

## 人巨细胞病毒感染对宿主细胞周期调控因子的影响

## Effect of human cytomegalovirus infection on host cell cycle regulatory factor

陈平洋(CHEN Ping-yang), 闫淑媛(YAN Shu-yuan) 综述 谢宗德(XIE Zong-de) 审校

(中南大学湘雅二医院, 湖南 长沙 410011)

(The Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

[关键词] 人巨细胞病毒; 细胞周期; 调控因子

[中图分类号] R361+.3 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9638(2009)01-0061-05

人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)属 $\beta$ 疱疹病毒亚科,广泛感染人类,是导致新生儿出生缺陷的头号感染性因素<sup>[1]</sup>,并严重威胁免疫力低下人群<sup>[2]</sup>。目前研究认为,HCMV能通过多种机制干扰宿主细胞正常生理过程,现将HCMV对宿主细胞周期调控因子影响的研究进展综述如下。

## 1 细胞周期 Cyclin-Cdk-CKI-P53-Rb-E2F 调控系统

1.1 Cyclin/Cdk 蛋白复合物 Cyclin:20 世纪 80 年代初, Tim Huunt 等在发育的海胆和蚌卵中发现一种随着细胞周期的变化而发生改变的蛋白,后称为细胞周期蛋白(Cyclin)。迄今,在对高等真核生物 Cyclin 的研究中,已鉴定出有 Cyclin A、Cyclin B、Cyclin C、Cyclin D、Cyclin E、Cyclin F、Cyclin G、Cyclin H 等。其中,D 型周期蛋白又有 D1、D2、D3 三种亚型。根据它们在细胞周期中调控阶段不同,分为 G<sub>1</sub>-Cyclin(如 Cyclin C、Cyclin D)、G<sub>1</sub>/S-Cyclin(如 Cyclin E)、S-Cyclin(如 Cyclin A)、M-Cyclin(如 Cyclin B、Cyclin H)<sup>[3]</sup>。不同的 Cyclin 在细胞周期中消长的时相不同,在哺乳动物的细胞中,Cyclin D 在细胞周期中持续表达;Cyclin E 在 M 晚期和 G<sub>1</sub> 早期开始表达,在 G<sub>1</sub> 晚期含量达到最大,经过 G<sub>1</sub>/S 限制点后逐渐下降,在 G<sub>2</sub> 晚期,降至最低水平;Cyclin A 在 G<sub>1</sub> 早期开始表达,到 G<sub>1</sub>/S 转换时含量达到最大值并一直维持到 G<sub>2</sub>/M 期;Cyclin

B 从 G<sub>1</sub> 晚期开始表达,到 G<sub>2</sub> 晚期达到最大值并一直维持到 M 中期,然后迅速降解<sup>[4]</sup>。

Cdk:20 世纪 80 年代初,Leland. Hartwell 等利用遗传学方法研究啤酒酵母时发现了一群基因与细胞周期的调控有关,称为细胞分裂周期基因(cell division cycle genes,cdc genes);后众多研究发现,此类基因表达的蛋白是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,只有与周期蛋白结合才能发挥激酶活性,因此被称为周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinase, Cdk)。在脊椎动物中包括 Cdk1、Cdk2、Cdk4、Cdk6 四种亚型。其中 Cdk1 与 M-Cyclin 结合形成 M-Cdk 复合物;Cdk2 与 G<sub>1</sub>/S-Cyclin、S-Cyclin 结合形成 G<sub>1</sub>/S-Cdk、S-Cdk 复合物;Cdk4 和 Cdk6 与 G<sub>1</sub>-Cyclin 结合形成 G<sub>1</sub>-Cdk 复合物。不同的 Cyclin/Cdk 复合物负责细胞周期的不同事件:G<sub>1</sub>-Cdk 协助细胞在 G<sub>1</sub> 期末顺利通过 G<sub>1</sub>/S 限制点;G<sub>1</sub>/S-Cdk 为细胞进行 DNA 复制作好准备;S-Cdk 启动 DNA 复制;M-Cdk 则促使细胞进行分裂<sup>[3]</sup>。

Cyclin/Cdk 复合物是细胞周期调控的核心部分,是细胞周期的“发动机”,其活性受一个复杂的调控网络调控,包括 Cdk 的磷酸化状态、Cyclin 的合成及降解、Cdk 抑制蛋白的抑制作用等。

1.2 CKI CKI 是科学家们于 20 世纪 90 年代初发现的一类与 Cyclin 竞争性结合 Cdk,从而抑制 Cdk 活性的蛋白,称为细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白(cyclin-dependent kinase inhibitor,CKI),能阻止 Cyclin/Cdk 复合物的形成与活化,从而负向调

[收稿日期] 2007-12-11

[作者简介] 陈平洋(1962-),女(汉族),湖南省湘潭市人,教授,主要从事新生儿疾病研究。

[通讯作者] 陈平洋 E-mail:wycpyfu@163.com

控细胞周期<sup>[5]</sup>。根据这些因子与 Cdk 相互作用的特异性和序列同源性可分为两类:一类是 INK4 家族,另一类是 CIP/KIP 家族。INK4 家族包括 P15 (INK4b)、P16 (INK4a)、P18 (INK4c) 和 P19 (INK4d),这些蛋白在结构上都含有 4 个锚重复序列,可以识别 Cdk4 和 Cdk6; CIP/KIP 家族包括 P21、P27 和 P57,它们都有一个 N 端的 Cdk 抑制性功能域,与 Cyclin/Cdk 复合物相互作用,抑制 Cyclin A/Cdk2 和 Cyclin E/Cdk2 活性<sup>[6-8]</sup>。

1.3 P53 P53 基因分为野生型和突变型两种。野生型 P53 基因是一个重要的抑癌基因,其主要功能是阻止 DNA 突变的细胞通过 G<sub>1</sub> 期和 G<sub>2</sub> 期限制点,使这些细胞程序性死亡,保护遗传稳定性。在异常的生长信号或者细胞应激的情况下,P53 被激活,然后反式激活 Cdk 抑制剂 P21 及 P53 负调控剂 Mdm2 编码基因的表达<sup>[9]</sup>。P21 能使 Cdk2、Cdk4 和 Cdk6 失活。P53 通过对 P21 和细胞凋亡的诱导而阻止细胞周期的进行。

1.4 Rb 视网膜母细胞瘤(retinoblastoma,Rb)蛋白家族由 pRb、p130 和 p107 组成,是在细胞周期中对细胞生长增殖起抑制作用的重要负调节因子<sup>[10]</sup>。Rb 蛋白功能的发挥依赖激酶和磷酸酶的磷酸化和去磷酸化调节实现。其磷酸化状态和细胞周期有关:非磷酸化或低磷酸化 Rb 是其活性形式,存在于 G<sub>0</sub> 期或 G<sub>1</sub> 期细胞中;磷酸化 Rb 则存在于 S 期、G<sub>2</sub> 期和 M 期细胞中。Rb 只在 G<sub>1</sub> 期发挥调控作用,磷酸化后便失去这种作用,其功能是通过 E2F 家族转录活性的调节来实现的。

1.5 E2F 核转录因子 E2F 家族包含 6 个家族成员,分别为 E2F1~E2F6,相应基因定位于不同的染色体,所有 E2F 蛋白都包含高度保守的 DNA 结合区,与 E2F 二聚体伴侣蛋白(DP 蛋白)结合的二聚体区及与 Rb 蛋白结合的转活化区。E2F 调节许多与细胞周期进展和 DNA 合成有关蛋白的表达,包括 Cyclin E、Cyclin A、Cdk1、二氢叶酸还原酶、胸腺嘧啶激酶及 DNA 多聚酶等。与非磷酸化 Rb 结合的 E2F 是没有转录活性的,只有当 Rb 磷酸化后才将 E2F 释放出来,结合到靶基因启动子上刺激靶基因转录。目前认为 E2F1、E2F2 和 E2F3 在细胞通过 G<sub>1</sub>/S 限制点起重要的转录作用,而 E2F4、E2F5 则起相反的抑制作用<sup>[11]</sup>。E2F6 无与 Rb 蛋白结合区,其确切功能尚不清楚。

总之,Cyclin-Cdk-CKI-P53-Rb-E2F 调控系统是非常重要的细胞周期调节系统,其调节方式错综

复杂:E2F 因子的活性受到 Rb 家族的直接调控;而 Rb 基因的直接上游调节者是 Cyclin/Cdk,如 Cyclin D/Cdk4 或 Cyclin D/Cdk6 活性增加将引起 Rb 的磷酸化。Cyclin/Cdk 的调节又受到 CKI 的直接抑制。P53 又可调控 CKI P21 的转录活性。

## 2 DNA 复制的关键调控系统:复制前复合体

在真核细胞中,DNA 的复制是受精确调控的,以确保基因组 DNA 完整复制且每一周期只复制一次<sup>[12]</sup>。其首要的一步便是 G<sub>1</sub> 期复制前复合体的形成(Pre-replication complex, Pre-RC)。Pre-RC 是一种高度保守多蛋白复合物,其形成过程被称为“复制许可”(Replication Licensing),是 S 期 DNA 复制的必要条件,缺乏其中的关键成分则 Pre-RC 不能形成,细胞将停滞于 G<sub>1</sub> 期,DNA 合成障碍。

组成 Pre-RC 的蛋白质组包括 ORC、Cdc6、Cdt1 和 MCM2-MCM7 等<sup>[13-15]</sup>。ORC 即起始识别复合物(origin recognition complex),有 6 个亚基(ORC1-6),既能够识别 DNA 复制启动点又含有上述其他成分识别与结合的位点,在启动 DNA 合成过程中起“导航”作用。MCM2~MCM7 蛋白即“mini-chromosome maintenance proteins”(微小染色体维持蛋白),以六聚体形式存在于 Pre-RC 中,具有 DNA 解旋酶的活性,被认为参与 DNA 合成的起始与延伸<sup>[16]</sup>。现有研究认为<sup>[17]</sup>MCM 家族另一成员 MCM8 也属于 Pre-RC 的关键组成部分。Cdc6 即细胞分裂周期(或控制)基因的产物(Cell division cycle gene or cell division control gene),是细胞周期调控因子之一。Cdt1 即 Cdc10 依赖性转录因子 1(Cdc10 dependent transcript 1),其启动子具有特异性 DNA 序列结合因子的识别位点,Cdc10 为此 DNA 结合因子成分之一。Cdt1 与 Cdc6 协同促进 MCM2~MCM7 加载于染色质,是 MCM 蛋白装载的必需因子<sup>[18]</sup>,又称复制允许因子。

Pre-RC 的装配过程首先是由 ORC 连接在 DNA 复制起点,然后 Cdc6 和 Cdt1 连接在 ORC 复合物上,最后 MCM 六聚体连接在 Cdc6 和 Cdt1 上,至此,Pre-RC 装配完成,复制许可,细胞通过 G<sub>1</sub>/S 限制点,DNA 开始复制。在活动的细胞周期中,ORC 与 MCM 蛋白相对恒定,而 Cdt1 与 Cdc6 是波动的。众多的研究表明<sup>[19-21]</sup>,各种肿瘤细胞中的 Cdt1 与 Cdc6 均增高表达,复制增加,细胞快速增殖。在非周期中,静止细胞 Pre-RC 不能装配,归因

于 MCM、Cdc6 及 ORC1 等基因表达的缺失。当细胞重新进入周期时,这些因子的转录以 E2F 依赖的方式激活,而且,Cdc6 蛋白稳定增长归因于 APC (anaphase-promoting complex) 的失活。

### 3 HCMV 对细胞周期调控因子的影响

HCMV 感染宿主细胞后,细胞周期阻滞主要发生在  $G_1/S$  期,也发生在其他周期,如 S 期、M 期等。对细胞生长起作用的被认为主要是病毒的 IE 蛋白 (immediate-early proteins, 包括 IE1、IE2) 和 UL69 蛋白<sup>[22-24]</sup>。其影响周期的具体机制有以下几个方面。

**3.1 HCMV 感染对 Cyclin-Cdk-CKI-P53-Rb-E2F 调控系统的影响** HCMV 感染细胞后,对 Cyclin A、Cyclin B、Cyclin D、Cyclin E 均产生影响,作用最为明显的是 Cyclin E/Cdk2。Bryan<sup>[25]</sup> 等将同步在  $G_0$  期的 HFFs (human foreskin fibroblasts, 人包皮成纤维细胞) 感染 HCMV, 结果发现实验开始 12 h 时,感染组和对照组均检测到少量 Cyclin A 蛋白; 对照组 24 h 时 Cyclin A 蛋白高积聚,一直持续至 96 h, 120 h 显著下降,因细胞已长满融合; 而感染组并未出现积聚, 24 h 时低于检测范围, 36 h 重新检测到低量的 Cyclin A 蛋白, 而后的感染过程中一直持续缓慢增长。Jault 等<sup>[26]</sup> 报道, HCMV 感染导致 Cyclin E、Cyclin B 蛋白表达增高及它们相关的激酶如 Cdk2 活性增高。Wiebusch 等<sup>[27]</sup> 报道, HCMV 的 IE<sub>2</sub>86 的表达使 Cyclin E 相关酶的活性增加及 Cyclin E 基因的转录增加, 使阻滞于  $G_1$  的细胞越过细胞周期限制点。另有研究表明<sup>[28]</sup>, HCMV 通过下调 CKI P21 作用于 Cyclin E/Cdk2。Zhenping 等<sup>[29]</sup> 认为, HCMV 感染后, 细胞内游离  $Ca^{2+}$  增多, 激活中性蛋白酶 (calpain), 降解 P21, 从而维持 Cyclin E/Cdk2 的活性。总之, HCMV 可增加 Cyclin 的转录活性, 将 Cdk2 从细胞浆转移至细胞核, 并可下调 CKI 水平。

在 HCMV 感染细胞内, P53 蛋白水平较高, 但 P21 表达下降, 说明 P53 蛋白功能受损, 且持续高水平表达的 P53 源于降解减少, 而非合成增多; 并与 IE<sub>2</sub>86 结合, 在细胞核内停留在各个病毒基因复制点, 呈离散分布, 故 IE<sub>2</sub>86 可能是导致 P53 功能失调的一个因素<sup>[30]</sup>。体内和体外实验表明, IE<sub>2</sub>86 能够与 P53 相互作用, 抑制 P53 的反式激活功能<sup>[31]</sup>。其具体作用机制可能是 IE<sub>2</sub>86 通过其 N 末端 98 个氨

基酸作用于 P53 协同激活剂 P300 和 CBP, 干扰它们对组蛋白及 P53 的乙酰化作用, 可能导致了 P53 与 DNA 的结合能力下降, 从而下调了 P53 的反式激活功能<sup>[32]</sup>。

HCMV 感染细胞后, 含量和活性增加的 Cyclin E/Cdk2 使 Rb 蛋白磷酸化, 释放转录因子 E2F, 最终激活与 S 期有关的基因转录。还有研究表明<sup>[31]</sup>, IE<sub>2</sub>86 和 IE<sub>1</sub>72 的表达足够克服 pRb 和 P107 介导的对 E2F 应答启动子的抑制作用。IE<sub>2</sub>86 和 IE<sub>1</sub>72 能够分别与口袋蛋白 pRb 和 P107 相互作用, 但是它们不能够与其口袋结构域结合, 这可能是由于它们缺乏一致性的口袋结构域结合基序 LXLXE 的原因<sup>[33]</sup>。IE<sub>1</sub>72 具有激酶活性, 能够磷酸化 P107、P130 而破坏它们与 E2F4 的相互作用<sup>[34]</sup>。此外, 在体外它也能够磷酸化 E2F 蛋白<sup>[35]</sup>。Yoon-Jae<sup>[36]</sup> 利用基因芯片与 Northern 杂交技术检测 HCMV 感染对 E2F 家族及其调控的细胞基因的影响, 结果显示 E2F1、核苷酸还原酶、胸苷酸合成酶等诸多基因的 mRNA 水平显著升高。这些结果表明, HCMV 通过作用于 Rb 蛋白家族的一种或几种蛋白而使之失活, 进而引起 E2F 应答启动子的去抑制, 最终提高核酸合成相关基因的转录水平。

**3.2 HCMV 感染对复制前复合体的影响** 现国内尚无对此方面的研究, 国外也很少。Nilima 等<sup>[37]</sup> 用 HCMV 感染同步在  $G_0$  期的 HFF 细胞, 采用 Western blot 分析、亚细胞结构、磷酸化治疗及抗体等实验方法对感染后不同时间点 HFF 细胞进行检测, 结果发现细胞 DNA 复制的相关蛋白的表达被 HCMV 感染改变; 感染组与模拟感染组 ORC1 的水平均在感染后 8 h 轻微升高, 且一直维持此水平至感染后 24 h, 但 32 h 时感染组 ORC1 水平下降, 而模拟感染组维持原水平。两组 Cdc6 水平在  $G_0$  期低下, 均在感染后 16~24 h 开始升高, 而感染组水平远远高于对照组; 对照组 Cdc6 维持高水平至 32 h, 然后开始逐渐地衰减, 反映这种蛋白在周期中的循环。而相反的是, 感染组在整个感染过程中 Cdc6 蛋白一直保持高水平。分析其 mRNA, 显示转录水平并未增加, 提示 Cdc6 降解过程受阻。两组 MCM 蛋白的水平  $G_0$  期均低下, 感染后 16~24 h 开始升高。总而言之, 感染组 MCM 蛋白的积聚比模拟感染组要迟滞。Cdt1 在模拟感染组细胞中 16~18 h 后出现, 而后稳定地减少。Cdt1 的介导作用也出现在感染细胞中, 但这种蛋白呈现一种快速移行方式, 在 17 h 时, 感染组 Cdt1 蛋白轻微低于模拟感染组。

而 Cdt1 抑制因子 Geminin 在感染细胞中早在感染后 8 h 就是高调节的,而且在感染进程中迅速增长。Nilima 等用该实验证实:感染细胞中 MCM 蛋白表达延迟,装载不完全;复制允许因子 Cdt1 是下调的;Cdt1 抑制因子 Geminin 是上调的。

Lüder 等<sup>[38]</sup>也对人胚肺成纤维细胞进行 HCMV 感染后 Pre-RC 的研究,结果认为 HCMV 感染强烈影响了细胞 MCM 装配至染色体(装配延迟),致使 Pre-RC 的复制许可作用在感染细胞中被废除。该研究还发现在感染后 72 h MCM2 消失,说明 MCM 不仅装配延迟,而且有 MCM 组成部分在感染周期中消失。同时 HCMV 感染还影响 MCM 的活性。

#### 4 结语

综上所述,HCMV 感染能影响各种细胞周期调控因子,包括 Cyclin-Cdk-CKI-P53-Rb-E2F 细胞周期调控系统及复制前复合体各组成部分,从而影响宿主细胞 DNA 合成,对细胞周期产生多点抑制,以利于病毒本身 DNA 复制。掌握 HCMV 影响细胞周期的确切机制,可为 HCMV 感染寻找新的治疗靶点,开辟新的治疗方向。

#### [参考文献]

- [1] Pass R F. Cytomegalovirus infection[J]. *Pediatr Rev*, 2002, 23:163 - 170.
- [2] Loeffler J, Steffens M, Arlt E M, *et al.* Polymorphisms in the genes encoding chemokine receptor 5, interleukin - 10, and monocyte chemoattractant protein 1 contribute to cytomegalovirus reactivation and disease after allogeneic stem cell transplantation [J]. *J Clin Microbiol*, 2006, 44(5):1847 - 50.
- [3] Britt W J, Boppana S. Human cytomegalovirus virion proteins [J]. *Hum Immunol*, 2004, 65:395 - 402.
- [4] 宋今丹. 医学细胞生物学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2001: 175 - 187.
- [5] Vidal A, Koff A. Cell - cycle inhibitors: three families united by a common cause [J]. *Gene*, 2000, 247(1 - 2):1 - 15.
- [6] Fiano V, Ghimeti C, Schiffer D. Expression of cyclins, cyclin-dependent kinases and cyclin-dependent kinase inhibitors in oligodendrogliomas in humans [J]. *Neuroscience Letters*, 2003, 247:111 - 115.
- [7] Milde-Langosch K, Hagen M, Bamberger A M, *et al.* Expression and prognostic value of the cell-cycle regulatory proteins, Rb, P16MTS1, P21WAF1, P27KIP1, Cyclin E, and cyclin D2, in ovarian cancer [J]. *Int J Gynecol Pathol*, 2003, 22(2):168 - 174.
- [8] Liu Q, Shang F, Guo W, *et al.* Regulation of the ubiquitin proteasome pathway in human lens epithelial cells during the cell cycle [J]. *Exp Eye Res*, 2004, 78:197 - 205.
- [9] Russell J L, Powers J T, Rounbehler R J, *et al.* ARF differentially modulates apoptosis induced by E2F1 and Myc [J]. *Mol cell Biol*, 2002, 22(5):1360 - 1368.
- [10] Carlson C A, Ethier S P. Lack of RB protein correlates with increased sensitivity to UV-radiation-induced apoptosis in human breast cancer cells [J]. *Pediatr Res*, 2000, 154:590 - 599.
- [11] Sears R C, Nevins J R. Signaling networks that link cell proliferation and cell fate [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277:11617 - 11620.
- [12] Lei M, Tye B K. Initiating DNA synthesis: from recruiting to activating the MCM complex [J]. *J Cell Sci*, 2001, 114:1447 - 1454.
- [13] Conrad A, Nieduszynski J. Julian Blow, *et al.* The requirement of yeast replication origins for pre-replication complex proteins is modulated by transcription [J]. *Nucleic Acids Research*, 2005, 33(8):2410 - 2420.
- [14] Izumi M, Yatagai F, Hanaoka F. Localization of human Mcm10 is spatially and temporally regulated during S phase [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279:32569 - 32577.
- [15] Niroshan R, Eugenie H, Bhupinder B, *et al.* Self-assembling protein microarrays [J]. *Science*, 2004, 305(5680):86 - 90.
- [16] Shelly Patterson, Claudia Robert, Christina Whittle, *et al.* Pre-replication complex organization in the atypical DNA replication cycle of *Plasmodium falciparum*: characterization of the mini-chromosome maintenance (MCM) complex formation [J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2006, 145:50 - 59.
- [17] Volkening M and Hoffmann I. Involvement of human MCM8 in prereplication complex assembly by recruiting hcd6 to chromatin [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25:1560 - 1568.
- [18] Tsuyama T, Tada S, Watanabe S, *et al.* Licensing for DNA replication requires a strict sequential assembly of Cdc6 and Cdt1 onto chromatin in *Xenopus* egg extracts [J]. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(2):765 - 775.
- [19] Bravou V, Nishitani H, Song S Y, *et al.* Expression of the licensing factors, Cdt1 and Geminin, in human colon cancer [J]. *Int J Oncol*, 2005, 27(6):1511 - 1518.
- [20] Karakaidos P, Taraviras P, Vassiliou L V. Overexpression of the replication licensing regulators hCdt1 and hCdc6 characterizes a subset of non-small-cell lung carcinomas: synergistic effect with mutant p53 on tumor growth and chromosomal instability—evidence of E2F-1 transcriptional control over hCdt1 [J]. *Am J Pathol*, 2004, 165(4):1351 - 1365.
- [21] Seo J, Chung Y S, Sharma G G. Cdt1 transgenic mice develop lymphoblastic lymphoma in the absence of p53 [J]. *Oncogene*, 2005, 24(55):8176 - 8186.
- [22] Castillo J P, Yurochko A D, and Kowalik T F. Role of human cytomegalovirus immediate-early proteins in cell growth control [J]. *J Virol*, 2000, 74:8028 - 8037.

- [6] 中华人民共和国卫生部. 医院感染管理规范(试行) [S]. 北京, 2000; 10.
- [7] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范 [S]. 北京, 2002; 47-48.
- [8] Boyce J M, Pit ter D. Guideline for hand hygiene in health-care settings[J]. Am J Infect Control, 2002, 30: 510-546.
- [9] 尚少梅, 郑修霞, 王宜芝, 等. 临床护理人员洗手行为的观察与分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2001, 11(6): 455-456.
- [10] 王艳红, 刘素珍, 钟慧仪, 等. 护士手卫生认知的现状调查 [J]. 中国循证医学杂志, 2006, 6(9): 641-645.
- [11] 黄菊如, 钟春娇, 肖凤兰, 等. 护士洗手行为调查[J]. 中华医院感染学杂志, 2004, 14(12): 1352.
- [12] 吴欣娟, 马丽莉, 贾朝霞. 护理人员洗手依从性现状及影响因素研究[J]. 中国实用护理杂志, 2005, 21(7): 11-12.
- [13] 徐敏, 熊薇. 医务人员手卫生状况的调查[J]. 中国实用护理杂志, 2007, 23(4): 58.
- [14] 周艳霞, 钟元河, 尹云清. 关于医务人员手卫生质量管理调查报告[J]. 中国消毒学杂志, 2007, 24(2): 166.
- [15] 刘玉琼, 蒋莉玲, 李辉. 医务人员洗手认知及监测现状[J]. 护理研究, 2004, 18(3): 525.
- [16] 崔霞, 曹晋桂, 路琴, 等. 医护人员洗手和手部带菌现状调查与分析[J]. 空军总医院学报, 2005, 21(4): 228-231.
- [17] 张晓春, 林树德, 吴建明. 200 名护士洗手的调查[J]. 中华医院感染学杂志, 2001, 11(4): 261.
- [18] 吴淑梅, 薛国文. 医务人员手卫生现状与免水洗手前景[J]. 现代医药卫生, 2006, 22(2): 204-206.
- [19] 耿丽华. 医院感染实用护理手册[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2001; 117-123.
- [20] 李文玉. 某医院 312 名医护人员洗手情况调查[J]. 解放军预防医学杂志, 2001, 19(4): 303.
- [21] 田洪明, 舒逸萍, 王莉. 擦手毛巾染菌量与潜在医源性感染分析[J]. 中华医院感染学杂志, 1996, 6(3): 162-163.
- [22] 郭燕红. 发展护理事业维护和促进人民群众健康[J]. 中华护理杂志, 2005, 40(5): 322-323.
- [23] 石兰萍, 韩祺, 王小花, 等. 护理人力资源配置方法研究进展[J]. 护理研究, 2005, 19(4): 573-574.
- [24] 黄雪珍. 医护人员手消毒效果监测结果报告[J]. 中国消毒学杂志, 2006, 23(1): 79.
- [25] 张流波, 沈瑾. 手部卫生与感染的关系及促进策略[J]. 中国护理管理, 2007, 7(1): 78-79.
- [26] 刘晖. 行为教育干预对基层医院医务人员手卫生依从性的研究[J]. 家庭护士, 2007, 5(5): 6-7.

(上接第 64 页)

- [23] Wiebusch L, Asmar J, Uecker R. Human cytomegalovirus immediate-early protein 2 (IE2)-mediated activation of cyclin E is cell-cycle-independent and forces S-phase entry in IE2-arrested cells [J]. J Gen Virol, 2003, 84(1): 51-60.
- [24] Mansuo L H, Catherine B, Thomas S. Human cytomegalovirus UL69 protein is required for efficient accumulation of infected cells in the G1 phase of the cell cycle [J]. PNAS, 2000, 97: 2692-2696.
- [25] Bryan S, Salvant, Elizabeth A, et al. Cell cycle dysregulation by human cytomegalovirus: Influence of the cell cycle phase at the time of infection and effects on cyclin transcription [J]. J Virol, 1998, 4: 3729-3741.
- [26] Jault F M, Jault J M, Ruchti F, et al. Cytomegalovirus infection induces high levels of cyclins, phosphorylated Rb, and p53, leading to cell cycle arrest [J]. J Virol, 1995, 69(11): 6697-6704.
- [27] Wiebusch L, Hagemeyer C. The human cytomegalovirus immediate early 2 protein dissociates cellular DNA synthesis from cyclin-dependent kinase activation [J]. EMBO J, 2001, 20(5): 1086-1098.
- [28] Sinclair J, Baillie J, Bryant L, et al. Human cytomegalovirus mediates cell progression through G(1) into early S phase in terminally differentiated cells [J]. J Gen Virol, 2000, 81(6): 1553-1565.
- [29] Zhenping C, Knutson E, Kurosky A, et al. Degradation of P21cip1 in cells productively infected with human cytomegalovirus [J]. J Virol, 2001, 75(8): 3613-3625.
- [30] Elizabeth A F, Deborah H S. P53 and RPA are sequestered in viral replication centers in the nuclei of cells infected with human cytomegalovirus [J]. J Virol, 1998, 72(3): 2033-2039.
- [31] Cinatl J Jr, Vogel J U, Kotchetkov R, et al. Oncomodulatory signals by regulatory proteins encoded by human cytomegalovirus: a novel role for viral infection in tumor progression [J]. FEMS Microbiol Rev, 2004, 28: 59-77.
- [32] Hsu C H, Chang M D, Tai K Y, et al. HCMV IE2-mediated inhibition of HAT activity downregulates P53 function [J]. EMBO J, 2004, 23: 2269-2280.
- [33] Helt A M, Galloway D A. Mechanisms by which DNA tumor virus oncoproteins target the Rb family of pocket proteins [J]. Carcinogenesis, 2003, 24: 159-169.
- [34] Pajovic S, Wong E L, Black A R, et al. Identification of a viral kinase that phosphorylates specific E2Fs and pocket proteins [J]. Mol Cell Biol, 1997, 17: 6459-6464.
- [35] Csatillo J P, Kowalik T F. Human cytomegalovirus immediate early proteins and cell growth control [J]. Gene, 2002, 290: 19-34.
- [36] Yoon-Jae S, Mark F S. Effect of the human cytomegalovirus IE86 protein on expression of E2F-responsive genes: a DNA microarray analysis [J]. PNAS, 2002, 99(5): 2836-2841.
- [37] Nilima B, Veronica S, Deborah H. Human cytomegalovirus infection leads to accumulation of geminin and inhibition of the licensing of cellular DNA replication [J]. J Virol, 2003, 77(4): 2369-2376.
- [38] Lüder W, Ralf U, Christian H. Human cytomegalovirus prevents replication licensing by inhibiting MCM loading onto chromatin [J]. EMBO reports, 2003, 4(1): 42-46.