

# HCMV-IE2 对果糖诱导的 *UL122* 转基因模型小鼠肝脏脂肪变性的影响

周晓琼 张现娟 王斌

(青岛大学基础医学院, 山东 青岛 266071)

**[摘要]** 目的 探讨人巨细胞病毒即刻早期蛋白 2(HCMV-IE2)对果糖诱导的 *UL122* 转基因模型小鼠肝脏脂肪变性的影响。方法 构建 *UL122* 转基因小鼠模型作为实验组,以同龄野生型小鼠作为对照组,以 60% 的高果糖饲料饲养 8 周,监测小鼠体质量、血糖的变化,并行葡萄糖耐量实验和胰岛素耐量实验后处死小鼠,测定小鼠血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(AST)水平以及肝脏组织中三酰甘油(TG)和总胆固醇(TC)水平;取小鼠肝脏组织行 HE 染色和油红 O 染色进行组织病理学观察;流式细胞术检测肝脏组织中巨噬细胞极化情况;RT-qPCR 和 Western blot 方法检测肝脏脂质合成相关基因 mRNA 和蛋白的表达水平。结果 与对照组相比,实验组小鼠体质量和空腹血糖水平明显升高( $F=12.78\sim 100.05, P<0.05$ ),出现了明显的糖耐量异常和胰岛素抵抗,GTT 和 ITT 曲线下面积明显增大( $t=3.25, 4.70, P<0.05$ ),血清中 ALT、AST 水平和肝脏中 TG、TC 水平显著增高( $t=4.52\sim 13.12, P<0.05$ )。实验组小鼠肝脏组织中 M1 型巨噬细胞比例明显升高,而 M2 型巨噬细胞比例明显下降( $t=4.81\sim 12.12, P<0.05$ ),肝脏脂质合成基因 *SREBP1c*、*ACC1*、*FAS* 和 *CD36* 的 mRNA 和蛋白表达水平均明显升高( $t=3.54\sim 9.96, P<0.05$ )。结论 HCMV-IE2 可能通过诱导肝脏中巨噬细胞 M1 型极化影响肝脏脂质代谢平衡,从而促进果糖诱导的非酒精性脂肪肝的进展。

**[关键词]** 非酒精性脂肪性肝病;果糖;小鼠,转基因;即早蛋白质类;葡糖耐受不良;胰岛素抵抗;巨噬细胞

**[中图分类号]** R575.5

**[文献标志码]** A

## Effect of human cytomegalovirus immediate-early protein 2 on hepatic steatosis induced by fructose in *UL122* transgenic model mice

ZHOU Xiaojiong, ZHANG Xianjuan, WANG Bin (School of Basic Medicine, Qingdao University, Qingdao 266071, China)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the effect of human cytomegalovirus immediate-early protein 2 (HCMV-IE2) on fructose-induced hepatic steatosis in *UL122* transgenic model mice. **Methods** The *UL122* transgenic mice were established as experimental group, and age-matched wild-type mice were established as control group. The mice were fed with high-fructose (60%) diet for 8 weeks, and the changes in body weight and blood glucose were monitored. After the glucose tolerance test and the insulin tolerance test were performed, the mice were sacrificed, and the serum levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were measured, as well as the levels of triglyceride (TG) and total cholesterol (TC) in the liver. Liver tissue was collected, and HE staining and oil red O staining were used to observe histopathological changes; flow cytometry was used to observe macrophage polarization in the liver; RT-qPCR and Western blot were used to measure the mRNA and protein expression levels of lipid synthesis-related genes in the liver. **Results** Compared with the control group, the experimental group had significant increases in body weight and fasting blood glucose level ( $F=12.78-100.05, P<0.05$ ) and significantly impaired glucose tolerance and insulin resistance, with significant increases in the area under the GTT and ITT curves ( $t=3.25, 4.70, P<0.05$ ). There were significant increases in the serum levels of ALT and AST and the levels of TG and TC in the liver ( $t=4.52-13.12, P<0.05$ ). The experimental group had a significant increase in the proportion of M1-type macrophages and a significant reduction in the proportion of M2-type macrophages in liver tissue ( $t=4.81-12.12, P<0.05$ ), as well as significant increases in the mRNA and protein expression levels of the lipid synthesis genes *SREBP1c*, *ACC1*, *FAS*, and *CD36* in the liver ( $t=3.54-9.96, P<0.05$ ). **Conclusion** HCMV-IE2 affects the balance of liver lipid metabolism by inducing M1 polarization of macrophages in the liver, thereby promoting the progression of fructose-induced nonalcoholic fatty liver disease.

**[KEY WORDS]** Non-alcoholic fatty liver disease; Fructose; Mice, transgenic; Immediate-early proteins; Glucose intolerance; Insulin resistance; Macrophages

人巨细胞病毒(HCMV)是双链 DNA 病毒,属疱疹病毒  $\beta$  亚科<sup>[1]</sup>。研究发现, HCMV 感染期间

机体脂肪酸生物合成增加<sup>[2]</sup>,可能与糖脂代谢障碍之间存在关联。

近几年来,非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)在人群中的患病率呈上升趋势,其原因可能与高糖(尤其是高果糖)饮食模

[收稿日期] 2023-09-19; [修订日期] 2023-11-05

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2018YFA0900802)

[通讯作者] 王斌, Email: wangbin532@126.com

式有关<sup>[3]</sup>。NAFLD 的主要危险因素为慢性轻度组织炎症<sup>[4]</sup>,肝脏是机体糖脂代谢的关键场所,肝内巨噬细胞的活化和招募直接导致胰岛素抵抗(IR),影响肝内糖脂代谢,促进 NAFLD 发展<sup>[5]</sup>。有研究显示,M2 型巨噬细胞向 M1 型巨噬细胞的转化对 IR 有促进作用<sup>[6]</sup>。转录组学显示 HCMV 感染可以上调与 M1 型巨噬细胞表型密切相关的基因<sup>[7]</sup>。

HCMV 即刻早期蛋白 2(HCMV-IE2)由病毒基因组中的 UL122 基因编码表达,是 HCMV 感染时关键蛋白,在对抗宿主免疫能力中发挥重要作用。IE2 蛋白功能的研究有助于深入了解 HCMV 感染相关疾病发病机制。前期研究表明在正常饮食的小鼠中 IE2 蛋白可以通过上调 SREBP1c 的表达促进肝脏脂滴的合成<sup>[8]</sup>,但在果糖摄入条件下的影响尚不明确。

HCMV 感染具有严格的种属特异性,所以至今尚未能成功构建感染 HCMV 的动物模型。本课题组前期成功构建了能稳定表达 IE2 蛋白的 UL122 转基因的小鼠模型<sup>[9]</sup>,本研究在该模型基础上,给予了模型小鼠 8 周高果糖饲料喂养,构建高果糖诱导的非酒精性脂肪肝模型,探讨 IE2 对小鼠肝脏脂肪变性的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要试剂

60%高果糖纯化饲料购自江苏美迪森生物医药有限公司;丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、三酰甘油(TG)和总胆固醇(TC)试剂盒购自南京建成生物工程研究所;PCR 引物购自上海生工生物工程有限公司;兔抗鼠单克隆抗体 Rabbit anti-ACC1、Rabbit anti-CD36 和 Rabbit anti-FASN 均购自武汉博士德生物工程有限公司;多克隆抗体 Rabbit anti-SREBP1c 购自成都正能生物技术有限公司;流式细胞术(FCM)检测使用的抗体 PE-Cy7-anti-F4/80、FITC-anti-CD11c 和 PC5.5-anti-CD206 购自美国 Biologend 公司。

### 1.2 实验动物及分组

C57BL/6 小鼠购自北京斯贝福生物技术有限公司,依据文献<sup>[9]</sup>的方法获得 UL122 转基因阳性小鼠。随机选取 6~8 周 UL122 转基因阳性雄性小鼠(实验组)和同龄野生型 C57BL/6 雄性小鼠(对照组)各 12 只,适应性喂饲 1 周后,开始造模,喂饲 60%高果糖饲料 56 d,每周定期测量小鼠体质量和血糖。

### 1.3 小鼠的葡萄糖耐量实验(GTT)和胰岛素耐量实验(ITT)

在造模的第 52 天,两组小鼠禁食 12 h 后,灌胃质量浓度 200 g/L 葡萄糖溶液,分别于灌胃后第 0、15、30、60、90、120 分钟时,从尾静脉取血 1~2  $\mu$ L,用血糖试纸条测定各时间点血糖浓度,并计算 GTT 曲线下面积。

在造模的第 55 天,两组小鼠禁食 4~6 h 后,腹腔注射胰岛素 0.75 U/kg,分别于注射后第 0、15、30、60、90、120 分钟时,从尾静脉取血 1~2  $\mu$ L,以血糖试纸测定各时间点血糖浓度,并计算 ITT 曲线下面积。

### 1.4 酶法检测小鼠血清中 ALT、AST 水平和肝组织中 TG、TC 水平

在造模后第 56 天,经腹腔注射戊巴比妥钠麻醉两组小鼠,摘眼球取血,室温静置 2 h,3 000 r/min 离心 10 min,收集小鼠血清,按试剂盒说明书方法检测血清中 ALT、AST 水平。脱颈处死两组小鼠,剖取小鼠肝脏,置于-80  $^{\circ}$ C 保存备用。称取新鲜肝脏组织,按照 1 mg 组织加入 20  $\mu$ L 裂解液比例,在冰浴条件下机械匀浆,根据试剂盒说明书要求检测组织中 TG、TC 的水平。

### 1.5 油红 O 染色和 HE 染色观察小鼠肝脏组织病理学变化

每组随机取 3 只小鼠肝脏中叶组织,以 40 g/L 多聚甲醛固定 24 h 后,分别进行油红 O 染色和 HE 染色,光学显微镜下观察两组小鼠肝脏组织病理学改变情况。

### 1.6 免疫组织化学染色和 FCM 检测小鼠肝脏组织巨噬细胞极化情况

每组随机取 3 只小鼠部分肝脏组织,在 40 g/L 多聚甲醛中固定 24 h。梯度乙醇脱水、透明、石蜡包埋、烤片、脱水,抗原修复后,用血清封闭 30 min,加一抗 F4/80(1:500),4  $^{\circ}$ C 下孵育过夜,PBS 洗涤后加相应二抗室温孵育 1 h,DAB 辣根过氧化物酶显色,封片,显微镜下观察。

每组随机取 3 只小鼠全部肝脏组织,200 目尼龙网上低温研磨新鲜肝脏组织,离心去除杂质及肝实质细胞,通过红细胞裂解液去除红细胞,以 40% Percoll 梯度分层,800 r/min 离心 5 min 后,收集肝脏单个核细胞并计数。取  $1 \times 10^6$  个细胞,同时加入相应细胞群的检测抗体:以 F4/80-PE-Cy7、CD11c-FITC 抗体标记 M1 型巨噬细胞,F4/80-PE-Cy7 和 CD206-PC5.5 抗体标记 M2 型巨噬细胞。随后避光

染色 30 min, PBS 洗涤重悬细胞后 200 目尼龙网过滤, 经 FCM 检测 M1 型和 M2 型巨噬细胞比例。

**1.7 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 方法检测各组小鼠肝脏组织当中的肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6 (IL-6)、IL-10、固醇调节元件结合蛋白 (SREBP1c)、脂肪酸合酶 (FAS)、乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC1) 和脂肪酸转运体 (CD36) 基因表达**

每组随机取 3 只小鼠部分肝脏组织, 用 Trizol 法提取小鼠肝脏总 RNA, 逆转录合成 cDNA, RT-qPCR 方法检测小鼠肝脏组织中 M1 型、M2 型巨噬细胞极化基因的 mRNA 表达, 引物序列详见表 1。RT-qPCR 的反应条件如下: 95 °C 预变性 30 s; 然后 95 °C 变性 10 s, 65 °C 退火 30 s, 共进行 40 个循环。以 GAPDH 作为内参基因, 目的基因的相对表达水平通过  $2^{-\Delta\Delta CT}$  计算。

表 1 引物名称及其序列

引物名称	序列	长度 (bp)
TNF- $\alpha$	F: 5'-CGCTCTTCTGTCTACTGAACTTCGG-3'	25
	R: 5'-GTGGTTTGTGAGTGTGAGGGTCTG-3'	24
IL-6	F: 5'-CTTCTTGGGACTGATGCTGGTGAC-3'	24
	R: 5'-TCTGTTGGGAGTGGTATCCTCTGTG-3'	25
IL-10	F: 5'-AGAGAAGCATGGCCAGAAATCAAG-3'	25
	R: 5'-CTTCACCTGCTCCACTGCCTTG-3'	22
SREBP1c	F: 5'-GGATGCGGCTGTTGTCTACCATAAG-3'	25
	R: 5'-CCAGGTTAGAAGCAGCAAGATGTCC-3'	25
FAS	F: 5'-TGCTTGCTGGCTCACAGTAAAGAG-3'	24
	R: 5'-TTTCACGAACCCGCCTCCTCAG-3'	22
ACC1	F: 5'-TTGAAGGCACAGTGAAGGCTTACG-3'	24
	R: 5'-TCCTGCTGATGTATTTGATGTTCTCC-3'	27
CD36	F: 5'-GCAGGTCTATCTACGCTGTGTTCC-3'	24
	R: 5'-TGTCGGATTCTGGAGGGTGAT-3'	23
GAPDH	F: 5'-CCAGCAAGGACACTGAGCAA-3'	20
	R: 5'-GCCCTCCTGTTATTATGGGG-3'	21

**1.8 Western blot 方法检测小鼠肝脏组织之中 SREBP1c、FASN、ACC1 和 CD36 蛋白的表达**

每组随机取 3 只小鼠部分肝脏组织, 用 RIPA 抽取总蛋白, 取蛋白样品行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 湿电转印至 PVDF 膜, 将 PVDF 膜在含体积分数为 0.05 的脱脂牛奶中封闭 2 h; 加入兔抗鼠 SREBP1c 多克隆抗体 (1 : 1 000)、兔抗鼠 FASN 单克隆抗体 (1 : 1 000)、兔抗鼠 ACC1 单克隆抗体 (1 : 1000)、兔抗鼠 CD36 单克隆抗体 (1 : 1 000), 于 4 °C 下孵育过夜; 以 TBST 溶液清洗后, 加入相应的羊抗兔二抗 (1 : 5 000), 室温下孵育 2 h; 洗膜, 以化学发光剂处理, 显影, 用 Image J 软件分析条带灰度值, 计算目的蛋白的相对表达量。

## 1.9 统计学处理

使用 Graphpad prism 5 和 SPSS 26 软件对数据进行整理和分析, 组间比较采用非配对的  $t$  检验和重复测量设计的方差分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 HCMV-IE2 对小鼠体质量、血糖和 IR 的影响

重复测量设计方差分析显示, 时间、组别及时间与组别交互作用对两组小鼠体质量及空腹血糖水平均有显著影响 ( $F_{\text{组别}} = 10.81 \sim 67.13$ ,  $F_{\text{时点}} = 93.80 \sim 154.50$ ,  $F_{\text{时点} \times \text{组别}} = 17.13 \sim 19.92$ ,  $P < 0.05$ ); 单独效应分析显示, 第 5 周以后, 实验组小鼠体质量明显大于对照组 ( $F = 12.78 \sim 45.00$ ,  $P < 0.05$ ), 见图 1A。第 6 周以后, 实验组小鼠空腹血糖水平明显高于对照组 ( $F = 36.89 \sim 100.05$ ,  $P < 0.05$ ), 见图 1B。在灌胃葡萄糖后, 实验组小鼠血糖水平较对照组小鼠明显升高, 对照组和实验组小鼠的 GTT 曲线下面积分别为  $2\ 100.66 \pm 279.65$ 、 $2\ 856.33 \pm 289.54$ , 两组比较差异有显著性 ( $t = 3.25$ ,  $P < 0.05$ ), 见图 1C。在腹腔注射胰岛素后, 与对照组小鼠比较, 实验组血糖水平下降幅度较小, 对照组和实验组的 ITT 曲线下面积分别为  $860.03 \pm 35.30$ 、 $1\ 082.00 \pm 73.72$ , 两组比较差异有显著性 ( $t = 4.70$ ,  $P < 0.01$ ), 见图 1D。

### 2.2 高果糖条件下 HCMV-IE2 对小鼠肝脏组织病理学的影响

HE 染色结果显示, 实验组小鼠肝脏组织出现大面积脂肪样空泡, 细胞核被挤向边缘; 对照组小鼠仅出现一些散在的、面积较小的空泡; 油红 O 染色结果显示, 实验组小鼠肝脏切面可见大面积的脂滴分布, 而对照组小鼠肝脏仅出现了大小不等的散在红色脂滴 (图 2)。实验组小鼠肝脏组织 TG、TC 水平和血清 ALT、AST 水平均显著高于对照组 ( $t = 4.52 \sim 13.12$ ,  $P < 0.01$ ), 见表 2。

表 2 两组小鼠肝脏组织 TG、TC 水平和血清 ALT、AST 水平比较 ( $n = 3, \bar{x} \pm s$ )

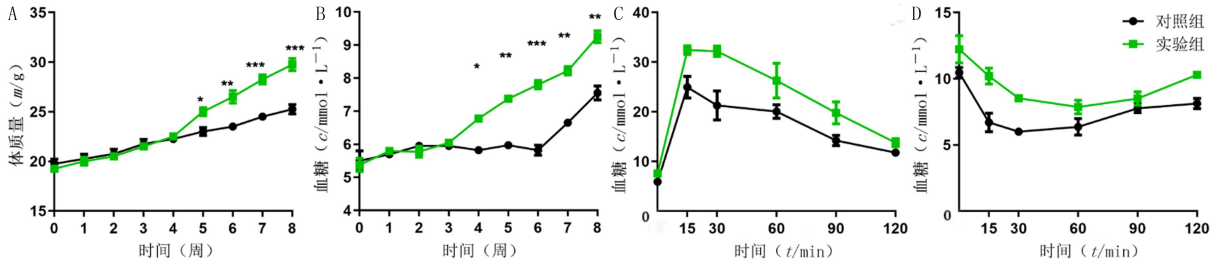
组别	肝脏 TG ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	肝脏 TC ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	血清 ALT ( $\text{z}/\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ )	血清 AST ( $\text{z}/\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ )
对照组	$51.42 \pm 10.74$	$12.79 \pm 2.69$	$88.07 \pm 10.59$	$254.21 \pm 18.42$
实验组	$142.63 \pm 6.41$	$23.84 \pm 3.26$	$196.50 \pm 34.18$	$349.73 \pm 22.23$

### 2.3 高果糖条件下 HCMV-IE2 对肝脏组织中巨噬细胞 M1/M2 型极化的影响

免疫组织化学染色结果显示, 实验组肝脏组织中巨噬细胞 (F4/80) 浸润明显多于对照组 (图 3)。

同时,FCM 和 RT-qPCR 检测结果显示,与对照组比较,实验组小鼠肝脏组织中 M1 型巨噬细胞的比例及相关标志物 *TNF- $\alpha$*  和 *IL-6* mRNA 的水平显

著增高( $t=4.87\sim 9.65, P<0.05$ ),而 M2 型巨噬细胞的比例及其相关标志物 *IL-10* mRNA 的水平显著降低( $t=4.81\sim 12.12, P<0.05$ ),见表 3。



A:造模期间两组小鼠的体重质量变化,B:造模期间两组小鼠的血糖变化,C:HCMV-IE2 对小鼠糖耐量的影响,D:HCMV-IE2 对小鼠胰岛素耐量的影响

图 1 HCMV-IE2 对小鼠血糖、体质量和 IR 的影响

表 3 两组小鼠肝脏巨噬细胞极化情况及其相关标志物水平比较( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

组别	M1 型巨噬细胞比例( $\%$ )	M2 型巨噬细胞比例( $\%$ )	<i>TNF-<math>\alpha</math></i> mRNA	<i>IL-6</i> mRNA	<i>IL-10</i> mRNA
对照组	2.21 $\pm$ 0.23	5.65 $\pm$ 0.48	8.51 $\pm$ 1.18	9.47 $\pm$ 1.38	7.72 $\pm$ 0.69
实验组	4.10 $\pm$ 0.10	2.93 $\pm$ 0.85	14.89 $\pm$ 1.41	35.47 $\pm$ 6.91	1.02 $\pm$ 0.36

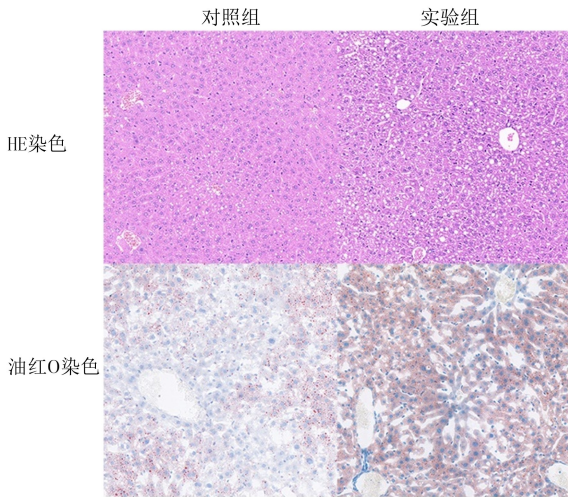


图 2 两组小鼠肝脏组织病理学变化(200 倍)

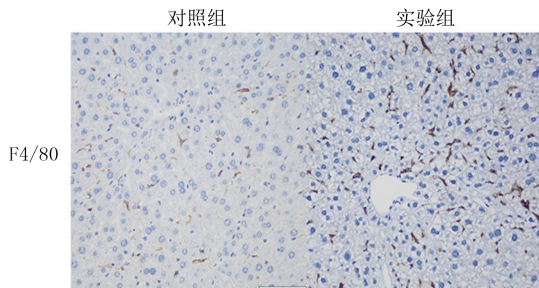


图 3 两组小鼠肝脏组织中巨噬细胞浸润情况(免疫组织化学染色,200 倍)

### 2.4 高果糖条件下 HCMV-IE2 对肝脏脂质代谢相关基因和蛋白表达的影响

RT-qPCR 检测结果显示,与对照组相比,实验组小鼠肝脏组织中 *SREBP1c*、*ACC1*、*FAS*、*CD36* mRNA 表达水平平均上调( $t=3.54\sim 5.69, P<0.05$ ),

见表 4。Western blot 结果显示,与对照组相比,实验组小鼠肝脏组织中 *SREBP1c*、*ACC1*、*FASN* 和 *CD36* 的蛋白表达水平均上调,*SREBP1c*、*ACC1* 和 *FASN* 蛋白表达水平显著升高( $t=7.94\sim 9.96, P<0.05$ ),见表 4、图 4。

### 3 讨 论

由于 HCMV 感染具有高度的种属特异性,目前尚未建立感染 HCMV 的动物模型。目前关于 HCMV 与糖脂代谢紊乱机制的研究主要还是局限在细胞水平方面,很难进行体内研究。*UL122* 转基因小鼠的构建克服了物种特异性难题,为研究 IE2 对机体代谢紊乱的影响提供了有效的途径。本研究结果显示,在果糖诱导的非酒精性脂肪肝模型小鼠中,IE2 加速了血糖的升高,促进了 IR 和肝脏脂肪变性。在果糖喂养的 *UL122* 转基因小鼠肝脏组织中,巨噬细胞浸润明显多于对照组,且表现出独特 M1/M2 极化现象,趋向于向 M1 型巨噬细胞极化。以上结果表明 HCMV 编码的 IE2 蛋白可通过诱导 M1 型巨噬细胞极化促进果糖诱导的肝脏脂肪病变。

临床研究表明,HCMV 感染的肥胖和肝损伤患者通常伴有脂质代谢紊乱。然而,HCMV 感染引起人体脂质代谢紊乱的分子机制尚不清楚。HCMV 感染的一个特征是它以有利于病毒复制的方式调节感染细胞的新陈代谢,HCMV 感染已被证明可诱导机体葡萄糖转运蛋白 4(GLUT4)的表达及其易位到细胞表面,从而导致用于脂肪酸从头合成的细胞

表 4 两组小鼠脂代谢相关基因和蛋白表达水平比较 (n=3, x±s)

组别	SREBP1c	ACC1	FAS	CD36	SREBP1c	ACC1	FASN	CD36
对照组	1.72±0.45	2.20±0.59	5.89±1.06	5.50±0.92	0.67±0.01	0.86±0.01	0.65±0.04	0.67±0.08
实验组	7.57±1.71	4.43±0.72	8.10±0.33	9.63±1.07	0.99±0.05	1.40±0.07	0.99±0.03	0.92±0.07

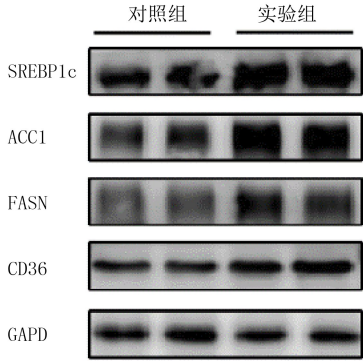


图 4 两组小鼠肝脏组织中 SREBP1c、ACC1、FASN 和 CD36 蛋白的相对水平

质葡萄糖增加<sup>[10-11]</sup>。生物体合成的过多脂肪酸为病毒包膜的形成提供了充足的条件<sup>[2,12]</sup>。

巨噬细胞是机体最重要的免疫细胞之一,对于稳定机体内部环境和保护身体免受外界入侵具有至关重要的作用,它可极化为不同的类型并发挥不同的功能。其中 M1 型巨噬细胞在促炎方面起到了非常重要的作用,而 M2 型巨噬细胞则表现出抗炎、促进组织重塑等特点<sup>[13]</sup>。研究显示,非酒精性脂肪性肝炎(NASH)模型小鼠肝脏中常伴随着 M1/M2 型巨噬细胞百分比的增高。也有研究显示,清除小鼠肝脏巨噬细胞可以减少因高脂肪饮食而导致的肝脏脂质积累和 IR,从而降低 NASH 的发生风险<sup>[14]</sup>。因此肝脏巨噬细胞所特有的 M1/M2 型极化状态在 NAFLD 的发生发展中扮演着重要角色。

在 HCMV 感染期间,巨噬细胞是其作用的第一个靶标,对 HCMV 持久存在和传播是必不可少的<sup>[15-16]</sup>。CHAN 等<sup>[17]</sup>发现 HCMV 感染单核细胞 4 h 后,与经典 M1 型巨噬细胞极化相关的 65% 的基因被上调,而与经典 M2 型巨噬细胞极化相关的基因只有 4% 被上调。另外有研究显示,NF-κB 活性对于受 HCMV 感染的单核细胞偏向 M1 型促炎巨噬细胞极化至关重要,约 79% 的 HCMV 诱导的 M1 型巨噬细胞表型相关基因以 NF-κB 依赖性方式调节<sup>[7]</sup>。本研究结果显示,与喂养高果糖的野生型小鼠相比,喂养高果糖的 UL122 转基因小鼠的巨噬细胞表现出独特的 M1/M2 极化现象,在肝脏组织中趋向于 M1 型巨噬细胞极化。因此可以推测,这种独特的 M1 型极化可能是由 IE2 诱导的,但其具

体机制还有待后续实验深入研究。M1 型巨噬细胞可释放多种炎症递质,如促炎细胞因子和趋化因子等<sup>[18]</sup>。因此本研究又进一步检测了肝组织中 M1 型巨噬细胞标志物 TNF-α 和 IL-6 mRNA 的水平,结果显示,喂养高果糖的 UL122 转基因小鼠肝组织中 TNF-α 以及 IL-6 mRNA 的表达均显著升高。SREBP1c 是参与调控脂肪酸、TG 和 TC 合成的转录因子,该因子能够激活其下游的目标基因,并且增强 FASN、ACC1、CD36 等多种参与脂肪酸从头合成的基因的表达<sup>[19]</sup>。SREBP1c 及其下游靶基因 FASN 以及 ACC1 在 NAFLD 患者的肝脏组织中表达水平高于正常人群<sup>[20]</sup>。本研究发现喂养高果糖的 UL122 转基因小鼠肝组织当中的 SREBP1c、FASN 和 ACC1 的 mRNA 表达水平明显上调。推测 IE2 诱导的 M1 型巨噬细胞极化可能与此有关,可能是由于其促进了炎症细胞因子的分泌,并同时上调了脂质生成相关基因的表达所致,进一步促进了脂肪从头合成,增强了肝细胞的脂质合成代谢,最终导致更多的脂质沉积。

综上所述,HCMV-IE2 通过诱导肝组织中巨噬细胞向 M1 型极化影响肝脏脂质代谢平衡,从而促进果糖诱导的 NAFLD 的进展,这一发现为 HCMV 感染引起的糖脂代谢紊乱机制的研究提供了新的研究方向。

**伦理批准和动物权利声明:**本研究涉及的所有动物实验均已通过青岛大学实验动物福利伦理委员会的审核批准(20220308C57402022-0907107)。所有实验过程均遵照《实验动物管理条例》的规定进行。  
**作者声明:**周晓琼、王斌均参与了研究设计;周晓琼、张现娟、王斌参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文,且均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

[1] MURPHY E, RIGOUTSOS I, SHIBUYA T, et al. Reevaluation of human cytomegalovirus coding potential[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003,100(23):13585-13590.  
[2] YU Y J, MAGUIRE T G, ALWINE J C. Human cytomegalovirus infection induces adipocyte-like lipogenesis through activation of sterol regulatory element binding protein 1[J]. J Virol, 2012,86(6):2942-2949.  
[3] YILMAZ Y. Review article: Fructose in non-alcoholic fatty liver disease[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2012,35(10):

1135-1144.

- [4] PELLEGRINELLI V, RODRIGUEZ-CUENCA S, ROUAULT C, et al. Dysregulation of macrophage PEPD in obesity determines adipose tissue fibro-inflammation and insulin resistance[J]. *Nat Metab*, 2022,4(4):476-494.
- [5] SAMUEL V T, SHULMAN G I. The pathogenesis of insulin resistance; Integrating signaling pathways and substrate flux [J]. *J Clin Invest*, 2016,126(1):12-22.
- [6] CHEN L Y, ZHU Y X, HOU X H, et al. The role of gut bacteria and fungi in alcohol-associated liver disease [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022,9:840752.
- [7] CHAN G, BIVINS-SMITH E R, SMITH M S, et al. NF-kappaB and phosphatidylinositol 3-kinase activity mediates the HCMV-induced atypical M1/M2 polarization of monocytes[J]. *Virus Res*, 2009,144(1-2):329-333.
- [8] ZHANG X J, WANG Y Y, QIAN D M, et al. HCMV-encoded IE2 promotes NAFLD progression by up-regulation of SREBP1c expression in UL122 genetically modified mice[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2018,11(8):4213-4220.
- [9] 张现娟. HCMV IE2 对 UL122 转基因小鼠糖脂代谢的影响研究[D]. 青岛:青岛大学.
- [10] MUNGER J, BAJAD S U, COLLIER H A, et al. Dynamics of the cellular metabolome during human cytomegalovirus infection[J]. *PLoS Pathog*, 2006,2(12):e132.
- [11] MUNGER J, BENNETT B D, PARIKH A, et al. Systems-level metabolic flux profiling identifies fatty acid synthesis as a target for antiviral therapy[J]. *Nat Biotechnol*, 2008,26(10):1179-1186.
- [12] SPENCER C M, SCHAFER X L, MOORMAN N J, et al. Human cytomegalovirus induces the activity and expression of acetyl-coenzyme A carboxylase, a fatty acid biosynthetic enzyme whose inhibition attenuates viral replication[J]. *J Virol*, 2011,85(12):5814-5824.
- [13] MURRAY P J. Macrophage polarization[J]. *Annu Rev Physiol*, 2017,79:541-566.
- [14] HUANG W, METLAKUNTA A, DEDOUSIS N, et al. Depletion of liver Kupffer cells prevents the development of diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance[J]. *Diabetes*, 2010,59(2):347-357.
- [15] BAYER C, VARANI S, WANG L, et al. Human cytomegalovirus infection of M1 and M2 macrophages triggers inflammation and autologous T-cell proliferation[J]. *J Virol*, 2013,87(1):67-79.
- [16] MOORE P S, BOSHOFF C, WEISS R A, et al. Molecular mimicry of human cytokine and cytokine response pathway genes by KSHV[J]. *Science*, 1996,274(5293):1739-1744.
- [17] CHAN G, NOGALSKI M T, STEVENSON E V, et al. Human cytomegalovirus induction of a unique signalsome during viral entry into monocytes mediates distinct functional changes: A strategy for viral dissemination [J]. *J Leukoc Biol*, 2012,92(4):743-752.
- [18] DEVISSCHER L, VERHELST X, COLLE I, et al. The role of macrophages in obesity-driven chronic liver disease [J]. *J Leukoc Biol*, 2016,99(5):693-698.
- [19] FERRÉ P, FOUFELLE F. Hepatic steatosis: A role for de novo lipogenesis and the transcription factor SREBP-1c [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2010,12:83-92.
- [20] SCORLETTI E, BYRNE C D. Omega-3 fatty acids and non-alcoholic fatty liver disease: Evidence of efficacy and mechanism of action [J]. *Molecular aspects of medicine*, 2018,64:135-146. (本文编辑 耿波 厉建强)
- 
- (上接第 14 页)
- [19] 王泽锋, 王海军, 张俊晶, 等. 自身免疫性胰腺炎 CT 及 MRI 影像学特征与诊断[J]. *中华消化外科杂志*, 2017,16(1):95-101.
- [20] HAFEZI-NEJAD N, SINGH V K, FUNG C, et al. MR imaging of autoimmune pancreatitis[J]. *Magn Reson Imaging Clin N Am*, 2018,26(3):463-478.
- [21] KAJIHARA Y. Type 1 autoimmune pancreatitis: A capsule-like rim surrounding the enlarged pancreas [J]. *QJM*, 2019,112(1):51.
- [22] SHANKAR A, SRINIVAS S, KALYANASUNDARAM S. Icicle sign: Autoimmune pancreatitis [J]. *Abdom Radiol (NY)*, 2020,45(1):245-246.
- [23] PALAZZO M, PALAZZO L, AUBERT A, et al. Irregular narrowing of the main pancreatic duct in association with a wall thickening is a key sign at endoscopic ultrasonography for the diagnosis of autoimmune pancreatitis[J]. *Pancreas*, 2015,44(2):211-215.
- [24] CAZACU I M, CHAVEZ A A L, SAFTOIU A, et al. A diagnostic challenge: Pancreatic cancer or autoimmune pancreatitis? [J]. *Curr Health Sci J*, 2018,44(2):181-185.
- [25] MADHUSUDHAN K S, DAS P, GUNJAN D, et al. IgG4-related sclerosing cholangitis: A clinical and imaging review[J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2019,213(6):1221-1231.
- [26] NEGRELLI R, MANFREDI R, PEDRINOLLA B, et al. Pancreatic duct abnormalities in focal autoimmune pancreatitis: MR/MRCP imaging findings [J]. *Eur Radiol*, 2015,25(2):359-367.
- [27] SANDRASEGARAN K, MENIAS C O. Imaging in autoimmune pancreatitis and immunoglobulin G4-related disease of the abdomen [J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2018,47(3):603-619.
- [28] PAN Y, CHEN J Y, YU R S. Accurate imaging diagnosis and evaluation of pancreatic cancer [J]. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2017,46(5):462-467.
- [29] LORENZO D, MAIRE F, STEFANESCU C, et al. Features of autoimmune pancreatitis associated with inflammatory bowel diseases [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2018,16(1):59-67.
- [30] MADHANI K, FARRELL J J. Management of autoimmune pancreatitis [J]. *Gastrointest Endosc Clin N Am*, 2018,28(4):493-519. (本文编辑 耿波 厉建强)