

## 机械通气对大鼠肺泡巨噬细胞 Toll 样受体 4 表达的影响

李克忠 姚尚龙 马利

**【摘要】目的** 探讨机械通气对大鼠肺泡巨噬细胞(AM)表面 Toll 样受体 4(TLR4)表达的影响。**方法** 清洁级成年雄性 SD 大鼠 18 只,随机分为自主呼吸组(R 组,  $n=6$ )、小潮气量( $V_T$ )机械通气组(M 组,  $n=6$ )和大  $V_T$  机械通气组(N 组,  $n=6$ )。腹腔注射质量分数为 20%的乌拉坦 8 mg/kg 麻醉大鼠,行气管插管。机械通气呼吸机参数设定:M 组: $V_T$  为 6 ml/kg, N 组  $V_T$  为 40 ml/kg,吸:呼为 1:1,呼气末正压(PEEP)为 0,吸入氧浓度( $F_iO_2$ )为 0.21。调整呼吸频率和潮气末二氧化碳分压( $P_{ET}CO_2$ )维持在 35~45 mm Hg(1 mm Hg = 0.133 kPa)。实验 3 h 结束,放血处死大鼠。监测实验开始及实验 1、2 和 3 h 时动脉血气分析;并测定大鼠肺组织病理形态学积分、湿/干重(W/D)比值及支气管肺泡灌洗液(BALF)中白细胞计数(WBC)和肺蛋白通透性系数。用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)测定 AM 表面的 TLR4 mRNA 表达,用免疫组化法测定 AM 表面的 TLR4 蛋白表达。**结果** N 组实验 1 h 时存在过度通气, pH 升高、动脉血二氧化碳分压( $PaCO_2$ )降低( $P$  均  $<0.05$ ),其他指标都在正常范围内。与 R 组比较, N 组肺组织病理形态学积分、W/D 比值, BALF 中 WBC 和肺蛋白通透性系数以及 TLR4 蛋白表达和 TLR4 mRNA 表达均显著升高( $P$  均  $<0.01$ ); M 组改变差异均无显著性( $P$  均  $>0.05$ )。**结论** 大  $V_T$  机械通气导致大鼠肺损伤,并使 AM 表面 TLR4 表达明显上调。小  $V_T$  机械通气可避免上述改变的发生。

**【关键词】** 机械通气; 肺损伤; Toll 样受体 4; 肺泡巨噬细胞

## Effects of mechanical ventilation on the expression of Toll like receptor 4 in rat's alveolar macrophages

LI Ke-zhong, YAO Shang-long, MA Li. Department of Anesthesiology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei, China (LI Ke-zhong now works in Department of Anesthesiology, the Second Hospital of Shandong University, Ji'nan 250033, Shandong, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the effects of mechanical ventilation on Toll like receptor 4 (TLR4) in rat's alveolar macrophages (AM). **Methods** Eighteen depository-class adult male SD rats weighting 230 - 240 g were randomly divided into three groups ( $n=6$ ): autonomous breathing group (R group), small tidal volume ( $V_T$ ) mechanical ventilation group (M group,  $V_T=6$  ml/kg) and large  $V_T$  mechanical ventilation group (N group,  $V_T=40$  ml/kg). The animals were anesthetized with intraperitoneal 20% urethane 8 ml/kg, tracheostomized and mechanically ventilated [inhalation : exhalation (I : E) = 1 : 1, with positive end - expiratory pressure (PEEP) = 0, fraction of inspired oxygen ( $F_iO_2$ ) = 0.21]. The respiratory rate was adjusted, and end - tidal carbon dioxide partial pressure ( $P_{ET}CO_2$ ) was maintained at 35 - 45 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa). Arterial blood samples were taken for blood gas analysis at the beginning of the experiment and 1, 2 and 3 hours after the experiment. The experiment was terminated, and pathomorphology score, pulmonary tissue wet/dry (W/D) weight ratio, white blood cells count (WBC) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were determined at 3 hours. The rats were sacrificed by bloodletting after experiment. Then the rats' BALF and pulmonary albumin permeability (PAP) were determined. The expression of AM TLR4 mRNA was assessed by semi - quantitative reverse transcription - polymerase chain reaction (RT - PCR). AM TLR4 protein expression was determined by immunohistochemistry. **Results** Over ventilation, elevated pH and lower partial pressure of carbon dioxide in arterial blood ( $PaCO_2$ ) were observed in N group at 1 hour, and other indexes were normal. The pulmonary pathomorphology score, pulmonary W/D weight ratio, WBC in BALF, PAP, and the mRNA expression of TLR4 and the protein of TLR4 in AM in the N group were greatly increased as compared with the R group (all  $P<0.01$ ), while they were not significantly changed in the M group (all  $P>0.05$ ). **Conclusion** Large  $V_T$  mechanical ventilation induced injury of lungs and up - regulated TLR4 expression in rat's AM. Small  $V_T$  mechanical ventilation avoided above - mentioned changes.

**【Key words】** mechanical ventilation; injury of lungs; Toll like receptor 4; alveolar macrophages

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30471661);山东省自然科学基金资助项目(Y2006C120)

作者单位:430022 武汉,华中科技大学同济医学院协和医院麻醉科[李克忠(现在山东大学第二医院),姚尚龙,马利]

作者简介:李克忠(1965-),男(汉族),山东省人,医学博士,副主任医师,主要从事重症监护治疗和单肺通气的研究,已发表论文 20 余篇 (Email:LKZ200411@163.com)。

Toll 样受体 4 (TLR4) 是一种模式识别受体 (PRRs), 主要存在于哺乳动物肺脏的巨噬细胞表面, 是固有免疫和适应免疫极为重要的天然免疫受体。有研究表明, 内毒素攻击<sup>[1-3]</sup>、肺损伤<sup>[4]</sup>、失血性休克<sup>[5]</sup>等均可导致 TLR4 表达上调。机械通气是否也能影响 TLR4 表达的改变, 至今尚未见报道。本研究旨在通过观察不同机械通气方式对大鼠肺泡巨噬细胞 (AM) 表面 TLR4 表达的影响, 为探讨肺损伤的作用机制提供理论依据。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验仪器及试剂:** DH-15 型小动物呼吸机 (浙江医科大学实验中心生产), Marquette series 2000 监护仪和 i-star 便携式血气分析仪 (美国), Elx-800 酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司), 核酸蛋白质分析仪 (德国 Eppendorf 公司), 聚合酶链反应 (PCR) 仪与 T11 全自动凝胶成像及分析系统 (美国 Biometra 公司)。考马斯亮蓝法总蛋白检测试剂盒 (南京建成生物公司), 一步法总 RNA 提取试剂 (Trizol, Invitrogen Life Technologies Co), 随机引物、莫洛尼鼠白血病病毒逆转录酶 (M-MLV)、DNA 梯度 (DNA ladder, 美国 Promega 公司), RNA 酶抑制剂、Taq DNA 聚合酶 (加拿大 Biostar 公司), 三磷酸脱氧核糖核苷 (dNTPs, 美国 Amersco 公司), TLR4 和  $\beta$ -actin 引物 (北京奥科生物技术公司), TLR4 单克隆抗体、生物素-卵白素-过氧化物酶 (SABC) 试剂盒 (武汉 Boster 生物工程有限公司)。

**1.2 实验分组与动物处理:** 清洁级成年雄性 SD 大鼠 18 只, 体重 230~240 g, 由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供。按随机数字表法将动物分为自主呼吸组 (R 组,  $n=6$ )、小潮气量 ( $V_T$ ) 机械通气组 (M 组,  $n=6$ ) 和大  $V_T$  机械通气组 (N 组,  $n=6$ ) 3 组。腹腔注射质量分数为 20% 的乌拉坦 8 ml/kg 麻醉大鼠, 先行右颈总动脉置管用于测量动脉压, 左股静脉插管用于输液 (林格液 8 ml  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>  $\cdot$  h<sup>-1</sup>) 和给药。暴露气管, 行气管插管, 监测血压、心率、心电图和潮气末二氧化碳分压 ( $P_{ET}CO_2$ )。各项操作完毕后稳定 20 min, M 组和 N 组接小动物呼吸机。呼吸机参数设定: M 组  $V_T$  为 6 ml/kg, N 组  $V_T$  为 40 ml/kg, 呼气末正压 (PEEP) 为 0, 吸:呼 (I:E) 为 1:1; 调节呼吸频率 (RR) 使  $P_{ET}CO_2$  维持在 35~45 mm Hg (1 mm Hg=0.133 kPa)。R 组保持自主呼吸。3 组均吸入空气, 维持室温在 24~27 °C, 肛温在 (37.0±0.5) °C。实验开始和结束时, 各取颈动脉

血 0.5 ml, 用鲎试剂三重法检测血浆内毒素含量, 能测到内毒素含量的大鼠被剔除实验, 以保证实验不受内毒素影响。测定实验开始及 1、2 和 3 h 的动脉血气分析。整个实验严格执行无菌操作, 3 h 实验结束, 放血处死动物。

**1.3 AM 提取及标本制备:** 按 Tsan 等<sup>[6]</sup>介绍的方法, 用 4 °C 生理盐水 6 ml 经支气管灌洗左肺, 反复洗 3 次, 收集支气管肺泡灌洗液 (BALF), 部分用细胞计数板进行白细胞计数 (WBC); 余下 BALF 经 4 000 r/min (离心半径 7.5 cm) 离心 10 min (4 °C), 沉淀, 取上清液置于液氮中保存, 待测蛋白浓度。将沉淀用生理盐水 3 ml 重悬、再离心, 反复洗涤 3 次, 然后用 RPMI21640 培养液 4 ml 重悬, 置 6 孔培养皿中, 在 37 °C 孵箱中用体积分数为 5% 的二氧化碳 (CO<sub>2</sub>) 孵育 2 h, 轻轻吸出上清液, 去除非贴壁细胞, 加入生理盐水 2 ml, 用吸管反复吹打, 使贴壁细胞悬浮。取 0.1 ml 悬浮液均匀涂于经多聚赖氨酸处理过的防脱载玻片上, 晾干, 用体积分数为 4% 的多聚甲醛固定 30 min, 磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗净、晾干, 进行免疫组化检测。剩余的悬浮液经 4 000 r/min (离心半径 7.5 cm) 离心 10 min (4 °C), 去上清液, 沉淀物置于液氮中保存, 待行逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测。

## 1.4 观察指标及测定方法

**1.4.1 病理形态学积分:** 按照孙艳红等<sup>[7]</sup>的方法, 取大鼠右肺下叶石蜡包埋, 苏木素-伊红 (HE) 染色, 用盲法由病理医师在光镜下观察肺组织损伤程度, 主要依据有肺间质水肿、肺泡水肿、炎性细胞浸润、肺泡出血、透明膜形成和肺不张改变 6 项, 根据程度计分, 无变化为 0 分, 轻度改变为 1 分, 中度改变为 2 分, 重度改变为 3 分, 最后累计分值为 0~18 分。

**1.4.2 肺组织湿/干重 (W/D) 比值:** 取大鼠右肺中叶, 称重后置 80 °C 烤箱烘烤 48 h 至恒重, 计算 W/D 比值。

**1.4.3 BALF 中 WBC:** 用细胞计数板光镜下计数 BALF 中 WBC。

**1.4.4 肺蛋白通透性系数 (PAP):** BALF 中蛋白浓度和血浆中蛋白浓度按考马斯亮蓝法总蛋白检测试剂盒说明书要求检测, BALF 中蛋白浓度与血浆蛋白浓度之比表示 PAP。

**1.4.5 免疫组化检测 TLR4 蛋白表达:** 取涂于多聚赖氨酸处理的防脱载玻片上的 AM, 采用 Boster 公司推荐的 SABC 法进行免疫组化染色。每个标本各有一张涂片用 0.1 mol/L 的 PBS 代替 TLR4 单

克隆抗体,作为免疫组化阴性对照。光镜下观察棕色颗粒为阳性细胞。每张任选不重复的 6 个高倍视野,用 HMIAS-2000 型全自动医学彩色图像分析系统测定每组 TLR4 的平均光密度值。

**1.4.6 RT-PCR 检测 TLR4 mRNA 表达:**取液氮保存的 AM,用 Trizol 试剂提取总 RNA,核酸蛋白测定仪上测定浓度。取 3 μg 总 RNA 经 M-MLV 逆转录成的 cDNA 进行 PCR 扩增,扩增后的 cDNA 特异性片段引物按如下方法设计。TLR4 引物序列:上游引物为 5'-GCCGAAAGTTATTGTGGTGGT-3',下游引物为 5'-ATGGGTTTAGGCGCAGAGTTT-3',产物大小 356 bp;β-actin 引物序列:上游引物为 5'-CATCACTATCGGCAATGAGC-3',下游引物为 5'-GACAGCACTGTGTTGGCATA-3',产物大小 159 bp。PCR 扩增参数:94 °C 变性 30 s,56 °C (TLR4) 退火 30 s,57 °C (β-actin) 退火 30 s,72 °C 延伸 45 s,循环 30 次。等量 RT-PCR 产物于质量分数为 1.5% 的琼脂糖凝胶上电泳,用 Biometra 全自动凝胶成像及分析系统分析,结果以平均光密度值表示。

**1.5 统计学处理:**应用 SPSS13.0 统计分析软件包进行处理。计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间配对比较采用 *t* 检验,组内比较采用方差分析 *Q* 检验,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 动脉血气的变化(表 1):**与本组实验开始时比较,N 组实验 1 h 时存在过度通气,pH 升高和动脉血二氧化碳分压(PaCO<sub>2</sub>)降低差异均有显著性(*P* 均 < 0.05);其他指标都在正常范围内。

表 1 3 组大鼠动脉血气的变化( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 1 Change of arterial blood gas analysis of rats in three groups( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	时间	pH	PaCO <sub>2</sub> (mm Hg)	PaO <sub>2</sub> (mm Hg)
R 组	实验开始	7.40±0.02	38±2	86.4±2.3
	实验 1 h	7.39±0.03	38±2	87.1±2.4
	实验 2 h	7.41±0.01	40±3	85.4±1.9
	实验 3 h	7.41±0.02	42±3	84.3±2.6
M 组	实验开始	7.41±0.03	39±2	85.6±4.6
	实验 1 h	7.42±0.02	43±3	81.4±2.3
	实验 2 h	7.40±0.02	38±2	86.4±2.3
	实验 3 h	7.41±0.02	39±2	79.4±1.8
N 组	实验开始	7.40±0.04	37±3	79.5±2.7
	实验 1 h	7.54±0.06*	31±4*	103.6±4.8
	实验 2 h	7.43±0.05	40±2	78.6±3.3
	实验 3 h	7.39±0.04	41±3	77.5±2.4

注:与本组实验开始时比较:\**P* < 0.05;PaO<sub>2</sub> 为动脉血氧分压

**2.2 3 组大鼠肺组织病理形态学积分、W/D 比值**

及 BALF 中 WBC 和 PAP 的比较(表 2):N 组肺组织病理形态学积分、W/D 比值及 BALF 中 WBC 和 PAP 均较 R 组和 M 组升高,差异均有显著性(*P* 均 < 0.01)。

表 2 3 组大鼠肺组织 W/D 比值、病理学积分及 BALF 中 WBC 和 PAP 的比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 2 Comparison of pulmonary W/D weight ratio, pathomorphology score, WBC in BALF and PAP of rats in three groups( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	W/D 比值	WBC(×10 <sup>6</sup> /L)	病理学积分(分)	PAP(×10 <sup>-3</sup> )
R 组	0.45±0.05	0.60±0.03	0	1.2±0.3
M 组	0.49±0.04	0.70±0.06	0.5±0.2	1.7±0.4
N 组	0.64±0.05**△△	8.70±0.42**△△	11.3±1.2**△△	4.6±0.8**△△

注:与 R 组比较:\*\**P* < 0.01;与 M 组比较:△△*P* < 0.01

**2.3 TLR4 蛋白的免疫组化结果(彩色插页图 1):**与 R 组比较,M 组 TLR4 的平均光密度值(0.13±0.10 比 0.13±0.10)无变化;而 N 组 TLR4 的平均光密度比值(0.90±0.20 比 0.13±0.10)显著升高,差异有显著性(*P* < 0.01)。

**2.4 TLR4 mRNA 的 RT-PCR 结果(图 2):**用 A<sub>TLR4 mRNA</sub>/A<sub>β-actin</sub> 灰度的比值表示 TLR4 mRNA 的表达。与 R 组比较,M 组 TLR4 mRNA 条带的灰度值(1.2±0.2 比 1.4±0.2)变化不大,而 N 组 TLR4 mRNA 条带的灰度值(1.2±0.1 比 3.2±0.4)显著升高,差异有显著性(*P* < 0.01)。

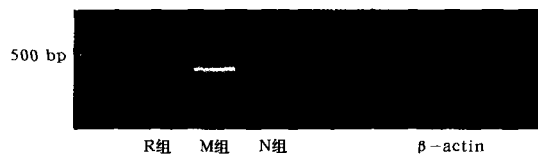


图 2 3 组 AM 表面 TLR4 mRNA 的 RT-PCR 表达结果

Figure 2 Expression of TLR4 mRNA on AM surface by RT-PCR in three groups

**3 讨论**

机械通气是临床麻醉和监护治疗中常见的重要治疗手段。Pugin<sup>[8]</sup>报道,接受呼吸治疗患者肺组织病变的不均一性使得患者肺顺应性不一致,机械通气时,顺应性好的肺单位受力大于有病变的肺单位;急性呼吸窘迫综合征(ARDS)患者采用 V<sub>T</sub> 10~12 ml/kg 进行机械通气时,未损伤的肺单位可产生相当于 V<sub>T</sub> 38~50 ml/kg 通气的作用。因此,本实验中采用临床常用的 8 ml/kg 小 V<sub>T</sub> 和模拟肺损伤时的 40 ml/kg 大 V<sub>T</sub>,观测两种有临床意义的机械通气模式对大鼠肺固有免疫通路上 TLR4 的影响。结果显示,虽然通过监测 P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub> 调整 RR,大 V<sub>T</sub> 通气 1 h 时还是发生了过度通气,到 2 h 时血气 pH、

PaCO<sub>2</sub>和PaO<sub>2</sub>恢复正常。分析原因,一方面是由于本实验采用依据 P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub> 和 PaCO<sub>2</sub> 监测调整 RR,整个实验维持 P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub> 在 35~45 mm Hg,使 V<sub>T</sub> 对血气的影响降到最小;另一方面,大 V<sub>T</sub> 通气使肺组织损伤逐渐加重,肺水增加,肺泡壁增厚,影响 CO<sub>2</sub> 的弥散<sup>[9]</sup>,抵消了过度通气的影响。N 组的病理结果也支持此观点。

以前的动物实验证实,不适当的机械通气可以导致广泛的肺泡-毛细血管膜损伤,并伴有炎性细胞浸润等炎性改变<sup>[2,8,10-12]</sup>。本实验结果显示,大 V<sub>T</sub> 机械通气导致病理损伤、PAP 和炎性细胞增加等一系列肺损伤改变,说明本研究的大 V<sub>T</sub> 机械通气导致了肺损伤的发生。

AM 来源于骨髓单核细胞系,是肺部防御病原微生物和肺损伤的第一道防线,也是机体重要的炎性细胞,它不仅具有吞噬和抗原呈递功能,而且还能分泌近 100 种分子物质,包括各种生长因子、前列腺素(PGs)、白细胞介素(ILs)、补体、肿瘤坏死因子(TNFs)、毒性氧产物等调节和启动免疫炎症反应,使其在急性肺损伤(ALI)的发病中占据重要地位,对 ALI 的发生发展及转归具有重要影响。

TLR4 是一种 PRRs,是固有免疫的重要信号转导分子,也是连接固有免疫和适应免疫的重要受体,能够识别微生物进化过程中的一些保守结构即病原相关分子模式(PAMAs),主要表达于单核/巨噬细胞,能识别内外源性致炎因子,介导炎症反应<sup>[10,11]</sup>。TLR4 属于 I 型跨膜受体蛋白,其细胞浆部分与 IL-1 受体胞内区相似(命名为 Toll-IL-1R 或 TIR 区域),使其可以和 IL-1Rs 利用相同的信号分子转导信号,包括 MyD88、IL-1R 相关蛋白激酶和 TNFs 受体激活因子<sup>[13]</sup>。已知脂多糖(LPS)与 CD14 结合后,通过细胞膜上 TLR4 胞外部分把信号转导到细胞内,经细胞内 MyD88 依赖性和非依赖性途径,激活核转录因子-κB(NF-κB)和激活蛋白-1(AP-1),导致炎症因子如 TNF-α、IL-1、IL-8、一氧化氮(NO)、血小板活化因子(PAF)、PGs 和黏附分子等大量表达,导致炎症发生。我们的实验表明,大 V<sub>T</sub> 机械通气 3 h 能够使 AM 表面 TLR4 表达显著上调,实验前后都没检测到 LPS,说明 TLR4 表达上调不是 LPS 引起的。TLR4 表达上调,可能是机体免疫系统对过度机械通气的一种应激反应,使机体在细胞、组织、器官、系统乃至整体水

平对致炎因子的敏感性增强,这可能对机体造成双向性影响:一方面是机体的防御反应增强,有利于机体抵御各种感染;另一方面,导致机体容易发生全身炎症反应综合征(SIRS),在这个病理过程中,肺是最容易受损的器官,极易引发 ALI,甚至多器官功能障碍综合征(MODS)。同时,TLR4 表达上调,使机体对 LPS 敏感性增强,也通过 LPS-CD14-TLR4 使机体发生过度炎症反应,加重组织器官损伤。本研究结果显示,大 V<sub>T</sub> 通气导致了肺损伤,并使 TLR4 表达升高。

#### 参考文献:

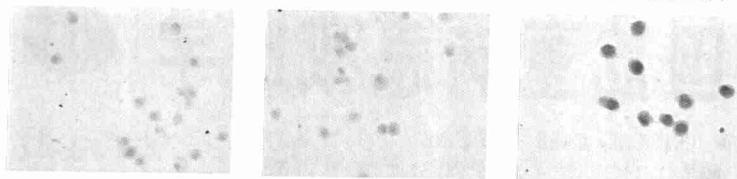
- 1 万幸,王培训,周联,等.脂多糖刺激前后小鼠肺肝脾组织中 Toll 样受体基因表达情况[J].中国危重病急救医学,2004,16(2):73-76.
- 2 张德明,李永旺,毛宝龄,等. Toll 样受体 4 与大鼠肺泡巨噬细胞内毒素耐受性的实验研究[J].中华结核和呼吸杂志,2003,26(7):411-414.
- 3 Jiang Q, Akashi S, Miyake K, et al. Lipopolysaccharide induces physical proximity between CD14 and toll-like receptor 4 (TLR4) prior to nuclear translocation of NF-κB [J]. J Immunol, 2000, 165(7):3541-3544.
- 4 张伟,蒋耀光,谢志坚,等.急性肺损伤肺间质巨噬细胞 TLR4 的表达及意义[J].中国危重病急救医学,2004,16(10):622-625.
- 5 吕镫烽,宋勇,施毅,等.失血性休克鼠肺组织 Toll 样受体基因的表达[J].中国危重病急救医学,2005,17(9):519-522.
- 6 Tsan M F, White J E, Shepard B. Lung-specific direct in vivo gene transfer with recombinant plasmid DNA [J]. Am J Physiol, 1995, 268(6Pt1):L1052-L1056.
- 7 孙艳红,吴新军,王俊科,等.地氟醚对内毒素致急性肺损伤大鼠肺泡毛细血管膜通透性的影响[J].中华麻醉学杂志,2004,24(6):439-442.
- 8 Pugin J. Molecular mechanisms of lung cell activation induced by cyclic stretch [J]. Crit Care Med, 2003, 31(4Suppl):S200-206.
- 9 王月兰,姚尚龙.机械通气对大鼠肺组织早期生长因子-1、C-jun 和白介素-1β 表达的影响[J].中华麻醉学杂志,2005,25(11):828-831.
- 10 Akira S, Hemmi H. Recognition of pathogen-associated molecular patterns by TLR family [J]. Immunol Lett, 2003, 85(2):85-95.
- 11 Paterson H M, Murphy T J, Purcell E J, et al. Injury primes the innate immune system for enhanced Toll-like receptor reactivity [J]. J Immunol, 2003, 171(3):1473-1483.
- 12 Imanaka H, Shimaoka M, Matsuura N, et al. Ventilator-induced lung injury is associated with neutrophil infiltration, macrophage activation, and TGF-beta1 mRNA upregulation in rat lungs [J]. Anesth Analg, 2001, 92(2):428-436.
- 13 Yoshikawa S, King J A, Lausch R N, et al. Acute ventilator-induced vascular permeability and cytokine responses in isolated and in situ mouse lungs [J]. J Appl Physiol, 2004, 97(6):2190-2199.

(收稿日期:2006-11-10 修回日期:2007-01-10)

(本文编辑:李银平)

### 机械通气对大鼠肺泡巨噬细胞Toll样受体4表达的影响

(正文见73页)



R组:保持自主呼吸

M组:Vt为6 ml/kg

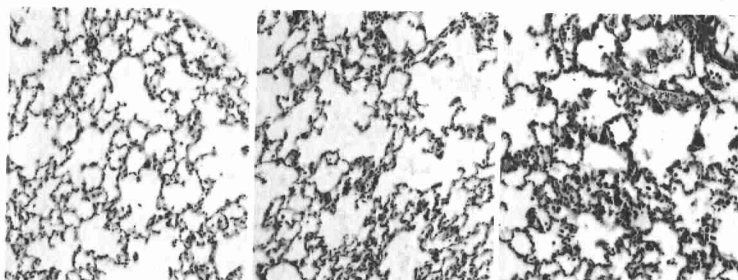
N组:Vt为40 ml/kg

图1 3组肺AM表面TLR4蛋白的表达(免疫组化,×400)

Figure 1 Expression of TLR4 protein on lung AM surface in three groups (immunohistochemistry, ×400)

### 大鼠机械通气所致肺损伤时p38丝裂原活化蛋白激酶通路的激活

(正文见77页)



A组:Vt为8 ml/kg

B组:Vt为20 ml/kg

C组:Vt为40 ml/kg

图1 3组肺组织病理改变(HE,×100)

Figure 1 Pathological change of lung tissues in three groups (HE, ×100)

### 机械通气状态下床旁气管和食管支架置入术(附5例报告)

(正文见117页)



图1 食管支架置入: 支架释放

Figure 1 Insertion of esophagus stent after release

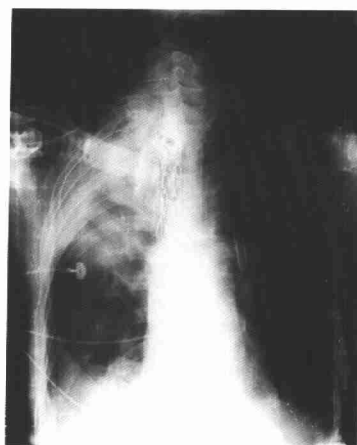


图2 食管支架置入: 支架释放膨胀后

Figure 2 Insertion of esophagus stent after expansion