



扫码阅读电子版

甲泼尼龙预处理对机械通气相关性肺损伤大鼠 JNK 信号通路的影响

崔秀玲 瞿敏 托景堂

沧州市中心医院麻醉二科 061001

通信作者: 瞿敏, Email: quminhayida@163.com

【摘要】 **目的** 观察甲泼尼龙预处理对大鼠机械通气相关性肺损伤的影响, 并探讨其机制。**方法** 将 80 只 SD 大鼠采用随机数字表法分为 4 组: 对照组 (C 组)、机械通气组 (V 组)、甲泼尼龙组 (Mp 组)、JNK 抑制剂 SP600125 + 甲泼尼龙组 (SMp 组)。C 组不行机械通气, 自然呼吸空气; V 组大潮气量机械通气 4 h, 吸入氧浓度为 21%; SMp 组机械通气前 30 min 给予 SP600125 30 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 皮下注射; Mp 组与 SMp 组机械通气前 10 min 分别静注甲泼尼龙 10 mg/kg。于插管即刻、机械通气 1、2 和 4 h 时采集股动脉血样, 进行动脉血气分析, 记录 PaO_2 , 计算氧合指数 (OI)。机械通气 4 h 时处死大鼠, 回收支气管肺泡灌洗液 (BALF), 检测 BALF 中总蛋白、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 和巨噬细胞炎性蛋白 2 (MIP-2) 的浓度; 测定肺通透指数 (LPI), 取左肺下叶, 测定肺湿/干重比值 (W/D); 测定肺组织髓过氧化物酶 (MPO) 活性, 检测细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 的表达水平。采用 Western blot 法检测 JNK、p-JNK 表达水平。采用 RT-PCR 法检测 JNK mRNA 表达水平。光镜下观察肺组织病理学结果, 测定肺泡损伤率 (AIR)。**结果** 与 C 组比较, V 组 SMp 组 OI 降低, W/D、LPI、AIR、AI、MPO、ICAM-1 升高, BALF 中总蛋白、TNF- α 和 MIP-2 的浓度升高, p-JNK 和 JNK mRNA 表达升高 ($P < 0.05$), 上述指标 Mp 组差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与 V 组比较, Mp 组与 SMp 组 OI 升高, W/D、LPI、AIR、AI、MPO、ICAM-1 降低, BALF 中总蛋白、TNF- α 和 MIP-2 浓度降低, p-JNK 和 JNK mRNA 表达下调, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 Mp 组比较, SMp 组 OI 降低, W/D、LPI、AIR、MPO、ICAM-1 升高, BALF 中总蛋白、TNF- α 和 MIP-2 浓度升高, p-JNK 和 JNK mRNA 表达上调 ($P < 0.05$); 与 C 组比较, V 组与 SMp 组肺组织病理损伤较重, 与 V 组比较 Mp 组肺组织病理损伤减轻, SMp 组病理损伤位于 V 组与 Mp 组之间。**结论** 甲泼尼龙可通过抑制肺组织 JNK 磷酸化来减轻大鼠机械通气相关性肺损伤。

【关键词】 甲泼尼龙; 呼吸, 人工; JNK 丝裂原活化蛋白激酶类; 肺损伤

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2019.11.009

Effect of pretreatment with methylprednisolone on JNK signaling pathway in rats with mechanical ventilation-related lung injury

Cui Xiuling, Qu Min, Tuo Jingtang

The Second Department of Anesthesiology, Cangzhou Center Hospital, Cangzhou 061001, China

Corresponding author: Qu Min, Email: quminhayida@163.com

【Abstract】 **Objective** To observe the effect of methylprednisolone pretreatment on mechanical ventilation-related lung injury in rats, and to explore its mechanism. **Methods** Eighty SD rats were randomly divided into four groups: control group (group C), mechanical ventilation group (group V), methylprednisolone group (group Mp), JNK inhibitor SP600125 + methylprednisolone group (group SMp). Group C does not mechanically ventilate and naturally breathes air. Group V: high tidal volume mechanical ventilation for 4h, inhalation of oxygen concentration of 21%. SP600125 30 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ subcutaneous injection was given 30 min before mechanical ventilation in group SMp. Group Mp and group SMp: 10 mg/kg of methylprednisolone was injected intravenously 10 min before mechanical ventilation. Femoral arterial blood samples

were collected immediately after intubation, mechanical ventilation at 1, 2, and 4 h, arterial blood gas analysis was performed, PaO₂ was recorded, and oxygenation index (OI) was calculated. Rats were sacrificed 4 hours after mechanical ventilation, and alveolar bronchial lavage fluid (BALF) was recovered to detect the concentration of total protein, TNF- α and macrophage inflammatory protein-2 (MIP-2) in BALF. The lung permeability index (LPI) was measured, and the left lower lobe was taken to determine the lung wet/dry weight (W/D) ratio. The activity of myeloperoxidase (MPO) in lung tissue was measured, and the expression level of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) was examined. The expression levels of JNK and p-JNK were detected by Western blot. The expression level of JNK mRNA was detected by RT-PCR. The pathological findings of lung tissue were observed under light microscope to determine the alveolar damage rate (AIR). **Results** Compared with group C, OI decreased, W/D ratio, LPI, AIR, AI, MPO, ICAM-1 increased. Increased concentration of total protein, TNF- α and MIP-2 in BALF, and p-JNK and JNK mRNA expression were up-regulated in group SMp of group V ($P < 0.05$). There was no significant difference in the above indexes between the group Mp ($P > 0.05$). Compared with group V, in group Mp and group SMp, OI increased, W/D ratio, LPI, AIR, AI, MPO, ICAM-1 decreased. The concentration of total protein, TNF- α and MIP-2 in BALF is reduced, and p-JNK and JNK mRNA expression were down-regulated, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Compared with the group Mp, in the group SMp, the OI decreased, the W/D ratio, LPI, AIR, AI, MPO, ICAM-1 increased. The concentration of total protein, TNF- α and MIP-2 in BALF is increased, and the expression of p-JNK and JNK mRNA were up-regulated ($P < 0.05$). Compared with group C, the pathological damage of lung tissue in group V and group SMp was heavier. Compared with group V, the pathological damage of lung tissue in group Mp was alleviated. The pathological damage of group SMp was between group V and group Mp. **Conclusions** Methylprednisolone can alleviate the mechanical ventilation-related lung injury in rats, and its mechanism is related to the inhibition of JNK phosphorylation in lung tissue.

【Key words】 Methylprednisolone; Respiratory, artificial; JNK mitogen-activated protein kinases; Lung injury

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2019.11.009

机械通气是救治危重症患者及术中呼吸支持的重要手段,同时机械通气还可导致肺损伤或加重原有的肺损伤称为机械通气相关性肺损伤^[1]。c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)是丝裂原激活蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)家族重要成员之一,广泛参与免疫反应、细胞分化和凋亡、胚胎发育等多种生理病理过程。有报道指出, JNK信号通路参与了机械通气相关性肺损伤的发生^[2-3]。甲泼尼龙属中效糖皮质激素是治疗各种炎性疾病的常用药物,具有强大的抗炎及免疫抑制作用,能有效消除肺组织水肿,能减轻呼吸机相关性肺损伤^[2]。本研究通过制备大鼠大潮气量机械通气急性肺损伤模型,观察甲泼尼龙预处理对大鼠肺组织炎症、水肿、细胞凋亡的影响,并探讨其机制,为临床用药提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物来源、分组及处理 清洁级雄性 SD

大鼠 80 只,购至河北省实验动物中心,实验动物合格证号: SCXK(冀) 2015-0007,批号: 37001800000321,体质量 250~300 g。所有大鼠均按照实验动物管理和使用指南进行饲养和处理,于恒温环境中饲养,自由饮水和进食。实验经沧州市中心医院伦理委员会核实批准。将 80 只大鼠采用随机数字表法分为对照组(C组)、机械通气组(V组)、甲泼尼龙(意大利 Pfizer Manufacturing Belgium NV 公司)组(Mp组)、SP600125+甲泼尼龙组(SMp组),各 20 只。C组不行机械通气,自主呼吸空气 4 h; V组、Mp组、SMp组大潮气量机械通气 4 h,机械通气前 30 min, SP600125+甲泼尼龙组(SMp组)给予 JNK 抑制剂 SP600125(中国深圳晶美公司) 30 μ g/100 g 皮下注射;机械通气前 20 min, Mp组、SMp组分别静脉输注甲泼尼龙 10 mg/kg; V组静脉给予等容量 0.9%氯化钠。

1.2 观察指标

1.2.1 氧合指数(oxygenation index, OI) 采集各组大鼠插管即刻及机械通气 1、2、4 h 时

(T1-4) 股动脉血样 0.2 ml 采用 i-STAT1 型血气分析仪 (美国雅培公司) 行血气分析, 记录 PaO₂ 并计算 OI。OI=PaO₂/FiO₂。

1.2.2 支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 中蛋白含量、肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α)、巨噬细胞炎性蛋白-2 (macrophage inflammatory protein-2, MIP-2)、肺通透指数 (lung permeability index, LPI) 及肺湿/干重 (wet/dry weight, W/D) T4 时取各组大鼠股动脉血样 2 ml 4 °C 下 3 000 r/min 离心 15 min, 离心半径 7.9 cm, 分离血清测定血浆蛋白浓度。取血后按照实验动物伦理学要求经动脉放血处死大鼠, 开胸结扎大鼠右侧肺门, 采用 4 ml 生理盐水灌洗左肺 3 次, 回收 BALF, 于 4 °C 下 1 500 r/min 离心 10 min, 离心半径 15 cm, 取上清液, -80 °C 保存。采用双抗体夹心酶联免疫吸附法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测 BALF 中的 TNF-α 和 MIP-2 的浓度。采用考马斯亮蓝法检测 BALF 中蛋白含量。LPI=BALF 蛋白浓度/血浆蛋白浓度。取左肺下叶称肺湿重, 然后置于 75 °C 干燥箱中 48 h 烤至恒重后称干重, 计算 W/D。

1.2.3 髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 与细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 取出右肺中叶, 迅速存于液氮中以备匀浆, 按重量体积比 1:19 加入缓冲液制备 5% 组织匀浆, 测定肺组织 MPO 活性。取肺组织切片, 采用免疫组织化学法检测 ICAM-1 的表达水平。

1.2.4 肺组织细胞凋亡指数 (apoptotic index, AI) 采用 TUNEL 法光镜下随机选取各组大鼠肺泡区 10 个高倍视野 (×400), 观察细胞凋亡情况, 计算 AI, AI=凋亡阳性细胞数/细胞总数×100%。

1.2.5 肺组织病理学观察及肺泡损伤率 (alveolar injury rate, AIR) 取各组大鼠右肺下叶组织左肺下叶约 (1.0 cm×1.0 cm×1.0 cm) 组织, 经甲醛固定、石蜡包埋、切片、HE 染色, 光镜下 (×200) 观察肺组织病理学结果。光镜下连续观察 200 个肺泡计算 AIR, 即损伤肺泡计数占总肺泡计数的百分比。

1.2.6 RT-PCR 法检测肺组织 JNK mRNA 表达 取大鼠右肺上叶组织 100 mg, 采用 TRIzol 法提取总 RNA, 按照逆转录试剂盒 (美国 Fermentas Life Science 公司) 行 cDNA 扩增。采

用 primer 5.0 软件设计内参 β-actin 及 JNK 引物。β-actin (产物片断 405 bp): 上游引物序列为 5'-ATGGTATTCTTGCCTGAC-3', 下游引物序列为 5'-AATGTACGTGGATACTGAG-3'; JNK (产物片断 400 bp): 上游引物序列为 5'-AATCCTGAGCAAAGCTGAGAAC-3', 下游引物序列为 5'-CGTACAAAACCAATCACG-AGAA-3'。PCR 反应条件: 95 °C、10 min, 95 °C、30 s, 55 °C、30 s, 72 °C、30 s, 33 个循环后 72 °C、10 min。4 °C 终止反应。采用 Imager 图像分析仪测定各条带吸光度值, 以 JNK 吸光度值与 β-actin 吸光度值之比代表 JNK mRNA 的表达水平。

1.2.7 Western blotting 法检测 JNK、磷酸化 JNK (p-JNK) 表达 取各组大鼠右肺上叶组织 100 mg, BCA 标准曲线法测定蛋白浓度, 取 40 μg 蛋白上样经 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳后转至硝酸纤维素膜, 室温下用封闭液封闭 2 h 后加入一抗 (美国 Santa Cruz 公司) 兔抗大鼠 p-JNK、JNK、β-actin 稀释度 (1:500), 4 °C 过夜。次日洗膜后加入山羊抗兔二抗 (中国北京中杉金桥生物科技有限公司) 稀释度 (1:500), 室温孵育 1.5 h, 再次洗膜后置于 NBT/BCIP 显色液避光显色, 扫描蛋白印记图, 采用 Reveal 型 Imager 图像分析仪 (美国 Bio-Rad 公司) 进行半定量分析, 以目的蛋白条带吸光值比内参 β-actin 条带吸光值来反应目的蛋白表达水平。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件包进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 OI 比较 SMp 组与 V 组 T3、T4 时 OI 较 T1 时降低 ($F = 12.16, P < 0.05$); V 组与 SMp 组 T3、T4 时 OI 较 C 组降低 ($F = 11.95, P < 0.05$); 与 V 组比较, Mp 组与 SMp 组 T3、T4 时 OI 升高 ($F = 10.86, P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠各时点 OI 比较 (mmHg, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	T1	T2	T3	T4
C 组	20	585±33	565±25	561±31	553±25
V 组	20	583±32	503±28	251±13 ^{ab}	213±11 ^{ab}
Mp 组	20	581±29	574±33	559±21 ^c	548±15 ^c
SMp 组	20	586±34	521±26	271±14 ^{ab}	224±13 ^{ab}

注: 1 mmHg=0.133 kPa; C 组为对照组; V 组为机械通气组; Mp 组为甲泼尼龙组; SMp 组为 SP600125+甲泼尼龙组; OI 为氧合指数; 与 T1 时比较, $F = 12.16, ^aP < 0.05$; 与 C 组比较, $F = 11.95, ^bP < 0.05$; 与 V 组比较, $F = 10.86, ^cP < 0.05$

2.2 各组大鼠 W/D、LPI、AIR、ICAM-1、MPO 比较 与 C 组比较, V 组与 SMp 组肺组织 W/D、LPI、AIR、ICAM-1、MPO 升高 ($F = 4.05、3.78、12.95、4.10、3.14, P$ 值均 < 0.05), Mp 组上述指标差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与 V 组比较, Mp 组与 SMp 组肺组织 W/D、LPI、AIR、ICAM-1、MPO 降低 ($F = 4.05、3.78、12.95、4.10、3.14, P$ 值均 < 0.05); 与 Mp 组比较, SMp 组肺组织 W/D、LPI、AIR、ICAM-1、MPO 升高 ($F = 4.05、3.78、12.95、4.10、3.14, P$ 值均 < 0.05), 见表 2。

2.3 各组大鼠 BALF 中总蛋白、TNF- α 、MIP-2 浓度的比较 与 C 组比较, V 组与 SMp 组 BALF 中总蛋白、TNF- α 、MIP-2 升高 ($F = 19.45、13.68、12.53, P$ 值均 < 0.05), Mp 组上述指标差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与 V 组比较, Mp 组与 SMp 组 BALF 中总蛋白、TNF- α 、MIP-2 浓度降低 ($F = 19.45、13.68、12.53, P$ 值均 < 0.05); 与 Mp 组比较, SMp 组 BALF 中总蛋白、TNF- α 、MIP-2 浓度升高 ($F = 19.45、13.68、12.53, P$ 值均 < 0.05), 见表 3。

2.4 各组大鼠肺组织病理学观察结果 光镜下 C 组肺组织形态正常, 肺泡完整, 肺泡腔无渗出及出血, 肺间质未见增厚水肿, 罕见中性粒细胞。V 组肺泡结构紊乱, 肺间质水肿, 肺泡间隔增厚, 肺泡内出血、水肿、红细胞漏出、炎性细胞浸润。Mp

组较 V 组病理损伤减轻, 肺泡形态正常, 肺泡间隔轻微增厚, 肺间质轻度水肿, 肺泡腔无明显出血及渗出, 罕见中性粒细胞。SMp 组肺损伤介于 V 组与 Mp 组之间。见图 1。

表 3 各组大鼠 BALF 中总蛋白、TNF- α 、MIP-2 浓度的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	总蛋白 (mg/L)	TNF- α (ng/L)	MIP-2 (ng/L)
C 组	20	335.12 \pm 24.5	74.36 \pm 4.21	138.85 \pm 19.32
V 组	20	759.23 \pm 49.13 ^a	152.39 \pm 9.19 ^a	436.65 \pm 31.52 ^a
Mp 组	20	359.36 \pm 28.25 ^b	81.85 \pm 8.31 ^b	146.39 \pm 26.22 ^b
SMp 组	20	489.39 \pm 33.43 ^{abc}	118.72 \pm 5.31 ^{abc}	284.62 \pm 18.36 ^{abc}
F 值		19.45	13.68	12.53
P 值		0.00	0.00	0.00

注: C 组为对照组; V 组为机械通气组; Mp 组为甲泼尼龙组; SMp 组为 SP600125 + 甲泼尼龙组; BALF 为支气管肺泡灌洗液; TNF- α 为肿瘤坏死因子- α ; MIP-2 为巨噬细胞炎性蛋白-2; 与 C 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 V 组比较, ^b $P < 0.05$; 与 Mp 组比较, ^c $P < 0.05$

2.5 各组大鼠肺组织 JNK、p-JNK 蛋白及 JNK mRNA 表达比较 4 组大鼠肺组织 JNK 表达水平差异无统计学意义 ($F = 1.13, P > 0.05$); 与 C 组比较, V 组和 SMp 组肺组织 p-JNK 和 JNK mRNA 表达上调 ($F = 3.78、3.29, P$ 值均 < 0.05), Mp 组上述指标差异无统计学意义 ($F = 3.78、3.29, P$ 值均 > 0.05); 与 V 组比较, Mp 组与 SMp 组肺组织 p-JNK 和 JNK mRNA 表达下调 ($F = 3.78、3.29, P$ 值均 < 0.05); 与 Mp 组比较, SMp 组肺组织 p-JNK 和 JNK mRNA 表达

表 2 各组大鼠 W/D、LPI、AIR、ICAM-1、MPO 的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	W/D	LPI ($\times 10^{-3}$)	AIR (%)	ICAM-1 (μ g/L)	MPO (U/g)
C 组	20	4.58 \pm 0.21	2.17 \pm 0.24	14.88 \pm 3.22	1.75 \pm 0.21	0.84 \pm 0.86
V 组	20	8.73 \pm 0.37 ^a	5.41 \pm 0.51 ^a	41.93 \pm 8.17 ^a	6.48 \pm 1.51 ^a	1.95 \pm 0.16 ^a
Mp 组	20	4.74 \pm 0.21 ^b	2.37 \pm 0.17 ^b	15.75 \pm 3.44 ^b	2.15 \pm 0.51 ^b	0.89 \pm 0.95 ^b
SMp 组	20	5.87 \pm 0.29 ^{abc}	4.04 \pm 0.31 ^{abc}	28.77 \pm 5.45 ^{abc}	4.13 \pm 0.92 ^{abc}	1.21 \pm 0.12 ^{abc}
F 值		4.05	3.78	12.95	4.10	3.14
P 值		0.01	0.02	0.00	0.01	0.02

注: C 组为对照组; V 组为机械通气组; Mp 组为甲泼尼龙组; SMp 组为 SP600125 + 甲泼尼龙组; W/D 为湿/干比值; LPI 为肺通透指数; AIR 为肺泡损伤率; ICAM-1 为细胞间黏附分子-1; MPO 为髓过氧化物酶; 与 C 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 V 组比较, ^b $P < 0.05$; 与 Mp 组比较, ^c $P < 0.05$

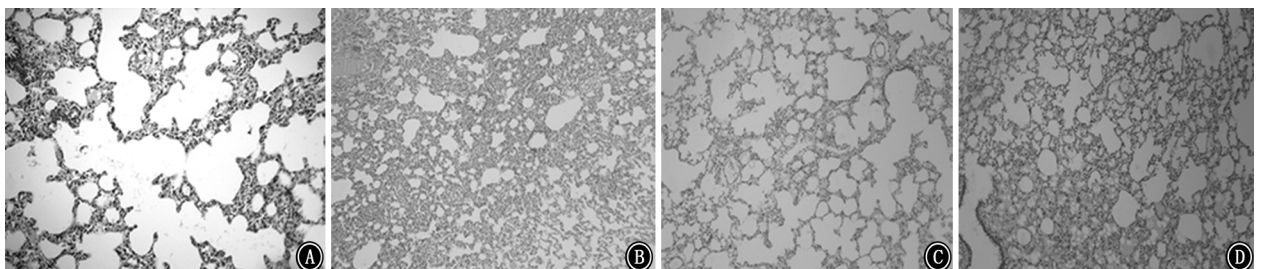


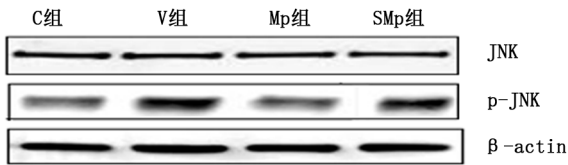
图 1 肺组织病理学变化 HE $\times 200$ A: 对照组; B: 机械通气组; C: 甲泼尼龙组; D: SP600125 + 甲泼尼龙组

下调 ($F = 3.78、3.29, P$ 值均 < 0.05), 见表 4、图 2。

表 4 各组大鼠肺组织 JNK、p-JNK 蛋白及 JNK mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	JNK	p-JNK	JNK mRNA
C 组	20	0.73 ± 0.04	1.04 ± 0.15	0.38 ± 0.03
V 组	20	0.75 ± 0.07	2.91 ± 0.44 ^a	0.99 ± 0.13 ^a
Mp 组	20	0.71 ± 0.05	1.25 ± 0.22 ^b	0.42 ± 0.06 ^b
SMp 组	20	0.78 ± 0.09	1.96 ± 0.31 ^{abc}	0.71 ± 0.09 ^{abc}
F 值		1.13	3.78	3.29
P 值		0.56	0.01	0.02

注: C 组为对照组; V 组为机械通气组; Mp 组为甲泼尼龙组; SMp 组为 SP600125 + 甲泼尼龙组; JNK 为 c-Jun 氨基末端激酶; p-JNK 为磷酸化 JNK; 与 C 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 V 组比较, ^b $P < 0.05$; 与 Mp 组比较, ^c $P < 0.05$



注: C 组为对照组; V 组为机械通气组; Mp 组为甲泼尼龙组; SMp 组为 SP600125 + 甲泼尼龙组; JNK 为 c-Jun 氨基末端激酶; p-JNK 为磷酸化 JNK

图 2 各组大鼠肺组织 JNK、p-JNK 表达水平

2.6 各组大鼠肺组织 TUNEL 检测结果比较 C 组未出现明显细胞凋亡, V 组 TUNEL 阳性细胞表达明显增加, Mp 组 TUNEL 阳性细胞表达明显降低, SMp 组 TUNEL 阳性细胞表达介于 V 组与 Mp 组之间。见图 3。

3 讨论

一方面过度机械通气可直接造成肺组织发生机械损伤^[4-8], 另一方面还介导肺组织发生以炎性细胞浸润、细胞因子表达增加等改变的生物学损伤^[9-11]。W/D、LPI 可反映肺组织的水肿情况, MPO 是由中性粒细胞分泌的血红素蛋白酶, 其活性反映组织中中性粒细胞激活程度^[12]; ICAM-1 可

促进白细胞黏附、扣押于肺泡区域, 导致肺实质细胞损伤及持续细胞因子释放^[13-14]; BALF 中总蛋白浓度、TNF- α 和 MIP-2 浓度反应肺组织炎症反应程度^[15]。

本研究结果显示, 随着机械通气时间的延长 V 组大鼠 OI 逐渐下降, T4 时与 C 组比较, V 组大鼠 AI、W/D、AIR、LPI 均明显升高, BALF 中总蛋白浓度、TNF- α 和 MIP-2 浓度升高, MPO 与 ICAM-1 表达升高, 肺组织病理损伤较重, 细胞凋亡显著增加, 提示大鼠大潮气量机械通气相关性肺损伤模型制备成功。本研究参照文献 [16] 并结合预实验结果选择甲泼尼龙的剂量与用法, 依据文献 [17] 选择 SP600125 的剂量与用法。研究结果显示, 与 V 组比较, Mp 组随着机械通气时间的延长 OI 逐渐升高, T4 时肺组织 AIR、LPI、W/D、AI 均降低, 光镜下示肺组织病理学损伤减轻, TUNEL 法示细胞凋亡减少, 与 Mp 组比较, SMp 组肺损伤较重。该结果提示甲泼尼龙具有肺保护作用, JNK 信号通路抑制剂一定程度上可逆转甲泼尼龙的肺保护作用。

MAPK 属于丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶类, 主要位于真核细胞细胞质中, 可将细胞外刺激信号传递到细胞核, 可介导细胞间信息传递, 在增殖、分化、转化、炎症以及凋亡等多种细胞过程中发挥关键性作用。MAPK 有 20 多种亚型, 如 p38MAPK、JNK、细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 1/2、ERK5 等。多种刺激可使 MAPK 中的苏氨酸和酪氨酸残基磷酸化而活化 MAPK^[18], 在被激活后, ERK 具有抗凋亡作用, JNK 和 p38 则具有促进炎症及凋亡作用。

大潮气量机械通气时肺组织细胞表面产生了过度的机械刺激, 肺组织上皮细胞受到机械刺激后可使 JNK 的苏氨酸和酪氨酸残基磷酸化进而激活

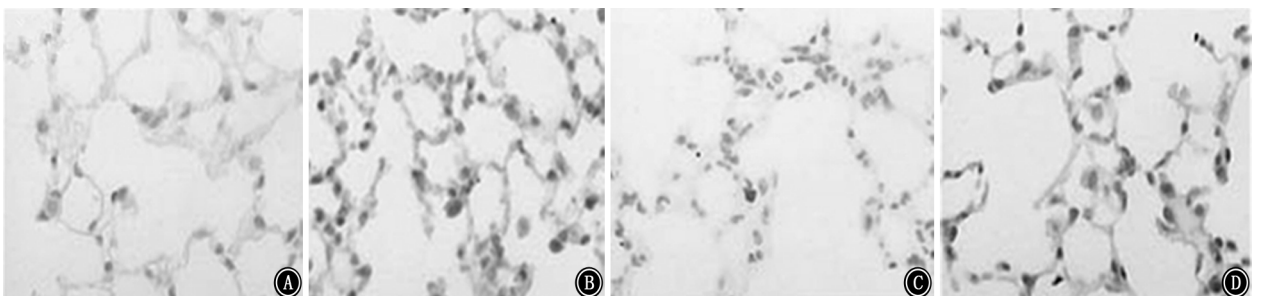


图 3 各组大鼠肺组织 TUNEL 阳性细胞表达水平 TUNEL $\times 400$ A: 对照组; B: 机械通气组; C: 甲泼尼龙组; D: SP600125 + 甲泼尼龙组

JNK 通路, 诱发相关炎性因子的合成与释放加重肺损伤^[3]。本研究也得出相同的结果, V 组大鼠 p-JNK 和 JNK mRNA 表达明显高于 C 组。有研究显示, 糖皮质激素可通过上调丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶 1 表达来抑制 JNK 信号通路活化, 减少相关炎性因子的表达, 减轻肺损伤^[19-20]。我们的前期研究也同样发现甲泼尼龙可减轻大鼠机械通气相关性肺损伤与其抑制 p38MAPK 磷酸化有关^[21-23]。本研究结果显示, 甲泼尼龙可下调大鼠肺组织 p-JNK 和 JNK mRNA 表达, 可使肺损伤明显减轻, 预先给予 JNK 抑制剂 SP600125 皮下注射后甲泼尼龙的肺保护作用下降, 该结果提示甲泼尼龙可通过抑制 JNK 磷酸化来减轻大鼠机械通气相关性肺损伤, 既往文献^[19]报道支持该结果。

本研究中与 V 组比较 SMp 组随机械通气时间的延长 OI 逐渐升高, T4 时肺组织 LPI、W/D、AI、AIR 均降低, 肺组织细胞凋亡减少, 病理学损伤减轻, 该结果提示 SP600125 并未完全逆转甲泼尼龙的肺保护作用, 提示在 JNK 信号通路以外还有别的信号通路参与了甲泼尼龙的肺保护作用。

综上所述, 甲泼尼龙可通过抑制肺组织 JNK 磷酸化来减轻大鼠机械通气相关性肺损伤。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Kuchnicka K, Maciejewski D. Ventilator-associated lung injury[J]. *Anaesthesiol Intensive Ther*, 2013, 45(3):164-170. DOI:10.5603/AIT.2013.0034.
- [2] Ren D, Tu HC, Kim H, et al. BID, BIM, and PUMA are essential for activation of the BAX-and BAK-dependent cell death program [J]. *Science*, 2010, 330 (6009): 1390-1393. DOI:10.1126/science.1190217.
- [3] 王月兰, 姚尚龙. 丝裂原蛋白激酶信号转导通路在机械通气相关性肺损伤中的作用[J]. *中华实验外科杂志*, 2006, 23(3): 331-333. DOI:10.3760/j.issn:1001-9030.2006.03.028.
- [4] 王晓芝. 通气机相关性损伤及保护性肺通气策略[J]. *国际呼吸杂志*, 2006, 26(4): 300-303. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2006.04.018.
- [5] 黄涛. 机械通气肺损伤机制及防治新进展[J]. *医学综述*, 2014, 20(12): 2173-2175. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2014.12.023.
- [6] 王红鸾, 王爱平. 呼吸机相关肺损伤的临床危险因素分析[J]. *中国老年学杂志*, 2010, 30(9): 1200-1201. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2010.09.015.
- [7] 郑平, 郭宇红, 孙先军, 等. 呼吸机正压通气致急性肺损伤的实验研究[J]. *中国危重病急救医学*, 2007, 19(9): 554-555, 插 1. DOI:10.3760/j.issn:1003-0603.2007.09.014.
- [8] 武庆平, 刘萍, 王立奎, 等. 不同潮气量通气对大鼠呼吸机相关性肺损伤模型的影响[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2006,

35(4):511-514. DOI: 10.3870/j.issn.1672-0741.2006.04.026.

- [9] 陈林, 尚游, 姚尚龙. 机械通气所致肺损伤的分子生物学机制研究进展[J]. *中华危重病急救医学*, 2014, 26(2): 126-128. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.02.015.
- [10] 孙慧男, 陈旭昕, 韩志海. 呼吸机相关性肺损伤与炎症反应[J]. *国际呼吸杂志*, 2016, 36(24): 1890-1893. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2016.24.013.
- [11] 王春婷, 夏金根, 詹庆元. 机械通气对肺部及全身炎症介质水平的影响[J]. *国际呼吸杂志*, 2012, 32(12): 946-949. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2012.012.018.
- [12] 刘雷霆, 谭焱, 殷桂林, 等. 大鼠肺缺血期肢体缺血处理对肺缺血/再灌注损伤的保护作用[J]. *中华实验外科杂志*, 2015, 32(1): 88-90. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2015.01.030.
- [13] 姜冠潮, 刘军, 沈晨阳, 等. 缺血再灌注对大鼠肺细胞间粘附分子-1 表达的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2000, 17(4): 346-347. DOI:10.3760/j.issn:1001-9030.2000.04.025.
- [14] 杨学良, 王广义. 重症急性胰腺炎肺损伤大鼠 ICAM-1 和 LFA-1 变化及丹参注射液的干预作用[J]. *中国老年学杂志*, 2010, 30(8): 1108-1110. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2010.08.038.
- [15] Kuipers MT, Vogl T, Aslami H, et al. High levels of S100A8/A9 proteins aggravate ventilator-induced lung injury via TLR4 signaling[J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e68694. DOI: 10.1371/journal.pone.0068694.
- [16] Uhl A, Czock D, Boehm BO, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of methylprednisolone after one bolus dose compared with two dose fractions [J]. *J Clin Pharm Ther*, 2002, 27(4): 281-287. DOI: 10.1046/j.1365-2710.2002.00422.x.
- [17] 于文艳, 陈向华. SP600125-JNK 抑制剂对缺血再灌注损伤保护作用的研究进展[J]. *实用医药杂志*, 2016, 33(4): 360-362, 366. DOI:10.14172/j.issn1671-4008.2016.04.031.
- [18] Kim EK, Choi EJ. Compromised MAPK signaling in human diseases: an update[J]. *Arch Toxicol*, 2015, 89(6): 867-882. DOI:10.1007/s00204-015-1472-2.
- [19] Bhattacharyya S, Brown DE, Brewer JA, et al. Macrophage glucocorticoid receptors regulate Toll-like receptor 4-mediated inflammatory responses by selective inhibition of p38 MAP kinase[J]. *Blood*, 2007, 109(10): 4313-4319. DOI: 10.1182/blood-2006-10-048215.
- [20] Wang X, Nelin LD, Kuhlman JR, et al. The role of MAP kinase phosphatase-1 in the protective mechanism of dexamethasone against endotoxemia [J]. *Life Sci*, 2008, 83(19/20): 671-680. DOI:10.1016/j.lfs.2008.09.003.
- [21] 瞿敏, 茅顺洪, 繆宝杰, 等. 甲泼尼龙对大鼠呼吸机相关肺损伤时 p38MAPK 信号通路的影响[J]. *中国急救医学*, 2017, 37(2): 177-180. DOI:10.3969/j.issn.1002-1949.2017.02.019.
- [22] 瞿敏, 茅顺洪, 繆宝杰, 等. 甲泼尼龙预处理对大鼠机械通气相关性肺损伤的影响及机制[J]. *山东医药*, 2018, 58(6): 34-37. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2018.06.009.
- [23] 瞿敏, 茅顺洪, 繆宝杰, 等. 甲泼尼龙对机械通气相关性肺损伤大鼠肺组织水通道蛋白 5 表达的影响[J]. *医药导报*, 2018, 37(12): 1441-1445. DOI: 10.3870/j.issn.1004-0781.2018.12.002.

(收稿日期: 2018-01-28)