DOI:10.16016/j.1000-5404.201603141

盐酸戊乙奎醚通过抑制肺组织 NF-κB 活化减轻胎鼠急性肺损伤

蔡 孟[1],陈 虎[1],杨立伟[1],郑 江[2],葛红飞[3],李有长[1] (400010 重庆,重庆市妇幼保健院麻醉科[1];400038 重庆,第三军医大学西南医院:中心实验室[2],神经外科[3])

[摘要] **目的** 研究盐酸戊乙奎醚(penehyclidine hydrochloride,PHCD)对宫内窘迫致胎鼠急性肺损伤(acute lung injury,ALI)时 NF-κB 的影响。**方法** 足月胎鼠 80 只,体质量 4.74 ~ 4.82 g,采用随机数字表法分为 4 组(n = 20):空白对照组、PHCD 组、ALI 组、ALI + PHCD 组。采用钳夹孕鼠两侧子宫角血管的方法建立宫内窘迫模型,ALI + PHCD 组在建立宫内窘迫模型前 30 min 予孕鼠肌注 PHCD(2 mg/kg),PHCD 组给孕鼠肌注等剂量盐酸戊乙奎醚。剖宫取出胎鼠后立即断头,收集胎鼠外周血行血气检测、肺湿/干质量比值(W/D)测定,HE 染色观察胎鼠肺组织病理改变,ELISA 测定肺组织肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)及白细胞介素-6(interleukin-6,IL-6)含量,荧光定量 PCR 检测肺组织 NF-κB 表达,Western blot 检测肺组织 NF-κB p65 蛋白表达。**结果** ALI 组血酸碱度(pH)、氧分压均低于空白对照组,差异有统计学意义(P < 0.05),ALI + PHCD 组上述指标高于 ALI 组,差异有统计学意义(P < 0.05);ALI 组二氧化碳分压、乳酸(lactic acid,Lac)、W/D、TNF-α、IL-6 含量、NF-κB mRNA 表达及 NF-κB p65 蛋白表达水平均明显高于空白对照组(P < 0.05),ALI + PHCD 组上述各指标均明显低于 ALI 组(P < 0.05)。ALI + PHCD 组肺组织病理学损伤较 ALI 组减轻。**结论** PHCD 可能是通过抑制肺组织 NF-κB 活化,减少 TNF-α、IL-6 的释放,降低炎性反应,从而减轻宫内窘迫导致胎鼠急性肺损伤。

[关键词] 宫内窘迫;PHCD;急性肺损伤;胎鼠
[中图法分类号] R392.3; R714.43; R971.92 [文献标志码] A

Penehyclidine hydrochloride reduces acute lung injury of fetal rats through inhibiting activation of NF-κB

Cai Meng[1], Chen Hu[1], Yang Liwei[1], Zheng Jiang[2], Ge Hongfei[3], Li Youchang[1] ([1]Department of Anesthesiology, Chongqing Maternity and Child Health Hospital, Chongqing, 400010; [2]Medical Research Center, [3]Department of Neurosurgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effects of penehyclidine hydrochloride (PHCD) on NF-κB activity in the fetal rats with lung injury induced by intrauterine distress. **Methods** Eighty mature fetal rats weighing 4.74 ~ 4.82 g were randomly divided into 4 groups (n = 20), that is, control group, PHCD group, acute lung injury group (ALI) and ALI + PHCD group. Fetal rat intrauterine distress model was set up by ligating bilateral uterine horn vessels of pregnant rats. PHCD (2.0 mg/kg) was injected in the gluteus maximus of the pregnant rats in 30 min prior to intrauterine distress in PHCD and ALI + PHCD groups, and the same volume of normal saline was injected in the pregnant rats out of the control group. After fetal rats were removed and decollated, the blood gas analysis and W/D lung weight ratio was measured. At the same time, pathological changes in the lung tissue were observed by HE staining. Furthermore, the levels of TNF-α and IL-6 in the lung were detected by ELISA. The expression of NF-κB mRNA was detected by quantitative real-time PCR, and the expression of NF-κB p65 protein was detected by Western blotting. **Results** The pH value and partial pressure of oxygen were significantly lower in acute lung injury group than control group

[基金项目] 重庆市卫生局医学科研计划面上项目(20132138)
[通信作者] 李有长, E-mail: 1102690108@qq.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160601.0840.008.html(2016-06-01)

($P<0.05$), and those of the ALI + PHCD group was obviously higher than those of ALI group ($P<0.05$). The partial pressure of carbon dioxide, lactic acid content, W/D lung weight ratio, concentrations of TNF-α and IL-6, the expression of NF-κB mRNA and NF-κB p65 protein were significantly increased in the ALI group than the control group ($P<0.05$), and those in ALI + PHCD group were remarkably lower than those in the ALI group ($P<0.05$). The pathological changes in lung tissue were significantly attenuated in ALI + PHCD group when compared with the ALI group ($P<0.05$). **Conclusion** PHCD attenuates acute lung injury induced by intrauterine distress through inhibiting NF-κB activation and inflammatory response of lung tissue in fetal rats.

[**Key words**] intrauterine distress; penehyclidine hydrochloride; acute lung injury; fetal rats

Supported by the General Program of Medical Scientific Research of Chongqing Municipal Health Bureau (20132138). Corresponding author: Li Youchang, E-mail: 1102690108@qq.com

宫内窘迫是指胎儿在子宫内有缺血缺氧,并危及胎儿生命健康的综合现象,也是导致足月儿发生急性肺损伤的危险因素之一[1]。儿童急性肺损伤的病死率与成人相近,可达 50% ~60%[2],其发生机制可能与患儿肺组织发育不成熟以及肺组织缺血缺氧有关。目前研究证实[3],当肺组织缺血缺氧时,细胞膜上磷脂酶 A2 激活所产生的花生四烯酸代谢产物以及吞噬细胞所产生的肿瘤坏死因子、血小板激活因子等炎性介质会相互作用而呈现逐级放大效应,导致体内发生广泛的炎症反应,进而引起了肺泡Ⅱ型上皮细胞损伤和肺泡表面活性物质失活,诱发 ALI。莨菪烷类抗胆碱药物是治疗 ALI 的经典药物,盐酸戊乙奎醚(penehyclidine hydrochloride,PHCD),作为一种新型莨菪烷类药物,对 M 胆碱能受体的亚型具有选择性,能够降低毛细血管壁的通透性,改善微循环,减少溶酶体释放,保护细胞[4]。既往对 PHCD 的研究多集中于成人 ALI,而其对宫内窘迫致新生儿 ALI 的影响未见报道。

在临床上,若宫内窘迫发生在围产期,常需紧急行剖宫产术抢救胎儿。刘芳[5]研究证实在胎儿宫内窘迫时,及时行剖宫产术是降低新生儿发生窒息的最有效措施之一,可保证母婴安全,降低围产儿死亡率。因此,本研究以宫内窘迫胎鼠模型为研究对象,旨在探讨 PHCD 能否对新生儿 ALI 发挥保护性作用及其可能的分子机制,为 PHCD 临床应用于新生儿 ALI 提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂 盐酸戊乙奎醚购于成都力思特制药福分有限公司(批号:141108),TNF-α ELISA 测定试剂盒购自美国 RD 公司,IL-6 ELISA 测定试剂盒购自武汉博士德生物公司。NF-κB 引物由上海 TaKaRa 公司合成(上游引物:5′-ACGCGGTTACGGGAGATGTGA -3′,下游引物:5′-GGCCAAGTGCAAAGGTGTCTGAT -3′)。逆转录试剂盒、TRIzol Reagent 均是上海 TOYOBO 公司产品。NF-κB p65 鼠单克隆抗体为美国 Santa Cruz 公司产品(批号:sc-372)。二抗购自武汉博士得生物公司。蛋白提取试剂盒为北京康为世纪生物科技有限公司产品,BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自江苏碧云天公司。

1.1.2 实验动物 孕 20 d SD 大鼠,足月、体质量 4.52 ~4.81 g 的胎鼠 80 只(第三军医大学实验动物中心)。

1.2 方法

1.2.1 胎鼠分组及处理 参阅文献[6]的方法制备宫内窘迫模型,将孕 20 d 的 SD 大鼠用 3.5% 水合氯醛(1 mL/100 g) 腹腔注射麻醉后,仰卧位固定上门齿及四肢远端,剃去腹部毛发暴露术野,碘伏、75% 酒精依次消毒,取下腹正中切口,打开腹腔,于下腹部两侧可见串球状胎鼠被包裹于子宫内,用微动脉夹钳夹孕鼠通向子宫和两侧卵巢的动静脉 20 min,钳夹过程中不断更换覆盖于子宫上的温生理盐水纱布,维持局部温度在 37 ℃左右。然后松开微动脉夹,恢复血供 40 min 后,剖宫取出胎鼠并断头处死后提取肺组织,于 -80 ℃保存。空白对照组仅对孕鼠行开腹关腹手术,余不对胎鼠做任何操作;PHCD 组术前 30 min 给予孕鼠以 2 mg/kg 浓度肌注 PHCD;ALI 组予建模处理;ALI + PHCD 组在建模前 30 min 予孕鼠肌注相应剂量 PHCD。

1.2.2 血气分析检测 参照夏水秀等[7]的方法取出宫内胎鼠,断头后收集外周血,并使用 Nova 血气分析仪测定胎鼠血浆中的 pH、氧分压[$p(O_2)$]、二氧化碳分压[$p(CO_2)$]、乳酸(Lac)等指标,并记录。

1.2.3 胎鼠肺湿/干质量比值(W/D)测定 各组随机取 8 只胎鼠,断头处死后提取肺标本,称取湿质量(W),烘干后的肺标本称取干质量(D),计算 W/D 值。

1.2.4 HE 染色观察肺组织形态学变化 各组随机取 4 只胎鼠,提取肺标本,操作方法同 1.2.3,置于 4% 多聚甲醛溶液中浸泡固定,经石蜡包埋,冠状切片

(厚约 5 μm)后,常规 HE 染色,BX5/TF 显微镜下(×100,Olympus 公司,日本)观察肺组织形态学变化情况,并拍照记录。

1.2.5　ELISA 检测肺组织 TNF-α 及 IL-6 含量　每组随机取 8 只胎鼠断头取肺,将肺组织标本分装于冻存管内 -80 ℃低温冰箱保存备用。取部分上述保存的肺组织经研磨制成匀浆,4℃、12 000 r/min 离心,取上清液采用 ELISA 法进行测定 TNF-α 及 IL-6 含量,按照 ELISA 试剂盒说明书严格操作,利用全波长酶标仪于 450 nm 波长处测定光密度值,并参照标准曲线,计算出胎鼠肺组织中 TNF-α、IL-6 含量。

1.2.6　q-PCR 检测肺组织 NF-κB mRNA 的表达　取部分保存的肺组织经研磨制成匀浆,按照 RNA 提取试剂盒说明书提取总 RNA,按照 Rever Tre Ace-a-逆转录试剂盒说明书逆转录合成 cDNA。根据 GenBank 上所查 RNA 序列,采用 Primer Premier 5.0 软件设计引物,NF-κB 上游引物序列:5′-ACGCGGTTACGGGAG-ATGTGA-3′ NF-κB 下游引物序列:5′-GGCCAAGTG-CAAAGGTGTCTGAT-3′,扩增片段长 212 bp。采用 ABI 7500 型荧光定量 PCR 仪测定 Ct 值,反应条件:95 ℃预变性 30 s,95 ℃变性 5 s,60 ℃退火延伸 34 s,共 45 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 NF-κB p65 mRNA 的相对表达量。

1.2.7　Western blot 检测肺组织 NF-κB p65 蛋白的表达　取部分保存的肺组织总蛋白时,将标本解冻后,反复研磨制成肺组织匀浆,加入 RIPA 裂解液等蛋白抽提试剂,冰浴提取肺组织总蛋白,4 ℃离心后,取上清液并以 BCA 蛋白浓度测定试剂盒检测蛋白浓度。按照配胶试剂盒说明配制 SDS-PAGE 凝胶,以50 μg 蛋白上样量进行电泳分离,转膜,封闭,TBST 洗膜后加入 NF-κB p65 鼠单克隆抗体(1∶2 000 稀释)4 ℃下孵育过夜,回收一抗,加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1∶2 000 稀释)室温孵育 2 h,TBST 洗膜30 min 后,显影,曝光。凝胶图像分析系统扫描成像,Quantity One 4.3 进行分析,以 NF-κB p65 与 β-actin 蛋白条带灰度的比值表示 NF-κB p65 蛋白表达相对水平。

1.3　统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　PHCD 对胎鼠外周血血气分析的影响

与空白对照组比较,ALI 组 $p(CO_2)$、Lac 含量明显增高,pH、$p(O_2)$降低($P<0.05$);与 ALI 组比较,ALI + PHCD 组 pH、$p(O_2)$增高,$p(CO_2)$、Lac 含量降低($P<0.05$,表 1)。

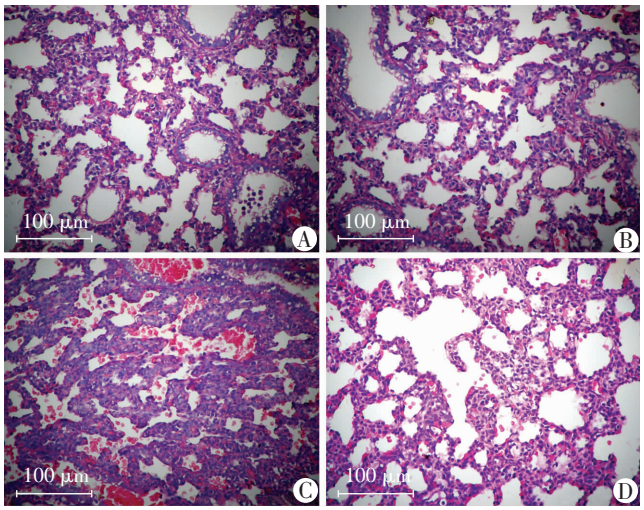
表 1　各组胎鼠外周血血气分析的比较($n=20$, $\bar{x} \pm s$)

组别	pH 值	$p(O_2)$ (mmHg)	$p(CO_2)$ (mmHg)	Lac (mmol/L)
空白对照组	7.32 ±0.01	38.45 ±1.72	55.48 ±0.91	9.87 ±0. 21
PHCD 组	7.31 ±0.08	37.23 ±0.98	54.27 ±0.88	9.74 ±0.18
ALI 组	7.04 ±0.04^{ab}	19.72 ±1.05^{ab}	66.31 ±1.41^{ab}	20.18 ±1.36^{ab}
ALI + PHCD 组	7.21 ±0.35^{abc}	25.38 ±1.35^{abc}	60.28 ±1.02^{abc}	15.78 ±0.75^{abc}

a:$P<0.05$,与空白对照组比较;b:$P<0.05$,与 PHCD 组比较;c:$P<0.05$,与 ALI 组比较

2.2　PHCD 减轻胎鼠肺组织的炎性反应

应用病理组织染色的方法研究 PHCD 对胎鼠肺组织内炎症反应的影响。结果显示,空白对照组、PHCD 组肺组织未见明显炎症病理改变;ALI 组肺间质明显浑浊肿胀,肺泡间隔增宽,毛细血管扩张充血,大量炎细胞浸润,肺泡腔可见浆液渗出、出血;ALI + PHCD 组较 ALI 组在肺间质水肿、毛细血管扩张充血和炎细胞浸润方面显著减轻(图 1)。



A:空白对照组;B:PHCD 组;C:ALI 组;D:ALI + PHCD 组

图 1　HE 染色观察各组胎鼠肺组织病理学变化

2.3　PHCD 减少胎鼠肺组织 TNF-α 及 IL-6 的含量

ALI 组和 ALI + PHCD 组 TNF-α 及 IL-6 含量明显高于空白对照组($P<0.05$),ALI + PHCD 组 TNF-α 及 IL-6 含量明显低于 ALI 组($P<0.05$,表 2)。

2.4　PHCD 下调胎鼠肺组织 NF-κB mRNA 表达及降低肺湿/干质量比值(W/D)

ALI 组和 ALI + PHCD 组 NF-κB mRNA 表达、W/D 值明显高于空白对照组($P<0.05$),ALI + PHCD 组 NF-κB mRNA 表达、W/D 值明显低于 ALI 组($P<0.05$,表 2)。

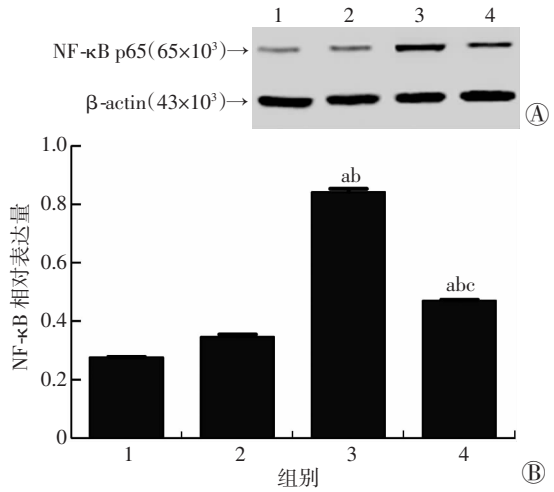
2.5 胎鼠肺组织内 NF-κB p65 蛋白的表达

ALI 组和 ALI + PHCD 组 NF-κB p65 蛋白表达明显高于空白对照组($P<0.05$),ALI + PHCD 组 NF-κB p65 蛋白表达明显低于 ALI 组($P<0.05$,图 2)。

表 2 各组胎鼠肺组织 TNF-α 和 IL-6 含量、肺湿/干重比及 NF-κB mRNA 表达($n=8$, $\bar{x}\pm s$)

组别	TNF-α(pg/mL)	IL-6(pg/mL)	W/D	NF-κB
空白对照组	21.10±0.28	5.24±0.05	3.52±0.23	1.01±0.03
PHCD 组	23.43±0.08	4.06±0.08	3.68±0.17	1.03±0.01
ALI 组	110.85±1.18^{ab}	24.39±0.19^{ab}	4.32±0.15^{ab}	6.37±0.29^{ab}
ALI + PHCD 组	73.20±0.85^{abc}	16.09±0.05^{abc}	4.07±0.98^{abc}	3.54±0.13^{abc}

a:$P<0.05$,与空白对照组比较;b:$P<0.05$,与 PHCD 组比较;c:$P<0.05$,与 ALI 组比较



1:空白对照组;2:PHCD 组;3:ALI 组;4:ALI + PHCD 组

A:Western blot 检测结果;B:半定量分析($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

a:$P<0.05$,与空白对照组比较;b:$P<0.05$,与 PHCD 组比较;c:$P<0.05$,与 ALI 组比较

图 2 Western blot 检测各组胎鼠肺组织 NF-κB p65 蛋白表达

3 讨论

急性肺损伤是一组以肺内弥漫性炎症细胞浸润、肺血循环障碍、肺毛细血管通透性增加和低氧血症为特征的临床综合征,是新生儿临床常见的危重症,致死率高[8]。新生儿由于肺发育欠成熟,肺泡表面积约为成人的 3%,对内源性细胞因子的变化敏感,一旦缺血缺氧更易发生 ALI。目前,ALI 发病的分子机制仍未明确,既往研究显示,炎症反应是 ALI 发生的重要环节之一[9]。肺表面活性物质(pulmonary surfactant,PS)功能异常,如合成不足、组成成分改变、活性降低,都会间接引发 ALI。虽然 PS 改变不是引起 ALI 的始动病因,但 PS 减少和功能异常是导致肺损伤的一个重要因素,与炎症反应在 ALI 的发生和发展过程中相辅相成[10]。蔡栩栩等[11]亦研究证实新生儿 ALI 与肺泡Ⅱ型上皮细胞损伤及肺泡表面活性物质失活有关。此外,基因遗传多态性也是当前 ALI/ARDS 发病机制环节中的一个关键因素[12]。

本研究参照 Tanaka 等[13]介绍的方法通过阻断足月孕鼠子宫血管,诱发短期胎盘缺血缺氧,建立宫内窘迫模型,引起胎鼠发生 ALI。研究结果显示,与空白对照组相比,阻断足月孕鼠子宫血管后,胎鼠外周血 $p(CO_2)$、Lac 含量明显增高,pH、$p(O_2)$显著降低,提示胎鼠酸中毒。此外,我们还观察了胎鼠 W/D 值和肺组织病理学变化。结果显示,与空白对照组相比,ALI 组肺组织 W/D 值显著增加,肺间质明显浑浊肿胀,肺泡间隔增宽,毛细血管扩张充血,大量炎细胞浸润,肺泡腔可见浆液渗出、出血,提示胎鼠 ALI 造模成功。

PHCD 是临床常见的抗胆碱药,能选择性地作用于 M1 和 M3 受体,对 M2 受体几乎没有影响,相对分子质量较小,约为 351.92,易透过胎盘屏障,分布于胎儿肺内[14]。既往有大量研究表明 PHCD 对大鼠急性肺损伤有保护作用,其作用机制与减少炎性介质的失控性释放有关[15-16]。但 PHCD 对胎鼠 ALI 的作用,目前未见报道。本研究参照姜丽华等[17]的研究结果并结合预试验,选择在建立宫内窘迫前 30 min 向孕鼠肌注 2.0 mg/kg 剂量 PHCD。为排出 PHCD 本身对胎鼠的影响,实验设立了 PHCD 组,结果与空白对照组相比,胎鼠的各项测定指标均无明显差异,提示该剂量范围内 PHCD 本身并不引起 ALI。与 ALI 组相比,ALI + PHCD 组胎鼠酸中毒得到明显改善,胎鼠肺 W/D 值明显降低,炎症反应明显减轻。

NF-κB 是 Sen 等从 B 淋巴细胞核提取物中发现的一种核蛋白因子[18],由 p50 和 p65 亚单位组成的异源二聚体是典型的 NF-κB,也是其活性的主要形式[19]。当细胞处于静息状态时,NF-κB 和 IκB 形成复合体,以无活性形式存在于细胞质中。既往研究显示,NF-κB 为 ALI 发病进程中的主要炎症介质的轴心转录因子。ALI 发生后,IκB 激酶复合物活化,使 IκB 磷酸化而降解,使胞质中游离的 NF-κB 快速移至核内,结合在被诱导基因启动子序列上与之相同的 κB 位点,进而调控 TNF-α、IL-6 等免疫炎性基因的转录[20],而增加的细胞因子又可进一步活化 NF-κB,造成持续或放大的炎症反应[21]。为进一步探讨 PHCD 对胎鼠 ALI 作用的分子机制,我们检测了各组 NF-κB mRNA、蛋白表达及胎鼠肺组织炎症因子含量。研究发现,与空白对照组相比,ALI 组胎鼠肺组织 TNF-α、IL-6 含量均增加,NF-κB mRNA、NF-κB p65 蛋白表达水平升高,应用 PHCD 预处理后发现 ALI 组胎鼠肺组织 TNF-α、IL-6

含量均减少,NF-κB mRNA、NF-κB p65 蛋白表达水平明显下降,肺部炎症反应减轻。这提示 NF-κB 及其介导的炎症反应在胎鼠 ALI 发病中具有重要作用,而 PHCD 则可通过抑制 NF-κB 表达及其介导的炎症反应改善胎鼠 ALI,起到治疗和保护作用。

综上所述,PHCD 预处理对胎鼠宫内窘迫导致 ALI 具有一定的保护作用,其相关机制与抑制 NF-κB 信号通路有关,为临床应用 PHCD 提供了可能的理论依据,拓展了其临床应用前景。接下来,可以从通过干预炎症刺激信号传导和基因表达这一手段来控制 ALI/ARDS 的进展[22],但目前主要还处在理论探索阶段,只有小部分试用于临床,其前景取决于相关领域更深入的研究以及临床的可操作性。

参考文献:

[1] 闫静, 丁玉红, 刘倩. 足月儿呼吸窘迫综合征高危因素临床分析[J]. 儿科药学杂志, 2015, 21(11): 19 - 21. DOI: 10.13407/j.cnki.jpp.1672-108x.2015.011.006

[2] Im D, Shi W, Driscoll B. Pediatric Acute Respiratory Distress Syndrome: Fibrosis versus Repair[J]. Front Pediatr, 2016, 4: 28. DOI: 10.3389/fped.2016.00028

[3] Cai Z, Liu J, Bian H, *et al*. Suppression of P2X7/NF-κB pathways by Schisandrin B contributes to attenuation of lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in acute lung injury[J]. Arch Pharm Res, 2016, 39(4): 499 - 507. DOI: 10.1007/s12272-016-0713-0

[4] Shu Y, Yang Y, Zhang P. Neuroprotective effects of penehyclidine hydrochloride against cerebral ischemia/reperfusion injury in mice[J]. Brain Res Bull, 2016, 121: 115 - 123. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2016.01. 008

[5] 刘芳. 胎儿宫内窘迫行剖宫产术 221 例临床分析[J]. 重庆医学, 2012, 41(18): 1834 - 1835. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.18.017

[6] Magal E, Goldin E, Harel S, *et al*. Acute uteroplacental ischemic embryo: lactic acid accumulation and prostaglandin production in the fetal rat brain[J]. J Neurochem, 1988, 51(1): 75 - 80.

[7] 夏水秀. HIF-1α/BNIP3/Beclin-1 信号通路介导的自噬与孕期缺氧胎鼠肾发育障碍的机制研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2014.

[8] Kamath B D, MacGuire E R, McClure E M, *et al*. Neonatal mortality from respiratory distress syndrome: lessons for low-resource countries[J]. Pediatrics, 2011, 127(6): 1139 - 1146. DOI: 10.1542/peds.2010-3212

[9] 汪雪峰, 陈思煜, 陈锋. 急性肺损伤发病机制的研究进展[J]. 海峡药学, 2013, 24(1): 102 - 104. DOI: 10.3969/j.issn.1006-3765.2012.10. 071

[10] 王娜, 王楠, 范旭芳, 等. 新生儿急性呼吸窘迫综合征的发病机制及诊断治疗进展[J]. 国际儿科学杂志, 2013, 40(6): 572 - 574. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2013.06.009

[11] 蔡栩栩, 杜悦, 高红, 等. 宫内急性缺血缺氧对新生大鼠肺表面活性蛋白 A 和 B 表达的影响[J]. 中华儿科杂志, 2003, 41(3): 208 - 211. DOI: 10.3760/j.issn:0578-1310.2003.03.017

[12] Janz D R, Ware L B. Biomarkers of ALI/ARDS: pathogenesis, discovery, and relevance to clinical trials[J]. Semin Respir Crit Care Med, 2013, 34(4): 537 - 548. DOI: 10.1055/s-0033-1351124

[13] Tanaka M, Natori M, Ishimoto H, *et al*. Experimental growth retardation produced by transient period of uteroplacental ischemia in pregnant Sprague-Dawley rats[J]. Am J Obstet Gynecol, 1994, 171(5): 1231 - 1234.

[14] 林大伟, 营向东. 新型选择性抗胆碱药长托宁的临床应用研究进展[J]. 中国工业医学杂志, 2008, 21(1): 60 - 62. DOI: 10.3969/j.issn.1002-221X.2008.01.027

[15] 黎笔熙, 陶军, 朱水波, 等. 盐酸戊乙奎醚对失血性休克大鼠急性肺损伤的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2014, 31(11): 2486 - 2489. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2014.11.040

[16] Wu G M, Mou M, Mo L Q, *et al*. Penehyclidine hydrochloride postconditioning on lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibition of inflammatory factors in a rodent model[J]. J Surg Res, 2015, 195(1): 219 - 227. DOI: 10.1016/j.jss.2014.12.018

[17] 姜丽华, 王涛, 姚尚龙. 盐酸戊乙奎醚预先给药对新生大鼠内毒素性急性肺损伤时 NF-κB 活性的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2010, 30(3): 369 - 371. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1416.2010.03.035

[18] 宋祖军, 王少波, 王琦, 等. NF-κB 的研究进展[J]. 世界急危重病医学杂志, 2007, 4(1): 1693 - 1696.

[19] Napetschnig J, Wu H. Molecular basis of NF-κB signaling[J]. Annu Rev Biophys, 2013, 42: 443 - 468. DOI: 10.1146/annurev-biophys-083012-130338

[20] Basseres D S, Baldwin A S. Using RNA interference in lung cancer cells to target the IKK-NF-κB pathway[J]. Methods Mol Biol, 2015, 447 - 458. DOI: 10.1007/978-1-4939-2422-6_27

[21] Wang X, Chen Q, Pu H, *et al*. Adiponectin improves NF-κB-mediated inflammation and abates atherosclerosis progression in apolipoprotein E-deficient mice[J]. Lipids Health Dis, 2016, 15: 33. DOI: 10.1186/s12944-016-0202-y

[22] Lin X, Barravecchia M, Kothari P, *et al*. β1-Na^+, K^+-ATPase gene therapy upregulates tight junctions to rescue lipopolysaccharide-induced acute lung injury[J]. Gene Ther, 2016, 23(6): 489 - 499. DOI: 10.1038/gt.2016.19

(收稿:2016-03-24;修回:2016-04-26)

(编辑 吴培红)