

- 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, Clipstone 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

的与 Pyk-2 相互作用的蛋白命名为分子量为 200 kD 的 FAK 家族激酶结合蛋白(FAK family kinase-interacting protein of 200 kD, FIP200). 体外结合实验和免疫共沉淀进一步证实了 FIP200 和 Pyk-2 的结合作用, 相似的实验也表明 FIP200 能与 FAK 结合.

尽管 Pyk-2 在结构上相似于 FAK, 但 Pyk-2 似乎还有不同于 FAK 的细胞功能. 通过酵母双杂交或另外的基于酵母的克隆技术已鉴定出 2 种与 Pyk-2 相互作用蛋白, Nirs 和 Pap. Nirs 是一种与果蝇视网膜变性蛋白 B 有关的跨膜蛋白^[25]. Pap (α 和 β 亚型)是一种具有 Arf-GAP 活性的胞质蛋白, 参与了肺泡转运的调节^[26]. 并且这两种蛋白似乎都与 Pyk-2 相互作用而不与 FAK 作用. 另外虽然 FAK 已被证实整合素介导的细胞迁移过程中发挥重要作用^[27-30], 但在纤维原细胞中 Pyk-2 的表达并不促进细胞迁移^[31]. 缺乏局灶黏附激酶(FAK-/-)的纤维原细胞表现出形态上和迁移性的缺陷但可被 FAK 的再表达逆转. 作为 FAK 相关激酶的 Pyk-2 在 FAK-/- 细胞中可表达, 然而呈现出核周的分布并且功能上不能替代 FAK^[32]. 这是因为 FAK 的羧基端(FAK-CT)而非氨基端在体内可与 $\beta 1$ -整合素形成复合物^[33-34]. FAK 羧基端内一个被称为灶性黏附靶向基序的结构能促进 FAK 定位到整合素受体丛集区^[35], 并且对于结合 β -整合素相关蛋白也是很重要的^[36]. FAK 和 Pyk-2 在其羧基端结构域都包含保守位点能结合 α -整合素相关蛋白桩蛋白(paxillin)^[37-38]. 然而在纤维原细胞或平滑肌细胞中 Pyk-2 不能牢固地定位于病灶接触位点^[31-39]. 随后的研究又提出通过 FAK 的整合素信号可保护细胞免于凋亡^[40]和促进细胞周期的进程^[41]. 相反在许多细胞系中 Pyk-2 的过量表达可诱导凋亡^[42]. 尽管在整合素信号传导中 Pyk-2 的潜在功能不是很清楚, 但在许多其他的细胞过程中 Pyk-2 都发挥作用, 包括钙离子诱导的铁通道的调节和裂原激活蛋白激酶(MAPK)的激活^[17]. Jannus 蛋白 N-末端激酶(JNK)活化^[43-44]和在 PC12 细胞中 Src 介导的 MAPK 信号途径的激活^[9]. Ren et al^[45]发现 FAK 和 Pyk-2 在细胞骨架组织中参与介导了不同的作用机制. 在纤维细胞中 Pyk-2 的过表达而非 FAK 诱导了细胞骨架结构的重建, 而且 Pyk-2 诱导的细胞骨架结构的重建能被 FAK 挽救. 为了深入研究 Pyk-2 介导的细胞骨架的重建机制, 有资料报道利用酵母双杂交系统筛选能与 Pyk-2 相互作用的蛋白. 并且确定了一种新型与 Pyk-2 相互作用的蛋白, 含有 rhoGAP 蛋白的 PH 和 SH3 结构域(PH and SH3 domain containing rhoGAP protein, PSGAP). PSGAP 在体内、体外均能促进 GTPase 对 CDC42 和 RhoA 的催化活性. Pyk-2 结合到 PSGAP 的 SH3 结构域, 抑制 PSGAP 对 CDC42 的作用从而激活 CDC42 的活性. 该研究表明 PSGAP 可作为 Pyk-2 的一种介体通过小 G 蛋白调整细胞骨架的组建.

Almeida et al 认为 FAK 和 Pyk-2/FAK-CT 在病灶接触位点上很可能协同促进促迁移信号复合物的形成,

该复合物也可能包括在这些位点上的活化的 ERK2 和 JNK. Klingeile et al^[46]的研究认为当通常的结合 SH2 或 SH3 的蛋白靶向到 FAK 和 Pyk-2 就可以作为一种复合物的形式起到增强 FAK-/- (focal adhesion kinase-iull)细胞迁移性的作用. 共同的作用蛋白募集例如 Src 家族的 PTKs 和 p130Cas 可能是增强迁移性信号的病灶接触相关信号复合物形成过程中的第一步. 已有的研究表明 p130Cas 的酪氨酸磷酸化和 ERK2 活化而介导的信号能协同增强细胞的迁移, 据此 Candice et al 认为 FAK 作用于 p130Cas 和 ERK2 信号的上游而协同这些迁移增强信号.

Siciliano et al^[47]利用大白鼠海马回切片和皮质的突触小体来研究两种高度相关的细胞质的酪氨酸激酶 Pyk-2 和 FAK 的调节机制, 结果发现膜的去极化能增加 Pyk-2 和 FAK 的酪氨酸磷酸化, 谷氨酸盐和离子化谷氨酸盐受体特殊的促效能促进 FAK 的酪氨酸磷酸化而对 Pyk-2 没有作用. 作者认为海马回切片中, 在涉及到 Ca^{2+} 和 PKC 的信号途径中 Pyk-2 和 FAK 的酪氨酸磷酸化受到不同的调节. Pyk-2 和 FAK 可能在各种神经元的活动之间提供了某些特殊的连接, 增加了胞质 Ca^{2+} 和蛋白酪氨酸磷酸化, 这些对于神经元的生存和突触的可塑性非常重要.

1.2 PYK-2 的功能

1.2.1 影响 Pyk-2 活性的因素 Pyk-2 能被多种能升高细胞内钙离子浓度的细胞外刺激物所激活^[9, 13, 43-44], 包括乙酰胆碱受体或诱导钙内流的电压式钙通道, G 蛋白耦连受体激动剂例如血管舒缓激肽、溶血磷脂酸、血管紧张素 II 以及其他能促进钙从细胞内钙库释放的递质^[7, 9, 23, 44]. 此外佛波醇酯, G 蛋白耦连受体激活剂和整合素触发的信号都可能导致 Pyk-2 的酪氨酸磷酸化^[9, 13]. 有报道认为自然杀伤(NK)细胞表达 Pyk-2 而非 FAK, β -1/2 整合素由内到外(outside-in)信号传导促进 Pyk-2 的激活^[48-49]. 最近的研究又表明 Pyk-2 可能通过与一种新型的 GTPase 激活蛋白称为 Pap 相互作用而参与了肺泡的转运^[26]. Wang et al^[50]在研究水杨酸盐对参与血管紧张素 II 和血小板来源生长因子激活的某些信号传导元件可能的作用位点时发现水杨酸盐能抑制钙离子依赖的非受体型酪氨酸激酶 Pyk-2 和 c-Src 的磷酸化.

1.2.2 PYK-2 参与了多种信号途径 Pyk-2 最先被认识是作为一种与 MAPK 和 JNK 信号途径连接的关键酶, 而此信号途径在细胞生长和黏附过程中发挥重要作用. 近来 Pyk-2 更被证明是多种细胞信号途径的一种上游调节因子, 包括 Src 和 MAPK 家族的多种成员^[11].

在血管平滑肌细胞(VSMC)中血管紧张素 II 能诱导介于 Pyk-2 和 ERK1/2、Src、Shc、Grb2 这 4 种因子的上游调控因子之间的复合物形成, 表明 Pyk-2 参与了血管紧张素 II 诱导激活的 ERK1/2 的调控. 已有的研究已发现在血管平滑肌细胞中 Pyk-2 参与了血管紧张素 II 诱导的蛋白合成及其此过程中涉及到的两条信号传导

途径的调节, 即 ERK1/2 和磷脂酰激酶 - 3/Akt 途径. Rocic et al^[51]在培养的 VSMC 中利用反义寡核苷酸下调 Pyk-2 的表达. 结果发现 Pyk-2 的表达下调 80% 导致由血管紧张素 II 诱导的 ERK1/2、p70S6 激酶和 Akt 活性受到 80% 抑制, 而且 Pyk-2 的下调导致血管紧张素 II 诱导的蛋白合成受到完全抑制. 作者认为 Pyk-2 作为 ERK1/2 和磷脂酰激酶 - 3/Akt 途径的一种上游调节因子参与了血管紧张素 II 诱导的 VSMC 蛋白合成.

再如 Park et al^[52]发现 PC12 细胞中蛋白激酶 A(PKA) 对于去极化诱导的 ERK 和 p38 的激活是必需的, 此外还发现去极化诱导的 Pyk-2 的酪氨酸残基的磷酸化可由于 PKA 的抑制而被阻断, 而 Pyk-2 是 MAPK 活化的一个关键的钙敏性上游调节因子. 与去极化诱导的信号途径相反, 由缓激肽, 一种 G 蛋白耦连受体激动剂, 不能被 PKA 的抑制而被阻断. 作者认为 PKA 的抑制阻断了去极化诱导的 Pyk-2/MAP 激酶途径的活化, 因此阻断了早期基因的表达.

Sorokin et al 在大鼠和人肾小球系膜细胞中研究了 ERK 和 p38 丝裂原活化蛋白激酶内皮素(ET)- 依赖性激活的分子机制, 发现在表达 Pyk-2 结构域阴性的人和大鼠肾小球系膜细胞中, ET-1 诱导的 p38 MAPK 途径(而不是 ERK 途径)激活受到抑制. 这表明 Pyk-2 参与了 ET-1 介导的 p38 MAP 激酶级联反应激活.

Jeon et al^[53]报道在大鼠海马回中通过电惊厥休克(ECS)可以激活 MAPKs、MEK 和 Rafs, 由于在神经细胞中有报道 Pyk-2 和 Src 参与了 MAPK 的激活, 受此启发作者探讨了电惊厥休克后 Pyk-2 是否为 Raf-MEK-MAPK 级联反应的上游途径, 结果检测到 ECS 后大鼠海马回中 Pyk-2 的酪氨酸磷酸化和激活. ECS 能瞬时增加 Pyk-2 多个酪氨酸残基的磷酸化, 并且这种磷酸化作用 1 min 后达到高峰 10 min 后降到基础值; 1 min 后也观察到 Pyk-2 与 Src 和 Grb2、Grb2 与 Ras 的结合增强. 综合实验结果作者认为 ECS 激活 Pyk-2, 其经由 Src、Grb2 和 Ras 将信号转导到 MAPK 级联反应.

Sancho et al^[54]发现 Pyk-2 与微管组织中心(microtubule-organizing center, MTOC)共定位于迁移性 NK 细胞的蔓延边缘. 当多克隆的 NK 细胞结合到 K562 靶位时, Pyk-2 就异位到 NK 与靶细胞相互作用区域. 此过程的特异性体现在具有抑制或激活 CD94/NKG2 表位的 NK 细胞中. Pyk-2、MTOC 和桩蛋白(paxillin)转移到 NK 与靶细胞相互作用区域, 此过程的调节是建立在控制靶细胞杀伤的 NK 细胞受体介导的对靶细胞的特异性识别的基础上. 并行体外激酶测定表明 Pyk-2 能被特异性的信号激活, 这些信号能触发其移位和 NK 细胞介导的细胞毒性. 野生型和显负性的 Pyk-2 突变体二者的过表达, 而非 ZAP-70 野生型能阻止 MTOC 和桩蛋白特异性的移位, 并且可阻断 NK 细胞的细胞毒性反应. 作者认为 Pyk-2 的区室化与有效的信号转导有关; 另外, 该研究还表明 Pyk-2 在能调节细胞毒性反应的信号复合物的组装过程

中发挥重要作用.

体内葡萄糖既可作为一种营养因子又是生理和病理过程的调节因子. Gautam et al 报道葡萄糖和某些糖类能通过一种机制快速激活 ERK, 该机制不依赖葡萄糖的摄入和新陈代谢以及 PKC, 而依赖 PYK-2、GRB2、SOS、RAS、RAF 和 MEK1 并且通过葡萄糖(运)载体 1(glucose transporter)的过表达得到放大而不是 Glut2、Glut3 或 Glut4. 这种放大作用不依赖葡萄糖的摄取而依赖 Glut1 羧基端的第 463-468 aa, IASGFR. Glut1 羧基端的第 469-492 的残基端缺失对这种机制是无效的, 但是第 465 位的丝氨酸或 468 位的精氨酸的突变产生的显负性体能抑制葡萄糖依赖的 ERK 激活. 葡萄糖促进 Pyk-2 第 402 和 881 位的酪氨酸残基磷酸化和 Pyk-2 结合到 Myc-Glut1 上. 据此作者认为通过一种需要 Pyk-2 和 Glut1 羧基端的第 463-468 残基 IASGFR 参与的机制, 葡萄糖激活 GRB2/SOS/RAS/RAF/MEK1/ERK 信号途径, 并且在葡萄糖将信号传导到 Pyk-2 和 ERK 的过程中 Glut1 充当了一种传感器, 换能器和放大器的作用.

Pyk-2 和雄激素受体(androgen receptor, AR), 在前列腺癌进程中的一个关键转录因子, 他们之间的连接关系仍是不清楚. Wang et al^[55]报道利用全长的雄激素受体结合蛋白, ARA55, 一种共调节因子作为诱饵, 分离到 ARA55 相互作用蛋白 Pyk-2, 并且证实 Pyk-2 通过灭活 ARA55 能抑制 AR 的反式激活作用. 这种灭活作用是由于 Pyk-2 对于 ARA55 的第 43 位直接磷酸化的结果.

Pyk-2 在前列腺上皮细胞中的表达与前列腺癌的恶性程度相关. Picascia et al^[56]利用 PC3 细胞系来研究 Pyk-2 在前列腺细胞增生和分化过程中的调节作用. 在 PC3 细胞中 Pyk-2 能被常规的刺激物例如肿瘤坏死因子- α 和溶血磷脂酸(LPA)所激活. 而 LPA 不但刺激 Pyk-2 的磷酸化还能诱导这些细胞中 ERK1/2 的激活. PC3 细胞克隆(PC3-PKM)能表达显负性的激酶缺陷型 Pyk-2 的突变体, 该细胞系的增生与野生型 PC3 细胞相比明显下降. 作者认为 Pyk-2 在前列腺细胞增生的调节中发挥作用, 其表达水平可作为前列腺细胞分化状态的一种灵敏的指示标志.

糖元合成激酶 β (GSK3 β)是一种参与了多种细胞活动的丝氨酸/酪氨酸激酶. 其酪氨酸残基被磷酸化后表现出活化. Hartigan et al^[57]首先证实 GSK3 β 在体内和原位都是 Pyk-2 的作用底物. GSK3 β 的酪氨酸被磷酸化后表现出活.

单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)在动脉粥样硬化和炎症过程中具有决定性的作用. Yamasaki et al^[58]研究了单核细胞系 THP-1 中 Pyk-2 在 MCP-1 介导的信号转导中的作用, 发现 MCP-1 刺激后 Pyk-2 的酪氨酸残基被快速磷酸化, Lyn、Shc 和桩蛋白的酪氨酸残基也被磷酸化. 通过免疫沉淀和免疫印迹实验检测到这些免疫分子间的结合, 发现 Pyk-2 和 Lyn 的结合依赖于 MCP-1 的刺激和 Pyk-2 酪氨酸残基的磷酸化, p38 的磷酸化也

依赖 Pyk-2 酪氨酸残基的磷酸化, 然而 Pyk-2 和桩蛋白, Grb2 的结合不受 MCP-1 的刺激影响. ERK 的磷酸化并没有因为负性激酶 Pyk-2 的过表达而受到影响. 作者认为在 THP-1 细胞中 Pyk-2 可以与桩蛋白、Grb2、Lyn 形成复合物, 但是 Pyk-2 并不总是参与 MCP-1 介导的信号转导途径.

2 PYK-2 在病毒性肝炎中的意义

乙型肝炎病毒(HBV)基因组的 X 开放读码框(ORF)编码一条 145-154 aa 的蛋白, 分子量 17 kD 左右. 乙型肝炎病毒 X 蛋白(HBxAg)对于土拨鼠的嗜肝病毒感染和其他哺乳动物嗜肝DNA病毒在体内复制是必不可少的. HBx 对 Src 的激活对于 HBV DNA 的复制非常重要. Bouchard et al^[59]报道 HBx 激活胞质钙离子依赖的 Pyk-2, 其是 Src 激酶的激活剂. 抑制 Pyk-2 或者由线粒体钙通道介导的钙信号就可以阻断 HBx 对于 HBV DNA 复制的激活, 这表明 HBx 作用于线粒体钙通道的调节. 能升高胞质钙离子浓度的反应物能替代 HBx 蛋白在 HBV DNA 复制中的作用. 因此作者认为对于 HBV DNA 的复制胞质钙离子浓度的变化是一种基本条件并且由 HBx 蛋白介导.

Pyk-2 作为 FAK 非受体型酪氨酸激酶家族中的一员, 可被细胞内外多种刺激诱导激活, 参与了多种信号传导途径, 再细胞的生存代谢过程具有重要的作用, 进一步阐明其在肝脏疾病发生发展过程中的作用机制对于寻找肝病治疗预防的突破口很有意义, 也是我们面临的艰巨任务.

3 参考文献

- Avraham H, Park SY, Schinkmann K, Avraham S. RAFTK/Pyk-2-mediated cellular signaling. *Cell Signal* 2000;12:123-133
- Girault J-A, Costa A, Derkinderen P, Studler JM, Toutant M. FAK and PYK-2/CAB? in the nervous system: a link between neuronal activity, plasticity and survival? *Trends Neurosci* 1999;22:257-263
- Sasaki H, Nagura K, Ishino M, Tobioka H, Kotani K, Sasaki T. Cloning and characterization of cell adhesion kinase ? a novel protein-tyrosine kinase of the focal adhesion kinase subfamily. *J Biol Chem* 1995;270:21206-21219
- Avraham S, London R, Fu Y, Ota S, Hiregowdara D, Li S, Jiang S, Pasztor LM, White RA, Groopman JE, Avraham H. Identification and characterization of a novel related adhesion focal tyrosine kinase (RAFTK) from megakaryocytes and brain. *J Biol Chem* 1995;270:27742-27751
- Zheng C, Xing Z, Bian ZC, Guo C, Akbay A, Warner L, Guan JL. Differential regulation of PYK-2 and focal adhesion kinase (FAK). *J Biol Chem* 1998;273:2384-2389
- Sabri A, Govindarajan G, Griffin TM, Kenneth LB, Samarel AM, Lucchesi PA. Calcium- and protein kinase C-dependent activation of the tyrosine kinase PYK-2 by angiotensin II in vascular smooth muscle. *Circ Res* 1998;83:841-851
- Brinson AE, Harding T, Diliberto PA, He Y, Li X, Hunter D, Herman B, Earp HS, Graves LM. Regulation of a calcium-dependent tyrosine kinase in vascular smooth muscle cells by angiotensin II and platelet-derived growth factor. *J Biol Chem* 1998;273:1711-1718
- Eguchi S, Iwasaki H, Inagami T, Numaguchi K, Yamakawa T, Motley ED, Owada KM, Marumo F, Hirata Y. Involvement of PYK-2 in angiotensin II signaling of vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 1999;33:201-206
- Dikic I, Tokiwa G, Lev S, Courtneidge SA, Schlessinger J. A role for PYK-2 and Src in linking G-protein-coupled receptors with MAP kinase activation. *Nature* 1996;383:547-550
- Blaukat A, Ivankovic-Dikic I, Grönroos E, Dolfi F, Tokiwa G, Vuori K, Dikic I. Adaptor proteins Grb2 and Crk couple Pyk-2 with activation of specific mitogen-activated protein kinase cascades. *J Biol Chem* 1999;274:14893-14901
- Della Rocca GJ, van Biesen T, Daaka Y, Luttrell DK, Luttrell LM, Lefkowitz RJ. Ras-dependent mitogen-activated protein kinase activation by G protein-coupled receptors. *J Biol Chem* 1997;272:19125-19132
- Earp HS, Huckle WR, Dawson TL, Li X, Graves LM, Dy R. Angiotensin II activates at least two tyrosine kinases in rat liver epithelial cells. *J Biol Chem* 1995;270:28440-28447
- Lev S, Moreno H, Martinez R, Canoll P, Peles E, Musacchio JM, Plowman GD, Rudy B, Schlessinger J. Protein tyrosine kinase PYK-2 involved in Ca²⁺ induced regulation of ion channel and MAP kinase functions. *Nature* 1995;376:737-745
- Sasaki H, Nagura K, Ishino M, Tobioka H, Kotani K, Sasaki T. Cloning and characterization of cell adhesion kinase p, a novel protein tyrosine kinase of the focal adhesion kinase subfamily. *J Biol Chem* 1995;270:21206-21219
- Herzog H, Nicholl J, Hort YJ, Sutherland GR, Shine J. Molecular cloning and assignment of FAK-2, a novel human focal adhesion kinase to 8p11.2-p22 by nonisotopic in situ hybridization. *Genomics* 1996;32:484-486
- Schlaepfer DD, Hanks SK, Hunter T, van der Geer P. Integrin-mediated signal transduction linked to Ras pathway by GRB2 binding to focal adhesion kinase. *Nature* 1994;372:786-791
- Lev S, Moreno H, Martinez R, Canoll P, Peles E, Musacchio JM, Plowman GD, Rudy B, Schlessinger J. Protein tyrosine kinase PYK-2 involved in Ca(2+)-induced regulation of ionchannel and MAP kinase functions. *Nature* 1995;376:737-745
- Astier A, Avraham H, Manie SN, Groopman J, Canty T, Avraham S, Freedman AS. The related adhesion focal tyrosine kinase is tyrosine-phosphorylated after beta1-integrin stimulation in B cells and binds to p130cas. *J Biol Chem* 1997;272:228-232
- Polte TR, Hanks SK. Complexes of focal adhesion kinase (FAK) and Crk-associated substrate (p130(Cas)) are elevated in cytoskeleton-associated fractions following adhesion and Src transformation. Requirements for Src kinase activity and FAK proline-rich motifs. *J Biol Chem* 1997;272:5501-5509
- Girault JA, Labesse G, Moron JP, Callebaut I. The N-termini of FAK and JAKs contain divergent band 4.1 domains. *Trends Biochem Sci* 1999;24:54-57
- Salgia R, Avraham S, Pisick E, Li JL, Raja S, Greenfield EA, Sattler M, Avraham H, Griffin JD. The related adhesion focal tyrosine kinase forms a complex with paxillin in hematopoietic cells. *J Biol Chem* 1996;271:31222-31226
- Hiregowdara D, Avraham H, Fu Y, London R, Avraham S. Tyrosine phosphorylation of the related adhesion focal tyrosine kinase in megakaryocytes upon stem cell factor and phorbol myristate acetate stimulation and its association with paxillin. *J Biol Chem* 1997;272:10804-10810
- Li X, Earp HS. Paxillin is tyrosine-phosphorylated by and preferentially associates with the calcium-dependent tyrosine kinase in rat liver epithelial cells. *J Biol Chem* 1997;272:14341-14348
- Ueda H, Abbi S, Zheng C, Guan JL. Suppression of Pyk-2 kinase and cellular activities by FIP200. *J Cell Biol* 2000;149:423-430
- Lev S, Hernandez J, Martinez R, Chen A, Plowman G, Schlessinger J. Identification of a novel family of targets of PYK-2 related to Drosophila retinal degeneration B (rdgB) protein. *Mol Cell Biol* 1999;19:2278-2288
- Andreev J, Simon JP, Sabatini DD, Kam J, Plowman G, Randazzo PA, Schlessinger J. Identification of a new Pyk-2 target protein with Arf-GAP activity. *Mol Cell Biol* 1999;19:2338-2350

- 27 Ilic D, Furuta Y, Kanazawa S, Takeda N, Sobue K, Nakatsuji N, Nomura S, Fujimoto J, Okada M. Reduced cell motility and enhanced focal adhesion contact formation in cells from FAK-deficient mice. *Nature* 1995;377:539-544
- 28 Cary LA, Chang JF, Guan JL. Stimulation of cell migration by overexpression of focal adhesion kinase and its association with Src and Fyn. *J Cell Sci* 1996;109:1787-1794
- 29 Cary LA, Han DC, Polte TR, Hanks SK, Guan JL. Identification of p130Cas as a mediator of focal adhesion kinase-promoted cell migration. *J Cell Biol* 1998;140:211-221
- 30 Gilmore AP, Romer LH. Inhibition of focal adhesion kinase (FAK) signaling in focal adhesions decreases cell motility and proliferation. *Mol Biol Cell* 1996;7:1209-1224
- 31 Sieg DJ, Ilic D, Jones KC, Damsky CH, Hunter T, Schlaepfer DD. Pyk-2 and Src-family protein-tyrosine kinases compensate for the loss of FAK in fibronectin-stimulated signaling events but Pyk-2 does not fully function to enhance FAK-cell migration. *EMBO J* 1998;17:5933-5947
- 32 Klingbeil CK, Hauck CR, Hsia DA, Jones KC, Reider SR, Schlaepfer DD. Targeting Pyk-2 to beta 1-integrin-containing focal contacts rescues fibronectin-stimulated signaling and haptotactic motility defects of focal adhesion kinase-null cells. *J Cell Biol* 2001;152:97-110
- 33 Chen LM, Bailey D, Fernandez-Valle C. Association of beta 1 integrin with focal adhesion kinase and paxillin in differentiating Schwann cells. *J Neurosci* 2000;20:3776-3784
- 34 Sieg DJ, Hauck CR, Ilic D, Klingbeil CK, Schaefer E, Damsky CH, Schlaepfer DD. FAK integrates growth-factor and integrin signals to promote cell migration. *Nat Cell Biol* 2000;2:249-56
- 35 Hildebrand JD, Schaller MD, Parsons JT. Identification of sequences required for the efficient localization of the focal adhesion kinase, pp125FAK, to cellular focal adhesions. *J Cell Biol* 1993;123:993-1005
- 36 Chen HC, Appeddu PA, Parsons JT, Hildebrand JD, Schaller MD, Guan JL. Interaction of focal adhesion kinase with cytoskeletal protein talin. *J Biol Chem* 1995;270:16995-16999
- 37 Tachibana K, Sato T, D'Avirro N, Morimoto C. Direct association of pp125FAK with paxillin, the focal adhesion-targeting mechanism of pp125FAK. *J Exp Med* 1995;182:1089-1100
- 38 Liu S, Thomas SM, Woodside DG, Rose DM, Kiosses WB, Pfaff M, Ginsberg MH. Binding of paxillin to alpha4 integrins modifies integrin-dependent biological responses. *Nature* 1999;402:676-681
- 39 Zhang X, Chattopadhyay A, Ji Q, Owen JD, Ruest PJ, Carpenter G, Hanks SK. Focal adhesion kinase promotes phospholipase C-gamma1 activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:9021-9026
- 40 Frisch SM, Vuori K, Ruoslahti E, Chan-Hui PY. Control of adhesion-dependent cell survival by focal adhesion kinase. *J Cell Biol* 1996;134:793-799
- 41 Zhao JH, Reiske H, Guan JL. Regulation of the cell cycle by focal adhesion kinase. *J Cell Biol* 1998;143:1997-2008
- 42 Xiong W, Parsons JT. Induction of apoptosis after expression of PYK-2, a tyrosine kinase structurally related to focal adhesion kinase. *J Cell Biol* 1997;139:529-539
- 43 Tokiwa G, Dikic I, Lev S, Schlessinger J. Activation of Pyk-2 by stress signals and coupling with JNK signaling pathway. *Science* 1996;273:792-794
- 44 Yu H, Li X, Marchetto GS, Dy R, Hunter D, Calvo B, Dawson TL, Wilm M, Andereg R, Graves LM, Earp HS. Activation of a novel calcium-dependent protein-tyrosine kinase. Correlation with c-Jun N-terminal kinase but not mitogen-activated protein kinase activation. *J Biol Chem* 1996;271:29993-29998
- 45 Ren XR, Du QS, Huang YZ, Ao SZ, Mei L, Xiong WC. Regulation of CDC42 GTPase by proline-rich tyrosine kinase 2 interacting with PSGAP, a novel pleckstrin homology and Src homology 3 domain containing rhoGAP protein. *J Cell Biol* 2001;152:971-984
- 46 Klingbeil CK, Hauck CR, Hsia DA, Jones KC, Reider SR, Schlaepfer DD. Targeting Pyk-2 to beta 1-integrin-containing focal contacts rescues fibronectin-stimulated signaling and haptotactic motility defects of focal adhesion kinase-null cells. *J Cell Biol* 2001;152:97-110
- 47 Siciliano JC, Toutant M, Derkinderen P, Sasaki T, Girault JA. Differential regulation of proline-rich tyrosine kinase 2/cell adhesion kinase beta (PYK-2/CAKbeta) and pp125(FAK) by glutamate and depolarization in rat hippocampus. *J Biol Chem* 1996;271:28942-28946
- 48 Gismondi A, Bisogno L, Mainiero F, Palmieri G, Piccoli M, Frati L, Santoni A. Proline-rich tyrosine kinase-2 activation by alpha1 integrin fibronectin receptor cross-linking and association with paxillin in human natural killer cells. *J Immunol* 1997;159:4729-4736
- 49 Rodríguez-Fernández JL, Gómez M, Luque A, Hogg N, Sánchez-Madrid F, Cabañas C. The interaction of activated integrin lymphocyte function-associated antigen 1 with ligand intercellular adhesion molecule 1 induces activation and redistribution of focal adhesion kinase and proline-rich tyrosine kinase 2 in T lymphocytes. *Mol Biol Cell* 1999;10:1891-1907
- 50 Wang Z, Brecher P. Salicylate Inhibits Phosphorylation of the Nonreceptor Tyrosine Kinases, Proline-Rich Tyrosine Kinase 2 and c-Src. *Hypertension* 2001;37:148-153
- 51 Rocic P, Lucchesi PA. Down-regulation by antisense oligonucleotides establishes a role for the proline-rich tyrosine kinase PYK-2 in angiotensin ii-induced signaling in vascular smooth muscle. *J Biol Chem* 2001;276:21902-21906
- 52 Park JH, Park JK, Bae KW, Park HT. Protein kinase A activity is required for depolarization-induced proline-rich tyrosine kinase 2 and mitogen-activated protein kinase activation in PC12 cells. *Neurosci Lett* 2000;290:25-28
- 53 Jeon SH, Oh SW, Kang UG, Ahn YM, Bae CD, Park JB, Kim YS. Electroconvulsive shock increases the phosphorylation of Pyk-2 in the rat hippocampus. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;282:1026-1030
- 54 Sancho D, Nieto M, Llano M, Rodriguez-Fernandez JL, Tejedor R, Avraham S, Cabanas C, Lopez-Botet M, Sanchez-Madrid F. The tyrosine kinase PYK-2/RAFTK regulates natural killer (NK) cell cytotoxic response, and is translocated and activated upon specific target cell recognition and killing. *J Cell Biol* 2000;149:1249-1262
- 55 Wang X, Yang Y, Guo X, Sampson ER, Hsu CL, Tsai MY, Yeh S, Wu G, Guo Y. Suppression of androgen receptor transactivation by Pyk-2 via interaction and phosphorylation of the ARA55 coregulator. *J Biol Chem* 2002;277:15426-15433
- 56 Picascia A, Stanzione R, Chieffi P, Kisslinger A, Dikic I, Tramontano D. Proline-rich tyrosine kinase 2 regulates proliferation and differentiation of prostate cells. *Mol Cell Endocrinol* 2002;186:81-87
- 57 Hartigan JA, Xiong WC, Johnson GV. Glycogen synthase kinase 3beta is tyrosine phosphorylated by PYK-2. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;284:485-489
- 58 Yamasaki M, Arai H, Ashida N, Ishii K, Kita T. Monocyte chemoattractant protein 1 causes differential signalling mediated by proline-rich tyrosine kinase 2 in THP-1 cells. *Biochem J* 2001;355:751-756
- 59 Bouchard MJ, Wang LH, Schneider RJ. Calcium signaling by HBx protein in hepatitis B virus DNA replication. *Science* 2001;294:2376-2378