

论著·实验研究

高氧暴露对早产鼠肺组织 HO-1 和 GCLC 表达的影响

楚晓云 蔡成 张潇月 周慧琳 孙俊芳 翁博雯

(上海市儿童医院 / 上海交通大学附属儿童医院新生儿科, 上海 200062)

[摘要] **目的** 探讨高浓度氧暴露对新生早产大鼠肺组织中血红素加氧酶-1 (HO-1) 和谷氨酰-L-半胱氨酸连接酶催化亚单位 (GCLC) 动态表达的影响。**方法** 受孕 21 d 大鼠行剖宫产取出早产鼠 80 只, 喂养 1 d 后随机分为空气组和高氧组。空气组早产鼠放置在室内常压空气中饲养, 高氧组早产鼠放置在同一室内常压氧箱中 (氧浓度 85%~95%) 饲养, 分别于第 1、4、7、10、14 天, 每组取 8 只大鼠, 采集两组早产鼠肺组织标本。采用苏木精-伊红染色法检测两组早产鼠不同时间点肺组织结构的病理变化; 采用 Western blot 技术和 RT-qPCR 检测两组早产鼠不同时间点肺组织 HO-1 和 GCLC 蛋白及 mRNA 的表达变化。**结果** 与空气组相比, 高氧组早产鼠体重下降显著 ($P<0.05$)。与空气组相比, 高氧组早产鼠肺组织病理切片显示肺组织结构紊乱、肺泡间隔增宽、肺泡数目减少和肺泡简单化。高氧组早产鼠肺组织中 HO-1 mRNA 相对表达量在第 7 天时低于空气组, 在第 10、14 天时高于空气组 ($P<0.05$)。高氧组早产鼠肺组织中 GCLC mRNA 表达量在第 1、4、7 天时低于空气组, 在第 10 天时高于空气组 ($P<0.05$)。与空气组比较, 高氧组早产鼠肺组织中 HO-1 蛋白表达水平在各时间点均升高; 除第 1 天外, GCLC 蛋白表达水平在其他各时间点均升高 ($P<0.05$)。**结论** 高氧暴露导致早产鼠生长发育迟缓、肺发育阻滞。早产鼠肺组织 HO-1 和 GCLC 蛋白及 mRNA 的表达变化可能与高氧暴露导致早产鼠肺损伤发病过程相关。

[中国当代儿科杂志, 2019, 21(6): 594-600]

[关键词] 高浓度氧; 血红素加氧酶-1; 谷氨酰-L-半胱氨酸连接酶催化亚单位; 早产; 大鼠

Effect of hyperoxic exposure on the expression of heme oxygenase-1 and glutamate-L-cysteine ligase catalytic subunit in lung tissue of preterm rats

CHU Xiao-Yun, CAI Cheng, ZHANG Xiao-Yue, ZHOU Hui-Lin, SUN Jun-Fang, WENG Bo-Wen. Department of Neonatology, Shanghai Children's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200062, China (Cai C, Email: caicheng2004@163.com)

Abstract: Objective To study the effect of hyperoxic exposure on the dynamic expression of heme oxygenase-1 (HO-1) and glutamate-L-cysteine ligase catalytic subunit (GCLC) in the lung tissue of preterm neonatal rats. **Methods** Cesarean section was performed for rats on day 21 of gestation to obtain 80 preterm rats, which were randomly divided into air group and hyperoxia group after one day of feeding. The rats in the air group were housed in room air under atmospheric pressure, and those in the hyperoxia group were placed in an atmospheric oxygen tank (oxygen concentration 85%-95%) in the same room. Eight rats each were selected from each group on days 1, 4, 7, 10, and 14, and lung tissue samples were collected. Hematoxylin and eosin staining was used to observe the pathological changes of lung tissue at different time points after air or hyperoxic exposure. Western blot and RT-qPCR were used to measure the protein and mRNA expression of HO-1 and GCLC in the lung tissue of preterm rats at different time points after air or hyperoxic exposure. **Results** Compared with the air group, the hyperoxia group had a significant reduction in the body weight ($P<0.05$). Compared with the air group, the hyperoxia group had structural disorder, widening of alveolar septa, a reduction in the number of alveoli, and simplification of the alveoli on the pathological section of lung tissue. Compared with the air group, the hyperoxia group had significantly lower relative mRNA expression of HO-1 in the lung tissue on day 7 and significantly higher expression on days 10 and 14 ($P<0.05$). Compared with the air group, the hyperoxia group had significantly lower mRNA expression of GCLC in the lung tissue on days 1, 4, and 7 and significantly higher

[收稿日期] 2018-11-22; [接受日期] 2019-05-10

[基金项目] 国家自然科学基金 (81571467)。

[作者简介] 楚晓云, 女, 硕士, 住院医师。

[通信作者] 蔡成, 男, 主任医师。Email: caicheng2004@163.com。

expression on day 10 ($P<0.05$). Compared with the air group, the hyperoxia group had significantly higher protein expression of HO-1 in the lung tissue on all days, and the protein expression of GCLC had same results as HO-1, except on day 1 ($P<0.05$). **Conclusions** Hyperoxia exposure may lead to growth retardation and lung developmental retardation in preterm rats. Changes in the protein and mRNA expression of HO-1 and GCLC in the lung tissue of preterm rats may be associated with the pathogenesis of hyperoxia-induced lung injury in preterm rats.

[Chin J Contemp Pediatr, 2019, 21(6): 594-600]

Key words: High-concentration oxygen; Heme oxygenase-1; Glutamate-L-cysteine ligase catalytic subunit; Preterm birth; Rats

随着产前糖皮质激素、生后肺表面活性物质及早期无创通气等技术的应用,早产儿尤其极低出生体重儿的存活率已显著提高^[1]。吸入高浓度氧能满足各组织器官对氧的需求,消除或减少缺氧的不利影响,是危重症新生儿急救过程中必不可少的组成部分。但是,新生儿特别是早产儿,由于肺结构发育的不成熟,抗氧化酶活性较低,长时间高浓度氧疗将导致支气管肺发育不良(bronchopulmonary dysplasia, BPD)的发生^[2]。

BPD是一种由多种原因引起的严重并可能危及生命的慢性肺部疾病^[3]。BPD的病因和发病机制尚未完全阐明,目前大多数学者认为,BPD的发生发展与氧化应激损伤密切相关。HO-1为重要的抗氧化蛋白酶之一,可发挥抗炎、抗氧化、扩血管、改善组织微循环和抑制细胞凋亡等作用^[4]。谷氨酰-L-半胱氨酸连接酶(GCL)是还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)合成的限速酶。GCL是由GCL催化亚单位(GCLC)和调节亚单位(GCLM)构成的异二聚体。GCLC的表达下调可引起细胞GSH合成减少,活性氧自由基产生增多,从而导致细胞氧化损伤的发生^[5]。本文旨在探讨高氧暴露对早产鼠体内HO-1、GCLC蛋白和mRNA表达的影响,可能为高氧肺损伤的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

HO-1一抗(ab13243, Abcam公司,英国), GCLC一抗(12601-1-AP, Proteintech公司,美国), 总RNA抽提试剂盒(Trizol, Qiagen公司,德国), 引物(上海基科生物化学有限公司)。

石蜡切片机(HM315R型, Leica公司,德国), 烘片机(HPJ-A型, 常州中威电子仪器公司), 摊片机(TPJ-A型, 常州中威电子仪器公司), 离心机(Centrifuge5417R, Eppendorf公司,美国),

电泳仪(Mini-protein[®] tetra cell, Bio-Rad公司,美国), 多功能酶标仪(SpectraMax M2e, Molecular Devices公司,美国), 凝胶成像仪(Gel Logic 2200 Pro, KODAK公司,美国), PCR仪(X96, Bio-Rad公司,美国)。

1.2 实验动物分组及模型建立

参照本课题组前期实验,建立新生早产鼠高氧肺损伤模型^[6]。选取250~300g健康成年SPF级Sprague-Dawley(SD)大鼠30只,其中雌鼠20只,雄鼠10只,雌雄按2:1合笼饲养。合笼后,若观察到阴道栓或镜检出精子即视为受孕成功,当天标记为孕0d。当SD大鼠处于孕21d时,即可准备进行剖腹产。将孕鼠固定后,右下腹45°进针,腹腔内注射0.5%戊巴比妥钠诱导麻醉。待孕鼠进入麻醉状态后,行剖腹产取出早产鼠,将剖腹产前2~3d内自然分娩的母鼠做代乳鼠,然后将早产鼠置于代乳鼠笼内,密切观察代乳鼠喂养情况。喂养1d后将早产鼠随机分为空气组和高氧组。空气组早产鼠置于室内常压空气中饲养,高氧组早产鼠放置在同一室内常压氧箱中(氧浓度85%~95%)饲养。分别于实验第1、4、7、10、14天,每组取8只大鼠进行实验。

1.3 一般情况

分别于空气和高氧暴露后第1、4、7、10、14天测量大鼠的体重和身长,并观察其活动状况。

1.4 标本采集

向两组各时间点早产大鼠腹腔内注射0.5%戊巴比妥钠1mL,待其进入麻醉状态后,固定在自制解剖台上,对胸腹部皮肤进行消毒后,迅速开胸,充分暴露心脏和肺脏等器官,用眼科剪小心分离心肺,结扎右主支气管后,将右侧肺脏剪下,标本置于5mL无酶冻存管中,放入液氮进行快速冷却,然后转移至-80℃冰箱冷冻保存。左肺直接用4%甲醛固定,用于病理切片及苏木精-伊红(HE)染色。

1.5 肺组织病理学检测

两组早产鼠肺组织标本行常规固定、脱水、石蜡包埋、切片、HE染色，在光镜下观察肺组织病理学改变。

1.6 RT-qPCR方法检测新生早产鼠肺组织中HO-1和GCLC mRNA表达

两组早产鼠肺组织进行总RNA提取，按照逆转录试剂盒说明进行反转录，逆转录后进行PCR扩增，PCR反应体系(20 μL): 2 × SYBR Green PCR Buffer 10 μL, 上下游引物(10 μmol/L)各1 μL, cDNA模板10 ng, ddH₂O补足至20 μL。反应条件: 50℃ 2 min, 90℃ 10 min; 95℃ 15 s, 60℃ 1 min, 40个循环。每份标本平行设2个样本，取其CT值平均数，以目的基因与内参基因GAPDH的CT值的差值记为ΔCT值，计算目的基因mRNA的相对表达量，结果以2^{-ΔΔCT}表示。引物的设计与合成由上海基科生物化学有限公司完成。见表1。

表1 HO-1、GCLC和内参GAPDH的引物序列

基因	序列(5' → 3')	片段长度
HO-1	F: GGCTTTAAGCTGGTGATGGC	80 bp
	R: GGGTTCTGCTTGTTCGCTC	
GCLC	F: GAGCCAGATGCCGTCTTACA	170 bp
	R: TTGCTACACCCATCCACCAC	
GAPDH	F: TGGCCTCCAAGGAGTAAGAAAC	69 bp
	R: GGCCTCTCTTGTCTCTCACTATC	

1.7 Western blot技术检测新生早产鼠肺组织中HO-1和GCLC蛋白表达

把冷冻的肺组织取出置于碾钵中，加入适量裂解液后碾碎，采用蛋白抽提试剂盒提取总蛋白并测定蛋白总量。SDS-PAGE电泳分离后，半转移至PVDF膜上，用含5%脱脂奶粉的TBS溶液封闭1h；加入兔抗HO-1多克隆抗体一抗(稀释度为1:1500)，兔抗GCLC多克隆抗体一抗(稀释度为1:500)，小鼠抗GAPDH多克隆抗体一抗(稀释度为1:7000)，4℃孵育过夜，再加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔或山羊抗小鼠二抗(稀释比例同一抗)，室温孵育1h，再用TBS缓冲液洗涤3次，每次15 min，加入发光试剂显色。将膜进行扫描，图像分析软件测定目的条带的积分光密度值(IOD)，以α-Tublin为内参，以目的条带

与内参条带的IOD比值作为该蛋白的相对表达量。

1.8 统计学分析

采用SPSS 24.0统计软件对数据进行统计学分析，计量资料采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示，两组间比较采用两独立样本t检验，P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组新生早产鼠体重和身长的变化

与空气组相比，高氧组早产鼠的体重在第4天开始下降，但差异无统计学意义(P>0.05)；第7、10、14天高氧组早产鼠体重较空气组显著下降(P<0.05)。空气组和高氧组早产鼠在各时间点身长增长的变化一致，两组间身长比较差异均无统计学意义(P>0.05)。见表2~3。

表2 两组早产鼠不同时间点体重比较 ($\bar{x} \pm s, g$)

组别	n	第1天	第4天	第7天	第10天	第14天
空气组	8	6.8 ± 0.6	12.2 ± 1.8	22.3 ± 1.0	26.1 ± 4.6	37.4 ± 8.2
高氧组	8	7.0 ± 0.8	11.4 ± 1.0	16.0 ± 0.8	20.0 ± 1.0	30.1 ± 3.5
t值		0.422	1.909	15.247	3.894	2.335
P值		0.679	0.063	<0.001	0.004	0.044

表3 两组早产鼠不同时间点身长比较 ($\bar{x} \pm s, mm$)

组别	n	第1天	第4天	第7天	第10天	第14天
空气组	8	49.4 ± 2.1	60.0 ± 1.4	69.5 ± 5.1	74.7 ± 6.3	86.6 ± 7.5
高氧组	8	50.6 ± 1.4	59.8 ± 1.4	68.5 ± 1.8	74.5 ± 1.1	86.0 ± 2.7
t值		1.538	0.415	0.721	0.081	0.245
P值		0.154	0.682	0.481	0.936	0.809

2.2 两组新生早产鼠肺组织病理变化

空气组早产鼠第4天时光镜下可见肺组织尚处于囊泡期，终末气腔逐渐缩小，数量逐渐增多，肺泡间隔较厚；第7天时出现肺泡化，肺泡数量逐渐增多，肺成熟，肺泡间隔明显变薄，肺泡大小均匀。高氧组早产鼠第4天时光镜下可见肺组织水肿，毛细血管扩张，炎性细胞浸润，肺间隔断裂，肺泡腔扩大；第7天时，炎性细胞浸润、肺出血及肺组织水肿较前更加明显，部分肺间隔增宽，肺组织结构紊乱；第10天时，上述情况较前更加严重，肺组织结构紊乱明显；第14天时，肺间隔重度增厚，肺泡腔明显增大，部分肺泡融合，

可见肺大泡或肺不张。见图1。

2.3 两组新生早产鼠肺组织中HO-1和GCLC mRNA表达变化

与空气组相比，高氧组早产鼠肺组织中HO-1 mRNA在第1、4天时相对表达量增加，但差异无统计学意义($P>0.05$)；第7天时相对表达量降低($P<0.05$)；第10、14天时相对表达量增加($P<0.05$)。见表4。

与空气组相比，高氧组早产鼠肺组织中GCLC mRNA相对表达量在第1、4、7天时降低($P<0.05$)；第10天时相对表达量明显增加($P<0.05$)。第14

天时两组GCLC mRNA水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表5。

2.4 两组新生早产鼠肺组织中HO-1和GCLC蛋白表达

与空气组相比，高氧组大鼠在第1、4、7、10、14天时肺组织中HO-1蛋白相对表达均显著升高($P<0.05$)，见表6。

与空气组相比，高氧组大鼠在第1天时肺组织中GCLC蛋白表达水平差异无统计学意义($P>0.05$)；在第4、7、10、14天时，高氧组GCLC蛋白表达水平高于空气组($P<0.05$)。见表7。

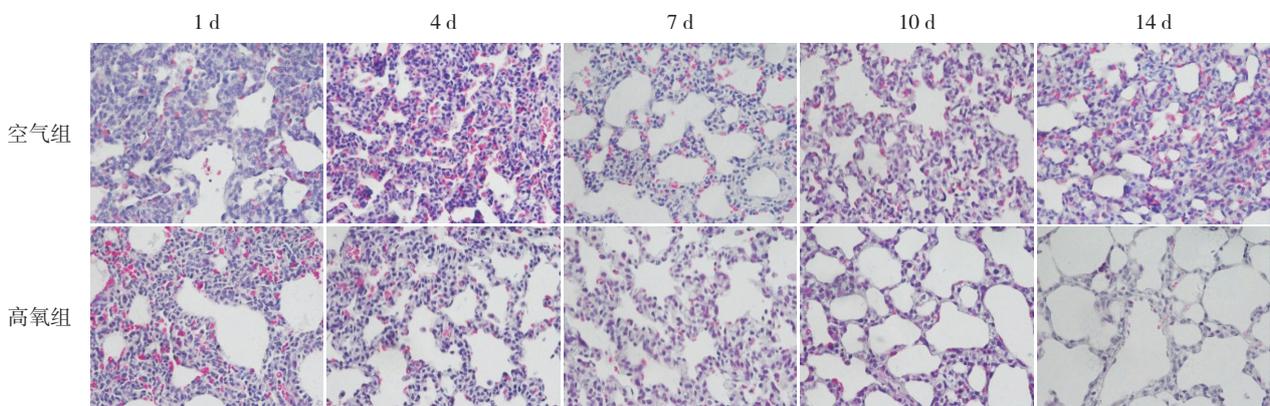


图1 两组新生早产鼠不同时间点肺组织病理变化(苏木精-伊红染色, $\times 400$) 空气组早产鼠光镜下可见肺泡数量逐渐增多,肺泡间隔明显变薄,肺泡大小均匀。随着暴露时间的延长,高氧组早产鼠光镜下可见出现肺组织结构紊乱,肺泡间隔增宽,肺泡数目减少和肺泡简单化。

表4 两组早产鼠不同时间点HO-1 mRNA表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, \times 10^{-3}$)

组别	n	第1天	第4天	第7天	第10天	第14天
空气组	8	1.77 ± 0.49	1.50 ± 0.89	2.52 ± 0.90	0.56 ± 0.22	0.48 ± 0.13
高氧组	8	1.94 ± 0.65	1.89 ± 0.91	1.30 ± 0.29	1.24 ± 0.34	1.55 ± 0.73
t值		-0.553	-0.737	3.616	-3.656	-3.556
P值		0.589	0.478	0.004	0.003	0.005

表5 两组早产鼠不同时间点GCLC mRNA表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, \times 10^{-3}$)

组别	n	第1天	第4天	第7天	第10天	第14天
空气组	8	8.28 ± 2.86	8.38 ± 1.74	8.02 ± 3.41	1.60 ± 0.56	1.23 ± 0.19
高氧组	8	2.89 ± 2.00	4.19 ± 1.99	3.13 ± 1.57	4.75 ± 2.06	1.38 ± 0.60
t值		3.786	3.892	3.192	-2.941	-0.489
P值		0.004	0.003	0.010	0.015	0.638

表6 两组早产鼠不同时间点 HO-1 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	第1天	第4天	第7天	第10天	第14天
空气组	8	1.038 ± 0.008	0.859 ± 0.178	1.312 ± 0.040	1.653 ± 0.049	2.039 ± 0.049
高氧组	8	1.326 ± 0.030	1.593 ± 0.004	1.983 ± 0.078	2.800 ± 0.025	3.458 ± 0.121
t 值		-5.514	-69.852	-13.302	-36.304	-18.815
P 值		0.005	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表7 两组早产鼠不同时间点 GCLC 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	第1天	第4天	第7天	第10天	第14天
空气组	8	0.790 ± 0.029	0.925 ± 0.024	1.071 ± 0.052	1.249 ± 0.084	1.419 ± 0.023
高氧组	8	0.853 ± 0.030	1.217 ± 0.035	1.462 ± 0.062	1.515 ± 0.078	2.642 ± 0.019
t 值		-2.609	-12.047	-8.843	4.014	-69.951
P 值		0.059	<0.001	0.001	0.016	<0.001

3 讨论

与人类肺发育顺序相似, 新生早产鼠肺发育经历5期, 分别为: 胚胎期(孕0~13 d)、假腺体期(孕13~18 d)、小管期(孕19~20 d)、囊泡期(孕21 d至生后3 d)、肺泡期(生后3~21 d)^[7]。生后第3天新生早产鼠开始肺泡化, 其肺部发育情况类似人类胎龄约28周时的肺发育情况, 受到高浓度氧刺激时, 新生鼠的肺形态学改变、临床表现与早产儿BPD非常相似^[6]。

HO-1与GCLC对细胞氧化应激损伤均具有保护作用, 正受到越来越多的关注, 假如两者之间具有互相协同的作用, 通过有效的干预措施调节机体内HO-1、GCLC mRNA和蛋白表达水平, 就可能在高氧肺损伤的发生发展过程中起到防治作用。本研究成功建立新生早产鼠高氧肺损伤模型, 随着高氧暴露时间的延长, 新生早产鼠逐渐出现活动减少, 精神欠佳, 呼吸费力, 体重增长下降等表现。同时出现的病理表现为, 肺组织结构紊乱、肺泡间隔增宽、肺泡数目减少和肺泡简单化。

HO-1是保护细胞抗氧化损伤的重要媒介, 其高氧肺损伤中提供的保护机制主要取决于其酶解产物一氧化碳(CO)、胆红素和铁。CO现已作为通用的信号分子参与多种病理生理过程, 具有舒张血管的作用, 有助于维持正常生理状态及急性肺损伤缺氧状态下肺组织氧合及灌注, 低剂量CO可以提高动物对高氧性肺损伤的耐受性, 能明显减轻高氧对肺泡发育的有害影响, 还可抑制高氧诱导的肺嗜中性粒细胞和巨噬细胞的浸润, 减弱肺泡

上皮细胞CC趋化因子配体2的表达, 从而起到抑制肺泡结构简单化的作用^[8]。胆红素属于内源性抗氧化剂, 特别是在消除自由基和抑制脂质过氧化的过程中有很强抗氧化作用。研究表明, 胆红素能减轻白细胞与血管内皮细胞的黏附, 抑制尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶的激活及单核细胞的趋化, 从而起到抗炎作用。血红素被降解后释放的游离铁具有促氧化和促炎症的作用, 可通过Fenton反应参与活性氧如超氧阴离子和过氧化氢的生成, 促进脂质过氧化、蛋白质巯基的硝化及Haber-Weiss反应, 因此具有细胞毒性, 而铁蛋白的生成则有助于预防铁介导的细胞毒性, 从而发挥抗氧化损伤和细胞保护功能^[9]。研究发现, 在新生早产鼠BPD模型中, 通过上调HO-1的表达, 可减弱肺部炎症、肺血管重塑和肺泡结构简单化, 从而减轻组织学损伤, 提高新生早产鼠的存活率^[10-11]。而高氧肺损伤大鼠的恢复可通过HO-1的抗氧化、抗炎作用或抑制促炎细胞因子的过表达而实现^[12]。但是, 亦有研究表明^[13], HO-1的细胞保护作用存在阈值, HO-1的适量表达可以减轻氧化应激导致的肺损伤, 增强机体的抗氧化能力。而诱导HO-1过度表达可加重肺脏的氧化应激损伤。

在本研究中高氧组新生早产鼠在持续高氧暴露下肺组织中HO-1蛋白表达显著高于空气组, 这种差异变化可能是机体在受到伤害性刺激时的一种保护机制, 防止机体产生进一步的损害。这一自我保护机制的作用是: 高氧暴露早期, 在氧自由基和炎症介质的刺激下, HO-1 mRNA表达水平升高, HO-1蛋白合成增多, 与本研究中新出生早产

鼠在高氧暴露第1、4天时 HO-1 蛋白表达水平高于空气组相符。肺组织中 HO-1 mRNA 和蛋白的高表达可增加机体的抗氧化防御作用,以减轻肺脏的氧化应激损伤。但随着高氧暴露时间的延长,肺组织损害逐渐加重,肺泡发育受阻,而 HO-1 的机体保护作用存在阈值,本研究中高氧组 HO-1 mRNA 在第10、14天时表达虽仍高于空气组,但此时 HO-1 蛋白的持续高表达与肺损伤之间是促进作用还是保护作用,仍需要进一步研究。本研究中新生早产鼠 HO-1 mRNA 在高氧暴露第7天时表达低于空气组可能与样本数量的局限性有关,或者因为检测时间点的不同,HO-1 蛋白表达存在转录后翻译的过程。

GSH 是肺组织内重要的抗氧化物质之一,在维持细胞内氧化还原稳态,抵御肺部损伤与炎症、保持肺泡上皮细胞完整性方面发挥重要作用^[14]。已有研究证实,在新生鼠 BPD 模型中,通过提高 GSH 表达水平,可改善肺发育机制^[15]。GCL 是 GSH 合成的限速酶,调控 GSH 生成的量和速度。GCLC 具有 GCL 所有的催化活性。在高浓度氧暴露下,机体可通过上调 GCL 活性,增加 GSH 的表达,从而在减轻高氧肺损伤过程中发挥重要作用^[16]。本研究中,新生早产鼠在高氧暴露后第1天肺组织中 GCLC 蛋白表达升高不明显,在高氧暴露后第4、7、10、14天时 GCLC 蛋白表达显著升高;而高氧组新生早产鼠肺组织中 GCLC mRNA 相对表达量在高氧暴露第10天时也高于空气组。这一变化情况可能与机体受到氧化应激刺激时,抗氧化防御系统的激活有关。高氧暴露早期,多种抗氧化物质能影响新生早产鼠 GCL 的催化亚基 GCLC 基因 5' 上游调控序列启动子区域的 ARE 元件与转录因子 Nrf2 结合,从而上调细胞内 GCL 基因的表达^[17]。此外,新生早产鼠肺组织中 HO-1 的高表达也可通过活性依赖和非活性依赖两种途径调控 GCL 基因的表达,从而发挥抗氧化损伤的作用。而新生早产鼠在高氧暴露第1、4、7天肺组织中 GCLC mRNA 相对表达量低于空气组,可能因为检测时间点的不同,GCLC 蛋白的表达存在转录后翻译过程;也可能因为 GCLC 蛋白水平过高,为了维持体内氧化还原平衡的状态,反馈性降低了 GCLC mRNA 的表达和转录。

综上所述,高氧肺损伤是指由于高浓度氧暴

露后,机体产生大量氧自由基参与而致细胞酶被灭活,DNA 损伤和脂膜过氧化,从而导致细胞的破坏和死亡^[18]。但其确切的机制尚未完全阐明,更无有效的治疗措施^[19]。HO-1 和 GCLC 是体内重要的抗氧化蛋白酶,高氧可诱导新生早产鼠肺组织中 HO-1 和 GCLC 蛋白和 mRNA 的高表达,使其活性增加,通过多种途径减轻新生早产鼠高氧肺损伤的发生发展。需注意的是,HO-1 的细胞保护作用存在阈值。如何合理的调控 HO-1 及 GCLC 蛋白和 mRNA 表达以更好的预防高氧肺损伤的发生发展尚需通过进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] Mohammadizadeh M, Ardestani AG, Sadeghnia AR. Early administration of surfactant via a thin intratracheal catheter in preterm infants with respiratory distress syndrome: feasibility and outcome[J]. *J Res Pharm Pract*, 2015, 4(1): 31-36.
- [2] Buczynski BW, Maduekwe ET, O'Reilly MA. The role of hyperoxia in the pathogenesis of experimental BPD[J]. *Semin Perinatol*, 2013, 37(2): 69-78.
- [3] Amata E, Pittalà V, Marrazzo A, et al. Role of the Nrf2/HO-1 axis in bronchopulmonary dysplasia and hyperoxic lung injuries[J]. *Clin Psychol Sci*, 2017, 131(14): 1701.
- [4] Namba F, Go H, Murphy JA, et al. Expression level and subcellular localization of heme oxygenase-1 modulates its cytoprotective properties in response to lung injury: a mouse model[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e90936.
- [5] Higuchi Y, Tanii H, Koriyama Y, et al. Arachidonic acid promotes glutamate-induced cell death associated with necrosis by 12-lipoxygenase activation in glioma cells[J]. *Life Sci*, 2007, 80(20): 1856-1864.
- [6] Mcgrath-Morrow SA, Stahl J. Apoptosis in neonatal murine lung exposed to hyperoxia[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2001, 25(2): 150-155.
- [7] Wallen LD, Han VK. Spatial and temporal distribution of insulin-like growth factors I and II during development of rat lung[J]. *Am J Physiol*, 1994, 267(5 Pt 1): L531-L542.
- [8] Anyanwu AC, Bentley JK, Popova AP, et al. Suppression of inflammatory cell trafficking and alveolar simplification by the heme oxygenase-1 product carbon monoxide[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2014, 306(8): L749-L763.
- [9] Ryter SW, Jawed A, Choi AMK. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications[J]. *Physiol Rev*, 2006, 86(2): 583-650.
- [10] Chi X, Guo N, Yao W, et al. Induction of heme oxygenase-1 by hemin protects lung against orthotopic autologous liver transplantation-induced acute lung injury in rats[J]. *J Transl Med*, 2016, 14(1): 35-44.
- [11] Patel A, Zhang S, Shrestha AK, et al. Omeprazole induces heme oxygenase-1 in fetal human pulmonary microvascular

- endothelial cells via hydrogen peroxide-independent Nrf2 signaling pathway[J]. *J Appl Toxicol*, 2016, 31(1): 26-33.
- [12] Ito M, Nagano N, Arai Y, et al. Genetic ablation of Bach1 gene enhances recovery from hyperoxic lung injury in newborn mice via transient upregulation of inflammatory genes[J]. *Pediatr Res*, 2017, 81(6): 926-931.
- [13] Reversal of HO-1 related cytoprotection with increased expression is due to reactive iron[J]. *FASEB J*, 1999, 13: 1800-1809.
- [14] Zhang X, Guo J, Wei X, et al. Bach1: function, regulation, and involvement in disease[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 1347969.
- [15] Wall SB, Wood R, Dunigan K, et al. Thioredoxin reductase-1 inhibition augments endogenous glutathione-dependent antioxidant responses in experimental bronchopulmonary dysplasia[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 7945983.
- [16] 蔡成, 吕勤, 陈赫赫, 等. 谷胱甘肽与 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶在早产新生大鼠高体积分数氧肺损伤中的抗氧化作用[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2013, 28(22): 1729-1731.
- [17] Lu SC. Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies[J]. *FASEB J*, 1999, 13(10): 1169-1183.
- [18] 蔡成, 龚小慧, 裘刚, 等. 长链非编码RNA人肺腺癌转移相关转录本1在早产儿高氧肺损伤中的表达及意义[J]. *中国小儿急救医学*, 2017, 24(9): 592-598.
- [19] Cai C, Qiu G, Gong X, et al. Effects of erythromycin on γ -glutamyl cysteine synthetase and interleukin-1 β in hyperoxia-exposed lung tissue of premature newborn rats[J]. *J Pediatr (Rio J)*, 2014, 90(5): 493-499.

(本文编辑: 万静)

· 消息 ·

举办“第三届新生儿生命支持技术高峰论坛”通知

为促进我国新生儿危重病医学的发展及新生儿生命支持技术的应用与推广,不断提高危重新生儿的抢救水平,《中国当代儿科杂志》编辑部、广州市医学会新生儿科学分会、广州市妇女儿童医疗中心拟于2019年7月25~28日(25日报到,28日上午撤离)在广州市联合举办“第三届新生儿生命支持技术高峰论坛暨第十届珠三角新生儿医学论坛”。

本次会议系国家级继续医学教育项目(项目编号:2019-06-03-098;I类学分8分),内容突出生命支持技术的“规范化应用与研究进展”特点,涵盖新生儿临床应用的各种生命支持技术,如新生儿急性肾损伤的连续肾替代治疗、NICU开展ECMO常见问题与对策、亚低温治疗新生儿缺氧缺血性脑病的再思考、新生儿肺动脉高压和难治性呼吸衰竭的NO吸入治疗、如何通过对呼吸机波形的解读来评估呼吸支持效果、新生儿机械通气中的肺复张策略、重症新生儿血流动力学管理、新生儿实施HFOV应当注意的一些问题、神经调节通气辅助(NAVA技术)在新生儿科的应用、危重新生儿的输血治疗、早产儿脑病干细胞移植治疗现状与前景、早产儿喂养常见问题与对策、早产儿胃肠外营养的合理使用、新生儿脑损伤药物治疗的循证医学思考等共约30个专题。届时将邀请国内知名新生儿医学领域专家、教授演讲与研讨。

报名办法及注意事项:会务费(含资料费)1000元,食宿统一安排,费用自理。有意参会者请来信、电话或电子邮件联系,并注明联系方式以便发送报到通知。主办方联系地址:广州市人民中路318号广州市妇女儿童医疗中心(儿童医院院区)新生儿科,邮编510120;联系人和联系方式:杨晓琪,15626206672, Email: 313778945@qq.com;魏谋,15820283738, Email: 1426766569@qq.com。

《中国当代儿科杂志》编辑部
广州市医学会新生儿科学分会
广州市妇女儿童医疗中心