

灵芝体外抑制猴免疫缺陷病毒作用的研究

余雄涛¹, 谢意珍¹, 李婷², 梁耀光¹, 蔡勉华¹, 彭涛², 王弋^{2*}, 潘鸿辉^{1*}

(1. 广东省微生物研究所, 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广东省微生物应用新技术公共实验室, 广东粤微食用菌技术有限公司, 广州 510663; 2. 中国科学院广州生物医药与健康研究院, 广州 510530)

[摘要] 目的:对灵芝孢子水提物(AEGLS)进行体外抗猴免疫缺陷病毒(SIV)活性分析并对其作用机制进行初步研究。方法:300 TCID₅₀的 SIV 病毒稀释液和 AEGLS 稀释液同时加入到 CEM × 174 细胞(CEM T 淋巴细胞和 174 B 淋巴细胞杂交细胞)中培养 4 d 后计数合胞体数量并进行统计,研究 AEGLS 抗 SIV 活性。利用不同加药时间点实验、作用阶段分析实验、Western blot 对其作用机制进行初步分析。结果:AEGLS 具有良好的抗 SIV 活性,其半数抑制浓度 IC₅₀为(466.62 ± 20.21) mg · L⁻¹,并且其细胞毒性较低,半数细胞毒性浓度 CC₅₀为(3.13 ± 0.11) g · L⁻¹,选择指数为 6.71。抗 SIV 机制研究显示 AEGLS 主要作用在 SIV 病毒感染的早期阶段,与抑制 SIV 病毒的吸附或者穿透细胞有关,Western blot 实验显示 AEGLS 能降低 SIV 衣壳蛋白 P27(SIV P27)的表达水平。结论:AEGLS 具有良好的抗 SIV 作用,其主要作用在 SIV 病毒感染的早期阶段,与抑制 SIV 病毒的吸附或者穿透细胞有关,并且能降低 SIV P27 衣壳蛋白的表达水平。

[关键词] 猴免疫缺陷病毒; 灵芝孢子水提物; 抗病毒活性; 作用机制
[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)13-0173-05
[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120504.1208.014.html>
[网络出版时间] 2012-05-04 12:08

Study on Effects of Inhibition of *Ganoderma lucidum* on Simian Immunodeficiency Virus *in vitro*

YU Xiong-tao¹, XIE Yi-zhen¹, LI Ting², LIANG Yao-guang¹, CAI Mian-hua¹,
PENG Tao², WANG Yi^{2*}, PAN Hong-hui^{1*}

(1. Guangdong Institutes of Microbiology, Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangdong Yuwei Edible Fungi Technology Co., Ltd., Guangzhou 510663, China;
2. Guangzhou Institutes of Biomedicine and Health, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510530, China)

[Abstract] **Objective:** This paper presents the effects of anti simian immunodeficiency virus (SIV) of the aqueous extract from *Ganodorma lucidum* spores (AEGLS) by using SIVmac and CEM × 174 cells as a model *in vitro*, and the mechanism were preliminarily studied. **Method:** The inhibitory effects of AEGLS on SIV were observed when SIV and CEM × 174 system were employed as the models, and the mechanism of action were preliminarily studied by using time course assay, effective stage analysis, Western blot. **Result:** AEGLS had a remarkable anti-SIV activity. The IC₅₀ (50% inhibitory concentration) of AEGLS was (466.62 ± 20.21) mg · L⁻¹, and it was low cytotoxicity which its CC₅₀ (50% cellular cytotoxicity) was (3.13 ± 0.11) g · L⁻¹ and selection index was 6.71. The results of anti-SIV mechanism showed AEGLS main acted on the early stage of SIV infection, and might contribute to affect the SIV attachment and/or penetration into the cells. The results of

[收稿日期] 20120114(011)
[基金项目] 广东省中国科学院全面战略合作项目(2009B091300139);高新技术产业化项目(2010A010500007)
[第一作者] 余雄涛,研究助理,从事食药真菌研究及开发工作,Tel: 020-32059602-605
[通讯作者] * 王弋,Tel:020-32015254,E-mail:wang_yi@gibh.ac.cn
* 潘鸿辉,Tel:020-32058019,E-mail:phhganlanlv@yahoo.com.cn

Western blot showed AEGLS could decrease SIV P27 capsid protein expression level. **Conclusion:** AEGLS had a remarkable anti-SIV activity and is main acted on the early stage of SIV infection, and might contribute to affect the SIV attachment and/or penetration into the cells, and could decrease SIV P27 capsid protein expression level.

[**Key words**] simian immunodeficiency virus; *Ganoderma lucidum*; antiviral activity; mechanisms of action

艾滋病,即获得性免疫缺陷综合征(AIDS)是由人免疫缺陷病毒(HIV)感染引起的全身免疫缺陷性疾病,是当今社会危害最大的疾病之一,目前尚无有效的治疗方法^[1]。虽然近年来高效抗逆转录病毒疗法(HAART)明显提高了艾滋病的临床疗效,但这类药物主要是逆转录酶抑制剂和整合酶抑制剂,虽然对 HIV 有较强抑制作用,但是由于 HIV 具有高度变异性,且药物作用环节单一,易出现耐药性,毒副作用大及价格昂贵等缺点,所以不能有效控制 AIDS 的迅速蔓延^[2]。理想的抗 AIDS 药物应该在有效抑制 HIV 复制的同时对机体免疫功能具有保护作用,且毒副作用低^[1,3]。因此尽快寻找到有效的抗 HIV 药物是迫在眉睫的研究课题。猴免疫缺陷病毒(simian immunodeficiency virus, SIV)与 HIV 同属慢病毒亚科,亲缘关系较为密切,吴小闲等^[4]的实验表明,SIV 可用于模拟抗 HIV 药物的筛选。

灵芝 *Ganoderma lucidum* 是一类大型真菌,属于担子菌纲,多孔菌科,灵芝属。灵芝作为一味名贵中药用于益气强身、扶正祛邪。近年来的研究表明,灵芝具有调节免疫^[5]、抗肿瘤^[6]、抗病毒^[7]等作用。灵芝由于它潜在的药效且服用非常安全广泛地被人们认可,因而在中国或亚洲的其他一些国家有着广泛地应用^[8-10]。

本实验以猴免疫缺陷病毒 SIVmac 和 CEM × 174 细胞系统为模型,研究了灵芝孢子水提物体外抗 SIV 活性,并对其作用机制进行了初步研究。

1 材料

1.1 药品及制备 取全灵芝破壁孢子粉(广东粤微食用菌技术有限公司,采用专利酶法破壁技术制得) CO₂ 超临界萃取后的灵芝孢子于 50 ℃ 烘干后,按料液比 1:10,于 90 ℃ 水浴中恒温 3 h,浓缩干燥,用 1640 培养基溶解至 10 g·L⁻¹,用 0.22 μm 的无菌过滤器过滤得到灵芝孢子水提物,下面均简称 AEGLS(aqueous extract from *G. lucidum* spores)。

1.2 细胞、病毒株 CEM × 174 细胞:来源于美国菌种保藏中心(ATCC),为 CEM T 淋巴细胞和 174 B 淋巴细胞杂交细胞,培养条件为含有 10% 胎牛血清

(FBS)、1% 双抗的 1640 培养基。SIV 病毒来源于美国菌种保藏中心(ATCC)。

1.3 试剂 RPMI 1640 (Gibco 产品),胎牛血清(FBS, Hyclone),噻唑蓝(MTT, Sigma 产品),PVDF 膜(Abcam 公司),HRP 标记的 GAPDH 抗体(上海康想生物科技有限公司),HRP 标记的羊抗鼠抗体(Chemicon 公司),P27 抗体为本实验室自制。

1.4 仪器 Thermo Forma 3110 型 CO₂ 培养箱(Thermo 公司),Olympus IX71 型显微镜(Olympus 公司),SYNERGY HT 多功能微孔板检测仪(Bito-tek 公司)。

2 方法

2.1 药物对细胞毒性测定 取对数生长期的 CEM × 174 细胞以 2 × 10⁴ 个/孔的密度接种到 96 孔细胞培养板,加入用 RPMI 1640 培养基稀释好的 AEGLS,使其药物终浓度为 7.5,5,2.5,1.25,0.625,0.312 5 g·L⁻¹,同时设置 RPMI 1640 培养基溶剂对照。置 37 ℃,5% CO₂ 培养箱中培养 4 d 后用 MTT 法检测吸光度(A₄₉₀)计算细胞活力,按照如下公式计算各浓度的抑制率,利用 SPSS19 的 probit regression 计算样品对细胞的半数毒性浓度(CC₅₀)。

$$\text{抑制率} = (\text{对照孔 } A_{490} - \text{给药孔 } A_{490}) / \text{对照孔 } A_{490} \times 100\%$$

2.2 AEGLS 的抑制合胞体形成作用 取对数生长期的 CEM × 174 细胞以 2 × 10⁴ 个/孔的密度接种到 96 孔细胞培养板,同时加入 300 TCID₅₀ 的 SIV 病毒稀释液和无细胞毒性系列浓度的 AEGLS 稀释液,使其终质量浓度为 2 000,1 000,500,250,125,62.5 mg·L⁻¹。置 37 ℃,5% CO₂ 培养箱中培养 4 d 后计数每孔产生的合胞体数量。按照如下公式计算抑制率,利用 SPSS 19 的 probit regression 计算样品的半数抑制浓度(IC₅₀)。

$$\text{抑制率} = (\text{对照孔合胞体数量} - \text{给药孔合胞体数量}) / \text{对照孔合胞体数量} \times 100\%$$

2.3 不同加药时间点实验 取对数生长期的 CEM × 174 细胞以 2 × 10⁴ 个/孔的密度接种到 96 孔细胞培养板,在 300 TCID₅₀ SIV 病毒感染前 2.5 h (-2.5 h),感染时(0 h),感染后 2.5,5,7.5,10 h

加入终质量浓度为 500 mg·L⁻¹ 的 AEGLS,并设病毒对照。37 ℃ 作用 2 h 后,离心洗去药物及游离病毒,培养 4 d,计数每孔产生的合胞体数量,并统计其各加药时间点抑制率。

2.4 作用阶段分析实验 用托盘盛冰,将细胞分为 3 组,在冰上进行以下操作:①按每孔接种 300 TCID₅₀ 的 SIV 病毒感染 CEM × 174 细胞,4 ℃ 吸附 1.5 h 后,吸弃 SIV 病毒液,培养液洗 1 遍,加入 AEGLS 梯度稀释液,4 ℃ 作用 1.5 h 后,转至 37 ℃ 培养 4 d 后计数每孔合胞体数量。②AEGLS 梯度稀释液在 4 ℃ 与 CEM × 174 细胞作用 1.5 h 后,吸弃药液,培养液洗 1 遍,加入 300 TCID₅₀ SIV 病毒液,4 ℃ 放置 1.5 h 后,培养液洗 1 遍,加入维持液后转至 37 ℃ 培养 4 d 后计数每孔合胞体数量。③AEGLS 梯度稀释液与 300 TCID₅₀ SIV 病毒在 4 ℃ 作用 1.5 h 后,加到 CEM × 174 细胞上,4 ℃ 放置 1.5 h 后,培养液洗 1 遍,加入培养液后转至 37 ℃ 培养 4 d 后计数合胞体数量。

2.5 Western blot 取对数生长期的 CEM × 174 细胞以 7 × 10⁵ 个/孔的密度接种到 6 孔细胞培养板,同时加入 300 TCID₅₀ SIV 病毒液和 AEGLS 稀释液,并设置 SIV 病毒孔对照和阴性对照,培养 24 h 后收集细胞进行 Western blot 检测。

3 结果

3.1 药物对细胞毒性测定 细胞毒性测定结果(表 1)显示,AEGLS 在 1.25 g·L⁻¹ 质量浓度下没有出现细胞毒性,用 SPSS19 统计其 CC₅₀ 为 (3.13 ± 0.11) g·L⁻¹。

表 1 AEGLS 对 CEM × 174 细胞毒性测定 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	终质量浓度/g·L ⁻¹	A	抑制率/%
细胞对照	—	0.897 ± 0.012	—
AEGLS	7.5	0.134 ± 0.011 ²⁾	85.12
	5	0.135 ± 0.008 ²⁾	85.06
	2.5	0.628 ± 0.006 ²⁾	29.85
	1.25	0.874 ± 0.014	2.56
	0.625	0.882 ± 0.004	1.98
	0.3125	0.897 ± 0.005	1.96

注:与细胞对照组比较¹⁾ P < 0.05,²⁾ P < 0.01。

3.2 AEGLS 的抑制合胞体形成作用 AEGLS 抑制合胞体形成实验结果(表 2)表明 AEGLS 对 SIV 具有良好的抑制作用,能明显减少 CEM × 174 细胞因感染 SIV 形成合胞体的数量,并呈一定浓度依赖性,其半数抑制浓度 IC₅₀ 为 (466.62 ± 20.21 mg·L⁻¹, 治

疗指数(半数细胞毒性浓度 CC₅₀/半数抑制浓度 IC₅₀) 为 6.71。

表 2 AEGLS 抑制合胞体形成作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	终质量浓度 /mg·L ⁻¹	合胞体数量 /个	抑制率 /%
病毒对照	—	57.34 ± 1.55	—
AEGLS	2 000	11.63 ± 3.07 ²⁾	79.85
	1 000	21.93 ± 3.15 ²⁾	61.82
	500	27.23 ± 2.17 ²⁾	52.65
	250	34.38 ± 3.63 ²⁾	40.17
	125	36.04 ± 5.14 ²⁾	37.27
	62.5	54.06 ± 1.77	5.80

注:与病毒对照组比较¹⁾ P < 0.05,²⁾ P < 0.01。

3.3 AEGLS 对 SIV 病毒感染早期阶段的抑制作用 不同加药时间点实验结果(表 3)显示在加入病毒 2.5 h 前加入药物其抑制活性比同时加入和 SIV 病毒感染不同时间段后加入都要高,并且随着加药时间点的延迟其抑制率越来越低,在加入 SIV 病毒 10 h 后加入 AEGLS 其抑制率只有 20% 左右,显著低于加入 SIV 病毒前 2.5 h 加药组,因此 AEGLS 主要作用在 SIV 病毒感染的早期阶段。

表 3 AEGLS 对 SIV 病毒感染早期阶段的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

加药时间点/h	抑制率/%
-2.5	60.45 ± 4.51
0	46.38 ± 5.30 ²⁾
2.5	37.46 ± 2.44 ²⁾
5	32.32 ± 4.55 ²⁾
7.5	22.73 ± 6.31 ²⁾
10	20.85 ± 5.29 ²⁾

注:与加入病毒 2.5 h 前加入药物组比¹⁾ P < 0.05,²⁾ P < 0.01。

3.4 AEGLS 抑制 SIV 病毒进入细胞 作用阶段分析实验结果显示(见表 4),在 A 组和 C 组处理中系列浓度的 AEGLS 均表现出良好的抗 SIV 作用,并呈现出浓度依赖性,而 B 组处理中各浓度的 AEGLS 都没有抑制 SIV 的作用。综合 A,B,C 3 种不同方式的处理结果,AEGLS 可能主要是通过抑制 SIV 病毒的吸附或者穿透细胞从而抑制 SIV 进入细胞来实现抑制 SIV 的作用。

3.5 AEGLS 降低 SIV 衣壳蛋白 P27 的表达水平 结果(图 1)显示 AEGLS 具有降低 SIV 衣壳蛋白 P27 的表达水平,并出现浓度依赖性,其在较低浓度 125 mg·L⁻¹ 下具有降低 SIV 衣壳蛋白 P27 的表达水平。

4 讨论

最理想的抗 HIV 药物筛选办法是采用 HIV 和

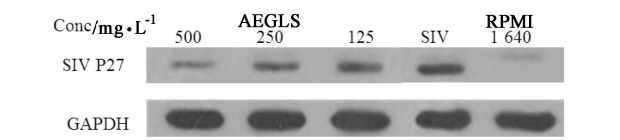


图 1 AEGLS 对 SIV 衣壳蛋白 P27 表达水平的影响

表 4 作用阶段分析实验 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

作用阶段	组别	终浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	合胞体数量/个	抑制率/%
A	病毒对照	—	60.63 ± 3.78	—
	AEGLS	250	$35.87 \pm 5.38^{2)}$	40.82
		500	$26.96 \pm 4.69^{2)}$	55.53
		1 000	$21.02 \pm 5.08^{2)}$	65.35
B	病毒对照	—	65.54 ± 5.56	—
	AEGLS	250	62.14 ± 5.45	5.12
		500	62.08 ± 6.12	5.21
		1 000	60.05 ± 4.23	8.32
C	病毒对照	—	57.45 ± 3.23	—
	AEGLS	250	$32.60 \pm 5.43^{2)}$	43.25
		500	$24.56 \pm 4.45^{2)}$	57.24
		1 000	$18.02 \pm 3.89^{2)}$	68.66

注：与病毒对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

T 细胞系统,但是 HIV 危险性大,需要在严格的 P3 实验室内操作,因此,国内外也探索危险性小、条件要求相对较宽容的一些反转录病毒代替 HIV 进行药物筛选^[4]。且至今还未见有经 SIV 实验室操作感染人而致病的报道,因而使用 SIV 模型系统筛选药物具有良好的安全性。尽管 SIV 感染与 HIV 感染的发病机制、临床表现等有差异,但 SIV 和 HIV 同属于逆转录病毒科慢病毒亚科,有较高的核苷酸序列同源性^[11-12],具有相同的生活周期,在病毒学、宿主的免疫应答及免疫病理等方面均与 HIV 感染导致的病变极为相似,因而使用 SIV 模型系统筛选药物具有良好的可靠性^[3]。国内也已有学者将 SIV 的模型系统用作抗艾滋病药物筛选、病原学及 AIDS 疫苗的研究^[13]。

作者前期研究工作已证明了全灵芝破壁孢子粉水提物具有抗 SIV 活性(数据未列出),全灵芝破壁孢子粉经过 CO₂超临界萃取后的灵芝孢子用水提取后进行抗 SIV 活性分析,比较发现经过 CO₂超临界萃取后的灵芝孢子的水提物(AEGLS)具有更佳的抗 SIV 活性,可能原因是由于 CO₂超临界萃取过程中去除掉一些饱和脂肪酸和饱和烷醇类物质,而这些物质没有抑制 SIV 活性的功能。AEGLS 体外对 SIV 具有良好的抑制作用,通过统计合胞体数量

评价样品抗 SIV 活性,其 IC₅₀ 为 $(466.62 \pm 20.21) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,并且细胞毒性较低,CC₅₀ 为 $(3.13 \pm 0.11) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。为了阐明 AEGLS 的抗 SIV 病毒作用机制,我们进行了不同加药时间点实验、作用阶段分析实验和 Western blot 实验。不同加药时间点实验结果显示,在加入病毒 2.5 h 前加入药物其抑制活性比同时加入和 SIV 病毒感染不同时间后加入都要高,并且随着加药时间的延迟其抑制率越来越低,说明 AEGLS 主要作用在 SIV 病毒感染的早期阶段。结合作用阶段分析实验中的 A,B,C 3 种不同处理方式的结果,AEGLS 主要的靶标可能是抑制 SIV 病毒的吸附或者穿透细胞,而吸附和穿透寄主细胞是病毒进入细胞的重要过程。P27 是 SIV 的衣壳蛋白,Western blot 实验结果在蛋白水平上揭示 AEGLS 降低了 P27 的表达水平从而直接反应出其对 SIV 的抑制作用。

然而,具体是何种成分起主要作用,有待下一步的深入研究。总之,AEGLS 对 SIV 具有明显抑制作用,其作用机制与干扰病毒与细胞的吸附或者穿透有关,有望成为一类新型的抗艾滋病药物或者免疫制剂。

[参考文献]

[1] 辛现良,耿美玉,李桂玲,等. 海洋硫酸多糖 911 体外对 HIV-1 作用的研究[J]. 中国海洋药物, 2000, 75(3):8.

[2] Moore J P, Stevenson M. New targets for inhibitors of HIV-1 replication[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2000, 1(1): 40.

[3] 贺竹梅,张奉学,邓文娣,等. 大豆皂甙复合物抑制猴免疫缺陷病毒活性的观察[J]. 应用与环境生物学报, 1998, 4(4): 383.

[4] 吴小闲,何伏秋,涂新明,等. 应用 SRV-1 和 SIV 靶病毒建立模拟抗人免疫缺陷病毒药物筛选方法的研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 1993, 7(3): 230.

[5] Zhang J, Tang Q J, Martin Z K, et al. Activation of B lymphocytes by GLIS, a bioactive proteoglycan from *Ganoderma lucidum* [J]. Life Sciences, 2002, 71(6): 623.

[6] Wang S, Hsu H H, Tzeng C H, et al. The antitumor effect of *Ganoderma lucidum* is mediated by cytokines released from activated Macrophages and T lymphocytes [J]. Int J Cancer, 1997, 70(6): 699.

[7] Kim Y S, Eo S K, Oh K W, et al. Antiherpetic activities of acidic protein bound polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* alone and in combinations with interferons[J]. J Ethnopharmacol, 2000, 72(3): 451.

四乙酰葛根素抗炎作用及机制研究

李恒华, 陈国庆, 张毅, 张莉, 罗超利, 杨大坚*
(重庆市中药研究院, 重庆 400065)

[摘要] 目的:探讨四乙酰葛根素的抗炎作用并初步研究其作用机制。方法:将雄性 SD 大鼠随机分为正常对照组、模型组和四乙酰葛根素高、中、低剂量(80,40,20 mg·kg⁻¹)组以及吲哚美辛(5 mg·kg⁻¹)组,四乙酰葛根素尾 iv 给药 4 d,末次给药 30 min 后予以造模,观察四乙酰葛根素对角叉菜胶所致大鼠急性足肿胀、炎性组织中前列腺素 E₂(PGE₂)和血清中肿瘤坏死因子 α(TNF-α)、白介素 1β(IL-1β)含量的影响。结果:四乙酰葛根素(80 mg·kg⁻¹)能明显抑制模型大鼠的足肿胀($P < 0.01$),降低肿胀足爪组织中 PGE₂($P < 0.05$)及血清中 TNF-α($P < 0.05$),IL-1β($P < 0.05$)的含量。结论:四乙酰葛根素可能通过影响炎性因子释放而起到抑制大鼠炎性足肿胀的作用。

[关键词] 四乙酰葛根素; 抗炎; 前列腺素 E₂; 肿瘤坏死因子-α; 白介素 1β

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)13-0177-04

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120504.1252.044.html>

[网络出版时间] 2012-05-04 12:52

Study on the Anti-inflammation Effects and Mechanism by Tetra-acetylated Puerarin

LI Heng-hua, CHEN Guo-qing, ZHANG Yi, ZHANG Li, LUO Chao-li, YANG Da-jian*
(Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China)

[Abstract] **Objective:** To study the anti-inflammation effects of tetra-acetylated puerarin and its mechanism. **Method:** Male rats were randomly divided into normal control group, model group, tetra-acetylated puerarin high, middle and low dose (80, 40, 20 mg·kg⁻¹) group, and indomethacin (5 mg·kg⁻¹) group. Tetra-acetylated puerarin was given by injection for 4 days, and the model was established at 30 min after last

[收稿日期] 20111111(008)
[基金项目] 重庆市科技攻关项目(2007AB5051);国家科技部重大新药创制(2009ZX09103-150)
[第一作者] 李恒华,硕士,助理研究员,从事中药药理研究,Tel:023-89029135, E-mail: lhh8010_2002@163.com
[通讯作者] * 杨大坚,博士,研究员,从事中药化学及新药研发, Tel:023-89029081, E-mail: yangdaji@hotmail.com

[8] Sugiura M, Ito H. Toxicological studies of *Ganoderma lucidum* [J]. Tokyo Yakka Daigaku Kenkyu Nempo, 1997, 27(5): 722.

[9] Kim M J, Kim H W, Lee Y S, et al. Studies on safety of *Ganoderma lucidum* [J]. Korean Mycol, 1986, 14 (1):49.

[10] Kim K C, Kim I G. *Ganoderma lucidum* extract protects DNA from strand breakage caused by hydroxyl radical and UV irradiation [J]. Intern J Mol Med, 1999, 4 (3): 273.

[11] Chakrabarti L. Sequence of simian immunodeficiency virus from maqaque and its relationship to other human

and simian retroviruses [J]. Nature, 1987, 328 (6130): 543.

[12] Chen Z W, Luckay A, Sodora D L, et al. Human immunodeficiency virus type2 (HIV-2) seroprevalence and characterization of a distinct HIV-2 genetic subtype from the national range of simian immunodeficiency virus infected sooty mangabeys [J]. J Virol, 1997, 71 (5): 3953.

[13] 卢耀增, 吴小闲, 涂新明, 等. 猴免疫缺陷病毒 (SIV)猴模型的建立[J]. 中国实验动物学报, 1994, 2(2):94.

[责任编辑 聂淑琴]