

喜炎平注射液对脂多糖诱导的急性肺损伤小鼠的保护作用

聂绍燕^{1,2)}, 范苏苏²⁾, 朱钰珊²⁾, 彭学容²⁾, 王洋³⁾, 张旋²⁾

(1) 云南省肿瘤医院/昆明医科大学第三附属医院/北京大学肿瘤医院云南医院药学部, 云南昆明 650118; 2) 昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室/云南省现代生物医药产业学院, 云南昆明 650500; 3) 昆明市延安医院药学部, 云南昆明 650051)

[摘要] **目的** 探讨喜炎平注射液对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的急性肺损伤(acute lung injury, ALI)小鼠的保护作用, 初步探讨其作用机制。**方法** 将 120 只小鼠随机分为正常对照组(NS)、ALI 模型组(LPS)、喜炎平注射液低剂量组(XYP-L, 18.96 mg/kg)、中剂量组(XYP-M, 37.92 mg/kg)、高剂量组(XYP-H, 75.83 mg/kg)和地塞米松阳性药组(DXM, 3.03 mg/kg), 共 6 组, 每组 20 只。每天固定时间点给予各药物组腹腔注射对应药物, NS 组和 LPS 组给予腹腔注射等体积的 0.9% 氯化钠注射液, 每天腹腔注射给药 1 次, 连续 3 d。末次给药 1 h 后, NS 组气管滴注等量生理盐水, 其余各组气管滴注 LPS。造模 24 h 后, 收集小鼠肺组织标本和支气管肺泡灌洗液, 计算肺系数。肉眼观察肺组织大体病理表现及显微镜下观察组织切片病理形态学改变, 在显微镜下计数肺泡灌洗液(broncho alveolar lavage fluid, BALF)中总细胞数, 二喹啉甲酸(bicin-choninic acid, BCA)法检测 BALF 中总蛋白含量, 酶联免疫吸附分析(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)法检测 BALF 中炎症细胞因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 和白细胞介素-8 (IL-8) 的含量, 丙二醛(malondialdehyde, MDA)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒检测小鼠肺组织中 MDA 含量和 SOD 的活力。**结果** 与 NS 组比较, LPS 组小鼠肺组织病理损伤严重, 肺系数、BALF 总细胞数、总蛋白浓度、TNF- α 、IL-1 β 、IL-8 含量明显升高($P < 0.001$), 肺组织 MDA 含量明显升高($P < 0.001$)、SOD 活力明显降低($P < 0.001$)。与 LPS 组比较, 给药组小鼠肺组织损伤均有所改善, 肺系数、BALF 总细胞数、总蛋白浓度、TNF- α 、IL-1 β 、IL-8 含量明显降低($P < 0.05$), 肺组织中 MDA 含量明显降低($P < 0.05$)、SOD 活力明显升高($P < 0.05$)。**结论** 喜炎平注射液对 LPS 诱导的小鼠 ALI 有一定的防治作用, 其作用机制与抗炎和抗氧化有关, 可通过下游炎症因子的释放来缓解肺部炎症, 同时通过抗氧化作用抑制 LPS 引起的肺组织氧化应激。

[关键词] 喜炎平注射液; 脂多糖; 急性肺损伤; 炎症; 氧化应激

[中图分类号] R965.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)11-0031-07

Protective Effects of Xiyanping Injection on Lipopolysaccharide-induced Acute Lung Injury in Mice

NIE Shaoyan^{1,2)}, FAN Susu²⁾, ZHU Yushan²⁾, PENG Xuerong²⁾, WANG Yang³⁾, ZHANG Xuan²⁾

(1) Dept. of Pharmacy, Yunnan Cancer Hospital/The 3rd Affiliated Hospital of Kunming Medical University/Beijing Cancer Hospital Yunnan Hospital, Kunming Yunnan 650118; 2) School of Pharmaceutical Sciences & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products/College of Modern Biomedical Industry, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500; 3) Dept. of Pharmacy, Yan'an Hospital of Kunming City, Kunming Yunnan 650051, China)

[Abstract] **Objective** To explore the protective effects of Xiyanping injection against lipopolysaccharide (lipopolysaccharide, LPS)-induced acute lung injury (acute lung injury, ALI) in mice, and preliminarily

[收稿日期] 2024-05-26

[基金项目] 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项基金资助项目(202101AY070001-010); 昆明医科大学抗炎与免疫调节药物研究科技创新团队基金资助项目(CXTD2022003)

[作者简介] 聂绍燕(1989~), 女, 云南昭通人, 医学硕士, 主管药师, 主要从事药理与药事管理研究工作。

[通信作者] 王洋, E-mail: 51220720@qq.com; 张旋, E-mail: snoopykm@126.com

investigate its mechanism. **Methods** The mice were randomly divided into the normal control group (NS), ALI model group (LPS), Xiyanning injection low dosage group (XYP-L, 18.96 mg/kg), medium dosage group (XYP-M, 37.92 mg/kg), and high dosage group (XYP-H, 75.83 mg/kg) and dexamethasone positive drug group (DXM, 3.03 mg/kg), with 20 in each group. Each group was injected intraperitoneally with the corresponding drug, once a day at the same time for 3 consecutive days. The NS and LPS groups were given the same 0.9% sodium chloride injection volume. Except for NS group, LPS was instilled into the trachea to induce the acute lung injury in mice 1 hour after the last administration of the above drugs. The lung tissue samples and broncho alveolar lavage fluid (BALF) samples were collected 24 hours after the intratracheal instillation of LPS. The lung coefficient was calculated. The pathological and morphological changes of lung tissue were observed macroscopically and microscopically. The total cell count in BALF was calculated under the microscope. The concentration of total protein in BALF was measured using the BCA (bicin-chonic acid) method. The content of inflammatory cytokines tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), and interleukin-8 (IL-8) in BALF was detected using the ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) method. The levels of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) in mouse lung tissue were measured using MDA and SOD assay kits. **Results** Compared with the NS group, the LPS group showed severe pathological damage in the lung tissue, increased lung coefficient, total cell count, total protein concentration, and elevated levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-8 in BALF ($P < 0.01$). The LPS group also exhibited the higher levels of MDA in the lung tissue ($P < 0.001$), decreased SOD activity ($P < 0.001$). The treatment groups showed the improvements in the lung tissue damage compared to the LPS group. The treatment groups exhibited the decreased lung coefficient, total cell count, total protein concentration, TNF- α , IL-1 β , and IL-8 levels in BALF ($P < 0.05$), reduced MDA content in lung tissue ($P < 0.001$), and increased SOD activity ($P < 0.05$). **Conclusions** Xiyanning injection has a certain protective effect on LPS-induced ALI in mice, and its mechanism is related to anti-inflammatory and antioxidant effects. It can alleviate the lung inflammation through inhibiting the release of downstream inflammatory factors and oxidative stress in the lung tissue caused by LPS through antioxidant effects.

[**Key words**] Xiyanning injection; Lipopolysaccharide; Network pharmacology; Acute lung injury; Inflammation oxidative stress

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是指机体在多种原发病和外界诱因作用下,以肺泡毛细血管膜为主要损伤部位,由失控的炎症反应导致以肺水肿和微小肺不张为病理特征,顽固性呼吸窘迫和难治性低氧血症为突出表现的全身炎症反应综合征^[1]。很多危险因素均可引发 ALI,主要包括淹溺、肺挫伤、严重的肺部感染、大量输血、DIC、休克、急性胰腺炎等^[2]。目前,临床上 ALI 的治疗手段基本分为 2 大类:机械治疗和药物治疗,其中机械治疗包括气道压力释放通气和肺保护性通气,通常以氧气为载体维持机体的呼吸功能,而药物治疗包括抗氧化剂、中草药、蛋白酶抑制剂、糖皮质激素和抗生素等^[3]。ALI 是 1 种常见的呼吸系统急危重症,死亡率高,发病机制不明确,尚无特效药,因此寻求防治药物十分迫切。

喜炎平注射液属于穿心莲内酯类中药制剂,由爵床科植物穿心莲经提取精制而成,主要成分为穿心莲内酯和穿心莲内酯总磺化物,具清热解

毒和止咳止痢的功效,可用于抗菌、抗炎、抗病毒、抗恶性肿瘤、镇咳和调节免疫等^[4]。喜炎平注射液在多版《新型冠状病毒肺炎诊疗方案》中被推荐使用,推荐用于重型病症中“气营两燔证”的治疗^[5]。喜炎平注射液可降低支气管炎小鼠 BALF 中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的含量,同时明显降低豚鼠咳嗽次数,延长咳嗽潜伏期,表明喜炎平注射液对支气管炎和咳嗽有显著的疗效^[6]。喜炎平注射液能有效抑制 TNF- α 、IL-1 β 、IL-8 等炎症因子在脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)处理的单核巨噬细胞中过度分泌,其作用机制与喜炎平注射液的抗炎作用类似,通过抑制核转录因子(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和 STAT3 等信号通路的活化,对 LPS 诱导的巨噬细胞释放炎症因子 TNF- α 、IL-6、NO、IL-8、IL-1 β 和 IL-4 等进行抑制^[7]。Peng 等^[8]发现穿心莲内酯磺酸盐可改善脂多糖诱导的气道炎症细胞浸

润和肺组织病理结构损伤, 同时降低肺组织中的炎症因子(如TNF- α 、IL-6、IL-1 β 等)的含量。由此可推测喜炎平注射液对ALI有一定的防治作用, 但其作用机制尚不清楚。

本研究采用LPS建立ALI小鼠动物模型, 从肺组织病理学、炎症细胞因子和氧化应激等指标探讨喜炎平注射液对ALI防治作用, 并初步探讨其作用机制, 为喜炎平注射液临床治疗ALI提供一定的理论依据。

1 材料与方 法

1.1 动物

SPF级5~7周龄健康雄性昆明种小鼠120只, 体重(20 \pm 2)g, 由昆明医科大学动物实验动物服务中心供应。实验动物使用许可证号: SCSK(滇)K2020-0006。实验期间, 于昆明医科大学科研楼4栋动物实验室饲养。适应性饲养3d(10只/笼), 温度(25~28) $^{\circ}$ C和湿度(50 \pm 5)%达标, 自由饮食和饮水。实验动物福利符合动物伦理学相关规定, 并获得昆明医科大学动物伦理委员会批准(KMMU2020111)。

1.2 药品及试剂

喜炎平注射液(江西青峰药业有限公司, 2mL: 50mg/支, 国药准字Z20026249), 地塞米松磷酸钠注射液(石药银湖制药有限公司, 1mL: 5mg/支, 国药准字H14022567), LPS(美国Sigma-Aldrich公司), MDA、SOD试剂盒(北京索莱宝生物科技有限公司), 苏木素-伊红染色液(上海碧云天), Mouse IL-1 β ELISA Kit(联科生物)、Mouse TNF- α ELISA Kit(联科生物), Mouse IL-8 ELISA Kit(欣博盛), BCA蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天)。

1.3 仪器

Count sta自动细胞计数仪(上海睿钰生物科技有限公司), Nikon DS-Ri2自动显微镜(日本Nikon公司), Scientific Multiskan GO酶标仪(美国Thermo scientific公司), 高速低温离心机(德国Sigma公司), BJ-40全自动制冰机(广州柯尼塔电器有限公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 动物分组与造模处理 将120只小鼠随机分为正常对照组(NS)、ALI模型组(LPS)、喜炎平注射液低剂量组(XYP-L, 18.96mg/kg)、中剂量组(XYP-M, 37.92mg/kg)、高剂量组(XYP-H,

75.83mg/kg)和地塞米松阳性药组(DXM, 3.03mg/kg), 共6组, 每组20只。每天固定时间点给予各药物组腹腔注射对应药物, NS组和LPS组给予腹腔注射等体积的0.9%氯化钠注射液, 每天腹腔注射给药1次, 连续3d。末次给药1h后, 戊巴比妥钠(30mg/kg)麻醉, 行气管切开术, 然后单次气管滴注LPS(5mg/kg), NS组单次气管滴注等量生理盐水。

1.4.2 支气管肺泡灌洗液(BALF)收集 气管滴注LPS造模术24h后, 对每组10只小鼠分别进行支气管肺泡灌洗液(broncho alveolar lavage fluid, BALF)收集, 戊巴比妥钠麻醉后, 使左右主支气管充分暴露, 用手术剪在气管上剪“倒V”字型切口, 由切口处小心将19G套管针插入气管, 水平进针约1cm, 拔除针芯, 小心插入1mL注射器后进行灌洗, 每次吸取0.9%氯化钠注射液约0.8mL, 重复2次。BALF离心(4 $^{\circ}$ C、3000g、10min)后, 取上清液, -80 $^{\circ}$ C储存待用。

1.4.3 肺组织标本收集与肺系数计算 气管滴注LPS造模术24h后, 对小鼠体重进行称重记录, 将每组10只小鼠颈部脱臼处死, 然后解剖打开胸腔, 暴露肺部, 小心仔细分离, 迅速取出肺组织, 并进行称重, 计算肺系数: 肺系数(%)=全肺湿重(mg) \div 体重(g) \times 100%。取左肺放入含有10%福尔马林溶液的离心管中固定, 用于行常规的石蜡包埋及组织切片HE染色, 右肺放入液氮中冷凝, 随后-80 $^{\circ}$ C储存待用。

1.4.4 肺组织病理学分析 肉眼观察肺组织大体病理表现, 按常规制作病理组织切片, 经HE染色后在光学显微镜下观察组织切片病理形态学改变。由经验丰富的病理学医师根据肺泡充血及出血、炎性细胞浸润、肺泡壁增厚等情况进行评分。评分标准为^[9]: 0级(无组织损伤)记1分, 1级(组织损伤小于20%)记2分, 2级(组织损伤20%~50%)记3分, 3级(组织损伤大于50%)记4分, 各项评分相加即为总评分, 每个切片随机切换3个视野, 计算平均值。

1.4.5 BCA法检测BALF中总蛋白浓度 BALF离心(4 $^{\circ}$ C、3000g、10min)后, 取上清液, 根据试剂盒说明书操作步骤, 采用BCA蛋白测定试剂盒定量检测BALF中总蛋白浓度。

1.4.6 BALF总细胞计数 BALF离心(4 $^{\circ}$ C、3000g、10min)后, 细胞沉淀加入PBS重悬, 取10 μ L PBS重悬液滴入细胞计数仪中, 测得各组细胞总数, 每组计数3次。

1.4.7 ELISA 检测 BALF 中 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-8 的含量 提前 30 min, 将酶标板及各试剂置于室温复苏平衡; 从冰箱取出 BALF 上清液, 置于冰上自然融化待测。严格按照 ELISA 试剂盒说明书, 采用双抗体夹心法进行 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-8 的含量检测。

1.4.8 肺组织匀浆 MDA 含量和 SOD 活力检测 从 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱取出适量右肺组织, 精密称量, 按组织重量(g): 体积(mL)=1:10 比例加入 10 倍体积提取液, 迅速置于冰盒玻璃匀浆器中, 进行冰浴匀浆, 多次充分研磨直至肉眼看不到组织为止, 然后离心(8000 g, 4 $^{\circ}\text{C}$, 10 min), 收集上清液置于冰上待用。根据试剂盒说明书操作步骤, 对肺组织匀浆上清液进行 MDA 含量和 SOD 活力检测。

1.5 统计学处理

实验数据采用 SPSS 20.0 统计分析软件进行统计学处理, 计量数据采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 不同组别之间差异比较采用单因素方差分析, SNK 检验或 q 检验进行组间两两比较, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义; 图形绘制采用 GraphPad Prism 8 软件。

2 结果

2.1 喜炎平注射液对 ALI 小鼠肺组织病理学的影响

实验结果显示, NS 组肺组织表面均匀光泽且呈粉红色, 组织水肿不明显且未见出血斑点; LPS 组小鼠肺组织出现严重水肿且有明显斑点状出血; 其余各药物组肺组织也都存在不同程度出血和水肿, 但较 LPS 组有所减轻。显微镜下观察病理可见: NS 组小鼠肺组织结构完好, 肺泡结构未受损害, 肺泡腔纹理清晰可见, 肺泡壁薄, 未

见肺泡及肺间质水肿, 未见出血及明显的炎症细胞浸润; LPS 组小鼠肺组织结构发生了明显的病理学改变: 肺泡结构受损、肺泡壁水肿、增厚、肺间隔增宽、可见大量炎症细胞浸润及出血。与同批次 NS 组比较, 各药物组小鼠肺组织病理结构, 仍有不同程度的炎症细胞浸润、肺泡壁增厚和肺间隔增宽, 与 LPS 组比较, 各药物组小鼠肺组织病理损伤均有不同程度减轻。结果表明, 喜炎平注射液能明显改善 LPS 诱导的小鼠 ALI 炎症病变, 减轻组织损伤程度, 见图 1。

实验结果显示, 与 NS 组比较, LPS 组肺炎评分显著增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.0001$), 各药物治疗组的肺炎评分也出现不同程度的增加。与 LPS 组比较, 喜炎平注射液各剂量组小鼠肺炎评分明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结果表明, 喜炎平注射液能降低 LPS 诱导 ALI 小鼠的炎症反应, 一定程度减轻小鼠肺部损伤, 见表 1。

2.2 喜炎平注射液对 ALI 小鼠体重与肺系数的影响

实验结果所示, 与 NS 组比较, LPS 组的小鼠平均体重明显降低 ($P < 0.01$), DXM 组小鼠平均体重也明显降低 ($P < 0.05$), 差异有统计学意义; 与 LPS 组比较, 喜炎平注射液各剂量组小鼠平均体重未见明显变化, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与 NS 组比较, LPS 组小鼠肺系数显著升高 ($P < 0.001$), 差异有统计学意义; 与 LPS 组比较, 各药物组肺系数均有不同程度的降低 ($P < 0.05$), 差异有统计学意义, DXM 组肺系数降低更为显著 ($P < 0.001$); 各药物组与 DXM 组相比, 肺系数差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结果表明: 喜炎平注射液能降低 ALI 小鼠肺系数, 减轻肺水肿程度, 见图 2。

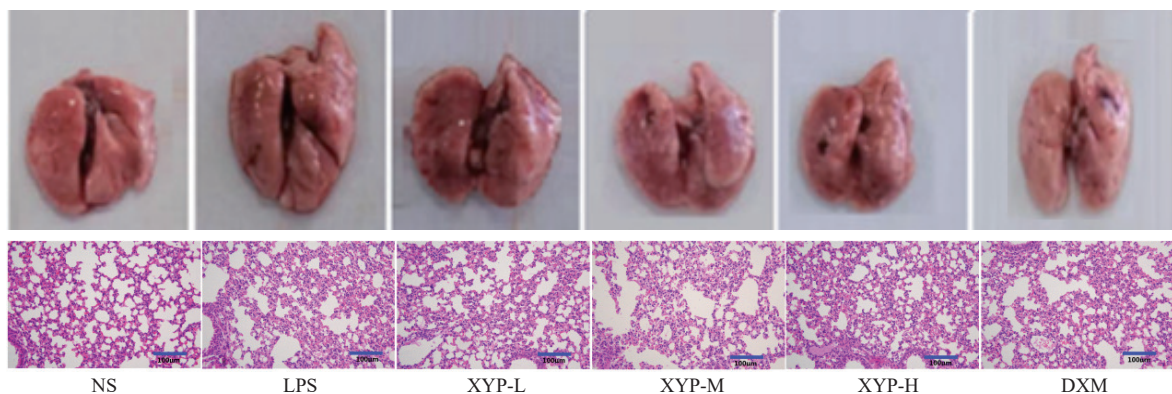


图 1 肺组织大体病理和显微病理改变(HE, 200 \times)

Fig. 1 Gross and microscopic pathological changes of lung tissues (HE, 200 \times)

NS: 正常对照组; LPS: ALI 模型组; XYP-L: 喜炎平注射液低剂量组; XYP-M: 喜炎平注射液中剂量组; XYP-H: 喜炎平注射液高剂量组; DXM: 地塞米松阳性药组。

表 1 各组小鼠病理组织切片肺炎评分 $[(\bar{x} \pm s), \text{分}]$
Tab. 1 Alveolitis score of mouse lung tissue $[(\bar{x} \pm s), \text{points}]$

| 组别 | 肺炎评分 | n | P | |
|-------|--------------|----|--------|--------|
| | | | 与NS比较 | 与LPS比较 |
| NS | 1.67±0.18 | 10 | | |
| LPS | 2.71±0.28*** | 10 | 0.0010 | |
| XYP-L | 2.38±0.38** | 10 | 0.0010 | 0.3279 |
| XYP-M | 2.33±0.44** | 10 | 0.0023 | 0.2104 |
| XYP-H | 2.17±0.25*# | 10 | 0.0388 | 0.0201 |
| DXM | 2.13±0.35# | 10 | 0.0719 | 0.0100 |

NS: 正常对照组; LPS: ALI模型组; XYP-L: 喜炎平注射液低剂量组; XYP-M: 喜炎平注射液中剂量组; XYP-H: 喜炎平注射液高剂量组; DXM: 地塞米松阳性药组; 与NS组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.0001$; 与LPS组比较, # $P < 0.05$ 。

2.3 BALF 中总细胞数和总蛋白浓度

实验结果显示, 与 NS 组比较, LPS 组总细胞数和总蛋白浓度明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.0001$), 与 LPS 组比较, 各药物剂量组总细胞数和总蛋白浓度均有所下降, 其中 XYP-M 组和

DXM 组总细胞数下降程度相当, 但整体无剂量依赖, 且 XYP-M、XYP-H 组和 DXM 组总蛋白浓度也明显降低 ($P < 0.0001$)。结果表明, 喜炎平注射液能显著降低 ALI 小鼠 BALF 中的总细胞数和总蛋白浓度, 降低 ALI 小鼠肺毛细血管通透性, 见表 2。

2.4 BALF 中 TNF- α 、IL-1 β 与 IL-8 浓度

LPS 可刺激炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 与 IL-8 的分泌。与 NS 组比较, LPS 组 TNF- α 、IL-1 β 与 IL-8 的浓度显著升高 ($P < 0.0001$); 与 LPS 组比较, XYP-L、XYP-M、XYP-H 组与 DXM 组均可降低 TNF- α 、IL-1 β 与 IL-8 浓度 ($P < 0.001$)。结果表明喜炎平注射液可降低炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 与 IL-8 的浓度, 从而减轻肺组织的炎症反应, 见表 3 ~ 表 5。

2.5 肺组织 MDA 含量和 SOD 活力测定

通过检测肺组织中 MDA 和 SOD 的水平, 评估喜炎平注射液对 LPS 诱导小鼠脂质过氧化物的影响。实验结果所示, 与同批次 NS 组相比, LPS 组小鼠肺组织 MDA 的含量显著增加 ($P < 0.0001$), SOD 活力显著降低 ($P < 0.0001$)。与 LPS 组相比,

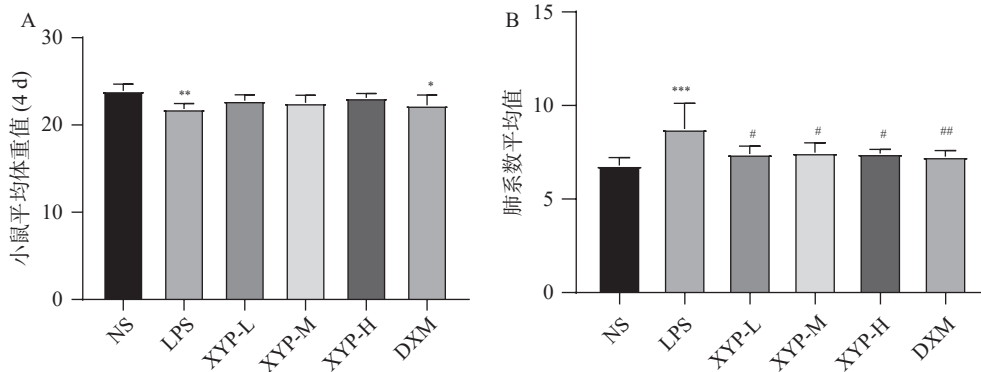


图 2 各组小鼠平均体重和肺系数 $(\bar{x} \pm s, n = 8)$

Fig. 2 The average weight and lung coefficient of mice in each group $(\bar{x} \pm s, n = 8)$

A: 各组小鼠平均体重; B: 各组小鼠肺系数; NS: 地塞米松阳性药组。与 NS 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与 LPS 组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

表 2 BALF 总细胞数和总蛋白浓度 $(\bar{x} \pm s, n = 10)$

Tab. 2 Total cell counts and protein concentration in BALF $(\bar{x} \pm s, n = 10)$

| 组别 | 总细胞数 ($\times 10^5$) | P | | 总蛋白浓度 (mg/mL) | P | |
|-------|---------------------------|-------|--------|------------------|-------|--------|
| | | 与NS比较 | 与LPS比较 | | 与NS比较 | 与LPS比较 |
| NS | 3.31±1.12 | | | 2.27±0.58 | | |
| LPS | 10.13±4.17*** | 0.000 | | 3.81±0.47*** | 0.000 | |
| XYP-L | 4.45±1.95### | 0.396 | 0.000 | 2.74±0.57## | 0.115 | 0.001 |
| XYP-M | 3.21±1.07### | 0.939 | 0.000 | 2.43±0.64### | 0.576 | 0.000 |
| XYP-H | 5.49±2.28## | 0.108 | 0.001 | 2.26±0.46### | 0.988 | 0.000 |
| DXM | 3.25±1.54### | 0.962 | 0.000 | 2.29±0.2### | 0.943 | 0.000 |

与NS组比较, *** $P < 0.001$; 与LPS组比较, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ 。

表 3 BALF 中 TNF- α 含量($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Tab. 3 The contents of TNF- α in BALF($\bar{x} \pm s, n = 6$)

| 组别 | TNF- α | P | |
|-------|---------------------|-------|--------|
| | | 与NS比较 | 与LPS比较 |
| NS | 6.05 \pm 2.12 | | |
| LPS | 16.62 \pm 6.76*** | 0.000 | |
| XYP-L | 9.54 \pm 1.97## | 0.094 | 0.001 |
| XYP-M | 9.55 \pm 3.09## | 0.094 | 0.001 |
| XYP-H | 6.11 \pm 2.24### | 0.976 | 0.000 |
| DXM | 6.7 \pm 2.18### | 0.750 | 0.000 |

与NS组比较, *** $P < 0.001$; 与LPS组比较, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ 。

表 4 BALF 中 IL-1 β 含量($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Tab. 4 The contents of IL-1 β in BALF($\bar{x} \pm s, n = 6$)

| 组别 | IL-1 β | P | |
|-------|--------------------|-------|--------|
| | | 与NS比较 | 与LPS比较 |
| NS | 2.38 \pm 0.27 | | |
| LPS | 5.22 \pm 2.32*** | 0.000 | |
| XYP-L | 3.39 \pm 0.97# | 0.110 | 0.005 |
| XYP-M | 3.17 \pm 0.47*## | 0.206 | 0.002 |
| XYP-H | 2.26 \pm 0.36### | 0.842 | 0.000 |
| DXM | 2.54 \pm 1.06### | 0.804 | 0.000 |

与NS组比较, * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$; 与LPS组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ 。

XYP-M、XYP-H 和 DXM 组小鼠肺组织 MDA 含量显著下降($P < 0.001$), SOD 活力显著升高($P < 0.05$)。结果表明, 喜炎平注射液能降低小鼠肺组织 MDA 含量, 升高 SOD 活力, 具有一定的抗氧化作用, 见表 6。

3 讨论

ALI 发生的本质原因是炎症细胞的过度激活, 引起失控性炎症反应, 从而引起肺组织损伤、肺泡及毛细血管通透性增强。ALI 既是全身系统炎症反应在肺部发生病变的临床表现, 也是机体正常炎症反应过度激活的结果。炎症细胞和炎症因子组成了 ALI 炎症反应的细胞网络和细胞因子网

表 5 BALF 中 IL-8 含量($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Tab. 5 The contents of IL-8 in BALF($\bar{x} \pm s, n = 6$)

| 组别 | IL-8 | P | |
|-------|-----------------------|-------|--------|
| | | 与NS比较 | 与LPS比较 |
| NS | 73.49 \pm 19.33 | | |
| LPS | 306.45 \pm 70.12*** | 0.000 | |
| XYP-L | 234.05 \pm 145.15** | 0.002 | 0.133 |
| XYP-M | 161.48 \pm 52.28## | 0.070 | 0.004 |
| XYP-H | 109.06 \pm 60.18### | 0.454 | 0.000 |
| DXM | 132.44 \pm 82.57## | 0.218 | 0.001 |

与NS组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与LPS组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ 。

络, 在炎症反应中促炎因子与抗炎因子经常处于平衡、失衡, 相互对立统一的变化之中, 2 者的相对变化决定着疾病的走向^[10]。因此, 尽早抑制过度的炎症反应是有效防治 ALI 的重要途径。

LPS 是经典的 ALI 动物模型诱导剂^[11]。本研究采用气管滴注脂多糖复制急性肺损伤小鼠模型, 显微镜下可见模型小鼠肺组织表现出经典的急性肺损伤病理特征: 大量炎症细胞组织浸润、肺泡壁增厚, 肺泡间隔增宽, 肺泡腔缩小, 部分肺泡塌陷, 局部肺泡腔内出现少见的出血等现象, 结果表明 ALI 小鼠模型建立成功。

LPS 可激活巨噬细胞释放中性粒细胞趋化因子 IL-8, 招募中性粒细胞向肺内迁移、浸润, 同时释放炎症细胞因子。中性粒细胞释放大量的中性粒细胞弹性酶会引起肺泡毛细血管通透性增高, 血液中的细胞及蛋白质可透过气血屏障进入肺泡腔, 造成肺泡内的总细胞数目及蛋白增多, BALF 中总细胞数量和总蛋白水平会明显升高^[12]。本研究发现, ALI 小鼠 BALF 中总细胞数量和总蛋白水平以及炎症细胞因子明显升高, 而喜炎平注射液能够显著降低 ALI 小鼠 BALF 中总细胞数和总蛋白浓度以及炎症细胞因子水平, 表明喜炎平注射液可降低肺泡毛细血管通透性, 抑制炎症因子

表 6 肺组织 MDA 含量和 SOD 活性($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Tab. 6 The contents of MDA and SOD activity in lung tissue($\bar{x} \pm s, n = 6$)

| 组别 | MDA (nmol/g) | P | | SOD(U/g) | P | |
|-------|----------------------|-------|--------|---------------------------|-------|--------|
| | | 与NS比较 | 与LPS比较 | | 与NS比较 | 与LPS比较 |
| NS | 41.50 \pm 3.09 | | | 22968.25 \pm 1616.73 | | |
| LPS | 65.05 \pm 10.68*** | 0.000 | | 13884.96 \pm 999.61*** | 0.000 | |
| XYP-L | 54.98 \pm 1.77*** | 0.003 | 0.019 | 17737.02 \pm 706.5*** | 0.005 | 0.029 |
| XYP-M | 43.86 \pm 6.09### | 0.553 | 0.000 | 19573.48 \pm 673.39## | 0.052 | 0.003 |
| XYP-H | 42.99 \pm 3.57### | 0.707 | 0.000 | 21019.01 \pm 2879.11### | 0.247 | 0.000 |
| DXM | 41.52 \pm 2.41### | 0.996 | 0.000 | 22831.06 \pm 4354.56### | 0.934 | 0.000 |

与NS组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与LPS组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ 。

的分泌。肺系数是反映肺水肿程度的重要指标, 间接反映肺部炎症反应程度和肺泡毛细血管通透性程度。本研究发现 ALI 小鼠肺系数明显升高, 而喜炎平注射液能够显著降低 ALI 小鼠肺系数, 表明喜炎平注射液能够减轻 ALI 肺水肿程度。

氧化应激(oxidative stress, OS)和炎症反应相互促进, 相互协同, 均在 ALI 发生过程中发挥重要作用。诱发 ALI 的各种因素可引起氧化应激, 导致肺内氧化与抗氧化反应失衡^[13]。为了探究喜炎平注射液是否能够通过发挥抗氧化作用减轻 ALI 时肺内氧化应激反应, 本研究检测了 ALI 小鼠肺组织 MDA 含量和 SOD 活力, 结果发现, LPS 诱导的 ALI 小鼠肺组织的 MDA 含量升高, SOD 活力降低, 而喜炎平注射液能不同程度的下调 ALI 小鼠肺组织 MDA 含量, 提升 SOD 活力, 表明喜炎平注射液具有一定的抗氧化作用, 可有效地抑制氧化应激, 减轻氧化损伤。

综上所述, 喜炎平注射液对 LPS 诱导的小鼠 ALI 有一定的防治作用, 其作用机制与抗炎和抗氧化作用有关, 可通过下游炎症因子的释放来缓解肺部炎症, 同时通过抗氧化作用抑制 LPS 引起的肺组织氧化应激。本研究可为喜炎平注射液治疗 ALI 提供一定的参考依据。

[参考文献]

- [1] Butt Y, Kurdowska A, Allen T C. Acute lung injury: A clinical and molecular review[J]. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 2016, 140(4): 345-350.
- [2] Lee C, Choi W J. Overview of COVID-19 inflammatory pathogenesis from the therapeutic perspective[J]. *Archives of Pharmacological Research*, 2021, 44(1): 99-116.
- [3] Andrews P L, Shiber J R, Jaruga-Killeen E, et al. Early application of airway pressure release ventilation may reduce mortality in high-risk trauma patients: A systematic review of observational trauma ARDS literature[J]. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 2013, 75(4): 635-641.
- [4] Gao F, Liu X, Shen Z, et al. Andrographolide sulfonate attenuates acute lung injury by reducing expression of myeloperoxidase and neutrophil-derived proteases in mice[J]. *Frontiers in Physiology*, 2018, 9(9): 939.
- [5] Guan S P, Kong L R, Cheng C, et al. Protective role of 14-deoxy-11, 12-didehydroandrographolide, a nontoxic analogue of andrographolide, in allergic airway inflammation[J]. *Journal of Natural Products*, 2011, 74(6): 1484-1490.
- [6] 蒋春红, 曾君南, 戴岳, 等. 喜炎平注射液抗支气管炎和镇咳的作用研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(7): 956-960.
- [7] Yang Q W, Li Q, Zhang J, et al. Crystal structure and anti-inflammatory and anaphylactic effects of andrographolide sulfonate E in Xiyanping, a traditional Chinese medicine injection[J]. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2019, 71(2): 251-259.
- [8] Shuang P, Jian G, Wen L, et al. Andrographolide ameliorates OVA-induced lung injury in mice by suppressing ROS-mediated NF- κ B signaling and NLRP3 inflammasome activation[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(49): 80262.
- [9] Szapiel S V E N, Fulmer J D, Hunninghake G W, et al. Bleomycin-induced interstitial pulmonary disease in the nude, athymic mouse[J]. *Am Rev Respir Dis*, 1979, 120(4): 893-899.
- [10] Ma Q, Ren M, Luo J. San Wu Huangqin decoction regulates inflammation and immune dysfunction induced by influenza virus by regulating the NF- κ B signaling pathway in H1N1-infected mice[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, 264(1): 112800.
- [11] 付静怡, 汪雷, 杨昇. 急性肺损伤动物模型建立的研究进展 [J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2021, 41(5): 690-694.
- [12] Yao Y M, Mu J, Sun J, et al. Effect of the Tang herb on the pharmacokinetics of lopinavir in rats[J]. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 2014, 23(1): 28-32.
- [13] Gungor H, Ekici M, Onder Karayigit M, et al. Zingerone ameliorates oxidative stress and inflammation in bleomycin-induced pulmonary fibrosis: Modulation of the expression of TGF- β 1 and iNOS[J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2020, 393(9): 1659-1670.