

· 论著 ·

不同潮气量机械通气对大鼠肺小窝蛋白-1
及其相关信号链酶表达的影响

林梵 肖军 张琛涛

【摘要】 目的 研究小窝蛋白-1(cav-1)及其相关信号链酶在不同潮气量(V_T)机械通气大鼠肺组织中的表达变化。**方法** 按随机数字表法将SD大鼠分为5组,每组8只。对照组(A组)仅切开气管保留自主呼吸;保护性机械通气1h、2h组(B1组、B2组) V_T 为6 ml/kg;大 V_T 通气1h、2h组(C1组、C2组) V_T 为30 ml/kg。A组在气管切开即刻,通气组分别于通气1h或2h末处死大鼠,光镜下观察肺组织病理学改变;逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测cav-1、eNOS的mRNA表达;免疫组化法检测肺组织中cav-1、内皮型一氧化氮合酶(eNOS)、白细胞介素-1受体相关激酶4(IRAK4)及核转录因子- κ B(NF- κ B)p65的蛋白表达;比色法测定髓过氧化物酶(MPO)活性;计算肺湿/干质量比值(W/D);酶联免疫吸附试验(ELISA)测定支气管肺泡灌洗液(BALF)中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)含量。**结果** A组、B1组、B2组之间肺组织cav-1、eNOS的mRNA表达,cav-1、eNOS、IRAK4、NF- κ Bp65的蛋白表达,肺W/D比值,MPO和TNF- α 水平差异均无统计学意义。与相应B1、B2组比较,C1、C2组cav-1 mRNA(A值比值)和cav-1、IRAK4、NF- κ Bp65蛋白表达(A值)明显增加(cav-1 mRNA: 0.833 ± 0.085 比 0.384 ± 0.011 , 1.162 ± 0.166 比 0.388 ± 0.014 ; cav-1 蛋白: 0.188 ± 0.011 比 0.140 ± 0.052 , 0.210 ± 0.013 比 0.125 ± 0.014 ; IRAK4 蛋白: 0.181 ± 0.009 比 0.150 ± 0.008 , 0.205 ± 0.085 比 0.155 ± 0.012 ; NF- κ Bp65 蛋白: 0.294 ± 0.011 比 0.236 ± 0.015 , 0.304 ± 0.012 比 0.239 ± 0.005), eNOS的mRNA(A值比值)和蛋白表达(A值)明显减少(eNOS mRNA: 0.174 ± 0.016 比 0.278 ± 0.021 , 0.107 ± 0.014 比 0.262 ± 0.045 ; eNOS 蛋白: 0.180 ± 0.017 比 0.211 ± 0.010 , 0.161 ± 0.016 比 0.216 ± 0.013), 肺W/D比值、MPO活性(U/g)和TNF- α 含量(ng/L)明显升高(W/D: 5.64 ± 0.42 比 4.63 ± 0.12 , 6.73 ± 0.83 比 4.70 ± 0.15 ; MPO: 1.86 ± 0.26 比 0.85 ± 0.11 , 2.14 ± 0.24 比 0.88 ± 0.18 ; TNF- α : 386.53 ± 29.12 比 50.57 ± 10.98 , 455.77 ± 37.78 比 52.11 ± 9.92), 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。随通气时间延长,C2组各指标较C1组改变更为明显(均 $P < 0.05$)。**结论** cav-1及其相关信号链酶在机械通气中的表达参与了呼吸机相关性肺损伤。

【关键词】 小窝蛋白-1; 内皮型一氧化氮合酶; 白细胞介素-1受体相关激酶4; 核转录因子- κ B; 机械通气

The effects of mechanical ventilation with different tidal volumes on the expression of caveolin-1 in lung tissue and its related downstream signaling in rats LIN Fan, XIAO Jun, ZHANG Chen-tao. Department of Critical Care Medicine, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin 541001, Guangxi, China
Corresponding author: XIAO Jun, Email: junx688@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To investigate the expression of caveolin-1 (cav-1) and its downstream signal under mechanical ventilation with different tidal volumes (V_T) in lung tissue of rats. **Methods** Forty healthy male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly assigned into five groups (each $n=8$). The rats in control group (group A) remained to have spontaneous breathing but underwent tracheostomy only. The rats in protective ventilation group underwent protective ventilation for 1 hour or 2 hours (group B1, B2), with V_T set at 6 ml/kg. The rats in high V_T ventilation group were given mechanical ventilation for 1 hour or 2 hours (group C1, C2), with V_T set at 30 ml/kg. After incision of trachea in group A, and mechanical ventilation was given for 1 hour or 2 hours in ventilation groups. Rats of group A were sacrificed immediately. Rats of other groups were sacrificed 1 hour or 2 hours after mechanical ventilation. Specimens of lung tissues and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were harvested. Lung pathological changes were observed with optical microscope. The expression levels of cav-1 mRNA and eNOS mRNA in lung tissue were measured by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). The protein levels of cav-1, endothelial nitric oxide synthase (eNOS), interleukin-1 receptor-associated kinase 4 (IRAK4) and nuclear factor- κ B (NF- κ B) p65 in lung tissues were assayed with immunohistochemistry staining. Lung myeloperoxidase (MPO) activity was measured by colorimetric analysis, and wet/dry weight ratio (W/D) was calculated. The levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) in BALF was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** No statistical significance in the mRNA expression of cav-1 and eNOS, the protein expression of cav-1, eNOS, IRAK4, NF- κ Bp65, as well as W/D ratio, MPO and TNF- α in BALF was found among group A, group B1 and group B2. The expression of cav-1 mRNA (A value ratio) and cav-1, IRAK4, NF- κ Bp65 protein (A value) were significantly up-regulated (cav-1 mRNA: 0.833 ± 0.085 vs. 0.384 ± 0.011 , 1.162 ± 0.166 vs. 0.388 ± 0.014 ; cav-1 protein: 0.188 ± 0.011 vs. 0.140 ± 0.052 , 0.210 ± 0.013 vs. 0.125 ± 0.014 ; IRAK4 protein: 0.181 ± 0.009 vs. 0.150 ± 0.008 , 0.205 ± 0.085 vs. 0.155 ± 0.012 ;

NF- κ Bp65 protein: 0.294 ± 0.011 vs. 0.236 ± 0.015 , 0.304 ± 0.012 vs. 0.239 ± 0.005), the expression of eNOS mRNA (A value ratio) and protein (A value) was significantly down-regulated (eNOS mRNA: 0.174 ± 0.016 vs. 0.278 ± 0.021 , 0.107 ± 0.014 vs. 0.262 ± 0.045 ; eNOS protein: 0.180 ± 0.017 vs. 0.211 ± 0.010 , 0.161 ± 0.016 vs. 0.216 ± 0.013), while W/D ratio, MPO (U/g) and TNF- α (ng/L) in BALF were significantly increased (W/D: 5.64 ± 0.42 vs. 4.63 ± 0.12 , 6.73 ± 0.83 vs. 4.70 ± 0.15 ; MPO: 1.86 ± 0.26 vs. 0.85 ± 0.11 , 2.14 ± 0.24 vs. 0.88 ± 0.18 ; TNF- α : 386.53 ± 29.12 vs. 50.57 ± 10.98 , 455.77 ± 37.78 vs. 52.11 ± 9.92) in group C1 and group C2 compared with those in group B1 and group B2 (all $P < 0.05$). With prolongation of time of mechanical ventilation, changes in those parameters were more obvious in group C2 as compared with group C1 (all $P < 0.05$). **Conclusion** Cav-1 and the activation of downstream signals in lung tissue participate in the development of the ventilator-induced lung injury.

[Key words] Caveolin-1; Endothelial nitric oxide synthase; Interleukin-1 receptor-associated kinase 4; Nuclear factor- κ B; Mechanical ventilation

机械通气时, 应力损伤会引起细胞膜结构的改变并引发与之相关的信号传递链的变化, 最终引发炎症因子的广泛释放和肺部病变, 而细胞膜小窝及小窝蛋白-1(cav-1)在应力损伤的调控方面起着十分关键的作用。本研究中试图利用应力损伤模型, 研究 cav-1 在不同潮气量(V_T)通气条件下的表达及其信号转导机制, 为肺损伤的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂:髓过氧化物酶(MPO)测试盒(南京建成生物工程研究所), 大鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(北京达科为生物科技公司), 白细胞介素-1受体相关激酶4(IRAK4)多克隆抗体(多抗, 英国 Biorbyt 公司), cav-1 多抗(美国 Santa 公司), 内皮型一氧化氮合酶(eNOS)、核转录因子- κ B(NF- κ B)p65 多抗(北京博奥森生物科技有限公司)。

1.2 实验动物分组及模型建立:40 只健康成年雄性 SD 大鼠, 体质量 200 ~ 340 g, 由桂林医学院实验动物中心提供, 动物合格证号: SYXK(桂)2007-0001。按照随机数字表法将动物分为 5 组, 每组 8 只。对照组(A 组): 仅行气管切开; 保护性通气 1 h 和 2 h 组(B1 和 B2 组): V_T 为 6 ml/kg, 呼气末正压(PEEP)为 5 cm H₂O (1 cm H₂O = 0.098 kPa), 呼吸频率(RR)为 60 次/min, 通气时间分别为 1 h 和 2 h^[1]; 大 V_T 通气 1 h 和 2 h 组(C1 和 C2 组): V_T 为 30 ml/kg, PEEP 为 0, RR 为 40 次/min, 通气时间分别为 1 h 和 2 h。各组大鼠吸呼比(I:E)1:2, 吸入气体为室内空气。实验前 12 h 禁食, 自由饮水。腹腔注射 20% 乌拉坦 5 mg/kg 麻醉, 颈部正中切开气管并置入气管导管, 连接 AVEa 全功能呼吸机(美国 VIASYS 公司)。A 组

在气管切开即刻、其余组在机械通气后放血处死大鼠, 采集标本备检。

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 支气管肺泡灌洗液(BALF)中 TNF- α 浓度测定:处死大鼠后完整取出肺脏, 气管分叉处结扎右主支气管, 左肺给予冰生理盐水灌洗(2.5 ml $\times$ 3 次), 回收 BALF, 低温离心取上清液, ELISA 检测 BALF 中 TNF- α 浓度, 操作按试剂盒说明书进行。

1.3.2 肺湿/干质量比值(W/D)测定:取右肺中叶, 分别称量湿质量和干质量, 计算 W/D 比值。

1.3.3 肺组织 MPO 活性测定:取右肺副叶, 加入匀浆介质制作组织匀浆, 用比色法测定 MPO 活性, 操作按试剂盒说明书进行。

1.3.4 肺组织病理学观察及 cav-1、eNOS、IRAK4、NF- κ Bp65 免疫组化观察:取大鼠右肺前叶, 用 10% 中性甲醛溶液固定, 石蜡包埋、切片、苏木素-伊红(HE)染色, 光镜下观察病理切片。采用免疫组化法测定大鼠肺组织 cav-1、eNOS、IRAK4 及 NF- κ Bp65 的蛋白表达, 在光镜下观测棕黄色颗粒为阳性产物, 每个标本随机选取 5 个不重叠的视野, 用病理图像分析系统测定免疫组化反应阳性颗粒的平均吸光度(A)值, 计算 5 个视野 A 值均值, 进行半定量分析。

1.3.5 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测大鼠肺组织 cav-1、eNOS 的 mRNA 表达:取 100 mg 右肺下叶, 提取肺组织总 RNA。cav-1、eNOS 引物序列由上海英潍捷基生物技术有限公司合成。引物序列: cav-1 上游 5'-GATTGCGGAACCAGAAGG-3', 下游 5'-CCATAGGGATGCCGAAGAT-3', 扩增产物大小 122 bp; eNOS 上游 5'-CGACATTGAGATCAAAGGAC TG-3', 下游 5'-ACTTGTCCAAACACTCCACGC-3', 扩增产物大小 129 bp。以 β -肌动蛋白(β -actin)为内参照, 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳后, 用全自动数码凝胶成像分析系统摄像, SensiAnsys 凝胶图像分析系统分析, 以目的基因与内参照基因在凝胶图像

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.03.009

基金项目: 广西壮族自治区自然科学基金(2010GXNSFA013253)

作者单位: 541001 广西, 桂林医学院附属医院重症科[林梵(现于广州军区广州总医院急诊科工作)、肖军], 心内科(张琛涛)

通信作者: 肖军, Email: junx688@yahoo.com.cn

上的 A 值比值作为基因表达的相对含量。

1.4 统计学分析:实验数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 17.0 统计学软件进行单因素方差分析和 SNK-*q* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠肺组织病理学观察:A 组肺组织正常,未见组织学损伤改变;B1、B2 组肺泡结构完整,有少量炎性细胞浸润,肺泡间隔无水肿,肺泡腔无明显渗出物;C1 组肺泡间隔增厚,肺泡腔内可见较多的炎性细胞,部分肺泡腔内有血性渗出液;C2 组肺泡间隔增厚,浸润的炎性细胞明显增多,肺泡腔可见较多的渗出物,部分肺泡萎陷或破裂。

2.2 各组肺组织 W/D 比值、MPO 活性及 BALF 中 TNF- α 浓度 (表 1):A、B1、B2 组间肺 W/D 比值、MPO 活性及 TNF- α 浓度比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。C1 组各指标较 B1 组显著增高,C2 组各指标较 B2 组、C1 组显著增高(均 $P < 0.05$)。

2.3 各组肺组织 cav-1、eNOS 的 mRNA 表达(图 1;表 2):A、B1、B2 组间 cav-1、eNOS 的 mRNA 表达比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。C1 组 cav-1 mRNA 表达较 B1 组显著上调,eNOS mRNA 表达较 B1 组显著下调(均 $P < 0.05$)。C2 组 cav-1 mRNA 表达较 B2 组、C1 组显著上调,eNOS mRNA 表达较 B2 组、C1 组显著下调(均 $P < 0.05$)。

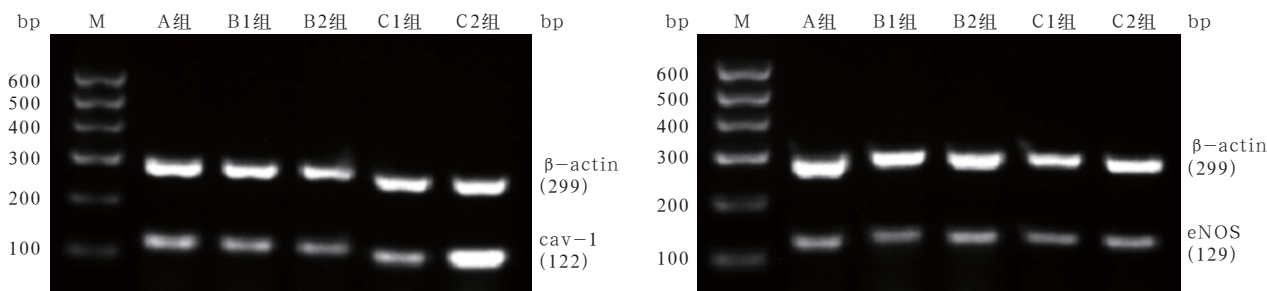
表 1 各组大鼠肺 W/D 比值、MPO 活性

及 BALF 中 TNF- α 浓度比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	W/D 比值	MPO(U/g)	TNF- α (ng/L)
A 组	8	4.51 $\pm$ 0.56	0.76 $\pm$ 0.09	48.66 $\pm$ 11.43
B1 组	8	4.63 $\pm$ 0.12	0.85 $\pm$ 0.11	50.57 $\pm$ 10.98
B2 组	8	4.70 $\pm$ 0.15	0.88 $\pm$ 0.18	52.11 $\pm$ 9.62
C1 组	8	5.64 $\pm$ 0.42 ^{ab}	1.86 $\pm$ 0.26 ^{ab}	386.53 $\pm$ 29.12 ^{ab}
C2 组	8	6.73 $\pm$ 0.83 ^{acd}	2.14 $\pm$ 0.24 ^{acd}	455.77 $\pm$ 37.78 ^{acd}

注:W/D 比值:湿/干质量比值,MPO:髓过氧化物酶,BALF:支气管肺泡灌洗液,TNF- α :肿瘤坏死因子- α ,A 组:对照组,B1、B2 组:保护性通气 1 h、2 h 组,C1、C2 组:大潮气量通气 1 h、2 h 组;与 A 组比较,^a $P < 0.05$;与 B1 组比较,^b $P < 0.05$;与 B2 组比较,^c $P < 0.05$;与 C1 组比较,^d $P < 0.05$

2.4 各组肺组织 cav-1、eNOS、IRAK4、NF- κ Bp65 的蛋白表达:表 2 结果显示,A、B1、B2 组间 cav-1、eNOS、IRAK4、NF- κ Bp65 的蛋白表达比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。C1 组 cav-1、IRAK4、NF- κ Bp65 的蛋白表达均较 B1 组增强,eNOS 蛋白表达则较 B1 组减少(均 $P < 0.05$)。C2 组 cav-1、IRAK4、NF- κ Bp65 的蛋白表达均较 B2 组、C1 组增强,eNOS 蛋白表达较 B2 组、C1 组均减少(均 $P < 0.05$)。图 2 结果显示,A、B1、B2 组肺组织中 cav-1、IRAK4、NF- κ Bp65 均呈弱表达,eNOS 呈强表达;随着 V_T 加大、通气时间的延长,支气管和肺泡上皮细胞、血管内皮细胞和浸润的炎性细胞上 cav-1、IRAK4、NF- κ Bp65 表达增强,eNOS 表达减弱。



cav-1:小窝蛋白-1,eNOS:内皮型一氧化氮合酶,M:Marker,A 组:对照组,B1、B2 组:保护性通气 1 h、2 h 组,

C1、C2 组:大潮气量通气 1 h、2 h 组,β-actin:β-肌动蛋白

图 1 逆转录-聚合酶链反应检测各组大鼠肺组织 cav-1、eNOS 的 mRNA 表达

表 2 各组大鼠肺 cav-1、eNOS、IRAK4、NF- κ Bp65 的 mRNA 和蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	mRNA 表达(A 值比值)		蛋白表达(A 值)			
		cav-1	eNOS	cav-1	eNOS	IRAK4	NF- κ Bp65
A 组	8	0.380 $\pm$ 0.010	0.274 $\pm$ 0.035	0.117 $\pm$ 0.009	0.213 $\pm$ 0.030	0.146 $\pm$ 0.018	0.240 $\pm$ 0.013
B1 组	8	0.384 $\pm$ 0.011	0.278 $\pm$ 0.021	0.140 $\pm$ 0.052	0.211 $\pm$ 0.010	0.150 $\pm$ 0.008	0.236 $\pm$ 0.015
B2 组	8	0.388 $\pm$ 0.014	0.262 $\pm$ 0.045	0.125 $\pm$ 0.014	0.216 $\pm$ 0.013	0.155 $\pm$ 0.012	0.239 $\pm$ 0.005
C1 组	8	0.833 $\pm$ 0.085 ^{ab}	0.174 $\pm$ 0.016 ^{ab}	0.188 $\pm$ 0.011 ^{ab}	0.180 $\pm$ 0.017 ^{ab}	0.181 $\pm$ 0.009 ^{ab}	0.294 $\pm$ 0.011 ^{ab}
C2 组	8	1.162 $\pm$ 0.166 ^{acd}	0.107 $\pm$ 0.014 ^{acd}	0.210 $\pm$ 0.013 ^{acd}	0.161 $\pm$ 0.016 ^{acd}	0.205 $\pm$ 0.085 ^{acd}	0.304 $\pm$ 0.012 ^{acd}

注:cav-1:小窝蛋白-1,eNOS:内皮型一氧化氮合酶,IRAK4:白细胞介素-1受体相关激酶 4,NF- κ B:核转录因子- κ B,A 组:对照组,B1、B2 组:保护性通气 1 h、2 h 组,C1、C2 组:大潮气量通气 1 h、2 h 组;与 A 组比较,^a $P < 0.05$;与 B1 组比较,^b $P < 0.05$;与 B2 组比较,^c $P < 0.05$;与 C1 组比较,^d $P < 0.05$

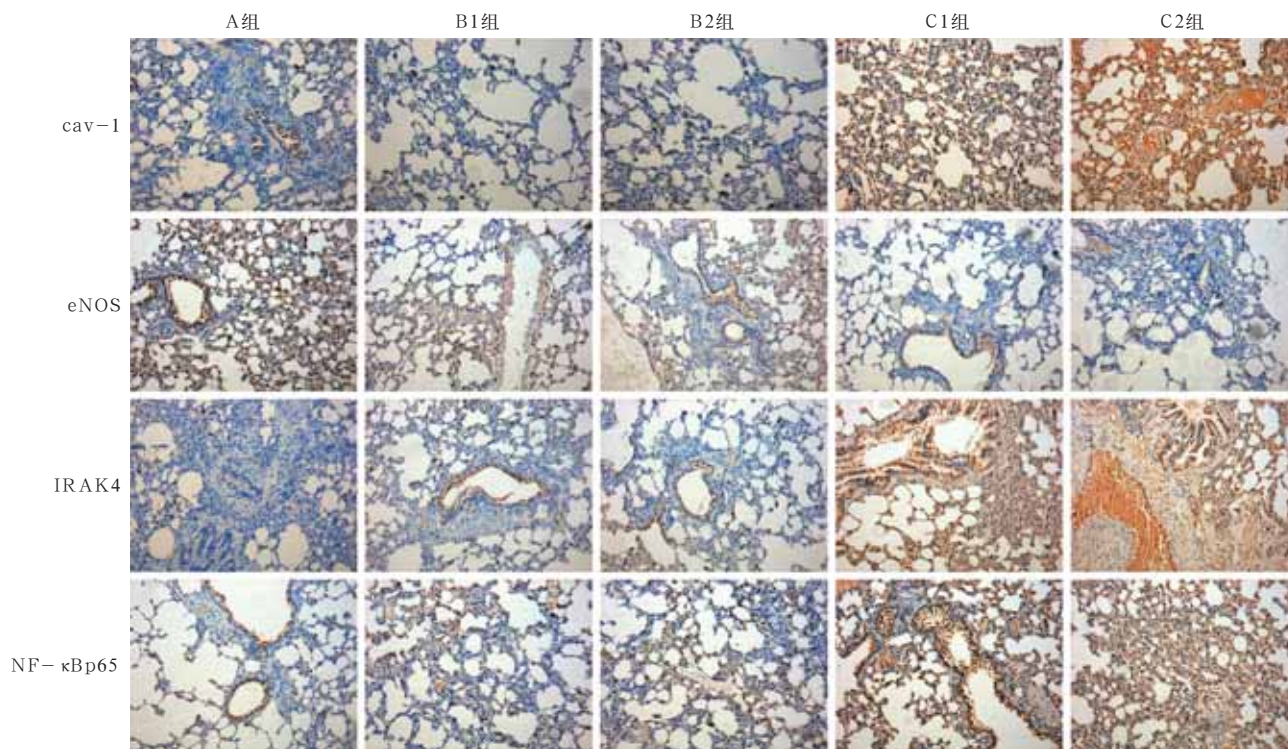


图2 光镜下观察各组大鼠肺组织小窝蛋白-1(cav-1)、内皮型一氧化氮合酶(eNOS)、白细胞介素-1受体相关激酶4(IRAK4)及核转录因子- κ B(NF- κ B)p65的蛋白表达 棕黄色颗粒为阳性表达产物,对照组(A组)、保护性通气1h、2h组(B1组、B2组)支气管上皮细胞、肺泡上皮细胞、血管内皮细胞和浸润的炎性细胞中cav-1、IRAK4、NF- κ Bp65棕黄色颗粒较少,大潮气量通气1h、2h组(C1组、C2组)cav-1、IRAK4、NF- κ Bp65棕黄色颗粒明显较多,且C2组增多更明显;A组、B1组、B2组支气管上皮细胞、肺泡上皮细胞、血管内皮细胞中eNOS棕黄色颗粒较多,C1组、C2组eNOS棕黄色颗粒明显减少,且C2组减少更明显 免疫组化 低倍放大

3 讨论

危重患者常并发呼吸机相关性肺损伤(VILI),临床上主要是通过改变通气策略与模式来减少其的发生^[2-3]。VILI的病理生理基础是肺对变形应力反应,应力损伤会引起膜结构的改变并引发与之相关的信号传递链变化,最终引发炎症因子的广泛释放和肺部病变^[4-7]。而近年来研究发现,位于细胞膜上的小窝及构成小窝的cav-1在应力损伤调控方面起关键作用^[5]。cav-1是小窝的主要结构蛋白,包括I型上皮细胞、内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞、巨噬细胞、中性粒细胞,在肺的各种细胞都存在,除诱导小窝合成外,在介导炎症信号通路方面也起关键作用。

Mirza等^[8]证实,cav-1在基础状态与eNOS呈结合状态并抑制eNOS的活性。cav-1基因敲除小鼠(cav-1^{-/-})在受到脂多糖(LPS)损伤时,肺损伤程度及死亡率均较野生型小鼠低,这是因为eNOS失去了cav-1的调节,通过酪氨酸硝化作用导致IRAK4活性受损,从而降低了NF- κ B的活性,减缓了由接头蛋白髓样分化蛋白(MyD88)-IRAK4通路调节的

Toll样受体4(TLR4)信号链的传递,并最终降低了炎症损伤。本研究中通过建立不同 V_T 和通气时间的大鼠通气模型,模拟临床上机械通气诱发肺损伤的过程,探讨cav-1、eNOS、IRAK4、NF- κ B相关信号链在通气过程中表达的变化及其对肺损伤的影响。结果表明,大 V_T 机械通气较保护性机械通气大鼠出现明显的肺组织病理学损伤,且MPO、W/D比值、蛋白定量及BALF中TNF- α 含量均升高,提示机械通气大鼠模型复制成功。

本实验中RT-PCR及免疫组化结果表明,大 V_T 通气组cav-1、IRAK4、NF- κ B的表达均较保护性通气组及对照组随着通气时间延长而增强,而eNOS则相反,与Mirza等^[8]的实验结果相似。可能cav-1与eNOS的结合促进了TLRs介导的VILI发生。众所周知,TLRs在最初的肺损伤研究中被认为是特异性识别病原相关分子模式,是“瀑布样”炎症反应的闸门,其与炎症反应及多器官功能障碍的发生有着密切联系^[9]。目前的研究认为,TLRs还会把受损组织释放的内源性配体当作危险信号。Vaneker等^[10]发现,机械通气后小鼠BALF中TLR4相关的

内源性配体高迁移率族蛋白、透明质烷、热休克蛋白等都增加,这些内源性配体可激活 TLR4,并启动 TLR 介导的炎症反应^[11-13]。Curley 等^[14]认为机械通气引起的肺损伤使受损组织释放的内源性配体高迁移率族蛋白、透明质烷等激活 TLR4,TLR4 被激活后通过其 TIR 区与被招募的 MyD88 绑定,然后去激活 MyD88 依赖或 MyD88 非依赖通路。MyD88 招募丝氨酸-苏氨酸激酶 IRAK4 和 IRAK1。IRAK4 磷酸化 IRAK1 导致招募肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TRAF6)受体复合物,并激活转化生长因子 β 激活激酶 (TAK1), TAK1 的激活导致 NF- κ B 的激活, NF- κ B 可以导致一系列如 TNF- α 、氧化还原酶趋化抑制因子 -1 α (MIP-1 α)、细胞间黏附分子 -1 (ICAM-1)等促炎因子、趋化因子以及黏附分子的产生^[15-16]。本研究中大 V_T 通气组 BALF 中 TNF- α 显著增高,与上述理论一致。

本研究借助大 V_T 机械通气的应力损伤,使内源性配体释放,激活 TLRs 通路,随着通气时间延长, cav-1 表达越强, eNOS 表达越弱,肺损伤越严重,表明在大 V_T 机械通气中,因为 cav-1 对 eNOS 的抑制增加,使 IRAK4 的硝化减弱,从而使其活性增加,并激活 NF- κ B、TNF- α 等炎症因子,造成肺损伤。

Hoetzel 等^[17]证实,机械通气可致 cav-1-/- 小鼠出现更加严重的肺损伤,吸入一氧化碳(CO)对野生型机械通气小鼠有明显的保护作用,但 CO 吸入对 cav-1-/- 小鼠肺无保护作用;本实验显示, cav-1 在机械通气过程中有保护作用,但从 cav-1、eNOS、IRAK4、NF- κ B 介质介导的相关信号链的研究来看, cav-1 促进了机械通气过程中肺损伤的发生。

参考文献

- [1] The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for

- acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*, 2000, 342: 1301-1308.
- [2] 郑平,郭宇红,孙先军,等.呼吸机正压通气致急性肺损伤的实验研究. *中国危重病急救医学*, 2007, 19: 554-555.
- [3] 刘颖,付江泉,汪颖,等.呼吸机相关性肺损伤的诊治体会. *中国危重病急救医学*, 2009, 21: 245-246.
- [4] Zhang M, Lin L, Lee SJ, et al. Deletion of caveolin-1 protects hyperoxia-induced apoptosis via survivin-mediated pathways. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2009, 297: L945-953.
- [5] Jin Y, Lee SJ, Minshall RD, et al. Caveolin-1: a critical regulator of lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2011, 300: L151-160.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] Mirza MK, Yuan J, Gao XP, et al. Caveolin-1 deficiency dampens Toll-like receptor 4 signaling through eNOS activation. *Am J Pathol*, 2010, 176: 2344-2351.
- [9] 姚咏明,盛志勇.脓毒症研究的若干新动态. *中国危重病急救医学*, 2000, 12: 323-325.
- [10] Vaneker M, Joosten LA, Heunks LM, et al. Low-tidal-volume mechanical ventilation induces a Toll-like receptor 4-dependent inflammatory response in healthy mice. *Anesthesiology*, 2008, 109: 465-472.
- [11] Schaefer L, Babelova A, Kiss E, et al. The matrix component biglycan is proinflammatory and signals through Toll-like receptors 4 and 2 in macrophages. *J Clin Invest*, 2005, 115: 2223-2233.
- [12] 王烁,聂秀红,郭德玉,等.急性肺损伤家兔早期中性粒细胞相关功能的变化研究. *中国危重病急救医学*, 2004, 16: 403-408.
- [13] 李忠旺,邱俏檬,孙琦,等.血必净注射液对创伤弧菌脓毒症大鼠肺组织 Toll 样受体 4 及核转录因子 κ B 表达的影响. *中国中西医结合急救杂志*, 2010, 17: 24-27.
- [14] Curley GF, Kevin LG, Laffey JG. Mechanical ventilation: taking its Toll on the lung. *Anesthesiology*, 2009, 111: 701-703.
- [15] 吉祥,曹书华.异丙酚对失血性休克复苏大鼠应激激素和免疫平衡的影响. *中国危重病急救医学*, 2009, 21: 278-281.
- [16] 阮琼,汪东颖,杨爱东,等.清热燥湿方对急性肺损伤大鼠肺组织核转录因子 κ B 蛋白及 mRNA 表达的影响. *中国中西医结合急救杂志*, 2010, 17: 87-89.
- [17] Hoetzel A, Schmidt R, Vallbracht S, et al. Carbon monoxide prevents ventilator-induced lung injury via caveolin-1. *Crit Care Med*, 2009, 37: 1708-1715.

(收稿日期:2012-12-04)

(本文编辑:李银平)

• 科研新闻速递 •

p62/LC3b 复合物对高氧性肺损伤后肺上皮细胞的保护作用

肺上皮细胞的死亡是高氧性肺损伤的一个突出特点,一直被认为是急性肺损伤(ALI)和急性呼吸窘迫综合征(ARDS)非常重要的潜在机制。最近美国学者报道了一种有关氧化应激后保护和维持上皮细胞稳态的新机制。p62(SQSTM1)是一种广泛表达的细胞蛋白质,它能与泛素化蛋白和细胞自噬标记轻链 3b(LC3b)相互作用,从而介导目标蛋白的降解。肺泡上皮细胞有丰富的 p62 表达,而且在氧化应激损伤后,p62 在蛋白和 mRNA 表达水平上均明显上调。p62/LC3b 复合物能与 Fas 和剪切后的 BID (tBID)相互作用,但这些交互在高氧性损伤后却突然减少;敲除 p62 后可显著增加 tBID 和天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3 (caspase-3)活化片段的水平,这提示 p62 具有抗凋亡作用。对 caspase 活性、剪切后多聚 ADP-核糖聚合酶(PARP)水平和细胞活性的检测进一步证实了 p62 的抗凋亡作用。敲除 p62 的 PBI 结构域或 UBA 结构域后都会明显增加高氧性损伤后 tBID 和 caspase-3 活化片段的水平,并且细胞死亡数目也明显增加。此外,高氧性损伤后 p62 与 LC3b 的运动方向相反,从而导致 p62/cav-1/LC3b/BID 复合物的解离,并使 LC3b 不能正常介导溶酶体对 tBID 的降解。因此,研究人员认为,p62/LC3b 复合物具有调节高氧性损伤后肺泡上皮细胞稳态和细胞保护的作用。

喻文,编译自《N Engl J Med》,2013-01-18(电子版);胡森,审校