

• 论著 •

Ly6C^{high} 单核细胞在小鼠 VILI 中的作用机制

赵晨 张维康 戴惠军 潘灵辉

广西医科大学附属肿瘤医院麻醉科,南宁 530021

通信作者:潘灵辉,Email:plh5320919@qq.com

【摘要】目的 探讨 Ly6C^{high} 单核细胞在小鼠呼吸机相关性肺损伤(VILI)中的作用及其机制。**方法** 将 48 只 SPF 级健康雄性 C57BL/6 小鼠按随机数字表法分为自主呼吸组($n=8$)、正常潮气量(VT)组(VT 为 8 mL/kg, $n=8$)、大 VT 组(VT 为 20 mL/kg, $n=32$)，大 VT 组根据通气时间再分为 1、2、3、4 h 亚组，每个亚组 8 只。所有小鼠均行直视下气管插管术，自主呼吸组保持自主呼吸 4 h，正常 VT 组、大 VT 组分别给予相应 VT 的机械通气制备小鼠 VILI 模型。通气 4 h 后，收集支气管肺泡灌洗液(BALF)测定总蛋白含量，采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定炎性因子〔肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)〕含量；收集肺组织标本，测定湿/干重(W/D)比值，光镜下观察苏木素-伊红(HE)染色后组织病理学改变，采用蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、CC 类趋化因子受体 2(CCR2)的蛋白表达，采用流式细胞仪检测 Ly6C^{high} 单核细胞比例。**结果** 光镜下显示，自主呼吸组和正常 VT 组肺组织结构基本正常；大 VT 通气 2 h 开始肺组织即发生炎症性改变，并随机械通气时间延长逐渐加重。与自主呼吸组比较，大 VT 通气 2 h 起 BALF 中总蛋白水平和 TNF- α 、IL-1 β 含量以及肺组织 W/D 比值和 MCP-1 表达即明显升高〔BALF 中总蛋白(g/L): 1.05 ± 0.13 比 0.58 ± 0.11 , BALF 中 TNF- α (ng/L): 116.86 ± 16.14 比 38.27 ± 8.00 , BALF 中 IL-1 β (ng/L): 178.98 ± 10.41 比 117.56 ± 23.40 , 肺 W/D 比值: 5.76 ± 0.27 比 4.98 ± 0.39 , MCP-1/GAPDH: 0.87 ± 0.19 比 0.29 ± 0.12 , 均 $P < 0.05$ 〕，肺组织 CCR2 表达和 Ly6C^{high} 单核细胞比例于通气 3 h 起明显升高〔CCR2/GAPDH: 0.84 ± 0.19 比 0.24 ± 0.11 , Ly6C^{high} 单核细胞比例: $(9.01 \pm 2.47)\%$ 比 $(1.06 \pm 0.35)\%$, 均 $P < 0.05$ 〕，并随机械通气时间延长呈持续升高趋势。自主呼吸组、正常 VT 组与大 VT 1 h 组上述各项指标比较差异均无统计学意义。**结论** Ly6C^{high} 单核细胞通过 MCP-1/CCR2 轴介导参与了小鼠 VILI。

【关键词】 呼吸机相关性肺损伤； Ly6C^{high} 单核细胞； 单核细胞趋化蛋白-1； CC 类趋化因子受体 2

基金项目：广西自然科学基金重点项目(2018GXNSFDA138007)

DOI : 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.09.013

Role and mechanism of Ly6C^{high} monocyte in ventilator-induced lung injury in mice

Zhao Chen, Zhang Weikang, Dai Huijun, Pan Linghui

Department of Anesthesiology, the Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Corresponding author: Pan Linghui, Email: plh5320919@qq.com

【Abstract】Objective To investigate the role and mechanism of Ly6C^{high} monocyte in mice with ventilator-induced lung injury (VILI). **Methods** Forty-eight healthy male SPF C57BL/6 mice were divided into spontaneous breathing group ($n = 8$), normal tidal volume (VT) group (VT was 8 mL/kg, $n = 8$), and high VT group (VT was 20 mL/kg, $n = 32$)。The mice in the high VT group were subdivided into 1, 2, 3 and 4 hours subgroups, with 8 mice in each subgroup. All mice underwent direct tracheal intubation, those in the spontaneous breathing group maintained spontaneous breathing, and those in the normal VT group and high VT group were mechanically ventilated with different VT. After ventilation for 4 hours, bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was collected to determine total protein, and the levels of inflammatory factors including tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) were determined by enzyme-linked immune sorbent assay (ELISA)。The lung tissues were harvested to determine the wet/dry (W/D) ratio, and lung tissue injury was assessed in terms of lung histopathologic examination after hematoxylin-eosin (HE) staining under the light microscope。The protein expressions of monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) and CC-chemokine receptor 2 (CCR2) in lung tissues were determined by Western Blot。Flow cytometry was used to detect the proportion of Ly6C^{high} monocyte in lung tissue。 **Results** The histopathology of lung tissue structures was normal in the spontaneous breathing group and the normal VT group。Inflammatory reaction began to appear at 2 hours of high VT ventilation, and inflammatory reaction was gradually aggravated with the time extension。Compared with the spontaneous breathing group, the total protein, TNF- α , and IL-1 β levels in BALF, the lung W/D ratio and MCP-1 expression were increased from 2 hours of high VT ventilation [total protein in BALF (g/L): 1.05 ± 0.13 vs. 0.58 ± 0.11 , TNF- α in BALF (ng/L): 116.86 ± 16.14 vs. 38.27 ± 8.00 , IL-1 β in BALF (ng/L): 178.98 ± 10.41 vs. 117.56 ± 23.40 , lung W/D ratio: 5.76 ± 0.27 vs. 4.98 ± 0.39 , MCP-1/GAPDH: 0.87 ± 0.19 vs. 0.29 ± 0.12 , all $P < 0.05$], and CCR2 expression and the proportion of Ly6C^{high} monocyte was significantly increased from 3 hours of high VT ventilation [CCR2/GAPDH: 0.84 ± 0.19 vs. 0.24 ± 0.11 , Ly6C^{high} monocyte proportion: $(9.01 \pm 2.47)\%$ vs. $(1.06 \pm 0.35)\%$, both $P < 0.05$], and

they all showed an increased tendency with the time extension. There was no significant difference in the parameters mentioned above among the spontaneous breathing group, normal VT group and high VT ventilation 1-hour group.

Conclusion Ly6C^{high} monocytes are involved in VILI, which aggravate VILI by activating the MCP-1/CCR2 axis.

【Key words】 Ventilator-induced lung injury; Ly6C^{high} monocyte; Monocyte chemotactic protein-1; CC-chemokine receptor 2

Fund program: Key Project of Guangxi Natural Science Foundation (2018GXNSFDA138007)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.09.013

机械通气(MV)是重症特别是急性呼吸窘迫综合征(ARDS)患者的重要生命支持手段。据文献报道,ARDS患者呼吸机相关性肺损伤(VILI)的发生率可高达41%^[1],且其病死率为20%~50%^[2]。造成VILI发生的其中一个原因是生物伤,在肺部有基础疾病的情况下,正常肺泡会过度通气。过度机械刺激肺泡壁,激活信号通路继发肺内炎性损伤^[3],引发VILI,严重者可发生ARDS^[4]。本课题组前期研究表明,在VILI炎症中,肺泡灌洗液中有大量除肺泡巨噬细胞以外的炎性单核细胞浸润,介导了VILI的发生发展。有研究表明,Ly6C^{high}单核细胞可以通过循环动员、募集至炎症局部,作为炎症起始细胞被炎症局部信号分子激活后分泌大量的肿瘤坏死因子- α (TNF- α),启动“瀑布式”炎症反应^[5]。然而,Ly6C^{high}单核细胞在VILI过程中的作用机制目前尚未明确。本研究拟通过建立小鼠VILI模型,探讨Ly6C^{high}单核细胞在VILI中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组: SPF级健康雄性C57BL/6小鼠48只,体重23~27 g,由广西医科大学动物实验中心提供,动物合格证号SYXK(桂)2014-0003。将48只小鼠按随机数字表法分为自主呼吸组($n=8$)、正常潮气量(VT)组(VT为8 mL/kg, $n=8$)、大VT组(VT为20 mL/kg, $n=32$),大VT组根据通气时间再分为1、2、3、4 h亚组,每个亚组8只。

1.2 VILI模型建立: 各组小鼠均腹腔注射氯胺酮100 mg/kg;正常VT组和大VT组经股静脉注射甲苯噻嗪10 mg/kg后仰卧位固定。所有小鼠均行直视下气管插管,插管成功后,自主呼吸组保持自主呼吸4 h;正常VT组和大VT组参考文献[6-7]方法制备小鼠VILI模型。待小鼠自主呼吸消失后连接topo型小动物呼吸机(美国KENT公司)进行机械通气。呼吸机参数设置:正常VT组VT为8 mL/kg,大VT组VT为20 mL/kg,吸入氧浓度(FiO₂)为0.21,吸呼比(I:E)为1:1,通气频率100次/min,呼气末正压(PEEP)为0。根据小鼠血压波动及体动反应及时追加氯胺酮0.03~0.05 mL维持麻醉。机械通气

4 h后处死小鼠取心脏血,收集标本备检。本实验中动物处置方法均符合动物伦理学要求,并通过医院伦理委员会批准(审批号:LW2019026)。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 标本的采集和制备: 机械通气4 h后暴露小鼠心脏和双肺,结扎右肺,并用预冷的磷酸盐缓冲液(PBS)反复灌洗左肺3次,回收支气管肺泡灌洗液(BALF),4℃离心分离上清,置于-80℃保存后检测炎性因子水平。取右肺组织用于Ly6C^{high}单核细胞比例测定及病理学观察。

1.3.2 肺湿/干重(W/D)比值: 取小鼠右肺组织,用滤纸吸干肺组织表面的水分和血液后,称湿重,置于80℃烘干箱48 h至恒重后称干重,计算肺组织W/D比值以反映肺水肿程度。

1.3.3 肺组织病理学改变: 制模后取部分右肺中叶组织,以4%多聚甲醛溶液固定,石蜡包埋,以肺横截面连续切片,用苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察肺组织病理学改变,并按照以下5个方面进行肺损伤评分^[7]:肺泡充血,出血,肺泡腔、血管壁或肺泡壁上白细胞的浸润和肺泡壁的厚度(0分:正常,1分:轻度损伤,2分:中度损伤,3分:重度损伤,4分:严重损伤),5项评分之和即为病理学总评分。

1.3.4 BALF总蛋白测定: 采用BCA法检测总蛋白水平,操作步骤按照试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)说明书进行。

1.3.5 BALF炎性因子水平测定: 取BALF,按照酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司)说明书步骤操作,测定BALF中白细胞介素-1 β (IL-1 β)、TNF- α 的水平。

1.3.6 蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测肺组织内单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)和CC类趋化因子受体2(CCR2)的蛋白表达: 取适当在RIPA组织裂解液与蛋白酶抑制剂苯甲基磺酰氟(PMSF)混合液中裂解出的肺组织总蛋白,离心取上清液,用BCA法进行蛋白定量后,加入蛋白上样缓冲液,100℃加热10 min使之变性。将样品进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)后切

胶、转膜、封闭,加入一抗:CCR2(美国 Abcam 公司)、MCP-1(美国 Cell Signaling Technology 公司)和内参蛋白 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH,美国 Cell Signaling Technology 公司)单克隆抗体,4℃孵育过夜,然后加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗室温孵育 1 h。使用电化学发光(ECL)试剂盒显影后使用 ChemiDocTM MP 成像系统成像,用 Image J 软件分析灰度值,计算目的蛋白与内参蛋白条带的灰度值比值反映目的蛋白的表达量。

1.3.7 流式细胞仪检测 Ly6C^{high} 单核细胞比例:取适量小鼠肺组织,剪碎研磨后用胶原酶和脱氧核酸化酶 I 在 37℃摇床上消化,离心后用红细胞裂解液在冰上裂解,用细胞固定液固定细胞,调整细胞密度。取上述细胞分别加入抗 CD11b- 异硫氰酸荧光素(FITC)、Ly6C- 荧光素(PE)抗体(美国 Miltenyi Biotec 公司)。混匀后 4℃避光孵育 10 min,用预冷的 PBS 洗涤后,用适量 PBS 重悬细胞,调整密度,随即用 BD AccuriTM 流式细胞仪检测 Ly6C^{high} 单核细胞比例。

1.4 统计学处理:应用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学分析。符合正态分布的计量数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间的比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),两两比较若方差齐则用 LSD 检验,若方差不齐则进行 Dunnett T3 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组肺组织 W/D 比值及 BALF 中总蛋白水平比较(表 1):与自主呼吸组比较,大 VT 2~4 h 组小鼠肺组织 W/D 比值和 BALF 中总蛋白水平均明显升高(均 $P < 0.05$);而自主呼吸组、正常 VT 组与大 VT 1 h 组间差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

表 1 各组小鼠肺组织 W/D 比值、BALF 中总蛋白及肺组织病理学评分的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	肺 W/D 比值	BALF 总蛋白 (g/L)	肺病理学 评分(分)
自主呼吸组	8	4.98 ± 0.39	0.58 ± 0.11	1.25 ± 0.46
正常 VT 组	8	5.03 ± 0.39	0.66 ± 0.15	1.63 ± 0.74
大 VT 1 h 组	8	5.42 ± 0.16	0.81 ± 0.11	2.50 ± 0.93
大 VT 2 h 组	8	5.76 ± 0.27 ^{ab}	1.05 ± 0.13 ^{ab}	3.88 ± 1.02 ^{ab}
大 VT 3 h 组	8	7.20 ± 0.37 ^{ab}	1.29 ± 0.19 ^{ab}	7.25 ± 1.83 ^{ab}
大 VT 4 h 组	8	8.33 ± 0.25 ^{ab}	1.68 ± 0.16 ^{ab}	9.50 ± 2.14 ^{ab}
F 值		74.008	40.981	52.088
P 值		0.000	0.000	0.000

注:肺 W/D 比值为肺湿/干重比值,BALF 为支气管肺泡灌洗液;正常潮气量(VT)组 VT 为 8 mL/kg,大 VT 组 VT 为 20 mL/kg;与自主呼吸组比较,^a $P < 0.05$;与正常 VT 组比较,^b $P < 0.05$

2.2 各组肺组织病理学改变和肺损伤评分比较(表 1;图 1):光镜下显示,自主呼吸组、正常 VT 组肺泡结构基本正常,未见明显的病理学改变;大 VT 1 h、2 h 组可见少量肺泡腔融合,肺间隔稍增宽,肺泡腔内有稍多炎性细胞浸润;大 VT 3 h、4 h 组肺泡腔融合,肺泡结构紊乱,肺间隔增宽,肺间质水肿,可见大量炎性细胞和红细胞浸润。定量结果显示,大 VT 2~4 h 组肺损伤评分明显高于自主呼吸组和正常 VT 组(均 $P < 0.05$);而自主呼吸组、正常 VT 组与大 VT 1 h 组间差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

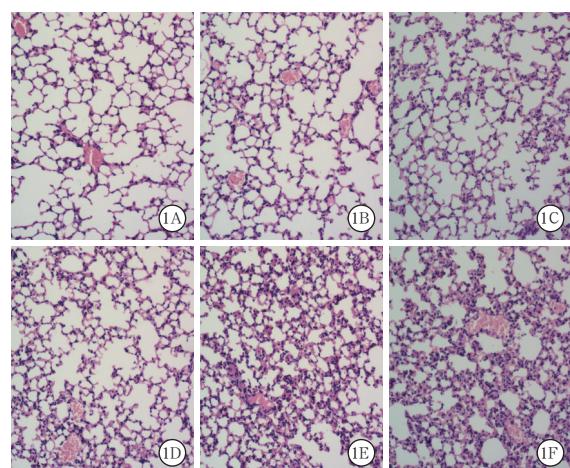


图 1 光镜下观察各组小鼠肺组织病理学改变 自主呼吸组(A)和正常潮气量(VT)组(VT 为 8 mL/kg, B)肺组织结构基本正常,仅见轻度炎性细胞浸润;大 VT 1 h(C)、2 h(D)组(VT 为 20 mL/kg)炎性细胞浸润稍多,肺泡间隔稍增宽;大 VT 3 h(E)、4 h(F)组(VT 为 20 mL/kg)可见大量肺泡腔融合,肺间隔增宽,肺泡腔内有大量炎性细胞浸润 HE 染色 低倍放大

2.3 各组 BALF 中 TNF-α、IL-1β 含量比较(表 2):与自主呼吸组和正常 VT 组比较,大 VT 2~4 h 组 BALF 中 TNF-α、IL-1β 含量明显升高(均 $P < 0.05$);而自主呼吸组、正常 VT 组与大 VT 1 h 组间差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

表 2 各组小鼠 BALF 中炎性因子 TNF-α 和 IL-1β 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	TNF-α (ng/L)	IL-1β (ng/L)
自主呼吸组	8	38.27 ± 8.00	117.56 ± 23.40
正常 VT 组	8	45.01 ± 5.52	119.67 ± 16.80
大 VT 1 h 组	8	53.01 ± 9.48	137.51 ± 15.89
大 VT 2 h 组	8	116.86 ± 16.14 ^{ab}	178.98 ± 10.41 ^{ab}
大 VT 3 h 组	8	139.50 ± 25.21 ^{ab}	221.64 ± 19.91 ^{ab}
大 VT 4 h 组	8	184.74 ± 11.14 ^{ab}	238.15 ± 23.67 ^{ab}
F 值		143.310	61.350
P 值		0.000	0.000

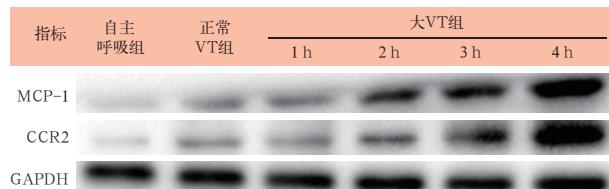
注:BALF 为支气管肺泡灌洗液,TNF-α 为肿瘤坏死因子-α,IL-1β 为白细胞介素-1β;正常潮气量(VT)组 VT 为 8 mL/kg,大 VT 组 VT 为 20 mL/kg;与自主呼吸组比较,^a $P < 0.05$;与正常 VT 组比较,^b $P < 0.05$

2.4 各组肺组织 MCP-1 和 CCR2 的蛋白表达比较(表3;图2):与自主呼吸组和正常VT组比较,肺组织MCP-1蛋白表达于大VT通气2 h起显著升高,CCR2蛋白表达于大VT通气3 h起显著升高,并持续升高至4 h(均 $P<0.05$);而自主呼吸组、正常VT组与大VT1 h组间差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。

表3 各组小鼠肺组织中 MCP-1、CCR2 的蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	MCP-1/GAPDH	CCR2/GAPDH
自主呼吸组	8	0.29±0.12	0.24±0.11
正常 VT 组	8	0.38±0.76	0.36±0.13
大 VT 1 h 组	8	0.57±0.13	0.49±0.19
大 VT 2 h 组	8	0.87±0.19 ^{ab}	0.57±0.15
大 VT 3 h 组	8	0.97±0.14 ^{ab}	0.84±0.19 ^{ab}
大 VT 4 h 组	8	1.25±0.25 ^{ab}	1.19±0.66 ^{ab}
F 值		26.755	6.456
P 值		0.000	0.001

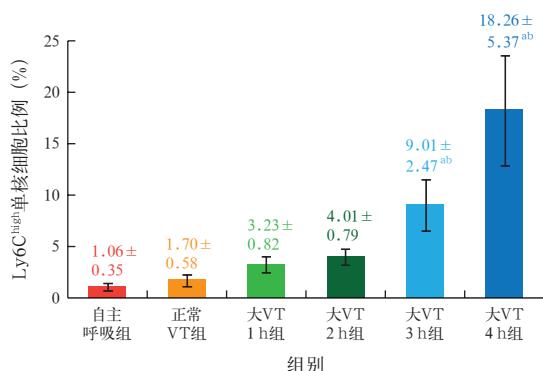
注:MCP-1为单核细胞趋化蛋白-1,CCR2为CC类趋化因子受体2,GAPDH为3-磷酸甘油醛脱氢酶;正常潮气量(VT)组VT为8 mL/kg,大VT组VT为20 mL/kg;与自主呼吸组比较,^a $P<0.05$;与正常VT组比较,^b $P<0.05$



MCP-1 为单核细胞趋化蛋白 -1, CCR2 为 CC 类趋化因子受体 2, GAPDH 为 3- 磷酸甘油醛脱氢酶; 正常潮气量 (VT) 组 VT 为 8 mL/kg, 大 VT 组 VT 为 20 mL/kg

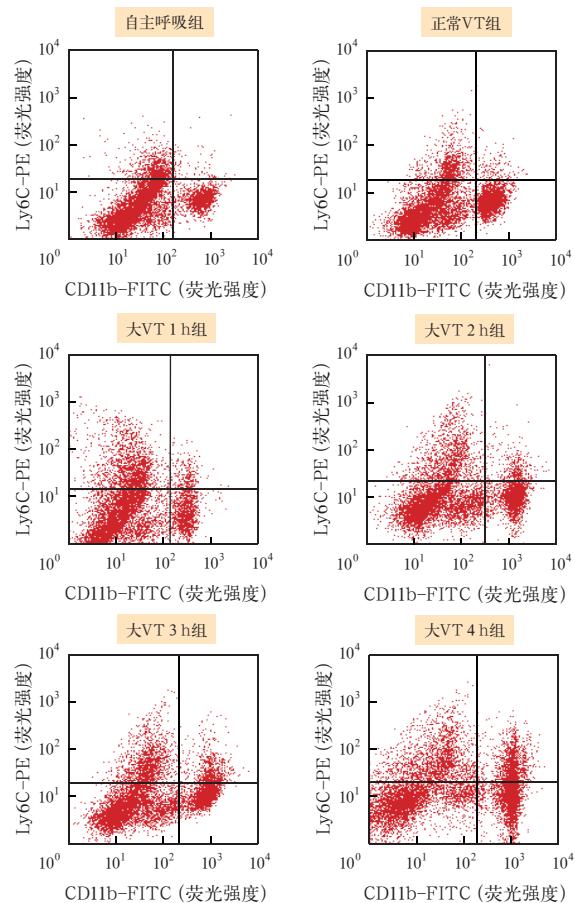
图2 蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测各组小鼠肺组织 MCP-1 和 CCR2 的蛋白表达

2.5 各组肺组织 Ly6C^{high} 单核细胞比较(图3~4):大VT通气3 h、4 h肺组织中Ly6C^{high}单核细胞比例较自主呼吸组和正常VT组明显升高(均 $P<0.05$);而后两组间差异无统计学意义($P>0.05$)。



注:正常潮气量(VT)组VT为8 mL/kg,大VT组VT为20 mL/kg;与自主呼吸组比较,^a $P<0.05$;与正常VT组比较,^b $P<0.05$

图3 各组小鼠肺组织中 Ly6C^{high} 单核细胞比例比较



注:Ly6C-PE 为藻红蛋白标记的 Ly6C, CD11b-FITC 为异硫氰酸荧光素标记的 CD11b; 正常潮气量 (VT) 组 VT 为 8 mL/kg, 大 VT 组 VT 为 20 mL/kg

图4 流式细胞仪检测各组小鼠肺组织中 Ly6C^{high} 单核细胞比例

3 讨 论

单核细胞作为机体重要的免疫细胞,在免疫反应和炎症反应中发挥重要作用。Ly6C^{high}单核细胞和Ly6C^{low}单核细胞是小鼠单核细胞的重要组成部分,分别对应于人的CD14⁺CD16⁻单核细胞和CD14⁺CD16⁺单核细胞。其中Ly6C^{high}单核细胞有较强的组织穿梭、吞噬能力,是参与炎症启动及发生发展的重要单核细胞,在炎症早期趋化募集至炎症局部,通过分泌大量炎性因子如TNF- α 、IL-1 β 等加重炎症反应,可以分化为巨噬细胞、炎性树突细胞(DC)和破骨细胞(OCs)^[8-10]。研究表明,在脂多糖(LPS)诱导急性肺损伤(ALI)/ARDS小鼠模型中,Ly6C^{high}单核细胞可促进炎症发展,并在ALI/ARDS发展中起重要作用^[11]。

趋化因子MCP-1和趋化因子受体CCR2在调控单核细胞募集及激活上发挥着重要的作用^[12]。Ly6C^{high}单核细胞高表达CCR2,低表达CX3C趋化因子受体1(CX3CR1);Ly6C^{low}单核细胞低表达

CCR2,而高表达 CX3CR1。因此,不同趋化因子受体可作为区分不同单核细胞亚群的生物标志物^[13]。炎症发生时,CCR2 被激活后将脾脏和骨髓中 Ly6C^{high} 单核细胞快速动员出来,向损伤部位迁移,参与炎症应答^[14]; MCP-1 是 CCR2 配体,属于 CC 类趋化因子家族,MCP-1 在调节单核细胞的趋化和激活、巨噬细胞的渗出过程中发挥重要作用,参与介导炎症反应^[15-16]。MCP-1/CCR2 与肺炎、肝炎、系统性红斑狼疮、冠心病和多发性硬化等多种疾病相关^[17]。目前在无菌性机械性肺损伤中对 Ly6C^{high} 单核细胞研究较少,为进一步阐明 Ly6C^{high} 单核细胞在 VILI 小鼠模型中的作用机制,本研究中观察了机械通气各时间点 Ly6C^{high} 单核细胞数量的动态变化趋势。

本研究表明,小鼠经大 VT 通气 2 h 后,肺泡结构紊乱、肺间质水肿,肺泡壁萎陷,肺泡腔内炎性细胞和红细胞浸润增多,BALF 中总蛋白含量、肺组织 W/D 比值和病理学评分均较自主呼吸组和正常 VT 组明显升高。提示 20 mL/kg VT 通气 2 h 即可导致明显肺损伤。随大 VT 通气时间延长,BALF 中炎性因子 TNF-α、IL-1β 水平逐渐增加,反映的炎症程度与肺组织病理学改变相符。同时,肺组织 Ly6C^{high} 单核细胞在大 VT 通气 3 h 后开始升高,4 h 达高峰,提示大 VT 通气 3 h 可诱导趋化 Ly6C^{high} 单核细胞募集至肺部。肺组织病理及 BALF 中炎性因子在大 VT 通气 4 h 时表现出更严重的炎症反应,提示募集至肺部的 Ly6C^{high} 单核细胞可能参与了 VILI,这与 Huang 等^[18]的研究结果一致。

本研究结果表明,小鼠经大 VT 通气 2 h 后肺组织 MCP-1 蛋白表达上调,3 h 后 CCR2 蛋白表达上调,提示大 VT 机械通气会刺激肺组织 MCP-1 的产生,随后 MCP-1 释放入血,通过 CCR2 趋化和激活骨髓中的 Ly6C^{high} 单核细胞,使之趋化至肺中。我们认为,大 VT 机械通气会激活 MCP-1/CCR2 轴,趋化更多的 Ly6C^{high} 单核细胞向肺中浸润。

综上所述,大 VT 机械通气可导致 VILI,Ly6C^{high} 单核细胞参与了此过程,通过 MCP-1/CCR2 轴在肺损伤性炎症反应中发挥重要作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Thompson BT, Chambers RC, Liu KD. Acute respiratory distress Syndrome [J]. N Engl J Med, 2017, 377 (19): 1904-1905. DOI: 10.1056/NEJMc1711824.
- [2] Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society [J]. Clin Infect Dis, 2016, 63 (5): e61-e111. DOI: 10.1093/cid/ciw353.
- [3] 杨依依,姚尚龙,尚游.呼吸机相关性肺损伤发病机制研究新进展 [J].中华危重病急救医学, 2016, 28 (9): 861-864. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.09.020.
- [4] Yang YY, Yao SL, Shang Y. New progress of pathogenesis in ventilator-induced lung injury [J]. Chin Crit Care Med, 2016, 28 (9): 861-864. DOI: 10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2016.09.020.
- [5] Zhang S, Dai H, Zhu L, et al. Microvesicles packaging IL-1β and TNF-α enhance lung inflammatory response to mechanical ventilation in part by induction of cofilin signaling [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 63: 74-83. DOI: 10.1016/j.intimp.2018.07.034.
- [6] Xiong H, Keith JW, Samilo DW, et al. Innate lymphocyte/Ly6C^{hi} monocyte crosstalk promotes *Klebsiella pneumoniae* clearance [J]. Cell, 2016, 165 (3): 679-689. DOI: 10.1016/j.cell.2016.03.017.
- [7] Dai H, Pan L, Lin F, et al. Mechanical ventilation modulates Toll-like receptors 2, 4, and 9 on alveolar macrophages in a ventilator-induced lung injury model [J]. J Thorac Dis, 2015, 7 (4): 616-624. DOI: 10.3978/j.issn.2072-1439.2015.02.10.
- [8] Lin锦源,荆忍,潘灵辉.线粒体 DNA 介导 TLR9-MyD88 信号通路活化在大鼠 VILI 中的作用机制 [J].中华危重病急救医学, 2018, 30 (1): 13-17. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.01.003.
- [9] Lin JY, Jing R, Pan LH. Role and mechanism of mitochondrial DNA mediated Toll-like receptor 9-myeloid differentiation factor 88 signaling pathway activation in rats with ventilator-induced lung injury [J]. Chin Crit Care Med, 2018, 30 (1): 13-17. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.01.003.
- [10] Wolthuis EK, Vlaar AP, Choi G, et al. Mechanical ventilation using non-injurious ventilation settings causes lung injury in the absence of pre-existing lung injury in healthy mice [J]. Crit Care, 2009, 13 (1) R1. DOI: 10.1186/cc7688.
- [11] Jiang W, St-Pierre S, Roy P, et al. Infiltration of CCR2⁺Ly6C^{high} proinflammatory monocytes and neutrophils into the central nervous system is modulated by nicotinic acetylcholine receptors in a model of multiple sclerosis [J]. J Immunol, 2016, 196 (5): 2095-2108. DOI: 10.4049/jimmunol.1501613.
- [12] Chousterman BG, Boissonnas A, Poupel L, et al. Ly6C^{high} monocytes protect against kidney damage during sepsis via a CX3CR1-dependent adhesion mechanism [J]. J Am Soc Nephrol, 2016, 27 (3): 792-803. DOI: 10.1681/ASN.2015010009.
- [13] Jiang Z, Zhou Q, Gu C, et al. Depletion of circulating monocytes suppresses IL-17 and HMGB1 expression in mice with LPS-induced acute lung injury [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2017, 312 (2): L231-L242. DOI: 10.1152/ajplung.00389.2016.
- [14] Ko FW, Lau CY, Leung TF, et al. Exhaled breath condensate levels of 8-isoprostanate, growth related oncogene alpha and monocyte chemoattractant protein-1 in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. Respir Med, 2006, 100 (4): 630-638. DOI: 10.1016/j.rmed.2005.08.009.
- [15] Lauvau G, Chorro L, Spaulding E, et al. Inflammatory monocyte effector mechanisms [J]. Cell Immunol, 2014, 291 (1-2): 32-40. DOI: 10.1016/j.cellimm.2014.07.007.
- [16] Tsou CL, Peters W, Si Y, et al. Critical roles for CCR2 and MCP-3 in monocyte mobilization from bone marrow and recruitment to inflammatory sites [J]. J Clin Invest, 2007, 117 (4): 902-909. DOI: 10.1172/JCI29919.
- [17] 蒋明,王昌明,韩旭惠,等.COPD 大鼠原代肺动脉平滑肌细胞中 MCP-1、TGF-β1 和 TLR4 蛋白的检测 [J].郑州大学学报(医学版), 2017, 52 (5): 641-644. DOI: 10.13705/j.issn.1671-6825.2017.05.031.
- [18] Jiang M, Wang CM, Han XH, et al. Detection of MCP-1, TGF-β1 and TLR4 protein in primary pulmonary artery smooth muscle cells of COPD rats [J]. J Zhengzhou Univ Med Sci, 2017, 52 (5): 641-644. DOI: 10.13705/j.issn.1671-6825.2017.05.031.
- [19] Puneet P, Mochhal S, Bhatia M. Chemokines in acute respiratory distress syndrome [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005, 288 (1): L3-15. DOI: 10.1152/ajplung.00405.2003.
- [20] Dewald O, Zymek P, Winkelmann K, et al. CCL2/monocyte chemoattractant protein-1 regulates inflammatory responses critical to healing myocardial infarcts [J]. Circ Res, 2005, 96 (8): 881-889. DOI: 10.1161/01.RES.0000163017.13772.3a.
- [21] Huang TH, Fang PH, Li JM, et al. Cyclooxygenase-2 activity regulates recruitment of VEGF-secreting Ly6C^{high} monocytes in ventilator-induced lung injury [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20 (7). pii: E1771. DOI: 10.3390/ijms20071771.

(收稿日期:2019-07-29)