

基于系统药理学和转录组学探讨金振口服液改善下呼吸道感染相关炎症及免疫紊乱的作用机制

李美瑶, 杨婉婷, 高燕, 杨钰冰, 王磊, 董佳裕, 丁梦娇, 曹亮, 王团结, 武子寅*, 肖伟*

中药制药过程控制与智能制造技术全国重点实验室(江苏康缘药业股份有限公司/南京中医药大学), 江苏 南京 211112

摘要: 目的 基于系统药理学和转录组学技术结合分子对接及实验验证, 探讨金振口服液(Jinzen Oral Liquid, JZ)改善下呼吸道感染(lower respiratory tract infections, LRTIs)相关炎症及免疫紊乱的作用机制。方法 基于TCMSP数据库筛选JZ活性成分, 运用SysDT算法预测作用靶点。构建药材-成分-靶点网络筛选核心靶标, 并通过Metascape平台进行基因本体(gene ontology, GO)及京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析。采用AutoDock软件对关键活性成分与枢纽靶点进行分子对接。整合LRTIs患者外周血单核细胞的差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)与JZ预测靶点, 筛选共有靶标并进行功能分析。构建脂多糖联合 γ 干扰素诱导的人单核细胞炎症模型, 给予0.67、1.34、2.68 mg/mL JZ干预后进行转录组测序, 采用qRT-PCR和流式细胞术验证核心靶点。结果 获得34个活性成分及210个潜在作用靶点, 其中83个免疫相关靶标显著富集于肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素-17(interleukin-17, IL-17)信号通路($P < 0.05$)。294个LRTIs相关DEGs与JZ靶点进行交集, 获得11个关键基因, 涉及病毒感染、TNF及IL-17信号通路($P < 0.05$)。单核细胞炎症模型成功复现66%临床相关DEGs。低、中、高剂量JZ干预分别纠正76.4%、83.1%和88.7%的异常基因表达, 并参与调控TNF、核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)等通路。qRT-PCR结果显示, JZ呈剂量相关性地下调TNF、IL-6、趋化因子配体2 mRNA表达($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 显著上调基质金属蛋白酶9和SMAD3 mRNA表达($P < 0.01$ 、0.001)。流式细胞术检测结果证实JZ干预可降低CD86⁺M1型巨噬细胞比例及TNF- α 分泌($P < 0.05$ 、0.01)。结论 JZ通过多靶点协同调控TNF、NF- κ B及IL-17信号通路, 缓解炎症症状并重塑免疫稳态, 从而发挥抗LRTIs作用。

关键词: 金振口服液; 下呼吸道感染; 系统药理学; 转录组学; 抗炎; 免疫调节

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)12-4289-17

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.12.013

Mechanism of Jinzen Oral Liquid on ameliorating lower respiratory tract infections-related inflammation and immune dysregulation based on systems pharmacology and transcriptome analysis

LI Meiyao, YANG Wanting, GAO Yan, YANG Yubing, WANG Lei, DONG Jiayu, DING Mengjiao, CAO Liang, WANG Tuanjie, WU Ziyin, XIAO Wei

State Key Laboratory of Technologies for Chinese Medicine Pharmaceutical Process Control and Intelligent Manufacture (Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd. & Nanjing University of Chinese Medicine), Nanjing 211112, China

Abstract: Objective To investigate the mechanism of Jinzen Oral Liquid (金振口服液, JZ) on ameliorating inflammation and immune dysregulation related to lower respiratory tract infections (LRTIs) using an integrated approach combining systems pharmacology, transcriptomics, molecular docking and experimental validation. **Methods** Active components of JZ were screened using TCMSP database. Potential targets were predicted using SysDT algorithm. A herb-component-target network was constructed to identify core targets, followed by gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) enrichment analyses using Metascape. Molecular docking was performed to key active components and herb targets using AutoDock software. Differentially

收稿日期: 2025-03-24

基金项目: 国家工信部产业基础再造和制造业高质量发展专项(TC2308068)

作者简介: 李美瑶(1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂学。E-mail: lmyjianq@163.com

*通信作者: 肖伟(1959—), 男, 中国工程院院士, 研究方向为中药新药研发及过程质量控制。E-mail: kanionlunwen@163.com

武子寅(1986—), 男, 博士, 主管药师, 研究方向为中药新药研发及过程质量控制。E-mail: cs416@qq.com

expressed genes (DEGs) in peripheral blood mononuclear cells from LRTIs patients were integrated with JZ-predicted targets to identify overlapping targets for functional analysis. A model of human monocyte inflammation induced by lipopolysaccharide and γ interferon was constructed, and transcriptome sequencing was performed after the intervention of JZ (0.67, 1.34, 2.68 mg/mL). The expressions of core targets was verified using qRT-PCR and flow cytometry. **Results** A total of 34 active components and 210 potential targets were identified, of which 83 immune-related targets were significantly enriched in the tumor necrosis factor (TNF) and interleukin-17 (IL-17) signaling pathways ($P < 0.05$). A total of 294 LRTIs-related DEGs were intersected with JZ targets to obtain 11 key genes, involved in viral infection, TNF and IL-17 signaling pathways ($P < 0.05$). The monocyte inflammation model successfully recapitulated 66% of clinical DEGs. Low-, medium-, and high-doses of JZ restored 76.4%, 83.1% and 88.7% of dysregulated gene expression, respectively, modulating pathways including TNF and nuclear factor- κ B (NF- κ B). qRT-PCR demonstrated that JZ dose-dependently down-regulated *TNF*, *IL-6* and chemokine ligand 2 mRNA expressions ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), and significantly up-regulated the mRNA expressions of matrix metalloproteinase 9 and *SMAD3* ($P < 0.01, 0.001$). Flow cytometry confirmed JZ reduced CD86⁺ M1 macrophage proportion and TNF- α secretion ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** JZ exerts anti-LRTIs effects by synergistically regulating TNF, NF- κ B and IL-17 signaling pathways through multiple targets to alleviate inflammatory symptoms and remodel immune homeostasis.

Key words: Jinzhen Oral Liquid; lower respiratory tract infections; systems pharmacology; transcriptomics; anti-inflammatory; immune regulation

下呼吸道感染 (lower respiratory tract infections, LRTIs) 是全球传染病的主要致死病因, 每年可导致 3.44 亿感染病例及 218 万死亡病例^[1-2]。LRTIs 具有显著的季节性流行特征, 涵盖急性支气管炎、社区获得性肺炎等多种异质性临床表型, 主要致病病原体包括肺炎链球菌、呼吸道合胞病毒和鼻病毒 (rhinovirus, RV) 等^[3]。研究表明, 单核、巨噬等免疫细胞介导的病原体清除效率与宿主免疫稳态之间的平衡是影响 LRTIs 发展的核心因素^[4]。免疫系统紊乱可诱发肺部过度炎症反应及细胞因子风暴, 最终导致多器官功能障碍, 甚至死亡^[5-6]。目前, LRTIs 的临床治疗以抗生素和类固醇为主, 虽然可通过抑制病原体增殖缓解肺部炎症, 但存在耐药病原体高发、患者治疗失败率增加等问题, 许多医疗指南已明确限制无并发症 LRTIs 的抗生素使用^[7]。因此, 开发兼具抗感染与免疫调节功能的替代疗法尤为重要。

金振口服液 (Jinzhen Oral Liquid, JZ) 源自儿科经典验方羚羊清肺散, 由山羊角、平贝母、黄芩等 8 味中药配伍而成, 具有解热镇咳、抗炎、抗病毒和免疫调节等多重药理活性。临床研究证实, JZ 在急性支气管炎、新冠肺炎等儿科呼吸道感染的治疗中疗效显著, 其改善患儿咳嗽、咳痰的效果与化学药相当^[8-9], 为无法服用化学药制剂的患儿提供了一种可靠的替代治疗方案。然而, JZ 在分子层面的抗炎机制及其对免疫网络的调控作用有待系统阐释。基于“疾病-基因-靶点-药物”网络的系统药理学高度契合中医整体观念及复方多成分、多靶点、

多通路协同调控的特性, 以高通量方式揭示小分子调控原理, 为中药复杂机制解析及有效成分挖掘提供了新思路^[10]。本研究基于课题组前期通过超高效液相色谱-串联质谱 (ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-Q/TOF-MS) 和超高效液相色谱-三重四极杆质谱 (UPLC-triple quadrupole mass spectrometry, UPLC-QQQ-MS) 技术鉴定的 JZ 中 92 种成分^[11], 采用系统药理学和转录组学技术, 系统解析 JZ 治疗 LRTIs 相关炎症和免疫紊乱的作用机制, 并通过 qRT-PCR 和流式细胞术对其调控的核心靶点进行验证, 为 JZ 的临床应用及新适应证拓展提供实验依据。

1 材料

1.1 细胞

人单核细胞系 THP-1 由北京大学人民医院惠赠, 经传代培养后冻存于液氮中以备后续使用。

1.2 药品与试剂

JZ (国药准字 Z10970018, 批号 240106) 由江苏康缘药业股份有限公司提供; 脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS, 批号 12190801)、佛波酯 (phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA, 批号 P8139)、二甲基亚砜 (批号 67-68-5) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司; γ 干扰素 (γ interferon, IFN- γ , 批号 RAX2824071) 购自美国 Bio-Tech 公司; PBS (批号 BC20240228) 购自南京生航生物技术有限公司; RPMI 1640 培养基 (批号 6123095)、青霉素-链霉素溶液 (批号 242480)、胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS, 批号 N2765792P)、0.25% 胰蛋白酶溶液 (批

号 3027124) 购自美国 Gibco 公司; AO/PI 染液 (批号 B24011) 购自上海睿钰生物科技有限公司; MTS 细胞增殖检测试剂盒 (批号 G3581) 购自美国 Promega 公司; CD11b 抗体 (批号 2835660)、CD86 抗体 (批号 2696748)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 抗体 (批号 2869657)、固定破膜工作液 (批号 2507022) 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; RNA 提取试剂盒 (批号 7E1351H4)、cDNA 合成试剂盒 (批号 7E760A3)、PCR 试剂盒 (批号 7E1432H4) 购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司。

1.3 仪器

Thermo 3111 型二氧化碳培养箱、Nanodrop One 型核酸定量仪、Qubit 4 型核酸蛋白荧光定量仪、Quant Studio 3 型实时荧光定量 PCR 仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); CytoFlex 型流式细胞仪 (美国 Beckman Coulter 公司); T100 Thermal 型梯度 PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司); TapeStation 4150 型自动化电泳系统 (美国 Agilent 公司); JXCL-6K 型三维离心冷冻研磨仪 (上海净信实业发展有限公司); RWD M1324R 型微量高速冷冻离心机 (深圳瑞沃德生命科技有限公司); Centrifuge 5804 R 型高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); NextSeq 2000 型二代测序仪 (美国 Illumina 公司); CKX31 型倒置显微镜 (日本 Olympus 公司); Count Star 型全自动细胞荧光分析仪 (上海睿钰生物科技有限公司); SpectraMAX iD3 型多功能酶标仪 (美国 Molecular Device 公司)。

2 方法

2.1 系统药理学分析

2.1.1 成分数据库构建及活性成分筛选 JZ 处方组成为山羊角 94.50 g, 平贝母 47.25 g, 大黄 31.50 g, 黄芩 15.75 g, 青礞石 15.75 g, 石膏 23.62 g, 人工牛黄 9.45 g, 甘草 31.50 g。为了全面收集 JZ 的药材成分, 在课题组前期通过 UPLC-Q/TOF-MS 和 UPLC-QQQ-MS 技术鉴定得到的 92 种成分基础上, 整合 TCMSP 数据库检索和文献挖掘, 构建 JZ 成分数据库。然后利用 ADME 参数, 根据类药性 (drug-likeness, DL)、口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) 和 Caco-2 细胞通透性筛选 JZ 的活性成分。

2.1.2 靶点预测 基于 SysDT 算法整合随机森林 (random forest, RF) 与支持向量机 (support vector machine, SVM) 模型, 系统分析 JZ 成分的化学、

基因组学及药理学数据以预测其潜在作用靶点^[12]。设定阈值为 $RF \geq 0.8$ 、 $SVM \geq 0.7$, 筛选高可信度的靶标互作关系。

2.1.3 药材-成分-靶点网络构建 采用 Cytoscape 软件创建节点 (药材/成分/靶点) 与边 (相互作用) 的拓扑结构, 通过度中心性及中介中心性等参数定量评估药材-成分-靶点互作网络中的关键节点, 并根据 LRTIs 的病理特征将节点分为感染、炎症和免疫 3 类。

2.1.4 生物功能分析 基于 Metascape 平台进行基因本体 (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。其中, GO 功能富集分析涵盖分子功能 (molecular function, MF)、细胞组分 (cellular component, CC) 及生物学过程 (biological process, BP) 3 大本体, 深入探究关键靶点的功能特性。KEGG 通路富集分析则将成分、靶点与作用通路相联系, 有助于揭示药物相关生物学机制。显著性筛选标准均为 $P < 0.05$ 。

2.1.5 蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络构建 通过 STRING 数据库和 Cytoscape 软件构建 PPI 网络, 根据综合互作评分 ≥ 0.9 , 节点连接度 ≥ 10 筛选枢纽靶点, 并应用分子复合物检测算法 (molecular complex detection, MCODE) 进行拓扑聚类分析, 挖掘功能模块。

2.1.6 分子对接验证 采用 AutoDock 4.1 软件将枢纽靶点基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9, MMP9)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、TNF 与 JZ 的活性成分进行分子对接。综合氢键结合能、范德华作用力及分子扭转张力等参数, 筛选最优结合构象。

2.2 临床基因转录谱分析

从 GEO 数据库中获取 LRTIs 患者外周血单核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) 转录组数据集 (登录号 GSE53543)。利用 limma 软件包筛选差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs), 筛选标准为 $|\log_2$ 差异倍数 (fold change, FC) > 1 且 $P < 0.05$ 。LRTIs DEGs 与 JZ 预测靶点进行交集分析, 评估 JZ 作用靶点对 LRTIs 的潜在影响。

2.3 单核细胞炎症模型基因转录谱分析

2.3.1 细胞培养 THP-1 单核细胞用含 10% FBS、1% 青霉素-链霉素溶液的 RPMI 1640 完全培养基,

在 37 °C、5% CO₂ 条件下培养，每 2 天更换 1 次培养基，以确保细胞正常生长和增殖。

2.3.2 MTS 法检测 THP-1 细胞存活率 取对数生长期的 THP-1 细胞，以 1×10⁵ 个/mL 接种于 96 孔板中，在 37 °C、5% CO₂ 条件下培养 24 h。设置对照组和给药组，给药组分别加入含 0.08、0.17、0.34、0.67、1.34、2.68、5.39、10.77 mg/mL JZ 的培养基，对照组加入不含药物的培养基，每组设 3 个重复，置于培养箱中继续培养 24 h。加入 100 μL 含 0.5 mg/mL MTS 溶液的培养基，置于培养箱中避光孵育 2 h，使用多功能酶标仪检测 490 nm 处的吸光度 (A) 值，计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = A_{\text{给药}} / A_{\text{对照}}$$

2.3.3 巨噬细胞极化及 JZ 干预 THP-1 单核细胞以 5×10⁵ 个/mL 接种于 12 孔板中，加入 100 ng/mL PMA 诱导 24 h，使其分化为 M0 巨噬细胞^[13]。设置对照组、模型组和 JZ 低、中、高剂量 (0.67、1.34、2.68 mg/mL) 组，每组设 2 个重复。对照组加入 2 mL 培养基，模型组加入等体积含 100 ng/mL LPS、20 ng/mL IFN-γ 的培养基，各给药组在维持 LPS 和 IFN-γ 炎症刺激的基础上加入不同质量浓度的 JZ 溶液。于 37 °C、5% CO₂ 条件下继续培养 24 h，观察 JZ 对 M1 型巨噬细胞表型极化的调控作用。

2.3.4 RNA 提取及质控 培养 24 h 后使用 0.25% 胰蛋白酶溶液消化并收集细胞，按照 RNA 提取试剂盒标准化流程提取总 RNA。使用核酸定量仪检测总 RNA 的浓度及纯度，并通过自动化电泳系统检测总 RNA 完整性。将满足质量浓度 > 50 ng/μL，RIN 值 > 7.0，A₂₆₀/A₂₈₀ > 1.8，总 RNA > 1 μg 的高质量 RNA 样本用于构建测序文库。

2.3.5 测序文库构建 根据文库制备试剂盒说明书构建测序文库，而后将 cDNA 文库稀释至上样浓度，并于 Illumina Nextseq 2000 测序平台上进行双端测序，生成长度为 150 bp 的双端读长。

2.3.6 转录组数据分析 下机原始数据使用 fastp (<https://github.com/OpenGene/fastp>) 软件进行质量控制，去除接头、重复序列和低质量序列，得到高质量数据。过滤后的有效数据通过 HISAT2 软件比对到人类参考基因组，使用 StringTie 软件对基因或转录本进行组装，统计基因在不同样本中的表达量。利用 DESeq2 软件包筛选对照组与模型组、模型组与 JZ 给药组组间 DEGs，筛选标准为 |log₂FC| > 1、q ≤ 0.05。最后基于 KEGG 数据库对 DEGs 进行通

路富集分析。

2.4 实验验证

2.4.1 qRT-PCR 验证核心靶点 mRNA 表达水平 提取细胞 RNA，按 cDNA 合成试剂盒说明书将 RNA 逆转录为 cDNA。通过 PCR 试剂盒及反应体系，在 Quant Studio 3 实时荧光定量 PCR 系统上完成 PCR 反应。根据内参基因 β-actin 的表达量和 2^{-ΔΔCt} 方法计算 MMP9、PTGS2、血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule 1, VCAM1)、Janus 激酶 2 (Janus kinase 2, JAK2)、SMAD3、2',5'-寡腺苷酸合成酶 3 (2',5'-oligoadenylate synthetase 3, OAS3)、C-C 基序趋化因子配体 2 (C-C motif chemokine ligand 2, CCL2)、TNF 和 IL-6 等核心靶点的 mRNA 表达水平。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	引物序列 (5'-3')
β-actin	F: GGCCAACCGCGAGAAGATGAC R: GGATAGCACAGCCTGGATAGCAAC
MMP9	F: CAGTACCGAGAGAAAGCCTATT R: CAGGATGTCATAGGTCACGTCAG
PTGS2	F: TGTCAAACCGAGGTGTATGTA R: AACGTTCCAAAATCCCTTGAAG
VCAM1	F: CAGGCTGGAGATAGACTTACTG R: CCTCAATGACAGGAGTAAAGGT
JAK2	F: CGAATGGTGTCTTCTGATGTACC R: GTCTCCTACTTCTTCTTCGTACG
SMAD3	F: AGAGAGTAGAGACACCAGTTCT R: GAAGTTAGTGTTCGCGGGATG
OAS3	F: CTGTAAGAAGGATGCTTTCAGC R: GTTGACAGTCCAGAAAACACAC
CCL2	F: ACCAGCAGCAAGTGTCCCAAAG R: TTTGCTTGTCCAGGTGGTCCATG
TNF	F: GCAGGTCTACTTTGGGATCATTG R: GCGTTTGGGAAGGTTGGA
IL-6	F: CACTGGTCTTTTGGAGTTTGAG R: GGACTTTTGTACTCATCTGCAC

2.4.2 流式细胞术验证核心靶点蛋白表达水平 使用 0.25% 胰蛋白酶溶液消化细胞，离心收集细胞沉淀。用预冷的 PBS 重悬细胞，按说明书分别加入 FITC 标记的抗人 CD11b 单克隆抗体和 PE 标记的抗人 CD86 单克隆抗体，于 4 °C 避光孵育 1 h。PBS 清洗 2 次后，加入固定破膜工作液进行固定破膜处理，室温避光反应 1 h。经清洗缓冲液洗涤后加入 APC 标记的抗人 TNF-α 单克隆抗体，4 °C 避光孵育 1 h。细胞经 PBS 清洗并重悬后，使用 200 目滤网滤过，最终通过流式细胞仪检测，并运用 Flow Jo 软件分析 CD11b⁺ 细胞群 CD86⁺、TNF-α⁺ 细胞比例。

2.4.3 统计学分析 实验数据采用 GraphPad Prism

9.5 软件进行统计分析。多组间统计学差异分析采用单因素方差 (One-way ANOVA) 检验, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 系统药理学分析

3.1.1 JZ 活性成分筛选 基于 TCMSP 数据库及文献资料, 采用 DL、OB 和 Caco-2 细胞通透性模型对前期鉴定到的 92 种成分进行系统筛选, 最终获得了 51 种符合 ADME 参数的候选活性成分。如图 1 所示, 这些成分主要来源于大黄 (DH)、甘草 (GC)、黄芩 (HQ)、平贝母 (PBM)、人工牛黄 (RGNH) 及其他辅料组分。药动学评估显示, 平贝

母与人工牛黄组分表现出显著优势的 DL 值, 提示其具有更优的成药潜力, 甘草所含异甘草素、甘草素等 6 种黄酮类成分 OB 值均超过 60%, 提示其具有良好的生物利用特性, 而黄芩、甘草组分则具有优良的肠吸收特性。

3.1.2 JZ 成分靶点预测 基于 TCMSP 数据库的化学成分分类标准, 对 JZ 中大黄、甘草、黄芩、平贝母及人工牛黄的化学成分进行系统分类, 通过 Degree Ratio 量化各成分类别在对应药材中的相对丰度。如图 2-A 所示, 大黄以蒽醌类 (71.4%) 和酚酸类 (28.6%) 为主, 甘草以黄酮类 (96.8%) 和三萜类 (3.2%) 为主, 黄芩中黄酮类达 100%, 平贝母以

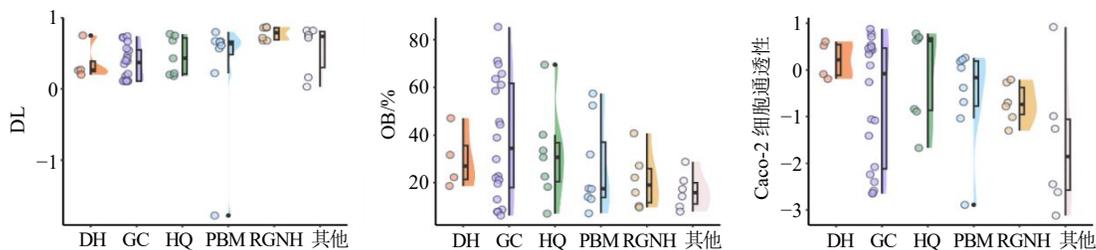
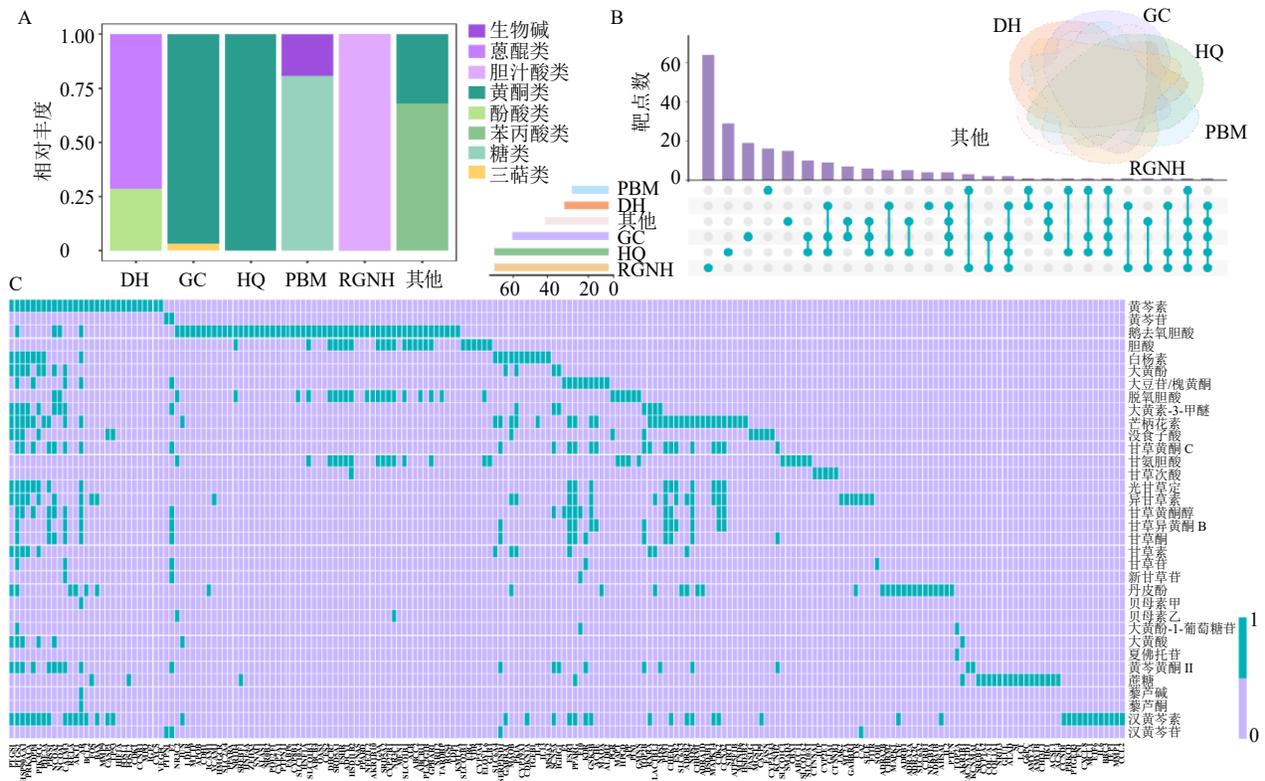


图 1 JZ 活性成分的药动学评估

Fig. 1 Pharmacokinetic evaluation of active components in JZ



A-不同药材中各成分类别的相对丰度比例; B-不同药材的靶点分布图; C-成分-靶点相互作用热图。

A-degree ratio of various components in different herbs; B-distribution of targets in different herbs; C-heatmap of component-target interaction analysis.

图 2 JZ 成分靶点预测

Fig. 2 Target prediction of JZ components

糖类(80.8%)和生物碱(19.2%)为特征,人工牛黄则完全由胆汁酸类(100%)组成。然后利用已构建的靶点预测模型,成功实现34种活性成分(占总量66.7%)与210个潜在作用靶点的精准匹配。各药材的靶点分布图(图2-B)和成分-靶点相互作用热图(图2-C)显示,共有63个靶点被2味以上药材共享,而人工牛黄、黄芩、甘草、平贝母及大黄分别具有64、29、19、16和4个特异性作用靶点。此外,源自甘草(181个)和黄芩(119个)的黄酮类成分靶点互作密度高于其他组分,提示其可能在JZ的多靶点协同作用中发挥关键作用。

3.1.3 药材-成分-靶点网络构建 基于LRTIs病理特征,从JZ的210个靶点中筛选出与感染、炎症、免疫生物学过程直接相关的83个核心靶标。这些靶标对应源自JZ组方药材的27种活性成分。采用Cytoscape软件构建药材-成分-靶点互作网络并进

行拓扑分析。如图3所示,六边形节点代表药材及其成分,圆形节点代表83个靶标,连接线代表相互作用关系。通过度值反映节点的重要程度,高度值节点被视为关键节点,感染、炎症、免疫相关的靶标分别使用蓝色、绿色和紫色进行标记。网络分析表明,JZ成分的平均靶点连接数为16.53,22个高度值成分(≥ 10 个靶点)呈现显著的多靶点作用特征。度值排名前5的活性成分包括汉黄芩素(34,源自黄芩)、黄芩素(21,源自黄芩)、芒柄花素(19,源自甘草)、异甘草素(17,源自甘草)和丹皮酚(17,源自辅料)。这些活性成分被认为是JZ的药效物质基础,其抗炎和免疫调节作用已被证实^[14-15]。此外,38个关键靶标(45.8%)受2种以上成分协同调控。其中,PTGS2被甘草素、异甘草素、甘草苷等14种黄酮类化合物共同调控,是JZ作用于感染、炎症和免疫调控网络的核心靶点之一。

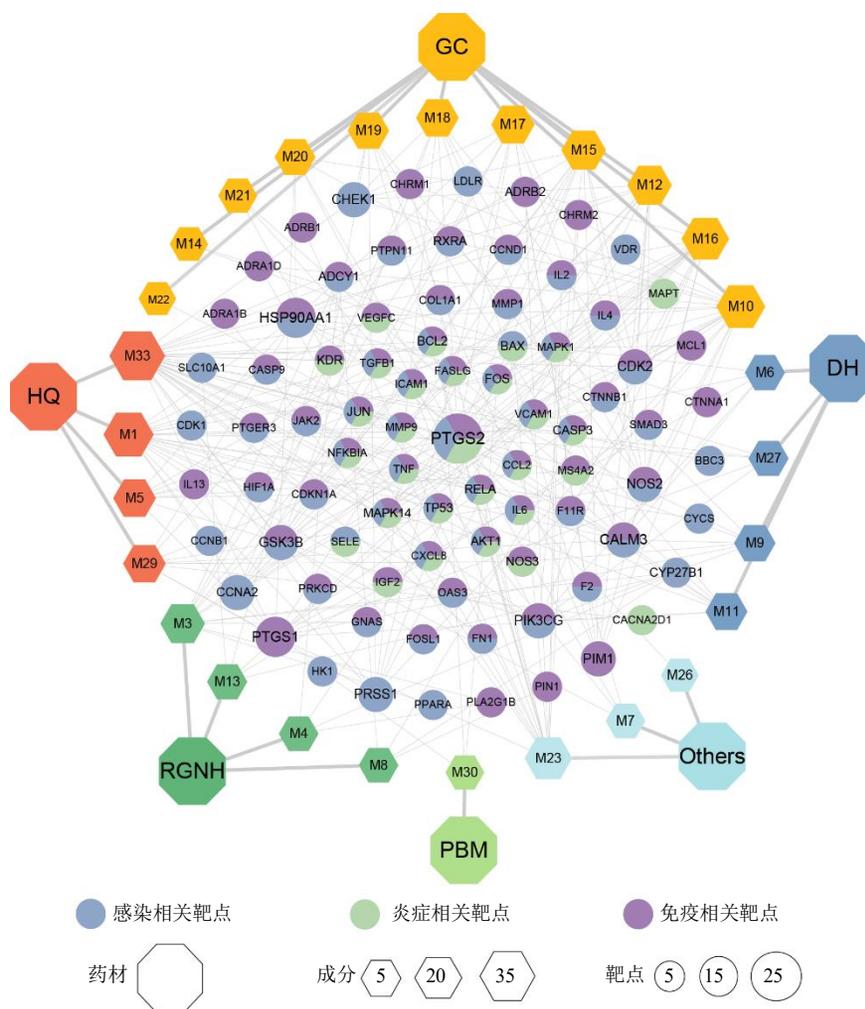


图3 药材-成分-靶点网络

Fig. 3 Herb-component-target network

3.1.4 靶点功能富集分析 采用 GO 功能及 KEGG 通路富集分析方法解析 JZ 预测靶点的功能特性及相关生物学机制。如图 4、表 2 所示，GO 富集分析展示了 BP、MF、CC 3 个本体下的前 15 个条目。在 BP 层面，靶点显著富集于乙醇应激、异生物质刺激应答、营养物质调控、有机羟基化合物跨膜转运及类固醇代谢等生物学过程。MF 层面主要涉及核受体激活、配体依赖性转录因子激活、RNA 聚合酶 II 特异性 DNA 结合域转录因子结合、有机羟基化合物及胆汁酸跨膜转运活性等。CC 层面则主要定位在膜筏、膜微区室、小窝等细胞膜功能相关结构域。

KEGG 通路富集分析表明 (图 5)，高度值靶点

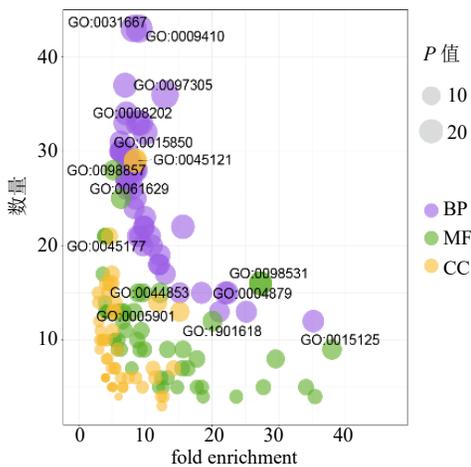


图 4 GO 功能富集分析

Fig. 4 GO function enrichment analysis

表 2 GO 功能富集分析前 15 个条目

Table 2 Top 15 entries in GO function enrichment analysis

编号	条目名称
GO: 0097305	response to alcohol
GO: 0009410	response to xenobiotic stimulus
GO: 0031667	response to nutrient levels
GO: 0015850	organic hydroxy compound transport
GO: 0008202	steroid metabolic process
GO: 0004879	nuclear receptor activity
GO: 0098531	ligand-activated transcription factor activity
GO: 0061629	RNA polymerase II-specific DNA-binding transcription factor binding
GO: 1901618	organic hydroxy compound transmembrane transporter activity
GO: 0015125	bile acid transmembrane transporter activity
GO: 0045121	membrane raft
GO: 0098857	membrane microdomain
GO: 0005901	caveola
GO: 0044853	plasma membrane raft
GO: 0045177	apical part of cell

主要富集于病毒感染、炎症调控、免疫平衡 3 大生物学过程。其中，病毒感染包括乙型肝炎、人巨细胞病毒、丙型肝炎、人 T 细胞白血病病毒 1 型感染等通路；炎症调控涵盖 TNF 信号通路、磷脂酰肌醇 3-激酶-蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase B, PI3K-Akt) 信号通路及环磷酸腺苷信号通路；免疫平衡则涉及 IL-17 信号转导和辅助性 T 细胞 17 (T helper cell 17, Th17) 细胞分化途径。上述分析结果提示 JZ 可能通过协同调控病原体清除、炎症消退及免疫应答 3 大生物学过程发挥其治疗作用。

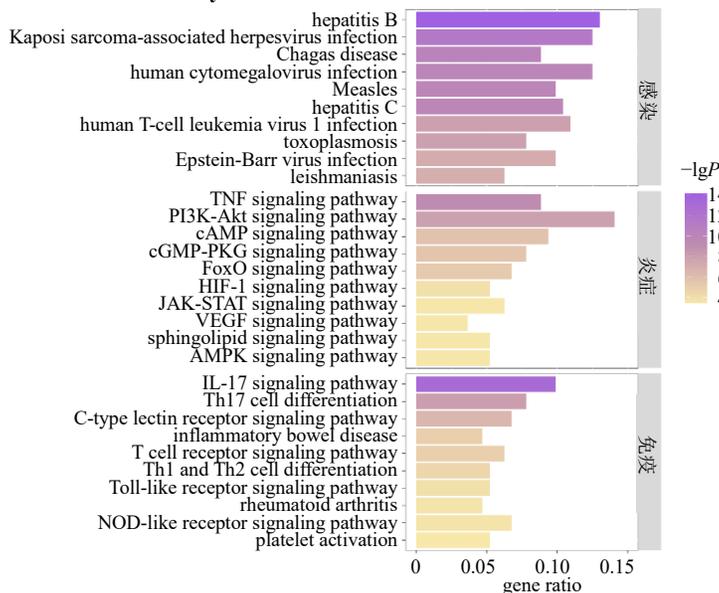


图 5 KEGG 通路富集分析

Fig. 5 KEGG pathway enrichment analysis

3.1.5 PPI网络构建 为了进一步明确JZ的核心靶点,基于 STRING 数据库和 Cytoscape 软件构建 PPI 网络,并应用 MCODE 算法区分功能模块。如图 6 所示,共识别出 11 个显著功能模块,其中模块 1 (MCODE 1) 基因富集度最高,核心枢纽基因包括缺氧诱导因子-1 α 、诱导凋亡因子 1 (apoptosis-inducing factor 1, AKT1)、细胞周期蛋白依赖性激酶 2、SMAD3 等。模块 2 (MCODE 2) 主要与细胞外基质重塑和炎症调控相关,关键基因涉及 IL-2、

MMP1、MMP9、转化生长因子- β 1 等。模块 3 (MCODE 3) 则直接参与炎症反应和免疫应答过程,重要节点包括 IL-6、IL-4、TNF、CCL2、PTGS2 等。综合各模块功能特征,推测 JZ 可能通过调控上述关键基因的表达及活性,发挥抗炎和免疫调节作用,从而在 LRTIs 疾病的治疗中展现出潜在疗效。

3.1.6 分子对接验证 选取 MMP9、PTGS2、IL-6、TNF 等 4 个核心靶点与 JZ 活性成分进行分子对接,进一步验证上述预测结果。如图 7 所示,JZ 主要活

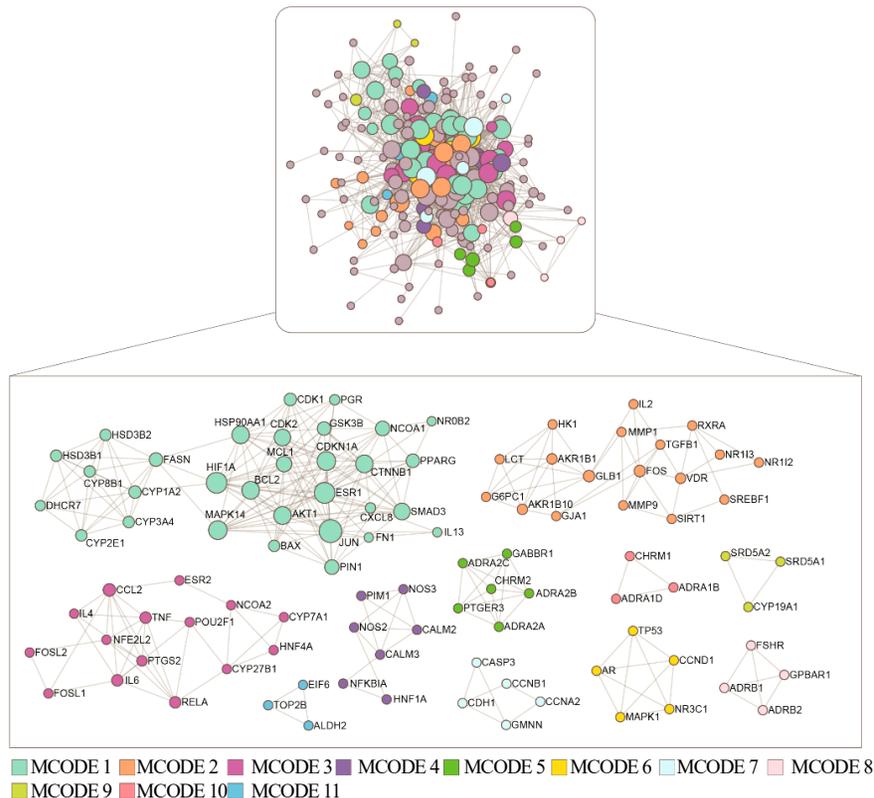


图 6 PPI 网络

Fig. 6 PPI network

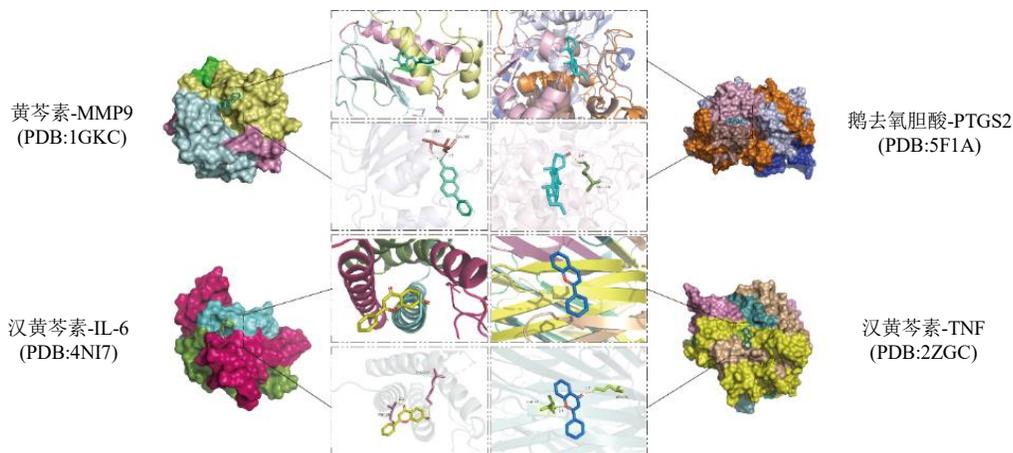


图 7 分子对接示意图

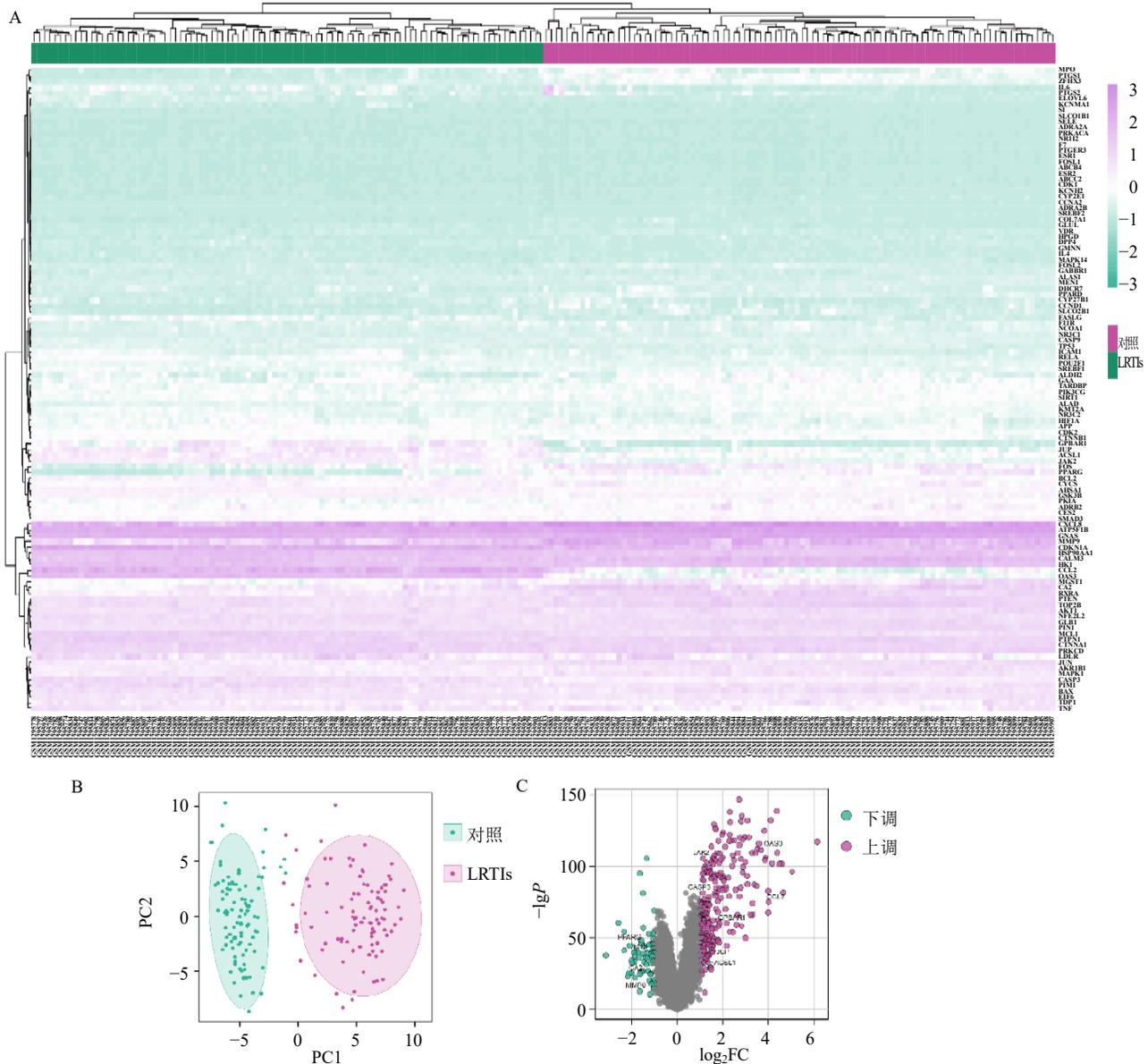
Fig. 7 Schematic diagram of molecular docking

性成分黄芩素与 MMP9 结合良好, 汉黄芩素与 IL-6、TNF 具有强相互作用, 而鹅去氧胆酸则与 PTGS2 稳定结合。分子对接结果从结构生物学角度为 JZ 通过多组分、多靶点相互作用发挥抗炎及免疫调节活性提供了直接证据。

3.2 JZ 靶点与临床基因转录谱交集分析

3.2.1 JZ 靶点与 LRTIs 基因交集分析 整合临床 LRTIs 疾病表达谱与 JZ 预测靶点进行交集分析, 以评估 JZ 靶点与 LRTIs 的相关性。鉴于炎症单核细胞在呼吸道病原体识别、吞噬清除及免疫调节中的关键作用^[16], 从 GEO 数据库 (登录号 GSE53543)

中获取 RV 感染 LRTIs 患者的 PBMC 转录组数据集 (共 10 220 个基因)。初步分析发现 JZ 的 210 个预测靶点中有 112 个与临床检测基因重叠。112 个交集基因的层次聚类热图 (图 8-A) 与主成分分析结果 (图 8-B) 显示, LRTIs 组与对照组基因表达谱区分明显, 提示 JZ 作用靶点与 LRTIs 病理进程高度关联。差异基因表达分析 ($|\log_2FC| > 1$ 、 $P < 0.05$) 结果 (图 8-C) 显示, LRTIs 组相较于对照组共鉴定到 294 个 DEGs, 其中 234 个上调, 60 个下调, 表明病毒感染期间患者 PBMC 中存在广泛的转录失调。



A-112 个交集基因的层次聚类热图; B-112 个交集基因的主成分分析; C-LRTIs DEGs 火山图。

A-hierarchical clustering heatmap of 112 overlapping genes; B-principal component analysis of 112 overlapping genes; C-volcano diagram of DEGs in LRTIs.

图 8 JZ 靶点与 LRTIs 基因交集分析

Fig. 8 Intersection analysis of JZ targets and LRTIs genes

3.2.2 交集靶点功能解析 韦恩图分析表明 (图 9), JZ 预测靶点 (210 个) 与 LRTIs DEGs (294 个) 存在 11 个关键交集基因。这 11 个交集基因在健康对照组和 LRTIs 组样本中的表达结果 (图 10-A) 显示, OAS3、JAK2、CCL2、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cystein-aspartate protease-3, CASP3)、G 蛋白偶联胆汁酸受体 1 (G protein-coupled bile acid receptor 1, GPBAR1)、连接斑珠蛋白 (junction plakoglobin, JUP) 和长链酰基辅酶 A 合成酶 1 (acyl-coA synthetase long chain family member 1, ACSL1)

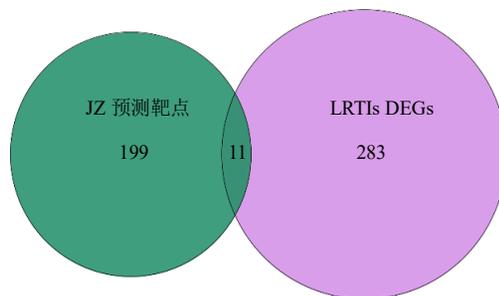
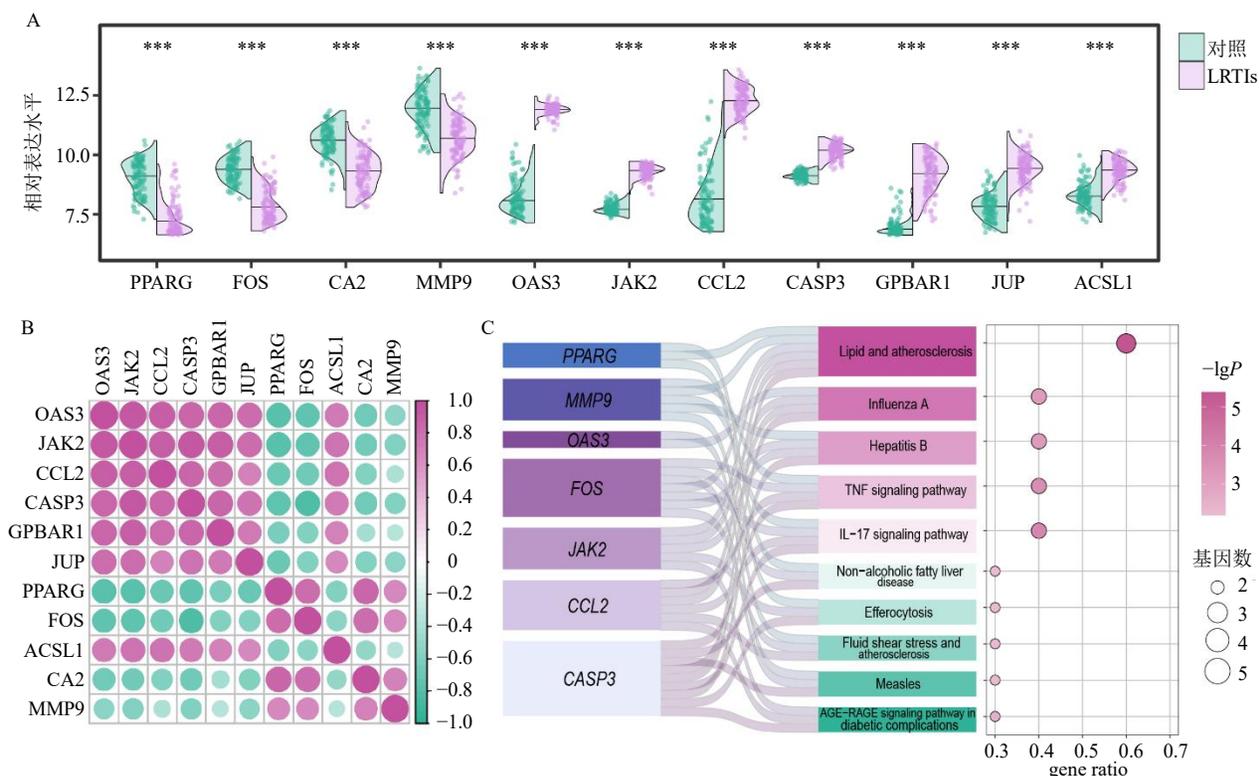


图 9 JZ 预测靶点与 LRTIs DEGs 的韦恩图
Fig. 9 Venn diagram of JZ predicted targets and DEGs in LRTIs



A-11 个交集基因在对照组和 LRTIs 组样本中的表达, 与对照组比较: *** $P < 0.001$; B-11 个交集基因的基因表达相关性热图; C-11 个交集基因 KEGG 通路富集分析。

A-expression of 11 overlapping genes in control and LRTIs samples, *** $P < 0.001$ vs control group; B-heatmap of gene expression correlation of 11 overlapping genes; C-KEGG pathway enrichment analysis of 11 overlapping genes.

图 10 11 个交集基因表达及功能分析

Fig. 10 Expression and functional analysis of 11 overlapping genes

7 个基因的表达在感染后显著上调 ($P < 0.001$), 而过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPARG)、Fos 原癌基因 (Fos proto-oncogene, FOS)、碳酸酐酶 2 (carbonic anhydrase 2, CA2) 和 MMP9 4 个基因的表达显著下调 ($P < 0.001$)。基因表达相关性热图 (图 10-B) 显示, 感染后显著上调的 7 个基因表达呈正相关, 下调的 4 个基因表达呈负相关。KEGG 通路富集分析结果 (图 10-C) 表明, 11 个交集基因显著

富集于病毒感染通路、TNF 信号通路及 IL-17 信号通路 ($P < 0.05$), 与 JZ 预测靶点的富集结果高度一致, 提示 JZ 靶点可富集于单核细胞相关感染性疾病的核心理通路。

3.3 JZ 对单核细胞炎症模型基因转录谱的扰动分析

3.3.1 JZ 对单核细胞存活率的影响 MTS 法检测结果 (图 11) 表明, JZ 质量浓度低于 2.68 mg/mL 时, THP-1 单核细胞存活率均高于 95%, 即 2.68

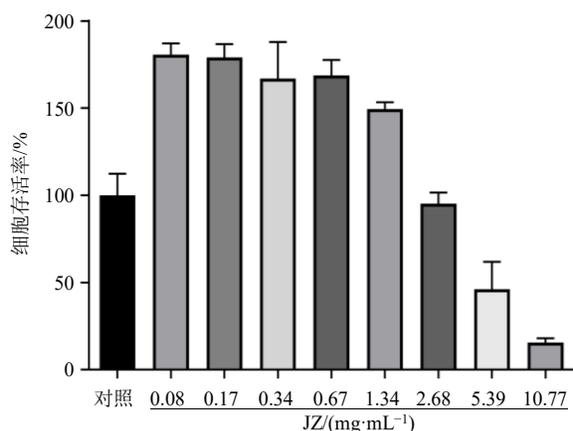
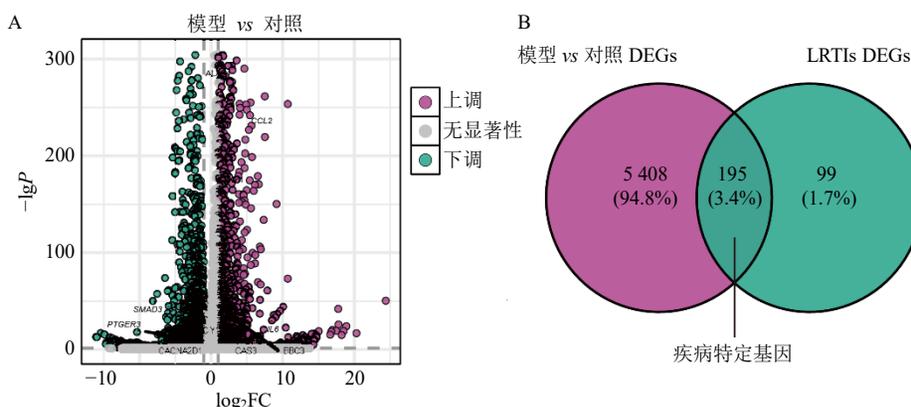


图 11 MTS 法检测 JZ 干预下 THP-1 细胞存活率 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 11 Cell viability of THP-1 under JZ intervention by MTS assay ($\bar{x} \pm s, n = 3$)



A-模型组 vs 对照组的 DEGs 火山图; B-模型组 vs 对照组 DEGs 与 LRTIs DEGs 的韦恩图。

A-volcano diagram of DEGs in model group vs control group; B-Venn diagram of DEGs in model group vs control group and LRTIs.

图 12 单核细胞炎症模型 DEGs 分析

Fig. 12 DEGs analysis of monocyte inflammation model

交集基因作为 LRTIs 疾病特定基因集,以研究 JZ 的治疗效果。

3.3.3 JZ 干预对单核细胞炎症模型基因表达的影响 各组样本的主成分分析结果(图 13-A)显示,对照组与模型组、模型组与 JZ 给药组组间样本显著分离,组内样本一致性较高,重复性好。如图 13-B 所示,以模型组 DEGs 为对照,低、中、高剂量 JZ 干预分别纠正了 76.4%、83.1%和 88.7%的异常基因表达。相同地,各组差异基因的层次聚类热图(图 13-C)显示,对照组与模型组基因表达谱区分明显,而 JZ 呈剂量相关性地调控 LPS 和 IFN- γ 诱导的单核细胞基因表达谱,高剂量的 JZ 最有效地逆转了模型组的基因表达变化,其表达谱最接近于对照组。

mg/mL 为 JZ 对 THP-1 单核细胞的最大无毒质量浓度。因此,后续实验将 2.68 mg/mL 设为 JZ 的最高给药质量浓度。

3.3.2 单核细胞炎症模型建立及验证 构建 LPS 联合 IFN- γ 诱导的单核细胞 M1 型极化炎症模型,并采用高通量 RNA 测序技术,分析对照组、模型组及 JZ 低、中、高剂量组细胞的转录变化,系统评价 JZ 对单核细胞基因转录谱的影响。如图 12-A 所示,与对照组相比,模型组共鉴定 5 603 个 DEGs ($|\log_2FC| > 1, q \leq 0.05$),包括 3 681 个上调基因和 1 922 个下调基因,表明炎症刺激引发了广泛的基因激活。进一步将体外模型 DEGs 与 LRTIs DEGs 进行交集分析(图 12-B),发现体外模型成功捕获临床患者 66% (195/294) 的 DEGs,提示该模型具有模拟 LRTIs 病理表达谱的能力。同时将这 195 个

3.3.4 JZ 干预对单核细胞炎症模型通路的影响 基于 KEGG 通路的热图分析结果(图 14-A)显示,模型组与对照组的 DEGs 主要富集于人类疾病、环境信息处理及生物系统 3 个大类。进一步分析发现,这些 DEGs 显著参与免疫系统和信号转导相关通路,包括 TNF 信号通路、Janus 激酶(Janus kinase, JAK)-信号转导和转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)信号通路、核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路等。如图 14-B 所示,以模型组 vs 对照组 DEGs 富集的通路为模型特异性通路,发现 JZ 呈剂量相关性地调控上述通路。JZ 低、中、高剂量组分别逆转了 15.1%、36.6%、53.8%

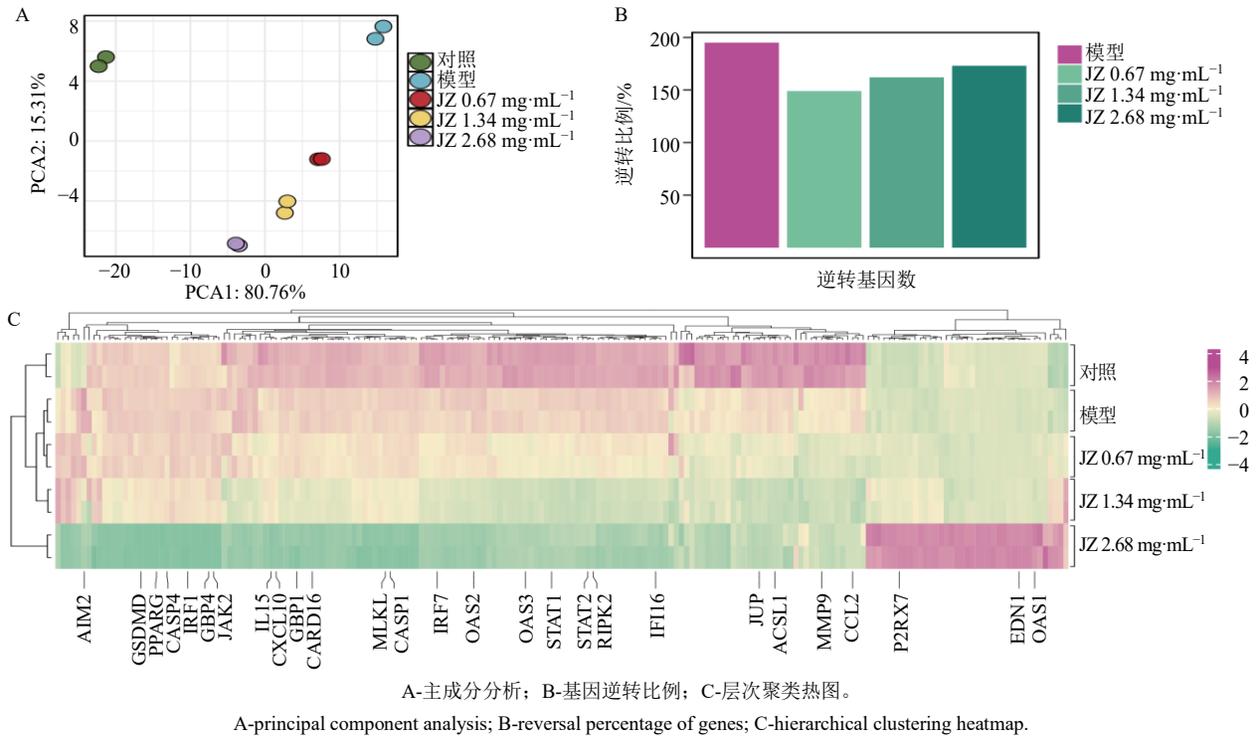


图 13 JZ 干预下单核细胞炎症模型 DEGs 分析

Fig. 13 DEGs analysis of monocyte inflammation model under JZ intervention

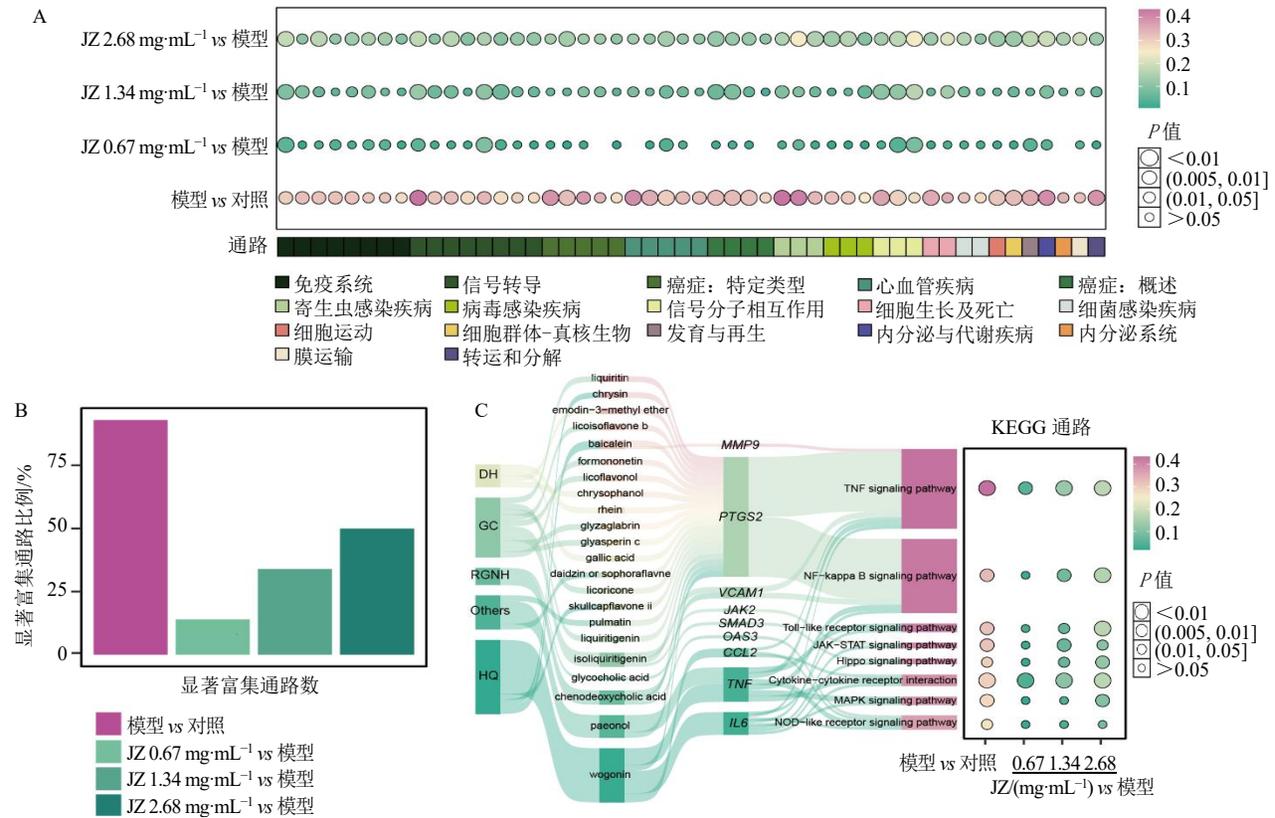


图 14 JZ 干预下单核细胞炎症模型 DEGs 通路分析

Fig. 14 Pathway analysis of DEGs in monocyte inflammation model under JZ intervention

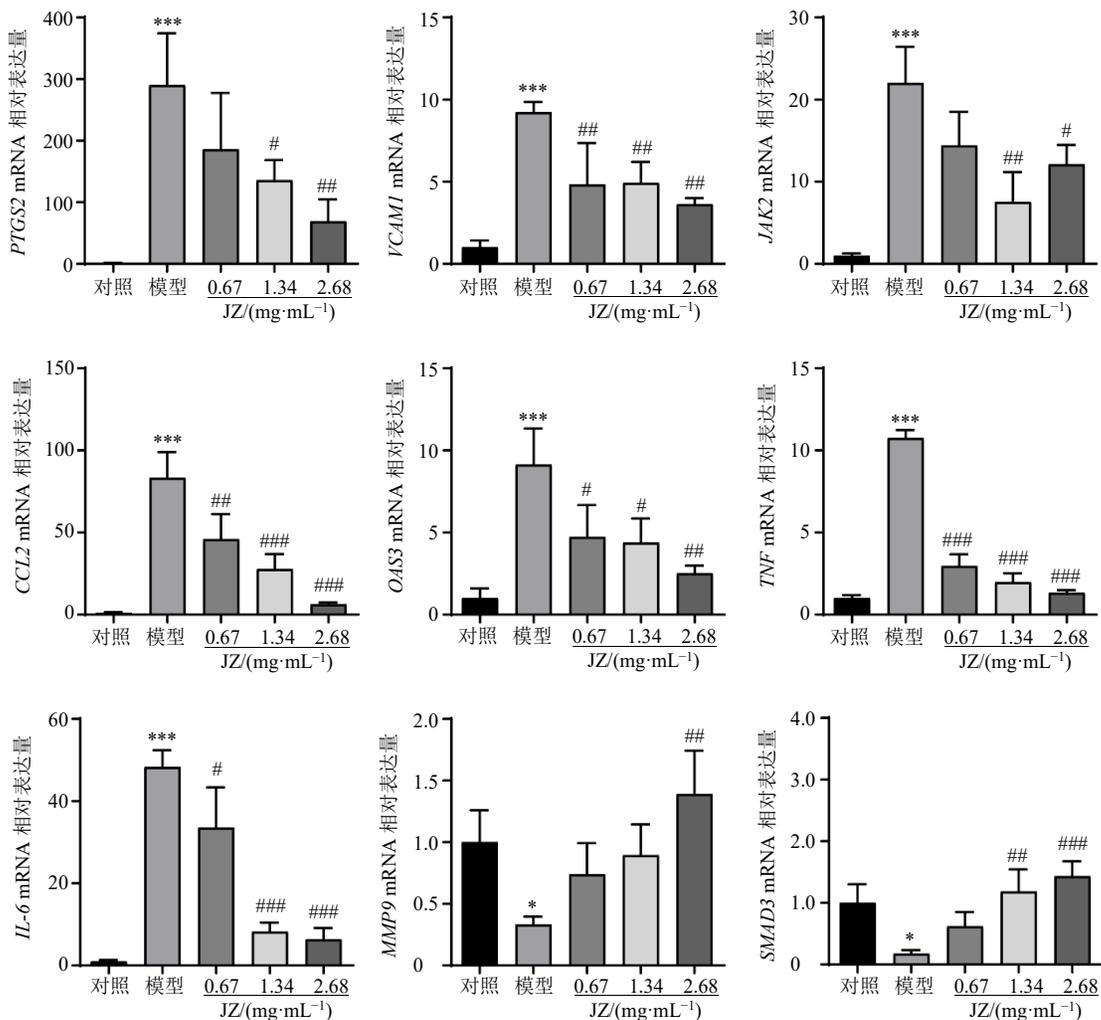
的模型特异性通路。桑基图(图 14-C)显示, JZ 可能通过调控 TNF、NF- κ B、Toll 样受体、JAK-STAT、MAPK 及 NOD 样受体等信号通路, 发挥抗炎、抑制病原体生长、调节免疫或促进组织修复的作用。MMP9、PTGS2、VCAM1、JAK2、SMAD3、OAS3、CCL2、TNF、IL-6 为涉及这些通路的核心靶点。

3.4 实验验证

3.4.1 JZ 对单核细胞炎症模型中核心靶点 mRNA 表达的影响 qRT-PCR 验证 JZ 干预对单核细胞炎症模型基因转录谱的影响(图 15), 结果与 TNF、NF- κ B、Toll 样受体、JAK-STAT、MAPK 等免疫、炎症相关通路中 DEGs 变化趋势一致。与对照组比较, 模型组细胞中 *PTGS2*、*VCAM1*、*JAK2*、*CCL2*、*OAS3*、*TNF* 和 *IL-6* mRNA 表达水平显著升高 ($P <$

0.001), *MMP9*、*SMAD3* mRNA 表达水平显著降低 ($P <$ 0.05); 与模型组比较, JZ 各剂量组细胞中 *PTGS2*、*VCAM1*、*JAK2*、*CCL2*、*OAS3*、*TNF* 和 *IL-6* mRNA 表达均有不同程度的下调, 高剂量 JZ 显著上调 *MMP9* 的表达 ($P <$ 0.01), 中、高剂量 JZ 显著上调 *SMAD3* 的表达 ($P <$ 0.01、0.001)。表明 JZ 对 LPS 和 IFN- γ 诱导的单核细胞炎症模型具有显著抑制作用。

3.4.2 JZ 对单核细胞炎症模型中核心靶点蛋白表达的影响 流式细胞分析结果显示(图 16), 与对照组比较, 模型组 CD11b⁺细胞群中 CD86、TNF- α 阳性细胞比例显著增加 ($P <$ 0.01、0.001), 说明 CD86、TNF- α 的蛋白表达水平显著升高, 提示 LPS 联合 IFN- γ 成功诱导单核细胞极化为 M1 型巨噬细



与对照组比较: * $P <$ 0.05 ** $P <$ 0.01 *** $P <$ 0.001; 与模型组比较: # $P <$ 0.05 ## $P <$ 0.01 ### $P <$ 0.001, 图 16 同。
* $P <$ 0.05 ** $P <$ 0.01 *** $P <$ 0.001 vs control group; # $P <$ 0.05 ## $P <$ 0.01 ### $P <$ 0.001 vs model group, same as Fig. 16.

图 15 qRT-PCR 验证结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 15 qRT-PCR validation results ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

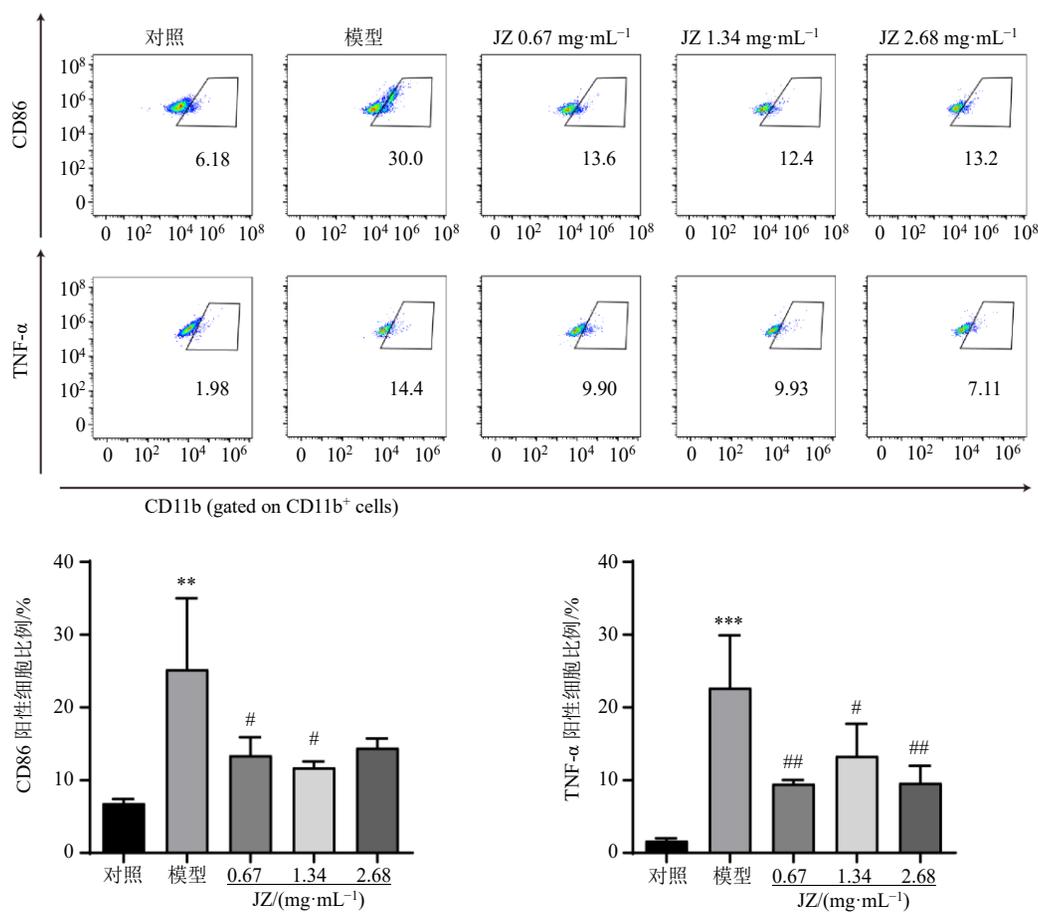


图 16 流式细胞术验证结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 16 Flow cytometry validation results ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

胞，同时促进炎症细胞因子分泌，介导巨噬细胞炎症表型。与模型组比较，低、中剂量 JZ 干预显著降低了 CD86 的蛋白表达 ($P < 0.05$)，低、中、高剂量 JZ 均可有效降低 TNF- α 的蛋白表达 ($P < 0.05$ 、0.01)。表明 JZ 能够调控巨噬细胞极化过程，逆转 LPS、IFN- γ 诱导的炎症反应，从而发挥抗炎作用。

4 讨论

JZ 源自传统中医防治急性呼吸道感染的经验，已被纳入《小儿病毒性肺炎中医临床诊疗指南(2023)》^[17]、《儿童肺炎支原体肺炎中西医结合诊疗专家共识(2023)》^[18]等多项临床指南，在急性支气管炎、新冠肺炎感染等 LRTIs 相关疾病的治疗中疗效显著。现代药理学研究表明，JZ 具有显著的抗炎、抗病毒和免疫调节活性，近年来其在哮喘^[19]、急性肺损伤^[20]、感染后咳嗽^[21]等呼吸系统疾病的药效机制研究日益深入。然而，JZ 治疗 LRTIs 的抗炎和免疫调节机制尚缺乏系统探索。本研究通过整合系统药理学、LRTIs 临床转录谱和单核细胞炎症模型转录谱，利用先进的计算工具进行全面分析，深入探

讨了 JZ 治疗 LRTIs 的复杂作用机制，并揭示了其发挥作用的活性成分、治疗靶点和生物学通路。

系统药理学研究表明，JZ 包含异甘草素、甘草素、黄芩苷等多种生物活性成分。其中，异甘草素和甘草素具有较高的 OB 及吸收率，而黄芩苷则表现出广泛的靶点结合能力。这些成分共同构成 JZ 的药效物质基础，并通过多靶点、多通路机制发挥显著的抗炎与免疫调节作用。Liao 等^[22]和 Yang 等^[23]通过网络预测和计算机模拟模型已证实异甘草素和甘草素在调控炎症反应方面的有效性。而 Wu 等^[24]和 Cao 等^[25]整合多组学数据，揭示了黄芩苷具有抗炎和抗病毒双重活性。上述发现表明先进的成分筛选及靶点预测模型有助于解析中药复方多组分、多靶点协同作用的复杂机制。此外，通过构建药材-成分-靶点网络，对关键靶点进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析，阐明靶点与感染、炎症和免疫相关通路之间的关系。结果显示，JZ 成分对 TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、IL-17 信号通路和 Th17 细胞分化产生了显著影响。既往研究中，JZ 的

主要活性成分黄芩苷已被证明可通过调节 TNF、IL-17 信号通路和 Th17 细胞分化抑制炎症反应^[26], 并通过调控 PI3K-Akt 和细胞凋亡通路发挥抗病毒活性^[25], 其关键靶点包括 TNF、PPARG、MMP9、AKT1 等基因。而在本研究中, PPI 网络和分子对接实验验证了这些基因与 JZ 药效之间的紧密联系。

本研究通过将 JZ 预测靶点与 LRTIs 患者 PBMC 的基因表达谱进行比较分析, 发现 JZ 作用靶点与病毒感染过程中临床失调基因存在显著交集, 共得到 11 个共同靶点。对这 11 个靶点进行 KEGG 通路富集分析, 发现其主要富集于病毒感染、TNF 及 IL-17 等炎症反应和免疫调节相关通路, 与 LRTIs 的临床病理特征高度吻合。这一发现不仅证实了 JZ 作用靶点的临床价值, 更提示其可能通过调控 TNF- α 、IL-6 等关键炎症介质的基因表达来改善 LRTIs 临床症状。其中, TNF- α 联合 IFN- γ 能够驱动重症新冠肺炎影响的肺部巨噬细胞炎症表型并诱导 CCL2、CCL3、STAT1、IL-1 β 等基因高表达, 加剧炎症反应^[27]。基于此, 本研究构建 LPS、IFN- γ 诱导的人单核细胞极化为 M1 型巨噬细胞模型, 进一步揭示 JZ 在体外的抗炎和免疫调节作用。结果显示, JZ 呈剂量相关性地改变了模型组细胞基因表达谱, 有效逆转了炎症刺激诱导的基因表达异常, 并通过调控 TNF、NF- κ B、JAK-STAT、MAPK 等信号通路及 MMP9、PTGS2、VCAM1、JAK2、SMAD3、OAS3、CCL2、TNF、IL-6 等核心靶点发挥抗炎作用。

然而, 在 LRTIs 的临床数据集中未检测到 PTGS2、VCAM1、SMAD3、TNF 和 IL-6 等经典炎症标志物基因的显著差异表达, 但在体外模型中这些基因作为 JZ 的潜在靶点表现出显著的变化。这一现象不仅证实了 JZ 作用靶点的临床相关性, 同时说明体外炎症模型在模拟临床复杂分子网络调控方面具有独特优势, 其既能再现感染性疾病中广泛的信号通路扰动, 又能规避临床样本异质性对特定生物标志物检测的干扰。qRT-PCR 和流式细胞术分别从转录水平和蛋白层面进一步证实了 JZ 干预对单核细胞炎症模型中核心基因表达的调控作用。这些基因不仅在本研究中被观察到与病毒感染、免疫调节具有显著关联, 亦被报道可作为多种呼吸系统感染性疾病的标志基因。例如, OAS3 在病原体感染后的过表达能够限制细胞内病原体复制, 并增强促炎细胞因子分泌^[28]; CCL2 可通过介导单核/巨噬

等炎症细胞或炎症部位其他细胞因子的迁移、浸润来影响多种疾病的发展, 是多种呼吸道感染疾病的生物标志物^[29]; MMP 的异常表达则可通过调节细胞外基质降解、炎症和纤维化过程, 影响急性呼吸窘迫综合征患儿的发病率和死亡率^[30]。

综上, 本研究整合系统药理学和转录组学研究策略, 发现 JZ 中甘草素、黄芩苷等活性成分通过协同调控 TNF、PTGS2、MMP9 等靶基因表达及 TNF、NF- κ B、IL-17 等核心信号通路, 形成多成分、多靶点、多途径的抗炎和免疫调节机制, 从而发挥对 LRTIs 的治疗效应。虽然取得了初步成果, 但仍存在一些局限性。首先, 除黄酮类成分外, 甘草中含有的甘草酸、甘草次酸等三萜类成分同样具有抗炎、抗病毒感染、抗肿瘤等多重药理活性^[31]。课题组前期采用 UPLC-Q/TOF-MS 技术分析 JZ 的体内原型成分及代谢产物时, 已鉴定到甘草酸和甘草次酸^[14]。尽管本研究在 JZ 的活性成分筛选中亦检测到甘草次酸的存在, 但鉴于甘草素、黄芩苷等黄酮类成分在药动学评估和靶点预测模型中呈现出更显著的关联性, 故后续主要围绕黄酮类成分开展机制研究, 缺乏对三萜类成分的深入分析。其次, 体外实验虽已初步验证了 JZ 调控 LRTIs 相关信号通路的药效机制, 但缺乏 JZ 的体内药效实验。值得指出的是, JZ 对人冠状病毒、甲型 H1N1 流感病毒、副流感病毒感染所致肺炎小鼠的治疗作用已得到充分验证^[32-34], 可为本研究提供体内药效佐证。最后, 本研究采用的体外细胞模型样本量较小, 且单一细胞系难以反映机体内多细胞交互作用对炎症和免疫网络的动态调控, 同时临床患者存在的年龄差异、基础疾病、免疫状态等复杂因素亦被简化, 无法完全模拟疾病的复杂病理生理过程。未来研究可通过构建类器官共培养体系模拟体内微环境、建立 RV 感染的动物模型或纳入临床样本等方法来进一步完善 JZ 的药效机制, 以期 JZ 治疗 LRTIs 相关疾病提供更坚实的实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990—2019: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Lancet*, 2020, 396(10258): 1204-1222.
- [2] GBD 2021 Lower Respiratory Infections and

- Antimicrobial Resistance Collaborators. Global, regional, and national incidence and mortality burden of non-COVID-19 lower respiratory infections and aetiologies, 1990-2021: A systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2021 [J]. *Lancet Infect Dis*, 2024, 24(9): 974-1002.
- [3] Cavallazzi R, Ramirez J A. How and when to manage respiratory infections out of hospital [J]. *Eur Respir Rev*, 2022, 31(166): 220092.
- [4] Wei X Q, Narasimhan H, Zhu B B, *et al*. Host recovery from respiratory viral infection [J]. *Annu Rev Immunol*, 2023, 41: 277-300.
- [5] Tay M Z, Poh C M, Rénia L, *et al*. The trinity of COVID-19: Immunity, inflammation and intervention [J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(6): 363-374.
- [6] Jiang Y Z, Rubin L, Peng T M, *et al*. Cytokine storm in COVID-19: From viral infection to immune responses, diagnosis and therapy [J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18(2): 459-472.
- [7] Little P, Francis N A, Stuart B, *et al*. Antibiotics for lower respiratory tract infection in children presenting in primary care in England (ARTIC PC): A double-blind, randomised, placebo-controlled trial [J]. *Lancet*, 2021, 398(10309): 1417-1426.
- [8] Dong Q, Qiao H M, Jiang H Y, *et al*. Jin-Zhen oral liquid for pediatric coronavirus disease (COVID-19): A randomly controlled, open-label, and non-inferiority trial at multiple clinical centers [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1094089.
- [9] Fan Q H, Wu C M, Du Y W, *et al*. Comparison of Jinzhen oral liquid and ambroxol hydrochloride and clenbuterol hydrochloride oral solution in the treatment of acute bronchitis in children: A multicenter, non-inferiority, prospective, randomized controlled trial [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2024, 14(12): 5186-5200.
- [10] Sun J H, Sun F, Yan B, *et al*. Data mining and systematic pharmacology to reveal the mechanisms of traditional Chinese medicine in *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia treatment [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 125: 109900.
- [11] Liu L X, Li H B, Zhang J Y, *et al*. Quality markers screening of traditional Chinese medicine prescriptions based on the multi-factor analysis strategy: Jin-Zhen Oral Liquid as a case [J]. *Arab J Chem*, 2024, 17(1): 105433.
- [12] Yu H, Chen J X, Xu X, *et al*. A systematic prediction of multiple drug-target interactions from chemical, genomic, and pharmacological data [J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e37608.
- [13] Xiong Y L, Zhang Z H, Liu S Y, *et al*. Lupeol alleviates autoimmune myocarditis by suppressing macrophage pyroptosis and polarization via PPAR α /LACC1/NF- κ B signaling pathway [J]. *Phytomedicine*, 2024, 123: 155193.
- [14] 张嘉颖, 李海波, 刘苓娴, 等. 基于 UPLC-Q/TOF-MS 的金振口服液在大鼠体内外源物表征 [J]. *中草药*, 2022, 53(10): 2956-2967.
- [15] Liao H F, Ye J, Gao L L, *et al*. The main bioactive compounds of *Scutellaria baicalensis* Georgi. for alleviation of inflammatory cytokines: A comprehensive review [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 133: 110917.
- [16] Owen A R, Farias A, Levins A M, *et al*. Exposure to bacterial PAMPs before RSV infection exacerbates innate inflammation and disease via IL-1 α and TNF- α [J]. *Mucosal Immunol*, 2024, 17(6): 1184-1198.
- [17] 袁斌, 白晓红, 陈华, 等. 小儿病毒性肺炎中医临床诊疗指南 (修订) [J]. *南京中医药大学学报*, 2023, 39(3): 293-300.
- [18] 刘瀚旻, 马融. 儿童肺炎支原体肺炎中西医结合诊治专家共识 (2023 年) [J]. *中国实用儿科杂志*, 2024, 39(3): 161-167.
- [19] 董佳裕, 刘鑫, 苏真真, 等. 金振口服液治疗支气管哮喘的药效作用和分子机制 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(7): 1486-1501.
- [20] Li Y L, Qin S Y, Li Q, *et al*. Jinzhen Oral Liquid alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury through modulating TLR4/MyD88/NF- κ B pathway [J]. *Phytomedicine*, 2023, 114: 154744.
- [21] 樊钦华, 杜雅薇, 谢雁鸣, 等. 金振口服液对支气管炎豚鼠气道炎症和咳嗽的影响 [J]. *吉林中医药*, 2024, 44(6): 704-709.
- [22] Liao Y F, Luo F L, Tang S S, *et al*. Network analysis and experimental pharmacology study explore the protective effects of isoliquiritigenin on 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1014160.
- [23] Yang R C, Liu H, Bai C, *et al*. Chemical composition and pharmacological mechanism of Qingfei Paidu Decoction and ma Xing Shi Gan Decoction against coronavirus disease 2019 (COVID-19): In silico and experimental study [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 157: 104820.
- [24] Wu Q, Wu X X, Wang M, *et al*. Therapeutic mechanism of baicalin in experimental colitis analyzed using network pharmacology and metabolomics [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2023, 17: 1007-1024.
- [25] Cao Z D, Ma N N, Shan M Y, *et al*. Baicalin inhibits FIPV infection *in vitro* by modulating the PI3K-AKT pathway and apoptosis pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(18): 9930.

- [26] Chen Y, Song S S, Wang Y F, *et al.* Potential mechanism of oral baicalin treating psoriasis via suppressing Wnt signaling pathway and inhibiting Th17/IL-17 axis by activating PPAR γ [J]. *Phytother Res*, 2022, 36(10): 3969-3987.
- [27] Zhang F, Mears J R, Shakib L, *et al.* IFN- γ and TNF- α drive a CXCL10⁺ CCL2⁺ macrophage phenotype expanded in severe COVID-19 lungs and inflammatory diseases with tissue inflammation [J]. *Genome Med*, 2021, 13(1): 64.
- [28] Leisching G, Cole V, Ali A T, *et al.* OAS1, OAS2 and OAS3 restrict intracellular M. tb replication and enhance cytokine secretion [J]. *Int J Infect Dis*, 2019, 80S: S77-S84.
- [29] Singh S, Anshita D, Ravichandiran V. MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 101(Pt B): 107598.
- [30] Zinter M S, Delucchi K L, Kong M Y, *et al.* Early plasma matrix metalloproteinase profiles. A novel pathway in pediatric acute respiratory distress syndrome [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 199(2): 181-189.
- [31] Ni Q Q, Gao Y X, Yang X Z, *et al.* Analysis of the network pharmacology and the structure-activity relationship of glycyrrhizic acid and glycyrrhetic acid [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1001018.
- [32] 赵荣华, 孙静, 包蕾, 等. 金振口服液对人冠状病毒肺炎热毒疫幼龄小鼠模型的干预机制 [J]. *中国药物警戒*, 2023, 20(3): 248-252.
- [33] 白洁, 张新庄, 刘忞璇, 等. 金振口服液抑制小鼠流感病毒性肺炎的药效及机制研究 [J]. *现代药物与临床*, 2023, 38(3): 499-504.
- [34] 张敬升, 高双荣, 庞博, 等. 金振口服液对流感病毒 H1N1/FM1 株和副流感病毒感染致小鼠肺炎的药理作用 [J]. *中国药物警戒*, 2023, 20(1): 46-51.

[责任编辑 李亚楠]