

HBx蛋白与细胞膜钙离子通道蛋白Orai1的关系

王君, 何生松, 刘亚男, 张盼, 姚景宏

■背景资料

在我国乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是肝细胞癌的最主要致病原因, 近年来发现HBV的x基因编码蛋白即乙型肝炎病毒x基因(hepatitis B virus x gene, HBx)在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发生和发展过程中发挥重要的作用。钙离子是重要的细胞内第二信使, 参与细胞的多种生理病理过程。本研究从内质网途径入手研究HBx蛋白调节细胞内钙离子可能分子机制。

王君, 何生松, 刘亚男, 张盼, 姚景宏, 华中科技大学同济医学院附属协和医院感染科 湖北省武汉市 430022

王君, 在读博士, 主要从事病毒性肝炎与肝癌病因机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 8100106

作者贡献分布: 何生松与王君对此文所作贡献均等; 此课题设计由何生松与姚景宏完成; 研究过程由王君、刘亚男及张盼操作完成; 研究所用试剂及分析工具由姚景宏与何生松提供; 数据分析及本论文写作由王君完成; 何生松审核。

通讯作者: 何生松, 教授, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院感染科。

shengshexiehe@sina.cn

收稿日期: 2013-09-28 修回日期: 2013-10-28

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

Hepatitis B virus X protein disturbs intracellular calcium signaling by binding to Orai1 protein

Jun Wang, Sheng-Song He, Ya-Nan Liu, Pan Zhang, Jing-Hong Yao

Jun Wang, Sheng-Song He, Ya-Nan Liu, Pan Zhang, Jing-Hong Yao, Department of Infectious Diseases, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Nature Science Foundation of China, No. 81001063

Correspondence to: Sheng-Song He, Professor, Department of Infectious Diseases, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Road, Wuhan 430022, Hubei Province, China. shengshexiehe@sina.cn

Received: 2013-09-28 Revised: 2013-10-28

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

Abstract

AIM: To determine whether HBx protein elevates the intracellular calcium through interacting with SOC components (STIM1 and Orai1).

METHODS: The pcDNA-Flag-HBx plasmid was transfected into HEK293 cells, and viability of transfected cells was determined by cell counting Kit-8 (CCK8). The interaction between SOC components and HBx protein was confirmed in co-immunoprecipitation (Co-IP) and immunofluorescence assays. Subsequent confocal microscopic analysis revealed that HBx protein also co-localizes with full-length STIM1 and Orai1

complexes in HEK293 cells following Ca^{2+} store depletion.

RESULTS: The results indicated that HBx protein interacts with the Orai1 in binding assays and this interaction may be modulated by the intracellular Ca^{2+} concentration.

CONCLUSION: HBx protein binds to STIM1-Orai1 complexes to positively regulate the activity of SOCs.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: HBx protein; Hepatitis B virus; Orai1; Intracellular Ca^{2+} ; Hepatocellular carcinoma

Wang J, He SS, Liu YN, Zhang P, Yao JH. Hepatitis B virus X protein disturbs intracellular calcium signaling by binding to Orai1 protein. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 80-85 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/80.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.80>

摘要

目的: 研究乙型肝炎病毒x基因(hepatitis B virus x gene, HBx)蛋白调节细胞内钙离子可能分子机制, 揭示乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)诱导肝癌的可能途径。

方法: 培养HEK293细胞, 取第2代HEK293细胞转染pcDNA-HBx质粒, 培养12、24和48 h后, 细胞活力细胞毒性检测(cell counting kit-8, CCK-8)观察转染后细胞生长情况, Western blot检测HBx蛋白的表达情况, 当共同转染HBx基因、Orai1基因或STIM1基因后co-IP实验、免疫荧光检测观察细胞内蛋白结合情况。

结果: 转染pcDNA-HBx质粒后HBx蛋白可以在HEK293细胞高表达, 转染后的24 h后细胞增殖加快($P < 0.05$), co-IP实验及免疫荧光检测结果均显示, HBx蛋白在细胞内可以与Orai1蛋白结合。

结论: HBx蛋白通过与细胞膜钙离子通道

■同行评议者

傅晓辉, 副教授, 副主任医师, 东方肝胆外科医院

Orai1结合, 来升高细胞内钙离子浓度, 从而影响细胞增殖等活性。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 乙型肝炎病毒x蛋白; Orai1蛋白; 乙型肝炎病毒; 钙离子; 肝癌

核心提示: 本研究首次发现在细胞内乙肝病毒x基因(hepatitis B virus x gene, HBx)蛋白可以与SOCs在细胞膜上的孔蛋白Orai1蛋白相互作用, 这可能是HBx蛋白通过内质网途径调节细胞内钙离子平衡的重要途径, 从而影响细胞生物活性, 加速肝细胞恶性转变。

王君, 何生松, 刘亚男, 张盼, 姚景宏. HBx蛋白与细胞膜钙离子通道蛋白Orai1的关系. 世界华人消化杂志. 2014; 22(1): 80-85
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/80.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.80>

0 引言

在我国乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的最主要致病原因, 绝大部分HCC患者合并有HBV感染^[1]. HBV促进肝细胞恶变及侵袭、转移, HBV可以通过内质网应激, 增加细胞对缺氧耐受从而促进肿瘤细胞生长, 还可以通过干预细胞内钙离子平衡从而影响细胞生长, 参与肝癌的形成, 但是其具体作用机制尚不明确^[2-4]. 乙肝病毒x基因(hepatitis B virus x gene, HBx)编码的HBx蛋白具有强大的恶性转化能力, 与肝细胞肝癌发生关系密切^[5]. HBx蛋白是一种多功能蛋白, 可以调节细胞转录、蛋白降解、细胞胞浆钙离子信号、细胞周期及细胞的凋亡途径^[4,6]. 钙离子是重要的细胞内第二信使, 参与细胞的多种生理病理过程^[7]. 已有研究表明, 经通透性钙池调节离子通道SOCs进入细胞的钙离子对肝细胞系Huh-7和HepG2细胞的增殖发挥重要作用^[8]. 我们发现, HBx在促进HBV复制及肝细胞增殖恶性转化过程中, 常首先激活钙离子信号, 引起细胞内钙离子浓度失稳, 但是HBx蛋白是如何调节细胞内钙离子机制目前还不清楚, 本研究从内质网途径入手研究HBx蛋白调节细胞内钙离子可能分子机制。

1 材料和方法

1.1 材料 HEK293(ATCC, Manassas, USA); BL21(DE3)菌株、携带HBx全长基因的pcDNA-

Flag-HBx质粒及pcDNA-GFP-HBx质粒、携带Orai1全长基因的pcDNA-HA-Orai1质粒、携带基质交互作用蛋白1(stromal interaction molecule-1, STIM1)全长基因的pcDNA-HA-STIM1质粒(从NIH神经实验室Prof. Lutz Birnbaumer处获得); 细胞培养基DMEM、6孔培养板、胎牛血清(Gibco公司); PBS(武汉博士德公司); 蛋白质marker(晶美生物有限公司); 胰蛋白酶、鼠单克隆HA抗体、羊抗鼠多克隆抗体、flag-beeds、HA-beeds、CY3标记的HA IgG(Sigma公司); ECL显色试剂盒(默克公司); 细胞活力细胞毒性检测(cell counting kit-8, CCK-8)试剂盒(碧云天生物技术有限公司); Lipofectamine 2000(Invitrogen); 倒置相差显微镜(日本OLYMPUS); 激光共聚焦显微镜(日本OLYMPUS)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: HEK293细胞使用10%胎牛血清的DMEM培养基培养, 待细胞贴壁生长达80%-90%融合度时, 细胞生长状态良好, 预热的PBS洗细胞, 弃去PBS; 用预热的胰蛋白酶消化细胞, 细胞脱落后, 加入含10%FBS培养液终止消化反应, 并将细胞悬液转入离心管中; 1000 r/min, 离心5 min, 去除上清; 加入10 mL DMEM培养液(含10%FBS), 重新悬浮细胞, 进行细胞计数, 将适当数量的细胞悬液转至6孔培养板中(细胞密度 6×10^4 个/mL); 置于37 °C 5%CO₂的培养箱中培养。

1.2.2 细胞转染: 在Lipofectamine 2000介导下, 将pcDNA-Flag-HBx、pcDNA-HA-Orai1、pcDNA-HA-STIM1及空载质粒转染或共转染HEK293细胞. 分别将需要共转染质粒各2.5 μg装入250 μL不含血清的DMEM培养基的1.5 mL Ep管中混匀. 将10 μL Lipofectamine 2000装入500 μL不含血清的DMEM培养基的1.5 mL Ep管中混匀, 将含2.5 μg质粒的无血清培养基分别和含有5 μL Lipofectamine 2000的无血清培养基250 μL混合, 轻轻混匀, 室温静置30 min. 将含有DNA和脂质体的液体小心加入换液后的每个培养孔中, 分散均匀, 置于37 °C 5%CO₂的培养箱孵育5 h后去除含脂质体复合物的培养基, 加入2 mL含10%血清的DMEM培养基, 置于37 °C 5%CO₂的培养箱中培养48 h。

1.2.3 细胞活性检测: CCK8检测转染后细胞增殖情况: 将转染后的第2代细胞接种到96孔板, 密度为 2.5×10^3 个/孔, 每孔设置4个复孔. 每孔加入

■研究前沿

已有实验研究发现HBx在促进HBV复制及肝细胞增殖恶性转化过程中, 常首先激活钙离子信号, 引起细胞内钙离子浓度失稳, 但是HBx蛋白是如何调节细胞内钙离子机制目前还不清楚, 需进一步研究。

■ 相关报道

目前研究表明HBx蛋白可以增加细胞内钙离子内流及促进细胞增殖,而且HBx蛋白通过线粒体途径干扰细胞内钙离子平衡已经有报道。

100 μ L细胞悬液,后加入含胎牛血清10%培养液150 μ L。置于37.0 $^{\circ}$ C、5%CO₂浓度和饱和湿度的培养箱中培养,每24 h换液1次,实验组为转染细胞组,对照组(control)未转染细胞组。分别在0、12、24、48 h,每个时间点取出96孔板,实验组对照组每次取6个孔,加入细胞毒性/增殖检测试剂CCK-8 10 μ L,避光放入37.0 $^{\circ}$ C培养箱中培养2 h,取出用酶标仪测吸光度值,激发光波长为450 nm。每个时间点取出96孔板,加入20 μ L的CCK8试剂,避光,37 $^{\circ}$ C孵育2 h,后使用分光光度计450 nm检测吸光光度值,根据吸光光度值确定存活的细胞个数,并与对照组细胞增殖情况进行对比。

1.2.4 Western blot检测HBx蛋白的表达:转染48 h后,吸走培养孔中培养基,用PBS洗涤2次,加入预冷的细胞裂解液(含cocktail蛋白酶抑制剂)1 mL,细胞刮收集细胞;超声裂解细胞;4 $^{\circ}$ C, 8000 r/min,离心15 min,取上清,水浴65 $^{\circ}$ C 5 min,蛋白变性。取适量表达蛋白样品上样后,用12% SDS-PAGE电泳分离,然后转印于PVDF膜上,用含5%的脱脂奶粉TBST室温封闭蛋白印迹膜1 h,加入一抗即鼠单克隆myc抗体,4 $^{\circ}$ C孵育过夜,用TBST振摇洗涤3次,10 min/次,加入二抗即羊抗鼠IgG,室温孵育2 h,接着用TBST振摇洗涤3次,10 min/次,用ECL显色,暗室胶片曝光显影。

1.2.5 免疫共沉淀:转染48 h后收集细胞,提取目的蛋白(具体操作同上)。取30 μ L含有flag蛋白的琼脂糖珠(flag-beads)或HA蛋白的琼脂糖珠(HA-beads),用预冷的RIPA buffer洗3遍,12000 r/min,离心1 min,并用RIPA buffer配制1:1琼脂糖珠悬浮液。将琼脂糖珠悬浮液加入到已收集的细胞裂解液中,4 $^{\circ}$ C层析柜旋转孵育4 h。在4 $^{\circ}$ C,以12000 r/min,离心3 min;将上清小心吸去,琼脂糖珠悬浮液用预冷的RIPA buffer洗3遍,800 μ L/遍;最后加入35 μ L 2 \times SDS上样缓冲液,将上样样品水浴95 $^{\circ}$ C 5 min,蛋白变性。取适量表达蛋白样品上样后,用10%的SDS-PAGE电泳分离,然后转印于PVDF膜上,用含5%的脱脂奶粉TBST室温封闭蛋白印迹膜1 h,加入一抗即鼠单克隆HA抗体或flag抗体,4 $^{\circ}$ C孵育过夜。用TBST振摇洗涤3次,10 min/次,加入二抗即羊抗鼠IgG,室温孵育2 h,接着用TBST振摇洗涤3次,10 min/次,用ECL显色,暗室胶片曝光显影。

1.2.6 免疫荧光检测HBx蛋白在细胞内与Orail蛋白结合:取6孔板,将其分为3组,每组2孔。每孔先放入细胞爬片,用0.1 mg/mL多聚赖氨酸包被

各孔。3组每孔均接种HEK293细胞悬液2 mL(细胞密度 6×10^4 个/mL),置于37 $^{\circ}$ C、5%CO₂细胞培养箱培养,待细胞贴壁生长达80%时,分别用pcDNA-GFP-HBx、pcDNA-HA-Orail、pcDNA-GFP-EV质粒共转染HepG2细胞。转染48 h后,吸走培养基,用PBS轻柔的洗涤1次,将细胞爬片用4%多聚甲醛固定15 min;室温下,用PBS洗涤3次,10 min/次;加入0.1%Triton X-100破膜3 min;再次用PBS洗涤3次,10 min/次;用10%牛血清(BSA)封闭30 min,300 μ L/孔;吸出多余封闭血清,用PBS轻柔的洗涤1遍,加入由PBS稀释的CY3标记的HA IgG(1:100),100 μ L/孔,室温避光孵育12 h;用PBS洗涤3次,10 min/次;取出细胞爬片甘油封片后于激光共聚焦显微镜下观察,并拍照保存,红色荧光为Orail蛋白表达,绿色荧光为HBx蛋白表达,黄色荧光为细胞内HBx蛋白与Orail蛋白的结合。

统计学处理 采用SPSS12统计软件处理数据,测定结果均以mean \pm SD表示,两组数据间使用配对t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞培养与转染 培养HEK293细胞,采用脂质体Lipofectamine 2000方法转染细胞,24 h用显微镜观察细胞生长情况,观察结果显示转染后的细胞生长良好(图1)。

2.2 细胞活性检测 使用pcDNA-HBx质粒转染HEK293细胞后,使用CCK8试剂观察细胞的活性,结果显示24、48 h,实验组与对照组相比吸光度值均明显增高($P < 0.05$),显示转染pcDNA-HBx质粒后HEK293细胞增殖明显加快(图2)。

2.3 HBx蛋白表达 pcDNA-HBx或者pcDNA质粒转染HEK293细胞24 h后,并且HBx蛋白使用myc标记,收集HEK293细胞通过Western blot检测结果显示细胞内可以表达HBx蛋白,对照组无表达(图3)。

2.4 体内检测免疫共沉淀 为检测HBx蛋白如何通过内质网调节细胞内钙离子,收集HEK293细胞蛋白,进行co-IP实验,验证Orail或者STIM1蛋白是否可以HBx蛋白结合,co-IP实验结果示,共转染HA标记的Orail基因,HA标记的STIM1基因及Flag标记的HBx基因到HEK293细胞,使用co-IP技术HA标记的Orail蛋白可以与Flag标记的HBx蛋白免疫共沉淀(图4),表明Orail-HBx在HEK293细胞内可以发生聚合,Orail蛋白可以直接与HBx蛋白结合。而对照组HA标记的STIM1蛋

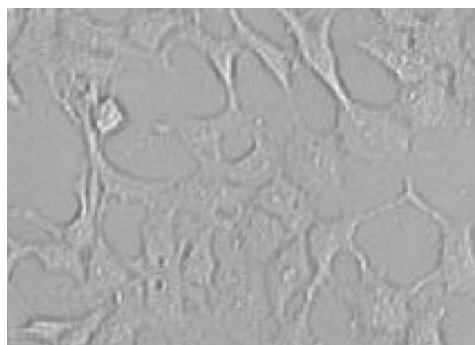


图 1 转染24 h后HEK293细胞生长情况.

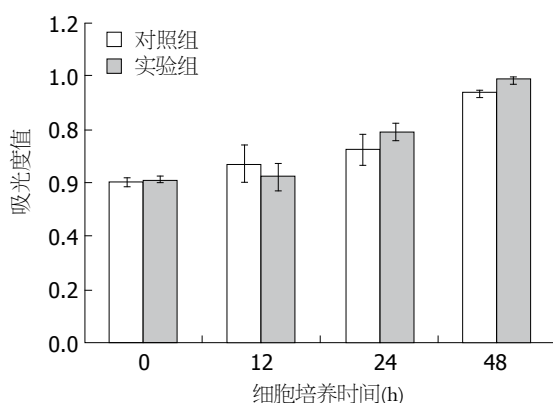


图 2 转染后HEK293细胞活性检测.

白不与HBx蛋白发生免疫共沉淀, 因此结果显示在细胞内HBx蛋白可以与Orail蛋白形成异二聚体, 从而影响细胞内钙离子的平衡.

2.5 免疫荧光检测HBx蛋白在细胞内与Orail蛋白结合 pcDNA-GFP-HBx或者pcDNA-HA-Orail质粒转染HEK293细胞后, 48 h后收集细胞进行免疫荧光染色, 后通过激光共聚焦显微镜观察细胞(图5), 结果显示: GFP标记的HBx蛋白主要在细胞浆表达, 细胞核也有少量表达, 为绿色, HA-Orail蛋白使用cy3标记的二抗, 主要在细胞膜表达, 为红色, 阳性细胞即细胞内HBx基因表达蛋白与细胞内的Orail蛋白结合的细胞细胞内为黄色, 阴性细胞为红色或绿色(即二者蛋白无结合). 用过激光共聚焦软件分析显示阳性细胞数为46个, 对照组细胞内无相关蛋白表达.

3 讨论

HBV复制与肝癌的发生密切相关, Hbx蛋白是HBV的核心蛋白, 他是一种多功能蛋白, 可以调节细胞转录、蛋白降解、细胞浆钙离子信号、细胞周期及细胞的凋亡途径, 其中调节细胞浆钙离子信号、蛋白酶体的活性等与HBV复制及

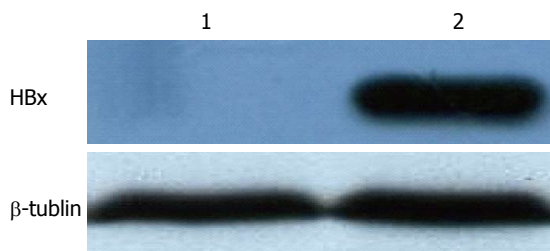


图 3 HBx蛋白在HEK293中表达. 1: 转染myc-EV; 2: 转染myc-HBx.

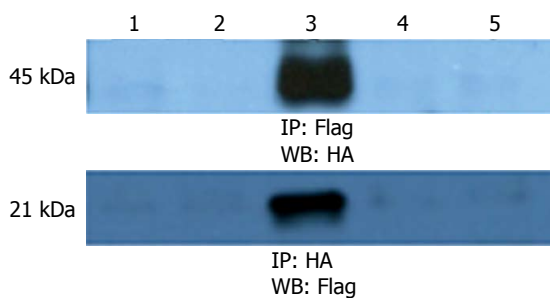


图 4 co-IP实验验证Orail 1蛋白与HBx蛋白相互作用情况. 1: Flag-HBx+HA-EV; 2: Flag-EV+HA-orail; 3: Flag-HBx+HA-orail; 4: Flag-HBx+HA-STIM1; 5: Flag-EV+HA-STIM1.

肝细胞增殖密切相关, 但是HBx蛋白是如何干预细胞内钙离子平衡来调节细胞增殖从而影响HBV复制, 具体机制不清.

目前研究显示HBx蛋白可以增加细胞内钙离子及促进细胞增殖^[9,10], 而且HBx蛋白通过线粒体途径干扰细胞内钙离子平衡已有报道^[11], 但是内质网做为细胞钙离子储存库, 可以调节及维持细胞内钙离子平衡^[12]. 为明确HBx蛋白经如何通过内质网相关途径调节细胞内钙离子平衡的, 本课题组从内质网钙离子调节关键蛋白Orail及STIM1入手, 探讨HBx蛋白调节细胞内钙离子平衡机制. Orail蛋白是钙离子释放激活的钙离子通道(CRAC通道)重要的亚单位, 对存储调控性钙离子内流(store-operated calcium entry, SOCE)起着关键性作用^[13]. STIM1为内质网Ca²⁺浓度感受器, Orail是SOCs在细胞膜上的孔蛋白, 同时发现Orail与STIM1的联合作用可以大大提高SOCE和CRAC通道的活性^[14,15]. Oh等^[16]研究表明, HBx能升高细胞内钙离子浓度, 激活细胞信号通道, 促进细胞增殖. 我们研究发现, Western blot检测转染后细胞内HBx蛋白的表达情况, 结果显示转染后的HEK293细胞可以表达HBx蛋白. co-IP实验验证在细胞内HBx蛋白可以与Orail蛋白形成异二聚体, 该结果显示

■创新盘点

做为细胞钙离子储存库的内质网, 在调节及维持细胞内钙离子平衡方面起着重要作用. 但HBx蛋白如何通过内质网相关途径调节细胞内钙离子平衡却鲜有报道, 本课题组从内质网钙离子调节关键蛋白Orail及STIM1入手, 探讨HBx蛋白调节细胞内钙离子平衡机制.

应用要点

本研究从内质网着手研究HBx蛋白调节细胞内钙离子的具体分子途径,揭示HBV诱导HCC的可能途径,为肝癌研究提供新的研究方向。

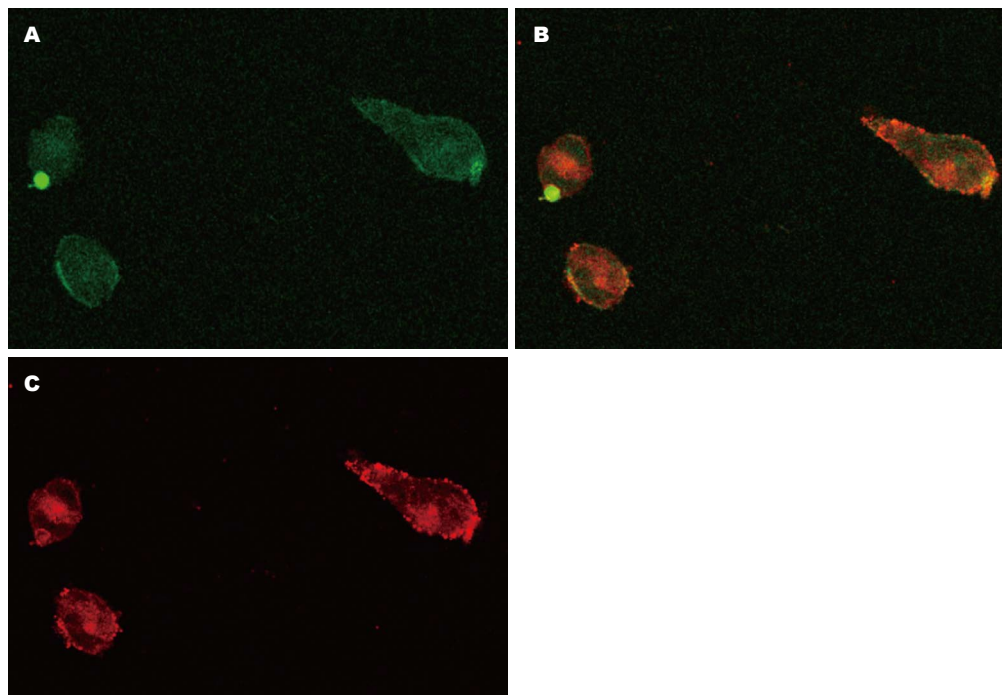


图5 激光共聚焦显微镜检测HBx蛋白与Orail蛋白在HEK293细胞内表达情况($\times 400$)。A: HBx蛋白在细胞内表达; B: HBx蛋白与Orail蛋白在细胞内相互结合; C: Orail蛋白在细胞内表达。

在细胞内HBx蛋白可以与SOCs在细胞膜上的孔蛋白Orail蛋白相互作用。因此HBx蛋白与Orail蛋白结合可能是HBx蛋白通过内质网途径调节细胞内钙离子平衡的重要途径,从而影响细胞生物活性。免疫荧光检测再次证明在细胞内HBx蛋白可以与Orail蛋白结合,从而影响细胞内钙离子平衡。此实验结果与之前研究HBx蛋白通过线粒体途径调节细胞内钙离子平衡有所不同, Gearhart等^[11]研究发现HBx蛋白可以通过线粒体途径调节细胞内钙离子平衡,影响细胞的生理活性。CCK8检测显示HEK293细胞转染HBx质粒后,细胞增殖加速,此结果可能与HBx蛋白与Orail蛋白相互作用,升高细胞内钙离子,加快细胞增殖有关。其中转染后12 h,细胞数较对照组减少,可能与转染时加入Lipofectamine 2000有关。此结果与Yang等^[17]研究相似,与HBV感染后可能导致癌症形成有关。

本研究从内质网着手研究HBx蛋白调节细胞内钙离子的具体分子途径,首次提出HBx蛋白可以与Orail蛋白结合干预细胞内钙离子平衡,从而调节细胞增殖等生物活性,可能与癌症形成有关,但是HBx蛋白与Orail蛋白结合的具体部位,及二者结合后对细胞内钙离子平衡的影响等目前还不清楚,还需继续研究。

参考文献

- 1 Kew MC. Hepatitis B virus x protein in the pathogenesis of hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 1: 144-152 [PMID: 21199526 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06546.x]
- 2 Samal J, Kandpal M, Vivekanandan P. Molecular mechanisms underlying occult hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev* 2012; 25: 142-163 [PMID: 22232374 DOI: 10.1128/CMR.00018-11]
- 3 Azam F, Koulaouzidis A. Hepatitis B virus and hepatocarcinogenesis. *Ann Hepatol* 2008; 7: 125-129 [PMID: 18626429]
- 4 Matsuda Y, Ichida T. Impact of hepatitis B virus X protein on the DNA damage response during hepatocarcinogenesis. *Med Mol Morphol* 2009; 42: 138-142 [PMID: 19784739 DOI: 10.1007/s00795-009-0457-8]
- 5 Ng SA, Lee C. Hepatitis B virus X gene and hepatocarcinogenesis. *J Gastroenterol* 2011; 46: 974-990 [PMID: 21647825 DOI: 10.1007/s00535-011-0415-9]
- 6 Rawat S, Clippinger AJ, Bouchard MJ. Modulation of apoptotic signaling by the hepatitis B virus X protein. *Viruses* 2012; 4: 2945-2972 [PMID: 23202511 DOI: 10.3390/v4112945]
- 7 张驰, 张宗明. 钙池操纵的Ca²⁺通道的激活机制研究进展. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1873-1880
- 8 El Boustany C, Bidaux G, Enfissi A, Delcourt P, Prevorskaya N, Capiod T. Capacitative calcium entry and transient receptor potential canonical 6 expression control human hepatoma cell proliferation. *Hepatology* 2008; 47: 2068-2077 [PMID: 18506892 DOI: 10.1002/hep.22263]
- 9 Feitelson MA, Lee J. Hepatitis B virus integration, fragile sites, and hepatocarcinogenesis. *Cancer Lett*

- 2007; 252: 157-170 [PMID: 17188425]
- 10 Gearhart TL, Bouchard MJ. The hepatitis B virus X protein modulates hepatocyte proliferation pathways to stimulate viral replication. *J Virol* 2010; 84: 2675-2686 [PMID: 20053744 DOI: 10.1128/JVI.02196-09]
 - 11 Gearhart TL, Bouchard MJ. Replication of the hepatitis B virus requires a calcium-dependent HBx-induced G1 phase arrest of hepatocytes. *Virology* 2010; 407: 14-25 [PMID: 20719353 DOI: 10.1016/j.virol.2010.07.042]
 - 12 张驰, 张宗明. 钙池操纵的Ca通道研究中工具药的应用及进展. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 231-234
 - 13 Hoover PJ, Lewis RS. Stoichiometric requirements for trapping and gating of Ca²⁺ release-activated Ca²⁺ (CRAC) channels by stromal interaction molecule 1 (STIM1). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 13299-13304 [PMID: 21788510 DOI: 10.1073/pnas.1101664108]
 - 14 Numaga-Tomita T, Putney JW. Role of STIM1- and Orai1-mediated Ca²⁺ entry in Ca²⁺-induced epidermal keratinocyte differentiation. *J Cell Sci* 2013; 126: 605-612 [PMID: 23203806 DOI: 10.1242/jcs.115980]
 - 15 Wu MM, Buchanan J, Luik RM, Lewis RS. Ca²⁺ store depletion causes STIM1 to accumulate in ER regions closely associated with the plasma membrane. *J Cell Biol* 2006; 174: 803-813 [PMID: 16966422]
 - 16 Oh JC, Jeong DL, Kim IK, Oh SH. Activation of calcium signaling by hepatitis B virus-X protein in liver cells. *Exp Mol Med* 2003; 35: 301-309 [PMID: 14508071]
 - 17 Yang N, Tang Y, Wang F, Zhang H, Xu D, Shen Y, Sun S, Yang G. Blockade of store-operated Ca(2+) entry inhibits hepatocarcinoma cell migration and invasion by regulating focal adhesion turnover. *Cancer Lett* 2013; 330: 163-169 [PMID: 23211538 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.11.040]

■同行评价

本文首次提出HBx蛋白可以与Orai1蛋白结合干预细胞内钙离子平衡, 从而影响细胞增殖等生物活性, 提示了乙型肝炎病毒与肝癌发生之间新的关系。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{1/2}, V_{max}不能V_{max}, μ不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T_{max}, C_{max}, Vd, T_{1/2} CI等。基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。



Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

