

人参皂苷 Rb1 对 H9N2 亚型猪流感病毒诱导急性肺损伤小鼠肺组织氧自由基的影响

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, 张家口 075000)

摘要: 本试验将 120 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 40 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 \cdot kg⁻¹), 连续 7 d; 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。通过观察临床症状、小鼠的体重、肺病理组织学变化、检测小鼠肺组织 T-SOD 活性、抑制 OH \cdot 能力及 MDA、NO 含量, 探讨人参皂苷 Rb1 (G-Rb1) 清除肺损伤小鼠氧自由基的能力。结果表明, 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。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: 抑制 OH \cdot 能力、T-SOD 活力与对照组比, G-Rb1 与 ALI 组含量显著减少 ($P < 0.05$), 但 G-Rb1 组明显高于 ALI 组 ($P < 0.05$); MDA 及 NO 含量与对照组比, G-Rb1 与 ALI 组含量极显著增加 ($P < 0.01$), 但 G-Rb1 组明显低于 ALI 组 ($P < 0.01$)。本研究表明, G-Rb1 在一定浓度范围内, 具有清除由病毒诱导的肺损伤组织中自由基的作用, 保护自由基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; T-SOD; NO; MDA; OH \cdot

中图分类号: S853.74

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2013)09-1468-07

Effect of Ginsenoside Rb1 on Oxygen Free Radicals in Acute Lung Injury of Mice Induced by H9N2 Swine Influenza Virus

LIU Bao-jian^{1,2}, WANG Cun-lian², XU Ming-ju², WEI Dong², WANG Guo-hua²,
ZHANG Rui-hua², LIU Ying^{1*}, XU Tong^{2*}

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

Abstract: To study effect of ginsenoside Rb1 on oxygen free radicals in acute lung injury of mice induced by A/swine/HeBei/012/2008/swine influenza virus (H9N2 SIV), 120 six to eight weeks old BALB/c mice were randomly divided into three groups with forty in each. The mice in control group were inoculated intranasally with an equivalent dilution of noninfectious allantoic. And that of acute lung injury group (ALI group) and Ginsenoside Rb1 group (G-Rb1 group) both were inoculated intranasally with H9N2 SIV diluted in sterile saline, and meanwhile, animals of G-Rb1 group were treated with Ginsenoside Rb1 (10 mg \cdot kg⁻¹) by intraperitoneal injection continuously for up to seven days. The clinical signs and body losses were observed in eight infected mice of each group. At the same time, at the indicated time points after infection, lung histopathology was

收稿日期: 2013-03-25

基金项目: 河北省自然科学基金 (C2009001028; C2011405002)

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

* 通信作者: 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

observed and the activity of T-SOD, inhibition ability of $\text{OH}\cdot$, MDA and NO content of mouse lungs were detected. The results showed that mice of ALI group appeared depression, ruffled fur, feed intake reduction and weight loss post first 2 days of infection. Furthermore, pulmonary edema, hemorrhage, and a number of inflammatory cells exuding from the alveolar were observed in lungs of infected mice, however, mice organs in the control group showed no abnormality. For mice in G-Rb1 group, clinical symptoms were significantly improved, while survival time was delayed and mortality was decreased. On the 4th, 6th and 8th day after infection; the inhibition ability of $\text{OH}\cdot$ and T-SOD activity were significantly reduced ($P < 0.05$) in ALI group and G-Rb1 group mice compared with that of control group mice, but the indexes of G-Rb1 group were significantly higher than that of ALI group ($P < 0.05$); The contents of NO and MDA were increased significantly ($P < 0.01$) in ALI group and G-Rb1 group mice compared with that of control group mice, but these contents of G-Rb1 group was significantly lower than that of ALI group ($P < 0.01$). Results indicate that G-Rb1 could scavenge free radicals in acute lung injury lung induced by H9N2 SIV in mice, and G-Rb1 is helpful to attenuate the lung injury induced by oxygen radicals.

Key words: Ginsenoside Rb1; H9N2 SIV; acute lung injury; T-SOD; NO; MDA; $\text{OH}\cdot$

流感病毒不定期的大流行造成全球数百万人死亡,并且仍在威胁人类的健康。随着与引起 1918 年流行的 H1N1 病毒基因和抗原型相似的猪流感病毒株的发现,打破了流感病毒只在禽类之间传播的种间壁垒^[1]。由于猪气管上皮细胞有结合哺乳动物和禽流感病毒的受体,成为流感病毒的“混合器”,大大增加了不同病毒株在体内基因重组的概率^[2-3],产生新的变异毒株,威胁人类的健康。H9N2 流感病毒是引起家禽发病的主要病毒亚型之一,在中国猪群中具有较高的阳性率。目前已经证实该亚型病毒具有与人 H3N2 病毒相类似的受体结合特性(即优先与唾液酸 α -2,6 半乳糖苷受体结合),因此在猪体内循环传播的 H9N2 病毒具有引起人类新型流感流行的潜在威胁^[4-5]。

研究发现,流感病毒感染引起的急性肺损伤(acute lung injury, ALI)主要因病毒诱导释放促炎性细胞因子,进而激活中性粒细胞,释放大量活性氧引起肺泡内皮和上皮细胞损伤而造成^[6]。徐明举等^[7]研究 H3N2 猪流感病毒诱导小鼠急性肺损伤,发现血清及灌洗液中的自由基含量升高,提示氧自由基(包括 O_2^- 、 $\text{OH}\cdot$ 等)可能是引起急性肺损伤的一个重要因素。因此,清除自由基或抑制自由基的产生将是辅助治疗流感病毒诱导 ALI 的有效途径之一。

人参皂苷 Rb1(Ginsenoside Rb1, G-Rb1)具有清除自由基、抗氧化、抗衰老、防止缺血再灌注对脑

(肝、肾等不同脏器)细胞损伤等作用^[8],但有关 G-Rb1 是否对 H9N2 猪流感病毒诱导小鼠急性肺损伤时产生的自由基具有清除或保护作用目前尚未见报道。因此本研究探讨 G-Rb1 对 H9N2 流感病毒诱导小鼠急性肺损伤肺组织内氧自由基的影响,为进一步筛选干预其引起的急性肺损伤的天然药物提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 H9N2 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(北京实验动物中心提供)盲传 3 代,收集死亡的鸡胚感染性尿囊液,分装后于 $-70\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存,待用。

120 只 6~8 周龄 SPF 级 BALB/c 雌性小鼠,均购于北京梅里亚通实验动物中心。

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)、微量丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)、羟自由基($\text{OH}\cdot$)检测试剂盒,由南京建成生物工程研究所提供;其它试剂均为国产分析纯。

1.3 方法

1.3.1 实验动物分组 120 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 40 只。本试验采用徐明举等^[9]的方法建立 H9N2-SIV 诱导小鼠急性肺损伤模型, 即攻毒组用灭菌生理盐水 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 MLD₅₀)。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 组小鼠采用与 ALI 组相同方法接种病毒, 随即腹腔注射人参皂苷 Rb1 0.1 mL (剂量为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 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。每组各取 10 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。

1.3.2 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 6 只小鼠, 取左肺的一部分固定于 10% 甲醛液内, 经石蜡包埋做成 $4 \mu\text{m}$ 的切片, HE 染色, 观察组织学变化。

1.3.3 T-SOD 活性、抑制 OH· 能力及 MDA、NO 含量测定 在上述时间点, 取右肺及剩余左肺组织按试剂盒说明配制 10% 匀浆, $-70 \text{ }^\circ\text{C}$ 下储存备用。T-SOD 活性采用黄嘌呤氧化酶法; 抑制 OH· 能力利用 Fenton 反应法; 微量 MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸 (TBA) 法; NO 含量测定采用硝酸还原酶法。以上测试及结果计算均严格按照试剂盒使用说明书操作。

1.4 数据处理

用 SPSS13.0 统计软件进行单因素方差分析, 结果以“平均值±标准差”($\bar{x} \pm s$) 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 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 临床症状和大体解剖学观察

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, G-Rb1 组出现与感染组小鼠相似症状。在接种后的第 3 天, ALI 组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, 呼吸极度困难; 呼吸加重, 呼吸音明显, 采食量明显减少, 体重下降 (图 1), 约为正常小鼠体重的

80%。G-Rb1 组与对照组相比下降明显, 与 ALI 组接近。至接种后的第 4 天, ALI 组小鼠出现死亡, 随着时间的延长, 上述症状更为明显加重, 死亡率 60%; 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 (图 2B)。G-Rb1 组症状明显轻于 ALI 组, 死亡时间延迟, 死亡率降低 (死亡率为 50%); 剖检见肺水肿较轻, 轻度出血, 颜色发红, 流出少许红色液体 (图 2C)。对照组小鼠临床表现和剖检变化未见异常 (图 2A)。

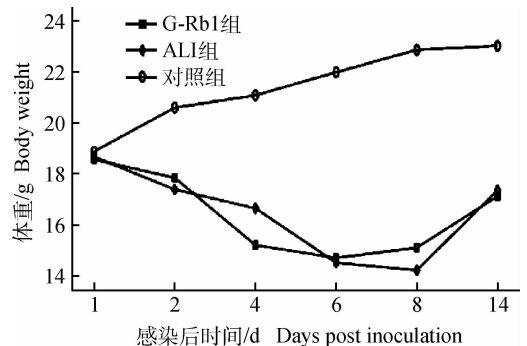


图 1 H9N2 SIV 感染小鼠后的体重变化

Fig. 1 Weight change of H9N2 SIV infected mice

2.2 肺病理组织学变化

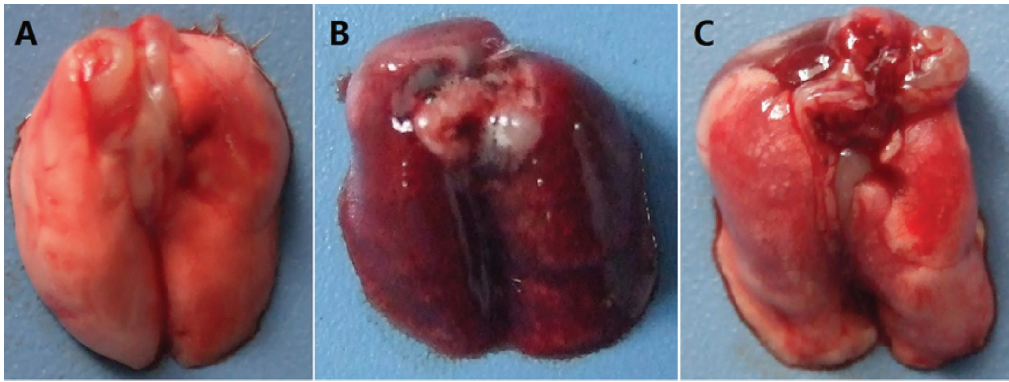
感染小鼠病理组织学变化以肺部最为明显, 主要特征为弥漫性肺泡损伤。感染后第 2 天, ALI 组小鼠主要表现为肺泡、细支气管和小血管周围间质水肿、疏松, 有少量炎性细胞渗出。细支气管黏膜上皮坏死、脱落, 腔内有大量脱落的组织、炎性细胞及渗出物 (图 3D); 至感染后的第 4 天, 肺泡间质水肿、增厚, 肺泡腔变小, 出现间质性肺炎病变, 肺组织出血明显, 在肺泡腔和间质内有大量的红细胞 (图 3E); 在感染后的第 6 天, 炎症进一步发展, 大量的炎性细胞渗出, 形成支气管性肺炎 (图 3F)。G-Rb1 组与 ALI 组小鼠相比, 呈现相同方式的病理组织学变化, 即细支气管周围明显的水肿、炎性渗出和间质性肺炎以及最后形成支气管肺炎变化, 但是相应损伤程度较小, G-Rb1 组小鼠肺组织学变化见图 3 (A、B 和 C)。对照组小鼠肺组织未见异常变化。

2.3 肺组织 T-SOD 活力变化

从表 1 可以看到, 从第 2 天开始至第 6 天, ALI 组与对照组相比, T-SOD 活力下降极显著 ($P < 0.01$), 第 8 天开始回升, 但差异仍极显著 ($P < 0.01$)。至第 14 天, 各试验组与对照组相比, T-SOD

活力已无明显差异。G-Rb1 组 T-SOD 活力变化趋势与 ALI 组相似,但第 4 天和第 6 天,G-Rb1 组极

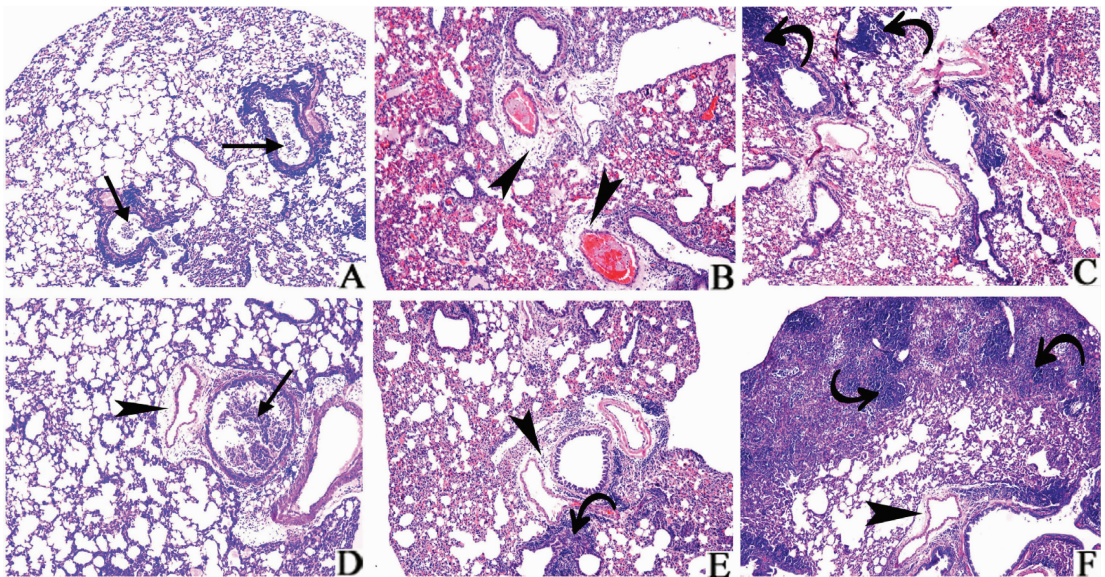
显著高于 ALI 组($P < 0.01$)。



A. 对照组;B. ALI 组;C. G-Rb1 组
A. Control group;B. ALI group;C. G-Rb1 group

图 2 第 4 天小鼠肺组织解剖学观察

Fig. 2 The anatomy changes of lung in mice on the 4th day post inoculation



A、B、C. G-Rb1 组;D、E、F. ALI 组;直箭头指示区域为支气管上皮脱落及炎性渗出;黑色三角指示小血管周围间质水肿、疏松,有大量炎性渗出;左旋箭头指示细支气管内有大量的炎性细胞渗出,形成细支气管炎

A, B, C. G-Rb1 group; D, E, F. ALI group; Straight arrows showing the region of dropout of mucous epithelium and inflammatory cell infiltration in bronchioles; Black triangle showing interstitial edema about small blood vessels; Levo-arrows showing peribronchiolitis and bronchiolitis

图 3 感染 H9N2 病毒小鼠肺病理组织学变化(HE 染色,100×)

Fig. 3 The changes of lung histopathology of H9N2 virus infected mice (HE,100×)

2.4 肺组织 NO 含量变化

从第 2 天开始至第 6 天,各试验组与对照组相比,NO 含量增加极显著($P < 0.01$),且 NO 含量呈上升趋势,第 8 天开始下降。ALI 组与 G-Rb1 组组间差异极显著($P < 0.01$),到第 14 天,NO 含量的变化已没有显著的统计学意义(表 2)。

2.5 肺组织 MDA 含量变化

表 3 数据显示,试验组 MDA 含量从第 2 天开始上升,至第 8 天开始下降,但感染后的第 2 天,各试验组肺组织 MDA 含量升高与对照组相比不显著。从第 4 天开始,一直持续到第 8 天,两试验组与对照组相比,肺组织 MDA 含量显著增加($P <$

0.01),且组间有极显著的差异($P<0.01$)。至第 14 天,肺组织 MDA 含量接近,没有显著的统计学意义。

表 1 各试验组小鼠肺组织匀浆 T-SOD 活力($n=6$)

Table 1 The activity of T-SOD in the lung tissue in different groups ($n=6$)

组别 Group	肺组织 T-SOD 活力/(U · mg ⁻¹ protein) The activity of T-SOD in the lung tissue				
	第 2 天 The 2 nd day	第 4 天 The 4 th day	第 6 天 The 6 th day	第 8 天 The 8 th day	第 14 天 The 14 th day
对照组 Control group	218.35±7.35	219.61±4.26	218.63±4.29	218.61±7.37	218.51±7.14
模型组 ALI group	162.00±11.52*	114.74±6.73*	72.43±18.53*	160.26±15.13*	184.88±7.01
Rb1 组 Rb1 group	174.32±11.45*	139.92±5.53* ^a	104.93±7.95* ^a	146.47±10.96*	190.21±12.96

同一时间点,与对照组比,*表示差异极显著($P<0.01$),**表示差异显著($P<0.05$);与模型组比,a表示差异极显著($P<0.01$),b表示差异显著($P<0.05$),下同

The same point in time,compared with that of control group,* means very significant difference($P<0.01$),** means significant difference($P<0.05$);compared with that of ALI group,a means very significant difference($P<0.01$),b means significant difference($P<0.05$),The same as below

表 2 各试验组小鼠肺组织匀浆 NO 含量($n=6$)

Table 2 The NO content in the lung tissue in different groups ($n=6$)

组别 Group	肺组织 NO 含量/($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ protein) The NO content in the lung tissue				
	第 2 天 The 2 nd day	第 4 天 The 4 th day	第 6 天 The 6 th day	第 8 天 The 8 th day	第 14 天 The 14 th day
对照组 Control group	2.58±0.31	2.57±0.28	2.59±0.21	2.56±0.47	2.61±0.39
模型组 ALI group	4.55±0.24*	5.16±0.18*	6.24±0.10*	4.52±0.20*	2.91±0.22
Rb1 组 Rb1 group	3.23±0.08* ^a	3.50±0.17* ^a	3.74±0.08* ^a	3.17±0.06* ^a	2.68±0.04

表 3 各试验组小鼠肺组织匀浆 MDA 含量($n=6$)

Table 3 The MDA content in the lung tissue in different groups ($n=6$)

组别 Group	肺组织 MDA 含量/(nmol · mg ⁻¹ protein) The MDA content in the lung tissue				
	第 2 天 The 2 nd day	第 4 天 The 4 th day	第 6 天 The 6 th day	第 8 天 The 8 th day	第 14 天 The 14 th day
对照组 Control group	2.53±0.12	2.54±0.15	2.52±0.19	2.51±0.18	2.54±0.16
模型组 ALI group	2.75±0.11	4.15±0.07*	5.69±0.17*	4.72±0.14*	2.81±0.07
Rb1 组 Rb1 group	2.69±0.12	3.69±0.06* ^a	3.80±0.07* ^a	3.33±0.14* ^a	2.75±0.11

2.6 羟自由基(OH·)测定

从表 4 看出,从第 2 天开始至第 6 天,ALI 组与 G-Rb1 组抑制 OH·能力呈逐渐下降趋势,第 8 天开始上升。第 4 天至第 6 天各试验组与对照组相比,抑制 OH·能力显著降低($P<0.01$),且在第 4 天和第 6 天,试验组组间差异有显著的统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

本试验采用 A/swine/HeBei/012/2008/(H9N2)猪流感病毒感染 6~8 周龄 SPF、BALB/c 小鼠,建立急性肺损伤模型,评估 G-Rb1 对肺损伤小鼠肺组织氧自由基的影响。研究发现 H9N2 病毒引起小鼠

ALI 主要以肺泡上皮和血管内皮细胞损伤、弥漫性的炎性细胞渗出、肺泡血管对血浆蛋白的通透性增加导致间质炎性水肿、肺泡腔内有高含量蛋白成分的水肿存在为特征,并发展为滤泡性支气管炎。急性肺损伤时,释放促炎性细胞因子(如 TNF- α 、IL-1、IL-6、IL-8 等)激活中性粒细胞,释放活性氧和蛋白酶等代谢产物,在清除炎症产物时造成机体组织的

损伤^[10-11]。其他一些研究证实自由基具有高度的氧化活性,进而攻击细胞膜及线粒体膜,造成脂质过氧化,诱导产生更多的自由基,引起自由基的连锁反应,导致细胞及组织损伤^[12]。本研究发现 ALI 小鼠肺组织中 NO、OH \cdot 自由基及 MDA 含量的显著升高提示自由基参与了 H9N2 病毒感染引起的急性肺损伤。

表 4 各试验组小鼠肺组织匀浆抑制 OH \cdot 能力($n=6$)

Table 4 The ability of inhibiting the hydroxyl radical in the lung tissue in different groups ($n=6$)

组别 Group	肺组织抑制 OH \cdot 能力/(U \cdot mg ⁻¹ protein) The ability of inhibiting the hydroxyl radical in the lung tissue				
	第 2 天 The 2 nd day	第 4 天 The 4 th day	第 6 天 The 6 th day	第 8 天 The 8 th day	第 14 天 The 14 th day
	对照组 Control group	78.29 \pm 1.03	78.58 \pm 1.54	79.60 \pm 2.03	78.11 \pm 1.82
模型组 ALI group	72.42 \pm 1.34	62.51 \pm 1.52 [*]	33.82 \pm 4.24 [*]	47.27 \pm 2.82 [*]	74.73 \pm 1.93
Rb1 组 Rb1 group	74.71 \pm 0.59	66.32 \pm 0.67 ^{*b}	43.98 \pm 3.13 ^{*a}	56.48 \pm 2.95 [*]	76.46 \pm 2.12

本试验从大体解剖学上可以看到,G-Rb1 组与 ALI 组小鼠肺组织的病理变化差异,G-Rb1 组小鼠肺组织的水肿、出血及炎性细胞渗出明显轻于 H9N2 病毒感染组;W/D 变化上两者也具有显著的差异,说明 G-Rb1 在一定程度上减轻肺损伤,可能对氧化损伤具有拮抗作用。近年的研究表明^[13],O₂⁻是在烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶、黄嘌呤氧化酶及一氧化氮合酶等作用下产生,通过超氧化物歧化酶(SOD)转化。本研究显示,G-Rb1 组 T-SOD 含量显著高于 ALI 组,说明 G-Rb1 组具有更强清除 O₂⁻ 自由基作用,减少 O₂⁻ 对肺组织损伤作用。

此外,本研究发现抑制 OH \cdot 能力 G-Rb1 组显著强于 ALI 组,OH \cdot 的过量产生会对机体产生毒害作用,证实 G-Rb1 在一定量内对其具有抑制作用。宋瑞等^[14]研究人参皂苷 Rb1 对肾小管细胞缺氧复氧损伤的影响时发现 G-Rb1 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。这与本研究中 G-Rb1 缓解 H9N2 病毒感染引起的急性肺损伤作用机制相类似。

R. Ohashi 等^[15]研究认为高半胱氨酸(Hcy)与内皮增殖及氧化应激有很大关系,能自动氧化成活

性氧、NO 而产生毒害作用;适量的 G-Rb1 能显著保护体外人脐静脉内皮细胞增殖和抑制超氧阴离子的产生,以及 G-Rb1 能阻止高半胱氨酸对内皮细胞的影响,抑制 NO 产生^[16-17]。G-Rb1 也能通过增强 eNO 酶的活性而减少 NO 的生成,减少氧化应激反应^[18]。本研究对 NO 含量检测也与此结果一致,G-Rb1 组抑制 NO 的产生,减缓对肺上皮及内皮细胞的损伤。

G-Rb1 对 H9N2 病毒诱导的急性肺损伤的保护作用,可能与影响自由基相关的信号通路(如 NF- κ B)有关。今后拟进一步探讨其与相关信号通路的相互作用,可能为今后筛选预防和干预 H9N2 病毒诱导人类的急性肺损伤药物提供借鉴。

4 结 论

本研究表明 G-Rb1 能清除 H9N2 流感病毒感染引起的自由基,在一定程度上起到缓解肺组织损伤作用。

参考文献:

- [1] SHARMA S, MAYANK A, LAL S K. Molecular events leading to the creation of a pandemic influenza virus[J]. *Indian J Microbiol*, 2009, 49(4):332-338.
- [2] ITO T, COUCEIRO J N, 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.
- [3] GRAMER M R. Defining swine influenza virus[J]. *J Swine Health Prod*, 2005, 13(3):157-160.
- [4] WEBSTER R G, BEAN W J, GORMAN O T, et al. Evolution and ecology of influenza A viruses[J]. *Microbiol Rev*, 1992, 56(1):152-179.
- [5] WAN H, PEREZ D R. Amino acid 226 in the hemagglutinin of H9N2 influenza viruses determines cell tropism and replication in human airway epithelial cells[J]. *J Virol*, 2007, 81(10):5181-5191.
- [6] LEE W L, DOWNEY G P. Neutrophil activation and acute lung injury[J]. *Curr Opin Crit Care*, 2001, 7(1):1-7.
- [7] 徐明举, 利凯, 崔红玉, 等. H3N2 猪流感病毒诱导的小鼠急性肺损伤与 SOD、NO、MDA 和 OH· 变化的相关性[J]. *中国病理生理杂志*, 2011, 27(4):783-786, 790.
- [8] 李向高. 人参皂苷 Rb1 的药理作用研究[J]. *吉林农业大学学报*, 2004, 26(6):649-652.
- [9] 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.
- [10] 魏东, 刘英, 徐彤. H9N2 亚型猪流感病毒诱导小鼠急性肺损伤中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-10 的变化和作用[J]. *中国实验动物学报*, 2013, 21(1):96-98.
- [11] NARASARAJU T, YANG E, SAMY R P, et al. Excessive neutrophils and neutrophil extracellular traps contribute to acute lung injury of influenza pneumonitis [J]. *Am J Pathol*, 2011, 179(1):199-210.
- [12] ERNSTER L. Biochemistry of reoxygenation injury [J]. *Crit Care Med*, 1988, 16(10):947-953.
- [13] FUKAI T, USHIO-FUKAI M. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 15(6):1583-1606.
- [14] 宋瑞, 盘强文, 林海英, 等. 人参皂苷 Rb1 与 Rg1 对肾小管细胞缺氧复氧损伤模型的影响[J]. *中国药房*, 2007, 18(10):736-738.
- [15] OHASHI R, YAN S, MU H, et al. Effects of homocysteine and ginsenoside Rb1 on endothelial proliferation and superoxide anion production [J]. *J Surg Res*, 2006, 133(2):89-94.
- [16] HE F, GUO R, WU S L, et al. Protective effects of ginsenoside Rb1 on human umbilical vein endothelial cells *in vitro* [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2007, 50(3):314-320.
- [17] ZHOU W, CHAI H, LIN P H, et al. Ginsenoside Rb1 blocks homocysteine-induced endothelial dysfunction in porcine coronary arteries [J]. *J Vasc Surg*, 2005, 41(5):861-868.
- [18] XIA R, ZHAO B, WU Y, et al. Ginsenoside Rb1 preconditioning enhances eNOS expression and attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in diabetic rats [J]. *J Biomed Biotechnol*, 2011, 2011:767930. doi: 10.1155/2011/767930.

(编辑 白永平)