

· 研究论文 ·

半枝莲总黄酮抗副流感病毒的作用机制

郭姗姗, 时宇静, 高英杰, 苏丹, 崔晓兰*

(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

摘要: 通过观察半枝莲总黄酮对副流感病毒 1 型 (PIV-1) 感染后宿主细胞膜电位、膜 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性和膜流动性的影响, 为揭示半枝莲总黄酮抗病毒作用机制提供实验依据。本研究采用流式细胞仪检测膜电位, 定磷法检测 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性, 荧光漂白恢复法检测膜流动性。结果显示, PIV-1 感染后宿主细胞膜电位下降, 处于超极化状态, 荧光强度为 42.81 ± 5.65 ($P < 0.05$); 膜 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性显著增加, 达 $(11.01 \pm 3.93) \mu\text{molPi}\cdot\text{mg}^{-1}(\text{protein})\cdot\text{h}^{-1}$ ($P < 0.05$); 扩散系数显著下降为 $(0.41 \pm 0.15) \times 10^{-9} \text{ cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$ ($P < 0.05$), 荧光恢复率为 19.85%, 明显低于正常对照组。半枝莲总黄酮 ($3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 作用后, 扩散系数和荧光恢复率均明显升高, 分别为 $(0.73 \pm 0.10) \times 10^{-9} \text{ cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$ 和 54.56%, 与病毒对照组比较有显著性差异; 而对宿主细胞膜的超极化状态和 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性没有明显影响。实验结果表明, PIV-1 感染后膜电位、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性和膜流动性等细胞膜能态和功能的改变, 可能为病毒感染的细胞学机制之一; 半枝莲总黄酮可能是通过改善细胞膜流动性, 维持细胞膜的正常功能来发挥抗病毒感染的作用, 而与膜电位和膜 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性等能态来源的环节无关。

关键词: 半枝莲总黄酮; 副流感病毒 1 型; 膜电位; $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性; 膜流动性

中图分类号: R285.5; R978.7

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 12-1348-05

The cytology mechanism of anti-parainfluenza virus infection of total flavone of *Scutellaria barbata*

GUO Shan-shan, SHI Yu-jing, GAO Ying-jie, SU Dan, CUI Xiao-lan*

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

Abstract: In order to research into the cytology mechanism of anti-virus action of total flavone of *Scutellaria barbata* (TFSB), the effects of TFSB on host cells membrane potential, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity and membrane fluidity after parainfluenza virus type1 (PIV-1) infection were studied. The changes of membrane potential which was fluorescent labeled with DiBAC₄(3) and its changes were measured by flow cytometer. Phosphorus determination method and spectrophotometry were used to measure the $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity of Hep-2 cells membrane after PIV-1 infection. Hep-2 cells membrane phospholipids were fluorescent labeled with NBD-C6-HPC and membrane fluidity was measured by confocal scanning laser microscope. The result demonstrated that post PIV-1 infection membrane potential decreased significantly and the membrane was in a state of hyperpolarization, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity increased significantly and membrane fluidity decreased significantly. There was no apparent interfere effect of TFSB on the changes of membrane potential and $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity after PIV-1 infection, while membrane fluidity improved significantly. It was indicated that the cytology mechanism of PIV-1 infection might be related to membrane hyperpolarization, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity increase and membrane fluidity decrease. TFSB can improve membrane fluidity and prevent the infection by protecting the cell membrane. But it is possible that the anti-PIV-1 mechanisms of TFSB had

收稿日期: 2009-06-18.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30672646); 国家“十一五”科技支撑项目 (2006BAI08B04-02); 中国中医科学院自主选题项目 (ZZ2006101).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-84015200, E-mail: cuixl2812@sina.com

nothing to do with membrane potential and $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity.

Key words: total flavone of *Scutellaria barbata*; parainfluenza virus type 1; membrane potential; $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity; membrane fluidity

半枝莲为唇行科植物半枝莲的全草, 为治疗疔疮肿毒、咽喉肿痛的常用药, 其药理作用主要包括抑菌、抗病毒、解热、抗氧化、抑制癌细胞和护肝等方面。黄酮类化合物作为半枝莲的主要化学成分之一, 与上述药理作用密切相关^[1]。半枝莲总黄酮是从半枝莲的干燥地上部分分离提取得到的总黄酮提取物, 半枝莲总黄酮主要成分为野黄芩苷, 目前尚未见到其抗副流感病毒的相关报道。本研究主要观察半枝莲总黄酮的体外抗副流感病毒作用并从细胞学角度探讨其作用机制。

膜电位、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性和膜流动性均为维持宿主细胞正常结构和功能的要素, 而在病毒吸附和穿入宿主细胞膜的过程中, 需要借助宿主细胞的能态变化, 通常 ATP 高能键和跨膜电位作为能态的主要来源^[2]; 膜流动性是细胞膜的重要生物学特征, 适宜的膜流动性对于维持膜的转运功能、信号转导功能及受体的功能具有重要意义, 特异性受体配体结合会诱发膜流动性的改变^[3]。所以, 从宿主的角度来说, 膜电位、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性和膜流动性为探讨抗病毒细胞学机制的适宜靶点。

以副流感病毒 1 型为研究对象, 采用荧光探针标记、水解定磷法和荧光漂白恢复法等方法, 观察病毒感染后, 膜电位、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性和膜流动性的变化以及半枝莲总黄酮对这些变化的干预作用。旨在从宿主角度揭示病毒感染的细胞学机制, 为揭示中药抗病毒作用机制提供新思路。

材料与方 法

药物及试剂 半枝莲总黄酮由承德医学院提供, 以野黄芩苷标定, 含量为 80%, 实验前用高纯水配成 $100\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 母液, 过滤除菌后备用, 实验时按需要用维持液做倍比稀释。荧光探针: NBD-C6-HPC [2-(6-(7-nitrobenz-2-oxa-1, 3-diazol-4-yl) amino hexanoyl-1-hexadecanoyl-sn-glyxero-3-phosphochline)] 和 DiBAC₄(3) [bis-(1, 3-dibutylbarbituric acid) trimethine oxonol] 均为美国 Molecular Probes 公司产品, DiBAC₄(3) 用无水乙醇配成 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 母液, 避光保存于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, 临用前用 PBS 稀释。NBD-C6-HPC 用无水乙醇将其配制成 $500\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 贮备液, 分装于 Eppendorf 管中, 贮存于

$-20\sim-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 中, 使用时用 Hanks 液稀释至 $1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。细胞培养液: 含 10% 小牛血清、 $0.29\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 谷氨酰胺、 $100\text{ u}\cdot\text{mL}^{-1}$ 青、链霉素的 Eagle's MEM (日本日水制药株式会社出品); 细胞维持液: 除所含小牛血清为 2% 外, 其他含量均同细胞培养液。 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶试剂盒及蛋白质定量试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

实验仪器 流式细胞仪为美国 Coulter 公司产品 (型号 EPICS.XL); 激光扫描共聚焦显微镜 (confocal laser scanning microscope, CLSM) Radiance 2100TM (Bio-Rad 公司); 离心机为 SM-50 型; CO_2 培养箱为日本 Yamato 松株式会社产品。

细胞株、病毒株及实验分组 人喉癌上皮细胞株 Hep-2, 购自中国医学科学院基础医学研究所细胞中心, 本实验室传代后使用; 副流感病毒 1 型 (PIV-1) 购自中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所, 本实验室传代后使用。Normal control: 正常对照组; PIV-1 control: 副流感病毒 1 型对照组; TFSB control: 半枝莲总黄酮对照组; TFSB-PIV-1: 副流感病毒 1 型感染后半枝莲总黄酮用药组。

半枝莲总黄酮对 Hep-2 细胞的毒性试验 将母液用 Eagle's 培养液进行 $1:4\sim 1:512$ 倍比稀释后, 加到已长成单层的 Hep-2 细胞培养板中, $100\text{ }\mu\text{L}/\text{孔}$, 每个稀释度药液做 4 个复孔, 同时设正常细胞对照。将培养板置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养, 每日倒置显微镜下观察细胞病变情况, 确定细胞不出现明显病变的最低稀释倍数 (最大无毒浓度), 按 Reed-Muench 法计算 50% 细胞毒性浓度 (TC_{50}) 和最大无毒浓度 (TC_0)。

半枝莲总黄酮体外抗病毒作用 (CPE 法) 取已长成单层的 Hep-2 细胞培养板, 倒掉培养液, 用细胞维持液冲洗细胞面 3 遍后, 接种 100 TCID_{50} 的病毒液, $50\text{ }\mu\text{L}/\text{孔}$, 置 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中吸附 1 h 后倒掉病毒液。用 Eagle's 维持液冲洗细胞面 3 次, 再加入相应稀释度的半枝莲总黄酮药液 $100\text{ }\mu\text{L}/\text{孔}$, 同时设正常细胞对照和病毒对照, 置 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养, 每日倒置显微镜下观察细胞病变情况, 当病毒对照组细胞病变为 “++++” 时记录实验结果。细胞病变按 6 级标准判断, - : 细胞生长正常, 无病变

出现; ±: 细胞病变少于整个单层的 10%; +: 细胞病变约占整个单层细胞的 25% 以下; ++: 细胞病变约占整个单层细胞的 50% 以下; +++: 细胞病变约占整个单层细胞的 75% 以下; ++++: 细胞病变约占整个单层细胞的 75% 以上。按 Reed-Muench 法计算 50% 抑制浓度 (IC_{50}) 和治疗指数 (TI), $TI = TC_{50} / IC_{50}$ 。

半枝莲总黄酮对 PIV-1 感染后 Hep-2 细胞膜电位的影响 取细胞悬液 0.5 mL 加入等量 10 倍稀释的 PIV-1 病毒液, 37 °C 孵育 10 min 后, 再加入 3 mg·mL⁻¹ 半枝莲总黄酮药液, 离洗 3 遍, 加入 DiBAC₄(3) 荧光标记, 使染料终质量浓度为 2 μg·mL⁻¹, 37 °C 孵育 30 min 后流式细胞仪测定。DiBAC₄(3) 为膜电位敏感的亲脂性阴离子荧光染料, 根据其在细胞内外的重新分布可判断细胞膜电位的变化。当 DiBAC₄(3) 进入细胞内增多, 荧光增强, 表明细胞膜电位负值减小, 出现去极化变化; 反之, 荧光减弱, 表明细胞膜电位负值增大, 出现超级化变化。同时设正常细胞对照组和 PIV-1 对照组, 方法同前。

半枝莲总黄酮对 PIV-1 感染后 Hep-2 细胞膜 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性的影响 于长满单层 Hep-2 细胞的培养瓶中加入 100TCID₅₀ PIV-1 病毒液 2 mL, 37 °C 吸附 1 h, 弃去病毒液, 用 PBS 冲洗 3 遍, 再分别加入 3 mg·mL⁻¹ 半枝莲总黄酮, 37 °C 培养 1 h, 弃去药液, 用 PBS 冲洗 3 遍。同时设正常细胞对照组和 PIV-1 对照组。将各组处理过的细胞用等量胰酶和 EDTA 混合液消化, 低速离心后弃上清液, 加入适量生理盐水混匀, 充分吹打制成单细胞悬液, 并调整细胞数至 1×10⁶/mL。用超声破碎仪将细胞粉碎后得到膜粗制剂, 不需高速离心即可用于检测。Na⁺-K⁺-ATP 酶的测定按照 ATP 酶试剂盒 (不需高速离心) 提供的方法操作, 在 660 nm 进行比色测定。膜蛋白质的检测使用考马斯亮蓝定量法, 于 595 nm 比色测定。

半枝莲总黄酮对 PIV-1 感染后 Hep-2 细胞膜流动性的影响 在细胞培养皿 (35 mm) 中单层生长的细胞中, 加入 100TCID₅₀ PIV-1 病毒液 1 mL, 37 °C 孵育 1 h 后, 弃去病毒液, PBS 冲洗 3 遍。再加入 3 mg·mL⁻¹ 半枝莲总黄酮 1 mL, 37 °C 孵育 1 h 后, 弃去药液, PBS 冲洗 3 遍。荧光标记后, CLSM 测量, 并按公式计算扩散系数 D (diffusion coefficients) 和荧光恢复率 R (recovery)^[4]。

统计学分析 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 13.0 软件包进行单因素方差分析。

结果

1 半枝莲总黄酮的细胞毒性及体外抗病毒作用

半枝莲总黄酮对 Hep-2 细胞的 TC₀ 为 3.13 mg·mL⁻¹, TC₅₀ 为 8.91 mg·mL⁻¹; 半枝莲总黄酮在体外对 PIV-1 的致 Hep-2 细胞病变有明显的抑制作用, 其 IC₅₀ 为 1.41 mg·mL⁻¹, TI 为 6.32。

2 半枝莲总黄酮对 PIV-1 感染后 Hep-2 细胞膜电位的影响

PIV-1 感染 Hep-2 细胞 10 min 后, 荧光强度明显下降, 与正常对照组比较有明显差别, 说明病毒感染后宿主细胞膜处于超极化状态; 半枝莲总黄酮 (3 mg·mL⁻¹) 处理后, PIV-1 感染组的荧光强度与病毒对照组比较无显著差异, 说明半枝莲总黄酮对 PIV-1 感染后膜电位的超级化状态无明显干预作用 (表 1 和图 1)。

Table 1 Effect of TFSB on the changes of membrane potential after PIV-1 attachment

Group	Fluorescence intensity
Normal control	55.31 ± 3.15
PIV-1 control	42.81 ± 5.65*
TFSB control	48.17 ± 6.61
TFSB-PIV-1	42.67 ± 2.60

$n = 6$, $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$ vs normal control group

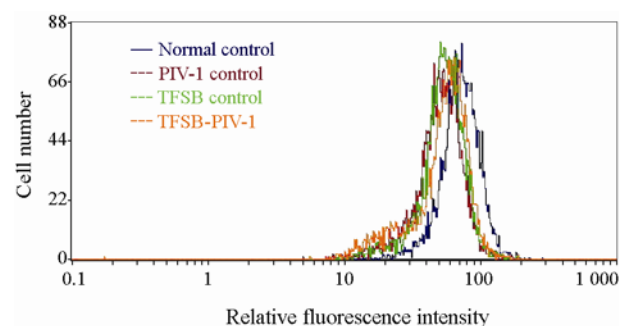


Figure 1 The relative fluorescence intensity of Hep-2 cells membrane potential which treated with TFSB (3 mg·mL⁻¹) after PIV-1 infection

3 半枝莲总黄酮对 PIV-1 感染后 Hep-2 细胞膜 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性的影响

PIV-1 吸附后 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性明显增加, 与正常对照组比较差异显著; 半枝莲总黄酮 (3 mg·mL⁻¹) 对正常细胞的 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性无明显影响; 对 PIV-1 感染组的 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性无明显影响, 与病毒对照组比较无显著性差异 (表 2)。

4 半枝莲总黄酮对 PIV-1 感染后 Hep-2 细胞膜流动性的影响

经激光扫描共聚焦显微镜检测, PIV-1 病毒对照组的扩散系数和荧光恢复率均明显降低, 与正常对照组比较有显著差异, 说明 PIV-1 感染能明显降低细胞膜流动性; 经半枝莲总黄酮 ($3 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 处理后其扩散系数和荧光恢复率均与正常对照组接近, 荧光恢复率为 54.56%, 说明半枝莲总黄酮对正常细胞膜的流动性无明显影响; 半枝莲总黄酮作用后, PIV-1 感染组的荧光恢复率明显升高, 为 42.21%, 扩散系数与病毒对照组比较具有升高的趋势, 说明半枝莲总黄酮具有明显改善 PIV-1 吸附后细胞膜流动

Table 2 Effect of TFSB on the $\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}\text{-ATPase}$ activity of host cells membrane after PIV-1 infection

Group	$\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}\text{-ATPase}$ activity/ $\mu\text{mol Pi} \cdot \text{mg}^{-1} (\text{protein}) \cdot \text{h}^{-1}$
Normal control	5.37 ± 1.23
PIV-1 control	$11.01 \pm 3.93^{*}$
TFSB control	6.63 ± 1.38
TFSB-PIV-1	14.85 ± 4.30

$n = 6$, $\bar{x} \pm s$. $^{*}P < 0.05$ vs normal control group

Table 3 Effect of TFSB on Hep-2 membrane phospholipid mobility after PIV-1 infection

Group	Diffusion coefficient/ $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1} (\times 10^9)$	Recovery/%
Normal control	1.10 ± 0.34	72.66
PIV-1 control	$0.41 \pm 0.15^{*}$	19.85
TFSB control	0.73 ± 0.10	54.56
TFSB-PIV-1	0.54 ± 0.10	42.21

$n = 6$, $\bar{x} \pm s$. $^{*}P < 0.05$ vs normal control group

性的作用 (表 3)。各组细胞的荧光漂白恢复曲线图见图 2, 其中红色曲线和绿色曲线分别为荧光漂白部位和自体细胞对照部位的荧光恢复曲线, 蓝色曲线为异体细胞对照部位的荧光恢复曲线^[5]。

讨论

近年来, 随着分子病毒学的发展, 宿主细胞已经成为研究病毒感染机制和寻找抗病毒靶点的热点。因此本研究在证实了半枝莲总黄酮的抗病毒作用后, 以宿主细胞膜的相关结构和功能作为切入点, 深入研究半枝莲总黄酮抗病毒的细胞学机制。

病毒在识别及结合受体到最终穿入细胞的这个过程, 是一个在能量稳态和亚稳态之间的移动过程。通常未与受体结合的病毒蛋白, 处于一种亚稳态的状态, 而与受体结合之后, 病毒蛋白通常被诱导趋向于稳态的低能态构象^[6]。这类变化从物理学的角度说, 是一个能量依赖的过程。就病毒进入细胞的过程而言, 除病毒自身能态变化外, 细胞才是驱动病毒内化的主要动力, 此时病毒感染能否成功与细胞的能态密切相关, 通常, 细胞的能态来源是 ATP 的高能键或是质子运动力 (AP)^[7, 8], 而后的来源主要是跨膜电位差 ($\Delta\psi$) 和 pH 梯度差 (ΔpH)。例如: SFV 和脊髓灰质炎病毒在进入细胞的过程中是借助于细胞膜电位差或是跨膜质子梯度的能量, 这个能量可以借助于细胞膜的电位差在膜上形成通道以利于其进入过程^[9]。

半枝莲总黄酮体外试验的 IC_{50} 为 $1.41 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 本研究中只选择了 1 个抗病毒作用效果较好而无毒性

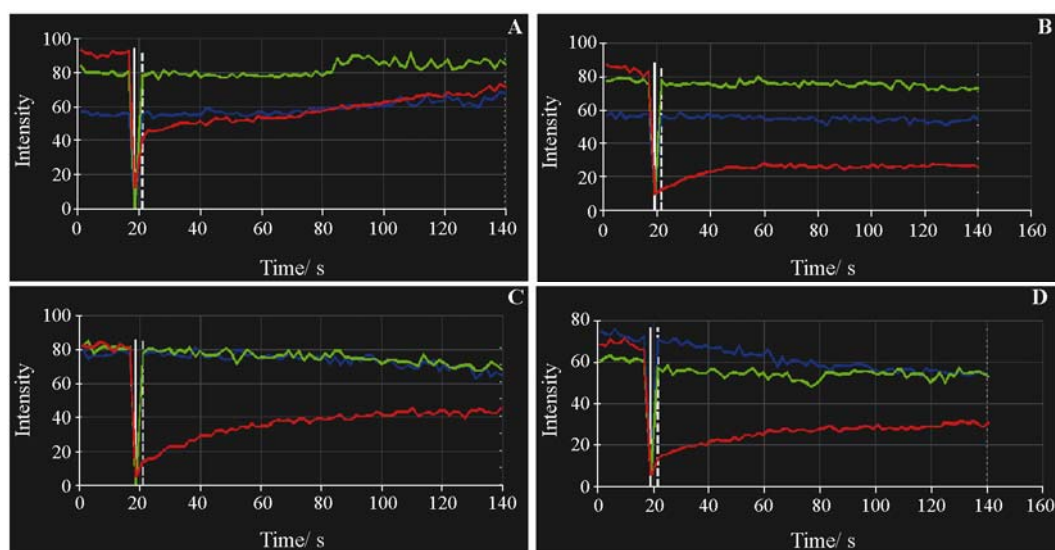


Figure 2 The curve of Hep-2 cells membrane phospholipid mobility. A: Normal control; B: PIV-1 control; C: TFSB control; D: TFSB-PIV-1

的浓度 $3 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 来进行抗病毒机制研究, 进一步的研究中将多采用几个浓度来完善试验结果。本研究显示 PIV-1 感染后, 膜电位差和 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性均显著增加, 说明在病毒感染细胞过程中确实存在细胞能态的改变, 与国外的一些报道相符^[10–13]。在阳性对照药的选择方面, 作者没有选用核苷类抗病毒化合物, 主要是由于核苷类抗病毒化合物主要作用于病毒复制, 而对本研究的 3 个靶点没有作用。在以往的研究中, 作者采用了乙酰胆碱、肝素钠分别作为单纯疱疹病毒的膜电位、ATP 酶活性和膜流动性的阳性对照来进行研究^[5, 10]。肝素钠为单纯疱疹病毒受体的配体, 能与其特异性结合, 但其对副流感病毒没有作用, 因而副流感病毒感染后, 只有膜电位检测采用了乙酰胆碱作为阳性对照。而 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性和膜流动性没有适合的阳性对照药, 在以后的试验中还有待于研究。

半枝莲总黄酮对 PIV-1 感染后细胞膜电位的变化没有明显影响, 说明其对病毒吸附过程中, 借助膜电位变化进入宿主细胞这一环节无显著干预作用, 其抗病毒作用机制可能与宿主细胞的膜电位差变化无关。半枝莲总黄酮对 PIV-1 感染后, 膜 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性的变化也没有明显的影响, 说明其抗病毒作用机制可能与该环节无关。

在作者以往的研究中发现, 单纯疱疹病毒 1 型感染后宿主细胞膜流动性显著降低, 中药栀子提取物可能是通过改善细胞膜流动性, 维持细胞膜的正常功能从而发挥抗病毒的作用^[5]。本研究中, 作者又以副流感病毒 1 型和半枝莲总黄酮为研究对象证实了这一研究结果。半枝莲总黄酮对病毒感染后宿主细胞膜流动性的改善作用可能存在以下 2 种机制: ① 直接作用于宿主细胞膜的某些结构成分, 促进病毒吸附后膜流动性的恢复, 从而维持细胞膜的正常功能, 降低病毒引起细胞损伤的程度; ② 可能通过阻止病毒吸附过程间接阻止病毒所致的细胞膜流动性降低, 从而维持细胞膜的正常功能。

综上所述, 本研究中检测的膜电位、ATP 酶活性、膜流动性等指标是首次从病毒吸附宿主细胞膜的角度探讨病毒吸附的非特异性、共性的病理生理环节, 本课题组除副流感病毒外, 还研究了单纯疱疹病毒、腺病毒等, 均得到了一致的结果, 因此可以说这些指标是具有共性的指标。但这些只是作者对病毒感染机制的一些初步探讨, 目前国内外相关报道都很少, 可以为研究感染机制提供一些新的研究思路, 进

一步的研究正在进行。同时作者也采用了几种中药进行验证, 同时结合药效学研究, 发现膜流动性的改善可能与中药的抗病毒作用有关。

References

- [1] Peng WW, Wu HF, Zeng CY, et al. The survey of pharmacological and clinical application of *Scutellaria barbata* [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2003, 14: 428–429.
- [2] Li QH, Jiang L. Molecular Biology of Virus Infection (病毒感染的分子生物学) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004.
- [3] Shinitzky M. Membrane fluidity and cellular functions [J]. Physiol Membrane Fluidity, 1984, 1: 51.
- [4] Juan Y, Jeffrey AS, Evangellina EY. Lateral mobility in membranes as detected by fluorescence recovery after photobleaching [J]. Biophys J, 1982, 10: 69–75.
- [5] Wang XK, Guo SS, Huang Y, et al. Effect of extract ZG from Gardenia on Hep-2 cell membrane fluidity post infection by herpes simplex virus type 1 [J]. Chin J Microbiol Immunol (中华微生物学和免疫学杂志), 2006, 26: 1005–1008.
- [6] Buchholz CJ, Schneider U, Devaux P, et al. Cell entry by measles virus: long hybrid receptors uncouple binding from membrane fusion [J]. J Virol, 1996, 70: 3716–3723.
- [7] Carr DJJ, Harle P, Gebhardt BM. The immune response to ocular herpes simplex virus type 1 infection [J]. Exp Biol Med, 2001, 226: 353–366.
- [8] Derse D, Heidecker G. Forced entry – or does HTLV-1 have the key? [J]. Science, 2003, 299: 1670–1672.
- [9] Yuan YH, Li XQ, Geng YQ, et al. Virus ion channels: a kind of new target for antiviral drug action [J]. Prog Biochem Biophys, 2004, 31: 861–864.
- [10] Guo SS, Huang Y, Zhao Y, et al. Effect of extracted ZG from gardenia on Hep-2 cell membrane post infected with parainfluenza virus type 1 (PIV-1) with parainfluenza virus type 1 (PIV-1) [J]. Chin J Virol (病毒学报), 2007, 24: 384–388.
- [11] Chen SF, Huang CC, Wu HM, et al. Seizure, neuron loss, and mossy fiber sprouting in herpes simplex virus type 1-infected organotypic hippocampal cultures [J]. Epilepsia, 2004, 45: 322–332.
- [12] Mal'dov DG, Gmyl' LV, Karganova GG. Change in Na^+ , K^+ -ATPase activity during reproduction of the tick-borne encephalitis virus in SPEV cell culture [J]. Vopr Virusol, 1997, 42: 23–26.
- [13] Kuralay F, Tanyalcin T, Kutay F, et al. The effect of interferon therapy on erythrocyte membrane Na^+ , K^+ ATP activity in patients with chronic hepatitis B and C virus infections [J]. Biochem Mol Biol Int, 1998, 45: 1189–1198.