

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.12.004

文章编号: 1005-8982(2016)12-0015-06

论著

野黄芩素对内毒素血症大鼠急性肺损伤的保护作用

王彪¹,袁海军¹,袁娜¹,张文超¹,刘珺²

(1.南华大学附属第二医院 急诊科,湖南 衡阳 421001;2.南华大学附属第一医院
耳鼻喉科,湖南 衡阳 421001)

摘要:目的 观察野黄芩素对脂多糖诱导的急性肺损伤的保护作用。**方法** 将大鼠静脉内注射脂多糖(30mg/kg)以诱导急性肺损伤。1 h 后分别静脉注射不同浓度的黄芩素(0.1、0.5 和 1.0 mmol/kg),酶联免疫吸附试验法检测血浆中肿瘤坏死因子 α ,白细胞介素 6 和白细胞介素 10 的浓度;还原法检测肺组织中亚硝酸盐/硝酸盐的含量;实时定量聚合酶链式反应和蛋白免疫印迹法(Western blot)分别检测一氧化氮合成酶和血红素氧合酶-1 mRNA 及蛋白的表达;HE 染色观察病理学改变情况。**结果** 0.5 和 1.0 mmol/kg 的黄芩素能减少大鼠血浆中肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 6 含量,并能进一步增加白细胞介素 10 水平。脂多糖注射后肺组织中一氧化氮合成酶蛋白表达和血浆中一氧化氮含量显著增加,而黄芩素处理后一氧化氮合成酶和一氧化氮水平明显减少。脂多糖能诱导血红素氧合酶-1 表达,但黄芩素处理后能进一步上调血红素氧合酶-1 表达水平。血红素氧合酶-1 抑制剂锡原卟啉处理后可消除黄芩素对细胞因子及一氧化氮合成酶表达的影响。此外,黄芩素还能减少肺组织水肿及中性粒细胞渗出。**结论** 黄芩素可能通过诱导血红素氧合酶-1 表达来减轻脂多糖诱导的急性肺损伤。

关键词: 野黄芩素;急性肺损伤;血红素氧合酶 1

中图分类号: R453.9;R-332

文献标识码: A

Protective effect of scutellarein on acute lung injury in endotoxemic rats

Biao Wang¹, Hai-jun Yuan¹, Na Yuan¹, Wen-chao Zhang¹, Jun Liu²

(1. Department of Emergency, the Second Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Department of Otorhinolaryngology, the First Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang, Hunan 421001, China)

Abstract: Objective To observe the protective effect of scutellarein on acute lung injury (ALI) in endotoxemic rats. **Methods** Rats were administered LPS (30 mg/kg) by intravenous infusion to induce ALI. Scutellarein (0.1, 0.5 and 1.0 mmol/kg) was given 1 h after LPS initiation. Levels of TNF- α , IL-6 and IL-10 in serum and levels of nitrite/nitrate production were measured by ELISA and reduction method respectively. Expression of the mRNA and protein of iNOS and HO-1 were detected by qPCR and Western blot, respectively. The tissue injury was analyzed by histopathology. **Results** Scutellarein (0.5 and 1.0mmol/kg) attenuated plasma levels of TNF- α and IL-6 caused by LPS, and increased IL-10 levels compared with the LPS group. At 6 h after LPS initiation, the expression of iNOS protein in lung and the lever of NO in plasma were markedly increased, which were reduced by scutellarein (1.0 mmol/kg). LPS caused a significant HO-1 induction, whereas administration of scutellarein (1.0 mmol/kg)

收稿日期:2016-03-28

[通信作者] 刘珺, E-mail: liujunusc@sina.com; Tel: 13786431102

significantly induced higher HO-1 expression compared with the LPS group. The beneficial effects of scutellarein on cytokines and iNOS expression were reversed with HO-1 inhibitor SnPP. The edema and infiltration of neutrophils into lungs was reduced by scutellarein. **Conclusions** Scutellarein may induce the expression of HO-1 to alleviate LPS-induced ALI.

Keywords: scutellarein; acute lung injury; hemeoxygenase-1

急性肺损伤(acute lung injury,ALI)是一种以巨噬细胞、中性粒细胞过度活化为特征的临床综合征,病理学上表现为炎症相关蛋白酶和活性氧类过度释放以及肺内出血而引起微血管和组织损伤、水肿和纤维蛋白沉积^[1]。与急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome,ARDS)一样,多种细胞因子与炎症相关介质参与本病的发生与发展过程,如肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 1(IL-1)和白细胞介素 6(IL-6),高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box 1 protein, HMGB1)、一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase, iNOS)和一氧化氮(nitric oxide, NO)等^[2]。血红素氧合酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)是催化血红素分解为 Fe²⁺、胆绿素和一氧化碳 CO 的限速酶。研究表明,HO-1 及其代谢产物对中性粒细胞、巨噬细胞和淋巴细胞介导的炎症反应具有一定的抑制作用^[3]。促炎细胞因子、HMGB1 以及氧化应激均可上调 HO-1 表达。HO-1 缺陷型小鼠中,往往伴随有更高的氧化应激水平与高死亡率。而给予低剂量 CO 诱导 HO-1 表达后,可显著降低大鼠脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)诱导的肺损伤和致死性内毒素休克。这表明 HO-1 对 ALI 的炎症反应与氧化应激具有一定的负向调控作用^[4]。野黄芩素(Scutellarein, SCT)是从黄芩中分离出的一种黄酮类化合物单体。体外研究表明,SCT 具有一定的抗炎与抗氧化活性,并能抑制核转录因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)的激活^[5-6]。但 SCT 对 ALI 是否也具有保护作用目前仍不明确。本研究旨在探究 LPS 诱导的 ALI 动物模型中,SCT 能否调控炎症因子与介质的分泌,并观察其是否与 HO-1 的诱导表达有关。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

SCT 纯度 98%,锡原卟啉(Sn-protoporphyrin, SnPP)购自美国 Sigma-Aldrich 公司,抗 HO-1 多克隆抗体,抗鼠 β -actin 购自美国 Santa Cruz 公司,辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记免疫球蛋白 G(immunoglobulin G, IgG)抗体购自英

国 Abcam 公司,Bradford 蛋白浓度测定试剂盒购自美国 Bio-Rad 公司,肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor Alpha, TNF- α),白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)和白细胞介素 10(interleukin-10, IL-10)酶联免疫吸附试验(enzymelinked immunosorbent assay, ELISA)检测试剂盒购自深圳新博盛生物科技有限公司,蛋白酶抑制剂购自瑞士 Roche 公司,cDNA 逆转录试剂盒购自美国 Applied Biosystems 公司,RNA 提取试剂盒购自美国 GIBCO BRL 公司。雄性 8~10 周龄 SPF 级 Wistar 大鼠[动物许可证号:SCXK(湘)2015-0001,体重 260~290 g]购自南华大学实验动物中心。

1.2 仪器与设备

Imark 酶标仪购自美国 Bio-Rad 公司,LightCycler480 实时定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)仪购自瑞士 Roche 公司,Mini-PROTEAN 电泳仪购自美国 Bio-Rad 公司,Bio-Rad Trans-Blot 半干转印仪购自美国 Bio-Rad 公司,Fuji DRI-CHEM FDC 3000 全自动干式生化分析仪购自日本 Fuji Photo Film 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 ALI 模型的建立与实验分组 Wistar 大鼠于(23 \pm 1) $^{\circ}$ C、(55 \pm 5) $^{\circ}$ C 环境下给予正常饲料喂养。本研究符合该校实验动物伦理委员会批准。大鼠采用 1.5 g/kg 的乌拉坦腹腔内注射麻醉后,参照参考文献提供的方法建立体外 ALI 模型,并根据不同的实验目的分为 6 组,每组 10 只大鼠。①对照组:大鼠于 4 h 内持续颈静脉滴注 9 ml 生理盐水,在滴注生理盐水 1 h 后经股静脉注入 2 ml 林格氏液。②LPS 组:将 LPS(30 mg/kg)溶解于 9 ml 生理盐水中,4 h 内通过颈静脉滴入。滴注 1 h 后,大鼠同时给予 2 ml 林格氏液;③SCT 干预组:LPS 滴入 1 h 后,同时滴入不同浓度 SCT(0.1、0.5 和 1.0 mmol/kg,用林格氏液溶解);④SnPP 干预组:在 LPS 滴入前 6 h 腹腔注射 30 mg/kg SnPP,其他同 SCT 干预组。

1.3.2 细胞因子测定 大鼠处理结束后获取其血清,采用 ELISA 测定 TNF- α , IL-6 和 IL-10 浓度。根

据试剂盒提供的操作步骤,在包被有相应细胞因子抗体的微孔板中加入 100 μ l 待血清,37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h。经洗涤后,按照试剂盒的步骤分别加入一抗、二抗孵育。显色后,测定 450nm 处的吸光度值,并根据标准曲线计算 TNF- α , IL-6 和 IL-10 的浓度。

1.3.3 亚硝酸盐 / 硝酸盐的测定 获取处理后的大鼠血浆 30 μ l,加入 60 μ l 95%乙醇 4 $^{\circ}$ C 孵育 30 min 以去沉淀血浆蛋白。14 000 r/min 离心 5 min 随后加入 1 mol/L 氯化氢 HCl(含 0.8%氯化钒 VCl_3),使其将样本中的亚硝酸盐 / 硝酸盐还原为一氧化氮 NO,并用 Sievers 一氧化氮分析仪测量其浓度,通过与标准的硝酸钠溶液进行比较,从而间接反应亚硝酸盐 / 硝酸盐的含量。

1.3.4 实时定量 PCR 检测 iNOS 和 HO-1 mRNA 表达 用 Trizol 试剂提取大鼠肺组织总 RNA 并测量其浓度。取 2 μ g RNA 将其逆转录为 cDNA。设计并合成 HO-1, iNOS 与 β -actin 引物,其中 HO-1 引物序列分别为:5'-CGTGCAGAGAATTCTGAGTTC-3'(正向引物)和 5'-AGACGCTTTACGTAGTGCTG-3'(反向引物);iNOS:5'-GCAGTTGAGGATTACTTCTTCCA-3'(正向引物)和 5'-GCCCTTTTTGCTCCATAGGAAA-3'(反向引物); β -actin:5'-CCTGTATGCCTCTGGTTCGTA-3'(正向引物)和 5'-CCATCTCTTGCTCGAAGTCT-3'(反向引物)。将上述 cDNA 产物置于 MiniOpticon 实时定量 PCR 仪器上,设置反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 10 min,95 $^{\circ}$ C 变性 10 s,61 $^{\circ}$ C 退火 20 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 10 s,共 35 个循环。通过比较 iNOS 和 HO-1 和 β -actin 的 Ct 值,计算其相对倍数表示($2^{-\Delta\Delta Ct}$)。

1.3.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测蛋白表达 将肺组织中加入含蛋白酶抑制剂的 Cocktails 并制成匀浆。采用 Pierce 公司提供的 RAPI 蛋白提取试剂盒提取总蛋白,并用 Bradford 法测定蛋白浓度。并获取 20 μ l 蛋白用于 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,随后采用半干转印方法将其转印至硝酸纤维素膜上。纤维素膜用 5%牛血清白蛋白室温封闭 2 h,随后分别用相应的一抗和二抗孵育,增强化学发光法显影、拍照。

1.3.6 病理组织学分析 肺组织用 10%福尔马林固定,用石蜡包埋后制备成厚度为 4 μ m 的切片后用苏木精和曙红染色,并基于组织水肿和中性粒细胞渗出对肺组织的病理损伤进行评分(损伤程度分为 0~3 级)^[4],最终分数为水肿和渗出评分之和。

1.3.7 乳酸脱氢酶检测 LPS 处理 6 h 后,获取大鼠

血浆,全自动生化仪上测定其乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)含量。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析,计量数据用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较用方差分析,组间比较用 LSD- t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SCT对血浆 TNF- α , IL-6 和 IL-10 水平的影响

对照组大鼠血浆中 TNF- α , IL-6 和 IL-10 浓度较低。给予 LPS 注射后,其含量显著增高。同时给予不同浓度的 SCT 处理后, TNF- α 和 IL-6 有所降低,而 IL-10 明显增高,各组经单因素方差分析,差异有统计学意义($P=0.000$)。其中,0.1 mmol/kg SCT 组中 TNF- α 与 IL-6 的水平,与 LPS 组比较,差异无统计学意义($t=0.186$ 和 0.261 , $P=0.726$ 和 0.624);而 IL-10 水平与 LPS 组比较,差异有统计学意义($t=4.954$, $P=0.000$)。若给予 SnPP 处理后,可显著消除 SCT 对 TNF- α , IL-6 和 IL-10 的影响(与 1.0 mmol/kg SCT 组比较, t 值分别为 3.268、3.917 和 4.415, $P=0.002$, 0.000 和 0.000)。见附表。

2.2 SCT对血浆硝酸盐 / 亚硝酸盐含量及肺 iNOS 蛋白表达的影响

LPS 注射后 6 h,血浆硝酸盐 / 亚硝酸盐含量明显增高。与 LPS 组比较,不同浓度 SCT(0.1、0.5 和 1.0 mmol/kg) 处理后可明显抑制该效应。Western blot 结果显示,对照组大鼠肺组织匀浆中 iNOS 蛋白表达较低,而 LPS 可显著诱导 iNOS 蛋白表达。虽然 SCT 0.1 mmol/kg 和 SCT 0.5 mmol/kg 并不能明显影响 iNOS 的表达,但 1.0 mmol/kg SCT 处理后, iNOS 表

附表 不同浓度 SCT 对 ALI 大鼠血浆细胞因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α / (ng/ml)	IL-6 / (ng/ml)	IL-10 / (pg/ml)
对照组	31.5 \pm 11.7	15.5 \pm 8.1	22.3 \pm 5.2
LPS 组	858.4 \pm 51.3	106.6 \pm 12.8	486.8 \pm 26.4
SCT 组(0.1 mmol/kg)	858.4 \pm 51.3	96.5 \pm 9.7	902.4 \pm 44.2
SCT 组(0.5 mmol/kg)	476.2 \pm 18.2	62.5 \pm 10.7	752.6 \pm 36.2
SCT 组(1.0 mmol/kg)	465.6 \pm 29.4	45.3 \pm 8.2	978.5 \pm 25.6
SnPP+SCT 组(1.0 mmol/kg)	85.4 \pm 33.6	78.1 \pm 6.5	589.1 \pm 37.5
F 值	17.832	13.052	25.564
P 值	0.000	0.000	0.000

达水平显著减少。而同时给予 SnPP 处理后,可消除 SCT 对 iNOS 的抑制效应。见图 1。

2.3 SCT 对肺 HO-1 mRNA 和 HO-1 蛋白表达的影响

与对照组比较,大鼠注射 LPS 后肺 HO-1 mRNA 表达增高。不同浓度 SCT 处理后 HO-1 mRNA 水平进一步($P<0.05$),HO-1 蛋白表达与 qPCR 结果类似。见图 2。

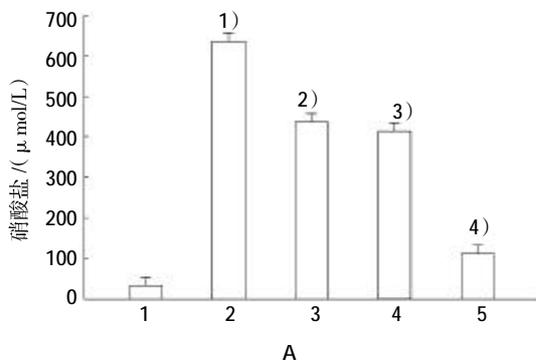
2.4 SCT 对肺组织病理变化的影响

LPS 所致的 ALI 以水肿和炎症细胞浸润为主要特征。光学显微镜结果表明,肺脏正常组织学评分

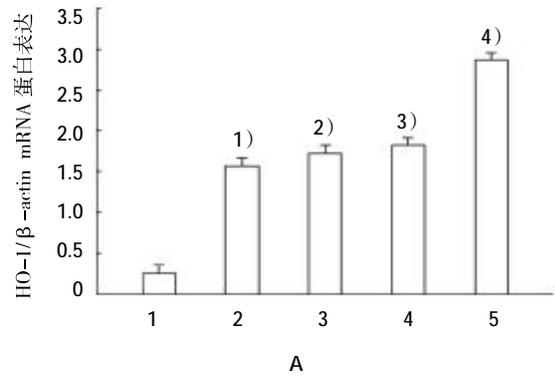
为 1。注射 LPS 后不仅引起肺泡间质弥漫性水肿,同时引起肺泡含气空间明显减少,其组织学评分为 5。1.0 mmol/kg SCT 处理 LPS 大鼠后,肺组织学评分降低至 3 分。见图 3。

2.5 SCT 对 LPS 诱导所致细胞损伤的影响

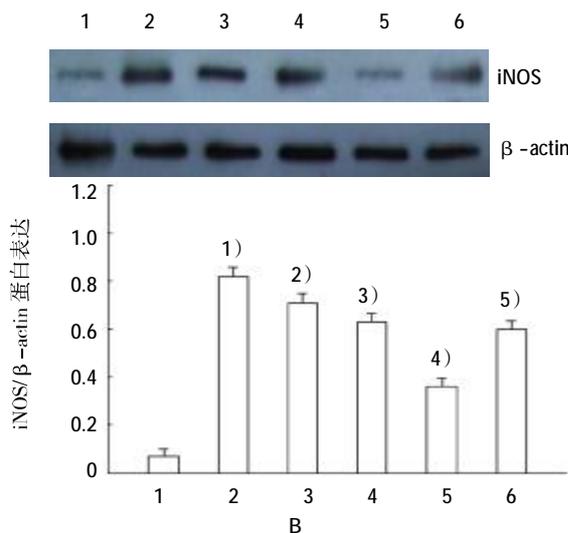
LPS 处理 6 h 后,血浆中 LDH 的水平显著高于对照组($P<0.05$)。而 0.1、0.5 和 1.0 mg/kg 剂量 SCT 处理后,可显著降低血浆 LDH 的水平增加($P<0.05$),但不同剂量 SCT 对 LDH 的影响差异无统计学意义。而 SnPP 预处理后可逆转 SCT 对 LDH 的抑制效应($P<0.05$)。见图 4。



1: 对照组;2:LPS 组;3:SCT 0.1 组;4:SCT 0.5 组;5:SCT 1.0 组; 1)与对照组比较, $t=4.115, P=0.000$; 2)与 LPS 组比较, $t=2.354, P=3.925$; 3)与 LPS 组比较, $t=4.212, P=0.000$; 4)与 LPS 组比较, $t=11.581, P=0.000$

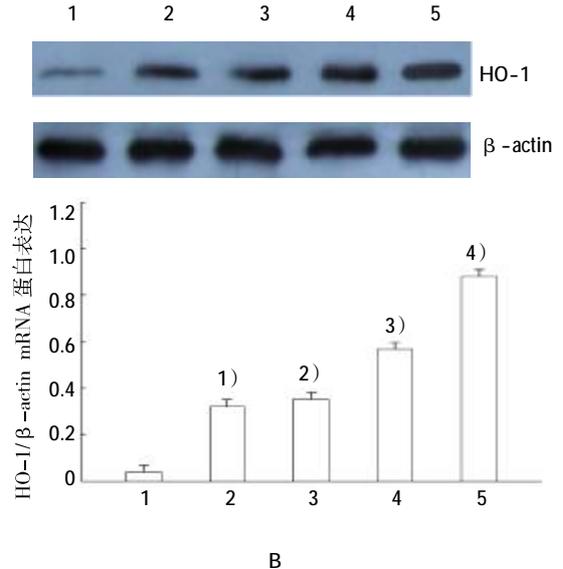


1: 对照组;2:LPS 组;3:SCT 0.1 组;4:SCT 0.5 组;5:SCT 1.0 组; 1)与对照组比较, $t=2.674, P=0.016$; 2)与 LPS 组比较, $t=4.563, P=0.000$; 3)与 LPS 组比较, $t=6.524, P=0.000$; 4)与 LPS 组比较, $t=3.352, P=0.0014$



1:对照组;2:LPS 组;3:SCT 0.1 组;4:SCT 0.5 组;5:SCT 1.0 组;6: SCT 1.0+SnPP 组。1)与对照组比较, $t=7.852, P=0.000$; 2)与 LPS 组比较, $t=0.463, P=0.145$; 3)与 LPS 组比较, $t=0.574, P=0.084$; 4)与 LPS 组比较, $t=2.840, P=0.007$; 5)与 SCT 1.0 组比较, $t=4.243, P=0.000$

图 1 SCT 对血浆硝酸盐 / 亚硝酸盐含量及肺 iNOS 蛋白表达的影响



1:对照组;2:LPS 组;3:SCT 0.1 组;4:SCT 0.5 组;5:SCT 1.0 组; 1)与对照组比较, $t=5.621, P=0.006$; 2)与对照组比较, $t=6.524, P=0.000$; 3)与对照组比较, $t=9.521, P=0.000$; 4)与对照组比较, $t=14.512, P=0.000$

图 2 SCT 对肺 HO-1 mRNA 和 HO-1 蛋白表达的影响

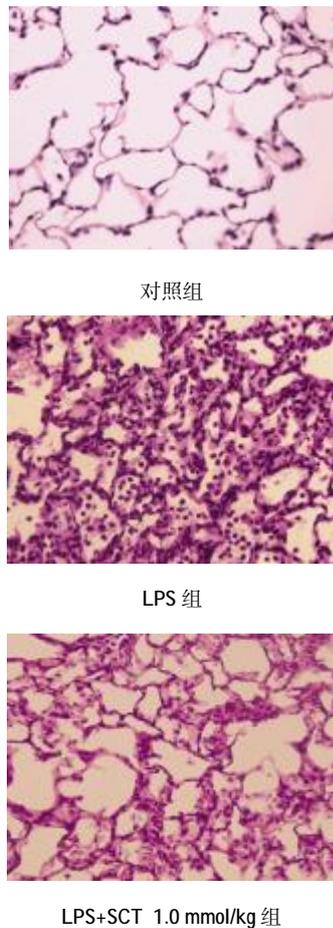
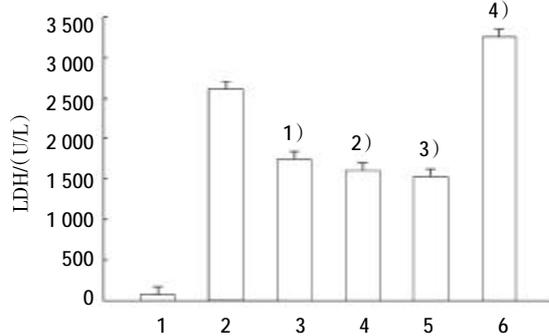


图 3 SCT 对肺组织病理变化的影响 (×200)



1: 对照组;2:LPS 组;3:SCT 0.1 组;4:SCT 0.5 组;5:SCT 1.0 组;6:SCT 1.0+SnPP 组。1)与 LPS 比较, $t=3.057$, $P=0.002$;2)与 LPS 组比较, $t=3.241$, $P=0.001$;3)与 LPS 组比较, $t=7.221$, $P=0.000$;4)与 SCT 1.0 组比较, $t=10.581$, $P=0.000$

图 4 SCT 对 LPS 诱导所致细胞损伤的影响

3 讨论

ALI 和 ARDS 一样,其病理生理学改变是广泛性肺泡毛细血管损伤,导致其透性增加而引起肺水肿和中性粒细胞渗出,从而导致呼吸功能受损和低氧血症发生。因此,抑制肺部炎症反应强度是治疗 ALI 的

重要途径。有研究表明,SCT 具有多种药理学活性,包括抗炎、抗氧化应激损伤等效应^[9]。本研究采用不同浓度 SCT 处理 ALI 大鼠后,发现它能降低 ALI 大鼠血浆中 IL-6 的浓度,同时也能增加 IL-10 的水平。IL-6 是一种促炎细胞因子,它在启动炎症反应和休克早期高凝状态发挥至关重要作用。而 IL-10 对炎症具有抑制作用,它能负向调控微生物所致的感染性休克^[8-9]。本研究结果也显示,SCT 能下调巨噬细胞中 iNOS 的表达与 TNF- α 的分泌。iNOS 是催化 L-精氨酸为 NO 的限速酶,是一种诱导型酶类。生理条件下细胞内 iNOS 活性很低。LPS、细胞因子等因素可显著上调其表达水平,并产生高浓度的 NO。NO 可诱导细胞内产生大量 cGMP,后者对血管平滑肌细胞具有舒张作用,同时 NO 也能影响血管对其他活性分子的敏感性,从而进一步降低血压、加重休克的发生^[10]。此外,NO 可产生过氧亚硝酸盐,它具有细胞毒性^[11]。本研究也发现,SCT 处理后,细胞内亚硝酸盐含量也明显减少,这表明 SCT 能明显抑制由 LPS 诱导的亚硝酸盐/硝酸盐形成,最终抑制 NO 的产生。

IL-10 的另一个重要生物学作用是能上调 HO-1 的表达。HO-1 是催化血红素降解为一氧化碳 CO、铁离子 Fe²⁺ 和胆绿素的限速酶,它在机体的炎症反应与氧化应激中发挥细胞保护作用^[12]。HO-1 主要是通过其代谢产物来发挥作用。CO 和胆绿素不仅可抑制巨噬细胞中 iNOS 的转录表达和 TNF- α 生成,同时也能增加抗炎细胞因子 IL-10 的表达,形成正反馈而调控炎症反应。如有研究显示给予 HO-1 诱导剂 CoPP 能明显抑制 TNF- α 和 HMGB11 的表达,从而缓解 LPS 所致 ALI 的病情^[13]。此外,HO-1 缺陷型小鼠 IL-10 水平降低,但 IL-6 产生增加,并且对内毒素的敏感性大大增强^[14]。这些结果证明 HO-1 能负向调节 IL-6、正向调节 IL-10 的分泌,从而减少内毒素所致器官损伤。本研究也证实,SCT 处理后,大鼠肺组织中 HO-1 的表达水平明显增高,而采用其抑制剂 SnPP 处理后,可明显消除 SCT 对细胞因子分泌以及 iNOS 和 LDH 的抑制作用,这表明 SCT 最终可能通过上调 HO-1 的表达而参与其对 ALI 的保护作用。

HO-1 的调控机制非常复杂,丝裂原活化蛋白激酶、核转录因子 Nrf2 以及活性氧类均是诱导其表达的重要因素^[12,15]。有研究显示,SCT 可以影响丝裂原活化蛋白激酶的活性^[16],因此它可能参与 HO-1 表

达的调控,但这仍有待进一步研究。此外,在本研究当中笔者使用的 SCT 剂量范围相对较窄。大剂量 SCT 或整个实验过程中持续输注 SCT 可能更为有效。总之,本研究证实 SCT 能有效改善 LPS 所致的 ALI,其细胞保护作用可能归因于其抑制 TNF- α 、IL-6 的分泌以及 iNOS 的表达,以及促进 IL-10 和 HO-1 表达有关。

参 考 文 献:

- [1] BOSMANN M, WARD P A. Protein-based therapies for acute lung injury: targeting neutrophil extracellular traps[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2014, 18(6): 703-714.
- [2] ASCHNER Y, ZEMANS R L, YAMASHITA C M, et al. Matrix metalloproteinases and protein tyrosine kinases: potential novel targets in acute lung injury and ARDS[J]. *Chest*, 2014, 146(4): 1081-1091.
- [3] GULLA A, EVANS B J, NAVENOT J M, et al. Heme oxygenase-1 gene promoter polymorphism is associated with the development of necrotizing acute pancreatitis[J]. *Pancreas*, 2014, 43(8): 1271-1276.
- [4] CAO T H, JIN S G, FEI D S, et al. Artesunate protects against sepsis-induced lung injury via heme oxygenase-1 modulation[J]. *Inflammation*, 2016: 39(2): 651-652.
- [5] SUNG N Y, KIM M Y, CHO J Y. Scutellarein reduces inflammatory responses by inhibiting src kinase activity [J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2015, 19(5): 441-449.
- [6] SANG Z, LI Y, QIANG X, et al. Multifunctional scutellarin-ri-vastigmine hybrids with cholinergic, antioxidant, biometal chelating and neuroprotective properties for the treatment of Alzheimer's disease[J]. *Bioorg Med Chem*, 2015, 23(4): 668-680.
- [7] SU C F, YANG F L, CHEN H I. Inhibition of inducible nitric oxide synthase attenuates acute endotoxin-induced lung injury in rats[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2007, 34(4): 339-346.
- [8] BELPERIO J A, KEANE M P, LYNCH J P, et al. The role of cytokines during the pathogenesis of ventilator-associated and ventilator-induced lung injury[J]. *Semin Respir Crit Care Med*, 2006, 27(4): 350-364.
- [9] STRIETER R M, KUNKEL S L. Acute lung injury: the role of cytokines in the elicitation of neutrophils [J]. *J Investig Med*, 1994, 42(4): 640-651.
- [10] ARORA K, SINHA C, ZHANG W, et al. Altered cGMP dynamics at the plasma membrane contribute to diarrhea in ulcerative colitis[J]. *Am J Pathol*, 2015, 185(10): 2790-2804.
- [11] WANG L, TANEJA R, RAZAVI H M, et al. Specific role of neutrophil inducible nitric oxide synthase in murine sepsis-induced lung injury in vivo[J]. *Shock*, 2012, 37(5): 539-547.
- [12] LV H, YU Z, ZHENG Y, et al. Isovotexin exerts anti-inflammatory and anti-oxidant activities on lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting MAPK and NF- κ B and activating HO-1/Nrf2 pathways[J]. *Int J Biol Sci*, 2016, 12(1): 72-86.
- [13] GONG Q, YIN H, FANG M, et al. Heme oxygenase-1 upregulation significantly inhibits TNF- α and HMGB11 releasing and attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2008, 8(6): 792-798.
- [14] KAPTURCZAK M H, WASSERFALL C, BRUSKO T, et al. Heme oxygenase-1 modulates early inflammatory responses: evidence from the heme oxygenase-1-deficient mouse [J]. *Am J Pathol*, 2004, 165(3): 1045-1053.
- [15] YEH C H, YANG J J, YANG M L, et al. Rutin decreases lipopolysaccharide-induced acute lung injury via inhibition of oxidative stress and the MAPK-NF- κ B pathway[J]. *Free Radic Biol Med*, 2014, 69: 249-257.
- [16] PAN Z, ZHAO W, ZHANG X, et al. Scutellarin alleviates interstitial fibrosis and cardiac dysfunction of infarct rats by inhibiting TGF- β_1 expression and activation of p38-MAPK and ERK1/2[J]. *Br J Pharmacol*, 2011, 162(3): 688-700.

(张蕾 编辑)