DOI:10.16016/j.1000-5404.201412031

论著

骨髓基质细胞抗原2抑制乙肝病毒复制与释放

朱素菲[1],贺 巧[1],胡 琴[1],黄 英[2],陈维贤[1],李 月[1] (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院:检验科[1],感染科[2])

[摘要] **目的** 研究骨髓基质细胞抗原2(bone marrow stromal antigen 2, BST-2)对乙型肝炎病毒(hepatitis B virus,HBV)复制与释放的影响。**方法** 以不同浓度干扰素处理人肝癌细胞株HepG2.2.15,Western blot和荧光定量PCR检测BST-2蛋白水平和RNA水平;分别用构建的BST-2真核表达质粒pCDNA3.1-BST2-FLAG和BST-2拮抗蛋白HIV Vpu真核表达质粒,转染HepG2.2.15细胞,酶联免疫吸附实验(ELISA)检测细胞培养液乙肝病毒表面抗原(HBsAg)和乙肝病毒e抗原(HBeAg),荧光定量PCR检测HBV mRNA,Southern blot检测HBV DNA。**结果** 转染pCDNA3.1-BST2-FLAG后,HBV mRNA降低26%,细胞内HBV DNA降低31%,细胞培养液中HBV DNA降低33%($P<0.05$),细胞培养液中HBsAg下降至82%,HBeAg下降至77%($P<0.05$);加入Vpu蛋白后,BST-2的抑制作用受到对抗,HBV mRNA恢复至92%,细胞内HBV DNA恢复至93%,细胞培养液中HBV DNA升至98%,细胞培养液中HBsAg恢复至102%,HBeAg恢复至99%,HBV复制与释放明显增强。**结论** BST-2对HBV复制与释放具有抑制作用,该抑制作用可被HIV Vpu蛋白拮抗。

[关键词] 乙肝病毒;BST-2;干扰素
[中图法分类号] R373.21; R392.13; R977.1 [文献标志码] A

Bone marrow stromal antigen 2 inhibits replication and release of hepatitis B virus

Zhu Sufei[1], He Qiao[1], Hu Qin[1], Huang Ying[2], Chen Weixian[1], Li Yue[1] ([1]Department of Laboratory Medicine, [2]Department of Infectious Disease, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effect of interferon-induced protein bone marrow stromal antigen 2 (BST-2) on the replication and release of hepatitis B virus (HBV). **Methods** Human hepatoma cell line HepG2.2.15 was treated with different concentrations of interferon, and the expression level of BST-2 was determined by Western blotting and quantitative PCR. Eukaryotic expression plasmid pCDNA3.1-BST2-FLAG was constructed and transferred into HepG2.2.15 cells. The levels of HBV surface antigen (HBsAg) and HBV e antigen (HBeAg) in cell cultures were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). HBV mRNA levels were detected by fluorescence quantitative PCR, while HBV DNA levels were detected by Southern blotting. Then, BST-2 antagonist protein, HIV Vpu, was added to inhibit BST-2, and HBsAg, HBeAg, HBV mRNA and HBV DNA levels were detected with the same methods as above. **Results** After transfection of HepG2.2.15 cells with pCDNA3.1-BST2-FLAG, HBsAg and HBeAg levels in cell cultures and intracellular HBV mRNA and DNA levels were decreased significantly ($P<0.05$). After HIV

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(30972582);重庆市卫生和计划生育委员会基金(2012-2-060)
[通信作者] 李 月,电话:(023)63703244,E-mail: liyuesun2004@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20150327.1357.011.html(2015-03-27)

Vpu protein was added, the inhibitory effect of BST2 was antagonized, and HBV replication was recovered partially. **Conclusion** BST-2 inhibits the replication and release of HBV, and the inhibitory effect can be antagonized with HIV Vpu protein.

[**Key words**] hepatitis B virus; bone marrow stromal antigen 2; interferon

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (30972582) and the Foundation of Chongqing Health and Family Planning Commission (2012-2-060). Corresponding author: Li Yue, Tel: 86-23-63703244, E-mail: yuelisun2004@163.com

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)是一种传染性较强的DNA病毒,属于嗜肝病毒科,虽然已被发现40年,但仍缺乏高效和特异的治疗手段。慢性乙型肝炎导致每年约有100万人死于乙肝相关疾病[1]。目前对付HBV感染主要依赖于非特异性的治疗手段,如干扰素和核酸类似物,但存在副作用较大、病毒变异逃逸及患者个体差异导致的无应答等问题。因此,新的治疗手段和新型药物的开发具有重要意义[2]。由于HBV只能感染较少数的宿主细胞,且主要集中在肝细胞中复制,而其具体机制仍未完全明了[3]。这限制了针对病毒入侵和释放步骤发挥作用的药物的研发。

骨髓基质细胞抗原2(bone marrow stromal antigen 2, BST-2)又称作Tethein蛋白、CD317、类浆样树突状细胞抗原-1(PDCA-1)等,最早被人们发现存在于细胞膜表面,其后又发现也可以存在于细胞内膜上,并在两种膜之间循环。BST-2蛋白主要集中在富含胆固醇的细胞膜微小结构区。通过GPI锚着在这些结构域的脂筏上,相互形成栅栏样结构,有利于膜的稳定性与流动性。BST-2在B细胞、T细胞、NK细胞、巨噬细胞、树突细胞等多种细胞和肝脏、肺、心脏、胎盘等正常组织有较高水平表达。干扰素可以诱导其表达水平显著增高,提示该蛋白可能在固有免疫方面有重要作用[4-6]。2008年,Neil等[7]首次发现BST-2可以抑制HIV-1从细胞的释放,随后BST-2蛋白对猴免疫缺陷病毒(SIV)、埃博拉病毒(Ebola)、流感病毒等多种病毒的抑制作用先后被报道,并且发现了部分病毒编码蛋白可以对抗BST-2作用,如HIV Vpu蛋白。这些研究提示,BST-2是一种广谱的病毒限制因子,对具有脂质包膜的病毒均可能产生抑制作用。

HBV的病毒颗粒结构中,存在脂质双层结构,构成病毒颗粒的外膜,类似于包膜病毒的包膜,这种结构正是BST-2发挥作用的合适对象,但BST-2对HBV是否有限制作用,目前尚少见相关报道。因此,本研究采用过表达构建的BST-2真核表达质粒pCDNA3.1-BST2-FLAG和BST-2拮抗蛋白HIV Vpu真核表达质粒,转染HepG2.2.15细胞,酶联免疫吸附实验(ELISA)检测细胞培养液乙肝病毒表面抗原(HBsAg)和乙肝病毒e抗原(HBeAg),荧光定量PCR检测HBV mRNA,Southern blot检测HBV DNA,探讨干扰素诱导蛋白BST-2是否可以抑制乙型肝炎病毒复制与释放。

1 材料与方法

1.1 材料试剂

质粒pcDNA3.1-FLAG、pCH9/3091(包含HBV1.1倍体和CMV启动子)、人肝癌细胞株HepG2.2.15由本室保存,质粒pcDNA-Vpu(HIV Vpu可以拮抗BST-2的作用)由美国科学院Klaus Strebel教授赠送。聚乙二醇干扰素α购自安科生物公司,BST-2抗体购自Santa Cruz公司,HBsAg抗体购自Abcam公司,羊抗兔IgG购自北京中山生物技术公司,羊抗牛IgG购自北京博士德技术公司,细胞培养用胎牛血清购自Gibco公司,脂质体Lipofectamine 2000购自Invitrogen公司,HBsAg和HBeAg ELISA试剂盒购自珠海丽珠公司,彩色蛋白预染Marker、BCA蛋白浓度测定试剂盒、SDS-PAGE配胶试剂盒及化学发光检测试剂盒购自碧云天公司,TRIzol试剂购自Invitrogen公司,病毒RNA提取试剂盒购自Qiagen公司,实时荧光定量PCR反应试剂盒、逆转录试剂盒购自TaKaRa公司。其余常用试剂均为本室自行配制。

1.2 方法

1.2.1 构建质粒 TRIzol提取HeLa细胞总RNA,以之为模板,RT-PCR获得BST-2基因DNA片段,克隆至真核表达载体pcDNA3.1,构建真核表达质粒pCDNA3.1-BST2-FLAG。选择酶切位点为*Kpn* Ⅰ和*Nhe* Ⅰ,其C端则带有FLAG标签。上游引物为5′-GCAGCTAGCATGGCATCTACTTCGTAT-3′,下游引物为5′-GATGGTACCCTGCAGCAGAGCGCTGAG-3′。

1.2.2 细胞培养与质粒转染 培养稳定表达HBV的细胞株HepG2.2.15,培养基为MEM(Gibco),加入10%小牛血清(Gibco),50 μmol/L青链霉素

(HyClone),每毫升培养基加入400 μg的G418,5% CO_2,37 ℃培养。HepG2.2.15细胞在转染前24 h内接种于6孔板,培养至每孔约含2.5×10^5个细胞。以Lipofectamine 2000转染,每孔4 μg质粒,操作按说明书进行。

1.2.3 Western blot检测 不同剂量干扰素α(0、250、500、1 000 U/mL)处理HepG2.2.15 72 h,Western blot检测HepG2.2.15的BST-2蛋白表达水平。转染实验时,HepG2.2.15细胞接种6孔板,分为3组:转染pCDNA3.1-BST2-FLAG组、转染pcDNA3.1-FLAG(对照)、共转染pCDNA3.1-BST2-FLAG和pcDNA-Vpu组,每组均设3个复孔。72 h后分别提取细胞总蛋白,按BCA测定蛋白浓度。蛋白提取物中加入5×蛋白上样缓冲液,沸水浴10 min,取50 μg蛋白上样,10% SDS-PAGE电泳,电转至PVDF膜。脱脂奶粉封闭1 h,加入1∶300的BST-2 4 ℃过夜,PBST洗膜3次,加入1∶2 000 HRP标记的羊抗兔,37 ℃孵育2 h。洗膜后,加入化学发光反应液,用化学发光检测仪检测。以β-actin为内参照。

1.2.4 荧光定量PCR检测BST-2 mRNA、HBV mRNA、HBV DNA表达水平 TRIzol试剂和病毒RNA提取试剂盒提取培养基里的细胞总RNA和3.5 kb病毒mRNA。逆转录用PrimeScript RT-PCR试剂盒(TaKaRa)。定量PCR荧光染料采用SYBR green(Roche,Germany),在ABI7500(Applied Biosystems,Foster City,CA)完成热循环反应。引物序列如下,BST-2正向引物:5′-ATCTCCTGCAACAAGAGCTGCA-3′,反向引物:5′-GTACTTGTCTTGTCCGCGATTCTC-3′;GAPDH正向引物:5′-TTCTCTTCTCTGATTTGGTCGTATTGG-3′,反向引物:5′-CATGTAAACCATGTAGTTGAGG-3′;HBV 3.5 kb mRNA正向引物:5′-GCCTTAGAGTCTCCTGAGCA-3′,反向引物:5′-GAGGGAGTTCTTCTTCTAGG-3′。HBV的复制中间体的正向和反向引物:5′-CCTAGTAGTCAGTTATGTCAAC-3′和5′-TCTATAAGCTGGAGTGCGA-3′。靶基因的表达量以$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法计算。

1.2.5 HBV DNA的提取及Southern blot检测 培养在6孔板中的细胞PBS洗2次,然后加入0.5 mL的细胞裂解液(10 mmol/L Tris-HCl;pH 8.0,1 mmol/L EDTA,1% NP-40和2%的蔗糖),37 ℃孵育15 min。15 000×g离心5 min后收集细胞裂解液,上清液加入40 U/mL DNase T和10 mmol/L氯化镁,37 ℃孵育4 h。加入200 μL 35% PEG8000(含1.5 mmol/L NaCl),冰浴1 h,然后4 ℃,11 000×g离心5 min,丢弃上清液,加入0.5 mL蛋白酶K(TaKaRa),45 ℃水浴过夜。等体积酚-氯仿抽提后用70%乙醇沉淀DNA,TE缓冲液溶解HBV DNA。0.9%琼脂糖凝胶电泳分离HBV DNA,毛细管法将其转移至膜上,120 ℃预杂交1 h,地高辛标记的DNA探针杂交过夜,洗膜,成像。

1.2.6 ELISA检测HBsAg和HBeAg 以每孔2.5×10^5的细胞量将HepG2.2.15细胞接种于6孔板,分别转染实验组及对照组,继续培养3 d后,收集培养液,去除细胞碎片采用ELISA测定HepG2.2.15细胞培养上清中的HBsAg和HBeAg水平,具体步骤按说明书进行;检测每孔波长450 nm处光密度值[D(450)],最后结果以对照组检测值进行标化。实验每组3孔,重复3次。

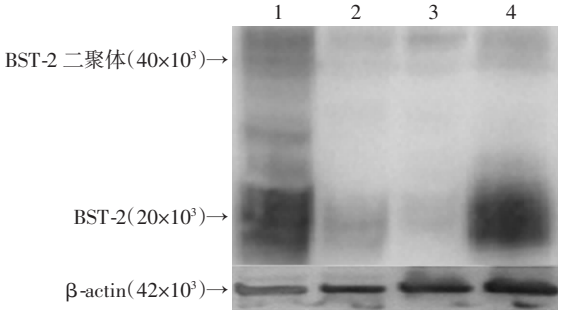
1.3 统计学分析

实验数据重复3次后以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 17.0统计软件进行方差分析。

2 结果

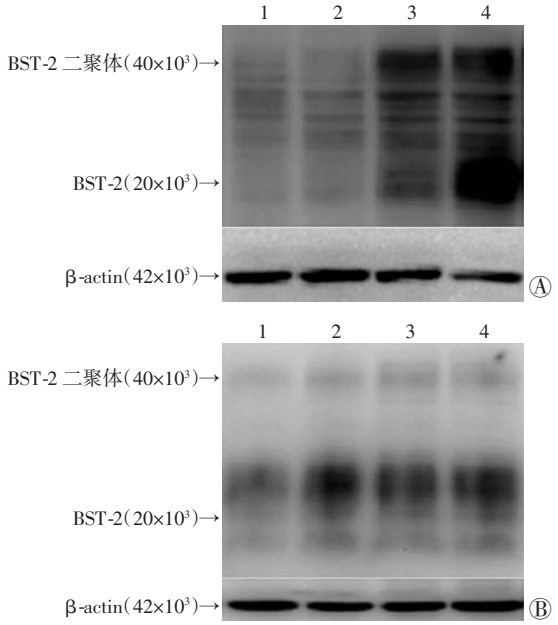
2.1 干扰素α诱导HepG2.2.15和HepG2细胞BST-2蛋白表达上调

首先,通过Western blot检测HepG2.2.15、HepG2、HepG2(转染pCH9/3091)、HeLa细胞蛋白BST-2基础表达量(图1),其次,为了验证干扰素α可以诱导HepG2.2.15和HepG2细胞的BST-2蛋白的表达,采用不同浓度干扰素α处理HepG2.2.15和HepG2细胞48 h后,Western blot(图2)和RT-PCR(图3)测定细胞的BST-2蛋白表达量。结果显示,HepG2.2.15细胞基础BST-2蛋白表达量与HeLa细胞相当,高于HepG2细胞,但HepG2细胞转染pCH9/3091后BST-2蛋白表达量稍升高,干扰素α诱导后,肝细胞的BST-2蛋白表达量明显增加,且具有剂量依赖性($P<0.05$)。



1:HepG2.2.15;2:HepG2(转染pCH9/3091);3:HepG2;4:HeLa

图1 Western blot检测不同细胞株BST-2表达量



1～4:分别为0、250、500、1 000 U/mL干扰素α

图2　Western blot检测不同剂量干扰素α刺激HepG2.2.15细胞(A)和HepG2细胞(B)中BST-2蛋白的表达

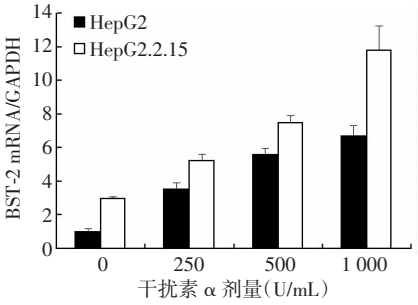


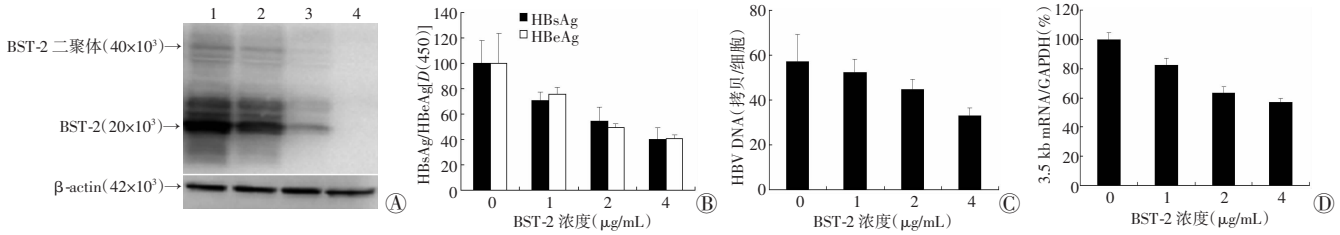
图3　RT-PCR检测不同剂量干扰素α诱导细胞BST-2表达

2.2　BST-2下调HepG2.2.15细胞HBV的表达和复制

为了验证BST-2对于HBV复制和释放的作用，HepG2.2.15细胞分别转染不同浓度的pCDNA3.1-BST2-FLAG(0、1、2、4 μg/mL)，为保证转染质粒浓度一致，以pCDNA3.1空载质粒(4、3、2、0 μg/mL)进行平衡。Western blot验证转染效率及蛋白表达(图4A)。过表达BST-2降低了分泌到细胞液中的HBsAg和HBeAg(图4B)。同时，实时荧光定量PCR结果显示，细胞内HBV DNA(图4C)和3.5 kb的mRNA量(图4D)也明显下调，表明BST-2可以降低稳定表达的HepG2.2.15细胞中HBV的表达和复制。

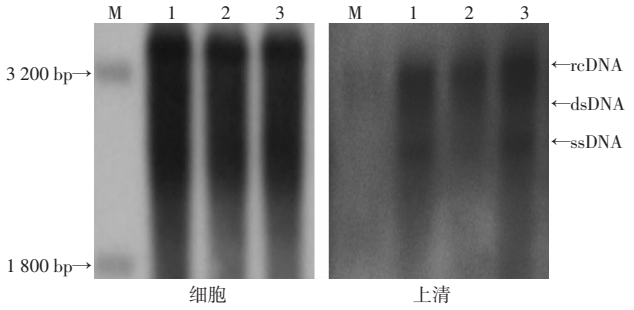
2.3　BST-2对HBV的抑制作用可被HIV Vpu蛋白拮抗

HepG2.2.15细胞分3组处理因素，72 h后分别收集各组细胞培养液和细胞，荧光定量PCR检测细胞培养液中和细胞内的HBV DNA含量。结果表明，pCDNA3.1-BST2-FLAG组HBV DNA[(50.00±6.53)拷贝/细胞]较pCDNA3.1-FLAG组[(72.00±4.32)拷贝/细胞]显著下降，而加入HIV Vpu后，HBV DNA[(66.67±4.99)拷贝/细胞]显著恢复，组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。pCDNA3.1-BST2-FLAG组、pCDNA3.1-FLAG组和pcDNA-Vpu组培养液中HBV DNA分别为(23.00±3.61)、(34.00±4.58)拷贝/mL和(33.97±4.63)拷贝/mL，可见BST-2能够使HBV释放受到抑制。Southern blot检测HBV中间复制体DNA，发现pCDNA3.1-BST2-FLAG组较pCDNA3.1-FLAG组明显减少，加入BST-2拮抗蛋白HIV Vpu后，HBV DNA量得以恢复(图5)。荧光定量PCR检测HBV mRNA相对表达量，发现与pCDNA3.1-FLAG组(100.00±14.82)相比，pCDNA3.1-BST2-FLAG处理组(73.33±4.62)HBV mRNA的相对表达量减少，加入HIV Vpu(99.56±3.32)后HBV mRNA表达升高，有统计学差异($P<0.05$)。为了进一步证明BST-2影响HBV的释放，用ELISA检测各处理组细胞上清液中HBsAg和HBeAg的含量，pCDNA3.1-BST2-FLAG处理组D(450)值[(81.48±5.22)、(77.30±4.62)]较空白对照组[(100.28±4.89)、(100.00±14.82)]下降，加入HIV Vpu[(103.00±12.11)、(99.56±3.32)]后表达升高，有统计学差异($P<0.05$)。由此可见，BST-2可以抑制HBV的释放，并且这种抑制作用可以被HIV Vpu蛋白拮抗。



A:Western blot检测BST-2质粒的表达　1～4:分别为4、2、1、0 μg/mL BST-2;B:ELISA检测细胞培养基中的HBsAg和HBeAg;C:RT-PCR检测细胞内HBV DNA复制中间体;D:RT-PCR检测HBV 3.5 kb mRNA的表达

图4　BST-2下调HepG2.2.15细胞中HBV的复制与表达



M:标准;1:pCDNA3.1;2:BST-2;3:pCDNA3.1 + BST-2

图 5 Southern blot 检测转染 BST-2 后细胞内外 HBV 复制中间体

3 讨论

病毒与机体之间存在的感染与抗感染,限制与反限制的"斗争"给予双方一定的选择压力,也正是这种选择压力使机体和病毒共同进化。针对 HBV 感染,特别是细胞内复制过程,灵长类动物也产生了各种各样抑制病毒复制的因子,如三重基序蛋白 5α(TRIM5α)[8]、载脂蛋白 B 的 mRNA 剪接酶 3G(APOBEC3G)[9]等。机体在进化过程中形成各种先天免疫和适应性免疫机制以对抗病毒的攻击。先天免疫包括常见的 NK 细胞、Toll 样受体、RNA 干扰和干扰素等。BST-2 是受干扰素诱导的宿主限制性因子之一,可对多种病毒发挥限制作用。2008 年,Neil 等[7]发现 BST-2 可以抑制 HIV-1 从细胞的释放,研究证实这种作用是直接的而非间接的抑制作用[10-12]。BST-2 抑制病毒释放这一现象在其他一些病毒中也同样存在,迄今已发现除了 HIV 之外,BST-2 的作用对象还包括其他逆转录病毒(SIV、HTLV-1、MLV、EIAV、spumaviruses 和 XMRV)、丝状病毒(埃博拉病毒和马尔堡病毒)、单纯疱疹病毒(KSHV)、流感病毒[13-15]。同时,在这些病毒编码的产物中,同样存在着对抗 BST-2 的类似蛋白成分。进一步的研究还发现 HIV-1 的 Vpu 蛋白可以通过促进蛋白降解,限制蛋白内体滞留等方式对抗 BST-2 的抑制作用[7,15-16]。本研究结果表明,肝细胞中 BST-2 可被干扰素诱导表达,对 HBV 的复制与释放发挥抑制作用。

BST-2 是如何发挥抑制病毒的作用?研究表明,BST-2 蛋白显著抑制拉沙病毒、埃博拉病毒和马尔堡病毒基质蛋白形成病毒样颗粒(VLP)[17],其目标并非病毒表面糖蛋白,而是病毒基质蛋白或宿主细胞的成分。在 HBV 感染过程中产生大量的 HBsAg 颗粒含包膜糖蛋白与宿主来源的脂质双层,可能是 BST-2 的作用靶标。BST-2 蛋白能粘附病毒颗粒至病毒感染细胞的表面,抑制逆转录病毒和其他包膜病毒颗粒的释放,以达到抗病毒活性,揭示了 BST-2 蛋白以某种相同的机制抑制多种包膜病毒从宿主细胞释放。BST-2 蛋白连接浆膜脂质与包膜病毒,在细胞表面结合病毒颗粒,从而抑制病毒颗粒释放。从本研究结果可以看出,BST-2 蛋白抑制 HBV 的产生和释放,不仅在蛋白质水平,而且包括 DNA 和 RNA 水平。

BST-2 蛋白可以抑制多种包膜病毒颗粒的释放,HIV-1 的 Vpu 对 BST-2 蛋白的拮抗作用并非独有现象。相关蛋白还包括猿猴免疫缺陷病毒(SIV)的 Nef 蛋白、KSHV 的 K5 蛋白、HIV-2 的 Env 蛋白、埃博拉病毒的 GP 和流感病毒神经氨酸酶等。其可能的作用机制主要有:促进 BST-2 蛋白降解从而抑制 BST-2 蛋白的功能;改变 BST-2 蛋白的膜定位等。通常情况下,在 HBV 感染过程中产生大量的亚病毒颗粒(SVP),后者抑制免疫反应以保护病毒。这些 HBsAg 颗粒含包膜糖蛋白与宿主来源的脂质双层,是病毒颗粒释放的重要因素,它是否与 HIV-1 Vpu 一样,可通过拮抗 BST-2 蛋白以促进病毒颗粒的释放?这一问题仍需进一步研究。充分了解 BST-2 在 HBV 复制与表达中的调控作用,有助于进一步丰富病毒与宿主相互作用的理论,并探寻新的治疗靶点。

参考文献:

[1] Lee W M. Hepatitis B virus infection[J]. N Engl J Med, 1997, 337(24): 1733-1745.

[2] Xie Y H, Hong R, Liu W, *et al*. Development of novel therapeutics for chronic hepatitis B[J]. Virol Sin, 2010, 25(4): 294-300.

[3] Ezzikouri S, Ozawa M, Kohara M, *et al*. Recent insights into hepatitis B virus-host interactions[J]. J Med Virol, 2014, 86(6): 925-932.

[4] Hammonds J, Wang J J, Yi H, *et al*. Immunoelectron microscopic evidence for Tetherin/BST2 as the physical bridge between HIV-1 virions and the plasma membrane[J]. PLoS Pathog, 2010, 6(2): e1000749.

[5] Fitzpatrick K, Skasko M, Deerinck T J, *et al*. Direct restriction of virus release and incorporation of the interferon-induced protein BST-2 into HIV-1 particles[J]. PLoS Pathog, 2010, 6(3): e1000701.

[6] Tokarev A A, Munguia J, Guatelli J C. Serine-threonine

ubiquitination mediates downregulation of BST-2/tetherin and relief of restricted virion release by HIV-1 Vpu[J]. J Virol, 2011, 85(1): 51 – 63.

[7] Neil S J, Zang T, Bieniasz P D. Tetherin inhibits retrovirus release and is antagonized by HIV-1 Vpu[J]. Nature, 2008, 451(7177): 425 – 430.

[8] Stremlau M, Owens C M, Perron M J, *et al*. The cytoplasmic body component TRIM5alpha restricts HIV-1 infection in Old World monkeys[J]. Nature, 2004, 427(6977): 848 – 853.

[9] Sheehy A M, Gaddis N C, Choi J D, *et al*. Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein[J]. Nature, 2002, 418(6898): 646 – 650.

[10] Perez-Caballero D, Zang T, Ebrahimi A, *et al*. Tetherin inhibits HIV-1 release by directly tethering virions to cells [J]. Cell, 2009, 139(3): 499 – 511.

[11] Van-Damme N, Goff D, Katsura C, *et al*. The interferon-induced protein BST-2 restricts HIV-1 release and is downregulated from the cell surface by the viral Vpu protein[J]. Cell Host Microbe, 2008, 3(4): 245 – 252.

[12] Sauter D, Specht A, Kirchhoff F. Tetherin: holding on and letting go[J]. Cell, 2010, 141(3): 392 – 398.

[13] Sakuma T, Noda T, Urata S, *et al*. Inhibition of Lassa and Marburg virus production by tetherin[J]. J Virol, 2009, 83(5): 2382 – 2385.

[14] Neil S J, Sandrin V, Sundquist W I, *et al*. An interferon-alpha-induced tethering mechanism inhibits HIV-1 and Ebola virus particle release but is counteracted by the HIV-1 Vpu protein[J]. Cell Host Microbe 2007, 2(3): 193 – 203.

[15] Yondola M A, Fernandes F, Belicha-Villanueva A, *et al*. Budding capability of the influenza virus neuraminidase can be modulated by tetherin[J]. J Virol, 2011, 85(6): 2480 – 2491.

[16] Evans D T, Serra-Moreno R, Singh R K, *et al*. BST-2/tetherin: a new component of the innate immune response to enveloped viruses[J]. Trends Microbiol, 2010, 18(9): 388 – 396.

[17] Sakuma T, Noda T, Urata S, *et al*. Inhibition of Lassa and Marburg virus production by tetherin[J]. J Virol, 2009, 83(5): 2382 – 2385.

（收稿:2014-12-04;修回:2015-02-06）

（编辑　汪勤俭）