

- 22 Krajcsi P, Wold WS. Viral proteins that regulate cellular signaling. *J Gen Virol* 1998;79(Pt 6):1323-1335
- 23 Hibi M, Lin A, Smeal T, Minden A, Karin M. Identification of an oncoprotein- and UV-responsive protein kinase that binds and potentiates the c-Jun activation domain. *Genes Dev* 1993;7:2135-2148
- 24 Westwick JK, Cox AD, Der CJ, Cobb MH, Hibi M, Karin M, Brenner DA. Oncogenic Ras activates c-Jun via a separate pathway from the activation of extracellular signal-regulated kinases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:6030-6034
- 25 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(Pt 11):2737-2742
- 26 Balsano C, Avantaggiati 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 cmyc protooncogene at the transcriptional level. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;176:985-992
- 27 Beasley RP. Hepatitis B virus. The major etiology of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1988;61:1942-1956
- 28 Lauer U, Weiss L, Hofschneider PH, Kekule AS. The hepatitis B virus pre-S/S(t) transactivator is generated by 3' truncations within a defined region of the S gene. *J Virol* 1992;66:5284-5289
- 29 Lauer U, Weiss L, Lipp M, Hofschneider PH, Kekule AS. The hepatitis B virus preS2/St transactivator utilizes AP-1 and other transcription factors for transactivation. *Hepatology* 1994;19:23-31

丙型肝炎病毒核心蛋白与白介素-2启动子的调节

刘敏, 成军, 张树林

刘敏, 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
张树林, 西安交通大学第一医院传染科 陕西省西安市 710061
国家自然科学基金项目, No. C03011402, No. C39900130, 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, 10039, 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: 2003-11-13 接受日期: 2003-12-16

刘敏, 成军, 张树林. 丙型肝炎病毒核心蛋白与白介素-2启动子的调节. 世界华人消化杂志 2004;12(4):940-943

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/940.asp>

0 引言

丙型肝炎病毒(HCV)持续感染, 增加了肝纤维化和肝细胞癌(HCC)的危险性, 其机制与HCV引起机体免疫调节障碍有关. HCV基因表达产物中, 高度保守的HCV核心(core)蛋白具有免疫调节功能. 辅助性T细胞产生白介素(IL-2), HCV患者IL-2表达分泌异常, 与痊愈有明显相关性. 研究表明HCV核心蛋白具有转录激活IL-2启动子的作用, 本文对此方面的研究作一综述.

1 HCV核心蛋白具有免疫调节功能

HCV感染是一个严重的影响人类健康的世界性问题. 80%的HCV感染慢性化, 且容易进展为肝硬化、HCC^[1]. HCV不但感染肝细胞还能感染免疫细胞, 如巨噬细胞, B细胞和T细胞, 且具有改变免疫细胞功能的作用^[2-4]. HCV RNA基因大约9.5 kb长, 编码一个长的多聚蛋白. 通过蛋白分解过程这个多聚蛋白可产生10个不同的结构和非结构蛋白. 结构蛋白核心蛋白和包膜蛋白E1、E2糖蛋白位于多聚蛋白的N-端部分, 在RNA复制中非结构(NS)蛋白在多聚蛋白的剩余部分. HCV基因产物中, 高度保守的HCV核心蛋白具有免疫调节功能^[5-6].

由于HCV仅感染人和黑猩猩, 且在细胞培养不能有效复制, 评价各个HCV编码蛋白在HCV感染过程中调节宿主免疫反应的能力比较困难. 因此, 许多的调控研究都是应用分子生物学技术, 在细胞系水平上进行的. 将重组痘苗病毒感染鼠表达HCV基因可作为一种方法评价特有的HCV多肽可能的免疫调节作用^[7-8]. Large et al^[9]运用此方法研究认为HCV感染早期阶段首先产生HCV核心蛋白, HCV核心蛋白通过抑制抗病毒的细胞毒性T淋巴细胞(CTL)抑制宿主免疫反应. 核心蛋白的转基因鼠研究显示, T淋巴细胞反应, 包括干扰素 γ (IFN γ)和IL-2分泌表达, 与对照比较明显被抑制. HCV核心蛋白转基因鼠肝门束可见与血清谷丙转氨酶(ALT)升高相关的明显的淋巴细胞浸润. HCV核心蛋白编码转基因鼠的肝组织改变与慢性HCV感染的患者相似, 转基因鼠病灶也聚集在肝门和小叶. 非转基因同窝出生鼠和HCV核心蛋白转基因鼠生育的Fas缺陷lpr鼠未见肝内淋巴细胞或肝损害. 推测T淋巴细胞的抑制也许增加外周血T淋巴细胞对Fas介导的凋亡的敏感性, T淋巴细胞核心蛋白表达对引起免疫调节障碍, 凋亡淋巴细胞在肝脏积聚和随后的肝脏损害起关键性作用^[10].

尽管中和性抗体提供保护性免疫, 大多数病毒感染通过CTL介导的免疫反应清除^[11-12]. 但推测除了CTL的溶解, 抗病毒的细胞因子对于HCV感染的清除也很重要^[13]. 抗病毒的细胞因子与I型免疫反应相关. HCV感染患者有明显的细胞因子增生. 急性HCV感染1型细胞因子IFN γ 和IL-2分泌与痊愈有明显相关性^[14]. 1型细胞因子见于HCV阳性健康人, 而2型细胞因子增生见于慢性HCV患者^[15]. 体液免疫和细胞免疫的平衡由多种细胞因子调节. 辅助性T细胞产生的IL-2是一种T细胞特有的丝分裂素和分化因子^[16]. 细胞因子反应的改变与HCV持续感染有关, 增加了肝纤维化和HCC的危险性. 研究HCV引起机体免疫调节障碍是有效的HCV治疗的关键.

2 IL-2启动子的转录调节机制

休眠状态的T细胞活化需要两种不同的信号. 第一种信号来自于T细胞抗原受体(TCR)识别抗原多肽和抗原呈

现细胞(APC)上MHC分子.这个信号导致T细胞对二次由APC提供的协同刺激信号的有效反应^[17].CD28分子作为基本的受体在T细胞产生协同刺激信号,CD28结合抗-CD28单克隆抗体或与TCR相伴的配体引起T细胞完全活化^[18].除了CD28外,T细胞有多个协同刺激分子,包括CD5、CD2、CD44、CD9^[19].CD28具有协同刺激IL-2启动子基因表达的作用.还有许多IL-2启动子基因元素涉及调节IL-2基因转录活性,包括T细胞活化核因子(nuclear factor of activated T cells, NFAT),NF- κ B结合位点和CD28反应元素(CD28RE).NFAT是转录因子的一个家族,调节诱导活化许多重要的免疫基因的转录.NFAT是胞质中固有的,以潜在的磷酸化形式存在.以钙调素依赖的钙调磷酸酶激活方式增加胞质中钙水平,通过磷酸化作用激活NFAT^[20].尽管NFAT家族的所有蛋白均具有高度保守的DNA结合区而且与AP-1蛋白协同结合IL-2启动子的NFAT位点,但每一个成员又有特殊的优先结合其他启动子的位点.瞬时转染突变型NFAT蛋白表明靶启动子的转录激活与突变型NFAT特有的DNA结合相关.不同的NFAT蛋白优先和有效的结合位点可能程序性暂时表达不同细胞因子基因^[21].NFAT/AP-1是第一个发现的关键的IL-2基因转录调节因子.但是,更多证据表明由CD28协同刺激的NF- κ B在T细胞活化中扮演了更重要的角色.

NF- κ B家族成员由几个不同的亚单位组成,包括c-Rel、RelB、p52,和家族中的遍在蛋白Rel-A(p65)和p50.c-Rel在NF- κ B刺激激活时被诱导合成.NF- κ B是这些亚单位的二聚体复合物以游离状态与相关连的抑制性家族分子I κ B存在于细胞质中^[22].不同的二聚体复合物被各种能够磷酸化/降解I κ B的刺激激活易位到细胞核区.这些刺激包括来自TCR/CD28^[23]和肿瘤坏死因子(TNF)受体的信号^[24].

CD28协同刺激以时间依赖的方式上调NF-AT/AP-1和NF- κ B^[25],介导上调IL-2转录,增加mRNA稳定性,延长mRNA半衰期^[26].CD28结合转录因子NFAT和NF- κ B结合位点及IL-2启动子的CD28反应元件呈时间依赖性增加.非CD28协同刺激时由于缺乏I κ B灭活使NF- κ B的重要成员c-Rel不能易位到细胞核区而降低了NF- κ B的活性.非CD28协同刺激不能活化c-Rel/NF- κ B故不能维持IL-2启动子活性^[27].

诱导NF- κ B要求来自连接CD28受体的协同刺激信号.NF- κ B调节不仅仅是NF- κ B增强元素的作用,而且还有IL-2启动子的CD28RE的作用.CD28RE与NF- κ B家族的许多成员和NFAT相互作用,是CD28协同刺激信号形成的基础^[28].

IL-2基因转录的出现依赖于T细胞活化的方式.重要的引起IL-2转录增加的原因是改变核结构中包括300bp启动子区的基因.IL-2基因主要在CD4(+)T细胞以依赖NF- κ B家族成员c-Rel的方式转录.c-Rel是核结构包括300bp的IL-2启动子对主要在CD4(+)T细胞

的CD3/CD28反应发生球形改变的基础^[29].来自c-Rel缺陷鼠的T细胞不能产生IL-2,说明c-Rel在调节IL-2基因表达中起关键性作用^[30].

3 HCV核心蛋白转录激活IL-2启动子的机制

信号肽酶介导从HCV多聚蛋白191残基下游E1糖蛋白分离核心蛋白^[31].核心蛋白在172残基附近位点通过微球蛋白相关活性进一步加工^[32].这些HCV核心蛋白位于核周内质网^[33].HCV核心蛋白前122aa可有效调节c-myc和异性肝炎病毒(HBV)的基因启动子,缺失1-152aa的截断残基无活性,推测羧基端部分对于激活IL-2启动子是必须的.HCV核心蛋白的羧基端部分对于他在核周内质网的定位是十分重要的.这意味着核心蛋白的亚细胞定位或羧基端疏水性残基可能对于他刺激IL-2启动子转录是重要的^[34].Bergqvist et al^[35]用Jurkat细胞研究显示,自然感染过程中存在的HCV核心蛋白在其他刺激因子存在的情况下有促进IL-2启动子转录的作用.核心蛋白在转录水平调节宿主和病毒启动子.HCV核心蛋白全长而不是部分表达可激活NFAT介导的IL-2启动子在Jurkat细胞的表达.

T细胞中IL-2的合成是在转录水平调节的.通过衔接细胞表面受体引起信号转导级联启动,随后结合IL-2启动子特有元素的转录因子诱导IL-2基因的转录^[36].交联TCR起始信号涉及酪氨酸激酶依赖激活的磷脂酶C- γ (PLC- γ)和生成的甘油二酯及1,4,5-三磷酸肌醇(IP₃)^[37].下游信号激活包括p21ras细胞分裂素(丝裂原)活化蛋白激酶^[38]和钙依赖途径^[39].IP₃受体存在内质网膜,细胞内储存的钙通过IP₃受体激活介导的TCR刺激释放^[40].一种可能的方式是HCV核心蛋白定位于内质网刺激钙信号,通过增加内质网钙的浓度或通过促进钙释放引起对刺激更大的反应.

Bergqvist et al^[41]报道HCV核心蛋白作用于NFAT活化的基础Ca²⁺信号.HCV核心蛋白作用Ca²⁺信号不依赖于PLC- γ 活性或增加IP₃产物且不需要功能性IP₃受体,推测病毒蛋白插入内质网膜可有效促进Ca²⁺漏出引起一系列后果.感染的T淋巴细胞表达HCV核心蛋白通过诱导Ca²⁺浓度的震荡改变Ca²⁺信号的信息内容和强度,最终诱导基因表达和功能分化,有助于建立持续感染.相反,当细胞用钙离子载体或抗-TCR协同刺激时HCV核心蛋白仅有很少的转录激活功能.HCV核心蛋白对于转录无普遍作用,因为仅在NFAT结合位点存在于报告质粒时可观察到活性.HCV核心蛋白替代诱导因子触发钙释放进一步支持了NFAT活化的要求.正如加入ECTA耗竭细胞外钙一样通过加入环孢菌素A可抑制HCV核心蛋白激活IL-2启动子.环孢菌素A通过抑制钙调磷酸酶依赖的NFAT去磷酸化抑制NFAT依赖的转录.由此推测,HCV核心蛋白的作用由转录因子NFAT介导且HCV核心蛋白的活化作用要有NFAT激活钙调磷酸酶.核心蛋白蛋白激活转录要有钙释放进入细胞质^[35].

HCV 核心蛋白存在时, 仅有佛波乙酯(TPA)刺激就可诱导 IL-2 启动子在细胞中转录, 当细胞有抗 -CD28 或弗司扣林(forskolin)协同刺激时 IL-2 表达明显增加. HCV 核心蛋白和 TPA 诱导高水平的 IL-2 启动子转录需要有抗 -CD28 和弗司扣林的协同刺激^[42]. 交联 CD28 信号包括由压力激活蛋白激酶(stress-activated protein kinases)去磷酸化的 c-Jun、I κ B- α , 转录激活通过 c-Rel 或 RelA/p65 结合 IL-2 启动子的一个 κ B 类似位点 CD28RE 介导. 蛋白激酶 A(PKA)在细胞中有许多有效靶位且可能存在多种功能. 体外, HCV 核心蛋白可通过 PKA 和蛋白激酶 C(PKC)磷酸化. 腺苷酸环化酶激活因子弗司扣林作为环磷腺苷诱导剂(蛋白激酶 A)被广泛应用. HCV 核心蛋白在转录激活的作用时通过 PKA 或 CD28 协同刺激呈现相似作用. 推测是单一因子启动两种不同的途径^[43].

c-Rel 是有效的因子, 可通过弗司扣林和抗 -CD28 诱导. 但是, 弗司扣林的作用不是单一的引起核心蛋白磷酸化, 因为结果还依赖于启动子类型. 刺激 Jurkat 细胞, 由弗司扣林激活 PKA 引起核易位和 DNA 结合 RelA/p65 减少, IL-2 基因转录降低. 但是, 这种情况下 c-Rel 的表达和 DNA 结合增加^[44]. 刺激 TCR 诱导 IL-2 合成必须有 T 细胞特有的酪氨酸激酶 p56lck. 因此, 在 p56lck 缺陷 J.CaM.1 细胞系 TCR 交联既不能诱导钙释放, 也不能诱导 IL-2 合成. 但在这些细胞, HCV 核心蛋白能够诱导 IL-2 启动子的转录. p56lck 对于 HCV 核心蛋白基因的转录激活作用是可有可无的, 推测核心蛋白的作用在 p56lck 信号转导级联的下游^[35].

4 参考文献

- Saito I, Miyamura T, Ohbayashi A, Harada H, Katayama T, Kikuchi S, Watanabe Y, Koi S, Onji M, Ohta Y. Hepatitis C virus infection is associated with the development of hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:6547-6549
- Chang TT, Young KC, Yang YJ, Lei HY, Wu HL. Hepatitis C virus RNA in peripheral blood mononuclear cells: comparing acute and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1996;23:977-981
- Lerat H, Berby F, Traub MA, Vidalin O, Major M, Trepo C, Inchauspe G. Specific detection of hepatitis C virus minus strand RNA in hematopoietic cells. *J Clin Invest* 1996;97:845-851
- Muller HM, Pfaff E, Goeser T, Kallinowski B, Solbach C, Theilmann L. Peripheral blood leukocytes serve as a possible extrahepatic site for hepatitis C virus replication. *J Gen Virol* 1993;74:669-676
- Matsumoto M, Hsieh TY, Zhu N, VanArsdale T, Hwang SB, Jeng KS, Gorbelenya AE, Lo SY, Ou JH, Ware CF, Lai MM. Hepatitis C virus core protein interacts with the cytoplasmic tail of lymphotoxin-beta receptor. *J Virol* 1997;71:1301-1309
- Chen CM, You LR, Hwang LH, Lee YH. Direct interaction of hepatitis C virus core protein with the cellular lymphotoxin-beta receptor modulates the signal pathway of the lymphotoxin-beta receptor. *J Virol* 1997;71:9417-9426
- Blanden RV. Mechanisms of recovery from a generalized viral infection: mousepox. II. Passive transfer of recovery mechanisms with immune lymphoid cells. *J Exp Med* 1971;133:1074-1089
- Blanden RV. Mechanisms of recovery from a generalized viral infection: mousepox. 3. Regression infectious foci. *J Exp Med* 1971;133:1090-1104
- Large MK, Kittleson DJ, Hahn YS. Suppression of host immune response by the core protein of hepatitis C virus: possible implications for hepatitis C virus persistence. *J Immunol* 1999;162:931-938
- Soguero C, Joo M, Chianese-Bullock KA, Nguyen DT, Tung K, Hahn YS. Hepatitis C virus core protein leads to immune suppression and liver damage in a transgenic murine model. *J Virol* 2002;76:9345-9354
- Guidotti LG, Ando K, Hobbs MV, Ishikawa T, Runkel L, Schreiber RD, Chisari FV. Cytotoxic T lymphocytes inhibit hepatitis B virus gene expression by a noncytolytic mechanism in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:3764-3768
- Guidotti LG, Ishikawa T, Hobbs MV, Matzke B, Schreiber R, Chisari FV. Intracellular inactivation of the hepatitis B virus by cytotoxic T lymphocytes. *Immunity* 1996;4:25-36
- Chang KM, Rehmann B, Chisari FV. Immunopathology of hepatitis C. *Springer Semin Immunopathol* 1997;19:57-68
- Tsai SL, Liaw YF, Chen MH, Huang CY, Kuo GC. Detection of type 2-like T-helper cells in hepatitis C virus infection: implications for hepatitis C virus chronicity. *Hepatology* 1997;25:449-458
- Woitas RP, Lechmann M, Jung G, Kaiser R, Sauerbruch T, Spengler U. CD30 induction and cytokine profiles in hepatitis C virus core-specific peripheral blood T lymphocytes. *J Immunol* 1997;159:1012-1018
- Curfs JH, Meis JF, Hoogkamp-Korstanje JA. A primer on cytokines: sources, receptors, effects, and inducers. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:742-780
- Linsley PS, Ledbetter JA. The role of the CD28 receptor during T cell responses to antigen. *Annu Rev Immunol* 1993;11:191-212
- Jenkins MK, Taylor PS, Norton SD, Urdahl KB. CD28 delivers a costimulatory signal involved in antigen-specific IL-2 production by human T cells. *J Immunol* 1991;147:2461-2566
- Watts TH, DeBenedette MA. T cell co-stimulatory molecules other than CD28. *Curr Opin Immunol* 1999;11:286-293
- Crabtree GR. Generic signals and specific outcomes: signaling through Ca²⁺, calcineurin, and NF-AT. *Cell* 1999;96:611-614
- Oum JH, Han J, Myung H, Hleb M, Sharma S, Park J. Molecular mechanism of NFAT family proteins for differential regulation of the IL-2 and TNF-alpha promoters. *Mol Cells* 2002;13:77-84
- Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol* 1998;16:225-260
- Maggirwar SB, Harhaj EW, Sun SC. Regulation of the interleukin-2 CD28-responsive element by NF-ATp and various NF-kappaB/Rel transcription factors. *Mol Cell Biol* 1997;17:2605-2614
- May MJ, Ghosh S. Signal transduction through NF-kappa B. *Immunol Today* 1998;19:80-88
- Zhou XY, Yashiro-Ohtani Y, Nakahira M, Park WR, Abe R, Hamaoka T, Naramura M, Gu H, Fujiwara H. Molecular mechanisms underlying differential contribution of CD28 versus non-CD28 costimulatory molecules to IL-2 promoter activation. *J Immunol* 2002;168:3847-3854
- Powell JD, Ragheb JA, Kitagawa-Sakakida S, Schwartz RH. Molecular regulation of interleukin-2 expression by CD28 costimulation and anergy. *Immunol Rev* 1998;165:287-300
- Zhou XY, Yashiro-Ohtani Y, Nakahira M, Park WR, Abe R, Hamaoka T, Naramura M, Gu H, Fujiwara H. Molecular mechanisms underlying differential contribution of CD28 versus non-CD28 costimulatory molecules to IL-2 promoter activation. *J Immunol* 2002;168:3847-3854
- Maggirwar SB, Harhaj EW, Sun SC. Regulation of the interleukin-2 CD28-responsive element by NF-ATp and various NF-kappaB/Rel transcription factors. *Mol Cell Biol* 1997;17:2605-2614
- Rao S, Gerondakis S, Woltring D, Shannon MF. c-Rel is required for chromatin remodeling across the IL-2 gene promoter. *J Immunol* 2003;170:3724-3731
- Kontgen F, Grumont RJ, Strasser A, Metcalf D, Li R, Tarlinton D, Gerondakis S. Mice lacking the c-rel proto-oncogene exhibit defects in lymphocyte proliferation, humoral immunity, and interleukin-2 expression. *Genes Dev* 1995;9:1965-1977
- Hussy P, Langen H, Mous J, Jacobsen H. Hepatitis C virus core protein: carboxy-terminal boundaries of two processed species suggest cleavage by a signal peptide peptidase. *Virology* 1996;224:93-104

- 32 Schlesinger JJ, Chapman S, Nestorowicz A, Rice CM, Ginocchio TE, Chambers TJ. Replication of yellow fever virus in the mouse central nervous system: comparison of neuroadapted and non-neuroadapted virus and partial sequence analysis of the neuroadapted strain. *J Gen Virol* 1996;77:1277-1285
- 33 Yasui K, Wakita T, Tsukiyama-Kohara K, Funahashi SI, Ichikawa M, Kajita T, Moradpour D, Wands JR, Kohara M. The native form and maturation process of hepatitis C virus core protein. *J Virol* 1998;72:6048-6055
- 34 Suzuki R, Matsuura Y, Suzuki T, Ando A, Chiba J, Harada S, Saito I, Miyamura T. Nuclear localization of the truncated hepatitis C virus core protein with its hydrophobic C terminus deleted. *J Gen Virol* 1995;76:53-61
- 35 Bergqvist A, Rice CM. Transcriptional activation of the interleukin-2 promoter by hepatitis C virus core protein. *J Virol* 2001;75:772-781
- 36 Serfling E, Avots A, Neumann M. The architecture of the interleukin-2 promoter: a reflection of T lymphocyte activation. *Biochim Biophys Acta* 1995;1263:181-200
- 37 Crabtree GR, Cliptone NA. Signal transmission between the plasma membrane and nucleus of T lymphocytes. *Annu Rev Biochem* 1994;63:1045-1083
- 38 Izquierdo M, Leever SJ, Marshall CJ, Cantrell D. p21ras couples the T cell antigen receptor to extracellular signal-regulated kinase 2 in T lymphocytes. *J Exp Med* 1993;178:1199-1208
- 39 Imboden JB, Weiss A, Stobo JD. The antigen receptor on a human T cell line initiates activation by increasing cytoplasmic free calcium. *J Immunol* 1985;134:663-665
- 40 Putney JW Jr. Type 3 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor and capacitative calcium entry. *Cell Calcium* 1997;21:257-261
- 41 Bergqvist A, Sundstrom S, Dimberg LY, Gylfe E, Masucci MG. The hepatitis C virus core protein modulates T cell responses by inducing spontaneous and altering T-cell receptor-triggered Ca^{2+} oscillations. *J Biol Chem* 2003;278:18877-18883
- 42 Ward SG. CD28: a signalling perspective. *Biochem J* 1996;318:361-377
- 43 Shih CM, Chen CM, Chen SY, Lee YH. Modulation of the trans-suppression activity of hepatitis C virus core protein by phosphorylation. *J Virol* 1995;69:1160-1171
- 44 Shapiro VS, Truitt KE, Imboden JB, Weiss A. CD28 mediates transcriptional upregulation of the interleukin-2 (IL-2) promoter through a composite element containing the CD28RE and NF-IL-2B AP-1 sites. *Mol Cell Biol* 1997;17:4051-4058

富含脯氨酸的酪氨酸激酶-2与肝炎病毒关系的研究进展

王春花, 成军, 郎振为, 王建军, 刘妍, 杨倩, 纪冬, 党晓燕

王春花, 成军, 王建军, 刘妍, 杨倩, 纪冬, 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 100054

国家自然科学基金项目, No. C03011402, No. C39900130, 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, 10039, 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: 2003-11-13 接受日期: 2003-12-16

王春花, 成军, 郎振为, 王建军, 刘妍, 杨倩, 纪冬, 党晓燕. 富含脯氨酸的酪氨酸激酶-2与肝炎病毒关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2004;12(4): 943-947

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/943.asp>

0 引言

富含脯氨酸的酪氨酸激酶-2 (proline-rich tyrosine kinase 2, Pyk-2) 是一种属于局灶黏附激酶 (FAK) 家族的细胞质中的酪氨酸激酶^[1-2]. Pyk-2 在多种组织中表达丰富, 包括大脑、肺、肠、肾、脾^[3-4]和血管平滑肌细胞^[5-7]. Pyk-2 能被多种细胞外刺激物激活, 例如 G 蛋白耦合受体 (G protein-coupled receptor, GPCR) 激动剂, 蛋白激酶 C (PKC) 的活化, 细胞内钙离子浓度的升高, 紫外线 (UV) 辐射和细胞外摩尔渗透压浓度^[1-2]. 此外, Eguchi et al^[8]等还证明在小鼠血管平滑肌细胞血管紧张素 II 可通过提高细胞内钙离子浓度而激活 Pyk-2. Pyk-2 当酪氨酸残基自身磷酸化后就能为包括 Src 酪氨酸激酶家族的其他包含 SH2 (src homology) 结构域的蛋白提供结合位点^[9-10]. 例如 Pyk-2 与 c-Src 的结合导致接头蛋白转位到质膜和随后的依赖 p21ras 的细胞外信号调节激酶 (ERK) 1/2 激活^[10-11]. 越来越多的研究资料表明 Pyk-2 参与了许多细胞生命活动的代谢过程, 其与病毒性肝病的关系也引起人们的关注. 本文就近几年 Pyk-2 的研究状况作一简要综述.

1 Pyk-2 的结构和功能

1.1 FAK 非受体型酪氨酸激酶家族 Pyk-2 具有多种命名, 比如相关黏附局灶酪氨酸激酶 (related adhesion focal tyrosine kinase, RAFTK)、细胞黏附激酶- β (cell adhesion kinase β , CAK- β)、细胞黏附依赖性酪氨酸激酶 (cell adhesion-dependent tyrosine kinase, CADTK)、或者局灶黏附激酶-2 (focal adhesion kinase-2, FAK2), 属于 FAK 非受体型酪氨酸激酶家族中的一员, 可以表达于不同的细胞类型中, 包括神经细胞和造血细胞^[4, 12-15]. Pyk-2 与 FAK 具有明显的序列同源性 (中心催化结构域具有 60% 相似性, 羧基端与氨基端都有 40% 相似性). 这两种激酶呈现出 45% 氨基酸同源性并且都缺少 SH2 或 SH3 结构域, 而在许多其他的胞质酪氨酸激酶中都具有此结构, 虽不包含 SH2 和 SH3 结构域却具有几个结合位点能与含有 SH2/SH3 的信号蛋白作用^[4, 13]. Pyk-2 和 FAK 都具有长的氨基端和羧基末端结构域中间夹杂有中心激酶结构域. 并且 Pyk-2 和 FAK 在高度保守的中央催化区具有同样全面的结构, 例如包含 SH2 结构域蛋白的磷酸化/停泊位点^[16-17], 包含 SH3 结构域蛋白的富含脯氨酸结合位点^[18-19], 以及有关的氨基末端带 4.1 (NH2-terminal band 4.1), 埃兹蛋白 (ezrin) 等蛋白的同源结构域^[20]. 二者主要的自身磷酸化位点也是保守的. Pyk-2 和 FAK 中这一位点已被证实可充当 Src 家族激酶的结合位点^[9]. 其他几个与 FAK 相互作用的蛋白也被证实能与 Pyk-2 结合, 这种结合作用的生物学意义还没能完全阐明^[9, 18, 21-23]. 例如与 FAK 相似, Pyk-2 也具有大的氨基端和羧基末端结构域借助他们 Pyk-2 能与几种信号分子和细胞骨架蛋白相互作用^[9, 18, 21-22]. Ueda et al^[24]利用酵母双杂交系统筛选鉴定出一种新型