基础研究 文章编号:0253-3626(2010)11-1613-06

MAPKs 通路在高氧肺损伤发病机制中的作用

谭利平,许 峰,匡凤梧

(重庆医科大学附属儿童医院 PICU,重庆 400014)

【摘 要】目的:观察丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen activated protein kinases,MAPKs)信号通路细胞外信号调节激酶(Extracellular signal-regulated kinase,ERK)、C-jun 氨其末端激酶 (C-Jun N-terminal kinase,JNK)、p38MAPKs 在高氧肺损伤肺组织的分布以及表达,应用信号途径抑制剂,研究 MAPKs 信号在高氧诱导肺损伤发生发展中的作用。方法:幼年 Wistar 大鼠随机分为如下各组(n=6):空气对照组(A)、高氧暴露 3、7、14 d 组(O_3、O_7、O_{14} 组)、高氧 7 d+ERK 抑制剂 PD98059(O_7+PD)组、高氧 7 d+p38 抑制剂 SB203580(O_7+SB)组、高氧 7 d+JNK 抑制剂 SP600125(O_7+SP)组及相应空气 + 抑制剂组。其中,PD98059 0.3 mg/kg 及 SB203580 0.2 mg/kg 由大鼠尾静脉注入,SP600125 15 mg/kg 经腹腔注射。光镜下观察肺组织形态学改变并进行肺损伤病理评分;测定肺湿/干重比(Wet/drg ratio,W/D)、肺泡灌洗液(Bronchoalvedar lavage fluid,BALF)蛋白含量及肺通透系数;免疫组化检测磷酸化MAPKs 在肺组织的分布,Western blot 检测 MAPKs 蛋白含量变化。结果:与空气暴露组比较,高氧暴露各组肺组织可见不同程度损伤,O_7 及 O_{14} 组肺 W/D、BALF 蛋白含量、肺通透系数明显增加($P<0.05$);而抑制剂组中 O_7+SB、O_7+SP 组肺泡结构较 O_7 组有明显改善,肺损伤病理学评分降低,同时 W/D、总蛋白、肺通透系数较也明显下降($P<0.05$);MAPKs 阳性细胞在高氧组表达明显增多,分布广泛;各相应抑制剂组中其阳性细胞显著减少;Western blot 结果显示,高氧组 ERK、p38、JNK 蛋白含量明显高于空气组,在高氧各组中以 O_7 组 ERK 及 O_{14} 组 p38、JNK 表达最强,各信号通路抑制剂均能有效抑制相应 MAPKs 蛋白的表达。结论:高浓度氧可激活肺组织 ERK、p38、JNK 信号途径; p38 及 JNK 可能促进了高氧肺损伤的发生发展。

【关键词】高氧;肺损伤;MAPKs 信号途径;信号通路抑制剂

【中国图书分类法分类号】R563 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-04-25

作者介绍:谭利平(1972-),女,主治医师,博士,研究方向:急性肺损伤。

通讯作者:许 峰,男,教授,E-mail:xufeng9899@yahoo.com.cn。

基金项目:国家自然科学基金(编号:30370618)。

[11] 王 佐,李全忠,杨向东,等.高效液相色谱分析氧化型低密度脂蛋白处理 U937 细胞内胆固醇及胆固醇酯[J].中国动脉粥样硬杂志,1998,6(4):317-320.

[12] Heinecke W,Baker L,Rosen H,et al.Ironand copper promote modification of low density lipoprotein by human arterial smooth muscle cells in culture[J]. Clin.Invest,1986,74(5):1890-1894.

[13] McNally M,Chisolm G,Morel D,et al.Activated human monocytes oxidize lowdensity lipop-rotein by a lipoxygenase-dependent pathway[J]. Immunol,1990,145(1):254-259.

[14] Parthasarathy S,Printz D,Boyd D,et al.Macrophage oxidation of low density lipoprotein generates a modified form recognized by the scavenger receptor[J]. Arteriosclerosis,1986,6(5):505-510.

[15] Wielkoszyński T,Gawron K,Strzelczyk J,et al.Cellular toxicity of oxycholesterols[J]. Bioessays,2006,28(4):387-398.

[16] Goodman D S.Cholesterol ester metabolism[J].Physiol Rev,1965,45(9):747-839.

[17] Small C A,Goodacre A,Yeaman J. Hormone-sensitive lipase is responsible for the neutral cholesterol ester hydrolase activity in macrophages[J]. FEBS Lett,1989,247(2):205-208.

[18] Escary J L,Choy H A,Reue K,et al.Hormone-sensitive lipase overexpression increases cholesteryl ester hydrolysis in macrophage foam cells[J].Arteriosclerosis,Thrombosis,and Vascular Biology,1998,18(6):991-998.

[19] Osuga J,Ishibashi S,Oka T,et al.Targeted disruption of hormone-sensitive lipase results in male sterility and adipocyte hypertrophy,but not in obesity[J]. Proc Natl Acad. Sci. USA,2000,97(2):787-792.

[20] Contreras J A.Hormone-sensitive lipase is not required for cholesteryl ester hydrolysis in macrophages[J].Biochem Biophys Res Commun,2002,292(4):900-903.

[21] Escary J L,Choy A,Reue K,et al.Paradoxical effect on atherosclerosis of hormone-sensitive lipase overexpression in macrophages[J].Lipid Res,1999,40(7):397-404.

[22] Zhao B,Song J,Chow W N,et al.Macrophage-specific transgenic expression of cholesteryl ester hydrolase significantly reduces atherosclerosis and lesion necrosis in Ldlr-/-mice[J].Clin.Investig,2007,117(10):2983-2992.

(责任编辑:关蕴良)

Role of MAP kinases signal pathway in hyperoxia-induced lung injury

TAN Li-ping, et al

(*Pediatric Intensive Care Unit, the Children's Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To explore distributions and expressions of ERK, JNK, p38 MAP kinase in lung tissues and roles of MAP kinases on hyperoxia-induced lung injury with signal pathway inhibitors. ***Methods***: Sixty Wistar rats aged 3 weeks old were randomized to 10 groups with 6 rats in each: room-air group (A), hyperoxia exposure 3, 7, 14 days groups (O_3, O_7, O_{14}), hyperoxia 7 d+ PD98059 group (O_7+PD), hyperoxia 7 d +SB203580 group (O_7+SB), hyperoxia 7 d+ SP600125 group (O_7+SP) and room-air +inhibitors groups. Rats had received i.v injection of PD98059 (0.3 mg/kg) and SB203580 (0.2 mg/kg) and injected with SP600125 (15 mg/kg) intraperitoneally. Lung pathology examined by light microscopy, lung wet/dry ratio (W/D) and protein level in BALF and permeability coefficient were evaluated. The location and quantity of MAP kinases protein were detected by immunohistochemistry and Western blot analysis respectively. ***Results***: Lung injury in hyperoxia exposure groups were developed as compared with room-air group, W/D and protein level in BALF and permeability coefficient in O_7 and O_{14} groups were increased than those in control group ($P<0.05$), lung tissue pathology in O_7+SB and O_7+SP groups were improved than that in O_7 group, as evidenced by decreased pathology score and decreased W/D, total protein in BALF and permeability coefficient ($P<0.05$). The positive cells remarkably increased in hyperoxia groups and the positive cells labeled in many types cells. MAP kinases positive cells in inhibitors groups decreased significantly. Protein quantity of ERK, p38, JNK in hyperoxia exposure groups were remarkablely higher than those in room-air group, protein expression of ERK in O_7 group and p38 in O_{14} group and JNK in O_{14} group were strongest in all hyperoxia groups. Signal inhibitors could inhibit corresponding MAP kinases protein expression. ***Conclusion***: High concentration of oxygen activated ERK, p38, JNK signaling pathway in lung tissue, p38 and JNK may exert promotion role on hyperoxia induced lung injury development.

【Key words】Hyperoxia; Lung injury; MAP kinases signal pathway; Signal inhibitors

高氧机械通气是常用于新生儿,尤其是早产儿呼吸窘迫综合征的治疗手段,然而长期暴露在高氧环境可导致多种模型动物发生急性炎性肺损伤[1-3]。丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen activated protein kinases, MAPKs)是一类重要的蛋白激酶家族,参与基因表达、细胞增殖、凋亡等重要生命过程。已有大量的研究证实 MAPKs 与氧化应激性疾病密切相关。本课题以幼年 Wistar 大鼠为研究对象,复制高氧肺损伤动物模型,观察 MAPKs 信号通路中 3 个主要成员细胞外信号调节激酶(Extracellular signal-regulated kinase, ERK)、C-jun 氨基末端激酶 (C-Jun N-terminal kinase, JNK)、p38MAPKs 在不同高氧暴露时间的分布以及蛋白表达,分析 MAPKs 信号转导途径与高氧肺损伤的关系;并选用信号途径高效抑制剂[4-6]阻断 MAPKs 蛋白表达,研究高氧肺损伤的组织病理学改变,进而揭示 MAPKs 通路在高氧肺损伤发生发展中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料

幼年 3 周龄 Wistar 雄性大鼠(40.5 ± 3.9) g,由重庆医科大学实验动物中心提供。phospho-p44/p42(pERK)、phospho-p38(pp38)、磷酸化应激活蛋白激酶[Phospho-stress activated protein kinase, PSAPK/phospho-JNK(pJNK)]兔多克隆抗体及 PD98059 购自美国 Cell Signaling Technology 公司。SB203580、SP600125 购自美国 Sigma-Alchrich 公司。GAPDH mAb 为上海康成生物工程有限公司产品。powervisionTM two-step 免疫组化检测试剂盒以及 HRP 标记山羊抗兔 IgG 为北京中杉金桥生物技术有限公司产品,DAB 显色试剂盒为武汉博士德生物工程有限公司产品。

1.2 动物分组及高氧模型制备

采用本课题组首创的高氧致未成年大鼠肺损伤动物模型[7]。课题组前期研究发现[8,9],高氧 7 d 组肺组织发生急性肺损伤病理改变最重,因而在信号通路抑制剂的研究中选择高浓度氧暴露 7 d 作为研究高氧肺损伤的干预时间点。将 3 周龄幼年 Wistar 大鼠随机分为:空气对照组(A)、高氧暴露 3 d 组(O_3)、7 d 组 (O_7)、14 d 组(O_{14})、高氧 7 d+ERK 抑制剂 PD98059 组(O_7+PD)、高氧 7 d+p38 抑制剂 SB203580 组(O_7+SB)、高氧 7 d+JNK 抑制剂 SP600125 组(O_7+SP)。同时设立相应抑制剂对照组: 空气 + PD98059 (A+PD), 空气 + SB203580(A+SB), 空气 + SP600125(A+SP)。其中,PD98059 及 SB203580 分别由大鼠尾静脉注入 0.3、0.2 mg/kg, SP600125 经腹腔注射 15 mg/kg,药物一次性给予,给药 2 h 后予高氧(氧浓度≥95%)或空气(氧浓度 =21%)暴露。

1.3 标本采集

以 3.5 %的水合氯醛(10 ml/kg)腹腔麻醉,心脏穿刺采血约 1 ml 行血浆蛋白含量测定。开胸,结扎右主支气管,取右上肺,用 4%多聚甲醛固定,常规石蜡包埋切片,行肺组织病理学检查和免疫组化检查;取右中肺置 -70℃冰箱保存,用于目标基因的蛋白检测;取右下肺组织测肺湿/干比值

(Wet/drg ratio, W/D);左侧肺行支气管肺泡灌洗,每次注入冷生理盐水 1 ml,共灌洗 3 次,回抽灌洗液,离心后取上清液行总蛋白检测。

1.4 肺 W/D 的测定

取右下肺,吸水纸吸干表面,立即称重记作肺湿重。后置于 80℃烤箱内,48 h 后称重记为肺干重,计算 W/D。

1.5 总蛋白及肺通透系数测定

应用 Lowry 氏蛋白测定法。肺通透系数=肺泡灌洗液(Bronchoalvedar lavage fluid, BALF)蛋白含量/血浆蛋白含量。

1.6 肺损伤病理评分[10]

HE 染色,光镜下观察肺组织变化,依照水肿、炎症细胞浸润、出血、小气道损伤等项病理改变,各按程度分为 5 级:0 级为无该项病理改变;1 级为病理变化轻度并且局限;2 级为病理变化中等且局限;3 级为病变中等但广泛或局部很显著;4 级为非常显著的广泛性病理改变。求出肺各项病理改变的平均程度,作为肺损伤系数,后统计分析损伤平均水平。

1.7 免疫组化检测 MAPKs 在肺组织中的分布

切片脱蜡至水,3% H_2O_2 阻断内源性过氧化物酶 5 ~ 10 min,热修复抗原,血清封闭 20 min,分别滴加 pERK 抗体(1:250),pp38 抗体(1:1 000),pJNK 抗体(1:100),4℃过夜。滴加二抗(1:1 000),37℃ 20 min 孵育。DAB 显色,苏木素轻度复染,脱水,透明,封片。结果判断:胞核和(或)胞质呈现棕黄色为阳性细胞。

1.8 Western blot 法测定肺组织中 MAPKs 的蛋白含量

提取肺组织蛋白,BCA 比色法测定蛋白质浓度。制备 12%分离胶及 5%积层胶,加样,SDS-PAGE 电泳后转膜,脱脂牛奶封闭,分别滴加一抗 pERK、pp38 、pJNK(各 1:1 000) 4℃孵育过夜,辣根过氧化酶标记的二抗(1:2 500)常温孵育 1 h,ECL 曝光 5 min,用 Quantity one ChemiDocXRS 图像采集系统及分析软件对蛋白条带进行分析处理,蛋白含量用目的条带校正容积(Adj volume)/GAPDH 校正容积(Adj volume)表示。

1.9 统计学分析

实验数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS13.0 统计软件,相同时点多组间差别比较用方差分析(ANOVA),组间差别比较用 SNK-q 检验。$P<0.05$ 视为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肺组织病理学观察

A 组肺泡结构正常,O_3、O_7 组肺泡上皮细胞肿胀,肺泡腔内大量渗出液,血管扩张充血、出血,间质水肿,炎性细胞浸润,肺泡结构紊乱;O_{14} 组炎性渗出减少、水肿减轻、间质增厚、胶原样物质增多、肺泡融合、肺泡数目减少;干预组中见 p38 抑制剂 SB203580 组、JNK 抑制剂 SP600125 组中肺泡结构较同时间点的 O_7 组有所改善,炎性细胞数目减少,肺泡壁增厚有一定程度减轻,肺泡结构紊乱稍有好转,肺损伤病理学评分也较之降低,而 ERK 抑制剂 PD98059 组与 O_7 组比较上述改变不明显(图 1,表 1)。

2.2 肺 W/D、BALF 蛋白含量和肺通透系数的变化

高氧 O_7、O_{14} 组肺 W/D 较 A 增高($P<0.05$);高氧暴露各组 BALF 蛋白含量、肺通透系数较空气对照组明显增加,差异均有显著性($P<0.05$),且表现出随高氧暴露时间的延长呈上升趋势;而抑制剂干预组中 O_7+PD 组上 3 指标与 O_7 组比较均无明显改变($P>0.05$),仍显著高于 A 组(P 均<0.05);

表 1 高氧肺损伤病理评分($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	白细胞浸润	水肿	出血	小气道损伤
A	0.88 ± 0.23	0.72 ± 0.08	0.67 ± 0.12	0.27 ± 0.08
O_3	1.45 ± 0.10[a]	1.23 ± 0.08[a]	1.32 ± 0.08[a]	1.30 ± 0.09[a]
O_7	2.98 ± 0.15[ab]	2.43 ± 0.08[ab]	2.58 ± 0.15[ab]	2.75 ± 0.10[ab]
O_{14}	1.65 ± 0.10[abc]	1.38 ± 0.08[abc]	1.62 ± 0.08[abc]	1.45 ± 0.10[abc]
O_7+PD	2.83 ± 0.10[a]	2.35 ± 0.05[ac]	2.40 ± 0.14[ac]	2.58 ± 0.08[ac]
O_7+SB	1.72 ± 0.08[ac]	1.65 ± 0.14[ac]	1.50 ± 0.06[ac]	1.70 ± 0.06[ac]
O_7+SP	2.00 ± 0.12[ad]	1.78 ± 0.08[ad]	1.95 ± 0.14[ad]	1.82 ± 0.12[ad]

注:[a]$P<0.05$,与空气组比较;[b]$P<0.05$,与 O_3 组比较;[c]$P<0.05$,与 O_7 组比较,[d]$P<0.05$,与 O_{14} 组比较

表 2 肺组织 W/D、BALF 蛋白含量、肺通透系数的变化($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	肺 W/D	BALF 总蛋白(g/L)	肺通透系数(10^{-3})
A	4.98 ± 0.28	0.29 ± 0.08	3.35 ± 0.46
O_3	5.21 ± 0.24	0.55 ± 0.09[a]	6.94 ± 1.02[a]
O_7	5.70 ± 0.29[ab]	0.74 ± 0.12[ab]	10.52 ± 1.08[ab]
O_{14}	5.53 ± 0.44[ab]	0.91 ± 0.19[abc]	11.97 ± 1.57[abc]
O_7+PD	5.65 ± 0.11[a]	0.74 ± 0.05[a]	10.08 ± 0.33[a]
O_7+SB	5.34 ± 0.08[ac]	0.56 ± 0.05[ac]	5.99 ± 0.43[ac]
O_7+SP	5 .51 ± 0.08[ac]	0.58 ± 0.05[ac]	6.94 ± 0.22[ac]

注:[a]$P<0.05$,与空气组比较;[b]$P<0.05$,与 O_3 组比较;[c]$P<0.05$,与 O_7 组比较

O_7+SB、O_7+SP 两组 W/D、总蛋白、肺通透系数较 O_7 组明显降低(P 均 <0.05),但仍高于 A 组($P<0.05$),其中 O_7+SP 组 W/D、肺通透系数两项降低程度较 O_7+SB 组轻($P<0.05$)(表 2)。

2.3 肺组织 MAPKs 蛋白的分布

免疫组化结果显示:A 组偶有少量 pERK、pp38、pJNK 阳性表达,主要见于肺泡上皮细胞及气道上皮细胞;高氧组则阳性细胞明显增多,除上两类细胞外,广泛分布于胸膜间皮细胞以及浸润炎症细胞、支气管黏膜下水肿间质的纤维细胞,p38 尤高表达于大量浸润炎性细胞;在相应抑制剂干预组,与同时间点的 O_7 组比较,细胞阳性表达明显降低(图 2)。

2.4 肺组织 ERK、p38、JNK 蛋白含量变化及抑制剂的阻断作用

O_3 组 ERK 表达与 A 组比较无显著性差异;O_7 组、O_{14} 组 ERK 蛋白含量明显高于 A 组($P<0.05$),但 O_{14} 组较 O_7 组降低($P<0.05$);而随高氧暴露时间的延长,p38 蛋白表达呈逐渐增加的趋势,以 O_{14} 组表达最强,其中 O_7、O_{14} 与 A 组比较有显著差异($P<0.05$);与 A 组比较,O_3 组 JNK 蛋白表达显著升高($P<0.05$),尤 O_7 组 JNK 表达最强($P<0.05$),O_{14} 组时表达稍有回落,但与 A 组比较仍有显著性差异($P<0.05$)(表3)。PD98059 0.3 mg/kg、SB203580 0.2 mg/kg、SP600125 15 mg/kg 分别显著抑制肺组织 ERK、p38、JNK 的蛋白表达(图 3)。

3 讨 论

尽管氧气对于生命而言是必须的,但超过生理限线的氧气浓度对于器官、细胞而言却具有危害性。长时间暴露在高氧环境下,肺脏成为其最易受损的器官[11,12]。在哺乳动物细胞内,高度保守的 MAPKs 是信号从细胞表面传导到细胞核内部的重要传递者,主要参与了胚胎发育、细胞分化、细胞增殖和细胞死亡的过程。对其中的 ERK、p38、SAPK/JNK 研究较深入。ERK 被认为是与细胞增殖、转化、分化相关的 MAPK;

表 3 肺组织 MAPKs 蛋白相对含量的动态变化(Adj volume /GAPDH)($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	pp44/pp42	pp38	pSAPK/pJNK
A	2.35 ± 0.46	0.11 ± 0.01	0.16 ± 0.01
O_3	2.98 ± 0.55	0.13 ± 0.01	0.35 ± 0.03[a]
O_7	4.58 ± 0.20[ab]	0.23 ± 0.02[ab]	0.40 ± 0.03[ab]
O_{14}	3.10 ± 0.56[ac]	0.52 ± 0.72[abc]	0.38 ± 0.03[a]

注:[a]$P<0.05$,与空气组比较;[b]$P<0.05$,与 O_3 组比较;[c]$P<0.05$,与 O_7 组比较

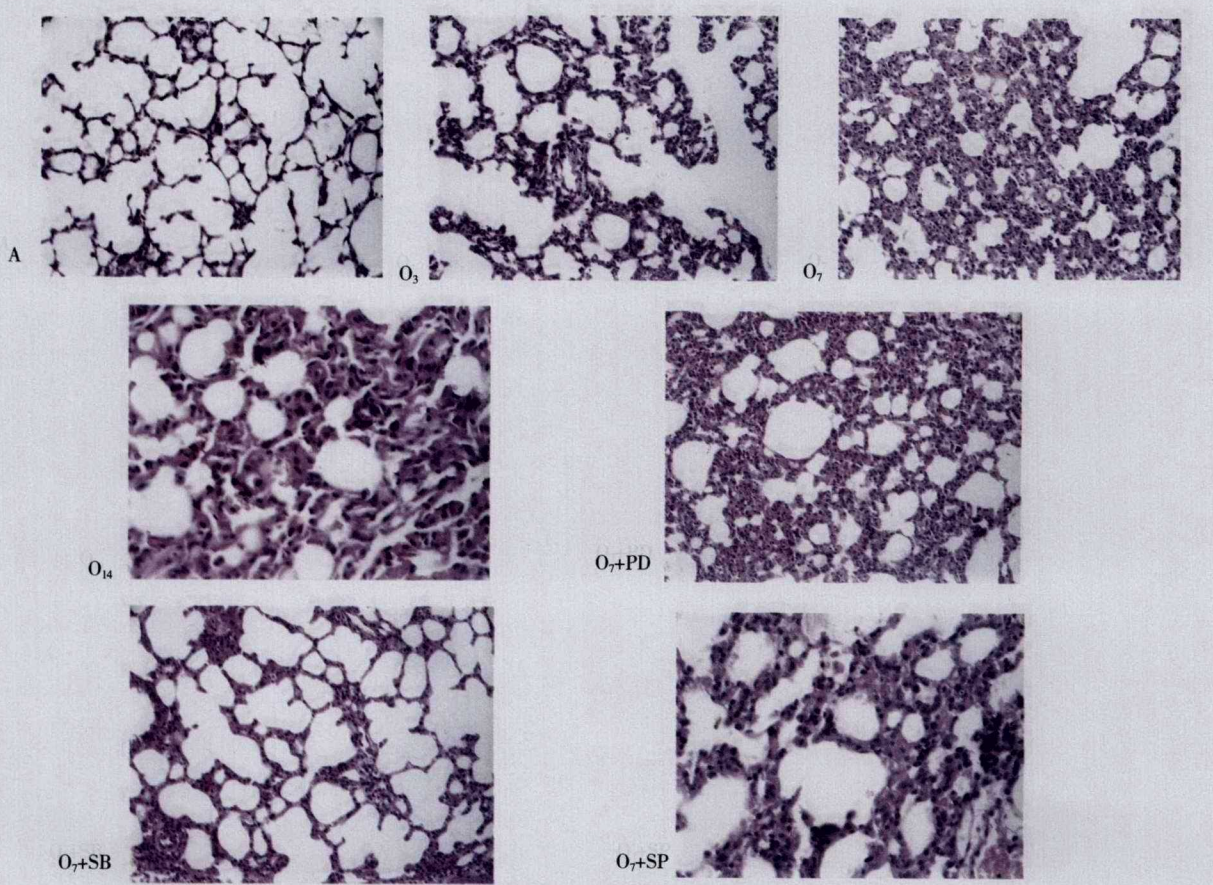


图 1 高氧暴露及抑制剂对肺组织病理结构的影响(HE 染色,×200)

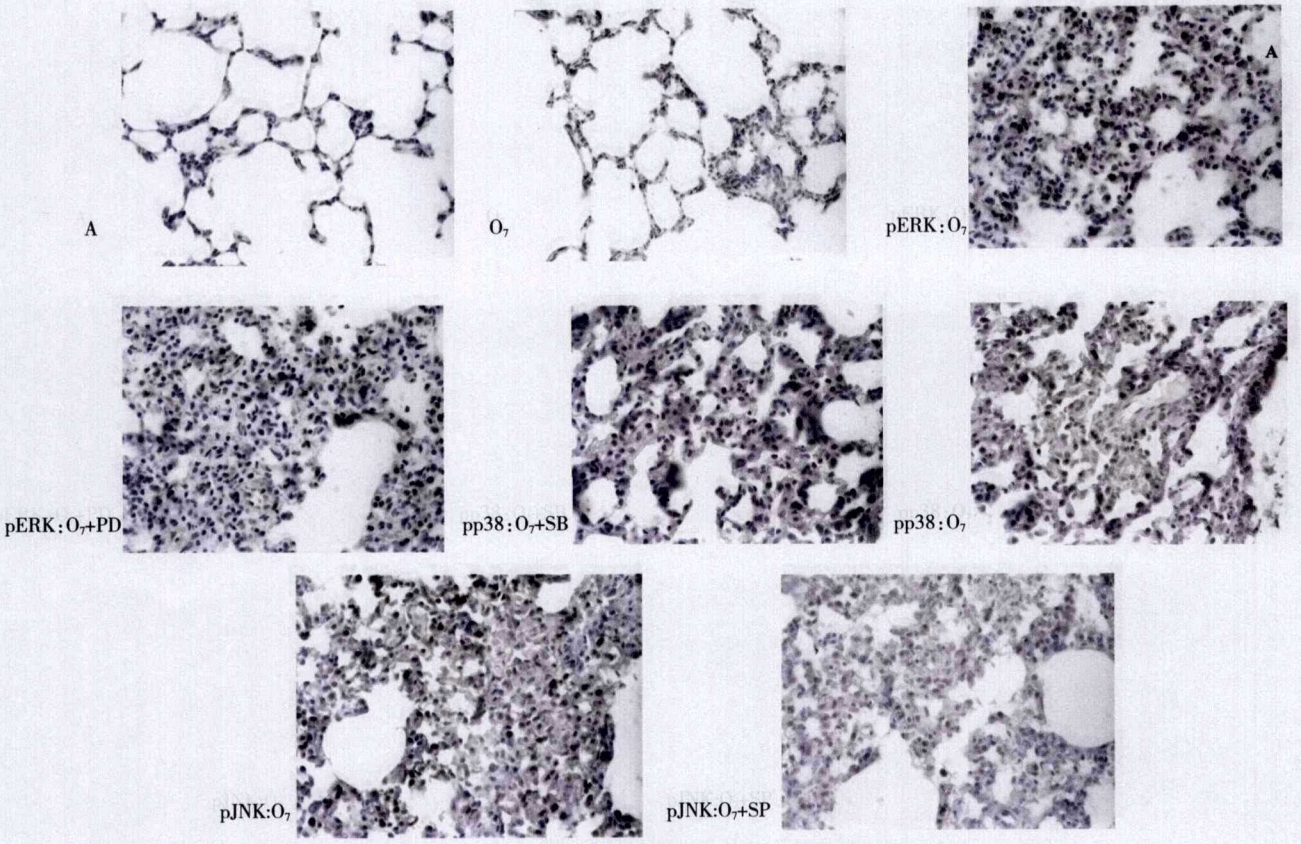


图 2　磷酸化 MAPKs 在高氧肺损伤的表达及对应抑制剂的抑制作用(IHC, ×400)

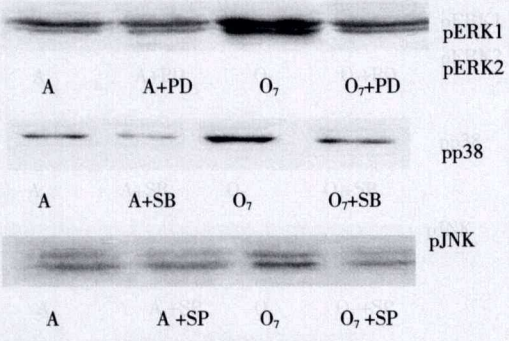


图 3　PD98059/SB203580/SP600125 对磷酸化 ERK/p38/JNK 的抑制

p38 除参与细胞凋亡、分化及细胞周期的运行外，在炎症相关性疾病中的作用近年在许多动物模型中均得到了证实[13]；JNK 参与如胚胎发育、免疫反应、细胞分化等正常生理过程外，在心脏肥大反应[14]、2 型糖尿病的发病中也有涉及[15]，而其信号途径的异常活化已被证实与多种人类肿瘤的发生发展密切相关[16]。

国内外学者采用多种方法及不同的实验动物复制高氧性肺损伤模型[17,18]。本实验以 Xu[7]的方法并稍加改良，采用幼年 Wistar 大鼠持续暴露于高浓度氧气($O_2 \geq 95\%$)中建立高氧肺损伤动物模型。在高氧暴露 3、7 d 发现肺泡上皮细胞及间质水肿、肺泡腔内渗出、充血、出血、炎性细胞浸润等典型急性肺损伤病理改变，尤以高氧 7 d 表现更突出，而高氧 14 d 时已出现间质及成纤维细胞的增生。结合肺损伤病理评分结果，上述结论为选择高浓度氧暴露 7 d 作为研究急性肺损伤的合理时间点提供了可靠的实验依据。已有大量研究显示[19-22]，高氧可激活 MAPK 信号途径亚族 ERK、p38、JNK 的磷酸化，从而参与此信号途径的活化过程。本实验免疫组化显示 ERK、JNK、p38 在空气组仅少量表达于肺泡上皮细胞及气道粘膜上皮，高氧刺激后上述 MAPKs 家族成员被激活，此活化过程涉及肺内多种类型细胞。Western blot 结果显示，磷酸化 ERK、p38、JNK 在高氧损伤肺组织蛋白表达明显增加，因而高浓度氧可激活 ERK、JNK、p38 信号途径，但其出现活性增强的时间以及其最高表达的时间均存在明显差异[9]。

随着近年来蛋白激酶成为新药研发的靶点，目前人们已经相继发现了 MAPKs 信号通路中 ERK1、ERK2、ERK5、p38 和 JNK 的抑制剂。本实验分别选择对应于 MAPKs 家族ERK/p38/JNK 的高效抑制剂 PD98059/SB203580/SP600125，通过对 MAPKs 蛋白表达的分析，发现 PD98059、SB203580、SP600125 均能有效抑制磷酸化 ERK、p38、JNK 蛋白表达，可用于研究 MAPKs 信号途径对下游转录因子及不同基因表达的调控。有在体研究显示，MAPKs 抑制剂对肺损伤有保护作用，Lee 等[5]报道，SP600125、PD98059 能抑制脂多糖诱导的 JNK 磷酸化，降低 BALF 总蛋白含量、乳酸脱氢酶(Lactate dehydrogenase，LDH)活性、中性粒细胞浸润，且能减少脂多糖介导的炎症介质如细胞因子诱导粒细胞趋化因子(Cytokine-induced neutrophil chemoattractant，CINC)、基质金属蛋白酶 9(Matrix metallproteinases，MMP-9)、一氧化氮(Nitric oxide，NO)

的含量;在高浓度氧、高潮气量机械通气所致急性肺损伤中也发现类似结果[23];p38 抑制剂 SB239063 因为能降低中性粒细胞向肺泡腔的聚集从而减轻脂多糖诱导肺炎性反应[24,25]。本实验也观察到,使用 p38、JNK 抑制剂后,肺组织病理学形态有一定程度的改善,见炎症细胞浸润减少,渗出水肿减轻,肺泡萎陷好转,肺损伤病理评分降低,且肺 W/D、总蛋白、肺通透系数均较同时间点高氧暴露组显著下降,而并未见 ERK 抑制剂对肺组织病理改变的显著影响,因而推测 MAPKs 信号家族中 p38 及 JNK 可能促进了高氧肺损伤的发生发展。如能深入检测其他损伤与抗损伤指标,如组织细胞的凋亡、乳酸过氧化物酶 (Lactoperoxidase,LPO)含量及超氧化物歧化酶含量测定,对于 p38 及 JNK 抑制剂在高氧性肺损伤的保护作用,则有望提供更全面的实验证据。

参 考 文 献

[1] Brueckl C, Kaestle S, Kerem A, et al. Hyperoxia-induced reactive oxygen species formation in pulmonary capillary endothelial cells in situ[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2006,34(4):453-463.

[2] Singhal R K,Jain A.Glutathione ethyl ester supplementation prevents mortality in newborn rats exposed to hyperoxia[J]. Biol Neonate, 2000,77(4):261-266.

[3] Ellman P I,Alvis J S,Tache-Leon C,et al. Hyperoxic ventilation exacerbates lung reperfusion injury[J].J Thorac Cardiovasc Surg, 2005,130(5):1440.

[4] Chen X L,Xia Z F,Ben D F,et al. Role of p38 mitogen-activated protein kinase in lung injury after burn trauma[J].Shock,2003,19(5):475-479.

[5] Lee H S,Kim H J,Moon C S,et al.Inhibition of c-Jun NH_2-terminal kinase or extracellular signal-regulated kinase improves lung injury[J]. Respir Res, 2004,5(1):23.

[6] Kan W, Zhao K S,Jiang Y,et al. Lung,spleen,and kidney are the major places for inducible nitric oxide synthase expression in endotoxic shock:role of p38 mitogen-activates protein kinase in signal transduction of inducible nireic oxide synthase expression[J].Shock,2004,21(3):281-287.

[7] Xu F.Fok T F,Yin J.Hyperoxia-induced lung injury in premature rat: description of a suitable model for the study of lung diseases in newborns[J]. Chin Med J,1998,111(7):619-624.

[8] 谭利平,许 峰,匡凤梧.水通道蛋白 5 在高氧肺损伤中的表达及调节机制[J].中国危重病急救医学,2006,18(8):462-465.

[9] 谭利平,许 峰,匡凤梧.大鼠高氧性肺损伤中 MAPK 信号途径的表达及调控机制[J].第四军医大学学报,2007,28(12):1061-1064.

[10] 朱列伟,孙 波,郑 珊, 等. 实验性急性肺损伤的形态剂量[J]. 复旦大学学报,2003,30(2):110-113.

[11] Park H S,Kim S R,Lee Y C. Impact of oxidative stress on lung diseases[J]. Respirology,2009,14(1):27-38.

[12] Tasaka S,Amaya F,Hashimoto S,et al. Roles of oxidants and redox signaling in the pathogenesis of acute respiratory distress syndrome[J]. Antioxid Redox Signal,2008,10(4):739-753.

[13] 黄文林,朱孝峰.信号转导[M].北京:人民卫生出版社. 2005. 304-337.

[14] Lou H, Danelisen I,Singal P K. Involvement of mitogen-activated protein kinases in adriamycin-induced cardiomyopathy[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2005,288(4):1925-1930.

[15] Hotamisligil G S.Role of endoplasmic reticulum stress and c-Jun NH_2-terminal kinase pathways in inflammation and origin of obesity and diabetes [J]. Diabetes, 2005, 54 (Suppl 2):73-78.

[16] Mueller H,Flury N,Eppenberger-Castori S,et al. Mitogen-activated protein kinase cascade in breast cancer [J].Oncology,1999,57 (Suppl 2): 37-44.

[17] Warner B B,Stuart L A,Papes R A,et al. Functional and pathological effects of prolonged hyperoxia in neonatal mice[J].Am J Physiol, 1998, 275(1): 110-117.

[18] Chen Y,Martinez M A,Frank L. Prenatal Dexamethasone administration to premature rats exposed to prolonged hyperoxia: a new rat model of pulmonary fibrosis(Bronchopulmonary dysplasia)[J].J Pediatr,1997, 130: 409-441.

[19] Li L F,Liao S K,Ko Y S,et al.Hyperoxia increases ventilator-induced lung injury via mitogen activated protein kinases-a prospective, controlled animal experiment[J]. Crit Care, 2007, 11(1):25.

[20] Ruusalepp A,Czibik G,Flatebo T,et al. Myocardial protection evoked by hyperoxic exposure involves signaling through nitric oxide and mitogen activated protein kinases[J].Basic Res Cardiol,2007,102(4): 318-326.

[21] Li W,Chang L,Rong Z,et al. Mechanism of retinoic acid and mitogen-activated protein kinases regulating hyperoxia lung injury[J].J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci,2006, 26(2):178-181.

[22] Mantell L L,Lee P J.Signal transduction pathways in hyperoxia-induced lung cell death [J]. Mol Genet Metab,2000,71(1-2):359-370.

[23] Li L F,Liao S K,Ko Y S,et al. Hyperoxia increases ventilator-in duced lung injury via mitogen-activated protein kinases:a prospective, controlled animal experiment[J]. Crit Care,2007,11(1):25.

[24] Nick J A,Young S K,Brown K K,et al.Role of p38 mitogen-activated protein kinase in a murine model of pulmonary inflammation[J]. J Immunol, 2000,164(4):2151-2159.

[25] Underwood D C,Osborn R R,Bochnowicz S,et al. SB239063,a p38 MAPK inhibitor,reduces neutrophilia,inflammatory cytokines,MMP-9, and fibrosis in lung[J].Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol,2000,279(5): 895-902.

(责任编辑:关蕴良)