

黄芪注射液对脓毒症炎症反应调控作用的研究

徐奇奇 高红梅 窦琳 李寅 路玲

300193 天津, 天津中医药大学研究生院(徐奇奇); 300192 天津, 天津市第一中心医院重症医学科(高红梅、窦琳、李寅、路玲)

通讯作者: 高红梅, Email: ghm182@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2017.02.019

【摘要】目的 观察黄芪注射液对脂磷壁酸(LTA)和脂多糖(LPS)刺激人原代巨噬细胞炎症因子表达的影响,探讨黄芪注射液对革兰阳性(G^+)菌及革兰阴性(G^-)菌脓毒症炎症反应的作用机制。**方法** 使用 Percoll 密度梯度离心法分离人外周血单核细胞,以免疫抗体磁珠提纯单核细胞,经 12 d 在重组人粒-巨噬细胞集落刺激因子(rhGM-CSF)诱导下培养为人巨噬细胞。将培养的人巨噬细胞接种于 96 孔板(每组 3 孔)和 6 孔板中(每组 3 孔),按随机数字表法分为对照组(加入 DMEM 培养液,每孔 200 μ L)、LTA 1 mg/L 组、LPS 0.1 mg/L 组以及黄芪注射液低(0.1 mg/L)、高(0.2 mg/L)剂量组。将培养板置于培养箱中孵育 24 h 后,用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组上清液中白细胞介素(IL-8、IL-10)的蛋白含量,用实时荧光定量反转录-聚合酶链反应(RT-qPCR)检测 IL-8、IL-10 的 mRNA 表达水平。**结果** LTA、LPS 均能明显上调巨噬细胞表达促炎因子 IL-8 及抗炎因子 IL-10 水平,培养 8 h 和 24 h, LTA 组、LPS 组 IL-8 和 IL-10 蛋白以及 mRNA 表达均较对照组明显升高,以培养 24 h 升高更显著[LTA 刺激组:IL-8 蛋白(ng/L , $\times 10^3$)为 41.57 ± 1.90 比 1.58 ± 0.24 , IL-8 mRNA(A 值)为 21.49 ± 8.05 比 1.00 ± 0.16 ;IL-10 蛋白(ng/L)为 5.90 ± 3.02 比 2.91 ± 1.54 , IL-10 mRNA(A 值)为 1.35 ± 0.34 比 0.95 ± 0.14 ; LPS 刺激组:IL-8 蛋白(ng/L , $\times 10^3$)为 345.00 ± 22.80 比 5.60 ± 0.31 , IL-8 mRNA(A 值)为 29.84 ± 8.93 比 1.00 ± 0.16 , IL-10 蛋白(ng/L)为 122.37 ± 39.26 比 44.79 ± 3.67 , IL-10 mRNA(A 值)为 7.38 ± 1.58 比 1.35 ± 0.34 , 均 $P < 0.05$];黄芪注射液可使 LTA、LPS 刺激巨噬细胞促炎因子 IL-8 蛋白和 mRNA 表达降低,抗炎因子 IL-10 蛋白和 mRNA 表达升高,以培养 24 h 黄芪注射液高剂量组的变化更为显著[LTA 刺激组:IL-8 蛋白(ng/L , $\times 10^3$)为 22.63 ± 1.91 比 41.57 ± 1.90 , IL-8 mRNA(A 值)为 12.10 ± 1.93 比 21.49 ± 8.05 , IL-10 蛋白(ng/L)为 14.03 ± 2.22 比 5.90 ± 3.02 , IL-10 mRNA(A 值)为 10.37 ± 6.08 比 1.35 ± 0.34 ; LPS 刺激组:IL-8 蛋白(ng/L , $\times 10^3$)为 167.75 ± 19.90 比 345.01 ± 22.80 , IL-8 mRNA(A 值): 15.61 ± 3.63 比 29.84 ± 8.93 ; IL-10 蛋白(ng/L)为 243.22 ± 14.41 比 122.37 ± 39.26 , IL-10 mRNA(A 值)为 16.14 ± 4.10 比 7.38 ± 1.58 , 均 $P < 0.05$]。**结论** 在炎症反应过程中促炎和抗炎因子同时存在,黄芪注射液可抑制 G^+ 菌及 G^- 菌脓毒症炎症反应中促炎因子的基因和蛋白表达水平,同时可促进抗炎因子的基因及蛋白的表达水平,进而影响脓毒症的免疫机制,以达促炎和抗炎平衡状态。

【关键词】 脂磷壁酸; 脂多糖; 人原代巨噬细胞; 促炎因子; 抗炎因子

基金项目: 卫生部国家临床重点专科建设项目(2011-873); 天津市中医药管理局中医、中西医结合科研专项课题(131117); 天津市卫生计生委科技基金(2015KZ019); 天津市卫生行业重点攻关项目(16KG106)

Study of regulatory effect of Astragalus injection on inflammatory response of sepsis Xu Qiqi, Gao Hongmei, Dou Lin, Li Yin, Lu Ling

Graduate School of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China (Xu QQ); Department of Critical Care Medicine, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192, China (Gao HM, Dou L, Li Y, Lu L)

Corresponding author: Gao Hongmei, Email: ghm182@163.com

【Abstract】Objective To observe the effect of Astragalus injection on the expressions of inflammatory cytokines in human primary macrophages stimulated by lipoteichoic acid (LTA) and lipopolysaccharide (LPS), and investigate its effects on inflammatory reactions of Gram-positive (G^+) and Gram-negative (G^-) bacteria sepsis and its mechanisms. **Methods** Percoll density gradient centrifugation was used to isolate the human peripheral blood mononuclear cells, then they were purified by immune Anti-Biotin Microbeads with magnetic character and under the induction of recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor (rhGM-CSF), the cells were cultivated for 12 days *in vitro*, eventually the human monocyte-derived macrophage was formed. The cultured human macrophages were inoculated in 96-well plates (each group 3 wells) and 6-well plates (each group 3 wells). The cells were divided into control group (200 μ L DMEM added in each well), LTA 1 mg/L group, LPS 0.1 mg/L group and low astragalus injection (0.1 mg/L) and high astragalus injection (0.2 mg/L) dose groups. After the incubator plates were put in an incubator for 24 hours, the protein content of IL-8 and IL-10 in supernatant were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the mRNA expression levels of IL-8 and IL-10 were detected by real time fluorescence quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-qPCR). **Results** LTA and LPS all can obviously up-regulate the expression levels of pro-inflammatory factor IL-8 and anti-inflammatory factor IL-10 of macrophage. The expressions of IL-8 and IL-10 protein and mRNA in LTA group and LPS group were significantly higher than those in control group after culture for 8 hours and 24 hours, the degrees of increment

were more significantly at 24 hours [LTA stimulate group: IL-8 protein (ng/L, $\times 10^3$): 41.57 ± 1.90 vs. 1.58 ± 0.24 , IL-8 mRNA (*A* value): 21.49 ± 8.05 vs. 1.00 ± 0.16 ; IL-10 protein (ng/L): 5.90 ± 3.02 vs. 2.91 ± 1.54 , IL-10 mRNA (*A* value): 1.35 ± 0.34 vs. 0.95 ± 0.14 ; LPS stimulate group: IL-8 protein (ng/L, $\times 10^3$): 345.00 ± 22.80 vs. 5.60 ± 0.31 , IL-8 mRNA (*A* value): 29.84 ± 8.93 vs. 1.00 ± 0.16 , IL-10 protein (ng/L): 122.37 ± 39.26 vs. 44.79 ± 3.67 , IL-10 mRNA (*A* value): 7.38 ± 1.58 vs. 1.35 ± 0.34 , all $P < 0.05$]. The Astragalus injection could regulate LTA and LPS to stimulate the macrophage to decrease the expression levels of pro-inflammatory factor IL-8 protein and mRNA and increase the expression levels of anti-inflammatory factor IL-10 protein and mRNA in the macrophage; the changes of regulatory effect in the 24 hour-culture of Astragalus injection high dose group was the most significant [LTA stimulate group: IL-8 protein (ng/L, $\times 10^3$): 22.63 ± 1.91 vs. 41.57 ± 1.90 , IL-8 mRNA (*A* value): 12.10 ± 1.93 vs. 21.49 ± 8.05 , IL-10 protein (ng/L): 14.03 ± 2.22 vs. 5.90 ± 3.02 , IL-10 mRNA (*A* value): 10.37 ± 6.08 vs. 1.35 ± 0.34 ; LPS stimulate group: IL-8 protein (ng/L, $\times 10^3$): 167.75 ± 19.90 vs. 345.01 ± 22.80 , IL-8 mRNA (*A* value): 15.61 ± 3.63 vs. 29.84 ± 8.93 ; IL-10 protein (ng/L): 243.22 ± 14.41 vs. 122.37 ± 39.26 , IL-10 mRNA (*A* value): 16.14 ± 4.10 vs. 7.38 ± 1.58 , all $P < 0.05$]. **Conclusions** In the process of inflammatory response, the pro-inflammatory and anti-inflammatory factors co-exist simultaneously. Astragalus injection can inhibit the expression levels of pro-inflammatory factor gene and protein in the inflammatory response of G^+ and G^- bacteria sepsis and in the mean time, it can promote the expression levels of anti-inflammatory factor gene and protein, thus the immune mechanism of sepsis is affected, achieving the balance between pro-inflammation and anti-inflammation.

[Key words] Lipoteichoic acid; Lipopolysaccharide; Human primary macrophages; Pro-inflammatory factor; Anti-inflammatory factor

脓毒症是一种失控的炎症反应,是宿主对感染反应失调而导致危及生命的器官功能不全^[1],长期以来其发病率和病死率居高不下^[2]。因此,提高脓毒症的疗效已成为临床亟待解决的问题。黄芪注射液是临床治疗感染性疾病的常用药物,可增强机体的免疫功能,提高机体对感染的抵抗能力^[3],本研究通过观察黄芪注射液对脂磷壁酸(LTA)、脂多糖(LPS)诱导巨噬细胞释放白细胞介素(IL-8、IL-10)的影响,探讨其治疗脓毒症时对机体炎症反应的调节机制。

1 材料与与方法

1.1 主要试剂、器材:DMEM 培养液(美国 Sigma 公司); 乙二胺四乙酸(EDTA, 0.5 mol/L, 美国 Fluka 公司); 细胞分离液(Percoll, 英国 GE Healthcare 公司); 胎牛血清(法国 Biosera 公司); 青霉素/链霉素(美国 Sigma 公司); L-谷氨酸盐(美国 Gibco 公司); 重组人粒-巨噬细胞集落刺激因子(rhGM-CSF, 美国 InvivoGen 公司); 脂多糖(LPS, 美国 InvivoGen 公司); LTA(美国 InvivoGen 公司); 四甲基偶氮唑盐(MTT, 美国 Sigma 公司), IL-10 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒(美国 InvivoGen 公司), 黄芪注射液(生药浓度 2 kg/L, 成都地奥九泓制药有限公司)。

1.2 人巨噬细胞的分离和培养:取健康志愿者外周血 60 mL, 加入 EDTA、右旋糖酐硫酸酯钠溶液沉淀红细胞并离心, 以 Percoll 密度梯度法分离单核细胞, 用免疫抗体磁珠提纯人原代单核细胞, 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养 12 d, 诱导贴壁的人巨噬细胞。

1.3 分组及处理:将培养的人巨噬细胞接种于 96 孔

板(每组 3 孔)和 6 孔板中(每组 3 孔), 按随机数字表法分为对照组(每孔加入 DMEM 培养液 200 μ L)、LTA 1 mg/L 组或 LPS 0.1 mg/L 组以及黄芪注射液低(0.1 mg/L)、高(0.2 mg/L)剂量组。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 IL-8、IL-10 蛋白表达测定:将 96 孔板置于培养箱中孵育 24 h, 用 ELISA 试验^[4]检测各组上清液中 IL-8、IL-10 蛋白表达量, 在酶标仪 450 nm 处读取吸光度(*A*)值, 根据标准曲线计算出 IL-8、IL-10 含量。

1.4.2 IL-8、IL-10 的 mRNA 表达测定:将 6 孔板置于培养箱中孵育 24 h, 用实时荧光定量反转录-聚合酶链反应(RT-qPCR)检测 IL-8、IL-10 的 mRNA 表达。引物设计参照文献[5]方法。以样品与 β 肌动蛋白(β -actin)的比值表示该样品的 mRNA 表达水平。

1.5 统计学方法:使用 SPSS 17.0 统计软件处理数据, 计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 显著性检验用方差分析, 先检验方差齐性, 方差齐时选择 LSD 进行两两比较, 方差不齐时选择 Dunnett 进行两两比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 显微镜下观察人巨噬细胞的形态学改变(图 1):培养 1 d 后, 大部分细胞已经贴壁, 但细胞体积较小; 培养 4 d 时, 细胞体积增大, 少量细胞伸出很短的伪足; 培养 8 d 时, 细胞体积进一步增大, 伪足伸展明显; 培养 12 d 时, 细胞体积进一步明显增大, 形状从不规则形逐渐变成椭圆形, 大部分细胞呈煎蛋状, 少数为长梭形, 伪足进一步伸展和增加。

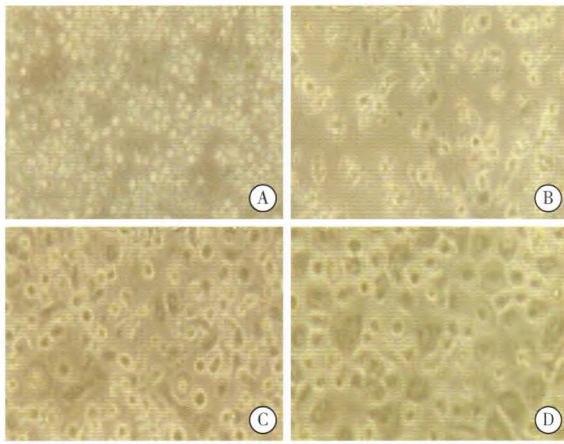


图 1 培养 1(A)、4(B)、8(C)、12 d(D) 人巨噬细胞的形态改变(中倍放大)

2.2 黄芪注射液对 LTA 或 LPS 刺激人巨噬细胞促炎因子 IL-8 蛋白含量和 mRNA 表达的影响(表 1~2): LTA 或 LPS 刺激后, IL-8 蛋白含量和 mRNA 表达均较对照组显著升高(均 $P < 0.05$); 黄芪注射液对 IL-8 蛋白含量和 mRNA 表达的升高有抑制作用, 培养 24 h 时, 高剂量黄芪组分别与 LTA 组和 LPS 组以及低剂量黄芪组比较表现出统计学差异(均 $P < 0.05$)。

2.3 黄芪注射液对 LTA 或 LPS 刺激人巨噬细胞抗炎因子 IL-10 蛋白含量和 mRNA 表达的影响(表 1~2): LTA 或 LPS 刺激后, IL-10 蛋白含量和 mRNA 表达均较对照组显著升高(均 $P < 0.05$); 黄芪注射液对 IL-8 蛋白含量和 mRNA 表达的升高有

促进作用, 培养 24 h 时, 高剂量黄芪组分别与 LTA 组和 LPS 组以及低剂量黄芪组比较表现出统计学差异(均 $P < 0.05$)。

3 讨论

脓毒症的发病机制是机体的过度炎症反应及免疫功能失衡^[6]。Osuchowski 等^[7]通过在一个多细菌感染脓毒症动物模型中发现, 促炎和抗炎因子处于动态变化水平; Li 等^[8]观察了 77 例住院 2 周的 SAP 患者细胞因子后发现, 血中肿瘤坏死因子- α (TNF- α), IL-6 均在入院当日明显升高, 2 周时有所下降, IL-10 的变化与 TNF- α 、IL-6 基本一致^[9]。这些研究结果表明, 在炎症早期就存在免疫功能紊乱, 全身炎症反应综合征/代偿性抗炎反应综合征(SIRS/CARS)在疾病进程中处于动态变化。SIRS 进程中由于炎性介质的“瀑布样”生成, 使机体发生“级联”放大效应, 将会导致自身损伤, IL-8 是重要的促炎因子, 对多形核中性粒细胞具有强大的趋化和激活作用, 能增强中性粒细胞溶酶体酶活性, 促进其吞噬作用, 达到杀菌的目的。CARS 进程中由于免疫麻痹, 使淋巴细胞的增殖能力下降和凋亡, 此时由于炎性细胞不能有效激活, 抗炎因子产生不足, 将会导致感染迁延或二重感染的发生^[10], 免疫缺陷者更易发生二重感染^[11]。有研究表明, CLP 术后 4 d 继发肺炎“二次打击”模型较单纯 CLP 所致脓毒症模型大鼠的死亡风险显著升高, 细菌清除能力和免疫细胞数量明显下降^[12], 考虑与 CARS 密切相

表 1 黄芪对 LTA 刺激人巨噬细胞 IL-8 及 IL-10 蛋白含量和 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	孔数 (孔)	IL-8 蛋白 (ng/L, $\times 10^3$)		IL-8 mRNA (A 值)		IL-10 蛋白 (ng/L)		IL-10 mRNA (A 值)	
		培养 8 h	培养 24 h	培养 8 h	培养 24 h	培养 8 h	培养 24 h	培养 8 h	培养 24 h
对照组	3	1.53 \pm 0.10	1.58 \pm 0.24	1.35 \pm 0.59	1.00 \pm 0.16	3.01 \pm 0.84	2.91 \pm 1.54	0.49 \pm 0.34	0.95 \pm 0.14
LTA 组	3	1.88 \pm 1.91 ^a	41.57 \pm 1.90 ^a	6.88 \pm 3.57 ^b	21.49 \pm 8.05 ^b	5.17 \pm 1.82 ^b	5.90 \pm 3.02 ^b	1.85 \pm 1.63	1.35 \pm 0.34 ^b
LTA + 低剂量 黄芪组	3	1.50 \pm 1.00 ^b	39.07 \pm 1.30 ^a	4.46 \pm 0.95 ^b	21.78 \pm 0.66 ^b	5.56 \pm 1.00 ^b	9.56 \pm 1.00 ^{ad}	1.77 \pm 0.06	2.89 \pm 1.04 ^b
LTA + 高剂量 黄芪组	3	1.00 \pm 0.44 ^{bc}	22.63 \pm 1.91 ^{bce}	5.11 \pm 1.58 ^a	12.10 \pm 1.93 ^{bce}	7.03 \pm 2.22 ^b	14.03 \pm 2.22 ^{ade}	2.06 \pm 0.69 ^a	10.73 \pm 6.08 ^{bce}

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$; 与 LTA 组比较, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 与 LTA + 低剂量黄芪组比较, ^e $P < 0.05$

表 2 黄芪对 LPS 刺激人巨噬细胞 IL-8 及 IL-10 蛋白含量和 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	孔数 (孔)	IL-8 蛋白 (ng/L, $\times 10^3$)		IL-8 mRNA (A 值)		IL-10 蛋白 (ng/L)		IL-10 mRNA (A 值)	
		培养 8 h	培养 24 h	培养 8 h	培养 24 h	培养 8 h	培养 24 h	培养 8 h	培养 24 h
对照组	3	4.49 \pm 0.24	5.60 \pm 0.31	2.49 \pm 0.34	1.00 \pm 0.16	33.72 \pm 1.33	44.79 \pm 3.67	1.57 \pm 0.44	1.35 \pm 0.34
LPS 组	3	233.78 \pm 2.12 ^a	345.00 \pm 22.80 ^a	18.74 \pm 2.81 ^b	29.84 \pm 8.93 ^b	97.26 \pm 8.81 ^a	122.37 \pm 39.26 ^a	3.14 \pm 0.97	7.38 \pm 1.58 ^a
LPS + 低剂量 黄芪组	3	198.34 \pm 0.23 ^b	335.43 \pm 20.12 ^{bc}	13.94 \pm 5.15 ^a	26.57 \pm 6.39 ^b	103.61 \pm 10.20 ^a	163.50 \pm 22.28 ^a	4.26 \pm 1.42	11.77 \pm 0.65 ^{ad}
LPS + 高剂量 黄芪组	3	224.94 \pm 11.32 ^a	167.75 \pm 19.90 ^{de}	9.00 \pm 0.19 ^a	15.61 \pm 3.63 ^{ade}	111.93 \pm 14.68 ^a	243.22 \pm 14.41 ^{bce}	5.48 \pm 2.99	16.14 \pm 4.10 ^{bde}

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与 LPS 组比较, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 与 LPS + 低剂量黄芪组比较, ^e $P < 0.05$

关^[9]。IL-10 具有很强的抗炎作用,能直接抑制巨噬细胞的功能和促炎介质的合成及活性。因此,维持促炎和抗炎细胞因子之间的动态平衡是减轻炎症反应,改善脓毒症预后的重要机制。

本研究选取促炎因子 IL-8 和抗炎因子 IL-10 作为观察指标,当革兰阴性(G⁻)菌的 LPS 和革兰阳性(G⁺)菌的 LTA 处理效应细胞人巨噬细胞时,细胞核内 IL-8 和 IL-10 的 mRNA 开始表达,在细胞核内转录水平变化的同时细胞外 IL-8 和 IL-10 蛋白出现相同变化趋势, LTA、LPS 均能明显上调巨噬细胞表达促炎因子 IL-8 及抗炎因子 IL-10,在培养 8 h 和 24 h 时 IL-8 及 IL-10 表达均较对照组明显升高,且随着时间延长表达逐渐升高,证实在炎症反应状态下,促炎和抗炎同时存在,并处于动态变化中,这与炎症过程中 SIRS/CARS 同时存在是一致的。黄芪注射液可降低 LTA、LPS 刺激巨噬细胞促炎因子 IL-8 蛋白和 mRNA 表达水平,增加 LTA、LPS 刺激巨噬细胞抗炎因子 IL-10 蛋白和 mRNA 表达,提示黄芪注射液可以抑制促炎反应、促进抗炎反应。

按中医学理论脓毒症发病过程中机体处于 SIRS/CARS 的动态变化与中医正邪的动态变化不谋而合。中医将人体与致病因素之间的相互作用称作正邪相争,疾病的发生与否以及发生的形式等取决于正气与邪气的盛衰及邪正相互作用的结果,“邪气盛则实,精气夺则虚”,虚实是一个相对概念,且处于不断地变化中,正胜邪退,则病愈,邪盛正衰,则病进^[13-14]。“正气存内,邪不可干”,“邪之所凑,其气必虚”,因此“早期扶正,积极扶正”将有助于阻止病情恶化,是中医未病先防思想的具体应用^[15]。随着研究的进展,中药以其价格低廉,毒副作用小,且很少有耐药赢得了越来越多的关注^[16]。黄芪注射液是一种常用的补气药,黄芪味甘,性微温,归肺脾二经,具有补气固表,利尿,托毒排脓,敛疮生肌之功效。现代药理学研究显示,黄芪注射液主要含皂苷类、黄酮类、多糖类及氨基酸类等,其具有增强非特异性免疫、体液免疫、细胞免疫功能的作用,且具有免疫调节及诱生干扰素的能力^[3, 14, 17-18],对于老年脓毒症患者,常规西医治疗联合黄芪注射液可改善其免疫功能^[19]。还有研究表明,黄芪注射液可以改善多器官功能障碍综合征(MODS)患者预后^[20],使促炎因子的蛋白和基因表达释放高峰下降,抗炎因子蛋白和基因表达量上升,释放高峰提前^[21]。由此可知,黄芪注射液具有双向调节作用,一方面可抑制促炎因子的释放,解毒祛邪,阻断疾病的进一步发

展,另一方面又可扶正祛邪,促进抗炎因子的释放,提高机体免疫力,进而改善脓毒症的预后。

综上所述,在炎症反应过程中,促炎和抗炎因子同时存在,黄芪注射液能抑制 G⁺ 菌及 G⁻ 菌脓毒症炎症反应中促炎因子的基因和蛋白表达,促进抗炎因子的基因和蛋白表达,进而影响脓毒症免疫机制,调节促炎和抗炎的动态平衡。但本研究仅在细胞分子水平上进行了部分探讨,其有效药用部位的物质基础及作用靶位尚没有明确定论。因此,还需进一步探索黄芪注射液抗炎机制的物质基础及作用靶位,为黄芪注射液应用于脓毒症的抗炎治疗奠定理论基础。

参考文献

- [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315(8): 801-810.
- [2] Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. current estimates and limitations [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2016, 193(3): 259-272.
- [3] 李淑芳. 中药黄芪药理作用研究进展[J]. 湖北中医杂志, 2013, 35(6): 73-75.
- [4] 常文秀, 高红梅, 曹书华. 脂磷壁酸对 A549 细胞分泌白细胞介素-8 的影响及量效关系研究[J]. 天津医药, 2008, 36(10): 806-808.
- [5] 路玲, 常文秀, 曹书华, 等. 小剂量脂多糖诱导血管内皮细胞 TLR4 的表达[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2012, 18(1): 47-51.
- [6] 贺能英, 严启滔, 郭振辉. 脓毒症的免疫反应与炎症[J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27(6): 435-438.
- [7] Osuchowski MF, Welch K, Siddiqui J, et al. Circulating cytokine/inhibitor profiles reshape the understanding of the SIRS/CARS continuum in sepsis and predict mortality [J]. J Immunol, 2006, 177(3): 1967-1974.
- [8] Li JP, Yang J, Huang JR, et al. Immunosuppression and the infection in patients with early SAP [J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2013, 18: 892-900.
- [9] 张江西, 廖雪莲, 康焰. 脓毒症患者免疫功能抑制状态的研究进展[J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27(9): 769-772.
- [10] 郑江, 郑新川. 以细菌主要病原体相关分子为靶标的脓毒症防治策略[J]. 第三军医大学学报, 2016, 38(4): 323-329.
- [11] 陈虹, 王旭, 范铁艳, 等. 实体器官移植术后患者肺部疾病的诊治难点及策略[J]. 实用器官移植电子杂志, 2015, 3(3): 149.
- [12] 陈颖颖, 李慧贤, 马帅, 等. “二次打击”脓毒症继发肺炎大鼠模型的构建与评价[J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27(10): 805-810.
- [13] 孙广仁. 中医基础理论[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 254-258.
- [14] 佚名. 黄帝内经·素问[M]. 辽宁: 辽海出版社, 2012: 118-122, 132-134, 388-392.
- [15] 李俊, 曾瑞峰, 奚小土, 等. 急性虚证与脓毒症[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2015, 22(3): 225-226.
- [16] 陶庆春. 中药对细菌抑菌作用的体外实验方法学研究[J]. 实用检验医师杂志, 2011, 3(1): 1-4.
- [17] 中华人民共和国药典委员会. 中国药典 2010 年版一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 283.
- [18] 段亚丽, 谢梅冬. 黄芪化学成分及其有效成分黄芪甲苷含量测定的研究现状[J]. 中国兽药杂志, 2005, 39(3): 35-38.
- [19] 任毅, 吴胜喜, 尹鑫, 等. 黄芪注射液改善老年脓毒症患者免疫功能的临床研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2014, 21(5): 323-327.
- [20] 高红梅, 王恩燕, 常文秀. 黄芪注射液对多器官功能障碍综合征免疫调节的实验研究[J]. 中国急救医学, 2011, 31(9): 807-810.
- [21] 路玲, 王勇强, 高红梅. 对黄芪调节革兰阳性菌脓毒症炎症反应部分机制的探讨[J]. 中国急救医学, 2015, 35(1): 9-14.

(收稿日期: 2017-01-21)