

疏风宣肺和解表清里方药对流感病毒性肺炎小鼠 Toll 样受体通路影响的研究

刘琪 王建国 马彦平 顾立刚

【摘要】目的 观察疏风宣肺、解表清里方对流感病毒亚甲型肺适应株 FM1 感染小鼠肺组织细胞 Toll 样受体(TLR)信号转导通路的影响。**方法** 制备小鼠甲型流感病毒性肺炎模型,按随机数字表法分为对照组(C),模型组(M),达菲组(D),疏风宣肺方高、中、低剂量组(SH、SM、SL),解表清里方高、中、低剂量组(JH、JM、JL),每组 12 只。制模后 2 h,对照组、模型组均灌胃蒸馏水,达菲组灌胃达菲 $2.5 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,不同剂量方药组分别灌胃疏风宣肺方颗粒剂 $3.76、1.88、0.94 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 和解表清里方颗粒剂 $4.37、2.18、1.09 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,各组均 0.2 mL/d ,连用 4 d。提取肺组织总 RNA,采用基因组芯片筛选出与 TLR 通路相关的差异表达基因,并用实时荧光定量逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)对部分基因进行验证。**结果** 与对照组比较,模型组差异表达基因 TLR7、MYD88、CCL5、IFNB1、IL6、IL12a、NFKBIA、IKBKB 明显上调。与模型组比较,疏风宣肺方中、低剂量组和解表清里方中剂量组差异表达基因 TLR3、TLR7、MYD88、CCL5、IFNB1、IL6、IL12a、NFKBIA、IKBKB 明显下调[疏风宣肺方中剂量组 $\log_2(\text{SM 组}/\text{M 组信号强度})$ 分别为 $-1.24、-2.02、-1.36、-1.95、-0.63、-1.33、-3.50、-1.33、-1.33$,疏风宣肺方低剂量组 $\log_2(\text{SL 组}/\text{M 组信号强度})$ 分别为 $-1.07、-2.43、-2.63、-2.30、-5.09、-3.19、-3.53、-1.95、-1.95$;解表清里方中剂量组 $\log_2(\text{JM 组}/\text{M 组信号强度})$ 分别为 $-1.78、-0.55、-1.35、-1.47、-1.65、-2.03、-3.02、-1.57、-1.57$],提示疏风宣肺方治疗效果比解表清里方好。RT-PCR 结果显示,与模型组比较,疏风宣肺方高、中、低剂量组和解表清里方高、中剂量组及达菲组对 TLR7、核转录因子 κB (NF- κB)、髓样分化抗原 88(MyD88)的 mRNA 表达均有抑制作用,其中疏风宣肺方中、低剂量组(TLR7 mRNA: $3.6 \pm 0.3、3.5 \pm 1.2$ 比 7.4 ± 1.6 ; NF- κB mRNA: $1.1 \pm 0.2、1.0 \pm 0.2$ 比 2.2 ± 0.4 ; MyD88 mRNA: $1.4 \pm 0.4、1.0 \pm 0.3$ 比 3.4 ± 0.9 ,均 $P < 0.01$)和解表清里方中剂量组(TLR7 mRNA: 4.9 ± 0.3 比 7.4 ± 1.6 ; NF- κB mRNA: 1.3 ± 0.7 比 2.2 ± 0.4 ; MyD88 mRNA: 1.6 ± 0.8 比 3.4 ± 0.9 , $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)作用较为明显。**结论** 中、低剂量疏风宣肺方和中剂量解表清里方通过调控 MyD88 依赖的 TLR 信号转导通路下调 NF- κB 表达,从而治疗流感;疏风宣肺方药疗效较好。

【关键词】 疏风宣肺方; 解表清里方; 流感病毒性肺炎; Toll 样受体; 基因芯片; 小鼠

A research on the influence of two herbal concoctions on Toll-like receptor signal pathways of influenza virus induced pneumonia in mice Liu Qi*, Wang Jianguo, Ma Yanping, Gu Ligang. * Shanxi College of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, Shanxi, China
Corresponding author: Gu Ligang, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China, Email: lggulg@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of Shufeng Xuanfei and Jiebiao Qingli concoctions on Toll-like receptor (TLR) signal pathway of pneumonia infected with influenza virus in mice. **Methods** The pneumonia model was reproduced by nasal dropping of influenza virus A in mice. The mice were randomly divided into nine groups: normal group (C), model group (M), tamiflu group (D), Shufeng Xuanfei low-dose (SL), medium-dose (SM) and high-dose (SH) groups, Jiebiao Qingli low-dose (JL), medium-dose (JM) and high-dose (JH) groups, each $n=12$. Two hours after model-reproduction, the mice in C group and M group received distilled water by gavage. The mice in D group received $2.5 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ oseltamivirphosphate. Shufeng Xuanfei formula in doses of $3.76、1.88、0.94 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ were respectively administered to SH, SM and SL groups by gavage, Jiebiao Qingli formula in doses of $4.37、2.18、1.09 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ was given to JH, JM and JL groups by gavage, respectively. Each group was in equal dose of 0.2 mL daily over a 4-day period. Total RNA was extracted in each group. Then gene chips were used to screen these RNA samples. Some genes that were involved in TLR signal pathways were selected. These candidate genes were verified by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** TLR7, MYD88, CCL5, IFNB1, IL6, IL12a, NFKBIA and IKBKB were up-regulated in model group compared with control group. Compared with model group, down-regulated genes in medium-dose, low-dose Shufeng Xuanfei formula and medium-dose Jiebiao Qingli

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.05.007

基金项目:国家自然科学基金(81173371);山西中医学院创新团队项目

作者单位:030024 太原,山西中医学院(刘琪、马彦平);030013 太原,山西省中西医结合医院(王建国);

100029 北京中医药大学(顾立刚)

通信作者:顾立刚,Email:lgulg@163.com

formula included TLR3, TLR7, MYD88, CCL5, IFNB1, IL6, IL12a, NFKBIA and IKBKB (\log_2 signal intensity of SM/M in medium-dose Shufeng Xuanfei formula group were -1.24, -2.02, -1.36, -1.95, -0.63, -1.33, -3.50, -1.33, -1.33, \log_2 signal intensity of SL/M in low-dose Shufeng Xuanfei group were -1.07, -2.43, -2.63, -2.30, -5.09, -3.19, -3.53, -1.95, -1.95, \log_2 signal intensity of JM/M in medium-dose Jiebiao Qingli formula group were -1.78, -0.55, -1.35, -1.47, -1.65, -2.03, -3.02, -1.57, -1.57, respectively). The results suggested that the effect of Shufeng Xuanfei formula was better than that of Jiebiao Qingli formula. By RT-PCR, compared with model group, low-dose, medium-dose and high-dose groups of Shufeng Xuanfei formula, medium-dose and high-dose groups of Jiebiao Qingli formula, and tamiflu group, significant decrease in TLR7, nuclear factor- κ B (NF- κ B), myeloid differential protein-88 (MyD88) mRNA expression were found. Medium-dose and low-dose Shufeng Xuanfei formula group (TLR7 mRNA: 3.6 ± 0.3 , 3.5 ± 1.2 vs. 7.4 ± 1.6 , NF- κ B mRNA: 1.1 ± 0.2 , 1.0 ± 0.2 vs. 2.2 ± 0.4 ; MyD88 mRNA: 1.4 ± 0.4 , 1.0 ± 0.3 vs. 3.4 ± 0.9 , all $P < 0.01$) and medium-dose Jiebiao Qingli formula group (TLR7 mRNA: 4.9 ± 0.3 vs. 7.4 ± 1.6 , NF- κ B mRNA: 1.3 ± 0.7 vs. 2.2 ± 0.4 , MyD88 mRNA: 1.6 ± 0.8 vs. 3.4 ± 0.9 , $P < 0.05$ or $P < 0.01$) were shown statistically significant decreases compared with the model group. **Conclusions** Medium-dose and low-dose Shufeng Xuanfei formula and medium-dose Jiebiao Qingli formula can inhibit the inflammatory reaction induced by influenza virus by down-regulating the NF- κ B through TLR signal pathways dependent on MyD88. The regulation of Shufeng Xuanfei formula in TLR signal pathways was superior to that of Jiebiao Qingli formula.

【Key words】 Shufeng Xuanfei formula; Jiebiao Qingli formula; Pneumonia infected with influenza virus; Toll-like receptor; Gene chip; Mouse

Toll 样受体 (TLR) 属于固有免疫细胞表面膜型模式识别受体之一。TLR 通过对病原相关分子模式 (PAMP) 和损伤相关分子模式 (DAMP) 的识别, 激活接头蛋白、信号复合体和转录因子复合体, 从而激活细胞内信号级联反应, 最终宿主产生多种细胞因子及趋化因子, 启动非特异性免疫应答及适应性免疫应答以清除病原体^[1]。本研究通过观察流感病毒性肺炎小鼠 TLR3、TLR7 信号通路中相关基因表达水平的变化, 探讨疏风宣肺方和解表清里方治疗流感的作用机制, 为临床治疗提供参考和依据。

1 材料与与方法

1.1 实验动物: 108 只 SPF 级雄性 ICR 小鼠, 体重 13 ~ 15 g, 购自斯贝福 (北京) 实验动物科技有限公司, 动物合格证号 SCKK (京) 2011-0004。将实验动物置于洁净柜中饲养, 保持室温 (24 ± 2) °C, 相对湿度 (50 ± 10) %。

1.2 流感病毒: 流感病毒亚甲型鼠肺适应株 FM1 由中国中医科学院中药研究所惠赠, 将其接种于 9 日龄鸡胚尿囊腔连续传代 3 次后, 测血凝滴度为 2^{-8} 。

1.3 药物: 疏风宣肺方由金银花、连翘、板蓝根、牛蒡子等组成, 解表清里方由炙麻黄、苏叶、荆芥、生石膏等组成, 均由中日友好医院药厂制成颗粒剂。以磷酸奥司他韦胶囊 (达菲) 为阳性对照药物, 75 mg, 由瑞士巴塞尔豪夫迈罗氏公司生产。

1.4 动物分组及模型制备: 按随机数字表法将小鼠分为 9 组, 即对照组 (C), 模型组 (M), 达菲组 (D), 疏风宣肺方高、中、低剂量组 (SH、SM、SL), 解表清里方高、中、低剂量组 (JH、JM、JL)。高、中、低剂量分别为临床用量的 2 倍、等倍及 1/2。以 0.05 mL 的 4 倍半数致死量 ($4LD_{50}$) 流感病毒 FM1 稀释液滴鼻感染小

鼠; 对照组则以 0.05 mL 生理盐水滴鼻。

1.5 干预方法: 各组制模 2 h 后灌胃给药。对照组及模型组灌服蒸馏水; 达菲组灌服量为 $2.5 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$; 疏风宣肺方高、中、低剂量组灌服量分别为 3.76 、 1.88 、 $0.94 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$; 解表清里方高、中、低剂量组灌服量分别为 4.37 、 2.18 、 $1.09 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$; 每只小鼠灌胃 0.2 mL/d, 连续干预 4 d。干预结束后, 动物禁食、不禁水 8 h, 摘眼球放血致死, 无菌取全肺, 存于液氮中备用。

1.6 基因芯片测定: 提取肺组织总 RNA。样品由中国台湾华联生物科技股份有限公司进行基因芯片测定, 实验重复 3 次。计算各组与模型组探针信号的强度比值 (Ratio), I 为信号强度, 即 $\log_2(\text{Ratio})$ 为 $\log_2 I_{M \text{ 组}/C \text{ 组}}$ 、 $\log_2 I_{D \text{ 组}/M \text{ 组}}$ 、 $\log_2 I_{SH \text{ 组}/M \text{ 组}}$ 、 $\log_2 I_{SM \text{ 组}/M \text{ 组}}$ 、 $\log_2 I_{SL \text{ 组}/M \text{ 组}}$ 、 $\log_2 I_{JH \text{ 组}/M \text{ 组}}$ 、 $\log_2 I_{JM \text{ 组}/M \text{ 组}}$ 、 $\log_2 I_{JL \text{ 组}/M \text{ 组}}$ 。筛选差异表达基因的标准: $P < 0.05$ 且 $\log_2 > 1$ 确定为上调的基因, $P < 0.05$ 且 $\log_2 < -1$ 确定为下调的基因。通过 <http://david.abcc.ncifcrf.gov/> 来查找基因的功能通路^[2-3], 从而筛选出与 TLR 转录有关的差异表达基因。

1.7 实时荧光定量逆转录 - 聚合酶链反应 (RT-qPCR) 检测 TLR7、核转录因子 - κ B (NF- κ B) 和髓样分化抗原 88 (MyD88) 的 mRNA 表达: 应用 TRIzol 提取肺组织总 RNA 后, 用引物进行一步法 RT-PCR。引物序列: 内参照三磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH): 上游 5'-GCAAGTTC AACGGC CACAG-3', 下游 5'-CGCCAGTAGACTCCACGAC-3'; TLR7: 上游 5'-ACGCTTTCT TTGCAACTGTG-3', 下游 5'-TTTG TGTGCTCCTGGACCTA-3'; NF- κ B: 上游 5'-GCTA CACAGAGGCCATTGAA-3', 下游 5'-TCCCCGAGT

TCATCTATGTG-3'; MyD88: 上游 5'-TGTTGGTTGT TTCTGACGAT-3', 下游 5'-GGAAAGTCCTTCTTCAT CGC-3'。反应体系: cDNA 2 μL, 10 pmol/μL 上下游引物各 0.5 μL, SYBR 荧光染料 10 μL, 以 ddH₂O 补足至 20 μL。反应条件: 94 °C 预变性 1 min; 94 °C 8 s, 60 °C 34 s, 40 个循环; 最后 72 °C 延伸 10 min。采用相对定量 2^{-ΔΔCT} 法分析结果。

1.8 统计学方法: 应用 SPSS 17.0 软件进行数据分析, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用 LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 总 RNA 提取: 波长 260/280 nm 处总 RNA 吸光度比值 (A_{260}/A_{280}) 见表 1, 以 $A_{260}/A_{280} \geq 1.8$ 、 $A_{260}/A_{230} \geq 1.5$ 作为判断 RNA 质量和纯度的标准。电泳检查有清晰的 RNA 条带, 28S 和 18S 比值在 2 : 1 以上, 说明 RNA 的完整性较好, 没有降解, 质量完好, 符合基因芯片的质量检测要求。

表 1 各组流感病毒性肺炎小鼠肺组织 RNA 质控表

组别	A_{260}/A_{280}	A_{260}/A_{230}	总量	标准化值
对照组	2.13	2.65	5.44	5.90
模型组	1.95	2.82	5.85	9.80
达菲组	2.08	1.74	5.62	9.50
疏风宣肺方高剂量组	2.14	2.00	5.56	9.40
疏风宣肺方中剂量组	2.00	2.58	5.55	9.70
疏风宣肺方低剂量组	2.05	1.56	6.16	9.30
解表清里方高剂量组	2.17	2.23	5.82	8.80
解表清里方中剂量组	2.17	2.41	5.66	9.70
解表清里方低剂量组	2.04	2.15	5.77	7.70

2.2 基因芯片数据分析(表 2): 通过全基因组及代谢途径数据库 (KEGG pathway) 分析 TLR 信号转导途径。与对照组比较, 模型组差异表达基因 TLR7、MYD88、CCL5、IFNB1、IL6、IL12a、NFKBIA、IKBKB

明显上调。与模型组比较, 达菲组差异表达基因 TLR3、MYD88、CCL5、IFNB1、IL6、IL12a、NFKBIA、IKBKB 明显下调, 疏风宣肺方中、低剂量组差异表达基因 TLR3、TLR7、MYD88、CCL5、IFNB1、IL6、IL12a、NFKBIA、IKBKB 明显下调, 解表清里中剂量组差异表达基因 TLR3、MYD88、CCL5、IFNB1、IL6、IL12a、NFKBIA、IKBKB 明显下调。提示疏风宣肺方治疗效果比解表清里方好。

2.3 疏风宣肺和解表清里方对流感病毒性肺炎小鼠 TLR7、NF-κB、MyD88 mRNA 表达的影响(表 3): RT-PCR 结果显示, 模型组 TLR7、NF-κB、MyD88 的 mRNA 表达水平均较对照组显著升高 (均 $P < 0.01$)。疏风宣肺方高、中、低剂量组和解表清里方高、中剂量组以及达菲组对 TLR7、NF-κB、MyD88 的 mRNA 表达均有抑制作用, 与模型组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 其中以疏风宣肺方中、低剂量组和解表清里方中剂量组抑制作用较为明显。

表 3 各组流感病毒性肺炎小鼠肺组织 TLR7、NF-κB、MyD88 的 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	mRNA (2 ^{-ΔΔCT})		
		TLR7	NF-κB	MyD88
对照组	12	1.1 ± 0.3	1.0 ± 0.1	1.0 ± 0.3
模型组	12	7.4 ± 1.6 ^a	2.2 ± 0.4 ^a	3.4 ± 0.9 ^a
达菲组	12	3.2 ± 1.7 ^b	1.2 ± 0.4 ^b	1.6 ± 1.1 ^c
疏风宣肺方高剂量组	12	4.2 ± 1.0 ^b	1.1 ± 0.1 ^b	1.9 ± 0.9 ^c
疏风宣肺方中剂量组	12	3.6 ± 0.3 ^b	1.1 ± 0.2 ^b	1.4 ± 0.4 ^b
疏风宣肺方低剂量组	12	3.5 ± 1.2 ^b	1.0 ± 0.2 ^b	1.0 ± 0.3 ^b
解表清里方高剂量组	12	5.3 ± 0.9 ^c	1.4 ± 0.3 ^b	1.8 ± 1.3 ^c
解表清里方中剂量组	12	4.9 ± 0.3 ^b	1.3 ± 0.7 ^b	1.6 ± 0.8 ^c
解表清里方低剂量组	12	6.4 ± 0.7	1.9 ± 0.3	2.9 ± 0.7

注: TLR7 为 Toll 样受体 7, NF-κB 为核转录因子 -κB, MyD88 为髓样分化抗原 88; 与对照组比较, ^a $P < 0.01$; 与模型组比较, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.05$

表 2 病毒性肺炎小鼠肺组织 TLR 信号转导通路的相关差异表达基因

基因名称	基因编号	全称	log ₂ (Ratio)							
			M/C	D/M	SH/M	SM/M	SL/M	JH/M	JM/M	JL/M
TLR3	PH_mM_0009569	Toll 样受体 3	0.42	-1.53	-1.14	-1.24	-1.07	-0.43	-1.78	-1.07
TLR7	mMC009252	Toll 样受体 7	1.95	-0.92	0.02	-2.02	-2.43	-0.40	-0.55	-0.29
MYD88	PH_mM_0009196	髓样分化抗原 88	2.22	-1.62	-1.18	-1.36	-2.63	-1.06	-1.35	-0.74
MAPK8	mMC002169	丝裂素活化蛋白激酶 8	-1.02	1.35	1.23	1.29	1.38	0.61	1.02	0.96
CCL5	mMC018383	C-C 基序配体 5	3.51	-2.26	-0.93	-1.95	-2.30	-1.37	-1.47	-0.67
IFNB1	mMC016397	干扰素 β1	4.59	-2.16	-0.50	-0.63	-5.09	-1.21	-1.65	-0.55
IL6	PH_mM_0000958	白细胞介素 -6	5.43	-2.64	-1.00	-1.33	-3.19	-1.25	-2.03	-0.86
IL12a	PH_mM_0009192	白细胞介素 -12a	3.38	-3.05	-3.36	-3.50	-3.53	-2.91	-3.02	-2.92
NFKBIA	mMC012597	核转录因子 -κB 抑制基因	1.66	-1.52	-0.92	-1.33	-1.95	-1.23	-1.57	-0.58
IKBKB	mMR027870	κB 激酶抑制基因	1.33	-1.52	-0.92	-1.33	-1.95	-0.58	-1.57	-1.23

注: 各组探针信号的强度比值以 log₂(Ratio) 表示; 与模型组比较, log₂(Ratio) > 1 表示显著上调的表达基因, log₂(Ratio) < -1 表示显著下调的表达基因; C 为对照组, M 为模型组, D 为达菲组, SH, SM, SL 为疏风宣肺方高、中、低剂量组, JH, JM, JL 为解表清里方高、中、低剂量组

3 讨论

流感病毒侵袭宿主细胞,在胞内增殖、复制过程中产生的单链 RNA(ssRNA)和双链 RNA(dsRNA)可以被宿主 TLR 识别。根据所用 Toll-IL-1-受体(TIR)接头分子的不同,一般将 TLR 介导的信号通路分为 MyD88 依赖型信号通路和 MyD88 非依赖型/ β 干扰素 TIR 结构域衔接蛋白(TRIF)依赖型信号通路。流感病毒的 ssRNA 被 TLR7 识别,募集下游的信号分子 MyD88、肿瘤坏死因子受体相关蛋白 6(TRAF-6)、NF- κ B 抑制蛋白激酶(IKKs)等,使 NF- κ B 活化并入核,启动相关靶基因转录,表达炎症细胞因子白细胞介素(IL-6、IL-12 等);同时还会激活干扰素调节因子(IRF5、IRF7),诱导 I 型干扰素(IFN)的分泌,引起炎症反应。流感病毒 dsRNA 被 TLR3 识别,激活 MyD88 非依赖型通路的信号转导,诱导 IFN- β 和 IFN 诱导基因的表达,并可以伴随 NF- κ B 活化,调节 I 型 IFN 的释放,发挥抗病毒作用^[4-5]。TLR3 还可以启动细胞凋亡的信号转导,通过 Fas 相关死亡结构域(FADD)活化天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(caspase)信号转导途径,最终导致细胞凋亡。在 TLR 介导的信号转导通路中,转录因子 NF- κ B 是一个关键因子。MyD88 依赖型和 MyD88 非依赖型信号通路被激活时均可使 NF- κ B 活化而入核,启动相应靶基因的转录以及趋化因子等细胞因子的表达^[6]。

本实验通过基因芯片筛选技术发现,中、低剂量疏风宣肺方可明显下调与 TLR 信号转导通路关系密切的差异表达基因 TLR3、TLR7、MYD88、CCL5、IFNB1、IL6、IL12a、NFKBIA、IKBKB;而中剂量解表清里方可明显下调差异表达基因 TLR3、MYD88、CCL5、IFNB1、IL6、IL12a、NFKBIA、IKBKB;提示疏风宣肺方治疗效果比解表清里方好。RT-PCR 检测结果显示,疏风宣肺方中、低剂量组与解表清里方中剂量组对 TLR7、NF- κ B、MyD88 的 mRNA 表达有显著抑制作用,且疏风宣肺方优于解表清里方,与中日友好医院报告的临床研究结果^[7]基本一致。研究表明,金银花中的绿原酸、3-咖啡酰奎尼酸类化合物等是抗流感病毒的活性成分;连翘中的蒽醌类提取物有抑制流感病毒复制的作用,同时还可抑制病毒粒逆转录酶的活性^[8]。金银花、板蓝根等中药中含挥发油成分,可抑制流感病毒唾液酸酶的活性,从而阻抑病毒在宿主复制^[9-10]。

本课题组前期对流感肺炎小鼠研究发现,疏风

宣肺方和解表清里方中、低剂量组可明显降低肺指数,减轻肺组织病变,且疏风宣肺方效果优于解表清里方^[11-12];疏风宣肺方可以纠正辅助性 T 细胞 1/2(Th1/2)的平衡,减轻肺组织损伤,以中剂量为优^[13];本实验通过基因芯片筛选技术发现,疏风宣肺方疗效较解表清里方更好。两种方药抗流感病毒性感染过程中还存在哪些蛋白参与 TLR 信号通路发挥作用尚需进一步确定。TLR 信号转导通路是连接固有免疫和获得性免疫的连接桥梁^[14-15]。随着对 TLR 的进一步研究,结合病毒感染宿主的机制,将在病毒与宿主免疫应答反应之间相互作用及病毒感染治疗等方面提供参考依据。

参考文献

- [1] 张煜,钟波,杨艳,等. TLRs 与 RLRs 介导的细胞抗病毒反应信号转导及其调节机制 [J]. 细胞生物学杂志,2009,31(4): 453-468.
- [2] Guo L, Shi Q, Dial S, et al. Gene expression profiling in male B6C3F1 mouse livers exposed to kava identifies—changes in drug metabolizing genes and potential mechanisms linked to kava toxicity [J]. Food Chem Toxicol, 2010,48(2):686-696.
- [3] Lee JH, Cho B, Jun HJ, et al. Momilactone B inhibits protein kinase A signaling and reduces tyrosinase-related protein 1 and 2 expression in melanocytes [J]. Biotechnol Lett, 2012,34 (5): 805-812.
- [4] Mehrbod P, Ideris A, Omar AR, et al. Attenuation of influenza virus infectivity with herbal-marine compound (HESA-A): an in vitro study in MDCK cells [J]. Virol J, 2012,9:44.
- [5] 于高水,杨玉荣,梁宏德. Toll 样受体研究进展 [J]. 细胞生物学杂志,2009,31(3):339-343.
- [6] 葛建彬,顾锦华,李梅,等. 银杏内酯 A 对小鼠脑缺血/再灌注损伤的保护作用及其抑制 NF- κ B 信号通路下调 p53、Caspase-3 表达的机制 [J]. 中国药理学通报,2012,28(8): 1105-1110.
- [7] 罗亚峰. 基于晁恩祥教授经验的中药治疗流感的临床研究 [D]. 北京:北京中医药大学,2012.
- [8] 宋健,张会敏,郭承军,等. 金银花抗流感病毒活性成分峰的化合物归属研究 [J]. 中成药,2011,33(6):1017-1021.
- [9] 王志强,朱毅. 中药抗甲型 H1N1 流感病毒的研究概况 [J]. 现代中西医结合杂志,2011,20(14):1812-1814.
- [10] 石俊,张雄乐,陈绍雄,等. 人感染 H7N9 禽流感重症患者抗病毒治疗的思考 [J]. 中华危重病急救医学,2013,25(8): 497.
- [11] 刘琪,顾立刚,周旭澎,等. 疏风宣肺及解表清里方药对流感病毒感染小鼠肺损伤的保护研究 [J]. 中华中医药杂志,2013, 28(7):2132-2134.
- [12] 卢娜娜,刘琪,顾立刚,等. 流感病毒性肺炎小鼠自然杀伤细胞毒性相关信号转导通路差异基因表达及两种不同治法中药方剂的调控作用研究 [J]. 中华危重病急救医学,2013,25(6): 322-326.
- [13] 刘琪,顾立刚,卢娜娜,等. 疏风宣肺、解表清里方药对流感病毒性肺炎小鼠辅助性 T 细胞 1/2 平衡调节的研究 [J]. 中国中西医结合急救杂志,2013,20(1): 1-4.
- [14] 苏士成,赵星海,赵波,等. 1 例 H7N9 禽流感病毒感染患者的救治 [J]. 中华危重病急救医学,2014,26(1): 58-59.
- [15] 汪首振,汤展宏,胡军涛,等. 亚低温对脂多糖诱导巨噬细胞 Toll 样受体 4 mRNA 转录及炎症平衡的影响 [J]. 中华危重病急救医学,2014,26(2): 84-88.

(收稿日期:2014-01-16)

(本文编辑:李银平)