

## 【药效学评价】

## 注射用益气复脉（冻干）改善脂多糖诱导小鼠急性肺损伤作用研究

夏远利<sup>1,2</sup>, Dolgor.S<sup>1,2</sup>, 吴云皓<sup>1,2</sup>, 姜思宇<sup>1,2</sup>, 薛漓轩<sup>1,2</sup>, 张媛媛<sup>1,2</sup>, 寇俊萍<sup>1,2\*</sup>

1. 中国药科大学 中药学院, 江苏 南京 211198

2. 江苏省中药评价与转化重点实验室, 江苏 南京 211198

**摘要:** **目的** 观察注射用益气复脉(冻干, YQFM)对脂多糖(LPS)诱导小鼠急性肺损伤(ALI)的保护作用。**方法** C57雄性小鼠随机分为对照组、模型组、注射用地塞米松磷酸钠(DEX, 5 mg/kg)组和YQFM低、中、高剂量(0.33、0.67、1.34 g/kg)组。YQFM和DEX均在气管滴注LPS(5 mg/kg)前10 min经尾iv给药, 24 h后, 检测肺湿干质量比; 制作肺组织切片进行HE染色, 观察肺组织损伤及炎症; 收集支气管肺泡灌洗液(BALF), 分析BALF中的一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、总蛋白含量、中性粒细胞占比; 制备肺组织匀浆, 检测髓过氧化物酶(MPO)活力, 并用Western Blotting法检测TLR4和MyD88蛋白表达水平。**结果** 与对照组比较, 模型组肺组织损伤及炎症反应严重; 小鼠肺湿干质量比, BALF中的NO、MDA、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、总蛋白含量及中性粒细胞占比, 肺组织中MPO活力、TLR4和MyD88蛋白表达均明显升高, BALF中SOD含量明显降低, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。与模型组比较, YQFM组小鼠肺组织损伤及炎症反应缓解, BALF中NO、MDA、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、总蛋白含量及中性粒细胞占比, 肺组织中MPO活力、TLR4和MyD88蛋白表达均明显降低, SOD含量明显升高, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。**结论** YQFM对气管滴注LPS诱导小鼠ALI具有一定的防治作用。

**关键词:** 注射用益气复脉(冻干); 急性肺损伤; 脂多糖; 中药注射剂; 炎症; 氧化应激; TLR4/MyD88信号通路

**中图分类号:** R962.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2018)03-0372-08

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.03.004

## Effect of Yiqi Fumai Lyophilized Injection on lipopolysaccharide - induced acute lung injury in mice

XIA Yuanli<sup>1,2</sup>, Dolgor.S<sup>1,2</sup>, WU Yunhao<sup>1,2</sup>, JIANG Siyu<sup>1,2</sup>, XUE Lixuan<sup>1,2</sup>, ZHANG Yuanyuan<sup>1,2</sup>, KOU Junping<sup>1,2</sup>

1. College of Traditional Chinese Medicine, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

2. Jiangsu Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Evaluation and Translational Research, Nanjing 211198, China

**Abstract: Objective** To observe the protective effect of YQFM injection on lipopolysaccharide (LPS) -induced acute lung injury (ALI) in mice. **Methods** C57 mice were randomly divided into control group, LPS group, YQFM low, medium, high dose (0.33, 0.67 and 1.34 g/kg) groups, and dexamethasone (DEX, 5 mg/kg) group. YQFM and DEX were tail vein injected 10 min before tracheal instillation of LPS (5 mg/kg). After 24 h, lung wet/dry weight ratio was observed, and the pulmonary tissue slices were stained with HE to observe the injury and inflammation of lung tissue. The levels of NO, malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), tumor necrosis factor -  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin -1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), total protein content, and neutrophil proportion were examined to collect the bronchoalveolar lavage fluid (BALF). The lung tissue homogenate was prepared, the myeloperoxidase (MPO) activity was detected, and the expression of TLR4 and MyD88 protein was detected by Western Blotting. **Results** Compared with control group, the lung tissue injury and inflammatory response were serious in model group, and the content of NO, MDA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , total protein and the percentage of neutrophils, the activity of MPO, and the expression of TLR4 and MyD88 in

收稿日期: 2017-12-18

项目基金: 国家自然科学基金资金项目(81773971)

第一作者: 夏远利(1987-), 男, 黑龙江人, 硕士, 主管中药师, 研究方向为中药复方作用机理。E-mail: v0813@163.com

\*通信作者: 寇俊萍(1972-), 女, 博士研究生导师, 研究方向为中药复方作用机理。E-mail: junpingkou@163.com

BALF in model group were all increased significantly, and the content of SOD was decreased significantly ( $P < 0.05$  and  $0.01$ ). Compared with model group, pulmonary tissue injury and inflammation were relieved, the contents of NO, MDA, TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$  and total protein, the percentage of neutrophils, the activity of MPO, and the expressions of TLR4 and MyD88 in BALF were all decreased, and the content of SOD was increased in YQFM groups, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion** YQFM has a certain prevention effect on LPS-induced acute lung injury in mice.

**Key words:** Yiqi Fumai Lyophilized Injection; acute lung injury; LPS; traditional Chinese medicine injection; inflammation; oxidative stress; TLR4/MyD88 signaling pathway

急性肺损伤 (Acute lung injury, ALI) 是一种由脓毒症、休克、创伤等多种因素引起的严重致死性疾病, 目前仍缺乏有效的防治方法<sup>[1]</sup>。脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 为革兰阴性菌细胞壁成分, 可直接激活 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 和髓样细胞分化因子 88 (Myeloid differentiation factor 88, MyD88), 从而释放炎症因子等, 经一系列级联反应, 最终导致 ALI<sup>[2-4]</sup>。

注射用益气复脉 (冻干, YQFM) 是基于中药经典方剂生脉散研发出的中药注射制剂, 由红参、麦冬、五味子组成<sup>[5]</sup>, 临床用于防治冠心病和心绞痛等缺血性心脏疾病<sup>[6]</sup>。据报道, YQFM 组成药物中的有效成分鲁斯可皂苷元、人参 Rg1、Rg3、五味子乙素等, 都对 LPS 诱导的 ALI 具有不同程度的保护作用<sup>[7-11]</sup>。但是, YQFM 对 ALI 是否具有改善作用及可能作用途径, 尚未见报道。本研究拟观察 YQFM 对 LPS 诱导小鼠 ALI 的防治作用, 并从 TLR4-MyD88 途径初步探讨其可能的效应途径, 为临床防治 ALI 提供一定的参考依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 药品与主要试剂

注射用益气复脉 (批号 20161016, 天津天士力天之骄药业有限公司); 脂多糖 (型号 L2880, 批号 086M4159L, 美国 Sigma 公司); 注射用地塞米松磷酸钠 (DEX, 批号 20160408, 沈阳光大制药有限公司); 髓过氧化物酶检测试剂盒 (南京建成生物工程研究所); 瑞氏吉姆萨染色液 (武汉谷歌生物技术有限公司); 小鼠 NO、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、髓过氧化物酶 (MPO) ELISA 试剂盒 (南京金益柏生物科技有限公司); BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (碧云天生物科技有限公司); TLR4 抗体 (南京巴傲得生物科技有限公司); MyD88 抗体 (美国 Abcam 公司)。

### 1.2 主要仪器

超纯水仪 (美国 MILLIPORE 公司); 电子分析天平 (上海市梅特勒-托利多公司); 酶标仪 Sunrise (奥

地利 Tecan 公司); 电子显微镜 (日本奥林巴斯公司)。

### 1.3 实验动物

C57 雄性小鼠, 由扬州大学比较医学中心提供, 实验动物生产许可证号 SCXK (苏) 2016-0004。体质量 18~22 g。每笼 6 只分开饲养, 自由饮水饮食, 室温保持在 25 °C 左右, 相对湿度控制在 40%~80%。

## 2 方法

### 2.1 动物分组及 LPS 诱导小鼠 ALI 模型的建立

C57 雄性小鼠共 36 只, 随机分成 6 组, 分别为对照组、模型 (LPS, 5 mg/kg) 组、DEX (阳性药, LPS 5 mg/kg+DEX 5 mg/kg) 组和 YQFM 低、中、高剂量 (LPS 5 mg/kg+YQFM 0.33、0.67、1.34 g/kg) 组, 各组分别尾 iv 生理盐水, YQFM 低、中、高剂量和 DEX, 10 min 后气管滴注 LPS 建立 ALI 小鼠模型, 24 h 后处死小鼠, 进行各项指标检测。

### 2.2 肺组织湿干质量比测定

取下全肺, 精准测定全肺质量, 记为湿质量, 将肺组织置于 120 °C 的烘箱中烘干 24 h 后, 测定全肺的质量, 记为干质量, 计算肺湿干质量比

$$\text{肺湿干质量比} = \frac{\text{湿质量}}{\text{干质量}}$$

### 2.3 肺组织病理观察

取小鼠右肺上叶, 经多聚甲醛固定后, 石蜡包埋后切片, HE 染色, 由专业病理人员显微镜检查。观察指标: (1) 肺泡壁有无充血、出血, 炎细胞浸润; (2) 有无肺气肿; (3) 肺内支气管上皮细胞有无变性坏死, 周围组织有无水肿、炎细胞浸润等病变。评定方法: 根据病变由轻到重的程度依次定量为轻微或极少量“0.5分”; 轻度或少量“1分”; 中度或较多“2分”; 重度或多量“3分”; 极重度或大量“4分”; 正常“0分”, 分值越高提示损伤程度越严重。

### 2.4 肺组织中 MPO 的测定

取小鼠右肺下叶, 制作肺组织匀浆, 其他步骤严格按照 MPO 试剂盒说明书进行操作。

### 2.5 肺泡灌洗液 (BALF) 中各项指标测定

剥离出气管, 用 4 号针头注射器进行肺泡灌洗, 500  $\mu$ L PBS 反复灌洗 3 次, 回收的 BALF 4 °C、

1 500 r/min 离心 5 min, 分离上清液和细胞沉淀, 上清液分别按 BCA 和 ELISA 试剂盒说明书测定 BALF 中总蛋白、NO、MDA、SOD、TNF- $\alpha$ 、IL1- $\beta$  含量。细胞沉淀分别采用血球细胞分析仪和瑞氏吉姆萨染色, 进行常规细胞分类统计和细胞涂片。

**2.6 Western blotting 测定肺组织蛋白含量表达**

取小鼠左肺, 提取总蛋白, 进行蛋白定量, 制备 SDS-PAGE 凝胶, 进行电泳, 200 mA 湿转后, 将 PVDF 膜放入 5% 的 BSA 封闭液中, 封闭 2 h, 一抗用 5% BSA 按 1 : 1 000 稀释, 加入装有膜的封口袋中, 4  $^{\circ}$ C 过夜。取出膜用 TBST 洗 3 次, 每次 10 min。再将 HRP 标记的二抗用 TBST 稀释, 加入装有膜的孵育盒中, 室温 2 h。取出膜用 TBST 洗 3 次, 每次 10 min。最后 ECL 显影液均匀滴于 PVDF 膜上, 放入化学凝胶成像仪中, 检测蛋白表达水平, 用 Image Lab 软件处理条带。

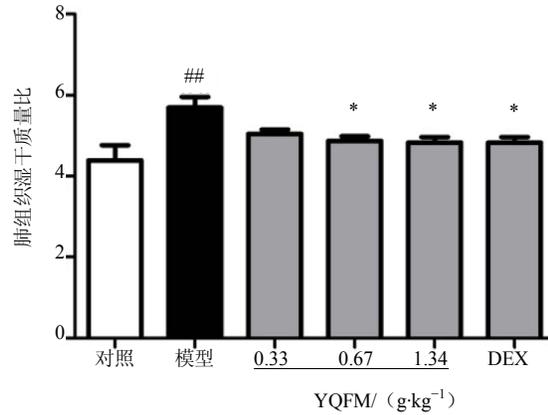
**2.7 统计学分析**

实验结果均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 Graphpad Prism 5 软件进行统计, 2 组数据间的比较用 Students' *t* 法检验, 3 组及以上数据间的比较用单因素方差分析, 并用 Dunnett's test 法检验。

**3 结果**

**3.1 对 LPS 诱导 ALI 小鼠肺组织湿干质量比的影响**

如图 1 所示, 与对照组比较, 模型组肺组织湿干质量比显著增加 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 中、高剂量 YQFM 和 DEX 组的肺组织湿干质量比显著降低 ( $P < 0.05$ )。提示 YQFM 对 LPS 诱导的 ALI



与对照组比较: ## $P < 0.01$ ; 与模型组比较: \* $P < 0.05$   
## $P < 0.01$  vs control group; \* $P < 0.05$  vs model group

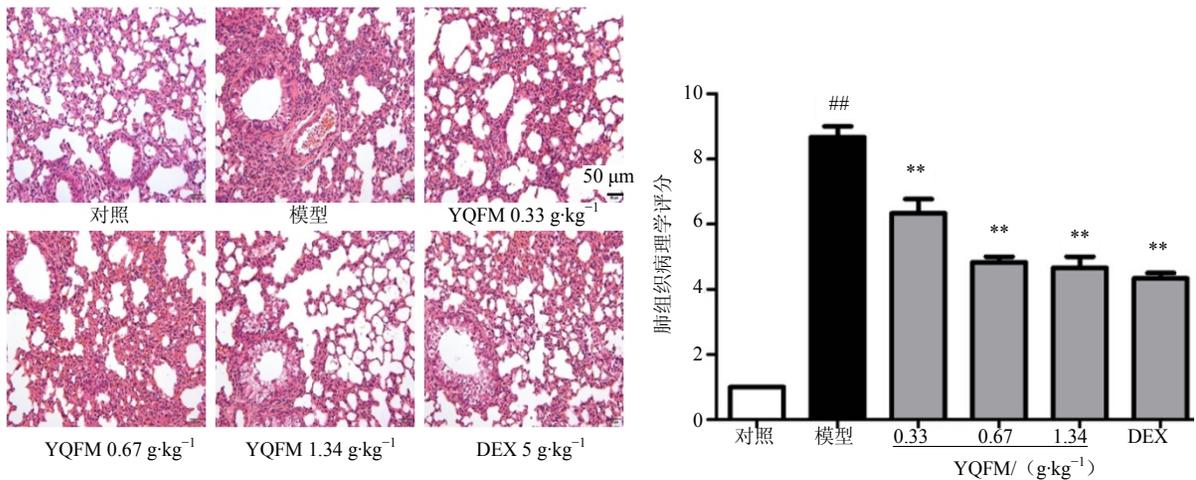
图 1 YQFM 对 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺组织湿干质量比的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 1 Effects of YQFM on LPS-induced lung wet/ dry weight ratio in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

小鼠肺水肿有明显的改善作用。

**3.2 对 LPS 诱导 ALI 小鼠肺组织病理形态的影响**

模型组气道周围水肿明显, 可见大量中性粒细胞, 少量淋巴细胞和巨噬细胞的渗出物, 肺泡间隔增生、水肿; 在 YQFM 各剂量组中, 小鼠肺组织的病理损伤情况均有不同程度的改善。肺组织病理评分结果显示, 模型组小鼠病理学评分显著高于对照组 ( $P < 0.01$ ); YQFM 各剂量组给药后的病理学评分较模型组显著降低 ( $P < 0.01$ )。说明 YQFM 有较好的改善小鼠肺组织病理损伤的作用。结果见图 2。



与对照组比较: ## $P < 0.01$ ; 与模型组比较: \*\* $P < 0.01$   
## $P < 0.01$  vs control group; \*\* $P < 0.01$  vs model group

图 2 YQFM 对 LPS 诱导 ALI 小鼠肺组织病理形态学的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

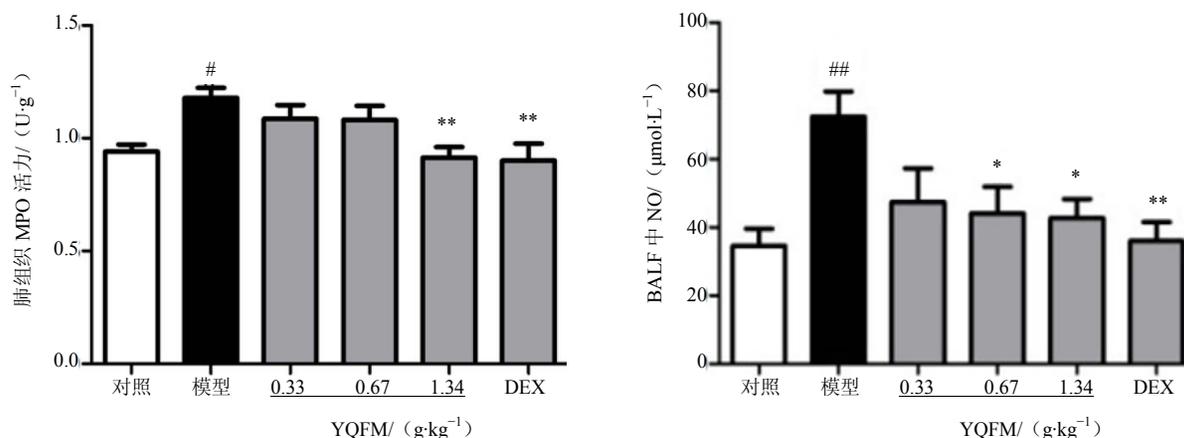
Fig. 2 Effects of YQFM on LPS - induced lung histopathological changes in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

### 3.3 对 LPS 诱导 ALI 小鼠肺组织中 MPO 和 BALF 中 NO 水平的影响

与对照组比较,模型组小鼠肺组织 MPO 活力显著增大 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较,高剂量 YQFM 和 DEX 组 MPO 活力显著降低 ( $P < 0.01$ )。与对照组比较,模型组 BALF 中 NO 含量显著升高 ( $P < 0.01$ ); 中、高剂量 YQFM 组 NO 含量显著降低 ( $P < 0.05$ )。说明 LPS 气管滴注后,小鼠肺组织炎症反应明显, YQFM 各剂量组可以一定程度抑制炎症的发生。结果见图 3。

### 3.4 对 LPS 诱导 ALI 小鼠 BALF 中氧化应激水平的影响

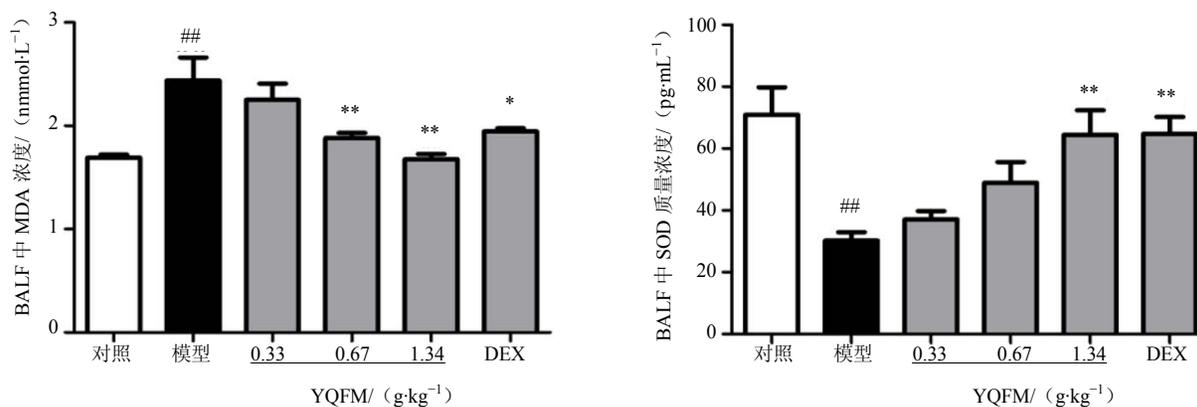
与对照组比较,模型组小鼠 BALF 中 MDA 含量显著增加 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较,中、高剂量 YQFM 和 DEX 组小鼠 BALF 中的 MDA 含量显著减少 ( $P < 0.05, 0.01$ )。与对照组比较,模型组小鼠 BALF 中的 SOD 含量显著减少 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较,高剂量 YQFM 和 DEX 组小鼠 BALF 中 SOD 水平显著增加 ( $P < 0.01$ )。说明 YQFM 可通过调整氧化应激水平,发挥对 ALI 的保护作用。见图 4。



与对照组比较: <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$   
<sup>##</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group

图 3 YQFM 对 LPS 诱导 ALI 小鼠肺组织中 MPO 活力和 BALF 中 NO 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 3 Effects of YQFM on LPS-induced MPO content in lung tissues and NO content in BALF ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )



与对照组比较: <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$   
<sup>##</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group

图 4 YQFM 对 LPS 诱导 ALI 小鼠 BALF 中氧化应激水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 4 Effects of YQFM on LPS-induced oxidative stress level in BALF ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

### 3.5 对 BALF 中炎症因子水平的影响

与对照组比较, 模型组小鼠 BALF 中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平显著增加, 高剂量 YQFM 和 DEX 干预后均可显著降低 BALF 中 TNF- $\alpha$  水平 ( $P < 0.05, 0.01$ ), 各给药组 IL-1 $\beta$  水平均显著降低 ( $P < 0.01$ )。说明 YQFM 可通过抑制小鼠 BALF 中炎症因子 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  的增加, 改善 LPS 诱导的 ALI。见图 5。

### 3.6 对小鼠 BALF 中总蛋白含量和中性粒细胞百分比的影响

采用瑞氏吉姆萨染色发现, 对照组中 BALF

主要以巨噬细胞为主, 仅有少量的淋巴细胞, 中性粒细胞几乎没有; LPS 刺激后, 细胞总数和中性粒细胞数显著增加; 给予 YQFM 后, BALF 中的总细胞数和中性粒细胞数明显减少。另外, 与对照组比较, 模型组 BALF 中总蛋白含量和中性粒细胞数量明显升高 ( $P < 0.05$ ); 高剂量组 YQFM 给药后, 小鼠 BALF 中总蛋白含量和中性粒细胞占比显著低于模型组 ( $P < 0.05$ )。提示 YQFM 可以一定程度减少蛋白渗漏和抑制小鼠炎症反应程度。见图 6。

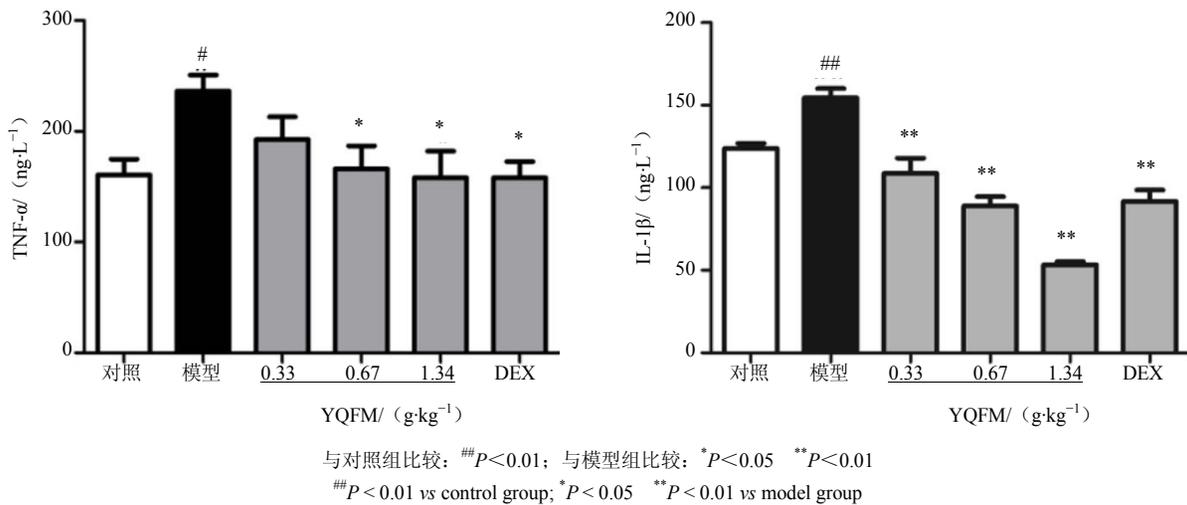


图 5 YQFM 对 LPS 诱导 ALI 小鼠 BALF 中炎症因子水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
 Fig. 5 Effects of YQFM on LPS-induced inflammation level in BALF ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

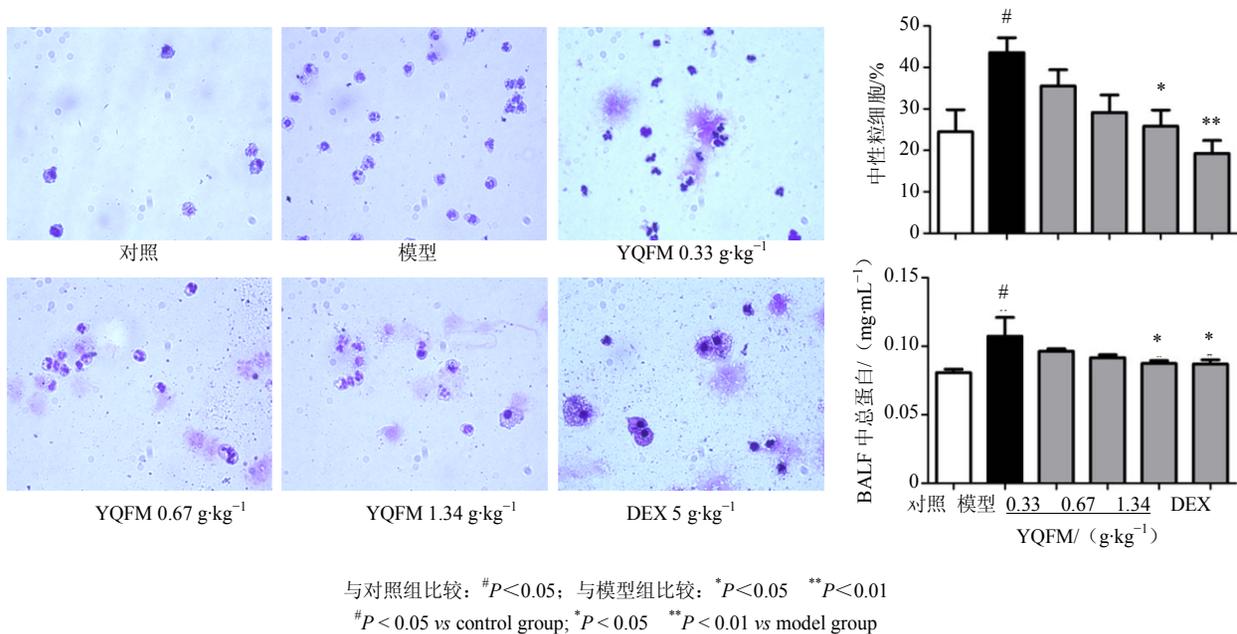


图 6 YQFM 对小鼠 BALF 中总蛋白含量和中性粒细胞占比的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
 Fig. 6 Effects of YQFM on LPS-induced protein content and neutrophil percentage in BALF ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

### 3.7 对小鼠肺组织中 TLR4 和 MyD88 蛋白表达的影响

用 Western blotting 检测 TLR4、MyD88 的蛋白表达, 结果显示, LPS 诱导 ALI 后, 小鼠肺组织内 TLR4、MyD88 表达水平显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ),

说明 ALI 发生后, 小鼠肺组织 TLR4-MyD88 信号通路被激活。YQFM 给药后, 与模型组比较, 小鼠肺组织 TLR4 和 MyD88 表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。说明 YQFM 能够抑制 ALI 小鼠肺组织中的 TLR4-MyD88 信号通路激活。见图 7。

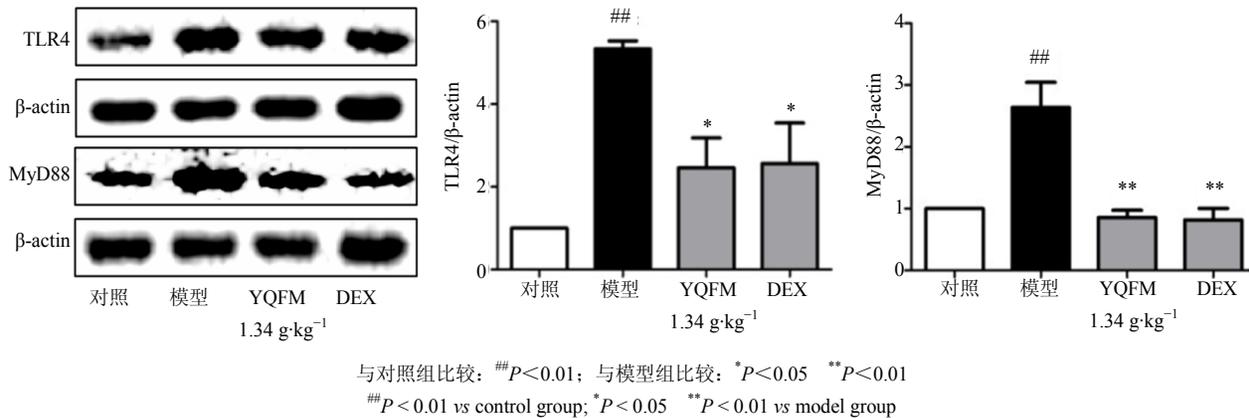


图7 YQFM 对小鼠肺组织中 TLR4 和 MyD88 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 7 Effects of YQFM on LPS-induced TLR4 and MyD88 expression in lung tissues ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

## 4 讨论

ALI 的病理过程主要包括肺泡-毛细血管通透性改变、炎症反应等<sup>[12-13]</sup>。肺部炎症反应和肺内皮屏障损伤是 ALI 发生发展的关键因素, 肺内皮屏障的损伤, 将导致血管内相关蛋白及细胞流入肺间质及肺泡, 致使肺组织水肿, 同时炎症因子迁移入肺间质, 加重炎症反应, 恶化 ALI<sup>[14-16]</sup>。LPS 气管滴注诱导的 ALI 模型, 可以很好的模拟临床上肺炎导致的肺损伤<sup>[17]</sup>, 因此, 本实验选择 LPS 气管滴注诱导的 ALI 模型, 研究 ALI 的发病机制。研究证实, LPS 刺激使 BALF 中蛋白含量增加, 亦增加了 MPO 含量, 促进了中性粒细胞迁移, 加重肺组织炎症及水肿, 恶化了肺组织病理损伤<sup>[18-19]</sup>。

本研究结果表明, 通过 HE 染色发现, YQFM 可以显著改善肺组织病理损伤。肺组织水肿是 ALI 首要的病理改变, ALI 发生时会导致肺湿干质量比增加, 同时, 肺干湿比、BALF 中总蛋白含量也主要考察蛋白的渗漏<sup>[20-21]</sup>, 本研究发现, YQFM 可以显著降低肺组织湿干质量比和 BALF 中总蛋白含量。中性粒细胞的浸润在 ALI 的病理过程中具有重要的作用, 已有文献表明<sup>[22-23]</sup>, ALI 小鼠 BALF 中有大量从血液中渗漏出来的中性粒细胞, 本结果表明, YQFM 显著抑制 LPS 诱导的 ALI 中肺组织中 MPO 活力。另外, LPS 可引起机体氧化应激损伤<sup>[24]</sup>,

本实验结果显示, LPS 能引起小鼠肺部氧化应激损伤, YQFM 可以降低组织自由基的含量, 增强抗氧化化的能力。

TNF- $\alpha$  主要是由单核巨噬细胞产生的多功能炎症细胞因子, 其激活最初的炎症级联, 导致全身炎症, TNF- $\alpha$  表达的持续增加与 ALI 病人预后差有关; 同时一氧化氮合酶 (NOS) 可产生 NO, 引起内皮细胞毒性, 内皮通透性增加, 引起肺损伤<sup>[25-27]</sup>。本实验结果显示, YQFM 显著抑制 LPS 诱导的 ALI 中炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、NO 含量增加。

在 LPS 诱导的信号转导通路中, TLR4 作为识别 LPS 的关键上游受体, 控制着 LPS 炎症信号的细胞内转导, 以及众多炎症因子的释放<sup>[28-29]</sup>。TLR4 的信号接受蛋白为 MyD88, 介导非常重要的 MyD88 依赖型信号转导通路。MyD88 依赖型途径主要发挥促进细胞因子产生的作用<sup>[30]</sup>。在 LPS 诱导的 ALI 中, TLR4/MyD88 信号通路发挥了重要的作用<sup>[31]</sup>。本实验结果表明, YQFM 抑制 TLR4/MyD88 信号通路的活化, 可能是其改善 LPS 诱导 ALI 的分子机制。

另据文献报道, YQFM 的组成药物中的活性成分人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 可降低小鼠 ALI 小鼠 BALF 中总蛋白含量及肺组织中 MPO 活力, 并能减轻肺水肿<sup>[8]</sup>; 人参皂苷 Rg<sub>5</sub> 可通过抑制 LPS 对巨噬细胞上的 TLR4 的结合, 而改善小鼠肺部炎症<sup>[32]</sup>; 鲁斯可皂

昔元通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路减少肺组织组织因子表达,改善凝血紊乱,减轻 LPS 诱导的 ALI<sup>[9]</sup>;五味子乙素可显著降低 ALI 中小鼠 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  含量,改善肺组织病理形态<sup>[11]</sup>;提示 YQFM 改善肺损伤的活性与上述成分有关,其是否也可调节 NF- $\kappa$ B 信号通路改善凝血紊乱,或可调节巨噬细胞 TLR4 等信号途径保护肺血管内皮屏障等,均有待于进一步深入研究。

本研究考察了 LPS 气管滴注制备 ALI 小鼠模型 24 h 后, YQFM 的保护作用。在肺血管内皮屏障损伤、氧化失衡、炎症因子水平,尾 iv YQFM 能有效抑制 LPS 诱导的肺水肿、BALF 中总蛋白含量、改善氧化应激和炎症因子水平,并可降低 TLR4-MyD88 信号通路的表达。因此证实了 YQFM 对 LPS 致 ALI 小鼠发挥一定的改善作用,对其它原因引起的 ALI 也可能具有一定的预防作用,为后期探讨 YQFM 防治小鼠 ALI 的深入机制,提供实验数据参考。

#### 参考文献

- [1] Confalonieri M, Salton F, Fabiano F. Acute respiratory distress syndrome [J]. *Critical Care Clinics*, 2017, 13(3): 503-521.
- [2] Wang Y, Qian Y, Fang Q, et al. Saturated palmitic acid induces myocardial inflammatory injuries through direct binding to TLR4 accessory protein MD2 [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 13997. Doi: 10.1038/ncomms13997.
- [3] Fanelli V, Ranieri V M. Mechanisms and clinical consequences of acute lung injury [J]. *Ann Am Thorac Soc*, 2015, 12 Suppl 1: S3-S8.
- [4] Butt Y, Kurdowska A, Allen T C. Acute Lung Injury: A Clinical and Molecular Review [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2016, 140(4): 345-350.
- [5] 郑显杰, 庞力智, 韩玉潇, 等. 注射用益气复脉(冻干)改善小鼠心肌缺血再灌注损伤的作用 [J]. *中成药*, 2016, 38(3): 473-480.
- [6] 张天柱, 杨世海, 代文意, 等. 人参皂苷 Rg1 减轻脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤的作用机制研究 [J]. *中成药*, 2015, 37(9): 2046-2048.
- [7] Cheng Z, Li L. Ginsenoside Rg3 ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice through inactivating the nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) signaling pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 34: 53-59.
- [8] Sun Q, Chen L, Gao M, et al. Ruscogenin inhibits lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice: Involvement of tissue factor, inducible NO synthase and nuclear factor (NF)- $\kappa$ B [J]. *Int Immunopharmacol*, 2012, 12(1): 88-93.
- [9] 刘小芳. 参麦注射液治疗急性肺损伤的疗效及对血清 ICAM-1、ET-1 及 NO 的影响 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2017, 26(25): 2784-2786.
- [10] Cai Z, Liu J, Bian H, et al. Suppression of P2X7/NF-kappaB pathways by Schisandrin B contributes to attenuation of lipopolysaccharide - induced inflammatory responses in acute lung injury [J]. *Arch Pharm Res*, 2016, 39(4): 499-507.
- [11] Standiford T J, Ward P A. Therapeutic targeting of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome [J]. *Transl Res*, 2016, 167(1): 183-191.
- [12] Robb C T, Regan K H, Dorward D A, et al. Key mechanisms governing resolution of lung inflammation [J]. *Semin Immunopathol*, 2016, 38(4): 425-448.
- [13] Orwoll B E, Sapru A. Biomarkers in Pediatric ARDS: Future Directions [J]. *Front Pediatr*, 2016, Doi: 10.3389/fped.2016.00055. eCollection 2016.
- [14] Wittekindt O H. Tight junctions in pulmonary epithelia during lung inflammation [J]. *Pflugers Archiv*, 2017, 469(1): 135-147.
- [15] Standiford T J, Ward P A. Therapeutic targeting of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome [J]. *Transl Res*, 2016, 167(1): 183-191.
- [16] 刘泽茹, 宋磊, 李丹. 急性肺损伤实验动物模型的特征和评价方法 [J]. *中国实验诊断学*, 2017(6): 1100-1102.
- [17] Jiang L, Zhang L, Kang K, et al. Resveratrol ameliorates LPS-induced acute lung injury via NLRP3 inflammasome modulation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84: 130-138.
- [18] Yu X, Yu S, Chen L, et al. Tetrahydroberberubine attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by down-regulating MAPK, AKT, and NF-kappaB signaling pathways [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 82: 489-497.
- [19] Gao M, Chen L, Yang L, et al. Berberine inhibits LPS-induced TF procoagulant activity and expression through NF- $\kappa$ B/p65, Akt and MAPK pathway in THP-1 cells [J]. *Pharmacol Rep*, 2014, 66(3): 480-484.
- [20] Fu C, Dai X, Yang Y, et al. Dexmedetomidine attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting oxidative stress, mitochondrial dysfunction and apoptosis in rats [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(1): 131-138.
- [21] Liu H, Yu X, Yu S, et al. Molecular mechanisms in lipopolysaccharide-induced pulmonary endothelial barrier

- dysfunction [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 29(2): 937-946.
- [22] Tao W, Su Q, Wang H, et al. Platycodin D attenuates acute lung injury by suppressing apoptosis and inflammation *in vivo* and *in vitro* [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 27(1): 138-147.
- [23] Lv H, Yu Z, Zheng Y, et al. Isoviteixin exerts anti-inflammatory and anti-oxidant activities on lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting MAPK and NF-kappaB and activating HO-1/Nrf2 pathways [J]. *Int J Biol Sci*, 2016, 12(1): 72-86.
- [24] Sun C, Xu L, Zhang Z, et al. Protective effects of pogostone against LPS-induced acute lung injury in mice via regulation of Keap1-Nrf2/NF-κB signaling pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 32: 55-61.
- [25] Lin J, Cheng Y, Wang T, et al. Soyasaponin Ab inhibits lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 30: 121-128.
- [26] Al-Harbi N O, Imam F, Al-Harbi M M, et al. Dexamethasone Attenuates LPS-induced Acute Lung Injury through Inhibition of NF-kappaB, COX-2, and Pro-inflammatory Mediators [J]. *Immunol Invest*, 2016, 45(4): 349-369.
- [27] Kuzmich N N, Sivak K V, Chubarev V N, et al. TLR4 signaling pathway modulators as potential therapeutics in inflammation and sepsis [J]. *Vaccines (Basel)*, 2017, 5(4). Doi: 10.3390/vaccines5040034.
- [28] Molteni M, Gemma S, Rossetti C. The role of Toll-Like Receptor 4 in infectious and noninfectious inflammation [J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 6978936.
- [29] Xu C, Chen G, Yang W, et al. Hyaluronan ameliorates LPS-induced acute lung injury in mice via Toll-like receptor (TLR) 4-dependent signaling pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(2): 1050-1058.
- [30] Wang C, Zeng L, Zhang T, et al. Casticin inhibits lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 789: 172-178.
- [31] Kim T W, Joh E H, Kim B, et al. Ginsenoside Rg5 ameliorates lung inflammation in mice by inhibiting the binding of LPS to toll-like receptor-4 on macrophages [J]. *Int Immunopharmacol*, 2012, 12(1): 110-116.