

• 论著 •

乌药调控 p38MAPK/ERK 通路对脂多糖诱导 ARDS 小鼠的肺保护作用

陆明峰 范璐 徐敏 嵇玲 徐继扬

扬州大学临床医学院急诊科, 江苏扬州 225001

通信作者:徐继扬, Email : xujiyang2020@163.com ; 陆明峰, Email : yzlmf2011@163.com

【摘要】目的 探讨乌药对脂多糖(LPS)诱导急性呼吸窘迫综合征(ARDS)小鼠的肺保护作用及可能机制。**方法** 将 40 只 C57BL/6 小鼠随机分为假手术组、ARDS 模型组、乌药低剂量组、乌药高剂量组,每组 10 只。经气管注射 5 mg/kg 的 LPS 制备小鼠 ARDS 模型;乌药低剂量组和高剂量组分别给予乌药提取物 1 g/kg 和 5 g/kg 每日 1 次灌胃,ARDS 模型组以等量生理盐水灌胃;假手术组不进行任何处理。制模前预给药 3 d,制模后继续给药 2 d 并处死动物,取支气管肺泡灌洗液(BALF)和肺组织。光镜下观察各组小鼠肺组织病理学改变,测肺湿/干质量比值(W/D);采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测小鼠血清及 BALF 中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)含量;采用流式细胞术检测 BALF 中巨噬细胞表面分子 CD40 表达率;采用蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测肺组织 p38 和细胞外信号调节激酶 1/2(ERK1/2)蛋白磷酸化水平变化。**结果** 肺组织病理学显示,乌药高剂量组光镜下肺泡结构破坏、肺泡间隔增厚、炎症细胞浸润,但病理变化均较 ARDS 模型组减轻,而乌药低剂量组 ARDS 病理特征较 ARDS 模型组无明显改变。与假手术组比较,ARDS 模型组肺 W/D 比值明显升高,血清及 BALF 中 TNF- α 和 IL-6 含量明显升高,BALF 中巨噬细胞 CD40 表达率明显增加,肺组织 p38 和 ERK1/2 蛋白磷酸化水平明显升高。用乌药干预后,低剂量组肺组织 W/D 比值、血清及 BALF 中 TNF- α 和 IL-6 水平、BALF 中巨噬细胞 CD40 表达率、肺组织 p38 和 ERK1/2 蛋白磷酸化水平均较 ARDS 模型组无明显变化;而乌药高剂量组上述指标均明显低于 ARDS 模型组和乌药低剂量组〔W/D 比值:5.70±0.19 比 6.20±0.31、6.01±0.17;血清 TNF- α (ng/L):83.63±15.04 比 111.75±18.45、108.12±13.98;血清 IL-6 (ng/L):111.38±8.75 比 244.13±26.85、227.50±9.37;BALF 中 TNF- α (ng/L):36.25±2.82 比 51.13±5.44、47.50±5.78;BALF 中 IL-6 (ng/L):35.63±2.20 比 49.63±4.90、46.38±3.50;CD40 表达率(%):23.28±2.45 比 30.32±2.40、28.17±1.98;p-p38/p38 比值:0.50±0.04 比 0.74±0.07、0.69±0.04;p-ERK1/2/ERK1/2 比值:0.47±0.07 比 0.72±0.07、0.68±0.05,均 $P<0.01$ 〕。**结论** 乌药能够抑制 LPS 诱导的 ARDS 小鼠肺组织炎症,减轻肺损伤,该作用机制可能与抑制 p38 丝裂素活化蛋白激酶/ERK(p38 MAPK/ERK)信号通路的活化有关。

【关键词】 乌药; 急性呼吸窘迫综合征; 炎症信号通路; p38 丝裂素活化蛋白激酶; 细胞外信号调节蛋白激酶

基金项目:江苏省中医药局科技项目(YB2017076);江苏省扬州市科技计划项目(YZ2020091)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210317-00389

Protective effect of Lindera aggregata on lipopolysaccharide-induced mice acute respiratory distress syndrome by regulating p38MAPK/ERK pathway

Lu Mingfeng, Fan Lu, Xu Min, Ji Ling, Xu Jiyang

Department of Emergency Medicine, Clinical Medical College, Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu, China

Corresponding author: Xu Jiyang, Email: xujiyang2020@163.com; Lu Mingfeng, Email: yzlmf2011@163.com

【Abstract】Objective To explore the protective effect of Lindera aggregata on acute respiratory distress syndrome (ARDS) induced by lipopolysaccharide (LPS) in mice and its possible mechanism. **Methods** Forty C57BL/6 mice were randomly divided into sham operation group, ARDS model group, low-dose Lindera aggregata (L-LA) group and high-dose Lindera aggregata (H-LA) group, with 10 mice in each group. ARDS model was established by injecting 5 mg/kg LPS through the trachea. The L-LA group and H-LA group were orally administrated 1 g/kg and 5 g/kg of the Lindera aggregata extract once a day, respectively, while the ARDS model group was given the same volume of normal saline, the sham group received no treatment. The Lindera aggregata was preadministered for 3 days before modeling, and continued for 2 days after modeling, then the animals were sacrificed, and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and lung tissue were collected. The pathological changes of lung tissue in each group of mice were observed under the microscope and the wet/dry weight ratio (W/D) of the lung were measured. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to examine the levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) in mice serum and BALF, and flow cytometry was used to detect the expression rate of CD40 on the surface of BALF macrophages. The phosphorylation levels of p38 and extracellular signal-regulated protein kinase 1/2 (ERK1/2) proteins in lung tissue were measured by Western blotting. **Results** Lung histopathology under light microscope showed that the damage of alveolar structure, thickening of alveolar septum and infiltration of inflammatory cells in the H-LA group were less severe than those in the ARDS model group, while the pathological characteristics of ARDS in the L-LA group were not significantly different

from those in the ARDS model group. Compared with the sham operation group, the lung W/D ratio, TNF- α and IL-6 protein contents in serum and BALF, BALF macrophage CD40 expression rate and lung tissue p38 and ERK1/2 protein phosphorylation levels were significantly increased in ARDS model group. The W/D ratio, the concentrations of TNF- α and IL-6 in serum and BALF, the expression rate of CD40 in BALF macrophages, and the phosphorylation levels of p38 and ERK1/2 protein in lung tissue in the L-LA group were not significantly different from those in the ARDS model group. The above indexes in the H-LA group were significantly lower than those in the ARDS model group and the L-LA group [W/D ratio: 5.70 ± 0.19 vs. 6.20 ± 0.31 , 6.01 ± 0.17 ; serum TNF- α (ng/L): 83.63 ± 15.04 vs. 111.75 ± 18.45 , 108.12 ± 13.98 ; serum IL-6 (ng/L): 111.38 ± 8.75 vs. 244.13 ± 26.85 , 227.50 ± 9.37 ; BALF TNF- α (ng/L): 36.25 ± 2.82 vs. 51.13 ± 5.44 , 47.50 ± 5.78 ; BALF IL-6 (ng/L): 35.63 ± 2.20 vs. 49.63 ± 4.90 , 46.38 ± 3.50 ; CD40 expression rate (%): 23.28 ± 2.45 vs. 30.32 ± 2.40 , 28.17 ± 1.98 ; p-p38/p38: 0.50 ± 0.04 vs. 0.74 ± 0.07 , 0.69 ± 0.04 ; p-ERK1/2/ERK1/2: 0.47 ± 0.07 vs. 0.72 ± 0.07 , 0.68 ± 0.05 ; all $P < 0.01$]. **Conclusions** Lindera aggregata can inhibit LPS-induced lung inflammation and alleviate lung injury in ARDS mice. The mechanism may be related to the inhibition of the activation of p38 mitogen activated protein kinase/ERK (p38MAPK/ERK) signaling pathway.

【Key words】 Lindera aggregata (Sims) Kosterm; Acute respiratory distress syndrome; Inflammatory signaling pathway; p38 mitogen activated protein kinase; Extracellular signal-regulated protein kinase 1/2

Fund program: Science and Technology Project of Traditional Chinese Medicine Bureau of Jiangsu Province (YB2017076); Science and Technology Planning Project of Yangzhou, Jiangsu (YZ2020091)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210317-00389

急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)是由肺内 / 外原因引起的以顽固性低氧血症为显著特征的临床综合征,是重症患者的常见死亡原因^[1]。因此,寻找有效的治疗方法对于降低ARDS的高病死率、减轻社会经济负担极具价值。

基于“炎症是 ARDS 的本质”这一观点,抑制炎性细胞和促炎介质表达已成为治疗 ARDS 的重要环节^[2-4],近年来一些具有抗炎效应的中药为治疗 ARDS 提供了新的思路^[5-7]。中药通常含有多种成分,通过多途径、多靶点发挥作用,对于综合调控复杂的炎症反应更具优势与特色。乌药为樟科山胡椒属植物乌药的块根,其有效成分包括挥发油、异喹啉生物碱、呋喃倍半萜及其内酯等^[8]。据现代药理学研究,乌药在抗炎、抗氧化、抗肿瘤、镇痛、调节胃肠运动、控制肝损伤等方面具有一定作用^[9-10],但其在 ARDS 肺保护方面的作用未见报道。丝裂素活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPKs)通路是细胞内调控炎症产生的主要信号转导通路,与脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的 ARDS 有密切关系^[11]。本研究主要探索乌药对小鼠 ARDS 模型肺损伤的保护作用及潜在机制。

1 材料与方法

1.1 乌药提取方法: 取乌药 100 g,加入 80% 乙醇 200 mL 回流提取 1.5 h,滤取药液,药渣用 80% 乙醇以相同条件提取 1 h,滤取药液,合并 2 次药液,减压回收乙醇并适当浓缩,即得乌药醇提取物(浓度相当于 1 mL 内含 1 g 生药)。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物分组及制模: 40 只 C57BL/6 雄性小鼠,体质量 20~25 g,扬州大学实验动物中心提供

[合格证号:SCXK(苏)2017-0007]。将小鼠按随机数字表法分为假手术组、ARDS 模型组、乌药低剂量组、乌药高剂量组,每组 10 只。小鼠麻醉后气管内注射 LPS 5 mg/kg 制备小鼠 ARDS 模型。乌药低剂量组和乌药高剂量组分别给予 1 g/kg 和 5 g/kg 乌药提取物灌胃,ARDS 模型组给予等量生理盐水灌胃,给药均为每日 1 次,制模前先预给药 3 d,制模后继续给药 2 d;各组小鼠取材时存活 8 只。假手术组不进行任何处理。制模后 48 h 取材。小鼠腹腔麻醉后行气管插管,暴露心脏,右心采血离心取血清。结扎左侧肺门,经气管导管以磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)灌洗右肺并回收支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF),每次 0.5 mL,共 3 次,离心后分别取上清液及沉淀细胞备用。取右肺用于蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测;取左肺上叶用于测定肺湿 / 干质量比值(wet/dry weight ratio, W/D);取左肺下叶放入 4% 多聚甲醛中固定,石蜡切片,行苏木素 - 伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色,光镜下观察肺组织病理变化。本实验操作符合动物伦理学标准,并通过扬州大学临床医学院实验动物伦理审查(审批号:YZUNSF2020-LCYXY-18)。

1.2.2 血清及 BALF 中指标测定: 采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测小鼠血清及 BALF 上清液中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)含量,实验步骤按照 ELISA 试剂盒的说明书进行。BALF 离心后的沉淀细胞用红细胞裂解液处理,加异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记 CD40 单克隆抗体,用流式细胞仪检测被标记的巨噬细胞占有核细胞总数的

百分比,以表明巨噬细胞表面分子 CD40 含量。

1.2.3 肺组织 MAPKs 通路主要蛋白磷酸化水平检测:取小鼠右肺组织,匀浆,离心,细胞裂解后提取总蛋白,按照 Western blotting 步骤进行操作,用曝光仪采集磷酸化 p38 (phosphorylated p38, p-p38) 和磷酸化细胞外信号调节激酶 1/2 (phosphorylated extracellular signal-regulated protein kinase 1/2, p-ERK1/2) 条带图像,同时检测总 p38 和总 ERK1/2 蛋白表达量;以 β -肌动蛋白 (β -actin) 为内参,采用图像分析系统计算条带吸光度,以磷酸化蛋白与总蛋白比值表示蛋白磷酸化水平。

1.3 统计学方法:使用 SPSS 软件处理数据。符合正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组小鼠肺组织病理改变(图 1):光镜下显示,假手术组肺组织结构正常;ARDS 模型组肺组织水肿,组织间隙中见红细胞渗出,大量炎性细胞浸润,肺泡间隔明显增厚,肺泡腔变窄,同时伴有弥漫性毛细血管扩张;乌药低剂量组上述病理变化改善不明

显,与 ARDS 模型组接近;而乌药高剂量组肺组织水肿及肺泡结构破坏较 ARDS 模型组减轻,肺组织炎性细胞浸润也较 ARDS 模型组减少。

2.2 各组小鼠肺水肿参数比较(表 1):与假手术组比较,ARDS 模型组 W/D 比值明显升高 ($P < 0.05$);乌药低剂量组 W/D 比值较 ARDS 模型组无明显变化 ($P > 0.05$);而乌药高剂量组 W/D 比值明显低于 ARDS 模型组 ($P < 0.05$)。表明给予高剂量乌药可减轻 ARDS 模型小鼠肺水肿的程度。

2.3 各组小鼠血清和 BALF 中炎症因子含量及巨噬细胞表面分子 CD40 表达率比较(表 1;图 2):与假手术组比较,ARDS 模型组血清及 BALF 上清液中 TNF- α 、IL-6 水平和巨噬细胞 CD40 表达率均明显升高(均 $P < 0.05$);与 ARDS 模型组比较,乌药低剂量组血清及 BALF 上清液中 TNF- α 、IL-6 水平和巨噬细胞 CD40 表达率均无明显变化(均 $P > 0.05$),而乌药高剂量组血清及 BALF 上清液中 TNF- α 、IL-6 水平和巨噬细胞 CD40 表达率均明显降低(均 $P < 0.05$)。表明高剂量乌药可通过降低炎症因子的释放和肺巨噬细胞 CD40 的表达而减轻 ARDS 模型小鼠的全身及肺部炎症反应程度。

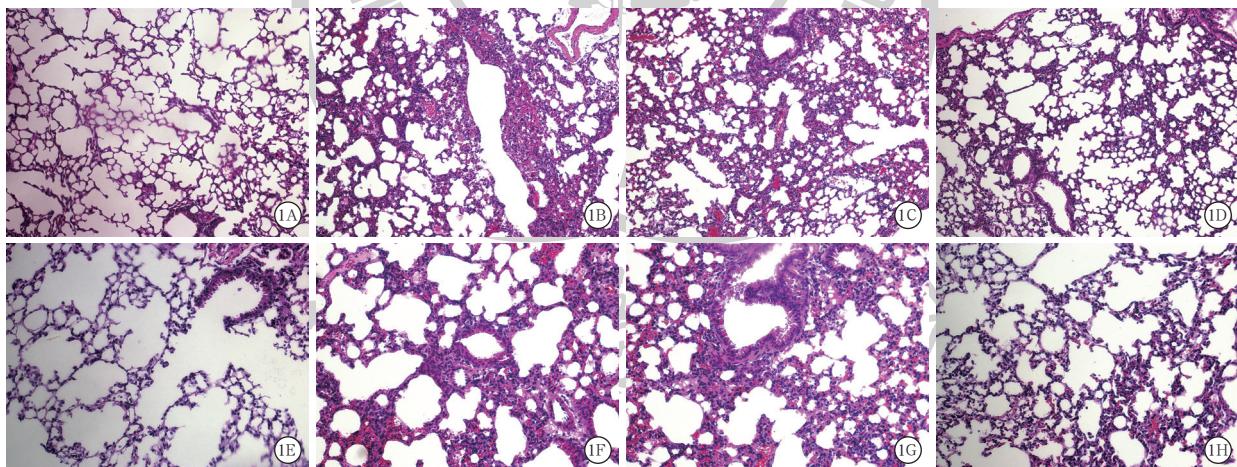
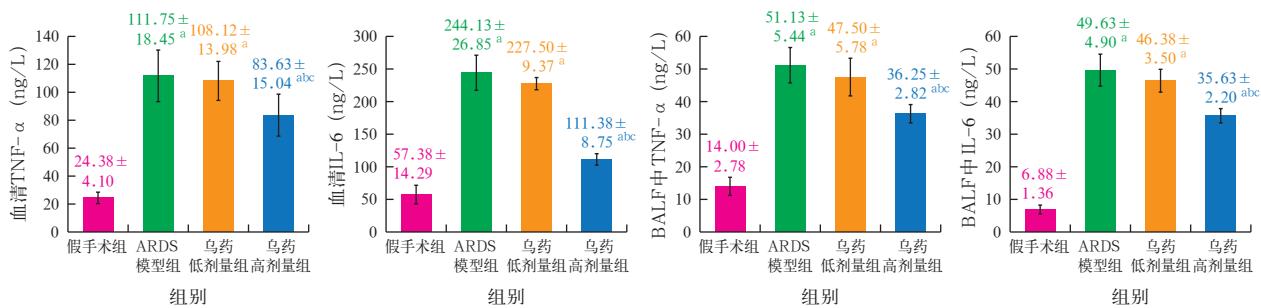


图 1 光镜下观察各组小鼠肺组织病理学改变 假手术组 (A, E) 小鼠肺组织可见组织结构形态正常;急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 模型组 (B, F) 小鼠肺组织可见组织水肿,组织间隙中见红细胞渗出,大量炎性细胞浸润,肺泡间隔明显增厚,肺泡腔变窄,同时伴有弥漫性毛细血管扩张;乌药低剂量组 (C, G) 小鼠肺组织可见肺部病理变化和 ARDS 模型组小鼠接近;乌药高剂量组 (D, H) 小鼠肺组织可见组织水肿及肺泡结构破坏较 ARDS 模型组减轻,组织炎性细胞浸润也较 ARDS 模型组减少 苏木素 - 伊红 (HE) 染色 低倍放大 (A~D) 高倍放大 (E~H)

表 1 各组小鼠肺组织 W/D 比值及血清和 BALF 中炎症因子、肺巨噬细胞 CD40 表达率比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	W/D 比值	血清中炎症因子 (ng/L)		BALF 中炎症因子 (ng/L)		巨噬细胞 CD40 表达率 (%)
			TNF- α	IL-6	TNF- α	IL-6	
假手术组	8	4.74 ± 0.24	24.38 ± 4.10	57.38 ± 14.29	14.00 ± 2.78	6.88 ± 1.36	18.30 ± 2.01
ARDS 模型组	8	6.20 ± 0.31^a	111.75 ± 18.45^a	244.13 ± 26.85^a	51.13 ± 5.44^a	49.63 ± 4.90^a	30.32 ± 2.40^a
乌药低剂量组	8	6.01 ± 0.17^a	108.12 ± 13.98^a	227.50 ± 9.37^a	47.50 ± 5.78^a	46.38 ± 3.50^a	28.17 ± 1.98^a
乌药高剂量组	8	5.70 ± 0.19^{abc}	83.63 ± 15.04^{abc}	111.38 ± 8.75^{abc}	36.25 ± 2.82^{abc}	35.63 ± 2.20^{abc}	23.28 ± 2.45^{abc}

注:W/D 比值为肺湿 / 干质量比值, BALF 为支气管肺泡灌洗液, ARDS 为急性呼吸窘迫综合征, TNF- α 为肿瘤坏死因子 - α , IL-6 为白细胞介素 - 6;与假手术组比较, $^aP < 0.05$;与 ARDS 模型组比较, $^bP < 0.05$;与乌药低剂量组比较, $^cP < 0.05$



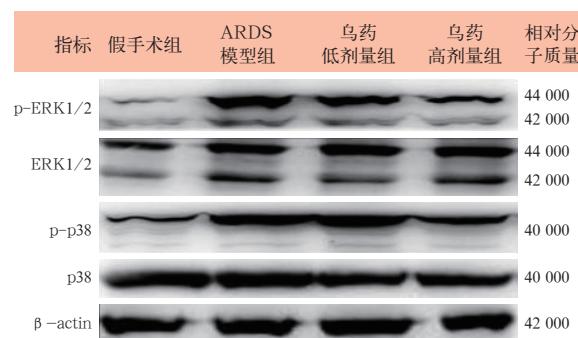
注: ARDS 为急性呼吸窘迫综合征; 与假手术组比较, ^a $P<0.05$; 与 ARDS 模型组比较, ^b $P<0.05$; 与乌药低剂量组比较, ^c $P<0.05$

图 2 各组小鼠血清及支气管肺泡灌洗液(BALF)中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)水平比较

2.4 各组小鼠肺组织 p38 和 ERK1/2 的蛋白磷酸化水平比较(表 2; 图 3): 与假手术组比较, ARDS 模型组 p38 和 ERK1/2 的蛋白磷酸化水平明显升高(均 $P<0.05$), 提示 ARDS 模型小鼠 MAPKs 通路中的关键蛋白被激活; 与 ARDS 模型组比较, 乌药低剂量组 p38 和 ERK1/2 的蛋白磷酸化水平无明显变化(均 $P>0.05$), 而乌药高剂量组 p38 和 ERK1/2 的蛋白磷酸化水平明显下降(均 $P<0.05$)。提示高剂量乌药可能通过抑制 p38 MAPK/ERK 通路的激活减少下游炎症因子产生, 从而减轻 ARDS 所致肺部炎症反应。

表 2 各组小鼠肺组织 p38 和 ERK1/2 的蛋白磷酸化水平比较($\bar{x} \pm s$)			
组别	动物数 (只)	p-p38/p38 比值	p-ERK1/2/ ERK1/2 比值
假手术组	8	0.21 \pm 0.02	0.20 \pm 0.03
ARDS 模型组	8	0.74 \pm 0.07 ^a	0.72 \pm 0.07 ^a
乌药低剂量组	8	0.69 \pm 0.04 ^a	0.68 \pm 0.05 ^a
乌药高剂量组	8	0.50 \pm 0.04 ^{abc}	0.47 \pm 0.07 ^{abc}

注: ERK1/2 为细胞外信号调节激酶 1/2, ARDS 为急性呼吸窘迫综合征; 与假手术组比较, ^a $P<0.05$; 与 ARDS 模型组比较, ^b $P<0.05$; 与乌药低剂量组比较, ^c $P<0.05$



注: p-ERK1/2 为磷酸化细胞外信号调节激酶 1/2, p-p38 为磷酸化 p38, β -actin 为 β -肌动蛋白, ARDS 为急性呼吸窘迫综合征

图 3 蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测各组小鼠肺组织 p38 和 ERK1/2 的蛋白磷酸化水平

3 讨 论

在 ARDS 发生发展过程中, 免疫细胞通过分泌细胞因子如 IL-1 β 、IL-6、IL-8 和 TNF- α 等传递并交换信息。在这些细胞因子和炎症介质的作用下, 肺内形成“瀑布式”炎症反应, 失控的炎症反应引起肺泡上皮细胞及毛细血管内皮细胞损伤, 进而引起肺泡出血、肺水肿形成及透明膜的产生。基于上述机制, 平衡失控的炎症反应成为治疗 ARDS 的重要思路, 这也使具有抗炎效应的中药的研究成为热点^[12-13]。本研究采用气管内滴注 LPS 诱导 ARDS 小鼠模型, 观察模型小鼠肺部病理可见大量炎性细胞浸润, 肺组织间隙红细胞渗出, 肺泡壁增厚及毛细血管扩张, 同时反映肺水肿程度的 W/D 比值明显增高。而采用 5 g/kg 乌药醇提物干预后肺部炎性细胞浸润、肺泡出血及肺水肿程度均有所减轻。已有研究表明, 乌药能减少急性酒精性肝损伤模型大鼠核转录因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、IL-1 β 、TNF- α 的释放^[10], 提示乌药具有调节炎症因子的作用。TNF- α 、IL-6 可较准确地反映机体的炎症状态^[14], 本研究在 ARDS 小鼠模型中观察到高剂量乌药能够降低血清及 BALF 中 TNF- α 和 IL-6 水平, 推测乌药可以通过减少炎症因子的释放从而减轻 ARDS 模型小鼠的肺部损伤。

CD40 为肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)家族成员, 参与炎症的发生和维持^[15-16]。CD40 与其配体 CD40L 连接后可使磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidyl inositol-3-kinase, PI3K)、MAPKs、NF- κ B 等多种炎症信号通路被激活, 最终表现为促炎因子和黏附分子的表达增强^[17]。在 LPS 诱导的 ARDS 模型中, 肺巨噬细胞、肺上皮细胞、渗出的单核细胞表面均有 CD40 的表达, 与 T 细胞、肥大细胞表面 CD40L 相互作用, 可导致肺部炎症扩大和持续, 促进肺组织损伤^[18-20]。本研究显示,

ARDS模型组较假手术组肺泡巨噬细胞CD40表达率明显增加,而乌药高剂量组较ARDS模型组巨噬细胞CD40表达率明显下降,表明给予高剂量乌药提取物可通过减少巨噬细胞表达CD40,从而减轻肺部炎症反应。

MAPKs信号通路是调控ARDS进程中炎症因子生成的重要通路之一^[21]。p38 MAPK和ERK1/2是该通路中的重要成员,均与急性肺损伤关系密切。有研究表明,p38 MAPK通路的激活促进了ARDS进程中炎症反应的发展。在此过程中,p38 MAPK磷酸化使IL-6和IL-1等炎症因子表达增加,诱导巨噬细胞等炎症细胞成熟,并促进细胞因子如单核细胞趋化蛋白-1、TNF- α 等的表达^[22-23]。ARDS动物模型常采用LPS诱导^[24],有研究表明,LPS可与大鼠肺泡细胞膜钠-氢(Na-H)交换器-1结合,通过ERK1/2磷酸化激活巨噬细胞、内皮细胞,产生IL-8、TNF- α 和巨噬细胞炎症蛋白2等炎症因子,诱导肺损伤^[25]。因此,MAPKs通路可作为针对ARDS抗炎治疗的一个有效靶位。本研究显示,采用5 g/kg乌药醇提物干预后,可显著降低ARDS模型小鼠肺部MAPKs通路中p38和ERK1/2的过度磷酸化,提示乌药提取物可能通过抑制MAPKs信号转导途径的激活,减轻炎症反应,从而发挥对LPS诱导的ARDS的肺保护作用。

4 结论

综上所述,乌药醇提物可抑制p38 MAPK/ERK信号通路的活化,减轻LPS诱导的ARDS大鼠肺部过度的炎症因子释放,改善肺水肿和组织病理变化,从而发挥其肺保护作用。本研究仅在给予高剂量药物提取液时可见治疗效应,其最适治疗剂量仍值得探讨;虽然采用了预先给药及制模后延续给药的方式,但作为中药的最佳给药时机和用药周期仍有待进一步明确。本研究有助于为ARDS寻求新的治疗药物提供理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 刘大为,邱海波,许媛,等.实用重症医学[M].第2版.人民出版社,2017:541-542.
- [2] 周奎奎,张先明.急性呼吸窘迫综合征的发病机制及临床前药物研究[J].中华危重病急救医学,2020,32(3):378-381. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200107-00111.
- [3] Lewis SR, Pritchard MW, Thomas CM, et al. Pharmacological agents for adults with acute respiratory distress syndrome [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2019, 7(7): CD004477. DOI: 10.1002/14651858.CD004477.pub3.
- [4] 何流漾,郑建洲,夏蕾,等.炎症反应在ARDS中的作用机制研究进展[J].中华危重病急救医学,2017,29(7):651-655. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.07.017.
- [5] 钱红,杨惠邻,沈锋,等.大黄素通过抑制核转录因子- κ B信
- 号途径对脂多糖诱导的ARDS小鼠发挥肺保护作用[J].中国中西医结合急救杂志,2020,27(3):291-296. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2020.03.009.
- [6] 李小茜,杨爱东.急性肺损伤发病机制及中医辨证治疗的思考[J].中国中西医结合急救杂志,2018,25(1):9-14. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2018.01.003.
- [7] 王中华,王首红,郭伟新,等.中药四磨汤在急性呼吸窘迫综合征中的作用研究[J].中国中西医结合急救杂志,2017,24(6):565-569. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2017.06.002.
- [8] 邓桂明,向彪,肖小芹,等.基于网络药理学的乌药主要化学成分药效作用研究[J].中草药,2018,49(21):5125-5133. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.21.025.
- [9] 汪群红,胡敏,汪官富.乌药生物碱镇痛和抗炎作用研究[J].中华中医药学刊,2015,33(4):910-912. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2015.04.044.
- [10] 王军伟,胡培阳,陈昕晖.乌药对急性酒精性肝损伤模型大鼠炎性因子的影响[J].中华灾害救援医学,2014,2(7):373-376. DOI: 10.13919/j.issn.2095-6274.2014.07.004.
- [11] Ko IG, Hwang JJ, Chang BS, et al. Polydeoxyribonucleotide ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via modulation of the MAPK/NF- κ B signaling pathway in rats [J]. Int Immunopharmacol, 2020, 83: 106444. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106444.
- [12] Chen L, Li W, Qi D, et al. Lycium barbarum polysaccharide protects against LPS-induced ARDS by inhibiting apoptosis, oxidative stress, and inflammation in pulmonary endothelial cells [J]. Free Radic Res, 2018, 52(4): 480-490. DOI: 10.1080/10715762.2018.1447105.
- [13] Baradarani Rahimi V, Rakhshandeh H, Raucci F, et al. Anti-inflammatory and anti-oxidant activity of portulaca oleracea extract on LPS-induced rat lung injury [J]. Molecules, 2019, 24(1): 139. DOI: 10.3390/molecules24010139.
- [14] 王锐,李莹.免疫球蛋白和炎症指标在幼儿手足口病诊断中的应用[J].实用检验医师杂志,2021,13(4):241-243. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2021.04.013.
- [15] Leite LFB, Máximo TA, Mosca T, et al. CD40 ligand deficiency [J]. Allergol Immunopathol (Madr), 2020, 48(4): 409-413. DOI: 10.1016/j.aller.2019.08.005.
- [16] Franga TT, Barreiros LA, Al-Ramadi BK, et al. CD40 ligand deficiency: treatment strategies and novel therapeutic perspectives [J]. Expert Rev Clin Immunol, 2019, 15(5): 529-540. DOI: 10.1080/1744666X.2019.1573674.
- [17] Fujihara C, Kanai Y, Masumoto R, et al. Fibroblast growth factor-2 inhibits CD40-mediated periodontal inflammation [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(5): 7149-7160. DOI: 10.1002/jcp.27469.
- [18] Hashimoto N, Kawabe T, Imaizumi K, et al. CD40 plays a crucial role in lipopolysaccharide-induced acute lung injury [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2004, 30(6): 808-815. DOI: 10.1165/rmbc.2003-0197OC.
- [19] Dong L, Wang SJ, Chen M, et al. The activation of macrophage and upregulation of CD40 costimulatory molecule in lipopolysaccharide-induced acute lung injury [J]. J Biomed Biotechnol, 2008, 2008: 852571. DOI: 10.1155/2008/852571.
- [20] Zhang R, Guo N, Yan GQ, et al. Ginkgolide C attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting inflammation via regulating the CD40/NF- κ B signaling pathway [J]. Int J Mol Med, 2021, 47(4): 62. DOI: 10.3892/ijmm.2021.4895.
- [21] Huang GJ, Deng JS, Chen CC, et al. Methanol extract of *Antrodia camphorata* protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury by suppressing NF- κ B and MAPK pathways in mice [J]. J Agric Food Chem, 2014, 62(23): 5321-5329. DOI: 10.1021/jf405113g.
- [22] Chen LJ, Ding YB, Ma PL, et al. The protective effect of lidocaine on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats through NF- κ B and p38 MAPK signaling pathway and excessive inflammatory responses [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(7): 2099-2108. DOI: 10.26355/eurrev_201804_14743.
- [23] Chen YT, Du Y, Zhao B, et al. Costunolide alleviates HKSA-induced acute lung injury via inhibition of macrophage activation [J]. Acta Pharmacol Sin, 2019, 40(8): 1040-1048. DOI: 10.1038/s41401-018-0192-6.
- [24] 陶一帆,田方敏,郭向阳,等.不同剂量脂多糖在不同作用时间下诱导小鼠急性肺损伤的效果评价[J].中国中西医结合急救杂志,2015,22(2):142-146. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.02.11.
- [25] Zhang Y, He H, Zhang BR, et al. Amelioration of lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats by Na-H exchanger-1 inhibitor amiloride is associated with reversal of ERK mitogen-activated protein kinase [J]. Biomed Res Int, 2018, 2018: 3560234. DOI: 10.1155/2018/3560234.

(收稿日期:2021-03-17)