

参考文献

- [1] 冯涛,董学军.西咪替丁与复方甘草酸苷结合治疗小儿过敏性紫癜的临床效果探讨[J].生物技术世界,2016,(4):189.
- [2] 张杰.西咪替丁联合复方甘草酸苷治疗小儿过敏性紫癜的临床效果观察[J].中国卫生标准管理,2015,6(31):107-108.
- [3] 丁晓艳.西咪替丁联合复方甘草酸苷治疗小儿过敏性紫癜疗效观察[J/OL].临床医药文献电子杂志,2019,6(56):63.DOI: 10.16281/j.cnki.jocml.2019.56.047.
- [4] 闫东梅.复方甘草酸苷联合西咪替丁治疗小儿过敏性紫癜的疗效观察[J].中国医药指南,2019,17(13):170-171.
- [5] 李雪.西咪替丁+复方甘草酸苷对小儿过敏性紫癜的作用研究[J/OL].全科口腔医学电子杂志,2019,6(6):125,128.DOI: 10.3969/j.issn.2095-7882.2019.06.082.
- [6] 杨雯.西咪替丁与复方甘草酸苷治疗小儿过敏性紫癜的效果观察[J].医学理论与实践,2019,32(3):402-404.
- [7] 王业涛.复方甘草酸苷联合西咪替丁治疗小儿过敏性紫癜的疗效观察[J/OL].临床医药文献电子杂志,2018,5(63):168.DOI: 10.3877/j.issn.2095-8242.2018.63.145.
- [8] 巩固,谢凤连.观察复方甘草酸苷联合西咪替丁治疗小儿过敏性紫癜的临床疗效[J/OL].世界最新医学信息文摘(连续型电子期刊),2018,18(56):130,135.DOI: 10.19613/j.cnki.1671-3141.2018.56.101.
- [9] 柯红.西咪替丁联合复方甘草酸苷治疗小儿过敏性紫癜效果观察[J].中外医学研究,2017,15(5):30-31.
- [10] 朱晓玲.复方甘草酸苷联合西咪替丁治疗小儿过敏性紫癜的临床疗效观察[J].临床合理用药杂志,2016,9(16):96-97.
- [11] 张红卫,连学顺,张雯.探讨西咪替丁联合复方甘草酸苷治疗小儿过敏性紫癜的临床效果[J].中国医药指南,2015,13(35):99-100.
- [12] 张祖瑛.西咪替丁与复方甘草酸苷联合应用治疗小儿过敏性紫癜临床疗效观察[J].中国社区医师,2015,31(32):61-62.
- [13] 努尔古丽·依米尔.西咪替丁联合复方甘草酸苷治疗小儿过敏性紫癜的临床效果[J].包头医学院学报,2015,31(8):58-59.
- [14] 张桂华.西咪替丁联合复方甘草酸苷治疗小儿过敏性紫癜的疗效观察[J].中国医药指南,2015,13(6):169.
- [15] 潘知焕.复方甘草酸苷联合西咪替丁治疗小儿过敏性紫癜疗效观察[J].儿科科学杂志,2015,21(2):18-21.
- [16] 高艳琴,车艳芳.小儿过敏性紫癜应用西咪替丁联合复方甘草酸苷治疗的临床效果评价[J/OL].临床医药文献电子杂志,2014,1(9):1540,1544.DOI: 10.16281/j.cnki.jocml.2014.09.141.
- [17] 冯敏.复方甘草酸苷联合西咪替丁治疗小儿过敏性紫癜临床疗效观察[J].中国现代医药杂志,2014,16(8):67-68.
- [18] 钱利文.复方甘草酸苷联合西咪替丁治疗小儿过敏性紫癜疗效[J].中国农村卫生事业管理,2013,33(3):339-340.
- [19] 刁建勋.西咪替丁联合复方甘草酸苷治疗小儿过敏性紫癜疗效观察[J].河北医药,2012,34(20):3091-3092.
- [20] 罗召才.复方甘草酸苷联合西咪替丁治疗小儿过敏性紫癜的效果研析[J].当代医药论丛,2018,16(10):44-45.
- [21] 杨波.复方甘草酸苷与西咪替丁联用方案治疗小儿过敏性紫癜的临床疗效观察[J].航空航天医学杂志,2015,26(9):1086-1087.

(收稿日期:2020-04-20,修回日期:2020-05-07)

引用本文:金肇权,张文彬,陈欣,等.CD14-TLR4-NF- κ B信号传导通路在脂多糖诱导ALI/ARDS中的作用及机制研究[J].安徽医药,2022,26(4):643-647.DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.04.002.

◇ 药学研究 ◇



CD14-TLR4-NF- κ B信号传导通路在脂多糖诱导ALI/ARDS中的作用及机制研究

金肇权,张文彬,陈欣,朱滨

作者单位:常州市第一人民医院急诊科,江苏 常州 213000

通信作者:张文彬,男,副主任医师,研究方向为危重症的预防与管理,Email: zhangwb2660@163.com

基金项目:江苏省第五期“333工程”培养项目(KY201711)

摘要: **目的** 探讨白细胞分化抗原14(CD14)-Toll样受体4(TLR4)-核因子 κ -轻链增强(NF- κ B)信号传导通路在脂多糖(LPS)诱导急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征(ALI/ARDS)中作用及机制。**方法** 于2020年1—12月,选取购自北京宝元兴业科技有限公司的清洁级健康雄性SD大鼠90只,分为A、B、C三组,每组各30只,C组为正常大鼠模型组,B组为ALI/ARDS模型组大鼠,A组为ALI/ARDS+CD14、TLR4以及NF- κ B模拟物模型组大鼠,比较三组大鼠相关指标的差异。**结果** 造模12 h后,A、B、C三组大鼠的呼吸频率(RR)分别是(127.92 $\pm$ 17.04)次/分、(87.51 $\pm$ 8.42)次/分、(55.28 $\pm$ 3.73)次/分,A组>B组>C组,动脉血氧分压(PaO₂)分别是(7.63 $\pm$ 1.16)mmHg、(10.58 $\pm$ 1.65)mmHg、(13.46 $\pm$ 2.05)mmHg,A组<B组<C组,均差异有统计学意义(P <0.05)。A、B、C三组大鼠的CD14蛋白表达水平分别是(0.94 $\pm$ 0.23)、(0.69 $\pm$ 0.18)、(0.48 $\pm$ 0.13),TLR4蛋白表达水平分别是(0.97 $\pm$ 0.26)、(0.65 $\pm$ 0.13)、(0.43 $\pm$ 0.11),NF- κ B P65蛋白表达水平分别是(1.03 $\pm$ 0.28)、(0.67 $\pm$ 0.17)、(0.47 $\pm$ 0.12),脂多糖蛋白表达水平分别是(0.98 $\pm$ 0.27)、(0.66 $\pm$ 0.16)、(0.45 $\pm$ 0.12),均A组>B组>C组,均差异有统计学意义(P <0.05)。Pearson相关性分析显示,A组大鼠的脂多糖蛋白分别与CD14蛋白、TLR4蛋白以及NF- κ B P65蛋白均呈正相关(P <0.05)。**结论** CD14-TLR4-NF- κ B信号传导通路能够增强脂多糖表达并促进机体炎性活动,参与ALI/ARDS的发生发展。

关键词: 急性肺损伤; 呼吸窘迫综合征,成人; 白细胞分化抗原 14; Toll 样受体 4; 核因子激活的 B 细胞的 κ -轻链增强; 信号传导通路; 脂多糖; 大鼠, Sprague-Dawley

Role and mechanism of cd14-tlr4-nf - κ B signaling pathway in LPS induced ALI / ARDS

JIN Zhaoquan, ZHANG Wenbin, CHEN Xin, ZHU Bin

Author Affiliation: Department of Emergency, Changzhou First People's Hospital, Changzhou Jiangsu 213000, China

Abstract: **Objective** To investigate the role and mechanism of leukocyte differentiation antigen 14 (CD14) - Toll like receptor 4 (TLR4) - nuclear factor-activated κ -light chain enhancement (NF - κ B) signaling pathway in lipopolysaccharide (LPS) induced acute lung injury / acute respiratory distress syndrome (ALI/ARDS). **Methods** From January 2020 to December 2020, 90 SPF SD rats purchased from Beijing Baoyuan Xingye Technology Co., LTD were assigned into three groups: A, B and C group, 30 rats in each group. Group C was the normal rat model group, group B was the ALI / ARDS model group, group A was the ALI / ARDS + CD14, TLR4 and NF - κ B mimic model group. The differences of related indexes among the three groups were compared. **Results** 12 hours after the establishment of the model, the respiratory rate (RR) of rats in groups A, B and C was (127.92 ± 17.04) times/min, (87.51 ± 8.42) times/min, and (55.28 ± 3.73) times/min, respectively, group A > group B > group C; the arterial partial blood oxygen pressure (P_{aO_2}) was (7.63 ± 1.16) mmHg, (10.58 ± 1.65) mmHg, and (13.46 ± 2.05) mmHg, group A < group B < group C; and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The expression level of CD14 protein in group A, B and C was (0.94 ± 0.23) , (0.69 ± 0.18) and (0.48 ± 0.13) , respectively, TLR4 protein was (0.97 ± 0.26) , (0.65 ± 0.13) and (0.43 ± 0.11) , respectively, NF- κ B P65 protein was (1.03 ± 0.28) , (0.67 ± 0.17) and (0.47 ± 0.12) , respectively, lipid polyglycol protein was (0.98 ± 0.27) , (0.66 ± 0.16) and (0.45 ± 0.12) , respectively, group A > group B > group C, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis showed that LPS protein in group A was positively correlated with CD14 protein, TLR4 Protein and NF - κ B p65 protein, respectively ($P < 0.05$). **Conclusion** CD14-TLR4-NF- κ B signaling pathway can enhance the expression of LPS and promote inflammatory activity of the body, and participate in the development of ALI / ARDS.

Key words: Acute lung injury; Respiratory distress syndrome, adult; Leukocyte differentiation antigen 14; Toll like receptor 4; Enhancement of kappa light chain in nuclear factor activated B cells; Signal transduction pathway; Lipopolysaccharide; Rats, Sprague-Dawley

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是由多种致病因素所导致的肺泡上皮细胞及毛细血管内皮细胞受损,可造成弥漫性肺间质及肺泡水肿,最终引起急性低氧性呼吸功能不全^[1-2]。随着病情进一步恶化,ALI常演变为急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)^[3],临床症状主要表现为顽固性低氧血症,具有较高的致死率^[4]。ALI/ARDS既是多种呼吸道重症的发病基础,又是全身炎症活动剧烈时较易出现的综合征^[5]。近年来,ALI/ARDS的发生发展机制及其影响因素已成为临床研究热点问题。脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是由脂质和多糖所构成的复合物,有研究表明,脂多糖常通过 Toll 样受体(toll-like receptors, TLR)家族参与机体炎性活动和免疫反应,与机体多种炎症疾病的发生发展密切相关^[6]。另据研究显示,白细胞分化抗原 14(leukocyte differentiation antigen 14, CD14)作为脂多糖受体,其主要生物学活性是识别、结合脂多糖复合物,参与、把持脂多糖性细胞反应^[7];TLR4 作为 TLR 家族的主要成员之一,是参与非特异性免疫应答反应和炎症反应的主要蛋白质因子^[8];而核因子激活的 B 细胞的 κ -轻链增强(enhancement of kappa light chain in nuclear factor ac-

tivated B cells, NF- κ B)通过结合多种炎性细胞因子或肿瘤坏死因子,参与机体各种炎症活动,并与多种炎症疾病的发生发展密切相关^[9]。但目前临床鲜有研究探讨过 CD14、TLR4、NF- κ B 以及脂多糖等细胞因子在 ALI/ARDS 发病中的作用,本次研究以此目标为出发点,对大鼠进行 ALI/ARDS 造模实验,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 清洁级健康雄性 SD 大鼠 90 只,8~10 周,体质量 (187.52 ± 5.16) g,购买于北京宝元兴业科技有限公司[SYXK(京)2020-0167]。本研究符合一般动物实验伦理学原则。

1.2 动物分组与实验方法 将 90 只 SD 大鼠随机分为 A、B、C 三组,每组各 30 只。A 组和 B 组大鼠在左侧尾静脉部位注射内毒素 9 mg/kg,制造大鼠 ALI/ARDS 模型。C 组大鼠静脉注射生理盐水。给予 A 组大鼠 CD14 模拟物、TLR4 模拟物以及 NF- κ B 模拟物静脉注射。取大鼠肺组织,留取一半肺组织,4% 甲醛溶液固定,用于病理染色;剩余组织置于液氮中速冻后置于 - 80 °C 超低温冰箱保存,用于蛋白质印迹法检测。

1.3 仪器与试剂 大鼠 sEPCR 检测试剂盒(上海信

裕生物工程有限公司);Trizol试剂(武汉科昊佳生物科技有限公司);Lipofectamine 2000转染试剂[上海赛默飞世尔科技(中国)有限公司];血液分析仪(日本SYSMEX)及配套试剂检测血常规指标;全自动生化分析仪(北京普朗新技术有限公司);大鼠肺功能仪(北京广源达科技发展有限公司);血气电解质分析仪(南京普朗医疗设备有限公司)。

1.4 CD14、TLR4、NF- κ B P65和脂多糖样本收集和检测方法 CD14、TLR4、NF- κ B P65和脂多糖蛋白表达:采用蛋白质印迹法。取部分梗阻侧肾组织标本,匀浆器充分研磨后加入裂解液裂解并提取总蛋白,采用BCA法测定蛋白浓度。根据目标蛋白大小配置适合浓度的凝胶、分离胶和浓缩胶。电泳加压转膜后脱脂奶粉封闭1 h。加入特异性CD14抗体、TLR4抗体、NF- κ B P65抗体和脂多糖抗体,稀释比例为1:1 000,以 β -actin(1:5 000)作为对照。去除一抗,洗涤后加入二抗,室温孵育2 h,漂洗,化学发光法X线片显影,采用Image J软件得到条带灰度值,计算蛋白相对表达量。

1.5 HE染色 (1)甲醛固定的肺组织采用石蜡包埋的方法制备成厚度5~7 μ m的石蜡病理切片,检测时先行脱蜡水化,水化后的肺组织切片放入苏木精水溶液中染色3 min。(2)流水冲洗掉多余的苏木精,1%的盐酸乙醇分化5~8 s,0.6%氨水返蓝5~8 s。(3)流水冲洗1 h后入蒸馏水片刻。(4)70%和90%乙醇中脱水各10 min。(5)乙醇伊红染色液染色2~3 min。(6)染色后的切片经纯乙醇脱水,经二甲苯使切片透明。(7)将已透明的切片滴上加拿大树脂,盖上盖玻片封固。

1.6 观察指标 (1)三组大鼠造模后呼吸频率(respiratory rate, RR)、动脉血氧分压(arterial partial pressure of oxygen, PaO₂):采用大鼠肺功能仪对大鼠RR进行检测,于造模后采集大鼠动脉血5 mL,并采用血气电解质分析仪对其PaO₂进行分析;(2)三组大鼠的CD14、TLR4、NF- κ B P65和脂多糖蛋白表达水平;(3)三组大鼠的CD14、TLR4、NF- κ B P65和脂多糖蛋白相关性;(4)HE染色结果;(5)肺组织损伤Murray评分^[10]:主要根据低氧血症评分、呼气末正压及肺顺应性等指标,各项评分均为0~4分。肺组织损伤评分为四项结果评分相累加。

1.7 统计学方法 采用SPSS 22.0系统软件分析,其中符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,三组间比较采用方差检验,差异有统计学意义者进一步采用事后LSD-*t*检验分析两两间差异;Pearson相关系数分析CD14蛋白、TLR4蛋白、NF- κ B P65蛋白和脂多糖蛋白的相关性, $P < 0.05$ 表示差异有统计学

意义。

2 结果

2.1 大鼠造模后RR、PaO₂分析 造模12 h后,在三组大鼠的RR方面:A组>B组>C组,组间均差异有统计学意义(均 $P < 0.001$);而在PaO₂方面:A组<B组<C组,各组间均差异有统计学意义(均 $P < 0.001$),见表1。

表1 90只大鼠造模12 h后的RR与PaO₂比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数	RR/(次/分)	PaO ₂ /mmHg
A组	30	127.92 $\pm$ 17.04	7.63 $\pm$ 1.16
B组	30	87.51 $\pm$ 8.42 ^①	10.58 $\pm$ 1.65 ^①
C组	30	55.28 $\pm$ 3.73 ^②	13.46 $\pm$ 2.05 ^②
<i>F</i> 值		317.72	92.47
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注:RR为呼吸频率,PaO₂为血氧分压。

①与A组比较, $P < 0.001$ 。②与B组比较, $P < 0.001$ 。

2.2 三组大鼠的CD14、TLR4、NF- κ B P65和脂多糖蛋白表达对比 CD14蛋白、TLR4蛋白、NF- κ B P65蛋白和脂多糖蛋白表达方面:A组>B组>C组,任意两组间的均差异有统计学意义(均 $P < 0.001$),见表2。

表2 90只大鼠的CD14、TLR4、NF- κ B P65和脂多糖蛋白表达对比/ $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数	CD14蛋白	TLR4蛋白	NF- κ B P65蛋白	脂多糖蛋白
A组	30	0.94 $\pm$ 0.23	0.97 $\pm$ 0.26	1.03 $\pm$ 0.28	0.98 $\pm$ 0.27
B组	30	0.69 $\pm$ 0.18 ^①	0.65 $\pm$ 0.13 ^①	0.67 $\pm$ 0.17 ^①	0.66 $\pm$ 0.16 ^①
C组	30	0.48 $\pm$ 0.13 ^②	0.43 $\pm$ 0.11 ^②	0.47 $\pm$ 0.12 ^②	0.45 $\pm$ 0.12 ^②
<i>F</i> 值		46.53	68.70	59.56	56.78
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:CD14为白细胞分化抗原14,TLR4为趋化因子受体4,NF- κ B P65为核因子- κ B P65。

①与A组比较, $P < 0.001$ 。②与B组比较, $P < 0.001$ 。

2.3 A组大鼠实验后的CD14、TLR4、NF- κ B P65和脂多糖蛋白相关性研究 Pearson相关性分析显示,A组大鼠的脂多糖蛋白分别与CD14蛋白、TLR4蛋白以及NF- κ B P65蛋白均呈正相关($P < 0.05$),见表3、图1。

2.4 HE染色图 光镜下可见C组大鼠肺组织切片肺泡结构较为清楚,未发生炎性细胞渗出、浸润。B

表3 急性肺损伤大鼠实验后的白细胞分化抗原14(CD14)、趋化因子受体4(TLR4)、核因子- κ B(NF- κ B P65)和脂多糖蛋白相关性研究

指标	统计值	CD14蛋白	TLR4蛋白	NF- κ B P65蛋白
脂多糖蛋白	<i>r</i> 值	0.473	0.502	0.491
	<i>P</i> 值	0.018	0.009	0.014

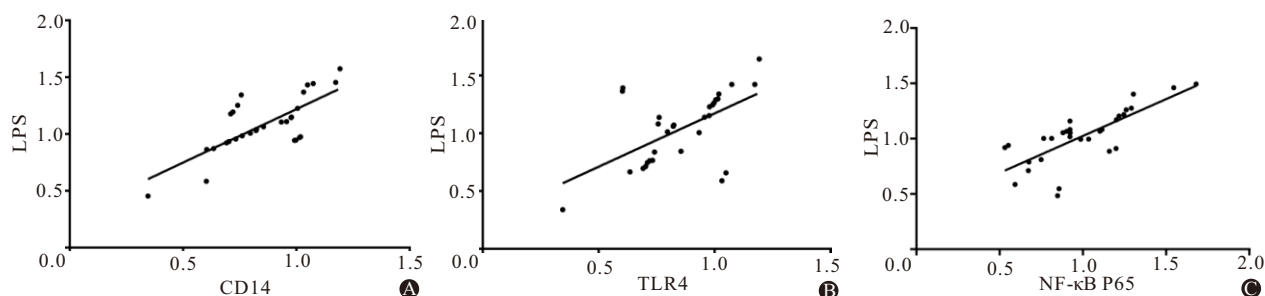


图1 急性肺损伤大鼠各蛋白与脂多糖蛋白(LPS)相关性:A为白细胞分化抗原14(CD14)蛋白;B为趋化因子受体4(TLR4)蛋白;C为核因子- κ B(NF- κ B P65)蛋白

组大鼠可见较为明显的肺灶性出血,肺泡和肺间质水肿,并且存在较多的炎性细胞浸润。A组大鼠可见肺灶性出血、肺泡和肺间质水肿以及炎性细胞浸润情况较B组更为严重。

2.5 肺组织损伤评分 肺组织损伤评分方面:A组为 (14.73 ± 0.52) 分,B组为 (9.54 ± 0.37) 分,C组为 (5.38 ± 0.07) 分,且 $A > B > C$,三组比较差异有统计学意义($F=479.13, P=0.001$),B组与A组、C组比较,均 $P < 0.001$ 。

3 讨论

ALI/ARDS是临床上较为常见的肺部危重症之一,具有一定的致死率^[11]。近年来,随着我国人口老龄化进程的加速,社会工业化的不断发展以及空气污染的日益严峻,ALI/ARDS发病率呈不断上升趋势^[12]。ALI/ARDS作为一种临床综合征,好发于创伤、休克和感染等病人中,其主要临床症状表现为呼吸窘迫以及顽固性低氧血症^[13]。目前,临床治疗方案主要包括药物疗法配合氧疗、机械通气等对ALI/ARDS病人进行治疗,但部分病人因病情较重或治疗方式不当,治疗效果较差^[14]。但目前临床关于影响ALI/ARDS发生发展因素及其作用机制尚未明确,而相关研究表明炎症反应可能是影响ALI/ARDS发病的重要因素之一^[3]。本研究对大鼠进行ALI/ARDS模型培养,并给予部分ALI/ARDS模型大鼠CD14模拟物、TLR4模拟物以及NF- κ B模拟物静脉注射,旨在观察CD14-TLR4-NF- κ B信号传导通路在脂多糖诱导ALI/ARDS中作用及机制。

本研究结果显示,ALI/ARDS模型组大鼠造模后的RR明显高于正常组大鼠,而 PaO_2 则明显低于正常组大鼠,尤其是经模拟物转染组大鼠,其变化幅度进一步扩大,这与武昊天等^[15]研究结果相一致。RR是指单位时间内的呼吸次数,其呼吸频率明显加快表明机体出现呼吸窘迫现象,是ALI/ARDS等肺部疾病的主要症状之一^[16]。 PaO_2 即动脉血中氧分子物理溶解时出现的张力,主要反映了机体是否缺氧以及缺氧的程度。 PaO_2 明显降低在一定

程度上反映了机体存在缺氧状况,同样是ALI/ARDS等肺部疾病的常见临床症状^[17]。因此,研究结果表明了大鼠ALI/ARDS造模成功,而经CD14模拟物、TLR4模拟物以及NF- κ B模拟物转染后,大鼠病变程度进一步加重,反映了这3项因子对大鼠机体炎性活动和ALI/ARDS病情恶化的促进作用。CD14作为脂多糖的受体,由糖蛋白构成,能够识别、结合脂多糖,还可作为革兰阴性或阳性细菌等其他产物的受体,在炎症反应、内毒素休克等病理反应中均具有重要作用。TLR4作为TLR4家族的主要成员之一,对获得性免疫应答反应具有调控作用,其活化后将激活机体抗微生物防御系统,产生IL-6和TNF以及趋化型细胞因子,并最终参与机体炎症反应。NF- κ B P65作为NF- κ B家族重要一员,参与细胞对外界刺激的响应,如细胞因子、辐射、重金属、病毒等,在炎症反应、免疫应答等过程中均起到关键作用。Ness T等^[18]在研究中发现,CD14-TLR4-NF- κ B信号传导通路与机体炎症反应和免疫应答等密切相关,本研究结果表明增强CD14-TLR4-NF- κ B信号传导通路能够加剧ALI/ARDS模型大鼠的病情恶化程度。

本研究对造模后三组大鼠的CD14、TLR4、NF- κ B P65和脂多糖蛋白表达做出比较,结果显示,大鼠ALI/ARDS造模后,其CD14、TLR4、NF- κ B P65和脂多糖的蛋白表达均明显上升,尤其是给予模拟物注射组模型大鼠,其变化幅度更大,这与Wu等^[19]学者的研究结果相一致。本研究还对模拟物注射组模型大鼠的脂多糖蛋白与CD14蛋白、TLR4蛋白、NF- κ B P65蛋白的相关性作出探讨,结果显示均呈正相关。脂多糖主要由多糖和脂质构成,脂多糖主要通过诱导存在于目标细胞的细胞膜中的TLR4来表现其作用^[20]。TLR4与内毒素结合蛋白共同作用捕获脂多糖,并将其然后将其输送给CD14和NF- κ B P65分子,最终作用于机体炎症活动与免疫反应^[21]。研究结果说明,增强CD14-TLR4-NF- κ B信号传导通路能够通过诱导脂多糖类因子的表达上升,

并最终加快机体 ALI/ARDS 病情发展与恶化。本研究还对三组大鼠造模后的肺组织切片进行染色,结果显示经模拟物转染后,其肺灶性出血、肺泡和肺间质水肿以及炎性细胞浸润情况较普通 ALI/ARDS 模型组大鼠更为严重,而其肺组织损伤程度也更为严重。上述研究结果说明经模拟物转染后,大鼠的 ALI/ARDS 相关炎性活动更加显著。

综上所述,CD14-TLR4-NF- κ B 信号传导通路能够增强脂多糖表达并促进机体的炎性活动,参与 ALI/ARDS 的发生、发展。本研究尚存在一些不足之处,本研究仅对 CD14-TLR4-NF- κ B 信号传导通路在大鼠 ALI/ARDS 中作用及机制进行了探讨,未来的研究中可以取手术治疗的 ALI/ARDS 病人的病变肺组织切片进行转染,观察其转染后病变情况,以便更好地为临床提供依据。

参考文献

- [1] BUX J, BECKER F, SEEGER W, et al. Transfusion-related acute lung injury due to HLA-A2-specific antibodies in recipient and NB1-specific antibodies in donor blood [J]. *Br J Haematol*, 1996, 93(3):707-713.
- [2] IONESCU L, BYRNE RN, HAAFTEN TVAN, et al. Stem cell conditioned medium improves acute lung injury in mice: in vivo evidence for stem cell paracrine action [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 303(11):L967-977.
- [3] LUO J, WANG MY, ZHU H, et al. Can non-invasive positive pressure ventilation prevent endotracheal intubation in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome? A meta-analysis [J]. *Respirology*, 2014, 19(8):1149-1157.
- [4] FAN E, BRODIE D, SLUTSKY AS. Acute respiratory distress syndrome: advances in diagnosis and treatment [J]. *JAMA*, 2018, 319(7):698-710.
- [5] GAO X, QIAN P, CEN D, et al. Synthesis of phosphatidylcholine in rats with oleic acid-induced pulmonary edema and effect of exogenous pulmonary surfactant on its De Novo synthesis [J/OL]. *PLoS One*, 2018, 13 (3) : e0193719. DOI: 10.1371/journal.pone.0193719.
- [6] TANG F, FAN K, WANG K, et al. Atractylodin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting NLRP3 inflammasome and TLR4 pathways [J]. *J Pharmacol Sci*, 2018, 136 (4):203-211.
- [7] KHODABANDEHLOO H, SEYYEDEBRAHIMI S, ESFAHANI EN, et al. Resveratrol supplementation decreases blood glucose without changing the circulating CD14+CD16+ monocytes and inflammatory cytokines in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled study [J]. *Nutr Res*, 2018, 54:40-51.
- [8] SCHAPPE MS, SZTEYN K, STREMSKA ME, et al. Chanzyme TRPM7 mediates the Ca²⁺ influx essential for lipopolysaccharide-induced toll-like receptor 4 endocytosis and macrophage activation [J]. *Immunity*, 2018, 48(1):59-74.
- [9] LU J, LIU X, LIAO Y, et al. Jian-Pi-Yi-Shen formula regulates inflammatory cytokines production in 5/6 nephrectomized rats via suppression of NF- κ B activation [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 2018:7203547. DOI: 10.1155/2018/7203547.
- [10] 董亮, 张秀红, 梁锋鸣, 等. 经皮氧分压监测对体外膜氧合治疗的重症急性呼吸衰竭患者预后的评估价值 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2017, 40(9): 683-688.
- [11] HOEGL S, BURNS N, ANGULO M, et al. Capturing the multifactorial nature of ARDS - "Two-hit" approach to model murine acute lung injury [J/OL]. *Physiol Rep*, 2018, 6 (6) : e13648. DOI: 10.14814/phy2.13648.
- [12] 李松桃, 方明亮, 胡玲, 等. 他汀类药物对治疗 ALI/ARDS 疗效的 meta 分析 [J]. *国际呼吸杂志*, 2018, 38(1):47-52.
- [13] KELLNER M, NOONEPALLE S, LU Q, et al. ROS Signaling in the pathogenesis of acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS) [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 967: 105-137.
- [14] KENG LT. Posterior consolidation: an important clue for differentiating ARDS from cardiogenic pulmonary edema [J]. *Chest*, 2016, 149(4):1108-1109.
- [15] 武昊天, 张峰, 李紫薇, 等. 高迁移率族蛋白 1 参与脓毒症大鼠急性呼吸窘迫综合征时中性粒细胞的凋亡 [J]. *国际麻醉学与复苏杂志*, 2015, 36(1):13-18.
- [16] RUSSKAMP NF, RUEMLER R, ROEWE J, et al. Experimental design of complement component 5a-induced acute lung injury (C5a-ALI): a role of CC-chemokine receptor type 5 during immune activation by anaphylatoxin [J]. *FASEB J*, 2015, 29 (9) : 3762-3772.
- [17] WU X, LI S, ZHANG J, et al. Meta-analysis of high doses of ambroxol treatment for acute lung injury/acute respiratory distress syndrome based on randomized controlled trials [J]. *J Clin Pharmacol*, 2014, 54(11):1199-1206.
- [18] NESS T, ABDALLAH M, ADAMS J, et al. Candida albicans-derived mannoproteins activate NF- κ B in reporter cells expressing TLR4, MD2 and CD14 [J/OL]. *PLoS One*, 2017, 12 (12) : e0189939. DOI: 10.1371/journal.pone.0189939
- [19] WU W, ZHEN Z, NIU T, et al. K-Carrageenan enhances lipopolysaccharide-induced interleukin-8 secretion by stimulating the Bel-10-NF- κ B pathway in ht-29 cells and aggravates c. freundi-induced inflammation in mice [J]. *Mediat Inflamm*, 2017, 2017: 8634865. DOI: 10.1155/2017/8634865.
- [20] LAMDSANTOS, RODRIGUES GB, MOTA FVB, et al. New thiazolidinedione LPSF/GQ-2 inhibits NF- κ B and MAPK activation in LPS-induced acute lung inflammation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 57:91-101.
- [21] ROLLENSKE T, SZIJARTO V, LUKASIEWICZ J, et al. Cross-specificity of protective human antibodies against Klebsiella pneumoniae LPS O-antigen [J]. *Nat Immunol*, 2018, 19(6):617-624.

(收稿日期:2020-06-17,修回日期:2020-08-18)