

DOI:10.13350/j.cjpb.151020

• 综述 •

与乙肝病毒蛋白相互作用的宿主因子研究进展*

尧晨光, 魏艳红, 寇铮, 胡康洪**

(湖北工业大学生物医学中心, 发酵工程湖北省协同创新中心, 湖北武汉 430068)

【摘要】 乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)是引起肝炎疾病的主要因素。HBV自身基因组极其简单, 病毒复制生命过程都是在宿主因子协同作用下完成的。这些协同作用包括病毒包膜蛋白的加工对伴侣的依赖性、细胞因子对核衣壳的动力学修饰和转运、伴侣分子引发的反转录过程、宿主多泡体通路组分促进病毒粒子成熟与分泌以及X蛋白调控机制。本文综述了宿主因子对HBV以上几方面的影响最新研究进展, 旨在为新型乙肝药物设计提供基础。

【关键词】 乙型肝炎病毒(HBV); 宿主因子; 伴侣分子; 包膜蛋白; 病毒粒子; 综述

【中图分类号】 R373.21

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2015)10-0949-05

[*Journal of Pathogen Biology*. 2015 Oct; 10(10): 949—953.]

Advances in research on host factors interacting with HBV proteins

YAO Chen-guang, WEI Yan-hong, KOU Zheng, HU Kang-hong (Biomedical Center, Hubei Collaborative Center for Industrial Fermentation, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China)

【Abstract】 The hepatitis B virus (HBV) is the major cause of hepatitis, and HBV has a very short genome of about 3,2 kb. Host factors are involved in the entire life cycle of the virus. Collaborative interactions include 1) chaperone-dependent processing of envelope proteins, 2) transportation and dynamic modification of nucleocapsids, 3) reverse transcription mediated by chaperones, 4) maturation and secretion of virions facilitated by the cellular multivesicular body (MVB) pathway, and 5) the regulatory mechanism of HBx. This review describes the latest advances in research explaining how the aforementioned host factors are involved in HBV replication.

【Key words】 Hepatitis B virus (HBV); host factor; chaperone; envelope protein; virion

* ** 乙型肝炎简称乙肝, 是乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)感染引起的全球性重大疾病。全球将近有3.5亿人患有慢性肝炎或由此引起的肝硬化、肝癌等疾病, 每年有超过100万人因之而死。尽管当前疫苗的使用很成功, 但是HBV的感染仍旧是威胁公众健康的难题, 目前的治疗效果不尽令人满意。

作为肝炎病毒家族成员, HBV是具有包膜的双链DNA反转录病毒, 有核衣壳和包膜构成。其基因组全长3.2 kb左右, 直径约42 nm, 是目前已知的最小病毒之一。高度重叠的四个开放阅读框编码多功能聚合酶、衣壳Core蛋白、三种紧密相关的包膜蛋白和具有调控功能的X蛋白。

外包膜介导病毒与肝细胞膜受体结合, 病毒粒子以内吞作用进入肝细胞。随后, 核衣壳裂解释放出rc-DNA(relaxed circle DNA)进入核内, 转变成共价闭合环状DNA(covalently closed-circuLar DNA, ccc-DNA), 以ccc-DNA作模板, 在宿主RNA聚合酶II的作用下转录出前基因组RNA(pregenomic RNA, pgRNA)和其他亚基因组RNA(subgenomic RNA)。各转录本被运送到核外翻译成对应的蛋白, 病毒聚合酶和pgRNA被核心蛋白包裹成二十面体核衣壳。核衣壳进入细胞质内质网、高尔基体中加工成熟形成由脂质和三种包膜蛋白(L,M,S)组成的完整病毒颗粒。在产生具有感染性病毒粒子的同时, 大量不具感染性的亚病毒颗粒也随着产生, 亚病毒粒子与完整病毒粒子具有相同的免疫原性, 空包膜粒子经改造后作为HBV疫苗; HBV亚病毒粒子以非裂解方式分泌到细胞外。在体内, 亚病毒粒子作为诱饵迷惑人体免疫系统, 帮助完

整病毒粒子免疫逃避, 同时增强免疫系统对肝细胞的攻击导致肝细胞病变。

鉴于HBV微小基因组和严格限制的蛋白种类, HBV高度依赖宿主因子, 本文综述了近10年来乙肝蛋白与宿主因子相互作用研究进展, 旨在探讨病毒的形态发生、DNA复制、病毒颗粒与亚病毒颗粒的组装和释放以及HBx与宿主因子的关联性。

1 HBV表面蛋白的结构、功能和宿主作用因子

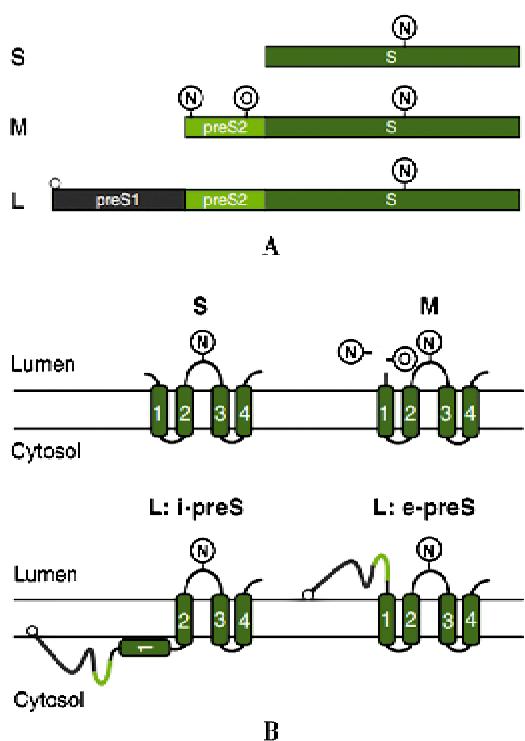
HBV表面蛋白分为L(Large)、M(Middle)、S(Small)3种, 由含3个不同起始位点的同一开放阅读框基因序列编码表达。S含有226个氨基酸, 与M和L的C端完全重叠, M和L的N端分别含有preS2和preS1/S2(图1-A)。3种蛋白同时被翻译出来, 在锚定信号分子和转移终止序列作用下进入内质网。转移序列是由S结构域的第一跨膜序列和第二跨膜序列(first and second transmembrane segments, TM1和TM2)构成^[2], 两个更远的跨膜片段预测位于S结构域C末端到距离1/3处, 至于这些片段是否含有拓扑异构结构, 目前还未证实。在计算机上模拟的S二级结构模型含有被亲水环隔开的4个疏水结构

* 【基金项目】 湖北省自然科学基金重点项目(No. 2014CFA075); 湖北工业大学高层次人才启动基金(No. 337.193)。

** 【通讯作者】 胡康洪, E-mail: hukh@mail.hbut.edu.cn

【作者简介】 尧晨光(1989—), 男, 湖北人, 硕士研究生, 主要从事生物工程研究。E-mail: mengqingchenguang@163.com

域(图1-B),引导S的C端和N端进入内质网腔^[3]。糖基化位点在内腔环,该环含有S表面抗原决定簇,病毒粒子分泌后,S抗原决定簇就暴露在外面^[4]。HBV表面蛋白的结构^[5]见图1。



A IIBV 表面蛋白 S、M、L B IIBV 表面蛋白跨膜结构,L 的双拓扑结构胞质 i-preS 和内质网 e-preS

图1 HBV 表面结构蛋白

A HBV surface proteins S, M and L B HBV surface proteins Transmembrane sequence and dual topology i-preS and e-preS.

Fig. 1 HBV surface proteins

1.1 表面蛋白S S是乙肝病毒及亚病毒包膜的主要组成成分,除了起支撑作用外,还协助病毒粒子进入肝细胞,主要表现为协助L蛋白吸附于细胞膜上,释放核衣壳进入肝细胞。M和L的折叠依赖于细胞伴侣分子如同源热激蛋白Hsc70、内质网BiP和钙连蛋白等^[6],S的成熟则不依赖于这些宿主因子,在内质网腔二硫化物异构酶催化下完成。另外,近期研究表明亲环蛋白Δ(CypΔ)是S特异性结合蛋白,转基因小鼠和人肝细胞稳定表达S会降低亲环蛋白水平,伴随有胞外伴侣分子增加,这一现象表明S启动了CypA的分泌^[7]。S/CypA复合物的功能以及共分泌机理尚未解开,据推测可能是CypΔ与S第一个胞质环上几个脯氨酸冗余结合,促进了包膜蛋白组装和分泌。除了伴侣分子外,为了解释这一过程,有人提出颠覆HBV包膜组装的想法^[8],研究发现小表面蛋白S过量表达会诱导自噬体蛋白LC3脂化,从而引发细胞自噬。

1.2 表面蛋白M M的形态与S高度相似,由于亲水性preS2结构域无信号序列活性,M由邻近的S结构域TM1和TM2介导进入内质网膜^[9]。在HBV生命过程中,M不具备S和L的多功能性,有研究发现,M preS2第4位天冬氨酸糖基化和第37位苏氨酸含环氧多糖与伴侣分子钙连蛋白相互作用,促进M蛋白颗粒和亚病毒粒子的组装和分泌^[10]。

1.3 表面蛋白L HBV表面蛋白L是一个多功能性蛋白,介导HBV识别肝细胞,参与病毒粒子的组装、释放以及调控cccDNA扩增和激活逆转录酶活性。L多功能的特性由其双拓扑

学结构决定,在合成过程中,L被S结构域的信号分子共转运进内质网,而部分preS结构域没有进入内质网保留在胞质,就形成了L的两种拓扑结构^[11],分别称为胞质 i-preS 和内质网 e-preS(图1-B)。

双拓扑结构是L的固有本质,与其他病毒编码产物无关,缺失S结构域C端70~94位的片段,共转位后得到单种L拓扑结构。这个区域作为细胞质锚定元件阻止其翻译蛋白的转运,有研究表明,胞质锚定因子(cytosolic anchorage determinant,CAD)特异性与热激蛋白Hsc70相互作用维持L的形态,而preS穿越磷脂双分子层的机制还尚未明确,似乎与HBV特异性膜通道无关^[12]。这种通道的形成依赖于S、M和L二聚化,伴随着三种两性分子TM1、TM3、TM4相互作用,将亲水头部背向脂质^[13]。L的TM2片段不能自发形成一个翻译后通道,却可以作为preS另外一个重要的拓扑再定位元件作压元件^[12]。

多项研究表明L与热激蛋白伴侣分子如Hsc70/Hsp40复合物有相互作用,Hsc70以多种方式结合到i-preS的CAD序列上,干扰L的形态。高活性的Hsc70抑制preS后翻译,而低活性的Hsc70促进preS后翻译^[13~14]。RNA干扰实验也得到了相似的结果,敲除Hsc70能抑制HBV的复制。Hsc70/Hsp40复合物不仅能调控L正确折叠,还能够激活病毒逆转录酶的活性^[15],因此在病毒生命周期中展现出多功能性。在内质网中,BiP伴侣分子与e-preS相互作用,为preS链进入内质网提供推动力。随着NACA作为preS1特异性结合位点的发现,L形态的转位调控得到进一步证实^[16]。异源二聚体NAC复合物从核糖体上下来时就结合了几条新生多肽,据推测可能是为了防止细胞降解^[17]。γ2衔接蛋白是另外一种与i-preS特异性作用蛋白,虽然不影响L拓扑结构,却与病毒的成熟和分泌密切相关^[18]。

Yang等^[19]在树鼩肝细胞发现了HBV感染细胞受体钠离子-牛磺胆酸共转运多肽(NTCP),使用多肽段竞争技术和RNA干扰技术证实了NTCP是乙肝病毒和丁肝病毒感染必须的。阻断HBV与NTCP结合成为了治疗乙肝的新策略,环孢素A被证明在体外能够抑制HBV表面蛋白L与NTCP结合,具有预防和治疗乙肝的功效^[20]。另有研究表明L蛋白N端豆蔻酸的前77个氨基酸是HBV具有感染能力的关键部位^[21],但是豆蔻酸连接到LGly-2的具体机制目前尚不明白,可以肯定的是这一过程能够促进病毒与靶细胞HBV受体的结合。此外,豆蔻酸还能屏蔽中性和抗体对HBV的识别,造成病毒的免疫逃避^[22]。N端146位氨基酸糖基化也是HBV感染必须的,其糖基化与非糖基化比率接近1/1,高糖基化促进亚病毒粒子形成和分泌以及造成免疫逃避^[23]。Julithe等^[24]发现肝内L的表达激活了PKCα/Raf1信号从而启动Src/PI3K/Akt通路,最终导致肝癌细胞增生。

2 HBV Core蛋白的结构、功能和宿主作用因子

HBV Core蛋白,也称为HBc,由183或185个氨基酸组成(由基因型决定)。核衣壳在细胞中的装配起始于HBc与RT/pgRNA复合物的结合,并定位逆转录酶和模板引发逆转录过程^[25]。HBc N端是HBc二聚化和核衣壳装配的关键部位,而C末端结构域精氨酸含量高,则易与核酸结合引发pgRNA/RT复合物的包装。核衣壳形成依靠HBc粒子的磷酸化和基因组

的成熟,这两大决定性因素使得核定位因子向衣壳外转运。C末端含有三个丝氨酸磷酸化位点,磷酸化后会中和掉C端的部分正电荷而引起构像改变,诱导pgRNA包装、ssDNA合成以及衣壳的胞内转运和核转运,去磷酸化则促进衣壳成熟和分泌^[26]。宿主因子 $\gamma 2$ 衔接蛋白与衣壳的相互作用依赖于第96位赖氨酸的疏水作用,其功能是使包装有DNA的衣壳成熟化^[27]。PPAY招募Nedd4等细胞因子介导病毒颗粒的释放,细胞泛素化酶进一步结合上PPAY结构域维持衣壳寿命或者招募蛋白酶将其降解^[28]。热激蛋白Hsp90通过与核心蛋白二聚体相互作用维持衣壳稳定性^[29],而Hsp40使衣壳欠稳定。另有研究报道多种细胞激酶与衣壳的形成相关,包括46 ku激酶、cdc2系列激酶、蛋白激酶C、SRPK1和SRPK2^[30]。

Guo等^[31]分析了HBc与宿主DNA启动子结合以及相关基因表达的影响,免疫沉淀法证实了HBc能与WNT/B蛋白信号通路41个基因以及MAPK通路61个基因启动子结合,并且能够增强宿主NF- κ B与DNA的结合能力。

3 与HBV DNA复制相关宿主因子

HBV DNA复制依赖于P蛋白引发的逆转录过程,Watanabe等^[32]在兔网织红细胞裂解液中建立了鸭HBV(DHBV)P蛋白与pgRNA领环 ϵ 结合模型,实验证明P与 ϵ 结合不仅是P-pgRNA复合物包装信号,也是逆转录合成DNA的起始步骤,在P蛋白引发过程中,高丰度的伴侣分子起了关键作用。我们课题组证实了人HBV截短P蛋白在伴侣分子作用下与 ϵ 的体外结合活性^[33-34]。其中Hsp70或组成型的Hsc70和Hsp40在ATP水解条件下改变P蛋白的构象,使P蛋白TP区向pgRNA领环 ϵ 结构靠近,有利于合成逆转录引物^[35]。而Hsp90在这一体系中的作用尚存在争议,Hu等^[36]认为Hsp90对HBV逆转录是必须的,而Stahl等^[37]通过实验证明在体外Hsp90只是P蛋白维持激活状态的增强剂,Hsp70才是必须的。

HBV DNA复制的另一重大发现是酪氨酸磷酸二酯酶(TDP),一种宿主DNA修复酶。病毒粒子进入细胞后进行复制形成成熟的连接P蛋白的RC-DNA,拓扑异构酶(TOP)将RC-DNA双链打开,TDP水解P蛋白TP区末端的酪氨酸与RC-DNA之间的磷酸酯键,使RC-DNA向ccc-DNA转化^[38]。这一发现为神秘的ccc-DNA研究开启了一扇门,为乙肝的治疗提供了新的靶标。

4 病毒粒子组装和释放

4.1 完整病毒粒子的组装和释放 以前人们认为亚病毒粒子(subviral particles,SVP)的出芽能够反映HBV的出芽,然而最近的研究证明亚病毒和病毒颗粒的组装和释放的途径和宿主因子都不相同。已有报道证明HBV出芽和释放是通过多泡体(MVB)的通道^[39],多泡体具有形成内腔小泡的能力,在一系列胞内转运复合物作用下,完成病毒出芽。基于这种机制有研究表明,一种转运因子Chmp4B在HBV复制的细胞系中表达量上调^[40]。另外一种重要蛋白 $\gamma 2$ 衔接蛋白,前面提到是L的特异性结合蛋白,参与HBc第96位赖氨酸的泛素化,利于HBV释放^[41]。

4.2 亚病毒粒子的组装和释放 亚病毒粒子的形成、分泌和过度表达是HBV生命周期的一个显著特点,尽管有不少研究人员致力于此并做出了很大贡献,但是衣壳依赖性自组装机制

仍然不清楚。表面蛋白自组装、胞内转运和分泌都依赖于宿主的脂蛋白,在转染了表面蛋白基因的哺乳动物细胞系中也能检测到类似的SVP装配和释放。表面蛋白S在内质网膜上聚集后,在PDI伴侣分子的作用下快速形成以二硫键连接的二聚体,装配成SVP^[42]。使用超微结构分析法对SVP的形成和释放示踪分析发现,内质网膜上形成的二聚体起始装配成链珠状,然后以小泡的形式出芽进入高尔基体成熟,GTP水解为SVP出芽和运输提供动力^[43]。

除了释放有感染性的粒子外,HBV复制的细胞还释放无包膜的亚病毒粒子,但是其功能和释放通道还在研究当中。裸衣壳粒无膜结构,其转运和分泌不是以小泡机制进行,而是依赖于多功能膜蛋白Alix^[44-45]。

5 与X蛋白调控相关宿主因子

HBx是由X基因编码的含有154个氨基酸的多肽,在HBV慢性感染过程中表达量低,且主要存在于细胞质,其功能至今存在争议。在乙肝病毒携带者肝细胞内,HBV基因组整合到肝细胞染色体上,X基因被保留下来,但是重组后发生缺失、截短或点突变,HBx通常以不完整的形态存在^[46]。有研究表明,在肝癌细胞中X基因往往有3'端缺失现象,直接导致HBx羧基端截短,据推断这可能与肝癌的发生有关^[47]。HBx通过启动细胞质信号转导通路如转录调控因子NF- κ B、激活蛋白AP-1/2和Jak/STAT等,并与核转录因子ATF-2、Oct-1、cAMP、CREB等结合反式激活病毒和宿主基因。另外HBx与一群转录共激活因子相互作用,比如TATA结合蛋白作用因子,启动磷酸化与去磷酸化调节基因的表达^[48]。HBx在胞质或核中行使不同的功能,当位于核中,HBx扮演转录因子的角色与ATF-2和CREB作用提高与DNA结合的亲和力^[49]。在胞质中,HBx干扰和刺激蛋白激酶包括IKK、C、PI3K等^[50]。

关于HBx对转录因子NF- κ B的激活,Zhang等^[51]发现肝细胞中钙蛋白酶小亚基(Capn4)有上调现象,HBx在转录和翻译水平上调Capn4的表达,增强Capn4启动子活性,抑制NF- κ B能够减弱Capn4的上调。Zhou等^[52]研究表明,在HBV感染过程中HBx影响NF- κ B通道反式激活IP-10启动子,从而提升白血球的迁移,导致肝免疫损伤。

紫外线损伤DNA结合蛋白(DDB1)作为E3泛素连接酶复合物亚基^[53],具有肝细胞周期调控以及DNA修复等功能。在肝细胞有丝分裂过程中,HBx结合到DDB1启动滞后染色体,导致纺锤丝牵引的染色体异常排列形成多核细胞。HBx与DDB1的结合使得肝细胞染色体稳定性降低,是引发肝癌的主要因素之一。另一方面HBx不仅能抑制p53基因转录,其C端结构域还能与p53结合阻断p53介导的细胞凋亡^[54]。然而在肝细胞中,与HBx相比p53的表达是绝对过量,这表明HBx抗体和细胞凋亡因子与肝细胞特定状态有关^[55]。

热激蛋白族Hsp70/90等伴侣分子在HBV逆转录过程中扮演着重要角色,Li等^[46]研究发现HBx通过激活Ras、Raf、ERK1/2启动原癌基因表达在转录水平上调Hsp90的表达。Hsp70、Hsp60也是HBx的作用靶点^[51]。

总之,HBx在HBV慢性感染以及由慢性感染向肝癌转变过程中是个多功能的重要蛋白,与多种宿主因子相互作用并参与多条细胞信号通路。截短的HBx在特定细胞中具有不同功能,这大大增加HBx的研究难度。已有的研究结果为HBV慢

性感染及肝癌的治疗提供了新视野和方法。

6 小结与展望

HBV 生活周期包括感染、复制、组装、成熟和分泌的主体机制已揭晓,与 HBV 蛋白相互作用的多种宿主因子也相继被发现,主要包括 HBV 感染细胞膜受体和 HBV 复制相关蛋白以及与肝癌发生密切相关的与 HBx 相互作用的宿主因子。膜受体 NTCP 的发现解决了多年来乙肝研究的瓶颈问题,更深入揭示了乙肝感染机制,为乙肝及相关疾病的治疗提供了治疗靶点。然而,这一成果受到科学界的质疑,NTCP 是否为人肝细胞膜上感染 HBV 唯一受体有待进一步验证。另一重大发现宿主 TDP 切除 RC-DNA 上的 P 蛋白,为 ccc-DNA 的形成机制研究迈出了重要一步,但这还远远不够,ccc-DNA 形成和清除机制是攻克乙肝的终极目标。

以上 HBV 蛋白与宿主因子的相互作用已得到实验证实,控制细胞因子对核衣壳的动力学修饰和转运,阻断病毒包膜蛋白加工、宿主多泡体通路、伴侣分子参与的反转录过程等,能为乙肝药物设计提供新的靶标。

【参考文献】

- [1] Beck J, Nassal M. Hepatitis B virus replication [J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(1): 48–64.
- [2] Siegler VD, Bruss V. Role of transmembrane domains of hepatitis B virus small surface proteins in subviral-particle biogenesis [J]. J Virol, 2013, 87(3): 1491–6.
- [3] Lazar C, Macovei A, Petrescu S, et al. Activation of ERAD pathway by human hepatitis B virus modulates viral and subviral particle production [J]. PLoS One, 2012, 7(3): e34169.
- [4] Liu WW, Wang AZ, Xie FY, et al. Comparison between Elecsys HBsAg II and Architect assays for quantification of serum hepatitis B surface antigen in Chinese patients with chronic hepatitis B [J]. Clin Lab, 2015, 61(1–2): 141–7.
- [5] Prange R. Host factors involved in hepatitis B virus maturation, assembly, and egress [J]. Med Microbiol Immunol, 2012, 201(4): 449–61.
- [6] Xu Z, Bruss V, Yen TS. Formation of intracellular particles by hepatitis B virus large surface protein [J]. J Virol, 1997, 71(7): 5487–94.
- [7] Tian X, Zhao C, Zhu H, et al. Hepatitis B virus (HBV) surface antigen interacts with and promotes cyclophilin a secretion; possible link to pathogenesis of IIBV infection [J]. J Virol, 2010, 84(7): 3373–433.
- [8] Li J, Liu Y, Wang Z, et al. Subversion of cellular autophagy machinery by hepatitis B virus for viral envelopment [J]. J Virol, 2011, 85(13): 6319–33.
- [9] Schmitt S, Glebe D, Tolle TK, et al. Structure of pre-S2 N- and O-linked glycans in surface proteins from different genotypes of hepatitis B virus [J]. J Gen Virol, 2004, 85(Pt 7): 2045–53.
- [10] Werr M, Prange R. Role for calnexin and N-linked glycosylation in the assembly and secretion of hepatitis B virus middle envelope protein particles [J]. J Virol, 1998, 72(1): 778–82.
- [11] Ostapchuk P, Hearing P, Ganem D. A dramatic shift in the transmembrane topology of a viral envelope glycoprotein accompanies hepatitis B viral morphogenesis [J]. EMBO J, 1994, 13(5): 1048–57.
- [12] Lambert C, Mann S, Prange R. Assessment of determinants affecting the dual topology of hepadnaviral large envelope proteins [J]. J Gen Virol, 2004, 85(Pt 5): 1221–5.
- [13] Lambert C, Prange R. Chaperone action in the posttranslational topological reorientation of the hepatitis B virus large envelope protein: Implications for translocational regulation [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(9): 5199–5204.
- [14] Wang YP, Liu F, He HW, et al. Heat stress cognate 70 host protein as a potential drug target against drug resistance in hepatitis B virus [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(5): 2070–7.
- [15] Stahl M, Retzlaff M, Nassal M, et al. Chaperone activation of the hepadnaviral reverse transcriptase for template RNA binding is established by the Hsp70 and stimulated by the Hsp90 system [J]. Nucleic Acids Res, 2007, 35(18): 6124–36.
- [16] Li D, Wang XZ, Ding J, et al. NACA as a potential cellular target of hepatitis B virus preS1 protein [J]. Dig Dis Sci, 2005, 50(6): 1156–60.
- [17] Rospert S, Dubaqué Y, Gautschi M. Nascent-polypeptide-associated complex [J]. Cell Mol Life Sci, 2002, 59(10): 1632–39.
- [18] Hartmann-Stuhler C, Prange R. Hepatitis B virus large envelope protein interacts with gamma2-adaptin, a clathrin adaptor-related protein [J]. J Virol, 2001, 75(11): 5343–51.
- [19] Yan II, Zhong GC, Li WII. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus [J]. ELife, 2012(1): e00049.
- [20] Watashi K1, Sluder A, Daito T, et al. Cyclosporin A and its analogs inhibit hepatitis B virus entry into cultured hepatocytes through targeting a membrane transporter, sodium taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP) [J]. J Hepatology, 2014, 59(5): 1726–37.
- [21] Liu H, Xu J, Zhou L, et al. Hepatitis B virus large surface antigen promotes liver carcinogenesis by activating the Src/PI3K/Akt pathway [J]. Cancer Res, 2011, 71(24): 7547–57.
- [22] Le Seyec J, Chouteau P, Cannie I, et al. Infection process of the hepatitis B virus depends on the presence of a defined sequence in the pre-S1 domain [J]. J Virol, 1999, 73(3): 2052–7.
- [23] Bremer CM, Sominskaya I, Skrastina D, et al. N-terminal myristylation-dependent masking of neutralizing epitopes in the preS1 attachment site of hepatitis B virus [J]. J Hepatol, 2011, 55(1): 29–37.
- [24] Julithe R1, Abou-Jaoudé G1, Sureau C. Modification of the hepatitis B virus envelope protein glycosylation pattern interferes with secretion of viral particles, infectivity, and susceptibility to neutralizing antibodies [J]. J Virol, 2014, 88(16): 9049–59.
- [25] Nassal M. The arginine-rich domain of the hepatitis B virus core protein is required for pregenome encapsidation and productive viral positive-strand DNA synthesis but not for virus assembly [J]. J Virol, 1992, 66(7): 4107–16.
- [26] Melegari M, Wolf SK, Schneider RJ. Hepatitis B virus DNA replication is coordinated by core protein serine phosphorylation and HBx expression [J]. J Virol, 2005, 79(15): 9810–20.
- [27] Rost M, Mann S, Lambert C, et al. Gamma-adaptin, a novel ubiquitin-interacting adaptor, and Nedd4 ubiquitin ligase control hepatitis B virus maturation [J]. J Biol Chem, 2006, 281(39):

- 29297—308.
- [28] Garcia ML, Reynolds TD, Mothes W, et al. Functional characterization of the putative hepatitis B virus core protein late domain using retrovirus chimeras [J]. PLoS One, 2013, 8(8): e72845.
- [29] Shim HY, Quan X, Yi YS, et al. Heat shock protein 90 facilitates formation of the IIBV capsid via interacting with the IIBV core protein dimmers [J]. Virology, 2011, 410(1): 161—9.
- [30] Barrasa MI, Guo JT, Saputelli J, et al. Does a cdc2 kinase-like recognition motif on the core protein of hepadnaviruses regulate assembly and disintegration of capsids? [J]. J Virol, 2001, 75(4): 2024—8.
- [31] Guo Y, Kang W, Lei X, et al. Hepatitis B viral core protein disrupts human host gene expression by binding to promoter regions [J]. BMC Genomics, 2012(13): 563.
- [32] Watanabe T, Sorensen EM, Naito A, Schott M. Involvement of host cellular multivesicular body functions in hepatitis B virus budding [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(24): 10205—10.
- [33] Feng H, Chen P, Hu K, et al. Evidence for multiple distinct interactions between hepatitis B virus P protein and its cognate RNA encapsidation signal during initiation of reverse transcription [J]. PLoS One, 2013, 8(8): e72798.
- [34] Feng H, Nassal M, Hu KH, et al. A SELEX-screened aptamer of human hepatitis B virus RNA encapsidation signal suppresses viral replication [J]. PLoS One, 2011, 6(11): e27862.
- [35] Beck J, Nassal M. Efficient IIsp90-independent in vitro activation by Hsc70 and Hsp40 of duck hepatitis B virus reverse transcriptase, an assumed Hsp90 client protein [J]. J Biol Chem, 2003, 27(38): 36128—38.
- [36] IIu J, Seeger C. IIsp90 is required for the activity of a hepatitis B virus reverse transcriptase [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996(93): 1060—4.
- [37] Stahl M, Retzlaff M, Nassal M, et al. Chaperone activation of the hepadnaviral reverse transcriptase for template RNA binding is established by the IIsp70 and stimulated by the IIsp90 system [J]. Nuc Acids Res, 2007, 35(18): 6124—36.
- [38] Christian K, Ida W, Nassal M, et al. Involvement of the host DNA-repair enzyme TDP2 in formation of the covalently closed circular DNA persistence reservoir of hepatitis B viruses [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(40): E4244—53.
- [39] Xie N, Huang K, Zhang T, et al. Comprehensive proteomic analysis of host cell lipid rafts modified by HBV infection [J]. J Proteomics, 2011, 75(3): 725—39.
- [40] Lambert C, Doring T, Prange R. Hepatitis B virus maturation is sensitive to functional inhibition of ESCRT-III, Vps4, and gamma 2-adaptin [J]. J Virol, 2007, 81(17): 9050—60.
- [41] Lentz TB, Loeb DD. Roles of the envelope proteins in the amplification of covalently closed circular DNA and completion of synthesis of the plus-strand DNA in hepatitis B virus [J]. J Virol, 2011, 85(22): 11916—27.
- [42] Huovila AP, Eder AM, Fuller SD. Hepatitis B surface antigen assembles in a post-ER, pre-Golgi compartment [J]. J Cell Bio, 1992, 118(6): 1305—20.
- [43] Abdulkarim AS, Cao H, Huang B, et al. The large GTPase dynamin is required for hepatitis B virus protein secretion from hepatocytes [J]. J Hepatol, 2003, 38(1): 76—83.
- [44] Bardens A, Doring T, Stieler J, et al. Alix regulates egress of hepatitis B virus naked capsid particles in an ESCRT-independent manner [J]. Cell Microbiol, 2011, 13(4): 602—19.
- [45] 卢成, 成志华, 刘金禄, 等. HBV 基因型及 P 基因区变异与乙型肝炎拉米夫定治疗耐药发生的相关性研究 [J]. 中国病原生物学杂志, 2013, 8(6): 559.
- [46] Li W, Miao X, Qi Z, et al. Hepatitis B virus X protein upregulates HSP90alpha expression via activation of c-Myc in human hepatocarcinoma cell line, HepG2 [J]. J Virol, 2010(7): 45.
- [47] Ma NF, Lau SH, Hu L, et al. COOH-terminal truncated HBV X protein plays key role in hepatocarcinogenesis [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(14): 5061—8.
- [48] Yeh CT. Hepatitis B virus X protein: searching for a role in hepatocarcinogenesis [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2000, 15(4): 339—41.
- [49] Lupberger J, Hildt E. Hepatitis B virus-induced oncogenesis [J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(1): 74—81.
- [50] Zhang X, Zhang H, Ye L. Effects of hepatitis B virus X protein on the development of liver cancer [J]. J Lab Clin Med, 2006, 147(2): 58—66.
- [51] Zhang F, Wang Q, Ye L, et al. Hepatitis B virus X protein upregulates expression of calpain small subunit 1 via nuclear factor-kappaB/p65 in hepatoma cells [J]. J Med Virol, 2010, 82(6): 920—8.
- [52] Zhou Y, Wang S, Ma JW, et al. Hepatitis B virus protein X-induced expression of the CXCL chemokine IP-10 is mediated through activation of NF-kappaB and increases migration of leukocytes [J]. J Biol Chem, 2010, 285(16): 12159—68.
- [53] Martin-Lluesma S, Schaeffer C, Robert EI, et al. Hepatitis B virus X protein affects S phase progression leading to chromosome segregation defects by binding to damaged DNA binding protein1 [J]. Hepatology, 2008, 48(5): 1467—76.
- [54] Lupberger J, Hildt E. Hepatitis B virus-induced oncogenesis [J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(1): 74—81.
- [55] Ringelhan M, Heikenwalder M, Protzer U. Direct effects of hepatitis B virus-encoded proteins and chronic infection in liver cancer development [J]. Dig Dis, 2013, 31(1): 138—51.

【收稿日期】 2015-06-25 【修回日期】 2015-09-21