

# B 和 C 基因型乙型肝炎病毒对 Huh7 细胞全基因组表达模式的影响

李晓光 洪源 王琦 张锦前 成军

**【摘要】 目的** 探讨 B 和 C 基因型乙型肝炎病毒对 Huh7 细胞基因组表达模式的影响。**方法** 重组 B 或 C 基因型乙型肝炎病毒(pHY106-BHBV 和 pHY106-CHBV)转染 Huh7 细胞,以 pHY106 空载体为对照,48 h 后进行芯片杂交,筛选出表达差异值  $Cy5/Cy3 > 2$  或  $< 0.5$  的基因。pHY106-BHBV、pHY106-CHBV 分别转染 Huh7 细胞 48 h,以 pHY106 空载体为对照,应用 real-time PCR 对基因芯片差异表达的部分基因进行验证。**结果** pHY106-BHBV 转染 Huh7 细胞 48 h 后,从 4097 个基因中筛选出差异表达基因共 60 个;pHY106-CHBV 转染 Huh7 细胞 48 h 后,筛选出差异表达基因共 120 个;real-time PCR 证实 pHY106-BHBV 转染 Huh7 细胞 48 h 后,IFNGR2、GPR125、DDEF2 和 PI3K mRNA 表达水平均出现不同程度下调,pHY106-CHBV 转染 Huh7 细胞 48 h 后,EEF2 和 INF592 表达下调,与基因芯片结果一致。**结论** B 和 C 基因型乙型肝炎病毒对 Huh7 细胞表达谱改变的影响明显不同,表明其对机体的影响可能存在不同的方式。

**【关键词】** 肝炎病毒,乙型;Huh7 细胞;全基因组;表达模式

**Influence of HBV genotype B and C on the global gene expression pattern of Huh7 cells** LI Xiao-guang, HONG Yuan, WANG Qi, ZHANG Jin-qian, CHENG Jun. Infectious Diseases Institute of Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China  
Corresponding author: CHENG Jun, Email: chengjdt@ccmu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To investigate on the changes of global gene expression pattern in Huh7 cells when transfected with HBV genotype B or C. **Methods** Huh7 cells were transfected with recombinant HBV genotype B or C, namely pHY106-BHBV and pHY106-CHBV, respectively, with pHY106 as the control. After being transfected for 48 h, mRNA of Huh7 cells were extracted and reverse transcribed to cDNA, then hybridized with chip. The fluorescence signal intensity of Cy3 and Cy5 were analyzed with the GenePix Pro 3.0 software, the ratio of Cy5/Cy3 above 2 or below 0.5 was regarded as significant. The partial results of microarray were verified by real-time PCR. **Results** After pHY106-BHBV being transfected into Huh7 cells for 48 h, 60 differentially expressed genes were screened out among 4097 genes and 120 differentially expressed genes were screened out after pHY106-CHBV being transfected into Huh7 cells. IFNGR2, GPR125, DDEF2 and PI3K which were down-regulatory genes after pHY106-BHBV transfection were verified by real-time PCR, and the relative expression ratio were consistent with the results of microarray. EEF2 and INF592 which were down-regulatory genes after pHY106-CHBV transfection were verified by real-time PCR, the relative expression ratio were also consistent with the results of microarray. **Conclusions** HBV genotype B and C could change the expression pattern of Huh7 cells, with significant difference, and only DDEF2 was found down-regulated, which demonstrated that HBV genotype B and C may have different influence on host.

**【Key words】** Hepatitis B virus; Huh7 cells; Global gene; Expression pattern

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2012.06.003

基金项目:国家自然科学基金(No.30901258),黑龙江省青年基金(No.QC2009C20),黑龙江省卫生厅课题(No.2009-128),哈尔滨医科大学附属第二临床医院博士启动基金(No.BS2009-07)。

作者单位:100015 北京,首都医科大学附属北京地坛医院传染病研究所,新发突发传染病研究北京市重点实验室(李晓光、洪源、王琦、张锦前、成军);哈尔滨医科大学附属第二临床医院感染病科(李晓光)

通讯作者:成军,Email:chengjdt@ccmu.edu.cn

慢性乙型肝炎病毒是严重危害世界人类健康的主要致病因子,全世界约 3.5 亿人感染 HBV 后发展成慢性疾病<sup>[1-2]</sup>,每年约 100 万人死于 HBV 感染所致疾病。HBV 基因组编码的蛋白与宿主肝细胞之间的相互作用可能是病毒致病的重要分子机制。目前,大量研究表明 HBV 感染肝细胞可通过改变某些基因或蛋白水平的变化对细胞内信号转导等方面进行调节,进而影响疾病的发展甚至肿瘤的发生<sup>[3-5]</sup>;基因表达谱芯片技术(cDNA microarray)是由大量目的基因片段有序密集地固定于玻片或尼龙膜上而制成芯片,将两组组织或细胞的 mRNA 逆转录成 cDNA 掺入荧光标记与芯片杂交,通过扫描分析每一位置的荧光信息可以快速有效地检测到两组间差异表达的基因<sup>[6]</sup>;本研究应用基因表达谱芯片技术筛选转染了全长 B 和 C 基因型 HBV 后 Huh7 细胞表达谱的变化,以转染空载体作对照;并应用 real-time PCR 技术对差异表达的基因进一步探讨,报道如下。

## 材料和方法

### 一、材料

人肝癌细胞 Huh7 由本室保存,pHY106-BHBV 和 pHY106-CHBV 由本室构建;总 RNA 提取试剂 Trizol 购自 Invitrogen 公司;原癌基因和抑癌基因、免疫调节相关基因、细胞凋亡和应激反应蛋白相关基因、DNA 结合、转录和转录因子、细胞信号转导相关基因、细胞受体等的人类基因组芯片含有 4097 个 cDNA,由上海博星基因芯片有限责任公司提供;mRNA 纯化试剂 Oligotex mRNA Midi Kit 购自 Qiagen 公司;芯片类型为 BiostarH-40s;扫描仪 ScanArray 4000;采用 GenePix Pro 3.0 图像处理软件。

### 二、细胞培养

肝癌细胞系 Huh7 细胞于 5% CO<sub>2</sub>、37℃,于含 10% FBS 的 DMEM 培养基中贴壁生长(含 100 U/ml 青霉素和 100 mg/L 链霉素),细胞用含 0.25% 胰蛋白酶和 0.02% EDTA 的消化液消化进行传代。

### 三、细胞转染

于 25 cm<sup>2</sup> 细胞培养瓶内培养 Huh7 细胞,采用 DMEM 培养基,10% 胎牛血清(FBS),37℃、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱培养细胞,待细胞生长至对数期,细胞融合度达 80% 左右时进行细胞转染,分别以脂质体转染试剂 Lipofectamine2000 4 μl, pHY106-BHBV、pHY106-CHBV 和空载体 pHY106 各 8 μg 转染 Huh7 细胞。

### 四、基因芯片操作

pHY106-BHBV、pHY106-CHBV 和空载体 pHY106

转染 Huh7 细胞。细胞转染后 48 h,去除培养液;按直径每 10 cm<sup>2</sup> 面积上的细胞加 2 ml Trizol 试剂的比例加入 Trizol 试剂,进行总 RNA 提取及 mRNA 纯化操作,送上海博星基因芯片公司筛选差异表达基因。

### 五、实时定量 PCR

应用罗氏通用探针系统引物库,从中选出了针对 pHY106-CHBV 组基因芯片差异表达基因的引物两对,分别为 EEf2 和 ZNF592;设计针对 pHY106-BHBV 组基因芯片差异表达基因的引物 4 对,基因分别为 IFNGR2、GPR125、DDEF2 和 PI3K;GAPDH 作为 real-time PCR 的内参照。全部引物序列见表 1;pHY106 空质粒及 B 和 C 基因型 HBV 全基因组的 pHY106-BHBV、pHY106-CHBV 质粒,48 h 后应用 Trizol 一步法提取细胞总 RNA,用 SYBR ExScript real-time PCR Kit 反转录为 cDNA,使用 Light Cycler PCR 仪(Roche)行 real-time PCR 反应,SYBR Green 反应体系如下:SYBR Premix EXtaq(2 ×):10.0 μl,PCR Forward Primer(10 μmol/L):0.4 μl,PCR Reverse Primer(10 μmol/L):0.4 μl,模板(cDNA 溶液):2.0 μl,灭菌蒸馏水:7.2 μl,共 20.0 μl 体系;每组做 3 个副管,共重复 3 次以保证实验的可重复性。

表 1 real-time PCR 相应基因引物序列

Gene	扩增片段 长度(bp)	引物(5'→3')
EEF2	90	正义:AGACACGCTTCACTGATACCC
		反义:CCGAGAGCTCGTAGAAGAGG
ZNF592	107	正义:CTACCTGCCACGGATACCAG
		反义:TGGGGTCTGGGATGTCAA
IFNGR2	111	正义:TGTACAACGCAGAGCAGGTC
		反义:CCGTGAACCATTTACTGTCC
GPR125	60	正义:CACGGAATGTTGGCAAAGT
		反义:GCGGTAGTATAAACACAGGATG
DDEF2	60	正义:CACGGAATGTTGGCAAAGT
		反义:AGTTTCTCTTCCACAGGGTGT
PI <sub>3</sub> K	62	正义:TAAGTTGCGGCTGCTCTTC
		反义:CGATCACGAAGCGACTAGG
GAPDH	100	正义:CCTGTTGACAGTCAGCCG
		反义:CGACCAAATCCGTTGACTCC

注:EEF2:真核翻译延长因子 2;ZNF592:锌指蛋白 592;IFNGR2:干扰素-γ 受体 2;GPR125:G 蛋白偶联受体 125;DDEF2:发展和分化增强因子;PI3K:磷脂酰肌醇-3-激酶;GAPDH:磷酸甘油醛脱氢酶

## 结 果

### 一、用于基因芯片总 RNA 的定性定量分析

实验组和对照组总 RNA 的吸光度比值  $A_{260}/A_{280}$  分别为 1.93 和 1.96, 热稳定实验结果显示, 70℃ 保温 1 h 与 -20℃ 1 h 的电泳条带比较, 28S 条带无明显降解, 电泳结果证实所抽提的总 RNA 为高纯度 RNA (图 1); mRNA 主要集中于 0.9 ~ 4.0 kb 的连续条带。

### 二、芯片杂交体系验证及结果分析

芯片上共有 4097 个 cDNA, 为了监控芯片杂交技术体系的整个过程, 在芯片上设置了阴性对照(8 条水稻基因共 8 个点), 这些点的杂交信号均很低,

证实了数据的可靠性; 由于实验组探针标记 Cy5 荧光素(呈红色), 对照组探针标记 Cy3 荧光素(呈绿色), 红绿颜色的差异就显示该基因在实验组和对照组中基因表达水平上的差异, 黄色代表表达水平无差异; 按阳性标准, pHY106-BHBV 转染 Huh7 细胞 48 h 后, 从 4097 个基因中筛选出差异常表达基因共 60 条, 其中 1 条基因表达明显增强, 59 条基因表达明显降低(表 2); pHY106-CHBV 转染 Huh7 细胞 48 h 后, 从 4097 个基因中筛选出差异常表达基因共 120 条, 其中 34 条基因表达明显增强, 88 条基因表达明显降低(表 3)。

表 2 pHY106-BHBV 转染 Huh7 细胞后部分表达显著降低或增强的基因

编号	GenBank_ID	编码蛋白	Cy5/Cy3
1	NM_001009909	亮氨酸拉链蛋白 2(LUZP2)	0.267
2	NM_003887	发育分化促进因子 2(DDEF2)	0.292
3	BC003694	肿瘤坏死因子 $\alpha$ 诱导蛋白 1(TNFAIP1)	0.310
4	NM_003013	分泌性卷毛相关蛋白 2(SFRP2)	0.313
5	NM_000719	钙离子通道, 电压依赖性, L 型 a1C 亚单位(CACNA1C)	0.314
6	NM_001006681	纺锤样蛋白 2(SPIN-2)	0.337
7	Y11312	磷酸肌醇 3 激酶(PI3K)	0.344
8	NM_002871	RAB 相互作用因子(RABIF)	0.353
9	BC000054	7-脱氢胆固醇还原酶(DHCR7)	0.376
10	NM_002298	淋巴细胞浆蛋白 1(LCP1)	0.389
11	NM_145290	G 蛋白偶联受体 125(GPR125)	0.403
12	NM_012218	白细胞介素结合增强因子 3(ILF3)	0.415
13	AF205074	有机阴离子运载体多肽相关蛋白 3(OATPRP3)	0.415
14	NM_019859	5-羟色胺受体 7(HTR7)	0.421
15	NM_002807	蛋白酶体 26S 亚单位, 非三磷酸腺苷酶 1(PSMD1)	0.422
16	AB209854	转导蛋白样增强子蛋白 1(TLE1)	0.422
17	NM_006472	硫氧还蛋白相互作用蛋白(TXNIP)	0.443
18	NM_000701	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> 转运三磷酸腺苷酶 $\alpha$ 1 多肽转录变异体 1(ATP1A1-transcript variant 1)	0.458
19	NM_033121	锚蛋白重复序列结构域 13(ANKRD13)	0.474
20	NM_012343	烟酰胺核苷酸转氨酶(NNT)	0.483
21	NM_007040	不均一核糖核酸核糖蛋白 U 样转录变异体(HNRPUL1)	0.486
22	NM_005436	卷曲螺旋结构域 6 个(CCDC6)	0.489
23	NM_007326	还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH), 细胞色素 $\beta$ -5 还原酶(DIA1)转录变异体 S	0.490
24	NM_005534	干扰素 $\gamma$ 受体 2(IFNGR2)	0.491
25	NM_003253	T 细胞淋巴瘤侵袭转移 1(TIAM1)	0.498
26	XM_290809	TAF4b RNA 聚合酶 II, TATA 盒结合蛋白相关因子(TAF4B)	2.164

注: Cy5/Cy3 > 2 为表达显著增强基因, Cy5/Cy3 < 0.5 为表达显著降低基因

表 3 pHY106-CHBV 转染 Huh7 细胞后部分表达显著降低和增强的基因

编号	GenBank_ID	编码蛋白	Cy5/Cy3
1	NM_003098	肌养蛋白结合蛋白 $\alpha 1$ (SNTA1)	0.223
2	BC048198	$\alpha$ -HS 糖蛋白 (AHSG)	0.262
3	NM_001961	真核翻译延长因子 2 (EEF2)	0.298
4	NM_002826	静止素 6 (QSCN6)	0.338
5	NM_014390	金黄色葡萄球菌核酸域 1 (SND1)	0.363
6	NM_007363	non-pou 域 (NONO)	0.363
7	AB209555	基因变异蛋白 (TAGLIN-variant protein)	0.367
8	BC014152	角蛋白 6A (KRT6)	0.367
9	BC071589	前列腺癌 0863 蛋白 (KIAA0863P)	0.368
10	AB209790	洄游细胞蛋白变异蛋白 (AAMP variant protein)	0.370
11	AF335324	逆转录酶 801 (RTP801)	0.370
12	AB209433	B 相关转录 8 (bat8), 亚型变异蛋白 (BAT8)	0.374
13	NM_000638	玻璃体结合蛋白 (VTN)	0.377
14	NM_175932	蛋白酶体 26S 亚基, 非三磷酸腺苷酶 13 (PSMD13) 剪切体 2	0.378
15	NM_014630	锌指蛋白 592 (ZNF592)	0.368
16	AB209229	二磷酸甲羟戊酸脱羧酶变异体蛋白 (Diphosphomevalonate decarboxylase variant protein)	0.389
17	NM_000170	甘氨酸脱氢酶 (GLDC)	0.399
18	NM_006556	磷酸甲羟戊酸激酶 (PMVK)	0.411
19	NM_004442	酪氨酸蛋白激酶受体转录变异体 2 (EphB2-transcript variant 2)	0.411
20	NM_002087	颗粒体蛋白 (GRN-transcript variant 1)	0.416
21	NM_005973	乳头状肾细胞癌转录变异体 1 (PRCC-transcript variant 1)	0.417
22	NM_001976	烯醇酶 3 转录变异体 1 (ENO3-transcript variant 1)	0.424
23	BC065510	氨甲酰磷酸合成酶, 天冬氨酸转氨甲酰酶, 二氢乳清酸酶 (CAD)	0.426
24	BC018650	内皮分化鞘酯 G 蛋白偶联受体 (EDG)	0.430
25	NM_003887	生长分化增强因子 2 (DDEF2)	0.432
26	BC043565	苯丙氨酸合成酶 $\alpha$ 亚单位 (FARSA)	0.443
27	L13848	RNA 解旋酶 A (RNA helicaseA)	0.443
28	NM_000292	磷酸化酶激酶 $\alpha 2$ (Phka2)	0.444
29	NM_005839	丝氨酸精氨酸重复矩阵子 (SRRM1)	0.460
30	NM_002015	叉头盒 OA1 (FOXOA1)	0.461
31	BC000968	鼠类 t 复合体样 (TCTE1L)	0.461
32	NM_001261	细胞周期蛋白依赖激酶 9 (CDK 9)	0.469
33	AB209352	FK506 结合蛋白 9 变异体蛋白 (FKBP9-variant protein)	0.468
34	NM_000624	丝氨酸/精氨酸蛋白酶抑制剂 a1 (S/CPIA)	0.468
35	NM_003033	唾液酸转移酶 4 (SIAT4)	0.471
36	U53347	中性氨基酸转运蛋白 B (NAT2)	0.471
37	BC038450	G 蛋白偶联受体 4 (GPCR4)	0.479
38	BC002726	死亡相关蛋白 (DAP)	0.485
39	NM_002849	蛋白酪氨酸磷酸酶受体 (PTPRR)	0.487
40	NM_198268	桐原结构域相互作用蛋白激酶 1 转录变异体 1 (HIPK1-transcript variant 1)	0.490
41	BC040061	蛋白激酶 N1 转录变异体 2 (PKN1-transcript variant 2)	0.490
42	NM_030780	线粒体叶酸转运蛋白 (MFTC)	0.492
43	NM_001884	透明质酸和黏蛋白连接蛋白 1 (HAPLN1)	0.494
44	NM_018947	细胞色素 C 浆核基因编码线粒体蛋白 (CYCS)	2.007
45	NM_014717	锌指蛋白 536 (ZNF536)	2.018
46	D86987	KIAA 0214 蛋白 (KIAA 0214)	2.039
47	NM_004525	低密度脂蛋白相关蛋白 2 (LRP 2)	2.705
48	NM_001007245	干扰素相关发育调节因子 1 转录变异体 2 (IFRD1-transcript variant 2)	2.120
49	NM_006626	锌指蛋白 482 (ZNF 482)	2.188
50	NM_014912	胞质多聚腺苷酸结合蛋白 3 (CPEB3)	2.201
51	NM_000796	多巴胺受体 3 (DRD 3)	2.202
52	D86550	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (STK)	2.224
53	AF146277	适配器蛋白细胞质雄性不育 (Adapter protein CMS)	2.909
54	AF104922	筒箭毒碱 (GDF8)	5.170
55	NM_005986	染色体决定区 BOX1 (SOX 1)	5.810
56	AK022062	FLJ12000 fis cDNA, clone HEMBB1001531	7.771

注: Cy5/Cy3 &gt; 2 为表达显著增强基因, Cy5/Cy3 &lt; 0.5 为表达显著降低基因



三、用于 real-time PCR 的总 RNA 定性定量分析  
pHY106-BHBV、pHY106-CHBV 和 pHY106 转染 Huh7 细胞 48 h 后,提取的总 RNA 吸光度比值  $A_{260}/A_{280}$  分别为 1.90、1.91 和 1.89;热稳定实验结果显示,70℃ 保温 1 h 与 -20℃ 1 h 电泳条带比较,28S 条带无明显降解,电泳结果证实抽提的总 RNA 为高纯度 RNA(图 2)。

四、应用 real-time PCR 验证基因芯片部分差异表达的基因

应用 SYBR Green 实时荧光定量 PCR 法,实验结果自动给出 Ct 值,依据相对表达率 (relative expression ratio)  $\text{Ratio} = 2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  方程进行计算。内参照 GAPDH 组扩增曲线光滑,Ct 值为 14 ~ 15,溶解曲线峰型锐利,解链温度均为 85℃ ~ 86℃,表明模板纯

度好且量充足(图 3);实验组与对照组 SYBR Green 反应体系熔解曲线峰型锐利,熔解温度较为均一,提示本实验扩增的 PCR 产物均有较强的特异性。结果显示 pHY106-BHBV 转染 Huh7 细胞 48 h 后,IFN-GR2、GPR125、DDEF2 和 PI3K mRNA 表达水平平均不同程度的下调,相对表达率分别为 0.8、0.5、0.3 和 0.4,与基因芯片结果基本一致,表明 B 基因型 HBV 转染 Huh7 细胞后确实可以使 IFNGR2、GPR125、DDEF2 和 PI3K 表达水平下调(图 4);而 pHY106-CHBV 转染 Huh7 细胞 48 h 后,real-time PCR 验证 EEF2 和 INF592 表达均下调,相对表达率分别为 0.8 和 0.6,与基因芯片结果基本一致,表明 C 基因型 HBV 转染 Huh7 细胞后可使 EEF2 和 INF592 表达水平下调(图 5)。

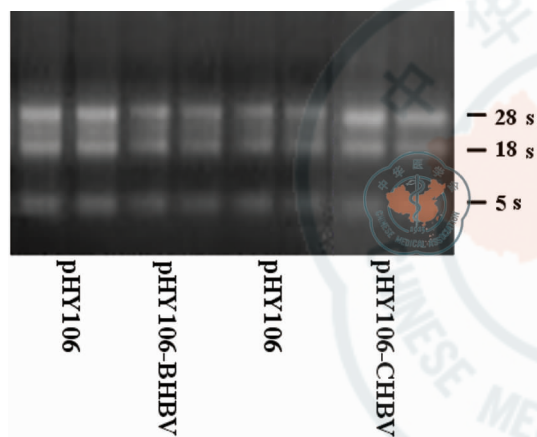


图 1 用于基因芯片的总 RNA 的电泳图谱

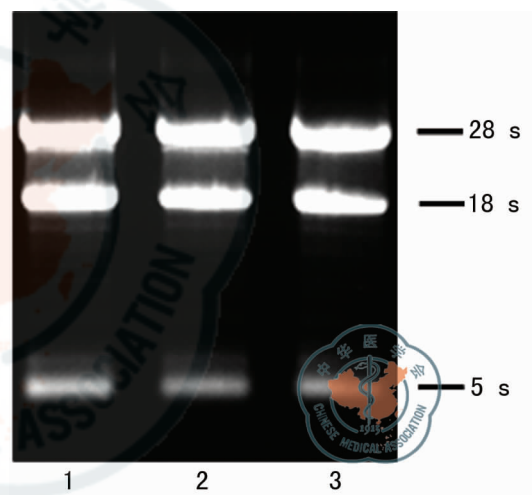


图 2 用于 real-time PCR 的总 RNA 电泳图

注:1:pHY106-BHBV;2:pHY106-CHBV;3:pHY106

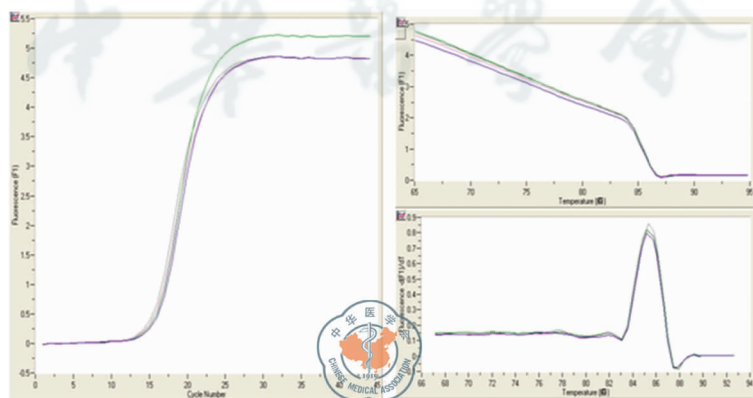


图 3 GAPDH real-time PCR 扩增曲线和溶解曲线图

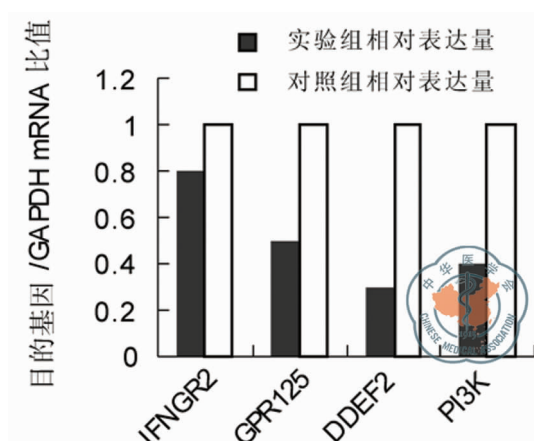


图 4 pHY106-BHBV 转染 Huh7 细胞后基因表达量变化 (对照组视为 1)

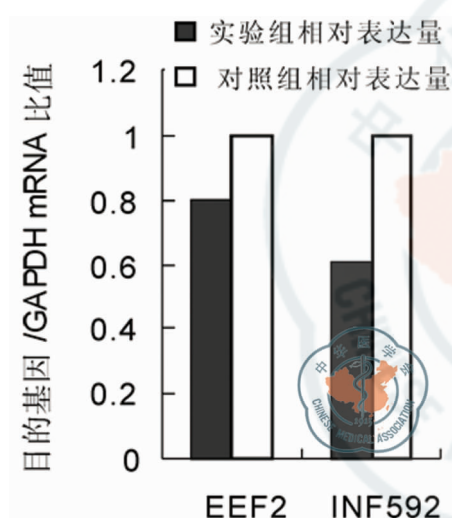


图 5 pHY106-CHBV 转染 Huh7 细胞后基因表达量变化 (对照组视为 1)

## 讨 论

基因表达谱芯片技术是将大量基因或 cDNA 片段固定在一块玻片上利用核酸杂交这一特性对不同组织或细胞的 mRNA 或 cDNA 进行荧光检测从而对这些基因表达个体的特异性进行综合分析和判断<sup>[7-8]</sup>。本研究应用已构建好的真核表达载体 pHY106-BHBV 或 pHY106-CHBV 转染 Huh7 细胞作为实验组,空载体 pHY106 转染 Huh7 细胞作为对照组,转染 48 h 后从细胞中提取 mRNA 逆转录为 cDNA 进行基因芯片技术分析。结果表明,pHY106-BHBV 组共筛选出差异表达基因 60 种,其中 59 种基因表达水平下调,1 种基因表达水平上调;这些基因包括细胞生长、细胞凋亡、信号转导、免疫调节和肿瘤发生等基因;其中与细胞生长调节和免疫调节相关基因,如发育分化促进因子 2 (DDEF2),肿瘤坏死因子  $\alpha$  诱导蛋白 1,其中 DDEF2 经 real-time PCR 验

证与基因芯片结果一致,相对表达量为 0.3,即转染 pHY106-BHBV 的 Huh7 细胞 DDEF2 表达水平较对照组减少约 3.3 倍;目前有研究发现 DDEF2 在某些肿瘤发生时表达上调;有报道显示前列腺癌细胞系在双氢睾酮和比卡鲁胺处理后 DDEF2 的表达发生变化<sup>[9]</sup>;Iacobuzio-Donahue 等<sup>[10]</sup>发现 DDEF2 在胰腺癌时高表达;患有 21 三体综合征者患急性性巨核细胞白血病时较常人患此病时 DDEF2 表达明显降低<sup>[11]</sup>;Snyder 等<sup>[12]</sup>鉴定 STAT3 直接作用调控生长和分化的靶基因时发现 DDEF2 也是 Stat3 作用的靶基因,其转录依赖 TAT3 的作用;磷酸肌醇 3 激酶 (PI3K)、白细胞介素结合增强因子 3 (ILF3)、RAB 相互作用因子 (RABIF)、钙离子通道和电压依赖性 L 型  $\alpha_1C$  亚单位等与细胞信号转导和激酶有关;经 real-time PCR 验证,发现 IFNGR2、GPR125 和 PI3K mRNA 水平在转染了 pHY106-BHBV 的 Huh7 细胞较转染 pHY106 组有不同程度下调,相对表达量分别为 0.8、0.5 和 0.4。pHY106-CHBV 组共筛选出差异表达基因 122 种,其中 88 种基因表达水平下调,34 种基因表达水平上调;发现有多种酶差异表达,如下调的有蛋白酶体 26S 亚单位,非三磷酸腺苷酶 13 剪切体 2,二磷酸甲羟戊酸脱羧酶变异体,甘氨酸脱氢酶、磷酸甲羟戊酸激酶、酪氨酸蛋白激酶受体、烯醇酶、氨甲酰磷酸合成酶、天冬氨酸转氨甲酰酶、二氢乳清酸酶、氨甲酰天冬氨酸脱水酶、苯丙氨酸合成酶  $\alpha$  亚单位,而且发现低密度脂蛋白相关蛋白 2 表达上调,表明 pHY106-CHBV 转染 Huh7 细胞后细胞内的代谢、脂类代谢发生明显改变;本研究发现 B 和 C 基因型 HBV 对 Huh7 细胞表达谱的影响明显不同,仅发现 DDEF2 在 B 和 C 基因型 HBV 转染 Huh7 细胞后下调,表明 B 和 C 基因型 HBV 对机体的改变可能存在不同的方式,对于研究 B 和 C 基因型 HBV 致病机制方面可能存在的不同机制提供线索;且这些差异表达的基因对进一步研究 HBV 与宿主细胞间的相互作用提供了新的方向,对研究 HBV 的致病机制非常重要。

## 参 考 文 献

- 1 Yuen MF, Lai CL. Treatment for chronic hepatitis B. Lancet Infect Dis, 2001, 1(4): 232-241.
- 2 Shepard CW, Simard EP, Finelli L, et al. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. Epidemiol Rev, 2006, 28(1): 112-125.
- 3 Yang CY, Kuo TH, Ting LP. Human hepatitis B viral e antigen interacts with cellular interleukin-1 receptor accessory protein and triggers interleukin-1 response. J Biol Chem, 2006, 281(45): 34525-34536.

- 4 Kim SY, Kim JC, Kim JK, et al. Hepatitis B virus X protein enhances NF kappa B activity through cooperating with VBP1. *BMB Rep*, 2008, 41(2):158-163.
- 5 Su JM, Lai XM, Lan KH, et al. X protein of hepatitis B virus functions as a transcriptional corepressor on the human telomerase promoter. *Hepatology*, 2007, 46(2):402-413.
- 6 Schena M, Shalon D, Dais RW, et al. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science*, 1995, 270(5235):467-470.
- 7 Zhang MQ. Large-scale gene expression data analysis: a new challenge to computational biologists. *Genome Res*, 1999, 9(8):681-688.
- 8 Bigger CB, Brasky KM, Lanford RE. DNA microarray analysis of chimpanzee liver during acute resolving hepatitis C virus infection. *J Virol*, 2001, 75(15):7059-7066.
- 9 Coutinho-Camillo CM, Salaorni S, Sarkis AS, et al. Differentially expressed genes in the prostate cancer cell line LNCaP after exposure to androgen and anti-androgen. *Cancer Genet Cytogenet*, 2006, 166(2):130-138.
- 10 Iacobuzio-Donahue CA, Maitra A, Olsen M, et al. Exploration of global gene expression patterns in pancreatic adenocarcinoma using cDNA microarrays. *Am J Pathol*, 2003, 162(4):1151-1162.
- 11 Bourquin JP, Subramanian A, Langebrake C, et al. Identification of distinct molecular phenotypes in acute megakaryoblastic leukemia by gene expression profiling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(9):3339-3344.
- 12 Snyder M, Huang XY, Zhang JJ. Identification of novel direct Stat3 target genes for control of growth and differentiation. *J Biol Chem*, 2008, 283(7):3791-3798.

(收稿日期:2011-10-22)

(本文编辑:孙荣华)

李晓光,洪源,王琦,等. B 和 C 基因型乙型肝炎病毒对 Huh7 细胞全基因组表达模式的影响[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版, 2012, 6(6):520-526.

