DOI:10.16016/j.2097-0927.202307054

嗜酸乳杆菌缓解 LPS 诱导的急性肺炎小鼠肺部炎症及机制研究

解浪浪[1],王宗华[2],王 伟[1],罗 月[3],黎 宁[3],陈 陵[1] 400020 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院第 958 医院消化内科[1]; 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学):临床护理学教研室[2],第一附属医院烧伤研究所[3]

[**摘要**] **目的** 探究嗜酸乳杆菌对脂多糖(LPS)诱导的急性肺炎小鼠的炎症的影响及可能的机制。**方法** 将 21 只小鼠分为对照组(NC)、模型组(LPS)和嗜酸乳杆菌处理组(Probiotics)。NC 组(n=6)小鼠正常喂养,LPS 组(n=8)和 Probiotics 组(n=7)小鼠采用 LPS(10 mg/kg)气管滴注法建立急性肺炎小鼠模型,Probiotics 组小鼠给予嗜酸乳杆菌,7 d 后处死小鼠。通过 HE 染色、肺组织湿/干质量比(W/D)评估肺组织的病理学改变;采用 ELISA 检测支气管肺泡灌洗液中的炎症因子水平和肺组织中髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)活性;16S rDNA 测序检测肠道菌群的多样性;免疫组织化学染色评估 ZO-1 和 TRPV4 的表达。**结果** 与 LPS 组相比,Probiotics 组的 W/D、炎症因子 IL-1β、TNF-α、IL-6 水平降低,IL-10 升高(P<0.05);MPO 活性减弱(P<0.05);结肠和肺组织中 TRPV4 表达下调,结肠组织 ZO-1 表达上调;同时螺杆菌属和脱硫弧菌属的丰度显著改变。**结论** 嗜酸乳杆菌能显著减轻 LPS 诱导的小鼠肺部炎症,可能与肠道内脱硫弧菌属丰度、TRPV4 通道活性和肠黏膜屏障通透性有关。

[**关键词**] 急性肺炎;嗜酸乳杆菌;脂多糖;肠道菌群;脱硫弧菌

[**中图法分类号**] Q939.121; R363.22; R563.1 [**文献标志码**] A

Lactobacillus acidophilus alleviates lung inflammation in LPS-induced acute pneumonia in mice: efficacy and mechanism

XIE Langlang[1], WANG Zonghua[2], WANG Wei[1], LUO Yue[3], LI Ning[3], CHEN Ling[1] [1]Department of Gastroenterology No. 958th Hospital, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400020; [2]Department of Clinical Nursing, Faculty of Nursing, [3]Institute of Burn Research, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*) on the inflammation of mice with lipopolysaccharide (LPS)-induced acute pneumonia and the possible mechanism. **Methods** Twenty-one mice were divided into a control group (NC, n=6), a model group (LPS, n=8) and a *L. acidophilus*-treated group (Probiotics, n=7). The mice in the control group were fed normally, while those in the LPS and Probiotics groups were treated with 10 mg/kg LPS through tracheal drip to establish a mouse model of acute pneumonia, and those in the Probiotics group were given *L. acidophilus*. All of the mice were executed in 7 d after modeling. The pathological changes of lung tissue were assessed by HE staining and wet/dry ratio (W/D) of lung tissue. ELISA was used to detect the levels of inflammatory factors in bronchoalveolar lavage fluid and the activity of myeloperoxidase (MPO) in lung tissue. 16S rDNA sequencing was employed to observe the diversity of intestinal flora, and immunohistochemical (IHC) staining was applied to determine the expression of ZO-1 and TRPV4. **Results** The Probiotics group had significantly reduced W/D ratio and IL-1β, TNF-α and IL-6 levels, increased IL-10 level (P<0.05), diminished MPO activity (P<0.05), down-regulated TRPV4 expression in colon and lung tissues, and upregulated ZO-1 expression in

[**基金项目**] 重庆市自然科学基金面上项目(cstc2020jcyj-msxmX1055)

[**通信作者**] 陈 陵,E-mail:ilovepla@tom.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

colon tissue, meanwhile, the abundance of *Helicobacter spp.* and *Desulfovibrio spp.* was significantly altered when compared with the LPS group. **Conclusion** *L. acidophilus* alleviates lung inflammation in LPS-induced pneumonia in mice, which may be associated with intestinal abundance of Desulfovibrio spp. in the, activity of TRPV4 channel and intestinal mucosal permeability.

[**Key words**] acute pneumonia; *Lactobacillus acidophilus*; lipopolysaccharide; gut microbiota; *Desulfovibrio*

Supported by the General Program of Natural Science Foundation of Chongqing (cstc2020jcyj-msxmX1055). Corresponding author: CHEN Ling, E-mail: ilovepla@tom.com

研究表明,肺部炎症性疾病和肠道炎症或者肠壁通透性的改变[1]之间存在一种被称为“肺-肠轴”[2]的非直接的相互影响的机制,此外,肠道炎症性疾病的患者伴发肺部疾病的概率也大大增加[3],进一步证实了肺和肠道之间的紧密联系。肠道微生物及其代谢物在肺-肠交流中发挥重要的作用,一项研究发现,使用抗生素进行肠道菌群清扫会改善 LPS 诱导的急性肺损伤,并降低肺泡灌洗液中 IL-6 的表达[4],然而,需要进一步研究以确定其中的关键菌种。此外,肠菌移植(fecal microbiota transplantation,FMT)还可以通过调节肠道微生物群紊乱和代谢紊乱,恢复急性肺炎小鼠的 Treg/Th17 细胞平衡,从而改善肺部炎症[5]。益生菌,包括细菌和酵母,是指有利于人类健康的活微生物,它们进入肠道后可以迅速繁殖,逐渐成为肠道优势菌群,从而调节肠道菌群的结构[6]。研究表明,早期使用益生菌可以降低 ICU 患者呼吸机相关性肺炎的发生率[7],并伴随血浆炎症因子水平的降低[8]。此外,在动物实验中也发现益生菌能够减轻 LPS 诱导的肺部炎症[9]。但是,益生菌是否通过改变肠道菌群的结构以减轻肺部炎症还有待进一步验证。本研究通过气管内滴注 LPS(2 mg/kg)构建急性肺炎(acute pneumonia,AP)小鼠模型,并结合 16S rDNA 测序、免疫组织化学染色(immunohistochemistry,IHC)、酶联免疫吸附实验(ELISA)和 HE 染色等方法,旨在验证益生菌是否能够通过肠道菌群减轻肺部炎症,并探索其潜在的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

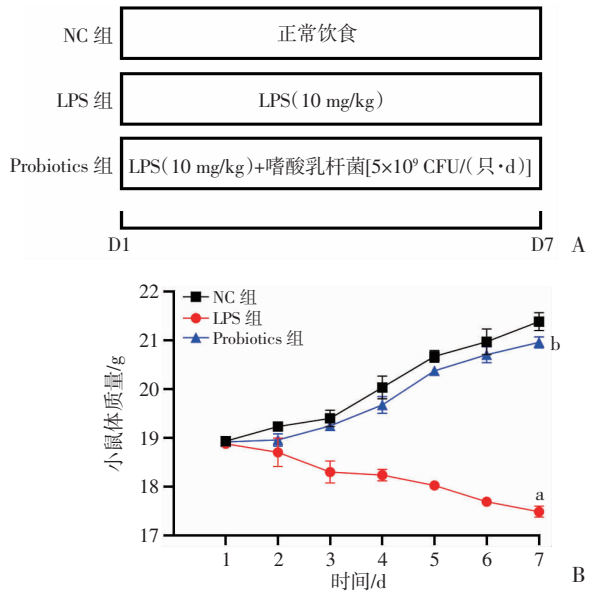
C57BL/6 小鼠,雄性,8 周龄,体质量 18~22 g,购于陆军军医大学动物中心,合格证编号:SCXK(渝)2022-0011。小鼠饲养于恒温通风环境,自由饮食进水,适应性饲养 1 周后开始实验。动物实验获得陆军军医大学实验动物伦理委员会批准[AMUWEC20230027]。

1.2 主要试剂

嗜酸乳杆菌冻干粉(ATCC4356)购自天益生物科技有限公司,每克含嗜酸乳杆菌 1.5×10^{12} CFU;LPS(L8880)、ZO-1 抗体(K008065P)购自 Solarbio 公司;TRPV4 抗体(ab39260)购自 Abcam 公司;ELISA 检测试剂盒(VAL601,VAL604G,VAL605,VAL609)购自 RD Novus;髓过氧化物酶(MPO)测试盒(A044-1-1)购自南京建成生物工程研究所;Rever Tre Ace-α-逆转录试剂盒(FSK-101)购自 TOYOBO 公司。

1.3 小鼠分组及模型构建

如图 1A 所示,C57BL/6J 小鼠适应性喂养 7 d 后,将 21 只小鼠分为:①对照组(NC,$n=6$),正常饮食,无特殊处理;②模型组(LPS,$n=8$),腹腔注射麻醉药物(3%戊巴比妥钠)后将小鼠固定于解剖台上,采用气管插管的方式向小鼠气管内滴注 LPS(10 mg/kg),第 8 天脱颈椎处死小鼠;③嗜酸乳杆菌处理组(Probiotics,$n=7$),与 LPS 组进行相同的造模,从造模第 1 天开始,使用嗜酸乳杆菌混悬液以[0.2 mL,5×10^9 CFU/(只·d)]的剂量灌胃小鼠,连续 7 d。每天记录 1 次每只小鼠的体质量,第 8 天脱颈椎处死小鼠,结束实验,并收集小鼠的血浆、粪便标本以及支气管肺泡灌洗液于-80 ℃储存;肺组织、结肠组织用 4%多聚甲醛固定(标本:固定液=1:5),于 4 ℃储存,以备后续实验使用。



a:$P<0.05$,与 NC 组比较;b:$P<0.05$,与 LPS 组比较

图 1 小鼠模型构建(A)和 7 d 体质量分析(B)

1.4　HE 染色

取各组小鼠的左肺组织样本的一半和结肠组织置于4%甲醛溶液固定,24 h 后制作成石蜡切片并进行 HE 染色,显微镜下观察肺组织和结肠组织的病理变化。

1.5　肺组织湿/干质量(W/D)比值

取各组小鼠右肺组织样本称取湿质量,然后将肺组织置于烘干箱中,60 ℃干燥 48 h,称取干质量。根据前后称量结果计算肺组织的 W/D 比值。

1.6　支气管肺泡灌洗液中炎症因子检测

处死小鼠后,解剖暴露胸腔,结扎一侧肺支气管,行左侧支气管肺泡灌洗术,使用 1 mL PBS 溶液重复灌洗 3 次,每次灌洗时静止 30 s ,将最终收集到的灌洗液于 4 ℃,200×*g* 离心 10 min,取上清使用 ELISA 试剂盒检测炎症因子 IL-1β、IL-6、L-10 和 TNF-α 的浓度。

1.7　髓过氧化物酶(myeloperoxidase,MPO)活性检测

取各组小鼠的左肺组织样本的另一半,准确称取其质量,按质量体积比为 1∶19 加匀浆介质制备成 5%的组织匀浆,在 460 nm 处检测 OD 值,MPO 活性=(测定管 OD 值-对照管 OD 值)/11.3×取样量。

1.8　16S rDNA 测序与分析

收集的粪便标本保存在-80 ℃,待提取 DNA。文库的制备和 16S rDNA 测序由联川生物技术股份有限公司代理完成,实验流程如下:NDA 提取与检测→PCR 扩增→产物纯化→文库制备与质检→上机测序。上机测序完成后得到原始的 RawData,利用 overlap 将双端数据进行拼接,并进行质控、嵌合体过滤,获得高质量的 CleanData,然后使用 ASVs(amplicon sequence variants)的概念构建类 OTU 表,获得最终的 ASV 特征表以及特征序列,进一步进行多样性分析、物种分类注释和线性判别分析(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)分析,此部分内容在联川生物云平台(https://www.omicstudio.cn/home)完成。

1.9　免疫组织化学染色(IHC)检测肺组织 TRPV4 和结肠组织 TRPV4、ZO-1 的表达

取肺组织和结肠组织的石蜡切片,按顺序进行脱蜡、水化、抗原修复、阻断内源性过氧化酶,一抗 4 ℃孵育过夜,二抗室温孵育 30 min,显色、复染、脱水、透明、封片等步骤,随后用显微镜观察拍照。使用 Image J 软件的 IHC Profiler 插件对样本染色强度进行评分,根据阳性标记的显色程度分为阳性(-)、弱阳性(+)、中等阳性(++)和强阳性(+++)。

1.10　统计学分析

使用 Origin 2021 软件进行统计分析,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 t 检验,$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　各组小鼠体质量比较

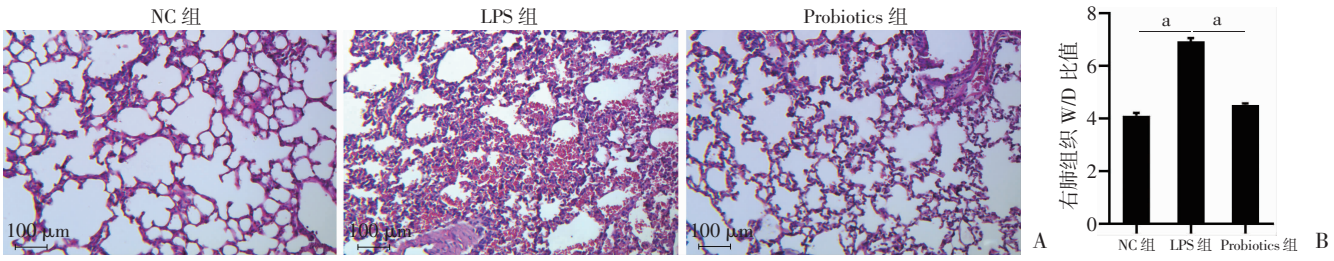
与 NC 组相比,LPS 组小鼠在气管内滴注 LPS(10 mg/kg)后体质量明显降低($P<0.05$);与 LPS 组相比,Probiotics 组小鼠的体质量明显上升($P<0.05$),且与 NC 组小鼠的差异无统计学意义,见图 1B。

2.2　嗜酸乳杆菌对 AP 小鼠肺损伤的影响

NC 组小鼠的肺组织保持正常组织结构,未见明显的炎症细胞浸润;与 NC 组相比,LPS 组小鼠的肺组织表现出明显的炎细胞浸润、毛细血管扩张以及 W/D 比值升高($P<0.001$);与 LPS 组相比,预防性使用嗜酸乳杆菌的 Probiotics 组小鼠的肺组织病变明显减轻、W/D 比值降低($P<0.001$),见图 2。

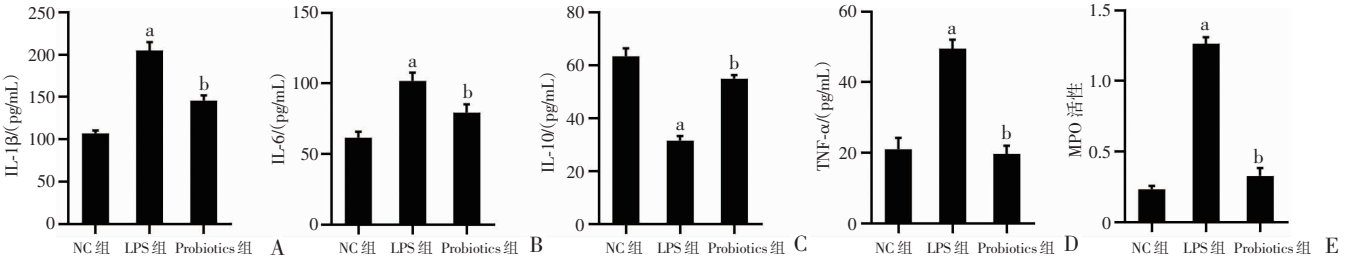
2.3　嗜酸乳杆菌对 AP 小鼠肺泡灌洗液中炎症因子和 MPO 活性的影响

与 NC 组相比,LPS 组肺泡灌洗液中的促炎因子 IL-1β、IL-6、TNF-α 和 MPO 活性明显升高,抗炎因子 IL-10 显著降低($P<0.05$);与 LPS 组相比,预防性使用嗜酸乳杆菌的 Probiotics 组小鼠的肺泡灌洗液中的促炎因子 IL-1β、IL-6、TNF-α 和 MPO 活性显著降低,抗炎因子 IL-10 显著升高($P<0.05$),见图 3。



A: HE 染色观察各组小鼠的肺组织病理学改变;B: 各组小鼠的 W/D 比值　a:$P<0.001$

图 2　嗜酸乳杆菌对 AP 小鼠肺损伤的影响



a:$P<0.05$,与 NC 组比较; b:$P<0.05$,与 LPS 组比较

图 3 嗜酸乳杆菌对 AP 小鼠肺泡灌洗液中炎症因子和 MPO 活性的影响

2.4 嗜酸乳杆菌对 AP 小鼠肠道菌群的影响

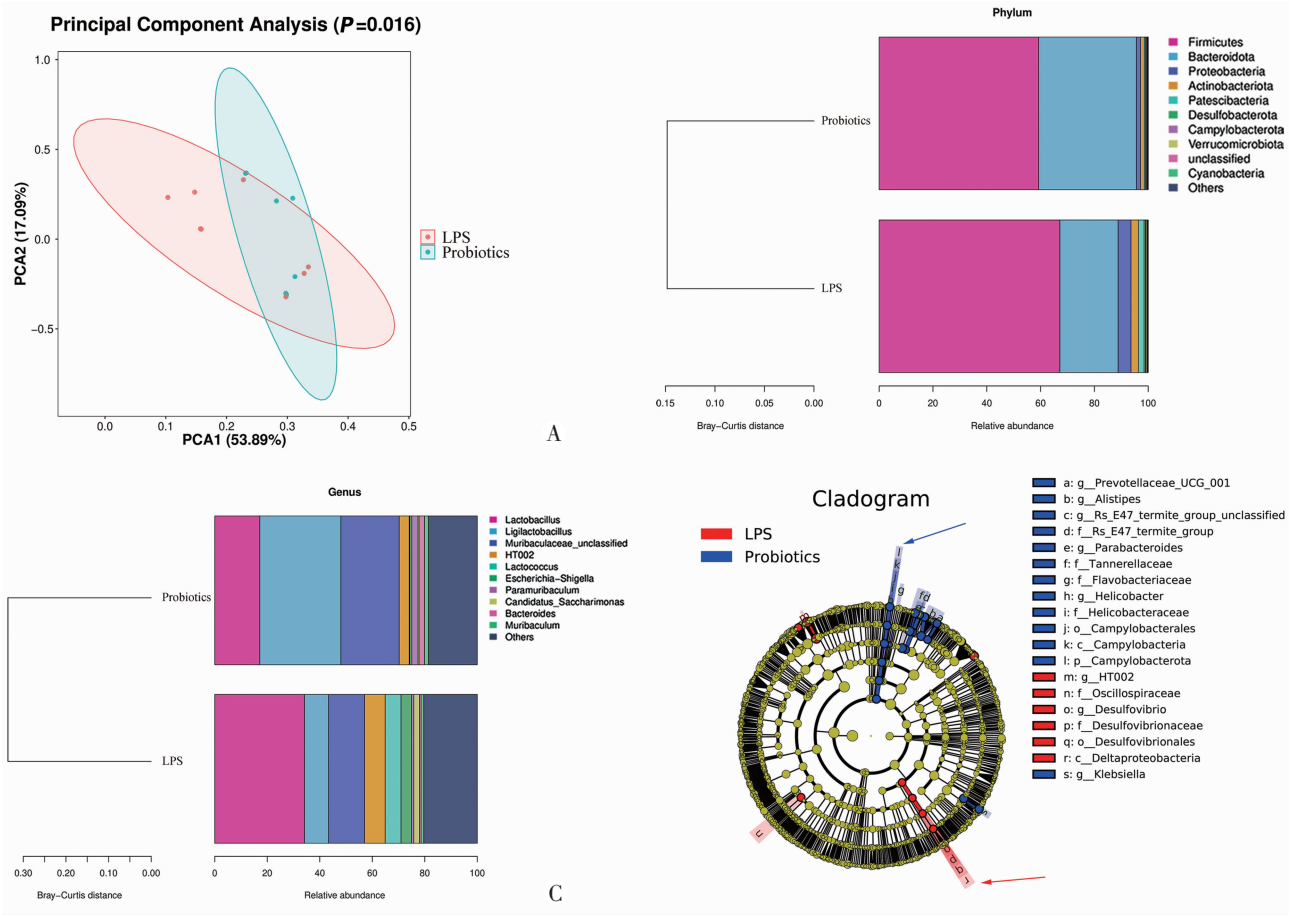
采用主成分分析法(principal components analysis, PCA)分析 LPS 组和 Probiotics 组小鼠肠道菌群 β 多样性的差异。结果显示,与 LPS 组相比,Probiotics 组小鼠肠道菌群分开较明显($P=0.016$,图 4A)。根据物种注释结果,选取门水平和属水平丰度排名前 10 的 ASVs 生成相对丰度堆积图。结果显示,与 LPS 组相比,Probiotics 组小鼠的肠道菌群在门水平的厚壁菌(*Firmicutes*)与拟杆菌(*Becteroidota*)相对丰度比值(F/B)降低(图 4B),在属水平的罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*)和木霉菌(*HT*002;*Trichoderma spp.*)相对丰度降低,唾液联合乳杆菌(*Ligilactobacillus*)和 *Muribaculaceae _unclassfied* 相对丰度水平升高(图 4C)。为进一步分析嗜酸乳杆菌对 LPS 诱导的 AP 小鼠的肠道菌群的影响,使用线性判别分析(LEfSe)方法筛选 2 组之间的差异性菌种,在 LDA 阈值为 3 的情况下,一共筛选出 19 个差异性细菌种类(表 1)。进化分支图显示(图 4D),有 2 个菌种在嗜酸乳杆菌处理后显著改变,分别是螺杆菌属显著上调(*Helicobacter*;$P=0.008$)和脱硫弧菌属显著下调(*Desulfovibrio*;$P=0.028$)。

2.5 嗜酸乳杆菌对 AP 小鼠 TRPV4 的表达以及肠壁通透性的影响

如图 5 所示,LPS 组小鼠的肺组织(+++)和结肠组织(++)中 TRPV4 阳性表达显著增强,相比之下,NC 组(++、-)的表达较低。Probiotics 组(++、-)的 TRPV4 表达较 LPS 组减弱。结肠组织 HE 染色结果显示,LPS 组小鼠的肠黏膜中有炎细胞浸润,可见绒毛脱落,肠壁通透性相关分子 ZO-1(-)表达较 NC 组(+)降低;Probiotics 组肠黏膜损伤恢复,ZO-1 表达上调(+),见图 6。

表 1 LPS 组和 Probiotocs 组小鼠肠道菌群的 LefSe 分析

Biomarker(门→属)	组别	LDA	*P*
弯曲菌门(*p__Campylobacterota*)	Probiotics	3.53	0.008
弯曲菌纲(*c__Campylobacteria*)	Probiotics	3.53	0.008
弯曲菌目(*o__Campylobacterales*)	Probiotics	3.53	0.008
伯克氏菌科(*f__Tannerellaceae*)	Probiotics	3.86	0.037
黄杆菌科(*f__Flavobacteriaceae*)	Probiotics	3.07	0.047
螺杆菌科(*f__Helicobacteraceae*)	Probiotics	3.53	0.008
*f__Rs_E*47*_termite_group*	Probiotics	3.12	0.020
螺杆菌属(*g__Helicobacter*)	Probiotics	3.53	0.008
副拟杆菌属(*g__Parabacteroides*)	Probiotics	3.84	0.037
普雷沃氏菌属(*g__Prevotellaceae_UCG*_001)	Probiotics	3.08	0.049
*g__Rs_E*47*_termite_group_unclassified*	Probiotics	3.12	0.020
克雷伯菌属(*g__Klebsiella*)	Probiotics	3.76	0.007
另枝菌属(*g__Alistipes*)	Probiotics	3.95	0.008
δ 变形菌纲(*c__Deltaproteobacteria*)	LPS	3.09	0.028
脱硫弧菌目(*o__Desulfovibrionales*)	LPS	3.09	0.028
脱硫弧菌科(*f__Desulfovibrionaceae*)	LPS	3.09	0.028
颤螺菌科(*f__Oscillospiraceae*)	LPS	3.29	0.037
木霉属(*g__HT*002;*Trichoderma spp.*)	LPS	4.44	0.002
脱硫弧菌属(*g__Desulfovibrio*)	LPS	3.09	0.028



A: PCA 分析; B: 门水平前 10 物种丰度; C: 属水平前 10 物种丰度; D: LEfSe 分析(LDA=3)

图 4 嗜酸乳杆菌对 AP 小鼠肠道菌群结构的影响

3 讨论

尽管大量的临床研究已经证明了益生菌对肺炎的预防作用,但是其具体机制和关键菌种尚未得到报道[10-11]。基于以上问题,本研究使用 LPS(10 mg/kg)构建 AP 模型,对比分析了正常组、LPS 组以及 Probiotics 组之间肠道菌群、炎症因子以及相关分子的表达。结果提示,嗜酸乳杆菌可以显著缓解 LPS 诱导的肺部炎症症状,脱硫弧菌、TRPV4 通道活性和肠上皮屏障可能在其中发挥重要作用。

在本研究中,与常规 AP 小鼠相比,预防性使用嗜酸乳杆菌的 AP 小鼠的肠道菌群发生了显著的改变,其中螺杆菌属和脱硫弧菌属的改变最为突出。螺杆菌属,属于变形菌门、ε-变形菌纲、弯曲菌目、螺杆菌科,本研究的 LefSe 分析结果显示弯曲菌目、螺杆菌科和螺杆菌属在预防性使用嗜酸乳杆菌的 AP 小鼠的肠道内丰度显著提升,其作用有待进一步揭示。脱硫弧菌属是一类被广泛认同的对肠道有害的厌氧菌,可以将硫酸盐还原成硫化氢(H_2S)。在肠道中,内源性的 H_2S 会激活多种通道(如 Ga^{2+} 通道、TRP 通道)损害肠上皮细胞[12]。有研究报道,脱硫弧菌的丰度在葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导的溃疡性结肠炎小鼠模型的粪便中显著上调,降低肠道内脱硫弧菌的丰度可以改善小鼠病理状态,下调炎症因子 TNF-α 和上调肠黏膜通透性相关分子 ZO-1、Occludin 的表达[13],该功能由脱硫弧菌分泌的外泌体介导[14]。以上研究说明肠道内脱硫弧菌丰度的上调可以破坏肠道上皮屏障,并激活内在的炎症。在本研究中,与常规 AP 小鼠相比,预防性使用嗜酸乳杆菌的 AP 小鼠的肠道脱硫弧菌丰度显著降低,并且伴随着肺部炎症减轻以及肠道 ZO-1 表达上调,说明脱硫弧菌是嗜酸乳杆菌减轻肺炎过程中的关键菌种,嗜酸乳杆菌可能通过抑制

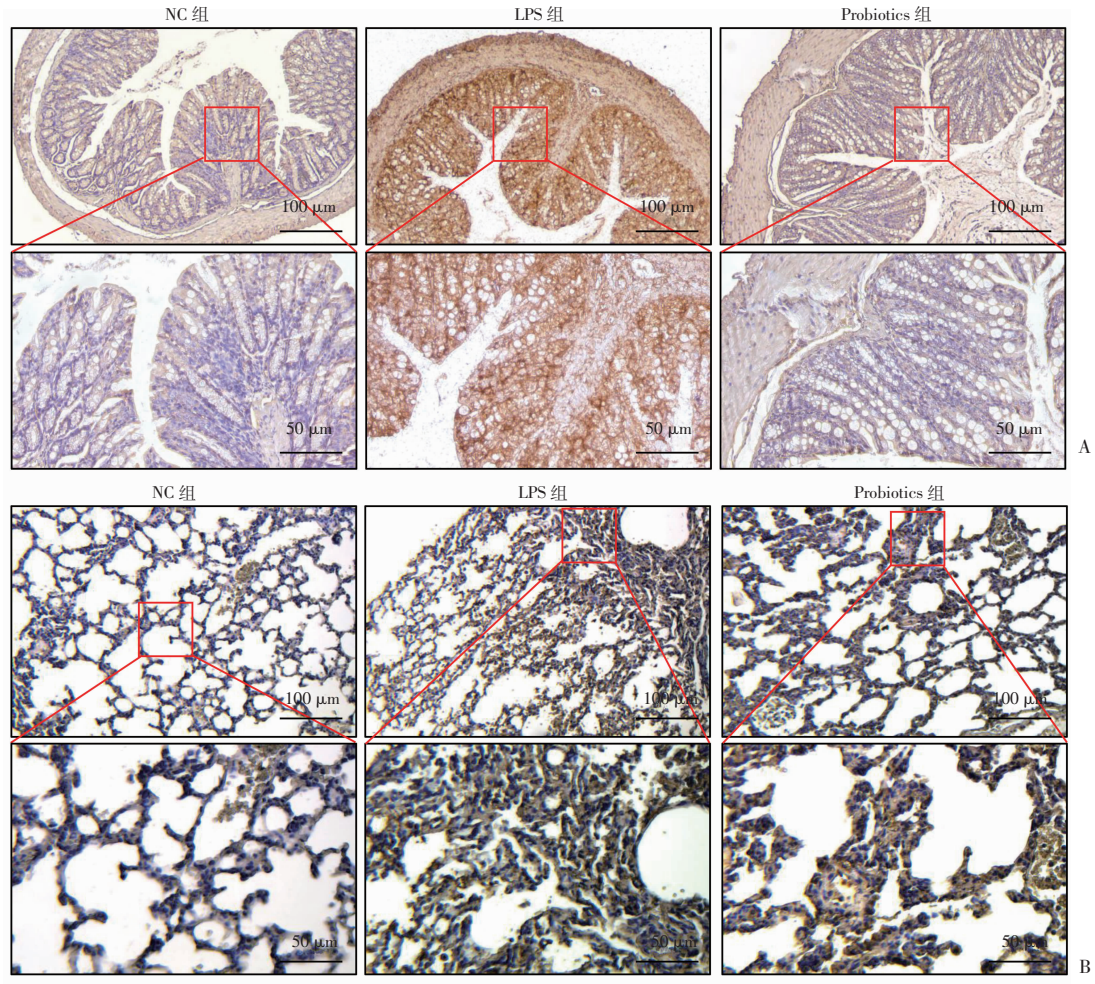


图 5　IHC 观察嗜酸乳杆菌对结肠组织(A)和肺组织(B)TRPV4 表达的影响

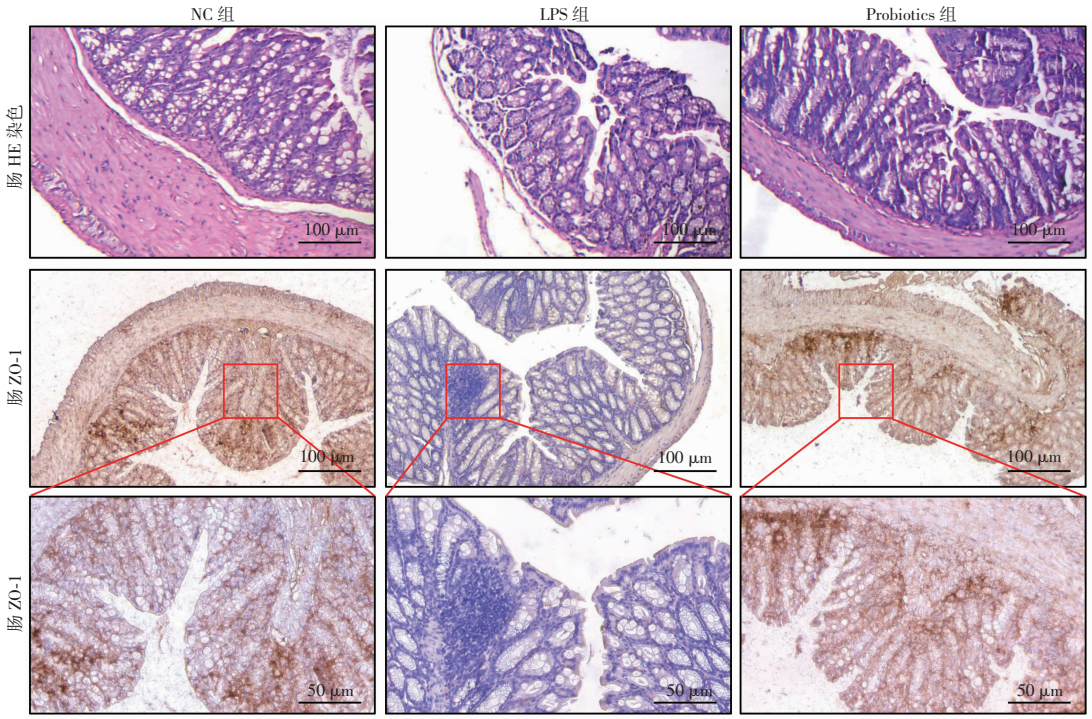


图 6　嗜酸乳杆菌对 AP 小鼠肠壁和 ZO-1 表达的影响

肠道内脱硫弧菌的定植实现肠上皮屏障修复。

如先前所述,TRP 通道参与了脱硫弧菌损伤肠道上皮细胞的过程,TRPV4 作为 TRP 通道亚家族的一员,参与了多种炎症性疾病的调控,其中包括肺炎[15]。研究发现,TRPV4 在重症肺炎病患者肺泡上皮组织表达明显上调,激活后可促进多种炎症因子释放及肺炎的进展,引起急性肺损伤,提示 TRPV4 具有明显的促进肺部炎部的作用[16]。在小鼠模型中,抑制 TRPV4/Ca^{2+}信号通路可保护呼吸机所致肺内皮屏障损伤[17]。此外,TRPV4 还具有明显的调节炎症反应的功能,有研究发现特异性的激活 TRPV4 通道可以上调促炎症因子 IL-1β、IL-6 的表达,并且下调 IL-10 的表达,该作用可被 TRPV4 特异性抑制剂所抑制[18]。在本研究中,预防性使用嗜酸乳杆菌的 AP 小鼠肠道和肺组织的 TRPV4 通道蛋白的表达水平显著低于 LPS 组小鼠,并且肠黏膜通透性相关分子 ZO-1 的表达也显著上调,同时小鼠血浆中促炎因子 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 浓度明显降低,抗炎因子 IL-10 显著升高,以上结果说明了 TRPV4 通道蛋白的表达是介导嗜酸乳杆菌减轻肺炎过程中的重要因素。

虽然本研究在 AP 小鼠模型中观察到了 LPS 和嗜酸乳杆菌对脱硫弧菌丰度的影响与对 TRPV4 和 ZO-1 表达的影响具有一致性,但是目前仍缺乏脱硫弧菌激活 TRPV4 通道的证据以及同时调控肠道和肺组织 TRPV4 表达的机制。结合既往文献,我们推测脱硫弧菌通过激活 TRPV4 通道,诱发肠道炎症,破坏肠黏膜屏障,释放炎症因子,从而导致肺炎的发生。而预防性使用嗜酸乳杆菌则通过降低肠道内脱硫弧菌的丰度从而预防急性肺炎的发生。

本研究发现预防性使用嗜酸乳杆菌可以显著缓解 AP 小鼠的肺炎症状,进一步研究以及结合相关文献表明嗜酸乳杆菌可能在降低肠道内脱硫弧菌的丰度和减少 TRPV4 通道的激活方面发挥了关键作用,从而实现减轻肺部炎症水平和修复肠上皮屏障,这些发现为嗜酸乳杆菌在缓解肺炎中的作用机制提供了新的见解。

参考文献:

[1] RUTTEN E P A, LENAERTS K, BUURMAN W A, *et al*. Disturbed intestinal integrity in patients with COPD: effects of activities of daily living[J]. Chest, 2014, 145(2): 245-252. DOI: 10.1378/chest.13-0584.

[2] 张文杰, 戴岳. "肺-肠轴"的研究进展[J]. 药学研究, 2022, 41(1): 53-56. DOI: 10.13506/j.cnki.jpr.2022.01.010.
ZHANG W J, DAI Y. Research advances of lung-gut axis [J]. J Pharm Res, 2022, 41(1): 53-56. DOI: 10.13506/j.cnki.jpr.2022.01.010.

[3] MASSART A, HUNT D P. Pulmonary manifestations of inflammatory bowel disease[J]. Am J Med, 2020, 133(1): 39-43. DOI: 10.1016/j.amjmed.2019.07.007.

[4] HASHIMOTO Y, EGUCHI A, WEI Y, *et al*. Antibiotic-induced microbiome depletion improves LPS-induced acute lung injury*via*gut-lung axis [J]. Life Sci, 2022, 307: 120885. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.120885.

[5] WEN L, SHI L, KONG X L, *et al*. Gut microbiota protected against *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia *via* restoring Treg/Th17 balance and metabolism[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 856633. DOI: 10.3389/fcimb.2022.856633.

[6] 周凯旋, 鲍慧玮, 朱志杰, 等. 复方嗜酸乳杆菌片对便秘的治疗作用及对肠道菌群的影响[J]. 第三军医大学学报, 2020, 42(20): 2031-2038. DOI: 10.16016/j.1000-5404.202005171.
ZHOU K X, BAO H W, ZHU Z J, *et al*. Therapeutic effect of compound *Lactobacillus acidophilus* tablets on constipation and its impact on intestinal flora in mice[J]. J Third Mil Med Univ, 2020, 42(20): 2031-2038. DOI: 10.16016/j.1000-5404.202005171.

[7] 朱瑞, 雷震, 周亮, 等. 益生菌对降低 ICU 患者呼吸机相关性肺炎发生率的研究[J]. 宁夏医学杂志, 2022, 44(11): 987-989.
ZHU R, LEI Z, ZHOU L, *et al*. Study on probiotics in reducing incidence of ventilator-associated pneumonia in ICU patient[J]. Ningxia Med J, 2022, 44(11): 987-989.

[8] 姚志楠, 董桂娟, 于涵, 等. 益生菌早期肠内营养对重型颅脑损伤机械通气患者营养状况和炎症因子的影响及呼吸机相关性肺炎的相关因素分析[J]. 现代生物医学进展, 2023, 23(6): 1060-1065. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.06.012.
YAO Z N, DONG G J, YU H, *et al*. Effect of probiotic early enteral nutrition on nutritional status and inflammatory factors in patients with severe craniocerebral injury undergoing mechanical ventilation and analysis of related factors of ventilator-associated pneumonia [J]. Prog Mod Biomed, 2023, 23(6): 1060-1065. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.06.012.

[9] WU Z W, MEHRABI NASAB E, ARORA P, *et al*. Study effect of probiotics and prebiotics on treatment of OVA-LPS-induced of allergic asthma inflammation and pneumonia by regulating the TLR4/NF-kB signaling pathway[J]. J Transl Med, 2022, 20(1): 130. DOI: 10.1186/s12967-022-03337-3.

[10] SHIMIZU K, YAMADA T, OGURA H, *et al*. Synbiotics

modulate gut microbiota and reduce enteritis and ventilator-associated pneumonia in patients with sepsis: a randomized controlled trial[J]. Crit Care, 2018, 22(1): 239. DOI: 10.1186/s13054-018-2167-x.

[11] 陈丹, 齐颖. 乳果糖联合益生菌对老年重症肺炎患者肠道微生态的影响[J]. 中华全科医学, 2019, 17(4): 666-669. DOI: 10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.000762.
CHEN D, QI Y. Effect of lactulose combined with probiotics on intestinal microflora in elderly patients with severe pneumonia[J]. Chin J Gen Pract, 2019, 17(4): 666-669. DOI: 10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.000762.

[12] 张奇兰, 杨拯. H_2S 对离子通道的作用研究进展[J]. 西南军医, 2012, 14(5): 749-753. DOI: 10.3969/j.issn.1672-7193.2012.05.029.
ZHANG Q L, YANG Z. Research progress on the effect of H_2S on ion channels[J]. J Mil Surg Southwest China, 2012, 14(5): 749-753. DOI: 10.3969/j.issn.1672-7193.2012.05.029.

[13] 沈媛媛, 程凯, 张冉冉, 等. 酪酸梭菌调控肠道菌群对DSS结肠炎的作用[J]. 滨州医学院学报, 2022, 45(4)257-260, 272. DOI: 10.19739/j.cnki.issn1001-9510.2022.04.003.
SHEN Y Y, CHENG K, ZHANG R R, *et al*. Effect of *Clostridium butyricum* on DSS colitis in regulating intestinal microbiota[J]. J Binzhou Med Univ, 2022, 45(4)257-260, 272. DOI: 10.19739/j.cnki.issn1001-9510.2022.04.003.

[14] NIE Y W, XIE X Q, ZHOU L X, *et al*. *Desulfovibrio fairfieldensis*-derived outer membrane vesicles damage epithelial barrier and induce inflammation and pyroptosis in macrophages[J]. Cells, 2022, 12(1): 89. DOI: 10.3390/cells12010089.

[15] BISTOLA V, POLYZOGOPOULOU E, PARISSIS J. A novel strategy for the management of lung congestion: targeting TRPV4 channel, the 'gate keeper' of pulmonary capillary permeability[J]. Eur J Heart Fail, 2020, 22(9): 1646-1648. DOI: 10.1002/ejhf.1849.

[16] 钟景良, 姚慧文, 林锦锋, 等. TRPV4 抑制剂对脂多糖诱导小鼠急性肺损伤的保护作用[J]. 国际呼吸杂志, 2019, 39(13): 968-972. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2019.13.002.
ZHONG J L, YAO H W, LIN J F, *et al*. Protective effects of TRPV4 inhibitor on acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice[J]. Int J Respir, 2019, 39(13): 968-972. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2019.13.002.

[17] YU Q, WANG D X, WEN X T, *et al*. Adipose-derived exosomes protect the pulmonary endothelial barrier in ventilator-induced lung injury by inhibiting the TRPV4/Ca^{2+} signaling pathway[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2020, 318(4): L723-L741. DOI: 10.1152/ajplung.00255.2019.

[18] 谭千山, 陈君, 谢会超, 等. 肠胶质细胞系 TRPV4 依赖性 Ca^(2+)内流、ATP 释放与炎症因子表达[J]. 陆军军医大学学报, 2023(5): 417-425.
TAN Q S, CHEN J, XIE H C, *et al*. Transient receptor potential vanilloid 4-dependent calcium influx, ATP release and expression of inflammatory factors in enteric glial cells[J]. J Army Med Univ, 2023(5): 417-425.

(**收稿**:2023-07-11;**修回**:2023-10-20)

(编辑 邓强庭)