

炎调方对脓毒症急性肺损伤大鼠肺组织热休克蛋白 70 mRNA 和 p38 丝裂原活化蛋白激酶的影响

任潇潇, 沈晓红*, 汪海慧

上海中医药大学附属曙光医院, 上海 200021

摘要: 目的 探讨炎调方对脓毒症急性肺损伤 (ALI) 大鼠肺组织热休克蛋白 70 (HSP70) mRNA 和 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 MAPK) 的调控作用。方法 将清洁级健康雄性 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、炎调方 (生药量 9.9 g/kg) 组、谷氨酰胺组、槲皮素组, 采用盲肠结扎穿孔术法 (CLP) 建立脓毒症 ALI 模型。观察大鼠一般状况, 各组分别于术后 4、6、8、10、12、18、24 h 采集肺组织标本, HE 染色观察肺组织病理学改变; 实时荧光定量 PCR 法检测肺组织 HSP70 mRNA 的表达水平; Western Blotting 法检测肺组织 p38 MAPK 的蛋白表达水平。结果 炎调方组、谷氨酰胺组大鼠与模型组比较, 术后不同时间点的精神状态、活动量等明显好转, 可见少量稀便; 肺组织损伤程度明显减轻, 腔内出血较少, 肺实变较轻。炎调方组不同时间点的肺组织 HSP70 mRNA 表达水平显著高于假手术组、模型组 (除 24 h 时间点外)、槲皮素组 ($P < 0.01$), 在 8、12、18、24 h 时间点显著低于谷氨酰胺组 ($P < 0.01$); 炎调方组不同时间点的肺组织 p38 MAPK 的蛋白表达量显著低于模型组、槲皮素组 ($P < 0.01$), 在 4、6、10 h 时间点明显低于谷氨酰胺组 ($P < 0.05、0.01$)。结论 炎调方可通过上调肺组织 HSP70 mRNA 的表达, 下调肺组织 p38 MAPK 的蛋白表达, 改善肺组织损伤, 对脓毒症 ALI 发挥保护作用。

关键词: 炎调方; 脓毒症; 急性肺损伤; HSP70 热休克蛋白; p38 丝裂原活化蛋白激酶

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2018) 06- 1014 - 07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.06.013

Effect of Yantiao Prescription on heat shock protein 70 and p38 mitogen activated protein kinase in lung tissue of rats with acute lung injury induced by sepsis

REN Xiaoxiao, SHEN Xiaohong, WANG Haihui

Shuguang Hospital affiliated with Shanghai University of T.C.M., Shanghai 200021, China

Abstract: Objective To investigate the regulation effect of Yantiao Prescription (YP) on the expression of heat shock protein 70 mRNA (HSP70) and p38 mitogen activated protein kinase (p38 MAPK) in lung tissue of rats with acute lung injury induced by sepsis. **Methods** Healthy male Sprague Dawley rats were randomly divided into sham group, model group, YP group, glutamine group, and quercetin group. Acute lung injury model induced by sepsis was established in rats by cecal ligation and puncture (CLP). At the corresponding time points, ten rats of each group were sacrificed and lung tissue samples were collected. The pathological changes of lung tissue were observed by HE staining. The expression of HSP70 mRNA in lung tissue was detected by real-time PCR. The expression of p38 MAPK in lung tissue was detected by Western Blotting. **Results** Compared with model group, the mental state and activity of the rats at different time points were obviously improved after the operation, and a small amount of loose stools was observed. The injury degree of lung tissue was obviously reduced, the hemorrhage in the cavity was less, and the pulmonary consolidation was lighter. The expression levels of HSP 70 mRNA in YP group were significantly higher than sham group, model group (except the 24 h time point), and quercetin group ($P < 0.01$), lower than that of glutamine group in 8, 12, 18, and 24 h time point ($P < 0.01$). The relative expression of p38 MAPK in lung tissue of rats in YP group was lower than that in model and quercetin group ($P < 0.01$), and were lower than that of glutamine at the time points of 4, 6, and 10 h ($P < 0.05$). **Conclusion** YP can improve the expression of lung tissue HSP70 mRNA, reduce the expression of p38 MAPK in lung tissue, improve lung histopathological

收稿日期: 2018-02-14

项目基金: 国家自然科学基金资助项目 (81303105)

第一作者: 任潇潇 (1990—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中医急救 E-mail: m13122228191@163.com

*通信作者: 沈晓红 (1974—), 女, 博士, 主任医师, 研究方向为危重病与中医药临床疗效评价 E-mail: jczxshen@163.com

changes, and plays a protective role against acute lung injury induced by sepsis.

Key words: Yantiao Prescription; sepsis pyohemia; acute lung injury; heat shock protein 70; p38 mitogen activated protein kinase

脓毒症是由感染引起的全身炎症反应综合征 (systemic inflammatory response syndrome, SIRS), 是临床上的危重病症^[1], 可对各个脏器造成不同程度的损伤, 肺脏是最易被攻击且受损最严重的器官之一, 可发展为急性肺损伤 (Acute Lung Injury, ALI)^[2]。脓毒症致 ALI 的发病率高达 25%~50%, 死亡率高达 50%~60%^[3]。热休克蛋白 70 (Heat Shock Protein 70, HSP70) 在肺组织细胞受到感染、缺氧等应激因素刺激后表达增加, 抑制炎症反应, 对脓毒症 ALI 具有保护作用^[4]。p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 Mitogen Activated Protein Kinase, p38 MAPK) 是 ALI 发生的关键因子, 可使 NF- κ B 等下游转录因子磷酸化, 引起炎症级联反应^[5]。前期的动物实验和临床研究表明, 炎调方具有通腑活血、凉血解毒的功效, 对脓毒症 ALI 具有保护作用^[6-8]。本研究建立脓毒症 ALI 大鼠模型, 旨在探讨炎调方对脓毒症 ALI 大鼠肺组织 HSP 70 mRNA 和 p38 MAPK 的影响。

1 材料

1.1 实验动物

清洁级健康雄性 SD 大鼠, 350 只, 体质量 200~220 g, 由上海中医药大学实验动物中心提供, 实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2012-0001, 饲养于清洁级动物房内, 温度 23 °C, 湿度 50%, 12 h 照明, 动物自由进食和饮水。

1.2 药物及主要试剂

炎调方由桃仁、生大黄、芒硝、玄参、赤芍、当归等药物组成, 所有药物均为符合《中国药典》2015 年版规定并加工炮制合格的饮片, 由上海中医药大学附属上海市中医医院中药房提供和制备, 药液浓缩成含生药 1.0 g/mL 的棕色透明液体, 本品每毫升含大黄素 (C₁₅H₁₀O₅) 不得少于 2.0 mg, 每毫升含苦杏仁苷 (C₂₀H₂₇NO₁₁) 不得少于 2.7 mg, 置 4 °C 冰箱保存备用^[7]。

L-谷氨酰胺 (上海将来试剂公司, CAS: 56-85-9, JL140703015); 槲皮素 (美国 Sigma 公司, 批号 PHR1488); HSP70 real-time PCR 试剂盒 (上海纽思格生物科技有限公司); 兔抗鼠 p38 MAPK 抗体 (碧云天生物技术研究所); β -actin 多克隆抗体 (上海威奥生物科技有限公司)。

1.3 主要试剂及仪器

TGL-168 离心机 (上海安亭科学仪器厂); LEICA HI1220 烘片机、LEICA RM2035 旋转切片机、LEICA ASP300 自动脱水机、LEICA EG1160 石蜡包埋机 (德国徕卡仪器公司); ABI-7500 Real-time 检测仪 (7500Sequence Detection System, ABI 美国); mini protean 3 cell 蛋白电泳仪 (BIO-RAD 公司); PS-9 电转仪 (大连竞迈科技有限公司)。

2 方法

2.1 脓毒症 ALI 模型的制备

采用盲肠结扎穿孔术法 (Cecal Ligation and Puncture, CLP) 建立脓毒症 ALI 模型^[9]; 模型组、炎调方组、谷氨酰胺组、槲皮素组大鼠经 10%水合氯醛 (0.5 mL/kg) ip 麻醉后, 沿腹正中中线作一 1.5 cm 长的切口, 找到盲肠, 在其根部结扎, 用 5 mL 注射器针头穿通 3 次, 轻挤出少许肠内容物, 留置 2 mm 皮瓣防止针孔闭合, 还纳盲肠于腹腔, 逐层缝合腹壁切口, 术毕 sc 生理盐水 (30 mL/kg) 抗休克^[6-7]。假手术组大鼠经麻醉后开腹, 轻轻翻动肠道, 不进行盲肠结扎和穿孔, 关腹。

2.2 动物分组及给药

采用随机数字表法将大鼠随机分为假手术组、模型组、炎调方组、谷氨酰胺组、槲皮素组, 每组 70 只, 适应性饲养 1 周后开始实验。炎调方组 CLP 前 ig 炎调方 (生药量为 9.9 g/kg, 按原方临床剂量换算为大鼠等效剂量^[7-8]), 给药体积 10 mL/kg, 每天 1 次, 连续 3 d。假手术组、模型组、谷氨酰胺组、槲皮素组 ig 生理盐水, 除假手术组外, 末次给药后 2 h 手术造模。假手术组、模型组、炎调方组于术前 1、4 h ip 等量生理盐水; 谷氨酰胺组于术前 1 h ip 谷氨酰胺 (0.75 g/kg), CLP 前 4 h ip 等量生理盐水; 槲皮素组于 CLP 前 1 h ip 等量生理盐水, CLP 前 4 h ip 槲皮素 (5 mg/kg)。

2.3 标本采集与指标检测

2.3.1 标本采集 观察大鼠形态、毛发、呼吸、活动量及饮食、排便状况等一般状况, 各组分别于术后 4、6、8、10、12、18、24 h 处死 10 只大鼠, 采集肺组织标本, 大鼠冰上切取肺组织。右肺用冰生理盐水冲洗表面, 取 1/3 组织标本, 制成病理切片;

剩余肺组织-80℃冰箱保存,备 HSP 70 mRNA 和 p38 MAPK 的检测。

2.3.2 肺组织 HE 染色 将肺组织标本,固定于甲醛溶液中,经常规石蜡包埋、切片、脱蜡后,进行苏木素和伊红染色,光镜($\times 200$)下观察肺组织病理学变化。

2.3.3 Real-time PCR 法检测肺组织 HSP70 mRNA 表达 按 Trizol 法常规提取组织总 RNA 并反转录

合成 cDNA。将制备好的 cDNA 进行 Real-time PCR 扩增,扩增体系:SYBR Green Mix 32.5 μ L, cDNA 模板 2 μ L,上下游引物各 0.5 μ L,双蒸水 14.5 μ L,总体积共 50 μ L。扩增条件:95℃、5 min, 1 个循环;95℃、15 s, 40 个循环;60℃、45 s, 95℃、15 s 1 个循环;60℃、1 min, 95℃、15 s, 60℃、15 s。数据采用 ABI Prism 7500 SDS Software 进行分析。引物序列见表 1。

表 1 扩增基因引物序列

Table 1 Primers sequences used for amplification of genes

基因名称		引物序列 (5'-3')	产物片段长度/bp
HSP70	正向引物	GGACATCAGCCAGAACAAGC	109
	反向引物	CCCTCGAACAGAGAGTCGAT	
β -action	正向引物	GGCCAACCGTGAAAAGATGA	95
	反向引物	AGGCATACAGGGACAACACA	

2.3.4 Western blotting 法检测肺组织 p38 MAPK 表达 肺组织中加入蛋白裂解液,制备匀浆,提取蛋白进行蛋白定量。蛋白样品经电泳、转膜、封闭、加一抗 4℃ 孵育过夜,漂洗,加二抗室温孵育 2 h 后,漂洗,采用增强化学发光法(ECL)检测目的蛋白,并胶片显影、定影,采用 Image J 软件分析条带灰度值进行定量分析。

2.4 统计学处理

应用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行分析,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(ANOVA),若差异有统计学意义,进一步做组间两两比较(LSD-*t*)。

3 结果

3.1 一般情况观察

假手术组大鼠在形态、毛发、呼吸、活动量及饮食、排便状况等方面均无明显异常。模型组大鼠术后呈蜷缩状,出现毛发竖立,腹部膨隆,呼吸增快,活动减少,口角眼鼻处分泌物增多,不欲进食,无大便等症状。炎调方组、谷氨酰胺组大鼠与模型组比较,其术后不同时间点的精神状态、活动量等情况较好,可见少量稀便;槲皮素组与模型组比较,无明显差异。谷氨酰胺组与炎调方组比较,两组术后不同时间点的-般情况无明显差异;槲皮素组与炎调方组比较,其术后不同时间点的一般情况明显严重。

3.2 肺组织病理染色

假手术组肺组织可见肺泡结构完整、清晰,肺泡腔内及肺间质无明显水肿、炎症等病理改变,且

各时间点无明显差异。模型组肺组织可见肺泡腔缩小变形,伴大量炎性细胞浸润及出血,肺间质水肿,肺组织实变明显,随着术后时间的延长病变程度加重。炎调方组、谷氨酰胺组与模型组比较,肺组织损伤程度较轻,可见部分肺泡内少量渗出及炎性细胞浸润,腔内出血较少,肺实变较轻;槲皮素组与模型组比较,肺组织病理表现在不同时间点无明显差异。谷氨酰胺组与炎调方组比较,两组术后不同时间点的病理表现无明显差异;槲皮素组与炎调方组比较,其术后不同时间点的病理表现更为严重,结果见图 1。

3.3 肺组织 HSP 70 mRNA 的表达

模型组 HSP 70 mRNA 的表达水平在术后 8、10、18、24 h 显著高于假手术组($P < 0.05$);除 24 h 时间点外,炎调方组 HSP 70 mRNA 表达水平均显著高于模型组($P < 0.01$);谷氨酰胺组 HSP 70 mRNA 表达水平在不同时间点均显著高于模型组($P < 0.05$);除术后 18 h 时间点外,槲皮素组与模型组 HSP 70 mRNA 表达水平差异不明显;谷氨酰胺组 HSP 70 mRNA 表达在术后 8、12、18、24 h 显著高于炎调方组($P < 0.05$ 、0.01),其他时间点无明显差异;槲皮素组 HSP 70 mRNA 表达水平在不同时间点均显著低于炎调方组($P < 0.05$ 、0.01)。随着术后时间的延长,炎调方组、谷氨酰胺组 HSP 70 mRNA 表达水平均呈现先下降后上升的趋势,槲皮素组 HSP 70 mRNA 表达水平呈现逐渐上升的趋势,结果见表 2。

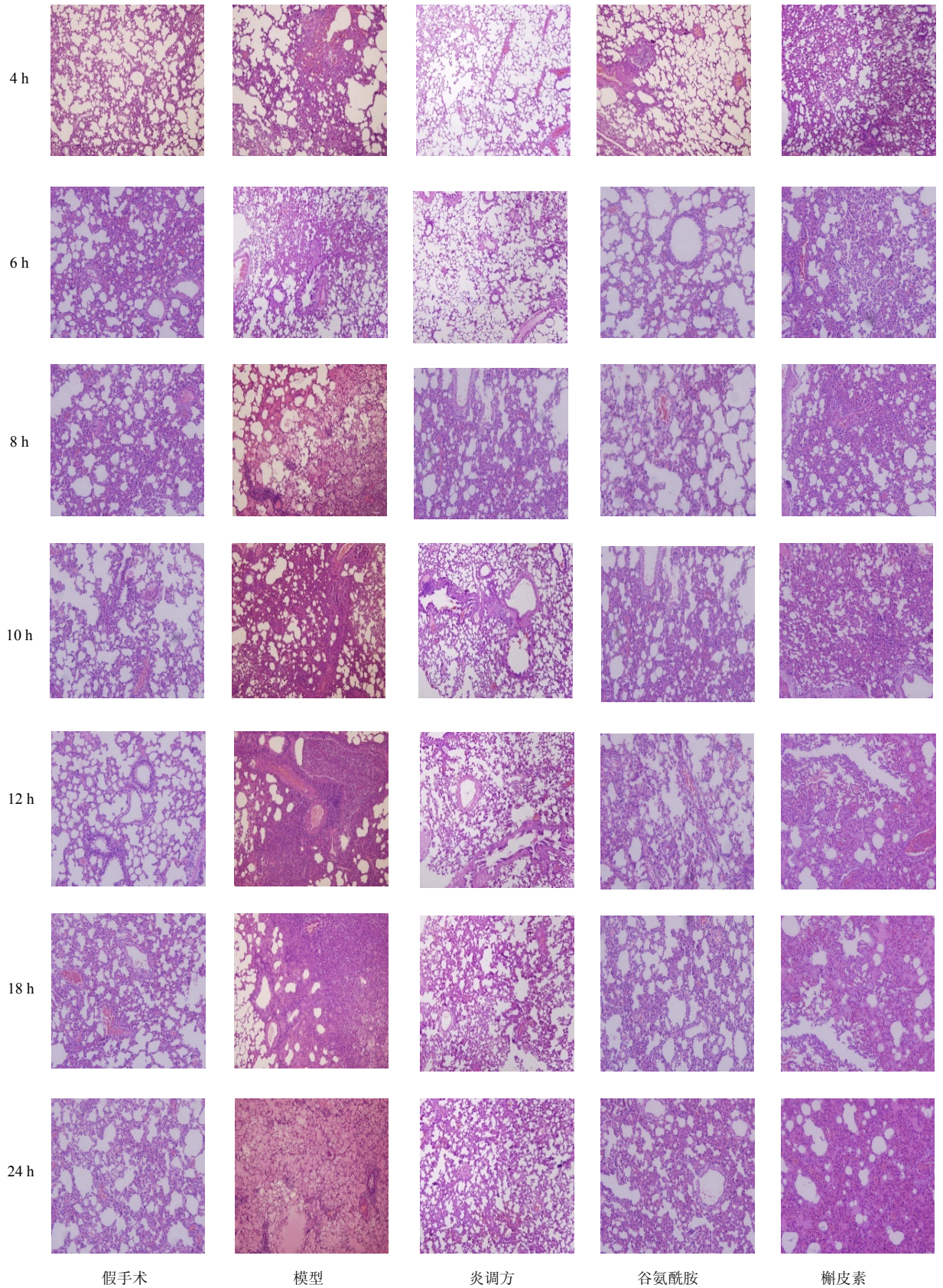


图 1 各组大鼠不同时间点肺组织 HE 染色

Fig. 1 HE staining of lung tissue of rats in each group at different time

表2 各组大鼠不同时间点肺组织 HSP70 mRNA 相对表达量 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Relative quantitative expression of HSP70 mRNA in lung tissue of rats in each group at different time ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (g·g ⁻¹)	HSP70 mRNA 相对表达量						
		术后 4 h	术后 6 h	术后 8 h	术后 10 h	术后 12 h	术后 18 h	术后 24 h
假手术	—	0.042±0.011	0.034±0.007	0.020±0.004	0.017±0.005	0.067±0.012	0.043±0.021	0.031±0.008
模型	—	0.017±0.007	0.069±0.057	0.084±0.009*	0.098±0.020**	0.105±0.028	0.156±0.055**	0.187±0.117**
炎调方	9.9	0.465±0.123** ^{△△}	0.462±0.098** ^{△△}	0.292±0.053** ^{△△}	0.287±0.065** ^{△△}	0.202±0.023** [△]	0.236±0.031** ^{△△}	0.240±0.090**
谷氨酰胺	0.75	0.501±0.195** ^{△△}	0.444±0.092** ^{△△}	0.398±0.099** ^{△△}	0.271±0.051** ^{△△}	0.333±0.157** ^{△△}	0.369±0.078** ^{△△}	0.389±0.134** ^{△△}
槲皮素	0.005	0.026±0.005 ^{###}	0.061±0.023 ^{###}	0.070±0.019 ^{###}	0.075±0.159** ^{###}	0.094±0.014 ^{###}	0.108±0.022* ^{###}	0.123±0.062 ^{###}

与假手术组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$; 与炎调方组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$; 与谷氨酰胺组比较: ^{###} $P < 0.01$ * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs sham group; [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs sham group; [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs YP group; ^{###} $P < 0.01$ vs Glutamine group

3.4 肺组织 p38 MAPK 蛋白的表达

模型组 p38 MAPK 蛋白表达量在不同时间点均显著高于假手术组 ($P < 0.01$); 炎调方组和谷氨酰胺组 p38 MAPK 蛋白表达量在不同时间点均显著低于模型组 ($P < 0.05, 0.01$); 除 2、18 h 时间点外, 槲皮素组 p38 MAPK 表达量显著低于模型组 ($P < 0.05$);

谷氨酰胺组 p38 MAPK 相对表达量在 4、6、10 h 时间点显著高于炎调方组 ($P < 0.05, 0.01$); 槲皮素组 p38 MAPK 相对表达量在不同时间点均显著低于炎调方组 ($P < 0.01$)。随着术后时间的延长, 炎调方组、谷氨酰胺组、槲皮素组大鼠肺组织 p38 MAPK 相对表达量均呈现逐渐上升的趋势, 结果见图 2、表 3。

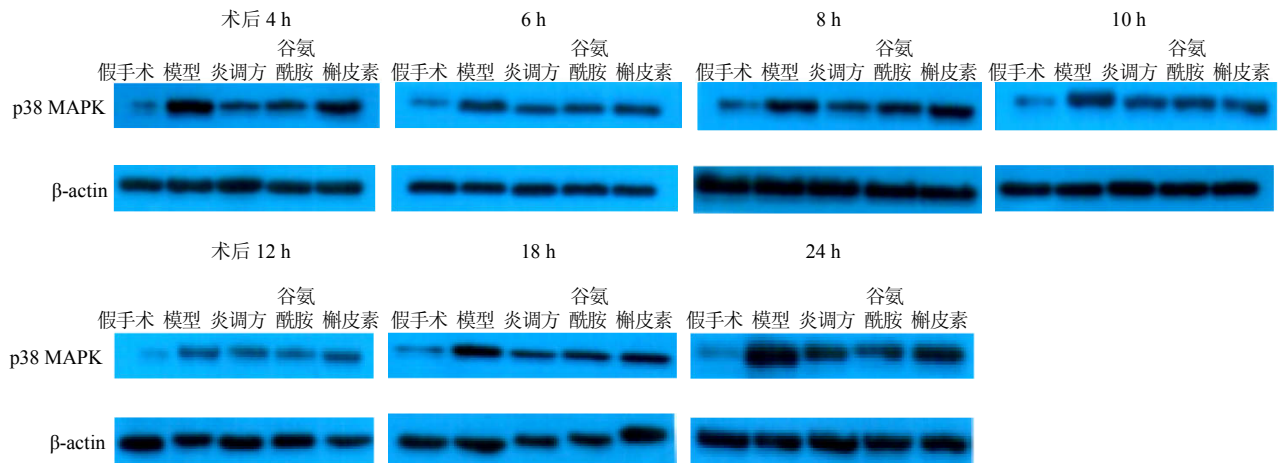


图2 各组大鼠不同时间点肺组织 p38 MAPK 的表达

Fig. 2 Expression of p38 MAPK in lung tissue of rats in each group at different time

表3 各组大鼠不同时间点肺组织 p38 MAPK 相对表达量 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Relative quantitative expression of p38 MAPK in lung tissue of rats in each group at different time ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (g·g ⁻¹)	p38 MAPK/β-actin						
		术后 4 h	术后 6 h	术后 8 h	术后 10 h	术后 12 h	术后 18 h	术后 24 h
假手术	—	0.210±0.038	0.286±0.038	0.317±0.061	0.252±0.051	0.244±0.050	0.202±0.053	0.230±0.041
模型	—	0.731±0.032**	0.781±0.065**	0.885±0.064**	0.933±0.126**	0.969±0.062**	1.057±0.062**	1.196±0.167**
炎调方	9.9	0.317±0.108* ^{△△}	0.343±0.054 ^{△△}	0.417±0.040* ^{△△}	0.443±0.042** ^{△△}	0.515±0.034** ^{△△}	0.576±0.063** ^{△△}	0.652±0.059** ^{△△}
谷氨酰胺	0.75	0.429±0.077** ^{△△}	0.474±0.063** ^{△△}	0.480±0.064** ^{△△}	0.540±0.074** ^{△△}	0.546±0.067** ^{△△}	0.633±0.068** ^{△△}	0.663±0.127** ^{△△}
槲皮素	0.005	0.699±0.059** ^{###}	0.615±0.052** ^{###}	0.638±0.066** ^{###}	0.779±0.083** ^{###}	0.873±0.105** ^{###}	0.964±0.117** ^{###}	1.013±0.094** ^{###}

与假手术组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$; 与炎调方组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$; 与谷氨酰胺组比较: ^{###} $P < 0.01$ * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs sham group; [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs sham group; [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs YP group; ^{###} $P < 0.01$ vs Glutamine group

4 讨论

HSP70 是一类高度保守的糖蛋白,生理情况下呈低水平表达,在应激条件下表达增强,形成机体重要的应激防御系统^[10]。研究表明^[11],通过诱导肺损伤小鼠肺组织 HSP70 的表达可抑制炎症反应因子 TNF- α 及纤维化相关因子 TGF- β 1 的表达,减轻肺损伤的程度,提示 HSP70 对脓毒症 ALI 具有重要的保护作用。目前有很多研究发现谷氨酰胺是一种有效的热休克反应诱导剂,谷氨酰胺可通过促进脓毒症 ALI 大鼠肺组织细胞表达 HSP70,降低动物的死亡率^[12];在临床研究发现,谷氨酰胺可以显著抑制感染患者体内炎症因子的表达,对感染患者发挥有效的保护作用^[13]。槲皮素具有抗肿瘤、抗感染、消除自由基等生物学活性,在临床上主要用于抗肿瘤,其抗癌机制主要与下调 HSP70 的表达,诱导细胞凋亡等因素有关^[14],是有效的 HSP70 抑制剂。MAPK 广泛存在于大多数细胞中,将细胞外信号传递到细胞内,是引起细胞反应的四大信号系统之一^[15]。其中 p38 MAPK 作为最重要的蛋白激酶,在机体的炎症和应激反应中发挥了重要的诱导作用^[16]。研究发现,通过抑制 p38 MAPK 的表达,可以显著减少 ALI 大鼠肺组织中的 TNF- α 水平和 MDA、SOD 的含量,从而减轻肺损伤的程度^[17-18]。

脓毒症是创伤、休克、大手术等危急重症的严重并发症之一,可诱发多脏器功能衰竭。肺脏是脓毒症最易攻击的靶器官,常并发 ALI,其损伤程度严重影响患者的预后,对人类健康造成了重大威胁。随着医学技术的发展,临床上治疗脓毒症 ALI 的方法日益增多,但都不能有效改善其预后。根据脓毒症 ALI 的临床表现,其属于中医学理论体系中“暴喘”“喘脱”“喘证”“结胸”的范畴,热、瘀、水(湿)、虚是其病机关键^[19]。本研究自拟炎调方,由桃仁、生大黄、芒硝、玄参、赤芍、当归等药物组成,方中生大黄、芒硝清热通腑,桃仁活血化瘀,三药共为君药;赤芍、玄参清营泻火、凉血滋阴,为臣药;当归补血活血为佐药,全方共奏通腑活血、凉血解毒之功,正中病机。

本研究显示,谷氨酰胺通过诱导 HSP70 mRNA 的表达,发挥对脓毒症 ALI 的保护作用,槲皮素抑制 HSP70 mRNA 的表达,与相关报道的结果一致^[20-22]。炎调方组肺组织 HSP70 mRNA 的表达在不同时间点明显增加,p38 MAPK 的表达明显减少,肺组织病理损伤减轻。炎调方组和谷氨酰胺组肺组织

HSP70 mRNA 的表达水平呈现先下降后上升的趋势,可能与随着术后时间的延长药效逐渐消失,但肺损伤的刺激依然存在有关。

炎调方对脓毒症 ALI 大鼠的保护作用可能与增加 HSP 70 mRNA 的表达和抑制 p38 MAPK 的表达相关。本研究是为了探索炎调方是否能通过对 HSP 70 mRNA 的调控进而对脓毒症 ALI 发挥保护作用,因此在给药剂量上选用了常规用量,在今后的研究中将进一步设置炎调方的低、高剂量,以完善对炎调方药量与效应和机制方面的研究。

参考文献

- [1] 蔡国龙,严静.《中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南》背景介绍 [J]. 中华重症医学电子杂志, 2016, 2(1): 40-42.
- [2] Sadowitz B, Roy S, Gatto L A, et al. Lung injury induced by sepsis: lessons learned from large animal models and future directions for treatment [J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2011, 9(12): 1169-1178.
- [3] 奚希相,杨豪杰,马金苗,等.清瘟败毒饮治疗脓毒症邪陷肺卫证的临床观察 [J]. 中国中医急症, 2015, 24(8): 1423-1425.
- [4] Luh S P, Kuo P H, Kuo T F, et al. Effects of thermal preconditioning on the ischemia-reperfusion-induced acute lung injury in minipigs [J]. Shock, 2007, 28(5): 615-622.
- [5] Park E J, Park S W, Kim H J, et al. Dehydrocostuslactone inhibits LPS-induced inflammation by p38MAPK dependent induction of hemeoxygenase-1 *in vitro* and improves survival of mice CLP-induced sepsis *in vivo* [J]. Int Immunopharmacol, 2014, 22(2): 332-340.
- [6] 汪海慧,沈晓红,熊旭东.炎调方对脓毒症急性肺损伤大鼠肺组织髓过氧化物酶和丙二醛水平的影响 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(3): 394-397.
- [7] 何淼,熊旭东,沈晓红.炎调方对脓毒症急性呼吸窘迫综合征(热炽营血症)患者血细胞因子的影响 [J]. 中国中医急症, 2013, 22(7): 1097-1099.
- [8] 沈晓红,何淼,熊旭东,等.炎调方对脓毒症大鼠肺热休克蛋白70和核因子- κ B的调控作用 [J]. 上海中医药大学学报, 2013, 27(3): 69-72.
- [9] Chaudry I H, Wichterman K A, Baue A E. Effect of sepsis on tissue adenine nucleotide levels [J]. Surgery, 1979, 85(2): 205-211.
- [10] Holzera M, Martiniuk F, Levisw R. Heat shock proteins as drugs: potential applications in cancer, infections, and autoimmune and atopic diseases [J]. J Drugs Dermatol, 2007, 6(4): 393-399.
- [11] 胥尹,吴永忠,陈诚,等.替普瑞酮诱导热休克蛋

- 白 70 表达对小鼠放射性肺损伤的保护作用 [J]. 肿瘤, 2012, 32(12): 955-961.
- [12] Nissim I, States B, Hardy M, et al. Effect of glutamine on heat shock induced mRNA and stress proteins [J]. J Cell Physiol, 1993, 157: 313.
- [13] De-Souza D A, Greene L J. Intestinal permeability and systemic infection in critically ill patients: effect of glutamine [J]. Crit Care Med, 2010, 33(5): 1125-1135.
- [14] 马建勋, 田宏伟, 李安强, 等. 槲皮素诱导人肝癌 SMMC-7721 细胞凋亡的研究 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2008, 15(23): 1792-1795.
- [15] 沈敏宁, 苏定雷, 季晓辉, 等. 系统性红斑狼疮患者 CD8⁺T 细胞亚群 Fas-FasL 的表达及凋亡的关系研究 [J]. 现代免疫学, 2009, 29(6): 501-504.
- [16] 郑妩媚, 初海平, 王 燕, 等. 力竭运动后不同时相大鼠心肌 p-p38MAPK、NF- κ B、COX-2 表达的动态变化 [J]. 中国应用生理学杂志, 2016, 32(1): 88-91.
- [17] 黄 斌, 邓 旺, 王导新. p38 丝裂原活化蛋白激酶在大鼠油酸型急性肺损伤中的作用 [J]. 中国应用生理学杂志, 2017, 33(4): 334-339, 386.
- [18] 张利鹏, 赵 焱, 刘国娟, 等. 乌司他丁通过干预 p38MAPK/ERK 信号通路减轻脓毒症性肺损伤 [J]. 中国药理学通报, 2016, 32(9): 1311-1316.
- [19] 陈天琪, 葛正行. 浅谈中医对急性肺损伤的认识 [J]. 贵阳中医学院学报, 2006, 28(5): 7-8.
- [20] 耿 焱, 彭 娜, 童华生, 等. 热休克蛋白 70 对中暑大鼠急性肺损伤的保护作用及机制研究 [J]. 解放军医学杂志, 2017, 42(4): 295-300.
- [21] 龙启忠, 杜 娟, 罗蓉蓉. 谷氨酰胺诱导热休克蛋白的表达及对肺损伤的保护作用的研究 [J]. 贵州医药, 2011, 35(6): 495-498.
- [22] 刘 荣, 罗振中. 谷氨酰胺预处理对肝缺血-再灌注后肺损伤的干预效果及机制 [J]. 临床军医杂志, 2014, 42(12): 1211-1214.