

· 论著 ·

敲减 *MCCC2* 对前列腺癌细胞系 DU145 增殖、迁移和凋亡的影响

陈 雪^{1,2}, 黄泽豪¹, 郑承剑² (1. 福建中医药大学药学院, 福建 福州 350122; 2. 海军军医大学药学院, 上海 200433)

[摘要] 目的 应用慢病毒载体 shRNA 对 DU145 细胞中的 3-甲基巴豆酰辅酶 A 羧化酶 β 亚基编码基因 (3-methylcrotonyl-coenzyme A carboxylase 2, *MCCC2*) 进行敲减, 探究 *MCCC2* 对前列腺癌细胞生物学功能改变的影响。方法 研究分为 3 组进行, 其中 shNC 为未敲减 *MCCC2* 的 DU145 细胞对照组, sh*MCCC2* 为敲减 *MCCC2* 的 DU145 细胞实验组, DU145 为未作任何处理的空白组。运用 Western blot 和 qPCR 检测 DU145 细胞系慢病毒 shRNA 敲减 *MCCC2* 后的表达, CCK8 法检测敲减 *MCCC2* 对 DU145 细胞增殖的影响; Transwell 检测敲减 *MCCC2* 对 DU145 细胞迁移的影响; 流式细胞术检测敲减 *MCCC2* 对 DU145 细胞凋亡的影响。结果 前列腺癌细胞系 DU145 经慢病毒 shRNA 敲减 *MCCC2* 后, sh*MCCC2* 组的 *MCCC2* 表达水平明显低于 shNC 组 (0.22 ± 0.02 对 0.61 ± 0.06 , $P < 0.001$), sh*MCCC2* 组增殖 (2.24 ± 0.04 对 3.13 ± 0.15) 和迁移 (23.96 ± 1.85 对 49.73 ± 0.63) 均明显低于 shNC 组 ($P < 0.001$), 而 sh*MCCC2* 组凋亡 (12.64 ± 0.30 对 3.68 ± 0.02) 明显高于 shNC 组 ($P < 0.001$)。结论 敲减 *MCCC2* 可显著抑制 DU145 细胞的增殖和迁移并诱导细胞凋亡, 提示 *MCCC2* 下调与 DU145 细胞系肿瘤生物学特性的改变具有一定相关性, 有望成为前列腺癌的潜在治疗靶标。

[关键词] *MCCC2*; 前列腺癌; 增殖; 迁移; 凋亡

[中图分类号] R737.25

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2021)03-0215-06

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202104020

Effects of *MCCC2* knockdown on proliferation, migration and apoptosis of DU145 prostate cancer cells

CHEN Xue^{1,2}, HUANG Zehao¹, ZHENG Chengjian² (1. School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China; 2. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the change of biological characteristics after stable knockdown of the coding gene of 3-methylcrotonyl-coenzyme A carboxylase β subunit (*MCCC2*) expression in DU145 by lentivirus shRNA. **Methods** Three groups were included in this study. shNC was the control group in which *MCCC2* was negatively knocked down in DU145. sh*MCCC2* was the experimental group in which *MCCC2* was knocked down. DU145 was the blank group without any treatment. The expression of *MCCC2* was assessed by Western blot and qPCR. The proliferation of DU145 cells was detected by CCK8 assay. The migration ability of DU145 was detected by transwell. The apoptosis of DU145 cells was detected by flow cytometry. **Results** The expression level of *MCCC2* in sh*MCCC2* group was significantly lower than that in shNC group (0.22 ± 0.02 vs 0.61 ± 0.06 , $P < 0.001$). The proliferation (2.24 ± 0.04 vs 3.13 ± 0.15) and migration (23.96 ± 1.85 vs 49.73 ± 0.63) of DU145 cells in sh*MCCC2* group was significantly lower than that in shNC group, whereas the apoptosis (12.64 ± 0.30 vs 3.68 ± 0.02) of DU145 cells in sh*MCCC2* was significantly higher than that in shNC group. **Conclusion** *MCCC2* knockdown significantly inhibited the proliferation and migration, and induced apoptosis of DU145 cells, which indicated that the down-regulation of *MCCC2* is correlated with the change of tumor biological characteristics of DU145 cell line and can be a potential target for the treatment of prostate cancer.

[Key words] *MCCC2*; prostate cancer; proliferation; migration; apoptosis

前列腺癌(prostate cancer, PCa)是全球范围内

第二位最常见的男性癌症,也是全球第二大致死癌症^[1]。据统计,我国前列腺癌的发病率呈逐年上升的趋势,其中,上海地区该病的发病率和病死率较高,但总体而言,亚洲国家前列腺癌的发病率明显低于西方国家^[1-3]。在前列腺癌的治疗中,局限性前列腺癌常规行根治性前列腺切除术或放射治疗,而对于进展期患者则需要接受内分泌治疗即雄激素

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81473328)

[作者简介] 陈 雪,硕士研究生,研究方向:中药药理学, Email: chenxue9509@163.com

[通信作者] 黄泽豪,教授,硕士生导师,研究方向:中药资源学, Email: huangzehao@fudan.edu.cn; 郑承剑,副教授,硕士生导师,研究方向:中药药效物质, Email: cjzheng1984@126.com

阻断治疗(androgen deprivation therapy, ADT)。虽然 ADT 在早期可以明显抑制激素依赖性前列腺癌的进展,但是随着治疗时间的延长,激素依赖性前列腺癌会逐渐失去对 ADT 的反应而转化成为去势抵抗性前列腺癌(castration-resistant prostate cancer, CRPC),目前对 CRPC 尚无有效的治疗方法。因此,亟需深入挖掘 CRPC 病程进展中的关键基因和蛋白,为 CRPC 提供潜在治疗靶标。

Abula 等^[4]进行了 PCa 蛋白质组学文献的数据挖掘,发现了前列腺肿瘤组织和正常组织中 41 种差异表达蛋白,并构建了蛋白相互作用网络。其中,3-甲基巴豆酰辅酶 A 羧化酶 β 亚基(3-methylcrotonyl-coenzyme A carboxylase β subunit, MCCB)就是其中的重要差异蛋白之一。MCCB 是生物素依赖性羧化酶(3-methylcrotonyl-coenzyme A carboxylase, MCC)的两个组成亚基之一,由 563 个氨基酸组成^[5-8],MCCC2 是该蛋白的编码基因。已有研究报道,MCCC2 是一种致癌基因,与包括肝细胞癌、结直肠癌以及乳腺癌在内的多种肿瘤的形成和发展密切相关^[9-11],有望成为肿瘤治疗干预的潜在靶标。

在本研究中,我们主要探讨了 MCCC2 与前列腺癌的关系。首先,采用慢病毒与质粒构建了稳定低表达 MCCC2 的 DU145 细胞株并通过 Western blot 和 qPCR 分析敲减率;然后,系统考察敲减 MCCC2 对 DU145 前列腺癌细胞的增殖、迁移以及凋亡的影响,明确下调 MCCC2 与 DU145 细胞系肿瘤生物学特性的改变的相关性。

1 实验材料

1.1 细胞株

人前列腺癌 DU145 细胞,来源于海军军医大学附属长海医院泌尿外科,培养于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中。

1.2 材料与试剂

CCK-8 试剂盒(上海翊圣生物科技有限公司);兔 MCCC2 多克隆抗体、GAPDH 抗体以及 HRP 标记山羊抗兔二抗(美国 CST 公司);4% 多聚甲醛固定液以及结晶紫染色液(碧云天生物技术有限公司);细胞凋亡试剂盒(南京凯基生物有限公司)。

2 实验方法

2.1 细胞培养及转染

DU145 细胞复苏后接种于含 10% 灭活的胎牛血清,100 U/ml 青霉素和 100 μ g/ml 链霉素的 DMEM

培养液中,置于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 细胞培养箱中生长,每隔 3 d 传代一次。将 shRNA 质粒复合物加到含有细胞和培养基的培养板的孔中,来回轻柔摇晃细胞培养皿。细胞在 CO₂ 培养箱中 37 $^{\circ}$ C 孵育 24 ~ 48 h 进行转染;再用嘌呤霉素筛选低表达 MCCC2-DU145 的稳定细胞株。

2.2 细胞增殖实验

将复苏的细胞接种于大的培养皿中。3 d 后细胞以 3×10^3 个/孔,接种于 96 孔板。分别在 0、24、48、72、96 h 后,加 CCK-8 试剂,在 450 nm 处测定 A 值,根据 A 值分析结果。

2.3 细胞总蛋白提取

取出 DU145 细胞、NC-DU145 细胞以及 shMCCC2-DU145 细胞,弃掉上清,加入 PBS 缓冲液洗 3 次,每次 1 ml;加入细胞裂解液(Western 及 IP 细胞裂解液:PMSF = 100 : 1),吹打细胞,置冰上裂解 20 min;收集细胞裂解液于 1.5 ml 的 EP 管中,4 $^{\circ}$ C, 12000 r/min,离心 15 min;上清液即为提取的细胞总蛋白溶液,可用于 BCA 法定量;加入 5 $\times$ 蛋白加样缓冲液,沸水中煮 5 min,于 -20 $^{\circ}$ C 保存,可用于后续的 Western blot 实验。

2.4 Western blot

配胶,捡漏,加入样品,先将电压调为 80 V,待 marker 条带分离后,将电压调制 120 V,直到蛋白样品跑至凝胶底部,停止电泳;恒流 250 mA,冰浴 90 min 的条件下转膜;染色,封闭,再孵育 MCCC2 抗体以及二抗,置于 Tanon5200 光密度扫描仪中进行拍照;用 Image J 灰度分析差异性蛋白条带。

2.5 细胞 RNA 提取

将复苏的细胞接种于培养皿中,待对数生长期时,细胞以 5×10^5 个/孔接种于 6 孔板中,在 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 的恒温培养箱中孵育;48 h 后,将培养基吸掉,加入 PBS 洗涤 3 次,每次 1 ml;加入 RA2 裂解液,每孔 500 μ l,置于冰上 1 min;将裂解液收集于内套管中,在 12000 r/min 下离心 1 min;取出,将外套管中的液体倒去,向内套管中加入 500 μ l 洗液,在 12000 r/min 下离心 1 min;重复上述步骤一次;重复上述步骤,但是这次不加洗液,在 12000 r/min 下离心 1 min;取出,弃去外套管,将内套管移入新的 1.5 ml Ep 管中,加入 30 μ l 的洗脱液,室温静置 2 min,在 12000 r/min 下离心 1 min;得到总的 RNA,并测定其浓度。

2.6 cDNA 的制备

按照 1 000 μ g 逆转录,总反应体系为 20 μ l。反应条件为:37 $^{\circ}$ C, 15 min;85 $^{\circ}$ C, 30 s;4 $^{\circ}$ C, 永恒。

反应体系见表 1。

2.7 RT-qPCR

反应条件: 94 °C 预变性 30 s 后 94 °C 10 s, 60 °C 30 s, 共进行 40 个循环后, 进行溶解曲线的检测。反应体系见表 2。

表 1 逆转录反应体系

物质	加入量(μ l)
总 RNA	X(X=1 000/c, c 为上述测定的总 RNA 的浓度)
Rnase Free dH ₂ O	16-X
5×Mix	4

表 2 RT-qPCR 的反应体系

物质	加入量(μ l)
cDNA	1.0
Primer R	0.3
Primer F	0.3
ddH ₂ O	3.4
SYBR	5.0
总计	10

2.8 Transwell 迁移实验

进行 Transwell 实验以评估细胞在体外的迁移能力。细胞用磷酸缓冲盐水 (PBS) 洗涤 2 次, 用胰蛋白酶消化, 稀释为每毫升含 1×10^6 个细胞, 在 Transwell 室中, 加入 200 μ l 含 1% FBS 培养基的细胞液, 下层用 600 μ l 含 10% FBS 培养基处理。置于 37 °C、5% CO₂ 的恒温培养箱中培养 48 h, 然后

用棉签小心地擦去未穿过小孔的细胞, 再用 4% 多聚甲醛固定 30 min, 最后用结晶紫染色 1 h。使用倒置显微镜拍摄细胞照片, Image-Pro Plus 6.0 分析实验结果。

2.9 细胞凋亡实验

将细胞以 5×10^5 /孔的比例接种于 6 孔板中, 37 °C 孵育 48 h。使用 Annexin V-APC/7-AAD 凋亡检测试剂盒, 按照说明书操作方法, 使用流式细胞术检测细胞凋亡。

2.10 数据分析

数据分析通过 SPSS (21.0) 统计软件进行, 采用单因素方差分析, 实验结果用($\bar{x} \pm s$)表示。与对照组比较, $P < 0.05$, 则认为差异具有统计学意义。

3 实验结果

3.1 建立 MCCC2 低表达 DU145 细胞株

通过 Western blot 检测 PC3、C4-2 和 DU145 细胞中 MCCC2 的表达水平。如图 1A 和图 1B 所示, MCCC2 在 DU145 细胞中的表达为 (0.56 ± 0.05); MCCC2 在 PC3 细胞中的表达为 (0.24 ± 0.04); MCCC2 在 C4-2 细胞中的表达为 (0.32 ± 0.04)。结果表明 MCCC2 在 DU145 细胞中的表达水平高于 C4-2 和 PC3 细胞。为了探讨 MCCC2 在前列腺癌发生发展中的生物学作用, 我们在 DU145 细胞中通过慢病毒转染稳定下调了 MCCC2 的表达。成功建立了低表达 MCCC2 的 DU145 细胞株, 如图 1C 和 1D, Western blot 结果表

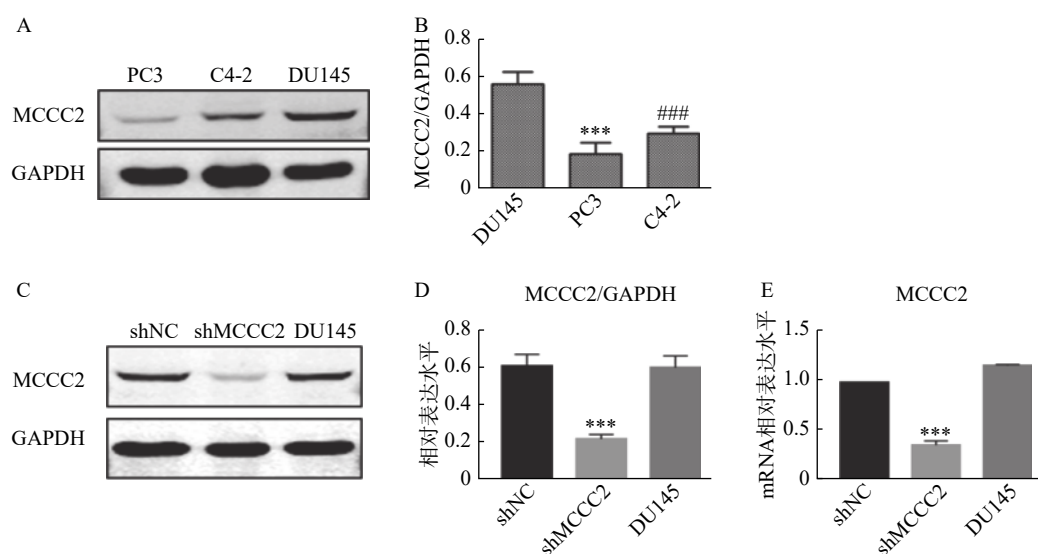


图 1 MCCC2 在不同前列腺癌细胞系和 shMCCC2 DU145 细胞中的表达水平

A. Western blot 法检测 PC3、C4-2 和 DU145 细胞中 MCCC2 的蛋白表达水平; B. MCCC2 蛋白表达水平的灰度值分析, *** $P < 0.001$, 与 DU145 比较; #### $P < 0.001$, 与 DU145 比较; C. Western blot 法检测 shMCCC2 DU145 细胞中 MCCC2 的蛋白表达水平; D. 不同处理组细胞 MCCC2 蛋白表达水平的灰度值分析, *** $P < 0.001$, 与 shNC 比较; E. RT-qPCR 检测 shMCCC2 DU145 细胞中 MCCC2 的 mRNA 表达水平, *** $P < 0.001$, 与 shNC 比较。

明, shMCCC2 组的 *MCCC2* 表达水平明显低于 shNC 组 (0.22 ± 0.02 对 0.61 ± 0.06 , $P < 0.001$), 而 DU145 组与 shNC 组无明显差异 (0.60 ± 0.06 对 0.61 ± 0.06 , $P > 0.05$)。qPCR 结果表明, shMCCC2 组的 *MCCC2* 表达水平明显低于 shNC 组 (0.36 ± 0.04 对 1.0 ± 0.00 , $P < 0.001$), 而 DU145 组与 shNC 组无明显差异 (1.17 ± 0.01 对 1.0 ± 0.00 , $P > 0.05$, 图 1E)。

3.2 敲减 *MCCC2* 对 DU145 细胞生长的影响

采用 CCK-8 检测敲减 *MCCC2* 对细胞活力的影响。分别在 0、24、48、72、96 h 后, 加 CCK-8 试剂, 在 450 nm 处测定 *A* 值, 检测细胞增殖情况。如图 2 所示, 48 h 时, shMCCC2 组的增殖明显低于 shNC 组 (1.16 ± 0.03 对 1.59 ± 0.07 , $P < 0.05$), 而 DU145 组与 shNC 组比较无明显差异 (1.47 ± 0.05 对 1.59 ± 0.07 , $P > 0.05$)。在 72 h 时, shMCCC2 组的增殖明显低于 shNC 组 (1.92 ± 0.03 对 2.57 ± 0.08 , $P < 0.01$), 而 DU145 组与 shNC 组比较无明显差异 (2.43 ± 0.11 对 2.57 ± 0.08 , $P > 0.05$)。在 96 h 时, shMCCC2 组的增殖明显低于 shNC 组 (2.24 ± 0.04 对 3.13 ± 0.15 , $P < 0.01$), 而 DU145 组与 shNC 组比较无明显差异 (2.93 ± 0.05 对 3.13 ± 0.15 , $P > 0.05$)。由结果可以看出, 敲减 *MCCC2* 能显著抑制细胞增殖, 并呈时间依赖性。

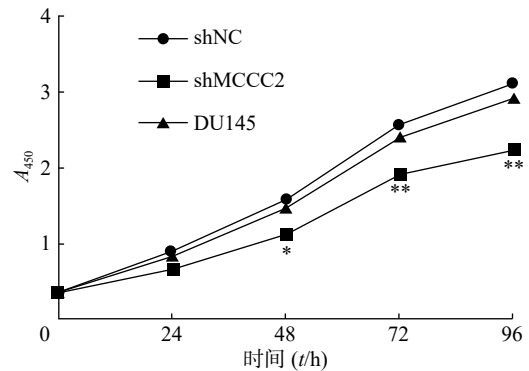


图 2 敲减 *MCCC2* 对 DU145 人前列腺癌细胞增殖的影响

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与 shNC 比较。

3.3 敲减 *MCCC2* 对 DU145 细胞迁移的影响

我们采用 Transwell 小室实验法测定敲减 *MCCC2* 对细胞迁移的影响。采用 Image-Pro Plus 6.0 分析实验结果, 计算细胞迁移率。如图 3A 和 3B 所示, shMCCC2 组的跨膜 DU145 细胞数量明显少于 shNC 组 (23.96 ± 1.85 对 49.73 ± 0.63 , $P < 0.001$); 而空白对照组与 shNC 组相比, 跨膜 DU145 细胞数无显著性差异 (48.45 ± 1.26 对 49.73 ± 0.63 , $P > 0.05$)。由此可见, 敲减 *MCCC2* 可有效抑制前列腺癌细胞的迁移。

3.4 敲减 *MCCC2* 对细胞凋亡的影响

进一步利用 Annexin V-APC/7-AAD 凋亡检测试剂盒检测了敲减 *MCCC2* 对 DU145 细胞凋亡的

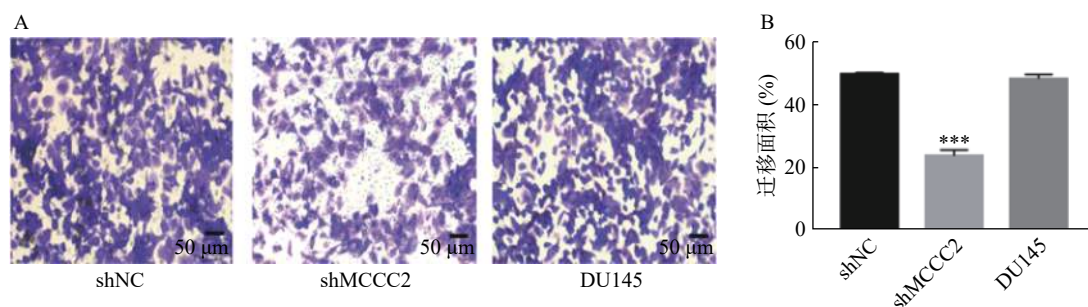


图 3 敲减 *MCCC2* 对 DU145 人前列腺癌细胞迁移能力的影响

A. 200 倍镜下不同处理组的细胞迁移图; B. Image-Pro Plus 6.0 分析不同处理组的细胞迁移面积, *** $P < 0.001$, 与 shNC 比较。

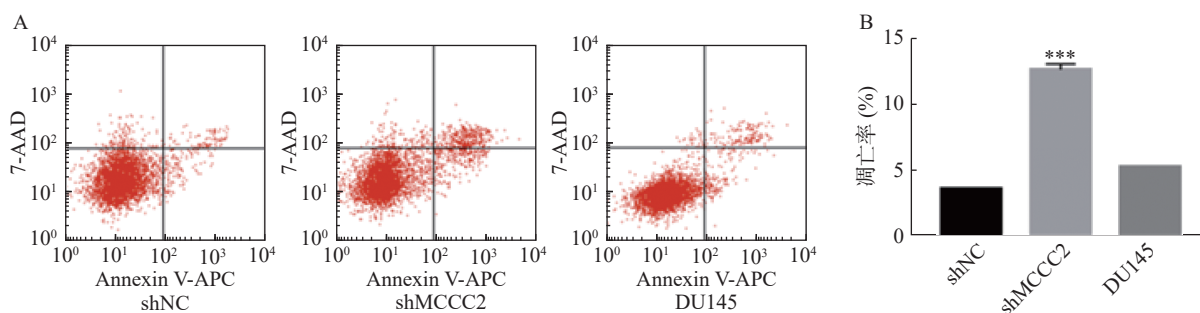


图 4 敲减 *MCCC2* 对 DU145 人前列腺癌细胞凋亡的影响

A. 不同处理组的细胞凋亡情况; B. 不同处理组细胞凋亡率的柱状图分析, *** $P < 0.001$, 与 shNC 比较。

影响。结果如图 4A 和 4B 所示, shMCCC2 组 DU145 细胞的凋亡率明显高于 shNC 组 (12.64 ± 0.30 对 3.68 ± 0.02 , $P < 0.001$); 空白对照组与 shNC 组相比, DU145 细胞的凋亡率无显著性差异 (5.30 ± 0.02 对 3.68 ± 0.02 , $P > 0.05$)。因此, 敲减 MCCC2 可诱导 DU145 前列腺癌细胞凋亡。

4 讨论

围绕 CRPC 发生发展中的关键基因和蛋白, 已有研究者采用蛋白组学和转录组学等多种组学技术深入挖掘 PCa 中 AR 等重要信号通路的关键调节蛋白、基因和潜在的疾病标志物, 发现 MCCB 是前列腺肿瘤组织和正常组织中差异表达的关键蛋白之一^[4], 而编码该蛋白的基因 MCCC2 为 AR 信号通路调节的关键基因, 在人类前列腺癌临床样本中显著过表达, 可作为潜在的肿瘤标志物^[10]。

3-甲基巴豆酰基辅酶 A 羧化酶(MCC)是一种生物素依赖的羧化酶, 可将 3-甲基巴豆酰基辅酶 A 催化为 3-甲基戊二酰辅酶 A^[5-6], 是亮氨酸降解途径的重要一步。MCC 包含 α (MCCA)和 β (MCCB)两个亚基, 分别由 MCCC1 和 MCCC2 基因编码^[12-13]。MCC 在人体内主要表达于肾脏和肝脏中, 它的缺陷可引起甲基巴豆酰甘氨酸尿症, 严重的可导致婴儿期的死亡^[14-16]。MCC 缺陷主要与 MCCC1 和 MCCC2 基因的突变有关^[17-21]。人 MCCC1 位于染色体区域 3q25-q27, 具有 19 个外显子, 而 MCCC2 位于染色体区域 5q12-q13, 由 17 个外显子组成^[7-8]。迄今为止, 人类基因突变数据库中共报道了 MCCC1 基因的 49 个突变和 MCCC2 基因的 52 个突变^[22]。近年来, 越来越多的研究表明, MCCC2 参与了包括肝细胞癌、结直肠癌以及乳腺癌在内等多种肿瘤的形成和发展^[9-11], 其在不同肿瘤中发挥的重要作用有待进一步挖掘。

本研究主要探究了 MCCC2 与前列腺癌的关系。结果表明, 敲减 MCCC2 可显著抑制 DU145 前列腺癌细胞的增殖和迁移, 并诱导细胞凋亡。研究结果提示, MCCC2 可能在前列腺癌发生发展过程中发挥重要作用, 有望成为治疗前列腺癌的一个潜在新靶标。至今尚无针对其编码蛋白 MCCB 的选择性抑制剂的报道, 是前列腺癌治疗药物发现的潜在新方向。

【参考文献】

- [1] HA CHUNG B, HORIE S, CHIONG E. The incidence, mortality, and risk factors of prostate cancer in Asian men[J]. *Prostate Int*, 2019, 7(1): 1-8.
- [2] 唐志柳, 白洁, 顾丽娜, 等. 2000-2010 年我国前列腺癌和乳腺癌流行状况的系统性综述[J]. *中国肿瘤*, 2013, 22(04): 260-265.
- [3] 王宁, 刘硕, 杨雷, 等. 2018 全球癌症统计报告解读[J]. *肿瘤综合治疗电子杂志*, 2019, 5(01): 87-97.
- [4] ABULA A, SHAO W, TUSONG H, et al. Protein expression information of prostate infection based on data mining[J]. *J Infect Public Health*, 2020, 13(10): 1533-1536.
- [5] GRÜNERT S C, STUCKI M, MORSCHER R J, et al. 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency: clinical, biochemical, enzymatic and molecular studies in 88 individuals[J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2012, 7: 31.
- [6] MORSCHER R J, GRÜNERT S C, BÜRER C, et al. A single mutation in MCCC1 or MCCC2 as a potential cause of positive screening for 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency[J]. *Mol Genet Metab*, 2012, 105(4): 602-606.
- [7] HOLZINGER A, RÖSCHINGER W, LAGLER F, et al. Cloning of the human MCCA and MCCB genes and mutations therein reveal the molecular cause of 3-methylcrotonyl-CoA: carboxylase deficiency[J]. *Hum Mol Genet*, 2001, 10(12): 1299-1306.
- [8] GALLARDO M E, DESVIAT L R, RODRÍGUEZ J M, et al. The molecular basis of 3-methylcrotonylglycinuria, a disorder of leucine catabolism[J]. *Am J Hum Genet*, 2001, 68(2): 334-346.
- [9] PANG J, LIU W P, LIU X P, et al. Profiling protein markers associated with lymph node metastasis in prostate cancer by DIGE-based proteomics analysis[J]. *J Proteome Res*, 2010, 9(1): 216-226.
- [10] MARQUES R B, DITS N F, ERKENS-SCHULZE S, et al. Modulation of androgen receptor signaling in hormonal therapy-resistant prostate cancer cell lines[J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e23144.
- [11] LIU Y, YUAN Z, SONG C. Methylcrotonoyl-CoA carboxylase 2 overexpression predicts an unfavorable prognosis and promotes cell proliferation in breast cancer[J]. *Biomarkers Med*, 2019, 13(6): 427-436.
- [12] JUNG C W, LEE B H, KIM J H, et al. Uneventful clinical courses of Korean patients with methylcrotonylglycinuria and their common mutations[J]. *J Hum Genet*, 2012, 57(1): 62-64.
- [13] AL-SHAMSI A, HERTECANT J L, SOUID A K, et al. Whole exome sequencing diagnosis of inborn errors of metabolism and other disorders in United Arab Emirates[J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2016, 11(1): 94.
- [14] RIPS J, ALMASHANU S, MANDEL H, et al. Primary and maternal 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency: insights from the Israel newborn screening program[J]. *J Inherit Metab Dis*, 2016, 39(2): 211-217.
- [15] ZANDBERG L, VAN DYK H C, VAN DER WESTHUIZEN F H, et al. A 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficient human skin fibroblast transcriptome reveals underlying mitochondrial dysfunction and oxidative stress[J]. *Int J Biochem Cell Biol*,

- 2016, 78: 116-129.
- [16] FICICIOGLU C, PAYAN I. 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency: metabolic decompensation in a noncompliant child detected through newborn screening[J]. *Pediatrics*, 2006, 118(6): 2555-2556.
- [17] BAUMGARTNER M R, ALMASHANU S, SUORMALA T, et al. The molecular basis of human 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency[J]. *J Clin Invest*, 2001, 107(4): 495-504.
- [18] STADLER S C, POLANETZ R, MAIER E M, et al. Newborn screening for 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency: population heterogeneity of MCCA and MCCB mutations and impact on risk assessment[J]. *Hum Mutat*, 2006, 27(8): 748-759.
- [19] YANG L, YANG J, ZHANG T, et al. Identification of eight novel mutations and transcript analysis of two splicing mutations in Chinese newborns with MCC deficiency[J]. *Clin Genet*, 2015, 88(5): 484-488.
- [20] FONSECA H, AZEVEDO L, SERRANO C, et al. 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency: mutational spectrum derived from comprehensive newborn screening[J]. *Gene*, 2016, 594(2): 203-210.
- [21] COZZOLINO C, VILLANI G R, FRISIO G, et al. Biochemical and molecular characterization of 3-methylcrotonylglycinuria in an Italian asymptomatic girl[J]. *Genet Mol Biol*, 2018, 41(2): 379-385.
- [22] STENSON P D, MORT M, BALL E V, et al. The Human Gene Mutation Database: building a comprehensive mutation repository for clinical and molecular genetics, diagnostic testing and personalized genomic medicine[J]. *Hum Genet*, 2014, 133(1): 1-9.
- [收稿日期] 2021-04-03 [修回日期] 2021-05-03
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 205 页)

得越明白,民众吃得越放心。可以通过基于实际的大规模队列研究,得出可靠结论,更有针对性。同时应推进国家大健康战略,加强科普宣传,使民众学会正确使用药食两用中药,增进民众健康水平。

【参考文献】

- [1] 夏伟,余永亮,杨红旗,等.金银花化学成分及药理作用研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2017, 45(33): 126-127, 165.
- [2] 刘玉峰,李鲁盼,马海燕,等.金银花化学成分及药理作用的研究进展[J]. *辽宁大学学报(自然科学版)*, 2018, 45(3): 255-262.
- [3] 孙继梅,郑伟,周秀珍,等.蒲公英体外抑菌活性的研究[J]. *中国误诊学杂志*, 2009, 9(11): 2542-2543.
- [4] 青杰超,林子然,莫开林.金银花和蒲公英抑菌、抗氧化以及抗紫外作用初探[J]. *四川林业科技*, 2018, 39(6): 55-57.
- [5] 石俊英,郭承军.金银花体外抗流感病毒有效部位研究[J]. *山东中医药大学学报*, 2010, 34(2): 178-180.
- [6] MA S C, DU J, BUT P P, et al. Antiviral Chinese medicinal herbs against respiratory syncytial virus[J]. *J Ethnopharmacol*, 2002, 79(2): 205-211.
- [7] 王志洁,黄铁牛.金银花在体内外抗人 I 型疱疹病毒的实验研究[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2003, 9(7): 39-43, 50.
- [8] 李永梅,李莉,柏川,等.金银花的抗腺病毒作用研究[J]. *华西药学杂志*, 2001, 16(5): 327-329.
- [9] 毛淑敏,许家珍,焦方文,等.金银花多糖对免疫低下小鼠免疫功能的影响[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2016, 18(2): 18-20.
- [10] 刘娜,李楠,邓胜胜.蒲公英金银花复合饮料的研制[J]. *运城学院学报*, 2017, 35(3): 47-49.
- [11] 徐兰,何清,宗明,等.马齿苋的抗菌作用研究进展[J]. *检验医学教育*, 2005, 12(1): 31-33.
- [12] 魏斌,蒋笑丽,章建红,等.玄参药理作用及栽培加工技术研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2017, 45(28): 127-128.
- [13] 俞静静,陈素红,吕圭源.玄参“凉血滋阴”药效相关研究概况[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2007, 13(9): 63-66.
- [14] 王国玉,王璐,王玮,等.马齿苋水提取物抗炎作用研究[J]. *河北医学*, 2014, 20(11): 1866-1868.
- [15] 张百胜,王艳萍,曹发昊.马齿苋饼干的制作及营养成分测定[J]. *食品研究与开发*, 2014, 35(13): 62-65.
- [16] 魏晓露,彭成,万峰.广藿香醇体外抗呼吸道病毒作用研究[J]. *中药药理与临床*, 2013, 29(1): 26-29.
- [17] 徐雯,王楠,丁浩然,等.广藿香对湿阻中焦证大鼠胃肠功能的影响[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(23): 4649-4655.
- [18] 周梦玲,袁厚宇,吴素玲.麦冬多糖对脂多糖诱导巨噬细胞损伤的保护作用及机制研究[J]. *药学与临床研究*, 2019, 27(6): 416-420.
- [19] 赵嘉,吕圭源,陈素红.石斛“性味归经”的相关药理学研究进展[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2009, 19(6): 388-390.
- [20] 邱世翠,李波清,彭新国,等.黄芪对小鼠淋巴细胞增殖和IL-2产生的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2000, 10(6): 5-11.
- [21] 张克,牛国顺,邓莉,等.鲜芦根水提物对小鼠细胞免疫功能的影响[J]. *中医研究*, 2016, 29(10): 68-70.
- [22] 张明发,沈雅琴.红景天苷对肺和呼吸道保护作用的研究进展[J]. *抗感染药学*, 2015, 12(5): 641-644.
- [23] 路志正.流感防治方药[J]. *中国中医急症*, 1999, 8(1): 5.
- [24] 国家卫生健康委办公厅.新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)[J]. *心肺血管病杂志*, 2020, 39(2): 103-107.
- [25] 刘龙,岳小强,王丽娜,等.辟秽防疫香囊预防流行性感冒的疗效及其免疫调节机制[J]. *中西医结合学报*, 2010, 8(10): 949-954.
- [26] 陈华,王进军,贺贤丽.中药香囊干预社区居民感冒的疗效观察[J]. *湖北中医杂志*, 2013, 35(12): 18-19.
- [收稿日期] 2020-09-08 [修回日期] 2020-03-16
[本文编辑] 李睿旻