

川射干提取物调节 TLR4/NF- κ B 信号通路

缓解 LPS 诱导的小鼠急性肺损伤的研究

张敏^{1,2}, 李思聪^{1,2}, 王斌^{1,2}, 李旭廷^{1,2}, 梁歌^{1,2*}

(1. 四川省畜牧科学研究院, 成都 610066; 2. 动物遗传育种四川省重点实验室, 成都 610066)

中图分类号: S859.7; S858.91

文献标识码: A

文章编号: 1004-7034(2023)23-0103-08

摘要:为了探究川射干提取物对急性肺损伤的防治效果及其对 TLR4/NF- κ B 信号通路相关蛋白表达的影响, 试验将 24 只雌性 Balb/c 小鼠随机分为空白对照 (CTR) 组、模型 (LPS) 组、地塞米松 (DEX) 组及川射干提取物 (ITR) 组, 每组 6 只。ITR 组每只每天灌胃 12.5 mg/mL 川射干提取物 0.2 mL, 其他组灌胃等体积生理盐水, 连续 7 d。末次给药 1 h 后, LPS 组、DEX 组和 ITR 组每只小鼠腹腔注射 1 mg/mL 脂多糖 0.2 mL 造模, CTR 组腹腔注射等体积生理盐水。DEX 组于造模前 1 小时每只小鼠腹腔注射 0.5 mg/mL 地塞米松 0.2 mL。造模 6 h 后采集血液, 制备血清; 处死各组小鼠, 分别采集肺泡灌洗液 (BALF) 和肺脏, 通过 ELISA 法检测血清和肺泡灌洗液中趋化因子 1 (CXCL1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素 (IL)-1 β 、IL-6、IL-8 和 IL-10 的含量; 对肺脏组织进行 H. E. 染色, 观察肺脏病理变化; 通过 Western-blot 检测 Toll 样受体 4 (TLR4)、核因子 κ B (NF- κ B) 信号通路相关蛋白的表达情况。结果表明: 与 LPS 组相比, ITR 组血清和肺泡灌洗液中 CXCL1、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 含量均显著或极显著下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), IL-10 含量显著或极显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与 LPS 组比较, ITR 组肺泡内炎症细胞浸润程度明显减轻, 仅局部肺泡腔内出现少量巨噬细胞或淋巴细胞浸润。与 LPS 组比较, ITR 组肺脏 TLR4、MyD88、TRIF 和 NF- κ B p-p65 蛋白表达量显著或极显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。说明川射干提取物可通过调节 TLR4/NF- κ B 信号通路缓解脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤。

关键词: 川射干提取物; 肺损伤; TLR4/NF- κ B; 小鼠; 呼吸系统; 疾病

开放科学(资源服务)标识码
Open Science Identity (OSID)



近年来,随着养殖业集约化程度的不断提高,畜禽饲养密度不断增加,生产中畜禽呼吸道感染的发病率逐年上升。畜禽呼吸道疾病高发是导致动物生产性能下降、免疫功能降低甚至死亡的重要原因之一,给畜牧业生产带来了严重经济损失。伴随着畜牧减

抗、替抗要求的不断提高,寻找合适的中草药开展畜禽呼吸道疾病的防治尤为重要。

利用革兰氏阴性菌细胞壁成分脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 建立动物模型是开展 ALI 防治研究的常用手段。ALI 是各种肺内、肺外致病因素共同作用所致的急性进行性呼吸衰竭性疾病,主要表现为肺部大量炎症细胞浸润、中性粒细胞聚集和炎症介质产生^[1]。研究表明, Toll 样受体 4/核因子 κ B (TLR4/NF- κ B) 信号通路在 LPS 诱导的炎症反应中起重要作用^[2-4]。TLR4 是一种细胞跨膜蛋白,能够识别 LPS 并激活 NF- κ B 信号通路,释放如白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6、趋化因子 1 (CXCL1) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 等多种炎症因子,进而产生细胞因子风暴,造成严重的机体损伤^[5-7]。

收稿日期: 2023-05-09; 修回日期: 2023-07-05

基金项目: 国家现代农业产业技术体系四川省兽药创新团队项目 (SCCXTD-2020-18); 四川省基本科研业务项目 (SASA202104); 畜禽新型中兽药产业化关键技术转化应用项目 (2022JDZH0028); 畜禽重大疫病防控技术研究与示范项目 (SASA2023CZYX006)

作者简介: 张敏 (1986—), 女, 助理研究员, 硕士, 研究方向为中兽药研发, zhangmin_sasa@163.com.

* 通信作者: 梁歌 (1967—), 女, 研究员, 本科, 研究方向为兽用天然药物研发, 352389099@qq.com.



近年来,中草药的抗炎作用受到广泛关注^[8]。川射干是鸢尾科植物鸢尾的干燥根茎,有清热解毒、祛痰、利咽等功效,常用于治疗咳嗽、气喘、咽喉肿痛等病症,收录于《中华人民共和国药典》(2020年版一部)^[9],是四川道地中药材^[10]。川射干与同科植物射干性味接近,在民间曾被当作射干使用。2005年作为新增药材收录进《中华人民共和国药典》(2005年版一部)^[11]。目前已有较多关于射干抗炎的研究报道^[12-13],但尚无川射干的相关研究。川射干与射干作为同科不同属的两种植物根茎^[14],主要活性成分含量也有所不同^[15]。因此,开展川射干的抗炎及其作用机制研究,对其在畜禽呼吸系统疾病中的应用和开发具有重要意义。本研究通过LPS构建了ALI小鼠模型,探寻川射干抗炎机制及治疗靶点,以期为促进川射干在畜禽无抗养殖中的应用提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 试验动物

健康雌性8周龄Balb/c小鼠24只,体重为18~22g,由成都达硕实验动物有限公司提供(实验动物生产许可证号:SYXK(川)2019-031)。小鼠在独立通风鼠笼中饲养,试验期间小鼠自由采食和饮水,适应性饲养1周后开始正式试验。所有动物试验流程均经四川省畜牧科学研究院动物伦理委员会批准,批准号为2022-017。

1.2 主要试剂及药物

LPS(来源于大肠杆菌O55:B5,产品编号为L2880),购自美国Sigma公司;川射干提取物(1g提取物相当于原生药10g,射干苷含量 $\geq 3.6\%$),购自四川省广汉市三星堆生物科技有限公司;地塞米松(纯度 $\geq 98\%$),购自北京索莱宝科技有限公司;ELISA检测试剂盒(CXCL1、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8和IL-10),均购自上海茁彩生物科技有限公司;RIPA裂解液、苯甲基磺酰氟(PMSF),均购自Servicebio公司;BCA蛋白浓度测定试剂盒,购自上海碧云天生物技术有限公司;兔抗鼠NF- κ B p65、兔抗鼠NF- κ B p-p65、MyD88抗体,均购自艾博抗(上海)贸易有限公司;TLR4、TRIF抗体,均购自武汉三鹰生物技术有限公司; β -actin、生物素化山羊抗兔IgG(H+L),均购自武汉爱博泰克生物科技有限公司。

1.3 主要仪器

酶标仪(型号为Spectra MAX Plus384),购自美谷分子仪器有限公司;电泳仪(型号为JY200C),购自北京君意东方电泳设备有限公司;转轮式切片机(型号为徠卡-2016),购自徠卡显微系统(上海)贸易有限公司;高速低温离心机(型号为H2050R),购自湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;数字切片扫描仪(型号为Pannoramic 250),购自匈牙利3DHISTECH公司;化学发光凝胶成像仪(型号为

5200),购自上海天能科技有限公司;全自动脱水机(型号为JT-12S),购自武汉俊杰电子有限公司。

1.4 试验动物及药物的处理

1.4.1 试验动物分组 将24只小鼠随机分为空白对照(CTR)组、模型(LPS)组、地塞米松(DEX)组及川射干提取物(ITR)组,每组6只。ITR组每只每天灌胃12.5mg/mL川射干提取物0.2mL,其他组灌胃等体积生理盐水,连续7d。

1.4.2 试验药物的配制 川射干提取物溶液(ITR)的制备:取川射干提取物125mg,用纯化水10mL溶解,制成浓度为12.5mg/mL的药液。地塞米松溶液(DEX)的制备:取地塞米松5mg,用纯化水10mL溶解,制成浓度为0.5mg/mL的药液。LPS的制备:取LPS10mg,用纯化水10mL溶解,制成浓度为1mg/mL的药液。

1.5 小鼠急性肺炎模型的建立与样品的采集

末次给川射干提取物1h后,DEX组、LPS组和ITR组小鼠腹腔注射1mg/mL LPS 0.2mL造模,CTR组注射等体积生理盐水。DEX组于造模前1小时腹腔注射0.5mg/mL DEX 0.2mL。造模6h后,心脏穿刺采集全血,3000r/min离心10min;分离血清,-20℃保存,待测。用1%戊巴比妥钠(50mg/kg)肌肉注射麻醉小鼠,无菌打开胸腔及颈部气管,用止血钳结扎气管,注射器抽取PBS 1mL,刺进小鼠气管,将PBS缓慢注射入小鼠的肺部,使肺部充分展开,液体无渗漏,停留1min,最后将灌洗液抽出注入5mL离心管内,反复灌洗3次,灌洗液于-20℃保存,备用。各组小鼠取左肺置于10%中性甲醛中固定24h,右肺置于组织冻存管中,-80℃保存,待测。

1.6 血清和肺泡灌洗液中细胞因子的含量

参照相应ELISA检测试剂盒说明书检测血清和肺泡灌洗液中CXCL1、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8和IL-10的含量。

1.7 肺脏病理变化的观察

取用10%中性甲醛固定的小鼠肺脏,流水冲洗24h,经全自动脱水机脱水,进行包埋、切片(厚度为5 μ m),脱蜡至水,H.E.染色并用二甲苯透明,中性树脂封片,数字切片扫描仪进行图像采集,选择待观察区域采集图片,观察具体病变。

1.8 肺脏炎症信号通路蛋白质表达的检测

按照样本:裂解液(质量比)=1:10的比例用RIPA裂解液提取肺脏组织蛋白,用BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白质浓度,进行蛋白质变性及SDS-PAGE,再转移至PVDF膜上。用5%脱脂奶粉封闭2h,分别加一抗(稀释比例:TLR4为1:1000;MyD88为1:1000;TRIF为1:2000;NF- κ B p65为1:2000;NF- κ B p-p65为1:2000; β -actin为1:50000),4℃孵育过夜;TBST清洗3次,加生物素化山羊抗兔IgG

(H+L, 1:5 000 稀释, 二抗), 室温孵育 2~3 h; TBST 清洗 3 次, 加入 ECL 显色液, 对条带进行曝光扫描, 结果以目的蛋白相对表达量表示。

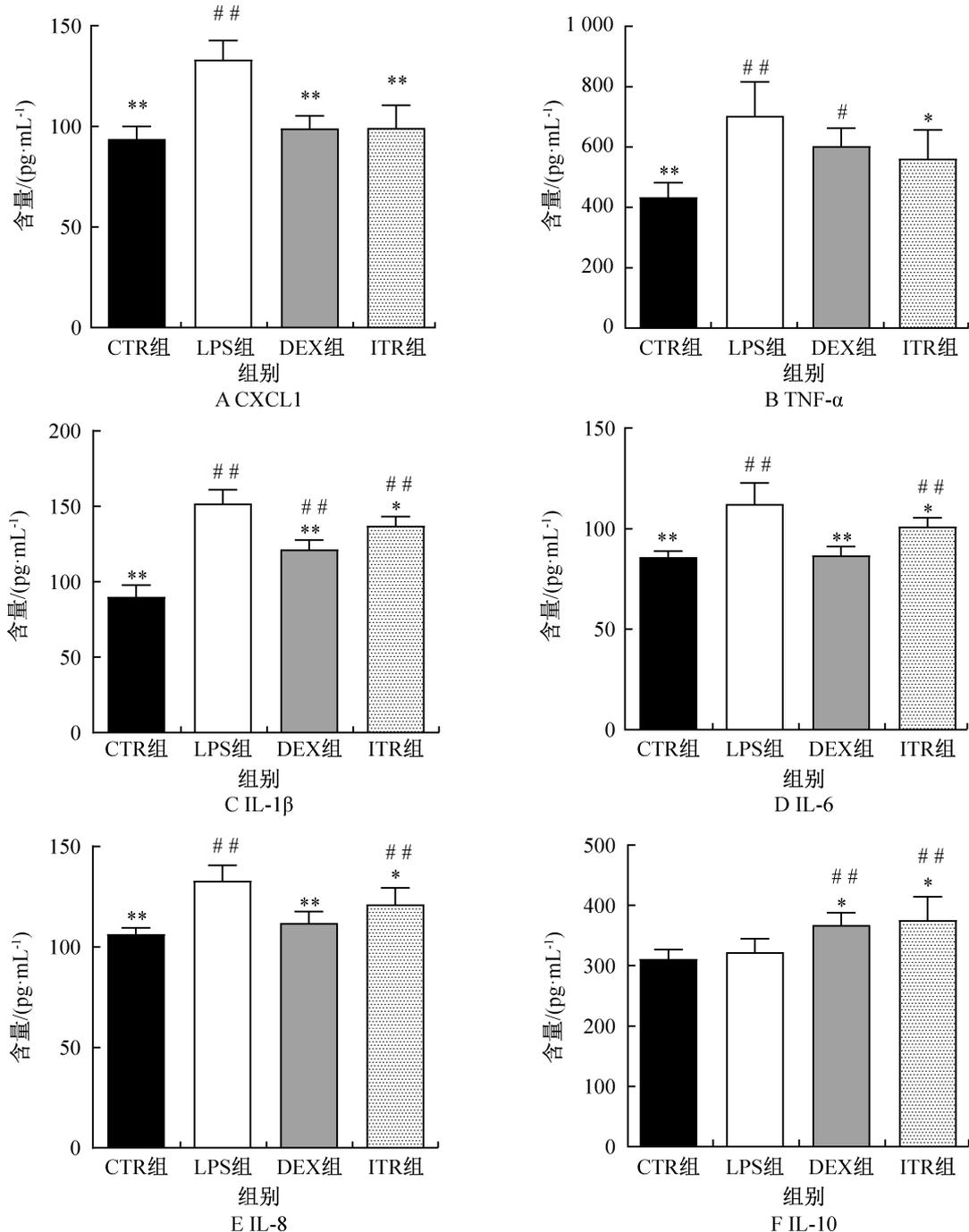
1.9 数据处理与分析

所有数据服从正态分布, 结果用“平均值±标准差”表示。使用 GraphPad Prism 9.0 软件进行组间单

因素方差分析 (One-Way ANOVA), $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著, $P > 0.05$ 表示差异不显著。

2 结果与分析

2.1 急性肺部炎症小鼠血清中细胞因子含量的检测结果见图 1。



注: 与 CTR 组比较, 柱标##表示差异极显著 ($P < 0.01$), 无#表示差异不显著 ($P > 0.05$), #表示差异显著 ($P < 0.05$); 与 LPS 组比较, 柱标**表示差异极显著 ($P < 0.01$), 无*表示差异不显著 ($P > 0.05$), *表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图 1 川射干提取物对小鼠血清中细胞因子含量的影响

Fig. 1 Effects of ITR on serum cytokines content in mice

由图 1 可知: 与 CTR 组相比, LPS 组 CXCL1、

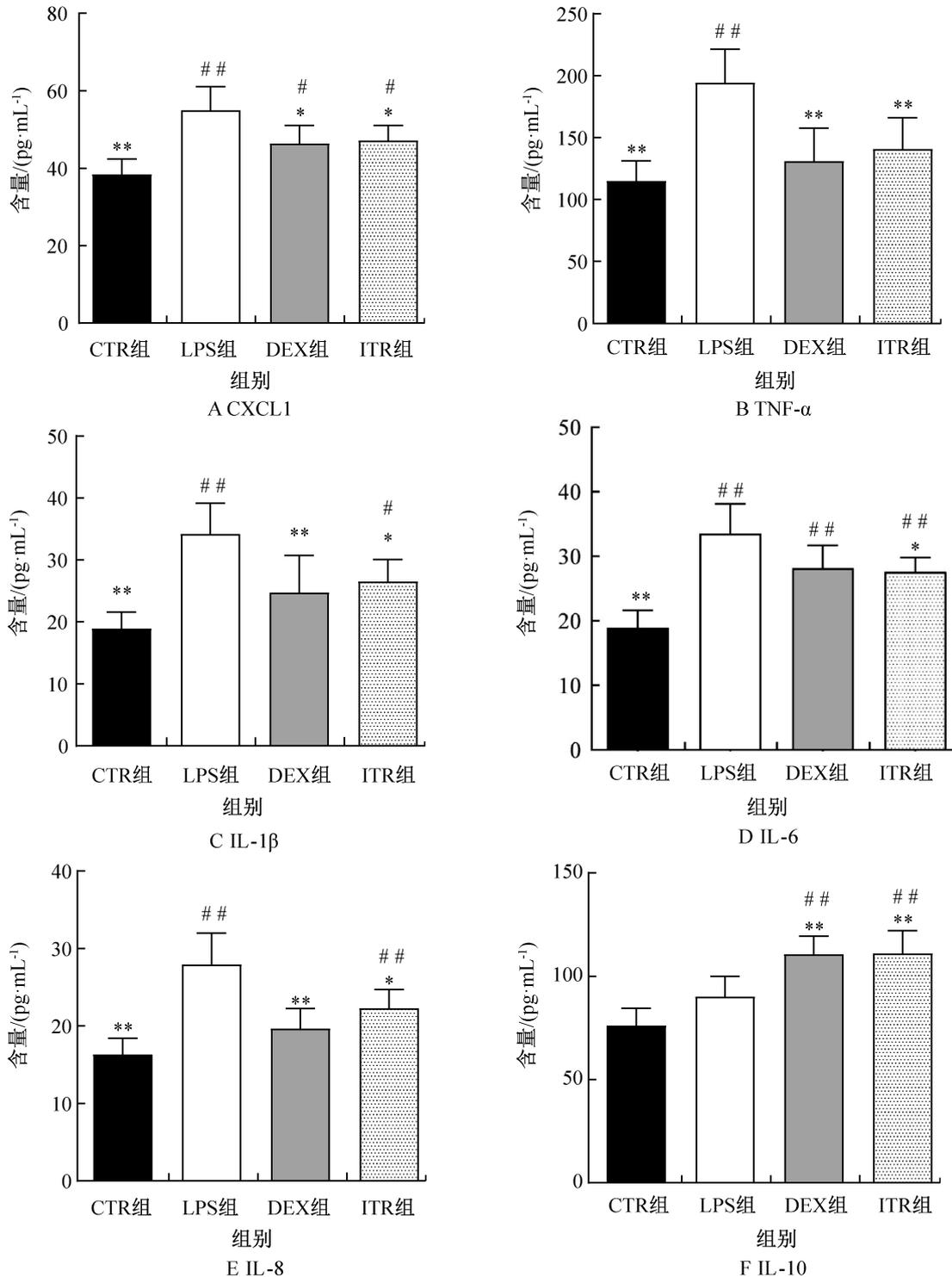
TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 含量极显著升高 ($P <$

0.01)。与 LPS 组相比, ITR 组 CXCL1 含量极显著降低 ($P < 0.01$), TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 含量显著

降低($P<0.05$), IL-10 含量显著升高($P<0.05$); DEX 组中 CXCL1、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 含量极显著降低($P<0.01$), IL-10 的含量显著升高($P<0.05$)。

2.2 川射干提取物对 LPS 诱导的急性肺部炎症小鼠肺泡灌洗液中细胞因子含量的影响

结果见图 2。



注:与 CTR 组比较,柱标##表示差异极显著($P<0.01$),#表示差异显著($P<0.05$),未标#表示差异不显著($P>0.05$);与 LPS 组比较,柱标**表示差异极显著($P<0.01$),*表示差异显著($P<0.05$),未标*表示差异不显著($P>0.05$)。

图 2 川射干提取物对小鼠肺泡灌洗液中细胞因子含量的影响

Fig. 2 Effects of ITR on BALF cytokines content in mice

由图 2 可知:与 CTR 组相比,LPS 组 CXCL1、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 含量极显著升高($P<0.01$)。与 LPS 组相比,ITR 组 TNF- α 含量极显著降

低($P<0.01$);CXCL1、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 含量显著降低($P<0.05$),IL-10 含量极显著升高($P<0.01$)。与 LPS 组相比,DEX 组 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-8 含量

极显著降低($P < 0.01$); CXCL1 含量显著降低($P < 0.05$), IL-10 含量极显著升高($P < 0.01$)。

2.3 小鼠肺部病理变化的观察

结果见 137 页彩图 3。

由 137 页彩图 3 可知:CTR 组肺部组织结构正常,未出现明显病理变化。LPS 组肺泡萎缩,有大量中性粒细胞、淋巴细胞和巨噬细胞等炎症细胞浸润。与 LPS 组比较,ITR 组肺泡内炎症细胞浸润程度明显减轻,仅局部肺泡腔内出现少量巨噬细胞或淋巴细胞。DEX 组也较 LPS 组明显改善,仅局部肺泡腔内可见有轻微巨噬细胞或淋巴细胞。

2.4 小鼠 TLR-4/NF- κ B 信号通路相关蛋白表达的检测

结果见图 4。

由图 4 可知:与 CTR 组相比,LPS 组 TLR4、MyD88、TRIF 和 NF- κ B p-p65 蛋白的相对表达量极显著升高($P < 0.01$),而 NF- κ B p65 差异不显著($P > 0.05$)。与 LPS 组相比,ITR 组 TLR4 和 TRIF 蛋白相对表达量极显著下调($P < 0.01$),MyD88 和 NF- κ B p-p65 蛋白相对表达量显著下调($P < 0.05$),NF- κ B p65 差异不显著($P > 0.05$);DEX 组 TLR4、MyD88、TRIF 和 NF- κ B p-p65 蛋白相对表达量极显著下调($P < 0.01$),NF- κ B p65 差异不显著($P > 0.05$)。

3 讨论

用 LPS 诱导建立的 ALI 小鼠模型是常用的炎症药理动物模型^[16],LPS 可引起小鼠肺组织损伤及细胞结构和功能的病理改变^[17],寻找高效防治 ALI 的药物和治疗手段是当前研究的热点^[18-20]。本研究中,LPS 组小鼠血清和肺泡灌洗液中 CXCL-1、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 均较 CTR 组极显著升高,这与王静等^[21]研究结果一致。同时,LPS 组小鼠肺部还出现肺泡萎缩,大量炎症细胞浸润和渗出等病理变化,表明 LPS 诱导的 ALI 小鼠模型造模成功^[22]。灌胃川射干提取物后,与 LPS 组比较,小鼠血清和肺泡灌洗液中 CXCL-1、TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量显著或极显著降低,而 IL-10 含量显著增加。IL-10 是由 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞和单核细胞等产生的免疫抑制因子,其主要作用是通过抑制细胞因子产生和炎症细胞活化来减轻炎症反应,同时还参与免疫调节和组织修复等^[23]。本研究中 ITR 组小鼠血清和肺泡灌洗液中 IL-10 含量较 LPS 组显著或极显著增加,表明川射干提取物可以抑制免疫细胞增殖和活化,促进机体修复和再生,从而发挥对肺脏的保护作用。肺脏病理变化方面,ITR 组肺泡中淋巴细胞、中性粒细胞等炎症细胞较 LPS 组减少,进一步印证了川射干提取物可以缓解 LPS 所致的肺部炎症变化。

TLR4/NF- κ B 信号通路是 LPS 诱导的重要炎症通路^[24]。本研究结果表明,LPS 组 TLR4 及 NF- κ B

p-p65 蛋白相对表达量均较 CTR 组极显著升高,这与 Liu J. 等^[25]的研究结果一致。ITR 组 TLR4 和 TRIF 蛋白相对表达量较 LPS 组极显著降低,MyD88 和 NF- κ B p-p65 蛋白相对表达量显著降低,提示川射干提取物可能参与了对 NF- κ B 信号通路蛋白的调控。川射干作为清热解毒、消痰利咽代表性中药,对其抗炎及机制的研究报道较少,但关于其主要活性物质如鸢尾黄素、射干苷和次野鸢尾黄素等均有研究报道。Yao L. 等^[26]研究发现,鸢尾黄素能通过 PI3K/Akt 和 PPAR γ /NF- κ B 途径改善小鼠海马神经元细胞(HT-22 细胞)存活和对抗氧糖剥夺/复氧(OGD/R)损伤,发挥抗炎作用。Niu X. 等^[27]用射干苷作用于 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞炎症模型,结果表明射干苷能降低巨噬细胞中因 LPS 上调的一氧化氮(NO)、IL-6、IL-18、IL-1 β ,其机制可能与射干苷抑制 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路有关。另外,Gao Y. 等^[28]研究发现,次野鸢尾黄素能降低 LPS 诱导的小鼠 RAW264.7 巨噬细胞诱导性一氧化氮合酶(iNOS)的转录和翻译水平及抑制 NO 的产生,还能在转录和翻译水平上明显抑制 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6。研究人员认为这种抗炎作用主要是经 ERK1/2 和 p38 调控的活化剂蛋白-1(AP-1),而非 NF- κ B 信号通路实现的。

综上所述,川射干提取物抑制 NF- κ B 信号通路改善 LPS 诱导的 ALI 可能与其所含的射干苷和鸢尾黄素等物质的抗炎机制有关,而次野鸢尾黄素可能并未参与这一机制。本研究中,ITR 组小鼠肺脏 TRIF 蛋白相对表达量较 LPS 组极显著降低,MyD88 蛋白相对表达量显著降低,说明川射干既通过 MyD88 依赖性途径又通过 TRIF 依赖性途径参与了 NF- κ B 信号通路的阻断。

4 结论

川射干提取物能够抑制 LPS 诱导的 ALI 小鼠血清和肺泡灌洗液中 CXCL-1、TNF- α 、IL-6 等炎症因子分泌,促进 IL-10 分泌,减轻肺部炎症病理变化,抑制 TLR4、MyD88、TRIF 和 NF- κ B p-p65 蛋白表达,表明川射干提取物可通过 MyD88 依赖性和 TRIF 依赖性途径参与 TLR4/NF- κ B 信号通路缓解 LPS 诱导的小鼠 ALI 损伤。

参考文献:

- [1] LONG M E, MALLAMPALLI R K, HOROWITZ J C. Pathogenesis of pneumonia and acute lung injury[J]. Clin Sci(Lond), 2022, 136(10): 747-769.
- [2] 张毅,程晨,苏景超,等. 急性肺损伤大鼠模型制备及不同时段肺损伤比较[J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(1): 27-34.
- [3] BUTT Y, KURDOWSKA A, ALLEN T C. Acute lung injury: a clinical and molecular review[J]. Arch Pathol Lab Med, 2016, 140(4): 345-350.
- [4] XIAO K, HE W, GUAN W, et al. Mesenchymal stem cells reverse

EMT process through blocking the activation of NF- κ B and Hedgehog pathways in LPS-induced acute lung injury [J]. Cell

Death Dis, 2020, 11(10):863-880.

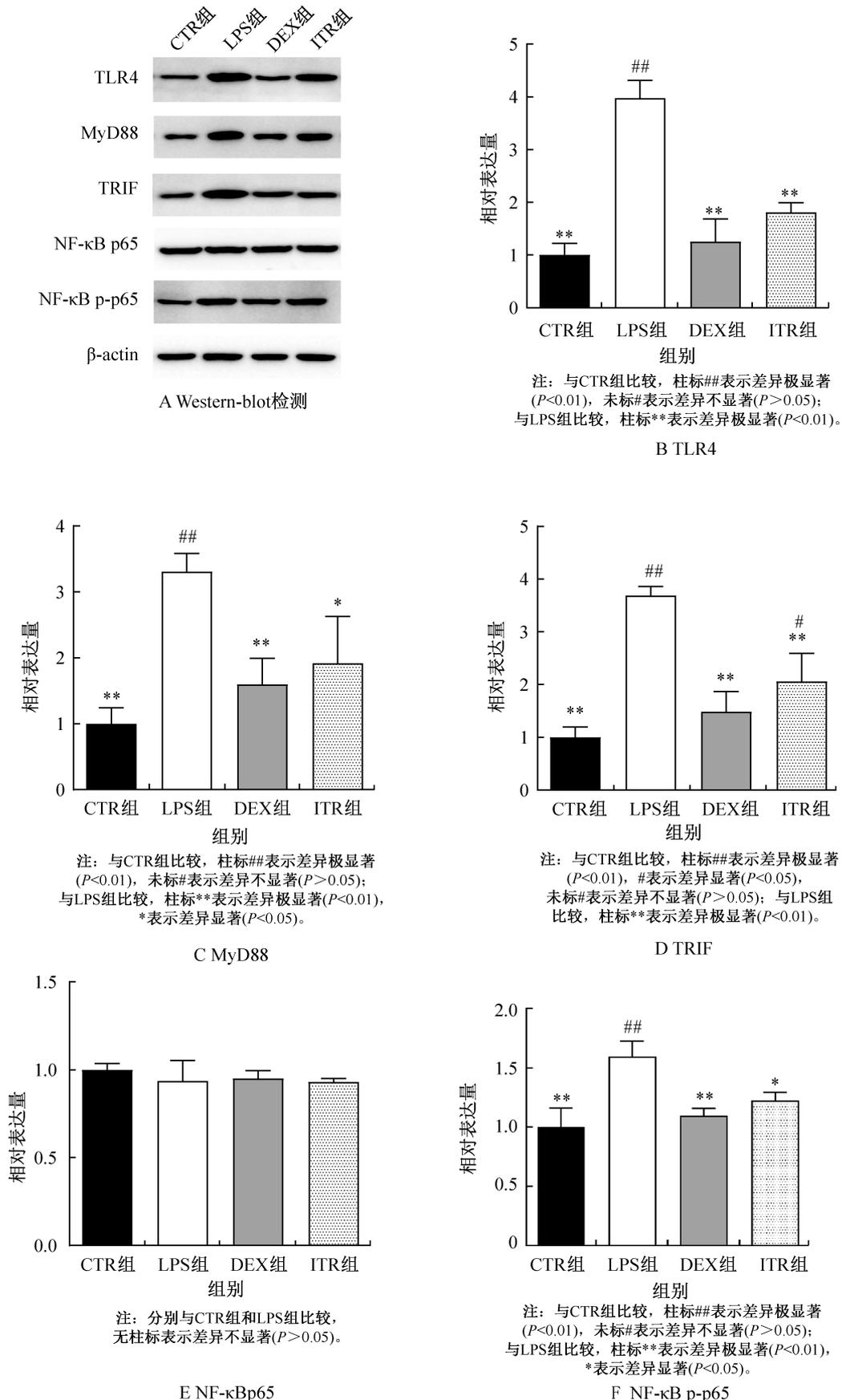


图4 川射干提取物对小鼠 TLR-4-NF- κ B 信号通路蛋白相对表达量的影响

Fig. 4 Effects of ITR on relative expression level of TLR-4-NF- κ B signal path in mice



- [5] ZHANG X, LI C, LI J, et al. Protective effects of protocatechuic acid on acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice via p38MAPK and NF- κ B signal pathways[J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 26(1):229-236.
- [6] WANG X, YAN J, XU X, et al. Puerarin prevents LPS-induced acute lung injury via inhibiting inflammatory response[J]. *Microb Pathog*, 2018, 118:170-176.
- [7] JU M, LIU B, HE H, et al. MicroRNA-27a alleviates LPS-induced acute lung injury in mice via inhibiting inflammation and apoptosis through modulating TLR4/MyD88/NF- κ B pathway[J]. *Cell Cycle*, 2018, 17(16):2001-2018.
- [8] 张京华,夏玉凤. 谱效关系在中药抗炎药物质基础研究中的应用进展[J]. *药物资讯*, 2022, 11(2):95-101.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020.
- [10] 尹竹君,陈世龙,李莉,等. 川射干的基础研究与临床转化应用[J]. *世界中医药*, 2020, 15(2):200-207.
- [11] 熊军,张晋文. 关于 2005 版《中国药典》(一部)部分中药材和饮片的修订内容[J]. *中国中医药信息杂志*, 2006(7):8-9.
- [12] 包玉龙,甘雨,范英兰,等. 射干止咳胶囊抗炎作用初探[J]. *实验动物科学*, 2021, 38(6):16-19.
- [13] 杨雅雯,刘勇,刘雨,等. 不同干燥方法对射干药材干燥特性、外观性状和有效成分的影响[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(2):366-373.
- [14] 梁晓莲,桂雄斌,陈勇,等. 射干化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的预测分析[J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(5):158-167.
- [15] 武英杰,王歆彤,张丹,等. 基于 HS-GC-MS 对射干、川射干中挥发性成分的差异性研究[J]. *中药材*, 2023(6):1434-1438.
- [16] 邓杰华,周云峰,邓见春,等. 射干与川射干的鉴别研究[J]. *药品评价*, 2021, 18(14):844-847.
- [17] MAZGAEN L, GURUNG P. Recent advances in lipopolysaccharide recognition systems[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(2):379-397.
- [18] 卢悦,张平平,王东强,等. 急性肺损伤中医病因病机的探讨[J]. *中国中医急症*, 2020, 29(2):280-282.
- [19] PARK J S, PARK K H, KIM H, et al. Effects of sivelestatin treatment on acute lung injury in paraquat-intoxicated rats[J]. *Drug Chem Toxicol*, 2014, 37(1):114-120.
- [20] LI Y C, YE H C H, YANG M L, et al. Luteolin suppresses inflammatory mediator expression by blocking the Akt/NF- κ B pathway in acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 2012:383608.
- [21] 王静,李雪,朱庆林,等. 老鹳草素对 LPS 诱导的小鼠急性肺损伤的影响及机制研究[J]. *陆军军医大学学报*, 2022, 44(22):2300-2306.
- [22] TONG W, YANG J C. Molecular mechanism of Qiju decoction for acute lung injury based on network pharmacology[J]. *Biol Regul Homeost Agents*, 2023, 37(2):789-798.
- [23] ROATT B M, CARDOSO J, BRITO R, et al. Down regulation of IL-10 and TGF- β 1 mRNA expression associated with reduced inflammatory process correlates with control of parasitism in the liver after treating *L. infantum* infected dogs with the LBMP vaccine therapy[J]. *Cytokine*, 2022, 153:155838.
- [24] QI S, ZHAO F, LI Z N, et al. Silencing of PTX3 alleviates LPS-induced inflammatory pain by regulating TLR4/NF- κ B signaling pathway in mice[J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(2):BSR20194208.
- [25] LIU J, CHANG G, HUANG J, et al. Sodium butyrate inhibits the inflammation of lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice by regulating the toll-like receptor 4/Nuclear Factor- κ B signaling pathway[J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(6):1674-1682.
- [26] YAO L, YANG M L, ZHANG J L, et al. Tectorigenin attenuates the OGD/R-induced HT-22 cell damage through regulation of the PI3K/AKT and the PPAR γ /NF- κ B pathways[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2021, 40(8):1320-1331.
- [27] NIU X, SONG H, XIAO X, et al. Tectoridin alleviates lipopolysaccharide-induced inflammation via inhibiting TLR4-NF- κ B/NLRP3 signaling *in vivo* and *in vitro* [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2022, 44(5):641-655.
- [28] GAO Y, FANG L, LIU F, et al. Suppressive effects of irisflorientin on LPS-induced inflammatory responses in RAW 264.7 macrophages[J]. *Exp Biol Med*, 2014, 239(8):1018-1024.

Modulation of TLR4/NF- κ B signaling pathway by *Iridis tectori rhizoma* extract alleviates LPS-induced acute lung injury in mice

ZHANG Min^{1,2}, LI Sicong^{1,2}, WANG Bin^{1,2}, LI Xuting^{1,2}, LIANG Ge^{1,2*}

(1. Sichuan Animal Sciences Academy, Chengdu 610066, China;

2. Animal Breeding and Genetics Key laboratory of Sichuan Provincial, Chengdu 610066, China)

Abstract: In order to investigate the prevention and treatment effect of *Iridis tectorum* rhizoma extract on acute lung injury and its effect on the expression of the proteins associated with TLR4/NF- κ B signaling pathway, in the experiment, twenty-four female Balb/c mice were randomly divided into blank control (CTR) group, model (LPS) group, dexamethasone (DEX) group and *Iridis tectorum rhizoma* extract (ITR) group, with 6 mice in each group. In the ITR group, 0.2 mL *Iridis tectorum rhizoma* extract of 12.5 mg/mL per day was given by gavage, and the other groups were given by gavage with an equal volume of normal saline for 7 days. 1 h after the last dose, each mouse in the LPS, DEX and ITR groups was injected with 0.2 mL lipopolysaccharide of 1 mg/mL intraperitoneally, and the CTR group was intraperitoneally injected with an equal volume of normal saline. In the DEX group, 0.2 mL dexamethasone of 0.5 mg/mL was injected intraperitoneally per mouse 1 h before modeling. After 6 h of modeling, each group of mice was sacrificed; serum, alveolar lavage fluid (BALF), and lung were collected; the contents of chemokine 1 (CXCL1), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-8 and IL-10 in serum and BALF were detected by ELISA. H. E. staining was performed on lung tissue, and pathological changes of lung were observed. The expression of the proteins related to the Toll-like receptor 4 (TLR4) and nuclear factor κ B (NF- κ B) signaling pathway was detected by Western-blot. The results showed that compared with the LPS group, the contents of CXCL1, TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-8 in serum and alveolar lavage fluid in the ITR group decreased significantly or extremely significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and the content of IL-10 increased significantly or extremely significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the LPS group, the degree of inflammatory cell infiltration in the alveoli in the ITR group was significantly reduced, and only a small number of macrophage or lymphocyte infiltration appeared in the local alveolar cavity. Compared with the LPS group, the expression of TLR4, MyD88, TRIF and NF- κ B p-p65 proteins in the ITR group was significantly or extremely significantly reduced ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The results suggested that *Iridis tectorum* rhizoma extract could alleviate LPS-induced acute lung inflammation in mice by regulating the TLR4/NF- κ B signaling pathway.

Keywords: *Iridis tectori rhizoma* extract; lung injury; TLR4/NF- κ B; mice; respiratory system; diseases

(020)

· 动物保健品研究 ·

川射干提取物调节 TLR4/NF-κB 信号通路缓解 LPS 诱导的小鼠急性肺损伤的研究

(作者张敏等,正文见 103-109 页)

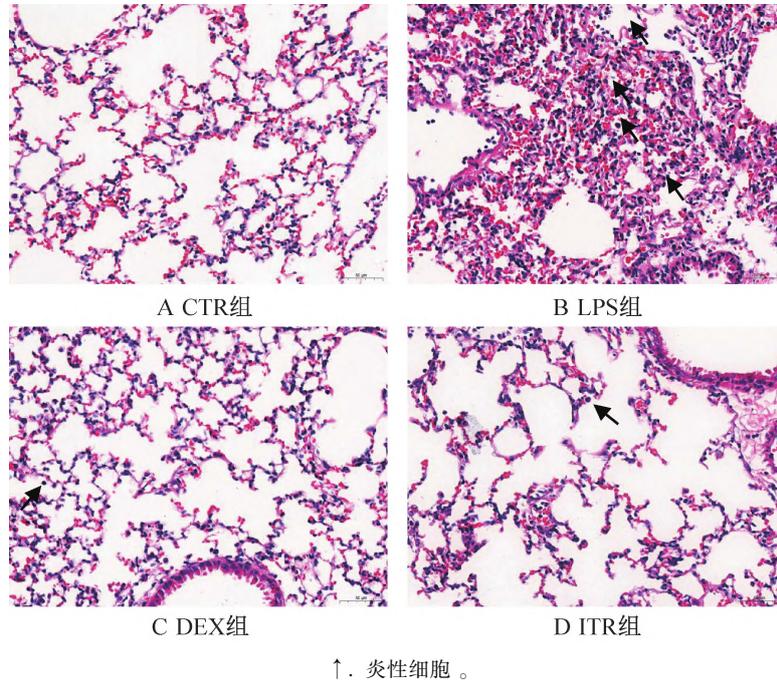


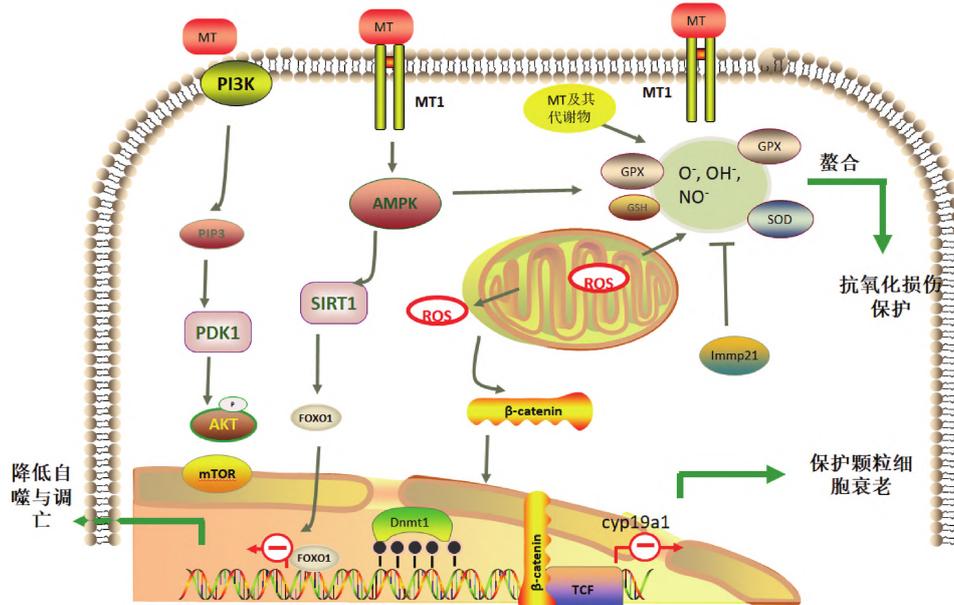
图 3 川射干提取物对小鼠肺部病理变化的影响(H. E. 染色,400×)

Fig. 3 Effects of ITR on pathological change of lung in mice (H. E. staining,400×)

· 特种动物研究 ·

褪黑素影响雌性动物生殖机能的研究进展

(作者张民莹等,正文见 110-115 页)



AKT. 丝氨酸/苏氨酸激酶;mTOR. 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白;AMPK. 腺苷酸活化蛋白激酶;SIRT1. 沉默信息调节因子相关酶 1; β-catenin. β-连环蛋白;TCF. 核转录因子。

图 1 褪黑素调控雌性生殖的相关信号通路图

Fig. 1 Correlation signaling pathway diagram of melatonin regulation of female reproduction