

上感颗粒对 H1N1 流感病毒感染小鼠免疫功能及 JAK2/STAT3 信号通路的影响

郭志洪, 李修元, 张梦楠, 刘林洁, 杨峰, 敖素华*

(西南医科大学附属中医医院呼吸内科, 四川 泸州 646000)

摘要: 目的 观察上感颗粒对甲型 H1N1 流感病毒感染小鼠肺部炎症反应的作用。方法 42 只雄性 C57BL/6 小鼠随机分为正常组、模型组、奥司他韦组 (1.25 mg/kg) 和上感颗粒低、中、高剂量组 (4、8、12 g/kg), 鼻腔接种 H1N1 流感病毒建立流感病毒肺部感染小鼠模型, 给药干预 7 d。记录小鼠的死亡情况, 检测肺组织含水量, HE 染色观察肺组织病理变化, 透射电镜观察肺组织超微结构损伤, ELISA 法检测肺组织 IL-4、IFN- γ 、CCL3、CCL25、CXCL-10 水平, 流式细胞术检测外周血 CD3 $^+$ 、CD4 $^+$ 、CD8 $^+$ T 细胞数, RT-qPCR 和 Western blot 法检测肺组织 JAK2、STAT mRNA 和蛋白表达。结果 与模型组比较, 上感颗粒各剂量组小鼠肺组织含水量降低 ($P<0.01$), 肺泡灌洗液病毒滴度降低 ($P<0.01$), 肺组织损伤减轻, 肺组织 IL-4 水平升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), IFN- γ 、CCL3、CCL25、CXCL-10 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 外周血 CD3 $^+$ 、CD4 $^+$ T 细胞数量和 CD4 $^+$ /CD8 $^+$ 比值均降低 ($P<0.01$), 肺组织 JAK2、STAT3 mRNA 和 p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。结论 上感颗粒可以通过调节 T 细胞免疫和相关炎症因子的表达, 增强流感病毒感染小鼠免疫能力和减轻流感病毒感染小鼠的肺组织损伤, 其机制可能与下调 JAK2/STAT3 信号通路有关。

关键词: 上感颗粒; H1N1 流感病毒; 炎症反应; 细胞免疫; JAK2/STAT 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)02-0606-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.02.041

流感是全球的高发病, 每年多达 50 万人死于流感^[1]。H1N1 是甲型流感病毒的亚型, 是引起人类感冒最常见的流感病毒^[2]。奥司他韦常用于治疗流感病毒感染^[3], 但耐药株的出现, 导致奥司他韦治疗作用减弱^[4-5]。因此, 寻找奥司他韦的替代疗法具有非常重要的意义。千百年以来, 中药在治疗多种疾病方面均具有重要作用, 包括病毒性感染肺炎, 充分显示了中药抗流感病毒独特的优势和功效。相较于西药治疗, 中药多为天然植物, 不良反应较少, 能够标本兼顾, 因而临床适用性较为广泛^[6]。上感颗粒是四川省名中医彭素岚教授, 以《温病条辨》的银翘散为基础方加减而成, 作为西南医科大学附属中医医院的院内制剂, 经过十余年临床观察, 该药安全可靠, 疗效显著, 备受广大患者认可^[7-8], 然而其治疗机制尚不清楚。因此, 本研究拟探讨上感颗粒对 H1N1 感染小鼠免疫的调控作用, 并初步探索对基于 JAK/STAT 信号通路的影响。

1 材料

1.1 动物 42 只 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠, 体质量 18~22 g, 购自成都达硕生物科技有限公司 [实验动物生产许

可证号 SCXK (川) 2020-0030], 饲养于四川大学华西医院实验动物中心 [实验动物使用许可证号 SYXK (川) 2023-0011], P2 实验室备案号川卫 BSL-2-A 备 (2020) 第 0639 号。实验动物伦理审查经四川大学华西医院实验动物中心审批通过 (伦理号 20220411001)。

1.2 药物 上感颗粒由山银花 180 g、连翘 120 g、黄芩 180 g、苦杏仁 120 g、薄荷 120 g、粉葛 180 g、板蓝根 180 g、石膏 240 g 组成, 以上药材均购自西南医科大学附属中医医院中药房, 经西南医科大学附属中医医院赵剑主任中药师鉴定为正品, 由西南医科大学附属中医医院制剂室生产 (川药制字 Z20080299)。取组方 8 味药材, 加 7 倍量水浸泡 0.5 h, 煎煮 2 次, 每次 1 h, 同时收集挥发油, 备用。合并煎液, 过滤, 滤液减压浓缩至相对密度 1.20~1.25 (80 °C) 的清膏, 加 700 g 糊精, 沸腾制粒, 整粒, 均匀喷入上述挥发油, 置 24 h, 分装, 即得。磷酸奥司他韦颗粒 (国药准字 H20080763) 购自宜昌东阳光长江药业股份有限公司。

1.3 试剂 动物组织总 RNA 提取试剂盒 (货号 RE-

收稿日期: 2024-04-01

基金项目: 四川省中医药管理局课题 (2020JC0152)

作者简介: 郭志洪 (1982—), 女, 主治医师, 研究方向为中西结合防治呼吸系统疾病。Tel: 15309087020, E-mail: gzh15309087020@163.com

* 通信作者: 敖素华 (1972—), 女, 博士, 主任医师, 研究方向为中西结合防治呼吸系统疾病。Tel: 13550898592, E-mail: 463787216@qq.com

03014, 成都福际生物技术有限公司); PrimeScript RT reagent Kit、TB Green[®] Premix Ex TaqTM II (Tli RNaseH Plus) [货号 RR047A、RR820A, 宝日医生物技术(北京)有限公司]; RIPA 裂解液(强)、甘氨酸(货号 G2002-100ML、G5010-500g, 武汉赛维尔生物科技有限公司); BCA 蛋白浓度测定试剂盒(货号 P0009, 上海碧云天生物技术股份有限公司); 预染蛋白 Marker、生物素化山羊抗鼠 IgG (H + L)、 β -actin 抗体(货号 RM19001、AS033、AC026, 武汉爱博泰克生物科技有限公司); 超敏 ECL 发光液(货号 17046, 成都正能生物技术有限责任公司); PAGE 凝胶快速制备试剂盒(货号 PG112, 上海雅酶生物科技有限公司); Tris-base(货号 1115GR500, 德国 BioFroxx 公司); TLR4、MyD88、p-JAK2、p-STAT3 抗体 [货号 ab13556、ab219413、ab32101、ab76315, 艾博抗(上海)贸易有限公司]; p-P38 抗体 [货号 sc-166182, 圣克鲁斯生物技术(上海)有限公司]; 生物素化山羊抗兔 IgG (H+L) (货号 S0001, 江苏亲科生物研究中心有限公司)。

1.4 仪器 酶标仪 [型号 SpectraMAX Plus384, 美谷分子仪器(上海)有限公司]; 高速低温组织研磨仪(型号 KZ-III-F, 武汉赛维尔生物科技有限公司); 实时荧光定量(RT-PCR)仪(型号 QuantStudioTM 3, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 优普超纯水制造系统(型号 UPH-II-10T, 成都超纯科技有限公司); 透射电子显微镜(型号 JEM-1400FLASH, 日本 JEOL 公司); 组织处理机、玻璃制刀机、超薄切片机(型号 EM TP、EM KMR3、EM UC7, 德国徕卡公司)。

1.5 病毒株 甲型流感病毒 A/PR/8/34 (H1N1) 由中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所国家流感中心提供。

2 方法

2.1 分组、造模及给药 将小鼠随机分为正常组、模型组、奥司他韦组和上感颗粒低、中、高剂量组, 除模型组 12 只外, 其余各组均 6 只。除对照组外, 其余小鼠均在生物安全二级环境下建立甲型流感病毒 A/PR/8/34 (H1N1) 感染模型。参考文献 [9-11] 报道, 小鼠腹腔注射 3 mL/kg 戊巴比妥钠溶液进行麻醉, 向小鼠鼻腔滴入 $1 \times LD_{50}$ 甲型流感病毒 A/PR/8/34 H1N1, 每只 20 μ L, 滴鼻 1 次, 制备病毒感染模型。感染 12 h 后, 上感颗粒组分别灌胃给予 4、8、12 g/kg 上感颗粒(上感颗粒人的临床剂量为 0.65 g/kg, 根据人和小鼠换算系数 12.3 进行换算, 小鼠的等效剂量约为 8 g/kg); 奥司他韦组灌胃给予 1.25 mg/kg 磷酸奥司他韦颗粒; 正常组和模型组灌胃给予等量生理盐水, 连续给药 7 d。记录小鼠死亡率, 采用 3 mL/kg 戊巴比妥钠麻醉小鼠, 采集外周血后处死小鼠。

2.2 肺组织含水量检测 各组取 3 只小鼠全肺, 迅速用吸水纸吸干表面水分和血液, 使用电子天平称定湿重, 置于 70 ℃ 烘箱内烘干 72 h 至恒重, 再次称重, 即为干重, 并计算肺组织含水量, 公式为肺组织含水量 = (肺湿重/肺干

重) $\times 100\%$ 。

2.3 HE 染色观察肺组织病理形态 将用 4% 多聚甲醛固定的肺组织按照常规步骤进行石蜡包埋切片, 脱蜡至水, 用苏木精和伊红溶液分别染色, 脱水、透明, 封片, 于光学显微镜下观察肺组织病理学变化。

2.4 小鼠肺泡灌洗液病毒血凝滴度测定 取各组小鼠肺泡灌洗液, 将样本按 2 倍梯度稀释, 加入到 96 孔板中, 每孔 50 μ L, 再向每孔中加入 50 μ L 配制好的 1% 红细胞悬液, 轻轻混匀。室温下孵育 30 min, 观察血凝结果, 记录发生完全血凝的最高稀释倍数, 并将其转化为 \log_2 表示滴度。

2.5 ELISA 法检测肺组织 IL-4、IFN- γ 、CCL3、CCL25、CXCL-10 水平 取于液氮保存的肺组织, 加液氮将肺组织研磨成粉状。以 1:9 的比例加入生理盐水, 混合后匀浆, 匀浆液 1 000 $\times g$ 离心 10 min, 取上清液。按照相应 ELISA 试剂盒说明书进行操作, 检测肺组织 IL-4、IFN- γ 、CCL3、CCL25、CXCL-10 水平, 结果均在 450 nm 波长处观察。

2.6 透射电镜观察小鼠肺组织超微结构 取小鼠肺组织, 用锋利刀片切成 0.3 cm \times 0.5 cm 大小的方块, 生理盐水清洗组织块表面的血污, 放入盛有 2.5% 戊二醛的小瓶内固定 12 h。倒掉戊二醛, 用生理盐水清洗瓶内的组织 2~3 次(将遗留在组织上的戊二醛洗净)。洗净组织后, 用 30%、50%、70%、80%、90%、无水乙醇依次梯度脱水。Ep812 包埋, 半薄切片用甲苯胺蓝染色作光学定位, 用钻石刀作超薄切片, 醋酸铀和枸橼酸铅染色, 于透射电镜(TEM)下观察。

2.7 流式细胞术检测外周血 CD4⁺、CD8⁺T 细胞比例 取小鼠外周血, 加入 3 倍体积的红细胞裂解液, 室温裂解 5 min, 用 PBS 洗涤 2 次, 离心后收集细胞沉淀备用, PBS 稀释成细胞悬液, 吸取 100 μ L 加入流式管中, 加入 CD4、CD8 抗体, 4 ℃ 避光孵育 30 min, 加入含 1% 胎牛血清的 PBS 2 mL, 4 ℃、350 $\times g$ 离心 5 min, 弃上清液, 重复 1 次, 最后加入 0.5 mL PBS 重悬, 通过 FACS Canto II 流式细胞仪检测 CD4⁺、CD8⁺T 细胞数。

2.8 RT-qPCR 法检测肺组织 JAK2、STAT3 mRNA 表达 使用 TRIzol 法提取肺组织中总 RNA, 并采用分光光度计法测定 RNA 浓度和纯度, 按照反转录试剂盒说明书将 RNA 反转录为 cDNA, 进行扩增反应, 扩增程序为 95 ℃ 预变性 30 s, 95 ℃ 变性 5 s, 55 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 30 s, 共 45 个循环, 最后 72 ℃ 延伸 5 min。以 β -actin 为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算 JAK2、STAT3 mRNA 相对表达。引物由赛默飞世尔科技(中国)有限公司合成, 引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	序列
JAK2	正向 5'-CAACCTCAGCGGACTAAGA-3' 反向 5'-GGGCAGCATTTGGTAACTG-3'
STAT3	正向 5'-ACCACGAAAGTCAGGTTGCT-3' 反向 5'-CCATCCCACATCTCTGCTC-3'
β -actin	正向 5'-GAAGATCAAGATCATTGCTCC-3' 反向 5'-TACTCCTGCTTGATCCA-3'

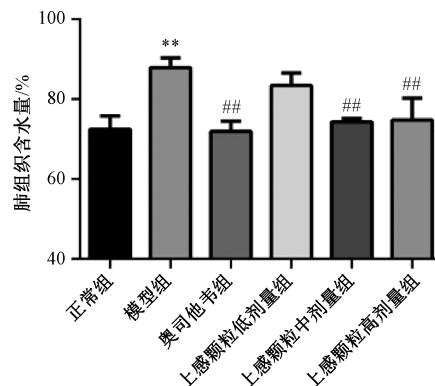
2.9 Western blot 法检测肺组织 p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达 取液氮研磨的肺组织粉末，加裂解液，冰浴研磨，离心后收集上清，Bradford 法测定蛋白浓度。取 25 μ g 蛋白，进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳，并转移至 PVDF 膜，封闭后孵育一抗、二抗，加入超敏发光底物曝光，使用 ImageJ 软件分析蛋白条带灰度值，以 β -actin 为内参，计算目的蛋白相对表达。

2.10 统计学分析 通过 GraphPad 8.0 软件进行处理，计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示，2 组间比较采用 *t* 检验，多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠一般情况观察 给药结束后，模型组有 5 只小鼠死亡，上感颗粒低剂量组有 1 只小鼠，其余组小鼠无死亡，表明上感颗粒和奥司他韦均能有效改善流感病毒感染小鼠的死亡情况。

3.2 上感颗粒对 H1N1 流感病毒感染小鼠肺组织含水量的影响 如图 1 所示，与正常组比较，模型组小鼠肺组织含水量增加 ($P < 0.01$)；与模型组比较，奥司他韦组和上感颗粒中、高剂量组小鼠肺组织含水量均减少 ($P < 0.01$)。



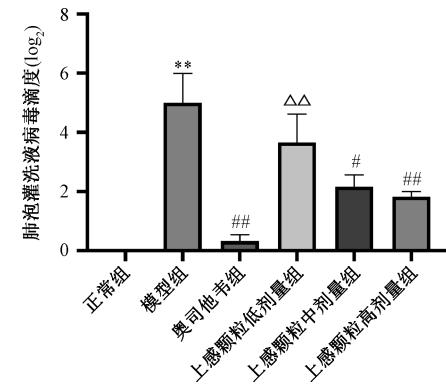
注：与正常组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，## $P < 0.01$ 。

图 1 各组小鼠肺组织含水量比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

3.3 上感颗粒对 H1N1 流感病毒感染小鼠肺泡灌洗液病毒血凝滴度的影响 如图 2 所示，与模型组比较，奥司他韦组和上感颗粒高、中剂量组小鼠肺泡灌洗液病毒滴度降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)；与奥司他韦组比较，上感颗粒低剂量组小鼠肺泡灌洗液病毒滴度增加 ($P < 0.01$)，上感颗粒高、中剂量组病毒滴度无明显变化 ($P > 0.05$)。

3.4 上感颗粒对 H1N1 流感病毒感染小鼠肺组织病理形态的影响 如图 3 所示，正常组小鼠肺组织结构较为正常，壁薄，无结缔组织增生、增厚，也无炎性细胞浸润，细胞器结构正常；模型组小鼠出现肺泡上皮细胞增生和纤维增生，间质内炎性细胞浸润，以中性粒细胞和淋巴细胞为主，并伴有出血，线粒体出现严重损伤；奥司他韦组和上感颗粒各剂量组小鼠炎性细胞浸润减少，线粒体损伤减轻。

3.5 上感颗粒对 H1N1 流感病毒感染小鼠肺组织炎症因子水平的影响 如图 4 所示，与正常组比较，模型组小鼠肺



注：与正常组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ ；与奥司他韦组比较，△△ $P < 0.01$ 。

图 2 各组小鼠肺泡灌洗液病毒血凝滴度比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

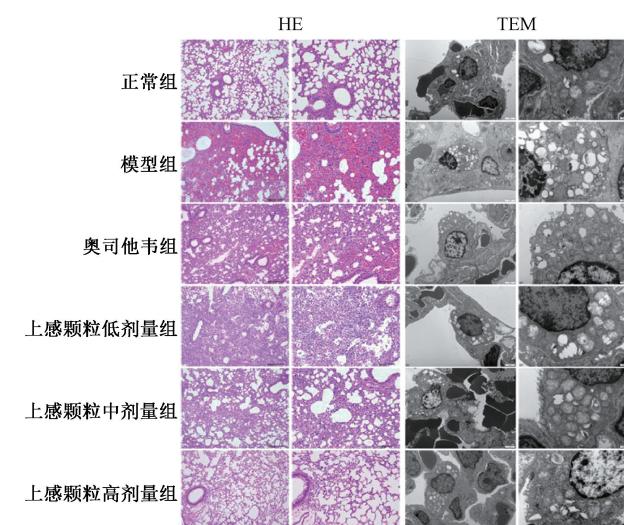
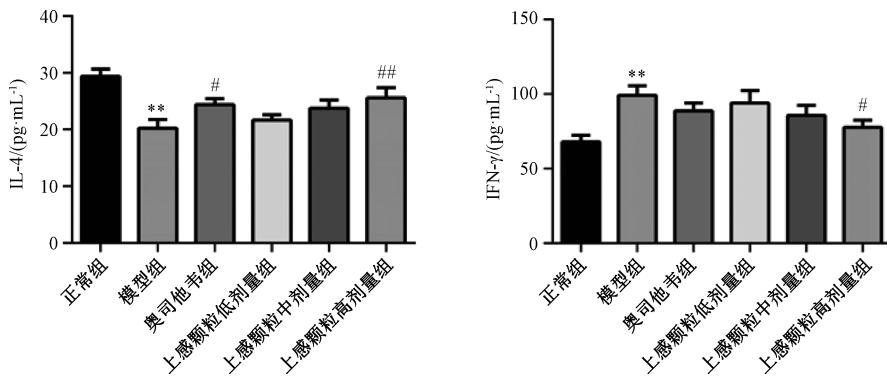


图 3 各组小鼠肺组织病理形态

组织 IL-4 水平降低 ($P < 0.01$)，IFN- γ 水平升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，奥司他韦组和上感颗粒高剂量组小鼠肺组织 IL-4 水平升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，上感颗粒高剂量组小鼠肺组织 IFN- γ 水平降低 ($P < 0.05$)。

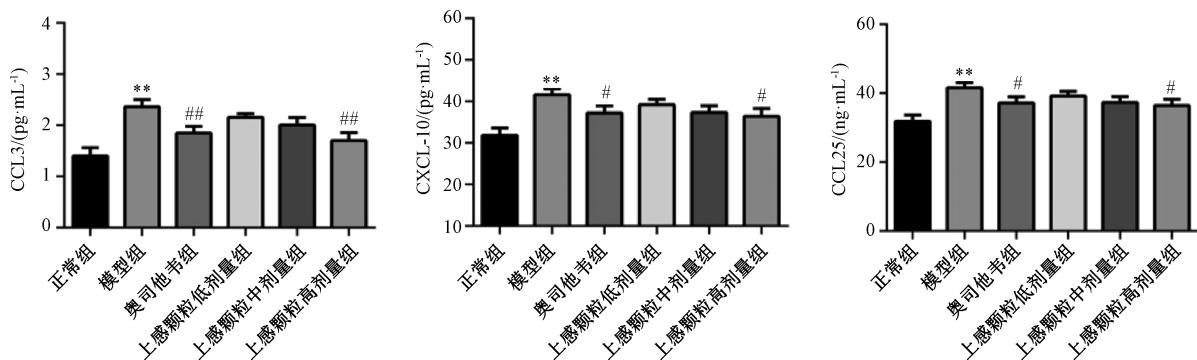
3.6 上感颗粒对 H1N1 流感病毒感染小鼠肺组织 CCL3、CCL25、CXCL-10 水平的影响 如图 5 所示，与正常组比较，模型组小鼠肺组织 CCL3、CCL25、CXCL-10 水平升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，奥司他韦组和上感颗粒高剂量组小鼠肺组织 CCL3、CCL25、CXCL-10 水平降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

3.7 上感颗粒对 H1N1 流感病毒感染小鼠外周血 CD3 $^+$ 、CD4 $^+$ 、CD8 $^+$ T 细胞数的影响 如图 6 所示，与正常组比较，模型组小鼠外周血 CD3 $^+$ 、CD4 $^+$ 、CD8 $^+$ T 细胞数和 CD4 $^+$ /CD8 $^+$ 比值增加 ($P < 0.01$)；与模型组比较，奥司他韦组和上感颗粒各剂量组小鼠外周血中 CD3 $^+$ 、CD4 $^+$ T 细胞数和 CD4 $^+$ /CD8 $^+$ 比值减少 ($P < 0.01$)，奥司他韦组小鼠外周血中 CD8 $^+$ T 细胞数减少 ($P < 0.01$)；与奥司他韦组比较，上感颗粒各剂量组小鼠外周血中 CD3 $^+$ 、CD4 $^+$ 、CD8 $^+$ T 细胞数和 CD4 $^+$ /CD8 $^+$ 比值增加 ($P < 0.01$)。



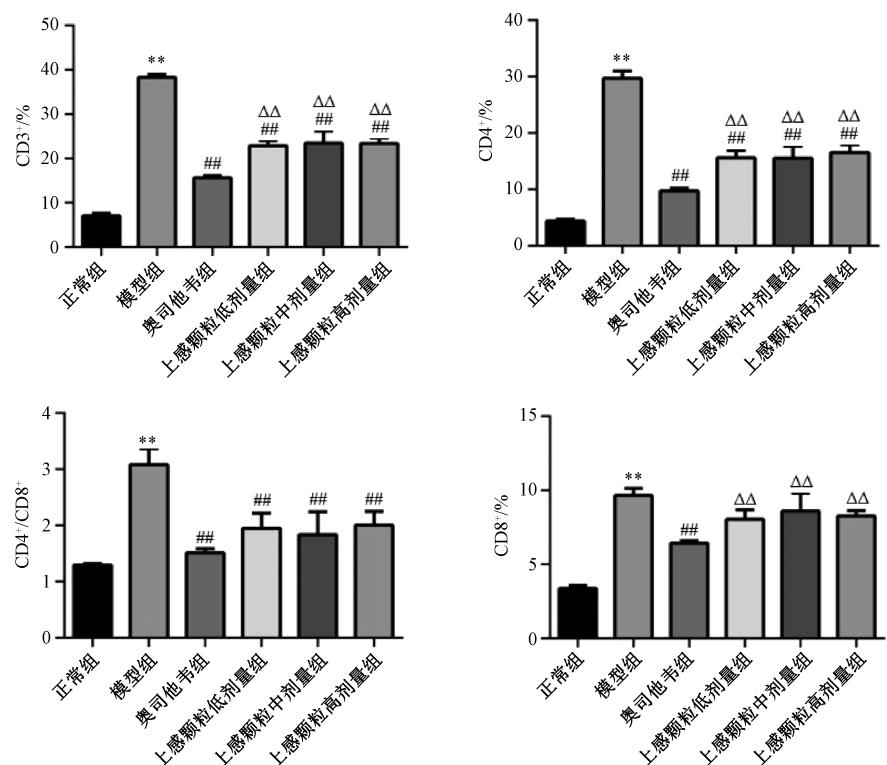
注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图4 各组小鼠肺组织 IL-4、IFN- γ 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)



注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图5 各组小鼠肺组织 CCL3、CCL25、CXCL-10 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

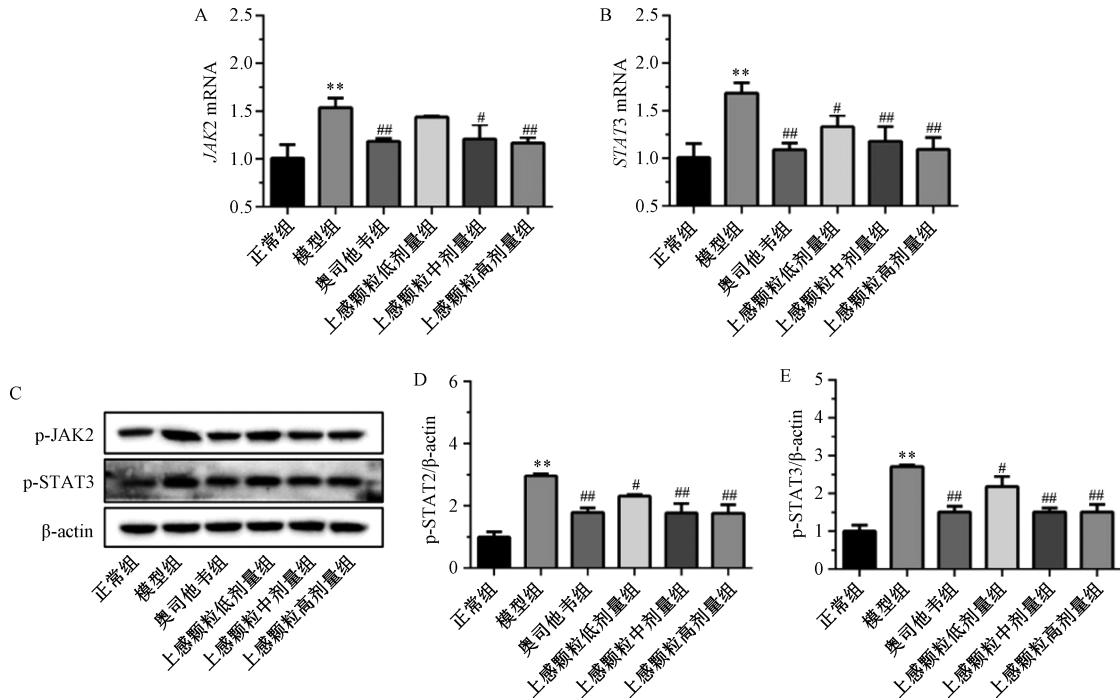


注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ## $P < 0.01$; 与奥司他韦组比较, △△ $P < 0.01$ 。

图6 各组小鼠外周血 CD3+、CD4+、CD8+T 细胞数比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3.8 上感颗粒对H1N1流感病毒感染小鼠JAK/STAT信号通路的影响 如图7所示,与正常组比较,模型组小鼠肺组织JAK2、STAT3 mRNA表达和p-JAK2、p-STAT3蛋白表达均升高($P<0.01$);与模型组比较,奥司他韦组和上感

颗粒中、高剂量组小鼠肺组织JAK2 mRNA表达降低($P<0.05$, $P<0.01$),奥司他韦组和上感颗粒各剂量组小鼠肺组织JAK2、STAT3 mRNA表达和p-JAK2、p-STAT3蛋白表达均降低($P<0.05$, $P<0.01$)。



注: A~B 分别为各组小鼠肺组织 JAK2、STAT3 mRNA 表达比较, C 为各组小鼠肺组织 p-JAK2、p-STAT3 蛋白条带图, D~E 分别为各组小鼠肺组织 p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达比较。与正常组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

图7 上感颗粒对流感病毒感染小鼠JAK/STAT信号通路的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

4 讨论

流感感冒在中医理论中被认为是外感风热所致。上感颗粒由山银花、连翘、黄芩、苦杏仁、薄荷、粉葛、板蓝根、石膏组成,具有清热解毒、透泄散邪的作用。本研究结果表明,上感颗粒可改善流感病毒感染小鼠肺水肿和肺部损伤,提高小鼠免疫能力和存活率。

中药复方较之单方具有多组分、多途径、多靶点的特点,有直接抑制病毒或免疫调节,发挥抗流感病毒作用,在临幊上广泛用于流感的预防与治疗。黎燕等^[12]研究表明,金莲清热颗粒在细胞水平上对H1N1病毒株具有一定的体外抑制活性。岳冬辉等^[13]研究表明,主要中药成分为黄芩、连翘、薄荷的甘露消毒丹在狗肾细胞(MDCK)细胞上具有良好的抗流感病毒效果。本研究结果表明,8.0、12.0 g/kg上感颗粒干预可降低流感病毒感染小鼠肺部灌洗液病毒滴度,表明上感颗粒对H1N1病毒也有一定的抑制能力,但体内抑制能力低于1.25 mg/kg奥司他韦的作用。

感染高致病性流感病毒可产生原发性病毒性肺炎,导致急性肺损伤和死亡^[14]。并且,流感病毒会诱导过度的先天免疫反应,导致高细胞因子血症、炎症和细胞死亡,最后使肺泡上皮屏障功能丧失^[15]。Ma等^[16]研究表明,三物黄芩汤通过降低H1N1感染小鼠血清IL-6、TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 水平,升高IL-4水平,减轻H1N1病毒在体内引起的

过度炎症。本研究结果表明,12.0 g/kg上感颗粒可降低流感病毒感染小鼠肺组织IFN- γ 水平,升高IL-4水平,同时减轻了肺组织病理损伤,说明上感颗粒可通过调控炎性因子水平改善肺组织损伤。

流感病毒经呼吸道进入机体后,能促进肺巨噬细胞分泌大量趋化因子如CCL3、CCL25、CXCL-10等,导致肺部免疫病理损伤^[17-18]。赵澄等^[18]研究表明,麻杏石甘汤通过下调趋化因子CCL3和CCL25水平,缓解流感病毒感染小鼠的肺部损伤。本研究结果显示,12.0 g/kg上感颗粒也可通过降低CCL3、CCL25、CXCL-10水平减轻流感病毒感染小鼠的肺部损伤。

病毒感染细胞后引起的免疫反应以细胞免疫为主,T细胞在细胞免疫应答过程中发挥中枢的作用^[19-20]。肺部存在的含多种抗原特异性的CD4 $^+$ 和CD8 $^+$ T细胞会对增殖的流感病毒攻击作出反应^[21]。本研究结果表明,上感颗粒可降低流感病毒感染小鼠外周血中CD3 $^+$ 、CD4 $^+$ 、CD8 $^+$ T细胞数量和CD4 $^+$ /CD8 $^+$ 比值,与鲍俊臣等^[22]研究结果一致。

JAK/STAT级联信号也是经典的炎症通路之一,炎症反应产生的炎性因子,如TNF- α 、IFN- γ 、IL-1 β 、IL-6、IL-8等,均能激活JAK/STAT信号通路,促进与JAK蛋白和STAT蛋白的磷酸化,从而调节炎症^[23]。本研究结果表明,上感颗粒和奥司他韦均抑制了流感病毒感染小鼠肺部组织

JAK/STAT信号通路,从而减轻了肺部炎症。

综上所述,上感颗粒可以通过调节T细胞免疫和相关炎症因子的表达,增强流感病毒感染小鼠免疫能力和减轻流感病毒感染小鼠的肺组织损伤。

参考文献:

- [1] Kumazoe M, Takamatsu K, Horie F, et al. Methylated (-)-epigallocatechin 3-O-gallate potentiates the effect of split vaccine accompanied with upregulation of Toll-like receptor 5[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 23101.
- [2] Bajpai V K, Han J H, Nam G J, et al. Characterization and pharmacological potential of *Lactobacillus sakei* 111 isolated from fresh water fish *Zacco koreanus* [J]. *Daru*, 2016, 24: 8.
- [3] Guzmán D C, Herrera M O, Brizuela N O, et al. Assessment of Mexican Arnica (*Heterotheca inuloides* Cass.) and Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extracts on dopamine and selected biomarkers of oxidative stress in stomach and brain of *Salmonella typhimurium* infected rats[J]. *Pharmacogn Mag*, 2017, 13(50): 203-208.
- [4] Matsuzaki Y, Mizuta K, Aoki Y, et al. A two-year survey of the oseltamivir-resistant influenza A (H1N1) virus in Yamagata, Japan and the clinical effectiveness of oseltamivir and zanamivir[J]. *Virol J*, 2010, 7: 53.
- [5] Liu S S, Jiao X Y, Wang S, et al. Susceptibility of influenza A (H1N1) /pdm2009, seasonal A (H3N2) and B viruses to oseltamivir in Guangdong, China between 2009 and 2014[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 8488.
- [6] 伊娜. 中药抗流感病毒作用的进展探讨[J]. 黑龙江医药, 2021, 34(2): 306-308.
- [7] 施京敏. 上感颗粒治疗病毒性上呼吸道感染的临床研究[J]. 中国老年保健医学, 2015, 13(6): 67-68.
- [8] 张淑珍. 上感颗粒治疗病毒性上呼吸道感染发热的临床分析[J]. 中国卫生标准管理, 2015, 6(18): 156-157.
- [9] Du H X, Zhou H F, Yang J H, et al. Preliminary study of Yinhuapenggan granule against H1N1 influenza virus infection in mice through inhibition of apoptosis[J]. *Pharm Biol*, 2020, 58(1): 979-991.
- [10] Zhu J, Ou L, Zhou Y, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate induces interferon- λ 2 expression to anti-influenza A virus in human bronchial epithelial cells (BEAS-2B) through p38 MAPK signaling pathway[J]. *J Thorac Dis*, 2020, 12(3): 989-997.
- [11] Lin Z, Li Y, Gong G, et al. Restriction of H1N1 influenza virus infection by selenium nanoparticles loaded with ribavirin via resisting caspase-3 apoptotic pathway[J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13: 5787-5797.
- [12] 黎燕, 陈利红, 周红. 金莲清热颗粒抑制甲型流感病毒(A/PR/8/34 H1N1株)活性的体外细胞病变实验研究[J]. 宁夏医学杂志, 2022, 44(8): 716-719; 769.
- [13] 岳冬辉, 魏丹丹, 崔迪, 等. 甘露消毒丹抗甲型H1N1流感病毒感染体内外作用评价[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(5): 2503-2507.
- [14] Iuliano A D, Roguski K M, Chang H H, et al. Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling study[J]. *Lancet*, 2018, 391(10127): 1285-300.
- [15] Corry J, Kettenburg G, Upadhyay A A, et al. Infiltration of inflammatory macrophages and neutrophils and widespread pyroptosis in lung drive influenza lethality in nonhuman primates[J]. *PLoS Pathog*, 2022, 18(3): e1010395.
- [16] Ma Q H, Ren M Y, Luo J B, San Wu Huangqin decoction regulates inflammation and immune dysfunction induced by influenza virus by regulating the NF- κ B signaling pathway in H1N1-infected mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 264: 112800.
- [17] 刘琪, 王建国, 李保珍, 等. 流感病毒对小鼠肺部趋化因子通路的影响及疏风宣肺解毒方药的干预作用[J]. 中华危重病急救医学, 2021, 33(4): 405-409.
- [18] 赵澄, 吴涛, 卢芳国, 等. 麻杏石甘汤对流感病毒感染小鼠肺组织CCL3、CCL25表达水平的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(10): 1216-1220.
- [19] Wang X, Lin X, Zheng Z, et al. Host-derived lipids orchestrate pulmonary $\gamma\delta$ T cell response to provide early protection against influenza virus infection[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 1914.
- [20] Dhakal S, Loube J, Misplon J A, et al. Effect of an adenovirus-vectored universal influenza virus vaccine on pulmonary pathophysiology in a mouse model[J]. *J Virol*, 2021, 95(9): e02359-20.
- [21] Goplen N P, Cheon I S, Sun J. Age-related dynamics of lung-resident memory CD8 $^{+}$ T cells in the age of COVID-19 [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 636118.
- [22] 鲍俊臣, 盛夏, 郑艳, 等. 上感颗粒对病毒性上呼吸道感染小鼠肺组织CD4 $^{+}$ 、CD8 $^{+}$ T淋巴细胞亚群的影响[J]. 江苏中医药, 2012, 44(3): 66-68.
- [23] Moon S Y, Kim K D, Yoo J, et al. Phytochemicals targeting JAK-STAT pathways in inflammatory bowel disease: insights from animal models[J]. *Molecules*, 2021, 26(9): 2824.