

· 基础研究 ·

HBV X 蛋白对大鼠肾小球系膜细胞增殖及促炎性细胞因子表达的影响*

卢宏柱¹, 刘丹¹, 周建华²

(1. 长江大学临床医学院儿科, 湖北荆州 434000; 2. 华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科, 武汉 430030)

摘要:目的 探讨 HBV X 基因表达的蛋白(HBVx)对外培养的大鼠系膜细胞表达肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白介素(IL)-1 β 、IL-6 及细胞增殖的影响。方法 构建含 HBV X 基因的真核表达载体 pCI-neo-X, 采用脂质体法将 pCI-neo-X 转染给体外培养的大鼠系膜细胞, Western blot 测定 HBx 的表达, 以半定量逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)测定体外培养大鼠系膜细胞 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达, 酶联免疫吸附试验(ELISA)测定培养上清液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平, 四甲基偶氮唑盐(MTT)法测定细胞增殖。结果 转染 pCI-neo-X 的系膜细胞(MC+pCI-neo-X 组), HBx 在 36、48 h 表达明显。同时 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达量较未转染和转染空载体组明显增高。上清液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平在 MC+pCI-neo-X 组较未转染和转染空载体组均增高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。细胞增殖在 36、48 h MC+pCI-neo-X 组最明显, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 HBx 可诱导大鼠系膜细胞高表达 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6, 促进系膜细胞增殖。HBx 对系膜细胞的增殖作用可能与 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的高表达有关。

关键词:肿瘤坏死因子 α ; 白细胞介素 4; 肾小球系膜细胞; 乙型肝炎病毒

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.22.017

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)22-2227-04

Effects of HBV X protein on glomerular mesangial cell proliferation and proinflammation factor expression*

Lu Hongzhu¹, Liu Dan¹, Zhou Jianhua²

(1. Department of Pediatrics, Clinical Medical College, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434000, China;

2. Department of Pediatrics, Affiliated Tongji Hospital, Tongji Medical College,

Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Abstract: Objective To approach the effect of HBx on expression of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin(IL)-1 β and IL-6, and proliferation of mesangial cell of rat in vitro. Methods Liposome bearing pCI-neo-X was transfected into cultured rat mesangial cell line in vitro through liposome method. X gene expression in the cells was assessed by Western blot. The mRNA expressions of TNF- α , IL-1 β and IL-6 in cultured mesangial cells line were assessed by semiquantitative RT-PCR. The levels of TNF- α , IL-1 β and IL-6 were measured by ELISA. Mesangial cell proliferation was assessed by MTT. Results HBx obviously expressed in cultured mesangial cells line at 36th and at 48th hour after transfection. The mRNA of TNF- α , IL-1 β and IL-6 expression simultaneously increased. The supernatant TNF- α , IL-1 β and IL-6 levels in pCI-neo-X group were all markedly higher than those in other two groups(all $P < 0.05$). The cell proliferation was also obvious at the same time(all $P < 0.05$). Conclusion Therefore, we can conclude that HBx can induce expression of TNF- α , IL-1 β and IL-6. HBx may play a critical role in the cell proliferation through TNF- α , IL-1 β and IL-6 high expression.

Key words: tumor necrosis factor-alpha; interleukin-4; mesangial cells; hepatitis B virus

乙型肝炎病毒相关性肾炎(hepatitis B virus associated-glomerulonephritis, HBV-GN)是乙型肝炎病毒(hepatitis virus B, HBV)肝外并发症中最常见的表现之一。在肾脏不仅发现了 HBV 的抗原及其相应抗体的沉积, 还在肾固有细胞中发现 HBV DNA^[1]。虽然 HBV-GN 的病理表现大多数为膜性肾病, 但也可以引起各种增殖性肾炎^[2-3]。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素(interleukin, IL)-1 β 和 IL-6 等促炎性细胞因子与系膜细胞增生以及增生性肾小球疾病的发病密切相关^[4]。HBV X 基因表达的 HBV X 蛋白有着广泛的生物学作用^[5-6], 本研究探讨 HBV X 蛋白对肾小球系膜细胞的作用及与促炎性细胞因子的关系。

1 材料与方

1.1 材料 胶回收试剂盒(Omega 公司), Opti-MEM 无血清培养基和感受态细胞(Takara 公司), 质粒小量提取试剂盒和

质粒大量提取试剂盒(北京天根公司), DMEM(Gibco 公司), Trizol, Lipofectamine2000, EcoR I 和 Xho I 酶、oligo(dT, Invitrogen 公司), 醋酸纤维素膜(博士德公司), 兔抗 HBV X 基因表达的蛋白(HBx)多克隆抗体(Biovendor Laboratory Medicine, Inc.), β -actin 单克隆抗体(上海康成公司), ELISA 试剂盒(Quantikine 公司), M-MLV(Promega 公司)等。

1.2 HBV X 基因真核细胞载体的构建 PCR 扩增 X 基因以 HBV 基因组 DNA 为模板, 用常规 PCR 方法扩增 X 基因, 引物如下: 上游引物 5'-CCG CTC GAG GTA TAC ATC ATT TCC ATG GC-3', 下游引物 5'-CCG GAA TTC GAG ATG ATT AGG CAG AGG TG-3', 分别在上游引物和下游引物 5' 端添加限制性内切酶 EcoR I 和 Xho I 酶切位点。PCR 循环条件: 95 $^{\circ}$ C, 3 min, 94 $^{\circ}$ C, 60 s, 55 $^{\circ}$ C, 45 s, 70 $^{\circ}$ C, 60 s, 35 个循环, 72 $^{\circ}$ C 10 min。PCR 产物用低熔点琼脂糖凝胶电泳鉴定。

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30772360); 湖北省卫生厅计划课题(JX4B47); 长江大学博士启动基金资助项目(2009001)。

表 1 各种细胞因子引物及其碱基长度

细胞因子	引物	扩增碱基对长度(bp)
TNF- α	正义:5'-GGATCATCTTCTCAAAACTCG-3'	419
	反义:5'-TCACAGGAGCAATGACTCCAAA-3'	
IL-1 β	正义:5'-GTTCTGTCCATTGAGGTG-3'	254
	反义:5'-ATTGTGGCTGTGGAGAAG-3'	
IL-6	正义:5'-TACTTCACAAGTCCGGAG-3'	278
	反义:5'-TCCAGAAGACCAGAGCAG-3'	
β -actin	正义:5'-CCCATCTATGAGGGTTACGC-3'	150
	反义:5'-TTTAATGTCACGCACGATTTC-3'	

使用胶回收试剂盒,按说明书步骤回收 PCR 产物。然后用 Xho I 酶切线性化空载体 pCI-neo,凝胶回收 Xho I 单酶切后的线性化 pCI-neo,再用 EcoR I 酶切。载体 pCI-neo 与目的基因 HBV X 连接。连接产物转化给感受态细胞。选取克隆提取质粒,按质粒小量提取试剂盒说明书进行,双酶切鉴定,凝胶电泳结果在约 500 bp 附近出现特异性条带,测序结果与野生型 HBV X 基因序列完全一致。将菌种置于 -20 °C 保存。

1.3 HBV X 基因真核细胞载体的大量提取 将保存的菌种接种入盛有 200 mL LB 培养基中(含 100 mg/L 氨苄青霉素)的 500 mL 三角瓶中,置 37 °C 震荡培养过夜(置摇床中,150 r/min)。然后用质粒大提试剂盒,按说明书大量提取质粒。将获得的 pCI-neo-X 质粒稀释 10 倍后测定 A260 值为 1.4, A260/A280=1.8, DNA 浓度 = A260 \times 50 μ g/mL \times 稀释倍数 = 0.7 mg/L。

1.4 Western blot 检测转染后系膜细胞 HBx、 β -actin 表达 收集细胞后用 Western blot 检测 HBx、 β -actin 的表达。10 μ L 裂解液加入 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶,电泳 4 h 后转醋酸纤维素膜,非特异性位点用 5% 脱脂奶粉三羟甲基氨基甲烷缓冲液 (tris buffered saline, TBS) 封闭过夜,然后分别加一抗(兔抗 HBx 多克隆抗体、 β -actin 单克隆抗体)过夜。用含 0.05% Tween20 的 TBS 洗硝酸纤维素滤膜 2 次,每次 20 min,于室温平缓摇动。用 TBS-Tween20 稀释碱性磷酸酶标记的二抗。抗体的稀释度为 1:200。将硝酸纤维素滤膜与二抗置 37 °C 水浴摇床温浴 1 h。用 TBS 洗硝酸纤维素滤膜 3 次,每次 20 min,于室温平缓摇动。用 0.02 mmol/L TBS 缓冲液配制的 0.2% 脱脂奶粉和 1% 的牛血清清蛋白混合的稀释液适当稀释过氧化物酶标记羊抗兔 IgG 孵育膜 1.5 h。1 \times TBS-T 洗膜 3 次,每次 10 min。增强化学发光法显色、显影、定影。重复 3 次。

1.5 体外培养大鼠膜细胞系 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达的检测 提取总 RNA:在 36、48 h 时收集上述 6 孔板中培养的细胞。用 Trizol 法提取细胞总 RNA,按说明书进行。

逆转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) 获取 cDNA:取 2~4 μ g RNA, oligo

(dT) 1 μ L。用二乙基焦磷酸盐(diethyl pyrocarbonate, DEPC)处理的三蒸水补至总体积为 15 μ L,混匀。72 °C 保温 8 min,迅速置冰上冷却 1 min 以上。加入 5 μ L 5 \times 反应缓冲液、3 μ L 10 mmol/L dNTP、1 μ L M-MLV,混匀。42 °C 反应 60 min,90 °C、10 min,灭活逆转录酶终止反应。cDNA 置于 -20 °C 保存。

以 cDNA 为模版在同一体系中 PCR 扩增 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 与 β -actin,各种引物序列、长度见表 1,反应条件为 95 °C、5 min,94 °C、45 s,53 °C、45 s,72 °C、30 s,25 个循环,72 °C 延伸 5 min。重复 3 次。

1.6 细胞培养上清液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的检测 采用 ELISA 法检测,按试剂盒(Quantikine 公司)说明书进行。在培养后第 36、48 小时检测培养上清液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的水平。

1.7 统计学处理 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS11.0 统计软件进行分析。

2 结 果

2.1 Western blot 检测结果 HBx 在大鼠肾小球膜细胞系中的表达见图 1,质粒 pCI-neo-X 在体外培养大鼠系膜细胞中可以表达,在转染后第 36、48 小时表达最明显。

2.2 电泳结果 分别在转染 36、48 h 后,从细胞中提取总 RNA,可见明显的 28S、18S、5S 三条带,见图 2。

2.3 RT-PCR 测定结果 根据 HBx 在系膜细胞培养后第 36、48 小时表达最明显,选择该时间点细胞测定 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达情况。并以未转染和转染空载体作为对照。以 β -actin 作为内参,取 cDNA 在同一体系中进行 PCR,然后电泳、照相,结果见图 3~5。在未转染(MC)和转染空载体(MC+pCI-neo)时, TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达较低,而转染 HBV X 基因(MC+pCI-neo)36、48 h 后 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达明显增强。

2.4 ELISA 测定结果 将各时间点收集的细胞培养上清液采用 ELISA 进行检测,在 36、48 h MC+pCI-neo-X 组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平明显高于 MC 组及 MC+pCI-neo 组,差异有统计学意义,而 MC+pCI-neo 组与 MC 组比较差异无统计学意义,见表 2~4。

表 2 各组不同培养时间上清液中 TNF- α 检测结果比较($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	0 h	6 h	24 h	36 h	48 h
MC 组	24.7 \pm 12.6	30.3 \pm 16.1	41.7 \pm 8.5	41.7 \pm 10.3	43.7 \pm 10.6
MC+pCI-neo 组	29.0 \pm 15.4	26.3 \pm 5.9	37.7 \pm 15.5	44.0 \pm 10.1	33.3 \pm 8.6
MC+pCI-neo-X 组	34.7 \pm 12.6	33.0 \pm 10.0	65.7 \pm 26.9	185.3 \pm 70.7*	140.3 \pm 42.1*

* : $P < 0.05$, 与 MC 组、MC+pCI-neo 组比较。

表 3 各组不同培养时间上清液中 IL-1 β 检测结果比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	0 h	6 h	24 h	36 h	48 h
MC 组	141.2 \pm 15.1	141.1 \pm 17.3	160.4 \pm 20.1	182.1 \pm 23.1	181.2 \pm 20.2
MC+pCI-neo 组	136.3 \pm 34.2	130.2 \pm 16.4	136.2 \pm 22.2	170.1 \pm 18.2	165.4 \pm 19.1
MC+pCI-neo-X 组	141.8 \pm 27.1	159.2 \pm 11.3	158.3 \pm 30.3	402.3 \pm 60.1*	432.3 \pm 58.2*

*: $P < 0.05$, 与 MC 组、MC+pCI-neo 组比较。

表 4 各组不同培养时间上清液中 IL-6 检测结果比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	0 h	6 h	24 h	36 h	48 h
MC 组	61.0 \pm 15.7	68.3 \pm 11.7	66.0 \pm 11.1	85.7 \pm 16.9	70.0 \pm 18.3
MC+pCI-neo 组	72.0 \pm 17.5	69.7 \pm 16.2	62.3 \pm 6.4	69.7 \pm 22.2	73.0 \pm 14.0
MC+pCI-neo-X 组	64.3 \pm 18.0	64.3 \pm 10.6	68.7 \pm 22.7	177.0 \pm 18.2*	179.7 \pm 26.3*

*: $P < 0.05$, 与 MC 组、MC+pCI-neo 组比较。

表 5 各组不同时间点系膜细胞吸光度 A 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	0 h	6 h	24 h	36 h	48 h
MC 组	0.27 \pm 0.05	0.35 \pm 0.05	0.39 \pm 0.02	0.70 \pm 0.08	0.74 \pm 0.18
MC+PCI-neo 组	0.32 \pm 0.07	0.29 \pm 0.08	0.47 \pm 0.11	0.68 \pm 0.18	0.80 \pm 0.19
MC+PCI-neo-X 组	0.34 \pm 0.06	0.34 \pm 0.09	0.67 \pm 0.15	1.56 \pm 0.36*	1.69 \pm 0.32*

*: $P < 0.05$, 与 MC 组、MC+pCI-neo 组比较。

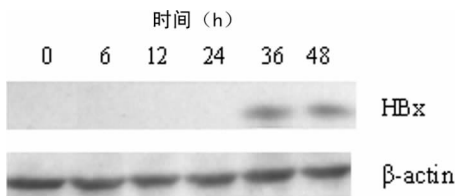


图 1 大鼠系膜细胞转染 HBV X 基因后各时间点 HBx 的表达

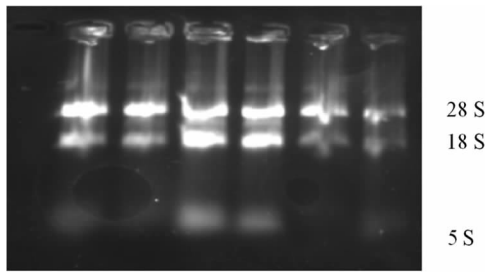
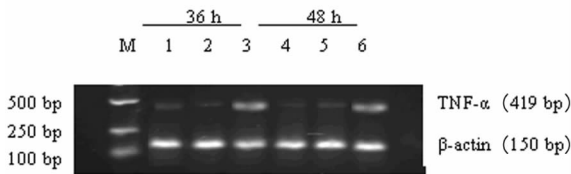


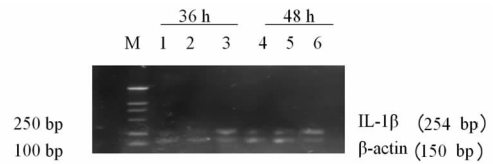
图 2 总 RNA 电泳图



M: 标准品; 1,4: MC; 2,5: MC+pCI-neo; 3,6: MC+pCI-neo-X

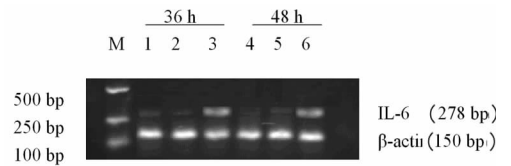
图 3 半定量 RT-PCR TNF- α mRNA 凝胶电泳结果

较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。而 MC+pCI-neo 组与 MC 组比较差异无统计学意义, 提示 HBx 有促进细胞增殖的作用。



M: 标准品; 1,4: MC; 2,5: MC+pCI-neo; 3,6: MC+pCI-neo-X。

图 4 半定量 RT-PCR IL-1 β mRNA 凝胶电泳结果



M: 标准品; 1,4: MC; 2,5: MC+pCI-neo; 3,6: MC+pCI-neo-X。

图 5 半定量 RT-PCR IL-6 mRNA 凝胶电泳结果

3 讨论

本研究表明, HBV X 基因在大鼠膜细胞系中能稳定表达, 在转染后第 36、48 小时最明显。与此同时, 系膜细胞增殖也最显著。转染了 HBV X 基因的系膜细胞 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 在 36~48 h 表达量较未转染和转染空载体组显著增加。在转染后第 36、48 小时测得的培养上清液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 表达量也明显高于未转染和转染空载体组, 而其他时间点各组比较差异无统计学意义; 而且这些细胞因子表达增高的时间与 HBx 表达的时间一致, 故可以推断是 HBx 使系膜细胞表达 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 增加。同时, 系膜细胞增殖在这一时间点也明显加快, 说明 HBx 有促进系膜细胞增殖的作用。

TNF- α 是一种相对分子质量为 17×10^3 的多肽, 肾脏多种

2.5 四甲基偶氮唑蓝 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT) 测定结果 采用 MTT 法测定各时间点细胞增殖, MC+pCI-neo-X 组在 36、48 h 细胞增殖明显, 与 MC 组、MC+pCI-neo 组比

细胞可以产生 TNF- α ,包括系膜细胞和肾小管上皮细胞。在未经其他刺激因子的刺激下,系膜细胞可产生少量 TNF- α mRNA^[7]。用脂多糖或刀豆蛋白 A 刺激可使 TNF- α 表达增加和系膜细胞增生。给肾毒性血清性肾炎大鼠腹腔内每天注射 TNF- α IgG,8 d 后可见尿蛋白减少,肾小球坏死数下降^[8-10],说明 TNF- α 与系膜细胞增生及肾脏疾病的发展有密切关系,适量的 TNF- α 有促进系膜细胞增殖的作用。

IL-1 β 是一种具有广泛生物学活性的促炎性细胞因子,包括促进内皮细胞的活化、趋化因子及其他细胞因子的释放,诱导白细胞黏附、一氧化氮合成酶活化。在实验型肾小球肾炎的模型中,IL-1 β 可以使疾病加重,而阻断 IL-1 β 或使用 IL-1 β 抗体或 IL-1 β 受体拮抗剂可以减轻急性肾损害^[11]。

IL-6 是一个相对分子质量为 26×10^3 的小分子蛋白,由活化的 B 细胞产生,人的 IL-6 由 184 个氨基酸残基组成,IL-6 基因有 5 个外显子。IL-6 是一种多效的细胞因子,以旁分泌或自分泌的形式在多种细胞内起作用。通过抗原检测、RNA 印迹法(northern blot)、原位杂交等方法证实体外培养的小鼠、大鼠、人的肾小球系膜细胞均可产生 IL-6。血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor,PDGF)、IL-1、TNF- α 和脂多糖的刺激可以使大鼠系膜细胞产生 IL-6 增加。最初是在转基因鼠中发现 IL-6 对肾小球细胞有增殖作用。在 0.5% 的胎牛血清存在的情况下,重组的 IL-6 和部分纯化的 IL-6 可以诱导体外培养的系膜细胞增生^[12],提示 IL-6 是系膜细胞增殖的自分泌调节剂。

HBx 是相对分子质量为 17×10^3 的蛋白,具有广泛的生物学作用。HBx 对多种病毒和细胞的启动子和增强子均有反式激活作用,HBx 不直接与 DNA 结合,但可以作用于多种转录因子而激活多种顺式作用元件结合位点。有研究表明 HBx 对 AP-1、AP-2、NF- κ B、SRF、c/EBP、Ets、ATF1、CREB 等转录因子有激活作用;而在 TNF- α 启动子附近,有 CREB/ATF、NF/AT、NF- κ B、AP-1 和 AP-2 等各种转录因子识别序列^[13-14]。推测 HBx 可能通过激活相关的转录因子,在转录水平上调 TNF- α 的表达。HBx 还可能通过缩短细胞 G₀/G₁ 期而使细胞周期进展加速,导致细胞增殖加快。但机制尚不清楚。

综上所述,作者认为 HBx 在部分 HBV-GN 表现为系膜增殖的病理改变的患者中可能起到了一定的作用。因为 HBx 可以上调 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的表达^[15],而这些细胞因子与系膜增殖有密切关系,它可能通过诱导系膜细胞表达 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 增高,TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 通过自分泌或旁分泌作用于系膜细胞,导致系膜细胞增殖。虽然目前还不清楚 HBx 通过哪种途径使系膜细胞表达 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 增加,但本研究结果表明 HBx 可促进体外培养系膜细胞增殖和上调 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的表达。HBx 导致系膜细胞增殖的作用可能通过上调系膜细胞 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 表达而实现。

参考文献:

[1] 陈楠,王朝晖,任红,等.肾组织中乙型肝炎病毒 DNA 和 RNA 的存在及其意义[J].中华医学杂志,2001,81(21):1309-1312.
[2] Han SH. Extrahepatic manifestation of chronic hepatitis B [J]. Clin Liver Dis,2004,8(2):403-418.

[3] Wang SN,Wu ZL,Zhang YE,et al. Existence and significance of hepatitis B virus DNA in kidneys of IgA nephropathy[J]. World J Gastroenterol,2005,11(5):712-716.
[4] Wu SH,Lu C,Dong L,et al. Lipoxin A4 inhibits TNF- α -induced production of interleukins and proliferation of rat mesangial cells[J]. Kidney Int,2005,68(1):35-46.
[5] Hrvacevic R,Dimitrijevic D,Spasic P,et al. Interleukin-1 beta in patients with primary immunocomplex glomerulonephritis[J]. Vojnosanit Pregl,2001,58(1):33-38.
[6] Zhang JL,Zhao WG,Wu KL,et al. Human hepatitis B virus X protein promotes cell proliferation and inhibits cell apoptosis through interacting with a serine protease Hepsin[J]. Arch Virol,2005,150(4):721-741.
[7] Timoshanko JR,Sedgwick JD,Holdsworth SR,et al. Intrinsic renal cells are the major source of tumor necrosis factor contributing to renal injury in murine crescentic glomerulonephritis[J]. J Am Soc Nephrol,2003,14(7):1785-1793.
[8] Karkar Am,Smith J,Pusey CD. Prevention and treatment of experimental crescentic glomerulonephritis by blocking tumor necrosis factor-alpha[J]. Nephrol Dial Transplant,2001,16(3):518-524.
[9] Little MA,Bhargal G,Smyth CL,et al. Therapeutic effect of anti-TNF-alpha antibodies in an experimental model of anti-neutrophil cytoplasm antibody-associated systemic vasculitis[J]. J Am Soc Nephrol,2006,17(1):160-169.
[10] Booth A,Harper L,Hammad T,et al. Prospective study of TNF-alpha blockade with infliximab in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated systemic vasculitis[J]. J Am Soc Nephrol,2004,15(3):717-721.
[11] Timoshanko JR,Kitching AR,Iwakura Y,et al. Contributions of IL-1beta and IL-1alpha to crescentic glomerulonephritis in mice[J]. J Am Soc Nephrol,2004,15(4):910-918.
[12] Kim JS,Rho BY,Lee TH,et al. The interaction of hepatitis B virus X protein and protein phosphatase type 2 C α and its effect on IL-6[J]. Bioch Biophys Res Commun,2006,351(1):253-258.
[13] Cooker LA,Peterson D,Rambow J,et al. TNF-alpha, but not IFN-gamma, regulates CCN2 (CTGF), collagen type I, and proliferation in mesangial cells: possible roles in the progression of renal fibrosis [J]. Am J Physiol Renal Physiol,2007,293(1):F157-F165.
[14] 孙玮,胡和平. HBx 的研究进展[J]. 山东医药,2007,47(27):166-167.
[15] 王静,蒋永林,余敏君,等. HBV X 蛋白即时高表达上调巨噬细胞分泌 TNF- α 和 IL-1 β [J]. 中国免疫性杂志,2007,23(9):785-788.