

乙型肝炎病毒表面抗原主蛋白 与烯酰辅酶A水合酶相互作用 对肝细胞胆固醇代谢的影响

张凯 姚雯 林苏 王明芳 朱月永

【摘要】目的 探究乙型肝炎病毒表面抗原主蛋白(SHBs)与烯酰辅酶A水合酶(ECHS1)相互作用对肝细胞胆固醇代谢的影响。**方法** 通过在人肝癌细胞株HepG2中瞬时转染SHBs,建立SHBs瞬时转染细胞模型,分别设置空白对照组、空质粒转染组、单纯SHBs转染组、SHBs+阴性序列对照组、ECHS1过表达组以及ECHS1干扰组。在转染后48 h检测ECHS1及载脂蛋白A1(ApoA1)基因的表达和各转染组转氨酶水平及细胞内总胆固醇(TC)含量。**结果** 与空白组相比,单纯SHBs转染组在核酸水平ECHS1、ApoA1的表达均下降($P < 0.001$),蛋白水平表达趋势同核酸一致($P < 0.001$ 、 $P = 0.0025$),细胞内TC水平升高($P < 0.001$),转氨酶水平升高($P_{ALT} < 0.001$ 、 $P_{AST} < 0.001$)。较单纯SHBs转染组,ECHS1过表达组可在核酸和蛋白水平下调ApoA1($P = 0.0072$ 、 $P < 0.001$),且细胞内TC水平下降($P < 0.001$),转氨酶水平降低($P_{ALT} < 0.001$ 、 $P_{AST} = 0.0049$)。与单纯SHBs转染组相比较,ECHS1干扰组ApoA1核酸和蛋白水平亦降低($P = 0.0096$ 、 $P < 0.001$),TC水平降低($P < 0.001$),ALT水平无显著变化($P = 0.28$),AST水平升高($P = 0.0069$)。**结论** SHBs能够通过下调ApoA1表达来提高肝细胞TC水平,同时ECHS1通过相关信号通路及分子机制抑制TC的生成。

【关键词】 肝炎病毒表面抗原主蛋白,乙型;烯酰辅酶A水合酶;HepG2细胞;胆固醇代谢

Impact of interactions between small hepatitis B virus surface antigen and enoyl co-enzyme A hydratase on cholesterol metabolism in hepatocytes Zhang Kai, Yao Wen, Lin Su, Wang Mingfang, Zhu Yueyong.

Liver Research Center, The First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, China

Corresponding author: Zhu Yueyong, Email: zhuyueyong@fjmu.edu.cn

【Abstract】Objective To investigate the interactions between small hepatitis B virus surface protein (SHBs) and enoyl CoA hydratase short chain 1 (ECHS1) on cholesterol metabolism in hepatocytes. **Methods** Human hepatocellular carcinoma HepG2 cells were transfected with SHBs transiently, and then assigned into the blank control group, the blank plasmid transfection group, the SHBs transfection group, the SHBs + negative sequence control group, the ECHS1 overexpression group and the ECHS1 interference group. The expression of ECHS1 and apolipoprotein A1 (ApoA1) were detected, and the levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and intracellular total cholesterol (TC) were measured 48 hours post-transfection. **Results** Significantly lower ECHS1 and ApoA1 expression were detected in the SHBs transfection group than those of the blank control group at both translational (both $P < 0.001$) and transcriptional levels ($P < 0.001$, $P = 0.0025$), and higher intracellular TC ($P < 0.001$) and serum ALT ($P < 0.001$) and AST levels ($P < 0.001$) were measured in SHBs transfection group than those of the blank control group. In addition, lower ApoA1 protein ($P = 0.0072$) and mRNA expression ($P < 0.001$), lower intracellular TC levels ($P < 0.001$), lower serum ALT ($P < 0.001$) and AST concentrations levels ($P = 0.0049$) were found in the ECHS1 overexpression group than those in the SHBs transfection group; meanwhile, compared with SHBs transfection group, there were significantly lower ApoA1 nucleic acid and protein levels ($P = 0.0096$, $P < 0.001$), decreased TC level ($P < 0.001$), no significant change of ALT level ($P = 0.28$), and increased AST level ($P = 0.0069$) in ECHS1 interference group. **Conclusions** SHBs

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2018.06.006

基金项目: 福建省自然科学基金项目(No. 2016Y0040); 福建省中青年教育科研项目(No. JA15207)

作者单位: 350005 福州市, 福建医科大学附属第一医院肝病中心

通信作者: 朱月永, Email: zhuyueyong@fjmu.edu.cn

increases TC levels through downregulating ApoA1 expression in hepatocytes, and ECHS1 may suppress TC production through some signal pathways and molecular mechanism.

【Key words】 Small hepatitis B virus surface antigen; Enoyl co-enzyme A hydratase; HepG2 cell; Cholesterol metabolism

随着生活方式的改变,我国慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)合并非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)患者的检出率逐年增加^[1],目前数据表明,约17.3% CHB患者合并脂肪肝,且呈逐年升高趋势^[2],本课题组近期基于肝脏病理研究表明,CHB患者合并NAFLD的检出率高达30%^[3],然而CHB合并NAFLD的发病机制尚无定论^[4]。NAFLD是多病因引起的脂类物质在肝组织内异常蓄积,病变以肝细胞弥漫性气泡样脂肪变为主要特征,而脂质代谢紊乱是其重要机制^[5],既往对NAFLD研究多关注甘油三酯代谢所产生的影响^[6-7],近来研究发现胆固醇代谢与NAFLD也密切相关^[8],破坏肝脏胆固醇的体内平衡对NAFLD发病亦发挥重要作用^[9]。而乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)是否有可能通过胆固醇代谢通路促进肝脏脂肪变性的发生发展尚不明确。

HBV表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)是机体感染HBV后最先出现的血清学标志物^[10],其中HBV表面抗原主蛋白(small hepatitis B surface antigen, SHBs)为包膜的主要组成部分,可诱导机体产生保护性抗体,协助病毒粒子进入肝细胞,与HBV感染密切相关^[11]。本课题组前期研究发现HBsAg可与脂代谢相关分子烯酰辅酶A水合酶短链1(enoyl CoA hydratase short chain 1, ECHS1)相结合并相互作用^[12-14],ECHS1位于线粒体基质中,于 β 氧化反应中催化2-烯脂CoA水合成3-羟脂酰CoA^[15]。ECHS1的功能障碍会导致严重脂肪代谢紊乱^[16],但SHBs是否可通过ECHS1途径干扰肝细胞的胆固醇代谢尚未明确。本研究通过在人肝癌细胞株HepG2中瞬时转染SHBs,探究ECHS1在HBV中是否可通过影响胆固醇代谢通路导致肝脏脂肪变性,先报道如下。

材料与方法

一、人肝癌细胞株HepG2的培养和真核表达质粒的构建

本研究所用HepG2细胞购于中国科学院上海细胞生物研究所细胞库,在含有胎牛血清的高糖培养

基中(美国Hyclone公司),置于37℃、5% CO₂、饱和湿度的细胞培养箱中培养。SHBs-pcDNA3.1(+)、ECHS1-pcDNA3.1(+)、ECHS1-siRNA载体质粒的构建及酶切鉴定、DNA序列分析均委托上海博尚生物技术有限公司协助完成。

二、分组

本实验分为6组:①空白对照组:HepG2细胞;②空质粒转染组:HepG2细胞+空载质粒pcDNA3.1(+);③单纯SHBs转染组:HepG2-SHBs细胞;④SHBs+阴性序列对照组:HepG2-SHBs细胞+阴性对照siRNA;⑤ECHS1过表达组:HepG2-SHBs细胞+pcDNA3.1(+)-ECHS1;⑥ECHS1干扰组:HepG2-SHBs细胞+ECHS1-siRNA。

三、ECHS1过表达与沉默

将重组质粒转染pcDNA3.1(+)-SHBs与空质粒载体pcDNA3.1(+)-SHBs分别转染HepG2细胞,同时加入空白对照。转染操作按Lipofectamine 2000说明书进行。使用半定量RT-PCR方法验证细胞中整合的SHBs基因。重组质粒pcDNA3.1(+)-ECHS1和ECHS1-siRNA转染在SHBs转染24 h后换液,并进行第2次转染。

四、RT-PCR法检测ECHS1和ApoA1基因mRNA

RT-PCR法检测mRNA根据《分子克隆指南(第4版)》中方法进行。细胞总RNA提取按照Trizol裂解法进行。进行RNA样品定量和RNA样品完整性分析,并留取符合要求的RNA用于后续实验。逆转录反应(reverse transcription, RT)操作按Thermo逆转录试剂盒说明书进行。引物由上海博尚生物科技有限公司合成。反应结束后PCR反应产物经含EB的1.0%琼脂糖凝胶进行电泳,紫外灯下观察结果,经凝胶成像系统拍照并对电泳条带的灰度扫描进行分析,结果以目的条带与内参的灰度比表示。

五、Western blot法检测ECHS1和APOA1蛋白的表达

细胞总蛋白提取后以BCA法测定蛋白浓度及蛋白样本定量处理。按碧云天公司BCA法测定蛋白浓度试剂盒说明书进行操作。以内参基因 β -actin结果进行标准化,比较各转染组细胞中基因的相对

表达差异。

六、检测各转染组细胞TC及转氨酶水平

各转染组细胞TC水平检测：超声细胞粉碎机裂解细胞后取上清液，按北京北化康泰临床试剂公司TC试剂盒的说明书检测TC含量。使用南京建成公司的丙氨酸氨基转移酶（alanine aminotransferase, ALT）和天门冬氨酸转移酶（aspartate aminotransferase, AST）检测试剂盒检测ALT和AST水平。

每项实验操作至少重复3次。

七、统计学处理

采用Graphpad Prism 5统计学软件进行分析，研究涉及相关基因表达水平、胆固醇及转氨酶为计量资料且呈正态分布，用 $\bar{x} \pm s$ 表示，用单因素方差分析进行组间比较，以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、重组质粒pcDNA3.1 (+) -SHBs和pcDNA3.1 (+) -ECHS1酶切鉴定结果和转染HepG2细胞中SHBs基因的mRNA验证

pcDNA3.1 (+) -SHBs用限制性内切酶EcoR I与Hind III双酶切后得到两个条带，较大片段为酶切后线性化质粒pcDNA3.1 (+)，小片段与SHBs (681 bp) 大小相符（见图1A）。pcDNA3.1 (+) -ECHS1用限制性内切酶Nhe I与Hind III双酶切后得到两个条带，较大片段为酶切后线性化质粒pcDNA3.1 (+)，小片段与ECHS1 (873 bp) 大小相符（见图1B）。

SHBs mRNA表达：将空载质粒pcDNA3.1 (+)、重组目的质粒 pcDNA3.1 (+) -SHBs分别转染HepG2细胞，24 h后提取各组细胞RNA，结果显示目的质粒转染组在681 bp处出现目的基因条带，提示该组细胞中有SHBs mRNA表达，空载质粒转染组和空白对照组未见此条带（见图1C）。

二、不同转染组ECHS1及ApoA1基因mRNA与蛋白的表达水平

1. ECHS1基因的表达：各组间ECHS1基因表达差异有统计学意义（ $F_{\text{mRNA}} = 226.6$ 、 $P < 0.001$ ， $F_{\text{蛋白}} = 321.4$ 、 $P < 0.001$ ），两两比较发现，较空白对照组，单纯SHBs转染组和SHBs + 阴性序列对照组HepG2细胞中ECHS1 mRNA表达水平下降，

ECHS1过表达组表达水平升高，ECHS1干扰组表达水平下调，（ $P_{\text{单纯}} < 0.001$ 、 $P_{\text{阴性}} < 0.001$ 、 $P_{\text{过表达}} < 0.001$ 、 $P_{\text{干扰}} < 0.001$ ）蛋白变化同mRNA一致（ $P_{\text{单纯}} < 0.001$ 、 $P_{\text{阴性}} < 0.001$ 、 $P_{\text{过表达}} < 0.001$ 、 $P_{\text{干扰}} < 0.001$ ）（见图2A~B）。

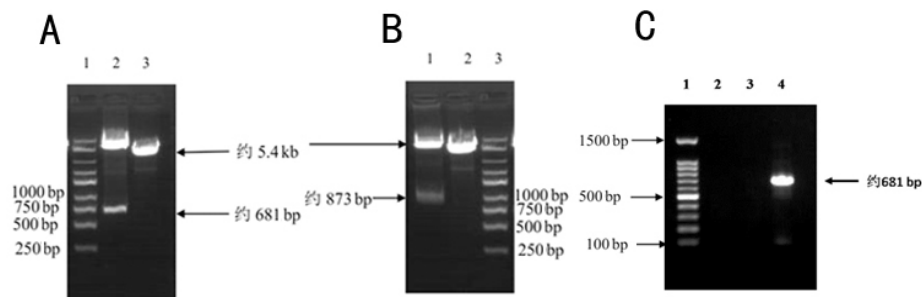
2. ApoA1基因的表达：各组间ApoA1基因表达具有统计学差异（ $F_{\text{mRNA}} = 23.54$ 、 $P < 0.001$ ， $F_{\text{蛋白}} = 119.1$ 、 $P < 0.001$ ），两两比较发现与空白对照组相比，除空载质粒转染组外其余各组ApoA1 mRNA表达均有不同程度下降（ $P_{\text{空质粒}} = 0.79$ 、 $P_{\text{单纯}} = 0.0039$ 、 $P_{\text{阴性}} = 0.0027$ 、 $P_{\text{过表达}} = 0.0031$ 、 $P_{\text{干扰}} = 0.0028$ ），蛋白表达同mRNA一致（ $P_{\text{空质粒}} = 0.83$ 、 $P_{\text{单纯}} = 0.0025$ 、 $P_{\text{阴性}} < 0.001$ 、 $P_{\text{过表达}} < 0.001$ 、 $P_{\text{干扰}} < 0.001$ ），与单纯SHBs转染组相比，ECHS1过表达组和ECHS1干扰组中ApoA1 mRNA及蛋白表达下降，且以ECHS1过表达组更为显著（ $P_{\text{过表达}} = 0.0072$ 、 $P_{\text{干扰}} = 0.0096$ ， $P_{\text{过表达}} < 0.001$ 、 $P_{\text{干扰}} < 0.001$ ），见图2C~D。

三、不同转染组细胞转氨酶水平

各组细胞转染48 h后，各组间ALT和AST含量差异有统计学意义（ $F_{\text{ALT}} = 19.53$ 、 $P < 0.001$ ， $F_{\text{AST}} = 46.03$ 、 $P < 0.001$ ），两两比较发现，与空白对照组相比，除空载质粒转染组与SHBs转染+ECHS1过表达组外其余各转染组的ALT水平平均增高（ $P_{\text{空质粒}} = 0.02$ 、 $P_{\text{单纯}} < 0.001$ 、 $P_{\text{阴性}} < 0.001$ 、 $P_{\text{过表达}} = 0.1$ 、 $P_{\text{干扰}} < 0.001$ ），除空载质粒转染组外各组的AST水平平均增高（ $P_{\text{空质粒}} = 0.87$ 、 $P_{\text{单纯}} < 0.001$ 、 $P_{\text{阴性}} < 0.001$ 、 $P_{\text{过表达}} < 0.001$ 、 $P_{\text{干扰}} < 0.001$ ）；与单纯SHBs转染组相比，ECHS1过表达组ALT和AST水平显著下降（ $P_{\text{ALT}} < 0.001$ 、 $P_{\text{AST}} = 0.0049$ ），ECHS1干扰组ALT水平无显著变化，AST水平升高（ $P_{\text{ALT}} = 0.28$ 、 $P_{\text{AST}} = 0.0069$ ），见图2E~F。

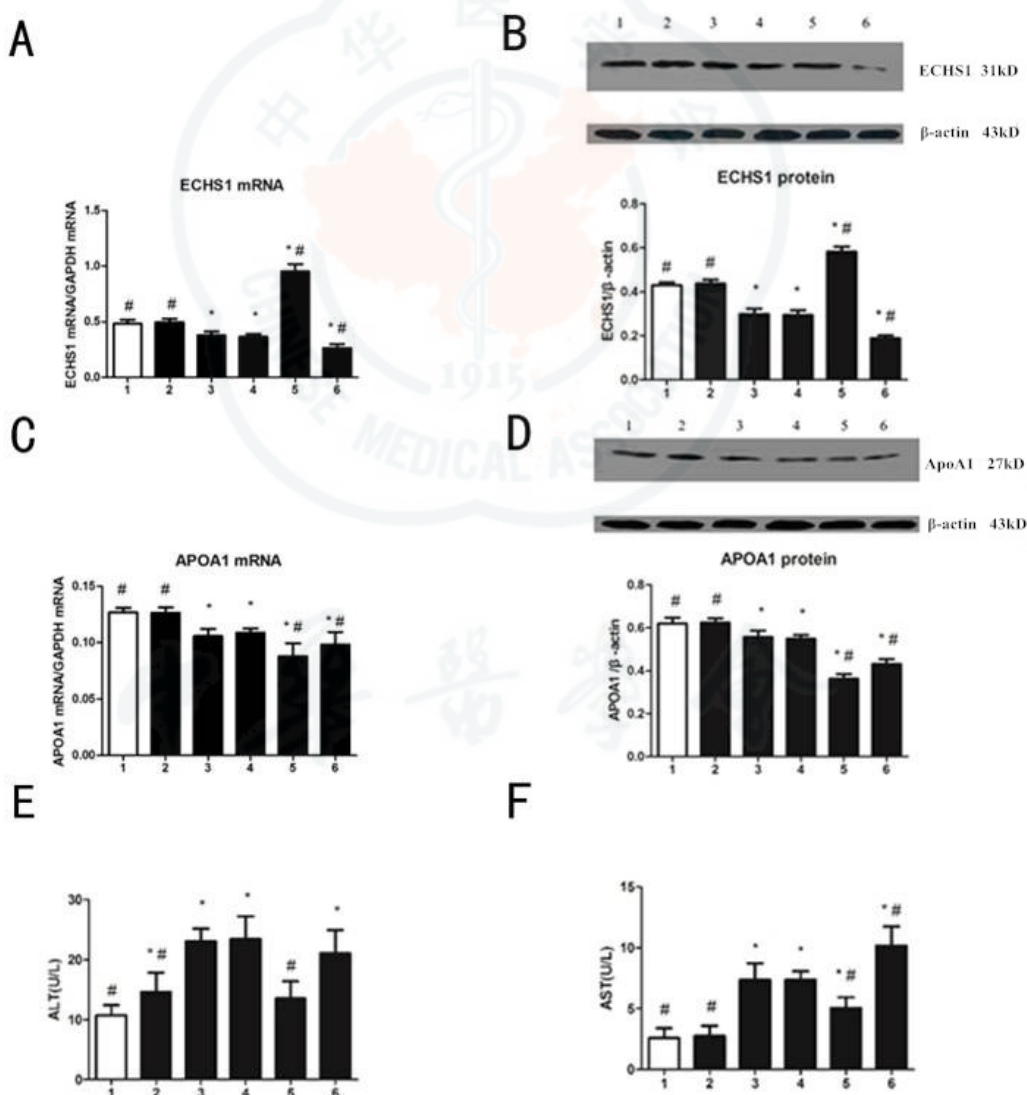
四、不同转染组细胞TC水平

各组间TC水平差异具有统计学意义（ $F = 38.39$ 、 $P < 0.001$ ），两两比较发现，与空白对照组相比，空质粒转染组TC水平无显著变化（ $P = 0.46$ ），单纯SHBs转染组和SHBs + 阴性序列对照组中TC水平升高（ $P < 0.001$ 、 $P = 0.0022$ ）；ECHS1过表达组与ECHS1干扰组TC水平均下降（ $P < 0.001$ 、 $P = 0.01$ ）；与单纯SHBs转染组相比，ECHS1过表达组与ECHS1干扰组TC水平亦均下降（ $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$ ），见图3。



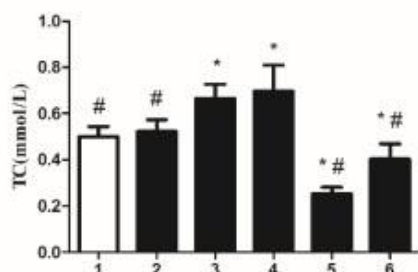
注: A: 质粒 pcDNA3.1 (+)-SHBs 双酶切电泳图, 泳道 1: DNA marker, 泳道 2: pcDNA3.1 (+)-SHBs *Hind* III/*Eco* R I, 泳道 3: pcDNA3.1 (+)。B: 质粒 pcDNA3.1 (+)-ECHS1 双酶切电泳图, 泳道 1: pcDNA3.1 (+)-ECHS1 *Nhe* I/*Hind* III, 泳道 2: pcDNA3.1 (+), 泳道 3: DNA marker。C: RT-PCR 法验证转染细胞中 SHBs 基因 mRNA 表达, 泳道 1: DNA marker, 泳道 2: 空白对照, 泳道 3: 空质粒转染组, 泳道 4: SHB 转染组

图1 质粒pcDNA3.1 (+)-SHBs双酶切与质粒pcDNA3.1 (+)-ECHS1双酶切电泳图及转染细胞中SHBs基因mRNA的表达



注: 1: 空白对照组; 2: 空质粒转染组; 3: 单纯 SHBs 转染组; 4: SHBs+ 阴性序列对照组; 5: ECHS1 过表达组; 6: ECHS1 干扰组。*: 与空白对照组相比, $P < 0.05$; #: SHBs 转染组相比, $P < 0.05$

图2 不同转染组HepG2细胞中APOA1 mRNA和蛋白表达水平



注: 1: 空白对照组; 2: 空质粒转染组; 3: 单纯 SHBs 转染组; 4: SHBs + 阴性序列对照组; 5: ECHS1 过表达组; 6: ECHS1 干扰组。*: 与空白对照组相比, $P < 0.05$; #: SHBs 转染组相比, $P < 0.05$

图3 不同转染组细胞转染48 h后细胞脂质水平

讨 论

NAFLD和HBV的相关性近年来受到普遍关注。本研究中发现SHBs能够下调载脂蛋白A1 (apolipoprotein A1, ApoA1) 的表达, 升高肝细胞TC水平, 同时ECHS1则可减轻这种作用。

既往关于HBV与NAFLD的相关性研究多集中在甘油三酯^[7, 17-18], 其中对HBx蛋白研究较多。如HBx蛋白能通过增强SREBP-1c、PPAR等表达最终导致肝细胞内甘油三酯积累^[19]。而HBsAg对肝脏脂质代谢的影响也有相关研究。如Xiao等^[20]研究发现HBV可通过HBsAg与ECHS1相作用, 其中ECHS1本身功能障碍会抑制线粒体中脂肪酸的 β 氧化, 进而导致肝脏内脂代谢紊乱^[21-22]。

胆固醇代谢对NAFLD的作用是近期新的研究方向^[8], HBV在胆固醇调节方面也被证实发挥重要作用^[23-24]。有研究表明胆固醇耗竭会在体外抑制HBV的分泌与释放^[25], 且HBV可通过相关机制对肝细胞的胆固醇代谢通路产生影响^[23-24], 以上研究提示HBV可能通过调节胆固醇水平以满足其自身需求。本研究中转染SHBs后胆固醇的合成显著上升, 也符合此假说。ApoA1是胆固醇代谢过程中重要的物质之一, 主要由肝脏和小肠合成、分泌, 促进血浆CHO酯化和HDL成熟, 在胆固醇逆向转运和维持胆固醇动态平衡中发挥着重要作用^[26-27]。临床研究发现CHB患者血清中ApoA1含量较正常组显著下降^[28]。Wang等^[29]体外研究也提示HBsAg能够抑制HepG2.2.15细胞中ApoA1表达, 然而HBV调控ApoA1的信号通路和确切机制目前仍然未知。本研究瞬时转染SHBs后细胞中ApoA1在mRNA和蛋白水平均有不同程度下降, 在此基础上过表达ECHS1后的下降趋势更为显著, 而ECHS1干扰后

ApoA1表达则较过表达组升高, 同时TC水平亦出现相同改变, 这提示SHBs可能通过ECHS1通路影响ApoA1表达, 干扰细胞胆固醇代谢, 使细胞内HBsAg表达所需的胆固醇发生改变。

通过比较各转染组细胞培养液中的ALT和AST水平, SHBs可能会对HepG2细胞造成损伤, 造成细胞培养液中ALT和AST水平升高; 但在此基础上ECHS1过表达后肝细胞损伤减轻, 这与TC水平变化一致, 提示ECHS1有助于调节胆固醇代谢, 减轻SHBs导致的肝功能损伤。

综上所述, SHBs能够通过下调ApoA1表达, 升高肝细胞胆固醇水平, 同时ECHS1通过某种机制抑制TC生成。本研究可为探索HBV与肝细胞胆固醇代谢相关分子机制提供实验依据和线索, 并为CHB合并NAFLD的研究提供思路。

参 考 文 献

- [1] 刘璐璐, 任艺, 何毅怀, 等. 慢性乙型肝炎合并非酒精性脂肪性肝病的研究进展[J]. 临床肝胆病杂志, 2017, 33(3): 538-542.
- [2] Wang MM, Wang GS, Shen F, et al. Hepatic steatosis is highly prevalent in hepatitis B patients and negatively associated with virological factors[J]. Digest Dis Sci, 2014, 59(10): 2571-2579.
- [3] 王明芳, 林苏, 吴银莲, 等. 慢性乙型肝炎患者脂肪肝变性与血清, 肝组织病毒因素的关系[J]. 中华传染病杂志, 2016, 34(3): 141-145.
- [4] Lin CW, Huang XL, Liu HL, et al. Interactions of hepatitis B virus infection with nonalcoholic fatty liver disease: possible mechanisms and clinical impact[J]. Digest Dis Sci, 2015, 60(12): 3513-3524.
- [5] 路然, 洪天配. 脂质代谢紊乱导致非酒精性脂肪性肝病的发病机制[J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(7): 1050-1054.
- [6] Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"?[J]. Gastroenterology, 1998, 114(4): 842-845.
- [7] Kawano Y, Cohen DE. Mechanisms of hepatic triglyceride accumulation in non-alcoholic fatty liver disease[J]. J Gastroenterol, 2013, 48(4): 434-441.
- [8] 马振增, 陆伦根. 胆固醇代谢与非酒精性脂肪性肝炎[J]. 中华肝病杂志, 2016, 24(8): 623-627.
- [9] Perla FM, Prelati M, Lavorato M, et al. The role of lipid and lipoprotein metabolism in non-alcoholic fatty liver disease[J]. Children, 2017, 4(6): 46-58.
- [10] Honer Zu Siederdisen C, Maasoumy B, Cornberg M. What is new on HBsAg and other diagnostic markers in HBV infection?[J]. Best Pract Res Clin Ga, 2017, 31(3): 281-289.
- [11] Blanchet M, Sureau C. Analysis of the cytosolic domains of the hepatitis B virus envelope proteins for their function in viral particle assembly and infectivity[J]. J Virol, 2006, 80(24): 11935-11945.
- [12] 周飞, 任建林, 卢雅丕, 等. 酵母双杂交法对HBV表面抗原蛋白候选结合蛋白的筛选[J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(13): 1378-1382.
- [13] 饶紫兰, 董菁, 朱月永, 等. 乙型肝炎病毒表面抗原蛋白对HepG2细胞脂代谢基因表达的影响[J]. 中华肝脏病杂志, 2013, 21(8): 624-630.
- [14] Gong X, Zhu Y, Dong J, et al. Small hepatitis B surface antigen

- interacts with and modulates enoyl-coenzyme A hydratase expression in hepatoma cells[J]. *Arch Virol*,2013,158(5):1065-10670.
- [15] 朱小三, 戴益琛. ECHS1的表达异常与临床的关系[J]. *医学分子生态*,2013,10(3):184-186.
- [16] Wu L, Lin S, Li D. Comparative inhibition studies of enoyl-CoA hydratase 1 and enoyl-CoA hydratase 2 in long-chain fatty acid oxidation[J]. *Org Lett*,2008,10(15):3355-3358.
- [17] Zhang S, Du T, Li M, et al. Triglyceride glucose-body mass index is effective in identifying nonalcoholic fatty liver disease in nonobese subjects[J]. *Medicine*,2017,96(22):e7041.
- [18] Diehl AM, Day C. Cause, pathogenesis, and treatment of nonalcoholic steatohepatitis[J]. *N Engl J Med*,2017,377(21):2063-2072.
- [19] Kim KH, Shin HJ, Kim K, et al. Hepatitis B virus X protein induces hepatic steatosis via transcriptional activation of SREBP1 and PPARgamma[J]. *Gastroenterology*,2007,132(5):1955-1967.
- [20] Xiao CX, Yang XN, Huang QW, et al. ECHS1 acts as a novel HBsAg-binding protein enhancing apoptosis through the mitochondrial pathway in HepG2 cells[J]. *Cancer Lett*,2013,330(1):67-73.
- [21] Zhang X, Yang J, Guo Y, et al. Functional proteomic analysis of nonalcoholic fatty liver disease in rat models: enoyl-coenzyme a hydratase down-regulation exacerbates hepatic steatosis[J]. *Hepatology*(Baltimore, Md),2010,51(4):1190-1199.
- [22] 姚雯. 乙型肝炎病毒表面抗原主蛋白与烯酰辅酶A水合酶相互作用对细胞脂代谢影响的研究[D]. 福建医科大学,2015.
- [23] Andreas G. Hepatitis B virus induces expression of cholesterol metabolism-related genes via TLR2 in HepG2 cells[J]. *World J Gastroenterol*,2013,19(14):2262-2269.
- [24] Li YJ, Zhu P, Liang Y, et al. Hepatitis B virus: the “metabolovirus” highjacks cholesterol and bile acid metabolism[J]. *Hepatology*(Baltimore, Md),2014,60(5):1458-1460.
- [25] Bremer C, Bung C, Kott N, et al. Hepatitis B virus infection is dependent on cholesterol in the viral envelope[J]. *Cell Microbiol*,2010,11(2):249-260.
- [26] 莫中成, 欧含笑, 易光辉. 载脂蛋白A- I 在高密度脂蛋白生物合成中的作用研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*,2015,42(9):788-795.
- [27] 高国生, 董飞波, 颜卫华. 血清载脂蛋白A-1检测在HBV相关肝癌中的临床价值[J]. *医学研究杂志*,2017,46(4):109-112.
- [28] Jiang W, Zheng L, Yang Q, et al. Investigation into the effect of hepatitis B virus on apolipoprotein A1 expression and its mechanism[J]. *Lipids Health Dis*,2014,13(1):130-135.
- [29] Wang Y, Hao J, Liu X, et al. The mechanism of apolipoprotein A1 down-regulated by Hepatitis B virus[J]. *Lipids Health Dis*,2016,15(1):1-7.

(收稿日期: 2018-05-05)

(本文编辑: 孙荣华)

张凯, 姚雯, 林苏, 等. 乙型肝炎病毒表面抗原主蛋白与烯酰辅酶A水合酶相互作用对肝细胞胆固醇代谢的影响[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2018,12(6):547-552.