

中性粒细胞在急性肺损伤中的作用机制研究进展

夏长江, 孟 革, 赵 建, 丁日高*

(军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

摘要: 急性肺损伤(ALI)的本质是多种炎性介质及效应细胞共同参与的肺内过度性、失控性炎症反应。中性粒细胞(PMN)在其中发挥了重要的作用,本文主要从整合素、Ca²⁺-钙调蛋白的信号通路及PMN凋亡延迟等方面综述PMN在ALI中的作用机制。 β_2 整合素在PMN向肺内募集和激活的过程中发挥重要作用;Ca²⁺在ALI形成过程中有复杂的信号转导通路,1-磷酸鞘氨醇、神经垂体腺苷酸环化酶激活蛋白、钙调蛋白都在Ca²⁺介导的信号通路中发挥了重要作用;抗IL-8:IL-8免疫复合物、PMN跨越内皮-上皮屏障、髓过氧化物酶、NF- κ B激活可能都参与了PMN凋亡延迟。

关键词: 急性肺损伤;中性粒细胞;整合素;Ca²⁺信号通路;细胞凋亡

中图分类号: R962.1;R332.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-0440(2009)06-0418-05

Mechanism of neutrophils in acute lung injury: a research progress

XIA Chang-jiang, MENG Ge, ZHAO Jian, DING Ri-gao

(Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: It is currently believed that the essence of acute lung injury (ALI) is an excessive and uncontrolled inflammatory response involved with kinds of inflammatory mediators and effector cells in which polymorphonuclear leukocyte (PMN) play a key role. The mechanisms on PMN in ALI were reviewed from the signal transduction pathway of integrin and Ca²⁺, and the delay of PMN apoptosis. β_2 -Integrins play an important role in the recruitment of PMN to the lungs and the activation of PMN; Ca²⁺ has a complicated signal transduction pathway in the course of ALI formation in which sphingosine-1-phosphate, pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) and calmodulin play a significant effect. Anti-IL-8: IL-8 immune complexes, endothelium-epithelium bilayer transmigration of PMN, myeloperoxidase and activated NF- κ B may involve in the delay of PMN apoptosis.

Key words: acute lung injury; neutrophils; integrin; Ca²⁺ signal pathway; apoptosis

急性肺损伤(ALI)是指各种原因引起的肺泡上皮、肺微血管内皮和肺间质的急性弥漫性损伤。临床表现为呼吸窘迫和顽固性低氧血症^[1]。

在ALI发生的过程中,中性粒细胞(PMN)在肺内和循环系统中各种炎性刺激,如脂多糖(LPS)、肿瘤坏死因子(TNF)、白介素(IL)-1的作用下,首先

聚集于肺微血管内皮,继而黏附于内皮并被激活,由肺血管进入肺组织并持续活化,释放一系列损伤介质(如蛋白水解酶、活性氧自由基等),引起弥漫性肺泡损害,最终导致ALI。目前认为,肺内过度或失控性的炎症反应是导致ALI的根本原因。其中,PMN在肺内过度聚集和活化发挥了重要作用。本文主要从整合素、Ca²⁺/钙调蛋白(CaM)的信号通路及PMN凋亡延迟等方面对PMN在ALI中的作用机制进行综述。

1 整合素介导的信号通路

整合素是一类重要的细胞表面受体,主要介导

收稿日期:2009-05-19

基金项目:国家自然科学基金(No. 30800904)

作者简介:夏长江,男,在读硕士研究生,研究方向:化学源性肺损伤,Tel:010-66931646,E-mail:xiachangjiang@126.com

* 通讯作者:丁日高,男,博士生导师,研究方向:化学源性肺损伤,Tel:010-66931631,E-mail:dinrgiao@nic.bmi.ac.cn

细胞-基质、细胞-基质-细胞、细胞-细胞之间的黏附,参与细胞信号的转导与活化,调节细胞的增殖、分化和凋亡等多种活动。

整合素是由1个 α 亚基(相对分子质量120~180 ku)与1个 β 亚基(相对分子质量90~110 ku)以非共价键连接形成的异二聚体跨膜结构。目前的研究认为与ALI及其修复有关的整合素主要是 β_1 ~ β_6 整合素。其中研究较为充分并与PMN相关的是 β_1 和 β_2 整合素。 β_1 整合素可能参与了单核细胞、嗜酸粒细胞及淋巴细胞的募集及PMN与内皮细胞、成纤维细胞等的结合^[2,3]。但与PMN黏附和游走及ALI的形成和发展关系更为密切的是 β_2 整合素(如CD11a/CD18、CD11b/CD18、CD11c/CD18等)。本文主要探讨 β_2 整合素在ALI中的作用。

1.1 β_2 整合素介导PMN在肺内的募集

在ALI形成过程中, β_2 整合素介导PMN在肺微血管的黏附和向肺组织的迁移。

在输血诱发的ALI模型中,E-选择素与其配体结合后,诱导 $\alpha_M\beta_2$ 整合素极化、激活,并进一步激活PMN。活化的PMN可以捕获循环系统中的血小板、产生氧化性物质(如活性氧自由基)。这些氧化性物质可以损伤肺微血管,从而形成ALI。如果使E-选择素或 $\alpha_M\beta_2$ 整合素失活,则可以预防肺组织损伤^[4]。

在表达抗CD11b多肽-中性粒细胞抑制因子的转基因小鼠上,CD11b失活。此时,LPS诱发的PMN与内皮细胞的黏附降低。如果同时拮抗CD11a,则完全阻断了PMN与内皮细胞的黏附。在此类转基因小鼠上,大肠杆菌诱发的肺泡内PMN的浸润程度降低,肺微血管通透性的增加及肺水肿的形成也能得到缓解^[5]。在人微血管内皮细胞(HPAEC)模型上,表达中性粒细胞抑制因子的HPAEC也可以降低PMN的聚集和黏附^[6]。

在LPS诱发的ALI模型上,如果用单克隆抗体5C6拮抗CD11b,肺组织中蛋白渗出及PMN的聚集均得到缓解^[7]。

以上结果充分说明,在ALI形成的过程中,PMN中 β_2 整合素的表达介导了PMN的作用。在臭氧诱发的ALI模型中,PMN的浸润同时伴随 β_6 整合素在上皮细胞的表达。若用CD18抗体抑制 β_2 整合素,很难检测到上皮细胞上的 β_6 整合素^[8]。这表明PMN的 β_2 整合素表达和激活后,上皮细胞 β_6 整合素随后出现表达和激活,二者配合,共同介导了PMN向肺组织的浸润过程。

1.2 β_2 整合素介导PMN活化

在 β_2 整合素介导PMN作用的信号通路中,E-选择素可能是其上游信号。只有E-选择素与其配体结合后,才能诱导 $\alpha_M\beta_2$ 整合素极化、激活,进一步激活PMN后产生一系列生物效应^[5]。用E-和L-选择素抗体EL-246阻断这两种选择素后,对脓血症诱发的ALI有明显的预防作用。表现为肺组织内蛋白渗出减少、PMN浸润作用减弱和肺动脉血氧分压得到改善^[9]。

正常情况下,核因子- κ B(NF- κ B)抑制蛋白I κ B结合,以无活性的状态存在于细胞浆中。I κ B被I κ B激酶磷酸化后失活,NF- κ B的功能得以展现。如果用蛋白酶抑制剂MG132抑制I κ B的降解或用SN50阻断NF- κ B激活,可以阻断I κ B/NF- κ B级联反应。此时, β_2 整合素介导的PMN细胞因子(IL-1 β 和TNF- α)释放受到抑制。这表明 β_2 整合素介导的PMN激活与I κ B/NF- κ B通路的激活有关^[10]。

2 Ca^{2+} 介导的信号通路

Ca^{2+} 是非常重要的第二信使,在许多细胞信号转导通路中发挥关键性的作用。在多种ALI模型中,常常伴随 Ca^{2+} 的变化。例如,在LPS、脓血症、凝血酶、缺血再灌注、机械性通气诱发的ALI过程中,都出现了 Ca^{2+} 的升高。

2.1 1-磷酸鞘氨醇调节的 Ca^{2+} 信号通路

1-磷酸鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)是细胞膜磷脂代谢的中间产物,与G蛋白偶联受体S1PR_{1,5}结合后可以调节多种生物作用。同时,S1P也是一种胞内信使分子,能参与多种信号转导通路的调节。由于PMN是“非兴奋性细胞”(nonexcitable cell),S1P调节PMN胞内 Ca^{2+} 浓度主要通过钙储池操纵的钙离子通道而不是电压依赖的钙离子通道。S1P自身的调节主要依靠鞘氨醇激酶(sphingosine kinase, SPHK)、鞘氨醇磷酸酶和鞘氨醇裂解酶。前者是S1P合成的关键酶,后者可以降解S1P。

在创伤/缺血性休克(T/HS)诱发的SD大鼠ALI模型中,如果在血液再灌注前(炎症级联反应发生之前)腹腔注射SPHK抑制剂-2(SKI-2)0.91 mg·kg⁻¹或钙储池操纵的钙离子释放抑制剂N-炔丙基-尼群地平(MRS 1845)1.2 mg·kg⁻¹,可以抑制T/HS诱发的PMN聚集、CD11b上调和肺气血屏障通透性的增高。对PMN激活所必须的p38-MAPK磷酸化也有明显的抑制作用^[11]。

但是,SPHK 和 S1P 已有文献证明有明显的降低血管通透性的作用。在 5% 牛磺胆酸钠诱发急性坏死性胰腺炎后立即给予 S1P($100 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)或类似物 FTY720($1 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)可降低 PMN 在肺内的聚集和活性,降低肺气血屏障的通透性,缓解 ALI 的严重程度^[12]。在 LPS 和凝血酶诱发的 ALI 模型中,SPHK-1 的激活明显被延迟。与野生型小鼠相比,SPHK-1 基因敲除的小鼠显著增加 LPS 和凝血酶诱发肺水肿的严重程度,同时降低 S1P 基础分泌和 Rac1 基础活性,增加内皮细胞通透性的基础值。SPHK-1 耗竭的细胞模型上,凝血酶无法激活 Rac1,但可以激活 RhoA。Rac1 与 RhoA 对内皮细胞的作用相反,前者降低其通透性,后者增加其通透性。敲除 S1P1 受体的内皮细胞,同样可以增强凝血酶刺激的内皮细胞通透性的增加。如果给予外源性 S1P,可以恢复小鼠 SPHK-1 基因敲除或 SPHK-1 耗竭引发的肺血管内皮屏障功能障碍^[13]。

S1P 以上比较矛盾的实验结果可能与 S1P 信号通路和自身调节方式的复杂性有关。在使用多种酵母突变体研究 S1P 对 Ca^{2+} 信号通路作用的实验中发现,外源性鞘氨醇调节 Ca^{2+} 浓度有 2 条截然不同的信号通路。其中一条通路需要钙离子通道上 Cchl1p 和 Mid1p 亚基的配合,同时依赖 SPHK 的 Lcb4p 和 Lcb5p 亚基的激活。鞘氨醇磷酸酶和鞘氨醇裂解酶能够阻断这条通路。由于 SPHK 只能磷酸化 *D*-鞘氨醇,而对 *L*-鞘氨醇无作用,表明只有活性立体构象的 S1P 才能激活此通路,从而引起 Ca^{2+} 的积聚并进一步传递信号。这条信号通路能调节较多的生物作用。另一条刺激 Ca^{2+} 内流信号通路调节的生物作用相对较少。这条通路仅需要鞘氨醇的积聚就能引起 Ca^{2+} 的积聚,不要求其特异性的立体构象,不依赖 SPHK。因此,这条通路很可能是非特异性的。另外,能激活 Ca^{2+} 信号通路的因素很多,如 α -交配因子(α -mating factor)、急性热休克、低渗休克、药物(氯丙嗪)刺激等均引起 Ca^{2+} 的积聚,均不依赖 SPHK。这一方面表明 S1P 是 Ca^{2+} 信号通路的上游分子,另一方面也表明 Ca^{2+} 信号通路调节的复杂性^[14]。

2.2 神经垂体腺苷酸环化酶激活蛋白调节的 Ca^{2+} 信号通路

神经垂体腺苷酸环化酶激活蛋白(PACAP)是神经营养性和神经保护性多肽。在神经元细胞和非神经元细胞上 PACAP 通过与受体结合后产生 cAMP、三磷酸肌醇(IP3)、 Ca^{2+} 等第二信使,发挥多

种功能。PMN 细胞膜表达的 PACAP 受体是百日咳毒素敏感的 G 蛋白偶联受体。其中, $G_{\alpha i}/G_{\alpha q}$ 蛋白参与了 PACAP 介导的 PMN 胞内 Ca^{2+} 浓度升高。

PACAP 介导的 PMN 胞内 Ca^{2+} 浓度升高有 2 条途径。一条是 IP3 敏感的胞内钙储池 Ca^{2+} 的释放。保持 IP3 激酶(IP3K)的活性是这条通路信号得以正常传递的前提。PMN 有 2 种 IP3K 亚型:1_A IP3K 和 1_B IP3K。前者受内源性酪氨酸激酶或 src 类似的激酶调节,后者受 G 蛋白调节。PMN 中 IP3K 敏感的胞内 Ca^{2+} 浓度升高主要受前者调节。细胞外信号调节激酶(ERK)可能是这条途径的下游信号。ERK 途径的激活可以介导纤维蛋白原刺激的 PMN 激活,但对 IL-1 β 和 fMLP 刺激的 PMN 激活无效。另一条是通过 L 型钙离子通道引起的胞外 Ca^{2+} 内流。酪氨酸激酶的活性是这条途径通畅的关键。p38 可能是这条途径的下游信号。这 2 条途径对 PACAP 调节的 Ca^{2+} 介导的 PMN 激活都是必须的。ERK 途径调节 PMN 活化,p38 途径与 PMN 活性氧的产生有关^[15]。

2.3 钙调蛋白调节的 Ca^{2+} 信号通路

CaM 是 Ca^{2+} 下游效应因子。CaM 与 Ca^{2+} 结合后激活,并改变其空间构象。激活后的 CaM 与 Ca^{2+} /CaM 依赖的激酶(CaMK)结合产生生物作用。PMN 表达多种 CaMK,其中 Ca^{2+} /CaM 依赖性蛋白激酶 I 样激酶(CaMK I-like kinase, CKLiK)和 Ca^{2+} /CaM 依赖性蛋白激酶激酶(CaMKK)高表达,CaMK II 和 CaMK I 低表达,CaMK IV 未见表达。

近年的研究发现,CaM 参与了 Ca^{2+} /CaM-蛋白激酶 B(PKB)Ser473 和 Thr308 磷酸化-PMN 的迁移和激活的信号转导通路,并在其中起了关键作用。另外,CaM 还可能部分参与了 ERK2 信号转导通路,但未有实验结果证明 CaM 参与了 p38 MAPK 的信号转导通路^[16]。

3 PMN 凋亡延迟在 ALI 中的作用机制

PMN 在循环系统中可以存活 6~8 h,以细胞凋亡的形式清除。正常条件下,激活的 PMN 在病原体消除后很快就会被机体清除,但是某些炎症因子如 LPS、TNF、IL-8、IL-6、IL-1、GM-CSF 抑制 PMN 的凋亡。凋亡的延迟有利于 PMN 在 ALI 发生过程中向肺组织聚集,并有时间充分发挥生物效应。但 PMN 凋亡在不同原因诱发 ALI 中的作用不完全相同。在脓血症等由微生物诱发的 ALI 中,PMN 的凋亡延迟

不仅不会恶化 ALI 的程度,反而由于增强了清除微生物的能力而提高存活率。但在炎症或非感染性因素诱发的 ALI 中(如 LPS 诱发的 ALI),PMN 的凋亡延迟能够增加肺组织的炎症反应,从而增加肺损伤的严重程度,降低存活率^[17]。由于 PMN 在 ALI 中的重要作用,PMN 凋亡延迟的作用机制日益引起研究者的关注。

3.1 抗 IL-8: IL-8免疫复合物延迟 PMN 的凋亡

ALI 发生后,肺组织内出现多种炎症因子,IL-8 是其中之一。然而在 ALI 患者的肺泡液内却发现了抗 IL-8 的自身抗体,即抗 IL-8: IL-8免疫复合物。此复合物能够延迟 PMN 的凋亡^[18]。

Bcl-2 蛋白激酶家族参与了 PMN 的凋亡。这个家族可以分为 2 大类:抗凋亡蛋白(Bcl-2、Bcl-X_L、Mcl-1、A1/Bfl-1 等)和凋亡前体蛋白(Bax、Bak、Bad、Bik、Bid 等),二者均通过半胱天冬酶(caspase)-3 调节 PMN 的凋亡。抗 IL-8: IL-8免疫复合物上调 Bcl-X_L,下调 Bax 和 Bak,抑制 caspase-3 和 caspase-9 的活性,这些都有利于 PMN 凋亡延迟^[18]。

FcγR II α 信号转导途径在抗 IL-8: IL-8免疫复合物延迟 PMN 凋亡过程中发挥了重要作用。FcγR II α 是 IgG 的受体,在 PMN 上有表达。抗 IL-8: IL-8免疫复合物激活 FcγR II α 后,Src 酪氨酸激酶家族首先被激活,随后激活 Syk 酪氨酸激酶。磷酸化的 Syk 激活 ERK1/2 或者激活 PI3K 进一步激活 Akt 这两条途径改变 Bcl-2 蛋白激酶家族成员的表达和(或)活性,随后改变了 PMN 的趋化性、脱颗粒作用和呼吸爆发作用,最终延迟 PMN 凋亡^[18]。

3.2 PMN 跨越内皮-上皮屏障延迟 PMN 凋亡

PMN 在 ALI 发生后在肺泡内的聚集需要跨越内皮-上皮屏障。在这个过程中,PMN 凋亡延迟。PMN 凋亡延迟与 IL-8、fMLP、LB₄ 等化学诱导物无关。PMN 跨越内皮-上皮屏障后,PMN 凋亡相关的基因表达有利于凋亡延迟,同时与凋亡相关的 caspase-3、-8、-9 活性显著降低,Fas 配体和 TNF 受体 1 表达下调,这些均有利于 PMN 凋亡延迟^[19]。

3.3 髓过氧化物酶延迟 PMN 的凋亡

髓过氧化物酶(MPO)是一种血红素蛋白,在 PMN 上大量表达,在体内发挥很多生物功能。一方面,MPO 通过催化形成的次氯酸可以杀死病原微生物并通过诱导细胞凋亡和坏死发挥组织损伤的作用。另一方面,MPO 还能通过形成次级氧化物进而导致酪氨酸残基硝基化,参与血管系统中的细胞间

信号转导。

近年的研究发现,在角叉藻聚糖诱发的 ALI 中,MPO 通过延迟 PMN 的凋亡增加 PMN 在肺泡内的聚集,破坏组织,增加炎症 ALI 的严重程度。

MPO 延迟 PMN 凋亡的机制与其催化作用及其催化产物无关,主要通过整合素 CD11b/CD18 介导。研究发现,抗 CD11b 抗体不但可以阻断 MPO 与 PMN 结合及随后 PMN 脱颗粒和超氧化物的产生,并且可以预防 MPO 的延迟 PMN 凋亡作用。但是,如果仅仅阻断 MPO 的催化作用并不能影响 MPO 的抗凋亡作用^[20]。

PMN 凋亡涉及复杂的信号转导通路,包括 ERK、Akt、p38、MAPK 途径。MPO 延迟 PMN 凋亡可能更多地涉及 ERK、Akt 途径。MPO 诱导 ERK1/2 和 Akt 快速磷酸化,导致凋亡前体蛋白 Bad 的 Ser112 和 Ser116 磷酸化,磷酸化的 Bad 预防线粒体功能低下和 caspase-3 激活。另外,磷酸化的 Bad 还能防止其与抗凋亡蛋白 Bcl-2 和 Mcl-1 发生联系,使它们更好地发挥抗凋亡作用^[20]。

3.4 NF-κB 信号转导途径参与 PMN 凋亡延迟

在内毒素、缺血再灌注等因素诱发的 ALI 中,NF-κB 激活 PMN 及其他炎症细胞,特别是引起的 PMN 凋亡延迟在 ALI 的形成中发挥重要作用。

内毒素诱发 ALI 后,肺内 PMN 凋亡降低。基因阵列分析表明,PMN 中抗凋亡基因的表达增加。其中 Bcl-2 家族的抗凋亡蛋白 A1 和锌指蛋白 A20 的 mRNA 数量增加了 100 多倍,Bcl-2、Bcl-xL 和 Mcl-1 的 mRNA 数量也有不同程度的增加。而凋亡前体蛋白 Bad 和 Bid 的 mRNA 数量却有不同程度的减少。PMN 中蛋白的表达也呈现出相似的趋势。除 Bcl-2 表达的增加没有显著差异外,抗凋亡蛋白 A1、锌指蛋白 A20、Bcl-xL 和 Mcl-1 的蛋白表达均显著增加。如果 NF-κB 抑制剂 BMS 205820 抑制 NF-κB 的活性,肺内 PMN 的数量没有明显变化,凋亡的 PMN 比例增加。除 Mcl-1,内毒素诱发抗凋亡蛋白 A1、锌指蛋白 A20 和 Bcl-xL 的蛋白表达增加消失。这些结果表明,NF-κB 激活参与了 PMN 凋亡延迟,并在其中发挥了重要作用^[21]。

ALI 时,PMN 游出血管到达肺组织后在肺内聚集,PMN 凋亡延迟,肺组织 PMN 增多。PMN 存活时间延长与 ALI 的发生可能有密切关系。因为游出的 PMN 处于激活状态,持续释放毒性内容物(如蛋白水解酶、活性氧自由基、炎症因子等),从而造成继

发性肺组织损伤。活化的 PMN 存在时间长短是决定其在肺内聚集程度和损伤效应大小的一个重要因素^[22]。

4 结语

ALI 发病机制的研究已取得明显进展,确立了 PMN 在多种病因所致 ALI 中所起的关键作用。近年来的研究更是从整合素、Ca²⁺/CaM 的信号通路及 PMN 凋亡延迟等方面对 PMN 在 ALI 中的作用机制进行了很多深入的探索,对于阐明 ALI 的发病机制及相关防治措施的研究提供了很多有益的研究思路。但是,由于 ALI 发病机制复杂,目前的研究仍未全面阐明 ALI 发病机制,有些研究结果相互矛盾,如 PMN 在感染性 ALI 和非感染性 ALI 中的不同作用;整合素既参与血管内皮细胞间连接的构建又介导 PMN 黏附和激活;S1P 既可以降低血管内皮屏障的通透性又参与 PMN 激活。这些信号通路的作用需要进一步研究。此外,ALI 时 PMN 黏附、游出、激活并介导肺损伤过程中,不同阶段的详细机制还有待于进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Luh SP, Chiang CH. Acute lung injury/acute respiratory distress syndrome (ALI/ARDS): the mechanism, present strategies and future perspectives of therapies [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2007, 8(1):60-69.
- [2] Sims TN, Dustin ML. The immunological synapse: integrins take the stage[J]. *Immunol Res*, 2002, 186(1):100-117.
- [3] Wagner JG, Roth RA. Neutrophil migration mechanisms, with an emphasis on the pulmonary vasculature [J]. *Pharmacol Rev*, 2000, 52(3):349-374.
- [4] Hidalgo A, Chang J, Jang JE, et al. Heterotypic interactions enabled by polarized neutrophil microdomains mediate thromboinflammatory injury[J]. *Nat Med*, 2009, 15(4):384-391.
- [5] Gao XP, Liu Q, Broman M, et al. Inactivation of CD11b in a mouse transgenic model protects against sepsis-induced lung PMN infiltration and vascular injury[J]. *Physiol Genomics*, 2005, 21(2):230-242.
- [6] Xu N, Rahman A, Minshall RD, et al. β_2 -Integrin blockade drive by E-selectin promoter prevent neutrophil sequestration and lung injury in mice[J]. *Circ Res*, 2000, 87(3):254-260.
- [7] Miotla JM, Williams TJ, Hellewell PG, et al. A role for the beta2 integrin CD11b in mediating experimental lung injury in mice [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1996, 14(4):363-373.
- [8] Miller LA, Barnett NL, Sheppard D, et al. Expression of the β_6 integrin subunit Is associated with sites of neutrophil influx in lung epithelium[J]. *J Histochem Cytochem*, 2001, 49(1):41-47.
- [9] Ridings PC, Bloomfield GL, Holloway S, et al. Sepsis-induced acute lung injury is attenuated by selectin blockade following the onset of sepsis[J]. *Arch Surg*, 1995, 130(11):1199-1208.
- [10] Kim CH, Lee KH, Lee CT, et al. Aggregation of β_2 integrins activates human neutrophils through the I κ B/ NF- κ B pathway [J]. *J Leukoc Biol*, 2004, 75(2):286-292.
- [11] Lee C, Xu DZ, Feketeova E, et al. Calcium entry inhibition during resuscitation from shock attenuates inflammatory lung injury[J]. *Shock*, 2008, 30(1):29-35.
- [12] Liu HB, Cui NQ, Wang Q, et al. Sphingosine-1-phosphate and its analogue FTY720 diminish acute pulmonary injury in rats with acute necrotizing pancreatitis [J]. *Pancreas*, 2008, 36(3):e10-e15.
- [13] Tauseef M, Kini V, Knezevic N, et al. Activation of sphingosine kinase-1 reverses the increase in lung vascular permeability through sphingosine-1-phosphate receptor signaling in endothelial cells[J]. *Circ Res*, 2008, 103(10):1164-1172.
- [14] Birchwood CJ, Saba JD, Dickson RC, et al. Calcium influx and signaling in yeast stimulated by intracellular sphingosine 1-phosphate accumulation[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(15):11712-11718.
- [15] Harfi I, Corazza F, D'Hondt S, et al. Differential calcium regulation of proinflammatory activities in human neutrophils exposed to the neuropeptide pituitary adenylate cyclase-activating protein [J]. *J Immunol*, 2005, 175(6):4091-4102.
- [16] Verploegen S, van Leeuwen CM, van Deutekom HWM, et al. Role of Ca²⁺/calmodulin regulated signaling pathways in chemoattractant induced neutrophil effector functions. Comparison with the role of phosphatidylinositol-3 kinase [J]. *Eur J Biochem*, 2002, 269(18):4625-4634.
- [17] Perl M, Lomas-Neira J, Chung CS, et al. Epithelial cell apoptosis and neutrophil recruitment in acute lung injury-a unifying hypothesis? What we have learned from small interfering RNAs[J]. *Mol Med*, 2008, 14(7/8):465-475.
- [18] Fudala R, Krupa A, Matthay MA, et al. Anti-IL-8 autoantibody: IL-8 immune complexes suppress spontaneous apoptosis of neutrophils[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007, 293(2):L364-L374.
- [19] Hu M, Lin X, Du Q, et al. Regulation of polymorphonuclear leukocyte apoptosis: role of lung endothelium-epithelium bilayer transmigration[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005, 288(2):L266-L274.
- [20] El Kebir D, Jzef L, Pan W, et al. Myeloperoxidase delays neutrophil apoptosis through CD11b/CD18 integrins and prolongs inflammation[J]. *Circ Res*, 2008, 103(4):352-359.
- [21] Kupfner JG, Arcaroli JJ, Yum HK, et al. Role of NF- κ B in endotoxemia-induced alterations of lung neutrophil apoptosis[J]. *J Immunol*, 2001, 167(12):7044-7051.
- [22] Lu Q, Harrington EO, Rounds S. Apoptosis and lung injury[J]. *Keio J Med*, 2005, 54(4):184-189.