

- 35 Prost S, Ford JM, Taylor C, Doig J, Harrison DJ. Hepatitis B x protein inhibits P53-dependent DNA repair in primary mouse hepatocytes. *J Biol Chem* 1998;273:33327-33332
- 36 Pise-Masison CA, Radonovich M, Sakaguchi K, Appella E, Brady JN. Phosphorylation of P53: a novel pathway for P53 inactivation in human T-cell lymphotropic virus type 1-transformed cells. *J Virol* 1998;72:6348-6355
- 37 Pise-Masison CA, Choi KS, Radonovich M, Dittmer J, Kim SJ, Brady JN. Inhibition of P53 transactivation function by the human T-cell lymphotropic virus type 1 Tax protein. *J Virol* 1998;72:1165-1170
- 38 Chen W, Cooper NR. Epstein-Barr virus nuclear antigen 2 and latent membrane protein independent lytransactivate P53 through induction of NF-kappaB activity. *J Virol* 1996;70:4849-4853
- 39 Murono S, Yoshizaki T, Park CS, Furukawa M. Association of Epstein-Barr virus infection with P53 protein accumulation but not bcl-2 protein in nasopharyngeal carcinoma. *Histopathology* 1999;34:432-438
- 40 Muganda P, Carrasco R, Qian Q. The human cytomegalovirus IE2 86 kDa protein elevates P53 levels and transactivates the P53 promoter in human fibroblasts. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 1998;44:321-331
- 41 McCormack SJ, Brazinski SE, Moore JL Jr, Werness BA, Goldstein DJ. Activation of the focal adhesion kinase signal transduction pathway in cervical carcinoma cell lines and human genital epithelial cells immortalized with human papillomavirus type 18. *Oncogene* 1997;15:265-274
- 42 Chirillo P, Pagano S, Natoli G, Puri PL, Burgio VL, Balsano C, Levrero M. The hepatitis B virus X gene induces P53-mediated programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:8162-8167
- 43 Megyeri K, Berencsi K, Halazonetis TD, Prendergast GC, Gri G, Plotkin SA, Rovera G, Gonczol E. Involvement of a P53-dependent pathway in rubella virus-induced apoptosis. *Virology* 1999;259:74-84
- 44 Devireddy LR, Jones CJ. Activation of caspases and P53 by bovine herpesvirus 1 infection results in programmed cell death and efficient virus release. *J Virol* 1999;73:3778-3788
- 45 Tsuchihara K, Hijikata M, Fukuda K, Kuroki T, Yamamoto N, Shimotohno K. Hepatitis C virus core protein regulates cell growth and signal transduction pathway transmitting growth stimuli. *Virology* 1999;258:100-107
- 46 Qadri I, Iwahashi M, Simon F. Hepatitis C virus NS5A protein binds TBP and P53, inhibiting their DNA binding and P53 interactions with TBP and ERCC3. *Biochim Biophys Acta* 2002;1592:193-204
- 47 Otsuka M, Kato N, Lan K, Yoshida H, Kato J, Goto T, Shiratori Y, Omata M. Hepatitis C virus core protein enhances P53 function through augmentation of DNA binding affinity and transcriptional ability. *J Biol Chem* 2000;275:34122-34130

乙型和丙型肝炎病毒对 JNK/SAPK 转导途径的影响

王琳, 李克, 成军, 张健, 刘敏

王琳, 李克, 成军, 张健, 刘敏, 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

王琳, 李克, 成军, 张健, 刘敏. 乙型和丙型肝炎病毒对 JNK/SAPK 转导途径的影响. 世界华人消化杂志 2004;12(1):155-158

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/155.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)的感染是世界范围内导致肝细胞癌(HCC)发生的主要危险因素, HCC在慢性病毒携带者中的危险性增加了100倍. 像所有肿瘤的发生一样, 病毒诱导HCC的发生是多步骤过程, 宿主因素作为始动因素增加肝细胞的增生, 随后恶性化. 信号分子在信号转导过程中起到不可缺少的作用, 常成为外源性蛋白的靶作用目标引起细胞正常生理活动的改变, 如有丝分裂原激活蛋白激酶(MAPK)系统的干扰往往引起细胞分化、增生、死亡的紊乱. 目前所知MAPK超家族包含三条平行的MAPK级联反应: ERK、JNK/SAPK、P38MAPK途径, 以高度保守的三级激酶级联的形式(MAPKKK-MAPKK-MAPK)转导信号, 他们拥有各自的底物和调节蛋白激酶, 接受不同的信号刺激引起特异的细胞效应, 这些信息流之间的‘交谈’构成信号转导的网络, 使细胞察觉到细胞外环境的变化做出适当的应答. JNK/SAPK信号转导途径主要对毒素、炎性细胞因子、紫外线照射、渗透压等应激信号进行转导, 肝炎病毒蛋白作用于JNK/SAPK可对细胞的分化、增生等产生影响.

1 JNK/SAPK 通路的构成

JNK/SAPK最早作为一个新的54 kDa MAPK蛋白从放线酮处理的大鼠肝脏中分离出来, 由三个分隔的基因 α 、 β 、 γ 相互接合产生的8-10种同功型蛋白组成, 存在于人类细胞中的JNK形式为JNK1、JNK2、JNK3(JNK1, 2). 在静止的细胞中, JNK通常定位在细胞质内的微管结构上, 一旦被激活即转位核内发挥激酶活性^[1-3]. JNK的部分底物已被鉴定: 结合并磷酸化c-JUN第63和73位丝氨酸残基, 活化后的c-JUN与核内蛋白c-FOS异二聚体形成AP-1转录因子复合物, 使得c-FOS获得DNA结合能力, 增加AP-1驱动基因的表达. 其中AP-1启动的目标之一就是c-jun基因本身, 所以c-jun基因的反式激活将引发一个正反馈环^[4]. JNK的同功型蛋白酶还可以激活另外一些AP-1转录因子家族成员JUNB、JUND、转录因子2(ATF2), 与这些转录因子不同的亲和力可能是产生专一性信号转导的基础. 其他核内靶目标包括三元复合因子ELK-1、血清反应蛋白1a(SAP-1a), 他们的活化可致使c-FOS蛋白表达的激增^[5-6]. JNK/SAPK具有核转位性质, 但不是所有底物都定位于核内. JNK/SAPK可磷酸化胞质内定位的T细胞活化核因子(NF-AT4和NFATc), 阻碍其核内的转位及激活. 因此, JNK在胞质中很可能作为调节成分影响表达和转录过程^[7].

蛋白质的磷酸化和去磷酸化是蛋白质活性调节的一种重要方式, 普遍存在于细胞的信号转导过程中. 像其他MAP激酶一样, JNK的活化也是通过上游激酶的磷酸化来实现的. MAPKK类激酶SEK1(MKK4和MKK7)磷酸化JNK酪氨酸和苏氨酸位点, 因此也称为双特异蛋

白激酶(DSP)^[8]. DSP本身的激活也依赖于磷酸化作用,主要通过两类丝氨酸/苏氨酸激酶: MEKKs和混合系激酶(MIKs). MLK酶类含有SH3结合域、亮氨酸拉链和小GTP酶结合域,与这些区域的结合, MLKs可以汇集上游多种调节信号到JNK/SAPK通路^[9]. 最新报道发现MLK3可在体内磷酸化MEK-1,但是MEK的活化并不伴有ERK的激活,而是引起SEK-1-JNK-JUN的级联反应. JNK通路持续不断的激活可导致丝裂原激活的ERK通路信号转导的衰退^[10].

在MAPKKK上游参与构成JNK/SPK信号转导途径的信号分子包括Ras相关的Rho小GTP酶家族成员,如Rac1和Cdc42,炎症细胞因子如TNF α ,原癌基因bcr-abl, tpl 2, met, her 2/neu, ret, 和mas,神经酰胺,紫外线、丝裂酶素等.

2 JNK/SAPK的生物学功能

JNK参与广泛的生物学过程,包括胚胎发育,细胞凋亡/存活,癌基因表达细胞的转化,血管生成、T细胞激活、B细胞增生、细胞因子的产生和炎症的发生. 值得强调的是JNK在这些系统中的作用依赖于细胞系的类型和相关功能.

2.1 细胞凋亡/存活 在神经生长因子(NGF)诱导分化的PC12细胞中, MEKK1的表达可激活JNK/SAPK,并导致ERKs的抑制和细胞的凋亡. 表达c-JUN的显负性突变体封闭JNK/SAPK通路可致存活细胞增多,因此JNK/SAPK被认为介导凋亡事件^[11]. 目前已经证实电离辐射、氧化应激、细胞外液渗透压变化及热休克可导致神经细胞、上皮细胞、血管内皮细胞、多种肿瘤细胞凋亡的发生,细胞对这些刺激因素的应激反应中均有JNK/SAPK的激活,并多伴有Bad、Bax表达的上调与Bcl-2、Bcl-xL的表达受抑. 而在一些系统中JNK/SAPK与凋亡没有一对一的关系,在一些特定的情况下, JNK/SAPK具有细胞保护剂的活性,促进细胞的存活和增生. 对于某些导致细胞凋亡的有害刺激的应答,需要JNK/SAPK的激活以诱导基因转录的改变^[12].

2.2 细胞转化 在许多系统中,细胞的转化与ras/Raf/MEK/ERK的活性有关,但是JNK/SAPK对细胞表型的转化同样发挥作用. 研究证明,转染显负性SEK1可阻碍癌基因ras诱导的JNK/SAPK活性和ras诱导的转化,在没有EKR参与的情况下野生型SEK1的转染可增加ras的转化能力^[13]. JNK/SAPK促进细胞转化与其作用于细胞周期元件相关,SV40小T抗原通过刺激细胞周期素D1启动子诱导细胞转化,此事件可被显负性的SEK1所阻断,说明JNK/SAPK通路具有促进细胞转化的功能^[14]. c-jun的反式激活可能对这种效应非常重要,对应于细胞内的c-jun病毒癌基因v-jun可结合JNK/SAPK的 δ 区域,该区域介导其自身的转化,并下调TPA应答元件^[15].

2.3 免疫系统的活化 JNK/SAPK通路在T细胞介导的特

异性免疫应答中担任重要的角色. JNK作用于白介素-2(IL-2)的启动子和增强元件诱导IL-2的表达,进一步促进T细胞的分化, JNK2以Th1特异的方式被诱导,并在干扰素 γ (IFN γ)的产生中发挥作用. JNK可作为NFATc激酶并磷酸化其蛋白的两个丝氨酸残基,其中之一为钙调磷酸酶结合位点, JNK1抑制钙调磷酸酶的结合,导致转录因子NFATc核内转位的丧失,而Th2的分化依赖于此过程,因此JNK可能在胞质内充当一个调节成分,负性调节Th2的分化^[16].

2.4 炎症 急性炎症是机体对于微生物入侵和组织完整性破坏的一种多方面应答,包括血管通透性的改变、炎症因子的募集、免疫细胞的活化、活性氧的产生、细胞间基质的消化和修复等许多程序将被启动. 应激活蛋白激酶级联对于多种炎症因子、趋化因子的产生及受体的活化是必需的,如TNF γ 、白介素-8(IL-8)和白细胞趋化因子受体5(CCR5)等. 其他炎症递质如氧化氮合成酶、基质金属蛋白酶、尿激酶纤溶酶原激活剂的表达也经此通路得到增加. 环氧化酶2的表达也依赖于JNK/SAPK的活性,并生成炎症产物前列腺素. 另外在内皮细胞内的激活可以上调细胞粘连分子如E-选择素,可能引起炎症细胞募集到炎症区域^[17].

2.5 发育 在细胞培养皿中抑制或缺失JNK/SAPK组分,细胞可以继续生存,细胞正常的生长和分化不受影响. 在多细胞的有机体发生JNK/SAPK组分缺失,将导致严重的缺陷. 果蝇属的c-JUN同系物DJUN、JNK/SAPK同系物DJNK、NKK7同系物HEP的缺失突变,致使早期胚胎死亡^[18]. JNK/SAPK通路对哺乳动物的发育同样重要,缺失SEK1的小鼠死于子宫内第12.5 d,特别是肝原性的缺陷不适于进一步的发育^[19]. JNK/SAPK通路还参与哺乳动物免疫系统的发育和分化. SEK1的缺失发生在淋巴细胞中时,将导致T细胞发育和外周淋巴细胞补给的缺陷^[20].

2.6 肝细胞功能 一些证据指出JNK/SAPK通路对肝脏生长调节十分重要. 在刺激DNA合成的因素如肝细胞生长因子、高渗葡萄糖和TNF α 作用下, JNK/SAPK将被激活^[21]. 肝细胞的另一激活剂凝血酶作为肝细胞丝裂原在肝再生中起作用. 由于失去对肝细胞生长因子的反应,SEK1的缺失导致肝源性缺陷使胚胎发育停止. JNK/SAPK还参与诱导化学性、代谢性解毒酶的合成^[22],以及肝移植后的缺血/再灌注损伤过程.

3 JNK/SAPK与肝炎病毒

HBV是导致肝细胞癌的主要病原体,多种因素包括炎症因子引起的损伤、肝再生期间的突变累积、DNA修复的缺陷、病毒DNA的整合、细胞癌基因的激活、以及细胞生存通路的诱导涉及肝癌的发生. HBV X蛋白(HBx)的表达及其肝细胞中多种不同基因表达的异常调节被认为是HBV感染引起肝细胞癌的重要分子生物学机制之一. HBx最早被描述为多种启动子的反式激活

剂,但其胞质内定位的属性决定该蛋白对包括信号转导分子的胞质内组分的调节作用.在细胞质内,HBx表现为刺激 Ras-Raf-MAPK 系统,该系统对转录因子 AP-1 的激活作用十分重要.HBx 对 JNKs 的激活作用导致由 HBx 活化的 JNK 执行的 c-JUN 氨基端磷酸化作用引起的 AP-1 DNA 结合过度的产生和活化,包括瞬时的 c-FOS 蛋白从头合成和 c-JUN 的持续合成.新的 c-JUN 合成可被共表达的 MAP 激酶致活酶(MEKK-1)所阻断,这就证明 HBx 通过激活 JNK 信号途径促进 c-JUN 的合成.HBx 对 JNK 途径的活化作用导致 c-JUN 二聚体复合物积累^[23].

JNK/SAPK 通路被证明是 Fas 介导凋亡的细胞存活通路,JNK/SAPK 激活 c-fos/c-jun 引起的转录,有利于 G₀/S 细胞周期的转变,保护细胞在血清饥饿时的存活^[24].有实验证实 HBV 慢性毒株的 X 蛋白通过上调 JNK/SAPK 途径抑制 Fas 介导的凋亡,Fas 介导的凋亡被认为是导致肝脏疾病时肝细胞损伤的主要机制之一.酶学分析显示 JNK/SAPK 在细胞内的活性被 HBx 高度上调,在正常小鼠纤维母细胞、人类原代培养肝细胞和 p53 缺乏小鼠红白血病细胞中表达 HBx 可防止细胞死亡,而在 JNK 通路上游激酶 SEK1 缺失的细胞中,无论有无 HBx 的存在都将形成 Fas 介导的凋亡.说明 HBx 的抗凋亡作用并不依赖于 p53,SEK1 相关的 JNK/SAPK 途径为 HBx 拮抗 Fas 介导的凋亡所需要,HBx 直接或间接抑制 caspas3、8 活性及细胞色素 C 从线粒体中的释放.免疫共沉淀和共聚焦免疫荧光显微镜观察到 HBx 与胞质内蛋白 MEKK1、SEK1、JNK/SAPK 蛋白共同定位,HBx 的存在可能在不影响 SAPK/SEK1 转录表达水平的基础上提高这种激酶复合物的活性^[25].

MAPK/JNK 及其介导的细胞内信号转导也是 HCV 蛋白作用的重要靶位.在四环素诱导的 Tet 缺失的 HepG2 系统中核心表达激活 JNK 有丝分裂原激酶诱导 MAPK 磷酸酶 MKP1 的表达,细胞发生增生.此过程伴有 c-Jun 和 ATF2 而非 ELK-1 和 c-Fos 的激活,AP-1 的激活也并不依赖于 c-Fos,全长或 N 末端截短的 HCV 核心蛋白发挥相同的效应,促进 HCV 感染的肝细胞瘤性转化^[26].

4 参考文献

- 1 Kyriakis JM, Banerjee P, Nikolakaki E, Dai T, Rubie EA, Ahmad MF, Avruch J, Woodgett JR. The stress-activated protein kinase subfamily of c-Jun kinases. *Nature* 1994;369:156-160
- 2 Derijard B, Hibi M, Wu IH, Barrett T, Su B, Deng T, Karin M, Davis RJ. JNK1: a protein kinase stimulated by UV light and Ha-Ras that binds and phosphorylates the c-Jun activation domain. *Cell* 1994;76:1025-1037
- 3 Casanova E, Garate C, Ovalle S, Calvo P, Chinchetru MA. Identification of four splice variants of the mouse stress-activated protein kinase JNK/SAPK alpha-isoform. *Neuroreport* 1996;7:1320-1324
- 4 Dai T, Rubie E, Franklin CC, Kraft A, Gillespie DA, Avruch J, Kyriakis JM, Woodgett JR. Stress-activated protein kinases bind directly to the delta domain of c-Jun in resting cells: implications for repression of c-Jun function. *Oncogene* 1995;10:849-855

- 5 Zinck R, Cahill MA, Kracht M, Sachsenmaier C, Hippskind RA, Nordheim A. Protein synthesis inhibitors reveal differential regulation of mitogen-activated protein kinase and stress-activated protein kinase pathways that converge on Elk-1. *Mol Cell Biol* 1995;15:4930-4938
- 6 Janknecht R, Hunter T. Activation of the Sap-1a transcription factor by the c-Jun N-terminal kinase (JNK) mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem* 1997;272:4219-4224
- 7 Chow CW, Rincon M, Cavanagh J, Dickens M, Davis RJ. Nuclear accumulation of NFAT4 opposed by the JNK signal transduction pathway. *Science* 1997;278:1638-1641
- 8 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
- 9 Tibbles LA, Ing YL, Kiefer F, Chan J, Iscove N, Woodgett JR, Lassam NJ. MLK-3 activates the SAPK/JNK and p38/RK pathways via SEK1 and MKK3/6. *EMBO J* 1996;15:7026-7035
- 10 Shen YH, Godlewski J, Zhu J, Sathyanarayana P, Leaner V, Birrer MJ, Rana A, Tzivion G. Cross talk between JNK/SAPK and ERK/MAPK pathways: Sustained activation of JNK blocks ERK activation by mitogenic factors. *J Biol Chem* 2003; [Epub ahead of print]
- 11 Xia Z, Dickens M, Raingeaud J, Davis RJ, Greenberg ME. Opposing effects of ERK and JNK-p38 MAP kinases on apoptosis. *Science* 1995;270:1326-1331
- 12 Spector MS, Auer KL, Jarvis WD, Ishac EJ, Gao B, Kunos G, Dent P. Differential regulation of the mitogen-activated protein and stress-activated protein kinase cascades by adrenergic agonists in quiescent and regenerating adult rat hepatocytes. *Mol Cell Biol* 1997;17:3556-3565
- 13 Clark GJ, Westwick JK, Der CJ. p120 GAP modulates Ras activation of Jun kinases and transformation. *J Biol Chem* 1997;272:1677-1681
- 14 Watanabe G, Howe A, Lee RJ, Albanese C, Shu IW, Karnezis AN, Zon L, Kyriakis J, Rundell K, Pestell RG. Induction of cyclin D1 by simian virus 40 small tumor antigen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:12861-12866
- 15 Black EJ, Catling AD, Woodgett JR, Kilbey A, Gillespie DA. Transcriptional activation by the v-Jun oncoprotein is independent of positive regulatory phosphorylation. *Oncogene* 1994;9:2363-2368
- 16 Dong C, Davis RJ, Flavell RA. Signaling by the JNK group of MAP kinases. c-jun N-terminal Kinase. *J Clin Immunol* 2001;21:253-257
- 17 Tibbles LA, Woodgett JR. The stress-activated protein kinase pathways. *Cell Mol Life Sci* 1999;55:1230-1254
- 18 Sluss HK, Han Z, Barrett T, Davis RJ, Ip YT. A JNK signal transduction pathway that mediates morphogenesis and an immune response in Drosophila. *Genes Dev* 1996;10:2745-2758
- 19 Ganiatsas S, Kwee L, Fujiwara Y, Perkins A, Ikeda T, Labow MA, Zon LI. SEK1 deficiency reveals mitogen-activated protein kinase cascade crossregulation and leads to abnormal hepatogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:6881-6886
- 20 Nishina H, Fischer KD, Radvanyi L, Shahinian A, Hakem R, Rubie EA, Bernstein A, Mak TW, Woodgett JR, Penninger JM. Stress-signalling kinase Sek1 protects thymocytes from apoptosis mediated by CD95 and CD3. *Nature* 1997;385:350-353
- 21 Auer KL, Contessa J, Brenz-Verca S, Pirola L, Rusconi S, Cooper G, Abo A, Wymann MP, Davis RJ, Birrer M, Dent P. The Ras/Rac1/Cdc42/SEK/JNK/c-Jun cascade is a key pathway by which agonists stimulate DNA synthesis in primary cultures of rat hepatocytes. *Mol Biol Cell* 1998;9:561-573
- 22 Elbirt KK, Whitmarsh AJ, Davis RJ, Bonkovsky HL. Mechanism of sodium arsenite-mediated induction of heme oxygenase-1 in hepatoma cells. Role of mitogen-activated protein kinases. *J Biol Chem* 1998;273:8922-8931
- 23 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
- 24 Benn J, Schneider RJ. Hepatitis B virus HBx protein deregulates cell cycle checkpoint controls. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:11215-11219

- 25 Diao J, Khine AA, Sarangi F, Hsu E, Iorio C, Tibbles LA, Woodgett JR, Penninger J, Richardson CD. X protein of hepatitis B virus inhibits Fas-mediated apoptosis and is associated with up-regulation of the SAPK/JNK pathway. *J Biol Chem* 2001;276:8328-8340
- 26 Erhardt A, Hassan M, Heintges T, Haussinger D. Hepatitis C virus core protein induces cell proliferation and activates ERK, JNK, and p38 MAP kinases together with the MAP kinase phosphatase MKP-1 in a HepG2 Tet-Off cell line. *Virology* 2002;292:272-284

乙型和丙型肝炎病毒对ERK信号转导途径的影响

张健, 成军

张健, 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
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

张健, 成军. 乙型和丙型肝炎病毒对ERK信号转导途径的影响. 世界华人消化杂志 2004;12(1):158-160

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/158.asp>

0 引言

在病毒性肝炎的发病机制中, 病毒蛋白对肝细胞信号转导通路的影响是病毒感染以后形成慢性感染、肝纤维化、肝细胞癌的重要的分子生物学机制, 对于慢性肝炎的预后也有重要意义^[1-3]. 细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)是丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)亚族之一. MAPK是生物体内重要的信号转导系统之一, 参与介导生长、发育、分裂、分化、死亡以及细胞间的功能同步等多种细胞过程. 在哺乳动物细胞中已发现和克隆了ERK、JNK/SAPK、p38/RK、ERK5/BMK1四个MAPK亚族. 这些MAPK能被多种炎性刺激所激活, 并对炎症的发生、发展起重要调控作用. MAPK对细胞从整个G1期到S期起决定性作用. 具有双重特异性的MAP激酶的激酶(MEK1和MEK2)磷酸化和激活后, 可以激活ERK1和ERK2. 激活的ERK可使许多效应蛋白磷酸化, 这些效应蛋白包括细胞进展至S期所必需的蛋白表达的转录因子^[4]. MAP激酶系统很明显在细胞周期的G1期起作用, 也可能在G2/M期起作用. 已经证明细胞进入有丝分裂期后, 内源性ERK1和ERK2生化活性降低^[5-6], 也有人认为正常的MEK/ERK活性对细胞进入有丝分裂期是必需的^[7-8].

1 ERK与乙型肝炎病毒

乙型肝炎病毒(HBV)对肝细胞信号转导系统的影响,

不仅是HBV蛋白对肝细胞中信号转导的影响, 还包括肝细胞蛋白与HBV DNA调节序列的结合及调节. 但是, HBV蛋白对于肝细胞信号转导通路的影响是HBV感染以后形成慢性病毒感染、肝纤维化及肝细胞癌的重要的分子生物学机制. 乙型肝炎病毒X(HBx)蛋白是一种具有双重作用的转录激活因子, 在培养细胞中表达后, 可在细胞质刺激信号转导途径和细胞核内的转录因子中起到转录激活作用. 在细胞质内, HBx表现为刺激Ras-Raf-MAPK系统, HBx与MAPK信号转导系统的作用在HBV的各种蛋白中表现十分明显, 这可以部分解释其转录激活作用机制^[9].

Benn et al^[10]发现HBx蛋白对ERKs和c-Jun氨基端激酶(JNKs)有刺激作用. JNK被HBx活化后, c-Jun氨基端发生磷酸化, 引起AP-1 DNA结合活度的产生和活化, 包括瞬时的c-Fos蛋白的从头合成和c-Jun的持续合成. 新的c-Jun合成可被共表达的MAP激酶致活酶(MEKK-1)所阻断, 这就证明HBx通过激活JNK信号途径促进c-Jun的合成. c-fos基因与Raf-C4共表达, Raf-C4发生接触反应突变后可阻断c-fos的活性, 表明HBx通过作用于Ras-Raf途径产生c-Fos. HBx对ERK和JNK途径的活化作用导致AP-1-c-Jun二聚体复合物积累.

Nijhara et al^[11]通过研究发现, 伴随病毒核蛋白颗粒介导的HBV DNA的传递, 很大一部分肝细胞以剂量依赖性方式表达HBx蛋白, 进而导致肝细胞的ERK活性明显增强. HBx诱导的ERK活性可持续30d. 有趣的是, 发现c-Jun氨基末端激酶(JNKs)活性也可以持续30d. 这种构成的ERK和JNK激活作用作为HBx持续表达的结果也导致更下游元件刺激作用的持续, 例如c-Jun和c-Fos蛋白水平的增高伴随激活蛋白1结合活性的持续诱导.

HBx也可通过刺激细胞内的信号转导途径调节转录作用. Henkler et al^[12]研究了HBx对MAP激酶(Erk)和JNK/SAPK激活作用的效率, 证实了在静止细胞中对Erk/MAP激酶有刺激作用. 然而, 在分离的细胞中, AP-1独立的Erk激活作用和c-Jun(丝氨酸-63)的磷酸化作用可被HBx诱导, 而对Erk-2则不同. 这些证据提示HBx杂乱的激活Erk和JNK应答途径, 这种对信号系统的全面作用可能受外部丝裂原刺激素影响.

2 ERK与丙型肝炎病毒

丙型肝炎病毒(HCV)是一种正链RNA病毒, 其致病机制与DNA病毒和逆转录病毒有明显的区别. MAPK/ERK及其介导的细胞内信号转导是HCV蛋白作用的重要靶位. 通过与ERK的作用, HCV核心蛋白与MEK相互作用影响细胞的有丝分裂过程. 在有丝分裂期间MEK与ERK有活性分离现象. 有丝分裂的MEK1活性和其与ERK活性的分离作用依赖于细胞周期蛋白B-Cdc2的激活. 这种分离作用有许多机制. MEK1的氨基末端区域包含一个ERK结合区, 这个区域的突变, 由于炭疽