王茜,万静,谭扬茗,等. 黄芪甲苷介导 TLR4-p38 MAPK 信号通路在幼鼠急性肺损伤中的研究[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(6): 106-112.
Wang Q, Wan J, Tan YM, et al. Astragaloside inhibits the TLR4-p38 MAPK signaling pathway in acute lung injury in newborn mice [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(6): 106-112.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.06.016

黄芪甲苷介导 TLR4-p38 MAPK 信号通路在幼鼠急性肺损伤中的研究

王　茜,万　静,谭扬茗,罗丹丹,熊海英,姜　红*

(华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院儿科,武汉　430014)

【摘要】　目的　探究黄芪甲苷介导 TLR4-p38 MAPK 信号通路在幼鼠急性肺损伤模型中的作用。**方法**　以 7 日龄 SD 新生仔鼠为实验对象,利用脂多糖构建幼鼠急性肺损伤模型,以地塞米松为阳性药对照,每只幼鼠腹腔注射 10 mL/kg 黄芪甲苷,造模后 12 h 和 24 h 观察肺组织病变,检测 TLR4、p-p38 蛋白和 mRNA 表达量,TNF-α、IL-6、IL-12 炎症因子的 mRNA 表达量变化。**结果**　模型组在建模后 12 h 呈现肺出血,大量肺泡萎陷,24 h 呈现肺水肿,肺泡间隔明显增宽。和模型组相比,黄芪甲苷组肺组织的病变明显减轻。另外,蛋白检测结果表明,与模型组比较,黄芪甲苷组 TLR4、p-p38 蛋白表达量明显降低($P<0.05$,$P<0.001$)q-PCR 结果表明,与模型组比较,黄芪甲苷组 TLR4 mRNA 相对表达量均有明显的降低,并且和模型组有显著性差异($P<0.05$)。TNF-α、IL-6、IL-12 各炎症因子均有下降的趋势,其中 IL-12 相对表达量和模型组有显著性差异($P<0.05$)。**结论**　黄芪甲苷通过抑制 TLR4-p38 MAPK 信号通路,在幼鼠急性肺损伤模型中起重要作用。

【关键词】　黄芪甲苷;急性肺损伤模型;TLR4-p38 MAPKs 信号通路;炎症因子
【中图分类号】R-33　　**【文献标识码】**A　　**【文章编号】**1671-7856(2020) 06-0106-07

Astragaloside inhibits the TLR4-p38 MAPK signaling pathway in acute lung injury in newborn mice

WANG Qian, WAN Jing, TAN Yangming, LUO Dandan, XIONG Haiying, JIANG Hong*
(Department of Paediatrics, the Central Hospital of Wuhan Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430014, China)

【Abstract】　Objective　To investigate the effect of astragaloside on the TLR4-p38 MAPK signaling pathway in a newborn mouse acute lung injury model. **Methods**　Seven-day-old SD newborn rats were used as experimental subjects. The model of acute lung injury in newborn rats was established by intraperitoneal lipopolysaccharide (LPS) injection. Dexamethasone was used as a positive control. Each rat was injected intraperitoneally with 10 mL/kg astragaloside. The lung lesions were observed 12 and 24 h after LPS injection. Furthermore, the mRNA and protein expression levels of TLR4 were determined, as well as the phosphorylation level of p38 protein. Finally, the changes in inflammatory factors TNF-α, IL-6 and IL-12 were analyzed. **Results**　The model group showed pulmonary hemorrhage and a large number of collapsed alveoli at 12 h, and pulmonary edema and a significantly widened alveolar septum at 24 h after LPS injection. Compared with the

[作者简介]王茜(1982—)女,本科,主管护师,研究方向:儿科。E-mail: 439547611@qq.com
[通信作者]姜红(1971—)女,本科,副主任医师。E-mail: 871484600@qq.com

model group, the lesions in the lung tissue of the astragaloside group were significantly alleviated. Additionally, Western blot result showed the levels of TLR4 ($P< 0.05$) and p-p38 ($P< 0.001$) were significantly lower in the astragaloside group than in the model group. The qPCR result showed that the level of TLR4 mRNA in the astragaloside group was significantly decreased compared with that in the model group ($P< 0.05$). The inflammatory factors, TNF-α, IL-6 and IL-12, were all decreased, and the relative IL-12 expression was significantly different from that in the model group ($P< 0.05$). **Conclusions** Astragaloside plays an important role in alleviating the acute lung injury model of newborn rats by inhibiting the TLR4-p38 MAPK signaling pathway.

【**Keywords**】 astragaloside; acute lung injury model; TLR4-p38 MAPK signaling pathway; inflammatory factors

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是儿科各个年龄组最常见的潜在的危害性最大的疾病之一,急性肺损伤的发生和发展涉及到多种病理生理过程,目前研究发现 ALI 的发病机制主要由炎症反应/抗炎反应的失衡造成,其发病率及病死率极高[1]。内毒素脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是引起 ALI 的重要因素之一,研究表明,LPS 可刺激缺氧诱导因子 1-α(hypoxia inducible factoR-1α, HIF-1α)的聚集[2],通过增加其转录与蛋白翻译,抑制蛋白降解[3],HIF-1α 可进一步激活其靶基因血管内皮生长因子,共同参与炎症性肺损伤的病理过程[4]。Toll 受体 4(toll-like receptor 4, TLR4)作为 Toll 家族的一员,已被确认为 LPS 的模式识别受体[5]。研究表明,TLR4 可通过髓系分化因子 88(MyD88)激活丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPKs)信号通路,诱导炎症发生[6]。黄芪甲苷是黄芪的主要活性成分之一,具有抗炎、抗氧化、改善心肌缺血、抗病毒等作用[7-12]。另外,黄芪在治疗急性肺损伤方面也发挥重要作用[13-15]。本研究以 SD 大鼠为研究对象,利用 LPS 诱导幼鼠急性肺损伤模型,以地塞米松为阳性药做对照,观察黄芪甲苷对急性肺损伤模型(幼鼠)TLR4-p38 MAPKs 信号通路的影响,以期阐明黄芪甲苷在幼鼠急性肺损伤中的作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物

8 周龄 SPF(specific pathogen free)级健康 SD 雌性孕鼠 6 只,体重 200~220 g,购自湖北省疾控中心[SCXK(鄂)2015-0018]。于武汉华联科生物技术有限公司动物模型研究院 SPF 条件下饲养[SYXK(鄂)2018-0104]。饲养环境为温度 22℃~26℃,相对湿度 50%~60%,人工光照明暗各 12 h,给予标准饲料和纯净水喂养。新生仔鼠母乳喂养至第 7 天随机分为 4 组,每组 6 只。本实验经武汉华联科有限公司模型动物研究院伦理审查委员会审查批准(HLK-20190303-01)。实验过程中对实验鼠的处置符合中华人民共和国科学技术委员会颁布的《实验动物管理条例》的规定。

1.2 主要试剂与仪器

黄芪甲苷溶液配制:取黄芪甲苷干粉溶解于 1%的羧甲基纤维素钠溶液中,制成 0.3 mg/mL 的黄芪甲苷混悬液备用。地塞米松溶液配制:用蒸馏水将地塞米松配制成 0.5 mg/mL 溶液备用。

TLR4 抗体、P-38 抗体、p-p38、RIPA(强)组织细胞快速裂解液,BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型)、苏木素、伊红购自 bioswamp 公司,货号分别为:PAB33926、PAB40560、PAB43320-P、W1689、W1712、I1709、I1703;黄芪甲苷、地塞米松、羧甲基纤维素钠购自 aladdin 公司,货号分别为:A111275、D137736、C104979;LPS、戊巴比妥钠购自 sigma 公司,货号分别为:L3012、P3761;SYBR Green PCR 试剂盒购自 KAPABiosystems 公司,货号:KM4101;逆转录试剂盒购自 TaKaRa 公司,货号:639505。

电泳仪、荧光定量 PCR 仪,美国 BIO-RAD 公司,型号分别为:mini protean 3 cell、CFX-Connect 96;酶标仪,芬兰雷勃公司,型号:MK3;全自动化学发光分析仪,上海天能科技有限公司,型号:TanoN-5200;凝胶成像系统北京君意东方电泳设备有限公司;正置显微镜、石蜡切片机,德国徕卡显微系统有限公司,型号分别为:DM1000、TKD-TK;组织脱水机、石蜡包埋机,湖北康强医疗器械有限公司,型号:TKD-TSB、Tb-718D。

1.3 实验方法

1.3.1 新生小鼠肺损伤模型构建

新生 7 d 小鼠称重,腹腔注射 LPS(5 mg/kg,加生理盐水至 0.5 mL),对照组腹腔注射等量生理盐水(0.5 mL)。

1.3.2 模型鉴定

造模 12 h 后,取幼鼠肺组织进行组织病理学检

测,观察肺部是否有明显病变。并根据肺间质水肿、肺泡水肿、炎细胞浸润、肺泡出血、充血、肺不张改变的等级,按程度的"无、轻、中、重"分别计"0、1、2、3 分",然后累计总分,评分越高表示病理变化越严重[16]。

1.3.3 分组及给药方式

模型组:幼鼠在造模前 1 h 灌胃给予 10 mL/kg 的 1%羧甲基纤维素钠,然后进行造模处理;黄芪甲苷组:幼鼠在造模前 1 h 灌胃给予黄芪甲苷溶液(10 mL/kg),然后进行造模处理[17];阳性对照组:幼鼠在造模前灌胃给予地塞米松(10 mL/kg),然后进行造模处理[18];对照组灌胃给予 0.5 mL 灭菌生理盐水,造模 12 h 取幼鼠肺组织。

1.3.4 HE 切片制作

幼鼠肺组织固定在 10%中性福尔马林中 2 d;修块:厚度约为 0.2 ~ 0.3 cm,大小为 1.5 cm × 1.5 cm×0.3 cm;冲水:12 h;脱水:组织脱水机内进行;浸蜡;包埋;切片;染色:将组织切片常规脱蜡至水,苏木精液染色 5 min,1%盐酸乙醇 2 s,流水冲洗 15 min,0.5%伊红液染色 2 min,蒸馏水洗 2 s,80%乙醇 30 s,95%乙醇 30 s,无水乙醇 1 s,二甲苯(Ⅰ)2 s,二甲苯(Ⅱ)2 s,中性树胶封固。通过显微镜拍照,Leica Application Suite 图象系统采集分析样本。

1.3.5 Western blot 检测

用研磨器将收集的肺组织研碎,收集细胞,加入适量预冷的 1×PBS 洗涤,加入裂解液充分裂解细胞,离心后取上清液进行蛋白质浓度测定。然后用 12%的分离胶,5%的浓缩胶进行蛋白质电泳、90 V 转膜 50 min、5%脱脂奶粉室温封闭 2 h、孵育 TLR4、p38、p-p38 抗体(1∶2000 稀释)和 GAPDH 抗体(1∶1000 稀释),37℃孵育 2 h,洗涤 3 次,加羊抗兔二抗 IgG(1∶20000 稀释)37℃孵育 1 h,洗涤 3 次,然后将膜放置在暗室中,根据用量取 ECL 发光液 A 和 B 等量混匀,加在膜的正面与之充分接触。然后将膜置于全自动化学发光分析仪中检测。

1.3.6 qRT-PCR 检测

用研磨器将收集的肺组织研碎,收集细胞,用 TRIzol 法提取各组细胞总 RNA,采用分光光度计测定 RNA 浓度和纯度,将 mRNA 反转录成 cDNA。以逆转录后 cDNA 为模板,分别扩增看家基因和目的基因。PCR 条件:94℃预变性 4 min,94℃变性 5 s,56℃退火 10 s,72℃延伸 25 s,共 39 个循环,65℃ 7 min,95℃ 50 s。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因与看家基因的比值。引物序列见表 1。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 18.0 软件进行统计学处理,计量资料采用平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析和 LSD-t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。使用 Graphpad prism 5 软件制作统计图。

2 结果

2.1 模型鉴定

造模 12 h 后,幼鼠肺呈现:间质充血、出血(图 1 左),肺水肿,肺泡间隔明显增宽,大量肺泡萎陷,肺部正常组织形态结构消失(图 1 右)。

表 1 Real-time PCR 检测引物序列

Table 1 Real-time PCR primer sequence

引物 Primer	序列 Sequence	大小(bp) Size
TLR4-F	5'-CATAGAGACATCCAAAGG-3'	270
TLR4-R	5'-GCTACCACAAGCACAC-3'	
p38-F	5'-GGTGTGTGCTGCTTTTGA-3'	100
p38-R	5'-CCTGTAGGTCCTTTTGGC-3'	
TNF α-F	5'-CCACGCTCTTCTGTCTACTG-3'	145
TNFα-R	5'-GCTACGGGCTTGTCACTCCAAGTTCAA-3'	
IL1β-F	5'-TCTGTGACTCGTGGGATG-3'	159
IL1β-R	5'-CTTGTTGGCTTATGTTCTGT-3'	
IL6-F	5'-CCTTCTTGGGACTGATGT-3'	97
IL6-R	5'-ACTGGTCTGTTGTGGGTG-3'	
IL12-F	5'-CACGCTACCTCCTCTTCT-3'	224
IL12-R	5'-CAGTGTGCTGGTTTTGTC-3'	
GAPDH-F	5'-CAAGTTCAACGGCACAG-3'	138
GAPDH-R	5'-CCAGTAGACTCCACGACAT-3'	

2.2　黄芪甲苷对 SD 幼鼠肺组织病理学的影响

幼鼠肺组织切片显示，对照组肺泡形状完好，未见充血、炎症细胞浸润、水肿等病理现象（图 2A、2a）；模型组在建模后 12 h 呈现肺出血、肺泡腔内有炎性细胞浸润，大量肺泡萎陷（图 2B），24 h 呈现肺水肿，肺泡间隔明显增宽，充血（图 2b）。和模型组相比，黄芪甲苷组在 12 h，仅呈现轻微的肺泡壁增厚，轻微充血（图 2C），24 h 也仅表现轻微的肺泡壁增厚（图 2c）。地塞米松组病变程度较模型组显著减轻（图 2D、2d）。

模型组病理形态学积分与对照组有极显著性差异（$P<0.001$），表示建模成功，另外，黄芪甲苷组，地塞米松组与模型组有显著性差异（$P<0.05$），见表 2。

2.3　黄芪甲苷对 SD 幼鼠肺组织中 TLR4-p38 MAPKs 信号通路蛋白表达的影响

从 Western blot 结果可以看出，模型组 TLR4 和 p-p38 蛋白相对表达量和对照组相比，明显升高（$P<0.05$，$P<0.01$）。黄芪甲苷组 TLR4 和 p-p38 蛋白相对表达量和模型组相比，均有明显的降低（$P<0.05$，$P<0.001$），见图 3。

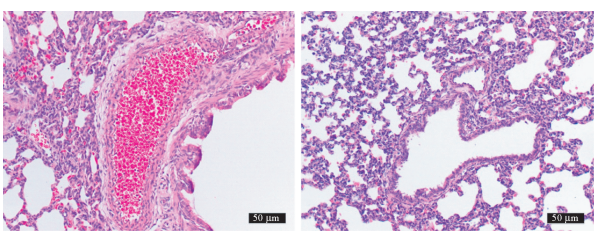


图 1　急性肺损伤小鼠肺组织切片

Figure 1　Lung section of mice with acute lung injury

2.4　黄芪甲苷对 SD 幼鼠肺组织中 TLR4-p38 MAPKs 信号通路核酸表达的影响

由 q-PCR 结果可以看出，模型组 TLR4 和 P38 相对表达量均高于对照组（$P<0.05$）和地塞米松组（$P<0.05$），模型组 TLR4 相对表达量和黄芪甲苷组相比，明显升高（$P<0.05$），见图 4。

2.5　黄芪甲苷对 SD 幼鼠肺组织中炎症因子表达的影响

由 qRT-PCR 结果可以看出，和模型组相比，在注射黄芪甲苷后，TNF-α、IL-6、IL-12 各炎症因子均有下降的趋势，其中模型组 IL-12 mRNA 相对表达量与地塞米松组和黄芪甲苷组有显著性差异（$P<0.05$），见图 5。

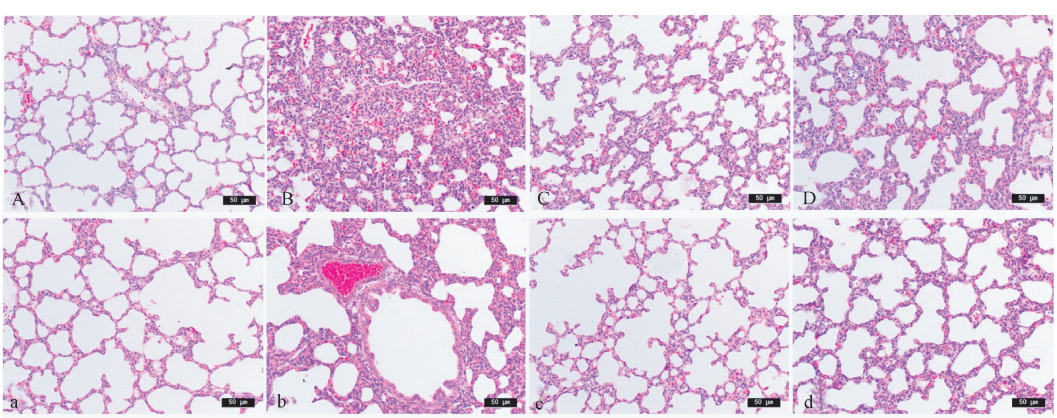
表 2　幼鼠肺组织病理形态学积分的变化（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

Table 2　Pathomorphological changes of the lung tissues in rats

组别 Groups	病理学积分 Pathology score
对照组 Control group	$1.71\pm1.18^{\#\#\#}$
模型组 Model group	14.5 ± 2.42
黄芪甲苷组 Astragaloside group	$7.62\pm2.28^{*}$
地塞米松组 Dexamethasone group	$8.46\pm3.14^{*}$

注：与对照组比较，$^{\#\#\#}P<0.001$；与模型组比较，$^{*}P<0.05$。

Note. Compared with the control group, $^{\#\#\#}P<0.001$. Compared with the model group, $^{*}P<0.05$.

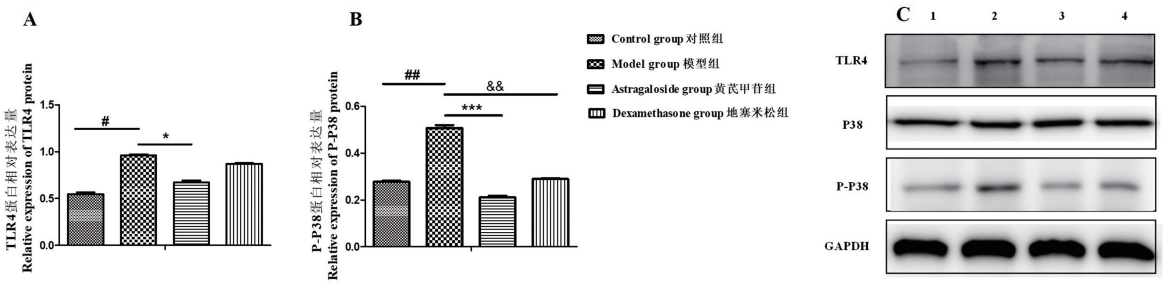


注：图 A-D 分别代表 12 h 对照组、模型组、黄芪甲苷组、地塞米松组小鼠肺组织切片；a-d 为 24 h 对照组、模型组、黄芪甲苷组、地塞米松组小鼠肺组织切片。

图 2　小鼠肺组织病变

Note. Figure A-D represents the lung sections of the 12 h control group, model group, astragaloside group, and dexamethasone group. a-d represents the 24 h control group, model group, astragaloside group, and dexamethasone group.

Figure 2　lung tissue Lesions in mice

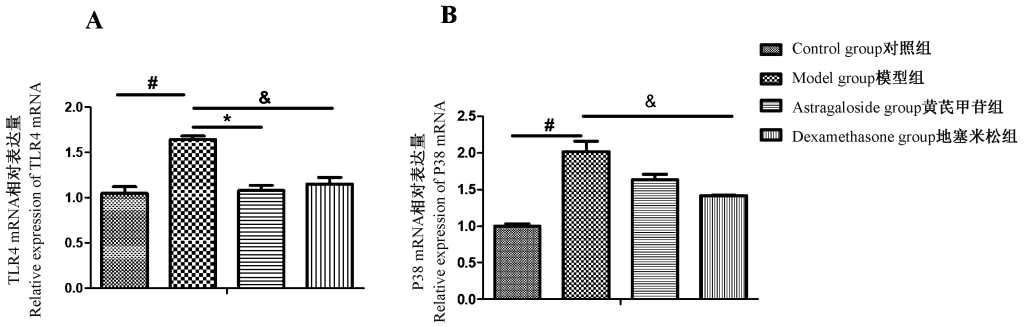


注：A：TLR4 蛋白相对表达量；与对照组比较，$^{\#}P<0.05$；与模型组比较，$^{*}P<0.05$。B：p-p38 蛋白相对表达量。与对照组比较，$^{\#\#}P<0.01$；与模型组比较，$^{***}P<0.001$；与地塞米松组比较，$^{\&\&}P<0.01$。C：TLR4-p38 MAPKs 信号通路蛋白表达，1-4 分别代表对照组、模型组、黄芪甲苷组、地塞米松组。

图 3 TLR4-p38 MAPKs 信号通路蛋白表达

Note. A, Relative expression of TLR4 protein. Compared with the control group $^{\#}P<0.05$. Compared with the model group, $^{*}P<0.05$. B, Relative expression of p-p38 protein. Compared with the control group, $^{\#\#}P<0.01$. Compared with the model group, $^{***}P<0.001$. Compared with the dexamethasone group, $^{\&\&}P<0.01$. C, TLR4-p38 MAPKs signaling pathway protein expression, 1-4 show the control group, model group, astragaloside group, and dexamethasone group.

Figure 3 TLR4-p38 MAPKs signaling pathway protein expression

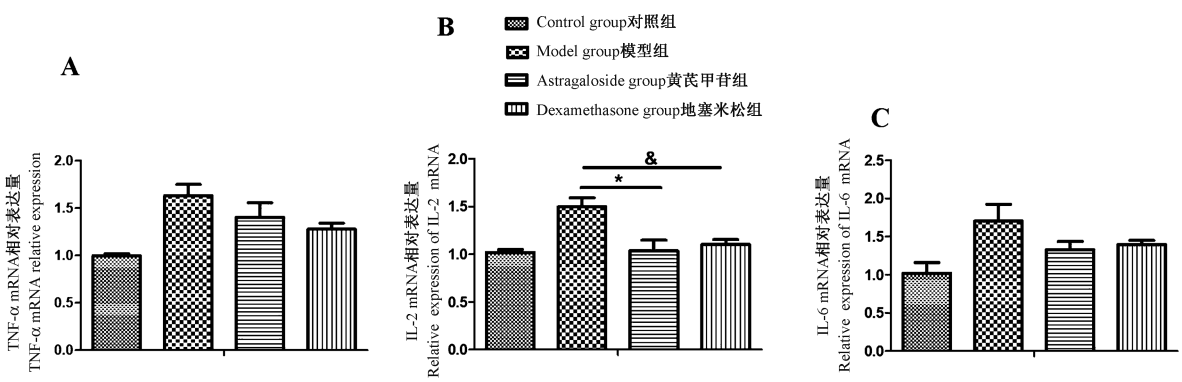


注：A：TLR4 mRNA 相对表达量，图中 4 个 bar 依次代表对照组，模型组，黄芪甲苷组，地塞米松组。与对照组比较，$^{\#}P<0.05$；与模型组比较，$^{*}P<0.05$；与地塞米松组比较，$^{\&}P<0.01$；B：p38 mRNA 相对表达量。

图 4 TLR4-p38 MAPKs 信号通路核酸表达

Note. A, Relative expression of TLR4 mRNA, the 4 bars in the figure show the control group, model group, astragaloside group, dexamethasone group. Compared with the control group, $^{\#}P<0.05$. Compared with the model group, $^{*}P<0.05$. Compared with the dexamethasone group, $^{\&}P<0.01$. B, Relative expression of p38 mRNA.

Figure 4 TLR4-p38 MAPKs signaling pathway nucleic acid expression



注：A：TNF-α mRNA 相对表达量；B：IL-12 mRNA 相对表达量。与模型组比较，$^{*}P<0.05$；与地塞米松组比较，$^{\&}P<0.01$；C：IL-6 mRNA 相对表达量。

图 5 炎症因子表达

Note. A, Relative expression of TNF-α mRNA. B, Relative expression of IL-12 mRNA. Compared with the model group, $^{*}P<0.05$. Compared with the dexamethasone group, $^{\&}P<0.01$. C, Relative expression of IL-6 mRNA.

Figure 5 Expression of inflammatory factors

3 讨论

ALT 是各种直接和间接致伤因素导致的肺泡上皮细胞及毛细血管内皮细胞损伤,造成弥漫性肺间质及肺泡水肿,导致的急性低氧性呼吸功能不全。大多数患者在临床上有急性呼吸窘迫综合征急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)。ALT 病死率高,有研究表明该病病死率高达 44.3%[19]。ALT 在病理学上表现为弥漫性肺泡损伤、肺泡毛细血管通透性增加,随着病情进展导致间质性肺炎和肺纤维化[20]。造成 ALT 的原因有很多,比如感染、胶原血管疾病、药物不良反应、休克、急性嗜酸性粒细胞肺炎、免疫介导的肺出血和血管炎、放射性肺炎等[21]。其中革兰阴性杆菌感染是引起 ALI 的常见因素。细胞壁的 LPS 是革兰阴性杆菌内毒素的主要成分,也是最主要的致病因素[22]。本研究用 LPS 诱导,建立 SD 幼鼠急性肺损伤模型,ALI 的病理基础与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有关[23]。本研究结果显示,黄芪甲苷组小鼠肺病变,和模型组相比,充血、出血、水肿、炎性细胞浸润的情况明显减轻,这说明黄芪甲苷能有效缓解 LPS 造成的 SD 小鼠的肺部损伤。

MAPKs 是细胞内广泛表达的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,可参与多种细胞反应的调节,如细胞增殖分化、凋亡、癌基因转化等[24-25]。p38MAPK 信号通路参与类风湿性关节炎、哮喘等多种炎症疾病的发生过程,是一种重要的炎症调控因子[26-27]。黄芪多糖抗炎作用机制与抑制 p38MAPK 信号通路有关,目前在哮喘气道炎症、心脏炎症等炎症发生中已经证实[28-29],且有报道称 TLR4 可激活 MAPKs 信号通路[6],本研究中,发现黄芪甲苷能有效降低 TLR4 和 p-p38 的表达量。炎症因子在炎症反应中起决定性作用,在急性肾损伤早期,IL-1β 能够通过提高白细胞 CD11/CD18 的表达水平、促进内皮细胞 ICm-1 表达等方式召集炎症细胞进入肾间质[30]。TNF-α 也是一种促炎因子,其在急性组织损伤中表达上调,TNF-α 能够促进炎症发生[31]。在慢性肺炎中 IL-6 也对病情的发展起重要作用[32]、IL-12 也是重要的炎症因子[33]。有报道称,黄芪甲苷可能通过 MAPK/ERK 通路促进 LPS 诱导的 BMSCs 增殖,抑制其凋亡和促炎细胞因子的分泌[34]。本研究结果发现,黄芪甲苷组炎症因子的表达量有所降低,其中 IL-12 和模型组有显著性差异,这表明黄芪甲苷能有效抑制炎症因子的表达,进而抑制机体产生过强的炎症反应,来保护由 LPS 造成的 SD 小鼠的肺损伤。

综上所述,黄芪甲苷能减轻 SD 小鼠肺病变程度,抑制 TLR4 和 p-p38 的表达水平,降低炎症因子 TNF-α,IL-6, IL-12 的表达量,表明黄芪甲苷可能通过抑制 TLR4-p38MAPK 信号通路发挥抗炎症反应和缓解肺损伤的作用。

参考文献:

[1] Fuller BM, Mohr NM, Kollef MH,et al. Diagnosis and treatment of acute respiratory distress syndrome [J]. Jama, 2018, 320(3): 306-306.

[2] Jantsch J, Chakravortty D, Turza N, et al. Hypoxia and hypoxia-inducible factoR-1 alpha modulate lipopolysaccharide-induced dendritic cell activation and function [J]. J Immunol, 2008, 180(7): 4697-4705.

[3] Nicholas SA, Sumbayev VV. The role of redox-dependent mechanisms in the downregulation of ligand-induced Toll-like receptors 7, 8 and 4-mediated HIF-1 alpha prolyl hydroxylation [J]. Immunol Cell Biol, 2010, 88(2): 180-186.

[4] Jiang H, Huang Y, Xu H, et al. Inhibition of hypoxia inducible factor-l a ameliorates lung injury induced by trauma and hemorrhagic shockin rats [J]. Acta Pharmacol Sin, 2012, 33(5): 635-642.

[5] Tao L, Cao F, Xu G, et al. Mogroside IIIE attenuates LPS-induced acute lung injury in mice partly through regulation of the TLR4/MAPK/NF-κB axis via AMPK activation [J]. Phytother Res, 2017, 31(7): 1097-1106.

[6] Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on toll-like receptors [J]. Nat Immunol, 2010, 11(5): 373-384.

[7] 李正红, 史俊, 赵君谊, 等. 黄芪甲苷对高糖腹透液诱导的腹膜间皮细胞线粒体损伤的干预机制研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2019, 35(4): 436-441.

[8] 李玉梅, 鲍慧玮, 王楚盈, 等. 黄芪甲苷与阿魏酸合用调控 JAK-STAT 通路促进血管内皮细胞增殖作用的研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(1): 1-8.

[9] Zhang WJ, Hufnagl P, Binder BR, et al. Antiinflammatory activity of astragaloside IV is mediated by inhibition of NF-kappaB activation and adhesion molecule expression [J]. Thromb Haemost, 2003, 90(5): 904-914.

[10] Li C, Yang F, Liu F, et al. NRF2/Ho-1 activation via ERKpathway involved in the anti -neuroinflammatory effect of Astragaloside IV in LPS induced microglial cells [J]. Neurosci Lett, 2018, 666: 104-110.

[11] Liu HS, Shi HL, Huang F, et al. Astragaloside IV inhibits microglia activation via glucocorticoid receptor mediated signaling pathway [J]. Sci Rep, 2016, 6: 19137.

[12] 商蕾, 曲章义, 宁莉莉, 等. 黄芪甲苷体外抗腺病毒作用研究 [J]. 中国药理学通报, 2013, 29 (6): 854-858.
[13] 张吉, 臧东钰. 黄芪甲苷对急性肺损伤大鼠内质网应激介导影响 [J]. 中国民族民间医药, 2014, 23(15): 19-21.
[14] 赵建军, 张建勇, 陈玲, 等. 黄芪甲苷对急性肺损伤大鼠肺水通道蛋白 5 表达的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(5): 385-389.
[15] 赵建军, 张建勇, 陈玲, 等. 黄芪甲苷对急性肺损伤大鼠肺水通道蛋白 1 表达的影响, 中国医院药学杂志 [J]. 2012, 32(9): 694-699.
[16] Sun D, Zhao M, Ma D, et al. Protective effect of interleukiN-1 receptor antagonist on oleic acid-induced lung injury [J]. Chin Med J(Engl), 1996, 109(7): 522-526.
[17] 杨希. p38-MAPK 在戊乙奎醚保护内毒素致新生大鼠急性肺损伤效应中的作用 [D]. 郑州: 郑州大学, 2017.
[18] 卫威. 黄芪-丹参对脂多糖致急性肺损伤大鼠的防治作用 [J]. 环球中医药, 2018, 11(1): 30-33.
[19] Phua J, Badia JR, Adhikari NK, et al. Has mortality from acute respiratory distress syndrome decreased over time: a systematic review [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 179(3): 7220-7227.
[20] Fein AM, Calalang-Colucci MG. Acute lung injury and acute respiratory distress syndrome in sepsis and septic shock [J]. Crit Care Clin, 2000, 16(2): 289-317.
[21] Butt Y, Kurdowska A, Allen TC. Acute lung injury: A clinical and molecular review [J]. Arch Pathol Lab Med, 2016, 140 (4): 345-350.
[22] Matthew M, Li L. Molecular mechanisms and pathological consequences of endotoxin tolerance and priming [J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2012, 60(1): 13-18.
[23] Hough CL, Herridge MS. Long-term outcome after acute lung injury [J]. Curr Opin Crit Care, 2012, 18(1): 8-15.
[24] 包桂兰, 王秀枝, 梁凤娟, 等. 蒙药五味沙棘散对吸烟致小鼠肺部炎症的改善作用及机制研究 [J]. 中国药房, 2017, 28(31): 4411-4414.
[25] 刘婷婷, 张淑萍, 覃筱燕, 等. MAPK 信号转导通路与神经损伤研究进展 [J]. 中国公共卫生, 2016, 32(2): 248-254.
[26] Schett G, Zwerina J, Firestein G. The p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway in rheumatoidarthritis [J]. Ann Rheum Dis, 2008, 67(7): 909-916.
[27] Li Z, Wang H, Liu L. InterleukiN-25 enhances allergic inflammation through p38MAPK and NF-κB pathways in mouse models of allergic rhinitis [J]. Iran J Allergy Asthma Immunol, 2014, 13(6): 412-419.
[28] 赵启明, 李彩娥, 雷蕾, 等. 黄芪多糖在未成年大鼠心肌缺血再灌注炎性损伤中的作用 [J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(7): 625-628.
[29] 刘蓓, 朱海燕, 高永红, 等. 黄芪多糖对 TNF-α 诱导心脏微血管内皮细胞黏附分子基因转录及 p38MAPK 信号通路的影响 [J]. 世界中医药, 2011, 6(3): 263-265.
[30] Fontana J, Vogt A, Hohenstein A, et al. Impact of steroids on the inflammatory response after ischemic acute kidney injury in rats [J]. Indian J Nephrol, 2017, 27(5): 365-371.
[31] 陈英, 张文玲, 黄涛, 等. 炎症因子 TNF-α、IL-6、IL-17 与类风湿关节炎并发动脉粥样硬化的关系 [J]. 免疫学杂志, 2017, 33(3): 268-272.
[32] 刘志丙. 慢性阻塞性肺疾病合并全身炎症反应综合征患者血清白介素-6、白介素-10 和肿瘤坏死因子-α 的变化 [J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(12): 2906-2908.
[33] Yong K, Mori T, Chew G, et al. The effects of OMEGA-3 fatty acid supplementation upon interleukiN-12 and interleukiN-18 in chronic kidney disease patients [J]. J Ren Nutr, 2019, 29(5): 377-385.
[34] 闾红燕. 黄芪甲苷对骨髓间充质干细胞炎症模型的影响及机制研究 [J]. 中国药师, 2019, 22(9): 1625-1629.

〔收稿日期〕2019-12-19