

DOI:10.13350/j.cjpb.240907

• 论著 •

# 基于转录组学的生脉饮抗登革1型病毒作用机制研究\*

陈杰<sup>1,2</sup>,张秋欢<sup>3</sup>,覃直然<sup>1</sup>,刘旭玲<sup>1</sup>,谢晓婷<sup>1</sup>,林一凡<sup>1</sup>,奚可欣<sup>1</sup>,吴清华<sup>1</sup>,张宝<sup>1</sup>,赵卫<sup>1\*\*</sup>

(1. 南方医科大学公共卫生学院广东省热带病研究重点实验室BSL-3实验室,广东广州510515;

2. 中国科学院深圳先进技术研究院能量代谢与生殖研究中心;3. 中国人民武装警察部队广东省总队医院医学工程科)

**【摘要】** 目的 基于转录组学分析生脉饮抗登革1型病毒(DENV-1)的作用及其机制。方法 采用3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)法和细胞凋亡检测试剂盒检测生脉饮对C6/36、293、LO2、HBMEC和AC16细胞的增殖、凋亡及毒性作用,使用C6/36细胞验证生脉饮对DENV-1的抑制作用。将LO2细胞分为4组,包括正常对照组、DENV-1感染组、利巴韦林处理组和生脉饮处理组,处理24 h后,收集细胞进行转录组测序,检测不同组之间的差异基因,并进行GO和KEGG富集分析。结果 MTT结果显示生脉饮对不同细胞的半抑制浓度为17.5 mg/mL,4 mg/mL生脉饮对C6/36、293、LO2、HBMEC和AC16细胞的细胞凋亡无显著影响。转录组测序筛选到正常组与DENV-1组差异基因3 995个,生脉饮组和DENV-1组差异基因3 228个。生脉饮通过影响细胞周期、DNA复制、蛋白翻译、病毒转录等生物过程,以及调节p53、FoxO等信号通路,从而抑制DENV-1感染细胞。结论 通过转录组测序分析表明,生脉饮通过调节多条信号通路抑制DENV-1感染细胞。

**【关键词】** 生脉饮;登革热;登革1型病毒;转录组测序;信号通路

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1673-5234(2024)09-1025-06

[Journal of Pathogen Biology. 2024 Sep.;19(9):1025-1030.]

## Transcriptomics-based study on the mechanism of Shengmaiin against Dengue virus type 1

CHEN Jie<sup>1,2</sup>, ZHANG Qiuhan<sup>3</sup>, QIN Zhiran<sup>1</sup>, LIU Xuling<sup>1</sup>, XIE Xiaoting<sup>1</sup>, LIN Yifan<sup>1</sup>, XI Kexin<sup>1</sup>, WU Qinghua<sup>1</sup>, ZHANG Bao<sup>1</sup>, ZHAO Wei<sup>1</sup> (1. BSL-3 Laboratory(Guangdong), Guangdong Provincial Key Laboratory of Tropical Disease Research, School of Public Health, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. Center for Energy Metabolism and Reproduction, Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences; 3. Department of Medical Engineering, Guangdong Provincial Corps Hospital of Chinese People's Armed Police Forces)

**【Abstract】** **Objective** Analysis of the therapeutic effect of Shengmaiin against Dengue virus type 1 (DENV-1) and investigation of the underlying mechanisms by transcriptome analysis. **Methods** Cell proliferation, apoptosis and cytotoxicity of Shengmaiin on C6/36, 293, LO2, HBMEC as well as AC16 cells were determined by 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide (MTT) assay and cell apoptosis analysis kit. C6/36 cells verify the inhibitory effect of Shengmaiin on DENV-1. To further verify its inhibitory effect, the LO2 cells were divided into four groups, the control, viral infection, ribavirin-treated and Shengmaiying-treated groups. After 24 hours of treatment, the cells were harvested for transcriptome sequencing to detect differentially expressed genes between the different groups, followed by GO/KEGG enrichment analysis. **Results** MTT Results showed that the half inhibitory concentration of Shengmaiin on various cells is about 17.5 mg/mL. No significant effect on apoptosis was observed in these cell lines when 4 mg/mL Shengmaiin was applied. Transcriptome sequencing identified 3 995 differential genes between the control group and the DENV-1 group, and 3 228 differential genes between the Shengmaiin group and the DENV-1 group. After careful analysis of these genes, found that Shengmaiin inhibits dengue virus infection of cells by affecting biological processes such as cell cycle, DNA replication, protein translation and viral transcription, and by regulating signalling pathways such as p53 and FoxO. **Conclusion** Transcriptome analysis showed that Shengmaiin inhibited DENV-1 infected cells by regulating multiple signaling pathways.

**【Keywords】** Shengmaiin; dengue fever; Dengue virus type 1; transcriptome sequencing; singal pathway \*\*\*

\* 【基金项目】 国家自然科学基金项目(No. 32370146),广东省科技计划项目(No. 2021B1212030014),广东省自然科学基金项目(No. 2021A1515220017)。

\*\* 【通讯作者】 赵卫, E-mail: zhaowei@smu.edu.cn

【作者简介】 陈杰(1987-),男,福建宁德人,在读硕士研究生,主要研究方向:病原微生物学, E-mail: jie.chen@siat.ac.cn

登革热是由登革病毒感染引起的虫媒传染病,其传播媒介为埃及伊蚊和白纹伊蚊,主要在热带和亚热带地区流行<sup>[1]</sup>。近20年来,登革热在世界各地发生过多次大流行,全球每年约有4亿例登革热病例和2.2万例死亡<sup>[2-3]</sup>。登革病毒是一种黄病毒,根据抗原性不同分为4种血清型(DENV-1、DENV-2、DENV-3和DENV-4),4种血清型均可感染人。登革病毒感染可导致多种临床症状,从轻度发热到重症登革<sup>[4]</sup>。

生脉饮源于《景岳全书》引《医录》方,由红参、麦冬和五味子组成,为著名中医古方。近代在其组方、配伍变化基础上,采用现代技术,制成注射液、口服液等剂型,临床应用范围增大,且疗效明显<sup>[5]</sup>。生脉饮主要的药理作用有:益气复脉、养阴生津,改善心脏功能,保护心肌细胞和抗心律失常;抗休克作用;有广泛的免疫药理活性,能显著增强和调节机体免疫功能;并有较好的抗炎作用<sup>[6-7]</sup>,登革热诊疗指南(2014年第2版)在中医药辨证论治方案中指出恢复期可使用竹叶石膏汤合生脉饮药方<sup>[8]</sup>,但是生脉饮对登革热的治疗作用及其具体的药物分子机制尚不明确。

本文通过生脉饮处理感染登革1型病毒的C6/36细胞,发现其对登革1型病毒具有明显抑制作用。进一步使用转录组学技术,探索生脉饮治疗登革热的作用机制,为后续研究奠定基础。

## 材料与方法

### 1 试剂

DENV-1(广东省热带病研究重点实验室BSL-3实验室)、红参(康美药业股份有限公司);麦冬(康美药业股份有限公司);五味子(康美药业股份有限公司);利巴韦林颗粒(四川百利药业有限责任公司);C6/36细胞(广东省热带病研究重点实验室BSL-3实验室)、HBMEC细胞、LO2细胞、293细胞、AC16细胞(北纳生物科技有限公司);RPMI-1640培养基、胎牛血清、青霉素/链霉素、DPBS、0.25%胰蛋白酶(赛默飞世尔科技(中国)有限公司);MTT检测试剂盒(翌圣生物科技有限公司);细胞凋亡检测试剂盒(全式金生物技术股份有限公司)。

### 2 方法

**2.1 药物制备** 生脉饮制备:红参100 g,麦冬200 g,五味子100 g,研磨机磨成粉状,用65%乙醇剂,浸渍24 h后进行渗漉,收集渗漉液约4 500 mL,旋蒸浓缩至稠液后,冷冻干燥机中冷冻干燥24 h使其形成干粉,使用无菌蒸馏水溶解成400 mg/mL储液,−20 °C保存。利巴韦林颗粒,四川百利药业有限责任公司,使用无菌蒸馏水溶解,浓度为100 mg/mL,−20 °C保存。

**2.2 细胞培养** C6/36细胞生长于含10%胎牛血清、100 IU/mL青霉素和100 mg/mL链霉素的RPMI-1640培养基中,于28 °C、5%CO<sub>2</sub>的培养箱中培养,待细胞进入对数生长期,用移液枪将细胞吹打下来传代。LO2细胞、293细胞、HBMEC细胞和AC16细胞生长于含10%胎牛血清、100 IU/mL青霉素和100 mg/mL链霉素的DMEM培养基中,于37 °C、5%CO<sub>2</sub>的培养箱中培养,待细胞进入对数生长期,用0.25%胰酶消化传代。

**2.3 病毒扩增培养** DENV-1株加入到单层铺满的C6/36细胞中,在37 °C、5%CO<sub>2</sub>培养箱中孵育1 h,随后加入含10%胎牛血清的1640培养基继续培养,约4 d即出现明显细胞病变效应,随后反复冻融3次后收集上清液即为病毒液。

**2.4 MTT检测** 将处在对数生长期的C6/36细胞、HBMEC细胞、AC16细胞、293细胞和LO2细胞铺到96孔板中,细胞密度为5 000个细胞/孔。第二天分别加入1、2、4、8、16、32 mg/mL生脉饮溶液,对照组加入完全培养基,继续培养24 h后,按MTT试剂盒说明书操作,使用酶标仪检测450 nm处的吸光值。

**2.5 细胞凋亡** 将处在对数生长期的C6/36细胞、HBMEC细胞、AC16细胞、293细胞和LO2细胞铺到6孔板中,细胞密度为1×10<sup>6</sup>个细胞/孔。第二天分别加入4 mg/mL生脉饮溶液,对照组加入新鲜完全培养基,继续培养24 h后,按细胞凋亡检测试剂盒说明书操作,使用流式细胞仪检测。

**2.6 生脉饮对DENV-1感染C6/36细胞的影响** 将处在对数生长期的C6/36细胞铺到6孔板中,细胞密度为1×10<sup>6</sup>个细胞/孔,将处在对数生长期的C6/36细胞铺到6孔板中,共4组,每组铺3个孔,细胞密度为1×10<sup>6</sup>个细胞/孔。第二天分别加入DMEM、DMEM+DENV-1、DMEM+DENV-1+100 μg/mL利巴韦林溶液、DMEM+DENV-1+4 mg/mL生脉饮溶液,继续培养约96 h后,显微镜下观察每孔细胞病变效应。

**2.7 转录组测序** 将处在对数生长期的LO2细胞铺到6孔板中,共4组,每组铺3个孔,细胞密度为1×10<sup>6</sup>个细胞/孔。第二天分别加入DMEM、DMEM+DENV-1、DMEM+DENV-1+1 mg/mL利巴韦林溶液、DMEM+DENV-1+4 mg/mL生脉饮溶液,继续培养24 h,用DPBS洗三遍后,使用细胞刮收集细胞沉淀,送华大基因股份有限公司进行转录组测序,进行差异基因筛选,GO功能富集和KEGG信号通路分析。

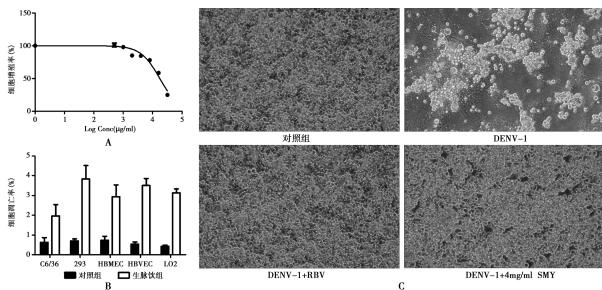
**2.8 统计学方法** 采用SPSS 23.0进行统计学分析,实验数据用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )描述,多组间比较采

用单因素方差分析,进一步进行组间两两比较时采用Dunnett-t检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

### 1 生脉饮对细胞增殖和细胞凋亡的影响

对五种不同的细胞系C6/36细胞、HBMEC细胞、AC16细胞、293细胞和LO2细胞加入4 mg/mL生脉饮,孵育24 h后进行细胞凋亡检测。结果显示,生脉饮对细胞凋亡率无明显影响( $P<0.05$ )(图1A)。使用不同浓度生脉饮处理LO2细胞,24 h后进行MTT检测,结果显示,生脉饮在LO2细胞中的 $IC_{50}$ 值为17.5 mg(图1B)。



A C6/36、HBMEC、AC16、293 和 LO2 细胞的细胞凋亡检测 B LO2 细胞的 MTT 检测 C C6/36 细胞对照组, DENV-1 处理组, 同时加入 DENV-1 和利巴韦林(RBV)处理组和同时加入 DENV-1 和生脉饮(SMY)处理组的病毒空斑实验

图 1 生脉饮抗登革 1 型病毒的作用

A Apoptosis detection of C6/36, 293, HBMEC, AC16 and LO2 cells B MTT detection of LO2 cells C The cytopathic effect assay was performed in C6/36 cell control group, DENV-1 infected group, DENV-1 and Ribavirin (RBV) treatment group and DENV-1 and Shengmai Yin(SMY) treatment group

Fig. 1 The effect of Shengmai Yin against DENV-1

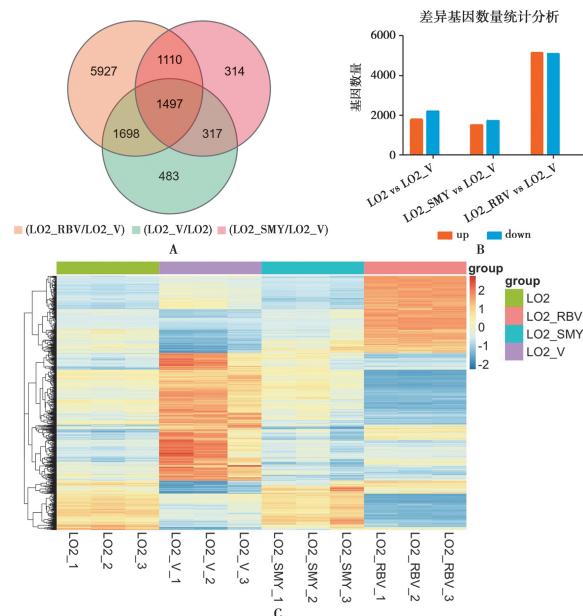
### 2 生脉饮对 DENV-1 感染 C6/36 细胞的影响

DENV-1感染组细胞出现明显致细胞病变效应,利巴韦林和生脉饮处理组均未观察到明显的致细胞病变效应,表明生脉饮能抑制DENV-1感染细胞(图1C)。

### 3 差异基因表达水平分析

为了阐明生脉饮对DENV-1的作用机制,对四组不同处理的LO2细胞进行转录组测序。正常对照组和DENV-1组相比较,共有3 995个差异基因,其中上调基因1 786个,下调基因2 209个。利巴韦林组和DENV-1组相比较,共有10 232个差异基因,其中上调基因5 138个,下调基因5 094个。生脉饮组和DENV-1组相比较,共有3 288个差异基因,其中上调基因1 505个,下调基因1 733个(图2A)。通过组与组之间进行两两比较,正常对照组和DENV-1组 vs 利巴韦林组和DENV-1组共有3 193个差异基因。正常对照组和DENV-1组 vs 生脉饮组和DENV-1组共有1 814个差异基因。其中三组共有1 497个差异基

因(图2B)。进一步筛选与DENV-1组相比,生脉组和正常对照组表达量趋势相同的基因做热图分析,共有上调基因637个,下调基因1 090个。可见生脉饮可以使DENV-1导致的基因异常表达恢复正常。此外,利巴韦林组的这些基因大部分处于过度上调或下调的状态,少部分DENV-1组表达量异常的基因未发生改变(图2C)。



A 韦恩图显示 DENV-1 处理的 LO2 细胞组 (LO2\_V) 与 LO2 细胞对照组 (LO2), 同时加入 DENV-1 和生脉饮处理的 LO2 细胞组 (LO2\_SMY) 以及同时加入 DENV-1 和利巴韦林处理的 LO2 细胞组 (LO2\_RBV) 之间的差异基因数量统计 B LO2 和 LO2\_V, LO2\_SMY 和 LO2\_V, 以及 LO2\_RBV 和 LO2\_V 三个组上调和下调基因数量 C LO2, LO2\_V, LO2\_SMY 和 LO2\_RBV 四个组的差异基因热图

图 2 生脉饮抗 DENV-1 的差异基因分析

A Venn diagram illustrating the number of differentially expressed genes with shared and unique expression between LO2, LO2\_SMY and LO2\_RBV group compared to the LO2\_V group B Changes in gene expression profile. The numbers of up- and down-regulated genes between LO2 and LO2\_V, LO2\_SMY and LO2\_V, LO2\_RBV and LO2\_V are summarized C Heat maps of LO2, LO2\_V, LO2\_SMY and LO2\_RBV groups.

Fig. 2 Differential genes analysis of Shengmai Yin against DENV-1

### 4 差异基因 KEGG 通路富集分析

对差异基因进行KEGG通路富集分析,正常对照组和DENV-1组相比较,主要富集在细胞周期、细胞凋亡、p53信号通路、mTOR信号通路、胰岛素抵抗和细胞黏着等信号通路上(图3A)。生脉饮组和DENV-1组相比较,主要富集在细胞周期、p53信号通路、PI3K-Akt信号通路、FoxO信号通路和胰岛素抵抗等信号通路上(图3B)。利巴韦林组和DENV-1组相比较,主要富集在细胞周期、免疫、RNA降解、病毒感染和细菌感染等信号通路上(图3C)。

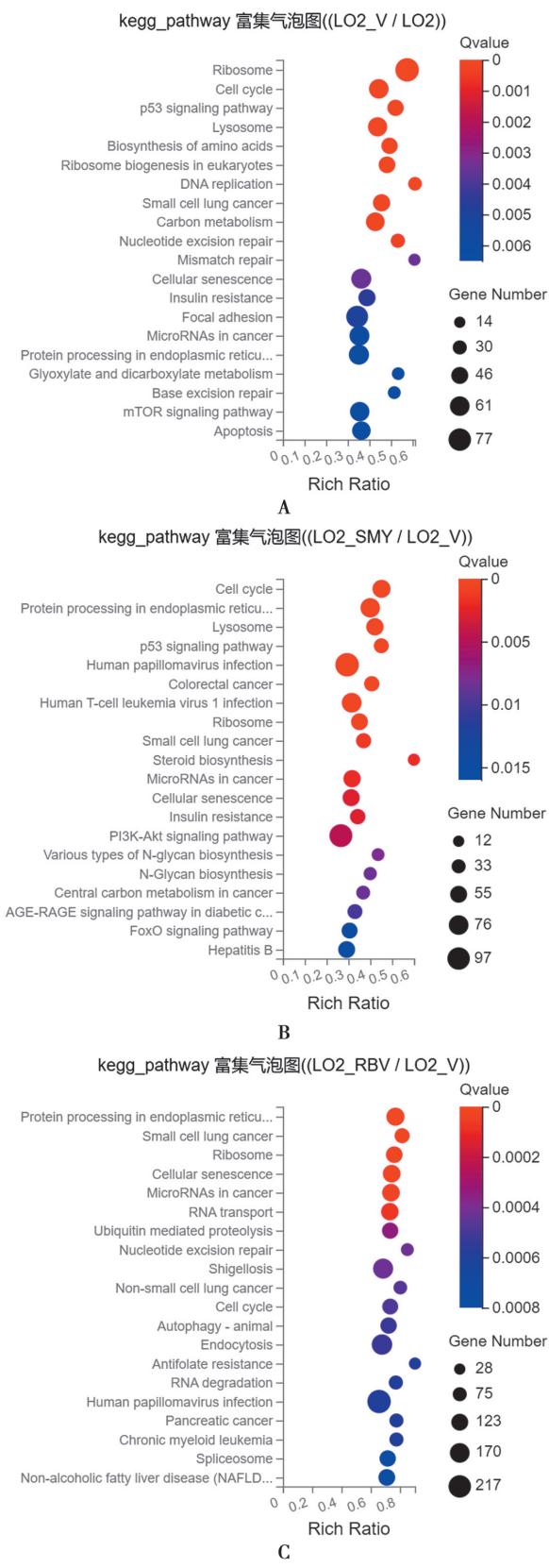


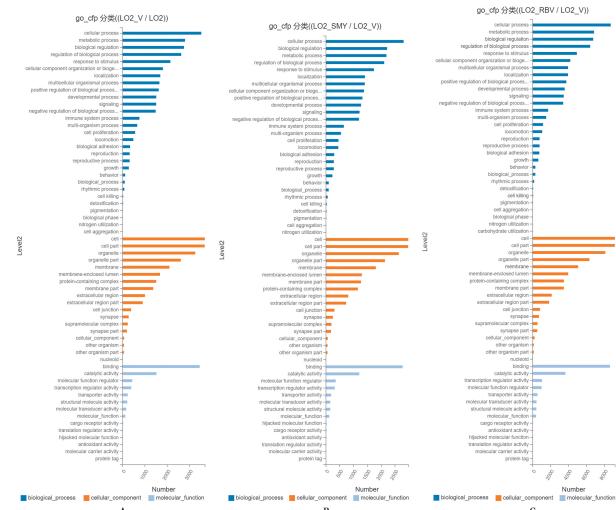
图3 差异基因KEGG富集分析

KEGG pathway enrichment analysis of deferentially expressed genes between LO2 and LO2\_V(A),LO2\_SMY and LO2\_V(B),LO2\_RBV and LO2\_V(C)

Fig.3 KEGG pathway enrichment analysis of differential gene

## 5 差异基因GO注释分类

对差异基因进行GO注释分类,正常对照组和DENV-1组相比较,共有细胞组分17个,分子功能14个,生物学过程29个,其中生物学过程主要集中在细胞过程,代谢过程,生物调控,生物过程调控和刺激反应(图4A)。生脉饮组和DENV-1组相比较,共有细胞组分18个,分子功能14个,生物学过程28个(图4B)。利巴韦林组和DENV-1组相比较,共有细胞组分18个,分子功能14个,生物学过程30个(图4C)。三个组GO注释分类的生物学过程均集中在细胞过程、生物调节、代谢过程、生物过程调节和刺激反应。



(A)LO2 和 LO2\_V、(B)LO2\_SMY 和 LO2\_V 以及(C)LO2\_RBV 和 LO2\_V 之间的两两GO注释分类

图4 差异基因GO注释分类

GO annotation classification of differentially expressed genes between LO2 and LO2\_V(A),LO2\_SMY and LO2\_V(B),LO2\_RBV and LO2\_V(C)

Fig.4 GO annotation classification of differentially expressed genes

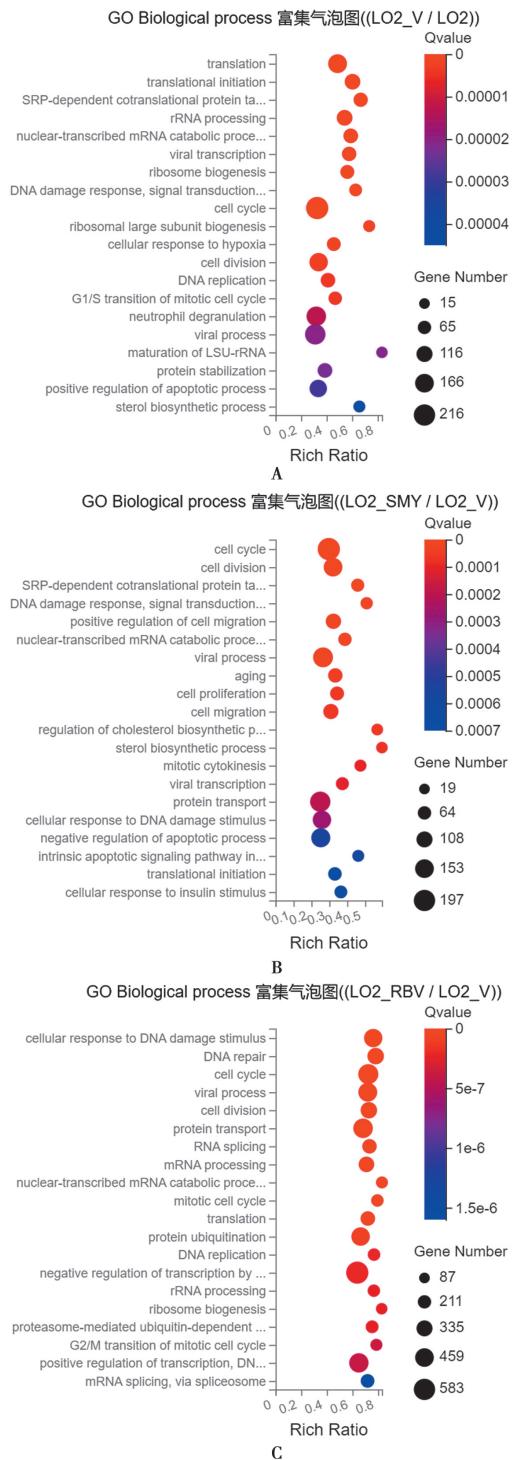
## 6 差异基因GO富集分析

对差异基因进行GO生物过程富集分析,正常对照组和DENV-1组相比较,主要富集细胞周期、DNA复制、DNA损伤、蛋白翻译、病毒转录和病毒进程等(图5A)。生脉饮组和DENV-1组相比较,主要富集在细胞周期、DNA复制、DNA损伤、蛋白翻译、病毒转录和病毒进程等(图5B)。利巴韦林组和DENV-1组相比较,主要富集在细胞周期、DNA复制、蛋白转运、蛋白泛素化和病毒进程等(图5C)。

## 讨 论

登革热是传播速度较快的蚊媒传染病,其发病率随着全球变暖、经济贸易和旅游业发展等多种因素而增加<sup>[9]</sup>,在过去50年中,全球登革热的发病率增加了30倍<sup>[10]</sup>。2014年和2019年我国发生了两次登革热大爆发,病例数分别为46 033和22 599例<sup>[11-12]</sup>。登革

热依然是全球重大的公共卫生问题<sup>[13]</sup>。



(A)LO2 和 LO2\_V、(B)LO2\_SMY 和 LO2\_V 以及(C)LO2\_RBV 和 LO2\_V 之间的两两 GO 生物过程通路富集分析

图 5 差异基因 GO 生物过程富集分析

GO Biological process enrichment analysis of differentially expressed genes between LO2 and LO2\_V(A), LO2\_SMY and LO2\_V(B), LO2\_RBV and LO2\_V(C)

Fig. 5 GO Biological process enrichment analysis of differentially expressed genes

目前依然没有应用于临床的特效抗登革病毒药物,登革热的治疗方法主要为对症治疗(降温治疗、液体疗法、止血治疗等)<sup>[14]</sup>。登革热的西医治疗方法主

要有激素治疗和抗病毒药物治疗,但西药治疗局限性较大也存在很多副作用,例如使用糖皮质激素时要配合胃酸分泌抑制剂或胃黏膜保护剂以减少消化道黏膜的损伤;目前的抗病毒药物如利巴韦林和干扰素等的疗效也存在局限性<sup>[15]</sup>;使用阿司匹林、布洛芬或其他的非甾体类抗炎剂降温可能诱发消化道出血;阿司匹林还可引起 Reye 综合征<sup>[16]</sup>。

而中医药在防治传染病方面有其独特优势<sup>[17]</sup>。登革热在中医学可归类于“温疫”范畴<sup>[18]</sup>。中医学认为,登革热发生的内在因素乃正气不足,抗邪力低下,复感疫疠毒邪而致。登革热病机为疫毒内侵,毒盛致热,热毒壅盛,迫血妄行,毒疫交结,津液、气血耗伤,导致心、肝、肾、脑、胃肠等脏腑功能失常或实质性损害,而出现系列病证<sup>[19]</sup>。中医长期参与登革热治疗研究,张沛等人对对照组予以西医常规治疗,观察组在此基础上联合清瘟败毒饮加减及血必净注射液治疗,临床观察发现,在缩短退热时间、缓解症状、提升白细胞、血小板计数、缓解肝脏损害等方面,中西医结合治疗登革热的临床疗效优于单纯西医治疗<sup>[20]</sup>。梁伟波等<sup>[21]</sup>对广州地区 257 例登革热病例临床分析发现,结合中医药干预,预后良好。还有研究报道表明中药能有效提高登革热患者的临床疗效,增加患者的白细胞和淋巴细胞计数,改善其临床症状和体征<sup>[22]</sup>。生脉饮在治疗急性病毒性心肌炎可使患者的临床症状明显改善,有较好的临床效果<sup>[23]</sup>。使用高浓度生脉饮抗柯萨奇病毒作用较强,在低浓度时也能增强细胞抗病毒作用及减轻已感染细胞的病变<sup>[24]</sup>。上述研究表明,中医药在治疗登革热以及生脉饮在抗炎和抗病毒方面有重要作用。本研究表明,生脉饮能明显抑制 DENV-1 在 C6/36 细胞中复制,通过转录组测序研究发现,生脉饮可通过抑制病毒转录、翻译等过程发挥抗 DENV-1 作用。

不同于西药作用于某一疾病的单个靶基因和作用途径,中医学根据中药性能不同,有选择的将多种药物结合在一起使用,达到增效或抵消副作用的目的,由于其复杂的化合物和这些物质之间可能的相互作用,可以作用于多个靶基因和信号通路<sup>[25-26]</sup>。本研究通过转录组分析发现生脉饮通过 p53 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、FoxO 信号通路和胰岛素抵抗等多条信号通路发挥抗作用。此外,本研究发现利巴韦林作为抗病毒药物,虽然在治疗登革热方面有疗效,但是它也会导致大量无关的基因、信号通路和细胞活动发生变化。

综上所述,本研究发现生脉饮通过抑制病毒转录翻译等基因的表达以及干预 PI3K-Akt 等多条信号通路,发挥抗 DENV-1 感染的作用,为进一步深入探索生脉饮治疗登革热的分子机制奠定了基础。

## 【参考文献】

- [1] 汪欢,朱爱琴,徐红梅,等.2008-2020年上海浦东新区登革热流行特征分析[J].公共卫生与预防医学,2022(3):33.
- [2] Bhatt S,Gething PW,Brady OJ,et al. The global distribution and burden of dengue[J]. Nature,2013,496 (7446):504-507.
- [3] Shepard DS,Undurraga EA,Halasa YA,et al. The global economic burden of dengue: a systematic analysis[J]. Lancet Infect Dis,2016,16(8):935-941.
- [4] Harapan H,Michie A,Sasmono RT,et al. Dengue: A minireview [J]. Viruses. 2020,12(8):829.
- [5] 沈烈行,冯晓,高秀芝.生脉饮药理作用与临床应用[J].医药导报,2003,22(9):634-635.
- [6] 黄慧星,郑学礼.金丝桃素抗登革病毒活性研究[J].中国病原生物学杂志,2023,18(8):886-891,898.
- [7] 林美斯,陈哲杰,罗林,等.生脉饮研究现状及其制剂开发中的问题分析[J].中药与临床,2017(2):69-73.
- [8] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.登革热诊疗指南2014年第2版[J].传染病信息,2014,27(5):262-265.
- [9] 戴安,舒云,刘平华,等.登革热流行现状及诊疗进展[J].现代临床医学,2022,48(1):69-72.
- [10] 刘臻,胡泰洪,吴宇航,等.中西医结合治疗登革热临床疗效观察[J].河南中医,2020,40(12):4.
- [11] 刘起勇.我国登革热流行新趋势、防控挑战及策略分析[J].中国媒介生物学及控制杂志,2020,31(1):6.
- [12] 岳玉娟,刘小波,任东升,等.中国大陆2005-2020年登革热流行病学特征分析[J].中国媒介生物学及控制杂志,2023,34(6):761-766,818.
- [13] Roy SK,Bhattacharjee S. Dengue virus: Epidemiology, biology and disease aetiology[J]. Canadian J Microbiol,2021, 67(10): 687-702.
- [14] 林毅雄,黄辉涛,魏泉德,等.2015-2020年珠海市登革热流行情况
- (上接1024页)
- [10] Rahman MM,Islam MR,Shohag S,et al. Microbiome in cancer: Role in carcinogenesis and impact in therapeutic strategies [J]. Biomed Pharmacother,2022,149:112898.
- [11] Zhao LY,Mei JX,Yu G,et al. Role of the gut microbiota in anticancer therapy: from molecular mechanisms to clinical applications [J]. Signal Transduct Target Ther,2023,8(1):201.
- [12] Diwan P,Nirwan M,Bahuguna M,et al. Evaluating alterations of the oral microbiome and its link to oral cancer among betel quid chewers:Prospecting reversal through probiotic intervention [J]. Pathogens,2023,12(8):521-528.
- [13] Li Q,Hu Y,Zhou X,et al. Role of oral bacteria in the development of oral squamous cell carcinoma [J]. Cancers (Basel),2020,12(10):2693.
- [14] Gao S,Zhang Z,Sun K,et al. Upper gastrointestinal tract microbiota with oral origin in relation to oesophageal squamous cell carcinoma [J]. Ann Med,2023,55(2):2295401.
- [15] Lin D,Yang L,Wen L,et al. Crosstalk between the oral microbiota,mucosal immunity, and the epithelial barrier regulates oral mucosal disease pathogenesis [J]. Mucosal Immunol,2021, 14(6):1247-1258.
- [16] Lamont RJ,Fitzsimonds ZR,Wang H,et al. Role of porphyromonas gingivalis in oral and orodigestive squamous cell carcinoma [J]. Periodontol 2000,2022,89(1):154-165.
- [17] Makinen AI,Pappalardo VY,Buijs MJ,et al. Salivary microbiome profiles of oral cancer patients analyzed before and after treatment [J]. Microbiome,2023,11(1):171.
- [18] Ye P,Liu Y,Cai YJ,et al. Microbial community alteration in tongue squamous cell carcinoma [J]. Appl Microbiol Biotechnol,2021,105(21-22):8457-8467.
- [19] 基于高通量测序的病原体筛查通用准则(T/CMPA 010-2020) [J].中国病原生物学杂志,2021,16(6):738-740.
- [20] Anjali K,Manzoor M,Suryavanshi MV,et al. Dysbiosis of the oral microbiota composition is associated with oral squamous cell carcinoma and the impact of radiotherapy: a pilot study [J]. FEMS Microbiol Lett,2023,370: 2850.
- [21] Nie F,Wang L,Huang Y,et al. Characteristics of microbial distribution in different oral niches of oral squamous cell carcinoma [J]. Front Cell Infect Microbiol,2022,12: 905653.
- [22] Sarkar P,Malik S,Laha S,et al. Dysbiosis of oral microbiota during oral squamous cell carcinoma development [J]. Front Oncol,2021,11:614448.
- [23] McIlvanna E,Linden GJ,Craig SG,et al. Fusobacterium nucleatum and oral cancer:a critical review [J]. BMC Cancer,2021,21(1):1212.
- [24] Fujiwara N,Kitamura N,Yoshida K,et al. Involvement of fusobacterium species in oral cancer progression: A literature review including other types of cancer [J]. Int J Mol Sci,2020,21 (17):37821
- [25] Tett A,Pasolli E,Masetti G,et al. Prevotella diversity,niches and interactions with the human host [J]. Nat Rev Microbiol,2021,19(9):585-599.
- [26] Zhao M,Chu J,Feng S,et al. Immunological mechanisms of inflammatory diseases caused by gut microbiota dysbiosis: A review [J]. Biomed Pharmacother,2023,164: 114985.
- [27] Zaccone R,Renzi A,Chalfon C,et al. Environmental risk factors for the development of oral squamous cell carcinoma in cats [J]. J Vet Intern Med,2022,36(4):1398-1408.

况与病毒基因特征分析[J].中国病原生物学杂志,2021,16(6):701-704.

- [15] 张亚萍,刘增加,韩雪玲,等.登革热和登革出血热的临床治疗进展[J].医学动物防制,2015(4):3.
- [16] 张复春.登革热的流行特点及治疗[J].医学与哲学,2010(9):3.
- [17] 何姿函,黄志刚,李静姝,等.中医药治疗登革热研究进展[J].现代中西医结合杂志,2023,32(14):2029-2033.
- [18] 刘臻,胡泰洪,吴宇航,等.中西医结合治疗登革热临床疗效观察[J].河南中医,2020,40(12):4.
- [19] 刘叶,钟嘉熙,阮静.登革热的中医辨治[J].新中医,2007,39 (11):97-98.
- [20] 张沛,谭行华,张复春,等.中西医结合治疗登革热临床研究[J].中国中医急症,2014,23(8):3.
- [21] 梁伟波,谢文源,刘云涛,等.2013年广州地区257例登革热病例临床分析[C].中国中医急症,2014,23(9):1659-1661.
- [22] Zhou W,Li Q,Guan SC,et al. Observation of 41 cases of Dengue fever patients with DENV-1 treated with a combination of traditional Chinese medicine and Western medicine for damp-heat stagnation type[J]. J Tradit Chin Med,2020,61:1431-1434.
- [23] 许之民,赵美华,陆秋芬,等.生脉散对急性病毒性心肌炎临床症状及炎性损伤指标的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2003(2):86-87.
- [24] 张凤英,高玉峰,宋鸿儒.黄芩茎叶提取物与生脉饮抗柯萨奇病毒B3的体外研究[J].天津医药,2005(11):716-718.
- [25] 王淑玲,谢恬,李铖璐,等.分子配伍理论科学内涵及在现代中药研发中的应用[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(1):338-341.
- [26] Li C,Lin L,Tang Y,et al. Molecular mechanism of ChaiShi JieDu granule in treating dengue based on network pharmacology and molecular docking: A review[J]. Medicine (Baltimore),2023,102(52):e36773.

【收稿日期】 2024-03-23 【修回日期】 2024-06-12

【收稿日期】 2024-04-30 【修回日期】 2024-07-22