

· 基础论著 ·

丙型肝炎病毒非结构蛋白 5A 下调抑癌基因 PTEN 的表达

成 镀 蒋永芳 肖新强 龚国忠

【摘要】 目的 萤虫素酶探讨丙型肝炎病毒非结构蛋白 5A(HCV NS5A)对抑癌基因 PTEN 表达的影响。**方法** 表达 HCV NS5A 的质粒(pCNS5A)转染 QSG-7701 细胞,采用间接免疫荧光法观察 HCV NS5A 蛋白的表达。构建 PTEN 启动子驱动的萤虫素酶报告基因表达质粒 PTEN-Luc,并与 pCNS5A 共转染 QSG-7701 细胞,萤虫素酶实验检测 HCV NS5A 对 PTEN 启动子活性的影响。采用 RT-PCR 和 Western blot 分析分别观察 HCV NS5A 对 PTEN mRNA 和 PTEN 蛋白表达水平的影响。**结果** 转染 pCNS5A 的 QSG-7701 细胞胞浆中可见 HCV NS5A 蛋白表达。PTEN-Luc 与不同剂量的 pCNS5A 质粒共转染 QSG-7701 细胞,HCV NS5A 表达组的 PTEN-Luc 相对活性下降,且转染 HCV NS5A 质粒的剂量越大,PTEN-Luc 的相对活性越低。转染 pCNS5A 的 QSG-7701 细胞内 PTEN mRNA 和蛋白质表达均较对照组下降,且随着 HCV NS5A 质粒剂量增大,PTEN mRNA 和 PTEN 蛋白表达下降更明显。**结论** HCV NS5A 通过抑制 PTEN 启动子的活性而抑制 PTEN 基因的转录和 PTEN 蛋白的表达,这可能是 HCV 所致原发性肝细胞癌的发病机制之一。

【关键词】 肝炎病毒,丙型;非结构蛋白 5A;第 10 号染色体缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物基因;肝细胞癌

Nonstructural protein 5A of hepatitis C virus down-regulates the expression of PTEN CHENG Du, JIANG Yong-fang, XIAO Xin-qiang, GONG Guo-zhong. Institute of Hepatology of Central South University; Department of Infectious Diseases, The Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, China

Corresponding author: GONG Guo-zhong, Email: guozhonggong@yahoo.com

【Abstract】 Objective To explore whether the non-structural protein 5A (NS5A) encoded by human hepatitis C virus (HCV) RNA genome could affect PTEN expression. **Methods** HCV NS5A expressing plasmid was transfected into QSG-7701 cells. Indirect immunofluorescence was applied to detect the expression of HCV NS5A in these cells. The PTEN promoter reporter plasmid PTEN-Luc was cloned by PCR from human genomic DNA. The PTEN-Luc plasmid was transfected alone or co-transfected with HCV NS5A expressing plasmid pCNS5A into QSG-7701 cells. Luciferase assay were carried out. PTEN mRNA transcript and protein levels were assessed by RT-PCR and Western blot, respectively. **Results** HCV NS5A protein was detected in the cytoplasm of QSG-7701 cells transfected with pCNS5A. The relative luciferase activity of PTEN-Luc was down-regulated in the presence of HCV NS5A protein, with dose-dependent manner. The PTEN mRNA level was also down-regulated in cells transfected with pCNS5A plasmid, and PTEN protein was significantly inhibited by HCV NS5A protein. The repression of PTEN mRNA and protein by HCV NS5A was also dose-dependent. **Conclusions** HCV NS5A down-regulates PTEN expression at transcriptional level by inhibiting the promoter activity, mRNA transcription and protein levels. The data shine a new light on the contributory role of NS5A in HCV-related hepatocellular carcinoma.

【Key words】 Hepatitis C virus; Nonstructural protein 5A; Gene of chromosome 10 deleted phosphatase and tensin homology (PTEN); Hepatocellular carcinoma

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2012.06.001

基金项目:国家自然科学基金(No.30471531),国家传染病“十一五”重大专项(No.2008ZX10002-013)

作者单位:410011 长沙市,中南大学湘雅二医院感染科、中南大学肝病研究所

通讯作者:龚国忠,Email:guozhonggong@yahoo.com

丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染呈世界性分布,且容易慢性化,并与肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发生密切相关^[1]。HCV 非结构蛋白 5A(HCV NS5A)作为 HCV 非结构蛋白之一,其功能复杂,至今尚未完全明确。近年研究表明,其在干扰素抵抗、干扰素疗效预测、病毒复制和肝细胞癌发生等方面均具有重要作用^[2-5]。第 10 号染色体缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物基因(phosphatase and tensin homology deleted on chromosome 10, PTEN)是 1997 年发现的唯一具有磷酸脂酶活性的抑癌基因^[6]。研究表明,PTEN 基因的缺失、突变或表达产物的失活与 HCC 的发生、发展密切相关,PTEN 表达低下不仅与 HCC 的发生与发展相关,同时与 HCC 的转移亦有关^[7-8]。本研究通过探讨 HCV NS5A 对 PTEN 基因启动子活性、mRNA 转录和蛋白表达的影响,在转录水平上揭示 HCV NS5A 对 PTEN 基因的调控作用,为 HCV 所致肝细胞癌的分子机制研究积累了新的实验依据。

材料与方法

一、实验材料

1. 质粒和细胞:pRc/CMV 为真核细胞表达载体;pCNS5A 是将 1b 型 HCV NS5A 区 cDNA 克隆至 pRc/CMV 的 HCV NS5A 重组表达质粒,由龚国忠教授于美国科罗拉多大学完成并经过序列分析证实;pGL3-Basic 为萤虫素酶报告基因载体, QSG-7701 细胞株为永生化肝脏上皮细胞株,以上均由湘雅二医院肝病研究所保存。

2. 试剂:DMEM 细胞培养基、胎牛血清、Trizol 试剂和脂质体转染试剂 Lipofectamine™ 2000 购自美国 Invitrogen 公司;兔抗人多克隆抗-PTEN 购自 Millipore 公司;兔抗人抗-β-肌动蛋白(β-actin)和过氧化物酶标记的羊抗兔抗-IgG 购自 Santa Cruz 公司。DNA marker 和 RT-PCR 试剂盒均购自 Fermentas 公司。萤虫素酶测定试剂盒(luciferase assay system)、DNA 回收试剂盒、质粒提取试剂盒、Taq 酶、DNA 限制性内切酶 Sac I、Hind III 和 T4 DNA 连接酶均购自 Promega 公司。抗-HCV NS5A 购自 Abcam 公司。FITC 标记的鼠抗人 IgG 荧光二抗购自武汉博士德生物工程有限公司。硝酸纤维素膜购自英国 Whatman 公司。

二、方法

1. 细胞培养及质粒转染:QSG-7701 细胞使用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液,于 5% CO₂ 培养箱中培养;待细胞生长铺满培养皿底后,传代种植于 6 孔培养板中,待细胞达 60% ~ 70% 融合时按脂

体说明书进行质粒转染。

2. 间接免疫荧光:盖玻片用 L-多聚赖氨酸(ploy-L-lysine)处理后放入 6 孔培养板,再将 QSG-7701 细胞种植于放有盖玻片的 6 孔培养板中。待细胞达 60% ~ 70% 融合时,将 pCNS5A 质粒及 pRc/CMV 质粒分别转染 QSG-7701 细胞,并设空白对照组。转染 48 h 后,将盖玻片取出用中性树脂固定于载玻片上,PBS 洗涤 1 次;4% 多聚甲醛固定 10 min,PBS 洗涤 3 次;0.2% Triton X-100 透化 15 min;PBS 洗涤 4 次;5% 牛血清白蛋白(BSA)封闭 2 h;加入抗-HCV 阳性血清,37℃ 水浴 1 h;PBS 洗涤 3 次;加入荧光抗-IgG,37℃ 水浴 1 h;PBS 洗涤 3 次;荧光显微镜下观察结果。

3. 构建 PTEN 启动子驱动的报告基因表达载体:根据 PTEN 的 DNA 序列(GenBank:AF067844),设计 PTEN 启动子 PCR 引物,从人基因组 DNA(genomic DNA)中扩增 PTEN 启动子全长 DNA 片段(-1456/-357),上游引物为 5'-GATGAGCTCGAGGAGTGGC ACCAGTTTG-3',下划线处为 Sac I 酶切位点;下游引物为 5'-GAG AAGCTTGCTGCTCAGTGTAGAGGGAA-3',下划线处为 Hind III 酶切位点。

PCR 反应条件:94℃ 3 min;94℃ 1 min,60℃ 1 min,72℃ 90 s,共 30 个循环,最后 72℃ 延伸 7 min。PCR 产物为 1100 bp,经 2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定。DNA 片段胶回收后与萤虫素酶报告基因载体 pGL3-Basic 分别进行 Sac I 及 Hind III 双酶切,并进行凝胶回收,最后将二者通过 T4 连接酶连接,连接产物直接转化 DH5α 感受态细菌,采用氨苄霉素阳性 LB 平板筛选出阳性克隆,经酶切图谱初步鉴定后,由上海生工生物科技有限公司进行测序。

4. RT-PCR 检测 PTEN mRNA 在 QSG-7701 细胞中的表达:细胞培养和种板方法同前,将 pCNS5A 及 pRc/CMV(0.5 μg、1.0 μg 和 2.0 μg)质粒分别转染 QSG-7701 细胞,设未转染质粒组作为对照。转染 48 h 后用 Trizol 试剂提取各组细胞总 RNA,分别取各组总 RNA 2 g 采用 RT 试剂盒逆转录为 cDNA。然后 PCR 扩增 PTEN 基因,以 GAPDH 为内参照。PTEN 上游引物为 5'-TTGAAGACCATAACC CACCA-3',下游引物为 5'-CACATAGCGCCTCTGA CTGG-3',扩增长度 250 bp。NS5A 上游引物为 5'-CACGCCCCGATTACAACCCT-3',下游引物为 5'-GCAGCAGACGACGTC-3',扩增长度 400 bp。内参 GAPDH 上游引物为 5'-CCACCCATGGCAAATTCCA TG-3',下游引物为 5'-TCTAGACGGCAG GTCAGGT CCACC-3',扩增片段大小 598 bp。

PCR 反应条件:94℃ 3 min;94℃ 30 s,60℃

30 s, 72℃ 30 s, 共 35 个循环, 最后 72℃ 延伸 7 min。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳分析。

5. Western blot 检测 NS5A 蛋白和 PTEN 蛋白在 QSG-7701 细胞中的表达: 培养、收集转染 pCNS5A 及 pRc/CMV (0.5 μg、1.0 μg、2.0 μg) 质粒及未转染质粒共 7 组 QSG-7701 细胞, 加入细胞裂解液 (50 mmol/L Tris pH8.0, 150 mmol/L NaCl, 1% PMSF, 0.1% Aprotinin, 1% Trinton X-100), 混匀后置冰上 15 min, 12 000 r/min, 离心 5 min, 收集上清液 (细胞总蛋白)。每组分别取 20 g 蛋白, 12% SDS-PAGE 电泳, 湿式电转移法将蛋白转移至硝酸纤维素膜 (NC 膜) 上, 再用 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h, 分别加入内参抗-β-actin、抗-NS5A 和抗-PTEN (工作浓度 1:500)。4℃ 孵育过夜。PBS 洗膜 3 次, 加入过氧化物酶标记的抗-IgG 为二抗 (工作浓度为 1:1000), 37℃ 孵育 2 h, PBS 洗膜 3 次。于暗室滴加 ECL 化学发光液, 然后压片、显影、定影。实验重复 3 次。

6. 萤虫素酶报告实验: 按萤虫素酶测定试剂盒的操作步骤进行。PTEN-Luc (2 μg), PTEN-Luc (2 μg) + pRc/CMV (0.5 μg、1.0 μg、2.0 μg), PTEN-Luc (2 μg) + pCNS5A (0.5 μg、1.0 μg、2.0 μg) 瞬时转染 QSG-7701 细胞 48 h 后, 以 1 × PBS 洗涤细胞 1 次, 然后加入 200 μl/孔的裂解液并混匀, 冰上裂解 5 min。4℃, 12000 r/min 离心 2 min, 取上清用裂解液调整到相同蛋白浓度, 各取 20 μl 上清加入 100 μl 萤虫素酶底物, 于光度计 (20/20n Single-Tube Luminometer) 中检测发光强度。实验重复 3 次。

三、统计学处理

采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析, 多组间比较行单因素方差分析, 两两比较行 LSD-*t* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、HCV NS5A 蛋白在 QSG-7701 细胞中的表达

采用间接免疫荧光法, 于荧光显微镜下观察瞬时转染 pCNS5A 的 QSG7701 细胞胞浆出现绿色荧光颗粒, 而未转染和瞬时转染 pRc/CMV 的细胞内未见绿色荧光颗粒 (图 1)。

二、HCV NS5A 抑制 PTEN 启动子活性

将 QSG7701 细胞分别转染质粒 PTEN-Luc、PTEN-Luc 和不同剂量的空白载体 pRc/CMV (0.5 μg、1.0 μg、2.0 μg)、PTEN-Luc 和不同剂量的 pCNS5A (0.5 μg、1.0 μg、2.0 μg), 48 h 后收集细胞进行萤虫素酶活性测定。结果显示, 转染 PTEN-Luc 质粒组细胞与 PTEN-Luc 共转染不同剂量的空白质粒 pRc/CMV 组细胞萤虫素酶活性相似; 而共

转染 PTEN-Luc 和不同剂量的 pCNS5A 质粒细胞中萤虫素酶活性下降, 并且随着转染 pCNS5A 质粒剂量的增加, 萤虫素酶活性下降更为显著, 呈剂量依赖关系 (图 2A ~ B)。

三、HCV NS5A 抑制 PTEN mRNA 的转录

将表达 HCV NS5A 的质粒 pCNS5A (0.5 μg、1.0 μg、2.0 μg) 和空白质粒 pRc/CMV (0.5 μg、1.0 μg、2.0 μg) 分别瞬时转染肝细胞株 QSG-7701, 采用 RT-PCR 检测细胞中 PTEN mRNA 的表达。结果表明, 在 GAPDH 内参表达一致的情况下, 转染不同剂量空白质粒 pRc/CMV 组细胞与未转染质粒组细胞中 PTEN mRNA 的水平相似。但随着 pCNS5A 转染剂量增加, PTEN mRNA 转录水平也随之下降低, 与未转染质粒组及转染空白质粒组细胞比较差异均具有统计学意义 (图 3A ~ C)。

四、HCV NS5A 抑制 PTEN 蛋白的表达

为进一步探讨 HCV NS5A 是否通过抑制 PTEN 启动子的活性和 PTEN mRNA 转录, 使 PTEN 蛋白表达降低, 本研究进一步检测 PTEN 蛋白表达。将 pCNS5A 以不同剂量 (0.5 μg、1.0 μg 和 2.0 μg) 瞬时转染 QSG-7701 细胞, 与相应剂量的空白质粒 pRc/CMV (0.5 μg、1.0 μg 和 2.0 μg) 或未转染质粒组细胞对照, 结果显示转染不同剂量空白质粒组细胞及与未转染质粒组细胞比较, PTEN 蛋白表达量相似; 而转染 pCNS5A 质粒组细胞, 随着转染 pCNS5A 质粒剂量的增加, HCV NS5A 蛋白表达逐渐增强, 而 PTEN 蛋白则逐渐降低 (图 4A-C)。细胞中检测到 NS5A 蛋白表达, 证实 pCNS5A 质粒转染成功 (图 4B)。

讨 论

PTEN 是迄今发现的第一个具有双重特性磷酸酶活性的抑癌基因, 其通过负性调控三磷脂酰肌醇激酶 (phosphoinositide-3-kinase, PI3K)/Akt、局灶黏附激酶 (focal adhesion kinase, FAK) 和 MAPK 细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 等信号转导通路抑制肿瘤细胞周期的运行, 诱导肿瘤细胞凋亡, 并抑制肿瘤细胞的黏附、迁移和分化, 在维持细胞的正常生理活动方面发挥着重要作用^[9-11]。HCV NS5A 是 HCV 的非结构蛋白, 其功能复杂, 在 HCV 所致原发性肝癌的发病机制中扮演了重要的角色。HCV NS5A 是否影响 PTEN 基因表达, 从而通过 PTEN 信号途径影响肝细胞增殖或凋亡尚少见报道。本研究结果显示, 共转染 PTEN-Luc 和 HCV NS5A 质粒的 QSG-7701 细胞, HCV NS5A 抑制 PTEN 基因启动子的活性, 且这种

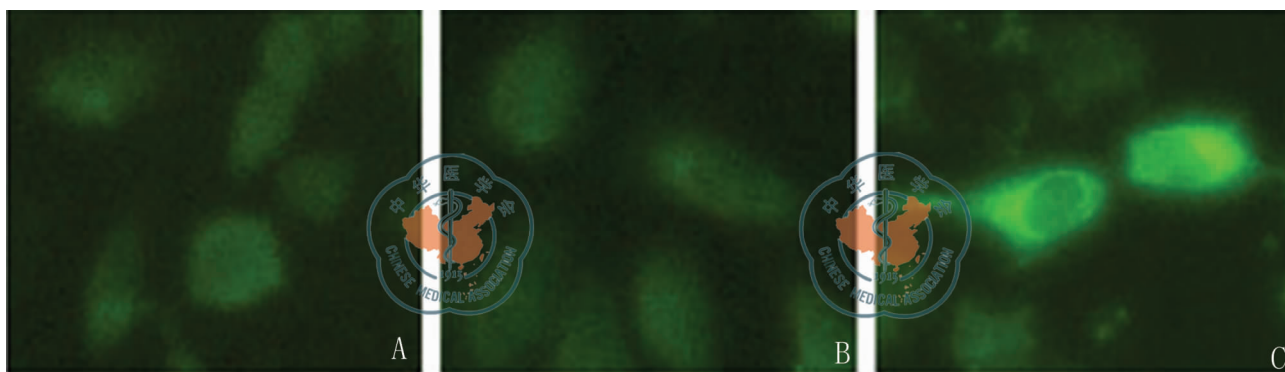


图 1 转染 pCNS5A 的 QSG7701 细胞中 HCV NS5A 蛋白的表达

注:A:未转染质粒组;B:转染空白载体 pRc/CMV 组;C:转染 pCNS5A 组

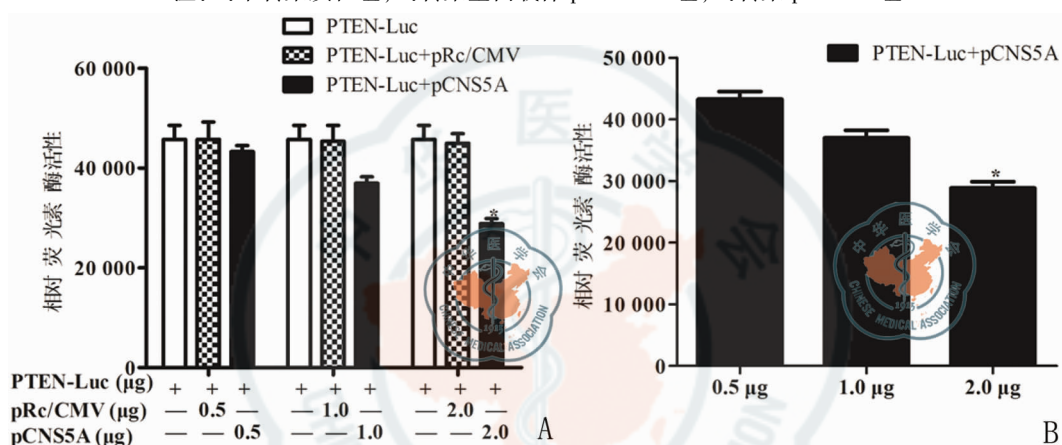


图 2 HCV NS5A 抑制 PTEN 启动子活性

注:A:转染不同剂量质粒的 QSG-7701 细胞中 PTEN 启动子活性;B:转染不同剂量 pCNS5A 质粒的 QSG-7701 细胞中 PTEN 启动子活性

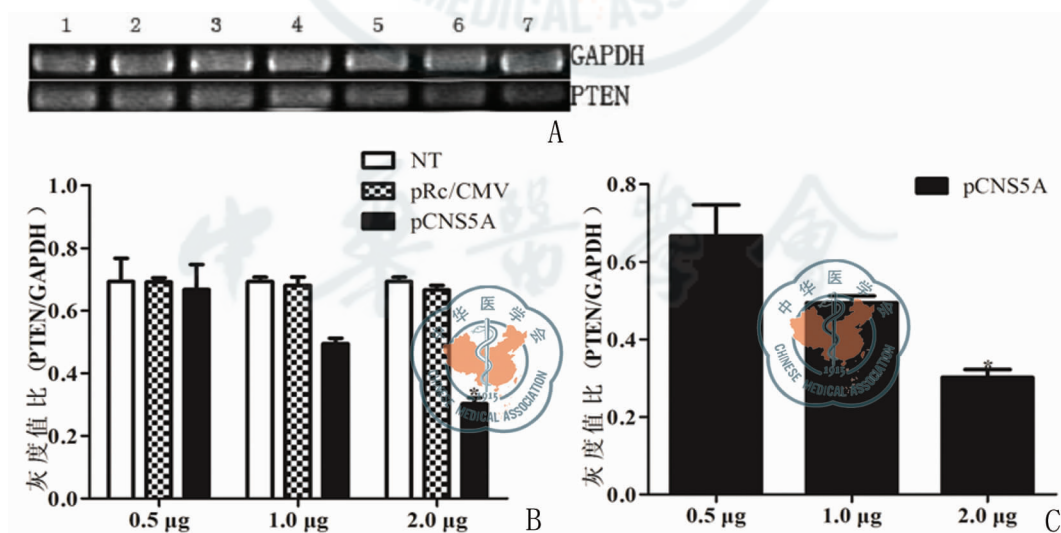


图 3 PTEN mRNA 在转染不同质粒的 QSG-7701 细胞中的表达

注:A:PTEN mRNA 琼脂糖电泳。泳道 1:未转染组(Blank);2~4:依次转染空白载体 pRcNS5A 剂量为 0.5 μg、1.0 μg 和 2.0 μg;5~7:依次转染 pCNS5A 质粒剂量为 0.5 μg、1.0 μg 和 2.0 μg;B:各组 PTEN mRNA 的表达;C:转染不同剂量 pCNS5A 质粒 PTEN mRNA 表达

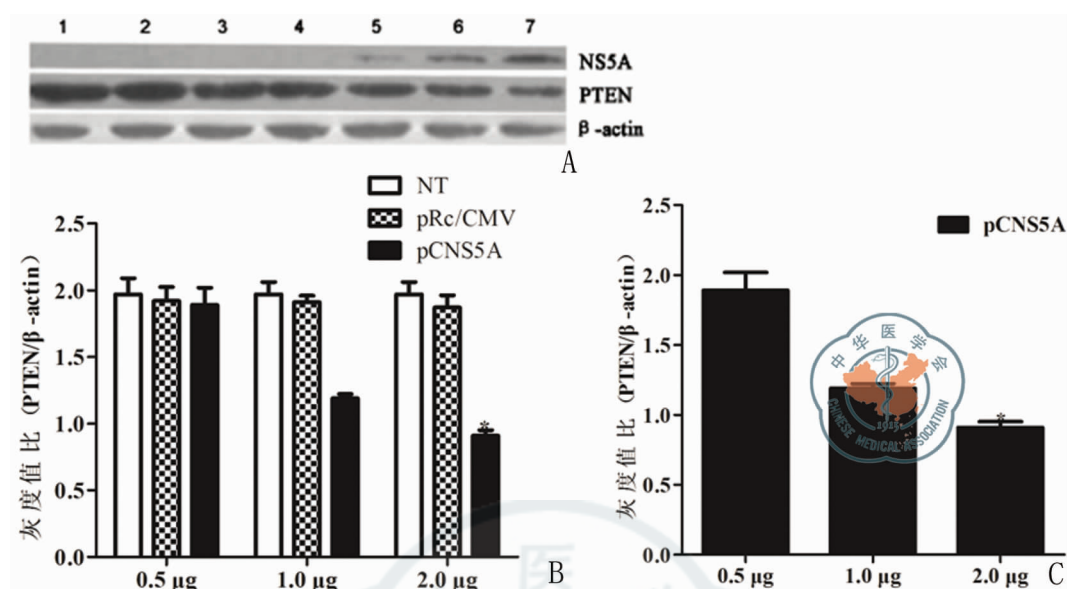


图4 PTEN 蛋白在转染不同质粒的 QSG-7701 细胞中的表达

注:A:免疫蛋白印记检测 PTEN 蛋白表达。泳道 1:未转染组;2~4:依次为:转染空白载体 pRc/CMV 0.5 μ g、1.0 μ g 和 2.0 μ g;5~7:依次为转染 pCNS5A 质粒 0.5 μ g、1.0 μ g 和 2.0 μ g;B:转染不同剂量质粒的 PTEN 蛋白的灰度值;C:转染不同剂量 pCNS5A 质粒 PTEN 蛋白灰度值

抑制作用随转染 HCV NS5A 表达质粒剂量的增加而增强;同时,在瞬时转染 HCV NS5A 质粒的 QSG-7701 细胞中,PTEN mRNA 转录水平也有显著下降,提示 HCV NS5A 蛋白通过抑制 PTEN 启动子活性在转录水平负向调控 PTEN 的 mRNA 表达。本研究通过蛋白印迹技术发现 PTEN 蛋白的表达水平也随转染 HCV NS5A 表达质粒剂量的增加而显著降低。以上结果提示,HCV NS5A 通过抑制 PTEN 基因启动子活性,抑制 PTEN 基因的转录,从而抑制 PTEN 蛋白的表达,这也可能是 HCV 感染导致原发性肝癌的机制之一。

HCV NS5A 本身并不具备与 DNA 结合的分子结构,因此不能通过与基因启动子序列结合而直接调控基因的表达。HCV NS5A 于转录水平抑制 PTEN 基因表达的机制值得进一步研究。本课题组既往研究发现 HCV NS5A 能通过诱导细胞内氧化应激和提高细胞内 ROS 水平,激活 NF- κ B 等转录因子活性^[2]。而 Vasudevan 等^[12]发现 NF- κ B 能够通过 p65 抑制共转录激活因子 CBP/p300 来下调 PTEN 的表达,并抑制由 TNF- α 所导致的细胞凋亡。因此,HCV NS5A 通过 NF- κ B 信号途径可能是其抑制 PTEN 基因表达的分子机制之一;另外近年研究发现 PTEN 基因启动子区存在如 p53、Egr-1 和 PPAR γ 等蛋白结合位点,这些调节蛋白与相应 PTEN 基因启动子序列位点结合,从转录水平上激活 PTEN 的表达^[13-16]。近年研究也证实 HCV NS5A 能与抑癌基因

p53 结合形成复合物,抑制 p53 功能^[17-18],进而推测 HCV NS5A 通过抑制 p53 的功能,阻碍 p53 对 PTEN 基因的上调作用,也可能是 HCV NS5A 从转录水平下调 PTEN 基因表达的机制之一。

总之,本研究发现 HCV NS5A 能够抑制抑癌基因 PTEN 的表达,为 HCV 所致原发性肝癌的发病机制研究积累了新的实验依据。尽管本研究推测 HCV NS5A 可能通过 NF- κ B 和 p53 信号转导通路来实现对 PTEN 基因表达的调控,但仍需进一步证实 HCV NS5A 是否通过通过其他信号途径抑制 PTEN 基因的表达。

参 考 文 献

- Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C. *Hepatology*, 1997, 26(Suppl 1): S62-S65.
- Gong G, Waris G, Tanveer R, et al. Human hepatitis C virus NS5A protein alters intracellular calcium levels, induces oxidative stress, and activates STAT-3 and NF-kappa B. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(17): 9599-9604.
- Shan Y, Lambrecht RW, Bonkovsky HL. Association of hepatitis C virus infection with serum iron status; analysis of data from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Clin Infect Dis*, 2005, 40(6): 834-841.
- Majumder M, Ghosh AK, Steele R, et al. Hepatitis C virus NS5A protein impairs TNF-mediated hepatic apoptosis, but not by an anti-FAS antibody, in transgenic mice. *Virology*, 2002, 294(1): 94-105.
- Gong GZ, Cao J, Jiang YF, et al. Hepatitis C virus non-structural 5A abrogates signal transducer and activator of transcription-1 nuclear

- translocation induced by IFN- α through dephosphorylation. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(30):4080-1084.
- 6 Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, et al. Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. *Nat Genet*, 1997, 15(4):356-362.
- 7 Dong-Dong L, Xi-Ran Z, Xiang-Rong C. Expression and significance of new tumor suppressor gene PTEN in primary liver cancer. *J Cell Mol Med*, 2003, 7(1):67-71.
- 8 Di Cristofano A, Pandolfi PP. The multiple roles of PTEN in tumor suppression. *Cell*, 2000, 100(4):387-390.
- 9 Yu J, Zhang SS, Saito K, et al. PTEN regulation by Akt-EGR1-ARF-PTEN axis. *EMBO J*, 2009, 28(1):21-33.
- 10 Tamura M, Gu J, Danen EH, et al. PTEN interactions with focal adhesion kinase and suppression of the extracellular matrix-dependent phosphatidylinositol 3-kinase/Akt cell survival pathway. *J Biol Chem*, 1999, 274(29):20693-20703.
- 11 Chung JH, Ostrowski MC, Romigh T, et al. The ERK1/2 pathway modulates nuclear PTEN-mediated cell cycle arrest by cyclin D1 transcriptional regulation. *Hum Mol Genet*, 2006, 15(17):2553-2559.
- 12 Vasudevan KM, Gurumurthy S, Rangnekar VM. Suppression of PTEN expression by NF-kappa B prevents apoptosis. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(3):1007-1021.
- 13 Moorehead RA, Hojilla CV, De Belle I, et al. Insulin-like growth factor-II regulates PTEN expression in the mammary gland. *J Biol Chem*, 2003, 278(50):50422-50427.
- 14 Virolle T, Adamson ED, Baron V, et al. The Egr-1 transcription factor directly activates PTEN during irradiation-induced signalling. *Nat Cell Biol*, 2001, 3(12):1124-1128.
- 15 Stambolic V, MacPherson D, Sas D, et al. Regulation of PTEN transcription by p53. *Mol Cell*, 2001, 8(2):317-325.
- 16 Tamguney T, Stokoe D. New insights into PTEN. *J Cell Sci*, 2007, 120(23):4071-4079.
- 17 Gong GZ, Jiang YF, He Y, et al. HCV NS5A abrogates p53 protein function by interfering with p53-DNA binding. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(15):2223-2227.
- 18 Lan KH, Sheu ML, Hwang SJ, et al. HCV NS5A interacts with p53 and inhibits p53-mediated apoptosis. *Oncogene*, 2002, 21(31):4801-4811.

(收稿日期:2012-03-17)

(本文编辑:孙荣华)

成钺, 蒋永芳, 肖新强, 等. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 5A 下调抑癌基因 PTEN 的表达[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2012, 6(6):511-516.