四川大学学报(医学版) J Sichuan Univ (Med Sci Edi) 2019, 50 (3): 317-322

基于Keap1/Nfr2/ARE信号通路研究呼吸机 相关性肺损伤分子机制^{*}

许宝胜¹, 刘洪涛¹, 冶国栋¹, 曹洪超¹, 莫晨玲², 童广清², 谈燕燕², 许 成^{3△}
1. 青海大学附属医院 急诊外科(西宁 810000); 2. 青海省第四人民医院 呼吸科(西宁 810000);
3. 青海大学附属医院 心血管内科(西宁 810000)

【摘要】目的 探索基于Keap1/Nfr2/ARE信号通路探索呼吸机相关肺损伤(ventilation induced lung injury, VILI)形成的分子机制。方法 给予SD大鼠过度机械通气建造VILI模型; HE染色检测对照组、正常潮气量(VT)组(VT为8 mL/kg)、大VT组(VT为40 mL/kg)肺组织病理变化;检测各组肺组织湿重/干重(W/D)比值变化; BCA法检测各组支气管肺泡灌洗液(BALF)中总蛋白的变化; ELISA法检测各组BALF和血清中白细胞介素1β(IL-1β)、白细胞介素-8(IL-18)以及肺组织中8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)的水平变化; TBA法检测肺组织中丙二醛(MDA)水平变化; Western bloting实验检测巨噬细胞中Nod样受体蛋白3(NLRP3)、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、caspase-1蛋白以及肺组织中Keap1、Nrf2蛋白的变化; 逆转录PCR检测各组肺组织中SOD mRNA、HO-1 mRNA表达变化。结果 过度机械通气可损伤肺组织,导致肺泡破裂、炎症细胞浸润和红细胞增多;与对照组和正常VT组相比,大VT组肺组织W/D值、8-OHdG和MDA水平、BALF中总蛋白、IL-1β、IL-18以及血清中IL-1β、IL-18水平均显著上升(P均<0.05),肺泡巨噬细胞中NLRP3、ASC、caspase-1蛋白以及肺组织中Keap1蛋白表达上升(P均<0.05),肺组织中Nrf2蛋白、SOD mRNA、HO-1 mRNA表达下降。结论 大VT通气可以使肺组织发生急性炎症性损伤并导致VILI的发生,其机制为过度通气引起Keap1/Nrf2-ARE通路抑制和活性氧(ROS)清除能力的下降,进而引起肺巨噬细胞产生NLRP3炎症小体,参与VILI的形成。

【关键词】 呼吸机相关性肺损伤 活性氧 Keap1/Nfr2/ARE信号通路 机制

Molecular Mechanism of Ventilator-associated Lung Injury Based on Keap1/Nfr2/ARE Signaling Pathway XU Baosheng¹, LIU Hong-tao¹, YE Guo-dong¹, CAO Hong-chao¹, MO Chen-ling², TONG Guang-qing², TAN Yan-yan², XU Xin^{3 \triangle}. 1. Department of Emergency Surgery, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining 810000, China; 2. Department of Respiratory Diseases, Fourth People's Hospital of Qinghai Province, Xining 810000, China; 3. Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining 810000, China

 \bigtriangleup Corresponding author, E-mail: 1371608482@qq.com

(Abstract) Objective To explore the molecular mechanism of ventilation induced lung injury (VILI) formation based on Keap1/Nfr2/ARE signaling pathway. Methods The VILI model was established by excessive mechanical ventilation in SD rats. HE staining was used to detect the pathological changes of lung tissue in the control group, normal tidal volume (VT) group and large VT group (VT 40 mL/kg). The wet weight of lung tissue was detected in each group. Dry weight (W/D) ratio change; BCA method was used to detect the changes of total protein in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of each group; ELISA was used to detect interleukin-1 β (IL-1 β) and leukocyte in BALF and serum of each group. The content of 8-OHdG in the lung tissue was detected by IL-8 and the content of malondialdehyde (MDA) in the lung tissue was detected by TBA method. The NLRP3, ASC and caspase-1 proteins in macrophages were detected by Western blotting. The changes of Keap1 and Nrf2 proteins in lung tissues were detected by RT-PCR. The expressions of SOD mRNA and HO-1 mRNA in lung tissues of each group were detected by RT-PCR. Results Excessive mechanical ventilation could damage lung tissue, leading to alveolar rupture, inflammatory cell infiltration and erythrocytosis. Compared with the control group and normal VT group, the W/D value, 8-OHdG and MDA content in the large VT group, and total BALF, the contents of IL-1β and IL-18 in protein, IL-1β, IL-18 in serum increased significantly (P<0.05). Compared with the control group and normal VT group, NLRP3, ASC, in macrophage of large VT group, the content of Keap1 protein in caspase-1 protein and lung tissue increased significantly (P<0.05). The expression of Nrf2 protein, SOD mRNA and HO-1 mRNA in lung tissue decreased significantly. Conclusions Large VT ventilation can cause acute inflammatory injury in lung tissue and lead to the occurrence of VILI. Inflammatory bodies of NLRP3 in alveolar macrophages are involved in this process, and the mechanism of NLRP3 inflammatory bodies is caused by hyperventilation in addition to mechanical injury. Decreased Keap1/Nrf2-ARE pathway inhibition and ROS clearance

^{*} 青海省科技计划项目(2017-ZJ-708)资助

[△] 通信作者, E-mail: 1371608482@qq.com

may also cause macrophage production of NLRP3 inflammatory bodies.

Key words Ventilator-associated lung injury Reactive oxygen Keap1/Nfr2/ARE signaling pathway Mechanism

大多数重症患者在治疗过程中需要以机械性通 气作为生命维持的必要手段,这种机械通气在临床 应用广泛,但也可能引起进一步的肺损伤,即机械通 气相关性肺损伤(ventilation induced lung injury, VILI)。近年来研究发现VILI机制除力学牵张外,还 包括由力学牵张引起的生物性肺损伤[1-2]。有学者认 为国生物性肺损伤是由过度牵张引起的分子信号通 路的改变导致肺内炎性细胞激活和炎症反应"瀑布 式"扩大产生的炎性损伤,然确切机制尚不明确。研 究发现图炎性小体介导的炎症反应具有"瀑布式"爆 发的特点,张维康等¹⁵初步发现炎性小体在VILI产生 过程中扮演重要作用,可促进VILI的产生,但并未进 一步阐释诱导炎性小体产生的分子机制。炎性小体 的产生依赖于外源性病原体或内源性DNA、活性氧 等对细胞内模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)的刺激。高氧和过度牵拉可引起肺组 织产生大量活性氧[6-7],有研究认为在机械性通气过 程中引起肺组织产生了大量活性氧化中间产物 (ROIs),这些氧化产物既可以直接损伤肺组织,也可 以通过改变氧化应激途径来介导肺损伤。基于此, 本实验将通过研究VILI过程中炎性小体的产生以及 氧化水平的变化探索VILI产生的生物学机制,为 VILI的防御和治疗提供新的实验基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康清洁级成年雄性SD大鼠,体质量240~260g, 由兰州大学实验动物中心提供,动物合格证号: SCXK(甘)2018-0002。

1.2 实验试剂

苏木素伊红(HE)染色试剂盒(C0105,碧云天)、 丙二醛(MDA)检测试剂盒(S0131,碧云天)、8-羟基脱 氧鸟苷(8-OHdG) ELISA检测试剂盒(ml002198,上海 酶联)、Trizol(9109,Takara)、反转录PCR试剂盒 (RR047A,Takara)、实时荧光定量PCR试剂盒 (RR820A,Takara)、RIPA裂解液(P0013C,碧云天)、兔 抗NLRP3多克隆抗体(ab214185,Abcam)、兔抗凋亡相 关斑点样蛋白(ASC)多克隆抗体(ab47092,Abcam)、 兔抗caspase-1多克隆抗体(ab1872,Abcam)、兔抗核因 子E2相关因子2(Nrf2)单克隆抗体(ab62352,Abcam)、 鼠抗kelch样环氧氯丙烷相关蛋白-1(Keap1)单克隆抗 体(ab150654,Abcam)、HRP标记山羊抗兔二抗 (A0208, 碧云天)、HRP标记山羊抗小鼠二抗(A0216, 碧云天)。

1.3 试验方法

1.3.1 实验动物分组及模型制备 采用随机数字表 法将30只SD大鼠分为自主呼吸对照组、正常潮气量 (VT)组、大VT组3组,每组10只。各组大鼠均行气管 切开插管术;经股动脉插管监测动脉血压,经股静脉插 管建立静脉通道,以10 mL/(kg·h)的速度输注生理盐 水,使肛温维持在37.3~38.3℃。参考文献^[8]方法制备 大鼠VILI模型。插管成功后,对照组保持自主呼吸;两 个VT组经股静脉注射维库溴铵0.1 mg/mL,待自主呼 吸消失后连接TOPO型小动物呼吸机(美国KENT公 司)进行机械通气4 h;正常VT组VT为8 mL/kg,大 VT组VT为40 mL/kg。机械通气参数:吸呼比(I:E)为 1:1,呼吸频率(f)为80 min⁻¹,吸入氧浓度(FiO₂)为0.50, 呼气末正压(PEEP)为0。腹腔注射氯胺酮36 mL/(g·h) 维持麻醉。机械通气4 h后行颈动脉放血处死大鼠,采 集标本备检。

1.3.2 肺组织病理学观察 取左肺上叶组织,多聚甲 醛溶液固定,苏木素-伊红(HE)染色,由病理科医师按 双盲法光镜下观察,观察指标包括肺间质内中性粒细 胞浸润、肺泡内出血、肺泡内纤维素渗出、肺间质水 肿、肺泡内中性粒细胞浸润。

1.3.3 肺湿/千质量比值(W/D)测定 取左肺中 叶称湿质量(W),置于60℃烤箱中烘烤72h至恒重后称干质量(D),计算W/D比值。

1.3.4 细胞、支气管肺泡灌洗液(BALF)和血清 采集 处死大鼠后参照文献^[9]方法分离肺泡巨噬细 胞。用预冷的磷酸盐缓冲液(PBS)灌洗支气管肺泡, 收集BALF。离心取细胞沉淀,用PBS洗涤,取上清液, -80℃下保存备检;细胞沉淀用含10%胎牛血清 (FBS)、20kU/L青霉素、30kU/L链霉素的RPMI1640细 胞培养液重悬,取细胞沉淀置于细胞培养皿中,于 37℃、体积分数5%CO₂环境下培养3h,收集贴壁细胞, 用含10%FBS的RPMI1640细胞培养液重悬,将细胞密 度调至1×10° mL⁻¹。采用Giemsa染色法证实细胞纯度 >90%,采用锥虫蓝染色法鉴定细胞存活率≥95%。 将肺泡巨噬细胞置于液氮中保存备检。左心室穿刺抽 血,离心取上清,于-80℃保存备检。

1.3.5 BALF中总蛋白测定 用BCA法检测BALF中总蛋白含量,操作按照BCA试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)说明书进行。

1.3.6 酶联免疫吸附实验(ELISA)检测BALF和血 清中的细胞因子 取BALF和血清,检测二者样本中 白细胞介素1β(IL-1β)、白细胞介素-8(IL-18),按 ELISA试剂盒说明书操作。

1.3.7 肺组织中丙二醛(MDA)、8-OHdG的检测 取液氮冻存的左肺下叶组织制备匀浆,分别采用 TBA法和ELISA法测定MDA和8-OHdG水平,按试剂盒 说明书操作。

1.3.8 蛋白质免疫印迹试验(Western blot)检测 巨噬细胞中NLRP3、ASC、caspase-1及肺组织中 Nrf2、Keap1表达 取左肺下叶100 mg,提取胞质及 胞核蛋白,用BCA法提取总蛋白并定量,经凝胶电泳、 转膜、封闭后加一抗、二抗,发光、显影后进行图像分 析,以目的蛋白与内参照β-actin的灰度值比值作为表 达量。

1.3.9 反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测肺组 织中超氧化物歧化酶(SOD)mRNA、血红素加氧

酶(HO-1)mRNA表达 取肺副叶提取总RNA。按 GenBank公布的SOD、HO-1和β-actin参考cDNA序列, 利用引物设计软件Olig 6.71设计PCR引物。扩增产物 经琼脂糖凝胶电泳后,用图像分析系统分析吸光度 (A)值,以目的基因与内参基因A值比值为相对表达 量,再将各组相对表达量与对照组做比较(设对照组表 达量为1),进行统计分析。

1.3.10 统计学方法 计量资料以*x*±s表示。组间比 较采用单因素方差分析,两两比较采用*t*检验, *P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组肺组织的病理变化

光镜下观察,自主呼吸对照组、正常VT组肺泡结构基本正常,肺间质轻度水肿,仅见少量炎性细胞渗出;大VT组肺泡腔融合,肺泡结构紊乱,肺间隔增宽,肺间质水肿,可见大量炎性细胞和红细胞浸润(图1)。



图1 各组大鼠肺组织病理变化。HE ×200

Fig 1 Pathological changes of lung tissue in each group. HE $\times 200$

A: Control group; B: Normal VT group; C: Large VT group

2.2 各组肺组织W/D比值变化

与对照组和正常VT组相比,大VT组SD大鼠

W/D均增大(P<0.05);对照组与正常VT组相比差异无统计学意义(P>0.05),见表1。

表 1 各组大鼠肺组织W/D比值、BALF中总蛋白含量以及血清和BALF中IL-1β、IL-18含量的变化(x±s) Table 1 The W/D ratio of lung tissue, total protein content in BALF, and IL-1β and IL-18 in serum and BALF in each group (x±s)

C		Total modelin in DALE	$IL-1\beta/(ng/L)$		IL-18/(µg/L)		
Group	п	W/D	1 otal protein in BALF	Serum	BALF	Serum	BALF
Control	10	6.34±0.75	1.68±0.14	59.56±7.93	77.35±6.61	2.05±0.32	3.13±0.28
Normal VT	10	6.85±0.69	1.73±0.21	60.85±8.69	79.43±8.25	2.11±0.29	3.62±0.31
Large VT	10	9.38±0.81 ^{*,#}	2.98±0.19 ^{*,#}	120.34±9.33 ^{*,#}	150.69±6.11 ^{*,#}	3.98±0.35 ^{*,#}	4.79±0.36 ^{*,#}

*P<0.05, vs. control group; #P<0.05, vs. normal VT group

2.3 各组大鼠BALF中总蛋白以及血清和BALF中 IL-1β、IL-18含量变化

与对照组和正常VT组相比,大VT组SD大鼠 BALF中总蛋白以及血清和BALF中IL-1β、IL-18均升高 (P<0.05); 对照组与正常VT组差异无统计学意义(均 P>0.05), 见表1。

2.4 各组肺组织中MDA、8-OHdG含量的变化

与对照组和正常VT组相比,大VT组SD大鼠肺组

织中MDA、8-OHdG含量均上升(均P<0.05);对照组 与正常VT组相比,两项指标差异均无统计学意义 (P>0.05)(表2)。

- 表 2 各组大鼠巨噬细胞中NLRP3、ASC、caspase-1蛋白表达的变化 (x±s)
- Table 2Expression of NLRP3, ASC and caspase-1 protein in rat
macrophages ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	NLRP3	ASC	caspase-1
Control	10	0.93±0.08	0.56±0.04	0.71±0.05
Normal VT	10	0.96±0.10	0.58 ± 0.07	0.83±0.08
Large VT	10	1.24±0.13 ^{*,#}	0.89±0.11 ^{*,#}	1.32±0.18 ^{*,#}

**P*<0.05, *vs*. control group; #*P*<0.05, *vs*. normal VT group

2.5 各组大鼠巨噬细胞中NLRP3、ASC、caspase-1蛋白表达变化

由图2及表3可见,与对照组和正常VT组相比,大 VT组SD大鼠巨噬细胞中NLRP3、ASC、caspase-1蛋白 含量均升高(P<0.05);对照组与正常VT组相比,各指 标差异无统计学意义(P>0.05)。



图 2 各组大鼠巨噬细胞中NLRP3、ASC、caspase-1蛋白表达变化 Fig 2 Expression of NLRP3, ASC and Caspase-1 protein in rat macrophages A: Control group; B: Normal VT group; C: Large VT group

表 3 各组大鼠肺组织中MDA、8-OHdG的变化(求±s) Table 3 Expression of MDA and 8-OHdG in lung tissues of rats in each group (求±s)

Group	п	MDA/(nmol/g of lung)	8-OHdG/(ng/g of lung)
Control	10	30.18±6.21	12.37±2.13
Normal VT	10	32.45±5.98	14.55±2.08
Large VT	10	49.39±6.45 ^{*, #}	25.67±2.76 ^{*,#}

*P<0.05, vs. control group;#P<0.05, vs. normal VT group

2.6 各组肺组织中Nrf2、Keap1蛋白变化

与对照组和正常VT组相比,大VT组SD大鼠肺组 织中Nrf2蛋白表达降低,Keap1蛋白表达升高(P均 <0.05);对照组与正常VT组相比,Nrf2、Keap1蛋白表 达无明显变化(P>0.05)(图3、表4)。



图 3 各组大鼠肺组织中Nrf2、Keap1蛋白变化

Fig 3 Expression of Nrf2 and Keap1 protein in lung tissue of rats in each group A: Control group; B: Normal VT group; C: Large VT group

表 4	各组大鼠肺组织中Nrf2、Keap1蛋白变化	$(\bar{x} \pm s)$	
-----	------------------------	-------------------	--

Table 4 Expression of Nrf2 and Keap1 protein in lung tissue of rats in each group $(\bar{x} \pm s)$

Group	п	Keap1	Nrf2
Control	10	0.90 ± 0.08	1.56 ± 0.15
Normal VT	10	0.99±0.13	1.49±0.17
Large VT	10	1.48±0.12 ^{*,#}	0.78±0.09 ^{*,#}

*P<0.05, vs. control group; #P<0.05, vs. normal VT group

2.7 各组肺组织中SOD mRNA、HO-1 mRNA表达 变化

与对照组和正常VT组相比,大VT组SD大鼠肺组 织中SOD mRNA、HO-1 mRNA表达均降低(P均 <0.05);对照组与正常VT组相比,SOD mRNA、HO-1 mRNA表达无明显变化(P>0.05)(图4、表5)。

Group	п	SOD mRNA	HO-1 mRNA
Control	10	1±0	1±0
Normal VT	10	0.95±0.11	0.93±0.12
Large VT	10	0.54±0.05 ^{*, #}	0.67±0.03 ^{*,#}

*P<0.05, vs. control group; #P<0.05, vs. normal VT group



图 4 各组大鼠肺组织中SOD mRNA、HO-1 mRNA的变化

Fig 4 Expression of SOD mRNA and HO-1 mRNA in lung tissue of rats in each group

A: Control group; B: Normal VT group; C: Large VT group

3 讨论

目前对于引起VILI的力学牵张机制已经研究的比较清楚,包括气压伤、容积伤和肺不张伤,这3种机械性损伤是肺泡和毛细血管在跨肺压和剪切力的作用下发生过度扩张或破裂所致^[10-12]。生物伤是由炎性介质、细胞因子及炎性细胞等参与引起的炎性损伤,机械损伤与生物学损伤是相互关联的,机械损伤可以造成生物损伤,生物损伤可以加重机械损伤^[13-15]。一般情况下机械通气压力诱导的损伤可导致肺组织渗透性增加,出现液体积蓄、肺萎陷伤和炎症反应。

在本实验中,通过给SD大鼠过度机械通气4h建造 VILI模型。结果发现经过4h过度机械通气,大VT组 SD大鼠肺组织肺泡结构紊乱、肺泡壁塌陷,肺间质增 宽、水肿,肺泡腔内可见大量炎性细胞和红细胞浸润, 同时与对照组和正常VT组相比,大VT组肺W/D比值 及BALF中总蛋白浓度显著升高。肺W/D比值及BALF 中总蛋白浓度是反映肺组织通透性的重要指标,二者 升高说明过度的机械通气可导致肺泡内大量炎性蛋白 渗出,使肺泡通透性明显增高,肺间质严重水肿,肺透 明膜形成,从而严重影响了肺泡的通气和换气功能。 以上结果提示,本实验中VILI大鼠模型基本制备成功。

本实验对血清和BALF中IL-1β、IL-18水平检测发 现与对照组和正常VT组相比,大VT组血清和BALF中 IL-1β、IL-18水平均升高,提示过度机械通气可诱导肺 组织产生大量炎症因子,引起炎症反应。作为气道固 有免疫第一道防线,肺泡内以及支气管肺泡上皮表面 分布大量肺泡巨噬细胞。肺泡巨噬细胞在支气管肺泡 局部的固有免疫防御及过度免疫可导致非细菌性炎症 损害等作用,近年来备受关注。肺泡巨噬细胞在机械 牵拉、感染等刺激作用下被激活,激活后的细胞不仅 具有较强的吞噬功能,并且能合成分泌多种炎症因子, 诱发加重肺泡局部炎症反应^[16-17]。因此,在过度机械通 气过程中,机械通气引起对肺泡的机械牵拉激活巨噬 细胞,导致巨噬细胞大量分泌IL-1β、IL-18。

炎性小体是由模式识别受体参与组装的多蛋白复合物,可识别病原体相关分子模式和损伤相关分子模式,进而激活caspase-1^[18-19]。目前研究较多的有4种炎性小体,包括NLRP1、NLRP3、NLRC4和黑色素瘤缺乏因子2(AIM2),4者均可通过经典途径到炎性小体多蛋白复合物的组装,从而促进caspase-1前体自我切割产生caspase-1,后者进一步将IL-1β前体和IL-18前体剪切成具有生物学活性的IL-1β和IL-18,引起并放大局部炎症反应^[20-21]。NLRP3是目前结构和功能最为明确的炎

性小体^[23], 上述由过度机械通气引起IL-1β、IL-18含量上 升是否是由巨噬细胞中NLRP3炎性小体介导的, 本实 验做了进一步研究, 结果发现与对照组和正常VT组相 比, 大VT组中肺泡巨噬细胞中NLRP3、ASC、caspase-1蛋白表达均显著升高。NLRP3由NLRP3蛋白、接头 蛋白ASC及caspase-1前体组成^[24], 因此以上提示过度机 械通气可激活肺泡巨噬细胞产生NLRP3炎性小体, 导 致肺泡产生炎症, 造成炎症损伤。

活性氧(ROS)作为内源性刺激,可引起NIRP3炎 性小体的形成^[25-26]。过度机械通气不仅导致肺泡组织 产生机械性损伤,进而激活巨噬细胞产生炎性小体,而 且所产生的高氧可导致肺组织细胞产生大量ROS引起 巨噬细胞产生炎性小体^[27-28]。本研究进一步对肺组织 中标志ROS水平的MDA和8-OHdG进行检测,结果发 现与对照组和正常VT组相比,大VT组肺组织中 MDA和8-OHdG水平显著上升;对于抗氧化系统中两 个重要的活性氧清除酶SOD mRNA、HO-1 mRNA检 测发现大VT组肺组织中二者水平显著下降,提示 VILI肺组织中抗氧化系统中抗氧化酶SOD、HO-1表达 受到抑制,ROS清除能力下降,肺组织中巨噬细胞激 活,产生炎性小体,引起炎性损伤,导致VILI。但是是 否导致ROS升高还需进一步进行直接检测。

Keap1/Nrf2-ARE通路通过调控抗氧化酶的表达直 接参与调节抗氧化系统。正常情况下Keap1可诱导 Nrf2降解,维持Nrf2处于低活性状态;一旦Keap1检测 到高活性氧水平,其与Nrf2蛋白解离,导致Nrf2激活, 进入细胞核启动抗氧化酶的转录^[29-30]。为探索VILI肺 组织中抗氧化系统异常是由于Keap1/Nrf2-ARE通路被 抑制所致,本研究实验发现与对照组和正常VT组相 比,大VT组肺组织中Keap1水平显著上升;Nrf2水平显 著下降。高水平Keap1含量和低水平Nrf2导致VILI肺 组织无法有效转导ROS信号,进而无法及时产生清除 ROS的抗氧化酶,可能进一步导致ROS水平升高,但是 ROS水平需进行直接检测。

综上所述,本实验结果证明,大VT通气可以使肺 组织发生急性炎症性损伤并导致VILI的发生,肺泡巨 噬细胞NLRP3炎症小体参与了此过程,而引起NLRP3 炎症小体的机制除机械伤外,由过度通气引起的 Keap1/Nrf2-ARE通路抑制和ROS清除能力的下降可能 同样引起巨噬细胞产生NLRP3炎症小体。

参考文献

ventilator-induced lung injury. Bmc Medicine, 2014, 11(1): 1-9.

- CURLEY GF, LAFFEY JG, ZHANG H, et al. Biotrauma and Ventilator Induced Lung Injury: Clinical implications. Chest, 2016, 150(5): 1109–11017.
- [3] ALBAICETA GM, BLANCH L. Beyond volutrauma in ARDS: the critical role of lung tissue deformation. Critical Care, 2011, 15(2): 304.
- [4] FUKUMOTO J, FUKUMOTO I, PARTHASARATHY PT, et al. NLRP3 deletion protects from hyperoxia-induced acute lung injury. American Journal of Physiology Cell Physiology, 2013, 305(2): 182–189.
- [5] 张维康, 潘灵辉. NOD样受体蛋白3炎症小体在呼吸机相关性肺损伤 中的作用机制研究. 中华危重病急救医学, 2015, 27(10): 821-825.
- [6] DAVIDOVICH N, DIPAOLO BC, LAWRENCE GG, et al. Cyclic Stretch–Induced Oxidative Stress Increases Pulmonary Alveolar Epithelial Permeability. Am J Respir Cell Mol Biol, 2013, 49(1): 156–164.
- [7] LEE PJ, CHOI AM. Pathways of cell signaling in hyperoxia. Free Rad Biol Med, 2003, 35(4): 341–350.
- [8] 傅瑞丽,潘灵辉,林飞,等.调控Toll样受体2/核转录因子-кB信号通路 对呼吸机相关性肺损伤大鼠的影响.中华危重病急救医学,2014(12): 865-869.
- [9] SEITZ DH, PALMER A, NIESLER U, et al. Altered expression of fas receptor on alveolar macrophages and inflammatory effects of soluble fas ligand following blunt chest trauma. Shock, 2011, 35(6): 610–617.
- [10] OECKLER RA, LEE WY, PARK MG, et al. Determinants of plasma membrane wounding by deforming stress. American Journal of Physiology Lung Cellular & Molecular Physiology, 2010, 299(6): 826-833.
- [11] 杨依依,姚尚龙,尚游.呼吸机相关性肺损伤发病机制研究新进展.中 华危重病急救医学,2016,28(9):861-864.
- [12] PAF ME, PADILHA GA, MORAES L, et al. Effects of pressure support ventilation on ventilator-induced lung injury in mild acute respiratory distress syndrome depend on level of positive end-expiratory pressure. Eur J Anaesthesiol, 2018, 35(4): 298–306.
- [13] LI H, WU Z, FENG D, *et al.* BML-111, a lipoxin receptor agonist, attenuates ventilator-induced lung injury in rats. Shock, 2014, 41(4): 311–316.
- Hoegl S, Boost KA, Czerwonka H, *et al.* Inhaled IL-10 reduces biotrauma and mortality in a model of ventilator-induced lung injury. Respiratory Medicine, 2009, 103(3): 463–470.
- [15] 赵婷婷, 刘虹. 呼吸机相关肺损伤的研究进展. 临床医药文献电子杂志, 2017, 4(49): 9701-9702.
- [16] 张娜, 侯明霞, 曹大伟, 等. 小窝蛋白-1、IL-8在机械通气致大鼠急性

肺损伤中的作用研究.中华临床医师杂志(电子版),2014(8): 1483-1486.

- [17] JOHNSTON LK, RIMS CR, GILL SE, et al. Pulmonary macrophage subpopulations in the induction and resolution of acute lung injury. Am J Respir Cell Mol Biol, 2012, 47(4): 417–426.
- [18] XIANG M, SHI X, LI Y, et al. Hemorrhagic shock activation of NLRP3 inflammasome in lung endothelial cells. J Immunol, 2011, 187(9): 4809-4817.
- [19] JULIANA C, FERNANDES ATJ, DATTA P, et al. Anti-inflammatory compounds parthenolide and Bay 11-7082 are direct inhibitors of the inflammasome. J Biol Chem, 2010, 285(13): 9792–9802.
- [20] VAK R, CHAN FK. Inflammasome, Inflammation, and Tissue Homeostasis. Trends Mol Med, 2018, 24(3): 304–318.
- [21] AWAD F, ASSRAWI E, LOUVRIER C, et al. Inflammasome biology, molecular pathology and therapeutic implications. Pharmacol Ther, 2018, 187: 133–149.
- [22] JIANG D, CHEN S, SUN R, et al. The NLRP3 inflammasome: Role in metabolic disorders and regulation by metabolic pathways. Cancer Letters, 2018, 419: 8–19.
- [23] LUNOV O, SYROVETS T, LOOS C, *et al.* Amino-functionalized polystyrene nanoparticles activate the NLRP3 inflammasome in human macrophages. Acs Nano, 2011, 5(12): 9648–9657.
- [24] ZHOU R, YAZDI AS, MENU P, et al. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. Nature, 2011, 469(7329): 221–225.
- [25] SCHRODER K, ZHOU R, TSCHOPP J. The NLRP3 inflammasome: a sensor for metabolic danger?. Science, 2010, 327(5963): 296–300.
- [26] KA C, JW S, KH L, *et al.* IL-17 and IL-22 enhance skin inflammation by stimulating the secretion of IL-1β by keratinocytes via the ROS-NLRP3caspase-1 pathway. Int Immunol, 2012, 24(3): 147–158.
- [27] 黄栋,方芳,许峰.高氧所致氧化应激状态下肺泡上皮细胞Toll样受体的表达及其功能研究.中华危重病急救医学,2011,23(11):645-649.
- [28] 黄栋. Toll样受体2/4在高氧所致急性肺损伤炎症反应中的作用及其机制的研究. 重庆医科大学, 2010.
- [29] HU LY, CUI JB, XU XM, et al. Expression of Nrf2-Keap1-ARE signal pathway in traumatic lung injury and functional study. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(5): 1402–1408.
- [30] XIAO ZT, SU WW, LI PB. Research progress in epigenetic regulation of Keap1-Nrf2 signal pathway. Central South Pharmacy, 2018(1): 76-81. (2018-09-13收稿, 2018-12-30修回)

编辑 汤洁