

DOI:10.3724/SP.J.1008.2013.00846

## 穿心莲内酯对脓毒症小鼠的保护作用及机制探讨

赵珍珍, 王 俊, 朱玮琨, 刘 毅, 李金宝, 邓小明\*

第二军医大学长海医院麻醉科, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 研究穿心莲内酯对脓毒症小鼠的保护作用及相关机制。**方法** 采用盲肠结扎穿孔(CLP)法制作小鼠脓毒症模型。64只C57BL/6小鼠随机均分为4组:假手术组(sham组)、脓毒症模型组(CLP组)、二甲亚砜组(DMSO组)和穿心莲内酯组(AND组)。各组小鼠于术后1、6、12h腹腔内分别注射相同剂量(0.2 mL)的生理盐水、5% DMSO或穿心莲内酯(10 mg/kg),记录各组小鼠术后7d生存率并绘制生存曲线。另取48只C57BL/6小鼠,分组及给药方法同前,术后24h分别检测腹腔灌洗液(PLF)中性粒细胞(PMN)数量、外周血及PLF细菌负荷以及外周血炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10水平,同时取小鼠肺脏及肝脏组织进行病理分析。**结果** 与CLP组相比,AND组小鼠术后7d生存率增加( $P<0.01$ ),腹腔PMN计数下降( $P<0.01$ ),外周血和腹腔细菌清除能力增强( $P<0.01$ ),外周血TNF- $\alpha$ 、IL-6水平降低,而IL-10水平升高( $P<0.01$ ),肺组织和肝脏组织病理损伤程度减轻( $P<0.01$ )。DMSO组与CLP组各项检测指标差异均无统计学意义。**结论** 穿心莲内酯对CLP脓毒症小鼠具有保护作用,可能与其调节免疫功能,增强细菌清除能力以及降低过度炎症反应有关。

**[关键词]** 穿心莲内酯;脓毒症;存活率分析;中性白细胞;炎症因子类**[中图分类号]** R 631 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2013)08-0846-06

### Protective effects of andrographolide on septic mice and the related mechanism

ZHAO Zhen-zhen, WANG Jun, ZHU Wei-min, LIU Yi, LI Jin-bao, DENG Xiao-ming\*

Department of Anesthesiology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the protective effects of andrographolide on septic mice and to explore the underlying mechanism. **Methods** Sepsis model was induced by cecal ligation and puncture (CLP) in mice. A total of 64 C57BL/6 mice were evenly randomized into 4 groups: a sham group, a CLP group, a dimethyl sulfoxide (DMSO) group and an andrographolide (AND) group. The mice were injected intraperitoneally with 0.2 mL normal saline, 0.2 mL 5% DMSO or 0.2 mL andrographolide (10 mg/kg) at 1 h, 6 h and 12 h after surgery. The survival rates were assessed 7 days after surgery and the survival curve was plotted. Another 48 C57BL/6 mice were grouped as above. The peripheral blood, peritoneal lavage fluid (PLF), lung and liver tissues were harvested 24 h after operation. Polymorphonuclear leukocyte (PMN) count in PLF was determined. Bacterial loads in the peripheral blood sample and PLF were also determined. The levels of TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-10 in the blood samples were detected by ELISA. The lung and liver tissues were observed and analyzed by hematoxylin-eosin staining. **Results** Compared with CLP group, AND group had a significantly increased survival rate 7 days after operation ( $P<0.01$ ), a significantly decreased PMN count in PLF ( $P<0.01$ ), a significantly enhanced bacterial clearance capability in both blood and PLF ( $P<0.01$ ), significantly decreased serum TNF- $\alpha$  and IL-6 levels, significantly increased IL-10 level, and significantly alleviated lung and liver tissue injuries ( $P<0.01$ ). The above parameters were not significantly different between the DMSO group and CLP group. **Conclusion** Andrographolide has protective effect against CLP-induced sepsis in mice, which might be associated with regulation of the immunological function, enhancement of bacterial clearance and inhibition of excessive inflammatory response during sepsis.

**[Key words]** andrographolide; sepsis; survival analysis; neutrophils; inflammatory factors

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34(8): 846-851]

脓毒症(sepsis)是指由感染引起的全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syn-

drome, SIRS),其病理生理机制非常复杂,尽管目前治疗方法众多,但其病死率仍居高不下。研究显示,

[收稿日期] 2013-03-08

[接受日期] 2013-05-23

[作者简介] 赵珍珍,博士,主治医师, E-mail: zpluto@163.com

\*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-31161837, E-mail: dengphd@hotmail.com

脓毒症的病死率已超过急性心肌梗死, 欧洲和美国每年死于脓毒症的患者超过 35 万例, 治疗费用高达 250 亿美元; 每年全球有超过 1 800 万严重脓毒症病例, 且新发患者数目每年以 1.5 % 的速度递增<sup>[1]</sup>。穿心莲内酯(andrographolide, AND)是爵床科植物穿心莲的主要有效成分, 目前研究证实 AND 具有抗炎、抗病毒、抗肿瘤以及增强免疫等作用<sup>[2-5]</sup>。本研究通过盲肠结扎穿孔(cecal ligation and puncture, CLP)法复制脓毒症小鼠模型, 然后将 AND 腹腔注射于 CLP 脓毒症小鼠, 观察其生存率、中性粒细胞(polymorphonuclear leukocyte, PMN)计数、细菌清除能力、炎症因子水平及病理组织损伤, 以探讨 AND 对脓毒症小鼠的保护作用及其可能机制。

## 1 材料和方法

1.1 实验动物及试剂 选用 8~10 周龄 C57BL/6 雄性小鼠, 体质量 20~25 g, 购自第二军医大学实验动物中心。所有小鼠均在动物实验前于第二军医大学长海医院临床实验中心饲养室适应性饲养 2 周, 所有实验均按照第二军医大学实验动物护理和使用指南进行。AND(纯度 98%)及其溶剂二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)均购自美国 Sigma 公司, PMN 表面特异标记物 Gr1-FITC 抗体购自美国 eBioscience 公司。TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10 酶联免疫吸附实验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测试剂盒购自美国 R&D 公司。

1.2 脓毒症小鼠模型制作 采用 CLP 法复制脓毒症小鼠模型。将小鼠置于七氟烷麻醉装置(第二军医大学长海医院麻醉科实验室自制), 给予 3% 七氟烷持续吸入麻醉, 麻醉后将小鼠四肢固定于动物实验台上, 腹部正中区域备皮并消毒。取腹部正中切口, 长约 1.0 cm, 逐层切开皮肤、皮下组织, 辨识腹白线, 切开腹白线及腹膜, 用无损伤探子于腹腔寻找、暴露盲肠及其周围邻近肠管。轻柔牵出盲肠, 置于无菌纱布上, 距离盲肠末端大约 1.5 cm 处使用 3-0 号手术缝合线结扎盲肠以及肠系膜血管, 之后用 20G 无菌针头对结扎部分盲肠进行穿刺, 穿刺点选取结扎段盲肠肠系膜血管对侧乏血管区域, 单孔穿刺, 不对穿盲肠。穿刺后轻柔挤出米粒大小肠内容物, 确保穿刺孔的通畅。之后将牵出的盲肠及其内容物回纳入腹腔, 用 4-0 号手术缝合线逐层关闭腹

壁切口。手术结束后, 所有小鼠均于背部皮下注射 1 mL 生理盐水补充血容量, 并恢复正常的饮食。

1.3 实验分组及处理 所有小鼠随机分为 4 组: (1)假手术组(sham 组), 术中不行 CLP, 其余手术操作同脓毒症模型制作, 并且在术后第 1、6 和 12 h 腹腔注射 0.2 mL 生理盐水; (2)脓毒症模型组(CLP 组), CLP 术后处理同 sham 组; (3)DSMO 组, CLP 术后在相同时间点腹腔注射 0.2 mL 的 5% DSMO; (4)AND 组, CLP 术后在相同时间点腹腔注射 0.2 mL 含 10 mg/kg AND 的 5% DSMO。

1.4 小鼠术后 7 d 生存率的观察 64 只 C57BL/6 小鼠随机平均分为上述 4 组, 每组 16 只。各组小鼠手术结束时记为 0 d (0 h), 观察每日各组小鼠存活情况, 并绘制 7 d 生存曲线。

1.5 小鼠术后 24 h 样本采集及处理 48 只 C57BL/6 小鼠随机平均分为上述 4 组, 每组 12 只。术后 24 h 时, 将各组尚存活的小鼠用 3% 七氟烷麻醉后, 取剑突下作为穿刺点行心脏穿刺, 抽取约 1~1.5 mL 血液, 并迅速转移至 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝采血试管中, 随后放置于 2~8℃ 冰箱保存备用。采血后迅速取腹正中纵行切口, 剪开腹部皮肤, 使用 1×PBS 行腹腔灌洗, 收集 1.5~2.0 mL 腹腔灌洗液(peritoneal lavage fluid, PLF)并注入灭菌 EP 管内备用。之后完整取出小鼠肺脏及肝脏组织, 置于 4% 多聚甲醛溶液中浸泡至少 24 h。

1.6 小鼠腹腔 PMN 计数 小鼠 PLF 于 400×g 离心 5 min 后, 取 PMN 细胞, 用小鼠 PMN 表面特异标记物 Gr1-FITC 抗体 5  $\mu$ L 进行标记, 用流式细胞仪(fluorescence-activated cell sorter, FACS)计算各组 PMN 的数量。

1.7 小鼠外周血及腹腔细菌清除能力的检测 小鼠外周血分别用生理盐水稀释  $1\times 10^3$  倍、 $1\times 10^4$  倍、 $1\times 10^5$  倍, 记为  $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$  倍数组, PLF 分别用生理盐水稀释  $1\times 10^3$  倍、 $1\times 10^5$  倍、 $1\times 10^7$  倍, 记为  $10^{-3}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-7}$  倍数组, 稀释后的各组液体各取 100  $\mu$ L, 均匀涂布于胰蛋白酶血琼脂平皿, 所有平皿均于 37℃ 恒温水浴箱中培养 24 h, 之后计算每个平皿中形成的菌落数量, 以菌落形成单位(colony-forming unit, CFU)为计量单位。

1.8 小鼠外周血炎症因子表达水平检测 用

ELISA 试剂盒检测小鼠外周血中炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10 水平,所有操作均按试剂盒说明书进行。

1.9 小鼠肺脏及肝脏组织病理观察 取出保存于多聚甲醛溶液中的小鼠肺脏及肝脏组织,包埋于石蜡中,切成厚度为 4  $\mu$ m 的薄片,进行 H-E 染色。由病理科医师独立进行病理评分。肺脏组织病理炎症评分标准:0 分,正常组织;1 分,组织有轻度炎症改变;2 分,组织有轻至中度炎症改变且不伴有肺组织结构明显损害;3 分,组织有中度炎症改变,肺泡上皮增厚;4 分:组织有中至重度炎症改变,肺泡结构破坏;5 分,组织有重度炎症改变,满视野结构消失<sup>[6]</sup>。肝脏组织病理评分标准:0 分,没有变化;1 分,个别细胞坏死;2 分,小于 30% 肝小叶坏死;3 分,30%~60% 肝小叶坏死;4 分,大于 60% 肝小叶坏死<sup>[7]</sup>。

1.10 统计学处理 采用 GraphPad Prism V5.01 软件包进行统计学分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,生存率比较用 log-rank 检验,多组间比较采用单因素方差分析,多组之间的两两比较采用 Dunnett 检验。检验水平( $\alpha$ )为 0.05。

## 2 结果

2.1 AND 对脓毒症小鼠术后 7 d 生存率的影响 CLP 组及 DMSO 组小鼠 1 周内全部死亡,AND 组生存率为 44%,高于 CLP 组( $P < 0.01$ ,图 1)。

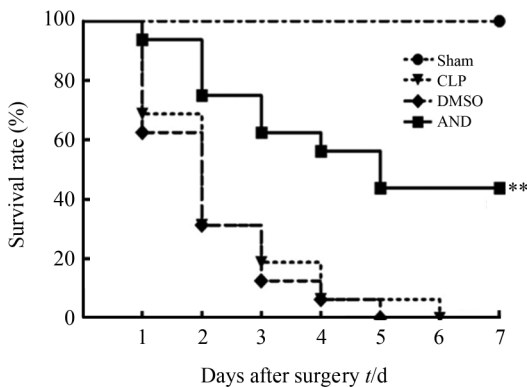


图 1 各组小鼠术后 7 d 生存率比较

Fig 1 Comparison of survival rate of mice among different groups 7 days after surgery

CLP: Cecal ligation and puncture; DMSO: Dimethyl sulfoxide; AND: Andrographolide. \*\*  $P < 0.01$  vs CLP group

2.2 AND 对脓毒症小鼠腹腔 PMN 数量的影响 CLP 组、DMSO 组、AND 组小鼠腹腔 PMN 数量均高于 sham 组( $P < 0.01$ );DMSO 组与 CLP 组

相比,腹腔 PMN 数量差异无统计学意义;AND 组小鼠腹腔 PMN 数量较 CLP 组减少( $P < 0.01$ ,图 2)。

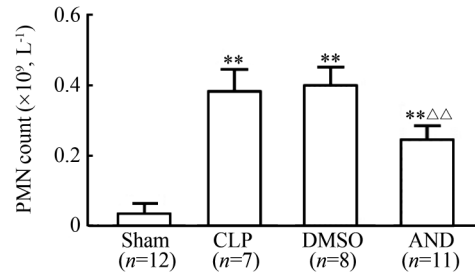


图 2 各组小鼠术后 24 h 腹腔 PMN 计数

Fig 2 Counts of PMN in PLF of mice in each group 24 h after surgery

CLP: Cecal ligation and puncture; DMSO: Dimethyl sulfoxide; AND: Andrographolide; PMN: Polymorphonuclear leukocyte; PLF: Peritoneal lavage fluid. \*\*  $P < 0.01$  vs sham group;  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs CLP group.  $\bar{x} \pm s$

2.3 AND 对脓毒症小鼠外周血及腹腔细菌清除能力的影响 CLP 组、DMSO 组小鼠外周血及 PLF 的 CFU 高于 sham 组( $P < 0.01$ ),而两组之间的 CFU 差异无统计学意义;AND 组小鼠的 CFU 较 CLP 组下降( $P < 0.01$ ,图 3)。

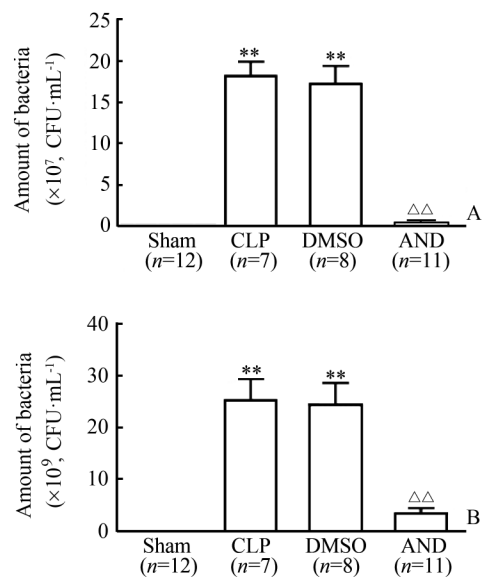


图 3 各组小鼠术后 24 h 外周血及 PLF 细菌负荷比较

Fig 3 Bacterial loads in peripheral blood samples and PLF of mice in each group 24 h after surgery

CLP: Cecal ligation and puncture; DMSO: Dimethyl sulfoxide; AND: Andrographolide; PLF: Peritoneal lavage fluid; CFU: Colony-forming unit. A: Peripheral blood ( $10^5$ ); B: PLF ( $10^7$ ). \*\*  $P < 0.01$  vs sham group;  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs CLP group.  $\bar{x} \pm s$

2.4 AND 对脓毒症小鼠外周血中炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10 水平的影响 CLP 组、DMSO 组、AND 组小鼠外周血中各炎症因子水平均高于 sham 组 ( $P < 0.01$ ); DMSO 组与 CLP 组相比, 外周

血中各炎症因子水平差异无统计学意义; AND 组外周血促炎因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平较 CLP 组下降, 而抑炎因子 IL-10 水平升高 ( $P < 0.01$ , 图 4)。

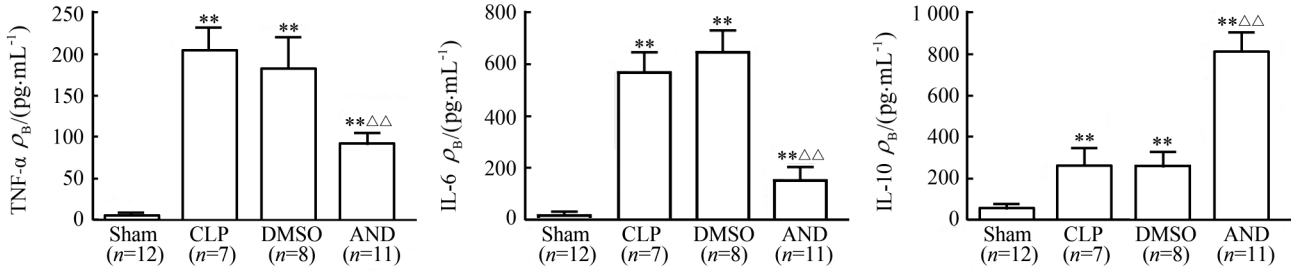


图 4 各组小鼠术后 24 h 外周血炎症因子水平

Fig 4 Inflammatory cytokine levels in peripheral blood samples of mice in each group 24 h after surgery

CLP: Cecal ligation and puncture; DMSO: Dimethyl sulfoxide; AND: Andrographolide. \*\*  $P < 0.01$  vs sham group;  $\triangle\triangle P < 0.01$  vs CLP group.  $\bar{x} \pm s$

2.5 AND 对脓毒症小鼠肺脏及肝脏组织病理损伤的影响 CLP 组及 DMSO 组小鼠肺脏组织可见 PMN 聚集, 肺泡上皮组织增厚, 肺泡组织结构部分

破坏; 肝脏组织病理观察可见肝细胞肿大, 部分肝小叶坏死。AND 组肺脏和肝脏组织损伤程度较 CLP 组明显减轻 ( $P < 0.01$ , 图 5)。

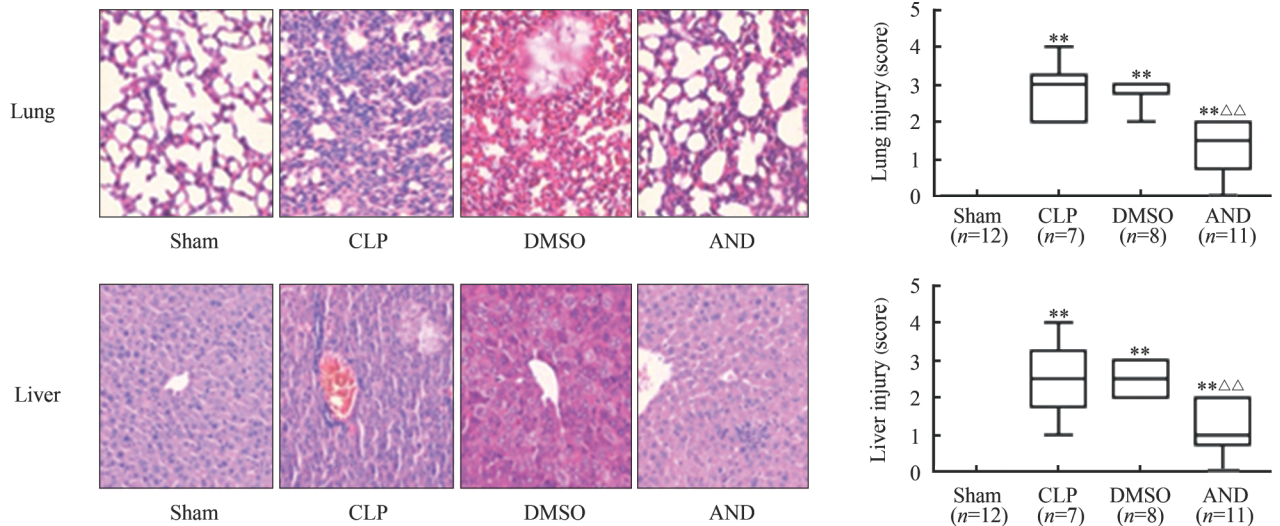


图 5 各组小鼠术后 24 h 肺脏及肝脏组织 H-E 染色结果及病理评分

Fig 5 H-E staining results of the lung and liver tissues of mice in each group 24 h after surgery and histopathological gradings  
CLP: Cecal ligation and puncture; DMSO: Dimethyl sulfoxide; AND: Andrographolide. Original magnification:  $\times 200$ .  
\*\*  $P < 0.01$  vs sham group;  $\triangle\triangle P < 0.01$  vs CLP group.  $\bar{x} \pm s$

### 3 讨论

本研究初步探讨了腹腔注射 AND 对 CLP 脓毒症小鼠的作用, 结果显示 AND 可显著提高 CLP 小鼠 7 d 生存率, 提示 AND 对脓毒症小鼠具有一定的

保护作用; AND 注射可抑制 CLP 术后 24 h 腹腔 PMN 计数, 增强外周血和腹腔的细菌清除能力, 降低外周血 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平, 升高 IL-10 水平, 与此相一致, 小鼠肺和肝脏组织病理损伤程度明显减轻, 提示 AND 的保护作用可能与抑制脓毒症过激炎症

反应、提高机体对细菌微生物清除能力有关。DM-SO组与CLP组各项检测指标差异无统计学意义,提示这种保护作用是来自AND而非DMSO。

PMN在脓毒症过度炎症反应中扮演重要角色,其过度激活以及在器官组织中的积聚是导致脓毒症器官损伤的重要原因<sup>[8]</sup>。AND可通过抑制人PMN蛋白激酶C(protein kinase C,PKC)介导的活性氧(ROS)生成,从而减少PMN黏附<sup>[9]</sup>。AND也可抑制NF- $\kappa$ B的激活减少PMN的黏附,从而减轻炎症因子和内毒素诱导的PMN腹腔积聚,缓解感染性休克及过敏性肺炎的症状<sup>[10]</sup>。此外,AND还通过抑制N-甲酰甲硫氨酰-亮氨酰-苯丙氨酸(N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine,fMLP)介导PMN黏附与迁移<sup>[11]</sup>。本研究中AND组腹腔PMN计数明显减少,与以上研究结果一致。

脓毒症发病机制复杂,一方面机体发生过激炎症反应,称为SIRS,表现为炎症因子风暴,PMN向多器官浸润,补体系统被激活,凝血系统功能障碍等;另一方面,机体出现免疫抑制状态,表现为T细胞反应性低下,抗原递呈缺陷,迟发型免疫反应缺失,吞噬细胞对细菌微生物清除能力减弱等,称为代偿性抗炎反应综合征(compensatory anti-inflammatory response syndrome,CARS)<sup>[12]</sup>。SIRS与CARS的发生并无明显的先后关系,可能是同时发生,因此调节机体免疫状态,维持促炎-抗炎之间的平衡对于脓毒症患者的治疗至关重要<sup>[13]</sup>。CLP脓毒症动物模型较单纯体内注射内毒素能更好地模拟临床脓毒症病理生理特征<sup>[14]</sup>,因此本研究采用CLP模型。尽管本研究中AND组小鼠PLF中PMN数量下降,但是外周血和腹腔细菌清除能力却增强,提示PMN可能不是清除腹腔细菌的主要细胞,有文献报道腹腔巨噬细胞可能在清除腹腔细菌中发挥更大作用<sup>[15]</sup>。另外,有文献证实脓毒症时PMN凋亡延迟,其杀灭细菌能力下降,释放各种蛋白酶,引起组织损伤能力增强<sup>[16-17]</sup>。我们既往的研究也提示脓毒症小鼠经黄芩苷治疗后,生存率及细菌清除能力增强的同时,PMN计数下降<sup>[18]</sup>。因此,PMN计数并非随着生存率和细菌清除能力的提高而增加。

炎症因子在脓毒症发病机制中具有重要作用。TNF- $\alpha$ 是创伤或感染后炎症反应中最早释放的细胞因子,是介导急性肺损伤的主要因子之一,TNF- $\alpha$ 与IL-1的协同作用是炎症反应中激活细胞因子级联反应的重要因素<sup>[19-21]</sup>。IL-6是脓毒症预后指标之

一,IL-6的持续升高往往提示脓毒症预后不良<sup>[22]</sup>。脓毒症发展过程中,抑炎因子IL-10的表达也会增加,IL-10主要由Th2细胞产生,不仅可以抑制单核细胞的激活、迁移、黏附和细胞因子的释放,还可以直接抑制炎症细胞的增殖<sup>[23]</sup>。本研究显示注射AND可显著抑制脓毒症小鼠外周血TNF- $\alpha$ 和IL-6的水平,同时升高IL-10水平,提示AND可能对炎症因子网络具有调节作用,使机体恢复促炎-抗炎平衡。

综上所述,AND可以显著改善CLP脓毒症小鼠的生存率,可能与其调节免疫功能,增强细菌清除能力以及降低过激炎症反应有关。

#### 4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] Martin G S, Mannino D M, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000[J]. *N Engl J Med*, 2003, 348: 1546-1554.
- [2] Carretta M D, Alarcon P, Jara E, Solis L, Hancke J L, Concha I I, et al. Andrographolide reduces IL-2 production in T-cells by interfering with NFAT and MAPK activation[J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 602(2-3): 413-421.
- [3] Lim J C, Chan T K, Ng D S, Sagineedu S R, Stanslas J, Wong W S. Andrographolide and its analogues: versatile bioactive molecules for combating inflammation and cancer[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2012, 39: 300-310.
- [4] Chern C M, Liou K T, Wang Y H, Liao J F, Yen J C, Shen Y C. Andrographolide inhibits PI3K/AKT-dependent NOX2 and iNOS expression protecting mice against hypoxia/ischemia-induced oxidative brain injury[J]. *Planta Med*, 2011, 77: 1669-1679.
- [5] Zhang C, Gui L, Xu Y, Wu T, Liu D. Preventive effects of andrographolide on the development of diabetes in autoimmune diabetic NOD mice by inducing immune tolerance[J]. *Int Immunopharmacol*, 2013, 16: 451-456.
- [6] Tanino Y, Makita H, Miyamoto K, Betsuyaku T, Ohtsuka Y, Nishihira J, et al. Role of macrophage migration inhibitory factor in bleomycin-induced lung injury and fibrosis in mice[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2002, 283: L156-L162.
- [7] Goodman Z D. Grading and staging systems for inflammation and fibrosis in chronic liver diseases[J]. *J Hepa-*

- tol,2007,47:598-607.
- [8] Brown K A, Brain S D, Pearson J D, Edgeworth J D, Lewis S M, Treacher D F. Neutrophils in development of multiple organ failure in sepsis[J]. *Lancet*, 2006, 368:157-169.
- [9] Chiou W F, Chen C F, Lin J J. Mechanisms of suppression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression in RAW 264. 7 cells by andrographolide[J]. *Br J Pharmacol*, 2000, 129:1553-1560.
- [10] Xia Y F, Ye B Q, Li Y D, Wang J G, He X J, Lin X, et al. Andrographolide attenuates inflammation by inhibition of NF-kappa B activation through covalent modification of reduced cysteine 62 of p50[J]. *J Immunol*, 2004, 173:4207-4217.
- [11] Shen Y C, Chen C F, Chiou W F. Andrographolide prevents oxygen radical production by human neutrophils: possible mechanism(s) involved in its anti-inflammatory effect[J]. *Br J Pharmacol*, 2002, 135:399-406.
- [12] Adib-Conquy M, Cavaillon J M. Compensatory anti-inflammatory response syndrome[J]. *Thromb Haemost*, 2009, 101:36-47.
- [13] Fry D E. Sepsis, systemic inflammatory response, and multiple organ dysfunction: the mystery continues[J]. *Am Surg*, 2012, 78:1-8.
- [14] Rittirsch D, Hoesel L M, Ward P A. The disconnect between animal models of sepsis and human sepsis[J]. *J Leukoc Biol*, 2007, 81:137-143.
- [15] Serafini N, Dahdah A, Barbet G, Demion M, Attout T, Gautier G, et al. The TRPM4 channel controls monocyte and macrophage, but not neutrophil, function for survival in sepsis[J]. *J Immunol*, 2012, 189:3689-3699.
- [16] Chopra M, Reuben J S, Sharma A C. Acute lung injury: apoptosis and signaling mechanisms[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2009, 234:361-371.
- [17] Weckbach S, Hohmann C, Braumueller S, Denk S, Klohs B, Stahel P F, et al. Inflammatory and apoptotic alterations in serum and injured tissue after experimental polytrauma in mice: distinct early response compared with single trauma or "double-hit" injury[J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2013, 74:489-498.
- [18] Zhu J, Wang J, Sheng Y, Zou Y, Bo L, Wang F, et al. Baicalin improves survival in a murine model of polymicrobial sepsis via suppressing inflammatory response and lymphocyte apoptosis [J]. *PLoS One*, 2012, 7:e35523.
- [19] Kox W J, Volk T, Kox S N, Volk H D. Immunomodulatory therapies in sepsis[J]. *Intensive Care Med*, 2000, 26(Suppl 1):S124-S128.
- [20] Zanotti S, Kumar A, Kumar A. Cytokine modulation in sepsis and septic shock [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2002, 11:1061-1075.
- [21] Alexander J J, Jacob A, Cunningham P, Hensley L, Quigg R J. TNF is a key mediator of septic encephalopathy acting through its receptor, TNF receptor-1[J]. *Neurochem Int*, 2008, 52:447-456.
- [22] van den Boogaard M, Ramakers B P, van Alfen N, van der Werf S P, Fick W F, Hoedemaekers C W, et al. Endotoxemia-induced inflammation and the effect on the human brain[J]. *Crit Care*, 2010, 14:R81.
- [23] Londoño D, Marques A, Hornung R L, Cadavid D. IL-10 helps control pathogen load during high-level bacteremia[J]. *J Immunol*, 2008, 181:2076-2083.

[本文编辑] 商素芳