

丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS4B 抑制 IFN 介导的抗病毒反应

郑 义^{1,2}, 罗海波¹, 高 博², 黄来强^{1*}

(¹ 清华大学深圳研究生院生命科学部 深圳 518055)

(² 武汉大学生命科学院 病毒学国家重点实验室 武汉 430072)

摘 要 丙型肝炎病毒(Hepatitis C Virus, HCV)非结构蛋白 NS4B 的功能仍不很清楚。本实验旨在研究 NS4B 对干扰素介导的抗病毒反应的影响。建立稳定表达 NS4B 的细胞系后,用空斑实验研究 NS4B 在不同浓度的 IFN- α 下对水泡口炎病毒(VSV)的影响,利用代表 2308 个信号传导相关的基因的微点阵研究其对细胞基因表达的影响,和流式细胞仪分析 IFNGR1 的荧光强度。结果显示 HCV-NS4B 能微弱地抑制 IFN- α 介导的抗病毒反应,可能原因是 HCV-NS4B 抑制一些与免疫反应相关的基因的表达,特别是与 IFN- γ 信号传导有关的基因。因此,NS4B 对 HCV 耐受干扰素治疗起一定的作用。

关键词 丙型肝炎病毒;非结构蛋白 4B;空斑实验;DNA 微点阵

中图分类号:Q93 文献标识码:A 文章编号:0001-6209(2006)05-0802-05

丙型肝炎病毒(Hepatitis C Virus, HCV)是世界范围内的公共卫生问题,它是慢性肝炎、肝硬化和肝癌的主要致病因子。HCV 基因组是单链 RNA,长约 9.6kb,属于黄病毒科,编码一个长的多聚蛋白,该蛋白被宿主和病毒的蛋白酶裂解产生至少 10 个不同的产物,依次为结构蛋白 core, E1, E2, E3 和非结构蛋白 NS2-NS5B。在 HCV 编码的非结构蛋白中 NS4B 的功能了解较少,NS4B 蛋白编码 261 个氨基酸,高度疏水,含有至少 4 个跨膜区,是膜相关定位的蛋白^[1,2]。已有关于 NS4B 的相关报道:抑制翻译^[3,4],调节 NS5B RNA 依赖的 RNA 聚合酶活性^[5],引起细胞转化^[6],诱导细胞非折叠蛋白质反应(unfolded protein response, UPR)^[7]。Elazer 等报道 NS4B 调节膜的相关物、复制酶复合体蛋白和 HCV RNA 的正确定位^[8]。

目前,治疗 HCV 的方法为干扰素与病毒唑联合治疗,但仅 40% 的人显示有疗效,特别对 HCV-1 型疗效较差。干扰素治疗 HCV 失败的机制进行了一些研究,在四环素调节系统的全长 HCV 蛋白的表达显示抑制 IFN- α 诱导 jak-STAT 途径和 IFN- α 的抗病毒作用如 HCVE2 和 NS5A 能抑制 PKR 的活性^[9-11]; HCV 不同区域的二级结构也干扰干扰素的抗病毒作用^[12]。Keskinen 等报道 NS4B 单独表达显示较弱的抑制干扰素介导的抗病毒反应^[13],但其机理不明确。本实验探讨 HCV-NS4B 抑制干扰素介导的抗病毒反应的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料

表达载体 pcDNA3.1(-),脂质体 2000,购自 Invitrogen 公司,引物由上海生工公司合成,各种酶购自晶美公司,IFN- α , IFN- γ 和 G418 购自 Sigma 公司, HCV-NS4B 单克隆抗体由罗广湘教授惠赠(Kentucky University, USA),基因芯片由上海博亚基因芯片有限公司提供, VSV 病毒来自中国科学院武汉病毒研究所, Huh-7 和 HeLa 细胞来自武汉大学生命科学院病毒学国家重点实验室。

1.2 质粒构建

表达载体 pcDNA3.1(-)NS4B 的构建从 HCV-k 分离株中 PCR 扩增 HCV-NS4B 区域,然后与真核表达载体 pcDNA3.1(-)相连。pcDNA3.1(-)含有人细胞巨噬细胞病毒(CMV)早期启动子。HCV-NS4B 的 PCR 引物:5'-GGATCCTCTAGAACCATGGCTCAGCACTTACCGTAC-3'(划线处为 Xba I 酶切位点); antisense primer 5'-GAATTC AAGCTTTTAGCATGGAGTGGTACAC-3'(划线处为 Hind I 酶切位点)。PCR 产物经 Xba I 和 Hind I 酶切后,通过 T4 DNA 连接酶连接到 pcDNA3.1(-)载体上。用同样的方法构建 pEGFP-NS4B 质粒。

1.3 细胞培养和转染

HeLa 和 Huh-7 细胞培养在 DMEM pH7.4(含有 25mmol/L NaHCO₃, 10 μ L/mL 链霉素, 100 μ g/mL 青霉

* 通讯作者。Tel/Fax 86-755-26036052; E-mail: huanglq@sz.tsinghua.edu.cn

作者简介: 郑 义(1969-)男,湖北人,博士,研究方向为病原微生物学。Tel 86-755-21316900; E-mail: zhengyi1205@126.com

收稿日期: 2005-12-08; 接受日期: 2006-01-16; 修回日期: 2006-04-19

素 G 和 10% (V/V) 新生牛血清)。细胞在 37℃ 的 5% CO₂ 培养箱中培养。HeLa 和 Huh-7 细胞接种到含有 10% 新生牛血清的 35mm 平皿中, 每个孔中含有 3×10^5 细胞。培养 12h 后, 用脂质体 2000 转染 pcDNA3.1(-) pcDNA3.1(-) NS4B。对于稳定表达的 NS4B 的 HeLa 细胞系, 细胞培养到 1mg/mL G418 的培养基中, 直到单个克隆出现, 用 500 μ g/mL G418 维持。

1.4 Western blot 和免疫荧光分析

细胞在裂解液中进行裂解, 裂解液由 [0.3% NP40, 1mmol/L EDTA, 50mmol/L Tris-Cl (pH7.4), 2mmol/L EGTA, 1% TritonX-100, 150mmol/L NaCl, 25mmol/L NaF, 1mmol/L Na₃VO₃, 10 μ g/mL PMSF] 构成, 冰浴 30min, 12000 \times g 4℃ 离心 15min。SDS-PAGE 分离蛋白, 转 immobilon 膜。用抗 NS4B 单抗检测 HCV NS4B。对于转染了 pEGFP 和 pEGFP-NS4B 的细胞用荧光显微镜观测。

1.5 HCV-NS4B 抑制 IFN 介导的抗水泡口炎病毒 (VSV) 反应

稳定表达 HCV-NS4B 的 HeLa 细胞, 转染 pcDNA3.1(-) 和未转染质粒的 HeLa 细胞以每孔 1×10^4 细胞接种 24 孔细胞板, 待细胞汇合成 60% 时, 加不同浓度的 IFN- α 和 IFN- γ 预处理 24h 后, 以 MOI 为 1 和 50 的 VSV 感染细胞, 空斑试验参照文献 [13]。

1.6 基因芯片分析

将分别转染 pcDNA3.1(-) 和 pcDNA3.1(-) NS4B 的 HeLa 细胞经 RNA 质量鉴定后, 进行 2308 个信号传导的基因 cDNA 微点阵分析 (上海博亚基因芯片有限公司完成)。在分析时, 选择 cDNA 的标准为荧光信号超过其背景 3 倍。用几个看家基因进行归一化处理。关于芯片的重复性用自身杂交以及实验组与对照组多次重复, 然后用 Pearson 分布进行统计学处理。为了避免假阳性, 我们选择: 如 Cy5/Cy3 > 2.5, 则该基因被视为被诱导; 如 Cy3/Cy5 > 2.5 则该基因被视为被抑制。

1.7 细胞表达 IFN- γ 受体荧光强度分析

稳定表达 HCV-NS4B 的 HeLa 细胞, 转染 pcDNA3.1(-) 和未转染质粒的 HeLa 细胞以 5×10^5 细胞用含 1% BSA 和 0.1% 叠氮钠的 PBS 稀释 IFN- γ 受体单克隆抗体 (Santa Cruz Biotechnology, Inc.) 10 μ L (0.1mg/mL) 于 0℃ 孵育 30min 后, 用含 1% BSA 和 0.1% 叠氮钠的 PBS 洗两次, 再加 FITC 标记的羊抗小鼠的抗体于室温下孵育 15min, 用含 1% BSA 和

0.1% 叠氮钠的 PBS 洗两次, 最后将细胞重悬在 PBS 中, 用流式细胞仪分析荧光强度。

2 结果

2.1 NS4B 的检测

NS4B 的 Western blot 分析表明 HCV NS4B 在 Huh-7 和 HeLa 稳定细胞系中均有表达 (图 1)。我们建立了表达 HCV NS4B 的 HeLa 稳定细胞系。GFP 在 HeLa 细胞胞浆和胞核均有表达, 而 GFP-NS4B 融合蛋白仅在胞浆中表达, 表明 NS4B 在胞浆中表达 (图 1)。

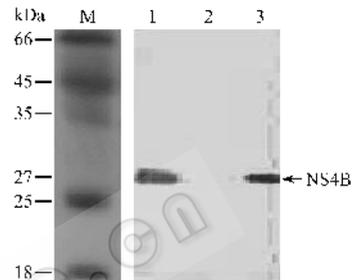


图 1 用 Western blot 分析 NS4B 在 HeLa 和 Huh-7 细胞的表达

Fig. 1 Expression of HCV-NS4B protein examined by immunoblot analysis. Cells lysates from cells transfected by pcDNA3.1(-) NS4B (lane 1, HeLa cells; lane 3, Huh-7 cells) and HeLa cells by pcDNA3.1(-) (lane 2).

2.2 VSV 空斑试验

从图 2 可以看出当 IFN- α 小于 100IU /mL 时, 对 VSV 病毒的抑制作用不明显, 但当 IFN- α 浓度大于 100 IU/mL, 对 VSV 有抑制作用, IFN- γ 能加强 IFN- α 的抗病毒作用。同对照相比在不同浓度和不同感染复数的条件下, NS4B 能微弱地抑制 IFN- α 介导的抗 VSV。

2.3 基因芯片的分析

为了分析 HCV-NS4B 抑制 IFN- α 介导的抗病毒反应, 用基因芯片技术分析 NS4B 对细胞基因表达的影响。微点阵的重复性分析是用同一份标本分别标记 Cy3 和 Cy5 再与探针进行杂交, 该实验重复多次, 然后进行统计学分析 (Pearson 相关系数的平方分析, 检测基因表达模式的相似性程度), 结果表明 R² 为 0.94 ~ 0.96, 即仅有 0.4% 的基因在第二次实验比第一次实验的表达相差 2 倍, 实验之间具有较高的重复性。

将实验组和对照组细胞中的总 RNA 的量调成一致, 再进行反转录对它们进行荧光素标记, 即来自转染 pcDNA3.1(-) HeLa 细胞的 cDNA 用 Cy3 标记,

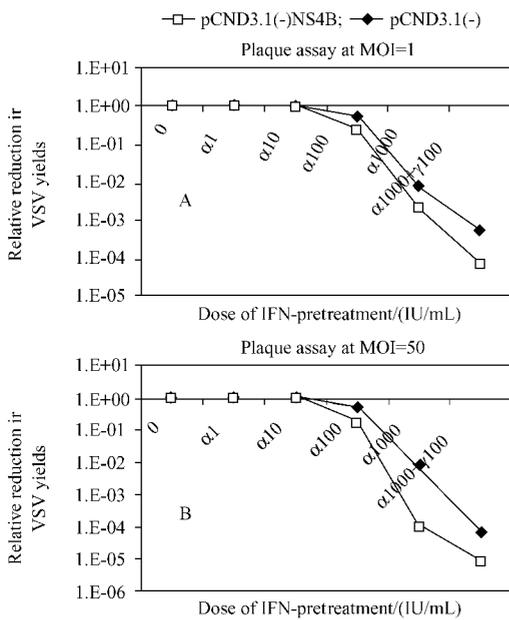


图2 空斑试验

Fig.2 Plaque assay. A: MOI = 1; B: MOI = 50. IFN- α and IFN- γ induced antiviral action in cells transfected with pCDNA3.1(-)NS4B or pCDNA3.1(-). Cells were cultured by stimulation with different doses of IFN- α , IFN- γ , or their combination as indicated in the figure (α and γ represented IFN- α and IFN- γ , respectively). After 24h cells were infected with VSV at an m. o. i. of 1 and 50. Cell culture supernatants were collected at 24h after infection and the amount of infectious VSV was analyzed in Vero cells by plaque titration assay. The results are shown as a relative reduction in VSV yields. The means (\pm se unit) from independent experiments are shown.

而来自转染 pCDNA3.1(-)NS4B HeLa 细胞的 cDNA 用 Cy5 标记, 将两者进行混合杂交, 扫描, 数据分析。结果显示(图3), 其中某点 $Cy5/Cy3 > 2.0$, 即该点靠近 Cy5 轴, 表明该基因上调; 如某点 $Cy3/Cy5 > 2.0$, 则该点靠近 Cy3 轴, 表明该基因下调, 如某点 $Cy5/$

$Cy3$ 在 0.5 ~ 2.0 之间, 表明该基因无显著性差异表达。

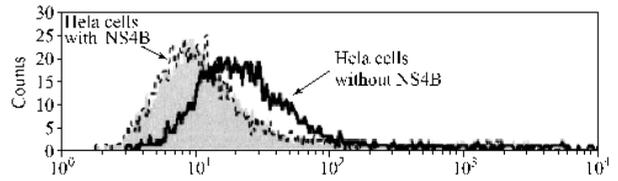


图3 IFN- γ 受体的荧光强度分析

Fig.3 The fluorescence intensity analysis of IFN- γ receptor.

2.4 表达差异的分析

为了避免错误, 我们将实验组和对照组荧光素强度的比值大于或等于 2.5 的基因视作差异表达。按照这一标准, 在我们研究的 2308 个信号途径相关的基因中, 总共有 90 个基因有差异表达, 其中 34 个基因上调(表1), 56 个基因下调(表2)。我们将 HCV-NS4B 与免疫反应有关的表达有差异的基因列表如下。从表中可以看出 HCV-NS4B 主要抑制宿主的免疫防御系统相关的基因。上调的基因中主要为细胞外的基质蛋白分子, DUSP1 则主要抑制 MAP 激酶的活性。下调的基因同上调的基因相比, 主要涉及的是与细胞防御功能相关的基因, 补体, 白介素的受体, 特别是 LIFR, IL-10RA, IL-7R, IFNGR1 等; 激酶 JAN2 和 MEKK1 也与细胞的防御功能相关。

2.5 IFN- γ 受体的荧光强度

为了进一步证明微点阵的结果, 分析稳定表达 NS4B 和稳定转染 pCDNA3.1(-)质粒的 HeLa 细胞上的 IFN- γ 受体的荧光强度, 结果显示(图版 II) 稳定表达 NS4B 的 HeLa 细胞上的 IFN- γ 受体的荧光强度较稳定转染 pCDNA3.1(-)质粒的 HeLa 细胞上的少 20% 左右, 这证实了微点阵分析的结果。

表1 上调的基因

Table 1 Up-regulated genes

| Category accession | Gene name | Average ratio | Function |
|--------------------------------------|--|---------------|---|
| Cytokines, complements and receptors | | | |
| NM004431 | EphA2 (EphA2) | 2.676 | mediate developmental events |
| NM007098 | Catenin | 4.885 | associated Wnt pathway |
| NM002499 | Neogenin homolog 1 | 3.829 | — |
| NM000638 | Vitronectin | 4.360 | cell adhesion and spreading and inhibit the membrane damage |
| NM007098 | Clathrin | 4.885 | the main structural protein of the polyhedral lattice |
| NM002997 | Syndecan 1 (SDC1) | 5.159 | a receptor for the extracellular matrix |
| Kinase, phosphatase and adaptor | | | |
| NM032454 | Serine/threonine kinase 19 (STK19) | 2.573 | — |
| NM004417 | Dual specificity phosphatase 1 (DUSP1) | 4.456 | suppress the activation of MAP kinase |
| NM005498 | Adaptor related protein complex1 | 5.029 | interacting with tyrosine based sorting signals |

Functions indicated for the genes with official names that were up-regulated were summarized from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>

表 2 下调的基因

Table 2 Down-regulated genes

| Category | accession | Gene name | Average ratio | Function |
|--------------------------------------|-----------|---|---------------|---|
| Cytokines, complements and receptors | | | | |
| | NM000358 | Transforming growth factor, beta-induced | 0.081 | associated with fibrosis |
| | NM002310 | Leukemia inhibitory factor receptor (LIFR) | 0.088 | receptor of LIF |
| | NM005666 | H factor (complement)-like 3 (HFL3) | 0.109 | serum protein related to complement factor H |
| | NM003182 | Tachykinin, precursor1 (substance K) | 0.109 | immune regulatory activities within CNS |
| | NM001558 | Interleukin 10 receptor, alpha (IL10RA) | 0.111 | inhibits the synthesis of proinflammatory cytokines |
| | D50683 | TGF-beta II R alpha | 0.146 | associated with fibrosis |
| | NM006206 | Platelet-derived growth factor receptor (PDGFR) | 0.169 | a cell surface tyrosine kinase receptor |
| | NM002185 | Interleukin 7 receptor (IL7R) | 0.199 | a receptor for IL-7 |
| | NM003467 | Chemokine (C-X-C motif), receptor | 0.219 | A coreceptor with CD4 for HIV-1 |
| | NM002260 | Killer cell lectin-like receptor subfamily C | 0.214 | the regulation of NK cell function |
| | NM000064 | Complement component 3 (C3) | 0.320 | A central role in the activation of complement system |
| | NM000416 | Interferon gamma receptor 1 (IFNGR1) | 0.355 | the ligand-binding chain of IFNR |
| | NM000576 | Interleukin 1, beta (IL1B) | 0.359 | cell proliferation, differentiation, and apoptosis |
| | NM004356 | CD81 antigen | 0.399 | regulation of development, activation, growth |
| | NM003236 | Transforming growth factor, alpha | 0.375 | associated with fibrosis |
| | NM002508 | Nidogen (NID) | 0.197 | component of basement membrane zones |
| | Y10183 | MEMD protein | 0.247 | A new cell adhesion molecule |
| Kinase | | | | |
| | NM004972 | Janus kinase 2 (JAK2) | 0.299 | a member of JAK family |
| | AF042838 | MEK kinase 1 (MEKK1) | 0.367 | A member of MAPK pathway |

Functions indicated for the genes with official names that were down-regulated were summarized from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>

3 讨论

尽管有一些 HCV-NS4B 功能的报道,但其确切功能仍不清楚^[14]。我们的结果显示 HCV-NS4B 能微弱地抑制 IFN- α 介导的抗 VSV 反应,IFN- γ 能加强 IFN- α 的抗病毒作用。然后用 DNA 微点阵技术研究 HCV-NS4B 能微弱地抑制 IFN- α 介导的抗 VSV 反应的机制。我们的资料显示 NS4B 抑制许多细胞因子受体,补体的表达,如转化生长因子(TGF),白血病抑制因子受体(LIFR),EphA2,白介素 10 受体(IL-10R),白介素 7 受体(IL-7R),IFN- γ 受体(IFNGR)和补体,例如补体 C3 和 K 物质。IFN- α 联合病毒唑是目前对部分 HCV 治疗的有效方法。Bigger 报道用 DNA 微点阵分析黑猩猩清除急性感染 HCV 的肝脏,其中基因表达最显著的是许多干扰素反应基因(包括所有 3 条经典的干扰素抗病毒途径)^[15]。我们的资料没有显示 NS4B 抑制与 IFN- α 有关的效应分子,如 PKR, Mx 蛋白, RnaseL 的表达。IFN- γ 是多潜能的细胞因子,其主要生物学效用通过 STAT1 和 STAT3 途径起作用^[16],如果 IFN- γ 受体缺陷将显著地导致 HLAII 的表达减少,细胞信号的抑制以及抗病毒的缺陷,在人类纤维肉瘤细胞表达突变的 JAK2 也能观测到类似于 IFN- γ 受体缺陷时所发生的现象^[17];IFN- γ 受体缺陷的点突变将引起严重的免疫缺陷^[18]。HCV 的清除与在肝中 IFN- γ

和 TNF- α 以及 T 细胞标记表达增多相关^[19]。NS4B 减少 IFNGR 的表达,这可能为 HCV 治疗和清除早期病毒失败的原因之一。此外,结果显示 JAK2 和 MEKK1 下调,NS4B 可能损害 JAK-STAT 途径,该途径与干扰素的产生紧密相关。双特异性磷酸酶 1 (DUSP1)被上调,在结构上具有与非受体型蛋白酪氨酸磷酸酶家族相似的特征,同时在氨基酸序列上与 Tyr/Ser 蛋白磷酸酶相似。DUSP1 能特异地在体外使 MAP 激酶失活,进而抑制 IFN 的产生^[20]。IL-10R 在结构上与干扰素受体相关,它介导白介素 10 的免疫抑制信号,因而抑制前炎症细胞因子的合成。TIMP1 类似 IL-10,其表达也被抑制,而 MMP-1 被诱导。补体 C3、S 和 K 的表达水平下调。Block 已系统地比较了慢性丙肝病人血清的蛋白质组,根据人血清的蛋白质组的不同来判断疾病的状况。他们发现各种起源于肝的多肽随着疾病的进展而下降,包括补体,脂蛋白异构体以及肝球蛋白^[21]。根据我们的资料,我们推测 NS4B 抑制 α -IFN 介导的抗病毒反应可能与 NS4B 抑制免疫反应相关的基因的表达有关,特别是 IFN- γ 受体基因, JAK, IL-10RA 基因。

参 考 文 献

- [1] Hogle TF, Fehrmann E, Bieck M, et al. The hepatitis C virus nonstructural protein 4B is an integral endoplasmic reticulum membrane protein. *Virology*, 2001, **284**: 70-81.

- [2] Lundin M , Monne M , Widell A , *et al.* Topology of the membrane-associated hepatitis C virus protein NS4B. *J Virol* ,2003 ,**77** :5428 – 5438.
- [3] Florese RH , Nagano-Fujii M , Iwanaga Y ,*et al.* Inhibition of protein synthesis by the nonstructural proteins NS4A and NS4B of hepatitis C virus. *Virus Res* ,2002 ,**90** :119 – 131.
- [4] Kato J , Kato N , Yoshida H , *et al.* Hepatitis C virus NS4A and NS4B proteins suppress translation in vivo. *J Med Virol* ,2002 ,**66** :187 – 199.
- [5] Piccinini S , Varaklioti A , Nardelli M , *et al.* Modulation of the hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase activity by the non-structural (NS) 3 helicase and the NS4B membrane protein. *J Biol Chem* ,2002 ,**277** :45670 – 45679.
- [6] Park JS , Yang JM , Min MK. Hepatitis C virus nonstructural protein NS4B transforms NIH3T3 cells in cooperation with the Ha-ras oncogene. *Biochem Biophys Res Commun* 2000 ,**267** :581 – 587.
- [7] 郑义高博景维等.丙型肝炎病毒NS4B诱导细胞非折叠蛋白反应(UPR). *中国病毒学* ,2005 ,**20**(4) :374 – 378.
- [8] Elazar M , Liu P , Rice CM ,*et al.* An N-terminal amphipathic helix in hepatitis C virus (HCV) NS4B mediates membrane association , correct localization of replication complex proteins , and HCV RNA replication. *J Virol* ,2004 ,**78** :11393 – 11400.
- [9] Tan SL , Katze MG. How hepatitis C virus counteracts the interferon response :The jury is still out on NS5A. *Virology* ,2001 ,**284** :1 – 12.
- [10] Taylor DR , Shi SI , Romano PR , *et al.* Inhibition of the interferon-inducible protein kinase PKR by HCV E2 protein. *Science* ,1999 ,**285** :107 – 110.
- [11] Podevin P , Sabile A , Gajardo R , *et al.* Expression of hepatitis C virus NS5A natural mutants in a hepatocytic cell line inhibits the antiviral effect of interferon in a PKR-independent manner. *Hepatology* 2001 ,**33** :1503 – 1511.
- [12] Martell M , Briones C , de Vicente A ,*et al.* Structural analysis of hepatitis C vVirus RNA genome using DNA microarrays. *Nucleic Acids Research* ,2004 ,**32**(11) :90.
- [13] Keskinen P , Krister M , Julkunan I. Expression of HCV structural protein impairs IFN-mediated antiviral response. *Virology* ,2002 ,**299** :164 – 171.
- [14] Bartenschlager R , Lohmann V. Replication of hepatitis C virus. *J Gen Virol* ,2000 ,**81** :1631 – 1648.
- [15] Bigger CB ,Brasky KM , Lanford RE. DNA microarray analysis of chimpanzee liver during acute resolving hepatitis C virus infection. *J Virol* ,2001 ,**75** :7059 – 7066.
- [16] Qing Y , Stark GR. Alternative activation of STAT1 and STAT3 in response to interferon-gamma. *J Biol Chem* ,2004 ,**279**(40) :41679 – 41685.
- [17] Costa-Pereira AP , Hermanns HM , Is' harc H , *et al.* Signaling through a mutant IFN-gamma receptor. *J Immunol* ,2005 ,**175**(9) :5958-5965.
- [18] Allende LM , Lopez-Goyanes A , Paz-Artal E , *et al.* A point mutation in a domain of gamma interferon receptor 1 provokes severe immunodeficiency. *Clin Diagn Lab Immunol* ,2001 ,**8**(1) :133 – 137.
- [19] Guiditti LG , Rochford R , Chung J , *et al.* Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science* ,1999 ,**284** :825 – 829.
- [20] Imasato A , Desbois-Mouthon C , Han J , *et al.* Inhibition of p38 MAPK by glucocorticoids via induction of MAPK phosphatase-1 enhances nontypeable Haemophilus influenzae-induced expression of toll-like receptor2. *J Biol Chem* ,2002 ,**277** :47444 – 47450.
- [21] Steel LF , Mattu TS , Mehta A , *et al.* A proteomic approach for the discovery of early detection markers of hepatocellular carcinoma. *Dis Marker* 2001 ,**17** :179 – 189.

Inhibition of IFN- γ receptor signaling by Hepatitis C Virus non-structural protein NS4B

ZHENG Yi^{1,2} , LUO Hai-bo¹ , GAO Bo² , HUANG Lai-qiang^{1*}

(¹ Department of Life Sciences ,Graduate School at Shenzhen , Tsinghua University , Shenzhen 518055 ,China)

(² State Key Laboratory of Virology , College of Life Sciences , Wuhan University , Wuhan 430072 , China)

Abstract :The function of NS4B is incompletely understood. The aim of the study is to understand the influence of NS4B on anti-viral response. After cell line stably expressing NS4B established , the influence of IFN- α of different concentration on VSV was studied using plaque assay ; cell expression profiling caused by NS4B was studied using DNA microarray , and the IFNGR1 fluorescence intensity was analyzed. Our data showed that HCV-NS4B could suppress immun-associated gene expression , in particular , IFN- γ receptor signal transduction-related genes. Taken together , NS4B could play some roles in HCV resistance to IFN therapy.

Keywords : Hepatitis C Virus ; Non-structural protein 4B ; DNA microarray

* Corresponding author. Tel/Fax 86-755-26036052 ;E-mail huanglq@sz.tsinghua.cn

Received : 8 December 2005/ Accepted : 16 January 2006/ Revised : 19 April 2006