

丙型肝炎病毒核心蛋白对肝癌细胞 stat3 通路及细胞周期蛋白 cyclin D1 的调控作用

唐晶¹, 周嘉嘉¹, 邓小耿^{1*}, 程帝², 张杰¹, 伍耀豪¹, 曾乐祥¹, 邱荣林¹, 陈汝福¹
(中山大学 1.孙逸仙纪念医院外科, 广东广州 510120; 2.附属第一医院黄埔院区肿瘤科, 广东广州 510080)

摘要:【目的】探讨丙型肝炎病毒核心蛋白(HCVc)是否调控肝癌细胞中 stat3 通路及细胞周期蛋白 cyclin D1 的表达, 参与肝癌细胞的恶性生物学行为。【方法】将含 HCVc 基因的真核表达质粒 pEGFP-N3-HCVc 瞬时转染人肝癌细胞 HepG2 使 HCVc 过表达, 用 siRNA-HCVc 敲除 HepG2 细胞中 HCVc 的表达, 荧光显微镜检测绿色荧光蛋白(GFP)的表达, Western blot 检测 HCVc、总 stat3(stat3)、磷酸化 stat3(p-stat3)及 cyclin D1 蛋白的表达; 流式细胞术及 MTT 法检测细胞周期变化及细胞增殖情况。【结果】Western blot 结果显示, 通过瞬时转染而过表达 HCVc 的 HepG2 细胞中, HCVc、p-stat3 及 cyclin D1 的蛋白水平高于空白质粒转染组和未转染组; siRNA-HCVc 敲除 HCVc 表达后, HCVc、p-stat3 和 cyclin D1 蛋白的表达下调; 酪氨酸磷酸化抑制剂 AG490(JAK2 特异性拮抗剂)处理可下调过表达 HCVc 的 HepG2 细胞中 p-stat3 和 cyclin D1 蛋白的表达。流式细胞术显示过表达 HCVc 可促进细胞向 G2/M 期进展。MTT 法结果显示过表达 HCVc 使 HepG2 细胞增殖能力增加。【结论】HCVc 可活化 HepG2 细胞中 stat3 通路, 调控细胞周期蛋白 cyclin D1 的表达, 促进细胞周期进展及细胞增殖, 可能与肝癌的发展有关。

关键词: 丙型肝炎病毒核心蛋白; 肝癌; stat3; cyclin D1

中图分类号: R657.3

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2013)04-0498-07

Hepatitis C Virus Core Protein Activates stat3 Pathway and Regulates Cell Cycle Protein Cyclin D1 Expression in Hepatocellular Cells

TANG Jing¹, ZHOU Jia-jia¹, DENG Xiao-geng^{1*}, CHENG Di², ZHANG Jie¹, WU Yao-hao¹, ZENG Le-xiang¹,
QIU Rong-lin¹, CHEN Ru-fu¹

(1.Department of Surgery, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China;

2.Department of Oncology, Huangpu District, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the role of hepatitis C virus core protein (HCVc) on the activation of stat3 pathway and regulation of cell cycle protein cyclin D1 expression in hepatocellular cells, which might involve in the malignant behavior of liver cancer cells. 【Methods】Recombinant plasmid pEGFP-N3-HCVc containing HCVc gene was transiently transfected to overexpress HCVc in HepG2 cells, and siRNAs targeting HCVc was used to knockdown the expression of HCVc in HepG2 cells. Fluorescence microscopy was used to detect green fluorescent protein (GFP) expression, Western blot analysis was used to detect HCVc, stat3, phosphorylated stat3 (p-stat3) and cyclin D1 protein expression. Flow cytometry and MTT assay was employed to detect cell cycle and cell proliferation. 【Results】Western blot analysis showed that HCVc, p-STAT3, and cyclin D1 protein level were higher in HCVc transiently transfected HepG2 cells than the blank plasmid transfected group and untransfected group, knockdown of HCVc expression by siRNAs can down-regulate the expression of p-stat3 and cyclin D1. Treatment of AG490 can downregulate the expression of p-stat3 and cyclin D1 in HCVc transfected HepG2 cells. Flow cytometry showed that overexpression of HCVc promote the progression of cell cycle into G2/M phase. MTT assay showed that overexpression of HCVc increases the proliferation of HepG2 cells. 【Conclusions】HCVc activate stat3 pathway and regulates cell cycle protein cyclin D1 expression to promote cell cycle progression and cell proliferation in HepG2 cells, which may be associated with the development of liver cancer.

Key words: hepatitis C virus core protein; hepatocellular carcinoma; stat3; cyclin D1

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2013, 34(4):498-504]

收稿日期: 2012-12-09

基金项目: 国家自然科学基金(30872485, 81000889)

作者简介: 唐晶, 硕士研究生, E-mail: tj3924@sina.com; * 通信作者: 邓小耿, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, E-mail: dengxiaogeng@yahoo.com.cn

丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染被认为是肝硬化和肝细胞癌发病的重要因素^[1],其中 HCV 核心蛋白(HCV core protein, HCVc)是具有致癌潜能的重要结构蛋白,转基因鼠模型已证实 HCVc 的表达可导致肝细胞癌的发生^[2]。目前认为 HCVc 作为一个多功能蛋白,调控多种信号转导通路,诱导细胞的恶性转化,参与肿瘤的发生发展^[3,4]。研究发现,信号转导子和转录激活子 3(signal transducer and activator of transcription 3, stat3)在正常细胞转化为癌细胞的过程中发挥重要作用^[5]。然而 HCVc 对 stat3 活性的影响的研究结果并不一致,有研究显示 HCVc 具有活化 stat3 的功能^[6],亦有学者认为 HCVc 抑制 stat3 的活化^[7-8]。为研究 HCVc 对肝癌细胞中 stat3 活性的影响,本研究利用前期构建的 HCVc 质粒和 siRNA,转染肝癌细胞株 HepG2,检测其对总 stat3、磷酸化 stat3(p-stat3)和下游靶基因 cyclin D1 表达的调控作用及功能变化。

1 材料与方法

1.1 材料

人肝癌细胞株 HepG2 细胞由本实验室保存,含 HCVc 基因的真核表达质粒 pEGFP-N3-HCVc(以下简称 HCVc 质粒)由本课题组构建并保存^[9]。靶向 HCVc 的 siRNA 序列参考文献^[10]设计并合成。DMEM 培养基购自 Gibco 公司;LipofectamineTM 2000 购自 Invitrogen 公司;HCVc 抗体购自 Abcam 公司;stat3 抗体、p-stat3 抗体和 cyclin D1 抗体购自 CST 公司;4-甲基偶氮唑蓝(MTT)、细胞裂解液 RIPA 及蛋白酶抑制剂 PMSF 购自碧云天生物技术有限公司;二甲基亚砜(DMSO)购自 Sigma 公司。

1.2 细胞培养及细胞转染

HepG2 细胞培养于含 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中,置于 37℃、体积分数为 5% CO₂、相对湿度为 95%的恒温培养箱中培养。每 1~2 d 换液,细胞生长接近 95%融合时,胰酶消化并传代。将(3~4)×10⁵ HepG2 细胞重悬于 2 mL 含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基中,接种于 6 孔板中,继续培养 24 h,使细胞达 90%~95%融合。参考 LipofectamineTM 2000 说明书进行质粒及 siRNA 转染:①取 5 个干燥无菌的 EP 管,每只 EP 管中加入 250 μL 的 Opti-MEM 无血清培养基。第 1 只

EP 管中加入 3 μL NC 质粒(500 ng/μL),第 2 只加入 3 μL HCV-c 质粒(500 ng/μL),第 3 只中加入 3 μL HCVc 质粒(500 ng/μL)+siRNA-NC 3 μL(50 pmol/μL),第 4 只中加入 3 μL HCV-c 质粒(500 ng/μL)+siRNA-HCVc 3 μL(50 pmol/μL),第 5 只同第 2 支,轻轻吹打混匀。②另取 5 支干燥无菌的 EP 管,每只 EP 管中加入 250 μL 的 Opti-MEM 无血清培养基及 Lipofectamin 2000 6 μL,轻轻混匀;5 min 内分别将加入了质粒或 siRNA 的无血清培养基同加入了 Lipofectamin 2000 的溶液混合,并轻柔吹打均匀,室温静置 20 min。③将六孔板中的培养基移除,1 mL PBS 润洗后,空白对照组加入 2 mL 的 Opti-MEM 无血清培养基,其余转染的五组加入 1.5 mL 的 Opti-MEM 无血清培养基,再分别将 5 组转染液逐滴滴入对应的培养孔中。小心放入培养箱中继续培养。转染 6 h 后更换为含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基继续培养。

1.3 实验分组及处理

实验共分 6 组:第 1 组为空白对照组;第 2 组为空白质粒转染组;第 3 组为 HCVc 质粒转染组;第 4 组为 HCVc+siRNA-NC 共转染组;第 5 组为 HCVc+siRNA-HCVc 共转染组;第 6 组为 HCVc 转染+AG490 处理组。第 6 组细胞,在转染 24 h 后加入 AG490,使终浓度为 25 μmol/L。加药过程注意避光。

1.4 荧光显微镜观察绿色荧光蛋白荧光表达

细胞转染 48 h 后,倒置相差荧光显微镜下观察 GFP 荧光表达及转染后细胞形态学特点。

1.5 Western blot 检测 HCVc、stat3、p-stat3 和 cyclin D1 蛋白表达

细胞转染 48 h 后按说明书提取总蛋白:将 6 孔板置于冰上,用预冷的 PBS 润洗 2 遍,尽量吸净 PBS,每孔加细胞裂解液混合物(RIPA:PMSF=1:100)60~80 μL,放置冰上 30 min 后收集细胞及裂解液于 EP 管中,4℃ 14 000 r/min(半径为 8 cm),离心 30 min 后,吸取上清液即为样品蛋白。BCA 法测蛋白浓度后按 20 μL 上样体系分装,即每 20 μL 上样液中含样品蛋白 50 μg,5×蛋白上样缓冲液 4 μL,剩余体积用 RIPA 配平,95℃ 10 min 变性。经 12% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳后,转印至聚偏二氟乙烯膜膜上。PVDF 膜以 50 g/L 脱脂奶粉封闭 1~3 h,加入一抗孵育过夜。经 TBST 漂洗 10 min×3 次后,加入对应的二抗,室温孵育 1 h,

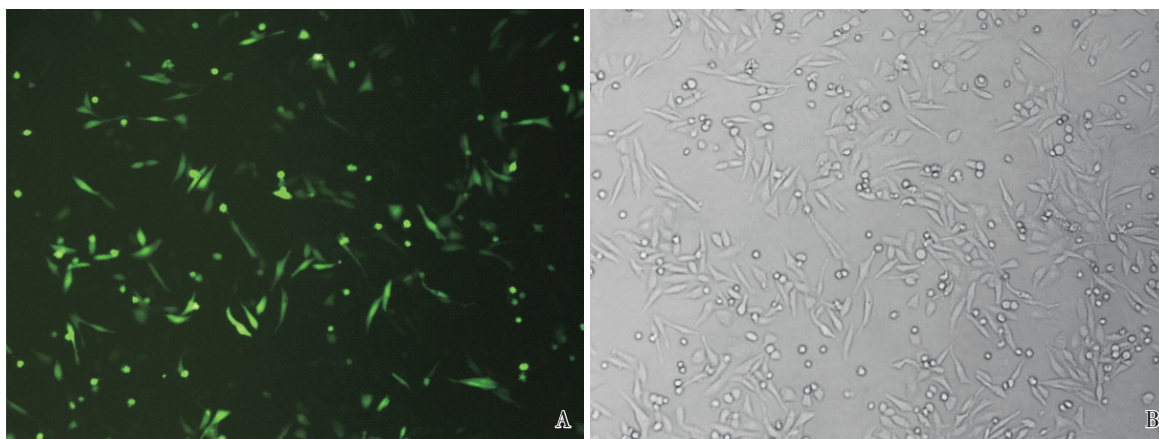


图 1 HepG2 细胞经 pEGFP-N3-HCVc 转染 48 h 后的荧光和普通光图片

Fig.1 Fluorescence emitted by HepG2 cells 48 h after transfection

A: fluorescence; B: general light (Original magnification: $\times 400$)

TBST漂洗 10 min $\times$ 3 次,ECL 化学发光法试剂盒显影、曝光。

1.6 流式细胞术检测细胞周期

细胞转染 48 h 后,收集细胞,用 PBS 制备成单细胞悬液,750 mL/L 乙醇 4℃固定过夜,固定后细胞经 PBS 洗涤 2 次。避光条件下加入 PI 染液,室温孵育 30 min,用流式细胞仪分析样品。

1.7 MTT 法检测细胞增殖

取处于对数期生长的 HepG2 细胞,以细胞密度为 1×10^6 /mL 接种于 96 孔板,培养 24 h,约 70% ~ 80%融合后,转染目的质粒,分为 HCVc 质粒组,空质粒转染组,空白对照组,置于培养箱中,培养 24、48、72、96 h 后,移出培养液,换入无血清 DMEM 培养液 200 μ L/孔,并每孔加入 MTT(5 mg/mL)10 μ L。继续培养 4 h,弃去原培养液,每孔中加入 DMSO 100 μ L,置摇床上低速振荡 10 min,使结晶物充分溶解并于酶联免疫检测仪 490 nm 波长处检测吸光度(A)值,以 A 值反映活细胞水平,实验重复 3 次。

1.8 统计学处理

每组实验重复 3 次,数据以均数 $\pm$ 标准差表示,应用统计软件包 SPSS 13.0 进行统计学分析,采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 细胞转染荧光检测

细胞转染 48 h 后可见较多特异性 GFP 绿色

荧光的表达,表明转染较为成功(图 1A、B)。

2.2 HCVc 表达鉴定

Western blot 结果显示:转染 HCVc 质粒的 HepG2 细胞中可明显看到有 HCVc 蛋白的表达,而转染空质粒的 HepG2 细胞中未见 HCVc 蛋白的表达,表明含 HCVc 基因的重组真核表达质粒转染成功,并使 HepG2 细胞过表达 HCVc(图 2)。

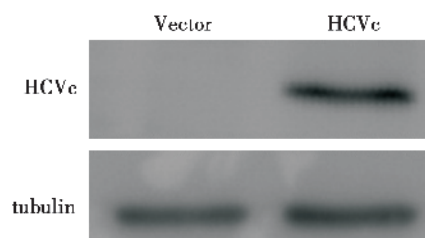


图 2 Western blot 验证瞬时转染使 HepG2 细胞表达 HCVc

Fig.2 Western blot analysis for the expression of HCVc in transfected HepG2 cells

2.3 HCVc 对 stat3、p-stat3 和 cyclin D1 蛋白表达的影响

2.3.1 转染 HCVc 对 stat3、p-stat3 和 cyclin D1 蛋白表达的影响 Western blot 结果如图 3 显示。转染而过表达 HCVc 的 HepG2 细胞中,空白组、转染空质粒组、转染目的质粒组的 p-stat3/tubulin 灰度值比值分别是 0.16 ± 0.06 、 0.26 ± 0.10 、 0.84 ± 0.18 ,stat3/tubulin 灰度值比值分别是 1.75 ± 0.11 、 1.68 ± 0.08 、 1.79 ± 0.17 ,cyclin D1/tubulin 灰度值比值分别是 0.29 ± 0.16 、 0.40 ± 0.20 、 1.10 ± 0.06 ,与

空白组和空质粒组比较,仅有转染 HCVc 质粒组有 HCVc 蛋白的表达, p-stat3 及 cyclin D1 的蛋白水平均高于空白质粒转染组和空白对照组,差异有统计学意义 ($N = 3, P < 0.05$),而各组中总 stat3 的表达无显著变化 ($N = 3, P > 0.05$,图 4)。

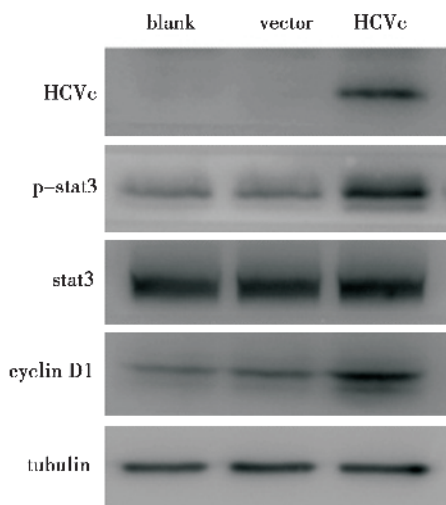


图3 转染 HCVc 对 HepG2 细胞 stat3、p-stat3 和 cyclin D1 蛋白表达的影响

Fig.3 Effect of HCVc transfection on the expression of stat3, p-stat3 and cyclin D1 protein in HepG2 cells

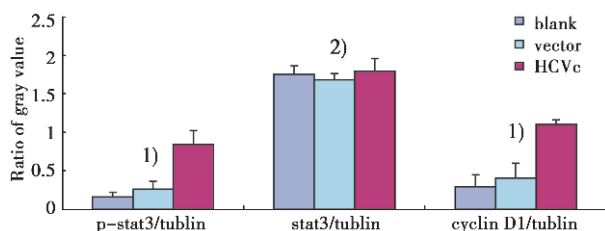


图4 转染 HCVc 对 HepG2 细胞 stat3、p-stat3 和 cyclin D1 蛋白表达影响定量图

Fig.4 Quantitative figure for the effect of HCVc transfection on the expression of stat3, p-stat3 and cyclin D1 protein in HepG2 cells

1) $P < 0.05$; 2) $P > 0.05$

2.3.2 敲除 HCVc 对 stat3、p-stat3 和 cyclin D1 蛋白表达的影响 Western blot 结果如图 5 显示。转染 HCVc 质粒组、共转染 HCVc+siRNA-NC 组、共转染 HCVc+siRNA-HCVc 组的 HCVc/tubulin 灰度值比值分别是 1.27 ± 0.32 、 0.82 ± 0.26 、 0.32 ± 0.12 , p-stat3/tubulin 灰度值比值分别是 1.17 ± 0.16 、 1.05 ± 0.12 、 0.20 ± 0.08 , stat3/tubulin 灰度值

比值分别是 1.49 ± 0.26 、 1.49 ± 0.12 、 1.47 ± 0.08 , cyclin D1/tubulin 灰度值比值分别是 1.29 ± 0.29 、 1.31 ± 0.22 、 0.65 ± 0.15 , 与转染 HCVc 组和转染 siRNA-NC 组比较,共转染 siRNA-HCVc 组的 HCVc、p-stat3 和 cyclin D1 的蛋白水平显著低于转染 HCVc 组和转染 siRNA-NC 组,差异有统计学意义 ($N = 3, P < 0.05$),各组中总 stat3 的表达无显著变化 ($N = 3, P > 0.05$)。结果表明,siRNA-HCVc 可有效敲除 HCVc 表达,HCVc 表达下调后, p-stat3 和 cyclin D1 蛋白表达亦下调,而总 stat3 的表达无显著变化(图 6)。

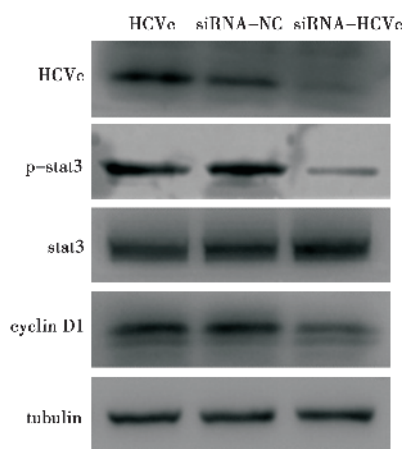


图5 敲除 HCVc 对 HepG2 细胞 stat3、p-stat3 和 cyclin D1 蛋白表达的影响

Fig.5 Effect of knockdown of HCVc on the expression of stat3, p-stat3 and cyclin D1 protein in HepG2 cells

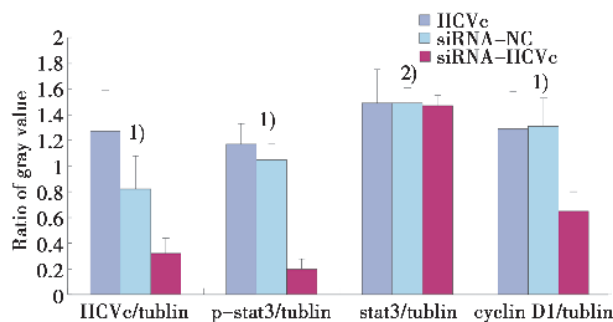


图6 敲除 HCVc 对 HepG2 细胞 stat3、p-stat3 和 cyclin D1 蛋白表达影响定量图

Fig.6 Quantitative figure for effect of knockdown of HCVc on the expression of stat3, p-stat3 and cyclin D1 protein in HepG2 cells

1) $P < 0.05$; 2) $P > 0.05$

2.4 AG490 处理对 stat3、p-stat3 和 cyclin D1 蛋白表达的影响

Western blot 结果显示如图 7。转染 HCVc 质粒组、转染 HCVc 质粒+AG490 处理组的 HCVc/tublin 灰度值比值分别是 1.37 ± 0.30 、 1.16 ± 0.24 ，p-stat3/tublin 灰度值比值分别是 1.58 ± 0.17 、 0.21 ± 0.12 ，stat3/tublin 灰度值比值分别是 1.28 ± 0.26 、 1.31 ± 0.15 ，cyclin D1/tublin 灰度值比值分别是 1.96 ± 0.19 、 1.24 ± 0.09 ，结果说明 AG490 处理可下调过表达 HCVc 的 HepG2 细胞中 p-stat3 和 cyclin D1 蛋白的表达，差异有统计学意义 ($N = 3, P < 0.05$)；但是并不影响 HCVc 和总 stat3 的表达，差异无统计学意义 ($N = 3, P > 0.05$ ，图 8)。

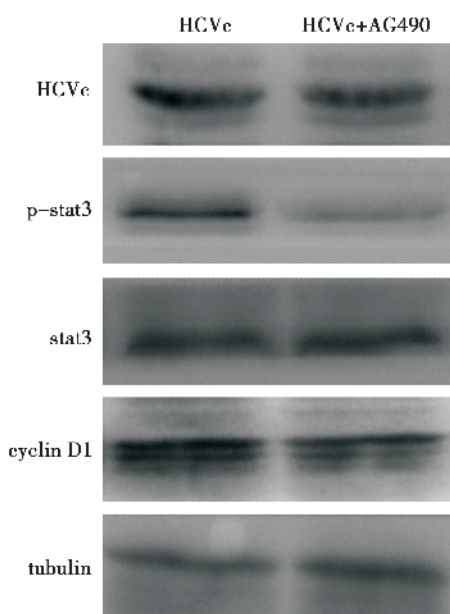


图 7 AG490 处理对 stat3、p-stat3 和 cyclin D1 蛋白表达的影响

Fig.7 Effect of AG490 on the expression of stat3, p-stat3 and cyclin D1 protein in HepG2 cells

2.5 HCVc 对 HepG2 细胞的细胞周期及细胞增殖的影响

流式细胞术结果显示，空质粒组细胞 G0/G1 期为 $(79.33 \pm 1.3)\%$ ；HCVc 质粒转染组细胞 G0/G1 期降低，为 $(60.17 \pm 2.5)\%$ 。HCVc 质粒转染组细胞 S 期及 G2/M 期细胞数增加(图 9)。增殖指数 $PI = (S + G2/M) / (G0/G1 + S + G2/M)$ ，可以看出 HCVc 质粒转染组的细胞增殖指数显著增加，提示 HCVc 蛋白可促进细胞增殖 ($N = 3, P < 0.05$)。MTT

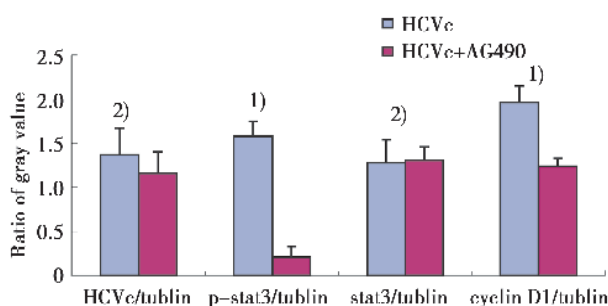


图 8 AG490 处理对 stat3、p-stat3 和 cyclin D1 蛋白表达影响定量图

Fig.8 Quantitative figure for effect of AG490 on the expression of stat3, p-stat3, and cyclin D1 protein in HepG2 cells

1) $P < 0.05$; 2) $P > 0.05$

结果显示，HCVc 质粒转染组、空质粒组、空白组细胞生长曲线相比，在相同的时间里 HCVc 质粒转染组的吸光值升高最多，吸光值同活细胞数成正比，说明 HCVc 质粒转染组细胞生长速度明显增快(图 10)。

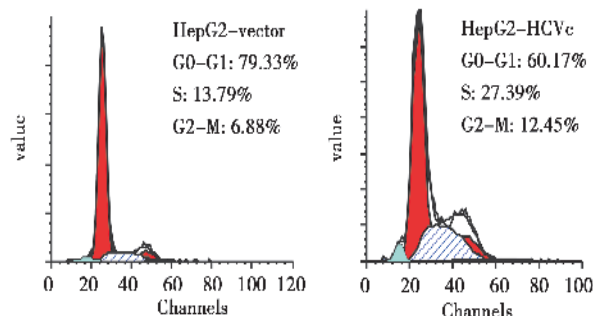


图 9 HCVc 转染对 HepG2 细胞周期的影响

Fig.9 Cell cycle changes of HepG2 cells after HCVc transfection

A: HepG2-vector; B: HepG2-HCVc

3 讨论

STAT (signal transducers and activators of transcription, 信号传导和转录激活因子), 是一类重要的核转录因子，共有 7 个成员: stat1, stat2, stat3, stat4, stat5a, stat5b, stat6。stat3 是 STATs 家族成员之一，参与细胞生长、分化、增生、恶性转化及凋亡抑制等生理功能的调控^[11]，其活化形式为磷酸化的 stat3(p-stat3)。JAK(just another kinase 或

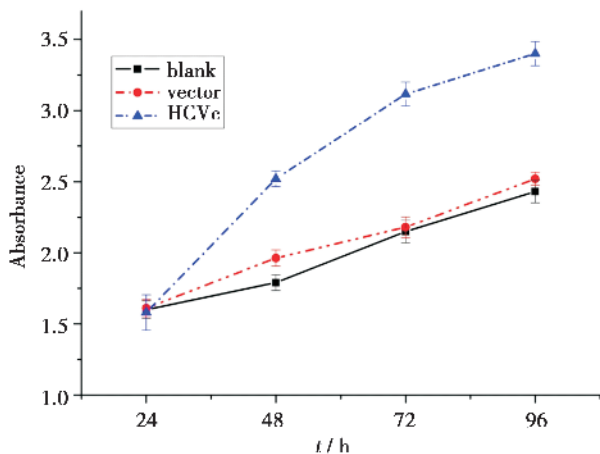


图 10 HCVc 转染对 HepG2 细胞增殖的影响

Fig.10 Cell viability of RBE cells assessed by MTT assay after HCVc transfection

Black line; control group; Red line; plasma transfection; Blue line; HCVc plasma transfection

janus kinase) 是一类非受体酪氨酸激酶家族, 已发现四个成员, 即 JAK1、JAK2、JAK3 和 TYK1, JAK 的底物即为 STAT。stat3 通过其酪氨酸位点磷酸化被 JAK 磷酸化后激活成为 p-stat3, 激活的 stat3 以二聚体的形式进入细胞核, 调控靶基因的转录表达。stat3 的异常激活可导致细胞异常增殖和恶性转化, 参与肿瘤的发生发展^[12]。研究发现, 肝癌的发生过程中均有 stat3 等核转录因子的激活, 该现象被认为是人肝细胞癌发生的早期事件^[13]。为明确 HCVc 对 stat3 活性的调控作用, 我们采用过表达和 RNAi 敲除两个途径开展研究, 结果显示过表达 HCVc 可引起 HepG2 细胞中磷酸化 stat3 表达升高, 并不影响总 stat3 的表达; 敲除 HCVc 表达后, 磷酸化 stat3 表达随之下降, 而总 stat3 的表达仍不受影响, 表明 HCVc 在 HepG2 细胞中存在上调 p-stat3 蛋白水平的作用, 具有激活 stat3 蛋白的功能。HCVc 可活化 HepG2 细胞中 JAK/STAT3 通路, 可能是通过抑制 p-stat3 的去磷酸化从而维持住 stat3 的活化形式, 也有可能是通过招募酪氨酸激酶作用于 stat 的酪氨酸残基进而活化 stat3 成为 p-stat3^[6]。而无论何种机制, 最终都是通过由活化的 p-stat3 形成的二聚体发生细胞内转位进入细胞核中, 进而调控靶基因的转录及表达^[14]。

stat3 被认为是癌基因, 但它本身并不直接引起癌变, 而是通过激活下游靶基因诱导某些关键

基因产物的表达来影响肿瘤发生发展, 细胞周期蛋白 cyclin D1 是其中的一个关键靶基因^[15]。细胞周期可分为 G0/G1、S、G2 及 M 四个阶段, 在各个时期各有不同的周期蛋白所调控, 不同的周期蛋白在细胞周期的不同阶段发生作用。cyclin D1 主要调节 G1 期向 S 期的过渡。已发现多种肿瘤中都有 cyclin D1 的高表达, cyclin D1 通过调节细胞周期使之始终处于旺盛分裂状态, 细胞能够不断分裂增殖而最终形成肿瘤^[15]。我们发现, 在过表达 HCVc 的 HepG2 细胞中, cyclin D1 的表达升高; 在敲除 HCVc 的表达后, cyclin D1 的表达有明显下降, 与 p-stat3 的变化规律一致, 而 stat3 的表达水平并未见到与 Cyclin D1 相一致的趋势; 表明 HCVc 可调控 stat3 下游基因产物 cyclin D1 蛋白的表达, 调控 cyclin D1 表达的是 p-stat3, 即激活的 stat3。

stat3 通路活化与其上游 JAK 激酶的异常激活有关^[16]。JAK/STAT 代表的是一条极其快速从细胞外到细胞核的信号转导通路, 胞浆中 JAK 和 STAT 是细胞内和受体相结合蛋白, 可完成从胞质到核内的信号转导^[16]。AG490 是 JAK 激酶的特异性抑制剂, 可阻断 JAK 激酶活性, 抑制 stat3 通路活化。我们采用 AG490 处理过表达 HCVc 的 HepG2 细胞后, p-stat3 和 cyclin D1 表达水平较未经 AG490 处理的转染组明显下降, stat3 和 HCVc 的表达并不受影响, 表明阻断 JAK 激酶活性, 可抑制 stat3 通路的活化及下游 cyclin D1 的表达。

研究认为, 肿瘤的发生与细胞周期和细胞的异常增殖也有着密切的关系^[11-12]。流式细胞术结果 (图 9) 显示转染 HCVc 的 HepG2 细胞周期中 G1 期细胞减少, G2/M 及 S 期细胞增多, 表明 HCVc 可促进 HepG2 细胞由 G1 期进入 S 期, 加快细胞周期进程, 图 10 也证实了转染 HCVc 质粒的 HepG2 细胞增殖能力增加。提示 HCVc 可能通过促进细胞周期进程及细胞增殖, 参与肝癌细胞的发展。

综上, 我们认为 HCVc 可活化 JAK/stat3 信号转导途径上调 HepG2 细胞中 cyclin D1 的表达和生物学活性, 影响肝癌细胞的恶性生物学行为。将来或可把 stat3 作为药物或基因治疗的一个靶标, 通过阻断引起 stat3 激活的信号转导途径或通过抑制 stat3 与靶基因的结合活性而达到治疗肝癌的目的。

参考文献:

- [1] Tanaka M, Katayama F, Kato H, et al. Hepatitis B and C virus infection and hepatocellular carcinoma in China: a review of epidemiology and control measures [J]. J Epidemiol, 2011, 21(6): 401-416.
- [2] Moriya K, Fujie H, Shintani Y, et al. The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice [J]. Nat Med, 1998, 4(9): 1065-1067.
- [3] Park J, Kang W, Ryu SW, et al. Hepatitis C virus infection enhances TNF α -induced cell death via suppression of NF- κ B [J]. Hepatology, 2012, 56(3): 831-840.
- [4] Li ZH, Tang QB, Wang J, et al. Hepatitis C virus core protein induces malignant transformation of biliary epithelial cells by activating nuclear factor -kappaB pathway [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2010, 25(7): 1315-1320.
- [5] Demaria M, Misale S, Giorgi C, et al. STAT3 can serve as a hit in the process of malignant transformation of primary cells [J]. Cell Death Differ, 2012, 19(8): 1390-1397.
- [6] Yoshida T, Hanada T, Tokuhisa T, et al. Activation of STAT3 by the hepatitis C virus core protein leads to cellular transformation [J]. J Exp Med, 2002, 196(5): 641-653.
- [7] 冯德云, 李波, 郑晖, 等. 丙型肝炎病毒核心蛋白对核转录因子 stat3 活性的调控作用 [J]. 中南大学学报: 医学版, 2005, 30(6): 631-635.
Feng DY, Li B, Zheng H, et al. Regulation of hepatitis C virus core protein on the activity of signal transducers and activators of transcription 3 [J]. J Cent South Univ: Med Sci, 2005, 30(6): 631-635.
- [8] Heim MH, Moradpour D, Blum HE. Expression of hepatitis C virus proteins inhibits signal transduction through the Jak-STAT pathway [J]. J Virol, 1999, 73(10): 8469-8475.
- [9] 廖巧芳, 李志花, 陈汝福, 等. 丙型肝炎病毒核心蛋白对胆管癌细胞 NFAT1 基因表达的影响 [J]. 南方医科大学学报. 2012, 32(6): 789-793.
Liao QF, Li ZH, Chen RF, et al. Effect of hepatitis C virus core gene transfection on NFAT1 expression in human intrahepatic cholangiocarcinoma cells [J]. J South Med Univ, 2012, 32(6): 789-793.
- [10] Kim M, Shin D, Kim SI, et al. Inhibition of hepatitis C virus gene expression by small interfering RNAs using a tri-cistronic full-length viral replicon and a transient mouse model [J]. Virus Res, 2006, 122(1-2): 1-10.
- [11] Bowman T, Garcia R, Turkson J, et al. STATs in oncogenesis [J]. Oncogene, 2000, 19(21): 2474-2488.
- [12] Bromberg JF, Wrzeszczynska MH, Devgan G, et al. Stat3 as an oncogene [J]. Cell, 1999, 98(3): 295-303.
- [13] Liu P, Kimmoun E, Legrand A, et al. Activation of NF-kappa B, AP-1 and STAT transcription factors is a frequent and early event in human hepatocellular carcinomas [J]. J Hepatol, 2002, 37(1): 63-71.
- [14] Leonard WJ. Role of Jak kinases and STATs in cytokine signal transduction [J]. Int J Hematol, 2001, 73(3): 271-277.
- [15] Lassmann S, Schuster I, Walch A, et al. STAT3 mRNA and protein expression in colorectal cancer: effects on STAT3-inducible targets linked to cell survival and proliferation [J]. J Clin Pathol, 2007, 60(2): 173-179.
- [16] Yadav A, Kalita A, Dhillon S, et al. JAK/STAT3 pathway is involved in survival of neurons in response to insulin-like growth factor and negatively regulated by suppressor of cytokine signaling-3 [J]. J Biol Chem, 2005, 280(36): 31830-31840.

(编辑 徐杰)