

• 论著—实验研究 •

栀子苷通过调控单核细胞表型改善小鼠盲肠结扎
穿孔技术脓毒症模型预后章德文¹ 丁娴² 王睿² 陈伟³

[摘要] 目的:探讨不同剂量栀子苷治疗脓毒症的疗效和主要生物学机制。方法:雄性 BALB/c 小鼠通过盲肠结扎穿孔技术(cecal ligation and puncture, CLP)复制脓毒症模型。在生存实验中,动物被随机分为以下各组,每组 20 只;于 CLP 术后 0 h、24 h 经小鼠尾静脉分别注射栀子苷 20 mg/kg、40 mg/kg 或生理盐水(对照组);于 CLP 术后 24 h 经小鼠尾静脉注射栀子苷 40 mg/kg 或生理盐水(对照组)。观察不同组别的生存预后;并流式检测单核细胞 CD16、MHC-II、TLR2、TLR4 表达水平;ELISA 检测血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10 浓度;Western Blot 测定 PPAR γ 浓度。结果:40 mg/kg 栀子苷 CLP 后 0 h 和 24 h 静脉给药能显著改善脓毒症小鼠模型生存预后,小剂量(20 mg/kg)栀子苷和延迟给药(24 h)无显著获益。与对照组相比,有效剂量栀子苷能不同程度地全面抑制脓毒症小鼠血清细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10 浓度,差异有统计学意义($P < 0.05$);能降低脓毒症小鼠 24 h 单核细胞 CD16 表达,差异有统计学意义($P < 0.05$);能增加脓毒症小鼠 24 h 单核细胞 MHC II 表达,差异有统计学意义($P < 0.05$);对脓毒症小鼠 24 h 单核细胞 TLR2、TLR4 表达无显著影响,差异无统计学意义($P > 0.05$);能恢复脓毒症小鼠 24 h 单核细胞 PPAR γ 蛋白活性(0.69 ± 0.02 vs. 0.44 ± 0.02),差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:早期大剂量栀子苷(40 mg/kg)可以通过调节单核细胞表型,调控细胞因子网络显著改善 CLP 小鼠脓毒症模型的生存预后。对 PPAR γ 的正性作用可能是栀子苷上游的药理学机制。

[关键词] 脓毒症;栀子苷;盲肠结扎穿孔技术;细胞因子;单核细胞;PPAR γ

DOI:10.13201/j.issn.1009-5918.2023.07.004

[中图分类号] R459.7 [文献标志码] A

Geniposide improves the prognosis of cecal ligation and puncture sepsis model in mice by regulating monocyte phenotypeZHANG Dewen¹ DING Xian² WANG Rui² CHEN Wei³

(¹Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, 202103, China; ²Department of Emergency, the Third Affiliated Hospital of Naval Medical University; ³Department of Intensive Care Unit, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine)

Corresponding author: CHEN Wei, E-mail: tcmdoctor2019@126.com

Abstract Objective: To explore the efficacy and main biological mechanism of geniposide in the treatment of sepsis. **Methods:** Male BALB/c mice replicate a model of septic excess heat through cecal ligation and puncture (CLP). Different doses of geniposide (20 mg/kg, 40 mg/kg) were administered intravenously at 0 h and/or 24 h after CLP. The survival and prognosis of different groups were observed. The expression levels of CD16, MHC-II, TLR2, and TLR4 in monocytes were detected by flow cytometry. Serum concentrations of TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-10 were determined by ELISA. The concentrations of PPAR γ were determined by Western Blot. **Results:** Intravenous administration of 40 mg/kg geniposide at 0 and 24 hours after CLP significantly improved the survival and prognosis of septic mouse models, while small doses (20 mg/kg) and delayed administration (24 hours) had no significant benefits. Effective dose of geniposide could comprehensively inhibit serum cytokine TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 concentration in sepsis mice ($P < 0.05$). The effective dose of geniposide could reduce the expression of

¹上海中医药大学(上海,202103)

²海军军医大学第三附属医院急诊科

³上海中医药大学附属龙华医院重症监护室

通信作者:陈伟, E-mail: tcmdoctor2019@126.com

CD16 in monocytes of septic mice at 24 hours ($P < 0.05$), and increase the expression of MHC II in monocytes of septic mice at 24 hours ($P < 0.05$), but has no significant effect on the expression of TLR2 and TLR4 in monocytes of septic mice at 24 hours ($P > 0.05$). The effective dose of geniposide could restore PPAR γ protein activity in monocytes of septic mice at 24 hours ($P < 0.05$). **Conclusion:** Early high dose Geniposide can significantly improve the prognosis of sepsis by regulating cytokine network, monocyte phenotype. The positive effect on PPAR γ may be the upstream pharmacological mechanism of gardeniside.

Key words sepsis; geniposide; cecal ligation and puncture; cytokine; monocyte; PPAR γ

脓毒症(sepsis)是机体对感染应答反应失控而导致危及生命的器官功能障碍^[1]。2020年,脓毒症的年发病率已增至4 890万例,与脓毒症相关的死亡人数为1100万例(占全球死亡总数的19.7%)^[2]。在重症患者致死疾病中,脓毒症排名前十。脓毒症的发病机制非常复杂,涉及感染、炎症、免疫、凝血等一系列基本问题^[3]。一直以来,脓毒症是重症医学领域的研究热点和难点,也是医生在临床工作中面临的巨大挑战^[4]。脓毒症的治疗重点包括早期诊断、抗菌药物的使用、液体复苏和血流动力学及脏器支持,清除感染源和病灶引流^[5]。虽然这些干预措施降低了病死率,但在触发脓毒症的生物分子机制和后续失控的炎症反应的早期识别和治疗方面仍存在重大缺陷^[6]。原生药栀子具有清热泻火、解毒利湿的功效,常被用于治疗感染性疾病的复方中,有一定的临床疗效。本研究拟观察栀子单组分提取物栀子苷干预脓毒症的效果,并从现代分子生物学的角度研究其分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 雄性6~8周龄、体重约25 g、无特定病原的BALB/c小鼠,购自中国科学院实验动物中心。实验前所有动物均在第二军医大学第三附属医院动物喂养中心适应性饲养1周。所有实验均按照实验动物护理和使用指南进行,且经海军军医大学第三附属医院伦理委员会批准(No: EHBHKY2023-K010-P001)。

1.1.2 栀子苷 购自阿拉丁试剂(上海)有限公司,取8 mg粉末溶于266.67 μ L水中配制成30 mg/mL母液,置于-20 $^{\circ}$ C冰箱保存。

1.2 实验方法

1.2.1 小鼠盲肠结扎穿孔技术脓毒症模型复制 健康雄性清洁级BALB/c小鼠,体重约25 g,购来后适应性饲养1周,称重、编号,实验前禁食12 h。根据Daniel Rittirsch等报道的盲肠结扎穿孔技术(cecal ligation and puncture, CLP)复制脓毒症小鼠模型。具体步骤如下:10%水合氯醛(0.5 mL/100 g体重)腹腔注射麻醉,固定、备皮、消毒、铺无菌洞巾,在腹部正中处作约1.5 cm切口,显露盲肠,用1#丝线在盲肠游离端3/4长度处结扎,用

21G针头在结扎端中点沿肠系膜纵轴方向贯通穿刺一次,轻柔地在两穿刺孔各挤出肠内容物一小滴,回纳盲肠,逐层缝合关闭腹腔,再次消毒切口周围皮肤;术后立即皮下注射37 $^{\circ}$ C生理盐水(5 mL/100 g体重);12 h昼夜节律,给予自由进食饮水。

实验模型复制重度脓毒症,在CLP建模术后12 h内出现脓毒症表现:嗜睡、寒战、竖毛;呼吸急促;进食、饮水减少;腹泻、眼角有分泌物;血培养可见多种细菌生长。术后约24 h出现动物死亡,建模动物几乎在4 d内全部死亡。尸解可见腹腔内有混浊渗出液,盲肠肿胀、局部粘连,穿刺针孔明显。

1.2.2 血液标本的采集与处理 通过心脏穿刺采集全血标本(约2 mL),1 mL直接用于流式和Western Blot检测;1 mL全血室温下静置20 min,2500 r/min离心20 min,抽取上清血清,于-20 $^{\circ}$ C冰箱避光保存,备ELISA检测。

1.2.3 栀子苷对小鼠CLP脓毒症模型临床保护效应的观察 在生存实验中,动物被随机分为以下各组,每组20只:于CLP术后0 h、24 h经小鼠尾静脉分别注射栀子苷20 mg/kg、40 mg/kg或生理盐水(对照组);于CLP术后24 h经小鼠尾静脉注射栀子苷40 mg/kg或生理盐水(对照组)。记录术后7 d内的死亡率,幸存者随访3周,以确保没有发生迟发性死亡。

在生存实验的基础上,选择40 mg/kg(0 h、24 h)的剂量进行进一步的生物化学研究。

1.2.4 ELISA检测血清IL-1 β 、IL-6、IL-10、TNF- α 浓度 在ELISA板孔中加样品稀释液40 μ L,然后加入10 μ L血清样品(样品最终稀释度为5倍)。每孔加入酶标试剂100 μ L,孵育洗涤后。序贯加入显色剂,终止液。酶标仪在450 nm波长下依序测量各孔的吸光度(OD值)。经由标准曲线(试剂盒自带标准样品倍比稀释后检测描记绘制)计算浓度。

1.2.5 流式检测外周血单核细胞表达CD16、MHC II、TLR2、TLR4水平 EDTA抗凝1 mL全血标本,裂红后洗涤,加入FITC标记CD14单抗标记单核细胞。并根据分组情况分别向管中加入PE标记CD16/32单抗、PE标记CLASS II单抗、PE

标记 TLR2 单抗、PE 标记 TLR4 单抗,重悬细胞后上流式仪检测。

1.2.6 Western Blot 测定外周血单核细胞 PPAR γ 水平 肝素抗凝 0.5 mL 全血标本,与等量 Hanks 液充分混匀,按 2 : 1 加入淋巴细胞分离液混匀离心,抽取上中层界面处白色雾层单核细胞带,加入 Hanks 液离心后收集沉淀细胞,PBS 洗涤重悬后进行 Western Blot 检测。

1.3 统计学方法

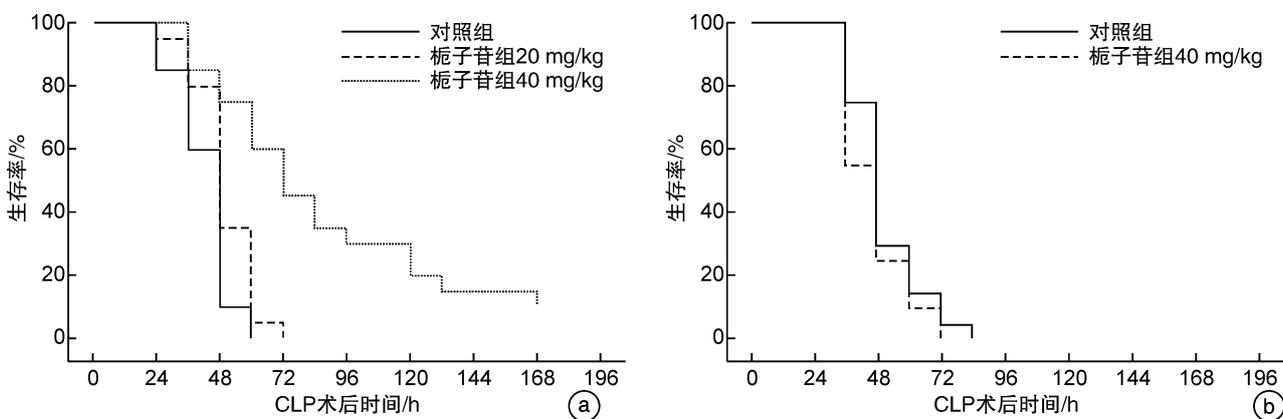
生存数据采用 Kaplan-Meier 曲线和 log-rank 检验进行分析。计量资料以 $\bar{X} \pm S$ 表示,通过 SPSS 25.0 统计软件,用 *t* 检验、双因素方差分析进

行统计分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 栀子苷对小鼠 CLP 脓毒症模型的临床保护效应

与对照组相比,小鼠 CLP 术后 0 h、24 h 静脉注射 20 mg/kg 栀子苷对死亡率的影响比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见图 1a;小鼠 CLP 术后 0 h、24 h 静脉注射 40 mg/kg 栀子苷能显著改善生存预后,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 1a;小鼠 CLP 术后 24 h 静脉注射 40 mg/kg 栀子苷对死亡率无显著影响,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见图 1b。



a:CLP 术后 0、24 h 静脉给予不同剂量栀子苷或生理盐水;b:CLP 术后 24 h 静脉给予栀子苷或生理盐水。

图 1 栀子苷对小鼠 CLP 脓毒症模型死亡率的影响

2.2 栀子苷对小鼠 CLP 脓毒症模型血清 IL-1 β 、IL-6、IL-10、TNF- α 浓度的影响

CLP 术后血清 TNF- α 呈 6 h 高峰的单向曲线趋势 [(263.13 \pm 23.91) pg/mL vs. (24.50 \pm 4.57) pg/mL],差异有统计学意义 ($P < 0.05$);CLP 术后 0 h、24 h 静脉注射 40 mg/kg 栀子苷显著抑制这一趋势 [(154.63 \pm 14.29) pg/mL vs. (263.13 \pm 23.91) pg/mL],差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 2a。

CLP 术后血清 IL-1 β 呈 6 h 高峰的单向曲线趋势 [(127.18 \pm 11.65) pg/mL vs. (34.13 \pm 6.99) pg/mL],差异有统计学意义 ($P < 0.05$);CLP 术后 0 h、24 h 静脉注射 40 mg/kg 栀子苷显著抑制这一趋势 [(106.68 \pm 16.18) pg/mL vs. (127.18 \pm 11.65) pg/mL],差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 2b。

CLP 术后 12 h 血清 IL-6 升高到峰值 [(21 493.75 \pm 3 993.92) pg/mL vs. (54.25 \pm 20.04) pg/mL],差异有统计学意义 ($P < 0.05$);CLP 术后 0 h、24 h 静脉注射 40 mg/kg 栀子苷显著抑制这一趋势 [(6 600.00 \pm 904.13) pg/mL vs.

(21 493.75 \pm 3 993.92) pg/mL],差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 2c。

CLP 术后 24 h 血清 IL-10 逐渐升高 [568.11 \pm 42.06) pg/mL vs. (9.61 \pm 2.66) pg/mL],差异有统计学意义 ($P < 0.05$);CLP 术后 0 h、24 h 静脉注射 40 mg/kg 栀子苷在 12 h 后表现出抑制效应 [(343.39 \pm 32.64) pg/mL vs. (352.51 \pm 41.82) pg/mL, $P > 0.05$; (303.70 \pm 69.47) pg/mL vs. (568.11 \pm 42.06) pg/mL, $P < 0.05$],见图 2d。

2.3 栀子苷对小鼠 CLP 脓毒症模型外周血单核细胞表达 CD16 的影响

CLP 术后 24 h,流式计数显示小鼠脓毒症组单核细胞表达 CD16 显著高于对照组 (1 598.50 \pm 188.00 vs. 474.88 \pm 23.99),差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。栀子苷 (40 mg/kg) 能够显著降低这一趋势 (643.63 \pm 29.55 vs. 1 598.50 \pm 188.00),差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 3。

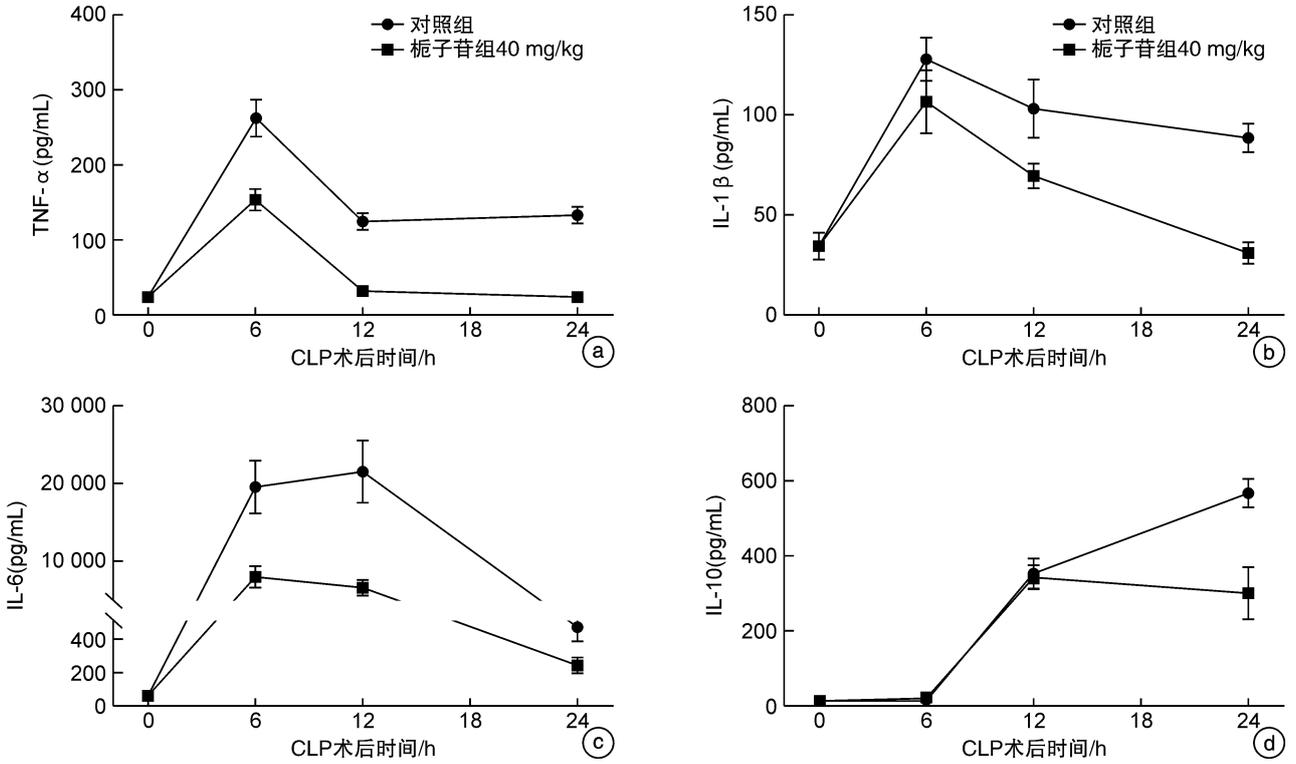
2.4 栀子苷对小鼠 CLP 脓毒症模型外周血单核细胞表达 MHC II 的影响

CLP 术后 24 h,流式计数显示小鼠脓毒症组表达 MHC II 单核细胞比率显著低于对照组 (24.70

±6.75 vs. 69.28±5.92), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。栀子苷 (40 mg/kg) 能够显著改善这一趋势 (54.93±5.83 vs. 24.70±6.75), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 4。

2.5 栀子苷对小鼠 CLP 脓毒症模型外周血单核细胞表达 TLR2 的影响

CLP 术后 24 h, 流式计数显示两组小鼠脓毒症组单核细胞表达 TLR2 之间进行比较 (1 563.67±99.47 vs. 1 550.88±83.01), 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。使用栀子苷 (40 mg/kg) 后无显著改变 (1 573.92±84.64 vs. 1 563.67±99.47), 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 5。



CLP 术后 0, 24 h 静脉给予 40 mg/kg 栀子苷或生理盐水。

图 2 栀子苷对小鼠 CLP 脓毒症模型血清 IL-1β、IL-6、IL-10、TNF-α 浓度的影响

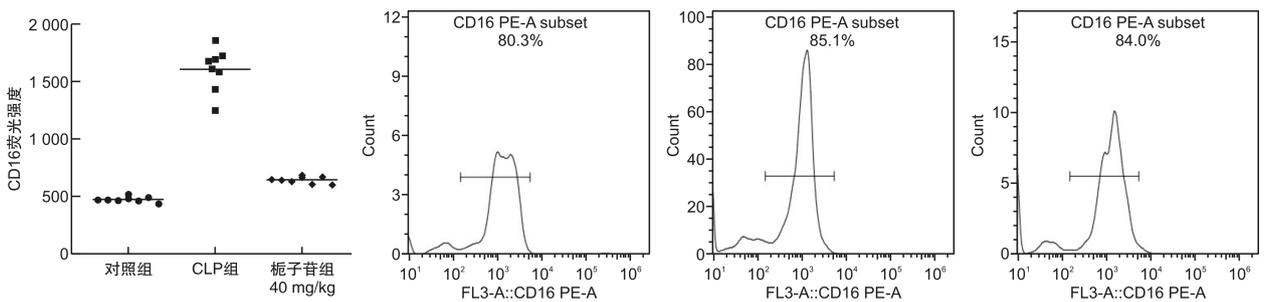


图 3 CLP 术后 24 h 外周血单核细胞 CD16 表达强度

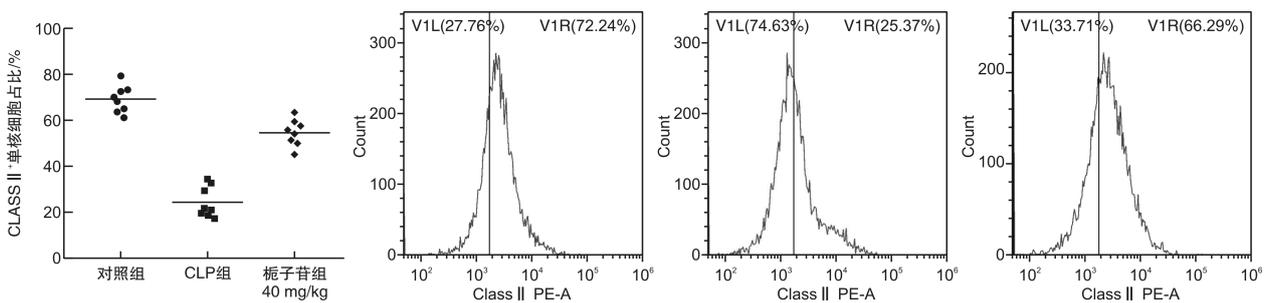


图 4 CLP 术后 24 h 外周血 CLASS II+ 单核细胞比率

2.6 栀子苷对小鼠 CLP 脓毒症模型外周血单核细胞表达 TLR4 的影响

CLP 术后 24 h, 流式计数显示两组小鼠脓毒症组单核细胞表达 TLR4 之间进行比较(1 538.16 ± 41.12 vs. 1 541.99 ± 31.93), 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。使用栀子苷(40 mg/kg)后无显著改变(1 533.08 ± 46.02 vs. 1 538.16 ± 41.12), 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 6。

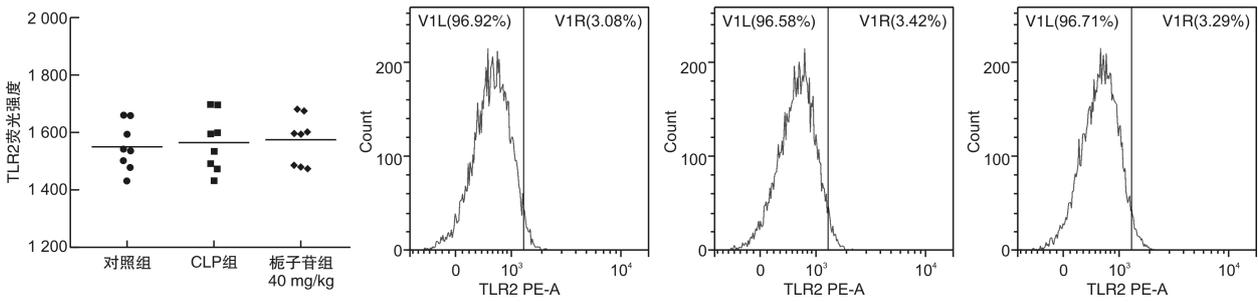


图 5 CLP 术后 24 h 外周血单核细胞 TLR2 表达强度

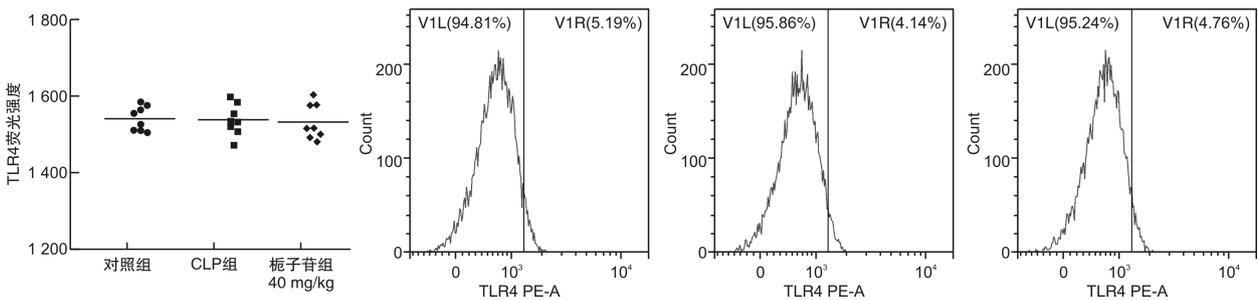
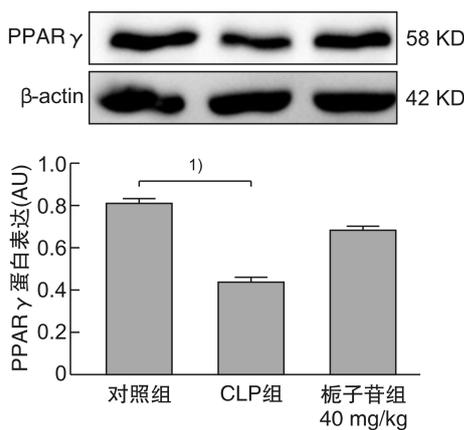


图 6 CLP 术后 24 h 外周血单核细胞 TLR4 表达强度



结果以 3 个独立实验的平均值 ± SD 表示, 与对照组比较, ¹⁾ $P < 0.05$ 。

图 7 CLP 术后 24 h 外周血单核细胞 PPARγ 水平

3 讨论

栀子 是茜草科植物栀子 Gardenia jasminoides Eills 的成熟果实, 其性寒、味苦, 归心、肺、三焦经, 具有泻火除烦、清热利尿、凉血解毒的功效。主治

2.7 栀子苷对小鼠 CLP 脓毒症模型外周血单核细胞 PPARγ 的影响

CLP 术后 24 h, 小鼠脓毒症组单核细胞 PPARγ 水平显著低于对照组(0.44 ± 0.02 Au vs. 0.81 ± 0.02 Au), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。栀子苷(40 mg/kg)能够显著改善这一趋势(0.69 ± 0.02 Au vs. 0.44 ± 0.02 Au), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 7。

热病心烦、湿热黄疸、血热吐衄、火毒疮疡等。现代药理学研究证明栀子中含有 40 多种生物活性物质, 主要有效成分为环烯醚萜苷类物质, 而栀子苷在其中含量最高。具有明显的抗炎、抗氧化和抗内毒素的效果。

从生存实验可以看到早期大剂量栀子苷(40 mg/kg)可以显著改善 CLP 小鼠脓毒症模型的生存预后。为了进一步明确栀子苷治疗脓毒症的机制, 本研究设计从细胞因子网络、单核细胞表型和生物学行为及调控机制等层面进行探讨。

在小鼠 CLP 脓毒症模型中可以看到 CLP 术后血清 TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-10 呈单向曲线趋势, CLP 术后 0 h、24 h 静脉注射 40 mg/kg 栀子苷显著抑制这一趋势(图 2)。但对于不同细胞因子的具体生物效应时相有所差异, 尤其是 IL-10, 抑制效应较为延迟(24 h)。

人类免疫系统由产生细胞因子(白细胞介素、干扰素、趋化因子和众多其他介质)的效应细胞组成。通常, 促炎和抗炎作用的脆弱平衡是由复杂的

调节机制维持的。这种稳态的紊乱会导致复杂的链式反应,导致细胞因子的大量释放。这可能导致各种反馈机制的剧烈自我强化,最终导致系统性损伤、多器官衰竭或死亡。由于先天免疫系统和适应性免疫系统内部复杂多样的相互作用,迄今为止,对这一重要临床综合征的认识尚不完整,有效的治疗方法仍然匮乏。

早期促炎细胞因子和抗炎细胞因子的全身性增加被认为是脓毒症的典型标志。促炎成分引起炎症,如果是全身性的,可导致进行性组织损伤和器官功能障碍。活化细胞表面分子的动态变化引起伴随而来的免疫麻痹,使机体容易受到院内感染、机会性病原体侵袭和病毒活化^[7]。

很难区分是产生足够的细胞因子以对抗全身感染,还是细胞因子产生失调^[8]。扩散性微生物感染和对病原相关的分子模式(PAMPs)的识别诱导大量细胞因子的产生和释放,随后导致发热、血压下降、细胞死亡、凝血功能障碍和多器官功能障碍。通过对各种组织和器官的间接损害,免疫反应对宿主的威胁可能比感染本身要大得多^[9-10]。

栀子苷对于细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10 差异性的调节,显然有利于脓毒症时失衡的细胞因子网络趋于正常,恢复以 IL-6/IL-10 为代表的促炎和抗炎系统平衡。期间存在的时间差——抑制 IL-10 效应较为延迟,应该也是栀子苷对于脓毒症治疗时机选择的生理学基础,不然不但不能纠正过高的炎症反应,反而可能促进后续的免疫麻痹^[11]。

本研究还观察了主要的炎症细胞——单核细胞的免疫表型。发现栀子苷可以降低 CD16 病理学高表达(图 3),恢复 Class II 的表达水平(图 4),但对单核细胞 TLR2、TLR4 表达无影响(图 5、6)。

单核细胞在脓毒症免疫病理中具有重要作用,“激惹的单核细胞”迁移到炎症部位分泌非常高水平的促炎细胞因子。同时,相关免疫表型的变化(CD16、CD14 和 TLR)也在这些单核细胞上观察到。特别是 CD16⁺单核细胞与脓毒症严重程度相关,CD16 的活化在功能上参与脓毒症的发病机制。先前的研究表明 CD16 可能损害单核细胞吞噬功能并增加 TNF- α 分泌,导致预后不良^[10]。潜在的机制涉及 CD16 与大肠杆菌的直接相互作用然后刺激免疫受体酪氨酸活化基序承载的 FcR 适配分子去磷酸化 PI3K,然后去磷酸化的 PI3K 抑制吞噬作用和增强 TNF- α 的产生^[12]。与 WT 小鼠相比,CD16 缺陷小鼠对 CLP 或其他感染诱导的脓毒症具有耐受性能进一步支持这一理论^[13]。这些资料支持本实验的研究结果,CD16 与脓毒症外周血清因子和不良预后呈正相关,栀子苷能有效地改善

这一现象及预后。

此外,HLA-DR 常被用于脓症患者预后的预测变量。HLA-DR 是 HLA 二级抗原,属于 MHC-II 类分子,含有 2 个分子量分别为 36 kD 和 27 kD 的亚基(α 亚基和 β 亚基),是一种在抗原呈递细胞上表达的糖基化细胞表面跨膜蛋白。HLA-DR 主要在单核细胞(如巨噬细胞、树突状细胞和 B 细胞)上进行结构性表达。在单核细胞上表达的 HLA-DR(mHLA-DR)对将摄入的微生物多肽呈递至 CD4 或 CD8 阳性 T 细胞至关重要,从而启动能够消除潜在病原体的特异性免疫反应。mHLA-DR 分子也是活化辅助性 T 淋巴细胞所必需的,它在应对感染的特异性免疫反应中起核心作用。

目前,mHLA-DR 表达的降低被认为是危重患者创伤、手术、胰腺炎、烧伤和脓毒性休克后免疫抑制和(或)脓毒性并发症发展的可靠标志^[14]。值得注意的是,在那些随后受医源性感染的患者身上,观察到了低水平的 mHLA-DR。相比之下,在那些恢复顺利的伤者身上,mHLA-DR 水平迅速恢复至正常(通常 1 周之内)。因此,mHLA-DR 水平的降低能够预测不同组危重患者将会产生的负面医疗结果。mHLA-DR 表达低于正常水平 30% 的患者中存活的较少,死亡率增加了 30 倍。本研究证实栀子苷可以显著恢复 MHC-II 的水平(图 4),是其发挥保护作用的机制之一。

细菌识别和信号传递是先天免疫系统细胞的基本功能,并在脓毒症期间被动态调节。APC 细胞通过有限数量的相对保守的模式识别受体(PRRs)参与调理作用、补体激活和吞噬等,其中还包括 Toll 样受体。

临床上,脓毒症时细胞对于 LPS 和其他微生物成分的反应受到调控。运用生物素化 LPS 和流式细胞术,证实脓毒症早期患者的外周血单个核细胞,对 LPS 过度反应而产生 IL-6 和 TNF- α 等炎症细胞因子,而发展到器官功能障碍或脓毒性休克期的患者单核细胞没有这样的反应^[15]。因此,能够根据脓毒症的临床阶段,将实验模型中所谓炎症反应的上调和下调作为时间相关性事件^[3]。有研究评估了这种炎性细胞因子产生和分泌的动态过程的调控是否会受到脓症患者单核细胞表面 TLR2 和 TLR4 表达的影响,结果发现在脓症患者和健康对照组之间以及脓毒症不同阶段患者之间没有差异^[8]。虽然 TLR2 和 TLR4 在中性粒细胞上的表达似乎比在单核细胞上的表达更动态,但与单核细胞一样,没有发现细胞表面受体表达与细胞活化之间的明确相关性^[16]。这些资料支持本研究的观察结果(图 5、6),但也有研究指出,脓毒症时 TLR2、4 的表达有一个动态过程,存在一过性的

增加,而且有明显的负反馈调节机制。

研究发现脓毒症时小鼠单核细胞核激素受体 PPAR γ 水平显示降低,栀子苷能有效改善这种病理过程(图 7)。PPAR γ 是一种转录因子,在与配体结合后,与维甲酸 X 受体 α 形成异二聚体,然后与靶基因启动子区过氧化物酶体增殖物激活的受体反应元件结合,激发其表达或抑制。有趣的是,PPAR γ 不仅可以通过与 DNA 结合起作用,而且还可以以一种不依赖于 DNA 的方式起作用。这一属性对于其抗炎作用非常重要,因为这一特征主要负责阻断促炎基因的表达。

PPAR γ 调节和(或)阻断促炎基因表达和其他促炎介质合成的这些可能性显然支持其在脓毒症治疗和意外预防中的潜在作用。脓毒症时关于 PPAR γ 非转录调控机制及内源性 PPAR γ 激动剂缺失提示栀子苷作为能促进 PPAR γ 活性的原生药材主要组分可能有潜在的临床使用价值。

4 结论

早期大剂量栀子苷(40 mg/kg)可以通过调节单核细胞表型,调控细胞因子网络显著改善 CLP 小鼠脓毒症模型的生存预后。对 PPAR γ 的正性作用可能是栀子苷上游的药理学机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315 (8): 801-810.
- [2] Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017; analysis for the Global Burden of Disease Study [J]. Lancet, 2020, 395(10219): 200-211.
- [3] Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis [J]. Nature, 2002, 420(6917): 885-891.
- [4] Dellinger RP, Levy MM, Schorr CA, et al. 50 years of sepsis investigation/enlightenment among adults—the long and winding road [J]. Crit Care Med, 2021, 49 (10): 1606-1625.
- [5] Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021 [J]. Intensive Care Med, 2021, 47(11): 1181-1247.
- [6] Rhee C, Klompas M. Sepsis trends: increasing incidence and decreasing mortality, or changing denominator? [J]. J Thorac Dis, 2020, 12 (suppl 1): S89-S100.
- [7] Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine storm [J]. N Engl J Med, 2020, 383(23): 2255-2273.
- [8] Stolarski AE, Kim J, Zhang QY, et al. Cytokine drizzle—the rationale for abandoning cytokine storm [J]. Shock, 2021, 56(5): 667-672.
- [9] Kox M, Waalders NJB, Kooistra EJ, et al. Cytokine levels in critically ill patients with COVID-19 and other conditions [J]. JAMA, 2020, 324 (15): 1565-1567.
- [10] van der Poll T, Shankar-Hari M, Wiersinga WJ. The immunology of sepsis [J]. Immunity, 2021, 54(11): 2450-2464.
- [11] Guan J, Wang Z, Liu X, et al. IL-6 and IL-10 closely correlate with bacterial bloodstream infection [J]. Iran J Immunol, 2020, 17(3): 185-203.
- [12] Pinheiro da Silva F, Aloulou M, Skurnik D, et al. CD16 promotes *Escherichia coli* sepsis through an FcR gamma inhibitory pathway that prevents phagocytosis and facilitates inflammation [J]. Nat Med, 2007, 13(11): 1368-1374.
- [13] Hazenbos WL, Gessner JE, Hofhuis FM, et al. Impaired IgG-dependent anaphylaxis and Arthus reaction in Fc gamma RIII(CD16) deficient mice [J]. Immunity, 1996, 5(2): 181-188.
- [14] Monneret G, Venet F, Pachot A, et al. Monitoring immune dysfunctions in the septic patient: a new skin for the old ceremony [J]. Mol Med, 2008, 14(1-2): 64-78.
- [15] Brunialti MK, Martins PS, Barbosa de Carvalho H, et al. TLR2, TLR4, CD14, CD11B, and CD11C expressions on monocytes surface and cytokine production in patients with sepsis, severe sepsis, and septic shock [J]. Shock, 2006, 25(4): 351-357.
- [16] Martins PS, Brunialti MK, Martos LS, et al. Expression of cell surface receptors and oxidative metabolism modulation in the clinical continuum of sepsis [J]. Crit Care, 2008, 12(1): R25.

(收稿日期: 2023-03-31)