

丝裂原活化蛋白激酶信号对高氧性肺损伤 水通道蛋白 5 的调控机制

周 璟¹, 谭利平¹, 许 峰², 方 芳³

(1. 重庆医科大学附属儿童医院急诊科; 2. 重庆医科大学附属儿童医院 PICU; 3. 儿童发育疾病研究省部共建教育部重点实验室、重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地、儿科学重庆市重点实验室, 重庆 400014)

【摘要】目的:探讨丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPKs)信号通路三亚族 ERK、p38、JNK 对高氧性肺损伤异常表达水通道蛋白 5(aquaporin 5, AQP5)的分子调控机制。**方法:**制备高氧肺损伤动物模型, 通过不同信号途径抑制剂干预。随机将 Wistar 实验大鼠分为 8 组($n=6$): 空气对照组(A)、高氧组(H)、高氧+ERK 抑制剂 PD98059 组(H+PD)、高氧+p38 抑制剂 SB203580 组(H+SB)、高氧+JNK 抑制剂 SP600125 组(H+SP) 及空气+抑制剂对照组(A+PD、A+SB、A+SP), 采用蛋白质免疫印迹法检测 AQP5 蛋白表达, real-time PCR 检测 AQP5 mRNA。**结果:**Western blot 结果显示: A 组 AQP5 蛋白呈较高表达, H 组 AQP5 表达减弱($P=0.000$), 而 H+SB、H+SP 组较 H 组 AQP5 蛋白表达明显升高($P=0.000$), 二者中尤以 H+SB 组其蛋白上调更明显, H+PD 组与 H 组比较无统计学性差异($P=0.737$); real-time PCR 结果显示: H 组 AQP5 mRNA 表达较空气对照组降低($P=0.000$), H+SB、H+SP 与 H 组比较 AQP5 mRNA 表达升高($P=0.000$), 二者中尤以 H+SB 组其 mRNA 上调更明显, 但二者与 A 组比较, 差异仍有统计学意义($P=0.000$), 而 H+PD 干预组与 H 组比较, 未见肺组织 AQP5 mRNA 表达的明显变化($P=0.796$)。A 组与 A+抑制剂对照组(A+PD、A+SB、A+SP)在 AQP5 蛋白及 mRNA 表达上均无明显差异。**结论:**抑制剂 SB203580 及 SP600125 在高氧暴露后能增加 AQP5 蛋白和 mRNA 表达, 因而推测 MAPKs 通路中 p38、JNK 可能参与了调控高氧肺损伤 AQP5 基因表达的下调过程。

【关键词】急性肺损伤; 高氧; 水通道蛋白 5; 丝裂原活化蛋白激酶通路

【中图分类号】R563

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-11-20

Regulation mechanism of MAP kinases on aquaporin 5 mRNA and protein expression in hyperoxic lung injury

Zhou Jing¹, Tan Liping¹, Xu Feng², Fang Fang³

(1. Emergency Department, the Children's Hospital, Chongqing Medical University; 2. Pediatric Intensive Care Unit, the Children's Hospital, Chongqing Medical University; 3. Key Laboratory of Child Development and Disorders Co-founded by Provincial Government and Ministry of Education, Chongqing International Science and Technology Cooperation Center for Child Development and Disorders, Key Laboratory of Pediatrics in Chongqing)

【Abstract】Objective: To investigate regulation mechanism of mitogen activated protein kinases (MAPKs) signaling pathway on Aquaporin 5 (AQP5) expression disorder in hyperoxic lung injury (HLI). **Methods:** Forty-eight Wistar rats aged three weeks old were randomly divided into 8 groups ($n=6$): room-air group (A), hyperoxia group (H), hyperoxia + ERK inhibitor PD98059 (H+PD), hyperoxia + p38 inhibitor SB203580 (H+SB), hyperoxia + JNK inhibitor SP600125 (H+SP), and the corresponding inhibitors control groups (A+PD, A+SB, A+SP). The rats in hyperoxia groups were kept in cabinet with high concentration of oxygen ($\geq 95\%$), and those in air groups were kept in room air. AQP5 protein expression in lung tissue was detected by Western blot. AQP5 mRNA expression was determined by real-time PCR. **Results:** Lung injury developed in hyperoxia exposure groups, as evidenced by severe alveolar edema, inflammatory cell infiltration, RBC leakage and alveolar structure destruction. The protein level of AQP5 detected by Western blot was down-regulated in H group and H+inhibitors (H+PD/SB/SP) groups than in A group ($P=0.000$), but the expression of AQP5 protein was markedly higher in H+SB and H+SP groups than in H group ($P=0.000$), and this change was more significant in H+SB group.

作者介绍: 周 璟, Email: zhoujing2030@aliyun.com,

研究方向: 儿童危重症。

通信作者: 谭利平, Email: tanlp0825@163.com。

基金项目: 中华儿科杂志百利儿科科研基金资助项目; 重庆医科大学校级课题资助项目。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000203.html>

There was no difference in AQP5 protein expression between H group and H+PD group ($P=0.737$). The mRNA level of AQP5 was decreased in H group but was increased in H+SB, H+SP and H groups compared with that of A group ($P=0.000$). However, there was no change in AQP5 mRNA level between H+PD and H group ($P=0.796$). There was no significant change in

AQP5 protein and mRNA expression between A group and A+inhibitors (A+PD/SB/SP) groups. **Conclusion:** Hyperoxia decreases AQP5 protein and mRNA expression while SB203580 and SP600125 up-regulates AQP5 gene expression. Inhibition of p38 and JNK pathway blocks the effect of hyperoxia on AQP5 expression. These data show that p38 and JNK MAP kinases may involve in the down-regulation of AQP5 genes in HLI.

【Key words】acute lung injury; hyperoxia; aquaporin 5; mitogen activated protein kinases pathway

高氧机械通气是治疗严重呼吸衰竭,尤其是急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)的常用措施,但长时间暴露在高氧状态下会导致肺上皮细胞损伤、死亡,发生高氧性肺损伤(hyperoxic lung injury, HLI)^[1-2]。HLI 早期特征性改变是肺泡的炎性水肿致肺液代谢障碍,大量研究提示水通道蛋白 5(aquaporin 5, AQP5)在肺泡细胞的水平衡调节上有重要作用,其表达失衡可能是肺泡液体清除率(alveolar fluid clearance, AFC)降低的重要因素。丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPKs)是哺乳动物体内重要的信号转导通路之一,主要参与了胚胎发育、细胞分化、增殖和死亡的过程。有依据显示 AQP5 基因表达可被生长因子、炎症介质、渗透性应激所调节^[3],其可能的调控机制涉及 MAPKs 信号级联反应^[4-6],但是 MAPKs 途径是否参与氧化应激时 AQP5 的表达调控,至今尚不清楚。本课题拟以 HLI 动物为研究对象,肺组织 AQP5 基因表达为研究内容,通过阻断 MAPKs 信号通路,探询 MAPKs 信号途径参与调节 HLI 肺组织 AQP5 表达的可能性,为有效调控 AQP5 在肺组织的表达失衡提供实验依据。

1 对象与方法

1.1 实验动物及分组

幼年 3 周龄清洁型 Wistar 大鼠,雄性,体质量(40.5 ±

3.9) g,由重庆医科大学实验动物中心提供。采用随机数表法分为 8 组,每组 6 只:空气对照组(air group, A)、高氧组(hyperoxia group, H)、空气+PD98059 0.3 mg/kg (A+PD)、空气+SB203580 0.2 mg/kg 组(A+SB)、空气+SP600125 15 mg/kg 组(A+SP)以及高氧+PD98059 0.3 mg/kg 组(H+PD)、高氧+SB203580 0.2 mg/kg 组(H+SB)、高氧+SP600125 15 mg/kg 组(H+SP)。

1.2 试剂和仪器

phospho-p44/p42 MAPK (Erk1/2)多克隆抗体、phospho-p38 MAPK 多克隆抗体、phospho-SAPK/JNK 多克隆抗体、PD98059 购自美国 Cell Signaling Technology 公司,SB203580 及 SP600125 购自美国 Sigma-Alchrich 公司,兔抗大鼠 AQP5 多克隆抗体购自美国 Chemicon 公司,real-time PCR 试剂盒购自大连 TaKaRa 公司,ECL 化学发光仪购自美国 Bio-Rad 公司,荧光定量 PCR 仪 Lightcycler 购自瑞士 Roche 公司,GAPDH 单克隆抗体由上海康成生物工程有限公司提供,引物序列及 Taqman 探针设计及标记由上海基康生物公司提供(表 1)。

1.3 模型制作

采用本课题组首创的高氧致未成年大鼠肺损伤动物模型^[7],高氧组置于有机玻璃氧仓中,持续输入氧气(2 L/min),连续行氧浓度检测,使其≥95%;空气组置于同室空气中(氧浓度=21%)。MAPKs 抑制剂给药剂量按大鼠体质量计算,以生理盐水稀释至总体积 3 ml,PD98059、SB203580 由大鼠尾静脉注入,SP600125 经腹腔注射,药物一次性给予,给药 2 h 后予高氧或空气暴露 7 d。

1.4 标本采集

于高氧或空气暴露后 7 d 处死动物,开胸,取右上肺,用 4%多聚甲醛固定,常规石蜡包埋切片,行肺组织病理学检查;

表 1 AQP5、 β -actin 外引物及探针引物序列
Tab.1 Primers and probes sequence of AQP5 and β -actin

基因名称	序列名称	序列	序列大小 (bp)	产物大小 (bp)
AQP5	AQP5-SFP	GGCCCTCTTAATAGGAAACCAGAT	24	289
	AQP5-SRP	TGTGACAGACAAGCCAATGGATA	23	
	AQP5-TAMRA-FAM	TGAACAACAACACAACGCCTGGCAAG	26	115
	AQP5-TAMRA-FP	GGGTAACCTGGCCGTCAAT	19	
	AQP5-TAMRA-RP	AGAGTCGGTGGAGGAGAAGATG	22	
β -actin	actin-SFP	GACTACCTCATGAAGATC	18	515
	actin-SRP	GATCCACATCTGCTGGAA	18	
	actin-TAMRA-FAM	FAM-CCTTCCTTCTGGGTATGGAATCCTGTG-TAM	28	147
	actin-TAMRA-FP	CTATCGGCAATGAGCGGTTT	20	
	actin-TAMRA-RP	CGTCACACTTCATGATGGAATTG	25	

取右中肺置-70℃冰箱保存,用于目标基因检测。

1.5 Western blot 法测定磷酸化 MAPKs、AQP5 蛋白含量

肺组织块加入改良 RIPA 裂解液,匀浆器充分匀浆,提取肺组织蛋白,BCA 比色法测定蛋白质浓度。制胶,取待测蛋白 50 μg 加样,SDS-PAGE 电泳后转膜,脱脂牛奶封闭,分别滴加磷酸化 ERK 抗体(1:250),磷酸化 p38 抗体(1:1 000),磷酸化 JNK 抗体(1:100)及 AQP5 一抗(1:200)4℃孵育过夜,辣根过氧化物酶标记二抗(1:5 000)常温孵育 1 h,ECL 化学发光曝光 5 min,用 Quantity one ChemiDocXRS 图像采集系统及分析软件对蛋白条带进行分析处理,蛋白含量用目的条带校正容积(Adj volume)/GAPDH 校正容积(Adj volume)表示。

1.6 Real-time PCR 检测 AQP5 mRNA 含量

参照总 RNA 抽提试剂盒实验步骤抽提肺组织总 RNA,测定提取的 RNA 样品 $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 值。取总 RNA 2 μg,以 Oligo dT 1 μl 为随机引物进行逆转录反应(反应体系 10 μl)37℃反应 1 h,cDNA 即制备成功。用目的基因外围引物进行 PCR 扩增,产物连入载体,克隆测序得质粒,做梯度稀释,制作标准曲线样品。配制主混液(总体积 25 μl)进行 real-time PCR 检测,以 β-actin 作内参照同时进行扩增。PCR 反应条件:50℃预变性 2 min→95℃变性 5 min→94℃溶解 30 s→60℃退火延伸 40 s,40 个循环。循环结束后,根据同时扩增的不同拷贝数标准品制作标准曲线,软件自动进行数据分析,调整基线,计算出阈值循环(threshold cycle,Ct 值)及各个样本的初始拷贝数,各样本定量结果均用其相应的 β-actin 结果标化。

1.7 统计学分析

实验数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 13.0 统计软件,相同时点多组间差别比较用方差分析,组间差别比较用 SNK-*q* 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 肺组织的病理学改变

A 组及 A+抑制剂组肺泡结构正常,未见明显病理损伤;H 组肺泡上皮细胞肿胀,肺泡腔内大量渗出液,小血管扩张充血,间质水肿,大量炎性细胞浸润,以淋巴细胞和中性粒细胞为主,部分视野可见小气道损伤,肺泡结构紊乱,表现出 HLI 的典型病理改变;H+抑制剂组中见 p38 抑制剂 SB203580 组、JNK 抑制剂 SP600125 组中肺泡结构较同时间点 H 组有所改善,炎性细胞数目减少,肺泡壁增厚有一定程度减轻,肺泡结构紊乱稍有好转,而 ERK 抑制剂 PD98059 组与 H 组比较上述改变不明显(图 1)。

2.2 MAPKs 信号抑制剂对 MAPKs 蛋白表达的抑制

通过对不同抑制剂浓度的调整,发现在空气及高氧暴露下,PD98059 0.3 mg/kg、SB203580 0.2 mg/kg、SP600125 15 mg/kg 均能抑制对应磷酸化 ERK、p38、JNK 的蛋白表达,因而以上述浓度作为 3 种抑制剂的有效抑制浓度进行后续实验研究(图 2)。

2.3 肺组织 AQP5 蛋白表达

Western blot 结果显示,A 组 AQP5 呈较高表达,与 A+PD/SB/SP 比较,AQP5 蛋白表达无明显变化(P 均 >0.05),H 组 AQP5 蛋白表达低于 A 组($P=0.000$),H+SB、H+SP 组较 H 组 AQP5 蛋白表达明显升高($P=0.000$),二者中尤以 H+SB 组其蛋白上调更明显,但仍低于 A 组($P=0.000$);H+PD 组与 H 组比较则无统计学差异($P=0.737$)(图 3,表 2)。

2.4 肺组织 AQP5 mRNA 表达

AQP5 real-time PCR 标准品动力学曲线图见图 4。标准方程: $y=-3.786x+47.91$,相关系数 1.00。

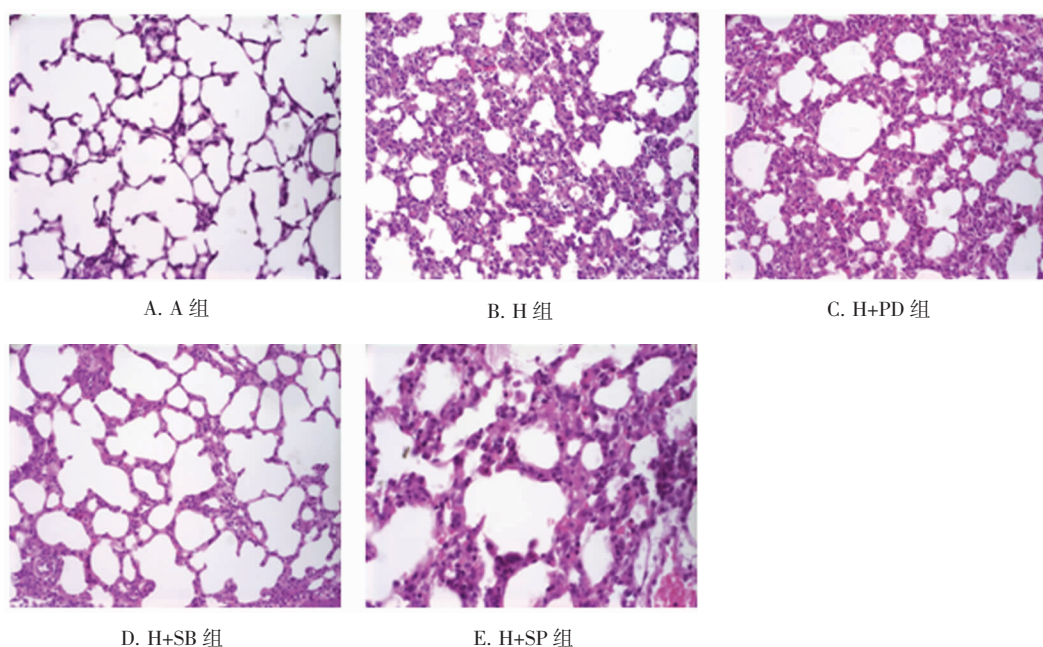


图 1 肺组织病理学改变(HE 染色,200×)

Fig.1 Pathological changes of lung tissues (HE staining,200×)

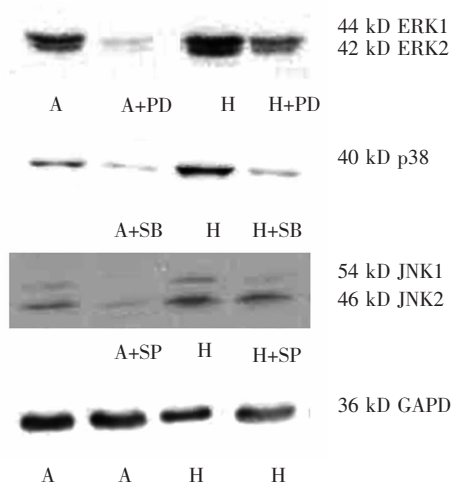


图 2 MAPK 信号抑制剂对 ERK/p38/JNK 的抑制作用

Fig.2 Inhibition effect of MAPKs inhibitors on ERK/p38/JNK

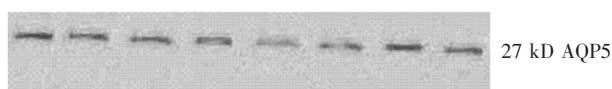


图 3 MAPKs 抑制剂干预前后肺组织 AQP5 蛋白表达

Fig.3 Protein expression of AQP5 after intervention of MAPKs inhibitors

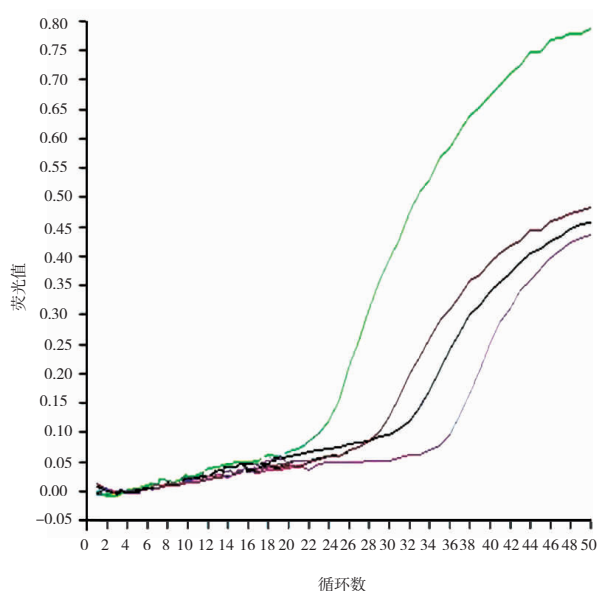


图 4 AQP5 real-time PCR 标准品扩增动力学曲线

Fig.4 Dynamic curve of AQP5 standard real-time PCR

从 real-time PCR 结果可以看出, A+PD、A+SB、A+SP 各组与 A 组比较, AQP5 mRNA 无统计学差异, H 组 AQP5 mRNA 表达较 A 组降低 ($P=0.000$), 经 MAPKs 抑制剂预处理的动物行高氧暴露 7 d, 发现 H+SB、H+SP 与 H 组比较 AQP5 mRNA 表达升高 ($P=0.000$), 二者中尤以 H+SB 组其 mRNA 上调更明显, 与 A 比较, 二者均有统计学差异 ($P=0.000$); 而 H+PD 干预组与 H 组比较, 未见干预前后肺组织 AQP5 mRNA 表达的变化 ($P=0.796$) (表 2)。

表 2 MAPK 抑制剂对肺组织 AQP5 基因表达的影响

($n=6, \bar{x} \pm s$)

Tab.2 Effect of MAPKs inhibitors on gene expression of AQP5

($n=6, \bar{x} \pm s$)

实验分组	AQP5 蛋白	AQP5 mRNA
A	1.57 ± 0.05	15.26 ± 0.34
A+PD	1.56 ± 0.35	15.08 ± 0.52
A+SB	1.57 ± 0.10	15.34 ± 0.29
A+SP	1.45 ± 0.44	14.98 ± 0.45
H	0.63 ± 0.05^a	10.20 ± 0.50^a
H+PD	0.64 ± 0.06^a	10.15 ± 0.39^a
H+SB	1.18 ± 0.03^{ab}	13.21 ± 0.24^{ab}
H+SP	1.00 ± 0.06^{ab}	11.88 ± 0.10^{ab}
F 值	238.002	359.330
P 值	0.000	0.000

注: a, 与空气对照组比较, $P < 0.05$; b, 与高氧组比较, $P < 0.05$

3 讨论

近年来, 高级生命支持技术得到迅猛发展, 氧化应激相关性疾病尤其是 HLI 的发生机制、防治逐渐成为危重医学领域的重大攻关课题。而针对 HLI 的治疗措施有限, 除了保护性机械通气、限制性液体管理、体外膜肺外, 尚缺乏特异性的治疗方法。研究表明活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS) 在 HLI 的发病机制中有重要意义^[8-10]。本实验采用高浓度氧暴露作为氧化应激复制 HLI 模型, 发现持续暴露在 95% 氧气中大鼠肺脏出现间质水肿、渗出、充血、出血、肺泡上皮细胞肿胀、炎性细胞浸润等肺损伤病理学特点, 因而成功建立了 HLI 动物模型。因 HLI 突出的病理改变是肺泡-毛细血管膜受损、通透性增高、富含蛋白质的肺泡水肿液形成, 如能增加肺液的重吸收, 减缓水肿液的产生, 对 HLI 的防治将起到积极的意义。

肺脏是一个多水通道蛋白亚型分布的器官, 液体通过肺上皮细胞转运是肺生理的重要组成部分。迄今为止已发现有 AQP1、AQP3、AQP4、AQP5 等亚型分布于肺组织的不同部位, 大量研究表明 AQPs 对众多病理状态下肺组织的水失衡起着至关重要的作用, 尤其集中在肺损伤、急性肺水肿等方面的研究。在脂多糖诱导急性肺损伤^[11]、博来霉素肺损伤^[12]、机械通气肺损伤^[13]、溺水所致肺损伤^[14]等病理情况均发现 AQPs 的异常表达。由于 AQP5 是鉴别 I 型和 II 型肺泡上皮细胞的标志物之一, 且其在腺体分泌、液体转运等方面的重要生物学功能^[15-16], 因此对

AQP5 的研究成为近年来水通道蛋白研究的热点。有报道指出 AQP5 基因敲除小鼠肺泡气血屏障的水渗透性降低 10 倍^[3],因而认为 AQP5 对于维持肺的液体平衡起关键作用,可能参与了肺水肿的形成。本课题前期研究^[17]显示 AQP5 主要表达在肺泡 I 型上皮细胞,高氧暴露致表达降低,分别予高氧暴露 3、7、14 d,发现在高氧 7 d 组肺组织充血、水肿、出血、炎性细胞浸润现象突出,表现出典型 HLI 病理学特征,同时肺通透系数及肺湿/干质量比最高,表明此期肺组织处于炎性水肿的高峰时期。而本实验通过对 AQP5 基因表达的进一步研究发现,高氧暴露 7 d 致肺组织 AQP5 蛋白及 mRNA 水平明显降低,因而提示 AQP5 基因表达的下调可能是导致 HLI 肺水肿发生的重要因素。

MAPKs 家族成员 ERK、p38、JNK 中,ERK 被认为是与细胞增殖、分化和转化有关,p38 和 JNK 属于“应激诱导”的 MAPKs,其中 p38 通路的激活在炎症相关性疾病中的作用已得到广泛证实^[18-19]。本课题前期研究显示^[20],高浓度氧暴露可激活 HLI 肺组织 MAPKs 信号途径 ERK、p38、JNK 的磷酸化,而本实验中发现高氧暴露可致肺组织 AQP5 基因表达下调,因而提出假设:AQP5 基因表达异常是否受 MAPKs 信号途径所调控?这二者之间是否存在某种必然的联系?

通过信号途径抑制剂的使用(ERK、p38、JNK 分别对应高效抑制剂 PD98059、SB203580、SP600125),可成功阻断在体动物 HLI 肺组织 MAPKs 信号通路,进而研究 MAPKs 对目标基因的调控。本实验观察到 PD98059 在高氧暴露前后对 AQP5 蛋白及 mRNA 表达无明显影响,而 SB203580 及 SP600125 抑制剂在高氧暴露后能显著增加 AQP5 基因表达,即二者可抑制高氧诱导的 AQP5 蛋白及 mRNA 的表达下调,表明 p38 和 JNK 参与了高氧肺损伤 AQP5 基因表达失衡的调控。研究还显示,SB203580 和 SP600125 二者中,尤以 p38 抑制剂 SB203580 调节作用更为明显,结合氧自由基理论及炎症理论在 HLI 发生机制中的重要地位^[21-23]及 p38 信号途径多与炎症性疾病密切相关,提示如能成功阻断 p38 蛋白表达,可望纠正 AQP5 异常表达,减轻肺组织炎性水肿,进而改善 HLI 预后。

目前已有学者对 HLI 的基因治疗进行了大量的尝试^[24],通过干预肺损伤及修复过程的不同机制,如上皮细胞间质转变、纤维蛋白溶解、氧化应激等

方面,其基因方法理论上具有可行性。有研究者试图将 AQP5 作为 HLI 的治疗靶点,但直接针对 AQP5 功能调节的药物研究暂未取得实质性进展。已有研究显示^[25]慢病毒载体转染骨髓间充质干细胞,可抑制细胞凋亡及炎症反应,进而增加 AQP5 和肺泡表面活性蛋白 C 表达,起到对新生鼠 HLI 的保护作用。因此针对 HLI 的基因治疗,如能从上游信号途径着手,研究其对下游目的基因 AQP5 的表达调控,可望为此类疾病的防治带来新的思路,也将进一步丰富 HLI 的病理生理机制及提供可能的治疗措施。

参 考 文 献

- [1] van Ooij PJ, Hollmann MW, van Hulst RA, et al. Assessment of pulmonary oxygen toxicity: Relevance to professional diving; a review[J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2013, 189(1): 117-128.
- [2] Gore A, Muralidhar M, Espey MG, et al. Hyperoxia sensing: from molecular mechanisms to significance in disease[J]. *J Immunotoxicol*, 2010, 7(4): 239-254.
- [3] Verkman AS. Role of aquaporins in lung liquid physiology[J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2007, 159(3): 324-330.
- [4] Qiao R, Yan W, Clavijo C, et al. Effects of KGF on alveolar epithelial cell transdifferentiation are mediated by JNK signaling[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2008, 38(2): 239-246.
- [5] Zhang Z, Chen Z, Song Y, et al. Expression of aquaporin 5 increases proliferation and metastasis potential of lung cancer[J]. *J Pathol*, 2010, 221(2): 210-220.
- [6] Yao C, Purwanti N, Karabasil MR, et al. Potential down-regulation of salivary gland AQP5 by LPS via cross-coupling of NF- κ B and p-c-Jun/c-Fos[J]. *Am J Pathol*, 2010, 177(2): 724-734.
- [7] Xu F, Fok TF, Yin J. Hyperoxia-induced lung injury in premature rat: description of a suitable model for the study of lung diseases in newborns[J]. *Chin Med J*, 1998, 111(7): 619-624.
- [8] Park HS, Kim SR, Lee YC. Impact of oxidative stress on lung diseases[J]. *Respirology*, 2009, 14(1): 27-38.
- [9] Kallet RH, Matthay MA. Hyperoxic acute lung injury[J]. *Respir Care*, 2013, 58(1): 123-141.
- [10] Berkelhamer SK, Kim GA, Radder JE, et al. Developmental differences in hyperoxia-induced oxidative stress and cellular responses in the murine lung[J]. *Free Radic Biol Med*, 2013(61C): 51-60.
- [11] Shen Y, Wang X, Wang Y, et al. Lipopolysaccharide decreases aquaporin 5, but not aquaporin 3 or aquaporin 4, expression in human primary bronchial epithelial cells[J]. *Respirology*, 2012, 17(7): 1144-1149.
- [12] Banerjee ER, Henderson WR Jr. Characterization of lung stem cell niches in a mouse model of bleomycin-induced fibrosis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2012, 3(3): 21.
- [13] Li Y, Marcoux MO, Gineste M, et al. Expression of water and ion transporters in tracheal aspirates from neonates with respiratory distress

纤维支气管镜肺减容术治疗绵羊肺气肿模型的实验研究

冯志军¹, 路武杰², 滕伟³, 郭俊华², 黄志昂², 王红燕², 靳建军¹, 王静¹

(1. 郑州大学第一附属医院呼吸与危重症医学科, 郑州 450052; 2. 河南大学第一附属医院呼吸内科, 开封 475001; 3. 河南大学第一附属医院心内科, 开封 475001)

【摘要】目的:探讨经纤支镜射频置管建立气道旁路肺减容术治疗绵羊肺气肿模型的有效性 & 优越性。**方法:**将 16 只 6 月龄雌性绵羊随机分为 A、B 2 组, 木瓜蛋白酶方法建立肺气肿模型。A 组经纤支镜射频建立气道旁路并放置支架, 2 组均给予内科治疗。分别测 2 组绵羊术前和术后 24 h、4、8 周的第 1 秒用力呼气容积(forced expiratory volume in one second, FEV_{1.0}), 且进行比较, A 组定期行胸部 CT 检查, 2 组动物治疗 8 周均予以处死, 行病理学检查。**结果:**①成功复制绵羊肺气肿动物模型 16 只, A 组术中、术后无并发症出现; ②A 组胸部 CT 示术后 4 周及 8 周, 在治疗区均出现肺容积缩小, 出现肺不张表现; ③2 组不同时间点 FEV_{1.0} 水平差异有统计学意义($F_{\text{时间}}=1\ 352.409, P=0.000$), 2 种治疗手段效果差异有统计学意义($F_{\text{组间}}=5\ 004.278, P=0.000$), 治疗手段和时间之间有交互作用($F_{\text{交互}}=1\ 325.058, P=0.000$); ④病理示 A 组治疗区见肺泡萎陷区, 非治疗区域见肺气肿, 肺泡萎陷区见粒细胞和淋巴细胞浸润; B 组见肺气肿的肺泡组织。**结论:**该技术治疗绵羊肺气肿模型具有有效性 & 优越性。

【关键词】纤维支气管镜肺减容术; 绵羊; 肺气肿

【中图分类号】R563.3

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-04-11

作者简介: 冯志军, Email: kffzj2013@aliyun.com,

研究方向: 呼吸系统疾病。

通信作者: 王静, Email: wangjing@zhu.edu.cn。

基金项目: 河南省卫生厅医学科技攻关项目 (编号: 200903107); 河

南省教育厅自然科学研究资助项目 (编号: 2009A320002);

河南省科技厅科技发展计划项目 (编号: 092102310064)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyxh.000014.html>

[J]. Acta Paediatr, 2009, 98(11): 1729-1737.

[14] Li J, Xu M, Fan Q, et al. Tanshinone IIA ameliorates seawater exposure-induced lung injury by inhibiting aquaporins (AQP) 1 and AQP5 expression in lung [J]. Respir Physiol Neurobiol, 2011, 176(1-2): 39-49.

[15] Shen Y, Wang Y, Chen Z, et al. Role of aquaporin 5 in antigen-induced airway inflammation and mucous hyperproduction in mice [J]. J Cell Mol Med, 2011, 15(6): 1355-1363.

[16] Borok Z, Verkman AS. Lung edema clearance: 20 years of progress; invited review: role of aquaporin water channels in fluid transport in lung and airways [J]. J Appl Physiol, 2002, 93(6): 2199-2206.

[17] 谭利平, 许峰, 匡凤梧. 水通道蛋白 5 在高氧性肺损伤中表达及调节机制 [J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(8): 462-465.

[18] Wu T, Xing J, Birukova AA. Cell-type-specific crosstalk between p38 MAPK and Rho signaling in lung micro- and macrovascular barrier dysfunction induced by Staphylococcus aureus-derived pathogens [J]. Transl Res, 2013, 162(1): 45-55.

[19] Wang Y, Lu S, Li X, et al. The lipid-bound apolipoprotein A-I cysteine mutant (N74C) inhibits the activation of NF- κ B, JNK and p38 in endotoxemic mice and RAW264.7 cells [J]. PLoS One, 2012, 7(12): e51327.

[20] 谭利平, 许峰, 匡凤梧. MAPKs 通路在高氧性肺损伤发病机制中的作用 [J]. 重庆医科大学学报, 2010, 35(11): 1613-1618.

[21] Pathan N, Franklin JL, Eleftherohorinou H, et al. Myocardial depressant effects of interleukin 6 in meningococcal sepsis are regulated by p38 mitogen-activated protein kinase [J]. Crit Care Med, 2011, 39(7): 1692-1711.

[22] Chang YS, Kim YJ, Yoo HS, et al. Alpha-phenyl-N-tert-butyl-nitron attenuates hyperoxia-induced lung injury by down-modulating inflammation in neonatal rats [J]. Exp Lung Res, 2009, 35(3): 234-249.

[23] Min JH, Codipilly CN, Nasim S, et al. Synergistic protection against hyperoxia-induced lung injury by neutrophils blockade and EC-SOD overexpression [J]. Respir Res, 2012(13): 58.

[24] Zhang H, Fang J, Wu Y, et al. Mesenchymal stem cells protect against neonatal rat hyperoxic lung injury [J]. Expert Opin Biol Ther, 2013, 13(6): 817-829.

[25] Devaney J, Contreras M, Laffey JG. Clinical review: gene-based therapies for ALI/ARDS: where are we now? [J]. Crit Care, 2011, 15(3): 224.

(责任编辑: 冉明会)