

DOI:10.13350/j.cjpb.250201

• 论著 •

EB病毒 vIL-10 基因的表达与功能研究*

刘瑞坪¹, 陈彦好¹, 王俊颖¹, 孙德月², 辛宪云³, 张栋^{4**}, 薛庆节^{5***}, 王晖^{5***}

(1. 济宁医学院临床医学院, 山东济宁 272067; 2. 济宁医学院生物科学学院; 3. 济宁学院附属高级中学;
4. 临沂市荣军医院; 5. 济宁医学院基础医学院)

【摘要】 **目的** 构建 EB 病毒 vIL-10 基因的原核表达载体并纯化 vIL-10, 进行小鼠实验探究其对 MC38 肿瘤细胞的作用, 为进一步探究 vIL-10 的在机体内的作用及其机制奠定基础。 **方法** 根据 vIL-10 的 DNA 序列, 设计引物并通过 PCR 扩增获得 vIL-10 基因; 构建重组质粒 vIL-10-pGEX-4T-1, 将重组质粒转化 *E. coli. DH5 α* ; 抗性平板筛选阳性菌落, 提取质粒后做 PCR、双酶切及测序鉴定; 将鉴定正确的重组质粒 vIL-10-pGEX-4T-1 转化 *E. coli. DE3* 并用氨苄西林筛选、IPTG 诱导表达, 超声波破碎菌体提取蛋白并做 SDS-PAGE、Western blot 鉴定; 大量培养阳性菌株, 破碎菌体后提取蛋白, 利用 GST 标签纯化 vIL-10, 取少量纯化产物再次做 SDS-PAGE、Western blot 鉴定; 凝血酶切掉 GST 标签, 透析袋除盐、浓缩蛋白后测定蛋白含量, 备用; 收集 MC38 细胞, 皮下注射 6 周龄体重相近的野生型、IL-10 基因敲除型 C57BL/6J 小鼠, 3 周后取成功构建的肿瘤模型小鼠, 按 400 μ g/kg 肿瘤周围浸润注射 vIL-10, 每 7 天注射 1 次, 共注射 2 次。末次注射 7 d 后处死小鼠, 剥离肿瘤称重并记录、分析。 **结果** PCR 获得的 vIL-10 基因大小约为 513 bp, 重组质粒 vIL-10-pGEX-4T-1 的 PCR、双酶切结果均符合预期, 基因测序结果与 vIL-10 模板序列相符; 转化 vIL-10-pGEX-4T-1 的 *E. coli. DE3* 经 IPTG 诱导表达, SDS-PAGE 电泳显示与对照组对比可见 45 ku 条带, Western blot 显示该蛋白表达成功; 阳性菌株经大量培养, 提取蛋白后用 GST 标签进行纯化, Western blot 结果显示该蛋白能被特异性纯化, 经切割透析浓缩后测定蛋白含量为 0.56 mg/mL; 动物实验结果显示, 野生型 (C57BL/6J) 小鼠注射 vIL-10 蛋白组比未注射组肿瘤重量明显增加 ($P < 0.05$); IL-10 基因敲除 (IL-10-KO) 小鼠注射 vIL-10 组比未注射组肿瘤重量明显增加 ($P < 0.001$)。 **结论** 经 Western blot 鉴定含有重组质粒 vIL-10-pGEX-4T-1 的 *E. coli. DE3* 能成功表达 vIL-10, 动物实验表明 vIL-10 能够促进肿瘤生长。为探究 vIL-10 对肿瘤的作用研究及其机制奠定了基础。

【关键词】 EB 病毒; vIL-10; 原核表达; GST 标签纯化; MC38

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2025)02-0131-05

[*Journal of Pathogen Biology*. 2025 Feb.; 20(02):131-135, 140.]

Study on the expression and function of Epstein-barr virus vIL-10 gene

LIU Ruiping¹, CHEN Yanyu¹, WANG Junying¹, SUN Deyue², XIN Xianyun³, ZHANG Dong⁴, XUE Qingjie⁵, WANG Hui⁵ (1. *Clinical School of Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, Shandong, China*; 2. *School of Biological Sciences, Jining Medical College*; 3. *Senior High School Affiliated to Jining University*; 4. *Veterans Hospital of Linyi*; 5. *School of Basic Medicine, Jining Medical University*)***

【Abstract】 **Objective** The prokaryotic expression vector of Epstein-Barr virus vIL-10 gene was constructed and vIL-10 was purified. Mouse experiments were conducted to explore its effect on MC38 tumor cells, laying the foundation for further exploring the role and mechanism of vIL-10 in the body. **Methods** According to the DNA sequence of vIL-10, primers were designed and the vIL-10 gene was obtained by PCR amplification; recombinant plasmid vIL-10-pGEX-4T-1 was constructed and transformed into *E. coli. DH5 α* ; positive colonies were screened on resistance plates, and plasmids were extracted and then subjected to PCR, double enzyme digestion and sequencing identification; the correctly identified recombinant plasmid vIL-10-pGEX-4T-1 was transformed into *E. coli. DE3* and screened with ampicillin, induced by IPTG for expression, and the bacteria were broken by ultrasonic wave to extract protein and identified by SDS-PAGE and Western blot; The positive strains were cultured in large quantities, and the proteins were extracted after the bacteria were broken. The vIL-10 was purified using the GST tag, and a small amount of the purified product was used for SDS-PAGE and Western blot identification again; the GST tag was cut off by thrombin, and the protein content was determined after desalting and concentrating the protein in the dialysis bag for later use. MC38 cells were collected and subcutaneously

* **【基金项目】** 济宁医学院大学生创新创业训练计划 (No. cx2023022z); 济宁医学院 2023 年度高层次科研项目培育计划 (No. JYGC2023KJ017)。

** **【通讯作者】** 薛庆节, E-mail: qjxue9797@126.com; 张栋, E-mail: 510908161@qq.com; 王晖, E-mail: 3052w@163.com

【作者简介】 刘瑞坪 (2003-), 男, 山东莒南人, 济宁医学院临床医学专业在读, 主要研究方向: 病原生物学。E-mail: rupiliu@outlook.com

injected into 6-week-old wild-type and IL-10 knockout C57BL/6J mice of similar weight. Three weeks later, mice with successfully constructed tumor models were injected with vIL-10 at 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peritumoral infiltration, once every 7 days, for a total of 2 injections. Mice were killed 7 days after the last injection, and the tumors were removed, weighed, recorded and analyzed. **Results** The size of the vIL-10 gene obtained by PCR was about 513 bp. The results of PCR and double enzyme digestion of the recombinant plasmid vIL-10-pGEX-4T-1 were in line with expectations, and the gene sequencing results were consistent with the vIL-10 template sequence. *E. coli*, DE3 transformed with vIL-10-pGEX-4T-1 was induced to express by IPTG. SDS-PAGE electrophoresis showed that a 45 ku band was visible compared with the control group, and Western blot showed that the protein was successfully expressed. The positive strain was cultured in large quantities, and the protein was extracted and purified with a GST tag. Western blot results showed that the protein could be specifically purified. After cutting, dialysis and concentration, the protein content was determined to be 0.56 mg/ml. Animal experimental results showed that the tumor weight of wild-type (C57BL/6J) mice injected with vIL-10 protein was significantly increased compared with that of the non-injected group ($P < 0.05$); the tumor weight of IL-10 gene knockout (IL-10-KO) mice injected with vIL-10 was significantly increased compared with that of the non-injected group ($P < 0.001$). **Conclusion** Western blot analysis showed that *E. coli*, DE3 containing the recombinant plasmid vIL-10-pGEX-4T-1 could successfully express vIL-10, and animal experiments showed that vIL-10 could promote tumor growth, laying a foundation for studying the effects of vIL-10 on tumors and its mechanism.

【Keywords】 Epstein-Barr virus (EBV); vIL-10; prokaryotic expression; GST tag purification

EB病毒(*Epstein-barr virus*, EBV)属于疱疹病毒,超过90%的成年人隐形感染或显性感染该病毒^[1-3]。EBV感染通常是良性的、无症状的,也可发展为潜伏感染,或导致严重疾病^[4-5]。EBV潜伏感染有时会引起各种致瘤性疾病,如EBV相关淋巴组织增生性疾病、伯基特淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、NK/T细胞淋巴瘤和上皮癌^[6-8];其中,EBV感染是目前公认的鼻咽癌发生、发展的重要因素之一^[3,9-11]。EBV编码的细胞因子,可使病毒逃逸或减少宿主抗病毒反应并建立潜伏期,其中重要的细胞因子就是病毒白细胞介素10(EBV interleukin 10, vIL-10),它是人类白细胞介素10(human interleukin 10, hIL-10)的同源物^[2,10,12]。vIL-10是一种由BCRF-1基因编码的晚期裂解期蛋白,与hIL-10具有84%的氨基酸同源性,EBV编码的vIL-10蛋白质分子量大小约为17 ku^[2,12]。vIL-10能刺激人B细胞产生免疫球蛋白,并促进其增殖分化^[2,7]。vIL-10可抑制单核细胞和巨噬细胞分泌TNF、IL-1、IL-2,还可抑制淋巴细胞产生干扰素,加强病毒的免疫逃逸能力。但vIL-10对肿瘤的作用及机制至今未见报道^[3,12-14]。本研究拟将vIL-10进行大量表达与纯化,并通过C57BL/6J野生鼠与IL-10-KO基因敲除鼠进行实验,研究vIL-10对MC38肿瘤发生和发展的影响,为进一步研究其免疫学机制奠定基础。

材料与amp;方法

1 材料

1.1 主要试剂 质粒小提试剂盒、琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒、血液/细胞/组织基因组DNA提取试剂盒购自北京天根生化科技有限公司;PrimeSTAR

GXL DNA Polymerase、限制性内切酶*EcoR* I, *Sal* I, T4 DNA Ligase 购自宝生物工程(大连)有限公司;IPTG, Western blot 凝胶及电泳液相关试剂购自北京索莱宝科技有限公司;超敏ECL化学发光试剂盒购自万达生物科技;GST标签蛋白纯化试剂盒、SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(5X)、BeyoBlue考马斯亮蓝超快染色液、GST抗体(小鼠单抗)、HRP酶标山羊抗小鼠IgG(H+L)等购自上海碧云天生物技术股份有限公司;

1.2 质粒与菌株 *E. coli*. DH5 α 感受态细胞购自北京天根生化科技有限公司,*E. coli*. DE3感受态细胞来自实验室杜峰博士馈赠。质粒pGEX-4T-1为本室保存。

1.3 细胞系与实验动物 MC38细胞购自北纳生物(BNCC)公司,NPRC18细胞为本室保存。C57BL/6J小鼠与IL-10-KO小鼠购自济南朋悦实验动物繁育有限公司。

2 方法

2.1 目的基因片段扩增 根据EB病毒的IL-10编码基因与质粒pGEX-4T-1设计特异性引物,引物序列如下:vIL-10-F: GGC GAA TTC ATG GAG CGA AGG TTA GTG GTC ACT CTG C, vIL-10-R: GGC GTC GAC TCA CCT GGC TTT AAT TGT C。将上游引物命名为vIL-10-F并引入限制性内切酶*EcoR* I酶切位点,斜体部分为识别位点。将下游引物命名为vIL-10-R并引入限制性内切酶*Sal* I酶切位点,斜体部分为识别位点。用哺乳动物细胞DNA提取试剂盒提取人鼻咽癌细胞NPRC18基因组DNA。将提取的DNA与vIL-10-F, vIL-10-R, PrimeSTAR GXL

DNA Polymerase, PrimeSTAR GXL Buffer, dNTP Mixture, ddH₂O 混匀并进行 PCR 循环,反应总体系为 50 μ L,反应参数为:98 $^{\circ}$ C 预变性 4 min,98 $^{\circ}$ C 变性 10 s,60 $^{\circ}$ C 复性 15 s,68 $^{\circ}$ C 延伸 50 s,循环 30 次,68 $^{\circ}$ C 再延伸 4 min。

2.2 vIL-10-pGEX-4T-1 的构建和鉴定 将 vIL-10 的 PCR 产物与适量 10 \times loading buffer 混匀,经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳后成像拍照并保存。电泳参数为:110 V,30 min。将含有 vIL-10 的琼脂糖凝胶切下,并使用天根琼脂糖 DNA 凝胶回收试剂盒进行回收。

分别将 vIL-10 与 pGEX-4T-1 进行 *EcoR* I、*Sal* I 双酶切,酶切体系为:20 μ L vIL-10/pGEX-4T-1,4 μ L 10 \times H buffer,12 μ L ddH₂O,2 μ L *EcoR* I,2 μ L *Sal* I。反应条件为 37 $^{\circ}$ C,4 h。取双酶切产物,进行 1.2% 琼脂糖凝胶电泳,成像并拍照保存。电泳参数为:110 V,30 min。分别切下并回收含有双酶切产物 vIL-10/pGEX-4T-1 的琼脂糖凝胶。

使用 T4 DNA Ligase 16 $^{\circ}$ C 过夜连接 vIL-10 和 pGEX-4T-1,连接体系为:30 μ L vIL-10,10 μ L pGEX-4T-1,5 μ L T4 DNA Ligase,5 μ L 10 \times T4 DNA Ligase Buffer。使用化学转化法将连接产物导入感受态 *E. coli*. Dh5 α ,37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h 后涂布于氨苄抗性平板,挑取阳性单菌落单独培养。使用天根质粒小提试剂盒提取质粒,以重组质粒为底物,进行 PCR、双酶切鉴定,并将重组质粒发往生工生物公司测序。

将测序成功的质粒命名为 vIL-10-pGEX-4T-1,将 vIL-10-pGEX-4T-1 与 pGEX-4T-1 再次分别转化 *E. coli*. DE3 涂布氨苄抗性平板,挑取阳性菌落,扩大培养并储存备用。

2.3 基因工程重组表达菌的诱导表达和 SDS-PAGE 分析 取 0.3 mL 转化 vIL-10-pGEX-4T-1 的 *E. coli*. DE3 菌液加入 30 mL LB 液体培养基。37 $^{\circ}$ C,160 r/min 摇床培养至 OD₆₀₀ 为 0.8 时加入 IPTG 致终浓度为 0.2 mmol/L,28 $^{\circ}$ C,100 r/min 摇床诱导表达 4 h。设置 pGEX-4T-1 的 *E. coli*. DE3 为对照组,做同等处理。温度 4 $^{\circ}$ C 4 000 r/min(离心半径 15 cm)离心 10 min 后弃上清,剩余部分用 PBS 洗涤 2 次,加入适量裂解液、PMSF、溶菌酶、ddH₂O 后冰浴超声波破碎 15 min,提取蛋白。超声参数为:300 W,工作 10 s,休息 10 s。温度 4 $^{\circ}$ C 12 000 r/min(离心半径 6 cm)离心 30 min,取上清至另一试管中,加入适量 ddH₂O 重悬沉淀。分别取 80 μ L 上清液和沉淀悬浊液与 20 μ L SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(5 \times)混匀并 99 $^{\circ}$ C 高温加热 10 min,冷却备用。

用 ddH₂O 清洗玻璃板晾干后固定于制胶架,配

制浓度为 12% 的分离胶并缓缓加入玻璃板中,至玻璃板高度的 3/4 处后加入 75% 乙醇液封,待其凝固后倒掉上层 75% 乙醇,并用 ddH₂O 轻轻冲洗玻璃板,用吸水纸吸干多余 ddH₂O 后加入 5% 的浓缩胶至玻璃板顶端,缓缓插入造孔梳等待浓缩胶凝固。设置 vIL-10-pGEX-4T-1 为实验组,pGEX-4T-1 为对照组,等量上样。80 V,电泳 45 min 电泳至分离胶顶端后转为 120 V,继续电泳至溴酚蓝指示剂到分离胶底部,切下带有目的条带的分离胶,平铺于塑料盒内,在分离胶表面滴加适量 BeyoBlueTM 考马斯亮蓝超快染色液,使染液铺满整个胶面,室温 40 r/min 水平摇床 30 min。用 ddH₂O 洗净染液,拍照保存。

2.4 Western blot 免疫印迹 SDS-PAGE 电泳步骤同 2.3,当电泳至溴酚蓝指示剂到分离胶底部时,停止电泳。裁剪大小适当的 PVDF 膜,并用甲醇激活 1 min。切下带有目的条带的分离胶后采用湿转法将蛋白转至 PVDF 膜上。转膜参数为:电压 100 V,时间 60 min,全程在冰水浴中进行。小心取出 PVDF 膜,放入孵育盒,使膜没入含 5% BSA 的 ddH₂O 中,4 $^{\circ}$ C,40 r/min 摇床封闭 2 h。弃 5% BSA 的 ddH₂O,加入稀释 5 000 倍的 GST 抗体(小鼠单抗),4 $^{\circ}$ C,40 r/min 摇床过夜。

回收 GST 抗体(小鼠单抗),并用 1 \times TBST,室温 240 r/min 摇床洗脱 PVDF 膜,每 10 min 更换 1 \times TBST,共洗脱 6 次。加入适量稀释 3 000 倍的 HRP 酶标山羊抗小鼠 IgG(H+L),4 $^{\circ}$ C,40 r/min 摇床 4 h。回收抗体,洗膜方法同上。取出 PVDF 膜,将超敏 ECL 化学发光 A 液与 B 液等量混匀,均匀滴加于膜上,曝光拍照保存。

2.5 vIL-10 蛋白的亲和层析纯化 培养 500 mL 含有 vIL-10-pGEX-4T-1 的 *E. coli*. DE3 菌液,并设置等量含有 pGEX-4T-1 的 *E. coli*. DE3 为对照,培养及提取蛋白方法同 2.3,取上清液备用。取 5 mL 混合均匀的 BeyoGoldTM GST-tag Purification Resin,温度 4 $^{\circ}$ C 3 000 r/min(离心半径 6 cm)离心 30 s,弃储存液,加入裂解液重复平衡 2 次,弃裂解液。将蛋白上清液与凝胶混匀,4 $^{\circ}$ C,80 r/min 摇床 1 h。将混合液装入配套的纯化柱,使上清液缓慢流出,再次加入 1 mL 裂解液洗柱,重复 5 次。加入 0.5 mL 1 \times GSH 以洗脱 vIL-10,重复 5 次,每次均收集液体备用。此液体即为含有 vIL-10 的洗脱液,取少量进行 SDS-PAGE 和 Western blot,方法同 2.4。收集剩余洗脱液体备用。

2.6 vIL-10 蛋白的切割、透析、浓缩 将含有 vIL-10 的洗脱液装入透析袋,置于足量的含 150 mmol/L NaCl,pH8.0 的 20 mmol/L Tris-HCl 缓冲液中,过夜;加入适量 Thrombin,4 $^{\circ}$ C 过夜;收集透析袋内液体

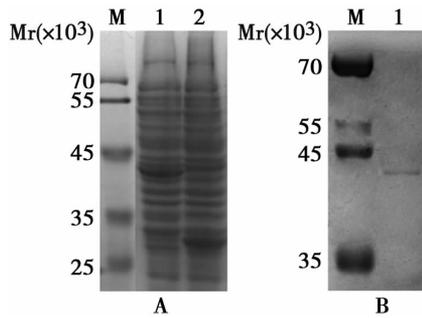


图3 vL10的考马斯亮蓝染色结果
A M蛋白分子量标志物 1 转入 vIL-10-pGEX-4T-1 的 *E. coli. DE3* 蛋白提取液 2 转入 vIL-10-pGEX-4T-1 的 *E. coli. DE3* 蛋白提取液 B M 蛋白质分子量标准 1 vIL-10 的 GST 标签纯化产物

图3 vL10的考马斯亮蓝染色结果

A M Protein molecular weight marker 1 Transfer to *E. coli. DE3* protein extract of vIL-10-pGEX-4T-1 2 Transfer to *E. coli. DE3* protein extract of vIL-10-pGEX-4T-1 B M Protein molecular weight standard 1 Purification of GST-tagged vIL-10

Fig. 3 Coomassie brilliant blue staining results of vL10

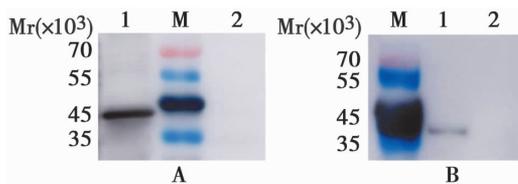


图4 vL10的Western blot分析
A 1 vIL-10-pGEX-4T-1 的 Western blot M 蛋白质分子量标准 2 pGEX-4T-1 的 Western blot B M 蛋白质分子量标准 1 vIL-10-pGEX-4T-1 的 GST 标签纯化 2 pGEX-4T-1 的 GST 标签纯化

图4 vL10的Western blot分析

A 1 Western blot of vIL-10-pGEX-4T-1 M Protein molecular weight standard 2 Western blot of pGEX-4T-1 B M Protein molecular weight standard 1 GST tag purification of vIL-10-pGEX-4T-1 2 GST tag purification of pGEX-4T-1

Fig. 4 Western blot analysis of vL10

将蛋白提取产物分别进行 GST 标签蛋白纯化后做 Western blot 分析,结果显示,可见转入 vIL-10-pGEX-4T-1 的 *E. coli. DE3* 所表达的 vIL-10 能被纯化,大小符合预期,转入 pGEX-4T-1 的 *E. coli. DE3* 不表达 vIL-10(图 4B)。

4 vIL-10 对肿瘤生长的影响

vIL-10 经纯化、切割、浓缩后测得 vIL-10 浓度为 0.56 mg/mL。收集 MC38 细胞并用 PBS 混匀,使用血细胞计数板测得细胞浓度为 7.6×10^7 个/mL。对 C57BL/6J 小鼠与 IL-10-KO 小鼠进行 MC38 细胞悬液皮下注射,小鼠肿瘤模型制备功后,分别于肿瘤周围浸润注射 vIL-10 与 PBS。每 7 天注射一次共注射 2 次。

动物实验结果显示,野生型 C57BL/6J 小鼠注射 vIL-10 比注射 PBS 肿瘤重量明显增加,结果具有统计学意义($P < 0.05$),基因敲除 IL-10-KO 小鼠注射 vIL-10 比注射 PBS 肿瘤重量明显增加,结果具有统计学意

义($P < 0.001$),表明 EBV vIL-10 能够促进肿瘤生长(图 5 A)。图 5 B 为离体 MC38 肿瘤图片,肿瘤组织状况良好。

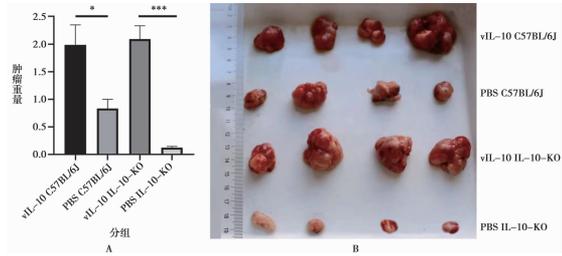


图5 离体肿瘤分析
A 肿瘤重量分析 * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ B 离体肿瘤图片

A Tumour weight analysis * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ B Ex vivo tumour pictures

Fig. 5 Analysis of isolated tumours

讨论

本研究通过基因工程技术、分子生物学技术成功构建了 vIL-10-pGEX-4T-1 质粒,通过原核表达、纯化了 vIL-10,并通过初步的动物实验以观察 vIL-10 对肿瘤的生长影响。结果显示原核表达系统能够成功表达 vIL-10 基因,并能够通过 GST 标签蛋白纯化获得 vIL-10, vIL-10 在荷瘤小鼠体内能够促进 MC38 肿瘤的生长。为进一步优化纯化 vIL-10 的表达及纯化方法,本研究也曾利用真核表达载体 pCDNA3.1-N-GST,构建了重组质粒 vIL-10-pCDNA3.1-N-GST。当 HEK293 细胞生长达到约 70% 时用 OMEM 和 lipo 2000 转染 vIL-10-pCDNA3.1-N-GST 和 pCDNA3.1-N-GST,培养 6 h 更换为 DMEM 完全培养基,通过 GST 标签纯化蛋白并作 Western blot 分析。GST 纯化结果显示真核表达系统表达量较少,且成本较高。不适宜大量制备 vIL-10 蛋白。

本研究今后拟从质粒构建和诱导表达条件等方面继续提高 vIL-10 的表达水平,大量纯化 vIL-10 并进行动物实验,利用 C57BL/6J 野生鼠与 IL-10-KO 基因敲除鼠,检测其促炎细胞因子的表达水平、免疫细胞数量变化、脾细胞 IFN- γ 分泌水平等免疫指标以研究 vIL-10 对小鼠免疫系统的影响;再次构建多种荷瘤小鼠,将不同浓度的 vIL-10 注射至荷瘤小鼠瘤灶中,应用流式细胞术检测各组肿瘤细胞的增殖情况、T 细胞特异性杀伤作用等,以研究 vIL-10 对体内不同肿瘤组织作用效果。为探究其免疫学作用机制及与肿瘤细胞的相互作用机制奠定基础。

【参考文献】

[1] Jha HC, Mehta D, Lu J, et al. Gammaherpesvirus infection of human neuronal cells [J]. mBio, 2015, 6(6): e01844-01815.

华心血管病杂志,2017,45(5):359-376.

[8] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组,中国医师协会心力衰竭专业委员会,中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018[J]. 中华心血管病杂志,2018,46(10):760-789.

[9] The Cardiovascular Branch of the Chinese Medical Association and the Editorial Committee of the Chinese Journal of Cardiovascular Disease Diagnosis and treatment guidelines for non ST segment elevation acute coronary syndrome (2016) [J]. Chinese J Cardiovas Dis,2017,45(5):359-376

[10] Nazzari C, Lefian A, Alonso F. Incidence of acute myocardial infarction in Chile between 2008 and 2016 [J]. Rev Med Chil, 2021,149(3):323-329.

[11] Liu C, Sun Z, Shali S, et al. The gut microbiome and microbial metabolites in acute myocardial infarction [J]. J Genet Genomics, 2022,49(6):569-578.

[12] Kwun JS, Kang SH, Lee HJ, et al. Comparison of thrombus, gut, and oral microbiomes in Korean patients with ST-elevation myocardial infarction: a case-control study [J]. Exp Mol Med, 2020,52(12):2069-2079.

[13] Qian X, Liu A, Liang C, et al. Analysis of gut microbiota in patients with acute myocardial infarction by 16S rRNA sequencing [J]. Ann Transl Med, 2022,10(24):1340.

[14] Gagne MA, Barbeau C, Fregeau G, et al. Dysbiotic microbiota contributes to the extent of acute myocardial infarction in rats [J]. Sci Rep, 2022,12(1):16517.

[15] Beale AL, O'Donnell JA, Nakai ME, et al. The gut microbiome of heart failure with preserved ejection fraction [J]. J Am Heart Assoc, 2021,10(13):e020654.

[16] Li L, Zhong SJ, Hu SY, et al. Changes of gut microbiome composition and metabolites associated with hypertensive heart failure rats [J]. BMC Microbiol, 2021,21(1):141.

[17] Lv S, Wang Y, Zhang W, et al. Trimethylamine oxide: a potential target for heart failure therapy [J]. Heart, 2022,108(12):917-922.

[18] Holle J, Bartolomeaus H, Lober U, et al. Inflammation in children with CKD linked to gut dysbiosis and metabolite imbalance [J]. J Am Soc Nephrol, 2022,33(12):2259-2275.

[19] Tang TWH, Chen HC, Chen CY, et al. Loss of gut microbiota alters immune system composition and cripples postinfarction cardiac repair [J]. Circulation, 2019,139(5):647-659.

[20] 闫俊元, 钟鑫勤, 赵玉翠, 等. 基于代谢组学和肠道菌群研究黄芪甲苷对心肌梗死大鼠的作用[J]. 中草药, 2024, 55(6):1988-2001.

[21] 李盈, 张静若, 李雯, 等. 基于 16S rRNA 测序分析异丙肾上腺素诱导的心肌纤维化小鼠中肠道菌群紊乱[J]. 中国医药生物技术, 2024, 19(4):325-332.

[22] Wang D, Chen X, Li Z, et al. Association of the gut microbiota with coronary artery disease and myocardial infarction: A Mendelian randomization study [J]. Front Genet. 2023, 14:1158293.

【收稿日期】 2024-09-23 【修回日期】 2024-12-05

(上接 135 页)

[2] Jog NR, Chakravarty EF, Guthridge JM, et al. Epstein Barr virus interleukin 10 suppresses anti-inflammatory phenotype in human monocytes [J]. Front Immunol, 2018,9:2198.

[3] 于美美, 崔晏硕, 邵为林, 等. 人 IL-2 与 EB 病毒 BZLF1 融合基因重组 BCG 的构建及免疫学研究 [J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(1):37-42.

[4] Kanda T. EBV-encoded latent genes [M]. Springer Singapore, 2018:377-394.

[5] Hadinoto V, Shapiro M, Greenough TC, et al. On the dynamics of acute EBV infection and the pathogenesis of infectious mononucleosis [J]. Blood, 2008,111(3):1420-1427.

[6] Al-Anazi AE, Alanazi BS, Alshabari HM, et al. Increased prevalence of EBV infection in nasopharyngeal carcinoma patients: a six-year cross-sectional study [J]. Cancers, 2023,15(3):643.

[7] Ouyang P, Rakus K, Van Beurden SJ, et al. IL-10 encoded by viruses: a remarkable example of independent acquisition of a cellular gene by viruses and its subsequent evolution in the viral genome [J]. J Gen Virol, 2014,95(2):245-262.

[8] Kanai K, Satoh Y, Yamanaka H, et al. The vIL-10 gene of the Epstein-Barr virus (EBV) is conserved in a stable manner except for a few point mutations in various EBV isolates [J]. Virus Genes, 2007,35(3):563-569.

[9] Hong GK, Gulley ML, Feng WH, et al. Epstein-Barr virus lytic infection contributes to lymphoproliferative disease in a SCID mouse model [J]. J Virol, 2005,79(22):13993-14003.

[10] Jochum S, Moosmann A, Lang S, et al. The EBV immunoevasins vIL-10 and BNLF2a protect newly infected B cells from immune recognition and elimination [J]. PLoS Pathog, 2012, 8(5):e1002704.

[11] 裴杰, 杨媛媛, 李运清, 等. 人 IL-2 与 EB 病毒 LMP1 融合基因重组 BCG 的构建与表达 [J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(12):1301-1304, 1309.

[12] 阳瑞雪, 周瑶佳, 何汶璐, 等. 病毒白介素 10(vIL-10) 的研究进展 [J]. 病毒学报, 2018, 34(01):128-136.

[13] 任艳鑫. 病毒 IL-10 通过“MHC-I 类分子抗原加工提呈操纵子”致鼻咽癌免疫逃逸的机制研究[D], 昆明:昆明医科大学, 2014.

[14] Ren YX, Yang J, Sun RM, et al. Viral IL-10 down-regulates the “MHC-I antigen processing operon” through the NF-κB signaling pathway in nasopharyngeal carcinoma cells [J]. Cytotechnology, 2016,68(6):2625-2636.

【收稿日期】 2024-09-03 【修回日期】 2024-11-30