

· 实验研究 ·

小潮气量常规机械通气对发育肺生长因子和炎症因子表达的影响

刘海沛, 钱莉玲, 汪薇, 朱列伟, 孙波

(复旦大学附属儿科医院, 上海 200032)

[摘要] **目的** 探讨小潮气量常规机械通气对发育肺生长因子(GFs)和炎症因子表达的影响。**方法** 分别将早产猪(85%孕龄)、足月新生猪及幼猪(4~5周龄)随机分为机械通气组(MV组)和自主呼吸对照组(NMV组)。调节呼吸机参数,使呼出气潮气量维持在6~8 mL/kg,机械通气6 h(早产猪)或24 h(新生猪、幼猪)后检测肺组织GFs(PDGF-B, IGF-I, KGF, HGF, VEGF, TGF-β1)及炎症因子(IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α)mRNA表达,免疫组化方法观察GFs蛋白表达与分布。多组间比较用单因素方差分析或Kruskal-Wallis检验,两组间比较用t检验或Mann-Whitney U检验。**结果** ①在早产组, MV组PDGF-B, IL-1β, IL-6, IL-8 mRNA水平较NMV组增高(5.11 ± 0.10 vs 4.88 ± 0.01, 4.95 ± 0.27 vs 4.08 ± 0.37, 4.76 ± 0.27 vs 4.00 ± 0.28, 5.31 ± 0.57 vs 4.15 ± 0.46; $P < 0.01$ 或0.05), IGF-I mRNA水平降低(3.54 ± 0.13 vs 3.80 ± 0.11; $P < 0.01$); ②在足月新生组及幼年组, MV组GFs及炎症因子mRNA水平较NMV组差异均无显著性。**结论** 生后早期机械通气干扰了早产肺GFs的表达,并诱发促炎因子表达,促进了肺损伤的发生;但对足月和幼年肺GFs和炎症因子表达无明显影响。

[中国当代儿科杂志, 2008, 10(4): 517-522]

[关键词] 机械通气; 生长因子; 炎症反应; 肺; 猪

[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2008)04-0517-06

Effects of conventional mechanical ventilation with low tidal volume on the expression of growth factors and inflammatory mediators in developing porcine lungs

LIU Hai-Pei, QIAN Li-Ling, WANG Wei, ZHU Lie-Wei, SUN Bo. Department of Pediatrics, Children's Hospital of Fudan University, Shanghai 200032, China (Qian L-L, Email: llqian@126.com)

Abstract: Objective To study the effects of conventional mechanical ventilation (CMV) with low tidal volume on developmental porcine lungs by examining the expression of growth factors and inflammatory mediators. **Methods** Twelve preterm piglets born at 99 days of gestational age, 12 term neonatal piglets and 11 young piglets (4-5-weeks old) were randomly placed on CMV or were not ventilated (control group). The ventilator settings were adjusted to provide a tidal volume of 6-8 mL/kg in order to maintain a normal blood-gas value. After 6 hrs (preterm piglets) or 24 hrs (neonatal and young piglets) of mechanical ventilation, the mRNA expression of growth factors PDGF-B, IGF-I, KGF, HGF, VEGF and TGF-β1 and proinflammatory cytokines IL-1β, IL-6, IL-8 and TNF-α in the lung tissue was measured using RT-PCR. Growth factor protein expression was measured with immunohistochemistry. **Results** In preterm piglets, the CMV group had increased mRNA expression of PDGF-B (5.11 ± 0.10 vs 4.88 ± 0.01), IL-1β (4.95 ± 0.27 vs 4.08 ± 0.37), IL-6 (4.76 ± 0.27 vs 4.00 ± 0.28) and IL-8 (5.31 ± 0.57 vs 4.15 ± 0.46), but decreased IGF-I mRNA expression (3.54 ± 0.13 vs 3.80 ± 0.11) compared with those in the control group ($P < 0.05$ or 0.01). In term neonatal piglets and young piglets, there were no significant differences in the mRNA expression of growth factors and proinflammatory cytokines between the CMV and control groups. **Conclusions** CMV caused inflammatory injury in immature lungs by increasing the expression of proinflammatory cytokines and PDGF-B and decreasing IGF-I expression. However, CMV had no effects on pulmonary expression of growth factors and inflammatory mediators in term neonatal piglets and young piglets.

[Chin J Contemp Pediatr, 2008, 10(4): 517-522]

Key words: Mechanical ventilation; Growth factor; Inflammatory mediator; Lung; Piglets

[收稿日期] 2008-03-14; [修回日期] 2008-04-18
[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No 30571974)。
[作者简介] 刘海沛, 女, 博士, 住院医师。主攻方向: 新生儿呼吸危重病。现在上海交通大学医学院附属新华医院儿内科, 上海, 200092。
[通讯作者] 钱莉玲, 助理研究员, 复旦大学附属儿科医院, 邮编: 200032。

机械通气时潮气量过大、气道压过高常可造成肺损伤或使原有的肺疾患恶化^[1],保护性通气如小潮气量通气在治疗呼吸衰竭等肺部疾病过程中对肺的保护作用已有较多论证^[2,3],但小潮气量机械通气对发育肺的影响少有报道。炎症是机械通气诱发肺损伤的重要机制^[1],进一步可干扰肺发育^[4],生长因子(growth factors, GFs)作为肺发育和肺损伤修复的重要调控因子^[5],在上述病理过程中可能发挥重要作用。本文将从GFs表达和炎症反应两方面探讨小潮气量常规机械通气对发育肺的影响。GFs种类繁多,我们重点研究与肺泡化及肺损伤修复关系较为密切的GFs,包括血小板源性生长因子(PDGF-B)、胰岛素样生长因子(IGF-I)、角化细胞生长因子(KGF)、肝细胞生长因子(HGF)、血管内皮生长因子(VEGF)及转化生长因子(TGF-β1)。

1 材料和方法

1.1 实验动物与分组

早产猪(母猪85%孕龄时行剖宫产获得)12只,体重790±154 g(获取和处理方法参照课题组前期研究,Qian^[6]);足月新生猪12只,体重1.07±0.26 kg;4~5周龄幼猪11只,体重10.9±1.2 kg。3个年龄组动物各自随机分为机械通气组(MV组)和自主呼吸对照组(NMV组),幼猪机械通气组5只,其余各组每组6只。具体分组为:自主呼吸-早产组(NMVI);机械通气-早产组(MVI);自主呼吸-足月组(NWVI);机械通气-足月组(MVⅡ);自主呼吸-幼年组(VMVⅢ);机械通气-幼年组(MVⅢ)。所有动物由上海农业科学院畜牧兽医研究所提供。

1.2 动物处理

机械通气组动物气管切开插管后接呼吸机(Siemens 300,900C,瑞典 Siemens 公司;Newport E200, E150,美国 Newport 公司),均采用压力控制模式,上机稳定15 min后作为实验0点并检测血气及呼吸力学参数,然后每隔1 h测血气和呼吸力学参数1次。实验过程调节呼吸机参数,使呼出气潮气量维持在6~8 mL/kg,血气在正常范围,机械通气6 h(早产猪)或24 h(新生猪、幼猪)。

1.3 标本采集

实验结束后处死动物,取部分右肺中叶测定肺组织湿干重比(W/D);余置液氮中待测GFs(PDGF-B, IGF-I, KGF, HGF, VEGF, TGF-β1)和促炎症细胞因子(IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α)mRNA表达以及髓

过氧化物酶(MPO)含量。剩余右肺行肺泡灌洗,测支气管肺泡灌洗液(BALF)中总磷脂(TPL)、总蛋白(TP)及饱和磷脂酰胆碱(DSPC)含量。左肺用多聚甲醛灌流固定后石蜡包埋切片,用于GFs免疫组化检测或病理形态分析。

1.4 RT-实时荧光定量PCR检测mRNA表达

用TRIzol(美国Invitrogen公司)提取肺组织总RNA,逆转录为cDNA备用。应用Primer 5.0软件自行设计引物,由申能博彩生物科技有限公司合成,各引物序列见表1。用实时荧光定量PCR扩增仪(Prism 7000,美国ABI公司)和Master Mix SYBR Green I(日本Toyobo公司)进行实时定量PCR。样本及标准品均设两个平行反应管,定量结果取均值并用相应的内参GAPDH标化。

1.5 免疫组化化学法检测GFs表达

按免疫组化标准染色方法检测肺组织PDGF-B、IGF-I及KGF蛋白表达部位和强度。兔抗IGF-I多克隆抗体(美国PeproTech公司)工作液浓度为1:200,兔抗PDGF-B及山羊抗KGF多克隆抗体(美国Santa Cruz公司)工作液浓度为1:100,用PBS代替一抗作为阴性对照,均室温孵育1 h后4℃过夜。IGF-I,PDGF-B二抗及显色使用Envision免疫组化试剂盒(美国Dako公司),KGF使用ABC染色系统(美国Santa Cruz公司)。

1.6 统计分析

各组数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用SPSS 11.5统计软件进行分析。多组间均数比较,若方差齐则采用单因素方差分析,并用Bonferroni法进行两两比较;若方差不齐则参照非参数检验,采用Kruskal-Wallis H检验。两组间比较,若符合t分布则采用两独立样本t检验;若不符合t分布则采用Mann-Whitney U检验。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RT-实时荧光定量PCR质控

PCR扩增产物电泳结果显示无引物二聚体及非特异性条带,各样品熔解曲线呈单峰,表明PCR扩增特异性良好;各指标标准曲线的最小二乘法拟合相关系数均大于0.95,PCR扩增起始模板数与扩增循环阈值的线性关系良好;各样品的两个平行反应管实时荧光曲线值基本拟合,表明PCR反应体系稳定,重复性好,结果可靠。

表 1 各引物序列和扩增条件

检测基因		引物序列(5'-3')	产物长度(bp)	扩增条件
GAPDH	上游	GGT CGG AGT GAA CGG ATT TG	177	95 ℃ 5 min, 95 ℃ 30 s, 62 ℃ 30 s, 72 ℃ 40 s
	下游	TTC TCA GCC TTG ACT GTG CC		
PDGF-B	上游	GAT TGT GCG GAA GAA GCC	159	95 ℃ 5 min, 95 ℃ 30 s, 58 ℃ 30 s, 72 ℃ 40 s
	下游	ATG GTC ACC CGA GTT TGG		
IGF-I	上游	GTG CGG AGA CAG GGG CTT TTA TT	158	95 ℃ 5 min, 95 ℃ 30 s, 68 ℃ 1 min
	下游	CCG ACT TGG CAG GCT TGA GG		
KGF	上游	CTC CAC AGA TCA TGC TTC CAC A	223	95 ℃ 5 min, 95 ℃ 30 s, 60 ℃ 30 s, 72 ℃ 40 s
	下游	TCC CTT TGA CTT TGC CTC GTT		
HGF	上游	GTT TAT GGC TGG GGC TAC ACT G	185	95 ℃ 5 min, 95 ℃ 30 s, 54 ℃ 30 s, 72 ℃ 40 s
	下游	CCA CCA TAA TCC CCC TCA CAT		
VEGF	上游	CCT TGC TGC TCT ACC TCC	239	95 ℃ 5 min, 95 ℃ 30 s, 54 ℃ 30 s, 72 ℃ 40 s
	下游	CTC CAG TCC TTC GTC GTT		
TGF-β1	上游	GCA TCT TGG ACC TTA TCC TGA A	132	95 ℃ 5 min, 95 ℃ 30 s, 68 ℃ 1 min
	下游	CAC TGA GCC ACA ATG GAA ACT		
IL-1β	上游	ACC TGG ACC TTG GTT CTC	124	95 ℃ 5 min, 95 ℃ 30 s, 58 ℃ 30 s, 72 ℃ 40 s
	下游	GGA TTC TTC ATC GGC TTC		
IL-6	上游	CCA CCC CTA ACC CCA CCA CAA	101	95 ℃ 5 min, 95 ℃ 30 s, 68 ℃ 1 min
	下游	AAG GCT GCG CAG GAT GAG AAT G		
IL-8	上游	TAG GAC CAG AGC CAG GAA GAG ACT	186	95 ℃ 5 min, 95 ℃ 30 s, 60 ℃ 30 s, 72 ℃ 40 s
	下游	GGG GTG GAA AGG TGT GGA ATG		
TNF-α	上游	ACG CTC TTC TGC CTA CTG C	162	95 ℃ 5 min, 95 ℃ 30 s, 60 ℃ 30 s, 72 ℃ 40 s
	下游	TCC CTC GGC TTT GAC ATT		

2.2 肺组织 GFs mRNA 和蛋白表达

机械通气早产猪肺内 PDGF-B mRNA 水平较自主呼吸早产猪显著增高($P<0.01$), IGF-I mRNA 水平较自主呼吸早产猪降低($P<0.01$), 而其余 GFs (KGF, HGF, VEGF 及 TGF-β1) mRNA 水平在两组间差异无显著性; 足月新生猪及幼猪机械通气 24 h 后肺内 GFs 表达水平较自主呼吸组差异均无显著性(表 2)。不同肺发育阶段 GFs 表达的比较显示(图 1~3), 早产肺组织 PDGF-B, IGF-I mRNA 水平高于足月新生肺和幼年肺($P<0.01$), 足月新生肺及幼年肺间差异无统计学意义; HGF mRNA 水平在早产肺和新生肺表达水平高于幼年肺($P<0.05$), 早产肺与新生肺间差异无统计学意义; KGF, VEGF, TGF-β1 mRNA 水平在不同肺发育阶段无明显差别(表 2)。

GFs 免疫组化结果显示, PDGF-B, IGF-I 阳性细

胞显色部位在胞浆, 呈棕黄色, 两者在正常肺组织的肺泡上皮、气道上皮以及肺间质均有阳性细胞表达, 早产肺阳性表达强于足月新生肺和幼年肺(图 4, 5)。KGF 在气道上皮、肺泡上皮及肺间质皆有表达, 各组 KGF 阳性细胞数及染色强度无明显差别。

表 2 肺组织 KGF, VEGF 和 TGF-β1 mRNA 表达

$(\bar{x} \pm s)$			
组别	KGF	VEGF	TGF-β1
NMV I	4.26 ± 0.24	5.93 ± 0.54	4.30 ± 0.22
MV I	4.16 ± 0.26	5.65 ± 0.38	4.11 ± 0.22
NMV II	4.14 ± 0.28	5.3 ± 0.43	4.11 ± 0.24
MV II	4.00 ± 0.15	5.14 ± 0.68	3.87 ± 0.24
NMV III	4.22 ± 0.16	5.40 ± 0.15	4.49 ± 0.15
MV III	4.45 ± 0.44	4.86 ± 0.63	4.10 ± 0.39

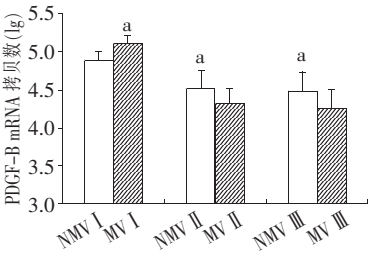


图 1 肺组织 PDGF-B mRNA 表达 a: 与 NMV I 组比较 $P<0.01$

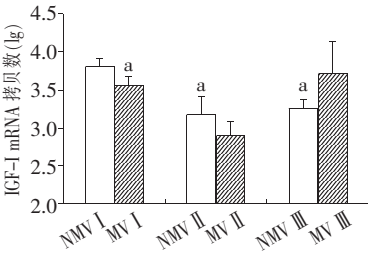


图 2 肺组织 IGF-I mRNA 表达 a: 与 NMV I 组比较 $P<0.01$

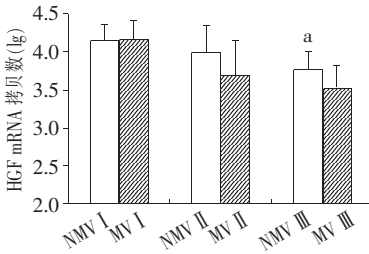


图 3 肺组织 HGF mRNA 表达 a: 与 NMV I 组比较 $P<0.05$

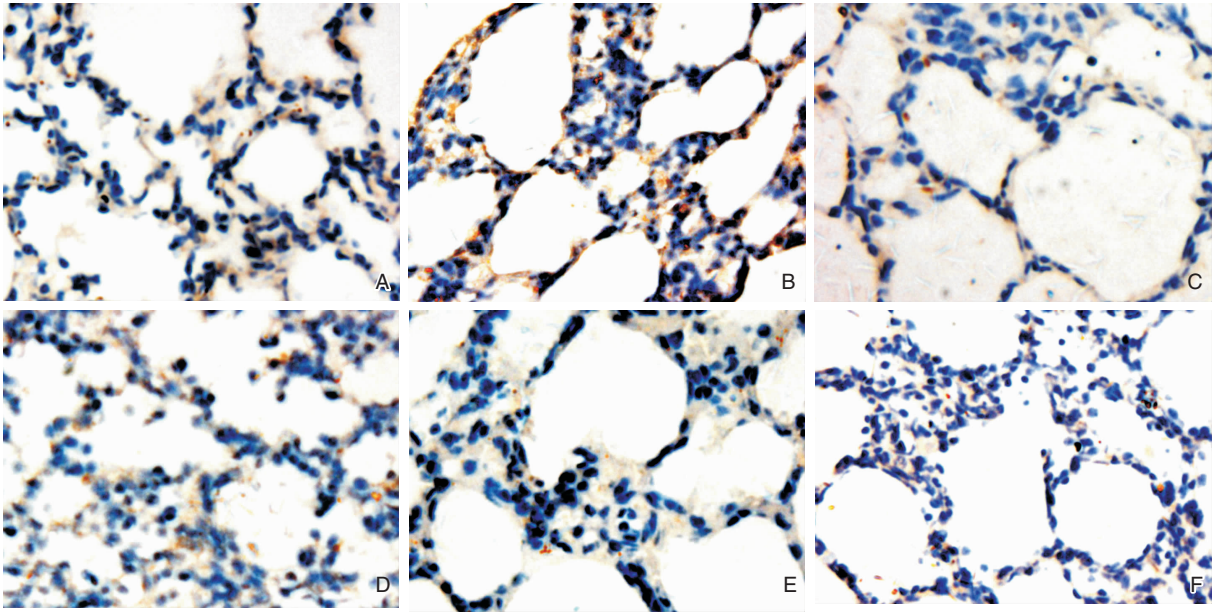


图4 肺组织 PDGF-B 蛋白表达与分布 (DAB ×400) A;NMV I 组,棕色阳性细胞分布于气道上皮,肺泡上皮及肺间质(中等阳性表达); B;MV I 组,棕色阳性细胞广泛分布于气道上皮、肺泡上皮及肺间质(强阳性表达); C;NMV II 组,散在阳性细胞分布于肺泡上皮或肺间质(弱阳性表达); D;MV II 组,散在阳性细胞分布于肺泡上皮或肺间质(弱阳性表达); E;NMV III 组,散在阳性细胞分布于肺泡上皮或肺间质(弱阳性表达); F;MV III 组,散在阳性细胞分布于肺泡上皮或肺间质(弱阳性表达)。

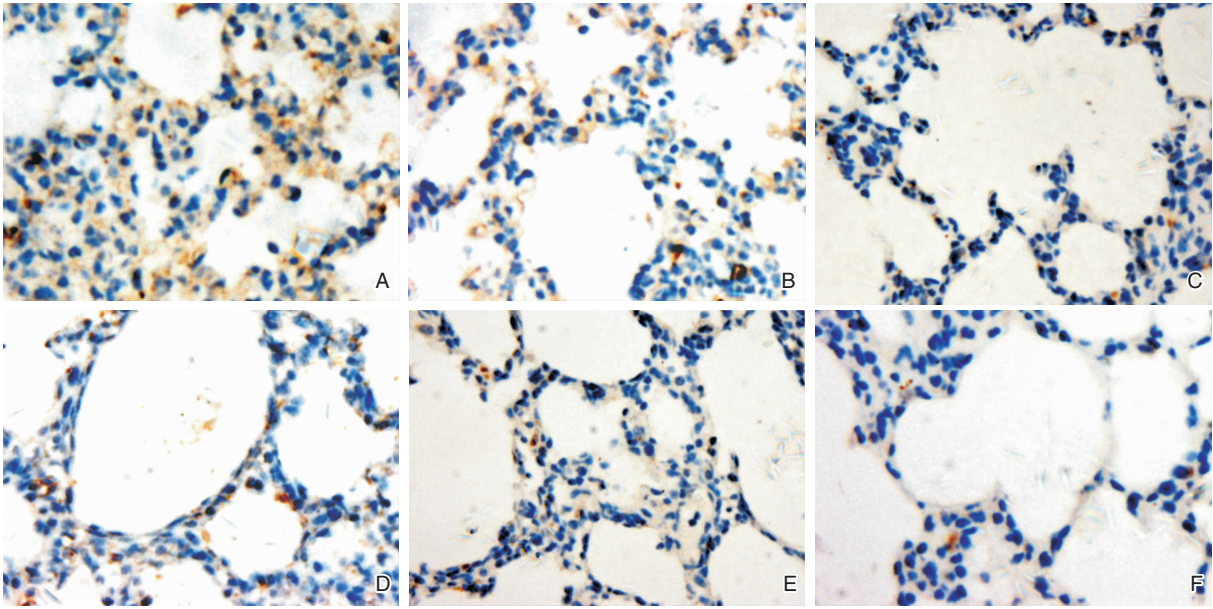


图5 肺组织 IGF-I 蛋白表达与分布 (DAB ×400) A;NMV I 组,棕色阳性细胞广泛分布于气道上皮、肺泡上皮及肺间质(强阳性表达); B;MV I 组,棕色阳性细胞分布于气道上皮、肺泡上皮及肺间质(强阳性表达); C;NMV II 组,散在棕色阳性细胞分布于肺泡上皮或肺间质(弱阳性表达); D;MV II 组,散在棕色阳性细胞分布于肺泡上皮或肺间质(弱阳性表达); E;NMV III 组,散在棕色阳性细胞分布于肺泡上皮或肺间质(弱阳性表达); F;MV III 组,散在棕色阳性细胞分布于肺泡上皮或肺间质(弱阳性表达)。

2.3 肺内炎症反应

2.3.1 肺内促炎症细胞因子 mRNA 表达 早产猪机械通气 6 h,肺内 IL-1 β ,IL-6,IL-8 mRNA 水平较自主呼吸组显著增高($P<0.01$);足月新生猪及幼猪机械通气 24 h,肺内 IL-1 β ,IL-6,IL-8,TNF- α mRNA 水平较自主呼吸组差异均无显著性。不同肺发育阶段的比较显示,早产肺 IL-1 β ,IL-6 mRNA 水

平高于足月新生肺($P<0.05$; $P<0.01$),IL-8,TNF- α mRNA 水平在不同肺发育阶段差异无显著性(表3)。

2.3.2 肺组织 MPO 含量的变化 MPO 是存在于中性粒细胞内的一种酶,通过测定肺组织 MPO 含量,可间接反映肺内中性粒细胞的数目,反映肺内炎症情况。早产猪机械通气组肺组织 MPO 含量较自

主呼吸组明显增加 ($P < 0.01$) ; 足月新生猪及幼猪机械通气 24 h, 肺组织 MPO 含量较自主呼吸组高, 但差异均无统计学意义。不同肺发育阶段 MPO 含量无明显差别 (图 6)。

表 3 肺组织促炎症细胞因子 mRNA 表达 ($\bar{x} \pm s$)				
组别	IL-1 β	IL-6	IL-8	TNF- α
NMV I	4.08 $\pm$ 0.37	4.00 $\pm$ 0.28	4.15 $\pm$ 0.46	3.39 $\pm$ 0.59
MV I	4.95 $\pm$ 0.27 ^b	4.76 $\pm$ 0.27 ^b	5.31 $\pm$ 0.57 ^b	4.16 $\pm$ 0.51
NMV II	3.40 $\pm$ 0.37 ^a	3.09 $\pm$ 0.09 ^b	4.07 $\pm$ 0.14	2.86 $\pm$ 0.28
MV II	3.78 $\pm$ 0.71	2.96 $\pm$ 0.22	4.12 $\pm$ 0.23	3.30 $\pm$ 0.51
NMV III	3.58 $\pm$ 0.31	3.38 $\pm$ 0.29 ^b	4.18 $\pm$ 0.35	3.58 $\pm$ 0.55
MV III	3.96 $\pm$ 0.81	3.93 $\pm$ 0.97	4.44 $\pm$ 0.79	3.11 $\pm$ 0.16

a: 与 NMVI 组比较 $P < 0.05$; b $P < 0.01$

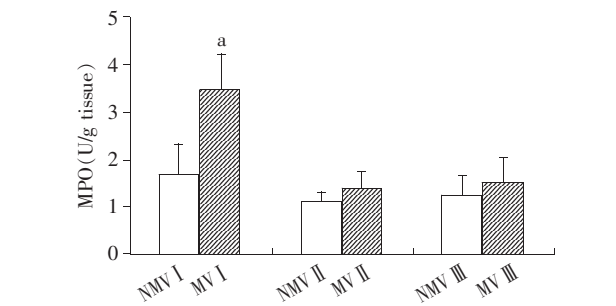


图 6 肺组织 MPO 含量 a: 与 NMVI 比较 $P < 0.01$

2.3.2 肺组织 W/D 的变化 早产猪机械通气组 W/D 较自主呼吸组显著降低 ($P < 0.05$) ; 足月新生猪机械通气组 W/D 较自主呼吸组显著增加 ($P < 0.05$) ; 幼猪机械通气组与自主呼吸组间则差异无显著性 (图 7)。早产猪肺组织 W/D 明显高于足月新生猪及幼猪 ($P < 0.01$) ; 而足月新生猪与幼猪肺组织 W/D 间差异无统计学意义。

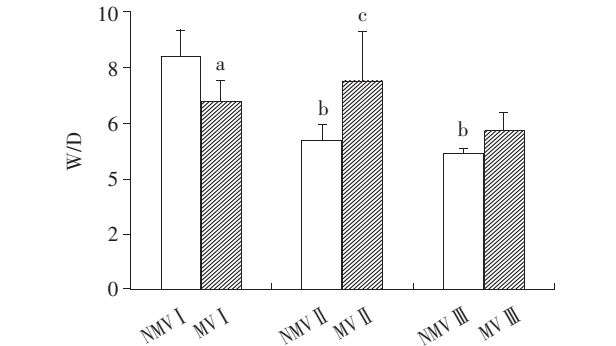


图 7 肺组织 W/D a: 与 NMV I 组比较 $P < 0.05$, b: $P < 0.01$; c 与 NMV II 组比较 $P < 0.05$

2.4 BALF 中磷脂含量

早产猪机械通气 6 h, BALF 中 TP 含量较自主呼吸组明显增高 ($P < 0.05$)。足月新生猪机械通气 24 h, BALF 中 DSPC 含量、DSPC/TP 比值较自主呼

吸组明显降低 ($P < 0.05$ 或 0.01) ; TPL 含量、DSPC/TP 比值呈降低趋势, 但差异无统计学意义; TP 含量较自主呼吸组呈增高趋势, 差异亦无统计学意义。幼猪机械通气 24 h, BALF 中 TPL、DSPC 含量较自主呼吸组显著降低 ($P < 0.05$) ; DSPC/TP、DSPC/TP 比值呈下降趋势, 但差异无统计学意义; TP 含量较自主呼吸组呈增高趋势, 差异亦无统计学意义。不同肺发育阶段磷脂含量的比较显示, 足月新生肺 TPL、DSPC 含量最高 (约 35 mg/kg, 20 mg/kg), 其次为幼年肺 (约 22 mg/kg, 13 mg/kg) 及早产肺 (约 17 mg/kg, 9 mg/kg), 但差异无统计学意义 (表 4)。

表 4 BALF 中蛋白及磷脂成分的变化					
组别	TPL (mg/kg)	DSPC (mg/kg)	DSPC/TP (%)	TP (mg/kg)	DSPC/TP (mg/mg)
NMV I	17.0 $\pm$ 4.8	9.2 $\pm$ 3.3	53.0 $\pm$ 9.5	25.3 $\pm$ 6.8	0.32 $\pm$ 0.24
MV I	22.8 $\pm$ 6.0	12.8 $\pm$ 4.8	54.7 $\pm$ 8.8	49.4 $\pm$ 17.1 ^a	0.28 $\pm$ 0.11
NMV II	34.7 $\pm$ 6.0 ^b	20.3 $\pm$ 2.2 ^b	59.3 $\pm$ 7.1	28.2 $\pm$ 7.1	0.74 $\pm$ 0.10
MV II	30.3 $\pm$ 8.7	16.3 $\pm$ 3.2 ^c	54.9 $\pm$ 7.3	31.3 $\pm$ 5.9	0.55 $\pm$ 0.06 ^d
NMV III	22.4 $\pm$ 7.8 ^c	13.2 $\pm$ 6.1 ^c	61.0 $\pm$ 25.4	20.9 $\pm$ 2.2	0.65 $\pm$ 0.34
MV III	11.6 $\pm$ 3.3 ^e	6.7 $\pm$ 2.4 ^e	57.5 $\pm$ 7.8	23.4 $\pm$ 4.4	0.30 $\pm$ 0.13

a: 与 NMV I 组比较 $P < 0.05$, b: $P < 0.01$; c: 与 NMV II 组比较 $P < 0.05$, d: $P < 0.01$; e: 与 NMV III 组比较 $P < 0.05$

3 讨论

已有研究证实 GFs 是肺发育的重要调控因子, 同时也参与肺损伤修复^[5,7]。但很少有研究探讨 GFs 在机械通气诱发的发育肺损伤修复中的作用, 以及对不同肺发育阶段的影响进行比较。本文通过建立早产、新生和幼年猪机械通气模型, 对此问题进行了探讨。

以往研究表明, 大潮气量 (10 ~ 20 mL/kg) 常规机械通气可使原有的肺损伤加重^[8,9], 但不会对正常肺的功能产生明显影响^[10]。本研究显示, 24 h 小潮气量机械通气亦未使健康新生猪和幼猪的肺力学及氧合状态发生明显改变, 但机械通气新生猪 W/D 较自主呼吸组显著升高, 提示总肺水含量增加。有研究显示^[11], 过高的肺泡表面张力可增加肺微血管跨壁压, 促进血管内液体漏出。本研究结果显示, 足月新生猪机械通气 24 h, BALF 中 DSPC 含量、DSPC/TP 比值较自主呼吸组显著降低; BALF 的最小表面张力 (γ_{min}) 及最大表面张力 (γ_{max}) 较自主呼吸组虽差异无显著性, 但在数值上均高于后者。DSPC 是 PS 中降低 γ_{min} 的活性成分, 血浆蛋白具有抑制表面活性物质的作用。因此, 机械通气新生猪 BALF 中 DSPC 含量和 DSPC/TP 比值降低, 以及 γ_{min} 、 γ_{max} 提高, 提示小潮气量机械通气 24 h 可导

致新生猪肺内 PS 缺乏与失活,后者可通过增加肺泡表面张力而促进漏出性肺水肿的形成。

Caruso 等^[12]研究发现,以 6 mL/kg 的小潮气量机械通气 1 h 即可引起健康成年大鼠肺内炎症反应,表现为中性粒细胞聚集、IL-1 β 和前胶原 III mRNA 表达增加。而我们的研究显示小潮气量机械通气 24 h 并不增加新生猪和幼猪肺内促炎症细胞因子 mRNA 表达水平。所得结论不同可能与实验动物处于不同的肺发育阶段有关。另外,我们的研究显示,小潮气量机械通气 24 h 对新生猪肺水含量的影响较幼猪肺明显,其机制与正压通气和自主呼吸时胸腔负压通气对肺内间质血管淋巴管液体转运效率差异可能相关。

与足月新生猪和幼猪不同,小潮气量机械通气仅 6 h 即可诱发早产猪肺内炎症反应(MPO 含量及促炎症细胞因子 mRNA 表达显著增加)并影响 GFs 的表达。我们将不同发育阶段的研究结果进行对比后发现:①早产猪 BALF 磷脂含量不足,明显低于足月新生猪;②早产猪肺水含量明显高于足月新生猪和幼猪;③早产猪平均 PIP 和 MAP 分别为 18 ~ 22 cmH₂O、10 ~ 11 cmH₂O,高于足月新生猪(7 ~ 8 cmH₂O、2 cmH₂O)和幼年猪(6 ~ 7 cmH₂O、3 cmH₂O);④早产猪在机械通气过程中的平均吸入氧浓度(60% ~ 80%)明显高于足月新生猪(21% ~ 30%)和幼年猪(21% ~ 30%)。上述结果提示,由于早产猪的肺表面活性物质缺乏、肺水含量高,在严重低氧血症时不得不依靠高通气压力或高浓度氧以维持血氧合,因此更容易发生 VALI,即早产猪对机械通气相关的炎症性肺损伤的易感性与机械通气过程中伴随的高气道压和高氧有密切关系。

我们观察 GFs 在猪肺发育过程中(胎龄 97 ~ 100 d,生后 1 d,生后 4 ~ 5 周)的表达变化并发现,PDGF-B、IGF-I 在早产猪肺内表达最为丰富。早产猪肺内 PDGF-B mRNA 表达量约为足月新生猪和幼猪肺内表达量的 2 倍,IGF-I mRNA 表达量则分别为足月新生猪和幼猪肺内表达量的 4.2 倍和 3.7 倍。上述结果提示 PDGF-B 和 IGF-I 在促进晚期胎肺肺细胞增殖、分化与成熟的过程中发挥重要作用。Buch 等^[13]用 Northern blot 方法检测 PDGF-B mRNA 表达,发现其表达高峰在大鼠晚期胎肺的小管期和囊泡期,出生时下降,本研究结果与其基本一致。我们还发现早产猪和足月新生猪肺内 HGF mRNA 表达水平较高,分别约为幼年猪的 2.9 倍和 2.7 倍。有研究显示^[14],肺受到化学因素、缺血及肺切除等刺激引起急性肺损伤后,血浆和肺组织内 HGF 迅速

增高,从而促进肺损伤的修复;HGF 可能通过促进 AEC 增殖参与修复过程。在晚期胎肺与生后早期这一肺发育阶段,高表达的 HGF 是否通过促进 AEC 增殖在肺发育中发挥作用有待于阐明。

[参 考 文 献]

- [1] Lionetti V, Recchia FA, Ranieri VM. Overview of ventilator-induced lung injury mechanisms [J]. *Curr Opin Crit Care*, 2005, 11 (1): 82-86.
- [2] Amato MB, Barbas CS, Medeiros DM, Magaldi RB, Schettino GP, Lorenzi-Filho G, et al. Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome [J]. *N Engl J Med*, 1998, 338 (6): 347-354.
- [3] Ranieri VM, Suter PM, Tortorella C, De Tullio R, Dayer JM, Brienza A, et al. Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in patients with acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial [J]. *JAMA*, 1999, 282 (1): 54-61.
- [4] Bland RD, Mokres LM, Ertsey R, Jacobson BE, Jiang S, Rabinovitch M, et al. Mechanical ventilation with 40% oxygen reduces pulmonary expression of genes that regulate lung development and impairs alveolar septation in newborn mice [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007, 293 (5): L1099-L1110.
- [5] Kumar VH, Ryan RM. Growth factors in the fetal and neonatal lung [J]. *Front Biosci*, 2004, 9: 464-480.
- [6] Qian L, Liu H, Yu W, Wang X, Sun Z, Wang W, et al. Effects of positive end-expiratory pressure, inhaled nitric oxide and surfactant on expression of proinflammatory cytokines and growth factors in preterm piglet lungs [J]. *Pediatr Res*, 2008, 64(1): 17-23.
- [7] Ware LB, Matthay MA. Keratinocyte and hepatocyte growth factors in the lung: roles in lung development, inflammation, and repair [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2002, 282 (5): L924-L940.
- [8] Lin SM, Lin HC, Lee KY, Huang CD, Liu CY, Wang CH, et al. Ventilator-induced injury augments interleukin-1 β production and neutrophil sequestration in lipopolysaccharide-treated lungs [J]. *Shock*, 2007, 28(4): 453-460.
- [9] Allen GB, Pavone LA, DiRocco JD, Bates JH, Nieman GF. Pulmonary impedance and alveolar instability during injurious ventilation in rats [J]. *J Appl Physiol*, 2005, 99(2): 723-730.
- [10] Bregoeon F, Roch A, Delpierre S, Ghigo E, Autillo-Touati A, Kajakawa O, et al. Conventional mechanical ventilation of healthy lungs induced pro-inflammatory cytokine gene transcription [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2002, 132 (2): 191-203.
- [11] Albert RK, Lakshminarayan S, Hildebrandt J, Kirk W, Butler J. Increased surface tension favors pulmonary edema formation in anesthetized dogs' lungs [J]. *J Clin Invest*, 1979, 63 (5): 1015-1018.
- [12] Caruso P, Meireles SI, Reis LF, Mauad T, Martins MA, Deheinzelin D. Low tidal volume ventilation induces proinflammatory and profibrogenic response in lungs of rats [J]. *Intensive Care Med*, 2003, 29(10): 1808-1811.
- [13] Buch S, Jones C, Sweezey N, Tanswell K, Post M. Platelet-derived growth and growth-related genes in rat lung. I. Developmental expression [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1991, 5(4): 371-376.
- [14] Yamada T, Hisanaga M, Nakajima Y, Mizuno S, Matsumoto K, Nakamura T, et al. Enhanced expression of hepatocyte growth factor by pulmonary ischemia-reperfusion injury in the rat [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 162 (2 Pt 1): 707-715.

(本文编辑:吉耕中)