

## · 基础论著 ·

# HCV核心蛋白调控SREBP-1c表达水平的机制研究

李敏<sup>1</sup> 王琦<sup>2</sup> 刘顺爱<sup>2</sup> 成军<sup>2</sup>

**【摘要】目的** 探讨HCV核心蛋白调控SREBP-1c的分子生物学机制。**方法** 构建HCV核心蛋白真核表达载体pcDNA3.1/myc-His(-)-Core(1b, 3a), 转染HepG2细胞系, 48 h后提取细胞总RNA和总蛋白, 采用real-time PCR、Western blot等方法检测脂代谢相关基因Sirt1和SREBP-1c的mRNA和蛋白表达水平; 构建Sirt1启动子报告基因表达载体pGL4.10-Sirt1, 与pcDNA3.1/myc-His(-)-Core(1b, 3a)共转染HepG2细胞系24 h后检测核心蛋白对Sirt1启动子活性的影响; 构建pmirGLO-SREBP-1c-3'-UTR报告基因表达载体, 与pcDNA3.1/myc-His(-)-Core(3a)共转染HepG2细胞系48 h后检测SREBP-1c-3'-UTR相对luciferase活性。**结果** 与对照组相比, 1b型和3a型HCV核心蛋白表达组SREBP-1c的mRNA表达上调(分别上调1.358倍和1.337倍,  $P = 0.043$ 、 $0.008$ ) SREBP-1c蛋白表达水平上调(分别上调1.608倍和1.926倍,  $P = 0.042$ 、 $0.008$ ); 与对照组相比, 1b型和3a型HCV核心蛋白表达组Sirt1 mRNA表达上调(分别上调1.566倍和1.71倍,  $P = 0.037$ 、 $0.006$ ), Sirt1蛋白表达水平上调(分别上调1.436倍和1.588倍,  $P = 0.026$ 、 $0.009$ ); 与对照组相比, HCV核心蛋白表达组Sirt1的启动子活性无显著变化; 与对照组相比, HCV核心蛋白表达组SREBP-1c-3'-UTR相对luciferase活性下调(相对值为0.667,  $P = 0.008$ )。**结论** HCV核心蛋白上调SREBP-1c与Sirt1的表达, 可能是HCV相关性脂肪肝变的发病机制之一。microRNA参与HCV核心蛋白对SREBP-1c的表达调控, 而是否有microRNA对HCV调控Sirt1表达发挥作用尚待于进一步的研究证实。

**【关键词】** 丙型肝炎病毒核心蛋白; NAD<sup>+</sup>依赖的蛋白质脱乙酰酶长寿蛋白1; 固醇调节元件结合蛋白-1c; MicroRNA

**Molecular mechanism of SREBP-1c expression regulated by HCV core protein** Li Min<sup>1</sup>, Wang Qi<sup>2</sup>, Liu Shun'ai<sup>2</sup>, Cheng Jun<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Department of Infection, The First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; <sup>2</sup>Infectious Diseases Institute, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China

Corresponding author: Cheng Jun, Email: chengj0817@sina.cn

**【Abstract】Objective** To investigate the molecular mechanism of SREBP-1c expression regulated by HCV core protein. **Methods** HepG2 cells were transfected with pcDNA3.1/myc-His(-)-Core(1b, 3a), and the mRNA and protein expression levels of SREBP-1c and Sirt1 were determined by real time PCR and Western blot 48 h post-transfection. pGL4.10-Sirt1 and pcDNA3.1/myc-His(-)-Core(1b, 3a) were co-transfected into HepG2 cells, the Sirt1 promoter activity was measured by Luciferase assay 24h post-transfection. pmirGLO-SREBP-1c-3'-UTR and pcDNA3.1/myc-His(-)-Core(3a) were co-transfected into HepG2 cells, and the relative luciferase activity of SREBP-1c-3'-UTR was measured by Luciferase assay 48h post-transfection. **Results** HCV core proteins (1b, 3a) up-regulate the mRNA levels (1.358 times and 1.337 times respectively;  $P = 0.043$ ,  $0.008$ ) and protein expression (1.608 times and 1.926 times respectively,  $P = 0.042$ ,  $0.008$ ) of SREBP-1c. Both HCV core proteins of genotype 1b and 3a up-regulate the mRNA levels (1.566 times and 1.71 times respectively;  $P = 0.037$ ,  $0.006$ ) and protein expression (1.436 times and 1.588 times respectively,  $P = 0.026$ ,  $0.009$ ) of Sirt1. The Sirt1 promoter did not show significant transcriptional activity in the presence of HCV core proteins (1b, 3a). The relative luciferase activity of SREBP-1c-3'-UTR shown significant decrease in the presence of HCV core protein of genotype 3a ( $RQ = 0.667$ ,  $P = 0.008$ ). **Conclusions** HCV core

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2017.05.004

基金项目: 北京市医院管理局扬帆计划项目(肝炎专业)(No. ZYLX201402)

作者单位: 730000 兰州市, 兰州大学第一医院感染科<sup>1</sup>; 100015 北京首都医科大学附属北京地坛医院传染病研究所<sup>2</sup>

通信作者: 成军, Email: chengj0817@sina.cn

proteins up-regulate the expression levels of SREBP-1c and Sirt1, which may be one of the pathogenesis of HCV related steatosis. MicroRNA also involved in the regulation of SEBP-1c by HCV core protein. Whether there are microRNAs contribute to the regulation of Sirt1 by HCV core protein still need to be investigated.

**【Key words】** HCV core protein;  $\text{NAD}^+$  dependent protein deacetylases sirtuin 1 (Sirt1); Sterol regulatory element-binding protein (SREBP-1c); MicroRNA

目前,全世界范围内约有1.7亿人感染丙型肝炎病毒(HCV),HCV感染是引起慢性肝病的主要原因,可以导致脂肪肝变、肝硬化和肝细胞癌的发生,已严重危害公众健康<sup>[1]</sup>。肝脂肪变在慢性丙型肝炎患者中常见,其发病率显著高于一般人群或慢性乙型肝炎患者<sup>[2-3]</sup>。慢性丙型肝炎患者的肝脂肪变与饮酒、高BMI、肥胖、高脂血症、糖尿病(代谢综合征)等宿主代谢因素相关,胰岛素抵抗在其中起着重要作用。然而,3型HCV感染者的肝脂肪变可能由HCV直接的细胞致病作用所引起。慢性丙型肝炎患者发生肝脂肪变与肝纤维化及患者对干扰素联合利巴韦林治疗的应答效果差密切相关<sup>[4]</sup>。而且,有研究报道肝脂肪变与慢性丙型肝炎患者肝细胞癌的发生率升高有关<sup>[5]</sup>。

目前HCV相关性肝脂肪变的分子发病机制尚未明确。既往研究证实,HCV编码蛋白与脂肪变密切相关<sup>[6]</sup>。HCV核心(Core,C)蛋白作为病毒编码蛋白,具有广泛的反式激活作用。有研究报道,HCV在3个水平调节脂质代谢和信号转导:一是脂蛋白分泌受损,二是脂质合成增加,三是脂肪酸降解受损<sup>[7]</sup>。固醇调节元件结合蛋白-1c(SREBP-1c)和 $\text{NAD}^+$ 依赖的蛋白质脱乙酰酶长寿蛋白1( $\text{NAD}^+$  dependent protein deacetylases sirtuin 1, Sirt1)是脂质代谢的重要功能基因,研究提示,HCV核心蛋白可以通过激活SREBP-1c及其下游靶基因脂肪酸合成酶(fatty acid synthetase, FAS)、乙酰CoA羧化酶(acetyl CoA carboxylase, ACC)等功能基因并通过复杂途径影响肝脂肪变的发生发展过程,但HCV对上述基因的调控机制尚未完全阐明<sup>[8]</sup>。

真核基因表达可受包括DNA水平、转录及转录后水平、翻译及翻译后水平等多个层次调节,其中转录水平调控是基因表达调控的中心环节。小干扰RNA(microRNA, miRNA)是近年来受到广泛重视的非编码RNA,长18~22 nt,其可以通过与靶基因3'-UTR区域相结合,抑制基因转录或翻译过程。

本研究拟通过real-time PCR、Western blot、启动子报告基因检测、miRNA研究和定点突变等技

术探讨HCV核心蛋白调控SREBP-1c的分子生物学机制,现报道如下。

## 材料与方法

### 一、细胞培养

本研究所用的细胞为HepG2细胞,常规用含10%胎牛血清(FBS)的DMEM培养基于37℃孵箱培养, $\text{CO}_2$ 浓度为5%。FBS和DMEM培养基均购自美国Gibco公司。

### 二、载体构建

研究所用的HCV核心蛋白表达载体pcDNA3.1/myc-His(-)-core(1b, 3a), Sirt1启动子报告基因表达载体pGL4.10-Sirt1以及SREBP-1c 3'-UTR报告基因表达载体pmirGLO-SREBP-1c-3'-UTR均由本实验室保存。

### 三、瞬时转染

本研究采用的瞬时转染试剂为jetPRIME™ (Polyplus-transfection Inc),实验过程严格按照说明书要求,转染前24 h接种细胞,把细胞浓度调成 $1 \times 10^5/\text{ml}$ ,6孔板每孔加2 ml,静置片刻,让细胞自然沉降,轻轻放入孵箱,培养过夜。细胞融合度为60%~80%时进行转染,每孔取200  $\mu\text{l}$  jetPRIME buffer,先稀释2  $\mu\text{g}$  质粒DNA,涡旋混匀,向此体系中加入4  $\mu\text{l}$  jetPRIME,涡旋混匀,室温孵育10 min。将转染混合物缓慢滴加入板孔,轻柔摇板、孵育。培养4 h后,更换新鲜培养基,继续孵育。

### 四、RNA提取和RT-PCR定量

转染48 h后收集细胞,提取总RNA(Omega),并用PrimeScript RT reagent Kit试剂盒逆转录为cDNA(TaKaRa)。利用ABI 7500型PCR仪,严格按照SYBR Premix Ex Taq™ Perfect Real Time system说明书进行实时定量PCR检测。每个样本的循环阈值(Ct)至少独立检测3次。 $\Delta\Delta\text{Ct}$ 用于根据 $\beta$ -actin的表达来标准化目的基因的相对表达量,从而量化基因表达的差异。引物由生工生物工程(上海)有限公司合成,详见表1。

五、蛋白免疫印迹

转染48 h后收集细胞,细胞裂解液与细胞充分混匀,孵育10 min。细胞裂解产物于4 ℃离心机10 800 r/min,离心15 min,收集上清,用BCA蛋白分析试剂盒测定蛋白浓度。等量蛋白进行聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),将蛋白转移到PVDF膜上。5%脱脂奶粉封闭2 h后,将PVDF膜分别浸泡在SREBP-1c (abcam, 1 : 200)和Sirt1 (Santa Cruz, 1 : 500)的一抗中4 ℃孵育过夜。次日用适当浓度二抗室温孵育2 h,增强化学发光检测系统检测目的蛋白。所有实验独立重复3次。

六、相对Luciferase活性分析

于48孔板接种HepG2细胞,24 h后共转pcDNA3.1/myc-His (一)-core (1b, 3a)和相应的报告基因表达载体。转染48 h后收集并裂解细胞(Promega),按照Microplate Luminometer (Promega)操作说明检测相对luciferase活性,所有实验独立重复3次。

表1 real-time PCR 定量检测脂代谢相关基因 mRNA 表达水平所用引物

引物名称	引物序列 (5'→3')
SREBP-1c	
上游引物	GGAGGGGTAGGGCCAACGGCCT
下游引物	CATGTCTTCGAAAGTGCAATCC
SREBP-2	
上游引物	CCCTTCAGTGCAACGGTCATTAC
下游引物	TGCCATTGGCCGTTTGTTGTC
HMGR	
上游引物	CTTGTGTGTCCTTGGTATTAGAGC
下游引物	ATCATCTTGACCTCTGAGTTACAG
HMGS	
上游引物	GATGCCCTGGTAGTTGCAGGAG
下游引物	TGTTGCATATGTGTCCCACGAA
Sirt1	
上游引物	GCCAGAGTCCAAGTTTAGAAGA
下游引物	CCATCAGTCCCAAATCCAG
FOXO1	
上游引物	GCAGCCAGGCATCTCATAAC
下游引物	GCATGTCCAGGTGGGTAT
PGC-1α	
上游引物	TCACACCAAACCCACAGAGA
下游引物	TTCTTTTGGAGGTGCATTG

七、统计学处理

采用SPSS13.0软件进行统计分析,研究中所涉及相关基因表达水平为计量资料且呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用配对资料t检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、real-time PCR定量检测转染1b型HCV核心蛋白后脂代谢相关基因mRNA表达量

real-time PCR定量结果显示,HepG2细胞转染1b型HCV核心蛋白后,多个脂代谢相关基因mRNA表达水平上调,包括SREBP-1c、SREBP-2、HMGS和Sirt1,与对照组细胞[转染pcDNA3.1/myc-His (一)组]相比差异具有显著统计学意义( $P_{\text{SREBP1c}} = 0.043$ 、 $P_{\text{SREBP2}} = 0.002$ 、 $P_{\text{HMGS}} = 0.009$ 、 $P_{\text{Sirt1}} = 0.037$ ) (图1)。

转染1b型HCV核心蛋白48 h后,提取HepG2细胞总RNA,用real-time PCR方法检测脂代谢相关基因的表达水平( $P_{\text{SREBP1c}} = 0.043$ 、 $P_{\text{SREBP2}} = 0.002$ 、 $P_{\text{HMGS}} = 0.009$ 、 $P_{\text{Sirt1}} = 0.037$ )。

二、HCV核心蛋白(1b、3a)上调SREBP-1c、Sirt1 mRNA表达水平

HCV核心蛋白(1b、3a)表达组与对照组[转染pcDNA3.1/myc-His (一)组]相比,SREBP-1c和Sirt1的mRNA表达上调(分别上调1.358倍和1.566倍),具有显著性差异( $P_{A\ 3a} = 0.008$ 、 $P_{A\ 1b} = 0.043$ 、 $P_{B\ 3a} = 0.006$ 、 $P_{B\ 1b} = 0.037$ ) (见图2)

分别转染1b型HCV核心蛋白(A)和3a型HCV核心蛋白(B)48 h后,提取HepG2细胞总RNA,用real-time PCR方法检测SREBP-1c、Sirt1 mRNA表达水平( $P_{A\ 3a} = 0.008$ 、 $P_{A\ 1b} = 0.043$ 、 $P_{B\ 3a} = 0.006$ 、 $P_{B\ 1b} = 0.037$ )。

三、HCV核心蛋白(1b、3a)上调SREBP-1c、Sirt1蛋白表达水平

HCV核心蛋白(1b、3a)表达组与对照组[转染pcDNA3.1/myc-His (一)组]相比,SREBP-1c和Sirt1蛋白表达水平上调( $P_{B\ 3a} = 0.008$ 、 $P_{B\ 1b} = 0.042$ 、 $P_{D\ 3a} = 0.009$ 、 $P_{D\ 1b} = 0.026$ ) (图3)。

分别转染1b型HCV核心蛋白(A)和3a型HCV核心蛋白(C)48 h后,提取HepG2细胞总蛋白,用蛋白免疫印迹方法检测SREBP-1c、Sirt1蛋白表达水平,B、D为分别采用Image J软件对电泳条带

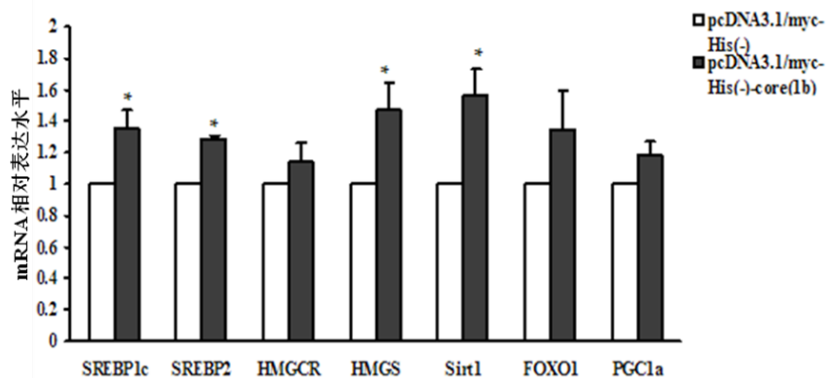


图1 1b型 HCV 核心蛋白对脂代谢相关基因 mRNA 表达水平的影响

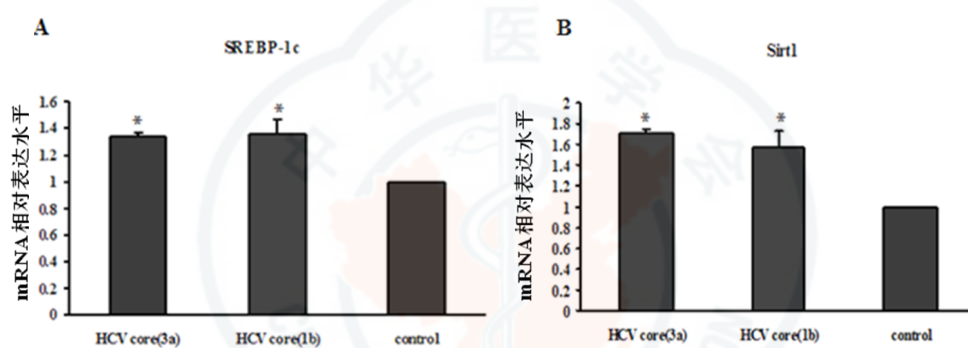


图2 HCV 核心蛋白 (1b、3a) 上调 SREBP-1c 和 Sirt1 mRNA 表达水平

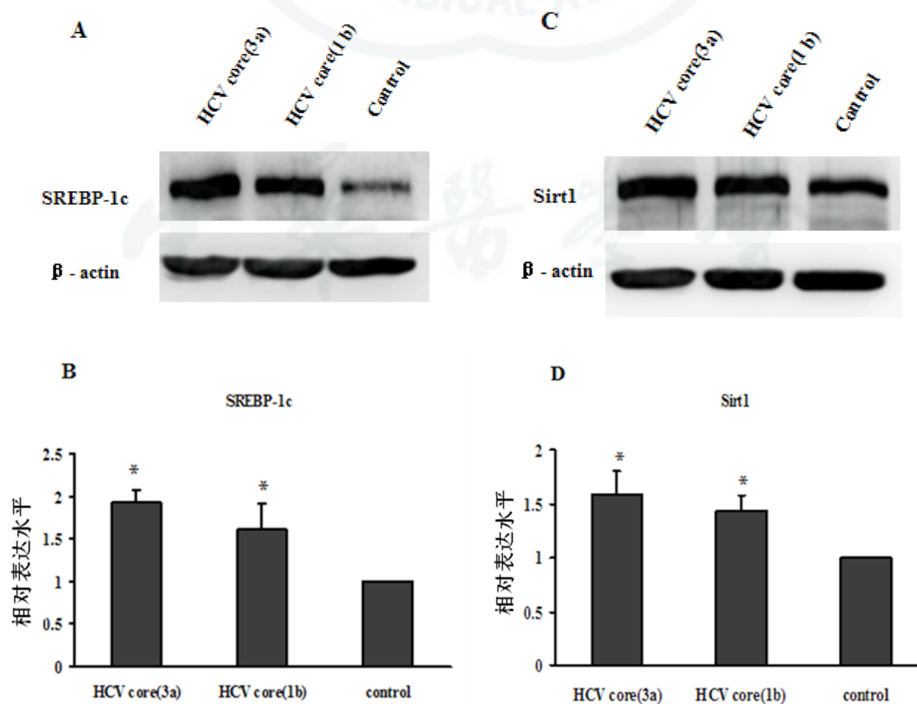


图3 HCV 核心蛋白 (1b、3a) 上调 SREBP-1c 和 Sirt1 蛋白表达水平



进行灰度扫描, 对照组设为1 ( $P_{B\ 3a} = 0.008$ 、 $P_{B\ 1b} = 0.042$ 、 $P_{D\ 3a} = 0.009$ 、 $P_{D\ 1b} = 0.026$ )。

四、HCV核心蛋白(1b、3a)不影响Sirt1启动子活性

pGL4.10-Sirt1转染组相对luciferase活性较对照组(pGL4.10组)显著升高, 但与pGL4.10-Sirt1转染组相比, HCV核心蛋白表达组Sirt1的启动子活性无显著变化(图4)。

将Sirt1启动子报告基因表达载体pGL4.10-Sirt1与pcDNA3.1/myc-His(-)-Core共转染HepG2细胞系24 h后检测核心蛋白对Sirt1启动子活性的影响( $n = 5$ )

五、microRNA在HCV核心蛋白对SREBP-1c的调控中发挥抑制作用

PmirGLO-SREBP-1c-3'-UTR转染组相对luciferase活性较对照组(pmirGLO组)降低(相对值为0.739,  $P = 0.006$ ), 提示有microRNA对SREBP-1c进行调控; 与pmirGLO-SREBP-1c-3'-UTR转染组相比, HCV核心蛋白表达组相对luciferase活性也降低(相对值为0.667,  $P = 0.008$ ), 提示microRNA在HCV核心蛋白对SREBP-1c的调控中发挥抑制作用(图5)。

将pmirGLO-SREBP-1c-3'-UTR报告基因表达载体与pcDNA3.1/myc-His(-)-Core共转染HepG2细胞系48 h后检测相对luciferase活性( $P = 0.008$ )。

讨 论

HCV核心蛋白除作为核壳体蛋白具有病毒颗粒组装功能外, 还具有广泛的反式激活作用, 参与调节细胞凋亡、脂代谢、转录以及抗原呈递等, 与干扰素抵抗亦有密切关系。研究显示, 无论是在细

胞培养还是转基因小鼠实验中, HCV核心蛋白均有直接诱导肝细胞脂肪变的作用<sup>[9-10]</sup>。

SREBP-1c是调控脂肪酸合成的重要转录因子, 对维持细胞脂质稳态发挥关键作用。人类基因组编码3种亚型SREBP: SREBP-1a, SREBP-1c/ADD1和SREBP-2<sup>[11]</sup>。SREBP-1c主要调控脂肪酸合成途径相关的基因<sup>[12]</sup>, 而SREBP-2特异性地调控胆固醇合成相关的基因<sup>[13]</sup>, 肝组织中主要表达这两种亚型的SREBP。SREBP-1a是脂肪酸合成和胆固醇合成途径的激活因子, 但在成年小鼠、大鼠和人类肝脏中的表达水平很低<sup>[14-15]</sup>。有研究报道, 3型HCV核心蛋白导致脂质堆积的程度是1型HCV的3倍<sup>[16]</sup>。本研究发现1b和3a型HCV核心蛋白均可以上调SREBP-1c的mRNA和蛋白表达水平, 虽然两种基因型的核心蛋白对SREBP-1c的上调作用差异无统计学意义, 但3a型核心蛋白的上调作用似乎更强一些。Luciferase assay结果发现, microRNA在核心蛋白对SREBP-1c的调控过程中发挥了抑制作用, 提示核心蛋白对SREBP-1c的调控错综复杂, 既有正向激活作用也有反向抑制作用, 最终SREBP-1c的上调是其综合作用的结果。

真核基因表达可受包括DNA水平、转录水平、转录后水平、翻译水平和翻译后水平等多个层次调节, 其中启动子活性、miRNA调控是重要的调控途径。本课题组另一方向的研究发现HepG2细胞转染1b型HCV核心蛋白后虽然HMGCR在mRNA水平与对照组细胞相比没有显著性差异, 但其蛋白表达水平较对照组升高, 且miR-185-5p参与其中<sup>[17]</sup>, 提示HCV核心蛋白对HMGCR的调控可能主要表现在转录后水平<sup>[18]</sup>。Sandip等<sup>[19]</sup>研究发现, 在Hu7.5细胞系中, HCV核心蛋白能够上调SREBP-1c及其

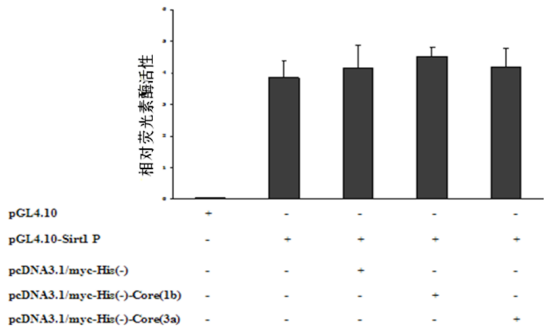


图4 HCV核心蛋白对Sirt1启动子活性的影响

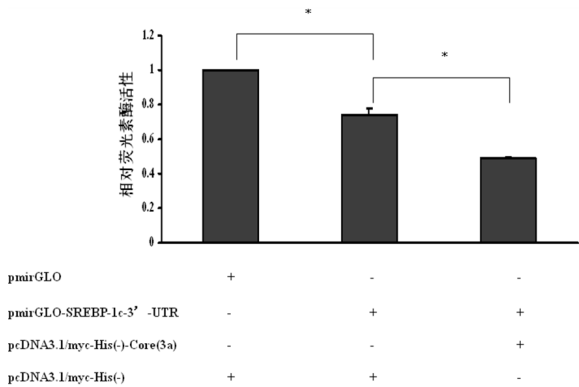


图5 microRNA对SREBP-1c的调控作用

下游基因FASN的表达,而敲除FOXO1基因后,SREBP-1c与FASN的表达均下调。本研究结果显示,FOXO1、PGC-1 $\alpha$  mRNA与对照组细胞相比差异无统计学意义,一方面可能FOXO1、PGC-1 $\alpha$ 未参与1b型HCV核心蛋白对HepG2细胞脂代谢的影响过程,另一方面HCV核心蛋白可能在FOXO1、PGC-1 $\alpha$ 的其他表达水平进行调控,有待更深入的研究探索。

Sirt1属于NAD<sup>+</sup>依赖的去乙酰化酶家族<sup>[20]</sup>,Sirt1作为一种多功能转录调节因子,可以通过使多种控制代谢及内分泌信号的转录因子(如FOXO1、PGC-1 $\alpha$ 、LXR- $\alpha$ 等)脱乙酰基而调节其活性,从而广泛参与调控哺乳动物细胞寿命的多条信号通路及糖脂代谢、胰岛素分泌等多条代谢通路,调节机体能量代谢的平衡,保持机体糖脂代谢的稳态<sup>[21]</sup>。Sirt1既可以直接与SREBP-1c相互作用<sup>[22]</sup>,也可以通过FOXO1、PGC-1 $\alpha$ 、LXR- $\alpha$ 等转录因子对SREBP-1c产生复杂的激活或抑制作用<sup>[23-24]</sup>。

本研究发现,HCV核心蛋白可以上调Sirt1和SREBP-1c的mRNA和蛋白表达水平。一方面,HCV核心蛋白有可能分别直接通过调控Sirt1和SREBP-1c影响细胞脂质代谢;另一方面,核心蛋白也极有可能通过Sirt1来介导对SREBP-1c的调控作用,引起脂质代谢的改变。HCV核心蛋白对Sirt1的启动子活性无显著影响,提示可能存在其他的调控机制如microRNA调控,有待于进一步的研究证实。

### 参 考 文 献

- [1] Wasley A, Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends[J]. *Semin Liver Dis*,2000,20(1):1-16.
- [2] Hwang SJ. Hepatitis C virus infection: an overview[J]. *J Clin Microbiol Immunol Infect*,2001,34(4):227-234.
- [3] Scheuer PJ, Afsharizadeh P, Sherlock S, et al. The pathology of hepatitis C[J]. *Hepatology*,1992,15(4):567-571.
- [4] Hwang SJ, Lee SD. Hepatic steatosis and hepatitis C: Still unhappy bedfellows[J]. *J Gastroenterol Hepatol*,2011,26(Suppl 1):96-101.
- [5] Tanaka A, Uegaki S, Kurihara H, et al. Hepatic steatosis as a possible risk factor for the development of hepatocellular carcinoma after eradication of hepatitis C virus with antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C[J]. *World J Gastroenterol*,2007,13(39):5180-5187.
- [6] Moriya K, Nakagawa K, Santa T, et al. Oxidative stress in the absence of inflammation in a mouse model for hepatitis C virus-associated hepatocarcinogenesis[J]. *Cancer Res*,2001,61(11):4365-4370.
- [7] de Gottardi A, Paziienza V, Pugnale P, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and -gamma mRNA levels are reduced in chronic hepatitis C with steatosis and genotype 3 infection[J]. *Aliment Pharmacol Ther*,2006,23(1):107-114.
- [8] Khan M, Jahan S, Khaliq S, et al. Interaction of the hepatitis C virus (HCV) core with cellular genes in the development of HCV-induced steatosis[J]. *Arch Virol*,2010,155(11):1735-1753.
- [9] Moriy K, Yotsuyanagi H, Shintani Y, et al. Hepatitis C virus core protein induces hepatic steatosis in transgenic mice[J]. *J Gen Virol*,1997,78(pt7):1527-1531.
- [10] Barba G, Harper F, Harada T, et al. Hepatitis C virus core protein shows a cytoplasmic localization and associates to cellular lipid storage droplets[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,1997,94(4):1200-1205.
- [11] Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor[J]. *Cell*,1997,89(3):331-340.
- [12] Shimomura I, Bashmakov Y, Horton JD, et al. Increased levels of nuclear SREBP-1c associated with fatty livers in two mouse models of diabetes mellitus[J]. *J Biol Chem*,1999,274(42):30028-30032.
- [13] Horton JD, Shah NA, Warrington JA, et al. Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2003,100(21):12027-12032.
- [14] Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver[J]. *J Clin Invest*,2002,109(9):1125-1131.
- [15] Shimano H. Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs): transcriptional regulators of lipid synthetic genes[J]. *Prog Lipid Res*,2001,40(6):439-452.
- [16] Abid K, Paziienza V, de Gottardi A, et al. An in vitro model of hepatitis C virus genotype 3a-associated triglycerides accumulation[J]. *J Hepatol*,2005,42(5):744-751.
- [17] Yang M, Liu W, Pellicane C, et al. Identification of miR185 as a regulator of de novo cholesterol biosynthesis and low density lipoprotein uptake[J]. *J Lipid Res*,2014,55(2):226238.
- [18] Li M, Wang Q, Liu SA, et al. MicroRNA-185-5p mediates regulation of SREBP2 expression by hepatitis C virus core protein[J]. *World J Gastroenterol*,2015,21(15):4517-4525.
- [19] Sandip KB, Hangeun K, Keith M, et al. Forkhead Box Transcription Factor Regulation and Lipid Accumulation by Hepatitis C Virus[J]. *J Virol*,2014,88(8):4195-4203.
- [20] Landry J, Sutton A, Tafrov ST, et al. The silencing protein SIR2 and its homologs are NAD-dependent protein deacetylases[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2000,97(11):5807-5811.
- [21] Langley E, Pearson M, Faretta M, et al. Human SIR2 deacetylase p53 and antagonizes PML/p53-induced cellular senescence[J]. *EMBO J*,2002,21(10):2383-2396.
- [22] Ponugoti B, Kim DH, Xiao Z, et al. SIRT1 deacetylates and inhibits SREBP-1C activity in regulation of hepatic lipid metabolism[J]. *J Biol Chem*,2010,285(44):33959-33970.
- [23] Li X, Zhang S, Blander G, et al. SIRT1 deacetylates and positively regulates the nuclear receptor LXR[J]. *Mol Cell*,2007,28(1):91-106.
- [24] Liu X, Qiao A, Ke Y, et al. FoxO1 represses LXRalpha-mediated transcriptional activity of SREBP-1c promoter in HepG2 cells[J]. *FEBS Lett*,2010,584(20):4330-4334.

(收稿日期: 2016-10-30)

(本文编辑: 孙荣华)