

维生素 D 类似物通过激活 VDR/GPX4 通路改善小鼠呼吸机相关性肺损伤

谢秋雯¹ 邵容格² 谢永果¹ 潘灵辉² 秦科¹ 杜学柯¹

¹广西医科大学第二附属医院麻醉科, 南宁 530007; ²广西麻醉学临床医学研究中心, 广西壮族自治区组织器官损伤修复医学工程研究中心, 广西围术期器官功能损伤与防治基础研究重点实验室, 南宁 530021

通信作者: 杜学柯, Email: 46699644@qq.com

【摘要】 目的 研究维生素 D 类似物 paricalcitol 激活维生素 D 受体 / 谷胱甘肽过氧化物酶 4 (VDR/GPX4) 通路在呼吸机相关性肺损伤 (VILI) 中的作用。方法 将 24 只雄性 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组、大潮气量 (HVT) 致 VILI 模型组 (HVT 组)、paricalcitol 对照组 (P 组) 和 paricalcitol 预处理组 (P+HVT 组), 每组 6 只。给予小鼠气管插管, 按 40 mL/kg 的潮气量通气制备 VILI 模型; 对照组仅气管插管, 不予通气。P+HVT 组小鼠于建模前 1 周腹腔注射 paricalcitol 0.2 μg/kg, 每日 1 次; P 组仅在实验前 1 周腹腔注射 paricalcitol 0.2 μg/kg, 每日 1 次。通气 4 h 后处死小鼠取肺组织, 通过肺湿 / 干质量 (W/D) 比值、苏木素 - 伊红 (HE) 染色和 Masson 染色评价肺损伤情况; 采用蛋白质免疫印迹试验 (Western blotting) 和免疫组化法检测 VDR、GPX4 的表达; 采用微量法检测丙二醛 (MDA) 和还原型谷胱甘肽 (GSH) 的含量。结果 HVT 通气 4 h 后小鼠出现明显肺损伤, 表现为: 与对照组相比, 肺损伤评分和肺 W/D 比值明显升高 [肺损伤评分 (分): 0.430 ± 0.035 比 0.097 ± 0.025, 肺 W/D 比值: 4.860 ± 0.337 比 3.653 ± 0.332, 均 $P < 0.05$], 胶原纤维沉积明显增加, 且肺组织 MDA 含量明显升高 (nmol/g: 212.420 ± 8.757 比 97.073 ± 5.308, $P < 0.05$), GSH 含量及 VDR、GPX4 的蛋白表达和免疫组化评分 (IRS) 明显降低 [GSH (μg/g): 44.229 ± 1.690 比 70.840 ± 0.781; VDR 蛋白 (VDR/GAPDH): 0.518 ± 0.029 比 0.762 ± 0.081, GPX4 蛋白 (GPX4/GAPDH): 0.452 ± 0.032 比 0.649 ± 0.034; IRS 评分 (分): VDR 为 4.168 ± 0.408 比 10.167 ± 0.408, GPX4 为 4.333 ± 1.033 比 10.333 ± 0.516; 均 $P < 0.05$]。给予 paricalcitol 激活 VDR 后, 与 HVT 组相比, P+HVT 组小鼠肺损伤明显改善, 表现为肺损伤评分和肺 W/D 比值明显降低 [肺损伤评分 (分): 0.220 ± 0.036 比 0.430 ± 0.035, 肺 W/D 比值: 4.015 ± 0.074 比 4.860 ± 0.337, 均 $P < 0.05$], 胶原纤维沉积减少, 且肺组织 MDA 含量明显下降 (nmol/g: 123.840 ± 8.082 比 212.420 ± 8.757, $P < 0.05$), GSH 含量及 VDR、GPX4 的蛋白表达和 IRS 评分明显上调 [GSH (μg/g): 63.094 ± 0.992 比 44.229 ± 1.690; VDR 蛋白 (VDR/GAPDH): 0.713 ± 0.056 比 0.518 ± 0.029, GPX4 蛋白 (GPX4/GAPDH): 0.605 ± 0.008 比 0.452 ± 0.032; IRS 评分 (分): VDR 为 9.000 ± 0.632 比 4.168 ± 0.408, GPX4 为 8.833 ± 0.408 比 4.333 ± 1.033; 均 $P < 0.05$]。结论 维生素 D 类似物 paricalcitol 可通过激活 VDR/GPX4 通路改善肺组织氧化还原失衡, 从而减轻 VILI。

【关键词】 维生素 D 受体; 谷胱甘肽过氧化物酶 4; 维生素 D 类似物; 氧化还原稳态; 肺损伤

基金项目: 广西自然科学基金 (2018GXNSFAA138007); 广西医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目 (S2018104); 广西医疗卫生重点学科建设项目 (2020-9-17)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210926-01401

Vitamin D analogues activate vitamin D receptor/glutathione peroxidase 4 pathway to improve ventilator-induced lung injury in mice

Xie Qiuwen¹, Shao Rongge², Xie Yongguo¹, Pan Linghui², Qin Ke¹, Du Xueke¹

¹Department of Anesthesiology, the Second Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530007, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China; ²Guangxi Clinical Research Center for Anesthesiology, Guangxi Engineering Research Center for Tissue & Organ Injury and Repair Medicine, Guangxi Key Laboratory for Basic Science and Prevention of Perioperative Organ Dysfunction, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Corresponding author: Du Xueke, Email: 46699644@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the role of vitamin D analogue paricalcitol in activating vitamin D receptor/glutathione peroxidase 4 (VDR/GPX4) pathway in ventilator-induced lung injury (VILI). **Methods** Twenty-four male C57BL/6J mice were randomly divided into control group, high tidal volume (HVT) induced VILI model group (HVT group), paricalcitol control group (P group), and paricalcitol pretreatment group (P+HVT group), with 6 mice in each group. The mice were endotracheal intubated and ventilated at 40 mL/kg tidal volume to prepare VILI model, while those in the control group were intubated without ventilation. The mice in the P+HVT group were intraperitoneally injected with paricalcitol 0.2 μg/kg once a day 1 week before modeling, while those in the P group were intraperitoneally injected paricalcitol 0.2 μg/kg once a day for 1 week before the experiment. After ventilation for 4 hours, the mice were sacrificed for lung tissue collection. Lung injury was evaluated by wet/dry (W/D) ratio, hematoxylin-eosin (HE) staining and

Masson staining. The expressions of VDR and GPX4 were determined by Western blotting and immunohistochemistry. Malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) contents were determined by micro method. **Results** After HVT for 4 hours, compared with the control group, lung injury score and W/D ratio were significantly higher (lung injury score: 0.430 ± 0.035 vs. 0.097 ± 0.025 , lung W/D ratio: 4.860 ± 0.337 vs. 3.653 ± 0.332 , both $P < 0.05$), collagen fiber deposition was significantly increased, the content of MDA in lung tissue was significantly increased (nmol/g: 212.420 ± 8.757 vs. 97.073 ± 5.308 , $P < 0.05$), GSH content and the protein expressions and immunoreactive score (IRS) of VDR and GPX4 were significantly decreased [GSH ($\mu\text{g/g}$): 44.229 ± 1.690 vs. 70.840 ± 0.781 ; VDR protein (VDR/GAPDH): 0.518 ± 0.029 vs. 0.762 ± 0.081 , GPX4 protein (GPX4/GAPDH): 0.452 ± 0.032 vs. 0.649 ± 0.034 ; IRS score: VDR was 4.168 ± 0.408 vs. 10.167 ± 0.408 , GPX4 was 4.333 ± 1.033 vs. 10.333 ± 0.516 ; all $P < 0.05$], which meant that the mice in HVT group showed obvious lung injury. After VDR was activated by paricalcitol, compared with the HVT group, lung injury score and W/D ratio were significantly decreased (lung injury score: 0.220 ± 0.036 vs. 0.430 ± 0.035 , lung W/D ratio: 4.015 ± 0.074 vs. 4.860 ± 0.337 , both $P < 0.05$), collagen fiber deposition was reduced, MDA content in lung tissue was decreased (nmol/g: 123.840 ± 8.082 vs. 212.420 ± 8.757 , $P < 0.05$), GSH content and the protein expressions and IRS score of VDR and GPX4 were significantly up-regulated [GSH ($\mu\text{g/g}$): 63.094 ± 0.992 vs. 44.229 ± 1.690 ; VDR protein (VDR/GAPDH): 0.713 ± 0.056 vs. 0.518 ± 0.029 , GPX4 protein (GPX4/GAPDH): 0.605 ± 0.008 vs. 0.452 ± 0.032 ; IRS score: VDR was 9.000 ± 0.632 vs. 4.168 ± 0.408 , GPX4 was 8.833 ± 0.408 vs. 4.333 ± 1.033 ; all $P < 0.05$], which meant that lung injury in P+HVT group was significantly improved. **Conclusion** Vitamin D analogue paricalcitol ameliorates pulmonary oxidation-reduction imbalance by activating the VDR/GPX4 pathway, thereby alleviating VILI.

【Key words】 Vitamin D receptor; Glutathione peroxidase 4; Vitamin D analogue; Oxidation-reduction steady state; Lung injury

Fund program: Guangxi Natural Science Foundation of China (2018GXNSFAA138007); Guangxi Medical and Health Appropriate Technology Development and Promotion and Application Project of China (S2018104); Guangxi Medical and Health Key Cultivation Discipline Construction Project of China (2020-9-17)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210926-01401

呼吸机相关性肺损伤 (ventilator-induced lung injury, VILI) 是指进行机械通气后出现的新发或加重的急性肺损伤, 是导致机械通气患者死亡的重要原因^[1]。维生素 D 受体 (vitamin D receptor, VDR) 是核受体超家族的成员之一, 在肺内高表达, 具有抗炎和抗纤维化作用^[2-3]。VDR 被抑制与急性肺损伤和急性呼吸窘迫综合征的发生有关^[4]。本研究旨在应用 VILI 动物模型探讨维生素 D 类似物 paricalcitol 是否能够通过激活 VDR 上调谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 的表达, 调节肺组织氧化与抗氧化平衡, 进而对 VILI 发挥保护性作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物: 24 只清洁级雄性 C57BL/6J 小鼠, 6~8 周龄, 由广西医科大学实验动物中心提供, 动物合格证号: SYXK (桂) 2014-0003。本实验操作符合实验动物伦理学要求, 并取得广西医科大学实验动物伦理委员会的同意 (审批号: 202103005)。

1.2 分组及处理: 将小鼠按随机数字表法分为对照组、大潮气量 (high tidal volume, HVT) 致 VILI 模型组 (HVT 组)、paricalcitol 对照组 (P 组) 和 paricalcitol 预处理组 (P+HVT 组), 每组 6 只。对照组仅气管插管, 不予通气; HVT 组气管插管后按 40 mL/kg 的潮气量通气; P 组仅在实验前 1 周腹腔注射 paricalcitol 0.2 $\mu\text{g/kg}$, 每日 1 次; P+HVT 组于 HVT 通气前 1 周腹腔注射 paricalcitol 0.2 $\mu\text{g/kg}$, 每日 1 次。通气 4 h

后, 腹腔注射 1% 戊巴比妥 50 mg/kg 麻醉小鼠, 放血处死后收集肺组织, 于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

1.3 肺组织苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色: 取肺组织切片, 常规脱蜡水化后进行 HE 染色, 二甲苯透明, 中性树胶封片, 光镜下观察拍照。从肺泡腔及肺泡间隔炎症细胞浸润、有无透明膜形成、出血程度、肺泡间隔增厚等方面进行肺损伤评分^[5]。

1.4 肺组织 Masson 染色: 取肺组织切片, 经脱蜡水化后, 用三氯化铁 + 苏木素混合液染色 5 min, 酸性乙醇分化液处理 5 s, Masson 蓝化液染色 3 min, 丽春红品红溶液浸泡 5 min, 磷钼酸溶液清洗, 苯胺蓝溶液浸泡 2 min, 无水乙醇快速脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片, 光镜下观察拍照, 胶原纤维呈蓝色染色。

1.5 肺湿/干质量 (wet/dry, W/D) 比值: 取新鲜的右中肺称湿质量, 放入烤箱中烘烤 48 h, 取出称干质量, 两者比值即为肺 W/D 比值。

1.6 蛋白质免疫印迹试验 (Western blotting): 称取 20 mg 肺组织, 加入含有 RIPA 裂解液、苯甲磺酰氟 (phenylmethylsulfonyl fluoride, PMSF) 和蛋白磷酸酶抑制剂的混合液, 研磨后冰上裂解, $12\ 000 \times g$ 、 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min, 取上清液, 用紫外分光光度计检测蛋白浓度, 加入缓冲液, $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。采用 12% 分离胶和 4% 浓缩胶进行电泳, 转膜后 5% 脱脂牛奶封闭 1 h, 一抗 VDR (1:1 000)、GPX4 (2 mg/L)、3-磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde-

3-phosphate dehydrogenase, GAPDH; 1 : 1 000) 孵育, 4 ℃ 摇床过夜, 二抗 (1 : 30 000) 室温孵育 1 h。采用 Odyssey 红外光成像系统进行扫描, 应用 Image J 软件分析各蛋白条带灰度值, 以 GAPDH 为内参, 目的蛋白表达量为目的蛋白与内参蛋白的灰度值比值。

1.7 肺组织免疫组化染色: 取肺组织切片, 经脱蜡水化后浸泡到预热的抗原修复液中, 3% 过氧化氢室温孵育 15 min, 一抗 VDR (1 : 200) 和 GPX4 (20 mg/L) 孵育, 4 ℃ 冰箱过夜, 辣根过氧化物酶室温孵育 1 h, 3, 3'-二氨基联苯胺 (3, 3'-diaminobenzidine, DAB) 显色 5 min, 苏木素复染, 二甲苯透明, 中性树脂封片, 光镜下观察拍照。染色强度: 阴性为 0 分, 浅黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分; 阳性细胞百分比: ≤10% 为 1 分, 11% ~ 50% 为 2 分, 51% ~ 80% 为 3 分, ≥81% 为 4 分。免疫组化评分 (immunoreactive score, IRS) = 染色强度评分 × 阳性细胞百分比评分^[6]。

1.8 肺组织丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量测定: 称取肺组织 20 mg, 加入 MDA 提取试剂 200 μL, 研磨后 8 000 × g、4 ℃ 离心 10 min, 取上清液, 根据 MDA 检测试剂盒说明书, 用微量法检测 MDA 含量。

1.9 肺组织还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 含量测定: 取 10 mg 肺组织, 研磨后 4 ℃ 离心 10 min, 取上清液, 按试剂盒说明书, 采用微量法检测 GSH 含量。

1.10 统计学分析: 所有数据用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析。各组数据经正态性检验符合正态分布, 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, LSD-*t* 检验用于方差齐时进行组间比

较, 方差不齐时组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组肺损伤情况比较 (表 1; 图 1): HVT 通气 4 h 后小鼠出现明显肺损伤, 表现为肺损伤评分和肺 W/D 比值较对照组显著升高 (均 *P* < 0.05), 胶原纤维沉积增多。给予 paricalcitol 激活 VDR 后, 与 HVT 组相比, P+HVT 组肺损伤明显改善, 表现为肺损伤评分和肺 W/D 比值显著降低 (均 *P* < 0.05), 胶原纤维沉积减少。单纯使用 paricalcitol 对肺损伤评分、肺 W/D 比值及胶原纤维沉积无明显影响。

表 1 各组小鼠肺损伤评分、肺 W/D 比值及肺组织 MDA、GSH 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	肺损伤评分 (分)	肺 W/D 比值
对照组	6	0.097 ± 0.025	3.653 ± 0.332
P 组	6	0.093 ± 0.021	3.491 ± 0.123
HVT 组	6	0.430 ± 0.035 ^a	4.860 ± 0.337 ^a
P+HVT 组	6	0.220 ± 0.036 ^{ab}	4.015 ± 0.074 ^{ab}
<i>F</i> 值		84.062	35.085
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

组别	动物数 (只)	MDA (nmol/g)	GSH (μg/g)
对照组	6	97.073 ± 5.308	70.840 ± 0.781
P 组	6	82.133 ± 2.377	85.583 ± 1.984
HVT 组	6	212.420 ± 8.757 ^a	44.229 ± 1.690 ^a
P+HVT 组	6	123.840 ± 8.082 ^{ab}	63.094 ± 0.992 ^{ab}
<i>F</i> 值		424.295	232.071
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注: P 组为维生素 D 类似物 paricalcitol 对照组, HVT 组为大潮气量 (HVT) 致呼吸机相关性肺损伤模型组, P+HVT 组为 paricalcitol 预处理组; W/D 为湿 / 干质量比值, MDA 为丙二醛, GSH 为还原型谷胱甘肽; 与对照组和 P 组比较, ^a*P* < 0.05; 与 HVT 组比较, ^b*P* < 0.05

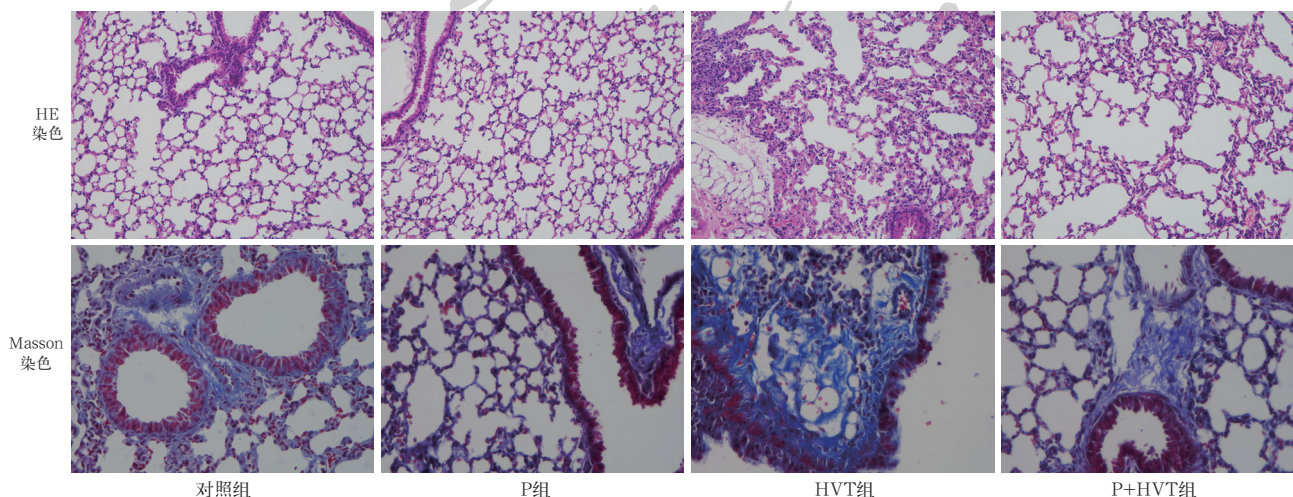
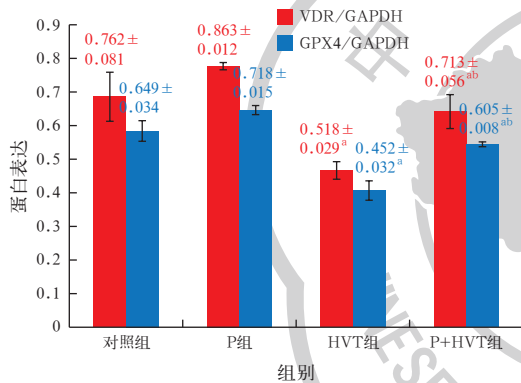


图 1 光镜下观察各组小鼠肺损伤情况 对照组和维生素 D 类似物 paricalcitol 对照组 (P 组) 小鼠肺组织结构大致正常, 细胞排列正常, 未见明显损伤 (HE 染色 中倍放大), 有少量呈蓝色染色的胶原纤维 (Masson 染色 高倍放大); 大潮气量 (HVT) 致呼吸机相关性肺损伤模型组 (HVT 组) 肺组织正常结构被破坏, 细胞增多且排列紊乱, 肺泡间隔增厚, 肺泡壁断裂, 肺泡融合 (HE 染色 中倍放大), 胶原纤维大量沉积 (Masson 染色 高倍放大); paricalcitol 预处理组 (P+HVT 组) 肺组织结构部分正常, 部分细胞排列正常, 可见肺泡壁断裂及肺泡融合现象 (HE 染色 中倍放大), 胶原纤维少量增多 (Masson 染色 高倍放大)

2.2 各组肺组织 MDA 和 GSH 含量比较(表 1):与对照组相比, HVT 组肺组织 MDA 含量显著升高, GSH 含量显著降低(均 $P < 0.05$)。paricalcitol 预处理后肺组织 MDA 含量较 HVT 组明显降低, GSH 含量明显升高(均 $P < 0.05$)。单纯使用 paricalcitol 对肺组织 MDA 和 GSH 含量均无明显影响。

2.3 各组肺组织 VDR 和 GPX4 蛋白表达的比较: Western blotting 检测结果显示(图 2),与对照组相比, HVT 组小鼠肺组织 VDR 和 GPX4 蛋白表达明显降低(均 $P < 0.05$)。与 HVT 组相比, paricalcitol 预处理后肺组织 VDR、GPX4 表达明显增高(均 $P < 0.05$)。单纯使用 paricalcitol 对肺组织 VDR、GPX4 表达无明显影响。各组间 VDR、GPX4 的 IRS 评分变化趋势与 Western blotting 检测结果一致(图 3;表 2)。



注: P 组为维生素 D 类似物 paricalcitol 对照组, HVT 组为大潮气量(HVT)致呼吸机相关性肺损伤模型组, P+HVT 组为 paricalcitol 预处理组; VDR 为维生素 D 受体, GPX4 为谷胱甘肽过氧化物酶 4, GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶; 与对照组和 P 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 HVT 组比较, ^b $P < 0.05$

图 2 各组小鼠肺组织 VDR 和 GPX4 蛋白表达比较

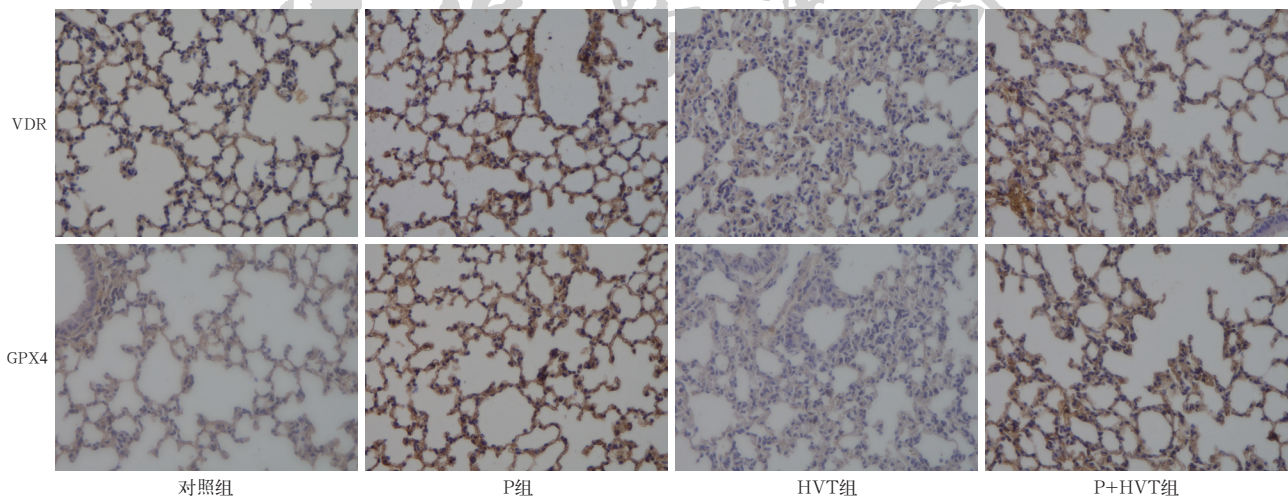


图 3 光镜下观察各组小鼠肺组织维生素 D 受体(VDR)和谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)的表达 对照组及维生素 D 类似物 paricalcitol 对照组(P 组)肺组织 VDR 和 GPX4 表达呈强阳性,大部分细胞呈棕黄色,少部分细胞呈棕褐色;大潮气量(HVT)致呼吸机相关性肺损伤模型组(HVT 组)肺组织 VDR 和 GPX4 表达呈弱阳性,细胞整体呈浅黄色; paricalcitol 预处理组(P+HVT 组)肺组织 VDR 和 GPX4 表达呈强阳性,大部分细胞呈棕黄色,少部分呈浅黄色 免疫组化染色 高倍放大

表 2 各组小鼠肺组织 VDR、GPX4 的 IRS 评分比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	IRS 评分(分)	
		VDR	GPX4
对照组	6	10.167 ± 0.408	10.333 ± 0.516
P 组	6	10.833 ± 0.753	10.667 ± 0.516
HVT 组	6	4.168 ± 0.408 ^a	4.333 ± 1.033 ^a
P+HVT 组	6	9.000 ± 0.632 ^{ab}	8.833 ± 0.408 ^{ab}
F 值		167.650	115.566
P 值		<0.001	<0.001

注: P 组为维生素 D 类似物 paricalcitol 对照组, HVT 组为大潮气量(HVT)致呼吸机相关性肺损伤模型组, P+HVT 组为 paricalcitol 预处理组; VDR 为维生素 D 受体, GPX4 为谷胱甘肽过氧化物酶 4, IRS 为免疫组化评分; 与对照组和 P 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 HVT 组比较, ^b $P < 0.05$

3 讨论

机械通气是危重患者常用治疗手段,通气时不恰当的潮气量、压力等会诱发 VILI,最终导致肺部 and 全身炎症反应,甚至发展成急性呼吸窘迫综合征,致死率高达 50%^[7],因此深入研究 VILI 的发病机制对预防和诊治 VILI 十分重要。本研究中, HVT 通气 4 h 后小鼠肺部出现明显损伤,表现为肺泡间隔增厚、肺泡壁破裂、炎症细胞大量聚集于肺泡间隔及肺泡腔、肺内渗出增多,大量胶原纤维沉积,与既往研究描述一致^[8-9],说明小鼠 VILI 模型制备成功。

目前肺牵张刺激引起的氧化损伤是导致 VILI 的重要原因之一,肺内氧化还原稳态失衡是关键^[10]。GPX4 是一种独特的抗氧化酶,可直接还原脂质氢过氧化物,维持细胞内氧化还原稳态。GPX4 失活会导致细胞内脂质过氧化物蓄积和线粒体膜、细胞膜等发生氧化损伤^[11-12],参与多种疾病的发生发展,如 GPX4 失活引起的脂质过氧化与肺纤维化的发展

紧密相关^[13]。Jia等^[14]报道,GPX4被抑制后可导致氧化还原失稳,影响干扰素刺激基因激活,从而抑制先天性抗病毒免疫应答。同时,GPX4是铁死亡经典通路中的重要调控因子,主要发挥负向调控作用^[15]。铁死亡在生化代谢方面主要表现为GPX4活性降低,细胞内抗氧化剂GSH消耗,脂质过氧化物MDA等过度产生,细胞内氧化和抗氧化系统发生紊乱^[16]。本研究显示,VILI发生后小鼠肺组织GSH含量降低,MDA含量升高,GPX4表达下降,说明在VILI过程中可能存在细胞铁死亡,然而本研究中仅观察到细胞铁死亡在生化代谢方面的变化,其超微结构及其他特征变化仍有待进一步观察。

最近越来越多的研究者关注到VDR在肺损伤、肝损伤^[17]、肾损伤^[18]等疾病中的保护作用。在脂多糖诱导的肺损伤中,VDR激活后能够促进肺上皮细胞增殖,并抑制其发生凋亡和上皮间充质转化,从而减轻肺损伤^[19];也能通过抑制肾素-血管紧张素系统发挥肺保护作用^[20]。VDR产生的抗氧化作用参与细胞氧化应激损伤。VDR激活能通过上调核因子E2相关因子2(nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2)通路蛋白表达减轻炎症反应和氧化损伤^[21-22];Nrf2激活后还能增加GPX4的表达^[23-24]。本研究表明,HVT组小鼠肺组织VDR和GPX4的蛋白表达均降低;而经VDR激动剂预处理后肺损伤明显减轻,GPX4活性恢复,内源性抗氧化剂GSH含量升高,氧化应激产物MDA含量降低,与Hu等^[25]发现的VDR激活后可通过上调GPX4减轻顺铂诱导的急性肾损伤结果一致。由此可见,VDR激活后可在VILI中发挥保护性作用。

综上,本研究显示,维生素D类似物paricalcitol可通过激活VDR/GPX4通路改善肺组织氧化还原失衡,从而减轻VILI。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 唐慧洁,谭永丽,谭春晓,等.蛋白酪氨酸激酶2/信号转导子与激活子3信号通路在大鼠呼吸机相关性肺损伤中的作用机制研究[J].中国临床药理学杂志,2020,36(16):2397-2400. DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2020.16.005.
- [2] Chen YH, Cheadle CE, Rice LV, et al. The induction of alpha-1 antitrypsin by vitamin D in human T cells is TGF- β dependent: a proposed anti-inflammatory role in airway disease[J]. Front Nutr, 2021, 8: 667203. DOI: 10.3389/fnut.2021.667203.
- [3] Sari E, Oztay F, Tasci AE. Vitamin D modulates E-cadherin turnover by regulating TGF- β and Wnt signalings during EMT-mediated myofibroblast differentiation in A459 cells[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2020, 202: 105723. DOI: 10.1016/j.jsmb.2020.105723.
- [4] Shi YY, Liu TJ, Fu JH, et al. Vitamin D/VDR signaling attenuates lipopolysaccharide induced acute lung injury by maintaining the integrity of the pulmonary epithelial barrier[J]. Mol Med Rep, 2016, 13(2): 1186-1194. DOI: 10.3892/mmr.2015.4685.

- [5] Zeng Q, Ye L, Ling MY, et al. TLR4/TRAF6/NOX2 signaling pathway is involved in ventilation-induced lung injury via endoplasmic reticulum stress in murine model[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 96: 107774. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.107774.
- [6] Garon EB, Rizvi NA, Hui R, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer[J]. N Engl J Med, 2015, 372(21): 2018-2028. DOI: 10.1056/NEJMoa1501824.
- [7] Thompson BT, Chambers RC, Liu KD. Acute respiratory distress syndrome[J]. N Engl J Med, 2017, 377(19): 1904-1905. DOI: 10.1056/NEJMc1711824.
- [8] 赵晨,张维康,戴惠军,等. Ly6C^{high} 单核细胞在小鼠 VILI 中的作用机制[J].中华危重病急救医学,2019,31(9):1123-1127. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.09.013.
- [9] 杜学柯,荆忍,张韵希,等.程序性坏死特异性抑制剂-1对呼吸机相关性肺损伤的保护作用[J].天津医药,2019,47(9):924-927. DOI: 10.11958/20190382.
- [10] Cao DW, Hou MX, Zhang XR. Ambroxol alleviates ventilator-induced lung injury by inhibiting c-Jun expression[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(11): 5004-5011. DOI: 10.26355/eurrev_201906_18092.
- [11] Seibt TM, Proneth B, Conrad M. Role of GPX4 in ferroptosis and its pharmacological implication[J]. Free Radic Biol Med, 2019, 133: 144-152. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.014.
- [12] Labrecque CL, Fuglestad B. Electrostatic drivers of Gpx4 interactions with membrane, lipids, and DNA[J]. Biochemistry, 2021, 60(37): 2761-2772. DOI: 10.1021/acs.biochem.1c00492.
- [13] Tsubouchi K, Araya J, Yoshida M, et al. Involvement of Gpx4-regulated lipid peroxidation in idiopathic pulmonary fibrosis pathogenesis[J]. J Immunol, 2019, 203(8): 2076-2087. DOI: 10.4049/jimmunol.1801232.
- [14] Jia MT, Qin DH, Zhao CY, et al. Redox homeostasis maintained by GPX4 facilitates STING activation[J]. Nat Immunol, 2020, 21(7): 727-735. DOI: 10.1038/s41590-020-0699-0.
- [15] 李嘉柔,王洪亮. Keap1/Nrf2/ARE 信号通路可通过调节氧化应激缓解脓毒症过程中的细胞铁死亡[J].中华危重病急救医学,2021,33(7):881-884. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210130-00180.
- [16] Talty R, Bosenberg M. The role of ferroptosis in melanoma[J]. Pigment Cell Melanoma Res, 2022, 35(1): 18-25. DOI: 10.1111/pcmr.13009.
- [17] Xie J, Fan YG, Jia RJ, et al. Yes-associated protein regulates the hepatoprotective effect of vitamin D receptor activation through promoting adaptive bile duct remodeling in cholestatic mice[J]. J Pathol, 2021, 255(1): 95-106. DOI: 10.1002/path.5750.
- [18] Li AM, Yi B, Han HL, et al. Vitamin D-VDR (vitamin D receptor) regulates defective autophagy in renal tubular epithelial cell in streptozotocin-induced diabetic mice via the AMPK pathway[J]. Autophagy, 2022, 18(4): 877-890. DOI: 10.1080/15548627.2021.1962681.
- [19] Zheng SX, Yang JX, Hu X, et al. Vitamin D attenuates lung injury via stimulating epithelial repair, reducing epithelial cell apoptosis and inhibits TGF- β induced epithelial to mesenchymal transition[J]. Biochem Pharmacol, 2020, 177: 113955. DOI: 10.1016/j.bcp.2020.113955.
- [20] Kong J, Zhu XD, Shi YY, et al. VDR attenuates acute lung injury by blocking Ang-2-Tie-2 pathway and renin-angiotensin system[J]. Mol Endocrinol, 2013, 27(12): 2116-2125. DOI: 10.1210/me.2013-1146.
- [21] Wu MF, Wu Y, Xu KZ, et al. Protective effects of 1, 25 dihydroxyvitamin D3 against high-glucose-induced damage in human umbilical vein endothelial cells involve activation of Nrf2 antioxidant signaling[J]. J Vasc Res, 2021, 58(4): 267-276. DOI: 10.1159/000515512.
- [22] Chen LL, Yang RL, Qiao WX, et al. 1, 25-Dihydroxyvitamin D exerts an antiaging role by activation of Nrf2-antioxidant signaling and inactivation of p16/p53-senescence signaling[J]. Aging Cell, 2019, 18(3): e12951. DOI: 10.1111/ace1.12951.
- [23] Wang QJ, Bin C, Xue Q, et al. GSTZ1 sensitizes hepatocellular carcinoma cells to sorafenib-induced ferroptosis via inhibition of NRF2/GPX4 axis[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(5): 426. DOI: 10.1038/s41419-021-03718-4.
- [24] Yuan Y, Zhai YY, Chen JJ, et al. Kaempferol ameliorates oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced neuronal ferroptosis by activating Nrf2/SLC7A11/GPX4 axis[J]. Biomolecules, 2021, 11(7): 923. DOI: 10.3390/biom11070923.
- [25] Hu ZX, Zhang H, Yi B, et al. VDR activation attenuate cisplatin induced AKI by inhibiting ferroptosis[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(1): 73. DOI: 10.1038/s41419-020-2256-z.

(收稿日期: 2021-09-26)