

· 中药药理与质量 ·

基于转录组测序(RNA-seq)技术研究新加香薷饮合柴葛解肌汤
加减治疗登革热的分子机制

钟小兰, 廖小明, 沈菲, 于海建, 谭丽娟

(广州市花都区人民医院, 广东广州 510800)

摘要:【目的】探讨新加香薷饮合柴葛解肌汤加减治疗登革热的分子机理。【方法】收集广州市花都区人民医院2018年1月至12月登革热患者6例(治疗前设为登革热组, 治疗后设为中药治疗组), 另收集正常人6例作为正常对照组。应用转录组测序(RNA-seq)技术检测各组mRNA表达情况, 比较登革热组与正常对照组获得差异基因, 比较中药治疗组与登革热组获得差异基因, 再获得两者的交集基因, 进行表达模式分析、功能富集分析以及蛋白与蛋白相互作用网络分析以获取起关键作用的基因。【结果】筛选到登革热组与正常对照组比较的差异基因2 704个, 中药治疗组与登革热组比较的差异基因882个, 筛选出中药逆转的潜在靶基因279个。基因本体论(GO)、京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路富集分析发现, 这些基因大多参与了炎症、自身免疫应答相关功能, 如干扰素应答反应、维甲酸诱导基因I(RIG-I)样受体信号通路和T细胞活化的调节。另外, 通过蛋白与蛋白网络分析确定了这些基因间的相互作用关系并筛选到45个可能起关键作用的基因, 如IRF7、CCL2、IL15等。【结论】新加香薷饮合柴葛解肌汤加减治疗登革热的机制可能与其调节炎症、自身免疫应答相关的基因和信号通路有关。

关键词: 新加香薷饮; 柴葛解肌汤加减; 登革热; 转录组测序; 炎症; 自身免疫应答

中图分类号: R285.6

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)06-1208-06

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.06.023

Study on Molecular Mechanism of Modified *Xinjia Xiangru Yin Plus Chai Ge Jieji Tang* for Dengue Fever Using RNA Sequencing

ZHONG Xiao-Lan, LIAO Xiao-Ming, SHEN Fei,

YU Hai-Jian, TAN Li-Juan

(Guangzhou Huadu District People's Hospital, Guangzhou 510800 Guangdong, China)

Abstract: Objective To explore the molecular mechanism of modified *Xinjia Xiangru Yin plus Chai Ge Jieji Tang* for dengue fever. **Methods** Six cases of patients with dengue fever were admitted in Guangzhou Huadu District People's Hospital from January to December, 2018, served as dengue fever group before treatment and Chinese medicine treatment group after treatment, additionally, 6 cases of healthy humans served as normal control group. RNA sequencing was used to detect the mRNA expression in various groups, and then the differentially expressed genes were gained by comparison of the dengue fever group and normal group, and of the Chinese medicine treatment group and normal control group, respectively. Furthermore, the intersection of the achieved genes between the two groups was obtained to perform expression pattern analysis, function enrichment analysis and protein-protein interaction network analysis for obtaining the key genes. **Results** A total of 2 704 differentially expressed genes were screened out between the dengue fever group and normal group, and 882 differentially expressed genes were screened out between the Chinese medicine treatment group and dengue fever group, and

收稿日期: 2020-12-29

作者简介: 钟小兰(1978-), 女, 副主任医师; E-mail: lilyturfs@126.com

通讯作者: 廖小明(1976-), 男, 主任医师; E-mail: tiger9000@163.com

基金项目: 广东省中医药局中医药科研项目(编号: 20191257)

finally 279 potential target genes reversed by Chinese medicine were obtained. The enrichment analysis results of Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) signaling pathway showed that most of these genes were involved in inflammation and autoimmune response related functions, such as interferon response, retinoic acid-inducible gene I (RIG-I)-like receptor signaling pathway and regulation of T cell activation. In addition, the interaction among these genes was determined by protein-protein interaction network analysis, and 45 genes, such as *CCL2*, *CXCL1*, *IL15*, which might play a key role, were screened out.

Conclusion The mechanism of modified *Xinjia Xiangru Yin* plus *Chai Ge Jieji Tang* for dengue fever may be related to regulating the genes and signal pathways related to inflammation and autoimmune response.

Keywords: *Xinjia Xiangru Yin*; *Chai Ge Jieji Tang*; dengue fever; RNA sequencing(RNA-seq); inflammation; autoimmune response

登革热(dengue fever, DF)是由登革热病毒(dengue virus, DENV)引起的急性传染病,包含4个血清型(DENV1~DENV4),严重者可引起重症登革出血热(dengue hemorrhagic fever, DHF)。主要临床症状为发热、全身疼痛、皮疹、出血、淋巴结肿大及白细胞减少等,其发病率近年来在全球大幅度上升^[1-2]。其发病机制较为复杂,可能涉及病毒亲嗜性、二次感染所致的抗体依赖感染增强作用(antibody-dependent enhancement, ADE)、病毒毒力、免疫机制和宿主基因等因素^[3-7],目前尚无特效治疗药物,主要采取支持及对症治疗的措施。中医学将登革热归属于“湿温”范畴。吴鞠通《温病条辨》曰:“头痛恶寒,身重疼痛,舌白不渴,脉弦细而濡,面色淡黄,胸闷不饥,午后身热,状若阴虚,病难速已,名曰湿温。”早期以清热化湿透表法为其基本疗法^[8-9]。本课题组前期研究发现,中药新加香薷饮合柴葛解肌汤加减辨证治疗登革热卫气同病型疗效显著^[10-11],如缩短患者退热、疼痛消失时间,提高外周血白细胞、血小板含量,促进CD3⁺CD8⁺T淋巴细胞恢复,降低血清肿瘤坏死因子 α (TNF- α)水平,然而其治疗的分子机制尚不明晰。本研究在前期临床研究基础上,应用转录组测序(RNA-seq)技术从全基因组水平探究新加香薷饮合柴葛解肌汤加减辨证治疗登革热卫气同病的分子机制,以期更好地了解登革热的发病机制及筛选中药治疗的潜在靶点,现将研究结果报道如下。

1 材料与方

1.1 一般资料 收集我院2018年1月至2018年

12月登革热辨证为卫气同病型患者6例,男性3例,女性3例,年龄为(37.9 \pm 16.5)岁。就诊时症状为恶寒发热,或不恶寒,头痛、身骨疼痛,咽部不适,脸部潮红,疲乏,口微渴。另外,收集年龄、性别与患者相匹配的健康人6例作为正常对照组,男性3例,女性3例,年龄为(38.2 \pm 15.7)岁。各组患者在性别、年龄方面差异均无统计学意义($P>0.05$)。本研究方案已经我院伦理委员会批准同意(批准号:2018017)。

1.2 诊断标准 所选患者均符合2014年制定的《登革热诊疗指南(2014年第2版)》^[8]中的登革热诊断标准。

1.2.1 西医诊断标准 (1)有流行病学史(发病前15d内到过登革热流行区,或居住地有登革热病例发生);(2)急性起病,首发症状为发热,可伴畏寒,24h内体温可达40 $^{\circ}$ C,发热时可伴头痛,全身肌肉、骨骼和关节疼痛,明显乏力,并可出现恶心、呕吐、腹痛、腹泻等胃肠道症状;(3)有白细胞和(或)血小板减少者;(4)单份血清登革热病毒特异性免疫球蛋白M(IgM)抗体阳性或血清检测出非结构蛋白1(NS1)抗原或病毒核酸。

1.2.2 中医辨证标准 按《登革热诊疗指南(2014年第2版)》辨证为卫气同病:就诊时症状为恶寒发热,或不恶寒,头痛、身骨疼痛,咽部不适,脸部潮红,疲乏,口微渴。

1.3 纳入与排除标准 (1)符合西医诊断标准,且病情未达重症;(2)符合中医卫气同病证型标准;(3)能够接受口服中药制剂;(4)排除有自身免疫性疾病、肿瘤及糖尿病等病史者,有精神疾病及不合作者。

1.4 治疗方式与样本采集 正常对照组无治疗；登革热卫气同病患者分为登革热组(治疗前)、中药治疗组(治疗后)，在对症治疗的基础上，基于清热化湿透表法，给予中药新加香薷饮合柴葛解肌汤加减，药物组成：葛根 10 g、金银花 15 g、连翘 10 g、柴胡 10 g、黄芩 10 g、淡竹叶 15 g、香薷 10 g、白扁豆 15 g、甘草 6 g。每日 1 剂，早晚分服，疗程为 5 d。各组均采集空腹静脉血 2.5 mL，用于后续 RNA 提取和测序。

1.5 RNA 提取与建库测序 使用 TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司)提取每个样品的总 RNA。应用 Agilent 2100 生物分析仪、NanoDrop 2000 分光光度计和 1%琼脂糖凝胶电泳对每个样品的总 RNA 进行定量和鉴定，RNA 完整度值(RIN)高于 6.5 的 1 μg 总 RNA 用于后续文库制备。根据供应商的操作手册构建了下一代测序文库，使用 Qsep100(Bioptic)生物分析仪进行验证，并使用 Qubit 3.0 荧光计进行定量，而后根据制造商的说明加载到 Illumina HiSeq 仪器上进行 150 bp 双端测序获得原始数据。

1.6 数据前处理 应用 Cutadapt 1.9.1 软件去除测序过程中接头序列、低质量序列。利用 Hisat2 2.0.1 软件用于匹配参考基因组序列，进行测序的全基因组比对，而后应用 HTSeq 0.6.1 软件计算基因和转录本的表达量。

1.7 候选差异基因筛选 应用 DESeq2(Bioconductor)软件包，筛选标准设定为 2 倍差异变化并且错误发生率(false discovery rate, FDR)低于 0.05，即 $\log_2(\text{fold change}) > 1$ ，并且 $FDR < 0.05$ 。分别筛选登革热组和正常对照组比较，以及中药治疗组和登革热组比较的差异表达基因，以 $\log_2(\text{fold change})$ 为横坐标， $-\log FDR$ 为纵坐标做火山图进行展示，红色表示上调，绿色表示下调，灰色表

示无明显差异。而后应用 Venn 程序对两者取交集作为中药治疗的潜在靶基因进行后续深入研究。

1.8 层级聚类(hierarchical cluster)、功能富集、蛋白与蛋白相互作用分析 应用 Cluster 3.0 软件对筛选到的候选基因进行层级聚类分析观察基因的表达模式，并用基因本体论(GO)、京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路数据库^[12-13]进行功能富集分析，应用 String 数据库(<https://string-db.org/>)确定候选基因间的相互作用关系，并用 Cytoscape 3.7.0 软件进行相互作用网络可视化，最后应用 CytoNCA 计算各个基因的度(degree)，找出网络中起关键作用的基因(degree>10)。

2 结果

2.1 高通量测序数据质量基本情况 利用 Illumina 测序仪进行高通量测序，经过质量控制(QC)分析处理之后，读长约为 148 bp、序列总数为 574 353 880 条、总测序量约 85.5 Gb 的 RNA 测序数据，结果显示，平均每个样品的数据量大于 7 Gb，变异范围为 6.1 ~ 7.4 Gb。以上数据符合预期实验在测序上的数据量，可以进行进一步的基因表达差异分析。

2.2 候选差异基因筛选 登革热组与正常对照组比较结果显示，有 2 704 个差异表达基因，其中，1 367 个上调，1 337 个下调，见图 1-a；中药治疗组与登革热组比较结果显示，有 882 个差异表达基因，其中，上调 404 个，下调 478 个，见图 1-b。通过 Venn 图(见图 1-c)，筛选得到 2 个比较组之间有 313 个共同基因，以此作为候选基因进行后续深入分析研究。

2.3 层级聚类分析 对 313 个候选基因进行层级聚类分析，结果见图 2。结果显示，中药治疗可以逆转 279 个基因在登革热中的表达，例如：*IL15* 在

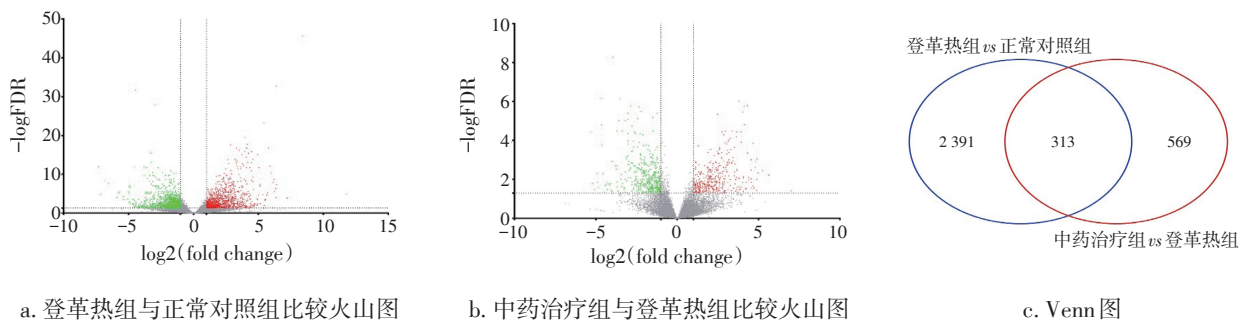
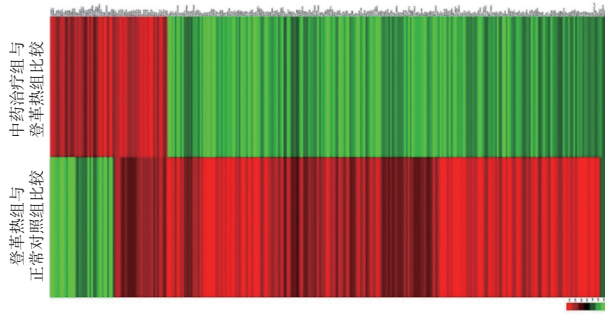


图1 3组候选差异基因筛选

Figure 1 Screening the differential candidate genes between the three groups



注: 红色表示上调, 绿色表示下调

图2 新加香薷饮合柴葛解肌汤加减治疗登革热候选基因的层级聚类热图

Figure 2 Hierarchical Clustering heat map of candidate genes for dengue fever treated by modified *Xinjia Xiangru Yin plus Chai Ge Jieji Tang*

登革热组中上调3.27倍, 而在中药治疗组中下调2.01倍; *CD69*在登革热患者中上调2.04倍, 中药治疗后下调了2.70倍; *COCH*在登革热患者中下调3.36倍, 而中药治疗后上调4.19倍。表明中药

新加香薷饮合柴葛解肌汤加减可能通过改变这些基因的表达发挥其治疗登革热的作用。

2.4 功能富集分析 为了更好地阐释该279个逆转基因的功能, 本研究进行了GO和KEGG信号通路分析, 并对前30个结果进行展示, 见图3。结果显示, 这些基因大多与免疫功能有关。例如, *SOCS1*、*FCGR1A*、*GBP2*、*GBP1*、*IRF7*、*ICAM1*、*FCGR1B*、*MT2A*、*OASL*、*PML*等10个基因参与γ-干扰素介导的信号通路(interferon-gamma-mediated signaling pathway); *ISG15*、*IRF7*、*NFKBIA*、*TANK*、*IFIH1*、*DHX58*、*CXCL10*等7个基因参与维甲酸诱导基因I(RIG-I)样受体信号通路(retinoic acid-inducible gene I-like receptor signaling pathway); 另外, *CCL2*、*IDO1*、*IL27*、*CD274*、*RIPK2*、*FAP*、*PDCD1LG2*、*IL15*、*EBI3*、*CD83*等10个基因在T细胞活化的调节(regulation of T cell activation)中起作用。

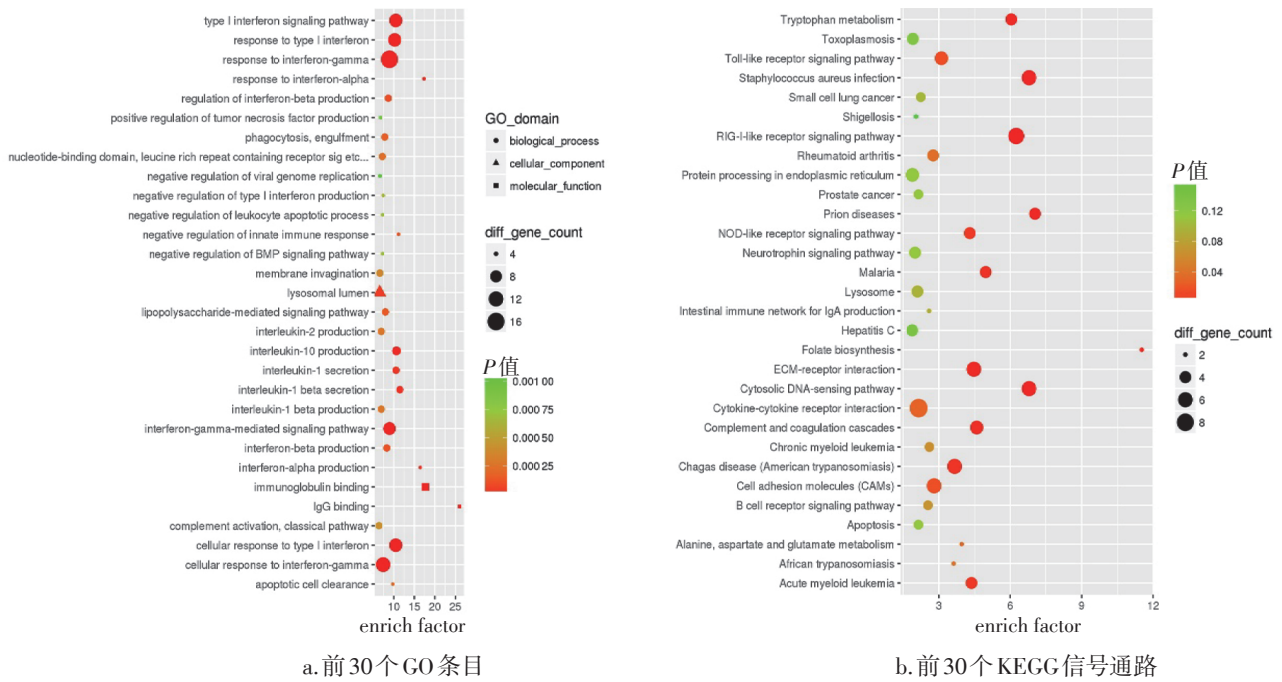
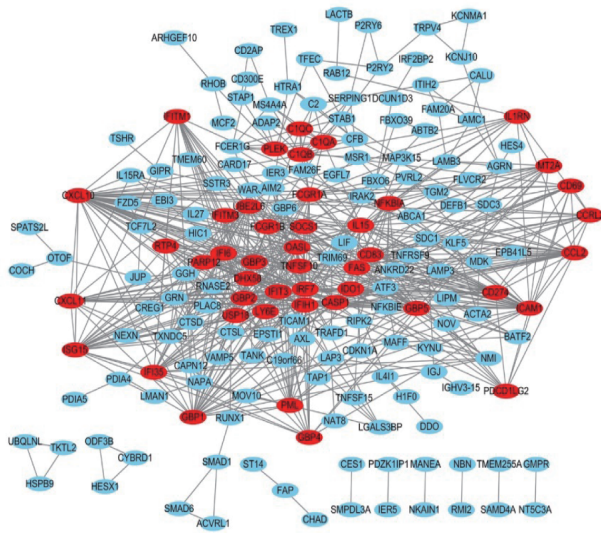


图3 新加香薷饮合柴葛解肌汤加减治疗登革热候选基因的功能富集分析

Figure 3 Function enrichment analysis of candidate genes for dengue fever treated by modified *Xinjia Xiangru Yin plus Chai Ge Jieji Tang*

2.5 蛋白与蛋白相互作用、关键基因分析 为了获得新加香薷饮合柴葛解肌汤加减治疗登革热起关键作用的基因, 对279个逆转基因进行了蛋白与蛋白相互作用分析, 获得了由187个节点(基因)和

667个连接(相互作用关系)构成的网络(见图4), 并筛选出45个可能起重要作用的关键基因(与其他基因连接度不低于10), 包括 *CCL2*、*CXCL10*、*IL15*等。



注：红色表示45个关键基因

图4 新加香薷饮合柴葛解肌汤加减治疗登革热候选基因的蛋白与蛋白相互作用网络

Figure 4 Protein-protein interaction analysis of candidate genes for dengue fever treated by modified Xinjia Xiangru Yin plus Chai Ge Jieji Tang

3 讨论

转录组测序(RNA-seq)可以快速准确地进行基因组序列和表达量的测定,已被用作揭示分子机制、探索诊断和预测生物标记物的有力工具。RNA-seq也应用在登革热疾病机制研究中。Banerjee等^[14]对登革热患者外周血单个核细胞(PBMCs)中的RNA进行了高通量测序,发现和炎症过程相关的一些基因(*MPO*、*DEFA4*、*ELANE*、*AUZI*、*CTSG*、*OLFM4*、*SLC16A14*和*CRISP3*)较健康人上调,这可能与登革热疾病进展相关。在本研究中,我们对健康人、登革热患者、中药治疗后登革热患者的外周全血进行mRNA测序,发现登革热患者和健康人之间有2 704个差异表达基因,一些和炎症免疫过程相关的基因如*MPO*、*CCL2*、*IDO1*、*IL27*、*IL15*、*CD83*等在登革热患者中上调,这些结果和Banerjee等的发现具有一定的一致性。另外,我们发现新加香薷饮合柴葛解肌汤加减治疗后279个基因在登革热中的表达发生逆转,说明其治疗作用可能与这些基因的表达相关。

GO功能富集和KEGG信号通路分析发现,这些逆转的基因功能主要集中在炎症免疫相关的过程,例如: γ -干扰素介导的信号通路(包括*SOCS1*、*FCGR1A*、*GBP2*、*GBP1*、*IRF7*、*ICAM1*、*FCGR1B*、

MT2A、*OASL*、*PML*),RIG-I样受体信号通路(包括*ISG15*、*IRF7*、*NFKBIA*、*TANK*、*IFIH1*、*DHX58*、*CXCL10*),Toll样受体信号通路(包括*IRF7*、*TICAM1*、*CXCL11*、*NFKBIA*、*CXCL10*)等。干扰素系统由I型干扰素(*IFN- α* 、 *β*)、II型干扰素(*IFN- γ*)和III型干扰素(*IFN- λ* 1~4)组成,是先天免疫系统抵御病毒的主要机制^[15]。当细胞模式识别受体(PRRs)如RIG-I样受体和Toll样受体识别病毒时,I型干扰素系统在病毒感染后数小时内被触发^[16]。这些结果说明,香薷饮合柴葛解肌汤加减治疗可能通过调节机体天然免疫应答相关信号通路治疗登革热。另外,我们还发现和T细胞激活调节有关的基因(包括*CCL2*、*IDO1*、*IL27*、*CD274*、*RIPK2*、*FAP*、*PDCD1LG2*、*IL15*、*EBI3*、*CD83*)在中药治疗后发生了逆转,这也解释了我们前期研究观察到的CD3⁺与CD8⁺T淋巴细胞亚群在登革热感染后有明显异常激活而在中药治疗后得到恢复^[9]的结果。

我们对这些中药治疗后逆转的基因进行蛋白与蛋白网络分析,并且筛选出45个可能起关键作用的基因,包括*IRF7*、*CXCL10*、*IFIH1*、*IL15*、*CD83*等。这些基因在炎症反应、自身免疫应答以及病毒感染中可能发挥重要作用。如*IRF7*是转录因子干扰素调节因子(IRF)家族成员之一,参与抗病毒与天然免疫应答过程^[17],已有研究发现,其在抵抗登革热病毒感染过程中发挥重要作用^[18]。若今后对筛选到的这些关键基因进行深入研究可能会发现登革热的潜在治疗靶点。

本研究采用清热化湿透表法治疗登革热卫气同病患者,选方新加香薷饮合柴葛解肌汤加减。新加香薷饮见于《温病条辨》,是祛暑解表、清热化湿的代表方,其药性偏凉,主治暑温兼湿,虽亦恶寒无汗,但有口渴面赤的热象。香薷发汗解表,祛暑化湿除满;金银花、连翘、白扁豆辛凉透达,涤暑清热。全方辛温与辛凉相合,用于暑夹湿邪之证。加入黄芩清热燥湿、泻火解毒;葛根解肌清热生津;柴胡疏导流畅气机,有助郁热外泄;淡竹叶淡渗利水,使湿热之邪从小便解;甘草缓急止痛,调和诸药。登革热的致病是全身多系统功能的损害,而非局限于单一器官,因此可能与全身的炎症反应及异常的免疫应答相关。我们前期的研究^[10-11]与Fialho等^[9]的研究同样发

现, 登革热可引起异常的免疫反应, 这种异常的免疫激活不仅不能有效清除病毒, 反而导致各种致炎因子的过量释放加重了全身的炎症反应, 引起全身各系统功能受到攻击, 从而出现心、肝、肾等功能紊乱及骨髓抑制, 控制这种异常的免疫是病情好转的重要方向。马力等^[20]比较了3种解表剂(桂枝麻黄各半汤、银翘散、新加香薷饮)对甲1和甲3流感抑制的作用, 发现3种解表剂均可不同程度地提高免疫能力, 达到抗病毒作用, 而且以新加香薷饮升高CD4、降低CD8更为明显。冯劲力等^[21]进一步分析了新加香薷饮复方与其组方单药的抗甲1流感病毒作用, 发现高剂量的新加香薷饮复方在小鼠肺指数、死亡保护率和平均存活时间方面均优于各单味药组, 其药效与剂量存在正相关的关系。这些研究都说明了新加香薷饮是多靶点的作用机制, 不是以单纯抗病毒, 而是以抗炎及免疫恢复为主, 在中医辨证论治指导下的治疗获益将更加明显。

综上所述, 采用RNA-seq技术, 我们获得了登革热经中药新加香薷饮合柴葛解肌汤加减治疗后的279个逆转基因以及可能发挥关键作用的45个基因, 新加香薷饮合柴葛解肌汤加减治疗登革热卫气同病的效果可能与炎症、自身免疫应答反应有关, 合理的辨证论治是减少登革热危重症的重要因素, 进一步深入挖掘到的关键基因可为今后有效治疗登革热提供研究靶点。

参考文献:

- [1] 李杨, 张文宏. 全球登革热疫情态势、疫情警报[J]. 中华传染病杂志, 2019, 37(10): 619-621.
- [2] 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): 1-6.
- [3] 李晋涛. 登革热防治研究进展[J]. 第三军医大学学报, 2019, 41(19): 1902-1907.
- [4] CHAITANYA K, KARANAM S, KUMAR K. Dengue associated hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Indian J Pediatr, 2020, 87(3): 237.
- [5] 郎欣月, 何晓恩, 刘旭玲, 等. 登革病毒病原学研究进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(11): 1292-1295, 1299.
- [6] CUARTAS-LÓPEZ A M, GALLEGO-GÓMEZ J C. Glycogen synthase kinase 3 β participates in late stages of dengue virus-2 infection[J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2020, 27, 115: e190357.
- [7] MARTÍNEZ-CUELLAR C, LOVERA D, GALEANO F, et al. Non-structural protein 1(NS1) of dengue virus detection correlates with severity in primary but not in secondary dengue infection[J]. J Clin Virol, 2020, 124: 104259.
- [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] 韩凡, 莫锦, 覃小兰, 等. 从257例病例中探讨登革热的中医临床辨治[J]. 广州中医药大学学报, 2014, 31(6): 855-859.
- [10] 钟小兰, 沈菲, 谭丽娟, 等. 清热化湿透表法联合常规疗法治疗登革热早期48例临床研究[J]. 江苏中医药, 2018, 50(5): 33-35.
- [11] 廖小明, 沈菲, 谭丽娟, 等. 检测登革热患者外周血T淋巴细胞亚群、血清TNF- α 及血小板的意义[J]. 广东医学, 2018, 39(8): 1182-1184.
- [12] KANEHISA M, SATO Y, KAWASHIMA M, et al. KEGG as a reference resource for gene and protein annotation [J]. Nucleic Acids Res, 2016, 44(D1): D457-D462.
- [13] ASHBURNER M, BALL C A, BLAKE J A, et al. The Gene Ontology Consortium Gene ontology: tool for the unification of biology[J]. Nat Genet, 2000, 25: 25-29.
- [14] BANERJEE A, SHUKLA S, PANDEY D A, et al. RNA-Seq analysis of peripheral blood mononuclear cells reveals unique transcriptional signatures associated with disease progression in dengue patients[J]. Transl Res, 2017, 186: 62-78.e9.
- [15] VAN DEN BROEK M F, MULLER U, HUANG S, et al. Immune defence in mice lacking type I and/or type II interferon receptors[J]. Immunol Rev, 1995, 148: 5-18.
- [16] ZEVINI A, OLAGNIER D, HISCOTT J. Crosstalk between cytoplasmic RIG-I and STING sensing pathways [J]. Trends Immunol, 2017, 38: 194-205.
- [17] 郑学礼. 抗登革病毒的自然免疫应答[J]. 解放军医学杂志, 2012, (7): 749-752.
- [18] CHEN H W, KING K, TU J, et al. The roles of IRF-3 and IRF-7 in innate antiviral immunity against dengue virus [J]. J Immunol, 2013, 191(8): 4194-4201.
- [19] FIALHO L G, DA SILVA V P, REIS S R, et al. Antiviral and immunomodulatory effects of norantea brasiliensis choisy on dengue virus-2[J]. Intervirology, 2016, 59(4): 217.
- [20] 马力, 黎敬波, 盛丹, 等. 3种解表方对甲1、甲3型流感小鼠白介素2和T淋巴细胞亚群的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 108-111.
- [21] 冯劲立, 汪德龙, 张奉学. 新加香薷饮及其组方药物抗甲1型流感病毒作用的比较研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2010, 30(1): 31-33.

【责任编辑: 侯丽颖】