

• 论著 •

胆碱能抗炎通路对大鼠呼吸机相关性肺损伤的影响

汪涛 肖军 李金泽 钟荣 何正兵 李召辉

【摘要】 目的 研究胆碱能抗炎通路对呼吸机相关性肺损伤(VILI)的影响。**方法** 36 只 SD 大鼠按随机数字表法分为自主呼吸对照组、机械通气组、烟碱治疗组,每组 12 只。采用大潮气量(V_T)通气制作大鼠 VILI 模型。于机械通气前 10 min 腹腔注射烟碱生理盐水 2 mg/kg,其余两组注射等量生理盐水。各组大鼠均行血流动力学和动脉血气监测;通气 2 h 处死大鼠取肺组织,测定肺湿/干重(W/D)比值和髓过氧化物酶(MPO)活性,采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定支气管肺泡灌洗液(BALF)中白细胞介素-8(IL-8)含量及肺组织匀浆细胞间黏附分子-1(ICAM-1)含量;苏木素-伊红(HE)染色观察肺组织病理改变,按修改后弥漫性肺泡损伤评分系统(DAD)进行评分。**结果** 机械通气期间,机械通气组和烟碱治疗组动脉血 pH 值呈升高趋势,动脉血氧分压(PaO_2)、动脉血二氧化碳分压($PaCO_2$)、平均动脉压(MAP)均呈下降趋势。机械通气 2 h,烟碱治疗组 PaO_2 (mm Hg, 1 mm Hg=0.133 kPa)显著高于机械通气组(85 ± 4 比 76 ± 3 , $P < 0.05$)。机械通气组肺 W/D 比值和 MPO 活性显著高于对照组[W/D 比值: 5.66 ± 0.33 比 4.53 ± 0.21 , $P < 0.01$; MPO (U/g): 1.73 ± 0.50 比 0.89 ± 0.17 , $P < 0.05$];烟碱治疗组肺 W/D 比值(5.02 ± 0.37)和 MPO 活性(1.11 ± 0.33)显著低于机械通气组(均 $P < 0.05$)。与对照组比较,机械通气组和烟碱治疗组 DAD 评分(分: 10.40 ± 1.85 , 7.90 ± 1.67 比 1.60 ± 1.20)、IL-8 (ng/L: $1\ 625.3 \pm 271.7$, 965.5 ± 310.5 比 428.5 ± 120.6)及 ICAM-1 ($\mu\text{g/L}$: 589.4 ± 87.5 , 452.5 ± 89.3 比 247.5 ± 73.7)显著升高(均 $P < 0.01$),但烟碱治疗组各指标明显低于机械通气组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论** 胆碱能抗炎通路可抑制 VILI 大鼠肺组织中 IL-8、ICAM-1 的表达,减少中性粒细胞在肺内的黏附与渗出,从而减轻肺损伤。

【关键词】 胆碱能抗炎通路; 烟碱; 呼吸机相关性肺损伤; 白细胞介素-8; 细胞间黏附分子-1

Effects of cholinergic anti-inflammatory pathway on ventilator-induced lung injury in rats WANG Tao, XIAO Jun, LI Jin-ze, ZHONG Rong, HE Zheng-bing, LI Zhao-hui. Intensive Care Unit, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin 541001, Guangxi, China

Corresponding author: XIAO Jun, Email: Junx688@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To investigate the effects of cholinergic anti-inflammatory pathway on ventilator-induced lung injury (VILI) in rats. **Methods** Thirty-six healthy Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into three groups: control group, in which rats did not receive ventilation; high-tidal volume (HV_T) ventilation group; nicotine treatment (HV_T + nicotine) group, in which rats received intraperitoneal injection of nicotine (2 mg/kg) 10 minutes before HV_T ventilation; equal amount of normal saline was given to rats in other two groups. A rat model of VILI was reproduced by volume-controlled mechanical ventilation with HV_T . Hemodynamic parameters were measured throughout the study period. Arterial blood gases were measured every 1 hour. After maintaining ventilation for 2 hours, rats were sacrificed and lung tissue specimens were harvested. Lung wet-dry weight ratio (W/D) and myeloperoxidase (MPO) activity were measured. Interleukin-8 (IL-8) level in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) level in lung tissue homogenate were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), respectively. After hematoxylin and eosin (HE) staining, pathological examination of lung tissue was performed, and diffuse alveolar damage (DAD) score was estimated. **Results** Mean pH of arterial blood in HV_T group and HV_T + nicotine group tended to be higher than the baseline value during the ventilation. Mean partial pressure of oxygen in arterial blood (PaO_2), mean partial pressure of carbon dioxide in arterial blood ($PaCO_2$), and mean arterial pressure (MAP) in HV_T group and HV_T + nicotine group were lower than baseline value during the ventilation. Mean PaO_2 (mm Hg, 1 mm Hg = 0.133 kPa) in HV_T + nicotine group was significantly higher than that in HV_T group after 2 hours of ventilation (85 ± 4 vs. 76 ± 3 , $P < 0.05$). Mean W/D ratio and mean MPO activity in HV_T group were significantly higher than those in control group [W/D ratio: 5.66 ± 0.33 vs. 4.53 ± 0.21 , $P < 0.01$; MPO (U/g): 1.73 ± 0.50 vs. 0.89 ± 0.17 , $P < 0.05$]. Mean W/D ratio (5.02 ± 0.37) and mean MPO activity (1.11 ± 0.33) in HV_T + nicotine group were significantly lower than those in HV_T group (both $P < 0.05$). Compared with control group, DAD scores in HV_T group and HV_T + nicotine group (10.40 ± 1.85 , 7.90 ± 1.67 vs. 1.60 ± 1.20), IL-8 concentration (ng/L: $1\ 625.3 \pm 271.7$, 965.5 ± 310.5 vs. 428.5 ± 120.6) and ICAM-1 concentration ($\mu\text{g/L}$: 589.4 ± 87.5 , 452.5 ± 89.3 vs. 247.5 ± 73.7) were significantly higher (all $P < 0.01$). But DAD score, IL-8 concentration, ICAM-1 concentration in HV_T + nicotine group were significantly lower than those in HV_T group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** Activation of cholinergic anti-inflammatory pathway can protect the lung against VILI by suppressing IL-8 and ICAM-1 expression,

inhibiting neutrophil aggregation and infiltration.

【Key words】 Cholinergic anti-inflammatory pathway; Nicotine; Ventilator-induced lung injury; Interleukin-8; Intercellular adhesion molecule-1

呼吸机相关性肺损伤(VILI)是肺功能严重受损患者行机械通气治疗时的常见并发症。VILI的致病机制可能包括异常机械力导致肺组织应力损伤和异常机械力通过力信号转导机制激活细胞内信号转导通路引起炎症基因表达,释放大量的促炎因子,导致白细胞在肺内大量黏附、渗出,炎症介质释放,造成生物伤^[1-3]。胆碱能抗炎通路(CAP)是新近发现的神经-免疫调节通路,它的激活可以有效减少多种促炎因子的释放,对全身和局部炎症均具有明显的抑制作用,其抗炎作用主要依赖于含 $\alpha 7$ 亚单位的烟碱型乙酰胆碱受体($\alpha 7nAChR$)的激活^[4]。本实验中应用 $\alpha 7nAChR$ 激动剂烟碱作用于VILI大鼠模型,研究CAP对VILI的保护作用及可能机制,为VILI临床防治提供新思路 and 实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与试剂:36只健康成年雌性SD大鼠,体重0.21~0.24 kg,由桂林医学院动物中心提供(动物合格证号:SCXK2007-0001)。白细胞介素-8(IL-8)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)酶联免疫吸附法(ELISA)检测试剂盒(购自上海西唐生物科技有限公司),髓过氧化物酶(MPO)检测试剂盒(购自南京建成生物工程研究所),烟碱(购自上海晶纯试剂有限公司,批号:9497)。

1.2 动物分组与VILI模型制备:按随机数字表法将大鼠分为自主呼吸对照组、机械通气组、烟碱治疗组,每组12只。左颈总动脉置管,连续有创平均动脉压(MAP)监测(监护仪为德国Philips公司产品),并采集动脉血标本;行气管切开插入气管导管,稳定30 min。机械通气前10 min,烟碱治疗组腹腔注射烟碱生理盐水溶液2 mg/kg;对照组、机械通气组给予等量生理盐水。连接Avea全功能呼吸机(熊牌,美国VIASYS公司)给予容量控制通气,潮气量(V_T)25 ml/kg,呼吸频率40次/min,吸/呼比(I:E)为1:2,呼气末正压(PEEP)为0。通过预实验已确定调节体外死腔量为0.26 ml可以维持大鼠动脉血pH值在7.30~7.45;对照组未行机械通气。机械通

气组和烟碱治疗组均于机械通气2 h后放血处死大鼠,采集标本。本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 MAP及动脉血气监测:连续监测MAP;分别于机械通气前及通气1 h、2 h采集动脉血0.3 ml进行血气分析。采血后立即快速推注等量生理盐水以补充血容量。

1.3.2 肺组织病理学观察:处死大鼠后,在机械通气吸气末,用动脉夹夹闭主气管保持肺膨胀状态,结扎大鼠右主支气管及右肺前叶支气管,取右肺前叶,经甲醛水溶液固定,石蜡包埋切片,苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察并摄片。按修改后弥漫性肺泡损伤评分系统(DAD)进行评分^[5],根据肺泡内纤维素渗出、肺泡内出血、肺间质水肿、肺泡内中性粒细胞聚集、肺间质内中性粒细胞聚集5个参考因素,按正常、轻、中、重分别评为0、1、2、3分,各项参数评分之和为DAD评分。

1.3.3 肺含水量测定:取右肺中叶及右肺副叶肺组织,称重后置80℃烘箱内,烘烤48 h至恒重,计算肺湿/干重(W/D)比值。

1.3.4 支气管肺泡灌洗液(BALF)中IL-8浓度测定:行左肺肺泡灌洗,回收BALF,离心取上清液,采用双抗体夹心ELISA法检测BALF中IL-8含量。操作按试剂盒说明书进行。

1.3.5 肺组织MPO、ICAM-1水平测定:取右肺后叶制作组织匀浆,离心取上清液,采用比色法测定MPO活性,双抗体夹心ELISA法检测ICAM-1浓度,操作均严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学方法:数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用SPSS 16.0软件对数据进行单因素方差分析和 q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 烟碱对VILI大鼠动脉血气及MAP的影响(表1):3组机械通气前动脉血气及MAP差异均无统计学意义。机械通气期间,机械通气组和烟碱治疗组动脉血pH值均呈升高趋势,动脉血氧分压(PaO_2)、动脉血二氧化碳分压($PaCO_2$)、MAP均呈下降趋势;通气2 h烟碱治疗组 PaO_2 显著高于机械通气组($P < 0.05$)。

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.07.011

基金项目:广西留学回国人员科学基金资助项目(0342026);广西桂林市科学研究与技术开发计划项目(20090710)

作者单位:541001 广西,桂林医学院附属医院重症医学科

通信作者:肖军,Email:Junx688@yahoo.com.cn

表 1 各组大鼠机械通气前后动脉血气及 MAP 改变($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	动物数	pH 值	PaO ₂ (mm Hg)	PaCO ₂ (mm Hg)	MAP (mm Hg)
对照组		12	7.34±0.02	101±5	41±2	130±6
机械通气组	通气前	12	7.33±0.03	99±5	41±3	129±5
	通气 1 h	12	7.36±0.04	91±7	32±3	112±4
	通气 2 h	12	7.41±0.03	76±3	28±5	88±3
烟碱治疗组	通气前	12	7.33±0.02	100±6	42±4	132±4
	通气 1 h	12	7.40±0.03	95±5	30±5	120±5
	通气 2 h	12	7.46±0.04	85±4 ^a	26±6	95±4

注: MAP: 平均动脉压, PaO₂: 动脉血氧分压, PaCO₂: 动脉血二氧化碳分压; 与机械通气组同期比较, ^a $P < 0.05$; 1 mm Hg = 0.133 kPa

2.2 烟碱对 VILI 大鼠肺组织病理改变的影响 (彩色插页图 1; 表 2): 对照组大鼠肺组织未见明显损伤性改变; 机械通气 2 h, 机械通气组大鼠肺组织可见肺泡壁结构模糊, 部分肺泡壁塌陷、肺泡腔消失, 肺泡内有较多的蛋白液和红细胞渗出, 肺间质水肿明显, 肺泡间隔内大量的中性粒细胞聚集; 烟碱治疗组病理改变较机械通气组明显减轻。机械通气组 DAD 评分显著高于对照组 ($P < 0.01$); 烟碱治疗组则显著低于机械通气组 ($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠 DAD 评分、肺 W/D 比值及 BALF 中 IL-8 含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	DAD 评分(分)	W/D 比值	IL-8(ng/L)
对照组	12	1.60±1.20	4.53±0.21	428.5±120.6
机械通气组	12	10.40±1.85 ^a	5.66±0.33 ^a	1 625.3±271.7 ^a
烟碱治疗组	12	7.90±1.67 ^{ac}	5.02±0.37 ^c	965.5±310.5 ^{ad}

注: DAD 评分: 修改后弥漫性肺泡损伤评分系统评分, W/D 比值: 湿/干重比值, BALF: 支气管肺泡灌洗液, IL-8: 白细胞介素-8; 与对照组比较, ^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$; 与机械通气组比较, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$

2.3 烟碱对 VILI 大鼠肺含水量的影响 (表 2): 机械通气组大鼠肺 W/D 比值显著高于对照组 ($P < 0.01$); 烟碱治疗组肺 W/D 比值显著低于机械通气组 ($P < 0.05$)。

2.4 烟碱对 VILI 大鼠 BALF 中 IL-8 含量的影响 (表 2): 机械通气组、烟碱治疗组 BALF 中 IL-8 含量均显著高于对照组 (均 $P < 0.01$); 烟碱治疗组显著低于机械通气组 ($P < 0.01$)。

2.5 烟碱对 VILI 大鼠肺组织 MPO 活性、ICAM-1 浓度的影响 (表 3): 机械通气组肺组织 MPO 活性和 ICAM-1 浓度均显著高于对照组 ($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$); 烟碱治疗组 MPO 和 ICAM-1 均显著低于机

械通气组 (均 $P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠肺组织 MPO 和 ICAM-1 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	MPO(U/g)	ICAM-1(μg/L)
对照组	12	0.89±0.17	247.5±73.7
机械通气组	12	1.73±0.50 ^a	589.4±87.5 ^b
烟碱治疗组	12	1.11±0.33 ^c	452.5±89.3 ^{bc}

注: MPO: 髓过氧化物酶, ICAM-1: 细胞间黏附分子-1; 与对照组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与机械通气组比较, ^c $P < 0.05$

3 讨论

VILI 不仅是应力损伤, 而且是生物伤。一方面, 运用保护性通气策略避免肺泡过度扩张和肺泡反复塌陷和复张, 减轻对肺内细胞的机械刺激, 从而减少应力损伤和生物伤的发生; 另一方面, 从生物伤的发生机制来看, 调控免疫反应, 也是防治 VILI 的重要手段^[2]。CAP 的神经-免疫调节功能在系统和局部炎症反应的调控中具有主要作用, 其抗炎作用依赖于 $\alpha 7nAChR$ 的激活, 在外周循环和组织中的巨噬细胞、白细胞、内皮细胞及上皮细胞均可检测到 $\alpha 7nAChR$ 的表达, 这些细胞成为胆碱能抗炎作用的靶标。Su 等^[6]研究显示, 在气管上皮细胞、I 型肺泡上皮细胞、肺巨噬细胞、中性粒细胞中均可检测到 $\alpha 7nAChR$ 的表达, $\alpha 7nAChR$ 激动剂可显著减轻盐酸所致的急性肺损伤(ALI)。说明 CAP 对盐酸所致肺部炎症反应有调控作用, 并为研究 CAP 对 VILI 的保护作用提供了一定的理论基础。

VILI 在肺组织内表现为以大量中性粒细胞渗出为特征的炎症反应^[7-8]。激活的中性细胞可穿透肺泡毛细血管壁而黏附于肺泡上皮细胞及肺间质, 释放大量的氧自由基造成肺组织细胞损伤; 释放大量的细胞因子和炎症介质, 引起炎症反应的级联效应; 释放溶酶体和弹性蛋白酶使组织发生蛋白水解性破坏和液化, 进一步造成肺泡损伤、通透性增高。MPO 是中性粒细胞释放的一种过氧化物酶类, 和中性粒细胞数目存在明显的相关性, 可反映组织中中性粒细胞的浸润水平。本实验中机械通气组肺组织 MPO 活性显著高于对照组, 说明机械通气组肺内中性粒细胞渗出明显, 符合 VILI 肺部特征性炎症改变; 烟碱治疗组肺组织 MPO 活性显著低于机械通气组, 说明烟碱可明显减少 VILI 大鼠肺组织中中性粒细胞的渗出。另外, 本实验中通过比较各组大鼠动脉血气、肺组织病理改变、DAD 评分及肺 W/D 比值, 认为烟碱激活 CAP 可明显减少 VILI 肺内中性粒细胞的渗出, 减轻肺组织损伤, 改善肺内气体交换。

在 VILI 病理过程中,中性粒细胞与肺毛细血管内皮细胞的结合和渗出是一个多重过程,需要不同的细胞黏附分子上调参与。在肺组织受到异常机械力刺激时,肺泡上皮细胞和血管内皮细胞均可上调表达细胞黏附因子,如 ICAM-1^[9]、P-选择素^[10]、E-选择素^[11]、血管细胞黏附分子-1 (VCAM-1)^[11]等。本实验中机械通气组肺组织中 ICAM-1 含量显著高于对照组,这与以往细胞实验研究结果^[9]一致。烟碱治疗组 ICAM-1 含量显著低于机械通气组,说明烟碱激活 CAP 可抑制 VILI 中 ICAM-1 的表达。这一作用可能是 CAP 减少中性粒细胞在肺内的黏附与渗出,减轻 VILI 肺部炎性损伤的机制之一。

在异常机械力刺激下,多种肺内细胞(如 I 型肺泡上皮细胞、肺巨噬细胞、血管内皮细胞)可分泌多种促炎或抗炎因子,如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-10 等,这些细胞因子在介导和调节炎症反应中发挥重要作用,其中 IL-8 在几乎所有的 VILI 体内外实验中均有显著性升高,是一个能稳定反映 VILI 炎症水平的指标^[12]。IL-8 具有很强的淋巴细胞、中性粒细胞趋化作用,其在介导炎性损伤中发挥重要作用。本实验中机械通气组 BALF 中 IL-8 含量显著高于对照组,与国内外相关研究具有一致性。烟碱治疗组 BALF 中 IL-8 含量显著低于机械通气组,说明烟碱激活 CAP 能显著抑制 VILI 肺内细胞表达 IL-8,这一作用可能是 CAP 减少 VILI 中性粒细胞在肺内黏附、渗出,从而减轻炎性损伤的又一机制。

综上所述,本实验结果显示,烟碱与 $\alpha 7nAChR$ 结合,激活 CAP 能显著抑制 VILI 肺内细胞表达 IL-8、ICAM-1,减少中性粒细胞在肺内的黏附、渗出,减轻肺组织损伤,从而证实 CAP 在 VILI 防治

中具有广阔的应用前景。但 CAP 通过何种机制影响 VILI 肺组织中细胞因子、黏附分子的表达水平,还有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] Oeckler RA, Hubmayr RD. Cell wounding and repair in ventilator injured lungs. *Respir Physiol Neurobiol*, 2008, 163: 44-53.
- [2] Slutsky AS. Ventilator-induced lung injury: from barotrauma to biotrauma. *Respir Care*, 2005, 50: 646-659.
- [3] 冯丹, 姚尚龙, 尚游, 等. 大鼠机械通气所致肺损伤时 p38 丝裂原活化蛋白激酶通路的激活. *中国危重病急救医学*, 2007, 19: 77-80.
- [4] Rosas-Ballina M, Tracey KJ. Cholinergic control of inflammation. *J Intern Med*, 2009, 265: 663-679.
- [5] Quintel M, Heine M, Hirschl RB, et al. Effects of partial liquid ventilation on lung injury in a model of acute respiratory failure: a histologic and morphometric analysis. *Crit Care Med*, 1998, 26: 833-843.
- [6] Su X, Lee JW, Matthay ZA, et al. Activation of the $\alpha 7 nAChR$ reduces acid-induced acute lung injury in mice and rats. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 37: 186-192.
- [7] Oeckler RA, Hubmayr RD. Ventilator-associated lung injury: a search for better therapeutic targets. *Eur Respir J*, 2007, 30: 1216-1226.
- [8] 张新日, 杜永成, 姜宏英, 等. 中性粒细胞活化在呼吸机所致肺损伤中的作用. *中国危重病急救医学*, 2005, 17: 367-369.
- [9] Hu X, Zhang Y, Cheng D, et al. Mechanical stress upregulates intercellular adhesion molecule-1 in pulmonary epithelial cells. *Respiration*, 2008, 76: 344-350.
- [10] Moldobaeva A, Jenkins J, Wagner E. Effects of distension on airway inflammation and venular P-selectin expression. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 295: L941-948.
- [11] Hegeman MA, Hennis MP, Heijnen CJ, et al. Ventilator-induced endothelial activation and inflammation in the lung and distal organs. *Crit Care*, 2009, 13: R182.
- [12] Halbertsma FJ, Vaneker M, Scheffer GJ, et al. Cytokines and biotrauma in ventilator-induced lung injury: a critical review of the literature. *Neth J Med*, 2005, 63: 382-392.

(收稿日期: 2010-03-15) (本文编辑: 李银平)

• 启事 •

关于召开“第四届机械通气研讨会高峰论坛”的通知

由天津市重症医学会、天津市急诊/ICU 质控中心、《中国危重病急救医学》杂志社、天津市呼吸机治疗研究中心和天津市第三中心医院联合举办的国家级 I 类继续教育项目“第四届机械通气研讨会高峰论坛”定于 2010 年 8 月 6 日至 8 日在天津市召开,会议将邀请国内知名的机械通气治疗专家就机械通气应用生理学概念、通气模式的最新进展、不同疾病导致呼吸衰竭的机械通气应用、脱机中的难点与热点问题以及体外膜肺氧合(ECMO)在重症肺炎中的应用、机械通气护理专场、机械通气与血流动力学变化及容量复苏的有关问题,采取讲座与典型病历分析的方式进行深入细致的研讨,会前开办机械通气规范操作的 WORKSHOP。欢迎国内从事 ICU、呼吸、急诊科、心血管临床及科研的医师、护士参加,参加者授予国家级继续教育学分 8 分。会期预计为期 2 天半,会务费(含资料费)600 元,护士及研究生每人 400 元,住宿自理。

报名办法:①报名电话:022-84112612, 84112268, 84112248;联系人:秦英智,徐磊,李军,王春喜,张纳新;②将姓名、性别、单位、职务、电话寄至天津市第三中心医院 天津呼吸机治疗研究中心 秦英智主任收;③Email: yzhqin@yahoo.com.cn 或短信至:13752028976(王春喜), 13752559979(李军)。

会议地点:天津市财富豪为酒店,地址:天津市河东区津塘路 79 号;乘车路线:从火车站乘 676、151、17 路至大桥道站,自飞机场乘出租车至第三中心医院。

血红素加氧酶-1表达对大鼠呼吸机相关性肺损伤的作用及机制研究

(正文见 410 页)

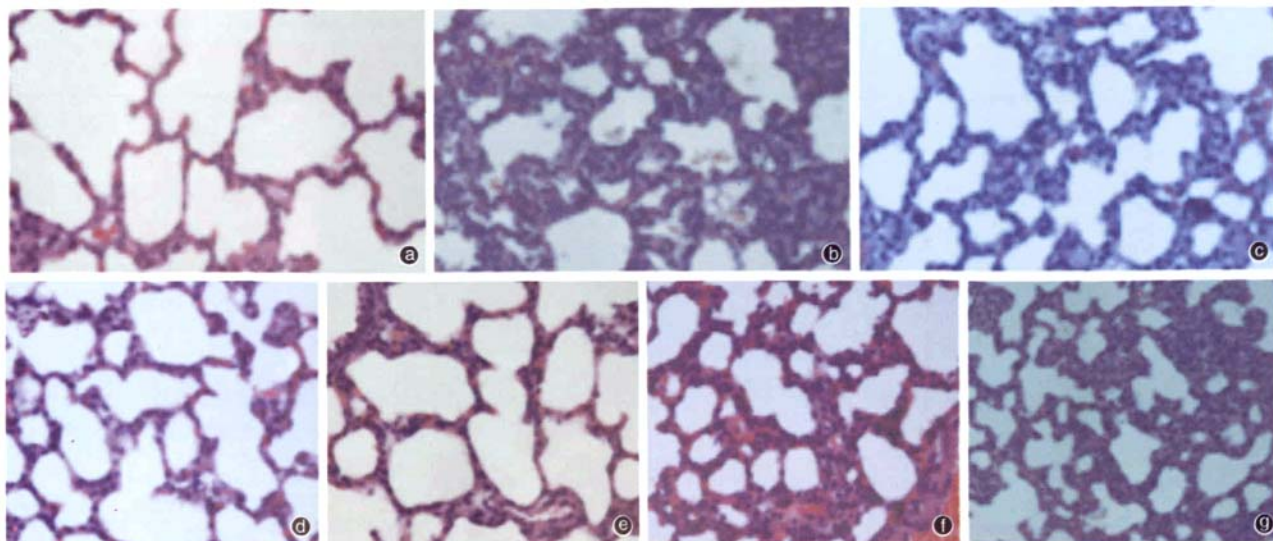


图1 光镜下观察各组大鼠肺组织病理改变 与对照组(a)比较,模型组(b)肺组织结构破坏严重,肺泡壁增厚,肺泡腔内可见大量红细胞,肺泡间隔明显增宽,大量炎性细胞聚集;与模型组(b)比较,随着诱导剂血晶素剂量增加,40、80、120 $\mu\text{mol/kg}$ 组(c、d、e)肺组织病理改变明显减轻,肺泡结构清晰,肺泡间隔稍宽,炎性细胞明显减少,肺泡腔内未见明显出血及水肿,而血晶素160 $\mu\text{mol/kg}$ 组(f)肺组织病理改变虽较模型组(b)稍轻,但比血晶素40、80、120 $\mu\text{mol/kg}$ 组(c、d、e)破坏严重;抑制剂锌原卟啉(ZnPP)组(g)与模型组(b)比较未见明显改变 HE $\times 100$

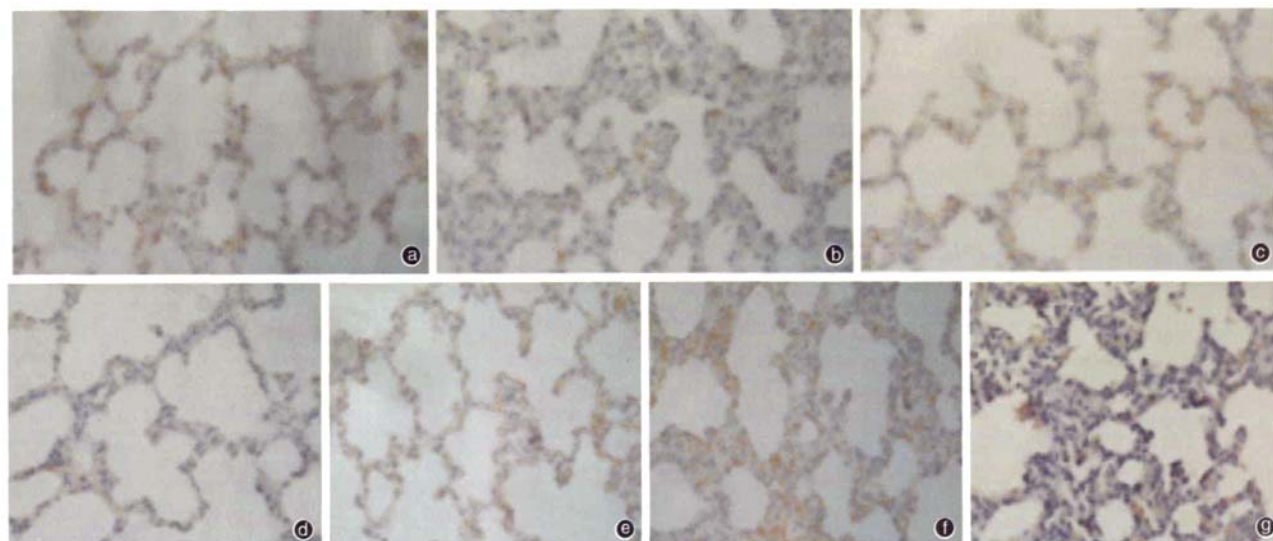


图2 光镜下观察各组大鼠肺组织血红素加氧酶-1(HO-1)蛋白表达 对照组(a)肺组织中偶见棕黄色颗粒表达;模型组(b)肺泡巨噬细胞及肺间质浸润的炎性细胞胞质中均可见微弱阳性颗粒表达;与模型组(b)比较,血晶素40、80、120、160 $\mu\text{mol/kg}$ 组(c、d、e、f)随剂量增加,HO-1棕黄色阳性染色信号表达逐渐增强;而抑制剂锌原卟啉(ZnPP)组(g)阳性表达极低,与对照组(a)比较无明显差别 免疫组化 $\times 400$

胆碱能抗炎通路对大鼠呼吸机相关性肺损伤的影响

(正文见 414 页)

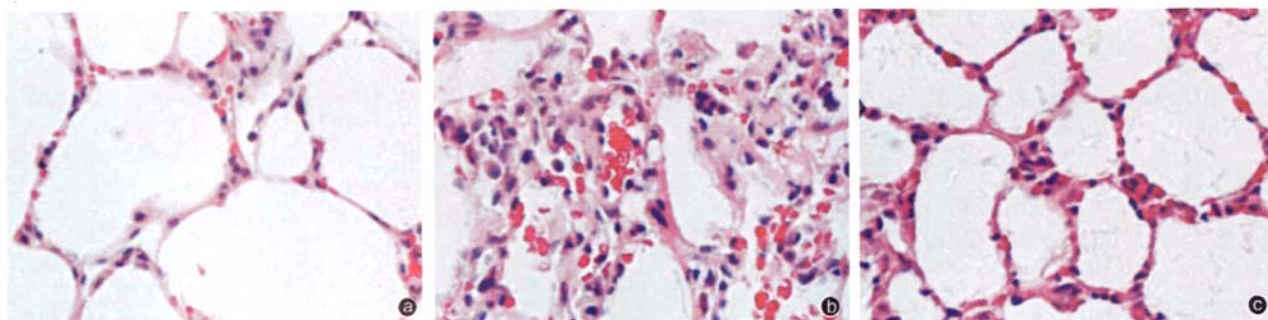


图1 光镜下观察各组大鼠肺组织病理改变 对照组(a)肺组织未见明显损伤性改变;机械通气2 h组(b)肺组织可见肺泡壁结构模糊,部分肺泡壁塌陷、肺泡腔消失,肺泡内有较多的蛋白液和红细胞渗出,肺间质水肿明显,肺泡间隔内大量的中性粒细胞聚集;烟碱治疗组(c)病理改变较机械通气组(b)明显减轻 HE $\times 400$

作者：[汪涛](#)，[肖军](#)，[李金泽](#)，[钟荣](#)，[何正兵](#)，[李召辉](#)，[WANG Tao](#)，[XIAO Jun](#)，[LI Jin-ze](#)，[ZHONG Rong](#)，[HE Zheng-bing](#)，[LI Zhao-hui](#)

作者单位：[桂林医学院附属医院重症医学科](#)，广西，541001

刊名：[中国危重病急救医学](#)[ISTIC](#)[PKU](#)

英文刊名：[CHINESE CRITICAL CARE MEDICINE](#)

年，卷(期)：2010，22(7)

被引用次数：0次

参考文献(12条)

1. [Halbertsma FJ;Vaneke M;Scheffer GJ Cytokines and biotrauma in ventilator-induced lung injury:a critical review of the literature 2005](#)
2. [Hegeman MA;Hennus MP;Heijnen CJ Ventilator-induced endothelial activation and inflammation in the lung and distal organs 2009](#)
3. [Moldobaeva A;Jenkins J;Wagner E Effects of distension on airway inflammation and venular P-selectin expression 2008](#)
4. [Hu X;Zhang Y;Cheng D Mechanical stress upregulates intercellular adhesion molecule-1 in pulmonary epithelial cells 2008](#)
5. [张新日;杜永成;姜宏英 中性粒细胞活化在呼吸机所致肺损伤中的作用\[期刊论文\]-中国危重病急救医学 2005\(6\)](#)
6. [Oeckler RA;Hubmayr RD Ventilator-associated lung injury:a search for better therapeutic targets 2007](#)
7. [Su X;Lee JW;Matthay ZA Activation of the alpha 7 nAChR reduces acid-induced acute lung injury in mice and rats 2007](#)
8. [Quintel M;Heine M;Hirschl RB Effects of partial liquid ventilation on lung injury in a model of acute respiratory failure:a histologic and morphometric analysis 1998](#)
9. [Rosas-Ballina M;Tracey KJ Cholinergic control of inflammation 2009](#)
10. [冯丹;姚尚龙;尚游 大鼠机械通气所致肺损伤时p38丝裂原活化蛋白激酶通路的激活\[期刊论文\]-中国危重病急救医学 2007\(2\)](#)
11. [Slutsky AS Ventilator-induced lung injury:from barotrauma to biotrauma 2005](#)
12. [Oeckler RA;Hubmayr RD Cell wounding and repair in ventilator injured lungs 2008](#)

相似文献(10条)

1. 学位论文 [周亚欧 胆碱能抗炎通路在类风湿关节炎中的作用及机制研究 2008](#)

研究背景：类风湿关节炎(RA)是一种以累及周围关节为主的系统性炎症性自身免疫病，致残率高，是造成我国人群丧失劳动力和致残的主要疾病之一。近年研究表明炎症细胞因子网络在RA的滑膜炎及骨质破坏中起到重要作用，是使RA病变持续存在、迁延进展的关键因素。肿瘤坏死因子(TNF)- α 和白介素(IL)-1被认为是RA发病过程中起主要作用的促炎因子。因而，采用多种途径抑制体内促炎因子成为探索RA治疗策略的主要思路，并已取得一些令人鼓舞的进展。然而，除了TNF- α 拮抗剂因其疗效确切已经进入临床之外，大部分以细胞因子为靶标的干预措施还处于早期的动物试验或I期临床；此外，也有一部分病人对TNF- α 拮抗剂的反应欠佳；即使是反应性较好的病人，要获得RA的长期控制，也需持续用药，或需与经典的控制病情药物联用，否则将面临疾病的复发。这些结果促使人们尝试寻找新的抑制炎症介质的方法，以求取得更好的疗效。

新近研究发现：在中枢神经系统与免疫系统之间存在一条具有拮抗炎症反应作用的通路-胆碱能抗炎通路，该通路由迷走神经及其递质乙酰胆碱和胆碱能受体所构成。大量动物实验结果表明刺激迷走神经和使用胆碱能激动剂烟碱和卡巴碱在内毒素血症、创伤、败血症等急性全身性炎症中可抑制TNF- α 、IL-1、IL-6、HMGB1等炎症因子的生成和释放，抑制NF- κ B信号通路，发挥抗炎作用。但该通路在慢性炎症性疾病RA中是否发挥抗炎作用及作用机制，目前国内外尚未见报道。本研究拟选用SD大鼠，RA患者原代滑膜细胞为主要材料，以佐剂性关节炎大鼠和TNF- α 刺激滑膜细胞诱导炎症作为主要模型，观察胆碱能激动剂烟碱对佐剂性关节炎大鼠及TNF- α 诱导的滑膜细胞炎症的影响，采用Western blot、RT-PCR、细胞间接免疫荧光，免疫组化，ELISA等研究手段从整体、细胞及分子水平探讨胆碱能抗炎通路对类风湿关节炎的影响。开展本项目研究，可望阐明胆碱能抗炎通路的在RA的抗炎作用及其分子机制，为RA以及其他炎症疾病的治疗提供新的思路和策略。

目的：探讨烟碱对佐剂性关节炎大鼠的炎症、关节破坏的干预作用和对炎症因子的影响。

方法：将64只SD大鼠饲养一周后，按体重随机分为四组，正常组：注射生理盐水，每天两次；模型组：使用完全弗氏佐剂(CFA)造模，注射生理盐水，每天两次；大剂量烟碱组：使用CFA造模，腹腔注射0.2mg/kg的烟碱，每天两次；小剂量烟碱组：使用CFA造模，腹腔注射0.05mg/kg的烟碱，每天两次。从造模第1天开始腹腔注射。肉眼观察肿胀并进行关节炎指数(AI)评分，组织病理学对滑膜炎，放射学和组织病理学对关节破坏进行评分，放射学评分采用Larsen评分标准。第37天处死所有大鼠，心脏采血，ELISA法检测血清TNF- α 和IL-1 β 浓度，Western blot检测血清中HMGB1蛋白水平，免疫组化检测滑膜和关节中HMGB1表达。

结果：

1. 烟碱对佐剂性关节炎大鼠的保护作用

- (1) 造模第24天至32天，大剂量烟碱组关节炎发生率均低于模型组；
- (2) 从大鼠出现关节肿胀直至实验结束，大剂量烟碱组关节肿胀均比模型组轻，大剂量烟碱组AI均低于模型组，小剂量组与模型组差异无显著性；
- (3) 大剂量烟碱组放射学评分Larsen评分低于模型组，小剂量烟碱组与模型组差异无统计学意义。
- (4) 模型组和小剂量烟碱组滑膜中大量炎性细胞浸润，关节破坏明显，大剂量烟碱组滑膜炎性细胞浸润较轻，关节破坏较轻。大剂量烟碱组滑膜炎评分和关节破坏评分低于与模型组。
2. 烟碱对全身炎症因子的影响：大剂量烟碱组血清TNF- α 、IL-1 β 和HMGB1的含量较模型组显著降低，但仍高于正常组；小剂量组血清TNF- α 、IL-1 β 和HMGB1的含量与模型组差异无统计学意义。
3. 烟碱对滑膜和关节局部炎症因子HMGB1的影响：正常组滑膜区和软骨及骨质区小部分细胞存在HMGB1表达，模型组和大小剂量烟碱组滑膜、软骨和骨质部位HMGB1表达明显增强。与模型组相比，大剂量烟碱组HMGB1表达强度显著降低，小剂量烟碱组与模型组差异无统计学意义。

结论:

1. 烟碱可延缓佐剂性关节炎大鼠关节炎的发生和减轻关节肿胀,改善滑膜炎及骨质破坏。
2. 烟碱可降低佐剂性关节炎大鼠血清TNF- α 、IL-1 β 和HMGB1水平。
3. 烟碱可抑制佐剂性关节炎大鼠滑膜和关节部位局部HMGB1的表达。

2. 期刊论文 [吴远波, 李建国, 王丽, 周青, 贾宝辉, WU Yuanbo, LI Jianguo, WANG Li, ZHOU Qing, JIA Baohui](#) [胆碱能抗炎通路在内脏动脉阻断性休克中的作用](#) -[武汉大学学报\(医学版\)](#) 2008, 29 (1)

目的:观察烟碱对内脏动脉阻断性(SAO)休克大鼠总体生存率、颈动脉平均动压(MAP)、血气分析及乳酸值的影响,探讨胆碱能抗炎通路在SAO休克中的作用.方法:采用阻断肠系膜上动脉和腹腔干动脉复制SAO休克模型.30只健康雄性大鼠随机分为5组:对照组(假手术组)、SAO组、烟碱组、六羟季胺组和 α -BGT组,每组6只.实验期间连续观察平均动压,再灌注1 h后取血行血气分析和乳酸值检测.另取30只SD大鼠随机分为对照组、SAO组和烟碱组,每组10只,记录3组大鼠4 h总体生存率和平均生存时间.结果:与假手术组比较,SAO组平均生存时间显著缩短,各时间点的生存率均显著降低(均为 $P<0.01$);再灌注后MAP持续低下,并有严重的代谢性酸中毒和高乳酸血症.与SAO组比较,烟碱组平均生存时间延长,各时间点的生存率均显著提高(均为 $P<0.01$);再灌注后MAP下降幅度减轻,代谢性酸中毒缓解.经六羟季胺及 α -BGT拮抗后,烟碱处理的上述效应则完全抵消.结论:烟碱能够提高整体生存率,逆转SAO休克中严重低血压,改善休克状况,减轻酸中毒.其作用机制可能与激活胆碱能抗炎通路有关.

3. 期刊论文 [熊军, 薛富善, 袁玉静, 王强, 廖旭, 李杉, 王卫利, 张雁鸣, 刘建华](#) [\$\alpha\$ 7烟碱样乙酰胆碱受体激动剂后处理对大鼠在体心肌缺血/再灌注损伤的影响](#) -[国际麻醉学与复苏杂志](#) 2010, 31 (6)

目的 观察 α 7烟碱样乙酰胆碱受体(α 7 nicotinic acetylcholine receptor, α 7nAChR)激动剂后处理对大鼠在体心肌缺血/再灌注损伤(ischemia reperfusion injury, IRI)的影响.方法 将40只SD大鼠采用计算机产生随机数法平均分为假手术组(S组)、缺血/再灌注组(IR组)、缺血预处理组(IPC组)和 α 7nAChR激动剂后处理组(PNU组),每组10只.实验中记录缺血期和再灌注初期心律失常,测定再灌注30 min和180 min时的肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、高迁移率蛋白1(high mobility group box 1 protein, HMGB1)和肌钙蛋白 I (troponin I, TnI)血清浓度.实验结束取心脏,采用伊文思蓝和1%TTC双重染色法测量心肌梗死面积.结果 IR组、IPC组和PNU组的心肌梗死面积值分别为(78.4 $\pm$ 16.1)%(35.3 $\pm$ 9.4)%(60.4 $\pm$ 7.0)%,且3组的TnI血清浓度分别为(1.02 $\pm$ 0.12) μ g/L, (0.25 $\pm$ 0.03) μ g/L和(0.17 $\pm$ 0.04) μ g/L与IR组相比,IPC组和PNU组心肌梗死面积(infarct size, IS%)显著减小, TnI血清浓度显著降低,IPC组灌注30min时TNF- α 、IL-6血清浓度以及再灌注180 min时TNF- α 和HMGB1血清浓度显著降低, PNU组再灌注30 min和180 min时TNF- α 、IL-6和再灌注180 min时HMGB1血清浓度显著降低.与IPC组相比, PNU组IS%显著增大,但血清TnI浓度显著降低,再灌注30 min时TNF- α 血清浓度以及再灌注180 min时TNF- α 、IL-6和HMGB1血清浓度显著降低,但再灌注30 min时IL-6血清浓度显著升高.结论 在大鼠在体心肌缺血/再灌注损伤模型, α 7nAChR激动剂后处理可通过抑制炎症反应获得心肌保护效应,但其心肌保护效应较缺血预处理弱.

4. 期刊论文 [王大伟, 周荣斌, 姚咏明, WANG Da-Wei, ZHOU Rong-Bin, YAO Yong-Ming](#) [胆碱能抗炎通路在炎症反应中的作用](#) -[生理科学进展](#) 2010, 41 (3)

胆碱能抗炎通路是调节免疫系统的一种神经生理机制,其在脾脏、肝脏和胃肠道等网状内皮系统通过释放乙酰胆碱抑制细胞因子的合成,控制炎症反应.乙酰胆碱与巨噬细胞和其他分泌细胞因子细胞表面的 α 7烟碱型乙酰胆碱受体相互作用,抑制致炎细胞因子的合成与释放,防止组织损伤.本文着重综述胆碱能抗炎通路调节炎症反应的神经生理机制及其在炎症性疾病中的干预价值.

5. 期刊论文 [周国武, 田野苹, ZHOU Guo-wu, TIAN Ye-ping](#) [炎症反射的研究进展](#) -[现代生物医学进展](#) 2009, 9 (7)

以往认为体液调节机制是防止多种促炎因子过量产生的一通路,但本世纪伊始又新发现了一条生理性的神经性抗炎通路,即抗炎反射,而迷走神经则是这一反射的重要载体,免疫细胞上表达的 α 7nAChR是该反射的“效应器”,中枢神经系统也参与了该反射的信号收集、整合与调节的过程.由于这一通路的抗炎作用具有高效、特异性强等特点,其对于治疗炎症性疾病具有极其重要的临床应用前景.本文对炎症反射的最新研究进展予以综述.

6. 期刊论文 [王丽, 严虹, 李建国, 陈璟莉, 宋学敏, 严启韬, 施媛, WANG Li, YAN Hong, LI Jian-guo, CHEN Jing-li, SONG Xue-min, YAN Qi-tao, SHI Yuan](#) [烟碱对心肌缺血/再灌注损伤大鼠炎症细胞因子的影响](#) -[中国危重病急救医学](#) 2010, 22 (10)

目的 探讨烟碱对心肌缺血/再灌注(I/R)损伤大鼠炎症细胞因子的影响.方法 50只健康雄性SD大鼠按随机数字表法分为假手术组、I/R组、烟碱高剂量(400 μ g/kg)组、烟碱低剂量(40 μ g/kg)组及 α -银环蛇毒素(α -BGT, 1 μ g/kg)组5组,每组10只.采用结扎心脏左冠状动脉前降支30 min、再灌注90 min制作大鼠心肌I/R损伤模型;假手术组仅穿线不结扎.制梗前30 min各药物组颈静脉注射相应剂量药物干预.假手术组和I/R组给予等量生理盐水.于再灌注末取右颈动脉血,测定肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-8(IL-8)、IL-10浓度和肌酸激酶同工酶(CK-MB)、心肌肌钙蛋白I(cTnI)活性;然后处死动物,取缺血区心肌组织测定髓过氧化物酶(MPO)活性;采用免疫组化和逆转录-聚合酶链反应检测心肌组织细胞间黏附分子-1(ICAM-1)蛋白及mRNA表达,并观察心肌超微结构.结果 与假手术组比较, I/R组血浆TNF- α 、IL-8、IL-10、CK-MB、cTnI、心肌MPO活性及ICAM-1蛋白和mRNA表达均显著升高[TNF- α (ng/L):158.7 $\pm$ 32.7比31.5 $\pm$ 5.8, IL-8(ng/L):0.71 $\pm$ 0.06比0.30 $\pm$ 0.04, IL-10(ng/L):69.0 $\pm$ 7.8比41.4 $\pm$ 4.3, CK-MB(U/L):2540 $\pm$ 169比1120 $\pm$ 102, cTnI (μ g/L):26.2 $\pm$ 4.6比0.9 $\pm$ 0.2, MPO(U/g):4.2 $\pm$ 0.6比1.6 $\pm$ 0.4, ICAM-1蛋白:0.210 $\pm$ 0.025比0.100 $\pm$ 0.018, ICAM-1 mRNA:1.82 $\pm$ 0.23比1.18 $\pm$ 0.20, $P<0.05$ 或 $P<0.01$],病理学显示心肌组织损伤较重.与I/R组比较,烟碱高剂量组血浆TNF- α 、IL-8降低[TNF- α (67.3 $\pm$ 9.8)ng/L, IL-8(0.47 $\pm$ 0.04)ng/L, IL-10升高[(147.5 $\pm$ 12.5)ng/L], CK-MB、cTnI及心肌MPO活性、ICAM-1蛋白和mRNA均降低[CK-MB(1282 $\pm$ 145)U/L, cTnI(4.7 $\pm$ 1.4) μ g/L, MPO(2.5 $\pm$ 0.4)U/g, ICAM-1蛋白0.140 $\pm$ 0.026, ICAM-1 mRNA 1.31 $\pm$ 0.25, $P<0.05$ 或 $P<0.01$],心肌组织损伤减轻;而烟碱低剂量组和 α -BGT组上述指标与I/R组比较差异无统计学意义.结论 烟碱可阻断内皮细胞表达黏附分子,阻断中性粒细胞黏附、游出,改善抗炎/促炎反应平衡,从而拮抗大鼠心肌I/R损伤时的过度炎症反应.

7. 学位论文 [申育琳](#) [创伤后迷走神经功能的变化及其对伤后炎症反应的影响](#) 2007

严重创伤是40岁以下人群的主要死亡原因.重型颅脑外伤和失血性休克常导致伤后早期死亡,而晚期死亡则主要是由于出现继发性脑损害、脓毒症以及多器官功能衰竭(multipleorgansfailure, MOF)等严重并发症.创伤后机体合成大量炎症介质引起过度的炎症反应,这是导致全身炎症反应综合征(systemicinflammatoryresponsesyndrome, SIRS)和多脏器功能不全综合征(multipleorgansdysfunctionsyndrome, MODS)的重要因素.

创伤后机体的炎症因子水平和损伤程度密切相关.例如,在急性呼吸窘迫综合征(acuterespiratorydistresssyndrome, ARDS)和胸部创伤患者的支气管肺泡灌洗液,以及SIRS患者的血浆中均发现肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白介素(IL)-1 β 和IL-8水平明显增高.另外,血清IL-6浓度与损伤严重程度评分(iniuryseverityscore, ISS)关系密切,它还可以预示MODS、ARDS和脓毒症的发生率以及愈后.除了促炎细胞因子,伤后机体也会合成大量的抗炎介质以阻止促炎介质引起的组织损伤.但是,过度的抗炎反应常导致创伤后免疫抑制,将会增加严重感染及脓毒症的发生机率.此种免疫状态被称为代偿性抗炎反应综合征(compensatoryanti-inflammatoryresponsesyndrome, CARS).这种双向免疫反应之间的失衡可能是引起伤后继发性组织损伤和脓毒症发生机率增加的重要原因.因此,对创伤患者进行早期干预,抑制细胞因子的大量合成及释放,帮助机体达到SIRS和CARS之间的最佳平衡,应该能够减轻组织损伤,降低患者的感染机率.

许多研究提示迷走神经张力降低与脓毒症、类风湿性关节炎、炎症性肠病等疾病严重性增加呈反比.炎性细胞因子在这些疾病的进程中有着重要的作用,由此我们推测严重创伤后出现的过度炎症反应也可能与迷走神经张力降低有关,是后者促使潜在的炎症反应持续扩大导致病情逐渐恶化.提高迷走神经张力应该对创伤患者有一定的益处.

胆碱能抗炎通路为我们的这个猜测提供了一个重要的理论依据.迷走神经释放的乙酰胆碱与组织巨噬细胞膜表面的 α 7-烟碱样乙酰胆碱受体(α 7-nAChR)结合后可以抑制循环TNF- α 的合成.给动物注射烟碱或乙酰胆碱等 α 7-nAChR激动剂,或电刺激迷走神经均可以显著降低大鼠血清TNF- α 的浓度;而应用基因技术使大鼠不表达 α 7-nAChR,或行迷走神经切断术后的大鼠,在注射内毒素后均表现出过度的炎症反应.血清TNF- α 极度升高,而此时再对 α 7-nAChR基因敲除大鼠进行迷走神经电刺激则不能抑制细胞因子的合成.有研究提示配体与 α 7-nAChR结合后将会抑制核因子(NF)- κ B的核转位,目前已发现在许多炎性介质基因的上游均有NF- κ B等核转录因子的结合区域,因此胆碱能抗炎通路可能具有广谱的抗炎效应.实际上刺激迷走神经或给予 α 7-nAChR激动剂不仅可以抑制TNF的合成,还包括IL-1, IL-6, IL-8和高迁移率蛋白-1(HMGB-1)等多种重要的炎性细胞因子.

提高迷走神经张力有可能成为预防或控制创伤后过度炎症反应的一种方法.大量的研究证明针灸某些特定的穴位可以增加胃肠道蠕动,胃酸分泌,减缓心率,对抗脂多糖(LPS)引起的发热.这些结果都提示针灸对自主神经系统有一定的调控作用,包括提高迷走神经张力,那么它在理论上就有可能通过胆碱能抗炎通路抑制炎症反应.因此,本研究首先对不同伤情的创伤患者进行心率变异性(hearttratevariability, HRV)分析以明确伤后自主神经特别是迷走神经功能的变化情况;随后通过针灸刺激足三里和内关两个穴位,检测刺激前后HRV和血清促炎细胞因子(IL-6及TNF- α)浓度的变化,观察迷走神经张力是否得到有效提升,以及这种改变是否可以抑制伤后炎症反应.实验内容和结果主要包括两个方面:

- 1、应用HRV频域分析观察创伤患者伤后自主神经功能的变化情况.创伤患者依照ISS评分分为轻伤、重伤和严重伤三组,分别收集伤后第1天、第7天和第14天上午8点至10点间的心电图资料,选取其中5分钟的无干扰、无早搏的心电图数据,应用频域分析法进行短时程HRV分析.结果发现,创伤患者伤后早期HRV的低频功率(low-frequency, LF)、高频功率(high-frequency, HF)均明显降低;但LF/HF却明显升高.提示伤后早期自主神经功能明显改变,即交感神经兴奋性增高,迷走神经兴奋性降低.损伤越严重,这种改变越明显.随着病情的缓解,LF、HF逐渐升高,LF/HF逐渐降低,交感神经和副交感神经之间的平衡逐渐恢复.文献报道ISS评分越高的患者,其血清促炎因子浓度越高,发生SIRS、MODS的机率也越大.因此迷走神经功能降低可能是伤后出现过度炎症反应的重要原因;即迷走神经功能降低使胆碱能抗炎通路的作用受到限制,炎症反应因此不断扩大.这也提示提升迷走神经张力可能会对创伤患者的病情进展产生有利影响。

- 2、应用HRV频域分析观察针灸对创伤患者自主神经功能的调整作用,同时通过ELISA检测血清TNF- α 和IL-6浓度变化,观察针灸对迷走神经的兴奋效果,以及这种兴奋方

式对炎症反应的影响, 评估针灸是否能够有效兴奋胆碱能抗炎通路。选取ISS评分>16分的严重创伤患者随机分为3组: 针灸组、假针灸组 and 对照组。针灸穴位分别为内关穴和足三里穴。针灸治疗从伤后第1天持续至伤后第7天, 每周2次, 每次持续30min。假针灸患者进针点选择在穴位旁1.5cm, 避开其他穴位。对照组除不进行针灸治疗外, 其余治疗措施同其他两组。分别收集3组患者刺激前、后的心电图资料进行HRV分析, 同时留取适量的血液标本检测血清TNF- α 和IL-6浓度。我们发现针灸治疗可以显著提升针灸组患者HFnu, 降低LF/HF, 同时血清细胞因子浓度也有显著降低, 而非穴位针灸对HRV和血清细胞因子浓度无明显影响。我们同时也观察到针灸组患者血清TNF- α 和IL-6浓度在整个治疗期间均显著低于另外两组患者。在实验期间, 假针灸组患者和对照组患者的细胞因子浓度均出现一峰值, 而针灸组患者则呈现出持续降低的趋势。结果说明针灸足三里和内关两个穴位可以显著提高创伤患者的迷走神经张力, 有效激活胆碱能抗炎通路, 抑制循环TNF- α 和IL-6的合成。

综上所述, 本试验通过HRV分析、ELISA检测血清细胞因子, 观察到创伤患者伤后迷走神经功能出现明显的下降, 并且这种变化与损伤严重程度一致; 通过针灸这种方式可以显著提升迷走神经张力, 抑制循环TNF- α 和IL-6的释放。这些结果说明迷走神经张力降低是严重创伤后的一项重要变化, 它可能促使了伤后过度炎症反应的发生; 提高迷走神经张力可以有效抑制伤后过度炎症反应。同时也说明了针灸是一种有效的兴奋胆碱能抗炎通路的方式, 可以用来抑制创伤后的炎症反应。

8. 期刊论文 [张国英. 赵中夫. 刘明社. 韩德五. 张慧英. 杨柳絮. ZHANG Guo-ying. ZHAO Zhong-fu. LIU Ming-she. HAN De-wu. ZHANG](#)

[Hui-ying. YANG Liu-xu](#) 烟碱抑制RAW264. 7细胞表达和释放HMGB1的机制 -中国病理生理杂志2010, 26(1)

目的: 探讨烟碱抑制RAW264. 7细胞HMGB1表达和释放的机制. 方法: (1) RAW264. 7细胞在6孔板分组培养: 仅加培养液为对照组(C); 加LPS 250 μ g/L为LPS组(LPS); 在LPS基础上加烟碱1 μ mol/L和10 μ mol/L分别为烟碱1组(N1)和烟碱2组(N2). 培养24 h后, RT-PCR检测各组细胞HMGB1 mRNA表达水平; Western blotting检测上清液和胞浆、胞核HMGB1含量. (2) 用鼠 α -7nAChR基因反义和正义链RNA转染培养细胞后, 再加含LPS 250 μ g/L和10 μ mol/L烟碱于培养液分别作为反义链组(antisense RNA)和正义链组(sense RNA); 以上述C组和LPS组为对照, 2 h后Western blotting检测上清液HMGB1量. 结果: (1) C组细胞HMGB1 mRNA呈低水平表达(1 659. 20 $\pm$ 121. 05); 细胞HMGB1 mRNA表达水平在N1和N2组及LPS组间差异无显著(P>0. 05). (2) LPS组上清液的HMGB1量较高(445. 34 $\pm$ 28. 52); N1和N2组上清液的HMGB1量显著低于LPS组(P<0. 05). (3) C组胞核HMGB1量较高(335. 46 $\pm$ 12. 24); 而LPS组胞核HMGB1量明显低于对照组(P<0. 05); N1组和N2组胞核HMGB1显著高于LPS组(P<0. 05). (4) Antisense RNA组与LPS组比, 培养液中HMGB1量无显著差异(P>0. 05); sense RNA组与LPS组比, HMGB1含量明显减少(P<0. 05). 结论: 烟碱对RAW264. 7细胞释放HMGB1有明显抑制作用; 其主要机制可能是通过与 α -7nAChR特异结合而影响HMGB1的核转位.

9. 学位论文 [王志菲](#) 石杉碱甲对脑缺血损伤的保护作用及分子机制研究 2007

论文主要围绕乙酰胆碱酯酶抑制剂(acetylcholinesterase inhibitor, AChEI)石杉碱甲对脑缺血损伤的保护作用及分子机制进行研究。氧糖缺乏(oxygen-glucose deprivation, OGD)培养6小时再含糖含氧培养6小时诱导大鼠神经胶质瘤细胞株C6细胞损伤, I κ B α 的磷酸化并降解, 激活核转录因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B), 从而导致诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、环加氧酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)以及一氧化氮(nitric oxide, NO)的过量表达。石杉碱甲1 μ M预处理2小时能明显提高C6细胞的存活率, 抑制NF- κ B的激活, 下调iNOS、COX-2的蛋白量以及NO的含量, 同时明显抑制AChE的活性。石杉碱甲的保护作用能被烟碱样乙酰胆碱受体(nicotinic acetylcholine receptor, nAChR)的拮抗剂美加明及 α 7 nAChR的特异性拮抗剂 α -银环蛇毒素部分逆转。大鼠局灶性脑缺血显著降低皮层的局部脑血流量, 石杉碱甲0. 1 mg/kg在栓塞的同时腹腔注射给药能明显提高缺血区皮层局部脑血流量。局灶性脑缺血再灌注导致缺血同侧皮层和纹状体发生大范围的梗死, NF- κ B被激活, 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) mRNA水平明显上调, NO含量明显增加, iNOS及COX-2的蛋白量明显升高。在栓塞的同时腹腔注射石杉碱甲0. 1 mg/kg一次, 6小时后再次给药能显著缩小脑梗死的范围, 抑制NF- κ B的激活, 降低TNF- α 和IL-1 β mRNA水平, 下调NO的含量以及iNOS和COX-2的蛋白量, 同时抑制AChE的活性。美加明5 mg/kg能部分逆转石杉碱甲的保护作用。小鼠短暂性脑缺血结合低血压损伤导致记忆障碍及皮层海马神经元缺失。小鼠术前2天口服石杉碱甲0. 2 mg/kg, 每天一次, 术后连续服用7天, 可明显改善记忆缺损和神经元形态学变化, 增加皮层和海马脑区神经营养因子NGF、BDNF及TGF- β 1的mRNA和蛋白水平, 加强神经营养因子下游信号通路MAPK/ERK的激活。

第一部分的研究结果表明 α 7 nAChR介导的“胆碱能抗炎通路”以及神经营养样作用参与了石杉碱甲对脑缺血损伤的保护作用。

论文的第二部分探讨了AChEI石杉碱甲对OGD培养所致的大鼠肾上腺髓质嗜铬瘤细胞株PC12细胞损伤的保护作用。OGD3小时再含糖含氧培养24小时诱导明显的细胞死亡, 细胞形态发生改变, 细胞脂质过氧化水平、超氧化物歧化酶活性以及乳酸含量等多项生化指标升高。石杉碱乙(100、10、1 μ M)预孵育2小时, 能不同程度地提高细胞的存活率, 改善细胞损伤的形态以及降低上述各项升高的生化指标。石杉碱乙的保护机制可能与调节氧化能量代谢平衡有关。

论文的第三部分研究了双分子石杉碱乙衍生物FS-0311的药理作用。FS-0311是一种高效高选择性的、可逆的混合竞争性AChEI, 它的口服生物利用度很好, 对脑内AChE有长效的抑制作用; FS-0311能明显改善东莨菪碱或短暂时脑缺血诱导的小鼠记忆缺损现象; FS-0311保护PC12细胞对抗 β -amyloid25-35的细胞毒性、OGD引起的细胞损伤以及星形孢菌素诱导的细胞凋亡, 其细胞保护作用可能与调节氧化应激有关。因此FS-0311具有开发成为AD治疗药物的潜在前景。

10. 期刊论文 [何正兵. 肖军. 汪涛. 曾铭强. 李金泽. 李召辉](#) 胆碱酯酶抑制剂对感染性休克兔模型治疗的研究 -中国急救医学

2010, 30(2)

目的 探讨药物激活胆碱能抗炎通路对感染性休克兔早期的作用及其可能机制. 方法 以脂多糖(LPS)静脉注射复制免疫感染性休克模型, 30只健康雄性新西兰兔随机分为A组(脂多糖组)、B组(烟碱治疗组)、C组(新斯的明治疗组), 每组10只. 通过血气分析、动脉压监测及心输出量测定观测基础及给内毒素后实验动物的血液动力学和肺气体交换参数变化. 动态检测兔血清中TNF- α 、IL-18的变化并行心、肺组织病理学检查. 结果 与LPS组比较, B、C组MAP显著升高(P<0. 05); 其中C组4 h时基本恢复到造模前水平(P<0. 01). B、C组CO也明显增加(P<0. 05). 与A组比较, B、C组pH有升高趋势, 但三组间差异无统计学意义. 与A组比较, B、C组TNF- α 明显下降(P<0. 05), TNF- α 的表达与心、肺组织病理改变明显相关. 结论 在兔模型中胆碱酯酶抑制剂能有效治疗感染性休克, 这有可能应用于临床.

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgwzbjyxx201007008.aspx

授权使用: qkzg16(qkzg16), 授权号: ed7ddd04-ec3d-48fc-a27a-9ede0171707f

下载时间: 2011年5月9日