

菊苣酸调控 TLR9/NF- κ B 通路改善脓毒症小鼠肠损伤研究

盛双双¹, 孙绍欣¹, 冯 帅¹, 李 峰¹, 王 欢², 李 健^{2*}

1. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355

2. 山东中医药大学附属医院 药学部, 山东 济南 250014

摘要: **目的** 研究菊苣酸对脓毒症小鼠肠损伤的影响及作用机制。**方法** 60 只雄性 C57 小鼠随机分为对照组、模型组、地塞米松 (5 mg/kg) 组和菊苣酸高、中、低剂量 (40、20、10 mg/kg) 组, 每组 10 只。各给药组 ip 相应药物 3 d 后, 采用盲肠结扎穿孔手术 (cecal ligation and puncture, CLP) 诱导建立脓毒症小鼠模型。造模成功后连续给药 48 h, 采用苏木素-伊红 (HE) 染色观察小鼠肠组织病理变化; 采用 ELISA 法测定肠组织中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和 IL-1 β 水平; 取对照组、模型组和菊苣酸中剂量组的肠组织样本, 基于 Illumina 测序平台进行转录组学分析; 采用 Western blotting 检测肠组织 Toll 样受体 9 (Toll-like receptor 9, TLR9)、髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88)、核因子- κ B p65 (nuclear factor- κ B p65, NF- κ B p65)、p-NF- κ B p65 和干扰素调节因子 7 (interferon regulatory factor 7, IRF7) 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 各给药组肠黏膜损伤程度明显改善, 肠组织炎症因子水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。转录组学分析显示, 与对照组比较, 模型组共分析出 1140 个差异表达基因; 与模型组比较, 给药组共分析出 497 个差异表达基因, 差异基因均富集于 NF- κ B 信号通路。与模型组比较, 菊苣酸给药后肠组织 TLR9、MyD88、p-NF- κ B p65 和 IRF7 蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。**结论** 菊苣酸可通过 TLR9/NF- κ B 信号通路改善脓毒症诱导的肠黏膜损伤。

关键词: 菊苣酸; 脓毒症; 肠损伤; 炎症因子; 转录组学; Toll 样受体 9/核因子- κ B 信号通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2023)18-5952-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.18.013

Chicory acid improves intestinal injury in mice with sepsis by regulating TLR9/NF- κ B pathway

SHENG Shuang-shuang¹, SUN Shao-xin¹, FENG Shuai¹, LI Feng¹, WANG Huan², LI Jian²

1. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

2. Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of Shandong University of Chinese Medicine, Jinan 250014, China

Abstract: Objective To study the effect and mechanism of chicory acid on intestinal injury in mice with sepsis. **Methods** Sixty male C57 mice were randomly divided into control group, model group, dexamethasone (5 mg/kg) group, cichoric acid high-, medium-, and low-dose (40, 20, 10 mg/kg) groups, with 10 mice in each group. The sepsis mouse model was induced by cecal ligation and perforation surgery (CLP) 3 d after ip administration to each group. After successful modeling, mice were continuously administered for 48 h, and HE staining was used to observe pathological changes in intestinal tissue; ELISA was used to detect levels of tumor crossing factor- α (TNF- α), Interleukin-6 (IL-6) and IL-1 β in intestinal tissue; Intestinal tissue samples from control group, model group and cichoric acid medium-dose group were taken, and transcriptomic analysis based on Illumina sequencing platform was performed; Western blotting was used to detect expressions of Toll-like receptor 9 (TLR9), myeloid differentiation factor 88 (MyD88), nuclear factor- κ B p65 (NF- κ B p65), p-NF- κ B p65 and interferon regulatory factor 7 (IRF7) proteins in intestinal tissue. **Results** Compared with model group, the degree of intestinal mucosal damage in each treatment group was significantly improved, and the levels of inflammatory factors in intestinal tissue were significantly reduced ($P < 0.05$, 0.01). Transcriptomics analysis showed that compared

收稿日期: 2023-04-24

基金项目: 国家科技重大专项重大新药创制项目 (2017ZX09301058); 山东省自然科学基金青年项目 (ZR2021QH111); 2022 年全国名老中医药专家传承工作室建设项目 (国中医药人教函[2022]75 号)

作者简介: 盛双双 (2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药质量控制与活性成分研究。Tel: 17860505243 E-mail: 1348588751@qq.com

*通信作者: 李 健, 女, 硕士生导师, 研究方向为中药质量控制与活性成分研究。Tel: 13708928056 E-mail: 770815488@qq.com

with control group, a total of 1140 differentially expressed genes were analyzed in model group; Compared with model group, a total of 497 differentially expressed genes were analyzed in administration group, all of which were enriched in NF- κ B signaling pathway. Compared with model group, expressions of TLR9, MyD88, p-NF- κ B p65 and IRF7 proteins in intestinal tissue after administration of chicoric acid were significantly reduced ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Chicory acid may ameliorate sepsis-induced intestinal mucosal injury through TLR9/NF- κ B signaling pathway.

Key words: chicory acid; sepsis; intestinal injury; inflammatory factors; transcriptomics; TLR9/NF- κ B pathway

脓毒症是指人体对感染反应失调激发的全身炎症反应综合征,伴随免疫功能失调和器官功能障碍,属于重症疾病^[1-2]。研究表明,脓毒症发生时,过度炎症损害肠上皮细胞,导致肠上皮细胞凋亡增多,进而发生肠道黏膜屏障损伤,引发肠道中的微生物及其产物从肠道进入血液,促进细菌迁移和毒素传播,进一步会激发宿主的炎症反应,导致多器官衰竭和危及生命的临床症状^[3-4]。因此,迫切需要寻找能够改善肠道损伤的安全、有效的天然药物。

菊苣酸从菊科植物紫锥菊 *Echinacea purpurea* (Linn.) Moench 中分离得到,是一种主要存在于菊科植物中的咖啡酸衍生物。研究证明,菊苣酸具有抗炎、抗氧化、抗菌、增强免疫等多种药理活性^[5-7],可以抑制 HIV 病毒^[8];逆转减轻高脂小鼠肝脏的炎症细胞浸润水平^[9];通过丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路来抑制脑缺血再灌注损伤大鼠的炎症反应,起到保护作用^[10];通过磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)通路减轻帕金森模型小鼠的肠道炎症^[11]。然而,目前关于菊苣酸对脓毒症致肠损伤调节作用及机制方面的研究较缺乏,本研究从菊苣酸对盲肠结扎穿孔手术(cecal ligation and puncture, CLP)诱导的脓毒症小鼠肠损伤的保护作用方面进行重点研究,并采用转录组学分析探索菊苣酸发挥作用的分子生物学机制,为脓毒症的肠损伤治疗提供潜在药物。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 C57 小鼠,体质量 18~22 g,7 周龄,购自济南朋悦实验动物繁育有限公司,动物合格证号 SCXK(鲁)20190003。动物饲养于 SPF 级动物房,室温(24±2)℃,模拟 12 h 昼夜交替的环境,自由饮用水以及商业级动物饲料。动物实验通过山东中医药大学附属医院伦理委员会批准(批准号 AWE-2023-084)。

1.2 药品与试剂

菊苣酸(批号 B20647,质量分数≥98%)购自上

海源叶生物科技有限公司;地塞米松(批号 D829854)购自上海麦克林生化科技有限公司;多聚甲醛固定液(批号 G1101)、苏木素-伊红(HE)染液套装(批号 G1003)购自武汉赛维尔生物科技有限公司;核因子- κ B p65(nuclear factor- κ B p65, NF- κ B p65)抗体(批号 10745-1-AP)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(批号 10494)购自美国 Proteintech 公司;髓样分化因子 88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)抗体(批号 A0980)购自武汉爱博泰克生物科技有限公司;p-NF- κ B p65 抗体(批号 AF2006)、Toll 样受体 9(Toll-like receptor 9, TLR9)抗体(批号 DF2970)购自江苏亲科生物研究中心有限公司;干扰素调节因子 7(interferon regulatory factor 7, IRF7)抗体(批号 ET1610-89)购自杭州华安生物技术有限公司;山羊抗兔 IgG 抗体(批号 7074)购自美国 CST 公司;Marker(批号 26616)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6 ELISA 试剂盒(批号分别为 EK282、EK201B、EK206)购自杭州联科生物技术股份有限公司。

1.3 仪器

TGL-16M 型医用离心机(湘仪离心机仪器有限公司);Eclipse E100 型正置光学显微镜、DS-U3 型成像系统(日本 Nikon 公司);Imark-22353 型酶标仪、PowerPac Basic 电泳仪(美国 Bio-Rad 公司);4800 型凝胶成像系统(上海天能科技有限公司);TS-2 型摇床(其林贝尔仪器制造有限公司)。

2 方法

2.1 分组及给药

60 只小鼠适应性喂养 1 周后,随机分为对照组、模型组、地塞米松(5 mg/kg)组和菊苣酸高、中、低剂量(40、20、10 mg/kg)组,每组 10 只。对照组和模型组 ip 生理盐水,各给药组 ip 相应药物 3 d 后,采用 CLP 诱导建立脓毒症小鼠模型。

2.2 造模与标本采集

小鼠 CLP 造模前 12 h 禁食^[12], ip 0.3%戊巴比

妥钠 (10 mL/kg) 麻醉后固定, 常规备皮消毒, 沿腹白线做 1 个长约 1 cm 的切口, 用无齿镊在右下侧寻找盲肠, 将其轻柔拉出(注意尽量只牵拉盲肠), 用无菌的尼龙缝线结扎在盲肠 1/2 处, 在盲肠的底端, 尽量避开系膜血管, 以 22 G 无菌注射器针头做穿刺, 挤出少许粪便后推回腹腔, 用湿润的 4-0 缝线依次缝合各层组织 2~3 针。对照组小鼠仅做开腹操作, 不做结扎和穿孔。术后保证小鼠饮食和饮水供应。观察小鼠术后状况, 当小鼠出现精神萎靡、竖毛、寒战、眼睑低垂且有白色分泌物、活动减少等症状时代表脓毒症模型造模成功^[13]。

造模成功后, 各组小鼠继续每天 ip 等体积的生理盐水或药物, 48 h 后取材。麻醉法安乐死小鼠, 打开腹腔, 取距离回盲瓣 3 cm 的回肠组织 2 cm, 用 4 °C 生理盐水冲洗干净后, 再置于多聚甲醛溶液中, 用于 HE 染色检测。取剩余回肠组织 8 cm 于干净的 EP 试管中, -80 °C 冻存, 用于后续实验中蛋白和炎症因子的检测。

2.3 肠组织病理观察

各组小鼠肠组织采用 4% 多聚甲醛溶液常温固定, 修剪成块, 样品脱水, 浸蜡包埋, 切片贴片, 染色封片, 于光学显微镜下观察肠组织病理变化。

2.4 ELISA 法检测肠组织中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平

取各组小鼠肠组织约 20 mg, 充分匀浆, 离心, 吸取上清液, 按照 ELISA 试剂盒说明书测定肠组织中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平。

2.5 转录组测序

分别随机选取对照组、模型组、菊苣酸中剂量组 3 只小鼠的肠组织作为样本, 液氮冻存, 委托北京诺禾致源科技有限公司进行高通量转录组测序。

从样本中提取 RNA, 筛选 mRNA, 按照 NEB 普通建库方式或链特异性建库方式建库后, 使用 Qubit 2.0 荧光计初步定量并稀释文库, 随后使用 Agilent 2100 型生物分析仪对文库的插入片段长度进行检测, 插入片段长度符合预期后, 以 qRT-PCR 对文库有效浓度进行准确定量以保证文库质量。库检合格后, 利用 Illumina 测序平台获得测序数据, 使用 HISAT2 (v2.0.5) 软件将测序数据过滤后的洁净读段与参照基因组比对。根据比对后的 reads 数目, 通过 Subread 软件中的 FeatureCounts 工具进行基因表达定量分析。采用具有生物学重复性的 DEseq2 方法, 以筛选阈值 $P < 0.05$ 且

$|\log_2(\text{FoldChange})| \geq 1$ 的标准对基因表达差异进行显著性分析。根据差异分析结果, 采用 ClusterProfiler 软件落实候选基因集的基因功能, 进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能富集注释和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析。

2.6 Western blotting 检测肠组织 TLR9/NF- κ B 通路相关蛋白表达

取各组小鼠的回肠组织, 剪碎, 加入研磨珠和适量的裂解液, 研磨 10 min, 1300 r/min 离心 15 min, 取上清液, 测定蛋白浓度。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 封闭后, 孵育相应抗体, 洗涤, 显影后分析条带灰度。

2.7 统计学分析

所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 结果通过单因素方差分析 (ANOVA) 进行统计分析。

3 结果

3.1 小鼠一般情况观察

对照组小鼠眼鼻干净, 被毛光滑, 精神活泼; 模型组小鼠眼角有大量白色分泌物, 眼睑下垂, 蜷缩; 菊苣酸各剂量组小鼠精神状态、行走能力、眼角白色分泌物等都有所改善; 地塞米松组小鼠有少数眼角白色分泌物, 行动力良好。造模后 48 h 对照组小鼠死亡总数 0 只, 模型组小鼠死亡总数 6 只, 菊苣酸低剂量组小鼠死亡总数 4 只, 菊苣酸中剂量组小鼠死亡总数 3 只, 菊苣酸高剂量组小鼠死亡总数 2 只, 地塞米松组小鼠死亡总数 1 只。

3.2 菊苣酸对肠损伤小鼠肠组织病理变化的影响

如图 1 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠回肠组织的肠绒毛的固有层出现坏死, 肌层暴露, 官腔中存在大量碎片细胞, 说明黏膜组织损伤严重; 与模型组比较, 菊苣酸低剂量组肠绒毛的上皮层与固有层分离程度减轻, 说明损伤有所减轻; 菊苣酸中、高剂量组仅绒毛表层出现破损, 表明给药后小肠绒毛损伤均得到不同程度的改善, 绒毛的完整度逐渐增加, 管腔中碎片上皮细胞随给药剂量升高而减少。

3.3 菊苣酸对肠损伤小鼠回肠组织中炎症因子水平的影响

如图 2 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠回肠组织中炎症因子水平均显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组回肠组织中炎症因子水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 表明菊苣酸能够下调回肠组织中促炎因子水平。

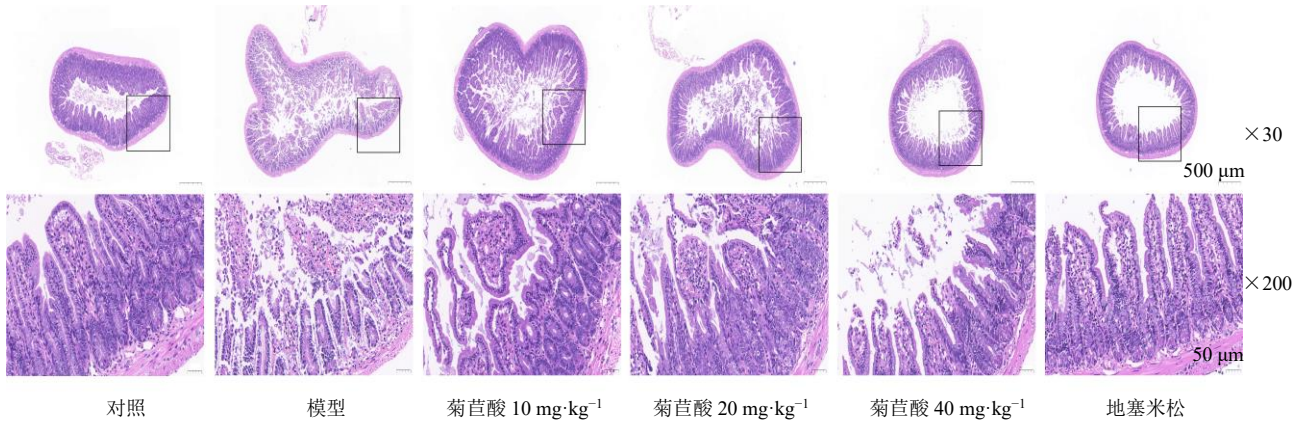
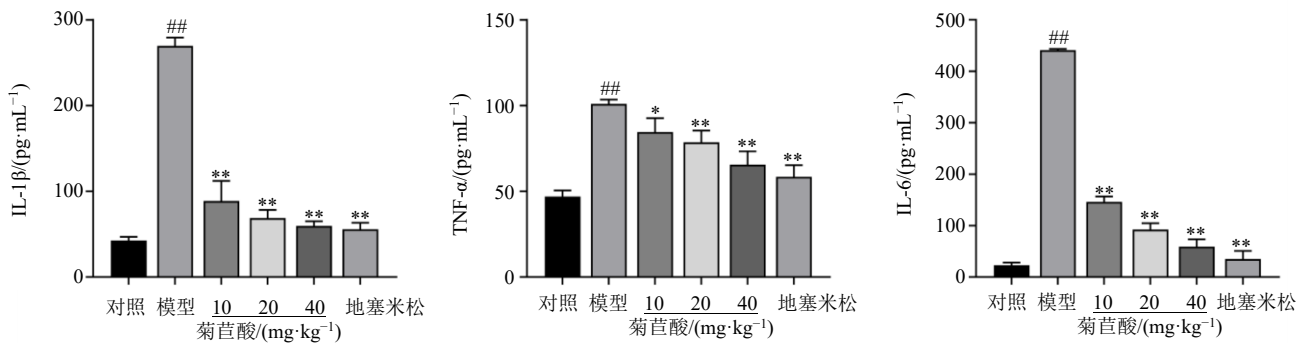


图1 菊苣酸对肠损伤小鼠回肠组织病理变化的影响

Fig. 1 Effect of chicory acid on pathological changes of ileal tissue in mice with intestinal injury



与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, 图8同

$P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group, same as fig. 8

图2 菊苣酸对肠损伤小鼠回肠组织中 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effect of chicory acid on IL-1 β , TNF- α and IL-6 levels in ileum tissue of mice with intestinal injury ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.4 转录组测序结果

本研究进行了9个样本(对照组、模型组、菊苣酸中剂量组各3个)的测序分析,各样本测序得到的 clean reads 与参考基因组的平均比率为 97.19%,样品的 Q_{20} 平均值为 98.216%, Q_{30} 的平均值为 94.711%,各样本的 GC 碱基占比均在 50%左右,说明测序数据质量良好,可用于后续分析。

3.4.1 对照组与模型组基因表达差异分析结果 如图3所示,与对照组比较,模型组有1140个差异表达的 mRNA,其中523个基因上调、617个基因下调。对筛查出的差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)进行 KEGG 分析和 GO 分析。如图4-A所示,富集的 KEGG 通路主要包括抗原处理和呈递、造血细胞系、TNF 信号通路等。GO 分析显示 DEGs 富集于 1055 个生物学过程条目、34 个细胞组分条目、2151 个分子功能条目,富集的主要结果见图4-B, DEGs 主要参与 β 干扰素应答、 γ

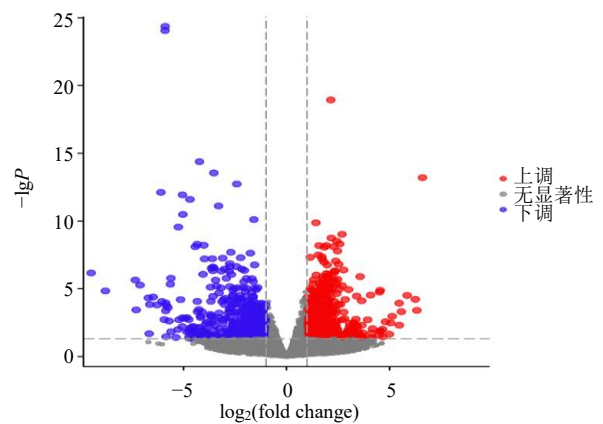


图3 对照组和模型组 DEGs 的火山图

Fig. 3 Volcanic maps of DEGs in control group and model group

干扰素应答等生物学过程,分子功能主要条目与细胞因子的活性相关,细胞组分包含脂蛋白粒子、血浆脂蛋白颗粒等。

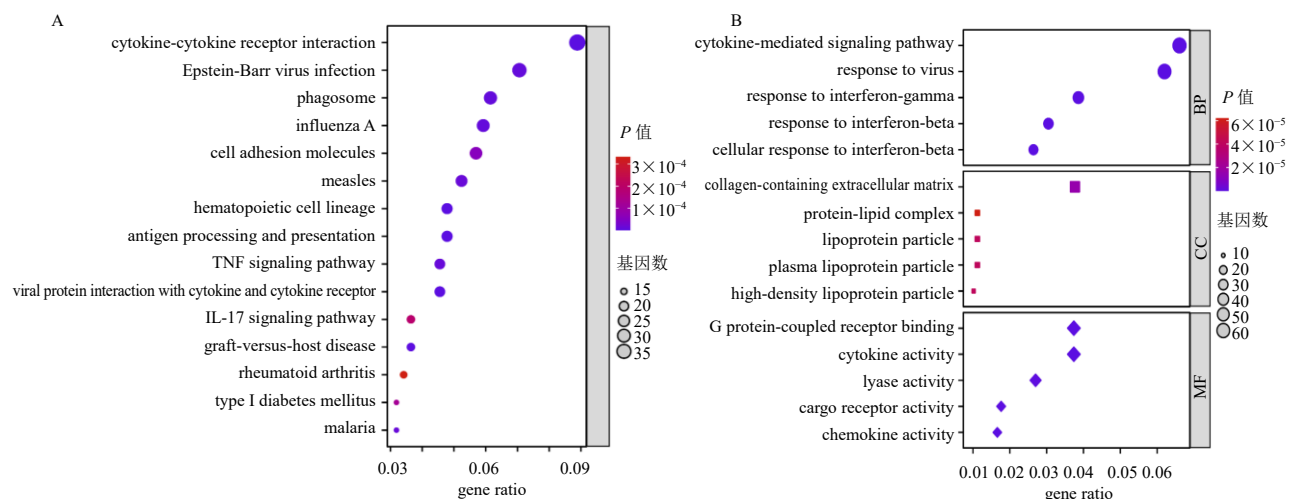


图 4 对照组和模型组 DEGs 的 KEGG 通路 (A) 和 GO 功能 (B) 富集分析

Fig. 4 KEGG pathway (A) and GO function (B) enrichment analysis of DEGs in control group and model group

3.4.2 菊苣酸组与模型组基因表达差异分析结果
 如图 5 所示，菊苣酸组与模型组共分析出 497 个差异表达的 mRNA，涉及 247 个上调基因和 250 个下调基因。富集分析结果如图 6 所示，KEGG 分析显示，DEGs 主要与免疫途径相关。GO 分析显示，DEGs 富集了 171 个生物学过程条目、12 个细胞组分条目、29 个分子功能条目，其中重要的生物学过程包括 B 细胞活化、B 细胞活化的调节、免疫反应的激活等，主要的细胞组分包含免疫球蛋白复合体、免疫突触等方面，主要的分子功能与蛋白受体结合、抗原结合、转运蛋白活性等免疫过程相关方面。

3.4.3 共表达通路富集分析结果 KEGG 通路富集

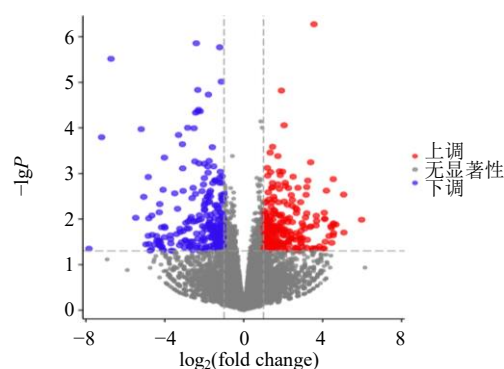


图 5 菊苣酸组和模型组 DEGs 的火山图

Fig. 5 Volcanic maps of DEGs in chicory acid group and model group

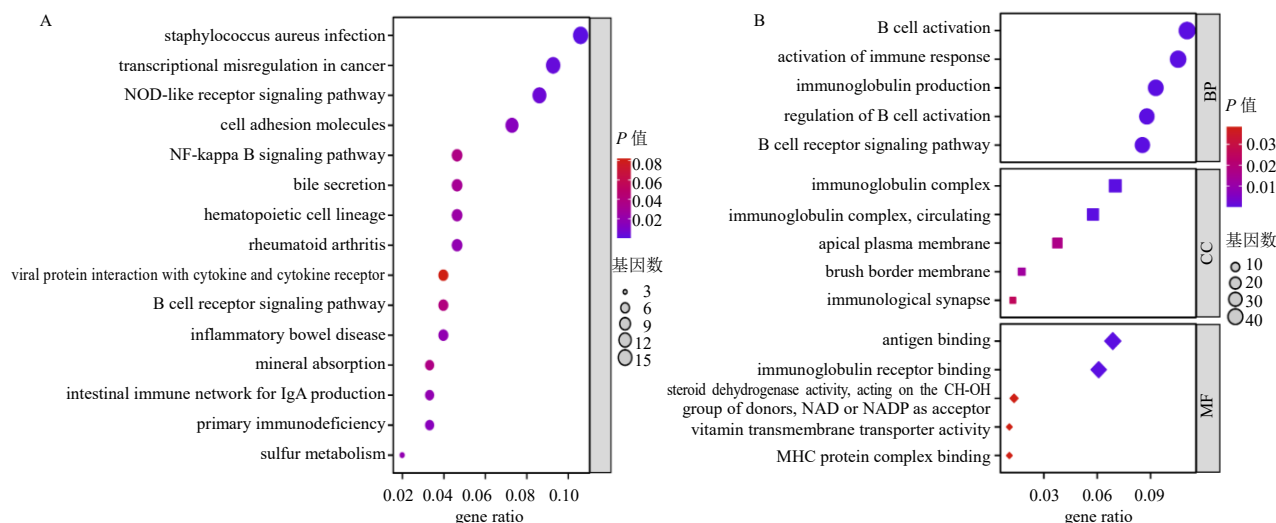


图 6 菊苣酸组和模型组 DEGs 的 KEGG 通路 (A) 和 GO 功能 (B) 富集分析

Fig. 6 KEGG pathway (A) and GO function (B) enrichment analysis of DEGs in chicory acid group and model group

分析发现，与模型组比较，对照组的 DEGs 与 55 条 KEGG 通路相关，菊苣酸组的 DEGs 与 15 条 KEGG

通路相关，二者有 8 条共同的通路被富集，经典炎症信号通路 NF- κ B 信号通路是其中之一（图 7）。

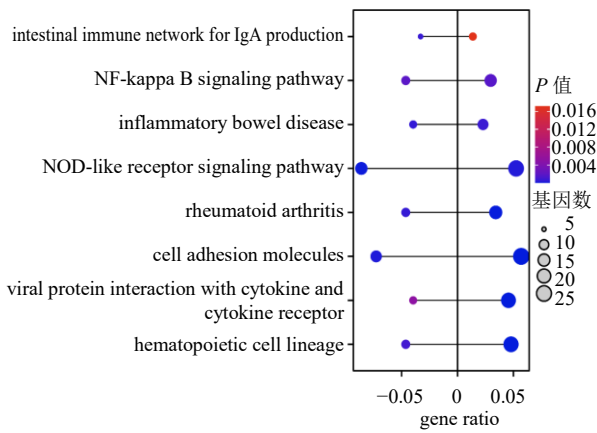


图7 共表达 KEGG 通路富集分析

Fig.7 Enrichment analysis of co-expressed KEGG pathway

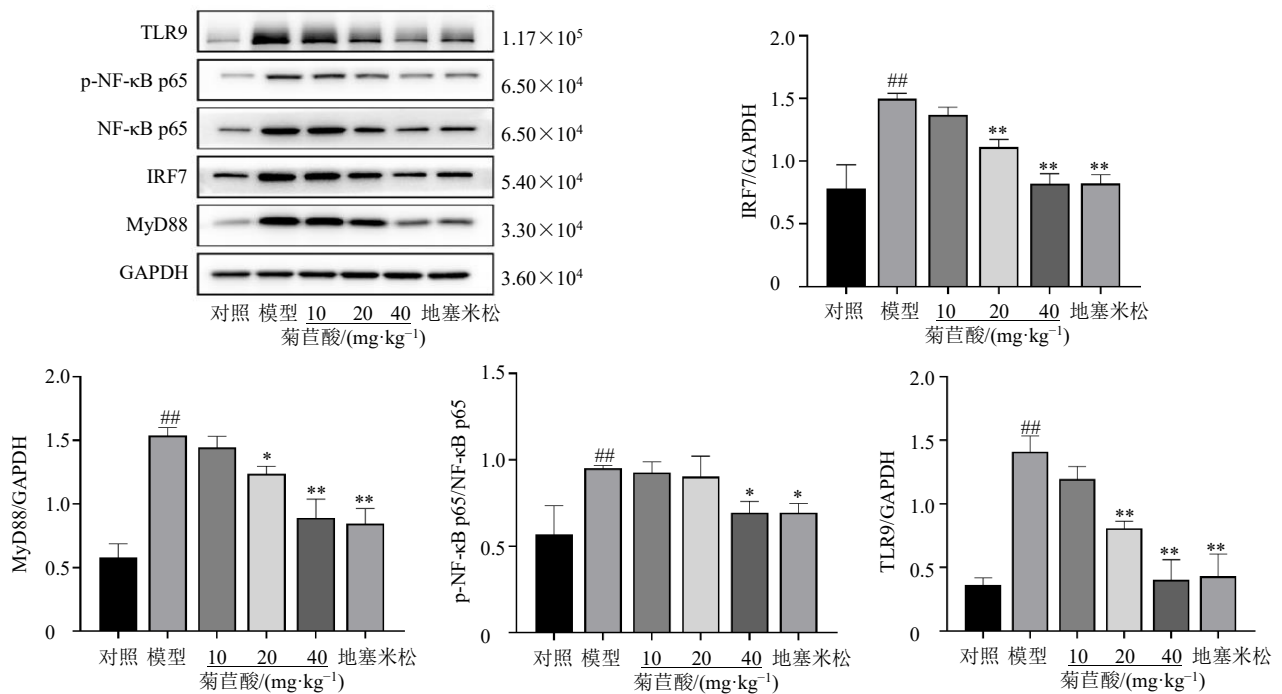


图8 菊苣酸对肠损伤小鼠回肠组织中 TLR9/NF-κB 通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig.8 Effect of chicory acid on expressions of TLR9/NF-κB pathway related proteins in ileum tissue of mice with intestinal injury ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

NF-κB p65 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$), 证实菊苣酸在脓毒症肠损伤中具有显著的抗炎活性。

4 讨论

脓毒症是一种危及生命的炎症综合征, 在全球范围内有很高的死亡率。多年来, 随着对脓毒症研究的不断加深, 脓毒症的临床定义标准也在不断更新, 免疫病理和发病机制正在逐渐明确^[14], 目前的干预治疗策略可以分为靶向损伤相关分子模式 (danger-associated molecular patterns, DAMPs) (包

3.5 菊苣酸对肠损伤小鼠回肠组织中 TLR9/NF-κB 通路相关蛋白表达的影响

为了进一步验证转录组测序数据的可操作性和菊苣酸的作用机制, 通过 Western blotting 法检测参与 NF-κB 炎症信号通路传导的代表性蛋白 (TLR9、MyD88、NF-κB p65、p-NF-κB p65、IRF7) 表达。如图 8 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠回肠组织中 TLR9、MyD88、p-NF-κB p65/NF-κB p65、IRF7 蛋白表达水平均显著升高 ($P < 0.01$), 说明 CLP 诱导的脓毒症小鼠中炎症相关蛋白表达上调; 与模型组比较, 菊苣酸中、高剂量组和地塞米松组 MyD88、TLR9 和 IRF7 蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), 菊苣酸高剂量组和地塞米松组 p-NF-κB p65/

括宿主细胞应激)、靶向病原相关分子模式 (pathogen associated molecular patterns, PAMPs)、靶向炎症介质 (抗炎)、免疫防御调节、内皮屏障稳定及恢复血管抗凝血属性 6 类^[15]。MacFie 等提出了肠源性脓毒症的概念, 近年来被临床研究者逐渐认可, 并应用动物实验模型对肠源性感染治疗的有效性进行研究^[16]。已根据脓毒症的发展特征建立了多种脓毒症动物模型, 其中 CLP 诱导的脓毒症模型是实验研究过程中最常用的模型, 也被认为是金标准

模型^[17-18]。因此,本研究采用 CLP 诱导的脓毒症模型探讨了菊苣酸对脓毒症小鼠肠道损伤的保护作用及潜在机制。

脓毒症发病的根源以及贯穿整个脓毒症病程的主要原因是机体对抗炎症的失衡,宿主为抵抗病原体产生一系列的促炎因子,从而激活先天免疫系统,生物学上解释为模式识别受体识别到 DAMPs 或 PAMPs^[19]。TLR 家族是一类重要的模式识别受体,在已发现的 TLR 家族蛋白中,TLR9 在肠道疾病机制研究中发挥了重要作用。TLR9 位于内质网中,具有 I 型跨膜蛋白结构,能够识别细菌和病毒中非甲基化 DNA 基序并募集到 MyD88 信号分子与其结合,导致下游 NF- κ B 和转录因子 IRF7 的激活,NF- κ B 负责转录调节产生炎症因子风暴,IRF7 负责介导 I 型 IFN 的产生^[20]。

本研究结果显示,菊苣酸显著降低脓毒症小鼠回肠组织中促炎因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的水平,改善 CLP 诱发的脓毒症小鼠肠损伤症状,包括减轻中性粒细胞浸润和肠绒毛损伤、恢复肠黏膜层,表明菊苣酸对肠黏膜屏障具有保护作用。通过转录组学分析,筛选到与炎症相关的调控通路 TLR9/NF- κ B,此前研究也发现,姜黄素^[21]、桃仁承气汤^[22]、炎调方^[23]能够通过 TLR9/NF- κ B 通路发挥对脓毒症肠损伤的保护作用。Western blotting 结果显示,模型组小鼠肠组织中 TLR9/NF- κ B 通路关键蛋白表达均显著上调,菊苣酸给药后小鼠肠组织中关键蛋白表达下调,且呈剂量相关性。表明菊苣酸可能通过调节 TLR9,进而调控 NF- κ B 通路缓解脓毒症模型小鼠的肠损伤。

综上,本研究通过建立 CLP 诱导的脓毒症小鼠模型,发现菊苣酸对脓毒症肠损伤具有一定保护作用,其作用机制可能是通过抑制 TLR9/NF- κ B 信号传导途径,减低肠组织的炎症反应从而改善小鼠的肠损伤。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Ho J, Chan H, Liang Y H, *et al.* Cathelicidin preserves intestinal barrier function in polymicrobial sepsis [J]. *Crit Care*, 2020, 24(1): 47.
- [2] Ziesmann M T, Marshall J C. Multiple organ dysfunction: The defining syndrome of sepsis [J]. *Surg Infect*, 2018, 19(2): 184-190.
- [3] MacFie J. Current status of bacterial translocation as a cause of surgical sepsis [J]. *Br Med Bull*, 2004, 71: 1-11.
- [4] Hu Q Y, Ren H J, Li G W, *et al.* STING-mediated intestinal barrier dysfunction contributes to lethal sepsis [J]. *EBioMedicine*, 2019, 41: 497-508.
- [5] Lee J, Scagel C F. Chicoric acid: Chemistry, distribution, and production [J]. *Front Chem*, 2013, 1: 40.
- [6] Kour K, Bani. Augmentation of immune response by chicoric acid through the modulation of CD28/CTLA-4 and Th1 pathway in chronically stressed mice [J]. *Neuropharmacology*, 2011, 60(6): 852-860.
- [7] Janda K, Gutowska I, Geszke-Moritz M, *et al.* The common cichory (*Cichorium intybus* L.) as a source of extracts with health-promoting properties-a review [J]. *Molecules*, 2021, 26(6): 1814.
- [8] Nobela O, Renslow R S, Thomas D G, *et al.* Efficient discrimination of natural stereoisomers of chicoric acid, an HIV-1 integrase inhibitor [J]. *J Photochem Photobiol B*, 2018, 189: 258-266.
- [9] Ding X Q, Jian T, Li J W, *et al.* Chicoric acid ameliorates nonalcoholic fatty liver disease via the AMPK/Nrf2/NF- κ B signaling pathway and restores gut microbiota in high-fat-diet-fed mice [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 9734560.
- [10] Jia L W, Chen Y H, Tian Y H, *et al.* MAPK pathway mediates the anti-oxidative effect of chicoric acid against cerebral ischemia-reperfusion injury *in vivo* [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(2): 1640-1646.
- [11] Wang N, Li R, Feng B N, *et al.* Chicoric acid prevents neuroinflammation and neurodegeneration in a mouse Parkinson's disease model: Immune response and transcriptome profile of the spleen and colon [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(4): 2031.
- [12] Li J L, Li G, Jing X Z, *et al.* Assessment of clinical sepsis-associated biomarkers in a septic mouse model [J]. *J Int Med Res*, 2018, 46(6): 2410-2422.
- [13] 熊申明, 任章朋, 史梦婕, 等. 基于 mTOR 通路和自噬探讨香菇多糖改善脓毒症小鼠肺损伤的作用机制 [J]. *中草药*, 2022, 53(7): 2071-2077.
- [14] Salomão R, Ferreira B L, Salomão M C, *et al.* Sepsis: Evolving concepts and challenges [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2019, 52(4): e8595.
- [15] Zhang Y Y, Ning B T. Signaling pathways and intervention therapies in sepsis [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 407.
- [16] Toscano M G, Ganea D, Gamero A M. Cecal ligation puncture procedure [J]. *J Vis Exp*, 2011(51): 2860.
- [17] Li Z, Feng H H, Han L, *et al.* Chicoric acid ameliorate

- inflammation and oxidative stress in lipopolysaccharide and *D*-galactosamine induced acute liver injury [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(5): 3022-3033.
- [18] Dejager L, Pinheiro I, Dejonckheere E, *et al.* Cecal ligation and puncture: The gold standard model for polymicrobial sepsis? [J]. *Trends Microbiol*, 2011, 19(4): 198-208.
- [19] Chen S N, Tan Y, Xiao X C, *et al.* Deletion of TLR4 attenuates lipopolysaccharide-induced acute liver injury by inhibiting inflammation and apoptosis [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(10): 1610-1619.
- [20] Lester S N, Li K. Toll-like receptors in antiviral innate immunity [J]. *J Mol Biol*, 2014, 426(6): 1246-1264.
- [21] Li H Q, Sun H, Xu Y R, *et al.* Curcumin plays a protective role against septic acute kidney injury by regulating the TLR9 signaling pathway [J]. *Transl Androl Urol*, 2021, 10(5): 2103-2112.
- [22] 孙治霞, 索红亮, 王丽辉. 桃仁承气汤对脓毒症大鼠肠黏膜屏障及 TLR9 信号通路的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(7): 29-35.
- [23] 韩丹, 陈乾, 施荣, 等. 炎调方对脓毒症大鼠肠黏膜屏障及 TLR9 信号通路影响的实验研究 [J]. 中国中医急症, 2019, 28(11): 1881-1884.

[责任编辑 李亚楠]

• 公益广告 •

