

基于数据挖掘及网络药理学探讨中医药抗呼吸道合胞病毒的用药规律及作用机制

孙铁锋¹,董丽敏²,焦子麒¹,王平^{1,3*}

(1. 山东省中医药研究院,山东 济南 250014;2. 山东中医药大学,山东 济南 250355;
3. 天津大学 精密测试技术及仪器国家重点实验室,天津 300072)

摘要:采用数据挖掘及网络药理学方法分析中药抗呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)用药规律,并探讨核心中药可能的作用机制。利用中国知网数据库收集治疗RSV的含中药复方,应用SPSS Statistics 26.0软件对纳入标准的中药进行频次、性味归经、四气五味及其功效分类统计,并对频数大于5的中药进行系统聚类分析。使用中药系统药理学数据库分析平台进行成分、靶点筛选,将其靶点与在GeneCards及OMIM数据库筛选得到的RSV疾病靶点进行匹配,获取高频中药抗RSV的关键靶点;采用STRING、DAVID数据库对关键靶点进行蛋白质-蛋白质相互作用网络分析及京都基因与基因组百科全书通路富集分析;最后通过Cytoscape 3.7.1软件构建中药-活性成分-关键靶点-通路网络,并进行拓扑分析。共获得符合标准的中药复方91个,涉及121味中药;其中以清热药、化痰止咳平喘药多见,以归肺、肝经居多,以寒温平、苦辛甘为主;麻黄、黄芩、甘草、苦杏仁累计频次最高且聚为一类。获得麻黄、黄芩、甘草、苦杏仁活性成分共126个;抗RSV关键靶点110个,核心靶点包括GSR、TP53、SOD1等;涉及通路主要包括癌症通路、流体剪切力与动脉粥样硬化途径、AGE-RAGE信号通路、血脂和动脉粥样硬化血脂等。

关键词:中药复方;呼吸道合胞病毒;用药规律;作用机制;数据挖掘;网络药理学

中图分类号:R285 文献标志码:A 文章编号:1002-4026(2023)03-0001-09

开放科学(资源服务)标志码(OSID):



Exploration of the dosing pattern and anti-respiratory syncytial virus mechanism of traditional Chinese medicine based on data mining and network pharmacology

SUN Tiefeng¹, DONG Limin², JIAO Ziqi¹, WANG Ping^{1,3*}

(1. Shandong Academic of Chinese Medicine, Jinan 250014, China; 2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 3. State Key Laboratory of Precision Testing Technology and Instruments, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

收稿日期:2022-08-15

基金项目:山东省中医药科技项目(2020Q023);山东省自然科学基金(ZR2020MH386);国家重点研发计划政府间国际科技创新合作项目(2019YFE0117800);中央引导地方科技发展专项基金(YDZX2021117);山东省重点研发计划(科技示范工程)(2021SFGC1205);山东省重大科技创新工程项目(2018CXGC1310)

作者简介:孙铁锋(1989—),男,博士研究生,助理研究员,研究方向为中药药理。E-mail:suntiefenglove@163.com

*通信作者,王平(1974—),女,硕士生导师,研究方向为中药药理。E-mail:wangpingjinan@163.com

Abstract : The study aims to analyze the anti-respiratory syncytial virus (RSV) dosing pattern of traditional Chinese medicine (TCM) using data mining and network pharmacology, and to explore the possible mechanisms of core TCM. The CNKI database was searched to retrieve TCM prescriptions for treating RSV studies. SPSS Statistics 26.0 was used to classify and explore the qualified TCMs on their frequency, nature, taste, four qi and five flavors and their efficacy. Systematic cluster analysis was performed on the TCMs with a frequency greater than five. The compounds and targets were screened using the traditional Chinese medicine systematic pharmacology analysis platform. The above targets were then matched with the RSV disease targets obtained from GeneCards/OMIM database to obtain the key targets of high frequency anti-RSV TCM. Protein-protein interaction network analysis of the key targets was performed using the STRING platform, DAVID database, and the Kyoto encyclopedia of genes and genomes enrichment analysis. Finally, the Chinese herbal medicine-active ingredient-key target-pathway network was constructed using Cytoscape 3.7.1 software and topology analysis was performed. Ninety-one TCM compound prescriptions were identified which involves 121 TCMs that met the criteria. Among them, heat-clearing drugs, phlegm-relieving, cough-suppressing, and asthma-suppressing drugs were mostly found, with the majority attributed to the lung and liver meridians, mainly cold, warm, flat, bitter, pungent, and sweet. Ephedrae Herba, Scutellariae Radix, licorice, and Amygdalus Communis Vas had the highest cumulative frequency and were clustered into one category. A total of 126 active ingredients of Ephedra Herba, Scutellariae Radix, Glycyrrhizae Radix Et Rhizoma, and Armeniacae Semen Amarum were obtained. A total of 110 anti-RSV key targets were obtained, the core targets include GSR, TP53, SOD1, etc., cancer pathway, fluid shear and atherosclerosis pathway, AGE-RAGE signaling pathway, blood lipids and atherosclerotic lipids, etc.

Key words : traditional Chinese medicine compounding; respiratory syncytial virus; dosing pattern; mechanism of action; data mining; network pharmacology

呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)为单股负链RNA病毒,隶属副黏液病毒科、肺病毒属,是诱发婴幼儿下呼吸道疾病最主要的病原体,同时还是致使老年人群和某些免疫抑制人群发病及死亡的重要原因。2022年《柳叶刀》研究表明,每年约有3300万RSV患者相关急性下呼吸道感染发作,360万患者因RSV相关急性下呼吸道感染住院,2.63万例RSV相关急性下呼吸道感染者住院死亡^[1]。目前尚缺乏安全性能高、特异性强的针对机体RSV感染后的临床治疗措施。因此,探索发现高效抗RSV的药品,对防控RSV感染意义重大。西医治疗RSV感染以对症和支持治疗为主,治疗效果并不理想,且临床用于预防或治疗RSV感染的药物甚少。传统中药作为新药开发的重要资源,在体内外医治病毒感染性疾病方面表现出了独特优势。

中医应用清热类中药抗病毒历史悠久,临床上有大量的经方和验方,具有清里热、泻火、凉血、解毒功效,如定喘汤^[2]、双黄连^[3]、清肺口服液^[4]等能够对RSV进行治疗,组分含有金银花、连翘、栀子、黄芩等,可以缓解病毒感染的并发症,缩短病程,抑制机体过度炎症反应、调节免疫平衡、保护相关性脏器。因此,从清热类中药特别是入肺经的中药中开发治疗RSV的新药,具有深厚的历史渊源和良好的前景,成功几率大。本文运用中国知网数据库构建“方药”-RSV关联网络,筛选既能入肺经,又对RSV有杀伤力的清热类中药药物群,为深入挖掘中医药精华、创新中医药应用做出贡献。

1 资料与方法

1.1 数据来源

通过中国知网(<https://www.cnki.net>)将“呼吸道合胞病毒”和“中医药”或“RSV”和“中医药”作为主题词,检索有关中医药治疗RSV的相关文献,检索时间为1990-01-01—2021-12-21。

1.2 处方纳入与排除标准

纳入中医药治疗RSV的临床文献,且组方完整;排除综述及理论探讨非临床的或组方不完整的文献。

1.3 数据处理与分析

共筛选得到176篇文献,将文献中91个组方中涉及的中药及其性味归经等,参照2020年版《中国药

典》^[5]规范化处理,如将“生薏苡仁”规范为“薏苡仁,”将“生石膏”规范为“石膏”等,并将处理过的数据录入 Microsoft Excel 2020 软件中,运用可视化软件进行数据呈现。

1.4 数据库与分析软件

中药系统药理学数据库与分析平台 (traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform,TCMSP) (<https://old.tcm-sp-e.com/tcm-sp.php>) 是一个用于中药的系统级药理学数据库,收录了《中国药典》499 种中草药的化学成分、ADME 参数等信息;京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG) (<https://www.kegg.jp/>);STRING 数据库 (<https://string-db.org/>); GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>); UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>); DAVID 数据库 (<https://david.ncicrf.gov/>); Cytoscape 3.7.1 软件 (<https://cytoscape.org/>); RCSB PDB (<https://www.Rcsb.org/>); PyMol 2.3.0 (<https://pymol.org/>); AutoDock Tools 1.5.6 (<http://mgltools.scripps.edu/>); Vina (<http://vina.Scripps.edu/>); Python 3.7 (<https://www.python.org/>)。

2 结果

2.1 频次统计

共获得 91 个处方,121 味中药,累计频次 303。其中频次 ≥ 5 的中药共有 15 味,见表 1。排名靠前的中药包括麻黄、黄芩、甘草和苦杏仁。

表 1 91 个中药处方中频次 ≥ 5 的 15 味中药

Table 1 Fifteen traditional Chinese medicines (TCM) with frequency ≥ 5 in 91 TCM prescriptions

中药	频次	频率	中药	频次	频率	中药	频次	频率
麻黄	19	15.7%	金银花	10	8.3%	连翘	6	5.0%
黄芩	18	14.9%	桑白皮	9	7.4%	陈皮	5	4.1%
甘草	17	14.1%	板蓝根	7	5.8%	地龙	5	4.1%
苦杏仁	17	14.1%	半夏	7	5.8%	僵蚕	5	4.1%
石膏	11	9.1%	葶苈子	7	5.8%	紫苏子	5	4.1%

2.2 功效、归经及四气五味统计

对 121 味中药进行功效、归经、四气五味分类统计。功效排名靠前的为清热药 (38 次,31.4%)、化痰止咳平喘药 (22 次,18.2%)、解表药 (15 次,12.4%),见图 1(a);归经排序靠前的为肺 (80 次,26.9%)、肝 (43 次,14.5%)、胃 (42 次,14.1%) 的占比较大,见图 1(b);四气排序靠前的为寒 (55 次,45.5%)、温 (36 次,29.8%)、平 (14 次,11.6%),见图 1(c);五味排序靠前的为苦 (70 次,37.8%)、辛 (57 次,30.8%)、甘 (37 次,20%),见图 1(d)。

2.3 聚类分析

运用 SPSS Statistics 26.0 软件对 15 味高频中药 (频次 ≥ 5 次) 进行聚类分析,采用沃德联接的聚类方法,横坐标数字是各类别的相对距离,是按距离比例重新设定的结果;纵坐标表示被聚类的所有中药种类。通过树形图观察到 15 味中药,当分为 3 类时,甘草、苦杏仁、麻黄、黄芩被归为一类,金银花、桑白皮、石膏被分为一类,剩下的药物为一类。麻黄、黄芩、甘草、苦杏仁出现频次最高且聚为一类,见图 2。

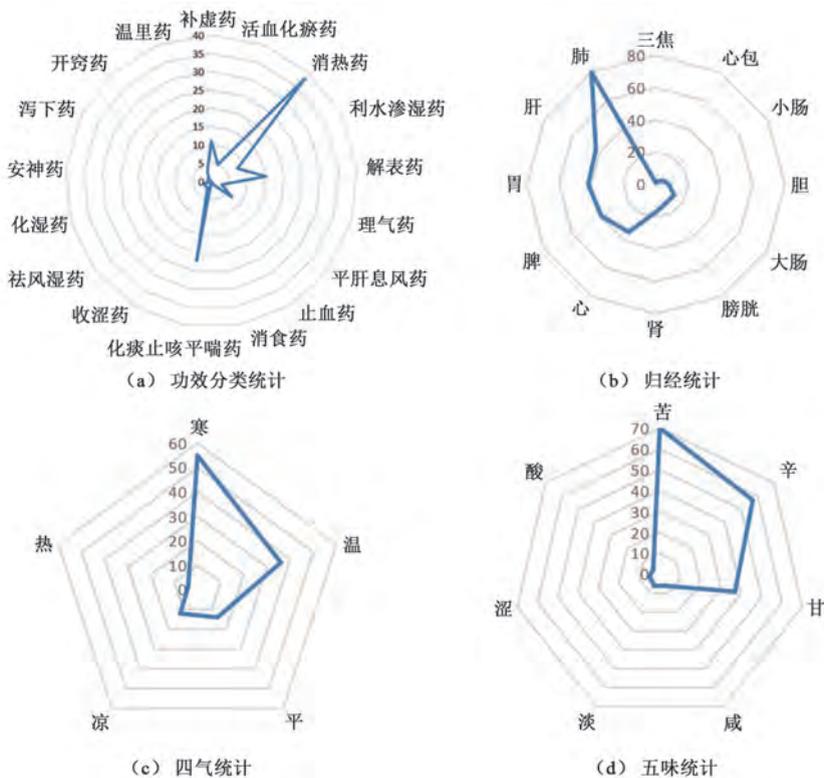


图1 抗RSV复方中的中药功效分类、归经、四气五味统计图

Fig.1 Statistical chart of efficacy classification, meridian tropism, four Qi and five flavors of traditional Chinese medicine in anti-RSV compound prescription

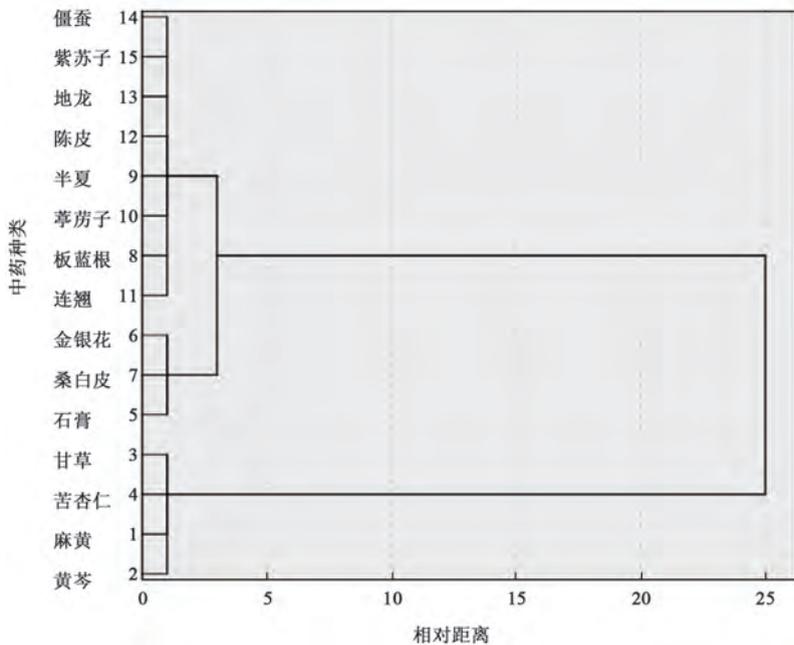


图2 中药复方中高频中药系统聚类分析

Fig.2 Cluster analysis of high frequency TCM in TCM compound prescription

2.4 高频中药麻黄、黄芩、苦杏仁、甘草抗RSV的作用机制分析

2.4.1 成分及靶点筛选

在TCMSP数据库中,以生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$,类药性(drug-likeness, DL) ≥ 0.05 ^[6]为筛选条件得麻黄活性成分6个、黄芩活性成分24个、苦杏仁活性成分8个、甘草活性成分92个,删除重复

项后共计 126 个活性成分,406 个靶点。

2.4.2 疾病关键靶点的筛选

在 GeneCards、OMIM 数据库中查寻得到 RSV 相关的疾病靶点 780 个,与麻黄、黄芩、苦杏仁、甘草的 406 个活性成分靶点匹配映射,得到共同靶点 110 个,即为麻黄、黄芩、苦杏仁、甘草抗 RSV 的关键靶点。

2.4.3 中药-活性成分-关键靶点网络分析

将中药、活性成分、关键靶点导入 Cytoscape 3.7.1 软件,构建中药-活性成分-关键靶点网络,见 OSID 科学数据与内容附图 1。网络中有 285 个节点(4 味中药,153 个关键靶点,126 个活性成分),536 条边。节点度值越大即表明活性成分在抗 RSV 过程中发挥的作用越大,该网络的平均度值为 4.25,大于平均度值的主要核心成分见表 2,全表见 OSID 科学数据与内容附表 1。其中槲皮素、山柰酚、 β -谷甾醇、汉黄芩素、山姜素、鞣黄芩素 I、柚皮素、草质素甘、雌酮、豆甾醇、天竺素、黄芩素、去甲汉黄芩素、千层纸素 A、三裂鼠尾草素、谷甾醇等化合物的度值排名靠前,表明这些化合物可能在抗 RSV 中发挥关键作用。

表 2 麻黄、黄芩、苦杏仁、甘草抗 RSV 主要活性成分信息表

Table 2 Information table of main anti-RSV active ingredients of Ephedrae Herba, Scutellariae Radix, licorice, and Amygdalus Communis Vas

编号	化学成分	中文名称	OB/%	DL	度值	来源
MOL000098	quercetin	槲皮素	46.43	0.28	106	麻黄
MOL000422	kaempferol	山柰酚	41.88	0.24	68	麻黄
MOL000358	beta-sitosterol	β -谷甾醇	36.91	0.75	58	黄芩
MOL000173	wogonin	汉黄芩素	30.68	0.23	33	黄芩
MOL000228	(2R)-7-hydroxy-5-methoxy-2-phenylchroman-4-one	山姜素	55.23	0.20	29	黄芩
MOL000552	5,2'-Dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone	鞣黄芩素 I	31.71	0.35	24	黄芩
MOL004328	naringenin	柚皮素	59.29	0.21	15	甘草
MOL002823	herbacetin	草质素甘	36.07	0.27	14	麻黄

注:仅列出大于平均度值(4.25)的有关成分。

2.4.4 关键靶点蛋白质-蛋白质相互作用网络分析

将麻黄、黄芩、苦杏仁、甘草抗 RSV 的 110 个关键靶点输入 STRING 数据库,并使用 Cytoscape 3.7.1 软件,设置节点大小及颜色,得到蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络(取度值>20.66),见 OSID 科学数据与内容附图 2。度值越大说明靶点在 PPI 网络中的位置越重要,得到麻黄、黄芩、苦杏仁、甘草抗 RSV 的核心靶点包括 GSR、TP53、SOD1、EGFR、CYP3A4、GSTP1、TNF、IL-1 β 、GSK3B、PTGS2 等,具体见表 3。

表 3 麻黄、黄芩、苦杏仁、甘草抗 RSV 的核心靶点信息

Table 3 Core target information of Ephedrae Herba, Scutellariae Radix, licorice, and Amygdalus Communis Vas against RSV

靶点	英文名	中文名	度值
GSR	glutathione reductase	谷胱甘肽还原酶	62
TP53	cellular tumor antigen p53	肿瘤蛋白 P53	60
SOD1	gene expression of catalase	过氧化氢酶	57
EGFR	epidermal growth factor receptor	表皮生长因子受体	55
CYP3A4	cytochrome P450 3A4	细胞色素 P450 3A4	53
GSTP1	glutathione S-transferase P1	谷胱甘肽 S-转移酶 P1	52
TNF	tumor necrosis factor	肿瘤坏死因子	51
IL-1 β	interleukin-1 beta	白细胞介素-1 β	50
GSK3B	glycogen synthase kinase-3 beta	糖原合酶激酶-3 β	50
PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2	前列腺素-内过氧化物合酶 2	48

2.4.5 关键靶点 KEGG 通路分析

将 110 个关键靶点基因导入 DAVID 数据库中进行京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路分析。结果显示, 110 个关键靶点基因涉及到 160 条通路, 根据靶点基因数目及 P 值将前 20 条绘制气泡图, 见图 3。图中横轴代表富集因子, 纵轴为通路名称, 气泡大小代表作用于该通路的基因数, 颜色代表 P 值。麻黄、黄芩、苦杏仁、甘草抗 RSV 的主要通路包括癌症通路、流体剪切力与动脉粥样硬化、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、血脂与动脉粥样硬化、IL-17 信号通路、雌激素信号通路、内分泌抵抗、化学致癌作用-受体激活、恰加斯病、弓形体病、肿瘤坏死因子信号通路、人巨细胞病毒感染、百日咳、C 型凝集素受体信号通路、松弛素信号、Th17 细胞分化、乙型肝炎、化学致癌作用-活性氧、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、鞘脂信号通路。

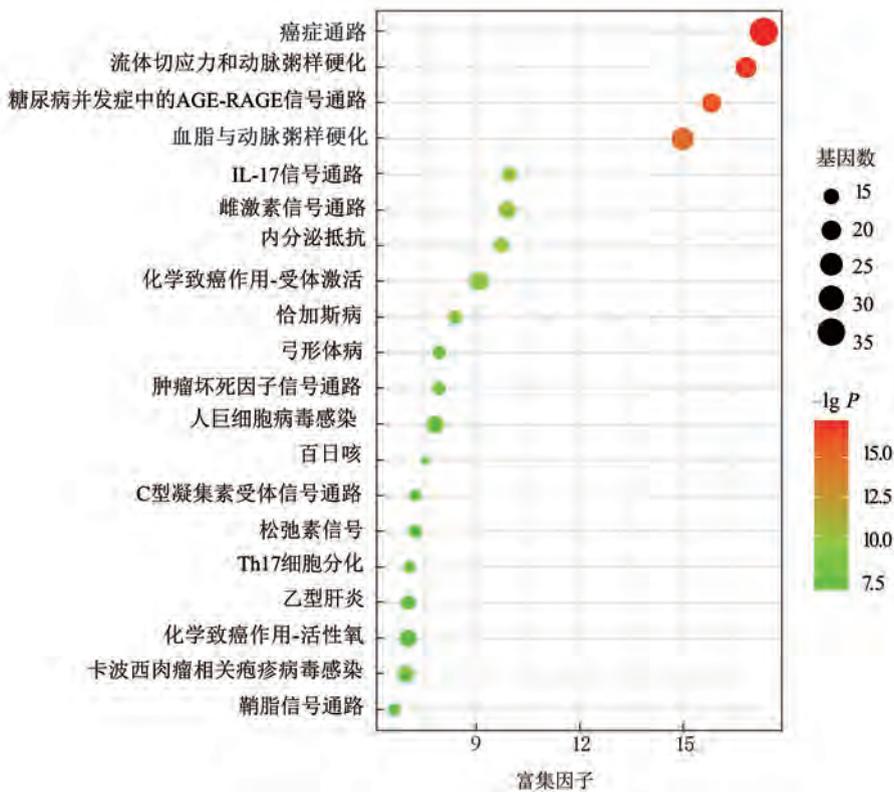


图3 麻黄、黄芩、苦杏仁、甘草抗 RSV 的关键靶点 KEGG 通路分析

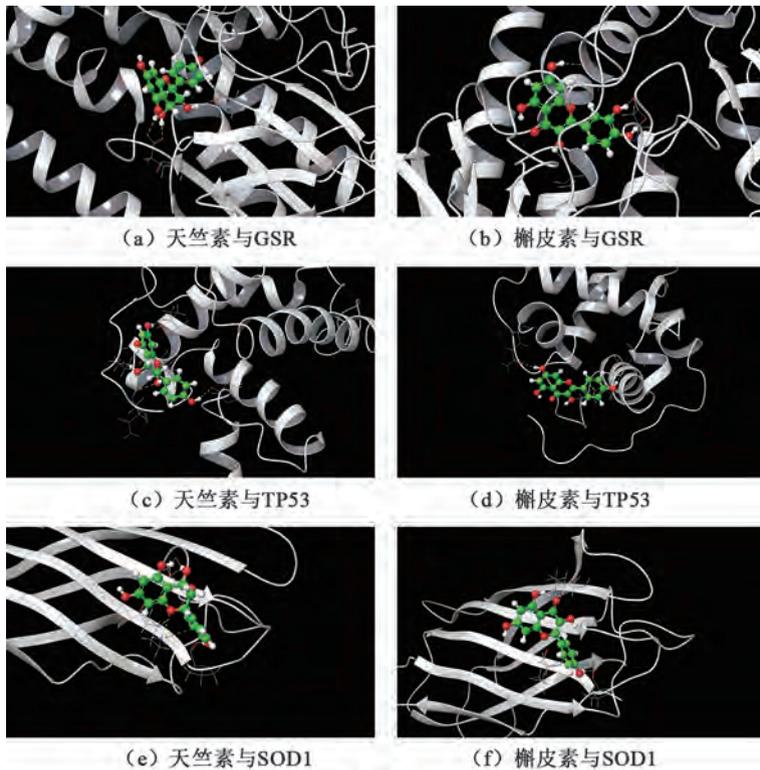
Fig.3 Analysis of KEGG pathway of anti-RSV key targets of Ephedrae Herba, Scutellariae Radix, licorice, and Amygdalus Communis Vas

2.4.6 成分-靶点-通路网络构建

采用 Cytoscape 软件构建成分-靶点-通路网络, 见 OSID 科学数据与内容附图 3。所选择的 KEGG 通路分析结果前 20 条通路, 共涉及 71 个靶点, 其中麻黄、黄芩、苦杏仁、甘草 4 味药共同作用的靶点有 65 个。20 条通路中靶点所对应的中药活性成分有 11 个, 其中来自麻黄、黄芩、苦杏仁、甘草的活性成分各有 2、5、1、3 个。网络中度值靠前的活性成分有槲皮素、山柰酚、 β -谷甾醇、鞣黄芩素 I 等, 度值靠前的靶点有 MAPK3、MAPK1、JUN 等, 度值靠前的通路有癌症通路、血脂和动脉粥样硬化、流体剪切力与动脉粥样硬化途径等。

2.4.7 分子对接

为了进一步验证筛选出的活性成分及核心靶点, 将 2.4.3 项下关键化合物与核心作用靶点及 RSV 结构靶点进行分子对接。从 RCSB PDB 数据库中共获取了 3 个靶点蛋白: GSR (3DK9)、TP53 (2KBF)、SOD1 (5JOF)。以格点打分为参考, 分数绝对值越大, 匹配程度越高。天竺素与 GSR、TP53、SOD1 的格点打分为 -8.924 、 -6.138 和 -6.001 。槲皮素与 GSR、TP53、SOD1 的格点打分为 -7.745 、 -5.323 和 -4.156 , 全图见 OSID 科学数据与内容附图 4。分子对接结果 (图 4) 说明清热类药物天竺素和槲皮素可能通过 GSR、TP53、SOD1 靶点发挥抗 RSV 作用。



注:3D 关系中,蓝色实线代表氢键相互作用,灰色虚线代表疏水相互作用,黄色虚线代表盐桥,绿色虚线代表 π - π 垂直堆叠。

图4 关键成分靶点分子对接模式图

Fig.4 Molecular docking pattern diagram of key component target

3 讨论

RSV 是一种有胞膜、非节段的单股负链 RNA 病毒,也是引起儿童哮喘、急性支气管炎、间质性肺炎等呼吸道疾病的主要病原体^[7]。在辨证论治理论指导下的中药复方对 RSV 的临床疗效确切。为了更好地总结并传承众医家学术思想与用药经验,本研究借助数据挖掘并参考《网络药理学评价方法指南》^[8],对中药复方抗 RSV 进行整理,旨在阐明中药治疗 RSV 的一般规律及高频中药的作用机制,以利于提高中医药治疗 RSV 的临床疗效。

将符合纳入标准的 91 个复方所含中药进行功效、归经、四气五味的分析统计,结果表明抗 RSV 的中药以清热药为主,化痰止咳平喘药次之。根据 RSV 感染性疾病的临床表现,中医认为与“外感表热”症状的相关,与“风寒感冒”症状相似,均由中气不足及外感风邪、正虚邪实,同时肺气雍遏所致,治宜宣肺平喘、泄热、化痰、清瘟解毒^[9]。归经分析提示,抗 RSV 的中药主要归肺经,RSV 的病变脏腑主要在肺,其次病位在表卫。《温病经绅》指出“温邪上受,首先犯肺”。温邪入侵,正邪相抗,故发热;继而,邪热壅肺,清肃失司,热则伤津,故咳嗽,喘促气急口渴。抗 RSV 的中药以寒温平、苦辛甘为多,寒性味苦中药多具有清热解毒功效。

本研究以中医理论为基础,发现麻黄、黄芩、苦杏仁、甘草通过多个组分、多个靶点、多条通路全方位、整体调控机体来治疗病毒性肺炎,有效抑制病毒性肺炎由轻症向重症转化,快速改善患者疾病症状、控制病情进展、缩短疗程。麻黄中的成分槲皮素^[10]的两个位点与 hRSV 的 M2-1 蛋白相互作用,从而避免病毒复制和萌发;麻黄中的另一个成分山柰酚已被证明是流感病毒的潜在抑制剂^[11]。Ma 等^[12]用细胞病理效应法检测了 44 种中草药对 RSV 的抑制作用,其中黄芩中的苦参碱、氧化苦参碱、苦参素、汉黄素和苦参素 A 皆为有效抗 RSV 活性成分。已有的研究发现 IL-17 通路^[13-15]、TH-17 通路^[16-17]、TNF 通路^[18-19]和 RSV 疾病的发生发展密切相关,CYP3A4^[20]、EGFR^[21-22]、GSK3B^[23]、IL-1 β ^[24-25]、SOD1^[26-27]、PTGS2^[26-27]、TP53^[28]是抗 RSV 的关键靶点。多数清热类中药通过多组分干预 TLR 信号通路的 TLR4、TLR3、TLR2/6、TLR7/8 等、MAPK 信号通路

和核转录因子 NF- κ B 等传导通路,介导炎症反应的产生,从而发挥抗 RSV 感染的作用。分子对接结果显示,天竺素和槲皮素与 GSR、TP53、SOD1 的对接情况最好,可能涉及癌症通路、流体剪切力与动脉粥样硬化途径、AGE-RAGE 信号通路、血脂和动脉粥样硬化等,共同发挥抗 RSV 的作用。

清热类中药在防治 RSV 感染上效果显著,安全性高。但清热类中药抗 RSV 相关研究多处于实验阶段,其中存在若干重要问题,如清热类中药活性成分抗病毒理论支持甚少,供参考的相关实验资料较少,研究思路缺乏创新,多效仿西药模式,缺少中药传统功效、性味归经等性能的融入。我们应深入挖掘中医药抗 RSV 感染的细胞、蛋白分子以及基因水平的药理学关键机制,全面揭示清热类中药抗病毒作用的优势。在进一步明确清热类中药抗病毒作用机制的基础上,研制出高效、低毒的抗病毒药物,是当下中医药研发工作中的重点方向。

参考文献:

- [1] LI Y, WANG X, BLAU D M, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in children younger than 5 years in 2019: A systematic analysis [J]. *The Lancet*, 2022, 399 (10340): 2047-2064. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)00478-0.
- [2] 崔振泽, 黄燕, 刘明涛, 等. 定喘汤对呼吸道合胞病毒感染大鼠肺组织 TSLP、GATA3 表达的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(12): 5581-5583.
- [3] 谢志鸿, 秦铁林. 双黄连雾化吸入治疗呼吸道合胞病毒所致急性下呼吸道感染 [J]. *内蒙古中医药*, 2017, 36(1): 54. DOI: 10.16040/j.cnki.cn15-1101.2017.01.054.
- [4] 邹亚, 郭盛, 景晓平, 等. 清肺口服液通过 ERK1/2 通路调控 RSV 所致呼吸道炎症损伤的机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(2): 86-91. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.2018020086.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2020 年版一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [6] RU J L, LI P, WANG J N, et al. TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *Journal of Cheminformatics*, 2014, 6: 13. DOI: 10.1186/1758-2946-6-13.
- [7] SHANG Z F, TAN S G, MA D L. Respiratory syncytial virus: From pathogenesis to potential therapeutic strategies [J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2021, 17(14): 4073-4091. DOI: 10.7150/ijbs.64762.
- [8] 世界中医药学会联合会. 网络药理学评价方法指南 [J]. *世界中医药*, 2021, 16(4): 527-532. DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2021.04.001.
- [9] 田景振, 杨振宇. 中医药抗病毒研究思路、理论创新与基本路径 [J]. *山东中医杂志*, 2018, 37(6): 439-444. DOI: 10.16295/j.cnki.0257-358x.2018.06.001.
- [10] TEIXEIRA T S P, CARUSO Í P, LOPES B R P, et al. Biophysical characterization of the interaction between M2-1 protein of hRSV and quercetin [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 95: 63-71. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.11.033.
- [11] YANG Z F, BAI L P, HUANG W B, et al. Comparison of in vitro antiviral activity of tea polyphenols against influenza A and B viruses and structure-activity relationship analysis [J]. *Fitoterapia*, 2014, 93: 47-53. DOI: 10.1016/j.fitote.2013.12.011.
- [12] MA S C, DU J, BUT P P H, et al. Antiviral Chinese medicinal herbs against respiratory syncytial virus [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2002, 79(2): 205-211. DOI: 10.1016/S0378-8741(01)00389-0.
- [13] LIU X M, NGUYEN T H, SOKULSKY L, et al. IL-17A is a common and critical driver of impaired lung function and immunopathology induced by influenza virus, rhinovirus and respiratory syncytial virus [J]. *Respirology (Carlton, Vic)*, 2021, 26(11): 1049-1059. DOI: 10.1111/resp.14141.
- [14] HABIBI M S, THWAITES R S, CHANG M P, et al. Neutrophilic inflammation in the respiratory mucosa predisposes to RSV infection [J]. *Science*, 2020, 370(6513): eaba9301. DOI: 10.1126/science.aba9301.
- [15] RUSSELL M S, CRESKEY M, MURALIDHARAN A, et al. Unveiling integrated functional pathways leading to enhanced

- respiratory disease associated with inactivated respiratory syncytial viral vaccine[J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 597. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00597.
- [16] CHRISTIAANSEN A F, SYED M A, TEN EYCK P P, et al. Altered Treg and cytokine responses in RSV-infected infants[J]. *Pediatric Research*, 2016, 80(5): 702-709. DOI: 10.1038/pr.2016.130.
- [17] STOPPELENBURG A J, DE ROOCK S, HENNUS M P, et al. Elevated Th17 response in infants undergoing respiratory viral infection[J]. *The American Journal of Pathology*, 2014, 184(5): 1274-1279. DOI: 10.1016/j.ajpath.2014.01.033.
- [18] OOKA T, RAITA Y, FUJIOGI M, et al. Proteomics endotyping of infants with severe bronchiolitis and risk of childhood asthma[J]. *Allergy*, 2022, 77(11): 3350-3361. DOI: 10.1111/all.15390.
- [19] SANTOS L D, ANTUNES K H, MURARO S P, et al. TNF-mediated alveolar macrophage necroptosis drives disease pathogenesis during respiratory syncytial virus infection[J]. *The European Respiratory Journal*, 2021, 57(6): 2003764. DOI: 10.1183/13993003.03764-2020.
- [20] REMMERIE B, Van DEN BOER M, Van LOOY T, et al. Integrating duodenal sampling in a human mass balance study to quantify the elimination pathways of JNJ-53718678, a respiratory syncytial virus fusion protein inhibitor[J]. *Advances in Therapy*, 2020, 37(1): 578-591. DOI: 10.1007/s12325-019-01162-7.
- [21] ANDERSSON C K, IWASAKI J, COOK J, et al. Impaired airway epithelial cell wound-healing capacity is associated with airwayremodelling following RSV infection in severe preschool wheeze[J]. *Allergy*, 2020, 75(12): 3195-3207. DOI: 10.1111/all.14466.
- [22] DU X Z, YANG Y, YANG M, et al. ITGB4 deficiency induces mucus hypersecretion by upregulating MUC5AC in RSV-infected airway epithelial cells[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2022, 18(1): 349-359. DOI: 10.7150/ijbs.66215.
- [23] ASENJO A, GONZÁLEZ-ARMAS J C, VILLANUEVA N. Phosphorylation of human respiratory syncytial virus P protein at serine 54 regulates viral uncoating[J]. *Virology*, 2008, 380(1): 26-33. DOI: 10.1016/j.virol.2008.06.045.
- [24] DAS S, RAUNDHAL M, CHEN J, et al. Respiratory syncytial virus infection of newborn CX3CR1-deficient mice induces a pathogenic pulmonary innate immune response[J]. *JCI Insight*, 2017, 2(17): e94605. DOI: 10.1172/jci.insight.94605.
- [25] ANTALIS E, SPATHIS A, KOTTARIDI C, et al. Th17 serum cytokines in relation to laboratory-confirmed respiratory viral infection: A pilot study[J]. *Journal of Medical Virology*, 2019, 91(6): 963-971. DOI: 10.1002/jmv.25406.
- [26] HOSAKOTE Y M, KOMARAVELLI N, MAUTEMPS N, et al. Antioxidant mimetics modulate oxidative stress and cellular signaling in airway epithelial cells infected with respiratory syncytial virus[J]. *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2012, 303(11): L991-L1000. DOI: 10.1152/ajplung.00192.2012.
- [27] WANG M M, LU M, ZHANG C L, et al. Oxidative stress modulates the expression of toll like receptor 3 during respiratory syncytial virus infection in human lung epithelial A549 cells[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2018, 18(2): 1867-1877. DOI: 10.3892/mmr.2018.9089.
- [28] ALBARRACIN L, GARCIA-CASTILLO V, MASUMIZU Y, et al. Efficient selection of new immunobiotic strains with antiviral effects in local and distal mucosal sites by using Porcine intestinal epitheliocytes[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 543. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00543.