

丙型肝炎 临床实践

CLINICAL PRACTICE OF
HEPATITIS



● 主编 江家骥



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

丙型肝炎

临床实践

HEPATITIS



1111 1111

丙型肝炎 临床实践

主 编 江家骥

副 主 编 林 旭 史维国

学术秘书 萧 蓓 朱日永

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

丙型肝炎临床实践 / 江家骥主编. —北京: 人民卫生出版社, 2010.7

ISBN 978-7-117-12849-0

I. ①丙… II. ①江… III. ①丙型肝炎—诊疗
IV. ①R512.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 085140 号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.ipmph.com	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

丙型肝炎临床实践

主 编: 江家骥

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印 刷: 三河市宏达印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 889×1194 1/16 印张: 17.5 插页: 3

字 数: 554 千字

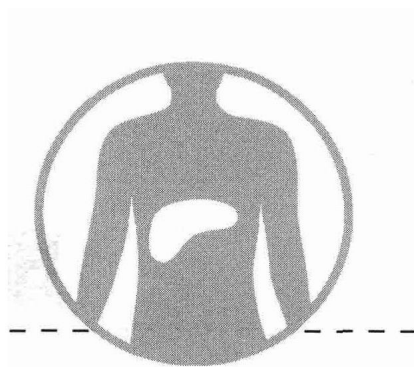
版 次: 2010 年 7 月第 1 版 2010 年 7 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-12849-0/R • 12850

定 价: 60.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)



序

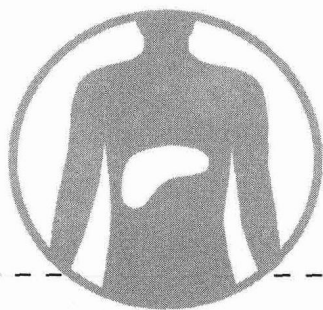
丙型肝炎是由丙型肝炎病毒引起的一种主要经血液传播的传染病,呈世界性流行。据世界卫生组织报告,全球丙型肝炎流行率平均为3%,估计有1.7亿人感染丙型肝炎病毒;每年新增感染者300万~400万例,死亡25万例,占有传染病死因的第10位。丙型肝炎易发展成慢性,75%~85%的急性丙型肝炎可发展成慢性。感染丙型肝炎病毒20年后,肝硬化的年发生率为10%~15%;一旦发展为肝硬化,每年肝癌的发生率为1%~7%。近10年来,在丙型肝炎病原学、免疫学、发病机制、实验室诊断,以及抗病毒治疗和预防方面取得了重要进展,丙型肝炎的治愈率显著提高。

本书由江家骥教授主编。参加本书编写的作者大多是从事肝脏疾病基础研究、临床治疗、实验室检测以及传染病预防控制的第一线的专家,具有深厚的基础理论和丰富的实践经验。他们查阅了国内外大量有关丙型肝炎的最新文献,并结合自己多年来积累的实践经验,经过去粗取精、去伪存真、由此及彼、由表及里的归纳分析,最终完成了本书的编写工作。统观全书,各章主题突出,内容新颖,文字流畅,可读性强。因此,本书具有较高的学术水平和实用价值,不仅对肝病科、感染科、消化内科的专业医师,而且对高等院校的本科生和研究生也是一本很好的参考书。

我衷心祝贺本书的及时面世。我相信,本书的出版将极大地推动我国丙型肝炎的防治和研究工作!

中国工程院院士
中华医学会肝病学会名誉主任委员
中华预防医学会副会长
北京大学医学部教授

2010年1月5日



前言

丙型肝炎病毒(HCV)感染是目前困扰世界公共卫生的一个重要问题。世界卫生组织认为约有 1.7 亿人为 HCV 感染,全球 HCV 感染流行率约 2.2%。HCV 感染后导致的疾病谱广泛,自无症状携带到终末期肝病,给诊断治疗带来很多困扰。有学者认为未来十年中,因 HCV 感染导致的肝移植需求将大大增加。由于 HCV 感染是困扰西方发达国家的一种重要新发传染病(emerging infectious diseases),因此国外不少医药企业对抗 HCV 药物进行了积极研发,进而导致了对 HCV 感染的认知更新较快。下面简要地回顾 HCV 研究方面里程碑式的事件,作为本书的前言。

HCV 的发现是 20 世纪分子生物学技术前沿技术的结果。学术机构和药物产业的实验室开创性的联合研究于 1989 年确定了非甲非乙型病毒性肝炎(非肠源性)的病原体,并将其命名为 HCV。这个发现以及发现的模式具有划时代的意义,研究者抛弃了原有的细胞组织培养、电镜观察、动物接种等传统病毒学研究流程,先是以 HCV 感染者血液在黑猩猩体内制造动物模型,然后以逆转录方法将病原体 RNA 以 cDNA 片段方式存储于载体中,构建了病原体筛检库。通过对约 100 万个克隆表达产物进行血清筛检,以确认阳性克隆。借助 20 世纪 70 年代发明的基因测序技术,研究组首先明确了阳性克隆包含的 HCV 的基因片段,以此为基础创建了第一代抗 HCV 检测方法,之后才通过传统手段明确病毒的结构。有学者称该研究模式为“反向”生物学研究方法,这种方法为后来新发传染病病原体的研究开创了一种新的有效的研究模式,如严重急性呼吸道综合征冠状病毒(SARS-CoV)病原体的确定等。

发展中的分子生物学技术为 HCV 检测及诊断提供了更敏感的检测结果。20 世纪 90 年代初,构建了第一代抗 HCV 的试剂盒,之后的不断研发使得检测的阳性率逐步增高。虽然如此,抗 HCV 检测仍出现较多的假阴性,因此,更为敏感的检测方法一直是研发的重点方向。由于分子生物学的进展,建立在逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)和荧光实时定量 PCR 技术基础上的检测方法被标准化,通过该技术患者血清中 HCV RNA 载量可以通过稳定的商业用检测试剂盒予以检测,并可与其他医疗中心的检测结果进行横向比较。HCV RNA 载量的检测填补了抗 HCV 检测假阴性的空缺,使得患者被漏诊的可能性大大减少。近来对 HCV 抗原的检测试剂盒经研发已经进入到临床应用阶段,相信在不久的将来,对于 HCV 的检测将包括病毒抗原、抗体、基因载量等三部分,将有助于医师对患者病情的具体判断。随着知识的更新和复杂的检验结果的出现,医师对疾病的认知变得更为深入,对病情的把握也变得更为精确,随之而来的是知识点的不断更新。

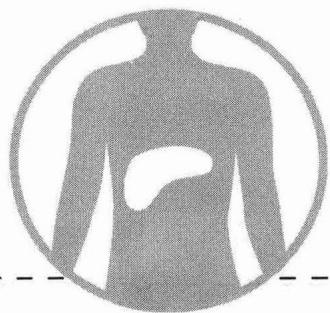
抗病毒治疗方案的不断更新是基于对 HCV 生活史的了解而建立的。自 20 世纪 90 年代以来, 基于对病毒感染根本性的认知, 人们知道了患者特异性免疫缺陷是导致病毒慢性感染的主要原因。在此基础上设计的抗病毒治疗是以干扰素 α (IFN- α) 为核心的治疗方案。该治疗方案的发展大致可分为 3 个阶段: IFN- α 联合或不联合利巴韦林时期, 聚乙二醇化 IFN- α (PEG-IFN- α) 联合或不联合利巴韦林时期, 以 PEG-IFN- α 为核心的联合多种机制病毒复制抑制剂时期。IFN 在抗 HCV 中的应用尤其迅猛, 其他亚型的 IFN, 如 IFN- β 、IFN- ω 等都介入到抗 HCV 治疗中。此外, 药物运送系统的革命性变化不仅仅带来应用的方便, 更带来了较高的疗效, 除了现在已经应用于临床实践的 PEG-IFN- α , 近期可能应用于临床的有: 人血白蛋白 (HAS) 运载的 IFN- α 、 β , 高分子材料包裹的 IFN (Locteron) 等。另一进展迅速的方面是基于 HCV 分子生物学研究前沿而设计的特异性阻断 HCV 复制的小分子药物, 这些小分子药物将直接阻断 HCV 生活史的某个步骤, 或者阻断宿主蛋白对 HCV 复制的帮助作用。目前接近临床应用的有: 蛋白酶抑制剂、核苷类多聚酶抑制剂、非核苷类多聚酶抑制剂等。这些药物将在未来改变抗 HCV 治疗的格局, 而且可提供多种治疗模式, 使得抗 HCV 治疗不仅仅局限于慢性丙型肝炎患者, 而是进一步扩展为丙型肝炎肝硬化、丙型肝炎相关性肝癌、丙型肝炎感染者实体器官移植等领域。

本书试图将上述研究进展综合表述给专业人士, 主要对象是临床工作者。鉴于中国国情, 我们在 HCV 感染防治方面还有很多工作要做, 如: 详细的 HCV 感染流行病学分布、检测方法的推广、标准治疗方案对国人 HCV 感染者的治疗效果等, 这些都值得深入地研究。在临床经验中, 国人 HCV 感染者的治疗效果较好, 获得持续病毒学应答 (SVR) 的比例较高, 其中病毒学因素和宿主因素均值得深入研究, 已经有学者开始研究这个现象。因此, 我国的临床专业人士在进一步完善规范化治疗的基础上, 积极利用现有的生物学资源, 借助于分子生物学的进展, 一定会在控制 HCV 感染中作出自己的贡献。

由于 HCV 理论与临床领域的进展迅猛及本书编写组经验的不足, 难免挂一漏万。如果此书能给读者带来点滴作用, 将是全体编撰者的荣幸。

江家骥

2010 年 4 月 15 日



目 录

基 础 篇

第一章 丙型肝炎病毒的基因组结构	3
第一节 丙型肝炎病毒基因组的组织结构与特点	3
第二节 丙型肝炎病毒基因组的翻译和翻译后加工	5
第三节 丙型肝炎病毒基因组非翻译区	6
第四节 丙型肝炎病毒基因组编码蛋白的特征与功能	6
第二章 丙型肝炎病毒生活史	19
第一节 病毒子结构	19
第二节 丙型肝炎病毒生活史	20
第三章 丙型肝炎病毒准种与基因型	27
第一节 丙型肝炎病毒的基因异质性	27
第二节 丙型肝炎病毒准种	28
第三节 丙型肝炎病毒基因型	31
第四章 丙型肝炎病毒与宿主免疫	36
第一节 丙型肝炎病毒的先天性免疫应答	36
第二节 丙型肝炎病毒的体液免疫应答	38
第三节 丙型肝炎病毒的细胞免疫应答	39
第四节 丙型肝炎病毒免疫逃逸机制	41
第五章 丙型肝炎病毒与自身免疫	46
第一节 自身免疫的概念	46
第二节 丙型肝炎病毒感染引发自身免疫疾病的机制	46
第三节 丙型肝炎病毒的感染与自身免疫相关并发症	51
第六章 丙型肝炎病毒感染的病理学表现	54
第一节 急性丙型肝炎的病理改变	54

第二节	慢性丙型肝炎的病理改变	56
第三节	丙型肝炎的超微结构病理学	58
第四节	丙型肝炎复发的移植病理学	59
第七章	慢性丙型肝炎与非酒精性脂肪性肝病	61
第一节	肝脂肪变性的发病机制	61
第二节	丙型肝炎病毒感染与非酒精性脂肪肝流行病学	63
第三节	慢性丙型肝炎肝脂肪变性的机制	64
第四节	肝脂肪变性慢性丙型肝炎纤维化	65
第五节	肝脂肪变性对抗丙型肝炎病毒治疗的影响	67
第八章	丙型肝炎病毒相关性肝细胞癌	69
第一节	丙型肝炎病毒与肝细胞癌	69
第二节	丙型肝炎病毒结构蛋白与肝细胞癌	70
第三节	丙型肝炎病毒非结构蛋白与肝细胞癌	75
●————— 临 床 篇 —————●		
第九章	丙型肝炎病毒流行病学及自然史	81
第一节	丙型肝炎的流行病学特征	81
第二节	丙型肝炎病毒感染自然史	84
第十章	慢性丙型肝炎	87
第一节	慢性丙型肝炎发病机制简述	87
第二节	慢性丙型肝炎的临床表现	88
第三节	慢性丙型肝炎的鉴别诊断	91
第四节	慢性丙型肝炎治疗概述	94
第十一章	丙型肝炎肝硬化	96
第一节	丙型肝炎病毒相关性肝硬化自然史	96
第二节	丙型肝炎病毒相关性肝硬化临床表现	96
第三节	实验室和辅助检查	98
第四节	丙型肝炎病毒相关性肝硬化治疗总论	101
第十二章	丙型肝炎病毒相关性特发性混合性冷球蛋白血症	107
第一节	丙型肝炎病毒相关性特发性混合性冷球蛋白血症发生机制	107
第二节	丙型肝炎病毒相关性特发性混合性冷球蛋白血症临床表现	108
第三节	丙型肝炎病毒相关性特发性混合性冷球蛋白血症治疗	110
第十三章	丙型肝炎病毒感染与卟啉症	113
第一节	卟啉症	113
第二节	丙型肝炎病毒相关性卟啉症	118

第十四章	丙型肝炎病毒感染相关肝外表现	120
第一节	丙型肝炎病毒感染相关肝外表现概述.....	120
第二节	丙型肝炎病毒感染相关肝外表现.....	120
第十五章	丙型肝炎病毒与人类免疫缺陷病毒重叠感染	126
第一节	丙型肝炎病毒与人类免疫缺陷病毒重叠感染流行病学.....	126
第二节	丙型肝炎病毒与人类免疫缺陷病毒重叠感染发病机制.....	128
第三节	丙型肝炎病毒与人类免疫缺陷病毒重叠感染临床表现.....	129

●————— 检 测 篇 —————●

第十六章	丙型肝炎病毒血清学检测及其意义	137
第一节	酶联免疫吸附法.....	137
第二节	重组免疫印迹法.....	142
第三节	丙型肝炎病毒抗原的检测.....	143
第十七章	丙型肝炎病毒载量的检测	146
第一节	病毒载量检测基本原理.....	146
第二节	样本 RNA 提取	147
第三节	丙型肝炎病毒 RNA 定性检测	148
第四节	丙型肝炎病毒 RNA 定量检测	150
第五节	几种常用丙型肝炎病毒检测技术的比较.....	154
第十八章	丙型肝炎病毒基因分型检测	157
第一节	丙型肝炎病毒分型方法.....	157
第二节	商品化分型技术及试剂.....	161
第三节	丙型肝炎病毒分型的意义.....	163

●————— 治 疗 篇 —————●

第十九章	丙型肝炎病毒感染治疗概论	169
第一节	慢性丙型肝炎的治疗意义.....	169
第二节	抗病毒治疗方案的演进.....	169
第三节	干扰素的抗病毒机制.....	170
第四节	抗病毒治疗指征.....	173
第五节	抗病毒治疗常用专有名词.....	174
第二十章	普通干扰素联合利巴韦林抗病毒治疗	175
第一节	普通干扰素.....	175
第二节	利巴韦林.....	181
第三节	干扰素联合利巴韦林.....	182
第四节	重组复合干扰素.....	184

第五节 Viramidine	185
第二十一章 长效干扰素治疗慢性丙型肝炎	187
第一节 聚乙二醇化干扰素	187
第二节 目前应用的聚乙二醇化干扰素	188
第三节 聚乙二醇化干扰素的应用原则	189
第四节 聚乙二醇化干扰素的治疗研究	190
第五节 聚乙二醇化干扰素药物不良反应	193
第六节 聚乙二醇化干扰素治疗中随访及监测	195
第七节 聚乙二醇化干扰素抗病毒治疗的疗效预判	196
第八节 特殊患者的治疗方案	197
第九节 目前治疗方案的探讨	199
第二十二章 丙型肝炎病毒相关性肝硬化的治疗	202
第一节 丙型肝炎病毒导致肝硬化的机制	202
第二节 丙型肝炎病毒相关性肝硬化代偿期的抗病毒治疗	203
第三节 丙型肝炎病毒相关性肝硬化失代偿期的抗病毒治疗	205
第四节 丙型肝炎病毒相关性肝硬化围肝脏移植期抗病毒治疗	207
第五节 丙型肝炎病毒相关性肝硬化抗病毒治疗的安全性	207
第二十三章 丙型肝炎病毒与人类免疫缺陷病毒重叠感染的治疗	209
第一节 一般建议	209
第二节 抗病毒治疗	209
第二十四章 儿童青少年丙型肝炎病毒感染的治疗	216
第一节 儿童青少年丙型肝炎病毒感染现状	216
第二节 儿童青少年抗丙型肝炎病毒治疗	217
第三节 儿童青少年抗病毒治疗的副作用及对策	219
第二十五章 肝移植与丙型肝炎病毒再感染	221
第一节 丙型肝炎病毒肝移植	221
第二节 肝移植后丙型肝炎病毒复发	222
第三节 肝移植后丙型肝炎病毒再感染的治疗	225
第二十六章 其他干扰素类在抗丙型肝炎病毒领域的应用	230
第一节 其他载体干扰素 α	230
第二节 其他类型干扰素在抗丙型肝炎病毒治疗中的应用	232
第二十七章 丙型肝炎病毒特异性靶向药物治疗	237
第一节 丙型肝炎病毒蛋白酶抑制剂	237
第二节 丙型肝炎病毒 RNA 多聚酶抑制剂	242
第三节 宿主相关性抗丙型肝炎病毒的特异性靶向药物	245

第二十八章 丙型肝炎病毒的基因治疗·····	248
第一节 基因治疗的概念和策略·····	248
第二节 基于核酸的基因治疗·····	249
第三节 基于病毒蛋白的基因治疗·····	256

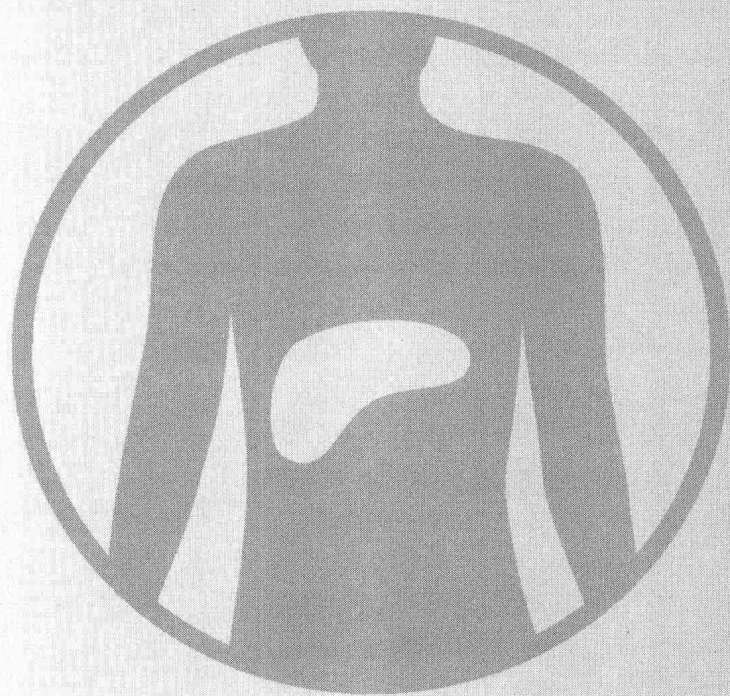
●————— 预 防 篇 —————●

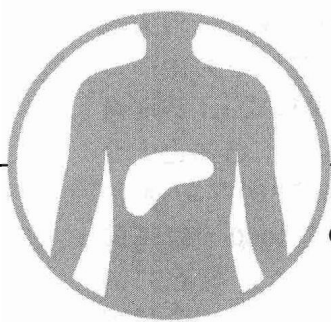
第二十九章 丙型肝炎病毒感染传播防治对策·····	261
第一节 丙型肝炎病毒传播途径及高危人群·····	261
第二节 预防丙型肝炎病毒传播的对策·····	262
第三十章 丙型肝炎病毒疫苗·····	265
第一节 丙型肝炎病毒感染免疫反应概述·····	265
第二节 丙型肝炎病毒疫苗研究现状·····	266
第三节 提高免疫效果的策略·····	271

丙型肝炎

临床实践

基 础 篇





第一章

丙型肝炎病毒的基因组结构

第一节 丙型肝炎病毒基因组的组织结构与特点

一、丙型肝炎病毒基因组的发现

由于丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染后,在患者血液中的含量低且 HCV 难于进行体外组织培养,因此这在早期研究中对进行 HCV 病毒基因组的分离和鉴定造成了较大困难。1989 年,Choo 等收集大量被非甲非乙型肝炎(non-A, non-B hepatitis, NANBH)病毒慢性感染的黑猩猩血浆,提取血浆中总的核酸,通过随机引物进行逆转录获得 cDNA,并制备了相应的噬菌体表达文库。利用 NANBH 患者血清对文库进行筛选检测,从约 100 万个噬菌体克隆中筛选获得了一个可与 NANBH 患者血清稳定结合的阳性克隆(该克隆标号为 5-1-1),通过序列分析获得了第一段 NANBH 病毒基因组序列。之后在输血后肝炎患者及疑似 NANBH 病毒携带者的供血员血清中也分离到了与 5-1-1 核酸序列具有较高同源性的序列,从而证明了 5-1-1 核酸序列与 NANBH 病毒的相关性。

随后在 1989 年日本东京举行的非甲非乙型肝炎国际会议上将这一新的肝炎病原体正式定名为丙型肝炎病毒。HCV 基因组的发现为之后开展相关的 HCV 分子生物学、诊断、流行病学、感染与发病机制等研究提供了重要的基础。

二、丙型肝炎病毒基因组的组织结构

HCV 病毒基因组为单股正链 RNA 形式,长度约为 9600 个核苷酸(nucleotide, nt)。HCV 病毒基因组的结构可主要分为 5' 非翻译区(untranslated regions, UTR)、HCV 前体多聚蛋白(又称前体多蛋白, precursor polyprotein)编码区和 3' 端 UTR。5'UTR 区在病毒基因组的表达和复制中具有关键作用,其核酸序列可形成 4 个结构域,可形成内部核糖体进入位点(internal ribosome entry site, IRES)的结构形式启动病毒基因组 RNA 的翻译。3'UTR 区也与病毒复制调控等作用相关,其核酸序列可形成一种稳定的茎-环结构(stem-loop),拥有长度不等的多聚尿苷酸-多聚尿苷酸/胞嘧啶[poly(U)-poly(U/C)]序列。在 5'UTR 区与 3'UTR 区之间为 HCV 的前体多聚蛋白编码区,可编码长度约 3000 个氨基酸的前体多聚蛋白,不同基因型的 HCV 前体多聚蛋白的长度略有不同。根据所编码的蛋白在 HCV 复制与组装中的作用,前体多聚蛋白编码序列从 5' 端至 3' 端可分为结构蛋白基因区和非结构蛋白基因区。其中,结构蛋白基因区还可分为核心区(核心蛋白基因区,又称 C 区, core region)和包膜区(包膜蛋白基因区,又称 E 区, envelope region),分别编码 HCV 的核心蛋白(也称 C 蛋白, core protein)和包膜糖蛋白(包膜蛋白, E 蛋白)E1、E2,以及在核心区由核糖体移码翻译产生的 F 蛋白(frameshift protein)。非结构蛋白基因区可编码 P7、NS2、NS3、NS4 和 NS5 等非结构蛋白,这些蛋白可分别作为蛋白酶、核酸解旋酶、RNA 依赖的 RNA 聚合酶(RNA-dependant RNA polymerase, RdRP)等,在 HCV 前体蛋白的翻译后加工、病毒基因组复制等过程中起到重要作用。

HCV 在病毒分类学上属于黄病毒科 (*Flaviviridae*) 的丙型肝炎病毒属 (*Hepacivirus*)。黄病毒科包括丙型肝炎病毒属、黄病毒属 (*Flavivirus*) 和瘟病毒属 (*Pestivirus*)。黄病毒科家族的成员在病毒结构、基因组等生物学特性上具有许多共同的特征 (图 1-1)。在病毒结构上, 黄病毒科家族成员均为包膜病毒, 包膜结构均为典型的脂质双分子层结构, 具有 2 个或者更多的包膜糖蛋白; 包膜下为由病毒核心蛋白构成的核衣壳, 病毒基因组 RNA 包裹于核衣壳内部。在基因组结构和组织形式上, 黄病毒科病毒的基因组均为单股正链 RNA 分子结构, 长度在 9600~12 300nt 之间。基因组组织结构也十分相似, 在基因组序列的 5' 端和 3' 端都有一段非翻译区, 其在病毒前体多聚蛋白的翻译和病毒 RNA 复制中起着重要作用。非翻译区间为一连续的开放读码框 (ORF), 可编码长度为 3000~4000 个氨基酸 (aa) 的病毒多聚蛋白前体。以所编码蛋白在病毒复制和组装中的作用, 可将该 ORF 从 5' 端至 3' 端分为结构蛋白区和非结构蛋白区。病毒基因组所编码的各个功能蛋白在前体多聚蛋白肽链中的排列顺序和位置也基本相似。对前体多聚蛋白肽链进行的氨基酸亲疏水性分析显示, 黄病毒科成员均具有相似的特征, 其中丙型肝炎病毒属和黄病毒属之间具有更高的相似性。在病毒基因组的复制过程中, 黄病毒科家族成员也具有许多相似性, 病毒通过与宿主细胞膜上的一个或多个细胞受体结合形成受体复合物 (receptor complex), 并引发受体介导的内吞作用, 病毒包膜与宿主细胞膜融合后将病毒核衣壳送入宿主细胞质, 完成脱核衣壳后病毒基因组 RNA 在宿主细胞质中开始翻译, 产生病毒前体多聚蛋白, 该前体多聚蛋白随后分别被宿主细胞和病毒编码的蛋白酶水解成各个结构蛋白和非结构蛋白。病毒的复制发生在宿主细胞质中, 基因组 RNA 的复制由与宿主细胞膜系统相连的病毒复制复合体 (viral replication complex) 完成, 复制中需要产生全长的负链 RNA 中间体。病毒核心蛋白包裹子代基因组 RNA, 子代病毒粒子在由细胞内膜出芽形成的胞质囊泡中进行组装, 最后通过胞吐作用分泌至胞外。

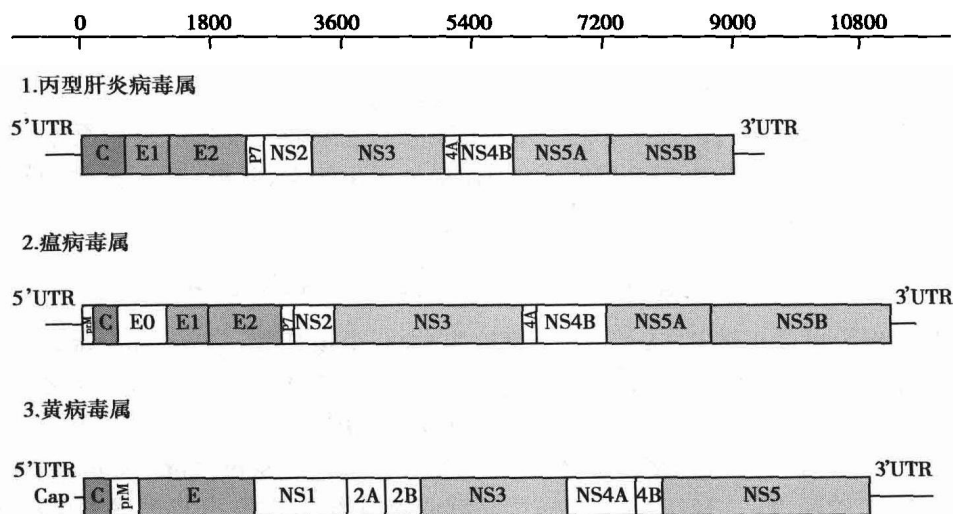


图 1-1 黄病毒科病毒基因组的结构示意图

除了与黄病毒科家族其他成员具有的共同特征外, HCV 在基因组序列和组织结构方面也具有其独特的特点。HCV 基因组 RNA 的翻译是通过由具有复杂二级结构的 5'UTR 与下游的核心蛋白编码区的部分序列共同构成的 IRES 结构启动的, IRES 可介导与宿主细胞核糖体亚基和相关细胞因子的直接结合从而启动病毒基因组 RNA 的翻译。HCV 的这种翻译形式是非帽状结构依赖性的, 即其 5'UTR 不会形成帽状结构, 这与黄病毒属成员的病毒基因组 RNA 翻译方式不同, 黄病毒属病毒基因组的翻译需要由位于 5'UTR 的 I 型帽状结构 ($m^7GpppAmp$) 进行引导。在 3'UTR 结构上, 与黄病毒属病毒 3'UTR 具有的复杂的二级结构不同, HCV 的 3'UTR 相对较短, 结构较为简单, 带有长度不等的多聚尿苷酸序列。

第二节 丙型肝炎病毒基因组的翻译和翻译后加工

HCV 基因组正义 RNA 链通过病毒核衣壳的脱壳作用释放到宿主细胞质中,它们与新合成的 RNA 一起作为 mRNA 在细胞质中翻译,产生 HCV 前体多聚蛋白。IRES 调控 HCV 基因组的翻译,它跨越了 5'UTR 的 II~IV 区域及核心编码区的第一个核苷酸。IRES 区域 I 不属于 IRES 的一部分,但是它在调节 IRES 依赖的翻译过程当中起到了非常重要的作用。IRES 通过聚集细胞蛋白包括真核翻译起始因子 (eukaryotic initiation factors, eIF) 2、3 和病毒蛋白,从而调节非帽状结构依赖性的 HCV 多聚蛋白的翻译。体外翻译实验结果显示, HCV 翻译过程中会形成 3 个分别为 40S、48S、80S 的翻译起始复合物。HCV IRES 无需翻译起始因子即可直接与 40S 核糖体亚基结合,从而形成稳定的翻译起始前复合物。40S 核糖体亚基可与 eIF3 结合形成三元复合物,并与 eIF2、GTP、起始 tRNA 结合形成 48S 复合体, tRNA 在 48S 中定位于 40S 核糖体亚基的“P”位,与 mRNA 的起始密码子配对结合。随着 GTP 的水解, eIF2 释放起始 tRNA 并从复合物中解离。结合启动因子 eIF5B 时第二个 GTP 水解,进而使 60S 核糖体亚基联合,形成能够进行病毒蛋白合成的 80S 核糖体。研究发现宿主细胞内的许多蛋白与 5'UTR 存在相互作用。目前对于这些蛋白与病毒 RNA 相互作用的生物学意义尚不完全清楚。此外研究也显示, HCV 蛋白如核心蛋白、NS4A、NS5B 也会对 IRES 的翻译效率产生影响。HCV 3'UTR 也可能参与了对 IRES 介导的翻译的调节(图 1-2)。

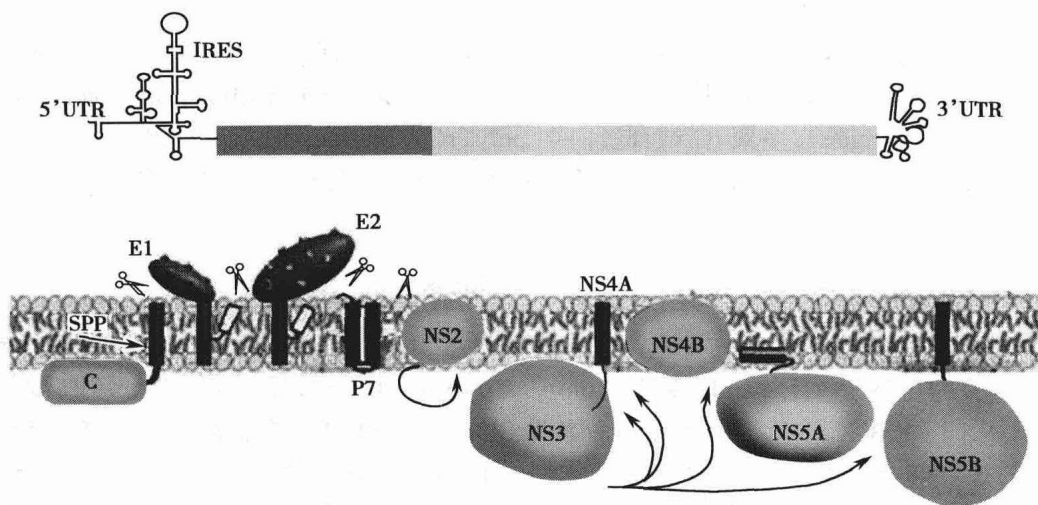


图 1-2 HCV 前体多聚蛋白的翻译与翻译后加工

HCV 前体多聚蛋白的翻译后加工信号序列位于核心蛋白与 E1 氨基酸序列之间,宿主细胞的信号肽酶 (signal peptide peptidase, SPP) 可识别并剪切获得核心蛋白的不成熟形式 (P23)。信号肽会被宿主细胞的信号肽酶进一步加工剪切,获得核心蛋白的成熟形式 (P21)。宿主细胞信号肽酶也会在内质网腔中剪切 E1 和 E2 蛋白的连接,另一个信号肽酶会剪切 E2 的 C 末端和 P7 与 NS2 区连接处获得 P7。存在不完全剪切时会获得未剪切的 E2-P7 蛋白,但这种机制尚未被阐明。E1 和 E2 需要进行几个加工步骤以最终成熟,包括 N-糖基化、形成空间构象、E1-E2 异二聚体的组装。也可以获得不同来源的 E1-E2 聚合体,但目前还不知道它们在病毒颗粒形成中的作用。NS3 通过锌离子依赖的 NS2-3 自剪切蛋白酶活性与 NS2 剪切分离。NS3 需要与其辅助因子 NS4A 组合以顺式剪切 NS3/NS4A 的连接,并反式剪切下游所有的连接点,包括 NS4A/NS4B、NS4B/NS5A 和 NS5A/NS5B 的连接点。研究显示, NS3-4A 蛋白酶的剪切识别位点通常都包含这样的序列: Asp/GluXXXXCys/Thr-Ser/Ala。反式剪切通常发生在半胱氨酸残基下游,顺式剪切通常发生在苏氨酸残基下游。