

红景天苷对脓毒症小鼠脾脏免疫功能的影响

潘梦之¹ 赵剑秋¹ 宋颖¹ 陆晓英¹ 张贇和² 胡宝吉^{1△}

(¹上海市浦东医院-复旦大学附属浦东医院麻醉科 上海 201399; ²同济大学附属东方医院重症医学科 上海 200120)

【摘要】 目的 评价红景天苷对脓毒症小鼠脾脏免疫细胞数量及功能的影响。方法 采用随机数字表法将30只C57BL小鼠分为假手术组、对照组和实验组(每组10只)。七氟烷麻醉下制备盲肠结扎穿孔脓毒症模型,手术后假手术组和对照组尾静脉给予1 mL生理盐水,实验组手术后尾静脉给予1 mL红景天苷(20 mg/kg)。各组小鼠尾静脉给药后12 h,取小鼠脾脏及外周血,ELISA检测细胞因子IL-6、IL-2和IL-10水平,流式细胞术检测小鼠脾脏CD4⁺与CD8⁺T细胞数量变化,RT-PCR检测趋化因子CXCL-10 mRNA表达水平。结果 对照组较假手术组小鼠脾脏及外周血细胞因子IL-6、IL-2、IL-10水平显著升高;脾脏中CD4⁺与CD8⁺T细胞数量显著增加;趋化因子CXCL-10 mRNA表达水平显著升高。与对照组相比,实验组小鼠脾脏及外周血细胞因子IL-6、IL-2、IL-10水平显著降低;脾脏中CD4⁺与CD8⁺T细胞数量显著减少;CXCL-10 mRNA表达水平显著降低。结论 脓毒症时小鼠脾脏免疫功能发生明显变化,红景天苷可显著改善脓毒症小鼠脾脏免疫功能。

【关键词】 红景天苷; 脓毒症; 脾脏; 免疫功能; 小鼠

【中图分类号】 R285.5 **【文献标志码】** A **doi:**10.3969/j.issn.1672-8467.2022.05.008

Effect of salidroside on immunologic function of spleen in sepsis mice

PAN Meng-zhi¹, ZHAO Jian-qiu¹, SONG Ying¹, LU Xiao-ying¹, ZHANG Yun-he², HU Bao-ji^{1△}

(¹Department of Anesthesia, Shanghai Pudong Hospital-Fudan University Pudong Medical Center, Shanghai 201399, China;

²Department of Centre ICU, Shanghai East Hospital, School of Medicine, Tongji University, Shanghai 200120, China)

【Abstract】 **Objective** To estimate the effects of salidroside on the amount of immune cells and immunological function of spleen in sepsis mice. **Methods** Thirty C57BL mice were equally divided into 3 groups (sham group, control group and experimental group) randomly and anesthetized with sevoflurane via cecal ligation and puncture. In sham group and control group, 1 mL of normal saline were applied in caudal vein, while the same volum of salidroside (20 mg/kg) was applied in the experimental group. Spleen and blood were harvested 12 h after injection, and centrifuged for measurement. Then expression of IL-6, IL-2 and IL-10 in spleen and plasma were measured via ELISA, the counts of CD4⁺T and CD8⁺T cells were measured via flow cytometry, and the expression of CXCL-10 mRNA was measured via RT-PCR. **Results** The expression of IL-6, IL-2 and IL-10 in spleen and plasma, the counts of CD4⁺T and CD8⁺T cells and CXCL-10 mRNA in spleen were all significantly higher in control group than those in sham group. More interestingly, we observed that salidroside significantly reduced the expression of cytokines including IL-6, IL-2, IL-10 as well as CD4⁺T and CD8⁺T cells count in spleen in the experimental group compared with the control group. In addition, salidroside also reduced the mRNA expression of CXCL-10. **Conclusion** The immune statue in spleen was changed significantly in sepsis.

上海市浦东医院“浦医学科带头人”计划(PJ202002);上海市浦东医院院级课题(YJ201701);上海市卫计委青年科研项目(20174Y0126);国家自然科学基金青年项目(81701885)

[△]Corresponding author E-mail: selfconfidence2005@sina.com

网络首发时间:2022-08-25 11:32:52 网络首发地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1885.r.20220824.1705.002.html

Salidroside could attenuate the immune function of spleen in sepsis.

【Key words】 salidroside; sepsis; spleen; immunological function; mouse

* This work was supported by the Academic Leader Program of Shanghai Pudong Hospital (PJ202002), the Academic Program of Shanghai Pudong Hospital (YJ201701), the Youth Research Project of Shanghai Municipal Commission of Health and Family Planning (20174Y0126) and the Youth Program of National Natural Science Foundation of China (81701885).

脓毒症是感染导致的机体系统性炎症反应,表现为机体各脏器功能失调^[1],目前仍是威胁人类健康的主要疾病之一。美国脓毒症病死率高达40%,成为重症监护病房非心脏病患者死亡的主要原因^[2];我国重症监护病房脓毒症发病率高达20%,90天死亡率达35.5%^[3]。脾脏作为人体最大的免疫器官,是机体免疫反应的中心,脾脏内免疫功能的变化间接反应机体的免疫状态。红景天苷在临床上主要用于强身健体,消除疲劳、治疗抑郁或抵御高原疾病的功效。研究显示,红景天苷具有治疗癌症^[4]、治疗心血管疾病^[5]、抗氧化应激及抗凋亡等作用^[6],说明红景天苷具有潜在的脏器保护作用。红景天苷对脓毒症小鼠脾脏免疫功能的影响目前尚未见报道,同时尚未发现红景天苷对其他脓毒症动物模型中脾脏功能影响的相关报道。本研究主要探索红景天苷对脓毒症小鼠脾脏免疫功能的影响。

材料和方 法

实验动物与分组 本实验经复旦大学附属浦东医院伦理委员会批准(批文号:PDYY-D20201202)后实施,实施时间为2021年4月—8月。于复旦大学附属浦东医院科创中心选择健康雄性C57BL小鼠,6~8周龄,体质量(25±5)g,购自上海斯莱克实验动物有限公司。采用随机数字表法分为假手术组(Sham, $n=10$)、对照组(CLP, $n=10$)和红景天苷实验组(SAL, $n=10$)。

药物制备与给药方案 精密电子天平称取20 mg水溶性红景天苷颗粒(上海荣禾医学科技有限责任公司,批号:10338-51-9,纯度99.8%)20 mg,加入2 mL离心管,加入2 mL无菌生理盐水稀释,浓度为10 mg/mL。七氟烷麻醉下,假手术组小鼠采用开腹后关闭的假手术方法处理,对照组和实验组采用开腹后盲肠末端结扎15G对穿盲肠末端的方法制备小鼠脓毒症模型。假手术组和对照组试验后尾静脉给予100 μ L无菌生理盐水,实验组尾静脉

给予100 μ L上述红景天苷稀释液。给药后,小鼠按照处理之前饲养标准进行饲养。本实验中红景天苷的使用方法和剂量与本团队前期的研究一致^[7-8]。

检测指标与方法 各组小鼠尾静脉给药后12 h,七氟烷麻醉下,将小鼠固定在手术板上,持续吸入2.5%七氟烷。取剑突下位置消毒并剪开皮肤约0.5 cm,暴露出皮下组织,剪开小鼠腹腔,取出小鼠脾脏,置入200目金属网筛,网筛置于35 mm一次性无菌塑料培养皿中,加入1 mL 4 $^{\circ}$ C 1 \times PBS缓冲液,用剪刀剪碎组织,3 mL注射器针芯捻碎组织,使分散的细胞滤过筛网进入塑料培养皿中,用PBS缓冲液冲洗网筛,收集脾脏细胞。

ELISA检测脾脏研磨液中细胞因子IL-6、IL-2、IL-10表达水平 参照美国eBioscience公司和美国R&D公司提供的产品说明书进行检测。步骤如下:(1)用包被缓冲液稀释特异性抗体球蛋白至10 μ g/mL,每孔加200 μ L,4 $^{\circ}$ C过夜。(2)移去包被液,凹孔用洗涤缓冲液洗涤4次。(3)每孔加入100 μ L样本,4 $^{\circ}$ C过夜。(4)移去样本,每孔用洗涤缓冲液洗涤4次。(5)加入100 μ L用缓冲液稀释的酶标记特异性抗体溶液,室温保存2 h。(6)移去抗体,每孔用洗涤缓冲液洗涤4次。(7)每孔加入100 μ L底物,室温30 min。(8)每凹孔加50 μ L 2 mol/L的H₂SO₄终止反应。(9)酶标比色计测定450 nm的吸光度(D)值。

流式细胞术检测小鼠脾脏CD4⁺与CD8⁺T细胞数量变化 步骤如下:(1)样本准备。将脾脏研磨液用含1% BSA的PBS制成单细胞悬液,300 \times g离心5 min,弃掉上清液。(2)红细胞裂解。将上一步所得细胞重悬于3 mL 1 \times ACK缓冲液,室温孵育5 min后加入10 mL含1%BSA的PBS终止裂解,300 \times g离心5 min,弃掉上清液,加入15 mL含1%BSA的PBS重悬细胞,300 \times g离心5 min,弃上清。(3)细胞染色。按照说明书推荐用量加入荧光标记的抗体,混匀后4 $^{\circ}$ C避光孵育30 min;加入1 mL含1%BSA的PBS重悬细胞,300 \times g离心细胞悬液5 min,弃上清;加入200 μ L 1 \times PBS重悬细胞,用流

式细胞仪进行检测分析。

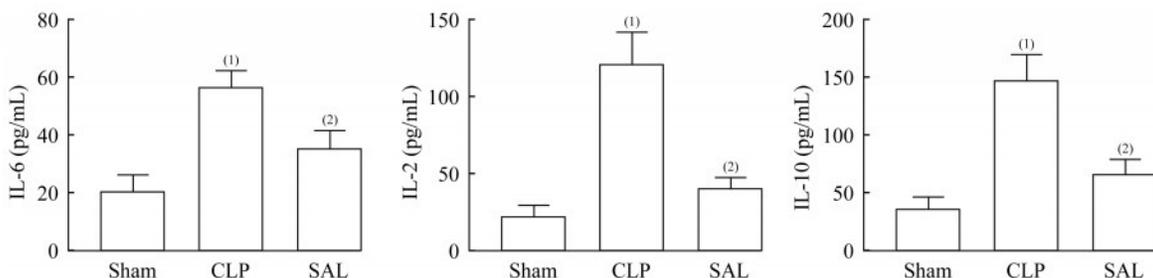
RT-PCR 检测小鼠脾脏研磨液趋化因子 CXCL-10 mRNA 表达水平 小鼠脾脏总 RNA 提取按照美国 Invitrogen 公司试剂盒的说明书操作步骤进行。步骤如下:(1)RNA 的提取。50 mg 脾脏组织研磨破碎,加入 1 mL Trizol 试剂;4 °C,12 000×g 离心 10 min,转移上清,室温放置 5 min,加 0.2 mL 氯仿,刷振 15 s,室温放置 5 min。4 °C,11 000×g 离心 15 min,转移水相;水相中加入 0.25 mL 异丙醇及 0.25 mL 高盐沉淀液(0.8 mol/L 柠檬酸钠,1.2 mol/L NaCl)混匀,室温放置 10 min。4 °C,11 000×g 离心 10 min,弃上清加 1 mL 75% 乙醇, Votex 混匀;4 °C,7 000×g 离心 5 min,弃上清;沉淀在空气中干燥 15 min,用 100 μL DEPC 水溶解,枪头吸打几次,放于 55 °C 水浴中 10 min 促溶。检测吸光度(D)值,检定 RNA 的量及完整性。RNA 放入 -70 °C 保存。(2) mRNA 的分离。检测起始 RNA 的量(≤ 0.25 mg)。将总 RNA 加入一个无 RNase 的 1.5 mL EP 管中,加入不含 RNase 的水至总体积为 250 μL;加入 250 μL 的 Buffer OBB 和 15 μL 的 Oligotex 悬浮液,完全混合溶液;样品溶液放入 70 °C 水浴中保温 3 min。从水浴中取出样品溶液,室温下放置 10 min。将样品溶液以 10 000×g 离心 3 min,沉淀 Oligotex-mRNA 复合物,用移液器小心除去上清液。用涡旋振荡器(Votex)将 Oligotex-mRNA 复合物沉淀重悬于 500 μL 缓冲液中,然后加入到 1.5 mL 微量离心管中,10 000×g 离心 3 min。转移到一个新

的不含 RNA 酶 的 1.5 mL 微量离心管中,然后加入 500 μL 缓冲液,10 000×g 离心 3 min,弃上清。加入 100 μL 缓冲液重悬 Oligotex-mRNA 复合物,10 000×g 离心 3 min。(3)RT-PCR。按照说明书配制 RT-PCR 反应液;设定反应条件。

统计学分析 采用 SPSS19.0 软件进行统计分析,正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用单因素方差分析(LSD), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

红景天苷可降低脾脏中细胞因子表达 采用 ELISA 检测小鼠脾脏中细胞因子表达水平,结果显示:对照组的 IL-6 表达水平为(56.87 ± 1.73) pg/mL,高于假手术组的(21.13 ± 1.60) pg/mL;对照组的 IL-2 表达水平为(121.00 ± 6.40) pg/mL,高于假手术组的(23.74 ± 1.99) pg/mL;同时对照组 IL-10 的表达水平为(146.72 ± 6.88) pg/mL,高于假手术组的(36.99 ± 2.70) pg/mL,说明作为脓毒症实验模型的小鼠脾脏中上述细胞因子的表达水平显著升高($P < 0.01$,图 1)。与对照组相比,实验组小鼠脾脏细胞因子 IL-6、IL-2 和 IL-10 表达水平分别为(35.78 ± 1.83) pg/mL、(41.83 ± 1.77) pg/mL 和(66.64 ± 3.36) pg/mL,均显著低于对照组($P < 0.01$,图 1),提示红景天苷可显著降低脓毒症小鼠脾脏中上述细胞因子的表达水平,具有潜在的脏器保护作用。



vs. sham group, ⁽¹⁾ $P < 0.01$, IL-6 (95%CI: 30.75-40.74), IL-2 (95%CI: 85.65-108.87), IL-10 (95%CI: 96.12-123.34) in CLP group increased significantly. vs. CLP group, ⁽²⁾ $P < 0.01$, IL-6 (95%CI: -26.09, -16.09), IL-2 (95%CI: -90.78, -67.56), IL-10 (95%CI: -93.69, -66.47) in SAL group reduced significantly.

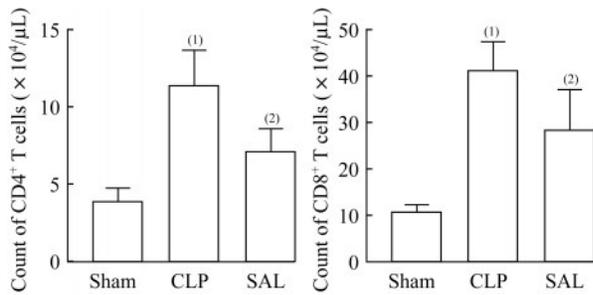
图 1 各组小鼠脾脏细胞因子 IL-6、IL-2 和 IL-10 表达量比较

Fig 1 Expressions of cytokines IL-6, IL-2 and IL-10 in mice spleen

红景天苷可降低脾脏中淋巴细胞浸润 采用流式细胞分析术标记小鼠脾脏中 CD4⁺ T 与 CD8⁺ T 淋巴细胞。结果显示,对照组小鼠脾脏 CD4⁺ T 细

胞水平为(11.43 ± 0.711) × 10⁴/μL,高于假手术组的(3.94 ± 0.27) × 10⁴/μL, CD8⁺ T 细胞水平为(41.38 ± 1.92) × 10⁴/μL,高于假手术组的(10.92 ±

0.46) × 10⁴/μL。提示在脓毒症模型中,小鼠脾脏中 CD4⁺ T 和 CD8⁺ T 淋巴细胞数量显著增加 ($P < 0.01$, 图 2),淋巴细胞参与脾脏中炎症反应过程。为明确红景天苷是否可以通过调节淋巴细胞的浸润,改善脾脏中炎症反应,本实验进一步检测红景天苷组淋巴细胞水平。与对照组相比,实验组小鼠脾脏 CD4⁺ T 细胞水平为 (7.13 ± 0.45) × 10⁴/μL, CD8⁺ T 细胞水平为 (28.68 ± 2.71) × 10⁴/μL,显著低于对照组 ($P < 0.01$, 图 2),说明红景天苷可降低 CD4⁺ T 与 CD8⁺ T 淋巴细胞在脓毒症小鼠脾脏中的浸润。

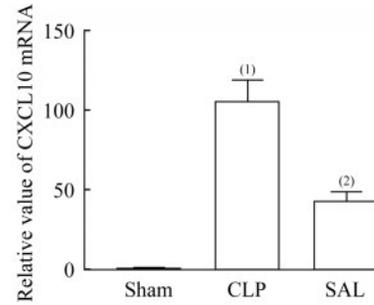


vs. sham group, ⁽¹⁾ $P < 0.01$, CD4⁺ (95%CI: 6.01-8.97) and CD8⁺T (95%CI: 24.84-36.08) in CLP group increased significantly. vs. CLP group, ⁽²⁾ $P < 0.01$, CD4⁺ (95%CI: -5.77, -2.82) and CD8⁺ (95%CI: -18.31, -7.08) T cells in SAL group reduced significantly.

图 2 各组小鼠脾脏 CD4⁺ T 与 CD8⁺ T 淋巴细胞数量比较
Fig 2 Amount of CD4⁺ T and CD8⁺ T lymphocytes in mice spleen

红景天苷可降低趋化因子的表达 为进一步明确红景天苷在脓毒症中的潜在机制,本实验采用 RT-PCR 检测小鼠脾脏中趋化因子的变化水平,以明确红景天苷是否参与调节淋巴细胞在脾脏中的浸润作用。CXCL-10 属于 CXC 趋化因子家族成员,又名 γ 干扰素诱导蛋白 10 (IP10),与受体 CXCR-3 结合后,在感染的宿主防御过程中发挥免疫介导作用。当 T 细胞被激活后,在炎症部位分泌 TNF-γ 诱导的趋化因子(如 CXCL10 等),在趋化因子的作用下,募集更多活化的 T 细胞向炎症部位聚集,形成级联放大效应。本实验结果显示,对照组小鼠脾脏 CXCL-10 mRNA 水平是假手术组的 (106.26 ± 4.10) 倍,说明脓毒症小鼠模型中,趋化因子 CXCL-10 的表达水平显著升高 ($P < 0.01$, 图 3),趋化因子 CXCL-10 参与调节淋巴细胞在脾脏中的浸润作用;而红景天苷组小鼠脾脏 CXCL-10 mRNA 表达水平仅是假手术组的 (43.91 ± 1.52) 倍,显著低于对照组 ($P < 0.01$, 图 3),说明红景天苷可

下调趋化因子在脓毒症小鼠脾脏中的表达水平。



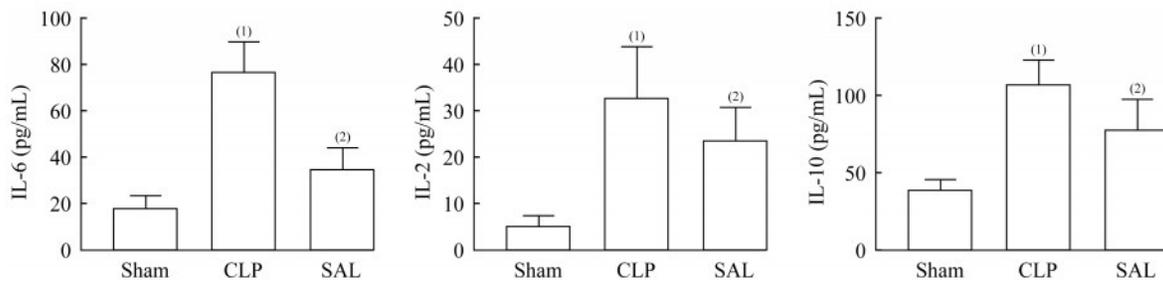
vs. sham group, ⁽¹⁾ $P < 0.01$, 95%CI: 97.90-112.54; vs. CLP group, ⁽²⁾ $P < 0.01$, 95%CI: -69.67, -55.03.

图 3 各组小鼠脾脏 CXCL-10 mRNA 表达量比较
Fig 3 mRNA expression of CXCL-10 in mice spleen

红景天苷可降低外周血中细胞因子表达 脓毒症为系统性全身炎症反应,本实验在关注小鼠脾脏中炎症反应的同时,发现小鼠外周血中细胞因子的表达水平发生显著的变化。根据 ELISA 检测结果显示,对照组脓毒症小鼠血浆中 IL-6 表达水平为 (76.46 ± 4.20) pg/mL,高于假手术组的 (18.42 ± 1.62) pg/mL;对照组 IL-2 表达水平为 (33.07 ± 3.42) pg/mL,高于假手术组的 (5.66 ± 0.57) pg/mL;对照组 IL-10 表达水平为 (107.49 ± 4.75) pg/mL,高于假手术组的 (39.51 ± 2.08) pg/mL。说明在脓毒症小鼠模型中,外周血中上述细胞因子的表达水平显著升高 ($P < 0.01$, 图 4)。与对照组相比,实验组小鼠血浆中细胞因子 IL-6 为 (35.44 ± 2.81) pg/mL、IL-2 为 (24.10 ± 2.14) pg/mL, IL-10 为 (79.09 ± 5.78) pg/mL,均低于对照组,说明红景天苷可显著降低脓毒症小鼠外周血中细胞因子的表达水平 ($P < 0.01$, 图 4)。

讨 论

脓毒症是机体对感染反应失调而致危及生命的器官功能障碍^[9],病理生理过程十分复杂,目前尚未明确确切机制。脓毒症伴随着炎症风暴^[1],大量炎症因子侵入血液系统,导致多脏器功能失调。因此,对脓毒症时炎症因子的研究有望进一步揭示脓毒症的病理过程。机体炎症反应和免疫功能紊乱是脓毒症发生和发展的中间环节。鉴于脓毒症病理生理的复杂性,任何动物模型均不能完全模拟人类脓毒症的发病过程及严重程度^[10]。目前模拟人类脓毒症的动物模型主要分为两类:一是脂多糖模



vs. sham group, IL-6 (⁽¹⁾ $P < 0.01$, 95%CI: 49.16-66.93), IL-2 (⁽¹⁾ $P < 0.01$, 95%CI: 20.59-34.23) and IL-10 (⁽¹⁾ $P < 0.01$, 95%CI: 54.98-80.98) in CLP group increased significantly. vs. CLP group, IL-6 (⁽²⁾ $P < 0.01$, 95%CI: -49.92, -32.13), IL-2 (⁽²⁾ $P < 0.01$, 95%CI: -15.80, -2.15) and IL-10 (⁽²⁾ $P < 0.01$, 95%CI: -41.39, -15.39) in SAL group reduced significantly.

图4 各组小鼠外周血中细胞因子IL-6、IL-2、IL-10表达量比较

Fig 4 The expression of IL-6, IL-2 and IL-10 in mice plasma

型,通过注射外源性脂多糖毒素实现;二是盲肠结扎穿孔模型,通过改变动物内在的保护屏障实现^[11]。本实验采用常用的盲肠结扎穿孔模型,在该模型中细胞因子的变化与人类脓毒症相似^[8]。

红景天苷提取于景天科植物大花红景天的干燥根及根茎,具有抗癌、抗氧化、抗炎和免疫调节等多种功效^[12],有研究提示其在改善神经炎症^[13]、抑制肾纤维化^[14]、改善脂肪肝^[15]、抑制癌细胞增殖^[16]等方面均发挥显著作用。在气道、脂肪组织和心肌方面同样具有很好的抗炎作用^[13]。因此,本研究推测红景天苷对脓毒症具有潜在的治疗作用。

脾脏是人体最大的次级淋巴器官^[17],也是炎症反应、造血和清除红细胞等作用的“主战场”^[18],因其独特的解剖结构而成为循环系统、网状内皮系统和免疫系统的纽带^[19]。因此,研究脾脏中免疫功能变化,对了解和治疗脓毒症起到至关重要的作用。脓毒症时机体免疫系统被强烈激活,形成广泛的生物级联反应,涉及大量细胞、炎症因子和趋化因子等参与。其中,炎症因子TNF- α 、IL-6、IFN- γ 等^[20]大量释放。本实验研究发现,脓毒症小鼠脾脏中上述炎症因子和抑制因子IL-10表达均显著升高,说明脓毒症时炎症反应增强的同时,伴随着炎症抑制的提高。采用红景天苷处理后,上述炎症因子和抑制表达量均显著下降,提示红景天苷能够抑制脓毒症时小鼠脾脏中的炎症反应,进而对小鼠脾脏免疫功能具有一定的调节作用。

免疫细胞功能在脓毒症病理生理过程中起着关键作用。大量实验研究证实,脓毒症时淋巴细胞大量增加^[21-22]。本研究发现脓毒症小鼠脾脏趋化因子CXCL-10表达量显著增加,说明脾脏中大量表达的炎症因子与显著聚集的炎症细胞存在相关性,而

本研究进一步发现T细胞数量的确明显升高。我们推测,脓毒症时小鼠脾脏在细胞因子的作用下,通过大量表达的趋化因子进一步募集更多的炎症细胞,增加细胞因子的表达。本实验同时发现,红景天苷组小鼠脾脏趋化因子CXCL-10与T细胞数量均显著下降,进一步说明,红景天苷可通过抑制小鼠脾脏中趋化因子的表达,进而降低脓毒症小鼠脾脏免疫细胞浸润,改善脓毒症小鼠脾脏免疫状态。

B细胞是一种在适应性免疫反应中起关键作用的白细胞,可生成抗体、充当抗原递呈细胞、转化成记忆细胞、分泌细胞因子等作用。即B细胞在体液免疫和抗原呈递方面发挥着举足轻重的作用。大多数B细胞都在骨髓中发育,随后在次级淋巴器官(如脾脏或淋巴结)中发育成熟后最终在血液中循环。对于B细胞而言,脾脏是细胞活化的地方,而其发挥免疫功能的主要场所在血液循环中。因此,我们在研究脾脏中免疫功能变化时,未纳入B细胞的研究。

尽管本研究初步探究了红景天苷对脓毒症小鼠脾脏免疫功能的影响,但是仍然存在一定的局限性:(1)Treg是一类具有免疫抑制和免疫耐受作用,以表达Foxp3、CD25、CD4为细胞表型特征的T细胞亚群。自身免疫性疾病中,自身免疫力超常表达,造成机体损害。此时Treg细胞在各种免疫细胞亚群中通过胞间接触和分泌抑制性细胞因子,对机体的免疫反应起到负性调节作用,抑制机体免疫反应和对自身抗原的主动耐受,从而避免自身免疫疾病的发生和发展^[23];Treg同时可分泌细胞因子(如IL-10、TGF- β 等)抑制自身炎症反应,防止因免疫力超常表达引起组织破坏的病理性免疫应答。在脾

脏中 CD4⁺ T 细胞约占 T 细胞总数的 46%~78%, CD8⁺ T 细胞约占 13%~45%, CD4⁺CD8⁺ T 细胞约占 1%~12%。脾脏中 T 细胞主要存在上述 3 种亚型^[24]。本研究只标记了 CD4⁺和 CD8⁺ T 细胞在脾脏中的变化,发现 CD4⁺ T 细胞在脾脏中数量显著增加,同时 IL-10 表达量也显著增加,在某种程度上说明 Treg(CD4 表型亚群)参与了炎症反应过程。由于 CD4⁺ T 细胞分为 Th1、Th2 和 Treg,本实验未具体区分上述各亚群细胞在脓毒症反应过程中的具体作用。(2) CXCL-10 属于 CXC 趋化因子家族成员,与受体 CXCR-3 结合后,在感染的宿主防御过程中发挥免疫介导作用。当 T 细胞被激活后,在炎症部位分泌 TNF- γ 诱导的趋化因子(如 CXCL-10 等),在趋化因子(如 CXCL-10)的作用下,募集更多活化的 T 细胞向炎症部位聚集,形成级联放大效应。本研究发现小鼠脾脏中 T 细胞数量显著增加,可能与趋化因子表达升高有关;CXCL-10 mRNA 表达水平升高,可为上述猜想提供佐证。但是 mRNA 水平较蛋白水平证据等级低,这也是本研究的局限性之一。如证实 CXCL-10 在 T 细胞募集中的作用,除检测 CXCL-10 在脾脏中蛋白质水平外,还需要进一步检测上游 TNF- γ 和下游 CXCR-3 等蛋白质水平,以及 TNF- γ 作用 T 细胞后 CXCL-10 产生的水平等,这也是本团队下一步的研究方向。

综上所述,本研究发现,脓毒症小鼠脾脏中炎性因子和趋化因子表达显著升高,炎性细胞大量浸润。采用红景天苷治疗后,脓毒症小鼠脾脏中趋化因子表达水平显著下降,炎性因子及炎性细胞数量均显著下降,即红景天苷可通过调节趋化因子的表达,降低脓毒症小鼠脾脏炎性细胞的浸润,进而降低脓毒症小鼠脾脏细胞因子表达水平,改善脓毒症小鼠脾脏免疫功能状态,说明红景天苷对脓毒症小鼠有很好的治疗作用,值得进一步深入研究。

作者贡献声明 潘梦之 研究设计,数据整理,统计分析,论文撰写。赵剑秋,张贇和 实验设计和指导。宋颖 数据采集,论文修订。陆晓英 论文构思,数据采集。胡宝吉 论文修订、审阅和投稿。

利益冲突声明 所有作者均声明不存在利益冲突。

参 考 文 献

- [1] ZHANG S, TU Y, SUN Y, *et al.* Swiprosin-1 deficiency impairs macrophage immune response of septic mice [J]. *JCI Insight*, 2018, 3(3): e95396.
- [2] NAPOLITANO LM. Sepsis 2018: definitions and guideline changes [J]. *Surg Infect (Larchmt)*, 2018, 19(2): 117-125.
- [3] XIE J, WANG H, YAN KANG, *et al.* The epidemiology of sepsis in Chinese ICUs: a national cross-sectional survey [J]. *Crit Care Med*, 2020, 48(3): e209-e218.
- [4] SUN A, JU X. Advances in research on anticancer properties of salidroside [J]. *Chin J Integr Med*, 2021, 27(2): 153-160.
- [5] ZHAO C, WU X, YI H, *et al.* The therapeutic effects and mechanisms of salidroside on cardiovascular and metabolic diseases: an updated review [J]. *Chem Biodivers*, 2021, 18(7): e2100033.
- [6] WANG Y, SU Y, LAI W, *et al.* Salidroside restores an anti-inflammatory endothelial phenotype by selectively inhibiting endothelial complement after oxidative stress [J]. *Inflammation*, 2020, 43(1): 310-325.
- [7] HU B, ZOU Y, LIU S, *et al.* Salidroside attenuates concanavalin A-induced hepatitis via modulating cytokines secretion and lymphocyte migration in mice [J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014: 314081.
- [8] LIU S, YU X, HU B, *et al.* Salidroside rescued mice from experimental sepsis through anti-inflammatory and anti-apoptosis effects [J]. *J Surg Res*, 2015, 195(1): 277-283.
- [9] 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.
- [10] MARSHALL JC. Why have clinical trials in sepsis failed? [J]. *Trends Mol Med*, 2014, 20: 195.
- [11] DOI K, LEELAHAVANICHKUL A, YUEN PS, *et al.* Animal models of sepsis and sepsis-induced kidney injury [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119: 2868.
- [12] MAGANI S, MUPPARTHI S, GOLLAPALLI B, *et al.* Salidroside- can it be a multifunctional drug? [J]. *Curr Drug Metab*, 2020, 21(7): 512-524.
- [13] WANG C, WANG Q, LOU Y, *et al.* Salidroside attenuates neuroinflammation and improves functional recovery after spinal cord injury through microglia polarization regulation [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(2): 1148-1166.
- [14] LI R, GUO Y, ZHANG Y, *et al.* Salidroside ameliorates renal interstitial fibrosis by inhibiting the TLR4/NF- κ B

- and MAPK signaling pathways[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(5):1103.
- [15] ZHENG T, YANG X, LI W, *et al.* Salidroside attenuates high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease via AMPK-Dependent TXNIP/NLRP3 pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 8597897.
- [16] ZHU X, LIU D, WANG Y, *et al.* Salidroside suppresses nonsmall cell lung cancer cells proliferation and migration via microRNA-103-3p/Mzb1 [J]. *Anticancer Drugs*, 2020, 31(7):663-671.
- [17] LEWIS S, WILLIAMS A, EISENBARTH S, *et al.* Structure and function of the immune system in the spleen [J]. *Sci Immunol*, 2019, 4(33):eaau6085.
- [18] MINASYAN H. Sepsis: mechanisms of bacterial injury to the patient[J]. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*, 2019, 27(1):19.
- [19] CRANE G, LIU Y, CHADBURN A. Spleen: Development, anatomy and reactive lymphoid proliferations [J]. *Semin Diagn Pathol*, 2021, 38(2):112-124.
- [20] SHERIDAN B, MCINTYRE R, MELDRUM D, *et al.* Pentoxifylline treatment attenuates pulmonary vasomotor dysfunction in acute lung injury [J]. *J Surg Res*, 1997, 71(2):150-154.
- [21] YAGI H, GUTIERREZ A, KITAGAWA Y, *et al.* Bone marrow mesenchymal stromal cells attenuate organ injury induced by LPS and burn [J]. *Cell Transplant*, 2010, 19: 823-830.
- [22] FANG JJ, ZHU ZY, DONG H, *et al.* Effect of spleen lymphocytes on the splenomegaly in hepatocellular carcinoma-bearing mice [J]. *Biomed Environ Sci*, 2014, 27(1):17-26.
- [23] COLLISON L, WORKMAN C, KUO T, *et al.* The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function [J]. *Nature*, 2007, 450(7169):566-569.
- [24] AGUILERA N, AUERBACH A. T-cell lymphoproliferative processes in the spleen [J]. *Semin Diagn Pathol*, 2020, 37(1):47-56.
- (收稿日期:2022-01-11; 编辑:张秀峰)

(上接第 676 页)

- [14] WILAIRAT P, KENGKLA K, THAYAWIWAT C, *et al.* Clinical outcomes of theophylline use as add-on therapy in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a propensity score matching analysis [J]. *Chron Respir Dis*, 2019, 16:1479973118815694.
- [15] 雒志明, 畅怡, 聂秀红, 等. 国产哌拉西林-舒巴坦与进口哌拉西林-他唑巴坦治疗下呼吸道感染的成本-效果分析[J]. *中国新药杂志*, 2008, 17(8):693-696.
- [16] 《抗菌药物临床试验技术指导原则》写作组. 抗菌药物临床试验技术指导原则[J]. *中国临床药理学杂志*, 2014, 30(9):844-856.
- [17] 殷波, 吴艳, 郁昊达, 等. 哌拉西林舒巴坦联合莫西沙星治疗社区获得性肺炎的临床观察[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(32):6305-6308.
- [18] ALI MS, PRIETO-ALHAMBRA D, LOPES LC, *et al.* Propensity score methods in health technology assessment: principles, extended applications, and recent advances [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10(973):1.
- [19] 杨萍, 鲁松, 董宪喆, 等. 药品综合评价方法研究进展[J/OL]. *中国药物警戒*, 2022, 19(7):803-806.
- [20] SHAFIQ N, PANDEY AK, MALHOTRA S, *et al.* Shortage of essential antimicrobials: a major challenge to global health security [J]. *BMJ Glob Health*, 2021; 6(11): e006961.
- [21] US.FOOD & DRUG ADMINISTRATION. Highlights of Prescribing Information [EB/OL]. (2021-07-01) [2021-12-25]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2021/050684s098,050750s0451bl.pdf.
- [22] BRAEKEN DC, FRANSSSEN FM, VON BAUM H, *et al.* Bacterial aetiology and mortality in COPD patients with CAP: results from the German Competence Network, CAPNETZ [J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2017, 21(2):236-243.
- [23] ZONG ZY, LÜ XJ, LIU YB, *et al.* Piperacillin-sulbactam versus piperacillin-tazobactam: a multicentre, randomised, single-blind, controlled clinical trial [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2005, 26(1):22-27.
- [24] 李蓁清, 王霆. 哌拉西林舒巴坦复方的临床应用及优势 [J]. *中国当代医药*, 2010, 17(32):18-21.
- [25] 李小青, 黄文祥. β -内酰胺酶抑制剂研究进展 [J]. *现代医药卫生*, 2006, 22(3):356.
- (收稿日期:2021-12-30; 编辑:张秀峰)