

· 实验研究 ·

乌司他丁对大鼠机械通气肺损伤时 γ -氨基丁酸信号通路的影响

罗科 黄天丰 方向志 张扬 郭唯真 高巨

【摘要】 目的 探讨乌司他丁对大鼠机械通气引起的呼吸机相关性肺损伤(ventilator-induced lung injury, VILI)时 γ -氨基丁酸(GABA)信号通路的影响。**方法** 选取健康成年雄性 Wister 大鼠 36 只,采用随机数字表法分为三组:正常对照组(C组)、机械通气肺损伤组(VILI组)和机械通气肺损伤+乌司他丁处理组(UTI组),每组 12 只。VILI组与 UTI组采用 V_T 40 ml/kg 机械通气 4 h 的方法制备大鼠 VILI 模型。机械通气前 1 h,UTI组腹腔注射乌司他丁 1×10^5 U/kg, C组和 VILI组给予等容量生理盐水。收集支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF),检测 BALF 中白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)及细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)的浓度;取肺组织,检测湿/干重比(W/D)、肺组织 IL-1 β 、TNF- α 和 ICAM-1 mRNA 的表达;采用免疫组化与 Western blot 法检测肺组织 GAD 与 GABA $_A$ 受体的表达量,观察病理学结果并进行肺损伤评分。**结果** 与 VILI组比较,UTI组 W/D (6.7 ± 2.4 vs. 8.5 ± 2.3)、肺损伤评分[(6.9 ± 2.3)分 vs. (11.8 ± 2.7)分]明显降低($P < 0.05$);BALF 中 IL-1 β [(56 ± 11)ng/L vs. (77 ± 15) ng/L]、TNF- α [(105 ± 29) ng/L vs. (158 ± 37) ng/L]及 ICAM-1[(205 ± 46) ng/L vs. (293 ± 61) ng/L]浓度明显降低($P < 0.05$);肺组织 IL-1 β (1.81 ± 0.26 vs. 2.58 ± 0.34)、TNF- α (1.61 ± 0.15 vs. 2.94 ± 0.27)、ICAM-1 (1.74 ± 0.27 vs. 2.79 ± 0.31) mRNA 表达量明显降低($P < 0.05$);GAD (0.44 ± 0.08 vs. 0.18 ± 0.04)和 GABA $_A$ (0.30 ± 0.09 vs. 0.15 ± 0.04)受体表达量明显增加($P < 0.05$)。**结论** 乌司他丁可减轻大鼠机械通气引起的呼吸机相关性肺损伤,其机制可能与激活 γ -氨基丁酸信号通路有关。

【关键词】 γ -氨基丁酸信号通路;乌司他丁;机械通气肺损伤;呼吸窘迫综合征

Effect of ulinastatin on γ -aminobutyric acid signal pathway in mice with ventilator-induced lung injury

LUO Ke, HUANG Tianfeng, FANG Xiangzhi, ZHANG Yang, GUO Weizhen, GAO Ju. Department of Anesthesiology, Clinical Medical School of Yangzhou University (Subei People's Hospital of Jiangsu Province), Yangzhou 225001, China

Corresponding author: GAO Ju, Email: gaoju_003@163.com

【Abstract】 Objective To evaluate the effect of ulinastatin on γ -aminobutyric acid (GABA) signal pathway in mice with ventilator-induced lung injury (VILI). **Methods** Thirty-six male Wister mice were randomly divided into 3 groups using a random number table: control group (group C), ventilator-induced lung injury group (group VILI), and ventilator-induced lung injury + ulinastatin group (group UTI), $n = 12$ in each group. VILI was induced by 4 h mechanical ventilation with tidal volume 40 ml/kg in groups VILI and UTI. Ulinastatin 1×10^5 U/kg was injected intraperitoneally 1 h before ventilation in group UTI, while the equal volume of normal saline was given in groups C and VILI. The mice were then sacrificed, the left lung was lavaged, and broncho-alveolar lavage fluid (BALF) was collected for determination of concentrations of protein, tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1). The lung tissues were removed for determination of the wet to dry lung weight (W/D) ratio, the mRNA expression level of IL-1 β , TNF- α and ICAM-1. The pathological changes of the lungs were determined under light microscope and the lung injury scores were also determined. Immunohistochemistry and Western blot were used to detected the protein expression level of GAD and GABA $_A$ R. **Results** The W/D ratio (6.7 ± 2.4 vs. 8.5 ± 2.3) and lung scores [(6.9 ± 2.3) scores vs. (11.8 ± 2.7) scores] were significantly decreased in group UTI than those in group VILI. The concentrations of IL-1 β [(56 ± 11) ng/L vs. (77

基金项目:国家自然科学基金(81571936,81401626);江苏省“六大人才高峰”(WSW-077)

作者单位:225001 扬州大学临床医学院(苏北人民医院)麻醉科

通信作者:高巨,Email:gaoju_003@163.com

± 15) ng/L], TNF- α [(105 $\pm$ 29) ng/L vs. (158 $\pm$ 37) ng/L] and ICAM-1 [(205 $\pm$ 46) ng/L vs. (293 $\pm$ 61) ng/L] in BALF in group UTI were significantly decreased than those in group VILI. The mRNA expression levels of IL-1 β (1.81 $\pm$ 0.26 vs. 2.58 $\pm$ 0.34), TNF- α (1.61 $\pm$ 0.15 vs. 2.94 $\pm$ 0.27) and ICAM-1 (1.74 $\pm$ 0.27 vs. 2.79 $\pm$ 0.31) were significantly decreased in group UTI than those in group VILI. The protein expression levels of GAD (0.44 $\pm$ 0.08 vs. 0.18 $\pm$ 0.04) and GABA $_A$ R (0.30 $\pm$ 0.09 vs. 0.15 $\pm$ 0.04) were significantly increased in group UTI than those in group VILI. **Conclusion** Ulinastatin can attenuate VILI probably through activating GABA signaling pathway.

【Key words】 γ -Aminobutyric acid signaling pathway; Ulinastatin; Ventilator-induced lung injury; Respiratory distress syndrome

机械通气引起的呼吸机相关性肺损伤 (ventilator-induced lung injury, VILI) 的发病机制主要是过度的机械牵张破坏肺泡上皮和内皮细胞的完整性, 导致炎性细胞在肺组织募集, 从而引起炎性细胞因子的大量释放^[1,2]。研究数据显示, 大约有 22%~39% 接受机械通气的患者会发生 VILI, 病死率高达 15%~30%^[3]。乌司他丁是一种广谱的蛋白酶抑制剂, 能抑制多种炎性介质及氧自由基的释放, 能减轻内毒素以及急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 引起的急性肺损伤 (ALI)^[4,5], 但其肺保护作用的机制仍待研究。

γ -氨基丁酸 (GABA) 信号通路是中枢神经系统中重要的信号转导通路。有研究发现, I 型和 II 型肺泡上皮细胞表达较多 GABA 亚型, 可形成功能性 GABA 受体^[6]。气管内给予 GABA 能增加肺上皮细胞内 GABA 受体的表达, 从而减轻大潮气量所致 VILI, 其机制可能与增加肺泡水清除率以及减少肺上皮细胞的凋亡有关^[7]。GABA 的主要来源是谷氨酸经谷氨酸脱羧酶 (GAD) 脱羧生成, GABA $_A$ 受体是该家族中在肺上皮细胞表达的重要成员, 在信号转导过程中发挥着重要作用。本研究拟探讨乌司他丁对大鼠机械通气引起的 VILI 时 GABA 信号通路的影响, 为阐明乌司他丁减轻 VILI 的机制提供参考。

材料与方法

实验动物与分组 健康成年雄性 Wistar 大鼠 36 只, 体重 280~320 g, 月龄约 2 个月, 由扬州大学比较医学中心提供, 于室温 22~25℃ 安静环境下常规饲养, 昼夜交替, 可自由饮水, 适应环境 1 周。采用随机数字表法, 将其分为三组: 正常对照组 (C 组)、机械通气肺损伤组 (VILI 组) 和机械通气肺损伤+乌司他丁处理组 (UTI 组), 每组 12 只。

模型制备 实验前禁食 10 h, 自由饮水。VILI 组与 UTI 组采用气管切开插入气管导管连接小动物呼吸机, V_T 40 ml/kg, RR 40 次/分, 机械通气 4 h

制备大鼠机械通气肺损伤模型^[7]。左侧颈内静脉穿刺置管用于泵注维库溴铵维持肌松。吸入空气, 呼气末正压通气 (PEEP) 均为 0。机械通气前 1 h, UTI 组腹腔注射乌司他丁 1×10^5 U/kg, C 组和 VILI 组给予等容量生理盐水。

PaO $_2$ 测定及支气管肺泡灌洗 机械通气结束后, 采集颈动脉血样, 采用全自动血气分析仪测定并记录 PaO $_2$, 然后颈动脉放血处死动物。迅速取出肺组织, 用 4℃ 生理盐水反复灌洗左肺 3 次, 回收全部支气管肺泡灌洗液 (BALF), 4℃、2 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 -70℃ 冻存, 采用 ELISA 法测定总蛋白、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 浓度。

肺组织湿/干重比 (W/D) 取右肺上叶, 用滤纸吸干肺组织表面水分, 称湿重 (W), 置于 80℃ 烘箱 48 h 至恒重, 称干重 (D), 计算肺组织湿/干重比 (W/D)。

肺组织病理学检查 右肺中叶置于 4℃ 的 4% 多聚甲醛 PBS 溶液中固定 48 h, 常规石蜡包埋、切片 (厚度约 4 μ m)、HE 染色, 光镜下观察肺组织病理学改变, 并对肺损伤进行评分^[8]。观察肺间质水肿、肺泡水肿、中性粒细胞浸润和肺泡内充血 4 项指标, 无改变或非常轻微改变为 0 分; 轻度、中度、重度、极重度改变依次为 1 分、2 分、3 分、4 分, 4 项累计总分即为肺损伤评分。右肺下叶置于液氮中保存。

IL-1 β 、TNF- α 和 ICAM-1 mRNA 表达水平的测定 取左肺上叶部分组织, 加液氮研磨, 提取肺组织总 RNA, 以 β -actin 为内参, 半定量 RT-PCR 法检测 IL-1 β 、TNF- α 和 ICAM-1 mRNA 表达水平。IL-1 β 、TNF- α 、ICAM-1 及 β -actin 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成, 引物序列如下: IL-1 β 上游: 5'-GGTCCAATACCAAAAGAA-3', 下游: 5'-ACAAAGGGAGTACGCCAGTC-3'; TNF- α 上游: 5'-CAGGCGGTGCCTATGTCTC-3',

下游: 5'-CGATCACCCCGAAGTTCAGTAG-3'; ICAM-1 上游: 5'-GTATGAACTGAGCAATGTG-CAAG-3', 下游: 5'-GTTCCACCCGTTCTGGAG-TC-3'; β -actin 上游: 5'-CCGGTAATGAGGGCCC-AGAG-3'; 下游: 5'-CTCTTGCAGAAATTGATG-GC-3', 扩增产物长度均为 400 bp。取 10 μ g 总 RNA, 采用 Taqman 逆转录试剂盒克隆 cDNA, -20℃ 保存。RT-PCR 循环参数设置: 预变性 95℃, 2 min; 95℃, 30 s; 58℃, 30 s; 72℃, 90 s; 循环 30 次。采用 LightCycler480 荧光定量 PCR 仪检测各样本的域值循环数 (C_T 值), 以 2^{-C_T} 反映目的基因的相对表达^[9]。

免疫组化与 Western blot 法检测 采用 SABC 免疫组化法测定肺组织 GAD、GABA_A 受体表达量。取肺组织石蜡切片, 常规脱蜡、水化, 3% H₂O₂ 灭活内源性过氧化物酶, 微波抗原修复 20 min, 10% 羊血清封闭, 滴加一抗 (兔抗大鼠 GAD: GABA_A 受体多克隆抗体为 1:200), 置入湿盒 4℃ 冰箱过夜, 0.1 mol/L PBS 洗涤, 依次加入二抗 (生物素标记的羊抗兔) 和三抗 (辣根过氧化物酶标记的链霉卵白素), DAB 显色。蒸馏水洗涤、苏木精复染、脱水、透明、封片, 光镜下观察。每张切片随机选取 6 个非重叠高倍视野, 采用 Image-pro plus 6.0 显微图像分析软件进行图像分析, 以阳性细胞的平均光密度值表示肺组织 GAD 与 GABA_A 受体表达量。光镜下胞浆或胞核内出现棕黄色颗粒者为阳性细胞, 阴性对照以 PBS 液代替一抗。

取左肺下叶组织, 采用 Western blot 法检测 GAD 与 GABA_A 受体的表达水平。取冻存的左肺下叶组织, 加入裂解液和酶抑制剂后匀浆。4℃、12 000 r/min 离心 15 min, 离心半径 8 cm, 弃沉淀, 采用 BCA 法定量检测上清液蛋白浓度。取 50 μ g 样品, 加上样缓冲液, 蛋白变性后行 SDS-PAGE 电泳, 电泳分离的蛋白转至 PVDF 膜。5% 脱脂牛奶室温中封闭 2 h, TBST 洗膜 10 min, 重复 3 次。加入兔抗鼠单克隆抗体 GAD (1:3 000)、 γ -氨基丁酸 A 受体抗体 (GABA_A 受体) (1:10 000) 4℃ 孵育过夜。TBST 洗膜 10 min, 重复 3 次。分别加入相应的辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 二抗 (1:2 000), 室温下摇床杂交 1 h。ECL 底物发光 A、B 显色剂按照 1:1 比例混匀后滴加于膜上, 显色曝光, 并使用 Image J 图像分析软件测定蛋白条带灰度值, 计算 GAD/ β -actin、GABA_A 受体/ β -actin 灰度值的比值反映其表达水平。

统计分析 采用 SPSS 19.0 统计学软件进行分析。正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析; 计数资料比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

肺组织病理学检查 光镜下, C 组肺组织结构未见明显异常, 肺泡间仅见少量炎性细胞浸润; VILI 组肺间质及肺泡内可见明显渗出性水肿, 肺间质有大量炎症细胞浸润, 肺泡间隔明显增宽, 局灶的肺泡塌陷和肺不张, 肺泡结构紊乱; UTI 组肺组织损伤程度较 VILI 组轻, 肺泡隔一定程度增宽, 炎症细胞浸润较 C 组程度轻, 肺泡充气扩张 (图 1)。

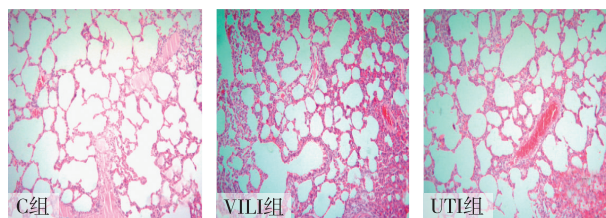


图 1 三组大鼠肺组织 HE 染色 ($\times 100$)

免疫组化法检测 GAD 的表达 C 组气道壁及肺组织中见大量散在的 GAD 阳性细胞, 主要为气道黏膜上皮细胞及血管内皮细胞; VILI 组气道黏膜及肺组织中可见少量 GAD 阳性细胞, 主要为气道黏膜上皮细胞和浸润的炎性细胞及血管内皮细胞; UTI 组气道和肺组织中, GAD 阳性细胞的分布与 VILI 组类似, 但 GAD 阳性细胞明显多于 VILI 组 (图 2)。

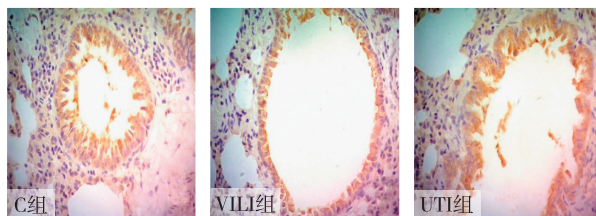


图 2 三组大鼠肺组织 GAD 表达的免疫组化染色 ($\times 100$)

免疫组化法检测 GABA_A 受体的表达 C 组气道壁及肺组织中见大量散在的 GABA_A 受体阳性细胞, 主要为气道黏膜上皮细胞及血管内皮细胞; VILI 组气道黏膜及肺组织中可见少量 GABA_A 受体阳性细胞, 主要为气道黏膜上皮细胞和浸润的炎性细胞及血管内皮细胞; UTI 组气道和肺组织中, GABA_A 受体

阳性细胞的分布与 VILI 组类似,但 GABA_A 受体表达达阳性细胞明显多于 VILI 组(图 3)。

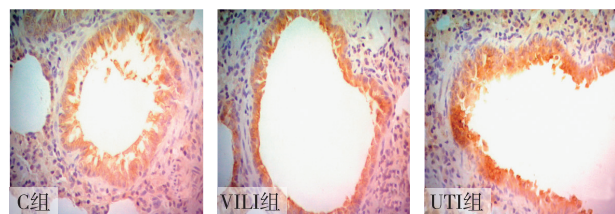


图 3 三组大鼠肺组织 GABA_A 受体表达的免疫组化染色($\times 100$)

PaO₂、W/D 及肺损伤评分 与 C 组比较,VILI 组和 UTI 组 PaO₂ 明显降低,W/D 和肺损伤评分明显升高($P < 0.05$);与 VILI 组比较,UTI 组 PaO₂ 明显升高,W/D 和肺损伤评分明显降低($P < 0.05$)(表 1)。

表 1 三组大鼠 PaO₂、W/D 和肺损伤评分的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	PaO ₂ (mm Hg)	W/D	肺损伤评分 (分)
C 组	12	99 ± 5	4.8 ± 1.4	3.3 ± 0.8
VILI 组	12	59 ± 4 ^a	8.5 ± 2.3 ^a	11.8 ± 2.7 ^a
UTI 组	12	78 ± 9 ^{ab}	6.7 ± 2.4 ^{ab}	6.9 ± 2.3 ^{ab}

注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 VILI 组比较,^b $P < 0.05$

模型制备 大鼠大潮气量机械通气 4 h 后,PaO₂ 降低,肺 W/D 升高,且光镜下可见肺泡内炎性细胞及蛋白渗出增多,肺间质水肿,肺泡壁增厚,肺泡塌陷,结构紊乱,提示大鼠 VILI 模型制备成功。

BALF 中 IL-1 β 、TNF- α 及 ICAM-1 浓度 与 C 组比较,VILI 组和 UTI 组 BALF 中总蛋白浓度、IL-1 β 、TNF- α 及 ICAM-1 浓度均明显升高($P < 0.05$);与 VILI 组比较,UTI 组 BALF 中总蛋白浓度、IL-1 β 、TNF- α 及 ICAM-1 浓度均明显降低($P < 0.05$)(表 2)。

表 2 三组大鼠 BALF 中总蛋白、IL-1 β 、TNF- α 及 ICAM-1 浓度的比较($\text{ng/L}, \bar{x} \pm s$)

组别	只数	总蛋白	IL-1 β	TNF- α	ICAM-1
C 组	12	387 ± 61	37 ± 4	71 ± 12	140 ± 33
VILI 组	12	1 368 ± 195 ^a	77 ± 15 ^a	158 ± 37 ^a	293 ± 61 ^a
UTI 组	12	824 ± 101 ^{ab}	56 ± 11 ^{ab}	105 ± 29 ^{ab}	205 ± 46 ^{ab}

注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 VILI 组比较,^b $P < 0.05$

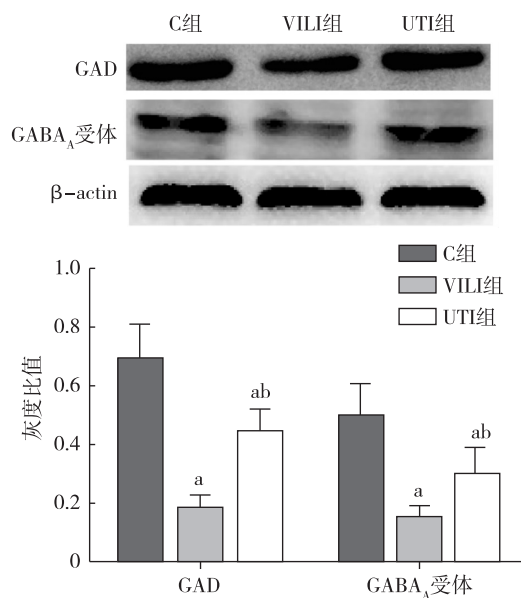
肺组织 IL-1 β mRNA、TNF- α mRNA 和 ICAM-1 mRNA 表达 与 C 组比较,VILI 组和 UTI 组肺组织 IL-1 β mRNA、TNF- α mRNA 和 ICAM-1 mRNA 表达量明显增加($P < 0.05$);与 VILI 组比较,UTI 组肺组织 IL-1 β mRNA、TNF- α mRNA 和 ICAM-1 mRNA 表达量明显减少($P < 0.05$)(表 3)。

表 3 三组大鼠肺组织 IL-1 β 、TNF- α 和 ICAM-1 mRNA 表达的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	IL-1 β mRNA	TNF- α mRNA	ICAM-1 mRNA
C 组	12	0.72 ± 0.09	0.78 ± 0.08	0.59 ± 0.04
VILI 组	12	2.58 ± 0.34 ^a	2.94 ± 0.27 ^a	2.79 ± 0.31 ^a
UTI 组	12	1.81 ± 0.26 ^{ab}	1.61 ± 0.15 ^{ab}	1.74 ± 0.27 ^{ab}

注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 VILI 组比较,^b $P < 0.05$

肺组织 GAD、GABA_A 受体表达 与 C 组比较,VILI 组和 UTI 组大鼠肺组织 GAD、GABA_A 受体平均光密度值均明显升高($P < 0.05$);与 VILI 组比较,UTI 组大鼠肺组织 GAD、GABA_A 受体平均光密度值明显降低($P < 0.05$)(图 4)。



注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 VILI 组比较,^b $P < 0.05$

图 4 三组大鼠肺组织中 GAD 和 GABA_A 受体灰度值的比较

讨 论

临床实践中有时会达到比较大的潮气量,例如过度肥胖以及特殊体位患者(侧卧位与俯卧位),或者由于机械通气时间较长,中间需要机控或者手控

膨肺预防术后肺不张等等,因此对于大潮气量所致 VILI 的研究具有重要临床意义。

正常情况下,ICAM-1 只在血管内皮细胞和上皮细胞中低水平表达^[10],当机体发生急性炎症反应时,ICAM-1 表达会不同程度地增加。ICAM-1 在 VILI 发生发展过程中扮演着重要的角色,研究发现,ICAM-1 不仅促进中性粒细胞在肺内聚集,还可刺激中性粒细胞释放弹性蛋白酶和其他水解酶,加重肺组织的损伤^[11]。

UTI 是一种从男性尿液中分离纯化的糖蛋白,同时是一种尿胰蛋白酶抑制剂,其具有 2 个活性功能区,能够同时抑制胰蛋白酶、磷脂酶 A₂、透明质酸酶和弹性蛋白酶等多种水解酶的活性。此外,UTI 对溶酶体膜有稳定作用,有抑制炎症介质的过度释放以及抑制氧自由基产生等功能^[12,13]。近年来的研究表明,UTI 对多种器官具有保护作用,其中包括对肺功能的保护作用,主要通过抑制炎症细胞释放 TNF- α 和 IL-8 等炎性介质,同时促进肺泡巨噬细胞、T 细胞合成与分泌 IL-10^[14,15]。参考文献^[16]并结合预实验结果,本研究选用相同剂量的乌司他丁给药方案。本研究结果显示,乌司他丁可减轻大鼠 VILI,提示本研究中乌司他丁的给药方案是有效的。

GABA 通路是一条重要的信号通路,在中枢神经细胞信号转导过程中扮演着重要角色,近年来的研究表明,该通路在肺损伤中也扮演着重要角色^[7]。在成人肺组织中,GAD 大部分在人肺泡Ⅱ型上皮细胞(ACE II)以及血管内皮细胞表达,说明 ACE II 与血管内皮细胞是 GABA 在远端肺的来源^[17]。肺组织 GABA_A 受体参与了大鼠 VILI 的发展,激活后可减轻急性肺组织损伤。本研究结果显示,UTI 组大鼠在使用乌司他丁后,肺组织损伤程度减轻,且 GAD 和 GABA_A 受体表达量均明显增加,提示乌司他丁减轻大鼠 VILI 的机制可能与激活 GABA 信号通路有关。

综上所述,乌司他丁可能通过激活 γ -氨基丁酸信号通路,减轻大鼠机械通气引起的呼吸机相关性肺损伤。

参 考 文 献

- [1] Matsuyama H, Amaya F, Hashimoto S, et al. Acute lung inflammation and ventilator-induced lung injury caused by ATP via the P2Y receptors: an experimental study. *Respir Res*, 2007, 9: 79.
- [2] Kuipers MT, van der Poll T, Schultz MJ, et al. Bench-to-bedside review: damage-associated molecular patterns in the onset of ventilator-induced lung injury. *Crit Care*, 2011, 15(6): 235.
- [3] Han B, Lodyga M, Liu M. Ventilator-induced lung injury: role of protein-protein interaction in mechanosensation. *Proc Am Thorac Soc*, 2005, 2(3): 181-187.
- [4] Leng YX, Yang SG, Song YH, et al. Ulinastatin for acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a systematic review and meta-analysis. *World J Crit Care Med*, 2014, 3(1): 34-41.
- [5] Sun R, Li Y, Chen W, et al. Total ginsenosides synergize with ulinastatin against septic acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 8(6): 7385-7390.
- [6] Jin N, Narasaraaju T, Kolliputi N, et al. Differential expression of GABA_A receptor α subunit in cultured rat alveolar epithelial cells. *Cell Tissue Res*, 2005, 321(2): 173-183.
- [7] Chintagari NR, Lin L. GABA receptor ameliorates ventilator-induced lung injury in rats by improving alveolar fluid clearance. *Crit Care*, 2012, 16(2): R55.
- [8] Brégeon F, Xeridat F, Andreotti N, et al. Activation of nicotinic cholinergic receptors prevents ventilator-induced lung injury in rats. *PLoS One*, 2011, 6(8): e22386.
- [9] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻($\Delta\Delta C_T$) Method. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [10] Cheng SE, Lee IT, Lin CC, et al. Thrombin induces ICAM-1 expression in human lung epithelial cells via c-Src/PDGFR/PI3K/Akt-dependent NF- κ B/p300 activation. *Clin Sci (Lond)*, 2014, 127(3): 171-183.
- [11] Lundberg AH, Fukatsu K, Gaber L, et al. Blocking pulmonary ICAM-1 expression ameliorates lung injury in established diet-induced pancreatitis. *Ann Surg*, 2001, 233(2): 213-220.
- [12] Shindo S, Ogata K, Kubota K, et al. Vascular prosthetic implantation is associated with prolonged inflammation following aortic aneurysm surgery. *J Artif Organs*, 2003, 6(3): 173-178.
- [13] Aosasa S, Ono S, Mochizuki H, et al. Mechanism of the inhibitory effect of protease inhibitor on tumor necrosis factor α production of monocytes. *Shock*, 2001, 15(2): 101-105.
- [14] Ito K, Mizutani A, Kira S, et al. Effect of Ulinastatin, a human urinary trypsin inhibitor, on the oleic acid-induced acute lung injury in rats via the inhibition of activated leukocytes. *Injury*, 2005, 36(3): 387-394.
- [15] 王瑞珂, 赵双平, 杨新平, 等. 乌司他丁在酸吸入性急性肺损伤早期治疗中的作用. *中南大学学报(医学版)*, 2004, 29(3): 305-308.
- [16] 金丽艳, 徐军美, 贺志飏, 等. 乌司他丁对大鼠急性肺损伤的保护作用及其机制. *临床麻醉学杂志*, 2007, 23(11): 921-922.
- [17] Jin N, Kolliputi N, Gou D, et al. A novel function of ionotropic gamma-aminobutyric acid receptors involving alveolar fluid homeostasis. *J Biol Chem*, 2006, 281(47): 36012-36020.

(收稿日期:2016-05-27)