

普济煎液对豚鼠EB病毒的抑制及免疫干预作用

江伟炽¹, 苏旭春², 闫冰川², 孔嘉欣², 程玲², 宋 璟²

(1. 广州医科大学, 广东 广州 511436; 2. 广州医科大学附属肿瘤医院 中西医结合二科)

摘要:目的:探讨普济煎液对豚鼠EB病毒的抑制及其免疫干预作用。方法:经滴鼻、口腔接种EB病毒1周,造模成功后,把豚鼠分为5组:正常对照组、模型组、阿昔洛韦组、低剂量普济煎液组、高剂量普济煎液组,每组各9只,分别予生理盐水、阿昔洛韦、普济煎液灌胃2周。末次给药后,检测豚鼠血液单个核细胞中EBV-DNA载量、血清中TNF- α 、IL-6、IL-8、IL-10、IFN- γ 、EBV-VCA IgG含量。结果:与正常对照组比较,模型组、阿昔洛韦组、低剂量普济煎液组、高剂量普济煎液组细胞中EBV-DNA拷贝数、血清中EBV-VCA IgG含量显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,阿昔洛韦组、低剂量普济煎液组、高剂量普济煎液组细胞中EBV-DNA拷贝数降低($P < 0.05$);高剂量普济煎液组细胞中EBV-DNA拷贝数较阿昔洛韦组降低($P < 0.05$);与模型组比较,阿昔洛韦组、低剂量普济煎液组、高剂量普济煎液组血清中TNF- α 、IL-6、IFN- γ 含量升高($P < 0.05$);高剂量普济煎液组中TNF- α 、IFN- γ 含量较阿昔洛韦组升高($P < 0.05$)。结论:普济煎液能有效抑制EBV-DNA复制,其机制可能是通过上调TNF- α 、IL-6、IFN- γ 表达,降低IL-10的表达,增强豚鼠免疫应答效应,抑制EB病毒增殖。

关键词:普济煎液;EB病毒;中医治疗;豚鼠;免疫干预

中图分类号: R285.5

文献标识码: B

文章编号: 2095-512X(2020)04-0382-05

EB病毒感染可诱发鼻咽癌、伯基特淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、胃癌等多种肿瘤^[1]。尤其在未分化型的鼻咽癌中,95%以上的患者感染EB病毒^[2]。而且,EBV-DNA水平还与鼻咽癌治疗和预后密切相关^[3]。因此治疗EB病毒感染,对鼻咽癌治疗具有重要意义。中药抗EB病毒感染具有独特优势,能有效抑制EBV-DNA复制,促进鼻咽癌康复^[4]。本课题组曾采用普济煎液进行临床观察,证明普济煎液对鼻咽癌患者EB病毒有抑制作用^[5]。为进一步探讨普济煎液抑制EB病毒增殖的作用机制,本研究建立豚鼠感染EBV模型,检测用药后豚鼠外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)中EBV-DNA拷贝数以及血清免疫因子含量变化。

1 材料

1.1 实验细胞

猴猴EBV转化的白细胞B95-8,由广州医科大学附属肿瘤医院肿瘤研究所提供。

1.2 实验动物

普通级FMMU雄性豚鼠,60只,体重240~280 g,购自南方医科大学动物实验中心,生产许可编号:SCXK(粤)2016-0041。

1.3 主要试剂

RPMI1640培养基、双抗、胎牛血清购自GIBCO公司;细胞DNA提取试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司;病毒DNA基因组提取试剂盒购自北京索莱宝公司;豚鼠外周血单个核细胞分离液购自天津灏洋(TBD);EB病毒染料法荧光定量PCR试剂盒购自北京天恩泽有限公司;EB病毒早期抗原(EBV-VCA)抗体IgG ELISA试剂盒购自欣博盛生物科技有限公司;豚鼠IL-10、IL-8 ELISA试剂盒购自江莱生物有限公司;豚鼠IL-6、TNF- α ELISA试剂盒购自上海酶联生物有限公司;豚鼠IFN- γ ELISA试剂盒购自酶免有限公司。

1.4 主要药物

阿昔洛韦购自麦克林有限公司,产品批号A829547 25 g。普济煎液组方:牛蒡子15 g,女贞子15 g,夏枯草15 g,黄芩10 g,连翘10 g,柴胡10 g,陈皮5 g,射干10 g,僵蚕10 g,板蓝根30 g,猫爪草30 g,太子参10 g,玄参20 g,生地黄15 g,甘草5 g。实

收稿日期:2020-04-05;修回日期:2020-07-28

基金项目:广东省中医药局项目(20182088)

作者简介:江伟炽(1992-),男,广州医科大学2016级在读硕士研究生。

通讯作者:苏旭春,主任医师,E-mail: sxc118@126.com 广州医科大学附属肿瘤医院中西医结合二科,510095

验用中药由广州医科大学附属肿瘤医院中药房提供,经自动煎药机煎煮。

1.5 主要实验仪器

Svnergy2 多功能酶标仪,美国BioTek公司; CFX96 Real-Time System,美国BIO-RAD公司。

2 方法

2.1 细胞培养

B95-8 细胞用含 10%胎牛血清、1%双抗的 RPMI1640 培养基于 37℃, 4% CO₂ 培养箱培养 1 周。当细胞计数达约 5×10^6 个/mL 时,静置于 33℃, 4%CO₂ 培养箱培养 2 周,于 -80℃ 及 37℃ 反复冻融 3 次, $8\,000 \times g$ 离心 30 min,取上清用 0.45 μm 滤器过滤,收集溶液于 -80℃ 保存备用^[6]。

2.2 EB 病毒液病毒载量测定

取收集的 EB 病毒液,根据病毒 DNA 提取试剂盒说明书操作提取病毒 DNA。使用 EB 病毒染料法荧光定量 PCR 试剂盒测定 EB 病毒载量,检测样品设置 3 个复孔取平均值,根据 qPCR 所得 Ct 值计算病毒载量。

2.3 动物模型建立及给药方法

将普通级豚鼠 60 只分成 2 组,分别为正常对照组 10 只,病毒组 50 只。所有豚鼠置于实验环境温度 20℃ ~ 22℃, 12 h 昼夜交替光照^[7],在动物房适应 1 周后,正常对照组经滴鼻、口腔接种 100 μL 无血清 RPMI1640 培养基,病毒组接种 100 μL 病毒液,计量为 2.0×10^6 病毒载量/只。接种 1 周后,局部麻醉,经股动脉取血 5 mL,分离外周血单个核细胞,检测 EBV-DNA 复制载量。正常对照组在取血过程中死亡 1 只,共有 36 只豚鼠造模成功。把动物分为模型组、阿昔洛韦组、低、高剂量普济煎液组各 9 只。阿昔洛韦组予阿昔洛韦组灌胃,普济煎液组予普济煎液灌胃,模型组和正常对照组分别予等比例生理盐水灌胃,给药 1 次/天,持续 2 周。阿昔洛韦组用药量为 0.04 g/kg,低剂量普济煎液组为 17.5 g/kg,高剂量组 35 g/kg。末次给药后禁食 12 h,使用 10%水合氯醛腹腔注射过量麻醉后,剖胸心脏取血,一份使用柠檬酸钠抗凝管取血 5 mL 检测外周血单个核细胞中 EB 病毒复制载量,另一份使用离心管取血 10 mL 检测血清中免疫因子含量。

2.4 外周血单个核细胞 EB 病毒载量测定

取使用柠檬酸钠抗凝采血管采血样与等量分离液混合后,按照豚鼠外周血单个核细胞分离液说

明书加入分离液中, 500 g, 离心 30 min。离心后溶液分为四层,第一层为血浆层,第二层为环状乳白色淋巴细胞层,第三层为分离液层,第四层为红细胞层。用干净的 15 mL 离心管收集第二层细胞,加入 10 mL 清洗液, 250 g, 离心 10 min。收集沉淀,用无血清 RPMI1640 培养基重悬细胞,按照细胞 DNA 提取试剂盒说明书提取 DNA,并测定 DNA 浓度。根据北京天恩泽公司 EB 病毒染料法荧光定量 PCR 试剂盒说明书操作,测定外周血单个核细胞中 EBV 病毒载量。每个样本取 3 个复孔,反应条件为:预变性, 95℃, 2 min; PCR 反应, 温度 91℃, 15 s, 58℃, 60s, 共 45 个循环。以 6 个阳性对照浓度的 log 值为横轴,以 Ct 值为纵轴,绘制标准曲线,再以待测样品 Ct 值从标曲上找出其浓度的 log 值,计算出待测样品的 DNA 浓度。

2.5 ELISA 指标检测

取无抗凝血样,室温放置 2 h 后, 250 g 离心 5 min,小心收集上清于干净离心管中,根据豚鼠 IL-10、IL-6、IL8、TNF- α 、IFN- γ 试剂盒以及 EBV-VCA IgG 试剂盒说明书进行检测,于 450nm 吸光度测定 OD 值,计算浓度值。

2.6 统计学处理

采用 SPSS16.0 进行分析,所有数据相互独立,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析法进行多样本比较,组间比较采用 LSD 检验,结果以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 绘制 EB 病毒液拷贝数的标准曲线

根据 qPCR 扩增结果,绘制标准曲线(见图 1),检测 EBV-DNA 拷贝数标曲方程为 $y = -2.6909x + 27.722$, $R^2 = 0.999$ 。根据病毒液 qPCR 的 Ct 值为 9.554,计算出病毒 DNA 载量约为 2.01×10^7 copies/mL 病毒载量。

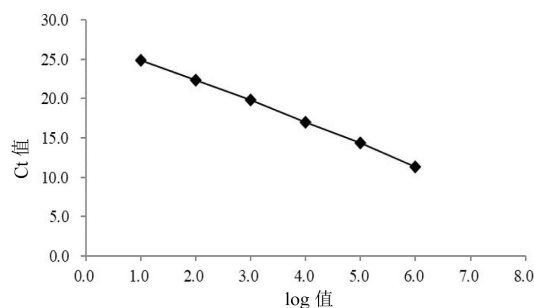


图1 绘制EB病毒液拷贝数标准曲线

3.2 豚鼠接种EB病毒1周后外周血单个核细胞中EB病毒拷贝数

把正常对照组编号为1~10,病毒组分为5组,

分别编号A1-10、B1-10、C1-10、D1-10、E1-10,共有36只豚鼠检测到EBV-DNA复制,正常对照组在取血过程中死亡1只(见表1)。

表1 各组豚鼠接种EB病毒1周后外周血单个核细胞中EBV-DNA拷贝数

组别	EBV-DNA复制载量(1×10^3 copies/ μ g DNA)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
对照组	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
病毒组A	0.00	0.48	0.86	0.83	0.54	0.39	0.00	0.00	0.31	0.29
病毒组B	0.00	0.89	0.22	0.00	0.00	0.68	0.37	0.00	0.00	0.53
病毒组C	0.55	0.28	0.30	0.58	0.33	0.00	0.53	0.97	0.40	0.44
病毒组D	0.48	0.51	0.54	0.23	0.54	0.23	0.00	0.63	0.96	0.00
病毒组E	0.35	0.60	0.00	0.72	0.00	0.62	0.32	0.00	0.38	0.44

3.3 各组豚鼠体重变化比较

实验过程中,模型组豚鼠死亡2只。灌胃前1天、第7天,正常对照组,模型组、阿昔洛韦组、低、高剂量普济煎液组体重变化比较无统计学差异($P>$

0.05)。灌胃第14天,与模型组比较,正常对照组、阿昔洛韦组、低、高剂量普济煎液组豚鼠体重显著升高($P<0.05$),高剂量普济煎液组体重较阿昔洛韦组升高($P<0.05$)(见表2)。

表2 各组豚鼠灌胃前1天、灌胃第7天、灌胃第14天体重比较(g, $\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	灌胃前1天	灌胃第7天	灌胃第14天
正常对照组	9	263.78 \pm 8.07	269.67 \pm 9.06	296.78 \pm 19.35 [#]
模型组	7	266.57 \pm 9.19 [*]	273.14 \pm 5.15 [*]	271.57 \pm 11.39
阿昔洛韦组	9	265.12 \pm 9.18 [*]	274.25 \pm 5.95 [*]	297.25 \pm 20.38 [#]
低剂量组	9	263.56 \pm 5.94 [*]	270.78 \pm 8.38 [*]	294.11 \pm 7.85 [#]
高剂量组	9	261.44 \pm 8.27 [*]	271.89 \pm 6.25 [*]	317.78 \pm 20.28 [#]

注:与正常对照组比较,^{*} $P>0.05$;与模型组相比,[#] $P<0.05$ 。

3.4 重新绘制EB病毒拷贝数的标准曲线

检测EB病毒DNA拷贝数标准曲线方程为 $y = -2.821x + 27.544$, $R^2 = 0.9978$ 。利用新的标准曲线方程,根据样本的Ct值,计算灌胃2周后豚鼠外周血单个核细胞中EBV-DNA拷贝数变化(见图2)。

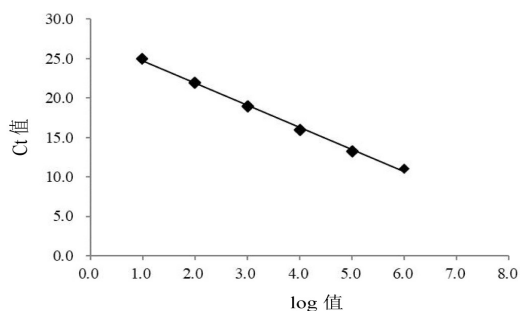


图2 重新绘制EB病毒液标准曲线

3.5 灌胃2周后各组豚鼠外周血单个核细胞中EBV-DNA拷贝数比较

与模型组比较,阿昔洛韦组、低、高剂量普济煎液组中EBV-DNA拷贝数降低($P<0.05$);与阿昔洛韦组比较,高剂量普济煎液组中EBV-DNA拷贝数

降低($P<0.05$)(见表3)。

表3 各组豚鼠EBV-DNA复制载量比较(1×10^4 copies/ μ g DNA, $\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	EBV-DNA复制载量
正常对照组	9	0.00 \pm 0.00
模型组	7	0.37 \pm 0.86 [*]
阿昔洛韦组	9	0.25 \pm 0.16 ^{*#}
低剂量组	9	0.24 \pm 0.15 ^{*#}
高剂量组	9	0.22 \pm 0.11 ^{*#}

注:与正常组比较,^{*} $P<0.05$,[#]与模型组比较,[#] $P<0.05$

3.6 灌胃2周后各组豚鼠血清中EBV-VCA IgG、IL-10、IFN- γ 含量比较

与正常对照组比较,模型组、阿昔洛韦组、低、高剂量普济煎液组中EBV-VCA IgG显著升高($P<0.05$);与模型组比较,阿昔洛韦组、低、高剂量普济煎液组中IL-10含量降低($P<0.05$),阿昔洛韦组、低、高剂量普济煎液组中IFN- γ 含量显著升高($P<0.05$);与阿昔洛韦组比较,低、高剂量普济煎液组中IFN- γ 含量升高($P<0.05$)(见表4)。

表4 各组豚鼠血清中EBV-VCA IgG、IL-10、IFN- γ 含量比较(pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	EBV-VCA IgG	IL-10	IFN- γ
正常对照组	9	0.09 \pm 0.03	29.44 \pm 0.21	55.45 \pm 1.33
模型组	7	1.69 \pm 0.86*	29.53 \pm 0.32	52.37 \pm 3.16
阿昔洛韦组	9	1.63 \pm 0.13*	29.07 \pm 0.30*	57.73 \pm 1.38 [#]
低剂量组	9	1.59 \pm 0.12*	29.07 \pm 0.33*	62.46 \pm 1.80 [#]
高剂量组	9	1.64 \pm 0.97*	28.98 \pm 0.27*	63.59 \pm 1.25 [#]

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

3.7 灌胃2周后各组豚鼠血清中IL-6、IL-8、TNF- α 含量比较

与模型组比较,阿昔洛韦组、低、高剂量普济煎液组中IL-6、TNF- α 含量显著升高($P < 0.05$);阿昔洛韦组血清中IL-6含量与低、高剂量普济煎液组比

较无统计学差异($P > 0.05$);正常对照组、阿昔洛韦组、低、高剂量普济煎液组血清中IL-8含量比较无统计学差异($P > 0.05$);高剂量普济煎液组中TNF- α 含量较阿昔洛韦组显著升高($P < 0.05$)(见表5)。

表5 各组豚鼠血清中IL-6、IL-8、TNF- α 含量比较(pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	IL-6	IL-8	TNF- α
正常对照组	9	22.06 \pm 0.43	27.87 \pm 0.41	35.27 \pm 1.23
模型组	7	22.28 \pm 0.80	27.97 \pm 0.40	34.06 \pm 0.85
阿昔洛韦组	9	26.98 \pm 0.89*	27.96 \pm 0.37	37.11 \pm 1.17*
低剂量组	9	27.06 \pm 1.07*	27.66 \pm 0.51	37.90 \pm 0.65*
高剂量组	9	27.26 \pm 0.82*	27.56 \pm 0.59	41.22 \pm 1.15* [#]

注:与模型组比较,* $P < 0.05$;与阿昔洛韦组比较,[#] $P < 0.05$

4 讨论

EB病毒在人群中具有普遍易感性,据统计,全球范围内共有90%以上的人感染EB病毒^[8]。EB病毒感染多发生在幼儿时期,感染后多表现为隐性感染或者潜伏状态,一般无明显或伴随较弱的临床症状^[9]。EB病毒作为一种致癌病毒,与鼻咽癌、伯基特淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、胃癌等多种恶性肿瘤发生有关,其中与鼻咽癌的发生、发展关系密切^[10]。研究表明,在鼻咽癌患者治疗中,治疗后血清中EBV-DNA水平持续增高,可增加鼻咽癌复发及转移风险^[11]。因此,治疗EB病毒感染与鼻咽癌预后密切相关。

EB病毒主要感染B淋巴细胞及上皮细胞,诱导宿主产生固有免疫及特异性免疫应答,其中Toll样受体(toll-like receptors, TLRs)介导的信号通路是固有免疫的重要信号通路^[12]。TLRs表达于各种免疫细胞,通过诱导分泌肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、IL-6、IL-8细胞因子,同时上调

NK细胞数量抵御病毒入侵^[13]。BZLF1是EB病毒表达得即刻早期蛋白,在病毒感染早期,BALF1可下调TNF- α 的表达,抑制机体抗病毒免疫反应,利于病毒DNA复制^[14]。IL-6和IL-8都是一种多效能的细胞因子,可以刺激造血干细胞、免疫细胞等的增殖,调节机体抗炎反应,EB病毒编码的潜伏膜蛋白1(latent membrane protein 1, LMP1)能上调IL-6、IL-8和IL-10等细胞因子的表达,干扰宿主机体细胞因子分泌,从而调控免疫应答反应^[15]。EBNA1是EB病毒核抗原的一种,可通过诱导IL-10产生抑制TLR信号通路激活,抑制抗原呈递细胞活性,产生免疫逃逸。细胞免疫在抗EB病毒感染过程中亦占有重要作用,EB病毒感染机体后,EB病毒抗原特异性细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)大量增值,激活CD8+T细胞、CD4+T细胞介导的细胞免疫,同时CTL可分泌大量的IFN- γ 进一步发挥抗病毒作用。EB病毒可通过干扰抗原呈递、干扰细胞因子作用,逃避宿主免疫,通过调节免疫抑制性因子IL-10,抑制IFN- γ 细胞因子分泌,同时下

调NK细胞和特异性CTL活力,调控TNF- α 、IL-6、IL-8等细胞因子的分泌影响宿主免疫应答。

中医学认为EB病毒属于温病邪气,外感温邪,传变迅速,可侵及他脏。据临床研究显示,采用益气养阴结合清热解毒法,辨证用药,可提高中药治疗EB病毒感染的疗效。放疗是鼻咽癌的主要治疗手段,中医学认为放射线属于“火热”毒邪,耗伤气阴,故在使用中药治疗鼻咽癌合并EB病毒感染的患者时,不仅考虑采用清热解毒药物,也需配伍养阴清热中药,提高中药抗病毒疗效。普济煎液采用普济消毒饮为基础化裁,配伍太子参、女贞子、玄参、生地黄益气养阴药物,扶正祛邪并重。方中黄芩、板蓝根、牛蒡子、射干共为君药,清热解毒,利咽喉;僵蚕、猫爪草、夏枯草共为臣药,有解毒散结、化痰软坚之功效;陈皮、太子参、女贞子、玄参、生地黄为佐药,其中陈皮理气化痰,太子参、女贞子、玄参、生地黄益气养阴;甘草为使药,调和诸药。全方配伍攻补结合,共奏解毒化痰、益气养阴之功。

本实验通过滴鼻、口腔接种EB病毒成功建立豚鼠感染EB病毒模型^[23],接种1周后通过股静脉取血,分离外周血单个核细胞,并检测到36只豚鼠细胞中有EB病毒复制,说明造模成功。予阿昔洛韦、普济煎液灌胃2周后,与正常对照组比较,模型组、阿昔洛韦组、低、高剂量普济煎液组中EBV-VCA IgG含量、外周血单个核细胞中EBV-DNA拷贝数升高。与模型组比较,阿昔洛韦组、低、高剂量普济煎液组EBV-DNA拷贝数降低;高剂量普济煎液组EBV-DNA拷贝数较阿昔洛韦组降低,提示阿昔洛韦、普济煎液能有效抑制EBV-DNA复制。实验发现各组豚鼠血清中IL-8含量比较无明显差异,考虑普济煎液可能不通过调节IL-8的分泌抑制EB病毒增殖。与模型组比较,阿昔洛韦组、低、高剂量普济煎液组血清中IL-6、TNF- α 、IFN- γ 含量升高,IL-10含量降低;高剂量普济煎液组中TNF- α 、IFN- γ 含量较阿昔洛韦组升高,提示普济煎液抑制EBV-DNA复制的机制可能是通过增加IL-6、TNF- α 、IFN- γ 的表达,降低血清中IL-10的表达,增强豚鼠免疫应答效应,抑制EB病毒增殖。

参考文献

- [1] TSANG C M, TSAO S W. The role of Epstein-Barr virus infection in the pathogenesis of nasopharyngeal carcinoma[J]. Virol Sin, 2015;30(2):107-121
- [2] CHUA M, WEE J, HUI E P, et al. Nasopharyngeal carcinoma [J]. Lancet, 2016;387(10022):1012-1024
- [3] LU Z, LIN-QUAN T, QIU-YAN C, et al. Plasma Epstein-Barr viral DNA complements TNM classification of nasopharyngeal carcinoma in the era of intensity-modulated radiotherapy.[J]. Oncotarget, 2016(5):6221-6230
- [4] 吕和平,梅开,李卓等. 三参地黄汤对鼻咽癌放疗患者生活质量和预后的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016;22(14):197-201
- [5] 苏旭春,梁傍顺,潘静洁等. 普济煎液对EB病毒抗原表达的抑制作用[J]. 新中医, 2013;45(01):157-159
- [6] RAJCANI J, SZENTHEK, DURMANOVA V, et al. Epstein-Barr virus (HHV-4) inoculation to rabbits by intranasal and oral routes results in subacute and/or persistent infection dissimilar to human disease[J]. Intervirology, 2014;57(5):254-269
- [7] 徐赫一,高丽娟,陈平等. 急性胰腺炎时Oddi括约肌的生长抑素的表达及其作用[J]. 内蒙古医科大学学报, 2014;36(06):487-490
- [8] COHEN J I. Erratum: Epstein-Barr virus vaccines[J]. Clin Transl Immunology, 2015;4(4):e36
- [9] MUI U N, HALEY C T, VANGIPURAM R, et al. Human Oncoviruses: Mucocutaneous Manifestations, Pathogenesis, Therapeutics, and Prevention (Part II: Hepatitis Viruses, Human T-cell Leukemia Viruses, Herpesviruses, and Epstein-Barr Virus)[J]. Journal of the American Academy of Dermatology, 2018;23(11):243-261
- [10] TSAO S W, TSANG C M, LO K W. Epstein-Barr virus infection and nasopharyngeal carcinoma[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2017;37(2):1732
- [11] ZHAO F P, LIU X, CHEN X M, et al. Levels of plasma Epstein-Barr virus DNA prior and subsequent to treatment predicts the prognosis of nasopharyngeal carcinoma[J]. Oncology Letters, 2015(5):2888-2894
- [12] DAJON M, IRIBARREN K, CREMER I. Toll-like receptor stimulation in cancer: A pro- and anti-tumor double-edged sword[J]. Immunobiology, 2017;222(1):89-100
- [13] ZAUNER L, NADAL D. Understanding TLR9 action in Epstein-Barr virus infection[J]. FRONTIERS IN BIOSCIENCE-LANDMARK, 2012;1219-1231
- [14] LI Y, LONG X, HUANG L, et al. Epstein-Barr Virus BZLF1-Mediated Downregulation of Proinflammatory Factors Is Essential for Optimal Lytic Viral Replication[J]. Journal of Virology, 2015;90(2):887-903
- [15] KIM S Y, KIM J, WON J, et al. Characterization of the rapamycin-inducible EBV LMP1 activation system[J]. Journal of Microbiology, 2015;53(10):732-738