

# 脂多糖处理对 A549 细胞炎症因子基因表达的影响

张腾松<sup>1</sup> 孙乔<sup>2</sup> 邱洁<sup>2</sup> 王可可<sup>1</sup> 曲彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>青岛大学附属青岛市市立医院重症医学科, 山东青岛 266071; <sup>2</sup>青岛大学医学部护理学院, 山东青岛 266023

通信作者: 曲彦, Email: qdquyan@aliyun.com

**【摘要】** **目的** 探讨不同浓度不同作用时间下脂多糖(LPS)对 A549 细胞炎症因子基因表达的影响, 为进一步确立急性呼吸窘迫综合征(ARDS)细胞模型的最适浓度-时间条件奠定基础。**方法** 取 A549 细胞, 用含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基于 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱常规培养, 取对数生长期的 A549 细胞进行传代, 计数细胞并调整细胞密度为  $(5 \sim 7) \times 10^5$  个, 于 6 孔板中培养 2 d, 当细胞融合至 50% ~ 60% 时换无血清培养基 DMEM 培养 12 h。取 10 mg LPS 加入 10 mL DMEM 培养基振荡混匀, 配制 1 g/L 储存液; 取 0.5、1.0、2.5 mL 的 LPS 储存液用 DMEM 溶液稀释定容至 50 mL, 配制成 0、10、20、50 mg/L 的 LPS 工作液。然后以 0、10、20、50 mg/L 的 LPS 分别作用 0、1、3、5 h, 采用反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测细胞白细胞介素(IL-6、IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 的 mRNA 表达, 以 10 mg/L 的 LPS 作用 0 h 为时间对照组, 以 0 mg/L 的 LPS 作用 1 h 为浓度对照组, 采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算基因表达量。**结果** ① 时间因素方面, 在相同 LPS 浓度作用下, A549 细胞经 10 mg/L 的 LPS 作用 1 h 时 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  的 mRNA 表达水平均明显高于 0 h 时 [IL-6 mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ):  $5.71 \pm 0.42$  比  $1.00 \pm 0.00$ , IL-1 $\beta$  mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ):  $5.63 \pm 0.30$  比  $1.00 \pm 0.00$ , TNF- $\alpha$  mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ):  $5.38 \pm 0.61$  比  $1.00 \pm 0.00$ , 均  $P < 0.01$  ], 其他时间点间细胞炎症因子基因表达水平均无明显改变。② 浓度因素方面, 在相同作用时间下, A549 细胞经 10 mg/L 的 LPS 作用 1 h 时 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  的 mRNA 表达水平均明显高于 0 mg/L 的 LPS 作用 1 h 时 [IL-6 mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ):  $5.70 \pm 0.64$  比  $1.00 \pm 0.00$ , IL-1 $\beta$  mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ):  $6.25 \pm 0.25$  比  $1.00 \pm 0.00$ , TNF- $\alpha$  mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ):  $5.57 \pm 0.25$  比  $1.00 \pm 0.00$ , 均  $P < 0.01$  ], 其他浓度 LPS 组间炎症因子基因表达水平均无明显改变。**结论** 10 mg/L 的 LPS 作用 A549 细胞 1 h 为建立 ARDS 细胞模型的最适作用浓度-时间条件。

**【关键词】** 脂多糖; A549 细胞; 炎症因子; 基因表达

**基金项目:** 山东省自然科学基金(ZR2013HM109)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.04.018

## Preliminary study on the effect of lipopolysaccharide challenge on the genes expression of inflammatory factors in A549 cells

Zhang Tengsong<sup>1</sup>, Sun Qiao<sup>2</sup>, Di Jie<sup>2</sup>, Wang Keke<sup>1</sup>, Qu Yan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Intensive Care Unit, Affiliated Qingdao Municipal Hospital of Qingdao University, Qingdao 266071, Shandong, China; <sup>2</sup>School of Nursing, Medical College of Qingdao University, Qingdao 266023, Shandong, China

Corresponding author: Qu Yan, Email: qdquyan@aliyun.com

**【Abstract】** **Objective** To explore the effects of lipopolysaccharide (LPS) on the expression of inflammatory genes in A549 cells line under different concentrations and different action time, this study laid the foundation for further establishment of acute respiratory distress syndrome (ARDS) cell model in the optimal concentration-time way. **Methods** A549 cells line was incubated routinely in 5%CO<sub>2</sub> incubator at 37 °C with high glucose DMEM medium which included 10% fetal calf serum. Cells in logarithmic phase was cultured for passage, the cells was count to adjust cell density to  $(5 \sim 7) \times 10^5$  and tile evenly in six-hole plate. Cells were cultivated for 2 days and once the cells confluence to 50%~60%, serum-free medium DMEM was changed for 12 hours cultivation. 10 mg LPS was added to 10 mL DMEM for oscillated blending to prepare 1 g/L stock solution. 0.5, 1.0 and 2.5 mL LPS stock solution was taken respectively and diluted LPS stock solution for 50 mL constant volume to prepare 0, 10, 20 and 50 mg/L LPS working solution. Then 0, 10, 20 and 50 mg/L LPS solution was added to react for 0, 1, 3 and 5 hours respectively. Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was performed to examine mRNA expression of A549 cells line interleukins (IL-6, IL-1 $\beta$ ) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). LPS action of 10 mg/L for 0 hour was used as the time control group, LPS action of 0 mg/L for 1 hour was used as the concentration control group, and the gene expression was calculated with  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method. **Results** ① As to the time factor, with the same action of LPS concentration, the relative expression levels of inflammatory genes (IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ ) in A549 cells line after being treated with 10 mg/L LPS for 1 hour were significantly higher than those for 0 hour respectively [IL-6 mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ):  $5.71 \pm 0.42$  vs.  $1.00 \pm 0.00$ , IL-1 $\beta$  mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ):  $5.63 \pm 0.30$  vs.  $1.00 \pm 0.00$ , TNF- $\alpha$  mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ):  $5.38 \pm 0.61$  vs.  $1.00 \pm 0.00$ , all  $P < 0.01$ ], and there were no significant changes in the expression levels of inflammatory genes in A549 cells line of other time groups. ② As to the concentration factor, with the same action time, the relative expression levels of

inflammatory genes (IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ ) in A549 cells line after being treated with 10 mg/L LPS for 1 hour were significantly higher than with 0 mg/L for 1 hour respectively [IL-6 mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ):  $5.70 \pm 0.64$  vs.  $1.00 \pm 0.00$ , IL-1 $\beta$  mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ):  $6.25 \pm 0.25$  vs.  $1.00 \pm 0.00$ , TNF- $\alpha$  mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ):  $5.57 \pm 0.25$  vs.  $1.00 \pm 0.00$ , all  $P < 0.01$ ], there were no significant changes in the expression levels of inflammatory genes in A549 cells line of other concentration groups. **Conclusion** The LPS concentration of 10 mg/L and the action time of 1 hour are the most suitable concentration-time conditions for establishing ARDS cell models of A549 cells line.

**【Key words】** Lipopolysaccharide; A549 cell line; Inflammatory; Gene expression

**Fund program:** Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2013HM109)

DOI: 10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2019.04.018

急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 为一种严重危及人类生命健康的疾病,其主要临床表现为各种疾病所致的顽固性低氧血症。在美国,每年约有 2 万新发病例,病死率约为 20%<sup>[1]</sup>,该病治疗难度大、病死率高。近年来,有关 ARDS 的基础实验研究方兴未艾,主要集中在探讨 ARDS 形成机制及其治疗靶点等方面<sup>[2]</sup>;实验中制备 ARDS 模型存在制模剂多、实验模型多、制模剂量不一等情况<sup>[3]</sup>。本研究拟采用细菌脂多糖 (LPS) 作为制备 ARDS 细胞模型的制模剂, A549 细胞模拟 II 型肺泡上皮细胞,探讨在不同浓度、不同作用时间下 LPS 对 A549 细胞炎症因子 [白细胞介素 (IL-6、IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )] 基因表达的影响,以期为进一步确定制备 ARDS 细胞模型的最适浓度-时间条件奠定基础。

## 1 材料和方法

**1.1 细胞培养:** A549 细胞购自中国科学院上海细胞库,用含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO<sub>2</sub> 培养箱常规培养。取对数生长期细胞传代,计数细胞并调整细胞密度为  $(5 \sim 7) \times 10^5$  个,均匀铺于 6 孔板中,培养 2 d,当细胞融合至 50%~60% 时换无血清 DMEM 培养基培养 12 h。

**1.2 LPS 溶液配制:** LPS 购自 Sigma 中国公司。取 10 mg LPS 置于 20 mL 离心管中,加入 10 mL DMEM 培养基,涡旋振荡混匀,使用一次性针式滤器经过滤除菌分装,于 -20 $^{\circ}\text{C}$  冰箱中冷藏。实验时,分别取 0.5、1.0、2.5 mL 的 LPS 储存液用 DMEM 溶液稀释定容至 50 mL,即配制成 0、10、20、50 mg/L 的 LPS 工作液,冷藏于 4 $^{\circ}\text{C}$  冰箱中。实验过程中,使用涡旋振荡器振荡 30 min,防止 LPS 溶质吸附于玻璃瓶上。

**1.3 实验分组:** 取 4 组 6 孔板,分别标记为 0 mg/L 组、10 mg/L 组、20 mg/L 组、50 mg/L 组,每组设 0、1、3、5 h 时间作用孔。细胞经无血清培养基培养 12 h 后,分别取各组的 LPS 溶液 1 mL 添加至各组时间作用孔中,分别作用 0、1、3、5 h。

**1.4 反转录-聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测炎症基因表达:** 收集 6 孔板中各组培养细胞, TRIzol 法提取细胞总 RNA,紫外分光光度计测定 RNA 浓度和纯度,采用日本 Takara 公司试剂盒去除提取 RNA 中的 gDNA,反转录试剂盒合成 cDNA 用作实时荧光定量 RT-PCR 模板。引物设计使用 Primer-Blast 软件,引物由华大基因公司合成。引物序列见表 1。设置 2 个复孔,在实时荧光定量 PCR 仪中进行靶基因扩增,扩增条件: 95 $^{\circ}\text{C}$  1 min, 55 $^{\circ}\text{C}$  1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$  1 min, 共 40 个循环。重复实验 3 次,取平均值,获取实验组目的基因 (IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ ) 和内参基因 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 的 Ct 值。以 10 mg/L 的 LPS 作用 0 h 为时间对照组, 0 mg/L 的 LPS 作用 1 h 为浓度对照组,其余为实验组。实验组相对于时间对照组或浓度对照组的基因变化表达率通过公式  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  得到。

**1.5 统计学分析:** 用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析,正态分布的计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,两独立样本比较采用  $t$  检验,浓度与时间因素采用单因素方差分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 LPS 处理对 A549 细胞 IL-6 mRNA 表达的影响 (图 1):** 在相同 LPS 浓度作用下,10 mg/L 的 LPS 处理 1 h 时 IL-6 mRNA 表达较 0 h 时显著升高 ( $P < 0.01$ ),而其他时间点间比较差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。浓度因素方面,在相同作用时间下,10 mg/L 的 LPS 处理 1 h 时 IL-6 mRNA 表达较 0 mg/L 的 LPS 处理 1 h 时显著升高 ( $P < 0.01$ ),而其他浓度 LPS 组间比较差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。

表 1 检测 A549 细胞炎症因子基因及内参基因设计引物序列

引物名称	引物上游序列	引物下游序列
IL-6	5'-TCAATGAGGAGACTTCGCTGG-3'	3'-GGGTCAGGGGTGGTTATTGC-5'
IL-1 $\beta$	5'-TTGCTCAAGTGTCTGAAGCAG-3'	3'-GGTGGTCGGAGATTTCGTAGC-5'
TNF- $\alpha$	5'-GCTGCACITTTGGAGTGATCG-3'	3'-GAGGGTTTGCTACAACATGGG-5'
GAPDH	5'-GAAGGTGAAGTCCGACTC-3'	3'-GAAGATGCTGATGGATTTC-5'

注: IL-6 为白细胞介素-6, IL-1 $\beta$  为白细胞介素-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  为肿瘤坏死因子- $\alpha$ , GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶

**2.2 LPS 处理对 A549 细胞 IL-1β mRNA 表达的影响(图 2):**在相同 LPS 浓度作用下, 10 mg/L 的 LPS 处理 1 h 时 IL-1β mRNA 表达较 0 h 时显著升高 ( $P < 0.01$ ), 而其他时间点间比较差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。在相同作用时间下, 10 mg/L 的 LPS 处理 1 h 时 IL-1β mRNA 表达较 0 mg/L 的 LPS 处理 1 h 时显著升高 ( $P < 0.01$ ), 而其他浓度 LPS 组间比较差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。

**2.3 LPS 处理对 A549 细胞 TNF-α mRNA 表达的影响(图 3):**在相同 LPS 浓度作用下, 10 mg/L 的 LPS 处理 1 h 时 TNF-α mRNA 表达较 0 h 时显著升高 ( $P < 0.01$ ), 而其他时间点间比较差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。在相同作用时间下, 10 mg/L 的 LPS 处理 1 h 时 TNF-α mRNA 表达较 0 mg/L 的 LPS 处理 1 h 时显著升高 ( $P < 0.01$ ), 而其他浓度 LPS 组间比较差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。

### 3 讨论

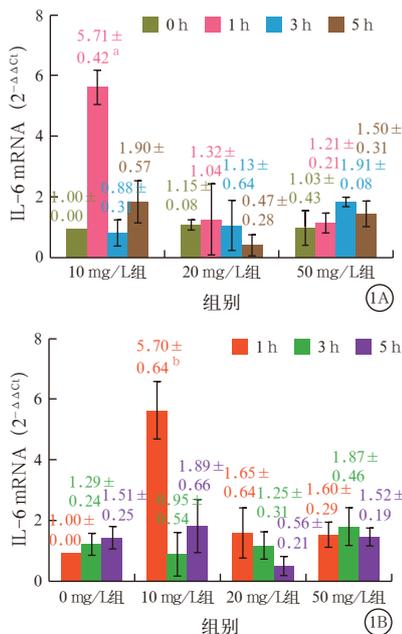
ARDS 是重症加强治疗病房 (ICU) 的常见病与多发病, 主要临床表现为顽固性低氧血症、呼吸窘迫, 胸部 X 线片显示双肺弥漫性浸润影, 后期多并发多器官功能障碍, 主要病理特征为肺微血管通透性增高导致的肺水肿和肺透明膜形成, 临床病死率较高, 治疗手段单一, 治疗难度较大。1967 年美国

Ashbaugh 等<sup>[4]</sup>首先报道了成人急性呼吸窘迫患者的病死率高达 58.33%。随着临床治疗设备和治疗手段的不断提高, ARDS 患者的生存率并未得到进一步改善。因此, 深入研究 ARDS 的临床病理发生发展机制, 对 ARDS 的诊断与治疗具有重要的临床意义。

A549 细胞为来源于人非小细胞肺癌的肿瘤细胞, 基础实验研究中可将其作为人 II 型肺泡上皮细胞的模拟细胞<sup>[5-6]</sup>, 主要应用于肺部肿瘤性疾病发生发展机制的研究、肺泡上皮细胞信号转导通路机制的研究、制作肺泡细胞模型及肺泡细胞共培养的机制研究等方面。

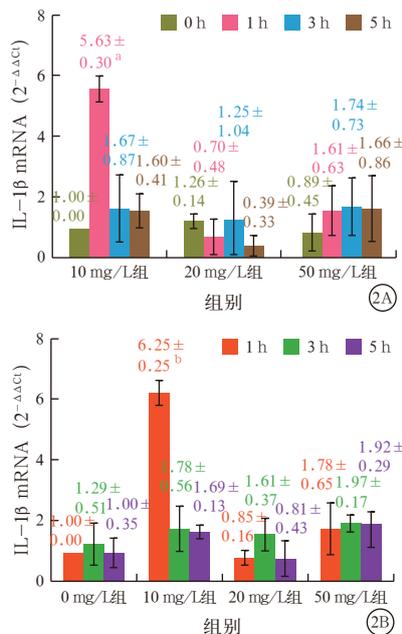
LPS 由多糖 O 抗原、核心多糖和类脂 A 组成, 主要存在于细菌细胞壁中, 是细菌内毒素的主要组成部分, 其中类脂 A 为内毒素较强的免疫刺激物。已知内毒素主要刺激细胞产生 IL-1、TNF、干扰素等炎性介质和细胞因子, 内毒素受体主要分为以下几类<sup>[7]</sup>: 分化抗原群、整合素家族、清道夫受体、脂多糖结合蛋白、Toll 样受体家族、植物凝血素 S 域受体激酶蛋白等。内毒素通过不同细胞受体介导不同信号转导通路, 主要介导机体炎症反应。

细胞因子是一类具有广泛生物活性的小分子蛋白质。ARDS 的发生发展可能为各种细胞因子的交互作用, 促使肺泡毛细血管细胞、内皮细胞、肺泡上



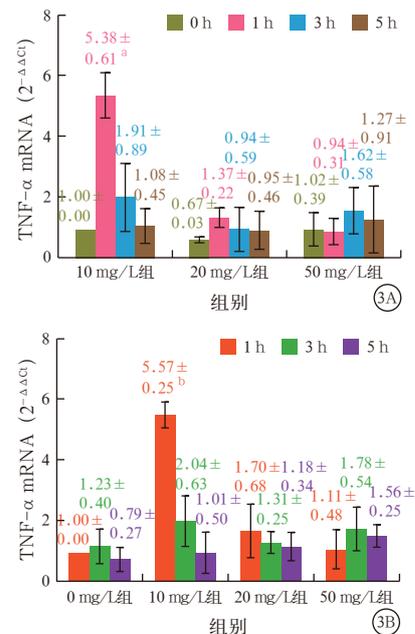
注: A 为以 10 mg/L LPS 作用 0 h 作为时间对照组, 与本组 0 h 比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; B 为以 0 mg/L LPS 作用 1 h 作为浓度对照组, 与 0 mg/L 组作用相同时间点比较, <sup>b</sup> $P < 0.01$

图 1 不同浓度 LPS 处理各时间点后 A549 细胞白细胞介素-6 (IL-6) mRNA 的表达变化



注: A 为以 10 mg/L LPS 作用 0 h 作为时间对照组, 与本组 0 h 比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; B 为以 0 mg/L LPS 作用 1 h 作为浓度对照组, 与 0 mg/L 组作用相同时间点比较, <sup>b</sup> $P < 0.01$

图 2 不同浓度 LPS 处理各时间点后 A549 细胞白细胞介素-1β (IL-1β) mRNA 的表达变化



注: A 为以 10 mg/L LPS 作用 0 h 作为时间对照组, 与本组 0 h 比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; B 为以 0 mg/L LPS 作用 1 h 作为浓度对照组, 与 0 mg/L 组作用相同时间点比较, <sup>b</sup> $P < 0.01$

图 3 不同浓度 LPS 处理各时间点后 A549 细胞肿瘤坏死因子-α (TNF-α) mRNA 的表达变化

皮细胞等的凋亡与死亡,导致肺水肿和肺透明膜形成;疾病后期可发展为多器官功能障碍综合征,与细胞因子(主要为IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 等)过度释放密切相关。现已知过度炎症反应时TNF- $\alpha$ 大量分泌,诱发血管内皮细胞及微循环等一系列炎症反应,可能是ARDS发生过程中初始调节因子。IL-6和IL-1 $\beta$ 与TNF- $\alpha$ 的生物活性十分相似,为激活的巨噬细胞分泌的细胞因子,通过IL受体激活下游炎症因子,可促进TNF- $\alpha$ 导致的组织损伤,可能为ARDS发展过程中的重要细胞因子。

相关研究表明,IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 与ARDS的诊断治疗密切相关。一项回顾性分析表明,ARDS患者血清中TNF- $\alpha$ 和细胞表面可溶性TNF受体(TNFR I、TNFR II)水平与死亡风险呈正相关,但是TNF- $\alpha$ 不作为常规筛选中晚期ARDS患者的血清标志物,提示ARDS中晚期患者血清中TNF- $\alpha$ 含量较低,可能与细胞基因低表达有关<sup>[8]</sup>。本实验也证实,A549细胞内TNF- $\alpha$  mRNA相对于IL-6 mRNA、IL-1 $\beta$  mRNA的表达量低。有研究表明,IL-6升高预示患者48 h内发生ARDS的风险升高,且低IL-6水平是一个可靠的阴性预测值<sup>[9]</sup>;Gainnier等<sup>[10]</sup>一项纳入36例中重度ARDS患者[氧合指数(PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>)<200 mmHg, 1 mmHg=0.133 kPa]的随机对照临床试验(RCT)表明,早期连续48 h应用顺式阿曲库铵可有效降低ARDS患者肺泡灌洗液和循环系统中的IL-6、IL-1 $\beta$ 、IL-8水平;Yang等<sup>[11]</sup>通过一项小样本RCT研究表明,患者血清中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-9与IL-15可以作为监测早期ARDS严重程度和预后的有效标志物。实验研究表明,ARDS模型小鼠肺泡灌洗液中TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 水平明显升高<sup>[12]</sup>;Shen等<sup>[13]</sup>研究发现,苦味素II可以通过抑制核转录因子- $\kappa$ Bp65(NF- $\kappa$ Bp65)的激活,从而降低急性肺损伤模型小鼠细胞中IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 的含量。本研究结果显示,10 mg/L的LPS作用1 h时A549细胞IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 的mRNA表达水平明显增高,而其他浓度LPS处理各时间点IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 的mRNA表达水平无明显变化,推测10 mg/L的LPS激活了炎性细胞基因,使基因表达量增加,或者是该时间-浓度条件下LPS调控相关细胞内相关信号转导通路,间接促使炎性细胞基因表达水平增加。其余LPS作用浓度或作用时间下炎性细胞基因表达无明显变化,推测与其细胞内受体下调或细胞出现耐受有关,与前述研究结论一致。后续实

验将探讨细胞信号转导通路以及目的基因调控通路,以进一步研究不同浓度与不同作用时间下LPS对A549细胞的影响机制。

综上所述,本研究显示10 mg/L的LPS作用1 h,A549细胞IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 的mRNA表达量明显增高,表明10 mg/L的LPS作用1 h为建立A549细胞炎症模型的最适浓度-时间条件,可作为进一步完善ARDS细胞模型的参考。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, et al. Incidence and outcomes of acute lung injury [J]. *N Engl J Med*, 2005, 353 (16): 1685-1693. DOI: 10.1056/NEJMoa050333.
- [2] Hayes M, Masterson C, Devaney J, et al. Therapeutic efficacy of human mesenchymal stromal cells in the repair of established ventilator-induced lung injury in the rat [J]. *Anesthesiology*, 2015, 122 (2): 363-373. DOI: 10.1097/ALN.0000000000000545.
- [3] 宋建奇,樊毫军,侯世科,等. ALI/ARDS动物模型的研究进展[J]. *中国急救复苏与灾害医学杂志*, 2010, 5 (9): 867-870. DOI: 10.3969/j.issn.1673-6966.2010.09.029.
- [4] Song JQ, Fan HJ, Hou SK, et al. Advances in animal models of ALI/ARDS [J]. *Chin J Emerg Resusc Disaster Med*, 2010, 5 (9): 867-870. DOI: 10.3969/j.issn.1673-6966.2010.09.029.
- [5] Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, et al. Acute respiratory distress in adults [J]. *Lancet*, 1967, 2 (7511): 319-323. DOI: 10.1016/S0140-6736(67)90168-7.
- [6] Giard DJ, Aaronson SA, Todaro GJ, et al. *In vitro* cultivation of human tumors: establishment of cell lines derived from a series of solid tumors [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1973, 51 (5): 1417-1423. DOI: 10.1093/jnci/51.5.1417.
- [7] Lieber M, Smith B, Szakal A, et al. A continuous tumor-cell line from a human lung carcinoma with properties of type II alveolar epithelial cells [J]. *Int J Cancer*, 1976, 17 (1): 62-70. DOI: 10.1002/ijc.2910170110.
- [8] Prabhudas M, Bowdish D, Drickamer K, et al. Standardizing scavenger receptor nomenclature [J]. *J Immunol*, 2014, 192 (5): 1997-2006. DOI: 10.4049/jimmunol.1490003.
- [9] Parsons PE, Matthay MA, Ware LB, et al. Elevated plasma levels of soluble TNF receptors are associated with morbidity and mortality in patients with acute lung injury [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005, 288 (3): L426-431. DOI: 10.1152/ajplung.00302.2004.
- [10] Bouros D, Alexandrakis MG, Antoniou KM, et al. The clinical significance of serum and bronchoalveolar lavage inflammatory cytokines in patients at risk for acute respiratory distress syndrome [J]. *BMC Pulm Med*, 2004, 4: 6. DOI: 10.1186/1471-2466-4-6.
- [11] Gainnier M, Roch A, Forel JM, et al. Effect of neuromuscular blocking agents on gas exchange in patients presenting with acute respiratory distress syndrome [J]. *Crit Care Med*, 2004, 32 (1): 113-119. DOI: 10.1097/01.CCM.0000104114.72614.BC.
- [12] Yang J, Azat M, Peng P, et al. Serum levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-9, and IL-15 in acute respiratory distress syndrome [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2017, 10 (1): 781-788.
- [13] 梁家宁,周倩倩,张天相,等. TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 在急性呼吸窘迫综合征小鼠肺组织表达的变化及评价[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2017, 33 (2): 159-163. DOI: 10.13423/j.cnki.cjemi.008006.
- [14] Liang JN, Zhou QQ, Zhang TX, et al. Changes and role evaluation of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in lung tissues of ARDS mice [J]. *Chin J Cell Mol Immunol*, 2017, 33 (2): 159-163. DOI: 10.13423/j.cnki.cjemi.008006.
- [15] Shen B, Zhao C, Chen C, et al. Picriside II protects rat lung and A549 cell against LPS-induced inflammation by the NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Inflammation*, 2017, 40 (3): 752-761. DOI: 10.1007/s10753-017-0519-3.

(收稿日期:2019-02-15)