

## · 基础论著 ·

# 乙型肝炎病毒包膜蛋白诱导肝癌细胞系内质网应激的研究

卓传尚 柳丽娟 谢海花 李圣聪

【摘要】目的 探讨乙型肝炎病毒前-S缺失和野生型外膜大蛋白(LHBs)诱导内质网应激反应。

方法 运用脂质体转染技术将pcDNA3.1-S、pcDNA3.1-L、pcDNA3.1-L $\Delta$ 30和pcDNA3.1-L $\Delta$ 182等真核表达质粒转染至Huh7细胞,并应用qRT-PCR和Western blot方法检测转染细胞前-S1、前-S2、HBsAg和GRP78的mRNA和蛋白表达水平。结果 转染HBV包膜蛋白各组的HBsAg蛋白相对表达量(分别为0.92、0.83、0.91、1.75、2.53和2.06)高于空白对照(0.00)和pcDNA3.1(+ )转染组(0.00) ( $F=247.38$ 、 $P=0.000$ );转染HBV包膜蛋白各组的GRP78的蛋白相对表达量(分别为1.4、1.47、1.55、1.75、1.8和1.9)高于空白对照(1.18)和pcDNA3.1(+ )转染组(1.23) ( $F=11.623$ 、 $P=0.000$ );且GRP78蛋白相对表达量与前-S1、前-S2抗原和HBsAg表达量呈正相关(相关系数 $r$ 分别为0.884、0.728和0.816)。结论 前-S缺失型/野生型LHBs及HBsAg均能诱导Huh7细胞发生内质网应激反应,提示其可能参与肝癌发生。

【关键词】肝炎病毒,乙型;外膜大蛋白;表面抗原;葡萄糖调节蛋白78;内质网应激

**Endoplasmic reticulum stress in Huh7 cell induced by envelope proteins of hepatitis B virus** Zhuo Chuanshang, Liu Lijuan, Xie Haihua, Li Shengcong. *Clinical Laboratory of Mengchao Hepatobiliary Hospital of Fujian Medical University; Infectious Diseases Hospital of Fuzhou, Fuzhou 350025, China*  
Corresponding author: Zhuo Chuanshang, Email: hjjzoe@163.com

【Abstract】Objective To explore endoplasmic reticulum stress in Huh7 cells induced by wild type and pre-S mutant envelope proteins of HBV. Methods The recombinant eukaryotic expression vectors of pcDNA3.1-S, pcDNA3.1-L, pcDNA3.1-L $\Delta$ 30 and pcDNA3.1-L $\Delta$ 182 were transfected into Huh7 cells through liposome transfection, then the protein expression of pre-S1, pre-S2, HBsAg and Grp78 were detected by Western blot, and Grp78 mRNA transcripts were detected by qRT-PCR. Results The relative expression of HBsAg protein in Huh7 cells transfected with recombinant eukaryotic expression vectors (0.92, 0.83, 0.91, 1.75, 2.53 and 2.06, respectively) were significantly higher than that in blank control cells (0.00) and that in cells transfected with pcDNA3.1(+ ) (0.00) ( $F=247.38$ ,  $P=0.000$ ). The relative expression of GRP78 protein in Huh7 cells transfected with recombinant eukaryotic expression vectors (1.4, 1.47, 1.55, 1.75, 1.8 and 1.9, respectively) were significantly higher than that in blank control cells (1.18) and that in cells transfected with pcDNA3.1(+ ) (1.23) ( $F=11.623$ ,  $P=0.000$ ). The relative expression of GRP78 protein had oposite correlation with that of pre-S1, pre-S2 and HBsAg ( $r=0.884$ , 0.728 and 0.816, respectively). Conclusions Expression of envelope proteins of HBV could induce endoplasmic reticulum stress, indicating they might involve in hepatocarcinogenesis.

【Key words】Hepatitis B virus; Hepatitis B virus large surface protein; Hepatitis B virus surface antigen; Glucose regulated protein 78; Endoplasmic reticulum stress

原发性肝癌是世界上最常见恶性肿瘤之一,80%以上的原发性肝癌与慢性乙型肝炎病

毒(hepatitis B virus, HBV)感染有关<sup>[1]</sup>,然而HBV相关肝癌的分子机制至今仍未阐明。HBV包膜由3种结构上相关的包膜蛋白组成,即外膜大蛋白(hepatitis B virus large surface protein, LHBs)、中蛋白(hepatitis B virus middle surface protein, MHBs)和小蛋白(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)。中蛋白由小蛋白及N-端前-S2结构域组成,而LHBs由中蛋白和N-端前-S1结构域组成。前-S1结构域和前-S2结构域即为前-S区。

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2016.03.027

基金项目:福州市科技计划项目(No.2010-S-78),福州市卫生系统创新团队培育项目(No.2013-S-wt7),福建省卫生计生委青年科研课题项目(No.2014-2-42)

作者单位:350025 福州市,福建医科大学孟超肝胆医院/福州市传染病医院检验科

通讯作者:卓传尚, Email: hjjzoe@163.com

前-S区不仅含有T/B细胞表位,还含有细胞质停留决定子、核衣壳结合位点、多聚人血清白蛋白结合位点等多种功能区,在病毒和宿主相互作用中扮演重要角色<sup>[2]</sup>;前-S区也是慢性HBV感染过程发生缺失突变的热点<sup>[3]</sup>。近年研究显示,HBV前-S区缺失突变与肝癌密切相关,是肝癌发生的独立危险因子<sup>[4-7]</sup>。早前台湾学者Wang等<sup>[8-10]</sup>从肝组织标本筛选出的 $\Delta 1$ (3040~3111)和 $\Delta 2$ (2~55)具有诱导内质网应激的功能。前期研究发现福建地区HBV相关肝癌患者血清HBV前-S区缺失多发生于前-S1的3'-端和前-S2的5'-端,缺失片段长度和位置与Wang等报道不同,且这些缺失也未引起HBsAg血清型的改变<sup>[4]</sup>。目前尚未明确从肝癌患者血清中筛查出的前-S缺失的LHBs是否也具有诱导内质网应激的功能。因此,本研究通过建立体外HBV包膜蛋白真核表达模型探讨前-S缺失LHBs对内质网应激的影响,现报道如下。

## 材料和方法

### 一、质粒与细胞

pcDNA3.1(+)(Invitrogen),含HBsAg基因的pcDNA3.1-S、含HBV全S区的pcDNA3.1-L、含缺失HBV第27~56 nt的全S区基因的pcDNA3.1-L $\Delta 30$ 和含缺失HBV第3020~3201 nt的全S区基因的pcDNA3.1-L $\Delta 182$ 均为本课题组构建和保存,上述真核表达质粒插入的HBV基因片段均为C基因型和adr血清型。人肝癌细胞系Huh7由福建医科大学分子生物学系林旭教授惠赠。

### 二、细胞培养与转染

Huh7细胞用含10%胎牛血清(Hyclone)和2% L-谷氨酸的DMEM(Gibco)培养,置CO<sub>2</sub>培养箱内,5% CO<sub>2</sub>,37℃静置培养。

转染前1天对细胞株进行传代,取对数生长期Huh7以 $5 \times 10^5$ 个细胞/孔铺板于6孔板。转染采用

Lipofectamine 2000转染试剂(Invitrogen),严格按说明书操作。首先将4  $\mu$ g质粒DNA加至250  $\mu$ l Opti-MEM培养基为A液,取10  $\mu$ l Lipofectamine 2000溶解于250  $\mu$ l Opti-MEM培养基为B液,室温静置5 min;然后将A液和B液混合,室温静置20 min后加到细胞培养板中;孵育4~6 h后换为细胞生长培养基。转染72 h收获细胞。

### 三、定量PCR检测Huh7细胞LHBs、HBsAg和GRP78 mRNA

根据pcDNA3.1-L、pcDNA3.1-S、人糖调节蛋白78(Grp78)mRNA(登录号:NM\_005347)和人18S核糖体RNA(RNA18S5)(登录号:NR\_003286)等基因序列,应用Primer primer6.0设计荧光定量PCR引物,引物序列及其在相应基因中的位置见表1,所有引物由上海铂尚生物技术有限公司合成。

收集Huh7细胞,用预冷PBS洗1次,严格按试剂盒说明书用TRIzol试剂盒提取细胞总RNA,用Promega逆转录试剂合成cDNA。PCR反应总体积20  $\mu$ l,含2 $\times$  SYBR Green qPCR SuperMix 10  $\mu$ l、上下游引物各0.25  $\mu$ mol/L和cDNA(1:20稀释)5  $\mu$ l,置于ABI PRISM<sup>®</sup> 7500 Sequence Detection System反应。反应参数为50℃、2 min;95℃、2 min;95℃、15 s,60℃、32 s读板,40个循环;融解曲线分析:温度60℃~95℃。mRNA的相对表达量以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 表示。

### 四、免疫印迹检测Huh7细胞前-S1、HBsAg和GRP78蛋白水平

收集Huh7细胞,用预冷PBS洗1次,加入适量RIPA缓冲液(含蛋白酶抑制剂),4℃轻摇15 min,14 000 r/min离心15 min(离心半径 $r = 7.7$  cm),收集上清液。取一定量蛋白溶液SDS-PAGE电泳、转膜。用兔抗人GRP78抗体、兔抗人抗-HBV前-S1/2、兔抗人抗-HBsAg(武汉博士德)检测GRP78、HBV前-S1/2和HBsAg

表1 RT-PCR 所有引物序列、位置和长度

名称	序列(5'→3')	位置	长度(bp)
18srRNA-F	CCTGGATACCGCAGCTAGGA	846~861	108
18srRNA-R	GCGGCGCAATACGAATGCCCC	953~932	
GRP78-F	CCCTGTCTTCTCAGCATCAA	1 154~1 173	101
GRP78-R	TAGACCGGAACAGATCCATGT	1 273~1 253	
HBsAg-F	TGCCCGTTTGTCTCTACTT	466~485	101
HBsAg-R	CCGAAGTTTGTACAGCAA	584~565	
LHBs-F	ATGGGAGGTTGGTCTTCC	2 848~2 865	116
LHBs-R	TTTGAGTTGGCTCCGAAC	2 963~2 946	

水平,采用Millipore的IMMOBILON WESTERN CHEMILUM HRP SUBSTRATE显影。用BioRad的Quantity one软件检测目的条带的相对吸光度。

#### 五、统计学处理

采用SPSS 15.0软件包进行统计分析,数据表示  $\bar{x} \pm s$ , 实验组与对照组之间采用配对样本 $t$ 检验,以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、HBV包膜蛋白表达结果

RT-PCR结果显示转染HBV包膜蛋白的Huh7细胞HBsAg mRNA相对表达量显著高于空白组和pcDNA3.1 (+) 组 ( $F = 144.09$ 、 $247.38$ 、 $P$ 均=  $0.000$ ), 见图1A和表2; 转染pcDNA3.1-L、pcDNA3.1-L $\Delta$ 30以及pcDNA3.1-S+pcDNA3.1-L和pcDNA3.1-S+pcDNA3.1-L $\Delta$ 30组LHBs mRNA相对表达量显著高于空白组、pcDNA3.1 (+) 组和pcDNA3.1-S组 ( $F = 4166.66$ ,  $P = 0.000$ ), 见图1B和表2。免疫印迹结果显示,除空白组和转染pcDNA3.1 (+) 组未检测到HBsAg外,其余各转染组均检测到HBsAg; 除空白组、pcDNA3.1-S和转染pcDNA3.1 (+) 组未检测出前-S1和前-S2抗原外,其余各转染组均检测出前-S1和前-S2抗原,见图2,结果表明转染成功。此外,共转染组的HBsAg mRNA和蛋白质的相对表达量显著高于单转染 ( $t = -4.351$ 、 $-5.368$ ,  $P = 0.012$ 、 $0.006$ ), 见表2。

### 二、GRP78 mRNA和蛋白表达结果

RT-PCR结果显示转染包膜蛋白的Huh7细胞GRP78 mRNA相对表达量略高于空白对照和

pcDNA3.1 (+) 转染组,差异无统计学意义 ( $F = 1.466$ ,  $P = 0.248$ , 见表2)。但免疫印迹结果显示,转染包膜蛋白的Huh7细胞GRP78蛋白相对表达量高于空白对照和pcDNA3.1 (+) 转染组,差异有统计学意义 ( $F = 11.623$ 、 $P = 0.000$ )。GRP78蛋白相对表达量与前-S1、前-S2抗原和HBsAg表达呈正相关,相关系数 $r = 0.884$ 、 $0.728$ 和 $0.816$  (见图3)。

## 讨 论

本研究结果显示,前-S缺失或野生型LHBs及HBsAg表达可诱导人肝癌细胞系Huh7细胞GRP78的表达,这一结果与Wang等<sup>[8]</sup>及Montalbano等<sup>[11]</sup>的报道相符。GRP78是重要的内质网分子伴侣,不仅参与蛋白质折叠和转运,还参与调节三种内质网跨膜感应器,即蛋白激酶RNA样内质网激酶 (protein kinase RNA-like ER kinase, PERK)、肌醇必需激酶 $\alpha 1$  (inositol-requiring protein-1, IRE $\alpha 1$ ) 和激活转录因子6 (activating transcription factor-6, ATF6) 是内质网应激的触发分子,也是内质网应激的标志之一<sup>[12-14]</sup>。因此,本研究结果表明,不仅前-S缺失的LHBs可诱导Huh7细胞内质网应激,野生型LHBs和HBsAg同样可以诱导Huh7细胞内质网应激。内质网应激是指各种原因导致内质网稳态失衡,继而激活从内质网至细胞质和细胞核一系列的信号转导的一种应激状态<sup>[12-14]</sup>。内质网应激不仅是一种重要的细胞自我防御机制,也参与多种疾病的发病机制,尤其是参与肿瘤的发生、发展<sup>[13-15]</sup>。内质网应激一方面可通过诱导氧化应激导致DNA损伤和基因组不稳定性从而促进细胞转化,另一方面可

表2 GRP78、HBsAg 和 LHBs 等 mRNA 相对表达量 ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	GRP78	HBsAg	LHBs
空白组	1.00 $\pm$ 0.12	1.00 $\pm$ 0.14	1.00 $\pm$ 0.17
pcDNA3.1	1.03 $\pm$ 0.18	2.40 $\pm$ 0.13	1.11 $\pm$ 0.18
pcDNA3.1-S	1.23 $\pm$ 0.28	16 561.36 $\pm$ 1 490.21 <sup>b</sup>	1.22 $\pm$ 0.21
pcDNA3.1-L	1.42 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>	22 847.78 $\pm$ 1 515.87 <sup>b</sup>	26.51 $\pm$ 1.68 <sup>b</sup>
pcDNA3.1-L $\Delta$ 30	1.33 $\pm$ 0.21	11 877.42 $\pm$ 770.54 <sup>b</sup>	21.11 $\pm$ 2.37 <sup>b</sup>
pcDNA3.1-S + pcDNA3.1-L	1.37 $\pm$ 0.25	37 047.28 $\pm$ 1 680.17 <sup>b</sup>	23.24 $\pm$ 2.07 <sup>b</sup>
pcDNA3.1-S + pcDNA3.1-L $\Delta$ 30	1.28 $\pm$ 0.27	31 560.34 $\pm$ 1 824.43 <sup>b</sup>	18.27 $\pm$ 1.17 <sup>b</sup>
pcDNA3.1-S + pcDNA3.1-L $\Delta$ 183	1.43 $\pm$ 0.31	43 271.72 $\pm$ 2 863.84 <sup>b*</sup>	20.37 $\pm$ 1.85 <sup>b</sup>

注: <sup>a</sup> 与空白组相比差异具有统计学意义,  $t = -2.91$ 、 $P = 0.44$ ; <sup>b</sup> 与 pcDNA3.1 组相比差异均有统计学意义, pcDNA3.1-S、pcDNA3.1-L、pcDNA3.1-L $\Delta$ 30、pcDNA3.1-S + pcDNA3.1-L、pcDNA3.1-S + pcDNA3.1-L $\Delta$ 30 和 pcDNA3.1-S + pcDNA3.1-L $\Delta$ 183 组的 HBsAg 与 pcDNA3.1 组相比,  $t = -60.40$ 、 $-87.06$ 、 $-71.28$ 、 $-124.94$ 、 $-62.05$  和  $-99.47$ ,  $P$  均=  $0.000$ 。pcDNA3.1-L、pcDNA3.1-L $\Delta$ 30、pcDNA3.1-S + pcDNA3.1-L、pcDNA3.1-S + pcDNA3.1-L $\Delta$ 30 和 pcDNA3.1-S + pcDNA3.1-L $\Delta$ 183 组的 LHBs 与 pcDNA3.1 组相比,  $t = -26.04$ 、 $-12.19$ 、 $-18.45$ 、 $-25.11$  和  $-17.95$ ,  $P$  均=  $0.000$

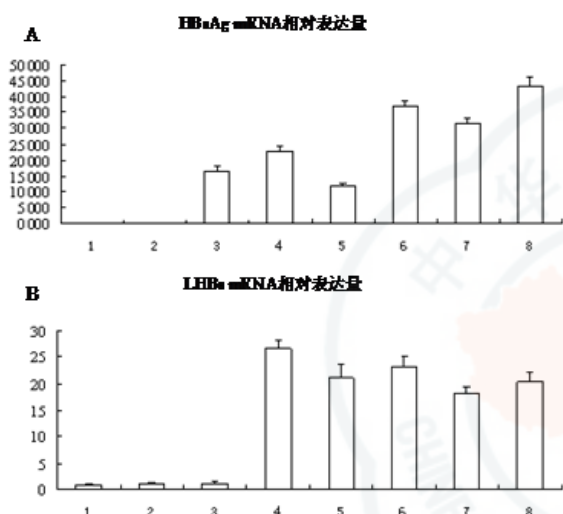


通过上调GRP78和核因子 $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)的表达促进细胞存活与增殖,从而促进肿瘤形成<sup>[9, 15]</sup>。此外,肝癌患者血清中检测到特异性内质网应激蛋白(GRP78和PDI)水解片段以及肝癌组织中内质网应激途径的激活亦可提示内质网应激在肝癌发生发展中的作用<sup>[16-18]</sup>。因此,本研究结果提示前-S缺失型/野生型LHBs及HBsAg等可通过内质网应激参与肝癌形成。

本研究结果显示, Grp78相对表达量与HBV包

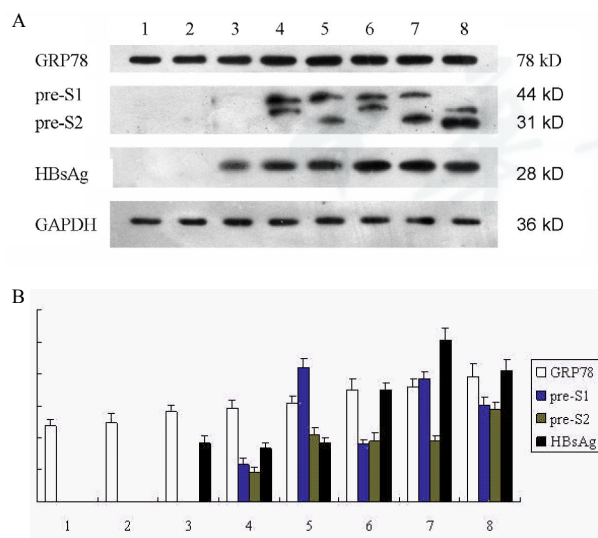
膜蛋白相对表达量呈正相关,提示内质网应激程度与HBV包膜蛋白表达量呈正相关,低剂量的HBV表面蛋白可诱导轻微的内质网应激。研究显示,细胞经历的内质网应激程度不同其可诱导细胞发生不同的结局:当细胞发生短暂轻微的内质网应激,细胞可通过内质网应激恢复蛋白质折叠合成等正常生理功能;剧烈的内质网应激则诱导细胞凋亡;细胞也可适应持续轻微的内质网应激,并长期存活<sup>[19-20]</sup>。因而,虽然随着疾病的进展HBV DNA和HBsAg均逐渐下降<sup>[21]</sup>,但这些持续表达的表面蛋白可持续诱导肝细胞发生轻微的内质网应激。如前所述,这些细胞虽然适应持续的轻微的内质网应激,但本身可能发生恶性转化并异常增殖。当这些恶性转化并异常增殖的细胞逃避了机体免疫系统的监视,肝癌发生就不可避免。

本研究中转染HBV包膜蛋白的各组GRP78的表达仅轻度增高,与Wang等<sup>[8]</sup>研究中前-S缺失的LHBs可显著提高GRP78的表达有不同结果。造成此差异的主要原因可能有三:首先以往研究采用慢病毒诱



注: 1: 空白组, 2: pcDNA3.1 (+), 3: pcDNA3.1-S, 4: pcDNA3.1-L, 5: pcDNA3.1-L $\Delta$ 30, 6: pcDNA3.1-S+pcDNA3.1-L, 7: pcDNA3.1-S+pcDNA3.1-L $\Delta$ 30, 8: pcDNA3.1-S+pcDNA3.1-L $\Delta$ 183

图1 HBsAg和LHBs mRNA相对表达量



注: A: Western blot结果; B: 相对吸光值比较。

1: 空白组, 2: pcDNA3.1 (+), 3: pcDNA3.1-S, 4: pcDNA3.1-L, 5: pcDNA3.1-L $\Delta$ 30, 6: pcDNA3.1-S+pcDNA3.1-L, 7: pcDNA3.1-S+pcDNA3.1-L $\Delta$ 30, 8: pcDNA3.1-S+pcDNA3.1-L $\Delta$ 183

图2 转染细胞Grp78、HBsAg、pre-S1和pre-S2等蛋白表达

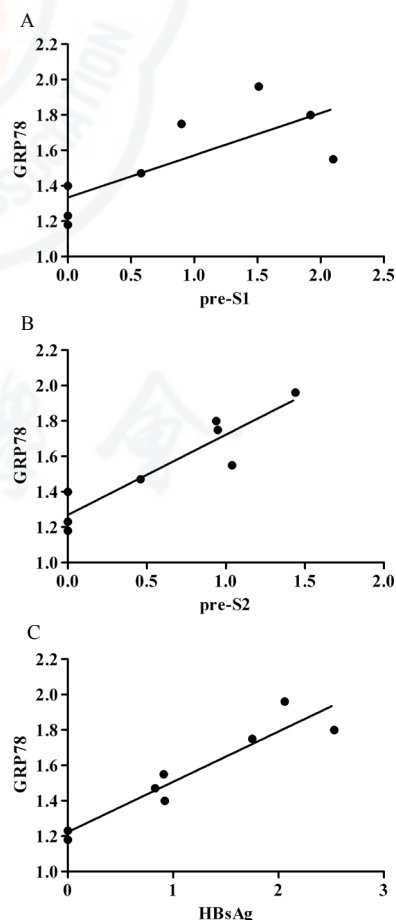


图3 GRP78蛋白相对表达量与前-S1、前-S2抗原和HBsAg表达的相关性

导表达, 转染效率及表达效率显著高于本研究采用pcDNA3.1真核表达; 其次, 与以往研究不同, 本研究采用大蛋白与HBsAg共转染, 一方面尽可能模拟完整HBV病毒感染过程HBV包膜蛋白的表达, 并排除完整HBV病毒感染时聚合酶和核心基因表达影响, 另一方面可能增加LHBs分泌, 从而减轻内质网负荷, 降低对GRP78的诱导作用; 第三, 本研究采用的pcDNA3.1-L、pcDNA3.1-L $\Delta$ 30和pcDNA3.1-L $\Delta$ 182等重组质粒均未对前-S2起始密码子和HBsAg起始密码子进行突变, 可同时表达LHBs、MHBs和HBsAg等3种表面蛋白, 降低LHBs表达效率。本研究结果显示, GRP78相对表达量亦与MHBs和HBsAg的相对表达量呈正相关, 这与Montalbano等<sup>[11]</sup>报道相符, 提示慢性HBV感染过程持续表达的MHBs和HBsAg亦在肝癌发生中起一定作用。

此外, 本研究中GRP78 mRNA表达与蛋白质表达之间存在差异, 其原因可能是GRP78 mRNA半衰期很短, 而蛋白质半衰期较长, 因而在细胞内的表达存在累积效应, 也可能是由于内质网应激效应机制或GRP78 mRNA转录后调控所导致, 有待进一步研究阐明。

总之, 慢性HBV感染可能通过持续表达的前-S缺失型/野生型LHBs及HBsAg等包膜蛋白诱导肝细胞持续轻微的内质网应激, 促进HBV感染的细胞恶性转化并异常增殖, 最终导致肝癌发生; 但其具体机制及其信号交流有待进一步研究。

#### 参 考 文 献

- 1 El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis[J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(7): 2557-2576.
- 2 Chen BF. Clinical significance of the hepatitis B virus pre-S deletion[J]. *Fu-Jen J Med*, 2010; 8(10): 85-95.
- 3 丁静娟, 王梅, 刘悦晖. 乙型肝炎病毒前-S基因变异与肝病进展的关系[J]. *中华传染病杂志*, 2007, 25(6): 332-337.
- 4 卓传尚, 柳丽娟, 吴秋芳, 等. 乙型肝炎病毒前S区缺失突变与乙型肝炎病毒相关肝细胞癌的关系[J]. *中华传染病杂志*, 2012, 30(9): 553-554.
- 5 Liu SJ, Zhang HW, Gu CY, et al. Associations between hepatitis B virus mutations and the risk of hepatocellular carcinoma: a meta-

- analysis[J]. *JNCI*, 2009, 101(15): 1066-1082.
- 6 Kao JH, Liu CJ, Jow GM, et al. Fine mapping of hepatitis B virus pre-S deletion and its association with hepatocellular carcinoma[J]. *Liver Int*, 2012, 32(9): 1373-1381.
- 7 Sinn DH, Choi MS, Gwak GY, et al. Pre-S mutation is a significant risk factor for hepatocellular carcinoma development: a long-term retrospective cohort study[J]. *Dig Dis Sci*, 2013, 58: 751-758.
- 8 Wang HC, Wu HC, Chen CF, et al. Different types of ground glass hepatocytes in chronic hepatitis B virus infection contain specific pre-S mutants that may induce endoplasmic reticulum stress[J]. *AM J Pathol*, 2003, 163(6): 2441-2449.
- 9 Wang HC, Huang W, Lai MD, et al. Hepatitis B virus pre-S mutants, endoplasmic reticulum stress and hepatocarcinogenesis[J]. *Cancer Sci*, 2006, 97(8): 683-688.
- 10 Li YW, Yang FC, Lu HQ, et al. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B surface protein [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(6): 1943-1952.
- 11 Montalbano R, Di Fazio P, Quint K, et al. Induction of endoplasmic reticulum-mediated stress pathways in liver cancer cell lines after overexpression of Hepatitis B virus envelope proteins[J]. *J Gastroenterol*, 2012, 50: 5-39.
- 12 Lai E, Teodoro T, Volchuk A. Endoplasmic reticulum stress: signaling the unfolded protein response[J]. *Physiology*, 2007, 22: 193-201.
- 13 Malhi H, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress in liver disease role of endoplasmic reticulum stress and unfolded protein responses in health and diseases[J]. *J Hepatol*, 2011, 54(4): 795-809.
- 14 Mahdi AA, Rizvi SH, Parveen A. Role of endoplasmic reticulum stress and unfolded protein responses in health and diseases[J]. *Indian J Clin Biochem*, 2016, 31(2): 127-137.
- 15 Dicks N, Gutierrez K, Michalak M, et al. Endoplasmic reticulum stress, genome damage, and cancer[J]. *Front Oncol*, 2015, 3(5): 11.
- 16 Shuda M, Kondoh N, Imazeki N, et al. Activation of the ATF6, XBP1 and grp78 genes in human hepatocellular carcinoma: a possible involvement of the ER stress pathway in hepatocarcinogenesis[J]. *J Hepatol*, 2003, 38(5): 605-614.
- 17 Chignard N, Shang S, Wang H, et al. Cleavage of endoplasmic reticulum proteins in hepatocellular carcinoma: detection of generated fragments in patient sera[J]. *Gastroenterology*, 2006; 130(7): 2010-2022.
- 18 Wu X, Xin Z, Zhang W, et al. A missense polymorphism in ATF6 gene is associated with susceptibility to hepatocellular carcinoma probably by altering ATF6 level[J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(1): 61-68.
- 19 Rasheva VI, Domingos PM. Cellular responses to endoplasmic reticulum stress and apoptosis[J]. *Apoptosis*, 2009, 14(8): 996-1007.
- 20 Ryoo HD. Long and short (timeframe) of endoplasmic reticulum stress-induced cell death[J]. *FEBS J*, 2016. [Epub ahead of print].
- 21 王晓琳, 邹桂舟, 叶珺, 等. 乙肝表面抗原在慢性乙型肝炎病毒感染临床不同阶段的变化[J]. *实用医学杂志*, 2014, 30(17): 2765-2767.

(收稿日期: 2015-07-14)

(本文编辑: 孙荣华)

卓传尚, 柳丽娟, 谢海花, 等. 乙型肝炎病毒包膜蛋白诱导肝癌细胞系内质网应激的研究[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志: 电子版*, 2016, 10(3): 375-379.