维普资讯 http://www.cqvip.com

327-329 肝炎性肝硬、细胞凋亡、端粒酶 交互作用

文章编号：0253-3626(2000)03-0326-03

凋亡与端粒酶在慢性肝病发病中的交互作用

沈钦海 综述，周卫平 审校
（重庆医科大学肝炎研究所 400010）

R512.602

中国图书分类法分类号：R575 文献标识码：A 收稿日期：1999-03-16

凋亡(apoptosis)是正常细胞在受到生理性和病理性刺激后启动的自发程序性死亡(programmed cell death)。端粒酶是一种能延长细胞端粒末端的核酸蛋白酶，由蛋白质和RNA组成，可以其RNA为模板，发挥RNA指导的DNA的合成作用。在慢性肝病中二者发挥不同的作用，凋亡失调会导致肝癌发生，同时会引起端粒酶的激活，而抑制端粒酶的活性会引起细胞凋亡。

1 在慢性肝病中肝细胞凋亡

Galle等[1]研究发现肝炎后肝硬化假小叶周边有FasL mRNA，同时发现酒精性肝硬化假小叶中央FasL mRNA强阳性，指示肝细胞也可能表达FasL，并发挥细胞毒效应，发生“同胞相杀(fratricide)”或“自杀(suicide)”现象。周卫平等研究发现T淋巴细胞在感染HBV后能表达Fas抗原，结果通过Fas介导的系统导致T淋巴细胞消耗，这可能是造成乙型病毒性肝炎慢性化的重要原因。胡瑾华等也发现慢性肝病FasL阳性肝细胞可能发挥细胞毒效应，淋巴细胞凋亡的“顺式（mcis: 即细胞自杀）或/和转式（trans: 引起邻近细胞死亡）”作用机制有可能存在于慢性肝炎的肝细胞中。Tsaish等[2]研究发现T淋巴细胞对乙型肝炎病毒的反应为清除急性病人的乙肝病毒要比慢性乙肝患者强烈的多，说明CTL对乙型肝炎慢性化起着重要作用。在慢性乙肝病人中，对CTL缺乏的原因还不清楚，是否因肝炎导致T淋巴细胞凋亡，尚需进一步研究。最近，Nakamura等[3]研究发现，在血转氨酶升高时，慢性乙型肝炎患者外周血中显示凋亡的T淋巴细胞频率是低的；若转氨酶降低，则出现相反的情况。他们利用HBcAg基因重组诱导外周血T淋巴细胞凋亡，而使乙肝病毒得以生存，并且导致慢性肝病的发展。

在肝癌中，淋巴细胞和肿瘤细胞都可以表达FasL，相互作用如何，取决于二者对Fas介导的凋亡敏感程度。许多肿瘤Fas表达蛋白丢失[4]，即使有残余Fas表达的肝癌细胞也逐渐耐受Fasl介导的杀伤。在人肝癌细胞HepG2及其感染HBV的HepG2215细胞系，Fas表达不介导凋亡，序列分析发现5%～10%的Fas cDNA跨膜区有缺失，编码的Fas为可溶性，可中和FasL而不能诱导凋亡[5]。

此外，TNF-α在肝细胞凋亡中也起着重要作用。Fang TW等[6]研究发现，在慢性乙型肝炎者中TNF-α的表达比在健康人中表达高，说明了TNF-α的表达与肝病的活动性有关。SuF等[7]研究发现，x蛋白能使某些细胞对TNF-α引起凋亡杀伤产生敏感。

TGF-b1在慢性肝炎凋亡中也起一定作用。Yoo YD等[8]发现HBxAg具有上调TGF-b1基因的作用。TGF-b1尾静脉注射可抑制小鼠DNA合成，细胞凋亡率增加。

2 端粒酶与慢性肝病

Hidetoshi Tahara等[9]研究发现慢性活动性肝炎端粒酶活性轻型比重型低，又比肝硬化低，三者均低于肝癌。Nouso等[10]研究发现肝癌、慢性肝炎、正常组织端粒酶阳性分别为80%、17%、0%，且发现分化越差端粒酶阳性率越高。Yasumoto等[11]利用TRAP(telomeric repeat amplification protocol,）技术检测了正常增生活跃的组织，如小肠粘膜、皮肤生发层等发现有较弱的端粒酶活性。培养的肿瘤细胞其端粒酶活性尤以增殖分裂时为高[12]，细胞分化时活性下降到[13]，表明端粒酶表达与细胞增殖关系密切，且其表达受细胞增殖与分化的调控。那么在慢性肝病向肝癌发展过程中，随着端粒酶的活性增强，肝细胞分裂增殖是否可能增强，但还没有这方面的报道。

作者介绍：沈钦海（1966- ），男，硕士

3 p53在慢性肝病肝细胞中的调控

维普资讯 http://www.cqvip.com

p53基因编码的产物为p53蛋白，分子量为53kD，执行p53基因的调控功能。野生型p53与DNA有很高的亲和性，抑制DNA合成和复制，从而抑制细胞的增生。野生型p53半衰期较短，不易检测，突变型p53由于构象改变半衰期延长，故免疫组化法可检测。在慢性肝病中由于各种因素会引起肝细胞DNA的损伤，那么野生型p53对肝细胞损伤的修复起着重要作用，它不使损伤的肝细胞进入分裂增殖，若修复失败，野生型p53可起动凋亡基因引起受损伤的肝细胞凋亡。Owen-schaub等[14]发现在含有野生型p53基因腺病毒感染的不同的细胞系后，不同的细胞都上调了Fas表达。Muller M等[15]发现化疗药物如争光霉素可以导致Fas上调和在表达野生型p53的肝细胞中凋亡。有实验证明，野生型p53基因小量注入HepG2细胞中会导致对Fas刺激增加的反应。最近，张晓东等[16]研究发现转染野生型p53基因的早期肝癌细胞出现自发性凋亡。以上说明了野生型p53基因具有诱导细胞凋亡发生，而突变型p53基因则不具有这种功能。

Migasta等报道，p53基因是bcl-2和bax基因的调节因素，而bcl-2与bax在慢性肝病中具有不同比例。Oltvai和Wyllie[17]在体外研究发现，bcl-2与bax两者之间的比例关系影响着细胞的凋亡状态，p53可能通过bcl-2与bax的比例来影响肝细胞的凋亡。Chirillo等报道，HBx能促进p53诱导的细胞凋亡。

4 p53与端粒酶的关系

近年来研究发现突变型p53的过表达存在于人类许多恶性肿瘤中，而在85%的肿瘤中有端粒酶的活性，那么它们之间有什么关系呢？突变型p53具有促使受损伤的肝细胞分裂增殖，可能导致肝癌的发生。朱幼芙等报道，在癌前病变和肝癌组织中都发现了p53基因突变，分别为39.5%和27.8%。Zhao发现肝癌旁非典型增生结节中有少量细胞突变型p53阳性表达。Cohen[18]也发现3%的增生结节中突变型p53的表达。晚近Tahara在46例非肿瘤性肝病患者中，25例检测到端粒酶活性，防治发现端粒酶阳性的肝硬化者其癌症发生率明显高于端粒酶阴性的肝硬化者。作者认为在癌前病变组织中存在少数已永生化的细胞。从以上可以看出在突变型p53致肝癌的过程中，突变型p53促使受损细胞分裂加快，可能通过一些复杂的机制激活了端粒酶活性。有人提出了“端粒假说”，认为如果细胞被病毒转化，或者某些抑癌基因如p53，RB等突变，均能使细胞逃避M1期，并获得额外增生能力，而M2期细胞端粒太短使染色体不稳定，结果极少数细胞端粒酶被激活成为永生细胞，染色体恢复了稳定性。

另外，p53（野生型）与乙肝病毒x基因蛋白结合，也会导致p53功能的丧失，结果野生型p53的正常作用被抑制。Wang等[19]研究发现px～p53的复合物在体外使p53结合DNA的能力下降50%。由于px～p53结合使p53～ERCC3结合能力大大下降，p53与ERCC3结合是诱导细胞凋亡的重要机制之一。

在肝癌中，p53与端粒酶也呈现一定的关系。Nouso等研究发现，中分化度肝癌92%患者端粒酶呈强阳性，而高分化度肝癌强阳性率仅为53%。邹伟等发现突变型p53基因阳性表达率越高，肝癌细胞分化越差，但，分化越差的细胞端粒酶活性越强，这也说明了p53基因突变在肝癌发生、发展过程中，起着重要作用。

5 凋亡与端粒酶

在慢性肝病发展过程中，由于肝细胞受乙肝病毒的反复感染，结果出现肝细胞凋亡和分裂增生，细胞反复增殖会导致端粒酶的激活。凋亡与端粒酶共存于慢性肝病中，它们之间有什么关系呢？Hidetoshi Tahara等研究发现，在慢性肝炎向肝硬化、肝癌发展过程中，端粒酶活性呈现递增趋势。朱幼芙等报道Fas表达随肝病的发展逐渐降低。端粒酶与Fas表达呈反向关系，说明二者在肝病发展过程中可能起相反的作用。Mandal M[20]在最近的研究中，发现在具有低bcl-2蛋白表达的人类肺癌细胞中若稳定过量表达bcl-2蛋白，则伴随着端粒酶活性的增加，而bcl-2又是抑制凋亡基因。那么抑制端粒酶活性，是否能引起凋亡发生呢？Kondo Y等研究发现应用反义端粒酶表达载体抑制端粒酶活性，发现不仅能够降低端粒酶活性，而且也增加了对U251-/NG cells中诱导凋亡的敏感性。Feng等[21]用反义hTR抑制恶性肿瘤端粒酶活性可以引起肿瘤细胞凋亡。Kanazawa等研究发现双鬃鲨的核糖体酶(teloRz)能有效地抑制HepG2和H-7肝细胞株的端粒酶活性。

正常肝细胞是不存在端粒酶活性的，又没有大量凋亡发生，那么在乙肝病毒感染后现可引起凋亡发生，又能激活端粒酶活性，使二者同时存在。乙

维普资讯 http://www.cqvip.com

肝病毒是怎样使二者发生的呢？其中包括很多因素，最重要的可能是乙肝病毒x基因表达产物的作用。现在公认的x蛋白具有反式激活作用，在肝癌的发生中，x蛋白起重要作用，在进行的转基因鼠的实验中有肝肿瘤的发生。x蛋白与p53结合及激活一些癌基因，均可使肝癌发生，同时也激活了端粒酶的表达。如前所述x蛋白能使细胞对TNF-a引起的凋亡杀伤敏感，又能上调TGF-b1基因。由此x基因蛋白既可促使肝癌的发生，导致端粒酶的激活，又可使肝细胞凋亡，似乎二者是矛盾的，至于其中的机制还不清楚。

参 考 文 献

[1] Galle pR, Hofmann WJ.Walczak H. et al .Involvement of the CD95(Apo-1/Fas)receptor and ligand in liver damage[J]. J Exp Med, 1995;182: 1223-1230.

[2] Tsai SL,Chen PJ,Lai MY et al .Acute exacerbations of chronic type B hepatisis are accompanied by increased T cell responses to hepatitis B core and e antigens.Implications for hepatitis BE antigen serocoversion[J].J Clin Invest. 1992;89: 87-96.

[3] Nakamura K, Yuh K, Sugyo S, et al.Apoptosis observed in peripheral T lymphocytes from patients with chronic[J]. Gastroenterology 1996;111(1):156-164

[4] Rouvier E, Luciani MF, Golstein P.Fas involvement in Ca^{2+}-independent T cell-mediated cytotoxicity[J]. J Exp Med 1993; 177(1):195-200

[5] Natoli G, Ianni A, Costanzo A, De Petrillo G .et al. Resistance to Fas-mediated apoptosis in human hepatoma cells [J].Oncogene 1995;11(6):1157-1164

[6] Fang JW, Shen WW, Meager A, et al. .Activation of the tumor necrosis factor-alpha system in the liver in chronic[J]. Am J Gastroenterol 1996;91(4):748-753

[7] Su F, Schneider RJ.Hepatitis B virus HBx protein sensitizes cells to apoptotic killing by tumor necrosis factor alpha[J].Proc Natl Acad Sci U S A 1997;94(16):8744-8749

[8] Yoo YD, Ueda H, Park K, et al.Regulation of transforming growth factor-beta 1 expression by the hepatitis B [J].J Clin Invest 1996;97(2):388-395

[9] Hidetoshi Tahara,Toshio Nakanishi,Mikiya. et al.Telomerase Activity in Human Liver Tissues :Comparison between Chronic Liver Disease and Hepatocellular Carcinomas[J]. Cancer Res. 1995;55:2734-2734.

[10] Nouso K. Urabe Y. Higashi T, et al.Telomerase as a tool for the differential diagnosis of human hepatocellular carcinoma [J].Cancer 1996;78(2):232-236

[11] Yasumoto S, Kunimura C, Kikuchi K. Telomerase activity in normal human epithelial cells[J].Oncogene 1996;13(2):433-439.

[12] Zhu X. Kumar R, Mandal M,et al.Cell cycle-dependent modulation of telomerase activity in tumor cells[J].Proc Natl Acad Sci U S A 1996;93(12):6091-6095

[13] Sharma HW, Sokoloski JA. Perez JR.Differentiation of immortal cells inhibits telomerase activity[J].Proc Natl Acad Sci U S A 1995;92(26):12343-12346.

[14] Owen-Schaub LB,Zhang W,Cusack JC,et al.Wildtype human p53 and a temperature-sensitive mutant induce FAS/APO-1 expression[J]. Mol Cell Biol, 1995;15: 3032-3040.

[15] Muller M,Stand S,Hug H, et al. Drug-induced apoptosis inhepatoma cells is mediated by theCD59(APO-1/Fas)receptor/ligand system and involves activation of p53[J]. J Clin Invest. 1997;99: 403-413.

[16] 张晓东，王文亮，杨 帆. 转染野生型基因稳定表达后早期肝癌细胞的自发性凋亡[J]. 临床与实验病理学杂志、J Clin Exp Pathol. 1998;14(2): 103-105.

[17] Wyllie AHApoptosis. Death gets a brake[J].Nature 1994: 2618.

[18] Cohen C, DeRose P.Bmmunohistochemical p53 in hepatocellular carcinoma and liver cell dysplasia[J].Mod Pathol 1994;7(5):536-539

[19] Wang XW,Forrester K,Yeh H, et al. Hepatitis B virus X protein inhibits p53 sequence-specific DNA binding transcripational activity,and associated with tanscription factor ERCC[J] . Proc Natl Acad Sci USA, 1994;1: 2230.

[20] Mandal M. Kumar RBcl-2 modulates telomerase activity [J].J Biol Chem 1997;272(22):14183-14187

[21] Feng J. The RNA component of human telomerase[J]. Science. 1995;269:1236-1241.