DOI:10.16016/j.2097-0927.202307015

高原肺水肿大鼠肺组织基因表达谱分析

徐 刚[1,3],吴 刚[1,3],孙滨达[1,3],刘 宝[1,3],高志奇[1,3],陈 建[1,3],高钰琪[1,3],高文祥[1,3],陈德伟[1,2,3] 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)高原军事医学系:高原特需药品与器材研究室[1];高原生理学与病理学教研室[2];极端环境医学教育部重点实验室(培育)[3]

[**摘要**] **目的** 利用基因芯片技术分析高原肺水肿(high altitude pulmonary edema,HAPE)大鼠模型肺组织差异表达基因,为深入探讨 HAPE 发生的分子机制提供新线索。**方法** 将 8 周龄健康雄性 SD 大鼠[体质量(200±20) g]按随机数字表法分为常氧对照(NC)组、脂多糖(Lipopolysaccharide,LPS)组、低压低氧(Hypoxia)组和低压低氧复合低剂量 LPS(HL)组。LPS 组和 HL 组按照每 100 g 体质量尾静脉注射 0.1 mL 浓度为 0.05%的 LPS 溶液,NC 组和 Hypoxia 组给予等量生理盐水;Hypoxia 组和 HL 组进行模拟海拔 5 000 m 低压低氧处理 6 h,NC 组和 LPS 组于舱外同时饲养。检测肺组织的湿/干质量比(wet/dry mass ratio,WDR)、支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid,BALF)蛋白含量,HE 染色观察肺组织病理改变。提取肺组织总 RNA,采用 Affymetrix 基因芯片检测 mRNA 表达谱,采用 Metascape 在线基因注释和分析系统(http://metascape.org)对差异表达基因进行基因本体论(gene ontology,GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG)信号通路聚类分析。**结果** HL 组大鼠肺组织表现出明显的充血、水肿、肺泡间隔增宽。与 NC 组比较,HL 组大鼠肺 WDR 显著增加($P<0.01$),BALF 蛋白含量显著升高($P<0.05$)。基因表达检测发现,相对 NC 组,Hypoxia 组有 79 个基因表达上调,59 个基因表达下调,LPS 组 473 个基因表达上调,695 个基因表达下调,HL 组 669 个基因表达上调,1 253 个基因表达下调。GO 和 KEGG 信号通路聚类分析显示:HL 组差异表达上调基因主要富集于细胞因子介导的信号通路、对 IL-1 的反应、炎症反应调节等生物学过程,以及细胞因子-细胞因子受体相互作用、TNF、NF-κB、IL-17、补体和凝血级联反应等信号通路;表达下调的基因主要富集到细胞外基质组织、内皮细胞迁移调控、细胞-基质黏附等生物学过程,以及黏着斑、Wnt、cGMP-PKG、PI3K-Akt、Rap1 等信号通路。HL 组大鼠肺组织中 *NF-κB*、*TNF-α*、*IL-1β* 以及 *IL-6* 的 mRNA 表达均显著上调($P<0.01$)。**结论** 低氧复合低剂量 LPS 可稳定复制大鼠 HAPE 模型,低氧可显著增强 LPS 诱导的炎症、免疫反应,显著增强炎症介质的表达,促进 HAPE 的发生发展。

[**关键词**] 高原肺水肿;低氧;基因表达谱;基因芯片

[**中图法分类号**] R394-33; R541.63; R594.3 [**文献标志码**] A

Gene expression profile of lung tissues in rats with high altitude pulmonary edema

XU Gang[1,3], WU Gang[1,3], SUN Binda[1,3], LIU Bao[1,3], GAO Zhiqi[1,3], CHEN Jian[1,3], GAO Yuqi[1,3], GAO Wenxiang[1,3], CHEN Dewei[1,2,3] [1]Department of Medicine and Equipment for High Altitude Region, [2]Department of High Altitude Physiology and Pathology, [3]Key Laboratory of Extreme Environmental Medicine of Ministry of Education, Faculty of High Altitude Military Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To analyze the differential expressed genes (DEGs) in the lung tissues of rat model of high altitude pulmonary edema (HAPE) by using microarray analysis in order to provide new clues for molecular mechanism of HAPE. **Methods** Healthy male SD rats (8 weeks old, weighing 200±20 g)

[**基金项目**] 国家自然科学基金青年科学基金(82101968)

[**通信作者**] 陈德伟,E-mail:cdw528913@163.com

高文祥,E-mail:winneygaocn@aliyun.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/)

were randomized into normoxia control (NC) group, lipopolysaccharide (LPS) group, hypoxia group and hypoxia +low-dose LPS (HL) group. The rats of the LPS group and HL group were injected with 0.1 mL 0.05% LPS per 100 g body weight, and those of the NC group and the hypoxia group were administered with an equivalent volume of normal saline. The rats of the hypoxia group and the HL group were housed in a hypobaric chamber simulating an altitude of 5 000 m, and those of the NC group and the LPS group were raised simultaneously outside of the chamber. The wet/dry mass ratio (WDR) of lung tissue and total protein content in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were measured, and the histopathological changes of lung tissue was observed using HE staining. The total RNA was extracted from the lung tissues, and the mRNA expression profile was obtained with Affymetrix microarray followed by Gene Ontology (GO) analysis and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway analysis with Metascape (http://metascape.org). **Results** The rats of the HL group showed significant congestion, edema, and widened alveolar septa. Compared with the NC group, the HL group had significantly increased lung WDR ($P<0.01$) and total protein content in BALF ($P<0.05$). Gene expression analysis revealed that there were 79 genes up-regulated and 59 genes down-regulated in the hypoxia group, 473 genes up-regulated and 695 genes down-regulated in the LPS group, and especially, 669 genes up-regulated and 1 253 genes down-regulated in the HL group. GO and KEGG pathway analyses revealed that the upregulated genes in the HL group were mainly enriched in biological processes, such as cytokine mediated signaling pathways, response to IL-1, regulation of inflammatory response, as well as signaling pathways, including cytokine-cytokine receptor interactions, TNF, NF-κB, IL-17, complement and coagulation cascades, *etc*. The down-regulated genes were mainly enriched in biological processes, such as extracellular matrix organization, regulation of endothelial cell migration, cell substrate adhesion, as well as signaling pathways, such as focal adhesion, Wnt, cGMP-PKG, PI3K-Akt, Rap1, *etc*. The mRNA expression of *NF-κB*, *TNF-α*, *IL-1β* and *IL-6* was significantly up-regulated in the lung tissue of the HL group ($P<0.01$). **Conclusion** Hypoxia+low-dose LPS is an effective procedure to establish a reliable model for HAPE in rats. Hypoxia can significantly aggravate LPS-induced inflammation and immune response, enhance the expression of inflammatory mediators, and thus promote the pathogenesis of HAPE.

[**Key words**] high altitude pulmonary edema; hypoxia; gene expression profile; microarray

Supported by the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (82101968). Corresponding author: CHEN Dewei, E-mail: cdw528913@163.com; GAO Wenxiang, E-mail: winneygaocn@aliyun.com

高原肺水肿(high altitude pulmonary edema, HAPE)是一种起病急、进展快、病死率高的急性重症高原病,发病率为0.5%~2.0%[1],严重威胁初期进入3 000 m以上高原人群的健康和生命安全。HAPE的发生机制复杂,一般认为低氧肺血管收缩,微血管压力升高引起液体外漏是其主要机制[2]。低压低氧是病因这一观点早已被普遍接受,但大量事实表明低压低氧可能不是引起HAPE的唯一因素:①有些人虽然肺动脉压力很高,但并不会出现HAPE;②临床上HAPE患者大多存在寒冷、上呼吸道感染、过度劳累等诱因[3];③单纯低压低氧往往难以复制出稳定的HAPE动物模型[4],通常需要复合低温或运动[5]。近来研究显示,炎症反应可能在HAPE发生中具有重要作用[6],主要证据有:①HAPE患者常伴有发热、外周血白细胞升高等炎症表现;②上呼吸道感染、寒冷、运动等是HAPE发生的重要诱因;③HAPE患者支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)蛋白含量显著增高;④HAPE患者炎症介质和抗炎介质水平均显著升高;⑤激素治疗对HAPE有效。

本研究通过予以低剂量脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱发大鼠炎症反应,再复合低压低氧,复制出稳定的大鼠HAPE动物模型。通过基因芯片技术分析HAPE大鼠肺组织差异基因表达,并检测炎症介质的表达变化,旨在为深入探讨HAPE发生的分子机制提供新线索。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

健康8周龄雄性SD大鼠,体质量(200±20) g,由陆军特色医学中心实验动物中心提供。将40只大鼠统一从1编至40,采用随机数字表法分为常氧对照(NC)组、LPS组、低压低氧(Hypoxia)组和低压低氧复合低剂量LPS(HL)组,每组10只。LPS组和HL组按照每100 g体质量尾静脉注射0.1 mL浓度为0.05%

的 LPS 溶液,NC 组和 Hypoxia 组给予等量生理盐水。Hypoxia 组和 HL 组置模拟海拔 5 000 m(气压约 54 kPa)高原低压环境舱内饲养 6 h,NC 组和 LPS 组于舱外(重庆,海拔 303 m,气压 98 kPa)同时饲养[7]。处理期间各组动物均禁食禁水。6 h 处理结束后,异氟烷麻醉处死动物,采集肺组织用于组织形态学观察、芯片检测以及 mRNA 含量测定,采集 BALF 用于蛋白含量测定。

1.2 主要试剂和仪器

LPS 购自美国 Sigma 公司,Bicinchoninic Acid(BCA)法蛋白测定试剂盒、HE 染色试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司,DYC 低压舱购自贵州风雷航空机械制造公司,酶标仪购自美国 Bio-tek 仪器有限公司。

1.3 肺组织湿/干质量比(wet/dry mass ratio,WDR)检测

摘取大鼠肺脏,取其左肺上叶,迅速用滤纸吸干表面血迹后称取肺组织湿质量。置于 60 ℃烤箱内烘烤 72 h,称取肺组织干质量。肺湿/干质量比=湿质量/干质量。

1.4 BALF 蛋白含量检测

用 1.5 mL 37 ℃生理盐水灌洗右肺,重复 3 次。收集灌洗液按 1 800×g 4 ℃离心 10 min,取上清。采用 BCA 法进行蛋白定量分析。

1.5 组织形态学观察

取左肺下叶肺组织,用 4%多聚甲醛溶液进行固定,石蜡包埋切片,HE 染色,光镜下观察肺组织形态结构改变。

1.6 肺组织基因表达芯片分析

取右肺-80 ℃冻存,由北京博奥晶典生物技术有限公司完成肺组织基因表达芯片检测和分析。具体过程如下:采用随机数字表法,每组选取 6 个动物标本,提取总 RNA 并等量混合为 1 个样本,采用 Ambion #1792 cRNA 扩增标记试剂盒进行体外扩增和生物素标记,利用 Affymetrix 公司的 Rat Genome 230 2.0 Array,检测大鼠物种的 mRNA 表达谱。以倍数变化(fold change,FC)≥2.0 作为基因表达上调判定标准;以 FC≤0.5 作为基因表达下调判定标准。采用 Metascape 在线基因注释和分析系统(http://metascape.org)[8]对差异表达基因进行基因本体论(gene ontology,GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG)信号通路聚类分析。

1.7 统计学分析

计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析,2 组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用双因素方差分析,以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组大鼠肺组织病理学改变

肺组织 HE 染色结果显示:NC 组大鼠肺组织结构清晰、完整;LPS 组和 Hypoxia 组出现轻度肺组织结构紊乱、肺泡间隔增宽;HL 组大鼠肺组织明显表现出间质充血、水肿,肺泡间隔增宽(图 1)。

2.2 HL 组大鼠肺组织 WDR 与 BALF 蛋白浓度显著增加

LPS 组和 Hypoxia 组大鼠肺 WDR 与 NC 组比较差异无统计学意义($P>0.05$);HL 组大鼠肺 WDR 与 NC 组比较显著升高($P<0.01$,图 2A)。LPS 组和 Hypoxia 组大鼠 BALF 蛋白浓度与 NC 组比较差异无统计学意义;HL 组大鼠 BALF 蛋白浓度与 NC 组比较显著升高($P<0.05$,图 2B)。

2.3 肺组织基因表达谱变化

将各组表达基因与 NC 组相比较,结果显示:Hypoxia 组有少量基因表达发生改变(79 基因上调,59 基因下调),LPS 组差异基因数(473 基因上调,695 基因下调)远远高于 Hypoxia 组,HL 组差异基因数(669 基因上调,1 253 基因下调)较 LPS 组进一步升高(图 3)。HL 组与 Hypoxia 组有 33 个基因共同上调、28 个基因共同下调,占 HL 组差异基因的 3.174%;HL 组与 LPS 组有 409 个基因共同上调、632 个基因共同下调,占 HL 组差异基因的 54.162%;另外,3 组之间有 24 个基因为共同上调、25 个基因共同下调,占 HL 组差异基因的 2.549%。

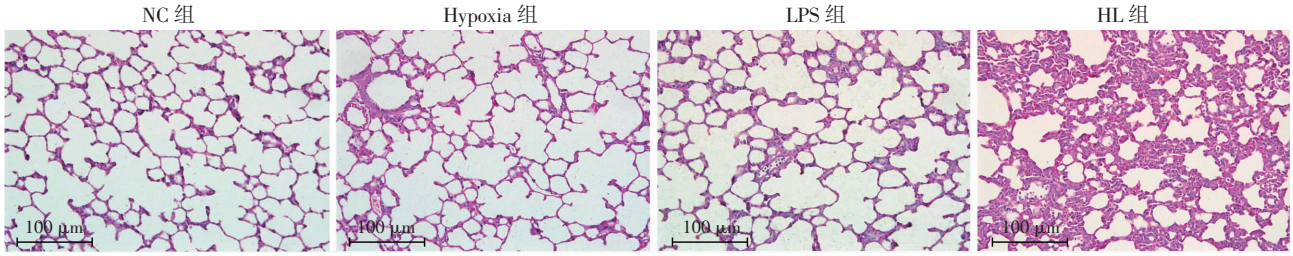
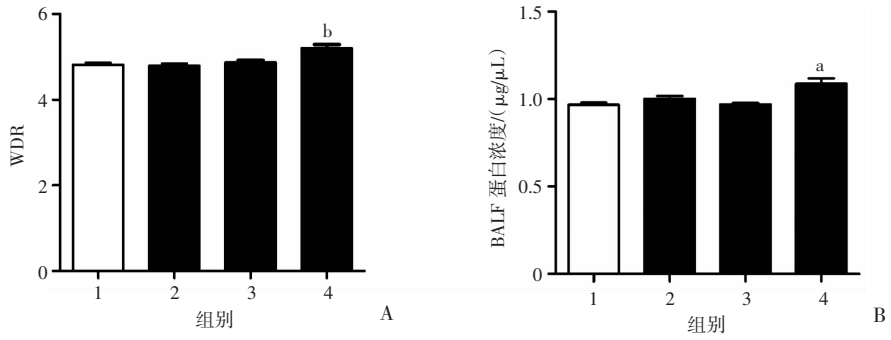


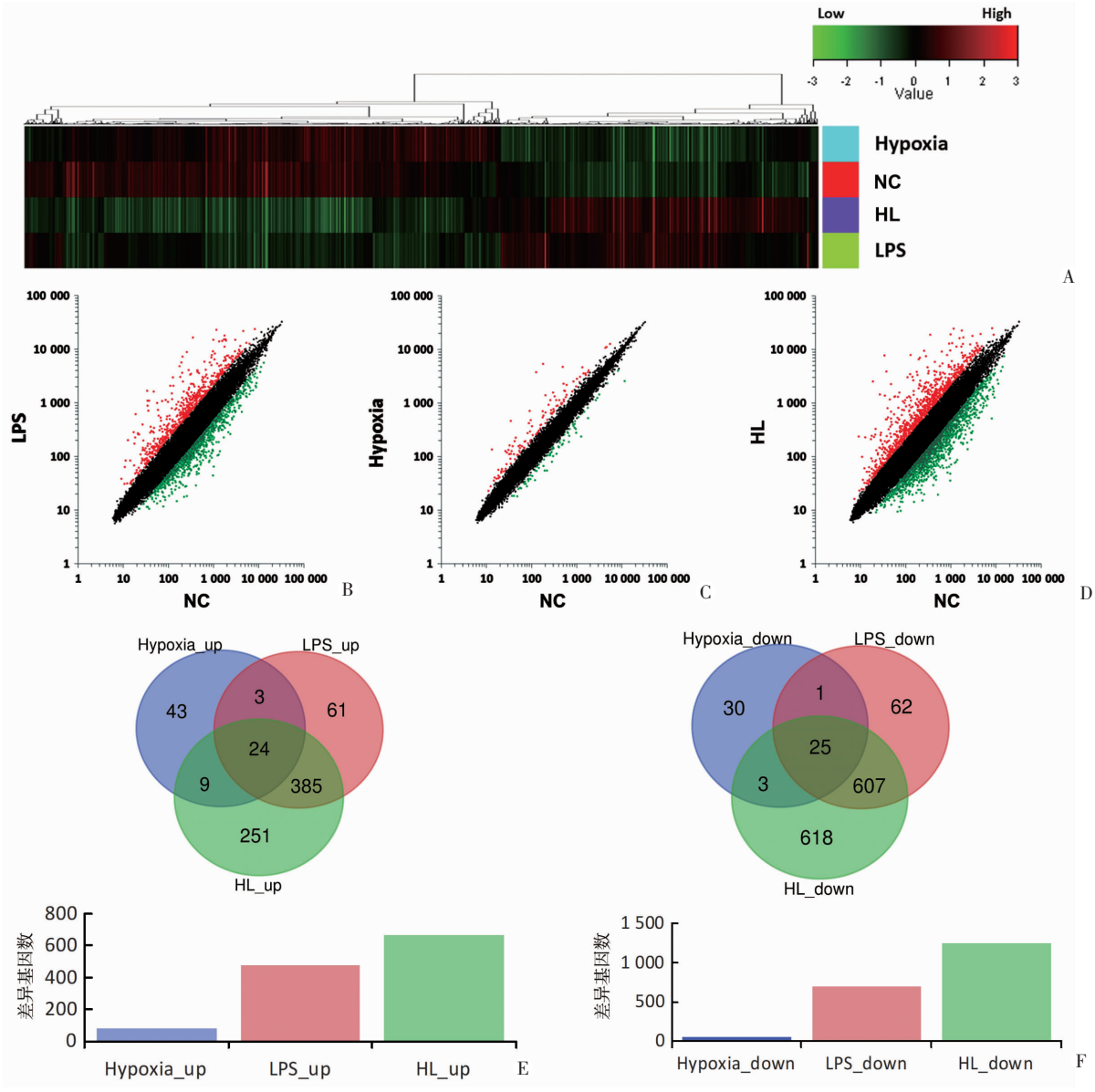
图 1 HE 染色观察 4 组大鼠肺组织病理学改变



1:NC 组;2:LPS 组;3:Hypoxia 组;4:HL 组;a: $P<0.05$, b: $P<0.01$,与 NC 组比较

A:NC 组 $n=9$,LPS 组 $n=7$,Hypoxia 组 $n=9$,HL 组 $n=8$;B:NC 组 $n=7$,LPS 组 $n=6$,Hypoxia 组 $n=8$,HL 组 $n=7$

图 2　4 组大鼠 WDR(A)和 BALF 蛋白浓度(B)变化($\bar{x}\pm s$)



A:基因表达热图; B~D:基因表达散点图　红点:示显著上调基因;绿点:示显著下调基因;黑点:示无差异基因;E、F:差异基因数量韦恩图

图 3　4 组大鼠肺组织差异基因表达热图及韦恩图

2.4 差异表达基因 GO 分析

分别对 HL、Hypoxia、LPS 组差异表达上调和下调的基因进行 GO 聚类分析,Hypoxia 组差异基因数量较少,上调基因 GO 聚类最显著的是低氧反应、体液免疫反应等。LPS 组表达上调基因 GO 聚类主要为对于细菌(包括 LPS)的炎症免疫反应功能,如:细胞因子介导的信号通路、对 IL-1 的反应等。HL 组中上调基因 GO 聚类仍然以对于细菌(包括 LPS)的炎症免疫反应为主,如:细胞因子介导的信号通路、对 IL-1 的反应等(图 4A)。

Hypoxia 组表达下调的基因 GO 聚类主要是一些耗能的生物过程,例如:维甲酸生物合成过程、上皮管分支形态发生过程等。LPS 组表达下调的基因 GO 聚类也主要是一些耗能的生物过程,但与 Hypoxia 组的分类存在较大差异,主要包括:肌肉系统过程、细胞外基质组织等。HL 组表达下调的基因 GO 聚类与 LPS 组类似,主要包括:细胞外基质组织、细胞-基质黏附等(图 4B)。

2.5 差异表达基因 KEGG 信号通路(pathway)聚类分析

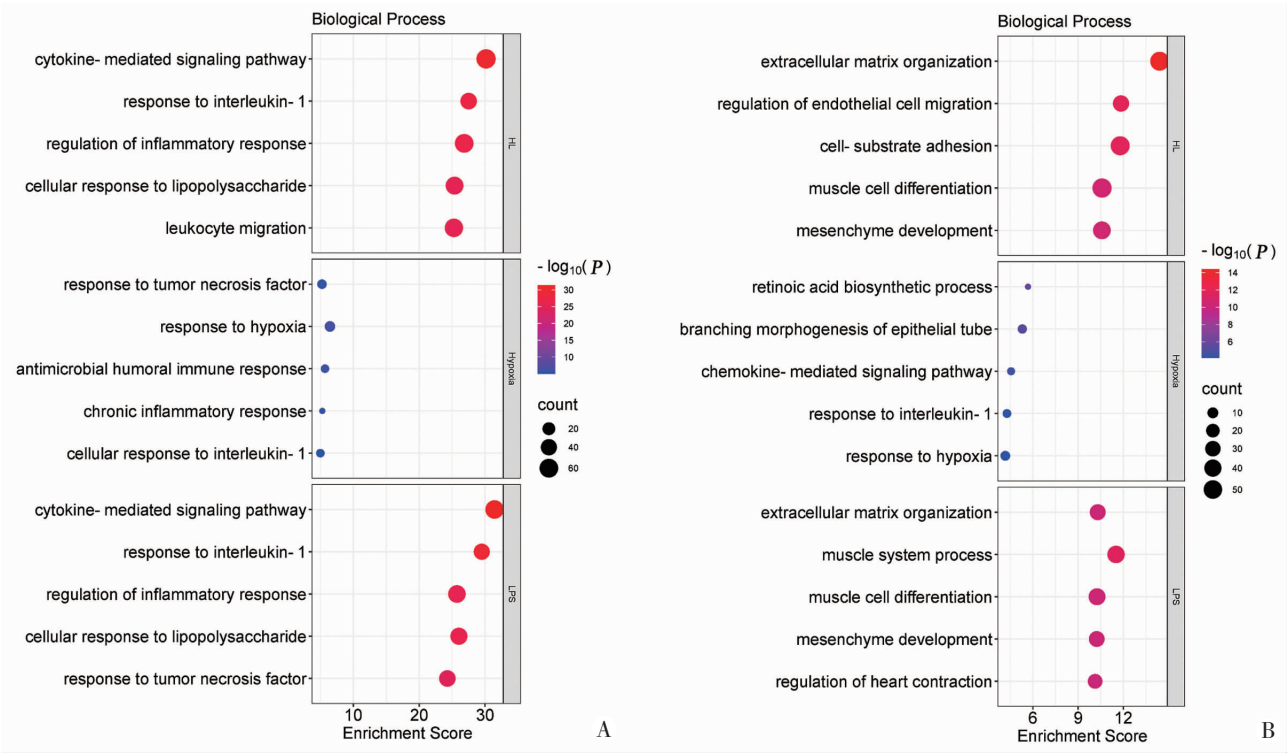
分别对 HL、Hypoxia、LPS 组差异表达上调和下调的基因进行 KEGG pathway 聚类分析。Hypoxia 组表达上调基因 KEGG pathway 主要为 PPAR 信号通路、IL-17 信号通路等。LPS 组差异表达上调基因 KEGG pathway 主要与炎症免疫反应相关,如:细胞因子-细胞因子受体相互作用、TNF 信号通路等。HL 组差异表达上调基因富集到的 KEGG pathway 与 LPS 组有较多重合,但其富集指数和显著性较强(图 5A)。

Hypoxia 组表达下调基因 KEGG 信号通路主要有:IL-17 信号通路、NOD 样受体信号通路等。LPS 组表达下调基因 KEGG 信号通路主要有:黏着斑、cGMP-PKG 信号通路等。HL 组与 LPS 组相似,主要富集到黏着斑、Wnt 信号通路等(图 5B)。

2.6 HL 组大鼠特异表达基因 GO 和 KEGG 信号通路(pathway)聚类分析

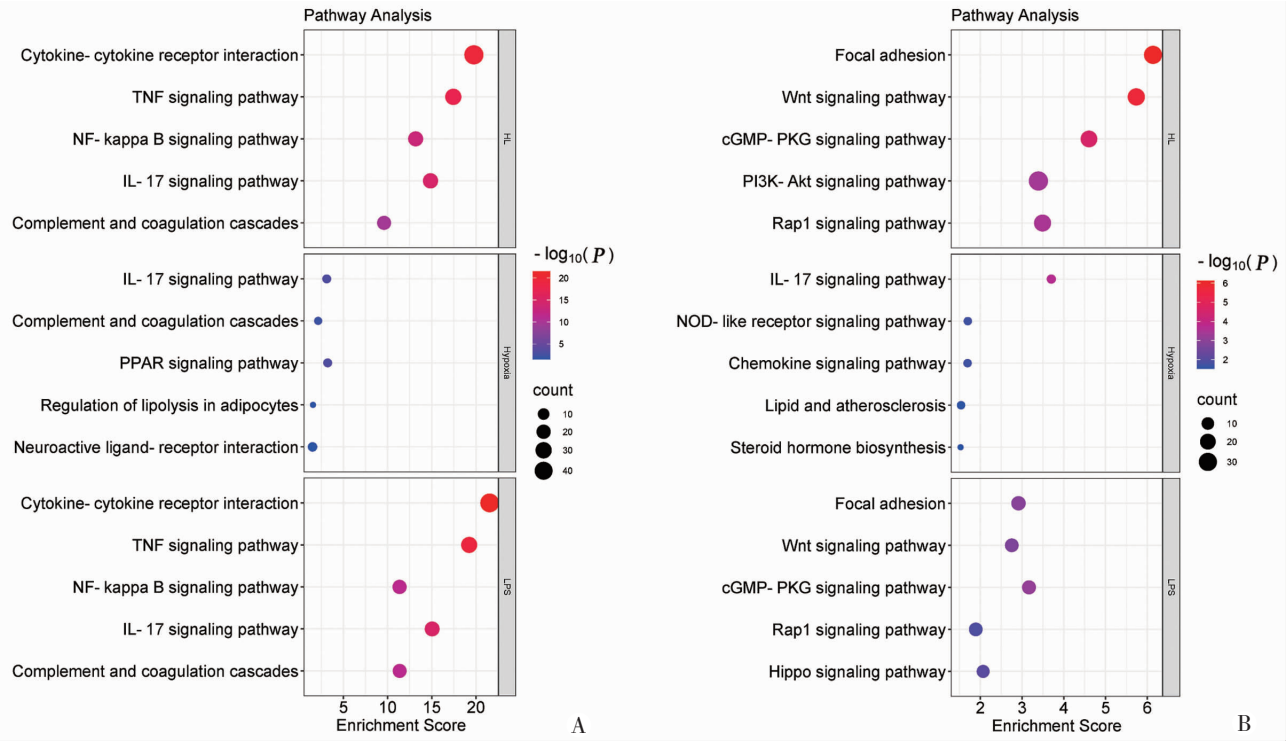
本研究进一步对于 251 个 HL 组特异性表达上调和 618 个 HL 组特异性表达下调基因进行了 GO 和 KEGG pathway 聚类分析。特异性上调基因 GO 功能主要包括:肽基酪氨酸磷酸化、二磷酸核苷代谢过程等。特异性下调基因 GO 功能主要包括:阿米巴型细胞迁移、泌尿生殖系统发育等(图 6A)。

特异性上调基因 KEGG pathway 主要包括:HIF-1 信号通路、JAK-STAT 信号通路等;特异性下调基因 KEGG 信号通路主要包括:黏着斑、Wnt 信号通路等(图 6B)。



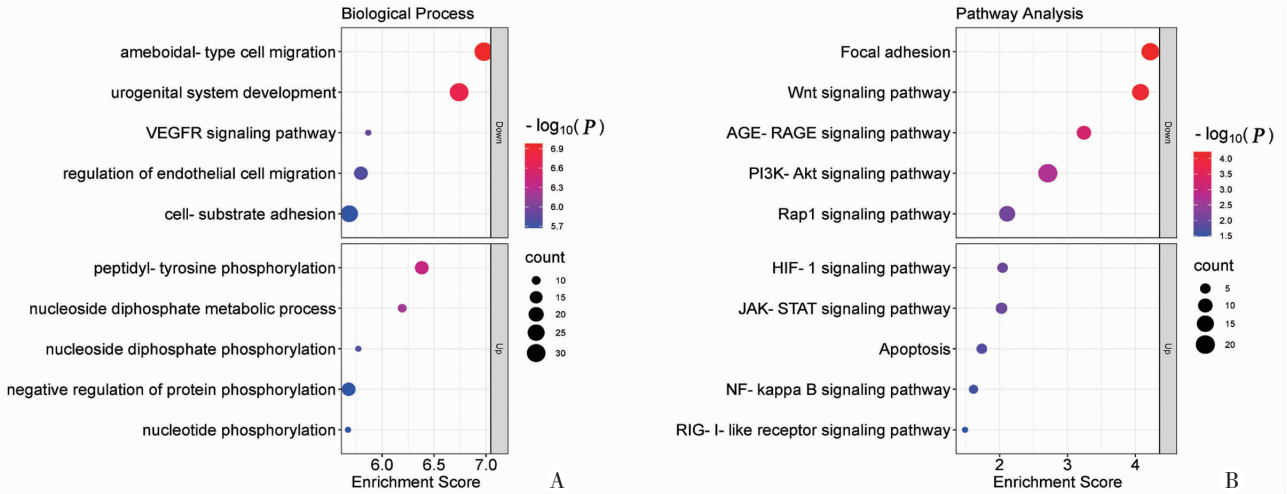
A:Hypoxia、LPS 和 HL 组显著上调基因的生物学过程 GO 富集条目;B:Hypoxia、LPS 和 HL 组显著下调基因的生物学过程 GO 富集条目

图 4 Hypoxia、LPS 和 HL 组差异表达基因的生物学过程 GO 富集分析



A:Hypoxia、LPS 和 HL 组显著上调基因的富集通路; B:Hypoxia、LPS 和 HL 组显著下调基因的富集通路

图 5 Hypoxia、LPS 和 HL 组差异表达基因的 KEGG 富集分析

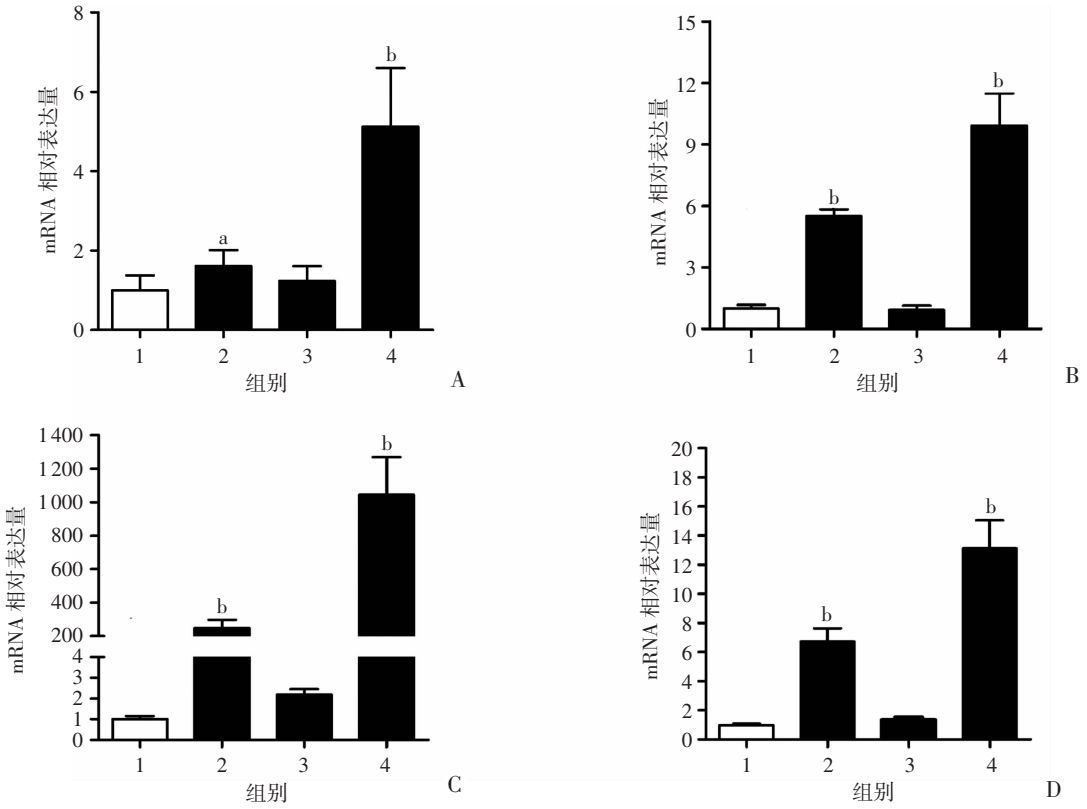


A: HL 组特异表达上调和下调基因的生物学过程 GO 条目; B: HL 组特异表达上调和下调基因的富集通路

图 6 HL 组特异表达上调和下调基因的 GO 和 KEGG 富集分析

2.7 RT-qPCR 验证肺组织中炎症介质的表达量

提取肺组织 mRNA,反转录后采用 RT-qPCR 检测 *NF-κB*、*TNF-α*、*IL-1β* 以及 *IL-6* 等炎症介质及调控分子的表达变化,结果发现,与 NC 组相比,LPS 处理(LPS 组)显著上调转录因子 *NF-κB* 的 mRNA 表达($P<0.05$),细胞因子 *TNF-α*、*IL-1β* 和 *IL-6* 的 mRNA 表达也显著上调($P<0.01$),单纯低氧处理并未显著上调这些基因的表达,而复合低氧处理(HL 组)后,*NF-κB*、*TNF-α*、*IL-1β* 和 *IL-6* 的 mRNA 表达上调更为显著($P<0.01$,图 7)。



1:NC 组;2:LPS 组;3:Hypoxia 组;4:HL 组;a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与 NC 组比较

A~D:肺组织 *NF-κB*、*TNF-α*、*IL*-6、*IL*-1*β* 基因相对表达量

图 7 4 组大鼠肺组织目的基因的相对表达量($n=5$,$\bar{x}\pm s$)

3 讨论

3.1 低氧复合 LPS 可稳定复制 HAPE 大鼠模型

HAPE 是由平原进入高原地区或在高原地区进入更高海拔地区,因缺氧导致的以肺间质或肺泡水肿为主要特征的一种疾病。如果不及时治疗,可能会发生严重的低氧血症和死亡[9]。临床上可结合症状体征及影像学检查进行诊断。临床症状可见静息时呼吸困难、咳嗽,咳白色、粉红色或血性泡沫状痰。体征可观察到有明显的发绀,血氧饱和度明显降低,且吸氧后发绀和血氧饱和度无显著改善,肺部听诊单侧或双侧可闻及湿性啰音。影像学检查可见肺纹理增粗,磨玻璃样改变,单肺或双肺点片状影等。这些症状体征在动物模型上常不易被观察到或进行有效评估,动物模型上通常采用肺含水量、肺泡毛细血管膜通透性检测,结合肺组织病理学检查进行模型评估。本研究通过低氧复合低剂量 LPS,成功复制出大鼠肺水肿模型。HL 组的肺组织病理表现符合肺水肿特征,WDR 和 BALF 蛋白含量也显著高于 NC 组、LPS 组及 Hypoxia 组,表明肺含水量显著增加,肺泡膜通透性显著升高,都提示肺水肿模型复制成功。

3.2 炎症通路在 HAPE 发生中具有重要作用

本研究中肺组织基因表达谱分析发现,低剂量 LPS 即可诱导大鼠肺组织大量基因表达改变,而单纯低氧诱导大鼠肺组织基因表达改变较少,但低氧复合低剂量 LPS(HL 组)可诱导更多的基因表达发生显著改变,提示低氧可能增强了低剂量 LPS 的作用。本研究从基因表达谱的角度,进一步证明单纯低氧往往不足以引起肺组织严重的损伤,也不易复制出稳定的 HAPE 动物模型。一旦机体内存在一定程度的炎症反应,再复合低氧作用时,其反应可以得到显著增强,从而导致肺组织损伤、水肿,参与 HAPE 发生。进一步分析发现,HAPE 模型(HL 组)大鼠差异表达基因的生物学功能涉及了生命活动的多个方面,其中炎症和免疫反应相关的基因占了相当的比例,GO 聚类以炎症免疫反应为主,包括细胞因子介导的信号通路、对 IL-1 的反应、炎症反应调节、细胞对 LPS 的反应以及白细胞迁移等生物学过程。这些结果提示炎症反应过程在

HAPE 发生中具有重要作用。

3.3 低氧可增强 LPS 介导的炎症反应促进 HAPE 的发生

LPS 是内毒素的重要群特异性抗原,是革兰氏阴性菌致病的主要结构成分。研究表明,LPS 作用于机体,在 LPS 结合蛋白(LPS-binding protein,LBP)和 CD14 的帮助下,活化 Toll 样受体 4(Toll like receptor 4,TLR4)及其下游信号通路并介导炎症因子级联释放[10]。本研究采用低剂量 LPS 诱导炎症反应,相关信号通路,如细胞因子-细胞因子受体相互作用、TNF 信号通路、IL-17 信号通路、补体和凝血级联反应、NF-κB 信号通路等被显著激活,复合低氧后差异表达上调基因也主要富集到这些信号通路,表明这些信号通路被异常活化。LPS 处理后下调的基因主要富集到黏着斑、Wnt、cGMP-PKG、Rap1 等信号通路,而复合低氧处理后这些信号通路同样被富集,且更为显著。HL 组特异性表达基因通路富集分析提示 HIF-1、JAK-STAT、细胞凋亡、NF-κB 和 RIG-I 样受体信号通路异常活化,而黏着斑、Wnt、AGE-RAGE、PI3K-Akt 以及 Rap1 信号通路可能受到抑制。表明炎症、免疫反应以及凋亡相关信号通路被异常激活,而与细胞迁移、增殖、分化以及黏附相关信号通路受到抑制。KEGG 信号通路聚类分析同样提示炎症免疫反应参与 HAPE 发生,HIF-1 和 NF-κB 的相互作用可能在其中发挥重要调控作用。HIF-1 作为低氧应答反应的关键转录因子,在低氧反应过程中发挥了重要调控作用[11]。HIF-1 的表达增强主要是由于低氧使得脯氨酸羟化酶 2(Proline hydroxylase 2,PHD2)活性受到抑制,HIF-1 的降解减少而稳定表达[12],也有研究发现,IL-1β、TNF-α 等炎症介质也可以稳定 HIF-1 的表达[13],参与低氧反应。NF-κB 被认为是炎症反应中调控促炎介质表达的主要转录因子。研究发现,NF-κB 在被活化后可以稳定 HIF-1,而调节 HIF-1 蛋白稳定性的 PHD2 可以 HIF-1 非依赖性方式激活 NF-κB 的表达[14]。提示 NF-κB 和 HIF-1 之间可相互调控,进而在低氧和炎症反应中发挥调控作用,低氧可增强 LPS 介导的炎症反应,进而促进 HAPE 的发生。

3.4 初步验证实验进一步提示炎症反应在 HAPE 发生中的重要作用

炎症介质表达增加在一定程度上反应了肺部的炎症反应状态,研究发现,急性低压缺氧(7 620 m,3 h)可显著上调大鼠肺部促炎细胞因子 *IL*-1β、*IL*-6 和 *TNF*-α 的表达[15]。HAPE 患者血清中 TNF-α 和 IL-6 水平也是升高的[16]。我们在模型大鼠肺组织中进行炎症介质及调控分子的表达检测,也提示低氧复合低剂量 LPS 处理可显著上调 *NF-κB*、*TNF-α*、*IL*-1β 和 *IL*-6 的 mRNA 表达。进一步提示炎症反应活化在 HAPE 发生中具有重要作用。抑制炎症反应可能是防治 HAPE 重要措施。有研究发现,低氧预处理可减轻大鼠低压低氧(9 142 m,5 h)引起的肺血管渗漏,并减少 TNF-α/β、NF-κB、MCP-1 和 IL-6 等炎症介质表达[17]。姜黄素也可抑制 NF-κB 表达升高,并缓解肺水肿的发生[18]。结合文献报道,进一步提示炎症反应是 HAPE 发生的重要机制。

综上所述,炎症和低氧暴露的协同作用可能是 HAPE 发生发展的关键。虽然上呼吸道感染(或低剂量 LPS)参与诱导的炎症反应是 HAPE 发生的重要诱因,但也有相当多的病例是由于寒冷、运动等诱发,尚无研究表明在其发生过程中是否也有 LPS 的参与。低氧能否增强寒冷、运动等诱发的炎症反应,从而促进或导致 HAPE 发生,目前还不清楚,有待于进一步研究予以阐明。

参考文献:

[1] HACKETT P H, RENNIE D, LEVINE H D. The incidence, importance, and prophylaxis of acute mountain sickness[J]. Lancet, 1976, 2(7996): 1149-1155. DOI: 10.1016/s0140-6736(76)91677-9.

[2] 石建国, 季华庆, 陈想贵, 等. 高原肺水肿患者血流动力学变化研究[J]. 中国全科医学, 2021, 24(17): 2192-2197. DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2021.00.473.
SHI J G, JI H Q, CHEN X G, *et al*. Hemodynamic changes in patients with high-altitude pulmonary edema[J]. Chin Gen Pract, 2021, 24(17): 2192-2197. DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2021.00.473.

[3] 林法迎, 赵汝频, 杨琼慧. 高原肺水肿 256 例临床分析[J]. 临床内科杂志, 2006, 23(2): 113-114. DOI: 10.3969/j.issn.1001-9057.2006.02.013.
LIN F Y, ZHAO R P, YANG Q H. Retrospective clinical analysis on high altitude pulmonary edema[J]. J Clin Intern Med, 2006, 23(2): 113-114. DOI: 10.3969/j.issn.1001-9057.2006.02.013.

[4] BERG J T. *Ginkgo biloba* extract prevents high altitude pulmonary edema in rats[J]. High Alt Med Biol, 2004, 5(4): 429-434. DOI: 10.1089/ham.2004.5.429.

[5] 陈有, 高钰琪, 李素芝, 等. 高原肺水肿动物模型的初步研究[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(11): 1176-

1177. DOI: 10.3321/j.issn: 1000-5404.2006.11.014.
CHEN Y, GAO Y Q, LI S Z, *et al*. Primary establishment of HAPE animal model[J]. Acta Acad Med Mil Tertiae. 2006, 28(11): 1176-1177. DOI: 10.3321/j.issn: 1000-5404.2006.11.014.

[6] 吴刚, 高文祥, 高钰琪. HIF-1: 高原肺水肿防治的新靶点[J]. 中国高原医学与生物学杂志, 2020, 41(1): 8-10, 16. DOI: 10.13452/j.cnki.jqmc.2020.01.003.
WU G, GAO W X, GAO Y Q. HIF-1: a new target for prevention and treatment of high altitude pulmonary edema[J]. Chin High Alt Med Bio. 2020, 41(1): 8-10, 16. DOI: 10.13452/j.cnki.jqmc.2020.01.003.

[7] WU G, XU G, CHEN D W, *et al*. Hypoxia exacerbates inflammatory acute lung injury *via* the Toll-like receptor 4 signaling pathway[J]. Front Immunol, 2018, 9: 1667. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01667.

[8] ZHOU Y Y, ZHOU B, PACHE L, *et al*. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 1523. DOI: 10.1038/s41467-019-09234-6.

[9] IMRAY C, BOOTH A, WRIGHT A, *et al*. Acute altitude illnesses[J]. BMJ, 2011, 343: d4943. DOI: 10.1136/bmj.d4943.

[10] CIESIELSKA A, MATYJEK M, KWIATKOWSKA K. TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling[J]. Cell Mol Life Sci, 2021, 78(4): 1233-1261. DOI: 10.1007/s00018-020-03656-y.

[11] PENA E, SIQUES P, BRITO J, *et al*. Nox2 upregulation and p38α MAPK activation in right ventricular hypertrophy of rats exposed to long-term chronic intermittent hypobaric hypoxia[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(22): 8576. DOI: 10.3390/ijms21228576.

[12] SAMANTA D, SEMENZA G L. Maintenance of redox homeostasis by hypoxia-inducible factors[J]. Redox Biol, 2017, 13: 331-335. DOI: 10.1016/j.redox.2017.05.022.

[13] PHAM K, PARIKH K, HEINRICH E C. Hypoxia and inflammation: insights from high-altitude physiology[J]. Front Physiol, 2021, 12: 676782. DOI: 10.3389/fphys.2021.676782.

[14] LI J, YUAN W, JIANG S, *et al*. Prolyl-4-hydroxylase domain protein 2 controls NF-κB/p65 transactivation and enhances the catabolic effects of inflammatory cytokines on cells of the nucleus pulposus[J]. J Biol Chem, 2015, 290(11): 7195-7207. DOI: 10.1074/jbc.M114.611483.

[15] ARYA A, SETHY N K, SINGH S K, *et al*. Cerium oxide nanoparticles protect rodent lungs from hypobaric hypoxia-induced oxidative stress and inflammation[J]. Int J Nanomedicine, 2013, 8: 4507-4520. DOI: 10.2147/IJN.S53032.

[16] SHARMA M, SINGH S B, SARKAR S. Genome wide expression analysis suggests perturbation of vascular homeostasis during high altitude pulmonary edema[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e85902. DOI: 10.1371/journal.pone.0085902.

[17] SHUKLA D, SAXENA S, PURUSHOTHAMAN J, *et al*. Hypoxic preconditioning with cobalt ameliorates hypobaric hypoxia induced pulmonary edema in rat[J]. Eur J Pharmacol, 2011, 656(1/2/3): 101-109. DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.01.038.

[18] NEHRA S, BHARDWAJ V, BANSAL A, *et al*. Nanocurcumin accords protection against acute hypobaric hypoxia induced lung injury in rats[J]. J Physiol Biochem, 2016, 72(4): 763-779. DOI: 10.1007/s13105-016-0515-3.

(**收稿**:2023-07-03;**修回**:2023-09-25)

(编辑 栾 嘉)