论著

文章编号:1000-5404(2012)01-0054-04

与肝X受体相关的脂肪酸合酶转录调控区乙酰化组蛋白动态表达

俞慧宏,沈 薇,郭进军 (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院消化内科)

[摘要] **目的** 利用肝X受体(liver X receptor, LXRs)激动剂T0901317,对脂肪酸合酶(fatty acid synthase, FAS)基因转录调控区的组蛋白乙酰化状态进行研究,探讨FAS基因转录表达中是否存在组蛋白乙酰化引起的染色质重塑事件。**方法** 用实时荧光定量PCR方法测定FAS mRNA的转录表达时间谱。通过染色质免疫沉淀技术,结合实时荧光定量PCR测定脂肪酸合酶基因转录调控区4个位点上乙酰化组蛋白H3和乙酰化组蛋白H4的表达情况。**结果** ①T0901317作用2 h开始FAS mRNA表达呈时间依赖性增高(1.09倍,$P>0.05$),16 h达到峰值(4.25倍,$P<0.01$),48 h时仍明显高于0 h的表达(2.59倍,$P<0.01$)。②T0901317作用30 min,组蛋白H3乙酰化水平显著高于0 h水平($P<0.05$),1 h降至0 h水平以下(仅上游2 000 bp位点差异有统计学意义$P<0.05$),2 h又接近或高于0 h水平(仅LXRE位点增高有统计学意义$P<0.05$)。③T0901317作用30 min,组蛋白H4乙酰化水平均较0 h增高($P<0.05$),而1 h和2 h,其水平均低于0 h($P<0.05$)。**结论** 在LXRs激动剂T0901317的作用下,FAS基因mRNA水平呈时间依赖性增高;而在FAS基因转录早期,FAS基因转录起始点上下游约2 500 bp位置范围均有组蛋白乙酰化引起的染色质重塑改变,但这种改变是随位置、时间和组蛋白的不同,呈动态变化的过程。

[关键词] 肝X受体;乙酰化组蛋白;染色质重塑;脂肪酸合酶

[中图法分类号] R394-33; R322.47; R394.3 [文献标志码] A

Dynamic expression of acetylated histone in transcription regulation area of fatty acid synthase related to liver X receptor

Yu Huihong, Shen Wei, Guo Jinjun (Department of Gastroenterology, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the expression of acetylated histone in transcription regulation area of fatty acid synthase (FAS) gene with liver X receptor (LXR) agonist T0901317 and whether acetylated histone induces chromatin remodeling during expression of FAS gene transcription. **Methods** Transcription expression time spectrum of FAS mRNA was detected by real-time fluorescence quantitative PCR. H3 and H4 expression levels at 4 transcription regulation area sites of FAS gene were measured by chromatin immunoprecipitation and real-time fluorescence quantitative PCR respectively. **Results** The expression level of FAS mRNA increased in a time-dependent manner in 2 h after T0901317 was used (1.09, $P>0.05$) and reached its peak at 16 h (4.25, $P<0.01$), which was significantly higher at 48 h than at 0 h ($P<0.01$). The expression level of acetylated H3 was significantly higher at 30 min than at 0 h after T0901317 was used ($P<0.05$), and was lower than that at 0 h with a difference at 2 000 bp ($P<0.05$) and close to or higher at 2 h than at 0 h with a difference at LXRE ($P<0.05$). The expression level of acetylated H4 was also higher at 30 min than at 0 h after T0901317 was used ($P<0.05$) and lower at 1 and 2 h than at 0 h ($P<0.05$). **Conclusion** The expression level of FAS mRNA is increased in a time-dependent manner when the T0901317 is used. Acetylated histone at 2 500 bp upstream and downstream at the transcription start site during early FAS transcription induces chromatin remodeling with the site of transcription regulation area, the time when the T0901317 is used, and the expression level of histone.

[**Key words**] liver X receptor; acetylated histone; chromatin remodeling; fatty acid synthase

Supported by the National Natural Science Foundation (30871160). Corresponding author: Shen Wei, Tel: 86-23-63693345, E-mail: shenwei315@126.com

[基金项目] 国家自然科学基金(30871160)

[通信作者] 沈 薇,电话:(023)63693345,E-mail:shenwei315@126.com

肝 X 受体(liver X receptor,LXRs)属于孤核受体超家族成员,是一些可通过配体结合激活的转录因子,在肝脂质代谢中起重要作用[1]。在肝细胞中 LXRs 与类视黄醇 X 受体(retinoid X receptor,RXR)形成异源二聚体组成性地存在于细胞核内,与靶基因调控区上的 LXR 反应元件(LXR response element,LXRE)结合来调控基因的表达[2]。组蛋白乙酰化修饰引起的染色质重塑(chromatin remodeling)是调控基因转录的重要途径之一,其与基因的转录激活状态密切相关[3]。组蛋白的乙酰化修饰是由组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferase,HAT)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)这两种染色质重塑因子共同调控的。研究表明 HAT 和 HDAC 作为共激活或共抑制因子参与了某些核转录因子依赖的转录调控,比如与 LXRs 相似的法尼醇 X 受体(farnesoid X receptor, FXR)。由此我们从 LXRs 依赖的基因激活或抑制时的组蛋白乙酰化状态入手,探讨 LXRs 激活过程中,其依赖的与脂质代谢相关的靶基因转录表达中是否存在组蛋白乙酰化引起的染色质重塑。脂肪酸合酶(fatty acid synthase,FAS)是脂质从头合成的关键酶,不但是为最重要的 LXR 依赖靶基因之一,也是 LXR 介导的血甘油三酯增高和肝脂质沉积的关键基因之一。本课题通过染色质免疫沉淀、荧光实时定量 PCR 等方法,利用 LXR 激动剂 T0901317,对 FAS mRNA 表达时间谱和其转录调控区的组蛋白乙酰化状态进行了研究。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

HepG2 细胞来源于重庆医科大学附属第二医院病毒性肝炎研究所,胎牛血清购自杭州四季青生物材料有限公司,高糖 DMEM 培养基购于美国 Gibco 公司,LXRs 激动剂 T0901317 购自美国 Cayman 公司。ChIP 试剂盒(17-295)及 ChIP 级抗乙酰化组蛋白 H3(Ac-H3)(06-599)和抗乙酰化组蛋白 H4(Ac-H4)(06-866)抗体购自美国 Upstate 生物技术有限公司。cDNA 反转录试剂盒购自加拿大 Fermentas 公司,RNA 提取试剂盒和 DNA 提取试剂盒购自北京百泰克生物技术有限公司。本实验所用所有实时荧光定量 PCR 的引物探针以及 PCR 反应液 Master Mix 均购自美国应用生物系统公司。

1.2 实验方法

1.2.1 药物配制及细胞培养

1.2.1.1 药物配制 T0901317 用 DMSO 稀释成 100 mmol/L,储存于 -20 ℃,临用前解冻,加入含 10% 胎牛血清的细胞培养基 DMSO 中,使其终浓度为 1 μmol/L。

1.2.1.2 细胞培养 用含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM,置于 37 ℃,5% CO_2 培养箱中常规培养,每 24 小时换液 1 次,每 48 小时传代 1 次,当细胞融合至 80% ~90% 时,进行后续研究。

1.2.2 qRT-PCR 测定 FAS mRNA 的转录表达时间谱 将用 LXRs 激动剂 T0901317 以 0、2、4、6、8、12、16、24、48 h 处理的细胞定义为 T090 组,用相同体积 DMSO,以相对应的时间点处理的细胞定义为 DMSO 组。分别收集 T090 组及 DMSO 组不同时间点细胞的总 RNA,反转录为 cDNA,然后用人 FAS(Hs00188012_m1,ABI)和 β-actin(4333762T,ABI)基因的探针引物预混液在实时定量 PCR 仪 ABI7300(美国应用生物系统公司)进行反应。反应条件为 95 ℃ 10 min,95 ℃ 15 s,60 ℃ 1 min,共 40 个循环。每个标本都设置 3 个复孔,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 的方法计算不同处理组 FAS mRNA 的相对表达量,以 T090 组与相对应时间点 DMSO 组的比值来比较不同时间点 FAS mRNA 的表达。

1.2.3 染色质免疫沉淀(ChIP)-qPCR 测定 FAS 基因转录调控区乙酰化组蛋白的表达 用 LXRs 激动剂 T0901317 以不同时间作用于 HepG2 细胞(约 2×10^6)后,根据 ChIP 试剂盒说明,在细胞培养液中,加入终浓度 1% 的新鲜甲醛交联蛋白质与 DNA 10 min,用冷 PBS 洗涤 3 次,用细胞刮将细胞刮下后加入 400 μl 含有 1 mmol/L PMSF 和 1 × 蛋白酶抑制剂的细胞裂解 Buffer,置于冰上 10 min,然后用超声细胞破碎仪(VC130P,美国 Sonics & Materials Vibra-cell 公司)以 17 周,10 s/次,共 11 次的功率及频率将 DNA 断裂为 200 ~1 000 bp 的片段(由琼脂糖凝胶电泳显像证实)。以上操作均在冰上进行。离心取上清,每 200 μl 上清中加入 1 800 μl ChIP 稀释 Buffer,混匀后取其中 20 μl 作为 input。DNA 片段稀释液用蛋白 A 琼脂糖/鱼精蛋白 DNA 预洗 30 ~ 45 min。然后用抗 Ac-H3 及 Ac-H4 的抗体在 4 ℃ 条件下进行免疫沉淀过夜。得到的蛋白质-抗体-DNA 复合物用蛋白 A 琼脂糖/鱼精蛋白 DNA 沉淀,经洗提后加入 5 mol/L 的氯化钠解交联,用蛋白酶 K 消化,然后回收纯化 DNA 片段用于实时定量 PCR。在 FAS 基因转录起始点上下游约2 500 bp 位置由美国生物系统应用公司设计合成 4 对引物探针(序列见表 1),在实时定量 PCR 仪 ABI7300 进行反应。反应条件为 95 ℃ 10 min,95 ℃ 15 s,60 ℃ 1 min,共 40 个循环。每个标本都设置 3 个复孔。以 input DNA 作为内参,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 的方法计算 FAS 基因 4 个位点上与 Ac-H3 及 Ac-H4 结合的 DNA 相对表达量,以相对于 0 h 的比值来比较 T0901317 作用不同时间的细胞,在 FAS 基因转录调控区 4 个位点上 Ac-H3 与 Ac-H4 的表达量。

1.3 统计学分析

应用 SSPS 10.0 进行统计学分析。实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 SNK-q 检验。

表 1 FAS 基因转录起始点上下游 4 个位点引物及探针序列

转录起始点	上游引物	探针	下游引物
S1(转录起始点上游)	5′-TGGGAACACGATGGGAGAAC-3′	5′-CTGCCGTGCCACCTTG-3′	5′-GCTGCAAAGGTCCCACGAT-3′
S2(LXRE)	5′-CACCCGCGAGGAAAACC-3′	5′-CAAGTGCGGGCGTTGAC-3′	5′-ATGACCGGCAGTAACC-3′
S3(转录起始点)	5′-GATGGCCGCGGTTTAAATAGC-3′	5′-GCCGCTGCCGTCTCT-3′	5′-GCCGCTGCCGTCTCT-3′
S4(第 2 外显子)	5′-CGGGAAGCTGCCAGAGT-3′	5′-CCGATGAGGTTGTCCCAGAA-3′	5′-CTCCTGCAAGTTCTCC-3′

2 结果

2.1 LXR依赖的FAS mRNA转录表达时间谱

我们以T090组与相对应时间点DMSO组的比值来比较不同时间点FAS mRNA的表达。从表2可以看出,从LXRs激动剂T0901317作用2 h开始,FAS mRNA表达呈时间依赖性增高($P>0.05$),16 h达到顶峰($P<0.01$),随后虽然随时间推移开始下降,但48 h时仍明显高于0 h的表达($P<0.01$)。由此可以得到结论:在LXRs激动剂T0901317诱导下的FAS mRNA上调表达是启动于其作用于2 h后,在16 h达到高峰,并可持续到48 h。

表2 T0901317作用不同时间点FAS mRNA表达量($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

时间(h)	FAS mRNA相对表达量
0	1.00±0.00
2	1.09±0.12
4	1.47±0.12[a]
6	1.56±0.22[a]
8	1.85±0.15[b]
12	2.69±0.23[a]
16	4.25±0.34[b]
24	3.19±0.27[a]
48	2.59±0.23[b]

a: $P<0.05$; b: $P<0.01$,与0 h组比较

2.2 FAS基因启动子上下游转录调控区组蛋白H3乙酰化水平

我们设定0 h组蛋白H3乙酰化水平为1,T0901317作用的其他时间点H3乙酰化水平以相对于0 h的比值表示。从表3可以看出,T0901317作用30 min,FAS基因转录起始点上游-2 000 bp、LXRE、转录起始点、第2外显子4个位点组蛋白H3乙酰化水平明显增高,较于0 h差异均有统计学意义($P<0.05$),其中以LXRE位点增高最为显著($P<0.01$);1 h,4个位点组蛋白H3乙酰化水平较均下降至0 h水平以下,仅上游-2 000 bp位置降低有统计学意义($P<0.05$);2 h,其水平又升高,除在转录起始点位点略低于0 h水平(0.9, $P>0.05$)外,其余3个位点上的组蛋白H3乙酰化水平均高于0 h水平,但只有LXRE位点差异有统计学意义($P<0.05$)。从表3还可以看出,LXRE位点上组蛋白H3乙酰化水平在T0901317作用下变化最明显,而转录起始点的变化最不明显。以上结果说明:在LXRs激动剂T0901317的作用下,除LXRE这一转录调控元件发生组蛋白H3乙酰化的改变外,FAS基因转录起始点上下游2 500 bp范围均发生了组蛋白H3乙酰化水平的改变;变化总的趋势呈锯齿样改变:T0901317作用30 min时,组蛋白H3乙酰化水平显著高于0 h基础水平,1 h时降至0 h基础水平以下,2 h时又升高接近或高于0 h水平。

表3 FAS基因启动子区上下游4个位点乙酰化组蛋白H3相对表达水平($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

位点	0 h	30 min	1 h	2 h
S1	1.00±0.00	2.29±0.18[a]	0.68±0.15[a]	1.24±0.22
S2	1.00±0.00	6.24±0.23[b]	0.74±0.09	1.72±0.15[a]
S3	1.00±0.00	1.58±0.20[a]	0.84±0.08	0.90±0.12
S4	1.00±0.00	2.44±0.22[a]	0.95±0.07	1.14±0.12

a: $P<0.05$; b: $P<0.01$,与0 h比较

2.3 FAS基因启动子上下游转录调控区组蛋白H4乙酰化水平

从表4可以看出,与组蛋白H3乙酰化水平变化相似的是,LXRs激动剂T0901317作用30 min,FAS基因转录起始点上游-2 000 bp、LXRE、转录起始点、第2外显子4个位点组蛋白H4乙酰化水平增高,增高有统计学意义($P<0.05$),仍以LXRE位点增高最为显著($P<0.01$),但不如乙酰化组蛋白H3的增高明显(为0 h的6.24倍);1 h:4个位点组蛋白H4乙酰化水平均显著低于0 h水平($P<0.01$);2 h:组蛋白H4乙酰化水平在上游-2 000 bp位点和转录起始点的水平和1h时比基本无变化,仍显著低于0 h水平($P<0.01$),而在LXRE和第2外显子位点,其水平虽然较1h时增高,但仍低于0 h水平,差异有统计学意义($P<0.05$)。从以上结果得到结论:在LXRs激动剂T0901317的作用下,FAS基因转录起始点上游-2 000 bp、LXRE、转录起始点、第2外显子4个位点的组蛋白H4乙酰化水平也是发生了变化,但这种改变与组蛋白H3乙酰化水平的变化是有差别的,总的趋势是:T0901317作用30 min,4个位点的乙酰化组蛋白H4水平均较0 h时增高,而30 min后,其水平均低于0 h基础水平。

表4 FAS基因启动子区及上下游4个位点乙酰化组蛋白H4相对表达水平($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

位点	0 h	30 min	1 h	2 h
S1	1.00±0.00	1.91±0.29[a]	0.49±0.08[b]	0.47±0.14[b]
S2	1.00±0.00	3.99±0.33[b]	0.54±0.12[b]	0.68±0.10[a]
S3	1.00±0.00	1.28±0.14[a]	0.31±0.07[b]	0.37±0.05[b]
S4	1.00±0.00	1.22±0.12[a]	0.46±0.09[b]	0.76±0.13[a]

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$,与0 h比较

3 讨论

核受体及其依赖靶基因的转录调控异常将导致肝细胞脂质代谢紊乱,引起肝内脂质异常沉积从而促进非酒精性脂肪肝的发生、发展[4-6]。LXRs为其中1个较为关键的核受体,通过配体激活在抑制胆固醇合成的同时也促进甘油三酯的表达及在肝脏的沉积[7]。其配体包括天然的羟固醇以及人工合成的T0901317等。本实验选用特异性的LXRs激动剂T0901317,并根据文献[8-9]报道的1 μmol/L有效浓度来研究LXRs依赖靶基因的转录调控机制。以往已经有较多关于LXRs激动剂T0901317上调FAS mRNA表达的研究,但尚未有较短时间间隔的FAS mRNA表达时间谱研究。本实验从T0901317作用2 h开始,12 h前每隔2小时测定1次FAS mRNA水平,发现转录起始于T0901317作用2 h后,而且随时间递增水平逐渐增高,16 h时达到峰值,随后虽随时间降低,但直到48 h仍显著高于0 h基础水平($P<0.01$)。我们对FAS mRNA转录时间谱的研究不仅进一步明确了LXRs依赖的FAS mRNA转录的起始,高峰等变化,也为后续研究组蛋白乙酰化水平与基因转录激活之间关系奠定了基础。

染色质由核心组蛋白八聚体缠绕DNA组成的核小体构成,组蛋白N末端可以进行各种翻译后共价修

饰如乙酰化、磷酸化、甲基化、泛素化等,这些修饰不但可以使染色质构象发生改变,而且可以为各种转录因子提供结合位点,抑制或促进转录起始复合物的形成,以调节靶基因转录[10-11]。大部分研究结果显示组蛋白乙酰化修饰与基因激活相关,但有小部分的研究发现某些基因转录调控区乙酰化修饰与基因转录抑制相关[12-13],还有研究发现同一基因转录调控的不同区域其组蛋白乙酰化变化水平不尽相同[14]。LXRs 通过与 FAS 基因上的 LXRE 结合来直接调控 FAS 的转录,LXRE 位于 FAS 基因转录起始点上游约 700 bp 位置[15]。但基因的转录还受启动子区及其上下游区域其他转录元件的调控,基因转录激活时这些部位的染色质都可能会发生重塑,以辅助转录起始复合物的形成。因此除 LXRE 外,我们对 FAS 基因转录起始点上游 2 000 bp、转录起始点及位于下游 2 500 bp 的第 2 外显子位点的组蛋白乙酰化水平变化也进行了研究。与转录相关的染色质重塑往往发生在转录前期或早期,我们对 FAS 基因转录时间谱的研究发现 T0901317 作用下 FAS 的转录起始于 2 h,所以我们在转录早期即 T0901317 作用 2 h 前对 FAS 基因转录调控区上述 4 个位点的组蛋白乙酰化水平进行了研究。我们的研究结果显示:T0901317 作用 30 min 时,4 个位点组蛋白 H3 和 H4 的乙酰化水平均增高,但以 LXRE 的增高最为明显,并且在该位点组蛋白 H3 变化大于组蛋白 H4;T0901317 作用 1 h 时,组蛋白 H3 和 H4 在 4 个位点的乙酰化水平均低于 0 h 水平,乙酰化组蛋白 H4 的降低变化尤其显著;T0901317 作用 2 h 时,乙酰化组蛋白 H3 的水平上升接近或高于 0 h 水平;而乙酰化组蛋白 H4 在 T0901317 作用 2 h 时,虽然在 LXRE 和第 2 外显子位点较 1 h 时增高,但 4 个位点仍低于 0 h 水平。总的来说,组蛋白乙酰化水平在 T0901317 作用早期(30 min 时)以升高为主,此后组蛋白 H3 乙酰化水平逐渐接近或稍高与 0 h 水平,而组蛋白 H4 乙酰化水平呈下降趋势。以往关于组蛋白乙酰化与基因转录的研究多反映的是基因组某个时段总的乙酰化组蛋白水平,而组蛋白乙酰化修饰引起的染色质重塑对靶基因的转录调控往往是 1 个时间、空间动态变化过程。我们在基因转录早期的不同时间,对基因转录调控区不同位点的组蛋白乙酰化水平进行研究,更能真实地反映基因转录表达和组蛋白乙酰化修饰之间的关系。

我们推测 T0901317 作用 30 min 前,在 LXRE 位点的组蛋白 H3 和 H4 乙酰化易化了 LXRs 与 LXRE 结合,而 LXRs 与 LXRE 结合后通过某种机制招募了含有去乙酰化酶的转录因子,导致该位点的去乙酰化,启动 FAS 基因的转录;而其他位点乙酰化组蛋白的变化则有可能是相互影响作用的结果。这说明与 LXRs 相关的组蛋白乙酰化修饰调控 FAS 基因转录是一个十分复杂的过程。虽然还有诸如 LXRs 是通过什么机制引起 FAS 基因转录调控区乙酰化组蛋白改变、乙酰化组蛋白修饰又是通过何种途径启动 FAS 基因的转录、不同位置乙酰化修饰之间的关系等这些问题尚未解决,但本实验是对 LXRs 靶基因转录调控区的组蛋白乙酰化修饰状态进行研究,也是对 LXRs 调控脂质代谢的表观遗传学机制进行研究,为非酒精性脂肪肝的分子机制研究提供了一种新的思路。

参考文献:

[1] Lee J H, Zhou J, Xie W. PXR and LXR in hepatic steatosis: a new dog and an old dog with new tricks[J]. Mol Pharm, 2008, 5(1): 60-66.

[2] 胡厚源, 颜伟, 周林. 肝 X 受体及其抗动脉粥样硬化作用的研究进展[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(12): 1354-1356.

[3] 王燕, 郭乔楠, 章波, 等. 组蛋白乙酰化修饰对 IEC-6 恶性转化细胞细胞周期和 p53、p21WAF1 基因表达的调控[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(4): 300-303.

[4] Lima-Cabello E, Garcia-Mediavilla M V, Miquilena-Colina M E, *et al*. Enhanced expression of pro-inflammatory mediators and liver X-receptor-regulated lipogenic genes in non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C [J]. Clin Sci (Lond), 2010, 120(6): 239-250.

[5] Beaven S W, Tontonoz P. Nuclear receptors in lipid metabolism: targeting the heart of dyslipidemia [J]. Annu Rev Med, 2006, 57: 313-329.

[6] Gaemers I C, Groen A K. New insights in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease[J]. Curr Opin Lipidol, 2006, 17(3): 268-273.

[7] Baranowski M. Biological role of liver X receptors[J]. J Physiol Pharmacol, 2008, 59 Suppl 7: 31-55.

[8] Semenkovich C F, Coleman T, Fiedorek F T Jr. Human fatty acid synthase mRNA: tissue distribution, genetic mapping, and kinetics of decay after glucose deprivation[J]. J Lipid Res, 1995, 36(7): 1507-1521.

[9] Aravindhan K, Webb C L, Jaye M, *et al*. Assessing the effects of LXR agonists on cellular cholesterol handling: a stable isotope tracer study [J]. J Lipid Res, 2006, 47(6): 1250-1260.

[10] Peterson C L, Laniel M A. Histones and histone modifications[J]. Curr Biol, 2004, 14(14): R546-R551.

[11] Berger S L. The complex language of chromatin regulation during transcription[J]. Nature, 2007, 447(7143): 407-412.

[12] Strahl B D, Allis C D. The language of covalent histone modifications [J]. Nature, 2000, 403(6765): 41-45.

[13] Margueron R, Trojer P, Reinberg D. The key to development: interpreting the histone code? [J]. Curr Opin Genet Dev, 2005, 15(2): 163-176.

[14] Alazard N, Gruffat H, Hiriart E, *et al*. Differential hyperacetylation of histones H3 and H4 upon promoter-specific recruitment of EBNA2 in Epstein-Barr virus chromatin[J]. J Virol, 2003, 77(14): 8166-8172.

[15] Varga G, Su C. Classification and predictive modeling of liver X receptor response elements[J]. BioDrugs, 2007, 21(2): 117-124.

(**收稿**:2011-09-14;**修回**:2011-11-02)

(编辑 王 红)