

# 加味凉膈散对脂多糖刺激小鼠 血小板活化标志物及炎症因子释放的影响

张静姝<sup>1</sup> 王勇强<sup>2</sup> 王兵<sup>2</sup> 刘学政<sup>3</sup>

(1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 天津市第一中心医院, 天津 300192;

3. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300193)

**【摘要】** 目的 观察加味凉膈散对脂多糖(LPS)刺激小鼠血小板活化标志物及炎症因子释放的影响。  
方法 将 112 只雄性昆明小鼠按随机数字法分为对照组、模型组以及加味凉膈散低、中、高剂量组。采用小鼠尾静脉注射 LPS 10 mg/kg 的方法制备脓毒症模型,对照组小鼠尾静脉注射等量生理盐水。加味凉膈散组分别以低、中、高剂量 0.94、1.89、2.84 g/mL 加味凉膈散 0.02 mL/g 灌胃 3 d,对照组和模型组给予等量生理盐水灌胃 3 d。不同剂量加味凉膈散组及模型组于制模后 24 h、72 h 各处死 8 只小鼠取血,对照组于制模型后 24 h 处死 8 只小鼠取血进行检测;用血细胞分析仪检测血浆血小板计数(PLT);用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测白细胞介素-10(IL-10)、高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)、血小板第 4 因子(PF4)水平。各组于制模后 72 h 另取 8 只小鼠用激光扫描共聚焦显微镜检测  $Ca^{2+}$  浓度。  
结果 与对照组比较,制模后 24 h 模型组 PLT( $\times 10^9/L$ :  $347.70 \pm 115.10$  比  $1\ 013.10 \pm 136.60$ )水平即降低,IL-10( $\mu g/L$ :  $356.86 \pm 34.72$  比  $39.50 \pm 23.45$ )、HMGB1(mg/L:  $16.24 \pm 4.49$  比  $10.75 \pm 1.91$ )、PF4( $\mu g/L$ :  $5.43 \pm 0.61$  比  $1.33 \pm 0.40$ )、 $Ca^{2+}$ (nmol/L:  $8.60 \pm 0.52$  比  $1.05 \pm 0.33$ )水平即升高,持续到制模后 72 h。与模型组比较,加味凉膈散低、中、高剂量组 PLT 水平均明显升高,以中剂量组制模后 72 h 升高更显著( $\times 10^9/L$ :  $952.13 \pm 104.02$  比  $771.50 \pm 129.30$ ,  $P < 0.05$ );加味凉膈散低、中、高剂量组 IL-10、HMGB1、PF4、 $Ca^{2+}$  水平均明显降低,IL-10 以高剂量组制模后 72 h( $\mu g/L$ :  $110.17 \pm 29.12$  比  $441.50 \pm 30.72$ )、HMGB1 以高剂量组制模后 24 h(mg/L:  $10.33 \pm 3.52$  比  $16.24 \pm 4.49$ )、PF4 以中剂量组制模后 24 h( $\mu g/L$ :  $2.08 \pm 0.92$  比  $5.43 \pm 0.61$ )、 $Ca^{2+}$  以高剂量组(nmol/L:  $2.97 \pm 0.96$  比  $8.60 \pm 0.52$ )降低更显著(均  $P < 0.05$ )。  
结论 加味凉膈散可能通过下调 LPS 诱发的炎症细胞因子释放、抑制血小板  $Ca^{2+}$  的激活、阻止血小板活化,改善 LPS 导致的血小板减少。

**【关键词】** 脂多糖; 脓毒症; 加味凉膈散; 血小板活化标志物; 炎症因子

**The impact of modified Liangge powder on platelet activation markers and release of proinflammatory cytokine of mice by stimulation of lipopolysaccharide** Zhang Jingshu\*, Wang Yongqiang, Wang Bing, Liu Xuezheng. \*Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Corresponding author: Wang Yongqiang, Tianjin First Center Hospital, Tianjin 300192, China, Email: yongqiangwang1962@sina.com

**【Abstract】** **Objective** To observe the impact of modified Liangge powder (MLP) on platelet activation markers and the release of proinflammatory cytokine in mice by stimulation of lipopolysaccharide (LPS). **Methods** 112 male mice were randomly divided into control group, model group and MLP low, middle and high dose treatment groups. The sepsis model was reproduced by injection of LPS 10 mg/kg into a mouse tail vein. In the control group, normal saline 10 mg/kg was injected into the tail vein of mouse. The MLP low, middle, and high dose groups received 0.94, 1.89, 2.84 g/mL MLP 0.02 mL/g by gavage respectively for 3 days, while the control group and model group received equal amount of normal saline by gavage for 3 days. After modeling for 24 hours and 72 hours, 8 mice in each of the three different dose MLP groups and model group were killed and their blood was taken. In the control group, after modeling for 24 hours, 8 mice were killed and their blood was taken. Platelet (PLT) was counted by blood cell analyzer, plasma interleukin-10 (IL-10), high mobility group protein B1 (HMGB1) and platelet factor 4 (PF4) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In each group after modeling for 72 hours, another 8 mice were taken, and laser scanning confocal microscopy was used to measure the platelet cytosolic  $Ca^{2+}$  concentration. **Results** Compared with the control group, the level of PLT at 24 hours( $\times 10^9/L$ :  $347.70 \pm 115.10$  vs.  $1\ 013.10 \pm 136.60$ ) was decreased, and the levels of IL-10 ( $\mu g/L$ :  $356.86 \pm 34.72$  vs.  $39.50 \pm 23.45$ ), HMGB1 (mg/L:  $16.24 \pm 4.49$  vs.  $10.75 \pm 1.91$ ), PF4 ( $\mu g/L$ :  $5.43 \pm 0.61$  vs.  $1.33 \pm 0.40$ ) and  $Ca^{2+}$  (nmol/L:  $8.60 \pm 0.52$  vs.  $1.05 \pm 0.33$ ) were elevated in model group. Compared with the model group, the levels of PLT in the MLP high, middle and low dose groups were all significantly elevated; the increase in PLT in middle dose group after modeling for 72 hours was the most remarkable ( $\times 10^9/L$ :  $952.13 \pm 104.02$  vs.  $771.50 \pm 129.30$ ,  $P < 0.05$ ); the levels of IL-10, HMGB1, PF4,  $Ca^{2+}$  in MLP low, middle, high

dose groups were significantly decreased. The most obvious degree of decrease in level of the following indexes were as follows: IL-10 in MLP high dose group at 72 hours after modeling ( $\mu\text{g/L}$ :  $110.17 \pm 29.12$  vs.  $441.50 \pm 30.72$ ), HMGB1 in MLP high dose group after modeling for 24 hours ( $\text{mg/L}$ :  $10.33 \pm 3.52$  vs.  $16.24 \pm 4.49$ ), PF4 in MLP middle dose group after modeling for 24 hours ( $\mu\text{g/L}$ :  $2.08 \pm 0.92$  vs.  $5.43 \pm 0.61$ ) and  $\text{Ca}^{2+}$  in MLP high dose group ( $\text{nmol/L}$ :  $2.97 \pm 0.96$  vs.  $8.60 \pm 0.52$ , all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** MLP may possibly down-regulate the inflammatory cytokines release induced by LPS to inhibit the activation of platelet  $\text{Ca}^{2+}$ , in turn prevent the activation of platelet and improve thrombocytopenia caused by LPS.

**【Key words】** Lipopolysaccharide; Sepsis; Modified Liangge powder; Platelet activation marker  
Inflammatory factor

脓毒症是由感染引发的全身炎症反应,其高发病率、高病死率、高耗资和发病率持续增加的特点已经成为导致重症患者中后期死亡的主要原因<sup>[1]</sup>。近 40 年来,脓毒症的平均病死率没有实质性改善,因而成为了重症医学的研究热点<sup>[2]</sup>。在诊断脓毒症的新标准中,将血小板减少症(TCP)血小板计数(PLT)  $< 100 \times 10^9/\text{L}$  作为脓毒症器官功能障碍的一项指标<sup>[3]</sup>,且感染诱发的 PLT 减少是脓症患者死亡的危险标志之一。据统计,35%~59%的脓症患者可发生 PLT 减少,血培养阳性患者,血小板下降的发生率高达 79.6%<sup>[4-5]</sup>。本研究旨在探讨脂多糖(LPS)诱发 PLT 减少时对血小板参数、炎症因子及血小板活化标记物的影响,以及加用加味凉膈散治疗后各指标的变化情况。

## 1 材料与方 法

**1.1 主要试剂与仪器:** LPS; 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒; 3.2% 枸橼酸钠; 0.01 mmol/L 磷酸盐缓冲液(PBS); Fluo3-AM 溶于二甲亚砜(DMSO)中; 乙二醇二乙醚四乙酸(EGTA),溶于超纯度去离子水中; 曲通-100(TritonX-100); Ca-乙酰水杨酸(ASA)-Hepes 缓冲液(Hepes 缓冲液中加入  $\text{CaCl}_2$  120 mmol/L、ASA 0.94 mmol/L, pH 值 7.4); 羟乙基哌嗪乙硫磺酸(Hepes)缓冲液(Hepes 10 mmol/L、葡萄糖 10 mmol/L、NaCl 145 mmol/L、KCl 5 mmol/L、 $\text{MgSO}_4$  1.0 mmol/L、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0.5 mmol/L, pH 值 7.4); Ca-Hepes 缓冲液(Hepes 中加入  $\text{CaCl}_2$  120 mmol/L, pH 值 7.4)。尼康 80i 正置显微镜,酶标仪, Sysmex KX-21N 型血细胞分析仪,激光扫描共聚焦显微镜。

**1.2 实验中药:** 加味凉膈散由连翘 20 g, 黄芩 10 g, 栀子 20 g, 淡竹叶 10 g, 大黄 9 g, 薄荷 6 g, 芒硝 10 g, 玄参 10 g, 丹参 10 g, 麦冬 10 g, 西洋参 10 g, 水牛角 20 g, 桃仁 10 g, 红花 10 g, 甘草 6 g 组成。西洋参饮片由天津格斯宝药业公司提供,其余单味中药配方颗粒由江阴天江药业有限公司提供。将各单味中药配方颗粒按比例倒入烧杯混匀,制成 0.94 g/mL(低)、1.89 g/mL(中)、2.84 g/mL(高) 3 种生药浓度<sup>[6]</sup>。

**1.3 动物分组及给药:** 健康清洁级昆明雄性小鼠 112 只,体质量 20~22 g,中国医学科学院生物研究所提供,动物合格证号: SCXK 京 2009-0017。将动物按随机数字表法分为对照组(16 只)、模型组(24 只)和加味凉膈散低、中、高剂量组(各 24 只)。尾静脉注射 LPS 10 mg/kg 制备脓毒症小鼠模型<sup>[7]</sup>,对照组尾静脉注射 10 mg/kg 生理盐水。制模成功后加味凉膈散组分别以低、中、高剂量加味凉膈散 0.02 mL/g 每日灌胃 1 次,连续 3 d; 对照组和模型组用 0.02 mL/g 生理盐水每日灌胃 1 次,连续 3 d。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

**1.4 检测指标及方法:** 于小鼠腹主动脉采血,置于 2 mL 乙二胺四乙酸二钠(EDTA- $\text{Na}_2$ ) 包被的采血管中,取 30  $\mu\text{L}$  测定血常规,剩余全血用  $3\ 000 \times g$  离心 10 min,提取上清液后以相同条件离心 2 次,取上清液,  $-80\ ^\circ\text{C}$  冻存用于 ELISA 检测。

**1.4.1 PLT、白细胞介素-10(IL-10)、高迁移率族蛋白 B1(HMGB-1)及血小板第 4 因子(PF4)测定:** 各组于注射 LPS 后 24 h 和 72 h 各取 8 只小鼠,取血离心 8 min,上清液转移至小离心管(EP 管)中保存待测。用血细胞分析仪检测小鼠 PLT 水平;用 ELISA 检测小鼠 IL-10、HMGB-1 和 PF4 水平。

**1.4.2 血小板胞质  $\text{Ca}^{2+}$  测定:** 各组于注射 LPS 后 72 h 取 8 只小鼠制备富血小板血浆(PRP)。取 PRP,用 Ca-ASA-Hepes 缓冲液稀释调整 PLT 为  $2 \times 10^{13}/\text{L}$ ,离心弃上清液;取血小板沉淀,用 Ca-ASA-Hepes 缓冲液重悬,并调整 PLT 为  $2 \times 10^{11}/\text{L}$ ,用 Fluo3-AM 和 0.05% pluronic F-127 各 50  $\mu\text{L}$  孵育,离心弃上清液;取血小板沉淀,用 Ca-ASA-Hepes 缓冲液洗 2 次,以 Ca-Hepes 缓冲液重悬,调整 PLT 为  $2 \times 10^9/\text{L}$ 。采用激光动态扫描共聚焦显微镜测定血小板内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度,显微镜下观察血小板内  $\text{Ca}^{2+}$  变化,荧光亮度越大表示  $\text{Ca}^{2+}$  浓度越大,收集扫描数据。

**1.5 统计学方法:** 使用 SPSS 17.0 统计软件分析数据。计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 加味凉膈散对 LPS 攻击小鼠 PLT 水平的影响** (表 1): 制模后 24 h 模型组 PLT 较对照组明显下降, 至 72 h 仍降低 (均  $P < 0.05$ )。加味凉膈散治疗后 24 h 与 72 h 低、中剂量组均较模型组升高, 以中剂量组升高更显著 (均  $P > 0.05$ ); 而高剂量组的升高程度最小。

表 1 各组小鼠外周血 PLT 水平的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数 (只)	PLT ( $\times 10^9/L$ )	
		制模后 24 h	制模后 72 h
对照组	8	1 013.10 $\pm$ 136.60	
模型组	8	347.70 $\pm$ 115.10 <sup>a</sup>	771.50 $\pm$ 129.30 <sup>ab</sup>
加味凉膈散低剂量组	8	476.55 $\pm$ 72.52 <sup>ac</sup>	911.35 $\pm$ 111.67 <sup>bc</sup>
加味凉膈散中剂量组	8	509.83 $\pm$ 59.66 <sup>ac</sup>	952.13 $\pm$ 104.02 <sup>bc</sup>
加味凉膈散高剂量组	8	397.26 $\pm$ 80.33 <sup>ad</sup>	879.16 $\pm$ 106.75 <sup>ab</sup>

注: 与对照组制模后 24 h 比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与本组制模后 24 h 比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与加味凉膈散中剂量组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$ ; 空白代表未检测

**2.2 加味凉膈散对 LPS 攻击小鼠血浆 IL-10 水平的影响** (表 2): 模型组小鼠制模后血浆 IL-10 水平随时间延长显著升高, 且均高于对照组 (均  $P < 0.05$ )。加味凉膈散治疗组血浆 IL-10 较模型组降低, IL-10 降低程度以 72 h 为明显; 低、中、高治疗组均较模型组显著下降 (均  $P < 0.05$ )。

表 2 各组小鼠血浆 IL-10 水平的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数 (只)	IL-10 ( $\mu g/L$ )	
		制模后 24 h	制模后 72 h
对照组	8	39.50 $\pm$ 23.45	
模型组	8	356.86 $\pm$ 34.72 <sup>a</sup>	441.50 $\pm$ 30.72 <sup>ab</sup>
加味凉膈散低剂量组	8	250.83 $\pm$ 26.14 <sup>ac</sup>	153.71 $\pm$ 31.56 <sup>abc</sup>
加味凉膈散中剂量组	8	155.67 $\pm$ 34.73 <sup>abc</sup>	180.67 $\pm$ 54.26 <sup>ac</sup>
加味凉膈散高剂量组	8	269.75 $\pm$ 98.44 <sup>ace</sup>	110.17 $\pm$ 29.12 <sup>abcde</sup>

注: 与对照组制模后 24 h 比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与本组制模后 24 h 比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 加味凉膈散低剂量组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$ ; 与加味凉膈散中剂量组比较, <sup>e</sup> $P < 0.05$ ; 空白代表未检测

**2.3 加味凉膈散对 LPS 攻击小鼠血浆 HMGB1 的影响** (表 3): 模型组小鼠制模后 24 h HMGB1 水平无明显上升, 与对照组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 至 72 h 模型组明显高于对照组 ( $P < 0.05$ )。制模后 24 h 加味凉膈散低、高剂量组较模型组降低, 但差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ ), 但治疗后 72 h 加味凉膈散中剂量组显著低于模型组 ( $P < 0.05$ )。

表 3 各组小鼠血浆 HMGB1 水平的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数 (只)	HMGB1 (mg/L)	
		制模后 24 h	制模后 72 h
对照组	8	10.75 $\pm$ 1.91	
模型组	8	16.24 $\pm$ 4.49	38.78 $\pm$ 1.07 <sup>ab</sup>
加味凉膈散低剂量组	8	13.52 $\pm$ 4.40	25.68 $\pm$ 4.97 <sup>abc</sup>
加味凉膈散中剂量组	8	18.62 $\pm$ 2.97 <sup>acd</sup>	20.07 $\pm$ 3.06 <sup>acd</sup>
加味凉膈散高剂量组	8	10.33 $\pm$ 3.52 <sup>bde</sup>	24.27 $\pm$ 2.59 <sup>abce</sup>

注: 与对照组制模后 24 h 比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与本组制模后 24 h 比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与加味凉膈散低剂量组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$ ; 与加味凉膈散中剂量组比较, <sup>e</sup> $P < 0.05$ ; 空白代表未检测

**2.4 加味凉膈散对 LPS 攻击小鼠血浆 PF4 的影响** (表 4): 制模后 24 h 模型组 PF4 显著升高 ( $P < 0.05$ ), 至 72 h 仍稍高于对照组 ( $P < 0.05$ )。用加味凉膈散治疗后各组均较模型组明显下降 ( $P < 0.05$ ), 但各剂量组间比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表 4 各组小鼠血浆 PF4 水平的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数 (只)	PF4 ( $\mu g/L$ )	
		制模后 24 h	制模后 72 h
对照组	8	1.33 $\pm$ 0.40	
模型组	8	5.43 $\pm$ 0.61 <sup>a</sup>	3.63 $\pm$ 0.50 <sup>ab</sup>
加味凉膈散低剂量组	8	2.17 $\pm$ 0.78 <sup>ac</sup>	3.39 $\pm$ 0.92 <sup>ab</sup>
加味凉膈散中剂量组	8	2.07 $\pm$ 0.64 <sup>ac</sup>	3.47 $\pm$ 1.43 <sup>ab</sup>
加味凉膈散高剂量组	8	2.08 $\pm$ 0.92 <sup>ac</sup>	2.92 $\pm$ 0.95 <sup>a</sup>

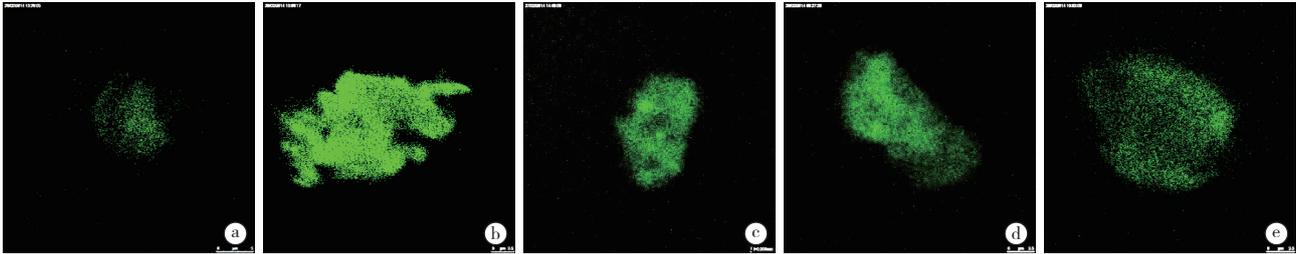
注: 与对照组制模后 24 h 比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与本组制模后 24 h 比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 空白代表未检测

**2.5 加味凉膈散对 LPS 攻击小鼠血小板  $Ca^{2+}$  浓度的影响** (表 5; 图 1): 模型组和加味凉膈散低剂量组各死亡 2 只小鼠, 中、高剂量组各死亡 1 只小鼠。制模后 72 h, 模型组血小板内  $Ca^{2+}$  显著上升 ( $P < 0.05$ )。用加味凉膈散治疗后, 各剂量组均较模型组明显下降 (均  $P < 0.05$ ), 但中剂量组与高剂量组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。图 1 可见模型组

表 5 制模后 72 h 各组小鼠血小板  $Ca^{2+}$  浓度变化比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数 (只)	血小板 $Ca^{2+}$ (nmol/L)
对照组	8	1.05 $\pm$ 0.33
模型组	6	8.60 $\pm$ 0.52 <sup>a</sup>
加味凉膈散低剂量组	6	7.42 $\pm$ 0.46 <sup>ab</sup>
加味凉膈散中剂量组	7	3.27 $\pm$ 0.36 <sup>abc</sup>
加味凉膈散高剂量组	7	2.97 $\pm$ 0.96 <sup>abc</sup>

注: 与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与加味凉膈散低剂量组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$



①: 对照组; ②: 模型组; ③: 加味凉膈散低剂量组; ④: 加味凉膈散中剂量组; ⑤: 加味凉膈散高剂量组

图 1 激光共聚焦显微镜观察制模后 72 h 各组小鼠血小板  $Ca^{2+}$  水平

荧光强度最亮,对照组最暗,加味凉膈散低、中、高剂量组的亮度依次下降。

### 3 讨论

PLT 与脓毒症的严重程度呈负相关,减少血小板消耗有助于脓毒症的治疗<sup>[8]</sup>。血小板内的  $Ca^{2+}$  主要贮存在致密颗粒和致密管道系统中,当受到刺激时  $Ca^{2+}$  将会释放至胞质中,使胞质内  $Ca^{2+}$  浓度显著上升,导致血小板变形,发生聚集反应。研究表明,血小板胞质游离  $Ca^{2+}$  是血小板活化的始动因素之一<sup>[9]</sup>。脓症患者血小板活化后,在致密管道中的血小板内游离钙通过钙通道进入胞质中,和荧光探针结合可激发较强的荧光,使用激光共聚焦显微镜可检测到  $Ca^{2+}$  的浓度<sup>[10]</sup>。本研究结果显示:LPS 刺激后,  $Ca^{2+}$  浓度显著升高;用加味凉膈散治疗后,各剂量组均较模型组明显下降,但随着治疗剂量的增加,  $Ca^{2+}$  浓度并不随之下降,表明加味凉膈散具有抑制 LPS 对血小板  $Ca^{2+}$  激活的作用,但具体通过何种机制尚需进一步研究。PF4 是激活的血小板释放的一种细胞因子,是血小板活化的标志物<sup>[11]</sup>。本实验结果显示,受 LPS 刺激后 24 h ~ 72 h, PF4 较对照组均有明显的升高;加味凉膈散组较模型组显著下降,但并不随着用药剂量的增加而下降。

在脓毒症的发生发展过程中,存在着炎症因子的过度释放<sup>[12]</sup>。既往研究表明,肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 和 IL-1 在病因作用后的几分钟至 2 h 内释放<sup>[13]</sup>,脓毒症后期,虽然患者病情持续加重直至死亡,但 TNF- $\alpha$  和 IL-1 水平往往已恢复至正常,提示可能存在某些晚期炎症介质参与了脓毒症后期的病理生理过程<sup>[14]</sup>。Sunden-Cullberg 等<sup>[15]</sup>追踪观察了 64 例脓症患者 144 h,结果显示血清 HMGB1 水平持续升高,在测试结束时, TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8、IL-10 等细胞因子水平已很低,而 HMGB1 的浓度却高出它们 300 倍。新近的研究发现,应用 HMGB1 合成抑制剂可有效防止脓毒症的发展过程,并不同程度地减轻组织损害和改善动物预后<sup>[16]</sup>,其治

疗“时间窗”在所有炎症因子中是最宽的<sup>[17]</sup>。本研究结果显示, LPS 刺激后 24 h HMGB1 浓度并未上升,到 72 h 时才有明显的升高,说明 HMGB1 与 TNF- $\alpha$ 、IL-1 等早期炎症因子明显不同,各种炎症因子表达的 Toll 样受体 4 (TLR4) 作为 HMGB1 的受体<sup>[18]</sup>,与其相互作用诱导细胞活化,参与了脓毒症后期的进展过程。IL-10 同样由 LPS 诱导产生,是强力抗炎因子。在对脓毒症的研究中发现,IL-10 的作用是通过抑制 LPS 诱导激活的单核/巨噬细胞、T 细胞释放炎症细胞因子来实现的<sup>[19]</sup>。动物实验显示,它可以改善脓毒症预后,降低病死率。目前也有研究显示,IL-10 虽可抑制其他炎症细胞因子的产生,但 IL-10 也参与了炎症反应的过程,对炎症形成起一定作用,所以其抗炎作用并不十分明显<sup>[20]</sup>。

本研究以温病治疗常用解毒清热名方凉膈散(载于宋代《和剂局方》)为基本方,加味有玄参、丹参、西洋参、麦冬、水牛角、桃仁、红花。结果显示:应用低、中、高剂量的加味凉膈散降低了 LPS 诱发的血小板活化标志物(PF4、胞质  $Ca^{2+}$ )及炎症因子(IL-10、HMGB1)的释放量。

综上所述,本研究表明,加味凉膈散可能通过下调 LPS 诱发的炎症细胞因子释放,抑制血小板  $Ca^{2+}$  的激活,阻止血小板活化,从而改善 LPS 导致的血小板减少,但具体通过何种机制来抑制 LPS 对  $Ca^{2+}$  的激活尚需进一步研究探讨。

### 参考文献

- [1] 周高速,郝华,苏磊.对脓毒症分子生物学观点的认识[J].中国中西医结合急救杂志,2009,16(5):318-320.
- [2] 刘大为.实用重症医学[M].北京:人民卫生出版社,2010:381.
- [3] 姚咏明,盛志勇,林洪远,等.2001 年国际脓毒症定义会议关于脓毒症诊断的新标准[J].中华危重病急救医学,2006,18(11):645.
- [4] Levi M, Löwenberg EC. Thrombocytopenia in critically ill patients [J]. Semin Thromb Hemost, 2008, 34(5):417-424.
- [5] Vandijck DM, Blot SI, De Waele JJ, et al. Thrombocytopenia and outcome in critically ill patients with bloodstream infection [J]. Heart Lung, 2010, 39(1):21-26.

- [6] 孙敬方. 动物实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 486-487.
- [7] SuzuKi T, Takahashi T, Yamasaki A, et al. Tissue-specific gene expression of heme oxygenase-1 (HO-1) and non-specific delta-aminolevulinic synthase (ALAS-N) in a rat model of septic multiple organ dysfunction syndrome. [J]. Biochem Pharmacol, 2000, 60(2): 275-283.
- [8] 宋冬梅, 杨莉, 曹相原. 危重病患者血小板计数变化的临床意义 [J]. 宁夏医学杂志, 2007, 29(4): 319-320.
- [9] Sanders D, Pelloux J, Brownlee C, et al. Calcium at the crossroads of signaling [J]. Plant Cell, 2002, 14 Suppl: S401-S417.
- [10] Kolomiets' OV, Danylovyh IuV, Danylovyh HV, et al. Ca<sup>2+</sup> accumulation study in isolated smooth muscle mitochondria using fluo-4 AM [J]. Ukr Biokhim Zh, 2013, 85(4): 30-39.
- [11] Medvedev N, Palankar R, Krauel K, et al. Micropatterned array to assess the interaction of single platelets with platelet factor 4-heparin-IgG complexes [J]. Thromb Haemost, 2014, 111(5): 862-872.
- [12] 梁英健, 张晓娟, 李鑫, 等. 脓毒症患者血中组织因子、血管性血友病因子与肿瘤坏死因子- $\alpha$  改变的临床意义 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2012, 19(2): 104-106.
- [13] 宋菲, 张蓓, 马莉, 等. 槲皮素和姜黄素对脓毒症大鼠炎症因子的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2012, 19(4): 216-219.
- [14] 姚咏明, 盛志勇. 脓毒症研究的若干新动态 [J]. 中华危重病急救医学, 2000, 12(6): 323-325.
- [15] Sundén-Cullberg J, Norrby-Teglund A, Rouhiainen A, et al. Persistent elevation of high mobility group box-1 protein (HMGB1) in patients with severe sepsis and septic shock [J]. Crit Care Med, 2005, 33(3): 564-573.
- [16] 姚咏明. 深化对血必净注射液治疗脓毒症新机制的认识 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2013, 20(4): 193-194.
- [17] 寇秋野, 杨祖立, 管向东, 等. 乌司他丁对脓毒症大鼠血浆高迁移率族蛋白 B1 水平的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2009, 16(2): 103-105.
- [18] Tsung A, Sahai R, Tanaka H, et al. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion [J]. J Exp Med, 2005, 201(7): 1135-1143.
- [19] Scumpia PO, Moldawer LL. Biology of interleukin-10 and its regulatory roles in sepsis syndromes [J]. Crit Care Med, 2005, 33(12 Suppl): S468-S471.
- [20] 胡志霞, 李吉, 张远炎. 比较羟乙基淀粉和乳酸林格液对脓毒症患者血中促炎/抗炎因子浓度的影响 [J]. 中国急救医学, 2013, 33(7): 627-629.

(收稿日期: 2014-12-11)

(本文编辑: 李银平)

## • 书讯 •

## 《王今达学术思想研究》由天津科技翻译出版有限公司出版发行

由天津市中西医结合研究所所长吴咸中院士, 中国中医科学院院长、天津中医药大学校长张伯礼院士, 第三军医大学野战外科研究所王正国院士, 天津市政协副主席、天津市第一中心医院院长沈中阳教授共同主编; 《中华危重病急救医学》杂志和《中国中西医结合急救杂志》编辑部主任李银平教授编辑的《王今达学术思想研究》由天津科技翻译出版有限公司出版发行。

王今达教授是我国乃至世界著名的危重病急救医学专家, 是举世公认的开拓中国危重病急救医学的先驱者, 是创立我国中西医结合危重病急救医学新学科的奠基人。他学贯中西, 率先将中医药学理论与现代急救医学理论结合起来, 探索抢救急危重患者的中西医结合思路与方法, 成为运用中西医结合方法抢救急危重患者的第一个“敢于吃螃蟹的人”。王今达教授以他创造的多个第一, 在中西医结合医学发展史上写下了光辉的篇章, 成为我国自 20 世纪中叶开展中西医结合研究以来国内外最有影响的中西医结合医学家之一。王今达教授的一生是献身给中西医结合急救医学事业的一生, 他在急救医学的中西医结合临床救治和科学研究中取得了许多令国内外医学界瞩目的成就。他是一位成功的医学家。他的成功, 客观上讲, 有党和政府的大力支持, 他培养了一支目标一致、团结奋进、与他一样具有献身精神的团队; 主观上讲, 他本人具备科学家的许多优良素质, 其中最可贵的就是他追求真理、坚持真理的科学精神和实事求是的科学态度。在中国的危重病急救医学发展史和中西医结合急救医学发展史上, 王今达这个名字将永久载入史册。

《王今达学术思想研究》是一部从不同角度详细阐述王今达教授学术思想的医学著作, 共 10 章约 60 万字。全书共收录了王今达教授亲笔撰写和在王今达教授学术思想指导下完成的有关学术论文, 以及各方人士的纪念文章 160 余篇, 从不同角度对王今达教授开拓的中西医结合危重病急救医学新学科体系进行了较为全面的阐述。图书于 2013 年 8 月一经出版, 受到学术界的一致好评。王今达教授留给我们的学术思想是我们享用不尽的资源和精神支柱, 我们有责任和义务继续挖掘和整理王今达教授的学术思想, 使之在中华大地上得以传承和发扬光大。

本书定价 180.0 元 / 本。

购书联系电话: 022-23306917, 022-23197150, 13011357067 (联系人: 王老师)。

购书地址: 天津市和平区睦南道 122 号。

