

抗菌中药筛选思路的解析及实践

陈希¹,穆祥^{2*},许剑琴^{3*}

(1. 中国兽医药品监察所,北京 100081;2. 北京农学院动物科学技术学院,北京 102206;3. 中国农业大学动物医学院,北京 100094)

[收稿日期] 2015-11-13 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2016) 02-0001-06 [中图分类号] S853.74

[摘要] 为研究防治细菌病的中药方剂及有效成分,解析了抗菌中药的筛选思路,提出了运用传统中兽医整体观念、辨证论治的理论基础进行中药筛选。以治疗动物李斯特菌病为例,根据小鼠动物模型(体内模型)的临床症状和中兽医辨证论治理论,配伍组方筛选出钩藤牛角地黄汤为治疗方剂;结合李斯特菌的致病机理,以微血管内皮细胞为基础建立细胞损伤模型(体外模型),进一步阐释组方中各单味中药及单一药物成分的作用机理,即传统中药是通过改善、调节机体细胞功能缓解细胞损伤而非如抗生素一样直接杀灭细菌。中兽药创新研究务必在传统中兽医的理论指导下选择药物,利用中药保护和调理微血管内皮细胞的形态和功能,阻断细菌毒素对微血管内皮细胞的损伤作用,为中药方剂及其有效成分治疗细菌性疾病提供思路。

[关键词] 抗菌中药;李斯特菌病;微血管内皮细胞

Screening Approach of Antimicrobial Chinese Traditional Medicine and Practice

CHEN Xi¹, MU Xiang^{2*}, XU Jian-qin^{3*}

(1. China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China; 2. College of Veterinary Medicine, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China; 3. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: In order to study the mechanism of the prevention of bacteriosis by Chinese traditional medicine, the holistic concept and syndrome differentiation in screening of antimicrobial Chinese herbs was emphasized. The therapeutic principle based on pathogenesis of listeriosis obtained through differentiation of symptoms and signs to the animal model using the theory of Chinese traditional medicine. According to the principle of removing pathogenic heat from blood and calming liver to quench endogenous wind, the best therapeutic efficacy named rhynchophylla cornus rhinoceri and rehmanniae decoction was chosen. The experiments were designed to observe the effects of the decoction and the main constituents on the proliferation and secretion of the microvascular endothelial cells (CMEC) *in vitro* on basis of the establishment of CMEC injured model. Antimicrobial Chinese traditional medicine could relieve cell damage by regulating cell function. Therefore, the innovation research of Chinese traditional medicine must be chosen according to traditional theoretical direction. Protection and regulation of CMEC from the damage of bacterial toxins was a new screening approach of antimicrobial Chinese traditional medicine.

Key words: antimicrobial Chinese traditional medicine; listeriosis; microvascular endothelial cells

作者简介: 陈希,博士,从事中兽药相关方面研究。

通讯作者: 穆祥, E-mail: muxiang1109@sina.com; 许剑琴, E-mail: jianqinxu@126.com

中国传统医学中很早就有对传染病的记载,《素问·遗篇·刺法论》言“五疫之至,皆相染易,无问大小、病状相似”。“疫”即是传染病,包括细菌性疾病。中(兽)医在几千年的临床实践中,为人畜健康起到了保驾护航的作用。利用中药来治疗传染病,具有疗效确实、应用简便等特点,并可从古人医案中得以考证。在中医理论基础指导下运用中药防治疾病具有药物残留少、毒性低、不易产生耐药性等优点而被受世人关注,从中药中寻求替代抗生素的药物已成为世界性的研究热点。

当前许多研究报道中常见的抗菌中药筛选方法是通过体外抑菌试验作为首要的判断依据,但在研究中发现体外试验与体内试验结果无法统一。这种只通过单纯体外试验筛选中药方剂及有效成分的方法,脱离了中兽医理论基础指导,失去了中兽医学整体观念、辨证论治的优势和特点。同时,就抗细菌性疾病中药研究而言,体外抑菌试验很难阐明中药方剂作用机理,也很难筛选出具有较高疗效的中药方剂及其有效成分。因此,本文以中药治疗动物李斯特菌病为例,阐释中兽药治疗动物细菌性疾病的组方思路以及抗菌中药及其有效成分的筛选原则,为抗菌中药的研发提供思路。

1 中药防治细菌病的优势及问题

1.1 中药防治细菌病的优势 中国传统医学和兽医学利用绝大部分来源于植物的中草药防治疾病已有数千年的历史,并积累了丰富的经验。因此,利用中药替代抗生素的开发研究目前已成为世界性的热点。中药及方剂治疗疾病的一个最大特点是从整体上、全方位改善机体的生理状况。同时,中药具有改善微血管内皮细胞功能从而调节微循环的作用。

随着对微循环研究的不断深入,人们发现微循环在保持人和动物机体正常生理功能以及多种疾病的发生、发展中显示了重要的地位。现已证明,微循环不单是循环系统的功能单位,而且是保证组织细胞结构和执行正常功能的重要微器官^[1],而微循环障碍是各种炎症、感染、肿瘤、损伤等危重病共

有的病理过程^[2],可进一步发展成为不可逆的全身弥漫性血管内凝血(DIC),直接威胁人和动物的生命。构成微血管内壁的内皮细胞,不但具有独特的屏障功能,并能合成和释放 20 多种细胞因子和炎症介质,进行各种信息的传导、调节细胞内环境的平衡,其在机体的凝血与抗凝、免疫应答及炎症反应调控等方面所起的重要作用已得到公认^[3]。一旦内皮细胞受损,必然会影响甚至破坏内皮细胞正常的生物学功能,可增加通透性而失去屏障功能,同时还可产生较多的促栓物质及减少抗凝物质的产生,导致局部及全身的微循环障碍,造成出血及血栓性疾病的发生。因此,临床症状的产生与微血管内皮细胞受损密切相关。

研究表明,利用中药及其有效成分可以保护和改善微血管内皮细胞功能,阻断或减轻细菌毒素(溶血素、内毒素、志贺毒素等)对微血管内皮细胞的伤害^[4-6]。中药的有效成分可以抑制肠黏膜微血管内皮细胞因子和炎性介质的过度释放,调控微血管内皮细胞的功能。中药对血管内皮细胞具有广泛的作用,所以利用中药保护和调理微血管内皮细胞的形态和功能,阻断多种细菌毒素对微血管内皮细胞的损伤,为中药防治细菌病开辟了新的思路。

1.2 针对中药研发现状需解决的问题

1.2.1 充分运用中兽医学的整体观念及辨证论治 抗生素和目前抗菌中药研发的共同思路是直接抑杀病原菌,即通过体外抑菌试验筛选抗菌药。直接抑杀病原菌的思路难以避免其固有的缺点:①病原菌和动物机体细胞在长期的共生过程中,在基因方面形成了广泛的共性,因此,在抑杀病原菌的同时,难免伤害机体细胞和体内的正常菌群。这也是抗生素存在毒副作用的重要原因之一。②致病菌与非致病菌之间并无明显的界限,已知的很多非致病菌在一定条件下可发生基因变型并表达各种致病因子(即毒素)而造成对机体的伤害。③有的中药及其成分在体外的有明显抑菌效果,但体内抗菌疗效很差;有的体外抑菌效果不明显,但治疗细菌病效果明显。例如,胡乃宝^[7]报道用地锦草、石榴

皮煎剂和菖蒲注射液对动物肠炎、下痢有良好治疗作用,但它们对大肠埃希菌体外均无抑菌作用;吴立夫等^[8]用中草药和抗生素进行的对比试验表明中草药体外试验,几乎没有抑菌作用,但治疗大肠埃希菌引起的仔猪黄白痢的效果很好。另一方面,某些中药或其主要成分即使在体外有较好的抑菌效果,但在动物体内远远达不到体外的抑菌浓度^[9-10]。张涛等^[11]研究表明多种中药主要成分在组织液中检测到的浓度远远低于其体外最小抑菌浓度,组织液中如此低的浓度值不可能起到抑杀病原微生物的作用。

中药的“抑菌”作用不像抗生素那样是直接作用于细菌而将其杀死。中药若不在中医的理论指导下应用,运用这种方法筛选中药就会导致中药西化,最终失去了中医学整体观念、辨证论治的自身优势,显然就不能称之为中药。对于抗细菌性疾病中药的研究而言,体外抑菌试验很难阐明中药方剂作用机理,同时也很难筛选出具有较高疗效的中药及方剂。因此,应在中兽医的理论指导下,通过传统中兽医辨证论治,建立动物疾病证候模型,筛选出具有临床效果的方剂,可避免中药西化问题。

1.2.2 构建中药成分方剂 针对中药方剂难于质量认证和国际推广问题的解决办法,可通过构建中药成分方剂。因受中草药采收季节、地域的限制,中草药本身的质量和有效成分相差悬殊,因而制成的产品难以进行准确的药效评定和有效的质量控制,致使中草药的使用难免出现偏差,治疗效果不稳定,严重影响中药的大规模临床应用。

根据临床筛选出的中药方剂,针对上述问题,选取方剂中单味中药已知确定成分,分别观察这些药物活性成分对细胞损伤模型的调节作用,以此为依据筛选出方剂中的有效成分,最终构建出中药有效成分方剂。这就解决了中药成分复杂,难以控制中药质量与国际接轨的问题。

2 以治疗李斯特菌病为例的中药筛选思路及实践

2.1 李斯特菌病的防治现状及存在问题

2.1.1 抗生素的应用

抗生素治疗是当今防治细

菌性疾病包括李斯特菌病的主要措施。目前,治疗李斯特菌病的方法是使用抗生素^[12-14],长期的抗生素治疗已经导致多种耐药菌株的出现。据资料显示,自1988年首次报道产单核细胞李斯特菌(*L. monocytogenes*, LM)的四环素耐受株以来,不断从食品、环境及人李斯特菌病散发病例中分离到对一种或多种抗生素耐受的LM^[15]。在李斯特菌病的常用药物中,已先后发现对甲氧苄啶、链霉素、红霉素、庆大霉素等多种抗生素的耐药性^[13,16-17]耐药菌株的感染导致治疗困难,治疗期延长,直接医疗负担加重,病人/畜死亡率增加,对动物及人类健康构成了威胁。李斯特菌病是一种新出现的食源性疾病,在过去10年间发生的多起暴发都与食物污染有关。耐药性LM的出现给食品安全带来了潜在危害,表现为食源性致病菌谱进一步复杂化,对应的预防控制也更加困难。

此外,LM的耐药基因有可能在各种食源性致病菌中传递,造成食源性致病菌普遍耐药的局面,这无疑将会给食品安全管理、临床治疗带来困难^[15]。除了滥用抗生素导致的耐药性问题以外,长期大量使用抗生素还造成药物残留,使畜产品质量降低,阻碍了我国畜产品走入国际市场。另外,抗生素可能沉积到动物机体各重要的组织器官,造成机体免疫力下降,使得人和动物的慢性病增多,一些可以形成终生坚强免疫的疾病频频复发。

2.1.2 疫苗的应用 由于LM的血清型较多,而且主要的免疫应答是细胞免疫。因此,至今尚无有效的疫苗应用于临床。研究证明,缺失LLO表达基因的弱毒株并不能引起宿主免疫保护^[17]。

2.1.3 产单核细胞李斯特菌的生物学特性及致病机理 产单核细胞李斯特菌/产单核细胞李氏杆菌/单核细胞增生李斯特菌(LM)是李氏杆菌属的代表种,对人、家畜、家禽、野生动物均有侵袭力,能引起人和多种畜禽的李斯特菌病。亦可寄生在蜚、蝇、昆虫、鱼及甲壳动物体内,存在于河水、污泥、屠宰场弃物、青贮料、奶及其制品中^[18]。李氏杆菌分布甚广,几乎世界各地均有报道。LM具有13个血

清型,其中最为常见的是4b和1/2a型^[19]。

自然条件下,LM可使牛、羊、猪、禽等动物发病,引起急性败血症、孕畜流产、结膜炎、化脓性脑炎、肝、脾等器官呈现多发性坏死病灶和脓肿等病变。实验动物中以家兔和小鼠对LM的易感性最强。目前已证实LM可感染40多种动物^[20]。LM具有兼性胞内寄生的生活特性,不仅能在巨噬细胞和单核细胞内存活和繁殖,还能突破肠黏膜屏障、血胎屏障和血脑屏障,在肝细胞、内皮细胞及成纤维细胞等多种细胞内存活并繁殖。因此,LM被认为是最具感染力的细菌之一,其具有穿入细胞并在细胞内增殖而不被吞噬细胞吞噬的特性。

LM细胞内寄生依赖于主要毒力因子溶血素(listeriolysin, LLO)的分泌,感染通常开始于食用了LM污染的食物。通过淋巴循环和血液循环到达脾脏和肝脏,可通过血流从肝细胞到达大脑及胎盘^[21~22]。在自然感染时,最主要的特征是入侵中枢神经系统和胎盘。

2.1.4 李斯特菌病与LLO诱导的微血管内皮损伤密切相关 LLO是LM的最主要毒力因子^[23],通过分泌LLO,LM可侵入多种宿主细胞,包括上皮细胞、肝实质细胞、成纤维细胞、内皮细胞、甚至巨噬细胞。在自然感染时,最主要的特征是入侵中枢神经系统和胎盘。因此,循环系统内的LM必须通过与血管内皮细胞作用穿过血脑屏障和胎盘屏障^[24]。同时,微血管内皮细胞沿血液流动的方向,不仅构成了血脑屏障,也构成了肝、肾等其它组织器官内血液与组织间的主要屏障。因此,LM引起各组织器官的损伤首先要通过微血管内皮细胞并与其发生作用,如伤害肝脏必须通过由微血管内皮细胞组成的窦状隙。目前,国外已有报道表示通过体外细胞试验(人脑微血管内皮细胞、人脐静脉内皮细胞)证实了LM对血管内皮细胞的刺激与损伤^[25~26]。

2.2 治疗李斯特菌病的中药筛选

2.2.1 通过动物模型的建立进行中药方剂筛选

以昆明小鼠为实验动物,通过灌服LM途径,感染

小鼠出现皮肤发红,有明显出血斑;羞明流泪,睛生翳障,头面部浮肿;站立不稳,肢体麻木;项背强直,头颈歪斜,圆圈运动等症状。可依据临床症状和中兽医卫气营血辨证理论,本病属于热邪入营血分证,即肝火上炎、肝阳化风的表现。可以清热凉血、清肝泻火解毒、平肝熄风为治则,从临床治疗李斯特菌病的13个中药方剂中筛选出一个治疗效果最佳的中药方剂,即由犀角地黄汤加减形成的钩藤牛角地黄汤(钩藤、水牛角、丹皮、赤芍、生地组方)。

由中兽医学理论可知,犀角地黄汤属清营凉血方,具有清热解毒、凉血散瘀功效,主治热入血分证。LM所致的小鼠动物模型辨证恰为热毒炽盛于血分所致,其症状与本方治疗范围对应。体温升高、神经症状可视为热毒攻心,热扰心神;皮肤出血斑、脏器充血、有坏死可判断为该病热邪迫血妄行,使血不循经而致;肝开窍于目,羞明流泪说明该病可能是肝风内动、肝火上炎所致。治则以清热解毒为基础,配以凉血散瘀、平肝熄风定惊为辅。

方用苦咸寒之犀角(水牛角代替)为君,凉血清心而解热毒,使火平热降,毒解血宁。臣以甘苦寒之生地,凉血滋阴生津,既能助水牛角清热凉血,又能止血;还可补已失之阴血。用苦微寒之赤芍与辛苦微寒之丹皮共为佐药,有清热凉血,活血散瘀的作用,另加钩藤为辅,平肝息风、定惊。五药相配,组成清热解毒,凉血散瘀、平肝熄风之剂。本方配伍特点是凉血与活血散瘀、平肝熄风并用,使热清血宁而无耗血动血之虑,凉血止血又无冰伏留瘀之弊,平肝而定惊,在实际应用中效果理想。通过对体重、体温、血象,死亡率,剖检及病理组织学等指标的观察,进一步确定了钩藤牛角地黄汤治疗小鼠李斯特菌病的作用效果^[27]。

2.2.2 从微血管内皮细胞角度阐释中药及其有效成分作用机理 研究表明,LM是通过其主要致病因子LLO作用于内皮细胞,导致细胞因子变化而产生致病作用^[24]。李斯特菌病与微血管内皮细胞受损而造成的微循环障碍有着密切的关系。因此,通过研究中药方剂及其有效成分抗LLO致内皮细胞

伤害的机理,就可以筛选出能够有效治疗 LM 及其他细菌溶血素所致疾病的非抗生素药物。

根据李斯特菌的致病机理,进一步以微血管内皮细胞为基础建立细胞模型,探讨了李斯特菌主要毒力因子 LLO 对大鼠肠黏膜微血管内皮细胞(RIMVECs)增殖活性及细胞因子(如 NO、ET-1)分泌功能的影响,以及钩藤牛角地黄汤及其主要成分(钩藤碱、异钩藤碱^[28]、硫酸软骨素^[29]等)抗 LLO 致 RIMVECs 损伤的作用,旨在从调节微血管内皮细胞功能方面,揭示中药治疗李斯特菌病的作用机制。阐释组方中各单味中药以及单一成分对该菌造成的细胞损伤的作用机理,最终探寻该方剂所含有效成分并构建中药成分方剂。

3 抗菌中兽药的研究思路

3.1 抗菌中药与西药的研究思路差异 利用中药防治动物疾病的效果是确定无疑的,中药防治细菌性疾病与抗生素及疫苗的作用有本质的差别,主要体现在以下几方面:①中药对病原微生物的作用特异性较差,但作用面较广,主要是通过提高动物机体防御机能实现防治疾病的目的;②绝大多数中药不能直接作用于病原微生物,但当这些中药及其主要成分被动物机体吸收后,可转化为具有显著抑菌作用的活性物质,或刺激机体产生灭菌或抗菌物质;③西方兽医学在治疗中侧重于辨病,然后对病用药,而祖国传统兽医学在治疗中侧重于整体观念,进行辨证论治。总之,中药在防治动物疾病方面的特点主要体现在提高动物机体自身的抗病能力和提高机体非特异性免疫能力方面。

3.2 抗菌中药的筛选原则 中兽药创新研究务必在传统中兽医的理论指导下选择药物,单纯的体外抑菌试验无法解释中药作用机理,同时也很难筛选出具有较高疗效的中药及方剂。因此,我们应通过传统中兽医辨证论治的方法,根据动物病理模型的证候,筛选出具有临床效果的方剂,而后进一步对单味中药及其有效成分进行筛选研究。

正如诺贝尔奖获得者屠呦呦在题为《青蒿素的发现中国传统医学对世界的礼物》的演讲中所说,

“中国医药学是一个伟大宝库,应当努力发掘,加以提高。”如何科学、合理的开发利用中药,已经成为当下的研究热点。本文通过解析中药方剂及其有效成分治疗动物李斯特菌病的研究思路为中药治疗细菌病乃至其他疾病提供了一种新的研发思路,即以祖国传统兽医学整体观念、辨证论治的观念为指导原则,通过中药改善微循环和保护微血管内皮细胞角度防治细菌病,对中药方剂的科学创新具有一定意义。

致谢:中国兽医药品监察所刘业兵处长从文章的选题、结构的梳理、用词表达的准确等各个方面都给予了很多帮助,在本文的写作及修改中倾注了大量精力。同时,巩忠福研究员在文章的写作中提出了很多有意义的观点和建议。作者在此表示衷心的感谢!

参考文献:

- [1] 修瑞娟. 微循环——微妙的生命源泉[J]. 微循环学杂志, 1997, 7(1): 1-3.
- [2] 吴熙, 张寿斌. 超微量肝素疗法在微循环障碍中的临床与实验研究[J]. 江西医药, 1998, 33(2): 69-73.
- [3] 周向东. 内毒素致肺血管内皮细胞粘附中性粒细胞增加的机理研究[J]. 中国免疫杂志, 1996, 12(2): 116-118.
- [4] 索占伟. 小檗碱抗大肠埃希菌致血管内皮细胞损伤的初探[D]. 中国农业大学硕士学位论文, 北京: 中国农业大学图书馆, 2004.
- [5] 段慧琴. 白头翁汤主要成分对内毒素诱导的 RIMEC 分泌功能及黏附分子表达失调的影响[D]. 中国农业大学博士学位论文, 北京: 中国农业大学图书馆, 2005.
- [6] 张涛. 清热中药三种主要成分主要作用对象的初探[D]. 河北农业大学硕士学位论文, 河北农业大学图书馆, 2005.
- [7] 胡乃宝. 三种中药方剂抑菌试验报告[J]. 中兽医学杂志, 1994, 1: 6.
- [8] 吴立夫, 邹玉明, 徐昌林. 中草药与抗菌药对产毒性大肠杆菌抑菌作用和对仔猪黄、白痢疗效的比较[J]. 畜牧与兽医, 1998, 30: 107-109.
- [9] 杜爱芳, 胡松华. 公英泻痢杀对仔猪腹泄的防治作用[J]. 中兽医学杂志, 2001, 3: 16-17.
- [10] 吴立夫. 中药抗菌作用辨析[J]. 中国兽医杂志, 2002, 38:

- 59-61.
- [11] 张 涛, 穆 祥, 黄会岭. 微血管内皮细胞在中医学研究中的地位探讨[J]. 中国中医基础医学杂志, 2005, 11: 391-393.
- [12] Nichterlein T, Bornitz F, Kretschmar M, *et al.* Successful treatment of murine listeriosis and salmonellosis with levofloxacin[J]. J Chemother, 1998, 10(4): 313-319.
- [13] Charpentier E, Courvalin P. Antibiotic resistance in *Listeria* spp[J]. Antimicrobial Agents Chemotherapy, 1999, 43: 2103-2108.
- [14] Sipahi O R, Turhan T, Pullukcu H, *et al.* Moxifloxacin versus ampicillin + gentamicin in the therapy of experimental *Listeria monocytogenes* meningitis[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2008, 61(3): 670-673.
- [15] 李迎慧, 冉 陆. 李斯特菌的耐药性及耐药基因[J]. 国外医学卫生学分册, 2004, 31(2): 120-124.
- [16] Mei L L, Lu L Q, Zhu M, *et al.* Serum type and drug resistance of *Listeria monocytogenes* in food[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2006, 16(10): 1165-1166.
- [17] Yang Y, Fu P, Guo Y C, Liu X M. Analysis of antibiotic susceptibility of foodborne *Listeria monocytogenes* in China[J]. Journal of Hygiene Research, 2008, 37: 183-186.
- [18] 陆承平. 兽医微生物学[M]. 第三版. 北京: 中国农业出版社, 2001: 302-304.
- [19] Buncic S, Avery M S, Rocourt J. Can food-related environmental factors induce different behavior in two key serovars, 4b and 1/2a, of *Listeria monocytogenes*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2001, 65(3): 201-212.
- [20] 李 郁, 魏建忠, 王桂军. 产单核李斯特菌的研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(8): 1018-1020.
- [21] Czuprynski J C, Faith G N, Steinberg H. A/J mice are susceptible and C57BL/6 mice are resistant to *Listeria monocytogenes* infection by intragastric inoculation[J]. Infection and Immunity, 2003, 71(2): 682-689.
- [22] 朱其太. 动物李氏杆菌病[J]. 中国兽医杂志, 1999, 25(1): 38-40.
- [23] 骆学农, 曹晓瑜, 才学鹏. 单核细胞增生李斯特菌溶血素的研究进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2009, 25(9): 895-898.
- [24] Kayal S, Lilienbaum A, Poyart C. Listeriolysin O-dependent activation of endothelial cells during infection with *Listeria monocytogenes*: activation of NF- κ B and upregulation of adhesion molecules and chemokines[J]. Molecular Microbiology, 1999, 31(6): 1709-1722.
- [25] Greiffenberg L, Goebel W, Kim K S. Interaction of *Listeria monocytogenes* with human brain microvascular endothelial cells: an electron microscopic study[J]. Infection and Immunity, 2000, 68(6): 3275-3279.
- [26] Skalka B, Smola J, Elischerova K. Routine test for *in vitro* of pathogenic and apathogenic *Listeria monocytogenes* strains[J]. J Clin Microbiol, 1982, 15: 503-507.
- [27] 徐 亮, 陈 希, 胡 格, 等. 中药方剂治疗单核增生李氏杆菌病研究初报[J]. 中国农学通报, 2007, 7: 77-79.
- [28] Chen X, Mu X, Xu J Q, *et al.* Effects of rhynchophylline and isorhynchophylline on nitric oxide and endothelin-1 secretion from RIMVECs induced by listeriolysin O *in vitro*[J]. Veterinary Microbiology, 2010, 143: 262-269.
- [29] 陈 希, 穆 祥, 许剑琴. 硫酸软骨素对 LLO 诱导大鼠肠黏膜微血管内皮细胞分泌 NO/ET-1 的影响[J]. 中国兽药杂志, 2015, 49(11): 25-29.

(编辑:李文平)