

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2014.22.016

金欣口服液含药血清对 RSV 感染 RAW264.7 细胞 TLR3 信号转导通路的影响

魏肖云, 陈争光, 汪受传*

(南京中医药大学中医儿科研究所, 江苏省南京市汉中路 282 号, 210029)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81072840)

摘要 目的 探讨金欣口服液对呼吸道合胞病毒 (RSV) 感染的信号转导通路影响及其可能作用机制。方法 分别以金欣口服液 76.8 g/(kg·d)、利巴韦林颗粒 128.1 mg/(kg·d) 予大鼠灌胃 3 天, 制备金欣口服液、利巴韦林颗粒含药血清。RSV 感染 RAW264.7 细胞分为模型组、利巴韦林组与金欣组。利巴韦林组与金欣组分别给予利巴韦林与金欣口服液含药血清 2.5 ml 进行干预。另设正常细胞作为正常组。正常组与模型组加入 2% FBS 维持液 2.5 ml。12 h 后收集细胞, 检测 RAW264.7 细胞 Toll 样受体 3 (TLR3)、TANK 结合激酶 1 (TBK1) 和干扰素调节因子 3 (IRF3) mRNA 及其蛋白表达。结果 RSV 感染 RAW264.7 细胞 12 h 后可诱导 TLR3、TBK1 和 IRF3 mRNA 及其蛋白的高表达 ($P < 0.01$), 金欣口服液含药血清及利巴韦林均可下调 TLR3、TBK1 和 IRF3 mRNA 及其蛋白的高表达 ($P < 0.01$), 其中金欣口服液对 TLR3 蛋白的下调作用优于利巴韦林 ($P < 0.05$)。结论 RSV 能够诱导 TLR3 信号转导通路的激活, 上调 TBK1 和 IRF3 的表达, 而金欣口服液含药血清能够抑制 TLR3 信号转导通路, 从而起到抗 RSV 的作用。

关键词 金欣口服液; 呼吸道合胞病毒; TLR3 信号转导通路; TANK 结合激酶 1; 干扰素调节因子 3

呼吸道合胞病毒 (respiratory syncytial virus, RSV) 属于副黏液病毒科, 肺炎病毒属, 为含有包膜非片段性的单股负链 RNA 病毒, 是引起世界范围内婴幼儿及老年人下呼吸道感染最重要的病毒性病原^[1]。RSV 侵袭婴幼儿呼吸道后, 通过诱导呼吸道上皮细胞分泌细胞因子、趋化因子等炎性介质, 引起支气管和支气管平滑肌痉挛, 从而产生高气道反应^[2], 但其致病机理尚未完全明确。近年来大量研究表明 Toll 样受体 (TLRs) 与 RSV 感染关系密切^[3]。目前人体中已经发现 13 个 TLRs 成员^[4], 其中 Toll 样受体 3 (TLR3) 是与 RSV 关系密切 TLRs 之一。TLR3 可以识别病毒复制和转录过程中产生的双股 RNA (dsRNA), 通过非 MyD88 依赖的信号通路途径及 TRIF 依赖型通路, 激活下游的激酶 TBK1, 进而活化干扰素调节因子 3 (IRF3), 介导机体抗感染应答反应^[5-8]。

金欣口服液 (原名清肺口服液) 是我们治疗小儿病毒性肺炎痰热闭肺证的经验方, 具有开肺化

痰解毒功效, 长期临床研究证实该方治疗小儿病毒性肺炎疗效显著^[9], 实验研究亦表明金欣口服液具有拮抗 RSV 作用, 且与 TLRs 信号转导通路密切相关^[8-10]。本实验从金欣口服液对 TLR3 信号转导通路相关接头蛋白的调控入手, 通过体外实验研究, 探讨金欣口服液抗 RSV 感染的作用机制。

1 材料

1.1 动物、细胞和病毒

清洁级雄性 SD 大鼠 40 只, 体重 150 ~ 180 g, 由南京军区南京总医院医学动物实验中心提供, 实验动物许可证号: SCXK (军) 2007-012; 小鼠肺泡单核细胞 RAW264.7 由南京中医药大学第一临床医学院惠赠; 人喉癌上皮细胞 (Hep-2 细胞) 由中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心提供; RSV A 型 Long 株由武汉大学国家典型培养物保藏中心提供。

1.2 药物

金欣口服液由炙麻黄、虎杖、苦杏仁、桑白皮、生石膏、前胡、黄芩片、葶苈子组成, 由江苏省植物药深加工工程中心制备和质量控制, 含生药

* 通讯作者: wscnj@126.com, (025) 86798182

1. 351 g/ml。利巴韦林颗粒 (新博林): 50 mg/包, 四川百利药业有限责任公司, 批号: 080335。

1.3 主要试剂及仪器

DMEM 高糖培养基 (批号 1374832)、0.25% 胰酶 (含 EDTA, 批号 1369113)、青链霉素混合液 (双抗, 批号 1379113) 购自美国 Gibco 公司; 胎牛血清 (美国 HyClone 公司, 批号 1369113); MTT (批号 298931)、DMSO (批号 67685) 购自美国 Amresco 公司; RNAiso plus 试剂盒 (批号 DRR086A)、逆转录试剂盒 (批号 V201307Da)、实时荧光定量 PCR 试剂盒购自大连宝生物公司; RIPA 裂解液 (批号 P0013B)、苯甲基磺酰氟 (PMSF, 批号 ST506) 购自碧云天生物科技研究所; PVDF 膜 (0.22 μ m, 美国 Millipore 公司); 磷酸化酶抑制剂混合片剂 (PhosSTOP, 瑞士 Roche 公司); 兔抗 TLR3、TBK1、IRF3 多克隆抗体购自美国 CST 公司; 兔抗 β -Actin 多克隆抗体、羊抗兔荧光二抗购自美国 Abcam 公司; BCA 蛋白定量试剂盒、ECL Western Blotting Substrate 购自美国 Thermo 公司; 蛋白标志物 [Protein Marker (10–170KD, 预染蛋白分子量标准) 购自生兴生物技术 (南京) 有限公司]; 2 倍上样缓冲液、1: 29 bis-Acr、10% SDS、APS 购自美国 Bio-Rad 公司; TRIS、Glycine (甘氨酸) 购自北京索莱宝公司。

CO₂ 培养箱 (美国 Thermo 公司, 型号 HERA-CELL151)、倒置式生物显微镜 (日本 Olympus 公司, 型号 CKX31)、垂直流超净工作台 (新加坡 ESCO 公司, 型号 ACB-4A1)、实时荧光定量 PCR 仪 (美国 AB 公司, 型号 7500Fast)、蛋白核酸分析仪 (德国 Eppendorf 公司, 型号 Bio Photometer D30)、面包式离心机 (德国 Eppendorf 公司, 型号 5804R)、大容量高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司, 型号 5810R)、PCR 自动化系列化分析仪 (德国 Eppendorf 公司, 型号 AG22332)、超灵敏化学发光成像仪 (美国 GE 公司、型号 Image Quant LAS4000/4010)、Trans-Blot-SD 半干转印槽 (美国 Bio-Rad 公司, 型号 170-3940)、PowerPac Basic 垂直电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司, 型号 164-5050)。

2 方法

2.1 含药血清的制备和处理

40 只大鼠按照随机数字表分为 2 组, 每组 20 只, 分别予以金欣口服液 76.8 g/ (kg · d)、利巴韦林颗粒 128.1 mg/ (kg · d), 相当于 2 岁儿童临

床等效剂量 4 倍^[1], 分 2 次灌服, 给药 3 天。末次给药前 12 h 禁食不禁水, 末次给药 1 h 后采用 10% 水合氯醛, 0.4 ml/100 g 进行腹腔注射麻醉, 行颈动脉插管采血, 血液静置 1 h 后, 3000 r/min, 离心 15 min, 将血清移至干净容器内, 56℃ 水浴 30 min 灭活。含药血清甲醇沉淀蛋白法处理: 1 ml 含药血清, 加 3 ml 甲醇, 充分混匀后 4℃ 静置过夜, 4000 r/min, 4℃ 离心 15 min, 取上清液, 氮吹仪 37℃ 水浴挥干后加 1 ml 含 2% FBS 的 DMEM 复溶, 一次性无菌滤器 (0.22 μ m) 过滤除菌后备用。

2.2 细胞培养

Hep-2 和 RAW264.7 细胞均采用 DMEM 高糖培养基 (含 10% FBS, 1% 青链霉素混合液), 37℃、5% CO₂ 培养箱饱和湿度下常规培养。生长状态良好的细胞每 1~2 天传代, 0.25 胰酶 (含 EDTA) 消化 1~2 min, 镜下观察细胞回缩变圆时, 采用含 10% FBS 的 DMEM 培养基终止消化, 吹打收集后, 1000 r/min 离心 5 min, 弃上清, 加入培养液, 再吹打成细胞悬液后种入培养瓶内。所有实验均采用对数生长期细胞。

2.3 RSV 扩增和 TCID₅₀ 的测定

采用体外培养的 Hep-2 细胞扩增 RSV, RSV 扩增、TCID₅₀ 测定方法具体方法参见本课题组前期实验方法^[2]。

2.4 分组和干预措施

本实验共分为 4 组: 正常细胞对照组 (正常组)、RSV 感染细胞模型组 (模型组)、利巴韦林含药血清干预组 (利巴韦林组)、金欣口服液含药血清干预组 (金欣组)。将 5×10^5 /ml RAW264.7 细胞 2.5 ml 接种于 6 孔培养板, 待细胞长至 80% 左右时, 除正常组外, 各组接种 100 TCID₅₀ 的 RSV 液 500 μ l, 置于 37℃、5% CO₂ 培养箱吸附 2 h, 期间每隔 20 min 轻轻摇晃 1 次。2 h 后吸去病毒液, 药物干预组分别予利巴韦林和金欣口服液含药血清 2.5 ml, 正常组和模型组加入 2% FBS 维持液 2.5 ml, 置于 37℃、5% CO₂ 培养箱培养 12 h。

2.5 观察指标及方法

2.5.1 Real-time PCR 法检测 RAW264.7 细胞中 TLR3、TBK1、IRF3 mRNA 的转录水平 各组经不同的措施干预及 5% CO₂ 培养箱培养 12 h 后吸去细胞上清液, 向培养 RAW264.7 细胞的 6 孔培养板每孔加入 RNAiso plus 1 ml, 并按照试剂盒说明书提取总 RNA, 蛋白核酸分析仪对 RNA 进行定性及定量分析, 按照 RT-PCR 试剂盒说明书将总 RNA

反转录成 cDNA, SYBR Green II 实时荧光定量 PCR 法检测细胞中 TLR3、TBK1、IRF3 mRNA 的转录水平。实时荧光定量 PCR 反应条件 (采用两步法): 95℃ 预变性 15 s, 95℃ 变性 5 s, 60℃ 退火 34 s, 设置 40 个循环, 同时做熔解曲线。以上实验独立重复 3 次。所得实验数据采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行计算, $\Delta\Delta Ct = (Ct_{\text{样本}} - Ct_{\text{内参}})_{\text{实验组}} - (Ct_{\text{样本}} - Ct_{\text{内参}})_{\text{对照组}}$ 。实时荧光定量 PCR 引物序列见表 1。引物合成公司: 生工生物工程(上海)股份有限公司。

表 1 小鼠 TLR3、TBK1、IRF3 和 GAPDH 基因引物序列

基因	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')
TLR3	CAGGATACTTGATCTCGGC-CTT	TGGCCGCTGAGTTTTGT-TC
TBK1	CGGATCCATGCAGAGCACT-TCTAATCAT	CCGCTCGAGCTAAAGA-CAGTCAACGTTGCG
IRF3	GGAAAGAAGTGTTCGGGT-TAG	GAGGACTGTGTTACCGTT
GAPDH	CGTGTTCTACCCCAATGT	TGTCATACTGGCAG-GTTTCT

2.5.2 Western-blotting 法检测 RAW264.7 细胞中 TLR3、TBK1、IRF3 蛋白表达 各组经不同的措施干预及 5% CO₂ 培养箱培养 12 h 后吸去细胞上清液, 向培养 RAW264.7 细胞的 6 孔培养板每孔加入 200 μ l RIPA (含 PhosSTOP) + 2 μ l PMSF, 冰浴中超声匀浆至澄清, 4℃、15000 r/min 离心 30 min, 取上清即为实验细胞的总蛋白。BCA 法测定总蛋白浓度, 并根据总蛋白浓度, 加入相应体积的上样缓冲液, 使各样品总蛋白含量一致, 97℃、5 min 使蛋白变性。SDS-PAGE 凝胶电泳 (80 V, 30 min; 100 V, 1 h); 半干转膜 (25 V, 30 min); 洗膜, 5% 脱脂奶粉封闭 2 h; 洗膜, 1: 1000 一抗孵育, 4℃, 过夜; 洗膜, 1: 5000 二抗孵育, 室温, 2 h; 洗膜, ECL Western Blotting Substrate 显色; Image Quant LAS4000mini 超灵敏化学发光成像仪成像。所得图形采用 Image-Pro Plus 6.0 软件进行灰度值计算, 应用目标蛋白条带灰度值/ β -actin 条带灰度值表示目标蛋白的相对表达量。

2.6 统计学方法

应用 SPSS 16.0 软件包进行统计分析, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 若满足正态性及方差齐性, 多组间比较用单因素方差分析, 否则用秩和检验。

3 结果

3.1 金欣口服液含药血清对 RSV 感染 RAW264.7 细胞 TLR3、TBK1 和 IRF3 mRNA 表达的影响

表 2 示, RSV 感染后模型组 TLR3、TBK1 和

IRF3 mRNA 表达水平较正常组显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 金欣组及利巴韦林组 TLR3、TBK1 和 IRF3 mRNA 表达水平明显降低 ($P < 0.01$); 其中利巴韦林组 TBK1 mRNA 的表达水平低于金欣组 ($P < 0.05$)。

表 2 各组细胞 TLR3、TBK1 和 IRF3 mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	TLR3	TBK1	IRF3
正常组	3	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
模型组	3	1.57 $\pm$ 0.15*	1.21 $\pm$ 0.06*	1.44 $\pm$ 0.03*
利巴韦林组	3	0.55 $\pm$ 0.07 Δ	0.85 $\pm$ 0.10 Δ	1.10 $\pm$ 0.03 Δ
金欣组	3	0.52 $\pm$ 0.03 Δ	1.03 $\pm$ 0.12 Δ #	1.07 $\pm$ 0.04 Δ

注: 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与利巴韦林组比较, # $P < 0.05$

3.2 金欣口服液含药血清对 RSV 感染 RAW264.7 细胞 TLR3、TBK1 和 IRF3 蛋白表达的影响

表 3、图 1 示, RSV 感染后模型组 TLR3、TBK1 和 IRF3 蛋白表达水平较正常组显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 金欣组及利巴韦林组 TLR3、TBK1 和 IRF3 蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.01$); 其中利巴韦林组 TBK1、IRF3 蛋白表达水平低于金欣组 ($P < 0.01$), TLR3 蛋白表达高于金欣组 ($P < 0.01$)。

表 3 各组细胞 TLR3、TBK1 和 IRF3 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	TLR3/ β -actin	TBK1/ β -actin	IRF3/ β -actin
正常组	3	0.39 $\pm$ 0.00	1.30 $\pm$ 0.00	0.36 $\pm$ 0.01
模型组	3	0.65 $\pm$ 0.00*	1.41 $\pm$ 0.00*	0.60 $\pm$ 0.00*
利巴韦林组	3	0.21 $\pm$ 0.00 Δ	1.16 $\pm$ 0.00 Δ	0.27 $\pm$ 0.01 Δ
金欣组	3	0.19 $\pm$ 0.01 Δ #	1.27 $\pm$ 0.00 Δ #	0.29 $\pm$ 0.00 Δ #

注: 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与利巴韦林组比较, # $P < 0.01$



图 1 各组细胞 TLR3、TBK1 和 IRF3 蛋白表达电泳图

4 讨论

金欣口服液是根据《伤寒论》“麻黄杏仁甘草石膏汤”加减而来, 具有宣肺开闭、清化痰热、解毒活血之功效。小儿因其特殊的生理特点, 肺常不足, 肺气虚, 卫外失职, 易于外感邪毒, 邪毒从口鼻或皮毛而入, 犯于肺卫, 使肺气失司, 化热灼

津, 炼液成痰, 阻于气道, 致使肺气郁闭, 而成痰热闭肺证, 临床出现咳嗽、气喘、痰鸣、鼻煽等症。小儿呼吸道合胞病毒性肺炎以痰热闭肺证最多^[3], 本课题组前期临床研究表明, 金欣口服液对小兒 RSV 肺炎痰热闭肺证临床疗效显著^[4]。

TLRs 是一类模式识别受体 (PRRs), 通过识别细菌、病毒等不同病原相关分子模式 (PAMPs), 启动天然免疫和炎症反应, 在免疫系统抵抗病原微生物中起重要作用^[4-13]。TLR3 基因定位于染色体 4q35 上, 共编码 904 个氨基酸。同其他 TLRs 结构一样, TLR3 由胞外区、跨膜区、胞内区三部分组成。胞外区有 23 个富含亮氨酸重复序列和 N、C 末端侧翼区, 能够识别不同的疾病相关分子模式; 跨膜区负责 TLRs 在细胞中的定位; 胞内区称为 TIL 区, 与白介素 1 受体 1 (IL-1R1) 的胞内区相似, 和胞内信号传导有关; TLR3 主要表达在胞内体膜上, 其配体识别区域有一个马蹄形螺旋管结构, dsRNA 可结合到胞外域的侧凸表面, 活化 TLR3^[14]。TLR3 激活后其 PAMPs 刺激巨噬细胞和树突状细胞主要活化 TRIF 依赖型通路, TRIF 依赖的信号转导通路通过募集肿瘤坏死因子受体相关因子 3 (TRAF3) 到 TRIF 的定区域而启动, TRAF3 与 TRIF (N 端 TRAF 结合区) 相互作用激活 TBK1, 激活的 TBK1 进而激活 IRF3, 导致 I 型干扰素 (主要是 IRF- β) 的产生^[16-17]。RSV 感染后, 激活 TLR3 信号转导通路, 会影响免疫细胞成熟、转移和分化, 进而引起免疫细胞表达的炎症因子、细胞因子释放, 发挥抗病毒作用^[18-19]。

本实验采用 Real-time PCR 和 Western-blotting 两种实验方法, 从 mRNA、蛋白水平研究金欣口服液含药血清是否通过 TLR3 信号传导通路发挥抗 RSV 作用, 研究发现 RSV 感染 RAW264.7 后, RSV-dsRNA 激活 TLR3 信号转导通路, 上调 TLR3, 通过信号传导活化 TBK1 并上调其表达, 并激活核转录因子 IRF3。利巴韦林和金欣口服液的含药血清均能抑制 TLR3 信号转导通路的激活, 进而抑制信号通路传导, 下调 TBK1、IRF3 的表达。综上所述, 推测金欣口服液含药血清的抗病毒作用机制可能是通过下调 RSV 感染 RAW264.7 诱导的 TLR3 信号转导通路的高表达, 抑制 TBK1-IRF3 的表达, 阻碍病毒的复制, 临床上达到抗病毒的效果。

参考文献

[1] Nair H, Nokes DJ, Gessner BD, 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] Ghildyal R, Ho A, Jans DA. Central role of the respiratory syncytial virus matrix protein in infection [J]. FEMS Microbiol Rev, 2006, 30(5): 692-705.

[3] Delgado MF, Coviello S, Monsalvo AC, et al. Lack of antibody affinity maturation due to poor Toll-like receptor stimulation leads to enhanced respiratory syncytial virus disease [J]. Nat Med, 2009, 15(1): 34-41.

[4] 李艳, 李波, 姚秀娟, 等. Toll 样受体 11~13 在肥大细胞上的表达 [J]. 首都医科大学学报, 2013, 34(2): 251-257.

[5] Liu P, Jamaluddin M, Li K, et al. Retinoic acid-inducible gene I mediates early antiviral response and Toll-like receptor 3 expression in respiratory syncytial virus-infected airway epithelial cells [J]. J Virol, 2007, 81(3): 1401-1411.

[6] 应颖, 王鹏, 周艳, 等. 烟曲霉菌感染激活小鼠肺组织 TLR3 信号通路的研究 [J]. 免疫学杂志, 2013, 29(11): 948-952.

[7] 汪受传, 韩新民, 任现志, 等. 小儿病毒性肺炎痰热闭肺证治疗方法研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2004, 20(2): 72-75.

[8] 白凌军, 白凌鹰, 汪受传, 等. 金欣口服液含药血清抗呼吸道合胞病毒作用研究 [J]. 上海中医药大学学报, 2009, 23(6): 48-50.

[9] 戴后刚, 汪受传, 徐建亚, 等. 金欣口服液对 RSV 感染 BALB/c 小鼠 TLR7 mRNA 和蛋白表达的影响 [J]. 中成药, 2013, 35(6): 1304-1307.

[10] 徐建亚, 彭璐璐, 汪受传, 等. 金欣口服液对 RSV 感染细胞 TLR4 及 TNF- α 表达的影响 [J]. 南京中医药大学学报, 2012, 28(6): 544-547.

[11] 王力倩, 李仪奎, 符胜光. 血清药理学方法研究探索 [J]. 中药药理与临床, 1997, 13(3): 29-31.

[12] 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.

[13] 杨燕, 闫慧敏, 梁建卫, 等. 小儿呼吸道合胞病毒性肺炎的中医证候学特点 [J]. 中医杂志, 2008, 49(11): 1010-1012.

[14] Marshak-Rothstein A, Rifkin IR. Immunologically active autoantigens: the role of toll-like receptors in the development of chronic inflammatory disease [J]. Annu Rev Immunol, 2007, 25: 419-441.

[15] Chi H, Flavell RA. Innate recognition of non-self nucleic acids [J]. Genome Biol, 2008, 9(3): 211.

[16] 李颖. 细胞抗病毒天然免疫信号转导的调控机制

[D]. 武汉: 武汉大学, 2011.

[7] 孙冰. Sertoli 细胞中 TAM 受体对 TLR3 信号通路的负调控: 机理和意义 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2010.

[8] 于宁. Toll 样受体介导的抗病毒感染效应及其机制

[J]. 国际免疫学杂志, 2007, 30(5): 341-344.

[9] 常晓彤, 肇晓峰, 王振辉. Toll 样受体信号转导途径研究进展 [J]. 生理科学进展, 2011, 42(5): 340-346.

Effect of Jinxin Oral Liquid Containing Serum on TLR3 Signal Transduction Pathway of RAW264.7 Cell Infected by RSV

WEI Xiaoyun, CHEN Zhengguang, WANG Shouchuan

(Research Institute of TCM Pediatrics of Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu Province 210029)

ABSTRACT Objective To explore the effect of *Jinxin Oral Liquid* containing serum on signal transduction pathway of respiratory syncytial virus (RSV) and its possible action mechanism. **Methods** Sprague-Dawley rats were gavaged 76.8 g/(kg·d) of *Jinxin Oral Liquid* or 128.1 mg/(kg·d) of ribavirin granules for 3 days to prepare the *Jinxin Oral Liquid* containing serum and ribavirin containing serum, respectively. RAW264.7 cells were infected by RSV and then were divided into the model group, ribavirin group, and *Jinxin Oral Liquid* group. There is also a normal control group with normal cells. The *Jinxin Oral Liquid* group and ribavirin group were intervened by 2.5 ml of *Jinxin Oral Liquid* containing serum or ribavirin respectively, while the normal control group and the model group were given 2.5 ml of 2% FBS. The cells were collected, and the expressions of TLR3, TANK-binding kinase1 (TBK1) and interferon regulatory factor3 (IRF3) mRNA of RAW264.7 cells were detected 12 hours later. **Results** Twelve hours later after RAW264.7 cells were infected by RSV, TLR3, TBK1 and IRF3 mRNA were induced and high protein expression was showed ($P < 0.01$). *Jinxin Oral Liquid* containing serum and ribavirin could down-regulate the expressions of TLR3, TBK1 and IRF3 mRNA and their proteins ($P < 0.01$). *Jinxin Oral Liquid* was superior to ribavirin in down-regulating the expression of TLR3 protein ($P < 0.05$). **Conclusion** RSV can cause the activation of TLR3 signal transduction pathway and up-regulate the expressions of TBK1 and IRF3. *Jinxin Oral Liquid* Containing Serum can inhibit TLR3 signal transduction pathway to resist RSV.

Keywords *Jinxin Oral Liquid*; respiratory syncytial virus; TLR3 signal transduction pathway; TANK-binding kinase1; IRF3

(收稿日期: 2014-02-19; 修回日期: 2014-04-20)

编辑: 焦爽

欢迎订阅 2015 年《中医杂志》

《中医杂志》是由中华中医药学会和中国中医科学院主办的全国性中医药综合性学术期刊。1955 年创刊以来始终坚持“以提高为主，兼顾普及”的办刊方针，是我国中医药界创刊早、发行量大、具有较高权威性和学术影响力的国家级中医药期刊之一，是中国中文核心期刊和科技核心期刊、中国精品科技期刊、首届国家期刊奖获得者和中国期刊方阵双奖期刊。2009 年被中国期刊协会评为“新中国 60 年有影响力的期刊”。2011 年和 2013 年获国家新闻出版政府奖期刊奖提名奖，并且是唯一获此荣誉的中医类期刊。2013 年被国家新闻出版总署评为“中国百强科技期刊”。

本刊主要栏目中当代名医和临证心得分别介绍名老中医和临床医生辨证用药治疗疑难病的经验；临床研究介绍中医药治疗的新方法、新成果；学术探讨、思路与方法、专家论坛、病例讨论、综述、百家园等栏目，提供最新学术观点、研究成果与治疗方法，成为学习中医药、研究中医药，不断提高临床及研究水平的良师益友。

《中医杂志》为半月刊，每月 2 日和 17 日出版，每期 15.00 元。读者可以到全国各地邮局办理订阅手续（邮发代号：2-698），也可以与本刊读者服务部联系邮购，邮购免邮费。电话：010-64035632。国外发行：中国国际图书贸易总公司（北京 399 信箱，邮编：100044，代号：M140）。本社地址：北京市东直门内南小街 16 号，邮编：100700，网址：<http://www.jtcm.net.cn>。