



猪流行性腹泻病毒感染诱导的 Warburg 效应与血管紧张素转换酶 2 的表达呈负相关关系

陈雪清, 马 畅, 王公民, 王换换, 张源淑*

(南京农业大学 农业部动物生理生化重点开放实验室, 南京 210095)

摘 要: 目前, 病毒感染对宿主代谢的重塑已在多种病毒中得到研究, 猪流行性腹泻病毒(PEDV)作为一种猪肠道致病性冠状病毒, 其与宿主代谢系统之间的相互作用尚未见报道。有研究表明血管紧张素转化酶 2(ACE2)参与机体病理生理状态下的糖代谢调控, 且在抗 PEDV 感染中发挥作用。作者拟探究 PEDV 感染对仔猪肠道葡萄糖代谢的调节作用以及 ACE2 在其中的可能作用, 明确 ACE2、PEDV 感染与仔猪肠道葡萄糖代谢的相互关系。本试验以健康及 PED 仔猪为研究对象, 通过收集血液, 分离截取十二指肠、空肠和回肠组织样品, 进行如下试验: 1) 检测小肠各段组织中 PEDV M 基因及 N 基因和蛋白表达; 2) 血液中葡萄糖和乳酸等含量的检测; Western blot 检测葡萄糖转运载体 SGLT-1 和 GLUT-2 蛋白表达变化; 3) RT-qPCR 检测小肠各段组织中糖酵解及 TCA 循环途径关键酶的基因转录变化; 4) ELISA 和 Western blot 分析小肠各段组织中 Ang1-7、AngII 的含量及 ACE2、MasR 的蛋白表达; 5) Spearman 法分析 ACE2 与 PEDV 感染及糖代谢相关酶表达变化间的相关性。结果表明: 1) 腹泻仔猪空肠组织中存在 M 基因表达, 在 500~600 bp 之间出现了预期的阳性条带; PEDV-N 蛋白在仔猪十二指肠、空肠和回肠组织中均有表达, 以空肠组织中表达最高($P<0.01$); 2) 与正常健康组相比, PEDV 感染仔猪血液中葡萄糖($P<0.05$)和乳酸($P<0.01$)含量显著或极显著升高; PEDV 感染显著或极显著上调了十二指肠和空肠组织中 SGLT-1 和 GLUT-2 的蛋白表达($P<0.05$ & $P<0.01$); 3) PEDV 感染仔猪小肠组织中糖酵解关键酶 HK2、PFK、PKM 和 LDHA 基因转录水平显著升高($P<0.01$), 而 TCA 循环途径关键酶 CS、OGDH、IDH 的基因转录水平显著降低($P<0.05$ & $P<0.01$); 4) PEDV 感染仔猪小肠组织中 ACE2 和 MasR 蛋白表达极显著下调($P<0.01$); Ang1-7 含量极显著降低($P<0.01$), AngII 含量极显著升高($P<0.01$); 5) PEDV 感染与仔猪小肠组织中的 SGLT-1、GLUT-2、HK2、PKM、PFK 均呈正相关关系, 与 ACE2-Ang1-7-MasR 轴呈负相关关系。结果提示: PEDV 感染肠道组织中糖酵解途径被激活, TCA 循环途径被抑制, 同时弱化了 ACE2 介导的 ACE2-Ang1-7-MasR 通路。表现出以葡萄糖摄入和乳酸生成增加为特征的 Warburg 效应, 且 PEDV 感染诱导的仔猪肠道葡萄糖代谢重塑与 ACE2 的表达呈负相关关系。

关键词: 血管紧张素转换酶 2; 猪流行性腹泻病毒; Warburg 效应; 葡萄糖转运蛋白

中图分类号: S852.23

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2026)03-1661-12

The Negative Correlation was Observed between the Porcine Epidemic Diarrhea Virus Induced Warburg Effect and the Expression of Angiotensin-Converting Enzyme 2

CHEN Xueqing, MA Chang, WANG Gongmin, WANG Huanhuan, ZHANG Yuanshu*

(Key Laboratory of Animal Physiology and Biochemistry, Ministry of Agriculture,
Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: At present, the remodeling of host metabolism by viral infection has been studied in a

收稿日期: 2025-04-19

基金项目: 国家自然科学基金(31972640)

作者简介: 陈雪清, 硕士, 主要从事动物营养和肠道健康的研究, E-mail: chenxueqing1225@163.com

* 通信作者: 张源淑, 主要从事动物营养和肠道健康的研究, E-mail: zhangyuanshu@njau.edu.cn

variety of viruses. As a porcine intestinal pathogenic coronavirus, the interaction between porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) and host metabolic system has not been reported. Studies have shown that angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) is involved in the regulation of glucose metabolism in the pathophysiological state of the body and plays a role in anti-PEDV infection. In order to explore the regulatory effect of PEDV infection on intestinal glucose metabolism in piglets and the possible role of ACE2, the relationship between ACE2, PEDV infection and intestinal glucose metabolism in piglets was clarified. In this experiment, healthy and PED piglets were used as the research objects. By collecting blood, duodenum, jejunum and ileum tissue samples were isolated and intercepted for the following experiments: 1) The expression of PEDV *M* gene and *N* gene and protein in each segment of small intestine was detected. 2) Detection of glucose and lactic acid in blood; western blot was used to detect the expression of glucose transporter SGLT-1 and GLUT-2 protein. 3) RT-qPCR was used to detect the gene transcription of key enzymes in glycolysis and TCA cycle pathway in each intestinal segment; 4) ELISA and Western blot were used to analyze the content of Ang1-7, AngII and the protein expression of ACE2 and MasR in each intestinal segment; 5) Spearman method was used to analyze the correlation between ACE2 and PEDV infection and glucose metabolism-related enzyme expression changes. The results showed that: 1) There was *M* gene expression in the jejunum tissue of diarrhea piglets, and a positive band appeared at about 552 bp. PEDV-*N* protein was expressed in duodenum, jejunum and ileum of piglets, with the highest expression in jejunum ($P < 0.01$). 2) Compared with the normal healthy group, the contents of glucose ($P < 0.05$) and lactic acid ($P < 0.01$) in the blood of PEDV-infected piglets were significantly or extremely significantly increased; the protein expressions of SGLT-1 and GLUT-2 in duodenum and jejunum were significantly or extremely significantly up-regulated ($P < 0.05$ & $P < 0.01$). 3) The results demonstrated that the transcriptional levels of key glycolytic enzymes (*HK2*, *PFK*, *PKM*, and *LDHA*) were markedly elevated ($P < 0.01$) in the small intestinal tissues of PEDV-infected piglets, whereas those of key TCA cycle enzymes (*CS*, *OGDH*, and *IDH*) were significantly suppressed ($P < 0.05$ & $P < 0.01$).; 4) In the small intestinal tissues of PEDV-infected piglets, the protein expressions of ACE2 and MasR were significantly down-regulated ($P < 0.01$). In conjunction with these changes, the level of Ang1-7 was markedly decreased ($P < 0.01$), whereas that of AngII was considerably increased ($P < 0.01$); 5) PEDV infection was positively correlated with SGLT-1, GLUT-2, HK2, PKM and PFK in the small intestine of piglets, and negatively correlated with ACE2-Ang1-7-MasR axis. The results suggest that PEDV infection in intestinal tissues activates glycolysis and suppresses the TCA cycle, concomitant with a weakened ACE2-mediated ACE2-Ang1-7-MasR pathway. This metabolic rewiring manifests as a Warburg effect, characterized by increased glucose uptake and lactate production. Furthermore, this PEDV-induced remodeling of intestinal glucose metabolism is negatively correlated with ACE2 expression.

Keywords: angiotensin converting enzyme2; porcine epidemic diarrhea virus; Warburg effect; glucose transporters

* **Corresponding author:** ZHANG Yuanshu, E-mail: zhangyuanshu@njau.edu.cn

猪流行性腹泻病毒 (porcine epidemic diarrhea virus, PEDV) 属于冠状病毒科 α 冠状病毒属, 是一种常见的肠道致病性冠状病毒^[1]。在猪体内,

PEDV 首先在小肠上皮细胞中增殖, 最终导致整个小肠的感染。被感染的肠道细胞受损会导致细胞功能障碍和相关酶活性的降低或丧失^[2-3]。由于酶

失活导致的物质代谢的变化及营养吸收受损可导致渗透性腹泻、脱水和死亡,给养猪业造成了巨大的经济损失^[2]。

PEDV 的靶器官是小肠,其复制主要在猪小肠上皮细胞中^[4]。而病毒作为专性细胞内寄生生物,没有自己的新陈代谢,其复制完全依赖于宿主细胞代谢网络提供的能量和生物合成前体^[5-7]。为了满足复制需求,病毒进化出了不同的机制来重新编程和利用宿主细胞的新陈代谢,为自身的复制和传播建立最佳环境^[5]。目前,病毒感染对宿主代谢的改变已有研究,特别是在冠状病毒领域取得一些进展,如 Codo 等^[8]研究发现 SARS-CoV-2 感染单核细胞,其糖酵解途径被激活,且其在单核细胞中的复制可以被己糖激酶抑制剂抑制。另有研究证实,SARS-CoV-2 可以诱导并利用 Warburg 效应促进自身复制^[9]。但 Su 等^[10]研究发现猪丁型冠状病毒(porcine deltacoronavirus, PDCoV)感染诱导猪回肠上皮细胞(IPI-21)糖酵解通量降低,表现出以丙酮酸积累为特征的非 Warburg 效应。由上看出,不同病毒对宿主代谢的调节方式有所不同。确定病毒如何改变宿主细胞的代谢将有助于更深入地了解病毒的复制需求,并可能为抗病毒感染提供靶点。

血管紧张素转化酶 2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)是肾素-血管紧张素系统(RAS)中的关键调节因子,在动物体内分布广泛,已证实猪十二指肠、空肠、回肠和结肠等组织中均有表达^[11-12]。ACE2 主要通过降解 AngII,介导 Ang(1-7)-MasR 通路发挥抗炎、抗损伤等多种生物学功能^[12-14]。近些年的研究发现 ACE2 与葡萄糖代谢密切相关,并参与调控疾病过程中葡萄糖的代谢过程,以保护机体免受葡萄糖代谢异常的影响^[15]。早在 2012 年, Wong 等^[16]研究发现 ACE2 可以通过下调肠上皮细胞中 SGLT1 和 GLUT-2 的表达,预防糖尿病大鼠模型中的高血糖;而添加 MasR 或 ACE2 抑制剂则可导致葡萄糖摄取增加。2023 年 Dong 等^[17]研究发现 ACE2 是糖酵解的负调节因子,可以负向调节 Warburg 效应并通过降低 ROS-HIF1 α 活性抑制肿瘤细胞的生长。因此,ACE2 在葡萄糖的吸收和代谢过程中均发挥重要作用,显示出巨大的研究潜力,但在 PEDV 病毒感染中相关的研究尚未见报道。

本研究拟以健康和感染 PEDV 的仔猪为研究对象,采用分子生物学等多种实验技术,通过探究

PEDV 感染仔猪小肠组织糖代谢各途径以及 ACE2 等的表达变化,明确 PEDV 感染与肠道葡萄糖代谢以及 ACE2 三者之间的关系,为 ACE2-冠状病毒-物质代谢间的相互关系及感染机制等方面的进一步研究提供资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 主要试剂和仪器 血管紧张素转化酶 2(ACE2)、微管蛋白(Tubulin)抗体购自艾比玛特医药科技公司;PEDV-N 蛋白抗体购自美国 Medgenel 公司;GLUT-2 抗体购自上海埃必威生物科技有限公司;SGLT-1 抗体购自武汉华美生物工程有限公司;MasR 抗体购自英国 Abcam 公司;血管紧张素 II(Ang II)、血管紧张素 1-7(Ang1-7)ELISA 试剂盒购自上海恒远生物科技有限公司;Trizol 试剂、一步法逆转录试剂盒、RT-PCR 试剂盒和 SuperStar Universal SYBR Master Mix 预混型 qPCR 试剂盒均购自康为世纪生物科技股份有限公司等。

M-900 生物过程生化分析仪(西尔曼科技有限公司);Tecan Spark 多功能酶标仪(Tecan 公司,瑞士);RT-qPCR 仪(罗氏 LightCycler96,美国);Tanon-3900 全自动化学发光图像分析系统(Tanon 科技有限公司,中国上海)等。

1.1.2 试验动物及样品采集 本试验所用 PEDV 感染样品均由南京农业大学传染病组提供。选择 PEDV 检测结果呈阳性的 3 头雌性仔猪的血液、十二指肠、空肠和回肠组织样品,以日龄相近的 3 头健康雌性仔猪相同组织作为正常对照。

1.2 方法

1.2.1 健康及 PED 仔猪血液中葡萄糖及乳酸含量检测 分别取健康仔猪和 PED 仔猪的血液样本各 500 μ L,并立即置于西尔曼(M-900)生物过程生化分析仪中,本机采用固定化酶膜生物传感器,以及离子选择性电极对待测样品浓度进行检测。葡萄糖的浓度单位为: $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$;乳酸浓度单位为: $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.2.2 肠道组织中 PEDV M 基因的 RT-PCR 及 N 蛋白的 RT-qPCR 和 Western blot 鉴定

1.2.2.1 肠道组织总 RNA 的提取及逆转录:分别称取正常及 PED 仔猪小肠各段组织,每段约 100 mg,置于含预冷的 Trizol 试剂的离心管中彻底匀浆。Trizol 一步法提取肠道组织的总 RNA,酶标

仪测定总 RNA 的浓度。选择 A260/A280 在 1.8~2.0 以及 A260/A230 在 2.0~2.5 之间的 RNA 样品,并根据测得的总 RNA 浓度,用 DEPC 水将浓度统一至 $500 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$,一步法将 RNA 逆转录成 cDNA。

表 1 PEDV-M 及 PEDV-N 基因引物序列

Table 1 Prime sequences of PEDV-M and PEDV-N gene

基因名 Gene	基因序列号 Accession No.	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'-3')	产物 Product/bp
PEDV-M	AF353511.1	F: TTCCCGTTGATGAGGTGAT R: AAGCATTGACTGAACGACC	552
PEDV-N	AF353511.1	F: CTATGCTCAGATCGCCAGT R: GTAGATGGCCTCTTCATGCT	275

1.2.2.3 M 蛋白基因的 PCR 扩增及琼脂糖凝胶电泳鉴定:根据 Super RT One Step RT-PCR Kit 试剂盒说明书,采用一步法对 PEDV-M 基因进行 PCR 扩增,PCR 扩增体系为: $2 \times \text{SuperRT One Step Buffer}$ 12.5 μL 、 $\text{Super RT One Step Enzyme Mix}$ 0.5 μL 、PEDV M 基因上下游引物各 1 μL 、RNA 模板 1 μL ,加入无酶水 9 μL ,总反应体系体积为 25 μL 。PCR 扩增反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 2 min、94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s、72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s、72 $^{\circ}\text{C}$ 终延伸 5 min,共 30 个循环。

配制 1% 琼脂糖凝胶并依次加入 Marker、PCR 扩增产物和阳性对照,100 V 恒压电泳 30~40 min 后观察条带结果。

1.2.2.4 肠道组织中 PEDV N 蛋白基因的 qPCR 鉴定:采用荧光定量 PCR SYBR Green 染料对 PEDV 的 N 基因进行相对定量分析。反应体系为: $2 \times \text{SuperStar Universal SYBR Master Mix}$ 10 μL 、上下游引物各 0.4 μL 、cDNA 2 μL 及 ddH_2O 7.2 μL ,总反应体系体积为 20 μL 。反应程序为:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s、95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 15 s,共 40 个循环,溶解过程为 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 1 min、95 $^{\circ}\text{C}$ 1 s。每个样品设 3 个重复。反应结束后以 *GAPDH* 为内参基因,使用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法计算目的基因的相对表达量。

1.2.2.5 肠道组织中 PEDV N 蛋白的 Western blot 检测:分别称取健康和 PED 仔猪各段小肠组织各 100 mg,加入含预冷 RIPA 裂解液的离心管中充分匀浆,取上清液。BCA 试剂盒检测蛋白浓度并按照所测最低浓度统一各蛋白浓度,100 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴 10 min。蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳(120 V,90 min),湿法转印至 PVDF 膜上(1.5 $\text{mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ 、90 min),5%

1.2.2.2 引物设计:根据 NCBI GenBank 中公布的 PEDV-M、PEDV-N 基因序列,使用引物设计软件 Premier 5 设计上述基因引物(见表 1),由南京擎科生物科技有限公司合成。

脱脂奶粉液中封闭,TBST 洗涤。一抗 PEDV-N 蛋白(1:500)和 Tubulin(1:10 000)4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜。TBST 洗涤,HRP 标记的山羊抗兔或鼠 IgG 二抗(1:100 000)室温孵育。TBST 洗涤,滴加 ECL 发光液并用全自动发光成像系统显影、拍照并保存。最后使用 ImageJ 软件检测目的蛋白条带灰度值,以 Tubulin 灰度值为内参,目标蛋白灰度值与其相比得到相对表达量。

1.2.3 仔猪小肠组织 GLUT-2 及 SGLT-1 蛋白的 Western blot 检测 具体操作同“1.2.2.5”。其中 GLUT-2 一抗稀释比为 1:1 000,SGLT-1 的稀释比为 1:800。

1.2.4 仔猪小肠组织中糖代谢通路相关酶基因表达的 RT-qPCR 检测 具体操作步骤同“1.2.2”,其中糖代谢通路相关酶基因引物序列见表 2。由南京擎科生物科技有限公司合成。

1.2.5 小肠各段组织中 Ang1-7、Ang II 含量及 ACE2、MasR 蛋白表达的检测

1.2.5.1 小肠各段组织中 Ang1-7、Ang II 含量的检测:ELISA 法检测 PED 仔猪和健康仔猪十二指肠、空肠和回肠组织中 Ang II 和 Ang1-7 的含量。按 ELISA 试剂盒说明书进行。以空白孔调零,检测各孔样品 OD₄₅₀,绘制标准曲线,根据标准曲线方程计算各样本 Ang II 和 Ang1-7 的浓度(单位: $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)并进行分析。

1.2.5.2 小肠各段组织中 ACE2 和 MasR 蛋白表达的检测:具体操作同“1.2.2.5”。其中,ACE2 一抗稀释倍比为 1:1 500,MasR 的稀释倍比为 1:15 000。

1.2.6 数据统计与分析 试验所有数据通过软件 IBM SPSS statistics 26 进行单因素方差分析和独

表 2 目的基因及内参引物序列

Table2 Target gene and reference primer sequences

基因名 Gene	登录号 Accession number	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'-3')	产物/bp Product
己糖激酶 2 <i>HK2</i>	NM_001122987.1	F: GAGGAGGATGAAGGTGGAAATG R: CTGGACGATGTGGTCAAAGAG	277
丙酮酸激酶 <i>PKM</i>	XM_021099115.1	F: CTCAGCATCTTCTCACCCATC R: GTAGCCAAACACCTCCACTT	162
6-磷酸果糖激酶 <i>PFK</i>	XM_021071510.1	F: ACGAGAAGTGCCACGAATAC R: GGAGGAGTACAGGTTGTAGAGA	189
乳酸脱氢酶 <i>LDHA</i>	NM_001172363.2	F: CCTGTATGGAGCGGAGTAAATG R: CGCTTTCAGTGTTTCCTTATCT	93
柠檬酸合酶 <i>CS</i>	NM_214276.1	F: CAGAAGGAAGTCGGCAAAGA R: CCGTCCTGAGTTGAGTGATTC	75
异柠檬酸脱氢酶 <i>IDH</i>	XM_003135497.4	F: GGAACCGTGTGGCTCTAAA R: AGTGGATGACGTTGGCATAG	117
酮戊二酸脱氢酶 <i>OGDH</i>	XM_021079062.1	F: CCGGAAGCCGTTAATCATCT R: GGTGAGGTCGTAGTACACTTTG	190
甘油醛-3-磷酸脱氢酶 <i>GAPDH</i>	NM_001113445.1	F: GGTCTGGACACTGACTACTA R: GGTGACTGGGAAGTGCTTTAT	64

立样本检验分析处理,试验结果均以平均值±标准误($\bar{x} \pm s_x$)来表示。*, $P < 0.05$ 表示差异显著;**, $P < 0.01$ 表示差异极显著;采用 GraphPad Prism 10.0 软件绘制图表。

2 结 果

2.1 PEDV 的 PCR 鉴定及在仔猪各肠段组织中的表达分布

结果如图 1A 所示,与对照组相比(泳道 2),腹泻仔猪肠道组织样品在 500~600 bp 之间出现预期大小的阳性条带(泳道 1),与泳道 3 阳性对照组(PEDV-M 基因片段,552 bp)结果一致。表明腹泻仔猪肠道有 PEDV 存在。

N 蛋白在 PEDV 感染的所有阶段都高度表达,因此本试验检测了小肠各段中 PEDV-N 蛋白和 mRNA 的表达进一步探究 PEDV 在小肠各段的分布情况,结果如图 1B、C 所示,PEDV N 蛋白在仔猪十二指肠、空肠、回肠组织中均有分布,空肠中表达最高。

2.2 PEDV 感染对仔猪血液葡萄糖和乳酸含量的影响

结果如表 3 所示,与健康仔猪相比,PED 仔猪血

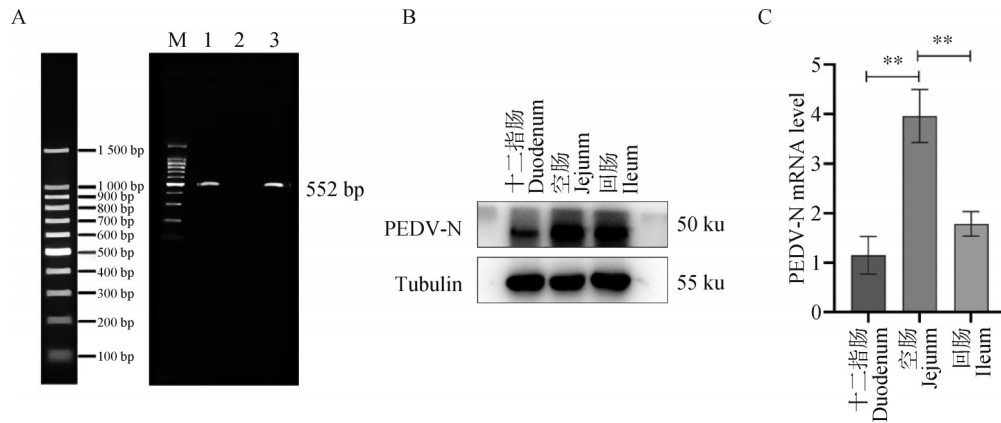
浆葡萄糖含量显著升高($P < 0.05$),乳酸含量极显著升高($P < 0.01$)。表明 PEDV 感染后仔猪小肠对葡萄糖的摄取增加,且糖酵解产物乳酸含量增加。提示:PEDV 感染仔猪肠道糖酵解途径可能被激活。

2.3 PEDV 感染对仔猪小肠组织中葡萄糖转运载体表达的影响

结果如图 2 所示,与健康仔猪相比,PED 仔猪十二指肠与空肠组织内 SGLT-1 和 GLUT-2 的表达量均极显著上调($P < 0.01$);回肠组织中 SGLT-1 表达显著上调($P < 0.05$),GLUT-2 表达极显著上调($P < 0.05$)。结果表明 PEDV 感染会上调仔猪肠道葡萄糖转运载体的表达。

2.4 PEDV 感染对仔猪小肠组织中糖酵解相关酶基因转录的影响

结果如图 3 所示。与健康仔猪相比,PED 仔猪的十二指肠、空肠、回肠组织中 *HK2*、*PKM* 及 *LDHA* 的转录均极显著上调($P < 0.01$),*PFK* 基因转录在十二指肠显著下调($P < 0.05$),而在空肠和回肠中极显著上调($P < 0.01$)。上述结果表明,PEDV 感染诱导糖酵解途径处于激活状态与其关键酶转录上调有关。



A. 健康及腹泻仔猪小肠组织样品 PEDV-M 基因的 PCR 鉴定 (M. 1 500 DNA 相对分子质量标准; 1. 腹泻仔猪小肠样品; 2. 正常仔猪小肠样品; 3. 阳性对照); B. PEDV-N 蛋白在小肠中的分布表达; C. PEDV-N 基因在小肠中的分布表达 (**, $P < 0.01$, 与其他肠段相比差异极显著)

A. PCR identification of PEDV-M gene in small intestine tissue samples of healthy and PED piglets (M. 1 500 DNA marker; 1. PED piglet small intestine samples; 2. Small intestine samples of normal piglets; 3. Positive control); B. Distribution and expression of PEDV-N protein in small intestine; C. Distribution and expression of PEDV-N gene in small intestine (**, $P < 0.01$, very significantly different compared with other intestinal segments)

图1 PEDV 的鉴定及在小肠中的表达分布

Fig. 1 Identification of PEDV and its expression distribution in the small intestine

表3 仔猪血液中葡萄糖与乳酸含量 ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Table3 Contents of glucose and lactic acid in plasma of piglets ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

分组 Group	葡萄糖含量/(mg·dL ⁻¹) Glucose content	乳酸含量/(mmol·L ⁻¹) Lactate concentration
对照组 CON group	71.33 ± 3.28	4.68 ± 0.18
PEDV 组 PEDV group	87.67 ± 4.33*	8.91 ± 0.13**

*. $P < 0.05$, 与对照组相比差异显著; **. $P < 0.01$, 与对照组相比差异极显著

*. $P < 0.05$, significantly different compared with the control group; **. $P < 0.01$, very significantly different compared with the control group

2.5 PEDV 感染对仔猪小肠组织中 TCA 循环相关酶基因转录的影响

结果如图 4 所示,与健康仔猪相比,PED 仔猪的肠道组织中柠檬酸合酶(CS)转录在十二指肠中无显著变化,在空肠和回肠中极显著下调($P < 0.01$);而酮戊二酸脱氢酶(OGDH)和异柠檬酸脱氢酶(IDH)基因转录水平在十二指肠、空肠和回肠中均显著或极显著下调($P < 0.05$ & $P < 0.01$)。上述结果表明,PEDV 感染可能抑制了 TCA 循环途径。

2.6 仔猪各肠段组织中 RAS 相关组分含量或蛋白的表达变化

2.6.1 仔猪小肠组织中 AngII 和 Ang1-7 含量的检测结果 AngII 和 Ang1-7 是 RAS 系统的重要成员。检测结果见表 4。与健康仔猪相比,PED 仔猪十二指肠、空肠和回肠组织中 Ang1-7 的含量均极显

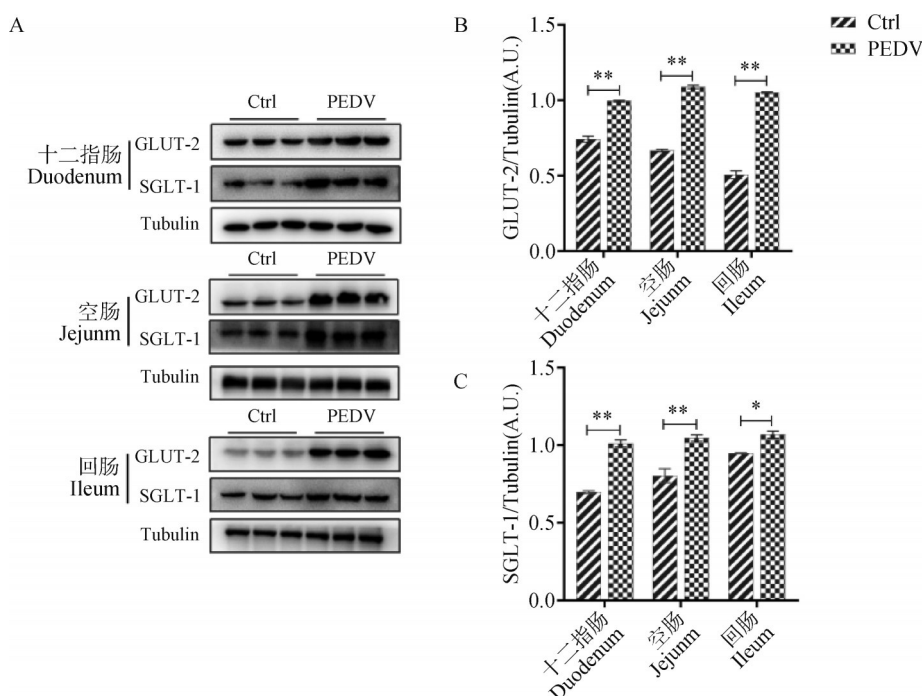
著降低($P < 0.01$),而 AngII 的含量均极显著升高($P < 0.01$)。提示:PEDV 感染导致 Ang II/Ang1-7 失衡。

2.6.2 肠道组织中 ACE2 和 MasR 蛋白表达的检测结果 结果如图 5 所示。与健康仔猪相比,PEDV 感染导致仔猪十二指肠、空肠和回肠组织中 ACE2 和 MasR 蛋白的表达均极显著下调($P < 0.01$)。

综合 Ang II 和 Ang1-7 的测定结果,表明 PEDV 感染弱化了 ACE2 介导的 ACE2-Ang1-7-MasR 通路,导致 AngII 在肠道中积累。

2.7 PEDV 感染与肠道 ACE2-Ang1-7-MasR 通路、葡萄糖转运蛋白及糖酵解关键酶蛋白表达的相关性分析

采用 Spearman 法对仔猪小肠各段组织中



A. GLUT-2 及 SGLT-1 蛋白电泳图; B. GLUT-2 蛋白表达变化; C. SGLT-1 蛋白表达变化; *. $P < 0.05$, 与对照组相比差异显著; **. $P < 0.01$, 与对照组相比差异极显著

A. GLUT-2 and SGLT-1 protein electrophoresis map; B. GLUT-2 protein expression changes; C. SGLT-1 protein expression changes; *. $P < 0.05$, significantly different compared with the control group; **. $P < 0.01$, very significantly different compared with the control group

图 2 仔猪小肠组织中 GLUT-2 和 SGLT-1 蛋白的表达变化

Fig. 2 The protein expression levels of GLUT-2 and SGLT-1 in the small intestine of piglets

PEDV-N、GLUT-2、SGLT-1、糖酵解途径关键酶以及 ACE2-Ang1-7-MasR 通路各组分的表达变化进行相关性分析,结果如图 6 所示(彩图见 OSID 开放科学数据与内容,图中蓝色表示负相关,红色表示正相关,颜色深浅表示相关性的强弱变化)。

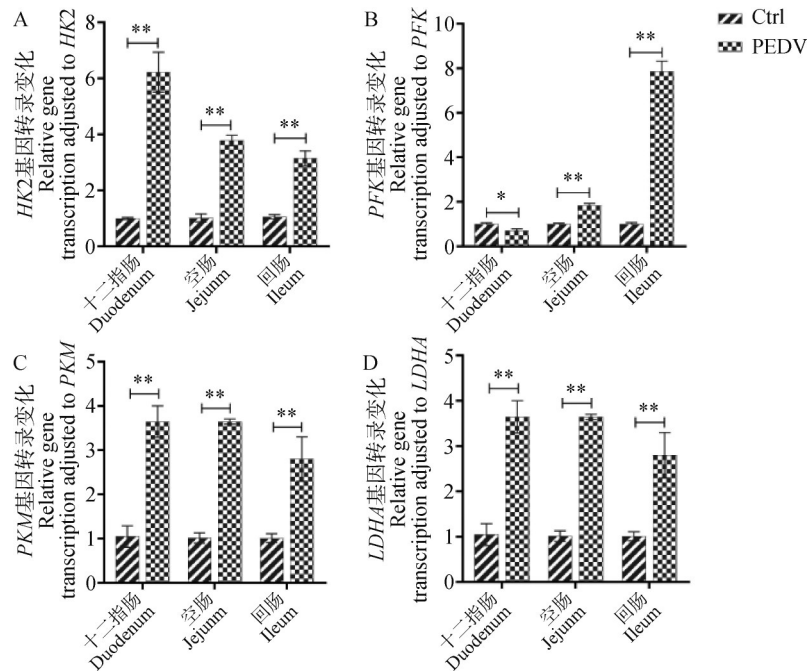
PEDV 感染与仔猪小肠组织中的 SGLT-1、GLUT-2、HK2、PKM、PFK 均呈正相关关系,与 ACE2-Ang1-7-MasR 轴呈负相关关系;SGLT-1、GLUT-2 与 ACE2 呈负相关关系,相关系数为 -0.66 和 -0.75 。此外,ACE2 与 HK2、PKM、PFK 均呈负相关关系,相关系数 -0.94 、 -0.66 和 -0.66 。以上结果提示:PEDV 感染后能促进葡萄糖摄取,正向调节糖酵解过程,且此调节过程与 ACE2-Ang1-7-MasR 通路抑制密切相关。

3 讨论

PEDV 可以感染所有年龄段的猪,且死亡率高,其中哺乳仔猪的死亡率几乎可以达到 100% ^[18]。PEDV 感染的靶器官是肠道,且对猪肠道的感染具

有明显的组织趋向性。在哺乳仔猪急性 PEDV 感染期,其十二指肠感染程度低,主要感染的是空肠和回肠^[4,18]。M 蛋白在 PEDV 囊膜中占比成分最高,在病毒组装过程中与 S 蛋白和 N 蛋白相互作用,构成了病毒包膜的整体支架,且 M 基因的遗传变异性较低^[19-20]。因此,常被作为病原鉴定的指标。本试验对获得的 PED 仔猪空肠组织样品 M 基因的表达进行了检测,在 $500 \sim 600$ bp 之间出现了预期的阳性条带,与阳性对照结果一致,确定所得腹泻仔猪样品确为 PEDV 感染。PEDV 的 N 蛋白主要存在于细胞质中,在其感染的所有阶段都高度表达,反映了 PEDV 感染的复制水平,是 PEDV 感染检测的重要指标^[21]。本试验结果发现 PEDV-N 蛋白在仔猪十二指肠、空肠、回肠组织中均有表达,且以空肠中表达最高,十二指肠中表达较低,按照 PEDV 感染的组织趋向性推测可能腹泻仔猪处于 PEDV 急性感染期。

病毒感染宿主细胞后往往会通过重塑其代谢途径为其复制提供生物合成前体和快速的能量供

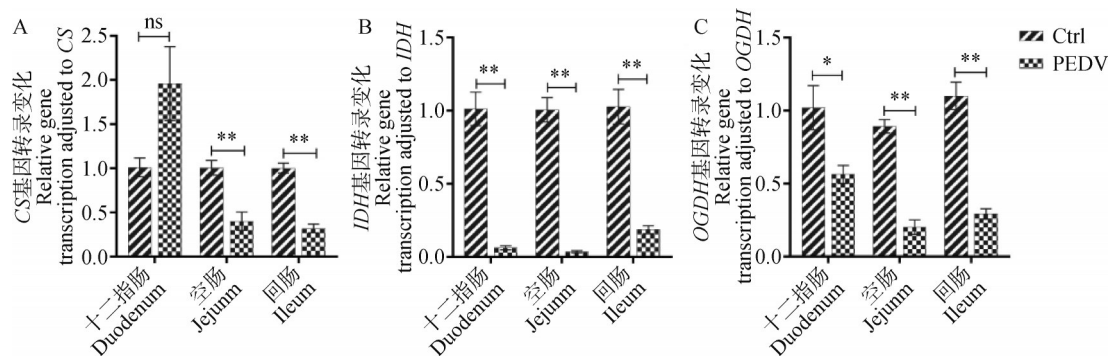


A. *HK2* 基因转录变化; B. *PFK* 基因转录变化; C. *PKM* 基因转录变化; D. *LDHA* 基因转录变化; *, $P < 0.05$, 与对照组相比差异显著; **, $P < 0.01$, 与对照组相比差异极显著

A. Changes in gene transcription of hexokinaseII; B. Changes in gene transcription of 6-phosphofructokinase; C. Changes in gene transcription of pyruvate kinase; D. Changes in lactate dehydrogenase gene transcription; *, $P < 0.05$, significantly different compared with the control group; **, $P < 0.01$, very significantly different compared with the control group

图3 糖酵解相关酶基因的转录变化

Fig. 3 Changes in gene transcription of glycolytic enzymes



A. 柠檬酸合酶基因转录变化; B. 异柠檬酸脱氢酶基因转录变化; C. 酮戊二酸脱氢酶基因转录变化; *, $P < 0.05$, 与对照组相比差异显著; **, $P < 0.01$, 与对照组相比差异极显著

A. Changes in gene transcription of citrate synthase; B. Changes in gene transcription of isocitric dehydrogenase; C. Changes in gene transcription of Isoglutarate dehydrogenase; *, $P < 0.05$, significantly different compared with the control group; **, $P < 0.01$, very significantly different compared with the control group

图4 TCA 循环相关酶基因转录的变化

Fig. 4 Changes in gene transcription of TCA cycle-related enzymes

应。糖酵解途径生成 ATP 的速率比氧化磷酸化 (OXPHOS) 合成 ATP 的速率更快, 且其中间代谢产物是病毒核酸合成的重要前体, 因此大多数病毒感染会通过激活有氧糖酵解 (即 Warburg 效应) 来促

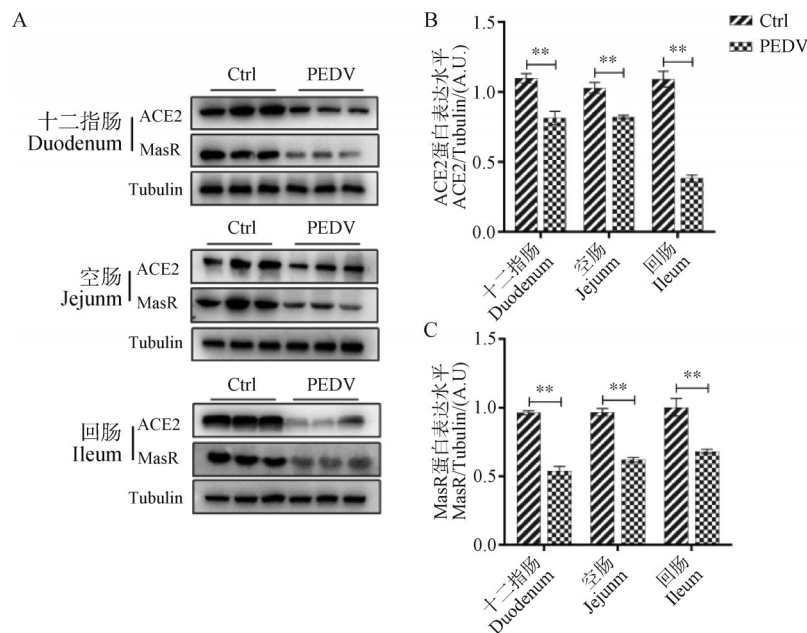
进其增殖^[22]。Warburg 效应是指即使在氧气充足的情况下也优先通过糖酵解而非线粒体氧化磷酸化快速分解葡萄糖, 产生乳酸并释放少量 ATP, 其主要特征是葡萄糖摄取和乳酸分泌的增加^[23]。作者

表 4 小肠组织中 Ang II 和 Ang1-7 含量的变化($\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$)

Table4 Changes of AngII and Ang1-7 contents in small intestine ($\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$)

分组 Group	组织 Tissue	Ang II 含量/(ng·mL ⁻¹) Ang II content	Ang 1-7 含量/(ng·mL ⁻¹) Ang 1-7 content
对照组 CON group	十二指肠 Duodenum	1027.50±46.18	950.00±12.70
	空肠 Jejunum	890.00±125.57	879.50±43.59
	回肠 Ileum	922.50±80.83	533.00±39.88
PEDV 组 PEDV group	十二指肠 Duodenum	1775.00±28.87**	401.00±0.58**
	空肠 Jejunum	2393.75±15.16**	483.67±5.55**
	回肠 Ileum	1921.25±41.14**	272.33±37.08**

*. $P<0.05$, 与对照组相比差异显著; **. $P<0.01$, 与对照组相比差异极显著
*. $P<0.05$, significantly different compared with the control group; **. $P<0.01$, very significantly different compared with the control group



A. ACE2 及 MasR 蛋白电泳图; B. ACE2 蛋白表达变化; C. MasR 蛋白表达变化; *. $P<0.05$, 与对照组相比差异显著; **. $P<0.01$, 与对照组相比差异极显著

A. ACE2 and MasR protein electrophoresis map; B. ACE2 protein expression changes; C. MasR protein expression changes; *. $P<0.05$, significantly different compared with the control group; **. $P<0.01$, very significantly different compared with the control group

图 5 仔猪小肠组织中 ACE2 和 MasR 蛋白的表达变化

Fig. 5 Changes of ACE2 and MasR protein expression in small intestine of piglets

的试验结果表明 PEDV 感染仔猪血液中葡萄糖水平和乳酸含量均显著升高,符合 Warburg 效应的特征。表明 PEDV 感染可能增强了有氧糖酵解途径,即发生了 Warburg 效应。

葡萄糖是糖酵解的底物也是机体重要的可吸收能源物质,调节葡萄糖的摄取是病毒调节糖酵解的有效策略^[14]。大量研究表明病毒可以通过增加葡萄糖的摄取和信号传导途径来调节糖酵解代谢,

促进自身复制。然而由于葡萄糖是非极性的大分子物质,不能通过简单的扩散作用穿过细胞膜。因此,需要借助细胞膜上的转运载体来摄取葡萄糖^[24]。2008 年, Wang 等^[25]发现腺病毒感染人骨骼肌细胞后,病毒可以通过 Ras 激活的 PI3K 通路上调葡萄糖转运蛋白 GLUT1 和 GLUT4 的表达,进而增强葡萄糖的摄入。2015 年 Fontain 等^[26]发现登革热病毒(DENV)感染的人包皮成纤维细胞中, GLUT1

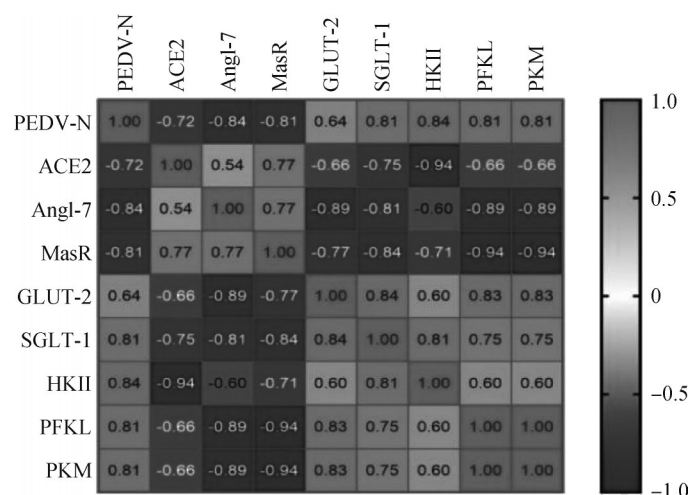


图6 仔猪小肠中PEDV、ACE2及糖代谢相关蛋白的相关性分析(彩图在OSID相关材料中提供)

Fig. 6 Correlation analysis of PEDV, ACE2 and glucose metabolism-related proteins in the small intestine of piglets (color images are provided in supplementary materials of OSID)

表达显著上调。本试验结果显示 PEDV 感染显著上调仔猪十二指肠、空肠和回肠组织中 SGLT-1 及 GLUT-2 表达。结合血液中葡萄糖含量增高的检测结果,表明 PEDV 感染可能通过上调葡萄糖转运载体的表达促进了葡萄糖的肠道摄取或吸收。

葡萄糖摄取和乳酸生成增加常伴随着糖酵解途径激活,可能与途径中的关键酶 HK2、PFK、PKM 和 LDHA 有关。有研究发现丙型肝炎病毒非结构蛋白 5A 通过激活 HK2 上调了葡萄糖的吸收和乳酸的生成^[27];1 型单纯疱疹病毒(herpes simplex virus type 1, SHV-1)可以通过与 PFK-1 结合来激活糖酵解途径^[28]。本试验通过检测糖酵解途径关键酶 HK2、PKM、PFK 及 LDHA 基因转录,发现 PEDV 感染组糖酵解关键酶转录均显著上调,与以上的研究结果一致。即 PEDV 感染通过诱导葡萄糖摄入增加,同时上调糖酵解途径关键酶表达,激活了有氧糖酵解途径。糖酵解和 TCA 循环是机体产能的重要途径,PEDV 感染激活糖酵解途径促进乳酸生成是否会影响 TCA 循环途径呢?为了进一步探究 TCA 循环途径在 PEDV 感染中的变化,本试验检测了 TCA 循环途径中的关键酶的基因转录,发现 PEDV 感染抑制了 TCA 循环通量。与人类的冠状病毒类似^[8],PEDV 感染会诱导宿主细胞代谢重塑,表现为葡萄糖摄取增加,有氧糖酵解途径激活,乳酸生成增加而 TCA 循环通量降低。

那么,PEDV 感染诱导宿主细胞代谢重塑的具体机制如何呢?有研究显示 ACE2 介导的 ACE2-

Angl-7-MasR 通路参与调节糖的代谢过程。在体外研究中发现 Angl-7 激活 MasR 可减少糖尿病小鼠空肠的葡萄糖吸收;相比之下,使用 MasR 或 ACE2 活性的药物阻断可以导致葡萄糖摄取增加^[16]。Prasad 等^[29]研究发现,ACE2 基因过表达可以通过激活 Angl-7/MasR 降低肠道转运蛋白 SGLT-1 和 GLUT-2 的表达以调节葡萄糖稳态。而本试验结果显示,PEDV 感染会显著下调小肠各段组织中 ACE2 的表达。与本研究结果一致,Li 等^[30]研究发现 PEDV-N 可以抑制 293T 细胞或 IPEC-J2 细胞中猪 ACE2 启动子的活性,可以激活肾素-血管紧张素系统并上调 AngII 含量。此外,ACE2 与大多数蛋白类似也需要通过泛素化来调节其丰度^[31]。在人类冠状病毒的研究中发现 SARS-CoV-2 感染中存在 ACE2 泛素化,并确定 E3 连接酶 Skp2 和 UBR4 是重要的调节因子,且抑制去泛素酶 UCHL1 可通过调节 ACE2 泛素化来调节 SARS-CoV-2 病毒感染^[32-33]。因此,PEDV 感染可能通过调控 ACE2 的转录和泛素化降解下调其表达。此外,进一步研究结果表明,PEDV 感染仔猪小肠组织中 AngII 水平异常升高,且 ACE 介导的 Angl-7/MasR 通路被抑制。通过 Spearman 法进行相关性分析发现,ACE2 表达与葡萄糖转运蛋白(SGLT-1/GLUT-2)、糖酵解酶(HK2/PKM 等)呈负相关关系。提示 ACE2 介导的 Angl-7/MasR 通路可能参与了 PEDV 感染诱导的葡萄糖吸收调控及糖的代谢过程,但 ACE2 是否直接调控这些代谢过程尚需

进一步验证。

综上所述, PEDV 感染可以重塑宿主细胞葡萄糖代谢途径促进自身复制。其中糖酵解途径增强、TCA 循环通量降低, 表现出以葡萄糖摄入和乳酸生成增加为特征的 Warburg 效应。而这种“Warburg”样代谢变化与 ACE2 的表达呈负相关关系。

4 结 论

本研究通过对 PEDV 感染仔猪肠道组织的分析, 发现 PEDV 感染能重塑宿主的葡萄糖代谢过程。具体表现: 1) 激活糖酵解途径: 血液葡萄糖及乳酸水平升高, 葡萄糖转运蛋白及糖酵解关键酶表达上调; 2) 抑制三羧酸循环: TCA 循环关键酶的基因表达显著下调; 3) ACE2-Ang1-7-MasR 轴功能受损, 且 PEDV 感染诱导的糖代谢变化与 ACE2 通路呈负相关关系。结果表明 PEDV 感染诱导仔猪肠道组织发生以葡萄糖摄取增强和乳酸堆积为特征的 Warburg 效应, 从而重塑葡萄糖代谢, 可能为病毒复制提供有利的细胞内环境。而 ACE2 介导的 Ang1-7/MasR 通路可能参与了 PEDV 感染诱导的葡萄糖吸收调控及糖的代谢过程。本研究揭示了 PEDV 感染与宿主肠道葡萄糖代谢及 ACE2 通路之间的关联, 为深入理解 PEDV 致病机制及探索其代谢干预靶点提供了理论依据。

参考文献 (References):

- [1] LIU Q, WANG H-Y. Porcine enteric coronaviruses: an updated overview of the pathogenesis, prevalence, and diagnosis[J]. *Vet Res Commun*, 2021, 45(2-3): 75-86.
- [2] JUNG K, AHN K, CHAE C. Decreased activity of brush border membrane-bound digestive enzymes in small intestines from pigs experimentally infected with porcine epidemic diarrhea virus[J]. *Res Vet Sci*, 2006, 81(3): 310-315.
- [3] JUNG K, SAIF L J, WANG Q. Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV): An update on etiology, transmission, pathogenesis, and prevention and control [J]. *Virus Res*, 2020, 286: 198045-198045.
- [4] JUNG K, MIYAZAKI A, SAIF L J. Immunohistochemical detection of the vomiting-inducing monoamine neurotransmitter serotonin and enterochromaffin cells in the intestines of conventional or gnotobiotic (Gn) pigs infected with porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) and serum cytokine responses of Gn pigs to acute PEDV infection[J]. *Res Vet Sci*, 2018, 119: 99-108.
- [5] POLCICOVA K, BADUROVA L, TOMASKOVA J. Metabolic reprogramming as a feast for virus replication[J]. *Acta Virol*, 2020, 64(2): 201-215.
- [6] ALLEN C N S, ARJONA S P, SANTERRE M, et al. Hallmarks of metabolic reprogramming and their role in viral pathogenesis[J]. *Viruses*, 2022, 14(3): 602.
- [7] SANCHEZ E L, LAGUNOFF M. Viral activation of cellular metabolism [J]. *Virology*, 2015, 479-480: 609-618.
- [8] CODO A C, DAVANZO G G, MONTEIRO L DE B, et al. Elevated glucose levels favor SARS-CoV-2 infection and monocyte response through a HIF-1 α /glycolysis-dependent axis [J]. *Cell Metab*, 2020, 32(3): 437-446.
- [9] ICARD P, LINCET H, WU Z, et al. The key role of Warburg effect in SARS-CoV-2 replication and associated inflammatory response [J]. *Biochimie*, 2020, 180: 169-177.
- [10] SU G, LIU J, DUAN C, et al. Enteric coronavirus PDCoV evokes a non-Warburg effect by hijacking pyruvic acid as a metabolic hub[J]. *Redox Biol*, 2024, 71: 103112.
- [11] 王珊珊, 黄 瑜, 张树坤, 等. 血管紧张素转化酶 2 (ACE2) 的基因克隆及在仔猪体内的表达分布[J]. *中国兽医学报*, 2013, 33(10): 1579-1583.
- WHANG S S, HUANG Y, ZHANG S K, et al. Expression and distribution of angiotensin converting enzyme2 (ACE2) in tissue of piglets [J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2013, 33(10): 1579-1583. (in Chinese)
- [12] 陈雪清, 李志强, 吴雨龙, 等. 临床腹泻猪空肠组织中肾素-血管紧张素系统(RAS)的表达变化及与肠道炎症的关系[J]. *畜牧兽医学报*, 2024, 55(2): 751-758.
- CHEN X Q, LI Z Q, WU Y L et al. Expression of renin angiotensin system (RAS) in jejunum tissues of siglets with clinical diarrhea and its relationship with intestinal inflammation[J]. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Science*, 2024, 55(2): 751-758. (in Chinese)
- [13] GHEBLAWI M, WANG K, VIVEIROS A, et al. Angiotensin-converting enzyme 2: SARS-CoV-2 receptor and regulator of the renin-angiotensin system [J]. *Circ Res*, 2020, 126(10): 1456-1474.

- [14] 张崇昊, 马 畅, 李志强, 等. 肾素血管紧张素系统在溃疡性结肠炎小鼠肠-血屏障损伤中的调控作用[J]. 畜牧兽医学报, 2024, 55(4): 1756-1765.
ZHANG C H, MA C, LI Z Q, et al. The Role and relationship of renin-angiotensin system in gut-vascular barrier injury in ulcerative colitis mice [J]. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Science*, 2024, 55(4): 1756-1765. (in Chinese)
- [15] GOYAL P, RAJALA M S. Reprogramming of glucose metabolism in virus infected cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2023, 478(11): 2409-2418.
- [16] WONG T P, HO K Y, NG E K W, et al. Upregulation of ACE2-ANG-(1-7)-Mas axis in jejunal enterocytes of type 1 diabetic rats: implications for glucose transport[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012, 303(5): E669-E681.
- [17] DONG F, LI H, LIU L, et al. ACE2 negatively regulates the Warburg effect and suppresses hepatocellular carcinoma progression via reducing ROS-HIF1 α activity[J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(8): 2613-2629.
- [18] JUNG K, ANNAMALAI T, LU Z, et al. Comparative pathogenesis of US porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) strain PC21A in conventional 9-day-old nursing piglets vs. 26-day-old weaned pigs[J]. *Vet Microbiol*, 2015, 178(1-2): 31-40.
- [19] ARNDT A L, LARSON B J, HOGUE B G. A conserved domain in the coronavirus membrane protein tail is important for virus assembly[J]. *J Virol*, 2010, 84(21): 11418-11428.
- [20] XU X G, ZHANG H L, ZHANG Q, et al. Porcine epidemic diarrhea virus M protein blocks cell cycle progression at S-phase and its subcellular localization in the porcine intestinal epithelial cells[J]. *Acta Virol*, 2015, 59(3): 265-275.
- [21] LEE H K. Cloning and sequence analysis of the nucleocapsid gene of porcine epidemic diarrhea virus Chinju99[J]. *Virus Gen*, 2003, 26(2): 207-212.
- [22] RACKER E. Why do tumor cells have a high aerobic glycolysis?[J]. *J Cell Physiol*, 1976, 89(4): 697-700.
- [23] VAUPEL P, MÜLTHOFF G. Revisiting the Warburg effect: historical dogma versus current understanding [J]. *J Physiol*, 2020, 599(6): 1745-1757.
- [24] 戴 磊. TGEV 感染对猪肠上皮细胞葡萄糖和精氨酸吸收影响机制的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2017. (in Chinese)
- DAI L. The effect of transmissible gastroenteritis virus infection on glucose and arginine uptake in porcine intestinal columnar epithelial cells[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2017. (in Chinese)
- [25] WANG Z Q, CEFALU W T, ZHANG X H, et al. Human adenovirus type 36 enhances glucose uptake in diabetic and nondiabetic human skeletal muscle cells independent of insulin signaling[J]. *Diabetes*, 2008, 57(7): 1805-1813.
- [26] FONTAINE K A, SANCHEZ E L, CAMARDA R, et al. Dengue virus induces and requires glycolysis for optimal replication [J]. *J Virol*, 2015, 89(4): 2358-2366.
- [27] RAMIÈRE C, RODRIGUEZ J, ENACHE L S, et al. Activity of hexokinase is increased by its interaction with hepatitis C virus protein NS5A[J]. *J Virol*, 2014, 88(6): 3246-3254.
- [28] ABRANTES J L, ALVES C M, COSTA J, et al. Herpes simplex type 1 activates glycolysis through engagement of the enzyme 6-phosphofructo-1-kinase (PFK-1) [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1822(8): 1198-1206.
- [29] PRASAD R, FLOYD J L, DUPONT M, et al. Maintenance of enteral ACE2 prevents diabetic retinopathy in type 1 diabetes[J]. *Circ Res*, 2022, 132(1): e1-e21.
- [30] LI Z, CHEN X, MA C, et al. Angiotensin converting enzyme 2 does not facilitate porcine epidemic diarrhea virus entry into porcine intestinal epithelial cells and inhibits it-induced inflammatory injury by promoting STAT1 phosphorylation. [J]. *Virus Res*, 2023, 340: 199300.
- [31] BEDNASH J S, JOHNS F, FARKAS D, et al. Inhibiting the deubiquitinase UCHL1 reduces SARS-CoV-2 viral uptake by ACE2[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2023, 68(5): 566-576.
- [32] WANG G, ZHAO Q, ZHANG H, et al. Degradation of SARS-CoV-2 receptor ACE2 by the E3 ubiquitin ligase Skp2 in lung epithelial cells [J]. *Front Med*, 2021, 15(2): 252-263.
- [33] CHUANG H, HSUEH C, HSU P, et al. SARS-CoV-2 spike protein enhances MAP4K3/GLK-induced ACE2 stability in COVID-19[J]. *EMBO Mol Med*, 2022, 14(9): e15904.

(编辑 白永平)