

# 人类疱疹病毒 6A 亚型 DR7 基因对神经胶质瘤细胞 U87 增殖、迁移、侵袭能力的影响

李 猛<sup>1</sup>, 顾 斌<sup>1</sup>, 王金凤<sup>2</sup>, 周 锋<sup>2</sup>, 李凌云<sup>2</sup>, 李俊漾<sup>1</sup>, 张国锋<sup>1</sup>, 幸 标<sup>1</sup>, 张 寒<sup>1</sup>, 姚 堃<sup>2\*</sup>, 胡卫星<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>南京医科大学第一附属医院神经外科, 江苏 南京 210029; <sup>2</sup>南京医科大学微生物与免疫学系, 江苏 南京 210029)

**[摘要]** 目的:构建含人类疱疹病毒 6A 亚型 DR7 基因的慢病毒,研究 DR7 基因表达对神经胶质瘤细胞 U87 增殖、迁移、侵袭能力的影响。方法:PCR 扩增 DR7 基因,克隆至慢病毒载体 pLenti6.3-MCS-IRES2-EGFP,构建 pLenti6.3-DR7-IRES2-EGFP 重组慢病毒载体,经 293T 细胞包装重组病毒转染至神经胶质瘤细胞 U87,经 blasticidin 筛选建立稳定表达株,通过细胞增殖实验、细胞周期实验、细胞划痕及 Transwell 实验研究稳定表达 DR7 基因对 U87 细胞的增殖、迁移及侵袭能力的影响。结果:成功构建了 pLenti6.3-DR7-6 × His-IRES2-EGFP 慢病毒表达载体,筛选了稳定表达 DR7 基因的 U87-DR7-EGFP 细胞株,CCK-8 细胞增殖实验显示,稳定表达 DR7 基因的 U87-DR7-EGFP 细胞与阴性对照细胞 U87-NC-EGFP、U87 细胞相比,细胞增殖活性明显增高,差异具有统计学意义( $P < 0.001$ )。细胞周期检测发现 U87-DR7-EGFP 细胞 S、G2/M 期细胞所占比例多于 U87-NC-EGFP、U87 细胞;S 期的比例分别为(34.73 ± 1.12)%、(24.89 ± 0.93)%、(25.39 ± 0.96)%,差异具有统计学意义( $P < 0.001$ );G2/M 期分别为(17.35 ± 1.61)%、(11.36 ± 1.50)%、(13.17 ± 1.95)%,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。细胞划痕实验表明,U87-DR7-EGFP 细胞愈合能力明显强于 U87-NC-EGFP、U87 细胞,划痕 6 h 愈合率分别为:(33.55 ± 2.83)%、(23.50 ± 3.18)%、(22.03 ± 1.47)%,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ );划痕 12 h 愈合率分别为(70.50 ± 5.39)%、(53.60 ± 4.67)%、(55.09 ± 2.83)%,差异具有统计学意义( $P < 0.001$ )。Transwell 实验表明,U87-DR7-EGFP 细胞的穿膜数量明显多于 U87-NC-EGFP、U87 细胞,分别为:(543.00 ± 22.94)、(387.00 ± 15.63)、(412.00 ± 20.30)个,差异具有统计学意义( $P < 0.001$ )。结论:人类疱疹病毒 6A 亚型 DR7 基因表达能在体外促进人神经胶质瘤细胞 U87 增殖、迁移及侵袭,提示其在神经胶质瘤的发生和发展中可能起一定作用。

**[关键词]** 人类疱疹病毒 6 型;神经胶质瘤;DR7;增殖;迁移;侵袭

**[中图分类号]** R739.41

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2013)04-438-06

doi:10.7655/NYDXBNS20130404

## Effect of human herpesvirus 6 variant A DR7 gene on cell proliferation, migration and invasion of human glioma U87 cells

Li Meng<sup>1</sup>, Gu Bin<sup>1</sup>, Wang Jinfeng<sup>2</sup>, Zhou Feng<sup>2</sup>, Li Lingyun<sup>2</sup>, Li Junyang<sup>1</sup>, Zhang Guofeng<sup>1</sup>, Xing Biao<sup>1</sup>, Zhang Han<sup>1</sup>, Yao Kun<sup>2\*</sup>, Hu Weixing<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029; <sup>2</sup>Department of Microbiology and Immunology, NJMU, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the influences of human herpesvirus 6 variant A DR7 gene on the proliferation, migration and invasion of human glioma U87 cells. **Methods:** Lentiviral vectors pLenti6.3-DR7-IRES2-EGFP was constructed and then transfected to human glioma cells U87. A separate U87 cell line stably expressing DR7 was established after blasticidin screening. The cell proliferation was detected by cell counting Kit-8 and the cell cycle was measured by flow cytometry. The migration and invasion abilities were detected by wound healing assay and transwell assay, respectively. **Results:** The pLenti6.3-DR7-6 × His-IRES2-EGFP lentiviral expression vector was constructed and U87-DR7-EGFP cell line stably expressing DR7 gene was established successfully. Compared with U87-NC-EGFP and U87 cells, The cell proliferation of U87-DR7-EGFP cells was significantly increased. Flow cytometry showed that the overexpression of DR7 increased the proportion of U87 cells at S and G2/M phase compared with U87-NC-

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助(30972784, 81273235, 81201520)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: yaokun@njmu.edu.cn; hwx66@126.com

EGFP and U87 cells. The percentages of S phase were  $(34.73 \pm 1.12)\%$ ,  $(24.89 \pm 0.93)\%$ ,  $(25.39 \pm 0.96)\%$  ( $P < 0.001$ ), and G2/M phase were  $(17.35 \pm 1.61)\%$ ,  $(11.36 \pm 1.50)\%$ ,  $(13.17 \pm 1.95)\%$  ( $P < 0.05$ ), respectively. The cure rates were significantly increased in the U87-DR7-EGFP cells compared with U87-NC-EGFP and U87 cells: 6 h cure rates were  $(33.55 \pm 2.83)\%$ ,  $(23.50 \pm 3.18)\%$ ,  $(22.03 \pm 1.47)\%$  and 12 h cure rates were  $(70.50 \pm 5.39)\%$ ,  $(53.60 \pm 4.67)\%$ ,  $(55.09 \pm 2.83)\%$ , respectively. The average number of invasive cells in each visual field was significantly increased in the U87-DR7-EGFP cells compared with that of the U87-NC-EGFP and U87 cells ( $543.00 \pm 22.94$ ,  $387.00 \pm 15.63$ ,  $412.00 \pm 20.30$ ,  $P < 0.001$ ). **Conclusion:** Human herpesvirus 6 variant A DR7 gene promote the proliferation, migration and invasion of human glioma cell U87 *in vitro*, suggesting that it may play a role in the development of glioma.

[Key words] human herpesvirus 6; glioma; DR7; proliferation; migration; invasion

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(4): 438-443]

神经胶质瘤是人类最常见的颅内原发性肿瘤,其中胶质母细胞瘤的生存期一般不超过 12 个月,5 年存活率不到 5%,对人类健康造成严重威胁<sup>[1]</sup>。神经胶质瘤病因比较复杂,主要与遗传、基因突变及物理化学因素等相关,近年来病毒感染与之相关的观点及证据逐渐成为研究热点<sup>[2-5]</sup>。多项研究显示人类疱疹病毒 6 型 (human herpesvirus type 6, HHV-6) 存在于人脑胶质瘤组织中,两者之间存在相关性<sup>[6-10]</sup>,尤其是与脑胶质瘤之间有着密切的联系,已有文献报道 HHV-6 在成人脑肿瘤中的阳性率为 8%~37%,本实验室前期研究表明神经胶质瘤 HHV-6 感染率和正常脑组织相比具有显著性差异<sup>[4,6-8]</sup>。文献报道 HHV-6 DR7 基因是潜在的转化基因并且具有反式激活作用<sup>[9]</sup>,可能参与神经胶质瘤发生发展。本研究采用慢病毒载体构建稳定表达 HHV-6A 亚型 DR7 基因的细胞株 U87-DR7-EGFP,研究其对神经胶质瘤细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

U87、293T 细胞、pMD18-T-DR7 质粒由南京医科大学微生物与免疫学系实验室保存。携带增强型绿色荧光蛋白(EGFP)基因的慢病毒载体 pLenti6.3-MCS-IRES2-EGFP、包装质粒 pLP1、pLP2、pLP/VSVG 和感受态细胞 Stbl3 购自美国 Invitrogen 公司。

限制性内切酶 *Pac* I、*Nhe* I 购自美国 MBI 公司;T4 DNA Ligase 购自美国 NEB 公司;DL2000 购自北京天根生物;DMEM 培养基、FBS 购自美国 Gibco 公司;Trypsin、RIPA 蛋白裂解液购自杭州碧云天公司,GAPDH 单克隆抗体购自美国 Bioworld 公司、抗 His 一抗购自北京天根生物、羊抗鼠二抗购自上海生兴公司、羊抗兔二抗购自美国 Abgent 公司。Cell Counting Kit-8(CCK-8)购自南京凯基生物、

Transwell 小室购自美国 Corning 公司、Matrigel 基质胶购自美国 BD 公司。引物由上海赛百盛基因技术有限公司合成,测序由上海英潍捷基贸易有限公司完成。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 重组慢病毒表达载体的构建、慢病毒感染及稳定细胞株筛选

以 pMD18-T-DR7 质粒为模板,以 P1:5'-GACA-CTTAATTAAGCCGCCACCATGCGGCATCTCCCGTCCACGGGATGC-3';P2:5'-GTGTCGCTAGCTTAGT-GATGATGATGATGATGCTTCACCTCCGTGGCGTCTAATCC-3',为上下游引物进行 PCR(扩增的目的基因携带 6 × His 片段),电泳回收目的片段经 *Pac* I、*Nhe* I 双酶切,与经过同样双酶切的载体 pLenti6.3-MCS-IRES2-EGFP 连接。测序验证重组克隆插入片段的序列信息。用构建的慢病毒表达载体和包装质粒共转染 293T 细胞包装病毒。包装成功的慢病毒表达载体 pLenti6.3-DR7-6 × His-IRES2-EGFP 感染 U87 细胞,用含 3 μg/ml blasticidin 的完全培养基进行筛选,获得稳定表达目的基因的的稳定细胞株,命名为 U87-DR7-EGFP。用同样的方法筛选出只含空载体的稳定株,命名为 U87-NC-EGFP,作为阴性对照。

#### 1.2.2 Western blot 检测目的蛋白的表达

收集稳定表达 HHV-6A 亚型 DR7 基因的 U87-DR7-EGFP 细胞、阴性对照 U87-NC-EGFP 细胞及 U87 细胞,冷 PBS(pH7.2)洗 2 次,RIPA 裂解液裂解细胞收蛋白。进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,转移至 PVDF 膜上,用 5%脱脂奶粉室温封闭 1 h,加入抗 His 一抗 4℃过夜,辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗 37℃ 1 h,ECL 显色。

#### 1.2.3 CCK-8 测细胞增殖能力

收集稳定表达 HHV-6A 亚型 DR7 基因的 U87-DR7-EGFP 细胞及阴性对照 U87-NC-EGFP 细胞、

U87 细胞,以  $5 \times 10^4$  个/ml 接种细胞悬液 100  $\mu$ l 于 96 孔板,置于  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  饱和湿度的培养箱内培养 24、48、72 h。每孔内加入 10  $\mu$ l 的 CCK-8 试剂,继续孵育 1~4 h,450 nm 波长测定吸光值。

#### 1.2.4 流式细胞仪(FCM)检测细胞周期

收集稳定表达 HHV-6A 亚型 DR7 基因的 U87-DR7-EGFP 细胞、阴性对照 U87-NC-EGFP 细胞及 U87 细胞,用 PBS 洗涤 2 次,弃上清,缓慢加入预冷 70%乙醇,  $-20^\circ\text{C}$  固定过夜。离心收集细胞, PBS 洗涤 1 次,加入碘化丙啶(PI),  $4^\circ\text{C}$  避光孵育 30 min 后流式细胞仪检测细胞周期。

#### 1.2.5 划痕试验检测细胞迁移能力

收集稳定表达 HHV-6A 亚型 DR7 基因的 U87-DR7-EGFP 细胞及阴性对照 U87-NC-EGFP 细胞、U87 细胞,以  $2 \times 10^5$  个/ml 接种于 6 孔板,每孔 2 ml,置于  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  饱和湿度的培养箱内培养 24 h,用无菌的加样枪头垂直划出一无细胞的细痕,制作细胞伤口模型,每组设 3 个复孔;用 PBS 洗 3 次,作细胞划痕后,每孔加 2 ml 低浓度血清培养基继续培养,于 6、12、24 h 时拍照观察各组间划痕愈合情况。采用 Image Pro Plus6.0 软件进行划痕宽度测量,计算细胞愈合率,愈合率=[愈合前两侧细胞间的距离-愈合后两侧细胞间的距离]/愈合前两侧细胞间的距离 $\times 100\%$ ]。

#### 1.2.6 Transwell 小室膜侵袭试验检测细胞的侵袭能力

吸取 Matrigel 胶按 1:5 稀释。每个小室铺胶 60  $\mu$ l,冰上操作。置  $37^\circ\text{C}$  培养箱内 4~5 h 使胶凝固。吸出小室内残余液体。每个小室加入 70  $\mu$ l 血清培养基,  $37^\circ\text{C}$  30 min 水化基底膜。收集稳定表达 HHV-6A 亚型 DR7 基因的 U87-DR7-EGFP 细胞及阴性对照 U87-NC-EGFP 细胞、U87 细胞,用无血清培养基调整细胞密度为  $1 \times 10^6$  个/ml,吸取 100  $\mu$ l 加入到侵袭小室内。下室加入含 20% FBS 的 DMEM,培养 24 h。结晶紫染色,高倍显微镜下随机计数 5 个视野。

#### 1.3 统计学分析

实验均独立重复 3 次,应用 SPSS13.0 进行统计分析,计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,应用 *t* 检验和方差分析,  $P \leq 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 DR7 重组慢病毒表达载体的构建及稳定细胞株的筛选

重组慢病毒表达载体扩增后经 *Pac I*、*Nhe I* 双酶切,琼脂糖凝胶电泳鉴定可获得大小为 1 092 bp 的目的片段(图 1A)。重组慢病毒感染 U87 细胞,经 blasticidin 筛选获得稳定表达目的基因的的稳定株,荧光显微镜可见 U87-DR7-EGFP 稳转细胞中荧光表达(图 1B)。取 U87-DR7-EGFP 稳转细胞、U87-NC-EGFP 稳转株和 U87 细胞提取蛋白,以抗 His 抗体为一抗,进行 Western blot 检测,也可见 DR7 蛋白的大量表达(图 1C)。

### 2.2 DR7 基因表达对细胞增殖能力的影响

稳定表达 DR7 基因的 U87-DR7-EGFP 细胞、U87-NC-EGFP 细胞及 U87 细胞进行 CCK-8 检测,结果表明 U87-DR7-EGFP 细胞的增殖能力强于 U87-NC-EGFP 细胞、U87 细胞,差异具有统计学意义(图 2)。

### 2.3 DR7 基因表达对细胞周期的影响

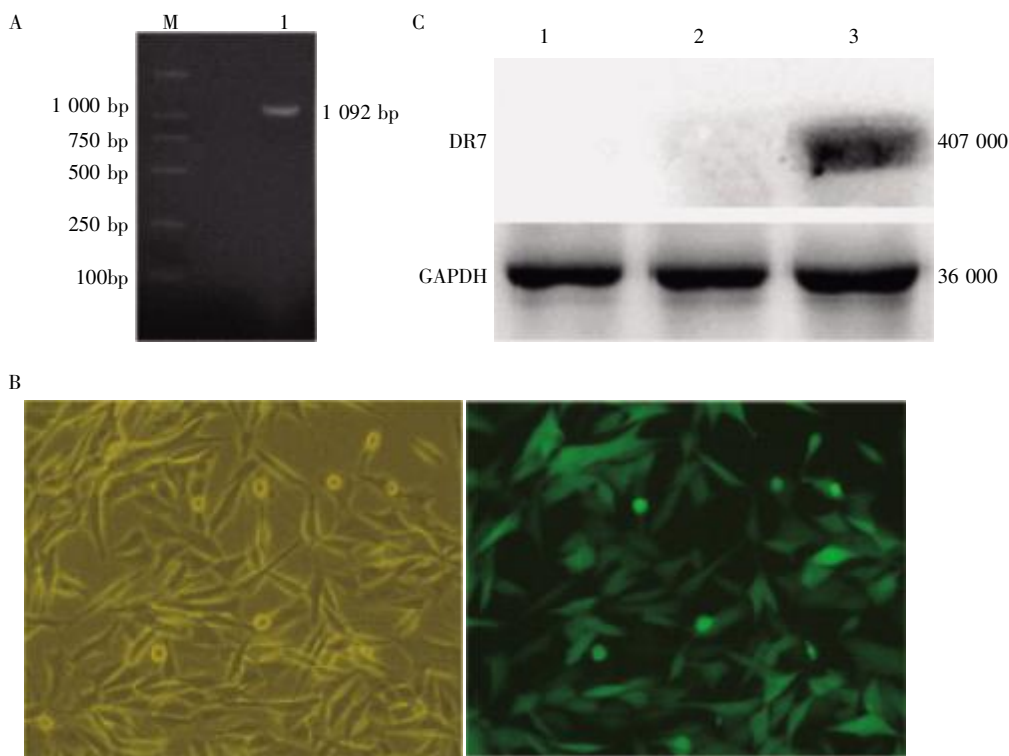
稳定表达 DR7 基因的 U87-DR7-EGFP 细胞、U87-NC-EGFP 细胞及 U87 细胞经 PI 染色,流式细胞仪检测细胞周期。U87-DR7-EGFP、U87-NC-EGFP、U87 细胞在 G0/G1 期的比例分别为  $(45.37 \pm 2.68)\%$ 、 $(62.78 \pm 3.41)\%$ 、 $(60.42 \pm 1.83)\%$ ;S 期分别为  $(34.73 \pm 1.12)\%$ 、 $(24.89 \pm 0.93)\%$ 、 $(25.39 \pm 0.96)\%$ ;G2/M 期分别为  $(17.35 \pm 1.61)\%$ 、 $(11.36 \pm 1.50)\%$ 、 $(13.17 \pm 1.95)\%$ (图 3)。结果表明 DR7 基因表达使 U87 细胞在 G0/G1 所占比例减少( $P < 0.001$ ),而 S 期和 G2/M 期明显增加( $P < 0.001$ ,  $P < 0.05$ )。

### 2.4 DR7 基因表达对细胞迁移能力的影响

用细胞划痕试验研究 HHV-6A 亚型 DR7 基因对 U87 细胞迁移能力的影响。在 0、6、12、24 h 显微镜下拍照(图 4A、B)。结果显示培养 6 h, U87-DR7-EGFP 细胞的愈合能力明显强于 U87-NC-EGFP、U87 细胞,愈合率分别为: $(33.55 \pm 2.83)\%$ 、 $(23.50 \pm 3.18)\%$ 、 $(22.03 \pm 1.47)\%$ ,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ )。培养 12 h, U87-DR7-EGFP、U87-NC-EGFP、U87 细胞愈合率分别为: $(70.50 \pm 5.39)\%$ 、 $(53.60 \pm 4.67)\%$ 、 $(55.09 \pm 2.83)\%$ ,差异更加显著( $P < 0.001$ ),培养 24 h,细胞划痕基本愈合。

### 2.5 Transwell 观察 DR7 基因表达对细胞侵袭能力的影响

用铺有 Matrigel 的 Transwell 小室检测细胞的侵袭能力,结果显示稳定表达 DR7 基因的 U87-DR7-EGFP 细胞穿膜数量明显多于 U87-NC-EGFP 细胞、U87 细胞。U87-DR7-EGFP 细胞、U87-NC-EGFP 和 U87 细胞的穿膜数分别为  $(543.00 \pm$



A:重组质粒双酶切,琼脂糖凝胶电泳鉴定可获得大小为 1 092 bp 的目的片段(M:DNA marker;I:1 092 bp 目的片段);B:荧光显微镜下观察 DR7 基因稳定表达的 U87-DR7-EGFP 细胞( $\times 100$ ;左:明场视野;右:荧光视野);C:DR7 基因表达产物的 Western blot 鉴定(1:U87 细胞;2:U87-NC-EGFP 细胞;3:U87-DR7-EGFP 细胞)。

图 1 含 DR7 基因的重组慢病毒载体的构建和稳定表达

Figure 1 Construction of recombinant lentiviral vector containing DR7 gene and its stably expression in U87 cells

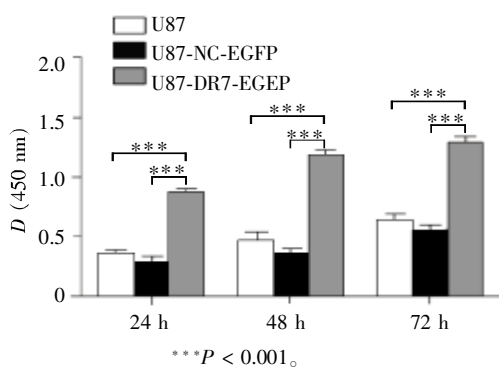


图 2 CCK-8 实验检测细胞增殖能力

Figure 2 Cell Counting Kit-8 detect the proliferative capacity of U87, U87-NC-EGFP and U87-DR7-EGFP cells

22.94)、(387.00 ± 15.63)、(412.00 ± 20.30)个,差异具有统计学意义(图 5)。

### 3 讨论

神经胶质瘤尤其是胶质母细胞瘤,以其高致残率、高致死率及短生存期著称,严重威胁着人类健康。目前神经胶质瘤治疗手段仍以外科手术为主,辅以放疗及化疗。但是,神经胶质瘤的病因及发病机

制至今尚不清楚,严重制约了临床治疗效果。近年来有关病毒在神经胶质瘤发生发展中的作用逐渐引起了人们的关注,多项研究报道在神经胶质瘤组织中发现了 HHV-6 核酸及蛋白,并成功在人胶质瘤囊液标本中分离到 HHV-6 病毒株<sup>[2,8]</sup>。

HHV-6 是一类嗜淋巴细胞的病毒,属疱疹病毒  $\beta$  亚科,分为 A 和 B 两个亚型。1986 年 Salahuddin 等<sup>[10]</sup>从 HIV 和淋巴组织增生性疾病患者的外周血单个核细胞中首次分离得到,HHV-6 基因组为线性双链 DNA 分子,大小 160~162 kb,包含 143~145 kb 独特结构域(unique region,U),两侧为 8~9 kb 的末端正向重复序列 (terminal direct repeats,DR),DR 区的 ORFs 依次为 DR1~DR7<sup>[9]</sup>。HHV-6 DR7 基因具有转化、反式激活和致癌特性<sup>[11]</sup>。DR7 基因全长 1 092 bp,编码 357 个氨基酸,DR7 编码蛋白可激活 HIV-1 LTR 启动子,促进 HIV-1 复制。Kashanchi 等<sup>[12-13]</sup>研究发现 HHV-6 DR7 基因的表达可以导致 NIH3T3 细胞的体外转化以及裸鼠皮下成瘤,并且进一步研究表明 DR7 蛋白可以和 p53 结合导致 p53 蛋白功能受损,提示 DR7 是 HHV-6 致瘤的关键基因。

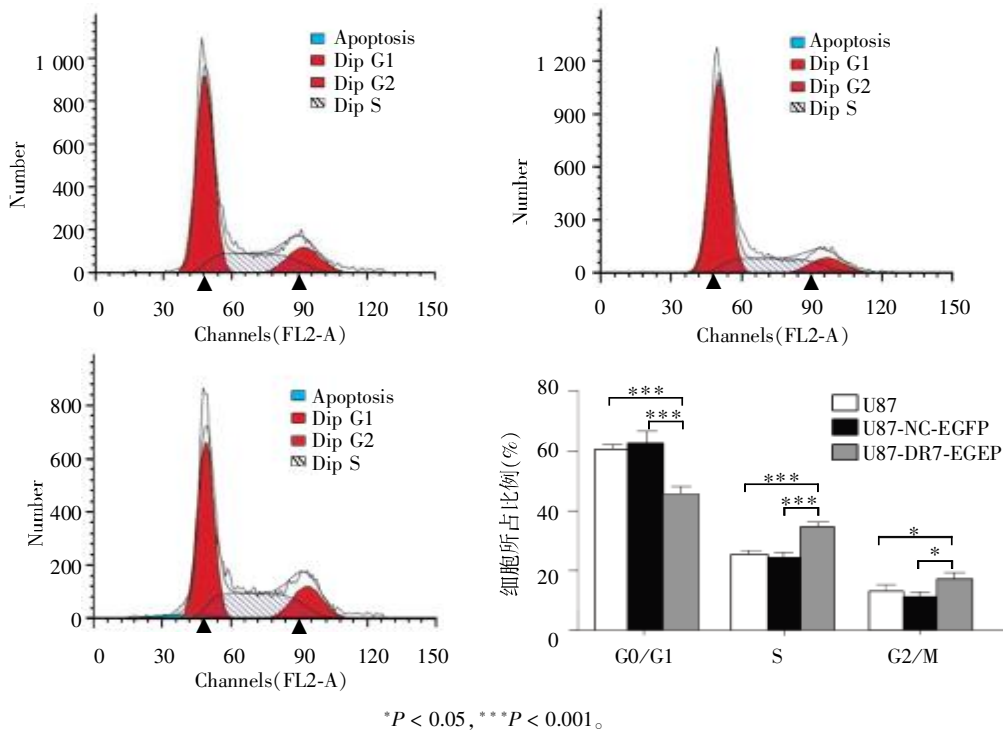
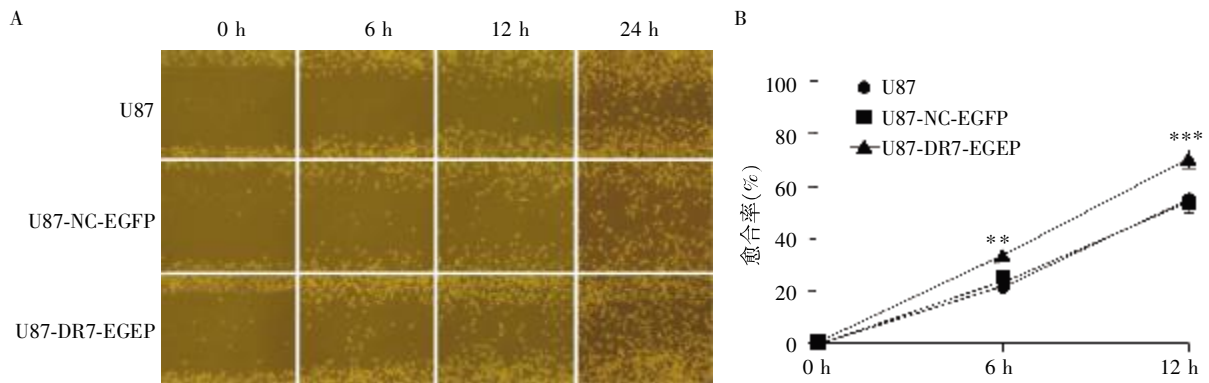


图 3 流式细胞仪检测 U87、U87-NC-EGFP、U87-DR7-EGFP 细胞周期  
Figure 3 Effect of HHV-6 DR7 on U87 cells cycle



与 U87 和 U87-NC-EGFP 相比, \* $P < 0.01$ , \*\* $P < 0.001$ 。

图 4 显微镜下观察 U87、U87-NC-EGFP、U87-DR7-EGFP 细胞划痕实验( $\times 100$ )

Figure 4 Migration activity of U87, U87-NC-EGFP, U87-DR7-EGFP cells examined using wound healing assay( $\times 100$ )

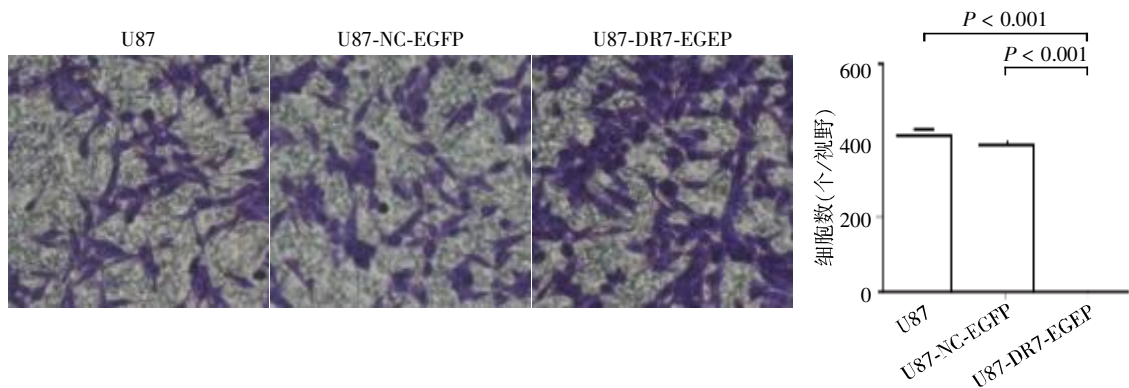


图 5 U87、U87-NC-EGFP、U87-DR7-EGFP 细胞Transwell 小室侵袭实验( $\times 200$ )

Figure 5 Effect of HHV-6 DR7 on U87 cells invasiveness( $\times 200$ )

HHV-6 具有显著的神经嗜性,体内外实验表明 HHV-6 可以感染成人星形细胞和少突神经胶质细胞<sup>[14]</sup>。HHV-6 感染神经胶质前体细胞可使这些细胞向少突神经胶质细胞分化<sup>[15]</sup>,表明 HHV-6 感染可能与少突神经胶质瘤发生相关。HHV-6 是唯一可以整合到感染宿主染色体的人类疱疹病毒,Amirian 等<sup>[16]</sup>认为染色体整合 HHV-6(CI-HHV-6)与家族性胶质瘤发生风险存在相关性。我们推测 HHV-6 可能通过其转化基因 DR7 促进脑胶质瘤增殖、侵袭等恶性行为,参与了神经胶质瘤的发生发展,这是目前 HHV-6 转化基因促进脑胶质瘤发展的首次报道。

本研究利用慢病毒载体建立了稳定高表达 DR7 基因的神经胶质瘤细胞株。CCK-8 实验和细胞周期检测表明 DR7 基因能够促进细胞周期的运行,S 期和 G2/M 期比例明显增高,从而促进细胞的增殖。划痕实验和 Transwell 小室侵袭实验发现 DR7 基因能够促进神经胶质瘤细胞迁移和侵袭。本研究结果将为人脑胶质瘤的预防和治疗提供新的靶点和思路。

#### [参考文献]

- [1] Miller G. Brain cancer. A viral link to glioblastoma? [J]. *Science*, 2009, 323(5910): 30-31
- [2] Crawford JR, Santi MR, Cornelison R, et al. Detection of human herpesvirus-6 in adult central nervous system tumors: predominance of early and late viral antigens in glial tumors[J]. *J Neurooncol*, 2009, 95(1): 49-60
- [3] Crawford JR, Santi MR, Thorarinsdottir HK, et al. Detection of human herpesvirus-6 variants in pediatric brain tumors: association of viral antigen in low grade gliomas [J]. *J Clin Virol*, 2009, 46(1): 37-42
- [4] Cuomo L, Trivedi P, Cardillo MR, et al. Human herpesvirus 6 infection in neoplastic and normal brain tissue [J]. *J Med Virol*, 2001, 63(1): 45-51
- [5] Saddawi-Konefka R, Crawford JR. Chronic viral infection and primary central nervous system malignancy[J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2010, 5(3): 387-403
- [6] Chan PK, Ng HK, Cheng AF. Detection of human herpesviruses 6 and 7 genomic sequences in brain tumours [J]. *J Clin Pathol*, 1999, 52(8): 620-623
- [7] Luppi M, Barozzi P, Maiorana A, et al. Human herpesvirus-6: a survey of presence and distribution of genomic sequences in normal brain and neuroglial tumors [J]. *J Med Virol*, 1995, 47(1): 105-111
- [8] Chi J, Gu B, Zhang C, et al. Human herpesvirus 6 latent infection in patients with glioma[J]. *J Infect Dis*, 2012, 206(9): 1394-1398
- [9] De Bolle L, Naesens L, De Clercq E. Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features, and therapy [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2005, 18(1): 217-245
- [10] Salahuddin SZ, Ablashi DV, Markham PD, et al. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders[J]. *Science*, 1986, 234(4776): 596-601
- [11] Lacroix A, Collot-Teixeira S, Mardivirin L, et al. Involvement of human herpesvirus-6 variant B in classic Hodgkin's lymphoma via DR7 oncoprotein[J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(19): 4711-4721
- [12] Doniger J, Muralidhar S, Rosenthal LJ. Human cytomegalovirus and human herpesvirus 6 genes that transform and transactivate [J]. *Clin Microbiol Rev*, 1999, 12(3): 367-382
- [13] Kashanchi F, Araujo J, Doniger J, et al. Human herpesvirus 6 (HHV-6) ORF-1 transactivating gene exhibits malignant transforming activity and its protein binds to p53[J]. *Oncogene*, 1997, 14(3): 359-367
- [14] Kofman A, Marcinkiewicz L, Dupart E, et al. The roles of viruses in brain tumor initiation and oncomodulation[J]. *J Neurooncol*, 2011, 105(3): 451-466
- [15] Dietrich J, Blumberg BM, Roshal M, et al. Infection with an endemic human herpesvirus disrupts critical glial precursor cell properties [J]. *J Neurosci*, 2004, 24(20): 4875-4883
- [16] Amirian ES, Scheurer ME. Chromosomally-integrated human herpesvirus 6 in familial glioma etiology[J]. *Med Hypotheses*, 2012, 79(2): 193-196

[收稿日期] 2013-01-05