

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.06.006

H1N1 流感病毒血凝素对人肺细胞的损伤作用及机制研究*

李慧瑾^{1,4#} 李正堃^{2#} 连媛媛³ 贺春霞¹ 秦 魏¹ 孙丽君⁴ 孙晶莹⁴ 赵 栋¹ 曹慧玲^{1Δ}

(1 陕西省缺血性心血管疾病重点实验室, 西安医学院基础与转化医学研究所 陕西 西安 710021;

2 西安医学院医学技术系 陕西 西安 710021; 3 福建医科大学药学院 福建 福州 350108;

4 陕西省人民医院中心实验室 陕西 西安 710062)

摘要 目的:研究 H1N1 流感病毒血凝素 HA 对人胚肺成纤维细胞的损伤作用并初步探讨其机理。**方法:**合成 2009 H1N1 的 HA 基因全长, 分别将 HA 的 PCR 产物和 pEGFP-N1 质粒经 *Hind* III 和 *Eco*RI 酶切电泳、纯化、连接并转化大肠杆菌 DH5 α , 构建真核表达质粒 pEGFP-N1/HA。质粒转染 293 细胞, 检测其转染效率, 并收获细胞总蛋白进行 Western blotting 检测。将阳性质粒转染 MRC-5 细胞, CCK-8 检测 HA 的表达对细胞增殖活性, 线粒体膜电位检测试剂盒检测其对细胞的早期凋亡的影响, ATP 检测试剂盒检测 HA 的表达对 ATP 水平的改变。**结果:**PCR 电泳检测获得分子量为 1700 bp 左右的目的条带, 菌落 PCR 鉴定 HA 片段成功插入 pEGFP-N1 载体。荧光显微镜下检测 pEGFP-N1/HA 转染 293 细胞有明显荧光, Western blotting 结果显示 pEGFP-N1/HA 转染细胞有单一的目的蛋白表达。HA 的表达可明显抑制 MRC-5 细胞活力, HA 的高表达降低 MRC-5 细胞的线粒体膜电位及 ATP 水平。**结论:**H1N1 流感病毒 HA 对人肺细胞的损伤作用可能与影响肺细胞的线粒体功能有关。

关键词:H1N1 流感病毒; 血凝素; 人胚肺成纤维细胞; 线粒体

中图分类号:R-33; R373.1; R322.35 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)06-1029-05

Effects and Mechanisms of Hemagglutinin of H1N1 Influenza Virus on the Human Lung Cells*

LI Hui-jin^{1,4#}, LI Zheng-kun^{2#}, LIAN Yuan-yuan³, HE Chun-xia¹, QIN Wei¹, SUN Li-jun⁴, SUN Jing-ying⁴, ZHAO Dong¹, CAO Hui-ling^{1Δ}

(1 Shaanxi Key Laboratory of Ischemic Cardiovascular Disease, Institute of Basic and Translational Medicine, Xi'an Medical University,

Xi'an, Shaanxi, 710021, China; 2 Department of Medical Technology, Xi'an Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710021, China;

3 College of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian, 350108, China;

4 Center Laboratory of Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710062, China)

ABSTRACT Objective: To study the effects of hemagglutinin HA of H1N1 influenza virus on human embryonic lung fibroblasts and explore its mechanisms. **Methods:** HA gene of H1N1 was synthesized, PCR production of HA and pEGFP-N1 were digested by *Hind* III and *Eco*RI respectively, the recombinant plasmid pEGFP-N1/HA was constructed after ligation and transformation into *Escherichia coli* DH5 α . The transfection efficiency was tested after the positive plasmid was transfected into 293 cells and the HA expression level was analyzed by Western blotting. The cell proliferation was detected by CCK-8 assay, the early apoptosis was determined by mitochondrial membrane potential, ATP level was detected by ATP assay kit after the plasmid pEGFP-N1/HA was transfected into MRC-5 cells. **Results:** The target band with molecular weight of about 1700 bp was obtained by PCR. The plasmid pEGFP-N1/HA was successfully identified by PCR. The strong fluorescence signals and a single band were detected in 293 cells after being transfected by pEGFP-N1/HA. CCK-8 test results showed that overexpression of HA significantly inhibited the viability of MRC-5 cells. MitoTracker Red CMXRos staining indicated that overexpression of HA reduced the mitochondrial membrane potential of MRC-5 cells. The results of ATP assay showed that overexpression of HA decreased the ATP level in MRC-5 cells. **Conclusions:** HA of H1N1 influenza virus-induced damage of human lung MRC-5 cells may be due to impaired mitochondrial function.

Key words: H1N1 influenza virus; Hemagglutinin; Human Embryonic Lung Fibroblasts; Mitochondria

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R373.1; R322.35 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)06-1029-05

* 基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(81202373); 陕西省高校科协青年人才托举计划项目(20170408); 西安医学院 2016 年博士科研启动基金项目(2016DOC13)

作者简介: 李慧瑾(1984-), 博士, 讲师, 研究方向: 流感病毒致病机理, 肿瘤及心血管病因学, 电话: 029-86132859, E-mail: 187085591@qq.com

李正堃(1982-), 博士, 讲师, 主要研究方向: 肿瘤发病机制与病因分析, E-mail: 99388171@qq.com

为共同第一作者

Δ 通讯作者: 曹慧玲(1970-), 博士, 副教授, 主要研究方向: 结构生物学, 心血管疾病致病机理及药物筛选, E-mail: 547764923@qq.com

(收稿日期: 2017-10-18 接受日期: 2017-11-13)

前言

在甲、乙、丙三种流感病毒中,以甲型流感病毒带来的危害最为严重^[1,2]。当前,甲型流感的预防主要依赖于甲型流感病毒(influenza virus A)裂解疫苗,甲型流感病毒表面蛋白血凝素(hemagglutinin, HA)是甲型流感病毒的主要抗原之一,HA 抗原具有较强的免疫原性,能使人体产生保护性抗体^[3-5]。甲型流感疫苗的有效性已得到证实,中国疾病预防控制中心开展的甲型流感疫苗临床试验结果显示中国各类型甲型流感疫苗对各年龄组人群均有效,接种一针后均产生了较强的免疫应答,接种第 21 天时抗体阳转率最高达到 92.8%,已达到欧盟标准^[6]。但现有疫苗接种后引起的少数非常严重的不良反应使流感疫苗的安全性受到质疑,国内外研究人员对 H1N1 疫苗接种后的不良事件进行监测发现国内外均有疫苗接种后产生不良反应的病例报道^[7,8]。因此,研究甲型流感病毒引起机体不良反应的原因有重要意义。本研究通过构建真核表达 HA 的质粒,转染人胚肺成纤维细胞 MRC-5,检测血凝素 HA 对 MRC-5 细胞的增殖作用及对细胞线粒体膜电位和 ATP 含量的影响,初步探讨其可能的作用机理,以期阐明甲型流感病毒引起严重不良反应的发生机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

人胚肺成纤维细胞 MRC-5 和人胚胎肾细胞 293(培养于含 10%新生牛血清的 DMEM 培养基中)购自美国 ATCC 公司,新生牛血清购自杭州四季青公司,抗 HA 兔单克隆抗体购自 Sino Biological 公司,pEGFP-N1 载体、DNA Marker、TaqDNA 聚合酶、DNA 连接酶 Solution I 及限制性内切酶均购自大连 TaKaRa 公司,感受态细胞 DH5 α 、质粒提取试剂盒和 DNA 凝胶回收试剂盒购自北京天根公司,质粒转染试剂 HP X-treme 购自瑞士 Roche 公司,线粒体膜电位检测试剂 MitoTracker Red CMXRos 荧光探针购自上海翊圣公司,ATP 检测试剂盒购自碧云天生物技术有限公司,引物序列:HA Forward: 5'-CAAGCTTGGGATGAAGGCAATACTTGTAGTT-3';HA Reverse: 5'-AGAATTCGGGTATAA TACATATTCTACACTGTAGA-3',引物合成及测序由上海生物工程有限公司和北京华大六合基因有限公司完成。

1.2 实验方法和步骤

1.2.1 目的基因的扩增及 pEGFP-N1/HA 质粒的构建 PCR 反应条件:95℃ 5 min,95℃ 30 s,53℃ 30 s,72℃ 2 min,30 个循环,72℃ 10 min。取全部 PCR 产物 50 μ L 在浓度为 10 g/L 的琼脂糖凝胶上进行电泳,回收分子量大小约为 1700 bp 的目的基因。回收产物和 pEGFP-N1 分别经 *Hind* III 和 *Eco* RI 双酶切后,按载体:片段为 1:6 的比例 16℃ 连接过夜,转化大肠杆菌感受态细胞 DH5 α ,涂布含 Kan 抗性的 LB 固体平板,37℃ 静置培养 12~16 h,待单个克隆长出。挑取阳性克隆,加入 2 mL 含 Kan 抗性的 LB 液体培养基,37℃,220 rpm 培养 16~18 h,收集菌液,进行 PCR 扩增鉴定,鉴定正确的菌液,送公司测序,测序正确的菌液,再进一步扩大培养提取质粒,命名为 pEGFP-N1/HA。

1.2.2 质粒转染及荧光检测 处于对数生长期的细胞,胰酶消化离心后,制备单细胞悬液,台盼蓝染色 2 min,活细胞计数。将细胞密度调整为次日汇合度约 70%~90%接种到 6 孔培养板中,37℃、5% CO₂ 细胞培养箱中培养。将 2 μ g 质粒加入无血清细胞培养基中,制备终体积为 200 μ L 溶液,HP X-treme 转染试剂 6 μ L(质粒与转染试剂比例为 1:3)加入上述溶液中轻轻充分混匀后,25℃ 静置 15~20 min。细胞培养液换为完全培养基 1.5 mL 后,将作用时间结束的转染混合液缓慢均匀地加入到 6 孔板中,然后置于细胞培养箱中进行培养。转染 24~48 h 荧光显微镜下观察荧光强度,转染 48 h~72 h 后,收集细胞提取总蛋白。

1.2.3 HA 蛋白表达检测 转染质粒 48 h~72 h 后的 6 孔板细胞,弃掉培养基,并用 PBS 洗 3 次,RIPA 裂解液 50 μ L[含蛋白酶抑制剂 PI(25 $\times$)2 μ L,PMSF(100 mM)0.5 μ L]加入各孔,冰上裂解 30 min,刮取细胞,涡旋振荡 5 min,4℃,12000 $\times$ g,离心 30 min 并收集上清,即为细胞总蛋白。总蛋白 100℃,5 min 变性后待上样。制备 12%的 SDS-PAGE 分离胶及 5%的浓缩胶,电泳后,进行 Western Blotting 检测蛋白表达。一抗以 1:500 比例稀释孵育 4℃ 过夜,二抗 1:2000 稀释室温作用 1 h。ECL 化学发光,多功能成像系统中显影成像,用 Image Lab 软件分析目的条带的表达强度。

1.2.4 细胞增殖活力的检测 96 孔板中接种 MRC-5 细胞悬液,细胞密度为 5000 个/孔,补齐培养基至 100 μ L。细胞贴壁后,pEGFP-N1/HA 质粒及对照质粒转染细胞,分别将转染 24 h、48 h、72 h,加入终浓度为 10%的 CCK-8 溶液,酶标仪 450 nm 处检测吸光值,绘制生长曲线。

1.2.5 细胞线粒体膜电位的检测 mitoTracker Red CMXRos 红色荧光探针检测 HA 的表达对细胞膜电位的影响。50 μ g 的粉末中加入 94 μ L 的 DMSO,得到 1 mM 的储存液。细胞培养基稀释储存液至工作液浓度为 50 nM。将细胞在 24 孔板中爬片培养,转染 48 h~72 h,细胞汇合度约 50%时,加入 37℃ 预热的 Mito Tracker Red CMXRos 工作液,静置孵育 30 min;培养基清洗细胞 2 次,甲醇室温作用 15 min;固定完毕后,吸去固定液,用 PBS 冲洗细胞 3 次,每次 2 min。载玻片上滴加 5 ?L 100%的甘油封片后,倒置荧光显微镜下分析红色荧光强度,分析 HA 对细胞线粒体膜电位的影响。

1.2.6 细胞 ATP 水平的检测 按照 6 孔板每孔加入 200 μ L 的 ATP 检测裂解液的比例,直接加入孔中,裂解细胞。裂解后,4℃,12000 $\times$ g 离心 5 min,收获上清即为待检测样品。

按照每个样品或标准品需要 100 μ L 的 ATP 检测工作液的比例配制适量的 ATP 检测工作液。取适量的 ATP 检测试剂,按照 1:5 的比例用 ATP 检测稀释液稀释 ATP 检测试剂。将配制好的 100 μ L 的 ATP 检测工作液加到检测管内,室温放置 3~5 min,在检测管中加入 20 μ L 的样品或标准品,迅速用微量移液器混匀,作用 2 s 后,用 luminometer 仪测定 RLU 值。为消除细胞数量不同造成的差异,通过 BCA 蛋白定量法对样品制备过程中收获的上清中的总蛋白进行浓度测定,最后,将 ATP 浓度换成 nM/mg 蛋白的形式定量。

1.3 统计学分析

平均荧光强度用 Image J 软件分析, 实验数据均采用均值 $\pm$ 标准差表示, 运用统计学软件 SPSS18.0 和 GraphPad Prism software version 5.0 软件进行分析。两组之间的差异比较采用两样本 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 pEGFP-N1/HA 质粒的构建

PCR 扩增产物电泳结果显示: 在 1700 bp 左右有 1 条单一

条带, 并且与血凝素 HA 基因的大小 1701 bp 相符(图 1A)。纯化的 PCR 产物经 *Hind* III 和 *Eco* R I 双酶切后, 与经 *Hind* III 和 *Eco* R I 酶切后的载体 pEGFP-N1 连接后构建质粒, 经菌液 PCR 鉴定, 电泳可见在 1700 bp 左右处有单一的目的条带(图 1B)。阳性克隆 1 号和 5 号经 DNA 测序, 得到的基因序列与 DNA 合成的序列完成一致, 说明目的基因 HA 成功克隆至 pEGFP-N1 载体中。

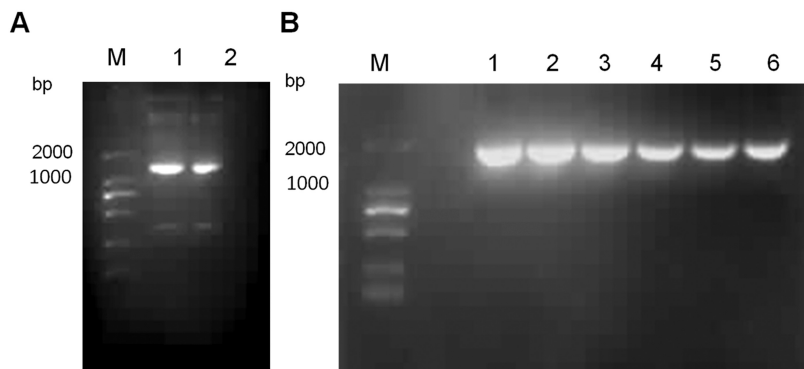


图 1 HA 的克隆和 pEGFP-N1/HA 的 PCR 鉴定

(A: HA 的 PCR 扩增产物; B: pEGFP-N1/HA 的 PCR 鉴定)

Fig. 1 Cloning of HA and PCR identification of pEGFP-N1/HA

(A: PCR production of HA; B: PCR identification of pEGFP-N1/HA)

2.2 HA 蛋白表达

构建成功的质粒 pEGFP-N1/HA 和对照质粒 pEGFP-N1 分别转染 293 细胞, 作用 48 h 后, 荧光倒置显微镜下检测其荧光强度。结果显示: 转染质粒 pEGFP-N1/HA 和对照质粒的细胞均能检测到明显的绿色荧光(图 2), 提示质粒 pEGFP-N1/HA 成功

转染 293 细胞, 并且 HA 在 pEGFP-N1/HA 质粒中可以成功表达。pEGFP-N1/HA 转染组的蛋白在 Mr 60 kD 左右有单一的条带, 而对照组无明显目的条带, 并且分子量大小和 HA 蛋白分子量的预期值相符(图 3)。

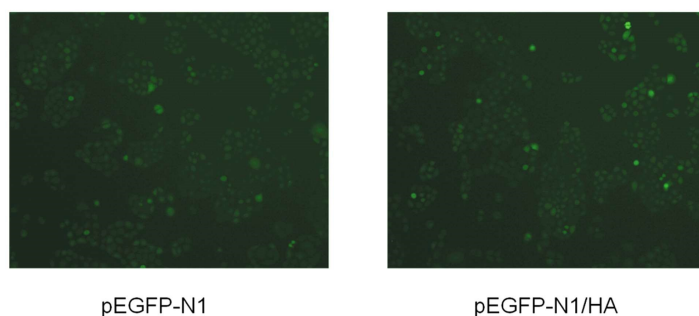


图 2 pEGFP-N1/HA 成功转染 293 细胞(10 $\times$)

Fig. 2 293 cells after transfected pEGFP-N1/HA (10 $\times$)

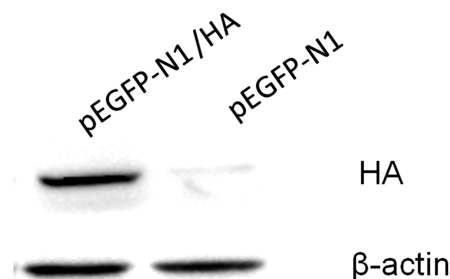


图 3 pEGFP-N1/HA 转染 293 细胞后的 HA 的表达量检测

Fig. 3 Detection of HA expression from 293 cells after transfected by pEGFP-N1/HA

2.3 细胞增殖活力

为检测 HA 的表达对人胚肺成纤维细胞的增殖情况, 我们将构建成功的质粒 pEGFP-N1/HA 转染 MRC-5 细胞 24、48 和 72 h 后, CCK8 检测试剂盒检测细胞活力, 结果显示: pEGFP-N1/HA 转染 48 h 和 72 h 后, 细胞活力没有明显的升高反而有所下降; 而 pEGFP-N1 对照转染后细胞活力随着时间的延长明显提高, 两组转染 72 h 后的 OD 值比较, 差异具有统计学意义($p < 0.05$)(图 4)。由此可见, HA 的过表达抑制 MRC-5 细胞的增殖。

2.4 细胞线粒体膜电位

为进一步分析 HA 对人胚肺成纤维细胞活力影响的机制, 我们检测了 HA 的过表达对 MRC-5 细胞线粒体膜电位的影响。线粒体红色荧光探针 mitoTracker Red CMXRos, 可被动运输穿过细胞膜并直接聚集在有活性的线粒体上, 红色荧光的强弱可以直接反映线粒体的活性。我们对分别转染 pEGFP-N1/HA 和 pEGFP-N1 质粒 72 h 后的 MRC-5 细胞的线粒体活性进行荧光检测, 结果显示: pEGFP-HA 转染的 MRC-5 细胞线粒体的活性相比 pEGFP-N1 转染的 MRC-5 细胞降低(图 5A), 并且两组差异具有统计学意义。

2.5 细胞 ATP 含量

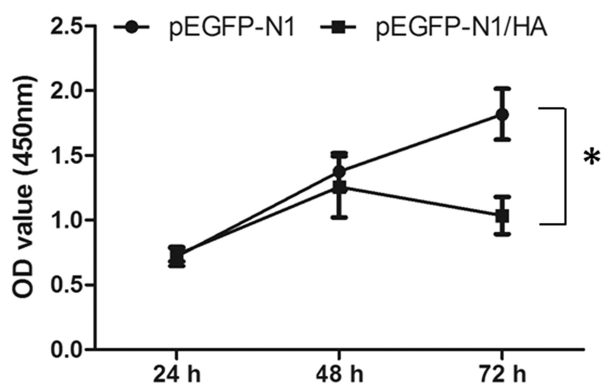


图4 pEGFP-N1/HA 转染 MRC-5 不同时间后的细胞活力

Fig. 4 The cell viability of MRC-5 transfected by pEGFP-N1/HA

考虑到线粒体是 ATP 产生的主要场所, 我们进一步检测了 ATP 含量的变化。分别将 pEGFP-N1/HA 和 pEGFP-N1 质粒转染 MRC-5 细胞 72 h 后, 检测细胞内 ATP 水平。结果提示: pEGFP-N1/HA 组的 ATP 含量明显低于对照组, 差异具有统计学意义($p < 0.05$)(图 6)。

3 讨论

接种流感疫苗是预防流感流行的主要手段^[9-11], 甲型流感疫苗的有效性已得到证实, 但接种甲型流感疫苗后引起的少数严重不良反应甚至死亡事件使甲型流感疫苗的安全性受到质疑^[12-15], 影响了甲型流感疫苗的大规模推广应用。此外, 甲型流感疫苗引起严重不良反应的具体机制仍未系统阐明^[16-18]。Taronna R 等^[19]研究发现 2009 年 H1N1 流感病毒能够在呼吸道中广泛地复制并可以向下延伸至肺部, 而季节性 H1N1 流感病毒则只停留在动物的鼻腔之中。Mauad T 等^[20]在对 2009 年 H1N1 流感患者的组织病理学检查时发现患者体内支气管和细支气管上皮广泛变性、坏死, 支气管、细支气管腔和肺泡内充满含有中性粒细胞和单核细胞等的渗出液。炎症细胞释放的酶和细胞因子加重了肺组织的损伤。Oliveir 等^[21]研究发现甲型流感病毒可作为肺隐球菌病的一个诱发因素。研究人员将 H1N1 流感病毒和隐球菌 *C. gattii* 混合体内感染, 结果显示甲型流感病毒能明显加重隐球菌单独感染的发病率和死亡率, 并且可使肺部募集的中性粒细胞和巨噬细胞明显增多。

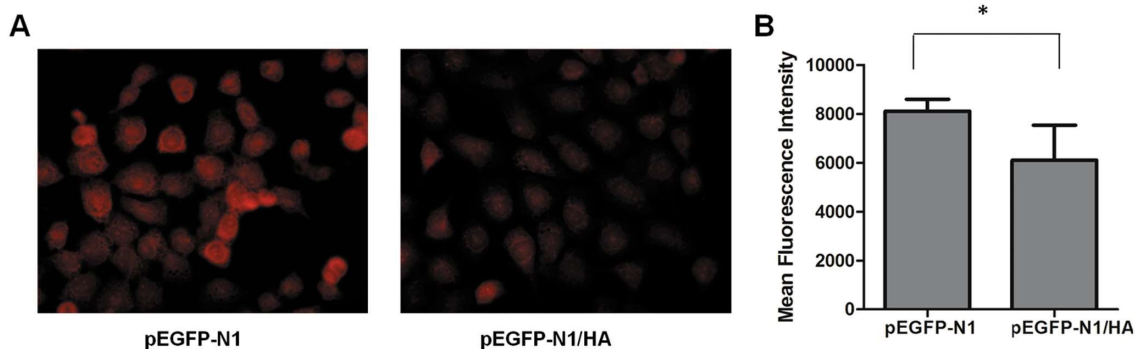


图5 pEGFP-N1/HA 转染的 MRC-5 细胞线粒体膜电位(40×)

(A: 荧光强度; B: 平均荧光强度定量)

Fig.5 The mitochondrial membrane potential of MRC-5 cells transfected by pEGFP-N1/HA(40×)

(A: fluorescence intensity; B: Quantification of mean fluorescence intensity)

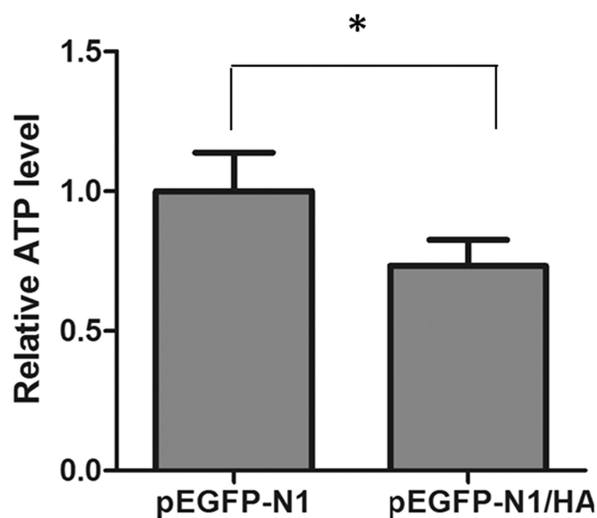


图6 pEGFP-N1/HA 转染的 MRC-5 细胞 ATP 含量

Fig.6 The ATP content of MRC-5 cells transfected by pEGFP-N1/HA

鉴于 H1N1 流感病毒对肺组织损伤和肺疾病发生的密切相关性, 本研究通过合成 2009 年 H1N1 流感病毒表面抗原血凝素 HA 基因, 并成功构建了表达 HA 的真核表达质粒, 检测了其对人胚肺成纤维细胞的增殖活力的影响, 并进一步分析了其对线粒体膜电位及 ATP 含量的影响。研究结果显示随着 HA 质粒转染时间的延长, 人胚肺成纤维细胞 MRC-5 的增殖受到抑制。膜电位是反映线粒体内膜完整性的重要指标, 膜电位下降是细胞凋亡早期的一个标志性事件。为检测血凝素 HA 对细胞早期凋亡是否有影响, 我们对 HA 转染细胞后线粒体的膜电位进行检测, 结果表明 HA 的高表达降低膜电位, 即 HA 的高表达可能会促进人胚肺成纤维细胞的早期凋亡。有结果显示在机体感染流感病毒到其在宿主内存活过程中, 凋亡蛋白 cIAP2 的抑制剂可以保护肺组织免受坏死^[22]。流感病毒感染细胞后, 考虑到线粒体是 ATP 合成的主要场所, 线粒体膜电位的改变可能会影响 ATP 的产生, 因此我们检测了 HA 的表达与细胞内 ATP 水平的关系, 结果显示 HA 的高表达可降低 ATP 水平。

综上所述, 本研究成功构建了 2009 年 H1N1 流感病毒血

凝素 HA 的真核表达质粒, 研究结果表明 H1N1 流感病毒 HA 对人肺细胞的损伤作用可能与影响肺细胞的线粒体功能有关。

参考文献(References)

- [1] Huang SS, Banner D, Fang Y, et al. Comparative Analyses of Pandemic H1N1 and Seasonal H1N1, H3N2, and Influenza B Infections Depict Distinct Clinical Pictures in Ferrets [J]. PLoS One, 2011, 6(11): 1-14
- [2] Maines TR, Jayaraman A, Belser JA, et al. Transmission and Pathogenesis of Swine-Origin 2009 A (H1N1) Influenza Viruses in Ferrets and Mice[J]. Science, 2009, 325(5939): 484-487
- [3] Nelson M I, Viboud C, Simonsen L, et al. Multiple reassortment events in the evolutionary history of H1N1 influenza A virus since 1918[J]. PLoS Pathog, 2008, 4: e1000012
- [4] Sanina N, Davydova L, Chopenko N, et al. Modulation of Immunogenicity and Conformation of HA1 Subunit of Influenza A Virus H1N1 Hemagglutinin in Tubular Immunostimulating Complexes[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(9)
- [5] Lansbury LE, Smith S, Beyer W, et al. Effectiveness of 2009 pandemic influenza A (H1N1) vaccines: A systematic review and meta-analysis [J]. Vaccine, 2017, 35(16): 1996-2006
- [6] Liang XF, Wang HQ, Wang JZ, et al. Safety and immunogenicity of 2009 pandemic influenza A H1N1 vaccines in China: a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled trial [J]. Lancet, 2010, 375(9708): 56-66
- [7] K Broder, C Vellozzi, C Weinbaum, et al. Safety of influenza A (H1N1) 2009 monovalent vaccines - United States, October 1-November 24, 2009 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2009, 58 (48): 1351-1356
- [8] Williams SE, Pahud BA, Vellozzi C, et al. Causality assessment of serious neurologic adverse events following 2009 H1N1 vaccination [J]. Vaccine, 2011, 29(46): 8302-8308
- [9] Ma C, Pan Y, Zhang L, et al. Influenza vaccine effectiveness against medically attended influenza illness in Beijing, China, 2014/15 season[J]. Hum Vaccin Immunother, 2017, 13(10): 2379-2384
- [10] Jing-Xia G, Yu-Liang Z, Jin-Feng L, et al. Safety and effectiveness assessment of 2011-2012 seasonal influenza vaccine produced in China: a randomized trial[J]. Postgrad Med, 2017, 5: 1-8
- [11] Baxter D. Evaluating the case for trivalent or quadrivalent influenza vaccines[J]. Hum Vaccin Immunother, 2016, 12(10): 2712-2717
- [12] Zhang Y, Wu P, Feng L, et al. Influenza vaccine effectiveness against influenza-associated hospitalization in 2015/16 season, Beijing, China [J]. Vaccine, 2017, 35(23): 3129-3134
- [13] Duffy J, Lewis M, Harrington T, et al. Live attenuated influenza vaccine use and safety in children and adults with asthma [J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 2017, 118(4): 439-444
- [14] Johansen K, Brasseur D, MacDonald N, et al. Where are we in our understanding of the association between narcolepsy and one of the 2009 adjuvanted influenza A (H1N1) vaccines?[J]. Biologicals, 2016, 44(4): 276-280
- [15] Ahmed SS, Montomoli E, Pasini FL, et al. The Safety of Adjuvanted Vaccines Revisited: Vaccine-Induced Narcolepsy[J]. Isr Med Assoc J, 2016, 18(3-4): 216-220
- [16] Montplaisir J, Petit D, Quinn MJ, et al. Risk of narcolepsy associated with inactivated adjuvanted (AS03) A/H1N1 (2009) pandemic influenza vaccine in Quebec[J]. PLoS One, 2014, 9(9): e108489
- [17] Touma Z, Gladman DD, Urowitz MB. Vaccination and auto-immune rheumatic diseases: lessons learnt from the 2009 H1N1 influenza virus vaccination campaign [J]. Curr Opin Rheumatol, 2013, 25(2): 164-170
- [18] Manzoli L, Ioannidis JP, Flacco ME, et al. Effectiveness and harms of seasonal and pandemic influenza vaccines in children, adults and elderly: a critical review and re-analysis of 15 meta-analyses[J]. Hum Vaccin Immunother, 2012, 8(7): 851-862
- [19] Maines TR, Jayaraman A, Belser JA, et al. Transmission and Pathogenesis of Swine-Origin 2009 A (H1N1) Influenza Viruses in Ferrets and Mice[J]. Science, 2009, 325 (5939): 484-487
- [20] Mauad T, Hajjar LA, Callegari GD, et al. Lung pathology in fatal novel human influenza A (H1N1) infection [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2010, 181(1): 72-79
- [21] Oliveira LVN, Costa MC, Magalhães TFF, et al. Influenza A Virus as a Predisposing Factor for Cryptococcosis [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2017, 7: 419
- [22] Rodrigue-Gervais IG, Labbé K, Dagenais M. Cellular inhibitor of apoptosis protein cIAP2 protects against pulmonary tissue necrosis during influenza virus infection to promote host survival[J]. Cell Host Microbe, 2014, 15(1): 23-35

• 重要信息 •

《现代生物医学进展》2018 年封面设计说明

本次封面设计使用了两张图片并做了切割处理, 照片其一是参照意大利艺术家达芬奇的著名素描作品《维特鲁威人》所做的人体骨骼和形态示意图, 图中的人体形态与时钟有相似之处, 图二为时钟与人脑的组合, 这两幅图片都在强调人体与时间的联系。长久以来人们便认识到: 包括人类在内的生物有一个内部生物钟, 能帮助生物预测和适应外界节奏规律。当外部环境和内部生物钟出现不匹配, 就会出现相应紊乱, 并增加许多疾病的风险。2017 年 10 月 2 日, 诺贝尔生理学或医学奖授予了美国生物学家 Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash 和 Michael W. Young, 以奖励他们在发现 " 昼夜节律控制分子机制 " 方面的贡献。他们找到了一个能控制日常生物节律的基因, 这种基因所编码的蛋白在细胞中会随时间变化, 就像是细胞内部生物节律时钟的发条。本年度的杂志封面选择生物节律为主题, 凸显了《现代生物医学进展》随时关注着生物医学发展的脚步, 时刻保持在该研究领域的前沿。