

孕鼠腹腔注射脂多糖致新生鼠肺损伤模型的构建

卢刻羽¹,朱伟伟¹,梁宏露¹,郭燕³,武海燕²,周晓玉¹,周晓光¹,程锐^{1*}

(¹南京医科大学附属南京儿童医院新生儿医疗中心,²病理科,江苏 南京 210008;³南京医科大学儿科研究所,江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:探讨孕鼠腹腔注射脂多糖(lipopolysaccharide,LPS)致新生鼠肺损伤模型的构建方法。方法:孕18 d SD大鼠随机分为生理盐水对照组(control组)和LPS组,观察腹腔注射不同剂量LPS(2.5、2.0、1.5、1.0、0.5 mg/kg)与等量灭菌生理盐水后的孕鼠反应并统计孕鼠死亡率及流产率,依上述实验结果选定较低死亡率的LPS剂量。分别于孕鼠腹腔注射LPS(0.9、0.8、0.7、0.6、0.5 mg/kg)及等量灭菌生理盐水后记录各组新生鼠肺的病理评分、湿/干重比值(W/D)及肺组织中肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor,TNF)- α mRNA、白细胞介素(interleukin,IL)-1 β mRNA和TNF- α 蛋白的表达量。进一步研究LPS 0.7 mg/kg组中孕19 d胎盘、胎肺及新生鼠生后第1、4、7 d肺组织中炎症因子(TNF- α 、IL-1 β)mRNA表达量变化与组织病理改变。结果:①LPS组中随着药物剂量递减,孕鼠死亡率及流产率逐渐降低,当LPS剂量小于1.0 mg/kg时孕鼠死亡率及流产率降低至25%以下;②LPS 0.5~1.0 mg/kg时,与对照组比较,LPS<0.7 mg/kg时新生鼠肺病理评分、W/D、组织TNF- α 及IL-1 β mRNA表达差异无统计学意义(P 均>0.05),LPS \geq 0.7 mg/kg时上述指标均显著升高,且差异有统计学意义(P 均<0.05);③孕鼠腹腔注射LPS 0.7 mg/kg时,胎盘、胎肺炎症因子较对照组显著升高,且LPS组新生鼠生后第1、4、7天肺组织中TNF- α 、IL-1 β mRNA表达水平均显著高于对照组(P 均<0.05)。结论:SD大鼠孕18 d腹腔注射0.7 mg/kg LPS可导致新生鼠肺病理损害、肺水肿,炎症因子TNF- α 、IL-1 β 增高,并延续到生后7 d,是制备宫内感染新生鼠肺损伤模型稳定、可靠的方法。

[关键词] 宫内感染;肺损伤;脂多糖;新生大鼠

[中图分类号] R364.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)06-727-07

doi:10.7655/NYDXBNS20140607

Establishment of an optimal animal model of lung injury in neonate rat after maternal intrauterine infection induced by intraperitoneal injection of lipopolysaccharides

Lu Keyu¹, Zhu Weiwei¹, Liang Honglu¹, Guo Yan³, Wu Haiyan², Zhou Xiaoyu¹, Zhou Xiaoguang¹, Cheng Rui^{1*}

(¹Department of Neonatal Medical Center, ²Department of Pathology, Nanjing Children's Hospital Affiliated to NJMU, Nanjing 210008; ³Pediatrics Research Institute, NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a reliable and stable method of establishing an optimal animal model of lung injury in neonate rat intraperitoneal injection of lipopolysaccharides (LPS). **Methods:** Pregnant Sprague-Dawley rats on gestation day 18 were randomly divided into the control group and the LPS experimental group. Rats were injected intraperitoneally with 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 and 2.5 mg/kg LPS, respectively, in the LPS groups and with equal amount of saline in the control group, and then the mortality and abortion ratio of pregnant rats were measured. According to the statistical results, we next selected low mortality doses of LPS (0.9, 0.8, 0.7, 0.6, and 0.5 mg/kg) and intraperitoneally injected to pregnant rats. Lung tissues were collected from neonatal rat at postnatal day 1. The indexes of pathological score and wet/dry weight ratio (W/D) of lung lobes were observed. The mRNA expression of TNF- α and IL-1 β , and the TNF- α protein expression in lung tissues were examined. Furthermore, to study the LPS of 0.7 mg/kg dose, the mRNA expression of TNF- α , IL-1 β in placental and fetal lung tissues were measured on day 19. The same indexes of neonatal rats lung were also examined on day 1, 4 and 7 after natural birth, respectively. **Results:** ①The mortality and abortion ratios of pregnant rats were decreased gradually with the decreasing LPS doses. When the dosage of LPS was less than 1.0 mg/kg, these two indexes were reduced to below 25%. ②When the dosage of LPS ranged from 0.5 to 1.0 mg/kg, pathological score, W/D

[基金项目] 南京市卫生局重点课题(YKK12108)

*通信作者(Corresponding author), E-mail:chengrui350@163.com

score and the mRNA levels of TNF- α , IL-1 β were significantly higher than those in the control group under the condition of LPS ≥ 0.7 mg/kg ($P < 0.05$). When the dosage of LPS < 0.7 mg/kg, the above indexes showed no statistical significance ($P > 0.05$). ③ When the dosage of LPS = 0.7 mg/kg, the expressions of TNF- α , IL-1 β mRNA in placenta and fetal issues increased more obviously ($P < 0.05$) than that in the control group. Compared to the control group, the mRNA expression of TNF- α and IL-1 β in lung tissues of neonatal rats on day 1, 4, and 7 was significantly increased (all $P < 0.05$). **Conclusion:** Intraperitoneal LPS (0.7 mg/kg) given to pregnant SD rats on 18th day of gestation led to lung injury, and pulmonary edema and increase TNF- α and IL-1 β in newborn rats, which continued into the 7th day after birth. This is a stable and reliable method to construct the model of lung injury in neonate rat with intrauterine infection.

[Key words] intrauterine infection; lung injury; lipopolysaccharide; neonatal rat

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(06): 727-733]

新生儿急性肺损伤(acute lung injury, ALI)及呼吸窘迫综合征(respiratory distress syndrome, RDS)是由多种原因引起的肺部弥散性损害,病死率高,宫内感染是最重要的原因之一^[1-2]。胎儿产前暴露于感染或炎症可直接导致局灶性肺炎反应或通过炎症因子的“瀑布式”级联反应引起胎儿炎症反应综合征,诱发胎儿肺局部炎症,对胎肺形成损伤并使其处于炎症预敏状态,且持续至生后,导致新生儿肺损伤^[3-5]。目前国内外鲜有关于孕鼠腹腔注射脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)致新生鼠肺损伤模型构建的报道。本研究通过给予孕鼠腹腔注射不同剂量脂多糖,观察宫内炎症暴露对孕鼠及新生大鼠的影响,摸索出一种稳定、可靠地制备宫内感染致新生鼠肺损伤模型的方法。

1 材料和方法

1.1 材料

选用清洁级SD大鼠140只,其中雌鼠130只,雄鼠10只(由南京医科大学动物中心提供)。雌性体重230~280 g,平均(250 \pm 14)g,雄性体重300~350 g,平均(330 \pm 16)g。饲养条件为室温(23 \pm 2) $^{\circ}$ C,光照控制12 h,自由饮食水。LPS为大肠杆菌O55:B6菌株购自美国Sigma公司。肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、白细胞介素(interleukin, IL)-1 β mRNA引物由上海生工公司设计合成,逆转录试剂盒由美国Roche公司生产。TNF- α 多抗为美国Santa Cruz公司产品。

1.2 方法

1.2.1 动物模型制备与标本采集

首先将雌性大鼠与雄性大鼠于20时合笼,次日上午8时查合笼托盘中的阴栓,以查得阴栓为妊娠第0天,孕鼠另笼饲养。随机将48只孕18 d SD大鼠分成6组,每组8只,依次腹腔注射2.5、2.0、1.5、

1.0、0.5 mg/kg LPS与等量灭菌生理盐水。观察孕鼠腹腔注射后反应并统计各个剂量孕鼠死亡率、流产率。

依第一步实验结果选定0.5~1.0 mg/kg剂量区间,随机将孕18 d SD大鼠48只分为对照组和LPS组,每组8只,LPS组分别腹腔注射0.5、0.6、0.7、0.8、0.9 mg/kg LPS,对照组用等量无菌生理盐水腹腔注射,孕鼠自行分娩新生鼠后,各组随机取出8只新生大鼠用乙醚麻醉后,打开胸腔,暴露心肺,右心抽血处死动物。快速取肺组织用于实验。

然后进一步研究LPS 0.7 mg/kg时的炎症反应改变,随机将孕18 d SD大鼠32只分两组,分别注射LPS 0.7 mg/kg和等量灭菌生理盐水,24 h后两组各取8只孕鼠均予水合氯醛,剖宫产手术中随机取出胎鼠和胎盘各8只,余两组孕鼠自然分娩后分别于生后第1、4、7天各取8只新生鼠用于实验。孕鼠腹腔注射前均给予碘伏消毒腹部皮肤,术后置于清洁笼内,常规喂养,每天3次观察孕鼠情况至其生产并记录生产时间。

1.2.2 计算肺组织湿重/干重比值(W/D)

切取大鼠右肺下叶组织,称湿重,置80 $^{\circ}$ C恒温烤箱中,烘烤72 h待其质量不再变化后测定干重,并计算肺组织湿重/干重比值。

1.2.3 病理形态学观察并根据Smith^[6]法积分

孕鼠胎盘、新生鼠上肺叶组织经固定、包埋、石蜡切片、HE染色及中性粒细胞AS-D萘酚酯酶染色后,光镜下观察。肺部病理评分主要依据肺间质水肿、肺泡水肿、炎细胞浸润、肺泡出血、透明膜形成、肺不张改变的等级,按程度的“无、轻、中、重”分别计0、1、2、3分,然后累计总分。AS-D萘酚酯酶染色法中的中性粒细胞为胞浆红色、核分叶的细胞。

1.2.4 逆转录-聚合酶链反应法检测肺组织中TNF- α 和IL-1 β mRNA表达

取右肺叶组织匀浆后用 TRIzol 试剂,按试剂盒说明,进行肺组织总 RNA 的提取,总 RNA 逆转录成 cDNA,将反应体系 (2×SYBRGreen 12.5 μl,10 μmol/L 的 PCR 特异上游引物各 0.75 μl,cDNA 1 μl,DEPC 水 10 μl,总体积 25 μl)加入到 7500 型 PCR 仪反应板的反应孔中进行 PCR 扩增,反应条件:95℃ 5 min;95℃ 20 s,55℃ 20 s,75℃ 30 s,循环 40 次。采用相对定量法计算 TNF-α、IL-1β mRNA 表达水平,用管家基因校正样品初始量。引物序列见表 1。

表 1 引物名称及序列

Table 1 Name and sequences of the primers		
引物名称		引物序列(5'→3')
TNF-α	Forward	AGTGC GGGACCCATCAGGCA
	Reverse	GCAGTGTGGGGGCACGGTT
IL-1β	Forward	TGCCTCGTGCTGTCTGACCCAT
	Reverse	CAGGGTGGGTGTGCCGTCTT
GAPDH	Forward	TCAGTGCCGGCCTCGTCTCAT
	Reverse	TGACCAGGCGCCAATACGG

1.2.5 蛋白分子免疫印迹法(Western blot)检测生后第 1 天新生鼠 TNF-α 蛋白表达量

取右肺中叶,快速放入-80℃冰箱用于检测 TNF-α 蛋白。肺组织匀浆提取总蛋白,用 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白质变性后经聚丙烯酰胺凝胶电泳,湿转印至硝酸纤维素膜。5%TBST 脱脂牛奶封闭 2 h,

分别加 TNF-α 多克隆抗体、内参 β-actin 抗体,4℃过夜,加入辣根过氧化物酶标记的二抗孵育后,用 ECL 法进行化学发光。凝胶成像系统分析各电泳条带。

1.2.6 免疫组化法检测孕鼠胎盘和新生大鼠肺组织内 TNF-α 蛋白表达

将冰冻组织切片,用 3%过氧化氢封闭,分别滴加一抗(羊抗 TNF-α 多克隆抗体)及相应二抗工作液,滴加辣根过氧化物酶工作液,DAB 显色,脱水,透明,封片。细胞内外出现棕黄色颗粒为阳性表达。

1.3 统计学方法

所有数据均用 SPSS17.0 统计软件处理,计量资料均以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,根据方差齐性与否分别采用参数检验和非参数检验。方差齐性数据 3 组以上比较采用单因素方差分析 *F* 检验,组间两两比较采用 SNK 和 LSD 法。*P* ≤ 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 孕鼠死亡率、流产率

孕鼠腹腔注射不同剂量 LPS 后,出现体重下降、饮水量和进食量减少及活动减少症状,剂量越大,症状愈为显著。随着 LPS 组药物剂量减少,孕鼠死亡率及流产率逐渐降低,当 LPS 剂量 < 1.0 mg/kg 时孕鼠死亡率及流产率降低至 25%以下(表 2)。

表 2 不同 LPS 剂量注射后孕鼠死亡率、流产率

Table 2 The mortality and abortion ratios of pregnant rats with different LPS dosages				
组别	孕鼠死亡数	孕鼠流产数	孕鼠死亡率(%)	孕鼠流产率(%)
LPS 2.5 mg/kg 组(n=8)	4	2	50.0	25.0
LPS 2.0 mg/kg 组(n=8)	4	1	50.0	12.5
LPS 1.5 mg/kg 组(n=8)	3	2	37.5	25.0
LPS 1.0 mg/kg 组(n=8)	2	2	25.0	25.0
LPS 0.5 mg/kg 组(n=8)	1	1	12.5	12.5
对照组(n=8)	0	0	0	0

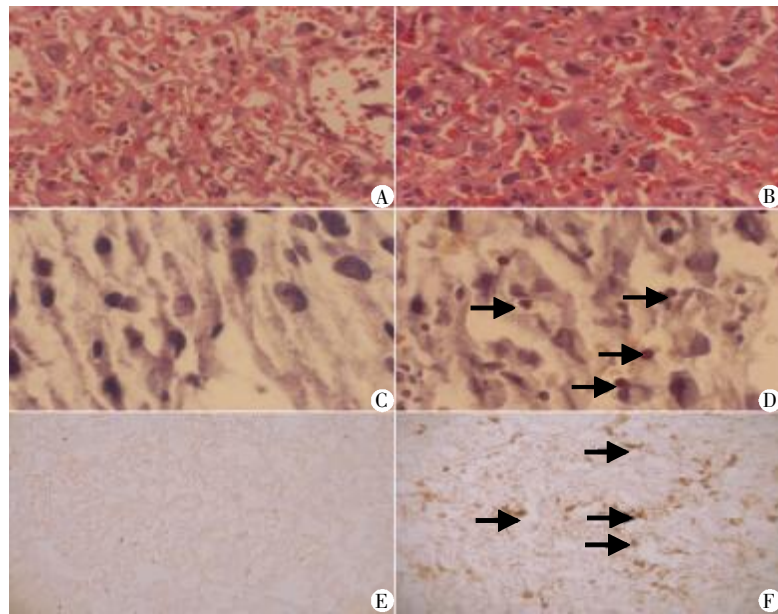
2.2 评价不同剂量 LPS 所致新生鼠肺部炎症反应

通过检测不同剂量组的肺部病理评分、W/D、炎症因子(TNF-α、IL-1β)mRNA 和蛋白表达量评价新生鼠肺部炎症反应严重程度。实验结果显示:LPS 剂量在 0.5~1.0 mg/kg 时,对照组大鼠肺组织无明显损伤,LPS 组 LPS < 0.7 mg/kg 时大鼠肺组织结构轻微破坏,LPS ≥ 0.7 mg/kg 时大鼠肺组织损伤严重。与对照组比较,LPS < 0.7 mg/kg 各组中新生鼠肺 W/D、组织 TNF-α 和 IL-1β mRNA 表达均有升高,但差异无统计学意义(*P* 均 > 0.05),但 TNF-α 蛋白表达量的差异有统计学意义 (*P* < 0.05); 而 LPS ≥

0.7 mg/kg 时上述指标均有显著升高,差异均有统计学意义(*P* 均 < 0.001),且 TNF-α、IL-1β mRNA 表达量较对照组升高 8 倍以上,提示典型炎症反应(表 3、图 1)。

2.3 LPS 剂量为 0.7 mg/kg 时孕鼠胎盘及胎鼠、新生鼠肺部炎症反应的评价

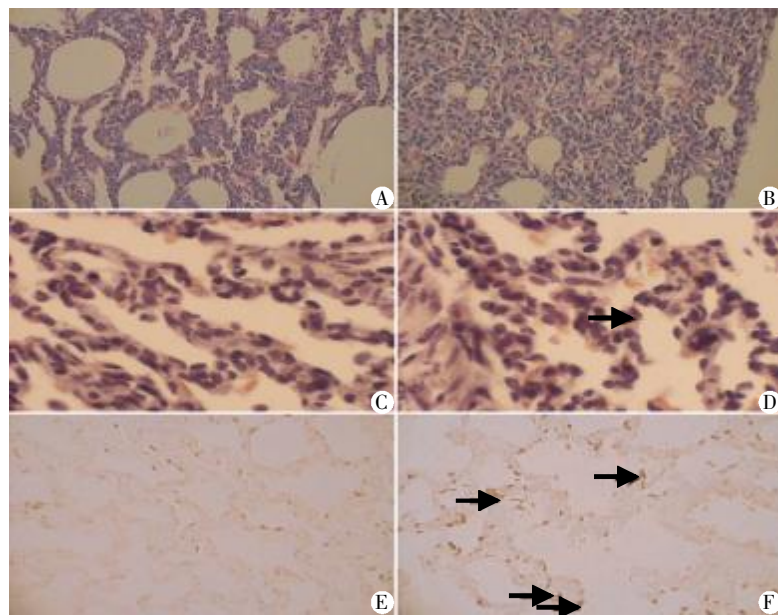
与对照组比较,孕鼠腹腔注射 LPS 0.7 mg/kg 可升高胎盘组织中炎症因子 TNF-α、IL-1β mRNA 的表达(*P* < 0.001,表 4)。胎鼠肺组织中炎症因子 IL-1β mRNA 的表达显著高于正常对照组 (*P* = 0.003),TNF-α mRNA 的表达较对照组无显著性变



A: 对照组胎盘病理(HE 染色, $\times 200$); B: LPS 组胎盘病理(HE 染色, $\times 200$); C: 对照组中性粒细胞染色(AS-D 萘酚酯酶染色法, $\times 400$); D: LPS 组中性粒细胞染色, 箭头所示为阳性细胞(AS-D 萘酚酯酶染色法, $\times 400$); E: 对照组 TNF- α 蛋白表达(IHC, $\times 400$); F: LPS 组 TNF- α 蛋白表达, 箭头所示为阳性细胞(IHC, $\times 400$)。

图 2 孕鼠胎盘炎症反应评价

Figure 2 Placenta inflammatory response of pregnant rat



A: 对照组肺组织病理(HE, $\times 200$); B: LPS 组肺组织病理(HE, $\times 200$); C: 对照组中性粒细胞染色(AS-D 萘酚酯酶染色法, $\times 400$); D: LPS 组中性粒细胞染色, 箭头所示为阳性细胞(AS-D 萘酚酯酶染色法, $\times 400$); E: 对照组 TNF- α 蛋白表达(IHC, $\times 400$); F: LPS 组 TNF- α 蛋白表达, 箭头所示为阳性细胞(IHC, $\times 400$)。

图 3 新生鼠出生第 1 天肺组织炎症反应评价

Figure 3 Lung tissue inflammation of neonatal rats lung on day 1

本研究在 LPS 0.5~2.5 mg/kg 剂量范围内进行孕鼠死亡率及流产率的统计, 发现当 LPS 剂量 < 1.0 mg/kg 时孕鼠死亡率及流产率降低至 25% 以下。本研究分别予孕鼠腹腔注射梯度剂量 LPS (0.5、0.6、0.7、0.8、

0.9 mg/kg), 结果显示当 LPS 剂量 ≥ 0.7 mg/kg 时, 肺损伤表现如病理变化、W/D、炎症因子改变等较正常对照组有显著性改变, 故选择 0.7 mg/kg 剂量进行进一步验证。

孕鼠腹腔注射 0.7 mg/kg LPS 可致孕鼠胎盘和新生鼠肺病理改变。本研究孕鼠胎盘 HE 染色可观察到 LPS 组胎盘组织内血管充血、水肿,并见大量中性粒细胞浸润,对照组胎盘未见明显炎症反应(图 2),LPS 组孕鼠自然分娩后新生鼠肺组织产生与新生鼠腹腔注射脂多糖类似的病理改变^[8],且病理 Smith 评分显著升高($P < 0.001$),显示新生大鼠肺存在严重的肺组织损伤改变。

孕鼠腹腔注射 0.7 mg/kg LPS 致孕鼠胎盘中 TNF- α 、IL-1 β mRNA 及胎鼠肺部 IL-1 β mRNA 的表达显著升高($P < 0.01$),与 Cao 等^[9]实验结果相符,表明模拟妊娠中晚期宫内炎症暴露状态模型成功,且宫内暴露于 LPS 的新生鼠肺部炎症发动始于出生之前。Cao 等^[9]还验证了孕鼠腹腔注射 LPS 后肺、肝脏中的细胞因子(IL-1 β 、IL-6、IL-10、CXCL1/2、TNF- α)显著高于对照组,表明腹腔注射 LPS 是通过全身炎症反应引起宫外源性的宫内炎症反应。

炎症介质通过损害肺泡上皮细胞及肺血管内皮细胞形成新生儿肺损伤^[10]。Schmidt 等^[11]研究发现母体绒毛膜羊膜炎的新生儿肺内肺泡巨噬细胞等炎症细胞广泛聚集,出生后肺部疾病的易感性增加。LPS 作为内毒素的主要成分,可活化巨噬/单核细胞,分泌 TNF- α 、IL-1 β ^[12-13]。TNF- α 作用于巨噬细胞、血管内皮细胞,与细胞表面 TNF 受体(TNFR)结合,转化细胞内信号,通过 MAPK 等途径激活转录因子 NF- κ B,诱导其他细胞因子产生,并通过 TNFR 相关死亡蛋白,激活 caspase-8,启动炎症瀑布的爆发,直接损伤肺组织细胞^[14-15]。IL-1 β 在炎症过程中起协同作用^[16]。在肺部炎症早期,炎症因子产生级联反应,表达量急剧升高并达峰值,但随着炎症介质的大量释放,抗炎因子(如 IL-10、TGF- β)的合成和释放也相应启动,并在炎症反应后期成为优势^[17]。Hawkins^[18]研究发现 IL-10、TGF- β 等抗炎因子可显著抑制单核细胞合成、释放炎症介质,且有显著的量效关系,从而降低肺部 TNF- α 、IL-1 β 等炎症介质的表达量。本研究发现,与对照组比较,LPS 组新生大鼠生后第 1、4、7 天模型肺 TNF- α 、IL-1 β 表达仍显著升高并于生后第 4 天达峰值,之后炎症逐渐减轻,这一结果表明妊娠中晚期宫内炎症暴露诱发胎儿全身性的非特异性炎症反应并非一过性,可持续到出生后,并导致新生鼠出生后肺部炎症致敏。在炎症反应初始,TNF- α 、IL-1 β 等通过炎症介质间相互作用,表达量迅速升高,后期则因为抗炎物质的产生,抑制了炎症因子的合成与释放。

本研究中发现 LPS 组新生鼠生后肺 W/D 显著增加,考虑炎症反应损伤肺泡上皮细胞,使细胞间隙增宽,通透性增加,引起肺水肿,影响新生鼠肺液清除。综上所述,SD 大鼠孕 18 d 腹腔注射 0.7 mg/kg LPS 可导致新生鼠肺病理损害,肺水肿,炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 增高,并延续到生后 7 d。

本研究通过观察比较孕鼠腹腔注射不同剂量 LPS 对孕鼠及新生鼠的影响,发现孕鼠腹腔注射 LPS 0.7 mg/kg 制备新生鼠肺损伤的模型较成功,且此模型具有简行性、可重复性及稳定可靠等优点,能真实模拟宫内感染影响新生大鼠肺组织的病理改变,可作为研究宫内感染致新生大鼠肺损伤的病理模型。

本研究不足之处在于未能收集新生鼠生后动脉血进行动脉血气分析,尝试了颈动脉、左心室抽血,但均因血量太少而未能完成。孕鼠腹腔注射 LPS 致新生鼠肺损伤的机制尚需进一步研究。

[参考文献]

- [1] Lee HJ, Kim EK, Kim HS, et al. Chorioamnionitis, respiratory distress syndrome and bronchopulmonary dysplasia in extremely low birth weight infants [J]. *J Perinatol*, 2011, 31(3):166-170
- [2] Kramer BW. Antenatal inflammation and lung injury: prenatal origin of neonatal disease [J]. *J Perinatol*, 2008, 28(Suppl 1):S21-S27
- [3] Bersani I, Thomas W, Speer CP. Chorioamnionitis--the good or the evil for neonatal outcome? [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2012, 25(Suppl 1):12-16
- [4] Galinsky R, Polglase GR, Hooper SB, et al. The consequences of chorioamnionitis; preterm birth and effects on development [J]. *J Pregnancy*, 2013, 2013:412831
- [5] Thomas W, Speer CP. Chorioamnionitis: important risk factor or innocent bystander for neonatal outcome? [J]. *Neonatology*, 2011, 99(3):177-187
- [6] Smith KM, Mrozek JD, Simonton SC, et al. Prolonged partial liquid ventilation using conventional and high-frequency ventilatory techniques: gas exchange and lung pathology in an animal model of respiratory distress syndrome [J]. *Crit Care Med*, 1997, 25(11):1888-1897
- [7] Kerr K, Wheelhouse N, Livingstone M, et al. Inflammatory cytokine responses in a pregnant mouse model of *Chlamydia abortus* infection [J]. *Vet Microbiol*, 2010, 144(3-4):392-398
- [8] 王崇伟,程锐,秦勤,等. 内毒素致新生大鼠急性肺损伤 IL-18 的变化 [J]. *中国新生儿科杂志*, 2006, 21(4):210-212
- [9] Cao L, Wang J, Tseu I, et al. Maternal exposure to endo-

- toxin delays alveolarization during postnatal rat lung development [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2009, 296(5): 726-737
- [10] Eriksson L, Haglund B, Odland V, et al. Prenatal inflammatory risk factors for development of bronchopulmonary dysplasia [J]. *Pediatr Pulmonol*, 2013, doi: 10.1002/ppul.22881 [Epub ahead of print]
- [11] Schmidt B. Chorioamnionitis and inflammation of the fetal lung [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2001(184): 173-177
- [12] Chen H, Bai C, Wang X. The value of the lipopolysaccharide-induced acute lung injury model in respiratory medicine [J]. *Expert Rev Respir Med*, 2010, 4(6): 773-783
- [13] Le Rouzic V, Wiedinger K, Zhou H. Attenuated mRNA expression of inflammatory mediators in neonatal rat lung following lipopolysaccharide treatment [J]. *J Inflamm Res*, 2012, 5: 99-109
- [14] Tang JR, Michaelis KA, Nozik-Grayck E, et al. The NF-kappaB inhibitory proteins I kappa Balpha and I kappa Bbeta mediate disparate responses to inflammation in fetal pulmonary endothelial cells [J]. *J Immunol*, 2013, 190(6): 2913-2923
- [15] Le W. TNFR1-dependent pulmonary apoptosis during ischemic acute kidney injury [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 5(303): 449-459
- [16] 曹 蕾. 发育肺炎损伤和信号转导途径的研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2004
- [17] 张晓鸣, 顾绍庆. 水飞蓟素对急性肺损伤小鼠肺组织 IL-1 β 、IL-6、趋化因子 fractalkine 表达的影响 [J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2012, 132(8): 1083-1086
- [18] Hawkins DL. Human interleukin 10 suppresses production of inflammatory mediators by LPS-stimulated equine peritoneal macrophages [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 1998, 1(66): 1-10

[收稿日期] 2014-02-25

(上接第 715 页)

细胞死亡增多^[12]。

以上研究表明, miR-194 增加了 A549/DDP 细胞对顺铂的耐药性, 可能是通过抑制细胞凋亡、增强细胞增殖以及上调 Bcl-2、下调 Bax 蛋白引起。这一研究为 miR-194 的联合抗肿瘤治疗提供了实验依据, 提示 miR-194 可能是 NSCLC 基因治疗的新靶点。miR-194 在 NSCLC 中的功能和机制还需进一步完善。

[参考文献]

- [1] Lal A, Navarro F, Maher CA, et al. MiR-24 Inhibits cell proliferation by targeting E2F2, MYC, and other cell-cycle genes via binding to "seedless" 3' UTR microRNA recognition elements [J]. *Mol Cell*, 2009, 35(5): 610-625
- [2] Sevignani C, Calin GA, Nnadi SC, et al. MicroRNA genes are frequently located near mouse cancer susceptibility loci [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(19): 8017-8022
- [3] Cheng T, Wang L, Li Y, et al. Differential microRNA expression in renal cell carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2013, 6(3): 769-776
- [4] Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(16): 7065-7070
- [5] Wang R, Wang ZX, Yang JS, et al. MicroRNA-451 functions as a tumor suppressor in human non-small cell lung cancer by targeting ras-related protein 14 (RAB14) [J]. *Oncogene*, 2011, 30(23): 2644-2658
- [6] Bian HB, Pan X, Yang JS, et al. Upregulation of microRNA-451 increases cisplatin sensitivity of non-small cell lung cancer cell line (A549) [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2011, 30(1): 20
- [7] 王 鹤, 刘志利, 德 伟, 等. microRNA-335 对人非小细胞肺癌细胞迁移、侵袭及增殖能力的影响 [J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2012, 32(6): 795-799
- [8] Zhai H, Karaayvaz M, Dong P, et al. Prognostic significance of miR-194 in endometrial cancer [J]. *Biomark Res*, 2013, 1(1): 12
- [9] Khella HW, Bakhet M, Allo G, et al. MiR192, miR194 and miR 215: a convergent microRNA network suppressing tumor progression in renal cell carcinoma [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(10): 2231-2239
- [10] Wu X, Liu T, Fang O, et al. miR 194 suppresses metastasis of non small cell lung cancer through regulating expression of BMP1 and p27kip1 [J]. *Oncogene*, 2014, 33(12): 1506-1514
- [11] Pogribny IP, Filkowski JN, Tryndyak VP, et al. Alterations of microRNAs and their targets are associated with acquired resistance of MCF-7 breast cancer cells to cisplatin [J]. *Inter J Cancer*, 2010, 127(8): 1785-1794
- [12] Su JC, Lin KL, Chien CM, et al. Naphtho [1,2-b]furan-4,5-dione inactivates EGFR and PI3K/Akt signaling pathways in human lung adenocarcinoma A549 cells [J]. *Life Sci*, 2010, 86(5-6): 207-213

[收稿日期] 2014-01-27