DOI:10.16016/j.2097-0927.202306071

维生素 A 缺乏加重胎粪吸入综合征大鼠肺损伤

李 静[1],唐 佳[1],李宛卫[1],杨 信[1],付 宏[2],胡章雪[1] 400042 重庆,陆军特色医学中心儿科[1]; 402260 重庆江津, 重庆大学附属江津医院儿科[2]

[摘要] **目的** 探讨维生素 A(vitamin A,VA)缺乏在新生大鼠胎粪吸入综合征(meconium aspiration syndrome, MAS)中对肺损伤的影响。**方法** 通过饲养 VA 缺乏及 VA 正常母鼠获得新生 7 d VA 缺乏 SD 大鼠(vitamin A deficiency, VAD)及 VA 正常新生 SD 大鼠(vitamin A normal,VAN)各 25 只,分别建立 VA 缺乏 MAS 模型(VAD 组)及 VA 正常 MAS 模型(VAN 组)。记录、对比、分析各组新生 SD 大鼠血气分析、肺组织湿/干质量比、HE 染色评估肺组织损伤;ELISA 检测肺组织 SP-A 蛋白、SP-C 蛋白、IL-6、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)含量;高效液相色谱检测肺组织 β-丙氨酸及其他代谢组物指标。**结果** 与 VAN 组比较,VAD 组新生大鼠血气中 pH 值($P=0.003$)、碱剩余(base excess,BE)($P=0.019$)显著降低,差异有统计学意义;VAD 组血气中 CO_2 分压(PCO_2)($P=0.049$)、肺组织的湿/干质量比($P=0.001$)、IL-6($P=0.002$)、VEGF($P=0.003$)、TNF-α($P=0.019$)显著增高,提示 VAD 组肺组织炎症反应更重。代谢组学分析表明:两组之间主要差异信号通路包括 β-丙氨酸代谢通路、cGMP-PKG 信号通路、嗅觉转导通路、神经活性配体-受体相互作用通路等,进一步通过液相色谱质谱技术检测并验证发现 VAD 组较 VAN 组中 β-丙氨酸($P=0.000$)显著上调。**结论** VA 缺乏可通过上调 MAS 的炎症因子的表达加重肺损伤,这可能与 VA 缺乏后导致 β-丙氨酸代谢通路改变有关。

[关键词] VA 缺乏;胎粪吸入综合征;炎症因子;代谢组学;β-丙氨酸
[中图法分类号] R-332; R591.41; R725.641 [文献标志码] A

Vitamin A deficiency aggravates lung injury in rats with meconium aspiration syndrome

LI Jing[1], TANG Jia[1], LI Wanwei[1], YANG Xin[1], FU Hong[2], HU Zhangxue[1] [1]Department of Pediatrics, Army Medical Center of PLA, Chongqing, 400042; [2]Department of Pediatrics, Chongqing University Jiangjin Hospital, Jiangjin, Chongqing, 402260, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of vitamin A (VA) deficiency on lung injury in meconium aspiration syndrome (MAS) in newborn rats. **Methods** After pregnant rats were fed with normal and deficient VA diet, 25 VA-deficient (VAD) and 25 VA-normal (VAN) neonatal SD rats (7 days old) were obtained, respectively. These rats were used to establish MAS mode. The results of blood gas analysis and wet/dry mass ratio of lung tissue were recorded, compared and analyzed in each group. HE staining was employed to evaluate lung tissue injury. The contents of SP-A protein, SP-C protein, IL-6, vascular endothelial growth factor (VEGF) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) in lung tissue were detected by ELISA. β-alanine and other metabolites in the lung tissue was measured with high performance liquid chromatography (HPLC). **Results** The pH value ($P=0.003$) and base excess (BE) ($P=0.019$) were significantly lower in the newborn rats from the VAD group than the VAN group. The VAD group had

[基金项目] 重庆市自然科学基金面上项目(cstc2020jcyj-msxmX0457)
[通信作者] 胡章雪, E-mail:huzx1@163.com

2097-0927/Copyright © 2022, 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/)

obviously higher partial pressure of carbon dioxide (PCO_2) ($P=0.049$), wet/dry mass ratio of lung tissue ($P=0.001$), and contents of IL-6 ($P=0.002$), VEGF ($P=0.003$) and TNF-α ($P=0.019$) than the VAD group, suggesting more serious lung inflammation in the VAD group. Further metabolomic analysis showed that the major signaling pathways between VAD and VAN groups included β-alanine metabolism, cGMP-PKG signaling pathway, olfactory transduction pathway, and neural active ligand-receptor interaction pathway. The result of HPLC indicated that β-alanine was notably up-regulated in rats from the VAD group than the VAN group ($P=0.000$). **Conclusion** VAD can aggravate lung injury by up-regulating MAS inflammatory factors, which may be related to the changes in β-alanine metabolic pathways caused by VAD.

[**Key words**] vitamin A deficiency; meconium aspiration syndrome; lung injury; metabolomics; β-alanine

Supported by the General Program of Natural Science Foundation of Chongqing (cstc2020jcyj-msxmX0457). Corresponding author: HU Zhangxue, E-mail: huzx1@163.com

胎粪吸入综合征(meconium aspiration syndrome, MAS)[1]系胎儿在产前或产时吸入被胎粪污染的羊水引起气道和肺泡机械性阻塞、肺泡表面活性物质(pulmonary surfactant,PS)失活、肺组织发生化学性炎症反应,以呼吸窘迫、脏器受损为主要表现的一组综合征,其发病快、病死率高,病死率可达 7.5%~15.0%[2],严重威胁新生儿生命健康。MAS 最主要的病理生理学变化是胎粪吸入后的急性肺损伤,但其具体发生发展机制尚不完全清楚。

维生素 A(Vitamin A,VA)具有抗炎、促进 PS 合成利用、免疫调节等作用[3]。大量临床研究表明 VA 缺乏会加重肺部炎症损伤,低剂量 VA 辅助治疗新生儿感染性肺炎可明显缩短临床症状持续时间,并可影响肺部免疫功能;但 VA 缺乏对肺部代谢组学的影响及其具体机制尚不明确。本实验通过建立 VA 缺乏新生 SD 大鼠 MAS 模型,检测建模后血气情况、肺 HE 染色、肺组织相关炎症介质、代谢组学等指标,探讨 VA 在 MAS 相关肺损伤中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物准备

从陆军特色医学中心动物房购买 50 只健康 SPF 级成年雌性 SD 大鼠,30 只雄性 SD 大鼠,体质量 180~220 g。雄鼠均予以 VA 正常饲料(VA 含量 6 500 U/kg)喂养。将 50 只 SD 雌性 SD 大鼠随机分成大小不等 A、B 2 组:其中 A 组 30 只予以 VA 缺乏饲料(VA 含量 300 U/kg)喂养,获得 VA 缺乏母鼠;B 组 20 只雌鼠予以 VA 含量正常饲料(VA 含量 6 500 U/kg)喂养[4],获得 VA 正常母鼠(饲料均来自常州鼠一鼠二生物科技有限公司,批号:211013101,21101303)。2 周后以雌:雄为3:2进行配种,获得 VA 缺乏新生大鼠及 VA 正常新生大鼠;取出生后 7 天、体质量约 15 g SD 大鼠各 25 只分别建立 VA 正常 MAS 模型[(vitamin A normal, VAN)组]及 VA 缺乏 MAS 模型[(vitamin A deficiency, VAD)组]。

1.2 胎粪悬液制备

本实验已通过陆军特色医学中心动物伦理委员会审查批准(批件号:AMUWEC20219010),并严格按照伦理委员会要求完成实验。本实验从陆军特色医学中心新生儿科获取多个足月新生儿的胎粪,进行真空冷冻干燥后研磨成粉末状,用无菌生理盐水稀释成 20%的胎粪溶液,并于-20 ℃冰箱保存备用[5]。

1.3 动物模型建立

新生大鼠 MAS 模型:将 VAD 及 VAN 新生 SD 大鼠固定于手术台,暴露颈部位置,予以碘伏消毒,暴露出气管位置,按照 2 mL/kg 体质量用 1 mL 空针向气管内缓慢注射胎粪混悬液,将伤口处予以碘伏消毒后放入鼠笼,8 h 后采集血气并断颈处死收集各组肺组织及血清标本。

1.4 数据采集方法

1.4.1 动脉血气分析 通过动脉血气分析检测乳酸值、pH 值、动脉 CO_2 分压($PaCO_2$)等评估 SD 大鼠氧合和通气功能,以此反映其肺水肿程度。将新生 SD 大鼠暴露出心尖位置,用预先肝素化的 1 mL 空针抽出心尖动脉血 0.3 mL,立即滴入血气芯片,将芯片放入便携式血气分析仪(型号:美国雅培 i-stat300G)内进行检测,待仪器检测后自动打印结果,得出 pH 值、$PaCO_2$、BE、乳酸等血气值。

1.4.2 肺组织湿/干质量比 通过计算 SD 大鼠肺组织湿/干质量比评估肺水肿的程度。待新生儿 SD 大鼠心尖血采集完毕后取右肺周围实质组织予以滤纸吸干血迹后称量记为湿质量,然后置于烘干箱内,在温度 70 ℃、26.6 kPa 条件下烘烤 48 h 后再次称量记为干质量,进行比对后得出湿/干质量比。

1.4.3 样品收集及 HE 染色 剩余新生 SD 大鼠采用断头采血方法获得全血标本,1 000 ×g 离心 10 min

后分离血清予以保存;采血后取出全肺,右肺予以4%多聚甲醛固定液固定,予以石蜡包埋进行HE染色,光镜下观察各组新生SD大鼠肺组织结构的完整性、炎性细胞浸润程度、肺泡腔内的渗出情况、肺泡间隔淤血增宽等情况;左肺放入1.5 mL EP管储存予以ELISA检测及代谢组学检查。

1.5 样品储存方法

血清及肺组织均放入-80 ℃冰箱保存,择期予以检测。

1.6 样品检测方法

1.6.1 血清VA含量测定 将储存的血清标本解冻,按照试剂盒(来自江苏晶美生物科技有限公司)说明书进行检测,测出吸光度值后绘制标准曲线,计算出各样本浓度值。

1.6.2 IL-6、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)、SP-A蛋白及SP-C蛋白测定 将肺组织10 mg加入100 μL的PBS溶液中,手动将标本匀浆充分,1 000 ×g离心20 min,取上清液,稀释至适当浓度后进行检测,严格按照ELISA试剂盒(均来自江苏晶美生物科技有限公司)操作步骤进行检测,于450 nm测出D(450)值后绘制标准曲线,根据标曲计算出各样本浓度。

1.7 色谱、质谱条件

上机检测:色谱条件Thermo Vanquish超高效液相系统,使用ACQUITY UPLC © HSS T3色谱柱,0.25 mL/min的流速,40 ℃的柱温,进样量2 μL。正离子模式,流动相为0.1%甲酸乙腈(C)和0.1%甲酸水(D)。负离子模式,流动相为乙腈(A)和5 mmol/L甲酸铵水(B)。质谱条件Thermo Orbitrap Exploris 120质谱检测器,收集数据。毛细管温度325 ℃,以分辨率60 000进行一级全扫描,一级离子扫描范围m/z 100~1 000,并采用HCD进行二级裂解,碰撞电压为30%,二级分辨率为15 000,同时采用动态排除去除无必要的MS/MS信息。

1.8 β-丙氨酸检测

上机检测:液相色谱仪选用爱博才思Jasper HPLC超高液相系统,质谱条件选用爱博才思AB4500MD,其余检测方法参考1.7。

1.9 潜在差异代谢物筛选鉴定、KEGG代谢通路及富集分析

采用xCMS程序进行峰面积提取、峰对齐和保留时间校正;并进行相关性分析及总体样本进行分析。运用京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)数据库鉴定差异代谢物,确定差异信号转导途径(P<0.05)。

1.10 统计学方法

实验数据以$\bar{x}\pm s$表示,运用SPSS23.0版本统计学软件进行结果分析,根据计量资料的统计学方法,若实验满足正态分析及方差齐性检验,则采用t检验,若方差不齐,则采用秩和检验,以P<0.05视为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组新生SD大鼠血清VA含量进行比较

VAN组大鼠血清VA含量为(163.56±20.77)ng/mL;VAD组大鼠血清VA含量为(128.12±23.79)ng/mL,低于VAN组(t=-2.601,P=0.029),差异具有统计学意义,提示此次VA缺乏SD大鼠模型建立成功。

2.2 两组新生SD大鼠体质量及肺组织湿/干质量比的比较

观察期间VAN组新生SD大鼠更为活泼、反应更加灵敏、皮毛更加光滑,VAD组新生SD大鼠精神稍差、活动度相对减少、反应更为迟钝、毛发更为稀疏。VAN组新生SD大鼠体质量明显大于VAD组,差异有统计学意义(P<0.05);此外,VAD组湿/干质量比明显大于VAN组,差异有统计学意义(P<0.05),表明VAD组的肺组织炎症反应更重(表1)。

表1 VAN及VAD组大鼠建模前体质量比较及MAS建模后肺组织湿/干质量比(n=8,$\bar{x}\pm s$,g)

组别	体质量	湿/干质量比
VAD组	10.44±2.30	5.27±0.72
VAN组	19.32±1.07	2.33±0.21
Z	-4.322	-3.366
P	0.000	0.001

2.3 两组新生SD大鼠动脉血气分析比较

VAD及VAN两组新生鼠各自建立MAS模型后8 h采血,测定血气分析。VAD组的动脉血气中PCO_2高于VAN组(P=0.049),pH值、碱剩余(base excess, BE)低于VAN组,差异有统计学意义(P=0.003, P=0.019),但VAD组与VAN组的乳酸水平无统计学差异,见表2。

表2 MAS模型建立后VAD组与VAN组新生鼠血气分析值比较(n=8,$\bar{x}\pm s$)

组别	pH值	BE /(mmol/L)	乳酸 /(mmol/L)	PCO_2 /mmHg
VAD组	7.31±0.09	-6.50±4.65	1.86±0.74	39.08±3.04
VAN组	7.39±0.04	-3.05±3.18	1.71±0.49	34.45±5.51
t/Z	-2.926	-2.484	0.657	2.083
P	0.003	0.019	0.517	0.049

2.4 两组新生 SD 大鼠肺组织相关蛋白及炎症指标检测

由表3可见,两组模型中肺 SP-A 蛋白的表达水平差异无明显统计学差异($P=0.156$),而 VAD 组大鼠肺 SP-C 蛋白水平高于 VAN 组,差异有统计学意义($P=0.031$);VAD 组肺组织中 IL-6、VEGF、TNF-α 值均显著高于 VAN 组($P=0.002$、$P=0.003$、$P=0.019$)。

2.5 两组新生 SD 大鼠肺组织 HE 染色结果

在两组模型中,与 VAN 组相比,VAD 组肺组织损伤更重。VAD 组肺组织局部肺泡腔出血较重、肺泡壁增厚更明显、炎症细胞浸润较多(图1)。

2.6 代谢组学提示 VAD 可能通过影响 β-丙氨酸代谢加重 MAS 肺损伤

通过评估各组新生大鼠肺组织代谢情况,发现 VAD 组主要通过影响 β-丙氨酸代谢通路、嗅觉转导通路、cGMP-PKG 信号通路、神经活性配体-受体相互作用通路等通路加重肺损伤(图2A、B)。进一步通过液相色谱质谱技术检测并验证主要代谢通路,发现与 VAN 组大鼠相比,VAD 组中 β-丙氨酸水平显著上调(图2C),考虑其可能为 VAD 加重 MAS 的重要代谢通路。

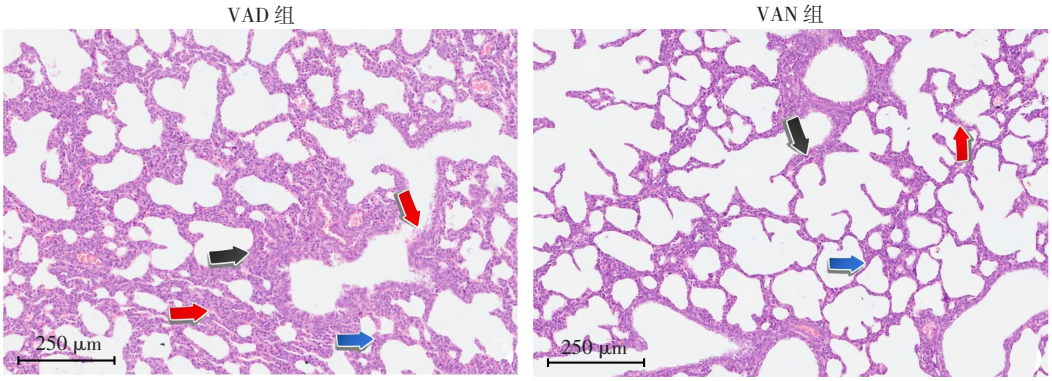
3 讨论

3.1 VA 缺乏加重 MAS 肺部炎症损伤

MAS 发病机制复杂,具体机制尚不明确,但炎症反应及氧化应激损伤已被证实是 MAS 相关肺损伤的重要机制[6]。目前胎粪吸入诱发严重的急性肺损伤的机制的探索仍然是一个急需解决的医学问题,早期防治对改善新生儿 MAS 预后至关重要。VA 是一种脂溶性微量营养素,广泛参与机体生理过程,如视觉、免疫、胚胎发育、细胞分化和增殖。VA 的重要活性形式是视黄酸[7],它与细胞核膜的特异性受体视黄酸核受体(retinoic acid receptor,RAR)和类视黄醇核受体(retinoids X receptor,RXR)结合,上调或者抑制几百种基因表达,在体内发挥广泛的生物学作用。近年来,随着对 VA 的研究深入,VA 除了影响肺发育以外,也有一定的抗炎作用。程雨嘉等[8]研究表明低剂量 VA 辅助治疗新生儿感染性肺炎可明显缩短临床症状持续时间。TIMONEDA 等[9]也提出 VAD 导致反复呼吸道感染,加重肺气肿,从而加重肺损伤。因此,本研究假设 VA 可能在 MAS 中发挥重要作用,VAD 可能通过影响炎症反应、PS 失活等方式加重急性肺损伤。本实验通过建立了 VA 缺乏模型及 MAS 模型来探讨 VAD 对新生大鼠 MAS 的影响。

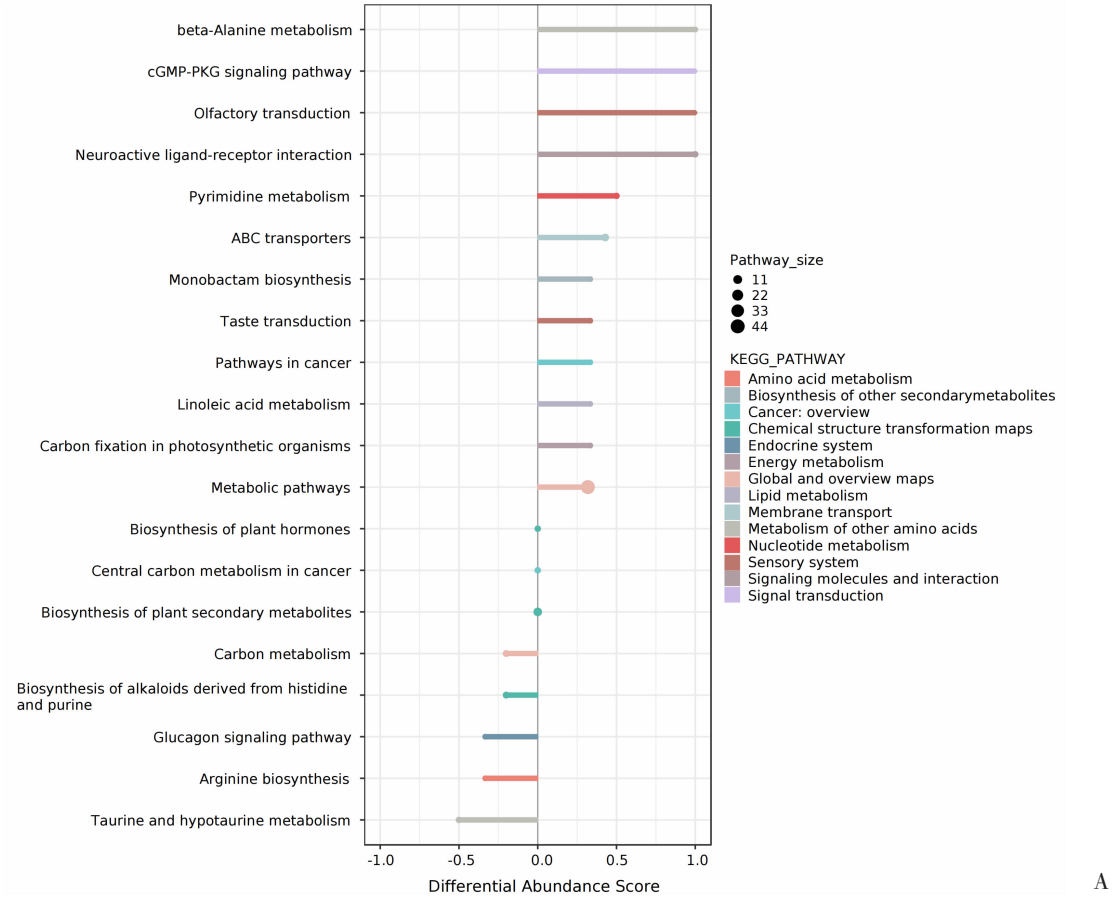
表3 VAD 组及 VAN 组测定的 SP-A 蛋白、SP-C 蛋白、IL-6、VEGF、TNF-α 值比较($n=8$,$\bar{x}\pm s$,pg/g)

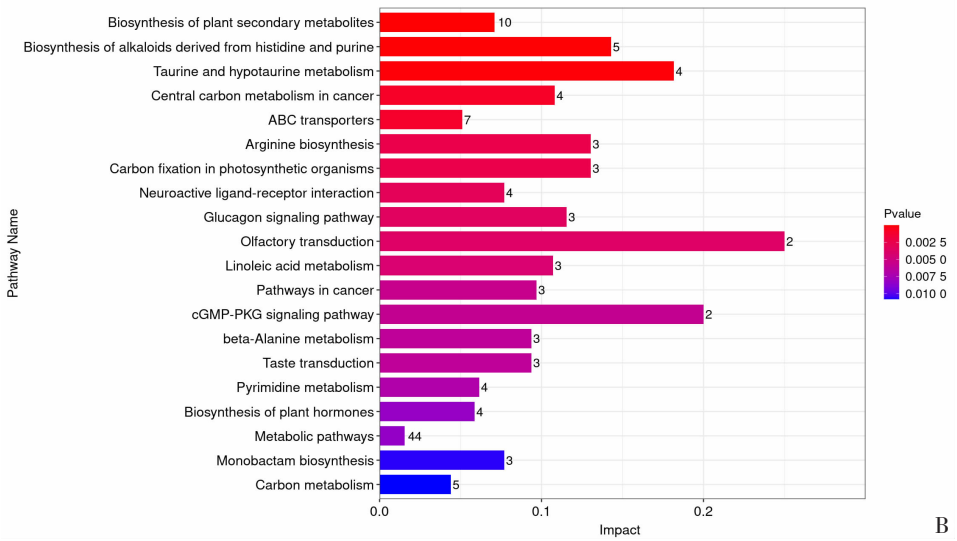
组别	SP-A	SP-C	IL-6	VEGF	TNF-α
VAD 组	1250.43±105.77	305.66±74.69	1158.44±185.94	2521.10±462.32	2236.60±326.59
VAN 组	1449.13±274.38	224.85±59.05	836.68±150.99	1771.70±315.92	1766.94±112.84
t/Z	−1.420	2.400	3.778	−3.003	−2.342
P	0.156	0.031	0.002	0.003	0.019

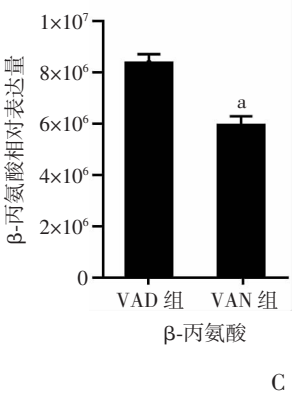


红色箭头:示出血;黑色箭头:示增厚的肺泡壁;蓝色箭头:示炎性细胞浸润

图1 HE 染色观察2组大鼠肺组织病理学改变







A:肺组织代谢物的差异富集图　横坐标是 DA-score 值,公式为 DA-score=(上调物质数-下调物质数)/该通路上差异总物质数,纵坐标是代谢通路,柱形顶部点大小表示该通路上富集的差异代谢物数目;B:代谢通路柱状图　纵坐标代表代谢通路,横坐标代表富集到不同代谢通路中的 impact 值,该值可简单理解为贡献度,即该值越高,代表该通路下检测到的代谢物贡献度越高,颜色与 P 值相关,越红 P 值越小,越蓝 P 值越大,P 值越小,代表检测到的差异代谢物对该通路影响越显著;C:VAD 组及 VAN 组测定 β-丙氨酸相对表达量($n=8$,$\bar{x}\pm s$)　a:$P=0.000$,与 VAD 组比较

图 2　VAN 组及 VAD 组大鼠 MAS 模型代谢组学结果分析及验证

本研究成功建立 VAD 新生 SD 大鼠模型,并检测其一般情况。发现与 VAN 相比,VAD 新生鼠一般情况明显差于 VAN,表明 VA 可以影响其生长发育,这也符合李娜等[10]的研究结果。本研究在此基础上建立了 MAS 模型,检测了肺组织湿/干质量比、HE 染色、血气分析,均提示 VAD 可能加重 MAS 相关肺损伤。进一步对比血气分析中的乳酸情况,发现 VAD 组乳酸较 VAN 组有上调趋势,与血气分析其他值是相符合的,但两组数值差异无明显统计学意义($P=0.517$),考虑可能与实验数据较少并存在部分误差有一定关系。VA 缺乏为 MAS 的危险因素,而并非为决定因素。

3.2 VA 缺乏通过激活炎症反应加重 MAS 肺损伤

为进一步了解 VAD 对 MAS 的影响,本研究也检测了各组新生大鼠肺组织的炎症指标。从肺组织的炎症因子可看出,与 VAN 组相比,VAD 组的炎症指标 VEGF、IL-6、TNF-α 含量显著增高。VEGF 是一种缺氧诱导因子[11],它作用于血管内皮细胞表面的 VEGF 受体来促进细胞分裂、增殖、细胞变形以及抗细胞凋亡。在急性肺损伤时,分布在内皮细胞的 VEGF 会增加肺血管通透性,加重肺水肿[12]。另外,TNF-α、IL-6 也是急性肺损伤机制中常见的细胞因子[13]。TNF-α 主要由单核巨噬细胞等免疫细胞产生,在炎症反应发生时,TNF-α 增加可上调肺上皮及内皮细胞的炎症介质及细胞凋亡相关基因表达,并且促进免疫细胞活化及凋亡[14-16],从而参与 MAS 的病程。IL-6 为白细胞介素家族中的一分子,在 MAS 中也起着重要作用。本研究结果表明 VAD 加重 MAS 的肺部炎症反应,其机制可能通过影响 VEGF、IL-6、TNF-α 的表达,继而参与 MAS 的发病。

3.3 VA 缺乏通过影响多种代谢途径加重 MAS 肺损伤

为进一步研究 VA 影响肺损伤的作用机制,本研究也通过高效液相法进行肺组织代谢组学分析,以评估 VA 治疗后肺损伤大鼠的代谢变化。本研究绘制了 KEGG 差异丰度分数图,发现与 VAN 组相比,VAD 组主要通过嗅觉转导通路、β-丙氨酸代谢、cGMP-PKG 信号通路、神经活性配体-受体相互作用通路等影响肺损伤。本研究结果通过 KEGG 途径富集分析结果表明,改变的代谢产物主要参与植物次生代谢产物的生物合成、组氨酸和嘌呤衍生的生物碱的合成、Fc epsilon RI 信号通路、维生素消化和吸收、HIF-1 信号途径、牛磺酸和低牛磺酸代谢等。研究发现 G 蛋白偶联受体在 VEGF 介导的信号转导中起关键作用,并且通过人参皂苷活性相关的分子途径参与神经活性配体-受体相互作用、胆固醇代谢、cGMP-PKG 信号通路等进而调节心血管疾病[17]。LIU 等[18]研究发现番茄红素双叶体通过抑制 TLR4 / MyD88 炎症途径来减弱肾脏炎症反应,降低 TNF-α、IL-6 等炎症因子表达,进一步调节维生素 K 代谢、β-丙氨酸代谢和谷胱甘肽代谢途径,缓解慢性肾炎。本研究结果提示 VAD 可能通过影响多种代谢途径加重 MAS 肺损伤。

3.4 VAD 可能通过影响 β-丙氨酸代谢加重 MAS 肺损伤

课题组进一步对主要代谢产物及其通路结果进行验证,发现 VAD 组较 VAN 组中 β-丙氨酸显著上调。ARORA 等[19]研究表明丙氨酸介导 G 蛋白偶联受体 D 的激活,然后通过 NF-kB 信号通路诱导炎性细胞因子 IL-6 的释放;XU 等[20]研究发现 G 蛋白偶联雌激素受体通过激活诱导 β-丙氨酸增加 iNOS、IL-1β 和 IL-6 表达从而介导慢性神经根炎症;而 BRENCHER 等[21]则认为 β-丙氨酸是改善 I/R 诱导的小肠损伤的有效药物;β-丙氨酸通过甘氨酸受体介导减轻巨噬细胞聚集。结合本研究结果我们推测,VA 缺乏可通过上调 MAS 的炎症因子的表达,加重肺损伤,这可能与 VA 缺乏后引起多种代谢通路异常表达有关,其中 β-丙氨酸代谢通路则发挥重要作用。

3.5 不足与展望

本研究也检测了 SP-A 蛋白及 SP-C 蛋白含量评估 VAD 对肺发育的影响,SP-A 蛋白和 SP-C 蛋白是肺表面活性物质蛋白的其中两种,它们由肺泡Ⅱ型上皮细胞合成,与磷脂等物质结合形成肺表面活性物质,分布于肺泡表面以降低肺泡表面张力,防止肺泡塌陷。既往研究显示 VA 可刺激肺泡壁Ⅱ型上皮细胞功能成熟,促进 PS 合成、利用[22-23]。但此次检测发现 VAD 组中 SP-A 蛋白含量与对照组差异无统计学意义,而 VAD 组中 SP-C 蛋白含量较对照组多。这与文献查阅的结论不相符,我们考虑不符的原因为:MAS 疾病病情较重,建模病程较短,较重的炎症消化大量 SP-C 蛋白,而 VAD 组发育欠佳,其免疫抵御功能欠佳,导致消化 SP-C 蛋白较少。

总之,本研究结果提示 VA 缺乏可通过上调 MAS 的炎症因子的表达加重肺损伤,这可能与 VA 缺乏后引起 β-丙氨酸代谢通路改变有关。但在复杂的免疫微环境中,VA 缺乏如何介导 β-丙氨酸代谢从而影响炎症通路则需要进一步研究。进一步探讨可为 MAS

早期防治提供参考,进而对改善 MAS 预后意义重大。

参考文献:

[1] 师麟尧, 包蕾. 胎粪吸入综合征免疫机制研究进展[J]. 现代医药卫生, 2020, 36(18): 2930-2933. DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2020.18.031.
SHI L Y, BAO L. Research progress on immune mechanism of meconium aspiration syndrome[J]. J Mod Med Health, 2020, 36(18): 2930-2933. DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2020.18.031.

[2] 谢金英. 肺表面活性物质联合呼吸机治疗新生儿胎粪吸入综合征的临床效果[J]. 临床医学, 2021, 41(4): 77-78. DOI: 10.19528/j.issn.1003-3548.2021.04.031.
XIE J Y. Clinical effect of pulmonary surfactant combined with ventilator on neonatal meconium aspiration syndrome[J]. Clin Med, 2021, 41(4): 77-78. DOI: 10.19528/j.issn.1003-3548.2021.04.031.

[3] ELORANTA ROSSHOLT M, WENDEL K, BRATLIE M, *et al*. Vitamin A status in preterm infants is associated with inflammation and dexamethasone exposure[J]. Nutrients, 2023, 15(2): 441. DOI: 10.3390/nu15020441.

[4] ZENG J Y, CHEN L, WANG Z, *et al*. Marginal vitamin A deficiency facilitates Alzheimer's pathogenesis[J]. Acta Neuropathol, 2017, 133(6): 967-982. DOI: 10.1007/s00401-017-1669-y.

[5] 吴芳, 李宛卫, 陈龙, 等. 采用新生大鼠制备胎粪吸入综合征动物模型的初步研究[J]. 第三军医大学学报, 2016, 38(19): 2148-2152. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201603096.
WU F, LI W W, CHEN L,*et al*. Model of meconium aspiration syndrome in newborn rats: a preliminary study[J]. J Army Med Univ, 2016, 38(19): 2148-2152. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201603096.

[6] TURHAN A H, AT_1C_1 A, SÜRMELI S. Effects of hypothermia on lung inflammation in a rat model of meconium aspiration syndrome[J]. Acta Cir Bras, 2018, 33(6): 483-490. DOI: 10.1590/s0102-865020180060000002.

[7] 李虹, 李廷玉. 维生素 A 在早产儿支气管肺发育不良预防中的研究进展[J]. 重庆医学, 2019, 48(20): 3558-3561. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2019.20.032.
LI H, LI T Y. Study progress of vitamin A in prevention of bronchopulmonary dysplasia among premature infants[J]. Chongqing Med, 2019, 48(20): 3558-3561. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2019.20.032.

[8] 程雨嘉, 李园, 唐瑾. 维生素 A 缺乏与新生儿感染性肺炎发病相关性研究[J]. 中国儿童保健杂志, 2019, 27(9): 1027-1030. DOI: 10.11852/zgetbjzz2019-0251.
CHENG Y J, LI Y, TANG J. Study on the correlation between vitamin A deficiency and neonatal infectious pneumonia[J]. Chin J Child Health Care, 2019, 27(9): 1027-1030. DOI: 10.11852/zgetbjzz2019-0251.

[9] TIMONEDA J, RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ L, ZARAGOZÁ R, *et al*. Vitamin A deficiency and the lung[J]. Nutrients, 2018, 10(9): E1132. DOI: 10.3390/nu10091132.

[10] 李娜, 孙珊珊, 王迪, 等. 维生素 A 缺乏对雌性大鼠生长发育及胚胎影响[J]. 中国公共卫生, 2007, 23(10): 1173-1175. DOI: 10.3321/j.issn: 1001-0580.2007.10.012.
LI N, SUN S S, WANG D, *et al*. Effects of vitamin A deficiency on growth and development of female rats[J]. Chin J Public Health, 2007, 23(10): 1173-1175. DOI: 10.3321/j.issn: 1001-0580.2007.10.012.

[11] 张义超, 洒玉萍, 马积和, 等. 低氧诱导下急性肺损伤的 HIF-1α 与 VEGF 相关性探析[J]. 中国医学创新, 2021, 18(35): 167-170. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4985.2021.35.041.
ZHANG Y C, SA Y P, MA J H,*et al*. A brief analysis of the correlation between HIF-1α and VEGF in hypoxia induced acute lung injury[J]. Med Innov China, 2021, 18(35): 167-170. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4985.2021.35.041.

[12] 王志华, 杨焕章, 傅晓燕, 等. 血管内皮细胞生长因子在急性肺损伤大鼠中的表达及意义[J]. 临床肺科杂志, 2016, 21(12): 2230-2233, 2237. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6663.2016.12.027.
WANG Z H, YANG H Z, FU X Y, *et al*. Expression and significance of vascular endothelial growth factor in rats with acute lung injury[J]. J Clin Pulm Med, 2016, 21(12): 2230-2233, 2237. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6663.2016.12.027.

[13] 刘文,董文斌. 细胞因子与胎粪吸入综合征[J]. 国外医学. 妇幼保健分册,2005,(02): 92-94.
LIU W, DONG W B. Cytokines and meconium aspiration syndrom[J]. Foreign Med Sci(Section Medgeogr), 2005, (02): 92-94.

[14] 石国翠, 马希刚. TNF-α 对大鼠肺泡Ⅱ型上皮细胞增殖及凋亡的影响[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2020, 49(6): 673-676. DOI: 10.3870/j.issn.1672-0741.2020.06.004.
SHI G C, MA X G. Effects of TNF-αon proliferation and apoptosis of alveolar type Ⅱ epithelial cells in rats[J]. Acta Med Univ Sci Technol Huazhong, 2020, 49(6): 673-676.

DOI: 10.3870/j.issn.1672-0741.2020.06.004.

[15] LI L F, HU J Y, HE T, *et al*. P38/MAPK contributes to endothelial barrier dysfunction via MAP4 phosphorylation-dependent microtubule disassembly in inflammation-induced acute lung injury[J]. Sci Rep, 2015, 5: 8895. DOI: 10.1038/srep08895.

[16] GALAM L, SOUNDARARAJAN R, BREITZIG M, *et al*. SOCS-1 rescues IL-1β-mediated suppression of epithelial sodium channel in mouse lung epithelial cells via ASK-1[J]. Oncotarget, 2016, 7(20): 29081-29091. DOI: 10.18632/oncotarget.8543.

[17] ZHANG X M, KONG C, WANG X X, *et al*. LC-MS analysis of ginsenosides in different parts of *Panax quinquefolius* and their potential for coronary disease improvement[J]. Planta Med, 2023, 89(7): 764-772. DOI: 10.1055/a-2058-1199.

[18] LIU C, LIU Y, WANG C W, *et al*. Lycopene-loaded bilosomes ameliorate high-fat diet-induced chronic nephritis in mice through the TLR4/MyD88 inflammatory pathway[J]. Foods, 2022, 11(19): 3042. DOI: 10.3390/foods11193042.

[19] ARORA R, VAN THEEMSCHE K M, VAN REMOORTEL S, *et al*. Constitutive, basal, and β-alanine-mediated activation of the human mas-related G protein-coupled receptor D induces release of the inflammatory cytokine IL-6 and is dependent on NF-κB signaling[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(24): 13254. DOI: 10.3390/ijms222413254.

[20] XU Z Z, XIE W L, FENG Y Q, *et al*. Positive interaction between GPER and β-alanine in the dorsal root ganglion uncovers potential mechanisms: mediating continuous neuronal sensitization and neuroinflammation responses in neuropathic pain[J]. J Neuroinflamm, 2022, 19(1): 164. DOI: 10.1186/s12974-022-02524-9.

[21] BRENCHER L, VERHAEGH R, KIRSCH M. Attenuation of intestinal ischemia-reperfusion-injury by β-alanine: a potentially glycine-receptor mediated effect[J]. J Surg Res, 2017, 211: 233-241. DOI: 10.1016/j.jss.2016.12.023.

[22] ESTEBAN-PRETEL G, MARÍN M P, RENAU-PIQUERAS J, *et al*. Vitamin A deficiency disturbs collagen IV and laminin composition and decreases matrix metalloproteinase concentrations in rat lung. Partial reversibility by retinoic acid[J]. J Nutr Biochem, 2013, 24(1): 137-145. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2012.03.010.

[23] 刘萌萌, 赵晨茜, 刘姗姗, 等. 己酮可可碱干预氧化应激线粒体机制在氯气致大鼠急性肺损伤中的作用[J]. 空军军医大学学报, 2022(6): 690-695. DOI: 10.13276/j.issn.2097-1656.2022.06.006.

LIU M M, ZHAO C Q, LIU S S, *et al*. Protective effects of pentoxifylline against chlorine-induced acute lung injury by intervening oxidative stress-mitochondria mechanism in rats[J]. J Air Force Med Univ, 2022(6): 690-695. DOI: 10.13276/j.issn.2097-1656.2022.06.006.

(**收稿**:2023-06-15;**修回**:2023-09-19)

(编辑 栾 嘉)