

丁型肝炎病毒的分子生物学研究进展

李晓娟, 况二胜, 杨复华**

(武汉大学生命科学院分子病毒学实验室, 湖北武汉, 430072)

The Molecular Biology of *Hepatitis delta virus*

LI Xiao-juan, KUANG Er-sheng, YANG Fu-hua**

(College of life science, Wuhan university, Wuhan 430072, China)

关键词: 丁型肝炎病毒; 分子生物学

中图分类号: R512.6

文献标识码: A

文章编号: 1003-5125 (2003) 03-0298-05

丁型肝炎病毒(*Hepatitis delta virus*, HDV)是一种缺陷病毒, 必须在嗜肝 DNA 病毒的辅助下才能复制并组装成有感染性的病毒颗粒^[1]。其毒粒为直径 35~37nm, 大小介于 HBV 的 Dane 颗粒和 HBsAg 颗粒之间的球形颗粒。病毒颗粒外层由脂双层和 HBsAg 组成, 内包含由 HDAg 和 HDV RNA 基因组结合组成的核蛋白体。HDV 是目前所知唯一具有共价闭合环状负链 RNA 基因组的动物病毒, 其基因组与感染植物的类病毒和卫星 RNA 十分相似, 即为通过分子内部碱基互补配对折叠形成的高度碱基配对区和单链环状区相间的稳定棒状结构。HDV 基因组 RNA 和反基因组 RNA 上有许多开放阅读框 (ORF), 目前仅明确反基因组 RNA 上的 ORF5 的功能是编码 HDAg。虽然 HDV 基因组较小, 结构简单, 但其几乎所有的复制事件都需要宿主细胞的参与, 分子生物学方面的内容相当丰富。

1 HDV 基因转录和复制

HDV 通过滚环机制复制, 其环状基因组作为 RNA 依赖复制和转录起始的模板, 复制过程中产生两种主要的 RNA, 即单位长度的基因组 RNA 和反基因组 RNA, 这两种 RNA 都可检测到环状或线状形式, 另有少量由基因组为模板转录产生的 0.8kb 的亚基因组 mRNA。基因组 RNA 的复制和转录产生亚基因组 mRNA 均由宿主细胞的 RNA 聚合酶 II 完成, 但反基因组 RNA 的复制似乎由另外完全不同的机制完成^[2-4]。基因组与反基因组的复制效率

约为 30:1, 从而宿主细胞中基因组 RNA 的拷贝数远高于反基因组 RNA。HDAg 和多种细胞因子参与 HDV 复制, 如 delta 交联蛋白 A、核仁蛋白、核磷蛋白 B23 等, 可能是一起形成复制复合体^[5]。

1.1 转录和复制起始

目前已从 HDV RNA 基因组上鉴定出 HDV RNA 转录产生反基因 RNA 的启动子。位于 RNA 棒状结构一端的 1608~1699nt 高度保守区域^[6], 其中的 29nt 区域类似于双向 cDNA 启动子。突变分析表明该区对 HDV RNA—RNA 的体外转录和胞内复制至关重要。该区域的双链部分包含有保守的 GC 结构域、内部突起、基环和外部突起。其中 GC 结构域不是 DNA 复制的必需部分, 但可能稳定该区域的 RNA 结构, 完全缺失该结构域会使整个二级结构失去稳定而导致启动子活性丧失。另一个突起的 UCU 结构域对突变高度敏感, 它和茎环区对启动子的功能和效率是非常必需的。由于反基因组 RNA 上的相同区域并没有转录基因组 RNA 的启动子活性, 故基因组 RNA 复制的启动子功能位点仍待进一步研究。HDV 复制还受自身一些其它序列的影响, 如棒状结构的两端环状区的一些突变严重降低 HDV RNA 复制效率和 HDAg mRNA 的积累^[7]。亚基因组 mRNA 的转录在启动子下游的 1631nt 位点附近开始, 大部分 mRNA 5' 端位于 1630 nt 位点, 并且在 HDV 感染的 Woodchuck 肝抽提物中至少部分这种 RNA 5' 端有帽子结构, 而且在感染肝中存在有 5' 端超出 1630nt 位置 202 nt 甚至 335nt 的多

收稿日期: 2002-10-21, 修回日期: 2003-02-20

作者简介: 李晓娟 (1980-), 女, 硕士研究生, 研究方向为分子病毒学。

** 通讯作者: 杨复华 (1946-), 男, 副教授, 研究方向为分子病毒学。

Correspondence author. Tel: 86-27-87684950-9007

E-mail: fhyang@whu.edu.cn

聚腺苷化反基因组 RNA^[8]。

1.2 转录和复制模式

用 cDNA 或 RNA 转染细胞研究 HDV 转录和复制, 得出两种不同的转录/复制模式^[9]。其一是 0.8kb mRNA 代表 HDV RNA 复制产物的起始, 但被多聚腺苷化所终止, 一旦 HDAg 合成、多聚腺苷化被抑制而允许 RNA 转录延伸成多聚体 HDV RNA, 然后被自身核酶顺式切割并连接成 1.7kb 的环状 RNA 产物。这种模式是从一些 HDV 转录和复制的重要假说发展而来, 并得到一些实验证据支持, 其中最有力的证据是 HDAg 抑制 HDV RNA 多聚腺苷化信号。但这些实验都是以 HDV cDNA 转染细胞所得出的结论, 因而这种模式受到一些质疑。用 HDV RNA 转染细胞的实验得出不同的结论, 即 HDV RNA 复制从 RNA 模板起始, 而 HDAg 并不抑制 HDAg mRNA 多聚腺苷化, 因而 HDV RNA 复制和亚基因组 mRNA 转录可能独立地并在整个病毒生命过程中平行发生。这种模式回答了前一种模式无法解释感染晚期 HDAg mRNA 如何合成的问题, 但仍存在如 HDV RNA 复制中多聚腺苷化信号是如何被克服的等其它的问题。因此上述两种模式仍需进一步研究。

2 HDAg

HDAg 是唯一由 HDV 编码的蛋白质, 通常以两种形式存在: 27kD 的 L-HDAg 和 24kD 的 S-HDAg。除 L-HDAg C 末端多 19 个氨基酸外, 两种形式在序列上完全相同, 事实上两种形式来源于同一开放阅读框。通过 RNA 编辑, S-HDAg 的终止密码子 UAG 变为 UGG 从而翻译成为 L-HDAg。这一过程由宿主细胞的双链 RNA 腺苷脱氨酶介导的 RNA 编辑完成^[10]。编辑位点附近的序列和 RNA 结构对编辑至关重要^[11]。虽然两种 HDAg 在结构上相似, 但它们的功能明显不同。

2.1 HDAg 修饰

HDAg 存在磷酸化修饰^[12,13]和异戊烯化修饰^[14]。在感染动物血清和转染细胞分泌的病毒颗粒中检测不到磷酸化形式的 L-HDAg, 只在感染动物的肝脏和转染细胞中存在单磷酸化形式, 同样只有在细胞内才能检测到磷酸化形式的 S-HDAg, 这可能是磷酸化的 HDAg 只与 HDV RNA 复制和装配中的早期事件有关。S-HDAg 受双链 RNA 活化激酶磷酸化, 并且其磷酸化水平受酪蛋白激酶 CK II 和蛋白激酶 C 两者特异性抑制剂的负调控, 而 L-HDAg 仅受前者抑制剂的负调控, 蛋白激酶 C 的激活剂可以

增强 S-HDAg 磷酸化而 L-HDAg 不受影响。这可能是由于 S、L-HDAg 具有不同的蛋白构型, 两者的磷酸化途径不完全相同。磷酸基团的受体位点 S-HDAg 有 Ser、Thr, 而 L-HDAg 只有 Ser, 但磷酸化的确切功能尚不明确。L-HDAg 可在 C 末端 4 个 Cys 上异戊烯化修饰, 这是病毒中仅知的一例异戊烯化修饰。在血清颗粒、感染细胞、转染细胞和装配颗粒中 25%~85% 的 HDAg 被异戊烯化修饰。异戊烯化修饰的 L-HDAg 大多位于核内, 且是病毒装配所必需的, 修饰的 L-HDAg 优先装配进病毒样颗粒。

2.2 HDAg 介导 HDV RNA 的活动

S-HDAg 是 HDV RNA 复制的早期事件如复制起始的必需成份。用核蛋白体 (RNP) 转染试验表明 S-HDAg 对于 HDV RNA 基因转录、加工和 HDV RNA 积累是必需的^[15]。HDV RNA 在核内复制和转录, 但 HDV RNA 本身不能进入核内而需要 HDAg 的介导^[16]。引导 HDV RNA 入核需要 HDAg 上的核定位信号 NLS 和 RNA 结合功能区。缺失 NLS 和 RNA 结合基序都可导致 HDV RNA 不能进入核内。L-HDAg 和 S-HDAg 在此方面具有相同的功能。单独 HDV RNA 转染不能导致成功复制而 HDV RNA 和 HDAg 组成核蛋白体 RNP 转染可以成功复制。在介导 HDV RNA 入核的过程中, HDAg 与亲核素 $\alpha 2$ 结合, 由亲核素 $\alpha 2 \beta$ 异源二聚体介导 HDV RNA-HDAg 复合物进入核内^[16]。与 S-HDAg 不同, L-HDAg 对 HDV 复制起抑制作用^[17], 小量 L-HDAg 存在即强烈抑制 HDV 基因组 RNA 的合成。不同的是反基因组 RNA (包括 1.7kb 的反基因组 RNA 和 0.8kb 的 mRNA) 对 L-HDAg 的抑制作用有相当程度的抗性。当等量的 S-HDAg 和 L-HDAg 存在时, 反基因组 RNA 合成抑制不超过 50%, 仍能大量合成。而在相同条件下基因组 RNA 的合成几乎完全被抑制。这可合理解释长期存在的问题: HDV 感染后可立即开始反基因组 RNA 的合成, 并在整个病毒生命周期中存在 (支持第二种复制模式)。事实上 HDV 病毒颗粒中存在几乎等量的两种蛋白, 均可随 HDV RNA 一起进入核内。HDV 复制后反基因组 RNA 留在核内, 但加工后的基因组 RNA 通过特异的方式持续转运出核, 等量分布于核内和胞质^[18]。这种方式不需要 HDAg 的参与, 没有 HDAg 存在 HDV RNA 依然能转运出核, 且 HDAg 与 HDV RNA 结合成核蛋白体一起被转运出核, 单独的 HDAg 不能被转运出细胞核^[19]。

2.3 HDAg 对宿主基因表达的影响

HDAg 调控宿主 RNA 聚合酶 II 转向 HDV 的转录和复制, 从而抑制宿主基因的表达^[20]。L-HDAg 而非 S-HDAg 能活化包括 HBV preS、S 和 C 等异源基因启动子^[21], 以及活化血清反应因子相关的转录^[22]。这种功能不受 S-HDAg 表达的影响, 可能与 L-HDAg C 末端独特的 19 个氨基酸中的两个 PXXP motif 密切相关。

2.4 HDAg 与蛋白质的相互作用

HDAg 与多种蛋白质作用, 调控 HDV 的基因表达和活动。事实上, HDAg 与多种核蛋白发生交联, 如核仁蛋白、亲核素 $\alpha 2$ ^[16]、核磷蛋白 B23^[5] 等。并且两种 HDAg 在 12~60 氨基酸区域的卷曲螺旋结构域有利于形成二聚体, 是两种 HDAg 许多功能所必需^[23]: (a) 破坏或改变这种二聚结构域会降低或失去 S-HDAg 在 HDV 复制中的反式激活功能。(b) 在 L-HDAg 上同样的突变阻断对 HDV RNA 复制的抑制和封闭 L-HDAg 与 S-HDAg 共同装配进病毒颗粒。该区域的 α 螺旋结构在 Pro49 位处分开为长的 N 端和短的 C 端 α 螺旋, 长螺旋可反平行结合形成二聚体进而组成多聚体 (如八聚体)。

此外 HDAg 还有一些其它的功能, 如通过 HDAg 的 RNA 伴侣功能增强核酶活性^[24,25]。两种 HDAg, 特别是 L-HDAg 可以增强 HDV 核酶的顺式切割作用和自我连接作用, 这种增强作用需要 HDAg 的 RNA 结合活性, 且 HDAg 还可恢复一些失去核酶功能的突变型 HDV RNA 的核酶活性, 但这种功能并不为 HDV RNA 切割所必需, 也不为 HDV 复制所必需, 可能只是 HDAg 的一种辅助功能, 使 HDV 复制受到更进一步的精细调控。

3 装配

HDV 病毒颗粒由 HBV 来源的外壳和内部核蛋白体组成, 内部核蛋白体中含有环状单链 RNA 基因组和所携带的两种 HDAg。单位长度的基因组 RNA 合成后即折叠成特定的棒状结构, 并与 HDAg 结合, 而外壳则是由宿主细胞来源的脂质和三种 HBV 表面蛋白 (PreS1、PreS2 和 S) 组成。HBV S 蛋白含有所有 HBV 和 HDV 装配和分泌的全部信息, 单独的 S 可以与 HDV RNP 组装与成熟 HDV 病毒颗粒一样的病毒颗粒。研究表明 S 蛋白的 C 端结构域对 HDV 病毒颗粒的形态发生至关重要, 稳定 HDV 病毒颗粒的装配需要 S 蛋白 C 端的特异功能, 其中至少部分由 S 蛋白的 Trp196 介导^[26,27]。但与肝细胞的特异结合位点则存在于 PreS 的延长部分, 感染性病毒颗粒装配需要有 HBV PreS1 表面蛋

白存在。

L-HDAg 介导 HDV 病毒的装配, 装配信号位于 L-HDAg C 端 19 个氨基酸, 对 L-HDAg C 端 19 个氨基酸进行分析表明 L-HDAg 相对于 S-HDAg 疏水性显著增强。这种疏水性的增强独立于 HDAg 的异戊烯化修饰, 但疏水性的增加并不足以使病毒装配, 还需要异戊烯化修饰^[13], 异戊烯化修饰可能提供一个膜锚着位点或有利于膜位点的蛋白质间的相互作用, 如 HDAg 与 HBV S 蛋白的作用。

4 核酶

在 HDV 基因组和反基因组上都存在 82nt 的 HDV 核酶结构域。HDV 核酶为 HDV 复制所必需, 在滚环复制过程中将 HDV RNA 顺式切割成单位长度的基因组和反基因组 RNA。所有失去核酶活性的突变体都丧失 RNA 复制活性。虽有多种 HDV 核酶结构模式, 但最有可能代表体内核酶结构的是假节模式^[28]。

基于 HDV RNA 的无分枝棒状结构, 有两种可能的机制解释核酶活性形式的存在方式: ①多聚体 HDV RNA 中不同部分的核酶和其互补序列的碱基配对使得一些核酶结构域呈现催化活性结构。②核酶活性结构仅存在于非完全合成的 HDV RNA 而非全长的 HDV RNA 中, 核酶一经合成即形成有活性的结构形式, 在其附近的切割位点切割 HDV RNA, 而 HDV RNA 一旦合成到全长核酶序列即由于互补配对失去二级结构而无切割活性。这种核酶活性的终止机制可以使环化的 HDV RNA 不再被切割。

核酶切割产生的 5'-OH 和 2', 3'-环状磷酸末端被重新连接, 且连接只发生在宿主细胞中, 而不发生于体外或大肠杆菌中, 这种宿主特异性连接活性为非序列依赖性, 由宿主细胞的一种默认途径有效环化核酶切割产生的 RNA 产物^[29]。细胞内的 HDV 核酶活性受到 HDAg 和 GAPDH 等蛋白质的增强作用。GAPDH 与 HDV 反基因组 RNA 结合于 379~414nt 区域, 可能增强 HDV 反基因组 RNA 核酶的活性^[30]。

5 其它

5.1 HDV 与细胞的关系

HDV 之所以只能在肝细胞中完成复制循环, 是因为需要嗜肝 DNA 病毒的辅助。已有的研究表明 HDV RNA 基因组能在许多哺乳动物细胞中复制。但禽类细胞不能支持 HDV RNA 基因组复制, 这可能是由于缺少某些允许因子, 且 HDAg 对其有毒性

作用^[31,32]。HDAg 也能抑制重组杆状病毒感染的昆虫细胞的细胞周期^[33]。但 HDV 在哺乳动物细胞中复制时并不出现明显的细胞毒性, HDV 复制与细胞凋亡和细胞周期抑制没有明显关联, 但使分裂细胞有轻微的生长不利, 细胞中 HDV 的表达逐渐衰减^[34]。这种影响不太可能导致肝炎但可能影响肝损伤后的肝细胞再生。

5.2 HDV 的致病性

HDV 感染一般比单独 HBV 感染症状严重, 其严重程度与 HDV 基因型有关。HDV 致病机理尚不清楚, 可能有以下几种机制: ①HDV RNA 或 HDAg 直接对 HBV 感染的肝细胞产生细胞毒性。细胞内大量表达 HDAg 和 HDV RNA 可竞争性抑制宿主细胞的代谢, 干扰宿主细胞蛋白质和 RNA 的合成, 而且较高含量的 HDAg 与细胞中的宿主因子相互作用, 与 HBV 一起对宿主的正常生理功能产生严重影响, 甚至可能诱导细胞凋亡。②L-HDAg 诱导宿主基因表达, 如诱导 MHC I 型基因表达, 增强肝细胞的细胞毒作用, 导致细胞毒 T 淋巴细胞活动增强; 诱导 HBV 某些致病基因的表达, 增强 HBV 对宿主的致病性。这种活性与肝损伤明显相关, 在很大程度上扩大了病毒抗原的毒性反应。③免疫反应, 在慢性丁型肝炎中炎症细胞环绕在受感染的肝细胞周围, 并且血清中的 HDAg 抗体也针对受染细胞, 介导 HDV 感染的机体免疫反应, 从而产生免疫损伤。④HDV 与 HBV 共感染时 HBV 复制可帮助 HDV 的传播扩散, 加重肝损伤。

5.3 利用 HDV 治疗 HBV 感染

HDV 感染依赖于 HBV 提供 HBsAg 以装配形成 HDV 颗粒, 但 HDV 的复制并不依赖 HBV。相反 HDV 感染能抑制 HBV 感染分子标志物和血清中抗原的产生, 并抑制 HBV 基因表达。因此可以设想用 HDV 抑制 HBV 感染并有可能由此发展一种慢性乙型肝炎的专一性治疗方法。并且 HDV 可在大多数哺乳动物细胞中自主复制, 应可作为生物活性小分子 RNA (如核酶、decoy RNA 和反义 RNA 等) 的有效载体。在 HDV 基因组上有多个位点可允许较大的突变^[35], 例如 HDV 棒状结构的 759 位置一端的环状区可以插入多达 57nt 的外源序列而并不阻断 HDV RNA 的复制^[6]。笔者正在研究将 HDV 发展成一种携带短的外源序列 (如核酶、反义 RNA 等) 的载体, 用以治疗慢性乙型肝炎或其它肝脏疾病的可能。

参考文献

- [1] Lai M M. The molecular biology of hepatitis delta virus[J]. *Annu Rev Biochem.* 1995, 64: 259-286.
- [2] Macnaughton T B, Shi S T, Modahl L E, *et al.* Rolling circle replication of hepatitis delta virus RNA is carried out by two different cellular RNA polymerases[J]. *J Virol.* 2002, 76: 3920-3927.
- [3] Moraleda G, Taylor J. Host RNA polymerase requirements for transcription of the human hepatitis delta virus genome[J]. *J Virol.* 2001, 75: 10161-10169.
- [4] Modahl L E, Macnaughton T B, Zhu N, *et al.* RNA-Dependent replication and transcription of hepatitis delta virus RNA involve distinct cellular RNA polymerases[J]. *Mol Cell Biol.* 2000, 20: 6030-6039.
- [5] Huang W H, Yung B Y, Syu W J, *et al.* The nucleolar phosphoprotein B23 interacts with hepatitis delta antigens and modulates the hepatitis delta virus RNA replication[J]. *Journal of Biological Chemistry.* 2001, 276: 25166-25175.
- [6] Beard M R, Macnaughton T B, Gowans E J. Identification and characterization of a hepatitis delta virus RNA transcriptional promoter[J]. *J Virol.* 1996, 70:4986- 4995.
- [7] Wu T T, Netter H J, Lazinski D W, *et al.* Effects of nucleotide change on the ability of hepatitis delta virus to transcribe, process, and accumulate unit-length, circular RNA[J]. *J Virol.* 1997, 71: 5408-5414.
- [8] Gudima S, Wu S Y, Chiang C M, *et al.* Origin of hepatitis delta mRNA[J]. *J Virol.* 2000, 74: 7204-7210.
- [9] Modehl L, Lai M M. Transcription of hepatitis delta antigen mRNA continues throughout hepatitis delta virus(HDV) replication:a new model of HDV RNA transcription and replication[J]. *J Virol.* 1998, 72: 5449-5456.
- [10] Polson A G, Bass B L, Casey J L. RNA editing of hepatitis delta virus antigenome by dsRNA-adenosine deaminase[J]. *Nature.* 1996, 380: 454-456.
- [11] Casey J L. RNA Editing in Hepatitis Delta Virus Genotype III Requires a Branched Double-Hairpin RNA Structure[J]. *J Virol.* 2002, 76: 7385-7397.
- [12] Bichko V, Barik S, Taylor J. Phosphorylation of the hepatitis delta virus antigens[J]. *J Virol.* 1997, 71: 512-518.
- [13] Mu J J, Wu H L, Chiang B L, *et al.* Characterization of the phosphorylated forms and the phosphorylated residues of hepatitis delta virus delta antigen[J]. *J Virol.* 1999, 73: 10540-10545.
- [14] Morleda G, Seeholzer S, Bichko V, *et al.* Unique properties of the large antigen of hepatitis delta virus[J]. *J Virol.* 1999, 73: 7147-7152.
- [15] Dingle K, Bichko V, Zuccola H, *et al.* Initiation of hepatitis delta virus genome replication[J]. *J Virol.* 1998, 72: 4783-4788.
- [16] Chou H C, Hsieh T Y, Sheu G T, *et al.* Hepatitis delta antigen mediates the nuclear import of hepatitis delta virus RNA[J]. *J Virol.* 1998, 72: 3684-3690.
- [17] Modahl L E, Lai M M. The large delta antigen of hepatitis delta virus potentially inhabits genomic but not antigenomic RNA synthesis: a

- mechanism enabling initiation of viral replication[J]. *J Virol*, 2000, 74: 7375-7380.
- [18] Macnaughton T B, Lai M M. Genomic but not antigenomic hepatitis delta virus RNA is preferentially exported from the nucleus immediately after synthesis and processing[J]. *J Virol*, 2002, 76: 3928-35.
- [19] Tavanez J P, Cunha C, Silva M C, *et al.* Hepatitis delta virus ribonucleoproteins shuttle between the nucleus and the cytoplasm[J]. *RNA*, 2002, 8: 637-46.
- [20] Lo K, Sheu G T, Lai M M. Inhibition of Cellular RNA polymerase II transcription by delta antigen of hepatitis delta virus[J]. *Virology*, 1998, 247: 178-88.
- [21] Wei Y, Ganem D. Activation of heterologous gene expression by the large isoform of hepatitis delta antigen[J]. *J Virol*, 1998, 72: 2089-2096.
- [22] Goto T, Kato N, Ono-Nita S K, *et al.* Large isoform of Hepatitis Delta Antigen activates Serum Response Factor-associated transcription[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275: 37311-37316.
- [23] Morleda G, Dingle K, Biswas P, *et al.* Interactions between hepatitis delta virus antigen[J]. *J Virol*, 2000, 74: 5509-5515.
- [24] Jeng K S, Su P Y, Lai M M. Hepatitis delta antigens enhance the ribozyme activities of hepatitis delta virus RNA *in vivo*[J]. *J Virol*, 1996, 70: 4205-4209.
- [25] Huang Z S, Wu H N. Identification and characterization of the RNA chaperone activity of hepatitis delta antigen peptides[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273: 26455-26461.
- [26] Jenna S, Sureau C. Effect of mutations in the small envelope protein of hepatitis B virus on assembly and secretion of hepatitis delta virus[J]. *Virology*, 1998, 251: 176-186.
- [27] Jenna S, Sureau C. Mutations in the carboxyl-terminal domain of the small hepatitis B virus envelope protein impair the assembly of hepatitis delta virus particles[J]. *J Virol*, 1999, 73: 3351-3358.
- [28] Jeng K S, Daniel A, Lai M M. A pseudoknot ribozyme structure is active *in vivo* and required for hepatitis delta virus RNA replication[J]. *J Virol*, 1996, 70: 2403-2410.
- [29] Reid C E. A host-specific function is required for ligation of a wide variety of ribozyme-processed RNAs[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 424-429.
- [30] Lin S S, Chang S C, Wang Y H, *et al.* Specific interaction between the hepatitis delta virus RNA and Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase: an enhancement on ribozyme catalysis[J]. *Virology*, 2000, 271: 46-57.
- [31] Chang J, Moraleda G, Taylor J. Limitations to replication of hepatitis delta virus in avian cells[J]. *J Virol*, 2000, 74: 8861-8866.
- [32] Liu Y T, Brazas R, Ganem D. Efficient hepatitis delta virus RNA replication in avian cells requires a permissive factor(s) from mammalian cells[J]. *J Virol*, 2001, 75: 7489-7493.
- [33] Hwang S B, Park K J. Cell cycle arrest mediated by hepatitis delta antigen[J]. *FEBS Letters*, 1999, 449: 41-44.
- [34] Wang D, Pearlberg J, Liu Y T, *et al.* Deleterious effects of hepatitis delta virus replication on host cell proliferation[J]. *J Virol*, 2001, 75: 3600-3604.
- [35] Wang H W, Wu H L, Chen D S, *et al.* Identification of functional regions required for hepatitis D virus replication and transcription by linker-scanning mutagenesis of virus genome[J]. *Virology*, 1997, 239: 119-131.