

杜梦华, 李云洁, 郭亚迪, 等. 短链脂肪酸异戊酸对痘苗病毒体外活性的影响[J]. 山西农业科学, 2025, 53(6): 127-134.

DU M H, LI Y J, GUO Y D, et al. Effect of short-chain fatty acid isovaleric acid on vaccinia virus *in vitro* activity[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2025, 53(6): 127-134.

doi:10.26942/j.cnki.issn.1002-2481.2025.06.15

短链脂肪酸异戊酸对痘苗病毒体外活性的影响

杜梦华^{1,2,3}, 李云洁^{1,2,3}, 郭亚迪^{1,2,3}, 梅航天^{1,2,3}, 邵弓宇^{1,2,3},

尚雨欣^{1,2,3}, 王江^{1,2,3}, 褚贝贝^{1,2,3}, 明胜利^{1,2,3}

(1.河南农业大学 动物医学院, 河南 郑州 450046; 2.农业农村部动物生化与营养重点开放实验室, 河南 郑州 450046; 3.河南省兽医生物技术重点实验室, 河南 郑州 450046)

摘要:为探究短链脂肪酸异戊酸对痘苗病毒(VACV)体外增殖的抑制作用及其机制,采用直接免疫荧光法筛选5种短链脂肪酸的抗病毒效应;通过CCK-8法评估异戊酸(30~3 000 $\mu\text{mol/L}$)对BHK-21、Vero细胞活力的影响;PI染色结合流式细胞术分析异戊酸(10~100 $\mu\text{mol/L}$)对细胞周期的干预作用。利用流式细胞术定量异戊酸处理细胞中VACV-GFP的增殖水平;采用Western blotting检测VACV结构蛋白A27L、GFP表达变化;采用实时荧光定量PCR分析病毒关键基因 $F17R$ 、 $E9L$ 的mRNA转录水平。结果表明,异戊酸显著抑制VACV增殖,且在30~3 000 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对细胞活力无显著影响,在10~100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度时未干扰细胞周期;Western blotting结果显示,异戊酸剂量依赖性抑制A27L、GFP蛋白表达;qPCR证实,其显著下调 $F17R$ 、 $E9L$ 的mRNA水平。综上,异戊酸通过抑制病毒蛋白合成及基因转录,有效阻断VACV体外增殖。

关键词:短链脂肪酸;异戊酸;痘苗病毒;Western blotting;流式细胞术;抗病毒

中图分类号:S852.65 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2481(2025)06-0127-08

Effect of Short-Chain Fatty Acid Isovaleric Acid on Vaccinia Virus *in vitro* Activity

DU Menghua^{1,2,3}, LI Yunjie^{1,2,3}, GUO Yadi^{1,2,3}, MEI Hangtian^{1,2,3}, SHAO Gongyu^{1,2,3},

SHANG Yuxin^{1,2,3}, WANG Jiang^{1,2,3}, CHU Beibei^{1,2,3}, MING Shengli^{1,2,3}

(1.College of Veterinary Medicine, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, China; 2.Key Laboratory of Animal Biochemistry and Nutrition, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Zhengzhou 450046, China; 3.Key Laboratory of Veterinary Biotechnology of Henan Province, Zhengzhou 450046, China)

Abstract: Aiming to investigate the inhibitory effect of the short-chain fatty acid, isovaleric acid, on the *in vitro* proliferation of vaccinia virus(VACV) and its underlying mechanism, in this study, direct immunofluorescence assay was used to screen the antiviral effects of five short-chain fatty acids. The Cell Counting Kit-8(CCK-8) assay was employed to evaluate the impact of isovaleric acid(30-3 000 $\mu\text{mol/L}$) on the viability of BHK-21 and Vero cells. Propidium Iodide(PI) staining combined with flow cytometry was applied to analyze the intervention effect of isovaleric acid(10-100 $\mu\text{mol/L}$) on cell cycle progression. Flow cytometry was used to quantify the proliferation level of VACV-green fluorescent protein(VACV-GFP) in isovaleric acid-treated cells. Western blotting was performed to detect the expression changes of VACV structural protein A27L and GFP. Quantitative real-time polymerase chain reaction(qPCR) was utilized to analyze the mRNA transcription levels of the key viral genes(VACV $F17R/E9L$). The results showed that isovaleric acid significantly inhibited VACV proliferation. It had no significant effect on cell viability at concentrations of 30-3 000 $\mu\text{mol/L}$ and did not interfere with the cell cycle at 10-100 $\mu\text{mol/L}$. Western blotting results demonstrated that isovaleric acid dose-dependently inhibited the expression of A27L and

收稿日期: 2025-11-25

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(32503059); 国家重点研发计划青年科学家项目(2023YFD1801600)

作者简介: 杜梦华, 在读硕士, 研究方向: 动物传染病与分子免疫学, E-mail: 2051278986@qq.com。杜梦华、李云洁为同等贡献作者

通信作者: 明胜利, 讲师, 博士, 主要从事动物病毒与宿主相互作用研究, E-mail: mingsl911102@163.com

GFP proteins. qPCR confirmed that it significantly downregulated the mRNA levels of VACV *F17R/E9L*. In conclusion, isovaleric acid effectively blocked the *in vitro* proliferation of VACV by inhibiting viral protein synthesis and gene transcription.

Keywords: short-chain fatty acids; isovaleric acid; vaccinia virus; Western blotting; flow cytometry; antiviral agents

短链脂肪酸(Short chain fatty acids, SCFAs)是含 1~6 个碳原子的脂肪酸,主要包括乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸和己酸。SCFAs 由肠道微生物发酵难消化的碳水化合物或蛋白质产生。机体因缺乏膳食纤维、抗性淀粉等相应的消化酶,无法在胃和小肠被分解吸收,进入大肠后成为肠道菌群的发酵底物。双歧杆菌^[1]、拟杆菌^[2]等有益菌通过复杂代谢途径将其转化为 SCFAs;未吸收蛋白质经小肠时,缬氨酸^[3]、异亮氨酸和亮氨酸^[4]可被特定细菌发酵为支链脂肪酸,如异丁酸、2-甲基丁酸和异戊酸^[5]。

肠道 SCFAs 通过被动扩散或单羧酸转运蛋白(MCT)介导的主动转运进入肠上皮细胞和循环系统,为机体供能,并参与糖脂代谢及疾病调控^[6]。SCFAs 可激活 G 蛋白偶联受体(GPCRs,如 GPR41、GPR43 和 GPR109A),G 蛋白偶联受体与百日咳毒素敏感的 G(i/o)- α 蛋白偶联^[7],调控三磷酸肌醇(IP3)生成、细胞内钙库动员、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK3/ERK1、MAPK1/ERK2)磷酸化,并抑制环磷酸腺苷(cAMP)积累^[8]。PENG 等^[9]研究表明,丙酸盐结合肝脏 GPR43 通过 Ca^{2+} 、钙调蛋白依赖性蛋白激酶 β (CaMKK β)通路激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK),抑制糖异生。YU 等^[10]研究发现,丁酸盐结合 GPR43 可阻断 p38 MAPK/NF- κ B 信号,抑制滤泡辅助性 T 细胞 13(Tfh13)亚群分化及免疫球蛋白 E(IgE)分泌,从而缓解哮喘。此外,SCFAs 作为组蛋白去乙酰化酶(HDACs)的天然抑制剂,通过调控基因表达影响糖脂代谢、能量稳态、氧化应激和炎症反应^[11]。还可通过恢复肠道正常微生物群落治疗代谢性疾病^[12]。近期研究揭示,SCFAs 可通过多机制抑制病毒复制:乙酸盐经 GPR43 依赖性代谢重编程增强 CD8⁺T 细胞对甲型流感病毒(IAV PR8 株)的免疫应答^[13];丁酸盐则通过 GPR43 促进 III 型 IFN 产生,抑制猪流行性腹泻病毒复制^[14]。

痘苗病毒(Vaccinia virus, VACV)是一类大而复杂的 DNA 病毒,呈砖形或椭圆形,由核心、侧体和包膜组成。核心含约 190 kb 线性双链 DNA 基因组及少量蛋白,可编码 200 余种参与病毒入侵、

转录、复制、组装和宿主互作的蛋白。核心两侧有 1~2 个富含免疫调节蛋白的侧体,在病毒入侵后快速调控免疫环境以优化复制条件。病毒表面具包膜及脂蛋白管状结构,衣壳呈复合对称形^[15],其复制严格局限于细胞质。

痘苗病毒可感染牛、猪、人等多种生物,尤其是痘苗病毒可与其他痘病毒交叉感染,如猪痘病毒,痘苗病毒感染猪后潜伏期仅 2~3 d,病猪会出现 41~42 °C 高热,还伴有精神萎靡、食欲下降、咳嗽流涕等症状,腹部和四肢内侧会起痘疹并转为脓疱,少数病猪黏膜会出现水疱、溃疡且伴随腹泻,重症病猪大多会死亡^[16]。此外,痘苗病毒属于正痘病毒属,在结构、基因组组成及复制机制上具有痘病毒科共性,是研究痘病毒生物学特性、复制机制及免疫逃逸的重要模式病原体。痘病毒主要通过直接接触、间接接触或呼吸道传播,引发发热、淋巴结肿大及皮肤病变(水疱、脓疱、皮疹等)。不同毒株毒力差异导致临床症状多样。最新研究^[17]显示,猴痘病毒感染可致神经系统综合征(头痛、肌痛、癫痫、意识改变及脑炎/脑病),严重者可致死。目前,尚无特效抗痘病毒药物,治疗以对症支持为主。疫苗虽为有效预防手段,但对新型痘病毒(如自 2022 年起全球多国暴发的猴痘病毒)保护力有限^[18]。传统痘苗疫苗对猴痘病毒仅具部分交叉保护,无法彻底清除感染。因此,开发新型抗痘病毒药物具有紧迫需求和重要应用价值。

本研究旨在探究短链脂肪酸异戊酸对 VACV 体外活性的影响,为牛痘病毒及正痘病毒属病毒防治提供新思路及药物开发依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

VACV-GFP 毒株购自云舟生物;BHK-21 细胞(乳仓鼠肾细胞)、Vero 细胞(非洲绿猴肾细胞)、VACV A27L 单抗由农业农村部动物生化与营养重点开放实验室保存。乙酸、丙酸、异丁酸、正戊酸、异戊酸购自 Aladdin 上海阿拉丁生化科技股份有限公司;CCK-8 试剂盒购自翌圣生物科技有限公司;PI 染液购自武汉塞维尔生物科技有限公司;

通用型高灵敏度染料法定量PCR试剂盒(Q711)购自诺唯赞生物科技股份有限公司;α-Tubulin抗体(80762-1-RR)、GFP抗体(50430-2-AP)购自Proteintech武汉三鹰技术有限公司;HRP标记山羊抗小鼠IgG(PA1-74421)购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;HRP标记山羊抗兔IgG(IH-0011)购自北京昌盛生物技术有限责任公司。

1.2 试验方法

1.2.1 短链脂肪酸抗病毒活性筛选 将Vero细胞接种于24孔板(5×10⁴个/孔),37℃、5% CO₂培养至50%汇合度。弃培养基,PBS清洗后,分别加入含0、10、30、100 μmol/L乙酸、丙酸、异丁酸、正戊酸、异戊酸的无血清DMEM培养基,3个复孔,处理4 h。弃培养基,PBS清洗,接种MOI(病毒感染复数)=0.1的VACV-GFP(无血清DMEM稀释),吸附1 h。PBS清洗后更换含相应浓度脂肪酸的维持培养基(1% FBS DMEM)。当GFP阳性率达50%时,荧光倒置显微镜拍照计算荧光强度。

1.2.2 细胞活力检测 将BHK-21、Vero细胞接种于96孔板(2×10³个/孔),培养12 h贴壁后,弃培养基,PBS清洗,分别加入含0、30、100、300、1 000、3 000 μmol/L异戊酸的完全培养基(10% FBS DMEM),每组设3复孔。分别于处理0、6、12、24、36、48、60 h后,每孔加入10 μL CCK-8溶液,37℃孵育2 h,酶标仪检测OD₄₅₀,即为细胞活力。

1.2.3 细胞周期检测 将BHK-21、Vero细胞接种于6孔板(5×10⁵个/孔),培养至50%汇合度后,分别加入含0、10、30、100 μmol/L异戊酸的完全培养基,每组设3复孔,处理24 h。收集细胞,70%乙醇(预冷)-20℃固定过夜。1 500 r/min离心弃固定液,PBS重悬后加入1 mg/mL RNase A(37℃孵育30 min),再加入PI染液避光孵育40 min,

CytoFLEX流式细胞仪检测400 nm激发光下的红色荧光。

1.2.4 病毒增殖检测 细胞处理同1.2.1(仅使用异戊酸)。当GFP阳性率达50%时,使用胰酶消化细胞(200 μL胰酶+800 μL 10% FBS DMEM终止),收集细胞悬液,CytoFLEX流式细胞仪分析GFP阳性细胞比例。

1.2.5 异戊酸处理对A27L、GFP蛋白表达量检测 将1×10⁶个细胞接种于60 mm培养皿,按1.2.1方法处理异戊酸24 h。RIPA裂解液(含蛋白酶抑制剂)裂解细胞,BCA法测定蛋白浓度。取15 μg(内参)和60 μg(目的蛋白)样品进行SDS-PAGE,转印至PVDF膜。5%脱脂奶(TBST配制)封闭1 h,分别孵育α-Tubulin抗体(1:1 000,4℃过夜)、VACV A27L单抗(1:500,4℃过夜)和GFP抗体(1:1 000,4℃过夜),洗膜后,HRP标记二抗(1:5 000)室温孵育2 h,Milipore显影液显色,超灵敏多功能成像仪分析蛋白表达。

1.2.6 基因表达检测 将细胞接种于6孔板(5×10⁵个/孔),按1.2.1方法处理异戊酸12 h。Trizol法提取RNA:每孔加1 mL Trizol,静置3 min,转移至EP管;加200 μL氯仿,振荡15 s,室温静置5 min,4℃13 200 r/min离心10 min;取450 μL上清,加450 μL异丙醇,混匀静置10 min,4℃13 200 r/min离心10 min;弃上清,1 mL 75%乙醇(DEPC水配制)洗沉淀,4℃13 200 r/min离心5 min,重复1次;晾干,DEPC水溶解RNA。

按反转录试剂盒说明书合成cDNA。qPCR反应体系(10 μL):2×SYBR qPCR Master Mix 5 μL,上、下游引物(表1)各0.4 μL,cDNA模板1.5 μL,ddH₂O 2.7 μL。扩增程序:95℃预变性2 min;95℃15 s,60℃20 s,72℃20 s,40次循环。以β-actin为内参,T-test分析数据(n=3)。

表1 引物信息
Tab.1 Primer information

基因 Genes	引物序列(5'-3') Primer sequences(5'-3')	用途 Application
VACV-F7R	F:ATTCTCATTTTGCATCTGCTC R:AGCTACATTATCGCGATTAGC	qRT-PCR for detection of F7R
VACV-E9L	F:TGTCGAAATGGTGAGACCGT R:AACCACATATCTGCGACGGA	qRT-PCR for detection of E9L
BHK21-GAPDH	F:GGCAAGTTCAAAGGCACAGTCAAG R:AACATACTCGGCACCAGCATCA	qRT-PCR for detection of GAPDH
Monkey-β-actin	F:CGTGGACATCCGTAAAGAC R:TTCTCCTTGATGTCCCGCACG	qRT-PCR for detection of β-actin

1.3 统计分析

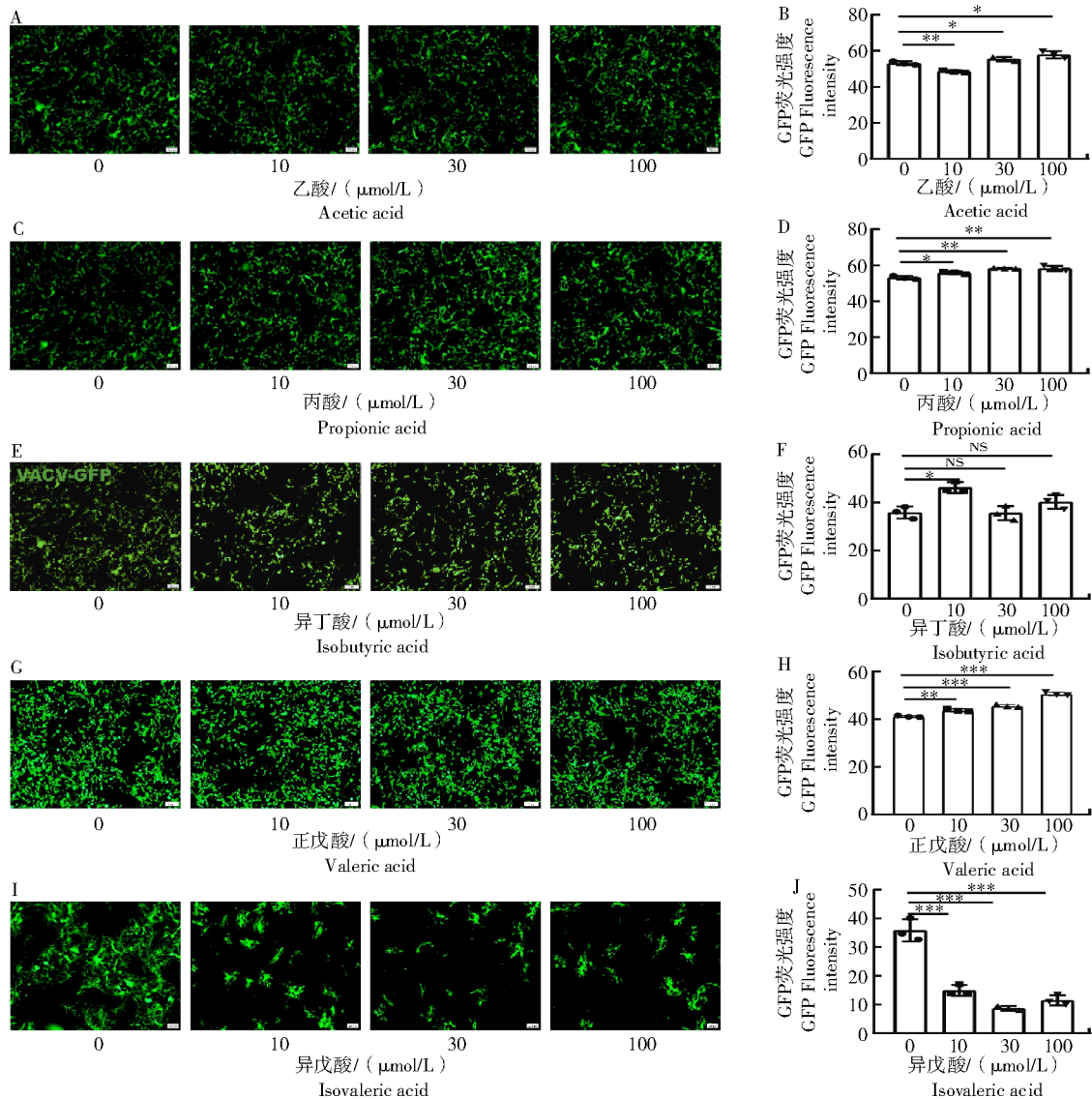
采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行数据统计与绘图。数据以均值±标准误(Mean±SE)表示,2组间比较采用独立样本 *t* 检验, $P<0.05$ 为差异显著。所有试验均独立重复至少 3 次。

2 结果与分析

2.1 短链脂肪酸对 VACV 增殖的抑制作用

为筛选具有抗痘苗病毒活性的短链脂肪酸

(SCFAs),本研究选取乙酸、丙酸、异丁酸、正戊酸和异戊酸,以痘苗病毒(Vaccinia virus, VACV)的 GFP 标记毒株(VACV-GFP)为模型,在 BHK-21、Vero 细胞中通过直接免疫荧光法评估抗病毒活性,结果如图 1 所示,异戊酸对 VACV 表现出显著抑制效果,其处理组 GFP 阳性细胞比例较对照组极显著降低($P<0.01$)。乙酸、丙酸和正戊酸对 VACV 增殖无抑制作用,反而促进了 VACV 增殖。异丁酸对 VACV 增殖无显著影响。



A、C、E、G、I. 荧光倒置显微镜观察不同浓度短链脂肪酸处理后 VACV-GFP 的增殖情况(标尺: 200 μm); B、D、F、H、J. 荧光强度统计分析。*, **, *** 分别表示不同浓度间差异显著 ($P<0.05$)、极显著 ($P<0.01$, $P<0.001$), NS 表示差异不显著。图 4、6 同 A、C、E、G、I. Observation of the proliferation of VACV-GFP after treatment with different concentrations of short-chain fatty acids (SCFAs) under an inverted fluorescence microscope (Scale bar: 200 μm). B、D、F、H、J. Statistical analysis of fluorescence intensity. *, **, and *** indicated significant ($P<0.05$) and extremely significant ($P<0.01$, $P<0.001$) difference among the different concentrations respectively, NS indicated insignificant difference. The same as Fig. 4 and Fig. 6

图 1 短链脂肪酸对 VACV 的抑制作用

Fig.1 Inhibitory effects of short-chain fatty acids on the proliferation of vaccinia virus (VACV)

综上,异戊酸是唯一抑制牛痘病毒增殖的 SCFAs,因此,被选为后续机制研究的对象。

2.2 异戊酸对细胞活力的影响

从图2可以看出,与对照相比,当异戊酸的浓

度 $\leq 3\,000\ \mu\text{mol/L}$ 且处理时间 $\leq 60\ \text{h}$ 时,BHK-21、Vero细胞活力均无显著变化,表明该浓度范围内异戊酸无细胞毒性。

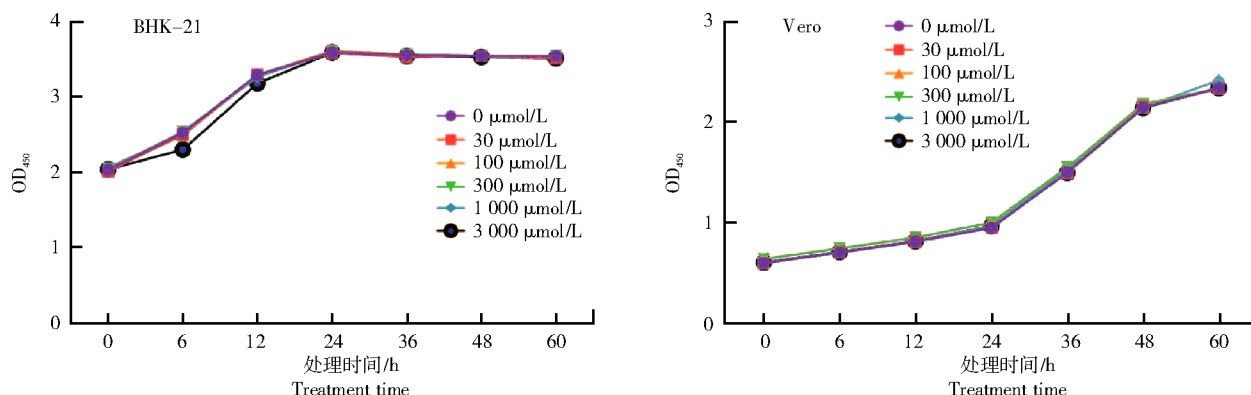


图2 异戊酸对细胞活力的影响

Fig.2 Effect of isovaleric acid on cell viability

2.3 异戊酸对细胞周期的影响

细胞周期是真核细胞从一次分裂完成到下一次分裂结束的全过程,核心包括分裂间期(G1期、S期、G2期)和分裂期(M期),其中,G1期作为DNA合成前期,主要合成RNA、蛋白质,并检测细胞内外条件,通过限制点(R点)后不可逆进入下一阶段;S期即DNA合成期,主要完成DNA半保留双向复制和中心体复制,同时合成相关酶类与组蛋白,对DNA损伤较为敏感;G2期为DNA合成

后期,主要合成M期所需的纺锤体蛋白、凝缩蛋白等,修复S期可能出现的DNA损伤并检查复制完整性,通过G2/M检验点后进入M期,三者共同完成遗传物质复制与细胞分裂的前期准备,确保细胞分裂精准有序进行。通过流式细胞术分析0~100 $\mu\text{mol/L}$ 异戊酸对BHK-21、Vero细胞周期的影响。由图3可知,与对照相比,异戊酸处理组G1期、S期、G2期细胞比例均无显著差异,表明异戊酸不影响细胞周期进程。

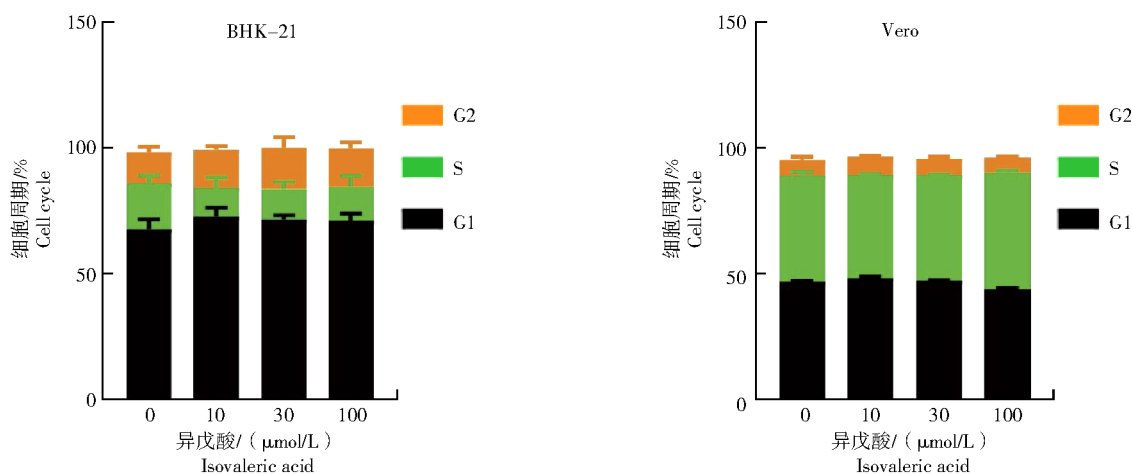


图3 异戊酸对细胞周期的影响

Fig.3 Effect of isovaleric acid on cell cycle

2.4 异戊酸对VACV增殖的抑制作用

2.4.1 流式细胞术检测病毒增殖 以0~100 $\mu\text{mol/L}$ 异戊酸预处理细胞4 h后,分别感染VACV-GFP

(MOI=0.1),48 h后通过流式细胞术检测GFP阳性细胞比例,结果如图4所示,VACV-GFP感染10、30、100 $\mu\text{mol/L}$ 异戊酸处理组GFP阳性细胞比

例极显著降低($P<0.001$)。但抑制效应无浓度依赖性(各浓度组抑制率相近)。

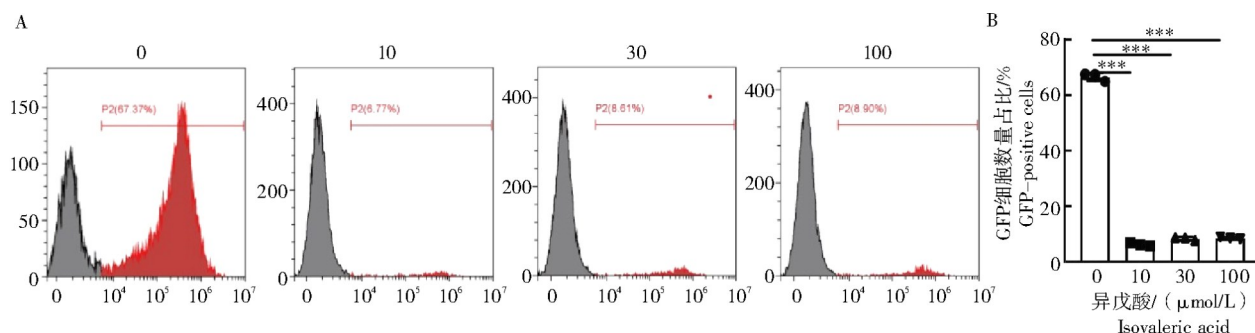


图4 异戊酸对VACV-GFP增殖的影响

Fig.4 Effect of isovaleric acid on VACV-GFP proliferation

2.4.2 蛋白表达水平分析 A27L是VACV包膜蛋白,参与病毒组装与运输^[19]。通过Western blot检测A27L及标签蛋白GFP的表达,结果如图5所示

示,随着异戊酸浓度升高,VACV A27L蛋白表达量逐渐下降,GFP表达趋势与A27L一致,证实异戊酸抑制VACV增殖。

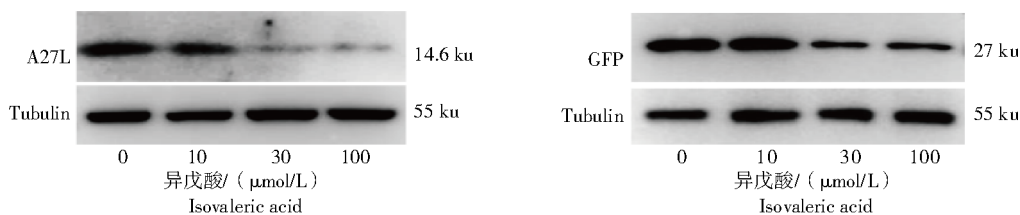


图5 异戊酸对VACV A27L结构蛋白及GFP报告蛋白表达的抑制作用

Fig.5 Inhibitory effect of isovaleric acid on the expression of VACV A27L structural protein and GFP reporter protein

2.5 异戊酸对VACV关键基因表达的调控

*F17R*基因编码的磷蛋白是痘苗病毒(VACV)形态发生的关键因子,其与A27、A14蛋白形成复合物,参与病毒粒子组装与成熟^[20],作为晚期基因,其表达水平反映病毒复制晚期进程。*E9L*基因编码的DNA聚合酶催化亚基(E9蛋白)兼具DNA聚合酶与3'→5'核酸外切酶活性,是病毒DNA复制

的核心元件^[21],作为早期基因,其表达量直接关联病毒复制起始效率。10、30、100 μmol/L异戊酸处理较对照组*F17R*基因表达量均极显著降低($P<0.01$ 、 $P<0.001$)(图6-A);10、30、100 μmol/L异戊酸处理组较对照*E9L*表达量均极显著降低($P<0.001$)(图6-B)。综上,异戊酸显著抑制*F17R*、*E9L*基因的表达。

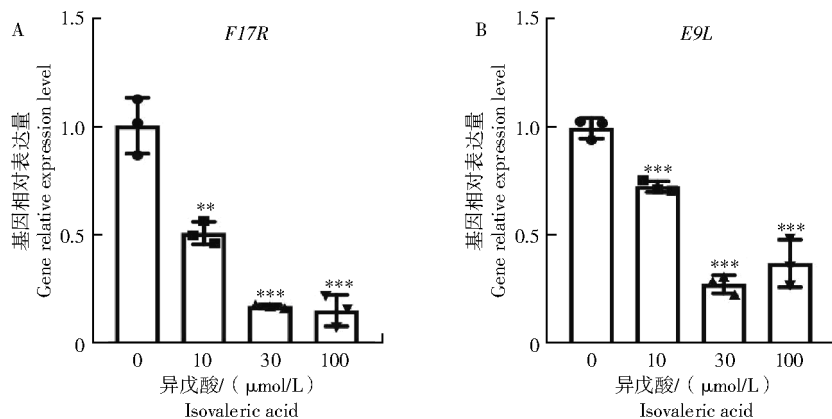


图6 异戊酸对VACV关键基因表达的抑制作用

Fig.6 Inhibitory effect of isovaleric acid on the expression of key genes of VACV

3 结论与讨论

痘病毒科病毒(如VACV)严格在细胞质中完成复制周期,其成功依赖于高度时序化的基因表达程序和精密的免疫逃逸策略,包括通过内膜系统区室化及编码免疫调节蛋白(如含锚蛋白重复结构域ANK的蛋白)抑制宿主免疫通路^[15]。本研究发现,短链脂肪酸异戊酸通过双重机制显著抑制牛痘病毒复制。一方面,其直接靶向病毒复制核心环节,强烈抑制早期基因E9L(编码DNA聚合酶)的表达,导致病毒基因组复制失败,复制前病灶无法扩展为复制工厂,进而阻断晚期基因(如F17R)及结构蛋白(如A27L)的合成,最终中断病毒粒子形态发生(IVN→MV转化)。

另一方面,异戊酸重塑宿主—病毒免疫博弈格局,通过抑制早期基因表达下调病毒免疫逃逸蛋白(如ANK蛋白),同时激活宿主抗病毒防御网络,包括恢复RIG-I、TMPRSS2及IFN受体等关键蛋白表达,并可能通过miR-200a-3p/ZBTB20/IKK α 轴抑制炎症反应及促进黏膜IgA分泌,增强免疫清除能力^[22-25],异戊酸在低浓度($\leq 100 \mu\text{mol/L}$)下即展现强效抗病毒活性,且远低于细胞毒性阈值(治疗指数 >30),其作为天然代谢物兼具低残留与低耐药风险优势。综上,异戊酸通过“直接抑制病毒复制起始和增强宿主免疫应答”的协同作用,对VACV和ECTV具有显著体外抗病毒效果,为开发新型痘病毒防治策略提供了重要依据,未来需深入解析其分子靶点(如是否直接调控E9L或通过表观遗传机制)及体内药效。

本研究首次证实,短链脂肪酸异戊酸通过直接抗病毒与免疫调节双途径协同机制显著抑制牛痘病毒(VACV)复制:其直接靶向病毒早期基因E9L阻断DNA复制起始,瓦解病毒生命周期;同时通过抑制病毒免疫逃逸蛋白表达并激活宿主抗病毒免疫应答(如增强干扰素信号及黏膜IgA分泌),重塑宿主防御网络。异戊酸在体外展现出强效抗病毒活性与高治疗指数(TI >30),兼具低细胞毒性及低耐药倾向,具备开发为新型痘病毒防治剂的潜力。未来研究需深入解析异戊酸调控病毒/宿主基因表达的分子靶点(如是否通过HDAC抑制影响表观遗传修饰),并阐明其在体内增强呼吸道黏膜免疫(如IgA应答)的机制,为基于宿主代

谢干预的抗病毒策略提供关键理论依据与转化路径。

参考文献:

- [1] YOON S J, YU J S, MIN B H, et al. Bifidobacterium-derived short-chain fatty acids and indole compounds attenuate nonalcoholic fatty liver disease by modulating gut-liver axis[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1129904.
- [2] SHIN J H, TILLOTSON G, MACKENZIE T N, et al. Bacteroides and related species: The keystone taxa of the human gut microbiota[J]. *Anaerobe*, 2024, 85: 102819.
- [3] WANG J L, LIU Z M, XU M T, et al. Clinical, metabolic, and genetic analysis and follow-up of eight patients with HIBCH mutations presenting with leigh/leigh-like syndrome[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 605803.
- [4] THIERRY A, MAILLARD M B, YVON M. Conversion of L-leucine to isovaleric acid by *Propionibacterium freudenreichii* TL 34 and ITGP23[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(2): 608-615.
- [5] DIMOU A, TSIMIHODIMOS V, BAIRAKTARI E, et al. The critical role of the branched chain amino acids (BCAAs) catabolism-regulating enzymes, branched-chain aminotransferase (BCAT) and branched-chain α -keto acid dehydrogenase (BCKD), in human pathophysiology[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(7): 7487.
- [6] 裴可, 丛春莉, 李星娇, 等. 短链脂肪酸的肠道免疫机制与溃疡性结肠炎相关性研究[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2025, 34(5): 751-755.
- [7] 周文辉, 郑丽红, 赵梅, 等. 短链脂肪酸通过炎症性肠病潜在治疗靶点上调紧密连接表达[J]. *河北医药*, 2025, 47(4): 647-651.
- [8] ZHOU W H, ZHENG L H, ZHAO M, et al. Short-chain fatty acids upregulate tight junction expression via potential therapeutic targets for inflammatory bowel disease[J]. *Hebei Medical Journal*, 2025, 47(4): 647-651.
- [9] LE POUL E, LOISON C, STRUYF S, et al. Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(28): 25481-25489.
- [10] PENG K X, XIAO S Q, XIA S H, et al. Butyrate inhibits the HDAC8/NF- κ B pathway to enhance Slc26a3 expression and improve the intestinal epithelial barrier to relieve colitis[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2024, 72(44): 24400-24416.
- [11] YU B C, PEI C, PENG W J, et al. Microbiota-derived butyrate alleviates asthma via inhibiting Tfh13-mediated IgE production[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2025, 10: 181.
- [12] HE J, ZHANG P W, SHEN L Y, et al. Short-chain fatty acids

- and their association with signalling pathways in inflammation, glucose and lipid metabolism[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(17):6356.
- [12] 李瑛琪,侯嘉怡,李轩,等. 山西老陈醋调节高脂血症大鼠血脂及肠道菌群的机制[J]. *山西农业科学*, 2022, 50(11):1549-1559.
- LI Y Q, HOU J Y, LI X, et al. Mechanism of regulation of blood lipids and gut microbiota in rats with hyperlipidemia by Shanxi aged vinegar[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2022, 50(11):1549-1559.
- [13] QIU J J, SHI C W, ZHANG Y N, et al. Microbiota-derived acetate is associated with functionally optimal virus-specific CD8⁺T cell responses to influenza virus infection via GPR43-dependent metabolic reprogramming[J]. *Gut Microbes*, 2024, 16(1):2388166.
- [14] HE H Y, FAN X L, SHEN H Y, et al. Butyrate limits the replication of porcine epidemic diarrhea virus in intestine epithelial cells by enhancing GPR43-mediated IFN-III production[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14:1091807.
- [15] GRESETH M D, TRAKTMAN P. The life cycle of the vaccinia virus genome[J]. *Annual Review of Virology*, 2022, 9(1):239-259.
- [16] 李科. 猪痘病诊断及综合防治措施[J]. *今日畜牧兽医*, 2023, 39(6):96-98.
- LI K. Diagnosis and comprehensive control measures of swine pox[J]. *Today Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2023, 39(6):96-98.
- [17] MIRANZADEH MAHABADI H, NOYCE R S, EVANS D H, et al. Neurological complications of orthopoxvirus infections: neurotropism and neurovirulence[J]. *Brain*, 2025, 148(10):3445-3455.
- [18] 张亚岭,王振蕊,景伟,等. 猴痘病毒 gp085 蛋白生物信息学分析及其多克隆抗体制备[J]. *中国兽医科学*, 2025, 55(9):1174-1181.
- ZHANG Y L, WANG Z R, JING W, et al. Bioinformatics analysis and polyclonal antibody preparation of monkeypox virus gp085 protein[J]. *Chinese Veterinary Science*, 2025, 55(9):1174-1181.
- [19] CHANG T H, CHANG S J, HSIEH F L, et al. Crystal structure of vaccinia viral A27 protein reveals a novel structure critical for its function and complex formation with A26 protein[J]. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(8):e1003563.
- [20] SCHMIDT F I, BLECK C K E, REH L, et al. Vaccinia virus entry is followed by core activation and proteasome-mediated release of the immunomodulatory effector VH1 from lateral bodies[J]. *Cell Reports*, 2013, 4(3):464-476.
- [21] CZARNECKI M W, TRAKTMAN P. The vaccinia virus DNA polymerase and its processivity factor[J]. *Virus Research*, 2017, 234:193-206.
- [22] XIE S, FANG Y, LIAO Z, et al. A poxvirus ankyrin protein LSDV012 inhibits IFIT1 in a host-species-specific manner by compromising its RNA binding ability[J]. *PLoS Pathog*, 2025, 21(3):e1012994.
- [23] PASCOAL L B, RODRIGUES P B, GENARO L M, et al. Microbiota-derived short-chain fatty acids do not interfere with SARS-CoV-2 infection of human colonic samples[J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1):1-9.
- [24] MAJUMDAR A, SIVA VENKATESH I P, SWARUP V, et al. Short-chain fatty acids abrogate Japanese encephalitis virus-induced inflammation in microglial cells via miR-200a-3p/ZBTB20/IK β axis[J]. *mBio*, 2024, 15(7):e0132124.
- [25] WANG X, HU Y, ZHU X, et al. Bacteroides-derived isovaleric acid enhances mucosal immunity by facilitating intestinal IgA response in broilers[J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2023, 14(1):4.