



淫羊藿次苷 II 体外抗乙型肝炎病毒的作用及对线粒体分裂的影响*

刘正芸¹, 文娟¹, 陈国丽¹, 于万¹, 罗果¹, 龚其海², 王欢^{1△}

1. 遵义医科大学贵州省普通高等学校传染病与生物安全特色重点实验室(遵义 563000);

2. 遵义医科大学基础药理教育部重点实验室暨特色民族药教育部国际合作联合实验室(遵义 563000)

【摘要】目的 探讨淫羊藿次苷 II (icariside, ICS II) 体外抗乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)的作用及对线粒体分裂的影响。**方法** 采用HBV阳性的肝癌细胞HepAD38作为细胞模型, CCK8法检测ICS II的细胞毒性, ELISA和荧光定量PCR法检测ICS II以及ICS II联合恩替卡韦(entecavir, ENT)作用细胞后乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)、乙型肝炎病毒E抗原(HBeAg)的分泌水平和HBV DNA拷贝量; 使用激光共聚焦显微镜和透射电子显微镜观察ICS II对细胞线粒体形态和运动的影响; 采用Western blot分析ICS II作用后细胞线粒体动力学相关关键蛋白的表达水平; 采用荧光染色法评估ICS II对细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成的影响。**结果** CCK8结果显示ICS II 25 μmol/L作用72 h对细胞增殖无明显影响; ICS II显著抑制细胞HBsAg(抑制率54.90%)和HBeAg(抑制率39.65%)的分泌水平($P < 0.05$), ICS II对细胞HBV DNA拷贝量的抑制率为15.19%, ENT对细胞HBV DNA拷贝量的抑制率为34.11%, ICS II联合ENT后对HBV DNA拷贝量的抑制率为55.81%($P < 0.05$); ICS II诱导HepAD38细胞线粒体变短, 增强线粒体运动($P < 0.05$); 促进线粒体运动相关蛋白Mfn1、Fis1及p-Drp1(ser 616)表达升高($P < 0.05$), Mfn2、Drp1及Drp1(ser 637)表达无明显变化($P > 0.05$); 抑制HepAD38细胞中ROS的产生($P < 0.05$)。**结论** ICS II抑制HepAD38细胞中HBV的复制, 其机制可能与促进细胞线粒体分裂和抑制ROS的产生有关。

【关键词】 乙型肝炎病毒 淫羊藿 线粒体

Icariside II Inhibits Hepatitis B Virus and Modulates Mitochondrial Fission *in vitro*

LIU Zhengyun¹, WEN Juan¹, CHEN Guoli¹, YU Wan¹, LUO Guo¹, GONG Qihai², WANG Huan^{1△}. 1. Key Laboratory of Infectious Disease & Biosafety, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China; 2. Key Laboratory of Basic Pharmacology of Ministry of Education and Joint International Research Laboratory of Ethnomedicine of Ministry of Education, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China

△ Corresponding author, E-mail: wanghuan928@163.com

[Abstract] Objective To investigate the *in vitro* anti-hepatitis B virus (HBV) effects of icariside II (ICS II) and its impact on mitochondrial fission. **Methods** HBV-positive hepatocellular carcinoma HepAD38 cells were used as the cellular model. The cytotoxicity of ICS II was assessed via CCK8 assay. The secretion levels of HBV surface antigen (HBsAg) and HBV e antigen (HBeAg), as well as HBV DNA copy numbers, were measured by ELISA and qPCR after treatment with ICS II alone or ICS II in combination with entecavir (ENT). The effects of ICS II on mitochondrial morphology and motility were observed using confocal laser scanning microscopy and transmission electron microscopy (TEM). After ICS II treatment, Western blot was performed to analyze the expression levels of key proteins involved in mitochondrial dynamics. Additionally, intracellular reactive oxygen species (ROS) production was evaluated via fluorescence staining. **Results** The CCK8 assay results showed that ICS II treatment at 25 μmol/L had no significant effect on cell proliferation after 72 h. ICS II significantly inhibited the secretion levels of HBsAg and HBeAg, with the respective inhibition rates reaching 54.90% and 39.65% ($P < 0.05$). Additionally, ICS II alone reduced HBV DNA copy numbers by 15.19%, while ENT alone achieved a 34.11% inhibition rate. Notably, ICS II in combination with ENT reduced HBV DNA copy numbers by 55.81% ($P < 0.05$). Furthermore, ICS II induced mitochondrial shortening and enhanced mitochondrial motility in HepAD38 cells ($P < 0.05$). ICS II significantly increased the expression levels of mitochondrial motility-related proteins, including Mfn1, Fis1, and phosphorylated Drp1 (ser 616) ($P < 0.05$), while no significant changes were observed in the expression levels of Mfn2, total Drp1, or Drp1 (ser 637) ($P > 0.05$). Additionally,

* 贵州省教育厅项目[No. 黔教技[2022]027号]、贵州省高层次创新型人才培养计划——“百”层次人才[No. 黔科合平台人才[2016]5684号]和遵义市科技计划项目[No. 遵市科合HZ字[2020]76号]资助

△ 通信作者, E-mail: wanghuan928@163.com

出版日期: 2025-03-20

ICS II significantly suppressed the production of intracellular ROS in HepAD38 cells ($P < 0.05$). **Conclusion** ICS II inhibits HBV replication in HepAD38 cells, and the underlying mechanism may be associated with the promotion of mitochondrial fission and suppression of ROS production.

[Key words] Hepatitis B virus Epimedium herb Mitochondria

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是严重影响公共卫生与人类健康的全球性问题^[1],目前临床常用的抗HBV药物如恩替卡韦(entecavir, ENT)、阿德福韦等尽管具有较好的抗病毒复制作用,但也存在耐药及停药反弹等副作用,因此对抗HBV药物及相关机制的研究具有重要现实意义。

线粒体是真核细胞内重要的细胞器,恒定的线粒体分裂和融合对线粒体及宿主细胞功能的实现至关重要^[2-3]。大量研究表明:线粒体动力学参与包括肿瘤、神经系统疾病、病毒感染在内的多种疾病的发病机制,动力学失衡可触发线粒体功能障碍,影响宿主细胞功能^[4-5]。线粒体动力学机制在不同的病毒致病中发挥不同的作用,如:丙型肝炎病毒诱导线粒体裂变,抑制细胞凋亡以增强病毒的持久感染性^[6],寨卡病毒引发的神经元凋亡与线粒体碎片化相关^[7],在HBV感染的宿主细胞中,HBx蛋白通过促进线粒体分裂和自噬,以对抗HBV诱导的细胞凋亡^[8]。

淫羊藿是贵州省道地中药材,其提取物或复方制剂具有多种药理活性,包括对HBV的抑制作用^[9]。淫羊藿次苷Ⅱ(icaraside II, ICS II)是淫羊藿的主要代谢产物,现有研究显示 ICS II 主要通过抗炎、抗氧化、抗凋亡等在肿瘤、心血管、神经系统疾病以及勃起功能障碍等方面发挥重要作用^[10-11]。同时,ICS II 能通过促进线粒体融合,抑制线粒体分裂缓解小鼠心肌梗死^[11],说明HBV和ICS II 都与线粒体运动关系密切,ICS II 可能通过调节线粒体分裂融合发挥抗HBV的活性。本研究分析了ICS II 在HepAD38细胞中抗HBV的效应以及抗病毒时线粒体形态和特征的改变,旨在为ICS II 作为抗HBV的药物研发提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞、药品和试剂

HBV阳性肝癌细胞HepAD38由本实验室保存; ICS II(粉剂,纯度 $\geq 98\%$;溶剂为DMSO,最高浓度为0.1%)购自南京新厚生物技术有限公司; ENT分散片购自江西青丰制药有限公司(溶剂为PBS);乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)检测试剂盒、乙型肝炎病毒e抗原(HBeAg)检测试剂盒购自广州中山生物公司;HBV DNA定量检测试剂盒购自广州达安基因公司;MitoTracker Deep Red染料和Fis1抗体购自美国Invitrogen公司;Opal1、Mfn2、Drp1、p-

Drp1(ser 616)抗体购自美国CST公司;Mfn1抗体购自美国Santa Cruz公司;p-Drp1(ser 637)抗体购自美国Abcam公司; β -actin抗体购自北京Solarbio公司;活性氧(reactive oxygen species, ROS)Brite™570试剂购自美国AAT bioquest公司。

1.2 细胞培养

HepAD38细胞在含有10%FBS、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 四环素、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ G418、1%链霉素和1%青霉素的DMEM高糖培养基中,放入37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数为5% CO_2 培养箱中培养。

1.3 CCK8法检测细胞增殖

HepAD38细胞接种于96孔板,1 $\times 10^4$ /孔,24 h后加入不同浓度ICS II(0、5、10、15、20、25、30、35 $\mu\text{mol}/\text{L}$),72 h后每孔加入10 μL CCK-8试剂,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育2 h,全波长酶标仪在450 nm处测量每孔吸光度值并计算细胞存活率。存活率(%)=($A_{\text{实验组}} - A_{\text{空白组}}$) / ($A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}}$) $\times 100\%$ 。

1.4 ELISA法检测细胞HBsAg和HBeAg的分泌水平

设置对照组、不同浓度ICS II(10、15、20 $\mu\text{mol}/\text{L}$)组、ENT组(20 $\mu\text{mol}/\text{L}$)和ICS II(20 $\mu\text{mol}/\text{L}$)+ENT(20 $\mu\text{mol}/\text{L}$)组。HepAD38细胞接种于6孔板,5 $\times 10^5$ /孔,24 h后按实验分组加入不同浓度的ICS II或ENT,72 h后收集细胞培养上清液,ELISA法检测上清中HBsAg和HBeAg的分泌水平,具体操作按试剂盒说明书进行。抑制率(%)=($\text{OD}_{\text{对照组}} - \text{OD}_{\text{实验组}}$) / $\text{OD}_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。

1.5 荧光定量PCR法检测细胞HBV DNA拷贝量

实验分组同1.4。HepAD38细胞接种于6孔板,5 $\times 10^5$ /孔,24 h后按实验分组加入不同浓度的ICS II或ENT,72 h后收集细胞培养上清液,荧光定量PCR法检测上清中HBV DNA拷贝量,具体操作按试剂盒说明书进行并计算抑制率。抑制率(%)=(对照组DNA拷贝量-实验组DNA拷贝量)/对照组DNA拷贝量 $\times 100\%$ 。

1.6 激光共聚焦显微镜观察细胞线粒体形态和运动

HepAD38细胞接种于20 mm玻璃底细胞培养皿,2 $\times 10^5$ /孔,24 h后分别加入0、20 $\mu\text{mol}/\text{L}$ ICS II作用72 h,37 $^{\circ}\text{C}$ 预热的DMEM培养基清洗细胞2次,在细胞中加入500 μL 200 nmol/L MitoTracker Deep Red工作液,37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育30 min,37 $^{\circ}\text{C}$ 预热的DMEM培养基清洗细胞6次,激光共聚焦显微镜下拍照记录线粒体形态和运动。

1.7 透射电子显微镜观察细胞线粒体形态

HepAD38细胞接种于10 cm^2 细胞培养皿,1 $\times 10^6$ /孔,

24 h后分别加入0、20 $\mu\text{mol/L}$ ICS II作用72 h后收集细胞沉淀, 2.5%戊二醛溶液固定2 h, PBS清洗, 1%锇酸固定1 h, 梯度乙醇在室温下脱水, 包埋于epon812树脂中, UC-7超微切片机进行切片, 2%醋酸铀酰染色30 min, 透射电子显微镜观察并采集图像。

1.8 蛋白免疫印迹检测线粒体运动相关蛋白的表达

设置对照组、不同浓度ICS II (10、15、20 $\mu\text{mol/L}$)组。HepAD38细胞接种于6孔板, 5×10^5 /孔, 24 h后加入不同浓度的ICS II作用72 h, RIPA裂解液提取总蛋白并进行BCA定量, SDS-PAGE电泳, 随后将蛋白转移到PVDF膜上, 5%BSA室温封闭1 h, 一抗4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 次日1 \times TBST洗膜6次, 每次5 min, 二抗室温孵育2 h, 1 \times TBST再次清洗后用ECL发光液显影, 使用Image J软件分析灰度值, 以目的条带与内参条带灰度值的比值作为目的蛋白的相对表达量。

1.9 激光共聚焦显微镜观察细胞中ROS的水平

HepAD38细胞以 2×10^5 /孔接种于20 mm玻璃底细胞培养皿, 24 h后分别加入0、20 $\mu\text{mol/L}$ ICS II作用72 h, 37 $^{\circ}\text{C}$ 预热的DMEM培养基清洗细胞, 500 μL 5 $\mu\text{mol/L}$ ROS Brite™570在37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育30 min, 37 $^{\circ}\text{C}$ 预热的DMEM培养基清洗细胞6次, 激光共聚焦显微镜下观察并记录细胞ROS水平。

1.10 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。所有数据均采用SPSS 29.0软件进行分析, 两组间比较采用配对样本 t 检验。多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA), 组间两两比较采用LSD检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ICS II在HepAD38细胞中抑制HBV的复制

采用CCK8法评估ICS II的细胞毒性, ICS II (0、5、10、15、20、25、30、35 $\mu\text{mol/L}$)处理细胞72 h, 结果显示在 ≤ 25 $\mu\text{mol/L}$ 时, ICS II对细胞活力无明显影响(图1A)。20 $\mu\text{mol/L}$ ICS II对HBsAg[抑制率(54.90 \pm 1.58)%]和HBeAg[抑制率(39.65 \pm 12.88)%]的分泌水平表现出明显的抑制作用, ENT对HBsAg和HBeAg的抑制率分别为(40.10 \pm 22.23)%和(64.83 \pm 5.08)%, 20 $\mu\text{mol/L}$ ICS II联合ENT处理后对HBsAg和HBeAg的抑制率分别为(66.50 \pm 1.85)%和(80.51 \pm 2.24)%; 联合用药组HBsAg抑制率高于ENT组, HBeAg抑制率高于20 $\mu\text{mol/L}$ ICS II组(均 $P < 0.05$)。20 $\mu\text{mol/L}$ ICS II对HBV DNA拷贝量的抑制率为(15.90 \pm 34.02)%, ENT对HBV DNA拷贝量的抑制率为(34.11 \pm 25.57)%, ICS II联合ENT后抑制率为(55.81 \pm 27.33)%。

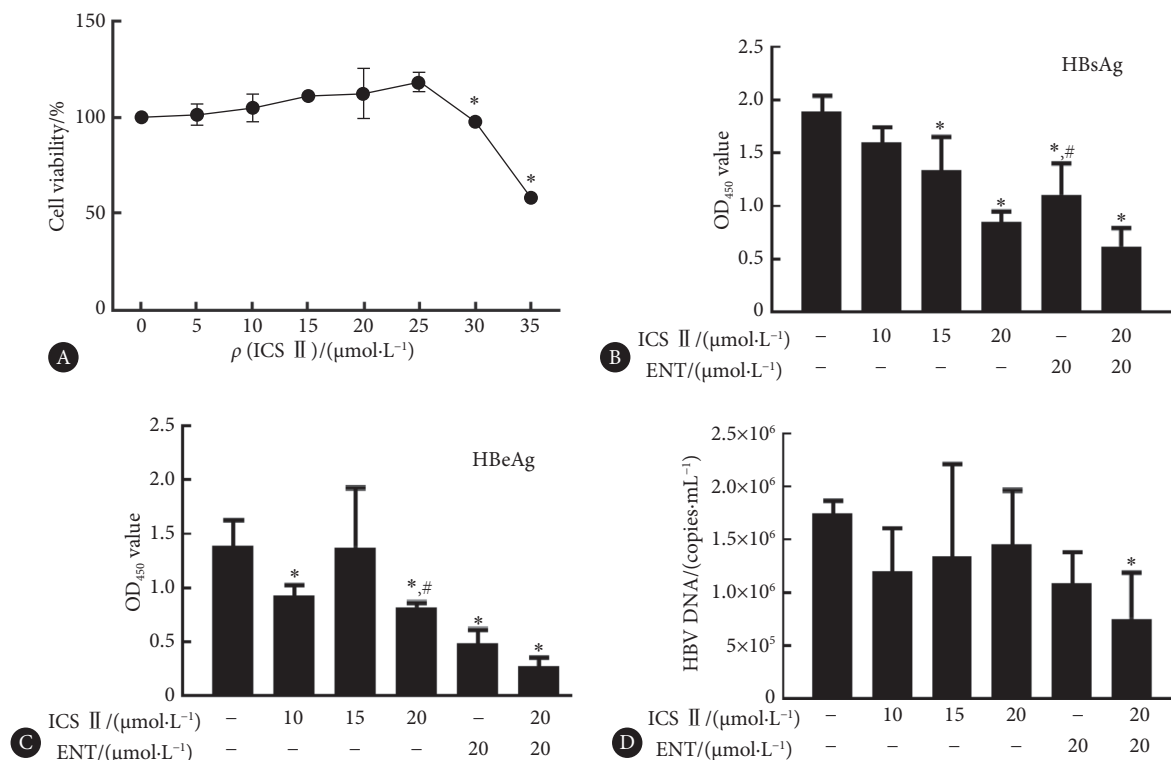


图1 ICS II对HepAD38细胞中HBV复制的影响

Fig 1 The effect of ICS II on HBV replication in HepAD38 cells

A, CCK8 assay performed to evaluate cell viability ($n = 4$); B, the level of HBsAg ($n = 3$); C, the level of HBeAg ($n = 3$); D, the level of HBV DNA copies ($n = 3$). * $P < 0.05$, vs. control group (without ICS II or ENT). # $P < 0.05$, vs. 20 $\mu\text{mol/L}$ ICS II + 20 $\mu\text{mol/L}$ ENT group.

联合用药组对HBV DNA拷贝量的抑制率与单独用药组比较无明显差异($P > 0.05$) (图1B ~ 1D), 表明ICS II 在HepAD38细胞中对HBV的复制有抑制作用。

2.2 ICS II 促进HepAD38细胞线粒体分裂

采用MitoTracker Deep Red进行细胞线粒体成像, 结果显示, 0 $\mu\text{mol/L}$ ICS II 组细胞线粒体平均长度为(5.60 \pm 2.99) μm , 20 $\mu\text{mol/L}$ ICS II 组细胞线粒体平均长度为(2.51 \pm 0.42) μm , 组间差异有统计学意义($P < 0.05$), 且20 $\mu\text{mol/L}$ ICS II 组形态上表现出更多线粒体结构碎片化(图2A、2C), 这一发现也得到了透射电镜结果的支持

(图2B、2D), 透射电镜中红色箭头所指为细胞线粒体, 其线粒体平均长度由0 $\mu\text{mol/L}$ ICS II 组的(0.74 \pm 0.50) μm 变为20 $\mu\text{mol/L}$ ICS II 组的(0.46 \pm 0.25) μm , 组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。结果提示: ICS II 诱导HepAD38细胞线粒体变短, 促进线粒体分裂。

2.3 ICS II 增强HepAD38细胞线粒体运动

课题组采用x-t扫描模式观察线粒体的运动(图3A), 通过计算在扫描范围内75 s内出现运动的线粒体百分比来量化线粒体移动的程度。0 $\mu\text{mol/L}$ ICS II 组运动线粒体的平均百分比为(71.31 \pm 18.92)%, 20 $\mu\text{mol/L}$ ICS II

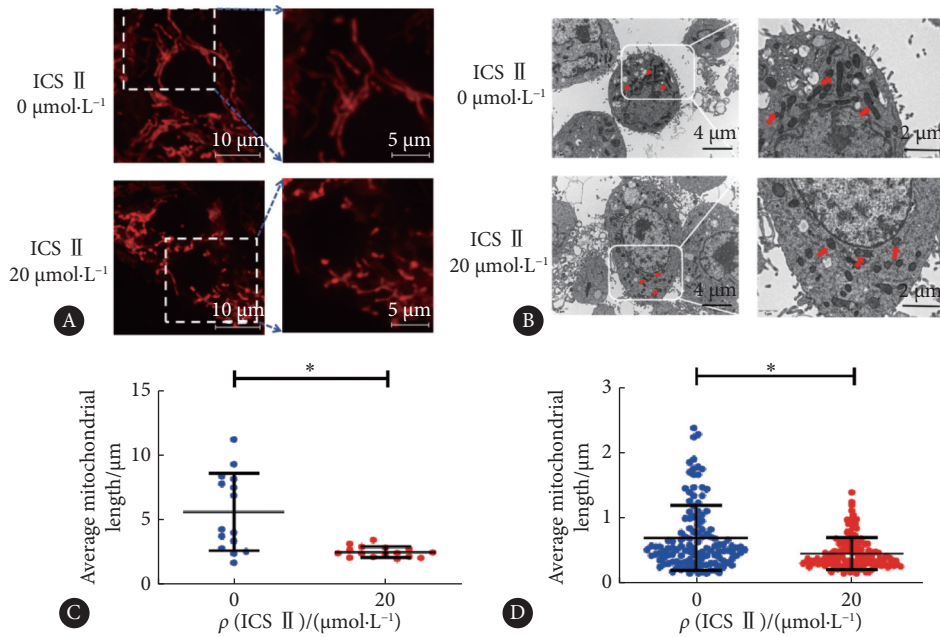


图 2 ICS II 对HepAD38细胞线粒体形态的影响

Fig 2 Effect of ICS II on mitochondrial morphology in HepAD38 cells

A, The cells were stained with MitoTracker Deep Red; B, TEM images (red arrows show mitochondrion); C, quantitative analysis of MitoTracker Deep Red staining ($n = 15$); D, quantitative analysis of TEM ($n = 103$). * $P < 0.05$.

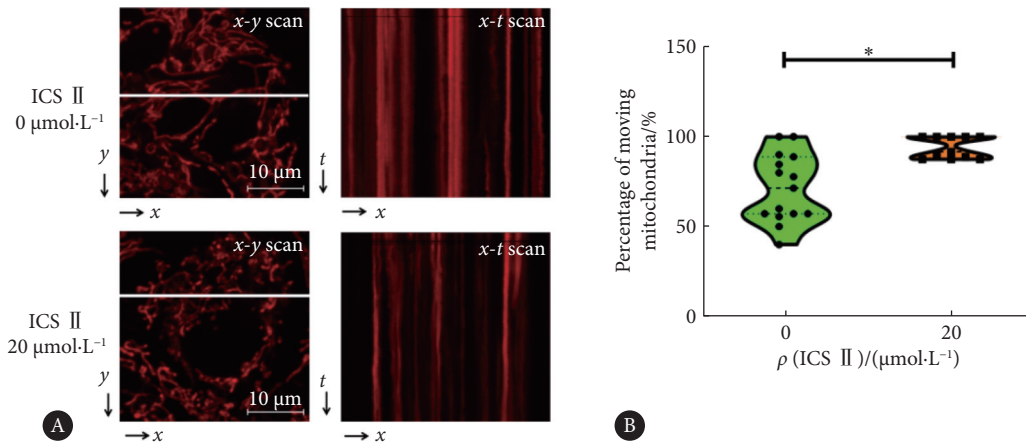


图 3 ICS II 对HepAD38细胞线粒体运动的影响

Fig 3 Effect of ICS II on mitochondrial motility in HepAD38 cells

A, x-t line scan; B, quantitative analysis of x-t line scan ($n = 11$). * $P < 0.05$.

组运动线粒体的平均百分比为(93.91±5.95)%, 组间差异有统计学意义($P < 0.05$), 结果表明ICS II显著增加了细胞线粒体运动的数量(图3B), 说明ICS II增强HepAD38细胞线粒体运动。

2.4 ICS II 促进HepAD38细胞中线粒体运动相关蛋白表达升高

采用ICS II (0、10、15、20 $\mu\text{mol/L}$)处理HepAD38细胞72 h, Western blot检测线粒体运动相关蛋白Drp1、p-

Drp1(ser 616)、p-Drp1(ser 637)、Fis1、Opa1、Mfn1和Mfn2的表达。和0 $\mu\text{mol/L}$ ICS II相比, 20 $\mu\text{mol/L}$ ICS II促进Mfn1、Fis1及p-Drp1(ser 616)表达升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。Mfn1的表达虽有升高, 但结合形态学结果, 线粒体分裂蛋白的表达更占优势。Mfn2和Opa1表达有升高趋势, 但差异无统计学意义。Drp1及p-Drp1(ser 637)表达无明显变化(图4)。结果表明ICS II促进HepAD38细胞中线粒体分裂相关蛋白表达升高。

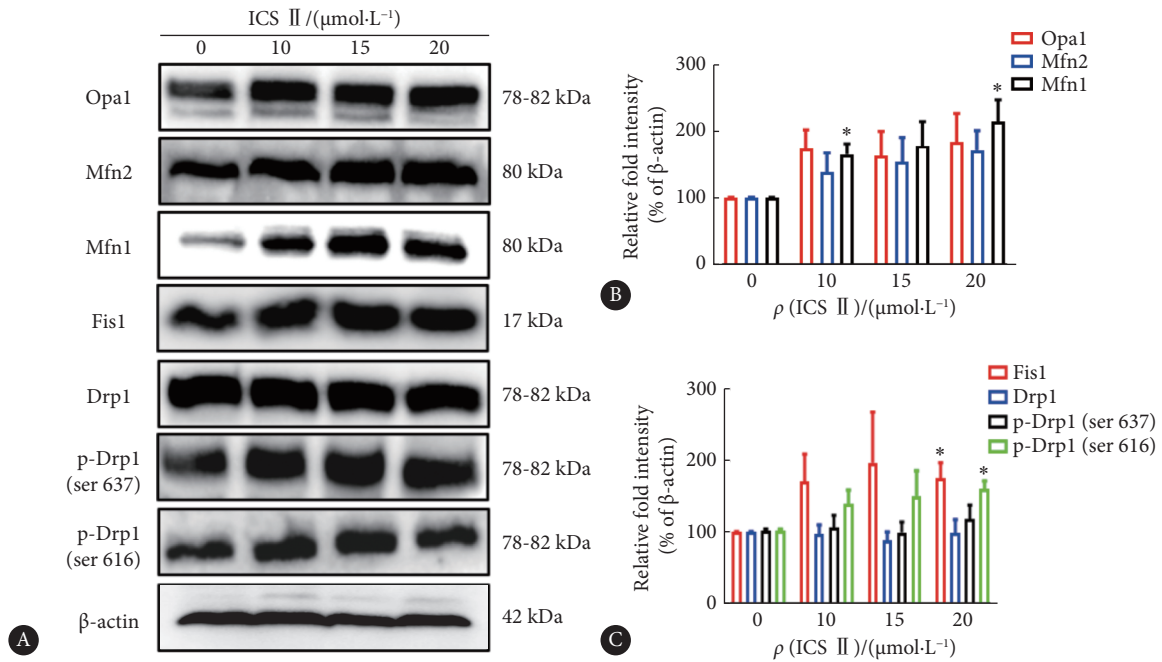


图4 ICS II 对HepAD38细胞线粒体运动相关蛋白表达的影响

Fig 4 Effect of ICS II on the expression of mitochondrial motility-related proteins in HepAD38 cells

A, Western blot; B and C, quantitative analysis of Western blot ($n = 3$). * $P < 0.05$, vs. control group (0 $\mu\text{mol/L}$ ICS II).

2.5 ICS II 抑制HepAD38细胞中ROS的产生

通过ROS Brite™ 570染色对细胞内ROS的水平进行评估, 如图5所示, 0 $\mu\text{mol/L}$ ICS II组荧光强度为38.51±14.48, 20 $\mu\text{mol/L}$ ICS II组荧光强度为29.65±10.40, 组间差异有统计学意义($P < 0.05$), ICS II明显降低HepAD38细胞中ROS的荧光强度, 提示ICS II能抑制HepAD38细胞中ROS的产生。

3 讨论

目前, 全球HBV慢性感染者约2.96亿, 每年约82万人死于HBV感染所致肝衰竭、肝硬化和肝细胞癌等相关疾病^[12]。目前临床使用的药物(干扰素和核苷酸类似物)存在一定的副作用, 如应答率低、耐药及停药反弹等, 故寻求新型抗HBV药物显得尤为重要。本研究发现ICS II能有效抑制HepAD38细胞中HBsAg和HBeAg的分泌水平和HBV DNA拷贝量, 且和ENT联用后有明显的协同作用。

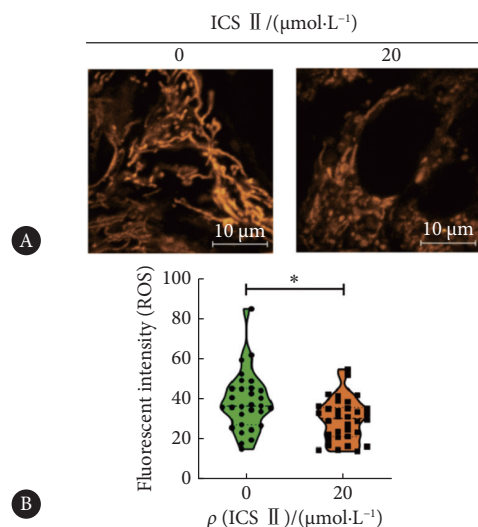


图5 ICS II 对HepAD38细胞中ROS的影响

Fig 5 Effect of ICS II on ROS production in HepAD38 cells

A, ROS Brite™ 570 stain; B, quantitative analysis of ROS Brite™ 570 stain ($n = 30$). * $P < 0.05$.

线粒体作为一个重要的细胞器,研究表明其在病毒复制中发挥了重要作用,这为抗病毒研究提供了一个新的途径^[13-14]。研究表明流感病毒能诱导线粒体延长,而线粒体碎片激活因子Mito-C可通过抑制其延长从而抑制病毒复制^[15]。Mito-C也可以通过减弱线粒体融合抑制登革热病毒的复制^[16]。HBV可以通过线粒体分裂和线粒体吞噬维持线粒体平衡,抑制病毒诱导的细胞凋亡,促进细胞存活和病毒的持久性感染^[8],当有外界因素破坏了这种平衡,病毒的复制则会受到影响。作为淫羊藿主要代谢产物的ICS II,研究发现其在小鼠心肌梗死模型中可通过促进线粒体融合,抑制线粒体分裂而缓解小鼠心肌梗死^[11]。那么,ICS II在发挥抑制HBV复制的效应时,线粒体动态平衡是否参与其中呢?

课题组采用MitoTracker Deep Red探针标记HepAD38细胞的线粒体,观察ICS II处理前后线粒体形态变化,结果表明ICS II促进HepAD38细胞线粒体变短,呈现更多的碎片化,这一结果得到透射电子显微镜结果的支持,提示ICS II可以增强线粒体分裂或减弱线粒体融合。同时,ICS II作用后细胞线粒体运动显著增加,表明ICS II促进HepAD38细胞的线粒体运动。

线粒体依赖于线粒体分裂和融合之间的相互转化达到动态平衡,一些关键蛋白参与这个过程^[17]。Drp1、p-Drp1(ser 616)和Fis1促进线粒体分裂,p-Drp1(ser 637)、Opa1、Mfn1和Mfn2促进线粒体融合^[18-19]。本研究发现ICS II对HepAD38细胞内p-Drp1(ser 616)、Fis1和Mfn1蛋白表达有明显影响,对drp1、p-Drp1(ser 637)、Mfn2和Opa1蛋白表达影响不明显,提示ICS II主要通过促进HepAD38细胞线粒体分裂而破坏线粒体动力学平衡,紊乱的线粒体动力学可能触发线粒体功能障碍,影响机体正常功能^[20]。

近年来研究表明,ROS在调节机体各个水平的生物学功能上都是必不可少的,并认为在疾病治疗尝试中不能简单地清除它们,而应该调节它们。线粒体是ROS产生的主要场所,也是ROS作用的重要靶点。ROS在线粒体中主要调节细胞氧化还原平衡和线粒体结构之间的联系,其过量会引发氧化应激等一系列级联反应。研究表明HBV感染能诱导ROS累积^[21],而ICS II在2型糖尿病和缺血性卒中等其他疾病模型中有明显的抗氧化作用^[22-24]。和以往研究结果一致,本研究也发现ICS II对HepAD38细胞内ROS的产生有抑制作用。

本研究发现ICS II具有抗HBV的效应,但ICS II只是传统中药淫羊藿的主要活性成分之一,其他活性成分是否具有相同甚至更优的抗病毒活性尚不可知。关于机制

的研究也仅仅是发现ICS II能影响HepAD38细胞的线粒体形态和ROS的产生水平,尚无直接证据说明ICS II通过影响细胞线粒体或ROS发挥作用,课题组后期会进一步深入相关的机制研究。

综上所述,本研究证明ICS II抑制HepAD38细胞HBV的复制,其机制可能与促进细胞线粒体分裂和抑制ROS的产生有关。本研究为ICS II抗HBV的研究提供了更多的理论依据,也为中药淫羊藿产业的持续发展起到一定的推动作用。

* * *

作者贡献声明 刘正芸负责论文构思、数据审编、正式分析、调查研究、研究项目管理、监督指导、验证和初稿写作,文娟、陈国丽和于万负责审读与编辑写作,罗果负责提供资源和审读与编辑写作,龚其海负责经费获取、提供资源和审读与编辑写作,王欢负责论文构思、经费获取、提供资源、监督指导和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

Author contribution LIU Zhengyun is responsible for conceptualization, data curation, formal analysis, methodology, project administration, supervision, validation, and writing--original draft. WEN Juan, CHEN Guoli, and YU Wan are responsible for writing--review and editing. LUO Guo is responsible for resources and writing--review and editing. GONG Qihai is responsible for funding acquisition, resources, and writing--review and editing. WANG Huan is responsible for conceptualization, funding acquisition, resources, supervision, and writing--review and editing. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Declaration of conflicting interests All authors declare no competing interests.

参 考 文 献

- [1] 李君,邓旭平,王晨.富马酸替诺福韦酯与恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎的疗效及其对炎症因子的影响. *川北医学院学报*, 2022, 37(7): 928-931. doi: 10.3969/j.issn.1005-3697.
LI J, DENG X P, WANG C. Comparison of efficacy of tenofovir disoproxil fumarate and entecavir in the treatment of chronic hepatitis B and their effects on inflammatory factors. *Journal of North Sichuan Medical College*, 2022, 37(7): 928-931. doi: 10.3969/j.issn.1005-3697.
- [2] 张婉枫,刘正芸,王盛羽,等.肠道病毒71型对人神经胶质瘤U251细胞线粒体动力学的影响. *四川大学学报(医学版)*, 2020, 51(2): 159-164. doi: 10.12182/20200360201.
ZHANG W L, LIU Z Y, WANG S Y, et al. Effects of enterovirus 71 on mitochondrial dynamics in human glioma U251 cells. *J Sichuan Univ (Med Sci Edi)*, 2020, 51(2): 159-164. doi: 10.12182/20200360201.
- [3] 赵江宇,郭兴.线粒体功能障碍与亨廷顿. *中山大学学报(医学科学版)*, 2024, 45(6): 941-952. doi: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ.
ZHAO J Y, GUO X. Mitochondrial dysfunction and Huntington's disease. *Journal of Sun Yat-Sen University (Medical Sciences)*, 2024, 45(6): 941-952. doi: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ.
- [4] KHAN S, RAJ D, JAISWAL K, et al. Modulation of host mitochondrial dynamics during bacterial infection. *Mitochondrion*, 2020, 53(1): 140-149. doi: 10.1016/j.mito.2020.05.005.

- [5] CHAN D C. Mitochondrial dynamics and its involvement in disease. *Annu Rev Pathol*, 2020, 15: 235-259. doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032711.
- [6] KIM S J, SYED G H, KHAN M, *et al.* Hepatitis C virus triggers mitochondrial fission and attenuates apoptosis to promote viral persistence. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(17): 6413. doi: 10.1073/pnas.1321114111.
- [7] YANG S, GORSHKOV K, LEE E M, *et al.* Zika virus-induced neuronal apoptosis via increased mitochondrial fragmentation. *Front Microbiol*, 2020, 11: 598203. doi: 10.3389/fmicb.2020.598203.
- [8] KIM S J, KHAN M, QUAN J, *et al.* Hepatitis B virus disrupts mitochondrial dynamics: induces fission and mitophagy to attenuate apoptosis. *PLoS Pathog*, 2013, 9(12): e1003722. doi: 10.1371/journal.ppat.1003722.
- [9] 郑艳芳, 赵旭, 曹梦珍, 等. 淫羊藿醇提物体外对乙型肝炎病毒抑制作用及机制探析. *中国新药杂志*, 2023, 32(14): 1458-1466. doi: 10.3969/j.issn.1003-3734.
- ZHENG Y F, ZHAO X, CAO M Z, *et al.* Inhibitory effect and mechanism of Epimedium Foliom ethanol extract on hepatitis B virus *in vitro*. *Chin J New Drug*, 2023, 32(14): 1458-1466. doi: 10.3969/j.issn.1003-3734.
- [10] ZHENG Y, DENG Y, GAO J M, *et al.* Icariside II inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation and amyloid production in rat astrocytes by regulating IKK/I κ B/NF- κ B/BACE1 signaling pathway. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(2): 154-162. doi: 10.1038/s41401-019-0300-2.
- [11] LI Y, FENG L, XIE D, *et al.* Icariside II mitigates myocardial infarction by balancing mitochondrial dynamics and reducing oxidative stress through the activation of Nrf2/SIRT3 signaling pathway. *Eur J Pharmacol*, 2023, 956: 175987. doi: 10.1016/j.ejphar.2023.175987.
- [12] 贾楠, 肖飞, 周娟, 等. 交叉置换扩增联合纳米生物传感器检测乙肝病毒方法的建立与应用. *遵义医科大学学报*, 2023, 46(7): 704-711. doi: 10.14169/j.cnki.zunyixuebao.2023.0100.
- JIA N, XIAO F, ZHOU J, *et al.* Development and application of multiple cross displacement amplification coupled with label-based gold nanoparticles lateral flow biosensor for detection of hepatitis B virus. *Journal of Zunyi Medical University*, 2023, 46(7): 704-711. doi: 10.14169/j.cnki.zunyixuebao.2023.0100.
- [13] LEE J, OU J J. Hepatitis C virus and intracellular antiviral response. *Curr Opin Virol*, 2022, 52: 244-249. doi: 10.1016/j.coviro.2021.12.010.
- [14] PROULX J, PARK I W, BORGMANN K. Cal'MAM'ity at the endoplasmic reticulum-mitochondrial interface: a potential therapeutic target for neurodegeneration and human immunodeficiency virus-associated neurocognitive disorders. *Front Neurosci*, 2021, 15: 715945. doi: 10.3389/fnins.2021.715945.
- [15] PILA-CASTELLANOS I, MOLINO D, MCKELLAR J, *et al.* Mitochondrial morphodynamics alteration induced by influenza virus infection as a new antiviral strategy. *PLoS Pathog*, 2021, 17(2): e1009340. doi: 10.1371/journal.ppat.1009340.
- [16] MOLINO D, PILA-CASTELLANOS I, MARJAULT H B, *et al.* Chemical targeting of NEET proteins reveals their function in mitochondrial morphodynamics. *EMBO Rep*, 2020, 21(12): e49019. doi: 10.15252/embr.201949019.
- [17] QUINTANA-CABRERA R, SCORRANO L. Determinants and outcomes of mitochondrial dynamics. *Mol Cell*, 2023, 83(6): 857-876. doi: 10.1016/j.molcel.2023.02.012.
- [18] SIDARALA V, ZHU J, LEVI-D'ANCONA E, *et al.* Mitofusin 1 and 2 regulation of mitochondrial DNA content is a critical determinant of glucose homeostasis. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 2340. doi: 10.1038/s41467-022-29945-7.
- [19] SMIRNOVA E, GRIPARIC L, SHURLAND D L, *et al.* Dynamin-related protein Drp1 is required for mitochondrial division in mammalian cells. *Mol Biol Cell*, 2001, 12: 2245-2256. doi: 10.1091/mbc.12.8.2245.
- [20] 孙铭辰, 赵翠荣, 卢翠翠, 等. 线粒体功能障碍在糖尿病肾病足细胞脂代谢中作用的研究现状. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(17): 2601-2605. doi: 10.13699/j.cnki.1001-6821.
- SUN M C, ZHAO C R, LU C C, *et al.* Research status on the role of mitochondrial dysfunction in lipid metabolism in podocytes with diabetic kidney disease. *Chin J Clin Pharmacol*, 2024, 40(17): 2601-2605. doi: 10.13699/j.cnki.1001-6821.
- [21] POPA G L, POPA M I. Oxidative stress in chronic hepatitis B-an update. *Microorganisms*, 2022, 10(7): 1265. doi: 10.3390/microorganisms10071265.
- [22] GAO J, MA C, XIA D, *et al.* Icariside II preconditioning evokes robust neuroprotection against ischaemic stroke, by targeting Nrf2 and the OXPHOS/NF- κ B/ferroptosis pathway. *Br J Pharmacol*, 2023, 180: 308-329. doi: 10.1111/bph.15961.
- [23] LI Y, LI Y, CHEN N, *et al.* Icariside II exerts anti-type 2 diabetic effect by targeting PPAR α / γ : involvement of ROS/NF- κ B/IRS1 signaling pathway. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(9): 1705. doi: 10.3390/antiox11091705.
- [24] WU X, WEI J, YI Y, *et al.* Epimedium aqueous extract ameliorates cerebral ischemia/reperfusion injury through inhibiting ROS/NLRP3-mediated pyroptosis. *Antioxidants (Basel)*, 2023, 12(5): 999. doi: 10.3390/antiox12050999.

(2024-11-12收稿, 2025-02-18修回)

编辑 余琳



开放获取 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用4.0国际许可协议(CC BY-NC 4.0), 详细信息请访问

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

OPEN ACCESS This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

© 2025 《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of Journal of Sichuan University (Medical Sciences)