

论著·实验研究

大黄对高氧致新生大鼠支气管肺发育不良的影响

尹玲玲¹ 叶贞志² 唐丽君¹ 郭亮² 黄为民¹

(1. 南方医科大学南方医院新生儿科, 广东 广州 510515;
2. 深圳市光明新区人民医院新生儿科, 广东 深圳 518106)

[摘要] **目的** 探讨大黄对高氧致新生大鼠支气管肺发育不良(BPD)的影响。**方法** 将64只生后4 d大鼠随机分成空气对照组、大黄对照组、高氧模型组和高氧+大黄组($n=16$)。大鼠暴露于60%氧浓度中构建BPD模型。造模同时,两个大黄干预组每天给予600 mg/kg大黄提取物混悬液灌胃1次。各组大鼠于生后14 d、21 d,苏木精-伊红(HE)染色观察肺组织形态学改变;分光光度计法检测丙二醛(MDA)水平及超氧化物歧化酶(SOD)活性;RT-PCR、Western blot法检测肺组织中TNF- α 、IL-6 mRNA和蛋白表达水平。**结果** 高氧模型组大鼠肺组织出现肺泡数目减少、体积增大、结构简单化等发育受阻的表现,并随高氧暴露时间的延长损伤加重;高氧+大黄组大鼠肺组织病理改变明显减轻。大鼠生后14 d及21 d,与两对照组相比,高氧模型组放射状肺泡计数(RAC)明显减少,肺组织中SOD活性降低,MDA水平、TNF- α mRNA及蛋白水平、IL-6 mRNA及蛋白水平均升高($P<0.05$)。与高氧模型组相比,高氧+大黄组RAC明显增加,肺组织中SOD活性升高,MDA水平、TNF- α mRNA及蛋白水平、IL-6 mRNA及蛋白水平均降低($P<0.05$)。**结论** 大黄可能通过抑制炎症和氧化应激反应对高氧致新生大鼠BPD发挥保护作用。[中国当代儿科杂志,2018,20(5):410-415]

[关键词] 支气管肺发育不良;大黄;炎症;氧化应激;大鼠

Effect of rhubarb on neonatal rats with bronchopulmonary dysplasia induced by hyperoxia

YIN Ling-Ling, YE Zhen-Zhi, TANG Li-Jun, GUO Liang, HUANG Wei-Min. Department of Neonatology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China (Huang W-M, Email: hwmnet@21cn.com)

Abstract: Objective To study the effect of rhubarb on neonatal rats with bronchopulmonary dysplasia (BPD) induced by hyperoxia. **Methods** A total of 64 rats (postnatal day 4) were randomly divided into four groups: air control, rhubarb control, hyperoxia model, and hyperoxia+rhubarb ($n=16$ each). The rats in the hyperoxia model and hyperoxia+rhubarb groups were exposed to hyperoxia (60% O₂) to establish a BPD model. The rats in the rhubarb control and hyperoxia+rhubarb groups were given rhubarb extract suspension (600 mg/kg) by gavage daily. The pathological changes of lung tissue were evaluated by hematoxylin-eosin staining on postnatal days 14 and 21. The content of malondialdehyde (MDA) and the activity of superoxide dismutase (SOD) were measured by spectrophotometry. The mRNA and protein expression levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) were determined by RT-PCR and Western blot respectively. **Results** The hyperoxia model group showed reduced alveolar number, increased alveolar volume, and simplified alveolar structure, which worsened over the time of exposure to hyperoxia. These pathological changes were significantly reduced in the hyperoxia+rhubarb group. On postnatal days 14 and 21, compared with the air control and rhubarb control groups, the hyperoxia model group had significantly reduced radical alveolar count (RAC), significantly reduced activity of SOD in the lung tissue, and significantly increased content of MDA and mRNA and protein expression levels of TNF- α and IL-6 ($P<0.05$). Compared with the hyperoxia model group, the hyperoxia+rhubarb group had significantly increased RAC, significantly increased activity of SOD in the lung tissue, and significantly reduced content of MDA and mRNA and protein expression levels of TNF- α and IL-6 ($P<0.05$). **Conclusions** Rhubarb may play a protective role in rats with BPD induced by hyperoxia through inhibiting inflammatory response and oxidative stress.

[Chin J Contemp Pediatr, 2018, 20(5): 410-415]

Key words: Bronchopulmonary dysplasia; Rhubarb; Inflammation; Oxidative stress; Rats

[收稿日期] 2018-02-12; [接受日期] 2018-04-02

[作者简介] 尹玲玲,女,硕士研究生。

[通信作者] 黄为民,男,教授,主任医师。

支气管肺发育不良 (bronchopulmonary dysplasia, BPD) 是常见于早产儿的慢性肺部疾病。该病治疗周期长, 治愈率低, 严重者常遗留肺功能障碍、生长发育迟缓等多种远期并发症, 给家庭和社会造成沉重负担。

BPD 的致病因素错综复杂, 发病机制亦尚未完全阐明。然而, 随着针对该病的临床和实验研究的不断深入, 发现氧化应激和炎症反应在 BPD 的发生发展中发挥重要作用^[1-2]。机械通气和氧疗是 BPD 患儿的常见治疗手段。新生儿尤其是未成熟早产儿, 肺组织发育不完善, 对氧化应激更为敏感, 且抗氧化能力较弱。因此, 长期氧疗极易导致患者肺部损伤。细胞经过高氧刺激可产生大量活性氧簇 (reactive oxygen specie, ROS), 引发脂质过氧化反应, 最终导致细胞结构和功能的异常^[3]。另外, 炎症在 BPD 的发生发展中扮演重要角色。目前认为, 不成熟肺暴露于高氧后, 炎症细胞聚集于肺部, 释放大量炎症因子, 触发炎症级联反应, 最终可导致 BPD 患儿肺组织结构的异常发育^[4]。

近年来, 中药大黄被广泛应用于实验研究, 认为其可通过抑制机体氧化应激水平, 减少炎症因子的分泌, 防治急性肺损伤^[5]。大黄素可通过抑制核因子- κ B 的活性, 减轻脂多糖介导的急性肺损伤, 减少支气管肺泡灌洗液中炎症细胞和前炎症因子的水平^[6]。另有研究发现, 大黄可通过降低丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平, 提高谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 及超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 的水平, 改善百草枯中毒大鼠的肺损伤^[7]。而大黄对 BPD 的保护作用目前尚未见报道。本课题组假设在高氧致新生大鼠 BPD 模型中, 大黄可以通过抑制肺组织中氧化应激及炎症反应发挥保护作用。因此, 本研究拟建立 60% 高氧致新生大鼠 BPD 动物模型, 探讨大黄对 BPD 的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

Sprague-Dawley (SD) 大鼠由南方医科大学实验动物中心提供 [动物许可证号: SCXK (粤)

2011-0015]。大黄提取物 (湖北盛天恒创公司)。MDA、SOD 检测试剂盒 (南京建成生物工程研究所)。RNA 提取试剂盒、实时荧光定量 PCR (real-time PCR) 试剂盒 (TaKaTa, 日本)。全蛋白提取试剂盒、BCA 蛋白含量检测试剂盒 (南京凯基公司)。小鼠抗大鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) 多克隆抗体 (Abcam, 英国), 兔抗大鼠白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 多克隆抗体、兔抗大鼠 GAPDH 多克隆抗体 (Affinity, 美国)。

1.2 动物模型制备

动物模型制备参考文献^[8-9]: 将 64 只生后 4 d SD 大鼠, 按随机数字表法分成空气对照组、大黄对照组、高氧模型组、高氧+大黄组, 每组 16 只。两高氧组大鼠暴露于 60% 氧浓度中构建 BPD 模型, 温度维持于 25~26℃, CO₂ 浓度 <0.5%, 湿度 50%~70%; 两对照组大鼠暴露于空气中, 余实验条件同高氧组。造模同时, 大黄对照组及高氧+大黄组每天给予大鼠 600 mg/kg 大黄提取物混悬液灌胃 1 次, 其余两组予以等量生理盐水灌胃。

1.3 标本的采集和处理

生后第 14、21 天, 每组分别随机抽取 8 只 SD 大鼠, 行腹腔注射麻醉后, 立即打开胸腔, 分离周围组织, 暴露支气管, 结扎右支气管; 取右肺速冻于液氮中, 而后转移至 -80℃ 冰箱保存, 用于肺组织中 SOD 活性、MDA 水平的检测, 以及 RNA 和蛋白的提取; 取左肺经 4% 多聚甲醛溶液固定过夜后, 行逐级酒精脱水、透明、浸蜡、包埋制成石蜡切片 (厚 5 μ m), 用于苏木素-伊红 (hematoxylin-eosine, HE) 染色。

1.4 肺组织形态学观察

石蜡切片经 HE 染色后, 光学显微镜下观察各组大鼠肺组织形态学改变。放射状肺泡计数 (radical alveolar counts, RAC) 评估肺泡发育程度: 从呼吸性细支气管的中心, 绘制垂直线到最近的胸膜, 并且计算与该线相交肺泡数即为 RAC。每组取 8 只大鼠标本, 每个标本随机取 5 张切片, 每张切片随机观察 5 个视野。

1.5 肺组织中 SOD 活性、MDA 水平的检测

取肺组织 4℃ 匀浆制成 10% 匀浆液后, 离心取上清, BCA 法检测蛋白浓度, 遵循试剂盒说明书,

采用分光光度计法测定 SOD 活性及 MDA 水平。

1.6 肺组织中 TNF- α 、IL-6 mRNA 表达水平的检测

采用 real-time PCR 法检测 mRNA 的表达。提取肺组织 RNA 后, 采用紫外分光光度计测定 RNA 的纯度及浓度。遵循 TaKaTa 试剂盒操作说明, 行逆转录合成 cDNA 单链。TNF- α 、IL-6 以及 GAPDH 引物均由上海捷瑞生物工程有限公司设计合成, TNF- α 引物序列: 上游: 5'-GAGCATCGTAG-TTGTTGGAAT-3', 下游: 5'-CAGGTCTACTTTGG-AGTCATTG-3', 片段长度: 210 bp; IL-6 引物序列: 上游: 5'-TACTGGTCTGTTGTGGGTGGT-3', 下游: 5'-TTGCCTTCTTGGGACTGATGT-3', 片段长度: 101 bp; GAPDH 引物序列: 5'-TCTCTGCTCCTCCC-TGTTTC-3', 下游: 5'-ACACCGACCTTCACCATCT-3', 片段长度: 87 bp。反应体系 (20 μ L): 上、下游引物各 0.5 μ L, SYBR Premix Ex Taq II 10 μ L, cDNA 单链模板 2 μ L, ddH₂O 7 μ L。反应条件: 95 $^{\circ}$ C 30 s; 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 34 s, 40 个循环。于罗氏 480 仪器上行 RT-PCR 反应后收集数据, 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 相对定量法进行计算。

1.7 肺组织中 TNF- α 、IL-6 蛋白表达水平的检测

采用 Western blot 法检测蛋白的表达。提取肺组织总蛋白, BCA 法检测蛋白浓度。将蛋白与上样缓冲液以 1:4 的比例混合, 煮沸 5 min, 使其变性; 变性蛋白经电泳、转膜, 5% BSA 室温封闭 1 h, 加入一抗 (TNF- α 抗体浓度 1:500, IL-6 抗体

浓度 1:1000, GAPDH 抗体浓度 1:3000) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜; 洗膜, 再加入 HRP 标记的二抗 (抗体浓度 1:3000) 室温孵育 1 h; 洗膜, 最后经 ECL 化学发光后采集图像。利用 Image J 软件对各组条带行灰度值分析, 以目的蛋白与 GAPDH 的比值作为该目的蛋白的半定量结果。

1.8 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行统计学分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK- q 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠肺组织形态学改变

在生后第 14、21 天, 空气对照组与大黄对照组大鼠肺组织结构完整, 肺泡大小均匀, 间隔无明显破坏, 并随日龄增加, 大鼠肺形态学发育逐渐成熟。高氧模型组于生后 14 d 可见肺泡间隔厚薄不均, 肺泡数量明显减少; 于生后 21 d 可见肺组织发育进一步受阻, 肺泡数量减少的同时, 体积明显增大, 结构简单化, 形成肺大疱; 且肺组织形态学测量指标 RAC 在两时间点均明显低于空气对照组及大黄对照组 ($P < 0.01$)。相比高氧模型组, 高氧 + 大黄组大鼠肺组织病理改变于两时间点均明显减轻, RAC 也相应增加 ($P < 0.05$)。见图 1, 表 1。

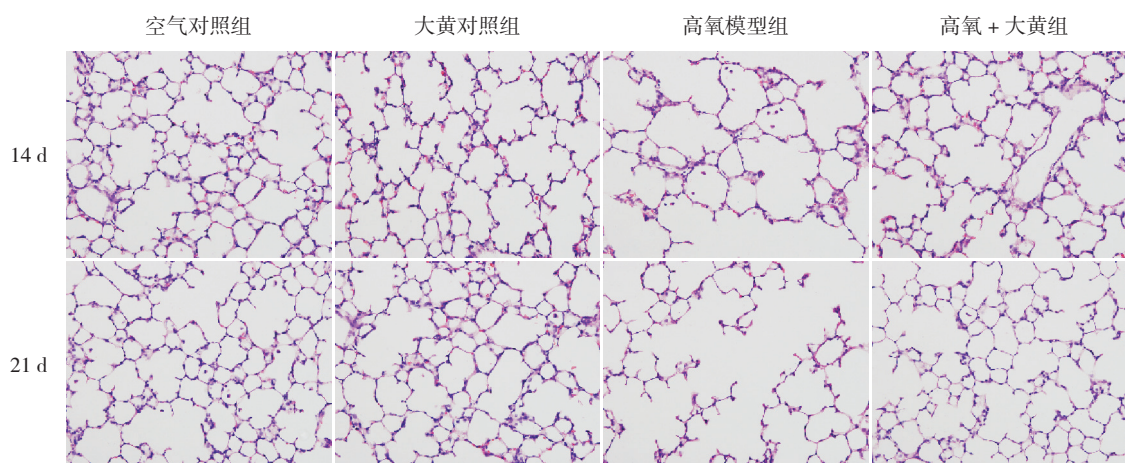


图 1 各组大鼠肺组织形态学改变 (苏木精-伊红染色, $\times 400$) 空气对照组和大黄对照组大鼠随日龄增加肺组织结构发育渐成熟, 肺泡结构完整, 间隔较薄。高氧模型组大鼠于生后 14 d 可见肺泡数量减少, 体积增大; 于生后 21 d 可见肺泡数目明显减少, 结构简单化, 肺泡壁破裂融合形成肺大疱。与高氧模型组比较, 高氧 + 大黄组病理改变显著减轻, 肺泡数目增多, 肺泡结构较完整。

表1 各组大鼠放射状肺泡计数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	放射状肺泡计数	
		生后 14 d	生后 21 d
空气对照组	8	8.5 ± 0.6	10.8 ± 2.2
大黄对照组	8	7.8 ± 1.0	10.0 ± 0.8
高氧模型组	8	5.0 ± 0.8 ^{ab}	4.8 ± 1.7 ^{ab}
高氧 + 大黄组	8	7.2 ± 1.3 ^d	9.5 ± 1.3 ^c
F 值		10.381	11.607
P 值		0.001	0.001

注: a 示与空气对照组比较, $P < 0.01$; b 示与大黄对照组比较, $P < 0.01$; c 示与高氧模型组比较, $P < 0.01$; d 示与高氧模型组比较, $P < 0.05$ 。

2.2 各组大鼠肺组织中 SOD 活性和 MDA 水平变化

与空气对照组、大黄对照组相比, 高氧模

型组大鼠生后 14、21 d 时 SOD 活性明显降低 ($P < 0.05$), MDA 水平明显升高 ($P < 0.01$)。与高氧模型组比较, 高氧 + 大黄组大鼠 SOD 活性于两时间点显著升高 ($P < 0.01$), MDA 水平显著降低 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 各组大鼠肺组织中 TNF- α 、IL-6 mRNA 和蛋白表达水平变化

在生后第 14、21 天, 空气对照组与大黄对照组 TNF- α 、IL-6 mRNA 及其蛋白表达水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与空气对照组、大黄对照组比较, 高氧模型组 TNF- α 、IL-6 mRNA 及其蛋白表达水平于两时间点均明显升高 ($P < 0.01$)。与高氧模型组比较, 高氧 + 大黄组 TNF- α 、IL-6 mRNA 及其蛋白表达水平于生后 14、21 d 时均明显降低 ($P < 0.05$)。见表 3~4, 图 2~4。

表2 各组大鼠肺组织中 SOD 活性和 MDA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SOD (U/mg)		MDA ($\mu\text{mol/g}$)	
		生后 14 d	生后 21 d	生后 14 d	生后 21 d
空气对照组	8	24.7 ± 1.2	21.6 ± 0.9	2.517 ± 0.117	1.407 ± 0.015
大黄对照组	8	25.2 ± 1.2	20.4 ± 0.9	2.353 ± 0.165	1.417 ± 0.021
高氧模型组	8	17.8 ± 1.2 ^{ab}	18.0 ± 0.5 ^{ac}	3.443 ± 0.508 ^{ab}	1.727 ± 0.047 ^{ab}
高氧 + 大黄组	8	22.0 ± 0.6 ^d	21.1 ± 1.7 ^d	2.713 ± 0.355 ^c	1.560 ± 0.070 ^d
F 值		31.536	6.659	6.519	34.671
P 值		<0.001	0.014	0.015	<0.001

注: a 示与空气对照组比较, $P < 0.01$; b 示与大黄对照组比较, $P < 0.01$; c 示与空气对照组比较, $P < 0.05$; d 示与高氧模型组比较, $P < 0.01$; e 示与高氧模型组比较, $P < 0.05$ 。[SOD] 超氧化物歧化酶; [MDA] 丙二醛。

表3 各组大鼠肺组织中 TNF- α mRNA 和蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF- α mRNA		TNF- α 蛋白	
		生后 14 d	生后 21 d	生后 14 d	生后 21 d
空气对照组	8	1.000 ± 0.000	1.020 ± 0.026	0.423 ± 0.031	0.417 ± 0.032
大黄对照组	8	1.050 ± 0.087	1.010 ± 0.085	0.246 ± 0.045	0.403 ± 0.029
高氧模型组	8	2.056 ± 0.171 ^{ab}	1.497 ± 0.031 ^{ab}	0.643 ± 0.029 ^{ab}	0.520 ± 0.030 ^{ab}
高氧 + 大黄组	8	0.983 ± 0.145 ^c	0.973 ± 0.006 ^c	0.163 ± 0.016 ^c	0.150 ± 0.010 ^c
F 值		56.841	82.701	141.365	103.484
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: a 示与空气对照组比较, $P < 0.01$; b 示与大黄对照组比较, $P < 0.01$; c 示与高氧模型组比较, $P < 0.01$ 。

表4 各组大鼠肺组织中 IL-6 mRNA 和蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-6 mRNA		IL-6 蛋白	
		生后 14 d	生后 21 d	生后 14 d	生后 21 d
空气对照组	8	1.00 ± 0.00	1.04 ± 0.04	0.36 ± 0.04	0.37 ± 0.07
大黄对照组	8	1.08 ± 0.17	1.07 ± 0.05	0.51 ± 0.06	0.44 ± 0.08
高氧模型组	8	1.62 ± 0.27 ^{a,b}	1.33 ± 0.05 ^{a,b}	0.91 ± 0.10 ^{a,b}	0.81 ± 0.12 ^{a,b}
高氧 + 大黄组	8	1.20 ± 0.16 ^d	0.87 ± 0.04 ^e	0.73 ± 0.10 ^d	0.51 ± 0.11 ^e
F 值		7.421	51.999	27.299	13.363
P 值		0.011	<0.001	<0.001	0.002

注: a 示与空气对照组比较, $P < 0.01$; b 示与大黄对照组比较, $P < 0.01$; c 示与高氧模型组比较, $P < 0.01$; d 示与高氧模型组比较, $P < 0.05$ 。

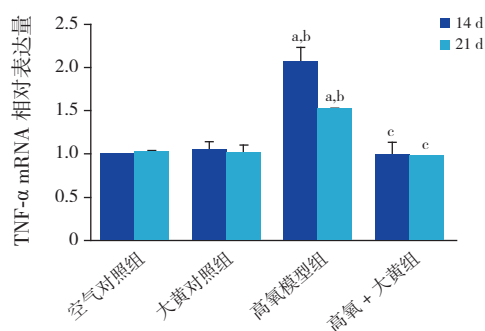


图2 各组大鼠肺组织 TNF- α mRNA 相对表达量 ($n=8$)

a 示与空气对照组比较, $P < 0.01$; b 示与大黄对照组比较, $P < 0.01$; c 示与高氧模型组比较, $P < 0.01$ 。

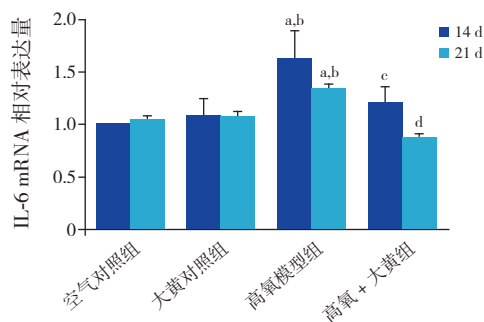


图3 各组大鼠肺组织 IL-6 mRNA 相对表达量 ($n=8$)

a 示与空气对照组比较, $P < 0.01$; b 示与大黄对照组比较, $P < 0.01$; c 示与高氧模型组比较, $P < 0.05$; d 示与高氧模型组比较, $P < 0.01$ 。

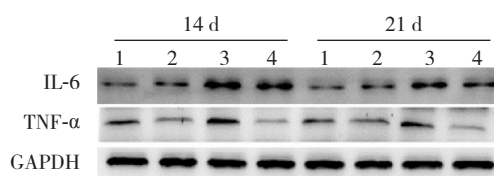


图4 Western blot 检测各组大鼠肺组织 TNF- α 和 IL-6 蛋白表达

1: 空气对照组; 2: 大黄对照组; 3: 高氧模型组; 4: 高氧 + 大黄组。

3 讨论

近年来,随着围生医学的快速发展和新生儿救治技术的不断提高,如产前糖皮质激素的使用、产后肺表面活性物质的替代治疗等,使得早产儿生存率增加的同时 BPD 的发病率也显著增加。BPD 的主要病理特征是肺泡和微血管的发育不良^[10]。有研究经过长期随访发现,生命早期肺功能发育受阻的 BPD 患儿,存活后其呼吸道对外界刺激的敏感性明显增加,且成年后更易罹患慢性阻塞性肺疾病^[11]。因此,寻求更为有效的治疗手段显得极为重要。本研究将生后 4 d SD 大鼠暴露于 60% 高氧中构建 BPD 模型,暴露于高氧后的大鼠肺组织形态出现明显异常,肺泡数目减少,体积增大,肺组织结构简单化, RAC 减少,并随时间的延长损伤加重,甚至出现肺大疱,表明高氧致新生大鼠 BPD 动物模型构建成功。经大黄干预后,上述病理损伤得到明显改善,提示大黄可减轻高氧诱导的肺损伤。

有研究认为,氧化和抗氧化系统的失衡是 BPD 的发病机制之一^[1]。MDA 是脂质过氧化的主要代谢产物,机体内 MDA 的水平作为细胞氧化损伤的一个重要检测指标,可反映组织氧化损伤的程度。SOD 是机体内主要的抗氧化酶,可以清除氧自由基,检测 SOD 的活性可以反映体内抗氧化水平^[12]。Xu 等^[13]将新生鼠暴露于 90% 高氧 14 d 后发现肺组织中 MDA 水平明显增加,而 SOD 活性及 GSH 水平明显降低。本研究同样发现,相比空气对照组,未经药物干预的高氧模型组大鼠肺组织中 SOD 活性降低,MDA 水平升高,证实高氧可通过诱导机体氧化和抗氧化的失衡引起 BPD 肺

损伤。

文献报道^[2]，在肺发育的关键时期，由感染、机械通气、氧疗等引起的肺部炎症反应可导致肺泡数量减少，结构简单化和气体交换面积的减少。TNF- α 、IL-6 是一类主要由巨噬细胞分泌的前炎症细胞因子，可介导机械通气相关性肺损伤^[14]。Hsiao 等^[15]发现，BPD 患儿生后第1天血清及气管吸出物中 IL-6 和 8-羟基-2'-脱氧鸟苷的水平明显高于正常早产儿，并且气管吸出物中两者的水平在生后第28天仍持续增加。早产儿气管吸出物中高水平的 IL-6 被认为是 BPD 的独立危险因素^[16]。本实验结果发现，高氧暴露 14 d、21 d 时大鼠肺组织中 TNF- α 、IL-6 mRNA 和蛋白的表达水平较两对照组均明显升高，提示高氧诱导 BPD 模型大鼠肺组织中出现明显的炎症反应。

大黄为常用中药，多用于治疗腹痛、便秘等临床症状。近年来越来越多的研究发现，大黄具有减轻氧化应激和炎症反应、改善微循环障碍以及维持免疫平衡等广泛的药理作用^[17]。本实验结果表明，生后 4 d SD 大鼠暴露于 60% 高氧后，肺组织发育明显受阻。与此同时，与空气对照组相比，高氧模型组大鼠肺组织中炎症细胞因子 TNF- α 、IL-6 mRNA 和蛋白的表达水平、脂质过氧化产物 MDA 水平均明显升高，抗氧化酶 SOD 活性明显降低。高氧组大鼠给予大黄后，炎症因子及氧化应激水平均明显降低，且高氧诱导的肺组织损伤也得到明显改善。

综上所述，大黄可能通过减少炎症因子水平，抑制氧化应激反应发挥 BPD 大鼠的肺组织保护作用。因此，本研究为临床大黄防治 BPD 提供了一定的实验基础。

[参 考 文 献]

- [1] Poggi C, Dani C. Antioxidant strategies and respiratory disease of the preterm newborn: an update[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014: 721043.
- [2] Shahzad T, Radajewski S, Chao CM, et al. Pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia: when inflammation meets organ development[J]. *Mol Cell Pediatr*, 2016, 3(1): 23.
- [3] Husari A, Khayat A, Bitar H, et al. Antioxidant activity of pomegranate juice reduces acute lung injury secondary to hyperoxia in an animal model[J]. *BMC Res Notes*, 2014, 7: 664.
- [4] Balany J, Bhandari V. Understanding the impact of infection, inflammation, and their persistence in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2015, 2: 90.
- [5] 郭丽纳, 孙燕妮. 大黄素对急性肺损伤保护作用研究进展[J]. *中国中医急症*, 2017, 26(4): 663-665.
- [6] Xiao M, Zhu T, Zhang W, et al. Emodin ameliorates LPS-induced acute lung injury, involving the inactivation of NF- κ B in mice[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(11): 19355-19368.
- [7] 龙勇, 姜英, 李长罗, 等. 大黄对百草枯中毒大鼠肺损伤的保护作用[J]. *中国中医急症*, 2016, 25(9): 1734-1736.
- [8] 黄铃沂, 段江, 封志纯. 支气管肺发育不良小鼠模型的建立[J]. *中国实验动物学报*, 2009, 17(3): 186-188.
- [9] Han W, Guo C, Liu Q, et al. Aberrant elastin remodeling in the lungs of O₂-exposed newborn mice; primarily results from perturbed interaction between integrins and elastin[J]. *Cell Tissue Res*, 2015, 359(2): 589-603.
- [10] 崔换金, 黄为民, 何嘉裕. 高氧暴露新生大鼠肺组织转录因子 CASZ1 的表达及其与肺微血管发育的关系[J]. *中华儿科杂志*, 2016, 54(1): 37-42.
- [11] Merritt TA, Deming DD, Boynton BR. The 'new' bronchopulmonary dysplasia: challenges and commentary[J]. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2009, 14(6): 345-357.
- [12] 王艳, 江来. 红景天苷对机械通气致小鼠急性肺损伤的保护作用研究[J]. *国际麻醉学与复苏杂志*, 2017, 38(3): 193-197.
- [13] Xu W, Zhao Y, Zhang B, et al. Resveratrol attenuates hyperoxia-induced oxidative stress, inflammation and fibrosis and suppresses Wnt/ β -catenin signalling in lungs of neonatal rats[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2015, 42(10): 1075-1083.
- [14] Bhandari V. Postnatal inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2014, 100(3): 189-201.
- [15] Hsiao CC, Chang JC, Tsao LY, et al. Correlates of elevated interleukin-6 and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in tracheal aspirates from very low birth weight infants who develop bronchopulmonary dysplasia[J]. *Pediatr Neonatol*, 2017, 58(1): 63-69.
- [16] Choi CW, Kim BI, Kim HS, et al. Increase of interleukin-6 in tracheal aspirate at birth: a predictor of subsequent bronchopulmonary dysplasia in preterm infants[J]. *Acta Paediatr*, 2006, 95(1): 38-43.
- [17] Lai F, Zhang Y, Xie DP, et al. A systematic review of rhubarb (a traditional chinese medicine) used for the treatment of experimental sepsis[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 131283.

(本文编辑: 万静)