

益气活血中药对急性肺损伤大鼠炎症因子 及 Toll 样受体 4 mRNA 表达的影响

秦丽, 李敏, 王毓国, 窦永起*

(解放军总医院 中医医院, 北京 100853)

[摘要] 目的:观察和探讨益气活血中药对脂多糖(LPS)诱导的急性肺损伤(ALI)大鼠支气管肺泡灌洗液中(BALF)炎症因子及肺组织中 Toll 样受体 4(TLR-4)mRNA 表达的影响。方法:SD 雄性大鼠 72 只,随机分成正常组、模型组、地塞米松组、益气活血中药组 4 组,每组 18 只;除正常组气管内滴注生理盐水,其余各组滴注 LPS($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)制备 ALI 模型,造模前后 3 d 各组予以相应药物或生理盐水灌胃;每组分别于造模后 8,24,72 h 各处死 6 只,苏木素-伊红(HE)染色光镜下观察各组大鼠肺组织病理学改变,酶联免疫(ELISA)法检测 BALF 中炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-1 β (IL-1 β),IL-6 的浓度,实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)测定肺组织中 TLR-4 mRNA 的表达。结果:肺组织病理学评分:与正常组比较,同时相的 LPS 各组均显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,地塞米松组和中药组均降低($P < 0.05, P < 0.01$),且 72 h 组降低最为明显。大鼠 BALF 中 TNF- α ,IL-1 β ,IL-6 浓度:LPS 造模各组均明显高于同时相的正常组($P < 0.01$),模型组均高于中药组和地塞米松组($P < 0.01$),且随着时间的延长,模型组逐渐上升,而药物干预组逐渐降低($P < 0.05, P < 0.01$)。肺组织 TLR-4 mRNA 相对表达量:与正常组比较,LPS 造模各组同时相肺组织 TLR-4 mRNA 的相对表达量均显著升高($P < 0.01$),以模型组 8 h 点为最高;与模型组比较,中药组各时间点表达均降低($P < 0.05, P < 0.01$)。结论:益气活血中药能够降低急性肺损伤大鼠 BALF 中 TNF- α ,IL-1 β ,IL-6 的水平,减轻肺组织的病理损伤,其防治 ALI 的作用机制可能与抑制 TLR-4 mRNA 的表达有关。

[关键词] 益气活血中药; 脂多糖; 急性肺损伤; 炎症因子; Toll 样受体 4

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)01-0114-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017010114

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160929.0902.002.html>

[网络出版时间] 2016-09-29 9:02

Effect of Supplementing Qi and Activating Blood Circulation Herbs on Inflammatory Factors and Toll-like Receptor 4 mRNA Expression in Rats with Acute Lung Injury

QIN Li, LI Min, WANG Yu-guo, DOU Yong-qi*

(Department of Traditional Chinese Medicine, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

[Abstract] **Objective:** To observe and investigate the effects of supplementing Qi and activating blood circulation herbs on inflammatory factors in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and Toll-like receptor 4 mRNA expression in lung tissues of rats with acute lung injury (ALI) induced by lipopolysaccharide (LPS). **Method:** Seventy-two healthy male SD rats were randomly divided into normal group, model group, dexamethasone group and supplementing Qi and activating blood circulation herbs group, $n = 18$ in each group. ALI models were established by intratracheal instillation of LPS ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), while normal group received normal saline. Three days before and after making the models, the corresponding drugs or normal saline were given in each group by gavage. Six rats in each group were put to death at the end of the 8, 24, 72 h after modeling. Then the pathological changes of lung

[收稿日期] 20160907(012)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81303131)

[第一作者] 秦丽,在读硕士,从事中西医结合临床研究,Tel:18701070301,E-mail:qinlizi301@163.com

[通讯作者] *窦永起,硕士,主任医师,教授,博士生导师,从事中西医结合临床工作,Tel:010-66939456,E-mail:dyqi_301@yeah.net

tissues were observed under light microscope; the concentrations of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin 1 β (IL-1 β), and interleukin 6 (IL-6) in rat bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were measured by enzyme-linked immune sorbent assay (ELISA), and the TLR-4 mRNA expression levels in lung tissues were determined by real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR). **Result:** For the pathological score of lung tissues, as compared with normal group, LPS in other groups exhibited a higher level ($P < 0.01$); as compared with model group, dexamethasone group and Chinese herbs group exhibited a lower level ($P < 0.05$, $P < 0.01$) and the level was lowest in 72 h. For the contents of TNF- α , IL-1 β and IL-10 in BALF, LPS in other groups displayed an obvious increase as compared with normal group, but the levels in dexamethasone group and herbs group were decreased as compared with model group ($P < 0.01$); the level in model group was increased gradually over time in model group and the levels in drug intervention groups were decreased over time ($P < 0.05$, $P < 0.01$). For the TLR4 mRNA expression level in lung tissues, as compared with normal group, LPS in other groups exhibited a higher level ($P < 0.01$) and the level was highest in model group at 8 h; as compared with the model group, the expression levels in herbs group were decreased at various time points ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Supplementing Qi and activating blood circulation herbs could decrease the levels of TNF- α , IL-1 β and IL-10 in BALF in rats with ALI induced by LPS, improve the pathological changes in lung tissues, and the prevention and treatment mechanism for ALI may be associated with inhibiting the TLR4 mRNA expression.

[**Key words**] supplementing Qi and activating blood circulation herbs; lipopolysaccharide; acute lung injury; inflammatory factor; Toll-like receptor 4

急性肺损伤(ALI)是指由心源性以外的各种肺内外致病因素所导致的急性、进行性呼吸窘迫和顽固性低氧血症为主要表现的临床综合征,急性呼吸窘迫综合征(ARDS)是其严重阶段,为临床常见的急危重症。ALI的病理特点是肺组织水肿、中性粒细胞浸润以及失控的氧化应激和炎症过程^[1]。Toll样受体4(TLR-4)作为重要的模式识别受体(PRRs),能够特异性识别革兰氏阴性菌细胞壁的主要成分脂多糖(LPS),通过信号转导通路激活核转录因子- κ B(NF- κ B),促使肺部合成并释放多种炎症介质,包括肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-1 β (IL-1 β)及IL-6等,进而导致肺组织的弥漫性炎症损伤^[2]。本实验通过气管内滴注LPS溶液制备大鼠ALI模型,观察不同时间点各组大鼠支气管肺泡灌洗液(BALF)中炎症因子TNF- α ,IL-1 β ,IL-6的动态变化及肺组织中Toll样受体4(Toll-like receptor4,TLR-4)mRNA表达的影响,探讨益气活血法防治ALI的分子机制。

1 材料

选用健康清洁级SD雄性大鼠,均为两月龄,体重为(200 \pm 20)g,由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供,动物合格证号SCXK(军)2012-0004。大鼠在清洁动物房适应性饲养1周后进行实验,期间自由摄食、饮水,室温18~24 $^{\circ}$ C,相对湿度40%~70%,每日12h光照维持,昼夜循环。

益气活血中药由黄芪和丹参组成,两者用量比例为2:1,生药材由解放军总医院中药房采购并鉴定为正品,药物经过浸泡、煎煮和过滤后,在恒温水浴锅(60 $^{\circ}$ C)中浓缩成含生药0.59g \cdot mL⁻¹的药液(按大鼠与人体体表面积比例换算^[3])。地塞米松片(天津力生制药股份公司,规格0.75mg \times 10片,批号H12020122)大鼠给药剂量为5mg \cdot kg⁻¹,碾碎后配成0.5g \cdot L⁻¹的溶液。

脂多糖(LPS,美国Sigma公司,批号L2880);戊巴比妥钠(Germany公司,批号K2208);大鼠TNF- α ,IL-1 β ,IL-6酶联免疫(ELISA)试剂盒(Andygene生物技术有限公司,批号分别为HTLN30633,HTCL30418,HTLC30649);RNApure超纯总RNA提取试剂盒,M-MLV III First-Strand cDNA Synthesis Kit,Green real-time PCR Master Mix(博迈德生物有限公司,批号分别为70621562,656666BB,706084XX)。大鼠TLR-4引物序列(140bp):上游5'-AGTTGGCTCTGCC-AAGTCTCAGAT-3',下游5'-TGCCACTCATC-AGGATGACACCAT-3';GAPDH引物序列(116bp):上游5'-AAGGGCTCATGACCACAGTC-3',下游5'-GGATGCAGGGATGATGTTCT-3',均由Primer Express设计合成。

VICTOR X5型多功能酶标仪(PerkinElmer有限公司),RE53CS型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),2016型切片机(上海莱卡仪器有限公司),

1-15K型台式冷冻离心机(美国 Sigma 公司), DHG-9240A 型电热恒温箱(北京陆希科技有限公司), Stepone™ 272006169 型实时荧光定量 PCR (Real-time PCR) 仪器(美国 Applied Biosystem 公司)。

2 方法

2.1 动物分组及处理方式 将 72 只健康雄性 SD 大鼠随机分为 4 组, 即正常组、模型组、地塞米松组和益气活血中药组, 各组 18 只。中药组大鼠在造模前 3 d 予以益气活血中药 2 mL/次(约含生物 0.59 g · mL⁻¹)灌胃, 每天 1 次, 其余组大鼠每天予以同体积的生理盐水; 在造模后, 中药组大鼠每天予以益气活血中药灌胃, 地塞米松组大鼠每天予以地塞米松(5 mg · kg⁻¹)溶液灌胃, 正常组和模型组大鼠每天予以生理盐水 2 mL 灌胃, 连续 3 d。

2.2 制备 ALI 大鼠模型 采用 LPS 暴露式气管滴注方法制备 ALI 模型^[4-5]。除正常组外, 其余各组均给予气管内滴注 LPS(5 mg · kg⁻¹)溶液。大鼠用 3% 戊巴比妥钠(30 mg · kg⁻¹)腹腔注射进行麻醉, 固定大鼠仰卧位, 无菌操作正中切开颈部组织, 使气管暴露, 用 1 mL 注射器由气管向肺方向滴注 LPS 溶液, 而后将大鼠直立、旋转并左右摇晃, 使 LPS 溶液在肺内均匀分布, 从而建立内毒素性急性肺损伤大鼠模型。正常组大鼠按上述方法向气管滴入同等量的生理盐水。

2.3 标本取材与检测指标

2.3.1 大鼠 BALF 中 TNF- α , IL-1 β , IL-6 浓度的测定 各组大鼠在造模后第 8, 24, 72 h, 随机抽取 6 只, 作为 8, 24, 72 h 亚组。各组大鼠麻醉放血处死后剪开胸部和颈部皮肤, 暴露胸腔; 结扎大鼠右主支气管后, 在主气管上插入导管至下端分叉处, 注入磷酸盐缓冲液(PBS) 2 mL 进行左肺灌洗, 反复 3 次, 总回收量约为 5.5 mL; 将收集的支气管肺泡灌洗液(BALF)进行 4 °C 离心(3 000 r · min⁻¹, 15 min), 取上清液。采用双抗体夹心 ELISA 法检测 TNF- α , IL-1 β , IL-6 因子的浓度, 操作严格按试剂盒说明书方法进行。反应终止后选择 450 nm 波长用酶标仪测定吸光度 A, 计算各炎症因子的浓度。

2.3.2 肺组织病理学观察 取大鼠右肺下叶组织, 放入 4% 甲醛溶液中固定 48 h 后, 进行脱水、透明和石蜡包埋并作 4 μ m 厚切片, 然后进行苏木素-伊红(HE)染色, 光镜下观察肺组织的病理形态改变并进行病理学评分。肺损伤病理学评分标准^[5]: 于 400 倍视野下观察 6 个不同区域, 从炎性细胞浸润、肺间质水肿、肺泡壁增厚以及透明膜形成等方面

综合评估肺组织损伤程度。按病变的范围计分: 0 分(无明显病变), 1 分(病变范围 < 25%), 2 分(病变范围 25% ~ 50%), 3 分(病变范围 50% ~ 75%), 4 分(病变范围 > 75%)。取平均值作为最后得分。

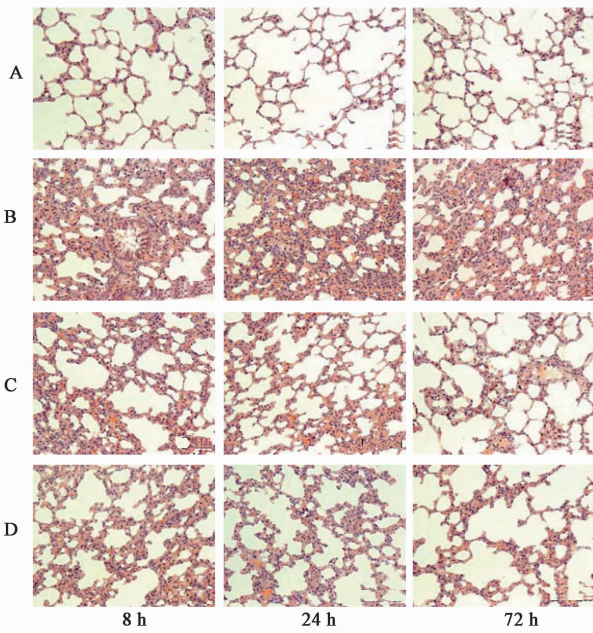
2.3.3 大鼠肺组织 TLR-4 mRNA 表达量的测定

称取 -80 °C 冻存的右肺中叶组织 80 mg 放到匀浆器中, 加入裂解液 1 mL 后在冰上充分碾磨, 按试剂盒说明书步骤提取总 RNA, 测定样品 260, 280 nm 处 A, A₂₆₀/A₂₈₀ 在 1.8 ~ 2.0, 表明所提取的总 RNA 可用。取 RNA 1 μ g, 加入 Oligo(dT)₂₀ 1 μ L, 5 × RTMix 5 μ L, M-MLV 1 μ L 组成逆转录体系, 按照 42 °C 50 min, 85 °C 15 min 的反应条件合成 cDNA 第一链。然后使用 Real-time PCR 仪进行扩增, Green real-time PCR Master Mix 25 μ L, Forward Primer 1 μ L, Reverse Primer 1 μ L, cDNA 2 μ L 和 RNase-Free H₂O 组成 50 μ L 反应体系, 设定 95 °C 预变性 10 min, 95 °C 变性 20 s, 60 °C 退火/延伸 1 min, 40 个循环, 60 ~ 95 °C 熔解曲线分析的反应条件, 每个样品平行设置 3 个复孔。采用 Comparative Delta-delta C_t 法, 以 GAPDH 基因为内参, 对各样本 TLR-4 mRNA 进行相对定量分析, 计算 RQ 值(2^{- $\Delta\Delta C_t$})。

2.4 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA 检验法), 组间两两比较方差齐时用 LSD 分析方法, 方差不齐时用 Tamhane T² 法, P < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 益气活血中药对肺组织病理形态改变及病理学评分 光镜下正常组大鼠肺组织结构正常, 肺泡结构完整、间隔无水肿, 无明显中性粒细胞浸润。模型组造模后 8 h 肺组织结构出现破坏, 肺泡间隔明显增厚, 肺泡腔内炎性细胞浸润; 24 h 后腔内及肺泡壁有大量中性粒细胞浸润及渗出物, 肺间质弥漫性充血水肿; 至 72 h 后肺组织病理损伤加重, 肺泡结构破坏严重甚至塌陷。地塞米松组和中药组肺泡结构破坏、炎性细胞浸润、肺间质水肿及出血等病理损伤均较模型组减轻, 且造模后时间越长, 改善越明显(图 1)。造模后各组肺组织病理学评分显著增加, 以模型组 24 h 最高; 与模型组比较, 地塞米松组和中药组均减少(P < 0.05, P < 0.01); 中药组与地塞米松组比较, 8, 24 h 无明显差异; 同一组内各时间点比较, 相比于 8 h 组, 24, 72 h 地塞米松组和 72 h 中药组评分减少(P < 0.05, P < 0.01)(表 1)。



A. 正常组; B. 模型组; C. 地塞米松组; D. 益气活血中药组
图 1 益气活血中药对各组大鼠肺组织的病理改变(HE, ×400)
Fig. 1 Pathological changes in lung tissues of each group (HE, ×400)

3.2 益气活血中药对各组大鼠 BALF 中 TNF- α , IL-1 β , IL-6 水平的影响 与正常组比较, LPS 造模各组同时相 BALF 中 TNF- α , IL-1 β , IL-6 浓度均升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 地塞米松组和中药组同时相中 TNF- α , IL-1 β , IL-6 浓度均降低 ($P < 0.01$), 至 72 h 降低最为明显; 8 h 中药组 IL-1 β , IL-6 含量较地塞米松组低 ($P < 0.05$), 而 24 h TNF- α , 72 h IL-6 浓度高于地塞米松组 ($P < 0.05$)。随着时间的延长, 模型组中炎症因子浓度逐渐上升 ($P < 0.05, P < 0.01$), 而药物干预组逐渐降低 ($P < 0.05, P < 0.01$) (表 2)。

3.3 益气活血中药各组大鼠肺组织 TLR-4 mRNA 相对表达量 与正常组比较, LPS 造模各组同时相肺组织 TLR-4 mRNA 的相对表达量均显著升高 ($P < 0.01$), 以模型组 8 h 点为最高; 与模型组比较, 地塞米松组和中药组均降低 ($P < 0.05, P < 0.01$); 与地塞米松组比较, 中药组大鼠较地塞米松组低 ($P < 0.01$)。随着时间的延长, 正常组 TLR-4 mRNA 的表达水平无变化, 而其余组表达逐渐降低 ($P < 0.05, P < 0.01$) (图 2)。

表 1 益气活血中药对各组大鼠肺组织的病理学评分 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/g · mL ⁻¹	8 h	24 h	72 h	分
正常	-	0.17 ± 0.12	0.13 ± 0.07	0.10 ± 0.09	
模型	-	3.07 ± 0.19 ²⁾	3.30 ± 0.27 ²⁾	3.23 ± 0.28 ²⁾	
地塞米松	0.5 × 10 ⁻³	2.63 ± 0.32 ^{2,3)}	2.17 ± 0.26 ^{2,4,7)}	1.77 ± 0.19 ^{2,4,8,9)}	
益气活血中药	0.59	2.57 ± 0.30 ^{2,4)}	2.27 ± 0.22 ^{2,4)}	2.03 ± 0.14 ^{2,4,5,8)}	

注: 与正常组同期比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与模型组同期比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$; 与地塞米松组同期比较⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$; 与同组内 8 h 比较⁷⁾ $P < 0.05$, ⁸⁾ $P < 0.01$; 与同组内 24 h 比较⁹⁾ $P < 0.05$, ¹⁰⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

表 2 益气活血中药对各组大鼠 BALF 中 TNF- α , IL-1 β , IL-6 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/g · mL ⁻¹	时间/h	TNF- α	IL-1 β	IL-6	ng · L ⁻¹
正常	-	8	60.62 ± 5.83	16.35 ± 1.47	30.05 ± 3.14	
		24	55.20 ± 4.83	16.10 ± 1.64	29.18 ± 2.91	
		72	55.15 ± 4.36	15.33 ± 1.58	31.18 ± 3.44	
模型	-	8	153.43 ± 10.63 ²⁾	55.33 ± 5.14 ²⁾	98.49 ± 6.57 ²⁾	
		24	174.95 ± 10.68 ^{2,8)}	62.28 ± 5.11 ^{2,7)}	127.95 ± 7.65 ^{2,8)}	
		72	192.13 ± 10.66 ^{2,8,9)}	74.51 ± 4.69 ^{2,8,10)}	146.39 ± 12.10 ^{2,8,10)}	
地塞米松	0.5 × 10 ⁻³	8	126.20 ± 10.12 ^{2,4)}	37.45 ± 3.20 ^{2,4)}	88.58 ± 5.30 ^{2,4)}	
		24	102.02 ± 7.88 ^{2,4,8)}	28.63 ± 3.02 ^{2,4,8)}	74.25 ± 6.56 ^{2,4,8)}	
		72	89.95 ± 8.45 ^{2,4,8)}	24.59 ± 2.37 ^{2,4,8,9)}	58.31 ± 6.02 ^{2,4,8,10)}	
益气活血中药	0.59	8	117.10 ± 7.93 ^{2,4)}	32.83 ± 2.83 ^{2,4,5)}	81.57 ± 4.68 ^{2,4,5)}	
		24	112.70 ± 7.29 ^{2,4,5)}	31.00 ± 3.52 ^{2,4)}	72.15 ± 4.35 ^{2,4,7)}	
		72	98.70 ± 9.30 ^{2,4,8,9)}	26.28 ± 2.49 ^{2,4,8,9)}	69.13 ± 7.88 ^{2,4,5,8)}	

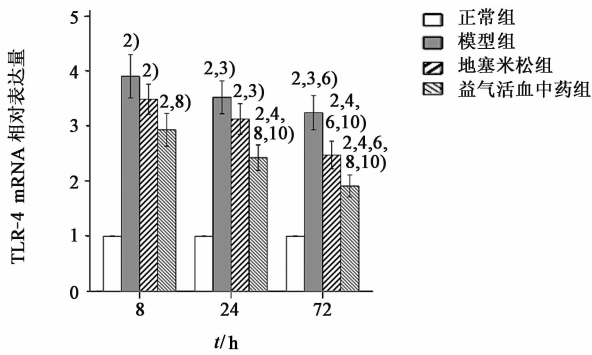


图 2 益气活血中药各组大鼠肺组织 TLR-4 mRNA 相对表达量 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 2 TLR-4 mRNA expression levels in lung tissues of each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

4 讨论

外伤、肺炎、细菌性脓毒血症以及吸入性酸是 ALI 最常见的原因^[6], 由于其发病机制复杂, 治疗效果欠佳, 其临床病死率较高^[7]。LPS 是革兰氏阴性细菌壁的主要成分, 属于细菌内毒素的一种, 能够导致肺部的炎症反应和免疫异常。目前, 气管内滴入 LPS 诱导内毒素型 ALI 动物模型已经广泛运用于 ALI 发病机理和药物防治的研究^[8]。本研究中大鼠气管内滴注 LPS 后, 第 8 h 即可在光镜下发现肺泡结构破坏、肺间质充血水肿、大量炎性细胞浸润等典型的 ALI 病理改变, 而益气活血中药可干预能够改善其病变程度, 减轻肺组织水肿及炎症细胞渗出, 降低肺组织病理学评分, 且随着作用时间的延长, 对肺的保护作用趋于明显。笔者前期研究发现益气活血中药能改善 ALI 患者肺循环高凝状态, 减轻患者气管黏膜充血、水肿, 并通过抑制中性粒细胞在肺组织中的渗出而显著减轻肺的损伤^[9], 本次实验结果表明此临床疗效可得到动物实验重复, 为通过动物实验研究其作用机制提供了条件。

ALI 是以炎症介质大量合成和释放造成的肺实质损伤为特点, BALF 中炎症因子, 特别是 TNF- α , IL-1 β , IL-6 等促炎介质的水平, 可反映肺组织炎症反应的强度。Minamino 等^[10] 研究表明临床患者 BALF 中 TNF- α , IL-1 β 和 IL-6 因子的升高与其预后差密切相关。TNF- α 是 ALI 最重要的启动因子, 能够刺激氧自由基、蛋白溶解酶的大量释放, 趋化中性粒细胞在肺内聚集、黏附, 导致肺泡-毛细血管损伤^[11-13]; IL-1 β 主要由单核-巨噬细胞产生, 是急性反应的主要调节物质, 能诱导 IL-6, IL-8 等产生, 且 IL-6 是强有力的促炎因子, 能够放大肺部的炎症反应^[13-15]。本实验结果表明, LPS 造模后各组 BALF

中 TNF- α , IL-1 β , IL-6 浓度显著升高, 而经中药处理可显著降低其水平, 与地塞米松效果相当, 表明益气活血中药可以抑制 TNF- α , IL-1 β , IL-6 等促炎介质的合成和释放。

TLR-4 是一种跨膜受体蛋白, 位于细胞膜外的结构域能够识别各种病原体, 位于细胞内的结构则参与信号通路的转导^[16]。作为 LPS 最主要的识别受体, TLR-4 激活的信号通路引起炎症介质的合成和释放与 ALI 的发生发展密切相关。LPS 激活 TLR4 信号通路后产生一些列变化, 最终导致肺泡内皮细胞完整性缺失、肺泡和肺间质水肿。有研究表明^[17], TLR-4 表达在 LPS 诱导的大鼠 ALI 模型的发展过程中起重要作用, 阻断 TLR4 表达可以抑制肺组织炎症因子的释放, 减轻肺组织病理损害, 达到治疗 ALI 的作用。笔者的研究发现 LPS 造模后, 肺组织中 TLR-4 mRNA 表达量增加, 且 8 h 模型组最高, 表明 LPS 进入肺组织后能够迅速引起 TLR-4 基因的转录, 而益气活血中药组能够下调 TLR-4 mRNA 的表达, 提示其可能通过干预 TLR4 信号通路影响 TNF- α , IL-1 β , IL-6 等促炎介质的合成, 从而减轻肺部的炎症反应和病理损伤。但关于益气活血中药治疗 ALI 的确切信分子机制还有待进一步研究。

[参考文献]

[1] WANG J, LIU Y T, XIAO L, et al. Anti-inflammatory effects of apigenin in lipopolysaccharide-induced inflammatory in acute lung injury by suppressing COX-2 and NF- κ B pathway [J]. Inflammation, 2014, 37 (6) : 2085-2090.

[2] Imai Y, Kuba K, Neely G G, et al. Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury [J]. Cell, 2008, 133 (2) : 235-249.

[3] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 200-204.

[4] FENG G, SUN B, LI T Z. Daidzein attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via toll-like receptor 4/NF-kappaB pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2015, 26(2) : 392-400.

[5] Smith K M, Mrozek J D, Simonton S C, et al. Prolonged partial liquid ventilation using conventional and high-frequency ventilatory techniques: gas exchange and lung pathology in an animal model of respiratory distress syndrome [J]. Crit Care Med, 1997, 25 (11) : 1888-1897.

[6] ZHONG W, CUI Y, YU Q, et al. Modulation of LPS-stimulated pulmonary inflammation by Borneol in murine

- acute lung injury model [J]. *Inflammation*, 2014, 37 (4):1148-1157.
- [7] Bhandary Y P, Shetty S K, Marudamuthu A S, et al. Role of p53-fibrinolytic system cross-talk in the regulation of quartz-induced lung injury [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2015, 283 (2) :92-98.
- [8] LIU Y L, LIU Y J, LIU Y, et al. Hydroxysafflor yellow a ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice via modulating toll-like receptor 4 signaling pathways[J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 23 (2) :649-657.
- [9] 李敏,杨明会,窦永起,等. 益气活血中药对急性肺损伤机械通气后患者肺保护的临床研究[J]. *中药材*, 2014, 37(11) :2113-2116.
- [10] Minamino T, Komuro I. Regeneration of the endothelium as a novel therapeutic strategy for acute lung injury [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116 (9) : 2316-2319.
- [11] Puthothu B, Bierbaum S, Kopp M V, et al. Association of TNF- α with severe respiratory syncytial virus infection and bronchial asthma [J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2008, 20(2) : 157-165.
- [12] Gonzalo-Calvo D D, Neitzert K, Fernandez M, et al. Differential inflammatory responses in aging and disease: TNF- α and IL-6 as possible biomarkers [J]. *Free Radical Bio Med*, 2010, 49(5) :733-737.
- [13] LUAN Z G, ZHANG J, YIN X H, et al. Ethyl pyruvate significantly inhibits tumour necrosis factor- α , interleukin-1 β and high mobility group box 1 releasing and attenuates sodium taurocholate-induced severe acute pancreatitis associated with acute lung injury [J]. *Clin Exp Immunol*, 2013, 172(3) :417-426.
- [14] Ganter M T, Roux J, Miyazawa B, et al. Interleukin-1 beta causes acute lung injury via alphavbeta5 and alphavbeta6 integrin-dependent mechanisms [J]. *Circ Res*, 2008, 11, 102(7) :804-812.
- [15] Suda K, Tsuruta M, Eom J, et al. Acute lung injury induces cardiovascular dysfunction; effects of IL-6 and budesonide/formoterol [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 45(3) :510-516.
- [16] Drexler S K, Foxwell B M. The role of Toll-like receptors in chronic inflammation [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42(4) :506-518.
- [17] 黄继义,刘才文,林建东,等. TOLL 样受体 4 对脂多糖致急性肺损伤大鼠炎症因子的影响[J]. *西南国防医药*, 2014, 24(1) :23-26.

[责任编辑 邹晓翠]