

B 细胞亚群进行分析, Katagiri et al^[23]发现 Egr-1 在原/前-B 细胞和未成熟的B 淋巴细胞中有转录表达活性. 在基质细胞瘤细胞作为饲养细胞, 含有白介素-7(IL-7)的细胞培养基中生长的原/前-B-I 细胞中有 Egr-1 蛋白. 在重组酶激活基因-2(recombinase-activating gene 2, RAG-2)缺陷、Egr-1 过表达的小鼠的 B 淋巴细胞系原/前-B-I 细胞可以通过 B220(low)BP-1(-)发育阶段而继续发育, 一直到 B220(low)BP-1(+)期的前-B-I 细胞阶段, 但是不能继续发育到前-B-II 细胞的 B220(low)BP-1(+)CD25(+)阶段. 因此, 在 B 淋巴细胞的早期发育阶段, 从 B220(low)BP-1(-)IL-2R- 原/前-B-I 阶段发育到 B220(low)BP-1(+)IL-2R+ 前-B-II 阶段, 至少包括 2 个不同的步骤. 第 1 步 B220 (low)BP-1(+)前-B-I 细胞如果受到 Egr-1 过表达的刺激就能完成. Egr-1 转基因小鼠分泌成熟的免疫球蛋白的 B 淋巴细胞(IgM+ B220 (high)的比率上升, 未成熟型的 IgM+ B220(low)的骨髓 B 淋巴细胞的比率降低. 因为转基因小鼠和正常的小鼠祖 B 细胞的生长状态、Egr-1 的表达水平相当, 而且进入到成熟的 B 细胞阶段. 对于 Egr-1 潜在的调节基因进行研究, 发现 Egr-1 可以提高前-B 细胞和未成熟 B 细胞中的氨基肽酶(aminopeptidase) BP-1/6C3 的表达, 而且可以上调 IgM+ B 淋巴细胞中的 nur77 的表达.

4 参考文献

- Dinkel A, Warnatz K, Ledermann B, Rolink A, Zipfel PF, Burki K, Eibel H. The transcription factor early growth response 1 (Egr-1) advances differentiation of pre-B and immature B cells. *J Exp Med* 1998;188:2215-2224
- Maira M, Martens C, Batsche E, Gauthier Y, Drouin J. Dimer-specific potentiation of NGFI-B (Nur77) transcriptional activity by the protein kinase A pathway and AF-1-dependent coactivator recruitment. *Mol Cell Biol* 2003;23:763-776
- Kovalovsky D, Refojo D, Liberman AC, Hochbaum D, Pereda MP, Coso OA, Stalla GK, Holsboer F, Arzt E. Activation and induction of NUR77/NURR1 in corticotrophs by CRH/cAMP: involvement of calcium, protein kinase A, and MAPK pathways. *Mol Endocrinol* 2002;16:1638-1651
- Wansa KD, Harris JM, Muscat GE. The activation function-1 domain of Nur77/NR4A1 mediates trans-activation, cell specificity, and coactivator recruitment. *J Biol Chem* 2002; 277:33001-33011
- Xing G, Zhang L, Zhang L, Heynen T, Li XL, Smith MA, Weiss SR, Feldman AN, Detera-Wadleigh S, Chuang DM, Post RM. Rat nurr1 is prominently expressed in perirhinal cortex, and differentially induced in the hippocampal dentate gyrus by electroconvulsive vs. kindled seizures. *Brain Res Mol Brain Res* 1997;47:251-261
- Scarce LM, Laz TM, Hazel TG, Lau LF, Taub R. RNR-1, a nuclear receptor in the NGFI-B/Nur77 family that is rapidly induced in regenerating liver. *J Biol Chem* 1993;268:8855-8861
- Nakai A, Kartha S, Sakurai A, Toback FG, DeGroot LJ. A human early response gene homologous to murine nur77 and rat NGFI-B, and related to the nuclear receptor superfamily. *Mol Endocrinol* 1990;4:1438-1443
- Gruber F, Hufnagl P, Hofer-Warbinek R, Schmid JA, Breuss JM, Huber-Beckmann R, Lucerna M, Papac N, Harant H, Lindley I, de Martin R, Binder BR. Direct binding of Nur77/NAK-1 to the plasminogen activator inhibitor 1(PAI-1) promoter regulates TNF alpha-induced PAI-1 expression. *Blood* 2003;101:3042-3048
- Chai J, Tarnawski AS. Serum response factor: discovery, biochemistry, biological roles and implications for tissue injury healing. *J Physiol Pharmacol* 2002;53:147-157
- Kim SO, Ono K, Tobias PS, Han J. Orphan nuclear receptor Nur77 is involved in caspase-independent macrophage cell death. *J Exp Med* 2003;197:1441-1452
- Dequiedt F, Kasler H, Fischle W, Kiermer V, Weinstein M, Herndier BG, Verdin E. HDAC7, a thymus-specific class II histone deacetylase, regulates Nur77 transcription and TCR-mediated apoptosis. *Immunity* 2003;18:687-698
- Wu Q, Liu S, Ye XF, Huang ZW, Su WJ. Dual roles of Nur77 in selective regulation of apoptosis and cell cycle by TPA and ATRA in gastric cancer cells. *Carcinogenesis* 2002;23:1583-1592
- Kang HJ, Song MR, Lee SK, Shin EC, Choi YH, Kim SJ, Lee JW, Lee MO. Retinoic acid and its receptors repress the expression and transactivation functions of Nur77: a possible mechanism for the inhibition of apoptosis by retinoic acid. *Exp Cell Res* 2000;256:545-554
- Lee MO, Kang HJ, Cho H, Shin EC, Park JH, Kim SJ. Hepatitis B virus X protein induced expression of the Nur77 gene. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;288:1162-1168
- Lee JM, Lee KH, Weidner M, Osborne BA, Hayward SD. Epstein-Barr virus EBNA2 blocks Nur77-mediated apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:11878-11883
- Song KH, Lee K, Choi HS. Endocrine disrupter bisphenol A induces orphan nuclear receptor Nur77 gene expression and steroidogenesis in mouse testicular Leydig cells. *Endocrinology* 2002;143:2208-2215
- Slagsvold HH, Ostvold AC, Fallgren AB, Paulsen RE. Nuclear receptor and apoptosis initiator NGFI-B is a substrate for kinase ERK2. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;291:1146-1150
- Stocco CO, Lau LF, Gibori G. A calcium/calmodulin-dependent activation of ERK1/2 mediates JunD phosphorylation and induction of nur77 and 20alpha-hsd genes by prostaglandin F2alpha in ovarian cells. *J Biol Chem* 2002;277:3293-3302
- Masuyama N, Oishi K, Mori Y, Ueno T, Takahama Y, Gotoh Y. Akt inhibits the orphan nuclear receptor Nur77 and T-cell apoptosis. *J Biol Chem* 2001;276:32799-32805
- Pekarsky Y, Hallas C, Palamarchuk A, Koval A, Bullrich F, Hirata Y, Bichi R, Letofsky J, Croce CM. Akt phosphorylates and regulates the orphan nuclear receptor Nur77. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:3690-3694
- Stocco CO, Zhong L, Sugimoto Y, Ichikawa A, Lau LF, Gibori G. Prostaglandin F2alpha-induced expression of 20alpha-hydroxysteroid dehydrogenase involves the transcription factor NUR77. *J Biol Chem* 2000;275:37202-37211
- Ohkubo T, Sugawara Y, Sasaki K, Maruyama K, Ohkura N, Makuuchi M. Early induction of nerve growth factor-induced genes after liver resection-reperfusion injury. *J Hepatol* 2002; 36:210-217
- Katagiri Y, Takeda K, Yu ZX, Ferrans VJ, Ozato K, Guroff G. Modulation of retinoid signalling through NGF-induced nuclear export of NGFI-B. *Nat Cell Biol* 2000;2:435-440

乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对层粘连蛋白表达的调节

王建军, 成军, 刘妍, 杨倩, 纪冬, 王春花

王建军, 成军, 刘妍, 杨倩, 纪冬, 王春花, 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

国家自然科学基金项目, No. C39970674, 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, 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: 010-66933391 传真: 010-63801283

收稿日期: 2003-07-12 接受日期: 2003-08-16

王建军, 成军, 刘妍, 杨倩, 纪冬, 王春花. 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对层粘连蛋白表达的调节. 世界华人消化杂志 2004;12(2):406-408
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/406.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)和丙型肝炎病毒(HCV)感染是病毒性肝炎的主要病原体, 其感染后引起慢性化的频率较高, 也是慢性病毒性肝炎的主要病原体. 在我国, HBV或HCV的感染也是肝硬化和肝细胞癌(HCC)发病的主要原因. 层粘连蛋白(LN)是以组织特异性方式表达的细胞外基质(ECM)蛋白^[1], 通过与细胞表面与整合素受体蛋白的结合, LN可以促进细胞黏附, 对细胞存活、增生和分化发挥重要的调节作用^[2]. 在肝炎后肝纤维化、肝硬化、HCC患者中, LN水平可发生显著改变, 故常常在慢性肝炎后肝纤维化、肝硬化及肿瘤转移方面有重要的诊断意义.

1 层粘连蛋白在细胞内作用的分子生物学机制

1979年, Timpl et al^[3]从鼠Engkebreth-Holm-Swarm(EHS)肉瘤中分离出了一种非胶原成分-层黏连蛋白. 随后的研究表明, LN主要由基底膜中的上皮细胞和内皮细胞合成, 以不溶的形式广泛分布于正常组织的血管基底膜透明层中, 并与IV型胶原相结合构成基底膜的骨架成分. LN是组织特异性方式表达的ECM蛋白, 通过与细胞表面整合素的结合, LN可以促进细胞黏附, 对细胞存活、增生和分化发挥重要的影响作用. LN对细胞的影响作用可能与其与细胞内信号整合并参与其信号转导活性有关^[4-6]. 然而, 这种整合信号如何通过细胞膜最终影响基因表达的机制还不是很清楚. $\alpha 6\beta 4$ 整合素是各种LN亚型的受体^[7-9], 根据其配体结合特异性, $\alpha 6\beta 4$ 在体内富含与细胞间质LN相互作用的细胞特别是上皮细胞、内皮细胞和施旺(Schwann)细胞中表达. 近年的研究发现 $\alpha 6\beta 4$ 与细胞质的酪氨酸蛋白激酶相关, 并且通过一系列包含SH2-和SH3-的连接分子与ras信号转导途径相连^[10]. 故推测LN与细胞内信号转导机制相关.

2 层粘连蛋白的表达与慢性病毒性肝炎及肝炎后肝硬化 HCV和HBV感染后常进展为慢性病毒性肝炎, 其中HCV感染后慢性化的几率更高. 慢性肝病尤其是活动性病变, 由于致病因素的持续作用和机体免疫功能失调, 以致肝细胞持续受损, 纤维组织不断增生而导致肝硬化. 肝纤维化的主要病理特点是胶原蛋白及LN等多种ECM在肝内过度沉积. LN是肝脏ECM中的一种糖蛋白, 在肝脏受损时, 肝细胞合成LN增加, 并释放入血, 使血清LN水平增加, 因而LN可作为肝脏损害及肝纤维化的指标之一. 在HBV携带者及急性肝炎患者中, 血清LN及胶原IV水平与正常人比较差异无显著性, 是因为此类患者无明显肝脏病理损害或损伤只局限于小叶内, 无纤维修复过程参与. 而慢性肝炎患者血

清LN及IV型胶原水平明显升高, 血清IV-C, LN浓度的增加表示肝纤维化形成处于活动状态, 提示肝纤维化有进行性的发展^[11], 尤以慢性中度、重度及肝硬化患者更为显著. 在慢性肝病患者的修复过程中, 位于狄氏(Disse)间隙的肝星形细胞被激活, 狄氏腔内的ECM改变, 层粘连蛋白及IV型胶原大量合成, 细胞相互紧密连接, 形成真正的基底膜, 导致肝纤维化^[12]. 所以慢性肝炎及肝硬化患者LN及胶原IV合成增加, 导致其降解入血增多, 从而表现为血清LN及IV型胶原高水平. 研究还表明, LN与 γ -球蛋白及A/G比值有明显相关性, 即 γ -球蛋白增高时LN也增高, 而A/G比值降低时, LN却增高, 表明LN与肝功能部分指标有相关性. 肝病患者的血清LN含量变化是一项较客观的肝纤维化指标, 对各型肝病均具有较好的检测价值, 特别是对慢性肝病的诊断优于透明脂酸(HA)、P III P等其他生化指标. 对于HCV感染患者, 其诊断意义较HBV感染更大^[13].

3 层粘连蛋白的表达与病毒性肝炎相关性肝细胞癌 HBV或HCV的感染也常常是肝细胞癌发病的诱因之一. 有证据表明HBx蛋白和HCV非结构蛋白5A(NS5A)和核心蛋白等参与病毒感染后肿瘤的形成. Tarn et al^[14]的结果证实HBxAg引起的肝细胞的恶性转化过程与RAS-RAF-MAPK和JNK信号转导途径有关. 在HepG2细胞中, 核心蛋白激活人c-myc基因、RSV LTR和SV40早期启动子^[15]; 核心蛋白还能抑制或增强p53基因启动子功能^[16], 这些证据表明核心蛋白具有潜在的致癌作用. Ghosh et al^[17]研究发现, NS5A蛋白能够抑制细胞周期调节基因p21^{WAF1}, 激活人肝癌细胞中增生的细胞核抗原基因(PCNA), 从而调节细胞凋亡, 促进细胞增生. NS5A cDNA能够使转染的小鼠成纤维细胞NIH 3T3具有转化特性, 且转化细胞移植入裸鼠体内可形成纤维肉瘤灶, 这一证据直接证明了HCV NS5A蛋白的恶性转化潜能.

LN主要由基底膜中的上皮细胞和内皮细胞合成, 以不溶的形式广泛分布于正常组织的血管基底膜透明层中, 并与IV型胶原相结合构成基底膜的骨架成分. 所以, 人们很容易将其与肿瘤的侵袭和转移联系起来. 早先的研究表明, 癌组织基底膜中LN减少及排列紊乱是肿瘤转移的基础^[18]. 对HCC癌组织中LN形态测量的研究表明, HCC转移组织中LN表达较未转移组少, 二者具有显著性差异, 提示LN减少导致基底膜不完整, 使肿瘤细胞侵袭转移过程中的屏障削弱, 确实为肿瘤转移提供了可能性. 肿瘤组织中的这种变化主要是由于IV型胶原酶的合成增加, 导致IV型胶原水解, 组织中LN随着基底膜的崩解而减少. 但是, 这种变化并不意味着组织中LN的合成减少. 部分癌细胞胞质中存在LN染色, 由于此时无肝窦结构, 所以LN系由肿瘤细胞合成^[19]. 癌细胞的这种合成LN的能力可能在侵袭和转移过程中

具有意义. Fridman et al^[20]将 LN 与瘤细胞一起培养时发现肿瘤细胞表现出明显的过度增生现象. 小鼠纤维肉瘤细胞表面 LN 的表达使其转移潜能大大增加. Bonkhoff et al^[21]的研究发现前列腺癌转移的组织, 如淋巴结、骨、肺和肝组织中 LN 呈强阳性表达. 所以, LN 在肿瘤转移过程中可能具有双重作用: 当 LN 与 IV 型胶原构成基底膜时, 他可作为屏障阻止肿瘤细胞的转移, 而在肿瘤细胞穿越基底膜后则可介导其运动, 促进转移的形成. 另外, HCC 组织特别是有转移的组织中 LN 可排列成窦状结构, 此系肿瘤组织中新生毛细血管网络的基底膜成分. 组织中的 LN 除能够参与构成基底膜外, 还能对内皮细胞有趋化作用, 并促进其分化^[22]. 他还能刺激细胞分泌血管生长因子促进肿瘤血管的生成^[23], 这些作用均能促进肿瘤细胞发生转移. 由于 LN 在肿瘤转移中的重要作用, 人们试图寻求将其作为肿瘤转移的标志物. 基质的降解以及肿瘤细胞合成 LN 均可导致机体 LN 水平增高, 所以检测血清 LN 的含量有助于了解机体的 LN 水平. 有人通过对骨及软组织肿瘤患者血清 LN 水平研究发现, 血清 LN 含量升高与肿瘤的转移密切相关, 特别是部分患者的组织中在镜下还不能找到转移灶时, 其血清 LN 已有升高^[24], 所以认为血清 LN 是早期诊断肿瘤转移的指标之一.

总之, LN 作为一种 ECM, 是肝脏 ECM 中的一种糖蛋白, 在肝脏受损时, 血清 LN 水平增加, 可作为肝脏损害及肝纤维化的指标之一, 对于早期诊断肿瘤转移也有一定的意义.

4 参考文献

- Engvall E. Laminin variants: why, where and when? *Kidney Int* 1993;43:2-6
- Mercurio AM, Bachelder RE, Chung J, O' Connor KL, Rabinovitz I, Shaw LM, Tani T. Integrin laminin receptors and breast carcinoma progression. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2001; 6:299-309
- Timpl R, Rohde H, Robey PG, Rennard SI, Foidart JM, Martin GR. Laminin-a glycoprotein from basement membranes. *J Biol Chem* 1979;254:9933-9937
- Clark EA, Brugge JS. Integrins and signal transduction pathways: the road taken. *Science* 1995;268:233-239
- Giancotti FG, Stepp MA, Suzuki S, Engvall E, Ruoslahti E. Proteolytic processing of endogenous and recombinant beta 4 integrin subunit. *J Cell Biol* 1992;118:951-959
- Schwartz MA, Ginsberg MH. Networks and crosstalk: integrin signalling spreads. *Nat Cell Biol* 2002;4:E65-E68
- Lee EC, Lotz MM, Steele GD Jr, Mercurio AM. The integrin alpha 6 beta 4 is a laminin receptor. *J Cell Biol* 1992;117:671-678
- Niessen CM, Hogervorst F, Jaspars LH, de Melker AA, Delwel GO, Hulsman EH, Kuikman I, Sonnenberg A. The alpha 6 beta 4 integrin is a receptor for both laminin and kalinin. *Exp Cell Res* 1994;211:360-367
- Spinardi L, Einheber S, Cullen T, Milner TA, Giancotti FG. A recombinant tail-less integrin beta 4 subunit disrupts hemidesmosomes, but does not suppress alpha 6 beta 4 mediated cell adhesion to laminins. *J Cell Biol* 1995;129:473-487
- Mainiero F, Pepe A, Wary KK, Spinardi L, Mohammadi M, Schlessinger J, Giancotti FG. Signal transduction by the alpha 6 beta 4 integrin: distinct beta 4 subunit sites mediate recruitment of Shc/Grb2 and association with the cytoskeleton of hemidesmosomes. *EMBO J* 1995;14:4470-4481
- Yokoya Y, Iwata K, Muragaki Y, Shiota C, Morimoto Y, Inoue

- M, Itoh H, Nishioka S, Ooshima A. Concentration of serum laminin and type IV collagen in liver diseases assayed by a sandwich enzyme-immunoassay using monoclonal antibodies. *Clin Chim Acta* 1992;210:109-118
- Pinzani M, Marra F. Cytokine receptors and signaling in hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis* 2001;21:397-416
- Kozłowska J, Loch T, Jabłonska J, Cianciara J. Biochemical markers of fibrosis in chronic hepatitis and liver cirrhosis of viral origin. *Przeegl Epidemiol* 2001;55:451-458
- Tarn C, Zou L, Hullinger RL, Andrisani OM. Hepatitis B virus X protein activates the p38 mitogen-activated protein kinase pathway in dedifferentiated hepatocytes. *J Virol* 2002;76:9763-9772
- Chang J, Yang SH, Cho YG, Hwang SB, Hahn YS, Sung YC. Hepatitis C virus core from two different genotypes has an oncogenic potential but is not sufficient for transforming primary rat embryo fibroblasts in cooperation with the H-ras oncogene. *J Virol* 1998;72:3060-3065
- Ray RB, Steele R, Meyer K, Ray R. Transcriptional repression of p53 promoter by hepatitis C virus core protein. *J Biol Chem* 1997;272:10983-10986
- Ghosh AK, Steele R, Meyer K, Ray R, Ray RB. Hepatitis C virus NS5A protein modulates cell cycle regulatory genes and promotes cell growth. *J Gen Virol* 1999;80(Pt 5):1179-1183
- Liotta LA. Tumor invasion and metastases-role of the extracellular matrix: Rhoads Memorial Award lecture. *Cancer Res* 1986;46:1-7
- Grigioni WF, Garbisa S, D'Errico A, Baccarini P, Stetler-Stevenson WG, Liotta LA, Mancini AM. Evaluation of hepatocellular carcinoma aggressiveness by a panel of extracellular matrix antigens. *Am J Pathol* 1991;138:647-654
- Fridman R, Kibbey MC, Royce LS, Zain M, Sweeney M, Jicha DL, Yannelli JR, Martin GR, Kleinman HK. Enhanced tumor growth of both primary and established human and murine tumor cells in athymic mice after coinjection with Matrigel. *J Natl Cancer Inst* 1991;83:769-774
- Bonkhoff H, Wernert N, Dhom G, Remberger K. Distribution of basement membranes in primary and metastatic carcinomas of the prostate. *Hum Pathol* 1992;23:934-939
- Kramer RH, Cheng YF, Clyman R. Human microvascular endothelial cells use beta 1 and beta 3 integrin receptor complexes to attach to laminin. *J Cell Biol* 1990;111:1233-1243
- Bonfil RD, Vinyals A, Bustuabad OD, Llorens A, Benavides FJ, Gonzalez-Garrigues M, Fabra A. Stimulation of angiogenesis as an explanation of Matrigel-enhanced tumorigenicity. *Int J Cancer* 1994;58:233-239
- Yudoh K, Matsui H, Kanamori M, Ohmori K, Tsuji H, Tatezaki S. Serum levels of laminin, type IV collagen and type III procollagen peptide as markers for detection of metastasis. *Jpn J Cancer Res* 1994;85:1263-1269

转录因子 C/EBP β 的生物学功能

成军

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
 国家自然科学基金项目, No. C39970674, 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, 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: 010-66933391 传真: 010-63801283
 收稿日期: 2003-07-12 接受日期: 2003-08-16