

Effect of HCV Core Protein on Expression of α -SMA in Human Stellate Cell, LX-2 Cell Line

Ali Maleki¹, Mehrdad Ravanshad^{2*}, Seyed Younes Hosseini³, Mohammad Gholami⁴

1- M.Sc. Student, Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2- Associated Professor, Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

3- Assistant Professor, Gastroenterohepatology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

4- M.Sc., Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

*Corresponding Address: Postal Code: 1411713116, Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
Email: ravanshad@modares.ac.ir

Received: 17/Jun/2015, Accepted: 05/Jan/2016

Abstract

Objective: Hepatitis C virus (HCV) is considered to be a worldwide health problem. In most cases, HCV infection becomes chronic and may proceed to fibrosis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. Many pathological effects in cells may occur by viral proteins. The purpose of this study is to evaluate the effect of the HCV core protein on cells to induction of the fibrogenesis process.

Methods: We use the LX-2 cell line that originated from hepatic stellate cells. Plasmid which expressed HCV core protein was transfected to the cells. After 72 h, RNA was extracted and treated with DNase, followed by synthesis of cDNA. Positive control cells were treated with the leptin fibrotic hormone. We used real-time PCR to measure and statistically analyze α -SMA gene expression.

Results: The HCV core protein significantly increased α -SMA gene expression ($p < 0.05$). There was more α -SMA gene expression in cells treated with leptin compared to cells treated with the HCV core protein.

Conclusion: HCV infection is an impressive factor in the development of chronic hepatitis to hepatic fibrogenesis. The HCV core protein can induce a fibrogenesis process in HCV infection.

Keywords: Hepatitis C virus, Hepatic fibrosis, Core protein, α -SMA, Real-time PCR

Pathobiology Research, Vol. 18 (2015-2016), No. 4, Pages: 71-78

تأثیر پروتئین مرکزی ویروس هپاتیت C بر بیان اکتین‌های آلفای عضله صاف در رده سلولی ستاره‌ای انسانی LX-2

علی ملکی^۱، مهرداد روانشاد^{۲*}، سید یونس حسینی^۳، محمد غلامی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ویروس شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- دانشیار، گروه ویروس شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳- استادیار، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

۴- کارشناسی ارشد، گروه ویروس شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

*آدرس نویسنده مسئول: ایران، تهران، کدپستی: ۱۴۱۱۷۱۳۱۱۶، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه ویروس شناسی
Email: ravanshad@modares.ac.ir

پذیرش مقاله: ۹۴/۱۰/۱۶

دریافت مقاله: ۹۴/۰۳/۲۸

چکیده

هدف: امروزه ویروس هپاتیت C به عنوان یک مشکل سلامت در تمام دنیا مطرح است. عفونت ویروس هپاتیت C در اکثر موارد مزمن می‌شود و در ادامه به سمت فیبروز و سیروز و کارسینومای سلول‌های کبدی پیش می‌رود. بسیاری از تغییرات در سلول به واسطه پروتئین‌های ویروسی صورت می‌گیرد. هدف از این پژوهش، ارزیابی تأثیر پروتئین مرکزی ویروس هپاتیت C بر القای روند فیبرزایی در سلول است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش از رده سلولی LX-2 که از منشأ سلول‌های ستاره‌ای کبد است، استفاده شد. پلاسمید بیان کننده پروتئین مرکزی ویروس هپاتیت C به سلول‌ها ترانسفکت شد. پس از ۷۲ ساعت، استخراج RNA و پس از تیمار با cDNA، DNase تولید شد. سلول‌های کنترل مثبت نیز با هورمون فیبروتیک لپتین تیمار شدند. در آخر با استفاده از روش Real-Time PCR میزان بیان ژن اکتین آلفای عضله صاف اندازه‌گیری شد و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج: یافته‌ها نشان دادند که پروتئین مرکزی ویروس هپاتیت C باعث افزایش بیان معنی‌دار در بیان ژن اکتین آلفای عضله صاف می‌شود ($P < 0.05$). بیان ژن اکتین آلفای عضله صاف در سلول‌های تیمار شده با لپتین بیشتر از سلول‌های تیمار شده با core ویروس هپاتیت C بوده است.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های به دست آمده، عفونت ویروس هپاتیت C عامل مؤثر در پیشبرد هپاتیت مزمن به سمت فیبروز شدن بافت کبد است و در این میان، پروتئین Core ویروس هپاتیت C می‌تواند مسیر فیبرزایی در هپاتیت ویروسی را القا کند.

کلیدواژگان: ویروس هپاتیت C، فیبروز کبدی، پروتئین مرکزی، اکتین‌های آلفا عضله صاف، Real-Time PCR

پژوهش‌های آسیب شناسی زیستی، دوره ۱۸، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۴، صفحات: ۷۱-۷۸

مقدمه

عوامل حاد و مزمن مانند مصرف الکل، عفونت‌های ویروسی، عفونت‌های انگلی، داروها، سموم، چربی خون و بیماری‌های

عارضه ایجاد شده به دنبال ترمیم صدمات مکرر در بافت کبد را فیبروز می‌نامند. علل ایجاد فیبروز شامل طیف وسیعی از

تأثیر پروتئین مرکزی HCV بر رده سلولی LX-2

می‌شوند. این حالت را فعال شدن HSC ها می‌نامند. این سلول‌ها تکثیر زیادی دارند و با افزایش سنتز ECM توسط آن‌ها فیروز پیشرفت می‌کند [۵، ۶].

بهترین مثال رده‌های سلولی فیروزی از لحاظ زنده ماندن، متابولیسم رتینوئید (Retinoid)، فیروژنی، توانایی بیان ژن‌های داخلی و خارجی، ترنسفکت پذیری و پاسخ به سیتوکاین‌های متفاوت، رده سلولی LX1 و LX2 است [۷].

در این پژوهش از رده سلولی LX2 که در واقع مشتق شده از HSC های انسانی هستند استفاده شد. حق استفاده از این سلول‌ها در انحصار سازنده آن‌ها یعنی دکتر اسکات فریدمن (Scott L. Friedman) است. از این رو با اجازه کتبی ایشان، ذخیره این سلول‌ها توسط دکتر یونس حسینی (دانشگاه علوم پزشکی شیراز) از مرکز تحقیقات CIMA کشور اسپانیا تهیه شده است.

با توجه به فراوانی شیوع بالای هپاتیت B و C (Hepatitis B & C) (به ترتیب با ۳۵۰ و ۱۷۰ میلیون نفر در دنیا) می‌توان گفت که این دو ویروس از مهم‌ترین عوامل فیروز هستند. ویروس هپاتیت B، یک ویروس DNA دار است که به واسطه تولید مینی کروموزوم در چرخه تکثیر خود توانایی ادغام شدن (Integration) در ژنوم میزبان را دارد. این امر به نوبه خود به ناپایداری ژنوم میزبان و تغییرات عمده در بیان ژن‌های سلول منجر می‌شود. اما از سوی دیگر ویروس هپاتیت C یک RNA ویروس است و قادر به ادغام شدن در ژنوم میزبان نخواهد بود. از این رو خواص سرطان‌زایی آن را به انواع پروتئین‌هایش مانند پروتئین‌های مرکزی (Core)، پوششی و غیر ساختاری نسبت داده‌اند [۸، ۹].

نواحی نسبتاً حفاظت شده ویروس هپاتیت C مانند core، E1، NS5 بسیار مطالعه و بررسی شده‌اند و بر اساس جدیدترین طبقه‌بندی، جدایه‌های این ویروس در هفت ژنوتیپ مشخص [۱، ۷] و بیش از شصت و هفت زیر تایپ (Subtype) دسته‌بندی می‌شوند [۱۰].

هپاتوسیت‌های آلوده به ویروس هپاتیت C علاوه بر آن‌که با ترشح انواع مواد واسطه باعث فراخوانی سلول‌های التهابی و

متابولیکی است. به عبارت دیگر؛ فیروز کبدی به معنی تجمع بیش ازحد پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی (Extra Cellular Matrix: ECM) در بافت کبدی است. پیشرفت فیروز در نهایت به سیروز (Cirrhosis)، سرطان کبد و حتی مرگ منجر می‌شود. شکل‌گیری و پیشرفت فیروز کبدی نیازمند انباشته شدن رشته‌های کلاژن در ECM است [۱، ۲].

در ایجاد فیروز افزایش ساخت ECM و کاهش تجزیه ماتریکس ضروری است. در حالت طبیعی ماتریکس به‌طور مداوم توسط گروهی از آنزیم‌های وابسته به عناصر فلزی کلسیم و روی به نام ماتریکس متالوپروتئیناز (Matrix metalloproteinase) یا ماتریکسین (Matrixin) تجزیه می‌شود [۱].

در مراحل پیشرفته فیروز، کبد حاوی شش برابر طبیعی از ECM ها شامل کلاژن (تیپ ۱، ۳، ۴)، فیرونکتین (fibronectin)، اکترین‌های آلفای عضله صاف (α-SMA)، اندولین (Endothelin)، الاستین (Elastin)، لامینین (Laminin)، هیالورونان (Hyaluronan) و پروتئوگلیکان‌ها (Proteoglycans) است. منبع اصلی تولید ECM، سلول‌های ستاره‌ای کبد (Hepatic Stellate Cell: HSC) است [۳]. از میان این عوامل α-SMA ها مشخص می‌شود. به استثنای سلول‌های عضلات صاف احاطه کننده عروق بزرگ، فقط توسط سلول‌های ستاره‌ای کبد تولید می‌شوند و توسط مابقی سلول‌های کبدی، چه در حالت طبیعی چه در حالت آسیب دیدگی بیان نمی‌شوند [۴].

جایگاه اصلی این سلول‌ها که پیشتر با نام‌های سلول‌های ایتو (Ito Cells)، لیوسیتوسلول‌های ذخیره کننده چربی شناخته می‌شدند در کبد طبیعی و در حالت آرامش در فضای دیس (Space of Disse) یعنی فضای بین هپاتوسیت‌ها (Hepatocytes) و سلول‌های اندوتلیال سینوزوئیدال (Sinusoidal) است. در پی آسیب‌ها و تحریکات کبدی، این سلول‌ها از این فضا خارج شده، ذخایر ویتامین A خود را از دست داده و شروع به سنتز α-SMA می‌کنند و با فنوتیپی شبیه فنوتیپ میوفیبروبلاست‌ها (Myofibroblast) وارد پارانشیم

گسترش فیروز می‌شوند، به واسطه پروتئین‌های ویروسی نیز به روند فیبرزایی (Fibrogenesis) در بافت کبد کمک می‌کنند. ترشح مواد واسطه‌های التهابی و محصولات ویروسی به فعال شدن بیشتر HSC ها منتج می‌شود. پروتئین مرکزی (Core) یک پروتئین متصل به RNA (نوکلئوپروتئین) است که در تشکیل نوکلئوکپسید نقش دارد و بسته به نوع سلول هدفش، می‌تواند آثار مختلفی بر رشد سلولی، مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده (Apoptosis)، استرس اکسیداتیو (Oxidative Stress)، سرطان‌زایی، ایجاد التهاب و... بگذارد [۱۱].

هدف از انجام پژوهش ارزیابی اثر فیروتیک پروتئین مرکزی ویروس HCV بر HSC های انسانی است. برای تحقق این امر از پلاسمید بیانی پروتئین مرکزی ویروس HCV استفاده شد. این پلاسمید پس از ورود به رده سلولی LX2 که از بهترین رده‌های سلولی فیروزی انسانی به‌شمار می‌رود، شروع به تولید پروتئین مرکزی HCV می‌کند. به دنبال تولید این پروتئین، الگوی بیان ژن سلول‌ها تغییر کرده و به سمت فیروزی شدن پیش خواهد رفت. اندازه‌گیری و بررسی این تغییرات با روش Real-time PCR (به‌منظور ثبت تغییرات بیان ژن α -SMA) صورت گرفت.

هورمون لپتین (Leptin) و سائیتوکاین $TGF-\beta 1$ (Transforming growth factor beta 1) به‌عنوان فعال‌کننده‌های سلول‌های LX2 شناخته می‌شوند [۷، ۱۲]. در این پژوهش هورمون لپتین به‌عنوان کنترل مثبت آزمایش استفاده شد.

مواد و روش‌ها

کشت باکتری و ترانسفورماسیون

ابتدا یک کلونی از سویه DH5 α باکتری اشریشیا کلی (Escherichia coli) درون لوله آزمایش حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط LB (Lysogeny broth) مایع بدون آنتی‌بیوتیک تلقیح شد و پس از یک شب (۱۲-۱۶ ساعت) در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد، از باکتری رشد کرده برای ترانسفورماسیون

(Transformation) استفاده شد. ابتدا باکتری به روش شوک حرارتی و محلول $CaCl_2$ مستعد (Competent) شد و سپس پلاسمید بیان‌کننده پروتئین مرکزی ویروس هپاتیت C به باکتری DH5 α ترانسفورم و درون محیط LB مایع حاوی آمپی‌سیلین (Ampicillin) در انکوباتور انکوبه شد.

استخراج پلاسمید

پلاسمیدهای مورد استفاده در این پژوهش شامل دو پلاسمید PIRES2 (به طول تقریبی ۵ کیلو باز، محصول تجاری Clontech، آمریکا) و پلاسمید بیانی pAAV/Full core (به طول تقریبی ۹ کیلو باز، طراحی شده توسط دکتر یونس حسینی از مرکز CIMA اسپانیا) است. برای استخراج پلاسمیدها از کیت AccuPrep® Plasmid Extraction (Bioneer، کره) استفاده شد.

آماده‌سازی و کشت سلول

سلول‌های رده LX-2 در شرایط ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد CO_2 در محیط کشت DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) شامل FBS ۱۰ درصد (Fetal Bovine Serum)، پنی‌سیلین/استرپتومایسین (Penicillin/Streptomycin) به میزان ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر انکوبه شدند. سلول‌ها هر دو روز یک بار تعویض محیط شدند. سلول‌های تیمار پنجم توسط تریسین-EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم از کف پلیت جدا و تعداد ۳۰۰ هزار سلول به هر یک از خانه‌های پلیت شش خانه منتقل و حجم نهایی توسط محیط دارای ۸ درصد سرم به ۲/۵ میلی‌لیتر رسانده شد.

ترانسفکشن (Transfection)

ابتدا سلول‌ها توسط لام نئوبار و رنگ حیاتی تریپان بلو (Trypan blue) (نسبت ۱:۱) شمارش و پس از محاسبه ضریب رقت، تعداد ۴۰۰ هزار سلول به هر چاهک از پلیت ۶

تأثیر پروتئین مرکزی HCV بر رده سلولی LX-2

دستورالعمل کیت در مجاورت آنزیم DNaseI به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه و پس از اضافه کردن مهارکننده آنزیم، به مدت ۱۰ دقیقه در ۶۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد.

تولید cDNA تام

در این پژوهش از کیت RevertAid First Strand cDNA Synthesis (Thermo Scientific، آمریکا) استفاده شد و با استفاده از آغازگرهای Hexamer (Primers) و Oligo dT از نمونه‌ها cDNA تام تولید شد. برای افزایش دقت کار در مرحله Real-Time PCR، تمامی نمونه‌های RNA یکسان‌سازی شد و به میزان ۳۰۰ نانوگرم در واکنش اضافه شد. تیوب واکنش به مدت ۶۰ دقیقه در ۴۲ درجه سانتی گراد و ۵ دقیقه در ۷۰ درجه سانتی گراد انکوبه شد.

طراحی آغازگر و Real-Time PCR

ابتدا توالی ژن‌های α -SMA و بتا اکتین (β -Actin) از پایگاه داده‌های ژنی NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) تهیه شد. سپس آغازگرها با استفاده از نرم‌افزار oligo7 و Oligoanalyzer طراحی و ارزیابی شد. از ژن بتا اکتین به عنوان کنترل درون‌زاد (Endogenous control) استفاده شد. اطلاعات آغازگرها درون جدول ۱ آمده است.

جدول ۱ مشخصات آغازگرها

نام	توالی	درصد GC	دما (درجه سانتی گراد)	اندازه محصول (جفت باز)
α -SMA F	GACAATGGCTCTGGGCTCTG	۶۰	۶۰/۷۵	۱۴۷
α -SMA R	CTGTGCTTCGTACCCACG	۶۳/۱۶	۶۱/۳۱	
β -Actin F	TCCCTGGAGAAGAGCTACG	۵۷/۸	۵۷/۸	۱۳۱
B-Actin R	GTAGTTTCGTGGATGCCACA	۵۰	۵۸/۲	

تمامی واکنش‌ها به صورت دوباره (Duplicate) انجام شد. در هر واکنش میزان ۴ میکرولیتر از HOT FIREPol® EvaGreen® qPCR Supermix (Solis Biotec، استونی)، ۰/۸ میکرولیتر آغازگر، ۲ میکرولیتر الگو (به نسبت ۱:۲۰ رقیق

خانه منتقل شد و با محیط کامل (سرم ۸ درصد) حجم نهایی به ۲/۵ میلی لیتر رسانده شد. بعد از رسیدن سلول‌ها به تراکم ۷۰-۸۰ درصد، محیط سلولی با یک محیط DMEM بدون سرم و آنتی بیوتیک پنی سیلین/استرپتومایسین تعویض و برای مدت دو ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سپس محیط روی سلول‌ها خارج شد و سوسپانسیون حاوی میزان ۲۵۰۰ نانوگرم از پلاسمیدها و ۶ مایکرولیتر ماده لیپوفکتامین ۲۰۰۰ (Lipofectamine 2000) (Invitrogen، کانادا) با یکدیگر مخلوط و پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، مستقیماً به روی سلول‌ها اضافه شد. بعد از مدت ۴ ساعت محلول روی سلول‌ها با محیط DMEM بدون سرم و آنتی بیوتیک پنی سیلین/استرپتومایسین به حجم ۲/۵ میلی لیتر رسانده شد.

استخراج RNA سلولی و تیمار DNaseI

سلول‌ها طبق دستورالعمل کیت CinnaPure (CinaClone، ایران) استخراج RNA روی آن‌ها انجام گرفت و با استفاده از نانودراپ (Nanodrop) کمیت و کیفیت RNA استخراج شده بررسی شد. با توجه به این که هنگام استخراج RNA امکان آلودگی با DNA وجود دارد، برای رفع این مشکل RNA استخراج شده با آنزیم DNaseI کیت RQ1 RNase-Free (Promega، آمریکا) تیمار شد. نمونه‌ها طبق

سیستم Real-Time PCR بر اساس بررسی کمی میزان ماده فلورسانس عمل می‌کند. با ثبت میزان تابش در هر چرخه می‌توان واکنش را در طول مرحله تصاعدی ثبت کرد. در این پژوهش از دستگاه Applied Biosystems ABI StepOne™ استفاده شد.

شده) ریخته شد و تا حجم ۲۰ میکرولیتر آب اضافه شد. برنامه زمانی Real-Time PCR به صورت زیر تنظیم شد: واسرشتگی (Denaturation) اولیه ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه، واسرشتگی ثانویه ۹۵ درجه سانتی گراد ۲۰ ثانیه، مرحله اتصال ۶۰ درجه سانتی گراد ۳۰ ثانیه و مرحله طولیل شدن ۷۲ درجه سانتی گراد ۳۰ ثانیه

(ANOVA) برای ارزیابی اختلاف بین گروه‌ها استفاده شد. $P < 0.05$ به عنوان معنی دار بودن از لحاظ آماری در نظر گرفته شد. (شاخص تغییر برابر یا روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ متداول ترین روش برای محاسبه کمیت نسبی (Relative quantification) است. نحوه محاسبه آن هم همان فرمول نوشته شده در پرانتز است.)

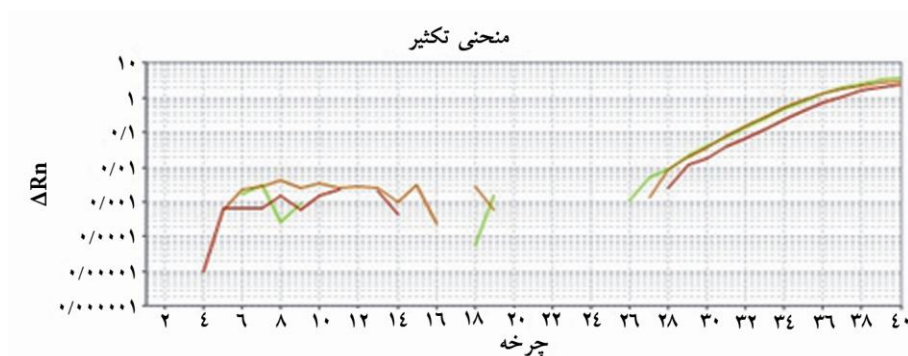
نتایج

یافته‌های حاصل از Real-Time PCR

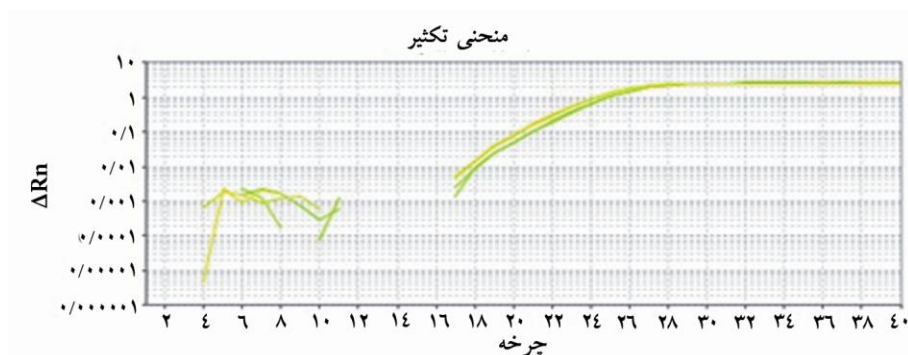
در این آزمایش از ژن بتا اکتین به عنوان کنترل درون زاد برای ارزیابی میزان بیان ژن α -SMA استفاده شد. تمامی آزمایش‌ها دوبار و هر بار به صورت مضاعف (Duplicate) انجام شد و نتایج تکرارپذیر بود.

تجزیه و تحلیل آماری

برای محاسبه تفاوت میزان بیان بین سه گروه سلولی، از شاخص تغییر برابر (Fold Change) استفاده شد. برای محاسبه این شاخص از فرمول ($2^{-\Delta\Delta CT}$) استفاده می‌شود. تجزیه و تحلیل آماری پژوهش توسط نرم افزار GraphPad Prism 5 و آزمون One-way Analysis of variance: (آنالیز واریانس یک طرفه)



شکل ۱ تصویر بیان ژن α -SMA



شکل ۲ تصویر بیان ژن کنترل درون زاد بتا اکتین

تأثیر پروتئین مرکزی HCV بر رده سلولی LX-2

ثابت شده است [۱۴]. هم تکثیر RNA ویروس و هم بیان پروتئین های ویروس می تواند مستقیماً با فیروز کبدی در ارتباط باشد. این مطالعه به اهمیت پروتئین مرکزی در فیبرزایی سلول های ستاره ای و بیان آن در فیروز می پردازد. این داده ها با نتایجی که آقای کونن (Coenen) و همکارانش در تحقیق خود به دست آورده است مطابقت دارد [۱۵]. برای تأیید این نتایج در شرایط درون بدنی می توان از مدل حیوانی تراریخته (Transgenic) استفاده نمود. آقای کوتو (Chouteau) و همکارانش نیز نقش پروتئین های ویروس هپاتیت C در موش تراریخته نشان دادند [۱۶]. در مطالعه دیگری نیز که اثر پروتئین مرکزی در سلول های HSC رت بررسی کرده اند، نقش این پروتئین به واسطه TGF- β 1 در القای فیبرزایی نشان داده شده است [۱۷]. در کنار پروتئین مرکزی، استفاده از پروتئین های NS2 و NS3/4a ویروس هپاتیت C نیز در القای روند فیبرزایی در سلول های کبدی اهمیت دارد. بررسی های بیشتر در زمینه عوامل ویروسی و میزبانی مؤثر در فیروز مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

از آقای دکتر احسان عارفیان برای همکاری در این طرح قدردانی می شود.

نتایج نشان می دهد که پروتئین مرکزی ویروس هپاتیت C می تواند باعث القای HSC ها شود. در این پژوهش نشان داده شد که پروتئین مرکزی دارای توانایی القای مسیر فیبرزایی در سلول های کبدی آلوده به HCV است. با توجه به اینکه رده سلولی LX-2 از منشأ HSC است، که سلول های اصلی تولید کننده ECM (از جمله α -SMA) در روند فیبرزایی بافت کبدی است، می توان پیش بینی کرد که نتایج به دست آمده با وضعیت ایجاد شده در شرایط درون بدنی (In vivo) بسیار نزدیک است.

بحث

فیروزه شدن کبدی از شایع ترین بیماری های این عضو مهم بدن است. با توجه به آلودگی بیش از ۱۷۰ میلیون نفر به ویروس هپاتیت C، می توان این ویروس را اصلی ترین علت فیروز کبدی معرفی کرد. اگر چه میزان ابتلا به عفونت ویروس هپاتیت B نیز زیاد است و حتی شیوع آن نزدیک به ۲ برابر (حدود ۳۵۰ هزار نفر) موارد آلودگی به ویروس هپاتیت C تخمین زده می شود ولی باید توجه کرد که عفونت ویروس هپاتیت B در اکثریت موارد بهبودی می یابد ولی در عفونت ویروس هپاتیت C در بیش از دو سوم موارد عفونت مزمن می شود [۱۳]. اهمیت تکثیر ویروس در سلول های ستاره ای

منابع

- [1] Hemmann S, Graf J, Roderfeld M, Roeb E. Expression of MMPs and TIMPs in liver fibrosis - a systematic review with special emphasis on anti-fibrotic strategies. *J Hepatol* 2007; 46(5): 955-75.
- [2] Mormone E, George J, Nieto N. Molecular pathogenesis of hepatic fibrosis and current therapeutic approaches. *Chem Biol Interact* 2011; 193(3): 225-31.
- [3] Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005; 115(2): 209-18.
- [4] Atzori L, Poli G, Perra A. Hepatic stellate cell: a star cell in the liver. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41(8-9): 1639-42.
- [5] Lee UE, Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25(2): 195-206.
- [6] Schuppan D, Ruehl M, Somasundaram R, Hahn EG. Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 2001; 21(3): 351-72.

- [7] Xu L, Hui AY, Albanis E, Arthur MJ, O'Byrne SM, Blaner WS, Mukherjee P, Friedman SL, Eng FJ. Human hepatic stellate cell lines, LX-1 and LX-2: new tools for analysis of hepatic fibrosis. *Gut* 2005; 54(1): 142-51.
- [8] Franco E, Bagnato B, Marino MG, Meleleo C, Serino L, Zaratti L. Hepatitis B: Epidemiology and prevention in developing countries. *World J Hepatol* 2012; 4(3): 74-80.
- [9] Messina JP, Humphreys I, Flaxman A, Brown A, Cooke GS, Pybus OG, Barnes E. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2015; 61(1): 77-87.
- [10] Smith DB, Bukh J, Kuiken C, Muerhoff AS, Rice CM, Stapleton JT, Simmonds P. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology* 2014; 59(1): 318-27.
- [11] Moradpour D, Penin F, Rice CM. Replication of hepatitis C virus. *Nat Rev Microbiol* 2007; 5(6): 453-63.
- [12] Marra F. Leptin and liver fibrosis: a matter of fat. *Gastroenterology* 2002; 122(5): 1529-32.
- [13] Knipe DM, Howley PM, Cohen JI, Griffin DE, Lamb RE, Martin MA, Racaniello VR, Roizman B. *Fields virology*. 6th ed., Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins One, 2013, p: 800-20.
- [14] Busca A, Kumar A. Innate immune responses in hepatitis B virus (HBV) infection. *Virol J* 2014; 11: 22.
- [15] Coenen M, Nischalke HD, Krämer B, Langhans B, Glässner A, Schulte D, Körner C, Sauerbruch T, Nattermann J, Spengler U. Hepatitis C virus core protein induces fibrogenic actions of hepatic stellate cells via toll-like receptor 2. *Lab Invest* 2011; 91(9): 1375-82.
- [16] Chouteau P, Defer N, Florimond A, Caldéraro J, Higgs M, Gaudin A, Mérour E, Dhumeaux D, Lerat H, Pawlotsky JM. Hepatitis C virus (HCV) protein expression enhances hepatic fibrosis in HCV transgenic mice exposed to a fibrogenic agent. *J Hepatol* 2012; 57(3): 499-507.
- [17] Shin JY, Hur W, Wang JS, Jang JW, Kim CW, Bae SH, Jang SK, Yang SH, Sung YC, Kwon OJ, Yoon SK. HCV core protein promotes liver fibrogenesis via up-regulation of CTGF with TGF-beta1. *Exp Mol Med* 2005; 37(2): 138-45.