

葶苈子水提液通过调控 HMGB1/TLR4/ NF- κ B 信号通路对 LPS 吸入性 肺损伤新生大鼠的影响*

冯玲玲¹, 杜鑫¹, 葛瑜¹, 杨凡¹, 黄荣¹, 张丽萍²

(1. 长江大学附属仙桃市第一人民医院儿科, 仙桃 433000; 2. 武汉科技大学附属医院儿科, 武汉 430000)

摘要: [目的] 探究葶苈子水提液对脂多糖(LPS)吸入性肺炎新生大鼠的影响。[方法] 腹腔注射 LPS 制备吸入性肺损伤大鼠模型, 将大鼠随机分为 6 组: 对照组、模型组、葶苈子水提液 5 g/kg 组、葶苈子水提液 10 g/kg 组、葶苈子水提液 20 g/kg 组和地塞米松 0.002 g/kg 组。干湿法检测肺组织干湿质量比值; 苏木精-伊红(HE)染色检测肺组织病理损伤; 酶联免疫吸附(ELISA)法检测氧化应激标记物: 超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)含量和炎症因子白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平; 蛋白免疫印迹(Western Blot)法检测高迁移率族蛋白 1(HMGB1)、Toll 样受体 4(TLR4)和磷酸化核转录因子- κ B(p-NF- κ B)p65 蛋白表达水平。[结果] 与对照组比较, 模型组大鼠肺干湿质量比值升高, SOD、GSH 含量降低, MDA 含量升高, IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平升高, HMGB1、TLR4 蛋白表达水平及 p-NF- κ B p65 与核转录因子- κ B (NF- κ B)p65 比值升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较, 葶苈子水提液 10、20 g/kg 组和地塞米松 0.002 g/kg 组肺干湿质量比值降低, 肺组织病理损伤程度明显改善, SOD、GSH 含量升高, MDA 含量降低, IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平降低, HMGB1、TLR4 蛋白表达水平及 p-NF- κ B p65 与 NF- κ B p65 比值降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。[结论] 葶苈子水提液能改善 LPS 诱导的吸入性肺损伤大鼠模型病理损伤, 抑制炎症因子的释放, 改善氧化应激, 抑制 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号通路的活化。

关键词: 肺损伤; 葶苈子; 炎症反应; HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1673-9043(2022)03-0342-06

急性肺损伤 (ALI)/急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 是肺部重度炎症, 可导致弥漫性肺泡损伤、低氧血症、肺水肿和呼吸衰竭^[1]。世界范围内儿童 ALI 的发生率很高, 常见病因是由于呼吸道感染革兰氏阴性杆菌, 病死率大于 35%^[2]。脂多糖(LPS)是革兰氏阴性细菌细胞壁的主要生物活性成分, 已被广泛用于通过触发过多的炎症介质来诱导与人的 ALI 病理特征相似的 ALI 模型^[3]。由于目前 ALI 的病理机制尚未完全阐明, 临床上以对症治疗为主,

治疗效果较差, 导致 ALI 患者的病死率较高。因此, 寻找有效的方法和探索分子机制是十分必要的。

葶苈子为十字花科芝麻菜属植物芝麻菜或播娘蒿的种子, 具有止咳平喘、强心利尿、抗肿瘤等作用^[4]。已有研究表明葶苈子水提液通过改善水通道蛋白 5 的含量或活性, 对 LPS 致 ALI 大鼠的肺淤血、肺水肿及动脉血气的改变具有调节作用^[5]。但葶苈子对 LPS 诱导 ALI 的具体作用机制仍不清楚, 本文探究葶苈子水提液对 LPS 吸入性肺炎新生大鼠病理损伤、氧化应激、炎症因子及高迁移率族蛋白 1 (HMGB1)/Toll 样受体 4 (TLR4)/核转录因子- κ B (NF- κ B) 信号通路的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物 60 只雄性 3 d 龄新生 SPF 级 SD 大鼠购自华中科技大学动物实验中心, 体质量(7 $\pm$

* 基金项目: 湖北省自然科学基金项目(2017CFB225)。

作者简介: 冯玲玲(1982-), 女, 主治医师, 主要从事儿科方向研究。

引用格式: 冯玲玲, 杜鑫, 葛瑜, 等. 葶苈子水提液通过调控 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号通路对 LPS 吸入性肺损伤新生大鼠的影响[J]. 天津中医药大学学报, 2022, 41(3): 342-347.

2) g, 许可证号: SCXK(鄂)2016—0009。于 SPF 级别动物饲养房饲养, 每周更换灭菌垫料, 按时添加裸鼠饲料及饮水。本实验所有动物实验流程经仙桃市第一人民医院动物伦理委员会批准同意。

1.2 实验药物和主要试剂 葶苈子(批号: 3010523)购自上元堂大药房; 地塞米松(批号: SD9530)购自北京索莱宝科技有限公司; 苏木素-伊红(HE)染液(批号: D006-1-1)、超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒(批号: A001-3-2)、丙二醛(MDA)测定试剂盒(批号: A003-1)、谷胱甘肽(GSH)测定试剂盒(批号: A005-1-2)、白细胞介素-6(IL-6)测定试剂盒(批号: H007)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)测定试剂盒(批号: H002)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)测定试剂盒(批号: H052)购自南京建成生物工程研究所; 二喹啉甲酸(BCA)蛋白浓度测定试剂盒(批号: P0012S)、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔免疫球蛋白 G(IgG)(批号: A0208)购自上海碧云天生物技术研究所; 兔抗单克隆抗体 HMGB1(批号: ab18256)、TLR4(批号: ab13556)、NF- κ B p65(批号: ab16502)购自英国 Abcam 公司。

1.3 葶苈子水提液的制备 取葶苈子 200 g, 8 倍量水煎煮 3 次, 将其制备为含生药 2 g/mL 的水提液, 即合并 3 次滤液浓缩至 100 mL, 实验时用生理盐水配成所需浓度^[6]。

1.4 动物模型建立及分组 将大鼠随机分为 6 组: 对照组、模型组、葶苈子水提液低、中、高剂量组和地塞米松组, 每组 10 只大鼠。葶苈子水提液低、中、高剂量组分别灌胃葶苈子水提液 5、10、20 g/kg^[7], 地塞米松组灌胃地塞米松 0.002 g/kg^[8], 对照组和模型组灌胃等量生理盐水, 每日 1 次, 连续 7 d。于第 7 日灌胃后, 除对照组外的其余大鼠用左手大拇指和食指固定新生大鼠头部, 均于鼻内单次滴注 LPS 5 mg/kg 复制吸入性肺损伤模型^[9]。

1.5 干湿法 采用干湿法检测肺干湿质量比值, 处死各组大鼠后, 取肺组织称取质量, 记为湿质量, 置于烤箱中烘烤至质量不变, 记为干质量。肺干湿质量比值=干质量/湿质量 $\times$ 100%。

1.6 HE 染色 取各组大鼠肺组织用 10% 甲醛固定 48 h, 石蜡包埋制作成切片, 厚度 5 mm。然后用 HE 染液进行染色, 在 200 倍荧光显微镜下观察肺组织损伤情况。

1.7 氧化应激 按照试剂盒说明书, 采用酶标仪测定 SOD 含量, 采用可见分光光度计测定 MDA、GSH

含量。SOD 在 450 nm 处测 A 值, MDA 在 532 nm 处测 A 值, GSH 在 412 nm 处测 A 值。

1.8 ELISA 将各组大鼠肺组织置于含蛋白酶抑制剂的裂解液的玻璃匀浆器中匀浆, 12 000 r/min 离心 15 min(离心半径 10 cm), 收集上清液, 按照 ELISA 试剂盒说明书检测炎症因子 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平。

1.9 Western Blot 取各组大鼠肺组织, 加入含蛋白酶抑制剂的细胞裂解液提取总蛋白, 并用 BCA 试剂盒测定蛋白质含量。取等质量蛋白质样品, 100 $^{\circ}$ C 变性 5 min 后用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)法分离并转移至聚偏二氟乙烯膜(PVDF), 在 4 $^{\circ}$ C 条件下加入 HMGB1、TLR4 和 NF- κ B p65 一抗并孵育过夜, 清洗, 然后在 4 $^{\circ}$ C 下加入辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG, 孵育 2 h, 最后加入电化学发光(ECL)发光液, 曝光处理。Image J 软件统计灰度值, 以目的条带灰度值/GAPDH 灰度值表示蛋白表达水平。

1.10 统计学分析 使用 GraphPad Prism 5 进行统计分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

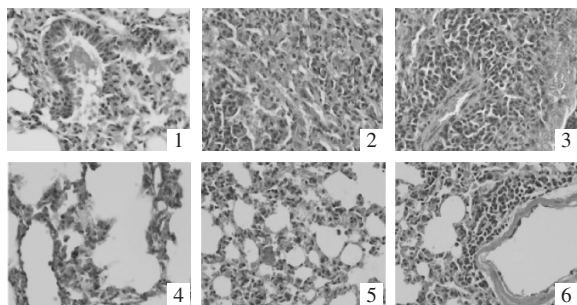
2.1 葶苈子水提液降低吸入性肺损伤新生大鼠模型肺干湿质量比值 通过干湿法检测各组新生大鼠肺干湿质量比值, 结果显示与对照组比较, 模型组肺干湿质量比值升高, 差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较, 葶苈子水提液中、高剂量组和地塞米松组肺干湿质量比值降低, 差异有统计学意义($P<0.05$)。与地塞米松组比较, 葶苈子水提液各剂量组肺干湿质量比值升高, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 葶苈子水提液降低吸入性肺损伤大鼠模型肺干湿质量比值($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	剂量 (g/kg)	肺干湿质量比值 (湿质量/干质量)
对照组	10	—	4.36 $\pm$ 0.18
模型组	10	—	6.63 $\pm$ 0.31*
地塞米松组	10	0.002	4.71 $\pm$ 0.28 [#]
葶苈子水提液低剂量组	10	5.000	6.34 $\pm$ 0.23 ^Δ
葶苈子水提液中剂量组	10	10.000	5.96 $\pm$ 0.16 ^{#Δ}
葶苈子水提液高剂量组	10	20.000	5.23 $\pm$ 0.11 ^{#Δ}

注: 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, ^Δ $P<0.05$ 。

2.2 葶苈子水提液改善吸入性肺损伤新生大鼠模型肺组织病理损伤 通过 HE 染色检测各组新生大鼠肺组织病理损伤,提示对照组肺组织结构完整,肺泡腔清晰,无明显水肿及炎性细胞浸润。模型组肺泡组织结构紊乱、水肿、间质增厚、出血和大量炎性细胞浸润。与模型组比较,葶苈子水提液中、高剂量组和地塞米松组病理损伤程度明显减轻,炎性细胞浸润减少。见图 1。



注:1.对照组;2.模型组;3.葶苈子水提液低剂量组;4.葶苈子水提液中剂量组;5.葶苈子水提液高剂量组;6.地塞米松组。

图1 葶苈子水提液对吸入性肺损伤新生大鼠模型肺组织病理损伤的影响($\times 200$)

2.3 葶苈子水提液对吸入性肺损伤新生大鼠模型 SOD、MDA 和 GSH 含量的影响 通过 ELISA 法检测各组新生大鼠 SOD、MDA 和 GSH 含量,结果显示与对照组比较,模型组大鼠 SOD、GSH 含量降低,MDA 含量升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模

型组比较,葶苈子水提液中、高剂量组和地塞米松组 SOD、GSH 含量升高,MDA 含量降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。与地塞米松组比较,葶苈子水提液各剂量组 SOD、GSH 含量降低,MDA 含量升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.4 葶苈子水提液对吸入性肺损伤新生大鼠模型 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平的影响 通过 ELISA 法检测各组新生大鼠 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平,结果显示与对照组比较,模型组 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,葶苈子水提液中、高剂量组和地塞米松组 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。与地塞米松组比较,葶苈子水提液各剂量组 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.5 葶苈子水提液对吸入性肺损伤新生大鼠模型 HMGB1、TLR4 和 p-NF- κ B p65 蛋白表达水平的影响 通过 Western Blot 法检测新生大鼠肺组织中 HMGB1、TLR4 和 p-NF- κ B p65 蛋白表达水平,结果显示与对照组比较,模型组 HMGB1、TLR4 蛋白表达水平及 p-NF- κ B p65 与 NF- κ B p65 比值升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,葶苈子水提液中、高剂量组和地塞米松组 HMGB1、TLR4 蛋白表达水平及 p-NF- κ B p65 与 NF- κ B p65 比值降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。与地塞米松组比

表2 葶苈子水提液对吸入性肺损伤新生大鼠模型 SOD、MDA 和 GSH 含量的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	剂量(g/kg)	SOD(U/mg pro)	MDA(nmol/mg pro)	GSH(U/mg pro)
对照组	10	—	138.45 $\pm$ 5.26	10.74 $\pm$ 2.42	0.590 $\pm$ 0.042
模型组	10	—	29.56 $\pm$ 4.24*	88.23 $\pm$ 10.36*	0.043 $\pm$ 0.026*
地塞米松组	10	0.002	127.48 $\pm$ 6.55 [#]	21.41 $\pm$ 2.17 [#]	0.510 $\pm$ 0.043 [#]
葶苈子水提液低剂量组	10	5.000	46.27 $\pm$ 8.56 Δ	80.47 $\pm$ 6.29 Δ	0.152 $\pm$ 0.033 Δ
葶苈子水提液中剂量组	10	10.000	67.79 $\pm$ 6.11 ^{#Δ}	66.76 $\pm$ 5.57 ^{#Δ}	0.291 $\pm$ 0.039 ^{#Δ}
葶苈子水提液高剂量组	10	20.000	105.28 $\pm$ 15.00 ^{#Δ}	39.55 $\pm$ 3.35 ^{#Δ}	0.447 $\pm$ 0.048 ^{#Δ}

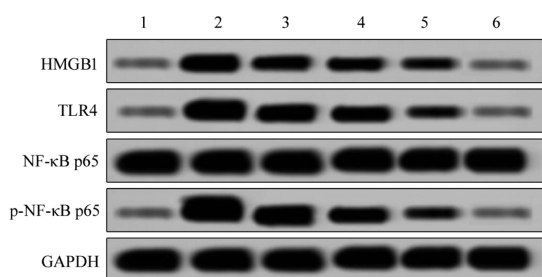
注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与地塞米松组比较, Δ $P<0.05$ 。

表3 葶苈子水提液对吸入性肺损伤新生大鼠模型 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	剂量(g/kg)	IL-6	IL-1 β	TNF- α
对照组	10	—	47.58 $\pm$ 10.35	19.74 $\pm$ 2.01	99.66 $\pm$ 20.01
模型组	10	—	279.69 $\pm$ 25.31*	59.556 $\pm$ 10.11*	706.67 $\pm$ 55.05*
地塞米松组	10	0.002	89.26 $\pm$ 10.31 [#]	38.37 $\pm$ 4.04 [#]	227.36 $\pm$ 15.18 [#]
葶苈子水提液低剂量组	10	5.000	255.36 $\pm$ 16.34 Δ	53.23 $\pm$ 5.88 Δ	657.56 $\pm$ 42.87 Δ
葶苈子水提液中剂量组	10	10.000	223.35 $\pm$ 12.88 ^{#Δ}	41.26 $\pm$ 8.45 ^{#Δ}	536.67 $\pm$ 29.34 ^{#Δ}
葶苈子水提液高剂量组	10	20.000	147.56 $\pm$ 15.15 ^{#Δ}	33.98 $\pm$ 2.34 ^{#Δ}	308.31 $\pm$ 23.02 ^{#Δ}

注: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, Δ $P<0.05$ 。

较, 葶苈子水提液各剂量组 HMGB1、TLR4 蛋白表达水平及 p-NF- κ B p65 与 NF- κ B p65 比值升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 2、表 4。



注: 1. 对照组; 2. 模型组; 3. 葶苈子水提液低剂量组; 4. 葶苈子水提液中剂量组; 5. 葶苈子水提液高剂量组; 6. 地塞米松组。

图 2 HMGB1、TLR4 和 p-NF- κ B p65 蛋白表达水平

3 讨论

由于肺泡发育不成熟, 自生免疫功能低下, 新生儿发生 ALI 的概率极高^[10]。临床治疗方式主要为抗感染、氧疗和机械辅助通气, 但效果不佳。本研究通过鼻内滴注 LPS 5 mg/kg 的方法建立了吸入性肺损伤大鼠模型, 研究发现葶苈子水提液具有降低模型大鼠肺干湿质量比值及改善肺组织病理损伤程度的作用。

由于呼吸道和肺组织承担着机体所需氧气的供给及交换, 肺组织容易受到氧自由基的攻击, 相关研究表明, 过度的氧化应激是导致 ALI 的重要原因^[11]。GSH、SOD 是体内最重要的抗氧化物酶, 可清除细胞中 ROS, 具有保护细胞免受氧化损伤的作用^[12]。MDA 是脂质过氧化反应的最终产物, 并在一定程度上反映了氧化应激水平^[13]。陈小兰等^[14]研究发现葶苈子提取液可降低心肌缺血/再灌注损伤大鼠 MDA 含量, 提高 SOD 活力从而减轻心肌损伤。本研究发现葶苈子水提液能够升高吸入性肺损伤大鼠模型 SOD、GSH 含量, 降低 MDA 含量, 提示葶苈子水提液具有改善吸入性肺损伤新生大鼠模型氧化应激

状态的作用。

肺组织中炎性细胞浸润是 LPS 诱发 ALI 的主要病理生理变化之一^[15]。IL-6 是评估和检测 ALI 的常用指标, 其水平高低与 ALI 呈正相关。IL-1 β 和 TNF- α 是由单核细胞和巨噬细胞产生的具有致炎作用的细胞因子^[16], IL-1 β 通过激活相关炎症通路进一步刺激炎症介质的释放, TNF- α 可通过激活血管内皮细胞产生大量细胞黏附因子, 使炎症细胞在炎症部位得到表达^[17]。张桐茂等^[18]研究发现葶苈子提取物可减轻慢性阻塞性肺疾病大鼠炎症反应。本研究发现, 葶苈子水提液具有降低吸入性肺损伤大鼠模型 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平的作用, 提示葶苈子水提液通过抑制炎症因子的释放对吸入性肺损伤新生大鼠模型具有保护作用。

LPS 诱发的 ALI 与 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号通路的激活密切相关, HMGB1 是真核细胞广泛表达的一种高度保守的细胞核非组蛋白, 当细胞坏死或被激活时可释放大量的 HMGB1, 可促进炎症因子的释放^[19]。TLR4 作为 HMGB1 的重要配体, 参与晚期炎症信号的传导, 使 NF- κ B p65 磷酸化, 诱导 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 等炎症因子的释放^[20]。NF- κ B 是炎症反应中重要的转录调节因子, 磷酸化激活后可转移到细胞核内, 结合并启动促炎基因表达, 导致炎症损伤^[21]。因此, 抑制 NF- κ B 信号活化是治疗炎症性疾病的重要方式^[22]。本研究发现, 葶苈子水提液具有降低吸入性肺损伤大鼠模型 HMGB1、TLR4 蛋白表达水平及 p-NF- κ B p65 与 NF- κ B p65 比值的作用, 提示葶苈子水提液通过抑制 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号通路活化, 减轻肺组织病理损伤、炎症反应及氧化应激, 对 LPS 诱发 ALI 的新生大鼠产生保护作用。

综上所述, 葶苈子水提液可改善吸入性肺损伤大鼠模型肺组织病理损伤, 抑制氧化应激、炎症因子的释放, 其机制可能是通过抑制 HMGB1/TLR4/

表 4 葶苈子水提液对吸入性肺损伤新生大鼠模型 HMGB1、TLR4 和 p-NF- κ B p65 蛋白表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	剂量 (g/kg)	HMGB1/Actin	TLR4/Actin	p-NF- κ B p65/NF- κ B p65
对照组	10	—	0.11 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.02	0.15 $\pm$ 0.03
模型组	10	—	1.24 $\pm$ 0.13*	1.01 $\pm$ 0.11*	1.89 $\pm$ 0.21*
地塞米松组	10	0.002	0.25 $\pm$ 0.04 [#]	0.14 $\pm$ 0.03 [#]	0.48 $\pm$ 0.05 [#]
葶苈子水提液低剂量组	10	5.000	1.05 $\pm$ 0.10 Δ	0.91 $\pm$ 0.05 Δ	1.58 $\pm$ 0.19 Δ
葶苈子水提液中剂量组	10	10.000	0.81 $\pm$ 0.09 ^{#Δ}	0.55 $\pm$ 0.06 ^{#Δ}	1.05 $\pm$ 0.14 ^{#Δ}
葶苈子水提液高剂量组	10	20.000	0.48 $\pm$ 0.05 ^{#Δ}	0.27 $\pm$ 0.04 ^{#Δ}	0.88 $\pm$ 0.09 ^{#Δ}

注: 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, $\Delta P < 0.05$ 。

NF- κ B 信号通路活化实现的。本研究为葶苈子临床治疗新生儿吸入性肺损伤提供了一定理论依据。

参考文献:

- [1] DONG Z W, YUAN Y F. Juglanin suppresses fibrosis and inflammation response caused by LPS in acute lung injury[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2018, 41 (6): 3353-3365.
- [2] MENG Y X, CAI X H, WANG L P. Potential genes and pathways of neonatal sepsis based on functional gene set enrichment analyses [J]. Computational and Mathematical Methods in Medicine, 2018, 20(18): 670-675.
- [3] JU M J, LIU B F, HE H Y, et al. microRNA-27a alleviates LPS-induced acute lung injury in mice *via* inhibiting inflammation and apoptosis through modulating TLR4/MyD88/NF- κ B pathway [J]. Cell Cycle (Georgetown, Tex), 2018, 17(16): 2001-2018.
- [4] 孟祥凤. 葶苈子化学成分及药理作用的研究进展[J]. 黑龙江科技信息, 2013, 17(34): 63, 71.
MENG X F. Research progress on chemical constituents and pharmacological action of *Semen lepidii* [J]. Heilongjiang Science and Technology Information, 2013, 17(34): 63, 71.
- [5] 张朝晖, 徐小云, 瞿星光, 等. 葶苈子水提液对内毒素致急性肺损伤大鼠肺泡 II 型上皮细胞水通道蛋白 5 表达的影响[J]. 中国中医急症, 2016, 25(4): 606-608, 622.
ZHANG Z H, XU X Y, QU X G, et al. Effects of semen lepidii on the expression of aquaporin-5 of alveolar cells type II in rats with endotoxin induced acute lung injury[J]. Journal of Emergency in Traditional Chinese Medicine, 2016, 25(4): 606-608, 622.
- [6] 郭娟, 陈长勋, 沈云辉. 葶苈子水提液对动物实验性心室重构的影响[J]. 中草药, 2007, 38(10): 1519-1523.
GUO J, CHEN C X, SHEN Y H. Effect of aqueous extract from *Semen Lepidii seu Descurainiae* on ventricular remodeling in experimental animals [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2007, 38(10): 1519-1523.
- [7] 张晓丹, 范春兰, 余迎梅, 等. 葶苈子水提液对 CHF 大鼠利尿尿作用的影响[J]. 中国现代应用药学, 2010, 27(3): 210-213.
ZHANG X D, FAN C L, YU Y M, et al. Diuretic effect of aqueous extract of Tinglizi on CHF rats [J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2010, 27(3): 210-213.
- [8] 由淑萍, 汪波, 赵军, 等. 肉苁蓉苯乙醇总苷对脂多糖致大鼠急性肺损伤的抑制作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(5): 347-353.
YOU S P, WANG B, ZHAO J, et al. Inhibitory effect of cistanches phenylethanol glycosides on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats [J]. Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology, 2019, 33(5): 347-353.
- [9] 杨世勇, 何毅, 宋大强, 等. 基于 TLR4/NF- κ B 途径的白藜芦醇减轻 LPS 致小鼠急性肺损伤的机制研究[J]. 中国药房, 2020, 31(9): 1034-1039.
YANG S Y, HE Y, SONG D Q, et al. Study on the mechanism of resveratrol attenuating LPS-induced acute lung injury in mice based on TLR4/NF- κ B pathway [J]. China Pharmacy, 2020, 31(9): 1034-1039.
- [10] LI Y, WANG Q, CHEN H, et al. Epidemiological features and risk factor analysis of children with acute lung injury [J]. World Journal of Pediatrics, 2012, 8(1): 43-46.
- [11] CARNESECCHIS, PACHE J C, BARAZZONE-ARGIROFFO C. NOX enzymes: potential target for the treatment of acute lung injury [J]. Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS, 2012, 69(14): 2373-2385.
- [12] BAVUNOGLU I, GENC H, KONUKOGLU D, et al. Oxidative stress parameters and inflammatory and immune mediators as markers of the severity of sepsis [J]. Journal of Infection in Developing Countries, 2016, 10(10): 1045-1052.
- [13] ZHANG H X, LIU S J, TANG X L, et al. H2S attenuates LPS-induced acute lung injury by reducing oxidative/nitrative stress and inflammation [J]. Cellular Physiology and Biochemistry, 2016, 40(6): 1603-1612.
- [14] 陈小兰, 郑道国, 徐群威, 等. 南葶苈子提取液对心肌缺血/再灌注大鼠心肌自噬及 MAPK/ERK1/2 通路的影响[J]. 中国中医急症, 2019, 28(8): 1349-1353.
CHEN X L, ZHENG D G, XU Q W, et al. Effects of south *Semen Lepidii* extraction solution on myocardial autophagy and MAPK/ERK1/2 pathway in rats with myocardial ischemia/reperfusion [J]. Journal of Emergency in Traditional Chinese Medicine, 2019, 28(8): 1349-1353.
- [15] COSTA E L, AMATO M B. The new definition for acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: is there room for improvement? [J]. Current Opinion in Critical Care, 2013, 19(1): 16-23.
- [16] 王军媛, 赵建红, 刘颖, 等. 芪明颗粒对早期糖尿病肾病炎症因子及尿微量白蛋白的影响[J]. 天津中医药大学学报, 2017, 36(2): 113-116.
WANG J Y, ZHAO J H, LIU Y, et al. Effect of Qiming Granule on inflammatory factors and urinary micro albumin in early diabetic nephropathy [J]. Journal of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2017, 36(2): 113-116.
- [17] MANTOVANI A, DINARELLO C A, MOLGORA M, et al. Interleukin-1 and related cytokines in the regulation of inflammation and immunity [J]. Immunity, 2019, 50(4): 778-795.
- [18] 张桐茂, 刘炜, 孔德颖. 南葶苈子中的指标成分槲皮素-

- 3-O-β-D-葡萄糖基-7-O-β-D-龙胆双糖苷对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺部免疫功能调节机制研究[J].中草药, 2019, 50(4): 910-917.
- ZHANG T M, LIU W, KONG D Y. Mechanism of QGG from *Descurainia sophia* on airway inflammation and remodeling in COPD rats[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2019, 50(4): 910-917.
- [19] 樊菲菲, 谢建刚, 赵丹琿, 等. 雾化吸入高渗盐水对脓毒症大鼠肺损伤的影响[J]. 解放军医药杂志, 2020, 32(11): 1-5.
- FAN F F, XIE J G, ZHAO D H, et al. Effect of inhalation of nebulized hypertonic saline on lung injury in septic rats[J]. Medical & Pharmaceutical Journal of Chinese PLA, 2020, 32(11): 1-5.
- [20] SUBRAMANI T, RATHNAVELU V, ALITHEEN N B, et al. Cellular crosstalk mechanism of Toll-like receptors in gingival overgrowth (review)[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2015, 35(5): 1151-1158.
- [21] 夏娟, 张书春, 代紫阳, 等. 姜黄素通过抑制 NF-κB 信号通路减轻高糖致 H9C2 心肌细胞损伤的实验研究[J]. 天津中医药大学学报, 2021, 40(6): 778-782.
- XIA J, ZHANG S C, DAI Z Y, et al. Circumin attenuates high glucose-induced H9C2 cardiomyocyte injury via NF-κB signaling pathway[J]. Journal of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2021, 40(6): 778-782.
- [22] SUN Y N, LI W, YAN X T, et al. Phenolic components from the stem of *Acanthopanax koreanum* and their inhibitory effects on NF-κB[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2014, 78(3): 374-377.
- (收稿日期: 2022-03-11)

Effect of *Semen Lepidii* aqueous extract on neonatal rats with LPS inhalation lung injury by regulating HMGB1/TLR4/NF-κB signaling pathway

FENG Lingling¹, DU Xin¹, GE Yu¹, YANG Fan¹, HUANG Rong¹, ZHANG Liping²

(1. Department of Pediatrics, Xiantao First People's Hospital Affiliated to Yangtze University, Xiantao 433000, China; 2. Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430000, China)

Abstract: [Objective] To investigate the effect of *Semen Lepidii* aqueous extract on neonatal rats with LPS aspiration pneumonia. [Methods] Rat models of aspiration lung injury were prepared by intraperitoneal injection of liposaccharide (LPS). The rats were randomly divided into 6 groups: control group, model group, water extract of *Semen Lepidii* (5 g/kg), water extract of *Semen Lepidii* (10 g/kg), water extract of *Semen Lepidii* (20 g/kg), and dexamethasone (0.002 g/kg). The ratio of dry and wet lung tissue was measured by dry and wet method. HE staining was used to detect pathological damage of lung tissue. The levels of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) and inflammatory cytokines interleukin-6 (IL-6), interleukin-1β (IL-1β) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) were detected by ELISA. The high mobility group protein B1 (HMGB1), Toll like receptor 4 (TLR4) and p-NF-κB p65 protein expression levels were detected by Western Blot. [Results] Compared with the control group, there were statistically significant differences between the model group and the control group ($P < 0.05$) in increased lung dry-wet weight ratio, increased levels of SOD, MDA and GSH, increased levels of IL-6, IL-1β and TNF-α, and increased expression levels of HMGB1 and TLR4 proteins, and increased p-NF-κB p65/NF-κB p65. Compared with model group, by the *Semen Lepidii* water extraction liquid of 10 g/kg, 20 g/kg, 0.002 g/kg group and dexamethasone group reduced lung wet weight ratio, lung tissue pathology damage degree, SOD and GSH content increased, MDA content reduced, IL-6, IL-1β and TNF-α levels reduced, HMGB1, TLR4 protein expression level and p-NF-κB p65/NF-κB p65 ratio decreased, significant difference was statistically significant ($P < 0.05$). [Conclusion] *Semen Lepidii* aqueous extract can improve the pathological injury, inhibit the release of inflammatory factors, improve oxidative stress, and inhibit the activation of HMGB1/TLR4/NF-κB signaling pathway in the rat model of inhalation lung injury induced by LPS.

Keywords: lung injury; *Semen Lepidii*; inflammatory reaction; HMGB1/TLR4/NF-κB signaling pathway