

# 世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

2004 年 2 月 15 日 第 12 卷 第 2 期 (Volume 12 Number 2)



**2/2004**

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊,  
2003年百种中国杰出学术期刊,  
《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学  
类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊.  
世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》,  
荷兰《医学文摘库/医学文摘》,  
俄罗斯《文摘杂志》收录.

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2004 年 2 月 15 日 第 12 卷 第 2 期 (总第119期)

述 评	253 肝炎病毒蛋白对肝细胞基因组转录调节及信号转导机制的影响 成军
胃 癌	258 胃癌线粒体DNA拷贝量的变化 韩琤波, 李凡, 杨雪飞, 毛晓韵, 吴东瑛, 辛彦 262 胃癌前病变p21 <sup>ras</sup> , c-erbB-2, p53表达与中医证候的关系 胡玲, 劳绍贤 266 胃癌淋巴结转移预测的多因素分析 黄宝俊, 徐惠绵, 赵雨杰, 王天骄, 田大彤, 陈峻青
肝 癌	271 人鼠嵌合Fab抗体通用表达载体的构建和抗人肝癌相关抗原HAb18G嵌合Fab抗体的表达 邢金良, 杨向民, 张思河, 姚西英, 梁瑞安, 陈志南 276 肝癌细胞H <sub>22</sub> 与树突状细胞杂交瘤苗的实验研究 张娟, 张锦堃, 卓少宏 280 肝细胞癌hOGG1 mRNA及其蛋白的表达 周秀敏, 林菊生, 章金艳, 张莉, 周鹤俊 283 小鼠AFP-CTLA4融合蛋白真核表达载体的构建及鉴定 田耕, 易继林
病毒性肝炎	286 丙型肝炎病毒核心蛋白结合视黄醇脱氢酶11蛋白 成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟 291 丙型肝炎病毒非结构蛋白5A结合蛋白37小鼠同源基因的克隆化及结构分析 成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟 298 新生儿HBe Ag在HBV宫内感染中的作用 邵中军, 门可, 徐剑秋, 徐德忠, 闫永平, 张景霞 302 应用抑制性消减杂交技术筛选TAHCCP2的反式调节基因 王建军, 刘妍, 成军, 杨倩, 纪冬, 党晓燕, 徐志强, 王春花 306 基因表达谱芯片筛选NS5ATP3转染细胞差异表达基因 刘妍, 杨倩, 成军, 王建军, 纪冬, 党晓燕, 王春花 311 基因表达谱芯片技术筛选NS5A-TP4蛋白反式调节基因 杨倩, 成军, 刘妍, 王建军, 洪源, 张树林 315 HCV包膜糖蛋白E2基因的克隆、蛋白表达及纯化 杜德伟, 贾战生, 秦鸿雁, 刘秋平, 周永兴, 韩 骅 319 应用表达谱芯片技术对NS5ATP7反式调节基因的研究 张健, 刘妍, 成军, 王琳, 邵清, 梁耀东, 李强, 刘 敏 323 应用表达谱芯片技术筛选NS5ATP9反式调节基因的研究 李强, 梁耀东, 成军, 王琳, 王建军, 张健, 刘妍, 程明亮 327 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒反式调节靶基因的抑制性消减杂交和基因芯片分析结果的比较 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩, 王琳 332 多对型特异性引物巢式PCR检测湖南省乙肝病毒基因型 温志立, 谭德明
基础研究	336 人肝素酶基因正反义腺病毒表达载体的构建及鉴定 蔡永国, 房殿春, 杨仕明, 罗元辉, 杨孟华, 王东旭 339 正常与硬化肝组织基因表达差异的初步分析 刘连新, 陈志宏, 武林枫, 李宏伟, 刘芝华, 姜洪池, 王秀琴, 吴 旻 344 癌基因对大鼠肝卵圆细胞分化和转化的影响 廖 冰, 薛 玲, 何萍, 赵国强, 车丽洪 347 中药抗纤软肝颗粒抑制PDGF诱导的肝星状细胞MEK-1和c-fos表达 杨 玲, 朱清静, 笪邦红, 张赤志

	<p>351 实验性肝硬化大鼠小肠血红素氧合酶的表达 田德安, 周晓黎</p> <p>355 胃黏膜保护剂预防幽门螺杆菌培养上清液所致小鼠胃黏膜损伤 崔梅花, 胡伏莲, 董欣红</p> <p>359 结肠充气CT对检测大肠肿瘤的敏感性和特异性 王毅, 龚水根, 张伟国, 陈金华, 张连阳, 陈金萍</p> <p>363 胃溃疡大鼠胃泌素、生长抑素和GD细胞的变化 孙凤莲, 宋于刚, 覃汉荣</p> <p>367 当归多糖对大鼠乙酸性结肠炎的保护作用 刘少平, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平, 吴东方</p> <p>371 达纳康对大鼠溃疡性结肠炎细胞因子的影响 周燕红, 于皆平, 何小飞, 余细球</p>
临床研究	<p>376 恶性腹水基质金属蛋白酶活性分析 孙晓敏, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平</p> <p>379 慢性浅表性胃炎脾胃湿热证与水通道蛋白4蛋白表达的关系 周正, 劳绍贤, 黄志新, 张向菊, 黄烈平, 匡忠生</p> <p>382 肠易激综合征患者肠黏膜肥大细胞的变化 王静, 梁列新, 张志雄, 李国华, 钱伟, 侯晓华</p> <p>385 MRI评估肝硬化再生结节和退变结节 徐海波, 孔祥泉, 熊茵, 冯敢生</p>
焦点论坛	<p>390 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒</p> <p>391 乙型肝炎病毒DNA聚合酶末端蛋白研究进展 陈国凤, 成军, 张玲霞, 李莉</p> <p>393 乙型肝炎病毒DNA 多聚酶P结构域研究进展 陈国凤, 成军, 王琳, 张玲霞, 李莉</p> <p>397 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对转录因子ATF-1的调节 王春花, 成军, 郎振为, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕</p> <p>401 乙型和丙型肝炎病毒与胱冬肽酶3的关系 纪冬, 成军, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕, 王春花</p> <p>403 乙型和丙型肝炎病毒对转录因子Nur77的调节 成军</p> <p>406 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对层粘连蛋白表达的调节 王建军, 成军, 刘妍, 杨倩, 纪冬, 王春花</p> <p>408 转录因子C/EBPb的生物学功能 成军</p> <p>412 活性氧簇与肝炎病毒的关系 梁耀东, 成军, 吴君, 程明亮</p> <p>414 趋化因子与病毒性肝炎的关系 陆荫英, 成军, 张玲霞</p> <p>417 病毒性肝炎发病机制中环氧合酶的作用 刘敏, 成军, 张树林</p>
文献综述	<p>420 乙型肝炎病毒DNA整合的机制及后果 成军</p> <p>428 基质金属蛋白酶及其抑制物与实验性肝纤维化 郑伟达, 王小众</p> <p>432 建议将亚临床型肝性脑病更名为轻微型肝性脑病 贾林</p> <p>434 右叶部分肝移植临床解剖进展 刘静, 高毅, 钟世镇</p> <p>439 肝素酶: 抗肿瘤转移的新靶点 陈陵, 杨仕明, 房殿春, 王东旭</p> <p>443 肠道上皮特异性基因CDX2 宋艳, 李凌</p> <p>446 细胞凋亡与肝移植免疫耐受 刘静, 汪爽, 高毅, 孙尔维</p> <p>450 自身免疫性肝炎诊断与治疗 欧强, 谭德明</p> <p>454 VEGF在肝癌中作用 邓靖宇, 何生</p>
研究快报	<p>459 胰腺癌组织中COX-2和Bcl-2蛋白的表达及其意义 刘希双, 李玉军, 田宇彬, 张翠萍, 孙显路, 魏良洲, 薛会光, 刘思良</p> <p>461 3种富集胃癌患者外周血中胃癌细胞方法的比较 陈健, 郭俊明, 金之瑾, 肖丙秀</p> <p>464 肠缺血再灌注对小肠屏障、吸收、通透和传输功能的影响 黎君友, 孙丹, 吕艺, 晋桦, 胡森, 盛志勇</p> <p>467 MUC5AC蛋白在大肠肿瘤中的表达及意义 卜晓东, 李俐, 黄培林, 樊克武, 赵建华</p> <p>469 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒</p> <p>471 肛管直肠原发性恶性黑色素瘤临床病理特点 赵尔增, 张建中, 岳茂兴</p> <p>473 细胞周期蛋白D1 RT-PCR ELISA的建立及其初步应用 陈兵, 张雪, 府伟灵, 常杭花, 刘为纹, 徐采朴, 史景泉</p> <p>476 胃肠激素与不同类型反流所致食管炎的相关性 王雯, 李兆申, 许国铭, 张志坚, 林克荣</p> <p>477 尼美舒利对结肠癌细胞ICAM-1 mRNA表达的影响 刘伟, 张超</p>

## 临床经验

- 480 腹腔镜次/全结肠切除术治疗结肠慢传输性便秘4例 张连阳, 刘宝华, 陈金萍, 文亚洲
- 481 内镜下氩离子凝固术治疗胃肠息肉 毛振彪, 黄介飞, 陆静娴, 俞智华, 倪润洲
- 483 肝硬化门脉系统食管侧支血流动力学与血浆内皮素的关系 肖际东, 李瑞珍, 周平, 朱文晖
- 485 大黄与促肝细胞生长素联合治疗重型肝炎 黄以群, 林珍辉, 纪树梅, 王喻, 王崇国
- 487 5 km长跑对新兵胆囊排空及胃肠激素的影响 李小丽, 郝悦, 杨凤江, 邹勤, 李智力, 李晓春
- 488 药物性肝病41例 苏淑慧, 王春平, 李迎新, 冯永毅
- 490 数字化成像结肠双对比造影检查345例 何发清, 官泳松, 王小林, 郭兵文, 孙龙
- 492 胃十二指肠隐匿性穿孔的诊断与治疗4例 詹世林, 吴良平, 蒲森水
- 494 胃癌及癌前病变中胃黏膜上皮细胞增生及凋亡相关基因蛋白表达 孟华, 刘丽娜, 吕申
- 497 胃十二指肠疾病与幽门螺杆菌感染的相关性分析 周惠萌, 范欣敏
- 499 原发性胆汁性肝硬化37例临床分析 董正芳, 程留芳
- 501 射频消融联合局部热化疗治疗特殊部位肝脏恶性肿瘤 田伏洲, 陈涛, 蔡忠红, 陈琪
- 503 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒

## 封面故事

- 371 达纳康对大鼠溃疡性结肠炎细胞因子的影响  
周燕红, 于皆平, 何小飞, 余细球 世界华人消化杂志 2004; 12(2): 371-375  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v12/i2/371.htm>

## 国际会议

- 13th United European Gastroenterology Week, UEGW  
October 15-20, 2005
- American College of Gastroenterology Annual Scientific Meeting  
October 28-November 2, 2005
- ISGCON 2005  
November 11-15, 2005  
[isgcon2005@yahoo.co.in](mailto:isgcon2005@yahoo.co.in)  
[www.isgcon2005.com](http://www.isgcon2005.com)
- Advanced Capsule Endoscopy Users Course  
November 18-19, 2005  
[www.asge.org/education](http://www.asge.org/education)
- II Latvian Gastroenterology Congress  
November 29, 2005  
[gec@stradini.lv](mailto:gec@stradini.lv)  
[www.gastroenterologs.lv](http://www.gastroenterologs.lv)
- 2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases  
December 1-3, 2005  
[c.chase@imedex.com](mailto:c.chase@imedex.com)  
[www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm](http://www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm)
- 10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus  
February 22-25, 2006  
[isde@sapmea.asn.au](mailto:isde@sapmea.asn.au)  
[www.isde.net](http://www.isde.net)

# 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  
(半月刊)

创刊 1993-01-15  
改刊 1998-01-25  
出版 2004-02-15  
原刊名 新消化病学杂志

名誉总编辑 潘伯荣 社长总编辑 马连生

编辑部主任 张海宁 中文编辑 潘伯荣 张海宁

英文编辑 张海宁 排版校对 张敏 张勇 李琪

**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

**出版** 世界胃肠病学杂志社  
100023, 北京市2345信箱  
E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>  
电话: 010-85381901  
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, 北京市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: 010-85381901  
传真: 010-85381893

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊, 2003年百种中国杰出学术期刊, 《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊. 世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录.

### 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.

2005年版权归世界胃肠病学杂志社所有

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576.00元

广告经营许可证  
1401004000050

[www.wjgnet.com](http://www.wjgnet.com)

## 乙型和丙型肝炎病毒与胱冬肽酶3的关系

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

国家自然科学基金项目, No. C39970674, No. C30070689, 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, 军队“十、五”科技攻关青年基金项目 No.01Q138, 军队“十、五”科技攻关面上项目, No.01MB135

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: 2003-07-12 接受日期: 2003-08-16

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与胱冬肽酶3的关系. 世界华人消化杂志 2004;12(2):401-403

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/401.asp>

### 0 引言

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<sup>[1]</sup>, 他的发生是一系列称为胱冬肽酶(cysteiny aspartate-specific protease, caspase)蛋白酶家族成员的作用, 由活性中心的半胱氨酸上的巯基发挥活性, 所以属于半胱氨酸酶类. 胱冬肽酶蛋白酶家族也称为 ICE/Ced-3 家族, 是一组与细胞因子成熟和细胞凋亡有关的蛋白酶, 是美丽线虫(*Caenorhabditis elegans*)死亡基因 Ced-3 的同源物, 这个家族的蛋白酶具有特异性地在特定的氨基酸序列中将肽链从天门冬氨酸(Asp)之后切断的活性. 经过近几年的工作, 目前已经从人和动物细胞中克隆到十几种这样的蛋白酶, 1996 年 Alnemri et al<sup>[2]</sup>提出将人源性的 ICE/Ced-3 蛋白酶统一命名为“胱冬肽酶”, 并将已经克隆出来的人白介素 1 $\beta$  转化酶(Interleukin-1 $\beta$  converting enzyme, ICE)蛋白酶等依次命名为胱冬肽酶 1-10, 如 ICE 为胱冬肽酶 1, TCH 1 为胱冬肽酶 2, 半胱氨酸蛋白 32 (CPP32) 为胱冬肽酶 3 等, 他们在转染宿主细胞后均能引发细胞凋亡并都被牛痘病毒 CrmA 蛋白或一种四肽化合物(YVAD)抑制<sup>[3]</sup>. 其中胱冬肽酶 3 是胱冬肽酶家族中最重要的凋亡执行者之一, 在凋亡的执行阶段, 负责对全部或部分关键性蛋白的酶切(激活或灭活). 在慢性肝炎病毒致病(癌)过程中, 凋亡起着重要的作用, 通过病毒蛋白或识别病毒抗原的细胞毒 T 淋巴细胞(CTL)可使病毒感染细胞发生凋亡, 是宿主清除病毒的机制<sup>[4]</sup>. 慢性肝炎病毒与凋亡过程中的许多酶都存在着互相作用, 胱冬肽酶 3 是肝炎病毒作用的重要靶位, 了解肝炎病毒对胱冬肽酶 3 的影响, 对于肝炎病毒慢性感染的形成, 甚至是肝炎病毒相关性肝癌(HCC)的发生机制的研究具有重要意义.

### 1 胱冬肽酶 3 与凋亡

1994 年 Fernandes-Alnemri et al<sup>[5]</sup>在 BenBank 中的表达序列标记(expression sequence tag, EST)数据库中找到一段 ICE/Ced-3 活性中心同源的序列, 用他合成探针后, 筛选人 Jurkat T 淋巴细胞 cDNA 文库, 从中克隆到一种新基因, 因其编码分子量为 32 kD 的半胱氨酸蛋白酶而称之为半胱氨酸蛋白 (cysteine protease protein, CPP32), 1996 年命名为胱冬肽酶 3. 胱冬肽酶 3 cDNA 编码 277 个氨基酸, 其中 30% 与 ICE 同源, 35% 与 Ced-3 同源, 是迄今为止发现的所有 ICE 家庭成员中与 Ced-3 同源性最高的. 因此, 有人提出胱冬肽酶 3 可能是哺乳动物中 Ced-3 相对应物. 现在一般认为胱冬肽酶 3 是细胞凋亡过程中最主要的终末剪切酶, 也是 CTL 细胞杀伤机制的重要组成部分. 他广泛分布于各种不同类型的细胞中, 前胱冬肽酶 3 在活化过程中从 Asp28-Ser29 和 Asp175-Ser176 两处被剪切, 形成 P17(29-175)和 P10(182-277)两个片段, 两种亚基再组成活性形式的 17 kD 的胱冬肽酶 3. 前胱冬肽酶 3 本身并没有催化活性, 在活化时首先由颗粒酶 B 或胱冬肽酶 10 在 D175 剪切下小片段后他才被部分活化, 随后则可进行下一步的自我催化. 已知颗粒酶 B 是丝氨酸蛋白酶, 能引起靶细胞 DNA 裂解、凋亡, 是 CTL 介导的凋亡的途径之一, (另一途径是 Fas/FasL 介导的), 目前认为颗粒酶 B 所致凋亡是通过裂解活化胱冬肽酶 3 而得以进行的<sup>[6]</sup>.

凋亡在生物界是一种普遍现象, 他是多细胞生物进化过程中形成的、生命中必须的细胞死亡方式, 主要作用是清除无用的、多余的、不正常的、已完成任务的或有害的细胞, 维持机体内环境稳定. 胱冬肽酶 3 在细胞凋亡中起着不可替代的作用, 胱冬肽酶 3 基因转染昆虫 Sf9 细胞后引起细胞凋亡, 这个过程可以被 Bcl-2 阻断; 在发生凋亡的细胞提取液中去除胱冬肽酶 3 后, 这些提取液就失去了诱导细胞凋亡的能力; 再加入纯化的胱冬肽酶 3 他就又恢复了致凋亡的功能.

胱冬肽酶 3 识别序列为 DEVD, 可以与众多的底物作用, 从而引起细胞凋亡. 多聚 ADP-核糖聚合酶 (PARP) 是一种核蛋白, 其功能与 DNA 修复、基因组的维护和整合性, 及对环境刺激应力变化反应有关. 在细胞凋亡启动时, 116 kD 的 PARP 在 Asp216-Gly217 之间被胱冬肽酶 3 剪切成 31 kD 和 85 kD 两个片段, 使 PARP 中与 DNA 结合的两个锌指结构与羧基端的催化区域分离, 不能发挥正常功能, 结果使受 PARP 负调控影响的 Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> 依赖性核酸内切酶的活性增高, 裂解核小体间的 DNA, 引起细胞凋亡. 这种裂解过程可被胱冬肽酶 3 的特异性抑制剂 Ac-DEVD-CHO 所抑制, 但不能被 CrmA 抑制. 在很多形成凋亡的细胞中, 均可发现 PARP 这一片段, 因而, PARP 是凋亡蛋白酶底物之一<sup>[7]</sup>. 胱冬肽酶 3 还可以剪切 U1-70K、DNA-PK、PKCd 和 PKCq. PKCd 和 PKCq 都属于新型 PKC, 当被胱冬肽酶 3 剪切后, 可以切除调节区域, 而成为活性形式的 PKC, 另外实验还证明, 过量表达



PKC $\delta$  和 PKC $\zeta$  均可以引起细胞凋亡, 说明他们都参与了细胞凋亡的诱导. 胱冬肽酶 3 可以切开与 DNA 酶相连的抑制酶, 使前者激活, 入核后水解 DNA<sup>[8]</sup>, 产生电泳梯形. 胱冬肽酶 3 还可以切断肌凝蛋白, 后者是一种在正常情况下结合肌动蛋白丝, 保持细胞形状的蛋白, 将胱冬肽酶 3 切断的肌凝蛋白片段注入细胞, 细胞就会失去形状, 发生细胞凋亡样变化<sup>[9]</sup>, 切断的肌凝蛋白可能是细胞凋亡发生期间形态变化的生理效应物.

## 2 慢性乙型肝炎病毒与胱冬肽酶 3

近年来细胞凋亡在肝脏疾病发病机制中的作用越来越受到人们的重视, 重新认识了细胞凋亡在病毒性肝炎慢性化和肝细胞癌中的地位. 病毒感染时肝细胞的死亡可以是病毒直接作用或宿主免疫应答所致. 许多病毒感染所致的细胞凋亡与细胞毒作用有关, 如腺病毒、EB 病毒和人免疫缺陷病毒(HIV)等. 事实上, 病毒感染引起的细胞凋亡可能就是宿主通过细胞主动死亡来阻止(或延缓)受感染细胞内病毒复制和扩散, 而病毒也通过某种方式来阻止或延缓凋亡的发生使其成功地复制繁殖. 病毒产物抗凋亡机制可能有: (1)诱导 p53 失活; (2)使 bcl-2 和类 bcl-2 基因过度表达; (3)使胱冬肽酶家族成员失活.

慢性乙型肝炎病毒(HBV)为嗜肝 DNA 病毒属, 基因组全长约 3.2 kb, 主要感染宿主肝细胞并导致一系列病理过程, 包括隐性感染到后期的 HCC<sup>[10-12]</sup>. HBV 在感染肝细胞早期抑制凋亡, 之后再激活凋亡以便自身的复制及传播, 这样, 对于凋亡的抑制或激活都可以使细胞发生恶性突变. 在使用抗 Fas 抗体刺激并且在 HBx 的存在下, 胱冬肽酶 3 的活性以及线粒体释放细胞色素 C 受到了抑制<sup>[13]</sup>. Yano et al<sup>[14]</sup>研究了 HBV 相关性肝癌细胞中胱冬肽酶 3 的定量, 并运用免疫组化方法对胱冬肽酶 3 的活性进行了分析, 他们发现在肿瘤细胞中胱冬肽酶 3 的活性相对于正常细胞明显下降, 说明了 HBV 对于胱冬肽酶 3 活性有明显的抑制作用.

运用磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)药理学抑制剂渥曼青霉素抑制 PI3K 活性可以介导细胞凋亡, 并且可以使生长因子抗凋亡效应丧失<sup>[15-17]</sup>. Gottlob et al<sup>[18]</sup>通过不同的细胞系来研究 HBx 蛋白与胱冬肽酶 3 的关系, 说明 HBx 蛋白可以抑制胱冬肽酶 3 的活性, 通过对氨基端和羧基端截短型 HBx 分子的研究说明其抗凋亡活性与已知的两个反式激活结构域有重叠. Lee et al<sup>[19]</sup>研究证实了 PI3K 的激活以及后来的 Akt 和 Bad 的激活在 CHL 细胞中产生了抗凋亡作用, 并且可以激活胱冬肽酶 3 的活性, 表明 HBV 通过 HBx-PI3K-Akt-Bad 途径来抑制胱冬肽酶 3 的活性, 从而抑制凋亡的产生. 表达 HBx 蛋白的 CHL 细胞可以对血清撤除介导的凋亡有明显的抑制作用, 转染了 p53 后, 这个效应仍然存在, 说明了 HBx 介导的抗凋亡作用至少是部分不依赖于 p53 的.

## 3 慢性丙型肝炎病毒与胱冬肽酶 3

慢性丙型肝炎病毒(HCV)是导致以肝细胞炎症、损伤、

纤维化为特征的肝脏疾病的主要因素之一<sup>[20-26]</sup>. 尽管目前尚不清楚胱冬肽酶家族在 HCV 致病过程中起什么样的作用, 但凋亡肯定涉及了其致病机制. Otsuka et al<sup>[27]</sup>研究了 HCV 核心蛋白对细胞凋亡的效应机制, 使用抗 -Fas 抗体刺激后, 核心蛋白抑制了凋亡的级联, 从下游的胱冬肽酶 8 到上游胱冬肽酶 3, 从而说明了核心蛋白在线粒体水平抑制凋亡, 通过加强 Bcl-x 的表达而抑制了胱冬肽酶 3 的激活. 还有许多研究都报道了在 HCV 相关 HCC 患者的尸检中, 肿瘤细胞内胱冬肽酶 3 的活性都相当低, 这也可能是 HCV 致癌原因之一.

在 HCV 感染患者体内, CTL 和辅助性 T 细胞是防止病毒持续存在的关键所在, 而 HCV 感染患者体内外周血中 HCV 特异性 CTL 的数量却非常少<sup>[28-29]</sup>, Hahn et al<sup>[30]</sup>研究了 HCV 核心蛋白对 T 淋巴细胞的影响, 在人 T 细胞系 Jurkat 细胞中瞬时或稳定表达核心蛋白可以增加细胞对 Fas 介导的凋亡的敏感性, 并且观察到了核心蛋白可以与 Fas 胞内区结合, 而此结构域可以增加 Fas 介导凋亡的下游信号途径. 核心蛋白的表达并没有改变细胞表面 Fas 的表达, 说明了表达核心蛋白的细胞对于 Fas 配体的敏感性的增加并不依赖于 Fas 的下调, 进一步, 他们还观察到了在表达核心蛋白细胞内胱冬肽酶 3 的活性增加. 这些结果都说明在 HCV 感染阶段, 核心蛋白通过 Fas 信号途径激活了免疫细胞内胱冬肽酶 3, 促进了免疫细胞的凋亡, 从而使其自身得以存活.

## 4 参考文献

- 1 刘丽娜. 细胞凋亡的分子机制. 世界华人消化杂志 2002;10:422-423
- 2 Alnemri ES, Livingston DJ, Nicholson DW, Salvesen G, Thornberry NA, Wong WW, Yuan J. Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell* 1996;87:171
- 3 Golstein P. Controlling cell death. *Science* 1997;275:1081-1082
- 4 Schlosser SF, Schuler M, Berg CP, Lauber K, Schulze-Osthoff K, Schmahl FW, Wesselborg S. Ribavirin and alpha interferon enhance death receptor-mediated apoptosis and caspase activation in human hepatoma cells. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:1912-1921
- 5 Fernandes-Alnemri T, Litwack G, Alnemri ES. CPP32, a novel human apoptotic protein with homology to Caenorhabditis elegans cell death protein Ced-3 and mammalian interleukin-1 beta-converting enzyme. *J Biol Chem* 1994;269:30761-30764
- 6 余玉红, 夏冰. Fas/FasL 表达与大肠癌的免疫逃逸. 世界华人消化杂志 2002;10:816-819
- 7 Nicholson DW, Ali A, Thornberry NA, Vaillancourt JP, Ding CK, Gallant M, Gareau Y, Griffin PR, Labelle M, Lazebnik YA. Identification and inhibition of the ICE/CED-3 protease necessary for mammalian apoptosis. *Nature* 1995;376:37-43
- 8 Enari M, Sakahira H, Yokoyama H, Okawa K, Iwamatsu A, Nagata S. A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. *Nature* 1998;391:43-50
- 9 Kothakota S, Azuma T, Reinhard C, Klippel A, Tang J, Chu K, McGarry TJ, Kirschner MW, Koths K, Kwiatkowski DJ, Williams LT. Caspase-3-generated fragment of gelsolin: effector of morphological change in apoptosis. *Science* 1997;278:294-298
- 10 成军, 董菁, 刘妍, 李莉, 斯崇文, 王勤环, 张玲霞, 陈菊梅. 乙型肝炎病毒准种研究的临床意义. 世界华人消化杂志 2002;10:209-211
- 11 成军, 刘妍, 陆荫英, 李克, 王琳. 乙型肝炎病毒对细胞信号转导的影响. 世界华人消化杂志 2003;11:472-474
- 12 成军, 刘妍, 陆荫英, 李克, 王琳. 肿瘤抑制因子 p21/waf1 与肝炎病毒复制与表达的调节研究. 世界华人消化杂志 2003;11:469-471
- 13 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
- 14 Yano Y, Hayashi Y, Nakaji M, Nagano H, Seo Y, Ninomiya T, Yoon S, Wada A, Hirai M, Kim SR, Yokozaki H, Kasuga M. Different apoptotic regulation of TRAIL-caspase pathway in HBV- and HCV-related hepatocellular carcinoma. *Int J Mol Med* 2003;11:499-504
  - 15 Crowder RJ, Freeman RS. Phosphatidylinositol 3-kinase and Akt protein kinase are necessary and sufficient for the survival of nerve growth factor-dependent sympathetic neurons. *J Neurosci* 1998;18:2933-2943
  - 16 Kulik G, Weber MJ. Akt-dependent and -independent survival signaling pathways utilized by insulin-like growth factor I. *Mol Cell Biol* 1998;18:6711-6718
  - 17 Ryu BR, Ko HW, Jou I, Noh JS, Gwag BJ. Phosphatidylinositol 3-kinase-mediated regulation of neuronal apoptosis and necrosis by insulin and IGF-I. *J Neurobiol* 1999;39:536-546
  - 18 Gottlob K, Fulco M, Levrero M, Graessmann A. The hepatitis B virus HBx protein inhibits caspase 3 activity. *J Biol Chem* 1998;273:33347-33353
  - 19 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
  - 20 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
  - 21 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
  - 22 成军. 慢性丙型肝炎肝脂肪变性的机制及其意义. 世界华人消化杂志 2002;10:999-1003
  - 23 成军, 任进余, 李莉, 陆志檬, 李克, 洪源, 陆荫英, 王刚, 刘妍, 张玲霞, 陈菊梅. 丙型肝炎病毒结构基因转基因小鼠引起肝脂肪变. 世界华人消化杂志 2002;10:1022-1026
  - 24 成军, 李克, 陆荫英, 王琳, 刘妍. 丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白6基因和蛋白的生物信息学分析. 世界华人消化杂志 2003;11:378-384
  - 25 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
  - 26 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
  - 27 Otsuka M, Kato N, Taniguchi H, Yoshida H, Goto T, Shiratori Y, Omata M. Hepatitis C virus core protein inhibits apoptosis via enhanced Bcl-xL expression. *Virology* 2002;296:84-93
  - 28 Rehmann B, Chang KM, McHutchinson J, Kokka R, Houghton M, Rice CM, Chisari FV. Differential cytotoxic T-lymphocyte responsiveness to the hepatitis B and C viruses in chronically infected patients. *J Virol* 1996;70:7092-7102
  - 29 Rehmann B, Chang KM, McHutchinson JG, Kokka R, Houghton M, Chisari FV. Quantitative analysis of the peripheral blood cytotoxic T lymphocyte response in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Clin Invest* 1996;98:1432-1440
  - 30 Hahn CS, Cho YG, Kang BS, Lester IM, Hahn YS. The HCV core protein acts as a positive regulator of fas-mediated apoptosis in a human lymphoblastoid T cell line. *Virology* 2000;276:127-137

成军. 乙型和丙型肝炎病毒对转录因子 Nur77 的调节. 世界华人消化杂志 2004;12(2):403-406

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/403.asp>

## 0 引言

nur77 又称为神经生长因子诱导的基因 B (nerve growth factor-induced gene B, NGFI-B), 是一种细胞核孤儿受体(orphan nuclear receptor) 转录因子蛋白, 在多种细胞的信号转导、细胞周期、细胞凋亡的调节中具有十分重要的作用. 乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)感染引起的各种类型的慢性肝脏疾病, 其发病机制主要是通过肝炎病毒蛋白对于细胞内正常的信号转导通路进行干扰, Nur77是肝炎病毒蛋白作用的靶分子之一. 肝炎病毒蛋白对于 Nur77 转录因子蛋白正常调节功能的干扰, 与慢性病毒性肝炎、肝纤维化(LF)、肝细胞癌(HCC)发生发展有密切关系<sup>[1-4]</sup>.

Nur77转录因子蛋白属于一个结构序列具有高度同源性的蛋白家族. NGFI-B/Nur77、Nurr1、NOR1等孤儿核受体家族成员, 或者以同二聚体形式, 或者以家族内部成员之间结合形成的异二聚体形式, 与NGFI-B的应答元件(responsive element, NBRE)调节元件结合, 发挥转录调节作用. Xing et al<sup>[5]</sup>在脑皮质cDNA文库中筛选得到大鼠的孤儿核受体cDNA. 这一cDNA长度为2 154 bp, 开放读码框架1 794 bp, 编码产物由598 aa组成, 分子量为65 kD. 氨基酸序列分析表明这一蛋白与小鼠的nurr1和人的NOT1孤儿核受体NGFI-B/nur77/NAK1家组成员具有很高的同源性. 将这一基因命名为大鼠的r-nurr1. Northern blot 分析结果表明r-nurr1 mRNA在脑组织中的表达水平最高, 肺组织中的表达水平中等, 大小皆为4.0 kb. 在睾丸组织中存在较小的mRNA, 大小为2.5 kb. r-nurr1在心脏、骨骼肌、肝脏、肾脏和脾脏中的表达水平很低. 原位杂交技术研究结果表明, r-nurr1 mRNA在CNS的各个部位都有持续表达, 在深层组织(IV-VI层)中更是如此.

Scearce et al<sup>[6]</sup>肝脏部分切除以后触发的肝脏再生过程, 是研究发育完成之后, 动物器官有丝分裂的有限的几个模型之一. 即刻早期生长因子基因的表达, 无论是在蛋白合成之前还是蛋白合成之后, 都发挥着十分重要的调节作用. 对肝脏再生的差减文库的筛选, 发现了1种甲状腺/类固醇受体超家族(thyroid/steroid receptor superfamily)的一个新成员, 称为再生肝脏核受体-1(RNR-1, regenerating liver nuclear receptor). 这一基因在静止的肝脏中没有表达活性, 但在肝脏部分切除之后可以快速诱导, 这一基因的表达也是肝脏再生特异性的, 因为肝脏在受到有丝分裂原的刺激之后也没有表达活性. RNR-1在脑组织中也有一定的表达活性. RNR-1蛋白分子量为66 kD, 由597 aa组成, 体外转录和翻译系统的研究结果也证实了这一点. RNR-1与r-NGFI-B/m-Nur77具有很高的同源性, 特别是在其DNA结构域更是如此, 达到94%, 在推测的配体结

## 乙型和丙型肝炎病毒对转录因子 Nur77 的调节

成 军

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  
国家自然科学基金项目, No. C03011402, No. C30070689, 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, 军队“十、五”科技攻关青年基金项目 No.01Q138, 军队“十、五”科技攻关面上项目, No.01MB135  
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](mailto:cj@genetherapy.com.cn)  
电话: 010-66933391 传真: 010-63801283  
收稿日期: 2003-07-12 接受日期: 2003-08-16



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

