doi:10.11659/jjssx.10E021118

·基础研究·

甲泼尼龙对大鼠急性肺损伤的保护作用和分子机制研究

黄方舟,黄 艳,冯 习,黄佩琦 (长沙市第四医院急诊急救中心,湖南 长沙 410006)

[摘 要] **目的** 探讨甲泼尼龙对大鼠急性肺损伤(ALI)的保护作用和分子机制。**方法** 将48只SPF级雄性SD大鼠随机分为对照组、模型组(ALI)、低剂量(甲泼尼龙0.4 mg/kg)组、中剂量(甲泼尼龙4 mg/kg)组、高剂量(甲泼尼龙40 mg/kg)组和阳性药(地塞米松2 mg/kg)组,每组8只。给予脂多糖(LPS,2 mg/kg)前1 h,对照组和模型组腹腔注射生理盐水,甲泼尼龙组和阳性药组腹腔注射相应剂量的甲泼尼龙或地塞米松,LPS刺激12 h后,收集样本。采用苏木精—伊红染色观察肺损伤情况;测量肺组织湿干重比值(W/D)评估肺水肿情况;酶联免疫吸附法(ELISA)检测肺灌洗液中肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白介素-1β(IL-1β)和白介素-6(IL-6)含量;测定肺组织中丙二醛(MDA)含量及过氧化物酶(MPO)和超氧化物歧化酶(SOD)活性;采用Western blot测定肺组织中HMGB1、TLR4、TLR5、p65、p-p65和p-IκBα蛋白表达水平。**结果** 与对照组比较,模型组出现肺泡出血和肺泡隔水肿,中性粒细胞大量浸润到肺泡内间隔和肺泡间隙;与模型组比较,中剂量组、高剂量组及阳性药组上述炎症变化显著减弱。与对照组比较,模型组大鼠肺损伤评分和W/D升高($P<0.001$),但中剂量组、高剂量组及阳性药组肺损伤评分和W/D较模型组均降低($P<0.01$)。与对照组比较,模型组大鼠肺灌洗液中炎症因子TNF-α、IL-6和IL-1β含量以及肺组织中MPO活性和MDA含量显著升高($P<0.001$);与模型组比较,低剂量组、中剂量组和高剂量组及阳性药组大鼠肺灌洗液中炎症因子TNF-α、IL-6和IL-1β含量显著降低($P<0.01$),中剂量组、高剂量组及阳性药组大鼠肺组织中MPO活性和MDA含量显著降低($P<0.05$),SOD活性增加($P<0.05$)。与对照组比较,模型组大鼠肺组织中p-p65、p-IκBα、HMGB1、TLR4和TLR5蛋白表达水平上调($P<0.05$);低剂量组、中剂量组、高剂量组及阳性药组大鼠肺组织中p-p65和p-IκBα蛋白表达水平较模型组下调($P<0.05$),中剂量组、高剂量组及阳性药组大鼠肺组织中HMGB1、TLR4和TLR5蛋白表达水平较模型组下调($P<0.05$),但p65蛋白表达水平各组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 甲泼尼龙可通过抑制炎症反应和氧化应激来缓解大鼠ALI,且可能与抑制HMGB1/TLRs/NF-κB信号有关。

[关键词] 甲泼尼龙;急性肺损伤;炎症反应;氧化应激
[中图分类号] R563.9 [文献标识码] A [收稿日期] 2021-10-25

Protective effect and molecular mechanism of methylprednisolone on acute lung injury in rats

HUANG Fang-zhou, Huang Yan, FENG Xi, HUANG Pei-qi (Emergency and First Aid Center, Fourth Hospital of Changsha, Changsha Hunan 410006, China)

Abstract: Objective To investigate the protective effect and molecular mechanism of methylprednisolone on acute lung injury (ALI) in rats. **Methods** A total of 48 SPF-grade male SD rats were randomly divided into the control group, the model (ALI) group, the low-dose (methylprednisolone 0.4 mg/kg) group, the middle-dose (methylprednisolone 4 mg/kg) group, the high-dose (methylprednisolone 40 mg/kg) group and the positive drug (dexamethasone 2 mg/kg) group, with 8 rats in each group. One hour before administration of

[基金项目] 湖南省自然科学基金(2020JJ5384)
[通信作者] 黄 艳,E-mail: csssyyhuangyan@sina.com

[17] Westermann RW, Wolf BR, Elkins J. Optimizing graft placement in anterior cruciate ligament reconstruction: a finite element analysis[J]. J Knee Surg, 2016, 30(2): 97-106. doi: 10.1055/s-0036-1581137.
[18] van der List JP, Zuiderbaan HA, Nawabi DH, et al. Impingement following anterior cruciate ligament reconstruction: comparing the direct versus indirect femoral tunnel position[J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2017, 25(5): 1617-1624. doi: 10.1007/s00167-015-3897-9.
[19] Arnold MP, Kooloos J, van Kampen A. Single-incision technique misses the anatomical femoral anterior cruciate ligament insertion: a cadaver study[J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2001, 9(4): 194-199. doi: 10.1007/s001670100198.
[20] Safran MR, Harner CD. Technical considerations of revision anterior cruciate ligament surgery[J]. Clin Orthop Relat Res, 1996(323): 50-64. doi: 10.1097/00003086-199604000-00007.
[21] Morgan JA, Dahm D, Levy B, et al. Femoral tunnel malposition in ACL revision reconstruction[J]. J Knee Surg, 2012, 25(5): 361-368. doi: 10.1055/s-0031-1299662.
[22] Frerretti M, Ekdahll M, Shen W, et al. Osseous landmarks of the femoral attachment of the anterior curciate ligament: an anatomic study[J]. Arthroscopy, 2007, 23(11): 1218-1225. doi: 10.1016/j.arthro.2007.09.008.
[23] Kato Y, Ingham SJ, Kramer S, et al. Effect of tunnel position for anatomic single-bundle ACL reconstruction on knee biomechanics in a porcine model[J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2010, 18(1): 2-10. doi: 10.1007/s00167-009-0916-8.

(编辑:贺绍梅)

lipopolysaccharide (LPS,2 mg/kg), rats in the control group and the model group were intraperitoneally injected with normal saline, while rats in the methylprednisolone group and the positive drug group were intraperitoneally injected with corresponding doses of methylprednisolone or dexamethasone, samples were collected after LPS stimulation for 12 hours. The lung injury was observed by hematoxylin-eosin staining. The wet/dry weight ratio (W/D) of lung tissue was measured to evaluate pulmonary edema. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the contents of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β) and interleukin-6 (IL-6) in the lung lavage fluid. The malondialdehyde (MDA) content, myeloperoxidase (MPO) and superoxide dismutase (SOD) activities of the lung tissue were measured. Western blot was used to measure the expression levels of HMGB1, TLR4, TLR5, p65, p-p65 and p-IκBα protein of the lung tissue. **Results** Compared with the control group, alveolar hemorrhage and alveolar septal edema occurred in the model group, and a large number of neutrophils infiltrated into the alveolar septum and alveolar space. Compared with the model group, the above inflammatory changes in the middle-dose group, the high-dose group and the positive drug group were significantly reduced. Compared with the control group, the lung injury score and W/D in the model group were increased ($P<0.001$), but the lung injury score and W/D in the middle-dose group, the high-dose group and the positive drug group were all decreased compared with those in the model group ($P<0.01$). Compared with the control group, the contents of inflammatory factors TNF-α, IL-6 and IL-1β of the lung lavage fluid as well as the MPO activity and the MDA content of the lung tissue in the model group were significantly increased ($P<0.001$). Compared with the model group, the contents of inflammatory factors TNF-α, IL-6 and IL-1β of the lung lavage fluid in the low-dose group, the middle-dose group, the high-dose group and the positive drug group were decreased ($P<0.01$), the MPO activity and MDA content of the lung tissue in the middle-dose group, the high-dose group and the positive drug group were significantly decreased ($P<0.05$), and the SOD activity was increased ($P<0.05$). Compared with the control group, the expression levels of p-p65, p-IκBα, HMGB1, TLR4 and TLR5 proteins of the lung tissue in the model group were up-regulated ($P<0.05$); the expression level of p-p65 and p-IκBα proteins of the lung tissue in the low-dose group, the middle-dose group, the high-dose group and the positive drug group were down-regulated compared with those in the model group ($P<0.05$); the expression levels of HMGB1, TLR4 and TLR5 proteins of the lung tissue in the middle-dose group, the high-dose group and the positive drug group were down-regulated compared with those in the model group ($P<0.05$). However, there was no significant difference in the expression level of p65 protein among the groups ($P>0.05$). **Conclusion** Methylprednisolone can alleviate ALI in rats by inhibiting inflammatory response and oxidative stress, which may be related to the inhibition of HMGB1/TLRs/NF-κB signaling.

Keywords: methylprednisolone; acute lung injury; inflammatory response; oxidative stress

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是由各种直接或间接损伤因素导致的临床综合征,特征为肺水肿、炎症反应和表面活性物质功能障碍,严重时还会出现急性呼吸窘迫综合征和低氧血症等[1-2]。因此,探索新的ALI治疗方法和治疗靶点非常有必要。

造成肺损伤的主要原因是机体炎症反应和氧化应激失衡。炎症反应涉及炎症细胞的活化和炎症细胞因子的释放,会引起肺损伤和进一步的急性低氧性呼吸功能不全或呼吸衰竭[3]。当机体受到不利刺激时,氧化和抗氧化过程会变得不平衡,导致过氧化产物,包括活性氧(reactive oxygen species, ROS)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)积累,从而导致细胞死亡[4]。此外,过氧化产物的积累也与炎症反应的激活有关。ROS可通过核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)途径和染色质重塑调节促炎因子的表达。据报道,抑制炎症反应和氧化应激可有效减轻脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的ALI[5]。这种抑制作用是通过阻断Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)/NF-κB途径和核因子E2相关因子2(nuclear factor E2-related factor2, Nrf2)/血红素加氧酶1(heme oxygenase 1, HO-1)途径实现的[6]。因此,炎症反应和氧化应激可能是ALI的治疗靶标。甲泼尼龙是一种人工合成的糖皮质激素,具有较强的抗炎活性,对多种疾病(如内分泌失调、风湿性疾病、胶原性病、皮肤疾病、过敏反应等)具有治疗作用。糖皮质激素治疗呼吸道疾病的应用价值已得到临床证实,甲泼尼龙也被广泛应用于呼吸道疾病的治疗[7-9]。甲泼尼龙作为一种免疫抑制剂在减少COVID-19患者的呼吸道炎症方面效果理想[10];静脉注射甲泼尼龙可迅速改善非感染性葡萄膜炎;甲泼尼龙可减轻围产期中风缺氧缺血模型大鼠持续的缺血后炎症反应,对L-精氨酸诱导的急性胰腺炎具有抗炎和抗氧化作用[11];甲泼尼龙琥珀酸钠可减少颅内出血模型小鼠的血脑屏障破坏和炎症;甲泼尼龙在肺组织中具有很强的渗透性,可用于治疗慢性阻塞性肺病,起效迅速且抗炎作用显著。另外,静脉滴注甲泼尼龙还可以促进药物对全身的作用,减少机体的炎症反应,对缓解患者症状效果较好。但目前甲泼尼龙治疗呼吸道疾病的作用机制尚不明确,因此,本研究通过探讨甲泼尼龙对ALI的作用和相关分子机制,旨在为其临床应用提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 试剂

LPS(阿拉丁,上海),甲泼尼龙(批号:100828-201603,常州四药制药有限公司),地塞米松(批号:101116-202002,成都天台山制药有限公司),肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)、白介素-1β(interleukin-1β,IL-1β)和白介素-6(interleukin-6,IL-6)试剂盒(博士德生物工程有限公司,武汉),MDA、过氧化物酶(myeloperoxidase,MPO)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)试剂盒(碧云天,上海),高迁移率族蛋白 β1(chigh mobility group protein 1,HMGB1)、TLR4 和 TLR5 抗体(Proteintech 中国分公司,武汉),Myd88、p65、p-P65、IκBα、p-IκBα 一抗(Cincinnati,USA),anti-GAPDH(Santa Cruz,USA)。

1.2 动物

48 只 SPF 级雄性 SD 大鼠(湖南省实验动物中心,SCXK 湘 2016-0001),体质量 250 ~ 300 g,动物自由摄食饮水,饲养于温度 22 ~ 25 ℃和黑暗 12 h/白天 12 h 的环境下,本研究通过我院伦理委员会批准。

1.3 ALI 造模与分组

48 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组(ALI)、低剂量(甲泼尼龙 0.4 mg/kg)组、中剂量(甲泼尼龙 4 mg/kg)组、高剂量(甲泼尼龙 40 mg/kg)组和阳性药(地塞米松 2 mg/kg)组,每组 8 只。参考文献[12-13],给予 LPS(2 mg/kg)前 1 h,对照组和模型组腹腔注射生理盐水,甲泼尼龙组和阳性药组腹腔注射相应剂量的甲泼尼龙或地塞米松,然后 LPS 刺激 12 h,处死大鼠。

1.4 苏木精—伊红(HE)染色

收集肺组织样本,用 10% 甲醛固定 24 h,然后石蜡包埋,并切片(5 μm)。根据说明书用苏木精和伊红染色,显微镜下观察肺组织病理变化。参考文献[14]进行肺损伤评分,肺泡充血、肺泡壁增厚和水肿、肺泡细胞浸润等 3 个指标按照无、轻度、中度、严重 4 个等级分为 0、1、2、3 分,最高分别为 3 分,总分为 9 分。

1.5 肺湿干重比值(wet/dry weight ratio,W/D)

解剖分离新鲜的大鼠肺组织,测量肺组织的湿重;然后将肺组织置于 70 ℃的烤箱中 24 h,去除所有水分,测量干重,计算肺组织的 W/D。

1.6 酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay,ELISA)

使用 ELISA 试剂盒根据说明书检测肺灌洗液中 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 的含量。

1.7 肺组织中 MDA、MPO 和 SOD 含量

将肺组织匀浆并离心,使用放射免疫沉淀裂解缓冲液裂解细胞,然后将裂解物离心以获得上清液。采用 BCA 蛋白定量试剂盒检测蛋白浓度,然后用生理盐水稀释至 1 mg/mL。随后,根据说明书使用 MDA、MPO 和 SOD 试剂盒测定含量。

1.8 Western blot

提取肺组织总蛋白,使用 BCA 蛋白定量试剂盒检测蛋白浓度。通过 10% SDS-PAGE 分离等量(20 μg)的蛋白质,转移到聚偏二氟乙烯膜上,将蛋白与一抗(HMGB1、TLR4、TLR5、Myd88、p65、p-p65、IκBα、p-IκBα、GAPDH,按 1∶1 000 稀释)在 4 ℃下孵育过夜。随后,将膜与 HRP 标记的羊抗兔抗体或羊抗鼠二抗(1∶5 000)在室温下孵育 2 h。用化学发光试剂显色,并通过 Gel-Pro-Analyzer 软件分析光密度值。将 GAPDH作为内参,以标准化目标蛋白表达水平。

1.9 统计学分析

采用 Graphpad Prism 8.0 分析数据,所有数据均符合正态分布,以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 甲泼尼龙对 ALI 大鼠肺损伤和 W/D 的影响

组织病理学结果显示,与对照组比较,模型组出现肺泡出血和肺泡隔水肿,中性粒细胞大量浸润到肺泡内间隔和肺泡间隙;低剂量组也出现了上述变化;但与模型组比较,中剂量组、高剂量组及阳性药组上述炎症变化显著减弱(图 1a)。肺损伤评分和 W/D 结果显示,与对照组比较,模型组大鼠肺损伤评分和 W/D 增加($P<0.001$),但中剂量组、高剂量组及阳性药组肺损伤评分和 W/D 较模型组均减少($P<0.01$),见图 1b、c。

2.2 甲泼尼龙对 ALI 大鼠肺灌洗液中炎症因子的影响

与对照组比较,模型组大鼠肺灌洗液中炎症因子 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 的含量显著增加($P<0.001$);与模型组比较,低剂量组、中剂量组和高剂量组及阳性药组大鼠肺灌洗液中炎症因子 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 含量显著降低($P<0.01$),但阳性药组与高剂量组比较差异无统计学意义($P>0.05$),见图 2。

2.3 甲泼尼龙对 ALI 大鼠肺组织氧化应激因子的影响

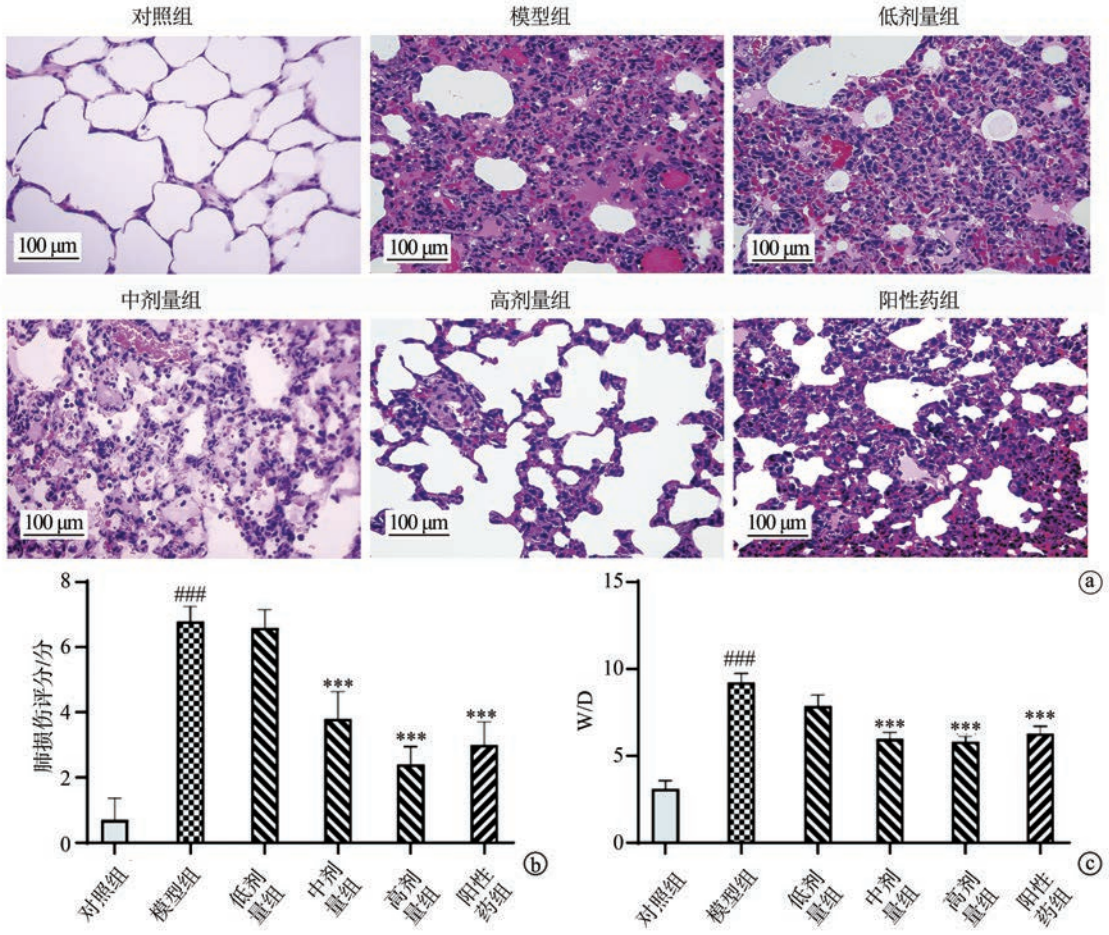
与对照组比较,模型组大鼠肺组织中 MPO 活性和 MDA 含量显著增加($P<0.001$),SOD 活性显著降低($P<0.001$);与模型组比较,中剂量组、高剂量组及阳性药组大鼠肺组织中 MPO 活性和 MDA 含量显著降低($P<0.05$),SOD 活性增加($P<0.05$),见图 3。

2.4 甲泼尼龙对 ALI 大鼠肺组织 NF-κB 信号分子表达的影响

与对照组比较,模型组大鼠肺组织中 p-p65 和 p-IκBα蛋白表达水平上调($P<0.05$);低剂量组、中剂量组、高剂量组和阳性药组大鼠肺组织中 p-p65 和p-IκBα蛋白表达水平较模型组下调($P<0.05$),但各组大鼠肺组织中 p65 蛋白表达差异无统计学意义,见图 4。

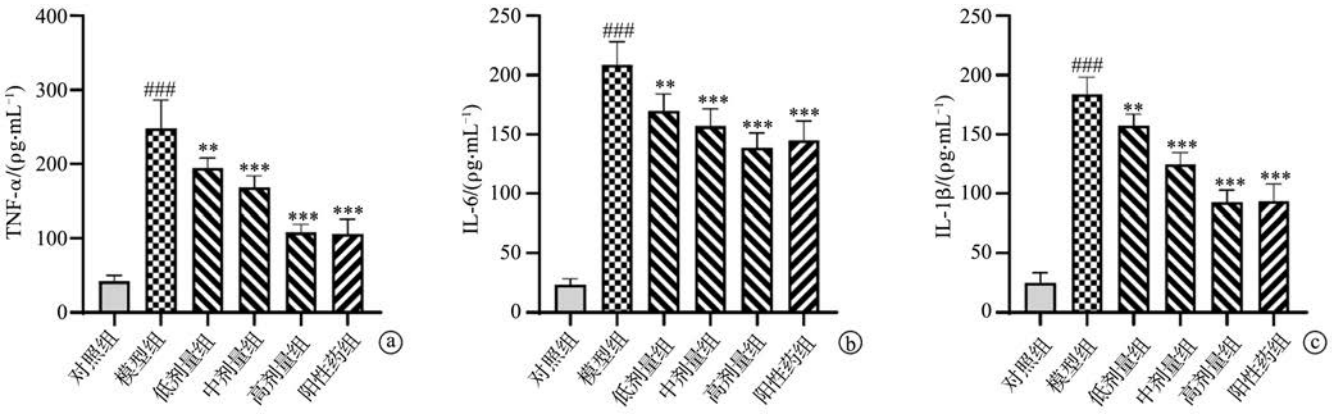
2.5 甲泼尼龙对 HMGB1/TLRs 信号分子表达的影响

与对照组比较,模型组大鼠肺组织中 HMGB1、TLR4 和 TLR5 蛋白表达水平上调($P<0.05$);中剂量组、高剂量组和阳性药组大鼠肺组织中 HMGB1、TLR4 和 TLR5 蛋白表达水平较模型组下调($P<0.05$);高剂量组与阳性药组 HMGB1、TLR4 和 TLR5 蛋白表达水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),见图 5。



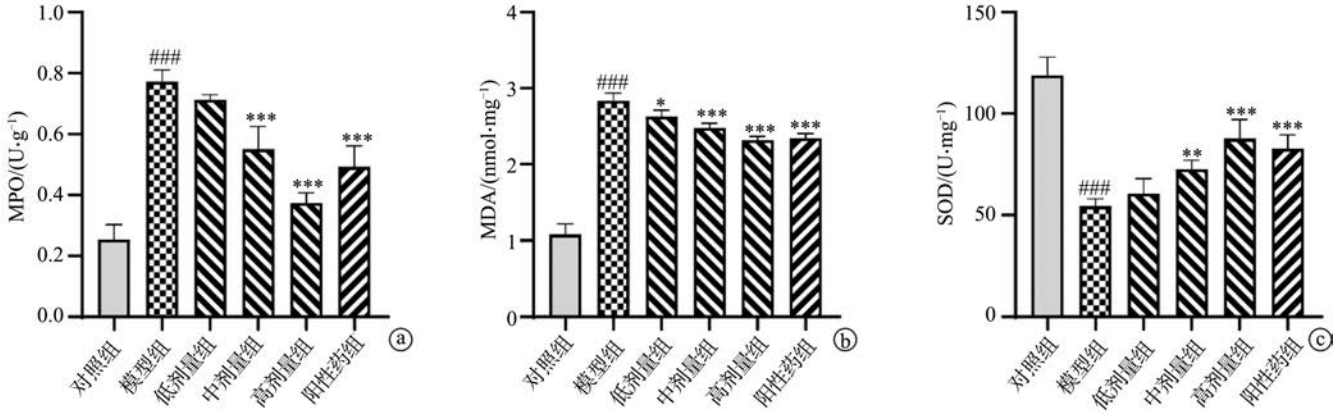
a:HE 染色结果;b:肺损伤评分;c:肺组织 W/D ###:与对照组比较,$P<0.001$;***:与模型组比较,$P<0.001$

图 1 甲泼尼龙对 ALI 大鼠肺损伤和 W/D 的影响



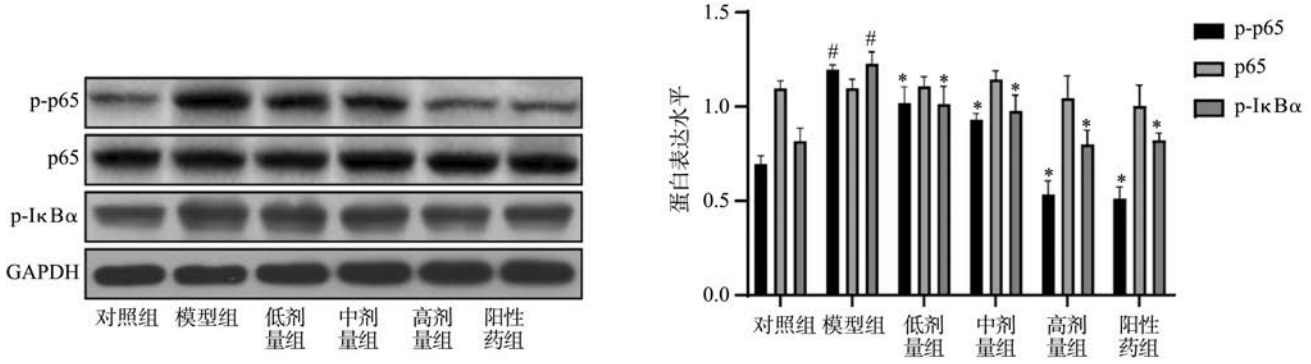
a:TNF-α 含量;b:IL-6 含量;c:IL-1β 含量 ###:与对照组比较,$P<0.001$;**:与模型组比较,$P<0.01$;***:与模型组比较,$P<0.001$

图 2 甲泼尼龙对 ALI 大鼠肺灌洗液中炎症因子的影响



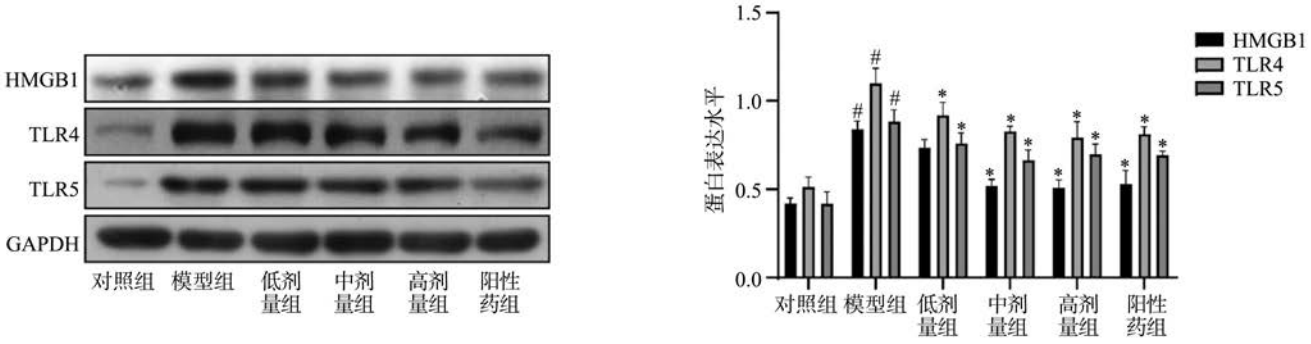
a:MPO 活性;b:MDA 含量;c:SOD 活性 ###:与对照组比较,$P<0.001$;*:与模型组比较,$P<0.05$;**:与模型组比较,$P<0.01$;***:与模型组比较,$P<0.001$

图 3 甲泼尼龙对 ALI 大鼠肺组织氧化应激因子的影响



#:与对照组比较,$P<0.05$;*:与模型组比较,$P<0.05$

图 4 甲泼尼龙对 ALI 大鼠肺组织 NF-κB 信号分子表达的影响



#:与对照组比较,$P<0.05$;*:与模型组比较,$P<0.05$

图 5 甲泼尼龙对 ALI 大鼠肺组织 HMGB1/TLRs 信号分子表达的影响

3 讨论

ALI 作为一种严重的炎症性疾病,是急性呼吸衰竭综合征,由与肺炎、严重脓毒症、胃食管反流、肺泡出血等相关的肺泡—毛细血管屏障障碍引起,其发病率和病死率均较高。但目前临床尚无有效的 ALI 药物,故预防具有重要意义。糖皮质激素是一类有效的抗炎药,其主要通过与细胞质糖皮质激素受体结合发挥作用。糖皮质激素受体复合物可与特定的 DNA 序列(糖皮质激素反应元件)结合,从而激活基因转录,或与 DNA 结合转录因子(如 NF-κB 和激活蛋白-1)结合,调节促炎细胞因子(如 IL-6、IL-17a 和 TNF-α 等)的转录。此外,糖皮质激素与天然抗炎细胞因子(如 IL-1、IL-4、IL-10 和 IL-13 受体拮抗剂)具有协同作用。但目前临床关于人工合成型糖皮质激素甲泼尼龙抗 ALI 的研究较少,故本研究就甲泼尼龙的抗 ALI 活性和相关机制展开探讨。

炎症反应是肺损伤的重要原因,在炎症过程中,炎

症因子 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 调节细胞内级联炎症信号。TNF-α 具有很强的炎症破坏能力,是人体内最强的炎症介质之一;IL-6 是表征炎症性疾病严重程度的重要指标;IL-1β 是炎症的主要介质,可破坏血管内皮和肺上皮细胞。有研究发现,在肺损伤动物模型和急性呼吸窘迫综合征患者中均观察到严重的炎症反应和大量的炎症因子(IL-1β、TNF-α 和 IL-6)[15-16]。此外,有研究表明包括 IL-6 在内的炎症因子的高表达还与急性呼吸窘迫综合征患者的预后不良有关[17]。本研究结果显示,LPS 处理的大鼠炎症因子 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 含量增加,与先前的结果一致[5];而甲泼尼龙可以显著降低 ALI 大鼠肺灌洗液中的炎症因子含量,并且能够抑制中性粒细胞大量浸润到肺泡内间隔和肺泡间隙,对 ALI 大鼠表现出抗炎活性。

氧化应激是造成肺损伤的另一个重要原因,其不仅可以直接损伤肺组织,还可以通过调节炎症反应间接损伤肺组织[18]。氧化应激指标包括 MPO、MDA 和 SOD 等。MPO 活性是肺组织中性粒细胞浸润的标志,随着 ALI 发展,大量的中性粒细胞浸润到肺泡间隙,MPO 活性增加。SOD 是体内的一种抗氧化酶,当肺组织受损时,清除的氧自由基被大量消耗,SOD 活性降低。MDA 是一种脂质过氧化产物,当肺组织受损时,会与氧自由基含量成比例增加。本研究结果显示,甲泼尼龙可以显著抑制 ALI 大鼠肺组织 MPO 活性,并降低 MDA 含量,同时提高 SOD 活性,说明甲泼尼龙具有良好的抗氧化活性。以 LPS 诱导动物模型可引起肺组织中 MPO 和 MDA 的积累,与肺损伤患者临床变化一致,表明氧化应激在诱导肺损伤中起关键作用[6]。有研究发现,抑制炎症反应和氧化应激的药物可有效减轻肺损伤,包括虾青素、虫草素和蒙花苷等[19-20]。上述研究结果说明甲泼尼龙可能通过调控机体氧化应激发挥抗肺损伤活性。

HMGB1 是高度保守的非组蛋白染色体结合蛋白,与多种肺部疾病有关,包括肺炎、肺结核、慢性阻塞性肺部疾病、肺纤维化等[21-22]。正常情况下,HMGB1 主要集中于细胞核,但当细胞受损或坏死时,HMGB1 的赖氨酸残基被乙酰化并迁移到细胞质,然后在溶血磷脂酰胆碱作用下被分泌到细胞外[23]。细胞外 HMGB1 作用于 Toll 受体,通过激活 NF-κB 参与炎症反应和氧化应激的调节[24]。HMGB1 是 TLR4 的上游调节剂,在 LPS 诱导的肺损伤中,HMGB1 介导了 TLR4/NF-κB 信号通路的激活,而 HMGB1 的下调阻断了 TLR4/NF-κB信号通路[25]。在 LPS 刺激下,IκBα 磷酸化,且与 NF-κB 二聚体(p65 和 p50)分离,随后被蛋白酶体降解。活化的 NF-κB 从细胞质转移到细胞核,与靶基因启动子或增强子中的 κB 位点结合,然后 p65 被蛋白激酶磷酸化,引发炎症因子和氧化应激相关因子的转录[26]。因此,NF-κB 通路对于诱导炎症反应和氧化应激至关重要。此外,研究发现 TLR4/NF-κB 途径的阻断可有效抑制肺部的氧化应激和炎症反应[27]。因此,HMGB1/TLR4/NF-κB 途径是诱导炎症反应和氧化应激的重要通路。据报道,TLR5 在炎症性疾病和组织中高表达,TLR5 的敲低显著降低了炎症因子的释放,TLR5 也可以激活 NF-κB 通路[28-29]。本研究结果显示,LPS 处理上调了肺组织中 HMGB1、TLR4、TLR5、p-p65和 p-IκBα 的表达水平,但甲泼尼龙抑制了其表达。这说明甲泼尼龙可能通过 HMGB1/TLRs/NF-κB 途径抑制 LPS 诱导的炎症反应和氧化应激。

综上所述,LPS 可引发 ALI,并伴有肺水肿、炎症反应和氧化应激的增加,而甲泼尼龙可以通过抑制炎症反应和氧化应激缓解 ALI。此外,甲泼尼龙还可通过阻断 HMGB1/TLRs/NF-κB 途径减轻 LPS 诱导的 ALI。

[参考文献]

[1] Fan E,Brodie D,Slutsky AS,et al. Acute respiratory distress syndrome: advances in diagnosis and treatment[J]. JAMA,2018,319(7):698 - 710. doi:10.1001/jama.2017.21907.

[2] Fan EKY,Fan J. Regulation of alveolar macrophage death in acute lung inflammation[J]. Respir Res,2018,19(1):50. doi:10.1186/s12931 - 018 - 0756 - 5.

[3] Butt Y,Kurdowska A,Allen TC,et al. Acute lung injury:a clinical and molecular review[J]. Arch Pathol Lab Med,2016,140(40):345 - 350. doi:10.5858/arpa.2015 - 0519 - RA.

[4] Herold S,Gabrielli NM,Vadasz I,et al. Novel concepts of acute lung injury and alveolar-capillary barrier dysfunction[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol,2013,305(10):L665 - L681. doi:10.1152/ajplung.00232.2013.

[5] Deng G,He H,Chen Z,et al. Lianqinjiedu decoction attenuates LPS-induced inflammation and acute lung injury in rats via TLR4/NF-kappaB pathway[J]. Biomed Pharmacother,2017,96:148 - 152. doi:10.1016/j.biopha.2017.09.094.

[6] Lei J,Wei Y,Song P,et al. Cordycepin inhibits LPS-induced acute lung injury by inhibiting inflammation and oxidative stress[J]. Eur J Pharmacol,2018,818:110 - 114. doi:10.1016/j.ejphar.2017.10.029.

[7] 张翠禄. 痰热清联合甲泼尼龙治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期的疗效[J]. 求医问药,2012,10(12):447.

[8] 樊占芬. 甲泼尼龙治疗急性加重期慢性阻塞性肺疾病的效果探讨[J]. 当代医药论丛,2020,18(5):139.

[9] Walters JA,Tan DJ,White CJ,et al. Different durations of corticosteroid therapy for exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Cochrane Database Syst Rev,2018,3(3):CD006897. doi:10.1002/14651858.

[10] Edalatifard M, Akhtari M, Salehi M, et al. Intravenous methylprednisolone pulse as a treatment for hospitalised severe COVID-19 patients: results from a randomised controlled clinical trial[J]. Eur Respir J,2020,56(6):2002808. doi:10.1183/13993003.02808-2020.

[11] El-Ashmawy NE, Khedr NF, El-Bahrawy HA, et al. Anti-inflammatory and antioxidant effects of captopril compared to methylprednisolone in L-arginine-induced acute pancreatitis[J]. Dig Dis Sci,2018,63(6):1497-1505. doi:10.1007/s10620-018-5036-1.

[12] Li PJ, Jiang WJ, Ding XS, et al. The protective effect of Trillin LPS-induced acute lung injury by the regulations of inflammation and oxidative state[J]. Chem Biol Interact,2016,243:127-134. doi:10.1016/j.cbi.2015.09.010.

[13] 宋立成,韩志海,程 浩,等.不同剂量甲泼尼龙对烟雾吸入性急性肺损伤大鼠的治疗作用[J].中华危重病急救医学,2018,30(8):754. doi:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.08.008.

[14] Toba H, Tomankova T, Wang YC, et al. XB130 deficiency enhances lipopolysaccharide-induced septic response and acute lung injury[J]. Oncotarget,2016,7(18):25420-25431. doi:10.18632/oncotarget.8326.

[15] Dong Z, Yuan Y. Accelerated inflammation and oxidative stress induced by LPS in acute lung injury:iotanhibition by ST1926[J]. Int J Mol Med,2018,41(6):3405-3421. doi:10.3892/ijmm.2018.3574.

[16] 张 翔,赵新春.早期呼吸机治疗对急性呼吸窘迫综合征患者肺循环功能及炎症反应的影响[J].实用临床医药杂志,2020,24(14):67-70. doi:10.7619/jcmp.202014018.

[17] Bouros D, Alexandrakis MG, Antoniou KM, et al. The clinical significance of serum and bronchoalveolar lavage inflammatory cytokines in patients at risk for acute respiratory distress syndrome[J]. BMC Pulm Med,2014,4:6. doi:10.1186/1471-2466-4-6.

[18] Guo RF, Ward PA. Role of oxidants in lung injury during sepsis[J]. Antioxid Redox Signal,2007,9(11):1991-2002. doi:10.1089/ars.2007.1785.

[19] Bi J, Cui R, Li Z, et al. Astaxanthin alleviated acute lung injury by inhibiting oxidative/nitrative stress and the inflammatory response in mice[J]. Biomed Pharmacother,2017,95:974-982. doi:10.1016/j.biopha.2017.09.012.

[20] Han X, Wu YC, Meng M, et al. Linarin prevents LPS-induced acute lung injury by suppressing oxidative stress and inflammation via inhibition of TXNIP/NLRP3 and NF-κB pathways[J]. Int J Mol Med,2018,42(3):1460-1472. doi:10.3892/ijmm.2018.3710.

[21] Tseng CC, Fang WF, Leung SY, et al. Impact of serum biomarkers and clinical factors on intensive care unit mortality and 6-month outcome in relatively healthy patients with severe pneumonia and acute respiratory distress syndrome[J]. Dis Markers,2014,2014:804654. doi:10.1155/2014/804654.

[22] Zeng JC, Xiang WY, Lin DZ, et al. Elevated HMGB1-related interleukin-6 is associated with dynamic responses of monocytes in patients with active pulmonary tuberculosis[J]. Int J Clin Exp Pathol,2015,8(2):1341-1353.

[23] Lu B, Wang H, Andersson U, et al. Regulation of HMGB1 release by inflammasomes[J]. Protein Cell,2013,4(3):163-167. doi:10.1007/s13238-012-2118-2.

[24] Bortolotto V, Grilli M. Every cloud has a silver lining: proneurogenic effects of abeta oligomers and HMGB-1 via activation of the RAGE-NF-κB axis[J]. CNS Neurol Disord Drug Targets,2017,16(10):1066-1079. doi:10.2174/1871527315666160803153459.

[25] Di Candia L, Gomez E, Venereau E, et al. HMGB1 is upregulated in the airways in asthma and potentiates airway smooth muscle contraction via TLR4[J]. J Allergy Clin Immunol,2017,140(2):584-587. doi:10.1016/j.jaci.2016.11.049.

[26] Giridharan S, Srinivasan M. Mechanisms of NF-κB p65 and strategies for therapeutic manipulation[J]. J Inflamm Res,2018,11:407-419. doi:10.2147/JIR.S140188.

[27] Zhang ZM, Wang YC, Chen L, et al. Protective effects of the suppressed NF-κB/TLR4 signaling pathway on oxidative stress of lung tissue in rat with acute lung injury[J]. Kaohsiung J Med Sci,2019,35(5):265-276. doi:10.1002/kjm2.12065.

[28] Ito H, Sadatomo A, Inoue Y, et al. Role of TLR5 in inflammation and tissue damage after intestinal ischemia-reperfusion injury[J]. Biochem Biophys Res Commun,2019,519(1):15-22. doi:10.1016/j.bbrc.2019.08.083.

[29] Yan J, Shen S, He Y, et al. TLR5 silencing reduced hyperammonaemia-induced liver injury by inhibiting oxidative stress and inflammation responses via inactivating NF-κB and MAPK signals[J]. Chem Biol Interact,2019,299:102-110. doi:10.1016/j.cbi.2018.11.026.

(编辑:贺绍梅)