

- D. The pathological mechanisms of glycoregulation disturbances in chronic hepatitis B and C. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2002;107:294-297
- 14 Chen LK, Hwang SJ, Tsai ST, Luo JC, Lee SD, Chang FY. Glucose intolerance in Chinese patients with chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2003;9:505-508
- 15 Konrad T, Zeuzem S, Toffolo G, Vicini P, Teuber G, Briem D, Lormann J, Lenz T, Herrmann G, Berger A, Cobelli C, Usadel K. Severity of HCV-induced liver damage alters glucose homeostasis in noncirrhotic patients with chronic HCV infection. *Digestion* 2000;62:52-59
- 16 Mason AL, Lau JY, Hoang N, Qian K, Alexander GJ, Xu L, Guo L, Jacob S, Regenstein FG, Zimmerman R, Everhart JE, Wasserfall C, Maclaren NK, Perrillo RP. Association of diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1999;29:328-333
- 17 Mayo MJ. Extrahepatic manifestations of hepatitis C infection. *Am J Med Sci* 2003;325:135-148
- 18 Picerno I, Di Pietro A, Spataro P, Di Benedetto A, Romano G, Scoglio ME. Is diabetes mellitus a risk factor for HCV infection? *Ann Ig* 2002;14:473-477
- 19 Okan V, Araz M, Aktaran S, Karsligil T, Meram I, Bayraktaroglu Z, Demirci F. Increased frequency of HCV but not HBV infection in type 2 diabetic patients in Turkey. *Int J Clin Pract* 2002;56:175-177
- 20 Uto H, Matsuoka H, Murata M, Okamoto T, Miyata Y, Hori T, Ido A, Hirono S, Hayashi K, Tsubouchi H. A case of chronic hepatitis C developing insulin-dependent diabetes mellitus associated with various autoantibodies during interferon therapy. *Diabetes Res Clin Pract* 2000;49:101-106
- 21 Konrad T, Zeuzem S, Vicini P, Toffolo G, Briem D, Lormann J, Herrmann G, Berger A, Kusterer K, Teuber G, Cobelli C, Usadel KH. Evaluation of factors controlling glucose tolerance in patients with HCV infection before and after 4 months therapy with interferon-alpha. *Eur J Clin Invest* 2000;30:111-121
- 22 Konrad T, Vicini P, Zeuzem S, Toffolo G, Breim D, Lormann J, Herrmann G, Wittmann D, Lenz T, Kusterer K, Teuber G, Cobelli C, Usadel KH. Interferon-alpha improves glucose tolerance in diabetic and non-diabetic patients with HCV-induced liver disease. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1999;107:343-349
- 23 Dolganiuc A, Kodys K, Kopasz A, Marshall C, Do T, Romics L Jr, Mandrekar P, Zapp M, Szabo G. Hepatitis C virus core and nonstructural protein 3 proteins induce pro- and anti-inflammatory cytokines and inhibit dendritic cell differentiation. *J Immunol* 2003;170:5615-5624
- 24 Frese M, Barth K, Kaul A, Lohmann V, Schwarzle V, Bartenschlager R. Hepatitis C virus RNA replication is resistant to tumour necrosis factor-alpha. *J Gen Virol* 2003;84:1253-1259
- 25 Taliani G, Badolato MC, Nigro G, Biasin M, Boddi V, Pasquazzi C, Clerici M. Serum concentration of gammaGT is a surrogate marker of hepatic TNF-alpha mRNA expression in chronic hepatitis C. *Clin Immunol* 2002;105:279-285
- 26 Constantini PK, Wawrzynowicz-Syczewska M, Clare M, Boron-Kaczmarek A, McFarlane IG, Cramp ME, Donaldson PT. Interleukin-1, interleukin-10 and tumour necrosis factor-alpha gene polymorphisms in hepatitis C virus infection: an investigation of the relationships with spontaneous viral clearance and response to alpha-interferon therapy. *Liver* 2002;22:404-412
- 27 Caradonna L, Mastronardi ML, Magrone T, Cozzolongo R, Cuppone R, Manghisi OG, Caccavo D, Pellegrino NM, Amoroso A, Jirillo E, Amati L. Biological and clinical significance of endotoxemia in the course of hepatitis C virus infection. *Curr Pharm Des* 2002;8:995-1005
- 28 Macias J, Sanchez-Quintero A, Pineda JA, Abad MA, Rubio A, Rosa R, Leal M, Lissen E. Minimal liver injury in chronic hepatitis C virus infection is associated with low levels of soluble TNF-alpha/Fas receptors and acquisition in childhood. *Liver* 2001;21:410-414
- 29 Spanakis NE, Garinis GA, Alexopoulos EC, Patrinos GP, Menounos PG, Sklavounou A, Manolis EN, Gorgoulis VG, Valis D. Cytokine serum levels in patients with chronic HCV

infection. *J Clin Lab Anal* 2002;16:40-46

- 30 Liu ZX, Nishida H, He JW, Lai MM, Feng N, Dennert G. Hepatitis C virus genotype 1b core protein does not exert immunomodulatory effects on virus-induced cellular immunity. *J Virol* 2002;76:990-997
- 31 Gochee PA, Jonsson JR, Clouston AD, Pandeya N, Purdie DM, Powell EE. Steatosis in chronic hepatitis C: association with increased messenger RNA expression of collagen I, tumor necrosis factor-alpha and cytochrome P450 2E1. *J Gastroenterol Hepatol* 2003;18:386-392
- 32 Perseghin G, Caloni M, Mazzaferro V, Luzi L. Hepatogenic diabetes. *Recent Prog Med* 2001;92:757-761

## 核转录因子Rel/NF- $\kappa$ B与乙型肝炎病毒

刘妍, 成军, 王建军, 杨倩

刘妍, 成军, 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  
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: 2003-06-24 接受日期: 2003-07-16

### 摘要

乙型肝炎病毒(HBV)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(HCC)的发生密切相关. 真核细胞转录因子NF- $\kappa$ B在慢性HBV感染及致HCC发生过程中发挥重要作用, 本文对核转录因子Rel/NF- $\kappa$ B的分子生物学特征、活化和转录调控机制、参与HBV编码蛋白致病及在细胞凋亡发生过程中的机制进行了简要综述.

刘妍, 成军, 王建军, 杨倩. 核转录因子Rel/NF- $\kappa$ B与乙型肝炎病毒. 世界华人消化杂志 2004;12(1):145-148

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/145.asp>

### 0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)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(HCC)的发生密切相关. 虽然HBV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. 其中肝炎病毒编码蛋白对于肝细胞基因组表达的反式调节作用, 即肝炎病毒蛋白与肝细胞基因组启动子DNA结合, 对于肝细胞基因表达谱产生影响, 从而调节肝细胞的生长、代谢、凋亡及恶性转化, 在HBV感染致病机制中起着重要作用<sup>[1-2]</sup>. 真核细胞转录因子NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa B)能够广泛调节机体的免疫应答和炎症反应. 自1980年发现NF- $\kappa$ B以来, 人们对其分子生物学特征、作用机制及与疾病的关系作了广泛研究, 近年研究发现NF- $\kappa$ B在慢性乙型肝炎病毒感染及致肝

细胞癌发生过程中发挥重要作用<sup>[3,4]</sup>.

## 1 NF- $\kappa$ B 的结构与功能

**1.1 NF- $\kappa$ B 与 Rel 蛋白质家族** NF- $\kappa$ B 是真核细胞转录因子 Rel 蛋白质家族成员,作为一种 DNA 结合蛋白质因子,最初是在研究 B 淋巴细胞免疫球蛋白  $\kappa$  轻链基因调控时发现的,可以和增强子  $\kappa$ B 序列特异性结合,促进  $\kappa$  轻链基因的表达,因而得名<sup>[3]</sup>. 后来研究发现多种与 NF- $\kappa$ B 结构相关的、能与 DNA 特定区域结合而发挥转录调控作用的蛋白质,包括 p50/p105、p52/p100、RelA(p65)、RelB 和 c-Rel 等,称为 Rel 蛋白质家族. 他们之间可以形成多种形式的同源或异源二聚体,如  $\kappa$ BF1(p50 亚基同源二聚体), p50 和 p52 的前体蛋白 p105 和 p100 分别称为 NF- $\kappa$ B1 和 NF- $\kappa$ B2,而起主要调控作用的是 p50 和 RelA 亚基组成的异源二聚体,这就是通常所说的 NF- $\kappa$ B<sup>[5]</sup>.

Rel 蛋白质家族分子结构氨基末端(N端)约300个氨基酸残基(aa)区域具有共同特征,称为 Rel 同源区,包括 DNA 结合功能域、二聚体化功能域、核定位序列(NLS)及潜在的 cAMP 依赖性的蛋白激酶 A(PKA)磷酸化位点,与其浆内定位、激活后迁移入核以及 DNA 结合功能有关. 而羧基末端(C端)却有显著的差异,据此可将 Rel 蛋白质分为 2 类: 1 类含有锚蛋白(ankyrin)重复序列,如 p105 和 p100; 另 1 类含有反式激活(transactivation, TA)功能域,如 RelA、RelB、c-Rel.

**1.2 NF- $\kappa$ B 抑制因子及与 NF- $\kappa$ B 间的作用** 研究发现<sup>[6]</sup> NF- $\kappa$ B 活性只出现在某些细胞核抽提物中,而在静止期的细胞,他是以无活性的潜伏状态定位于胞质中,原因是 NF- $\kappa$ B 与其抑制因子相互结合而存在. 这些抑制因子包括 I $\kappa$ B 蛋白质家族( $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\varepsilon$ 、 $\lambda$ ), NF- $\kappa$ B 前体分子 p105 和 p100 以及原癌基因 bcl3 的产物,其中最重要的是 I $\kappa$ B $\alpha$  和 I $\kappa$ B $\beta$ , 他们具有特征性的锚蛋白重复序列,能与 RelA 亚基 DNA 位点结合,覆盖 p50 NLS. 他们的主要作用有: 阻止 NF- $\kappa$ B 向核内转移; 阻止 NF- $\kappa$ B 与 DNA  $\kappa$ B 位点结合; 促进 NF- $\kappa$ B 与 DNA 复合物解离. NF- $\kappa$ B 与其抑制因子之间的结合存在一定的特异性.

**1.3 NF- $\kappa$ B 的活化及转录调控** 定位于胞质的 NF- $\kappa$ B p50-RelA 二聚体,要进入胞核发挥转录调控作用,首先必须使 RelA 亚基与 I $\kappa$ B 或 p105、p100 分离,以解除对 p50 NLS 的覆盖. 只有在多种因素的作用后, NF- $\kappa$ B 才能被活化. 能够激活 NF- $\kappa$ B 的因素很多,包括各种应激刺激、细菌黏多糖、多种细胞因子、病毒、促细胞分裂剂及氧自由基等都能够激活 NF- $\kappa$ B. 在这些因素作用下, I $\kappa$ B 抑制因子降解, NF- $\kappa$ B p50-RelA 二聚体释放并向核内转移. I $\kappa$ B 的降解失活需经磷酸化和蛋白降解的过程,并受细胞氧化势的影响<sup>[7]</sup>. 有报称肿瘤坏死因子 TNF- $\alpha$ (tumor necrosis factor)激活 NF- $\kappa$ B 的机制是: TNF- $\alpha$  与靶细胞表面受体结合,经第二信使二乙酰甘油(DG)途径生成 N-磷脂酰鞘氨醇,调控特异性蛋

白激酶和磷酸酶,作用于 I $\kappa$ B 后引起其构象发生改变,被泛素-蛋白酶体(ubiquitin-proteasome)途径识别而降解. 同时一些刺激因子可通过激活肿瘤坏死因子受体相关因子 TRAF(TNF-receptor associated factor)2、5 或 6,继而活化 NF- $\kappa$ B 诱导激酶 NIK(NF- $\kappa$ B inducing kinase), NIK 将 I $\kappa$ B 激酶 IKK $\alpha$ / $\beta$  (I $\kappa$ B kinase)磷酸化, IKK 又将 I $\kappa$ B $\alpha$  磷酸化,导致 I $\kappa$ B 降解. 活化的 NF- $\kappa$ B 可上调 I $\kappa$ B 的基因转录,反馈调节 I $\kappa$ B 迅速合成,使 NF- $\kappa$ B 再度失活,终止转录, NF- $\kappa$ B 被运回胞质重新利用. 另外, NF- $\kappa$ B 蛋白还可调节其自身亚基的转录,因为这些基因启动子内也存在 NF- $\kappa$ B<sup>[8]</sup>.

进入核内的 NF- $\kappa$ B 形成由两个 p50 和两个 RelA 亚基组成的活性异源四聚体分子,其中两个 p50 亚基识别靶基因启动子和增强子中的  $\kappa$ B 位点, RelA 亚基 TA 功能域发挥转录激活功能.  $\kappa$ B 位点一般由 10 bp 组成,基础碱基的保守性不同决定了 NF- $\kappa$ B 对该基因转录激活作用的大小.

**1.4 NF- $\kappa$ B 激活的病理生理意义** 多种器官和组织(包括肝脏)都表达核转录因子 NF- $\kappa$ B. 研究发现,  $\kappa$ B 位点存在于多种细胞和病毒的基因组中,因而 NF- $\kappa$ B 能够调控众多基因转录. 早期研究主要集中在 NF- $\kappa$ B 调控机体细胞黏附、免疫应答、细胞程序性死亡、炎症细胞的趋化作用、细胞分化、细胞外基质的降解等. NF- $\kappa$ B 诱导表达 IL-2,与 T 细胞增生有关,还可诱导表达 MHC-I 类抗原、巨噬细胞炎症蛋白 MIP-1 $\alpha$ 、干扰素 IFN- $\beta$ 、血管紧张素原、IL-6、细胞集落刺激因子等. 近年发现 NF- $\kappa$ B 还是与细胞存活密切相关的基因,对细胞程序性死亡起抑制作用,可抑制 TNF 诱导的细胞凋亡. 在一些病毒感染中,如免疫缺陷病毒(HIV-1) Tat 蛋白、EB 病毒(EBV)潜伏膜蛋白(LMP-1)、HBV X 蛋白、人 T 细胞白血病病毒-1(HTLV-1) Tax 蛋白、鸟逆转录病毒肿瘤蛋白 v-Rel 等能够通过 NF- $\kappa$ B 桥接作用,促进其自身复制、某些原癌基因的激活、抑癌基因的失活而致感染的靶细胞恶性转化,在这些病毒慢性感染及致肿瘤发生过程中起重要作用<sup>[9]</sup>.

## 2 NF- $\kappa$ B 与乙型肝炎病毒感染

**2.1 NF- $\kappa$ B 与乙型肝炎病毒 X 蛋白** 乙型肝炎病毒(HBV)X 蛋白可在多种真核细胞中反式激活同源或异源病毒和细胞基因的转录调控区,促进靶基因的表达. X 蛋白反式激活作用的机制主要有两个方面,1 是核内通过某些 DNA 结合蛋白激活转录因子或通过基本转录机制起作用; 另 1 机制是胞质中 X 蛋白通过细胞信号转导途径激活各种类型的转录因子,包括活化蛋白 AP-1、AP-2、AP-3、NF- $\kappa$ B、环 AMP 应答元件 CRE、Oct-1 等. 其中 AP-1 的作用是依赖蛋白激酶 C(PKC)的第二信使 DG 途径. 研究认为 NF- $\kappa$ B 在 X 蛋白激活机制中起重要作用,经 NF- $\kappa$ B 的 X 蛋白反式激活作用是非 PKC 依赖的,而是通过一些细胞因子、dsRNA、活性氧

等发挥作用. 与之相反的结论是 NF- $\kappa$ B 同 AP-1 一样, 是依赖 PKC 的 Ras/Raf/MAPK(mitogen activated protein kinase)连锁反应, 一方面 I $\kappa$ B 磷酸化、蛋白水解、NF- $\kappa$ B 活化入核; 另一方面使前体蛋白 p105 磷酸化、降解、RelA 释放增加. NF- $\kappa$ B 活化后, 一方面作用于病毒基因促进病毒复制, 另一方面作用于原癌基因的  $\kappa$ B 位点, 使原癌基因过表达, 加之多种因素综合作用, 可致肝细胞转化和肝细胞癌(HCC)的发生<sup>[10-20]</sup>. 研究发现, HBV X 蛋白能反式激活可诱导的一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)基因启动子而上调 iNOS 的基因表达. 一系列基因缺失突变分析显示, iNOS 基因启动子近端的 NF- $\kappa$ B 结合位点, 是 X 蛋白激活 iNOS 基因的结构基础. 细胞质中的 X 蛋白表达是其反式激活 iNOS 基因启动子的必要条件, 如果强制性地使在细胞核中表达 X 蛋白则失去其激活 iNOS 基因表达的活性. 表明 X 蛋白的亚细胞定位与其诱导 iNOS 基因表达水平的作用密切相关<sup>[21-22]</sup>.

**2.2 NF- $\kappa$ B 与截短型乙肝病毒表面抗原中蛋白** 近年研究发现, 从肝癌细胞系或肝癌组织中亚克隆出截短型 PreS2/S 基因表达产物(truncated middle surface proteins, MHBst), 这种变异的病毒表面中蛋白, 缺失了位于 C-末端的膜定位信号, 使 MHBst 具备内质网(ER)定位功能, 未能进入分泌途径而在内质网滞留, 其前-S2 区指向胞质区, 从而有机会与胞质蛋白相互作用, 发挥其广泛的反式激活效应. 全长的 MHBs 蛋白的前-S2 区指向 ER 腔, 进入高尔基复合体而分泌. 所以说 MHBst 的反式激活功能依赖于其 N-末端前-S2 区的胞质定位功能. MHBst 的前 S2 区发生 PKC 依赖的磷酸化反应, 前 S2 区域与 PKC  $\alpha/\beta$  结合, 触发 PKC 依赖的 c-Raf-1/MAP2- 激酶信号传递链式反应, 结果激活了转录因子如 AP-1、NF- $\kappa$ B、AP-2、SRE、Sp1 和 c-myc、c-fos 启动子, 参与病毒感染后的炎症反应和 HCC 的发生. 这种反式效应并不具有宿主细胞特异性, MHBst 在不同来源细胞中均具有反式激活作用, 而并非肝细胞特异的转录激活因子<sup>[23-32]</sup>.

**2.3 NF- $\kappa$ B 与乙肝病毒表面抗原大蛋白** 研究发现乙肝病毒表面抗原大蛋白(large HBV surface protein, LHBs)独特的拓扑结构决定其具有反式激活作用, LHBs 的前-S1 和前-S2 区有一个与翻译不同步的转位过程, 在横跨内质网膜时是指向内质网的胞质侧, 这种在胞质滞留的前-S2 区, 有机会与细胞中信号转导相关因子相互作用, 发挥其反式激活作用. LHBs 前 S2 区在翻译后初期定位于 ER 的胞质侧, 与 MHBst 相似, 能够激活多种启动子元件, 具有同样的转录激活功能. LHBs 的转录激活是依赖 PKC 的 AP-1 和 NF- $\kappa$ B 活化途径, 下游 c-Raf-1 激酶抑制剂能够明显阻断 LHBs 对 AP-1 和 NF- $\kappa$ B 的激活, 提示功能性的 c-Raf-1 激酶是该途径的先决条件. 慢性 HBV 感染的患者体内 LHBs 持续过表达, 转录反式激活病毒的启动子元件与病毒复制密切相关<sup>[33]</sup>.

**2.4 NF- $\kappa$ B 与乙肝病毒核心抗原** 研究发现, 乙型肝炎病毒核心抗原(HBV core protein, HBc)对 HBV 前基因组启动子具有转录激活功能. 对 HBV 前基因组启动子一系列的缺失突变分析显示, 负责转录激活的位点是位于 HBV 增强子 II/ 前基因组启动子上游的 NF- $\kappa$ B 结合位点(GGGACGTACT, 核苷酸 1 408-1 417). 对转染 HBc 的 HepG2 细胞核提取物进行电泳泳动度迁移率实验, 结果显示 HBc 具有正性激活剂的作用, 能够增强 NF- $\kappa$ B 的 DNA 结合活性, 促进肝细胞病毒复制<sup>[34]</sup>.

**2.5 NF- $\kappa$ B 与肝癌细胞程序性死亡** 有学者研究了 HBV X 蛋白与 NF- $\kappa$ B 在细胞程序性死亡中的作用, 用与 NF- $\kappa$ B 抑制因子 I $\kappa$ B 降解有关的蛋白酶抑制剂 ALLN 处理人肝癌细胞, 抑制 I $\kappa$ B 的降解, 从而阻断 HBV X 蛋白对 NF- $\kappa$ B 的活化. 然后用阿霉素诱导处理的肝癌细胞, 研究发现, 同等剂量阿霉素在相同实验条件下, 当 NF- $\kappa$ B 被阻断于非活性状态时的细胞程序性死亡率明显高于 NF- $\kappa$ B 处于活性状态时的细胞程序性死亡率. 即 HBV X 蛋白通过活化核转录因子 NF- $\kappa$ B 抑制肝癌细胞程序性死亡. NF- $\kappa$ B 是一种细胞存活基因, 是细胞死亡信号因子传递过程中的负反馈调节机制, 许多死亡信号在传递过程中同时可激活细胞的存活机制, NF- $\kappa$ B 的活化就是其中的机制之一. NF- $\kappa$ B 氨基端约有 300 aa 与病毒癌基因 v-Rel 同源, 与细胞存活相关. 切除 2/3 体积肝的小鼠在术后 30 min, 肝核转录因子 NF- $\kappa$ B 迅速增加, 1 h 达高峰. NF- $\kappa$ B p65 亚基基因敲除的转基因小鼠在胚胎 15-16 d 死亡, 伴随大量肝细胞程序性死亡, 导致肝功能衰竭. 同时发现抑制 NF- $\kappa$ B 活化可诱导小鼠发生程序性死亡. HBV X 蛋白通过对核转录因子 NF- $\kappa$ B 的活化而激活细胞的存活机制, 对细胞程序性死亡产生抗性, 使肝细胞呈克隆性增生<sup>[35, 36]</sup>.

研究发现肿瘤坏死因子(TNF $\alpha$ )与 TNFR 结合后可通过信号转导途径诱导细胞凋亡, 同时通过另一条途径激活与细胞存活相关基因 NF- $\kappa$ B, 而核转录因子 NF- $\kappa$ B 抑制 TNF $\alpha$  诱导的细胞凋亡, 即 TNF $\alpha$  诱导细胞凋亡的同时活化 NF- $\kappa$ B, 建立细胞防御机制, 在凋亡启动阶段就阻断死亡信号的传递, NF- $\kappa$ B 可激活 TNFR 相关因子 TRAF1、TRAF2、IAP (inhibitor of apoptosis)1 和 IAP2. 这些基因产物可相互协同在早期抑制 TNF $\alpha$  诱导的细胞凋亡. 同时核转录因子 NF- $\kappa$ B 对凋亡相关因子 caspase 8 有直接阻断作用, 而由此抑制一系列 caspase 的活化, 这也是 NF- $\kappa$ B 抗细胞凋亡的重要机制<sup>[37, 38]</sup>.

此外, 表达 HBV X 蛋白的细胞系可以抵抗抗-Fas 抗体诱导的细胞凋亡, 而且与 NF- $\kappa$ B 的激活有关. X 蛋白对于 NF- $\kappa$ B 的激活能力与内源性的 I $\kappa$ B $\alpha$  mRNA 的表达水平有关. HBV X 蛋白的表达伴随着 NF- $\kappa$ B 介导的基因转录活动. 应用特异性抑制剂抑制 NF- $\kappa$ B, 或者表达 I $\kappa$ B $\alpha$  的表达载体进行转染并抑制 NF- $\kappa$ B, 可显著促进细胞凋亡, 但是对没有转染 X 蛋白基因的细胞没有影响. 可见, HBV X 蛋白的表达及其对于 NF- $\kappa$ B 的激

活是X蛋白调节肝细胞凋亡的重要的信号转导机制<sup>[39,40]</sup>.

另一方面,重要的细胞调控蛋白 cyclin D1 是 NF- $\kappa$ B 的靶基因, NF- $\kappa$ B 可启动 cyclin D1 的转录,促进 G<sub>1</sub>/G<sub>0</sub> 期向 S 期转化,细胞过度增生,在其他协同因素下恶性转化,发生癌变<sup>[41]</sup>. 在肝细胞癌治疗过程中在常规化疗药物治疗的同时,可以选择性的阻断 NF- $\kappa$ B 活化,从而促进肝癌细胞的程序性死亡,有助于提高疗效. 随着 NF- $\kappa$ B 研究的不断深入,进一步阐明其在肝炎病毒蛋白致病中的作用,一方面可设想用 NF- $\kappa$ B 拮抗剂从 NF- $\kappa$ B 水平上阻断 X 蛋白的作用,减轻病毒复制、损伤及慢性感染的致癌性;另一方面在病毒蛋白水平,用肝炎病毒蛋白抑制剂或基因工程技术来阻断肝炎病毒蛋白的表达,达到同样的目的. 有望为乙型和丙型肝炎病毒的基因治疗打开一个新思路.

### 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, 陆荫英, 李克. 乙型肝炎病毒蛋白反式激活基因的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:217-219
- 3 Chytil M, Verdine GL. The Rel family of eukaryotic transcription factors. *Curr Opin Struct Biol* 1996;6:91-100
- 4 Tai DI, Tsai SL, Chang YH, Huang SN, Chen TC, Chang KS, Liaw YF. Constitutive activation of nuclear factor kappaB in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2000;89:2274-2281
- 5 Baeuerle PA, Baltimore D. NF-kappa B: ten years after. *Cell* 1996;87:13-20
- 6 Gilmore TD, Morin PJ. The I kappa B proteins: members of a multifunctional family. *Trends Genet* 1993;9:427-433
- 7 Sha WC. Regulation of immune responses by NF-kappa B/Rel transcription factor. *J Exp Med* 1998;187:143-146
- 8 Beg AA, Baltimore D. An essential role for NF-kB in preventing TNF- $\alpha$ -induced cell death. *Science* 1996;274:782-784
- 9 Grilli M, Chiu JJ, Lenardo MJ. NF-kappa B and Rel: participants in a multiform transcriptional regulatory system. *Int Rev Cytol* 1993;143:1-62
- 10 陆荫英, 刘妍, 成军, 张玲霞. 乙型肝炎病毒 X 蛋白的功能研究进展. 国外医学病毒学分册 2002;9:33-36
- 11 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
- 12 刘妍, 董菁, 皇甫竞坤, 成军, 王刚, 王琳, 李莉. 乙型肝炎病毒 X 基因异质性及其反式激活功能的影响. 解放军医学杂志 2002;27:125-127
- 13 Waris G. Regulatory mechanisms of viral hepatitis B and C. *J Biosci* 2003;28:311-321
- 14 Yen TS. Hepadnaviral X protein: review of recent progress. *J Biomed Sci* 1996;3:20-30
- 15 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
- 16 Guo SP, Wang WL, Zhai YQ, Zhao YL. Expression of nuclear factor-kappa B in hepatocellular carcinoma and its relation with the X protein of hepatitis B virus. *World J Gastroenterol* 2001;7:340-344
- 17 Su F, Schneider RJ. Hepatitis B virus HBx protein activates transcription factor NF-kappaB by acting on multiple cytoplasmic inhibitors of rel-related proteins. *J Virol* 1996;70:4558-4566
- 18 Lucito R, Schneider RJ. Hepatitis B virus X protein activates transcription factor NF-kappa B without a requirement for protein kinase C. *J Virol* 1992;66:983-991
- 19 Mahe Y, Mukaida N, Kuno K, Akiyama M, Ikeda N, Matsushima K, Murakami S. Hepatitis B virus X protein transactivates human interleukin-8 gene through acting on nuclear factor kappaB and CCAAT/enhancer-binding protein-like cis-elements. *J Biol Chem* 1991;266:13759-13763
- 20 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
- 21 Amaro MJ, Bartolome J, Carreno V. Hepatitis B virus X protein transactivates the inducible nitric oxide synthase promoter. *Hepatology* 1999;29:915-923
- 22 Majano P, Lara-Pezzi E, Lopez-Cabrera M, Apolinario A, Moreno-Otero R, Garcia-Monzon C. Hepatitis B virus X protein transactivates inducible nitric oxide synthase gene promoter through the proximal nuclear factor kappaB-binding site: evidence that cytoplasmic location of X protein is essential for gene transactivation. *Hepatology* 2001;34:1218-1224
- 23 刘妍, 成军, 张跃新, 段惠娟, 牟劲松, 韩萍, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 截短型 HBsAg 中蛋白反式激活基因的克隆. 中华传染病杂志 2002;20:218-221
- 24 刘妍, 成军, 王刚, 李克, 段惠娟, 王琳, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. HCV 核心蛋白与截短型 HBV 表面抗原中蛋白协同反式激活功能的研究. 中华肝脏病杂志 2002;10:354-357
- 25 Hildt E, Munz B, Saher G, Reifenberg K, Hofschneider PH. The PreS2 activator MHBs(t) of hepatitis B virus activates c-raf-1/Erk2 signaling in transgenic mice. *EMBO J* 2002;21:525-535
- 26 Hildt E, Hofschneider PH. The PreS2 activators of the hepatitis B virus: activators of tumour promoter pathways. *Recent Results Cancer Res* 1998;154:315-329
- 27 Meyer M, Caselmann WH, Schluter V, Schreck R, Hofschneider PH, Baeuerle PA. Hepatitis B virus transactivator MHBst: activation of NF-kappa B, selective inhibition by antioxidants and integral membrane localization. *EMBO J* 1992;11:2991-3001
- 28 Natoli G, Avantiaggiati ML, Balsano C, De Marzio E, Collepardo D, Elfassi E, Levrero M. Characterization of the hepatitis B virus preS/S region encoded transcriptional transactivator. *Virology* 1992;187:663-670
- 29 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
- 30 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
- 31 刘妍, 成军, 董菁, 夏小兵, 李克, 杨继珍. 截短型乙型肝炎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
- 32 韩萍, 刘妍, 成军, 王刚, 陆荫英, 李克, 李莉. 截短型乙肝病毒表面抗原中蛋白上调 c-myc 基因表达的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:141-144
- 33 Hildt E, Saher G, Bruss V, Hofschneider PH. The hepatitis B virus large surface protein (LHBs) is a transcriptional activator. *Virology* 1996;225:235-239
- 34 Kwon JA, Rho HM. Hepatitis B viral core protein activates the hepatitis B viral enhancerII/pregenomic promoter through the nuclear factor kappaB binding site. *Biochem Cell Biol* 2002;80:445-455
- 35 Mosialos G. The role of Rel/NF-kappa B proteins in viral oncogenesis and the regulation of viral transcription. *Semin Cancer Biol* 1997;8:121-129
- 36 Bellas RE, FitzCerald MJ, Fausto N, Sonenshein GE. Inhibition of NF-kB activity induces apoptosis in murine hepatocytes. *Am J Pathol* 1997;151:891-896
- 37 Gilmore TD, Koedood M, Piffat KA, White DW. Rel/NF-kappa B/IkB proteins and cancer. *Oncogene* 1996;13:1367-1378
- 38 Guo SP, Wang WL, Zhai YQ, Zhao YL. Expression of nuclear factor-kB in hepatocellular carcinoma and its relation with the X protein of hepatitis B virus. *World J Gastroenterol* 2001;7:340-344
- 39 Pan J, Duan LX, Sun BS, Feitelson MA. Hepatitis B virus X protein protects against anti-Fas-mediated apoptosis in human liver cells by inducing NF-kappa B. *J Gen Virol* 2001;82(Pt 1):171-182
- 40 Yun C, Um HR, Jin YH, Wang JH, Lee MO, Park S, Lee JH, Cho H. NF-kappaB activation by hepatitis B virus X (HBx) protein shifts the cellular fate toward survival. *Cancer Lett* 2002;184:97-104
- 41 Hinz M, Krappmann D, Eichten A. NF-kB function in growth control: regulation of cyclin D1 expression and G0/G1-to-S-phase transition. *Mol Cell Bio* 1999;19:260-268