

血必净注射液干预 cGAS/STING 通路对脓毒症急性肺损伤的改善作用

秦响英, 张力元, 唐嘉辉, 岳 孟, 寇俊萍, 张媛媛*

(中国药科大学中药学院中药药理与中医药学系, 南京 211198)

摘 要 探讨血必净注射液 (*Xuebijing* injection, XBJ) 干预 cGAS/STING 通路减轻脓毒症诱导的急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 的作用。采用盲肠结扎与穿孔 (CLP) 建立小鼠脓毒症 ALI 模型, LPS 刺激 RAW264.7 细胞构建细胞炎症模型。利用 HE 染色、ELISA 法、Western blot 等方法, 考察 XBJ 对脓毒症小鼠肺组织损伤与 cGAS/STING 通路相关蛋白表达的影响。结果发现, 在体内, XBJ 干预能够缓解肺组织损伤, 降低血清 IL-6、TNF- α 、IFN- β 、IL-1 β 水平, 肺组织 cGAS、STING、p-TBK1 和 p-IRF3 蛋白的表达。在体外, XBJ 干预后能够降低 RAW264.7 细胞相关炎症因子 mRNA 水平, 以及 cGAS/STING 通路蛋白的表达。结果表明, XBJ 能够通过抑制 cGAS/STING 通路活化, 抑制炎症反应而发挥防治脓毒症 ALI 的作用。本研究为临床 XBJ 防治脓毒症 ALI 提供新的分子机制。

关键词 脓毒症; 急性肺损伤; 血必净注射液; cGAS/STING 通路

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2025)03-0350-08

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.2024071702

引用本文 秦响英, 张力元, 唐嘉辉, 等. 血必净注射液干预 cGAS/STING 通路对脓毒症急性肺损伤的改善作用 [J]. 中国药科大学学报, 2025, 56(3): 350–357.

Cite this article as: QIN Xiangying, ZHANG Liyuan, TANG Jiahui, *et al.* Ameliorative effect of *Xuebijing* injection on acute lung injury in sepsis by interfering with cGAS/STING pathway[J]. *J China Pharm Univ*, 2025, 56(3): 350–357.

Ameliorative effect of *Xuebijing* injection on acute lung injury in sepsis by interfering with cGAS/STING pathway

QIN Xiangying, ZHANG Liyuan, TANG Jiahui, YUE Meng, KOU Junping, ZHANG Yuanyuan*

Department of Pharmacology of Chinese Materia Medica, School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Abstract To investigate the effect of *Xuebijing* injection (XBJ) on cGAS/STING pathway in alleviating sepsis-induced acute lung injury (ALI), the mouse sepsis-induced ALI model was established by cecal ligation and puncture (CLP), and the cell inflammation model was constructed by LPS stimulating RAW264.7 cells. The effects of XBJ on lung tissue injury and cGAS/STING pathway-related protein expression in septic mice were investigated by HE staining, ELISA, and Western blot. The results showed that XBJ intervention could alleviate lung tissue injury, reduce serum IL-6, TNF- α , IFN- β , IL-1 β levels, and the expression of cGAS, STING, p-TBK1, and p-IRF3 proteins in lung tissue *in vivo*, and reduce the mRNA level of related inflammatory factors in RAW264.7 cells and the expression of cGAS/STING pathway proteins *in vitro*. The results showed that XBJ could play a role in the prevention and treatment of sepsis-induced ALI by inhibiting the inflammatory response via inhibition of the activation of cGAS/STING pathway. This study provides a new molecular mechanism for the clinical prevention and treatment of sepsis-induced acute lung injury with XBJ.

Key words sepsis; acute lung injury; *Xuebijing* injection; cGAS/STING pathway

收稿日期 2024-07-17 * 通信作者 Tel: 18066099673 E-mail: yuanyuanzhang@cpu.edu.cn

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 81773971)

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81773971)

脓毒症是临床常见的危重症疾病之一, 往往导致重症监护病房患者多器官衰竭。当脓毒症发生后, 大量的促炎细胞因子被全身释放, 易导致过度炎症、多器官衰竭, 甚至死亡^[1]。在脓毒症的所有并发症中, 急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是最早和最严重的^[2]。脓毒症 ALI 是一种炎症失衡的疾病, 目前相关治疗的关键是快速有效地控制或减少其过度炎症反应^[3]。

干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)是 cGAS/STING 通路的重要下游调节剂, 可检测来自受感染病原体 and 受损宿主组织的双链 DNA(dsDNA), 从而形成 I 型干扰素(IFN)并产生严重的炎症反应, 进而加重器官损伤^[4]。在感染、细胞损伤等情况下, cGAS/STING 已成为关键炎症介质^[5]。许多研究表明, cGAS/STING 信号传导的功能异常与脓毒症 ALI 的发病机制密切相关^[6], 参与调节 NETs 介导的 ALI^[7]。因此, 干预 cGAS/STING 通路介导的炎症反应可能是治疗脓毒症诱导的 ALI 的可行策略。

血必净注射液(Xuebijing injection, XBJ)是一种中药复方注射液, 由红花、赤芍、川芎、丹参、当归组成^[8], 具有活血化瘀, 清热凉血的作用, 临床上广泛用于脓毒症的治疗。临床研究表明, XBJ 治疗可以降低脓症患者 28 d 的病死率^[9], 此外, 也可以通过减少炎性细胞因子, 缓解凝血和微循环, 改善肺炎患者症状^[10]。动物实验表明, XBJ 可通过逆转 GSDMD 相关途径来抑制 NETs 形成, 改善脓毒症诱导的 ALI^[11]。然而, XBJ 是否通过干预 cGAS/STING 通路对脓毒症 ALI 发挥保护作用尚不可知。本研究主要探讨 XBJ 干预 cGAS/STING 通路对脓毒症所致 ALI 的影响及分子机制, 为 XBJ 的临床应用提供新的依据。

1 材料

1.1 试剂

血必净注射液(天津红日药业股份有限公司); 脂多糖(LPS, 美国 Sigma 公司); 小鼠 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 IFN- β ELISA 试剂盒(上海恒远生物科技有限公司)。cGAS 和 STING 抗体(美国 Proteintech

公司), p-TBK1、p-IRF3、TBK1、IRF3(美国 Abmart 公司), β -actin 抗体(成都正能生物技术有限责任公司), 其他试剂均为市售分析纯。

1.2 仪器

NanoZoomer2.0RS 型数码病理切片扫描仪(日本 Hamamatsu 公司); Infinite200Pro 酶标仪(瑞士 Tecan 公司); 1645050 型湿法电转膜仪、凝胶成像仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 动物

ICR 小鼠, 由华创信诺(江苏)医药科技有限公司提供, 实验动物生产许可证号为 SCXK(苏)2020-0009, 雄性, 8 周龄, 体重(18~22 g)。所有动物实验均符合动物伦理委员会标准。

1.4 细胞系

小鼠单核 RAW264.7 细胞来源于 ATCC 细胞库。

2 方法

2.1 体内实验

2.1.1 动物分组与模型制备 小鼠随机分为 6 组: 假手术组(Sham)、模型组(Model)、低(1 mL/kg)、中(2 mL/kg)、高(4 mL/kg)剂量 XBJ 组和阳性对照地塞米松组(5 mg/kg)。各组小鼠于造模前禁食 12 h, 小鼠腹腔注射 1% 戊巴比妥钠(60 mg/kg)进行麻醉后, 剔除腹部毛, 消毒, 沿腹中线剪开约 1 cm 的伤口, 找到盲肠, 用 5-0 缝合线结扎 1/3 处盲肠, 20 号注射针头于结扎端穿孔, 并挤出少许粪便, 将盲肠塞回腹中, 然后用 5-0 缝合丝线间断缝合伤口, 随后皮下注射生理盐水 50 mL/kg 以抗休克, 假手术组的小鼠除了盲肠结扎和穿刺外, 其余均进行相同的操作。术后 24 h 处死小鼠, 收集静脉血和肺组织样本进行进一步分析^[12]。

2.1.2 HE 染色 取左上叶肺组织, 用 PBS 清洗, 4% 多聚甲醛固定 24 h, 经石蜡包埋, 切片, 染色后, 数字病理切片扫描仪扫描切片, 参照文献 [13] 对各组小鼠肺损伤进行评分, 评分范围为 0~4 分, 评分越高损伤越严重。

2.1.3 肺组织湿重/干重比值测定 取全肺称重记为湿重, 然后在 80 $^{\circ}$ C 的烘箱中孵育 48 h 后称重, 并记为干重, 计算湿重/干重比值。

2.1.4 ELISA 检测血清中炎症因子含量 取各组小鼠的血清样本,采用 ELISA 试剂盒检测 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IFN- β 含量,按照试剂盒说明书进行测定。

2.1.5 Western blot 检测肺组织蛋白表达 称取肺组织 100 mg,加入 RIPA 裂解液 100 μ L 进行组织研磨,4 $^{\circ}$ C 裂解 30 min,4 $^{\circ}$ C, 12 000 r/min, 10 min 离心后取上清,采用 BCA 进行蛋白定量。蛋白定量后采用 SDS-PAGE 凝胶电泳 80 V, 30 min; 120 V, 1 h, 200 mA 湿法转膜 100 min。电泳转膜结束后,5% BSA 室温封闭 2 h,加入 cGAS、STING、p-TBK1、p-IRF3、TBK1、IRF3 和 β -actin 一抗 4 $^{\circ}$ C 过夜孵育,回收一抗, TBST 洗 3 次(每次 5 min); 加入对应二抗室温孵育 2 h 后, TBST 洗 3 次(每次 5 min),使用 ECL 显影液,通过凝胶成像仪拍照。

2.1.6 免疫组化法检测肺组织 cGAS、STING 蛋白表达 取各组肺组织石蜡切片,根据免疫组化试剂盒说明书,采用进行抗原修复,封闭内源性过氧化物酶,孵育 cGAS 和 STING 抗体。经切片扫描仪拍照后,使用 Image J 软件进行统计分析。

2.2 体外实验

2.2.1 细胞培养与处理 将 RAW264.7 细胞用 10% FBS, DMEM 培养基,置于条件为 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养,待细胞密度到 80%~90% 时,进行传代。将 RAW264.7 细胞接种于培养皿,培养 12 h 贴壁后,随机分为空白对照组、模型组(LPS 组)、3 个不同剂量 XBJ 组(2, 5, 10 μ L/mL)。除空白对照组外,其余组加入 1 μ g/mL LPS 刺激 24 h。

2.2.2 RT-qPCR 待 RAW264.7 细胞经造模给药处理后,采用 TRIzol 法提取总 RNA,再严格按照反转录和荧光试剂盒说明进行逆转录和荧光定量。

2.2.3 Western blot 检测 RAW264.7 细胞相关蛋白表达 处理细胞后,随机分为空白对照、空白对照+XBJ(10 μ L/mL)、LPS、LPS + XBJ(10 μ L/mL)组,收集细胞,加入 RIPA 细胞裂解液提取蛋白,采用 BCA 进行蛋白定量,按“2.1.5”项方法进行 Western blot 检测。

2.3 统计学分析

所有数值均以 $\bar{x} \pm s$ 表示进行表述,并通过 GraphPad Prism 9 软件进行统计分析。两组数据间的差异性通过 Student's *t* 检验进行评估,而当涉及多组比较时,则首先应用单因素方差分析(One-Way

ANOVA),随后进行相应检验。 $P < 0.05$ 时,认为数据间存在统计学上的显著差异。

3 结果

3.1 XBJ 改善脓毒症 ALI 小鼠导致的肺组织损伤

通过 CLP 构建小鼠脓毒症 ALI 模型,考察 XBJ 对 CLP 小鼠肺组织损伤的影响。HE 染色结果显示,假手术组小鼠肺组织结构清晰,无明显损伤,在模型组小鼠的肺部组织中,观察到明显的组织损伤,表现为血管破裂,伴随血细胞的外渗现象,出现明显的炎性细胞浸润,支气管及血管周围局部可见明显水肿,然而给予不同剂量 XBJ(1, 2, 4 mL/kg)干预后,肺部损伤较模型组均有不同程度的减轻(图 1-A)。肺组织病理学评分结果显示,与假手术组比,模型组的病理损伤评分显著升高($P < 0.001$),而高剂量 XBJ 组能够显著降低其损伤评分(图 1-B, $P < 0.001$)。如图 1-C 所示,与假手术组比,模型组小鼠肺湿重/干重比值显著升高($P < 0.001$),给予中、高剂量 XBJ 后小鼠肺湿重/干重比值显著降低($P < 0.001$, $P < 0.001$)。如图 1-D 所示,模型组小鼠肺组织匀浆中髓过氧化物酶(MPO)活力显著增强($P < 0.001$),其中高剂量 XBJ 可显著抑制其 MPO 活力($P < 0.001$)。表明 XBJ 尾静脉注射可改善脓毒症小鼠肺组织损伤。

3.2 XBJ 降低脓毒症 ALI 小鼠血清中炎症因子水平

采用 ELISA 测定小鼠血清中炎症因子表达变化。与假手术组比,模型组小鼠血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 IFN- β 水平均显著升高($P < 0.001$),而不同剂量 XBJ 治疗后, TNF- α 和 IFN- β 水平均剂量依赖性地明显下降。IL-1 β 和 IL-6 水平在中、高剂量 XBJ 干预后均显著降低(图 2 A-D, $P < 0.001$)。结果表明 XBJ 可改善脓毒症小鼠全身炎症反应。

3.3 XBJ 抑制脓毒症 ALI 小鼠肺组织 cGAS/STING 通路活化

为了评估 XBJ 对 STING 通路的影响,采用 Western blot 和免疫组化检测 CLP 小鼠肺组织 cGAS 和 STING 的表达。在正常生理条件下,给予 XBJ 不会引起 STING 和 cGAS 表达变化,CLP 小鼠肺组织中 cGAS 和 STING 水平上调($P < 0.001$),而给予 XBJ 干预后小鼠肺组织中 cGAS($P < 0.001$)和 STING($P < 0.05$)水平明显下调(图 3-A, 图 3-B)。

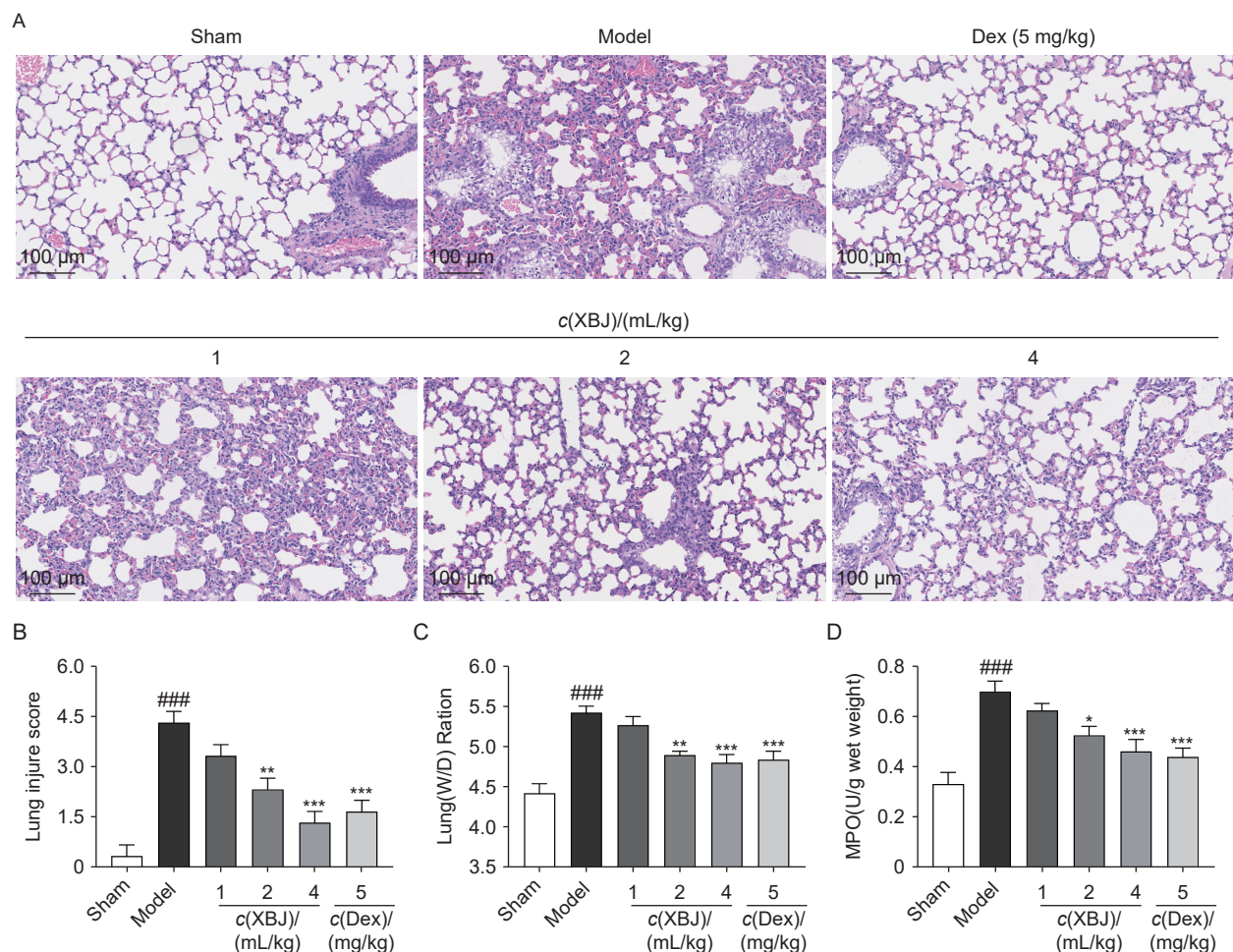


Figure 1 Xuebijing injection (XBJ) alleviates lung tissue injury caused by sepsis-induced acute lung injury (ALI) mice
 A: Histopathological changes in the lung measured by HE staining (200 ×); B: Comparison of lung injury scores ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$); C: Lung wet/dry (W/D) ratio was determined at 24 h after cecal ligation and puncture (CLP) ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$); D: Myeloperoxidase (MPO) activity in lung tissue were determined at 24 h after CLP ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)
 Dex: Dexamethasone. ^{###} $P < 0.001$ vs sham group; ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, ^{***} $P < 0.001$ vs model group

免疫组化结果与 Western blot 结果一致 (图 3-C~图 3-E)。继续考察 STING 通路下游蛋白的变化情况, 与 Sham 组比, 仅给予 XBJ 小鼠肺组织中 TBK1、IRF3 磷酸化水平无明显变化, 而 CLP 组小鼠肺

组织中 p-TBK1/TBK1 和 p-IRF3/IRF3 比值显著升高 ($P < 0.001$), XBJ 能够显著降低小鼠肺组织中 p-TBK1/TBK1 和 p-IRF3/IRF3 比值 (图 3-F~图 3-G, $P < 0.001$, $P < 0.01$)。结果表明 XBJ 可以抑制

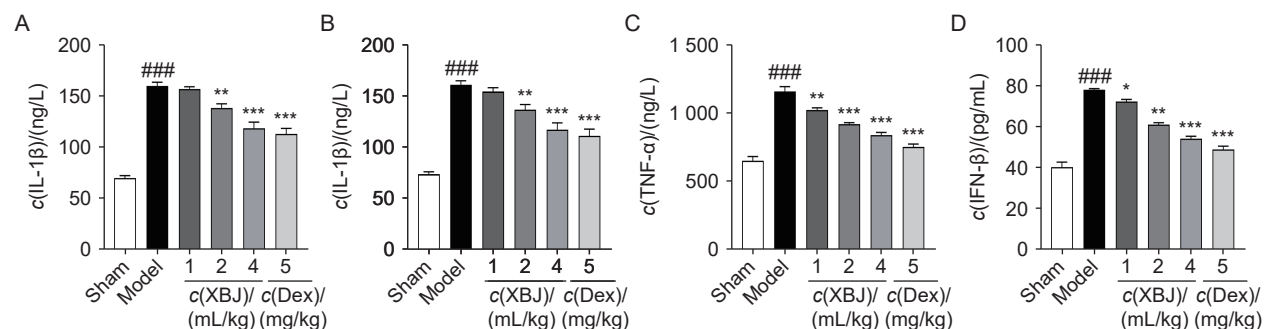


Figure 2 XBJ reduced the level of inflammatory factors in serum of sepsis-induced ALI mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)
 A-D: Levels of IL-1β (A), IL-6 (B), TNF-α (C) and IFN-β (D) of serum in CLP-induced mice were determined by ELISA
^{###} $P < 0.001$ vs sham group; ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, ^{***} $P < 0.001$ vs model group

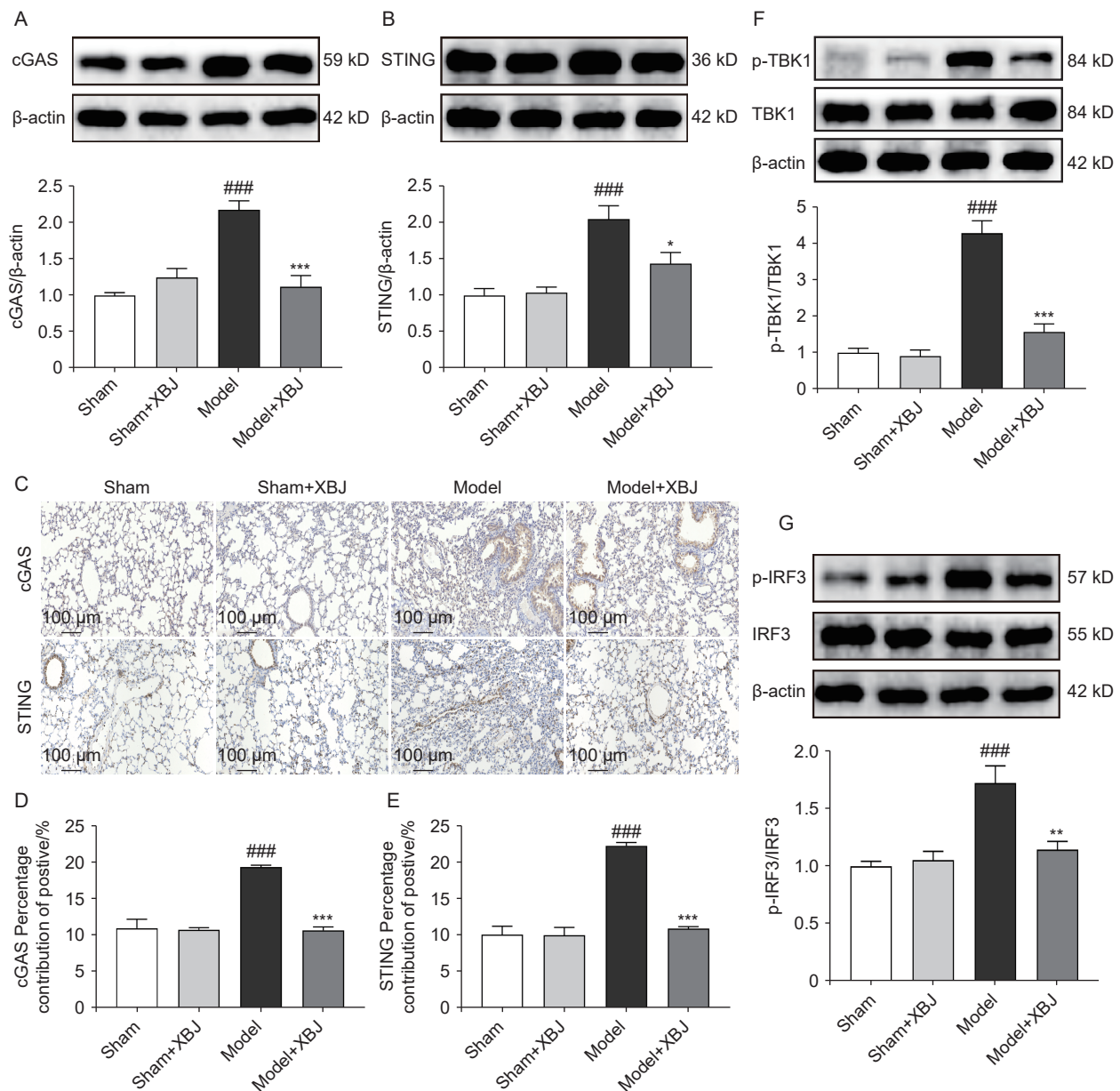


Figure 3 XBJ (4 mL/kg) inhibits cGAS/STING pathway activation in lung tissue of sepsis ALI mice

A-B: Western blot of cGAS (A), STING (B) ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$); C: cGAS and STING level in immunohistochemical staining (200 ×); D-E: Percentage contribution of positive of cGAS (D) and STING (E) was quantified by Image J ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$); F-G: Western blot of p-TBK1 (F) and p-IRF3 (G) ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

$P < 0.001$ vs sham group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs model group

cGAS/STING 通路活化。

3.4 XBJ 抑制 LPS 刺激 RAW264.7 细胞产生炎症因子

为了在体外验证 XBJ 对 LPS 刺激 RAW264.7 细胞炎症的影响, 采用 RT-qPCR 测定细胞中相关炎症因子的转录水平。LPS 刺激 RAW264.7 细胞 24 h 后, 模型组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 IFN- β mRNA 水平均显著升高 ($P < 0.001$), 不同剂量 XBJ (2, 5, 10

$\mu\text{L/mL}$) 均可显著降低 IL-1 β mRNA 水平 (图 4-A, $P < 0.01$, $P < 0.001$); 其中 XBJ (5, 10 $\mu\text{L/mL}$) 显著降低 IL-6 mRNA 水平 (图 4-B, $P < 0.001$); 而只有 XBJ (10 $\mu\text{L/mL}$) 能显著降低 TNF- α mRNA 水平 (图 4-C, $P < 0.001$); 同时 XBJ 可显著降低 IFN- β mRNA 水平, 并呈剂量依赖性 (图 4-D, $P < 0.001$)。表明在体外 XBJ 能够抑制巨噬细胞炎症因子转录。

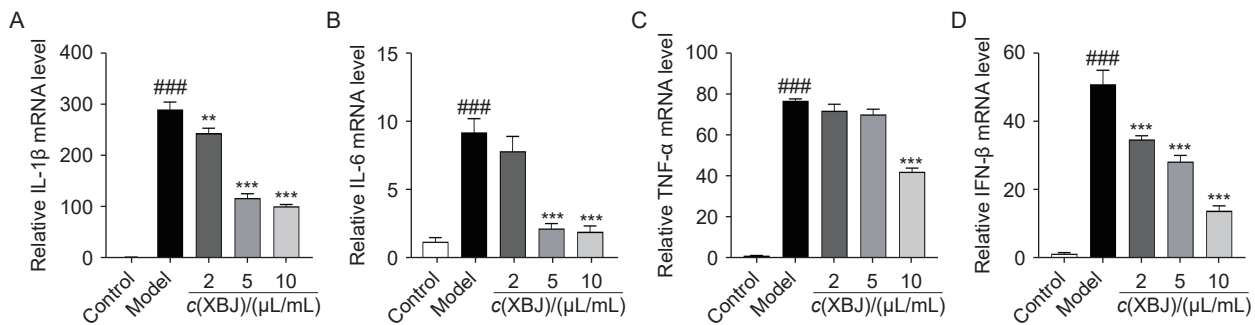


Figure 4 XBJ inhibits LPS-induced production of inflammatory cytokines in RAW264.7 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

A-D: Level of IL-1 β (A), IL-6 (B), TNF- α (C) and IFN- β (D) were determined by RT-qPCR

$P < 0.001$ vs control group; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs model group

3.5 XBJ 抑制 LPS 刺激 RAW264.7 细胞 cGAS/STING 通路活化

为了考察体外 XBJ 对 STING 通路的影响, 采用 Western blot 测定 RAW264.7 细胞相关蛋白含量的变化。给予正常培养细胞 XBJ 对 STING 通路蛋白无明显影响, 而 LPS 刺激 24 h 后, 模型组 cGAS、STING 蛋白表达量相较于对照组显著升高 ($P < 0.001$); 而相较于模型组, XBJ 给药干预后 cGAS、

STING 蛋白表达量显著降低 (图 5-A, 图 5-B, $P < 0.001$); RAW264.7 细胞正常状态下给予 XBJ 不会引起 TBK1、IRF3 磷酸化水平升高, LPS 刺激后 TBK1、IRF3 磷酸化水平相比对照组明显升高 ($P < 0.001$), 而 XBJ 给药后显著抑制了 TBK1、IRF3 磷酸化水平升高 (图 5-C, 图 5-D, $P < 0.05$, $P < 0.001$)。表明 XBJ 可抑制细胞 cGAS/STING 通路活化。

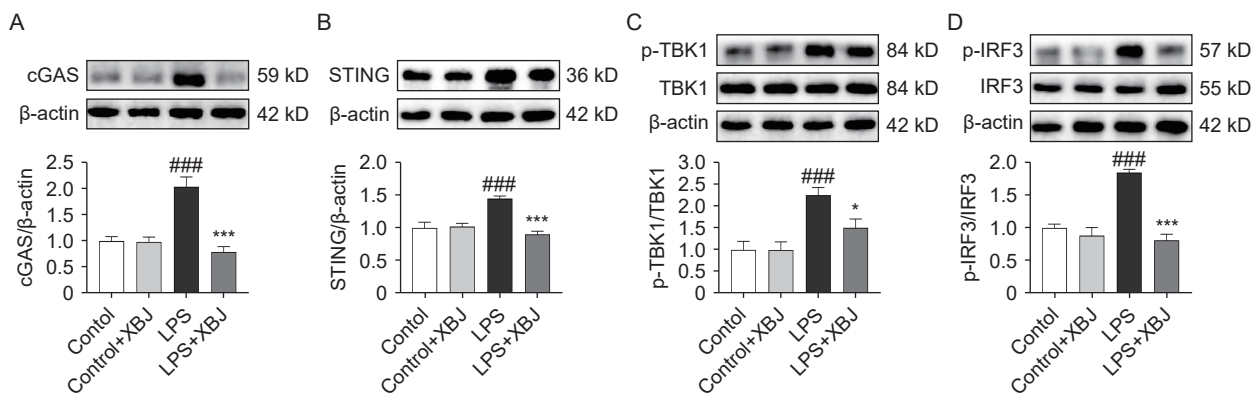


Figure 5 XBJ (10 μ L/mL) inhibited LPS-stimulated cGAS/STING pathway activation in RAW264.7 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

A: cGAS; B: STING; C: p-TBK1; D: p-IRF3

$P < 0.001$ vs control group, * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ vs LPS group

4 讨论

肺部炎症是许多呼吸系统疾病(包括 ALI)的常见病理生理特征^[14]。ALI 的主要特征是炎症因子的过度产生, 以及肺部大量的炎症细胞浸润^[15]。其中 IL-6 和 TNF- α 是最有效的炎症因子, 可触发、催化和放大全身炎症反应^[16]。此外, IFN- β 在急性气道炎症的发展中也起着重要作用^[17]。在脓毒症的早期阶段, 中性粒细胞是防御病原体的重要组成部分, MPO 活性被用作中性粒细胞活

化的指标^[18]。本研究中给予不同剂量 XBJ 干预后, 观察到小鼠肺湿重/干重比值明显下降, 表明肺水肿情况得到有效缓解。同时, 肺组织结构明显趋于完整, 炎性细胞和淋巴细胞的浸润现象减少, 肺组织中 MPO 活性也明显降低。检测血清中的炎症因子含量, 结果显示其含量显著降低, 这证实了 XBJ 在治疗脓毒症 ALI 中的积极作用。具体而言, XBJ 能够显著缓解肺肿胀, 明显改善肺部的炎症损伤, 并有效抑制 ALI 小鼠体内促炎细胞因子

的释放,从而在治疗脓毒症 ALI 方面展现出良好的疗效。

XBJ 的有效成分研究表明,复方中主要含有黄酮类、内酯类、黄酮类和酚酸类等成分^[19],其中没食子酸、绿原酸、氧化芍药苷、咖啡酸、洋川芎内酯 I 和丹酚酸 B 显示出抗凝血活性^[20]。洋川芎内酯 I 能够调节 MAPK 和 NF- κ B 通路,减少 NET 的形成来改善脓毒症诱导的 ALI^[21]。XBJ 及其有效成分原儿茶酸和丹酚酸 C 能够通过抑制足细胞炎性损伤缓解肾病综合征^[22]。但 STING 通路在 XBJ 治疗脓毒症中的作用,尚未见文献报道。因此,本文主要探讨了 XBJ 通过 cGAS/STING 通路发挥其治疗脓毒症 ALI 的作用。

本文研究结果发现,在 CLP 诱导的小鼠 ALI 模型中,肺组织的 cGAS、STING 蛋白表达显著上调, TBK1 与 IRF3 磷酸化水平升高,且血清中的炎症因子 IL-6、IFN- β 等的释放也呈现出显著增加的趋势。然而,经 XBJ 干预后,上述现象得到了明显的逆转。为了深入探究 XBJ 是否通过干预 cGAS/STING 通路来减轻细胞炎症,进而改善脓毒症 ALI,进一步在体外培养了 RAW264.7 细胞,并研究了 XBJ 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症的影响及其作用机制。结果显示,XBJ 显著抑制了细胞炎症的发生,并降低了 cGAS/STING 通路相关蛋白的表达水平以及 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 和 IFN- β 的基因水平,这与动物实验的结果相吻合。他人研究表明,在 LPS 诱导的巨噬细胞和肺组织中, mtDNA 和 STING 的表达显著上调,抑制 STING 可有效抑制 ALI 的发展^[23]。综上所述,XBJ 可能通过抑制 cGAS/STING 通路活化,从而抑制过度炎症反应,改善脓毒症 ALI 症状。

上述的研究结果丰富了 XBJ 防治脓毒症 ALI 的作用机制。然而,本研究仅对 cGAS/STING 通路进行了初步探索,对 STING 通路上游以及更深的影响机制尚未完全阐明,比如 STING 的降解。此外,XBJ 作为复方制剂,成分复杂,药效物质基础不明。鉴于此,仍需开展更为详尽和深入的实验研究来丰富和发展脓毒症 ALI 的相关理论基础,并深入挖掘 XBJ 中的药效物质,以期改善疾病预后、开发新型治疗药物提供科学依据。

References

- [1] Yang J, Wang MX, Xu YL, *et al.* Discovery of 4-oxo-N-phenyl-1, 4-dihydroquinoline-3-carboxamide derivatives as novel anti-inflammatory agents for the treatment of acute lung injury and sepsis[J]. *Eur J Med Chem*, 2023, **249**: 115144.
- [2] Shen K, Wang XJ, Wang YW, *et al.* MiR-125b-5p in adipose derived stem cells exosome alleviates pulmonary microvascular endothelial cells ferroptosis via Keap1/Nrf2/GPX4 in sepsis lung injury[J]. *Redox Biol*, 2023, **62**: 102655.
- [3] Jose RJ, Manuel A. COVID-19 cytokine storm: the interplay between inflammation and coagulation[J]. *Lancet Respir Med*, 2020, **8**(6): e46-e47.
- [4] Gulen MF, Samson N, Keller A, *et al.* cGAS-STING drives ageing-related inflammation and neurodegeneration[J]. *Nature*, 2023, **620**(7973): 374-380.
- [5] Decout A, Katz JD, Venkatraman S, *et al.* The cGAS-STING pathway as a therapeutic target in inflammatory diseases[J]. *Nat Rev Immunol*, 2021, **21**(9): 548-569.
- [6] Wu B, Xu MM, Fan C, *et al.* STING inhibitor ameliorates LPS-induced ALI by preventing vascular endothelial cells-mediated immune cells chemotaxis and adhesion[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2022, **43**(8): 2055-2066.
- [7] Zhao J, Zhen NX, Zhou QC, *et al.* NETs promote inflammatory injury by activating cGAS-STING pathway in acute lung injury[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, **24**(6): 5125.
- [8] Zhou WA, Lai XX, Wang X, *et al.* Network pharmacology to explore the anti-inflammatory mechanism of *Xuebijing* in the treatment of sepsis[J]. *Phytomedicine*, 2021, **85**: 153543.
- [9] Liu SQ, Yao C, Xie JF, *et al.* Effect of an herbal-based injection on 28-day mortality in patients with sepsis: the EXIT-SEP randomized clinical trial[J]. *JAMA Intern Med*, 2023, **183**(7): 647-655.
- [10] Guo J, Zhu J, Wang Q, *et al.* Comparative efficacy of seven kinds of Chinese medicine injections in acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a network meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Front Pharmacol*, 2021, **12**: 627751.
- [11] Shang T, Zhang ZS, Wang XT, *et al.* *Xuebijing* injection inhibited neutrophil extracellular traps to reverse lung injury in sepsis mice via reducing Gasdermin D[J]. *Front Pharmacol*, 2022, **13**: 1054176.
- [12] Pan XW, Xue LX, Zhang JZ, *et al.* *Yiqifumai* lyophilized injection attenuates sepsis-induced acute lung injury in mice[J]. *J Emerg Tradit Chin Med* (中国中医急救), 2021, **30**(7): 1129-1133,1168.
- [13] Wang YX, Yang YY, Chen L, *et al.* Death-associated protein kinase 1 mediates ventilator-induced lung injury in mice by promoting alveolar epithelial cell apoptosis[J]. *Anesthesiology*, 2020, **133**(4): 905-918.
- [14] Jiao Y, Zhang T, Zhang CM, *et al.* Exosomal miR-30d-5p of

- neutrophils induces M1 macrophage polarization and primes macrophage pyroptosis in sepsis-related acute lung injury[J]. *Crit Care*, 2021, **25**(1): 356.
- [15] Yang LY, Chen HQ, Hu QY, *et al.* Eupalinolide B attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury through inhibition of NF- κ B and MAPKs signaling by targeting TAK1 protein[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, **111**: 109148.
- [16] Chen JY, Huang YL, Bian XH, *et al.* Berberine ameliorates inflammation in acute lung injury *via* NF- κ B/Nlrp3 signaling pathway[J]. *Front Nutr*, 2022, **9**: 851255.
- [17] Sekheri M, Rizo-Téllez SA, Othman A, *et al.* Interferon- β regulates proresolving lipids to promote the resolution of acute airway inflammation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, **119**(31): e2201146119.
- [18] Shen XF, Cao K, Jiang JP, *et al.* Neutrophil dysregulation during sepsis: an overview and update[J]. *J Cell Mol Med*, 2017, **21**(9): 1687-1697.
- [19] Zuo LH, Sun Z, Hu YR, *et al.* Rapid determination of 30 bioactive constituents in *Xuebijing* injection using ultra high performance liquid chromatography-high resolution hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometry coupled with principal component analysis[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, **137**: 220-228.
- [20] Li ZY, Wang B, Sun KH, *et al.* An aggregation-induced emission sensor combined with UHPLC-Q-TOF/MS for fast identification of anticoagulant active ingredients from traditional Chinese medicine[J]. *Anal Chim Acta*, 2023, **1279**: 341799.
- [21] Zha YF, Xie J, Ding P, *et al.* Senkyunolide I protect against lung injury *via* inhibiting formation of neutrophil extracellular trap in a murine model of cecal ligation and puncture[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, **99**: 107922.
- [22] Yuan SL, Cao YW, Jiang JY, *et al.* *Xuebijing* injection and its bioactive components alleviate nephrotic syndrome by inhibiting podocyte inflammatory injury[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2024, **196**: 106759.
- [23] Wei JH, Liu ZJ, Sun HB, *et al.* Perillaldehyde ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury *via* suppressing the cGAS/STING signaling pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, **130**: 111641.