

胍丁胺对高氧性急性肺损伤大鼠 Ⅱ型肺泡上皮细胞凋亡的影响

李晓娟 刘国跃 陈淼 陈涛

遵义医科大学附属医院重症医学科二病区, 贵州遵义 563003

通信作者: 刘国跃, Email: 376051838@qq.com

【摘要】 目的 观察胍丁胺对高氧性急性肺损伤(HALI)大鼠Ⅱ型肺泡上皮细胞(AECⅡ)凋亡的影响, 为 HALI 的药物治疗提供基础理论依据。**方法** 按随机数字表法将 24 只健康 SD 大鼠分为正常对照组(在空气中饲养)、HALI 模型组、胍丁胺预处理组(高氧处理前给予 400 mg/kg 的胍丁胺), 每组 8 只。将大鼠置于氧浓度 >90%, 温度 25~27℃, 湿度 50%~70%, 二氧化碳(CO₂)浓度 <0.5% 的自制高氧模型箱中复制 HALI 大鼠模型; 正常对照组不进行任何处理。高氧处理 48 h 后取大鼠颈动脉血进行血气分析; 光镜下观察肺组织病理学改变并进行评分; 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组支气管肺泡灌洗液(BALF)中肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素(IL-6、IL-1)含量; 采用流式细胞仪检测肺组织 AECⅡ凋亡情况, 并计算细胞凋亡率; 采用蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax 的表达水平。**结果** 与正常对照组比较, HALI 模型组氧合指数(OI)、Bcl-2 蛋白表达明显降低[OI(mmHg, 1mmHg=0.133 kPa): 135.04±16.82 比 463.74±22.04, Bcl-2 蛋白表达(A 值): 0.35±0.18 比 0.89±0.08, 均 $P<0.05$], 而呼吸指数(RI)、肺组织病理学评分、TNF-α、IL-6、IL-1、AECⅡ凋亡率、Bax 蛋白表达均明显升高[RI: 1.29±0.15 比 0.24±0.03, 肺组织病理学评分(分): 4.72±1.32 比 0, TNF-α(μg/L): 44.48±1.42 比 14.12±0.88, IL-6(μg/L): 51.46±1.62 比 23.20±0.89, IL-1(μg/L): 44.03±2.45 比 11.64±1.34, AECⅡ凋亡率: (56.24±1.14)% 比 (22.64±0.58)%, Bax 蛋白表达(A 值): 2.37±0.34 比 1.41±0.48, 均 $P<0.05$]。与 HALI 模型组比较, 胍丁胺预处理组大鼠 OI、Bcl-2 蛋白表达明显升高[OI(mmHg): 364.72±14.56 比 135.04±16.82, Bcl-2 蛋白表达(A 值): 0.68±0.10 比 0.35±0.18, 均 $P<0.05$]; 而 RI、肺组织病理学评分、TNF-α、IL-6、IL-1、AECⅡ凋亡率、Bax 蛋白表达均明显降低[RI: 0.45±0.09 比 1.29±0.15, 肺组织病理学评分(分): 2.30±0.96 比 4.72±1.32, TNF-α(μg/L): 22.98±0.72 比 44.48±1.42, IL-6(μg/L): 35.79±0.86 比 51.46±1.62, IL-1(μg/L): 24.06±0.86 比 44.03±2.45, AECⅡ凋亡率: (28.58±1.21)% 比 (56.24±1.14)%, Bax 蛋白表达(A 值): 1.98±0.42 比 2.37±0.34, 均 $P<0.05$]。**结论** 胍丁胺可降低 HALI 大鼠 AECⅡ凋亡率, 其机制有待进一步研究。

【关键词】 胍丁胺; 高氧性急性肺损伤; Ⅱ型肺泡上皮细胞

基金项目: 国家自然科学基金(81560019); 贵州省科技计划项目(黔科合 LH 字[2017]7115); 贵州省医药卫生科技基金(gzwhkj2016-1-024)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2019.05.011

Effect of agmatine on apoptosis of type Ⅱ alveolar epithelial cells in rats with hyperoxia-induced acute lung injury Li Xiaojuan, Liu Guoyue, Chen Miao, Chen Tao

Department of Intensive Care Unit Second District, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563003, Guizhou, China

Corresponding author: Liu Guoyue, Email: 376051838@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of agmatine (AGM) on the apoptosis of type Ⅱ alveolar epithelial cells (AECⅡ) in rats with hyperoxia-induced acute lung injury (HALI) and provide a theoretical basis for the treatment of HALI. **Methods** A total of 24 Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into three groups: normal control group (fed in air), HALI model group and AGM pretreatment group (400 mg/kg AGM was given before the hyperoxia treatment or HALI model establishment), each group with 8 rats. The rats were placed in a self-made high oxygen model box with oxygen concentration of >90%, temperature of 25~27℃, humidity of 50%~70% and carbon dioxide concentration <0.5% to replicate the HALI rat model; no any treatment was given to the normal control group. After the hyperoxia was treated for 48 hours, the arterial blood was taken from the rat carotid artery for blood gas analysis; under light microscope, the pathological changes of lung tissues were observed and the pathological evaluation scores were carried out; the contents of tumor necrosis factor-α (TNF-α) and interleukins (IL-6, IL-1) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); the apoptosis of AECⅡ of lung tissues was determined by flow cytometry, and the apoptotic rate was calculated; the expressions of the apoptosis related protein Bcl-2 and Bax were detected by Western Blot. **Results** Compared with the normal control group, the oxygenation index (OI) and Bcl-2 of HALI model group and AGM pretreatment group were significantly decreased [OI (mmHg, 1mmHg = 0.133 kPa): 135.04±16.82 vs. 463.74±22.04, Bcl-2 protein expression (A value): 0.35±0.18 vs. 0.89±0.08], while the respiratory index (RI), pathological scores of lung injury, TNF-α, IL-6, IL-1, the apoptosis rate of AECⅡ, Bax protein expression were all significantly increased [RI: 1.29±0.15 vs. 0.24±0.03, pathological score of lung tissue: 4.72±1.32 vs. 0, TNF-α (μg/L): 44.48±1.42 vs. 14.12±0.88, IL-6 (μg/L): 51.46±1.62 vs. 23.20±0.89, IL-1 (μg/L): 44.03±2.45 vs. 11.64±1.34, apoptosis rate of AECⅡ: (56.24±1.14)% vs. (22.64±0.58)%, Bax protein expression (A value): 2.37±0.34 vs. 1.41±0.48, all $P<0.05$]. Compared with HALI model group, the OI and Bcl-2 of AGM pretreatment group were significantly increased [OI (mmHg): 364.72±14.56 vs. 135.04±16.82,

Bcl-2 protein expression (A value): 0.68 ± 0.10 vs. 0.35 ± 0.18 , all $P < 0.05$], while the RI, pathological scores of lung injury, TNF- α , IL-6, IL-1, apoptosis rate of AEC II, and Bax protein expression were significantly decreased [RI: 0.45 ± 0.09 vs. 1.29 ± 0.15 , pathological score of lung tissue: 2.30 ± 0.96 vs. 4.72 ± 1.32 , TNF- α ($\mu\text{g/L}$): 22.98 ± 0.72 vs. 44.48 ± 1.42 , IL-6 ($\mu\text{g/L}$): 35.79 ± 0.86 vs. 51.46 ± 1.62 , IL-1 ($\mu\text{g/L}$): 24.06 ± 0.86 vs. 44.03 ± 2.45 , apoptosis rate of AEC II: $(28.58 \pm 1.21)\%$ vs. $(56.24 \pm 1.14)\%$, Bax protein expression (A value): 1.98 ± 0.42 vs. 2.37 ± 0.34 , all $P < 0.05$]. **Conclusion** The apoptotic rate of AEC II in HALI rats is reduced by AGM, and the regulatory mechanism needs to be further studied.

【Key words】 Agmatine; Hyperoxia-induced acute lung injury; Type II alveolar epithelial cells

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81560019); Science and Technology Program of Guizhou Province (Qiankehe LH zi [2017] 7115); Medical and Health Science and Technology Development Fund of Shandong Province (gzwjkj2016-1-024)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2019.05.011

高氧性急性肺损伤(HALI)是氧疗典型的并发症,进一步加重发展为急性呼吸窘迫综合征(ARDS),是该类患者死亡的主要因素之一^[1]。阐明其发病机制、寻找更好的肺保护措施具有重要意义。研究显示,II型肺泡上皮细胞(AEC II)是肺组织的干细胞,可分化为其他肺组织细胞^[2],而AEC II损伤凋亡后将影响整个肺组织功能修复^[3]。通过抑制AEC II凋亡可有效减轻实验大鼠肺损伤程度^[4-5]。胍丁胺是L-精氨酸被精氨酸脱羧酶脱羧后生成的一种阳离子聚胺,广泛存在于自然界中,并能阻碍体内过氧化反应发生,进而减少细胞凋亡,维持细胞正常生理功能^[6],但在HALI发挥同样作用需进一步研究。本研究观察胍丁胺对HALI大鼠AEC II凋亡的影响,为HALI的治疗提供新的治疗手段和方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组:选择健康SD大鼠24只,雌雄不拘,体质量约 (250 ± 20) g,购于重庆第三军医大学动物实验中心,动物许可证号:SCXK(渝)2012-0005。按随机数字表法将大鼠分为正常对照组、HALI模型组、胍丁胺预处理组,每组8只;其中正常对照组直接饲养于干燥无菌室;HALI模型组根据本课题组前期研究的方法将大鼠置于氧浓度 $>90\%$,温度 $25 \sim 27^\circ\text{C}$,湿度 $50\% \sim 70\%$,二氧化碳(CO_2)浓度 $<0.5\%$ 的自制高氧箱中复制HALI模型^[7];胍丁胺预处理组尾静脉注射 400 mg/kg 胍丁胺溶液后再置于自制高氧箱中饲养。

1.2 伦理学:本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准(审批号:2017-12-01)。

1.3 检测指标及方法:48 h后取标本进行检测。

1.3.1 呼吸参数的检测:经大鼠颈动脉取血行血气分析,并根据血气分析的结果计算呼吸指数(RI)和氧合指数(OI)。其中 $\text{OI} = \text{动脉血氧分压} / \text{吸入氧浓度} (\text{PaO}_2/\text{FiO}_2)$,本实验 FiO_2 均记为0.9,正常参考值为 $400 \sim 500 \text{ mmHg}$ ($1 \text{ mmHg} = 0.133 \text{ kPa}$); $\text{RI} = \text{肺泡} - \text{动脉血氧分压差} (\text{A-aDO}_2) / \text{PaO}_2$,正常参考值 ≤ 1.0 。

1.3.2 肺组织病理学评分:取大鼠左上肺组织,制备 $0.3 \text{ cm} \times 0.3 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$ 大小组织块,苏木素-伊红(HE)染色后,光镜下观察肺组织病理学改变,随机选择3个不同视野进行肺组织病理学评分,然后取平均值作为此切片的病理评分结果;具体评分方法参照Aho等^[8]及Osman等^[9]改良标准进行。

1.3.3 支气管肺泡灌洗液(BALF)中炎症因子水平测定:大鼠腹腔注射戊巴比妥钠,待麻醉生效后固定于手术台上,经颈部正中暴露左右主支气管,结扎左侧主支气管,取左肺行相关检测;右侧主支气管剪一小口,插入导管,缓慢注入 4°C 的中性磷酸盐缓冲液(PBS),回收BALF,回收率大于 90% ,离心 10 min ,沉淀物用于测定丙二醛(MDA)及超氧化物歧化酶(SOD);上清液冻存于 -20°C 备检,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL-6、IL-1)水平,试剂盒购于上海沪鼎生物科技有限公司,操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.3.4 AEC II早期凋亡率测定:制模后48 h取左下肺制备各组单细胞悬液, 4°C 离心 5 min ,弃上清液,PBS洗涤1次,用流式细胞术(FCM)检测细胞早期凋亡率。

1.3.5 用蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测AEC II中Bcl-2、Bax蛋白表达情况:制模后48 h取各组大鼠右肺组织提取蛋白,收集处理完毕的细胞,用组织裂解液(RIPA)冰浴裂解细胞,使用二喹啉甲酸法(BCA)蛋白浓度测定试剂盒定量蛋白。取一定量蛋白样品与上样缓冲液混合, $95 \sim 100^\circ\text{C}$ 煮沸 5 min ,分离、转膜、封闭、稀释一抗,用含吐温的磷酸盐缓冲液(TBST)洗涤、孵育,再次用TBST洗涤,最后用电化学发光(ECL)系统曝光,测定Bcl-2、Bax蛋白表达水平,以目的蛋白与3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)吸光度(A)值的比值表示目的蛋白的表达量。

1.4 统计学处理:使用SPSS 17.0统计软件处理

数据,符合正态分布的计量数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,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 胍丁胺对大鼠 OI 及 RI 的影响(表 1):与正常对照组比较,HALI 模型组及胍丁胺预处理组大鼠 OI 明显降低,RI 明显升高(均 $P < 0.05$);与 HALI 模型组比较,胍丁胺预处理组大鼠 OI 明显升高,RI 明显降低(均 $P < 0.05$)。

表 1 胍丁胺对 HALI 大鼠 OI 和 RI 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	OI(mmHg)	RI
正常对照组	8	463.74 $\pm$ 22.04	0.24 $\pm$ 0.03
HALI 模型组	8	135.04 $\pm$ 16.82 ^a	1.29 $\pm$ 0.15 ^a
胍丁胺预处理组	8	364.72 $\pm$ 14.56 ^{ab}	0.45 $\pm$ 0.09 ^{ab}

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$;与 HALI 模型组比较,^b $P < 0.05$;
1 mmHg=0.133 kPa

2.2 胍丁胺对大鼠肺组织病理学评分的影响(表 2):与正常对照组比较,HALI 模型组及胍丁胺预处理组大鼠肺组织病理学评分明显升高(均 $P < 0.05$);与 HALI 模型组比较,胍丁胺预处理组大鼠肺组织病理学评分明显降低($P < 0.05$)。

表 2 不同处理方法各组大鼠肺组织病理学评分和细胞凋亡率的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	病理学评分(分)	AEC II 凋亡率(%)
正常对照组	8	0	22.64 $\pm$ 0.58
HALI 模型组	8	4.72 $\pm$ 1.32 ^a	56.24 $\pm$ 1.14
胍丁胺预处理组	8	2.30 $\pm$ 0.96 ^{ab}	28.58 $\pm$ 1.21

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$;与 HALI 模型组比较,^b $P < 0.05$

2.3 胍丁胺对大鼠 AEC II 早期凋亡率的影响(图 1;表 2):与正常对照组比较,HALI 模型组及胍丁胺预处理组大鼠 AEC II 凋亡率明显增加(均 $P < 0.05$);与 HALI 模型组比较,胍丁胺预处理组大鼠 AEC II 凋亡率明显降低($P < 0.05$)。

2.4 胍丁胺对大鼠 BALF 中 TNF- α 、IL-6、IL-1 含量的影响(表 3):与正常对照组比较,HALI 模型组大鼠

BALF 中 TNF- α 、IL-6 及 IL-1 明显增加(均 $P < 0.05$);与 HALI 模型组比较,胍丁胺预处理组大鼠 BALF 中 TNF- α 、IL-6 及 IL-1 均明显降低($P < 0.05$)。

表 3 胍丁胺对大鼠 BALF 中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	TNF- α (μ g/L)	IL-6(μ g/L)	IL-1(μ g/L)
正常对照组	8	14.12 $\pm$ 0.88	23.20 $\pm$ 0.89	11.64 $\pm$ 1.34
HALI 模型组	8	44.48 $\pm$ 1.42 ^a	51.46 $\pm$ 1.62 ^a	44.03 $\pm$ 2.45 ^a
胍丁胺预处理组	8	22.98 $\pm$ 0.72 ^{ab}	35.79 $\pm$ 0.86 ^{ab}	24.06 $\pm$ 0.86 ^{ab}

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$;与 HALI 模型组比较,^b $P < 0.05$

2.5 胍丁胺对各组大鼠 AEC II 中 Bcl-2、Bax 蛋白表达水平的影响(表 4;图 2):与正常对照组比较,HALI 模型组大鼠 Bax 蛋白表达明显增加,而 Bcl-2 蛋白表达明显减少(均 $P < 0.05$);与 HALI 模型组比较,胍丁胺预处理组大鼠 Bax 蛋白表达均明显减少,而 Bcl-2 蛋白表达均明显增加(均 $P < 0.05$)。

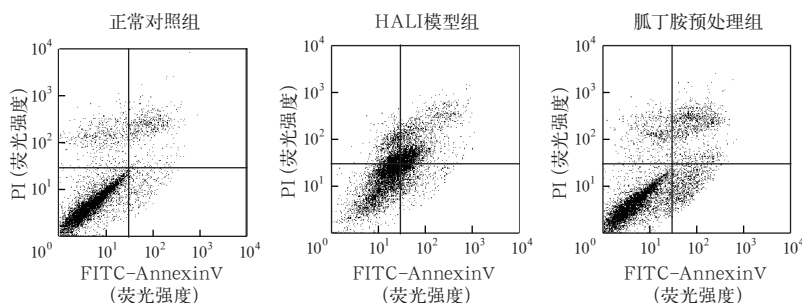
表 4 胍丁胺对 HALI 大鼠肺组织 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	Bcl-2(A 值)	Bax(A 值)
正常对照组	8	0.89 $\pm$ 0.08	1.41 $\pm$ 0.48
HALI 模型组	8	0.35 $\pm$ 0.18 ^a	2.37 $\pm$ 0.34 ^a
胍丁胺预处理组	8	0.68 $\pm$ 0.10 ^b	1.98 $\pm$ 0.42 ^b

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$;与 HALI 模型组比较,^b $P < 0.05$

3 讨论

研究表明,HALI 与活性氧(ROS)的过量产生有非常密切关系,长时间持续吸入高浓度氧气可产生大量 ROS,且与通气时间和吸入氧浓度呈正相关,ROS 在肺内存储越多,肺损伤越明显^[10-11]。对于原本就有呼吸系统的患者而言,HALI 的出现更加重了呼吸功能障碍,使病情恶化,形成恶性循环。AEC II 是肺脏特有的干细胞及功能细胞,也是 ROS 氧化损伤的主要靶细胞,而氧化应激会诱导 AEC II 凋亡,从而影响肺泡组织的修复。大量研究已经证实,AEC II 的凋亡贯穿于 HALI 的发生发展过程,抑



注:PI 为碘化丙啶;FITC-Annexin V 为异硫氰酸荧光素-膜联蛋白 V

图 1 采用 FCM 检测各组大鼠 AEC II 凋亡情况

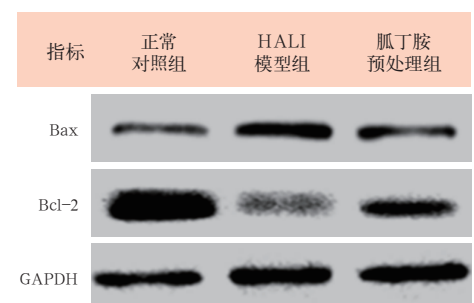


图 2 Western Blot 检测各组大鼠 AEC II 中 Bcl-2、Bax 蛋白表达水平

制其凋亡可明显减轻 HALI 的严重程度^[12-13]。B 淋巴细胞瘤-2 基因 (Bcl-2) 家族通过控制线粒体膜的通透性来调节细胞凋亡, 其中 Bcl-2 是抑制凋亡的基因, 而 Bcl-2 相关 x 蛋白 (Bax) 是促凋亡基因, 二者相互影响, 相互制约, 共同调控细胞凋亡^[14-16]。

胍丁胺是 L-精氨酸被精氨酸脱羧酶脱羧后生成的一种阳离子聚胺, 并广泛存在于自然界中。胍丁胺可作用于哺乳动物体内多个分子靶点, 包括神经递质系统、一氧化氮合成以及聚胺代谢途径等, 并且在机体病理生理活动和细胞修复机制中扮演着重要角色^[17-20]。国内学者在对创伤小鼠模型的研究显示, 胍丁胺可明显降低创伤诱导肝损伤中炎症反应的过度表达, 从而达到保护肝脏的作用^[21]。胍丁胺也可通过抑制细胞间黏附分子-1 (ICAM-1)、血管内皮生长因子 (VEGF) 及血管性血友病因子 (vWF) 等生物标志物和炎症因子的分泌, 降低肝、肺组织血管通透性, 从而减轻脓毒症小鼠的血管内皮损伤^[22]。另有研究显示, 胍丁胺能降低肺组织诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 表达, 并阻断核转录因子- κ B (NF- κ B) 信号通路, 从而延缓脓毒症诱导的小鼠 ALI^[23]; 胍丁胺也可通过减少肺脏中羟脯氨酸的表达水平, 减轻二氧化硅诱导的肺纤维化的炎症反应^[24]; 再次证明胍丁胺对机体具有明确的保护作用, 其主要机制是抑制体内炎症反应的过程。

综上所述, 上调 HALI 大鼠体内胍丁胺表达后, 炎症因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 表达明显受到抑制, 而抑制炎症释放的机制可能是通过调节 Bcl-2/Bax 信号通路而实现的, 但胍丁胺调节 Bcl-2/Bax 分子机制仍不清楚, 还需进一步实验研究。

参考文献

- [1] Dinu D, Chu C, Veith A, et al. Mechanistic role of cytochrome P450 (CYP) 1B1 in oxygen-mediated toxicity in pulmonary cells: a novel target for prevention of hyperoxic lung injury [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 476 (4): 346-351. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.05.125.
- [2] Lee HS, Kim CK. Cathepsin B is activated as an executive protease in fetal rat alveolar type II cells exposed to hyperoxia [J]. *Exp Mol Med*, 2011, 43 (4): 223-229. DOI: 10.3858/emmm.2011.43.4.027.
- [3] Budinger GR, Mutlu GM, Urich D, et al. Epithelial cell death is an important contributor to oxidant-mediated acute lung injury [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 183 (8): 1043-1054. DOI: 10.1164/rccm.201002-0181OC.
- [4] Wu D, Liang M, Dang H, et al. Hydrogen protects against hyperoxia-induced apoptosis in type II alveolar epithelial cells via activation of PI3K/Akt/Foxo3a signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495 (2): 1620-1627. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.11.193.
- [5] 石磊, 何英, 白冰, 等. 微小 RNA-21 抑制剂对高氧急性肺损伤大鼠 II 型肺泡上皮细胞凋亡的影响 [J]. *中华危重病急救医学*, 2017, 29 (3): 244-248. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.03.010.
- Shi L, He Y, Bai B, et al. Effects of microRNA-21 inhibitor on apoptosis of type II alveolar epithelial cells in rats with hyperoxia-induced acute lung injury [J]. *Chin Crit Care Med*, 2017, 29 (3): 244-248. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.03.010.
- [6] Sezer A, Guclu B, Kazanci B, et al. Neuroprotective effects

- of agmatine in experimental peripheral nerve injury in rats: a prospective randomized and placebo-controlled trial [J]. *Turk Neurosurg*, 2014, 24 (2): 196-201. DOI: 10.5137/1019-5149.JTN.7324-12.1.
- [7] 刘国跃, 牟胜旭, 陈森, 等. 一种简便可控的高氧急性肺损伤模型的建立方法 [J]. *中华危重病急救医学*, 2016, 28 (1): 27-32. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.01.006.
 - Liu GY, Mou SX, Chen M, et al. A simple and controllable method for reproduction of a model of high oxygen tension induced acute lung injury [J]. *Chin Crit Care Med*, 2016, 28 (1): 27-32. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.01.006.
 - [8] Aho HJ, Koskensalo SM, Nevalainen TJ. Experimental pancreatitis in the rat. Sodium taurocholate-induced acute haemorrhagic pancreatitis [J]. *Scand J Gastroenterol*, 1980, 15 (4): 411-416. DOI: 10.3109/00365528009181493.
 - [9] Osman MO, Kristensen JU, Jacobsen NO, et al. A monoclonal anti-interleukin 8 antibody (WS-4) inhibits cytokine response and acute lung injury in experimental severe acute necrotising pancreatitis in rabbits [J]. *Gut*, 1998, 43 (2): 232-239. DOI: 10.1136/gut.43.2.232.
 - [10] Datta A, Kim GA, Taylor JM, et al. Mouse lung development and NOX1 induction during hyperoxia are developmentally regulated and mitochondrial ROS dependent [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 309 (4): L369-377. DOI: 10.1152/ajplung.00176.2014.
 - [11] Han CH, Guan ZB, Zhang PX, et al. Oxidative stress induced necroptosis activation is involved in the pathogenesis of hyperoxic acute lung injury [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495 (3): 2178-2183. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.12.100.
 - [12] Qin S, Chen M, Ji H, et al. miR-21-5p regulates type II alveolar epithelial cell apoptosis in hyperoxic acute lung injury [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17 (4): 5796-5840. DOI: 10.3892/mmr.2018.8560.
 - [13] Liu Y, Zhang PX, Han CH, et al. Ordonin protects the lung against hyperoxia-induced injury in a mouse model [J]. *Undersea Hyperb Med*, 2017, 44 (1): 33-38. DOI: 10.22462/1.2.2017.6.
 - [14] Lindqvist LM, Vaux DL. BCL2 and related prosurvival proteins require BAK1 and BAX to affect autophagy [J]. *Autophagy*, 2014, 10 (8): 1474-1475. DOI: 10.4161/auto.29639.
 - [15] Zhao G, Zhu Y, Eno CO, et al. Activation of the proapoptotic Bcl-2 protein Bax by a small molecule induces tumor cell apoptosis [J]. *Mol Cell Biol*, 2014, 34 (7): 1198-1207. DOI: 10.1128/MCB.00996-13.
 - [16] Tian X, Shi Y, Liu N, et al. Upregulation of DAPK contributes to homocysteine-induced endothelial apoptosis via the modulation of Bcl2/Bax and activation of caspase 3 [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14 (5): 4173-4179. DOI: 10.3892/mmr.2016.5733.
 - [17] Popolo A, Adesso S, Pinto A, et al. L-Arginine and its metabolites in kidney and cardiovascular disease [J]. *Amino Acids*, 2014, 46 (10): 2271-2286. DOI: 10.1007/s00726-014-1825-9.
 - [18] Al Masri AA, El Eter E. Agmatine induces gastric protection against ischemic injury by reducing vascular permeability in rats [J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18 (18): 2188-2196. DOI: 10.3748/wjg.v18.i18.2188.
 - [19] El-Awady MS, Suddek GM. Agmatine ameliorates atherosclerosis progression and endothelial dysfunction in high cholesterol-fed rabbits [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2014, 66 (6): 835-843. DOI: 10.1111/jphp.12204.
 - [20] Freitas AE, Egea J, Buendía I, et al. Agmatine induces Nrf2 and protects against corticosterone effects in hippocampal neuronal cell line [J]. *Mol Neurobiol*, 2015, 51 (3): 1504-1519. DOI: 10.1007/s12035-014-8827-1.
 - [21] 杨霞, 朱俊宇, 范霞, 等. 胍丁胺对脓毒症小鼠血管内皮损伤的保护作用 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2016, 23 (2): 182-185. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.02.019.
 - Yang X, Zhu JY, Fan X, et al. The protective effect of agmatine on vascular endothelial dysfunction in septic mice [J]. *Chin J TCM WM Crit Care*, 2016, 23 (2): 182-185. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.02.019.
 - [22] 李炫飞, 范霞, 郑志华, 等. 胍丁胺对脂多糖诱导急性肝损伤的保护作用 [J]. *中华危重病急救医学*, 2013, 25 (12): 720-724. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.12.006.
 - Li XF, Fan X, Zheng ZH, et al. Protective effects of agmatine on lipopolysaccharide-induced acute hepatic injury in mice [J]. *Chin Crit Care Med*, 2013, 25 (12): 720-724. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.12.006.
 - [23] Li X, Liu Z, Jin H, et al. Agmatine protects against zymosan-induced acute lung injury in mice by inhibiting NF- κ B-mediated inflammatory response [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 583736. DOI: 10.1155/2014/583736.
 - [24] El-Agamy DS, Sharawy MH, Ammar EM. Agmatine attenuates silica-induced pulmonary fibrosis [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2014, 33 (6): 650-660. DOI: 10.1177/0960327114521047.

(收稿日期: 2019-05-21)