

小儿风热清合剂（口服液）对流感病毒致小鼠病毒性肺炎的影响

孙建辉¹, 郝莉雨¹, 李宗源^{1,2}, 于泽玥¹, 霍海如¹, 吴子伦¹, 李绮婧³, 张宏萌^{3*}, 李洪梅^{1*}

1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700

2. 江苏大学, 江苏 镇江 212013

3. 山东中医药大学, 山东 济南 250355

摘要: **目的** 研究小儿风热清合剂（口服液）对流感病毒致小鼠病毒性肺炎的治疗作用。**方法** 将 ICR 小鼠按体质量随机分为对照组、模型组及小儿风热清合剂（口服液）高、中、低剂量（21.6、10.8、5.4 mL/kg）组和磷酸奥司他韦胶囊（39 mg/kg）组，除对照组外，其余各组小鼠滴鼻感染甲型流感病毒鼠肺适应株 FM₁ 构建小鼠病毒性肺炎模型，测定各组小鼠体质量和肺指数；采用 ELISA 法检测小鼠血清中白细胞介素-6（interleukin-6, IL-6）水平；采用苏木素-伊红（HE）染色考察肺组织病理变化；检测肺组织中病毒载量以及流感病毒感染致小鼠死亡的存活时间。**结果** 小鼠感染流感病毒后，体质量明显降低（ $P < 0.01$ ），肺指数、血清中 IL-6 水平明显升高（ $P < 0.01$ ）。与模型组相比，小儿风热清合剂（口服液）组小鼠体质量明显升高（ $P < 0.01$ ）；肺指数明显降低（ $P < 0.05$ 、 0.01 ）；肺组织、肺泡出血、水肿、肺内细支气管周围炎症等病变明显减轻；血清中 IL-6 水平降低（ $P < 0.01$ ）；肺组织病毒载量明显降低（ $P < 0.05$ ）；小鼠存活时间明显延长（ $P < 0.05$ ）。**结论** 小儿风热清合剂（口服液）能够降低病毒性肺炎小鼠肺指数及肺组织病毒载量，改善病毒感染所致肺组织病理形态学异常，延长病毒感染小鼠存活时间，提示小儿风热清合剂（口服液）对流感病毒所致的病毒性肺炎具有治疗作用，其作用机制可能与改善炎症、降低病毒载量等有关。

关键词: 小儿风热清合剂（口服液）；流感病毒；病毒性肺炎；炎症；病毒载量

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2022)09-2740-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.09.017

Effect of Xiaer Fengqing Mixture (Oral Liquid) on viral pneumonia mice model infected with influenza virus

SUN Jian-hui¹, HAO Li-yu¹, LI Zong-yuan^{1, 2}, YU Ze-yue¹, HUO Hai-ru¹, WU Zi-lun¹, LI Qi-jing³, ZHANG Hong-meng³, LI Hong-mei¹

1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

2. Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

3. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

Abstract: Objective To study the therapeutic effect of Xiaer Fengqing Mixture Oral Liquid [小儿风热清合剂（口服液）] on viral pneumonia mice model infected with influenza virus. **Methods** ICR mice were randomly divided into control group, model group, Xiaer Fengqing Mixture (Oral Liquid) high-, medium-, and low-dose (21.6, 10.8, 5.4 mL/kg) groups and oseltamivir phosphate capsule (39 mg/kg) group according to weight body. Except for control group, mice in other groups were infected with influenza A virus mouse lung-adapted strain FM₁ intranasally to construct a mouse viral pneumonia model, body weight and lung index of mice in each group were determined; Interleukin-6 (IL-6) level in serum of mice was detected by ELISA; Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to investigate the pathological changes of lung tissue; Viral load in lung tissue and survival time of mice killed by influenza virus infection were detected. **Results** After mice were infected with influenza virus, body weight was significantly decreased ($P < 0.01$), lung index and IL-6 level in serum were significantly increased ($P < 0.01$). Compared with model group, body weight of mice in Xiaer Fengqing

收稿日期: 2022-01-18

基金项目: 中央本级重大增减支项目 (2060302); 科技部科技基础性工作专项 (2015FY111500-012); 山东省重点研发计划项目 (2017CXG1301)

作者简介: 孙建辉 (1969—), 男, 副主任技师, 研究方向为中药药理与毒理。Tel: 13501031386 E-mail: sjh121858@sina.com

*通信作者: 李洪梅 (1979—), 博士, 研究员, 研究方向为中药药理及新药开发。E-mail: lihm2006@sina.cn

张宏萌 (1979—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为中药药理研究。E-mail: 13869123903@126.com

Mixture (Oral Liquid) group was significantly increased ($P < 0.01$); Lung index was significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$); Lung tissue, alveolar hemorrhage, edema, inflammation around bronchioles in lung and other lesions were significantly reduced; IL-6 level in serum was decreased ($P < 0.01$); Viral load in lung tissue was significantly decreased ($P < 0.05$); Survival time of mice was significantly prolonged ($P < 0.05$). **Conclusion** Xiaoe Fengqing Mixture (Oral Liquid) can reduce lung index and viral load of lung tissue in mice with viral pneumonia, improve the pathological abnormality of lung tissue caused by virus infection, and prolong the survival time of virus infected mice, suggesting that Xiaoe Fengqing Mixture (Oral Liquid) has a therapeutic effect on viral pneumonia caused by influenza virus, and its mechanism may be related to improving inflammation and reducing viral load.

Key words: Xiaoe Fengqing Mixture (Oral Liquid); influenza virus; viral pneumonia; inflammation; viral load

流行性感是一种由流感病毒引起的具有高度传染性的人畜共患急性呼吸道疾病^[1], 其根据病毒核蛋白和基质蛋白抗原性的差异可分为甲、乙、丙、丁 4 种类型^[2], 其中甲型流感病毒宿主范围较广, 易发生抗原性漂移和转换^[3]。甲型流感多数确诊患者有发热表现, 患者体温升高, 病性属“温热”, 属于中医新发温病^[4]。

中药具有整体调节、多靶点治疗的特点, 能在退热、消炎、抗病毒的同时提高人体免疫功能, 比单一抗病毒药物减轻上呼吸道症状更具优势^[5]。小儿风热清合剂(口服液)由金银花、连翘、板蓝根、薄荷、柴胡、牛蒡子、荆芥穗、石膏、黄芩、栀子、桔梗、赤芍、芦根、炒苦杏仁、淡竹叶、枳壳、炒六神曲、僵蚕、防风、甘草 20 味药经煎煮后浓缩, 沉淀、滤过, 再历经灌装、灭菌等现代化制药先进工艺制成, 具有辛凉解表、清热解毒、止咳利咽的功效, 并根据现代药理学研究具有解热、镇痛、抗菌、抗病毒的作用, 适用于发热、咳嗽、咳痰、鼻塞流涕、咽喉红肿疼痛等症状^[6], 在临床应用中对于儿童甲型流行性感^[7]、小儿急性上呼吸道感染(风热感冒证)^[8]等亦具有良好的治疗效果。本研究采用甲型流感病毒鼠肺适应株 FM₁ 溶液滴鼻感染小鼠构建小鼠流感病毒性肺炎模型, 评价小儿风热清合剂(口服液)对病毒性肺炎小鼠体质量、肺指数、炎症因子、肺组织病理形态学、肺组织病毒载量、存活时间等的影响, 通过动物实验探讨小儿风热清合剂(口服液)抗流感病毒的作用及其作用机制。

1 材料

1.1 细胞株

甲型流感病毒鼠肺适应株 FM₁ 购自中国预防医学科学院病毒学研究所, 本实验室传代后于 -80 °C 冰箱保存备用。

1.2 动物

SPF 级 ICR 小鼠, 体质量 13~15 g, 雌雄各半, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 动物

生产许可证号 SCXK(京)2016-0006。动物饲养于中国中医科学院中药研究所 ABSL-2 级生物安全室, 室温 20~26 °C, 湿度 40%~70%, 给予灭菌维持饲料、纯净水饲养。动物实验经中国中医科学院中药研究所动物伦理委员会批准, 批准号 2020D017。

1.3 药品与试剂

小儿风热清合剂(口服液, 批号 S03520001, 60 mL/瓶, 每毫升相当于饮片 2.0 g)由邯郸制药股份有限公司提供; 达菲®磷酸奥司他韦胶囊(以奥司他韦计 75 mg/粒, 批号 M1046)购自 Roche Registration Ltd; 乙醚(批号 20181009)购自国药集团化学试剂有限公司; 小鼠白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6) ELISA 试剂盒(批号 221503-000)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 引物由 Invitrogen 公司合成; TRNzol 总 RNA 提取试剂(批号 03420)购自天根生化科技(北京)有限公司; PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser(批号 AJ92011A)、DL2000 DNA Marker(批号 A2301A)购自宝日医生物技术(北京)有限公司。

1.4 仪器

MC1.8 型生物安全柜(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); BSA3202S-CW 型、BSA323S-CW 型电子天平(赛多利斯仪器有限公司); AL-204 型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; ABI7500 型 qRT-PCR 仪(Applied Biosystems 公司); Tanon 1600 型凝胶成像系统(上海天能科技有限公司); Luminex 200 多因子检测仪(Luminex 公司)。

2 方法

2.1 动物分组

ICR 小鼠 120 只, 分为 2 批, 每批 60 只, 按体质量随机分组, 分别为对照组、模型组及小儿风热清合剂(口服液)高、中、低剂量(21.6、10.8、5.4 mL/kg, 分别相当于临床 2.0、1.0、0.5 倍剂量)组和磷酸奥司他韦胶囊(39 mg/kg, 相当于临床 2 倍剂量)组, 每组 10 只, 雌雄各半, 一批用于肺组织病毒载量测

定, 另一批用于病理学和细胞因子测定; ICR 小鼠 110 只, 按体质量随机分组, 分别为对照组、模型组及小儿风热清合剂(口服液)高、中、低剂量(21.6、10.8、5.4 mL/kg, 分别相当于临床 2.0、1.0、0.5 倍剂量)组和磷酸奥司他韦胶囊(39 mg/kg, 相当于临床 2 倍剂量)组, 除对照组 10 只小鼠外, 其余各组每组 20 只, 雌雄各半, 用于小鼠存活时间测定。

2.2 小鼠流感病毒性肺炎模型建立

造模方法参照文献方法^[9]进行改进: 除对照组外, 其余各组小鼠以乙醚轻度麻醉, 用流感病毒鼠肺适应株 FM₁ 溶液滴鼻感染小鼠, 0.05 mL/只[15 倍半数致死剂量(median lethal dose, LD₅₀)], 造成小鼠流感病毒性肺炎模型。感染当天开始各给药组 ig 相应药物(20 mL/kg), 对照组和模型组 ig 等体积纯净水, 1 次/d, 连续 5 d。

2.3 血清 IL-6 水平的测定

实验第 6 天称定小鼠体质量后, 取血, 分离血清, 按 ELISA 试剂盒说明书测定血清中 IL-6 水平。

2.4 肺指数测定

实验第 6 天取血后处死小鼠, 固定、解剖, 摘取肺组织称定质量, 计算肺指数。

肺指数 = 肺质量/体质量

2.5 肺组织病理学观察

实验第 6 天小鼠肺组织称定质量后, 于 10% 甲醛溶液中固定, 48 h 后取出流水冲洗, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 浸蜡包埋, 切片, 苏木素-伊红(HE)染色, 中性树胶封片, 于显微镜下观察并拍照。

2.6 肺组织病毒载量测定

实验第 6 天取血后处死小鼠, 固定、解剖, 摘取肺组织称定质量后, 放置于无菌离心管中, 冻存于液氮中, 采用 RT-PCR 测定肺组织病毒载量。

2.7 小鼠存活时间的测定

从造模第 1 天开始计算, 观察 14 d 内小鼠死亡情况, 计算小鼠中位生存时间、平均存活时间和存活时间延长率。

中位生存时间 = 存活率在 50% 时对应的生存时间

平均存活时间 = 存活时间之和/该组动物只数

存活时间延长率 = (给药组平均生存时间 - 模型组平均生存时间)/模型组生存时间

2.8 统计学处理

使用 SPSS 21.0 软件对数据进行统计学分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间多重比较分析采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 结合最小显著

性差异法(LSD)多重比较分析。

3 结果

3.1 小儿风热清合剂(口服液)对流感病毒性肺炎小鼠体质量和肺指数的影响

如表 1 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠体质量显著降低($P < 0.01$), 肺指数明显升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组小鼠体质量明显升高($P < 0.01$), 肺指数明显降低($P < 0.05$ 、 0.01)。

表 1 小儿风热清合剂(口服液)对流感病毒性肺炎小鼠体质量和肺指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

Table 1 Effect of Xiaofengqing Mixture (Oral Liquid) on body weight and lung index of viral pneumonia mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

组别	剂量	体质量/g	肺指数
对照	—	21.19 ± 1.37	0.832 ± 0.069
模型	—	17.02 ± 1.27**	1.419 ± 0.201**
磷酸奥司他韦胶囊	39 mg·kg ⁻¹	19.26 ± 1.04 [#]	1.033 ± 0.093 [#]
小儿风热清合剂	21.6 mL·kg ⁻¹	18.68 ± 1.28 [#]	1.211 ± 0.162 [#]
(口服液)	10.8 mL·kg ⁻¹	18.18 ± 1.22 [#]	1.291 ± 0.149 [#]
	5.4 mL·kg ⁻¹	18.53 ± 1.22 [#]	1.208 ± 0.167 [#]

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$, 下表同

** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group, same as below tables

3.2 小儿风热清合剂(口服液)对流感病毒性肺炎小鼠血清中 IL-6 水平的影响

如表 2 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠血清中 IL-6 水平显著升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 小儿风热清合剂(口服液)高、中剂量组小鼠血清中 IL-6 水平明显降低($P < 0.01$)。

3.3 小儿风热清合剂(口服液)对流感病毒性肺炎小鼠肺组织和支气管病理变化的影响

如图 1、2 所示, 对照组小鼠肺组织肺泡内未见有炎性渗出, 间质未见炎症、水肿, 肺泡未见有融合, 肺内细支气管周围未见有炎症浸润, 气管内未见有脱落物, 细支气管内膜细胞正常。模型组小鼠

表 2 小儿风热清合剂(口服液)对流感病毒性肺炎小鼠血清中 IL-6 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Effect of Xiaofengqing Mixture (Oral Liquid) on IL-6 level in serum of viral pneumonia mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量	IL-6/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	4.375 ± 3.501
模型	—	57.458 ± 27.221**
磷酸奥司他韦胶囊	39 mg·kg ⁻¹	34.199 ± 34.779
小儿风热清合剂	21.6 mL·kg ⁻¹	25.265 ± 16.682 [#]
(口服液)	10.8 mL·kg ⁻¹	28.869 ± 8.227 [#]
	5.4 mL·kg ⁻¹	41.535 ± 13.796

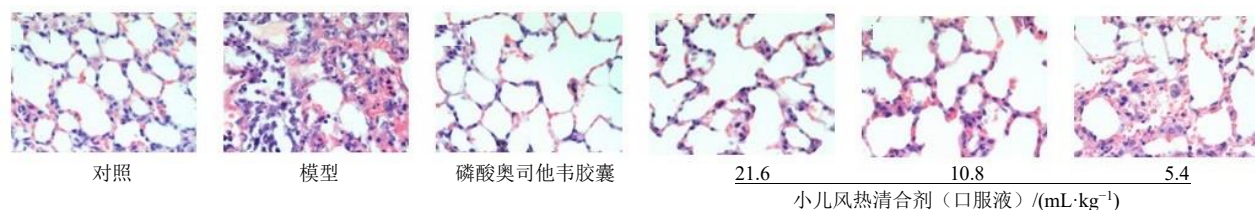


图1 小儿风热清合剂（口服液）对流感病毒性肺炎小鼠肺组织病理变化的影响（HE，×400）

Fig. 1 Effect of Xiaoer Fengrenging Mixture (Oral Liquid) on pathological changes of lung tissue of viral pneumonia mice (HE, × 400)

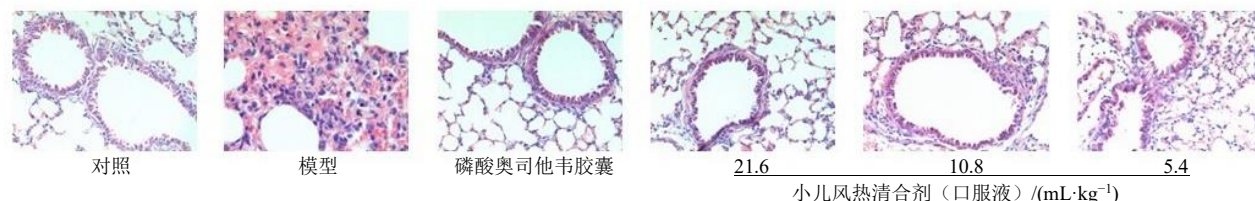


图2 小儿风热清合剂（口服液）对流感病毒性肺炎小鼠支气管组织病理变化的影响（HE，×200）

Fig. 2 Effect of Xiaoer Fengrenging Mixture (Oral Liquid) on pathological changes of bronchial histopathology of viral pneumonia mice (HE, × 200)

肺组织肺泡间质内大面积炎性出血、瘀血，炎症渗出较弥漫，以淋巴细胞为主，少部分小鼠有多量中性粒细胞、分叶核细胞等其他炎症细胞渗出，部分小鼠肺泡融合，肺组织间质有明显水肿；肺内细支气管周围有明显炎症浸润，以淋巴细胞、中性粒细

胞、分叶核细胞为主，细支气管内膜有节段性脱落，病变较弥漫。各给药组小鼠肺组织、肺泡出血、水肿、肺内细支气管周围炎症等病变与模型组相比有不同程度地减轻。对肺部病变和支气管病变进行半定量统计，结果见表3、4。与对照组比较，模型组

表3 小儿风热清合剂（口服液）对流感病毒性肺炎小鼠肺组织病理变化的影响（ $\bar{x} \pm s, n = 10$ ）

Table 3 Effect of Xiaoer Fengrenging Mixture (Oral Liquid) on pathological changes of lung tissue of viral pneumonia mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	n/只					秩和检验 P 值
		—	+	++	+++	++++	
对照	—	10	/	/	/	/	/
模型	—	/	/	1	5	4	**
磷酸奥司他韦胶囊	39 mg·kg ⁻¹	/	3	6	1	/	##
小儿风热清合剂（口服液）	21.6 mL·kg ⁻¹	/	1	5	4	/	#
	10.8 mL·kg ⁻¹	/	1	5	4	/	#
	5.4 mL·kg ⁻¹	/	1	6	3	/	##

“—”：小鼠肺组织肺泡内未见有渗出，间质未见有炎症，肺泡未见有融合，肺内细支气管周围未见炎症，组织结构正常；“+”：小鼠肺组织肺泡间质有轻度红血球及少量淋巴细胞渗出，B 细胞未见有明显增生、增大，肺内细支气管周围未见有明显炎症；“++”：小鼠肺组织肺泡内间质有轻度瘀血，有炎症渗出，以淋巴细胞为主，少量中性分叶核渗出，组织有轻度水肿，肺内部分细支气管周围有炎症渗出；“+++”：小鼠肺组织肺泡间质内大面积炎性出血、瘀血，肺间质有大量炎症细胞渗出，以淋巴细胞为主，并有多量中性粒细胞分叶核渗出，肺间质内有大量粉色血浆渗出，组织有水肿，肺泡有融合，肺内细支气管周围炎症浸润；“++++”：小鼠肺组织肺泡间质大面积炎性出血，肺间质有大量炎症细胞渗出，以淋巴细胞为主，并有多量中性分叶核细胞渗出，肺间质有大量血浆渗出，组织有水肿，肺泡有融合；肺内细支气管周围大量炎症渗出，肌组织细胞有增生、增大，病变较重、较弥漫，“/”为无 与对照组比较：** $P < 0.01$ ；与模型组比较：# $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ，表4同

“—”: no exudation in alveoli, no inflammation in interstitium, no fusion of alveoli, no inflammation around bronchioles in lung, normal tissue structure; “+”: there were mild red blood cells and a small amount of lymphocyte exudation in alveolar interstitium, no obvious proliferation and enlargement of B cells, and no obvious inflammation around bronchioles in lungs; “++”: alveolar interstitium in lung tissue of mice, mild blood stasis, inflammatory exudation, mainly lymphocytes, a small amount of neutral lobulated nuclear exudation, mild tissue edema, and inflammatory exudation around some bronchioles in lung; “+++”: large area of inflammatory hemorrhage and blood stasis in alveolar interstitium of lung tissue, a large number of inflammatory cells exuded in interstitial lung, mainly lymphocytes, and a large number of neutrophilic lobulated nuclei exuded, and a large number of inflammatory cells in interstitial lung pink plasma exudates, tissue edema, alveolar fusion, and inflammatory infiltration around bronchioles in lung; “++++”: large area of inflammatory hemorrhage in alveolar interstitium of lung tissue, with a large number of inflammatory cells exuding in pulmonary interstitium, mainly lymphocytes, with a large number of neutral lobulated nucleated cells exuding, a large amount of plasma exudation in pulmonary interstitium, tissue edema, and alveolar fusion; a large number of inflammatory exudates around bronchioles in lung, and muscle tissue cells hyperplasia, enlargement, heavier and more diffuse lesions, “/” means none ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group, same as table 4

表4 小儿风热清合剂(口服液)对流感病毒性肺炎小鼠支气管组织病理变化的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 4 Effect of Xiaer Fengqing Mixture (Oral Liquid) on pathological changes of bronchial histopathology of viral pneumonia mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	n/只					秩和检验 P 值
		—	+	++	+++	++++	
对照	—	10	/	/	/	/	/
模型	—	/	/	1	6	3	**
磷酸奥司他韦胶囊	39 mg·kg ⁻¹	/	3	6	1	/	##
小儿风热清合剂(口服液)	21.6 mL·kg ⁻¹	/	1	5	4	/	#
	10.8 mL·kg ⁻¹	/	1	5	4	/	#
	5.4 mL·kg ⁻¹	/	1	6	3	/	##

小鼠肺组织和支气管病变明显 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组肺组织和支气管病变均有明显改善 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

3.4 小儿风热清合剂(口服液)对流感病毒性肺炎小鼠病毒载量的影响

如表5所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肺组织中病毒载量明显升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 小儿风热清合剂(口服液)中剂量组和磷酸奥司他韦胶囊组肺组织病毒载量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

表5 小儿风热清合剂(口服液)对流感病毒性肺炎小鼠病毒载量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 5 Effect of Xiaer Fengqing Mixture (Oral Liquid) on viral load of lung tissue of viral pneumonia mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	病毒载量/($\times 10^8$ 拷贝数· μL^{-1} cDNA)
对照	—	0.04 ± 0.00
模型	—	$1.80 \pm 0.42^{**}$
磷酸奥司他韦胶囊	39 mg·kg ⁻¹	$0.50 \pm 0.68^{##}$
小儿风热清合剂(口服液)	21.6 mL·kg ⁻¹	1.32 ± 0.59
	10.8 mL·kg ⁻¹	$1.16 \pm 0.69^{\#}$
	5.4 mL·kg ⁻¹	2.43 ± 1.13

表6 小儿风热清合剂(口服液)对病毒感染致小鼠存活时间的影响 ($\bar{x} \pm s$)Table 6 Effect of Xiaer Fengqing Mixture (Oral Liquid) on survival time of mice with influenza virus infection ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量	n/只	中位生存时间/d	平均生存时间/d	延长率/%
对照	—	10	14.0	14.0 ± 0.0	—
模型	—	20	8.0	$8.3 \pm 1.7^{**}$	—
磷酸奥司他韦胶囊	39 mg·kg ⁻¹	20	14.0	$12.7 \pm 2.1^{##}$	53.0
小儿风热清合剂(口服液)	21.6 mL·kg ⁻¹	20	9.0	$10.0 \pm 2.4^{\#}$	20.5
	10.8 mL·kg ⁻¹	20	8.5	9.3 ± 2.2	12.0
	5.4 mL·kg ⁻¹	20	8.0	9.1 ± 2.3	9.0

4 讨论

流行性感冒是由流感病毒引起的一种急性呼吸道传染病, 在世界范围内引起暴发和流行。流感起病急, 虽然大多为自限性, 但部分因出现肺炎等并

3.5 小儿风热清合剂(口服液)对流感病毒感染致小鼠死亡的影响

各组小鼠生存曲线见图3。如表6所示, 与模型组比较, 小儿风热清合剂(口服液)高剂量组和磷酸奥司他韦胶囊组小鼠平均生存时间明显延长 ($P < 0.05$), 存活时间延长率分别为53.0%、23.5%。

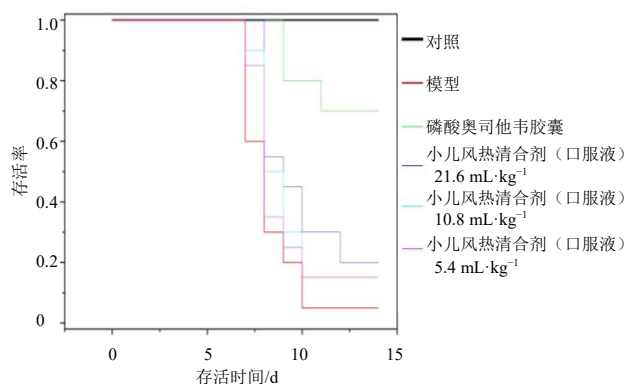


图3 小儿风热清合剂(口服液)对流感病毒感染致小鼠生存曲线的影响

Fig. 3 Effect of Xiaer Fengqing Mixture (Oral Liquid) on survival curve of mice with influenza virus infection

发症可发展至重症流感, 少数重症病例病情进展快, 可因急性呼吸窘迫综合征或多脏器衰竭而死亡^[10]。在中医理论中, 流感属于“疫病”范畴, 有风寒、风热之分^[11], 但临床以风热为多, 外感风热为基本

病机,可见发热、咳嗽、咽喉肿痛、胸痛、痰中带血、苔黄、脉数等症状,属中医风温病范畴,治疗上多用辛凉解表合用清热解毒之法^[12]。

本研究使用甲型 H1N1 流感 FM₁ 株滴鼻感染小鼠,造成病毒性肺炎模型,该造模方式操作简便,小鼠感染流感病毒后,模型组小鼠体质量较对照组明显降低,肺指数明显升高,并经病毒载量测定结果佐证,说明本次甲型 H1N1 流感病毒感染小鼠模型建立成功。给予小儿风热清合剂(口服液)后,与模型组相比,各给药组体质量明显提高,肺指数明显降低,肺组织、肺泡出血、水肿、肺内细支气管周围炎症等病变明显减轻,肺组织中病毒载量明显降低,小鼠存活时间延长,说明小儿风热清合剂(口服液)对流感病毒引起的病毒性肺炎有一定的治疗与缓解作用。

小儿风热清合剂(口服液)中金银花为中药治疗流感常用清热解毒药,如双黄连口服液、连花清瘟胶囊等均以金银花为君药,常与连翘配伍^[13],行辛凉解表、芳香辟秽、清瘟解毒、宣肺泄热之功,常用于流行性感冒等热毒袭肺证的治疗,其可在透解卫分表邪的同时,兼顾温热病邪多夹秽浊之气的特点^[14],经现代药理学研究表明,金银花中所含有的槲皮素、木犀草素、山柰酚等成分,可通过调节核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B)、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)^[15]、Janus 激酶 2 (Janus kinase 2, JAK2) / 信号转导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 以及 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) / p38 MAPK^[16]等信号通路,改善流感病毒所带来的炎症反应,并通过抑制相关蛋白表达^[17],起到对抗流感病毒的效果。连翘味苦,性微寒,归肺、心、胆经,具有清热解毒、消痈散结的功效,常与金银花配伍用于外感风热或热病初起^[18],现代药理学研究结果表明,二者配伍使用,主要针对于炎症性疾病^[19],并可明显降低实验大鼠体内 IL-6 水平^[20]。IL-6 是一种介导炎性反应的细胞因子,研究显示,流感病毒感染人体后,呼吸道局部和血清中 IL-6 水平与临床症状密切相关^[21]。本研究结果显示,病毒感染后小鼠血清中 IL-6 水平明显升高,而给予小儿风热清合剂(口服液)后,高、中剂量组小鼠血清中 IL-6 明显降低,说明小儿风热清合剂(口服液)对流感病毒所致病毒性肺炎的治疗作用,可能与改善炎症相

关,该结果也与前人研究结果相符。

本研究通过构建病毒性肺炎模型来模拟感染流感后的疾病状态,以临床 2 倍剂量的奥司他韦胶囊作为阳性对照组,以此展开小儿风热清合剂(口服液)对流感的治疗作用探索。研究结果表明,小儿风热清合剂(口服液)能够降低小鼠肺指数和肺组织病毒载量,改善病毒感染所致肺组织病理形态学改变;延长病毒感染小鼠存活时间,提示小儿风热清合剂(口服液)对流感病毒所致的病毒性肺炎具有治疗作用,其作用机制可能与改善炎症、降低病毒载量等相关,为临床用于儿童流行性感冒、风热感冒证提供了实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Medina R A. 1918 influenza virus: 100 years on, are we prepared against the next influenza pandemic? [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2018, 16(2): 61-62.
- [2] 杨延龙,涂明利,谢明水. PI3K 抑制剂对甲型流感病毒 FM₁ 感染诱导病毒性肺炎小鼠肺组织中 NO 生成及炎症反应的影响 [J]. *病毒学报*, 2019, 35(5): 713-720.
- [3] Ferguson L, Olivier A K, Genova S, et al. Pathogenesis of influenza D virus in cattle [J]. *J Virol*, 2016, 90(12): 5636-5642.
- [4] 王振中,鲍琳琳,孙兰,等. 热毒宁注射液抗甲型 H1N1 流感病毒作用机制研究 [J]. *中草药*, 2014, 45(1): 90-93.
- [5] 周沁阳,蔡文涛,陈勇. 中药抗流感病毒活性及作用机制研究新进展 [J]. *中草药*, 2019, 50(7): 1719-1726.
- [6] 王艳荣,王险峰,陈军,等. 小儿风热清口服液辅助治疗儿童手足口病 30 例 [J]. *医药导报*, 2011, 30(8): 1037-1038.
- [7] 冯自威,杜永刚. 小儿风热清治疗儿童甲型流行性感冒疗效观察 [J]. *中医药临床杂志*, 2020, 32(7): 1296-1299.
- [8] 周丛笑,王俊宏,陈竹,等. 小儿风热清合剂治疗小儿急性上呼吸道感染(风热感冒证)的多中心临床研究 [J]. *药物评价研究*, 2020, 43(12): 2450-2456.
- [9] 陈奇. *中药药理研究方法学* [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 251.
- [10] 国家卫生和计划生育委员会, 国家中医药管理局. 流行性感冒诊疗方案 (2018 年版) [J]. *中国感染控制杂志*, 2018, 17(2): 181-184.
- [11] 吕小琴,张磊,狄浩然,等. 流行性感冒研究进展概要 [J]. *世界中医药*, 2018, 13(2): 278-282.
- [12] 方药中. *实用中医内科学* [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 86-91.

- [13] 李苗苗, 杨勤军, 童佳兵, 等. 中药治疗流行性感组方用药规律研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(9): 172-177.
- [14] 高凯, 宋延平. 基于网络药理学和分子对接探索金银花用于甲型H1N1流感的分子机制 [J]. 中国新药杂志, 2020, 29(23): 2729-2737.
- [15] Zhang R H, Ai X, Duan Y J, *et al.* Kaempferol ameliorates H9N2 swine influenza virus-induced acute lung injury by inactivation of TLR4/MyD88-mediated NF- κ B and MAPK signaling pathways [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89: 660-672.
- [16] Li R N, Hong P, Zheng X. B-carotene attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation via inhibition of the NF- κ B, JAK2/STAT3 and JNK/p38 MAPK signaling pathways in macrophages [J]. *Animal Sci J*, 2019, 90(1): 140-148.
- [17] 万巧凤, 吴莉, 杨美玲, 等. 槲皮素对甲型 H1N1 流感病毒诱导的 A549 细胞凋亡效应酶 Caspase-3 的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2011, 18(10): 42-44.
- [18] 李立, 杜雅薇, 寇爽, 等. 金银花-连翘对甲型H1N1流感免疫调节通路影响的生物信息学分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(10): 201-204.
- [19] 吴嘉瑞, 金燕萍, 王凯欢, 等. 基于网络药理学的“金银花-连翘”药对作用机制分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(5): 179-183.
- [20] 林丽美, 王智民, 王金华, 等. 金银花、连翘及银翘药对水煎剂的抗炎、解热作用研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(4): 473-475.
- [21] Hussell T, Pennycook A, Openshaw P J. Inhibition of tumor necrosis factor reduces the severity of virus specific lung immunopathology [J]. *Eur J Immunol*, 2001, 31(9): 2566-2573.

[责任编辑 李亚楠]