

金欣口服液对 RSV 感染大鼠 I 型干扰素及 SOCS1/3 表达的影响

张沛, 夏正坤*, 高春林
(南京军区南京总医院, 南京 210002)

[摘要] **目的:** 通过研究金欣口服液对呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)感染大鼠肺组织细胞因子信号抑制因子 1/3(suppressor of cytokine signaling1/3, SOCS1/3)蛋白的干预作用, 探讨其抗 RSV 感染的可能机制。**方法:** SD 大鼠 70 只, 随机分为正常组, 感染模型组, 金欣口服液低、中、高剂量组(3.3, 9.9, 29.7 g·kg⁻¹), 预防组(提前 2 d *ig* 金欣口服液中剂量), 利巴韦林组(24.5 g·kg⁻¹), 每组 10 只, 除正常组外, 滴鼻感染 24 h 造模, 给药组每天给药 2 次, 连续给药 3 d。采用酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测 RSV 感染大鼠体内 I 型干扰素 IFN- α 和 IFN- β 含量, 逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)法检测 RSV 感染大鼠肺组织 SOCS1, SOCS3 mRNA 表达量的变化, 苏木素-伊红(HE)染色观察大鼠肺组织病理学变化。**结果:** 与正常组比较, 模型组 RSV 感染大鼠体内 IFN- α 和 IFN- β 含量明显升高, 大鼠肺组织 SOCS1, SOCS3 mRNA 表达量明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$), 模型组大鼠肺组织病变较为明显; 预防组和金欣口服液中剂量组 IFN- α 的表达量高于模型组($P < 0.05$), 预防组、金欣口服液中剂量组、利巴韦林组 IFN- β 的表达量高于模型组($P < 0.01$), 金欣口服液高剂量组 IFN- β 的表达量高于模型组($P < 0.05$), 金欣口服液中、高剂量组 SOCS1 表达量低于模型组($P < 0.05$), 金欣口服液高剂量组和利巴韦林组 SOCS3 表达量高于模型组($P < 0.05$), 金欣口服液中剂量组 SOCS3 表达量高于模型组($P < 0.01$)。**结论:** 金欣口服液可上调 RSV 感染大鼠体内 I 型干扰素的表达, 并通过抑制 SOCS1/3 的表达, 发挥抗病毒作用, 推测其为金欣口服液抗 RSV 感染的机制之一。

[关键词] 金欣口服液; 呼吸道合胞病毒; I 型干扰素; 细胞因子信号抑制因子 1/3

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)14-0139-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016140139

Effect of Jinxin Oral Liquid on Expression of I-IFN and SOCS1/3 in RSV Infected Rats

ZHANG Pei, XIA Zheng-kun*, GAO Chun-lin

(Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Nanjing 210002, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the intervention effect of Jinxin oral liquid (JOL) on the expression of suppressor of cytokine signaling1/3 (SOCS1/3) protein in lung tissues of respiratory syncytial virus (RSV) infected rats, and the possible mechanism of anti-RSV infection. **Method:** Totally 70 SD rats were randomly divided into the normal group, the infection model group, JOL low, medium and high dose groups (3.3, 9.9, 29.7 g·kg⁻¹), the prevention group (given JOL 2 d in advance, *ig*), the ribavirin group (24.5 g·kg⁻¹), with 10 rats in each group. Except for the normal group, the remaining groups were intranasally infected for 24 h, and treatment groups were give drugs for consecutively three days. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was adopted to detect contents of type I-interferons IFN- α and IFN- β in RSV infected rats *in vivo*. The reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to detect the changes in SOCS1 and SOCS3 mRNA expressions in lung tissues of RSV infected rats. The hematoxylin eosin (HE) staining was applied to observe pathological changes in rat lung tissues. **Result:** Compared with the normal group, the model group showed significant increases in IFN- α and IFN- β contents in RSV infected rats, and SOCS1 and SOCS3 mRNA expressions in

[收稿日期] 20150825(006)

[基金项目] 国家级重点学科南京中医药大学儿科开放课题(EZK2012022); 南京军区南京总医院自然科学基金项目(2012011)

[第一作者] 张沛, 博士, 从事儿童肺系疾病和肾脏病研究, Tel: 025-80863052, E-mail: zhang.pei.2008@hotmail.com

[通讯作者] * 夏正坤, 博士, 主任医师, 博士生导师, 从事儿童肾脏病研究, Tel: 025-80863052, E-mail: njxzk@126.com

lung tissues of RSV infected rats ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and the model group showed more obvious pathological changes in rats lung tissues. The IFN- α expressions of prevention group and JOL middle dose group were higher than model group ($P < 0.05$), the IFN- β expressions of prevention group, JOL middle dose group and ribavirin group were higher than model group ($P < 0.01$); The IFN- β expression of JOL high dose group was higher than model group ($P < 0.05$), the SOCS1 expressions of JOL middle dose group and JOL high dose group were lower than model group ($P < 0.05$), the SOCS3 expressions of JOL middle dose group and ribavirin group were lower than model group ($P < 0.05$) and the SOCS3 expression of JOL middle dose group was lower than model group ($P < 0.01$). **Conclusion:** JOL can up-regulate the expression of I-IFN in RSV infected rats and down-regulate the expression of SOCS1/3, thus inhibiting virus infection. The SOCS1/3 may be one of JOL's mechanisms in anti-RSV infection.

[**Key words**] Jinxin oral liquid; respiratory syncytial virus; I-interferons; suppressor of cytokine signaling1/3

呼吸道合胞病毒 (respiratory syncytial virus, RSV) 是 1956 年首次从灵长类动物大猩猩体内首次分离出的^[1], 至今 RSV 是世界范围内引起婴幼儿、儿童、老年人及免疫缺陷人群严重下呼吸道感染的主要病原体^[2], 最新的 meta 分析研究表明, RSV 每年造成 5 岁以下儿童 3 380 万人次的下呼吸道感染, 占有下呼吸道感染病毒的 22%^[3]。RSV 感染可诱发中耳炎和耳聋^[4], 也是诱发儿童哮喘的危险因素^[5]。

干扰素 (IFN) 在宿主天然抗病毒反应中发挥重要作用。Janus Kinases (JAKs)/信号转导和转录激活因子 (STAT) 信号通路是 IFN 功能激活的重要的细胞因子信号通路, I 型 IFN (I-IFN) 与受体 (IFNAR) 结合, 激活酪氨酸激酶 Jak-1 和 Tyk-2, STAT1 和 STAT2 在 Jak-1 和 Tyk-2 的催化作用下, STAT 发生磷酸化, Jak-1 和 Jak-2 刺激磷酸化的 STAT 形成二聚体, 并转移至细胞核内, 从而激活抗病毒启动子, 介导 IFN 的免疫调节和抗病毒作用^[6]。而细胞因子信号抑制因子 1 (SOCS1) 可与 JAK1, JAK2 和 JAK3 结合而抑制其活性, SOCS3 与特异性细胞因子受体结合后, 通过 JAK/STAT 信号转导抑制细胞因子介导的 JAK/STAT 信号通路。许多病毒通过上调 SOCS 蛋白表达抑制 IFN 途径的抗病毒反应来逃逸宿主免疫监视, RSV 也不例外^[7], 因此 SOCS 蛋白是 IFN 抗 RSV 感染的关键因子。

金欣口服液处方是汪受传教授多年临床经验方剂, 前期药效学研究已证明其具有抗病毒、调节免疫、解热、止咳、化痰及体外抑菌等作用, 对呼吸道合胞病毒肺炎有很好的疗效。研究人员前期对金欣口服液的抗病毒机制进行了深入的研究^[8-10]。前期研究表明, 金欣口服液可提高 RSV 感染宿主体内 I 型

IFN 水平来发挥抗病毒作用^[10], 而且金欣口服液可通过上调磷酸化的 STAT 来调控 JAK/STAT 信号通路, 介导 IFN 的抗病毒作用, 但其对 SOCS 的调控作用尚不清楚。本文将进一步阐明金欣口服液可能通过调控 SOCS1/3 的表达, 影响 JAK/STAT 介导的抗病毒效应。

1 材料

1.1 动物及病毒 SD 大鼠 70 只, 雌雄各半, 周龄 4~6 周, 体重 80~100 g, 清洁级, 由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供, 动物合格证号 SCXK (沪) 2007-0005。呼吸道合胞病毒 (RSV), 由广州博特生物科技开发有限公司提供。

1.2 药物及试剂 金欣口服液 ($5.4 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 由南京中医药大学儿科研究所提供), 新博林颗粒 (利巴韦林颗粒, 批号 h19993529, 实验中用维持液稀释), TRIzol (美国 Invitrogen 公司, 批号 15596-026), cDNA 第一链合成试剂盒 (KeyGen 公司, 批号 KGA1313), 实时荧光定量-聚合酶链式反应 (qPCR) Master Mix (SYBR Green) (日本 TOYOBO 公司, 批号 QPK201)。

1.3 仪器 EXL800 型酶标仪 (美国 BioTek 公司), MultiGene Gradient 型 PCR 循环仪 (日本岛津公司), DA7600 型荧光定量 PCR 循环仪 (中山达安公司), Centrifuge 5810R 型低温高速离心机, 5333 型梯度 PCR 仪及 BioSpectrometer 型生物分光光度计 (德国 Eppendorf 公司), Lightcycler 型实时荧光定量 PCR (qPCR) 仪 (德国 Roche 公司)。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药 SD 大鼠 70 只, 随机分为正常组、感染模型组、金欣口服液低、中、高剂量组、预防组、利巴韦林组, 每组 10 只。适应性喂养 2 d 后, 用乙醚浅麻醉, 麻醉方法为用锥形瓶, 装入乙

醚,然后将瓶口放置在大鼠的鼻子旁,使其完全呼吸瓶内含有高浓度乙醚的空气(如果乙醚浓度不够,可以晃动瓶子,促使乙醚蒸发),当抓大鼠的手感觉到大鼠肌肉松弛的时候,麻醉程度为最适。预防组大鼠在病毒滴鼻感染提前 2 d *ig* 金欣口服液中剂量,2 次/天,连续给药 3 d。金欣口服液低、中、高剂量组、利巴韦林组、感染模型组。大鼠在首次滴鼻感染 24 h 后:金欣口服液组开始 *ig* 给药(低、中、高剂量生药质量浓度分别为 0.33,0.99,2.97 g·mL⁻¹),每次 10 mL·kg⁻¹,2 次/天,连续给药 3 d;利巴韦林组每只大鼠利巴韦林颗粒剂 0.1 g/10 g *ig*(利巴韦林药物质量浓度为 2.45 g·mL⁻¹),2 次/天,连续给药 3 d;正常组和模型组 *ig* 生理盐水 10 mL·kg⁻¹,2 次/天,连续 *ig* 3 d。

2.2 大鼠肺组织病理采集 实验结束剖取大鼠肺全叶,经 4% 多聚甲醛溶液固定,常规取材,脱水,石蜡包埋,制片,苏木素-伊红(HE)染色,由病理专业人员在光学显微镜下 100 倍阅片,观察①肺泡壁有无充血、水肿、炎细胞浸润,肺泡腔内有无水肿液,炎细胞等渗出物;②肺内支气管上皮细胞有无变性、坏死,管腔内有无渗出物等病变;③其他病变,如气肿,支气管周围有无炎细胞浸润等。根据病变由轻到重的程度标记为 0 分(基本正常),0.5 分(轻微),1 分(轻度),2 分(中度),3 分(重度),累加所有分数。

2.3 大鼠血液标本采集 各组大鼠 *ig* 结束后,鼠禁食 24 h,不禁水,24 h 后各组大鼠乙醚浅麻醉,采用眼眶静脉取血法,取血 2~3 mL 不等,2 000 r·min⁻¹离心 15 min,取上清,200 mL 离心管分装,-20 ℃ 保存。

2.4 标本制备 取肺组织块(0.2~1 g)最少可取 2~5 mg 在冰冷的生理盐水中漂洗,除去血液,滤纸拭干,称重,放入小烧杯中。用移液管量取预冷的匀浆介质或用冷的生理盐水,体积约为组织块质量的 9 倍,取总量 2/3 于烧杯中,用眼科剪尽快剪碎组织块。将剪碎的组织倒入玻璃匀浆管中,再将剩余 1/3 匀浆介质或生理盐水冲洗残留在烧杯中的碎组织块,一起倒入匀浆管中匀浆,将捣杆上下转动研磨 10 次(6~8 min),充分研碎,使组织匀浆化。将制备好的 10% 匀浆用低温离心机 3 000 r·min⁻¹离心,10~15 min,取上清液。

2.5 检测指标及方法

2.5.1 酶联免疫吸附测定(ELISA)法测各组实验动物体内 I 型 IFN 的表达 按试剂盒说明书进行检

测,IFN- α 和 IFN- β 的检测试剂盒分别设空白孔、标准孔、待测样品孔。除空白孔外,余孔分别加标准溶液或待测样品 100 μ L,轻轻混匀,37 ℃,120 min。弃去液体,甩干,不用洗涤。每孔加检测溶液 A 工作液 100 μ L,37 ℃,60 min。洗板 3 次,350 μ L/每孔,甩干。每孔加检测溶液 B 工作液 100 μ L,37 ℃,60 min,洗板 5 次,甩干。依序每孔加底物溶液 90 μ L,37 ℃避光显色 30 min。依序每孔加终止溶液 50 μ L,终止反应。用酶标仪在 450 nm 波长依序测量各孔的吸光度 A。用标准物的浓度与 A 计算出标准曲线的直线回归方程式,将样品的 A 代入方程式,计算出样品浓度,再乘以稀释倍数,即为样品的实际浓度。

2.5.2 qPCR 检测大鼠肺组织内 SOCS1 和 SOCS3 的 mRNA 含量表达 引物设计(由上海生工生物合成),引物序列见表 1。使用 Trizol 试剂抽提各组的总 RNA,紫外分光光度计测总 RNA 的纯度及含量。qPCR 扩增的条件及参数为 95 ℃ 预变性 5 min;95 ℃ 变性 15 s;60 ℃ 退火,20 s;72 ℃ 延伸 400 s;共 40 个循环;末端延伸 45 ℃ \rightarrow 95 ℃,每 1 s 升温 0.1 ℃。

表 1 SOCS 1/3 引物序列

Table 1 Primer sequence of SOCS 1/3

基因名称	引物序列 5'→3'	片段长度/bp
SOCS1	上游 CACGCACTTCCGCACATTCC	300
	下游 TCCAGCAGCTCGAAGAGGCA	
SOCS3	上游 CTCGCCACCTACTGAACCCTC	265
	下游 AAGCGGGCATCCTACTGGT	
GAPDH	上游 GATGCTGCTGCTGAGTATGRCC	200
	下游 GTGGTGCAGGATGCATTGCTCTGA	

2.6 统计学分析 采用 SPSS 15.0 统计软件进行分析,计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间两两比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 RSV 肺炎大鼠肺组织病理学的影响 正常组肺组织正常,肺泡结构清晰肺泡腔内无渗出物;RSV 感染模型组病变肺组织可见,肺泡壁充血性增厚,有单核巨噬细胞及少量中性粒细胞和嗜酸性粒细胞浸润,呈间质性肺炎表现,部分肺泡腔增大,肺泡壁变薄,呈气肿状,细支气管壁的淋巴细胞少量浸润;金欣口服液中、高剂量组大鼠肺组织病变较模型组缓解($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2,图 1。

表 2 金欣口服液对 RSV 肺炎大鼠肺组织损伤评分的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

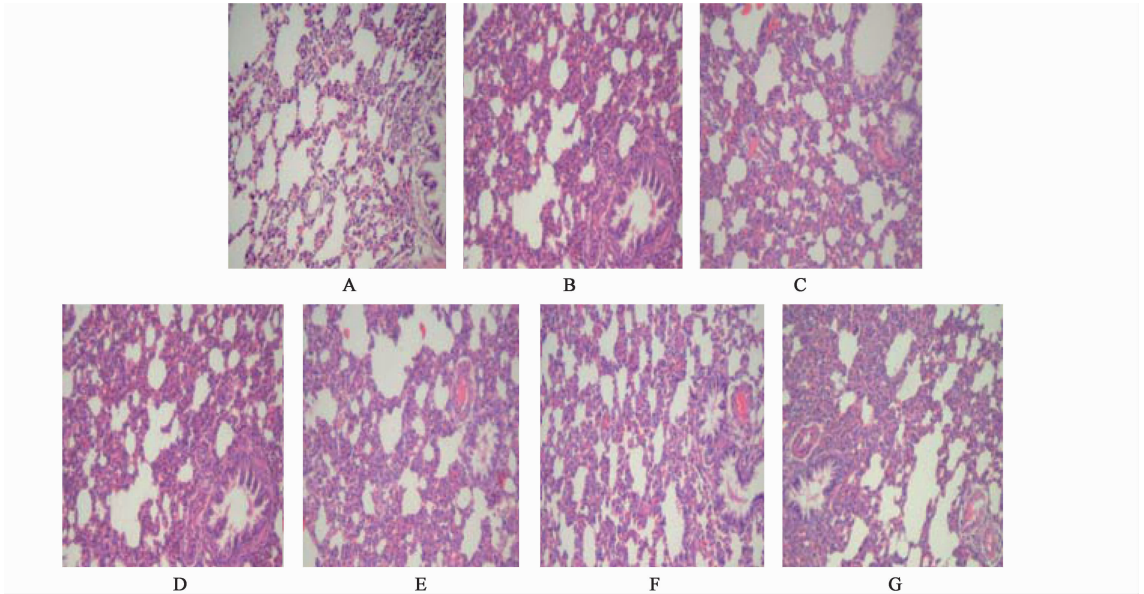
Table 2 Effects of Jinxin oral liqiud on lung tissue injury score in RSV pneumonia rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	动物综合评分/分
正常	-	0.29 \pm 1.60 ¹⁾
模型	-	2.86 \pm 1.89
金欣口服液	3.3	2.65 \pm 1.29
	9.9	4.80 \pm 1.32 ²⁾
	29.7	3.64 \pm 1.85 ¹⁾
预防	9.9	2.60 \pm 0.70
利巴韦林	24.5	2.80 \pm 1.03

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 3,4 同)。

3.2 对 RSV 肺炎大鼠体内 I 型干扰素表达的影响 与正常组比较,模型组 IFN- α , IFN- β 的表达明显升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$);预防组和金欣口服液中剂量组与模型组比较,IFN- α 的表达明显升高 ($P < 0.05$);预防组、金欣口服液中剂量组、利巴韦林组与模型比较,IFN- β 的表达明显升高 ($P < 0.01$);金欣口服液高剂量组与模型组比较,IFN- β 的表达明显升高 ($P < 0.05$)。见表 3。

3.3 对 RSV 肺炎大鼠肺组织 SOCS1 和 SOCS3 mRNA 表达的影响 与正常组比较,模型组大鼠肺组织中 SOCS1 和 SOCS3 mRNA 表达明显上升 ($P < 0.01$);与模型组比较,给药后,与金欣口服液中、高剂量大鼠肺组织 SOCS1 和 SOCS3 mRNA 表达下降



A. 正常组;B. RSV 感染模型组;C. 金欣口服液 3.3 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;D. 金欣口服液 9.9 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;E. 金欣口服液 29.7 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;F. 预防组;G. 利巴韦林组

图 1 金欣口服液对 RSV 肺炎大鼠肺组织病理学的影响 (HE, $\times 100$)

Fig.1 Effects of Jinxin oral liqiud on pulmonary pathology in RSV pneumonia rats(HE, $\times 100$)

明显 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),利巴韦林组大鼠肺组织 SOCS3 mRNA 白表达下降明显 ($P < 0.05$),金欣口服液预防组、低剂量组大鼠肺组织 SOCS3 mRNA 表达的无明显差异,金欣口服液预防组利巴韦林组大鼠肺组织 SOCS1 mRNA 表达无明显差异。见表 4。

4 讨论

SOCS 家族是一类通过参与负调控多种细胞因子介导的信号通路,反馈性影响细胞的生长、增殖、凋亡等生物学行为的细胞因子。SOCS 家族中,SOCS1/3 是 JAK/STAT 信号通路中最主要的抑制因子^[11]。SOCS 的 SH2 结构域与 JAK(JAK1-3, TYK2) 催化域的 JH1 区的酪氨酸残基高亲和力结合,抑制

其激酶活性。SOCS1 和 SOCS3 在 N 端具有激酶抑制区 (KIR),其可将 KIR 作为假底物,竞争 JAK 的催化位点,从而抑制 JAK 信号转导通路^[12]。STAT1 和 STAT2 的磷酸化是 JAK-STAT 信号通路活机制的重要环节^[13],SOCS1/3 可减弱干扰素信号转导、减少细胞信号转导因子生成而起到负调节作用。RSV 的非结构化 NS1 蛋白 (NS1) 可通过调节 SOCS1/3 mRNA 的表达,利用负反馈机制调控 JAK/STAT 信号通路的活性,抑制 RSV 感染宿主体内 I-IFN 的表达^[14]。Moore 等^[15] 研究也发现 NS1/NS2 蛋白是 IFN 抵抗的中介因子,其作用是通过上调 SOCS1 的表达来实现的,而 RSV G 蛋白通过调控 SOCS3 的表

表 3 金欣口服液对 RSV 肺炎大鼠体内 IFN- α 和 IFN- β 表达的影响
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of Jinxin oral liquid on IFN- α and IFN- β expression in RSV pneumonia rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	IFN- α	IFN- β
正常	-	26.94 ± 1.91 ¹⁾	190.21 ± 16.98 ²⁾
模型	-	28.78 ± 2.71	211.14 ± 29.37 ²⁾
金欣口服液	3.3	29.58 ± 2.92	193.88 ± 23.94
	9.9	29.76 ± 1.99 ¹⁾	239.97 ± 27.58 ²⁾
	29.7	28.66 ± 1.72	251.23 ± 16.75 ¹⁾
预防	9.9	29.55 ± 1.76 ¹⁾	229.06 ± 31.04 ²⁾
利巴韦林	24.5	28.79 ± 3.52	240.43 ± 33.32 ²⁾

表 4 金欣口服液对 RSV 肺炎大鼠肺组织 SOCS1, SOCS3 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effects of Jinxin oral liquid on SOCS1, SOCS3 mRNA expression of lung tissue in RSV pneumonia rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	SOCS1	SOCS3
正常	-	1.91 ± 0.64 ²⁾	2.22 ± 0.69 ²⁾
模型	-	13.02 ± 0.78	9.62 ± 0.75
金欣口服液	3.3	7.66 ± 0.88 ¹⁾	6.09 ± 1.22
	9.9	4.41 ± 0.46 ¹⁾	3.83 ± 0.79 ²⁾
	29.7	4.19 ± 0.68 ¹⁾	3.19 ± 0.47 ¹⁾
预防	9.9	8.36 ± 2.55	4.95 ± 1.13
利巴韦林	24.5	8.41 ± 1.09	5.25 ± 0.86 ¹⁾

达来调节 IFN 刺激基因 15 (ISG15) 和 IFN- β mRNA 的表达。

金欣口服液是针对小儿病毒性肺炎痰热闭肺证所研制的具有宣肺开闭,清热解毒,化痰止咳作用的中成药制剂。方中麻黄、杏仁、桑白皮共用以宣肃肺气,上下畅通则邪有出路;肺气调畅咳喘自平。石膏、虎杖、拳参共奏清热解毒之功,里热得清,邪毒消散。紫花前胡、葶苈子、僵蚕化痰泄浊,肺为贮痰之器,痰邪去则气道通。虎杖、丹参两药相配,活血通络,血行则气行。全方通过宣肃肺气、清热解毒、化痰泄浊、活血通络,契合肺炎喘嗽、痰热闭肺证的病机。在前期研究中,研究人员对金欣口服液的抗 RSV 机制进行了深入探讨,表明金欣口服液可通过抑制 RSV 细胞面膜表面蛋白由于受体结合^[16]及调节细胞凋亡来发挥抗病毒效应^[17-18],还可通过调节炎症因子的表达来抑制 RSV 的感染^[19-20]。另外,金欣口服液中的有效单体也能发挥独立的抗 RSV 作用^[21-22]。

本研究中,预防组和金欣口服液中剂量组可上调大鼠体内 IFN- α 的表达,预防组、金欣口服液中、

高剂量组和利巴韦林组都可上调 IFN- β 的表达,这与笔者前期研究结果相符合^[10],说明金欣口服液可上调 I 型 IFN 的表达,发挥抗病毒效应。病毒感染后,模型组大鼠肺组织中 SOCS1 和 SOCS3 mRNA 表达明显上升,说明 RSV 可上调 SOCS 的表达,与文献相一致,同时也印证了 RSV 大鼠造模的成功。笔者的前期研究表明,金欣口服液可以上调 JAK-STAT 信号通路中磷酸化的 STAT 的表达,从而诱导 IFN 的抗病毒效应。本实验中金欣口服液各组给药后,金欣口服液中、高剂量组与模型组比较,SOCS1 和 SOCS3 表达下降明显,说明金欣口服液可以下调宿主主体内 SOCS1/3 的表达,抑制 SOCS1/3 对 JAK-STAT 信号通路的负性调控作用,从而释放 JAK-STAT 信号通路介导的 IFN 的抗病毒效应,这可能是金欣口服液的通过调控 JAK-STAT 信号通路介导抗 RSV 感染的作用机制。本研究也与文献中 SOCS1/3 对 JAK-STAT 信号通路调节作用的机制作用相一致^[23-24]。金欣口服液中、高剂量组与利巴韦林组对比,I 型 IFN 的表达和 SOCS1/3 的表达无明显差异,表明金欣口服液在调控 SOCS1/3 方面对利巴韦林未体现出优势,笔者推测其原因为:金欣口服液和利巴韦林都可通过调控 JAK/STAT 信号通路和 SOCS 的表达来介导 I-IFN 抗 RSV 感染效应。金欣口服液预防组和低剂量组与模型组比较,SOCS1/3 表达无明显差异,考虑其原因为金欣口服液的抗病毒效应可能与剂量和给药时间相关,这也是笔者下一步研究的方向。

[参考文献]

[1] Blount R E J, Morris J A, Savage R E. Recovery of cytopathogenic agent from chimpanzees with coryza[J]. Proc Soc Exp Biol Med,1956,92(3):544-549.

[2] Lambert L, Sagfors A M, Openshaw P J, et al. Immunity to RSV in early-life [J]. Front Immunol, 2014, 29(5):466.

[3] Nair H, Nokes D J, Gessner B D, et al. Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis [J]. Lancet, 2010, 375(9725):1545-1555.

[4] Resch B. Respiratory syncytial virus infection in high-risk infants-an update on palivizumab prophylaxis[J]. Open Microbiol J, 2014, 11(8):71-77.

[5] Re'gnier S A, Huels J. Association between respiratory syncytial virus hospitalizations in infants and respiratory

- sequelae; systematic review and meta-analysis [J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2013, 32(8):820-826.
- [6] Darnell J E, Darnell J E Jr, Kerr I M, et al. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins [J]. *Science*, 1994, 264(5164):1415-1421.
- [7] Hashimoto K, Ishibashi K, Ishioka K, et al. RSV replication is attenuated by counteracting expression of the suppressor of cytokine signaling (SOCS) molecules [J]. *Virology*, 2009, 391(2):162-170.
- [8] 廖辉,汪受传,徐建亚,等.金欣口服液含药血清对呼吸道合胞病毒黏附、膜融合影响的实验研究[J].*南京中医药大学学报*, 2008, 8(1):3-4.
- [9] 李佳曦,汪受传,徐建亚,等.金欣口服液含药血清对呼吸道合胞病毒感染 RAW264.7 细胞 Toll 样受体 3 表达的调控作用[J].*中华中医药杂志*, 2012, 27(6):1646-1649.
- [10] 赵霞,汪受传,张沛,等.金欣口服液对呼吸道合胞病毒大鼠 I 型干扰素表达的影响[J].*中华中医药杂志*, 2011, 26(7):1508-1510.
- [11] Wang Y C, He F, Feng F, et al. Notch signaling determines the M1 versus M2 polarization of macrophages in antitumor immune responses[J]. *Cancer Res*, 2010, 70:4840-4849.
- [12] Liongue C, Ward A C. Evolution of the JAK-STAT pathway[J]. *JAKSTAT*, 2013, 2(1):e22756.
- [13] Wilson H M. SOCS proteins in macrophage polarization and function[J]. *Front Immunol*, 2014, 28(5):357.
- [14] Xu X, Zheng J, Zheng K, et al. Respiratory syncytial virus NS1 protein degrades STAT2 by inducing SOCS1 expression[J]. *Intervirology*, 2014, 57(2):65-73.
- [15] Moore E C, Barber J, Tripp R A. Respiratory syncytial virus (RSV) attachment and nonstructural proteins modify the type I interferon response associated with suppressor of cytokine signaling (SOCS) proteins and IFN-stimulated gene-15 (ISG15) [J]. *Virology*, 2008, 378(4):116.
- [16] 白凌军,汪受传,白凌鹰,等.金欣口服液含药血清抗呼吸道合胞病毒间接抑制作用实验研究[J].*辽宁中医杂志*, 2010, 37(1):4-5.
- [17] 赵霞,汪受传,胡钰,等.金欣口服液含药血清对呼吸道合胞病毒感染细胞早期凋亡调控基因 mRNA 影响的研究[J].*中国新药杂志*, 2011, 20(4):359-361.
- [18] 赵霞,汪受传,胡钰,等.金欣口服液含药血清对呼吸道合胞病毒感染细胞早期凋亡的影响[J].*中华中医药杂志*, 2010, 20(5):225-227.
- [19] 孙寒丹,徐建亚,李佳曦,等.金欣口服液对呼吸道合胞病毒感染的肺巨噬细胞及 BALB/c 小鼠 IL- β 表达的调控作用[J].*浙江中医药大学学报*, 2012, 36(5):551-553.
- [20] 夏晨,陈超,汪受传,等.金欣口服液对感染 RSV 大鼠血清 IL-12 表达水平的影响[J].*南京中医药大学学报*, 2011, 23(7):247-249.
- [21] 徐珊,汪受传,徐建亚,等.金欣口服液有效单体对呼吸道合胞病毒聚合酶转录活性的影响[J].*江苏中医药*, 2011, 43(2):83-85.
- [22] 李佳曦,汪受传,徐建亚,等.金欣口服液含药血清及其有效单体白藜芦醇对 RSV 的 RNA 聚合酶转录活性的影响[J].*南京中医药大学学报*, 2011, 27(1):36-39.
- [23] Carow B, Rottenberg M E. SOCS3, a major regulator of infection and inflammation[J]. *Front Immunol*, 2014, doi: 10.3389/fimmu.2014.00058.
- [24] Paracha R Z, Ahmad J, Ali A, et al. Formal modelling of toll like receptor 4 and JAK/STAT signalling pathways: insight into the roles of SOCS-1, interferon- β and proinflammatory cytokines in sepsis. [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e108466.

[责任编辑 周冰冰]