

· 药物代谢 ·

基于血浆代谢组学分析金欣口服液治疗小鼠 RSV 肺炎的作用机制

孟欣¹, 单进军², 谢彤³, 徐建亚⁴, 沈存思⁵, 汪受传^{1*}

(南京中医药大学, 江苏省儿童呼吸疾病(中医药)重点实验室, 南京 210023)

[摘要] 目的:通过 GC-MS 技术分析 BALB/c 小鼠血浆内源性代谢产物的相对含量变化,阐明金欣口服液治疗呼吸道合胞病毒(RSV)肺炎的作用机制。方法:RSV 滴鼻感染 BALB/c 小鼠建立 RSV 肺炎模型,首次滴鼻 2 h 后予金欣口服液(剂量 27.6 g·kg⁻¹·d⁻¹)灌胃治疗,连续滴鼻 3 d 后各组处死 5 只小鼠取肺组织行组织病理学检查,连续给药 7 d 后采集各组小鼠的血浆,运用 GC-MS 检测(*m/z* 50~500)血浆内源性代谢物及其相对含量的变化,分析其可能参与的代谢通路。结果:RSV 肺炎小鼠的血浆中共测得 32 种内源性代谢产物,其中乳酸、尿素、谷氨酰胺、葡萄糖、花生四烯酸和 1,5-脱水山梨醇为差异代谢产物,主要与花生四烯酸、谷氨酰胺、丙酮酸的代谢通路有关。结论:金欣口服液治疗 RSV 肺炎可能与调节 RSV 感染导致的代谢紊乱相关。

[关键词] 气相色谱-质谱联用;金欣口服液;血浆;呼吸道合胞病毒性肺炎

[中图分类号] R969.1;R284.1;R945;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)17-0071-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2016170071

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160705.1426.004.html>

[网络出版时间] 2016-07-05 14:26

Mechanism Analysis of Jinxin Oral Liquid Against Respiratory Syncytial Virus Pneumonia Based on Plasma Metabonomics

MENG Xin¹, SHAN Jin-jun², XIE Tong³, XU Jian-ya⁴, SHEN Cun-si⁵, WANG Shou-chuan^{1*}

(Jiangsu Key Laboratory of Pediatric Respiratory Disease, Institute of Pediatrics, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

[Abstract] **Objective:** To detect the relative content changes of endogenous metabolites in plasma of BALB/c mice by GC-MS technology, and to explore the mechanism of Jinxin oral liquid against respiratory syncytial virus (RSV) pneumonia *in vivo*. **Method:** BALB/c mice were challenged intranasally with RSV to establish the RSV pneumonia model, then intragastric administration of Jinxin oral liquid with dose of 27.6 g·kg⁻¹·d⁻¹. After 3 days of inoculation, five mice in each group were hanged and inferior lobe of right lung were collected to take histopathological examination. After continuously given Jinxin oral liquid for 7 days, plasma were collected to detect the endogenous metabolites by GC-MS (*m/z* 50-500) and possible metabolic pathways concerned were analyzed. **Result:** Thirty-two endogenous metabolites in plasma were detected, arachidonic acid, glutamine, lactic acid, *D*-glucose, urea and 1, 5-anhydro-*D*-sorbitol were differential metabolites among them. Metabolic pathways of archidonic acid, glutamine and pyruvate were the most concerned. **Conclusion:** The antiviral effect of

[收稿日期] 20151117(003)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81373688,81303295);江苏省研究生培养创新工程项目(SJZZ15_0120)

[第一作者] 孟欣,博士,从事中医儿科肺系疾病研究,Tel:025-86798182,E-mail:meng.xin.507@163.com

[通讯作者] *汪受传,教授,主任医师,博士生导师,从事中医儿科肺、脾系及疑难病症的研究,Tel:025-86798182,E-mail:Wscnj@126.com

Jinxin oral liquid against RSV pneumonia may be related to regulation of metabolic disorder caused by RSV.

[Key words] GC-MS; Jinxin oral liquid; plasma; respiratory syncytial virus pneumonia

呼吸道合胞病毒 (respiratory syncytial virus, RSV) 属于肺炎病毒属副粘病毒科, 为有包膜的单股负链 RNA 病毒, 是 3 岁以下儿童病毒性肺炎的最常见病因。一项对全球 5 岁以下儿童急性下呼吸道感染的荟萃分析显示, 估计每年由 RSV 所致感染达 3.38×10^7 例, 其中至少 3.4×10^6 例患儿需住院治疗, 估计可造成 $6.6 \times 10^4 \sim 1.99 \times 10^5$ 例患儿死亡, 而死亡患儿中 99% 发生在发展中国家^[1]。但目前仍无有效的疫苗供临床预防使用^[2]。利巴韦林作为治疗 RSV 肺炎的主要药物, 临床效果不甚理想, 且不良反应也备受争议^[3]。

中医药治疗 RSV 肺炎具有一定优势。著名儿科专家汪受传教授从事小儿病毒性肺炎中医药研究多年, 认为 RSV 肺炎当治以开肺解毒化痰^[4]。金欣口服液为其临床经验用方, 由炙麻黄、苦杏仁、生石膏、桑白皮、黄芩、虎杖、葶苈子等 8 味中药构成, 疗效确切^[5-6]。本实验选择金欣口服液为研究对象, 运用 GC-MS 技术分析小鼠血浆内源性代谢物在治疗前后的相对含量变化, 探讨该制剂的作用机制。

1 材料

DMIL 型倒置显微镜 (德国 Leica 公司), MiniSpin 型面包式离心机 (德国 Eppendorf 公司), MCO-20 型 CO₂ 培养箱 (日本 Sanyo), Airstream® A2 型二级生物安全柜 (新加坡 ESCO 公司), Allegra 64R 型高速冷冻离心机 (美国 Beckman 公司), Trace 1310/TSQ8000 型气相色谱-质谱联用仪 (美国 Thermo 公司)。

改良杜氏伊格尔培养基 (DMEM), 胎牛血清和 0.25% 胰酶 (含乙二胺四乙酸) 均购自加拿大 Wisent 公司; 甲氧铵盐、含 1% 三甲基-氯硅烷 (TMCS) 的 *N*, *O*-双三甲基硅基三氟乙酰胺 (BSTFA), C8-C40 烷烃混标, 1, 2-¹³C 肉蔻酸均购自德国 Sigma 公司; 延胡索酸, *L*-天冬氨酸, *L*-谷氨酸, 甘氨酸对照品 (中国 J&K 百灵威公司, 批号分别为 LU80M51, LCA0M32, LT90M31, L410N21, 纯度依次为 99%, 98%, 99%, 98%); 人喉癌上皮细胞 (Hep-2, 中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心), 呼吸道合胞病毒 (RSV) A 亚型 (Long 株, 武汉国家典型培养物保藏中心), 正己烷、吡啶 (美国 Thermo 公司), 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

金欣口服液 (浸膏) 由炙麻黄 3 g, 苦杏仁 10 g, 生石膏 20 g, 葶苈子 10 g, 黄芩 6 g, 前胡 10 g, 桑白皮 10 g 和虎杖 12 g 组成, 药材购自南京中医药大学百草堂门诊部, 按比例取药, 加 10 倍量水浸泡 30 min, 大火煮沸后用小火煎煮 30 min, 取出药汁, 再加入 8 倍量水依上法煎煮, 合并 2 次药汁, 减压浓缩成 $1.351 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 金欣口服液^[5]。金欣口服液由南京中医药大学植物药与新药开发研究中心 (江苏省植物药深加工工程中心) 制备与质控, 以麻黄中麻黄碱及虎杖中白藜芦醇的定性鉴别为质量控制标准。

SPF 级 BALB/c 小鼠 54 只, 雌性, 体重 16 ~ 18 g, 周龄 4 ~ 6 周, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号 SCXK (京) 2012-0001。

2 方法

2.1 RSV 扩增及半数细胞感染量 (TCID₅₀) 测定
体外培养 Hep-2 细胞以扩增 RSV, 具体方法参照文献^[6]。病毒滴度测定采用 Reed-Muench 公式, 本实验病毒 TCID₅₀ 为 $1 \times 10^{-4.038}$ 个/μL。

2.2 动物实验及样本收集 将小鼠饲养于南京中医药大学实验动物中心, 12 h 光照和 12 h 黑暗环境下自由饮食。实验期间饲养室温度 18 ~ 22 °C, 相对湿度 50% ~ 60%。将小鼠随机分为 3 组, 每组 18 只, 分别为正常组, RSV 肺炎模型组和金欣口服液治疗组。除正常组外, 其他组小鼠在乙醚浅麻醉后按 50 μL/只鼻腔滴注 $100 \times \text{TCID}_{50}$ 的 RSV 悬液 (每日滴鼻 1 次, 正常组给予同剂量的 DMEM 高糖培养基), 待全部吸入鼻腔后放回笼中并记录时间。滴鼻 2 h 后, 金欣口服液治疗组按 $27.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (相当于 2 岁儿童临床等效剂量) 灌胃给药, 其他组给予同剂量生理盐水。连续滴鼻并给药 3 d, 于第 4 天每组各处死 5 只小鼠, 取部分右肺下叶用 10% 甲醛溶液固定, 石蜡包埋、切片, 采用常规的苏木精伊红 (HE) 染色, 光学显微镜观察。继续给药至第 7 天, 末次给药 2 h 后, 摘除眼球取血 (离心管中加入低分子肝素 10 μL 以抗凝), $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取上层血浆, 置于 -80 °C 保存, 待测。

2.3 GC-MS 分析条件

2.3.1 色谱条件 石英毛细管色谱柱 (0.25 μm × 0.25 mm × 30 m), 程序升温 (初始柱温 60 °C, 保留 1 min; 以 $20 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至 320 °C, 保留 4 min), 进样口温度 250 °C, 载气高纯氦气, 流量 $1.2 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$,

柱前压 100 kPa, 分流模式(分流比 20:1), 进样量 1 μL 。

2.3.2 质谱条件 电离方式电子电离(EI), 碰撞能量 70 eV, 离子源温度 280 $^{\circ}\text{C}$, 离子传输线温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 溶剂延迟时间 4 min, 扫描方式全扫描, m/z 50 ~ 500。

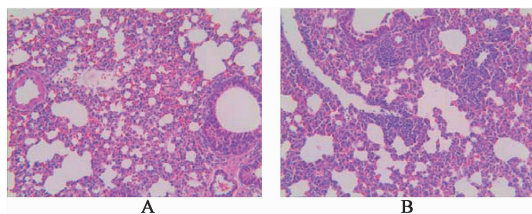
2.4 血浆样品预处理 将血浆样品置于室温下融化, 取 20 μL , 加入冰甲醇(含内标 12.5 μg) 1 mL, 涡旋 5 min, 于 4 $^{\circ}\text{C}$, 12 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清 300 μL , 置于离心浓缩仪中挥干 2 h, 加入 15 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲氧胺吡啶溶液 50 μL , 混匀 5 min, 室温下静置 16 h 后加入 BSTFA(含 1% TMCS) 50 μL , 混匀后静置 1 h。离心(4 $^{\circ}\text{C}$, 3 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 5 min), 吸取上清液 60 μL 于玻璃内插管中, 供 GC-MS 进样分析。

2.5 数据分析与软件 根据 GC-MS 总离子流图中各峰的保留时间分离共有峰, 获取相对峰面积比值(各峰面积/内标峰面积)表示代谢物的含量。使用 SPSS 19.0 进行单因素方差分析或非参数检验检查组间差异。共有峰的挑选、分离、峰对齐、计算相对峰面积使用 Xcalibur 2.0.7 数据处理系统, 主成分分析(PCA)及正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)分析使用瑞典 Umetrics 公司 SIMCA-P12.0

软件。

3 结果与分析

3.1 小鼠的肺组织病理学观察 见图 1。结果显示正常组小鼠肺脏肺泡结构清晰, 肺泡上皮完整, 肺泡壁毛细血管无扩张充血, 腔内无渗出物, 间质少量慢性炎细胞浸润, 肺间隔及支气管完好。RSV 肺炎模型组小鼠肺脏可见间质多灶性炎细胞浸润(++) , 以单核细胞、淋巴细胞为主; 肺泡壁轻度充血(+), 肺泡壁明显增厚。说明 RSV 肺炎模型建立成功。

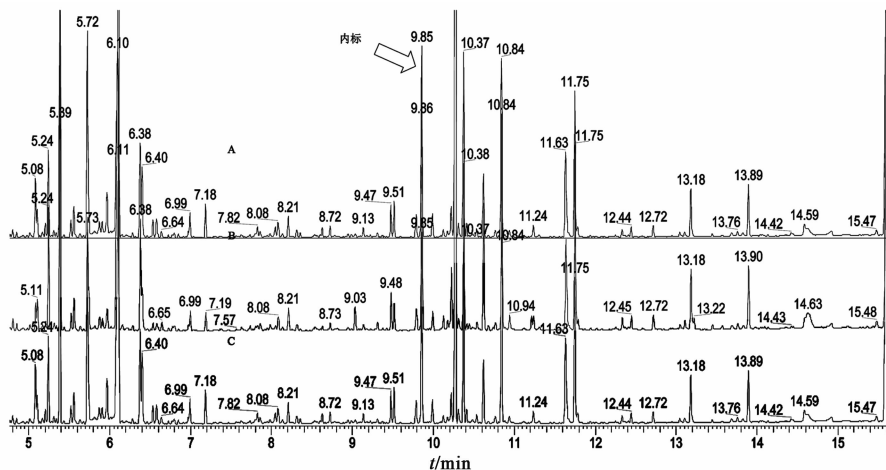


A. 正常组; B. RSV 肺炎模型组

图 1 BALB/c 小鼠肺组织病理(HE, $\times 200$)

Fig.1 Pathological changes of lung tissues of BALB/c mice(HE, $\times 200$)

3.2 GC-MS 分析 血浆样本 GC-MS 分析总离子流图见图 2。对同一个样品连续进样 6 次, 计算各相对峰面积的 RSD 2.2% ~ 3.6%, 说明数据的重复性较好。



A. 正常组; B. RSV 肺炎模型组; C. 金欣口服液治疗组

图 2 血浆样本 GC-MS 分析的总离子流

Fig. 2 TIC of plasma samples by GC-MS

3.3 代谢物鉴定 利用 NIST 标准谱图库检索、鉴定所分离的共有峰, 通常匹配度 > 800 且可能性 $> 80\%$ 的鉴定结果可信度较高^[7]。鉴定结果中某些峰的匹配度很高而可能性较低, 主要是同分异构现象及裂解规律相似所致, 此外, 还对部分物质进行对照品比对鉴定。某些内源性代谢物由于和衍生化试剂发生反应的活性基团数目不同(如尿素), 其保留

时间和裂解产物亦不尽相同。共鉴定出 32 种内源性代谢物, 部分见表 1。

3.4 代谢物谱模式分析 在代谢组学数据处理中, PCA 和 OPLS-DA 是最常用的方法。PCA 可在最大程度保留原始信息的基础上, 将高维复杂的数据进行简化和降维, 建立可靠的数学模型对研究对象的代谢谱特点进行归纳和总结; OPLS-DA 则可去除自

表 1 金欣口服液治疗小鼠 RSV 肺炎的部分血浆中内源性代谢物分析

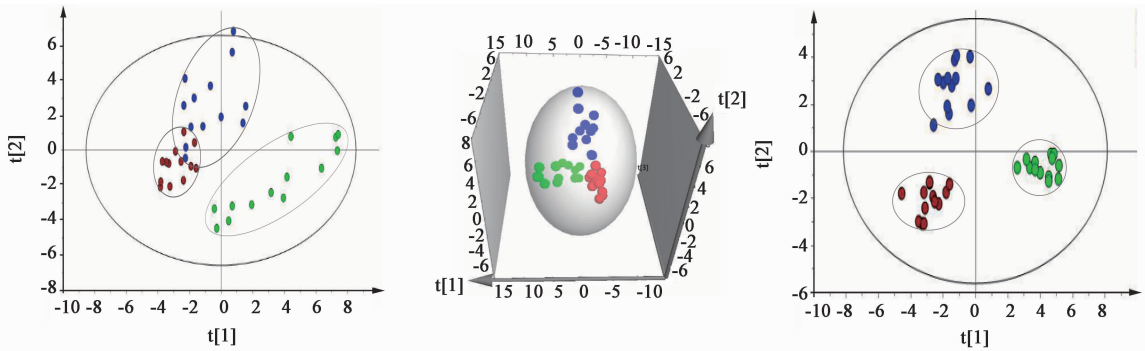
Table 1 Part of endogenous metabolites in plasma of mice treated with Jinxin oral liquid

t_R /min	匹配度	反向 匹配度	可能性 /%	NIST 谱库中最匹配的物质	可能的 内源性代谢物
4.64	835	858	89.92	propanoic acid, 2-(methoxyimino)-, trimethylsilyl ester	丙酸 ¹⁾
4.75	931	931	35.95	D-(-)-lactic acid, trimethylsilyl ether, trimethylsilyl ester	乳酸
5.08	927	933	79.56	L-alanine, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	丙氨酸 ¹⁾
5.21	910	944	93.09	glycine, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	甘氨酸 ¹⁾
5.52	882	921	35.70	butanoic acid, 3-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester	羟丁酸
5.72	903	908	96.88	urea, tri-TMS	尿素
5.96	912	916	83.92	L-valine, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	缬氨酸
6.11	892	892	91.37	urea, N, N'-bis(trimethylsilyl)-	尿素
6.38	805	875	55.59	glycerol, tris(trimethylsilyl) ether	甘露醇
6.40	930	932	93.77	silanol, trimethyl-, phosphate (3:1)	磷酸
6.54	892	932	70.86	L-isoleucine, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	异亮氨酸 ¹⁾
7.00	916	919	90.64	serine, N, O-bis(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	丝氨酸 ¹⁾
7.19	935	938	96.00	N, O, O-tris(trimethylsilyl)-L-threonine	苏氨酸 ¹⁾
7.84	863	889	94.15	butanedioic acid, [(trimethylsilyl)oxy]-, bis(trimethylsilyl) ester	苹果酸
8.05	868	883	91.89	L-methionine, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	甲硫氨酸
8.08	858	888	83.89	L-proline, 5-oxo-1-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	脯氨酸 ¹⁾
8.60	775	821	65.00	ornithine, tri-TMS	鸟氨酸
8.63	889	903	93.54	glutamic acid, N-(trimethylsilyl)-, bis(trimethylsilyl) ester, L-	谷氨酸
8.72	877	891	76.05	N, O-bis(trimethylsilyl) phenylalanine	苯丙氨酸 ¹⁾
9.47	913	937	89.33	phosphoric acid, bis(trimethylsilyl) 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy] propyl ester	磷酸
9.51	877	883	97.23	L-glutamine, tris(trimethylsilyl) deriv	谷氨酰胺 ¹⁾
9.79	755	771	82.95	1,2,3-propanetricarboxylic acid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-, tris(trimethylsilyl) ester	柠檬酸 ¹⁾
9.99	918	921	62.88	1,5-anhydro-D-sorbitol	1,5-脱水山梨醇
10.26	915	915	20.15	D-glucose, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-, O-methoxy, (1Z)-	葡萄糖 ¹⁾
10.30	790	872	88.65	L-lysine, N2, N6, N6-tris(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	赖氨酸 ¹⁾
10.37	916	917	16.49	D-galactose, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-, O-methoxy, (1E)-	半乳糖 ¹⁾
10.41	849	853	59.54	L-tyrosine, N, O-bis(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	酪氨酸
10.83	887	908	96.16	hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester	棕榈酸 ¹⁾
11.24	875	888	85.31	myo-inositol, 1,2,3,4,5,6-hexakis-O-(trimethylsilyl)-	肌醇
11.75	914	920	97.19	octadecanoic acid, trimethylsilyl ester	硬脂酸
11.78	846	885	75.35	L-tryptophan, N, 1-bis(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	色氨酸 ¹⁾
12.33	843	860	45.27	arachidonic acid, trimethylsilyl ester	花生四烯酸 ¹⁾
13.18	878	897	95.33	hexadecanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy] propyl ester	棕榈酸单甘油酯
15.65	859	866	72.98	cholesterol trimethylsilyl ether	胆固醇 ¹⁾

注: ¹⁾表示经对照品鉴定的物质。

变量中与分类变量无关的数据变异,使分类信息主要集中在 1 个主成分中。将血浆内源性代谢物的数

据矩阵导入 SIMCA-P12.0 软件进行分析构建 PCA 和 OPLS-DA 模型。见图 3。



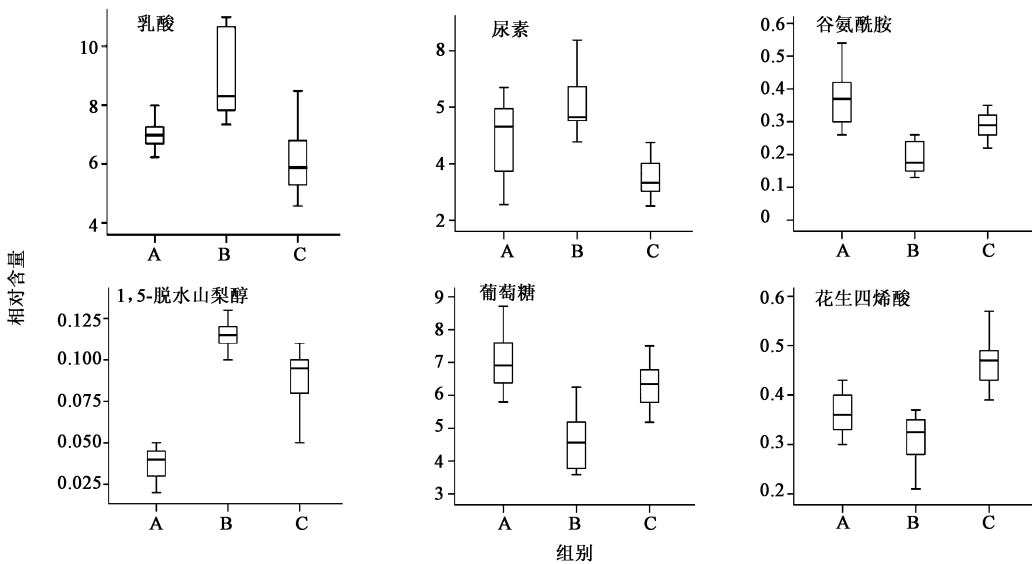
绿色:正常组;蓝色:PSV 肺炎模型组;红色:金欣口服液治疗组

图 3 血浆代谢物谱模式分析

Fig. 3 Metabolic Pattern recognition and analysis in plasma

采用 PCA 进行降维分析,图中每一个点代表 1 个样本,得具有 7 个主成分的 PCA 模型,优化度 0.902,预测度 0.584,由主成分 1 和主成分 2 构建的得分散点图显示 3 组具有一定的分离趋势,但 RSV 肺炎模型组和金欣口服液治疗组仍存在交叉重叠,并未完全区分,说明第 1 和第 2 主成分对数据并不能较好解释,可能和样本数量较少有关。进一步进行 3D 分析,发现 3 组在 $t[1]$, $t[2]$, $t[3]$ 上可实现完全区分。此外,RSV 模型组有 1 个样本的点落在了 95% 区间之外,可能与个体差异相关。

为了降低组内差异,进一步放大组间差异,去除无关的数据变异,采用有监督的 OPLS-DA 分析,见



A. 正常组;B. RSV 肺炎模型组;C. 金欣口服液治疗组

图 4 血浆中差异内源性代谢物的相对含量变化

Fig. 4 Relative content changes of differential endogenous metabolites in plasma

3.6 代谢通路分析 将血浆中的差异内源性代谢物导入代谢通路平台 MetPA 分析,代谢通路的质量值 (pathway impact, PI) 界定为 0.1,见图 5。结果显示与金欣口服液治疗 RSV 肺炎最为相关的是花生四烯酸代谢 (PI = 0.326),谷氨酰胺代谢 (PI = 0.150) 和丙酮酸代谢 (PI = 0.106) 通路。

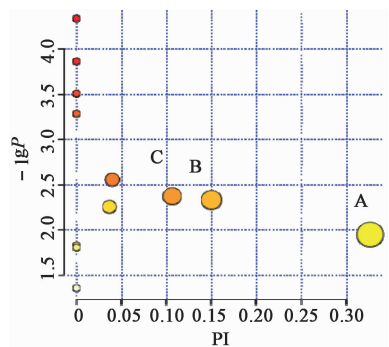
4 讨论

病毒侵袭机体,必然会引起机体内源性代谢物的变化,运用代谢组学技术及多维统计分析方法可阐明其机制。Semmo 等^[8]报道丙型肝炎病人血浆内葡萄糖、甘露糖、油酸酰胺和乳酸等代谢物的含量发生显著变化,Munger 等^[9]研究发现人巨细胞病毒感染时,细胞内糖酵解、三羧酸循环、嘧啶合成的相关通路的代谢物呈动态变化。小鼠在患 RSV 肺炎时,体内的内环境改变,代谢通路及相关代谢物也定

然受到扰动。

图 3,模型参数拟合度 0.934,预测度 0.889,说明该模型的建模能力和预测能力均较好,3 组可显著区分,无交叉和重叠,说明 RSV 肺炎干扰了小鼠血浆中某些内源性物质的代谢,造成小鼠血浆代谢指纹图谱发生显著变化,予金欣口服液治疗后紊乱的代谢物则有所回调,显示出金欣口服液的治疗过程。

3.5 代谢物含量的变化 运用单因素方差分析或非参数检验考察正常组,RSV 肺炎模型组和金欣口服液治疗组的内源性代谢物相对含量差异,设 $P = 0.05$,共发现 6 种差异性代谢物(乳酸、尿素、谷氨酰胺、葡萄糖、花生四烯酸和 1,5-脱水山梨醇),六者的相对含量变化见图 4。



A. 花生四烯酸;B. 谷氨酰胺;C. 丙酮酸

图 5 金欣口服液治疗小鼠 RSV 肺炎的相关通路代谢分析

Fig. 5 Analysis of relevant metabolic pathways of Jinxin oral liquid treated RSV pneumonia in mice

然受到扰动。

本研究发现 RSV 肺炎小鼠血浆中代谢物的相对含量较正常组小鼠发生显著变化,其中花生四烯

酸、谷氨酰胺、葡萄糖的相对含量下降,而乳酸、尿素和 1,5-脱水山梨醇的相对含量升高,反映出 RSV 肺炎小鼠体内的代谢紊乱状态,而运用金欣口服液治疗后,上述差异性内源代谢物的相对含量均有所回调。提示金欣口服液治疗小鼠 RSV 肺炎的物质基础可能是花生四烯酸、谷氨酰胺、乳酸、葡萄糖、尿素和 1,5-脱水山梨醇等内源性代谢物,主要与花生四烯酸、谷氨酰胺、丙酮酸的代谢通路有关。

花生四烯酸是人体内必须的脂肪酸,具有很强的生理活性,参与了体内免疫反应。主要代谢途径有 2 条,①经 5-脂氧酶(LPO)的作用形成不稳定中间产物 5-氢过氧二十碳四烯酸(5-HPETE),继而形成白三烯 A₄(LTA₄),后者经水解酶作用形成 LTB₄。LTA₄ 还可经谷胱甘肽 S-转移酶的作用形成 LTC₄,LTC₄ 尚可进一步形成 LTD₄,LTE₄,LTF₄。② 5-HPETE 可经酶作用形成稳定产物 5-羟二十碳四烯酸。花生四烯酸的 LPO 产物对免疫细胞和免疫反应有抑制作用,还可抑制淋巴因子产生。Chouinard 等^[10]报道花生四烯酸可抑制 RSV 的致病力,并且随着花生四烯酸量的增加,抑制作用愈明显。本研究发现 RSV 肺炎时小鼠血浆内的花生四烯酸相对含量下降,可能与 RSV 感染后机体免疫紊乱有关。而运用金欣口服液治疗后,花生四烯酸的相对含量明显上升,抑制 RSV 作用显著。谷氨酰胺是病毒增殖时生物合成必需的原料。Thai 等^[11]以腺病毒为例研究谷氨酰胺代谢,发现病毒增殖时较正常细胞需要利用更多的谷氨酰胺,这与本实验结果相符。RSV 感染后,病毒增殖的过程中需消耗较多的谷氨酰胺,予金欣口服液治疗后 RSV 复制减少,故谷氨酰胺的相对含量回升。RSV 肺炎时,机体通气换气功能障碍,处于缺氧状态,能量代谢异常,糖酵解途径较活跃,故葡萄糖相对含量下降,而乳酸相对含量增多。

金欣口服液作为治疗 RSV 肺炎的有效方剂,前期研究表明其能明显提高干扰素- α (INF- α)的表达^[12],在感染早期,金欣口服液可阻断 Toll 样受体 3-干扰素调节因子 3-干扰素- β (TLR3-IRF3-IFN- β)信号通路,但在感染晚期,则可上调 TLR3 信号通路的关键信号因子^[13]。不同于 TLR3 信号通路,本实验运用 GC-MS 代谢组学技术研究发现了与金欣口服液治疗 RSV 肺炎密切相关的代谢通路,主要为花生四烯酸、谷氨酰胺、丙酮酸代谢通路,以及其赖以发挥作用的物质基础,可能是花生四烯酸、谷氨酰胺、乳酸、葡萄糖、尿素和 1,5-脱水山梨醇等小分子

内源性代谢物,为该制剂下一步深入研究奠定了基础,也为其临床治疗提供了一定的理论依据。

[参考文献]

- [1] 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.
- [2] Guvenel A K, Chiu C, Openshaw P J. Current concepts and progress in RSV vaccine development [J]. *Expert Rev Vaccines*, 2014, 13(3): 333-344.
- [3] Lusebrink J, Schildgen V, Schildgen O. Novel therapies for an old virus: treatment of RSV infections in the 21st century [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2009, 7(9): 1125-1129.
- [4] 汪受传, 朱先康, 李江全, 等. 开肺化痰解毒法治疗小儿病毒性肺炎的研究 [J]. *辽宁中医杂志*, 2001, 28(7): 410-412.
- [5] 李涛, 汪受传, 戴启刚. 金欣口服液对 RSV 感染 BALB/c 小鼠肺组织 TLR4 及 TAK1 表达的调控作用 [J]. *中成药*, 2014, 36(2): 225-228.
- [6] 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.
- [7] Major H J, Williams R, Wilson A J, et al. A metabonomic analysis of plasma from Zucker rat strains using gas chromatography/mass spectrometry and pattern recognition [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2006, 20(22): 3295-3302.
- [8] Semmo N, Weber T, Idle J R, et al. Metabolomics reveals that aldose reductase activity due to AKR1B10 is upregulated in hepatitis C virus infection [J]. *J Viral Hepat*, 2015, 22(7): 617-624.
- [9] Munger J, Bajad S U, Collier H A, et al. Dynamics of the cellular metabolome during human cytomegalovirus infection [J]. *PLoS Pathog*, 2006, 2(12): e132.
- [10] Chouinard F, Turcotte C, Guan X C, et al. 2-Arachidonoyl-glycerol and arachidonic acid-stimulated neutrophils release antimicrobial effectors against *E. coli*, *S. aureus*, HSV-1, and RSV [J]. *J Leukoc Biol*, 2013, 93(2): 267-276.
- [11] Thai M, Thaker S K, Feng J, et al. MYC-induced reprogramming of glutamine catabolism supports optimal virus replication [J]. *Nat Commun*, 2015, doi: 10.1038/ncomms9873.
- [12] 梁晓鑫, 戴启刚, 汪受传, 等. 金欣口服液对 RSV 感染 BALB/c 小鼠 IFN- α 表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(12): 200-203.
- [13] Chen Z G, Luo H, Wang S C, et al. Antiviral effects of Jinxin oral liquid against respiratory syncytial virus infection in the BALB/c mice model [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 162: 287-295.

[责任编辑 刘德文]