

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001859

鼻滴脂多糖对新生小鼠肺发育的影响及机制探讨

张 晗, 邓 春, 郭春宝, 李晓梅, 邓思俊, 游瑶瑶, 王永明

(重庆医科大学附属儿童医院新生儿科、儿童发育疾病研究教育部重点实验室、儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地、儿科学重庆市重点实验室, 重庆 400014)

【摘要】目的:观察鼻滴脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)对新生小鼠肺发育的影响及 NF- κ B、MIP-1 α 和 VEGFR-2 的变化,探讨出生后肺部炎症在支气管肺发育不良发病中的作用及可能的机制。**方法:**新生 1 d 内的 C57BL/6 小鼠 20 只随机分为生理盐水组和 LPS 组;LPS 组于出生后 1 d(P₁)到出生后 13 d(P₁₃)每天鼻滴 LPS 25 mg/kg,生理盐水组 P₁ 到 P₁₃ 每天鼻滴等量生理盐水。第 14 天收集 2 组小鼠肺组织标本进行检测,运用 HE 染色观察各组小鼠肺组织形态学改变,免疫组化观察 CD31 的表达并进行肺微血管密度计数,qRT-PCR 检测 VEGFR-2、MIP-1 α mRNA 水平变化,Western blot 检测 P65、I κ B α 、磷酸化 P65(Ser536)、磷酸化 I κ B α (Ser32)及 VEGFR-2 蛋白水平的变化。**结果:**与生理盐水组相比,LPS 组 HE 染色表现为肺泡增大,血管周围可见炎性细胞浸润。LPS 组放射性肺泡计数(4.533 \pm 0.166)低于生理盐水组(8.377 \pm 0.290)($P=0.000$),肺泡平均截距(54.890 \pm 2.074)高于生理盐水组(32.750 \pm 0.787)($P=0.000$)。CD31 免疫组化示 LPS 组肺微血管密度(3.387 \pm 0.007)低于生理盐水组(5.631 \pm 0.014)($P=0.000$)。qRT-PCR 示 LPS 组 VEGFR-2 mRNA 表达下降($P=0.000$),MIP-1 α mRNA 表达升高($P=0.000$)。Western blot 示 LPS 组 P65 蛋白、磷酸化 P65(Ser536)及磷酸化 I κ B α (Ser32)蛋白水平升高,I κ B α 蛋白及 VEGFR-2 蛋白水平降低($P=0.000$)。**结论:**鼻滴脂多糖抑制新生小鼠肺发育,出生后肺部炎症可能参与支气管肺发育不良的发生,其机制可能和 VEGFR-2 表达下降、NF- κ B 激活上调 MIP-1 α 有关。

【关键词】脂多糖;出生后肺部炎症;肺发育;支气管肺发育不良**【中图分类号】**R725.6**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2018-03-15

Effect of lipopolysaccharide via intranasal instillation on lung development in neonatal mice and its mechanism

Zhang Han, Deng Chun, Guo Chunbao, Li Xiaomei, Deng Sijun, You Yaoyao, Wang Yongming

(Department of Neonatology, Children's Hospital of Chongqing Medical University; Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders; China International Science and Technology Cooperation Base of Child Development and Critical Disorders; Chongqing Key Laboratory of Pediatrics)

【Abstract】Objective: To investigate the effect of lipopolysaccharide(LPS) via intranasal instillation on the lung development in neonatal mice, and to explore the role of postnatal pulmonary inflammation in the development of bronchopulmonary dysplasia and its mechanism. **Methods:** A total of 20 C57BL/6 mice on postnatal day 1(P₁) were randomly divided into LPS group and saline group. The LPS group was given LPS(25 mg/kg/day) via intranasal instillation from P₁ to postnatal day 13(P₁₃), while the saline group was given an equal volume of saline via intranasal instillation from P₁ to P₁₃. The mice were randomly sacrificed on postnatal day 14(P₁₄) for collection of the lung tissue. The morphological changes in the lung tissue were observed by HE staining. The expression of cluster of differentiation 31(CD31) was measured by immunohistochemistry to determine pulmonary microvascular density. The mRNA expression of vascular endothelial growth factor receptor 2(VEGFR-2) and macrophage inflammatory protein-1 alpha(MIP-1 α) was determined by quantitative real-time PCR(qRT-PCR). The protein expression of nuclear factor kappa-B p65 subunit(P65), nuclear factor

作者介绍:张 晗, Email: 804345335@qq.com,

研究方向:新生儿支气管肺发育不良机制的研究。

通信作者:王永明, Email: 379020633@qq.com。

基金项目:国家自然科学基金面上资助项目(编号:81270058)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20181012.1443.006.html>

(2018-10-17)

of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha(I κ B α), phosphorylated P65(Ser536), phosphorylated I κ B α (Ser32), and VEGFR-2 was measured by Western blot. **Results:** HE staining showed that compared with the saline group, the LPS group showed alveolar enlargement and inflammatory cell infiltration around blood vessels; the LPS group had

a significantly lower radial alveolar count (4.533 ± 0.166 vs. 8.377 ± 0.290 , $P=0.000$) and a significantly higher mean linear intercept (54.890 ± 2.074 vs. 32.750 ± 0.787 , $P=0.000$). The immunohistochemistry results of CD31 showed that the LPS group had a significantly lower microvascular density than the saline group (3.387 ± 0.007 vs. 5.631 ± 0.014 , $P=0.000$). qRT-PCR showed that compared with the saline group, the LPS group had significantly lower mRNA expression of VEGFR-2 and significantly higher mRNA expression of MIP-1 α ($P=0.000$; $P=0.000$). Western blot showed that the LPS group had significantly increased protein expression of P65, Ser536, and Ser32 and significantly reduced protein expression of I κ B α and VEGFR-2 compared with the saline group (all $P=0.000$).

Conclusion: LPS via intranasal instillation can inhibit the lung development in neonatal mice and postnatal pulmonary inflammation may be involved in the development of bronchopulmonary dysplasia. The mechanism may be related to downregulation of VEGFR-2, activation of NF- κ B, and upregulation of MIP-1 α .

【Key words】 lipopolysaccharide; postnatal pulmonary inflammation; lung development; bronchopulmonary dysplasia

支气管肺发育不良 (bronchopulmonary dysplasia, BPD) 是常发生于早产儿持续辅助用氧后的一种慢性肺部疾病^[1]。BPD 会造成患儿病死率增加以及遗留呼吸和神经系统后遗症,严重影响患儿的存活率和生存质量。近年来随着产前糖皮质激素和产后肺表面活性物质的使用以及生后通气技术的进步,早产儿的存活率升高, BPD 的发病率也呈逐年上升的趋势^[2]。预防和治疗 BPD 具有重要意义。肺泡和肺微血管发育不良是“新型”BPD 典型的病理特征^[2]。BPD 的病因和发病机制还不清楚。BPD 患儿血清中可检测到大量炎症因子升高,提示炎症可能是 BPD 发病的重要诱因之一^[3]。炎症对 BPD 的影响研究过去多集中在宫内炎症, Zhan 等^[4]研究报道羊膜腔内注射脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 致宫内感染后新生小鼠可出现与 BPD 相似的肺发育抑制表现。但出生后肺部炎症对新生小鼠肺发育的影响未见报道。早产儿由于免疫系统未成熟以及出生后期机械通气或氧疗容易诱发生后肺部炎症^[5], 出生后肺部炎症可能在 BPD 的发生中占有重要作用。

肺微血管发育是肺发育的关键环节,抑制肺微血管的发育可导致肺泡发育阻滞^[6],血管的形成是肺微血管发育的重要步骤,研究发现炎症和血管形成过程有密切的联系^[7]。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 可通过结合血管内皮生长因子受体 2 (vascular endothelial growth factor receptor-2, VEGFR-2) 驱动生后生理性血管的形成从而产生正常的血管发育^[8]。有研究报道核转录因子 NF- κ B 及下游炎症因子 MIP-1 α 和病理性血管

形成有关可干扰正常的血管形成^[9]。炎症对 NF- κ B、MIP-1 α 和 VEGFR-2 有调控作用^[10]。本课题组推测生后肺部炎症对新生小鼠肺微血管发育的影响可能是由 NF- κ B、MIP-1 α 和 VEGFR-2 介导的。本研究通过鼻滴脂多糖,观察出生后肺部炎症对新生小鼠肺泡及肺微血管发育的影响及 NF- κ B、MIP-1 α 和 VEGFR-2 的变化,从而初步阐明生后肺部炎症在 BPD 发病中的重要作用及可能机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料与实验动物

LPS (货号:L2880) 购自 Sigma 公司,兔抗小鼠 CD31 及磷酸化 P65 (Ser536) 多抗购自 Abcam 公司,兔抗小鼠磷酸化 I κ B α (Ser32) 单抗购自 Cell Signaling 公司,兔抗小鼠 P65、I κ B α 及 VEGFR-2 多抗购自武汉三鹰公司,兔超敏二步法免疫组化检测试剂盒和 DAB 显色试剂盒购自北京中杉金桥公司,全蛋白提取试剂盒和 BCA 蛋白测量试剂盒购自江苏凯基公司,TRIzol 购自 Invitrogen 公司,反转录试剂盒购自 Takara 公司,引物由北京华大基因公司合成。健康新生 24 h 内的 C57BL/6 小鼠,雌雄不拘,由重庆医科大学实验动物中心提供,许可证号 [SCXK (渝) 2007-002]。本研究符合重庆医科大学实验动物伦理委员会所制定的伦理学标准。

1.2 动物分组及建模方法

将新生 24 h 内的 C57BL/6 小鼠 20 只随机分为 LPS 组,生理盐水组,每组 10 只。LPS 组:于新生小鼠出生后第 1 天 (P_1) 到出生后第 13 天 (P_{13}) 每天使用移液枪鼻腔逐滴滴入 25 mg/kg (5 μ g/ μ L, 5 μ L/g) LPS 使新生小鼠随着呼吸缓慢吸入,以病理改变可见肺泡简单化,血管周围可见炎性细胞浸润作为建模成功的依据。生理盐水组:新生小鼠于出生后第 1 天 (P_1) 到出生后第 13 天 (P_{13}) 每天鼻滴等量生理盐水。

1.3 标本采集

在新生小鼠出生后的第 14 天(P₁₄)称量、麻醉后开胸分离肺组织,取出左肺于 4%多聚甲醛中固定,用于肺组织 HE 病理染色,免疫组化检测。右肺置于-80 °C 保存备用。

1.4 肺组织形态学观察和放射状肺泡计数及肺泡平均截距测量

石蜡切片经脱蜡、水化后行 HE 染色,于光镜下观察各组肺组织形态的变化,每只小鼠随机选取切片各 3 张,每张切片再随机选取 5 个视野进行统计,行放射状肺泡计数(radical alveolar counts, RAC):呼吸性细支气管至最近胸膜的垂线上的肺泡数目,取平均值^[1]。行肺泡平均截距(mean linear intercept, MLI)统计:在视野正中为中心划“十”字交叉线,计数通过该交叉线的肺泡间隔数(Ns),测出十字线的总长度(L),以 MLI=L/Ns 得到平均内衬间隔,取平均值^[1]。

1.5 CD31 免疫组化及微血管密度计数^[1]

石蜡切片常规脱蜡至水,微波修复抗原,过氧化氢灭活内源性过氧化氢酶,BSA 封闭后,兔抗小鼠 CD31 多抗 1:50 稀释,4 °C 孵育过夜,二抗为山羊抗兔 HRP-IgG, DAB 显色。应用光学显微镜采集各组图像。以肺组织 CD31 免疫染色阳性的内皮细胞所占的面积与肺实质细胞总面积的百分比代表肺微血管密度(microvessel density, MVD)^[1]。应用 Image-Pro Plus6.0 图像分析软件,每只老鼠随机抽选切片各 3 张,每张切片再随机选取 5 个视野进行统计,取平均值为微血管密度。

1.6 P65、IκBα、磷酸化 P65 (P-P65)、磷酸化 IκBα (P-IκBα)、VEGFR-2 Western blot 检测

蛋白提取试剂盒提取右肺组织总蛋白,BCA 测定蛋白浓度,加上样缓冲液后于沸水中煮沸 10 min,按序上样,电泳后 4 °C 转膜,BSA 封闭 1 h,加入稀释的一抗(P-P65 的稀释浓度为 1:300, P65 的稀释浓度为 1:500, P-IκBα 稀释浓度为 1:500, IκBα 稀释浓度为 1:500, VEGFR-2 稀释浓度为 1:500, β-肌动蛋白的稀释浓度为 1:1 000),4 °C 孵育过夜,洗膜,然后加入 1:5 000 稀释的二抗,室温孵育 1 h,洗膜,显色,采集图像,最后用 Quantity One 分析软件对结果进行灰度值分析,蛋白含量用目的蛋白/β-肌动蛋白(β-actin)来表示。

1.7 VEGFR-2、MIP-1α 的 qRT-PCR 检测

使用 TRIzol 提取肺组织总 RNA,反转录反应制备 cDNA,

反应体系共 10 μL。引物由华大基因合成,序列如下 VEGFR-2:上游 5'-CTTGCAGGGGACACGGGAC-3',下游 5'-AATCGACCTCGGCAGGGGA-3';MIP-1α:上游 5'-AGATTCCACGCCAATTCATC-3',下游 5'-CCCAGGTCTCTTTGGAGTCA-3';内参基因 GAPDH:上游 5'-CAGCGACACCCACTCCTCCACCTT-3',下游 5'-CATGAGGTCCACCACCCTGTTGCT-3'。反应条件:95 °C 30 s→95 °C 10 s→64.5 °C 30 s,共 40 个循环,采用相对定量法,测定 VEGFR-2、MIP-1α 及 GAPDH 的 PCR 产物的 Ct 值。

1.8 统计学分析

本实验采用 Graphpad Prism 6.01 统计软件进行统计学分析。计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间检验采用两独立样本 t 检验,2 组间不同时间点体质量比较采用重复测量方差分析,检验标准 α=0.05。

2 结果

2.1 小鼠的一般状态及体质量变化比较

生理盐水组小鼠生长状态良好,体质量随日龄增加逐渐增加。LPS 组小鼠从第 3 天开始体质量逐渐下降,7 d 以后可出现呼吸加快,偶尔可在鼻腔处看到白色黏性分泌物,14 d 体质量明显低于生理盐水组(P=0.000),见表 1,提示鼻滴脂多糖抑制了新生小鼠的生长发育。

2.2 肺组织形态学观察及 RAC、MLI 值比较

生理盐水组小鼠肺组织结构表现为:肺泡大小均匀,结构规整。LPS 组肺组织结构表现为:肺泡数减少,肺泡腔扩大,肺泡简单化,血管周围可见明显炎性细胞浸润(图 1)。RAC 值代表肺泡数量,MLI 值代表肺泡大小,RAC 和 MLI 值可作为衡量肺泡发育的指标。LPS 组 RAC 值(4.533 ± 0.166)明显低于生理盐水组(8.377 ± 0.290)(t=36.420, P=0.000),但 LPS 组 MLI 值(54.890 ± 2.074)明显高于生理盐水组(32.750 ± 0.787)(t=31.560, P=0.000),见表 2,表明鼻滴脂多糖抑制了肺泡发育。

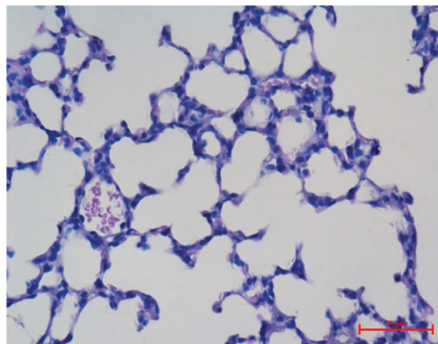
2.3 肺组织 CD31 免疫组化及微血管密度比较

CD31 多表达于肺微血管内皮细胞,生理盐水组血管和肺泡上皮紧密连接,LPS 组血管与肺泡上皮的距离有所增大(图 2)。微血管密度可作为评价血管发育的指标^[1],LPS 组

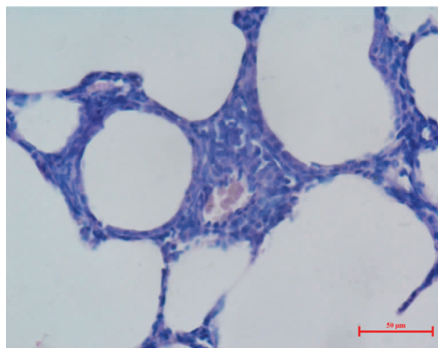
表 1 2 组小鼠体质量随时间变化情况

组别	1 d	3 d	7 d	14 d
生理盐水组	1.260 ± 0.097	2.240 ± 0.227	3.580 ± 0.498	6.160 ± 0.237
LPS组	1.290 ± 0.088	2.150 ± 0.242	3.420 ± 0.625	4.640 ± 0.484
重复测量设计 (F/P 值)				
分组因素		541.400/0.000		
时间因素		21.970/0.001		
时间 × 分组因素		21.690/0.000		

MVD 值 (3.387 ± 0.007) 低于生理盐水组 (5.631 ± 0.014) ($t=4.546, P=0.000$), 见表 2, 提示鼻滴脂多糖抑制了肺微血管发育。

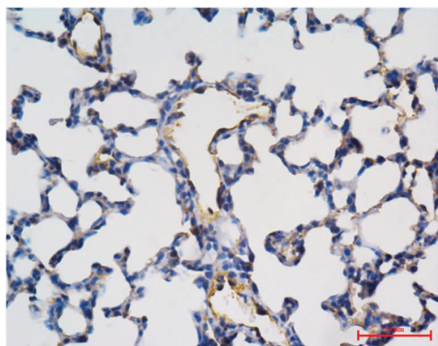


A. 生理盐水组

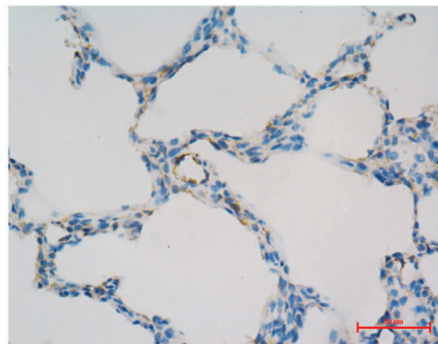


B. LPS 组

图 1 肺组织 HE 染色 (400 ×)



A. 生理盐水组



B. LPS 组

图 2 肺组织 CD₃₁ 免疫组化 (400 ×)

表 2 2 组小鼠放射性肺泡计数、肺泡平均截距和微血管密度比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	放射性肺泡计数 (个)	肺泡平均截距 (μm)	微血管密度 (%)
生理盐水组	8.377 ± 0.290	32.750 ± 0.787	5.631 ± 0.014
LPS 组	4.533 ± 0.166	54.890 ± 2.074	3.387 ± 0.007
<i>t</i> 值	36.420	31.560	4.546
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

2.4 肺组织 NF- κ B 活性相关蛋白表达比较

P65 是 NF- κ B 的一个亚基, P65 在 Ser536 位点磷酸化并入核可提示 NF- κ B 活性的升高^[12]。I κ B α 是 NF- κ B 的抑制因子, I κ B α 在 Ser32 位点磷酸化并降解, 可使 NF- κ B 激活^[13]。LPS 组 P65 ($t=6.128, P=0.000$) 及 P-P65 (Ser536) ($t=3.592, P=0.002$) 蛋白水平 ($1.263 \pm 0.206; 1.148 \pm 0.208$) 高于生理盐水组 ($0.620 \pm 0.260; 0.899 \pm 0.069$)。LPS 组 I κ B α 蛋白水平 (0.800 ± 0.169) 低于生理盐水组 (1.268 ± 0.187) ($t=5.861, P=0.000$), P-I κ B α (Ser32) 蛋白水平 (1.189 ± 0.066) 高于生理盐水组 (0.789 ± 0.071) ($t=13.110, P=0.000$) (图 3, 表 3), 表明鼻滴脂多糖可使 NF- κ B 活性升高。

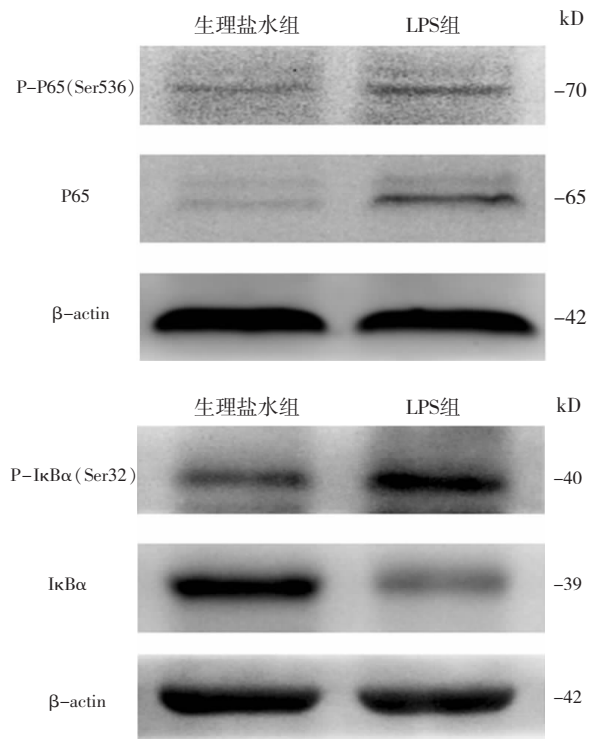


图 3 肺组织 NF- κ B 活性相关蛋白表达

表 3 2 组小鼠 NF- κ B 活性相对灰度值 ($\bar{x} \pm s$)

组别	P65	P-P65	I κ B α	P-I κ B α
生理盐水组	0.620 ± 0.260	0.899 ± 0.069	1.268 ± 0.187	0.789 ± 0.071
LPS 组	1.263 ± 0.206	1.148 ± 0.208	0.800 ± 0.169	1.189 ± 0.066
<i>t</i> 值	6.128	3.592	5.861	13.110
<i>P</i> 值	0.000	0.002	0.000	0.000

2.5 肺组织 MIP-1 α 、VEGFR-2 mRNA 和蛋白表达变化

VEGFR-2 是出生后生理性血管形成的关键因子^[8], LPS 组 VEGFR-2 mRNA ($t=8.329, P=0.000$) 及蛋白 ($t=6.480, P=0.000$) 表达水平 ($0.561 \pm 0.190; 0.741 \pm 0.132$) 均低于生理盐水组 ($1.110 \pm 0.085; 1.233 \pm 0.201$) (图 4, 表 4)。MIP-1 α 是 NF- κ B 的下游炎症因子^[14], MIP-1 α 可刺激病理性血管的生成^[15], LPS 组 MIP-1 α mRNA 表达水平 (1.711 ± 0.443) 高于生理盐水组 (0.621 ± 0.297) ($t=6.458, P=0.000$), 见表 4, 提示鼻滴脂多糖可抑制 VEGFR-2 的表达, 促进 MIP-1 α 的表达。

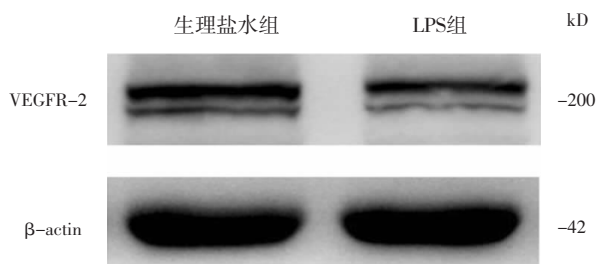


图 4 肺组织 VEGFR-2 蛋白表达

表 4 2 组小鼠 VEGFR-2 mRNA、蛋白和 MIP-1 α mRNA 相对表达量

组别	VEGFR-2mRNA	VEGFR-2蛋白	MIP-1 α mRNA
生理盐水组	1.110 ± 0.085	1.233 ± 0.201	0.621 ± 0.297
LPS组	0.561 ± 0.190	0.741 ± 0.132	1.711 ± 0.443
<i>t</i> 值	8.329	6.480	6.458
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

3 讨论

肺发育需要经历 5 个时期: 胚胎期、假腺管期、微管期、囊泡期以及肺泡期。早产儿出生后多处于微管期后期或者囊泡期早期, 新生小鼠出生后肺发育处于囊泡期, 直到生后第 5 天才进入肺泡期, 是天然的早产模型^[2]。肺发育包括肺泡发育和肺微血管发育。本研究发现新生小鼠持续鼻滴 LPS 后 RAC 值减少, MLI 值增加, MVD 值减少, 提示出生后肺部炎症可明显抑制新生小鼠肺发育。LPS 对新生鼠肺损伤的研究虽然很多, 但是多集中在急性肺损伤。日龄 7 d 的新生大鼠腹腔注射 5 mg/kg LPS 可建立经典的急性肺损伤模型, 病理表现为肺部炎症细胞浸润、肺间隔增厚、肺水肿等肺部炎症征象^[16]。和此模型不同, 本研究发现对新生小鼠持续鼻滴 25 mg/kg

LPS 13 d 后不仅可诱发肺部炎症, 还使肺泡发育出现明显抑制, 这个现象既往未见报道。本研究推测出生后 1~4 d 是肺发育的关键时期, 在这个时期对新生小鼠进行持续高剂量的 LPS 干预可抑制肺发育, 持续时间可能也是建模的关键因素, 和本研究一致, 高氧暴露也要持续 2 周才能建成 BPD 动物模型^[1]。本研究发现新生小鼠鼻滴 LPS 2 周后肺出现和 BPD 相似的病理改变, 提示出生后肺部炎症在 BPD 中的重要作用。炎症和血管发育有重要关系, 血管发育的抑制可能是出生后肺部炎症导致 BPD 的重要原因。

生理性血管表现为和肺泡上皮紧密连接的血管形成, 肺泡上皮和血管内皮的相互作用可促进肺泡的形成^[17]。VEGF/VEGFR-2 信号驱动生后生理性血管的形成, 其中 VEGFR-2 表达于内皮细胞表面, 是生后血管发育的关键因子^[8]。本研究发现新生小鼠鼻滴 LPS 明显抑制了 VEGFR-2 的表达。有研究报道 LPS 可通过抑制间充质细胞中 VEGFR-2 的表达干扰肺发育^[18]。VEGFR-2 抑制剂可减少新生小鼠内皮细胞的增殖和迁移^[8]。Jakkula 等^[9]发现抑制新生小鼠 VEGFR-2 表达后, 小鼠肺组织出现明显的肺泡简单化和血管发育阻滞。以上研究均表明 VEGFR-2 在新生小鼠生后生理性血管形成中的重要作用, 提示出生后肺部炎症可能是通过抑制 VEGFR-2 的表达阻断生后生理性血管的形成, 从而抑制肺微血管的发育。

NF- κ B 是调控炎症和血管形成的重要信号, MIP-1 α 是 NF- κ B 的下游炎症因子^[14]。本研究发现新生小鼠持续鼻滴 LPS 后 NF- κ B 活性和 MIP-1 α mRNA 表达升高。Wright 等^[19]发现一氧化氮可通过抑制 NF- κ B 的活性改善高氧所致的新生小鼠肺微血管内皮细胞损伤。有研究报道孕期注射 LPS 可通过上调 MIP-1 α 刺激胎肺血管形成^[15], 这种血管形成和正常血管不同。它和肺泡上皮距离较远, 可增加气道与血管的距离, 减少上皮细胞和内皮细胞的相互作用影响发育^[17], 这种血管表现可见于 BPD。本研究发现鼻滴脂多糖后肺组织血管与肺泡上皮的距离有所增大, 提示病理性血管的形成。综上所述, 出生后肺部炎症可能是通过激活 NF- κ B 上调 MIP-1 α 导致病理性血管的形成, 从而扰乱正常的

血管发育。

本研究表明出生后持续鼻滴脂多糖可导致新生小鼠出现肺发育阻滞,出生后肺部炎症可能在 BPD 发生中有重要作用。本研究进一步强调了炎症在 BPD 中的重要作用。除了过往报道的绒毛羊膜炎外,生后肺部炎症对新生小鼠肺发育也有明显的抑制作用。其机制可能和 VEGFR-2 表达下降、NF- κ B 激活上调 MIP-1 α 有关。VEGFR-2、NF- κ B 及 MIP-1 α 可能成为研究和治疗 BPD 的新靶点。本研究还存在很多不足,出生后肺部炎症抑制肺发育的机制还不明确,可在未来的实验中进一步在细胞和体内实验中进行验证。

参 考 文 献

- [1] Han W, Guo C, Liu Q, et al. Aberrant elastin remodeling in the lungs of O₂-exposed newborn mice; primarily results from perturbed interaction between integrins and elastin[J]. *Cell Tissue Res*, 2015, 359(2): 589-603.
- [2] Bhandari V. Postnatal inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2014, 100(3): 189-201.
- [3] Hayes D Jr, Feola DJ, Murphy BS, et al. Pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia[J]. *Respiration*, 2010, 79(5): 425-436.
- [4] Zhan CY, Yuan TM, Sun Y, et al. Early gestational intrauterine infection induces postnatal lung inflammation and arrests lung development in a rat model[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2011, 24(2): 213-222.
- [5] Shahzad T, Radajewski S, Chao CM, et al. Pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia; when inflammation meets organ development[J]. *Mol Cell Pediatr*, 2016, 3(1): 23.
- [6] Jakkula M, Le Cras TD, Gebb S, et al. Inhibition of angiogenesis decreases alveolarization in the developing rat lung[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2000, 279(3): L600-607.
- [7] Szade A, Grochot-Przeczek A, Florczyk U, et al. Cellular and molecular mechanisms of inflammation-induced angiogenesis[J]. *IUBMB Life*, 2015, 67(3): 145-159.
- [8] Shimotake J, Derugin N, Wendland M, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-2 inhibition promotes cell death and limits endothelial cell proliferation in a neonatal rodent model of stroke[J]. *Stroke*, 2010, 41(2): 343-349.
- [9] Alvira CM. Nuclear factor- κ B signaling in lung development and disease; one pathway, numerous functions[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2014, 100(3): 202-216.
- [10] Hou Y, Liu M, Husted C, et al. Activation of the nuclear factor- κ B pathway during postnatal lung inflammation preserves alveolarization by suppressing macrophage inflammatory protein-2[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 309(6): L593-604.
- [11] Maniscalco WM, Watkins RH, Pryhuber GS, et al. Angiogenic factors and alveolar vasculature: development and alterations by injury in very premature baboons[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2002, 282(4): L811-823.
- [12] Lin HL, Shen KP, Chang WT, et al. Eugenosedin-A prevents high-fat diet increased adhesion molecules through inhibition of MAPK- and p65-mediated NF- κ B pathway in rat model[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2013, 65(2): 300-309.
- [13] Wright CJ, Zhuang T, La P, et al. Hyperoxia-induced NF- κ B activation occurs via a maturationally sensitive atypical pathway[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2009, 296(3): L296-306.
- [14] Wang J, Zheng M, Min Q, et al. The dual regulatory function of lienal peptide on immune system[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 55: 245-253.
- [15] Miller JD, Benjamin JT, Kelly DR, et al. Chorioamnionitis stimulates angiogenesis in saccular stage fetal lungs via CC chemokines[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2010, 298(5): L637-645.
- [16] 蔡栩栩, 刘春峰, 杜悦, 等. 内毒素致新生和成年大鼠急性肺损伤的比较[J]. *中华急诊医学杂志*, 2005, 14(6): 458-462.
- [17] Roth-Kleiner M, Post M. Similarities and dissimilarities of branching and septation during lung development[J]. *Pediatr Pulmonol*, 2005, 40(2): 113-134.
- [18] Medal RM, Im AM, Yamamoto Y, et al. The innate immune response in fetal lung mesenchymal cells targets VEGFR-2 expression and activity[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2017, 312(6): L861-872.
- [19] Wright CJ, Agboke F, Chen F, et al. NO inhibits hyperoxia-induced NF- κ B activation in neonatal pulmonary microvascular endothelial cells[J]. *Pediatr Res*, 2010, 68(6): 484-489.

(责任编辑:张辉洁)