

文章编号:1005-6947(2008)03-0277-03

· 文献综述 ·

# HBx 在肝细胞癌发生发展中的作用机制

杨建青<sup>1</sup>综述 吕新生<sup>2</sup>审校

(1. 广西柳州市人民医院 肝胆外科, 广西 柳州 545001; 2. 中南大学湘雅医院 普通外科, 湖南 长沙 410013)

**摘要:**乙型肝炎病毒感染是原发性肝细胞癌的重要诱因,然而其具体致癌机制仍不清楚。近年来研究显示,乙型肝炎病毒 X 蛋白具有反式激活癌基因、调节细胞信号通路、抑制细胞凋亡、促进细胞增殖和保肝癌细胞侵袭转移等多种功能,在肝细胞癌发生、发展过程中发挥着重要作用。笔者就乙型肝炎病毒 X 蛋白的致癌机制研究进展进行综述。 [中国普通外科杂志,2008,17(3):277-279]

**关键词:** 肝炎,乙型;癌,肝细胞;病毒;X 蛋白;肿瘤转移

**中图分类号:** R 735.7

**文献标识码:** A

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)相关率高达 80%。HBV 感染者发生 HCC 的危险性是无感染者的数 10 倍<sup>[1]</sup>。HBV 是 HCC 的重要诱因这一结论已被广泛接受,但其具体机制尚不明确。近年来,随着对乙型肝炎病毒 X 蛋白(HBx)生物学功能的深入研究,发现 HBx 在 HCC 发生发展过程中发挥了重要作用。本文就 HBx 在诱导 HCC 发生发展中所起的作用综述如下。

## 1 HBx 的反式激活与信号转导功能

HBx 具有广泛的非特异性反式激活作用和转录激活功能。在细胞核内,HBx 虽然不具备直接结合双链 DNA 的能力,但可通过蛋白间相互作用,直接或间接作用于基因启动子或增强子而发挥反式激活作用。如 HBx 可通过与 AMP 反应元件结合蛋白/活化转录因子(CREB/ATF)<sup>[2]</sup>、

RNA 聚合酶 RPB5<sup>[3]</sup>、TATA 结合蛋白<sup>[4]</sup>、切除修复交叉互补基因 ERCC<sup>[5]</sup>等多种转录因子和转录基本元件相互作用,调节其与 DNA 结合和转录激活的能力。在胞浆中,HBx 信号转导途径具有广泛的调控能力。目前发现的主要有如下几条通路:(1)蛋白激酶 B(PKB/Akt)信号途径。Akt 是胞内信号转导通路网络的中心分子,广泛参与了细胞代谢、增殖、凋亡、运动侵袭等多种细胞生命活动。HBx 能促进多种生长因子,如 IL-6、IGF-II 和生长因子受体 ICF-IR,EGFR 等的表达,刺激细胞膜募集磷脂酰肌醇-3 激酶(PI-3K)调节亚基 p85 和催化亚基 p110,促使其形成 p85-p110 复合物,进一步激活 PKB/Akt 信号途径<sup>[6]</sup>。(2)酪氨酸蛋白激酶(Janus Kinase, JAK)/信号转导子和转录活化子(signal transducers and activators of transcription, STAT)信号途径。JAK/STAT 信号途径是调节细胞增殖、分化、凋亡、炎症反应以及免疫调节最重要的信号途径之一。HBx 能够特异地上调 Jak1 活性,激活 Jak1-STAT 级联信号途径。而活化的 Jak1 和 STAT 又能作用于 PI-3K p85 亚基进一步激活 PKB/Akt 信号通路<sup>[7]</sup>。(3)c-Jun 氨基端激酶(JNK)信号途径。JNK 信号途径是细胞凋亡的主要信号转导途径,JNK 高水平的表达预示着肝细胞的增生

和再生。研究发现,HBx 蛋白不但可以促进 JNK 表达显著上调,还可以激活 JNK 导致 c-Jun 氨基端磷酸化,促使激活蛋白-1(AP-1)DNA 过度结合和过度活化,并进一步影响细胞内调控细胞运动、分化、分裂基因的转录水平<sup>[8]</sup>。(4)NF-κB 信号途径。NF-κB 是重要的真核细胞转录因子,与肿瘤的发生发展、侵袭转移、凋亡控制密切相关。HBx 能结合并活化所有类型的 NF-κB,包括那些含有 RelA(p65),c-Rel,p52,p50 和 p105 的类型。同时,HBx 还能促进 κBa(IκB)和 p105 抑制因子的降解,进一步促进 NF-κB 的活化<sup>[9]</sup>。此外,HBx 还能刺激受体酪氨酸激酶(RTK)激活 Ras/Raf/MAPK 信号通路<sup>[10]</sup>,稳定 β-链蛋白活化 Wnt/β-catenin 信号通路<sup>[11]</sup>。由此可见,HBx 对细胞关键信号的通路均具有广泛的激活作用,这些信号通路相互作用,形成了一个巨大的激活网络,广泛参与了肿瘤细胞代谢、增殖、凋亡、侵袭转移等细胞生命活动的调节。通过对这些信号途径的调节,HBx 实现了其对肝细胞发生发展过程中广泛而强有力的调控作用。

## 2 HBX 对细胞凋亡和增殖的影响

### 2.1 HBx 抑制 p53 的功能

p53 基因具有监督细胞基因组稳

收稿日期:2007-11-26;

修订日期:2008-01-24。

作者简介:杨建青,男,广西柳州市人民医院副主任医师,主要从事肝胆外科临床与基础方面的研究。

通讯作者:杨建青 E-mail: hawk1218@sina.com

定性、调节 DNA 损伤反应、促进细胞老化等多种功能,是维持机体和细胞稳定最重要的基因。1993 年,Feitelson 等<sup>[12]</sup>首先应用免疫共沉淀的方法,发现 HBx 抗原与 p53 蛋白能够相互结合,认为两者的结合可能是导致 p53 的抑癌功能不能正常发挥的重要原因。Lin 等<sup>[13]</sup>进一步发现,p53 具有 2 个独立的 HBx 结合点,分别定位于 p53 蛋白特异性 DNA 结合区及寡聚区。p53 与 HBx 蛋白的相互结合,能使 p53 的胞核定位改变为胞浆定位,导致 p53 蛋白在胞浆滞留及功能丧失,从而极大地促进了 HCC 的发生发展<sup>[14]</sup>。

## 2.2 HBx 与凋亡调节

程序性细胞凋亡是机体消除多余的、受损害的和病毒感染细胞所必须的。HBx 能够通过多种途径调节细胞的凋亡及增殖。(1) 激活端粒酶。端粒在真核细胞中位于染色体的两端,并且随着细胞周期的进展逐渐缩短。端粒的缩短导致细胞衰老和凋亡。端粒酶激活是促进肿瘤细胞增殖的关键步骤。研究显示,HBx 与端粒酶 hTERT 在肝癌组织中高表达,且在肝硬化组织亦明显高于正常组织。可见端粒酶活性的增强可能是 HBX 基因促使肝细胞癌变及癌变细胞永生化的重要原因<sup>[15]</sup>。(2) 调节 caspase3 活性。caspase3 是细胞凋亡过程中的关键效应因子。Gottlob 等<sup>[16]</sup>通过用含 HBx 基因的质粒微注射转染肝癌细胞时发现,HBx 与 caspase-3 虽然不能发生直接的相互作用,但是可以与 caspase-3 的底物发生竞争性结合,起到阻断 caspase-3 所参与的凋亡过程,而抑制细胞凋亡。(3) 促进 survivin 基因表达。survivin 是目前发现最强的凋亡抑制因子。HBx 能够上调肝癌组织中 survivin 的表达<sup>[17]</sup>,抑制阿霉素诱导的细胞凋亡<sup>[18]</sup>。其中 survivin 能够与 HBx 结合蛋白(HBxIP)形成复合物,并与 pro-caspase-9 相结合,阻止它被凋亡酶激活因子 Apaf-1 聚集,抑制线粒体/细胞色素 C 途径所诱导的凋亡途径<sup>[19]</sup>。而单独 survivin 或 HBxIP 均不能单独诱发这一效应。此外,HBx 尚可通过激活 PKB/Akt 信号通路,磷酸

化 Bad,促使凋亡相关蛋白 Bcl-2 和 Bcl-XL 的活性消失<sup>[20]</sup>;上调 JNK 信号通路<sup>[21]</sup>、激活早期生长反应基因 Egr 而阻止 Fas 介导的凋亡效应<sup>[22]</sup>;以及通过甲基化沉默 p16 (INK4A) 启动子,抑制细胞衰老关键信号通路 p16 (INK4A) /Rb<sup>[23]</sup>。这些效应的产生,充分说明 HBx 作为一个凋亡抑制因子,其作用贯穿于凋亡过程的始终,作用机制复杂而功能强大,这可能是肝癌细胞具有强大抗凋亡能力的重要原因。

## 2.3 HBx 对细胞周期调节的影响

HBx 可以缩短细胞从 G<sub>0</sub> 进入 S 期的时间,加速细胞通过 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 和 G<sub>2</sub>/M 控制关键点。与血清刺激相比,HBx 对细胞周期依赖激酶 CDK2 和 CDC2 具有更强的激活能力,而后的活性与细胞周期素 E、A 和 B 的活性密切相关。进一步的研究表明,HBx 与血清都需要激活 Ras 来刺激细胞周期,但只有 HBx 可以缩短关键点之间的间隔。因此,HBx 可以通过激活 Ras 和另外一个与诱导 c-Jun 表达有关的,或与 p53 相互作用的未知因子来对细胞周期进行调节<sup>[24]</sup>。

## 3 HBx 促进细胞侵袭转移

HBx 能通过多种机制促进肝癌细胞的侵袭转移:(1) 抑制细胞整合素亚基的表达<sup>[25]</sup>,改变细胞与细胞外基质(ECM)之间的黏附机制。(2) 诱导基质金属蛋白酶 MMP-3<sup>[26]</sup>, MMP-9<sup>[27]</sup>, MT1-MMP<sup>[28]</sup> 的表达,促进细胞外基质的降解。(3) 促进血管生成因子 HIF-<sup>[29]</sup>, VEGF<sup>[30]</sup>, COX-2<sup>[28]</sup> 的表达,诱导肿瘤血管生成。(4) 上调细胞运动关键蛋白 RhoC (Ras-related GTPase C)<sup>[31]</sup> 的表达,促使 1 亚基聚集于细胞伪足顶端<sup>[25]</sup>,促进肝癌细胞侵袭运动。而细胞与 ECM 间黏附机制的改变、ECM 的降解、肿瘤血管生成和细胞侵袭运动均是肿瘤转移的关键步骤。通过对上述步骤的调控,HBx 实现了肝癌细胞的间皮-内充质细胞转化,大大增强了肝癌的侵袭转移能力,直接导致肝癌患者的不良预后。

## 4 展望

作为一个多功能的病毒蛋白,

HBx 的作用贯穿于 HBV 感染相关性肝癌的发生发展过程的始终。虽然其具体作用机制和功能至今仍未有明确的结论,但随着对其生物学功能的进一步研究和阐述,必将为 HBV 感染相关性肝癌的防治提供重要的理论依据和线索,并为肝癌的防治指明方向。

## 参考文献:

- [1] Cromlish JA. Hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma: possible roles for HBx [J]. Trends microbiol, 1996, 4 (7): 270 - 274.
- [2] Cougot D, Wu Y, Cairo S, et al. The hepatitis B virus X protein functionally interacts with CREB-binding protein/p300 in the regulation of CREB-mediated transcription [J]. J Biol Chem, 2007, 282 (7): 4277 - 4287.
- [3] Le TT, Zhang S, Hayashi N, et al. Mutational analysis of human RNA polymerase II subunit 5 (RPB5): the residues critical for interactions with TFIIF subunit RAP30 and hepatitis B virus X protein [J]. J Biochem, 2005, 138 (3): 215 - 224.
- [4] Jaitovich-Groisman I, Benlimame N, Slagle BL, et al. Transcriptional regulation of the TFIIF transcription repair components XPB and XPD by the hepatitis B virus X protein in liver cells and transgenic liver tissue [J]. J Biol Chem, 2001, 276 (17): 14124 - 1432.
- [5] Jia L, Wang XW, Harris CC. Hepatitis B virus X protein inhibits nucleotide excision repair [J]. Int J Cancer, 1999, 80 (6): 875 - 879.
- [6] Shih WL, Kuo ML, Chuang SE, et al. Hepatitis B virus X protein inhibits transforming growth factor-beta-induced apoptosis through the activation of phosphatidylinositol 3-kinase pathway [J]. J Biol Chem, 2000, 275 (33): 25858 - 25864.
- [7] Waris G, Huh KW, Siddiqui A. Mitochondrially associated hepatitis B virus X protein constitutively activates transcription factors STAT-3

- and NF-kappa B via oxidative stress [J]. *Mol Cell Biol*, 2001, 21 (22):7721-7730.
- [8] Benn J, Su F, Doria M, *et al.* Hepatitis B virus HBx protein induces transcription factor AP-1 by activation of extracellular signal-regulated and c-Jun N terminal mitogen-activated protein kinases [J]. *J Virol*, 1996, 70 (8):4978-4985.
- [9] Su F, Schneider RJ. Hepatitis B virus HBx protein activates transcription factor NF-kappaB by acting on multiple cytoplasmic inhibitors of rel-related proteins [J]. *J Virol*, 1996, 70(7):4558-4566.
- [10] Yun C, Cho H, Kim SJ, *et al.* Mitotic aberration coupled with centrosome amplification is induced by hepatitis B virus X oncoprotein via the Ras-mitogen-activated protein/extracellular signal-regulated kinase-mitogen-activated protein pathway [J]. *Mol Cancer Res*, 2004, 2 (3):159-169.
- [11] Cha MY, Kim CM, Park YM, *et al.* Hepatitis B virus X protein is essential for the activation of Wnt/beta-catenin signaling in hepatoma cells [J]. *Hepatology*, 2004, 39 (6):1683-1693.
- [12] Feitelson MA, Zhu MH, Duan LX, *et al.* Hepatitis B X-antigen and p53 are associated in vitro and in liver tissues from patients with primary hepatocellular carcinoma [J]. *Oncogene*, 1993, 8 (5):1109-1117.
- [13] Lin Y, Nomura T, Yamashita T, *et al.* The transactivation and p53-interacting functions of hepatitis B virus X protein are mutually interfering but distinct [J]. *Can Res*, 1997, 57(22):5137-5142.
- [14] Wang XW, Hussain SP, Huo TI, *et al.* Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma [J]. *Toxicology*, 2002, 181-182:43-47.
- [15] Zhang X, Dong N, Zhang H, *et al.* Effects of hepatitis B virus X protein on human telomerase reverse transcriptase expression and activity in hepatoma cells [J]. *J Lab Clin Med*, 2005, 145 (2):98-104.
- [16] Gottlob K, Fulco M, Levrero M, *et al.* The hepatitis B virus HBx protein inhibits caspase 3 activity [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273 (50):33347-33353.
- [17] Zhang X, Dong N, Yin L, *et al.* Hepatitis B virus X protein upregulates survivin expression in hepatoma tissues [J]. *J Med Virol*, 2005, 77(3):374-381.
- [18] Li D, Chen X, Zhang W. The inhibition of apoptosis of hepatoma cells induced by HBx is mediated by up-regulation of survivin expression [J]. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci.*, 2003, 23 (4):383-386.
- [19] Marusawa H, Matsuzawa S, Welsh K, *et al.* HBXIP functions as a cofactor of survivin in apoptosis suppression [J]. *EMBO J*, 2003, 22 (11):2729-2740.
- [20] Lee YI, Kang-Park S, Do SI, *et al.* The hepatitis B virus-X protein activates a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent survival signaling cascade [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276 (20):16969-16977.
- [21] Diao J, Khine AA, Sarangi F, *et al.* X protein of hepatitis B virus inhibits Fas-mediated apoptosis and is associated with up-regulation of the SAPK/JNK pathway [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276 (11):8328-8340.
- [22] Yoo YG, Lee MO. Hepatitis B virus X protein induces expression of Fas ligand gene through enhancing transcriptional activity of early growth response factor [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279 (35):36242-36249.
- [23] Zhu R, Li BZ, Li H, *et al.* Association of p16INK4A hypermethylation with hepatitis B virus X protein expression in the early stage of HBV-associated hepatocarcinogenesis [J]. *Pathol Int*, 2007, 57 (6):328-336.
- [24] Benn J, Scheider RJ. Hepatitis B virus HBx protein deregulates cell cycle checkpoint controls [J]. *Proc Natl Acad USA*, 1995, 92 (24):11215-11219.
- [25] Enrique LP, Pedro LM, Maria YM, *et al.* Effect of the hepatitis B virus HBx protein on integrin-mediated adhesion to and migration on extracellular matrix [J]. *J Hepatol*, 2001, 34 (3):409-415.
- [26] Yu FL, Liu HJ, Lee JW, *et al.* Hepatitis B virus X protein promotes cell migration by inducing matrix metalloproteinase-3 [J]. *J Hepatol*, 2005, 42(4):520-527.
- [27] Chung TW, Lee YC, Kim CH. Hepatitis B viral HBx induces matrix metalloproteinase-9 gene expression through activation of ERK and PI-3K/AKT pathways: involvement of invasive potential [J]. *FASEB J*, 2004, 18(10):1123-1125.
- [28] Enrique LP, Maria VGG, Beatriz G, *et al.* The hepatitis B virus X protein promotes tumor cell invasion by inducing membrane-type matrix metalloproteinase-1 and cyclooxygenase-2 expression [J]. *J Clin Invest*, 2002, 110 (12):1831-1838.
- [29] Yoo YG, Oh SH, Park ES, *et al.* Hepatitis B virus X protein enhances transcriptional activity of hypoxia-inducible factor-1alpha through activation of mitogen-activated protein kinase pathway [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278 (40):39076-39084.
- [30] Lee SW, Lee YM, Bae SK, *et al.* Human hepatitis B virus X protein is a possible mediator of hypoxia-induced angiogenesis in hepatocarcinogenesis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 268 (2):456-461.
- [31] 郑岩松, 吕新生, 曾永毅, 等. 乙型肝炎病毒 X 基因对肝癌细胞表达 RhoC 的影响 [J]. *中国普通外科杂志*, 2006, 15 (12):923-926.