

## 基于免疫激活的鱼腥草抗病毒机制

罗政<sup>1</sup>, 李俊良<sup>2#</sup>, 王姝懿<sup>4</sup>, 何昱廷<sup>1</sup>, 初英杰<sup>2</sup>, 董秋童<sup>1</sup>, 刘哲<sup>1</sup>, 李敏<sup>2</sup>, 王遥<sup>2,3</sup>, 贾鑫<sup>1\*</sup>

1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029
2. 北京中医药大学生命科学学院, 北京 100029
3. 北京中医药大学北京中医药研究院, 北京 100029
4. 北京中医药大学岐黄学院, 北京 100029

**摘要:** **目的** 探讨鱼腥草 *Houttuyniae Herba* 的体内外抗病毒作用及其对抗病毒天然免疫信号的激活作用。 **方法** CCK-8 法检测鱼腥草水提物对非小细胞肺癌 A549 细胞活力的影响。利用表达绿色荧光蛋白的水疱性口炎病毒 (vesicular stomatitis virus expressing green fluorescent protein, VSV-GFP) 感染 A549 细胞, 流式细胞术检测鱼腥草水提物对病毒复制的影响; qRT-PCR 检测鱼腥草水提物对甲型流感病毒 (influenza A virus, H1N1)、脑心肌炎病毒 (encephalomyocarditis virus, EMCV) 和单纯疱疹病毒 1 型 (herpes simplex virus type 1, HSV-1) 复制的影响; 利用生物信息学方法探究鱼腥草抗病毒机制并采用 qRT-PCR 进行验证; 在野生型和 I 型干扰素受体 1 (interferon-1 receptor 1, IFNAR1) 敲除的 A549 细胞中检测鱼腥草水提物的抗病毒作用, Western blotting 检测鱼腥草水提物对 I 型干扰素 (interferon-1, IFN-1) 通路下游 TANK 结合激酶 1 (TANK binding kinase 1, TBK1)、信号转导和转录活化因子 1 (signal transducer and activator of transcription 1, STAT1) 和 STAT2 磷酸化水平的影响。构建 H1N1 病毒感染小鼠模型, 以奥司他韦为阳性对照药, 考察鱼腥草水提物对感染小鼠肺组织病毒载量和肺组织病理变化的影响。 **结果** 在细胞水平, 鱼腥草水提物显著抑制 VSV、H1N1、EMCV 和 HSV-1 的复制 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ ), 且呈剂量相关性。在 H1N1 感染小鼠模型中, 鱼腥草水提物显著降低肺组织病毒载量 ( $P < 0.05$ ), 并改善肺组织的病理损伤。机制研究表明, 鱼腥草水提物在 MEF、THP-1 和 PM 细胞中显著上调干扰素刺激基因 (interferon stimulated genes, ISGs) 表达 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ ), 并促进 TBK1、STAT1 和 STAT2 磷酸化 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ )。 **结论** 鱼腥草通过激活基于 IFN-1 通路的抗病毒天然免疫发挥体内外的抗病毒作用。

**关键词:** 鱼腥草; 抗病毒天然免疫; I 型干扰素通路; 病毒; 芦丁

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)09-3140-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.09.012

## Antiviral mechanism of *Houttuyniae Herba* based on immune activation

LUO Zheng<sup>1</sup>, LI Junliang<sup>2</sup>, WANG Shuyi<sup>4</sup>, HE Yuting<sup>1</sup>, CHU Yingjie<sup>2</sup>, DONG Qiutong<sup>1</sup>, LIU Zhe<sup>1</sup>, LI Min<sup>2</sup>, WANG Yao<sup>2,3</sup>, JIA Xin<sup>1</sup>

1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China
2. School of Life Science, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China
3. Beijing Institute of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China
4. Qi-Huang Chinese Medicine School, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

**Abstract: Objective** To explore the antiviral effect of Yuxingcao (*Houttuyniae Herba*) *in vitro* and *in vivo*, as well as its activation effect on natural immune signals against viruses. **Methods** CCK-8 method was used to detect the effect of *Houttuyniae Herba* water extract on viability of A549 cells; A549 cells was infected with vesicular stomatitis virus expressing green fluorescent protein (VSV-eGFP), the effect of *Houttuyniae Herba* water extract on virus replication was detected by flow cytometry; qRT-PCR was used to detect the effect of *Houttuyniae Herba* water extract on the replication of influenza A virus (H1N1), encephalomyocarditis virus (EMCV) and herpes simplex virus type 1 (HSV-1); Antiviral mechanism of *Houttuyniae Herba* was explored by bioinformatics methods and

收稿日期: 2024-08-22

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82474153); 北京市科技新星计划课题 (20230484342); 北京市自然科学基金资助项目 (7242239)

作者简介: 罗政, 男, 硕士研究生, 研究方向为抗病毒免疫药理。Tel: 19136754354 E-mail: lz200243@163.com

#共同第一作者: 李俊良, 男, 硕士研究生, 研究方向为抗炎免疫药理。Tel: 18737661057 E-mail: ljl@bucm.edu.cn

\*通信作者: 贾鑫, 博士, 副教授, 从事中药抗病毒免疫药理研究。Tel: 18210076965 E-mail: jiaxin@bucm.edu.cn

validated through qRT-PCR; The antiviral effect of *Houttuyniae Herba* water extract was detected in wild-type and type I interferon receptor 1 (IFNAR1) knockout A549 cells, and the effects of *Houttuyniae Herba* water extract on downstream TANK binding kinase 1 (TBK1), signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) and STAT2 phosphorylation levels in interferon-I (IFN-I) pathway were examined by Western blotting. A mouse model infected with H1N1 virus was constructed and oseltamivir was used as a positive control drug to investigate the effect of *Houttuyniae Herba* water extract on viral load and pathological changes in lung tissue of infected mice. **Results** At the cellular level, *Houttuyniae Herba* water extract significantly inhibited the replication of VSV, H1N1, EMCV and HSV-1 ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ), and showed a dose-dependent effect. In the H1N1 infected mouse model, *Houttuyniae Herba* water extract significantly reduced the viral load in lung tissue ( $P < 0.05$ ), and improved the pathological damage of lung tissue. Mechanism studies showed that *Houttuyniae Herba* water extract significantly up-regulated the expressions of interferon stimulated genes (ISGs) in MEF, THP-1 and PM cells ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ), and promoted the phosphorylation of TBK1, STAT1 and STAT2 ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ). **Conclusion** *Houttuyniae Herba* water extract exerts antiviral effects both *in vitro* and *in vivo* by activating IFN-I pathway based antiviral innate immunity.

**Key words:** *Houttuyniae Herba*; antiviral innate immunity; interferon-I pathway; virus; lutein

鱼腥草 *Houttuyniae Herba* 为三白草科植物蕺菜 *Houttuynia cordata* Thunb. 的新鲜全草或干燥地上部分, 始载于《名医别录》, 因其有鱼腥味而得此名<sup>[1]</sup>。鱼腥草性辛, 微寒, 归肺经, 具有清热解毒、消痈排脓、利尿通淋的功效, 用于治疗肺痈吐脓、痰热咳嗽、热痢、热淋、痈肿疮毒<sup>[2]</sup>。鱼腥草别名折耳根, 也是“药食同源”的药材<sup>[3]</sup>。现代药理学研究发现鱼腥草具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗肿瘤、利尿等作用<sup>[4-5]</sup>。研究表明, 鱼腥草通过抑制单纯疱疹病毒 (herpes simplex virus, HSV) 感染激活的核因子- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 通路, 干预病毒基因的表达和病毒蛋白的合成, 从而抑制 HSV 病毒<sup>[6]</sup>; 鱼腥草黄酮苷通过抑制流感病毒神经氨酸酶 (neuraminidase, NA) 活性和 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 信号转导, 减轻甲型流感病毒 (influenza A virus, H1N1) 诱导的小鼠急性肺损伤<sup>[7]</sup>; 鱼腥草水提物可降低 HepG2 细胞内登革病毒 RNA 及蛋白表达<sup>[8]</sup>; 鱼腥草通过干扰病毒进入细胞的过程, 抑制寨卡病毒的传播<sup>[9]</sup>。然而, 上述机制无法合理解释鱼腥草所具有的广泛的抗病毒谱, 提示可能存在某种宿主共性机制在鱼腥草抵抗不同病毒感染时发挥重要功能。

中医药抗病毒的模式分为直接抑制病毒生命周期抗病毒和调控宿主免疫抗病毒 2 种。其中, 基于调控宿主免疫的抗病毒模式是中医药防治病原感染的独特优势<sup>[10]</sup>。天然免疫是机体抵抗外界病原微生物感染的第一道防线<sup>[11]</sup>, 天然免疫细胞的模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 识别病毒的核酸成分后, 引起一系列信号通路的活化, 诱导 I 型干扰素 (interferon-I, IFN-I) 产生, 最

终清除感染机体的病原微生物<sup>[12-13]</sup>。因此, 探究鱼腥草对宿主抗病毒天然免疫的调控作用具有鲜明科学意义。

本研究首先建立病毒感染的细胞模型, 证实鱼腥草对水疱性口炎病毒 (vesicular stomatitis virus, VSV)、H1N1、脑心肌炎病毒 (encephalomyocarditis virus, EMCV)、HSV-1 病毒复制的抑制作用, 并利用生物信息学分析及分子生物学实验证明鱼腥草激活 IFN-I 通路的免疫激活功能, 最后构建 I 型干扰素受体 1 (interferon-I receptor 1, IFNAR1) 敲除的细胞, 验证了鱼腥草水提物的抗病毒作用部分依赖 IFN-I 通路。本研究初步阐明了鱼腥草“清热解毒”抵抗多种病毒的免疫学机制, 为指导其临床应用和抗病毒药物研发提供了科学数据支持。

## 1 材料

### 1.1 动物

SPF 级 C57BL/6J 小鼠, 6~8 周龄, 体质量 18~22 g, 雌雄各半, 由斯贝福 (北京) 生物技术有限公司提供, 许可证号 SCXK (京) 2019-0010。小鼠饲养于温度 18~22 °C、相对湿度 50%~60%、12 h 光暗交替的环境中, 自由进食饮水。动物实验经北京中医药大学伦理委员会批准 (批准号 BUCM-2024061801-2181)。

### 1.2 细胞与病毒

人非小细胞肺癌 A549 细胞系、人源单核细胞白血病 THP1 细胞系, 来源于美国 ATCC; 小鼠原代胚胎成纤维细胞 (MEF) 从小鼠胚胎中分离; 小鼠原代腹腔巨噬细胞 (PM) 提取自小鼠, 小鼠 ip 3% 硫乙醇酸盐培养基, 72 h 后收集腹腔渗出细胞, 37 °C 培养 2 h 后, 去除不贴壁细胞, 其余贴壁细胞

均为小鼠 PM 细胞。IFNAR1 敲除 A549 细胞 (IFNAR1<sup>-/-</sup> A549) 由本实验室自行构建<sup>[14]</sup>。

表达绿色荧光蛋白的水疱性口炎病毒 (vesicular stomatitis virus expressing green fluorescent protein, VSV-GFP) 为中山大学秦晓峰教授馈赠, EMCV 为中国农业大学杨汉春教授馈赠, H1N1 为中山大学崔隽教授馈赠, HSV-1 来自本实验室, 病毒扩增后于 -80 °C 保存。

### 1.3 药品与试剂

鱼腥草水提物 (提取比例 10 : 1, 批号 PS231017-12) 购自成都普思生物股份有限公司, 使用紫外分光光度法以芦丁为对照品测得鱼腥草水提物中总黄酮质量分数为 23.145 mg/g (以芦丁计); Trizol 试剂 (批号 15596018) 购自美国 Invitrogen 公司; Evo M-MLV RT Kit (批号 AG11711)、SYBR<sup>®</sup> Green Premix Pro Taq HS q PCR Kit (批号 AG11701) 购自湖南艾科瑞生物工程有限公司; DMEM 高糖培养基 (批号 C11995500CP)、青霉素-链霉素 (10 000 U/mL, 批号 15140-122)、胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS, 批号 2358184P) 购自美国 Gibco 公司; 0.25% 胰蛋白酶/EDTA 细胞消化液 (批号 T1300) 购自北京索莱宝科技有限公司; CCK-8 细胞增殖-毒性检测试剂盒 (批号 CK04) 购自东仁化学科技 (上海) 有限公司; H1N1-NP 抗体 (批号 104870) 购自英国 Abcam 公司; 信号转导和转录活化因子 1 (signal transducer and activator of transcription 1, STAT1) 抗体 (批号 10144-2-AP)、STAT2 抗体 (批号 16674-1-AP)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体 (批号 10494-I-AP) 购自武汉三鹰生物技术有限公司; TANK 结合激酶 1 (TANK binding kinase 1, TBK1) 抗体 (批号 3504S)、p-TBK1 抗体 (批号 5483S)、p-STAT1 抗体 (批号 9167S)、p-STAT2 抗体 (批号 88410S) 购自美国 CST 公司; HRP 标记的羊抗兔 IgG 抗体 (批号 M21002) 购自艾比玛特医药科技 (上海) 有限公司; 超敏 ELC 发光液 (批号 WBKLS0500) 购自美国 Millipore 公司。

### 1.4 仪器

Cyto FLEX 流式细胞仪 (美国 Beckman 公司); CFX96 型荧光定量 PCR 仪、T100 型 PCR 仪、Power Pac 型基础电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司); Spectra Max i3x 型多功能酶标仪 [美谷分子仪器 (上海) 有限公司]; Mill-Q 超纯水仪 (美国 Millipore 公司); ZHCH-

C1115B 型超净工作台 (上海智城分析仪器制造有限公司); DK-8D 型电热恒温水槽 (上海一恒科技有限公司); SK-L 180-Pro 型数控线性摇床 [大龙兴创实验仪器 (北京) 股份公司]; EPS-300 型数显式稳压稳流电泳仪 (天能公司); SCI-VS 型可调式混匀仪 (美国 SCILOGEX 公司); SKYSCAN 1276 型活体三维断层扫描系统 (Micro-CT, 美国 Bruker 公司); Sorvall<sup>™</sup> Legend<sup>™</sup> Micro 21R 型微量离心机、NanoDrop ONEC 型分光光度计、1300 Series A2 型生物安全柜、Heracell 150i 型 CO<sub>2</sub> 培养箱 (美国 Thermo 公司); CKX53 型倒置显微镜 (日本 Olympus 公司)。

## 2 方法

### 2.1 药物的配制

取鱼腥草水提物 100 mg, 加入 PBS 溶解为质量浓度为 100 mg/mL 的母液, 过 0.22 μm 滤膜, 分装后储存于 -20 °C 备用; 使用时 DMEM 完全培养基稀释至使用质量浓度。

### 2.2 鱼腥草水提物对 A549 细胞活力的影响

A549 细胞以 3 × 10<sup>4</sup> 个/孔接种于 96 孔板, 培养过夜使细胞完全贴壁; 配制 100、200、400、800、1 600、3 200、6 400、12 800、25 600 μg/mL 的鱼腥草水提物加入细胞中, 另设置不含药物的对照组以及不接种细胞不含药物的空白孔, 每组各 3 个复孔, 于 5% CO<sub>2</sub>、37 °C 细胞培养箱中培养。培养 24 h 后, 每孔加入 10 μL CCK-8 试剂孵育 2 h, 使用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度 (A) 值, 计算细胞相对存活率。

$$\text{细胞相对存活率} = (A_{\text{给药}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

### 2.3 流式细胞术检测鱼腥草水提物对 VSV-eGFP 病毒复制的影响

A549 细胞以 1.2 × 10<sup>5</sup> 个/孔接种于 24 孔板, 培养过夜至细胞贴壁后, 设置对照组、模型组和鱼腥草水提物 (125、250、500 μg/mL) 组。除对照组外, VSV-eGFP 以 0.02 的感染复数 (multiplicity of infection, MOI) 感染各组细胞, 同时加药共同孵育, 对照组与模型组加入 PBS。孵育 12 h 后用 PBS 清洗细胞 2 次, 胰酶消化后, 用含 1% FBS 的 PBS 重悬细胞, 计数 1 × 10<sup>4</sup> 个细胞, 采用流式细胞仪上机检测 GFP 阳性细胞比例。

### 2.4 荧光显微镜检测鱼腥草水提物对 VSV-eGFP 病毒复制的影响

细胞接种、分组、造模、给药同“2.3”项, 孵

育 12 h 后, 采用荧光显微镜检测鱼腥草水提取物对 VSV-eGFP 的抑制作用。

### 2.5 Western blotting 检测鱼腥草水提取物对 VSV-eGFP 蛋白表达的影响

细胞接种、分组、造模、给药同“2.3”项, 收集细胞, 加入裂解液提取蛋白, 采用 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 封闭后, 加入 VSV-G 抗体 (1:3 000), 4 °C 孵育过夜; 次日, 室温孵育二抗 (1:5 000), 加入 ECL 化学发光试剂, 于凝胶成像仪中曝光显影。

### 2.6 qRT-PCR 检测鱼腥草水提取物对 H1N1、EMCV、HSV-1 病毒 mRNA 表达的影响

细胞接种、分组同“2.3”项, 分别使用 H1N1 (MOI=0.1), EMCV (MOI=0.3) 和 HSV-1 (MOI=1) 感染细胞<sup>[4]</sup>, 同时加药共同孵育。培养 12 h 后收集细胞, 加入 Trizol 试剂提取 RNA, 然后反转录为 cDNA 进行 qRT-PCR 分析, 检测病毒基因的 RNA 表达水平。引物序列见表 1。

### 2.7 RNA 测序及转录组分析

MEF 细胞以  $2.5 \times 10^5$  个/孔接种于 12 孔板, 培养过夜后, 加入 PBS (对照组) 或 125  $\mu\text{g}/\text{mL}$  鱼腥

草水提取物处理 12 h, 收集细胞, 加入 Trizol 试剂提取 RNA。对 RNA 进行质检, 送至深圳华大基因科技服务有限公司进行二代测序分析。使用 edge R 进行差异表达分析,  $FDR < 0.05$  且  $|\log_2$  差异倍数 (fold change, FC)  $> 1$  的基因被认为是差异表达基因。

### 2.8 qRT-PCR 检测鱼腥草水提取物对干扰素刺激基因 (interferon stimulated genes, ISGs) 表达的影响

MEF 细胞以  $2.5 \times 10^5$  个/孔接种于 12 孔板, 培养过夜后, 加入 PBS (对照组) 或 125、250、500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的鱼腥草水提取物处理 12 h, 收集细胞, 加入 Trizol 试剂提取 RNA, 然后反转录为 cDNA 进行 qRT-PCR 分析, 检测干扰素  $\beta 1$  (interferon  $\beta 1$ , *Iffb1*)、干扰素诱导蛋白 1 (interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 1, *Ifit1*)、干扰素诱导蛋白 2 (interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 2, *Ifit2*) 和干扰素诱导蛋白 44 (interferon-inducible-protein 44, *Ifi44*) 基因的 mRNA 表达。同理, THP-1 和 PM 细胞分别以  $4.0 \times 10^5$  个/孔、 $1.5 \times 10^6$  个/孔接种于 24 孔板, 培养过夜后, 加入 PBS (对照组) 或 125、250、500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的鱼腥草水提取物处理 12 h, 收集细胞, 提取 RNA, 检测相关基因的表达。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	种属	上游引物序列 (5'-3')	下游引物序列 (5'-3')
<i><math>\beta</math>-actin</i>	人	CATGTACGTTGCTATCCAGGC	CTCCTTAATGTCACGCACGAT
<i>Iffb1</i>	人	GCTTGGATTCTACAAAGAAGCA	ATAGATGGTCAATGCGGCGTC
<i>Ifit1</i>	人	AGAAGCAGGCAATCACAGAAAA	CTGAAACCGACCATAGTGGAAT
<i>Ifit2</i>	人	GACACGGTTAAAGTGTGGAGG	TCCAGACGGTAGCTTGCTATT
<i>Ifi44</i>	人	ATGGCAGTGACAACCTCGTTTG	TCCTGGTAACTCTCTTCTGCATA
<i>Actb</i>	鼠	GTGACGTTGACATCCGTAAGA	GCCGGACTCATCGTACTCC
<i>Iffb1</i>	鼠	AGCTCCAAGAAAGGACGAACA	GCCCTGTAGGTGAGGTTGAT
<i>Ifit1</i>	鼠	ATCGCGTAGACAAAGCTCTTC	GTTTCGGGATGTCCTCAGTTG
<i>Ifit2</i>	鼠	CTGGGGAAACTATGCTTGGGT	ACTCTCTCGTTTTGGTCTTGG
<i>Ifi44</i>	鼠	ATGCTCCAACCTGACTGCTCG	ACAGCAATGCCTCTTGTCTTT
<i>H1N1-HA</i>	病毒	CCCGGAAATAGCAGAAAGACCCAAAGTA	GCCGGACCCAAAGCCTCTACTCAGT
<i>EMCV-1C</i>	病毒	CCGCGATGATGAAGGGCAAG	CGGGCATCTGGTGGGTAAGT
<i>HSV1-ICP27</i>	病毒	TTTCTCCAGTGCTACCTGAAGG	TCAACTCGCAGACACGACTCG

### 2.9 Western blotting 检测鱼腥草水提取物对 IFN-1 通路转录因子的影响

用 125、250、500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的鱼腥草水提取物处理 THP-1 细胞 12 h 后, 收集细胞, IP 裂解液裂解后, 离心取上清, BCA 法测定蛋白浓度, 加入 Loading Buffer 于 100 °C 加热使蛋白变性。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜,

封闭后, 分别加入 TBK1、p-TBK1、STAT1、p-STAT1、STAT2、p-STAT2、GAPDH 抗体, 4 °C 孵育过夜; 室温孵育二抗, 加入 ECL 化学发光试剂, 于凝胶成像仪中曝光显影。

### 2.10 鱼腥草水提物体内抗病毒作用

小鼠适应性饲养 1 周, 随机分为对照组、H1N1 感染模型组、奥司他韦 (40 mg/kg) 组和鱼腥草水

提物低、中、高剂量(300、600、1 200 mg/kg)组, 每组6只, 雌雄各半。小鼠经滴鼻感染H1N1病毒(每只 $1 \times 10^4$  PFU), 各给药组ig相应药物(每只200  $\mu$ L), 对照组与模型组ig等体积的生理盐水。感染病毒5 d后使用Micro-CT对小鼠的肺部进行扫描, 获取小鼠肺部影像, 脱颈处死后取肺组织通过qRT-PCR和Western blotting检测病毒载量, 制作肺组织苏木素-伊红(HE)染色切片观察感染小鼠的肺组织病理损伤情况。

### 2.11 流式细胞术检测鱼腥草水提物在 *IFNARI*<sup>-/-</sup> A549 细胞中对 VSV-GFP 病毒复制的影响

将 *IFNARI*<sup>-/-</sup> A549 和对照细胞以  $1.2 \times 10^5$  个/孔接种到24孔板中, 培养过夜至贴壁, 设置对照组、模型组和鱼腥草水提物(125、250、500  $\mu$ g/mL)组, 除对照组外, VSV-GFP (MOI=0.02) 感染各组细胞, 同时加药共同孵育。12 h后, 收集细胞至流式管, 采用流式细胞仪上机检测GFP阳性细胞比例, 计算GFP阳性抑制率。

### 2.12 统计学分析

数据用GraphPad Prism进行可视化处理, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组样本间通过双尾非配对 *t* 检验进行比较, 多组样本间通过单因素方差分析进行比较。

## 3 结果

### 3.1 鱼腥草水提物对 A549 细胞活力的影响

通过CCK-8法测定不同质量浓度的鱼腥草水提物处理A549细胞24 h后对细胞存活率的影响, 计算得鱼腥草水提物半数抑制浓度(half inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>)为21.01 mg/mL(图1)。从其

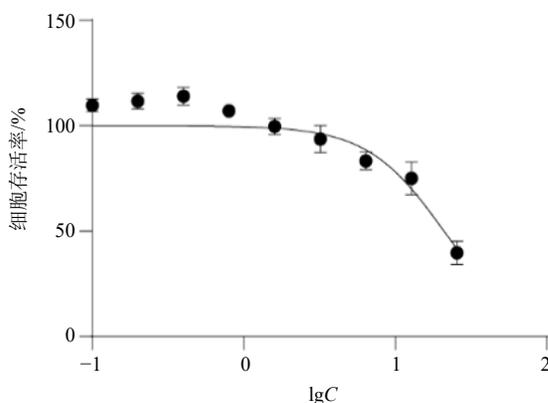


图1 鱼腥草水提物对A549细胞存活率的影响  
( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 1 Effect of *Houttuyniae Herba* water extract on survival rate of A549 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

中选取无细胞毒性的低、中、高3个质量浓度(125、250、500  $\mu$ g/mL)进行后续实验。

### 3.2 鱼腥草水提物对 VSV 病毒复制的影响

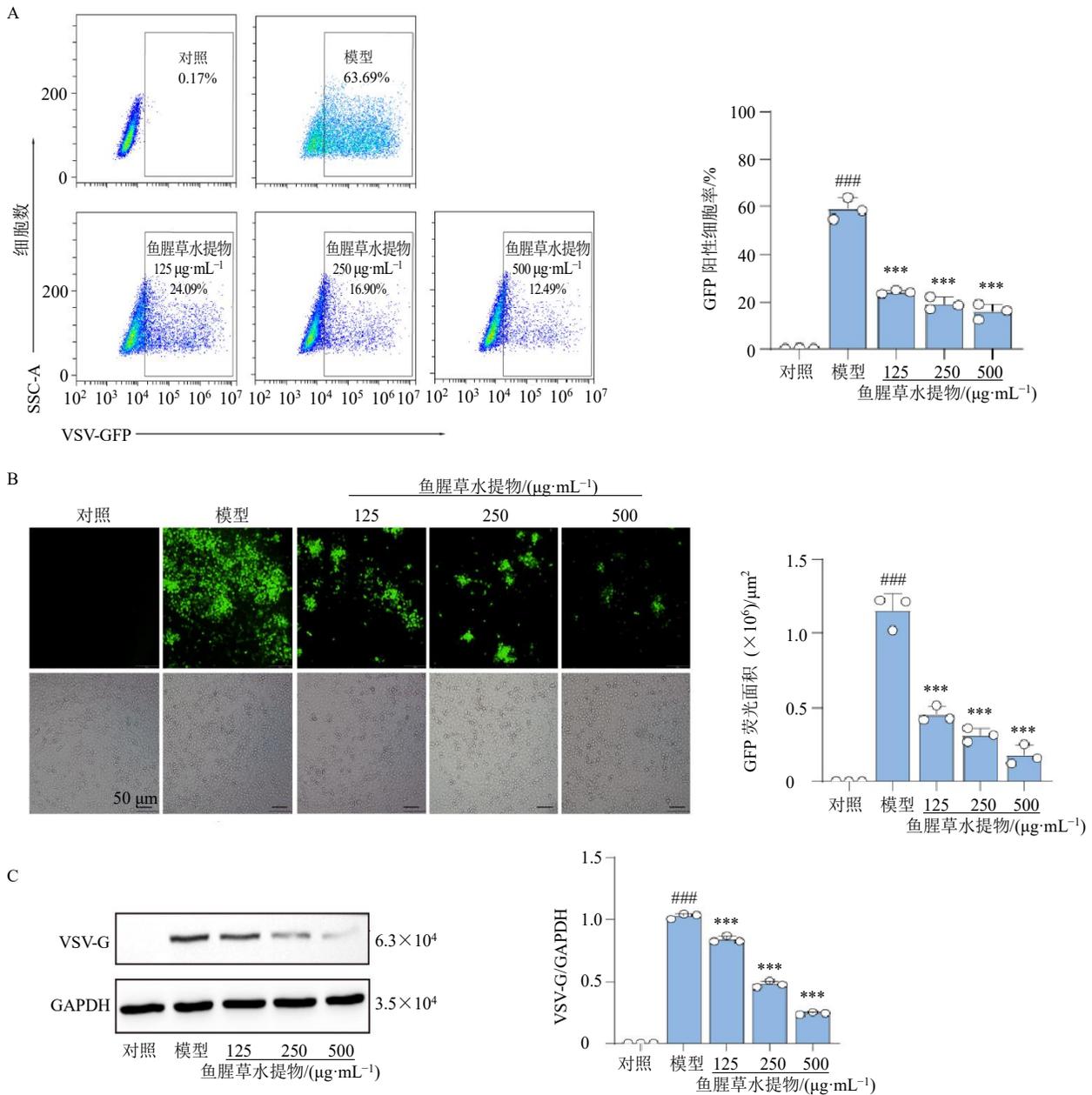
为了确证鱼腥草的抗病毒功能, 首先将不同质量浓度的鱼腥草水提物处理A549细胞, 同时感染VSV-eGFP, 12 h后通过流式细胞术、荧光显微镜和Western blotting检测GFP阳性细胞比例、VSV-eGFP荧光强度和VSV-G蛋白表达水平。如图2-A所示, 与对照组比较, 模型组VSV-eGFP感染A549细胞引起GFP阳性细胞比例显著增加( $P < 0.001$ ); 与模型组比较, 鱼腥草水提物呈剂量相关性地显著减少了GFP阳性细胞的比例( $P < 0.05, 0.001$ ), 在质量浓度为500  $\mu$ g/mL时抑制VSV病毒复制的效果最好。如图2-B所示, 与模型组比较, 鱼腥草水提物可以显著抑制VSV-eGFP的荧光强度( $P < 0.001$ ); 如图2-C所示, 与模型组比较, 鱼腥草水提物能够呈剂量相关性地显著降低VSV-G蛋白表达水平( $P < 0.001$ )。上述结果表明鱼腥草水提物在细胞水平发挥显著抗VSV的功能。

### 3.3 鱼腥草水提物对 H1N1、EMCV、HSV-1 病毒复制的影响

为了探究鱼腥草水提物对不同病毒的抑制作用, 利用EMCV、H1N1或HSV-1感染A549细胞, 同时加入鱼腥草水提物处理12 h, 通过qRT-PCR检测病毒mRNA表达。如图3所示, 与对照组比较, 模型组病毒基因的表达量均显著升高( $P < 0.001$ ); 与模型组比较, 鱼腥草水提物(250、500  $\mu$ g/mL)组病毒基因表达量显著降低( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ), 且呈剂量相关性, 表明鱼腥草水提物在细胞水平具有抗H1N1、EMCV和HSV-1病毒感染的功能。

### 3.4 鱼腥草水提物体内抗病毒研究

在H1N1病毒滴鼻感染5 d后, 取小鼠肺组织, 并通过Western blotting和qRT-PCR检测小鼠肺部病毒载量的变化, 如图4-C所示, 模型组小鼠的肺组织中H1N1 NP蛋白显著表达, 表明H1N1病毒在小鼠肺中大量复制, 造成了小鼠肺部感染; 与模型组比较, 奥司他韦和鱼腥草水提物可有效抑制H1N1病毒在小鼠体内的复制。qRT-PCR(图4-B)结果也验证了这一结论, 与对照组比较, 模型组小鼠肺组织中H1N1病毒mRNA的表达量显著升高( $P < 0.001$ ), 而各给药组小鼠肺组织中的病毒载量明显减少( $P < 0.05, 0.001$ )。以上结果表明, 鱼腥草水提物能有效抑制小鼠体内H1N1病毒感染, 降



A-流式细胞仪检测鱼腥草水提取物对 VSV-GFP 病毒复制的影响; B-荧光显微镜检测鱼腥草水提取物对 VSV-GFP 病毒复制的影响( $\times 20$ ); C-Western blotting 检测鱼腥草水提取物对 VSV-G 蛋白表达的影响; 与对照组比较: ### $P < 0.001$ ; 与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ , 图 3、4 同。

A-effect of *Houttuyniae Herba* water extract on VSV-GFP virus replication by flow cytometry; B-effect of *Houttuyniae Herba* water extract on VSV-GFP virus replication by fluorescence microscopy ( $\times 20$ ); C-effect of *Houttuyniae Herba* water extract on VSV-G protein expression by Western blotting; ### $P < 0.001$  vs control group; \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs model group, same as Figs. 3, 4.

图 2 鱼腥草水提取物对 A549 细胞中 VSV-eGFP 复制的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 2 Effect of *Houttuyniae Herba* water extract on VSV-eGFP replication in A549 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

低肺组织病毒载量。使用 Micro-CT 对小鼠肺部进行扫描, 获取小鼠的肺部影像。如图 4-A 所示, 模型组小鼠出现明显的大片实变密度影, 提示小鼠肺部出现炎性病变, 而奥司他韦组和鱼腥草水提取物组小鼠肺组织实变密度影明显减少。HE 染色结果见

图 4-D, 模型组小鼠肺泡间隔增厚, 肺泡腔变小, 肺泡水肿充血, 炎性细胞浸润严重; 奥司他韦和鱼腥草水提取物治疗后可明显减轻 H1N1 病毒感染引起的肺部炎性损伤, 肺泡壁厚度恢复, 炎性细胞浸润明显减轻。

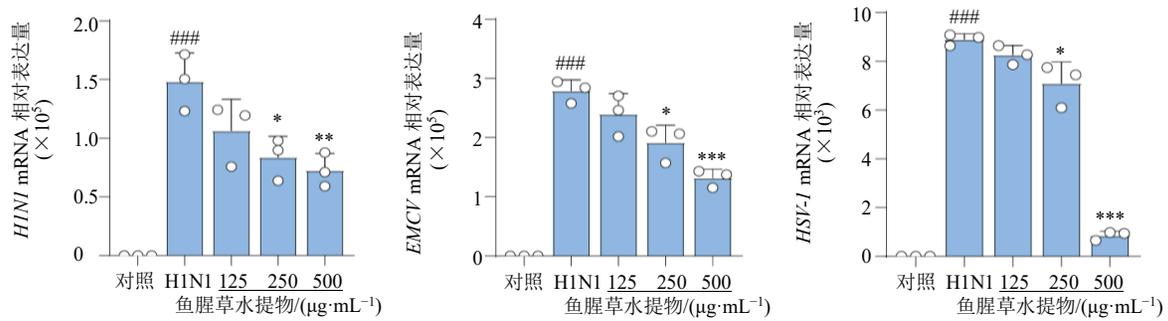
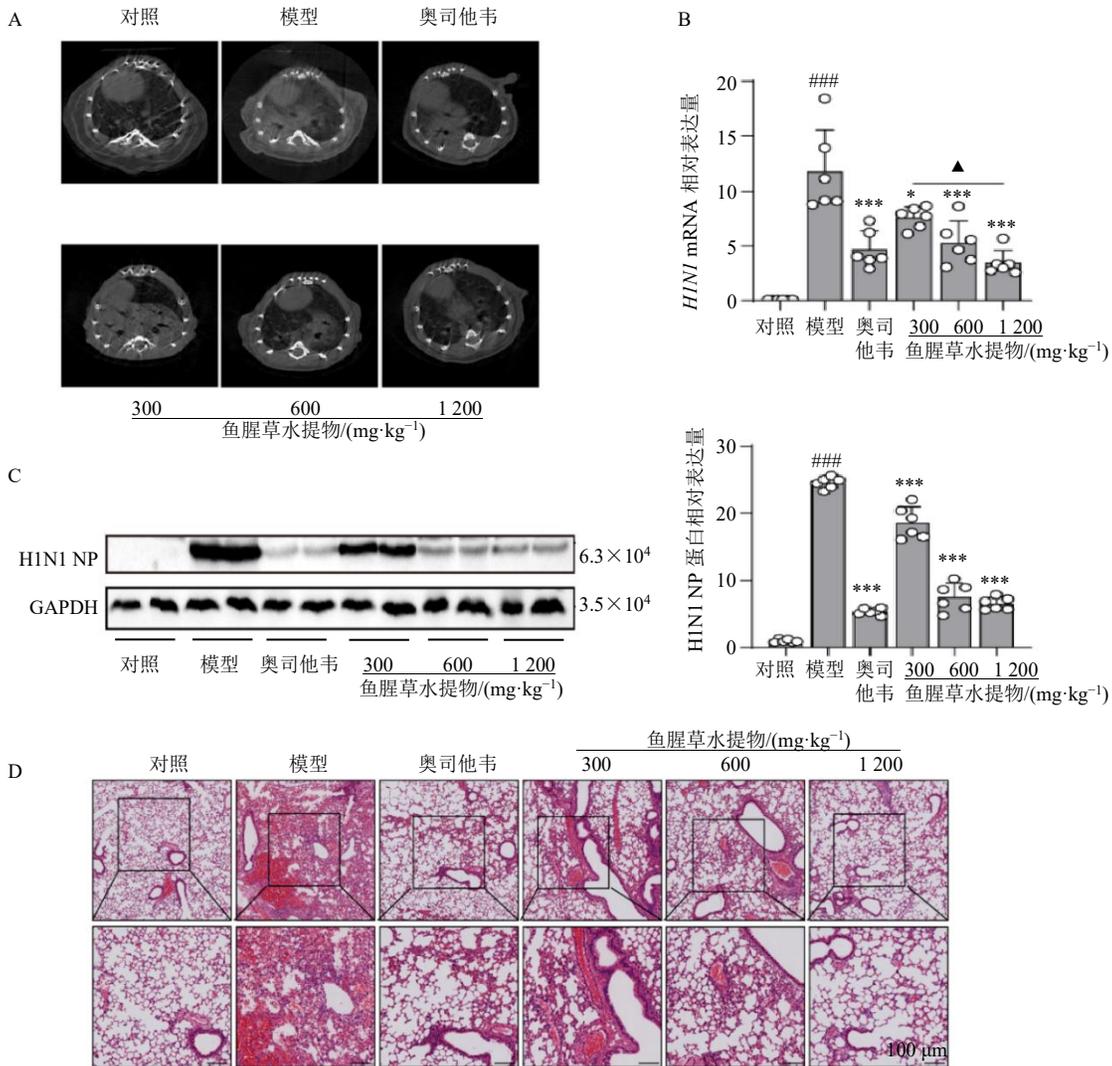


图3 鱼腥草水提取物对 A549 细胞中 H1N1、EMCV、HSV-1 复制的抑制作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 3 Inhibition effect of *Houttuyniae Herba* water extract on H1N1, EMCV and HSV-1 replication in A549 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )



A-各组小鼠肺部 CT 结果; B-各组小鼠肺组织病毒载量; C-各组小鼠肺组织 H1N1 NP 蛋白表达; D-各组小鼠肺组织 HE 切片 ( $\times 40$ );  $\blacktriangle P < 0.05$ .  
A-CT scans of lungs of mice in each group; B-lung viral load of mice in each group; C-H1N1 NP protein expression in lung tissue of mice in each group; D-HE sections of lung tissue of mice in each group ( $\times 40$ );  $\blacktriangle P < 0.05$ .

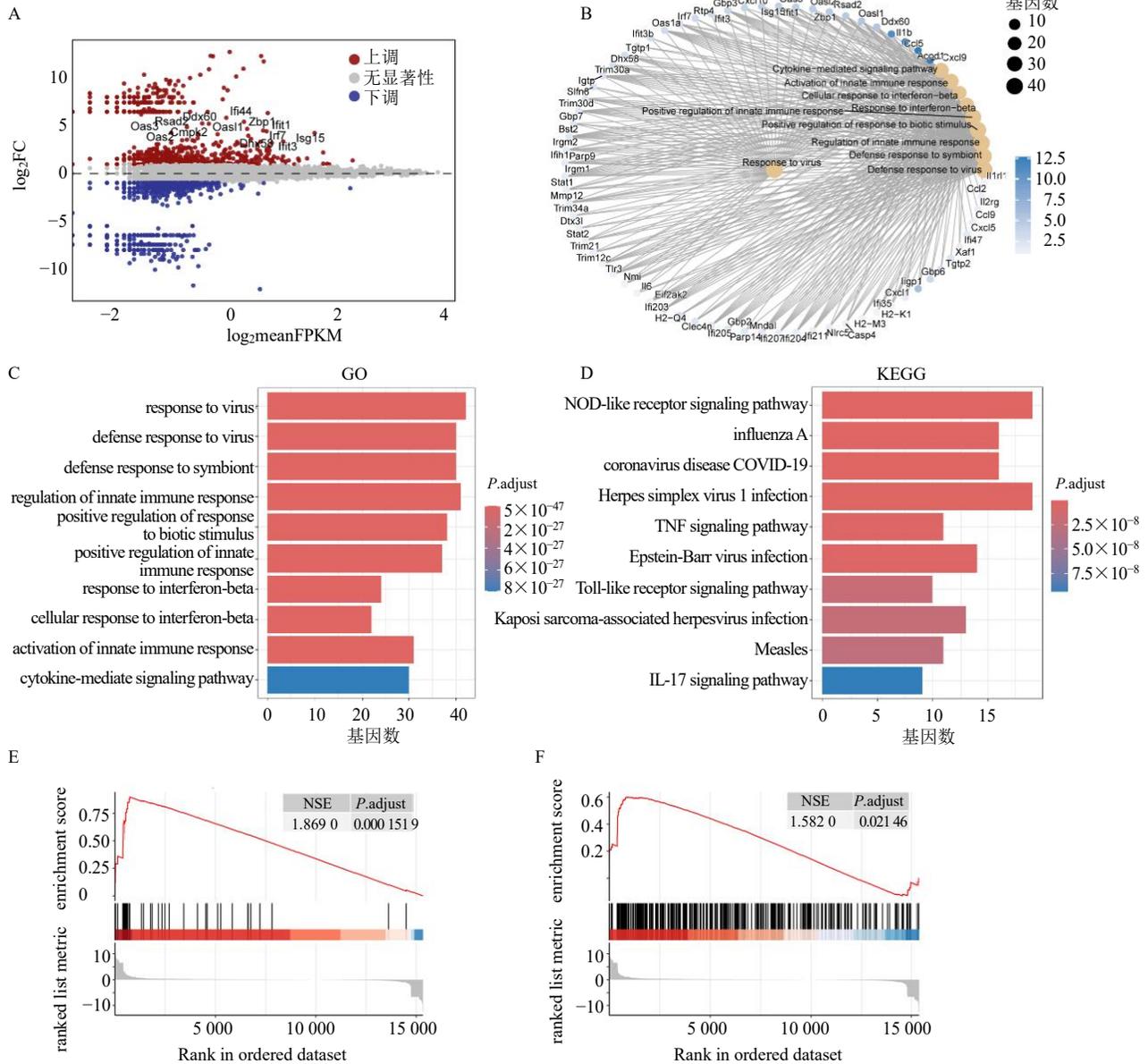
图4 鱼腥草水提取物对 H1N1 感染小鼠肺组织病毒载量和病理损伤的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 4 Effect of *Houttuyniae Herba* water extract on viral load and pathological damage in lung tissue of H1N1 infected mice ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

### 3.5 转录组分析显示鱼腥草水提物诱导抗病毒天然免疫信号通路的激活

为了探究鱼腥草抵抗病毒感染的分子机制，对鱼腥草水提物处理的 MEF 细胞进行转录组学测序分析。如图 5-A 所示，与对照组比较，鱼腥草水提物处理诱导了 121 个差异表达基因，其中包含 117 个上调基因、4 个下调基因。值得注意的是，与抗病毒 IFN-I 通路相关的基因被显著上调，如 *Ift1*、*Ift2*、*Isg15*、*Ift44* 等。通过对上调的差异基因进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能及京都基因与

基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析，结果显示病毒感染和抗病毒天然免疫相关的通路被显著富集，主要包括 NOD 样受体信号、甲流病毒感染和 HSV-1 病毒感染通路等 (图 5-B~D)。基因集富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA) 发现 (图 5-E、F)，鱼腥草水提物处理组显著富集到与抗病毒天然免疫反应相关的 IFN-β 信号通路。上述结果提示，鱼腥草可能通过激活细胞内的抗病毒天然免疫信号通路，发挥抗病毒功能。



A-差异表达基因火山图; B、C-GO 富集分析; D-KEGG-富集分析; E、F-GSEA。  
 A-volcano map of differentially expressed genes; B, C-GO enrichment analysis; D-KEGG enrichment analysis; E, F-GSEA.

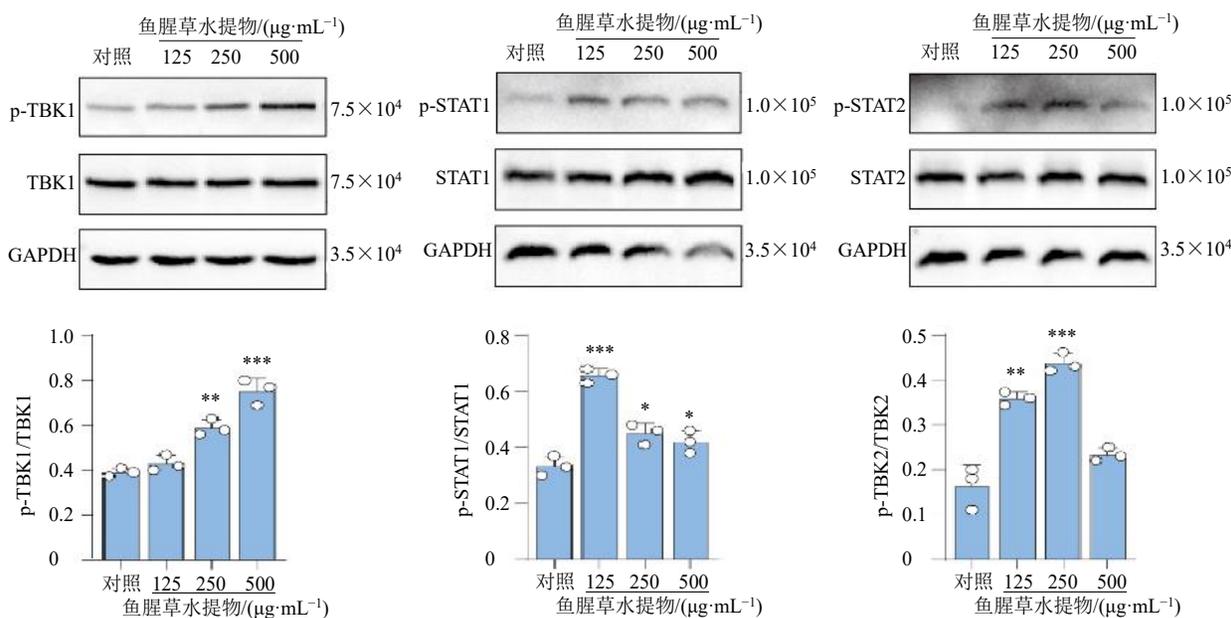
图 5 鱼腥草水提物对 MEF 细胞基因表达谱的影响

Fig. 5 Effect of *Houttuyniae Herba* water extract on gene expression profile of MEF cells

### 3.6 鱼腥草水提物激活 IFN-I 信号通路

TBK1、STAT1 和 STAT2 是 IFN-I 通路中的重要转录因子。TBK1 作为固有免疫系统中的关键激酶，参与多条固有免疫信号通路的传导，通过磷酸化干扰素调节因子 3 (interferon regulatory factor 3, IRF3) 和 IRF7，促进其二聚化和核易位，从而激活干扰素和其他炎症因子的基因表达，是机体抗感染过程中的关键蛋白激酶。干扰素与其受体结合后，激活 Janus 激酶 (Janus kinase, JAK)，STAT1 通过

JAK 的磷酸化而被激活，随后与 STAT2 形成异源二聚体，进入细胞核并调控 ISGs 的表达。这些基因在抑制病毒复制和调节免疫反应中发挥关键作用。为了验证鱼腥草水提物对 IFN-I 通路的调控作用，利用 Western blotting 检测了鱼腥草水提物处理的 THP-1 细胞中上述转录因子的激活情况。如图 6 所示，鱼腥草水提物处理 12 h 可以上调 TBK1、STAT1 和 STAT2 的磷酸化水平，表明鱼腥草水提物能够有效激活 IFN-I 通路。



与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ , 图 7 同。  
\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs control group, same as Fig. 7.

图 6 鱼腥草水提物对 THP-1 细胞 IFN-I 通路上游转录因子激活的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 6 Effect of *Houttuyniae Herba* water extract on activation of transcription factors upstream of IFN-I pathway in THP-1 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

### 3.7 鱼腥草水提物抗病毒功能部分依赖 IFN-I 信号通路

IFN-I 信号通路是抗病毒天然免疫应答的关键过程。为了验证鱼腥草水提物是否能够活化 IFN-I 信号通路，检测了鱼腥草水提物处理的 MEF 细胞、PM 细胞和 THP-1 细胞中 IFNB1 和 ISGs (*Ifi1*、*Ifi2*、*Ifi44*) 的表达情况。如图 7-A~C 所示，在上述 3 种细胞中，与对照组比较，鱼腥草水提物处理 12 h 显著诱导 *Ifnb1*、*Ifi1*、*Ifi2* 和 *Ifi44* 的表达 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ )。IFNAR1 是细胞表面 IFN 的重要受体，与 IFN 结合后可激活下游 JAK-STAT 信号通路。因此，利用 IFNAR1 敲除 A549 细胞 (*IFNAR1*<sup>-/-</sup> A549) 探究鱼腥草水提物发挥抗病毒作

用与 IFN-I 信号通路的依赖关系。如图 7-D 所示，与野生型细胞 (A549 细胞) 相比，在 *IFNAR1*<sup>-/-</sup> A549 细胞中鱼腥草水提物对 VSV 病毒的抑制功能被显著削弱 ( $P < 0.001$ )。上述结果表明，鱼腥草水提物的抗病毒功能部分依赖 IFN-I 信号通路。

### 4 讨论

基于 IFN-I 通路的抗病毒天然免疫是机体抵御病毒入侵的第一道防线<sup>[15-16]</sup>，是免疫防御不可或缺的部分。当 PRRs 识别病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 后，激活抗病毒免疫信号转导，通过激活 TBK1 和 IRF3 等转录因子，诱导 IFN-I 表达<sup>[17-18]</sup>。IFN-I 与细胞表面的干扰素受体结合后，通过 JAK-STAT 通路促进 ISGs

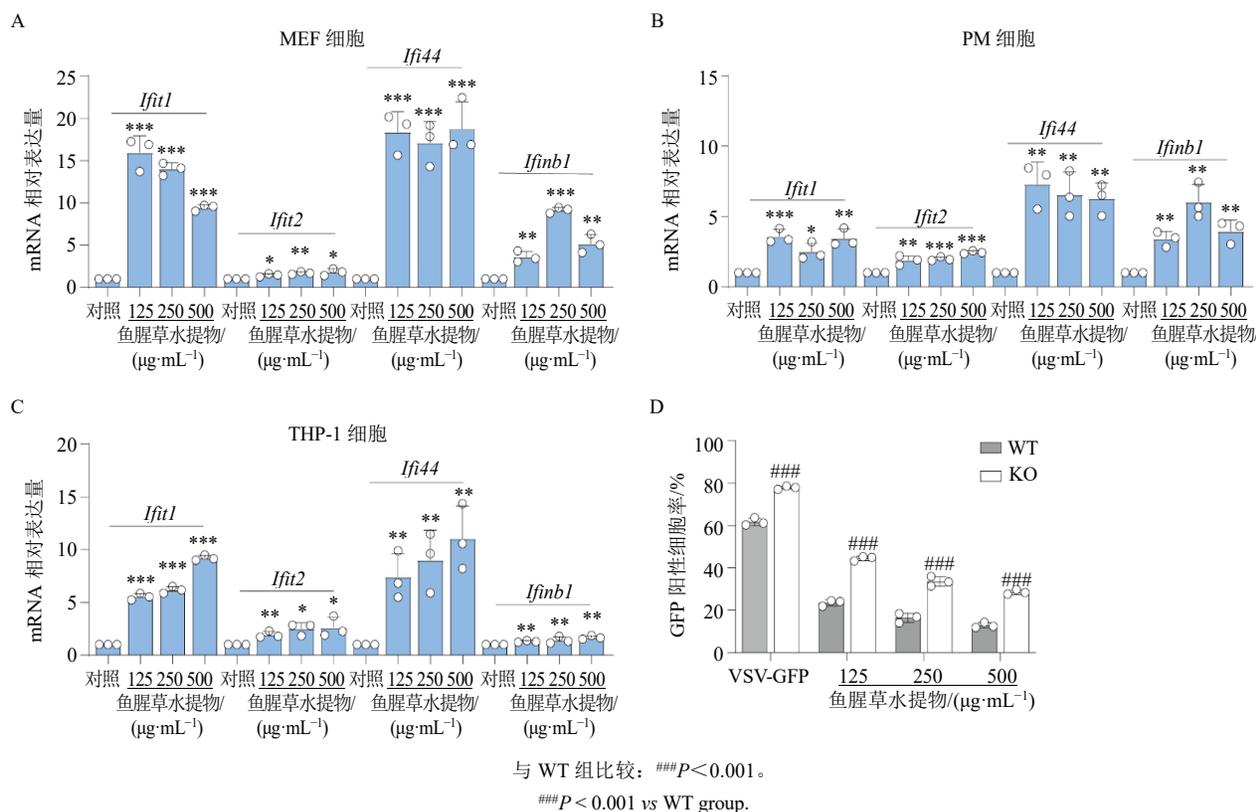


图7 鱼腥草水提取物对 MEF 细胞 (A)、PM 细胞 (B)、THP-1 细胞 (C) IFN-I 通路中相关基因表达以及对 *IFNARI*<sup>-/-</sup> A549 细胞中 VSV 病毒复制 (D) 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 7 Effect of *Houttuyniae Herba* water extract on expressions of related genes in IFN-I pathway in MEF cells (A), PM cells (B), THP-1 cells (C) and VSV replication in *IFNARI*<sup>-/-</sup> A549 cells (D) ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

的产生, 这些 ISGs 在病毒生命周期的各个环节抑制病毒生命周期, 从而发挥广泛的抑制病毒作用<sup>[19-20]</sup>。此外, 抗病毒天然免疫激活后诱导分泌的促炎细胞因子招募并激活固有免疫与适应性免疫细胞, 促进病毒清除和产生免疫记忆<sup>[21]</sup>。

鱼腥草药食同源, 广泛用于病毒感染的治疗。据《滇南本草》记载, 鱼腥草与其他药材如天花粉和侧柏叶的配伍, 能疗肺痈吐脓吐血<sup>[22]</sup>。而在《江西草药》中, 鱼腥草与厚朴、连翘和桑枝的复方配伍, 被用来治疗病毒性肺炎、支气管炎和感冒。现代中成药如连花清瘟胶囊、抗病毒颗粒和复方鱼腥草合剂等都含有鱼腥草成分, 临床用于治疗流行性感冒、病毒性呼吸道感染以及外感风热引起的急喉痹、急性咽炎和急性扁桃体炎等<sup>[23-24]</sup>。研究表明, 鱼腥草水提取物、醇提取物及挥发油等通过干扰病毒结合、渗透抑制病毒复制、干扰病毒的生命周期发挥抗病毒作用<sup>[25-26]</sup>, 其中黄酮类具有较好的抗单纯疱疹病毒和流感病毒的作用<sup>[6,27]</sup>, 其多糖类成分具有抗流感病毒和诺如病毒的功能<sup>[28-29]</sup>。然而, 鱼腥

草及其提取物的免疫调控作用与机制尚未见广泛研究。

本研究结果显示, 鱼腥草水提取物在细胞水平可以抑制 H1N1、VSV、EMCV 和 HSV-1 的复制, 在动物水平上可以减少 H1N1 感染小鼠肺部的病毒载量, 并改善其肺部的病理状况。通过生物信息学分析结合 qRT-PCR 和 Western blotting 验证鱼腥草水提取物单独处理可促进 IFN-I 通路的关键转录因子 TBK1、STAT1 和 STAT2 磷酸并诱导 ISGs 表达, 并且还在 *IFNARI*<sup>-/-</sup> A549 细胞中证明鱼腥草水提取物的抗病毒功能部份依赖于 IFN-I 通路。以上结果表明, 鱼腥草水提取物通过激活基于 IFN-I 信号通路的天然免疫发挥抗多种病毒作用。

本研究聚焦于鱼腥草水提取物通过激活宿主 IFN-I 通路发挥抗病毒作用的机制, 这一发现与当前主流抗病毒中药的作用模式形成显著区别。现有研究表明, 常用于呼吸道病毒感染的连花清瘟胶囊、宣肺败毒方等复方中药虽然同样具有多靶点的特性, 但其作用机制多集中于直接抑制病毒复

制关键酶（如 3CLpro、RNA 聚合酶）或调控特定炎症因子（如白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$ ）的释放<sup>[30-31]</sup>。连花清瘟通过木犀草素和连翘酯苷等成分抑制病毒入胞与核衣壳组装，同时下调 Th17/Treg 细胞比例以缓解炎症风暴，其作用更多体现为“病毒靶向抑制-炎症双向调节”的线性模式<sup>[31]</sup>。相比之下，本研究发现鱼腥草水提物的抗病毒效应本质上属于“宿主固有免疫重编程”，诱导 ISGs 的广泛表达，从而建立针对多种病毒（RNA/DNA 病毒）的非特异性防御屏障。值得注意的是，当前抗病毒中药的作用谱多具有病毒类型或感染阶段的局限性。如黄芪甲苷主要针对流感病毒 NP 蛋白，金合欢素侧重抑制冠状病毒 PLpro 活性<sup>[32]</sup>，而鱼腥草水提物通过 IFN-I 通路的全局性激活，可同时抑制 H1N1、HSV-1 等异源病毒的复制，这种广谱性可能源于其对宿主固有免疫枢纽的调控而非单一病毒靶点的干预。

本研究为鱼腥草的抗病毒感染研究提供扎实的科学研究支持，并为其临床应用提供重要的科学理论支撑。不仅丰富了中药免疫调控的理论体系，也为开发基于宿主导向的抗病毒策略提供了新的物质基础。未来研究将深入解析鱼腥草水提物中调控 IFN-I 通路的关键成分，进一步明确其激活 IFN-I 通路的作用靶点。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 武营雪. 鱼腥草中生物碱类成分及其安全性研究 [D]. 北京: 中国食品药品检定研究院, 2022.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 234.
- [3] 程卫东, 王彩霞. 药食同源中药鉴别图典 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2024: 246.
- [4] Rafiq S, Hao H H, Ijaz M, *et al.* Pharmacological effects of *Houttuynia cordata* Thunb (*H. cordata*): A comprehensive review [J]. *Pharmaceuticals*, 2022, 15(9): 1079.
- [5] 张福明, 石壺, 韩园园, 等. 鱼腥草治疗病毒性肺炎作用机制的“成分-靶点-通路”多层次互作网络研究 [J]. *药物评价研究*, 2022, 45(11): 2188-2199.
- [6] Hung P Y, Ho B C, Lee S Y, *et al.* *Houttuynia cordata* targets the beginning stage of herpes simplex virus infection [J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0115475.
- [7] Ling L J, Lu Y, Zhang Y Y, *et al.* Flavonoids from *Houttuynia cordata* attenuate H1N1-induced acute lung injury in mice via inhibition of influenza virus and Toll-like receptor signalling [J]. *Phytomedicine*, 2020, 67: 153150.
- [8] Leardkamolkarn V, Sirigulpanit W, Phurimsak C, *et al.* The inhibitory actions of *Houttuynia cordata* aqueous extract on dengue virus and dengue-infected cells [J]. *J Food Biochem*, 2012, 36(1): 86-92.
- [9] Basic M, Elgner F, Bender D, *et al.* A synthetic derivative of houttuynoid B prevents cell entry of Zika virus [J]. *Antiviral Res*, 2019, 172: 104644.
- [10] Li M J, Zhang Y Z, Zeb A, *et al.* Bergamottin and PAP-1 induced ACE2 degradation to alleviate infection of SARS-CoV-2 [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(20): 12565.
- [11] Ren Z H, Jia G L, He H Y, *et al.* Antiviral effect of selenomethionine on porcine deltacoronavirus in pig kidney epithelial cells [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 846747.
- [12] Zhang Q, Tang Z, An R, *et al.* USP29 maintains the stability of cGAS and promotes cellular antiviral responses and autoimmunity [J]. *Cell Res*, 2020, 30(10): 914-927.
- [13] Guo Q R, Zhao Y C, Li J H, *et al.* Induction of alarmin S100A8/A9 mediates activation of aberrant neutrophils in the pathogenesis of COVID-19 [J]. *Cell Host Microbe*, 2021, 29(2): 222-235.
- [14] Wang Y, Yuan S C, Jia X, *et al.* Mitochondria-localised ZNFX1 functions as a dsRNA sensor to initiate antiviral responses through MAVS [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(11): 1346-1356.
- [15] Wang B X, Thurmond S, Zhou K, *et al.* Structural basis for STAT2 suppression by flavivirus NS5 [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2020, 27(10): 875-885.
- [16] 李艺颖, 初英杰, 孔令东, 等. 土木香内酯抗病毒作用的体内外研究 [J]. *中草药*, 2024, 55(7): 2248-2258.
- [17] Wang X Y, Jiang L, Wang G W, *et al.* Influenza A virus use of BinCARD1 to facilitate the binding of viral NP to importin  $\alpha 7$  is counteracted by TBK1-p62 axis-mediated autophagy [J]. *Cell Mol Immunol*, 2022, 19(10): 1168-1184.
- [18] Gstalder C, Liu D, Miao D A, *et al.* Inactivation of *Fbxw7* impairs dsRNA sensing and confers resistance to PD-1 blockade [J]. *Cancer Discov*, 2020, 10(9): 1296-1311.
- [19] Zhang Z, Gao S, Hu Y N, *et al.* Ti<sub>3</sub> C<sub>2</sub> t<sub>x</sub> MXene composite 3D hydrogel potentiates mTOR signaling to promote the generation of functional hair cells in cochlea organoids [J]. *Adv Sci*, 2022, 9(32): e2203557.
- [20] Yokoyama S, Takahashi A, Kikuchi R, *et al.* SOX10 regulates melanoma immunogenicity through an IRF4-IRF1 axis [J]. *Cancer Res*, 2021, 81(24): 6131-6141.
- [21] Achek A, Kwon H K, Patra M C, *et al.* A peptide derived from the core  $\beta$ -sheet region of TIRAP decoys TLR4 and reduces inflammatory and autoimmune symptoms in

- murine models [J]. *EBioMedicine*, 2020, 52: 102645.
- [22] 叶付华, 赵琼. 基于《滇南本草》探析兰茂治疗肺病用药特点 [J]. 基层中医药, 2024, 3(6): 84-89.
- [23] 曾垣焯, 何盈盈, 唐庆龙, 等. 抗新冠肺炎中药莲花清瘟胶囊化学成分与临床功效研究进展 [J]. 药学实践杂志, 2021, 39(4): 291-294.
- [24] 刘牧, 于雪峰, 崔英海, 等. 复方鱼腥草合剂治疗外感风热致咽喉肿痛的临床疗效 [J]. 实用中医内科杂志, 2024, 38(10): 26-29.
- [25] 陈龙, 彭程琪, 樊明旭, 等. 鱼腥草药理作用及抗肺炎作用研究进展 [J]. 人参研究, 2022, 34(5): 52-54.
- [26] 廖健婷, 郝晨静, 李博. 鱼腥草抗病毒作用研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37(5): 224-228.
- [27] Li T, Liu L B, Wu H L, *et al.* Anti-herpes simplex virus type 1 activity of houttuynoid A, a flavonoid from *Houttuynia cordata* Thunb [J]. *Antiviral Res*, 2017, 144: 273-280.
- [28] Shi C C, Zhu H Y, Li H, *et al.* Regulating the balance of Th17/Treg cells in gut-lung axis contributed to the therapeutic effect of *Houttuynia cordata* polysaccharides on H1N1-induced acute lung injury [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 158: 52-66.
- [29] Cheng D Q, Sun L, Zou S Y, *et al.* Antiviral effects of *Houttuynia cordata* polysaccharide extract on murine norovirus-1 (MNV-1): A human norovirus surrogate [J]. *Molecules*, 2019, 24(9): 1835.
- [30] 李燕平, 周旋, 张婷婷. 中药莲花清瘟胶囊/颗粒在呼吸系统疾病中的应用进展 [J]. 中国医药, 2025, 20(1): 138-142.
- [31] 魏清筠, 陈姣, 周谦, 等. 中药抗呼吸道病毒感染性疾病的研究述评 [J]. 南京中医药大学学报, 2024, 40(10): 1141-1148.
- [32] 张愉, 徐来, 房梦雅, 等. 中药抗流感病毒作用研究进展 [J]. 交通医学, 2020, 34(2): 110-111.

[责任编辑 李亚楠]