

- heal the heart? [J]. Circulation, 2008, 117(25): 3165-3167.
- [30] Rossini A, Zacheo A, Mocini D, et al. HMGB1-stimulated human primary cardiac fibroblasts exert a paracrine action on human and murine cardiac stem cells [J]. Mol Cell Cardiol, 2008, 44(4): 683-693.
- [31] Xu H, Su Z, Wu J, et al. The alarmin cytokine, high mobility group box 1, is produced by viable cardiomyocytes and mediates the lipopolysaccharide-induced myocardial dysfunction via a TLR4/phosphatidylinositol 3-kinase gamma pathway [J]. J Immunol, 2010, 184(3): 1492-1498.
- [32] Abeyama K, Stern DM, Ito Y, et al. The N-terminal domain of thrombomodulin sequesters high-mobility group-B1 protein, a no-

vel antiinflammatory mechanism [J]. J Clin Invest, 2005, 115(5): 1267-1274.

- [33] Kim JB, Sig Choi J, Yu YM, et al. HMGB1, a novel cytokine-like mediator linking acute neuronal death and delayed neuroinflammation in the postischemic brain [J]. J Neurosci, 2006, 26(24): 6413-6421.

- [34] 王晓武, 张卫达, 罗林, 等. 大鼠心肌梗死后心肌高迁移率族蛋白 HMGB1 的时程变化 [J]. 南方医科大学学报, 2008, 28(9): 1688-1690.

(收稿日期:2011-07-09)

## · 综述 ·

# 乙型肝炎病毒抵抗 $\alpha$ -干扰素治疗研究进展<sup>\*</sup>

程中乐 综述, 管世鹤<sup>△</sup> 审校

(安徽医科大学第一附属医院检验科, 合肥 230032)

**关键词:** 肝炎病毒, 乙型; 干扰素类; 抵抗

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.21.022

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2011)21-2479-03

乙型肝炎是当今全球最严重的传染病之一, 中国是乙型肝炎病毒(HBV)感染的高发地区, 乙肝表面抗原(HBsAg)携带者约有 1.2 亿, 有效预防和治疗 HBV 感染是中国公共健康的一个重要目标。 $\alpha$ -干扰素(IFN- $\alpha$ )是目前临床治疗慢性乙型肝炎最常用的药物之一。IFN- $\alpha$  可以抑制 HBV 复制, 促使 HBeAg 转阴及出现血清转换, 降低丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT), 甚至降低患肝癌的风险。但临幊上使用 IFN- $\alpha$  治疗乙型肝炎的整体疗效不甚理想, 持续有效的治疗效果只出现在约 1/3 的乙型肝炎患者中<sup>[1]</sup>。本文对近年来有关乙型肝炎病毒抵抗 IFN- $\alpha$  最新研究进展综述如下。

## 1 IFN- $\alpha$ 抗 HBV 的机制

目前,公认的 IFN- $\alpha$  治疗 HBV 的机制是通过其直接抗病毒作用和免疫调节效应。

**1.1 IFN- $\alpha$  的直接抗病毒作用** IFN- $\alpha$  与其受体结合至少激活 3 条信号通路: JAK-STAT 通路、MAPK 通路及 Irs-PI3K-PKB 通路。有研究者发现, 其中 JAK-STAT 信号转导途径可能在 IFN- $\alpha$  抗 HBV 中起重要作用。IFN- $\alpha$  与其受体 IFNAR-1 和 IFNAR-2 结合后引起与受体相连的酪氨酸酶磷酸化激活 Jak1 和 Tyk2 并进一步致使 stat1 和 stat2 磷酸化。磷酸化的 stat1 和 stat2 与 DNA 结合蛋白 IRF-9 形成干扰素刺激基因因子 3(IFN-stimulated gene factor3, ISGF3), ISGF3 复合体转移入细胞核, 在核内与 IFN 刺激性反应元件(IFN-stimulated response element, ISRE)结合, 从而启动转录过程, 促进抗病毒蛋白的表达。常见的 IFN- $\alpha$  诱导的抗病毒蛋白有双链 RNA 依赖的蛋白激酶 R(RNA-dependent protein kinase, PKR)、粘病毒抵抗蛋白 A GTP 酶(protein Mx GTPase A, MxA)和寡腺苷酸合成酶(ligoadenylates synthetase, OAS)等<sup>[2]</sup>。最新不断有研究显示, IFN- $\alpha$  可以诱导更多不同的抗 HBV 蛋白。HBV 或其抗原成分并不影响 IFN- $\alpha$  的 JAK-STAT 信号转导途径分子

mRNA 表达, 但影响抗病毒蛋白如 MxA mRNA 的表达<sup>[3]</sup>。Tanaka 等<sup>[4]</sup> 报道在 HepG2 细胞中, IFN- $\alpha$  通过激活载脂蛋白 B mRNA 编辑催化多肽样蛋白 3G(apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide-like 3G, APOBEC3G)上游的 IFN- $\alpha$  调节基因元件, 诱导 APOBEC3G 表达上调, 而 APOBEC3G 具有抗 HBV 的生理功能<sup>[5]</sup>。国内有学者发现, IFN- $\alpha$  可诱导表达髓系分化蛋白 88(myeloid differentiation factor 88, MyD88), 持续表达 MyD88 蛋白的 HepG2 细胞转染 HBV 后, HBV DNA 的复制受到明显的抑制。

**1.2 INF- $\alpha$  的免疫调节效应** IFN- $\alpha$  能诱导靶细胞表达人类白细胞抗原 I、II 类分子及增强 CTL、APC 和 NK 细胞的活性。王瑜和王健<sup>[6]</sup> 使用 IFN- $\alpha$  对慢性乙型肝炎患者的外周单核细胞进行处理, 结果发现 IFN- $\alpha$  可以诱导慢性乙型肝炎患者表达 CD25, 促进 T 细胞活化发挥抗病毒作用。陈瑞海等<sup>[7]</sup> 使用 IFN- $\alpha$  治疗慢性乙型肝炎患者后, 发现患者的外周血来源 DC 表面 CD40 和 CD86 明显升高, 进而有效地启动 HBV 特异性 CTL 的应答, 有利于机体清除乙型肝炎病毒。

## 2 HBV 抗 INF- $\alpha$ 的机制

HBV 在体内是一个慢性感染的过程, 这个过程中 HBV 是如何抵抗 IFN- $\alpha$  抗病毒作用, 近年来国内外许多学者对此进行了相关方面的研究且已获得一定的进展。

**2.1 HBV 编码的蛋白对 INF- $\alpha$  作用的影响** HBC 蛋白是由 HBV 基因组的 C 开放读码框编码, 存在于 Dane 颗粒的核心, 是 HBV 重要的结构蛋白。HBC 蛋白可以在被 HBV 感染的肝细胞核中检测到, 但主要在细胞核中堆积。Gordien 等<sup>[8]</sup> 通过体外实验表明, MxA 蛋白具有的抗 HBV 作用, 并发现其机制至少部分上是通过作用于 HBV 转录后的调节序列(posttranscriptional regulatory element, PRE)而抑制病毒 mRNA 由细胞核向胞浆转运。Guan 等<sup>[9]</sup> 研究发现 MxA 等一些抗病毒蛋

\* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 30600522); 安徽省教育厅自然科学基金资助项目(No. 2006KJ308B)。 △ 通讯作者, E-mail: shiheguan@126.com。

自可以在 IFN- $\alpha$  诱导的 HepG2 细胞中表达,但在 HepG 2.2.15 细胞中不表达;使用拉米夫定(Lamivudine, 3TC)预处理 HepG2.2.15,可以部分恢复 IFN- $\alpha$  诱导的抗病毒蛋白表达;提示 HBV 可能通过病毒自身蛋白以及完整病毒子复制等机制干扰 IFN- $\alpha$  信号转导并抑制某些重要抗病毒蛋白表达。Olivier 等<sup>[10]</sup>通过使用缺陷的 HBV 基因组转染 Huh7 细胞,发现了缺陷的 HBV 基因组转染的细胞中 HBc 蛋白堆积和 MxA 蛋白表达下降,而且明显降低了 IFN 的抗病毒活性。Fernandez 等<sup>[11]</sup>研究发现 HBV 通过 HBe/HBc 蛋白与 MxA 启动子区的结合下调了 MxA 的表达。MyD88 蛋白是 Toll 样受体介导的信号通路中的关键分子,它参与构成的信号级联可以最终引起核因子 kappa B(nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)依赖性信号通路的活化。有学者通过使用 cDNA microarrays 来检测同时经过 IFN- $\alpha$  处理的 HepG2.2.15 细胞和 HepG2 细胞的转录表达的改变,发现 HepG2.2.15 细胞中 MyD88 转录明显减少而 HepG2 细胞中 MyD88 转录显著提高,提示 IFN- $\alpha$  可以诱导 MyD88 蛋白并且 HBV 可能干扰了 MyD88 蛋白的表达。Xiong 等<sup>[12]</sup>通过研究发现 MyD88 蛋白具有抗 HBV 的作用。Wu 等<sup>[13]</sup>进一步研究发现 HBV DNA 聚合酶通过抑制 stat1 的核转运来下调 MyD88 表达。另外,有研究者通过体外实验发现 HBV 多聚酶末端蛋白(terminal protein, TP)可以抑制 IFN- $\alpha$  诱导的基因表达<sup>[14]</sup>,并进一步通过对慢性乙型肝炎患者进行肝穿刺取病理标本研究,证实 TP 对 IFN- $\alpha$  的抗病毒效应起抑制作用<sup>[15]</sup>。

### 2.2 HBV 基因组 C 区和前 C 区变异对 IFN- $\alpha$ 作用的影响

乙型肝炎病毒变异是导致 HBV 持续性感染的一个重要原因,这种变异的产生可能是因为抗病毒药物对 HBV 持续压力所引起的。王卫峰和周晓东<sup>[16]</sup>使用不同浓度的 IFN- $\alpha$ 2b 反复作用于 HBV 分泌型 HepG2.2.15 细胞,发现在 rhIFN- $\alpha$  高剂量条件下,能检测到 HBV 前 C/C 基因插入或缺失突变株,突变株与优势株相比基因序列同源性平均在 97% 以上。HBV 前 C 区最常见的变异是 G1896A。这一突变可以导致 HBeAg 翻译受阻,引起 HBeAg 阴性。通过使用具有前 C 区 G1896A 突变的 HBV 全长重组质粒体外转染 Huh7 细胞,发现 IFN- $\alpha$  不能抑制 HBV 复制,而野生型 HBV 复制可以被 IFN- $\alpha$  抑制,提示前 C 区的突变降低了 HBV 对 IFN- $\alpha$  的反应性<sup>[17]</sup>。C 区最常见的变异是基本核心启动子区(basal core promoter, BCP) A1762T、G1764T 双突变。Wang 等<sup>[18]</sup>报道 BCP 双突变可以增强 HBV 的复制能力,且 BCP 双突变感染相比野生型对 IFN- $\alpha$  的反应性差,而 Marrone 等<sup>[19]</sup>通过临床研究却发现 HBV C 区的 BCP 双突变是有利于 IFN- $\alpha$  疗效的,这两种不同的结论可能是因为 HBV 在人体内受到更复杂的因素共同影响。

### 2.3 HBV 准种对 IFN- $\alpha$ 作用的影响

病毒准种(quasispecies)是病毒在感染个体内,由于不断地变异和选择而形成的异质性群体。HBV 的复制需要通过逆转录成 RNA 形式的中间体,而逆转录酶不具有 3,-5, 校正功能,在逆转录过程容易出错,所以出现 HBV 高变异率和形成很多的变异株,但只有那些生存能力强的变异株才可能保存下来,参与体内 HBV 准种的组成。2005 年《慢性乙型肝炎防治指南》将 HBV 感染者体内形成的以一个优势株为主的相关突变株病毒群称为 HBV 准种<sup>[20]</sup>。Günther 等<sup>[21]</sup>发现了 INF 治疗造成的 HBV C 基因变异增加了准种异质性,并认为 HBV 清除的难易程度取决于准株异质性的大小。

### 2.4 HBV 基因型对 IFN- $\alpha$ 作用的影响

目前为止,根据 HBV 全基因系列异源性大于或等于 8%(同源性小于 92%),或者 S 基因系列核苷酸差异度大于或等于 4%(同源性小于 96%),将乙型肝炎病毒株分为 A-H 8 种基因型<sup>[22-24]</sup>。Ma 等<sup>[23]</sup>研究表明,HBV 基因型为 B 的乙型肝炎患者对 IFN- $\alpha$  的应答明显高于 HBV 基因型为 C 和 D 患者,而且惟一可以观察到对 IFN- $\alpha$  产生完全应答是 B 基因型。肝炎病毒 C 基因型较 B 基因型易引起患者肝炎慢性化,可能与乙肝病毒 C 基因型 S 蛋白的 B 细胞抗原位点少且抗原指数较低有一定关系。

Erhardt 等<sup>[24]</sup>通过对 165 例乙型肝炎患者研究表明,HBV 基因型 A 对 IFN- $\alpha$  治疗后的持久性应答高于 HBV 基因型 D,其中对 HBeAg 阳性患者各占 46% 与 24% ( $P < 0.05$ ),对 HBeAg 阴性患者各占 59% 与 29% ( $P < 0.05$ )。中国台湾学者通过对 58 例慢性乙型肝炎患者的研究,发现 HBV 基因型 C 与 B 相比较,具有更高的 CP 突变频率和更低的对 IFN- $\alpha$  应答性<sup>[25]</sup>。目前,HBV 不同基因型对 IFN- $\alpha$  不同应答性的机制仍不清楚,因为不同地区的 HBV 基因型分布有一定差异,所以需要对更多的标本进行深入研究。

最近,国外学者发现 HBV 可以通过上调靶细胞内的蛋白磷酸酶 2Ac(PP2Ac)来干扰 IFN- $\alpha$  的 JAK-STAT 通路,并对慢性乙型肝炎患者进行肝穿刺取病理标本用免疫组化的方法检测到 PP2Ac 表达增加<sup>[26]</sup>。

## 3 小 结

综上所述,IFN- $\alpha$  在临幊上广泛用于抗 HBV,但临幊资料显示只有 1/3 的乙型肝炎患者对 IFN- $\alpha$  治疗具有反应。因为慢性乙肝是一种复杂的疾病,人体内的环境十分复杂,目前,认为宿主免疫系统功能紊乱是其病理损伤的主要机制或主要原因,细胞免疫机制则是乙型肝炎感染及转归的重要机制之一。所以至今仍不清楚 HBV 抗 IFN- $\alpha$  作用的具体机制。通过对 HBV 抗 IFN- $\alpha$  作用的具体机制的研究,将有助于进一步提高 IFN- $\alpha$  治疗 HBV 疗效。

## 参考文献

- 杨凯,徐元宏,管世鹤.乙型肝炎病毒抵抗  $\alpha$ -干扰素治疗研究进展[J].国际检验医学杂志,2010,31(2):46-47.
- 陈祿彪,彭晓谋,曹红,等.OAS-1 基因 SNP rs10774671 与慢性 HBV 感染者自发性 HBeAg 血清转换的关系[J].中华实验和临幊病毒学杂志,2009,23(1):53-56.
- 杨凯,管世鹤,徐元宏,等.HBV 对 HepG2.2.15 细胞  $\alpha$  干扰素的 JAK-STAT 信号转导途径分子及 MxA mRNA 表达的影响[J].安徽医科大学学报,2010,45(2):153-156.
- Tanaka Y, Marusawa H, Seno H, et al. Anti-viral protein APO-BEC3G is induced by interferon- $\alpha$  stimulation in human hepatocytes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 341(2): 314-319.
- Christine R, Josef K, Michael K, et al. APOBEC-mediated interference with hepa dna virus production[J]. Hepatology, 2005, 42(2): 301-309.
- 王瑜,王健.体内观察 IFN- $\alpha$ 2b 对慢性乙型肝炎患者 CD25 的免疫诱导作用[J].现代预防医学,2007,34(5):806-809.
- 陈瑞海,陈妙天,李锐,等.慢性乙型肝炎患者外周血来源的树突状细胞功能的研究[J].放射免疫学杂志,2007,20(3):269-271.
- Gordien E, Rosmorduc O, Peltkian C, et al. Inhibition of Hepatitis B Virus Replication by the interferon-inducible M protein[J]. J Virol, 2001, 75(6): 2684-2691.
- Guan SH, Lu M, Grunewald P, et al. Interferon-alpha response in chronic hepatitis B-transfected HepG2.2.15 cells is partially re-

- stored by lamivudine treatment[J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(2):228-235.
- [10] Olivier R, Huseyin S, Patrick S, et al. Inhibition of interferon-inducible MxA protein expression by hepatitis B virus capsid protein[J]. J Gen Virol, 1999, 80(5):1253-1262.
- [11] Fernandez M, Quiroga JA, Carreno V, et al. Hepatitis B virus downregulates the human interferon-inducible MxA promoter through direct interaction of precore/core proteins[J]. J Gen Virol, 2003, 84(Pt 8):2073-2082.
- [12] Xiong W, Wang X, Liu X, et al. Interferon-inducible MyD88 protein inhibits hepatitis B virus replication[J]. Virology, 2004, 319(2):306-314.
- [13] Wu M, Xu Y, Lin S, et al. Hepatitis B virus polymerase inhibits the interferon-inducible MyD88 promoter by blocking nuclear translocation of Stat1[J]. J Gen Virol, 2007, 88(Pt 12):3260-3269.
- [14] Foster GR, Ackril AM, Goldin RD, et al. Expression of the terminal protein region of hepatitis B virus inhibits cellular responses to interferons alpha and gamma and double-stranded RNA[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88(7):2888-2892.
- [15] Foster GR, Goldin RD, Hay A, et al. Expression of the terminal protein of hepatitis B virus is associated with failure to respond to interferon therapy[J]. Liver Disease, 1993, 17(5):757-762.
- [16] 王卫峰,周晓东.干扰素作用下乙型肝炎病毒的变异机制[J].世界华人消化杂志,2005,13(6):724-728.
- [17] Wang Y, Wei L, Jiang D, et al. In vitro resistance to interferon of hepatitis B virus with precore mutation[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(5):649-655.
- [18] Wang Y, Wei L, Jiang D, et al. In vitro resistance to interferon of hepatitis B virus with basic core promoter double mutation[J].

Antiviral Research, 2007, 75(2):139-145.

- [19] Marrone A, Zampino R, Luongo G, et al. Low HBeAg serum levels correlate with the presence of the double A1762T/G1764A core promoter mutation and a positive response to interferon in patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. Intervirology, 2003, 46(6):222-226.
- [20] 庄辉.加强乙型肝炎防治[J].北京大学学报:医学版,2009,41(3):259-262.
- [21] Günther S, Paulij W, Meisel H, et al. Analysis of hepatitis B virus populations in an interferon-alpha-treated patient reveals predominant mutations in the C-gene and changing e-antigenicity[J]. Virology, 1998, 244(1):146-160.
- [22] Ma JC, Wang LW, Li XJ, et al. Relationship between HBV genotypes and anti-viral therapeutic efficacy of interferon-alpha[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2007, 6(2):166-171.
- [23] 王国钱,牛菊霞,贾安奎.乙型肝炎病毒B基因型和C基因型B细胞表位的差异及意义[J].国际检验医学杂志,2010,31(1):37-38.
- [24] Erhardt A, Blondin D, Hauck K, et al. Response to interferon alpha is hepatitis B virus genotype dependent: genotype A is more sensitive to interferon than genotype D[J]. Gut, 2005, 54(7):1009-1013.
- [25] Kao JH, Wu NH, Chen PJ, et al. Hepatitis B genotypes and the response to interferon therapy[J]. Hepatology, 2000, 33(6):998-1002.
- [26] 汪明,李雯,李艳,等.慢性乙型肝炎患者细胞免疫功能探讨[J].国际检验医学杂志,2010,31(3):234-236.

(收稿日期:2010-10-09)

## · 综述 ·

# MiRNAs 与肿瘤化疗耐药\*

李文静 综述, 赵建华<sup>△</sup> 审校

(南京医科大学附属江苏省肿瘤医院/省临床检验中心 210009)

**关键词:**肿瘤; 抗肿瘤联合化疗方案; 抗药性, 多药; 微 RNAs

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2011.21.023

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)21-2481-03

化学药物在肿瘤综合治疗中有着不可替代的作用,然而多药耐药(MDR)的产生常导致化疗失败,影响患者的生活和生存。肿瘤细胞耐药的产生涉及的过程十分复杂,如药物外排的增加、药物经代谢或解毒的失活、药物靶点的突变或过表达、DNA 修复增强和细胞凋亡减少等。以往研究的重点和治疗的靶点主要集中于靶基因或其表达上,因此,DNA 水平上的突变、拷贝数的变化、表观遗传修饰的改变及 mRNA 和蛋白表达的检测,常被用来探索药物反应的机制。然而,从基因转录到 mRNA 编码再到蛋白质发挥功效的整个过程中,许多调节因子也起着至关重要的作用,其中微 RNA 因其多基因调控作用而备受关注。

## 1 MiRNAs 及其作用方式

微 RNA(miRNAs、microRNAs)是一类约 22nt 的小分子

非编码 RNA, 作用于基因转录后水平, 对机体诸多生命现象起重要的调控作用。目前, 人类基因组中确认的 miRNAs 约 600 个, 可调节超过 1/3 的人类基因; 其作用模式主要有 3 种:(1)作用时与靶基因不完全互补结合, 抑制其翻译但不影响 mRNA 的稳定性;(2)与靶基因完全互补结合, 作用方式及功能类似于小干扰 RNA, 介导靶 mRNA 的切割或降解;(3)兼具上述两种作用模式如 let-7 等。另外, miRNAs 还能与翻译相关的蛋白因子结合或改变 mRNA 的二级结构抑制蛋白表达, 其具体发生机制尚有待进一步研究。

## 2 MiRNAs 与肿瘤

肿瘤细胞与正常细胞间 miRNA 表达谱具有明显差异, 且多数 miRNAs 基因位于肿瘤相关基因组区域或脆性位点, 提示 miRNAs 与肿瘤关系密切。大量研究已证明, miRNAs 在肿

\* 基金项目:江苏省社会发展科技计划项目(BS2007077)。 △ 通讯作者, E-mail:jhzhaoy2838@sina.com。