

宣肺方对内毒素诱导大鼠急性肺损伤 mTOR/S6K1 信号通路的影响

余弘吉, 杨爱东*, 李小茜*, 吴中华, 符胜光, 许明亮

(上海中医药大学基础医学院经方理论应用研究中心, 上海 201203)

【摘要】 目的 观察宣肺方对内毒素诱导大鼠急性肺损伤 mTOR/S6K1 信号通路的影响, 并探讨其作用机制。方法 选取 Wistar 雄性大鼠 30 只, 动物随机分为正常组、模型组、地塞米松组和宣肺方组(高、低剂量组), 尾静脉注射 LPS 制备 ALI 模型。采用 ELISA 法测定支气管肺泡灌洗液(BALF)中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量, 免疫组化测 mTOR 蛋白表达, Western blot 测肺组织 p-mTOR 蛋白表达, RT-PCR 测肺泡灌洗液巨噬细胞 RPS6KB1 基因表达, 并观察大鼠肺组织病理变化。结果 与正常组比较, 模型组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、RPS6KB1 均显著升高($P < 0.05$), mTOR 蛋白阳性面积率、p-mTOR 蛋白表达显著降低($P < 0.01$, $P < 0.05$); 与模型组比较, 地塞米松组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 均明显降低($P < 0.05$); 宣肺方高剂量组 TNF- α 、IL-6、RPS6KB1 基因表达明显降低($P < 0.01$, $P < 0.05$), mTOR 蛋白阳性面积率、p-mTOR 蛋白表达显著升高($P < 0.01$, $P < 0.05$), 宣肺方低剂量组 TNF- α 含量明显降低($P < 0.01$)。HE 染色示模型组肺组织内可见局部肺出血、坏死, 肺小静脉扩张、血管内白细胞数显著增多, 肺间质水肿、炎细胞浸润; 与模型组比较, 各治疗组呈轻度间质性肺炎。结论 宣肺方对内毒素诱导大鼠急性肺损伤有保护作用, 其机制可能与其能够下调 TNF- α 、IL-6 含量、RPS6KB1 基因表达和上调 mTOR、p-mTOR 蛋白表达有关。

【关键词】 急性肺损伤; 宣肺方; p-mTOR; RPS6KB1; 大鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2018) 04-0431-06

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2018.04.004

Effect of Xuanfei Formula on mTOR/S6K1 signal pathway in acute lung injury induced by lipopolysaccharide in rats

YU Hongji, YANG Aidong*, LI Xiaoqian*, WU Zhonghua, FU Shengguang, XU Mingliang

(Research Centre on Application of Classical Prescriptions, Basic medical College, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Corresponding author: YANG Aidong. Email: aidongy@126.com;

LI Xiaoqian. Email: lixiaoqian5258@126.com

【Abstract】 Objective To observe the effect of a Chinese herbs, Xuanfei formula, on mTOR/S6K1 signaling pathway in rats with acute lung injury induced by endotoxin, and to explore its mechanism. **Methods** Thirty male Wistar rats were selected and randomly divided into normal control group, model control group, dexamethasone group and Xuanfei

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(No. 816738555); 国家中医药管理局第四批全国中医(临床, 基础)优秀人才研修项目(国中医药人教发【2017】24); 上海中医药大学学科能力提升项目(No. A1-Z183020110); 上海中医药大学高水平大学建设高峰高原团队(No. A-U18205010127)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (No. 816738555), the Fourth Batch of National Chinese Medicine (clinical, basic) Excellent Talents Training Projects (National Medical Research and Education 【2017】24), Subject Ability Promotion Project of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine (No. A1-Z183020110), High Level University Construction Peak Plateau Team of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine (No. A-U18205010127)。

【作者简介】 余弘吉(1990—), 女, 在读硕士, 中医内科学肺病及肾病方向。Email: YuHongji90@163.com

【通信作者】 杨爱东(1968—), 男, 医学博士, 教授, 主要从事中医药防治呼吸系统疾病机制研究。Email: aidongy@126.com

李小茜(1979—), 女, 医学博士, 主要从事中医药防治呼吸系统疾病机制研究。Email: lixiaoqian5258@126.com

formula group (high and low dose groups). Lipopolysaccharide (LPS) was injected into the tail vein to prepare rat model of acute lung injury (ALI). The levels of inflammatory factors TNF- α , IL-1 β and IL-6 in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were detected by ELISA assay. The expression of mTOR protein was detected by immunohistochemistry, p-mTOR protein expression in the lung tissues was measured by western blot, RPS6KB1 gene expression in alveolar lavage fluid was measured by RT-PCR, and the histological changes of rat lung tissues were examined by pathology. **Results** Compared with the normal group, the TNF- α , IL-1 β , IL-6 and RPS6KB1 in the model group were significantly increased ($P < 0.05$), and the positive area ratio of mTOR protein and the expression of p-mTOR protein were significantly decreased ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Compared with the model group, the level of TNF- α , IL-1 β and IL-6 were significantly decreased ($P < 0.05$) in the dexamethasone group ($P < 0.05$), and the level of TNF- α , IL-6 and RPS6KB1 gene expression were significantly decreased ($P < 0.01$, $P < 0.05$), and the positive area ratio of mTOR protein and the expression of p-mTOR protein in the Xuanfei formula groups were significantly increased ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Pathological examination of the lung tissues of the model group showed local pulmonary hemorrhage and necrosis, dilation of small pulmonary veins, increased number of leucocytes in the blood vessels, pulmonary interstitial edema and inflammatory cell infiltration in the lung tissues. Compared with the model group, the treatment groups showed mild interstitial pneumonia. **Conclusions** Xuanfei formula has a protective effect on acute lung injury induced by endotoxin in rats. Its mechanism may be related to its downregulation of TNF- α , IL-6, RPS6KB1 gene expression, and upregulation of mTOR and p-mTOR protein expression.

【Key words】 acute lung injury; Xuanfei formula; p-mTOR; RPS6KB1; rats

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)的致病因素之一是脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)。研究表明,哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)可整合营养、能量及生长因子等多种细胞外信号,参与基因转录、蛋白质翻译、核糖体合成等生物过程,在细胞生长和细胞凋亡中发挥极为重要的作用^[1], mTOR 及其效应因子 RPS6KB1 (ribosomal protein S6 kinase polypeptide 1)是营养信号通路和激素信号通路之间的关联蛋白^[2]。我们已有研究表明,宣白承气汤对内毒素急性肺损伤有保护作用,其机制可能与其降低肺组织 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor, TLR) mRNA 和蛋白表达、抑制肺组织 CD14 和 NF- κ B mRNA 表达有关^[3-4]。在既往研究基础上,本研究进一步研究宣白承气汤的拆方(宣肺汤,即宣白承气汤去大黄)对内毒素诱导大鼠急性肺损伤 mTOR/S6K1 信号通路的影响,探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

清洁级雄性 Wistar 大鼠 30 只,8 周龄,平均体重(200 \pm 20)g。购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司【SCXY(沪)2013-0016】。专用标准颗粒饲料、水喂养。实验在上海中医药大学实验动物中

心设施内进行【SYCK(沪)2013-0016】。本研究经上海中医药大学动物实验伦理委员会批准(编号:SZY201708005)。大鼠均分笼饲养,每笼 5 只,人工光循环,一天中光照与黑暗时间比为 12 h/12 h,湿度为(55 \pm 2)%,温度为(21 \pm 2) $^{\circ}$ C,自由饮水,提供充足的饲料供给。

1.1.2 主要设备与仪器

低温冷冻离心机 3K15, Sigma (美国); EG1140 型石蜡包埋机,酶标仪 680 型 (Bio-Rad 公司,美国); SDS-PAGE 电泳仪 (MINI Protean2 Bio-Rad, 美国); BH2 显微镜 (Olympus 日本); TP1020 型生物组织自动脱水机, 2255 型全自动切片机, 5010 型自动染色仪均来自德国莱卡公司,实时荧光定量 PCR 仪 (7500fast 美国 ABI)。

1.1.3 试剂和药物

LPS O55:B5 (Sigma, 057M4013 V); 中药采购于上海中医药大学附属曙光医院(上海同济堂药业有限公司,批号:170401); 地塞米松(0.75 mg/片,上海信谊药厂有限公司); RPMI 1640 培养液 (Gibco, 日本); TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 ELISA 检测试剂盒 (苏州卡尔文生物科技有限公司); 兔多克隆 mTOR 抗体 (Abcam, 美国); p-mTOR 抗体 (Abcam, 美国); Trizol (Invitrogen); RT 试剂盒 (TaKaRa, 日本); Sybr green (TaKaRa, 日本)。氯仿、异丙醇 (国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 动物模型建立的方法以及分组、给药

大鼠随机分为正常组、模型组、地塞米松组和宣肺方组(高、低剂量组),每组 6 只。宣肺方灌胃量为生药 20, 5 g/(kg·bw)(高、低剂量组),地塞米松组灌胃量为 0.27 mg/kg(按人与动物间体表面积折算的等效剂量)^[5],正常组和模型组灌等体积的蒸馏水,五组均灌胃 5 d,1 次/日,第 5 天末次灌胃后 2 h,经尾静脉注射 LPS (B5: 8 mg/kg)复制 ALI 动物模型^[6]。

1.2.2 观察标本以及采集

所有动物均于造模后 7 h,用乌拉坦 2.0 mg/kg ip 麻醉。动物麻醉后,解剖大鼠颈部,逐层分离,暴露气管,在远心端剪一“V”字形切口,两次抽取 3 mL 生理盐水灌洗支气管,每次反复回抽三次,回收灌洗液于一离心管中。各组大鼠处死开胸腹取肺组织,分别于 4% 多聚甲醛固定及 -80℃ 保存。

1.2.3 ELISA 测定支气管肺泡灌洗液(BALF)中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量

取支气管肺泡灌洗液,3000 r/min 离心 10 min,取上清液,ELISA 测定肺泡灌洗液 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量。

1.2.4 Western blot 检测肺组织 p-mTOR 蛋白表达

取 -80℃ 保存的肺组织 100 mg 加裂解液 1 mL,用超声匀浆机冰上充分匀浆 30 min,4℃ 14 000 r/min,离心 10 min,取上清用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度,后加入相应上样缓冲液及 RIPA,完成蛋白变性。肺组织上样量每孔 40 μ g,经 SDS-PAGE 垂直凝胶电泳后,通过电转移将蛋白转移至 PVDF 膜,封闭液封闭 10 min,将膜剪成两段后分别加 p-mTOR (1:1000)、 β -actin(1:1000)抗体 4℃ 摇床孵育过夜,加相应二抗室温孵育 1 h,ECL 试剂曝光显影。以 β -actin 条带作为内参,结果用靶蛋白/ β -actin 灰度比值表示。

1.2.5 RT-PCR 测肺泡灌洗液巨噬细胞 RPS6KB1 基因的表达

大鼠肺泡巨噬细胞(AM)分离培养:解剖胸腔暴露肺,用 4℃ 预冷的灭菌 PBS 进行支气管肺泡灌洗,每次 5 mL,反复抽吸 3 次,共 6 次,收集灌洗液。1000 r/min 离心 5 min,细胞沉淀用 3 mL PBS 重悬、再离心,反复洗涤 3 次后,用 RPMI 1640 培养液(含 2 mmol/L 谷氨酰胺,100 mL/L 胎牛血清,100 U/L 青霉素、100 U/L 链霉素的)5 mL 重悬细胞,置于 60

mm 细胞培养皿,在 37℃、50 mL/L CO₂ 条件下培养 2 h 后,轻轻吸去上清,去除非贴壁细胞,用含 100 mL/L 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液重悬,调整细胞密度为 10⁸/L,培养 24 h,以吉姆萨染色法鉴定 AM,台盼蓝染色鉴定其活性^[7]。

按照试剂盒说明提取肺泡灌洗液巨噬细胞总 RNA,并逆转录为 cDNA。PCR 引物序列:RPS6KB1 (130 bp) 上游 5'-CTGAGGATGAGCTGGAGGAG-3',下游 5'-GGCCCTCTGTTTACACTACT-3'; β -actin(115 bp) 上游 5'-AGCCATGTACGTAGCCATCC-3',下游 5'-ACCCTCATAGATGGGCACAG-3'。分光光度计检测 RNA 的浓度后进行反转录,37℃ 15 min,85℃ 5 s,-20℃ 保存。后进行 PCR 扩增,PCR 反应条件为 95℃ 30 s;95℃ 3 s,60℃ 30 s,40 个循环。

1.2.6 免疫组化检测肺组织 mTOR 蛋白表达

采用 IMS 细胞图像分析系统医学图像分析软件,对免疫组织化学结果进行图像采集和定量分析。每张切片在高倍镜下随机选择不相重叠的 3 个视野,细胞核为蓝色,mTOR 阳性细胞为棕黄色。计算出每例样本的蛋白染色阳性细胞面积率(蛋白染色阳性细胞面积率 = 阳性细胞面积/总面积)作为比较参数。

1.2.7 HE 染色观察肺组织病理形态

右上肺组织常规 4% 多聚甲醛固定后,自动脱水机进行脱水和浸蜡后,用石蜡包埋肺组织,用切片机切取 5 μ m 厚度肺组织,漂片及装片,常规 HE 染色,光镜下观察肺组织病理形态学的变化。

1.3 统计学方法

实验结果以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) (表示,用 SPSS 21 统计软件处理。多组均数采用单因素方差分析,组间两两比较用 LSD 检验; $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组肺组织 mTOR 蛋白表达及肺泡灌洗液巨噬细胞 RPS6KB1 基因表达的比较

与正常组比较,模型组 mTOR 阳性面积率明显降低($P < 0.01$)、RPS6KB1 基因表达明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,宣肺方高剂量组 mTOR 蛋白表达阳性面积率明显升高($P < 0.01$)、宣肺汤高剂量组 RPS6KB1 基因表达明显降低($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 肺组织 mTOR 蛋白及肺泡灌洗液巨噬细胞 RPS6KB1 基因表达的比较($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 1 Comparison of mTOR protein expression in lung tissue and RPS6KB1 gene expression in alveolar lavage fluid ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别 Groups	mTOR 阳性面积率(%)	RPS6KB1 mRNA($\times 10^{-2}$)
正常组 Normal group	3.16 ± 0.36	0.79 ± 0.18
模型组 Model group	1.71 ± 0.08 ^{##}	1.16 ± 0.32 [#]
地塞米松组 Dexamethasone group	1.43 ± 0.10 ^{##}	0.83 ± 0.07
宣肺方高剂量组 Xuan Fei formula high dose group	2.42 ± 0.23 ^{**}	0.71 ± 0.06 [*]
宣肺方低剂量组 Xuan Fei formula low dose group	2.35 ± 0.13	1.10 ± 0.38

注:与正常组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

Note. Compared with the normal group,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$. Compared with the model group,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$.

2.2 各组支气管肺泡灌洗液 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 含量的比较

与正常组比较,模型组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 均显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,地塞米松

组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 均明显降低($P < 0.05$),宣肺方高剂量组 TNF- α 、IL-6 明显降低($P < 0.01$, $P < 0.05$),宣肺方低剂量组 TNF- α 明显降低($P < 0.01$),见表 2。

表 2 各组支气管肺泡灌洗液 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 含量的比较(pg/mL, $\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 2 Comparison of TNF- α , IL-1 β and IL-6 levels in bronchoalveolar lavage fluid of each group(pg/mL, $\bar{x} \pm s, n = 6$)

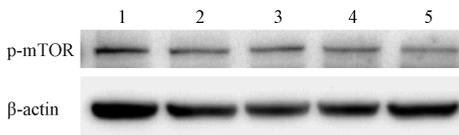
组别 Groups	TNF- α	IL-1 β	IL-6
正常组 Normal group	246.16 ± 18.52	32.47 ± 2.61	127.49 ± 17.44
模型组 Model group	286.33 ± 15.63 [#]	36.42 ± 2.95 [#]	147.62 ± 7.78 [#]
地塞米松组 Dexamethasone group	241.02 ± 18.47 [*]	30.43 ± 3.45 [*]	133.00 ± 4.59 [*]
宣肺方高剂量组 Xuan Fei formula high dose group	233.43 ± 20.55 ^{**}	35.50 ± 2.89	136.24 ± 4.58 [*]
宣肺方低剂量组 Xuan Fei formula low dose group	240.64 ± 17.47 ^{**}	33.49 ± 5.57	137.44 ± 4.12

注:与正常组比较,[#] $P < 0.05$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

Note. Compared with the normal group,[#] $P < 0.05$. Compared with the model group,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$.

2.3 各组肺组织 p-mTOR 蛋白的表达

与正常组比较,模型组 p-mTOR 蛋白表达明显减低($P < 0.05$);与模型组比较,宣肺方高剂量组 p-mTOR 蛋白表达明显升高($P < 0.05$)。见图 1、图 2。



注:1. 正常组;2. 模型组;3. 地塞米松组;4. 宣肺方高剂量组;5. 宣肺方低剂量组。

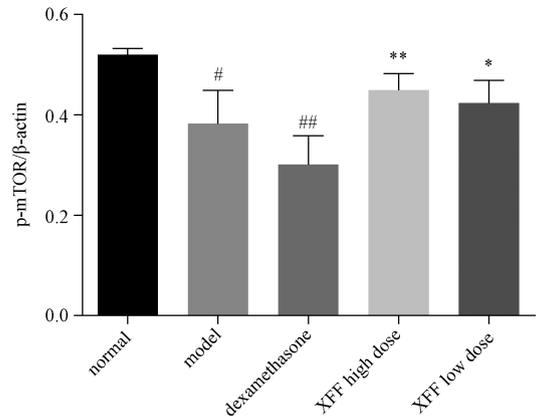
图 1 Western blot 测肺组织中 p-mTOR 蛋白表达

Note. 1. Normal group. 2. Model group. 3. Dexamethasone group. 4. Xuan Fei formula high dose group. 5. Xuan Fei formula low dose group.

Figure 1 p-mTOR protein expression in lung tissue measured by Western blot

2.4 HE 染色光镜下观察肺组织病理结构

由图 3 可见,正常组肺组织结构清晰,未见明显病理性改变;模型组肺组织内可见局部肺出血、坏死(+),肺小静脉扩张,血管内白细胞数显著增多(++),肺间质水肿、炎细胞浸润(+);与模型组相比,各治疗组见轻度间质性肺炎(+).



注:与正常组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

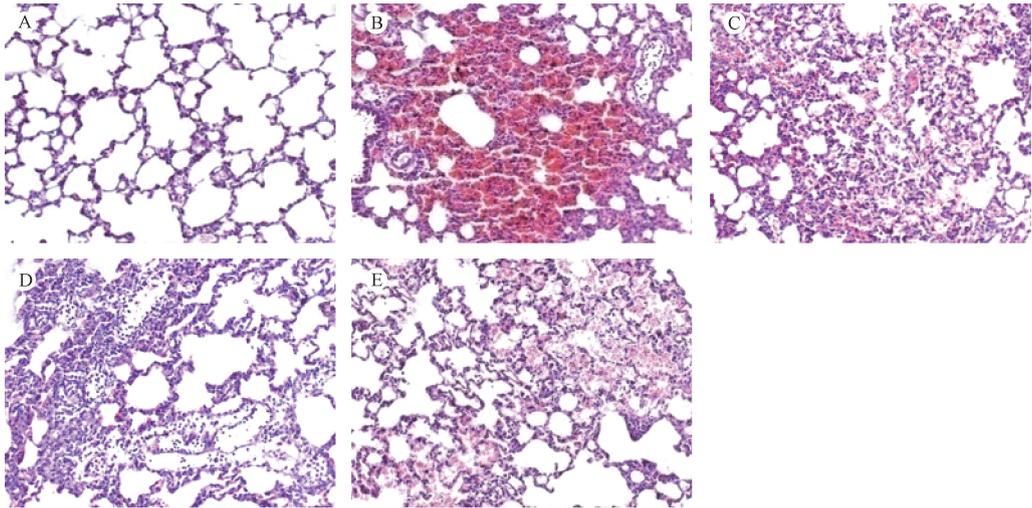
图 2 肺组织中 p-mTOR 蛋白表达

Note. Compared with the normal group,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$. Compared with the model group,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$.

Figure 2 p-mTOR protein expression of in lung tissue

3 讨论

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)及其诱发的急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)是临床危重症发生急性呼吸衰竭



注:A. 正常组; B. 模型组; C. 地塞米松组; D. 宣肺方高剂量组; E. 宣肺方低剂量组。

图3 光镜下观察大鼠肺组织病理学改变(HE ×200)

Note: A. Normal group. B. Model group. C. Dexamethasone group. D. Xuan Fei formula high dose group. E. Xuan lung formula low dose group.

Figure 3 The pathological changes of lung tissue in rats were observed under light microscope(HE ×200)

的主要原因,病死率高达 50%。ALI/ARDS 发病机制错综复杂,各种以肺为靶目标的传染病(如传染性非典型肺炎、H7N9 禽流感等)、生物化学损伤、严重外伤与创伤后感染、休克、中毒均可成为 ALI 的主要发病因素,其病理基础均表现为肺内失控的炎症反应所致的肺毛细血管膜损伤、肺水肿及透明膜形成^[8]。有研究证明,LPS 跨膜信号转导的胞内受体 TLR4 引起 NF- κ B 的活化,肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)在激活的巨噬细胞和 T 淋巴细胞中表达, TNF 与 TNFR1 结合亦可激活 NF- κ B 和激活蛋白 AP-1,诱导前炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的合成释放,从而造成组织损害^[9]。

mTOR 是一种非典型丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,为磷脂酰肌醇激酶相关激酶家族成员^[10]。mTOR 信号通路参与调控肺损伤时肺血管内皮细胞、肺泡上皮细胞的生物学特性^[11]。当细胞外环境发生变化时, mTOR 通过激活下游效应蛋白 S6K1 (ribosomal protein S6 kinase polypeptide 1)参与调节细胞生长、分化增殖及蛋白合成等过程。S6K1 的激活可以通过磷酸化的 S6 核糖体蛋白,促进细胞增殖和蛋白质合成^[12]。研究表明,LPS 诱导巨噬细胞干扰调节因子-1(interferon regulatory factor-1, IRF-1)的表达,激活 mTOR/S6K1 抑制细胞自噬的发生,对细胞损伤具有保护性作用^[13]。

急性肺损伤属于中医学“喘证”范畴,其病机主要是痰热壅肺、宣降失常,治宜宣肺泄热化痰,选用

宣肺方,方中以石膏清肺胃之热,杏仁、瓜蒌皮宣降肺气,化痰定喘。宣肺方中瓜蒌提取的氨基酸有较强的祛痰作用,其中半胱氨酸能裂解痰液黏蛋白,降低痰液粘度,使痰易于咯出,天门冬氨酸可促进成熟的 T 淋巴细胞生成转化,有效减少炎性物质分泌^[14];杏仁中苦杏仁苷进入体内后分解为氢氰酸和苯甲醛,氢氰酸对呼吸中枢可产生一定的抑制作用,而达到平喘镇咳的效果。另外,苦杏仁苷还被发现具有镇痛及抗凝血作用^[15];生石膏可有效抑制发热时过度兴奋的体温中枢,有强效迅速的退热作用。生石膏服用后,经胃酸的作用,部分会转变为可溶性钙盐吸收,使血液的浓度增加,从而抑制肌肉兴奋性,起到镇静、解痉作用,同时降低血管的通透性^[16]。

本实验研究结果表明,与正常组比较,模型组肺组织内可见局部肺出血、坏死,肺小静脉扩张,血管内白细胞数显著增多,肺间质水肿、炎细胞浸润;且 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 均升高,表明内毒素急性肺损伤模型成功。且模型组 mTOR、p-mTOR 蛋白表达降低,RPS6KB1 基因表达明显升高,表明 ALI 发病机制与 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 升高,RPS6KB1 基因表达升高及 mTOR、p-mTOR 蛋白表达降低有关。与模型组相比,宣肺方组 TNF- α 、IL-6、RPS6KB1 基因表达明显降低,mTOR、p-mTOR 蛋白表达显著升高。表明宣肺方对内毒素诱导大鼠急性肺损伤有保护作用,其机制可能与其能够下调 TNF- α 、IL-

-6、RPS6KB1 基因表达和上调 mTOR、p-mTOR 蛋白表达有关。

参 考 文 献(References)

- [1] Johnson SC, Rabinovitch PS, Kaeblerlein M. mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease [J]. Nature, 2013, 493(7432) : 338 - 345.
- [2] Zhao J, Li SW, Gong QQ, et al. A disputed evidence on obesity: comparison of the effects of Rcan2 (- / -) and Rps6kb1 (- / -) mutations on growth and body weight in C57BL/6J mice [J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2016, 17(9) : 657 - 671.
- [3] 苏中昊, 杨爱东, 王利霞, 等. 宣白承气汤对急性肺损伤大鼠肺组织脂多糖结合蛋白和 Toll 样受体 4mRNA 表达的影响 [J]. 南京中医药大学学报, 2013, 20(2) : 155 - 158.
Su ZH, Yang AD, Wang LX, et al. The effect of Xuanbai Chengqi Decoction on LBP and TLR4 mRNA expression in acute lung injured rat model [J]. Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2013, 20(2) : 155 - 158.
- [4] 苏中昊, 杨爱东, 王利霞, 等. 宣白承气汤对急性肺损伤大鼠肺组织 CD14 和 NF - κ B mRNA 表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5) : 121 - 124.
Su ZH, Yang AD, Wang LX, et al. Effect of Xuanbai Chengqi Decoction on CD14 and NF - κ B mRNA expressions in rat LPS-induced acute lung injury Model [J]. Chin J Exp Tradit Med Formula, 2012, 18(5) : 121 - 124.
- [5] Kao SJ, Wang D, Lin HI, et al. N-acetylcysteine abrogates acute lung induced by endotoxin [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2006, 33(1 - 2) : 33 - 40.
- [6] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 1103.
Chen Q. Methodology of Chinese Traditional Medicine pharmacological study [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1996: 1103.
- [7] 殷玉婷, 刘丽丽, 刘利燕. 苜蓿素对哮喘小鼠肺泡巨噬细胞 TLR4/MyD88/NF - κ B 通路的抑制作用 [J]. 中成药, 2017, 39(3) : 451 - 454.
Yin YT, Liu LL, Liu LY. Tricin's inhibitory effects on TLR4 / MyD88 / NF - κ B pathway of alveolar macrophages in asthma mice [J]. Medicine, 2017, 39 (3): 451 - 454.
- [8] Hough CL, Herridge MS. Long-term outcome after acute lung injury [J]. Curr Opin Crit Care, 2012, 18(1) : 8 - 15.
- [9] 杨绍杰, 孟金萍, 刘云波, 等. 细胞凋亡信号传导通路的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2007, 17(5) : 297 - 300.
Yang SJ, Meng JP, Liu YB, et al. The progress on the signal transduction pathways of apoptosis [J]. Chin J Comp Med, 2007, 17(5) : 297 - 300.
- [10] 吴中华, 闫玲玲, 杨爱东, 等. 鱼腥草素钠对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠肺组织 P13K、AKT1 及 mTOR mRNA 表达的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2018, 26(1) : 8 - 12.
Wu ZH, Yan LL, Yang AD, et al. Effect of sodium houttuynfonate on the expression of P13K、AKT1 and mTOR mRNA in the lung of rat models of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Acta lab Anim Sci Sin, 2018, 26 (1): 8 - 12.
- [11] Üstün S, Lassnig C, Preitschopf A, et al. Effects of the mTOR inhibitor everolimus and the PI3K/mTOR inhibitor NVP-BEZ235 in murine acute lung injury models [J]. Transpl Immunol, 2015, 33(1) : 45 - 50.
- [12] Ma C, Zhu L, Wang J. Anti-inflammatory effects of water extract of Taraxacum mongolicum hand-Mazz on lipopolysaccharide induced inflammation in acute lung injury by suppressing PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 168 : 349 - 355.
- [13] Yuge R, Kitadai Y, Shinagawa K, et al. mTOR and PDGF pathway blockade inhibits liver metastasis of colorectal cancer by modulating the tumor microenvironment [J]. Am J Pathol, 2015, 185(2) : 399 - 408.
- [14] 刘金娜, 杨太新, 温春秀, 等. 瓜蒌的化学成分和药理活性研究进展 [J]. 中药材, 2013, 36(5) : 843 - 848.
Liu JN, Yang TX, Wen CX, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of guaguano [J]. J Chin Med Mater, 2013, 36(5) : 843 - 848.
- [15] 吕建珍, 邓家刚. 苦杏仁苷的药理作用研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2012, 27(5) : 530 - 535.
Lyu JZ, Deng JG. Research progress in pharmacological effects of amygdalin [J]. Drugs & Clinic, 2012, 27(5) : 530 - 535.
- [16] 李妍, 杜红. 锻制温度对石膏理化性质及药理作用的影响研究 [D]. 北京中医药大学, 2017.
Li Y, Du H. Study on the effect of forging temperature on physical and chemical properties and pharmacological effects of plaster [D]. Beijing University of Chinese Medicine, 2017.

[收稿日期] 2018 - 04 - 17