

检测到的抑制 IFN 的抗病毒作用有关. NS5A 诱导由 IL-8 启动子诱导的报告基因的复制, 并且 IL-8 启动子的最初的 133 bp 是 NS5A 反式激活作用所必须的最小片段. NS5A- $\delta$  N110 和 NS5A- $\delta$  N222 刺激 IL-8 启动子的产生比 NS5A 全蛋白水平更高. 另外, IL-8 启动子的诱发突变提示 NF- $\kappa$ B 和 AP-1 对肿瘤坏死因子  $\alpha$  存在下 NS5A- $\delta$  N222 的反式激活有重要意义, 并且 NF-IL-6 可以抑制这种作用. 这就提示 AP-1 在 HCV 感染后对 IFN- $\alpha$  治疗的抵抗作用方面起到一定的作用.

#### 4 参考文献

- Lee W, Haslinger A, Karin M, Tjian R. Activation of transcription by two factors that bind promoter and enhancer sequences of the human metallothionein gene and SV40. *Nature* 1987; 325:368-372
- Angel P, Karin M. The role of Jun, Fos and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation. *Biochim Biophys Acta* 1991;1072:129-157
- Treisman R. The serum response element. *Trends Biochem Sci* 1992;17:423-426
- Sheng M, Thompson MA, Greenberg ME. CREB: a Ca(2+)-regulated transcription factor phosphorylated by calmodulin-dependent kinases. *Science* 1991;252:1427-1430
- 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
- Boyle WJ, Smeal T, Defize LH, Angel P, Woodgett JR, Karin M, Hunter T. Activation of protein kinase C decreases phosphorylation of c-Jun at sites that negatively regulate its DNA-binding activity. *Cell* 1991;64:573-584
- Deng T, Karin M. c-Fos transcriptional activity stimulated by H-Ras-activated protein kinase distinct from JNK and ERK. *Nature* 1994;371:171-175
- 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
- Chou SY, Baichwal V, Ferrell JE Jr. Inhibition of c-Jun DNA binding by mitogen-activated protein kinase. *Mol Biol Cell* 1992;3:1117-1130
- Smeal T, Hibi M, Karin M. Altering the specificity of signal transduction cascades: positive regulation of c-Jun transcriptional activity by protein kinase A. *EMBO J* 1994;13:6006-6010
- Kwok RP, Lundblad JR, Chrivia JC, Richards JP, Bachinger HP, Brennan RG, Roberts SG, Green MR, Goodman RH. Nuclear protein CBP is a coactivator for the transcription factor CREB. *Nature* 1994;370:223-236
- Arias J, Alberts AS, Brindle P, Claret FX, Smeal T, Karin M, Feramisco J, Montminy M. Activation of cAMP and mitogen responsive genes relies on a common nuclear factor. *Nature* 1994;370:226-229
- Lee DH, Choi BH, Rho HM. The synergistic transactivation of the hepatitis B viral (HBV) pregenomic promoter by the E6 protein of human papillomavirus type 16 (HPV-16 E6) with HBV X protein was mediated through the AP1 site of E element in the enhancer I (EnI) in human liver cell. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;265:62-66
- 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
- Nijhara R, Jana SS, Goswami SK, Rana A, Majumdar SS, Kumar V, Sarkar DP. Sustained activation of mitogen-activated protein kinases and activator protein 1 by the hepatitis B virus X protein in mouse hepatocytes *in vivo*. *J Virol* 2001; 75:10348-10358
- 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
- Henkler F, Lopes AR, Jones M, Koshy R. Erk-independent partial activation of AP-1 sites by the hepatitis B virus HBx protein. *J Gen Virol* 1998;79:2737-2742
- Choi CY, Choi BH, Park GT, Rho HM. Activating transcription factor 2 (ATF2) down-regulates hepatitis B virus X promoter activity by the competition for the activating protein 1 binding site and the formation of the ATF2-Jun heterodimer. *J Biol Chem* 1997;272:16934-16939
- Choi BH, Park CJ, Rho HM. Insulin activates the hepatitis B virus X gene through the activating protein-1 binding site in HepG2 cells. *DNA Cell Biol* 1998;17:951-956
- Banerjee R, Caruccio L, Zhang YJ, McKercher S, Santella RM. Effects of carcinogen-induced transcription factors on the activation of hepatitis B virus expression in human hepatoblastoma HepG2 cells and its implication on hepatocellular carcinomas. *Hepatology* 2000;32:367-374
- Isoyama T, Kuge S, Nomoto A. The core protein of hepatitis C virus is imported into the nucleus by transport receptor Kap123p but inhibits Kap121p-dependent nuclear import of yeast AP1-like transcription factor in yeast cells. *J Biol Chem* 2002;277:39634-39641
- Meng SH, Garzino-Demo A, Hong W, Hwee TY, Joo TY, Goh PY, Gee LS, Pheng LS. Expression of a full-length hepatitis C virus cDNA up-regulates the expression of CC chemokines MCP-1 and RANTES. *Virology* 2002;303:253-277
- 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
- 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
- Tsutsumi T, Suzuki T, Moriya K, Yotsuyanagi H, Shintani Y, Fujie H, Matsuura Y, Kimura S, Koike K, Miyamura T. Alteration of intrahepatic cytokine expression and AP-1 activation in transgenic mice expressing hepatitis C virus core protein. *Virology* 2002;304:415-424
- Polyak SJ, Khabar KS, Paschal DM, Ezelle HJ, Duverlie G, Barber GN, Levy DE, Mukaida N, Gretch DR. Hepatitis C virus nonstructural 5A protein induces interleukin-8, leading to partial inhibition of the interferon-induced antiviral response. *J Virol* 2001;75:6095-6106

## 乙型和丙型肝炎病毒对 MEKK1 蛋白信号转导途径的影响

纪冬, 成军, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕, 王春花

纪冬, 成军, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕, 王春花, 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

纪冬, 成军, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕, 王春花. 乙型和丙型肝炎病毒对 MEKK1 蛋白信号转导途径的影响. 世界华人消化杂志 2004;12(1):162-165  
http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/162.asp

## 0 引言

磷酸化和去磷酸化是蛋白质调节其功能、活性的一种重要方式,有些蛋白质在磷酸化状态时具有活性,而在非磷酸化状态时没有活性,如丝裂原激活蛋白激酶(MAPK)等,而有些蛋白质则相反,在磷酸化状态时没有活性,而在非磷酸化状态时具有活性,如转录因子I $\kappa$ B $\alpha$ 的抑制活性.蛋白质通过磷酸化-去磷酸化调节功能、活性并进而影响细胞的很多生命过程.哺乳类动物的蛋白激酶可以分为两个主要家族:磷酸化丝/苏氨酸残基的丝/苏氨酸激酶或者磷酸化酪氨酸残基的酪氨酸激酶.激酶的主要功能是通过细胞对外部信息功能性反应来参与信号转导过程,在所有的激酶中,MAPK系统介导细胞的生理、病理改变,在细胞增生、恶性转化和应激应答的调节中具有重要作用<sup>[1-2]</sup>,其在进化过程中具有高度保守性,并且对许多细胞功能都是必需的<sup>[3]</sup>.MEKK1是MAPK信号转导系统中的一员,他可以激活其下游的细胞外信号调节激酶(ERK)MAPK途径、c-Jun氨基端激酶/应激活化蛋白激酶(JNK/SAPK)MAPK途径,还可以激活NF- $\kappa$ B、JAK-STAT途径,从而使细胞各信号转导系统互相影响、调节.另外,MEKK1可以与乙型肝炎病毒(HBV)以及丙型肝炎病毒(HCV)相互作用,在他们的致病(癌)过程中具有重要作用,对MEKK1及整个MAPK信号转导系统的理解将有助于进一步明确病毒性肝炎的发病机制,以及开辟新的抗病毒治疗方案,为提高病毒性肝炎的诊疗水平铺平道路.

## 1 MEKK1的功能

MEKK1属于MAPKKK(MAPK激酶激酶)家族成员,1993年由于其与酵母MEKK酶Ste11p序列具有相似性而被克隆、鉴定出来,全长cDNA分析说明MEKK1是195 kD的蛋白,其羧基端为催化区,可以磷酸化与其结合的蛋白,氨基端为调节区,介导了蛋白-蛋白相互作用并影响其行为与功能.他的出现说明除了Raf还有其他的途径激活ERK途径,MEKK1对细胞的生存、凋亡的调控相当重要,可以调节转录因子、死亡受体及其配体的表达<sup>[4]</sup>.Bonvin et al<sup>[5]</sup>通过对比全长MEKK与MEKK结构域介导的反应的观察,发现MEKK与其结构域在激活NF- $\kappa$ B、ERK MAPK途径、JNK/SAPK MAPK途径的模式,甚至在细胞增生、凋亡方面都截然不同,缺失突变说明MEKK的氨基端结构域决定了不同的细胞内信号转导途径及细胞反应的特异性及力度.

MEKK1的激活物有许多,从而可以与许多信号转导途径相联系.Kim et al<sup>[6]</sup>报道了糖原合酶激酶3 $\beta$ (GSK3 $\beta$ )结合蛋白阻断了GSK3 $\beta$ 对于MEKK1的激活,从而介导了MEKK1的激活而启动了相应的信号转导途径,说明了GSK3 $\beta$ 是MEKK1天然的激活剂.MEKK1受到刺激以后被激活,通过一系列级联反应导致了细胞骨架及细胞形状的改变.MEKK1磷酸化激活MKK(MAP/ERK激酶)1和MKK4(SEK1),导致了ERK1/2和JNK/SAPK的激

活,其中MEKK1亚结构域X的残基对于其介导的MKK4的激活是非常关键的<sup>[7]</sup>.MEKK1有一个植物同源性结构域(PHD),为一环指样结构,具有雌三醇(E3)连接酶活性,位于PHD内的半胱氨酸441突变为丙氨酸(C441A)后抑制了MEKK1的广泛分布,从而影响了MEKK1酶活性的激活,抑制了其下游一系列的级联信号转导途径,使得MEKK1具有阴性调节ERK1/2的机制<sup>[8-10]</sup>.

JNK/SAPK MAPK途径参与了多种应激反应,诸如缺氧、冷休克、高渗所介导的反应.在哺乳细胞内有3个JNK/SAPK编码基因,许多不同的JNK/SAPK蛋白是通过不同的剪切产生的.调节JNK/SAPK的一个重要的上游激酶是MEKK1,他直接与JNK/SAPK结合,说明其与这个途径有着重要的调节关系.MEKK1受其上游MAPKKK激酶所调节,如Nck-相互作用激酶(Nck)和生发中心激酶(GCK)等,主要与MEKK1的氨基端相互作用.MEKK1的调节相当复杂,因为他与众多的蛋白相互作用,如MKK4,人类T细胞亲淋巴细胞I型(HTLV-1)产生的一种变形蛋白,14-3-3蛋白,Raf-1,p115 RhoGAP,Rac和Cdc42小GTP酶等,其中一些可以介导MEKK1催化区的去抑制或启动自激活<sup>[11]</sup>.MEKK1在其活化状态时,仍然具有大量的可磷酸化位点,MEKK1催化区核心激活环内的两个苏氨酸残基对于酶活性的激活是必需的.Gallagher et al<sup>[12]</sup>提出了MEKK1介导的JNK/SAPK激活模型:MEKK1与MKK4结合,形成了复合体,MKK4与MEKK1的酶结构域结合,而当MEKK1被激活后MKK4就与之分离,JNK/SAPK与MEKK1距离氨基端约62-70残基的D结构域(由疏水氨基酸残基组成)结合.p21激活激酶(PAK)1能够磷酸化MEKK1的JNK/SAPK结合结构域D的丝氨酸67残基,从而改变了D结构域的状态,降低了MEKK1与JNK/SAPK的亲合力,因此JNK/SPAK未被激活.而当JNK/SAPK未与MEKK1结合时,MKK4会磷酸化自身的视黄醛X受体,从而使丝氨酸67去磷酸化,恢复了JNK/SAPK与MEKK1的结合.

MEKK1还可以激活NF- $\kappa$ B、JAK-STAT途径.Janus激酶-信号传导与转录活化因子(JAK-STAT)负责细胞外多肽或细胞因子刺激信号通过跨膜受体的转导,直接作用于细胞核中的基因的启动子序列,不需要第二信使进行转录调节,从进化角度看,从低级的真核细胞到人类,这一信号转导通路都是高度保守的<sup>[13]</sup>.到目前为止,在哺乳动物细胞中共鉴定了7种STAT蛋白,其中STAT3可以被MAPK家族所激活(磷酸化STAT3的丝氨酸-727),说明了MAPK级联与JAK-STAT途径存在着交互作用.Lim et al<sup>[14]</sup>研究说明MEKK1介导了STAT3内的酪氨酸-705和丝氨酸-727的双磷酸化,从而激活了STAT3.Zhou et al<sup>[15]</sup>研究表明Ras通过激活AP-1途径和增加NF- $\kappa$ B转录功能来调节TNF $\alpha$ 趋化因子的表达,而MEKK1对AP-1和NF- $\kappa$ B都具有激活作用.IKK(I $\kappa$ B激酶)是NF- $\kappa$ B激活的一个关键激酶,

IKK 激活后,磷酸化 I $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B 的抑制剂),去除 I $\kappa$ B 对 NF- $\kappa$ B 的抑制,使 NF- $\kappa$ B 易位于核内并引起了免疫反应、病毒感染和凋亡过程中大量基因表达.而瞬时转染活化的 MEKK1 可以磷酸化并激活 IKK,进一步激活 NF- $\kappa$ B.另外 Purcell et al<sup>[16]</sup>还发现 HBV X 蛋白可以不通过 IKK 而激活 NF- $\kappa$ B.

## 2 MEKK1 与慢性病毒性肝炎

凋亡(apoptosis),又称为程序化细胞死亡(programmed cell death, PCD),是多细胞有机体为调控机体发育,维护内环境稳定,由基因控制的细胞主动死亡过程,其形态学特征:细胞核的变化为染色质凝聚、核碎裂;细胞质的变化为细胞质浓缩、细胞器肿胀、膜皱褶、凋亡小体形成.在慢性肝炎病毒致病的过程中,凋亡起着重要的作用.

Boldt et al<sup>[17]</sup>使用 MEKK1 的酶切片段来激活 JNK,用 Raf-1 的 Ras 结合结构域(RBD)来抑制 Ras-ERK 途径,另外还设计了 RBD-MEKK1 融合蛋白来激活 JNK 途径,同时阻断 ERK 途径,他们发现 MEKK1 蛋白以及 RBD 单独都能够减少细胞系的克隆生成,而 RBD-MEKK1 融合蛋白介导凋亡的效率却很低,其原因是 RBD-MEKK1 酶活性较低,运用 Ras 和 Raf-1 的突变形式说明 RBD-MEKK1 融合蛋白酶活性低是由于与 Ras 蛋白的结合. MEKK1 过度表达导致了三个 MAPK 家族 JNK、ERK、p38 的强烈的激活,而通过协同表达 MKK4 的阴性突变形式或是 MEK、p38 的抑制剂都不能阻断凋亡,从而说明 MEKK1 介导的凋亡是通过下调所有的 MAPK 信号途径,而不是激活单独的途径.

凋亡的诱导开始于线粒体上,使其渗透性发生变化从而释放凋亡蛋白进入胞质内,进一步发生凋亡的生化形态学改变. MEKK1 也涉及了这过程, Gibson et al<sup>[18]</sup>通过实验说明了 MEKK1 引起的渗透性改变是因为其开放了渗透性转换孔(PT pore),而抑制 PT 孔的开放和活性氧簇产生可以有效的减少 MEKK1 介导的凋亡.然而, MEKK1 的过度表达却不能引起线粒体释放细胞色素 C 或激活 caspase 9. 既然 Bcl 2 调节了线粒体内的变化并且阻断了 MEKK1 介导的凋亡.他的激活可以介导死亡受体,如 Fas 和死亡受体 4、5 表达的增加,进一步激活转录因子,如 NF- $\kappa$ B,从而导致了 caspase 激活的凋亡. MEKK1 诱导的凋亡涉及了 MEKK1 被剪切为一个 91 kD 的酶片段,依赖于 caspase 3 样的分子. MEKK1 剪切型的过度表达相对于其全长来说更加有利于激活 caspases、介导凋亡. MEKK1 通过 SEK1 激活 SAPK,他被前凋亡蛋白酶 caspase 3 (CPP32)在 D68(DTVD68/G)位点上所剪切,剪切型的 MEKK1 改变了蛋白的分布状态, caspase 3 可以阻断由 Fas 配体激活的 SAPK 和 MEKK1 途径,却不能阻断细胞快速的应激反应,应激因子介导的 SAPK 信号不依赖于 caspase 3 的功能. Deak et al<sup>[19]</sup>认为 MEKK1 的激活存在着两种途径,一种为快速途径,

不依赖于蛋白酶.另一种为慢速激活,涉及了剪切型 MEKK1 的释放和 caspase 3 的激活.

HBV 持续性感染是导致人类肝脏疾病的主要因素之一,并且与原发性肝癌(HCC)明显相关,目前世界约有 4 亿人感染了 HBV. HBV x 基因编码 17 kD(154 aa)的 HBx 蛋白(HBxAg),它具有多种活性,包括反式激活病毒、宿主细胞基因,与 p53 结合,抑制 DNA 的修复,刺激信号转导途径等,在 HBV 致病过程中发挥重要的作用. 凋亡是 HBV 感染导致慢性疾病的重要机制之一. 在病毒复制期间, HBxAg 可以使得细胞对凋亡非常敏感,而不依赖于其他的 HBV 基因. 细胞对于高剂量的肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF $\alpha$ )介导的凋亡的耐受,由于 HBx 的表达而变得非常的敏感. HBxAg 表达可以抑制细胞受到抗-Fas 诱导的 caspase 3 和 8 的活性,抑制线粒体细胞色素 c 的释放. 共沉淀和共聚焦荧光显微图像分析结果表明 HBxAg 与细胞质中含有 MEKK1、SEK1、SAPK、14-3-3 蛋白复合体的共同分布. HBxAg 是一个多功能的蛋白,可以激活 Ras-Raf-MAPK 和蛋白激酶 C 转导途径,延迟性激活 MEKK1/JNK 途径,刺激 RNA 多聚酶 II、III 的转录以及结合、激活一些转录因子,而且 HBx 可以刺激静止细胞进入细胞周期. Su et al<sup>[20]</sup>研究显示 HBxAg 介导的凋亡是通过迟发性激活 N-myc 和 MEKK1 的途径产生的,而不是通过上调肿瘤坏死因子(TNF)受体,抑制 HBx 激活 N-Myc 或 MEKK1 可以使细胞死亡受到阻断.

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<sup>[21-23]</sup>. 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. HCV 核心蛋白的表达可以激活 ERK 和 p38 MAPK,诱导 MAPK 的磷酸酶 MKP-1 的表达和细胞增生<sup>[24]</sup>. HCV 基因型 1 和 3 的核心蛋白激活 MEK1 和 ERK 1/2 MAPK,在血清饥饿条件下,通过体外激酶测定内源性 Raf-1 和过磷酸化的 ERK 1/2 的免疫检测,发现 HCV 核心蛋白的表达引起 Raf-1 和 MAPK 基础活性增高.此外, ERK 1/2 和下游转录因子 Elk-1 的响应有丝分裂刺激物 EGF 的活性显著延长. HCV 核心蛋白直接激活 MAPK 系统的能力和延长其响应有丝分裂刺激物的活性可能促成 HCV 感染的肝细胞致瘤性转化<sup>[25]</sup>. HCV 可以激活 MAPK 系统,但对于 HCV 直接与 MEKK1 的关系目前研究尚少,需要进一步研究明确.

## 3 参考文献

- 1 Camps M, Nichols A, Arkinstall S. Dual specificity phosphatases: a gene family for control of MAP kinase function. *FASEB J* 2000; 14:6-16
- 2 成军, 刘妍, 陆荫英, 李克, 王琳. 丙型肝炎病毒与 MAPK 信号转导系统. *世界华人消化杂志* 2003;11:466-469
- 3 Fanger GR, Gerwins P, Widmann C, Jarpe MB, Johnson GL. MEKKs, GCKs, MLKs, PAKs, TAKs, and tpls: upstream regulators of the c-Jun amino-terminal kinases? *Curr Opin Genet* 1997;7:67-74
- 4 Schlesinger TK, Fanger GR, Yujiri T, Johnson GL. The TAO of MEKK. *Front Biosci* 1998;3:D1181-D1186

- 5 Bonvin C, Guillon A, van Bemmelen MX, Gerwins P, Johnson GL, Widmann C. Role of the amino-terminal domains of MEKKs in the activation of NF kappa B and MAPK pathways and in the regulation of cell proliferation and apoptosis. *Cell Signal* 2002;14:123-131
- 6 Kim JW, Lee JE, Kim MJ, Cho EG, Cho SG, Choi EJ. Glycogen synthase kinase 3 beta is a natural activator of mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase kinase 1 (MEKK1). *J Biol Chem* 2003;278:13995-14001
- 7 Huang J, Tu Z, Lee FS. Mutations in protein kinase subdomain X differentially affect MEKK2 and MEKK1 activity. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;303:532-540
- 8 Lu Z, Xu S, Joazeiro C, Cobb MH, Hunter T. The PHD domain of MEKK1 acts as an E3 ubiquitin ligase and mediates ubiquitination and degradation of ERK1/2. *Mol Cell* 2002;9:945-956
- 9 Witowsky JA, Johnson GL. Ubiquitylation of MEKK1 inhibits its phosphorylation of MKK1 and MKK4 and activation of the ERK1/2 and JNK pathways. *J Biol Chem* 2003; 278:1403-1406
- 10 Coscoy L, Ganem D. PHD domains and E3 ubiquitin ligases: viruses make the connection. *Trends Cell Biol* 2003;13:7-12
- 11 Christerson LB, Gallagher E, Vanderbilt CA, Whitehurst AW, Wells C, Kazempour R, Sternweis PC, Cobb MH. p115 Rho GTPase activating protein interacts with MEKK1. *J Cell Physiol* 2002;192:200-208
- 12 Gallagher ED, Xu S, Moomaw C, Slaughter CA, Cobb MH. Binding of JNK/SAPK to MEKK1 is regulated by phosphorylation. *J Biol Chem* 2002;277:45785-45792
- 13 成军, 刘妍, 陆荫英, 李克, 王琳. 丙型肝炎病毒与 JAK-STAT 信号转导系统. *世界华人消化杂志* 2003;11:464-466
- 14 Lim CP, Cao X. Regulation of Stat3 activation by MEK kinase 1. *J Biol Chem* 2001;276:21004-21011
- 15 Zhou L, Tan A, Iasovskaia S, Li J, Lin A, Hershenon MB. Ras and mitogen-activated protein kinase kinase-1 coregulate activator protein-1- and nuclear factor- $\kappa$ B-mediated gene expression in airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;28:762-769
- 16 Purcell NH, Chenfei Yu C, He D, Xiang J, Paran N, DiDonato JA, Yamaoka S, Shaul Y, Lin A. Activation of NF- $\kappa$ B by hepatitis B virus X protein through an I $\kappa$ B kinase-independent mechanism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;280:G669-G677
- 17 Boldt S, Weidle UH, Kolch W. The kinase domain of MEKK1 induces apoptosis by dysregulation of MAP kinase pathways. *Exp Cell Res* 2003;283:80-90
- 18 Gibson EM, Henson ES, Villanueva J, Gibson SB. MEK kinase 1 induces mitochondrial permeability transition leading to apoptosis independent of cytochrome c release. *J Biol Chem* 2002;277:10573-10580
- 19 Deak JC, Cross JV, Lewis M, Qian Y, Parrott LA, Distelhorst CW, Templeton DJ. Fas-induced proteolytic activation and intracellular redistribution of the stress-signaling kinase MEKK1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:5595-5600
- 20 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
- 21 成军, 李克, 陆荫英, 董菁, 李莉, 王琳, 钟彦伟. 丙型肝炎病毒调节基因区结合蛋白的研究. *世界华人消化杂志* 2002;10:223-225
- 22 李克, 王琳, 成军, 陆荫英, 洪源, 刘妍, 张玲霞. 乙型肝炎病毒蛋白结合蛋白的研究. *世界华人消化杂志* 2002;10:213-215
- 23 李克, 王琳, 成军, 张玲霞, 段惠娟, 陆荫英, 杨继珍, 刘妍, 洪源, 夏小兵, 王刚, 董菁, 李莉, 钟彦伟, 陈菊梅. 酵母双杂交技术筛选克隆 HCV 核心蛋白结合蛋白基因 1. *世界华人消化杂志* 2001;9:1379-1383
- 24 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
- 25 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

## 乙型和丙型肝炎病毒与转录因子 ATF-2 的调节

王春花, 成军, 郎振为, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕

王春花, 成军, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕, 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

郎振为, 首都医科大学佑安医院病理科 北京市 100045

国家自然科学基金项目, No. C39970674, No. C03011402, 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 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

王春花, 成军, 郎振为, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕. 乙型和丙型肝炎病毒与转录因子 ATF-2 的调节. *世界华人消化杂志* 2004;12(1):165-168

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/165.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(HCC)的发生密切相关. 虽然 HBV 和 HCV 感染与 HCC 之间的关系已经得到确定, 但是要阐明其具体的分子生物学机制还有许多工作要做. 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>, 而激活转录因子-2 (activating transcription factor-2, ATF-2) 是重要的细胞信号转导途径中的转录因子, 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 ATF-2 的结构和功能特点

1.1 碱性-亮氨酸拉链 ATF-2 是具有碱性-亮氨酸拉链结构的 ATF/CREB 家族的一种活性转录因子. 碱性-亮氨酸拉链(basic leucine zipper, bZIP) 家族结构的特点是蛋白质分子的肽链上每隔6个氨基酸就有一个亮氨酸残基, 结果就导致这些亮氨酸残基都在  $\alpha$  螺旋的同一个方向出现. 两个相同结构的两排亮氨酸残基就能以疏水键结合成二聚体, 该二聚体的另一端的肽段富含碱性氨基酸残基, 借其正电荷与 DNA 双螺旋链上带负电荷的磷酸基团结合. 若不形成二聚体则对 DNA 的亲合和结合力明显降低. 亮氨酸拉链是最简单的二聚作用界面之一. 它能够介导有高度选择性的, 非常重要的蛋白质结合作用. 他最早是作为 C/EBP 和 GCN4 中的序列模体以及许多转录因子相互作用的界面而被鉴定和认识的.

这些蛋白质可以识别两类 DNA 元件: AP-1/TRE 和 ATF/CRE 序列模体. AP-1/TRE 元件有保守的 TGACTCA, 他是一个拟二元对称. 与这个位点结合的蛋白质包括 Fos 和 Jun 家族, 他们可以被促进有丝分裂的、诱导分化的和神经原专一的刺激所诱导. 但是, 来自活