

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.33.053

流行性感冒病毒监测及检测技术的研究进展*

徐琦 何蕾 罗鹏 杨永耀 吕沁风[△]

(浙江国际旅行卫生保健中心 浙江 杭州 310003)

摘要:流感病毒是一种常见的呼吸道感染病毒,平均每年有数十万人死于该种病毒,造成严重危害。流行性感冒病毒包括甲型、乙型和丙型三种亚型,本文就近年来流感病毒的流行趋势、病毒分离培养、血清学检测以及分子生物学检测的研究进展进行了综述。

关键词:流行性感冒病毒 监测 检测

中图分类号 R511.7 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2014)33-6597-04

Research Progress of the Influenza Virus Monitoring and Detection Technology

XU Qi, HE Lei, LUO Peng, YANG Yong-yao, LV Qin-feng[△]

(Zhejiang International travel Healthcare Center, Hangzhou, Zhejiang, 310003, China)

ABSTRACT: The influenza virus is one of the common respiratory viruses and causes serious harm to human health. Each year hundreds of thousands of people died from the virus. Influenza virus includes A, B and C subtypes. The paper described the popular trend for influenza virus in recent years; and virus isolation, serological testing and detection of molecular biology research progress were reviewed.

Key words: Influenza virus; Monitor; Detection

Chinese Library Classification(CLC): R511.7 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2014)33-6597-04

前言

流行性感冒病毒(Influenza virus),属于正黏液病毒科,是一种 RNA 病毒,能造成人类及动物感染。流感病毒又包含甲(A)型流感病毒属,乙(B)型流感病毒属以及丙(C)型流感病毒属^[1]。其中,由于甲型流感病毒的高度变异性,其引发的感染常呈突发性且传播迅速,通常会造成大流行。例如,2009年4月,美国和墨西哥爆发甲型H1N1流感,继而造成全球的大流行,威胁及干扰到全世界人民的健康及生活质量。乙型流感病毒在自然情况下仅感染人类,其流行趋势为散发、暴发或小流行。丙型流感病毒通常感染儿童,流行趋势多为散发、偶尔暴发,但不易流行^[2]。

据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)不完全统计,平均每年全世界约有三百万到五百万人感染流感病毒,其中约有五十万人死于流感病毒^[3]。同时也有研究表明,从1979年至2001年,美国每年平均约有41400人死于流感病毒^[4]。据美国疾病卫生控制与预防中心(Centers for Disease Control and Prevention, CDC)调查报告显示,平均每年约3300-49000人死于流感病毒^[5]。

流感病毒的大流行能追溯到19世纪,据文献记载,1889-1890年在俄罗斯爆发的流感一共造成了一百万人死亡^[6];在1918-1920期间,在西班牙爆发的流感大流行,共造成两千万到一亿人死亡^[7]。在1957-1958年期间,亚洲爆发的流感病毒大流行,共造成了一百万到一百五十万人死亡。在1968-1969年期间,香港爆发的流感病毒大流行,共造成了七十五万到一百万人死亡。进入21世纪之后,流感病毒仍然持续威胁着人类的健康与生活。在2009-2010年,全世界范围内爆

发了大流感,共造成了18000人死亡^[8]。

甲型流感病毒的表面抗原血凝素(Hemagglutinin, HA)和神经氨酸酶(Neuraminidase, NA)容易变异。因此,甲型流感病毒的这种高度变异性对流感的诊断和防控造成了极大的困难。准确快速的诊断方法对流感的防控至关重要。目前流感病毒的诊断方法主要有病毒分离培养法、血清学检测法以及分子生物学检测方法等。随着分子生物学的发展,流感病毒的检测手段也越来越丰富。本文从流感的监测及其检测技术方面,对目前流感病毒的几种诊断方法及其进展做了一个简要的阐述。

1 近年来流感基因的流行趋势

甲型流感病毒是分阶段的单股负义RNA病毒。根据表面糖蛋白的抗原性差异,可将甲型流感病毒划分为不同的亚型。目前已知的HA有16种亚类(H1-H16),NA有9个亚型(N1-N9),HA与NA的随意组合可形成多种亚型^[9]。甲型流感病毒不仅可以感染人,还能感染很多动物例如鸟类、家禽类等。因此,甲型流感病毒更易造成疾病的大流行。乙型流感病毒只有一种表型,仅感染人类,并且比起甲型流感病毒,乙型流感病毒更为少见且不易变异,因此很难引起疾病的大流行。丙型流感病毒能感染猪,狗以及人类,然而丙型流感病毒比另外两型流感病毒都更为少见,因此通常仅感染儿童。

1.1 甲型H1N1流感病毒流行趋势

1918年,西班牙爆发流感大流行,流感病毒从欧洲迅速传播到了亚洲、美洲、澳洲等地区。据文献统计,总共约有两千万到五千万人死于此次流感大流行,死亡人数占当时全世界人口的1/3^[10]。之后通过实验证明,引起此次流感大流行的病毒基因型为H1N1。H1N1主要在猪、鸟类以及人类之间传播^[11]。2009

* 基金项目:质检公益性行业科研专项(201010043);国家质检总局科技计划项目(2013IK245);国家质检总局科技计划项目(2012IK248)

作者简介:徐琦(1980-),女,主管医师,主要研究方向:传染病监测

[△] 通讯作者:吕沁风, E-mail: lqf@zjq.gov.cn

(收稿日期:2014-01-25 接受日期:2014-02-23)

年3月,美国和墨西哥发现流感疫情,随后迅速传播到世界各地。2009年6月,WHO及美国CDC宣布新一轮的流感病毒爆发大流行,此次流感大流行总共造成约18000人死亡。通过实验结果证明,2009年爆发的流感病毒属于甲型H1N1基因型,然而,与91年前爆发的西班牙流感相比,2009年的甲型H1N1流感病毒是由鸟类、猪以及人类流感病毒重配并进一步联合欧亚猪流感病毒形成的一种新型四联重配体流感病毒^[2]。

1.2 甲型H2N2流感病毒流行趋势

1956年中国贵州爆发流感,随后传播到新加坡、香港、美国等地,最终造成全球的流感病毒大流行。随后发现,引起此次流感大流行的病毒基因型为甲型H2N2。虽然,流感爆发后一年便开发出甲型H2N2病毒的疫苗,此次流感大流行仍然造成约一百万到一百五十万人的死亡。除了1956年的亚洲流感大流行,也有某些学者认为1889年的俄罗斯流感大流行也是由甲型H2N2流感病毒引起的,然而很多学者对于此观点仍然持怀疑态度。

1.3 甲型H3N2流感病毒流行趋势

1968年,香港爆发流感,随后造成全世界的流感大流行,总共造成约一百万人的死亡。造成此次流感大流行的病毒为甲型H3N2流感病毒,由甲型H2N2流感病毒抗原性转变形成。2003年,中国福建爆发由甲型H3N2重配形成的新病毒引起的流感,使得2003-2004年的季节性流感异常严重。统计结果表明,二十一世纪以来,由甲型H3N2造成的季节性流感占大多数。例如2004-2005流感季,福建发现甲型H3N2流感病毒;2005-2006年流感季,美国加利福尼亚州发现H3N2流感病毒;2006-2008年流感季,美国威斯康星州发现H3N2流感病毒;2008-2010年流感季,澳大利亚布里斯班发现H3N2流感病毒;2010-2011年流感季,澳大利亚佩斯发现H3N2流感病毒。

1.4 其他基因型流感病毒流行趋势

甲型H5N1引起了2004年鸟类中的流感大流行。值得注意的是,甲型H5N1中有一个品种(Asian-lineage H5N1)感染人类时,很容易引起人类的死亡。甲型H3N8被很多学者怀疑是引起1889年俄罗斯流感大流行的罪魁祸首,但是其主要在鸟类、马以及犬类中传播。甲型H7N7能在人、鸟、猪、海豹以及马类之间传播,但是到目前为止,仅有一人死于甲型H7N7感染。甲型H1N2则主要引起人及猪之间的地方性流行,是目前认为的在人类中传播的三种甲型流感病毒(H1N1,H1N2,H3N2)之一。其他流感病毒如甲型H9N2目前感染过3人;甲型H7N2感染过2人;甲型H7N3感染过2人;甲型H10N7感染过2人。

2 病毒分离培养

尽管流感病毒的检测手段在不断的丰富,但传统的流感病毒分离培养仍然是流感病毒诊断的一个重要且必须的手段。用来检测病毒易感性的神经氨酸酶抑制剂(NA inhibitor, NAI)的检测也必须使用病毒的分离培养。同时,病毒的分离培养也是唯一能用于疫苗生产的手段。

2.1 传统病毒分离培养

长久以来,传统的流感病毒分离培养一直被认为是流感病毒检测的金标准,主要包括流感病毒鸡胚接种和细胞培养。具体为常规方法采样之后接种适合的鸡胚或者犬肾细胞活恒河猴肾细胞,培养数天后再通过显微镜下血细胞吸附情况来判断是否有流感病毒的存在。之后,再通过免疫荧光来鉴别流感病毒的分型。传统的流感病毒分离培养通常需要2-14天,平均约3-5天^[13,14]。

传统的病毒分离培养虽然能获得新的病毒毒株,但是存在操作繁琐、周期较长以及安全性较低等问题。且与聚合酶链反应PCR相比,传统的病毒分离培养敏感度较低且更易出现假阳性。

2.2 快速病毒分离培养

与传统病毒分离培养法相比,快速病毒分离培养法由于其简易操作性以及更短的周期等优点已经渐渐取代了传统病毒分离培养方法。快速病毒分离培养法通常用病毒感染A549细胞与水貂肺细胞(R-mix)或MDCK细胞(R-mix Too)的混合培养液。在孵育1-2天后,用甲型或乙型的单克隆抗体进行免疫荧光实验来验证样品中是否存在流感病毒。

有研究表明,快速病毒培养法能检测到98.6%传统病毒培养法中的阳性样本^[15],而在使用逆转录聚合酶链反应(Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, RT-PCR)的阳性样本中,快速病毒培养法则能检测到88.9%^[15]。

3 血清学检测方法

血清学检测方法由于其快速及操作简便等优点成为了目前应用最为广泛的流感病毒检测方法之一。血清学检测方法主要依据的原理是抗原抗体反应,通常检测的抗原具有核蛋白、血凝素、神经氨酸酶蛋白和膜蛋白M2e等^[16]。

3.1 病毒中和试验

病毒中和试验是一个敏感度和特异度高的检测方法,其能检测到抑制病毒进入细胞以及阻断病毒复制的抗体^[17]。病毒中和试验主要包括病毒-抗体反应、接种以及病毒抗原检测三个阶段。然而,此方法与别的血清学检测法相比操作更繁琐且耗时较长。

3.2 琼脂凝胶扩散试验

琼脂凝胶扩散试验主要用于鉴别甲型流感病毒的HA,其主要是根据抗体在含有流感病毒结合的红细胞的琼脂胶上的扩散,形成抗原-抗体沉淀线,以此来检测流感病毒感染产生的血清抗体。

琼脂凝胶扩散试验操作简便且对乙型流感病毒有很高的敏感度^[18]。然而,其缺点是至少需要24小时才能出结果,并且此方法比较难于量化实验结果。

3.3 酶联免疫吸附试验

酶联免疫吸附试验ELISA由于有灵敏度高、特异性强、方便快捷、适合流感疑病的快速诊断等优点使之成为目前应用最广泛的一种血清学检测方法。ELISA所检测的抗体可以直接与病毒结合,但是由于病毒的安全性问题,目前使用重组的病毒特异性蛋白及其单克隆抗体进行ELISA试验成了研究热点。虽然在早期,ELISA能够用于分辨甲型或乙型流感病毒^[19],然而其并不能分辨甲型流感病毒的亚型。而最近的一些使用重组病毒特异性蛋白的ELISA试验表明使用H5HA单克隆抗体能100%的分辨甲型H5病毒^[20]。

ELISA的优点之一是其能够检测血清中对于不同流感病毒感染以及疫苗反应的IgM,IgA以及IgG的亚类^[21]。因此,除了运用于流感病毒感染的检测,ELISA还能用于病毒疫苗效价的评估。同时,由于ELISA能在几小时之内取得结果并且能进行高通量检测等优点,让其成为目前广泛使用流感病毒检测手段之一。

4 分子生物学检测方法

随着分子生物学的发展,由于其简便、易操作、更精确、更快速等特点填补了早期的病毒培养以及血清学的空白。目前,基因诊断技术发展迅速,应用也越来越广泛。

4.1 聚合酶链反应

聚合酶链反应(Polymerase chain reaction, PCR)用于大量扩增特定片段 DNA。由于其高效性,PCR 用于病原体的检测可以检测早期病人。相比于病毒分离培养方法,PCR 敏感 500 倍,但是样本容易污染。基于普通 PCR,先后建立了多种 PCR 相关的检测方法,例如 RT-PCR,实时 PCR 等。

RT-PCR 能从基因水平检测病毒,具有高度敏感性和特异性,克服了病毒分离鉴定周期长的问题,是目前最常运用的 RNA 病毒的分子生物学检测手段之一。RT-PCR 不仅能用于检测流感病毒,有实验室还建立了一种可用于快速分辨甲型乙型流感病毒以及甲型流感病毒的亚型(H1,H2,H3,H5,H7,H9,N1,N2,N7)的多重 RT-PCR 酶杂交法^[23]。

实时荧光定量 PCR 可对病毒模板 RNA 进行定量分析,操作简便,特异性强,灵敏度高,且由于检测过程不用对样本进行处理,样本不易污染,因此实时 PCR 有取代常规 RT-PCR 的趋势。实时 PCR 根据其原理不同分为荧光探针和非探针两种。荧光探针法的主要原理是设计一段能与目的 DNA 片段结合的探针,例如 TaqMan,探针的一端连接荧光基团另一端连接荧光淬灭基团,因此探针在游离状态无法检测到荧光信号。在 PCR 反应过程中,探针被 Taq 酶的 5'-3' 外切酶水解,导致探针开始发出荧光,从而能被荧光检测系统检测到。基于实时荧光定量 PCR,有实验室建立了多重实时 RT-PCR 的方法,通过此方法可以同时两个反应体系中检测甲型流感病毒、乙型流感病毒、呼吸道合胞病毒以及副流感病毒 1 型、2 型、3 型、4 型^[23]。非探针法主要是利用 DNA 双链结构。当荧光染料如 Pico Green 等处于 DNA 双链结构的小沟中,荧光染料处于游离状态,无荧光信号。当它与双链 DNA 结合后荧光信号明显增强,即被荧光检测系统检测到。由于荧光的信号强度与初始模板量相关,因此可以进行定量 DNA 分析。

2008 年,美国食品及药物管理局(Food and Drug Administration, FDA) 通过了三种流感病毒的分子生物学检测手段,包括:1. Prodesse ProFlu+, 用于甲型以及乙型流感病毒的实时多重 PCR;2. Luminex xTAG Respiratory Virus Panel (RVP), 通过 Luminex 流式细胞仪和常规 RT-PCR 结合来检测九种病毒扩增子;CDC Influenza 实时 RT-PCR,用于实验室监测流感病毒。这三种流感病毒都能检测甲型及乙型流感病毒,后两种还能鉴别甲型 H1 和甲型 H3 亚型。

4.2 依赖核酸序列的扩增技术

依赖核酸序列的扩增技术(Nucleic acid sequence based amplification, NASBA)是一项以 RNA 为模板进行逆转录的快速等温电化学发光检测技术。通过逆转录酶,T7 RNA 聚合酶,RNA 酶 H 以及两条特异性引物共同完成反应。上游引物的 5' 端带有 T7RNA 聚合酶识别的启动子序列,下游引物的 5' 端序列含有能与钨标记的电化学探针(ECL probe)互补的序列。因此通过检测反应过程中的光电信号,NASBA 能够对反应过程进行定性和定量的分析。NASBA 能够检测出甲型 H1-H15 亚型的禽流感病毒,且与其他病毒病原体无交叉反应^[24,25]。由于其应用前景,NASBS 技术在国外研究较多发展较快,然而在国内的研究仍然较少。

NASBA 技术方便快捷,在 42℃ 等温扩增,不需要复杂仪器,整个过程仅需要 4 小时左右,灵敏度高,扩增效率与常规 RT-PCR 相比也更高。而且由于其高通量特性,也非常适合大规模样品的筛查,是很有应用前景的一个流感病毒检测方法之一。

4.3 基因芯片

基因芯片技术是指将大量探针分子固定于载体上,再于标

记的样品分子进行杂交,通过样品与探针杂交的信号强度来分析样品的分子数量和序列信息。目前用于 DNA 序列测定的基因芯片主要有 cDNA 芯片、寡聚核苷酸芯片以及 DNA 芯片。基因芯片可用于鉴别甲型流感的 HA,NA,NP 基因以及乙型流感病毒 HA,NA,PA 基因^[26]。通过引物设计的特异性,基因芯片也能快速的鉴别甲型流感病毒的 H1N1、H3N2 和 H5N1 等亚型^[27]。

基因芯片由于其高通量的特性,能够对数万个基因进行检测,从而可以在短时间内准确地发现新变异或者由于重配而形成的新亚型病毒。然而由于其实验条件要求高、价格昂贵等缺点,此项技术并不利于推广。

4.4 环介导等温扩增技术

环介导恒温扩增技术(Loop-Mediated Isothermal Amplification, LAMP) 是 2000 年 Notomi 等建立了一种新的体外扩增特异 DNA 片段的分子生物学技术^[28]。该技术依赖于自动循环的链置换反应,在等温条件下,不到 1h 就能扩增出 10⁹ 靶序列拷贝,可以根据反应副产物焦磷酸盐白色沉淀或者加入荧光染料观察结果。该技术操作方法简便、不需要特殊的仪器设备、肉眼可判断结果,可应用于偏远地区、基层、口岸检疫实验室。RT-LAMP 技术应用于甲型 H1N1 流感病毒、高致病性 H5N1 禽流感病毒、甲 3 流感病毒、猪流感病毒等的检测方法,具有高效敏感的特点,具有广阔的应用前景。

5 结语

流感病毒对人类健康及畜禽养殖业造成的危害巨大。由于其全球性,历史上已经有过多次流感大流行的爆发。因此,如何能早期快速精确的诊断流感病毒对于预防其造成大流行尤为重要。病毒培养方法虽然精确,但是安全性以及周期过长是其缺点。血清学检测对技术人员要求不高且操作简单,易大规模普及。分子生物学则是由于其准确快速等优点已经有逐步取代病毒分离培养以及血清学诊断方法的趋势,相信在不久的将来便会得到普及。除了本文中提到的方法之外,还有核酸探针技术、原位杂交技术等。目前,基于 PCR 的技术已经得到广泛的应用,而 NASBA 以及基因芯片也在研究推广中。在临床流感防控工作中,应该结合各个检测方法的优点,灵活的选择和应用这些技术,最快速准确便捷的检测流感病毒,预防其大流行造成的危害。

参考文献(References)

- [1] Kawaoka Y. Influenza Virology: Current Topics[M]. Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-06-6
- [2] Matsuzaki Y, Katsushima N, Nagai Y, et al. Clinical features of influenza C virus infection in children [J]. Infect Dis, 2006, 193 (9): 1229-1235
- [3] Influenza WHO Fact sheet No. 211 revised March 2003. Retrieved 22 October 2006
- [4] Jonathan D., Plotkin J.B, Viboud C, et al. Mortality due to Influenza in the United States-An Annualized Regression Approach Using Multiple-Cause Mortality Data. Am[J]. Epidemiol, 2006, 163: 181-187
- [5] Julie Steenhuisen (2010). CDC backs away from decades-old flu death estimate
- [6] Valleron A.J., Cori A., Valtat S., Meurisse S., et al. Transmissibility and geographic spread of the 1889 influenza pandemic [J]. Proc.Natl. Acad.Sci.U.S.A., 2010, 107(19): 8778-8781
- [7] Mills C.E., Robins J.M., Lipsitch M. (2004). Transmissibility of 1918 pandemic influenza[J]. Nature, 2004, 432(7019): 904-906
- [8] Donaldson L.J., Rutter P.D., Ellis B.M. Mortality from pandemic A/H1N1 2009 influenza in England: public health surveillance study

- [J]. Brit. Med. J., 2009, 339: b5213
- [9] Hay A., Gregory V., Douglas A., et al. The evolution of human influenza viruses. *Philos[J]. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 2001, 356(1416): 1861-70
- [10] Taubenberger J.K., Morens D.M. 1918 Influenza: the Mother of All Pandemics[J]. *Emerg Infect Dis*, 2006, 12(1): 15-22
- [11] Taubenberger, J.K., Redi,A.H., Krafft, A.E., et al. Initial genetic characterization of the 1918 'Spanish' influenza virus. *Science*, 1997, 275: 1793-1796
- [12] Trifonov, Vladimir; Khiabani, Hossein; Rabadan, Raul. Geographic Dependence, Surveillance, and Origins of the 2009 Influenza A (H1N1) Virus. *N. Eng[J]. Med*, 2009, 361(2): 115-119
- [13] Leonardi G.P., Mitrache I., Pigal A., et al. Public hospital-based laboratory experience during an outbreak of pandemic influenza A (H1N1) virus infections[J]. *Clin. Microbiol*, 2010, 48: 1189-1194
- [14] Cheng P.K., Wong K.K., Mak G.C. Performance of laboratory diagnostics for the detection of influenza A (H1N1) virus as correlated with the time after symptom onset and viral load [J]. *Clin. Virol*, 2010, 47: 182-185
- [15] Ginocchio C.C., Zhang F., Manji R. Evaluation of multiple test methods for the detection of the novel 2009 influenza A (H1N1) during the New York City outbreak[J]. *Clin. Virol*, 2009, 45: 191-195
- [16] Ebrahimi M., Tebianian M., Toghyani H. Cloning, expression and purification of the influenza A (H9N2) virus M2e antigen and truncated Mycobacterium tuberculosis HSP70 as a fusion protein in *Pichia pastoris*[J]. *Pro. Exp. & Puri*, 2010, 70: 7-12
- [17] Skehel J.J., Wiley D.C. Receptor binding and membrane fusion in virus entry: the influenza hemagglutinin [J]. *Annu. Rev. Biochem*, 2000, 69: 531-569
- [18] Goodeve A.C., Jennings R., Potter C.W. The use of the single radial haemolysis test for assessing antibody response and protective antibody levels in an influenza B vaccine study[J]. *Biol. Stand*, 1983, 11(4): 289-296
- [19] Hammond G.W., Smith S.J., Noble G.R. Sensitivity and specificity of enzymeimmunoassay for serodiagnosis of influenza A virus infections [J]. *Infect. Dis*, 1983, 141(5): 644-651
- [20] Prabakaran M., Ho HT., Prabhu N. Development of epitope-blocking ELISA for universal detection of antibodies to human H5N1 influenza viruses[J]. *PLoS One*, 2009, 4(2): e4566
- [21] El-Madhun A.S., Cox R.J., Haaheim L.R. The effect of age and natural priming on the IgG and IgA subclass responses after parenteral influenza vaccination[J]. *Infect. Dis*, 1999, 180(4): 1356-1360
- [22] Jie H, Michael EB., Eric TB. Rapid multiplex reverse transcription-PCR typing of influenza A and B virus, and subtyping of influenza A virus into H1, 2, 3, 5, 7, 9, N1(Human), N1 (Animal), N2, and N7, including typing of novel swine origin influenza A (H1N1) virus, during the 2009 outbreak in Milwaukee, Wisconsin [J]. *Clin. Microbiol*, 2009, 47: 2772-2778
- [23] Kate ET, Sitha AS., Matthias FCB. Rapid and sensitive method using multiplex realtime PCR for diagnosis of infections by influenza A and influenza B viruses, respiratory syncytial virus, and parainfluenza viruses 1, 2, 3, and 4[J]. *Clin. Microbiol.*, 2004, 42: 1564-1569
- [24] Lau L. T., Banks J., Ahern R. Nucleic acid sequence based amplification methods to detect avian influenza virus [J]. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 2009, 313(2): 336-342
- [25] Lau L.T., Fung Y.W., Yu A.C. Detection of animal viruses using nucleic acid sequence based amplification (NASBA)[J]. *Dev. Biol.*, 2006, 126: 7-15
- [26] Li J, Chen S, Evans DH. Typing and subtyping influenza virus using DNA microarrays and multiple reverse transcriptase PCR [J]. *Clin Microbiol*, 2001, 39(2): 696-704
- [27] Townsend M.B, Dawson E.D, Mehlmann M. Experimental evaluation of the FluChip diagnostic microarray for influenza virus surveillance[J]. *Clin Microbiol*, 2006, 44: 2863-2871
- [28] Notom T, Okayama H, Masubuchi H, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA [J]. *Nucleic Acid Research*, 2000, 28(12): 63

(上接第 6588 页)

- [22] Zhang Y, Adachi M, Zou H, et al. Histone deacetylase inhibitors enhance phosphorylation of histone H2AX after ionizing radiation[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2006, 65: 859-866
- [23] Feng Zhang, Tao Zhang, Zeng-hui Teng. Sensitization to γ -irradiation-induced cell cycle arrest and apoptosis by the histone deacetylase inhibitor trichostatin A in non-small cell lung cancer (NSCLC) cells [J]. *Cancer Biology & Therapy*, 2009, 9: 823-831
- [24] Jacob E. Shabason, Philip J. Tofilon Kevin Camphausen. Grand rounds at the National Institutes of Health: HDAC inhibitors as radiation modifiers, from bench to clinic [J]. *J. Cell. Mol. Med*, 2011, 15(12): 2735-2744
- [25] M. Løbrich, A. Shibara, A. Beucher-H2AX foci analysis for monitoring DNA double-strand break repair[J]. *Cell Cycle*, 2010, 9: 662-669
- [26] Liu Y, Zhang X, Liang Y, et al. Targeting XBP1 to regulate the sensitivity of glioma cells to oxidative stress [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2011, 37(4): 395-405
- [27] Richon VM, Sandhoff TW, Rifkind RA, et al. Histone deacetylase inhibitor selectively induces p21WAF1 expression and gene-associated histone acetylation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 10014-10019
- [28] Kim JH, Choi YK, Kwon HJ, et al. Downregulation of gelsolin and retinoic acid receptor beta expression in gastric cancer tissues through histone deacetylase 1[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2004, 19: 218-224
- [29] Cohen HY, Lavu S, Bitterman KJ, et al. Acetylation of the C terminus of Ku70 by CBP and PCAF controls Bax-mediated apoptosis [J]. *Mol Cell*, 2004, 3: 627-638
- [30] Zhang Y, Adachi M, Kawamura R, et al. Bmf is a possible mediator in histone deacetylase inhibitors FK228 and CBHA-induced apoptosis [J]. *Cell Death Diff*, 2006, 13: 129-140
- [31] Zhang Y, Adachi M, Kawamura R, et al. Bmf contributes to histone deacetylase inhibitor-mediated enhancing effects on apoptosis after ionizing radiation[J]. *Apoptosis*, 2006, 11: 1349-1357
- [32] JoAnn M, Gensert, Oxana V, et al. CD81, a cell cycle regulator, is a novel target for histone deacetylase inhibition in glioma cells [J]. *Neurobiology of Disease*, 2007, 26: 671-680
- [33] Miglena Koprinarova, Peter Botev, George Russev. Histone deacetylase inhibitor sodium butyrate enhances cellular radiosensitivity by inhibiting both DNA nonhomologous end joining and homologous recombination[J]. *DNA Repair*, 2011, 10: 970-977
- [34] Takeshi Kuribayashi, Maki Ohara. Scriptaid, a novel histone deacetylase inhibitor, enhances the response of human tumor cells to radiation[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2010, 25: 25-29