

青蒿素改善脓毒症小鼠急性肺损伤的剂量相关性研究

赵长甲¹, 张琪¹, 姜波¹, 薛庆¹, 许航², 任珊^{1,2,3}✉

(1. 石河子大学第一附属医院, 新疆石河子 832008; 2. 新疆生产建设兵团危重症疾病临床医学研究中心, 新疆石河子 832000; 3. 石河子大学第一附属医院重症医学一科, 新疆石河子 832008)

[摘要] **目的:** 探讨不同剂量青蒿素 (artemisinin, ART) 对革兰氏阳性 (G+) 和革兰氏阴性 (G-) 脓毒症小鼠急性肺损伤的保护作用及其剂量依赖关系。 **方法:** 90 只 C57BL/6 小鼠随机分入金黄色葡萄球菌 (G+) 和大肠杆菌 (G-) 两大组, 每组包括假手术组、G+/G- 脓毒症模型组、脓毒症+2% 二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 对照组、脓毒症+不同剂量 ART (5、10、15、20、25 mg/kg) 分组。分别检测各实验组血清和支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 中促炎因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和抗炎因子白细胞介素-10 (interleukin-10, IL-10) 水平、肺组织湿/干重比 (W/D) 和 H&E 染色评分。 **结果:** ART 治疗组随着剂量递增 (5~25 mg/kg) 表现出明显的剂量依赖性保护作用: (1) 炎症因子水平呈剂量依赖性改善, 25 mg/kg 剂量组小鼠 BALF 中 TNF- α 和 IL-6 水平明显降低, 同时 IL-10 水平升高 ($P < 0.05$); (2) 肺组织水肿随剂量增加逐步缓解, 高剂量组 (20、25 mg/kg) 明显降低肺组织 W/D 比值 ($P < 0.05$); (3) 病理损伤程度呈剂量依赖性减轻, 25 mg/kg 剂量组最为明显, 表现为炎症细胞浸润减少、肺泡结构损伤改善。各剂量组中 25 mg/kg 表现出最佳的保护作用。 **结论:** ART 对脓毒症诱导的急性肺损伤具有明显的剂量依赖性保护作用, 25 mg/kg 为最佳治疗剂量。其作用机制可能与剂量依赖性抑制促炎因子释放、促进抗炎因子表达以及改善肺水肿有关, 为 ART 在脓毒症相关急性肺损伤中的临床应用提供了重要依据。

[关键词] 青蒿素; 脓毒症; 肺损伤; 炎症因子; 剂量依赖性

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-5953(2026)01-0020-08

Dose-dependent study of artemisinin improving acute lung injury in septic mice

ZHAO Changjia¹, ZHANG Qi¹, JIANG Bo¹, XUE Qing¹, XU Hang², REN Shan^{1,2,3}✉

(1. The First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832008, China; 2. Xinjiang Production and Construction Corps Critical Care Medicine Clinical Medical Research Center, Shihezi 832000, China; 3. Department of Intensive Care Unit I, the First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832008, China)

[Foundation Project]: This study was supported by the Central Government Guided Local Science and Technology-Xinjiang Production and Construction Corps Clinical Medical Research Center (Bing Ke Fa 2022-6); Corps Guidance Program Project (2023ZD020, 2023ZD003); Eighth Division Shihezi City Young and Middle-aged Science and Technology Innovation Leading Talent Plan Project (2020RC001)

[Author]: ZHAO Changjia, E-mail: 1549814630@qq.com.

[Correspondence to]: REN Shan, Ph.D., Chief Physician, Associate Professor, Master's Supervisor, E-mail: newlyshan@163.com.

Received: 2024-08-21

Revised: 2024-11-28

JHMU, 2026;32(1):20-27

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] Objective: To investigate the protective effects and dose-dependent relationship of different doses of artemisinin (ART) on acute lung injury in septic mice induced by Gram-positive (G+) and Gram-negative (G-) bacteria. **Methods:** A total of 90 C57BL/6 mice were randomly divided into the *Staphylococcus aureus* (G+) and *Escherichia coli* (G-) groups. Each group

[基金项目] 中央引导地方科技-新疆生产建设兵团危重症疾病临床医学研究中心 (兵科发 2022-6); 兵团指导性计划项目 (2023ZD020, 2023ZD003); 八师石河子市中青年科技创新领军人才计划项目 (2020RC001)

[作者简介] 赵长甲, E-mail: 1549814630@qq.com。

[通讯作者] 任珊, 博士, 主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, E-mail: newlyshan@163.com。

[收稿日期] 2024-08-21

[修回日期] 2024-11-28

网络出版时间: 2024-12-17 16:26:29

included the sham surgery, G+/G- sepsis model, sepsis+2% dimethyl sulfoxide (DMSO) control, and sepsis+different doses of ART (5, 10, 15, 20, 25 mg/kg) subgroups. Pro-inflammatory cytokines [tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin 6 (IL-6)] and anti-inflammatory cytokine interleukin 10 (IL-10) levels in serum and bronchoalveolar lavage fluid (BALF), lung wet/dry weight ratio (W/D), and H&E staining scores were measured in each experimental group. **Results:** ART treatment groups demonstrated significant dose-dependent protective effects with increasing dosages (5–25 mg/kg): (1) Inflammatory cytokine levels showed dose-dependent improvement, with the 25 mg/kg dose group significantly reducing TNF- α and IL-6 levels while increasing IL-10 level in mice BALF ($P<0.05$); (2) Pulmonary edema gradually improved with increasing dosages, with high-dose groups (20, 25 mg/kg) significantly reducing lung tissue W/D ratios ($P<0.05$); (3) Pathological damage showed dose-dependent alleviation, most significantly in the 25 mg/kg group, characterized by reduced inflammatory cell infiltration and improved alveolar structure. Among all dosage groups, 25 mg/kg demonstrated the optimal protective effect. **Conclusion:** ART exhibits significant dose-dependent protective effects against sepsis-induced acute lung injury, with 25 mg/kg being the optimal therapeutic dose. The mechanism may be related to dose-dependent inhibition of pro-inflammatory cytokine release, promotion of anti-inflammatory cytokine expression, and improvement of pulmonary edema. These findings provide important evidence for the clinical application of ART in sepsis-related acute lung injury.

[Key words] Artemisinin; Sepsis; Lung injury; Inflammatory factors; Dose-dependency

脓毒症是由感染引起的全身性炎症反应综合征,其特征是由于宿主免疫系统对各种感染病原体失控的炎症反应而引发的一系列病理生理变化^[1]。脓毒症是重症医学病房中常见的严重危及患者生命的主要疾病之一,尽管近年来关于脓毒症的临床研究层出不穷,但脓毒症的死亡率依然居高不下^[2]。脓毒症可导致多个重要器官的功能障碍,其中急性肺损伤是常见且严重的并发症之一,往往发展成急性呼吸窘迫综合征,严重威胁患者生命^[3]。急性肺损伤的病理特征包括肺泡上皮细胞和血管内皮细胞损伤、肺泡结构破坏、炎症细胞浸润及肺水肿,这些病理改变共同导致肺功能明显受损^[4]。在脓毒症病程发展中,促炎和抗炎因子的动态失衡被认为是导致这些病理改变的重要因素^[5]。促炎因子如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)等在脓毒症的早期发挥重要作用,能迅速招募并激活免疫细胞,导致炎症扩散和器官损伤^[6]。而在脓毒症晚期,抗炎因子如白细胞介素-10 (interleukin-10, IL-10)的分泌在抑制过度炎症和促进组织修复方面起到重要作用,却在某些情况下会导致免疫抑制,从而影响感染清除^[7]。

目前,对于脓毒症的治疗手段仍然以抗生素、液体复苏、以及生命支持为主,特异性的抗炎药物及其他辅助治疗手段效果并不理想^[8]。近年来,因具有良好的安全性和多种生物学活性^[9],源自天然产物的药物受到广泛关注。其中青蒿素 (artemisinin, ART)及其衍生物是一类从中药青蒿中提取的倍半萜内酯类化合物,最初被用于疟疾的治疗,然而近年来多项研究表明其在多种炎症性疾病和肿瘤中的应用前景广泛^[10]。ART具有明显的抗炎、抗氧化和免疫调节作用,其在脓毒症中的保护效应逐

渐受到关注^[11]。亦有研究表明,ART可通过抑制核因子- κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B)信号通路,减少促炎因子的释放,进而减轻由内毒素诱导的急性炎症反应^[12]。此外,ART还能抑制NLRP3炎性小体的激活,减少炎症因子如白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)的产生^[13]。然而,目前关于ART对于脓毒症后脏器功能障碍的相关性研究仍然有限,尤其是其对脓毒症急性肺损伤的具体效果尚缺乏系统的比较研究。

本研究通过建立革兰氏阳性(G+)和革兰氏阴性(G-)脓毒症小鼠急性肺损伤模型,评估ART在不同剂量下对脓毒症急性肺损伤的保护作用,探讨其发挥作用的可能机制,为脓毒症后脏器功能障碍的诊疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 选用健康的雄性C57BL/6小鼠90只,体重(25 \pm 5)g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,生产许可证号:SCXK(京)2024-0001,使用许可证号:SYXK(京)-0010,置于石河子大学实验动物中心SPF级屏障系统内、温度(22.5 \pm 0.5) $^{\circ}$ C、湿度(50 \pm 5)%、12h光照/12h黑暗环境中自由饮食饮水,定期通风。本实验经石河子大学第一附属医院实验动物伦理委员会审查并通过(A2023-241-01),符合3R原则。

1.1.2 药品与试剂 ART(批号:N1827)购自apex-bio;IL-10 ELISA检测试剂盒(货号:MU30055)、IL-6 ELISA检测试剂盒(货号:MU30044)、TNF- α ELISA检测试剂盒(货号:MU30030)购自武汉贝莱生物科技有限公司。

1.1.3 仪器 AMR-100型酶标分析仪、APW-200型酶标洗板机(杭州奥盛仪器有限公司);TG16W

型微量高速离心机(湖南湘仪);GNP-9080型隔水式恒温培养箱(上海精宏);DM3000正置显微镜(莱卡显微系统有限公司)。

1.1.4 细菌制备 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*) ATCC 6538 和大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*) ATCC 25922 由石河子大学第一附属医院检验中心惠赠。实验前将冻存于 -80°C 的菌株解冻后,接种于LB液体培养基中, 37°C 培养12~16 h,至对数生长期(OD600值0.6~0.8)。菌液通过PBS稀释至目标浓度:*S. aureus* 9×10^8 CFU/mL, *E. coli* 9×10^7 CFU/mL(细菌最适成模浓度已通过预实验验证)。浓度经分光光度法和稀释涂布法双重验证,确保悬液均一和造模质量。稀释后的细菌悬液在 4°C 短期存储,24 h内使用。

1.1.5 ART混悬液的制备 无菌条件下,将100 mg ART溶于2 000 μL 二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)配置成母液,(母液浓度为50 mg/mL),取母液20 μL 加入DMSO至100 μL 配置成母液1,取母液40 μL 加入DMSO至100 μL 配置成母液2,取母液60 μL 加入DMSO至100 μL 配置成母液3,取母液80 μL 加入DMSO至100 μL 配置成母液4。保存在 -80°C 冰箱,以2%母液+98% PBS配置成混悬液。

1.2 脓毒症动物模型的构建及验证

参考课题组前期研究、文献[14-18]及预实验,采用腹腔注射*S. aureus*(G+)和*E. coli*(G-)悬液的方法建立小鼠脓毒症模型。

G+/G-脓毒症模型组:*S. aureus*用于G+脓毒症模型构建,注射量为1.0 mL(9×10^8 CFU/mL);*E. coli*用于G-脓毒症模型构建,注射量为1.0 mL(9×10^7 CFU/mL)。

G+/G-脓毒症+ART不同剂量组(ART组):G+/G-脓毒症模型构建成功后给予不同剂量的ART(5、10、15、20、25 mg/kg)^[19,20]混悬液灌胃(5 mL/12 h)。

G+/G-脓毒症+2%DMSO组(DMSO组):G+/G-脓毒症模型构建成功后给予2% DMSO灌胃。

假手术组(Sham组):手术步骤同G+/G-脓毒症模型组,给予等量生理盐水腹腔注射。

各种模型构建后,观察并记录小鼠的活动水平、饮水量、精神状态和呼吸情况。造模成功的标准为小鼠出现活动减少、饮水减少、精神萎靡不振、呼吸急促等典型脓毒症症状。H&E肺组织染色验证脓毒症急性肺损伤模型。造模成功的标准:H&E

染色下肺泡结构破坏,肺间隔增厚、水肿,局部有透明膜形成,肺泡腔内可见大量炎性细胞浸润和红细胞渗出^[21]。

1.3 检测指标

1.3.1 ELISA检测血清中TNF- α 、IL-6、IL-10水平 造模24 h后戊巴比妥麻醉小鼠,取小鼠腹主动脉血2 mL,离心(3 000 r/min,10 min, 4°C),分离上清,按照ELISA试剂盒说明书测定上清液中TNF- α 、IL-6、IL-10的水平。

1.3.2 ELISA检测支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中TNF- α 、IL-6、IL-10水平 造模24 h后戊巴比妥麻醉小鼠,颈椎脱臼法予以安乐死,插入气管导管,并用无菌预冷的PBS缓冲液(体积为1 mL)进行灌洗,缓慢抽回灌洗液,重复3次,以获取BALF。每只小鼠的灌洗液收集后,离心(3 000 r/min,10 min, 4°C),分离上清,按照ELISA试剂盒说明书测定上清液中TNF- α 、IL-6、IL-10的水平。

1.3.3 小鼠肺组织湿质量/干质量测定(wet/dry weight ratio, W/D) 造模24 h后戊巴比妥麻醉小鼠,颈椎脱臼法予以安乐死,取小鼠的右肺。用滤纸轻轻擦去肺表面的多余液体,称取肺组织的湿质量(W)。将肺组织置于 60°C 烘箱中烘干48 h,直至质量恒定,再次称取干质量(D)。湿质量/干质量比(W/D比)按照公式计算:W/D=湿质量/干质量。

1.3.4 H&E染色检测小鼠肺组织病理 造模24 h后戊巴比妥麻醉小鼠,颈椎脱臼法予以安乐死,取小鼠肺组织并用生理盐水清洗置于4%多聚甲醛固定液中固定24 h,然后进行梯度脱水石蜡包埋。制备4 μm 厚的石蜡切片,用H&E染色,封片,使用光学显微镜观察肺组织的病理学变化,按照Villar等^[22]的方法对切片进行肺组织损伤程度评分。

1.4 统计学处理

采用SPSS 26.0统计软件进行分析,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组样本间的均数比较采用单因素方差分析,若差异明显,则进行组间的两两比较:当满足方差齐性时,采用Tukey HSD法;当不满足方差齐性时,采用Dunnnett's T3法。浓度梯度的趋势采用线性趋势性检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血清TNF- α 、IL-6、IL-10水平

与Sham组比较,G+/G-脓毒症模型组血清TNF- α 、IL-6水平明显升高,IL-10水平明显降低, $(P < 0.05)$;与G+/G-脓毒症模型组比较,ART 5、10、15、20、25 mg/kg组血清TNF- α 、IL-6水平逐

步降低,IL-10水平逐步升高($P<0.05$),呈浓度依赖性($P<0.05$)。而G+/G-脓毒症模型组血清中TNF- α 、IL-6、IL-10水平与DMSO组比较差异无统计学意义($P>0.05$),见图1、表1。

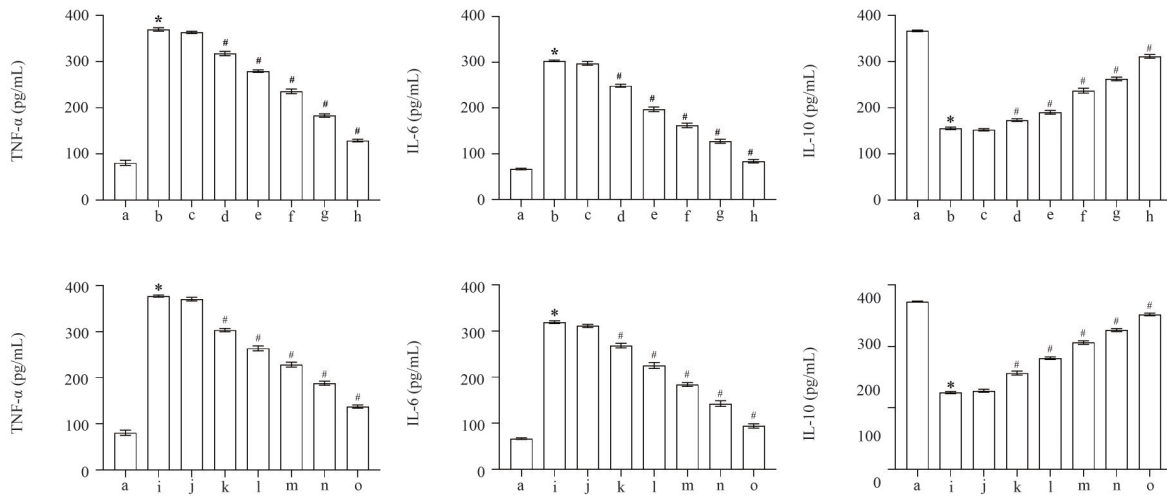
2.2 BALF液TNF- α 、IL-6、IL-10水平

与Sham组比较,G+/G-脓毒症模型组BALF中TNF- α 、IL-6水平明显升高,IL-10水平明显降低($P<0.05$);与G+/G-脓毒症模型组比较,ART 5、10、15、20、25 mg/kg组BALF中TNF- α 、

IL-6水平逐步降低,IL-10水平逐步升高($P<0.05$),呈浓度依赖性($P<0.05$)。而G+/G-脓毒症模型组BALF中TNF- α 、IL-6、IL-10水平与DMSO组比较差异无统计学意义($P>0.05$),见图2、表2。

2.3 肺组织W/D测定

与Sham组比较,G+/G-脓毒症模型组肺组织W/D比值明显升高($P<0.05$);与G+/G-脓毒症模型组比较,ART 5、10、15、20、25 mg/kg组肺组织W/D比值逐步降低($P<0.05$),呈浓度依



a:Sham组;b:G+脓毒症模型组;c:G+脓毒症+2% DMSO组;d:G+脓毒症+ART 5 mg/kg组;e:G+脓毒症+ART 10 mg/kg组;f:G+脓毒症+ART 15 mg/kg组;g:G+脓毒症+ART 20 mg/kg组;h:G+脓毒症+ART 25 mg/kg组;i:G-脓毒症模型组;j:G-脓毒症+2% DMSO组;k:G-脓毒症+ART 5 mg/kg组;l:G-脓毒症+ART 10 mg/kg组;m:G-脓毒症+ART 15 mg/kg组;n:G-脓毒症+ART 20 mg/kg组;o:G-脓毒症+ART 25 mg/kg组;与Sham组比较,* $P<0.05$;与G+/G-脓毒症模型组比较,# $P<0.05$

图1 各组小鼠血清中TNF- α 、IL-6、IL-10水平

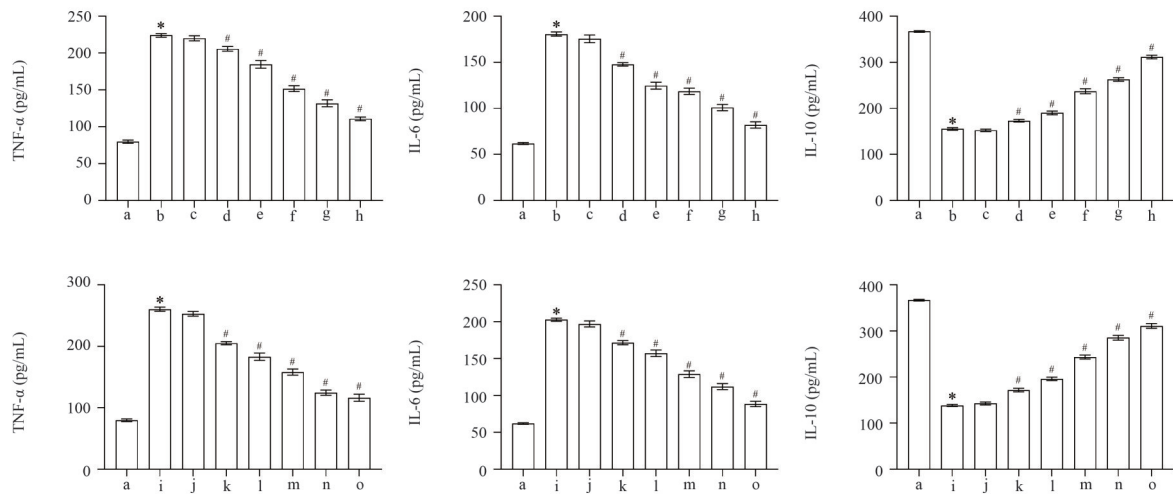
Fig 1 Levels of TNF- α , IL-6, and IL-10 in serum of mice in each group

表1 各组小鼠血清中TNF- α 、IL-6、IL-10水平 (pg/mL, $n=6, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 Levels of TNF- α , IL-6, and IL-10 in serum of mice in each group (pg/mL, $n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α	IL-6	IL-10
Sham组	80.87 \pm 5.28	66.89 \pm 1.63	545.98 \pm 1.31
G+脓毒症模型组	369.83 \pm 3.43*	303.21 \pm 1.66*	258.05 \pm 1.64*
G+脓毒症+2% DMSO组	363.47 \pm 2.03	297.99 \pm 3.68	263.17 \pm 2.94
G+脓毒症+ART 5 mg/kg组	317.61 \pm 4.18#	248.94 \pm 3.02#	296.85 \pm 2.64#
G+脓毒症+ART 10 mg/kg组	279.49 \pm 2.34#	197.44 \pm 4.77#	326.04 \pm 4.17#
G+脓毒症+ART 15 mg/kg组	235.63 \pm 4.83#	162.13 \pm 4.56#	375.49 \pm 3.48#
G+脓毒症+ART 20 mg/kg组	183.27 \pm 3.35#	127.52 \pm 4.08#	427.94 \pm 5.71#
G+脓毒症+ART 25 mg/kg组	128.94 \pm 2.59#	83.91 \pm 3.48#	484.66 \pm 3.32#
F_{G+}	4 256	3 373	2 906
P_{G+}	<0.001	<0.001	<0.001
G-脓毒症模型组	377.19 \pm 2.09*	319.21 \pm 2.85*	249.73 \pm 3.18*
G-脓毒症+2% DMSO组	370.51 \pm 3.54	311.05 \pm 3.24	255.68 \pm 4.53
G-脓毒症+ART 5 mg/kg组	303.59 \pm 3.41#	268.49 \pm 4.58#	313.14 \pm 5.89#
G-脓毒症+ART 10 mg/kg组	263.72 \pm 4.83#	225.25 \pm 5.94#	361.59 \pm 3.79#
G-脓毒症+ART 15 mg/kg组	228.46 \pm 4.75#	184.06 \pm 3.85#	412.61 \pm 5.32#
G-脓毒症+ART 20 mg/kg组	188.35 \pm 4.01#	142.63 \pm 5.64#	453.12 \pm 4.38#
G-脓毒症+ART 25 mg/kg组	137.64 \pm 3.18#	94.15 \pm 4.32#	503.95 \pm 3.75#
F_{G-}	3 513	2 581	3 451
P_{G-}	<0.001	<0.001	<0.001

注:与Sham组比较,* $P<0.05$;与G+/G-脓毒症模型组比较,# $P<0.05$ 。



a:Sham组;b:G+脓毒症模型组;c:G+脓毒症+2% DMSO组;d:G+脓毒症+ART 5 mg/kg组;e:G+脓毒症+ART 10 mg/kg组;f:G+脓毒症+ART 15 mg/kg组;g:G+脓毒症+ART 20 mg/kg组;h:G+脓毒症+ART 25 mg/kg组;i:G-脓毒症模型组;j:G-脓毒症+2% DMSO组;k:G-脓毒症+ART 5 mg/kg组;l:G-脓毒症+ART 10 mg/kg组;m:G-脓毒症+ART 15 mg/kg组;n:G-脓毒症+ART 20 mg/kg组;o:G-脓毒症+ART 25 mg/kg组;与Sham组比较,* $P<0.05$;与G+/G-脓毒症模型组比较,# $P<0.05$

图2 各组小鼠BALF中TNF- α 、IL-6、IL-10的水平

Fig 2 Levels of TNF- α , IL-6, and IL-10 in BALF of mice in each group

表2 各组小鼠BALF液TNF- α 、IL-6、IL-10水平 (pg/mL, $n=6, \bar{x} \pm s$)

Tab 2 Levels of TNF- α , IL-6, and IL-10 in BALF of mice in each group (pg/mL, $n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α	IL-6	IL-10
Sham组	79.81 \pm 2.11	61.92 \pm 1.04	366.92 \pm 1.70
G+脓毒症模型组	224.02 \pm 2.43*	180.64 \pm 2.28*	155.38 \pm 2.87*
G+脓毒症+2% DMSO组	220.03 \pm 3.11	175.44 \pm 3.82	152.39 \pm 2.30
G+脓毒症+Art 5 mg/kg组	205.65 \pm 2.84#	147.74 \pm 1.61#	173.25 \pm 2.65#
G+脓毒症+Art 10 mg/kg组	184.72 \pm 4.72#	124.63 \pm 3.41#	190.13 \pm 3.62#
G+脓毒症+Art 15 mg/kg组	151.87 \pm 3.61#	118.54 \pm 3.08#	237.03 \pm 4.86#
G+脓毒症+Art 20 mg/kg组	131.87 \pm 4.27#	100.84 \pm 3.15#	262.63 \pm 3.49#
G+脓毒症+Art 25 mg/kg组	110.91 \pm 2.17#	81.93 \pm 3.13#	311.58 \pm 3.73#
F_{G+}	1 350	1 138	2 906
P_{G+}	<0.001	<0.001	<0.001
G-脓毒症模型组	260.49 \pm 3.18*	202.78 \pm 1.88*	138.43 \pm 2.21*
G-脓毒症+2% DMSO组	253.01 \pm 3.47	197.05 \pm 3.71	142.68 \pm 2.76
G-脓毒症+Art 5 mg/kg组	205.13 \pm 3.13#	171.84 \pm 3.56#	182.24 \pm 3.69#
G-脓毒症+Art 10 mg/kg组	183.18 \pm 5.49#	157.30 \pm 4.14#	196.17 \pm 3.35#
G-脓毒症+Art 15 mg/kg组	158.12 \pm 4.55#	129.02 \pm 4.09#	243.60 \pm 3.91#
G-脓毒症+Art 20 mg/kg组	124.56 \pm 3.87#	112.11 \pm 3.75#	285.39 \pm 4.68#
G-脓毒症+Art 25 mg/kg组	116.32 \pm 5.19#	88.58 \pm 3.27#	310.92 \pm 4.75#
F_{G-}	1 368	1 243	2 844
P_{G-}	<0.001	<0.001	<0.001

注:与Sham组比较,* $P<0.05$;与G+/G-脓毒症模型组比较,# $P<0.05$ 。

赖性($P<0.05$)。而G+/G-脓毒症模型组肺组织W/D比值与DMSO组比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表3。

2.4 小鼠肺组织病理学改变

Sham组小鼠肺组织结构正常。与Sham组比较,G+/G-脓毒症模型组小鼠肺组织结构破坏,肺间质增厚,有大量炎性细胞浸润和红细胞渗出,部分肺泡腔塌陷;与G+/G-脓毒症模型组比较,ART 5、10、15、20、25 mg/kg组肺组织水肿及炎性

浸润逐渐减轻,肺泡间隔及肺泡壁增厚程度逐渐改善。肺组织损伤程度评分结果表明,与Sham组比较,G+/G-脓毒症模型组小鼠损伤评分明显升高($P<0.01$);与G+/G-脓毒症模型组比较,ART 5、10、15、20、25 mg/kg组小鼠损伤评分逐步降低($P<0.05$),呈浓度依赖性($P<0.05$)。G+/G-脓毒症模型组肺组织损伤评分与DMSO组比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表4、图3A、B。

表3 各组小鼠肺组织W/D测定 (n=6, $\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Measurement of W/D in lung tissue of mice in each group (n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	湿质量/干质量
Sham组	3.80±0.18
G+脓毒症模型组	6.31±0.63*
G+脓毒症+2% DMSO组	6.06±0.39 [#]
G+脓毒症+ART 5 mg/kg组	5.72±0.49 [#]
G+脓毒症+ART 10 mg/kg组	5.51±0.45 [#]
G+脓毒症+ART 15 mg/kg组	5.38±0.45 [#]
G+脓毒症+ART 20 mg/kg组	5.05±0.41 [#]
G+脓毒症+ART 25 mg/kg组	4.73±0.61 [#]
F_{G+}	14.39
P_{G+}	<0.001
G-脓毒症模型组	6.73±0.24*
G-脓毒症+2% DMSO组	6.67±0.35 [#]
G-脓毒症+ART 5 mg/kg组	6.39±0.17 [#]
G-脓毒症+ART 10 mg/kg组	6.08±0.41 [#]
G-脓毒症+ART 15 mg/kg组	5.73±0.22 [#]
G-脓毒症+ART 20 mg/kg组	5.51±0.36 [#]
G-脓毒症+ART 25 mg/kg组	5.09±0.28 [#]
F_{G-}	29.93
P_{G-}	<0.001

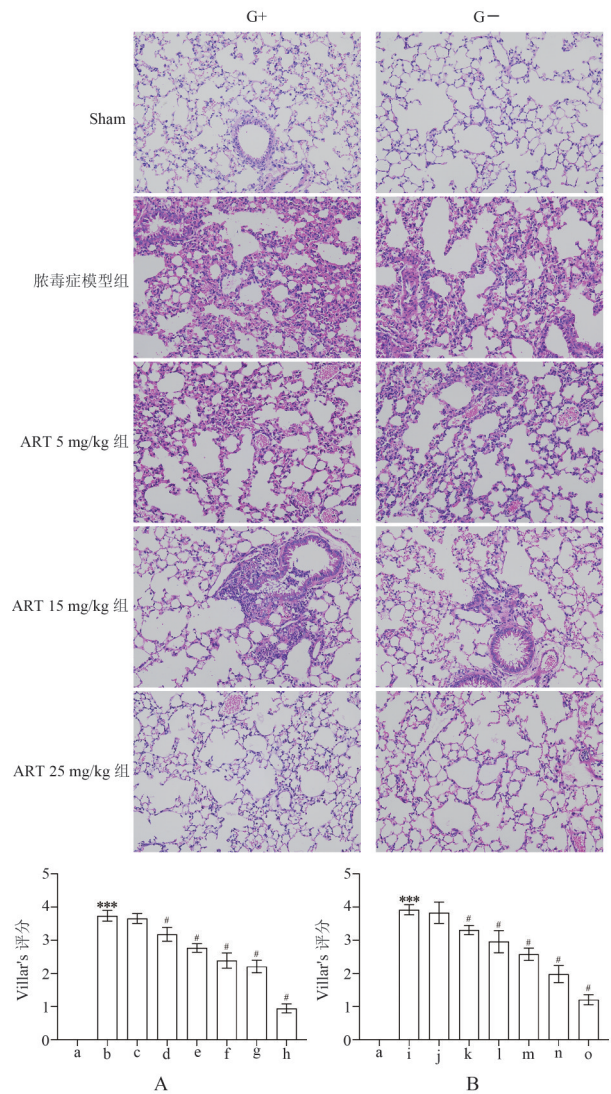
注:与Sham组比较,* $P<0.05$;与G+/G-脓毒症模型组比较,[#] $P<0.05$ 。

表4 各组小鼠肺组织病理评分(分, n=6, $\bar{x} \pm s$)

Tab 4 Lung histopathological scores of mice in each group (scores, n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	肺组织病理评分
Sham组	0
G+脓毒症模型组	3.74±0.21***
G+脓毒症+2% DMSO组	3.66±0.18 [#]
G+脓毒症+ART 5 mg/kg组	3.18±0.24 [#]
G+脓毒症+ART 10 mg/kg组	2.77±0.15 [#]
G+脓毒症+ART 15 mg/kg组	2.39±0.26 [#]
G+脓毒症+ART 20 mg/kg组	2.21±0.24 [#]
G+脓毒症+ART 25 mg/kg组	0.96±0.14 [#]
F_{G+}	384.6
P_{G+}	<0.001
G-脓毒症模型组	3.92±0.19***
G-脓毒症+2% DMSO组	3.83±0.31 [#]
G-脓毒症+ART 5 mg/kg组	3.31±0.17 [#]
G-脓毒症+ART 10 mg/kg组	2.96±0.27 [#]
G-脓毒症+ART 15 mg/kg组	2.58±0.22 [#]
G-脓毒症+ART 20 mg/kg组	1.98±0.30 [#]
G-脓毒症+ART 25 mg/kg组	1.21±0.19 [#]
F_{G-}	230.8
P_{G-}	<0.001

注:与Sham组比较,*** $P<0.001$;与G+/G-脓毒症模型组比较,[#] $P<0.05$ 。



A: G+各组比较; B: G-各组比较; a: Sham组; b: G+脓毒症模型组; c: G+脓毒症+2% DMSO组; d: G+脓毒症+ART 5 mg/kg组; e: G+脓毒症+ART 10 mg/kg组; f: G+脓毒症+ART 15 mg/kg组; g: G+脓毒症+ART 20 mg/kg组; h: G+脓毒症+ART 25 mg/kg组; i: G-脓毒症模型组; j: G-脓毒症+2% DMSO组; k: G-脓毒症+ART 5 mg/kg组; l: G-脓毒症+ART 10 mg/kg组; m: G-脓毒症+ART 15 mg/kg组; n: G-脓毒症+ART 20 mg/kg组; o: G-脓毒症+ART 25 mg/kg组; 与Sham组比较,*** $P<0.001$;与G+/G-脓毒症模型组比较,[#] $P<0.05$

图3 小鼠肺组织典型病理学改变及各组评分(H&E, ×200)
Fig 3 Typical histopathological changes in lungs of mice and scores of each group (H&E, ×200)

3 讨论

本研究通过构建G+与G-脓毒症小鼠模型,系统评价了不同剂量ART对脓毒症急性肺损伤的影响。结果显示ART的保护作用呈现明显的剂量依赖特征,其作用机制主要体现在以下几个方面:

首先,在炎症因子调节方面,随着给药剂量从5 mg/kg递增至25 mg/kg,ART对TNF- α 和

IL-6的抑制作用逐步增强,对IL-10的促进作用也相应增加。这种剂量依赖性的抗炎作用与既往研究结果一致^[23]。研究发现ART可通过抑制Toll样受体2(toll-like receptor 2, *TLR2*)和含核苷酸结合寡聚化结构域2(nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2, *Nod2*) mRNA的表达及转录因子NF- κ B的激活来减少TNF- α 的释放。而近期研究进一步阐明了ART作为一种多效性调节剂,可同时调控先天性和适应性免疫细胞的功能^[24]。这解释了随着剂量增加,ART不仅能抑制促炎因子,还能促进抗炎因子IL-10的表达,从而在更大程度上控制炎症反应的失衡。

其次,在肺组织病理改善方面,本研究发现高剂量组(20、25 mg/kg)显示出最佳的保护效果。既往研究揭示了ART衍生物二氢青蒿素通过核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, *Nrf2*)依赖性方式抑制NF- κ B信号通路来改善脂多糖诱导的急性肺损伤^[25]。这与本研究的发现相互印证,说明ART类药物的肺保护作用可能与NF- κ B信号通路的调控密切相关。进一步研究证实,二氢青蒿素还可通过抑制JAK2/STAT3信号通路减轻肺部炎症和纤维化^[26]。这些分子机制的发现为ART剂量依赖性地改善肺组织病理损伤提供了理论基础。

在改善肺水肿方面,随着剂量增加,肺组织W/D比值逐步降低,25 mg/kg剂量组效果最明显。这可能与ART改善肺毛细血管通透性和抑制炎症渗出有关。最新研究表明,通过调控NLRP3炎症小体的活化可有效改善脓毒症导致的组织损伤^[27]。ART是否也通过类似机制改善肺水肿值得进一步探究。同时有研究显示,柴胡皂苷A通过抑制NF- κ B信号通路可改善脂多糖诱导的急性肺损伤^[28],这提示ART的作用或涉及多条信号通路的协同调控。

本研究通过系统比较不同剂量,确定了25 mg/kg为最佳治疗剂量,这为ART在脓毒症急性肺损伤中的临床应用提供了重要参考。在该剂量下,ART可最大程度发挥抗炎和组织保护作用,表现出良好的安全性。未来研究可围绕ART对免疫细胞功能的调节以及更多信号通路的影响展开,为临床应用提供更全面的理论依据。

作者贡献度说明:

赵长甲:实验过程、论文撰写;张琪:数据整理;姜波、薛庆:动物实验;任珊:课题设计;许航:数据统计及论文校对。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

- Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis [J]. *Chest*, 1992, 101 (6) : 1644-1655.
- Angus DC, Van der Poll T. Severe sepsis and septic shock[J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(9): 840-851.
- Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2000, 342 (18) : 1334-1349.
- Matthay MA, Zemans RL, Zimmerman GA, et al. Acute respiratory distress syndrome [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5(1): 18.
- Hotchkiss RS, Moldawer LL. Parallels between cancer and infectious disease [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371 (4): 380-383.
- Opal SM, Van Der Poll T. Endothelial barrier dysfunction in septic shock [J]. *J Intern Med*, 2015, 277 (3) : 277-293.
- Chousterman BG, Swirski FK, Weber GF. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis [J]. *Semin Immunopathol*, 2017, 39(5): 517-528.
- Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of sepsis and septic shock 2021 [J]. *Intensive Care Med*, 2021, 47(11): 1181-1247.
- Efferth T. From ancient herb to modern drug: *Artemisia annua* and artemisinin for cancer therapy [J]. *Semin Cancer Biol*, 2017, 46: 65-83.
- Wang J, Xu C, Wong YK, et al. Artemisinin, the magic drug discovered from traditional Chinese medicine [J]. *Engineering*, 2019, 5(1): 32-39.
- Guan L, Wang H, Xu X, et al. Therapeutic utilization and repurposing of artemisinin and its derivatives: A narrative review [J]. *Adv Biol (Weinh)*, 2023, 7 (8) : e2300086.
- Qiu F, Liu J, Mo X, et al. Immunoregulation by artemisinin and its derivatives: A new role for old antimalarial drugs [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 751772.
- Huang X, Liu W, Zhou Y, et al. Dihydroartemisinin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice by suppressing NF- κ B signaling in an Nrf2-dependent manner [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 44 (6) : 2213-2222.
- Renckens R, Roelofs JJ, Florquin S, et al. Endogenous tissue-type plasminogen activator is protective during *Escherichia coli*-induced abdominal sepsis in mice [J]. *J Immunol*, 2006, 177(2): 1189-1196.
- He X, Ouyang D, Xu L. Injection of *Escherichia coli* to

- induce sepsis [J]. *Methods Mol Biol*, 2021, 2321: 43-51.
- 16 Kannan SK, Kim CY, Heidarian M, et al. Mouse models of sepsis[J]. *Curr Protoc*, 2024, 4(3): e997.
- 17 Pan H, Xu L, Huang M, et al. Piperine metabolically regulates peritoneal resident macrophages to potentiate their functions against bacterial infection[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(32): 32468-32483.
- 18 Liu Y, Jing Y, Zeng C, et al. Scutellarin suppresses NLRP3 inflammasome activation in macrophages and protects mice against bacterial sepsis[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 8: 975.
- 19 杨鲁霞, 张孝昌, 李擎宇, 等. 全基因转录组测序分析双氢青蒿素改善脂多糖诱导小鼠急性肺损伤机制[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2023, 37(12): 914-922.
Yang LX, Zhang XC, Li QY, et al. Mechanisms of amelioration of lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice by dihydroartemisinin using whole-genome sequencing [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2023, 37(12): 914-922.
- 20 Lin S, Wei J, Hu J, et al. Artemisinin improves neurocognitive deficits associated with sepsis by activating the AMPK axis in microglia[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(7): 1069-1079.
- 21 易琼, 戴飞跃, 王建湘, 等. 清瘟败毒饮抑制 TLR4/NF- κ B 通路调控小鼠肺泡巨噬细胞自噬减轻脓毒症肺损伤的实验研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2023, 43(3): 315-322.
Yi Q, Dai FY, Wang JX, et al. Qingwen Baidu Decoction regulated mouse alveolar macrophages autophagy to reduce sepsis induced lung injury *via* inhibiting TLR4/NF- κ B signaling pathway: An experimental study [J]. *Chin J Integr Tradit Western Med*, 2023, 43(3): 315-322.
- 22 Villar J, Cabrera-Benítez NE, Valladares F, et al. Tryptase is involved in the development of early ventilator-induced pulmonary fibrosis in sepsis-induced lung injury[J]. *Crit Care*, 2015, 19(1): 138.
- 23 Li B, Li J, Pan X, et al. Artesunate protects sepsis model mice challenged with *Staphylococcus aureus* by decreasing TNF- α release *via* inhibition TLR2 and Nod2 mRNA expressions and transcription factor NF- κ B activation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2010, 10(3): 344-350.
- 24 Lin L, Tang Z, Shi Z, et al. New insights into artesunate as a pleiotropic regulator of innate and adaptive immune cells[J]. *J Immunol Res*, 2022, 2022: 9591544.
- 25 You X, Jiang X, Zhang C, et al. Dihydroartemisinin attenuates pulmonary inflammation and fibrosis in rats by suppressing JAK2/STAT3 signaling[J]. *Aging (Albany NY)*, 2022, 14(3): 1110-1127.
- 26 Long Z, Xiang W, Xiao W, et al. Advances in the study of artemisinin and its derivatives for the treatment of rheumatic skeletal disorders, autoimmune inflammatory diseases, and autoimmune disorders: A comprehensive review[J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1432625.
- 27 Wang X, Wu F, Huang Y, et al. Matrine suppresses NLRP3 inflammasome activation *via* regulating PTPN2/JNK/SREBP2 pathway in sepsis [J]. *Phytomedicine*, 2023, 109: 154574.
- 28 Du Z, Sun M, Hu Z. Saikosaponin A ameliorates LPS-induced acute lung injury in mice [J]. *Inflammation*, 2018, 41(1): 193-198.

[本文编辑] 陈思润