

泻火解毒法对竹叶青蛇伤致炎相关趋化因子及黏附分子的影响

何卫东 文丹 陈腾飞 吴晖 王华新 邵丹 翁淑琴 高芳琳 王一

350004 福建福州, 福建中医药大学附属人民医院急诊科

通讯作者: 文丹, Email: wendanfz@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2017.02.022

【摘要】目的 观察泻火解毒法对竹叶青蛇毒导致血管内皮炎症损伤相关趋化因子及黏附分子的影响。**方法** ① 动物实验: 取健康新西兰大白兔 50 只, 按计算机产生的随机数字分为正常对照组、模型组, 以及蛇伤胶囊低、中、高剂量组, 每组 10 只。采用经兔右后腿皮下注射 0.75 mL/kg 竹叶青蛇毒液的方法复制竹叶青蛇伤动物模型; 对照组给予等量生理盐水。制模后 6 h, 蛇伤胶囊低、中、高剂量组分别给予蛇伤胶囊溶液 174、348、522 mg·kg⁻¹·d⁻¹ (用生理盐水稀释为 17.4、34.8 和 52.2 g/L 的药液, 灌胃量均为 10 mL·kg⁻¹·d⁻¹); 模型组和正常对照组灌胃等量生理盐水; 均每日灌胃 1 次, 连续灌胃 1 周。于末次灌胃后 24 h 经耳缘静脉采血, 离心取血清备用。同时取兔腹主动脉全段, 保存于液氮中备用。② 细胞实验: 以改进的 Eagle 培养液 (MEM) 培养人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 24 h, 按计算机产生的随机数字分为空白对照组、模型组和蛇伤胶囊药物血清低、中、高剂量组, 每组 10 孔。于细胞培养液中加入 5 mg/L 竹叶青蛇毒液复制竹叶青蛇毒中毒细胞模型。培养 6 h 后, 模型组和空白对照组给予 10% 正常兔血清, 药物组给予 5%、10% 和 15% 含药血清。培养 72 h 后, 收集细胞提取总 RNA。用实时荧光定量聚合酶链反应 (qPCR) 检测兔腹主动脉及 HUVEC 白细胞介素 -8 (IL-8)、单核细胞趋化因子 -1 (MCP-1)、细胞间黏附分子 -1 (ICAM-1) 和血管内皮细胞黏附分子 -1 (VCAM-1) 的 mRNA 表达水平; 用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测兔血清 E-选择素 (CD62E) 含量。**结果** 模型组腹主动脉和细胞 IL-8、MCP-1、ICAM-1 和 VCAM-1 的 mRNA 表达水平及 CD62E 含量均较对照组显著升高 [以正常对照组和空白对照组 IL-8、MCP-1、ICAM-1 和 VCAM-1 的 mRNA 表达水平均为 1, 动物模型组上述指标的 mRNA 表达水平 (2^{-ΔΔCt}) 分别为 3.96±0.39、3.07±0.27、3.71±0.26、3.94±0.26, 细胞模型组上述指标的 mRNA 表达水平 (2^{-ΔΔCt}) 分别为 3.53±0.70、2.24±0.48、3.13±0.44、2.80±0.13, 均 P<0.01], 模型组血清 CD62E 含量亦较正常对照组显著升高 (μg/L: 1.31±0.22 比 0.82±0.13, P<0.01), 蛇伤胶囊低、中、高剂量组腹主动脉和细胞 IL-8、MCP-1、ICAM-1 和 VCAM-1 的 mRNA 表达水平均较模型组明显降低 [腹主动脉: IL-8 mRNA (2^{-ΔΔCt}) 为 1.13±0.19、1.26±0.16、1.27±0.17 比 3.96±0.39, MCP-1 mRNA (2^{-ΔΔCt}) 为 1.79±0.24、2.22±0.38、1.76±0.19 比 3.07±0.27, ICAM-1 mRNA (2^{-ΔΔCt}) 为 2.05±0.11、1.68±0.09、2.37±0.48 比 3.71±0.26, VCAM-1 mRNA (2^{-ΔΔCt}) 为 1.59±0.08、1.40±0.11、1.84±0.11 比 3.94±0.26; 细胞: IL-8 mRNA (2^{-ΔΔCt}) 为 2.33±0.59、2.82±0.82、2.51±0.77 比 3.53±0.70, MCP-1 mRNA (2^{-ΔΔCt}) 为 1.59±0.35、1.48±0.36、1.54±0.29 比 2.24±0.48, ICAM-1 mRNA (2^{-ΔΔCt}) 为 1.46±0.38、1.77±0.65、1.73±0.50 比 3.13±0.44, VCAM-1 mRNA (2^{-ΔΔCt}) 为 2.49±0.24、2.18±0.19、2.45±0.24 比 2.80±0.13, 均 P<0.05], 蛇伤胶囊中、高剂量组血清 CD62E 含量均较模型组明显降低 (μg/L: 1.01±0.14、1.04±0.13 比 1.31±0.22, 均 P<0.01), 但 3 个剂量组比较差异均无统计学意义 (均 P>0.05)。**结论** 泻火解毒法能通过抑制竹叶青蛇伤引起的炎症反应治疗竹叶青蛇伤血管内皮损伤。

【关键词】 泻火解毒法; 蛇伤胶囊; 竹叶青蛇; 炎症反应; 血管内皮损伤

基金项目: 国家自然科学基金 (81302978); 福建省自然科学基金 (2012J01379); 福建中医药大学校管课题重点学科专项 (X2014033- 学科, X2014034- 学科, X2014035- 学科)

The influence of purging fire and removing toxin on chemokines and adhesion factors related to inflammation induced by trimeresurus stejnegeri bites He Weidong, Wen Dan, Chen Tengfei, Wu Hui, Wang Huaxin, Shao Dan, Weng Shuqin, Gao Fanglin, Wang Yi

Department of Emergency, the Affiliated People's Hospital of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fujian 350004, Fuzhou, China

Corresponding author: Wen Dan, Email: wendanfz@163.com

【Abstract】Objective To investigate the influence of the purging fire and removing toxin method on chemokines and adhesion factors related to vascular endothelialitis injury induced by toxin of trimeresurus stejnegeri bite.

Methods ① Animal experiment: 50 healthy New Zealand white rabbits were chosen. According to random numbers generated by statistical software, they were divided into normal control group, model group, low, middle and high dose Sheshang capsule groups, 10 in each group. Trimeresurus stejnegeri bite model was replicated by injecting 0.75 mL/kg snake venom into subcutaneous tissues of rabbits' right hind legs. And the same volume of normal saline was injected into the rabbit in the normal control group. After the model was established for 6 hours, the rabbits in low, middle and high dose Sheshang capsule groups received 174, 348 and 522 mg·kg⁻¹·d⁻¹ of Sheshang capsule solution respectively (the content of capsules was dissolved in normal saline to make liquid with 17.4, 34.8 and 52.2 g/L Sheshang solution respectively, so the volume of gavage of each group was 10 mL·kg⁻¹·d⁻¹); in the model and normal control groups, the same amount of normal saline was given by gavage, once daily for consecutive one week. 24 hours after the last gavage,

the blood of the rabbits was collected through an auricular border vein and the serum was separated by centrifuge ready for use. Meanwhile, the whole abdominal aorta segment of the rabbit was harvested and kept them in liquid nitrogen ready for use. ② Cell experiment: human umbilical vascular endothelial cell (HUVEC) was cultured with MEM for 24 hours. The solution was replaced and according to the random number generated by statistical software, the cells were divided into blank control group, model group and low, middle, high dose Sheshang capsule medicinal serum groups, 10 wells in each group. Trimeresurus stejnegeri toxin cell model was reproduced by addition of 5 mg/L snake venom into the cell culture medium. After 6-hour culture, the cells of model group and blank control group received 10% normal rabbit serum, and the cells of low, middle and high dose Sheshang medicinal serum capsule groups received serum containing 5%, 10% and 15% drug, respectively. After culture for 72 hours, the cells were collected and the total RNA was extracted. The real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was used to detect the levels of mRNA of interleukin-8 (IL-8), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and vascular endothelial cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in the vascular endothelial cells of rabbit aorta abdominalis and human umbilical vein, and the content of serum E-select element (CD62E) was measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** In model group, the expression levels of mRNA in IL-8, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 and the content of CD62E were all increased significantly in the endothelial cells of rabbit aorta abdominalis and HUVEC compared with those in control group [when the mRNA expression levels of IL-8, MCP-1, ICAM-1 and VCAM-1 in normal and blank control group were all being 1, the mRNA expression levels ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) of the above mentioned inflammatory factors and adhesion molecule in animal model group were 3.96 ± 0.39 , 3.07 ± 0.27 , 3.71 ± 0.26 , 3.94 ± 0.26 , and the mRNA expression levels ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) of the above mentioned inflammatory factors and adhesion molecule in HUVEC model group were 3.53 ± 0.70 , 2.24 ± 0.48 , 3.13 ± 0.44 , 2.80 ± 0.13 , respectively, all $P < 0.01$]. The content of CD62E in serum was increased significantly in model group compared with that in normal control group ($\mu\text{g/L}$: 1.31 ± 0.22 vs. 0.82 ± 0.13 , $P < 0.01$), the mRNA expression levels of IL-8, MCP-1, ICAM-1 and VCAM-1 were decreased significantly in low, middle, high dose Sheshang capsule groups compared with those in model group in endothelial cells of aorta abdominalis of rabbits and HUVEC [abdominal aorta: IL-8 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) were 1.13 ± 0.19 , 1.26 ± 0.16 , 1.27 ± 0.17 vs. 3.96 ± 0.39 , MCP-1 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) were 1.79 ± 0.24 , 2.22 ± 0.38 , 1.76 ± 0.19 vs. 3.07 ± 0.27 , ICAM-1 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) were 2.05 ± 0.11 , 1.68 ± 0.09 , 2.37 ± 0.48 vs. 3.71 ± 0.26 , VCAM-1 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) were 1.59 ± 0.08 , 1.40 ± 0.11 , 1.84 ± 0.11 vs. 3.94 ± 0.26 ; HUVEC: IL-8 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) were 2.33 ± 0.59 , 2.82 ± 0.82 , 2.51 ± 0.77 vs. 3.53 ± 0.70 , MCP-1 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) were 1.59 ± 0.35 , 1.48 ± 0.36 , 1.54 ± 0.29 vs. 2.24 ± 0.48 , ICAM-1 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) were 1.46 ± 0.38 , 1.77 ± 0.65 , 1.73 ± 0.50 vs. 3.13 ± 0.44 , VCAM-1 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) were 2.49 ± 0.24 , 2.18 ± 0.19 , 2.45 ± 0.24 vs. 2.80 ± 0.13 , all $P < 0.05$]. The contents of CD62E were decreased significantly in middle, high dose Sheshang capsule groups compared with the content in model group ($\mu\text{g/L}$: 1.01 ± 0.14 , 1.04 ± 0.13 vs. 1.31 ± 0.22 , all $P < 0.01$), but there were no statistical significant differences among the three drug group (all $P > 0.05$). **Conclusion** The therapy of purging fire and removing toxin can treat vascular endothelial injury by inhibiting the inflammatory response induced by Trimeresurus stejnegeri bites.

【Key words】 Therapy of purging fire and removing toxin; Sheshang capsule; Trimeresurus stejnegeri; Inflammatory response; Vascular endothelial injury

本课题组前期研究表明,泻火解毒法代表方蛇伤胶囊能有效治疗竹叶青蛇伤^[1-4];进一步研究发现竹叶青蛇伤可造成血管内皮损伤,而泻火解毒法代表方蛇伤胶囊能有效抑制该损伤过程^[5-7]。本研究通过体内外实验观察泻火解毒法代表方蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤血管内皮细胞白细胞介素-8(IL-8)、单核细胞趋化因子-1(MCP-1)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、血管内皮细胞黏附分子-1(VCAM-1)的mRNA表达水平和E-选择素(CD62E)含量的影响,从炎症反应角度探究泻火解毒法治疗竹叶青蛇伤血管内皮损伤的作用机制。

1 材料与方法

1.1 研究分组及给药

1.1.1 动物实验: 5个月龄健康新西兰大白兔50只,体质量2.0~2.5 kg,由福建中医药大学动物实验中心提供,动物合格证号:SYXK(闽)2009-0001。按计算机产生的随机数字分为正常对照组、模型组和蛇伤胶囊低、中、高剂量组,每组10只。参照本课题组前期研究^[8]方法,经兔右后腿皮下注射

0.75 mL/kg 竹叶青蛇毒液复制竹叶青蛇伤动物模型;正常对照组给予等量生理盐水。制模后6 h,蛇伤胶囊低、中、高剂量组分别给予不同剂量蛇伤胶囊174、348和522 mg·kg⁻¹·d⁻¹,灌胃前用生理盐水将药粉稀释为17.4、34.8和52.2 g/L的药液,使灌胃量均为10 mL·kg⁻¹·d⁻¹;模型组和正常对照组则以10 mL·kg⁻¹·d⁻¹生理盐水灌胃。连续灌胃1周。

本实验中实验动物的处置方法符合动物伦理学标准。

1.1.2 细胞实验: 人脐静脉血管内皮细胞(HUVEC)以改进的Eagle培养液(MEM)培养24 h后,按计算机产生的随机数字分为空白对照组、模型组和蛇伤胶囊药物血清低、中、高剂量组(药物血清低、中、高剂量组),每组10孔。参照本课题组前期研究方法,在细胞培养液中加入5 mg/L竹叶青蛇毒液复制竹叶青蛇毒细胞模型^[7]。培养6 h后,空白对照组用MEM培养液+10%的正常兔血清培养,药物血清低、中、高剂量组分别给予5%、10%和15%蛇伤胶囊含药血清培养。

1.2 观察指标及方法

1.2.1 用实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)检测各组腹主动脉及细胞中 IL-8、MCP-1、ICAM-1 和 VCAM-1 的 mRNA 表达水平:取各组兔腹主动脉全段和细胞用于总 RNA 的提取,采用 TRIzol 裂解抽提总 RNA,逆转录合成 cDNA。反应条件为 37 °C、15 min,85 °C、5 s。用 qPCR 检测各组 IL-8、MCP-1、ICAM-1 和 VCAM-1 的 mRNA 表达水平,试剂盒由宝生物工程(大连)有限公司提供。反应条件为 95 °C 预变性 30 s;95 °C、3 s,60 °C、30 s,40 个循环。引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成。以 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)为内参,设置空白对照组为对照组,2^{-ΔΔCt} 法计算目的基因的相对表达量。

1.2.2 用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组血清 CD62E 含量:于末次灌胃后 24 h 于兔耳缘静脉采血,离心取血清,用 ELISA 检测血清 CD62E 水平,试剂盒由北京海泰通达科技有限公司提供。

1.3 统计学处理:使用 SPSS 19.0 统计软件分析数据,计量资料服从正态分布以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间数据比较采用单因素方差分析,单样本均数比较采用 *t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组兔腹主动脉 IL-8、MCP-1、ICAM-1、VCAM-1 的 mRNA 表达水平比较(表 1):模型组兔腹主动脉 IL-8、MCP-1、ICAM-1、VCAM-1 的 mRNA 表达水平均较正常对照组明显增加,各剂量蛇伤胶囊组较模型组明显降低(均 *P* < 0.01)。

表 1 各组兔腹主动脉 IL-8、MCP-1、ICAM-1、VCAM-1 的 mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	mRNA (2 ^{-ΔΔCt})			
		IL-8	MCP-1	ICAM-1	VCAM-1
正常对照组	10	1	1	1	1
模型组	10	3.96 ± 0.39 ^a	3.07 ± 0.27 ^a	3.71 ± 0.26 ^a	3.94 ± 0.26 ^a
蛇伤胶囊低剂量组	10	1.13 ± 0.19 ^b	1.79 ± 0.24 ^b	2.05 ± 0.11 ^b	1.59 ± 0.08 ^b
蛇伤胶囊中剂量组	10	1.26 ± 0.16 ^b	2.22 ± 0.38 ^b	1.68 ± 0.09 ^b	1.40 ± 0.11 ^b
蛇伤胶囊高剂量组	10	1.27 ± 0.17 ^b	1.76 ± 0.19 ^b	2.37 ± 0.48 ^b	1.84 ± 0.11 ^b

注:与正常对照组比较,^a*P* < 0.01;与模型组比较,^b*P* < 0.01

2.2 各组细胞 IL-8、MCP-1、ICAM-1、VCAM-1 的 mRNA 表达水平比较(表 2):模型组细胞 IL-8、MCP-1、ICAM-1、VCAM-1 的 mRNA 表达较空白对照组明显升高,各剂量药物血清组均较模型组明显降低(均 *P* < 0.05)。

表 2 各组细胞 IL-8、MCP-1、ICAM-1、VCAM-1 的 mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数(孔)	mRNA (2 ^{-ΔΔCt})			
		IL-8	MCP-1	ICAM-1	VCAM-1
空白对照组	10	1	1	1	1
模型组	10	3.53 ± 0.70 ^a	2.24 ± 0.48 ^a	3.13 ± 0.44 ^a	2.80 ± 0.13 ^a
药物血清低剂量组	10	2.33 ± 0.59 ^b	1.59 ± 0.35 ^b	1.46 ± 0.38 ^b	2.49 ± 0.24 ^b
药物血清中剂量组	10	2.82 ± 0.82 ^c	1.48 ± 0.36 ^b	1.77 ± 0.65 ^b	2.18 ± 0.19 ^b
药物血清高剂量组	10	2.51 ± 0.77 ^b	1.54 ± 0.29 ^b	1.73 ± 0.50 ^b	2.45 ± 0.24 ^b

注:与空白对照组比较,^a*P* < 0.01;与模型组比较,^b*P* < 0.01,^c*P* < 0.05

2.3 各组兔血清 CD62E 含量比较(表 3):模型组血清 CD62E 含量较正常对照组明显增加,蛇伤胶囊中、高剂量组均较模型组明显减少(均 *P* < 0.01)。

表 3 各组兔血清 CD62E 含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	CD62E(μg/L)
正常对照组	10	0.82 ± 0.13
模型组	10	1.31 ± 0.22 ^a
蛇伤胶囊低剂量组	10	1.27 ± 0.19
蛇伤胶囊中剂量组	10	1.01 ± 0.14 ^b
蛇伤胶囊高剂量组	10	1.04 ± 0.13 ^b

注:与正常对照组比较,^a*P* < 0.01;与模型组比较,^b*P* < 0.01

3 讨论

中国东南沿海气候温暖潮湿,属毒蛇分布的区域;其中竹叶青蛇是最常见的致伤蛇种,所占比例可达 29%^[9-11]。竹叶青蛇咬伤后主要表现为局部肿痛、皮肤及软组织坏死等,常引起凝血功能障碍而导致出血,并可导致多器官功能衰竭(MOF),甚至死亡^[12]。已有研究表明,竹叶青蛇毒所含金属蛋白酶可直接引起血管内皮细胞凋亡^[13]。而本课题组前期研究亦发现,竹叶青蛇伤后存在血管内皮损害,表现为血栓调节蛋白(TM)含量的增高^[5]。

MCP-1 和 IL-8 属趋化因子,可通过与血管内皮表面的 G 蛋白耦联受体结合,进而激活磷脂酶 C(PLC)。激活的 PLC 作用于膜磷脂,产生三磷酸肌醇(IP₃)和二酰甘油(DG),继而 IP₃ 与其受体结合,引起细胞内 Ca²⁺ 水平升高,升高的 Ca²⁺ 及上述产生的 DG 共同激活磷酸激酶 C(PKC),激活的 PKC 磷酸化下游蛋白,从而在炎症反应中发挥重要作用^[14-16]。其中, MCP-1 主要趋化单核细胞,而 IL-8 主要趋化中性粒细胞^[17]。ICAM-1、VCAM-1 和 CD62E 为黏附分子,其同样以受体-配体结合的形式发挥作用,使细胞与细胞间、细胞与基质间或细胞与基质细胞间发生黏附,参与细胞的识别、活化、信号转导、增殖、分化、伸展与移动等,也是炎症重要生理和病理过程的分子基础^[18-21]。ICAM-1、VCAM-1 和 CD62E 皆参与了炎性细胞在内皮损

伤的滚动过程,而 ICAM-1 和 VCAM-1 的富集部位(多为内皮细胞间连接处)将形成炎性细胞渗出的“出口”^[22]。本研究发现,给予竹叶青蛇毒后,动物腹主动脉和细胞中 MCP-1、IL-8、ICAM-1 和 VCAM-1 的 mRNA 表达水平均出现了不同程度升高,且 CD62E 含量亦增多。提示竹叶青蛇伤后炎症反应激活,活跃的炎症反应是引起血管内皮细胞损伤的原因之一。而众多研究也证实炎症反应是毒蛇咬伤病理生理过程的关键环节。如 Bernardes 等^[23]曾通过动物实验证实了巴伊亚矛头蝮蛇毒中所含金属蛋白酶可引起炎性细胞的聚集和 IL-6、IL-10 水平升高。具穹蝮蛇属的粗毒物和其纯化的肌肉毒素可造成腹膜炎,同时引起 IL-1 β 和 IL-6 水平的升高^[24]。而眼镜蛇毒能广泛引起 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、MCP-1、IL-8 等炎性介质含量的增多^[25]。

从抑制炎症反应角度出发治疗毒蛇咬伤也有一定疗效。Liu 等^[26]曾发现,一氧化氮(NO)可通过抑制炎症反应,达到治疗眼镜蛇科虎蛇蛇毒素所致肌肉损伤的效果。亦有报道称,地塞米松在减轻巴西具穹蝮蛇和巴西矛头蝮蛇毒所致的组织损伤方面作用确切,其机制与地塞米松抑制炎症反应有关^[27]。连续性肾脏替代治疗(CRRT)能有效清除蛇伤患者循环中的细胞因子和炎性介质^[28]。中医中药在抑制炎症反应方面也有一定的优势,四逆汤被发现具有双向调控炎症反应的作用^[29]。早期有效的中西医结合救治在毒蛇咬伤的治疗中至关重要^[30]。

竹叶青蛇咬伤证候属于中医学的火毒,基本治法为泻火解毒法,其代表方蛇伤胶囊治疗竹叶青蛇伤疗效确切^[1-4]。本课题组前期研究证实,蛇伤胶囊可通过降低 TM 及其级联产物的水平,维持血管内皮细胞分泌血管舒缩因子的平衡,并可降低血管性血友病因子(vWF)的含量,最终达到减轻血管内皮损伤的效果^[5-7]。而本研究发现,蛇伤胶囊对 MCP-1、IL-8、ICAM-1 和 VCAM-1 的 mRNA 表达均有不同程度的抑制作用,且能降低 CD62E 水平,表明泻火解毒法能通过抑制炎症反应的激活而达到治疗竹叶青蛇伤所致血管内皮细胞损伤的目的。

参考文献

- [1] 文丹,何卫东,王缓缓,等. 蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤患者凝血功能的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2015, 22(2): 151-153.
- [2] 文丹,何卫东,黄小宾,等. 蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤患者血小板及凝血时间的影响[J]. 蛇志, 2015, 27(3): 250-252.
- [3] 王缓缓,文丹,何卫东,等. 蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤患者 t-PA、PAI-1、TAT 及 SFMC 的影响[J]. 蛇志, 2015, 27(1): 22-24.
- [4] 文丹,王华新,何卫东. 蛇伤胶囊治疗竹叶青蛇咬伤 270 例[J]. 光明中医, 2011, 26(3): 529-530.
- [5] 文丹,何卫东,王缓缓,等. 蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤兔凝血功能

- 的影响[J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26(3): 193-194.
- [6] 文丹,何卫东,王缓缓,等. 蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤兔血小板功能的影响及其作用机制研究[J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26(8): 585-588.
- [7] 何卫东,文丹,陈腾飞,等. 蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤血管内皮细胞 TM/PC 系统的影响[J]. 蛇志, 2015, 27(3): 241-244.
- [8] 文丹,何卫东,王缓缓,等. 蛇伤胶囊对竹叶青蛇伤兔 CD62p、CD63、GP II b/III a 的影响[J]. 福建中医药大学学报, 2014, 24(6): 26-28.
- [9] Warrell DA. Snake bite [J]. Lancet, 2010, 375(9708): 77-88.
- [10] 施婉玲,黄小宾. 300 例蛇伤患者流行特征分析[J]. 福建中医药大学学报, 2007, 17(1): 14-15.
- [11] 郑荣生,戴春山. 500 例蛇伤患者流行特征分析[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15(5): 285-285.
- [12] 裴海华,李其斌,廖园莉,等. 146 例竹叶青蛇咬伤中毒的临床特点及疗效分析[J]. 广西医科大学学报, 2015, 32(2): 279-280.
- [13] Han YP, Lu XY, Wang XF, et al. Isolation and characterization of a novel P-II class snake venom metalloproteinase from *Trimeresurus stejnegeri* [J]. Toxicon, 2007, 49(7): 889-898.
- [14] Purohit S, Sharma A, Hopkins D, et al. Large-scale discovery and validation studies demonstrate significant reductions in circulating levels of IL-8, IL-1Ra, MCP-1, and MIP-1 β in patients with type 1 diabetes [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2015, 100(9): E1179-1187.
- [15] Christie JD, Vaslef S, Chang PK, et al. A randomized dose-escalation study of the safety and anti-inflammatory activity of the p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor dilmapirom in severe trauma subjects at risk for acute respiratory distress syndrome [J]. Crit Care Med, 2015, 43(9): 1859-1869.
- [16] Castellucci M, Rossato M, Calzetti F, et al. IL-10 disrupts the Brd4-docking sites to inhibit LPS-induced CXCL8 and TNF- α expression in monocytes: implications for chronic obstructive pulmonary disease [J]. J Allergy Clin Immunol, 2015, 136(3): 781-791.e9.
- [17] Palomino DC, Marti LC. Chemokines and immunity [J]. Einstein (Sao Paulo), 2015, 13(3): 469-473.
- [18] Guo Y, Mishra A, Howland E, et al. Platelet-derived Wnt antagonist Dickkopf-1 is implicated in ICAM-1/VCAM-1-mediated neutrophilic acute lung inflammation [J]. Blood, 2015, 126(19): 2220-2229.
- [19] Mukovozov I, Huang YW, Zhang Q, et al. The neurorepellent slit2 inhibits postadhesion stabilization of monocytes tethered to vascular endothelial cells [J]. J Immunol, 2015, 195(7): 3334-3344.
- [20] Le HM, Tu L, Ricard N, et al. Proinflammatory signature of the dysfunctional endothelium in pulmonary hypertension: role of the macrophage migration inhibitory factor/CD74 complex [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2015, 192(8): 983-997.
- [21] Schnoor M. Endothelial actin-binding proteins and actin dynamics in leukocyte transendothelial migration [J]. J Immunol, 2015, 194(8): 3535-3541.
- [22] Vestweber D. How leukocytes cross the vascular endothelium [J]. Nat Rev Immunol, 2015, 15(11): 692-704.
- [23] Bernardes CP, Menaldo DL, Mamede CC, et al. Evaluation of the local inflammatory events induced by BpirMP, a metalloproteinase from *Bothrops pirajai* venom [J]. Mol Immunol, 2015, 68(2 Pt B): 456-464.
- [24] Stuqui B, de Paula-Silva M, Carlos CP, et al. Ac2-26 mimetic peptide of annexin A1 inhibits local and systemic inflammatory processes induced by bothrops moojeni venom and the Lys-49 phospholipase A2 in a rat model [J]. PLoS One, 2015, 10(7): e0130803.
- [25] Khan F, Pharo A, Lindstad JK, et al. Effect of perfusion fluids on recovery of inflammatory mediators in microdialysis [J]. Scand J Immunol, 2015, 82(5): 467-475.
- [26] Liu X, Wu G, Shi D, et al. Effects of nitric oxide on notexin-induced muscle inflammatory responses [J]. Int J Biol Sci, 2015, 11(2): 156-167.
- [27] Patrão-Neto FC, Tomaz MA, Strauch MA, et al. Dexamethasone antagonizes the *in vivo* myotoxic and inflammatory effects of *Bothrops* venoms [J]. Toxicon, 2013, 69: 55-64.
- [28] 韩蜀莲,关天俊,黄德秋,等. 连续性肾脏替代治疗抢救蛇咬伤中毒 1 例报告[J]. 中华危重病急救医学, 2010, 22(1): 7.
- [29] 陈明祺,鲁俊,程璐,等. 四逆汤对脓毒症大鼠炎症反应及免疫功能的影响[J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26(3): 188-192.
- [30] 王猛,杨妮. 512 例毒蛇咬伤患者急诊救治分析[J]. 中国实用医药, 2016, 11(30): 36-38.

(收稿日期: 2017-01-10)