

· 药理 ·

紫萁贯众单体成分对小鼠 SIRS 模型的保护作用

李凯^{1,2}, 杨庆³, 周恬恬³, 闫思超^{2,3}, 翁小刚³, 杨岚³, 陈颖³, 王娅杰³,
姜晓慧^{1,2}, 郭媛^{2,3}, 朱晓新^{2,3*}, 李玉洁^{2,3*}

(1. 安徽中医药大学, 合肥 230038; 2. 中国中医科学院青蒿素研究中心, 北京 100700;
3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的:建立小鼠全身炎症反应综合征(SIRS)模型,探索紫萁贯众醇提取物中单体成分对羟基苜叉丙酮(4-hydroxybenzylideneacetone, HBAC), 3,4-二羟基苜叉丙酮(3,4-dihydroxybenzylideneacetone, DHBAC)对SIRS模型小鼠的保护作用及机制。方法: BALB/c小鼠随机分为正常组,模型组, HBAC, DHBAC低、中、高剂量(25, 50, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)组。预防给药7 d后腹腔注射脂多糖(LPS),造模5 h后检测小鼠肛温、呼吸频率、白细胞、血小板计数、白细胞分类、糖脂代谢以及肺组织炎症因子和炎症相关蛋白磷酸化情况。结果:与正常组比较,模型组小鼠腹腔注射LPS(6 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)可致小鼠呼吸频率降低($P < 0.05$),体温明显降低($P < 0.03$),外周血白细胞数和单核细胞百分比增加($P < 0.01$),血小板减少($P < 0.01$),血糖水平降低($P < 0.05$),肺组织中白细胞介素- 1β 分泌增多($P < 0.01$)。与模型组比较, HBAC, DHBAC均明显增加动物呼吸频率,升高动物体温,降低外周白细胞水平以及单核细胞百分比($P < 0.05, P < 0.01$),并显著升高血糖水平($P < 0.05, P < 0.01$),减少肺组织中白细胞介素- 1β 的分泌($P < 0.01$)。结论:腹腔注射LPS致小鼠SIRS模型成立, HBAC, DHBAC对LPS致小鼠SIRS模型有一定的保护作用,可能通过I κ B, c-JUN通路发挥抗炎作用。

[关键词] 紫萁贯众; 全身炎症反应综合征; 内毒素

[中图分类号] R2-0; R22; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)09-0055-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190909

Protective Effect of Phenolic Compound of Osmundae Rhizoma on Systemic Inflammatory Response Syndrome in Mice

LI Kai^{1,2}, YANG Qing³, ZHOU Tian-tian³, YAN Si-chao^{2,3}, WENG Xiao-gang³, YANG Lan³,
CHEN Ying³, WANG Ya-jie³, JIANG Xiao-hui^{1,2}, GUO Yuan^{2,3}, ZHU Xiao-xin^{2,3*}, LI Yu-jie^{2,3*}

(1. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China;

2. Research Center of Artemisinin, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

3. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effect of phenolic compounds 4-hydroxybenzylideneacetone and (HBAC) 3, 4-dihydroxybenzylideneacetone (DHBAC) of Osmundae Rhizoma on the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) in mice by establishing the mice model of SIRS. **Method:** BALB/c mice were randomly divided into the normal group, the SIRS model group and the different doses of HBAC and DHBAC group (25, 50, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). Lipopolysaccharides (LPS) was injected intraperitoneally after 7 days of prophylactic administration. After 5 hours of modeling, the anus temperature, respiratory rate, the number

[收稿日期] 20181220(013)

[基金项目] 科技部中捷科技合作项目(2017-42-4);国家自然科学基金面上项目(81673640);“重大新药创制”科技重大专项(2017ZX09101002-002-008)

[第一作者] 李凯,在读硕士,从事心血管药理学研究, Tel:18811715420, E-mail:likaityki@163.com

[通信作者] *朱晓新,博士生导师,研究员,从事中药药理学和药代动力学研究, Tel:010-64015008, E-mail: xxzhu@icmm.ac.cn;

*李玉洁,硕士生导师,研究员,从事心血管药理学研究, Tel:64056154, E-mail: yjli@icmm.ac.cn

of white blood cell (WBC) and platelets (PLT), WBC classification, glycolipid metabolism, inflammatory factor and signal transducing phosphorylated protein of lung were measured. **Result:** Intraperitoneal injection with LPS ($6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) in mice can significantly reduce the respiratory rate ($P < 0.05$) and the body temperature ($P < 0.01$), decrease the number of WBC, PLT ($P < 0.01$, $P < 0.01$) and blood glucose ($P < 0.05$), and increase the secretion of interleukin- 1β ($P < 0.01$). HBAC and DHBAC significantly increased the respiratory rate ($P < 0.05$, $P < 0.01$) and the body temperature ($P < 0.05$, $P < 0.01$) of mice, decreased MONO ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and significantly increased the level of blood glucose ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and decreased the secretion of interleukin- 1β ($P < 0.01$). **Conclusion:** The SIRS model can be established through intraperitoneal injection of LPS. HBAC and DHBAC have protective effects on endotoxin-induced SIRS in mice, and may exert anti-inflammatory effects through I κ B and c-JUN pathways.

[**Key words**] Osmundae Rhizoma; systemic inflammatory response syndrome; endotoxin

全身炎症反应综合征(SIRS)是因感染或非感染因素作用于机体而引起的机体失控性全身炎症反应,是机体自我修复过程中出现过度应激的一种临床过程^[1]。研究表明,当机体受到外源性损伤或感染毒性物质的打击时,可促发初期炎症反应,同时机体产生内源性免疫炎症因子而形成“瀑布效应”。危重病人因机体代偿性抗炎反应能力降低以及代谢功能紊乱,最易引发 SIRS^[2]。其中由于感染引起者又称脓毒症(Sepsis),常发展成脓毒性休克和多器官功能障碍综合征及多器官功能衰竭,最终可导致死亡^[3]。持续高代谢状态、高动力循环状态、过度的炎症反应是 SIRS 的主要临床症状,研究已证实了对于 SIRS 的治疗,应用“攻毒、解毒”之法疗效显著^[4]。

紫萁贯众为紫萁科紫萁属植物紫萁的干燥根茎和叶柄残基,收载于 1997 年,2010 年和 2015 年《中国药典》一部。味苦,性微寒,具有清热解毒、驱虫、止血的功效^[5]。紫萁贯众全植物中含有黄酮类、内酯类、二萜类、甾酮类、多糖、鞣质等化学成分^[6-9]。现代药理研究结果表明,紫萁贯众提取物具有抗菌、抗炎、抗病毒、提高免疫力等作用^[10-11],但对紫萁贯众单体成分的药理学研究较少,本实验前期研究发现紫萁贯众的醇提取物对内毒素致小鼠 SIRS 有一定的保护作用^[12]。本研究进一步观察从紫萁贯众醇提取物中分离得到的单体成分[对羟基苜蓿丙酮(HBAC),3,4-二羟基苜蓿丙酮(DHBAC)]对 SIRS 的保护作用及其可能的作用机制。

1 材料

1.1 动物 洁净级 BALB/c 小鼠 108 只,雄性,5~7 周龄,体质量 17~20 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2012-0001,动物实验部分均符合中国中医科学院中药研究所

动物伦理委员会的批准。

1.2 药物 紫萁贯众单体成分为对羟基苜蓿丙酮(HBAC),3,4-二羟基苜蓿丙酮(DHBAC),由紫萁贯众醇提取物分离得到^[13],由中国中医科学院中药研究所化学研究室提供;布洛芬缓释胶囊(珠海联邦制药股份有限公司中山分公司,批号 11202001)。

1.3 试剂 总胆固醇(T-CHO),甘油三酯(TG),葡萄糖(GLU)试剂盒(北京北化康泰临床试剂有限公司,批号分别为 20121203,20121212,20120925);脂多糖(LPS,美国 Sigma 公司,批号 20120429222);肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素- 1β (IL- 1β)(北京北方生物技术研究所,批号均为 20130220);MicroRotor™裂解试剂盒,Bio-Plex 信号转导检测试剂盒(美国 Bio-Rad 公司,批号分别为 1632141, LQ00000S6KL81S)。

1.4 仪器 CNT-701 型便携式温度测量记录仪(北京中科共创科技有限公司);SIEMENS ADVIA2120 型全自动血球计数仪(德国西门子公司);GFD-800 型半自动血液生化分析仪(山东高密彩虹分析仪器有限公司);ELX800 型多功能酶标仪(美国 Bio-Tex 公司);BSA3202S-CW 型电子天平(德国 Satorius 公司);XH6080 型放射免疫计数器(西安市国营二六二厂)。

2 方法

2.1 动物分组及处置 BALB/c 小鼠随机分为正常组,LPS 模型组,布洛芬组($39 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),HBAC 低、中、高剂量组($25, 50, 100 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$),DHBAC 低、中、高剂量组($25, 50, 100 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)(药物剂量根据前期实验结果设定),每组各 12 只动物。给药组预防性灌胃给药 7 d,末次给药前各组动物测肛温,给药 1 h 后,模型组和各给药组腹腔注射 LPS ($6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[12]。正常组不注射 LPS,注射同体积

生理盐水。

2.2 检测指标 注射 LPS 5 h 后再次测量肛温。同时观察动物呼吸频率、死亡情况等。眼眶取血,进行白细胞(WBC),血小板计数和白细胞分类中性粒细胞数(NEUT),淋巴细胞数(LYMPH),单核细胞数(MONO),其余血液分离血清后用于检测 T-CHO, GLU。动物处死后,各组小鼠取右肺部分组织制备匀浆,用于检测 TNF- α , IL-1 β 含量。另取一部分右肺组织 -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存待检。检测右肺组织中磷酸化核因子- κB 抑制蛋白- α (p-I κB - α), p-细胞外调节蛋白激酶 1/2 (ERK1/2), p-p38 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK), p-信号转导和转录激活因子 3 (STAT3), p-c-JUN, p-重组人胰岛素样生长因子 1 受体 (IGF-IR), p-丝裂原细胞外信号调节激酶 (MEK), p-蛋白激酶 B (Akt) 时,冰上融化样品, MicroRotorTM 裂解试剂盒裂解后,以 15 000 $\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$, 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min,收集上清置于冰上,测定蛋白浓度,稀释样品,用 Bio-Rad 磷酸化检测试剂盒检测,实验过程严格按照说明书操作。使用 Bio-Plex 悬浮分析系统 (Bio-Plex 200 reader) High PMT 设置读板获取数据,并进行数据分析。

2.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析统计,所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两两比较,假定方差齐者用 LSD 检验,方差不齐采用 Dunnett's T^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 DHBAc, HBAc 对 SIRS 小鼠呼吸频率的影响 与正常组比较,模型组小鼠呼吸频率明显降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, DHBAc 25, 50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量明显增加动物呼吸频率 ($P < 0.05, P < 0.01$); HBAc 50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量显著增加动物呼吸频率 ($P < 0.01$)。见表 1。

3.2 DHBAc, HBAc 对 SIRS 小鼠肛温的影响 与正常组比较,模型组小鼠肛温可下降 2 $^{\circ}\text{C}$ 左右 ($P < 0.01$), DHBAc 25, 50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量明显升高动物小鼠肛温 ($P < 0.05, P < 0.01$); HBAc 25, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量明显升高动物肛温 ($P < 0.05$)。见表 2。

3.3 DHBAc, HBAc 对 SIRS 小鼠白细胞及白细胞分类的影响 与正常组比较,模型组小鼠外周 WBC, 单核细胞百分比显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, DHBAc 25, 50, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量明显降低小鼠 WBC 和 MONO ($P < 0.05, P < 0.01$), HBAc 25, 50, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量明显降低小鼠 WBC 和 MONO ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 3。

表 1 DHBAc, HBAc 对 SIRS 小鼠呼吸频率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effect of DHBAc and HBAc on respiratory rate change in mice with SIRS ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	呼吸频率/次/20 s
空白	-	53.58 \pm 4.91
模型	-	49.83 \pm 3.83 ¹⁾
DHBAc	25	54.25 \pm 4.73 ³⁾
	50	55.50 \pm 3.15 ⁴⁾
	100	53.58 \pm 5.25
HBAc	25	51.83 \pm 3.86
	50	56.17 \pm 3.16 ⁴⁾
	100	50.00 \pm 3.25
布洛芬	3.9 $\times 10^4$	56.17 \pm 4.11 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~7 同)。

表 2 DHBAc, HBAc 对 SIRS 小鼠体温的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2 Effect of DHBAc and HBAc on anus temperature change in mice with SIRS ($\bar{x} \pm s, n = 12$) $^{\circ}\text{C}$

组别	剂量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	注射前体温	注射后体温	差值
正常	-	36.08 \pm 0.37	35.99 \pm 0.40	0.08 \pm 0.49
模型	-	36.11 \pm 0.50	34.03 \pm 2.14 ²⁾	2.08 \pm 2.01 ²⁾
DHBAc	25	36.09 \pm 0.64	35.81 \pm 0.85 ³⁾	0.28 \pm 1.09 ³⁾
	50	36.56 \pm 0.40	36.03 \pm 0.81 ⁴⁾	0.53 \pm 0.91 ³⁾
	100	36.35 \pm 0.29	35.64 \pm 1.00 ³⁾	0.71 \pm 1.15
HBAc	25	36.53 \pm 0.16	35.78 \pm 0.64 ³⁾	0.74 \pm 0.68 ³⁾
	50	36.72 \pm 0.34	34.84 \pm 1.78	1.88 \pm 1.77
	100	36.44 \pm 0.28	35.68 \pm 0.48 ³⁾	0.77 \pm 0.56 ³⁾
布洛芬	3.9 $\times 10^4$	36.51 \pm 0.28	35.33 \pm 0.46 ³⁾	1.18 \pm 0.57

3.4 DHBAc, HBAc 对 SIRS 小鼠血小板数的影响 与正常组比较, SIRS 小鼠血小板数显著降低 ($P < 0.01$), 血小板体积明显升高 ($P < 0.05$); 各给药组对 SIRS 小鼠血小板降低未见明显治疗效果。见表 4。

3.5 DHBAc, HBAc 对 SIRS 小鼠糖脂代谢的影响 与正常组比较模型组, 血糖含量显著降低 ($P < 0.01$), 与此模型中小鼠整体出现低温、低呼吸频率等症状相应。与模型组比较, DHBAc 50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量显著升高 GLU 含量 ($P < 0.05$); HBAc 25, 50, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组明显升高 GLU 含量 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 5。

3.6 DHBAc, HBAc 对 SIRS 小鼠右肺 TNF- α 及 IL-1 β 的影响 与正常组比较, SIRS 模型组小鼠肺组织中的 IL-1 β 含量明显增加 ($P < 0.01$), TNF- α 无

表 3 DHBAc, HBAC 对 SIRS 小鼠白细胞分类的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 3 Effect of DHBAc and HBAC on WBC classification change in mice with SIRS ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	WBC/ $\times 10^9$ 个/L	NEUT/%	LYM/%	MONO/%
正常	-	1.40 \pm 0.25	36.11 \pm 12.81	58.45 \pm 11.77	1.64 \pm 0.44
模型	-	2.42 \pm 0.85 ²⁾	40.75 \pm 10.28	51.90 \pm 10.38	2.38 \pm 0.74 ²⁾
DHBAc	25	1.00 \pm 0.34 ⁴⁾	38.11 \pm 9.65	53.76 \pm 10.88	1.77 \pm 0.64 ³⁾
	50	1.58 \pm 0.34 ⁴⁾	50.84 \pm 11.38 ⁴⁾	36.36 \pm 10.16 ⁴⁾	1.69 \pm 0.38 ³⁾
	100	0.95 \pm 0.29 ⁴⁾	36.73 \pm 12.99	55.00 \pm 14.50	1.56 \pm 0.68 ⁴⁾
HBAC	25	0.94 \pm 0.18 ⁴⁾	35.65 \pm 9.75	58.45 \pm 10.51	1.47 \pm 0.64 ⁴⁾
	50	1.03 \pm 0.25 ⁴⁾	40.96 \pm 11.17	50.73 \pm 11.80	1.49 \pm 0.85 ³⁾
	100	1.09 \pm 0.48 ⁴⁾	40.04 \pm 13.78	51.00 \pm 16.08	1.50 \pm 0.74 ⁴⁾
布洛芬	3.9×10^4	1.03 \pm 0.25 ⁴⁾	37.14 \pm 6.66	53.59 \pm 7.60	1.78 \pm 0.65 ³⁾

表 4 DHBAc, HBAC 对 SIRS 小鼠血小板数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 4 Effect of DHBAc and HBAC on number change of PLT in mice with SIRS ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	血小板计数/ $\times 10^9$ 个/L	平均体积/fL	血小板比积/fL
正常	-	1 064.64 \pm 161.79	7.51 \pm 0.11	0.40 \pm 0.05
模型	-	900.00 \pm 178.98 ²⁾	7.70 \pm 0.24 ¹⁾	0.35 \pm 0.07
DHBAc	25	861.42 \pm 86.17	7.80 \pm 0.19	0.33 \pm 0.03
	50	632.75 \pm 69.44	7.58 \pm 0.21	0.24 \pm 0.03
	100	853.17 \pm 84.03	7.78 \pm 0.14	0.33 \pm 0.03
HBAC	25	920.58 \pm 139.60	7.67 \pm 0.14	0.34 \pm 0.05
	50	924.58 \pm 149.96	7.67 \pm 0.13	0.35 \pm 0.05
	100	839.00 \pm 133.86	7.74 \pm 0.18	0.31 \pm 0.05
布洛芬	3.9×10^4	837.50 \pm 95.99	7.88 \pm 0.13	0.31 \pm 0.03

表 5 DHBAc, HBAC 对 SIRS 小鼠糖脂代谢的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 5 Effect of DHBAc and HBAC on glycolipid metabolism change in mice with SIRS ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	GLU	T-CHO
正常	-	3.91 \pm 1.40	2.24 \pm 0.51
模型	-	2.06 \pm 0.51 ²⁾	2.63 \pm 0.85
DHBAc	25	2.22 \pm 0.59	2.53 \pm 0.43
	50	3.38 \pm 1.86 ³⁾	2.33 \pm 0.63
	100	2.07 \pm 0.51	2.47 \pm 0.46
HBAC	25	2.62 \pm 0.60 ³⁾	2.74 \pm 0.54
	50	3.18 \pm 0.79 ⁴⁾	2.49 \pm 0.42
	100	2.97 \pm 0.46 ⁴⁾	2.88 \pm 0.42
布洛芬	3.9×10^4	2.66 \pm 0.34 ⁴⁾	2.51 \pm 0.36

明显变化。与模型组比较, DHBAc 50, 100 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量显著降低右肺组织中 IL-1 β 含量 ($P < 0.01$)。

HBAC 25, 50, 100 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量显著降低 IL-1 β 含量 ($P < 0.01$)。见表 6。

表 6 DHBAc, HBAC 对 SIRS 小鼠右肺 TNF- α 及 IL-1 β 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 6 Effect of DHBAc and HBAC on TNF- α and IL-1 β change of right lung in mice with SIRS ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	TNF- α	IL-1 β
正常	-	0.08 \pm 0.04	7.04 \pm 2.82
模型	-	0.09 \pm 0.08	12.21 \pm 5.57 ²⁾
DHBAc	25	0.12 \pm 0.08	9.98 \pm 2.09
	50	0.13 \pm 0.05	7.87 \pm 3.04 ³⁾
	100	0.07 \pm 0.05	8.20 \pm 1.73 ³⁾
HBAC	25	0.09 \pm 0.07	7.52 \pm 3.45 ³⁾
	50	0.17 \pm 0.06	7.74 \pm 3.77 ³⁾
	100	0.07 \pm 0.05	6.43 \pm 2.78 ⁴⁾
布洛芬	3.9×10^4	0.15 \pm 0.07	9.61 \pm 3.22

3.7 DHBAc, HBAC 对 SIRS 小鼠右肺组织炎症相关蛋白磷酸化的影响 与正常组比较, 模型组 p-I κ B- α , p-c-JUN 明显增高 ($P < 0.05$), p-ERK1/2, p-p38 MAPK, p-IGF-IR, p-MEK, p-Akt, p-MEK, p-Akt, p-STAT3 数据无明显变化(数据未列出), 表明在此模型中存在多条信号通路活化的现象。与模型组比较, DHBAc, HBAC 100 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可显著降低模型组 I κ B, c-JUN 磷酸化水平 ($P < 0.01$)。见表 7。

4 讨论

SIRS 是机体对各种严重损伤, 包括感染、创伤、烧伤、缺氧和再灌注等引起的全身性反应, 其发生与发展取决于刺激与机体反应性强弱^[14-16]。当 SIRS 发生时, 炎症反应和抗炎反应同时作用于机体, 但促炎因子的作用无法抵抗炎症介质与细胞因子的过多

表 7 DHBac, HBac 对 SIRS 小鼠右肺组织炎症相关蛋白磷酸化水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Table 7 Effect of DHBac and HBac on signal transducing phosphorylated protein change of right lung in mice with SIRS ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	剂量/ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	p-I κ B- α	p-c-JUN	p-STAT3
正常	-	68.70 \pm 57.79	749.00 \pm 82.27	180.25 \pm 180.30
模型	-	162.75 \pm 24.54 ¹⁾	1 927.00 \pm 194.90 ¹⁾	8.50 \pm 8.50
DHBac	100	66.75 \pm 4.33 ⁴⁾	397.50 \pm 35.80 ⁴⁾	7.39 \pm 7.39 ⁴⁾
HBac	100	80.50 \pm 18.48 ⁴⁾	798.25 \pm 106.10 ⁴⁾	158.36 \pm 158.40

释放,最终会导致免疫通路被激活,机体发生炎症失控和免疫紊乱^[17]。

内毒素的刺激是 SIRS 发病过程的启动步骤。当机体受到 LPS 刺激时,LPS 经脂多糖结合蛋白(LBP)与 CD14 受体结合,细胞的生物活性被激发,使信号向细胞内传递,LPS 一方面能够增强机体的抵抗力;另一方面,体内的免疫细胞发生变化,引起细胞因子失衡,机体发生急性炎症等连锁反应^[18]。

SIRS 以失控性炎症为主要病变,治疗重点在于恢复促炎-抗炎因子平衡,重建机体免疫稳态,阻断 SIRS 的恶化进程。临床上 SIRS 治疗主要包括抗炎、改善微循环障碍、抗感染、营养支持等^[19-22]。近年来的临床研究发现,SIRS 发生过程中,全身与局部的细胞因子对活化免疫反应具有重要作用^[23],所以在 SIRS 的治疗过程中应在抗炎的同时进行免疫系统调节^[14]。中医认为 SIRS 的病理实质是邪热亢盛,病性属实热^[24],当代中医根据其主症候特点使用主张以抗毒、排毒、解热之法^[25]。清热解毒类,通腑攻下类,活血化瘀类等中药在 SIRS 治疗中应用较广^[26]。其中危重患者由于久病导致元气虚耗,脏腑功能失调、气血阴阳失衡,使用益气活血方可使气旺以促进血行,气机恢复正常,提高对 SIRS 的治疗效果,并降低炎症因子的水平^[27]。除参麦注射液、血必净等复方外,中药大黄、丹参、蓝桉油、黄芪及银杏叶均可用于 SIRS 治疗^[28-29]。

紫萁贯众在我国有着悠久的药用历史,主要功能为清热解毒,凉血止血等^[10]。本课题组前期研究发现紫萁贯众醇提取物^[12]能够明显改善 LPS 所致小鼠 SIRS 引起的体温降低,T-CHO 升高,白细胞数下降及肺水肿情况。进一步研究发现紫萁贯众醇提取物中分离出的单体成分 HBac, DHBac 在体外实验中可以抑制巨噬细胞分泌 TNF- α , IL-1 β , IL-6, 一氧化氮(NO)以及前列腺素 E₂(PGE₂)等炎症及免疫介质,表明 HBac, DHBac 可能具有免疫调节活性^[13]。本实验对紫萁贯众醇提取物中的单体成分 HBac, DHBac 的免疫活性进行体内实验验证,并进

一步探索其抗炎机制。结果表明,HBac, DHBac 能够显著地改善 SIRS 小鼠呼吸频率、体温、外周血白细胞数、血糖、炎症因子分泌等的异常变化。进一步发现 HBac, DHBac 可能是通过 I κ B, c-JUN 等信号通路发挥抗炎作用,同时对 STAT3 磷酸化也具有一定的影响,提示 HBac, DHBac 对 SIRS 小鼠模型的保护作用可能不止是抗炎作用,而是对抗炎及免疫网络具有多环节的影响,相关机制有待进一步探索。

[参考文献]

[1] Bone R C, Balk R A. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM consensus conference committee. American college of chest physicians/society of critical care medicine [J]. Chest, 1992, 101 (6): 1644-1655.

[2] 张文波,程宝金.血清降钙素原、白细胞计数及 C 反应蛋白在全身炎症反应综合征感染因素中的诊断价值[J].实用临床医药杂志,2016,20(1):176-178.

[3] 张佳璇,孙琅,庞晶,等.肺炎克雷伯杆菌感染小鼠脓毒症模型的非靶向代谢组学研究[J].药学学报,2018,53(7):1122-1130.

[4] 张宏宁,陈志维.全身炎症反应综合征的中医药治疗现状及展望[J].中国中医急症,2010,19(7):1187-1188,1196.

[5] 崔月曦,刘合刚.贯众的研究进展[J].中国现代中药,2014,16(12):1043-1048.

[6] 厉博文,张东,杨岚,等.紫萁贯众中多糖的含量测定[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(10):41-43.

[7] 厉博文,张东,刘为广,等.紫萁贯众中鞣质的含量测定[J].中国中医药信息杂志,2010,17(11):45-46.

[8] 张东,厉博文,杨岚,等.中药紫萁贯众中紫萁酮的分离及含量测定[J].中国药学杂志,2010,45(21):1612-1614.

[9] 郑运霞.贯众药用成分的分离及活性研究[D].上海:上海师范大学,2015.

[10] 穆丽莎,崔文,费焱,等.紫萁贯众抗炎有效部位的研究[J].世界中医药,2014,9(3):372-373.

[11] 马书太,李诗标.紫萁贯众提取物体外抗病毒实验研

- 究[J]. 山东中医杂志, 2014, 33(8): 663-664.
- [12] 李玉洁, 杨庆, 杨岚, 等. 内毒素致小鼠 SIRS 模型建立及两种贯众醇提物对其保护作用的初步观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 187-189.
- [13] ZHU X X, LI Y J, YANG L, et al. Divergent immunomodulatory effects of extracts and phenolic compounds from the fern *Osmunda japonica* Thunb[J]. Chin J Integr Med, 2013, 19(10): 761-70.
- [14] 姚咏明, 张卉, 李春盛. 脓毒症治疗新策略: 免疫调理研究新认识[J]. 医学与哲学(B), 2017, 38(2): 28-31, 42.
- [15] 李维勤. 脓毒症诊疗的新挑战——持续炎症、免疫抑制和分解代谢综合征[J]. 医学研究生学报, 2017, 30(7): 673-677.
- [16] 姚令良, 肖扬, 谭华清. 全身炎症反应综合征发病机制理性辨析[J]. 医学与哲学(B), 2016, 37(1): 79-81.
- [17] 张苏. 人参皂苷 Rb-1 对 LPS 引起全身炎症反应综合征累及肾损伤影响的研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2017.
- [18] 李宁, 曾其毅. 脓毒症免疫动力学与免疫抑制[J]. 中国实用儿科杂志, 2017, 32(6): 408-413.
- [19] 李国华, 李秀琼, 罗敏, 等. 小剂量肝素对全身炎症反应综合征患儿血 TNF- α 、IL-6 的影响[J]. 鄂州大学学报, 2016, 23(2): 108-109.
- [20] 杨东艳. 多巴胺、酚妥拉明联合治疗全身炎症反应综合征所致小儿腹胀临床效果观察[J]. 中国实用医药, 2016, 11(10): 128-129.
- [21] 冯远征, 丘小其, 梁启慧. 非甾体抗炎药在小儿全身炎症反应综合征治疗中的疗效观察[J]. 中国医药科学, 2015, 5(15): 115-117.
- [22] 戴幼竹. 应用 ω -3 多不饱和脂肪酸对全身炎症反应综合征患者预后影响的荟萃分析[J]. 江苏医药, 2016, 42(9): 1089-1091.
- [23] 高思家, 赵建友, 徐小颖, 等. 黄连解毒汤抗全身炎症反应综合征活性的研究[J]. 药学研究, 2018, 37(1): 13-15, 56.
- [24] 黎辉, 武紫晖, 张晓云. 脓毒症的中医研究进展[J]. 中国中医急症, 2018, 27(9): 1681-1683.
- [25] 赵国桢, 郭玉红, 李博, 等. 中医药防治脓毒症的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(8): 1423-1429.
- [26] 戎雪莹, 郭宏敏, 黄旭霞. 中药复方治疗全身炎症反应综合征研究进展[J]. 长春中医药大学学报, 2015, 31(1): 214-216.
- [27] 李彦, 魏冯宁, 顾承东. 益气活血类中药治疗脓毒症的研究进展[J]. 中日友好医院学报, 2016, 30(2): 97-99.
- [28] 余致伟. 益气活血法在全身炎症反应综合征中的作用分析[J]. 医学信息, 2014, 27(9): 453-453.
- [29] 向丽, 王沛明, 王平, 等. 大黄-黄芩配伍对内毒素血症模型大鼠肝脏炎性损伤的保护作用及其机制研究[J]. 中药药理与临床, 2018, 34(1): 105-108.

[责任编辑 周冰冰]