

乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对RET指蛋白信号转导的影响

成军, 刘妍, 杨倩, 王建军, 洪源, 王琳

成军, 刘妍, 杨倩, 王建军, 洪源, 王琳, 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重点实验室北京市 100039

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重点实验室. cj@genetherapy.com.cn

电话: 010-66933392 传真: 010-63801283

收稿日期: 2003-06-07 接受日期: 2003-07-01

成军, 刘妍, 杨倩, 王建军, 洪源, 王琳. 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对RET指蛋白信号转导的影响. 世界华人消化杂志 2003;11(12):1970-1973

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1970.asp>

0 引言

RET指蛋白(RET finger protein, RFP)属于B盒式结构的锌指蛋白(zinc finger protein)家族成员, 具有三分体结构特点, 结构域包括一个环指结构、一个B-盒式结构、一个卷曲结构位点^[1]. 当RET指蛋白的三分体结构与酪氨酸激酶发生融合时, 就会变成癌基因^[2]. RFP蛋白在精子形成(spermatogenesis)过程的特定时期以及人和小鼠的各种成年组织中有表达活性^[3]. 许多具有B盒式结构的蛋白都形成同二聚体, 但这种三分体中的各个成分单独情况下的具体作用目前还不十分清楚^[4]. 初步研究结果表明, 乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)基因组编码蛋白对于RET的基因表达水平具有显著的上调作用, 显示RET的基因表达在HBV、HCV感染引起的病毒性肝炎、肝硬化和肝细胞癌(HCC)的发病机制中具有重要的作用.

1 RET指蛋白分子结构特点

Tezel et al^[4]应用免疫组织化学技术研究了RFP蛋白在正常和肿瘤细胞中的分布. 在各种各样的细胞核中都能检测到RFP蛋白的表达, 包括外周和中枢神经元细胞、肝细胞、男性生殖细胞等. 其中, RFP蛋白在男性生殖细胞中的表达水平最高, 例如初级精子细胞、圆形精细胞, 在初级精子细胞的核周围形成冠状结构. 另外, 在浆细胞、多发性骨髓瘤细胞的细胞质中, 也有高水平的RFP蛋白的表达. 这些结果表明RFP蛋白存在于不同的细胞质、细胞核, 在调节细胞的生长和分化中具有十分重要的作用.

人第22号染色体长达600 kb的基因序列分析, 在22q12-13位点发现了RFP基因的双拷贝化现象, 造成了3个拷贝的有表达活性的RFP样蛋白(RFPL)基因、2个RFPL假基因、2个BAM22假基因的同时存在. BAM22vartheta1序列分析结果表明, 与BAM22有高度的同源性. RFPL1、RFPL2、RFPL3等的cDNA序列分析结果表明, 同源性达到95-96%, 与人第6号染色

体上的RFP基因高度同源. RFPL有义链转录产物编码蛋白也具有三分体结构, 这是RING-B30蛋白家族的结构特征. 这3种结构位点均与蛋白和蛋白之间的结合有关, 可据此形成同二聚体或异二聚体. 染色体Xp22上的MID1基因也属于RING-B30蛋白家族的一个成员, 在Opitz综合征(OS)中发生突变. OS的常染色体显性突变与染色体22q11-12连锁. 这一人群中RFPL1等位基因截短型多态性占8%, 与OS表型无关. 还鉴定出大小分别为6 kb和1.2 kb的RFPL1S和RFPL3S序列特异性非编码的反义mRNA. RFPL1S和RFPL3S基因覆盖了这些基因的有义链的绝大部分, 说明RFPL1S和RFPL3S基因的表达调节主要在RFPL基因转录后水平上.

Cao et al^[5]的研究表明RFP蛋白可以通过螺旋结构位点部分形成多聚体结构形式, 然而B盒式结构位点并不参与, 但是这一位点结构的完整性仍然还是需要的. 这是第一次证明B盒式结构位点的蛋白参与蛋白-蛋白结合调节的研究结果. RING指状结构和B盒式结构位点的突变则影响RFP蛋白在各种细胞系中的亚细胞分布. 这说明RFP蛋白的自身结合形成多聚体形式, 以及在细胞内的分布特点, 与其分子中的三分体结构形式都是有关的, RFP的这些位点在正常细胞的生长、分化以及正常细胞的恶性转化过程调节中具有重要作用.

Iwata et al^[6]克隆了人RFP基因启动子序列, 这一启动子序列是一个富含GC的序列, 但是没有典型的TATA和CAAT盒式结构. 在启动子结构序列中, 在转录起始位点上游的100 nt范围内存在1个AP2和2个Sp1位点, 以萤虫素酶作为报告基因进行的研究表明, 这一启动子在人和小鼠的细胞系中都具有很强的启动子活性, 但在人细胞中的活性是小鼠细胞的10-15倍. 另外, AP2和Sp1位点在启动子活性的调节中具有协同性质, 因此, RFP启动子可以用于人细胞表达载体的构建. 对于人染色体6p21.3的主要组织相容性复合物I(MHC I)基因区的新基因进行搜索, 发现了一个新的外显子, 命名为B30-2, 编码一个166 aa组成的多肽, 与其他几种蛋白的羧基末端的序列具有高度的同源性, 包括人52 kD的Sjogren's综合征核抗原A/Ro(SS-A/Ro)和RFP, 还有爪蟾的核因子7(xenopus nuclear factor 7, XNF7)和牛的丁酰蛋白(butyrophilin). 前3种蛋白的全序列都有显著的同源性, 只有牛的丁酰蛋白只是在其羧基末端部分与这一家族具有一定的同源性, 丁酰蛋白的氨基末端与大鼠的髓磷脂/寡突细胞糖蛋白(myelin/oligodendrocyte glycoprotein, MOG)有一定的同源性. 这些结构位点都具有免疫球蛋白超家族(immunoglobulin superfamily, IgSF)的结构特征. 因此丁酰蛋白属于一种嵌合型蛋白, 既有MOG/B-G的Ig样位点, 也有SS-A/Ro、RFP、XNF7(B30-2样结构域)羧基末端的结构位点. 原位杂交研究表明, RFP、丁酰蛋白、MOG的编码基因都分布在6p21.3-22结构区, 因此与MHC I基因位于相同的位点. 因此, 丁酰蛋白基因也可能是

RFP 和 MOG 基因外显子改组(shuffling)的结果. 这是首次证明融合基因与其母本基因位于染色体同一个位点的例子. 另外, 调节蛋白 T 淋巴细胞 1(regulatory protein T-lymphocyte 1, Rpt-1)与 RFP、52 kD 的 SS-A/Ro、XNF7 蛋白的氨基末端序列具有高度的同源性, 但与 B30-2 样位点之间没有显著的同源性.

Rajkovic et al^[7]应用核苷酸序列数据库的分析技术鉴定出 RFP 蛋白家族的一个新成员, 称为 Rfp14. Rfp14 基因编码的蛋白由 287 aa 组成, 推测是一种 E3 遍在蛋白-蛋白连接酶(E3 ubiquitin-protein ligase), 具有环指样结构和 B30-2 结构位点. 逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)和 Northern blot 杂交结果表明, Rfp14 的 mRNA 长度为 1.7 kb, 只在成年小鼠的性腺(gonad)中表达. 原位杂交技术分析结果表明, Rfp14 转录在卵巢中的初级和晚期卵泡中, 以及睾丸中的精子细胞中都有表达. Rfp14 基因组含有 3 个外显子, 位于小鼠的 7 号染色体上, 人的同源基因位于染色体 19q13.4 位点.

2 RFP 调节机制

当初 RFP 是作为一种癌基因得到克隆的, 是一种含有三分体结构特点的蛋白分子. RFP 与多梳(polycomb, EPC)基因增强子结合并抑制其基因的转录, 因细胞类型的不同, 分布在细胞质或细胞核中. Harbers et al^[8]在 RFP 蛋白分子中鉴定出核外运信号(nuclear export signal, NES), 位于该蛋白的螺旋结构区. NES 结构区的突变, 或者细胞受到柔红霉素(leptomycin)B 的刺激, 就可以阻断 NIH 3T3 细胞中 RFP 的核外运功能. 另外, 将这种 NES 与其他的盒蛋白融合, 例如酵母细胞的转录因子 GAL4, 则造成在 NIH 3T3 细胞质中的释放. 尽管 RFP 的 NES 位点的功能在 HepG2 细胞中被 RFP 分子其他位点或其他蛋白所遮蔽, 以 12-O-四萜酸佛波乙酯(TPA, 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate)处理或者有持续的蛋白激酶 C α (PKC α)表达时, 可以解除这种遮蔽, 导致 RFP 蛋白在细胞质中的分布. 另外以 PKC 抑制剂处理 NIH 3T3 细胞, 也可以阻断 NES 位点的功能, 导致 RFP 蛋白在细胞核中的分布. 因此认为 RFP 蛋白的外运受 PKC 激活的影响. 然而, RFP 蛋白并不是 PKC 的直接底物, 很可能还存在另外的信号转导途径调节 RFP 的外运过程.

RET 指状蛋白属于一个较大的 B-盒环指蛋白家族, RET 与酪氨酸激酶融合后就变为癌基因. 尽管研究结果表明 RFP 是一种核蛋白, 在核基质中分布, 但其功能并不十分清楚. Shimono et al^[9]研究提示 RFP 蛋白与 EPC 的增强子结合, 并强烈抑制该基因的表达. 酵母双杂交技术分析表明, RFP 螺旋结构位点与 Epc A 位点和 EPC 的羧基末端结构区结合, 另外这 2 种蛋白可以发生共沉淀, 很可能分布在细胞核之中. 应用萤虫素酶作为报告基因的研究提示, 这些蛋白对于转录调节的抑制作用是所应用的增强子和启动子序列非依赖

性的, 但 RFP 的抑制作用显著强于 EPC. RFP 的螺旋结构位点和 EPC 的羧基末端序列均是转录抑制作用的关键结构基础. Epc A 位点具有转录激活作用, 但是这种转录激活作用是 EPC 蛋白功能特有的性质. 这些研究结果表明, RFP 在基因表达静息(gene silencing)机制中具有重要作用, 与 EPC 家族蛋白和 EPC 一起组成了一个独特的基因表达抑制和激活的调节体系.

小鼠 int-6 基因是在乳腺肿瘤中发现的, 是小鼠乳腺肿瘤病毒(mouse mammary tumor virus, MMTV)整合位点的基因. 人的同源基因编码产物与人 T 细胞白血病病毒 1(human T cell leukemia virus type 1, HTLV-1)的病毒肿瘤蛋白 Tax 结合, 妨碍了细胞核中过表达的 Int-6 蛋白的细胞内转位, 在含有前髓性白血病基因产物(PML)的细胞中尤其如此. Morris-Desbois et al^[10]对 Int-6 进行研究, 发现这种蛋白的分子量为 52 kD, 在原代淋巴细胞的核小体中存在, 对人 B 细胞的 cDNA 文库进行筛选, 发现 4 种蛋白可以与 Int-6 蛋白结合, 包括 eIF3 的 p110 亚单位, 与先前在纯化的翻译起始因子复合物中也能检测到 Int-6 蛋白的存在是相符合的. 另外一个克隆与 Int-6 具有相同的亚细胞分布, 其基因编码产物是 RET 指状蛋白, 与 PML 结合, 分布在含有 PML 蛋白的核小体中. RFP 与 Int-6 之间的结合是由 RFP 蛋白中一种称为 RFP 位点(Rfp domain)的结构所介导的, 与 RFP 和 PML 蛋白之间的结合是不同的. Int-6 和 Rfp 共同分布在淋巴细胞含有 PML 蛋白的核小体中, 转染实验结果强烈提示 RFP 蛋白可以触发 HeLa 细胞中的 Int-6 蛋白样核小体内的转位.

3 RFP 与肿瘤的关系

睾丸生殖细胞癌在年轻成年人中十分常见, 西方国家近年来发病率有上升趋势. RFP 在生精过程的各个阶段都有表达, 因此 Tezel et al^[11]对于睾丸生殖细胞癌中该基因的表达情况进行了研究. 包括 13 例纯粹的精原细胞瘤(seminoma), 5 例纯粹的非精原细胞生殖细胞肿瘤(non-seminomatous germ cell tumors, NSGCT), 7 例混合型生殖细胞肿瘤. 正常成人睾丸中, 生殖细胞有很强的 RFP 表达, 特别是在精原细胞(spermatogonia)和原代精母细胞(spermatocyte)中表达活性最高. 在 12/13 例纯粹的精原细胞瘤中都有 RFP 蛋白的表达, 在混合型生殖细胞瘤中的精原细胞中也能检测到 RFP 蛋白的表达, 但在 NSGCT 细胞中却没有 RFP 蛋白的表达. 雄性生殖细胞和精原细胞瘤细胞中 RFP 蛋白的表达, 结合高度侵袭性 NSGCT 肿瘤细胞中这种蛋白表达的缺如, 都表明 RFP 蛋白和生殖细胞的增生调节过程有关, 而且与生殖细胞肿瘤的病理类型有关. RFP 蛋白在生长正常的调节和肿瘤形成过程中都具有十分重要的意义. 这一家族中的成员都具有三分体结构, 都分布在细胞核之中. 前髓细胞白血病基因(promyelocytic leukemia gene, PML)是其中的一员, 分布在斑点核结构(punctate nuclear

structure)中,称为PML核体(PML nuclear body, NB),或PML癌性位点(PML oncogenic domain, POD).这些NB都是由数种还没有得到鉴定的蛋白构成的复杂结构.在急性前髓细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)中有一种融合蛋白称为PML-RARA,是染色体t(15:17)转位的结果.APL中NB的形态学已经发生了改变.Cao et al^[12]报道在一些类型的PML细胞中REP蛋白与PML蛋白共同分布,与PML蛋白之间存在直接的结合作用.这种蛋白之间的相互作用是由RFP蛋白的B-盒式结构和2个远端的螺旋结构所介导的.相反,RFP蛋白聚合成的多聚体形式主要依靠B-盒式结构与近端的螺旋结构.影响RFP-PML之间结合的基因突变则影响RFP与PML NB在APL患者的NB4细胞中的结合.经过视黄酸处理之后,RFP蛋白与NB之间的结合方式就象没有APL的细胞内一样.另外,RFP蛋白与ALP患者的PML-RARA蛋白共同分布.RFP蛋白与PML NB中其他的已知和未知蛋白成分一起,在细胞的生长和分化过程中具有十分重要的调节作用.

Borden et al^[13]发现富含半胱氨酸的锌结合结构域如RING和B-盒蛋白,只存在于几种互不相干的蛋白质结构中.生物化学和生物学研究表明这些结构位点都是介导蛋白-蛋白之间相互结合的结构基础.含有RING结构域的几种蛋白都是癌蛋白(oncoprotein),最近的研究结果表明RING结构位点可以介导细胞凋亡的调节信号.具有转化作用的rfp/ret基因是转染的NIH 3T3在恶性转化过程中由于基因重排而产生的一种癌基因.RFP氨基末端部分指状结构位点与截短的Ret受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase)融合,产生具有转化作用的新基因Rfp/Ret的产生.Hasegawa et al^[14]研究了这种具有转化作用蛋白的RING环指结构在其转化作用中的地位和作用.当将与这一结构位点三级结构形成有关的半胱氨酸或组氨酸残基进行突变时,即Cys-16、Cys-31或His-33位点发生替换时,Rfp/Ret的恶性转化作用显著下降.这些替换突变造成显著的酪氨酸磷酸化修饰能力的下降.第二个富含半胱氨酸/组氨酸的B盒式结构位点的突变,即Cys-118或His-124的替换突变,对于Rfp/Ret蛋白的恶性转化作用没有显著影响.这些研究结果表明Rfp/Ret的环指结构位点对其恶性转化作用至关重要.

RFP蛋白是分布在细胞核中,具有锌指结构位点的DNA结合蛋白,在激活原癌基因ret中具有重要作用.Isomura et al^[15]应用大肠杆菌表达的RFP蛋白作为抗原,制备了RFP蛋白的单克隆抗体,Western blot分析结果表明RFP是一种58 kD的蛋白,在睾丸中与68 kD的蛋白有免疫反应.在大鼠的腹水肝癌细胞AH7974和人伯基特氏淋巴瘤Raji细胞中都分布在细胞核中.RFP在细胞核中是一种可溶性的蛋白,具有DNA结合能力,与双链DNA结合的能力比与单链DNA结合的能力强.

4 肝炎病毒蛋白对MDM4蛋白的调节

肝炎病毒,特别是HBV、HCV感染引起慢性病毒性肝炎,相当比例的患者发展为肝硬化、肝细胞癌(HCC),但是具体的分子生物学机制不清楚.肝炎病毒基因编码产物在肝细胞中的表达,以直接或间接方式,或通过信号转导系统的影响,导致肝细胞的基因表达谱改变,可能是慢性病毒性肝炎发病机制的重要内容^[16-20].研究表明,HBV基因编码的羧基末端截短型表面抗原中蛋白(MHBst)、HBxAg,以及HCV基因编码的核心蛋白非结构蛋白NS3蛋白、NS5A蛋白都具有显著的反式激活效应,对肝细胞的基因表达谱产生显著影响.我们曾经应用抑制性消杂交技术(SSH)、基因芯片技术等对肝细胞中肝炎病毒蛋白表达之后基因表达谱的改变进行筛选研究.证实MHBst、HBxAg、NS5A蛋白都能上调MDM4编码基因的表达水平,分别提高2.386、2.052、2.035倍^[21-30].说明HBV、HCV感染引起的慢性肝脏疾患,可能会涉及到MDM4表达水平的改变.但是具体的机制及其生物学意义有待于进一步的研究.

5 参考文献

- 1 Suzumori N, Burns KH, Yan W, Matzuk MM. RFL4 interacts with oocyte proteins of the ubiquitin-proteasome degradation pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:550-555
- 2 Chang GT, Steenbeek M, Schippers E, Blok LJ, van Weerden WM, van Alewijk DC, Eussen BH, van Steenbrugge GJ, Brinkmann AO. A novel gene on human chromosome 2p24 is differentially expressed between androgen-dependent and androgen-independent prostate cancer cells. *Eur J Cancer* 2001;37:2129-2134
- 3 Schaner P, Richards N, Wadhwa A, Aksentijevich I, Kastner D, Tucker P, Gumucio D. Episodic evolution of pyrin in primates: human mutations recapitulate ancestral amino acid states. *Nat Genet* 2001;27:318-321
- 4 Tezel G, Nagasaka T, Shimono Y, Takahashi M. Differential expression of RET finger protein in testicular germ cell tumors. *Pathol Int* 2002;52:623-627
- 5 Cao T, Duprez E, Borden KL, Freemont PS, Etkin LD. Ret finger protein is a normal component of PML nuclear bodies and interacts directly with PML. *J Cell Sci* 1998;111:1319-1329
- 6 Iwata Y, Nakayama A, Murakami H, Iida K, Iwashita T, Asai N, Takahashi M. Characterization of the promoter region of the human RFP gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;261:381-384
- 7 Rajkovic A, Lee JH, Yan C, Matzuk MM. The ret finger protein-like 4 gene, Rfpl4, encodes a putative E3 ubiquitin-protein ligase expressed in adult germ cells. *Mech Dev* 2002;112:173-177
- 8 Harbers M, Nomura T, Ohno S, Ishii S. Intracellular localization of the Ret finger protein depends on a functional nuclear export signal and protein kinase C activation. *J Biol Chem* 2001;276:48596-48607
- 9 Shimono Y, Murakami H, Hasegawa Y, Takahashi M. RET finger protein is a transcriptional repressor and interacts with enhancer of polycomb that has dual transcriptional functions. *J Biol Chem* 2000;275:39411-39419
- 10 Morris-Desbois C, Bochar V, Reynaud C, Jalinet P. Interaction between the Ret finger protein and the Int-6 gene product and co-localisation into nuclear bodies. *J Cell Sci* 1999;112:3331-3342
- 11 Tezel G, Nagasaka T, Iwashita N, Asai N, Iwashita T, Sakata K, Takahashi M. Different nuclear/cytoplasmic distributions of RET finger protein in different cell types. *Pathol Int* 1999;49:881-886

12 Cao T, Borden KL, Freemont PS, Etkin LD. Involvement of the rfp tripartite motif in protein-protein interactions and subcellular distribution. *J Cell Sci* 1997;110:1563-1571

13 Borden KL. RING fingers and B-boxes: zinc-binding protein-protein interaction domains. *Biochem Cell Biol* 1998;76:351-358

14 Hasegawa N, Iwashita T, Asai N, Murakami H, Iwata Y, Isomura T, Goto H, Hayakawa T, Takahashi M. A RING finger motif regulates transforming activity of the rfp/ret fusion gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;225:627-631

15 Isomura T, Tamiya-Koizumi K, Suzuki M, Yoshida S, Taniguchi M, Matsuyama M, Ishigaki T, Sakuma S, Takahashi M. RFP is a DNA binding protein associated with the nuclear matrix. *Nucleic Acids Res* 1992;20:5305-5310

16 董菁, 成军, 王勤环, 王刚, 施双双, 夏小兵, 斯崇文. 外周血中乙型肝炎病毒截短型囊膜中蛋白基因的克隆化与分析. *中华肝病杂志* 2001;9:163-165

17 刘妍, 成军, 董菁, 夏小兵, 李克, 杨继珍. 截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式激活作用的初步研究. *肝脏* 2001;6:8-10

18 韩萍, 刘妍, 成军, 王刚, 陆荫英, 李克, 李莉. 截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白上调 c-myc 基因表达的研究. *世界华人消化杂志* 2002;10:141-144

19 刘妍, 成军, 张跃新, 段惠娟, 牟劲松, 韩萍, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 截短型 HBsAg 中蛋白反式激活基因的克隆. *中华传染病杂志* 2002;20:218-221

20 刘妍, 成军, 王刚, 李克, 段惠娟, 王琳, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. HCV 核心蛋白与截短型 HBV 表面抗原中蛋白协同反式激活功能的研究. *中华肝病杂志* 2002;10:354-357

21 刘妍, 成军, 王琳, 王建军, 陆荫英, 李克. 羧基末端截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式激活基因 1 的克隆化研究. *世界华人消化杂志* 2003;11:000-000

22 洪源, 刘妍, 成军, 杨倩, 王建军. 应用表达谱芯片技术对截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式调节基因的研究. *世界华人消化杂志* 2003;11:000-000

23 刘妍, 成军, 牟劲松, 陆荫英, 王建军, 杨倩, 王琳, 张玲霞. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS3 与乙型肝炎病毒 X 蛋白协同反式激活作用的研究. *解放军医学杂志* 2003;28:47-49

24 刘妍, 成军, 陆荫英, 王刚, 牟劲松, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 乙型肝炎病毒 X 蛋白反式调节基因的克隆化研究. *中华肝病杂志* 2003;11:5-7

25 刘妍, 成军, 邵得志, 王琳, 钟彦伟, 董菁, 李克, 李莉. HCV 核心蛋白与 HBV X 蛋白协同反式激活作用的研究. *中华实验和临床病毒学杂志* 2003;17:39-41

26 刘妍, 成军, 王琳, 王建军, 陆荫英, 李克. 乙型肝炎病毒 X 蛋白反式激活基因 1 的克隆化与序列分析. *世界华人消化杂志* 2003;11:000-000

27 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩. 基因表达谱芯片技术筛选乙型肝炎病毒 X 蛋白反式调节靶基因. *世界华人消化杂志* 2003;11:000-000

28 成军, 刘妍, 洪源, 王琳, 钟彦伟, 董菁, 王刚. 乙型肝炎病毒 X 蛋白反式激活基因 10 的克隆化研究. *世界华人消化杂志* 2003;11:000-000

29 刘妍, 陆荫英, 成军, 王建军, 李莉, 张玲霞. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS5A 反式激活基因的克隆化研究. *解放军医学杂志* 2003;28:40-43

30 王琳, 李克, 成军, 陆荫英, 张健, 刘妍, 王刚, 洪源, 王贺, 芮莉莉. 筛选与克隆丙型肝炎病毒 NS5A 蛋白结合蛋白基因. *解放军医学杂志* 2003;28:50-52

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:010-66933392 传真: 010-63801283
收稿日期: 2003-06-07 接受日期: 2003-07-01

王春花, 成军, 郎振为, 刘妍, 王建军, 纪冬, 党晓燕. 人 La 自身抗原蛋白与肝炎病毒的关系. *世界华人消化杂志* 2003;11(12):1973-1976
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1973.asp>

0 引言

乙型和丙型肝炎呈全球分布, 目前全世界有 1.7 亿人感染丙型肝炎病毒(HCV), 3.5 亿人感染乙型肝炎病毒(HBV), 其中相当一部分感染者发展为慢性肝炎, 少数还发展成肝硬化甚至肝癌, 对人类健康造成极大危害, 至今缺乏有效的控制. 肝炎病毒在肝细胞中的长期存在, 复制扩散是肝炎病毒慢性感染的关键一步, 这两种病毒在体内感染的分子生物学机制一直是研究者们关注的重点, 许多的研究越来越显示 La 自身抗原蛋白与其关系密切, 本文简要介绍近年来在这方面的研究进展.

1 人 La 自身抗原蛋白的结构与功能

人类 La(SS-B)蛋白是一种能与 RNA 结合的磷蛋白, 分子量 45 kD, La 蛋白首先是从系统性红斑狼疮(SLE)和 Sjogren 综合征患者的血清中作为一种自身抗原而被鉴定的^[1]. La 蛋白在许多真核细胞生物中广泛表达, 诸如酵母、果蝇、蟾蜍等. La 抗原能通过其 RNA 结合域与许多种 RNA 结构结合^[2]. La 蛋白的病毒靶位包括细小核糖核酸病毒^[3]、流行性感冒病毒^[4]、辛德毕斯病毒^[5]和人免疫缺陷病毒(HIV) TAR 元件的 5' - 非编码区^[6]. La 蛋白上具有与核糖核蛋白氨基端同源序列而介导了 La 蛋白和 mRNA 的结合. La 蛋白也能结合一些小分子的 RNA, 例如 7S RNA 和 tRNA, 并认为参与了他们的生物合成. 体外实验已表明 La 蛋白参与了许多细胞内代谢过程, 例如, RNA 聚合酶(Pol) III 介导的转录和转录物加工, 丙型肝炎病毒和脊髓灰质炎病毒 RNA 翻译的内部启动. 与这些功能可能有关的一个作用是 La 蛋白表现出能够以 ATP 依赖方式解旋 DNA-RNA 杂交体和双链 RNA 分子, 不过最近 La 蛋白解旋双链 RNA 的活性受到质疑.

人类 La 蛋白通常定位于核质中, 尽管在核仁和胞质的定位也被证实过. 在 La 蛋白的羧基末端包含一个核定位信号(NLS), 此结构域与核内滞留有关. La 蛋白的亚细胞分布机制还不确定, 不过有人报道磷酸化似乎并不发挥作用. La 蛋白的一个重要特性是其能以不同的方式结合到并影响许多 RNAs. 在哺乳动物、昆虫和酵母细胞中均可见 La 蛋白, 并发现其定位于核内和胞质二者中. 在核内其结合到 RNA 聚合酶 III 介导新合成的转录产物末端 39 位富含尿嘧啶核苷酸区域, 有利于转录终止和转录产物从 DNA 上的释放, 甚至能促进聚合酶 III 参与的转录起始. 在胞质中 La 蛋白的功能至少从三方面得到证实: (1)通过结合到内部核糖进入位点, 促进从

人 La 自身抗原蛋白与肝炎病毒的关系

王春花, 成军, 郎振为, 刘妍, 王建军, 纪冬, 党晓燕

王春花, 成军, 刘妍, 王建军, 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
国家自然科学基金攻关项目, 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