网络出版时间:2025-09-10 DOI:10.13207/j.jnwafu.2026.03.014

基于代谢组学和网络药理学探究槲皮素抑制 PRRSV 诱导炎症的作用机制

陈洪博[1,2],江雨蔓[1],李佳铠[1],唐歆[1],曹翀[1],邱龙新[1,2]

(1 龙岩学院 生命科学学院,福建 龙岩 364012;2 预防兽医学与生物技术福建省高等学校重点实验室,福建 龙岩 364012)

[摘 要] 【目的】探究槲皮素治疗猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)诱导炎症的作用机制。【方法】将 28 日龄仔猪随机分为 PRRSV 组和 PRRSV+槲皮素低、中、高剂量组(分别在基础日粮中添加 12.5,25 和 50 mg/kg 的槲皮素),并设置空白对照组。于 PRRSV 感染后 7,14,35 d 采集血清样品,测定各组猪血清炎症因子;感染后 35 d 采集猪肺脏,检测肺脏组织病变;对猪血清代谢谱进行分析,筛选差异代谢物及相关代谢通路;采用网络药理学,构建槲皮素治疗炎症的"成分-靶点-通路-疾病"图。采用分子对接法验证活性成分与核心靶点的相互作用。将血清代谢组学与网络药理学联合分析,构建"靶点-代谢途径-代谢物"网络图,检测关键调控靶点磷脂酶 A2(PLA2)、环氧合酶(COX)、脂氧化酶(LOX) mRNA 的表达水平。【结果】与空白对照组相比,PRRSV 感染 7~35 d PRRSV 组仔猪血清炎症因子蛋白和肺脏炎症因子 mRNA 均显著或极显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与 PRRSV 组相比,不同浓度槲皮素组仔猪血清炎症因子蛋白、肺脏炎症因子 mRNA 和 PRRSV *N* 基因的表达水平均显著或极显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);病理组织学检测结果显示,槲皮素可改善 PRRSV 引起的间质性肺炎。通过代谢组学技术,从血清中筛选出 16 个差异代谢物,与 PRRSV 组相比,槲皮素能回调这些差异代谢物水平;筛选出 5 条关键代谢途径(甘油酯代谢、醚脂代谢、甘油磷脂代谢、酪氨酸代谢和花生四烯酸代谢)。网络药理学分析表明,槲皮素治疗间质性肺炎主要作用于 EGFR、MMP9、PTGS2、CDK2 和 APP 等靶点蛋白,与代谢通路、PI3K-Akt 信号通路、IL-17 信号通路和 T 细胞受体信号通路等密切相关。整合分析显示,甘油磷脂代谢和花生四烯酸代谢是槲皮素治疗间质性肺炎的关键代谢途径。整合分析验证结果显示,与 PRRSV 组相比,槲皮素组仔猪肺脏 *PLA2*、*COX1* 和 *LOX* mRNA 水平大多显著或极显著降低。【结论】槲皮素可通过甘油磷脂代谢和花生四烯酸代谢途径调节血清代谢物,调控炎症相关核心靶点,降低炎症水平,缓解机体代谢紊乱,发挥治疗炎症的作用。

[关键词] 猪繁殖与呼吸综合征病毒;槲皮素;猪;网络药理学;代谢组学

[中图分类号] S852.65 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)03-0133-10

Mechanism of quercetin in inhibiting PRRSV-induced inflammation in piglets based on metabolomics and network pharmacology

CHEN Hongbo[1,2],JIANG Yuman[1],LI Jiakai[1],TANG Xin[1],CAO Chong[1],QIU Longxin[1,2]

(1 *College of Life Science,Longyan University,Longyan,Fujian* 364012,*China*;
2 *Key Laboratory of Fujian Universities Preventive Veterinary Medicine and Biotechnology,Longyan,Fujian* 364012,*China*)

Abstract:【Objective】The study aims to investigate the mechanism of quercetin in inhibiting porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)-induced inflammation.【Method】Twenty-eight-day-old piglets were randomly divided into four groups:PRRSV group,PRRSV+low-dose quercetin (12.5

[收稿日期] 2025-01-21 [修回日期] 2025-03-11
[基金项目] 国家自然科学基金项目(32102628);福建省自然科学基金项目(2022J011157)
[作者简介] 陈洪博(1986-),男,山东青州人,副教授,博士,主要从事猪免疫抑制性疾病致病机制研究。E-mail:lyxy_vet@163.com
[通信作者] 邱龙新(1969-),男,福建新罗人,教授,博士,硕士生导师,主要从事天然活性物质开发应用研究。E-mail:qlongxin@tom.com

mg/kg basal diet), PRRSV+medium-dose quercetin (25 mg/kg basal diet), and PRRSV+high-dose quercetin (50 mg/kg basal diet). A blank control group was also established. Serum samples were collected at 7, 14, and 35 days after infection to determine serum inflammatory factors in each group. Pig lungs were collected to detect tissue lesions after 35 days of infection. The metabolic profiles of pig serum were analyzed, and the differential metabolites and related metabolic pathways were identified. A "ingredient-target-pathway-disease" diagram of inflammation for quercetin treatment was constructed by network pharmacology. The molecular docking method was used to verify the interaction between the active ingredients and the core targets. Serum metabolomics and network pharmacology were combined to construct a "target-metabolic pathway-metabolite" network diagram. The expression of key regulatory targets phospholipase A2 (PLA2), cyclooxygenase (COX), and lipoxygenase (LOX) mRNA was detected. 【Result】 Compared with the blank control group, piglets in the PRRSV group exhibited significant or extremely significant increases ($P<0.05$ or $P<0.01$) in serum inflammatory cytokines and pulmonary inflammatory cytokine mRNA from 7 to 35 days post-infection. In contrast, quercetin treatments at different concentrations significantly suppressed ($P<0.05$ or $P<0.01$) the expression levels of serum inflammatory cytokines, pulmonary inflammatory cytokine mRNA, and PRRSV *N* gene compared to the PRRSV group. Histopathological analysis revealed that quercetin alleviated PRRSV-induced interstitial pneumonia. Through metabolomics techniques, five key metabolic pathways (glyceryl ester metabolism, ether lipid metabolism, glycerophospholipid metabolism, tyrosine metabolism, and arachidonic acid metabolism) and 16 differential metabolites in serum were identified. Compared with the PRRSV group, quercetin was able to reverse the levels of these differential metabolites. Network pharmacology analysis showed that quercetin mainly acted on target proteins such as EGFR, MMP9, PTGS2, CDK2, and APP in interstitial pneumonia treatment, which were closely linked to metabolic pathways, PI3K-Akt signaling pathways, IL-17 signaling pathways, and T cell receptor signaling pathways. Integrated analysis demonstrated glycerophospholipid metabolism and arachidonic acid metabolism as key metabolic pathways for quercetin treatment of interstitial pneumonia. The integrated verification results confirmed that the pulmonary mRNA expression levels of *PLA2*, *COX1* and *LOX* in the quercetin groups were mostly significantly or extremely significantly reduced ($P<0.05$ or $P<0.01$) compared with the PRRSV group. 【Conclusion】 Quercetin can regulate serum metabolites and inflammation-related core targets through glycerophospholipid metabolism and arachidonic acid metabolism pathways, reduce inflammation levels, alleviate metabolic disorders, and play a therapeutic role in interstitial pneumonia.

Key words: porcine reproductive and respiratory syndrome virus; quercetin; pig; network pharmacology; metabolomics

猪繁殖与呼吸综合征病毒(porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV)是一种对全球养猪业构成严重威胁的重要病原,引发的临床症状主要包括母猪繁殖障碍和仔猪咳嗽、呼吸困难[1-2]。PRRSV感染猪只后,会诱导肺部产生严重的炎症反应,多种细胞因子(肿瘤坏死因子、白介素、干扰素等)迅速大量产生,引起间质性肺炎、水肿和出血等症状,甚至引起猪群死亡,给猪场造成严重的经济损失[3-4]。目前,PRRSV的防控措施主要包括药物(例如:泰万菌素、替米考星、阿莫西林等抗生素)防治和疫苗防治,但由于抗生素的耐药性和毒副作用、PRRSV毒株多样性和易发生基因重组的特点使得药物和疫苗的防治效果受到影响[5-6]。因此,迫切需要开发新的抗病毒策略来防控PRRSV。

黄酮类化合物是一类广泛存在于植物中的天然产物,具有抗氧化、抗炎、抗菌、抗病毒等多种生物活性。黄酮类化合物能够抑制病毒的复制和转录过程,从而减轻病情和缩短病程。此外,黄酮类化合物还能够增强机体的免疫功能,提高机体对病毒的抵抗力。槲皮素是一种黄酮类化合物,广泛存在于水果、绿色蔬菜中,具有抗氧化、抗炎、抑制血小板聚集、降血脂、保护心血管、抗病毒等作用[7-8],但目前

尚无关于槲皮素抑制 PRRSV 诱导炎症作用的研究。因此，本试验探究了槲皮素对 PRRSV 诱导炎症的抑制作用，并通过代谢组学、网络药理学及其联合分析，筛选槲皮素抑制 PRRSV 诱导仔猪血清炎症的关键代谢物和相关代谢通路，为研制抗 PRRSV 诱导炎症的药物奠定了基础。

1　材料与方法

1.1　材　料

40 头 21 日龄 PRRSV 抗原和抗体检测均为阴性的“杜×长×大”三元杂交断奶仔猪，适应性喂养 1 周后开始正式试验，饲养条件：室温(25±2) ℃，相对湿度为 40%～60%，通风良好，明暗光照交替 12 h，自由饮水。槲皮素(Q4951，HPLC 纯度≥95%)，购自西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司；猪繁殖与呼吸综合征病毒 NADC30-like 毒株(GenBank 收录号：KP860909)，由预防兽医学与生物技术福建省高校重点实验室分离保存。组织切片 HE 染色试剂，购自上海碧云天生物技术有限公司；IL-1β、IL-6、IL-8 和 TNF-α ELISA 试剂盒，购自上海酶联生物科技有限公司；总 RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒和 AceQ Universal SYBR qPCR Master Mix，购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司。

1.2　方　法

1.2.1　试验设计　将 40 头仔猪随机分为对照组(CK)，PRRSV 组和槲皮素高、中、低剂量组(根据预试验结果，分别在饲料中添加 12.5，25 和 50 mg/kg 的槲皮素，对应记为 QL、QM、QH 组)。PRRSV 组和槲皮素组仔猪通过滴鼻(2 mL/头)和肌肉接种(2 mL/头)感染滴度为 $2\times10^{-5.79}$ $TCID_{50}$ 的 PRRSV 病毒液，对照组仔猪接种等量的 DMEM 细胞培养液，攻毒后 1 d 猪出现发热、咳嗽等临床症状。槲皮素高、中、低剂量组仔猪饲喂在基础日粮(佰思拓(龙岩)生物科技有限公司生产)中添加相应量槲皮素的日粮；对照组和 PRRSV 组饲喂基础日粮。攻毒后每天观察仔猪进食、排泄、发病状况，并在攻毒后第 7，14 和 35 天，各组仔猪空腹前腔静脉采血，分离血清，检测炎症因子。攻毒后第 35 天剖杀所有猪，采集肺脏，根据参考文献[9]的方法对仔猪肺脏进行病理变化评分。本试验已获得龙岩学院伦理委员会批准(批准号：LY2024003L)。

1.2.2　血清中细胞因子检测　采用试剂盒测定攻毒后 7，14 和 35 d 血清 IL-1β、IL-6、IL-8 和 TNF-α 等炎症细胞因子的含量，具体操作按照试剂盒说明书进行。

1.2.3　肺脏中细胞因子转录水平的检测　提取各组仔猪肺脏组织 RNA，反转录为 cDNA 备用。以 *β-actin* 为内参，SYBR Green 为荧光染料，采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测各组细胞中 *IL-1β*、*IL-6* 和 *IL-10* 基因和 PRRSV *N* 基因 mRNA，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 PRRSV *N*、*IL-1β*、*IL-6* 和 *IL-10* 基因的相对转录水平。试验所用引物见表 1，引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

表 1　试验所用引物序列

Table 1　Primer sequence in this test

引物名称 Primer name	引物序列(5′→3′) Primer sequence (5′→3′)	参考序列 GenBank 登录号 Genbank accession No. for reference sequence
PRRSV N-F	AAACCAGTCCAGAGGCAAGG	DQ379481.1
PRRSV N-R	TCAGTCGCAAGAGGGAAATG	
IL-1β-F	AGGGACATGGAGAAGCGATTT	XM_021085847.1
IL-1β-R	TTCTGCTTGAGAGGTGCTGATG	
IL-6-F	TGACGCCTGGAAGAAGAT	XM_023215966.2
IL-6-R	TGAACCCAGATTGGAAGC	
IL-10-F	AATCTGCTCCAAGGTTCCCG	NM_214041.1
IL-10-R	TGAACACCATAGGGCC	
β-actin-F	CTCCATCATGAAGTGCGACGT	XM_021086047.1
β-actin-R	GTGATCTCCTTCTGCATCCTGTC	
PLA2-F	CACTGACCTGGCATCTTAC	XM_013977998.2
PLA2-R	TACCTGCTCGTTGCGTAG	
COX1-F	CGAGAAGTGCCTCCCAAACTCC	XM_001926129.6
COX1-R	AAGCCCATCTCGCCACCAAACG	
COX2-F	GTGGGGCATGAGGTCTTTGG	NM_214321.1
COX2-R	CAGCCTGCTCGTCTGGAACA	
LOX-F	TTCGCCTGGACCTCACTT	NM_001206403.1
LOX-R	CACCTGCCCGTTGTTCTC	

1.2.4 肺脏组织病理学观察 采集的肺脏用10%中性福尔马林固定,按常规方法制作病理切片,HE染色,观察组织病理学变化。采用双盲法[10]进行肺脏病理切片评分,评分标准简述如下:0分,无微小病变;1分,轻度间质性肺炎;2分,中度多灶性间质性肺炎;3分,中度弥漫性间质性肺炎;4分,重度间质性肺炎。

1.2.5 槲皮素抑制PRRSV诱导炎症的代谢组学检测 随机取对照组、PRRSV组和槲皮素中剂量组(鉴于抗炎效果、药物使用剂量等原因选择中剂量组进行后续试验)血清样品各6份,放至液氮中保存,送至上海鹿明生物科技有限公司进行代谢组学测序分析,采集正负2种离子模式下的数据以提高代谢物覆盖度。将液相色谱-串联质谱联用仪(LC-MS/MS)采集的质谱原始数据导入Compound Discoverer 3.1处理,结果导入meta X进行预处理,通过主成分分析(PCA)和偏最小二乘判别分析(PLS-DA)判定该数据集中所观测变量的分组和趋势(样品组内和组间的相似性和差异性),结合单变量分析获得的差异变化倍数(Fold change,FC)和 t 检验(Student's t test)结果筛选差异代谢物,PLS-DA模型前两个主成分的VIP≥1,FC≥1.2或者≤0.83,$P<0.05$。采用KEGG数据库,结合Metabo Analyst平台对筛选出的差异代谢物进行代谢通路分析。

1.2.6 槲皮素抑制PRRSV诱导炎症的网络药理学分析 通过蛋白质知识数据库Uniprot(Universal Protein Database)进行蛋白名称的标准化转化,确定槲皮素主要靶点。分别在GeneCards数据库、OMIM数据库输入"Viral interstitial pneumoni",搜集间质性肺炎相关靶点合并去重,获取药物与疾病交集靶点作为槲皮素抑制PRRSV诱导炎症的潜在作用靶点。将槲皮素和41个交集靶点导入Cytoscape 3.10.2软件中,绘制靶点网络图。进一步将槲皮素、病毒性间质性肺炎靶点结合共同绘制"槲皮素-靶点-病毒性间质性肺炎"互作网络图。使用Cytoscape 3.10.2筛选核心靶点,利用阈值中介中心(betweenness centrality)、接近中心性(clossness centrality)和度中心性(degree centrality)筛选核心靶点,将Degree值排名前5的靶点作为关键核心靶点。将槲皮素作用于病毒性间质性肺炎的靶点通过注释、可视化和综合发现数据(DAVID)、Metascape网站对槲皮素与病毒性间质性肺炎交集靶点进行GO和KEGG富集分析,并通过微生信在线平台对结果进行可视化处理。将差异代谢物与交集靶点输入MetaboAnalyst数据库中的Joint Pathway Analysis模块,筛选相关代谢物及其代谢通路的干预靶点。对关键核心靶点与有效活性成分实施分子对接操作。从Pubchem处获取的活性成分为SDF格式3D结构文件,运用OpenBabel v2.4.1软件把SDF格式转变为mol2格式。

1.2.7 代谢组学与网络药理学关联分析 将代谢组学得到的差异性代谢物和网络药理学得到的交集靶点上传Metabo Analyst数据库,利用Network analysis模块将代谢物与靶点关联,并构建代谢物-基因网络。结果发现,甘油磷脂代谢和花生四烯酸代谢途径在槲皮素对PRRSV诱导间质性肺炎的治疗中扮演着关键角色。用RT-qPCR方法对甘油磷脂代谢关键酶PLA2和花生四烯酸代谢关键酶LOX和COX mRNA表达水平进行验证。试验所需引物见表1。

1.3 数据统计与分析

试验结果用"平均值±标准差"表示,采用SPSS 13统计软件中的单因素方差分析和 t 检验分析各组数据之间的差异性。

2 结果与分析

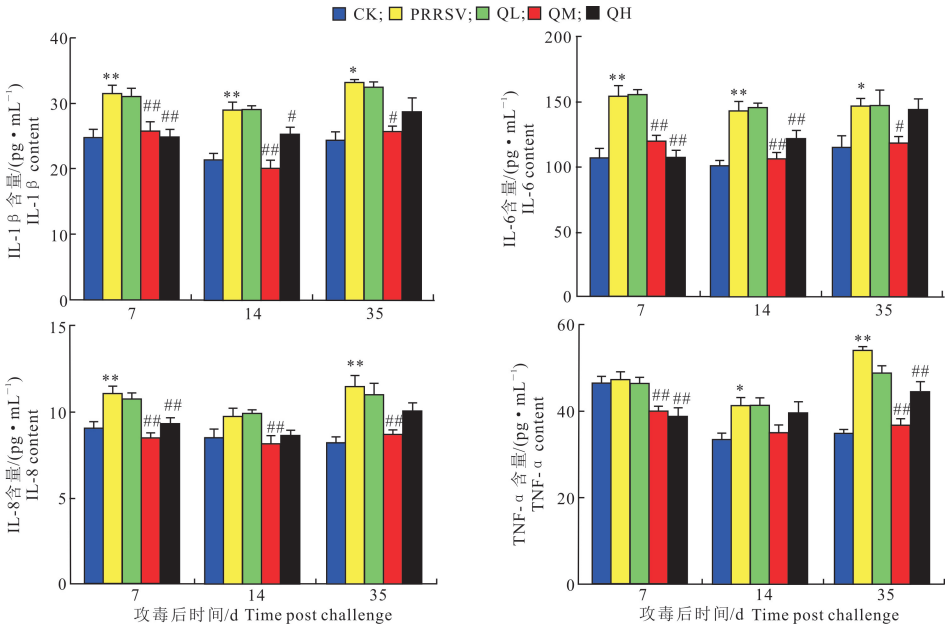
2.1 槲皮素对PRRSV感染仔猪血清细胞因子含量的影响

由图1可知,与CK组相比,攻毒7~35 d后,PRRSV组仔猪血清IL-1β、IL-8、IL-6和TNF-α含量大多显著或极显著升高。与PRRSV组相比,QL组仔猪血清IL-1β、IL-6、IL-8、TNF-α含量在攻毒后7~35 d无显著变化;QM组仔猪血清在攻毒后7~35 d大多显著或极显著降低。与PRRSV组相比,QH组仔猪血清IL-1β、IL-6含量在攻毒后7~14 d均显著或极显著降低,在攻毒后35 d无显著变化;IL-8、TNF-α含量在攻毒后7 d时均极显著降低,在攻毒后14和35 d时无显著变化。以上结果表明,PRRSV感染可诱导猪产生IL-1β、IL-6、IL-8和TNF-α等炎症细胞因子,槲皮素能抑制PRRSV诱导的炎症细胞因子分泌。

2.2 槲皮素对PRRSV感染仔猪肺脏 *IL*-1β、*IL*-6、*IL*-10和PRRSV *N* mRNA表达的影响

通过实时荧光定量PCR检测肺脏组织中 *IL*-1β、*IL*-6、*IL*-10和PRRSV *N* 基因mRNA的相对表达量。由图2可知,与CK组相比,PRRSV组仔猪肺组织中 *IL*-1β、*IL*-6和 *IL*-10 mRNA相对表达量均极显著升高;与PRRSV组相比,QL、QM和QH组仔猪肺脏组织中 *IL*-1β、*IL*-6和 *IL*-10 mRNA相对表达量均显著或极显著降低。与CK组相比,PRRSV

组仔猪肺组织 PRRSV *N* 基因 mRNA 相对表达量极显著升高；与 PRRSV 组相比，QL、QM 和 QH 组仔猪肺脏组织中 PRRSV *N* 基因 mRNA 相对表达量均极显著降低（$P<0.01$）。以上结果表明，PRRSV 感染仔猪后，*IL*-1β、*IL*-6 和 *IL*-10 基因 mRNA 的表达水平升高，而槲皮素可以降低仔猪肺组织中炎症细胞因子和病毒 *N* 基因 mRNA 的表达水平。



与 CK 组相比，* 表示差异显著（$P<0.05$），* * 表示差异极显著（$P<0.01$）；与 PRRSV 组相比，# 表示差异显著（$P<0.05$），# # 表示差异极显著（$P<0.01$）。下图同。

Compared with the control group, * indicates significant difference ($P<0.05$), and * * indicates extremely significant difference ($P<0.01$); Compared with the PRRSV group, # indicates significant difference ($P<0.05$), and # # indicates extremely significant difference ($P<0.01$). The same below.

图 1　槲皮素对 PRRSV 攻毒后仔猪血清中 IL-1β、IL-6、IL-8 和 TNF-α 细胞因子含量的影响

Fig. 1　Effects of quercetin on serum cytokines concentration of IL-1β, IL-6, IL-8 and TNF-α in piglets challenged with PRRSV

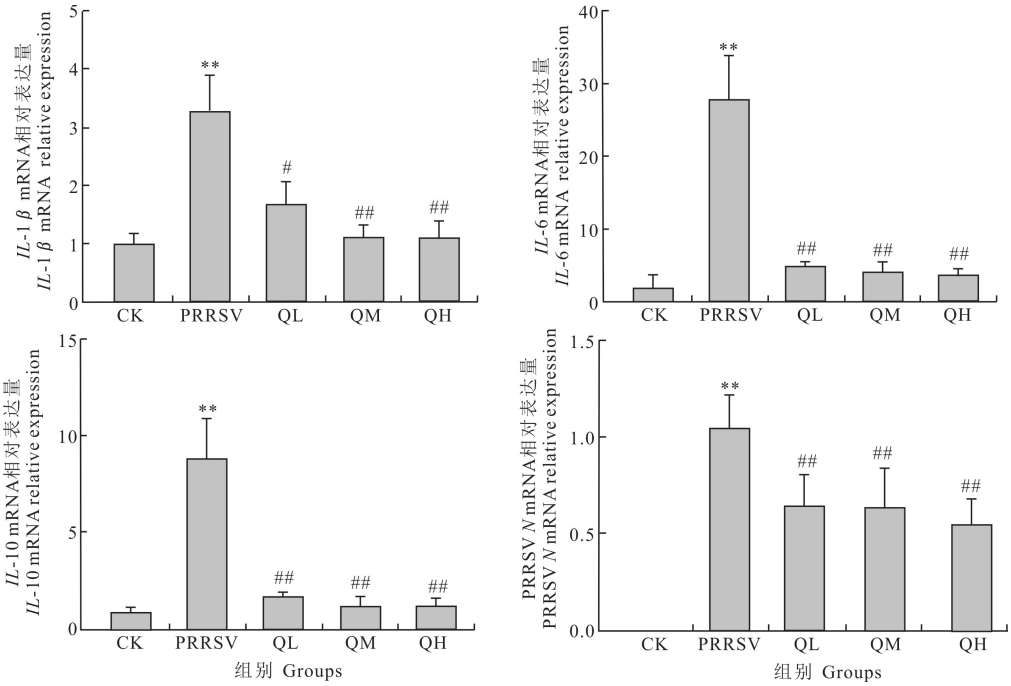
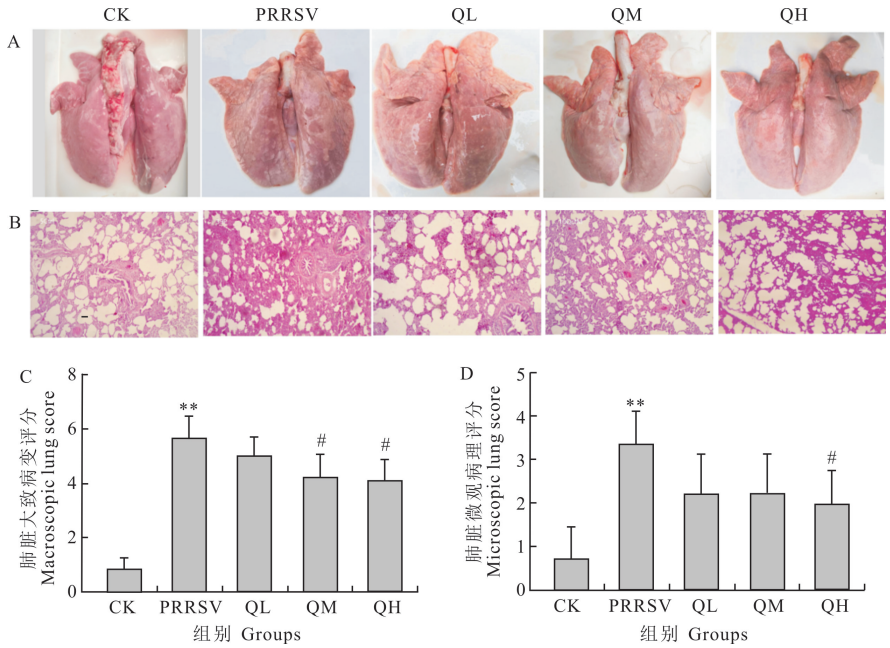


图 2　槲皮素对 PRRSV 攻毒后仔猪肺组织中 *IL*-1β、*IL*-6、*IL*-10 和 PRRSV *N* mRNA 相对表达量的影响

Fig. 2　Effects of quercetin on the relative mRNA expression of *IL*-1β, *IL*-6, *IL*-10 and PRRSV *N* in piglet lungs challenged with PRRSV

2.3 槲皮素对 PRRSV 感染仔猪肺组织病理变化的改善作用

PRRSV 攻毒后 1 d 仔猪出现咳嗽、打喷嚏和厌食等症状,至试验结束时无仔猪死亡。试验结束后剖检观察仔猪肺脏的病理变化,结果(图 3-A)显示,PRRSV 组仔猪肺脏肺泡间隔异常增宽,并伴有严重的肺实变、气肿;不同浓度槲皮素组的肺脏有轻微的间质增宽,无其他明显的病理变化。对仔猪肺脏整体的病理变化进行评分,结果(图 3-C)显示,槲皮素处理减轻了 PRRSV 感染所致的肺脏损伤评分。肺脏组织切片 HE 染色结果(图 3-B)显示,对照组肺脏组织结构正常,肺支气管与肺泡腔清晰可见;PRRSV 组肺泡壁增厚,肺泡内皮细胞增生、脱落,肺泡腔被占据而缩小,其内有大量炎性细胞浸润,符合 PRRSV 诱导的间质性肺炎特征;QL、QM 和 QH 组间质性肺炎的病变严重程度低于 PRRSV 组。肺脏微观病理变化评分结果(图 3-D)显示,槲皮素可降低 PRRSV 诱导的间质性肺炎的评分。试验结果表明,槲皮素可改善 PRRSV 引起的肺组织病变和间质性肺炎。



A 和 C. 肺脏大致的病理变化和评分;B 和 D. 肺脏微观的病理变化(200×)和评分。

A and C. Macroscopic pathological changes and scores of piglet lungs; B and D. Microscopic pathological changes (200×) and scores of piglet lungs.

图 3 槲皮素对 PRRSV 感染仔猪肺脏病理变化的影响

Fig. 3 Effects of quercetin on pulmonary pathological changes in piglets infected with PRRSV

2.4 槲皮素抑制 PRRSV 诱导炎症的血清代谢组学分析

2.4.1 差异代谢物筛选和聚类分析 PCA 图主要用于观察样本组间分离趋势。由图 4 可知,CK 组、PRRSV 组和 PRRSV+槲皮素组基本分布在不同的区域,说明各组所产生的代谢产物存在一定的差异。采用 LC-MS/MS 技术分析代谢物,以 OPLS-DA VIP>1 和 $P<0.05$ 为标准,挖掘具有生物学意义的差异代谢物。通过分析对照组和 PRRSV 组的代谢物,结合代谢差异物的筛选条件,最终得到 227 个差异显著的代谢物,其中上调 98 个,下调 129 个;对 PRRSV 和 QM 组代谢物进行分析,结合代谢差异物的筛选条件,最终得到 110 个差异显著的代谢物,其中上调 43 个,下调 67 个。

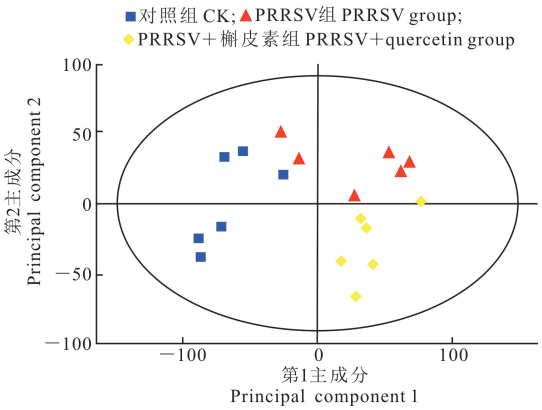


图 4 仔猪血清中代谢物的 PCA 得分图

Fig. 4 PCA score plot of serum metabolites from piglets

分析对照组、PRRSV 组和 PRRSV+槲皮素

组，从中筛选出经 PRRSV 诱导且能够被槲皮素回调的差异代谢物，结果共筛选出 16 种差异代谢物，分别为前列腺素 H2、磷脂酰胆碱、溶血磷脂胆碱、胞苷、1-O-十六烷基-sn-甘油-3-磷胆碱、磷脂酰肌醇、磷脂酸、3-磷酸甘油、甘油磷酸、丙氨酸、3-(3，5-二碘-4-羟基苯基) 乳酸盐 、1-O-(2R 羟基十八烷基)-sn 甘油、1-O-(2R 羟基十九烷基)-sn 甘油、吡啶、2-羟基戊二芳基-辅酶 A 和吲哚。为了更直观地展示样本之间的关系及同样本之间的表达差异，对筛选的潜在差异代谢物的表达量进行层次聚类分析，结果见图 5。图 5 显示，PRRSV 组相较于 CK 组，前列腺素 H2、磷脂酰胆碱等代谢物显著下调，而乳酸、丙氨酸等代谢物显著上调，表明 PRRSV 感染导致代谢重编程；而槲皮素干预后，这些代谢物的表达水平向 CK 组方向回调，形成独特的表达簇。

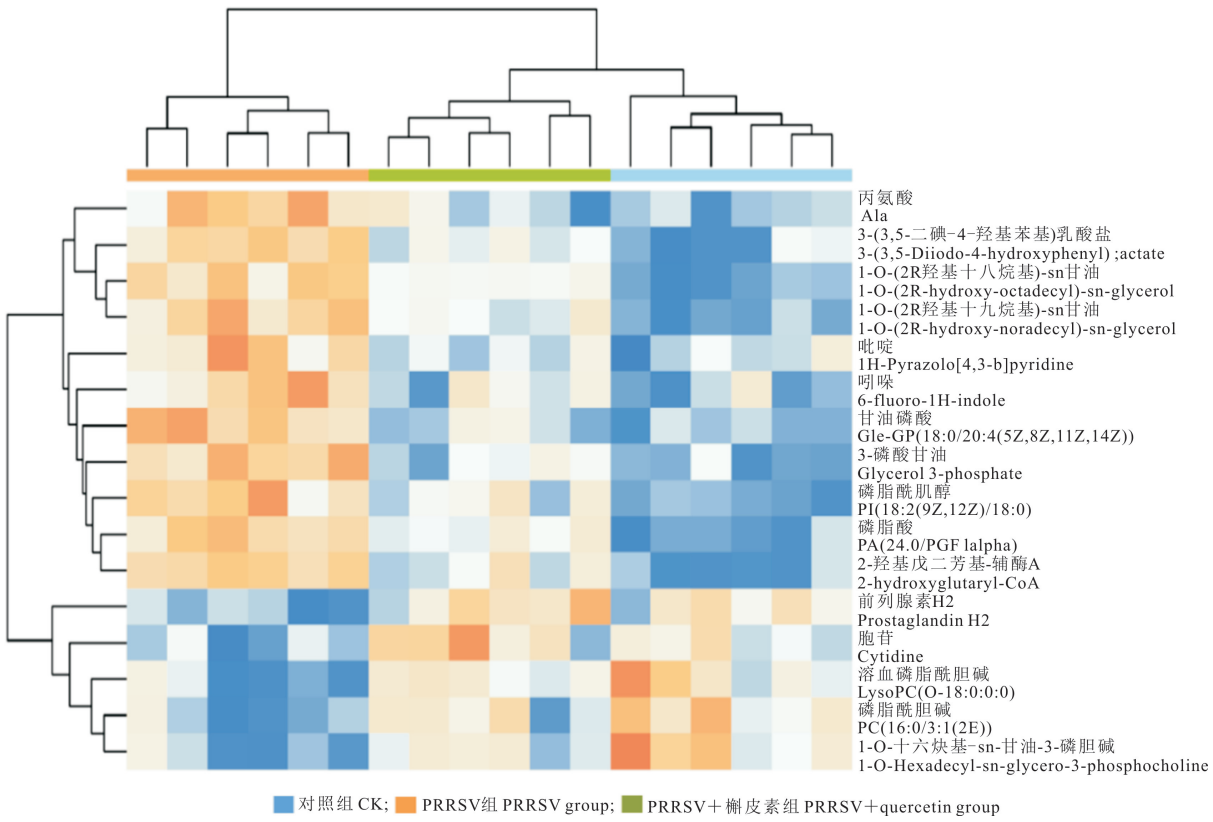


图 5　对照组、PRRSV 组与 PRRSV＋槲皮素组差异代谢物的层次聚类分析

Fig. 5　Hierarchical clustering analysis of differential metabolites among control，PRRSV，and PRRSV＋quercetin groups

2.4.2　差异代谢物通路的富集分析　采用 MetaboAnalyst 平台对差异代谢物进行代谢通路的富集分析，探讨槲皮素改善 PRRSV 诱导仔猪炎症作用的可能途径。代谢途径分析使用功能富集分析(具有 lg$P$ 值)和网络拓扑分析来确定相关的代谢途径。结果表明，甘油酯代谢、醚脂代谢、甘油磷脂代谢、酪氨酸代谢和花生四烯酸代谢在槲皮素抑制 PRRSV 诱导的炎症中发挥重要作用。

2.5　槲皮素抑制 PRRSV 诱导炎症的网络药理学分析

通过 ETCM 数据库，检索到了 70 个与槲皮素相关的靶点。同时，通过 GeneCards 和 OMIM 数据库，共检索到 3 425 个与病毒性间质性肺炎相关的靶点。将这两组靶点数据进行交集分析，共有 41 个重叠靶点。为了研究槲皮素对病毒性间质性肺炎的潜在治疗作用，将这 41 个相关靶点导入 String 数据库，确定蛋白间的相互作用。结果显示，槲皮素可能通过影响多个靶点发挥作用，其中表皮生长因子受体(EGFR)、基质金属蛋白酶 9(MMP9)、前列腺素内过氧化物合酶 2(PTGS2)、周期蛋白依赖性激酶 2(CDK2)和急性期蛋白(APP)等靶点在治疗中的重要性较高。使用 DAVID 数据库并设定 $P<0.05$，对 41 个核心靶点进行 GO 功能富集分析，结果筛选出 93 个与槲皮素治疗病毒性间质性肺炎高度相关的条目，涵盖 57 个生物过程(biological process，BP)、16 个细胞组分(cellular component，CC) 和 20

个分子功能(molecular functions,MF)。BP 条目主要涉及磷酸化(如 EGFR/MAPK 通路激活)和对氧化应激的反应(通过调控 PTGS2、APP 等靶点清除自由基),CC 条目主要与细胞质(如 CDK2、APP 的胞内信号转导)和细胞外空间(如 MMP9 分泌的酶原激活及 EGFR 配体结合)相关,而 MF 条目则主要与信号受体(如 EGFR 的酪氨酸激酶功能)和 ATP 结合(如激酶依赖性磷酸化反应)相关(图 6-A)。利用 DAVID 数据库,对关键靶点进行 KEGG 通路富集分析,以 $P<0.05$ 为标准,筛选出前 20 条显著的通路并进行可视化展示,结果(图 6-B)显示,显著的通路主要包括代谢通路、PI3K-Akt 信号通路、IL-17 信号通路和 T 细胞受体信号通路等,该结果揭示了槲皮素可能影响的关键生物学过程。

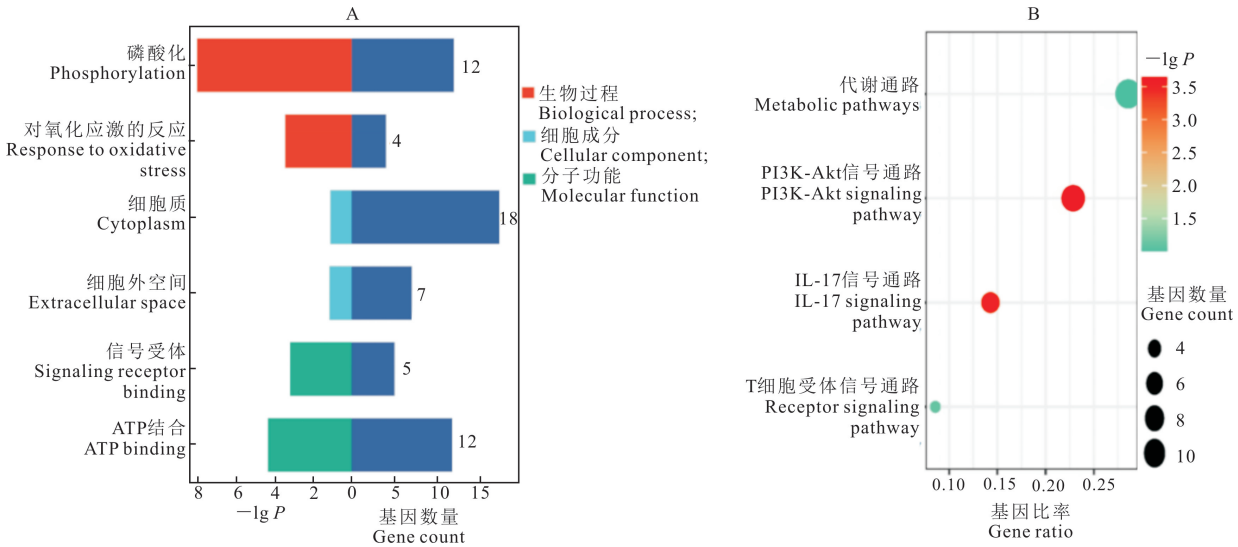


图 6 槲皮素治疗病毒性间质性肺炎的 GO 富集分析(A)和 KEGG 富集分析(B)

Fig. 6 GO enrichment analysis (A) and KEGG enrichment analysis (B) of quercetin in viral interstitial pneumonia treatment

在分子对接中,通常认为结合能的绝对值越大,表明活性成分与关键靶点之间的结合越紧密且越稳定。将槲皮素与通过 PPI 网络筛选出的 EGFR、MMP9、PTGS2、CDK2 和 APP 等核心靶点进行分子对接分析,其结合能分别为 −4.06,−5.52,−4.20,−5.13 和 −3.65 kJ/mol,表明槲皮素与这些靶点具有一定的结合亲和力,但相对较弱,需进一步验证其相互作用的有效性。

2.6 代谢组学与网络药理学联合分析结果及验证

通过 MetaboAnalyst 数据库,将 16 种差异代谢物与 41 个共同靶点进行关联分析,筛选出与代谢物及其代谢途径相关的干预靶点。利用 Cytoscape 3.10.2 软件构建“靶点-代谢途径-代谢物”的网络图。结果显示,甘油磷脂代谢和花生四烯酸代谢途径与代谢组学数据相吻合,暗示其可能在槲皮素对病毒性间质性肺炎的治疗中扮演着关键角色。进一步验证肺脏甘油磷脂代谢关键酶基因 *PLA2* 及花生四烯酸代谢关键酶基因 *LOX*、*COX1*、*COX2* mRNA 变化。由图 7 可知,与 CK 组相比,PRRSV 组肺脏 *PLA2*、*COX1* 和 *LOX* 基因 mRNA 表达水平均极显著上调($P<0.01$),*COX2* 基因 mRNA 水平无显著差异($P>0.05$);与 PRRSV 组相比,槲皮素治疗组肺脏 *PLA2*、*COX1* 和 *LOX* 基因 mRNA 表达水平大多显著或极显著下调。结果表明,槲皮素通过调节甘油磷脂和花生四烯酸代谢中的关键酶来改善 RRRSV 诱导的炎症反应。

3 讨 论

猪繁殖与呼吸综合征是一种由 PRRSV 引起的高度接触性传染病,该病对全球养猪业造成了巨大的经济损失。PRRSV 不仅导致母猪繁殖障碍,还对猪的呼吸系统造成严重损害。本试验使用的 PRRSV 毒株是我国主要的流行毒株 NADC30-like,该毒株对仔猪具有较强的致病性,可引起仔猪较高滴度的病毒血症、炎症反应和严重的组织病理学肺损伤[11]。PRRSV 侵害巨噬细胞,损害机体免疫机能,使猪极易发生继发感染,导致间质性肺炎等呼吸道疾病。PRRSV 传播途径广泛,且毒株变异快,导致病毒在猪群中难以根除,目前尚无特效疗法,疫苗的保护效率也有限,因此深入研发防控 PRRSV 的

药物对制定有效的防控策略至关重要。本研究结果显示，槲皮素能降低 PRRSV 感染仔猪血清中 IL-1β、IL-6、IL-8 和 TNF-α 炎症因子的含量，抑制仔猪肺脏 *IL*-1β、*IL*-6、*IL*-10 和 PRRSV *N* mRNA 基因的表达，改善 PRRSV 诱导的间质性肺炎，表明槲皮素对防控 PRRSV 具有较好的效果。

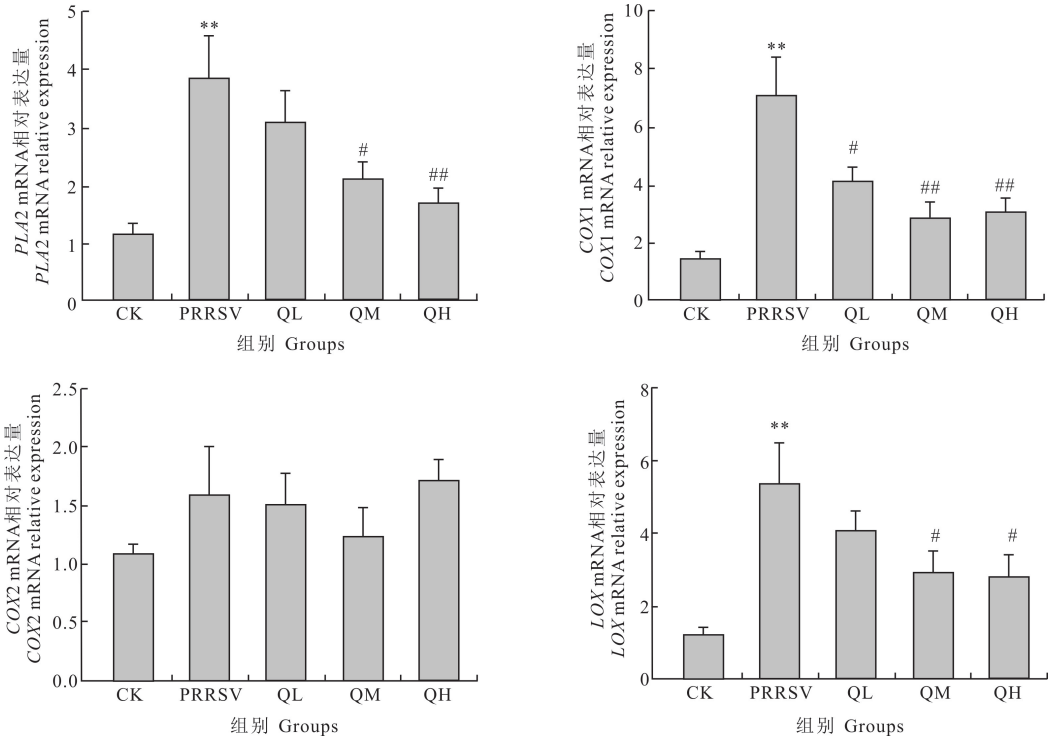


图 7　槲皮素对 PRRSV 感染猪肺脏 *PLA*2、*COX*1、*COX*2 和 *LOX* mRNA 表达的影响

Fig. 7　Effects of quercetin on pulmonary mRNA expression of *PLA*2, *COX*1, *COX*2, and *LOX* in PRRSV-infected piglets

前列腺素 H2、溶血磷脂胆碱、乳酸可通过不同方式调节细胞内的酸碱平衡和能量代谢，从而影响炎症反应[12-14]。研究显示，PRRSV 感染可触发磷脂酶 A2(PLA2)介导的花生四烯酸释放，经环氧化酶(COX)、脂氧合酶(LOX)代谢生成前列腺素、白三烯等炎症介质，同时通过 PI3K-Akt 通路抑制 IL-6、TNF-α 等因子释放，形成复杂的炎症调控网络[14-17]。本研究代谢组学结果表明，PRRSV 感染后仔猪血清中代谢物发生变化，其中甘油酯代谢、醚脂代谢、甘油磷脂代谢、酪氨酸代谢和花生四烯酸代谢等通路受到显著影响。槲皮素治疗后，这些代谢通路中的关键代谢物水平得到回调，提示槲皮素可能通过调控这些代谢通路来抑制炎症。特别是甘油磷脂代谢和花生四烯酸代谢途径，其作为细胞膜结构和信号转导的重要组成部分，在 PRRSV 诱导的炎症中起关键作用。槲皮素可能通过调节这些代谢途径中的关键酶(如 PLA2、COX 和 LOX)来减少炎症介质的生成，从而缓解炎症反应。

本试验进一步通过网络药理学全面地解析槲皮素在 PRRSV 诱导炎症中的治疗机制，结果显示槲皮素可能通过与 EGFR、MMP9、PTGS2、CDK2 和 APP 等靶点结合发挥治疗作用。EGFR、MMP9、PTGS2、CDK2 及 APP 等靶点通过激活 MAPK、PI3K/Akt、STAT3、NF-κB 及 AP-1 等多条信号通路调控细胞炎症及细胞的增殖与分化，同时乳酸、丙氨酸等代谢物通过调控这些靶点活性进一步影响下游通路，实现对炎症反应的协同抑制[18-23]。本研究分子对接验证结果显示，槲皮素与这些核心靶点具有较强的结合能力，这进一步验证了其在炎症治疗中的作用。RT-qPCR 验证试验发现，槲皮素可以通过抑制肺脏 *PLA*2、*LOX*、*COX*1 mRNA 的表达来减少甘油磷脂和花生四烯酸的生成，进而改善炎症。结果表明，甘油磷脂代谢和花生四烯酸代谢在槲皮素治疗 PRRSV 诱导间质性肺炎中扮演着关键角色。

综上所述，槲皮素通过甘油磷脂代谢和花生四烯酸代谢途径调节血清代谢物，进而调控炎症相关核心靶基因，降低炎症水平，缓解机体代谢紊乱，治疗 PRRSV 诱导的炎症反应。本研究结果体现了黄酮类药物槲皮素治疗多靶点、多途径的特点，为槲皮

素治疗猪繁殖与呼吸综合征的作用机制研究提供了思路。

[参考文献]

[1] 杨汉春,周磊.2023 年猪病流行情况与 2024 年流行趋势及防控对策[J].猪业科学,2024,41(2):61-64.
YANG H C,ZHOU L. Epidemic situation of swine diseases in 2023,epidemic trend in 2024 and prevention and control countermeasures[J]. Swine Industry Science,2024,41(2):61-64.

[2] 付霞丽,郑紫方,李洋,等.PRRSV 感染继发细菌性病原的致病性及耐药性分析[J].中国兽医学报,2021,41(8):1470-1475.
FU X L,ZHENG Z F,LI Y,et al. Analysis of pathogenicity and drug resistance of bacterial pathogens after PRRSV infection[J]. Chinese Journal of Veterinary Science,2021,41(8):1470-1475.

[3] ZHANG F L,CHEN Y L,LUO Z Y,et al. Huashi Baidu granule alleviates inflammation and lung edema by suppressing the NLRP3/caspase-1/GSDMD-N pathway and promoting fluid clearance in a porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) model[J]. Journal of Ethnopharmacology,2025,340:119207.

[4] 魏春华,刘建奎,戴爱玲,等.福建 NADC30-like PRRSV FJLY01 株的全基因组分子特征分析[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2017,45(3):51-60,67.
WEI C H,LIU J K,DAI A L,et al. Molecular characterization of NADC30-like PRRSV isolate FJLY01 from Fujian[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition),2017,45(3):51-60,67.

[5] TOR M,FRAILE L,VILARÓ F,et al. Multiplex assay to determine acute phase proteins in modified live PRRSV vaccinated pigs[J]. Journal of Proteome Research,2024,23(8):3515-3523.

[6] RENSON P,MAHÉ S,ANDRAUD M,et al. Effect of vaccination route (intradermal vs. intramuscular) against porcine reproductive and respiratory syndrome using a modified live vaccine on systemic and mucosal immune response and virus transmission in pigs[J]. BMC Veterinary Research,2024,20(1):5.

[7] 林启炫,杜灿凯,林稚凯,等.黄酮类化合物的生物活性及应用研究[J].现代食品,2024,30(2):92-97.
LIN Q X,DU C K,LIN Z K,et al. Study on the biological activity and application of flavonoids[J]. Modern Food,2024,30(2):92-97.

[8] 杜春妍,赵云丽,阮徐莉,等.香青兰总黄酮对 RAW264.7 巨噬细胞泡沫化及炎症反应的调控作用[J].中国药理学通报,2023,39(10):1973-1979.
DU C Y,ZHAO Y L,RUAN X L,et al. Regulation of *Dracocephalum moldavica* total flavonoids on foaming and inflammatory response of RAW264.7 macrophages[J]. Chinese Pharmacological Bulletin,2023,39(10):1973-1979.

[9] EATON C W,VU H L,HODGES A L,et al. Host-genetic-based outcome of co-infection by PCV2b and PRRSV in pigs[J]. Journal of Animal Science,2023,101:skad164.

[10] PROCTOR J,WOLF I,BRODSKY D,et al. Heterologous vaccine immunogenicity,efficacy,and immune correlates of protection of a modified-live virus porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine[J]. Frontiers in Microbiology,2022,13:977796.

[11] LIU J K,LIU C,XU Y,et al. Molecular characteristics and pathogenicity of a novel recombinant porcine reproductive and respiratory syndrome virus strain from NADC30-,NADC34-,and JXA1-like strains that emerged in China[J]. Microbiology Spectrum,2022,10(6):e02667-22.

[12] MUTHUKAMAN N,DESHMUKH S,SARODE N,et al. Discovery of 2-((2-chloro-6-fluorophenyl)amino)-N-(3-fluoro-5-(trifluoromethyl) phenyl)-1-methyl-7,8-dihydro-1H-[1,4]dioxino[2′,3′:3,4]benzo[1,2-d]imidazole-5-carboxamide as potent,selective and efficacious microsomal prostaglandin E(2) synthase-1 (mPGES-1) inhibitor[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,2016,26(24):5977-5984.

[13] LIU P P,ZHU W,CHEN C,et al. The mechanisms of lysophosphatidylcholine in the development of diseases[J]. Life Sciences,2020,247:117443.

[14] LU L J,HUANG C F,ZHOU Y F,et al. Tinosporae radix attenuates acute pharyngitis by regulating glycerophospholipid metabolism and inflammatory responses through PI3K-Akt signaling pathway[J]. Frontiers in Pharmacology,2024,15:1491321.

[15] 陈佳斌,张梦瑶,王单,等.虎杖调控脂质代谢治疗呼吸道合胞病毒感染肺纤维化小鼠模型的研究[J].南京中医药大学学报,2023,39(7):618-628.
CHEN J B,ZHANG M Y,WANG D,et al. Study on lipid metabolism regulated by *Polygonum cuspidatum* in the treatment of pulmonary fibrosis model of respiratory syncytial virus infection in mice[J]. Journal of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine,2023,39(7):618-628.

[16] 蔡亚玮,刘建宏,马宁.花生四烯酸靶向代谢组学在炎症中的研究现状[J].中国临床药理学杂志,2021,37(19):2721-2723,2728.
CAI Y W,LIU J H,MA N. Research status of arachidonic acid-targeted metabonomics in inflammation[J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology,2021,37(19):2721-2723,2728.

[17] ANAND G,CLARK-DINOVO C,PERRY A M,et al. Aromatic amino acid metabolites alter interferon signaling and influenza pathogenesis[J]. Frontiers in Molecular Biosciences,2024,10:1232573.

[18] LIU C L,ZHANG C,CHEN L,et al. Lingo1 in the hippocampus contributes to cognitive dysfunction after anesthesia and surgery in aged mice[J]. International Journal of Biological Sciences,2025,21(2):595-613.

[19] ZHANG H Z,LIU L S,JIANG C M,et al. MMP9 protects against LPS-induced inflammation in osteoblasts[J]. Innate Immunity,2020,26(4):259-269.

(下转第 152 页)

[23] 王梓洋,石培基,石晶,等.河谷城市空间扩展的生态效应:以兰州市主城区为例[J].资源科学,2023,45(12):2385-2399.
WANG Z Y,SHI P J,SHI J,et al. Ecological effect of urban spatial expansion in river valleys:a case study in the main urban area of Lanzhou City[J]. Resources Science,2023,45(12):2385-2399.

[24] 王玺,周亮,唐相龙,等.西北典型山地城市绿色空间时空演化特征:以兰州市为例[J].干旱区资源与环境,2023,37(1):106-112.
WANG X,ZHOU L,TANG X L,et al. Spatial-temporal evolution characteristics of urban green space in typical mountainous cities of Northwest China:a case study in Lanzhou[J]. Journal of Arid Land Resources and Environment,2023,37(1):106-112.

[25] 杨珺,李豪,马青,等.汾河流域土地利用景观格局演变及其驱动因素探究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2024,52(6):83-94.
YANG J,LI H,MA Q,et al. Evolution and driving factors of land use landscape pattern in the Fenhe River Basin[J]. Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition),2024,52(6):83-94.

[26] 孙晨,贡璐,马勇刚,等.塔里木河上游典型绿洲土地利用时空格局分析[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2020,48(7):113-122.
SUN C,GONG L,MA Y G,et al. Temporal and spatial pattern analysis of land use in typical oasis in the upper reaches of the Tarim River[J]. Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition),2020,48(7):113-122.

[27] 马小雪,吴昊,秦伯强,等.长江经济带景观格局动态演变及其景观生态环境效应[J].地理科学,2022,42(10):1706-1716.
MA X X,WU H,QIN B Q,et al. Spatiotemporal change of landscape pattern and its eco-environmental response in the Yangtze River economic belt[J]. Scientia Geographica Sinica,2022,42(10):1706-1716.

[28] 吴镇宇,罗梦琦,郭红丽,等.基于地理探测器的江苏省沿江地区土壤侵蚀定量分析[J].水土保持通报,2022,42(2):184-188,387.
WU Z Y,LUO M Q,GUO H L,et al. Quantitative analysis of soil erosion along Yangtze River in Jiangsu Province based on geographic detector[J]. Bulletin of Soil and Water Conservation,2022,42(2):184-188,387.

[29] 贾静,宿星,张军,等.1985—2020年甘肃省通渭县滑坡区土地利用变化及驱动力[J].应用生态学报,2024,35(10):2833-2841.
JIA J,SU X,ZHANG J,et al. Land use changes and driving forces of landslide area in Tongwei County,Gansu Province,Northwest China from 1985 to 2020[J]. Chinese Journal of Applied Ecology,2024,35(10):2833-2841.

[30] 李旭东,韩亮,吉杲钇.能源型城市景观格局时空演变与驱动机制的量化研究:以山西省大同市为例[J].山西大同大学学报(自然科学版),2024,40(6):118-123.
LI X D,HAN L,JI G Y. Quantitative study of the spatiotemporal evolution and driving mechanism of landscape pattern in energy intensive cities:a case study of Datong City,Shanxi Province[J]. Shanxi Datong University Journal,2024,40(6):118-123.

(责任编辑:李小平)

(上接第142页)

[20] LI R L,XIE J R,XU W,et al. LPS-induced PTGS2 manipulates the inflammatory response through trophoblast invasion in preeclampsia via NF-κB pathway[J]. Reproductive Biology,2022,22(4):100696.

[21] LI H Y,LIU C,LI R,et al. AARS1 and AARS2 sense l-lactate to regulate cGAS as global lysine lactyltransferases[J]. Nature,2024,634(8036):1229-1237.

[22] ZONG Z,XIE F,WANG S,et al. Alanyl-tRNA synthetase,AARS1,is a lactate sensor and lactyltransferase that lactylates p53 and contributes to tumorigenesis[J]. Cell,2024,187(10):2375-2392.e33.

[23] XU H J,WANG H,NING X P,et al. Integrated bioinformatics and validation reveal PTGS2 and its related molecules to alleviate TNF-α-induced endothelial senescence[J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal,2024,60(8):888-902.

(责任编辑:马秋明)