

HBx对肝细胞凋亡的双向调控及机制

张生君, 王小众

张生君, 王小众, 福建医科大学附属协和医院消化内科 福建省福州市 350001

项目负责人: 王小众, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院 消化内科. drwangxz@pub6.fz.fj.cn

电话: 0591-3357896-8482

收稿日期: 2004-07-20 接受日期: 2004-08-21

摘要

近年研究发现HBV基因组中的X基因及其产物X蛋白(HBx)能够对肝细胞的凋亡起双向调控作用,在HBV感染相关疾病的发生发展中起重要作用.一方面,HBx可通过调节Caspases家族成员活性,抑制p53的促凋亡活性,激活Rel家族成员,上调Survivin的表达等途径抑制肝细胞凋亡,导致HCC发生.另一方面,HBx可通过拮抗c-FLIP的抑凋亡作用,抑制p53的抗凋亡活性,调节Bcl-2家族蛋白的表达,上调c-myc及TGF- β 1等的表达,直接或间接作用于Fas-FasL, TNF或线粒体死亡途径,增强死亡信号而促进细胞凋亡.总之,HBx可能是通过多途径,多环节和多因子参与的复杂机制对肝细胞的凋亡进行调节.

张生君, 王小众. HBx对肝细胞凋亡的双向调控及机制. 世界华人消化杂志 2004;12(10):2424-2428

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2424.asp>

0 引言

近年来随着对HBV基因结构与功能的深入研究,发现HBV基因组中的X基因及其产物X蛋白(HBx)能够对肝细胞的凋亡起调控作用,在HBV感染所致的肝癌的发生发展中起重要作用^[1].一方面,HBx能抑制肝细胞凋亡,从而促进HCC的发生发展;另一方面,近年来多项研究表明HBx还具有诱导或促进肝细胞凋亡的作用,该作用在HBV相关疾病中的具体作用还不甚清楚,其中的具体机制也尚未阐明.现对HBx对肝细胞凋亡的双向调控及其机制作一综述.

1 HBx与肝细胞凋亡

HBx是一种多功能蛋白,能与多种蛋白相互作用,表现出复杂多样的生物学活性.在对肝细胞凋亡的调控方面,HBx表现出双向作用.HBx抑制肝细胞凋亡使具有潜在转化能力的突变获得积累,细胞过度增生,从而导致HCC发生.然而,近年来多项研究表明HBx能诱导^[2-5]和促进凋亡^[6-9],且HBx表达量与凋亡率有量效关系^[10].HBx促进肝细胞凋亡在HBV感染相关疾病的发病机制中的具体作用还不甚清楚.目前认为该作用可能促进肝炎的发展,并在逃避宿主免疫反应时促进病毒向临近

细胞播散.据推测,HBV x基因可能通过促进肝细胞凋亡而诱导肝细胞再生和基因突变的积累,最后导致细胞转化和HCC的发生^[7].还有人认为,HBx对肝细胞凋亡的双向调控作用可能与HBV感染发展至HCC的长期性有关^[2].HBx引起肝细胞凋亡有可能存在着细胞的特异性和阶段性.即对于不同的肝细胞以及HBV感染的不同阶段,HBV x基因可能在肝细胞凋亡方面发挥着不同的作用.在早期阶段,HBx可能抑制凋亡,促进HBV的增生.在后期,HBx促进凋亡,这种促凋亡效应可加速HBV的复制与播散.Koike *et al*^[11]则认为HBx不管抑制还是促进细胞凋亡均可能导致肝细胞恶性转化,从而有利于癌前期肝细胞的选择和克隆性增生.

2 HBx抑制肝细胞凋亡

2.1 死亡受体途径 Fas-FasL死亡受体途径和TNF死亡受体途径是诱导细胞凋亡的主要信号转导途径.Diao *et al*^[12]将HBx(来自HBV慢性携带者)转染入人原代肝细胞、Chang肝细胞及大鼠胚胎成纤维细胞,发现HBx能使这些细胞免受Fas介导的凋亡,对血清缺乏产生耐受性,并且对TNF介导的凋亡也有一定抵抗保护作用.其可能机制包括抑制caspase8和caspase3的活性,抑制细胞色素C的释放,上调SAPK/JNK活性而通过SEK1依赖的SAPKs/JNKs途径抑制细胞凋亡.

2.2 Caspases家族 Caspases是一个日益增大的半胱氨酸蛋白酶家族,是细胞凋亡的必要因子,通常以酶原的形式存在,包括死亡受体信号转导等在内的多种凋亡刺激均可引起caspases的活化,形成信号转导级联反应,最终导致细胞凋亡.参与诱导凋亡的caspases分成两大类,即启动酶和效应酶,分别在死亡信号转导的上游和下游发挥作用.经FADD(Fas-associated death domain protein)激活的caspase8属于启动酶,在Fas和TNFR1诱导的细胞凋亡信号途径中皆发挥重要的作用.其他的启动酶还有参与线粒体介导凋亡的caspase9及与颗粒酶诱导的凋亡有关的caspase10等.下游的各种效应酶包括caspase3, caspase6, caspase7等.Cottlob *et al*^[13]用含HBV x基因的质粒PCMV-X/F微注射或转染给REV2细胞或肝癌细胞,发现他可以通过抑制caspase3而抑制细胞凋亡,其抑制作用可被抗-HBx阻断.

2.3 P53 Elmore *et al*^[14]发现,X蛋白可以与p53形成复合物,有效抑制p53介导的细胞凋亡,从而为表达该病毒整合基因的肝细胞提供克隆选择优势,导致肝细胞癌变.其可能机制是X蛋白使p53对Fas的正调控失

效, 使应凋亡的肝细胞不能凋亡. p53 与 ERCC3 结合是诱导细胞凋亡的机制之一. p53-HBX 结合可使 p53 与 ERCC3 结合能力大大下降, 影响细胞凋亡. 将 HBx 与 p53 质粒一起微注射到人原代纤维瘤细胞核内, 24 h 后可观察到 p53 表达水平并未由于 HBx 的存在而受影响, 但凋亡细胞从单独注射 p53 的 19% 降到 1%, 这可能与 HBx 抑制 p53 下游基因 p21 的表达有关. Huo *et al*^[15] 研究发现, 突变后的 HBx 仍具有抑制 p53 介导的细胞凋亡的作用. 另有报道 HBx 突变后失去了其促凋亡活性^[16], 因此 HBx 基因突变引起的对细胞凋亡的调节变化可能在 HCC 的发生发展中起重要作用. Lee *et al*^[17] 研究发现, HBx 并不是通过使 p53 失活而抑制细胞凋亡的, 而是通过 HBx-PI3K-Akt-Bad 途径和 caspase3 的失活来实现的. Diao *et al*^[12] 也发现将 HBx 转入不表达 P53 的 DP-16 仍能抑制 Fas 介导的细胞凋亡. 这说明 HBx 对细胞凋亡的抑制作用至少部分是经由非 p53 依赖途径的.

2.4 NF- κ B NF- κ B 是真核细胞转录因子 Rel 蛋白质家族成员. Rel 蛋白质家族成员包括 p50/p105, p52/p100, Rel A(p65), Rel B 和 c-Rel 等. 其中 Rel A(p65), Rel B 和 c-Rel 含有反式激活功能域, 能被 HBx 反式激活, 并参与对炎症反应、细胞增生与凋亡等的调控. 研究发现大多数激活的 NF- κ B 表现为抗凋亡^[18-22]. HBx 能激活包括 Rel A(p65), c-Rel, p52, p50 等各种形式的 NF- κ B, 使 NF- κ B 从胞质易位至核内, 作用于不同的靶基因, 从而抑制细胞凋亡^[18, 23-25]. Su *et al*^[18] 研究发现, 用大量 I κ B α 抑制各种形式的 NF- κ B 能增强 HBx 的促凋亡作用, 认为 HBx 在激活各种形式 NF- κ B 的同时掩盖了其本身的促凋亡作用.

2.5 Survivin Survivin 是凋亡抑制蛋白(IAP)家族的新成员, 与凋亡抑制成正相关, 能抑制 Fas, Bax, caspases 等促凋亡因子诱导的凋亡^[26-27]. 研究发现 HBx 能通过上调 survivin 的表达而抑制肝癌细胞凋亡^[28].

2.6 其他 周卫平 *et al*^[29] 发现 HBx 可上调 HepG2 细胞端粒酶活性, 使较多细胞进入 S 期, 表明 HBx 能通过上调细胞端粒酶活性而抑制宿主细胞凋亡. 研究还发现 HBx 可拮抗 TGF- β 1 的生长抑制作用^[30], 并能通过 PI 3/Akt 途径使细胞免受 TGF- β 1 诱导的凋亡^[31].

3 HBx促进肝细胞凋亡

3.1 HBx 与死亡信号转导途径

3.1.1 Fas-FasL 死亡受体途径 Fas-FasL 途径是细胞凋亡最重要的途径之一. 靶细胞表面的 Fas 与 FasL 结合, 诱导 Fas 分子三聚体化, 形成由 Fas/FADD(Fas 相关蛋白)/pro-caspase-8 组成的死亡诱导信号复合物(DISC), pro-caspase-8 活化, 继而激活下游的 pro-caspase, 再通过一系列 caspases(半胱-天冬氨酸蛋白酶)的级联激活反应诱导凋亡的发生. 有证据表明, HBV 感染的肝细胞表面 Fas 蛋白表达增加^[32]. 研究发现 HBx 可增强肝癌细胞中 FasL 的表达, 其机制包括上调 IL-18 的表达

和增强 Egr-2 和 Egr-3(early growth response factor)的转录活性等^[33-35]. 因此, HBx 可能通过上调肝细胞表面 Fas 及 FasL 的表达, 加强死亡信号而通过 Fas-FasL 死亡受体途径促进表面表达 Fas 的肝细胞凋亡. 但是, Wang *et al*^[36] 认为 HBx 诱导 Fas/FasL 的表达并不能作为肝癌细胞凋亡的可靠标志. 此外, FasL 表达的增高能促进表达 Fas 的 T 细胞凋亡, 这是肝癌细胞逃脱机体免疫监视的重要机制之一.

3.1.2 TNF 死亡受体途径 TNF 途径是细胞凋亡的另一重要途径. TNF- α 与 TNFR 结合形成死亡诱导信号复合物(DISC), 后者募集无活性的 caspase-8 前体或 FLICE, 使其裂解成活性形式, caspase-8 启动下游 caspase 的级联激活导致靶细胞的凋亡. c-FLIP 为细胞 FLICE 抑制蛋白, 是 DISC 最重要的调节因子. c-FLIP 的稳定表达能保护细胞免受 Fas, TNF 和 TRAIL(TNF 相关凋亡诱导配体)受体等诱导的凋亡^[37-39]. Kim *et al*^[40] 研究发现, HBx 能与 c-FLIP 的死亡效应区域 1(DED1)结合形成复合体, 从而阻断了 c-FLIP 的抑凋亡作用, 使细胞对凋亡信号敏感. 因此, HBx 能通过 DISC 相关途径直接干预死亡信号而诱导凋亡, 而 c-FLIP 是其最重要的靶位. 此外, 他们还发现当用 TNF- α 和 Fas 抗体处理细胞时, HBx 的表达能使 caspase-8 和 caspase-3 过度激活, 这种激活可能与细胞对凋亡信号的敏感性有关. 研究发现, TNF 基因的启动子上有 HBx 反式激活的靶序列, 故 HBx 能上调 TNF- α 的表达^[41]. HBx 还能通过下调 Sep 蛋白的表达而提高 TNF- α 的浓度^[42]并降低其敏感阈值^[40], 从而在促凋亡中起协同作用. 但 HBx 即使在无 TNF- α 处理时也能诱导凋亡^[2, 41]. 因此上调 TNF- α 的表达并不是 HBx 促进肝细胞凋亡的主要途径.

3.1.3 线粒体死亡途径 传统观点认为线粒体内膜是产生能量的主要位点, 而外膜仅是第二层“皮肤”. 近年来的研究揭示了线粒体外膜在细胞凋亡中的重要作用. 正常情况下, Bcl-2 家族成员作用于线粒体外膜并维持其稳定性. 线粒体外膜的破坏可导致两种关键的细胞凋亡调节物(细胞色素 C 和线粒体因子 Smac(又称 Diablo))的渗出, 从而启动和促进凋亡的发生. 因此, HBx 可能通过对 Bcl-2 家族成员的调节而经由该途径诱导和促进凋亡^[43-44]. 研究发现 HBx 定位于线粒体^[45], 能直接作用于线粒体, 引起线粒体聚集和膜电位的丢失而引发线粒体依赖性的细胞凋亡^[15, 46-47]. VDAC 是线粒体膜上渗透转换孔复合体中的成分, 能调节线粒体膜电位和细胞色素 C 的释放. HBx 就是通过与 VDAC 相互作用而影响线粒体膜电位和细胞色素 C 的释放, 从而引导线粒体依赖性细胞凋亡的^[46].

3.2 HBx 与凋亡调节因子

3.2.1 p53 p53 是典型的抑癌基因, 其产物分野生型和突变型两种形式. 野生型 p53 诱导细胞凋亡, 而突变型 p53 则抑制细胞凋亡. Elmore *et al*^[14] 研究 HBV 与 p53 在细胞凋亡调节中的作用显示: HBV X 的 C 端, 不依赖

其反式激活活性,在细胞质中与 p53 形成复合物,部分防止其进入细胞核并能诱导凋亡.目前研究认为HBx与p53之间的相互作用在HCC的发病中起重要作用,而HBx与p53对凋亡的调控作用是其中最重要的机制之一. HBx促进肝细胞凋亡可由p53依赖途径^[9]和非p53依赖途径^[2-3]两种不同途径. Chirillo *et al*^[9]用MMTV-X表达质粒转染 NIH-3T3 细胞后, DNA 合成增加, 培养 48-72 h 后, 60% 的细胞死亡, 表明 HBx 可诱导细胞从 G₀ 期到 S 期, 并促进细胞凋亡. 他们还发现这些表达 HBx 的克隆对 p53 介导的细胞凋亡敏感性增加. 由于依赖 p53 诱导细胞凋亡包括多种途径, HBx 不可能阻断所有 p53 介导的凋亡途径, 以及 p53 基因突变体或 p53 蛋白的失活. 因此 p53 的状态可能影响 HBV 感染的肝细胞中 HBx 诱导凋亡的结果. Lassus *et al*^[48] 和 Chen *et al*^[49] 研究表明, 正常水平的 p53 具有抗凋亡作用, 而高表达的 p53 则促凋亡. 所以当 p53 表达处于正常水平时, HBx 可能因拮抗 p53 的抗凋亡作用而表现为促凋亡^[4]; 当 p53 的表达处于高水平时, HBx 则拮抗 p53 的促凋亡作用而表现为抑凋亡^[50]. 然而, HBx 诱导和促进凋亡也可以是经由 p53 非依赖途径^[2-3]. 因此, p53 也只是 HBx 促进凋亡过程中的重要调节因子之一.

3.2.2 Bcl-2 家族 Bcl-2 家族蛋白是体内调控细胞生存与凋亡最重要的调节因子, 促凋亡蛋白和抑凋亡蛋白在细胞中的比例将决定细胞对死亡信号的反应及细胞的命运^[51-53]. 他包括 Bcl-2, Bax, Bid, Bcl-x, bcl-1 等成员. 目前认为 Bcl-2, Bcl-xL 等为抑凋亡因子, Bax, Bid 则促凋亡. Bcl-2 是一种重要的凋亡抑制蛋白, 能抑制多种因素引起的凋亡. Terradillos *et al*^[43] 研究发现, HBx 能消除 Bcl-2 对 Fas 引导的凋亡的抑制作用, 且这种作用与 HBx 的表达量有关. 在成年的 HBx/Bcl-2 双转基因鼠中, HBx 的低水平表达使细胞恢复了对 Fas 诱导的肝损伤的敏感性. 但酵母双杂体系分析显示, HBx 并不与 Bcl-2 家族的任何成员直接结合, 而且 HBx 的表达并不影响 Bcl-2 在细胞中的表达, 也不能阻断其与线粒体膜的结合. 新近研究表明 HBx 定位于线粒体, 通过与电压依赖的阴离子通道 VDAC3 相互作用而改变其膜电位^[46]; 而 Bcl-2 家族蛋白能与 VDAC 结合而调节细胞色素 C 的释放. 因此推测是 VDAC3 与 HBx 的相互作用引起线粒体形态变化, 从而减弱了 Bcl-2 对离子通道活性的调节作用. 当然, HBx 也可能通过激活 Bcl-2 的自然抑制因子如 Bax 或 BH₃ 单一性 Bcl-2 家族成员而抵消 Bcl-2 的作用. 有研究发现在未分化的 4pX-1 细胞中, HBx 能促进 Bax 的表达^[44]. 也有研究表明, HBx 能使 Bid 的表达减少而阻断细胞凋亡^[54]. 因此, HBx 对 Bid 的调节作用可能也参与了其促进凋亡的复杂过程. 已知 Fas 诱导的凋亡与细胞色素 C 从线粒体释放到细胞质有关, 且 Bcl-2 能阻断细胞色素 C 的释放. Terradillos *et al*^[43] 发现 HBx 能解除 Bcl-2 对 Fas 作用后的细胞中细胞色素 C 的释放和 caspase-3 活性的抑制作

用. 因此, 在 Fas 诱导的凋亡中, HBx 可能是通过不被 Bcl-2 阻断的途径来激活细胞色素 C 的转运和 caspase-3 前体的裂解, 从而起到促进细胞凋亡的作用. Schuster *et al*^[55] 则发现共转染凋亡抑制物 crmA 和 p35 不会影响 HBx 的促凋亡活性, 因此认为 HBx 可能是通过特异性激活 Bcl-2 敏感性途径来诱导和促进细胞凋亡的.

3.2.3 C-myc c-myc 属原癌基因. 他对细胞具有双重作用: (1) 参与细胞的增生、转化. (2) 促进或诱导细胞凋亡的发生. C-myc 的表达使细胞进入细胞周期, 若在同时存在其他细胞因子的情况下, 则细胞存活, 增生, 否则发生凋亡. HBx 能诱导某些细胞系中 Myc 基因的表达^[9,56]. 而 C-myc 能使经 TNF- α 或其他因子处理的细胞对凋亡信号的敏感性增加或与其他促凋亡因子协同作用而促进细胞凋亡^[57-59]. Chirillo *et al*^[9] 在 X 基因促进 p53 诱导细胞凋亡的研究中发现, 表达 HBx 的细胞中 c-myc 的表达显著增加, 认为 C-myc 可能也是 HBx 介导的凋亡中的重要递质. Su *et al*^[6] 用 HBx 表达载体转染 HepG2 和 Chang 肝细胞, 发现低水平表达的 HBx 能使细胞对 TNF- α 诱导的凋亡敏感性增加, 认为可能与激活 C-myc 和加强促分裂原活化蛋白激酶 1 (MAPKK1) 有关. 他们还发现 HBx 和 C-myc 共表达使 WT 3T3 细胞对 TNF- α 介导的凋亡敏感性显著增高, 且这种促凋亡作用超过了 NF- κ B 的抗凋亡作用^[18].

3.2.4 NF- κ B 如前述 NF- κ B 多表现为抗凋亡, 但新近研究发现 NF- κ B 具有促进细胞凋亡的作用^[60-61]. 其机制可能是通过上调促凋亡基因的表达^[62-63], 并与刺激信号的差异和细胞类型有关^[64]. 因此, HBx 诱导的 NF- κ B 的激活可能也参与了 HBx 促进肝细胞凋亡的复杂过程.

3.2.5 其他 HBx 反式激活 iNOS 的启动子能使 NO 产生增多, 导致肝细胞损伤^[65-66]. HBx 的增强胞质中 Ca²⁺ 信号的作用也可能是 HBx 诱导细胞凋亡的途径之一^[67]. HBx 能通过与 UV-DDB 相互作用而抑制受损 DNA 的修复并诱导凋亡^[68-69]. 在感染早期, HBx 能诱导 TGF- β 1 的表达, 可能也是感染早期肝细胞凋亡增多的机制之一^[70]. 此外, HBx 还可与热休克蛋白 60 协同作用促进细胞凋亡^[71].

总之, HBx 可能是通过多途径, 多环节和多因子参与的复杂机制对肝细胞的凋亡进行调节, 可能因其自身的表达水平、HBV 感染的阶段、细胞的类型(癌细胞或正常肝细胞)、细胞的内环境、细胞因子及干预因素等的不同而表现出促进或抑制凋亡两种不同的作用. 致力于 HBx 调节细胞凋亡的机制研究必将为包括肝细胞癌在内的 HBV 感染相关疾病的防治提供有利的理论依据.

4 参考文献

- 1 Birrer RB, Birrer D, Klavins JV. Hepatocellular carcinoma and hepatitis virus. *Ann Clin Lab Sci* 2003;33:39-54
- 2 Shintani Y, Yotsuyanagi H, Moriya K, Fujie H, Tsutsumi T, Kanegae Y, Kimura S, Saito I, Koike K. Induction of apoptosis after switch-on of the hepatitis B virus X gene mediated by the Cre/loxP recombination system. *J Gen Virol* 1999;80(Pt 12):3257-3265

- 3 Terradillos O, Pollicino T, Lecoeur H, Tripodi M, Gougeon ML, Tiollais P, Buendia MA. P53-independent apoptotic effects of the hepatitis B virus HBx protein in vivo and in vitro. *Oncogene* 1998;17:2115-2123
- 4 Kim H, Lee H, Yun Y. X-gene product of hepatitis B virus induces apoptosis in liver cells. *J Biol Chem* 1998;273:381-385
- 5 Shirakata Y, Koike K. Hepatitis B virus X protein induces cell death by causing loss of mitochondrial membrane potential. *J Biol Chem* 2003;278:22071-22078
- 6 Su F, Schneider RJ. Hepatitis B virus HBx protein sensitizes cells to apoptotic killing by tumor necrosis factor alpha. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:8744-8749
- 7 Pollicino T, Terradillos O, Lecoeur H, Gougeon ML, Buendia MA. Pro-apoptotic effect of the hepatitis B virus X gene. *Biomed Pharmacother* 1998;52:363-368
- 8 Bergametti F, Prigent S, Lubet B, Benoit A, Tiollais P, Sarasin A, Transy C. The proapoptotic effect of hepatitis B virus HBx protein correlates with its transactivation activity in stably transfected cell lines. *Oncogene* 1999;18:2860-2871
- 9 Chirillo P, Pagano S, Natoli G, Puri PL, Burgio VL, Balsano C, Leviero M. The hepatitis B virus X gene induces p53-mediated programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:8162-8167
- 10 Chen HY, Tang NH, Li XJ, Zhang SJ, Chen ZX, Wang XZ. Transfection and expression of hepatitis B virus x gene and its effect on apoptosis in HL-7702 cells. *World J Gastroenterol* 2004;10:959-964
- 11 Koike K, Tsutsumi T, Fujie H, Shintani Y, Kyoji M. Molecular mechanism of viral hepatocarcinogenesis. *Oncology* 2002;62 (Suppl 1):29-37
- 12 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
- 13 Gottlob K, Fulco M, Leviero M, Graessmann A. The hepatitis B virus HBx protein inhibits caspase 3 activity. *J Biol Chem* 1998;273:33347-33353
- 14 Elmore LW, Hancock AR, Chang SF, Wang XW, Chang S, Callahan CP, Geller DA, Will H, Harris CC. Hepatitis B virus X protein and p53 tumor suppressor interactions in the modulation of apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:14707-14712
- 15 Huo TI, Wang XW, Forgues M, Wu CG, Spillare EA, Giannini C, Brechot C, Harris CC. Hepatitis B virus X mutants derived from human hepatocellular carcinoma retain the ability to abrogate p53-induced apoptosis. *Oncogene* 2001;20:3620-3628
- 16 Sirma H, Giannini C, Poussin K, Paterlini P, Kremsdorf D, Brechot C. Hepatitis B virus X mutants, present in hepatocellular carcinoma tissue abrogate both the antiproliferative and transactivation effects of HBx. *Oncogene* 1999;18:4848-4859
- 17 Lee YI, Kang-Park S, Do SI, Lee YI. The hepatitis B virus-X protein activates a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent survival signaling cascade. *J Biol Chem* 2001;276:16969-16977
- 18 Su F, Theodosis CN, Schneider RJ. Role of NF-kappaB and myc proteins in apoptosis induced by hepatitis B virus HBx protein. *J Virol* 2001;75:215-225
- 19 Nagaki M, Naiki T, Brenner DA, Osawa Y, Imose M, Hayashi H, Banno Y, Nakashima S, Moriwaki H. Tumor necrosis factor alpha prevents tumor necrosis factor receptor-mediated mouse hepatocyte apoptosis, but not fas-mediated apoptosis: role of nuclear factor-kappaB. *Hepatology* 2000;32:1272-1279
- 20 Vasudevan KM, Gurumurthy S, Rangnekar VM. Suppression of PTEN expression by NF-kappa B prevents apoptosis. *Mol Cell Biol* 2004;24:1007-1021
- 21 Santoro MG, Rossi A, Amici C. NF-kappaB and virus infection: who controls whom. *EMBO J* 2003;22:2552-2560
- 22 Yang P, McKay BS, Allen JB, Jaffe GJ. Effect of NF-kappa B inhibition on TNF-alpha-induced apoptosis in human RPE cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:2438-2446
- 23 Sirma H, Weil R, Rosmorduc O, Urban S, Israel A, Kremsdorf D, Brechot C. Cytosol is the prime compartment of hepatitis B virus X protein where it colocalizes with the proteasome. *Oncogene* 1998;16:2051-2063
- 24 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
- 25 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
- 26 Tamm I, Wang Y, Sausville E, Scudiero DA, Vigna N, Oltersdorf T, Reed JC. IAP-family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs. *Cancer Res* 1998;58:5315-5320
- 27 Zangemeister-Wittke U, Simon HU. An IAP in action: the multiple roles of survivin in differentiation, immunity and malignancy. *Cell Cycle* 2004;3[Epub ahead of print]
- 28 Li D, Chen X, Zhang W. The inhibition of apoptosis of hepatoma cells induced by HBx is mediated by up-regulation of survivin expression. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2003;23:383-386
- 29 Zhou WP, Shen Q, Gu B, Ren H, Zhang D. Effects of hepatitis B virus X gene on apoptosis and the activity of telomerase in HepG(2) cells. *Zhonghua Ganzhangbing Zazhi* 2000;8:212-214
- 30 Oshikawa O, Tamura S, Kawata S, Ito N, Tsushima H, Kiso S, Matsuda Y, Yamada A, Tamai S, Matsuzawa Y. The effect of hepatitis B virus X gene expression on response to growth inhibition by transforming growth factor-beta 1. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;222:770-773
- 31 Shih WL, Kuo ML, Chuang SE, Cheng AL, Doong SL. Hepatitis B virus X protein inhibits transforming growth factor-beta -induced apoptosis through the activation of phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *J Biol Chem* 2000;275:25858-25864
- 32 Sejima T, Miyagawa I. The evaluation of Fas/Fas ligand system in renal cell carcinoma—the effect of preoperative interferon-alpha therapy. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi* 1999;90:826-832
- 33 Shin EC, Shin JS, Park JH, Kim H, Kim SJ. Expression of fas ligand in human hepatoma cell lines: role of hepatitis-B virus X (HBX) in induction of Fas ligand. *Int J Cancer* 1999;82:587-591
- 34 Lee MO, Choi YH, Shin EC, Kang HJ, Kim YM, Jeong SY, Seong JK, Yu DY, Cho H, Park JH, Kim SJ. Hepatitis B virus X protein induced expression of interleukin 18 (IL-18): a potential mechanism for liver injury caused by hepatitis B virus (HBV) infection. *J Hepatol* 2002;37:380-386
- 35 Yoo YG, Lee JS, Lee MO. Hepatitis B virus X protein induces expression of fas ligand gene through enhancing transcriptional activity of early growth response factor. *J Biol Chem* 2004 [Epub ahead of print]
- 36 Wang XZ, Chen XC, Chen YX, Zhang LJ, Li D, Chen FL, Chen ZX, Chen HY, Tao QM. Overexpression of HBxAg in hepatocellular carcinoma and its relationship with Fas/FasL system. *World J Gastroenterol* 2003;9:2671-2675
- 37 Rippo MR, Moretti S, Vescovi S, Tomasetti M, Orecchia S, Amici G, Catalano A, Procopio A. FLIP overexpression inhibits death receptor-induced apoptosis in malignant mesothelial cells. *Oncogene* 2004 [Epub ahead of print]
- 38 Mezzanzanica D, Balladore E, Turatti F, Luisson E, Alberti P, Bagnoli M, Figini M, Mazzoni A, Raspagliesi F, Oggionni M, Pilotti S, Canevari S. CD95-mediated apoptosis is impaired at receptor level by cellular FLICE-inhibitory protein (long form) in wild-type p53 human ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004;10:5202-5214
- 39 Aggarwal BB, Bhardwaj U, Takada Y. Regulation of TRAIL-induced apoptosis by ectopic expression of antiapoptotic factors. *Vitam Horm* 2004;67:453-483
- 40 Kim KH, Seong BL. Pro-apoptotic function of HBV X protein is mediated by interaction with c-FLIP and enhancement of death-inducing signal. *EMBO J* 2003;22:2104-2116
- 41 Lara-Pezzi E, Majano PL, Gomez-Gonzalo M, Garcia-Monzon C, Moreno-Otero R, Leviero M, Lopez-Cabrera M. The hepatitis B virus X protein up-regulates tumor necrosis factor alpha gene expression in hepatocytes. *Hepatology* 1998;28:1013-1021
- 42 Yi YS, Park SG, Byeon SM, Kwon YG, Jung G. Hepatitis B virus X protein induces TNF-alpha expression via down-regulation of selenoprotein P in human hepatoma cell line, HepG2.

- Biochim Biophys Acta* 2003;1638:249-256
- 43 Terradillos O, de La Coste A, Pollicino T, Neuveut C, Sitterlin D, Lecoeur H, Gougeon ML, Kahn A, Buendia MA. The hepatitis B virus X protein abrogates Bcl-2-mediated protection against Fas apoptosis in the liver. *Oncogene* 2002;21:377-386
 - 44 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
 - 45 Henkler F, Hoare J, Waseem N, Goldin RD, McGarvey MJ, Koshy R, King IA. Intracellular localization of the hepatitis B virus HBx protein. *J Gen Virol* 2001;82(Pt 4):871-882
 - 46 Rahmani Z, Huh KW, Lasher R, Siddiqui A. Hepatitis B virus X protein colocalizes to mitochondria with a human voltage-dependent anion channel, HVDAC3, and alters its transmembrane potential. *J Virol* 2000;74:2840-2846
 - 47 Takada S, Shirakata Y, Kaneniwa N, Koike K. Association of hepatitis B virus X protein with mitochondria causes mitochondrial aggregation at the nuclear periphery, leading to cell death. *Oncogene* 1999;18:6965-6973
 - 48 Lassus P, Ferlin M, Piette J, Hibner U. Anti-apoptotic activity of low levels of wild-type p53. *EMBO J* 1996;15:4566-4573
 - 49 Chen X, Ko LJ, Jayaraman L, Prives C. P53 levels, functional domains, and DNA damage determine the extent of the apoptotic response of tumor cells. *Genes Dev* 1996;10:2438-2451
 - 50 Wang XW, Gibson MK, Vermeulen W, Yeh H, Forrester K, Sturzbecher HW, Hoeijmakers JH, Harris CC. Abrogation of p53-induced apoptosis by the hepatitis B virus X gene. *Cancer Res* 1995;55:6012-6016
 - 51 Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer* 2002;2:647-656
 - 52 Gross A, McDonnell JM, Korsmeyer SJ. BCL-2 family members and the mitochondria in apoptosis. *Genes Dev* 1999;13:1899-1911
 - 53 Bouillet P, Strasser A. BH3-only proteins - evolutionarily conserved proapoptotic Bcl-2 family members essential for initiating programmed cell death. *J Cell Sci* 2002;115(Pt 8):1567-1574
 - 54 Chen GG, Lai PB, Chan PK, Chak EC, Yip JH, Ho RL, Leung BC, Lau WY. Decreased expression of Bid in human hepatocellular carcinoma is related to hepatitis B virus X protein. *Eur J Cancer* 2001;37:1695-1702
 - 55 Schuster R, Gerlich WH, Schaefer S. Induction of apoptosis by the transactivating domains of the hepatitis B virus X gene leads to suppression of oncogenic transformation of primary rat embryo fibroblasts. *Oncogene* 2000;19:1173-1180
 - 56 Balsano C, Avantiaggiati ML, Natoli G, De Marzio E, Will H, Perricaudet M, Levrero M. Full-length and truncated versions of the hepatitis B virus (HBV) X protein (pX) transactivate the c-myc proto-oncogene at the transcriptional level. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;176:985-992
 - 57 You Z, Madrid LV, Saims D, Sedivy J, Wang CY. C-Myc sensitizes cells to tumor necrosis factor-mediated apoptosis by inhibiting nuclear factor kappa B transactivation. *J Biol Chem* 2002;277:36671-36677
 - 58 Juin P, Hueber AO, Littlewood T, Evan G. C-Myc-induced sensitization to apoptosis is mediated through cytochrome c release. *Genes Dev* 1999;13:1367-1381
 - 59 Juin P, Hunt A, Littlewood T, Griffiths B, Swigart LB, Korsmeyer S, Evan G. C-Myc functionally cooperates with Bax to induce apoptosis. *Mol Cell Biol* 2002;22:6158-6169
 - 60 Glasgow JN, Wood T, Perez-Polo JR. Identification and characterization of nuclear factor kappaB binding sites in the murine bcl-x promoter. *J Neurochem* 2000;75:1377-1389
 - 61 Grilli M, Memo M. Nuclear factor-kappaB/Rel proteins: a point of convergence of signalling pathways relevant in neuronal function and dysfunction. *Biochem Pharmacol* 1999;57:1-7
 - 62 Shou Y, Li N, Li L, Borowitz JL, Isom GE. NF-kappaB-mediated up-regulation of Bcl-X(S) and Bax contributes to cytochrome c release in cyanide-induced apoptosis. *J Neurochem* 2002;81:842-852
 - 63 Tamatani M, Che YH, Matsuzaki H, Ogawa S, Okado H, Miyake S, Mizuno T, Tohyama M. Tumor necrosis factor induces Bcl-2 and Bcl-x expression through NFkappaB activation in primary hippocampal neurons. *J Biol Chem* 1999;274:8531-8538
 - 64 Lin YZ, Yao SY, Veach RA, Torgerson TR, Hawiger J. Inhibition of nuclear translocation of transcription factor NF-kappa B by a synthetic peptide containing a cell membrane-permeable motif and nuclear localization sequence. *J Biol Chem* 1995;270:14255-14258
 - 65 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
 - 66 Amaro MJ, Bartolome J, Carreno V. Hepatitis B virus X protein transactivates the inducible nitric oxide synthase promoter. *Hepatology* 1999;29:915-23
 - 67 Chami M, Ferrari D, Nicotera P, Paterlini-Brechot P, Rizzuto R. Caspase-dependent alterations of Ca²⁺ signaling in the induction of apoptosis by hepatitis B virus X protein. *J Biol Chem* 2003;278:31745-31755
 - 68 Arbuthnot P, Capovilla A, Kew M. Putative role of hepatitis B virus X protein in hepatocarcinogenesis: effects on apoptosis, DNA repair, mitogen-activated protein kinase and JAK/STAT pathways. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:357-368
 - 69 Bontron S, Lin-Marq N, Strubin M. Hepatitis B virus X protein associated with UV-DDB1 induces cell death in the nucleus and is functionally antagonized by UV-DDB2. *J Biol Chem* 2002;277:38847-38854
 - 70 Yoo YD, Ueda H, Park K, Flanders KC, Lee YI, Jay G, Kim SJ. Regulation of transforming growth factor-beta 1 expression by the hepatitis B virus (HBV) X transactivator. Role in HBV pathogenesis. *J Clin Invest* 1996;97:388-395
 - 71 Tanaka Y, Kanai F, Kawakami T, Tateishi K, Ijichi H, Kawabe T, Arakawa Y, Kawakami T, Nishimura T, Shirakata Y, Koike K, Omata M. Interaction of the hepatitis B virus X protein (HBx) with heat shock protein 60 enhances HBx-mediated apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;318:461-469