

• 方药研究 •

基于网络药理学探讨银翘散治疗上呼吸道感染的作用机制*

廖 陈, 夏霜莉, 李秀芳, 代 蓉[△]

(云南中医药大学药理教研室, 云南 昆明 650500)

摘要: **目的** 运用网络药理学预测银翘散治疗上呼吸道感染(upper respiratory tract infection, URTI)的潜在靶点及作用机制。**方法** 通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)筛选银翘散中的有效活性成分及相关靶点,采用 OMIM 数据库和 GeneCards 数据库检索 URTI 疾病相关靶点,继而获取银翘散和 URTI 的交集靶点,结合 STRING 数据库构建蛋白质相互作用(PPI)网络,应用 Cytoscape 软件实现“成分-疾病-靶点”网络的可视化,并通过 DAVID 数据库进行基因本体论(GO)富集分析与京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,预测其可能的作用机制。**结果** 银翘散共有 150 个活性成分和 117 个“药物-疾病”共同靶点,主要活性成分包括了连翘脂、木犀草素、槲皮素、山柰酚、连翘醇、豆甾醇等,关键靶点主要涉及 IL-6、TP53、MAPK1、APP、VEGFA、TNF 等基因。靶点富集分析结果表明,GO 功能相关条目 479 个,主要涉及炎症、应激反应、免疫应答、信号传导等方面;KEGG 相关通路 121 条,主要涉及 Toll 样受体信号通路、TNF 信号通路、HIF-1 信号通路和 PI3K/Akt 信号通路等。**结论** 银翘散主要作用于 IL-6、TP53、MAPK1、TNF 等核心靶点,通过抗炎、抗病毒和调节免疫等相关通路来发挥治疗上呼吸道感染的作用。

关键词: 银翘散;上呼吸道感染;网络药理学;作用机制;信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2019)05-0055-07

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2019.05.012

Research on Mechanism of Yinqiao Powder in the Treatment of Upper Respiratory Tract Infection Based on Network Pharmacology

LIAO Chen, XIA Shuangli, LI Xiufang, DAI Rong

(Department of Pharmacology, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: Objective To predict the potential target and mechanism of Yinqiao Powder in the treatment of upper respiratory tract infection (URTI) by network pharmacology. **Methods** The active components and related targets of Yinqiao were screened by traditional Chinese medicine system pharmacology database and analysis platform (TCMSP), the disease-related targets of URTI were searched by OMIM database and GeneCards database. Then get the intersection targets of Yinqiao Powder and URTI. The protein-protein interaction (PPI) network was constructed with STRING database, and the visualization of “component-disease-target” network was realized by Cytoscape software. Gene ontology (GO) enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were carried out by DAVID database to predict its potential mechanism. **Results** 150 active components and 117 “drug-disease” common targets were obtained from Yinqiao Powder. The main active ingredients include (-)-phillygenin, luteolin, quercetin, kaempferol, forsythiol, stigmasterol, etc. The key targets involved IL-6, TP53, MAPK1, APP, VEGFA, TNF, etc. The results of enrichment analysis showed that there were 479 items related to GO function, including inflammation and stress reaction, immune response, signal transduction and so on. There were 121 KEGG related pathways, including Toll-like receptor signaling pathway, TNF signaling pathway, HIF-1 signaling pathway and PI3K/Akt signaling pathway. **Conclusion** Yinqiao

收稿日期: 2019-10-06

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81860724);云南省科技厅-云南中医药大学应用基础研究联合专项(2019FF002-(054))

第一作者简介: 廖陈(1993-),女,在读硕士研究生,研究方向:中西医结合基础。

△通信作者: 代蓉, E-mail: 1647029626@qq.com

Powder mainly had effects on IL-6, TP53, MAPK1, TNF and other core targets, and played a role in the treatment of upper respiratory tract infections through anti-inflammatory, antiviral and immunoregulation pathways.

KEY WORDS: Yinqiao Powder; upper respiratory tract infection; network pharmacology; mechanism; signaling pathway

上呼吸道感染 (upper respiratory tract infection, URTI) 简称“上感”, 是自鼻腔至咽喉部急性炎症的总称, 具有易传染、发病率高的特点。URT I 常在气候骤变时易于流行, 大部分由流感病毒、鼻病毒、冠状病毒和呼吸道合胞病毒等病原体感染引起, 感染过程持续发展可诱发支气管炎、中耳炎、肺炎等并发症, 严重者甚至出现呼吸窘迫综合征和呼吸衰竭^[1]。据统计, 呼吸系统疾病仍居于人口死亡率的第 4 位, 且患病率呈逐年上升趋势^[2]。目前, 对于 URT I 的防治, 临床常用解热镇痛抗炎药进行对症治疗, 采用流感病毒疫苗接种进行预防, 但病毒具有种类多、变异速度快的特点, 使疫苗接种难以取得理想效果^[3-4]。因此, 寻找有效防治 URT I 的药物具有重要意义。

银翘散始载于温病学家吴鞠通的《温病条辨》由金银花、连翘、桔梗、薄荷等中药组成, 具有辛凉透表、清热解毒的功效, 主治风温初起, 头痛口渴, 咳嗽咽痛等。临床常用于治疗呼吸道感染、肺炎、水痘、麻疹、猩红热等感染性疾病。现代药理研究表明, 银翘散具有抗炎止痛^[5]、抑制病毒^[6]和调节免疫^[7]等作用, 但其具体机制仍待探究。基于中药复方具有多成分、多途径、多靶点治疗疾病的特点, 可通过借助数据挖掘以及靶点预测等多种手段, 从系统的角度剖析药效物质与相关疾病之间特定节点的相互作用, 多层次、多角度地阐述中药复方的整体调节作用机制^[8]。本研究将采用网络药理学的方法, 通过获取银翘散防治 URT I 的主要活性成分、作用靶点和信号通路, 构建蛋白相互作用网络, 进而深入挖掘银翘散治疗 URT I 的可能作用机制, 并为临床应用银翘散防治 URT I 提供依据。

1 数据与方法

1.1 获取银翘散化学成分及筛选活性成分 通过中药系统药理学分析平台 (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP)^[9] (<http://www.tcmspw.com/tcmsp.php>) 检索银翘散中金银花、连翘、薄荷、牛蒡子等多味中药所含的化学成分, 对所有成分进行初步筛选, 依据药物 ADME (absorption, distribution, metabolism, excretion) 特性, 以口服生物利用度 (oral bioactivity,

OB) 和药物相似性 (drug-likeness, DL) 作为筛选指标, 设置 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$ 为筛选标准, 确定符合条件的活性成分。

1.2 预测银翘散潜在靶点 基于 TC MSP 数据库, 将银翘散中的活性成分与相应靶点逐一匹配, 运用 UniProt 数据库 (<http://www.uniprot.org/>)^[10] 和 PubMed 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) 查询与靶点蛋白相应的官方基因名, 物种限定为“Homo sapiens”, 进行标准化处理。

1.3 获取 URT I 疾病相关靶点 以“upper respiratory tract infection”为关键词, 在 Online Mendelian Inheritance In Man (OMIM) (<http://www.omim.org/>)^[11] 数据库和 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)^[12] 数据库中进行检索, 获取上呼吸道感染的相关疾病靶点。

1.4 构建“成分-疾病-靶点”网络 利用 Venn 在线平台 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 绘制“药物-疾病”韦恩图, 获取药物和疾病共有靶点。将银翘散的活性成分与相应疾病靶点导入 Cytoscape 软件^[13]中, 构建“成分-疾病-靶点”网络, 得到银翘散成分和上感疾病靶点的网络图。基于节点、边、关联性设置不同颜色, 节点 (node) 表示活性成分和作用靶点, 边 (edge) 表示 2 个节点之间的相互作用。

1.5 构建蛋白网络互作图 将银翘散和 URT I 的共有靶点导入 STRING 在线平台 (<http://string-db.org/>)^[14], 种属选择为“Homo sapiens”, 置信区间设置为大于 0.7, 保存相应文本分析结果并导入 Cytoscape, 实现蛋白相互作用网络的可视化。

1.6 生物学过程与通路富集分析 为了分析银翘散治疗 URT I 的生物学过程和细胞信号通路传导过程, 继而进一步阐明银翘散的作用机制, 将银翘散治疗 URT I 的作用靶点导入 DAVID 数据库 (<http://david.ncifcrf.gov/>)^[15], 物种限定为“Homo sapiens”, 设定 $P < 0.01$, 进行生物过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 富集分析^[16], 并选取排名前 15 的分析结果。

2 结果

2.1 银翘散中有效活性成分及潜在靶点的收集与筛选 通过 TCMSPP 数据库获取银翘散所含的化学成分,设置 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$ 为筛选标准,以确定金银花、连翘、薄荷、牛蒡子、甘草、荆芥穗、淡豆豉、桔梗和芦根分别含有 23、23、10、2、92、8、2、7 和 1 个有效活性成分。主要活性成分包括了连翘脂((-)-phillygenin)、木犀草素(luteolin)、槲皮素(queracetin)、山柰酚(kaemferol)、连翘醇(forsythinol)、6-羟基黄酮(6-monohydroxyflavone)、芦荟大黄素(aloe-emodin)、甾甾醇(stigmasterol)等。由于不同中药可能存在相同活性成分和共同靶点,祛除重复值后,银翘散全方共获得 150 个有效化学成分和 162 个潜在靶点,举例 OB 值排名前十的化合物(表 1)。

2.2 URTI 疾病靶点筛选 以“upper respiratory tract infection”为关键词,通过 OMIM 和 GeneCards 数据库分别检索获得 154 个和 4 988 个疾病相关靶点,祛除重复值后,共获得 5 103 个疾病相关靶点。

2.3 构建“成分-疾病-靶点”网络 通过上述在线数据库的筛选,获取银翘散的药物作用靶点共 162 个, URTI 的疾病相关靶点共 5 103 个,继而取其交集部分靶点,明确“药物-疾病”共同靶点 117 个,即药物作用于疾病的潜在作用靶基因。将银翘散 150 个活性成分及 117 个“药物-疾病”共同靶点的对应文本信息导入 Cytoscape 软件中,构建“成分-疾病-靶点”网络

表 1 银翘散中 OB 值排名前 10 的化合物基本信息

Molecule ID	Molecule name	OB	DL	药物
MOL003330	(-)-phillygenin	95.04	0.57	连翘
MOL002311	glycyrol	90.78	0.67	甘草
MOL003006	(-)-(3R,8S,9R,9aS,10aS)-9-ethenyl-8-(beta-D-glucopyranosyloxy)-2,3,9,9a,10,10a-hexahydro-5-oxo-5H,8H-pyrano[4,3-d]oxazolo[3,2-a]pyridine-3-carboxylic acid qt	87.47	0.23	金银花
MOL003306	6-monohydroxyflavone	85.12	0.57	连翘
MOL004990	7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-aryl coumarin	83.71	0.27	甘草
MOL000471	aloe-emodin	83.38	0.24	薄荷
MOL003322	forsythinol	81.25	0.57	连翘
MOL004904	licopyranocoumarin	80.36	0.65	甘草
MOL004891	shinpterocarpin	80.30	0.73	甘草
MOL003370	onjixanthone I	79.16	0.30	连翘

(图 1),共有 336 个节点和 3 758 条边,其中不同颜色三角形代表不同中药所含成分,蓝色长方形代表成分对应的靶点。

2.4 构建蛋白相互作用网络 基于 STRING 数据库,将 117 个共同靶点进行数据分析,结果以文本形式导出,然后导入 Cytoscape 3.7.2 软件中以实现可视化,节点大小代表该节点在网络中的重要程度(图 2)。由图可见,银翘散活性成分主要作用于白介素 6

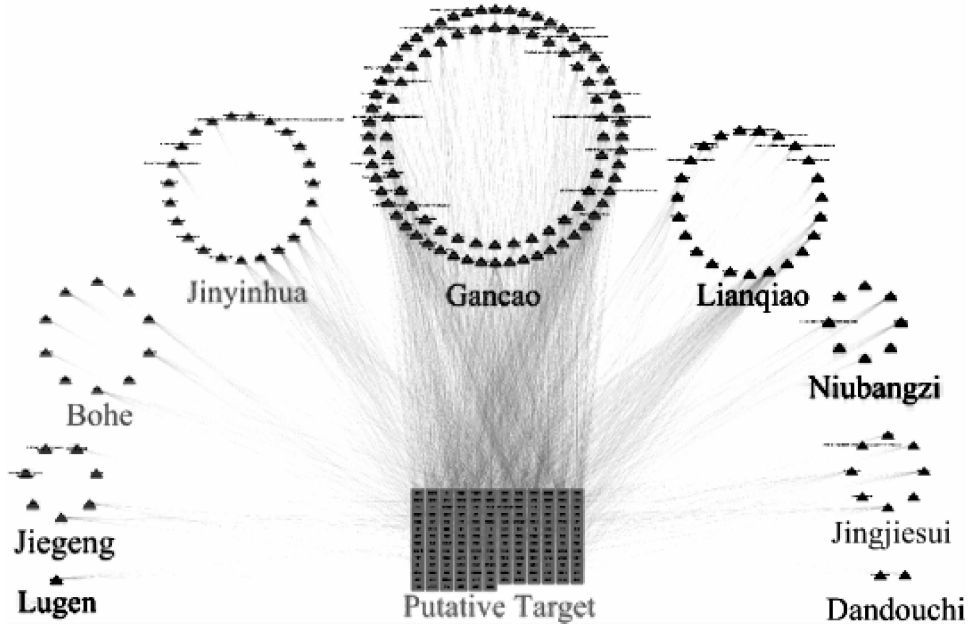


图 1 “成分-疾病-靶点”网络

(interleukin-6,IL-6)、肿瘤蛋白 P53 (tumor protein P53,TP53)、丝裂原活化蛋白激酶 1(mitogen-activated protein kinase 1,MAPK1)、淀粉样蛋白(amyloid beta precursor protein,APP)、血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A,VEGFA)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor,TNF)、表皮生长因子(epidermal growth factor,EGF)等靶基因,提示银翘散的活性成分可通过同时作用于多个靶点来影响和干预疾病的发展进程。

2.5 生物学过程和通路富集分析 对银翘散治疗 URTI 的核心靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析,以 $P<$

0.01 为筛选指标,富集出显著生物学过程和通路。GO 富集分析包括了生物过程(BP)、细胞组分(CC)和分子功能(MF) 3 个部分。BP 主要富集在外部刺激及小分子代谢过程的调节,主要涉及药物、缺氧、有毒物质相关的应激反应,炎症反应,信号传导,细胞的增殖迁移和凋亡等;CC 主要涉及在细胞外空间、质膜、细胞表面、受体复合物、细胞外基质等;MF 主要涉及酶结合、丝氨酸性内肽酶活性、蛋白质结合和蛋白酶结合等(表 2)。KEGG 分析结果显示银翘散治疗 URTI 共涉及 121 条通路,选取前 15 条相关通路(表 3),主要涉及 TNF 信号通路、PI3K/Akt 信号通路、HIF-1 信号

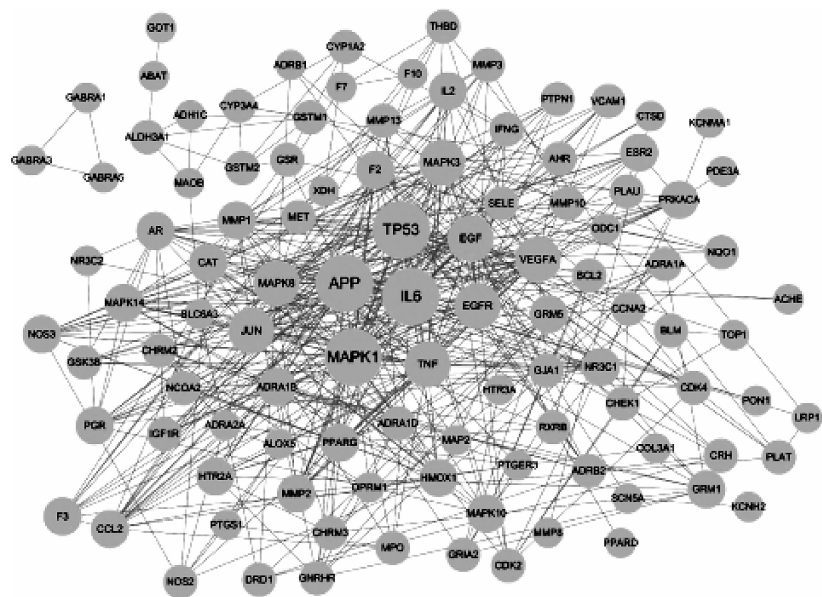


图 2 蛋白相互作用网络

表 2 靶基因 GO 富集分析

Term	Count	<i>P</i>	Pop Hits	FDR
GO_BP:0042493~response to drug	19	3.00E-12	304	5.07E-09
GO_BP:0007568~aging	15	7.63E-12	165	1.29E-08
GO_BP:0001666~response to hypoxia	15	1.34E-11	172	2.27E-08
GO_BP:0008284~positive regulation of cell proliferation	21	5.89E-11	466	9.95E-08
GO_BP:0051090~regulation of sequence-specific DNA binding transcription factor activity	7	1.52E-08	25	2.56E-05
GO_CC:0005615~extracellular space	35	1.46E-12	1347	1.87E-09
GO_CC:0005886~plasma membrane	58	3.14E-10	4121	4.03E-07
GO_CC:0005887~integral component of plasma membrane	29	4.78E-08	1415	6.13E-05
GO_CC:0005901~caveola	8	1.81E-07	65	2.32E-04
GO_CC:0009986~cell surface	16	1.80E-06	542	0.002308
GO_MF:0019899~enzyme binding	19	1.26E-11	333	1.79E-08
GO_MF:0004252~serine-type endopeptidase activity	14	2.17E-08	255	3.07E-05
GO_MF:0008144~drug binding	9	4.98E-08	76	7.04E-05
GO_MF:0003707~steroid hormone receptor activity	8	1.06E-07	56	1.50E-04
GO_MF:0042803~protein homodimerization activity	20	5.37E-07	730	7.59E-04

通路等、Toll 样受体信号通路等，这些通路主要与炎症反应、氧化应激、免疫调节、细胞凋亡相关(图 3)。

结果表明银翘散可通过多靶点、多环节的途径治疗上呼吸道感染。

表 3 靶基因 KEGG 富集分析

Term	Count	<i>P</i>	Pop Hits	FDR
hsa05200:Pathways in cancer	26	8.54E-10	393	1.08E-06
hsa04080:Neuroactive ligand-receptor interaction	22	1.04E-09	277	1.32E-06
hsa04020:Calcium signaling pathway	18	1.62E-09	179	2.06E-06
hsa04668:TNF signaling pathway	14	8.01E-09	107	1.02E-05
hsa04066:HIF-1 signaling pathway	13	2.26E-08	96	2.87E-05
hsa04540:Gap junction	11	8.91E-07	88	0.001131
hsa05133:Pertussis	10	2.03E-06	75	0.002579
hsa04660:T cell receptor signaling pathway	11	2.92E-06	100	0.003714
hsa04510:Focal adhesion	14	1.62E-05	206	0.020538
hsa04151:PI3K-Akt signaling pathway	18	2.01E-05	345	0.025482
hsa04621:NOD-like receptor signaling pathway	8	2.24E-05	56	0.028464
hsa05164:Influenza A	12	7.46E-05	174	0.094651
hsa04722:Neurotrophin signaling pathway	10	9.46E-05	120	0.120045
hsa04620:Toll-like receptor signaling pathway	9	0.000225	106	0.285444
hsa04370:VEGF signaling pathway	7	3.41E-04	108	0.432609

注:Term 表示显著富集的 GO/KEGG 条目;Count 表示显著富集到某个条目的基因个数;*P* 表示显著富集的 *P* 值;Pop Hits 表示已被注释到某个条目的基因数量;FDR 表示伪发现率。

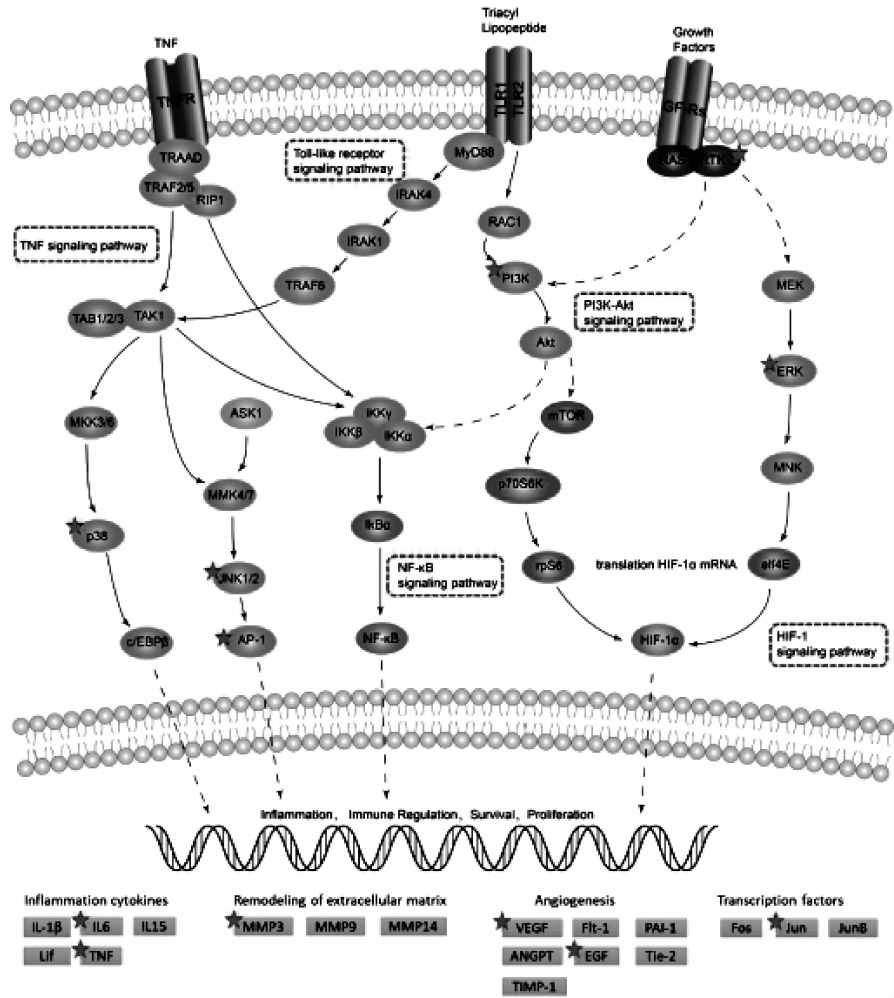


图 3 银翘散治疗 URTI 的相关信号通路

3 讨论

网络药理学突破了“一个药物、一个靶点、一种疾病”的传统药物研发模式,通过采集数据信息,构建“成分-疾病-靶点”相关网络,系统分析药物对疾病的干预与影响,从而揭示药物“多成分、多途径、多靶点”协同作用于人体的分子机制^[17]。本研究运用网络药理学的方法,筛选了银翘散的活性成分群、潜在作用靶点及相关信号通路,为揭示银翘散治疗呼吸道感染的作用机制研究提供新策略和科学依据。

本研究首先通过 TCMSP 数据库获取银翘散所含的化学成分,确定了金银花、连翘、薄荷、牛蒡子、甘草、荆芥穗、淡豆豉、桔梗和芦根分别含有 23、23、10、2、92、8、2、7 和 1 个有效活性成分。其主要活性成分包括了连翘脂、木犀草素、槲皮素、山柰酚、连翘醇、6-羟基黄酮、芦荟大黄素和豆甾醇等。实验研究表明,银翘散中君药金银花、连翘主要含有的木犀草素可有效抑制甲型流感病毒(influenza A virus, IAV)衣壳蛋白 I 复合物的表达,阻止 IAV 进入机体^[18],同时还可抑制 M1 巨噬细胞的极化,减少 IL-6、IL-12 和 TNF- α 等炎症因子的生成^[19],有效减轻呼吸道的炎症反应。槲皮素可通过与呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)中 M2-1 蛋白的重要结构域相互作用,有效阻止 RSV 的复制和增殖,进而抑制病毒感染宿主^[20]。山柰酚、连翘脂、豆甾醇等化合物不仅具有抗炎、抗氧化应激,还有抗菌、抗病毒的作用^[21-23],提示银翘散中的活性成分可通过协同作用的方式发挥治疗 URTI 的作用。

通过明确“药物-疾病”的 117 个交集靶点,然后将 117 个共同靶点进行蛋白相互作用网络图分析,结果提示银翘散治疗 URTI 的核心靶基因主要包括 IL-6、TNF、TP53、MAPK1 等。靶基因的 GO 和 KEGG 富集分析结果表明,GO 功能主要涉及炎症反应、氧化应激、免疫应答、细胞的增殖、分化和凋亡等生物过程,KEGG 分析结果主要富集在 Toll 样受体、TNF、PI3K/Akt、HIF-1 等信号通路(图 3)。其中,Toll 样受体信号通路负责识别感染源表面的模式蛋白并产生先天免疫应答,当气道发生炎症反应时,这条通路是连接先天免疫反应和适应性免疫的关键桥梁^[24];HIF-1 α 是 HIF-1 信号通路中的一种氧依赖性转录激活因子,在激活状态下可促使发生氧化应激和炎症

反应^[25]。Toll 样受体和 HIF-1 α 均可激活 NF- κ B 信号通路,促进炎症因子如 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的释放,加重呼吸道的炎症反应,破坏呼吸道黏膜上皮屏障^[26-28]。此外,TLRs 可促进气道上皮细胞中 III 型干扰素和 IL-6 的释放,进一步激活 T 细胞受体信号通路,调节机体的免疫功能,抵御病原微生物的入侵。TNF 信号通路主要参与细胞的生长、增殖、炎症及免疫反应,激活状态下的 TNF 信号通路能够刺激 NF- κ B 入核,进而激活 NF- κ B 信号通路,促进 TNF- α 和 IL-6 等炎症因子的释放,诱导炎症级联反应,损伤气道上皮细胞,从而引起或加重机体的炎症反应。闫树丽^[29]通过建立幼龄小鼠呼吸道合胞病毒肺炎模型,证实银翘散和玉屏风散可通过降低 NF- κ B 和 TNF- α 的表达水平,有效的抑制炎症反应,防止呼吸道合胞病毒对肺组织的损伤。PI3K/Akt 作为经典的信号通路,在细胞生长、增殖、凋亡中起到关键性的作用,当呼吸道受到感染时,PI3K 调控的下游通路被激活,进一步影响络氨酸激酶、整合素、B 细胞和 T 细胞受体的应答反应,调节机体的免疫功能。由此可见,银翘散可通过调控上述相关信号通路,减轻炎症反应、调节免疫应答,从而改善呼吸道感染的状况。

综上所述,本研究运用网络药理学挖掘了银翘散治疗上呼吸道感染的活性成分、潜在靶点及作用途径,结果表明银翘散含有连翘脂、木犀草素、槲皮素、山柰酚、连翘醇、豆甾醇等活性成分,这些活性成分作用于 IL-6、TP53、MAPK1、TNF 等关键靶点,起到抗炎、抗病毒、调节免疫、修复道粘膜屏障的作用,主要通过干预 Toll 样受体、TNF、HIF-1、PI3K/Akt 等信号通路发挥作用,银翘散治疗上呼吸道感染作用机制的数据挖掘可为后续的实验研究提供理论依据及指导。

参考文献:

- [1] GRIEF S N. Upper respiratory infections[J]. Primary Care, 2013, 40(3): 757-770.
- [2] 王辰,王建安. 内科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2015: 12.
- [3] REED C, MELTZER M I, FINELLI L, et al. Public health impact of including two lineages of influenza B in a quadrivalent seasonal influenza vaccine [J]. Vaccine, 2012, 30(11): 1993-1998.
- [4] MEŞE S, UYANIK A, ÖZAKAY A, et al. Influenza surveil-

- lance in Western Turkey in the era of quadrivalent vaccines: A 2003–2016 retrospective analysis [J]. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 2018, 14(8):1899–1908.
- [5] 栗昀, 谢雯芳, 向燕, 等. 预防性中药防治流感病毒作用及其免疫调节机制探讨 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(21):102–107.
- [6] 刘锐, 王小巍, 张红艳, 等. 银翘散的现代临床应用[J]. *中国药理学杂志(网络版)*, 2019, 17(6):266–270.
- [7] 雷娜, 李艳, 何芳雁, 韩春妮, 林青. 解表方通过调节黏膜免疫保护上呼吸道感染模型小鼠的研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(18):174–177.
- [8] LI S, ZHANG B. Traditional Chinese medicine network pharmacology: theory, methodology and application [J]. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2013, 11(2):110–120.
- [9] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *Journal of Cheminformatics*, 2014, 6:13.
- [10] ROLF A, AMOS B, WU C H, et al. UniProt: the Universal Protein knowledgebase [J]. *Nucleic Acids Research*, 2017, 45(D1):D 158–D 169.
- [11] AMBERGER J S, BOCCHINI C A, SCHIETTECATTE F, et al. OMIM. org: Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM®), an online catalog of human genes and genetic disorders [J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(Database issue):D789–798.
- [12] STELZER G, ROSEN N, PLASCHKES I, et al. The GeneCards Suite: from gene data mining to disease genome sequence analyses[J]. *Current Protocols in Bioinformatics*, 2016, 54(1):30–33.
- [13] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. *Genome Research*, 2003, 13(11):2498–2504.
- [14] VON M C, HUYNEN M, JAEGGI D, et al. STRING: a database of predicted functional associations between proteins[J]. *Nucleic Acids Research*, 2003, 31(1):258–261.
- [15] DENNIS G JR, SHERMAN B T, HOSACK D A, et al. DAVID: database for annotation, visualization, and integrated discovery[J]. *Genome Biology*, 2003, 4(5):P3.
- [16] CHEN L, ZHANG Y H, WANG S, et al. Prediction and analysis of essential genes using the enrichments of gene ontology and KEGG pathways[J]. *PLoS One*, 2017, 12(9):e0184129.
- [17] HOPKINS A L. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery[J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4(11):682–690.
- [18] YAN H, MA L, WANG H, et al. Luteolin decreases the yield of influenza A virus in vitro by interfering with the coat protein I complex expression [J]. *Journal of Natural Medicines*, 2019, 73(3):487–496.
- [19] CHEN X, LAI Y, SONG X, et al. Polysaccharides from *Citrus grandis* associate with luteolin relieves chronic pharyngitis by anti-inflammatory via suppressing NF- κ B pathway and the polarization of M1 macrophages [J]. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 2018, 32:2058738418780593.
- [20] TEIXEIRA T S, CARUSO Í P, LOPES B R, 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.
- [21] PÉREZ-CANO F J, CASTELL M. Flavonoids, inflammation and immune system[J]. *Nutrients*, 2016, 8(10):659.
- [22] ZAKARYAN H, ARABYAN E, OO A, et al. Flavonoids: promising natural compounds against viral infections[J]. *Archives of Virology*, 2017, 162(9):2539–2551.
- [23] SERAFINI M, PELUSO I, RAGUZZINI A. Flavonoids as anti-inflammatory agents[J]. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2010, 69(3):273–278.
- [24] KAWAI T, AKIRA S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors [J]. *Nature Immunology*, 2010, 11(5):373–384.
- [25] GUAN R, WANG J, LI Z, et al. Sodium Tanshinone I-IA Sulfonate decreases cigarette smoke-induced inflammation and oxidative stress via blocking the activation of MAPK/HIF-1 α signaling pathway [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2018, 9:263.
- [26] BERCIER P, GRENIER D. TNF- α disrupts the integrity of the porcine respiratory epithelial barrier [J]. *Research in Veterinary Science*, 2019, 124:13–17.
- [27] SYKES A, EDWARDS M R, MACINTYRE J, et al. TLR3, TLR4 and TLRs7–9 induced interferons are not impaired in airway and blood cells in well controlled asthma[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6):e65921.
- [28] IOANNIDIS I, YE F, MCNALLY B, et al. Toll-like receptor expression and induction of type I and type III interferons in primary airway epithelial cells [J]. *J Virol*, 2013, 87(6):3261–3270.
- [29] 闫树丽. 双表法对 RSV 感染小鼠肺炎模型 NF- κ B、TNF- α 调节作用的实验研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2014.