

双调蛋白对小鼠呼吸机相关性肺损伤的保护作用及机制研究

蒙臣^{1,2}, 王思露^{1,2}, 钟政^{1,2}, 王贤裕^{1,2}, 昌睿杰^{1,2}

作者单位:¹十堰市太和医院麻醉科,湖北 十堰 442000;²湖北医药学院麻醉学研究所,湖北 十堰 442000

通信作者:昌睿杰,男,副主任医师,硕士生导师,研究方向为围术期的脏器保护,E-mail:1297432533@qq.com

基金项目:湖北省科技计划项目(2017CFB387)

摘要:目的 研究上皮生长因子双调蛋白(Amphiregulin, Areg)对呼吸机相关性肺损伤(ventilator-associated lung injury, VALI)肺组织的保护作用,并探讨其作用机制。方法 将C57BL/6小鼠根据随机数字表法随机分为8组:①对照组(Control组),每只腹腔注射磷酸盐缓冲液(PBS) 200 μ L,维持正常呼吸;②Areg组,腹腔注射重组小鼠Areg蛋白(rmAreg),维持正常呼吸;③PBS + VALI组,腹腔注射PBS,30min后行机械通气;④Areg + VALI组,腹腔注射rmAreg,30min后行机械通气;⑤DMSO + VALI组;⑥DMSO + Areg + VALI组,每只腹腔注射二甲基亚砜(dimethylsulfoxide, DMSO)100 μ L,30min后腹腔注射PBS或rmAreg,再经30min后行机械通气;⑦AG1478 + Areg + VALI组与⑧Perifosine + Areg + VALI组,每只腹腔注射AG1478 1 mg或Perifosine 1 mg,30min后腹腔注射rmAreg,再经30min后行机械通气。小鼠通过大潮气量机械通气(潮气量12 mL/kg,频率90次/分,通气4h)制作VALI模型。机械通气24h后行肺组织HE染色并观察病理学变化,检测支气管肺泡灌洗液(Bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中总蛋白、免疫球蛋白M(Immunoglobulin M, IgM)、肿瘤坏死因子 α (Tumor necrosis factor, TNF- α)与白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)的浓度;机械通气6h后检测肺组织中上皮生长因子受体(Epidermal growth factor receptor, EGFR)与蛋白激酶B(AKT)的磷酸化水平。结果 与0h组[(62.0 $\pm$ 19.4) pg/mL]相比,VALI小鼠在机械通气结束3、6、12、24h后BALF中的Areg浓度有明显升高,其中在6h升高最为显著[(231.8 $\pm$ 58.7) pg/mL]。与Control组相比,PBS + VALI组小鼠的肺组织肺泡壁增厚,炎症反应显著增加,而在Areg + VALI组中这些病理损伤均有明显减轻。与Control组相比,PBS + VALI组小鼠BALF中总蛋白、IgM、TNF- α 与IL-6均有显著升高,而相较于PBS + VALI组,Areg + VALI组中这些指标有明显降低。rmAreg显著提高了VALI小鼠肺组织中EGFR与AKT的磷酸化水平。AG1478与Perifosine均明显抑制了rmAreg对VALI肺组织的作用效果。结论 小鼠发生VALI后肺组织中Areg的表达量显著增加。Areg通过EGFR-AKT信号通路减轻肺组织病理学变化、渗透性与炎症反应,因此在VALI中具有明显的保护作用。

关键词:呼吸机相关性肺损伤; 双调蛋白; 上皮生长因子受体; 肺泡灌洗液; 小鼠

Protective effects of Amphiregulin on ventilator-associated lung injury in mice and its potential mechanisms

MENG Chen^{1,2}, WANG Silu^{1,2}, ZHONG Zheng^{1,2}, WANG Xianyu^{1,2}, CHANG Ruijie^{1,2}

Author Affiliations: ¹Department of Anesthesiology, Taihe Hospital, Shiyan, Hubei 442000, China;

²Institute of Anesthesiology, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China

Abstract: Objective To study the protective effect of Amphiregulin (Areg) on ventilator-associated lung injury (VALI) in mice and to explore the potential mechanisms. **Methods** Male C57BL/6 mice were randomly divided into eight groups according to the random number table: (1) control group, mice were injected with Phosphate buffer solution (PBS; 200 μ L) and treated with normal breathing; (2) Areg group, mice were injected with recombinant mouse Areg (rmAreg) and treated with normal breathing; (3) PBS + VALI group, mice were intraperitoneally administrated with PBS, and then were treated with high tidal volume mechanical ventilation 30 min later; (4) Areg + VALI group, mice were intraperitoneally injected with PBS, and then were subjected to high tidal volume mechanical ventilation 30 min later; (5) DMSO + VALI group and (6) DMSO + Areg + VALI group, mice were injected with DMSO (100 μ L), followed by treatment with PBS or rmAreg 30 min later, and then were subjected to high tidal volume mechanical ventilation 30 min later; (7) AG1478 + Areg + VALI group and (8) Perifosine + Areg + VALI group, mice were administered intraperitoneally with AG1478 or Perifosine, followed by injection with rmAreg 30 min later, and then were subjected to high tidal volume mechanical ventilation 30 min later. To establish VALI model, male C57BL/6 mice were ventilated at high tidal volume (12 μ L/kg) with 90 breaths/min for 4 hours after being anesthetized. At 24 hours after ventilation, mice lung tissues were stained with HE and examined at the light microscopy level, and the concentrations of total protein, Immunoglobulin M (IgM), Tumor necrosis factor (TNF- α) and Interleukin-6 (IL-6) in

Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were tested. At 6 hours after ventilation, the phosphorylation levels of epidermal growth factor receptor (EGFR) and protein kinase B (AKT) in lung tissues were detected by western blot. **Results** Compared with 0 h [(62.0 ± 19.4) pg/mL] the concentrations of Areg in mice BALF were significantly increased at 3, 6, 12, 24 h after high tidal volume ventilation, and the most significantly increased level of Areg was at 6 h after ventilation [(231.8 ± 58.7) pg/mL]. Compared with control group, the lung tissues of mice in PBS + VALI group had thicker alveolar wall and significantly increased inflammatory response. However, these pathological damages had been less observed in Areg + VALI group compared with PBS + VALI group. In addition, the BALF concentrations of total protein, IgM, TNF-α and IL-6 were all markedly increased in PBS + VALI group compared with control group, whereas the levels of these factors were all obviously decreased in Areg + VALI group compared with PBS + VALI group. Furthermore, treatment with rmAreg significantly increased the phosphorylation of EGFR and AKT in lung tissues of VALI mice. Both AG1478 and Perifosine obviously inhibited the effect of rmAreg on VALI lung tissues. **Conclusion** The expression level of Areg is significantly increased in lung tissue of mice after being subjected to high tidal volume ventilation. Areg can reduce the pathological damage, permeability and inflammatory response via EGFR-AKT signal transduction in lung tissue of mice suffering from VALI, which plays a significant protective role in VALI.

Key words: Ventilator-associated lung injury; Amphiregulin; Epithelial growth factor receptor; Bronchoalveolar lavage fluid; Mice

对于全身麻醉与呼吸衰竭的病人,机械通气是非常关键的呼吸支持治疗措施^[1]。然而当潮气量设定过高时,机械通气本身就会导致肺组织受损而引发呼吸机相关性肺损伤(ventilator-associated lung injury, VALI),严重时可能引起急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)而危及生命^[1-2]。目前临床上针对 VALI 的治疗主要集中在优化机械通气、限制液体输注与抑制炎症反应等方面,但尚无特效措施,因此,寻求新的有效治疗 VALI 方法的仍然是亟待解决的重要问题^[3]。双调蛋白(Amphiregulin, Areg)是一种上皮生长因子,具有抑制细胞凋亡和保护组织器官的作用^[4],在过度通气的离体肺组织中 Areg 有显著表达^[5]。然而, Areg 对 VALI 有何作用至今仍不清楚。本研究于 2016 年 9 月到 2017 年 5 月对 Areg 在 VALI 中的具体作用及可能机制进行探讨,以期为 VALI 的治疗提供新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 动物与试剂 雄性 C57BL/6 小鼠(周龄为 6~8 周,体质量 20~24 g)购自武汉大学动物实验中心[动物合格证号:42000900000381;许可证号:SYXK(鄂)2016-0031], ALC-V8S 小动物呼吸机购自中国奥尔科特公司,动物处置符合伦理学原则。使用的试剂有:重组小鼠 Areg 蛋白(rmAreg)(R&D 公司,批号 989-AR-100)、表皮生长因子受体(EGFR)抗体(Abcam 公司,批号 ab40815)、磷酸化表皮生长因子(P-EGFR)抗体(CST 公司,批号 #3777)、蛋白激酶 B(AKT)(CST 公司,批号 #4691)、磷酸化蛋白激酶 B(p-AKT)抗体(CST 公司,批号 #13038)、β-actin 抗体(Santa Cruz 公司,批号 sc-47778)和 BCA 蛋白检测试剂盒(Thermo 公司,批号 23250)。另外, Areg(批号 DY989)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)(批号

MTA00B)与白细胞介素-6(IL-6)(批号 M6000B)的酶联免疫吸附实验(ELISA)检测试剂盒购于美国 R&D 公司,免疫球蛋白 M(IgM)的 ELISA 试剂盒购于中国 NeoBioscience 公司(EMC129.96),蛋白提取试剂盒 KGP250 购自中国南京建成公司,二甲基亚砜(DMSO)购于美国 Sigma-Aldrich 公司,EGFR 阻断剂 AG1478 和 AKT 抑制剂派立福新(Perifosine)购于美国 Selleck Chemicals 公司。

1.2 VALI 动物模型的制备与分组 C57BL/6 小鼠经硫喷妥钠(80 mg/kg)麻醉后行气管插管,接小动物呼吸机行大潮气量机械通气制备 VALI 模型^[6]:吸入空气,潮气量 12 mL/kg,呼吸频率 90 次/分,通气维持 4 h。rmAreg 溶于磷酸盐缓冲液(PBS)中,给予每只小鼠腹腔注射 5 μg。小鼠根据随机数字表法随机分为 8 组:①对照组(Control 组),每只腹腔注射 PBS 200 μL,维持正常呼吸;②Areg 组,腹腔注射 rmAreg,维持正常呼吸;③PBS + VALI 组,腹腔注射 PBS,30 min 后行机械通气;④Areg + VALI 组,腹腔注射 rmAreg,30 min 后行机械通气;⑤DMSO + VALI 组;⑥DMSO + Areg + VALI 组,每只腹腔注射 DMSO 100 μL,30 min 后腹腔注射 PBS 或 rmAreg,再经 30 min 后行机械通气;⑦AG1478 + Areg + VALI 组与⑧Perifosine + Areg + VALI 组,每只腹腔注射 AG1478 1 mg 或 Perifosine 1 mg,30 min 后腹腔注射 rmAreg,再经 30 min 后行机械通气。

1.3 肺组织病理学检测与肺损伤评分 机械通气结束 24 h 后取小鼠左肺,使用 4% 甲醛固定,再用石蜡包埋。将肺组织切成 5 μm 切片,行 HE 染色,在光学显微镜下观察肺组织病理变化。根据美国胸科协会发布的标准对肺组织实行肺损伤评分^[7](评分范围为 0~1 分),见表 1。总评分 = [(20 × A) + (14 × B) + (7 × C) + (7 × D) + (2 × E)]/视野数 × 100。

表1 肺损伤的评分标准

项目	每个视野的评分		
	0分	1分	2分
A. 肺泡中的中性粒细胞数/个	0	1~5	>5
B. 肺间质的中性粒细胞数/个	0	1~5	>5
C. 透明膜数/个	0	1	>1
D. 肺泡中的蛋白碎片/个	0	1	>1
E. 肺间隔厚度/倍	<2	2~4	>4

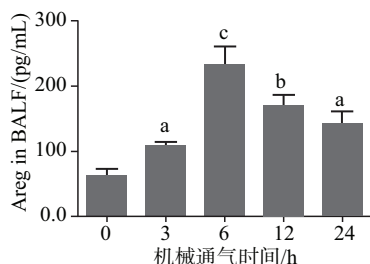
1.4 ELISA 与 BCA 蛋白检测 在机械通气结束 3、6、12、24 h 后, 根据我们之前的方法行肺泡灌洗^[8-9]: 分离小鼠气管, 将 1 mL 的 PBS 从气管缓慢注入肺内, 然后慢慢回抽, 重复 3 次, 回收的支气管肺泡灌洗液 (BALF) 体积 > 2.7 mL 视为合格。将收集的 BALF 用 400 g 离心 10 min, 收集上清液。严格按照 ELISA 与 BCA 蛋白检测试剂盒中的说明书操作, 检测 BALF 中 Areg、TNF- α 、IL-6、IgM 与总蛋白浓度。

1.5 蛋白质印迹法 (Western Blot) 检测 机械通气结束 6 h 后提取小鼠右侧肺组织蛋白, 加入上样缓冲液, 于沸水中煮 10 min 变性。然后行上样、电泳、转膜操作, 在 5% 脱脂牛奶中封闭 1 h。分别使用 β -actin、EGFR、P-EGFR、AKT 与 p-AKT 一抗 (1:1 000) 于 4 °C 中孵育过夜。加入二抗 (1:3 000) 孵育 1 h, 在 EC3 凝胶成像系统下曝光并拍照, 使用 Image J 软件处理并分析目标条带中的光密度值。

1.6 统计学方法 实验结果使用 $\bar{x} \pm s$ 表示。使用 GraphPad Prism 软件处理数据, 采用单因素方差分析 (one-way analysis of variance, one-way ANOVA) 进行分析, 多组间的两两比较使用 Bonferroni t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 VALI 肺组织中 Areg 的表达 与未行机械通气 (0 h 组) 的小鼠相比, 在大潮气量机械通气后 24 h 内, 小鼠 BALF 中的 Areg 浓度均有明显升高 (见图 1), 其中在机械通气结束后 6 h, BALF 中的 Areg 浓度 $[(231.8 \pm 58.7) \text{ pg/mL}]$ 升高最为显著。

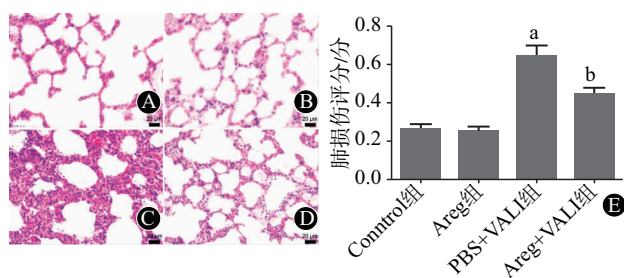


注: 与 0 h 组相比, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.001$

图1 VALI 后 24 h 内小鼠 BALF 中 Areg 的浓度变化 ($n = 4$)

2.2 Areg 对 VALI 肺组织病理变化的影响 与

Control 组相比, 单独使用 rmAreg 对肺组织病理学并无影响 (Control 组 比 Areg 组), 见图 2A 和图 2B。但在接受大潮气量机械通气的小鼠中, 肺组织肺泡壁显著增厚, 中性粒细胞浸润增加, 透明膜形成明显, 见图 2C。而使用 rmAreg 处理显著减轻了肺组织的肺泡壁厚度、中性粒细胞浸润与透明膜形成 (PBS + VALI 组 比 Areg + VALI 组), 见图 2D, 抑制了肺组织病理学损伤, 明显改善了肺损伤评分, 见图 2E。



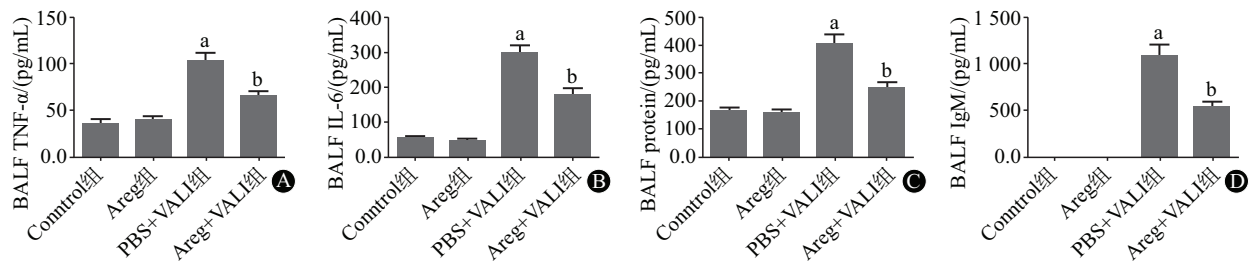
注: 与 Control 组相比, ^a $P < 0.001$; 与 PBS + VALI 组相比, ^b $P < 0.05$

图2 Areg 对 VALI 小鼠肺组织病理学及肺损伤评分的影响 (HE 染色, 20 × 20 倍, $n = 6$): A 为 Control 组; B 为 Areg 组; C 为 PBS + VALI 组; D 为 Areg + VALI 组; E 为各组肺损伤的比较

2.3 Areg 对 VALI 肺组织渗透性与炎症反应的影响 本实验结果显示, 大潮气量机械通气显著增加了小鼠 BALF 中的 TNF- α 与 IL-6 (图 3A 和图 3B)、总蛋白与 IgM (图 3C 和图 3D) 浓度 (PBS + VALI 组 比 Control 组), 而使用 rmAreg 处理则显著抑制了这些指标的升高 (Areg + VALI 组 比 PBS + VALI 组)。

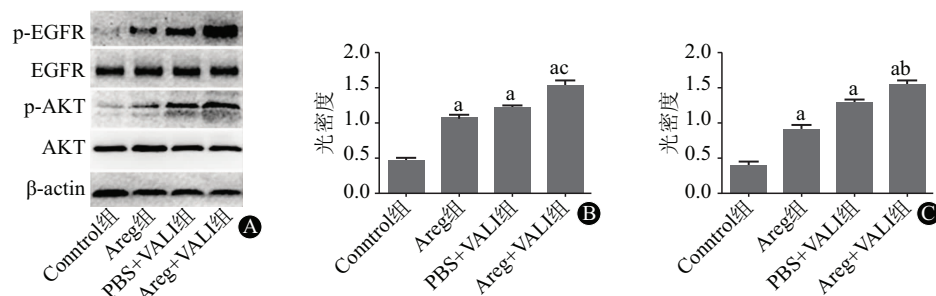
2.4 Areg 对 VALI 肺组织 EGFR 与 AKT 的影响 Western Blot 的光密度分析显示 (图 4), 与 Control 组相比, 大潮气量机械通气可增加肺组织中的 EGFR 与 AKT 磷酸化水平 (PBS + VALI 组 比 Control 组); 使用 rmAreg 处理不仅可以使正常小鼠肺组织中的 EGFR 与 AKT 发生磷酸化 (Areg 组 比 Control 组), 还可以进一步增加 VALI 小鼠肺中的 EGFR 与 AKT 磷酸化水平 (PBS + VALI 组 比 Areg + VALI 组)。

2.5 AG1478 与 Perifosine 对 Areg 保护效果的影响 分别使用 EGFR 抑制剂 AG1478 与 AKT 抑制剂 Perifosine 处理小鼠, 再检测 Areg 对 VALI 小鼠的肺保护作用。HE 结果显示 (图 5A), 与 DMSO + Areg + VALI 组相比, AG1478 + Areg + VALI 组与 Perifosine + Areg + VALI 组小鼠肺组织肺泡壁明显增厚, 中性粒细胞浸润水平显著增高。BALF 中蛋白检测显示 (图 5B ~ E), 相较于 DMSO + Areg + VALI 组, AG1478 + Areg + VALI 组与 Perifosine + Areg + VALI 组 BALF 中 TNF- α 、IL-6、总蛋白与 IgM 浓度均有明显增加。



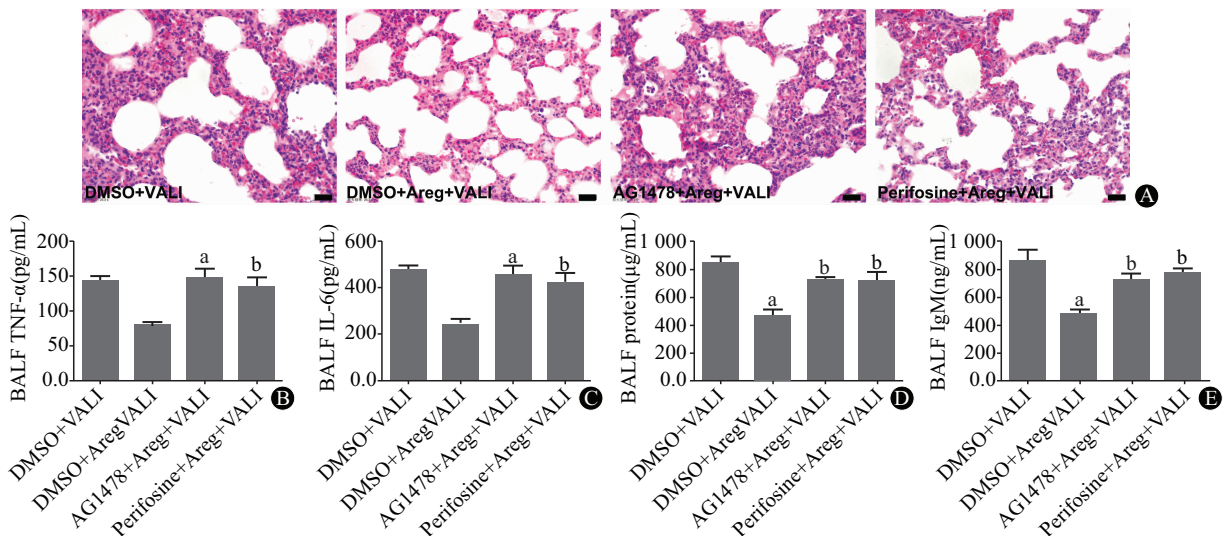
注:与 Control 组相比,^a $P < 0.001$;与 PBS + VALI 组相比,^b $P < 0.01$

图3 Areg 对 VALI 小鼠肺组织炎症反应及渗透性的影响 ($n = 5$):A、B、C、D 分别为各组 BALF 中 TNF- α 、IL-6、总蛋白与 IgM 的浓度



注:与 Control 组相比,^a $P < 0.001$;与 PBS + VALI 组相比,^b $P < 0.05$,^c $P < 0.01$

图4 Areg 对 VALI 小鼠肺组织 EGFR 与 AKT 磷酸化的影响 ($n = 5$):A 为小鼠肺组织中 EGFR、P-EGFR、AKT 与 p-AKT 的 Western Blot 检测结果;B、C 分别为 P-EGFR/EGFR、p-AKT/AKT 的光密度比值



注:与 DMSO + VALI 组相比,^a $P < 0.01$;与 DMSO + Areg + VALI 组相比,^b $P < 0.05$

图5 AG1478 与 Perifosine 对 Areg 保护效果的影响:A 为肺组织 HE 染色 (20×20 倍, $n = 6$);B、C、D、E 分别为 BALF 中 TNF- α 、IL-6、总蛋白与 IgM 的浓度 ($n = 5$)

3 讨论

早在 2006 年, Dolinay 等^[5] 就已发现离体肺组织受到过度牵拉后会大量表达 Areg, 但 Areg 对 VALI 的作用一直未被详细阐明。有些研究将 Areg 作为肺损伤严重程度的一个判定指标^[10], 暗示了 Areg 可能有促进肺部损伤的作用。我们之前的研究证实, Areg 对细菌内毒素引发的急性肺损伤有保护作用^[9]。而在本实验中, 我们首次证明了 Areg 能显著抑制大潮气量机械通气所导致的肺组织损伤。

与内毒素引发的肺组织炎症损伤机制不同, VALI 主要是因为大潮气量通气过度扩张肺泡而引起肺泡牵拉受损所致^[11]。然而, 在损伤效应上 VALI 与内毒素肺损伤类似, 表现为肺组织病理形态异常、通透性增加与炎症反应激活^[7]。在本实验中, 我们选取了与临床密切相关的大潮气量机械通气 (潮气量为 12 mL/kg、通气 4 h) 制作 VALI 模型^[6]。可以看出在行大潮气量机械通气结束 24 h 后, 肺组织有明显的病理损伤, 表现为中性粒细胞浸润增

加、肺泡壁增厚与透明膜形成等(图2)。而BALF中TNF- α 与IL-6、IgM与总蛋白含量的明显升高(图3)也分别证明了肺组织在过度机械通气后炎症反应被大量激活、渗透性显著增加,这些结果证明我们成功制作了VALI模型。

已有离体细胞实验证实,肺泡上皮细胞在受到过度牵拉时会表达Areg^[12],而离体的肺组织在行过度通气后Areg的基因水平也有明显升高^[5]。我们则在接受了大潮气量机械通气的小鼠BALF中检测到Areg有大量表达,与离体的肺泡上皮细胞与肺组织实验结果一致,这说明过度牵拉会使肺组织中的Areg表达量显著升高。在细菌内毒素引起的急性肺损伤中,Areg来源于经典激活型肺泡巨噬细胞^[9],但在VALI中,Areg则很可能来源于被牵拉的肺泡上皮细胞,而这一点还需要在今后的活体实验中进一步证明。

Areg是上皮生长因子(EGF)类家族的一员,能够促进细胞的生存、增殖和分化,因此具有保护损伤组织的作用^[4]。研究表明,当肠组织受到炎症伤害时,Areg的产生有助于肠黏膜的保护和修复^[13];在肝脏的急性炎症中,Areg的缺失会使肝脏损伤明显加重^[14-15]。我们之前也证实了Areg能抑制肺泡上皮细胞凋亡^[9]。在本实验中,给予外源性Areg可以大大减轻大潮气量机械通气所导致的肺损伤病理学变化,并显著改善肺组织的通透性与炎症反应,说明了Areg对于VALI肺组织也有明显的保护作用。

本实验中,我们发现在VALI发生6h后,肺组织中的Areg表达升高最为显著。而EGFR是Areg的唯一受体^[16],在肺组织中有广泛表达。活化的EGFR可激活调节细胞生存的磷脂酰肌醇3-激酶(P13K)-AKT通路^[17]。因此,我们选择在VALI发生后6h检测EGFR与AKT的活化水平。结果显示,EGFR与AKT均有明显的磷酸化,与我们之前在内毒素诱导的肺损伤小鼠中所观察的结果一致^[9]。在内毒素刺激后,肺组织中的EGFR能被自身大量表达的Areg所激活。VALI发生后,肺组织中的Areg表达量也有明显升高,因此,VALI肺组织中EGFR与AKT的磷酸化很可能也是由分泌的Areg所引起。本实验还发现,给予外源性Areg处理后,VALI肺组织中的EGFR与AKT磷酸化进一步加强了。研究已证实,EGFR-AKT能显著增强细胞的生存能力,如在肝细胞中,抑制AKT后,Areg对抗细胞凋亡的能力明显降低^[18],说明AKT是Areg-EGFR通路发挥保护作用的重要组成部分。而且AKT的磷酸化水平与急性肺损伤的伤害程度密切相

关^[19]:当肺组织的AKT激活水平降低后,肺组织的损伤程度会明显加重;而且AKT的活化能直接促进肺泡上皮细胞的生存^[20]。为了验证EGFR-AKT通路对Areg肺组织保护作用的影响,我们分别使用EGFR阻断剂AG1478^[21]、AKT抑制剂Perifosine^[22]做预处理,再行Areg干预。结果显示,抑制EGFR与AKT几乎消除了Areg对VALI肺组织病理损伤、炎症反应及渗透性变化的负性调控作用。因此,EGFR与AKT的活化是Areg在VALI中发挥保护作用的主要机制。

综上所述,本研究确认了活体肺组织在受到大潮气量机械通气后会大量表达Areg,并首次发现Areg能够通过激活EGFR-AKT通路减轻大潮气量机械通气所引发的肺损伤,表现为减轻肺组织病理学变化与渗透性、抑制炎症反应,因此证明了Areg在VALI中具有明显的保护作用。

参考文献

- [1] MATTHAY MA, WARE LB, ZIMMERMAN GA. The acute respiratory distress syndrome[J]. J Clin Invest, 2012, 122(8): 2731-2740.
- [2] SERPA NETO A, HEMMES SN, BARBAS CS, et al. Protective versus conventional ventilation for surgery: a systematic review and individual patient data meta-analysis[J]. Anesthesiology, 2015, 123(1): 66-78.
- [3] SALMAN D, FINNEY SJ, GRIFFITHS MJ. Strategies to reduce ventilator-associated lung injury (VALI)[J]. Burns, 2013, 39(2): 200-211.
- [4] BERASAIN C, AVILA MA. Amphiregulin[J]. Semin Cell Dev Biol, 2014, 28: 31-41.
- [5] DOLINAY T, KAMINSKI N, FELGENDREHER M, et al. Gene expression profiling of target genes in ventilator-induced lung injury[J]. Physiol Genomics, 2006, 26(1): 68-75.
- [6] STROSING KM, FALLER S, GYLLENRAM V, et al. Inhaled anesthetics exert different protective properties in a mouse model of ventilator-induced lung injury[J]. Anesth Analg, 2016, 123(1): 143-151.
- [7] MATUTE-BELLO G, DOWNEY G, MOORE BB, et al. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2011, 44(5): 725-738.
- [8] MENG C, LIU GL, MU HL, et al. Amphiregulin may be a new biomarker of classically activated macrophages[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 466(3): 393-399.
- [9] XU YN, MENG C, LIU GL, et al. Classically activated macrophages protect against lipopolysaccharide-induced acute lung injury by expressing amphiregulin in mice[J]. Anesthesiology, 2016, 124(5): 1086-1099.
- [10] PREUB S, SCHEIERMANN J, STADELMANN S, et al. 18:1/18:1-Dioleoyl-phosphatidylglycerol prevents alveolar epithelial apoptosis and profibrotic stimulus in a neonatal piglet model of acute respiratory distress syndrome[J]. Pulm Pharmacol Ther, 2014, 28