维普资讯 http://www.cqvip.co

第19卷5期
2004年10月

中国病毒学
VIROLOGICA SINICA

19（5）：531-534
October 2004

人乳头瘤病毒致癌机制的研究进展*

卞继峰**，于修平

（山东大学医学院分子生物学实验室，山东济南 250012）

Advances of Research on the Carsinogenesis of Human Papillomaviruses

BIAN Ji-Feng，YU Xiu-Ping

(Departmemt. of Molecular Biology, Shandong University School of Medicine, Ji'nan 250012, China)

关键词：人乳头瘤病毒；肿瘤

中图分类号：R373　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1003-5125(2004)05-0531-04

宫颈癌发病率居全球女性恶性肿瘤的第二位，每年约有50万宫颈癌新发病例，其中80%在发展中国家，我国每年约有新发病例13.15万，占世界新发病例的28.8%。近年来宫颈癌发病年龄趋向年轻化，从原来的40～50岁提前到35岁左右[1]。人乳头瘤病毒（*Human papillomaviruses*, HPV）感染是诱发宫颈癌的首要启动因素，90%以上的宫颈癌组织携带高危HPV DNA，其中HPV16型占60%以上。HPV感染主要集中在18～30岁性活跃期的年轻妇女，30岁以后感染明显下降，是由于青春期女性宫颈上皮，特别是移行区（transformation zone）上皮发育不成熟，容易受损伤导致HPV感染[2]。HPV编码6~8个早期蛋白（E1~E8）和2个晚期蛋白（L1~L2），其中E5、E6和E7是其致癌的关键分子。

E1是一类DNA结合蛋白，具有ATPase酶和解旋酶活性，参与病毒DNA复制[3]。在转录过程中往往形成E1E4 mRNA拼接体编码融合蛋白，E1E4蛋白结合中间纤维（intermediate filament）并导致上皮细胞纤维网络结构重构甚至塌陷，E1E4蛋白能够直接结合I类中间纤维中的角蛋白(keratin)18、与II类中间纤维角蛋白8结合能力较弱，不能结合III类中间纤维中的波纹蛋白(vimentin)。E1E4蛋白N端16个氨基酸含有YPLLXLL结构域在结合角蛋白中发挥关键作用。而其C端是E1E4蛋白之间的聚合部位。E1E4蛋白发挥角蛋白交联剂（cross-linker）的作用并阻止角蛋白在可溶性和非可溶性细胞结构间的转送，从而控制细胞分子的细胞内定位[4]。

E5蛋白分布于高尔基体、内质网和细胞膜上，能与多种细胞生长因子受体结合刺激细胞增殖，如EGF-R、PDGF-Rβ和CSF-1R。HPV16E5蛋白可通过空泡型质子泵（vacuolar H(+)-ATPase）抑制内吞泡的酸化，促进生长因子受体再循环，增强EGF/EGF-R促进细胞增殖的作用。E5蛋白可通过抑制高尔基体的酸化，使MHC-I分子滞留于高尔基体而不能到达细胞膜，从而干扰病毒抗原的递呈，是HPV建立持续性感染的重要因素之一。E5蛋白还能够抑制FasL-或TRAIL-介导的细胞凋亡。在细胞癌变后期HPV随机整合于染色体上，导致E5编码基因丢失，因此E5蛋白主要在HPV致癌早期发挥一定作用[5]。

宫颈癌中p53蛋白功能失活主要是通过HPV16E6实现的。E6通过E6AP-泛素途径降解p53蛋白。E6AP一种泛素蛋白连接酶，E6首先与E6AP结合形成复合体E6/E6AP，再与p53蛋白结合，E6AP将活化的泛素转移到p53蛋白，作为被降解的信号，被26S蛋白酶体降解，因此在高危型HPV16“永生化”的细胞和宫颈癌细胞中，p53蛋白含量比正常细胞要低2～3倍，半衰期则从几个小时降到20min左右[6,7]，使p53蛋白控制的G1/S节点失去控制，导致细胞染色体不稳定和基因突变增加以及外源DNA整合到染色体中机率大大升高。p53蛋白有两种被广为关注的多态性蛋白，即第72位氨基酸可为Pro72Arg，研究发现p53Arg比p53Pro更易于被E6蛋白识别和降解，因而提出p53Arg/Arg

收稿日期：2004-03-09，修回日期：2004-04-14
* 基金项目：国家自然科学基金(30200246)
** 通讯作者：卞继峰（1971年6月出生），男，山东鱼台籍，副教授，博士，研究方向为肿瘤病毒。
Corresponding author. Tel: 0531-8382346, Email: bianjf@sdu.edu.cn

维普资讯 http://www.cqvip.c

为妇女罹患宫颈癌的高危因素之一，但现有资料更倾向于认为 p53 蛋白多态性在宫颈癌诱发中不扮演重要角色[8]。晚近 p53 蛋白家族又有 p63、p73 两个新成员被发现，它们与 p53 蛋白有相似的结构和功能，可能为 E6 蛋白新的靶位，但没有发现 E6 蛋白降解 p73 的功能。有研究将携带 p73 基因的重组腺病毒载体导入表达 E6 基因的正常和 Hela 细胞，能够使 Hela 细胞 DNA 合成减少、G1 节点阻止和细胞凋亡出现，p21 蛋白的表达水平也相应升高，表明 p73 可以作为宫颈癌治疗的新靶位[9,10]。而 E6 与 p63 蛋白的研究则更少。

E6 蛋白可通过 E6TP1（E6-target protein 1）-Rap/G 蛋白途径诱导细胞转化，Rap (Ras-proximate)属于 G 蛋白 Ras 蛋白超家族，E6TP1 具有 GAP (GTPase-activating protein, GAPs)类蛋白的催化功能，可催化 Rap-GTP 向 Rap-GDP 转化，E6 可以结合并导致 E6TP1 蛋白的降解，导致活化状态的 Rap-GTP 活性升高而促进肿瘤的发生[11]。

E6 能够结合并降解含有 PDZ 结构域的蛋白质。在 E6 蛋白 C 端含有结合 PDZ 蛋白的保守序列 X-(S/T)-X-(V1L)-COOH，为 PDZ 结合的基元。PDZ 结构域为一个含有 90 个氨基酸的蛋白-蛋白结合元件，常见于神经元细胞的突触连接和上皮细胞的紧密连接处，参与离子通道、信号传导途径及粘附分子的重构[12]。目前发现 E6 蛋白结合 PDZ 蛋白有：hDlg(一种肿瘤抑制蛋白) [13]、MUPP1（含有 13 个 PDZ 结构域，作为 5-HT_2 受体聚合或者 5-HT_2 受体与其配体或其他靶分子结合的接头蛋白 adaptor protein）[14]和 MAGI-1、2、3(MAGI 是逆转录病毒 HTLV-1 Tax-1 蛋白诱导产生的一种 PDZ 类蛋白，E6 蛋白能够结合 MAGI-3 并使其通过蛋白酶体途径降解，MAGI-3 可能也是其他病毒蛋白的靶位) [15]和 hScrib（与果蝇 scrible 蛋白同源的人类蛋白，E6 蛋白能够通过泛素途径降解 hScrib，在 HPV 阴性的 CINII 病变中 hScrib 有较高的表达。在 HPV 感染的宫颈癌细胞中，hScrib 表达水平随着肿瘤的恶性加强而逐步降低以致最后完全抑制[16]。因此 E6 蛋白可以通过 PDZ 蛋白改变细胞间的信号传导等广泛的途径参与肿瘤的发生。

端粒酶在染色体端粒复制中发挥重要作用，端粒酶激活是细胞恶性转化的重要事件，端粒酶的催化亚基-端粒酶反转录酶 hTERT 是决定端粒酶活性的关键部位，hTERT 基因转录调控是调节端粒酶活性的重要方式，hTERT 启动子含有 2 个 E-box 元件（CACGTG），是 bHLHZ 类转录因子的潜在结合部位，如 C-Myc 蛋白。E6 蛋白能够激活端粒酶，机制主要为 E6 蛋白通过 E6 结合蛋白(E6AP、E6TP1)，结合 hTERT 启动子中的 E-box 元件，促进端粒酶基因的转录。另外 E2 蛋白可以直接通过 hTERT 启动子中的刺激因子 sp1 的结合位点抑制端粒酶的表达。宫颈癌细胞常见染色体 3p 和 10p 基因缺失，其中染色体 3p 含有端粒酶抑制基因，染色体 3p 缺失使端粒酶表达升高。另外宫颈癌细胞中 HPV 基因组整合造成 c-myc 基因启动子激活，c-myc 基因高表达可以通过 hTERT 启动子的 E-box 元件激活 hTERT 的表达。hTERT 启动子中含有雌激素受体反应元件（ERα），ERα 能够直接激活端粒酶高表达，在 HPV16 LCR 区域也含有皮质激素受体反应元件，皮质激素可以上调 HPVE6E7 基因的表达，端粒酶、皮质激素和 HPV 可能在宫颈癌诱发中发挥一定的协同作用[17]。

E7 蛋白是 HPV 致癌的关键分子，E7 分为 CR1、CR2、CR3 和 C 端结构域，E7 CR2 含有 LxCxE 元件，E7 蛋白通过 LxCxE 结合 pRB 蛋白使转录因子 E2F 被释放。E2F 是一类转录激活因子，一般情况下受 pRB 蛋白的负调控，当与 pBR 与 E2F 解离后，E2F 即可激活基因转录，促进了众多细胞增殖相关基因的转录。E7 蛋白还可以结合 RB 相关的 porket 蛋白 pRB、p107、p130 等，导致这些蛋白通过泛素途径降解。CR2/pRB 结合后，E7CR1 还可识别其他因子并将其聚集在 pBR 周围导致 pRB 降解。在表达 E7 的细胞内，pBR 蛋白的含量明显降低，表明 E7 与 pBR 降解有关系。除 LxCxE 元件外，SV40 大 T 抗原还含有一个与大肠杆菌 Dna J 相似的 J 结构域，通过改变 pRB、p107 和 p130 构象，干扰 CDK_S 对它们的磷酸化，是不是 E7CR1 也可以象 SV40LT 一样募集细胞分子伴侣参加 pRB 的降解[18]，目前还有待深入研究。

基因活化与核小体组蛋白乙酰化密切相关，因为特定赖氨酸残基乙酰化大大降低了组蛋白-DNA 的作用，把染色体从抑制状态释放出来，激活基因转录。pRB 蛋白协同组蛋白去乙酰化酶（histone deacetylase 1, HDAC1）共同抑制 E2F 介导的转录。E7 蛋白通过 CRIII 结构域的锌指结构特异结合 HDCA-1，参与细胞去乙酰化信号途径[19,20]。这种结合依赖 Mi2β 的参与，Mi2β 是核小体重构去乙酰化酶(NURD)复合体的一种成分，Mi2β 与 DNA 甲基化、核小体重构、染色体重构和组蛋白乙酰化功能密切相关。E7 蛋白还能够通过抑制 pRB/E2F/HDAC1 复合体，直接调节 cdc25 启动子促进 cdc25

维普资讯 http://www.cqvip.c

蛋白的表达。E7 蛋白可以与糖代谢的限速酶之一的丙酮酸激酶M2结合而影响HPV感染细胞中糖代谢功能[21]。

深入研究 HPV 转化蛋白与细胞周期的关系对阐明 HPV 致癌机制具有重要价值。细胞周期紊乱导致细胞无控制地增殖，染色体不稳定性增强和基因突变累计是导致肿瘤发生的重要因素。细胞周期调控由正调控因素和负调控因素协调进行的，正调控因素主要为 Cyclin 和 CDKs 激酶、癌基因产物、激素和细胞生长因子。负调控因素主要为抑癌基因产物 p53、pRB、p21、p27、p15 和 p16 等。E6、E7 通过 p53 和 pRB 导致细胞周期 G1-S 和 G2-M 节点以及有丝分裂节点的失控，染色体不稳定升高、基因突变累计以及染色体非正常分离。E7 蛋白还能够直接结合增殖细胞核抗原(PCNA)，干扰 PCNA-p21 复合体，使 PCNA 解离，PCNA 是一种 DNA 聚合酶亚基，能够促进 DNA 复制；干扰 p21 与 CDK-Cyclin 的结合，从而抑制 p21 蛋白的功能；E7 还能促进 p16 基因表达，抑制 p27 基因表达，p27 能够促进并参与 cyclinD-cdk4 和 cyclinE-cdk2 复合体形成。从 G0/G1 到 S 期，去磷酸化的 pRB 蛋白被逐步磷酸化，导致 E2F 转录因子逐步释放，其中 cyclinD-cdk4 起始 pRB 蛋白的磷酸化，cyclinE-cdk2 最终完成 pRB 蛋白的磷酸化。由于 E7 结合 pRB 促进转录因子 E2F 释放，促进 p16 基因表达，导致 p27 蛋白表达降低和 cyclinE 的高表达。cyclinE 已经成为宫颈癌早期诊断的一个重要参考指标[21]，见图 1 所示。

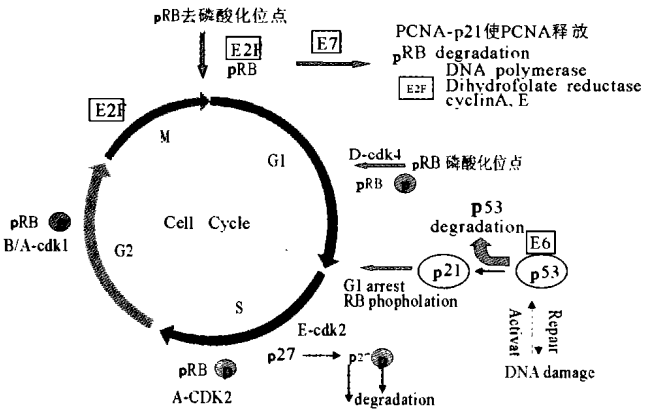

图 1. HPV 与细胞周期调控的关系

Fig.1 The relationship of the HPV infection and cell cycle control

Showed the hypophosphorylating and hyperphosphorylating checkpoints of pRB, HPV16 E6/E7 oncoproteins bind and degradate the cellular suppressor gene products pRB, p53, p21, p27,p15 and p16, and results the release of the PCNA from PCNA-p21 complex and E2F from the pRB-E2F complexes and activates the transcription of the E2F-response genes.

E6 蛋白可直接抑制干扰素 β mRNA 的转录，E7 通过结合干扰素调节因子 p48 而抑制干扰素生成，抑制干扰素的抗病毒作用，是 HPV 形成持续感染的主要原因。HPV16E6“永生化”的上皮细胞中时常伴随 p16INK4 蛋白的丢失，表明 E6 蛋白与 p16 蛋白密切相关。E6 蛋白可以促进 Src 酪氨酸激酶 BLK（酪氨酸激酶家族中的一类膜结合蛋白 p55blk）活性而促进细胞有丝分裂[22]。E6 还可以降解 bcl-2 家族中的 Bak 蛋白、钙结合蛋白 E6BP (ERC55)、粘附蛋白 paxillin（目前翻译为桩蛋白，活化的表皮生长因子 EGF 和 JNK（c-Jun amino-terminal kinase）信号途径的酶可将 paxillin 磷酸化进而控制细胞迁移和粘附能力）[23]、果蝇 discs 抑瘤制蛋白 sor 同源的人类蛋白等途径促进肿瘤发生。E7 还能够与果蝇抑瘤蛋白 Tid56 同源的人类 hTid-1 蛋白(属于 DnaJ 蛋白家族，含有高保守的 J 结构域，具有促进细胞凋亡的作用)[24]、ATPase 的 S2/S4 亚基结合参与肿瘤发生，腺病毒 AdE1A 蛋白的 CR3 区的 LXCXL 结构域能够直接结合 ATPase 的 S2、S4 和 S8 亚基，抑制 26S 蛋白酶体的活性，促进 p53 蛋白水平的升高。HPV16E7 含有与 AdE1A 相似的结构与功能，但 HPV 感染细胞中 p53 蛋白水平降低，而 SV40 或者腺病毒感染的细胞中 p53 蛋白的表达水平高于正常，可能是由于在 SV40 或者腺病毒感染的细胞中 p53 蛋白的突变率较高，E7 与 ATPase 的 S4 亚基结合对 p53 蛋白表达的影响还不清楚[25]。

在 HPV 永生化的细胞中，IL-6 能促进宫颈癌细胞在裸鼠中的生长，而 IL-1、TNF-α 和 TGF-β 则抑制 HPV 基因的转录。TNF-α 对 HPV“永生化”细胞有影响，而没有发现对宫颈癌细胞的影响。HPV 基因转录的主要调控区至少含有 3 个糖皮质激素受体识别元件 GRE_S，糖皮质激素可以促进 HPV11、16、18E6/E7 mRNA 的转录，HPV16 与活化的 ras、fos 转化人上皮细胞有激素依赖特性，并可被 RU486 抑制[26]，目前有关激素和 HPV 致癌关系的机制还需大量研究证实。

总之，HPV 转化蛋白协同参与细胞转化进程：E6 使 p53 调节的 G1/S 节点失控、抑凋亡作用、激活端粒酶，E7 灭活 CDK 抑制物 pRB、p21 和 p27、激活 cyclin A 和 E；干扰 INF 产生、抑制抗原递呈等途径共同作用，使染色体不稳定性和基因突变等肿瘤促发的事件不断积累，使细胞“永生化”和转

维普资讯 http://www.cqvip.c

化。继续深入研究E6/E7蛋白与p53/pRB蛋白的分子结构和结合机制对于开发抗肿瘤药物有重要意义，目前发现在HPV16感染的宫颈癌细胞中导入能结合E6蛋白的小分子类似物可以恢复p53蛋白功能，并诱导细胞出现凋亡，因此设计能结合E6/E7蛋白的小分子多肽药物将是治疗HPV相关肿瘤的主要方向之一。

参考文献

[1] Waggoner S E. Cervical cancer[J]. The lancet, 2003, 361(9376):2217.

[2] Crum C P. Contemporary theories of cervical carcinogenesis: the host the virus and the stem cell[J]. Modern Pathology, 2000, 13(3): 243-251.

[3] Lee D, Sohn H, Kalpana GV. Interaction of E1 and hSNF5 proteins stimulates replication of human papillomavirus DNA[J]. Nature, 1999, 399: 487-491.

[4] Wang Q, Griffin N, Southern S, *et al*. Functional analysis of the human papillomavirus type 16 E1-E4 protein provides a mechanism for in vivo and in vitro keratin filament reorganization[J]. J Virol, 2004,78(2): 821-33.

[5] Marchetti B, Ashrafi G H. The bovine papillomavirus oncoprotein E5 retains MHC class I molecules in the Golgi apparatus and prevents their transport to the cell surface[J]. Oncogene, 2002,21:7808-7816.

[6] Finley D, Ciechanover A, Varshavsky A. Ubiquitin as a Central Cellular Regulator[J]. Cell, 2004,116:29-32.

[7] Tammasino M, Accari R, Calderia, *et al*. The role of p53 in cervical carcinogenesis[J]. Human Mutation, 2003, 21:307-312.

[8] Storey A, Thomas M, Kalita A. *et al*. Role of p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer[J]. Nature, 1998,393:229.

[9] Das S, El-Deiry W S, Somasundaram K. Efficient growth inhibition of HPV16 E6-expression cells by adenovirus-expressing p53 homologue p73beta[J]. Oncogene, 2003,1:8.

[10] Brooks L A, Sullivan A, O'Nions J, *et al*. E7 proteins from oncogenic human papillomavirus types transactivate p73: role in cervical intraepithelial neoplasia[J]. Br J Cancer, 2002, 86(2):263-268.

[11] Singh L, Gao Q, Kumar A, *et al*. The high-risk human papillomavirus type 16 E6 counters the GAP function of E6TP1 toward small Rap G proteins[J]. J Virol, 2003, 77(2):1614-1620.

[12] Zur H H. Papillomavirus and cervical cancer: from basic to clinical application[J]. Nat Rev Cancer, 2002,2(5):342.

[13] Sitek B, Poschmann G, Schmidtke K, *et al*. Expression of MUPP1 protein in mouse brain[J]. Brain Res, 2003, 970(1-2):178-87.

[14] Ohashi M, Sakurai M, Higuchi M, *et al*. Human T-cell leukemia virus type 1 Tax oncoprotein induces and interacts with a multi-PDZ domain protein, MAGI-3[J]. Virology, 2004, 320(1):52-62.

[15] Fuja T J, Lin F, Osann K E, Bryant P J. Somatic mutations and altered expression of the candidate tumor suppressors CSNK1 epsilon, DLG1, and EDD/hHYD in mammary ductal carcinoma[J]. Cancer Res, 2004, 64(3): 942-51.

[16] Nakagawa S, Yano T, Nakagawa K, *et al*. Analysis of the expression and localisation of a LAP protein, human scribble, in the normal and neoplastic epithelium of uterine cervix[J]. Br J Cancer, 2004, 90(1): 194-199.

[17] Das K, Bohl J, Vande Pol SB. Identification of a second transforming function in bovine papillomavirus typ 1 E6 and the role of E6 interactions with paxillin, E6BP, and E6AP[J]. J Virol, 2000, 74(2): 812-816.

[18] Horikawa I, Barrent J C. Trancriptional regulation of the telomerase hTERT gene as a target for cellular and viral oncogenic mechanisms [J]. Carcinogenesis. 2003, 24(7): 1167-1176.

[19] Helt A M, Galloway D A. Mechanisms by which DNA tumor virus oncoproteins target the Rb family of pocket proteins[J]. Carcinogenesis, 2003, 24(2): 159-169.

[20] Nguyen D X, Westbrook T F, McCance D J. Human papillomavirus type 16 E7 maintains elevated levels of the cdc25A tyrosine phosphatase during deregulation of cell cycle arrest[J]. J Virol, 2002, 76(2): 619-632.

[21] Mazurek S, Zwerschke W, Jansen-Durr P, Eigenbrodt E. Effects of the human papillomavirus HPV-16 E7 oncoprotein on glycolysis and glutaminolysis: role of pyruvate kinase type M2 and the glycolytic-enzyme complex[J]. Biochem J, 2001, 356(1): 247-256.

[22] Saijo K, Schmedt C, Su I H. *et al*. Essential role of Src-family protein tyrosine kinases in NF-kappaB activation during B cell development [J]. Nat Immunol, 2003, 4(3): 274-279.

[23] Huang C, Rajfur Z, Borchers C. *et al*. JNK phosphorylates paxillin and regulates cell migration[J]. Nature, 2003,424(6945):219-223.

[24] Cheng H, Cenciarelli C, Tao M, *et al*. HTLV-1 Tax-associated hTid-1, a human DnaJ protein, is a repressor of Ikappa B kinase beta subunit [J]. J Biol Chem, 2002, 277(23): 20605-20610.

[25] Zhang X, Turnell A S, Gorbea C. *et al*. The targeting of the proteasomal regulatory subunit S2 by adenovirus E1A causes inhibition of proteasomal activity and increased p53 expression[J]. J Biol Chem, 2004, 31: [Epub ahead of print].

[26] Villiers E M. Relationship between steroid hormone contraceptives and HPV, cervical intraepitheliar neoplasia and cervical carcinoma[J]. Int J Cancer, 2003, 103:705.