

甘草酸对感染人巨细胞病毒的人胚肺成纤维细胞凋亡和炎性反应的影响

沈利霞, 苏贤凤

(四川省广安市人民医院 药剂科, 四川 广安, 638000)

摘要:目的 探讨甘草酸对感染人巨细胞病毒(HCMV)的人胚肺成纤维细胞 MRC-5 增殖、凋亡和炎性反应的影响。方法 体外培养 MRC-5 细胞,并将其分为对照组、病毒组、更昔洛韦组(50 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、甘草酸低剂量组(0.25 mg/mL)、甘草酸中剂量组(0.50 mg/mL)、甘草酸高剂量组(1.00 mg/mL)。接种 HCMV 不同时间后,分别使用 CCK8 试剂盒检测细胞增殖活性,使用流式细胞仪检测细胞凋亡情况,采用蛋白质印迹法(Western blot)检测细胞中活化含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3(Cleaved-caspase3)等蛋白表达情况,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测细胞培养上清液中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-6(IL-6)水平。结果 CCK8 实验结果显示,经 HCMV 感染 48、72 h 时,病毒组增殖活性均低于对照组,更昔洛韦组、甘草酸中剂量组、甘草酸高剂量组增殖活性均高于病毒组,差异有统计学意义($P < 0.05$);甘草酸中剂量组与甘草酸高剂量组增殖活性比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),故选择甘草酸中剂量组(0.50 mg/mL)进行后续实验,并简称甘草酸组。流式细胞仪检测结果显示,经 HCMV 感染 48、72 h 时,病毒组细胞凋亡率均高于对照组,更昔洛韦组、甘草酸组则低于病毒组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。Western blot 检测结果显示,经 HCMV 感染 48 h 后,病毒组细胞中 Cleaved-caspase3、TNF- α 、IL-6 蛋白相对表达量均高于对照组,更昔洛韦组、甘草酸组则低于病毒组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。ELISA 检测结果显示,经 HCMV 感染 24、48、72 h 时,病毒组 MRC-5 细胞 TNF- α 、IL-6 水平均高于对照组,更昔洛韦组、甘草酸组则低于病毒组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 甘草酸具有体外抗 HCMV 效应,可促进感染 HCMV 的人胚肺成纤维细胞 MRC-5 增殖,并抑制 HCMV 感染诱导的细胞凋亡和细胞炎性反应。

关键词: 甘草酸; 人巨细胞病毒; 人胚肺成纤维细胞; 增殖; 凋亡; 炎性反应

中图分类号: R 563; R 373.1 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2023)01-038-06 DOI: 10.7619/jcmp.20222682

Effects of glycyrrhizin on apoptosis and inflammatory response of human embryonic lung fibroblasts infected with human cytomegalovirus

SHEN Lixia, SU Xianfeng

(Department of Pharmacy, Guang'an People's Hospital of Sichuan Province, Guang'an, Sichuan, 638000)

Abstract: Objective To investigate the effects of glycyrrhizin on the proliferation, apoptosis and inflammatory response of human embryonic lung fibroblast MRC-5 infected with human cytomegalovirus (HCMV). **Methods** MRC-5 cells were cultured *in vitro* and were divided into control group, virus group, ganciclovir group(50 $\mu\text{g}/\text{mL}$), low dose glycyrrhizin group(0.25 mg/mL), medium dose glycyrrhizin group(0.50 mg/mL) and high dose glycyrrhizin group(1.00 mg/mL). After different periods of virus inoculation, cell proliferation activity was detected by CCK8 assay, cell apoptosis was detected by flow cytometry, cleaved-caspase3 caspase was detected by western blot, and tumor necrosis factor α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) levels in cell culture supernatant were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** At 24 and 48 h of HCMV infection, the results of CCK8 experiment showed that the proliferation activity of cells in virus group was significantly reduced compared with the control group, and was higher in the ganciclovir group, medium dose glycyrrhizin group and high dose glycyrrhizin group than that in the virus group($P < 0.05$). There were no statistically significant difference in proliferative activity between medium dose glycyrrhizic acid group and high

dose glycyrrhizic acid group ($P > 0.05$), so the medium dose glycyrrhizic acid group (0.50 mg/mL) was selected for follow-up experiment and was called glycyrrhizic acid group for short. Flow cytometry showed that after 48 and 72 h of HCMV infection, the apoptosis rate of the virus group was higher than that of the control group, but the apoptosis rates in the ganciclovir group and glycyrrhizic acid group were lower than that of the virus group ($P < 0.05$). Western blot analysis showed that 48 h after HCMV infection, the relative expression levels of cleaved caspase3, TNF- α , and IL-6 in the virus group were higher than those in the control group, but were lower in the ganciclovir group and glycyrrhizic acid group than those in the virus group ($P < 0.05$). ELISA results showed that the levels of TNF- α and IL-6 in MRC-5 cells in the virus group were higher than those in the control group at 24, 48 and 72 h after HCMV infection, while those in ganciclovir group and glycyrrhizic acid group were lower than those in the virus group ($P < 0.05$). **Conclusion** Glycyrrhizic acid has anti-HCMV effect *in vitro*, which could promote the proliferation of infected MRC-5 cells, inhibit cell apoptosis and inflammatory response induced by HCMV infection.

Key words: glycyrrhizin; human cytomegalovirus; human embryonic lung fibroblast; proliferation; apoptosis; inflammatory reaction

人巨细胞病毒(HCMV)是一种广泛存在于哺乳动物中的病毒感染因子^[1]。研究^[2-3]表明, HCMV是先天性感染的主要病原体之一,发展中国家成年人和大龄儿童的感染率高达95%左右,感染可累及肝、肾、肺、肠等脏器,健康人一般表现为潜伏感染或无症状的亚临床感染,但在免疫缺陷综合征、器官移植患者和新生儿等免疫功能低下人群中, HCMV感染常引起严重的多系统病变,甚至造成死亡。甘草酸是中药甘草根部的提取物,是甘草最主要的活性成分,可溶于水,味甜,可用作调味剂、甜味剂和香味增强剂。现代药理学研究^[4]表明,甘草酸具有抗氧化、抑菌、消炎、抗病毒等多种生物活性。另有研究^[5]表明,甘草酸具有抗HCMV的效应。细胞凋亡是HCMV感染致病的重要机制之一,而HCMV感染宿主细胞后还可与机体免疫系统相互作用,诱导肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-6(IL-6)等促炎信号分子产生,引发机体炎性反应,为其自身复制和传播创造有利的微环境^[6]。本研究探讨甘草酸对感染HCMV的人胚肺成纤维细胞增殖、凋亡和炎性反应情况的影响,以期在甘草酸在抗HCMV中的推广应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料

HCMV AD169株购自美国模式培养物集存库(ATCC);人胚肺成纤维细胞株MRC-5购自中国科学院上海细胞库;注射用更昔洛韦购自武汉

长联来福制药股份有限公司,0.25 g/瓶,批号H20066700;甘草酸购自北京坛墨质检科技有限公司,20 mg/支,批号20140818;CCK8试剂盒购自北京索莱宝生物科技有限公司;膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)/碘化丙锭(PI)凋亡检测试剂盒购自翌圣生物科技股份有限公司;含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶3(Caspase3)一抗、活化Caspase3(Cleaved-caspase3)一抗、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)一抗、IL-6一抗、TNF- α 一抗及辣根过氧化物酶标记的二抗均购自美国Abcam公司;酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司。

1.2 细胞培养

将人胚肺成纤维细胞MRC-5培养于含10%胎牛血清和1%青霉素与链霉素双抗的MEM培养基,置于37℃、5%CO₂的细胞培养箱中培养,密切观察细胞生长状况,当细胞达到80%融合时,用0.25%胰酶消化离心,进行传代。

1.3 病毒感染及分组

取对数生长期的MRC-5细胞,加入胰酶消化后,制成单细胞悬液,接种于96孔板中。将细胞随机分为6组,即对照组、病毒组、更昔洛韦组(50 μ g/mL,阳性对照组)、甘草酸低剂量组(0.25 mg/mL)、甘草酸中剂量组(0.50 mg/mL)、甘草酸高剂量组(1.00 mg/mL)^[6]。对照组用未处理培养液培养,其余5组先用接种100 TCID₅₀剂量AD169毒株的培养液培养1.5 h,然后更换

含有对应药物的培养基,每组实验均设置 9 个复孔。所有细胞置于 37 °C、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养。

1.4 CCK8 实验检测细胞增殖活性

取生长至对数期的 MRC-5 细胞,经胰酶消化后用培养基稀释为密度 1×10^4 个/mL 的细胞悬液,然后接种于 96 孔板中,每孔 200 μ L,待细胞贴壁后,按上述分组接种病毒和相应药物,放置于含有 5% CO₂ 的 37 °C 恒温培养箱中培养,1.5 h 后更换培养液培养。分别于培养 24、48、72 h 时向每孔加入 20 μ L 的 CCK8 溶液孵育 4 h,然后在酶标仪上检测每孔的光密度 (OD) 值。

1.5 流式细胞仪检测细胞凋亡情况

取对数生长期的 MRC-5 细胞,经胰酶消化后制成密度为 3×10^5 个/mL 的单细胞悬液,接种于 6 孔板中,待细胞贴壁后,按上述分组接种病毒和相应药物,在含有 5% CO₂ 的 37 °C 恒温细胞培养箱中培养,1.5 h 后更换培养液培养。分别于培养 24、48、72 h 时加入胰酶消化细胞,重悬细胞并调整密度为 1×10^5 个/mL,在流式管中加入细胞悬液 100 μ L、Annexin V-FITC 染液 5 μ L、PI 溶液 5 μ L,避光染色 30 min。使用流式细胞仪检测细胞凋亡情况,并计算总凋亡率。

1.6 蛋白质印迹法 (Western blot) 检测凋亡蛋白 Caspase3 的表达

于各组细胞经 HCMV 感染后 48 h 收集细胞,使用 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白,使用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度。取适量蛋白样本煮沸变性,然后通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离蛋白,转移蛋白至聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜。将膜在含 5% 脱脂奶粉的封闭液中固定 2 h,然后分别与 Caspase3 (1:1 000)、

Cleaved-caspase3 (1:1 000)、TNF- α (1:1 000)、IL-6 (1:1 000) 和 GAPDH (1:1 000) 一抗稀释液于 4 °C 下孵育过夜,再与辣根过氧化物酶标记的二抗稀释液 (1:2 000) 于室温下孵育 2 h,最后于 ECL 试剂中避光显色,凝胶成像系统下曝光、拍照。使用凝胶图片处理软件 Image J 分析目的蛋白条带的灰度值,并计算 Cleaved-caspase3 和 Caspase3 总蛋白 (Total-caspase3) 相对表达量。

1.7 ELISA 检测细胞培养上清液中炎症因子水平

于各组细胞经 HCMV 感染 24、48、72 h 时,分别收集细胞培养上清液,使用 ELISA 试剂盒检测上清液中 TNF- α 、IL-6 水平。

1.8 统计学分析

采用 SPSS 22.0 统计学软件分析数据,计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析,2 组间比较采用 SNK-*q* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 甘草酸对感染 HCMV 的 MRC-5 细胞增殖活性 (OD_{450 nm}) 的影响

CCK8 实验结果显示,经 HCMV 感染 24 h 时,各组细胞增殖活性比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 经 HCMV 感染 48、72 h 时,病毒组细胞的增殖活性均低于对照组,更昔洛韦组、甘草酸中剂量组、甘草酸高剂量组细胞的增殖活性均高于病毒组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 甘草酸低剂量组与病毒组比较,甘草酸中剂量组与甘草酸高剂量组比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。因此,本研究选择甘草酸中剂量组 (0.50 mg/mL) 进行后续实验,并简称甘草酸组。

表 1 HCMV 感染后不同时间点各组细胞增殖活性比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	OD _{450 nm}		
		24 h	48 h	72 h
对照组	9	0.31 \pm 0.04	0.53 \pm 0.06	0.84 \pm 0.09
病毒组	9	0.36 \pm 0.04	0.42 \pm 0.05*	0.56 \pm 0.06*
更昔洛韦组	9	0.35 \pm 0.03	0.55 \pm 0.03#	0.86 \pm 0.05#
甘草酸低剂量组	9	0.33 \pm 0.02	0.47 \pm 0.04	0.62 \pm 0.03
甘草酸中剂量组	9	0.34 \pm 0.04	0.51 \pm 0.05#	0.79 \pm 0.08#
甘草酸高剂量组	9	0.32 \pm 0.03	0.59 \pm 0.06#	0.91 \pm 0.07#

与对照组比较, * $P < 0.05$; 与病毒组比较, # $P < 0.05$ 。

2.2 甘草酸对感染 HCMV 的 MRC-5 细胞凋亡的影响

流式细胞仪检测结果显示,经 HCMV 感染 24 h

时,各组细胞凋亡率比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 经 HCMV 感染 48、72 h 时,病毒组 MRC-5 细胞的凋亡率均高于对照组,更昔洛韦组、甘草酸

组 MRC-5 细胞的凋亡率均低于病毒组, 差异有统

计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1、表 2。

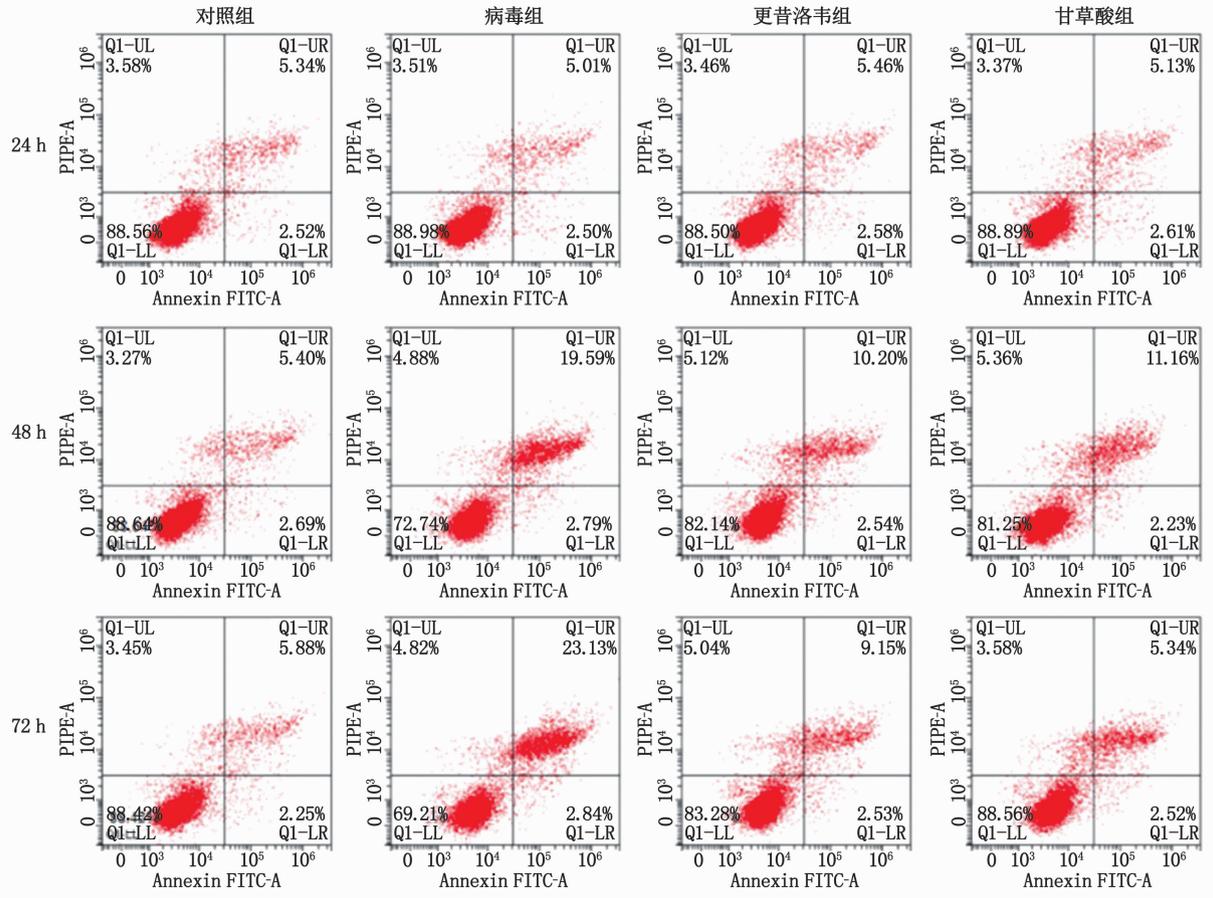


图 1 流式细胞仪检测 HCMV 感染后不同时间点各组细胞凋亡结果

表 2 HCMV 感染后不同时间点各组细胞总凋亡率比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	24 h	48 h	72 h
对照组	9	7.86 ± 0.94	8.09 ± 0.85	8.13 ± 0.76
病毒组	9	7.51 ± 0.83	22.38 ± 2.14*	25.97 ± 2.49*
更昔洛韦组	9	8.04 ± 0.91	12.74 ± 0.98#	11.68 ± 1.05#
甘草酸组	9	7.74 ± 0.79	13.39 ± 1.16#	12.71 ± 1.11#

与对照组比较, * $P < 0.05$; 与病毒组比较, # $P < 0.05$ 。

2.3 甘草酸对感染 HCMV 的 MRC-5 细胞

Caspase3 表达的影响

Western blot 检测结果显示, 经 HCMV 感染 48 h 后, 病毒组 MRC-5 细胞 Cleaved-caspase3 蛋白相对表达量高于对照组, 更昔洛韦组、甘草酸组 MRC-5 细胞 Cleaved-caspase3 蛋白相对表达量低于病毒组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 各组细胞 Total-caspase3 相对表达量比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3、图 2。

2.4 甘草酸对 HCMV 感染的 MRC-5 细胞炎症反应的影响

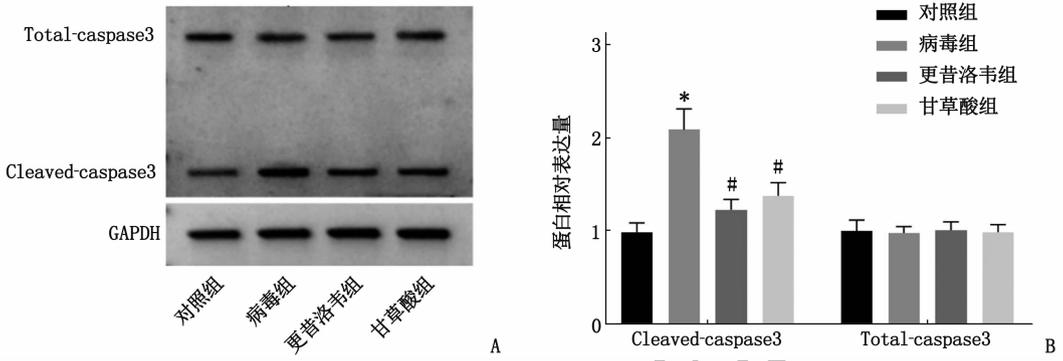
ELISA 检测结果显示, 经 HCMV 感染 24、48、72 h 时, 病毒组 MRC-5 细胞 TNF- α 、IL-6 水平均

表 3 各组细胞 Cleaved-caspase3 和 Total-caspase3 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Cleaved-caspase3	Total-caspase3
对照组	9	0.99 ± 0.10	1.00 ± 0.12
病毒组	9	2.09 ± 0.22*	0.98 ± 0.07
更昔洛韦组	9	1.23 ± 0.11#	1.01 ± 0.09
甘草酸组	9	1.38 ± 0.14#	0.99 ± 0.08

Cleaved-caspase3: 活化含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3; Total-caspase3: 含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3 总蛋白。与对照组比较, * $P < 0.05$; 与病毒组比较, # $P < 0.05$ 。

高于对照组, 更昔洛韦组、甘草酸组 MRC-5 细胞的 TNF- α 、IL-6 水平均低于病毒组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。



A: Western blot 检测结果; B: Cleaved-caspase3 和 Total-caspase3 表达情况 (与对照组比较, * $P < 0.05$; 与病毒组比较, # $P < 0.05$)。

图 2 Western blot 检测细胞中 Cleaved-caspase3 和 Total-caspase3 蛋白表达情况

Western blot 检测结果显示,经 HCMV 感染 48 h 后,病毒组 MRC-5 细胞 TNF- α 、IL-6 蛋白相对表达量均高于对照组,更昔洛韦组、甘草酸组 MRC-5 细胞 TNF- α 、IL-6 蛋白相对表达量均低于病毒组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 5、图 3。

表 4 HCMV 感染后不同时点各组细胞培养液中 TNF- α 、IL-6 水平比较 ($\bar{x} \pm s$) pg/mL

时点	组别	n	TNF- α	IL-6
24 h	对照组	9	14.37 \pm 2.09	76.94 \pm 16.82
	病毒组	9	22.63 \pm 2.74*	154.69 \pm 20.67*
	更昔洛韦组	9	16.98 \pm 1.91#	106.77 \pm 15.39#
	甘草酸组	9	15.91 \pm 1.63#	117.84 \pm 12.71#
48 h	对照组	9	15.11 \pm 2.26	80.09 \pm 19.74
	病毒组	9	63.94 \pm 7.15*	328.96 \pm 47.95*
	更昔洛韦组	9	32.74 \pm 4.31#	121.39 \pm 13.28#
	甘草酸组	9	35.68 \pm 3.86#	132.74 \pm 13.95#
72 h	对照组	9	17.81 \pm 3.11	78.82 \pm 20.03
	病毒组	9	74.08 \pm 8.24*	371.52 \pm 51.33*
	更昔洛韦组	9	35.86 \pm 3.92#	136.84 \pm 14.82#
	甘草酸组	9	40.11 \pm 4.24#	141.79 \pm 15.08#

TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; IL-6: 白细胞介素-6。
与对照组比较, * $P < 0.05$; 与病毒组比较, # $P < 0.05$ 。

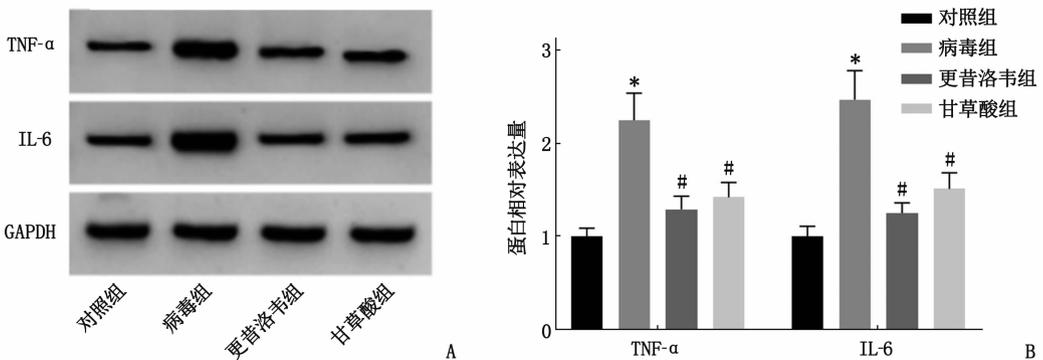
表 5 各组细胞 TNF- α 、IL-6 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF- α 蛋白 相对表达量	IL-6 蛋白 相对表达量
对照组	9	1.00 \pm 0.09	1.00 \pm 0.11
病毒组	9	2.24 \pm 0.29*	2.46 \pm 0.31*
更昔洛韦组	9	1.29 \pm 0.14#	1.25 \pm 0.11#
甘草酸组	9	1.42 \pm 0.16#	1.51 \pm 0.17#

与对照组比较, * $P < 0.05$; 与病毒组比较, # $P < 0.05$ 。

3 讨论

HCMV 是一种疱疹病毒组 DNA 病毒,分布广泛,成人感染率极高,感染主要累及肺、肝、肠等脏器,对于免疫缺陷综合征患者、新生儿及器官移植者而言, HCMV 感染可引发严重的临床症状,甚至导致死亡^[7]。研究^[8]表明, HCMV 感染可诱导宿主细胞发生凋亡,并抑制宿主细胞增殖。细胞凋亡是在生理条件下由基因控制的程序性细胞死亡,在维持机体内环境稳定方面起着重要作用^[9]。因此,寻找针对 HCMV 的新型抗病毒药物依然是病毒学研究中的重要任务。甘草酸是一种



A: Western blot 检测结果; B: TNF- α 和 IL-6 表达情况 (与对照组比较, * $P < 0.05$; 与病毒组比较, # $P < 0.05$)。

图 3 Western blot 检测各组细胞中 TNF- α 和 IL-6 蛋白表达情况

广谱抗冠状病毒候选物,具有抗病毒、抗氧化、抗炎、保护肝脏等多种生物活性^[10],目前已被普遍使用于临床。相关研究^[11-12]表明,甘草酸具有优异的抗病毒活性,能够通过阻碍病毒与宿主细胞相互作用而阻断严重急性呼吸系统综合征冠状病毒 2(SARS-CoV-2)的感染,且甘草酸与绿原酸联合用药能够对呼吸道合胞病毒(RSV)产生较好的抑制作用。本研究通过 CCK8 实验和流式细胞术对甘草酸作用下 MRC-5 细胞增殖和凋亡情况进行检测,结果发现,经 HCMV 感染 24 h 时,细胞增殖和凋亡情况均无明显变化,但感染 48 h 后细胞增殖活性显著降低,细胞凋亡率显著升高,而甘草酸能够有效促进感染 HCMV 的 MRC-5 细胞增殖,抑制 HCMV 感染诱导的细胞凋亡,作用与更昔洛韦一致。

Caspase3 是细胞凋亡过程中最主要的终末剪切酶,Caspase3 的活化在促进细胞凋亡中起着不可替代的作用^[13]。本研究检测 HCMV 感染 48 h 时细胞中 Total-caspase3 和 Cleaved-caspase3 蛋白表达情况,结果与细胞凋亡检测结果一致。病毒需要利用宿主细胞完成其自身的复制和增殖,因此感染早期是通过阻止 Caspase3 的活化而阻止宿主细胞凋亡,感染后期则是通过活化 Caspase3 诱导宿主细胞凋亡而使其发生致病效应。HCMV 原发感染多为无症状的潜伏感染,通常可被机体免疫系统有效控制而不致病,但当机体免疫功能降低时,病毒再激活,可引起机体多器官炎症反应及功能障碍。研究^[14-15]表明,HCMV 在宿主细胞内的增殖复制,可导致 TNF- α 和 IL-6 等炎症因子表达,引起炎症性疾病的发生。本研究结果发现,HCMV 在感染 MRC-5 细胞 24 h 时即可引起细胞 TNF- α 、IL-6 分泌水平升高,而甘草酸对 HCMV 感染引起的炎症因子高水平具有抑制作用。

综上所述,甘草酸能够促进感染 HCMV 的人胚肺成纤维细胞增殖,抑制 HCMV 感染诱导的细胞凋亡和细胞炎性反应,这为甘草酸应用于 HCMV 感染性肺疾病的临床治疗提供了实验依据,对临床抗 HCMV 治疗和预防具有指导意义。但甘草酸对抗 HCMV 感染引起的人胚肺成纤维细胞凋亡和炎症反应的具体机制及其临床应用效果尚未明确,未来有待进一步深入探讨。

参考文献

[1] RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ I, MUNGER J. Meal for two: human

- Cytomegalovirus*-induced activation of cellular metabolism[J]. *Viruses*, 2019, 11(3): 273.
- [2] GRIFFITHS P, REEVES M. Pathogenesis of human *Cytomegalovirus* in the immunocompromised host[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2021, 19(12): 759-773.
- [3] 窦冬冬, 张楠, 潘峰. 先天性人巨细胞病毒感染对肝脏的损伤作用及相关血清标志物的分析[J]. *肝脏*, 2019, 24(10): 1161-1163.
- [4] SELVUTINA O Y, POLYAKOV N E. Glycyrrhizic acid as a multifunctional drug carrier-From physicochemical properties to biomedical applications: a modern insight on the ancient drug[J]. *Int J Pharm*, 2019, 559: 271-279.
- [5] 王永洪, 兰婉莹, 陈恬. 甘草酸体外抗人巨细胞病毒 AD169 的作用[J]. *中成药*, 2016, 38(10): 2121-2127.
- [6] SHAO Y Z, QI Y, HUANG Y J, et al. Human *Cytomegalovirus* miR-US4-5p promotes apoptosis via downregulation of p21-activated kinase 2 in cultured cells[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(4): 4171-4178.
- [7] 马南兰, 茅惠娟, 张亚平, 等. 体外膜肺氧合技术治疗血行播散性肺结核合并巨细胞病毒性肺炎并发急性呼吸窘迫综合征 1 例报道[J]. *实用临床医药杂志*, 2021, 25(4): 29-33.
- [8] 贾阳杰, 吕亚丽, 刘丽宏. 姜黄素对人巨细胞病毒感染人胚肺成纤维细胞后细胞凋亡的影响[J]. *中国医药导报*, 2018, 15(34): 4-9, 22.
- [9] 刘杨, 黄媛, 廖毅, 等. 黄芩苷体外抗人巨细胞病毒活性及其对感染人胚肺成纤维细胞凋亡的影响[J]. *医药导报*, 2017, 36(10): 1124-1129.
- [10] SUN Z G, ZHAO T T, LU N, et al. Research progress of glycyrrhizic acid on antiviral activity[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2019, 19(10): 826-832.
- [11] LI J J, XU D G, WANG L L, et al. Glycyrrhizic acid inhibits SARS-CoV-2 infection by blocking spike protein-mediated cell attachment[J]. *Molecules*, 2021, 26(20): 6090.
- [12] 廖卫波, 申宝德, 沈成英, 等. 绿原酸与甘草酸联合应用体外抗呼吸道合胞病毒作用研究[J]. *解放军药学报*, 2017, 33(1): 12-16.
- [13] ROGERS C, FERNANDES-ALNEMRI T, MAYES L, et al. Cleavage of DFNA5 by caspase-3 during apoptosis mediates progression to secondary necrotic/pyroptotic cell death[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14128.
- [14] ZEDTWITZ-LIEBENSTEIN K, DIAB-ELSCHAHAHAW M, FRASS M. Human *Cytomegalovirus* infection in nonimmunocompromised patients: a retrospective analysis and review of the literature[J]. *Intervirology*, 2016, 59(3): 159-162.
- [15] LAU B, KERR K, GU Q, et al. Human *Cytomegalovirus* long non-coding RNA1. 2 suppresses extracellular release of the pro-inflammatory cytokine IL-6 by blocking NF- κ B activation[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 361.

(本文编辑: 陆文娟)