

蓝舌病毒通过诱导巨噬细胞产生干扰素抑制HBV增殖

高云飞, 高凤成, 李清峰 (榆林市第一医院 感染科, 陕西 榆林 719000)

摘要: 目的 探讨蓝舌病毒(bluetongue virus, BTV) 16激活巨噬细胞天然免疫的机制及BTV16刺激后的巨噬细胞培养上清对HBV的抑制作用。方法 采用Real-time PCR分别检测BTV未预处理或预处理12 h后巨噬细胞中GAPDH、IFN- α 、IFN- β 、IRF-3、IRF-5和IRF-7的mRNA表达水平, 采用Western blot分别检测IRF3、IRF5、IRF7蛋白的表达。使用ELISA法检测巨噬细胞培养基上清中HBsAg及HBeAg的表达。结果 BTV16能够激活TLR3/干扰素信号转导通路, 诱导巨噬细胞高表达 I 型干扰素并诱导干扰素调节因子高表达, 20%体积比的BTV刺激后的巨噬细胞培养上清对HBV复制即有较强的抑制作用 ($P < 0.05$), I 型干扰素受体抗体预处理后, BTV16刺激巨噬细胞的上清对HBV释放的抑制作用显著减弱 ($t = 14.031, P = 0.003$)。结论 BTV16能够激活巨噬细胞的天然免疫反应, 显著抑制HBV在肝细胞的复制, 为临床治疗乙型肝炎提供了新思路。

关键词: 巨噬细胞; 天然免疫; 肝炎病毒, 乙型; 干扰素

Bluetongue virus inhibits HBV proliferation by inducing macrophages to produce interferon

GAO Yun-fei, GAO Feng-cheng, LI Qing-feng (Department of Infectious Diseases, Yulin First Hospital, Yulin 719000, Shaanxi Province, China)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of bluetongue virus (BTV) 16 activating macrophage innate immunity and the inhibitory effect of macrophage culture supernatant stimulated by BTV16 on HBV. **Methods** The expression levels of GAPDH, IFN- α , IFN- β , IRF-3, IRF-5 and IRF-7 mRNA in macrophages which is pretreated by BTV for 12 hours or not were detected by Real-time PCR, respectively. The expression of IRF3, IRF5 and IRF7 protein were detected by Western blot. The expression of HBsAg and HBeAg in macrophage culture medium were detected by ELISA. **Results** BTV16 could activate TLR3/IFN signaling pathway and induce macrophages to overexpress interferon I, and sufficient to induce high expression of interferon regulatory factor. Twenty percent volume ratio of macrophage culture medium stimulated BTV had a strong inhibitory effect on HBV replication ($P < 0.05$). After pretreatment of interferon I receptor antibodies, the inhibitory effect of macrophage culture medium stimulated BTV on HBV releasing significantly decreased ($t = 14.031, P = 0.003$). **Conclusion** BTV16 can activate the innate immune response of macrophages and significantly inhibit the replication of HBV in hepatocytes, which provides a new idea for clinical treatment of hepatitis B.

Key words: Macrophage; Innate immunity; Hepatitis B virus; Interferon

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)属于嗜肝DNA病毒科^[1], HBV感染可引起肝脏炎症、纤维化及肝硬化, 且为肝细胞癌的主要致病因素^[2,3]。中国是乙型肝炎高流行区, HBsAg携带率约为7.18%^[4,5]。世界范围内每年超过80万人死于HBV感染相关疾病^[6]。虽然安全高效的乙肝疫苗已问世多年, 但HBV在全球范围内的传播尚未停止。目前主

要抗HBV药物包括干扰素和核苷(酸)类似物, 但现阶段的药物疗法有局限性, 长期使用可能出现病毒耐药^[7-10]。蓝舌病毒(bluetongue virus, BTV)是一种双链RNA病毒, 属于呼肠病毒科, 其基因组由10段双链RNA片段组成, 主要感染绵羊、山羊及牛等反刍动物^[11-13], 尚未见BTV感染人的报道。在多种人类细胞中已经证实BTV可高效诱导 I 型干扰素的产生^[14]。巨噬细胞是一种广泛存在的天然免疫细胞^[15,16], 胞内存在多种病原模式识别受体, 如

Toll样受体家族(Toll-like receptors, TLRs)^[17]。病毒在感染和复制过程中产生的双链RNA被TLR3特异性识别后,可激活干扰素抗病毒信号转导通路,在天然免疫过程中扮演重要角色^[18]。干扰素在抑制HBV感染中具有重要作用,但蓝舌病毒诱导巨噬细胞产生的干扰素对HBV感染的作用尚未见报道。本研究探讨了BTV16诱导巨噬细胞产生干扰素的机制及其对HBV感染的抑制作用。

1 资料与方法

1.1 实验材料 BTV16和HepG2.2.15细胞株由本实验室保存;逆转录试剂盒购自加拿大Fermentas公司;Real-time试剂盒购自美国Bio-rad公司;HBsAg ELISA检测试剂盒和HBeAg ELISA检测试剂盒购自上海科华生物工程股份有限公司;鼠抗干扰素受体2抗体购自美国LifeSpan BioScience公司;胎牛血清和DMEM购自美国Gibco公司;TLR3/双链RNA复合体抑制购自美国Millipore公司;人 α 干扰素ELISA试剂盒和人 β 干扰素ELISA试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司。

1.2 细胞培养 巨噬细胞分离培养方法参考相关文献^[15]。将肝素处理后的血液加入到Ficoll上层,500×g离心45 min,取中间细胞层,用PBS冲洗2次后获得外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)。将分离得到的PBMC在含有0.2%明胶的DMEM培养瓶中37℃培养1 h。待单个核细胞贴到培养瓶底面后,弃掉未贴壁的悬浮细胞,10 mmol/L EDTA消化后用DMEM洗涤1次,用含10%胎牛血清、2 mmol谷氨酰胺、100 IU/ml青霉素、100 μ g/ml链霉素及1%非必需氨基酸的DMEM培养在48孔板中,每孔 2.5×10^5 个单个核细胞。37℃、5% CO₂条件下培养7 d后单个核细胞分化为巨噬细胞。HepG2.2.15细胞培养于含10%胎牛血清的完全培养基中,并加入终浓度为400 mg/L的G418,于37℃、5% CO₂培养箱中培养。

1.3 BTV16及PolyI:C处理巨噬细胞 用无血清DMEM洗涤1次分化好的巨噬细胞,然后加入BTV16(0.1 TCID₅₀) 37℃孵育2 h,用无血清DMEM洗涤细胞3次后,换正常培养基培养。

1.4 RNA提取、逆转录PCR和Real-time PCR 使用Tri-Reagent(美国BD公司,货号TB126-50)提取细胞内总RNA;使用逆转录试剂盒(中国TaKaRa公司,货号6210A)进行逆转录PCR;以逆转录产物cDNA作为模板,使用IQ Sybr Green Supermix系统(美国Bio-rad公司)进行Real-time PCR。

Real-time PCR检测GAPDH、IFN- α 、IFN- β 、IRF-3、IRF-5和IRF-7的mRNA表达水平。Real-time PCR引物序列见表1,GAPDH mRNA为内参。

1.5 ELISA检测 巨噬细胞分泌的IFN- α 、IFN- β 素均通过相应ELISA试剂盒进行检测,具体操作步骤参照试剂盒说明书。HBsAg及HBeAg的检测:收集BTV16刺激后的巨噬细胞培养上清,按照1%、5%、10%、20%的体积比例加入新鲜培养基进行稀释,然后加入到HepG2.2.15细胞中培养48 h,检测培养上清中HBsAg和HBeAg水平。I型干扰素对HBV的作用:使用I型干扰素受体抗体对HepG2.2.15进行预处理,然后向细胞中加入20%体积比的BTV16刺激巨噬细胞的上清处理48 h,检测培养上清中HBsAg和HBeAg。

1.6 Western blot BTV16或Poly I:C处理巨噬细胞24 h后,吸弃上清,PBS洗涤3次。加入RIPA裂解液(150 mmol/L NaCl、50 mmol/L Tris、1% Triton X-100、0.1% SDS)冰上裂解细胞30 min,随后加入4×SDS上样缓冲液(1 mol/L Tris pH 6.8、8% SDS、40%甘油、0.8%溴酚蓝)混匀。样品煮沸10 min后,通过SDS-PAGE胶分离蛋白。通过半干转移法将样品转移到尼龙膜上,用5%脱脂奶粉进行封闭。随后孵育IRF3(Abcam,美国,货号ab68481)、IRF5(Abcam,美国,货号ab181553)、IRF7(Abcam,美国,货号ab109255)和GAPDH(Abcam,美国,货号ab181602)的一抗过夜,洗掉一抗后孵育羊抗兔二抗(Abcam,美国,货号ab6721)1 h,最后通过ECL化学发光检测蛋白条带。

1.7 统计学处理 实验数据使用GraphPad Prism 5软件进行分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验评估组间差异,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BTV16诱导巨噬细胞产生I型干扰素 以PolyI:C为阳性对照,BTV16处理12 h可显著增强巨噬细胞中I型干扰素(IFN- α 、IFN- β)在mRNA水平的表达($t = 4.316$, $P = 0.007$; $t = 6.170$, $P = 0.007$)。BTV16刺激巨噬细胞48 h后收集巨噬细胞培养上清,检测上清中I型干扰素的蛋白表达量。与PolyI:C阳性对照相比,BTV16也可显著增强巨噬细胞分泌I型干扰素($t = 8.337$, $P = 0.006$; $t = 13.271$, $P = 0.005$)。见图1。2.2 BTV16诱导干扰素调节因子表达升高 与PolyI:C阳性对照相比,BTV16处理12 h后,巨噬细胞中IRF-3、

IRF-5 及 IRF-7 的 mRNA 水平显著升高 ($t = 3.648$, $P = 0.007$; $t = 5.441$, $P = 0.007$; $t = 12.696$, $P = 0.005$), 其中 IRF-7 的升高幅度最大。Western blot 结果表明, 在蛋白水平上, IRF3 和 IRF7 表达水平升高显著, IRF5 升高水平不显著。见图 2。

2.3 TLR3/ 双链 RNA 复合体抑制剂阻断 BTV16 诱导巨噬细胞产生 I 型干扰素 50 $\mu\text{mol/L}$ TCI 处理巨噬细胞 1 h 后进行 BTV16 刺激, IFN- α 、IFN- β 和 IRF-7 mRNA 相对表达了较单用 BTV16 刺激显著下降 ($t = 8.384$, $P = 0.006$; $t = 13.006$, $P = 0.005$; $t = 3.253$, $P = 0.007$), 见图 3。

2.4 BTV16 刺激巨噬细胞的培养上清抑制 HBV 的

复制 5% 体积比的 BTV16 刺激上清对 HBV 病毒颗粒的分泌产生显著抑制作用, 20% 体积比的上清即可大幅抑制 HBV 病毒颗粒的分泌 ($P < 0.05$)。BTV16 刺激巨噬细胞的上清对于 HBeAg 具有相似的抑制作用。随着 BTV16 刺激巨噬细胞的上清比例的升高, HBeAg 分泌水平逐渐下降 ($P < 0.05$)。见图 4。

2.5 I 型干扰素对 HBV 复制的抑制作用 经 I 型干扰素受体抗体预处理后, BTV16 刺激巨噬细胞的上清对 HBV 释放的抑制作用显著减弱 ($t = 14.031$, $P = 0.003$), 且对 HBeAg 的分泌也有相似的抑制作用 ($t = 6.582$, $P = 0.007$), 见图 5。

表 1 Real-time PCR 引物序列

引物名称	正向引物	反向引物
GAPDH	5'-GGTGGTCTCTCTGACTTCAACA-3'	5'-GTTGCTGTAGCCAAATTCGTTGT-3'
IFN- α	5'-TTTCTCCTGCCTGAAGGACAG-3'	5'-GCTCATGATTCTGCTCTGACA-3'
IFN- β	5'-GCCGCATTGACCATCTATGAGA-3'	5'-GAGATCTTCAGTTTCGGAGGTAAC-3'
IRF-3	5'-ACCAGCCGTGGACCAAGAG-3'	5'-TACCAAGGCCCTGAGGCAC-3'
IRF-5	5'-AAGCCGATCCGGCCAA-3'	5'-GGAAGTCCCGGCTCTTGTTAA-3'
IRF-7	5'-TGGTCCTGGTGAAGCTGGAA-3'	5'-GATGTCGTCATAGAGGCTGTTGG-3'

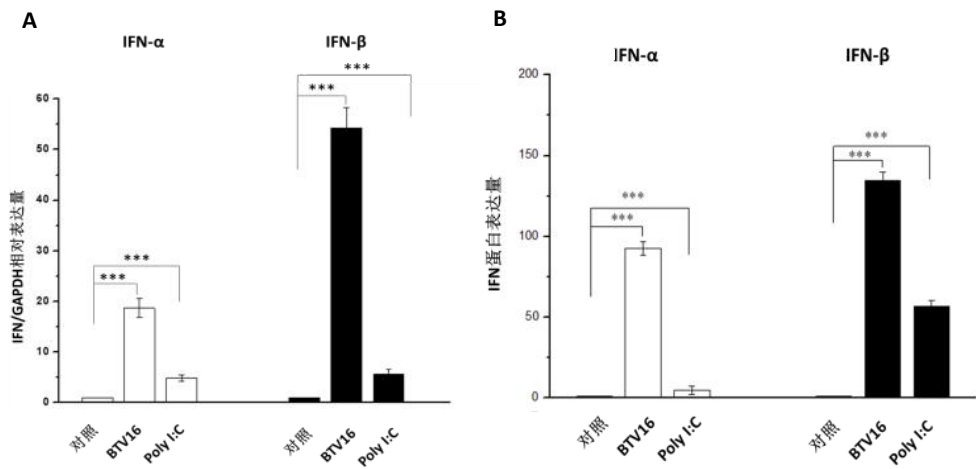


图 1 BTV16 诱导巨噬细胞产生 I 型干扰素 mRNA 及蛋白水平的变化

注: A. BTV16 诱导巨噬细胞产生 I 型干扰素 mRNA 水平变化; B. BTV16 诱导巨噬细胞上清中 I 型干扰素蛋白水平变化; *** $P < 0.05$

IFN- α mRNA: BTV16 组与对照组相比, $t = 4.316$, $P = 0.007$, PolyI:C 与对照组相比, $t = 3.046$, $P = 0.021$, BTV16 组与 PolyI:C 组相比, $t = 3.557$, $P = 0.008$;

IFN- β mRNA: BTV16 组与对照组相比, $t = 6.170$, $P = 0.007$, PolyI:C 与对照组相比, $t = 3.624$, $P = 0.015$, BTV16 组与 PolyI:C 组相比, $t = 5.173$, $P = 0.007$;

IFN- α 蛋白: BTV16 组与对照组相比, $t = 8.337$, $P = 0.006$, PolyI:C 与对照组相比, $t = 2.035$, $P = 0.042$, BTV16 组与 PolyI:C 组相比, $t = 8.034$, $P = 0.006$;

IFN- α 蛋白: BTV16 组与对照组相比, $t = 13.271$, $P = 0.005$, PolyI:C 与对照组相比, $t = 7.239$, $P = 0.007$, BTV16 组与 PolyI:C 组相比, $t = 9.416$, $P = 0.008$

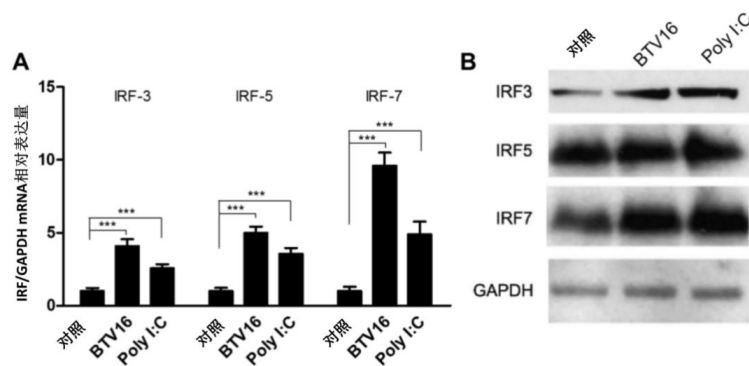


图2 BTV16 诱导巨噬细胞中 IRF-3、IRF-5 和 IRF-7 mRNA 及蛋白水平的变化

注: A. BTV16 诱导巨噬细胞中 IRF-3、IRF-5 和 IRF-7 mRNA 水平表达升高; B. BTV16 诱导巨噬细胞中 IRF-3、IRF-5 和 IRF-7 蛋白水平变化; *** $P < 0.05$;

IRF-3 mRNA: BTV16 组与对照组相比, $t = 6.241$, $P = 0.006$, PolyI:C 与对照组相比, $t = 5.930$, $P = 0.006$, BTV16 组与 PolyI:C 组相比, $t = 3.041$, $P = 0.008$;

IRF-5 mRNA: BTV16 组与对照组相比, $t = 9.072$, $P = 0.005$, PolyI:C 与对照组相比, $t = 7.643$, $P = 0.007$, BTV16 组与 PolyI:C 组相比, $t = 3.641$, $P = 0.023$;

IRF-7 mRNA: BTV16 组与对照组相比, $t = 18.426$, $P < 0.001$, PolyI:C 与对照组相比, $t = 11.073$, $P = 0.006$, BTV16 组与 PolyI:C 组相比, $t = 8.533$, $P = 0.006$

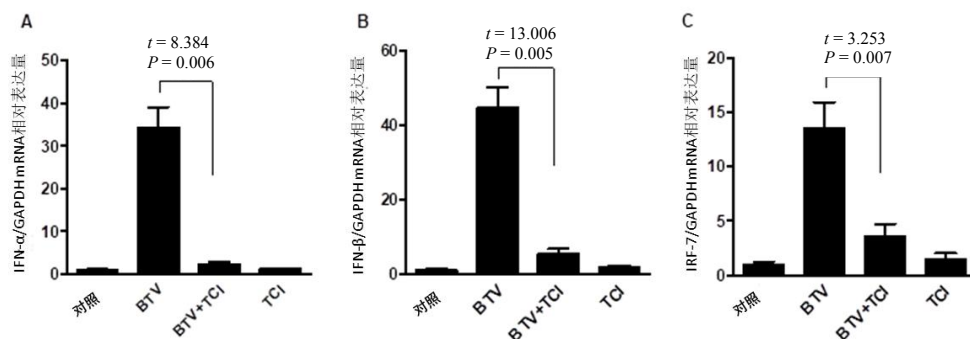


图3 TCI 阻断 BTV16 诱导巨噬细胞产生的 IFN- α 、IFN- β 、IRF-7 mRNA 水平变化

注: A. TCI 阻断 BTV16 诱导巨噬细胞产生的 IFN- α mRNA 水平变化; B. TCI 阻断 BTV16 诱导巨噬细胞产生的 IFN- β mRNA 水平变化; C. TCI 阻断 BTV16 诱导巨噬细胞产生的 IRF-7 mRNA 水平变化

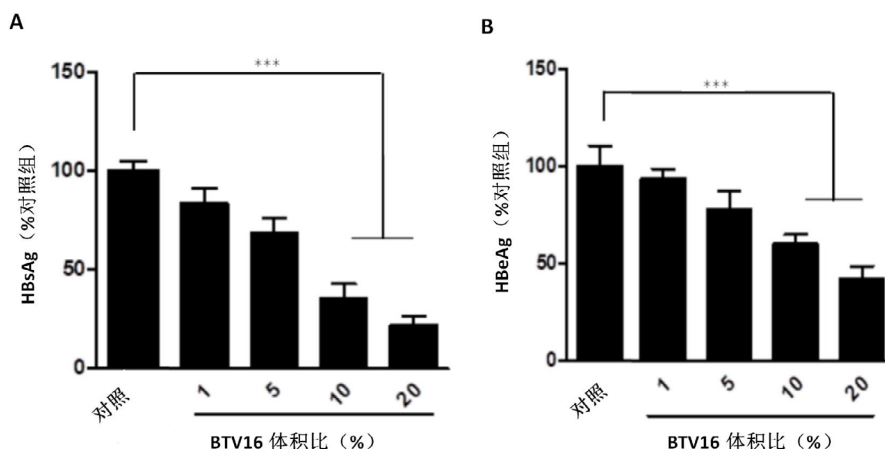


图4 BTV16 诱导后的巨噬细胞上清对 HepG2.2.15 分泌 HBsAg、HBeAg 的抑制作用

注: A. BTV16 诱导后的巨噬细胞上清对 HepG2.2.15 分泌 HBsAg 的抑制作用, 10% 体积比 BTV16 与对照组相比 $t = 3.295$, $P = 0.035$; 20% 体积比 BTV16 与对照组相比 $t = 5.061$, $P = 0.005$; B. BTV16 诱导后的巨噬细胞上清对 HepG2.2.15 分泌 HBeAg 的抑制作用, 10% 体积比 BTV16 与对照组相比, $t = 2.247$, $P = 0.042$; 20% 体积比 BTV16 与对照组相比, $t = 4.385$, $P = 0.006$; *** $P < 0.05$

3 讨论

乙型肝炎最终可进展为肝硬化和肝癌,目前尚无有效彻底治愈药物^[19,20]。HBV感染诱导机体免疫应答造成的病理损伤是引起慢性HBV感染肝功能损伤的主要原因^[21]。HBV感染人体后,可在肝细胞中持续复制^[22],宿主细胞的免疫反应对抑制HBV复制和控制疾病进程具有重要作用^[23]。抗病毒治疗在控制乙型肝炎病情进展中尤为关键,目前常用的抗病毒药物包括核苷(酸)类似物和干扰素^[24]。感染HBV后,机体分泌内源性干扰素的能力减弱,激活机体自身干扰素的产生对于病毒的抑制尤为重要^[25]。众多模式识别受体中,TLR3可特异性识别双链RNA并诱导I型干扰素的产生,在RNA病毒介导的天然免疫反应中具有重要作用^[11]。BTV16可在多种细胞系中高效诱导I型干扰素的表达^[14],但有关BTV16诱导巨噬细胞产生干扰素抑制HBV复制尚未见报道。本研究验证了BTV16能够诱导巨噬细胞产生I型干扰素,且刺激后的培养上清可抑制HBV的复制。更重要的是,20%体积比的培养上清即可对HBV的复制产生较强的抑制作用。

BTV16诱导巨噬细胞天然免疫反应主要通过TLR3信号转导通路。BTV16的RNA与巨噬细胞内TLR3结合后,活化下游信号转导通路,使IRF-3、IRF-5和IRF-7的表达量升高,从而上调细胞内I型干扰素的表达。Poly I:C是TLR3的配体,具有较强的激活TLR3及干扰素信号转导通路的作用。本研究中BTV16对激活TLR3及干扰素信号转导通路的作用强于Poly I:C。TCI可阻断双链RNA与TLR3的结合,但不会引起下游信号转导通路的活化,也不能诱导干扰素的表达。本研究使用TCI预处理巨噬细胞后,BTV16诱导的I型干扰素表达显著降低,同时干扰素调节蛋白IRF-7 mRNA相对表达量也显著下降,从而证明了TLR3在BTV16诱导I型干扰素表达过程中的重要作用,BTV16的RNA进入巨噬细胞被TLR3识别,诱导产生I型干扰素,辅助肝细胞的抗HBV作用。

I型干扰素可通过诱导多种干扰素刺激基因的表达,从而增强细胞的抗病毒能力。HepG2.2.15经过I型干扰素受体抗体预处理后,BTV16刺激的巨噬细胞上清抑制HBV复制的能力明显受抑制。I型干扰素受体抗体处理后,HepG2.2.15细胞表面的I型干扰素受体被抗体结合,无法与上清中的I型干扰素结合,无法产生抗病毒效应。故I型干扰素在BTV16刺激的巨噬细胞培养上清的抗病毒作用中具有重要作用。但BTV16诱导产生的I型干扰素辅助

肝细胞抗HBV的作用机制仍需进一步研究,是否还有其他因素发挥辅助作用也尚未清晰。

综上,本研究表明BTV16刺激的巨噬细胞具有显著的抗HBV作用且I型干扰素在其中具有重要作用,为临床治疗乙型肝炎提供了新思路。

参考文献

- [1] Lou X, Hou Y, Liang D. Effects of hepatitis B virus X protein on human T cell cytokines[J]. *Can J Microbiol*,2013,59(9):620-626.
- [2] Lavanchy D. Worldwide epidemiology of HBV infection, disease burden, and vaccine prevention[J]. *J Clin Virol*,2005,34(Suppl 1):S1-S3.
- [3] 齐健,陈新月. HBsAg在慢性HBV感染中的研究进展[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*,2017,9(4):22-26.
- [4] 倪俊,袁文斌,岑峰,等. 抗病毒治疗在乙肝相关性肝癌术后肝内复发中的作用[J]. *中华肝胆外科杂志*,2015,21(2):91-95.
- [5] 王静月,陈新月. HBeAg阴性慢性乙型肝炎抗病毒治疗研究进展[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*,2017,9(4):38-42.
- [6] Maiwall R, Kumar M. Prevention and treatment of recurrent hepatitis B after liver transplantation[J]. *J Clin Transl Hepatol*,2016,4(1):54-65.
- [7] Zhang Q, Liao Y, Chen J, et al. Corrigendum: epidemiology study of HBV genotypes and antiviral drug resistance in multi-ethnic regions from Western China[J]. *Sci Rep*,2016,6:20451.
- [8] 李雪芬,陈瑜. 慢性乙型肝炎疗效监测标志物的应用进展[J]. *中华检验医学杂志*,2015,38(9):646-648.
- [9] 杨启,胡蓉,曾义岚,等. 慢性乙型肝炎预后影响因素[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*,2015,7(4):94-96.
- [10] 黄洁萍. 拉米夫定联合扶正化痰胶囊治疗代偿期乙型肝炎肝硬化疗效分析[J]. *中国肝脏病杂志(电子版)*,2015,7(3):103-105.
- [11] Dai M, Wang X1, Li JL, et al. Activation of TLR3/interferon signaling pathway by bluetongue virus results in HIV inhibition in macrophages[J]. *FASEB J*,2015,29(12):4978-4988.
- [12] 张国芮,独军政,高闪电,等. 蓝舌病毒NS2蛋白的抗体制备及鉴定[J]. *中国动物传染病学报*,2018,9(1):18-25.
- [13] 侯磊. 羊蓝舌病的研究进展与诊治措施[J]. *今日畜牧兽医*,2018,34(8):67.
- [14] Vitour D, Doceul V, Ruscanu S, et al. Induction and control of the type I interferon pathway by Bluetongue virus[J]. *Virus Res*,2014,182:59-70.
- [15] Cobos Jiménez V, Booiman T, de Taeye SW, et al. Differential expression of HIV-1 interfering factors in monocyte-derived macrophages stimulated with polarizing cytokines or interferons[J]. *Sci Rep*,2012,25(2):763.
- [16] Adzavon YM, 赵鹏翔,张旭娟,等. 巨噬细胞迁移抑制因子分子机制研究进展[J]. *生物技术进展*,2018,8(5):389-396.
- [17] Alexopoulou L, Holt AC, Medzhitov R, et al. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3[J]. *Nature*,2001,413(6857):732-738.
- [18] Lafon M, Megret F, Lafage M, et al. The innate immune facet of brain: human neurons express TLR-3 and sense viral dsRNA[J]. *J Mol Neurosci*,2006,29(3):185-194.
- [19] 崔富强,王辉. 中国乙型肝炎的流行及控制进展[J]. *中国病毒病杂志*,2018,8(4):257-264.
- [20] 段瑞波,刘立新. 1992-2016年我国乙型肝炎病毒携带率变化特点

- 的Meta分析[J/CD]. 中华消化病与影像杂志(电子版),2018,8(3):116-126.
- [21] 肖灿辉, 梁赢, 黄飞飞, 等. 不同抗病毒治疗方案对慢乙肝患者IL-32表达水平的影响[J]. 中华实验和临床病毒学杂志,2014,28(2):87-89.
- [22] Grimm D, Thimme R, Blum HE. HBV life cycle and novel drug targets[J]. Hepatol Int,2011,5(2):644-653.
- [23] 刘梦, 李明慧, 陈晓雪, 等. Treg细胞在慢性HBV感染免疫耐受机制中的作用[J]. 中华实验和临床病毒学杂志,2015,29(3):196-198.
- [24] 徐建波, 祁付珍, 许刚, 等. 干扰素辅助治疗乙肝相关性肝癌术后患者的Meta分析[J]. 中华肝胆外科杂志,2014,20(2):81-85.
- [25] Romano G. Current development of adeno-associated viral vectors[J]. Drug News Perspect,2015,18(5):311-316.

收稿日期: 2018-09-03

高云飞, 高凤成, 李清峰. 蓝舌病毒通过诱导巨噬细胞产生干扰素抑制HBV增殖[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2019,11(2):42-47.

· 编者 · 作者 · 读者 ·

《中国肝脏病杂志(电子版)》视频及幻灯文献引用格式说明

为了更好地发挥医学学术性电子期刊的文献作用, 方便和规范引用电子期刊的视频文献和幻灯文献, 现将文献著录和引用规范试用说明如下。

1. 在制作视频及幻灯文献时体例格式应规范, 片头应有片名、著作者姓名及单位, 片尾应有责任编辑、制作者、出版者及其单位。

2. 视频和幻灯文献引用格式标注在视频或幻灯文献播放窗口下方, 方便读者引用。视频或幻灯文献著录格式: 周祥福. 截石位经皮肾镜取石术及经尿道前列腺电切术[J/CD]. 中华腔镜泌尿外科杂志:电子版,2010,4(1).

3. 视频和幻灯文献科学引用相关文献。①视频文献: 在正片结束后(即制作者及出版者署名前)列出本片的所有引用文献, 引用文献按在视频中出现的先后顺序编码著录。②幻灯文献: 作者引用的文献须随幻灯同页面标注, 标注在当前页面最下方, 格式: [1] 刘志华, 周祥福. 输尿管下段结石的治疗进展[J/CD]. 中华腔镜泌尿外科杂志:电子版,2010,4(1):76-78. 引用文献按在幻灯片中出现的先后顺序编码著录, 并在幻灯课件最后再次按顺序列出所有引用文献。③文献引用具体格式依据“GB/T 7714-2015文后参考文献著录规则”(即同文本文章的文献著录格式)。

本刊编辑部