

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2023.11.015

论著 · 基础

# 基于 PI3K / AKT / NF- $\kappa$ B 信号通路探讨自拟英黄汤对脓毒症大鼠的保护作用

郭军利 陶愚磊 郑佳丽 梅建强 陈分乔 许文忠



基金项目: 2022 年河北省自然科学基金 (H2022423369); 2023 年政府资助临床医学优秀人才项目 (ZF2023159); 国家中医药管理局梅建强全国名老中医药专家传承工作室 (国中医药办人教函 (2022) 75 号)

作者单位: 050091 石家庄 河北中医学院研究生学院 (郭军利、陶愚磊、郑佳丽); 050000 石家庄 河北省中医院急诊科 (梅建强、陈分乔、许文忠)

通信作者: 许文忠, E-mail: 352707335@qq.com

**【摘要】** 目的 基于 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B 信号通路探讨英黄汤对脓毒症大鼠的保护作用。方法 2022 年 8—12 月于河北省中医药科学院附属医院动物实验室进行实验, 将 240 只雄性 SD 大鼠按随机数字表法分为假手术组、模型组、地塞米松组、英黄汤低剂量组、英黄汤中剂量组、英黄汤高剂量组, 每组 40 只。每组 20 只大鼠用于观察 7 d 内生存率, 剩余 20 只大鼠造模给药 72 h 后, 通过检测凝血相关指标、肺组织湿重/干重 (W/D) 比值、BALF 中总蛋白含量、肝肾功能相关指标, 观察英黄汤的干预作用; 通过 HE 染色观察英黄汤对肺、肝、肾组织的病理变化; 通过检测血清中 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平以及肺组织中 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  基因表达, 观察英黄汤对炎性因子的影响; 通过 Western-blot 方法检测英黄汤对肺组织中 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B 通路的影响。结果 英黄汤中高剂量组大鼠生存率均高于地塞米松组。造模给药 72 h 后, 与假手术组相比, 模型组大鼠血清中 PLT、Fib 含量显著降低, PT、APTT、TT 时间显著延长; BALF 中总蛋白含量、W/D 比值、ALT、AST、SCr、BUN 水平显著增加; 肺、肝、肾组织病理明显损伤; 血清中 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平及肺组织中 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  基因水平显著增高; p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-P65/P65 蛋白比值均显著增高。与模型组相比, 地塞米松组、英黄汤各剂量组大鼠血清中 PLT、Fib 含量显著增加 ( $F/P = 39.161 / <0.001$ 、 $11.233 / <0.001$ ), PT、APTT 时间显著缩短 ( $F/P = 32.933 / <0.001$ 、 $22.177 / <0.001$ ); BALF 中总蛋白、W/D 比值、ALT、AST、SCr、BUN 水平显著降低 ( $F/P = 27.160 / <0.001$ 、 $29.291 / <0.001$ 、 $20.553 / <0.001$ 、 $10.567 / <0.001$ 、 $28.450 / <0.001$ 、 $11.374 / <0.001$ ); 肺、肝、肾组织损伤明显改善; 血清中 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平显著降低 ( $F/P = 26.967 / <0.001$ 、 $38.238 / <0.001$ 、 $34.333 / <0.001$ ), 肺组织中 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  基因表达降低; p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-P65/P65 比值显著减小 ( $F/P = 22.826 / <0.001$ 、 $21.432 / <0.001$ 、 $83.294 / <0.001$ )。结论 英黄汤可以改善脓毒症大鼠凝血功能障碍, 保护肺肝肾功能, 降低炎性水平, 可能与抑制 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B 信号通路活化有关。

**【关键词】** 脓毒症; 英黄汤; 炎性因子; PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B 信号通路; 大鼠

**【中图分类号】** R631<sup>+</sup>.2 **【文献标识码】** A

**Based on PI3K/AKT/NF- $\kappa$  exploring the protective effect of self-made *Yinghuang* Decoction on sepsis rats through the B signaling pathway** Guo Junli<sup>\*</sup>, Tao Yulei, Zheng Jiali, Mei Jianqiang, Chen Fenqiao, Xu Wenzhong.<sup>\*</sup> Graduate School of Hebei University of Traditional Chinese Medicine, Hebei Province, Shijiazhuang 050091, China

Corresponding author: Xu Wenzhong, E-mail: 352707335@qq.com

Funding program: Natural Science Foundation of Hebei Province in 2022 (H2022423369); 2023 Government Funded Clinical Medicine Excellent Talent Project (ZF20231159); Mei Jianqiang National Traditional Chinese Medicine Expert Inheritance Studio of the State Administration of Traditional Chinese Medicine [2022]No.75

**【Abstract】 Objective** To investigate the protective effect of *Yinghuang* Decoction on septic rats based on PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B signaling pathway. **Methods** Two hundred and forty male SD rats were randomly divided into sham-operated group, model group, dexamethasone group, *Yinghuang* Decoction low-dose group, *Yinghuang* Decoction medium-dose group and *Yinghuang* Decoction high-dose group, 40 rats in each group. Twenty rats in each group were used to observe the survival rate within 7 days. After the remaining 20 rats were molded and administered for 72h, the therapeutic effects of *Yinghuang* Decoction were observed by detecting the coagulation-related indexes, wet weight/dry weight ratio of lung tissues, total protein

**【Abstract】 Objective** To investigate the protective effect of *Yinghuang* Decoction on septic rats based on PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B signaling pathway. **Methods** Two hundred and forty male SD rats were randomly divided into sham-operated group, model group, dexamethasone group, *Yinghuang* Decoction low-dose group, *Yinghuang* Decoction medium-dose group and *Yinghuang* Decoction high-dose group, 40 rats in each group. Twenty rats in each group were used to observe the survival rate within 7 days. After the remaining 20 rats were molded and administered for 72h, the therapeutic effects of *Yinghuang* Decoction were observed by detecting the coagulation-related indexes, wet weight/dry weight ratio of lung tissues, total protein

content in BALF, and liver and kidney function-related indexes; the pathological changes of *YingHuang* Decoction on lung, liver and kidney tissues were observed by HE staining; the levels of IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in serum and the levels of IL-6, TNF- $\alpha$  and gene expression of IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in lung tissues; the effect of *Yinghuang* Decoction on PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B pathway in lung tissues was detected by Western-blot method. **Results** The survival rate of septic rats in Decoction medium-dose group and high-dose group was higher than that in dexamethasone group. After modeling administration for 72h, compared with the sham-operated group, the serum levels of PLT and Fib in the model group rats were significantly reduced, and the PT, APTT and TT times were significantly prolonged; the levels of total protein, W/D ratio, ALT, AST, SCr and BUN in BALF were significantly increased; the histopathology of lung, liver and kidney were significantly damaged; the serum levels of IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  gene levels were significantly increased in lung tissue; p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT, p-P65/P65 protein ratios were increased. Compared with the model group, the serum levels of PLT and Fib were significantly increased ( $F/P=39.161/0.000, 11.233/0.000$ ) and PT and APTT times were significantly shortened ( $F/P=32.933/0.000, 22.177/0.000$ ) in the dexamethasone and *YingHuang* Tang groups at each dose; total protein in BALF, W/D ratios, the ALT, AST, SCr, and BUN levels were significantly reduced ( $F/P=27.160/0.000, 29.291/0.000, 20.553/0.000, 10.567/0.000, 28.450/0.000, 11.374/0.000$ ); lung, liver, and kidney tissue damage was significantly improved; serum IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  levels were significantly reduced ( $F/P=26.967/0.000, 38.238/0.000, 34.3333/0.000$ ), and IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  gene expression was reduced in lung tissue; p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT, p-P65/P65 ratios were significantly reduced ( $F/P=22.826/0.000, 21.432/0.000, 83.294/0.000$ ). **Conclusion** *Yinghuang* Decoction can improve coagulation dysfunction, protect lung, liver and kidney function and reduce inflammatory levels in CLP rats, and these changes may be related to the inhibition of PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B signaling pathway activation.

**【Key words】** Sepsis; *Yinghuang* Decoction; Inflammatory factors; PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B signaling pathway; Rats

脓毒症是感染引起宿主反应失调,导致危及生命的器官功能损害的一组症候群,病死率很高<sup>[1]</sup>,其往往发生于严重感染、烧伤或创伤,同时也是休克、外科大手术等疾病常见的并发症<sup>[2]</sup>。脓毒症早期常合并单一器官功能障碍,当炎症反应加重,机体出现炎症反应失控、血管内皮功能障碍、凝血功能障碍、循环代谢障碍,最终导致多器官功能障碍,其中炎症反应、凝血功能障碍、器官损伤贯穿脓毒症整个疾病阶段<sup>[3-4]</sup>。目前,西医治疗多采用液体复苏、抗感染治疗、血管活性药物治疗、连续血液净化及对症支持治疗等措施,取得了一定的效果<sup>[5]</sup>。然而,大量使用抗生素会增加细菌的耐药性,增加救治的难度,同时以免疫细胞、炎症介质、凝血系统为治疗靶点的最新研究亦未达到降低脓毒症病死率的预期效果。中医药具有几千年治疗感染性疾病的历史,大量证据表明中医药在治疗脓毒症方面具有很大的优势。

自拟英黄汤是由全国名中医梅建强教授在中医学理论基础上结合多年的急危重症临床救治经验创立,且已应用于临床中治疗脓毒症患者,并取得了一定的疗效<sup>[6]</sup>,然而其作用机制尚不明确。多项研究显示,磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/AKT)/核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)信号通路是脓毒症发病机制的关键通路,通过药物干预PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B通路被认为是降低脓毒症病死率的关键措施之一<sup>[7-8]</sup>。因此本研究运用盲

肠结扎穿孔法(CLP)建立脓毒症大鼠模型,基于PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B信号通路探讨英黄汤对脓毒症大鼠保护作用,为英黄汤更好在临床当中发挥治疗作用提供支持,报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物:健康雄性SD大鼠240只,体质量(150 $\pm$ 20)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物合格证号:SCXK(京)2021-0011。在安静环境下适应性饲养1周,饲养环境温度25 $^{\circ}$ C,湿度50%~60%。本实验经河北中医学院动物伦理委员会批准(DWLL2019004)。

1.1.2 英黄汤药物制备:蒲公英20g,生大黄9g,赤芍12g,白芍12g,清半夏6g,茯苓20g,地榆20g,当归15g,青皮15g,仙鹤草20g,川芎9g,水蛭9g,加入8倍体积水煎煮40min,浓缩成2g生药/ml备用。上述中药材饮片经由河北中医学院第一附属医院药学部提供,符合2015版《中国药典》相关规定。

1.1.3 主要试剂与仪器:大鼠白介素6(IL-6,货号:ml102828)、大鼠肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ,货号:ml002859)、大鼠白介素1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ,货号:ml028514)ELISA试剂盒均购自上海酶联生物科技有限公司。BCA蛋白定量试剂盒(货号:A045-4-2)、丙氨酸氨基转移酶(ALT,货号:C009-1)、天冬氨酸氨基转移酶

(AST, 货号: C0101-2-1)、血肌酐(Scr, 货号: C011-2-1)、尿素氮(BUN, 货号: C013-2-1)试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。总 RNA 提取试剂盒(货号: DP419)、cDNA 反转录试剂盒(货号: KR116-02)、SYBR 扩增试剂盒(货号: P205-02)均购自天根生化科技(北京)有限公司。PI3K 抗体(货号: bs-10657R)、p-PI3K 抗体(货号: bs-6417R)、AKT 抗体(货号: bsm-33278M)均购自北京博奥森生物技术有限公司; p-AKT 抗体(货号: 28731-1-AP)、P65 抗体(货号: 80979-1-RR)、 $\beta$ -actin(货号: 20536-1-AP)均购自 Proteintech 公司; p-P65 抗体(货号: 3033S)购自 Cell Signaling Technology 公司。地塞米松(货号: D8040)购于北京索莱宝科技有限公司。全自动血液分析仪(型号: Sysmex XT-2000iv)、光学显微镜(型号: ECLIPSE E100)均购自 Nikon 公司; 冷冻切片机(型号: CM3050S)购于 Leica 公司。

## 1.2 分组与造模方法

1.2.1 动物分组: 2022 年 8—12 月于河北省中医药科学院附属医院动物实验室进行实验, 将 240 只大鼠按随机数字表法分为假手术组、模型组、地塞米松组、英黄汤低剂量组、英黄汤中剂量组及英黄汤高剂量组。其中模型组、地塞米松组、英黄汤低剂量组、英黄汤中剂量组及英黄汤高剂量组运用 CLP 法建立脓毒症模型, 假手术组大鼠只切开腹壁并缝合, 不进行 CLP。

1.2.2 脓毒症大鼠模型的建立: 运用 CLP 建立脓毒症大鼠动物模型。术前 12 h 禁食不禁水, 异氟烷气体麻醉后前腹正中备皮, 消毒腹部皮肤, 于腹部正中做 2 cm 切口, 取出盲肠后, 游离肠系膜和盲肠, 运用 3-0 手术缝合线在盲肠末端距离回盲部 5 mm 处进行结扎, 于距结扎处远端阑尾根部两侧肠壁 0.8~1.0 cm 处, 运用注射器针头(20G)做 2 次贯通穿孔, 并挤出少量肠内容物, 之后于盲肠贯穿孔中放置 3 mm×0.5 mm×30 mm 引流条, 之后将盲肠放回腹腔, 缝合切口。

1.2.3 干预方法: 造模后假手术组与模型组灌胃生理盐水 2 ml, 每 12 h 灌胃 1 次。地塞米松组腹腔注射地塞米松 1 mg/kg, 每日 1 次。英黄汤低、中、高剂量组分别灌胃英黄汤 8.77 g 生药/kg、17.53 g 生药/kg、35.06 g 生药/kg, 每 12 h 灌胃 1 次, 各组均连续给药 3 d。英黄汤中剂量为人等效剂量, 低剂量是中剂量的 1/2, 高剂量是中剂量的 2 倍, 动物剂量和人等效剂量均根据体表面积折算<sup>[9]</sup>。

## 1.3 观测指标与方法

1.3.1 大鼠生存率统计: 每组大鼠分别选出 20 只进行生存率统计, 大鼠在接受 CLP 后, 每天统计各组大

鼠存活的数量, 连续观察 7 d, 生存率=存活大鼠数量/20×100%, 根据生存率绘制生存曲线。

1.3.2 血清 PLT、PT、APTT、TT、Fib 检测: 造模给药 72 h 后, 大鼠麻醉后固定, 剖开腹腔, 腹主动脉取血, EDTA-K2 抗凝真空采血管收集血液 200  $\mu$ l, 轻轻混匀, 室温静置 15 min, 全自动血液分析仪进行血小板计数(PLT); 再用枸橼酸钠抗凝真空采血管收集血液 200  $\mu$ l 轻轻混匀, 使用全自动血凝分析仪测定血浆凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血酶原时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(Fib)水平。

1.3.3 支气管肺泡灌洗液(BALF)收集及总蛋白测定、肺组织湿重/干重(W/D)比值测定: 造模给药 72 h 后, 将大鼠麻醉后固定, 剪开喉咙处皮肤, 用镊子分离周围组织, 暴露大鼠气管。取 1 ml 注射器针头, 剪掉磨平针尖, 在大鼠甲状软骨处插入针尖, 丝线结扎固定。将 1 ml PBS 分 2 次注射肺内, 每次均停留 1 min 后回收。回收的 BALF 于 4℃, 2 500 r/min 离心 10 min, 回收上清液冻存于 -80℃ 备用, 使用 BCA 试剂盒检测 BALF 总蛋白含量。取右肺组织, 称湿重后, 置于 60℃ 烘干箱烘干 48 h, 达到恒重, 计算肺 W/D 比值。

1.3.4 血清 ALT、AST、Scr、BUN 测定: 腹主动脉取血, 轻轻混匀, 室温静置 15 min, 使用全自动血液分析仪测定 ALT、AST、Scr、BUN 水平。

1.3.5 肺、肝、肾组织形态学测定: 造模给药 72 h 后, 收集肺、肝、肾组织, 清洗后置于 4% 多聚甲醛固定, 脱水后进行石蜡包埋, 切片机切成 3  $\mu$ m 厚的切片, 常规 HE 染色, 中性树胶封片, 光学显微镜下显像, 观察各组大鼠组织病理改变。

1.3.6 血清 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  测定: 将收集到的大鼠血液室温静置后离心 10 min, 转速 3 000 r/min, 收集血清。按照 ELISA 试剂盒说明书检测血清炎症因子 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  指标。

1.3.7 qRT-PCR 检测大鼠肺组织 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  基因水平: 造模给药 72 h 后, 取各组大鼠肺组织, 提取总 RNA, 逆转录合成 cDNA。以 cDNA 作为模板, 按照试剂盒说明分别加入引物和 SuperReal PreMix Plus, 反应条件: 95℃ 15 min, 95℃ 20 s, 56℃ 20 s, 40 循环。使用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  进行数据定量分析。PCR 引物见表 1。

1.3.8 Western-blot 检测各组大鼠 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B P65 信号通路中相关蛋白表达: 称取肺组织样品 20 mg 加入 RIPA 裂解液, 然后 12 000 r/min 离心 10 min 后吸取上清至新的 EP 管中。使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定得到的细胞上清液中蛋白质含量, 确保各样

品蛋白质含量一致。各取 20 μg 样品在密度为 10% 的分离胶进行电泳。从凝胶中分离的目标蛋白转移到已被甲醇激发的 PVDF 膜上,使膜在 5% 脱脂奶粉中室温封闭 2 h,之后加入 PI3K ( 1 : 1 000 )、p-PI3K ( 1 : 1 000 )、AKT ( 1 : 5 000 )、p-AKT ( 1 : 5 000 )、P65 ( 1 : 5 000 )、p-P65 ( 1 : 1 000 )、β-actin ( 1 : 1 000 ) 4℃ 孵育过夜。第 2 d 使用 1×TBST 缓冲液洗膜 3 次,每次 10 min。加入相应二抗 ( 1 : 8 000 ) ,室温孵育 2 h。膜用 1×TBST 洗膜 3 次,每次 5 min。使用增强化学发光法使条带可视化,以 β-actin 为内参,并通过凝胶成像分析系统成像,使用 Image-J 软件分析各条带灰度值。

表 1 IL-6、IL-1β、TNF-α、PCR 引物序列  
Tab.1 IL-6, IL-1 β, TNF-α Primer sequence

基因	引物序列(5'-3')
IL-6	上游: CTCATTCTGTCTCGAGCCCA
	下游: TGAAGTAGGGAAGGCAGTGG
IL-1β	上游: GGGATGATGACGACCTGCTA
	下游: TGTCTGCTTGTCTCTCTCT
TNF-α	上游: GAGCACGGAAAGCATGATCC
	下游: TAGACAGAAGAGCGTGGTGG
β-actin	上游: TCTTCCAGCCTTCTTCTCT
	下游: CACACAGACTTGGCGCTC

1.4 统计学方法 采用 SPSS 26.0 软件进行数据处理。符合正态分布计量数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 *t* 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠生存率比较 造模给药 7 d 后,假手术组大鼠生存率为 100%,模型组大鼠生存率为 30.0% ( 6/20 ) ,地塞米松组大鼠 35.0% ( 7/20 ) ,英黄汤低剂量组生存率为 30.0% ( 6/20 ) ,英黄汤中剂量组 40.0% ( 8/20 ) ,英黄汤高剂量组生存率为 45.0% ( 9/20 ) 。

2.2 各组大鼠血清 PLT、PT、APTT、TT、Fib 比较 与假手术组相比 模型组大鼠血清 PLT、Fib 含量显著减少 ( $P < 0.05$ ) ,PT、APTT、TT 时间显著延长 ( $P < 0.05$ ) ;与模型组相比 地塞米松组血清 PLT、Fib 含量显著增加 ( $P < 0.05$ ) ,PT、APTT、TT 时间显著缩短 ( $P < 0.05$ ) ,英黄汤高、中剂量组血清 PLT、Fib 含量显著增加 ( $P < 0.05$ ) ,PT、APTT 显著缩短 ( $P < 0.05$ ) ,英黄汤低剂量组 PT、Fib 水平差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) ;英黄汤各剂量组 TT 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) ;与地塞米松组相比 英黄汤中、高剂量组 PLT 含量显著增加 ( $P < 0.05$ ) ,英黄汤低剂量组 PT、APTT 显著延长,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) ,见表 2。

2.3 各组大鼠 BALF 中总蛋白及肺组织 W/D 比值比较 与假手术组相比,模型组大鼠 BALF 中总蛋白含量显著增加 ( $P < 0.05$ )、W/D 比值显著增大 ( $P < 0.05$ ) ;与模型组相比,地塞米松组和英黄汤高、中剂量组 BALF 中总蛋白显著减少 ( $P < 0.05$ )、W/D 比值显著减小 ( $P < 0.05$ ) ,英黄汤低剂量组 W/D 比值降低 ( $P < 0.05$ ) ;与地塞米松组相比,英黄汤高剂量组 BALF 中总蛋白含量、W/D 比值显著降低 ( $P < 0.05$ ) ,英黄汤低剂量组 BALF 中总蛋白含量、W/D 比值均升高 ( $P < 0.05$ ) ,见表 3。

2.4 各组大鼠血清 ALT、AST、SCr、BUN 比较 与假手术组相比 模型组大鼠 ALT、AST、SCr、BUN 含量显著增加 ( $P < 0.05$ ) ;与模型组相比,地塞米松组及英黄汤中、高剂量组 ALT、AST、SCr、BUN 含量均显著降低,英黄汤低剂量组 SCr 水平降低 ( $P < 0.05$ ) ;与地塞米松组相比,英黄汤高剂量组 ALT、BUN 含量均降低 ( $P < 0.05$ ) ,英黄汤低剂量组 SCr 升高 ( $P < 0.05$ ) ,见表 4。

2.5 各组大鼠肺、肝、肾组织病理结构比较 肺组织 HE 染色结果表明,模型组大鼠肺组织肺泡壁增厚,毛细血管扩张,肺间质充血伴有细胞浸润;与模型组相

表 2 各组大鼠血清 PLT、PT、APTT、TT、Fib 比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab.2 Comparison of serum PLT, PT, APTT, TT, FIB in each group of rats

组别	n	PLT ( ×10 <sup>9</sup> /L)	PT ( s)	APTT ( s)	TT ( s)	Fib ( g/L)
假手术组	20	1 372.98±182.19	13.83± 3.15	19.85± 3.15	22.72±4.40	3.70±0.82
模型组	20	643.45± 96.99 <sup>a</sup>	60.98±10.54 <sup>a</sup>	58.67±12.56 <sup>a</sup>	26.20±4.38 <sup>a</sup>	2.03±0.27 <sup>a</sup>
地塞米松组	20	753.08± 59.54 <sup>b</sup>	31.89±12.12 <sup>b</sup>	32.64± 7.08 <sup>b</sup>	23.53±2.45 <sup>b</sup>	2.42±0.43 <sup>b</sup>
英黄汤低剂量组	20	862.42± 79.07 <sup>b</sup>	49.79±10.67 <sup>c</sup>	43.18± 7.13 <sup>bc</sup>	24.07±2.53	2.29±0.42
英黄汤中剂量组	20	1 021.86± 99.02 <sup>bc</sup>	36.44±10.53 <sup>b</sup>	36.71±13.39 <sup>b</sup>	23.91±1.92	2.67±0.48 <sup>b</sup>
英黄汤高剂量组	20	1 205.40± 85.14 <sup>bc</sup>	25.74± 9.22 <sup>b</sup>	28.42± 8.20 <sup>b</sup>	23.81±3.63	2.82±0.45 <sup>b</sup>
F 值		39.161	32.933	22.117	0.812	11.233
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	0.547	<0.001

注:与假手术组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与地塞米松组相比,<sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

表 3 各组大鼠 BALF 中总蛋白及肺组织 W/D 比值比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

Tab.3 Comparison of total protein and lung tissue W/D ratio in BALF of rats in each group

组别	n	BALF 蛋白含量( mg/ml)	W/D
假手术组	20	9.29±1.66	4.45±0.56
模型组	20	27.67±3.78 <sup>a</sup>	10.87±2.88 <sup>a</sup>
地塞米松组	20	18.47±5.14 <sup>b</sup>	6.87±0.95 <sup>b</sup>
英黄汤低剂量组	20	25.15±3.87 <sup>c</sup>	8.50±0.55 <sup>bc</sup>
英黄汤中剂量组	20	17.46±4.27 <sup>b</sup>	7.06±0.82 <sup>b</sup>
英黄汤高剂量组	20	12.00±6.29 <sup>bc</sup>	6.34±1.09 <sup>bc</sup>
F 值		27.160	29.291
P 值		<0.001	<0.001

注:与假手术组相比,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组相比,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与地塞米松组相比,<sup>c</sup> $P<0.05$ 。

比,地塞米松组、英黄汤各剂量组炎性细胞减少,肺泡组织结构趋于完整,病理损伤减轻。肝组织 HE 染色结果表明,模型组大鼠肝细胞排列散乱,肝索紊乱,

肝细胞出现坏死,同时可观察到明显的炎性细胞浸润;与模型组相比,地塞米松组、英黄汤各剂量组大鼠肝细胞排列较整齐,肝组织中炎性细胞浸润均有所缓解。肾组织 HE 染色结果表明,模型组大鼠肾小球基底膜增生,肾间质炎性细胞浸润明显;与模型组相比,地塞米松组、英黄汤各剂量组肾脏组织炎性反应程度明显减轻,见图 1。

2.6 各组大鼠血清 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  比较 与假手术组相比,模型组大鼠血清中 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  含量均显著升高( $P<0.05$ );与模型组相比,地塞米松组、英黄汤各剂量组 IL-6、TNF- $\alpha$  含量及英黄汤中、高剂量组 IL-1 $\beta$  含量均降低( $P<0.05$ );与地塞米松组相比,英黄汤低、中剂量组 IL-6 表达及低剂量组 IL-1 $\beta$  表达均升高( $P<0.05$ ),见表 5。

2.7 各组大鼠肺组织 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  基因表达水平比较 与假手术组相比,模型组大鼠肺组织中 IL-6、

表 4 各组大鼠血清 ALT、AST、SCr、BUN 比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

Tab.4 Comparison of serum ALT , AST , SCR , and BUN in each group of rats

组别	n	ALT( U/L)	AST( U/L)	SCr( $\mu$ mol/L)	BUN( mmol/L)
假手术组	20	39.34± 7.54	81.75±18.39	39.90± 8.08	3.91±0.79
模型组	20	86.67±18.51 <sup>a</sup>	165.99±44.62 <sup>a</sup>	112.80±18.03 <sup>a</sup>	7.27±1.17 <sup>a</sup>
地塞米松组	20	68.62±15.05 <sup>b</sup>	118.33±21.01 <sup>b</sup>	69.90±15.95 <sup>b</sup>	5.64±1.02 <sup>b</sup>
英黄汤低剂量组	20	79.77±14.87	145.68±38.80	90.42±12.70 <sup>bc</sup>	6.26±1.28
英黄汤中剂量组	20	62.68±10.92 <sup>b</sup>	112.47±27.22 <sup>b</sup>	74.80±18.99 <sup>b</sup>	5.26±1.27 <sup>b</sup>
英黄汤高剂量组	20	44.75±12.96 <sup>bc</sup>	105.81±23.42 <sup>b</sup>	60.93±16.16 <sup>b</sup>	4.11±1.35 <sup>bc</sup>
F 值		20.553	10.567	28.450	11.374
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与假手术组相比,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组相比,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与地塞米松组相比,<sup>c</sup> $P<0.05$ 。

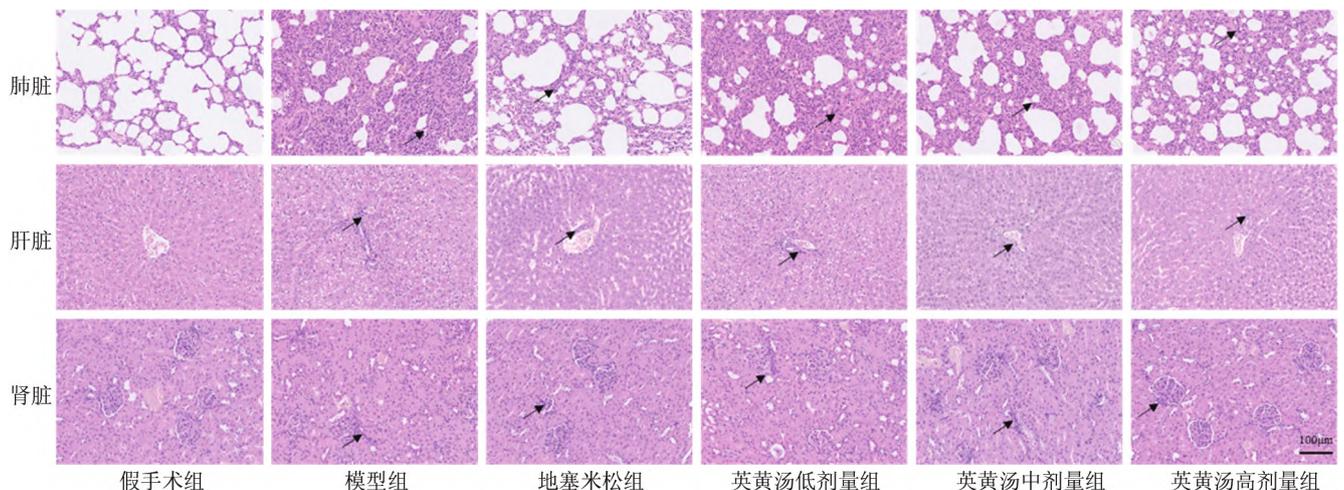


图 1 各组大鼠肺、肝、肾组织病理结构比较( HE 染色  $\times 200$ )

Fig.1 Comparison of pathological structures of lung , liver , and kidney tissues in each group of rats ( HE staining ,  $\times 200$ )

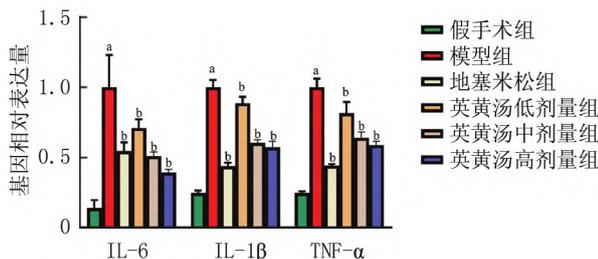
表 5 各组大鼠血清 IL-6、IL-1β、TNF-α 比较 (x̄±s, ng/L)

Tab.5 Serum IL-6 and IL-1 of rats in each group β, TNF-α compare

组别	n	IL-6	IL-1β	TNF-α
假手术组	20	56.70±13.69	58.43±9.29	84.82±24.13
模型组	20	138.76±26.25 <sup>a</sup>	171.05±26.78 <sup>a</sup>	289.81±48.04 <sup>a</sup>
地塞米松组	20	67.50±11.58 <sup>b</sup>	102.02±20.68 <sup>b</sup>	191.31±31.10 <sup>b</sup>
英黄汤低剂量组	20	108.22±16.49 <sup>bc</sup>	157.74±21.33 <sup>c</sup>	222.37±35.27 <sup>b</sup>
英黄汤中剂量组	20	94.94±14.12 <sup>bc</sup>	113.01±28.05 <sup>b</sup>	187.23±41.08 <sup>b</sup>
英黄汤高剂量组	20	69.96±19.39 <sup>b</sup>	106.75±23.00 <sup>b</sup>	175.60±49.39 <sup>b</sup>
F 值		26.967	38.238	34.333
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注: 与假手术组相比, <sup>a</sup>P<0.05; 与模型组相比, <sup>b</sup>P<0.05。

IL-1β、TNF-α 基因表达显著增高 (P<0.05); 与模型组相比, 地塞米松组、英黄汤各剂量组 IL-6、IL-1β、TNF-α 基因表达显著降低 (P<0.05); 与地塞米松组相比, 英黄汤各剂量组 IL-6、IL-1β、TNF-α 基因表达差异无统计学意义 (P>0.05), 见图 2。



注: 与假手术组相比, <sup>a</sup>P<0.05; 与模型组相比, <sup>b</sup>P<0.05。

图 2 各组大鼠肺组织 IL-6、IL-1β、TNF-α 基因水平比较

Fig.2 IL-6 and IL-1 in lung tissue of rats in each group β, TNF-α Comparison of Gene Levels

2.8 各组大鼠 PI3K/AKT/NF-κBP65 信号通路中相关蛋白表达的比较 Western-blot 结果表明, 与假手术相比, 模型组 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-P65/P65 比值显著上调 (P<0.01); 与模型组相比, 地塞米松组及英黄汤中、高剂量组 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-P65/P65 比值均降低 (P<0.05), 英黄汤低剂量组 p-PI3K/PI3K、p-P65/P65 比值均降低 (P<0.05); 与地塞米松组相比, 英黄汤各剂量组 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-P65/P65 比值差异无统计学意义 (P>0.05), 见表 6、图 3。

### 3 讨论

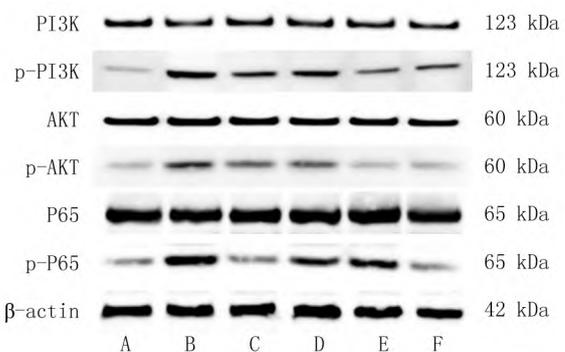
根据脓毒症相关症状, 可将其归属于中医学“伤寒”“温病”范畴<sup>[10]</sup>。多数医家认为机体正气不足, 引起毒邪内侵, 导致毒热、瘀血内生, 腑气不通、脉络瘀滞

表 6 各组大鼠 PI3K/AKT/NF-κBP65 信号通路中相关蛋白表达的比较 (x̄±s)

Tab.6 PI3K/AKT/NF of rats in each group-κ Comparison of the expression of related proteins in the Bp65 signaling pathway

组别	n	p-PI3K/PI3K	p-AKT/AKT	p-P65/P65
假手术组	20	0.43±0.07	0.45±0.03	0.23±0.03
模型组	20	1.00±0.07 <sup>a</sup>	1.00±0.07 <sup>a</sup>	1.00±0.08 <sup>a</sup>
地塞米松组	20	0.64±0.03 <sup>b</sup>	0.81±0.06 <sup>b</sup>	0.31±0.03 <sup>b</sup>
英黄汤低剂量组	20	0.82±0.05 <sup>b</sup>	0.93±0.13	0.73±0.04 <sup>b</sup>
英黄汤中剂量组	20	0.61±0.07 <sup>b</sup>	0.56±0.59 <sup>b</sup>	0.70±0.05 <sup>b</sup>
英黄汤高剂量组	20	0.61±0.09 <sup>b</sup>	0.58±0.08 <sup>b</sup>	0.35±0.06 <sup>b</sup>
F 值		22.826	21.432	83.294
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注: 与假手术组相比, <sup>a</sup>P<0.05; 与模型组相比, <sup>b</sup>P<0.05。



注: A.假手术组; B.模型组; C.地塞米松组; D.英黄汤低剂量组; E.英黄汤中剂量组; F.英黄汤高剂量组。

图 3 各组大鼠 p-PI3K、PI3K、p-AKT、AKT、p-P65、P65 蛋白免疫印迹比较

Fig.3 Comparison of p-PI3K, PI3K, p-AKT, AKT, p-P65, and P65 protein immunoblotting in each group of rats

而发生本病<sup>[11]</sup>。脓毒症期机体多表现出毒热内蕴, 而通里攻下法是快速排出毒热的有效方法<sup>[12]</sup>。同时毒热久蕴, 搏血为瘀, 瘀阻脉络, 一方面血脉瘀滞, 导致毒热难祛, 另一方面血脉瘀滞, 药物难以快速直达病灶<sup>[13]</sup>。梅建强教授结合多年的临床经验, 以通腹泄热、活血解毒为大法, 创立中药“英黄汤”, 方中大黄荡涤胃肠毒热积滞, 给邪出路, 同时走血分破瘀血; 蒲公英既能清解火热毒邪, 又善泄降滞气, 与大黄相伍解毒之力更强, 二者共为君药; 青皮善走窜行气, 水蛭活血逐瘀, 归芍合川芎活血和血, 仙鹤草通络补虚, 地榆凉血解毒, 共为臣药; 茯苓健脾和胃, 固护正气; 清半夏清热祛痰、降逆, 共为佐使之品。

本研究中, 通过 CLP 方法构建的脓毒症大鼠生存率与真实世界数据相符, 且与相关文献报道一致<sup>[14]</sup>,

英黄汤可以有效改善脓毒症大鼠生存率。凝血功能障碍是脓毒症病情进展和多器官功能障碍发生的重要因素<sup>[15]</sup>。CLP 造模 72 h 后,模型组大鼠血清中 PLT 含量显著降低,PT、APTT、TT 时间明显延长,Fib 大量消耗;与模型组相比,英黄汤各剂量组大鼠血清中 PLT 含量显著增加,PT、APTT 时间明显缩短,Fib 含量增加,表明英黄汤能够改善脓毒症大鼠凝血功能。CLP 造模 72 h 后,模型组大鼠肺组织 BALF 中蛋白含量显著增加,W/D 比值明显增高,ALT、AST、SCr、BUN 水平明显增高,肺、肝、肾组织出现明显损伤,经英黄汤干预,英黄汤各剂量组大鼠 BALF 中蛋白含量显著减少,W/D 比值明显减小,ALT、AST、SCr、BUN 水平明显降低,肺、肝、肾组织损伤明显减轻,表明英黄汤对脓毒症大鼠肺肝肾组织具有明显的保护作用。炎性因子是导致组织出现损伤的重要因素,过度活化的炎症反应也是脓毒症病情进展的重要原因<sup>[16-19]</sup>。脓毒症早期 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  等炎性因子大量分泌,既可以早期诊断脓毒症,对于脓毒症预后也起到关键的作用<sup>[20-22]</sup>。造模给药 72 h 后,模型组大鼠血清中 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平显著升高,肺组织中 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  基因表达显著增多,而经英黄汤干预,英黄汤各剂量组大鼠血清中 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平显著降低,肺组织中 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  基因表达显著减少,表明英黄汤能够显著减轻炎症反应,抑制炎症因子表达。

研究发现,PI3K/AKT 通路是一条重要的信号传导通路,参与大多数的炎症反应过程,AKT 是 PI3K 的下游受体,在细胞增殖、分化、凋亡、迁移和转录等多种细胞过程中发挥着重要作用<sup>[23]</sup>。NF- $\kappa$ B 家族成员众多,其中发挥转录激活作用的是 p65,因此 p65 又被视为该通路活化的标志<sup>[24]</sup>。研究发现 NF- $\kappa$ B 属于炎症反应的中心介质,脓毒症发生时,促进炎症因子释放的同时,加重微血栓的形成,对于脓毒症病情的发生及进展起到重要的作用<sup>[25]</sup>。造模给药 72 h 后,模型组肺组织中 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B P65 蛋白水平较假手术组显著增高,提示 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B P65 信号通路在炎症因子的刺激下,显著激活;英黄汤各组大鼠肺组织中 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B P65 蛋白水平较模型组显著下降。由此认为,英黄汤能够抑制 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B P65 信号通路活化,减轻脓毒症大鼠急性肺损伤,修复肺功能。

综上所述,英黄汤可以改善 CLP 大鼠凝血功能障碍,保护肺、肝、肾功能,降低炎症反应水平,这些变化可能与抑制 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B 信号通路活化有关。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

#### 作者贡献声明

郭军利:设计研究方案,实施研究过程,分析实验数据,搜集整理资料,论文撰写;陶愚磊、郑佳丽:参与实验过程,分析实验数据,搜集整理资料;梅建强、陈分乔:提出研究思路,指导实施研究;许文忠:提出研究思路,指导实施研究,论文审核

#### 参考文献

- [1] Singer M,Deutschman CS,Seymour CW,et al.The thirinternational consensus defit-ons for sepsis and septic shock ( Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315( 8) : 801-810.DOI: 10.1001/jama.2016.0287.
- [2] 朱晴,张逸雪,刘洋.脓毒症的病理生理机制研究进展[J].中华医院感染学杂志,2022,32( 16) : 2551-2555.DOI: 10.11816/en.mi.2022-220242.
- [3] 易梦秋,余旻.脓毒症导致多器官功能障碍的发病机制[J].实用医学杂志,2016,32( 20) : 3451-3454.DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2016.20.048.
- [4] 姚咏明,张艳敏.脓毒症发病机制最新认识[J].医学研究生学报,2017,30( 7) : 678-683.DOI: 10.16571/j.cnki.1008-8199.2017.07.002.
- [5] 王仲,魏捷,朱华栋,等.中国脓毒症早期预防与阻断急诊专家共识[J].临床急诊杂志,2020,21( 7) : 517-529.DOI: 10.13201/j.issn.1009-5918.2020.07.001.
- [6] 刘丹,史秀焕,梅建强.英黄汤加减治疗脓毒症胃肠功能障碍疗效观察[J].现代中西医结合杂志,2018,27( 34) : 3772-3774,3777.
- [7] Meng L,Li L,Lu S,et al.The protective effect of dexmedetomidine on LPS-induced acute lung injury through the HMGB1-mediated TLR4/NF- $\kappa$ B and PI3K/AKT/mTOR pathways [J].Mol Immunol, 2018,94: 7-17.DOI: 10.1016/j.molimm.2017.12.008.
- [8] Sun X,Chen L,He Z.PI3K/Akt-Nrf2 and anti-inflammation effect of macrolides in chronic obstructive pulmonary disease [J].Current Drug Metabolism, 2019,20( 4) : 301-304.DOI: 10.2174/1389200220666190227224748.
- [9] Chiu C,Legrand M.Epidemiology of sepsis and septic shock [J].Curr Opin Anaesthesiol, 2021,34( 2) : 71-76. DOI: 10.1097/ACO.0000000000000958.
- [10] 邓亚萍,梁思灵,王兰.中医药治疗脓毒症免疫功能紊乱的研究进展[J].现代中医临床,2019,26( 5) : 6-9.DOI: 10.3969/j.issn.2095-6606.2019.05.002.
- [11] 方华,孔立,郝浩,等.脓毒症的中医证候及其动态演变规律[J].中国中医急症,2017,26( 9) : 1606-1608. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2017.09.031.
- [12] 王广军,梁群.从经典源流探析脓毒症热毒论治[J].疑难病杂志,2023,22( 1) : 106-109. DOI: 103969/j.issn.1671-6450.2023.01.021.
- [13] 曹迎,曲志成,姚卫海,等.脓毒症“凝血障碍—血瘀证—活血化瘀”体系研究进展[J].北京中医药,2016,35( 11) : 1091-1095. DOI: 10.16025/j.1674-1307.2016.11.031.
- [14] Silva PL,Cruz FF,Fujisaki LC,et al.Hypervolemia induces and potentiates lung damage after recruitment maneuver in a model of sepsis-induced acute lung injury [J].Critical Care, 2010,14( 3) : 1-16. DOI: 10.1186/cc9063.

(下转 1209 页)

- [15] Xiaomin K ,Yuting S ,Yingying D ,et al.Jinlida granules combined with metformin improved the standard-reaching rate of blood glucose and clinical symptoms of patients with type 2 diabetes: secondary analysis of a randomized controlled trial [ J ]. *Frontiers in endocrinology* , 2023 , 14 ( 14 ): 48. DOI: 10. 3389/FENDO. 2023.1142327.
- [16] 王玉娟 ,董玉波 ,孙莎莎 ,等.基于 HPLC-QAMS 多指标成分定量测定联合化学计量学的津力达颗粒质量评价[J].*中医药导报* , 2022 ,28 ( 5 ): 57-63 ,69. DOI: 10. 13862/j. cn43-1446/r. 2022. 05.012.
- [17] Prasain KJ ,Peng N ,Rajbhandari R ,et al.The Chinese Pueraria root extract ( *Pueraria lobata* ) ameliorates impaired glucose and lipid metabolism in obese mice [J].*Phytomedicine* ,2012 ,20( 1 ): 17-23. DOI: 10.1016/j.phymed.2012.09.017.
- [18] Wu K ,Liang T ,Duan X ,et al. Anti-diabetic effects of puerarin , isolated from *Pueraria lobata* ( Willd. ) , on streptozotocin-diabetogenic mice through promoting insulin expression and ameliorating metabolic function[J].*Food and Chemical Toxicology* ,2013 ,60 ( 60 ): 341-347. DOI: 10.1016/j.fct.2013.07.077.
- [19] Zhipeng L ,Zhaoshui S ,Yijie L ,et al.Puerarin protects pancreatic  $\beta$ -cell survival via PI3K/Akt signaling pathway [ J ]. *Journal of Molecular Endocrinology* ,2014 ,53( 1 ): 71-79. DOI: 10.1530/JME-13-0302.
- [20] 胡媛媛 ,暴雪丽 ,武彦香 ,等.丹酚酸 B-黄连素复合物对糖尿病小鼠肾损伤及 SIRT1/PGC-1 $\alpha$  信号通路的影响[J].*中国中医急症* ,2022 ,4( 31 ): 580-583. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2022.04.005.
- [21] 李元超 ,王佳荣 ,朱虹颖 ,等.基于网络药理学和分子对接技术的三七总皂苷治疗糖尿病足作用机制分析[J].*山东中医药* ,2023 ,63( 6 ): 16-20. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2023.08.004.
- [22] Park DJ ,Rhee KD ,Lee HY. Biological Activities and Chemistry of Saponins from *Panax ginseng* C. A. Meyer [ J ]. *Phytochemistry Reviews* ,2005 ,4( 2-3 ): 159-175. DOI: 10.1007/s11101-005-2835-8.
- [23] Safoura R ,Tourandokht B ,Mehrdad R ,et al. Antidiabetic potential of salvianolic acid B in multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes [ J ]. *Pharmaceutical Biology* ,2015 ,53( 12 ) ,1803-1809. DOI: 10.1371/journal.pone.0130550.
- [24] Zhao XM ,Liu LF ,Liu J. Treatment of type 2 diabetes mellitus using the traditional Chinese medicine Jinlida as an add-on medication: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [ J ]. *Frontiers in Endocrinology* ,2022 ,13: 79-83. DOI: 10.3389/FENDO.2022.1018450.
- [25] 蔡静 ,赵志刚 ,郑志魁 ,等.津力达颗粒联合利拉鲁肽治疗 2 型糖尿病合并代谢相关脂肪性肝病的临床疗效[J].*疑难病杂志* , 2022 ,21 ( 4 ): 399-403. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 04.013.
- [26] 李晓玲 ,朱艳霞 ,胡丽叶 ,等.津力达颗粒对 2 型糖尿病轻度认知功能障碍患者血管内皮功能及认知功能的影响[J].*疑难病杂志* ,2021 ,20( 8 ): 765-769. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.08.003.

( 收稿日期: 2023-08-03)

( 上接 1203 页)

- [15] Adamik B ,Goździk W ,Jakubczyk D ,et al. Coagulation abnormalities identified by thromboelastometry in patients with severe sepsis: The relationship to endotoxemia and mortality [J].*Blood Coagul Fibrinolysis* , 2017 ,28( 2 ): 163-170. DOI: 10.1097/MBC.0000000000000572.
- [16] Vardon-Bouines F ,Gratacap MP ,Groyer S ,et al. Kinetics of mean platelet volume predicts mortality in patients with septic shock [ J ]. *PLoS One* , 2019 , 14 ( 10 ): e0223553. DOI: 10. 1371/journal. pone.0223553.
- [17] 李晓梅.脓毒症早期诊断及预后评估相关指标研究进展[J].*疑难病杂志* ,2022 ,21( 7 ): 768-771. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.07.022.
- [18] 李吉明 ,艾克伯尔·阿布都热合曼 ,殷富康 ,等.基于决策曲线分析血清 Ang-2、IL-35 与重症脓毒症患者合并急性肾损伤的相关性[J].*疑难病杂志* ,2022 ,21( 4 ): 404-409. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.04.014.
- [19] 谭乐明 ,杨成 ,周水英 ,等.脓毒症的早期诊断相关研究进展[J].*中国医药* ,2020 ,15( 5 ): 796-800. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2020.05.039.
- [20] 李晓梅 ,杨国辉.脓毒症早期诊断及预后评估相关指标研究进展[J].*疑难病杂志* ,2022 ,21( 7 ): 768-771. DOI: 10.3969 / j. issn. 1671-6450.2022.07.022.
- [21] 刘旭东 ,冯俊 ,周代星 ,等.丹参酮 II A 通过调控 NF- $\kappa$ B 信号通路对脓毒症大鼠血管内皮细胞的保护作用[J].*疑难病杂志* ,2021 ,20( 9 ): 935-938. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.09.015.
- [22] 肖泽让 ,何书典 ,邢柏.单核细胞体积分布宽度和降钙素原联合检测对疑似感染患者脓毒症发生风险的早期预测价值[J].*中国医药* ,2022 ,17( 6 ): 894-898. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2022.06.022.
- [23] Sun X ,Chen L ,He Z. PI3K/Akt-Nrf2 and Anti-Inflammation effect of macrolides in chronic obstructive pulmonary disease [ J ]. *Curr Drug Metab* , 2019 ,20( 4 ): 301-304. DOI: 10.2174/1389200220666190227224748.
- [24] Karin M ,Cao YX ,Greten FR ,et al. NF- $\kappa$ B in cancer: From innocent bystander to major culprit [ J ]. *Nature Reviews Cancer* ,2002 ,2( 4 ): 301-310. DOI: 10.1038/nrc780.
- [25] 刘旭东 ,冯俊 ,周代星 ,等.丹参酮 II A 通过调控 NF- $\kappa$ B 信号通路对脓毒症大鼠血管内皮细胞的保护作用[J].*疑难病杂志* ,2021 ,20( 9 ): 935-938. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2021.09.015.

( 收稿日期: 2023-03-09)