DOI:10.16016/j.2097-0927.202310070

右美托咪定对急性肾损伤继发肺损伤的修复功用

黎洁钰[1],秦志刚[1],薛正威[1],刘祥凤[1],江 玲[1],李 鹏[2],顾健腾[1] 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学):第一附属医院麻醉科[1],药学与检验医学系生药学与中药学教研室[2]

[摘要] **目的** 探讨右美托咪定(Dexmedetomidine,Dex)对急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)继发肺损伤的修复功用。**方法** 将75只6~8周龄健康SPF级雄性C57BL/6J小鼠(体质量20~22 g)随机分为:假手术(Sham)组,常规行开腹关腹手术;肾缺血再灌注(RIR)组,双侧肾蒂夹闭50 min后再灌注;Dex预处理(Dex + RIR)组,双侧肾蒂夹闭前15 min经腹腔注射Dex(25 μg/kg)。各组于造模后24、48、72、96、120 h(n=5),收集肺组织、肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid,BALF)、颈动脉血。观察并比较各组不同时间点肺组织损伤程度及修复情况、动脉血氧分压(PaO_2)、肺泡灌洗液转化生长因子β1(transforming growth factor β1, TGF-β1)和结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)含量。反转录实时定量聚合酶链式反应(quantitative real-time RT-PCR,RT-qPCR)检测肺组织白细胞介素-6(*IL-6*)、肺表面活性蛋白C(surfactant protein C,*SP-C*)转录水平。**结果** 与Sham组比较,AKI后48 h内,RIR组和Dex+RIR组肺损伤评分升高、PaO_2降低,但Dex+RIR组肺损伤评分及PaO_2水平均优于RIR组;AKI后96 h内RIR组肺损伤评分维持高水平,PaO_2维持低水平,而Dex+RIR组肺损伤评分和PaO_2于48 h后出现持续好转。AKI后RIR组肺泡灌洗液TGF-β1和CTGF以及肺组织*IL-6*转录水平呈现出由高水平向低水平变化的趋势,但均显著高于Sham组(P<0.05),Dex干预使24~120 h时间点TGF-β1显著降低(P<0.01),24~72 h *IL-6*转录水平显著降低(P<0.05),而CTGF呈上升趋势并于48~96 h维持较高水平;AKI后RIR组*SP-C*转录水平在24 h显著上调(与Sham组比较,P<0.001),48~120 h大幅下降至低水平(与RIR组24 h比较,P<0.05),而Dex可改善此种AKI所致的*SP-C*转录抑制现象。**结论** Dex可改善急性肾损伤继发肺损伤后肺换气功能,并将肺损伤修复时间窗从96~120 h提前至48~72 h。

[关键词] 右美托咪定;肾缺血再灌注;急性肺损伤;修复
[中图法分类号] R563; R692; R971.93 [文献标志码] A

Reparative role of dexmedetomidine in lung injury secondary to acute kidney injury

LI Jieyu[1], QIN Zhigang[1], XUE Zhengwei[1], LIU Xiangfeng[1], JIANG Ling[1], LI Peng[2], GU Jianteng[1] [1]Department of Anesthesiology, First Affiliated Hospital; [2]Department of Pharmacognosy and Traditional Chinese Pharmacy, Faculty of Pharmacy and Laboratory Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University),Chongqing,400038,China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the reparative role of dexmedetomidine (Dex) in lung injury secondary to acute kidney injury (AKI). **Methods** A total of 75 healthy SPF male C57BL/6J mice (6-8 weeks old, weighing 20-22 g) were randomly divided into Sham group (standard laparotomy), renal ischemia reperfusion group (RIR, clamping of bilateral renal pedicles for 50 min followed by reperfusion), and Dex pretreatment group (Dex+RIR, intraperitoneal injection of 25 μg/kg Dex 15 min before bilateral renal pedicle clamping). Lung tissues, bronchoalveolar lavage fluid (BALF), and carotid arterial blood samples were collected from 5 mice in each group at 24, 48, 72, 96, and 120 h after modeling. Lung injury and repair, arterial blood partial pressure of oxygen (PaO_2), and BALF contents of transforming growth factor β1 (TGF-β1) and connective tissue growth factor (CTGF) were observed and detected for comparison in the

[基金项目] 重庆英才项目(CQYC20220303588);陆军军医大学人才基金(XZ-2019-505-028)
[通信作者] 顾健腾,E-mail:gjt1976@163.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/)

groups at different time points. Reverse transcription quantitative real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR) was used to detect the transcript levels of interleukin-6(*IL-6*) and lung surfactant protein C (*SP-C*). **Results** Within 48 h after AKI, lung injury score was increased and PaO_2 was decreased in the RIR group and Dex+RIR group than the Sham group, but Dex pretreatment reversed the lung injury score and PaO_2 level when compared with the RIR group. The lung injury score was still in a high level and PaO_2 stayed low in the RIR group within 96 h after AKI, whereas the 2 indicators in the Dex+RIR group showed a sustained improvement in 48 h after injury. After AKI, the BALF contents of TGF-β1 and CTGF and mRNA level of *IL-6* in lung tissue showed a decreasing trend from high level to low level in the RIR group, but all of them were significantly higher than those in the Sham group ($P<0.05$), while Dex intervention resulted in an obvious decrease of TGF-β1 at 24-120 h ($P<0.01$) and a notable reduction of *IL-6* mRNA level at 24-72 h ($P<0.05$), whereas a raising trend and maintenance of high level in CTGF at 48-96 h. After AKI, the mRNA level of *SP-C* in the RIR group were up-regulated at 24 h ($P<0.001$, when compared to the Sham group) and then diminished to a low level at 48-120 h ($P<0.05$, when compared to the RIR group at 24 h), however Dex pretreatment could alleviate the transcriptional repression of *SP-C* caused by AKI. **Conclusion** Dex can ameliorate pulmonary ventilation after lung injury secondary to AKI, and then advance the time for lung repair from 96-120 h to 48-72 h.

[**Key words**] dexmedetomidine; renal ischemia reperfusion; acute lung injury; repair

Supported by the Chongqing Talent Program (CQYC20220303588) and the Talent Foundation of Army Medical University (XZ-2019-505-028). Corresponding author: GU Jianteng, E-mail: gjt1976@163.com

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是临床常见危急重症[1],重症监护室中 AKI 发生率可超过 50%[2-4]。缺血再灌注是 AKI 的重要诱因,通常由低血容量、脓毒性休克、手术和肾移植诱发[5-6]。AKI 后合并远端器官损伤是该类患者的重要死因,尤其在继发急性肺损伤(acute lung injury,ALI)时,死亡率可高达 60%~80%[7-8]。然而,目前 AKI 继发的 ALI 在传统药物疗法、机械通气等治疗策略下可维持短期内通气,但其远期肺功能并不能得到改善,预后不佳。基于此,探究肺损伤修复期机制、寻找有效保护措施具有一定研究意义及临床应用价值。

右美托咪定(Dexmedetomidine, Dex)是高选择性 α2 肾上腺素能受体激动剂,因其镇静、抗焦虑、抗炎和交感神经抑制等作用,常用于临床麻醉学和重症医学[9]。既往研究表明 Dex 对重要器官损伤具有保护作用[10],本课题组前期发现 Dex 可在短期内(24 h)减轻肾缺血再灌注损伤诱导的炎症反应、肺细胞凋亡等[11-12],但对于肺损伤修复的过程欠缺深入探索。因此,本研究拟在前期研究基础上通过构建肾缺血再灌注致急性肺损伤模型,在更长的时间内(120 h)观察 Dex 对肺损伤的保护作用,探究在此模型中肺损伤的修复过程,为肾源性肺损伤治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物

75 只 6~8 周龄健康 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠,体质量 20~22 g。购于陆军军医大学实验动物中心。所有动物实验经过大学实验动物管理委员会批准,并严格遵循《国际动物实验指南》。

1.2 主要试剂与仪器

Dex(Sigma-Aldric, SML0956, 美国);HE 染液(Biosharp, BL700B, 中国);血气分析仪(Radiometer, ABL800 FLEX,丹麦);转化生长因子 β1 酶联免疫吸附测定试剂盒(Elabscience, E-EL-0162c, 中国);小鼠结缔组织生长因子酶联免疫吸附测定试剂盒(ZCIBIO, ZC-38330, 中国);总 RNA 提取试剂盒(天根, DP419, 中国);HiScript Ⅲ RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper)(Vazyme, R323, 中国);*Taq* Pro Universal SYBR qPCR Master Mix(Vazyme, Q712, 中国);微量天平(Sartorius, CP225D, 德国);超微量分光光度计(Thermo, Nanodrop 2000, 美国);基因扩增仪(Heal Force, T960, 中国);荧光定量 PCR 仪(Bio-rad, CFX Connect, 美国);显微镜(Leica, DM4000B, 德国);离心机(Eppendorf, 5415R, 德国)。

1.3 方法

1.3.1 AKI 致 ALI 小鼠模型构建及分组 小鼠 AKI 致 ALI 模型建立参照本课题组前期研究[11]:所有小鼠禁食 12 h 后实施麻醉,腹腔注射 1%苯巴比妥钠(50 mg/kg),置于(36±1)℃热垫维持体温,固定头部和四肢。所有动物按照随机数字表法平均分为 3 组,且每组包含 5 个时间点($n=5$):①假手术组(Sham 组):仅行开腹关腹手术,不夹闭肾蒂。②肾缺血再灌

注损伤(RIR)组:双侧肾蒂夹闭缺血 50 min(可见双侧肾脏迅速由红色变成紫色,表示夹闭成功),再开放血流灌注(可见双侧肾脏迅速由深紫色变成红色,表示再灌注成功)。③Dex 预处理组(Dex+RIR 组):在肾蒂夹闭前 15 min 腹腔注射 Dex(25 μg/kg),余下操作同 RIR 组。造模完成后,所有动物腹腔注射 0.5 mL 无菌生理盐水并用 4-0 缝线闭合腹部。上述 3 组分别于造模后 24、48、72、96、120 h 取材。

1.3.2 颈动脉血采集及 PaO_2 检测 于造模后 24、48、72、96、120 h,在 3 %异氟烷麻醉下,切开颈部皮肤,分离腺体、肌肉,用排尽空气及肝素化的 1 mL 注射器抽取左侧颈总动脉血(0.5 mL),并插入橡皮中隔绝空气,后上机检测其 PaO_2 水平。

1.3.3 肺泡灌洗液(BALF)采集及 TGF-β1、CTGF 检测 完成颈动脉取血后,剪开胸廓,暴露气管。气管开一小口,将留置针插入气管内,1 mL 注射器吸入 0.5 mL 生理盐水,连接留置针头后,将生理盐水注入肺内,再吸出。重复此操作 1 次,将收集到的肺泡灌洗液以 1 000×*g* 离心 20 min,取上清,用作 TGF-β1、CTGF 检测。

1.3.4 肺组织取材 按照分组处理,取 3 组造模后 24、48、72、96、120 h 肺组织:所有实验动物均取左肺固定,右肺干冰速冻后保存于-80 ℃。待肺泡灌洗液采集完成后,使用动脉血管夹夹闭右侧肺门,迅速取下右肺进行干冰速冻,然后用生理盐水和 4%多聚甲醛经右心室灌注,取出左肺固定。

1.3.5 肺组织 HE 染色 肺组织经 4%多聚甲醛固定 24 h,然后经梯度脱水、透明、透蜡、包埋、切片(5 μm)后行 HE 染色,以中性树胶封片镜检并采集图像。

1.3.6 肺部病理损伤评估 根据改良 Smith 评分方法对肺泡及间质炎症、肺泡及间质出血、水肿、肺泡融合、肺泡间隔增厚,分别进行半定量分析[13]:无损伤计作 0 分,损伤范围≤25%计作 1 分、>25%~50%计作 2 分、>50%~75%计作 3 分、>75%计作 4 分,总肺损伤评分为各指标之和。每只动物随机选择 5 个高倍镜视野,最后取其平均值。

1.3.7 肺组织 *IL-6*、*SP-C* 转录水平检测 采用反转录实时定量聚合酶链式反应(quantitative real-time RT-PCR,RT-qPCR)检测 *IL-6*、*SP-C* 转录水平:使用微量天平称取肺组织(每组每个时间点各称取 50 mg),充分研磨后加入裂解液,后续操作遵循总 RNA 提取试剂盒(DP419)。所提取 RNA 通过超微量分光光度计测定其浓度和纯度。所有 RNA 样品按照 HiScript Ⅲ RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper)产品说明书所述实验流程去除基因组 DNA,配制反转录反应体系进行反转录反应,最终获得稳定的 cDNA。按照 *Taq* Pro Universal SYBR qPCR Master Mix 使用说明,以 cDNA 为模版配制反应体系,按反应条件(阶段 1:95 ℃ 30 s;阶段 2:95 ℃ 10 s,60 ℃ 30 s,40 个循环;阶段 3:95 ℃ 15 s,60 ℃ 60 s,95 ℃ 15 s)进行扩增。以采集到的阈值循环数(cycle threshold,Ct 值)作为统计数据,*GAPDH* 作内参基因,基于 $^{\triangle\triangle Ct}$ 法计算各组目的基因的相对表达量。本实验涉及的引物序列见表 1。

表 1 目的基因引物序列

基因名	引物序列(5′→3′)
IL-6	正向:TGGGGCTCTTCAAAAGCTCC
	反向:AGGAACTATCACCGGATCTTCAA
SP-C	正向:ATGGAGAGTCCACCGGATTAC
	反向:ACCACGATGAGAAGGCGTTTG
GAPDH	正向:AATGGATTTGGACGCATTGGT
	反向:TTTGCACTGGTACGTGTTGAT

1.4 统计学分析

所有实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,所有实验数据采用 SPSS 26.0 分析,并用 GraphPad 8.0.2 绘制统计图。采用双向方差分析,检验水准 $\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 各组肺组织病理形态学变化及肺损伤评分结果

HE 染色结果显示:Sham 组 24~120 h 肺泡结构完整、清晰、无明显损伤及破坏;RIR 组和 Dex+RIR 组均有不同程度的肺损伤(图 1),与 Sham 组比较,RIR 组 24~120 h 肺组织病理损伤评分均显著升高,差异具有统计学意义($P<0.01$,图 2),提示 AKI 致 ALI 小鼠模型构建较为理想。

沿时间点观察可见:RIR 组在 24、48、72、96 h 均出现肺组织结构紊乱、弥漫性肺组织出血、水肿、肺泡间隔增厚等表现,24~96 h 肺组织损伤评分无显著差异($P>0.05$),提示严重且持续的肺组织结构破坏。肺组织损伤评分在 120 h 出现明显降低($P<0.01$),提示此时肺组织结构得到恢复。

Dex+RIR 组在 24、48 h 时间点存在部分肺泡结构紊乱、肺泡间隔增厚现象并伴有红细胞渗出、少量炎细胞浸润。上述两个时间点肺损伤评分无显著差异($P>0.05$),但均值均低于 RIR 组相对应的时间点,且在 24 h 与 RIR 组比较存在显著性差异($P<0.05$)。

在 72~120 h 时间点,Dex+RIR 组较 RIR 组呈现十分显著的肺组织结构改善,同时肺损伤评分呈现出下降趋势。在本次实验的观察终点 120 h,Dex+RIR 组肺部损伤程度明显减轻($P<0.01$),大部分肺泡结构较为完整,接近正常肺组织结构,提示 Dex 的干预对肺组织损伤恢复有促进作用。

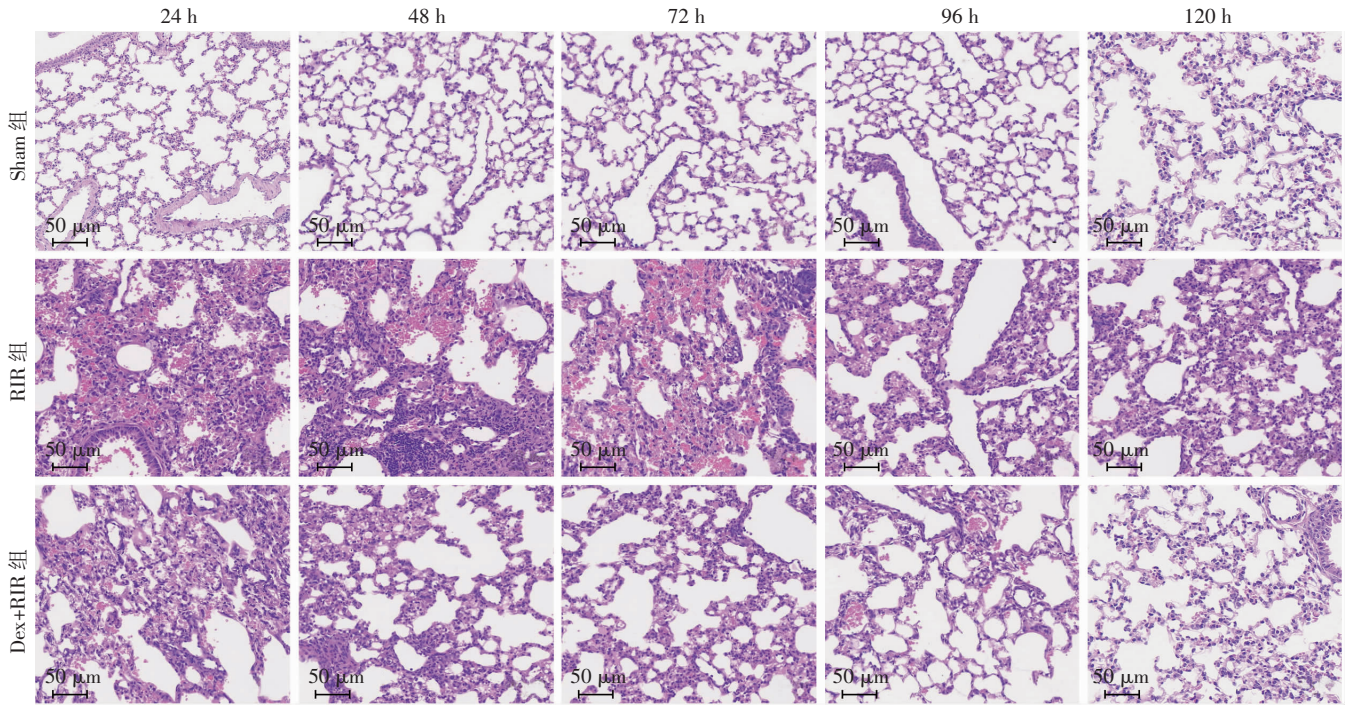
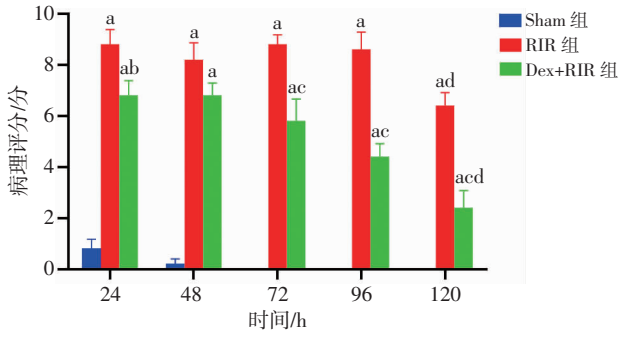


图 1 小鼠肾缺血再灌注后不同时间点肺组织形态 HE 染色观察

总的来说,Dex+RIR 组在 24、72、96、120 h 时间点,肺组织损伤均显著低于 RIR 组(图 2);RIR 组肺损伤评分下降转折点出现在 120 h,而 Dex 预处理后时间转折点提前至 72 h。

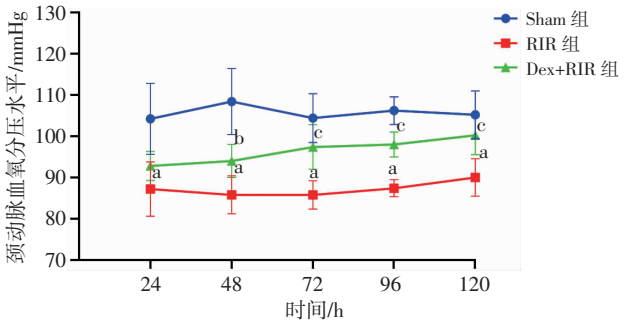


a:$P<0.01$,与 Sham 组比较;b:$P<0.05$,c:$P<0.01$,与 RIR 组比较;d:$P<0.01$,与 96 h 比较

图 2 小鼠肾缺血再灌注后不同时间点肺损伤病理评分($n=5,\bar{x}\pm s$)

2.2 右美托咪定对小鼠动脉血氧分压的影响

本研究通过测量 3 组小鼠颈动脉血氧分压(PaO_2),探讨 Dex 是否能改善 AKI 致 ALI 小鼠肺换气功能。对比 Sham 组,RIR 组 PaO_2 显著降低($P<0.01$);Dex+RIR 组在 24~120 h PaO_2 逐渐升高,且在 48~120 h 与 RIR 组比较 PaO_2 显著升高(图 3);在 120 h 处已接近 Sham 组,提示 Dex 预处理能明显提升 AKI 致 ALI 后修复期小鼠血氧分压水平,与肺损伤评分较为吻合。



a:$P<0.01$,与 Sham 组比较;b:$P<0.05$,c:$P<0.01$,与 RIR 组比较

图 3 小鼠肾缺血再灌注后不同时间点颈动脉血氧分压水平($n=5,\bar{x}\pm s$)

2.3 BALF 中 TGF-β1、CTGF 检测

本研究检测各组 BALF 中 TGF-β1 及 CTGF 的含量以探究肺损伤后修复的机制(图 4)。结果显示:与 Sham 组比较,RIR 组 24~120 h 时间点、Dex+ RIR 组 24、48、120 h 时间点 TGF-β1 含量均显著上升($P<0.01$);且 RIR 组 TGF-β1 水平在 24~120 h 时间点均显著高于 Dex+RIR 组,差异均具有统计学意义($P<0.01$),提示 Dex 干预后可显著降低 TGF-β1 水平。与之相反,Dex 可使 CTGF 从 24 h 开始出现持续上调,并于 72 h 后反超 RIR 组,提示 Dex 干预可显著上调 AKI 后 CTGF 水平。

组内比较:RIR 组和 Dex+RIR 组在 24、48 h 时间点 TGF-β1 水平均处于组内较高水平,而在 72 h 后均呈现显著下降,72 h 时间点表达含量分别为(228.00±24.04)、(83.60±9.06) pg/mL,显著低于 48 h 时间点的(390.00±7.62)、(190.00±19.88) pg/mL(P<0.01);72~120 h RIR、Dex+RIR 组内 TGF-β1 水平呈现出持平趋势。RIR 组 CTGF 呈现出由高水平向低水平的变化趋势,含量由 24 h 的(26.72±6.10) pg/mL 逐渐下降至 120 h 的(9.94±2.86) pg/mL;而 Dex 可将 24 h 的(14.49±2.86) pg/mL 上调至 48 h 的(20.84±2.86) pg/mL,在 48~120 h CTGF 维持在较高水平(P>0.05)。

2.4　肺组织 *IL-6*、*SP-C* 转录水平检测

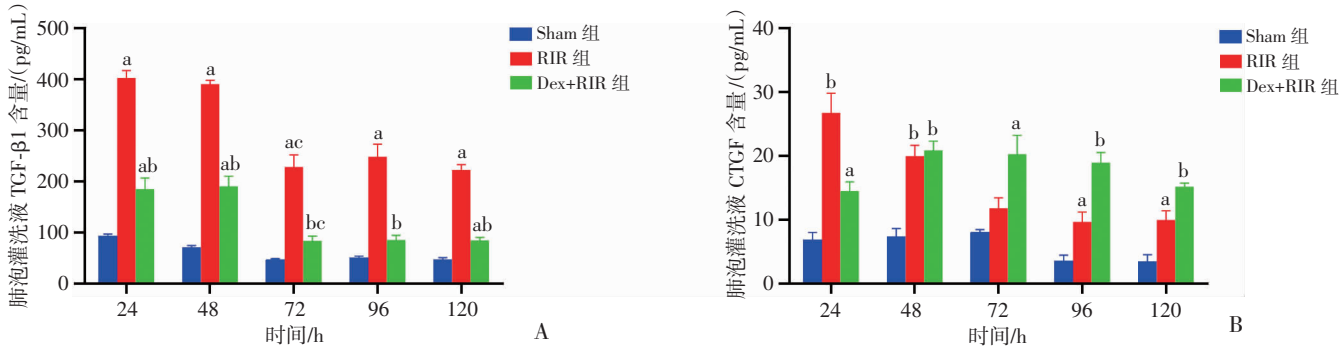
研究检测了肺组织急性炎症因子指标 *IL-6*、*SP-C* 的转录水平,用于探索 AKI 后肺部炎症的消除和二型肺泡上皮细胞(alveolar type 2 epithelial cells,AT2)的生理功能。结果显示:24~120 h RIR 组 *IL-6* 转录水平均显著上调,且沿着时间轴呈下降趋势,Dex 预处理后可显著降低 AKI 后 *IL-6* 转录,且于 96 h 点后率先下降至 Sham 组水平。从 *SP-C* 水平看:RIR、Dex+RIR 组在 24 h 呈现一过性升高,随后在 48 h 大幅下降;RIR 组在 72 h 下降至低于 Sham 组水平,且在 96、120 h 时间点维持低转录水平。而 Dex 预处理后,在 48、72 h 可显著升高 AKI 后 *SP-C* 转录水平,减缓其下降趋势并维持 *SP-C* 转录水平不低于 Sham 组。

3　讨论

3.1　Dex 近年被证实具有抗炎及器官保护作用

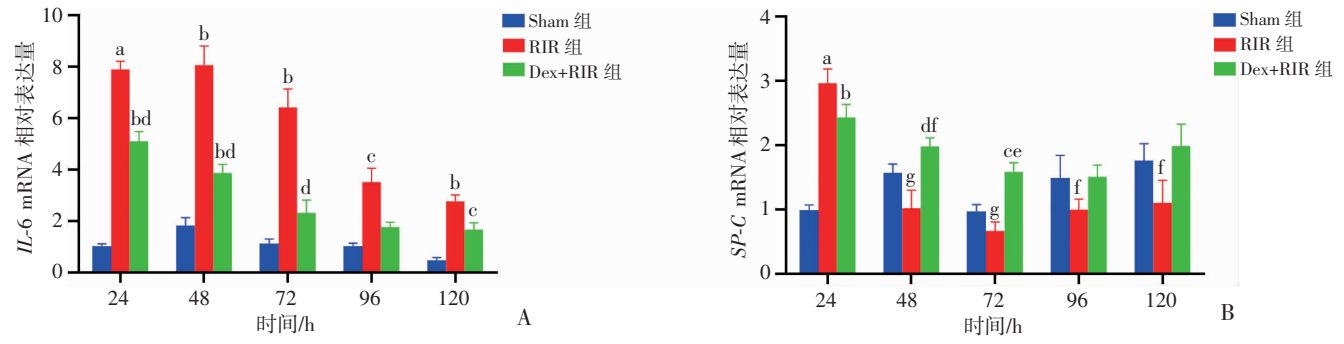
临床研究表明,AKI-ALI 重症患者短期院内死亡率高且远期肺功能预后不佳[14-15]。目前相关治疗集中于 ALI 急性期支持治疗,如补液疗法、氧疗和呼吸支持、肺保护性通气等[16],可在短期内改善患者肺功能,但对于部分重症患者的远期预后及肺功能恢复治疗效果并不理想,且存在诱发肺水肿及机械通气相关性肺损伤的风险。因此,探究该类重症患者的远期肺保护策略及相关机制具有一定临床意义。

Dex 作为临床重症患者的常用镇静药物近年来被证明具有广泛的抗炎及器官保护作用。本课题组长期致力于 Dex 的相关肺保护研究,发现其可减轻 24 h 内



A:TGF-β1　a:P<0.01,与 Sham 组比较;b:P<0.01,与 RIR 组比较;c:P<0.01,与 48 h 比较;B:CTGF　a:P<0.05,b:P<0.01,与 Sham 组比较

图 4　小鼠肾缺血再灌注后不同时间点肺泡灌洗液 TGF-β1 与 CTGF 含量(n=5,$\bar{x}\pm s$)



A:IL-6　a:P<0.001,b:P<0.01,c:P<0.05,与 Sham 组比较;d:P<0.05,与 RIR 组比较;B:SP-C　a:P<0.001,b:P<0.01,c:P<0.05,与 Sham 组比较;d:P<0.05,e:P<0.01,与 RIR 组比较;f:P<0.05,g:P<0.01,与 24 h 比较

图 5　小鼠肾缺血再灌注后不同时间点肺组织 *IL-6*、*SP-C* 转录水平(n=5,$\bar{x}\pm s$)

RIR 诱导的肺部炎症反应,远端肺微血管内皮细胞高渗透性[17]和肺细胞凋亡[11],以及促进肺巨噬细胞向 M2 抗炎表型极化以减轻脂多糖引起的急性肺损伤[18]。但我们的上述研究均局限在 Dex 的短期(24 h)肺损伤保护作用,其对肺损伤修复期的影响尚未进一步探索。本实验使用经典的急性肾损伤致急性肺损伤模型,分 Sham、RIR、Dex+RIR 组,在 120 h 的时间窗内每 24 h 设置 1 个观察点,以期在更长的时间跨度内(120 h)探究了 Dex 的肺损伤保护作用。

3.2 Dex 干预能改善 AKI 肺损伤预后

肺换气指标及病理结果提示,AKI-ALI 肺组织结构恢复时间转折点在 96~120 h,而 Dex 干预将这一转折点提前至 48~72 h,且其对于肺换气功能的持续改善效果更为显著,提示其有助于 AKI 肺损伤预后。①在 24~120 h 各组横向比较可见,Sham 组肺损伤相关组织学及氧合指标均显著优于其余两组;RIR 组小鼠动脉血氧分压降低,肺组织损伤评分显著升高;经 Dex 干预后,PaO_2 在 48~120 h 显著升高,镜下肺组织结构更为完整,肺组织损伤评分显著降低,但其在 48 h 与 RIR 组肺损伤评分无显著差异($P=0.066$),这可能与样本量较少有关($n=5$)。②沿时间点纵向观察肺损伤变化规律可见,Sham 组:未受到明显肺损伤;RIR 组:在建模成功后 96 h 内肺损伤水平持续保持较高水平,直到 120 h,肺组织损伤评分出现明显下降($P<0.01$),PaO_2 指标变化趋势在 24~120 h 与肺组织损伤评分相吻合,整体均低于 90 mmHg; Dex 干预后:可见肺组织形态学指标在 48 h 时间点之后出现好转,损伤评分持续下降,在 120 h 时间点肺损伤评分仅为(2.40±1.35)分,且动物肺换气指标呈现出更为积极的改变,在整个观察期内 PaO_2 稳定在 90 mmHg 以上且维持升高趋势, 120 h PaO_2 已基本恢复到 Sham 组水平,提示 Dex 可明显改善肾源性肺损伤通气和换气功能。

3.3 Dex 促 AKI-ALI 修复时间提前的潜在机制推论

本研究结果显示:BALF 中 TGF-β1、CTGF 的含量,肺组织 *IL-6* 及 *SP-C* 的转录水平均出现了积极的改变。①从整体水平看, RIR 组与 Dex+RIR 组 TGF-β1、*IL-6* 变化趋势较为一致,即在损伤后先升高(48 h 内)后降低 (72~120 h);不同的是 Dex+RIR 组各时间点表达水平均显著低于 RIR 组,且下降幅度更大,其中 TGF-β1 和 *IL-6* 于 72 h 便降至接近 Sham 组水平。TGF-β1 通常由受损微环境(炎症因子等)诱导所释放,同时也是参与肺修复的重要生长因子[19],造成较低的 TGF-β1 水平可能是因为 Dex 抑制了 *IL-6* 等炎性因子水平;其次,研究表明 TGF-β1 持续高水平可促进成纤维细胞募集,刺激胞外基质沉积,使之从生理性修复转向病理性修复(慢性肺纤维化等)[20],Dex 所致的相对低水平的 TGF-β1 微环境可能有助于改善急性肺损伤的远期预后。②CTGF 在两组中变化差异较大,RIR 组早期 CTGF 水平远高于其他两组,这可能与 RIR 早期诱导较高的 TGF-β1 水平有关,后者是促 CTGF 转录的经典上游。但随后 RIR 组 CTGF 快速下降,于 72 h 处已与 Sham 组水平无差异。相反的是,Dex 干预早期 CTGF 水平较低,这可被 Dex 降低 RIR 早期 TGF-β1 水平所解释,但随后该组 CTGF 呈现出上行趋势,在 48~120 h 维持 15~20 pg/mL 左右的较高浓度。研究表明,CTGF 在肺损伤后可促进增殖后的 AT2 分化为一型肺泡上皮细胞(alveolar type 1 epithelial cells,AT1),修复肺换气屏障[21],我们的结果提示 Dex 可能有助于维持较好的 AT2 修复微环境,这可能是肺功能得到持续改善的原因之一,相关机制有待进一步研究。③*SP-C* 是 AT2 特异性表达基因,其转录水平有助于观察 AT2 的生理功能变化情况,我们的观察结果提示 RIR 早期(24 h)*SP-C* 呈现出一过性上调,水平约为 Sham 组 3 倍,随后大幅降低并在后续观察点维持低于 Sham 组水平,这可能是因为 AT2 的分泌功能在肺损伤初期被高水平 TGF-β1 所诱导,随后该信号通路受高水平的 *IL-6* 等所激活的炎症通路串扰屏蔽[22],抑制其转录活性所致。而 Dex 处理可显著减少 *SP-C* 从 24 ~72 h 间的转录水平跌幅,始终将其维持在高于 Sham 组水平。上述研究提示 Dex 有助于保持 AKI 致 ALI 后 AT2 生理功能,这可能是其提高 AKI 后肺组织氧合功能的原因之一。

综上所述,本实验提示 Dex 对肾缺血再灌注损伤致急性肺损伤具有明显肺保护作用,初步确认了 AKI 致 ALI 后肺组织修复的时间窗口为 96~120 h,为后续的相关肺损伤修复研究提供了实验证据,为其他因素造成的急性肺损伤修复研究提供了思路;此外我们还证明 Dex 可显著促进 AKI-ALI 后肺修复,将这一修复窗口提前至 48~72 h,这有可能是 Dex 维持了更好的肺修复微环境(低炎症因子、高生长因子、更好的 AT2 生理功能)所导致的。提示 Dex 在作为镇痛镇静药物的同时可能具有促进患者肺功能修复的潜力,有望为相关急性肺损伤治疗提供启发。

参考文献:

[1] RONCO C, BELLOMO R, KELLUM J A. Acute kidney injury[J]. Lancet, 2019, 394(10212): 1949-1964. DOI: 10.1016/s0140-6736(19)32563-2.

[2] AL-JAGHBEER M, DEALMEIDA D, BILDERBACK A, *et al*. Clinical decision support for in-hospital AKI[J]. J Am Soc Nephrol, 2018, 29(2): 654-660. DOI: 10.1681/asn.2017070765.

[3] HOSTE E A J, BAGSHAW S M, BELLOMO R, *et al*. Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: the multinational AKI-EPI study[J]. Intensive Care Med, 2015, 41(8): 1411-1423. DOI: 10.1007/s00134-015-3934-7.

[4] HOSTE E A J, CLERMONT G, KERSTEN A, *et al*. RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis[J]. Crit Care, 2006, 10(3): R73. DOI: 10.1186/cc4915.

[5] BONVENTRE J V, YANG L. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury[J]. J Clin Investig, 2011, 121(11): 4210-4221. DOI: 10.1172/jci45161.

[6] ZUK A, BONVENTRE J V. Acute kidney injury[J]. Annu Rev Med, 2016, 67: 293-307. DOI: 10.1146/annurev-med-050214-013407.

[7] PEERAPORNRATANA S, MANRIQUE-CABALLERO C L, GÓMEZ H, *et al*. Acute kidney injury from sepsis: current concepts, epidemiology, pathophysiology, prevention and treatment[J]. Kidney Int, 2019, 96(5): 1083-1099. DOI: 10.1016/j.kint.2019.05.026.

[8] FAUBEL S, EDELSTEIN C L. Mechanisms and mediators of lung injury after acute kidney injury[J]. Nat Rev Nephrol, 2016, 12(1): 48-60. DOI: 10.1038/nrneph.2015.158.

[9] DEMIRI M, ANTUNES T, FLETCHER D, *et al*. Perioperative adverse events attributed to α2-adrenoceptor agonists in patients not at risk of cardiovascular events: systematic review and meta-analysis[J]. Br J Anaesth, 2019, 123(6): 795-807. DOI: 10.1016/j.bja.2019.07.029.

[10] ZHAO S K, WU W Z, LIN X Z, *et al*. Protective effects of dexmedetomidine in vital organ injury: crucial roles of autophagy[J]. Cell Mol Biol Lett, 2022, 27(1): 34. DOI: 10.1186/s11658-022-00335-7.

[11] LI J J, CHEN Q, HE X H, *et al*. Dexmedetomidine attenuates lung apoptosis induced by renal ischemia-reperfusion injury through α_2AR/PI3K/Akt pathway[J]. J Transl Med, 2018, 16(1): 78. DOI: 10.1186/s12967-018-1455-1.

[12] GU J, CHEN J, XIA P, *et al*. Dexmedetomidine attenuates remote lung injury induced by renal ischemia-reperfusion in mice[J]. Acta Anaesthesiol Scand, 2011, 55(10): 1272-1278. DOI: 10.1111/j.1399-6576.2011.02526.x.

[13] MENG X Y, LU Q Y, ZHANG J F, *et al*. A novel animal model of primary blast lung injury and its pathological changes in mice[J]. J Trauma Acute Care Surg, 2022, 93(4): 530-537. DOI: 10.1097/ta.0000000000003571.

[14] ALGE J, DOLAN K, ANGELO J, *et al*. Two to tango: kidney-lung interaction in acute kidney injury and acute respiratory distress syndrome[J]. Front Pediatr, 2021, 9: 744110. DOI: 10.3389/fped.2021.744110.

[15] CHEN D W, JIANG L L, LI J, *et al*. Interaction of acute respiratory failure and acute kidney injury on in-hospital mortality of patients with acute exacerbation COPD[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2021, 16: 3309-3316. DOI: 10.2147/copd.s334219.

[16] LIEUWE D J, BOS, PHD, *et al*. Acute respiratory distress syndrome: causes, pathophysiology, and phenotypes[J]. Lancet, 2022, 400(10358): 1145-1156. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)01485-4.

[17] CHEN Q, YI B, MA J B, *et al*. α2-adrenoreceptor modulated FAK pathway induced by dexmedetomidine attenuates pulmonary microvascular hyper-permeability following kidney injury[J]. Oncotarget, 2016, 7(35): 55990-56001. DOI: 10.18632/oncotarget.10809.

[18] CHEN Q, QIN Z G, SUN Y B, *et al*. Dexmedetomidine activates Akt, STAT6 and IRF_4 modulating cytoprotection and macrophage anti-inflammatory phenotype against acute lung injury *in vivo* and *in vitro*[J]. J Inflamm Res, 2022, 15: 2707-2720. DOI: 10.2147/JIR.S357012.

[19] PENG D, FU M, WANG M, *et al*. Targeting TGF-β signal transduction for fibrosis and cancer therapy[J]. Mol Cancer, 2022, 21(1): 104. DOI: 10.1186/s12943-022-01569-x.

[20] SAITO A, HORIE M, NAGASE T. TGF-β signaling in lung health and disease[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(8): E2460. DOI: 10.3390/ijms19082460.

[21] SUN J, ZHANG H, LIU D, *et al*. CTGF promotes the repair and regeneration of alveoli after acute lung injury by promoting the proliferation of subpopulation of AEC2s[J]. Respir Res, 2023, 24(1): 227. DOI: 10.1186/s12931-023-02512-4.

[22] NOLTE M, MARGADANT C. Controlling immunity and inflammation through integrin-dependent regulation of TGF-β[J]. Trends Cell Biol, 2020, 30(1): 49-59. DOI: 10.1016/j.tcb.2019.10.002.

(收稿:2023-10-18;修回:2023-12-08)

(编辑 栾 嘉)