

人参皂苷 Rb1 对 H9N2 流感病毒诱导 急性肺损伤小鼠抗氧化酶的影响

刘宝剑^{1,2}, 王存连², 徐明举², 魏东², 王国华², 张瑞华², 刘英¹, 徐彤²

(1. 甘肃农业大学动物医学院, 兰州 730070; 2. 河北北方学院预防兽医学重点实验室, 河北 张家口 075000)

【摘要】 目的 探讨人参皂苷 Rb1 (G-Rb1) 对肺损伤小鼠抗氧化酶活力的影响。方法 将 195 只 6~8 周龄 BALB/c 小鼠随机分为对照组、肺损伤模型组 (ALI 组)、人参皂苷 Rb1 组 (G-Rb1 组), 每组 65 只。ALI 与 G-Rb1 组采用 100 μ L SI A/swine/HeBei/012/2008/猪流感病毒 (H9N2 SIV) 经鼻腔接种建立急性肺损伤模型, 同时 G-Rb1 组腹腔注射人参皂苷 Rb1 液 0.1 mL, 剂量为 10 mg/(kg·bw), 连续 7d; 对照组鼻腔接种相同剂量生理盐水稀释的正常鸡胚尿囊液。观察临床症状、肺病理组织学变化, 计算小鼠肺湿干重比、肺系数, 检测小鼠肺组织 T-SOD、MPO、CAT、GSH-PX 活力。结果 从第 2 天末开始 ALI 组大部分小鼠出现高度的精神沉郁, 呼吸极度困难, 采食量明显减少, 体重下降。肺部明显水肿、淤血和出血, 炎性细胞渗出, 对照组小鼠各器官未见异常。肺系数及肺干湿重比逐渐升高, 第 8 天开始下降, 第 14 天趋于正常。G-Rb1 组症状明显轻于攻毒组, 症状出现较缓, 症状较轻, 死亡时间延迟, 死亡率降低。在第 4、6、8 天, 与对照组比 G-Rb1 组和 ALI 组 T-SOD 及 CAT 活力显著降低 ($P < 0.01$), 组间比, G-Rb1 组明显高于 ALI 组 ($P < 0.05$); 在各时间点, 与对照组比, ALI 组 GSH-PX 活力显著降低 ($P < 0.01$), 而 G-Rb1 组则显著升高 ($P < 0.01$), 实验组组间差异显著 ($P < 0.01$)。结论 G-Rb1 在一定浓度范围内, 具有提高小鼠抗氧化酶活力作用, 一定程度上改善 H9N2 猪流感病毒对肺组织的氧化损伤。

【关键词】 人参皂苷 Rb1; H9N2 流感病毒; 急性肺损伤; 抗氧化酶

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2014) 01-0038-06

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2014.01.008

Effect of ginsenoside Rb1 on antioxidant enzyme in mouse acute lung injury induced by H9N2 swine influenza virus

LIU Bao-jian^{1,2}, WANG Cun-lian², XU Ming-jun², WEI Dong², WANG Guo-hua², ZHANG Rui-hua², LIU Ying¹, XU Tong²

(1. Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 2. Hebei North University, Zhangjiakou 075000).

【Abstract】 Objective To Study the effect of ginsenoside Rb1 on antioxidant enzyme in mouse acute lung injury induced by A/swine/HeBei/012/2008/swine influenza virus (H9N2 SIV). **Methods** One hundred and ninety-five 6- to 8-week-old BALB/c mice were randomly divided into three groups, 65 in each. The mice in the control group were inoculated intranasally with an equivalent dilution of noninfectious allantoic fluid, and that of both the acute lung injury group (ALI group) and ginsenoside Rb1 group (G-Rb1 group) were inoculated intranasally with H9N2 SIV diluted in sterile saline, and in addition, the mice of the G-Rb1 group were treated with ginsenoside Rb1 10 mg/(kg·bw) by intraperitoneal injection continuously for seven days. Clinical signs and body weight loss were observed in eight infected mice of each group. At the same time, at the indicated time points after infection, histopathology of the lung was observed and the activities of T-SOD, MPO, CAT and GSH-PX were detected in the mouse lungs. **Results** After the first 2 days of infection, the mice of the ALI group showed depression, ruffled fur, reduced feed intake and weight loss. Furthermore, pulmonary edema, hemorrhage,

【基金项目】 河北省自然科学基金 (C2011405002); 河北省教育厅重点课题 (ZD20131045); 校级重大课题 (ZD201306)。

【作者简介】 刘宝剑 (1968 -), 男, 河北承德人, 高级实验师, 硕士, 从事基础兽医研究, E-mail: lbjdyx@163.com。

【通讯作者】 刘英 (1953 -), 男, 博士, 教授, 博士生导师, E-mail: liuyll@gsau.edu.cn; 徐彤 (1969 -), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, E-mail: xutong@sohu.com。

and a number of inflammatory cells exuding from the pulmonary alveoli were observed in the lungs of infected mice. Lung coefficient and lung wet/dry weight ratio was increased gradually. The changes began to decline on the 8th day and tend to be normal on the 14th day. The organs of mice of the control group showed no abnormality. For mice in the G-Rb1 group, clinical symptoms were significantly improved, survival time was prolonged, and mortality was decreased. On the 4th, 6th and 8th day after infection; the activity of both T-SOD and CAT was significantly reduced ($P < 0.01$) in the mice of ALI and G-Rb1 groups compared with that of the control group, but the index of G-Rb1 group was significantly higher than that of the ALI group ($P < 0.05$). At each time point after infection, the GSH-PX activity was significantly lower ($P < 0.01$) in the ALI group compared with that of the control group, but the GSH-PX activity of G-Rb1 group was significantly higher than that of the ALI group ($P < 0.01$), with a significant difference between the two groups ($P < 0.01$). **Conclusions** G-Rb1 can improve the activity of antioxidase in mouse acute lung injury induced by H9N2 SIV, and to some extent, G-Rb1 can ameliorate the acute lung injury induced by H9N2 SIV infection.

【Key words】 Ginsenoside Rb1; H9N2 swine influenza virus; Acute lung injury; Antioxidase

人参皂苷 Rb1 (ginsenoside Rb1, G-Rb1) 属于三萜类达马烷型人参二醇型皂苷, 是人参的一种主要活性成份^[1], 具有抗衰老、抗氧化、抗炎、增强免疫力、改善记忆等作用^[2,4]。对于 G-Rb1 的药理作用, 人们在更多范围内开展研究, 也发现人参皂苷可能通过上调 SP-A 蛋白的表达保护内毒素所致大鼠急性肺损伤^[2], 但 G-Rb1 是否对病毒诱导的急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 具有保护作用, 目前尚未见报道。近年来, 流感病毒的流行严重威胁人类的健康。猪在流感病毒基因重组过程, 可能发挥着“混合器”的作用^[3,4], 是新型流感病毒的一个潜在来源。H9N2 亚型流感病毒是引起家禽发病的主要病毒亚型之一, 目前已证实在我国猪群中也有较高的阳性率, 在猪体内循环传播的 H9N2 亚型病毒就具有引起人类新型流感流行的潜在威胁^[5]。因此, 对猪流感病毒防治具有非常重要的意义。

研究发现, 病毒性感染引起的 ALI, 主要是肺泡细胞释放促炎性细胞因子激活中性粒细胞, 并释放大量的自由基引起肺泡内皮和上皮细胞损害^[6]。抗氧化酶在机体内自由基代谢上发挥重要作用, 调节着自由基的动态平衡, 维持机体正常运行。因此, 发挥酶清除 (或抑制) 自由基作用是防治或治疗 ALI 的途径之一。因此本研究拟探讨 G-Rb1 对 H9N2 亚型流感病毒诱导急性肺损伤小鼠肺组织酶的影响, 为筛选高效天然抗氧化剂, 防治急性肺损伤提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 亚型猪流感病毒和实验动物

SI A/swine/HeBei/012/2008/(H9N2) 病毒 (本实验室分离经中国农业科学院哈尔滨兽医研究所动

物流感重点开放实验室鉴定, 其部分基因序列号为 Y063662、CY063663、CY063664 和 Y063665)。将该病毒经 10 日龄 SPF 鸡胚 (鸡胚来自于北京梅里亚维通实验动物技术有限公司 [SCXK (京) 2009-0003]) 盲传 3 代, 收集死亡的鸡胚感染性尿囊液, 分装后于 -70°C 冰箱保存, 待用, 并测定病毒效价。195 只 6~8 周龄 SPF 级 BALB/c 雌性小鼠, 体重为 18~20 g, 均购于北京华阜康生物科技股份有限公司 [SCXK (京) 2009-0007]。动物实验经河北北方学院实验动物伦理委员会批准 [2013-1-0-05] 在河北北方学院二级生物安全实验室进行, 并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。

1.1.2 主要试剂

G-Rb1, 含量 98% (HPLC), 购自阿拉丁试剂 (中国) 有限公司上海公司。总超氧化物歧化酶 (T-SOD)、髓过氧化物酶 (MPO)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 检测试剂盒, 由南京建成生物工程研究所提供。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组

195 只 6~8 周龄 SPF 级 BALB/c 雌性小鼠随机分成 3 组: 对照组、模型组 (ALI) 和人参皂苷 Rb1 组 (G-Rb1), 每组 65 只。ALI 组用灭菌生理盐水 5 倍稀释的含有 H9N2-SIV 的鸡胚尿囊液经鼻腔接种小鼠, 接种剂量为每只 0.1 mL (约含 1×10^3 mol/L LD_{50} , 预实验确定), 用徐明举等^[7] 实验方法建立 H9N2-SIV 诱导小鼠急性肺损伤模型; 对照组小鼠采取相同途径接种 0.1 mL 的经灭菌生理盐水 5 倍稀释的正常鸡胚尿囊液; G-Rb1 组在采用与 ALI 组相同方法接种病毒后, 腹腔注射 G-Rb1 0.1 mL, 剂量为 10 mg/(kg·bw), 连续 7 d。接种后的小鼠隔离饲养于二级生物安全实验室, 采取自由饮水和采食。

每组内各取 15 只小鼠每天定时称量体重及采食量,同时观察小鼠的临床症状和统计死亡率。

1.2.2 小鼠肺组织病理学观察

在感染后的第 2、4、6、8、14 天,每组处死 8 只小鼠,取右肺的一部分固定于 4% 甲醛液内,经石蜡包埋做成 4 μm 的切片,HE 染色,观察组织学变化,右肺剩余部分用于酶活力测定。

1.2.3 感染后小鼠肺系数和肺湿重与肺干重比变化的动态观察

在感染后的第 2、4、6、8、14 天,每组各取 8 只小鼠,分别称量体重,处死,称量全肺湿重;称量左侧肺湿重后,置于温箱中直至重量不再变化为止,称量左侧肺的干重,然后分别计算肺系数和湿重与干重比值,衡量肺水肿的严重程度^[8]。肺系数的计算方法:肺系数 = 肺湿重(g)/体重(g) \times 100%。

1.2.4 T-SOD、CAT、GSH-PX 及 MPO 活力测定

剩余右肺按试剂盒说明配制 10% 匀浆, -70°C 下储存备用。T-SOD 活力测定采用黄嘌呤氧化酶法,CAT 活力测定采用可见光法,GSH-PX 活力测定采用催化还原型谷胱甘肽法,MPO 活力测定采用酶比色法,以上测试及结果计算均严格按照试剂盒使用说明书操作。

1.2.5 实验数据处理

用 SPSS 18.0 统计软件进行单因素方差分析,结果以($\bar{x} \pm s$)表示,组间差异比较用最小显著差值法

(LSD),差异显著性水平为 $P < 0.05$ 。生存分析采用 Kaplan-Meier 法,组间比较用 Log rank 与 Breslow 双重检验,差异显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 临床症状和生存分析

ALI 组小鼠在接种病毒后的第 2 天开始出现轻微的精神沉郁,饮水减少,采食量下降,活动减弱,被毛粗乱。在接种后的第 3 天,大部分小鼠出现高度的精神沉郁,蜷缩于鼠笼一隅,被毛粗乱,弓背,呼吸频率加快,呼吸音明显,呼吸极度困难;采食量明显减少,体重下降,约为正常小鼠体重的 80%。随着时间的延长,上述症状更为明显加重,至接种后的第 3 天末,小鼠出现死亡。第 4 天,剖检可见肺部明显水肿、淤血和出血,体积增大,支气管内流出大量的血色泡沫样的液体。肝、心、脾、脑和肾未见明显的眼观变化,对照组小鼠各器官未见异常。G-Rb1 组症状明显轻于攻毒组,症状出现较缓,症状较轻,死亡时间推迟,死亡率降低,解剖学变化明显轻于 ALI 组。从生存曲线上看出,ALI 组累积生存率从第 3 天的 66.7%,逐渐下降至 33.3% (第 4 天)、26.7% (第 5 天),中位生存时间为 4 天;G-Rb1 组累积生存率则从第 4 天的 80% 逐渐降至 66.7% (第 5 天)、53.3% (第 6 天) (见图 1),两组间生存时间差异有显著性 ($P < 0.05$)。

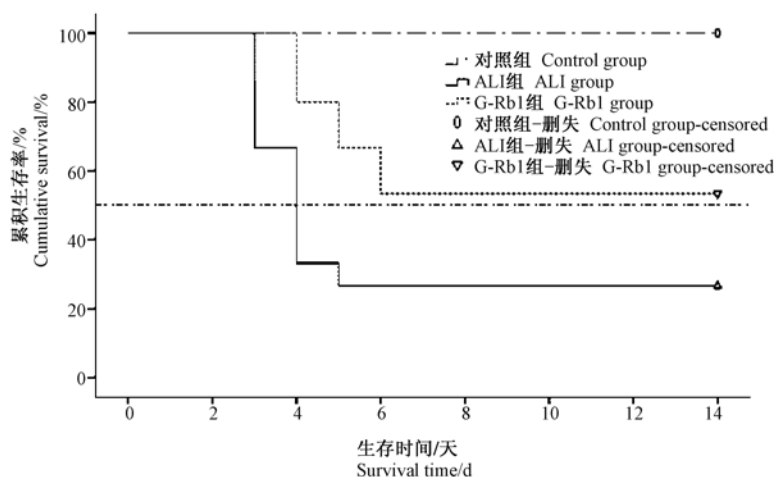


图 1 实验小鼠生存曲线

Fig. 1 Survival curves of the laboratory mice

2.2 肺病理组织学变化

感染小鼠肺病理组织学变化较明显。感染后的第 2 天,攻毒组小鼠主要表现为细支气管和小血管周围间质水肿、疏松,有少量炎性细胞渗出,尤以肺

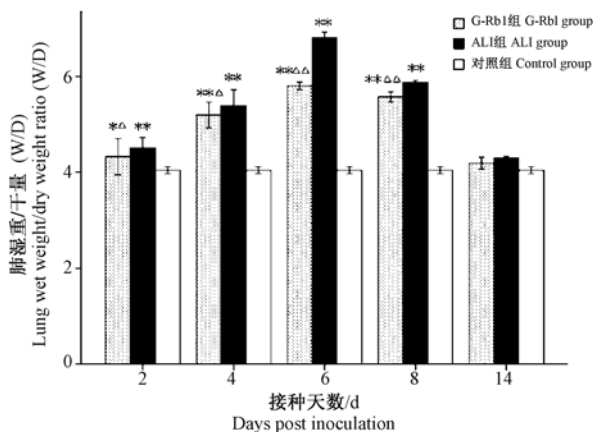
边缘最为明显(图 2D)。在第 4 天,肺泡腔内有炎性渗出物和水肿液,血管和细支气管周围的间质明显疏松水肿,支气管部分黏膜上皮细胞坏死,脱落(图 2E);第 6 天炎症逐渐加重,形成细支气管炎,肺泡

壁水肿、增厚,肺泡腔变小,肺间质增宽,出现间质性肺炎病变;肺组织出血明显,在肺泡腔和间质内有大量的红细胞(图 2F)。G-Rb1 组小鼠肺组织变化较 ALI 组轻,水肿程度小,蛋白渗出量少(图 2A、B、C)。对照组小鼠肺组织未见异常变化(图 2G、H、I)。图 2 见彩插 11。

2.3 肺水肿的评估

2.3.1 病毒感染后肺湿重与干重比(W/D)变化

感染后的第 2~6 天,ALI 组与 G-Rb1 组的肺湿干重比均呈逐渐上升趋势,ALI 组与对照组相比,肺湿干重比极明显增加($P < 0.01$),G-Rb1 组与对照组比,肺湿干重比也有极明显增加(第 4~6 天, $P < 0.01$),G-Rb1 组与 ALI 组比,W/D 明显小于 ALI 组($P < 0.05$);感染后的第 8 天开始小鼠逐渐恢复,W/D 呈下降的趋势,但与对照组相比仍差异有显著性($P < 0.01$);而 G-Rb1 组与 ALI 组比,差异极显著。至感染后的第 14 天,各组肺湿干比接近正常,详见图 3。



注:与对照组比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与 ALI 组比, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

图 3 小鼠感染 H9N2 SIV 后肺湿重与干重比

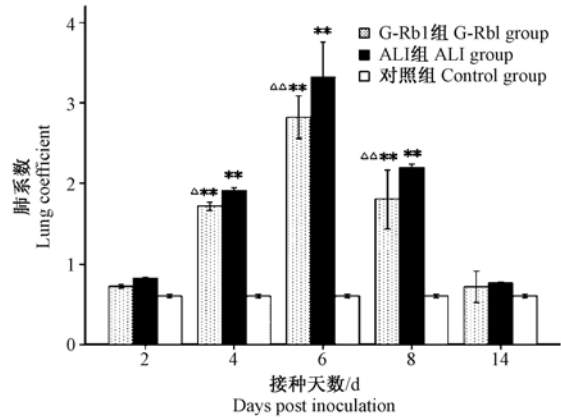
Note: * $P < 0.05$,** $P < 0.01$ vs. control group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs. ALI group

Fig. 3 Lung wet weight/dry weight (W/D) ratio of the H9N2 SIV infected mice

2.3.2 肺系数变化

图 4 显示,在感染后的第 2 天,各实验组间相比肺系数差异无显著性。但是至感染后的第 4 天始至第 6 天,肺系数呈逐渐增加趋势,与对照组相比,ALI 组及 G-Rb1 组小鼠的肺系数显著增加($P < 0.01$),且组间差异有显著性($P < 0.05$),G-Rb1 组明显低于 ALI 组;从接种后的第 8 天开始至第 14 天,ALI

及 G-Rb1 组小鼠的肺系数呈逐渐下降趋势,但第 8 天的肺系数仍显著高于对照组($P < 0.01$),且组间差异有显著性($P < 0.01$)。至感染后 14d,ALI 及 G-Rb1 组小鼠肺系数与对照组小鼠相比已无明显差异。



注:与对照组比,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$;与 ALI 组比, Δ 表示 $P < 0.05$, $\Delta\Delta$ 表示 $P < 0.01$

图 4 小鼠感染 H9N2 SIV 后肺系数变化

Note: * $P < 0.05$,** $P < 0.01$ vs. control group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs. ALI group.

Fig. 4 Lung coefficient of the H9N2-SIV infected mice

2.4 酶活性变化

2.4.1 肺组织 T-SOD 活力变化

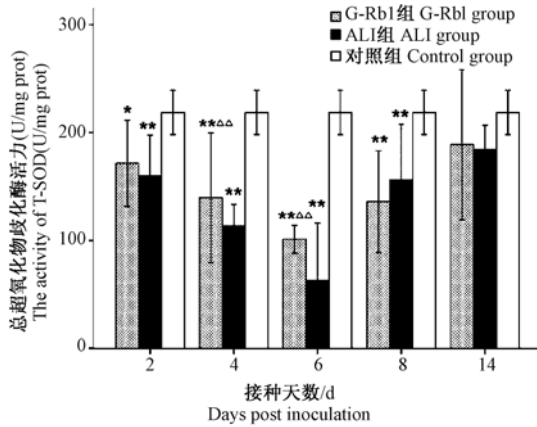
从图 5 可以看到,从感染后第 2 天开始至第 6 天,ALI 组与 G-Rb1 组的 T-SOD 活力呈下降趋势,第 8 天开始回升。第 2 天 G-Rb1 组与对照组比,T-SOD 活力显著下降($P < 0.05$)。从第 4 天到第 8 天,各实验组与对照组比下降极明显($P < 0.01$),至第 14 天,已无明显差异。但第 4 天和第 6 天,G-Rb1 组 T-SOD 活力要显著高于 ALI 组($P < 0.01$)。

2.4.2 肺组织 MPO 活力变化

与对照组比,ALI 组 MPO 活力变化从第 2~6 天有显著提高($P < 0.01$),第 8~14 天逐渐降低,但仍高于对照组。G-Rb1 组 MPO 活力变化与 ALI 组相似,与对照组比在第 4、6、8 天有显著提高($P < 0.01$),但提高程度比 ALI 组低($P < 0.05$),见图 6。

2.4.3 肺组织 CAT 活力变化

从第 4~8 天,ALI 组与对照组比,CAT 活力降低极明显($P < 0.01$),G-Rb1 组从第 4~8 天降低明显,实验组组间差异有显著性($P < 0.05$),G-Rb1 组

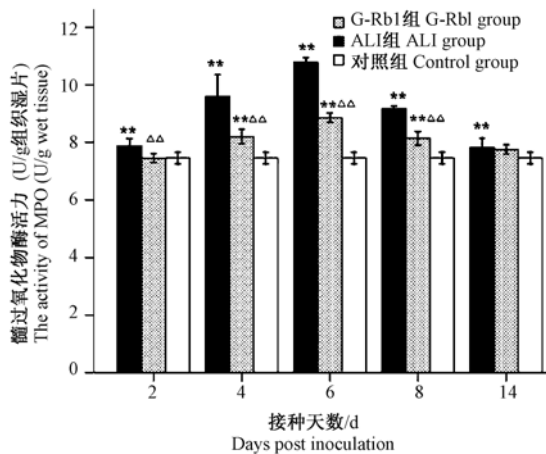


注:与对照组比,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$;与 ALI 组比, Δ 表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$ 。

图 5 各实验组肺组织 T-SOD 活力变化

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. control group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs. ALI group

Fig. 5 Activity of T-SOD in the lung tissue of the mice in different groups



注:与对照组比,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$;与 ALI 组比, Δ 表示 $P < 0.05$, $\Delta\Delta$ 表示 $P < 0.01$ 。

图 6 各实验组肺组织 MPO 活性变化

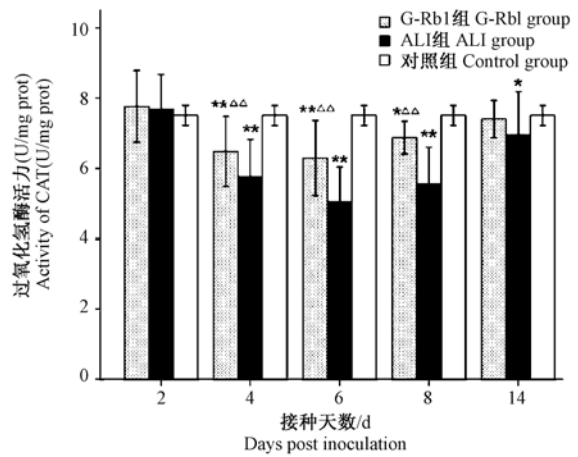
Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. control group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs. ALI group.

Fig. 6 Activity of MPO in the lung tissue of mice in different groups

从第 8 天开始逐渐升高趋势,到第 14 天,CAT 活力变化已没有显著的统计学意义,见图 7。

2.4.4 肺组织 GSH-PX 活力测定

从图 8 看出,从第 2 天开始至第 14 天,与对照组比,ALI 组 GSH-PX 活力显著降低 ($P < 0.01$),而 G-Rb1 组则显著升高 ($P < 0.01$),实验组组间差异有显著性 ($P < 0.01$)。

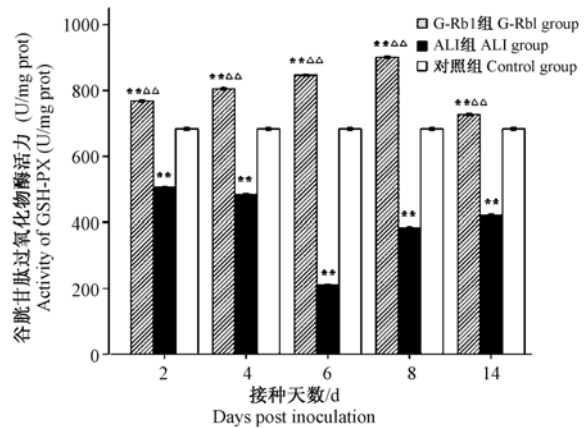


注:与对照组比,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$;与 ALI 组比, Δ 表示 $P < 0.05$, $\Delta\Delta$ 表示 $P < 0.01$ 。

图 7 各实验组肺组织 CAT 活力变化

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. control group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs. ALI group.

Fig. 7 Activity of CAT in the lung tissue of mice in different groups



注:与对照组比,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$;与 ALI 组比, Δ 表示 $P < 0.05$, $\Delta\Delta$ 表示 $P < 0.01$ 。

图 8 各实验组肺组织 GSH-PX 活力变化

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. control group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs. ALI group.

Fig. 8 Activity of GSH-PX in the lung tissue of mice in different groups

3 讨论

本实验采用 H9N2 病毒感染 6~8 周龄 SPF 级 BALB/c 小鼠,建立急性肺损伤模型,评估 G-Rb1 对肺组织酶的影响。H9N2 流感病毒感染小鼠引起肺上皮及血管内皮细胞损伤,导致间质炎性水肿、肺泡腔内有高含量蛋白成分的水肿。从肺组织湿干比及肺系数变化上可以看到肺水肿的变化趋势,病理组

织学也可观察到这种变化。MPO 是主要存在于中性粒细胞中的酶^[9],中性粒细胞移动到炎症部位,释放出氧自由基、弹性蛋白酶、MPO、细胞因子等介质,产生氮自由基^[10],造成组织的损伤^[11,12],MPO 活力升高,表明肺组织内有中性粒细胞浸润,从另一角度说明肺组织的急性损伤。本实验显示,G-Rb1 组 MPO 活性明显低于 ALI 组,说明 G-Rb1 具有抑制 MPO 催化产生氧化物作用,防止进一步的氧化损伤,这与 Wang 等^[13]研究结果相似。从生存曲线上看出,G-Rb1 组死亡时间推迟,且生存率高于 ALI 组,说明 G-Rb1 具有一定缓解急性肺损伤作用。

SOD 是机体内一种重要的抗氧化酶,可催化 O_2^- 生成 H_2O_2 ,CAT 是一种稳定的过氧化氢分解酶,能将过氧化氢分解成水和氧气。这两种酶联合作用,分解机体内的氧自由基,抑制其对细胞及组织的损伤,Yen 等^[13]胞外雾化给药方式证实 SOD 有减少氧应激对肺损伤作用。实验发现,T-SOD 与 CAT 活力是逐渐降低于正常组,然后回升。表明 ALI 小鼠肺组织中出现大量的自由基(如 O_2^- 和 OH^\cdot)和过氧化物(如 H_2O_2),分解清除自由基消耗大量的酶,使 T-SOD 与 CAT 抗氧化能力下降。但 G-Rb1 组活力要高于 ALI 组,提示应用 G-Rb1 能提高 SOD 及 CAT 的活性,清除机体内的自由基。GSH-PX 是机体内广泛存在的一种重要的催化过氧化氢分解的酶,特异性的催化还原型谷胱甘肽(GSH)对 H_2O_2 的还原反应,起到保护细胞膜结构和功能完整的作用。本实验显示,G-Rb1 组的 GSH-PX 活力明显高于正常组和 ALI 组,反映了 G-Rb1 能增强 GSH-PX 活力,清除 H_2O_2 作用,ALI 组 GSH-PX 活力明显低于正常组,抗氧化能力下降,清除自由基能力减弱。

G-Rb1 是人参中的一种主要活性成分,具有较好的清除自由基作用^[14];具有可通过升高 SOD 活性、加速氧自由基的清除和减少氧自由基的生成,从而发挥抗氧化性损伤及增强细胞膜结构和功能的稳定性的作用^[15,16]。本实验的酶测数据结果表明,G-Rb1 具有提高抗氧化酶活性,在一定程度上减缓 H9N2 诱导小鼠肺氧化损伤作用。

(本文图 2 见彩插 11。)

参 考 文 献

- [1] 肖崇厚. 中药化学[M]. 第一版. 上海: 上海科学技术出版社, 1997, 383 - 413.
- [2] 巩秀丽, 毛毅敏, 孙瑜霞, 等. 人参皂甙对内毒素所致大鼠急性肺损伤的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(11): 2743 - 2745.
- [3] Ito T, Couceiro JN, Kelm S, et al. Molecular basis for the generation in pigs of influenza A viruses with pandemic potential [J]. J Virol, 1998, 72(9): 7367 - 7373.
- [4] Gramer MR. Defining swine influenza virus [J]. J Swine Health Prod, 2005, 13: 157 - 160.
- [5] Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, et al. Evolution and ecology of influenza A viruses [J]. Microbiol Rev, 1992, 56: 52 - 179.
- [6] Lee WL, Downey GP. Neutrophil activation and acute lung injury [J]. Curr Opin Crit Care, 2001, 7(1): 1 - 7.
- [7] 徐明举, 王存连, 魏东, 等. H9N2 亚型猪流感病毒诱导小鼠肺急性损伤模型的研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2011, 42(6): 838 - 844.
- [8] Majeski EI, Paintlia MK, Lopez AD, et al. Respiratory reovirus 1/L induction of intraluminal fibrosis, a model of bronchiolitis obliterans organizing pneumonia, is dependent on T lymphocytes [J]. Am J Pathol, 2003, 163(4): 1467 - 1479.
- [9] Hartl D, Krauss-Etschmann S, Koller B, et al. Infiltrated neutrophils acquire novel chemokine receptor expression and chemokine responsiveness in chronic inflammatory lung diseases [J]. J Immunol, 2008, 181(11): 8053 - 8067.
- [10] Naito Y, Yoshikawa T, Matsuyama K, et al. Neutrophils, lipid peroxidation, and nitric oxide in gastric reperfusion injury in rats [J]. Free Radic Biol Med, 1998, 24(3): 494 - 502.
- [11] Yoshikawa T, Naito Y. The role of neutrophils and inflammation in gastric mucosal injury [J]. Free Radic Res, 2000, 33(6): 785 - 794.
- [12] Wang J, Qiao L, Li S, et al. Protective effect of ginsenoside Rb1 against lung injury induced by intestinal ischemia-reperfusion in rats [J]. Molecules, 2013, 18(1): 1214 - 1226.
- [13] Yen CC, Lai YW, Chen HL, et al. Aerosolized human extracellular superoxide dismutase prevents hyperoxia-induced lung injury [J]. PLoS ONE, 2011, 6(10): e26870.
- [14] 钟国赣, 孙成文, 李云义, 等. 人参二醇组皂苷 Rb1, Rb2, Rb3, Rc 和 Rd 的钙通道阻滞作用和抗自由基作用 [J]. Acta Pharmacol Sin, 1995, 16(3): 255 - 260.
- [15] 李江津, 刘正湘. 人参皂苷 Rb1 对缺氧复氧诱导内皮细胞凋亡的影响 [J]. 临床心血管病杂志, 2005, 21(12): 728 - 729.
- [16] 尹东锋, 地里夏提·白克力, 赵林雯. 复方双参合剂对小鼠耐缺氧作用的影响 [J]. 中国医药导报, 2013, 10(22): 10 - 12 + 15.

[收稿日期] 2013-09-16