

丙型肝炎病毒感染与肝细胞癌相关关系的研究进展 *

李 曼 冯德云[△]

(中南大学湘雅医学院病理学系 湖南 长沙 410013)

摘要 :世界上有数亿的人口患有丙型肝炎 ,而丙型肝炎病毒(HCV)的感染易转为慢性 ,引起肝细胞炎性坏死及再生 ,导致肝纤维化、硬化甚至肝细胞癌(HCC) ,是危害人类健康的一个重要卫生问题。HCV 的感染可导致 HCC 的发生 ,但 HCV 相关性 HCC 的发生机制尚不清楚。免疫逃避机制是感染慢性化的一个重要原因 ,病毒通过其基因组编码的蛋白使肝细胞发生转化 ,可能是肝细胞癌变的重要机制。

关键词 :丙型肝炎病毒 ;肝细胞肝癌 ;发生机制

中图分类号 :R735.7 **文献标识码** :A **文章编号** :1673-6273(2011)09-1797-04

Relationship Between HCV Infection and Hepatocarcinoma*

LI Man, FENG De-yun[△]

(Department of Pathology, Xiangya school of medical, Central South University, Changsha, 410013, China)

ABSTRACT: There is hundreds of millions of population in the world suffering from hepatitis C, and this is an important health problem to human. Hepatitis C virus(HCV) infection prone to chronic inflammation, and cause injury, necrosis and regeneration, leading to liver fibrosis and even hepatocellular carcinoma(HCC). HCV infection can lead to the occurrence of HCC, but HCV-related pathogenesis of HCC has been in the study. Immune escape mechanism is an important reason for chronic infection, and the virus proteins may be the important mechanism for malignant transformation.

Key words: HCV; Hepatocellular carcinoma; Mechanism

Chinese Library Classification: R735.7 **Document code**: A

Article ID:1673-6273(2011)09-1797-04

肝细胞肝癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的恶性肿瘤之一。其恶性程度高,5年存活率小于3%。发达国家中除日本外,HCC的发病率均很低。相对而言,80%以上的病例发生于发展中国家,以非洲的中西部及亚洲的发病率最高,其中我国就占有55%。目前HCC的发病率还在持续升高,统计分析2005年的发病人数是1975年的3倍,从1.6/十万上升至4.9/十万^[1]。HCC的致病因素有多种,如病毒感染、黄曲霉素B1的摄入及酗酒等。在我国,最常见的病因为肝炎病毒感染,尤其是HBV、HCV的感染。

丙型肝炎病毒(HCV)的感染是一个世界性的健康问题^[2],因其发病率逐年增高,致病性强,易转为慢性,导致肝脏慢性炎症坏死和纤维化,并可发展为肝硬化和肝细胞癌。尽管已对HCV的分子结构、蛋白功能及生物学特性等进行了较深入的研究,但HCV在HCC发病中的作用机制尚不清楚,其研究受到广泛关注。

1 HCV 病毒及其感染

丙型肝炎病毒(HCV)是一种具有包膜结构的单股正链RNA病毒,病毒体呈球形,主要在肝细胞内复制。HCV属黄病毒科,有6个基因型及50多个亚型,其编码3010~3030个氨

基酸的多蛋白前体,在病毒及宿主蛋白酶的作用下,被分裂加工为成熟的结构蛋白(C,E1,E2)和非结构蛋白(NS1,NS2,NS3,NS4A,NS4B,NS5A,NS5B)。

人类和黑猩猩是其主要感染宿主^[3,4],人感染HCV病毒后有一个急性期,如宿主的免疫系统能有效的清除感染,则不会转为慢性,否则转为慢性持续性感染^[5-8]。约有70~80%的HCV感染者可以转为慢性,主要是HCV有逃避免疫监视的能力^[9-10]。HCV会适应环境而发生突变,加之HCV RNA编码的RNA聚合酶缺乏3'-5'核酸外切酶校正功能,致使病毒复制的忠实性低,导致HCV基因组具有高度的异质性^[11-13]。由于病毒的高复制率及RNA聚合酶校正活性的缺乏,逐渐形成新的HCV突变株,从而逃避机体的免疫监视^[14]。另外HCV还可通过病毒基因表达,干扰抗原提呈来减少机体免疫系统发现HCV的机会,以及降低抗病毒细胞因子效率,增加HCV感染细胞对CTL介导杀伤的抵抗力以及突变导致免疫逃避。因此HCV感染慢性化易导致肝纤维化、肝硬化及肝肿瘤的发生^[5]。

2 HCV-HCC 发生机制

HCV发展为HCC通常需要几十年,但其发生机制目前尚不明^[2,9]。因其为一种缺乏逆转录酶活性的RNA病毒,基因组

* 基金项目:国家自然科学基金资助(30901452)

作者简介:李曼(1981-),女,硕士研究生,主要研究方向:丙型肝炎与肝细胞癌的研究。

E-mail: muzirisyou@yahoo.cn

[△]通讯作者:冯德云 E-mail: dyfeng743@yahoo.com.cn

(收稿日期:2011-01-18 接受日期:2011-02-15)

不能整合到宿主基因组引起基因突变。研究指出 HCV 感染可导致慢性炎症、肝细胞脂肪变性、纤维化以及 DNA 的氧化损伤,多种 HCV 蛋白则具有直接的致癌作用^[15,16]。尤其是 HCV 编码的蛋白可通过影响自身免疫作用致病毒持续感染及肝脏炎症反应,可改变细胞内信号传导、细胞凋亡、细胞膜生理功能,引起氧化应激,影响基因组的稳定性导致恶性转化。其中核心蛋白、NS3 和 NS5A 的作用尤为重要^[17-20]。

2.1 HCV 核心蛋白的作用

HCV 核心蛋白由 HCV 基因组 C 区编码,存在于细胞质和胞核中,包含 191 个氨基酸,参与病毒 RNA 的包装、信号传导的调节以及某些基因的转录。体外细胞实验和体内转基因小鼠实验结果均支持 C 蛋白直接或间接参与了肝细胞恶性转化过程。

Mariya 等成功^[21]建立了两个独立的 HCV 核心蛋白转基因小鼠系,观察发现早期小鼠肝组织发生脂肪变性,与丙型肝炎肝组织改变相一致。而 16 个月后,两系小鼠均发生肝肿瘤,初为胞浆中含有脂肪小滴的腺瘤,逐步发展为低分化肝细胞癌结节,此时已不含脂肪小滴,其组织病理学特征非常接近 HCV 相关的 HCC 早期。目前研究显示 C 蛋白可通过以下方式参与 HCC 的发生:

2.1.1 HCV 核心蛋白参与抑癌基因的表达调控 野生型 P53 基因是重要的肿瘤抑制基因,与细胞周期调控、DNA 修复、细胞分化、细胞凋亡等重要生物学功能有关。Ranta 等^[22]研究指出在 Cos7 和 HeLa 细胞中,C 蛋白抑制了 P53 基因启动子活性,从而抑制 P53 基因的转录,促进细胞生长。另有研究发现核心蛋白低表达可增强 P53 的反式激活活性,高表达则抑制其活性。核心蛋白可通过改变第 373 和 382 位 Lys 残基的乙酰化而增强 P53 的 DNA 结合能力,还可阻断 P53 介导的对 RNA 聚合酶和 的抑制效应,即核心蛋白通过改变 P53 基因调节活性和翻译后修饰而影响 P53 基因的功能,促进细胞癌变^[23]。

2.1.2 HCV 核心蛋白影响细胞周期 WAF-1/Cip1/Sd1 基因编码的蛋白 P21 是周期素依赖性激酶(CDK)家族的广谱抑制剂,通过抑制 CDK 活性阻滞细胞周期。有研究发现在 NIH3T3、HepG2 和 HeLa 细胞中核心蛋白通过蛋白激酶 A 磷酸化抑制 P21WAF1/Cip1 基因的启动子活性,具有剂量依赖性,抑制区主要存在于第 84-191 氨基酸位点^[24,25]。在稳定表达核心蛋白的 HepG2 细胞系中,细胞倍增时间减少,癌基因蛋白 c-myc 的表达量和稳定性增加,认为核心蛋白通过上调 c-myc 促进细胞周期进程^[26]。胰岛素样生长因子 - (IGF-) 基因在胎肝和新生儿肝脏中有大量表达,但出生后迅速降低直至关闭,当肝细胞发生癌变呈过量表达^[27],有人发现核心蛋白通过与反式作用元件 Sp1 和 Egr1 作用,刺激后两者磷酸化使之同其靶 DNA 序列结合而激活 IGF- 基因的转录,可能促进癌变的肝细胞的生长存活和分化^[28]。

2.1.3 HCV 核心蛋白诱导细胞产生过量的 ROS,并释放细胞色素 C 过量 ROS 将使肝细胞发生氧化性损伤,而细胞色素 C 的释放通常预示细胞凋亡,但表达 HCV 核心蛋白的细胞可上调抗氧化和抗凋亡的基因的表达,从而抑制细胞发生凋亡^[29]。过量的 ROS 激活细胞核因子 κ B(NF κ B)和 3 型转录的信号

转导和活化分子(STAT3),使肝细胞易发生染色体和基因的损伤^[29-31]。

2.1.4 HCV 核心蛋白对信号传导通路的影响 研究表明,核心蛋白可使 Stat 3 的酪氨酸残基磷酸化,从而激活 Stat 3^[32]。STAT 蛋白是细胞内重要的第二信使分子,广泛参与了细胞因子的信号转导,调节细胞增殖、分化和存活,其异常活化同恶性肿瘤发生关系密切。核心蛋白还能影响 STAT1 和 STAT2 的入核^[33],这些均表明 HCV 核心蛋白影响了 STAT 信号蛋白的功能,可能是促进 HCV 感染细胞癌变发生的机制之一。

2.1.5 HCV 核心蛋白影响转录因子 NF- κ B 是一组重要的转录因子,主要调节炎症和自身免疫反应,NF- κ B 通路的激活可导致一系列与肿瘤相关基因的异常表达,抑制肿瘤细胞的凋亡,促进正常细胞转化和转移等。有研究发现核心蛋白可通过增强或延长由 TNF- α 或 β 淋巴毒素受体的配体 LT- α 1 β 2 介导的 I κ B α 的降解而使 NF- κ B 活化,促进癌变^[34]。

2.2 HCVNS3 蛋白的作用

HCVNS3 基因段位于 HCV 基因组的 3420~5312 核苷酸区段,编码 631 个氨基酸,HCVNS3 C 端 2/3 处编码 RNA 解旋酶,N 端 1/3 处编码丝氨酸蛋白酶,其在病毒体的成熟和复制过程中起着重要的作用^[35]。有研究证明稳定转染 HCV NS3 的人源性肝细胞系 QSG7701,其增殖速度加快,接种裸鼠可发生 HCC^[36-37]。

2.2.1 HCV NS3 蛋白对信号转导途径的影响 蛋白激酶 A (PKA)是细胞内信号转导途径中一种重要因子,位于细胞质,其活化的催化亚基迁移至细胞核中,可与染色体磷酸化相关蛋白作用并参与各种基因的转录调控,从而影响细胞的生长和分化。PKA 调节亚基的底物识别位点与 HCV NS3 蛋白的一富含精氨酸的序列高度同源,其作为识别信号介导催化亚基与 NS3 蛋白结合,从而阻止催化亚基进入细胞核内,导致 PKA 失活,抑制 PKA 介导的磷酸化,促进肝细胞恶性转化^[38]。在 Ras-Raf-MAPK 信号传导通路中 MAPK 被磷酸化激活,其活性持续增高与细胞转化和癌变相关。PKA 可通过 Raf-N 末端丝氨酸 43 磷酸化,使 N 末端形成帽状结构覆盖于 Ras 和 Raf 的结合位点阻断 Ras 对 Raf 的激活。而 NS3 蛋白对 PKA 的负性调控作用可激活 Ras-Raf-MAPK 信号转导通路,导致细胞增生及恶性转化^[39]。

2.2.2 HCV NS3 对癌基因及抑癌基因功能的影响 P21WAF1/Cip1 基因是 P53 基因的靶基因,有研究显示 NS3 蛋白能抑制 P21 基因启动子活性,使表达 NS3 的细胞增长率增加,但把 P53 在 P21 启动子上的结合位点去除后抑制作用完全消失,表明 HCV NS3 通过调控 P53 的活性来抑制 P21 的转录。而肝细胞癌组织中 P53 蛋白的表达与 HCV NS3 蛋白的表达无相关性,提示 NS3 与 P53 通过蛋白质-蛋白质相互作用方式抑制 P53 的调控活性,从而抑制 P21 的转录,而 P21 蛋白表达减少则可导致细胞增殖失控而发生癌变^[40,41]。MDMX 蛋白为 P53 蛋白的负性调节因子,牟劲松等通过抑制性消减杂交方法克隆 HCV NS3 基因转染细胞反式激活差异表达的基因,构建其 cDNA 消减文库,发现 NS3 能上调 MDMX 蛋白编码基因的表达水平,MDMX 蛋白活性升高抑制 P53 功能,可能为肿瘤形成的

机制之一^[42]。

2.3 NS5A 蛋白的作用

NS5A 蛋白位于 HCV 多聚蛋白前体的 1973-2419 氨基酸区域,由 447 个氨基酸组成。Majumder 等对 NS5A 转基因小鼠的研究发现其在 TNF 诱导的肝损伤及细胞凋亡较正常小鼠组明显减少,说明 NS5A 可保护小鼠肝细胞免受 TNF 介导的凋亡^[43]。肿瘤坏死因子相关死亡蛋白(TRADD)可与三聚的 TNF-R1 等组成信号传导复合体,激活下游的多条信号传导通路,最后激活转录因子 NF- κ B、JNK,诱导细胞凋亡。而 NS5A 可与 TRADD 结合从而阻断信号传导减少细胞凋亡^[44,45]。

生长因子受体-结合蛋白 2(Grb2)含有一个 SH2 结构域和两个 SH3 结构域,Grb2-SH2 区能直接与激活的表皮生长因子受体上磷酸化的酪氨酸残基结合,催化 Ras GDP-GTP 转换,激活 ERK 途径。有研究证实 NS5A 能与 Grb2-SH2 区结合,抑制 Grb2-Sos 与生长因子受体结合从而干扰 Grb2 介导的信号通路,导致细胞增殖和表型改变^[46,47]。

NS5A 还可与 PKR 结合,抑制 PKR 的活性,从而影响 PKR 的生物学功能,导致 HCV 感染细胞异常的信号转导途径^[48]。NS5A 蛋白也可诱导细胞内钙离子的释放并促进 ROS 的产生,过量的 ROS 可激活细胞 NF- κ B 致肝细胞损伤^[30]。

3 小结

HCV 感染引起慢性病毒性肝炎,相当比例的患者发展为肝硬化、肝细胞肝癌,而这些均是以 HCV 发生持续慢性感染为基础的。感染转为慢性与宿主的免疫反应密切相关,若研究出防治 HCV 感染的疫苗,则可在 HCV 感染的早期有效控制疾病的发展。

就 HCV-HCC 发病机制而言,目前研究认为 HCV 相关性 HCC 是多因素共同作用的结果,除了 HCV 编码的蛋白作用外,炎症损伤、氧化应激损伤、细胞凋亡、纤维化及细胞因子等共同作用致 HCC 的发生。但是由于缺乏有足够说服力的研究模型,很难确认 HCV 编码的蛋白在肝细胞恶性转化过程中的特异性作用。但分子生物学的飞速发展研究 HCV 致癌机制提供了新的途径和方法,若明确 HCV 致癌机制,则有望对 HCC 的早期诊断和治疗提供新的思路和方法。

参考文献(References)

- [1] Altekruse SF, McGlynn KA, Reichman ME. Hepatocellular carcinoma incidence, mortality, and survival trends in the United States from 1975 to 2005 [J]. Clin Oncol, 2009, 27(9): 1485-1491
- [2] Levrero M. Viral hepatitis and liver cancer: the case of hepatitis C [J]. Oncogene, 2006, 25 (27): 3834-3847
- [3] Bartosch B, Cosset FL. Cell entry of hepatitis C virus [J]. Virology, 2006, 348(1):1-12
- [4] Lau DT, Fish PM, Sinha M, et al. Interferon regulatory factor-3 activation, hepatic interferon-stimulated gene expression, and immune cell infiltration in hepatitis C virus patients [J]. Hepatology, 2008, 47(3): 799-809
- [5] Castello G, Scala S, Palmieri G, et al. HCV-related hepatocellular carcinoma: from chronic inflammation to cancer [J]. Clin Immunology, 2010, 134(3):237-250
- [6] Donato F, Tagger A, Gelatti U, et al. Alcohol and hepatocellular carcinoma: the effect of lifetime intake and hepatitis virus infections in men and women [J]. Am J Epidemiol, 2002, 155(4): 323-331
- [7] Imazeki F, Yokosuka O, Fukai K, et al. Favorable prognosis of chronic hepatitis C after interferon therapy by long-term cohort study [J]. Hepatology, 2003, 38(2):493-502
- [8] Kasahara A, Hayashi N, Mochizuki K, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma and its incidence after interferon treatment in patients with chronic hepatitis C.Osaka Liver Disease Study Group [J]. Hepatology, 1998, 27(5): 1394-1402
- [9] Degos F, Christidis C, Ganne-Carrie N, et al. Hepatitis C virus related cirrhosis: time to occurrence of hepatocellular carcinoma and death [J]. Gut, 2000, 47(1):131-136
- [10] Koike K. Pathogenesis of HCV-associated HCC: Dual-pass carcinogenesis through activation of oxidative stress and intracellular signaling [J]. Hepatol Res, 2007, 37(Suppl 2):S115-S120
- [11] Chen S, Wang YM. Genetic evolution of structural region of hepatitis C virus in primary infection [J]. World J Gastroenterol, 2002, 8(4): 686-693
- [12] Zhu LX, Liu J, Li YC, et al. Full-length core sequence dependent complex-type glycosylation of hepatitis C Virus E2 glycoprotein [J]. World J Gastroenterol, 2002, 8(3):499-504
- [13] Zhu LX, Liu J, Ye Y, et al. A candidate DNA vaccine elicits HCV specific humoral and cellular immune responses [J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(17):2488-2492
- [14] Nitkiewicz J. Chronic hepatitis C infection-mechanisms of virus "immune escape" [J]. Przegl Epidemiol, 2004, 58(3): 423-433
- [15] McGivern DR, Lomon SM. Tumor suppressors, chromosomal instability, and hepatitis C virus-associated liver cancer [J]. Annu Rev Pathol, 2009, 4: 399-415
- [16] Koike K. Pathogenesis of HCV-associated HCC: Dual-pass carcinogenesis through activation of oxidative stress and intracellular signaling [J]. Hepatol Res, 2007, 37(Suppl 2):S115-S120
- [17] Sakamuro D, Furukawa T, Takegami T. Hepatitis C virus nonstructural protein NS3 transforms NIH 3T3 cells [J]. J Virol, 1995, 69(6): 3893-3896
- [18] Ray RB, Lagging LM, Meyer K, et al. Hepatitis C virus core protein cooperates with ras and transforms primary rat embryo fibroblasts to tumorigenic phenotype [J]. J Virol, 1996, 70(7): 4438-4443
- [19] Gale Jr M, Kwieciszewski B, Dossett M, et al. Antiapoptotic and oncogenic potentials of hepatitis C virus are linked to interferon resistance by viral repression of the PKR protein kinase [J]. J Virol, 1999, 73(8): 6506-6516
- [20] Park JS, Yang JM, Min MK. Hepatitis C virus nonstructural protein NS4B transforms NIH3T3 cells in cooperation with the Ha-ras oncogene [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 267(2): 581-587
- [21] 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
- [22] Ray RB, Steele R, Meyer K, et al. Transcriptional repression of p53 promoter by hepatitis C virus core protein [J]. J Biol Chem, 1997, 272 (17): 10983-10986
- [23] Kao CF, Chen SY, Chen JY, et al. Modulation of p53 transcription

- regulatory activity and post-translational modification by hepatitis C virus core protein [J]. *Oncogene*, 2004, 23(14): 2472-2483
- [24] Ray RB, Steele R, Meyer K. Hepatitis C virus core protein represses p21WAF1/Cip1/Sid1 promoter activity [J]. *Gene*, 1998, 208 (2): 331-336
- [25] Jung EY, Lee MN, Yang HY, et al. The repressive activity of hepatitis C virus core protein on the transcription of p21 (waf1) is regulated by protein kinase A-mediated phosphorylation [J]. *Virus Res*, 2001, 79 (1-2): 109-115
- [26] Ruggieri A, Murdolo M, Harada T, et al. Cell cycle perturbation in a human hepatoblastoma cell line constitutively expressing Hepatitis C virus core protein [J]. *Arch Virol*, 2004, 149(1): 61-74
- [27] Tetsuro S, Kan Kanstu Y, Kaoru S, et al. Increased expression of insulin-like growth factor in hepatocellular carcinoma is primary regulate at the transcriptional level [J]. *LabInvest*, 1996, 75 (2): 307-311
- [28] Lee S, Park U, Lee YI. Hepatitis C virus core protein transactivates insulin-like growth factor gene transcription through acting concurrently on Egr1 and Spl sites [J]. *Virology*, 2001, 283: 167-177
- [29] Okuda M, Li K, Beard MR, et al. Mitochondrial injury, oxidativestress, and antioxidant gene expression are induced by hepatitis C virus core protein [J]. *Gastroenterology*, 2002, 122 (2): 366-375
- [30] Maki A, Kono H, Gupta M, et al. Predictive power of biomarkers of oxidative stress and inflammation in patients with hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma [J]. *Ann Surg Oncol*, 2007, 14(3): 1182-1190
- [31] Gong G, Waris G, Tanveer R, et al. Human hepatitis C virus NS5A protein alters intracellular calcium levels, induces oxidative stress, and activates STAT23 and NF2kappa B [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98 (17): 9599-9604
- [32] Yoshida T, Hanada T, Tokuhisa T. Activation of STAT3 by the hepatitis C virus core protein leads to cellular transformation [J]. 2002, 196(5): 641-653
- [33] Melen K, Fagerlund R, Nyqvist M. Expression of hepatitis C virus core protein inhibits interferon induced nuclear import of STATs [J]. 2004, 73(4): 536-547
- [34] You LR, Chen CM, Lee YH. Hepatitis C virus core protein enhances NF-kappaB signal pathway triggering by lymphotoxin-beta receptor ligand and tumor necrosis factor alpha [J]. 1999, 73(2): 1672-1681
- [35] Kato N. Molecular virology of hepatitis C virus [J]. *Acta Med Okayama*, 2001, 55(3): 133-159
- [36] 何琼琼, 冯德云, 李波, 等. 丙型肝炎病毒 NS3 基因对人肝细胞生物学特性的影响 [J]. *生物技术通报*, 2007, 4: 135-140
He Qiong-qiong, Feng De-yun, Li Bo, et al. Effect of HCV NS3 Gene on Biological Characterization of Human Hepatocyte [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2007, 4: 135-140 (In Chinese)
- [37] 李波, 冯德云, 程瑞雪, 等. 丙型肝炎病毒 NS3 蛋白促进人源肝细胞的增殖及其相关机制研究 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2005, 32(10): 991-997
- Li Bo, Feng De-Yun, Cheng Rui-Xue, et al. The Mechanisms for HCV NS3 Protein Upregulating Cell Proliferation in Human Hepatocytes [J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2005, 32 (10): 991-997 (In Chinese)
- [38] Borowski P, Oehlmann K, Heiland M, et al. Nonstructural protein 3 of hepatitis C virus blocks the distribution of the free catalytic subunit of cyclin AMP-dependent protein kinase [J]. *Viol*, 1997, 71 (4): 2838-2843
- [39] Aoubala M, Holt J, Clegg RA, et al. The inhibition of cAMP-protein kinase by full-length hepatitis C virus NS3/4A complex is due to ATP hydrolysis [J]. *Gen Virol*, 2001, 82(7): 1637-1646
- [40] 冯德云, 郑晖, 颜亚晖, 等. 肝细胞癌组织中丙型肝炎病毒 NS3 蛋白对 P53 蛋白表达的影响 [J]. *中华医学杂志*, 1998, 78(4): 278-280
Feng De-yun, Zheng Hui, Yan Ya-hui, et al. The effect of HCV NS3 protein in Hepatocellular carcinoma on P53 protein expression [J]. *Nat Med J China*, 1998, 78(4): 278-280 (In Chinese)
- [41] Kwun HJ, Jung EY, Ahn JY, et al. p53-dependent transcriptional repression of p21waf1 by hepatitis C virus NS3 [J]. *Journal of General Virology*, 2001, 82(Pt 9): 2235-2241
- [42] 牟劲松, 刘妍, 王刚, 等. 应用抑制性消减杂交技术克隆丙型肝炎病毒非结构蛋白 Ns3 反式激活的相关基因 [J]. *世界华人消化杂志*, 2003, 11(4): 399-403
Mu Jin-song, Liu Yan, Wang Gang, et al. Cloning of genes transactivated by NS3 protein of HCV with suppressive and subtractive hybridization [J]. *World Chinese Journal of Digestology*, 2003, 11 (4): 99-403 (In Chinese)
- [43] Majumder M, Ghosh AK, Steele R, et al. Hepatitis C virus NS5A protein impairs TNF-mediated hepatic apoptosis, but not by anti-FAS antibody, in transgenic mice [J]. *Virology*, 2002, 294(1): 94-105
- [44] Ghosh AK, Majumder M, Steele R, et al. Hepatitis C virus NS5a protein protects against TNF - α mediated apoptotic cell death [J]. *Virus Res*, 2000, 67(2): 173-178
- [45] Miyasaka Y, Enomoto NK, Urosaki M, et al. Hepatitis C virus non-structural protein 5A inhibits tumor necrosis factor - α mediated apoptosis in Huh7 cells [J]. *J Infect Dis*, 2003, 188(10): 1537-1544
- [46] Macdonald A, Crowder K, Street A, et al. The hepatitis C virus NS5A protein binds to members of the Src family of tyrosine kinases and regulates kinase activity [J]. *J Gen Virol*, 2004, 85(Pt 3): 721-729
- [47] Tan SL, Nakao H, He Y, et al. NS5A, A nonstructural protein of hepatitis C virus binds growth factor receptor-bound protein 2 adaptor protein in a Src homology 3 domain/ligand-dependent manner and perturbs mitogenic signaling [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96 (10): 5533-5538
- [48] Gale M Jr, Blakely CM, Kwieciszewski B, et al. Control of PKR protein kinase by hepatitis C virus nonstructural 5A protein molecular mechanisms of kinase regulation [J]. *Mol Cell Biol*, 1998, 18 (9): 5208-5218