

脂氧素 A₄ 调控转化生长因子-β1 干预小鼠支气管肺发育不良的机制研究

李冰洁¹, 李淑君¹, 罗妍妍¹, 卢红艳², 陈筱青^{1*}, 吴升华^{1*}

(¹南京医科大学第一附属医院儿科, 江苏 南京 210029; ²江苏大学附属医院儿科, 江苏 镇江 212001)

[摘要] 目的:探讨脂氧素 A₄(lipoxin A₄, LXA₄)对新生小鼠高氧诱导所致的支气管发育不良(bronchopulmonary dysplasia, BPD)的保护作用及可能机制。方法:利用高氧损伤诱导 BPD 动物模型,将新生 C57BL/6J 小鼠随机分成:空气对照组、模型组、LXA₄ 干预组、转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)中和抗体(1D11)干预组,记录仔鼠体重和生存情况,HE 染色观察出生后肺组织病理改变,qPCR 法检测肺纤维化指标及转化生长因子-β I 型受体(transforming growth factor-β receptor 1, TGF-βR1)和转化生长因子-β II 型受体(transforming growth factor-β receptor 2, TGF-βR2)的表达水平。结果:①模型组新生小鼠较空气对照组体重减低且活力差。②肺组织大体标本观察:与空气对照组相比,各组小鼠肺体积减小,色泽暗淡。与空气对照组(d13)相比,LXA₄ 干预组和 1D11 干预组小鼠肺外观与之相仿。③HE 染色:除空气对照组外,各组肺组织均产生类似 BPD 的病理损伤。较模型组(d13)相比,LXA₄ 干预组与 1D11 干预组的肺泡结构趋于正常化。④qPCR:与空气对照组相比,各组肺纤维化指标:纤维连接蛋白、平滑肌肌动蛋白-α、弹性蛋白、肌腱蛋白 C、组织金属蛋白抑制剂-1 及 TGF-βR1、TGF-βR2 的表达量均增加($P < 0.05$)。与空气对照组相比,各组基质金属蛋白酶 1 相对表达量减少($P < 0.05$);其中与模型组相比,LXA₄ 干预组和 1D11 干预组基质金属蛋白酶 1 表达量上调($P < 0.05$),且 LXA₄ 干预组上调更为显著($P < 0.05$)。与空气组对照比较,模型组、LXA₄ 干预组和 1D11 干预组 I 型胶原表达量增高($P < 0.05$);其中与模型组相比,LXA₄ 干预组和 1D11 干预组 I 型胶原表达减少($P < 0.05$)。结论:LXA₄ 可能是通过抑制 TGF-β1 信号通路下调肺纤维化相关因子,实现对高氧诱导 BPD 的保护作用。

[关键词] 脂氧素 A₄;转化生长因子-β1;支气管肺发育不良

[中图分类号] R725.6

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2016)11-1326-07

doi:10.7655/NYDXBNS20161109

Mechanisms of lipoxin A₄ attenuating bronchopulmonary dysplasia via regulation of TGF-β1

Li Bingjie¹, Li Shujun¹, Luo Yanyan¹, Lu Hongyan², Chen Xiaqing^{1*}, Wu Shenghua^{1*}

(¹Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of NJNU, Nanjing 210029; ²Department of Pediatrics, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective roles of lipoxin A₄ (LXA₄) in hyperoxia-induced bronchopulmonary dysplasia (BPD) in neonatal mice and the possible mechanisms. **Methods:** BPD was induced by 85% O₂ exposure. C57/BL6 neonatal mice were randomized divided into the air group, the hyperoxia (85% oxygen) group, the hyperoxia + LXA₄ group, and the hyperoxia + TGF-β1 antibodies (1D11) group. The weight and growth status of the mice were recorded daily. The pathologic changes of pulmonary tissues were observed by hematoxylin and eosin (HE) staining. Not only the expression of fibrosis indexes of the lung, but also quantitative expressions of TGF-β1 receptor (TGF-βR1) and TGF-βR2 were detected by real-time quantitative PCR. **Results:** ① Model neonatal mice under hyperoxia circumstance presented growth retardation and poor activity compared with the air controls. ② Compared with the air group, decrease of volume and darkness of color were observed in pulmonary tissues of mice in the other three groups on d7. However, the colors of pulmonary tissues in the LXA₄ and the 1D11 treated groups were similar with the air group on d13. ③ Compared with the air group on d7, the pathology changes of other three groups were consistent with BPD. In comparison to the models on d13, treatment with LXA₄ or 1D11 led to the normalization of alveolar structure. ④ Hyperoxia resulted in significant increase in the mRNA expressions of fibrosis indexes in the lung, such as, fibronectin, α-SMA, elastin, tenascin-C and TIMP-1. There were also overexpression of TGF-βR1 and TGF-βR2 ($P < 0.05$). The uptrend of expression of MMP-1 was found in both the LXA₄ group and the 1D11 group, which was opposite in the hyperoxia group. Furthermore, it was more notable in the mice treated with

[基金项目] 国家自然科学基金(81300521, 81270821, 81370746)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: chenxq2002@foxmail.com; kad-yc@163.com

LXA₄. The quantity of collagen I expression was promoted by hyperoxia exposure ($P < 0.05$) compared with controls. The reduction of collagen I was detected both in treatment of LXA₄ and 1D11 ($P < 0.05$). **Conclusion:** LXA₄ can play a protective role in hyperoxia-induced BPD in neonatal mice by reducing the expression of fibrosis indexes modulated by the signaling pathways of TGF-β1.

[Key words] lipoxin A₄; transforming growth factor-β1; bronchopulmonary dysplasia

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(11): 1326-1332]

支气管肺发育不良(bronchopulmonary dysplasia, BPD)是早产儿常见的呼吸系统慢性疾病,严重影响患儿存活率及生存质量。近年来随着早产儿重症监护技术的进展,早产儿的存活率大大提高,因此 BPD 发病率也逐年增加,然而 BPD 发病机制复杂,除了糖皮质激素被证实有一定疗效外,迄今尚无切实可行的防治手段^[1]。研究发现,肺上皮及间质中的转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)信号通路异常是导致 BPD 发病的关键^[2]。脂氧素 A₄(lipoxin A₄, LXA₄)是花生四烯酸的代谢产物,在病理过程中合成增加,在体内有类似糖皮质激素的抗炎和促进炎症消退作用。在肺纤维化模型中,LXA₄能够抑制转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)信号通路^[3]。我们推测,LXA₄可能是临床有效预防或治疗新生儿 BPD 的新型药物。因此,本研究利用高氧损伤诱导 BPD 小鼠模型,探讨新型抗炎介质 LXA₄对新生儿 BPD 的保护作用。

1 材料和方法

1.1 材料

新生 C57BL/6J 小鼠及其哺乳母鼠购自中国科学院上海动物中心,均为健康清洁级小鼠。选择新生小鼠 33 只,随机分为 4 组:空气对照组(6 只)、模型组(11 只)、LXA₄ 干预组(8 只)、TGF-β₁ 中和抗体(1D11)干预组(8 只)。每组均分为生后 7 d(d7)和生后 13 d(d13)两个亚组。各组间及亚组间新生小鼠体重差异无统计学意义。空气对照组新生小鼠置于正常空气环境中,每只每天腹腔注射 100 μL PBS 溶液。模型组、LXA₄ 干预组与 1D11 干预组新生小鼠置于 85%高氧环境中,其中模型组每只每天腹腔注射 100 μL PBS 溶液;LXA₄ 干预组每只每天腹腔注射 5S,6R-LXA₄ 甲基酯 0.1 mg/kg(用 PBS 溶液配制后注射 100 μL);1D11 干预组每只每天腹腔注射 1D11 10 mg/kg(用 PBS 溶液配制后注射 100 μL)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的制备

自制氧箱(90 cm×42 cm×38 cm,密封树脂玻璃

容器),并设置进气孔、出气孔及测氧孔。将模型组、LXA₄ 干预组与 1D11 干预组新生小鼠(连同母鼠)生后即置于氧箱内,每日 12 h 灯照与 12 h 黑暗交替,密封箱内持续输入氧气(流量为 3.5 L/min),控制氧箱内氧浓度为 85%(MT-01 型氧气浓度监测仪监测),用氢氧化钡吸附 CO₂,温度 22~30℃,湿度 65%~70%。每天开箱 1 h,清洁氧箱,更换敷料,添加饲料及饮水,称重。模型组、LXA₄ 干预组、1D11 干预组与空气对照组母鼠每 24 h 互换,以避免母鼠氧中毒进而影响新生小鼠的喂养。空气对照组置于标准喂养室中,除吸入气体为正常空气外,其余饲养条件与模型组相同。每天观察记录新生小鼠的体重及生存情况^[4]。

1.2.2 标本收集及观察

于生后 7 d 和 13 d 分别从各组中随机抽取新生小鼠,腹腔注射戊巴比妥钠麻醉后处死,迅速剪开胸骨柄,打开小鼠胸腔;取出肺脏组织,剔除心脏及大血管;迅速切取左肺,用生理盐水洗净残血,吸干水分,放于冻存管中液氮速冻后存于-80℃冰箱,用于实时定量 PCR 检测。取右肺组织,浸入 4%多聚甲醛固定,24 h 后石蜡包埋,制成 5 μm 切片;行苏木素-伊红染色(HE 染色),HE 染色后的肺组织经梯度酒精(70%和 95%无水乙醇)常规脱水、甘油封片,分别于 200 倍和 400 倍光镜下观测各组肺泡腔结构、次级隔发育及间质发育等情况并拍照。

1.2.3 实时定量 PCR (real-time quantitative PCR, qPCR)

利用 TRIzol 试剂(Invitrogen 公司,美国)提取肺组织总 RNA,采用琼脂糖凝胶电泳分析 RNA 的完整度,采用分光光度法测定 RNA 的浓度和纯度。逆转录反应体系总体积 20 μL,包括上下游引物(10 μmol/L)各 0.5 μL, dNTPs 0.5 μL, RNA 模板 4 μL, 逆转录酶 MMLV 1 μL, 5×逆转录缓冲液 4 μL。以 GAPDH 为内参照,用 ABI PRISM7500 扩增仪对制备好的 cDNA 进行 PCR 扩增,扩增体系包括 SYBRGreen Mix 12.5 μL,上游引物 0.5 μL,下游通用引物 0.5 μL, ddH₂O 14.5 μL, cDNA 模板 2 μL, 总体积 30 μL。扩增完后,

行溶解曲线分析。反应在 ABI-7 500 Real-time 检测仪中进行。PCR 反应条件:95℃预变性10 min;95℃变性 15 s,60℃退火 1 min,72℃延伸 1 min,40 个循环;72℃终末延伸 5 min。内参GAPDH 上游引物:5'-AGGTCGGTGTGAACGGATTTG-3',下游:5'-TG-TAGACCATGTAGTTGAGTCA-3',129 bp;转化生长因子-β I 型受体 (transforming growth factor-β receptor 1,TGF-βR1) 上游:5'-AGCAGTGACTGCCAT-GCG-3',下游:5'-CAGGCTAAACGTCTCAAC-TGCA-3',68 bp; 转化生长因子-β II 型受体 (transforming growth factor-β receptor 2,TGF-βR2) 上游:5'-CCGCTGCATATCGTCTGTG-3',下游:5'-AGTGGA-TGGATGTCCTATTACA-3',131 bp; 纤维连接蛋白 (fibronectin) 上游:5'-TTCAAGTGTGATCCCCATGA-AG-3', 下游:5'-CAGGTCTACGGCAGTTGTCA-3', 154 bp;平滑肌肌动蛋白(α-SMA)上游:5'-GTCCCA-GACATCAGGGAGTAA-3',下游:5'-TCGGATACTTC-AGCGTCAGGA-3',102 bp;组织金属蛋白抑制剂-1 (tissue-inhibitor of metalloproteinase-1,TIMP-1) 上游:5'-GCAACTCGGACCTGGTCATAA-3',下游:5'-C-GGCCCCGTGATGAGAACT-3',226 bp;弹性蛋白(e-lastin)上游:5'-TTGCTGATCCTCTTGCTCAAC-3',下游:5'-GCCCCTGGATAATAGACTCCAC-3',113 bp;肌腱蛋白 C (tenascin-C) 上游:5'-GGGCTATAGAA CACCGATGC-3',下游:5'-CATTTAAGTTTCCAATTT-CAGGTTTC-3',71 bp;基质金属蛋白酶 1 (matrix metalloproteinase,MMP1) 上游:5'-CTTCTTCTTGTT-GAGCTGGACTC-3',下游:5'-CTGTGGAGGTCAC-TGACT-3',173 bp;I 型胶原(collagen I)上游:5'-GCTCCTCTTAGGGGCCACT-3',下游:5'-CCACGT:CTCACCATTTGGGG-3',103 bp。

1.3 统计学方法

实验数据采用 SPSS19.0 软件进行统计学分析,结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。均数之间的比较采用单因素方差分析(ANONA),组间比较采用 SNK 检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠生长情况

空气对照组新生小鼠生长正常,活力好。模型组小鼠在生后 7 d,与空气对照组的生存状况无明显差异,7 d 后活力较空气对照组迟缓、精神萎靡,后期仍依赖母鼠喂奶,基本无法自行寻食。模型组小鼠于 13~14 d 全部死亡,其余组小鼠均存活>14 d。空气对

照组与模型组新生小鼠体重变化如图 1 所示。

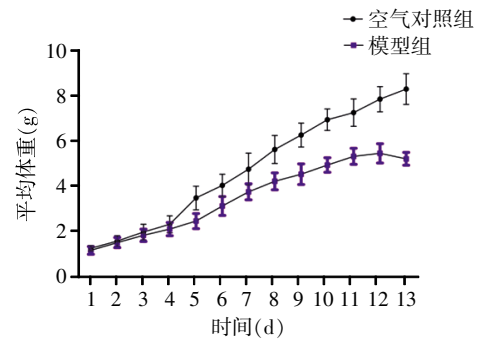


图 1 空气组与模型组新生小鼠生后体重检测

Figure 1 The daily growth record of newborn mice in the air group and the model group

2.2 小鼠肺组织标本观察

各组小鼠于生后 7、13 d 处死获取标本(图 2)。因模型组小鼠在生后 13~14 d 自然死亡,故模型组在小鼠死亡之前获取组织标本进行观察。空气对照组小鼠肺部发育正常,肺部呈粉红色。高氧环境下,模型组小鼠肺部发育缓慢,体积较空气对照组缩小,失去正常形态,肺部颜色暗红,连续用 LXA₄ 干预 7 d 与连续用 1D11 干预 7 d 的小鼠肺部色泽淡红,大小与模型组相仿。连续用 LXA₄ 干预 13 d 的新生小鼠肺部颜色呈粉红色,接近于空气对照组,体积略大于模型组小鼠但仍小于空气对照组小鼠。连续用 1D11 干预 13 d 的新生小鼠肺部颜色呈淡红色,体积略小于空气对照组。

2.3 各组小鼠肺组织标本 HE 染色

HE 染色结果显示,空气对照组生后 7 d 和 13 d 肺部组织可见结构均一肺泡,细胞核和细胞质清晰,分布均匀。与空气对照组相比,模型组、LXA₄ 干预组与 1D11 干预组产生了类似 BPD 的病理损伤,表现为细胞质和细胞核分布紊乱,肺泡壁薄,结构简单且肺泡间隔断裂,肺泡腔融合,肺间质变厚,间质增生,血管扩张,纤维化增生。以上提示肺泡产生了类似 BPD 的病理损伤,生后 13 d 模型组上述病理损害加重。与模型组(7 d)相比,LXA₄ 干预组(7 d)肺泡融合现象减少,病变情况减轻,LXA₄ 干预组(13 d)肺泡结构趋于正常化。与模型组(7 d)相比,1D11 干预组(7 d)肺间质变薄,但可见大量空泡,1D11 干预组(13 d)肺泡腔融合现象减少(图 3)。

2.4 各组小鼠肺组织标本 qPCR 分析

与空气对照组相比,模型组、LXA₄ 干预组与 1D11 干预组的肺纤维化指标 fibronectin、α-SMA、elastin、tenascin-C 的表达均增加 ($P < 0.05$),其中

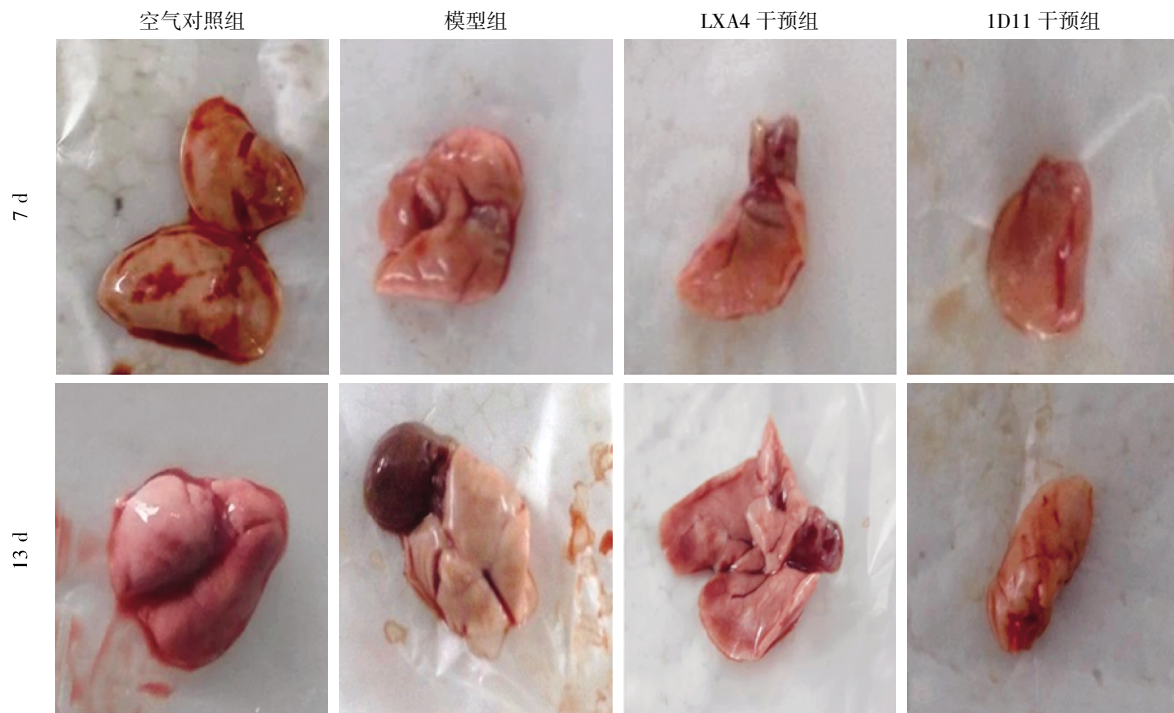


图 2 各组肺组织的大体观察

Figure 2 General observation of lung histology in each group

LXA₄ 干预组和 1D11 干预组各指标相对表达量与模型组相比均减少 ($P < 0.05$), 且 LXA₄ 干预组相对表达量少于 1D11 干预组, 组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 4A~D)。关于肺纤维化指标 TIMP-1 与 MMP1: 与空气对照组比较, 模型组、LXA₄ 干预组与 1D11 干预组 TIMP-1 的相对表达量均增高 ($P < 0.05$), 其中 LXA₄ 干预组和 1D11 干预组 TIMP-1 的相对表达量与模型组相比均减少 ($P < 0.05$), 且 LXA₄ 干预组 TIMP-1 表达量低于 1D11 干预组 ($P < 0.05$)。与空气对照组比较, 模型组、LXA₄ 干预组与 1D11 干预组 MMP1 的相对表达量均减少 ($P < 0.05$), 其中 LXA₄ 干预组和 1D11 干预组的 MMP-1 相对表达量与模型组相比均升高 ($P < 0.05$), 且 LXA₄ 干预组 MMP-1 相对表达量高于 1D11 干预组 ($P < 0.05$, 图 4E, F)。

关于另一肺发育纤维化指标 Collagen I: 与空气对照组比较, 虽模型组、LXA₄ 干预组与 1D11 干预组 Collagen I 的相对表达量均增高, 但仅模型组与空气对照组组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与模型组相比, LXA₄ 干预组和 1D11 干预组 Collagen I 表达均减少且 LXA₄ 干预组减少更显著 ($P < 0.05$), LXA₄ 干预组和 1D11 干预组间差异不具有统计学意义 ($P > 0.05$, 图 4G)。

此外, 模型组、LXA₄ 干预组与 1D11 干预组

TGF-β1 和 TGF-β2 表达量均较空气对照组增加 ($P < 0.05$), LXA₄ 干预组与 1D11 干预组的 TGF-β1 和 TGF-β2 表达量比模型组少, LXA₄ 干预组 TGF-β1 和 TGF-β2 表达少于 1D11 干预组 ($P < 0.05$, 图 4H, I)。

3 讨论

BPD 是早产儿呼吸系统常见的慢性疾病, 是由多因素共同作用的结果, 常见于使用机械通气的早产儿。目前认为, 炎性浸润、各种细胞凋亡、细胞外基质重塑是 BPD 的病理特征^[5]。根据此特点 BPD 大体上可分为两种病变, 一是肺发育阻滞为主要表现的“新型 BPD”, 表现为肺泡数目减少、体积增大, 而肺纤维化程度较轻等; 二是炎性病变为主要表现的“传统 BPD”, 表现为气道平滑肌增生增厚、鳞状上皮化生, 肺实质、肺间质的慢性炎症与纤维化^[6]。小孕周早产儿肺发育不成熟, 肺间质和肺泡分化不全, 肺弹力纤维和结缔组织发育不良, 在各种致病因素下可诱发肺部过度炎症反应, 肺泡数目减少, 末端肺泡结构简单化, 毛细血管减少, 肺间质重构, 最终表现为肺实质慢性炎症和肺纤维化, 从而形成 BPD 病理改变^[7]; 此外, 早产儿出生后需长期机械通气和气管插管, 易引起反复肺部感染, 而肺部感染又可促进肺部炎症反应而造成肺组织损伤, 延长了辅助

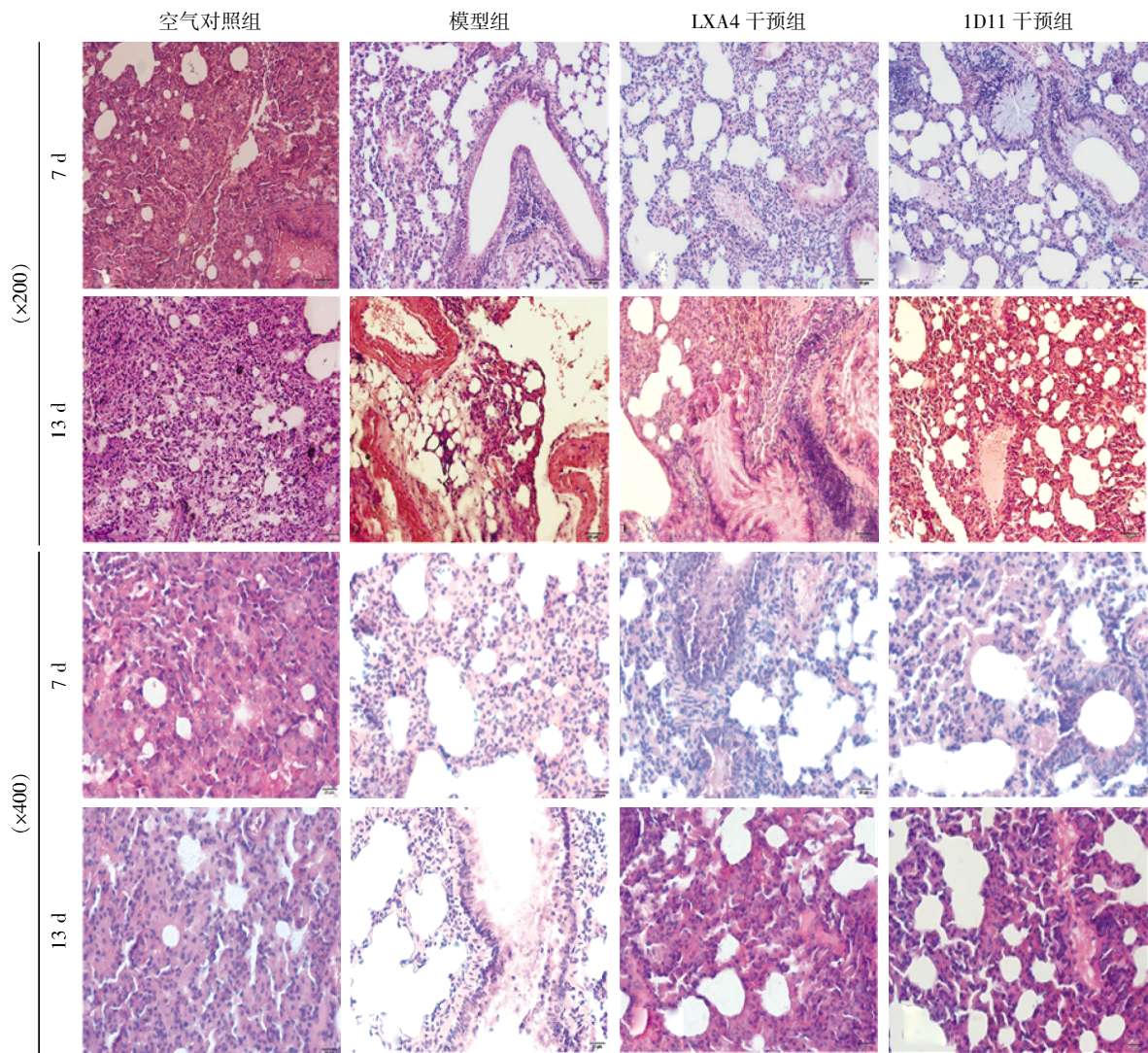


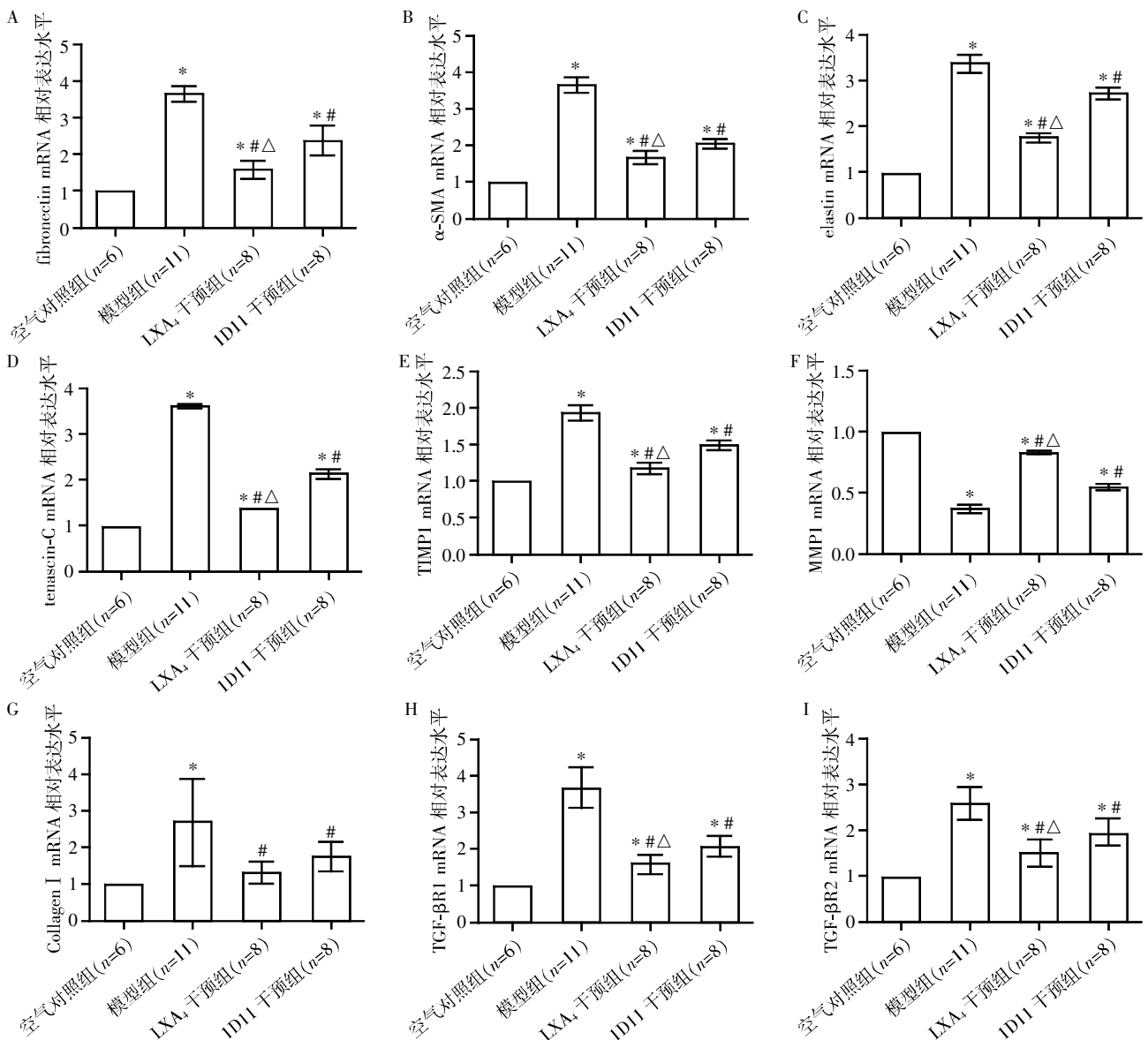
图 3 肺组织的病理变化(苏木素-伊红染色)

Figure 3 Pathological changes of lung tissues under microscope(HE)

通气及供氧时间,形成恶性循环,促进 BPD 的发生^[8]。

在以肺发育阻滞为主要表现的“新型 BPD”中,早产儿肺泡囊和肺泡发育受抑制是其发病的主要原因^[9]。已知 TGF- β 是肺发育的重要调控因子,负性调控肺分支发育、次级隔形成、上皮细胞分泌表面活性物质等过程^[10],其中 TGF- β 1 活性最强。吴静等^[11]在 BPD 患儿肺灌洗液中检测到有 IL-8、SPA 及 TGF- β 1 的过高表达。孙永强等^[12]发现死亡的 BPD 患儿肺组织内 TGF- β 1 表达明显增高,提示 BPD 的发生与炎症、TGF- β 1 高表达有着密切关系。此外,Nakanishi 等^[13]证实成熟肺高氧性肺损伤与 TGF- β 对肺泡和微血管形成的负性调控相关。他们还发现:长期吸入 85%氧气的的新生小鼠,肺组织 TGF- β 信号将减弱,肺部成熟度下降^[13]。利用 TGF- β 中和抗体预处理减弱了 TGF- β 信号表达,促进细胞外基质聚集,促进肺微血管以及肺泡的发育^[13]。

在以炎症病变为主要表现的“传统 BPD”中,机械通气引起的感染等常是早产儿 BPD 发生的主要原因。因此,具有强大抗炎作用的糖皮质激素常作为现阶段临床治疗 BPD 的首选方案,它不但能促进肺表面活性物质的合成及肺抗氧化酶的生成,减轻肺水肿,而且能抑制炎性细胞浸润,减轻炎症反应,还能抑制纤维细胞增生,对治疗 BPD 有确切疗效^[14]。然而,近年来大量临床观察发现,糖皮质激素并不能缩短住院时间,反而可能增加死亡率、阻碍肺成熟、抑制头围生长和神经系统发育,导致婴儿神经系统发育迟缓^[15]。该药还可引起高血糖、高血压、感染、消化道溃疡、生长抑制、心脏肥大、神经系统损伤以及脑瘫等诸多不良影响。基于大量循证医学研究,北美及欧洲儿科学会发表联合声明,不推荐糖皮质激素作为防治 BPD 的常规治疗^[16]。因此,迄今对于 BPD 治疗仍无突破性进展。



A: fibronectin mRNA 的相对表达; B: α-SMA 的相对表达; C: elastin mRNA 的相对表达; D: tenascin-C mRNA 的相对表达; E: TIMP1 mRNA 的相对表达; F: MMP1 mRNA 的相对表达; G: Collagen I mRNA 的相对表达; H: TGF-β1 mRNA 的相对表达; I: TGF-β2 mRNA 的相对表达。与空气对照组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, # $P < 0.05$; 与 1D11 干预组相比较, Δ $P < 0.05$ 。

图 4 各组肺纤维化指标的 mRNA 表达

Figure 4 The mRNA expression of lung fibrosis indicators in each group

研究表明, 肺部损伤和肺部纤维化将通过释放相关细胞因子和趋化因子(如 TGF-β 和 IL-1β)引发炎症反应, 在炎症过程中由 IL-1β 调控的 TXA₂-TP 信号通路可以抑制 LXA₄ 受体的转录, 若选择性封锁该信号通路可以通过激活 LXA₄ 从而发挥其强大的抗炎作用^[3]。已知 LXA₄ 受体与糖皮质激素衍生的膜联蛋白(annexin)-1 肽相结合, 临床作用与非甾体抗炎药物、糖皮质激素相近, 且在体内应用无糖皮质激素类的不良反应。故我们推测 LXA₄ 有望取代糖皮质激素应用于 BPD 的防治。目前关于 LXA₄ 对 BPD 的保护作用及通过何种信号途径及相应分子

生物学机制尚未知晓, 故本研究旨在探讨 LXA₄ 是否对 BPD 具有保护作用及可能机制。

本研究中高氧损伤可以导致模型组新生小鼠活动减少且生长状态不良, 体重低于同日龄空气对照组小鼠, 肺部形态异常且体积缩小, 肺泡腔扩大, 肺间隔增宽, 肺组织结构紊乱。以上均符合 BPD 不良患儿的肺组织病理生理改变。运用 TGF-β1 中和抗体 1D11 干预的小鼠肺部形态改变较 BPD 模型组减轻, 也证实了 1D11 的保护作用, 与 Nakanishi 等^[13]的研究相一致。观察 LXA₄ 干预小鼠肺病理形态发现肺泡融合现象减少且结构趋于正常化, 证

实了 LXA₄ 具有与 1D11 类似的形态学保护作用。本研究测定的细胞外基质蛋白 fibronectin、 α -SMA、elastin、tenascin-C、collagen I 在模型组中表达量增多,证实肺部纤维化是 BPD 的重要病理特征之一,上述指标在 LXA₄ 干预组和 1D11 干预组表达量降低提示 LXA₄ 和 1D11 都可以抑制肺部纤维化,且 LXA₄ 的作用更为明显。同样,模型组 MMP-1 表达量较空气对照组低,TIMP-1 较空气对照组增高,MMP-1/TIMP-1 的平衡被破坏,提示二者平衡在 BPD 发展过程中也具有重要作用。而在 LXA₄ 干预组 MMP-1 表达量较模型组明显增高,TIMP-1 较模型组明显降低,且变化幅度一致,提示 LXA₄ 可恢复 MMP-1/TIMP-1 的平衡,减轻高氧引起的肺组织损伤;1D11 干预组与模型组的比较可发现 MMP-1 表达量的增高幅度略低于 TIMP-1 的降低幅度,提示 1D11 亦可使 MMP-1/TIMP-1 恢复平衡,缓解肺部间质增生。此外,通过定量检测 TGF- β 1 和 TGF- β 2 mRNA 表达发现,与模型组相比,LXA₄ 干预组和 1D11 干预组下调 TGF- β 1 和 TGF- β 2 的表达。我们推测脂氧素 LXA₄ 可能是通过抑制 TGF- β 1 信号通路,下调肺纤维化相关因子实现对新生小鼠高氧诱导所致 BPD 的保护作用。

本研究为新型抗炎药物 LXA₄ 保护与高氧肺损伤提供了体内实验依据,为新生儿 BPD 的治疗提供了新思路。然而 LXA₄ 及其他类似物给药的优劣性、时效性、有效剂量范围、安全性问题等,以及如何调控 TGF- β 1 信号通路及其下游信号分子的详细机制有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Leonard DT. Bronchopulmonary dysplasia [J]. *Pediatr Rev*, 2012, 33(6): 255-263
- [2] Ahlfeld SK, Conway SJ. Aberrant signaling pathways of the lung mesenchyme and their contributions to the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia [J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2012, 94(1): 3-15
- [3] Sato Y, Kitasato H, Murakami Y, et al. Down-regulation of lipoxin A₄ receptor by thromboxane A₂ signaling in RAW246. 7 cells *in vitro* and bleomycin-induced lung fibrosis *in vivo* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2004, 58(6): 381-387
- [4] Berger J, Bhandari V. Animal models of bronchopulmonary dysplasia. The term mouse models [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2014, 307(12): L936-L947
- [5] Niedermaier S, Hilgendorff A. Bronchopulmonary dysplasia-an overview about pathophysiologic concepts [J]. *Mol Cell Pediatr*, 2015, 2(1): 1-7
- [6] 张国强, 刘欣, 刘曼, 等. 新生儿支气管肺发育不良从经典到新型的研究进展 [J]. *中国儿童保健杂志*, 2015, 23(11): 1163-1165
- [7] 邓春. 循环纤维细胞在早产儿支气管肺发育不良中的检测及意义 [J]. *重庆医科大学学报*, 2015, 40(4): 627-631
- [8] 梁莹莹, 邹卉, 韩梅盈, 等. 支气管肺发育不良的病因及发病机制研究进展 [J]. *山东医药*, 2015, 55(42): 98-100
- [9] Ahlfeld SK, Wang J, Gao Y, et al. Initial suppression of transforming growth factor- β signaling and loss of TGF β 1 causes early alveolar structural defects resulting in bronchopulmonary dysplasia [J]. *Am J Pathol*, 2016, 186(4): 777-793
- [10] Santibanez JF, Quintanilla M, Bernabeu C. TGF- β 1/TGF- β 2 receptor system and its role in physiological and pathological conditions [J]. *Clin Sci*, 2011, 121(5/6): 233-251
- [11] 吴静, 张小英. 支气管肺发育不良新生儿支气管肺泡灌洗液 IL-8, SPA 和 TGF- β 1 的表达 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2010, 12(6): 444-446
- [12] 孙永强, 李秋平, 封志纯. 支气管肺发育不良患儿 TGF- β 1 蛋白表达的研究 [J]. *中国妇幼健康研究*, 2010, 21(4): 402-405
- [13] Nakanishi H, Sugiura T, Streisand JB, et al. TGF- β 1-neutralizing antibodies improve pulmonary alveologenesis and vasculogenesis in the injured newborn lung [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007, 293(1): L151-L161
- [14] 裴刚, 龚小慧. 糖皮质激素防治支气管肺发育不良的循证医学证据 [J]. *中国小儿急救医学*, 2012, 19(1): 98-100
- [15] 齐骥. 糖皮质激素防治早产儿支气管肺发育不良的进展及争议 [J]. *中国循证儿科杂志*, 2011, 6(3): 237-240
- [16] Committee on Fetus and Newborn. Postnatal corticosteroids to treat or prevent chronic lung disease in preterm infants [J]. *Pediatrics*, 2002, 109(2): 330-338

[收稿日期] 2016-03-18