

基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2012.12.003

AQP5、MMP-9 在重症急性胰腺炎肺损伤中的变化及意义

吴巧艺¹, 王 锋², 林振吕¹, 梁文福¹, 刘赵琪¹, 林 铂¹

(1. 福建医科大学附属第一医院急诊外科, 福州 350005; 2. 福建医科大学附属协和医院普外科, 福州 350003)

【摘 要】目的: 观察重症急性胰腺炎(Severe acute pancreatitis, SAP)肺损伤肺水肿与水通道蛋白 5(Aquaporin 5, AQP5)及基质金属蛋白酶-9(Matrix metalloproteinases-9, MMP-9)表达变化的关系, 研究 AQP5 及 MMP-9 在 SAP 肺损伤中的意义。方法: 逆行注射 5% 牛磺胆酸钠制作大鼠 SAP 模型。40 只 SD 大鼠随机分成实验组(SAP 组)和假手术(Shamed-operated, SO)组, 分别于 3、6、12、24 h 观察肺组织病理改变。通过免疫荧光组化、实时荧光定量 PCR 及 Western blot 法分析肺组织 AQP5 及 MMP-9 的变化。结果: 与 SO 组相比, SAP 组肺组织损害明显。通过免疫荧光组化、实时荧光定量 PCR 和 Western blot 检测发现, SAP 组肺组织 AQP5 表达在 3 h 前无明显变化($P>0.05$), 但 6 h 后表达明显减少($P<0.05$); MMP-9 mRNA 的表达水平 3 h 开始即明显升高, 12 h 时达峰值, 24 h 后开始下降($P<0.05$); MMP-9 蛋白表达从 3 h 开始呈逐渐增加趋势($P<0.001$)。结论: SAP 急性肺损伤早期肺组织 AQP5 无明显改变, 后期则逐渐下降, 提示肺 AQP5 可能不是导致 SAP 肺损伤早期肺水肿的直接原因; MMP-9 大量表达, 肺毛细血管基膜溶解, 连续性中断, 通透性增高, 是肺损伤早期肺水肿的主要机制; 但 AQP5 表达水平下调影响了 AQP5 介导的水分子跨膜转运效率, 导致肺泡内液清除障碍, 促进了肺水肿形成, 加重了肺损伤肺水肿的程度, 推进了急性呼吸窘迫综合征的进程。

【关键词】重症急性胰腺炎; 急性肺损伤; 水通道蛋白; 基质金属蛋白酶**【中国图书分类法分类号】**R361+2**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2012-03-23

Changes and significance of AQP5 and MMP-9 in severe acute pancreatitis-associated lung injury

WU Qiaoyi¹, WANG Feng², LIN Zhenlv¹, LIANG Wenfu¹, LIU Zhaoqi¹, LIN Bo¹

(1. Department of Emergency Surgery, the First Affiliated Hospital, Fujian Medical University;

2. Department of General Surgery, Union Hospital, Fujian Medical University)

【Abstract】Objective: To observe the changes and significance of aquaporin 5(AQP5) and matrix metalloproteinases-9(MMP-9) in severe acute pancreatitis(SAP) associated with lung injury. **Methods:** SAP model was prepared through retrograde injection of 5% taurocholic acid. SD rats were randomly divided into SAP group and shamed-operated(SO) group. Lung structure damage and AQP5, MMP-9 expression in lung tissues were examined at 3, 6, 12 h and 24 h during disease development through the immunofluorescence staining, real-time PCR and Western blot analysis. **Results:** Lung tissues were significantly damaged in SAP group compared with those in SO group. Immunofluorescence staining, real-time PCR and Western blot showed that in SAP group there was no change in AQP5 expression until 3 h($P>0.05$) and it was gradually decreased at 6 h afterwards($P<0.05$); in SAP group, MMP-9 mRNA expression was significantly increased at 3 h afterwards and was reached the peak at 12 h($P<0.05$) but was gradually decreased at 24 h afterwards. MMP-9 protein expression was gradually increased at 3 h afterwards($P<0.001$). **Conclusions:** AQP5 expression remains constant in lung tissue at early stage of SAP associated with lung injury, but decreases at later stage. This indicates that AQP5 may not be the direct reason for early edema of lung injury. Large expression of MMP-9, pulmonary capillaries basement membrane dissolution, discontinuity and increase of blood capillary permeability of are perhaps the main mechanisms of early edema of lung injury. But the decreased lung AQP5 expression can affect the efficiency of transmembrane transport of water molecule mediated by AQP5, induce alveoli liquid removing obstacles and promote the formulation of lung endema, which increases the severity of lung edema and propels the process of acute respiratory distress syndrome.

【Key words】severe acute pancreatitis; lung injury; aquaporin; matrix metalloproteinases**作者简介:** 吴巧艺(1977-), 男, 主治医师, 硕士,

研究方向: 胃肠基础及临床研究。

基金项目: 福建省卫生厅青年课题资助项目(编号: 2010-2-31)。

重症急性胰腺炎(Severe acute pancreatitis, SAP)急性期释放大炎症介质,入血后肺组织成为炎症损伤最主要最严重的靶器官之一,早期即可出现急性肺损伤(Acute lung injury, ALI)和急性呼吸窘迫综合征(Acute respiratory distress syndrome, ARDS),而 SAP 诱发 ALI 后肺组织水肿机制并没有被完全阐明。有实验表明基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMP)在提高毛细血管内皮通透性方面具有重要作用。MMP 能降解内皮基膜,提高毛细血管渗透性,与 SAP 的恶化进程有相关性^[1]。另一个与肺组织中水含量调节密切相关的因素是水通道蛋白(Aquaporin, AQP),但在不同病因形成的 ALI 肺水肿中, AQP 在其中发挥的作用还不是很明确。已有研究表明 AQP1 表达下调在 SAP 急性肺损伤、肺水肿中发挥重要作用,而对于 AQP5 在 SAP 肺损伤肺水肿的变化及其作用却鲜有报道,本实验通过检测 SAP 肺损伤 AQP5 及 MMP-9 的变化,探讨 AQP5、MMP-9 在 SAP 肺损伤中的意义。

1 材料和方法

1.1 实验材料

健康清洁级成年雄性 SD 大鼠,体重(200 ± 10) g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供[许可证号 SCXK(沪)2007-0005]。兔抗大鼠 AQP5,小鼠抗大鼠 MMP9,羊抗大鼠 IgG-辣根过氧化物酶(Horse radish peroxidase, HRP),羊抗兔 IgG-若丹明异硫氰酸(Tetramethyl rhodamine iso-thiocyanate, TRITC)购自 ABCAM 公司,逆转录试剂盒购自 TOYOBO 公司,透射电子显微镜(Hitachi H7650 Japan),扫描电子显微镜(JEOL JSM-6380LV Japan),激光扫描共聚焦显微镜(LEICA TCS SP5 Germany),荧光定量 PCR 仪(ABI 7500 USA)。

1.2 实验分组及方法

1.2.1 实验动物分组 随机数字表法将 40 只 SD 大鼠分成实验组(SAP)和假手术(Shamed-operated, SO)组,每组观察 4 个时间点(3、6、12、24 h),组内 $n=5$,各个时间点收集标本。

1.2.2 实验方法 参照 Goldenberg^[2]制作 SAP 动物模型。制模成功后, SAP 组大鼠侧腹部皮下可见 Grey-Turner 征,腹腔产生大量血性腹水。分别在 3、6、12、24 h 时间点, 10%水合氯醛(3 ml/kg)腹腔注射麻醉。消毒胸腹部皮肤,剪开腹腔,由膈肌进入胸腔,从心尖插入导管,左心室内注射肝素约 0.1 ml,剪开右心房, 0.1 mol/L PBS 快速灌注(29 r/min)直至右心室流出澄清液体, 4%多聚甲醛-0.3%戊二醛-0.1 mol/L PBS 固定,沿胸骨中线打开胸腔,充分暴露双肺,取下双侧肺,右肺用于计算肺系数。取左上肺部分组织用于 HE 染色检查;部分肺组织用于免疫荧光组化、实时荧光定量 PCR 及 Western

blot 法检测 AQP5、MMP9 的表达。

1.3 肺系数测定

取右肺电子天平称湿重(W),然后将标本置于 70 °C 烤箱中烤 2 d 至恒重,再称其干重(D)。根据肺系数(Lung coefficient, LC)公式计算肺湿干重比(W/D): $LC=W(g)/D(g)$ 。

1.4 免疫荧光组织化学染色法观察 AQP5、MMP-9 的表达

肺组织 5 μm 厚度行连续切片;再经脱蜡、修复抗原, 10%山羊血清封闭 20 min 后,滴加一抗, 4 °C 孵育过夜;次日用二抗,室温避光反应 45 min, 0.1 mmol/L PBS 冲洗,封片,置 TCS SP5 型激光扫描共聚焦显微镜下,分别以 662 nm 和 546 nm 波长的激发光观察切片组织内 Cy5 及 TRITC 所标示的 MMP-9、AQP5 抗原染色结果(Cy5 阳性组织呈蓝色, TRITC 阳性组织呈红色)。

1.5 实时荧光定量 PCR 分析 AQP5、MMP-9 mRNA 的表达

组织块液氮研磨后加入 RNAiso™ Plus(TaKaRa D9108A),经氯仿、异丙醇、75%乙醇洗脱,提取 RNA 用逆转录试剂盒行 RT-PCR, SYBR Green I 染料法在荧光定量 PCR 仪中,引物: GAPDH: 5'-TCTTC CAGGA GCGAG ATCCC-3'/5'-AGTGA TGGCA TGGAC TGTGG TCAT-3' (320 bp); AQP5: 5'-CCCTA CCCAG AAGAC CCAGT-3'/5'-CCATC TTGTG GGG-AT CTACT TCAC-3' (112 bp); MMP-9: 5'-TCTGC CCCAG TGAGA ATCTC T-3'/5'-CCAGA AACAG GCTGT ACCCT T-3' (384 bp)。反应条件预变性 95 °C 30 s, 95 °C 5 s, 60 °C 31 s, 40 循环。

1.6 Western blot 法分析 AQP5、MMP9 蛋白的表达

将组织块在冰上研磨成匀浆,加入 50 μl 2 × 细胞裂解液,混匀后冰上孵育,取上清加入 50 μl 2 × SDS 上样缓冲液,电泳,将蛋白从聚丙烯酰胺凝胶转至硝酸纤维素薄膜上,置于丽春红染色液中 5~10 min,标记蛋白标准分子量条带,将膜置于 30 ml 封闭缓冲液中,室温下震荡 1 h。一抗反应(1:1 000)室温下摇床孵育 2 h;二抗反应(1:5 000)于室温下摇床孵育 1 h。ECL 发光试剂处理,显影曝光。Quantity one 4.62 软件测灰度值。

1.7 数据统计学方法

结果用均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用两样本均数 t 检验分析组间差异性。统计软件为 SPSS 15.0(SPSS Inc, Chicago, IL),双侧检验, $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肺系数

SAP 组大鼠在不同时间点之间的肺湿重和干重比值(W/D)变化(3 h: 4.82 ± 0.31 ; 6 h: 5.22 ± 0.17 ; 12 h: 5.83 ± 0.38 ; 24 h: 6.50 ± 0.23)具有统计学意义($P < 0.001$),而 SO 组大鼠肺 W/D 值在各实验时间段(3 h: 4.46 ± 0.16 ; 6 h: 4.59 ± 0.18 ; 12 h: 4.60 ± 0.23 ; 24 h: 4.61 ± 0.16)之间并无明显差别($P = 0.138$);并且, SAP 组在不同时间点的肺 W/D 值比同期对照组显著增高($P < 0.001$)。

2.2 肺组织病理学改变

SAP 组大鼠两肺严重充血、水肿,广泛融合状出血病灶。SO 组大鼠两肺无明显 ALI 表现。肺组织切片观察,SO 组肺组织无明显病理变化。SAP 模型早期肺损伤表现为肺间质水肿、少量炎症细胞浸润,近肺膜的部分肺泡充血、渗出,但是肺泡腔大小尚均一;SAP 后期表现为肺间质水肿、增生、充血,肺泡隔明显变宽,大量炎症细胞浸润,小动脉血栓形成,肺泡大面积萎陷,仅剩余少量肺泡代偿性扩张,肺泡腔大小不一,肺泡腔内出血、大量渗出液。

2.3 肺组织 AQP5、MMP-9 免疫荧光组化结果

免疫荧光组化结果如图 1~5 所示,与 SO 组相比,SAP 组 AQP5 的荧光标记强度在 3 h 时无明显变化,但 6 h 后荧光强度均逐渐减弱。MMP-9 的荧光标记强度从 3 h 开始到 24 h 呈明显逐渐加强趋势。而如图 6~10 所示,SO 组 AQP5 和 MMP-9 的表达水平在各个时间点之间却无明显变化。

2.4 肺组织 AQP5、MMP-9 mRNA 实时荧光定量 PCR 结果

各组基因定量 PCR mRNA 表达相对量的 Ct 值 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) 见表 1。PCR 结果中基因扩增曲线和溶解曲线一致性较好,实验重复可靠性理想。SAP 组 AQP5 mRNA 在 3 h 的表达水平与 SO 组无明显差别 ($P=0.147$),但是 6 h 后 AQP5 mRNA 的表达逐渐减少 ($P<0.001$,图 4)。MMP-9 mRNA 的表达水平 3 h 开始即呈明显升高趋势 ($P<0.05$),SAP 诱导成功 12 h 时 MMP-9 mRNA 的表达水平达峰值水平,24 h 时 MMP-9 mRNA 的表达水平开始下降。SO 组 AQP5 和 MMP-9 mRNA 的表达水平在各实验点之间的差别无统计学意义 (分别 $P=0.449$, $P=0.803$)。

2.5 肺组织 AQP5、MMP-9 蛋白 Western blot 分析结果

Western blot 结果测得各组显影条带灰度值,见表 2。SAP 组 AQP5 蛋白表达量在 3 h 时无明显变化 (分别 $P=0.731$, $P=0.620$),但 6 h 后逐渐减低 ($P<0.05$)。MMP-9 蛋白表达量随 SAP 诱导时间增加呈明显增高趋势 ($P<0.001$)。SO 组在各实验点之间的 AQP5 和 MMP-9 蛋白表达量无明显变化 (分别 $P=0.253$, $P=0.519$)。

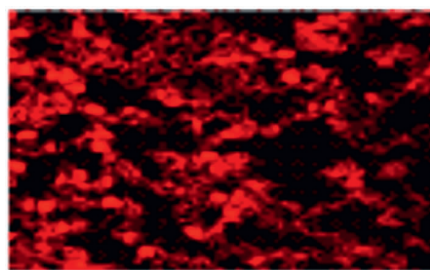


图 1 SO 组肺组织 AQP5-TRITC 免疫荧光组化结果 (500 ×)

Fig.1 Immunofluorescence staining of AQP5-TRITC in rat lung tissue in SO group (500 ×)

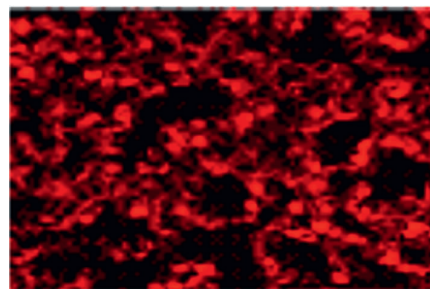


图 2 SAP 组 3 h 肺 AQP5-TRITC 免疫荧光组化结果 (500 ×)

Fig.2 Immunofluorescence staining of AQP5-TRITC in rat lung at 3 h in SAP group (500 ×)

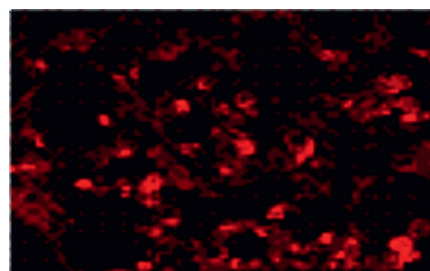


图 3 SAP 组 6 h 肺 AQP5-TRITC 免疫荧光组化结果 (500 ×)

Fig.3 Immunofluorescence staining of AQP5-TRITC in rat lung at 6 h in SAP group (500 ×)

表 1 各组基因定量 PCR mRNA 表达相对量的 Ct 值 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Tab.1 Relative amount ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) of AQP5, MMP-9 mRNA expression at 3, 6, 12 h and 24 h in SO and SAP groups ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	AQP5 mRNA 相对表达量				MMP-9 mRNA 相对表达量			
	3 h	6 h	12 h	24 h	3 h	6 h	12 h	24 h
SAP组	1.06 ± 0.12 [#]	0.75 ± 0.15 [*]	0.51 ± 0.12 [*]	0.30 ± 0.07 [*]	1.38 ± 0.49 [*]	2.61 ± 0.55 [*]	6.55 ± 1.05 [*]	1.96 ± 0.29 [*]
SO组	1.00 ± 0.00	1.06 ± 0.10	1.09 ± 0.22	1.07 ± 0.08	1.00 ± 0.00	1.01 ± 0.14	0.98 ± 0.09	0.97 ± 0.11

注:与 SO 组比较, [#], $P>0.05$; ^{*}, $P<0.05$

表 2 各组 AQP5、MMP-9 蛋白显影条带灰度值 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Tab.2 Grey value of AQP5 and MMP-9 protein expression of lung tissue at 3, 6, 12 h and 24 h in SO and SAP groups ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	AQP5蛋白显影条带灰度值				MMP-9蛋白显影条带灰度值			
	3 h	6 h	12 h	24 h	3 h	6 h	12 h	24 h
SAP组	1.02 ± 0.13 [#]	0.90 ± 0.08 [*]	0.69 ± 0.07 [*]	0.49 ± 0.08 [*]	1.15 ± 0.07 [*]	1.21 ± 0.10 [*]	1.46 ± 0.19 [*]	1.76 ± 0.12 [*]
SO组	1.00 ± 0.00	1.01 ± 0.13	1.09 ± 0.24	1.04 ± 0.14	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.11	1.02 ± 0.10	1.02 ± 0.12

注:与 SO 组比较, [#], $P>0.05$; ^{*}, $P<0.05$

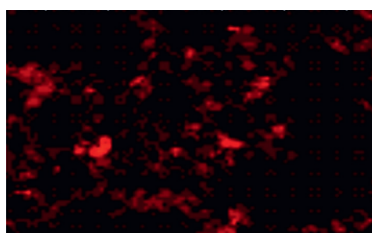


图 4 SAP 组 12 h 肺 AQP5-TRITC 免疫荧光组化结果 (500 ×)
Fig.4 Immunofluorescence staining of AQP5-TRITC in rat lung at 12 h in SAP group (500 ×)

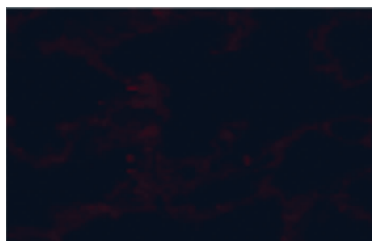


图 5 SAP 组 24 h 肺 AQP5-TRITC 免疫荧光组化结果 (500 ×)
Fig.5 Immunofluorescence staining of AQP5-TRITC in rat lung at 24 h in SAP group (500 ×)

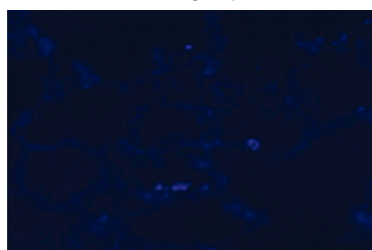


图 6 SO 组肺组织 MMPP-Cy5 免疫荧光组化结果 (500 ×)
Fig.6 Immunofluorescence staining of MMPP-Cy5 in rat lung tissues in SO group (500 ×)

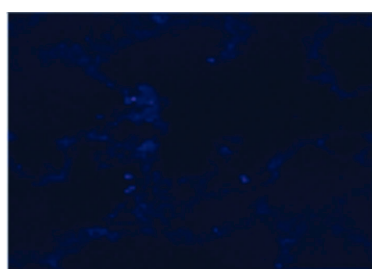


图 7 SAP 组 3 h 肺 MMPP-Cy5 免疫荧光组化结果 (500 ×)
Fig.7 Immunofluorescence staining of MMPP-Cy5 in rat lung at 3 h in SAP group (500 ×)

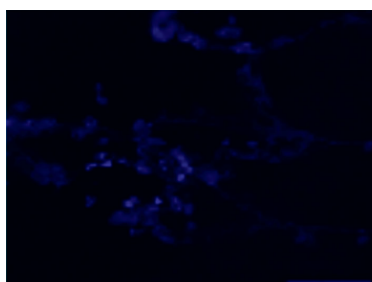


图 8 SAP 组 6 h 肺组织 MMPP-Cy5 免疫荧光组化 (500 ×)
Fig.8 Immunofluorescence staining of MMPP-Cy5 in rat lung at 6 h in SAP group (500 ×)

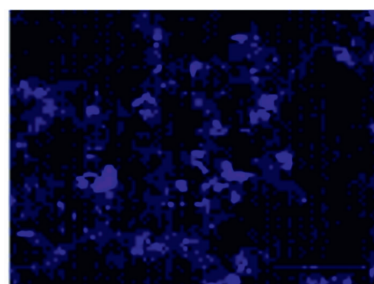


图 9 SAP 组 12 h 肺 MMPP-Cy5 免疫荧光组化 (500 ×)
Fig.9 Immunofluorescence staining of MMPP-Cy5 in rat lung at 12 h in SAP group (500 ×)

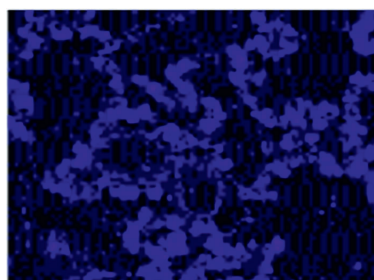


图 10 SAP 组 24 h 肺 MMPP-Cy5 免疫荧光组化 (500 ×)
Fig.10 Immunofluorescence staining of MMPP-Cy5 in rat lung at 24 h in SAP group (500 ×)

3 讨 论

临床中许多 SAP 病人急性期发生 ALI 和 ARDS, 主要表现为肺毛细血管通透性增高、肺水肿及肺通气功能障碍。本实验中, 观察到 SAP 肺损伤表现为肺间质充血、水肿, 肺泡间隔明显变宽, 大量炎性细胞浸润, 肺泡塌陷, 肺泡壁结构破坏, 肺泡腔内出血、大量渗出液。肺毛细血管外基膜水肿、连续性中断。同时通过检测肺系数可见其值由 3 h 的 4.82 ± 0.31 到 24 h 的 6.50 ± 0.23 , 提示肺组织水肿逐渐明显, 肺损伤加重。完整的毛细血管外基膜是内皮屏障的重要组成部分之一。病理条件下毛细血管内皮细胞之间或内皮细胞上会产生小间隙, 造成内皮细胞对大分子物质具有更高的通透性, 毛细血管内液体和大分子物质能通过受损的内皮细胞直接进入肺间隔^[9]。

如果说肺毛细血管内皮屏障是阻止血管内物质漏出而导致肺间质水肿的第 1 重屏障, 那么肺泡上皮屏障就是防止液体及血管内大分子物质进入肺泡引起肺泡水肿的第 2 重屏障。AQP 在肺组织液体转运中关系紧密, 它调节肺水平衡, 在肺泡和肺间质以及肺毛细血管间的水跨膜转运中发挥着重

要作用,尤其对清除肺泡内多余的液体起着主导作用^[4]。肺泡上皮细胞主要表达的是 AQP5,主要介导肺泡内液体的转运。有研究报道,ALI 时肺组织中 AQP1/5 mRNA 和蛋白表达下调。相反,一些 ALI 模型证明炎症因子使 AQP1/5 mRNA 和蛋白表达增加^[5,6]。而 Nagai 等^[7]在小鼠 ALI 模型中发现在不同实验阶段 AQP5 的表达呈上下波动趋势。

在本实验中发现,SAP 组肺组织 MMP-9 的荧光标记强度从 3 h 开始到 24 h 呈明显逐渐加强趋势。MMP-9 mRNA 表达在 3 h 为 1.38 ± 0.49 ,12 h 为 6.55 ± 1.05 ,达到峰值,24 h 后为 1.96 ± 0.29 出现了下降,MMP-9 蛋白的表达在 3 h 后亦呈上升改变,其变化曲线与本实验 SAP 模型血清淀粉酶水平变化趋势一致。已有研究发现,SAP 大量炎症递质被激活后释放入血,TNF- α 、IL-1 β 和 IL-8 等炎症介质能刺激组织大量表达分泌 MMP-9,后者能有效分解血管外基膜中的胶原纤维,从而改变毛细血管的通透性^[8,9]。以上变化是否提示 SAP 早期的血液中炎性介质的释放与 MMP-9 的表达变化以及毛细血管基膜完整性的破坏三者之间存在着一定的关联性。由此推测重症急性胰腺炎早期炎症的刺激可能使 MMP-9 表达增加,MMP-9 分解基膜中的胶原纤维导致基膜完整性破坏,毛细血管外基膜完整性破坏后会增高毛细血管的通透性,使血管内漏出的液体和大分子物质顺畅的漏入肺间质中,引起肺间质水肿。

同时在本实验中,免疫荧光组化显示结果观察到,SAP 组 AQP5 的荧光标记强度在 3 h 时无明显变化,6 h 后荧光强度较 SO 组出现减弱改变,12、24 h 后减弱更为明显;SAP 组 AQP5 mRNA 和蛋白在 3 h 前表达分别为 1.06 ± 0.12 和 1.02 ± 0.13 ,而 SO 组 AQP5 mRNA 和蛋白在 3 h 表达为 1.00 ± 0.00 ,两者间无明显变化;SAP 组 AQP5 mRNA 和蛋白表达水平由 6 h 到 24 h 逐渐下调;而此期间的肺组织的损害程度却呈现出逐渐加重的改变,初步说明 3 h 前肺 AQP5 表达水平变化可能不是导致 SAP 急性期 ALI 肺组织水肿的直接原因;而后期则由于 AQP5 表达下调及肺血气屏障之间渗透压梯度降低,影响

了 AQP5 介导的水分子跨膜转运效率,导致肺泡内液清除障碍、肺间质内液体回吸收减少。MMP-9 表达增加,分解基膜中的胶原纤维,破坏基膜完整性,增加通透性;同时 AQP5 对水分子跨膜转运效率下降加重了肺损伤,促进了肺水肿,恶化了肺毛细血管渗漏的结果,推进了 ARDS 的进程。

本实验研究仅仅观察 AQP5 及 MMP-9 在 SAP 肺损伤肺组织中表达的变化,然而 SAP 肺损伤所涉及的机制十分复杂,AQP 的表达也同样受到多种因素的影响,其间的机理还有待进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Van den Steen P E, Dubois B, Nelissen I, et al. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) [J]. Crit Rev Biochem Mol Biol, 2002, 37(6): 375-536.
- [2] Goldenberg A, Romeo A C, Moreira M B, et al. Experimental model of severe acute pancreatitis in rabbits [J]. Acta Cir Bras, 2007, 22(5): 366-371.
- [3] Lam C F, Roan J N, Lee C H, et al. Transplantation of endothelial progenitor cells improves pulmonary endothelial function and gas exchange in rabbits with endotoxin-induced acute lung injury [J]. Anesth Analg, 2011, 112(3): 620-627.
- [4] Verkman A S. Role of aquaporins in lung liquid physiology [J]. Respir Physiol Neurobiol, 2007, 159(3): 324-330.
- [5] Wang G, Chen H L, Ren F, et al. Expression of Cav-1, AQP1 and AQP5 in lung of acute pancreatitis-associated lung injury rats and the therapeutic role of Qingyitang [J]. National Medical Journal of China, 2010, 90(36): 2564-2569.
- [6] Wang F, Huang H, Lu F, et al. Acute lung injury and change in expression of aquaporins 1 and 5 in a rat model of acute pancreatitis [J]. Hepatogastroenterology, 2010, 57(104): 1553-1562.
- [7] Nagai K, Watanabe M, Seto M, et al. Nitric oxide decreases cell surface expression of aquaporin-5 and membrane water permeability in lung epithelial cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 354(2): 579-584.
- [8] Dooley J L, Abdel-Latif D, St Laurent CD, et al. Regulation of inflammation by Rac2 in immune complex-mediated acute lung injury [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2009, 297(6): L1091-1102.
- [9] Apostolidou E, Paraskeva E, Gourgoulis K, et al. Matrix metalloproteinases 2 and 9 increase permeability of sheep pleura in vitro [J]. BMC Physiol, 2012, 12: 2.

(责任编辑:唐秋姗)