

- 3 陆荫英, 刘妍, 成军, 张玲霞. 乙型肝炎病毒 X 蛋白的功能研究进展. 国外医学病毒学分册 2002;9:33-36
- 4 Waris G. Regulatory mechanisms of viral hepatitis B and C. *J Biosci* 2003;28:311-321
- 5 Idilman R, De Maria N, Colantoni A, Van Thiel DH. Pathogenesis of hepatitis B and hepatitis C-induced hepatocellular carcinoma. *J Viral Hepatitis* 1998;5:285-299
- 6 Omori Y, Imai J, Watanabe M, Komatsu T, Suzuki Y, Kataoka K, Watanabe S, Tanigami A, Sugano S. CREB-H: a novel mammalian transcription factor belonging to the CREB/ATF family and functioning via the box-B element with a liver-specific expression. *Nucleic Acids Res* 2001;29:2154-2162
- 7 Luciano RL, Wilson AC. N-terminal transcriptional activation domain of LZIP comprises two LxxLL motifs and the host cell factor-1 binding motif. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:10757-10762
- 8 Chen X, Shen J, Prywes R. The luminal domain of ATF6 senses endoplasmic reticulum (ER) stress and causes translocation of ATF6 from the ER to the Golgi. *J Biol Chem* 2002;277:13045-13052
- 9 Andrisani OM. CREB-mediated transcriptional control. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 1999;9:19-32
- 10 Luciano RL, Wilson AC. An activation domain in the C-terminal subunit of HCF-1 is important for transactivation by VP16 and LZIP. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:13403-13408
- 11 Lu R, Yang P, O'Hare P, Misra V. Luman, a new member of the CREB/ATF family, binds to herpes simplex virus VP16-associated host cellular factor. *Mol Cell Biol* 1997;17:5117-5126
- 12 Mahajan SS, Wilson AC. Mutations in host cell factor 1 separate its role in cell proliferation from recruitment of VP16 and LZIP. *Mol Cell Biol* 2000;20:919-928
- 13 Freiman RN, Herr W. Viral mimicry: common mode of association with HCF by VP16 and the cellular protein LZIP. *Genes Dev* 1997;11:3122-3127
- 14 Lu R, Yang P, Padmakumar S, Misra V. The herpesvirus transactivator VP16 mimics a human basic domain leucine zipper protein, luman, in its interaction with HCF. *J Virol* 1998;72:6291-6297
- 15 Raggo C, Rapin N, Stirling J, Gobeil P, Smith-Windsor E, O'Hare P, Misra V. Luman, the cellular counterpart of herpes simplex virus VP16, is processed by regulated intramembrane proteolysis. *Mol Cell Biol* 2002;22:5639-5649
- 16 Zhou HJ, Wong CM, Chen JH, Qiang BQ, Yuan JG, Jin DY. Inhibition of LZIP-mediated transcription through direct interaction with a novel host cell factor-like protein. *J Biol Chem* 2001;276:28933-28938
- 17 Kato N, Yoshida H, Kioko Ono-Nita S, Kato J, Goto T, Otsuka M, Lan K, Matsushima K, Shiratori Y, Omata M. Activation of intracellular signaling by hepatitis B and C viruses: C-viral core is the most potent signal inducer. *Hepatology* 2000;32:405-412
- 18 Moriya K. The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. *Nature Med* 1998;4:1065-1067
- 19 Barba G. Hepatitis C virus core protein shows a cytoplasmic localization and associates to cellular lipid storage droplets. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:1200-1205
- 20 Chang SC, Yen JH, Kang HY, Jang MH, Chang MF. Nuclear localization signals in the core protein of hepatitis C virus. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;205:1284-1290
- 21 Jin DY, Wang HL, Zhou Y, Chun AC, Kibler KV, Hou YD, Kung H, Jeang KT. Hepatitis C virus core protein-induced loss of LZIP function correlates with cellular transformation. *EMBO J* 2000;19:729-740
- 22 刘妍, 成军, 王建军, 陆荫英, 杨倩. 应用基因表达谱芯片筛选丙型肝炎病毒核心蛋白反式调节基因. 解放军医学杂志 2003;28:55-57
- 23 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. 中华肝脏病杂志 2003;11:1
- 24 刘妍, 董菁, 成军, 夏小兵, 李克, 王琳, 施双双, 段惠娟, 杨继珍. 乙型肝炎病毒 X 基因在真核细胞中的表达及反式激活 SV40 病毒早期启动子的研究. 解放军医学杂志 2001;26:404-406

- 25 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. 中华肝脏病杂志 2002;10:354-357
- 26 Mahe Y, Mukaida N, Kuno K, Akiyama M, Ikeda N, Matsushima K, Murakami S. Hepatitis B virus X protein transactivates human interleukin-8 gene through acting on nuclear factor kB and CCAAT/enhancer-binding protein-like cis-elements. *J Biol Chem* 1991;266:13759-13763
- 27 Andrisani OM, Barnabas S. The transcriptional function of the hepatitis B virus X protein and its role in hepatocarcinogenesis. *Int J Oncol* 1999;15:373-379
- 28 Schneider TL, Schepartz A. Hepatitis B virus protein pX enhances the monomer assembly pathway of bZIP-DNA complexes. *Biochemistry* 2001;40:2835-2843
- 29 Pflum MK, Schneider TL, Hall D, Schepartz A. Hepatitis B virus X protein activates transcription by bypassing CREB phosphorylation, not by stabilizing bZIP-DNA complexes. *Biochemistry* 2001;40:693-703
- 30 Williams JS, Andrisani OM. The hepatitis B virus X protein targets the basic region-leucine zipper domain of CREB. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:3819-3823

## 乙型和丙型肝炎病毒对c-jun基因表达调节的影响

党晓燕, 成军, 邓红

党晓燕, 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 北京市 100039  
 邓红, 西安交通大学第二医院传染科 陕西省西安市 710004  
 国家自然科学基金资助项目, No. C39970674, No. C03011402  
 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

党晓燕, 成军, 邓红. 乙型和丙型肝炎病毒对c-jun基因表达调节的影响. 世界华人消化杂志 2004;12(4):935-937  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/935.asp>

### 0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)和丙型肝炎病毒(HCV)不仅可引起急性慢性病毒性肝炎,而且与肝纤维化和肝细胞癌(HCC)的发生及发展密切相关.HCC是严重危害人民健康的疾病之一,在对HCC的致病机制的探索中,原癌基因也成为研究的的重点.研究发现,HBV和HCV均能调节原癌基因c-jun的激活与表达,从而导致肝细胞异常增生、分化,进而引起肝细胞癌变.通过对肝炎病毒和癌基因c-jun之间关系的阐述,有助于我们掌握肝细胞癌变的分子机制.

### 1 c-jun的结构和功能

c-jun原癌基因如同其他的癌基因,在正常情况下不表达或只有极少水平的表达.当受到细胞外理化因素或细胞内信号级联刺激后,c-jun基因可被激活,激活

的 c-jun 基因的蛋白表达产物有 3 种: c-jun、junB 和 junD, 分子量大约为 40 kDa. c-jun 属于碱性亮氨酸拉链蛋白质家族, 他能形成同源二聚体, 或者与转录因子 Fos 家族的成员形成异源二聚体, 即转录因子 AP-1. 可结合 DNA 链上的共同序列 5' -TGA(C/G)TCA-3'. c-fos 和 c-jun mRNA 强烈诱导可导致 AP-1 结合的增加. c-jun 在形成 fos/jun 或 jun/jun 复合物时转录活性增加. c-jun 可调节数个对细胞增生、分化和凋亡重要的基因表达, 从而表明 AP-1 在致癌机制中发挥重要作用<sup>[1]</sup>. c-jun 通过抑制抑癌基因 p53 的作用对肿瘤细胞的凋亡进行抑制. c-jun 的磷酸化在凋亡诱导的过程中发挥重要作用. c-jun 近端的顺式元件 AP-1 位点涉及他的启动子自激活<sup>[2]</sup>. 1993 年 Karin et al 研究小组发现, 一种蛋白激酶能够磷酸化 c-jun, 其磷酸化位点位于 c-jun 氨基末端活性区丝氨酸残基 63 和 73 (Ser63 和 Ser73), 该蛋白激酶被称为 c-jun 氨基末端激酶(c-jun N-terminal kinase, JNK). 紫外光、热休克及细胞因子可导致 JNK 的激活<sup>[3-5]</sup>, 而 JNK 又可激活下游靶基 c-jun<sup>[6]</sup>, 从而有效激活下游 AP-1 结合活动和增加 c-jun 表达. 表达的核蛋白 c-jun 能提高细胞周期蛋白的表达和细胞周期的进展<sup>[7]</sup>.

## 2 c-jun 的激活及调控特点

c-jun 的功能性激活触发了 JNK 信号路径导致氨基末端的磷酸化<sup>[8]</sup>. 磷酸化的 c-jun 蛋白的活动可被翻译后调节<sup>[9-10]</sup>. 原癌基因 Ras 的激活与氨基末端 c-jun 位点增加的磷酸化相关. c-jun 氨基末端位点刺激新 c-jun 的合成<sup>[9, 11]</sup>, 且 c-jun 氨基末端磷酸化对 c-jun 蛋白合成的自动刺激是重要的<sup>[2, 12]</sup>, 对 c-jun 和 Ras 的转化也是重要的<sup>[11, 13-14]</sup>. JNK 的激活和 c-jun 氨基末端磷酸化建立了一个正向调节环路促进 c-jun 的合成<sup>[2, 12]</sup>. 新的 c-jun 的合成涉及活化的 c-jun 同源二聚体或 c-jun-ATF2 与 c-jun 启动子的结合<sup>[15]</sup>. c-jun 启动子的转录反应主要由 2 个元素介导: Jun1 与 Jun2. 翻译后 c-jun 的氨基末端磷酸化可形成 c-jun-AP-1 DNA 结合复合体的延伸形式. 激活的 c-jun 蛋白的持续积累可由 c-jun 的转录刺激和翻译后磷酸化调控.

Nishizuka et al 早在 1988 年就提出第二信使系列激活 c-jun 的途径. 细胞因子、激素等刺激物作为第一信使作用于胞膜上的受体, 激活膜内第二信使三磷酸肌醇、血清中性 1, 2- 酰基甘油和 Ca<sup>2+</sup>, 进而激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC), PKC 通过调节 jun 磷酸化水平而增强活性 AP-1 在转录时的活性诱导 c-jun 的表达, 进而调节靶基因表达和转录速率, 发生信使作用. 由于 JNKs 是有丝分裂原激活蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 组分之一, MAPK 家族都为丝氨酸 (Ser)/ 苏氨酸 (Thr) 蛋白激酶, 其激活需要分子中的酪氨酸 (Tyr) 和 Thr 同时磷酸化. MAPK 被激活后, 也可催化 c-jun 磷酸化, 以调节基因的转录和

mRNA 的翻译. Henkler et al<sup>[16]</sup> 认为 c-jun 氨基末端在体内并不是细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERKs) ERK/MAPK 作用的底物, ERK/MAPK 路径被认为触发了 Jun 的磷酸化.

## 3 HBV 对原癌基因 c-jun 的表达调节

HBV 是嗜肝 DNA 病毒的一种, HBV DNA 长度为 3.2 kb. HBV 含有 4 个开放读码框架 (ORF), 分别编码 HBV 的表面抗原蛋白, 核心/e 抗原, X 蛋白以及 HBV DNA 聚合酶. 其中 HBV 的 X 蛋白能通过各种途径反式激活原癌基因, 因此慢性 HBV 感染与肝癌的形成具有十分密切的联系.

HBV X 蛋白的分子量为 16.5 kDa, 是一个中等而不是广泛作用的转录反式激活子. 他能激活大量的细胞和病毒的基因, 包括原癌基因, 例如 c-myc、c-Fos、c-Jun, 因此调节许多宿主基因的功能, 例如转录、细胞周期进展、增生、凋亡、DNA 修复<sup>[17-19]</sup>. 虽然 HBx 不直接结合于双链 DNA, 但核内的 HBx 可由结合于数个转录因子而被激活<sup>[20]</sup>, 而胞质内的成分触发了细胞间的信号路径<sup>[21]</sup>. HBx 的激活定位于与特异的转录因子 AP-1 的结合位点. Benn et al 报道 X 序列即使切去了顶端, 仍保留他的反式激活功能, 表明了 HBx 介导的反式激活作用的重要性<sup>[22]</sup>. HBx 在缺乏相应激活子的情况下不能激活 DNA 元件, 他需要有力的激活域以共转录. 一系列微弱的酸性激活域, 包括 c-Jun 激活域, c-fos 激活域的两个亚区域对 HBx 的作用是不起作用的, 表明了 HBx 的效果不依赖于酸性激活域的酸性序列. Haviv et al<sup>[23]</sup> 研究表明 HBx 能够刺激大量增强子-启动子单位的转录, 比如 c-fos、c-Jun. 在 X 蛋白存在的情况下, c-fos、c-Jun 基因可更好的表达. 重要的是 AP-1 复合体的构成在 HBx 的诱导过程中发生了变化, 从 c-fos-c-Jun 异源二聚体的暂时积累转变为 c-Jun 同源二聚体的长期积累.

有报道表明正常肝组织中 c-jun 为低水平表达, 但在整合 HBV DNA 的 HCC 组织中呈高水平表达<sup>[24]</sup>. 有人发现 c-jun 对于肝癌的发展来说并不是必需的, c-jun 对肝癌的促进作用只出现在 HCC 的发生早期. 还有报道原癌基因 c-jun 的过度表达在 HCC 变的机制中发挥重要作用. HBx 作为反式激活因子能激活原癌基因 c-jun 启动子, c-jun 的调节序列可在转录水平上被 HBx 蛋白激活. Zhou et al<sup>[25]</sup> 研究证实 HBx 蛋白能显著的反式激活定位于 c-jun 癌基因的 5' - 上游的调节序列, 且报道 X 基因的激活需要 c-jun 基因的 AP-1 序列. HBx 触发了 Jun 氨基末端的磷酸化, HBx 通过 JNK 信号转导级联的激活诱导 c-jun 基因. 且仅仅野生型的 HBx 能诱导 Jun 的磷酸化, 再次表明了 JNK 反应信号激活的激发仅仅由胞质内的 HBx 诱导. c-jun 氨基末端的磷酸化提高了 HBx 的反式激活功能<sup>[9]</sup>, 表明了 c-jun 的氨基末端转录激活域是 HBx 活动中的主要位点. HBx 作用于

c-jun 的转录激活域不影响 c-jun 同源二聚体或 c-jun/c-fos 异源二聚体的结合. HBx 能决定 c-jun 的翻译后调节致使这个蛋白在转录激活过程更加有效. Choi et al<sup>[26]</sup> 研究发现胰岛素刺激细胞肿瘤激活子例如 c-jun、c-fos 和 c-myc. 胰岛素可通过 HBV 增强子 I (EnI) 的 AP-1 结合位点提高 HBx 蛋白的表达. 胰岛素能提高 HBx 在 HBV 感染的 HCC 发展中的作用, 或许通过 HBx 与其他细胞原癌基因相互作用. 在 c-jun 的激活中 HBx 与癌基因 Raf-1 共同协作. Natoli et al<sup>[27]</sup> 报道 Raf-1 的共转染决定 HBx 诱导的 c-jun 的转录活动的强烈增加. 在 HepG2 细胞系中 HBx 诱导的 AP1 的激活作用与在 c-Jun/c-Fos 异型二聚体的 DNA 结合活动中的增加相关联, 不依赖细胞系中 c-Fos 和 c-Jun 蛋白全部数量的增加, 也不依赖与 HBx 与两个蛋白之间二聚体的形成, 表明涉及了转录因子的翻译后调节.

#### 4 HCV 对原癌基因 c-jun 的表达调节

HCV 核心蛋白是一种多功能蛋白, 不仅仅作为一种病毒结构蛋白, 而且能够影响多种细胞信号转导途径, 激活多种病毒及细胞基因启动子, 具有广泛的反式激活作用. Kim et al<sup>[28]</sup> 报道原始的 22 kDa 的核心蛋白定位于转染细胞的细胞质, 其抑制了在所有检测的启动因子中的表达, 相反的, 截短的 HCV 核心蛋白定位于核内并不显示抑制活动. 他或许作为细胞基因表达抑制子. Soo et al<sup>[29]</sup> 报道全长 HCV 分离株全基因组克隆的转染上调 AP-1 的结合活动和 c-jun 转录. HCV 核心蛋白在 AP-1 转录活动上的效果部分的归因于 c-Jun 氨基末端激活域的磷酸化, 也归因于 Fos 和 Jun 基因转录的诱导. Erhardt et al<sup>[30]</sup> 研究表明 HCV 核心蛋白的表达可激活细胞外信号调节的激酶(ERK), c-jun N-末端激酶(JNK). 这些与 c-Jun 的激活相伴随.

#### 5 参考文献

- Hartl M, Bader AG, Bister K. Molecular targets of the oncogenic transcription factor jun. *Curr Cancer Drug Targets* 2003;3:41-55
- Angel P, Hattori K, Smeal T, Karin M. The jun proto-oncogene is positively autoregulated by its product, Jun/AP-1. *Cell* 1988;55:875-885
- Karin M. The regulation of AP-1 activity by mitogen-activated protein kinases. *J Biol Chem* 1995;270:16483-16486
- Derijard B, Hibi M, Wu IH, Barrett T, Su B, Deng T, Karin M, Davis RJ. JNK1: a protein kinase stimulated by UV light and Ha-Ras that binds and phosphorylates the c-Jun activation domain. *Cell* 1994;76:1025-1037
- Kyriakis JM, Avruch J. Sounding the alarm: protein kinase cascades activated by stress and inflammation. *J Biol Chem* 1996;271:24313-24316
- Davis RJ. Signal transduction by the JNK group of MAP kinases. *Cell* 2000;103:239-252
- Bakiri L, Lallemand D, Bossy-Wetzel E, Yaniv M. Cell cycle-dependent variations in c-Jun and JunB phosphorylation: a role in the control of cyclin D1 expression. *EMBO J* 2000;19:2056-2068
- Kyriakis JM, Banerjee P, Nikolakaki E, Dai T, Rubie EA, Ahmad MF, Avruch J, Woodgett JR. The stress-activated protein kinase subfamily of c-Jun kinases. *Nature* 1994;369:156-160
- Binetruy B, Smeal T, Karin M. Ha-Ras augments c-Jun activity and stimulates phosphorylation of its activation domain.

- Nature* 1991;351:122-127
- Boyle WJ, Smeal T, Defize LH, Angel P, Woodgett JR, Karin M, Hunter T. Activation of protein kinase C decreases phosphorylation of c-Jun at sites that negatively regulate its DNA-binding activity. *Cell* 1991;64:573-584
- Smeal T, Binetruy B, Mercola DA, Birrer M, Karin M. Oncogenic and transcriptional cooperation with Ha-Ras requires phosphorylation of c-Jun on serines 63 and 73. *Nature* 1991;354:494-496
- Angel P, Karin M. The role of Jun, Fos and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation. *Biochim Biophys Acta* 1991;1072:129-157
- Alani R, Brown P, Binetruy B, Dosaka H, Rosenberg RK, Angel P, Karin M, Birrer MJ. The transactivating domain of the c-Jun proto-oncoprotein is required for cotransformation of rat embryo cells. *Mol Cell Biol* 1991;11:6286-6295
- 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
- van Dam H, Duyndam M, Rottier R, Bosch A, de Vries-Smits L, Herrlich P, Zantema A, Angel P, van der Eb AJ. Heterodimer formation of cJun and ATF-2 is responsible for induction of c-jun by the 243 amino acid adenovirus E1A protein. *EMBO J* 1993;12:479-487
- 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
- Andrisani OM, Barnabas S. The transcriptional function of the hepatitis B virus X protein and its role in hepatocarcinogenesis (Review). *Int J Oncol* 1999;15:373-379
- Arbuthnot P, Capovilla A, Kew M. Putative role of hepatitis B virus X protein in hepatocarcinogenesis: effects on apoptosis, DNA repair, mitogen-activated protein kinase and JAK/STAT pathways. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:357-368
- Koike K, Takada S. Biochemistry and functions of hepatitis B virus X protein. *Intervirology* 1995;38:89-99
- Maguire HF, Hoeffler JP, Siddiqui A. HBV X protein alters the DNA binding specificity of CREB and ATF-2 by protein-protein interactions. *Science* 1991;252:842-844
- Benn J, Schneider RJ. Hepatitis B virus HBx protein activates Ras-GTP complex formation and establishes a Ras, Raf, MAP kinase signaling cascade. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:10350-10354
- Murakami S. Hepatitis B virus X protein: structure, function and biology. *Intervirology* 1999;42:81-99
- Haviv I, Vaizel D, Shaul Y. The X protein of hepatitis B virus coactivates potent activation domains. *Mol Cell Biol* 1995;15:1079-1085
- Beasley RP, Hwang LY, Lin CC, Chien CS. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. A prospective study of 22 707 men in Taiwan. *Lancet* 1981;2:1129-1133
- Zhou MX, Watabe M, Watabe K. The X-gene of human hepatitis B virus transactivates the c-jun and alpha-fetoprotein genes. *Arch Virol* 1994;134:369-378
- Choi BH, Park CJ, Rho HM. Insulin activates the hepatitis B virus X gene through the activating protein-1 binding site in HepG2 cells. *DNA Cell Biol* 1998;17:951-956
- Natoli G, Avantaggiati ML, Chirillo P, De Marzio E, Collepardo D, Falco M, Balsano C, Levrero M. Modulation of intracellular signal transduction pathways by the hepatitis B virus transactivator Px. *J Hepatol* 1995;22(Suppl 1):14-20
- Kim DW, Suzuki R, Harada T, Saito I, Miyamura T. Trans-suppression of gene expression by hepatitis C viral core protein. *Jpn J Med Sci Biol* 1994;47:211-220
- Soo HM, Garzino-Demo A, Hong W, Hwee Tan Y, Joo Tan Y, Goh PY, Gee Lim S, Pheng Lim S. Expression of a full-length hepatitis C virus cDNA up-regulates the expression of CC chemokines MCP-1 and RANTES. *Virology* 2002;303:253-277
- Erhardt A, Hassan M, Heintges T, Haussinger D. Hepatitis C virus core protein induces cell proliferation and activates ERK, JNK, and p38 MAP kinases together with the MAP kinase phosphatase MKP-1 in a HepG2 Tet-Off cell line. *Virology* 2002;292:272-284