

文章编号:1671-8836(2012)01-0061-07

综述

HBx 介导的促肝癌作用

穆敬芳, 冯 辉, 胡康洪[†]

(中国科学院 武汉病毒研究所/病毒学国家重点实验室, 湖北 武汉 430071)

摘要: 乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)感染是诱发原发性肝癌的主要原因之一。HBV 存在 4 个相互重叠的开放读码框: S, C, P 和 X 区。其中 X 基因表达的蛋白 HBx 被认为是诱导肝癌发生的一种多功能致癌蛋白, 它可以作用于众多信号通路及细胞因子从而诱发肝癌。本文根据最新的研究, 选择其中 p53 和 NF- κ B 两条信号通路及 HBx 与表观遗传修饰的相关性进行了探讨, 目的在于部分揭示 HBV 感染诱发肝癌的发病机理。

关键词: 乙型肝炎病毒(HBV); 肝癌(HCC); p53; NF- κ B; 表观遗传修饰
中图分类号: Q 344 文献标识码: A

HBx-Mediated Promoting Role in the Development of Hepatocellular Carcinoma

MU Jingfang, FENG Hui, HU Kanghong[†]

(State Key Laboratory of Virology, Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430071, China)

Abstract: Hepatitis B virus (HBV) caused chronic liver infections is one of the major inducing factors of hepatocellular carcinoma(HCC). The full length viral genome has four overlapping reading frames that consist of S, C, P and X. The X protein of hepatitis B virus (HBx), encoded by the X gene, is a multifunctional protein. It influences a variety of signal transduction pathways and modulates several cytokines, leading to hepatocellular carcinoma. Basing upon the latest studies, this review focuses on the HBx mediated modulation of p53 and NF- κ B signal pathway. Additionally, the association between the HBx and the epigenetic modification is discussed, in order to better understand how HBx promotes the development of hepatocellular carcinoma.

Key words: hepatitis B virus (HBV); hepatocellular carcinoma(HCC); p53; NF- κ B; epigenetic modification

0 引言

肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是世界范围内常见的恶性肿瘤之一, 而我国是肝癌的高发地区, 每年全球新发肝癌病例中我国占 45%。HBV (Hepatitis B virus) 感染是促进肝癌形成的主要诱导因素, 其相关性高达 80%^[1]。HBV 诱发肝癌发生和发展的机制是目前的研究热点。HBV 存在 4 个相互重叠的开放读码框: S, C, P 和 X 区。随着对 HBV 和原发性肝癌研究的深入, 人们发现 X 基因表达的

蛋白 HBx 在 HBV 相关的肝癌的发生、发展中扮演重要角色^[2,3]。

HBx 是一种多功能蛋白, 可以通过多种途径诱导肝癌形成, 最为常见的是通过蛋白间的相互作用, 抑制细胞内受损 DNA 的修复、激活细胞信号传导通路的级联反应等效应, 影响宿主细胞的增殖、凋亡、癌变等。其中激活肿瘤增殖相关蛋白和阻止肿瘤抑制因子, 是 HBx 诱导肿瘤发生的重要途径^[4]。近年来在 HBx 对核转录因子 NF- κ B 和肿瘤抑制因子 p53 作用及其对肝癌发生和发展机制方面的研究较

收稿日期: 2010-07-14 [†]通信联系人 E-mail: hukgh@wh.iiv.cn

基金项目: 国家自然科学基金(30870131); 国家“十一五”传染病重大专项基金(2008ZX10002-011, 2008ZX10004-004) 资助项目

作者简介: 穆敬芳, 女, 硕士生, 现从事针对 HBx 致癌机理及抗 HBV 复制的药物筛选研究。 E-mail: mjf_happy@126.com

为深入. 另外, HBx 与表观遗传修饰 (epigenetic modification) 的相关性及其在肝癌发生发展中的作用, 也是近年研究的热点.

1 HBx 与 p53 通路

在真核生物细胞中, 野生型 p53 是典型的抑癌基因, 可以被多种因素激活, 例如 DNA 损伤、缺氧、或者原癌基因激活等, p53 进入细胞核, 诱导细胞周期停止或细胞凋亡, 阻止损伤 DNA 或突变的传播. 野生型 p53 功能的缺失是癌症发生的一个重要阶段, 若 p53 途径受损, 则不能阻止细胞的恶性转化, 将会导致细胞癌变. 众多研究显示^[5,6], HBx 可以阻止 p53 介导的凋亡, 提高细胞的存活率, 这跟肝癌的早期发生有关.

1.1 p53 通路

p53 是重要的抑癌基因, 广泛存在于真核细胞中. 在不受外界刺激的情况下, p53 的 mRNA 水平很高, 伴随大量蛋白质的合成, 但正常情况下 p53 与其抑制剂 Mdm2 (mouse double minute-2) 结合在一起, Mdm2 可以促进 p53 蛋白的泛素化降解, 保证正常细胞内 p53 蛋白浓度保持在较低水平. 当细胞受到各种外界因子刺激后, p53 信号通路可以被多种因素激活, 相应机制阻止 Mdm2 介导的 p53 降解, p53 表达水平得以显著升高, 参与诱导细胞周期停止或细胞凋亡, 达到阻止损伤 DNA 或突变的传播的目的 (如图 1 所示)^[7].

1.2 HBx 对 p53 的抑制

HBx 主要通过三个方面阻断 p53 途径. ① 与 p53 直接结合, 抑制 p53 入核发挥作用. HBx 的 C 端第 102~136 位氨基酸能够与 p53 的 DNA 结合区和寡聚化功能区结合 (如图 1 所示). ② 通过细胞

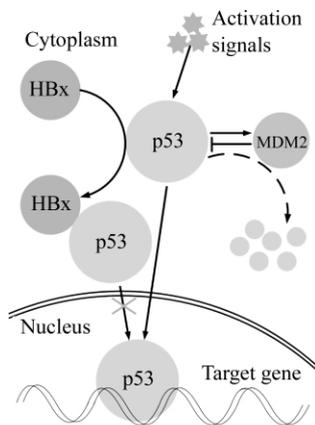


图 1 p53 通路及 HBx 对 p53 的抑制示意图

内的其他信号因子对抗 p53 诱导的凋亡. ③ 表达 HBx 的细胞增殖迅速, 促进 p53 的突变和功能缺失, 从而使细胞生长失控.

1.3 HBx 通过对 p53 的抑制诱发促肝癌作用

HBx 的野生型以及突变型抑制 p53 途径主要任务表现为: 在体内阻止 p53 介导的凋亡, 诱导肿瘤发生. 在 HBV 相关的肝癌中, p53 的功能缺失则将促进肝癌的恶化.

① HBx 直接与 p53 结合, 抑制 p53 的促凋亡作用. Harris 研究组通过显微注射技术的研究表明, HBx 与 p53 直接结合后, p53 对与凋亡通路相关的 p21WAF1、Bax、Fas 等基因上调失败, 使得正常的促凋亡作用被抑制, 无法实现凋亡的细胞将表现为肿瘤的恶性增殖^[8]. 另外, 当 HBx 结合于 p53 的羧基末端后, 使 p53 与 XPB 或 XPD 的结合受到抑制, XPB 或 XPD 作为转录因子 TFIIH 的核心成分, 其与 p53 的结合被抑制, 将进一步影响 p53 与 TFIIH 结合, 而 p53 与 TFIIH 核心成分的结合是诱导凋亡的一个重要过程^[9], 该过程受到抑制, 同样使 p53 无法诱导凋亡, 使病变细胞增生, 而这种相互作用与人肝癌的早期阶段的致癌性转换有关. 不久, Harris 研究组又用同样的技术, 研究了 HBx 和 p53 间的物理作用及其导致的功能影响, 进一步得出了在细胞质内 HBx 的 C 远端存在与 p53 结合部位, 抑制 p53 入核, 使 p53 无法诱导细胞凋亡, 该功能会导致肝癌的早期发生^[10].

HBx 直接与 p53 结合, 还可以起到促进细胞增殖的作用. Harris 研究组^[11]还从肝癌组织中分离出突变型的 HBx, 发现突变型 HBx 与野生型 HBx 一样保持抗 p53 凋亡的能力, 在肝细胞肿瘤发生前和新发肿瘤有选择性克隆增殖优势 (selective clonal advantage). 这种增殖优势与肝癌晚期细胞增殖有关.

② HBx 间接对抗 p53 诱导的凋亡, 促进细胞增殖, 抑制细胞凋亡, 诱导肝癌的发生. Cheng 等^[12]研究发现 HBx 可以诱导环氧酶 (COX)-2 在慢性肝炎、肝硬化、肝癌细胞中高表达. 他们利用一种可以化学调控 wt p53 (wild type p53) 表达的肝癌细胞, 研究 (COX)-2 在 HBx 抗 p53 诱导的凋亡中的作用, 表明 (COX)-2 通过 COX-2/PGE(2) 途径阻断 p53 诱导的凋亡, 而且, 当 HBx 恢复由 p53 抑制的抗凋亡蛋白 Mcl-1 活性后, (COX)-2 可以将 Mcl-1 利用到抗凋亡过程中^[13]. 在肝癌中 HBx 通过诱导 (COX)-2 的高表达对抗 p53 诱导的凋亡, 从而导致细胞增殖. 另外, 肿瘤细胞中 HBx 与 (COX)-2 的高

表达,会使肿瘤细胞或者癌变细胞更容易生长,有选择性地克隆优势生长,这种生长优势与肝癌的细胞增殖有关。

③ p53 基因的突变失活,对肝癌的产生也有促进作用。在肝癌组织中,细胞增殖迅速,伴随 p53 功能缺失的现象非常普遍,提示宿主细胞对 HBx 的抑制作用降低,使 HBx 的功能得以有效发挥,刺激了 β -catenin、NF- κ B、*cyclin D1* 等其他肿瘤相关因子的表达,抑制细胞凋亡,促进肝癌的恶性转化。

β -catenin 在细胞内的异常积累对肝癌的形成有促进作用^[14]。Jung 等^[15]研究了 β -catenin 在肿瘤中积累的机制,发现当 p53 功能缺失后,HBx 通过依赖于 3 β -糖原合成酶的激酶(glycogen synthase kinase-3 β -dependent)途径诱导 β -catenin 稳定积累,导致细胞迅速无限增殖,促进更多的原癌基因和肿瘤抑制基因的突变,从根本上导致肝癌产生。Sung 等^[16]在 Chang, HepG2 等多种肝癌细胞系中研究了 p53 对 HBx 的作用,发现 p53 可以影响 HBx 的稳定性,同时也发现 p53 的功能缺失将导致 HBx 含量上升,伴随 HBx 的致癌信号增强,可激活 NF- κ B 和上调 *cyclin D1*,加重肝癌的进程。这可能是肝癌发生的潜在作用机制之一。

2 HBx 与 NF- κ B 途径

NF- κ B 是一种分布和作用均十分广泛的真核细胞转录因子,NF- κ B 可以被多种细胞外刺激活化,参与细胞凋亡、炎症等多种基因调控途径,具有重要的生理和病理作用。而 HBx 则通过多种途径激活 NF- κ B 信号通路,激活的 NF- κ B 又可作用于多种细胞因子。而 NF- κ B 的这种异常激活,是肝癌细胞抗凋亡机制的主要途径之一。

2.1 NF- κ B 途径

NF- κ B(nuclear factor κ B)一般没有活性,与其抑制蛋白 I- κ B(inhibitor κ B)以复合物的形式存在于胞浆中,抑制蛋白 I- κ B 能够阻止 NF- κ B 入核。许多病毒、肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor, TNF)、化学因子可以激活 I- κ B 的激酶 IKK(I- κ B kinase),后者进一步磷酸化抑制蛋白 I- κ B,使 NF- κ B 与 I- κ B 解离,I- κ B 被泛素化降解,NF- κ B 被激活,进入细胞核,与相应的靶序列结合,并调控基因表达(如图 2 所示)。

2.2 对 NF- κ B 的激活

HBx 利用多条途径将 NF- κ B 激活,NF- κ B 被激活后从胞质转入核内,启动核内靶基因的转录,调

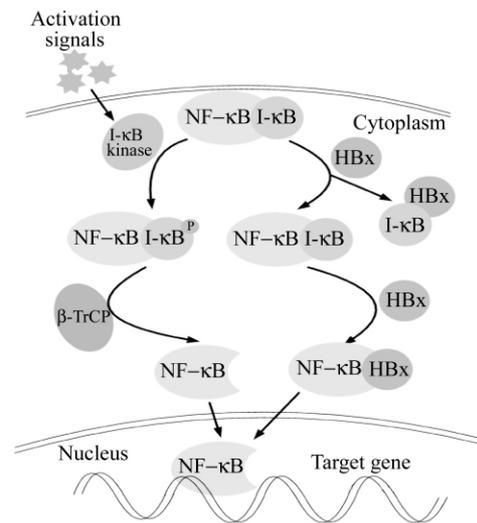


图 2 NF- κ B 通路及 HBx 对 NF- κ B 的激活示意图

节目的基因表达,从而抑制细胞凋亡,与肿瘤的发生发展关系密切。

HBx 通过磷酸化 NF- κ B 的抑制蛋白,降低其对 NF- κ B 的抑制作用,释放 NF- κ B,使得 NF- κ B 入核发挥作用;HBx 还可以通过 TBK1 直接磷酸化 NF- κ B p65,激活 NF- κ B,诱导相关基因表达(如图 2 所示)。早在 1996 年,Chirillo 等^[17]发现 HBx 激活 NF- κ B 途径不直接作用于 p50 和 p65,而是通过降低细胞质中 I- κ B- α 的水平,去除其对 p50 和 p65 的抑制作用,恢复 p50 和 p65 的活性,将 NF- κ B 激活。Kim 等^[18]运用免疫共沉淀实验验证 HBx 和 VBP1 在体内和体外均能直接结合,可以共同促进 NF- κ B 的激活,使核内的 NF- κ B 复合物大量增加,结合目的基因,诱发转录。最新研究发现,HBx 可以上调 TBK1 (TANK-binding kinase-1) 的转录水平,含量升高的 TBK1 蛋白可以磷酸化 NF- κ B p65,将 NF- κ B 激活^[19]。

2.3 通过对 NF- κ B 的激活诱发的促肝癌作用

HBx 激活 NF- κ B 可以在抑制凋亡、促进细胞增殖和肿瘤转移等方面发挥作用。NF- κ B 被 HBx 激活后调节 *cyclin D1*、Calpain Small Subunit 1、MTA1(Metastasis-associated protein 1)等一些肝癌相关因子的表达,促进肿瘤细胞存活、增殖及恶性转化,均是导致肝癌发生发展的潜在途径。

① HBx 对 NF- κ B 的激活有抑制凋亡和促进细胞增殖的作用。Yun 等早期的研究发现,在表达 HBx 的 ChangX-34 细胞中,DNA 的合成量增加了 3 倍,但不表现凋亡;当 NF- κ B 的活性被抑制后,细胞死亡率显著增加,说明 NF- κ B 对 HBV 相关肝癌的细胞存活关系密切^[20]。随后,该研究组在表达

HBx 的细胞中筛选与 NF- κ B 激活有关的上游信号调节因子,研究其在激活 NF- κ B 和影响细胞存活之间是否存在直接的关联作用.结果显示,在表达 HBx 的细胞中,存在上游调节因子 Raf-1 和 protein kinase B 介导 NF- κ B 激活,有助于细胞的存活,免受凋亡,促进肝癌形成^[21].这是 HBx 激活 NF- κ B 使细胞免受凋亡的又一证据.

NF- κ B 被 HBx 激活后,在细胞核内上调 *cyclin D1* 基因,使其表达量增高,促进细胞增殖.研究表明 *cyclin D1* 的高表达在肿瘤的发生和生长中发挥了重要作用^[22].该蛋白可以激活细胞周期蛋白依赖性激酶 CDK4 和 CDK6,诱导细胞周期从 G1 期向 S 期转变,促进细胞增殖^[23].Park 等^[24]利用 siRNA 干扰,使 NF- κ B2(p52)/BCL-3 复合物中的 BCL-3 下降,随之降低 HBx 介导的 *cyclin D1* 的上调,而且,利用 p53 使 HBx 蛋白水平降低,也会降低 HBx 介导的 *cyclin D1* 的上调,表明 HBx 通过在细胞核内上调 NF- κ B2(p52)/BCL-3 复合物的水平,使得 *cyclin D1* 表达水平升高.由此可知,HBx 将 NF- κ B 激活后,调节 *cyclin D1* 的高表达,促进了 HBV 相关的肝癌细胞的恶性增殖.

② HBx 激活 NF- κ B 能促进细胞恶性转移,为肿瘤细胞向远处扩散打下基础.同时众多临床症状也表明,早期恶性肿瘤细胞的转移是导致肝癌病人肝功能衰竭和死亡的重要原因.

HBx 可以通过 NF- κ B 途径激活 *Capn4*,促进肿瘤细胞的侵袭和转移^[25].Zhang 等^[26]在 HepG2 和 H7402 细胞系中,通过荧光素酶报告基因检测、荧光定量 PCR 以及 western blot 等实验方法分析发现,HBx 可以提高 *Capn4* 的启动子活性,并且上调 *Capn4* 的 mRNA 和蛋白水平.运用 RNAi 技术靶向 HBx mRNA 或 NF- κ B,均可停止 *Capn4* 的上调.然而,一旦 NF- κ B 结合于 *Capn4* 启动子的位置被突变,HBx 便会丧失激活 *Capn4* 启动子的能力,提示 HBx 通过 NF- κ B 途径激活 *Capn4* 后,*Capn4* 在 HBx 介导的细胞迁移中起作用,促进肿瘤肝内扩散或向远处转移.该研究组还通过进一步的划痕损伤实验,在功能上证明 HBx 可以通过 *Capn4* 显著提高 HepG2 细胞的迁移能力,这为肝癌早期恶性肿瘤细胞的迁移提供了重要依据.该工作为 HBx 在肝癌形成过程中的作用机制提供了新的视角.

NF- κ B 被激活后,还可以通过提高 miRNA 的转录水平促进 HBV 相关的肝癌肿瘤转移.Sun 等^[27]在动物实验中的研究表明,microRNA-143 的转录水平可以被 NF- κ B 提高,高水平的 microRNA-

143 能够促进肿瘤细胞的浸润和转移反应.在 p21-HBx 转基因小鼠中阻止 microRNA-143 后,局部肝转移和远处肺转移均被显著抑制.同时裸鼠模型实验也证明 microRNA-143 的水平与肝癌细胞的迁移显著正相关,推测对肝癌的转移有促进作用.该实验进一步加深了对肿瘤转移行为的理解,为产生一种有效地治疗 HBV 相关肝癌的方法提供了依据.

此外,在肝癌中,HBx 可以通过 NF- κ B 激活转移相关蛋白 MTA1 启动子,在转录水平上诱导 MTA1 的表达.而该蛋白的超表达与肝内的侵袭和转移密切相关^[28].Bui-Nguyen 等^[29]利用小鼠的 MTA1 启动子克隆,探索了 HBx 调节 MTA1 的机制,发现 MTA1 不仅是 NF- κ B 的目标产物,而且在 HBx 介导的激活 NF- κ B 信号通路中起作用,辅助诱导与炎症和肿瘤发生有关的基因的表达,尤其是与肝癌有关的基因的表达,发生致肿瘤作用^[30].MTA1 在表达 HBx 蛋白的细胞中的重要作用,说明 MTA1 不仅可以成为肝癌的早期诊断指标,而且可以成为治疗目标.

③ HBx 对 NF- κ B 的激活,能诱发免疫反应,引起肝损伤.HBV 病毒感染细胞后引起清除肝内的病毒的免疫反应,是肝疾病发生的另外一个重要因素.HBV 进入人体后,不是直接毒害肝细胞,而是在肝细胞膜表面上形成特异性的病毒抗原,可诱发免疫反应,使致敏淋巴细胞释放出各种体液因子,如细胞毒因子、趋化因子等,将病毒清除,同时导致肝细胞遭受损害.Wu 研究组^[31]认为,NF- κ B 的激活对 HBx 诱导趋化因子 MIG 的高表达有密切关系,通过荧光素酶检测、染色质免疫沉淀分析、电泳迁移率等实验表明,NF- κ B 可直接与 MIG 的启动子结合,转录激活 MIG 的表达.进一步用趋化性实验显示 MIG 蛋白的表达量增高,能够提高外周血淋巴细胞的迁移率;若 NF- κ B 的活性被抑制,则趋化性明显降低.暗示 NF- κ B 能够促进 HBx 诱导的白细胞转移,进攻肝细胞,若细胞免疫功能低下,感染 HBV 后易演变为慢性肝炎或携带者,有可能发展为肝癌.

3 HBx 与表观遗传修饰的相关性

随着对肝癌研究的不断深入,发现 HBx 不仅可以通过信号通路抑制抑癌基因、激活癌基因的表达,也可以通过表观遗传学的方法对肝癌相关基因的转录和表达进行调节.HBx 介导的表观遗传学改变主要包括 DNA 甲基化改变和组蛋白修饰,这两种调控模式本身及之间的相互作用网络可导致印记丢

失、染色质重塑、非必需重复序列的转录、基因的异常活化以及抑制等反应,诱导癌症相关作用^[32]。例如 HBx 对癌症相关基因 p16 有抑制作用,p16 是人类肿瘤中最常见的抑癌基因,其表达的蛋白是细胞周期蛋白激酶抑制剂,该抑制剂通过结合并抑制细胞周期依赖的蛋白激酶 CDK4 和 CDK6,使 Rb 磷酸化程度降低来调控细胞通过 G1 期,从而抑制细胞的增殖。Zhu 等^[33]发现 HBx 能够在 mRNA 和蛋白水平上诱导甲基转移酶 1 (DNA methyltransferase 1, DNMT1) 的高表达,使得 p16 (INK4A) 的启动子区超甲基化,从而抑制 p16 (INK4A) 表达。Jung 等^[34]在 HBV 引发的肝癌细胞中也发现,HBx 激活 DNMT1 的表达,诱导 p16 (INK4a) 基因启动子区域的高甲基化,抑制这些基因的表达,进而激活了下游 G1-CDK4/6 激酶、磷酸化 Rb 蛋白以及 E2F1 蛋白信号传导途径,促进肝癌的发生。Zheng 等^[35]的研究也表明 HBx 能够利用与 DNMTs 的相互作用,对目的基因的不同位点进行甲基化或去甲基化,调控目的基因转录,是肝炎和肝癌的潜在发病机制。另外,运用表观遗传学方法研究发现 HBx 可以直接作用于组蛋白去乙酰酶 1 (histone deacetylase, HDAC1),对组蛋白进行修饰,诱导相关癌症反应^[36]。在 HBx 转基因小鼠和 HBV 感染的肝癌患者中,HBx 提高 HDAC1 的蛋白水平,促进去乙酰化缺氧诱导因子 (hypoxia-inducible factor-1 alpha, HIF-1 α) 和乙酰基转移酶 (acetyltransferase 1, ARD1) 的作用,使 HIF-1 α 稳定表达,对肝癌的血管生成和肿瘤转移有重要作用^[30]。因此,阐明 HBx 在表观遗传修饰方面的作用,更全面地了解 HBx 对癌基因和抑癌基因调节作用方式,有助于人们更好地解释肝癌发病过程的分子机制。

4 结论及展望

综上所述,HBx 通过 p53 和 NF- κ B 的信号通路,在抑制肝细胞凋亡、促进细胞增殖和癌细胞转移方面发挥非常重要的作用。通过对 HBx 促肝癌过程中 p53 和 NF- κ B 通路的深入研究,有助于寻找新的维持细胞正常功能的方法,筛选出上游通路中阻断 HBx 的药物,对临床预防和治疗肝癌提供更多有效的思路。

HBx 蛋白是一种多功能的病毒蛋白,其诱导肝癌发生是一种多步骤、多因素的癌变过程。因此,本文所述的 HBx 对 p53 和 NF- κ B 的调节作用只是诱导肝癌发生的部分因素,更多的诱导因素还在不断

的研究之中。例如,Zhang 等的研究^[37]表明在肝癌细胞系中,HBx 和 Hepsin 蛋白的相互作用可以促进细胞增殖,抑制细胞凋亡。Murata 等^[38]发现在肝癌的发展早期,HBx 改变肝细胞转化生长因子 TGF- β 信号通路,使 TGF- β 由抑制凋亡,转变为促进凋亡。而在肝癌的发展过程中,HBx 依赖 p38/MAPK 信号通路激活 HURP 和 SATB1 蛋白,抑制凋亡^[39]。另有研究显示,HBx 可以通过调节花生四烯酸的代谢和信号调节蛋白激酶 (signal-regulated protein kinases 1/2, p-ERK1/2) 促进细胞增殖^[40]。HBx 还通过调节脂肪氧合酶 (5-lipoxygenase, 5-LOX) 和 FAS 的正反馈循环,释放白三烯 B4 (leukotriene B4, LTB4),促进细胞增长^[41]。总之,随着研究的广泛深入,明确各种因子及其作用机制,对阐明原发性肝癌的发病机制起着至关重要的作用。

参考文献:

- [1] Jain S, Singhal S, Lee P, *et al.* Molecular genetics of hepatocellular neoplasia [J]. *Am J Transl Res*, 2010, 2(1):105-123.
- [2] Matsuda Y, Ichida T. Impact of hepatitis B virus X protein on the DNA damage response during hepatocarcinogenesis [J]. *Med Mol Morphol*, 2009, Sep; 42(3):138-142.
- [3] Neuveut C, Wei Y, Buendia M A. Mechanisms of HBV-related hepatocarcinogenesis [J]. *J Hepatol*, 2010, 52(4):594-604.
- [4] Koike K. Hepatitis B virus X gene is implicated in liver carcinogenesis [J]. *Cancer Lett*, 2009, 286(1):60-68.
- [5] Levine A J, Oren M. The first 30 years of p53: Growing ever more complex [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(10):749-758.
- [6] Yonish-Rouach E, Resnitzky D, Lotem J, *et al.* Wild-type p53 induces apoptosis of myeloid leukaemic cells that is inhibited by interleukin-6 [J]. *Nature*, 1991, 352:345-347.
- [7] O'Keefe K, Li H, Zhang Y. Nucleocytoplasmic shuttling of p53 is essential for Mdm2-mediated cytoplasmic degradation but not ubiquitination [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23:6396-6405.
- [8] Wang X W, Gibson M K, Harris C C, *et al.* Abrogation of p53-induced apoptosis by the hepatitis B virus X gene [J]. *Cancer Res*, 1995, 55(24):6012-6016.
- [9] Ford J M. Regulation of DNA damage recognition and nucleotide excision repair: Another role for p53 [J]. *Mutat Res*, 2005, 577(1-2):195-202.
- [10] Elmore L W, Hancock A R, Harris C C, *et al.* Hepatitis B virus X protein and p53 tumor suppressor inter-

- actions in the modulation of apoptosis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, **94**(26):14707-14719.
- [11] Harris C C, Huo T I, Wang X W, *et al.* Hepatitis B virus X mutants derived from human hepatocellular carcinoma retain the ability to abrogate p53-induced apoptosis [J]. *Oncogene*, 2001, **20**(28):3620-3628.
- [12] Cheng A S, Chan H L, Leung W K, *et al.* Expression of HBx and COX-2 in chronic hepatitis B, cirrhosis and hepatocellular carcinoma: Implication of HBx in upregulation of COX-2 [J]. *Mod Pathol*, 2004, **17**(10):1169-1248.
- [13] Cheng A S, Yu J, Lai P B, *et al.* COX-2 mediates hepatitis B virus X protein abrogation of p53-induced apoptosis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, **374**(2):175-255.
- [14] Wong C M, Fan S T, Ng I O. Beta-catenin mutation and overexpression in hepatocellular carcinoma: Clinicopathologic and prognostic significance [J]. *Cancer*, 2001, **92**(1):136-145.
- [15] Jung J K, Kwun H J, Lee J O, *et al.* Hepatitis B virus X protein differentially affects the ubiquitin-mediated proteasomal degradation of beta-catenin depending on the status of cellular p53 [J]. *J Gen Virol*, 2007, **88**(Pt 8):2144-2198.
- [16] Sung G P, Ji Y M, Chan C, *et al.* Tumor suppressor protein p53 induces degradation of the oncogenic protein HBx [J]. *Cancer Letters*, 2009, **282**(2):229-237.
- [17] Chirillo P, Falco M, Puri P L, *et al.* Hepatitis B virus pX activates NF- κ B-dependent transcription through a Raf-independent pathway [J]. *J Virol*, 1996, **70**(1):641-647.
- [18] Kim S Y, Kim J C, Kim J K, *et al.* Hepatitis B virus X protein enhances NF- κ B activity through cooperating with VBP1 [J]. *BMB Rep*, 2008, **41**(2):158-221.
- [19] Kim H R, Lee S H, Jung G H. The hepatitis B viral X protein activates NF- κ B signaling pathway through the up-regulation of TBK1 [J]. *J FEBS Letters*, 2010, **584**(3):525-530.
- [20] Yun C, Um H R, Cho H, *et al.* NF- κ B activation by hepatitis B virus X (HBx) protein shifts the cellular fate toward survival [J]. *Cancer Lett*, 2002, **184**(1):97-104.
- [21] Um H R, Lim W C, Cho H, *et al.* Raf-1 and protein kinase B regulate cell survival through the activation of NF- κ B in hepatitis B virus X-expressing cells [J]. *Virus Res*, 2007, **125**(1):1-8.
- [22] Fu M, Wang C, Li Z, *et al.* Cyclin D1: Normal and abnormal functions [J]. *Endocrinology*, 2004, **145**(12):5439-5447.
- [23] Attwooll C, Lazzarini D E, Helin K. The E2F family: Specific functions and overlapping interests [J]. *EMBO J*, 2004, **23**(24):4709-4716.
- [24] Park S G, Chung C, Kang H, *et al.* Up-regulation of cyclin D1 by HBx is mediated by NF- κ B/BCL3 complex through κ B site of cyclin D1 promoter [J]. *J Biol Chem*, 2006, **281**(42):31770-31777.
- [25] Bai D S, Dai Z, Zhou J, *et al.* Capn4 overexpression underlies tumor invasion and metastasis after liver transplantation for hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2009, **49**(2):460-470.
- [26] Zhang F, Wang Q, Ye L, *et al.* Hepatitis B virus X protein upregulates expression of calpain small subunit 1 via nuclear factor- κ B/p65 in hepatoma cells [J]. *J Med Virol*, 2010, **82**(6):920-928.
- [27] Sun S, Liu S, Hu T, *et al.* Up-regulated microRNA-143 transcribed by nuclear factor κ B enhances hepatocarcinoma metastasis by repressing fibronectin expression [J]. *Hepatology*, 2009, **50**(2):490-499.
- [28] Ryu S H, Chung Y H, Lee H, *et al.* Metastatic tumor antigen 1 is closely associated with frequent postoperative recurrence and poor survival in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2008, **47**(3):929-936.
- [29] Bui-Nguyen T M, Pakala S B, Sirigiri R D, *et al.* NF- κ B signaling mediates the induction of MTA1 by hepatitis B virus transactivator protein HBx [J]. *Oncogene*, 2010, **29**(8):1179-1268.
- [30] Yoo Y G, Na T Y, Seo H W, *et al.* Hepatitis B virus X protein induces the expression of MTA1 and HDAC1, which enhances hypoxia signaling in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Oncogene*, 2008, **27**(24):3405-3413.
- [31] Xia L M, Huang W J, Wu J G, *et al.* HBx protein induces expression of MIG and increases migration of leukocytes through activation of NF- κ B [J]. *Virology*, 2009, **385**(2):335-377.
- [32] Wang X, Prins B P, Söber S, Laan M, *et al.* Beyond Genome-Wide Association Studies: New Strategies for Identifying Genetic Determinants of Hypertension [J]. *Curr Hypertens Rep*, 2011, **13**(6):442-521.
- [33] Zhu Y Z, Zhu R, Shi L G, *et al.* Hepatitis B virus X protein promotes hypermethylation of p16 (INK4A) promoter through upregulation of DNA methyltransferases in hepatocarcinogenesis [J]. *Exp Mol Pathol*, 2010, **89**(3):268-275.
- [34] Jung J K, Arora P, Pagano J S, *et al.* Expression of DNA methyltransferase 1 is activated by hepatitis B virus X protein via a regulatory circuit involving the

- p16INK4a-cyclin D1-CDK 4/6-pRb-E2F1 pathway [J]. *Cancer Res*, 2007, **67**(12):5771-5779.
- [35] Zheng D L, Zhang L, Cheng N, *et al.* Epigenetic modification induced by hepatitis B virus X protein via interaction with de novo DNA methyltransferase DNMT3A [J]. *J Hepatol*, 2009, **50**(2):377-464.
- [36] Shon J K, Shon B H, Park I Y, *et al.* Hepatitis B virus-X protein recruits histone deacetylase 1 to repress insulin-like growth factor binding protein 3 transcription [J]. *Virus Res*, 2009, **139**(1):14-21.
- [37] Zhang J L, Zhao W G, Wu K L, *et al.* Human hepatitis B virus X protein promotes cell proliferation and inhibits cell apoptosis through interacting with a serine protease Hepsin [J]. *Arch Virol*, 2005, **150**(4):721-762.
- [38] Murata M, Matsuzaki K, Yoshida K, *et al.* Hepatitis B virus X protein shifts human hepatic transforming growth factor (TGF)-beta signaling from tumor suppression to oncogenesis in early chronic hepatitis B [J]. *Hepatology*, 2009, **49**(4):1203-1220.
- [39] Kuo T C, Chao C C. Hepatitis B virus X protein prevents apoptosis of hepatocellular carcinoma cells by up-regulating SATB1 and HURP expression [J]. *Biochem Pharmacol*, 2010, **80**(7):1093-1102.
- [40] Wei C, Ni C, Song T, *et al.* The hepatitis B virus X protein disrupts innate immunity by downregulating mitochondrial antiviral signaling protein [J]. *J Immunol*, 2010, **185**(2):1158-1226.
- [41] Wang Q, Zhang W, Liu Q, *et al.* A mutant of hepatitis B virus X protein (HBxDelta127) promotes cell growth through a positive feedback loop involving 5-lipoxygenase and fatty acid synthase [J]. *Neoplasia*, 2010, **12**(2):103-118.
-