

赖氨酸大黄酸通过调控 miRNA 表达水平抑制 HBV 增殖*

张荣花¹, 王密斯¹, 王琳¹, 冯雪研¹, 郝晓方¹, 甄永占¹, 李琳¹, 陈静¹, 章广玲^{1,2△} (1. 华北理工大学基础医学院病原生物学与免疫学教研室, 河北唐山 063000; 2. 河北省唐山市慢性病临床基础研究重点实验室 063000)

【摘要】目的 研究赖氨酸大黄酸在体外对乙型肝炎病毒(HBV)增殖及病毒抗原表达的影响及分子机制,为研究赖氨酸大黄酸抗 HBV 作用机制奠定初步的实验依据。**方法** 将 HepG2. 2. 15 细胞分为实验组(分别加入 5、10、20、40、80 μmol/L 赖氨酸大黄酸)及不加赖氨酸大黄酸的对照组,分别培养 24、48 h 收获上清液,采用四唑氮化合物(MTS)法检测细胞的增殖活性,采用 ELISA 法检测 HBsAg 和 HBeAg 的表达水平,实时定量 PCR(RT-PCT)检测其中 HBV DNA 的拷贝数及 miR-210、miR-185、miR-199a-3p、miR-370、miR-196a、miR-184、miR-217 的表达水平。miR-210、miR-185、miR-199a-3p、miR-370、miR-196a、miR-184、miR-217 反义链(ASO)分别转染 HepG2. 2. 15 细胞后,MTS 法检测细胞的增殖活性,ELISA 法检测 HBsAg 和 HBeAg 的表达水平。**结果** 在没有对 HepG2. 2. 15 细胞的增殖活性产生影响的情况下,赖氨酸大黄酸抑制了 HBsAg 的产生和 HBV 的增殖。20 μmol/L 的赖氨酸大黄酸明显促进了 miR-210、miR-185、miR-199a-3p 的表达,而抑制了 miR-370 的表达,与对照组相比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 赖氨酸大黄酸可能通过影响细胞内 miRNA 的表达抑制 HepG2. 2. 15 细胞中 HBV 的增殖和 HBsAg 的产生。

【关键词】 赖氨酸大黄酸; 乙型肝炎病毒; 乙型肝炎病毒表面抗原; miRNA

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2015. 19. 003 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)19-2817-03

RHL inhibiting proliferation of HBV in HepG2. 2. 15 cells through regulating the miRNA expression level* ZHANG Rong-hua¹, WANG Mi-si¹, WANG Lin¹, FENG Xue-yan¹, HAO Xiao-fang¹, ZHEN Yong-zhan¹, LI Lin¹, CHEN Jing¹, ZHANG Guang-ling^{1,2△} (1. Teaching and Researching Section of Pathogenic Microbiology and Immunology, School of Basic Medical Sciences, North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei 063000, China; 2. Tangshan Key Laboratory for Preclinical and Basic Research on Chronic Diseases, Tangshan, Hebei 063000, China)

【Abstract】Objective To study the effect and molecular mechanisms of rhein lysinate(RHL) on the proliferation of hepatitis B virus(HBV) and viral antigen expression to establish the preliminary experimental evidence for researching the anti-HBV mechanism of RHL. **Methods** HepG2. 2. 15 cells were divided into the experimental groups (adding 5, 10, 20, 40, 80 μmol/L RHL) and the control group without adding RHL. After culturing for 24, 48 h, the supernatant was obtained. The cell proliferation activity was detected by the non-radioactive cell proliferation assay (MTS), the expression level of HBsAg and HBeAg were detected by adopting the ELISA method, the HBV DNA copy number and the expression levels of miR-210, miR-185, miR-199a-3p, miR-370, miR-196a, miR-184 and miR-217 were detected by real time quantitative PCR(RT PCT). HepG2. 2. 15 was transfected by miR-210, miR-185, miR-199a-3p, miR-370, miR-196a, miR-184 and miR-217ASO, the cell proliferation activity was detected by the MTS method, the expression levels of HBsAg and HBeAg were detected by the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), respectively. **Results** Without generating the effect on the cell proliferation activity, RHL inhibited the generation of HBsAg and the HBV proliferation. The expression level of miR-210, miR-185 and miR-199a-3p was increased by RHL(20 μmol/L) and the expression level of miR-370 was inhibited by RHL(20 μmol/L), the differences compared with the control group were statistically significant($P < 0.05$). **Conclusion** RHL is possible to suppress HBV proliferation and HBsAg generation by affecting the miRNA expression in HepG2. 2. 15 cells.

【Key words】 rhein lysinate; hepatitis B virus; hepatitis B surface antigen; miRNA

乙型肝炎病毒(HBV)是一种可引起人类急、慢性肝炎的 DNA 病毒。虽然有高活性的乙肝疫苗,而且已广泛使用了 20 多年,但 HBV 的感染仍然是一个危害全球健康的重大疾病。全球有超过 3.5 亿的 HBV 感染者,而且每年急慢性 HBV 感染致死人数约有一百万。中药对病毒性传染病的作用是肯定的,大黄酸是传统中药大黄中的一个重要蒽醌类化合物,具有

广泛的药理活性,如抗炎、抗菌、抗病毒等。不同剂量的大黄酸具有不同的功效。由于大黄酸水溶性差,生物利用度低,其进一步应用受到很大限制。为了改善大黄酸的水溶性,对大黄酸进行结构改造获得了水溶性好的赖氨酸大黄酸,与大黄酸相比,赖氨酸大黄酸溶解度显著提高为 8 mg/mL,其中的赖氨酸盐是人体 8 种必需氨基酸之一,安全无不良反应^[1]。本项目首次探

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金资助项目(81201281);河北省自然科学基金资助项目(H2013209180、C2012401037、H2013209040);河北省唐山市科技计划资助项目(12140209A-4);华北理工大学研究生创新项目(2015S16、2015S17);国家级、省级大学生创新项目(201410081021)。

作者简介:张荣花,女,在读硕士,主要从事病毒相关肿瘤学研究。△ 通讯作者,E-mail: zhguangling@126.com。

讨赖氨大黄酮体外对 HBV 复制的调控作用,确定赖氨大黄酮是否通过调控微小 RNA(miRNA)的表达进而影响 HBV 的蛋白表达和病毒增殖,通过分析赖氨大黄酮与 miRNA 在 HBV 感染中的作用,为理解赖氨大黄酮、细胞 miRNAs 调控病毒增殖提供新的理论依据,也为今后开发抗病毒药物或手段提供新的分子基础或靶点。

1 材料与方 法

1.1 材料 四唑氮化合物(MTS)购自美国 Sigma 公司,ELISA 速显检测试剂盒购自英科新创(厦门)科技有限公司。HepG2.2.15 细胞由天津医科大学生命科学中心实验室提供。miRNA 反义链(ASO)由美国 Sigma 公司合成。Trizol 购自上海生工生物工程技术有限公司。专利药赖氨大黄酮由卫生部北京医院/卫生部北京老年医学研究所惠赠。

1.2 方 法

1.2.1 HepG2.2.15 细胞培养 HepG2.2.15 细胞培养基为含 20% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 μg/mL 链霉素的 MEM-α,细胞于 37 °C 5% CO₂ 的细胞培养箱中生长。实验组:赖氨大黄酮浓度分别为 5、10、20、40、80 μg/mL。对照组:不加入赖氨大黄酮。细胞转染:转染前 1 d,胰酶消化细胞并计数,8 000~11 000 cell/100 μL 每孔铺板。分别取 miRNA ASO 和 LacZ 基因,分别按 Invitrogen 公司 Oligofectamine Reagent 转染试剂盒说明书配制转染试剂/DNA 混合液:按每孔 0.3 μL Oligofectamine Reagent 试剂、30 pmol ASO 及 90 μL 无血清培养基 Opti-MEM 配制,混匀后加入 96 孔板中,置于 37 °C 5% CO₂ 孵箱中培养 48 h。实验在同等条件下重复 3 次。

1.2.2 MTS 法检测 HepG2.2.15 细胞增殖活性 将 HepG2.2.15 细胞 8 000~11 000 cell/100 μL 每孔接种于 96 孔培养板中,24 h 贴壁后分别加入 5、10、20、40、80 μmol/L 浓度的赖氨大黄酮,每个浓度设 9 个复孔,分别培养 24、48 h,吸出上清后,每孔加入培养液 100 μL,每孔加 MTS 20 μL(MTS:PMS 比例为 19:1),置于 37 °C 5% CO₂ 孵箱继续培养 2 h。取出培养板,采用 μQuant 分光光度计检测波长为 490 和 630 nm 的各孔吸光度值(A₄₉₀ 和 A₆₃₀)。以(实验孔 A₄₉₀ - 空白孔 A₄₉₀)/(LacZ 孔 A₄₉₀ - 空白孔 A₄₉₀)作为标准化后的数据,采用

SPSS11.0 软件包对 3 个孔的均值进行统计分析,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

1.2.3 ELISA 法检测 HBsAg 和 HBeAg 将 HepG2.2.15 细胞 8 000~11 000 cell/100 μL 每孔接种于 96 孔培养板中,24 h 贴壁后分别加入 5、10、20、40、80 μmol/L 浓度的赖氨大黄酮,每个浓度设 9 个复孔,分别培养 48 h,吸出上清液后,按照试剂盒的说明书进行操作。采用 μQuant 分光光度计检测波长为 450 和 630 nm 的各孔吸光度值(A₄₅₀ 和 A₆₃₀)。以(实验孔 A₄₅₀ - 空白孔 A₄₅₀)/(LacZ 孔 A₄₅₀ - 空白孔 A₄₅₀)作为标准化后的数据,采用 SPSS11.0 软件包对 3 个孔的均值进行统计分析,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

1.2.4 实时荧光定量 PCR(RT-PCR)检测 HBV DNA 及 miRNA 将培养的 HepG2.2.15 细胞经 20 μmol/L 赖氨大黄酮处理 48 h 后,吸出的上清液,按照 HBV DNA 定量诊断试剂盒(PCR-Fluorescence Probing)说明书进行操作,数据的收集由 ABI 7500 定量 PCR 仪自带软件完成。通过软件可以计算出所有标准品和标本的阈值循环(Ct),并且根据标准品 Ct 值绘制出标准曲线,由标准曲线计算出样品的起始拷贝数 Co=10^{(Ct-Intercept)/slope}。同时,根据 Takara 公司 SYBR PrimeScript® miRNA RT-PCR 试剂盒说明书加入 1 μg 的总 RNA 及反转录反应所需试剂,反应条件为 37 °C 60 min;85 °C 5 s。用反转录合成的 cDNA 作为模板进行 RT-PCR 检测 miR-210、miR-185、miR-199a-3p、miR-370、miR-196a、miR-184、miR-217 的表达水平。

1.3 统计学处理 将实验数据整理,用 Excel 建立数据库,用 SPSS11.0 软件包进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用单因素方差分析,P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 赖氨大黄酮对 HepG2.2.15 细胞增殖的影响 MTS 法测定结果表明,5、10、20 μmol/L 的赖氨大黄酮对 HepG2.2.15 细胞增殖没有明显的影响,当赖氨大黄酮浓度大于 20 μmol/L 时能抑制 HepG2.2.15 细胞增殖(P<0.05),赖氨大黄酮对 HepG2.2.15 细胞增殖的抑制作用呈浓度和时间依赖性,见表 1。

表 1 赖氨大黄酮对 HepG2.2.15 细胞增殖的影响

培养时间(h)	对照组	实验组				
		5 μmol/L	10 μmol/L	20 μmol/L	40 μmol/L	80 μmol/L
24	100.00	99.66±0.01	99.48±0.03	93.91±0.04	58.14±2.1*	48.12±3.1*
48	100.00	99.34±0.01	99.09±0.04	92.05±0.06	56.80±2.1#	40.15±3.1#

注:与对照组培养 24 h 结果比较,* P<0.05;与对照组培养 48 h 结果比较,# P<0.05。

2.2 赖氨大黄酮对 HepG2.2.15 细胞中 HBsAg 和 HBeAg 表达及 HBV 复制的影响 选择经 MTS 法测定,对 HepG2.2.15 细胞增殖没有明显影响的 5、10、20 μmol/L 浓度的赖氨大黄酮作用于 HepG2.2.15 细胞,采用 ELISA 法检测 HBsAg 和 HBeAg 表达水平。加入不同浓度赖氨大黄酮的各实验组分别与对照组比较,最后以对照组结果为“1”进行标准化。ELISA 法检测结果表明,5、10 μmol/L 的赖氨大黄酮对 HBsAg 和 HBeAg 表达没有明显影响;20 μmol/L 的赖氨大黄酮能抑制 HBsAg 和 HBeAg 表达,与对照组相比较差异具有统计学意义(P<0.05)。采用 RT-PCR 检测对照组和加入不同浓度赖氨大黄酮的各实验组 HBV DNA 水平,最后的结果以对照组的值为“1”进行标准化,各实验组分别与对照组比较,结

果显示 20 μmol/L 的赖氨大黄酮抑制了 HBV 复制,与对照组比较,差异具有统计学意义(P<0.05)。见表 2。

表 2 赖氨大黄酮对 HepG2.2.15 细胞中 HBsAg 和 HBeAg 表达水平及 HBV 复制的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	赖氨大黄酮浓度(μmol/L)	HBsAg	HBeAg	HBV DNA(×10 ⁵ copy/mL)
对照组	0	1.00±0.05	1.00±0.04	1.00±0.06
实验组	5	0.94±0.03	0.98±0.02	1.00±0.03
	10	0.95±0.03	1.00±0.02	1.04±0.03
	20	0.63±0.12*	0.60±0.09*	0.64±0.02*

注:与对照组比较,* P<0.05。

2.3 miR-210、miR-185、miR-199a-3p、miR-370、miR-196a、miR-184、miR-217、miR-370 ASO 转染对 HepG2. 2. 15 细胞增殖、HBsAg、HBeAg 表达水平的影响 实验筛选对 HBsAg、HBeAg 表达及 HepG2. 2. 15 细胞增殖有明显影响的 328 种人类 miRNA, 实验中每种转染的 miRNA ASO 做 3 个复孔, 重复检测 3 次, 实验组分别与转染 LacZ 基因的对照组进行对比, 最后的结果以对照组的检测值为“1”进行标准化。结果显示, 与转染 LacZ 基因的对照组比较, 在没有对 HepG2. 2. 15 细胞的增殖产生明显影响的情况下, 对 HBsAg 产生有明显影响的 miRNA 有 miR-199a-3p、miR-196a、miR-210、miR-184、miR-217、miR-185、miR-370 ($P < 0.05$), 见表 3。

表 3 对细胞增殖、HBsAg 和 HBeAg 产生影响的 miRNA ($\bar{x} \pm s$)

转染基因	细胞增殖	HBeAg	HBsAg
LacZ	1.00±0.04	1.00±0.02	1.00±0.03
miR-184 ASO	0.93±0.08	0.94±0.03	1.54±0.03*
miR-185 ASO	0.95±0.02	0.95±0.03	1.58±0.03*
miR-196a ASO	0.97±0.07	1.12±0.03	1.59±0.02*
miR-199a-3p ASO	0.98±0.08	1.00±0.02	1.56±0.01*
miR-210 ASO	0.98±0.03	0.98±0.02	1.28±0.03*
miR-217 ASO	0.98±0.02	0.89±0.02	1.29±0.07*
miR-370 ASO	1.00±0.03	0.89±0.03	0.63±0.12*

注: 与转染 LacZ 基因比较, * $P < 0.05$ 。

2.4 赖氨大黄酒对 HepG2. 2. 15 细胞中 miR-210、miR-185、miR-199a-3p、miR-370、miR-196a、miR-184、miR-217 表达水平的影响 选择 20 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的赖氨大黄酒作用于 HepG2. 2. 15 细胞, 采用 RT-PCR 检测 HepG2. 2. 15 细胞中 miR-210、miR-185、miR-199a-3p、miR-370、miR-196a、miR-184 表达水平, 加入 20 $\mu\text{mol/L}$ 赖氨大黄酒的实验组与未加赖氨大黄酒的对照组比较, 最后的结果以对照组的检测值为“1”进行标准化。结果显示, 20 $\mu\text{mol/L}$ 的赖氨大黄酒明显促进了 miR-210、miR-185、miR-199a-3p 的表达, 抑制了 miR-370 的表达, 与对照组相比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 4。

表 4 赖氨大黄酒对 HepG2. 2. 15 细胞中 miRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

miRNAs	对照组	实验组 (20 $\mu\text{mol/L}$)
miR-184	1.00±0.08	0.94±0.03
miR-185	1.00±0.02	1.95±0.03*
miR-196a	1.00±0.07	1.12±0.03
miR-199a-3p	1.00±0.08	2.10±0.02*
miR-210	1.00±0.03	1.98±0.02*
miR-217	1.00±0.02	0.97±0.02
miR-370	1.00±0.03	0.45±0.05*

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

3 讨 论

HBV 是嗜肝 DNA 病毒, 是引起病毒性肝炎的主要病原体之一。虽然现在有预防性疫苗, 但是疫苗的推广使用及免疫效果等方面尚存在许多问题^[2]。乙型肝炎的治疗至今尚无良策, 因此深入研究 HBV 感染机制, 寻找病毒与宿主细胞之间的相互调控和作用机制, 将有利于帮助研究人员找到治疗这种感染性疾病的有效方法。

中医药抗 HBV 的主要思路是通过扶正祛邪达到清除或抑制其复制的目的^[3]。目前筛选抗 HBV 中药主要有 3 条途径: (1) 利用中草药直接作用于人血清来筛选。(2) 利用体外细胞培养筛选抗 HBV 中草药。(3) 利用鸭乙型肝炎动物模型来筛选抗 HBV 中草药。

中药对病毒性传染病的作用是肯定的, 但尚缺乏有说服力的实验证据。故从细胞、分子、蛋白质水平进行机制研究和有效药物的筛选, 研究出有效的中药显得尤为重要。传统中药大黄中的一个重要蒽醌类化合物大黄酸具有广泛的药理活性, 如抗炎、抗菌、抗病毒、抑制肿瘤细胞增殖等。不同剂量的大黄酸具有不同的功效^[4-5]。由于大黄酸水溶性差, 生物利用度低, 使其进一步应用受到很大限制。为了改善大黄酸的水溶性, 由卫生部北京医院/卫生部北京老年医学研究所林雅军博士合成了大黄酸的赖氨酸盐 (分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_8$, 相对分子质量 430), 并申请了国家专利。与大黄酸相比, 赖氨大黄酒溶解度显著提高至 8 mg/mL, 其中的赖氨酸盐是人体 8 种必需氨基酸之一, 安全无不良反应。因此, 赖氨大黄酒比大黄酸更适合临床应用与应用^[6]。

近年发现的 miRNA 作为 1 种转录后基因调节机制, 参与了生物体的生长、发育、衰老、死亡的调控过程, 成为了病毒与宿主细胞相互作用过程中的一种重要的调控分子^[7]。越来越多的研究证实病毒编码的 miRNA 分子或细胞内源性的 miRNA 均参与了病毒感染宿主细胞及宿主细胞抗病毒的过程, 发挥对病毒与宿主细胞相互作用的促进因子或抑制因子, 在病毒的生命活动周期中具有重要作用^[8-11]。目前已发现 miR-32 可以与泡沫病毒 (PFV) mRNA 的 3' 非翻译区 (UTR) 不完全互补结合而抑制病毒转录本的翻译, 从而限制了病毒的增殖^[12]。可见, 宿主细胞的 miRNA 不仅可以作为 1 种抗病毒机制, 而且可促进病毒的增殖, 参与病毒的组织嗜性。对这些细胞 miRNA 在病毒感染过程中的作用的深入理解, 将有助于揭示病毒组织嗜性和致病机制, 从而为抗病毒药物靶点的选择和抗病毒新疗法的开发奠定基础。

本研究中, 利用稳定整合 HBV DNA 的 HepG2. 2. 15 细胞 (可以产生高水平的 HBeAg 和 HBsAg) 作为研究 HBV 复制和增殖的模型, 用于研究赖氨大黄酒体内外对 HBV 复制的调控作用, 结果显示, 在没有对细胞增殖活性产生影响的情况下, 赖氨大黄酒 (20 $\mu\text{mol/L}$) 抑制了 HBsAg 的产生和 HBV 的增殖。本研究通过转染 328 种人类 miRNA 的 ASO 封闭宿主细胞的 miRNA 功能, 通过初步筛选实验, 采用 MTS 法检测细胞的增殖活性, ELISA 法检测 HBeAg 和 HBsAg 表达水平, RT-PCR 检测 HBV DNA, 初步得到了一些不影响细胞增殖但对病毒复制有影响的细胞 miRNAs, 包括 miR-210、miR-185、miR-199a-3p、miR-370、miR-196a、miR-184。在此基础上, 选择 20 $\mu\text{mol/L}$ 的赖氨大黄酒作用于 HepG2. 2. 15 细胞, 采用 RT-PCR 检测 HepG2. 2. 15 细胞中 miR-210、miR-185、miR-199a-3p、miR-370、miR-196a、miR-184 表达水平, 发现 20 $\mu\text{mol/L}$ 的赖氨大黄酒明显促进了 miR-210、miR-185、miR-199a-3p 的表达, 而抑制了 miR-370 的表达。进一步研究这几个 miRNA 抑制 HBV 增殖的机制, 找到它们的靶基因, 并将 miRNA 的功能与它们各自靶基因功能联系起来, 将有助于为抗 HBV 治疗提供新途径。

综上所述, 本研究通过分析赖氨大黄酒与 miRNA 在 HBV 感染中的作用, 为理解赖氨大黄酒、细胞 miRNA 调控病毒增殖提供了新的理论依据, 也为今后开发 (下转第 2822 页)

应禁用^[10]。鲍曼不动杆菌对美罗培南和亚胺培南的耐药性也较低,分别为 11.54% 和 17.31%,因此这 2 种药物可以作为治疗鲍曼不动杆菌的常规药物。

总之,恶性肿瘤患者感染鲍曼不动杆菌的现患率为 7.53%,不同年龄、不同原发肿瘤的患者其现患率存在差异。在临床工作中应减少患者的侵入性操作,并规范使用抗菌药物,根据药敏试验结果选择敏感药物,控制耐药菌株产生。

参考文献

- [1] Xin F, Cai D, Sun Y, et al. Exploring the diversity of *Acinetobacter* populations in river water with genus-specific primers and probes[J]. *J Gen Appl Microbiol*, 2014, 60(2):51-58.
- [2] Manikandan M, Abdelhamid HN, Talib A, et al. Facile synthesis of gold nanohexagons on graphene templates in Raman spectroscopy for biosensing cancer and cancer stem cells[J]. *Biosens Bioelectron*, 2014, 55(10):180-186.
- [3] Pokorny B, Müller-Loennies S, Kosma P. Synthesis of α -D-glucosyl substituted methyl glycosides of 3-deoxy- α -D-manno- and D-glycero- α -D-talo-oct-2-ulosonic acid (Kdo/Ko) corresponding to inner core fragments of *Acinetobacter* lipopolysaccharide[J]. *Carbohydr Res*, 2014, 391:66-81.
- [4] Smith AL, Hamilton KM, Hirschle L, et al. Characterization and molecular epidemiology of a fungal infection of edible crabs (*Cancer pagurus*) and interaction of the fungus with the dinoflagellate parasite *Hematodinium* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2013, 79(3):783-793.
- [5] Chusri S, Na-Phatthalung P, Siriyong T, et al. Holarrhena

antidysenterica as a resistance modifying agent against *Acinetobacter baumannii*: Its effects on bacterial outer membrane permeability and efflux pumps [J]. *Microbiol Res*, 2014, 169(5):417-424.

- [6] Marwick CA, Yu N, Lockhart MC, et al. Community-associated *Clostridium difficile* infection among older people in Tayside, Scotland, is associated with antibiotic exposure and care home residence: cohort study with nested case-control [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2013, 68(12):2927-2933.
- [7] Monforte V, López-Sánchez A, Zurbano F, et al. Prophylaxis with nebulized liposomal amphotericin B for *Aspergillus* infection in lung transplant patients does not cause changes in the lipid content of pulmonary surfactant [J]. *J Heart Lung Transplant*, 2013, 32(3):313-319.
- [8] Gilkeson CA, Camargo-Valero MA, Pickin LE, et al. Measurement of ventilation and airborne infection risk in large naturally ventilated hospital wards [J]. *Build Environ*, 2013, 65(7):35-48.
- [9] Migliavacca R, Espinal P, Principe L, et al. Characterization of resistance mechanisms and genetic relatedness of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from blood, Italy [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2013, 75(2):180-186.
- [10] Lesho E, Yoon EJ, McGann P, et al. Emergence of colistin-resistance in extremely drug-resistant *Acinetobacter baumannii* containing a novel *pmrCAB* operon during colistin therapy of wound infections [J]. *J Infect Dis*, 2013, 208(7):1142-1151.

(收稿日期:2015-02-25 修回日期:2015-06-25)

(上接第 2819 页)

抗病毒药物或治疗手段提供了新的分子基础或靶点。

参考文献

- [1] 林雅军,甄永占,魏洁,等.赖氨大硫酸盐的合成工艺及活性研究[J]. *中国现代应用药学*, 2010, 27(11):1010-1012.
- [2] 沈灵智,陈恩富,李倩,等.不同剂次重组乙型肝炎疫苗加强免疫效果研究[J]. *疾病监测*, 2011, 26(10):811-814.
- [3] 李勇,林爱花.西药抗病毒疗法与传统中药联合治疗慢性乙型肝炎的新进展[J]. *中国现代药物应用*, 2010, 4(15):17-19.
- [4] Sheng X, Zhu X, Zhang Y, et al. Rhein protects against obesity and related metabolic disorders through liver X receptor-mediated uncoupling protein 1 upregulation in brown adipose tissue [J]. *Int J Biol Sci*, 2012, 8(10):1375-1384.
- [5] Zhang Y, Fan S, Hu N, et al. Rhein reduces fat weight in db/db mouse and prevents diet-induced obesity in C57Bl/6 mouse through the inhibition of PPAR gamma signaling [J]. *PPAR Res*, 2012, 2012:374936.
- [6] Lin YJ, Zhen YZ, Wei J, et al. Effects of Rhein lysinate on H₂O₂-induced cellular senescence of human umbilical vascular endothelial cells [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2011, 32

(10):1246-1252.

- [7] Martínez MA. RNA interference and viruses: current innovations and future trends [M]. Norfolk: Caister Academic Press, 2010.
- [8] Wu W, Guo Z, Zhang X, et al. A microRNA encoded by HSV-1 inhibits a cellular transcriptional repressor of viral immediate early and early genes [J]. *Sci China Life Sci*, 2013, 56(4):373-383.
- [9] Zhang GL, Li YX, Zheng SQ, et al. Suppression of hepatitis B virus replication by microRNA-199a-3p and microRNA-210 [J]. *Antiviral Res*, 2010, 88(2):169-175.
- [10] McKenna DJ, Patel D, McCance DJ. MiR-24 and miR-205 expression is dependent on HPV onco-protein expression in keratinocytes [J]. *Virology*, 2014, 448(100):210-216.
- [11] Xu G, Gao Z, He W, et al. MicroRNA expression in hepatitis B virus infected primary tree shrew hepatocytes and the independence of intracellular miR-122 level for de novo HBV infection in culture [J]. *Virology*, 2014, 448(2):247-254.
- [12] Chiang K, Liu H, Rice AP. miR-132 enhances HIV-1 replication [J]. *Virology*, 2013, 438(1):1-4.

(收稿日期:2015-01-28 修回日期:2015-04-15)