

# AY358935 基因抗水疱口炎病毒的作用及其机制探讨<sup>\*</sup>

黎光平, 柯见龙, 吕盼盼, 朱 茜, 王 翠, 王金阳, 申显英, 熊绍权<sup>△</sup>

成都中医药大学附属医院 肿瘤科 (成都 610072)

**【摘要】** 目的 初步探讨本课题组前期克隆的 AY358935 基因对水疱口炎病毒 (vesicular stomatitis virus, VSV) 的作用及机制。方法 将构建完整的 pcDNA3.1-AY358935 质粒及 pcDNA3.1 空载体分别稳定转染 HEK293 细胞,并以 VSV 感染已转染上述基因或空白的 HEK293 细胞,感染复数 (multiplicity of infection, MOI) 为 0.001。蚀斑分析法检测以上 3 组细胞上清液中不同时间点的病毒滴度,感染 VSV 24 h 后用台盼蓝排斥试验检测各组细胞死亡率;对稳定转染目的基因的细胞提取总 RNA,进行全基因组 cDNA 芯片分析。结果 ①病毒滴度:感染 VSV 12 h 后,pcDNA3.1-AY358935 组细胞上清病毒滴度较 pcDNA3.1 组和空白组低。18 h 时 3 组病毒滴度分别为  $(7.16 \pm 2.33) \times 10^5$  PFU/mL、 $(6.25 \pm 2.05) \times 10^6$  PFU/mL、 $(7.75 \pm 2.54) \times 10^6$  PFU/mL,pcDNA3.1-AY358935 组细胞上清病毒滴度与其余两组的差异接近 10 倍 ( $P < 0.01$ );②细胞死亡率:病毒感染 24 h 后,pcDNA3.1-AY358935 组、pcDNA3.1 组和空白组的细胞死亡率分别为  $(35.00 \pm 6.68)\%$ 、 $(78.33 \pm 15.03)\%$  和  $(83.34 \pm 14.98)\%$ ,pcDNA3.1-AY358935 组的细胞死亡率较其余两组降低 ( $P < 0.01$ );③基因芯片分析结果:与 pcDNA3.1 空载体组比较,稳定转染 pcDNA3.1-AY358935 的细胞有 30 个基因表达上调在 3 倍以上,其中,干扰素激活基因、干扰素效应基因、细胞因子与趋化因子所占比例分别为 27%、17%、20%。结论 AY358935 基因具有抗 VSV 作用,其机制可能涉及干扰素相关的天然免疫应答。

**【关键词】** AY358935 基因 VSV 干扰素

**The Anti-virus Effect of AY358935 Gene on Vesicular Stomatitis Virus and the Mechanism Study** LI Guang-ping, KE Jian-long, LÜ Pan-pan, ZHU Xi, WANG Cui, WANG Jin-yang, SHEN Xian-ying, XIONG Shao-quan<sup>△</sup>. Department of Oncology, Affiliated Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China  
<sup>△</sup> Corresponding author, E-mail: xsquan106@163.com

**【Abstract】** **Objective** To explore the anti-virus effect of AY358935 gene cloned by our research team on vesicular stomatitis virus (VSV), and study the anti-virus mechanism. **Methods** HEK293 cells were stably transfected by the AY358935 gene recombinant plasmid pcDNA3.1-AY358935 or pcDNA3.1 blank plasmid respectively. Then VSV was added into the cell wells to infect the above cells at the multiplicity of infection (MOI) of 0.001. The virus titers in the liquid supernatant of the above three groups of cells were detected on different time, and the mortality of cells of each group was tested with trypan blue exclusion test at 24 h post VSV infection. Total RNA was extracted from the cells that stably transfected with target gene for the whole genome-wide cDNA microarray analysis. **Results** ① Virus titer: The virus titer in the liquid supernatant of pcDNA3.1-AY358935 transfection cells group was obviously lower than those in pcDNA3.1 transfection cell group and blank control cell group at 12 h post infection. The virus titer in the liquid supernatant of three groups were  $(7.16 \pm 2.33) \times 10^5$  PFU/mL,  $(6.25 \pm 2.05) \times 10^6$  PFU/mL and  $(7.75 \pm 2.54) \times 10^6$  PFU/mL respectively at 18 h post infection. At that time, the virus titer in the liquid supernatant of pcDNA3.1-AY358935 group was nearly 10 times lower than those of other two groups ( $P < 0.01$ ). ② Mortality of cells: The cell mortality of pcDNA3.1-AY358935 group, pcDNA3.1 group and blank group were  $(35.00 \pm 6.68)\%$ ,  $(78.33 \pm 15.03)\%$  and  $(83.34 \pm 14.98)\%$  respectively at 24 h post infection. The cell mortality of pcDNA3.1-AY358935 group was significantly decreased comparing with other two groups ( $P < 0.01$ ). ③ Result of genes chip analysis: compared with pcDNA3.1 group, 30 cell genes were up-regulated by more than 3 times in pcDNA3.1-AY358935 group. Among them, the proportion of interferon-activating gene, interferon-effect gene, cytokine and chemokine was 27%, 17%, and 20%, respectively. **Conclusion** AY358935 gene has an anti-VSV effect, and its anti-virus mechanism may involve the interferon-associated natural immune response.

**【Key words】** AY358935 gene VSV Interferon

<sup>\*</sup> 国家自然科学基金面上项目 (No. 81573968) 和四川省卫生厅科研应用基础重点项目 (No. 2012-PP-20) 资助

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: xsquan106@163.com

病毒性疾病是人类面临的重大威胁,我们前期研究<sup>[1]</sup>筛选出一种功能尚未确知的 AY358935 基因(简称 AY 基因,GenBank 编号:AY358935.1),表达相对分子质量为  $10.1\times 10^3$  的分泌蛋白,经生物信息学分析发现其功能可能与抗病毒相关。在本研究中,我们将进一步证实 AY358935 基因具体的抗病毒作用,并通过全基因组芯片分析了解其作用机制。现报告如下。

# 1 材料与方法

## 1.1 材料

HEK293 细胞:源自美国 ATCC;水疱口炎病毒(VSV):由四川大学华西医院生物治疗国家重点实验室文艳君老师提供;G418 抗生素:美国 Gibco 公司;结晶紫:上海超研生物科技有限公司;台盼蓝:北京博奥森生物技术有限公司;DMEM 培养基:原粉购自美国 Gibco BRL 公司,胎牛血清(FBS)和胰酶(Tyrisin)购自美国 Gibco 公司,按说明调配成液化培养基;羧甲基纤维素(钠)培养基即调制的 DMEM(含 4%羧甲基纤维素,2%FBS);羊抗兔二抗(生物素标记)/(辣根过氧化物酶标记)、兔抗人  $\beta$ -actin 抗体、SP 试剂盒、DAB:北京中杉生物制剂公司。pcDNA3.1 质粒购自美国 Invitrogen 公司,pcDNA3.1-AY 质粒及 AY 蛋白多克隆抗体由本课题组前期制备并鉴定<sup>[1]</sup>。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 细胞转染及筛选鉴定** 参照文献<sup>[2-4]</sup>方法以 pcDNA3.1-AY 及 pcDNA3.1 转染 HEK293 细胞。并通过抗生素 G418 进行稳定转染株筛选。将稳定转染 pcDNA3.1-AY 的 HEK293 细胞称为 AY 细胞,稳定转染 pcDNA3.1 的 HEK293 细胞称为 pcDNA3.1 细胞。

按照文献方法<sup>[2-5]</sup> 分别收集 AY 细胞、pcDNA3.1 细胞及空白 HEK293 细胞各  $5\times 10^6$  个,按标准程序裂解细胞,提取蛋白,通过 Western blot 鉴定细胞中是否表达 AY 蛋白。其中一抗对照采用兔抗人  $\beta$ -actin 单克隆抗体。

**1.2.2 病毒滴度测定** 将 AY 细胞、pcDNA3.1 细胞及空白 HEK293 细胞用 24 孔板培养,再用 DMEM 孵育,每孔  $1\times 10^5$  个,每组 3 个复孔。待细胞 80%~90%生长汇合时,每孔加 VSV 感染混匀,感染复数(multiplicity of infection, MOI)(表示每个细胞受到感染的病毒颗粒数)为 0.001。2 h 后吸弃培养液,另加 DMEM 培养基 1 mL。从感染后 6 h

开始,每间隔 6 h 吸取 20  $\mu$ L 上清,保存于  $-20^{\circ}\text{C}$ ,共吸取 6 次。

参考文献<sup>[6]</sup>采用蚀斑分析(plaque assay)方法检测病毒滴度。分离培养以上 3 组细胞于 24 孔板,至 95%~100%生长汇合。将病毒液以 10 倍梯度依次稀释,并加到 3 组细胞中孵育,隔 15 min 轻摇一次。孵育 1 h 后,吸弃培养基,用灭菌 PBS 轻洗一次,加入羧甲基纤维素培养基 500  $\mu$ L 继续培养 24~48 h。去除培养基后,加入 10 g/L 结晶紫染色液 500  $\mu$ L,染色 20 min。自来水冲洗,观察计数每孔蚀斑,以空斑数目乘以稀释倍数即为病毒滴度。

**1.2.3 细胞死亡率检测** 上述 3 组细胞感染 VSV 24 h 后,用台盼蓝排斥试验检测每组细胞的死亡率。具体方法如下:收集全部细胞上清,用胰酶消化细胞并与相应的上清混合,1 200 r/min 离心 3 min,沉淀用 PBS 稀释成  $10^6\text{ mL}^{-1}$  的单细胞悬液。按 9:1 的比例加入 0.4%台盼蓝染液混匀,3 min 内,用血细胞计数板显微镜下分别计数活细胞和死细胞,计算细胞死亡率。各组均以未感染 VSV 的细胞作对照。

**1.2.4 全基因组 cDNA 分析** 收集指数期生长的 AY 细胞  $5\times 10^6$  个,胰酶消化,2 000 r/min 离心 3 min 弃上清,并用 PBS 洗净胰酶。加 1 mL Trizol 到细胞沉淀,反复吹打裂解细胞。把该 Trizol 裂解液保存于生物冰(低于  $15^{\circ}\text{C}$ )中,送北京博奥生物芯片公司进一步抽提总 RNA,并进行全基因组 cDNA 芯片检测。以 pcDNA3.1 细胞作平行对照。

## 1.3 统计学方法

计数资料以  $\bar{x}\pm s$  表示。3 组间比较用单因素方法分析和  $t$  检验,两组样本比较用独立样本  $t$  检验,生存曲线比较用 log-rank 检验, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

# 2 结果

## 2.1 基因转染与鉴定

分别提取 AY 细胞、pcDNA3.1 细胞和空白 HEK293 细胞的总蛋白,Western blot 鉴定结果(图 1)显示,在 AY 细胞组,目标蛋白表达明显较强,表

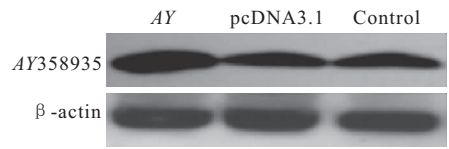


图 1 稳定转染细胞的鉴定  
Fig 1 Identification of stably transfected cells

明 pcDNA3.1-AY 质粒转染成功,稳定表达。

## 2.2 抗 VSV 病毒作用

各组细胞感染 MOI 为 0.001 的 VSV 病毒后,在各时间点采用蚀斑法分析并计算病毒滴度,结果(图 2)显示,AY 细胞组上清病毒滴度较 pcDNA3.1 细胞组和空白 HEK293 细胞组的上清病毒滴度低,18 h 时,上述 3 组细胞上清病毒滴度分别为  $(7.16 \pm 2.33) \times 10^5$  PFU/mL、 $(6.25 \pm 2.05) \times 10^6$  PFU/mL、 $(7.75 \pm 2.54) \times 10^6$  PFU/mL,AY 细胞组上清病毒滴度与其余两组的差异接近 10 倍( $P < 0.01$ ),之后 3 组病毒滴度差异逐渐缩小。

病毒感染 24 h 后,镜下观察(图 3)表明,AY 细胞组、pcDNA3.1 细胞组和空白 HEK293 细胞组的细胞死亡率分别为  $(35.00 \pm 6.68)\%$ 、 $(78.33 \pm$

$15.03)\%$ 和  $(83.34 \pm 14.98)\%$ ,AY 细胞组的细胞死亡率较其余两组降低( $P < 0.01$ )。

## 2.3 全基因组 cDNA 分析结果

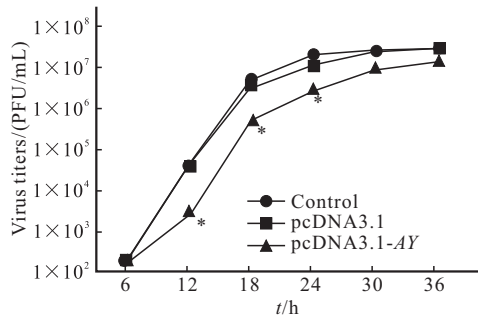


图 2 各组细胞感染 VSV 病毒不同时间后的病毒滴度  
Fig 2 Virus titers in different time point post VSV infection  
\*  $P < 0.01$ , vs. control group at the same time point

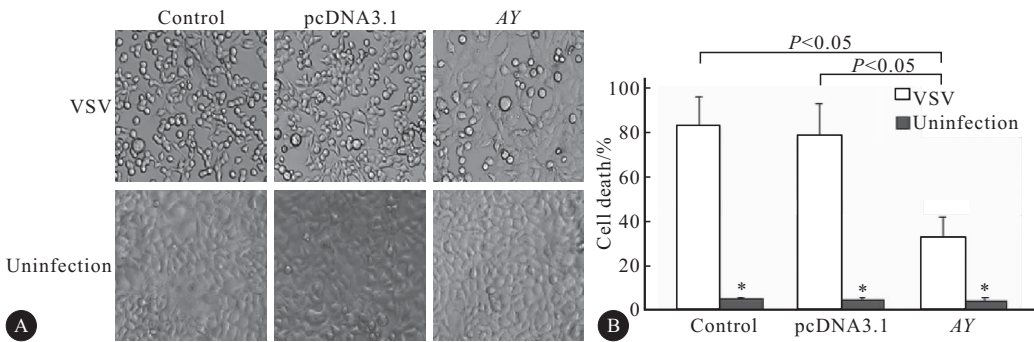


图 3 各组细胞感染 VSV 病毒后 24 h 细胞状态(A,  $\times 100$ )和细胞活性(B)  
Fig 3 Observe the cells states (A,  $\times 100$ ) and the activity of cells (B) at 24 h post VSV infection under a microscope  
\*  $P < 0.01$ , vs. VSV in the same group

全基因组 cDNA 分析结果(附表)显示,与 pcDNA3.1 细胞对照比较,pcDNA3.1-AY 细胞有 30 个基因表达上调在 3 倍以上。其中 CHRM1 上调最高(59 倍),其次为 MTAP44(55 倍),上调在 15 倍以上的基因有 FCER2(37 倍)、IFIT4(26 倍)、c-fos(23 倍)、IP-10(22 倍)、IL-8(18 倍)、CCL20(16 倍)、GIP2(15 倍)、ISG15(15 倍)。除了 FCER 和 c-fos 外,其余受调基因都是已知的干扰素激活基因(IFN-stimulated genes, ISGs)27%、干扰素效应基因(抗病毒基因,17%)、细胞致炎因子(20%)。

## 3 讨论

近年来,一些介导天然免疫的宿主抗病毒小分子不断被发现,干扰素、防御素、抗菌肽、细胞黏着分子(cell adhesion molecule, CAF)、APOBEC 家族,以及化学趋化因子如巨噬细胞炎症蛋白 1 (macrophage inflammatory protein 1, MIP-1)、调节活化正常 T 细胞表达分泌因子(regulated upon

activation normal T-cell expressed and secreted gene, RANTES)、人干扰素诱导蛋白 10 (C-X-C motif chemokine 10, CXCL10)等,在启动机体早期免疫应答,及时清除感染病原体,调节适应性免疫反应等方面起着重要的作用[7-14]。

在前期研究[1]中,我们筛选出一个功能尚未确知的基因 AY358935,生物学信息分析及鉴定结果显示,AY358935 基因所表达的蛋白可能是一个 VSV 病毒感染后的早期反应蛋白,参与了宿主早期的抗病毒应答。在本研究中进一步分析了 AY358935 对 VSV 的抗病毒作用,并进行了全基因组 cDNA 分析。

本研究发现,AY358935 基因转染 HEK293 细胞并感染 VSV 后,其细胞上清病毒滴度及细胞死亡率,与对照组比较明显降低,镜下观察发现该组细胞收缩,间隙增大,只有少量细胞变圆死亡,而对照的两组细胞形态大部分变圆,脱壁,稀疏,以上结果提示 AY358935 基因具有抗 VSV 病毒的作用。为

附表 AY 稳定转染后表达变化上调 3 倍以上的基因

Table The genes expressing that up-regulated by more than 3 times after stably transfected with AY

| Description                                                                                 | GenBank<br>accession No. | Gene         | Fold change |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------|-------------|
| IFN-activated genes                                                                         |                          |              |             |
| IFN-induced, hepatitis C virus- associated microtubularaggregate protein ( $44\times10^3$ ) | NM_006417                | MTAP44       | 55.27       |
| Interferon-inducedrotein with tetratricopeptide repeats 4                                   | NM_001549                | IFIT4/RIG-G  | 25.91       |
| IFN- $\gamma$ -inducible protein 10                                                         | NM_001565                | IP-10/CXCL10 | 21.98       |
| Interferon alpha-inducible protein                                                          | AY888621                 | GIP2         | 15.40       |
| Interferon alpha-inducible protein 27                                                       | NM_005532                | IFI27        | 9.91        |
| Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 1                                 | NM_001548                | IFIT1/ISG56  | 5.44        |
| Interferon-stimulated transcription factor 3, gamma $48\times10^3$                          | NM_006084                | ISGF3G/IRF9  | 3.60        |
| Interferon regulatory factor 7                                                              | U73036                   | IRF7         | 3.05        |
| IFN effector gene                                                                           |                          |              |             |
| Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 1                                 | NM_001548                | IFIT1/ISG56  | 5.44        |
| 2'-5'-oligoadenylate synthetase 3                                                           | NM_006187                | OAS3         | 4.44        |
| 2'-5'-oligoadenylate synthetase 1                                                           | NM_016816                | OAS1         | 3.60        |
| 2'-5'-oligoadenylate synthetase-like protein                                                | NM_003733                | OASL         | 5.66        |
| IFN-stimulated protein, $15\times10^3$                                                      | NM_005101                | ISG15        | 14.64       |
| Chemokines and cytokines                                                                    |                          |              |             |
| IFN- $\gamma$ -inducible protein 10                                                         | NM_001565                | IP-10/CXCL10 | 21.98       |
| Interleukin 8                                                                               | NM_000584                | IL-8         | 18.40       |
| Chemokine (C-C motif) ligand 20                                                             | NM_004591                | CCL20        | 16.47       |
| Chemokine (C-C motif) ligand 2                                                              | NM_002982                | CCL2         | 4.43        |
| Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 9                                        | NM_001561                | TNFRSF9      | 6.75        |
| Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 12A                                      | NM_016639                | TNFRSF12A    | 4.51        |
| Allergic response                                                                           |                          |              |             |
| Fc fragment of IgE, low affinity II , receptor for (CD23)                                   | NM_002002                | FCER2        | 36.87       |
| Cell growth and maintenance                                                                 |                          |              |             |
| Cholinergic receptor, muscarinic 1                                                          | NM_000738                | CHRM1        | 59.17       |
| v-fos FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog                                        | NM_005252                | c-fos        | 22.92       |
| Fibroblast growth factor 18                                                                 | NM_003862                | FGF18        | 4.50        |
| Fibroblast growth factor 21                                                                 | NM_019113                | FGF21        | 4.46        |
| Dual specificity phosphatase 1                                                              | NM_004417                | DUSP1        | 3.62        |
| Dual specificity phosphatase 2                                                              | NM_004418                | DUSP2        | 3.14        |
| CD44 molecule (Indian blood group)                                                          | NM_000610                | CD44         | 4.77        |
| CD24 molecule                                                                               | NM_013230                | CD24         | 3.26        |
| Syndecan 4                                                                                  | NM_002999                | SDC4         | 3.70        |
| Collagen, type II , alpha 1                                                                 | NM_033150                | COL2A1       | 3.62        |

排除 AY358935 基因对 HEK293 细胞本身生长的影响,本实验还同时检测到,在不受病毒感染时,各组细胞生长状态一致,死亡率无明显差别,表明 AY358935 基因表达对 HEK293 细胞生长无明显影响。

目前对 AY358935 基因的功能分析未见确切报道,本实验全基因组 cDNA 分析结果显示,AY358935 高表达的细胞,大量基因表达上调,如干扰素激活基因 56 (IFN-stimulated gene 56, ISG56)、干扰素激活基因 15 (IFN-stimulated gene 15, ISG15)、寡腺苷酸合成酶 1 (oligoadenylate synthetase 1, OAS1)、寡腺苷酸合成酶 3 (oligoadenylate synthetase 3, OAS3)等,也涉及一些重要的趋化因子如 CXCL10、巨噬细胞炎性蛋白

20 抗体基因 (C-C motif ligand 20, CCL20) 的表达调节。其中涉及天然免疫应答的基因占 64%,分别是干扰素激活基因 (27%)、干扰素效应基因 (17%)、细胞因子和趋化因子 (20%)。天然免疫应答是机体防御病毒感染的重要途径。分析认为,AY358935 基因抗病毒机制可能是通过调控天然免疫分子应答。

ISGs 是受干扰素表达活化,并参与完成干扰素生物学功能的一大类基因。IFN- $\alpha/\beta$  与细胞膜表面受体结合,激活贾纳斯激酶 (Janus kinase, JAK) 家族,激活 JAK 磷酸化信号传导及转录激活因子 (signal transducers and activators of transcription, STATs),STATs 蛋白同源或异源二聚体化,并与其它因子形成转录复合物,从而激活 ISGs 的转

录<sup>[15-17]</sup>。虽然大部分 ISGs 的具体功能还未确知,但很多 ISGs 在宿主抗病毒防御反应中的重要性已逐渐阐明。

在本研究中,OAS1、OAS3 和寡腺苷酸合成酶 L(oligoadenylate synthetase L,OASL)作为重要的抗病毒 ISGs,在 AY358935 表达细胞中也明显上调表达,可能贡献于 AY358935 的抗病毒反应。OAS 蛋白酶为 dsRNA 所激活,激活的 OAS 通过 2'-5'磷酸二酯连接寡聚化 ATP,进一步结合和激活核酸分解酶 Rnase L,从而降解病毒 RNA 和细胞 RNA,抑制病毒的复制<sup>[18]</sup>。基因芯片分析结果还显示,随着 AY358935 的表达增加,ISG15 和 ISG56 的表达水平也分别上升 14.64 倍及 5.44 倍。有文献报道,体外细胞在干扰素处理或病毒感染时,ISG15 和 ISG56 基因表达也显著上调<sup>[19]</sup>。ISG15 可能增强干扰素的抗病毒效应,其作用底物分子如 JAK、细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)、双链 RNA 依赖的蛋白质激酶(double-stranded RNA-dependent protein kinase, PKR)等,大多参与天然免疫反应<sup>[20]</sup>。

研究发现,干扰素家族成员较多,分为 I 型、II 型和 III 型,分别包括多个亚类,新的干扰素成员不断涌现<sup>[21-23]</sup>。一项关于 ISGs 研究的基因芯片综合分析表明,对于人源或鼠源的细胞系,用 IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$  或 IFN- $\gamma$  处理后,至少筛选出超过 300 个 ISGs。这些 ISGs 涉及不同功能不同类别,包括宿主防御、免疫调节、信号转导、生长代谢等方面<sup>[24-26]</sup>。而本实验 AY358935 表达的 HEK293 细胞中,所有表达上调基因的生物学功能也涉及宿主防御、免疫调节等,由此推测,作为一个相对分子质量与干扰素类似的分泌蛋白,AY358935 抗病毒机制可能也与干扰素相关,甚至不排除属于新类型干扰素基因。倘若如此,该基因在抗病毒方面的研发应用将具有重要价值。

综上,AY358935 基因参与病毒感染的早期应答,具有明确的抗 VSV 病毒作用,其机制可能涉及干扰素相关的天然免疫应答,值得进一步研究。

## 参 考 文 献

- [1] 熊绍权,杨寒朔,龙奇达.新基因 AY358935 的生物信息学分析及功能预测.南方医科大学学报,2010,2(30):232-238.
- [2] 周 丹,刘雪茹,李 涛,等.小 G 蛋白 Rab5 对表达在 HEK293 细胞上的大电导钙激活钾通道的影响.山东医药,2017,57(8):21-24.
- [3] 孟 越,谢苗苗,林 振,等.甲状旁腺素受体真核表达载体的构建体稳定转染 HEK293 细胞系的建立.南方医科大学学报,2013,33(7):956-961.
- [4] 蔡鑫泽,顾 卉,刘 彤,等.P16 hLMO1 编码基因重组质粒的构建及蛋白的表达和定位.中国医科大学学报,2009,38(11):816-819.
- [5] LI XY, KUANG Y, HUANG XJ, *et al.* Preparation and characterization of a new monoclonal antibody against CXCR4 using lentivirus vector. Int Immunopharmacol, 2016, 36: 100-105.
- [6] 薛贻敏,林风辉,刘艳丽,等.白细胞介素 17A 对柯萨奇 B3 病毒性心肌炎小鼠病毒复制的影响及其机制.临床心血管病杂志,2017,33(7):688-693.
- [7] 程仕彤,冯 鹭,刘丽娜,等.干扰素对肝纤维化小鼠肝组织中 Foxp3 调节性 T 细胞的影响.中国医科大学学报,2013,42(5):402-405.
- [8] GNANADURAI CW, FU ZF. CXCL10 and blood-brain barrier modulation in rabies virus infection. J Oncotarget, 2016, 7(10):10694-10695.
- [9] ZHAO A, LU W, DE LE. Functional synergism of human defensin 5 and human defensin 6. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 467(4):967-972.
- [10] CURRIE SM, FINDLAY EG, MCFARLANE AJ, *et al.* Cathelicidins have direct antiviral activity against respiratory syncytial virus *in vitro* and protective function *in vivo* in mice and humans. J Immunol, 2016, 196(6):2699-2710.
- [11] PEEL E, CHENG Y, DJORDJEVIC JT, *et al.* Cathelicidins in the Tasmanian devil (*Sarcophilus harrisii*). Sci Rep, 2016, 6:35019.
- [12] REBHANDL S, HUEMER M, GREIL R, *et al.* AID/APOBEC deaminases and cancer. Oncoscience, 2015, 2(4): 320-333.
- [13] LEI Q, GAO B, ZHANG D. Design and preparation of matriline surface-imprinted material and studies on its molecule recognition selectivity. J Biomater Sci Polym Ed, 2016, 27(1):1-21.
- [14] SAFA A, RASHIDINEJAD HR, KHALILI M, *et al.* Higher circulating levels of chemokines CXCL10, CCL20 and CCL22 in patients with ischemic heart disease. Cytokine, 2016, 83:147-157[2018-10-10]. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.04.006>.
- [15] GRAWENHOFF J, ENGELMAN AN. Retroviral integrase protein and intasome nucleoprotein complex structures. World J Biol Chem, 2017, 8(1):32-44.
- [16] YIN Y, LIU W, DAI Y. SOCS3 and its role in nassociated diseases. Hum Immunol, 2015, 76(10):775-780.
- [17] CHOW KT, GALE MJ. SnapShot: interferon signaling. Cell, 2015, 163(7):1808e1[2018-10-10]. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.12.008>.
- [18] 宪 庆,伍参荣. 2'-5'寡聚腺苷酸合成酶(OAS)的活化及抗病毒作用应用研究进展.中外健康文摘,2012,9(15):84-86.
- [19] HUANG Y, HUANG X, CAI J, *et al.* Identification of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) interferon

regulatory factor 3 involved in antiviral immune response against fish RNA virus. *Fish Shellfish Immunol*, 2015, 42 (2):345-352.

[20] HENKES LE, PRU JK, ASHLEY RL, *et al.* Embryo mortality in *Isg15<sup>-/-</sup>* mice is exacerbated by environmental stress. *Biol Reprod*, 2015, 92 (2):36[2018-10-10]. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.122002>.

[21] DONNELLY RP, KOTENKO SV. Interferon-lambda;a new addition to an old family. *J Interferon Cytokine Res*, 2010, 30 (8):555-564.

[22] GIBBERT K, SCHLAAKJ F, YANG D. IFN-alpha subtypes;distinct biological activities in anti-viral therapy. *Br J Pharmacol*, 2013, 168(5):1048-1058.

[23] DONNELLY RP, KOTENKO SV. Interferon-lambda;a new addition to an old family. *J Interferon Cytokine Res*, 2010, 30 (8):555-564.

[24] DE VEER MJ, HOLKO M, FREVEL M, *et al.* Functional classification of interferon-stimulated genes identified using microarrays. *J Leukoc Biol*, 2001, 69(6):912-920.

[25] SCHNEIDER WM, CHEVILLOTTE MD, RICE CM. Interferon- stimulated genes;a complex web of host defenses. *Annu Rev Immunol*, 2014, 32:513-545[2018-10-10]. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120231>.

[26] CHEN Z, MARK C, TIEN YH, *et al.* Interferon-induced ISG15 pathway; an ongoing virus-host battle. *Trends Microbiol*, 2013, 21(4):181-186.

(2018 - 11 - 04 收稿, 2019 - 03 - 21 修回)

编辑 汤 洁