

## 干扰素- $\alpha$ 诱导 HepG<sub>2</sub> 2.2.15 细胞 APOBEC3G 的表达及其机制

王鲁文<sup>1</sup>, 陈 辉<sup>1,2</sup>, 褚小刚<sup>1,2</sup>, 严少南<sup>1</sup>, 龚作炯<sup>1</sup>

(1 武汉大学人民医院 武汉大学病毒学国家重点实验室, 湖北 武汉 430060; 2 湖北省疾病预防控制中心, 湖北 武汉 430079)

**[摘 要]** **目的** 探讨干扰素(IFN)- $\alpha$  刺激 HepG<sub>2</sub> 2.2.15 细胞后,对载脂蛋白 B mRNA 编辑酶催化多肽样 3G (apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide-like 3G, APOBEC3G)表达的影响,以及初步探讨 Janus 激酶-信号传导和转录激活子(JAK-STAT)信号通道是否参与 APOBEC3G 基因转录调控。**方法** 对 HepG<sub>2</sub> 2.2.15 细胞给予不同剂量(0、1、10<sup>1</sup>、10<sup>2</sup>、10<sup>3</sup>、10<sup>4</sup> U/mL)IFN- $\alpha$  刺激 8 h 时,以及 10<sup>3</sup> U/mL IFN- $\alpha$  刺激 2、4、6、8、10、12 h 时,收集细胞或培养上清液。应用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)及 Western blot 检测 HepG<sub>2</sub> 2.2.15 细胞 APOBEC3G、STAT-1 mRNA 及蛋白的表达水平。应用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测细胞培养上清液中乙型肝炎表面抗原与 e 抗原(HBsAg 与 HBeAg)水平,应用实时荧光定量 PCR 及 RT-PCR 分别检测上清液中 HBV DNA 水平以及细胞中 HBV mRNA 水平。**结果** 无 IFN- $\alpha$ (0 U/mL)刺激时,HepG<sub>2</sub> 2.2.15 细胞 APOBEC3G 表达水平很低。随着 IFN- $\alpha$  浓度的升高,APOBEC3G mRNA 及蛋白水平逐步升高,IFN- $\alpha$  浓度为 10<sup>4</sup> U/mL 时,APOBEC3G 表达量最高,并且 STAT-1 分子 mRNA 及蛋白的表达量亦逐步升高,与 APOBEC3G 表达量呈现平行相关。随着 IFN- $\alpha$  刺激时间的延长,APOBEC3G 表达量明显升高,8 h 时达到最高,其后逐渐下降。10<sup>4</sup> U/mL IFN- $\alpha$  刺激 8 h 时,HepG<sub>2</sub> 2.2.15 细胞培养上清液中 HBsAg、HBeAg、HBV DNA 及细胞中 HBV mRNA 水平均明显低于无 IFN- $\alpha$  刺激的 HepG<sub>2</sub> 2.2.15 细胞。**结论** IFN- $\alpha$  能诱导 HepG<sub>2</sub> 2.2.15 细胞表达 APOBEC3G,在一定范围内,APOBEC3G 的表达与 IFN- $\alpha$  的剂量、作用时间呈正相关;IFN- $\alpha$  诱导 APOBEC3G 的表达可能是其发挥抗病毒作用的机制之一;IFN- $\alpha$  是否经 JAK-STAT 信号通道刺激 APOBEC3G 的表达,二者之间的关系及其机制尚待进一步研究。

**[关键词]** 载脂蛋白 B mRNA 编辑酶催化多肽样 3G;干扰素- $\alpha$ ;HepG<sub>2</sub> 2.2.15 细胞;STAT-1;肝炎,乙型

**[中图分类号]** R512.6<sup>+</sup>2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2009)03-0155-05

### Expression of APOBEC3G induced by interferon-alpha in HepG<sub>2</sub> 2.2.15 cells

WANG Lu-wen<sup>1</sup>, CHEN Hui<sup>1,2</sup>, CHU Xiao-gang<sup>1,2</sup>, YAN Shao-nan<sup>1</sup>, GONG Zuo-jiong<sup>1</sup> (1 State Key Laboratory of Virology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China; 2 Disease Prevention and Control Center of Wuhan, Wuhan 430079, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the effects of interferon-alpha (IFN- $\alpha$ ) on apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide-like 3G (APOBEC3G) expression by stimulating HepG<sub>2</sub> 2.2.15 cells with IFN- $\alpha$ , and to preliminarily investigate whether Janus kinase-signal transduction and activators of transcription (JAK-STAT) signal pathway participates in the regulation of APOBEC3G gene transcription. **Methods** HepG<sub>2</sub> 2.2.15 cells were treated with various concentrations of IFN- $\alpha$  (0, 1, 10<sup>1</sup>, 10<sup>2</sup>, 10<sup>3</sup>, 10<sup>4</sup> U/mL) for 8 hours, or with IFN- $\alpha$  of 10<sup>3</sup> U/mL for 2, 4, 6, 8, 10, 12 hours. In the above-mentioned time, cells or cultural supernatants were collected. The mRNA and protein expression levels of APOBEC3G and STAT-1 in HepG<sub>2</sub> 2.2.15 cells were detected by real-time fluorescent quantitation RT-PCR and Western-blot respectively. The levels of HBsAg and HBeAg in the cultural supernatant of HepG<sub>2</sub> 2.2.15 cells were detected by ELISA. The levels of HBV DNA in supernatant and HBV mRNA in cells were determined by real-time PCR and RT-PCR respectively. **Results** The expression level of APOBEC3G was very low in HepG<sub>2</sub> 2.2.15 cells untreated with IFN- $\alpha$  (0 U/mL). With the rising of IFN- $\alpha$  concentration,

**[收稿日期]** 2008-11-29

**[基金项目]** 国家自然科学基金(30671876)

**[作者简介]** 王鲁文(1975-),男(汉族),湖北省武汉市人,主治医师,主要从事乙型肝炎发病机制及抗病毒治疗研究。

**[通讯作者]** 龚作炯 E-mail: zjgong@163.com

APOBEC3G mRNA and protein level rose progressively. When IFN- $\alpha$  concentration was  $10^4$  U/mL, the expression level of APOBEC3G was the highest. Moreover, the expression level of STAT-1 mRNA and protein also rose progressively, which appeared with APOBEC3G expression amount parallelly and relevantly. With the extension of time with IFN- $\alpha$  stimulation, APOBEC3G expression level rose obviously, which reached the highest at the 8 hours, and thereafter dropped gradually. When IFN- $\alpha$  of  $10^4$  U/mL stimulated 8 hours, the level of HBsAg, HBeAg, HBV DNA in cultural supernatant and the level of HBV mRNA in HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 cells were obviously lower than the cells untreated with IFN- $\alpha$ . **Conclusion** IFN- $\alpha$  can induce HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 cells to express APOBEC3G. Within the certain limits, APOBEC3G expression presents positive correlation with IFN- $\alpha$  dosage and action time. The expression of APOBEC3G induced by IFN- $\alpha$  may be one of antiviral mechanisms of IFN- $\alpha$ . Whether JAK-STAT signal pathway participates in the expression of APOBEC3G induced by IFN- $\alpha$  need further study.

[**Key words**] APOBEC3G; interferon-alpha; HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 cell; STAT-1; hepatitis B virus

[Chin Infect Control, 2009, 8(3): 155 - 159]

载脂蛋白 B mRNA 编辑酶催化多肽样 3G (apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide-like 3G, APOBEC3G) 是人体固有免疫系统成员, 具有胞苷脱氨酶活性, 可使胞嘧啶(C)脱氨基变为尿嘧啶(U), 诱导病毒基因组发生碱基突变, 能抑制 vif 缺陷( $\Delta$ vif) 人免疫缺陷病毒(HIV)-1 的复制<sup>[1-2]</sup>。研究显示<sup>[3-6]</sup>, APOBEC3G 在体外还可抑制乙型肝炎病毒(HBV)复制, 但由于其在人肝组织中的表达水平很低, 故在肝细胞中如何发挥其抗 HBV 作用目前尚不清楚。干扰素(IFN)- $\alpha$  通过激活细胞的 IFN 激活基因, 编码合成多种抗病毒蛋白, 使病毒 mRNA 降解<sup>[7]</sup>。IFN- $\alpha$  虽广泛应用于慢性 HBV 感染的治疗, 但 IFN- $\alpha$  在肝细胞中抑制 HBV 复制的分子机制尚不十分清楚。本研究通过观察 IFN- $\alpha$  刺激 HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞后 APOBEC3G 表达的变化, 探讨 IFN- $\alpha$  对肝细胞中 APOBEC3G 表达的影响, 并初步探讨 Janus 激酶-信号传导和转录激活子(Janus kinase-signal transduction and activators of transcription, JAK-STAT) 信号通道是否参与 APOBEC3G 基因转录调控。

## 1 材料与方法

1.1 细胞培养及 IFN- $\alpha$  刺激 HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞为本室保存株, 该细胞株含有整合的 HBV DNA。在细胞培养过程中, 该细胞能持续、稳定地向培养液中分泌乙型肝炎表面抗原、e 抗原(HBsAg、HBeAg)及 HBV DNA。将 HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞株用含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100  $\mu$ g/mL 链霉素的 DMEM 培养液(Invitrogen 公司) 37 $^{\circ}$ C, 5%CO<sub>2</sub> 孵箱常规培养。接种 12 孔培养板, 在不同剂量 IFN- $\alpha$ (0、1、 $10^1$ 、 $10^2$ 、 $10^3$ 、 $10^4$  U/mL) 刺激 8 h

时, 以及在用  $10^3$  U/mL IFN- $\alpha$  刺激 2、4、6、8、10、12 h 时, 收集细胞或培养上清液进行以下检测。

1.2 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测 应用 Trizol 试剂(Invitrogen 公司)按说明书提取细胞总 RNA。逆转录反应体系为 25  $\mu$ L: RNA 2  $\mu$ L、Oligo(dT)<sub>15</sub> 引物 1  $\mu$ L、5 $\times$  反应缓冲液 5  $\mu$ L、10 mmol/L dNTP 1  $\mu$ L、50 U/ $\mu$ L RNasin 0.5  $\mu$ L、200 U/ $\mu$ L MMLV 逆转录酶 1  $\mu$ L、DEPC-H<sub>2</sub>O 14.5  $\mu$ L, 混匀后置 42 $^{\circ}$ C 孵育 1 h。以逆转录产物为模板, SYBR Green I 为荧光染料, GAPDH 为内参, 进行实时荧光定量 PCR 检测细胞 APOBEC3G、STAT-1、HBV mRNA 水平。APOBEC3G 引物(284 bp): 上游 5' - GCTGTGCTTCCTGGACGTGA - 3', 下游 5' - GGTGGTCCCAAAGGTGTCCC - 3'; STAT-1 引物(200 bp): 上游 5' - CGAAGAGCGACCAAAAACAG - 3', 下游 5' - TGCTGGAAGAGGAGGAAGGT - 3'; HBV 引物(294 bp): 上游 5' - CTTTCATCCTGCTGCTATG - 3', 下游 5' - CACTGAACAAATGGCAC - 3'; GAPDH 引物(238 bp): 上游 5' - TTCACCACCATGGAGAAGGC - 3', 下游 5' - GGCATGGACTGTGGTTCATGAG - 3'。PCR 反应体系为 20  $\mu$ L, 包括 cDNA 模板 1  $\mu$ L、10 $\times$  反应缓冲液 2  $\mu$ L、10 mmol/L dNTP 1  $\mu$ L、10  $\mu$ mol/L 引物各 0.5  $\mu$ L、5 U/ $\mu$ L Taq 酶 0.5  $\mu$ L、20 $\times$  SYBR Green I 1  $\mu$ L。PCR 循环参数: 94 $^{\circ}$ C 5 min 预变性; 随后 94 $^{\circ}$ C 50 s, 50 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 50 s, 共 35 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。数据由荧光定量 PCR 仪(Light Cycler, Roche) 自动收集, 计算机分析 Ct(Threshold Cycle) 值。用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  相对定量方法<sup>[8]</sup> 表示的是实验组相对于阴性对照组 APOBEC3G、STAT-1、HBV mRNA 水平的倍数。

1.3 Western blot 检测 12 孔培养板中的细胞用 200  $\mu$ L 预冷 PBS 冲洗 2 次,然后加 200  $\mu$ L 1 $\times$  SDS 上样缓冲液裂解细胞,100  $^{\circ}$ C 孵育 10 min,12 000 r/min 离心 5 min,取上清进行 12 %十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)。电泳后通过电转印将凝胶相中的蛋白质转移到硝酸纤维素薄膜上。TBS 溶液洗膜 2 次后,加入一抗(APOBEC3G 兔抗人多克隆抗体,Aviva Systems Biology 公司;或 STAT-1 鼠抗人单克隆抗体,Santa Cruz 公司)4  $^{\circ}$ C 过夜,换液洗膜后,加入二抗(辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 或羊抗鼠 IgG),室温 2 h,加 DAB/NiCl<sub>2</sub> 显色液,观察显色程度。以  $\beta$ -actin 蛋白作为对照。

1.4 HBsAg、HBeAg 和 HBV DNA 检测 10<sup>4</sup> U/mL IFN- $\alpha$  刺激 8 h 时,以无 IFN- $\alpha$ (0 U/mL)刺激的 HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞作为对照,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测细胞培养上清液中 HBsAg、HBeAg 水平,结果以阳性孔 A 值/阴性孔 A 值(P/N 值)表示。采用实时荧光定量 PCR 法检测培养上清液中 HBV DNA 水平。以上操作按试剂盒说明书进行。

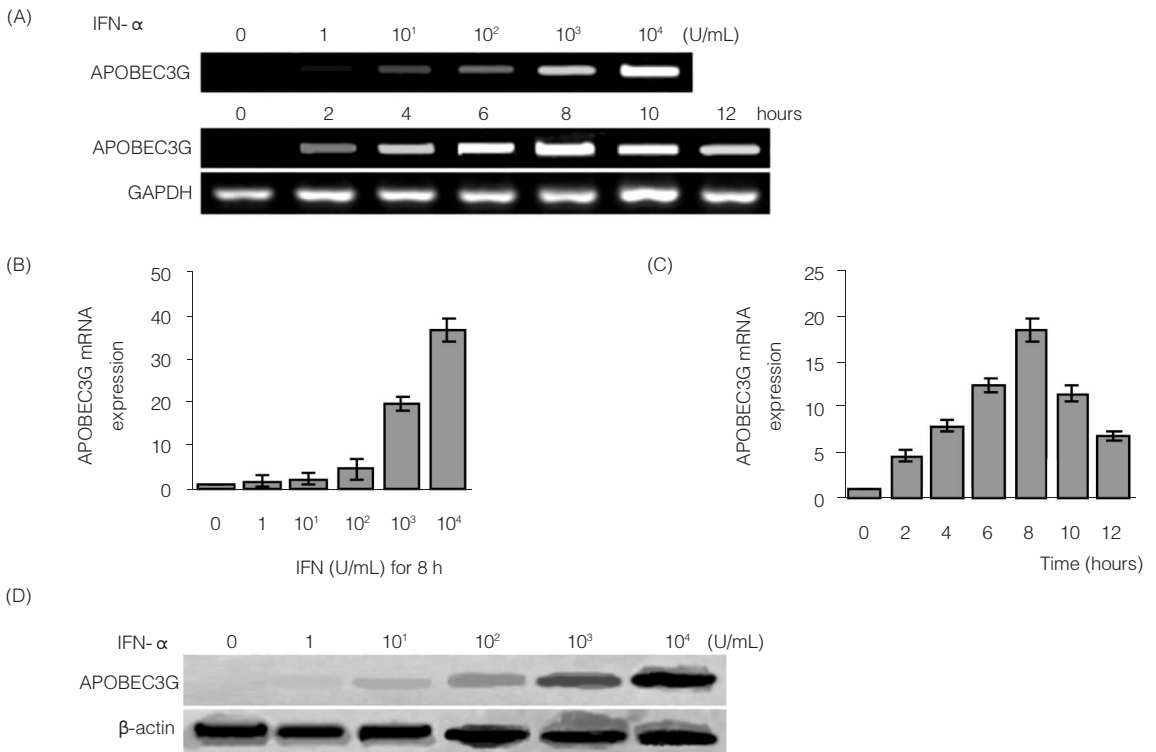
1.5 统计方法 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 *t* 检验,*P*<0. 05 表示有统计学意义。应用 SPSS 10. 0 统计学软件处理。

## 2 结果

2.1 HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞中 APOBEC3G 表达水平变化 定性及定量 RT-PCR 分析结果均显示,在无 IFN- $\alpha$ (0 U/mL)刺激的情况下,HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞内 APOBEC3G mRNA 水平很低,但在 10<sup>4</sup> U/mL 浓度 IFN- $\alpha$  刺激后,APOBEC3G mRNA 表达显著升高(约 36 倍)。随着 IFN- $\alpha$  浓度的升高,APOBEC3G mRNA 表达量也逐步升高,在浓度达到 10<sup>4</sup> U/mL 时,APOBEC3G mRNA 表达量达到最高,与浓度为 10<sup>3</sup> U/mL 时比较,差异有显著性(*t* = 12. 51,*P*<0. 01)。见图 1A 和 B。

随着 IFN- $\alpha$  刺激时间的延长,APOBEC3G mRNA 表达量明显升高,在 8 h 时达到最高值,与 6 h 时比较,差异有高度显著性(*t* = 9. 75,*P*<0. 01);其后 APOBEC3G mRNA 表达量逐渐下降,10 h 时与 6 h 时比较,差异无显著性(*t* = 1. 96, *P*>0. 05)。见图 1A 和 C。

Western blot 检测结果进一步显示,HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞经不同剂量 IFN- $\alpha$  诱导后,APOBEC3G 蛋白表达水平同样逐步增加,与 APOBEC3G mRNA 水平相平行。见图 1 D。



(A)HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞经不同剂量及不同时间 IFN- $\alpha$  刺激后,APOBEC3G mRNA RT-PCR 电泳图;(B)HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞在不同剂量(0、1、10<sup>1</sup>、10<sup>2</sup>、10<sup>3</sup>、10<sup>4</sup> U/mL)IFN- $\alpha$  刺激 8 h 时,APOBEC3G mRNA 荧光定量 RT-PCR 检测;(C)HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞在 10<sup>3</sup> U/mL IFN- $\alpha$  刺

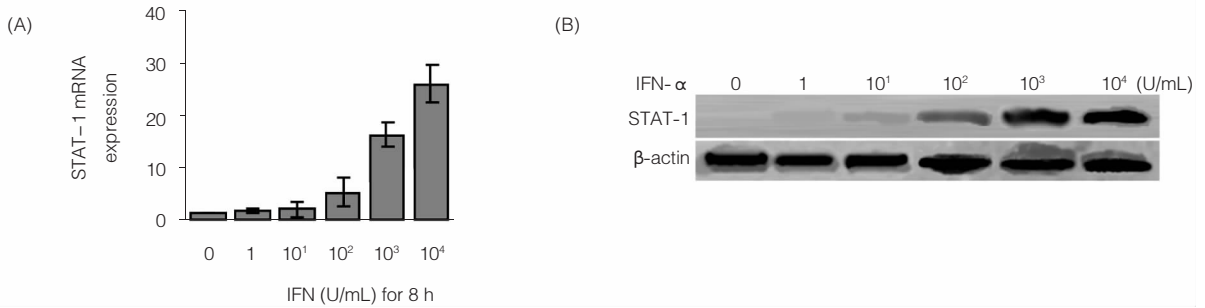
激 2、4、6、8、10、12 h 时 APOBEC3G mRNA 荧光定量 RT-PCR 检测；(D) HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞经不同剂量 IFN- $\alpha$  诱导后, APOBEC3G 蛋白表达的 Western blot 检测

图 1 IFN- $\alpha$  诱导 HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞 APOBEC3G 的表达

Figure 1 APOBEC3G expression in HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 cells in response to IFN- $\alpha$  stimulation

2.2 STAT-1 分子与 APOBEC3G 表达的关系  
定量 RT-PCR 及 Western blot 检测结果均显示, 随着 IFN- $\alpha$  浓度的升高, HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞中

STAT-1 分子 mRNA 及蛋白的表达量亦逐步升高, 与 APOBEC3G 表达量呈现平行相关。见图 2A 和 B。



(A) HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞经不同剂量 IFN- $\alpha$  诱导后, STAT-1 mRNA 荧光定量 RT-PCR 检测；(B) HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞经不同剂量 IFN- $\alpha$  诱导后, STAT-1 蛋白表达的 Western blot 检测

图 2 经 IFN- $\alpha$  刺激后, HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞中 STAT-1 的表达

Figure 2 STAT-1 expression in HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 cells after IFN- $\alpha$  stimulation

2.3 HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞中 HBV 复制表达水平的变化  
10<sup>4</sup> U/mL IFN- $\alpha$  刺激 8 h 时, HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞培养上清液中, HBsAg、HBeAg、HBV DNA 及 HBV mRNA 水平均明显低于无 IFN- $\alpha$  刺激的

HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞 (*t* 分别为 123. 97、62. 88、20. 20 及 10. 12, 均 *P* < 0. 01)。提示 IFN- $\alpha$  明显抑制了 HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞中 HBV 的复制与表达。见表 1。

表 1 HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞中 HBV 复制表达水平的变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Changes of levels of HBV replication and expression in HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 cells ( $\bar{x} \pm s$ )

HepG <sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞	HBsAg(P/N 值)	HBeAg(P/N 值)	HBV DNA (lg 拷贝/mL)	HBV mRNA (2 <sup>-<math>\Delta\Delta C_t</math></sup> 值)
0 U/mL IFN- $\alpha$ 刺激 8 h	5. 92 $\pm$ 0. 05	10. 44 $\pm$ 0. 16	6. 32 $\pm$ 0. 15	1. 00
10 <sup>4</sup> U/mL IFN- $\alpha$ 刺激 8 h	2. 37 $\pm$ 0. 04	5. 41 $\pm$ 0. 08	3. 45 $\pm$ 0. 28	0. 41 $\pm$ 0. 13

### 3 讨论

本研究结果显示, HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞经 IFN- $\alpha$  刺激后, 细胞内 APOBEC3G 的表达上调, 并且在一定范围内, APOBEC3G 的表达与 IFN- $\alpha$  的剂量、作用时间呈正相关。这与 Tanaka 和 Bonvin 研究结果相似<sup>[9-10]</sup>。提示在正常情况下, 肝细胞可能不表达 APOBEC3G, 或者表达量相对较低, 然而在 HBV 感染过程中, 如在细胞因子的影响下可诱导 APOBEC3G 的产生。

HBV 转基因小鼠模型中, 研究证实 IFN- $\alpha$  具有抑制 HBV 复制的作用, 认为 IFN- $\alpha$  可能通过抑制 HBV 核心颗粒的组装及 HBV 增强子的功能而抑制 HBV 的复制<sup>[11-12]</sup>。本研究结果显示, IFN- $\alpha$  明显抑制了 HepG<sub>2</sub> 2. 2. 15 细胞中 HBV 的复制与表达, 同时增强了 APOBEC3G 的表达。而有研究证实 APOBEC3G 亦具有抑制 HBV 复制的作用<sup>[3-6]</sup>, 提示 IFN- $\alpha$  可以通过诱导 APOBEC3G 的表达上调发挥抗 HBV 效应, 这可能是 IFN- $\alpha$  抗病毒作用的机制之一。

JAK-STAT 信号传导系统是 IFN 介导的信号传导和转录激活的主要方式。STAT-1 是 JAK-

在瞬时转染或稳定表达 HBV 的细胞系以及

STAT 信号传导途径中的关键分子,起着分子信使的作用。STAT-1 初始以非活化单体形式存在于细胞质中。当 IFN- $\alpha$  与受体结合后,STAT-1 的 701 位酪氨酸残基被磷酸化形成二聚体而移入核内。在细胞核内,STAT-1 二聚体结合到调节基因启动子的特异性靶位点,转录激活 IFN 刺激基因(ISG),如双链 RNA 依赖的蛋白激酶(PKR)、MxA 蛋白、2', 5'寡聚腺苷酸合成酶等抗病毒蛋白的表达,通过抑制病毒 mRNA 和蛋白质合成等途径产生抗病毒效应<sup>[13]</sup>。本研究结果显示,IFN- $\alpha$  诱导 HepG2 2. 2. 15 细胞内 APOBEC3G 表达上调的同时,STAT-1 分子 mRNA 及蛋白的表达量亦逐步升高,与 APOBEC3G 表达量呈现平行相关。这是否提示 IFN- $\alpha$  可能经 JAK-STAT 信号通道刺激 APOBEC3G 的表达,本实验尚不能完全确定,二者之间的关系及其确切机制有待进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] Mangeat B, Turelli P, Caron G, *et al.* Broad antiretroviral defence by human APOBEC3G through lethal editing of nascent reverse transcripts [J]. *Nature*, 2003, 424(6944): 99-103.
- [2] Lecossier D, Bouchonnet F, Clavel F, *et al.* Hypermutation of HIV-1 DNA in the absence of the Vif protein [J]. *Science*, 2003, 300(5622): 1112.
- [3] Turelli P, Mangeat B, Jost S, *et al.* Inhibition of hepatitis B virus replication by APOBEC3G [J]. *Science*, 2004, 303(5665): 1829.
- [4] Rosler C, Kock J, Malim M H, *et al.* Comment on "Inhibition of hepatitis B virus replication by APOBEC3G" [J]. *Science*,

2004, 305(5689): 1403a.

- [5] Turelli P, Jost S, Mangeat B, *et al.* Response to comment on inhibition of hepatitis B virus replication by APOBEC3G [J]. *Science*, 2004, 305(5689): 1403b.
- [6] Noguchi C, Hiraga N, Mori N, *et al.* Dual effect of APOBEC3G on hepatitis B virus [J]. *J Gene virol*, 2007, 88(Pt2): 432-440.
- [7] Kovarik P, Sauer I, Schaljo B. Molecular mechanisms of the anti-inflammatory functions of interferons [J]. *Immunobiology*, 2007, 212(9-10): 895-901.
- [8] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [9] Tanaka Y, Marusawa H, Seno H, *et al.* Anti-viral protein APOBEC3G is induced by interferon-alpha stimulation in human hepatocytes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 341(2): 314-319.
- [10] Bonvin M, Achermann F, Greeve I, *et al.* Interferon-inducible expression of APOBEC3 editing enzymes in human hepatocytes and inhibition of hepatitis B virus replication [J]. *Hepatology*, 2006, 43(6): 1364-1374.
- [11] Wieland S F, Vega R G, Muller R, *et al.* Searching for interferon-induced genes that inhibit hepatitis B virus replication in transgenic mouse hepatocytes [J]. *J Virol*, 2003, 77(2): 1227-1236.
- [12] Wieland S F, Eustaquio A, Whitten-Bauer C, *et al.* Interferon prevents formation of replication-competent hepatitis B virus RNA-containing nucleocapsids [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(28): 9913-9917.
- [13] Shang D, Liu Y, Ito N, *et al.* Defective Jak-Stat activation in renal cell carcinoma is associated with interferon-alpha resistance [J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(8): 1259-1264.

· 信息 ·

## 世界卫生组织六级流感警报

[美国《洛杉矶时报》4月29日文章]题:世界卫生组织如何给一种传染病定级

世界卫生组织用6个级别的流行病警报来评估新流感全球暴发的潜在危险。甲型H1N1流感的警告级别刚刚被提升到第5级。第一级:动物之间传播的病毒并没有报告引起人类的传染病。第二级:一种动物病毒以往曾经引发人类感染,而且现在被认为有潜在的大流行威胁。第三级:一种动物病毒或者人和动物混合病毒,已经引发了零星或者小规模疫情,但是这种病毒的传播并不容易。第四级:新病毒能够引发疫情持续的暴发,并且能自我变异在人类间传播。第五级:病毒已经在同一地区至少两个国家人际间传播,而且正在引起更大规模的疾病暴发。第六级:在世界至少两个地区内暴发疾病。这种流行病即将来袭。

世界卫生组织把甲型H1N1流感的警报级别提升到第五级,说明此病毒正在越来越快地适应人类间的传播。各国政府应该做好预防流行的计划并且增加对潜在病例的监控。