src与肿瘤发生有关.为进一步了解PTK和HCC的关系,Ito et al又研究表皮生长因子受体(EGF-R),c-erbB-2,c-erbB-3和c-erbB-4在HCC中的表达,说明他们在HCC的进展中起着重要作用.Csk是胞质的蛋白酪氨酸激酶,通过分析Csk的定位、含量和酶的活力调查Csk在HCC中的作用,发现Csk的活性明显降低<sup>[18]</sup>.

4 乙型和丙型肝炎病毒蛋白与蛋白酪氨酸激酶的信号转导 HBxAg具有反式激活作用.HBxAg激活的转录因子包括NF- $\kappa$ B、NF-AT、AP-1和ATF/CREB<sup>[19,20]</sup>.HBxAg因此是许多转录元件和因子的激活剂<sup>[21,22]</sup>.许多报告表明

HBxAg 的活性是因其能激活细胞质信号转导途径的能力, 特别是 MAPK 通路、JNK 通路及 Src 酪氨酸激酶家族<sup>[23]</sup>. HBxAg 激活 Src 对病毒复制非常重要, Klein et al<sup>[24]</sup> 证明 HBxAg 激活 Src 酪氨酸激酶启动高水平的病毒复制. HBxAg 通过 Src 介导的途径刺激病毒前基因组 mRNA 逆转录为基因组 DNA, 抑制 Src 酪氨酸激酶活性可以有利的破坏病毒的逆转录. 结果表明 HBxAg 刺激 Src 酪氨酸激酶进而刺激病毒聚合酶活性. 抑制 HBxAg 活化的 Src 信号不能损害包含前基因组 mRNA 病毒粒子, 仅轻度减少病毒复制水平; 而 HBxAg 活化的 Src 信号能刺激病毒前基因组 mRNA 的逆转录和次级基因组 DNA 合成. 结果提示哺乳动物肝炎病毒对 Src 型激酶的特异需求. 与 SH2/SH3 相关的信号蛋白分为两类: 包含具有酶活性的如细胞质 PTK 的 Abl、Csk、Src 和 Syk, 非酶活性的接头蛋白如 Crk2、Grb2、Nck 和 Shc. 他们形成多蛋白复合体使细胞外信号转导给下游效应子而调节各种细胞反应. 许多研究显示在转染细胞内 HBxAg 是体内信号转导通路的激活剂<sup>[25-31]</sup>, 其影响信号转导通路的能力对 HBV 的感染和复制非常重要. HBxAg 激活 MAPK 信号通路, 这是 HBxAg 转录活性的基本, 包括激活转录因子 AP1/Fos-Jun 和 NF- $\kappa$ B<sup>[32, 33]</sup> 以及 RNA 聚合酶 III 指导的转录<sup>[34]</sup>. HBxAg 也通过刺激信号转导通路的方式刺激细胞周期控制点的降解<sup>[35]</sup>.

人巨细胞病毒可以通过增强 Jak 蛋白的降解而抑制 IFN  $\gamma$  诱导的 Jak-STAT 信号<sup>[36]</sup>. IFN  $\alpha$  和 IFN  $\beta$  与异二聚体的 IFN  $\alpha$  / $\beta$  受体结合, 配体结合导致两种与 IFNAR1 和 IFNAR2 有关的细胞质 PTK 激酶(Tyk2 和 Jak1)的活化<sup>[37]</sup>. Heim et al<sup>[38]</sup> 在 UHCV 细胞种表达 HCV 并用干扰素处理细胞, 通过 Western blotting 和 EMSA, 证明 HCV 蛋白能抑制干扰素诱导的 Jak-STAT 信号通路, 但对 TNF  $\alpha$  经 NF- $\kappa$ B 诱导的通路无影响. HCV 干扰 IFN 诱导的信号通路可能是一种逃避宿主免疫的策略. Kato et al<sup>[39]</sup> 认为在 HCV 和 HBV 的结构和非结构蛋白中, HCV 核心蛋白对细胞内的信号最有影响, 包括 NF- $\kappa$ B、AP-1 和 SRE 相关通路. Yoshida et al<sup>[40]</sup> 报告 HCV 核心蛋白直接与 STAT3 结合并经酪氨酸残基的磷酸化结合 STAT3, 在 NIH 3T3 细胞内 HCV 核心蛋白活化的 STAT3 引起细胞的快速增生及 Bcl-XL 和细胞周期素 -D1 的上调, 说明 HCV 核心蛋白与 STAT3 协同导致细胞的转化.

## 5 参考文献

- 1 成军. 肿瘤相关基因. 第 1 版. 北京: 北京医科大学出版社, 1999: 29-60
- 2 金伯泉. 细胞和分子免疫学. 第 1 版. 西安: 世界图书出版公司, 1995: 294-296
- 3 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
- 4 Weinmaster GA, Middlemas DS, Hunter T. A major site of

- tyrosine phosphorylation within the SH2 domain of Fujinami sarcoma virus P130 gag-fps is not required for protein-tyrosine kinase activity or transforming potential. *J Virol* 1988; 62:2016-2025
- 5 Karin M, Hunter T. Transcriptional control by protein phosphorylation: signal transmission from the cell surface to the nucleus. *Curr Biol* 1995;5:747-757
- 6 Schindler C, Shuai K, Prezioso VR, Darnell JE Jr. Interferon-dependent tyrosine phosphorylation of a latent cytoplasmic transcription factor. *Science* 1992;257:809-813
- 7 Van der Geer P, Hunter T, Lindberg RA. Receptor protein-tyrosine kinases and their signal transduction pathways. *Annu Rev Cell Biol* 1994;10:251-337
- 8 Brabyn CJ, Klein LP. EGF causes hyperproliferation and apoptosis in T51B cells: involvement of high and low affinity EGFR binding sites. *Cell Signal* 1995;7:139-150
- 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 Leonard WJ, O'shea JJ. Jaks and STATs: biological implications. *Annu Rev Immunol* 1998;16:293-322
- 11 Stahl N, Farruggella TJ, Boulton TG, Zhong Z, Darnell JE Jr, Yancopoulos GD. Choice of STATs and other substrates specified by modular tyrosine-based motifs in cytokine receptors. *Science* 1995;267:1349-1353
- 12 Schlessinger J, Ullrich A. Growth factor signaling by receptor tyrosine kinases. *Neuron* 1992;9:383-391
- 13 Ihle JN. The Janus protein tyrosine kinases in hematopoietic cytokine signaling. *Semin Immunol* 1995;7:247-254
- 14 Kessler DS, Veals SA, Fu XY, Levy DE. Interferon-alpha regulates nuclear translocation and DNA-binding affinity of ISGF3, a multimeric transcriptional activator. *Genes Dev* 1990;4: 1753-1765
- 15 Daley GQ, Baltimore D. Transformation of an interleukin 3-dependent hematopoietic cell line by the chronic myelogenous leukemia-specific P210 bcr/abl protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:9312-9316
- 16 Cambier N, Chopra R, Strasser A, Metcalf D, Elefanti AG. BCR-ABL activates pathways mediating cytokine independence and protection against apoptosis in murine hematopoietic cells in a dose dependent manner. *Oncogene* 1998;16: 335-348
- 17 Ito Y, Takeda T, Sakon M, Tsujimoto M, Higashiyama S, Noda K, Miyoshi E, Monden M, Matsuura N. Expression and clinical significance of erb-B receptor family in hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 2001;84:1377-1383
- 18 Masaki T, Okada M, Tokuda M, Shiratori Y, Hatase O, Shirai M, Nishioka M, Omata M. Reduced C-terminal Src kinase (Csk) activities in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1999; 29:379-384
- 19 Benn J, Schneider RJ. Hepatitis B virus HBx protein activates Ras-GTP complex formation and establishes a Ras, Raf, MAP kinase signalling cascade. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91: 10350-10354
- 20 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
- 21 Haviv I, Shamay M, Doitsch G, Shaul Y. Hepatitis B virus pX targets TFIIB in transcription coactivation. *Mol Cell Biol* 1998; 18:1562-1569
- 22 Haviv I, Vaizel D, Shaul Y. pX, the HBV-encoded coactivator, interacts with components of the transcription machinery and stimulates transcription in a TAF-independent manner. *EMBO J* 1996;15:3413-3420
- 23 Klein NP, Schneider RJ. Activation of Src family kinases by hepatitis B virus HBx protein and coupled signaling to Ras.

*Mol Cell Biol* 1997;17:6427-6436

- 24 Klein NP, Bouchard MJ, Wang LH, Kobarg C, Schneider RJ. Src kinases involved in hepatitis B virus replication. *EMBO J* 1999;18:5019-5027
- 25 Natoli G, Avantaggiati 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
- 26 Dandri M, Schirmacher P, Rogler CE. Woodchuck hepatitis virus X protein is present in chronically infected woodchuck liver and woodchuck hepatocellular carcinomas which are permissive for viral replication. *J Virol* 1996;70:5246-5254
- 27 Wang HD, Yuh CH, Dang CV, Johnson DL. The hepatitis B virus X protein increases the cellular level of TATA-binding protein which mediates transactivation of RNA polymerase III genes. *Mol Cell Biol* 1995;15:6720-6728
- 28 Chirillo P, Falco M, Puri PL, Artini M, Balsano C, Levrero M, Natoli G. Hepatitis B virus pX activates NF-Kappa B-dependent transcription through a Raf-independent pathway. *J Virol* 1996;70:641-646
- 29 Su F, Schneider RJ. HBV HBx protein activates transcription factor NF- $\kappa$ B by acting on multiple cytoplasmic inhibitors of rel-related proteins. *J Virol* 1996;70:4558-4566
- 30 Su F, Schneider RJ. Hepatitis B virus HBx protein sensitizes cells to apoptotic killing by tumor necrosis factor alpha. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:8744-8749
- 31 Cong YS, Yao YL, Yang WM, Kuzhandaivelu N, Seto E. The hepatitis B virus X-associated protein, XAP3, is a protein kinase C-binding protein. *J Biol Chem* 1997;272:16482-16489
- 32 Cross JC, Wen P, Rutter WJ. Transactivation by hepatitis B virus X protein is promiscuous and dependent on mitogen activated cellular serine/threonine kinases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:8078-8082
- 33 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
- 34 Wang HD, Trivedi A, Johnson DL. Hepatitis B virus X protein induces RNA polymerase III-dependent gene transcription and increases cellular TATA-binding protein by activating the Ras signaling pathway. *Mol Cell Biol* 1997;17:6838-6846
- 35 Benn J, Schneider RJ. Hepatitis B virus HBx protein deregulates cell cycle checkpoint controls. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:11215-11219
- 36 Miller DM, Rahill BM, Boss JM, Lairmore MD, Durbin JE, Waldman JW, Sedmak DD. Human cytomegalovirus inhibits major histocompatibility complex class II expression by disruption of the Jak/Stat pathway. *J Exp Med* 1998;187:675-683
- 37 Velazquez L, Fellous M, Stark GR, Pellegrini S. A protein tyrosine kinase in the interferon alpha/beta signaling pathway. *Cell* 1992;70:313-322
- 38 Heim MH, Moradpour D, Blum HE. Expression of Hepatitis C Virus Proteins Inhibits Signal Transduction through the Jak-STAT Pathway. *J Virol* 1999;73:8469-8475
- 39 Kato N, Yoshida H, Kioko Ono-Nita S, Kato J, Goto T, Otsuka M, Lan K, Matsushima K, Shiratori Y, Omata M. Activation of intracellular signaling by hepatitis B and C viruses: C-viral core is the most potent signal inducer. *Hepatology* 2000;32:405-412
- 40 Yoshida T, Hanada T, Tokuhisa T, Kosai KI, Sata M, Kohara M, Yoshimura A. Activation of STAT3 by the hepatitis c virus core protein leads to cellular transformation. *J Exp Med* 2002;195:641-653

## 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

成军, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚, 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  
国家自然科学基金资助项目, No.C39970674, No. C03011402  
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, 王琳, 钟彦伟, 王刚. RNA干扰与抗肝炎病毒治疗前景的研究. 世界华人消化杂志 2003;11(8):1264-1266

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1264.asp>

### 0 引言

从基因的分子生物学角度, 病毒性肝炎也是一种基因病, 相对于正常肝细胞来说, 从肝炎患者的肝细胞中获得了肝炎病毒的基因, 因此, 病毒性肝炎的治疗也可以采取象遗传病那样的基因治疗(gene therapy)策略<sup>[1-5]</sup>. 与遗传病的基因治疗策略不同, 遗传病往往是因为某一或某些基因发生缺陷, 利用基因治疗技术进行补充或者校正; 而病毒性肝炎的基因治疗, 往往是需要采取另外的策略, 即阻断有害的病毒的基因表达的策略. 因为病毒性肝炎的发病机制, 主要是进入肝细胞的肝炎病毒基因编码产生相应的肝炎病毒蛋白, 作为靶抗原激活机体的免疫应答机制, 这种原本是要清除肝细胞中肝炎病毒的正常的免疫应答机制, 却造成了持续的肝细胞的免疫损伤, 引起各种类型的肝脏疾病. 特别是乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)感染引起的慢性病毒性肝炎, 迁延不愈, 释放的各种炎症因子导致肝细胞内贮脂细胞(stellate cell)的激活、转化、增生, 分泌过量的细胞外基质(ECM), 并引起肝脏纤维化的形成, 某些情况下通过复杂的生物学机制导致肝细胞的恶性转化, 引起肝细胞癌(HCC)的发生<sup>[6-10]</sup>. 因此, 从肝炎病毒引起的一系列肝脏疾病谱来看, 主要的源头就是肝细胞中肝炎病毒基因的存在, 因此采用基因治疗技术阻断肝炎病毒基因在肝细胞中的复制和表达, 是我们应该考虑的主要治疗靶点<sup>[11-16]</sup>.

关于阻断肝细胞内肝炎病毒基因复制和表达的策略, 已经进行了许多的基因治疗实验研究的尝试, 如反义寡聚脱氧核糖核苷酸(ODN)、反义RNA、核酶(ribozyme)等曾经是人们关注的焦点, 以人源化单链可变区抗体(scFv)为目的基因的细胞内免疫(intracellular immunization)基因治疗技术也是非常具有吸引力的策略. 最近研究表明, RNA干扰(RNA interference)可能是进行抗肝炎病毒基因治疗的新策略<sup>[4, 5]</sup>.

### 1 RNA干扰的机制与策略

1995年Guo et al<sup>[17]</sup>在研究美丽隐杆线虫(*C. elegans*)的par1基因功能时, 将par1基因的反义RNA表达载体导



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

