

布雷菲德菌素 A 在脂多糖诱导急性肺损伤中的作用

汪雪峰¹, 陈锋¹, 宋顺德², 章哲文², 汤慧芳²

1. 浙江中医药大学附属第二医院药剂科, 浙江 杭州 310005; 2. 浙江大学医学院, 浙江 杭州 310058

摘要: **目的** 探讨布雷菲德菌素 A (Brefeldin A) 在脂多糖 (LPS) 诱导急性肺损伤中的作用。 **方法** 小鼠肺泡巨噬细胞 (MH-S) 和上皮细胞 (MLE-12) 分别给予浓度为 1、10、100 μM 的 Brefeldin A 后, 立即用 LPS 500 ng/ml 处理, 收集 3、6、9、24 h 的细胞上清并测定 MH-S 中的肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 含量和 MLE-12 中的趋化因子 KC 值; ICR 小鼠随机分为生理盐水组 (Normal 组)、模型组 (LPS 组)、地塞米松组 (Dex 组, 5 mg/kg)、Brefeldin A 组 (BFA 组, 10 mg/kg), 每组 12 只, 气道内 2 mg/kg 滴入 LPS 制备急性肺损伤模型, 生理盐水组给予等体积生理盐水。6 h 后观察肺组织病理改变, 测定肺泡灌洗液 (BALF) 中白细胞、白蛋白含量和 TNF- α 、白介素-1 β (IL-1 β)、白介素-6 (IL-6) 等炎症因子含量, 检测肺组织中髓过氧化物酶 (MPO)、cAMP 含量和 MAPK 信号通路中 ERK、p38 和 JNK 等蛋白激酶分子磷酸化水平的变化。 **结果** 100 μM 的 Brefeldin A 能显著减少 MH-S 中 TNF- α 的释放和 MLE-12 细胞中 KC 的产生 ($P < 0.001$)。Brefeldin A 显著改善肺组织病理变化, 降低 BALF 中白细胞 ($P < 0.001$) 和 TNF- α ($P < 0.05$) 含量, 对 BALF 中白蛋白、IL-1 β 和 IL-6 无显著影响, 显著降低小鼠肺组织中 MPO 活性 ($P < 0.05$), 升高 cAMP 的水平 ($P < 0.001$), 同时能显著抑制 ERK 的磷酸化 ($P < 0.05$)。 **结论** Brefeldin A 对急性肺损伤可产生保护作用, 其机制与抑制相关炎症因子释放、升高细胞内 cAMP 的含量、抑制 ERK 磷酸化等途径有关。

关键词: 急性肺损伤; 布雷菲德菌素 A; 肺泡巨噬细胞; 肺泡上皮细胞

中图分类号: R563 R563.8 R978.15 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-4152(2018)05-0688-06

DOI: 10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.000188

Effect of Brefeldin A in acute lung injury induced by lipopolysaccharide

WANG Xue-feng, CHEN Feng, SONG Shun-de, et al

Department of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical

University, Hangzhou, Zhejiang 310005, China

Abstract: **Objective** To explore the effect of Brefeldin A in acute lung injury induced by lipopolysaccharide. **Methods** Mice alveolar macrophages (MH-S) and epithelial cells (MLE-12) were treated with Brefeldin A of 1, 10, 100 μM respectively, and then treated with LPS 500 ng/ml. The cell supernatants of 3, 6, 9 and 24 h were collected and the content of tumor necrosis factor- α (TNF- α) in MH-S and the chemokine KC in MLE-12 were determined. ICR mice were randomly divided into normal saline control group (group Normal), model group (group LPS), dexamethasone group (group Dex, 5 mg/kg) and brefeldin A group (group BFA, 10 mg/kg). Each group had 12 mice. The ALI mouse model was induced by instilling intratracheally LPS 2 mg/kg. The physiological saline group was given equal volume of normal saline. After 6 h, lung tissue and alveolar lavage fluid (BALF) were harvested, lung pathology changes were observed, white blood cell and albumin content and tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin 6 (IL-6) in BALF were determined, myeloperoxidase (MPO) activity, cAMP content and the changes of phosphorylation levels of protein kinases of ERK, p38 and JNK in MAPK signaling pathway in lung homogenates were detected by ELISA. **Results** BFA significantly reduced the release of TNF- α in MH-S and the production of KC in MLE-12 cells ($P < 0.001$). BFA could significantly improve the pathological changes of lung tissue and decrease the content of white blood cells ($P < 0.001$) and TNF- α content ($P < 0.05$). However, there were no significant effects on albumin, IL-1 β and IL-6 in BALF, and the activity of MPO in lung tissue was significantly decreased ($P < 0.05$), the level of cAMP was significantly increased ($P < 0.001$). Brefeldin A could significantly inhibit the phosphorylation of ERK ($P < 0.05$). **Conclusion** Brefeldin A may have a protective effect on acute lung injury, and its mechanism may be related to inhibiting the release of related inflammatory factors, increasing intracellular cAMP content and inhibiting the phosphorylation of ERK.

Key words: Acute lung injury; Brefeldin A; Alveolar macrophages; Alveolar epithelial cells

急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 是多种因素导致的肺泡上皮细胞和毛细血管内皮细胞损伤, 造成弥

漫性肺间质及肺泡水肿, 临床表现为急性呼吸窘迫和难治性低氧血症, 其发展至严重阶段被称为急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS)。目前对于 ALI/ARDS 疾病进程的具体分子机制知之甚少, 同时没有专门针对 ALI/ARDS 的治疗药物。脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 是革兰氏阴性菌的主要组成

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81202980); 浙江省自然科学基金资助项目 (LYY18H310007); 浙江省医药卫生科技项目 (2018246654)

通信作者: 汤慧芳, E-mail: tanghuifang@zju.edu.cn

部分,广泛应用于诱导ALI/ARDS来研究肺部急性炎症损伤的分子机制^[1]。

布雷菲德菌素A(Brefeldin A, BFA)是一种大环内酯类抗生素,由真菌合成,是由Singleton等于1958年从Penicillium decumben发酵液中分离后得到,研究发现Brefeldin A能通过诱导高尔基体分解,反竞争性抑制蛋白质从内质网向高尔基体转运,现在认为,Brefeldin A具有抗线虫、抗有丝分裂、抗真菌、抗病毒、抗肿瘤等多种生物学活性^[2-3]。目前,Brefeldin A作为蛋白转运抑制剂成为了一种重要的分子工具,被应用于哺乳动物的信号传导途径^[4-5],但其对急性肺损伤等炎症是否有效呢,目前尚无研究。因此本实验拟通过体外细胞实验及在体实验,探讨Brefeldin A对LPS诱导小鼠ALI中的作用及其可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料 雄性C57/BL6小鼠,体重19~21 g,清洁级,浙江大学医学院动物实验中心提供,合格证号:SCXK2013-0016;LPS和Brefeldin A购自美国sigma公司;地塞米松(DXM,5 mg/ml,浙江仙琚制药股份有限公司),髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)试剂盒购自南京建成生物科技有限公司;白细胞介素1(interleukin-1, IL-1)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)、环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)等ELISA试剂盒购自R&D Systems公司;蛋白测定试剂盒购自Bio-Rad实验室;小鼠肺泡巨噬细胞株(MH-S)(CRL-2019)和小鼠上皮细胞株(MLE12)(CRL-2110)购自美国ATCC细胞库(Mannassa, VA, USA)。德国Fluko公司立式匀浆机;美国Bio-Tek仪器公司ELX800UV型酶标仪;上海一恒科技有限公司DHG-9145A型电热恒温鼓风干燥箱。

1.2 实验方法

1.2.1 肺泡巨噬细胞和肺泡上皮细胞中细胞因子/趋化因子的测定 肺泡巨噬细胞(MH-S)96孔板中(1×10^4 cell/well)过夜,设立正常组、模型组(LPS 500 ng/ml刺激)、BFA给药组(1 μ M, 10 μ M, 100 μ M)3组^[6],给药30 min后,LPS 500 ng/ml刺激,LPS刺激后,分别于3、6、9、24 h后收集培养液上清,保存于-80 $^{\circ}$ C,利用ELISA试剂盒测定上清TNF- α 值。肺泡上皮细胞(MLE-12)按照每孔 5×10^3 细胞浓度培养,同上述给药,收集上清,测定KC值。

1.2.2 动物模型的制备 将48只C57/BL6小鼠随机分为生理盐水组(Normal组)、模型组(LPS组)、地塞米松组(Dex组)、Brefeldin A组(BFA组)4组,每组12只,

按280 mg/kg腹腔注射水合氯醛麻醉,钝性分离气管,气道内滴入LPS 2 mg/kg造模,对照组气道内滴入等量生理盐水,10 min后腹腔注射地塞米松(Dex组,DXM 5 mg/kg)、Brefeldin A(BFA组,BFA 10 mg/kg)和生理盐水(LPS组),37 $^{\circ}$ C放置,6 h后处死小鼠。

1.2.3 支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中白细胞计数 小鼠于造模6 h后麻醉并股动脉放血处死,结扎右肺,暴露气管,行气管插管,用1.5 ml的PBS液进行支气管肺泡灌洗3次,回收BALF冰浴保存,取部分BALF混匀后进行总白细胞(white blood cell, WBC)计数,剩余BALF离心10 min($250 \times g$, 4 $^{\circ}$ C),离心后留取上清液-80 $^{\circ}$ C保存。

1.2.4 BALF中细胞因子和蛋白含量测定 BALF离心后留取上清,按照试剂盒说明书要求,利用双抗体夹心ELISA法测定TNF- α 、IL-6和IL-1 β 含量,Bio-Rad蛋白测定试剂盒测定总蛋白含量。

1.2.5 肺组织中cAMP活性及MPO含量的测定 按试剂盒要求,取小鼠右肺下叶组织,按100 g/L浓度用生理盐水制备组织匀浆,4 $^{\circ}$ C、12 000 $\times g$,离心10 min后,收集上清,ELISA法测定肺组织匀浆里cAMP含量,酶学动力学方法测定肺组织匀浆里MPO活性。

1.2.6 肺组织病理学观察 取出左肺下叶放入福尔马林中固定,24 h后脱水,透明,石蜡包埋处理,切片,苏木精-伊红(HE)染色,显微镜下观察肺组织病理学改变,观察炎症细胞浸润情况及有无肺水肿。

1.2.7 MAPK信号通路磷酸化水平的测定 应用检测磷酸化水平试剂盒(ab119674, abcam)测定肺组织匀浆中ERK1/2(pT202/Y204)、p38 MAPK(pT180/Y182)和JNK1/2/3(pT183/Y185)的浓度,按照说明书步骤操作。

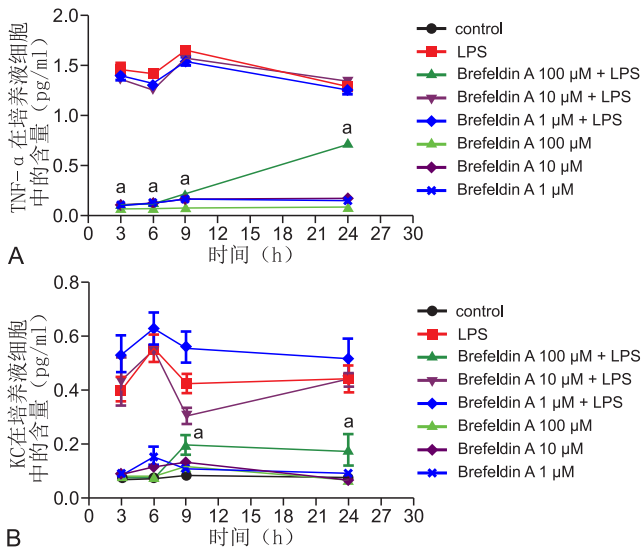
1.3 统计学方法 利用SPSS 13.0统计软件进行统计学处理,2组间的均数比较采用 t 检验,各组数据行方差齐性检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Brefeldin A对小鼠肺泡巨噬细胞中TNF- α 和上皮细胞中KC含量的影响 在小鼠MH-S细胞中,与对照组相比,1、10 μ mol的BFA对TNF- α 的释放作用不明显,但100 μ mol的BFA能显著减少TNF- α 的释放($P < 0.001$),且以早期3、6、9 h作用显著,24 h作用有明显减弱,但差异仍有统计学意义($P < 0.001$)。在小鼠MLE-12细胞中,BFA减少KC的产生呈明显的剂量依赖性,以9 h时间点最为明显,100 μ mol BFA能显著减少KC的产生($P < 0.001$),同时作用持续时间比MH-S细胞长,24 h时对KC的抑制作用仍然显著,见

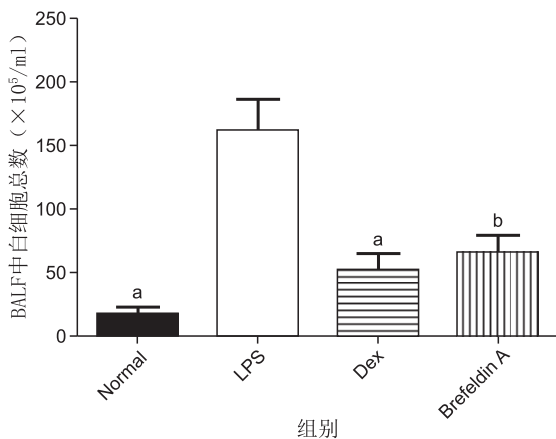
图1。此结果提示 BFA 能抑制炎症细胞因子和趋化因子的释放,可能用于控制炎症的发展。

2.2 Brefeldin A 对 ALI 小鼠肺泡灌洗液中白细胞数和蛋白渗出的影响 体外细胞实验的结果发现 Brefeldin A 对炎症细胞因子具有较强的抑制作用,因此,我们进行了在体研究,以期明确 Brefeldin A 对急性肺损伤是否有效。小鼠气道内滴入 LPS 6 h 后,与生理盐水对照组(Normal 组)相比,LPS 组 BALF 中白细胞总量增加约 6.9 倍($P < 0.001$),见图 2,与 LPS 组相比,BFA 组中白细胞总量减少 62% ($P < 0.01$),Dex 组为 60%,两者作用强度相当;通过测定 BALF 中白蛋白的渗出可反映肺泡内皮细胞/上皮细胞的屏障功能,即肺部微血管的通透性。LPS 刺激后,白蛋白渗出增加,说明肺血管通透性显著增加,Dex 能显著抑制血管通透性的增加($P < 0.05$),见图 3,但 BFA 的作用不是很明显,提示 BFA 对微血管通透性的影响不大。



注:BFA 对 LPS 刺激诱导的小鼠肺泡巨噬细胞释放 TNF-α(A)和上皮细胞释放 KC(B)的影响,与模型组比较,^a $P < 0.05$ 。

图1 Brefeldin A 对 LPS 诱导小鼠肺泡巨噬细胞中 TNF-α(A)和上皮细胞中 KC(B)的释放影响

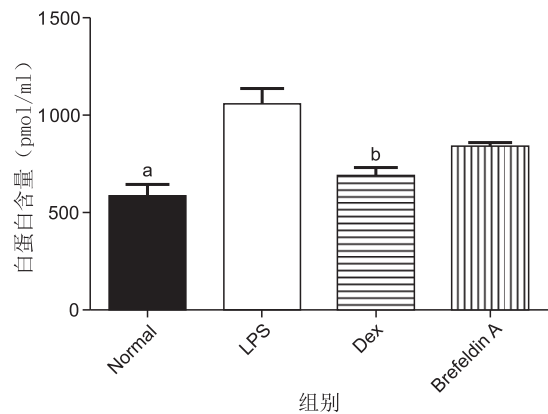


注:BFA 对急性肺损伤小鼠 BALF 中白细胞数的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$),与模型组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ 。

图2 Brefeldin A 对急性肺损伤小鼠 BALF 中白细胞数的影响

2.3 Brefeldin A 对 ALI 小鼠肺组织病理变化的影响 LPS 刺激后,模型组的肺部均可见点、片状出血,肺部出现大量的中性粒细胞聚集迁移,同时伴有肺泡壁的增厚,肺泡腔变窄,有明显的炎症和轻度的肺水肿现象,提示造模成功。BFA 组及 Dex 组能明显改善上述病理变化,见图 4。

2.4 Brefeldin A 对 ALI 小鼠肺泡灌洗液中 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 含量的影响 分别测定 LPS 刺激 6 h 后 BALF 中炎症细胞因子和趋化因子的含量,空白对照组中的炎症介质,与模型组相比,BFA 中 TNF-α 含量显著减少($P < 0.05$),但是 IL-6 和 IL-1β 无明显改变,Dex 可以显著减少 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 的含量($P < 0.001$)。这些结果提示,在 LPS 诱导的 ALI 中,BFA 的作用不同于糖皮质激素的作用,见图 5。



注:BFA 对急性肺损伤小鼠 BALF 中白蛋白含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$),与模型组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ 。

图3 Brefeldin A 对急性肺损伤小鼠 BALF 中白蛋白含量的影响

2.5 Brefeldin A 对 ALI 小鼠肺组织中 cAMP 含量和 MPO 活性的影响 与对照组相比,模型组中 cAMP 的含量显著减少($P < 0.001$),MPO 的活性明显上升($P < 0.05$)。Dex 和 BFA 能显著升高 cAMP 的水平 and 降低 MPO 的活性($P < 0.05$),见图 6、7。此结果提示 BFA 可能上调 cAMP 对细胞炎症产生抑制作用,同时 BFA 对中性粒细胞的趋化作用明显。

2.6 Brefeldin A 对 ALI 小鼠肺组织中 MAPK 信号通路磷酸化水平的影响 肺组织中磷酸化 ERK 1/2 (pT202/Y204)、p38 MAPK (pT180/Y182) 和 JNK 1/2/3 (pT183/Y185) 的结果显示,LPS 能显著增强 ERK1/2 和 SPAK/JNK 的磷酸化,但对 p38 影响不明显。Dex 和 BFA 都能显著抑制 ERK 的磷酸化($P < 0.05$),但对 JNK 的磷酸化影响不明显,见图 8。此结果提示 BFA 和 Dex 可能通过 ERK1/2 对 ALI 产生保护作用。

3 讨论

急性肺损伤(ALI)/急性呼吸窘迫综合征(ARDS)

发病机制复杂,病情发展非常迅速,病死率很高,是临床常见的急危重症,ALI/ARDS是连续的病理生理过程,ARDS是其最严重的阶段^[7]。关于ALI机制近年来研究发现:氧化应激、促炎/抗炎反应失衡、细胞凋亡紊乱、促凝/抗凝反应失衡等在脂多糖所致ALI中起重要作用,且各机制之间相互促进,相互影响,形成恶性循环并加重机体损伤。脓毒症仍是导致ALI的主要原因^[8],位于革兰阴性菌外膜的脂多糖是急性肺损伤的常见重要致病因素之一,LPS可导致肺上皮细胞、肺泡毛细血管内皮细胞及肺间质的急性弥漫性损害,本质是肺部的各种炎症细胞相继激活浸润,继而释放一系

列炎症介质和炎症因子,最终造成肺部的损害,继而更多的炎症细胞被激活,更多的炎症介质和炎症因子释放出来使肺损伤信号进一步放大和加强,形成炎症瀑布效应,导致肺泡-毛细血管膜损伤。正常肺组织的肺泡腔中巨噬细胞占大多数,当发生急性肺损伤时,肺泡腔中中性粒细胞占大多数,此时,趋化因子作用于中性粒细胞,使其大量聚集于肺组织内,并联合血管内皮细胞、肺泡上皮细胞及巨噬细胞等,发生脱颗粒、呼吸爆发等释放大量的炎症因子和炎症介质,如IL-1、IL-6、TNF- α 等,这些炎症因子和炎症介质最终导致一系列炎症反应^[9-11]。

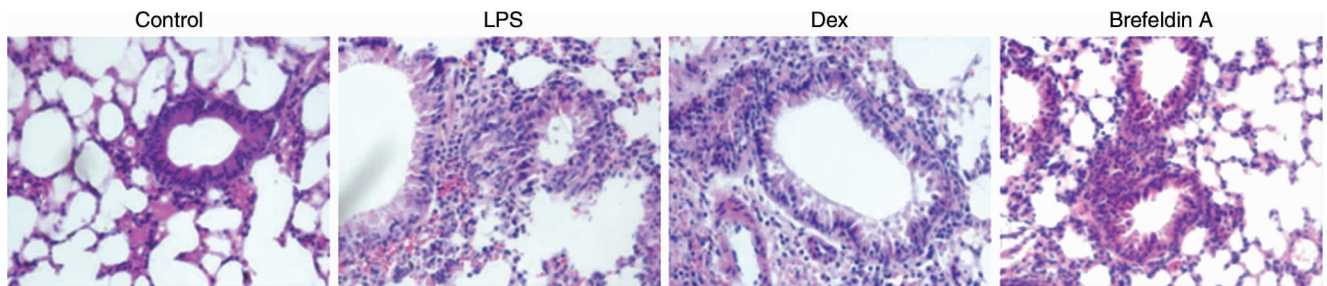
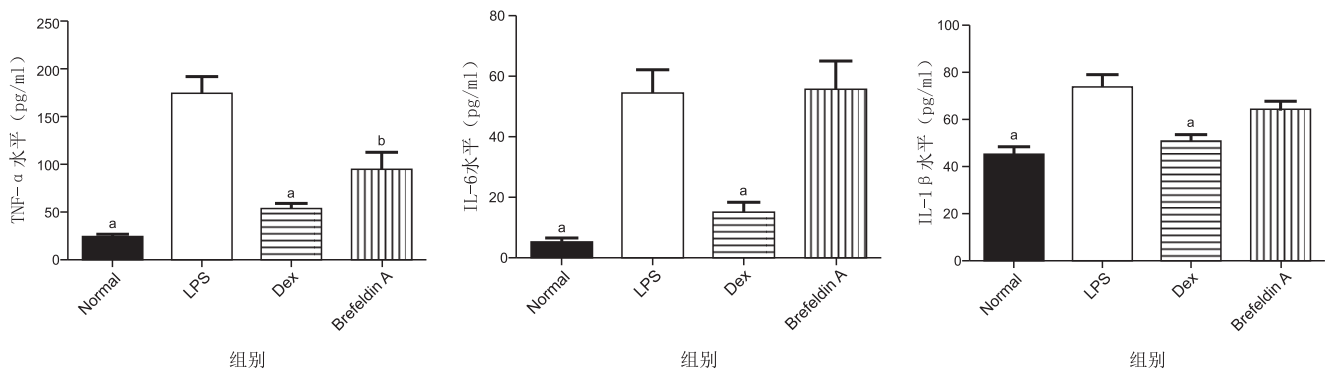
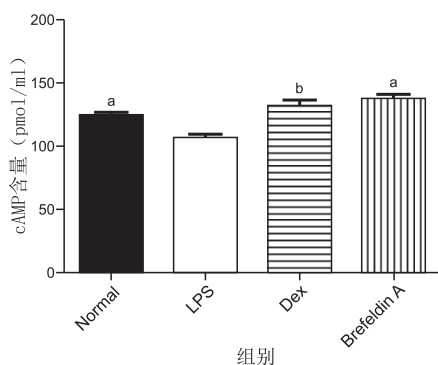


图4 BFA对LPS性急性肺损伤小鼠肺组织病理变化的作用(HE染色, $\times 400$)。



注: BFA对LPS性急性肺损伤小鼠BALF中TNF- α 、IL-1 β 和IL-6含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$),与模型组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

图5 Brefeldin A对急性肺损伤小鼠BALF中TNF- α 、IL-1 β 和IL-6含量的影响



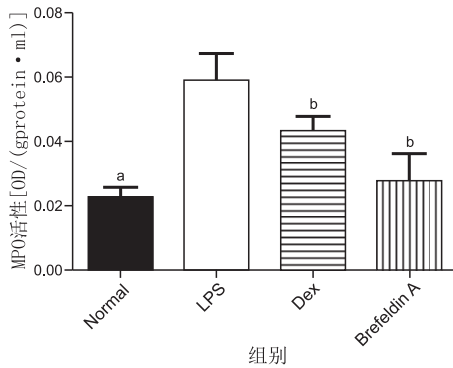
注: BFA对ALI小鼠肺组织中cAMP含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$),与模型组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

图6 Brefeldin A对急性肺损伤小鼠肺组织中cAMP含量的影响

肺泡巨噬细胞在肺部炎症性疾病中非常关键,对于维持肺部组织的平衡和增加对外源性与内源性刺激的快速反应有一定作用^[12]。它们是消灭病原体的第

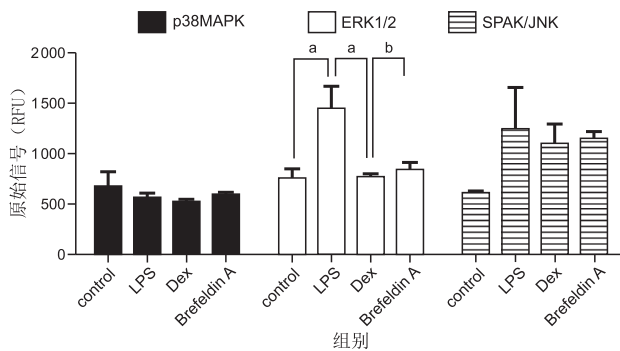
一道防线,扮演着免疫反应的关键协调器,最终促进凋亡碎片清除,消除炎症和修复组织^[13-14]。肺泡巨噬细胞同时也是多种炎症细胞因子的主要来源,如IL-1、IL-6、TNF- α 等,这些细胞因子在炎症中的作用至关重要^[15]。ALI发生时可使肺毛细血管内皮通透性增加,继而大量炎症介质通过血管内皮屏障进入肺泡,大量中性粒细胞在趋化因子的作用下变形进入肺泡和肺间质,和大量渗漏到肺泡和肺间质的蛋白质联合作用导致肺水肿现象,大量炎症介质损伤肺泡上皮细胞的同时,造成肺泡表面活性物质的形成减少,减弱肺泡内滞留的水分流动性,使得肺水肿现象进一步加重。肺泡上皮细胞的再生对于ARDS的恢复至关重要,在病毒所导致的小鼠ALI模型中,如果小鼠肺部损失超过10%的I型肺泡上皮,小鼠呼吸功能会明显下降,此后ALI病程会进展迅速而难以控制^[16-18]。

作为潜在的大环内酯类抗肿瘤抗生素, Brefeldin A 能反竞争性的抑制蛋白质的作用, 不仅可以引起细胞形态学改变, 诱导高尔基体分解, 导致其分解后酶在内质网的重新分配, 而且可以显著影响哺乳动物的分泌途径^[19-20], Brefeldin A 已经证明能够减轻炎症和免疫反应的化学介质的产生和分泌, 能够通过抑制人角质形成细胞中的 Akt、mTOR 和 NF- κ B 通路来减少 TNF- α 刺激的炎性介质的产生^[6]。布雷菲德菌素 A 目前在抗肿瘤治疗中研究的较多^[21-22], 但在抗炎这一领域的研究相对较少涉及, 急性肺损伤主要是炎症反应, 急性肺损伤中前期有大量的炎症因子和炎症介质的参与, 如 IL-1、IL-6、TNF- α 等, Brefeldin A 是否能通过对相关炎症介质释放的影响来对 ALI 产生作用, 有待进一步研究。因此, 本实验在动物和细胞水平上利用分子生物学以及功能学的研究方法来研究 Brefeldin A 对 LPS 诱导的急性肺损伤的作用, 以期进一步探索 Brefeldin A 在急性肺损伤中的具体作用机制。



注: BFA 对 ALI 小鼠肺组织中 MPO 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$), 与模型组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

图 7 Brefeldin A 对急性肺损伤小鼠肺组织中 MPO 活性的影响



注: BFA 对 ALI 小鼠肺组织中 MAPK 信号通路磷酸化水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$), 与模型组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

图 8 Brefeldin A 对急性肺损伤小鼠肺组织中 MAPK 信号通路磷酸化水平的影响

本实验研究结果显示, 细胞水平上, 100 μ mol 的 Brefeldin A 可有效抑制小鼠肺泡巨噬细胞中 TNF- α 和上皮细胞中 KC 等炎症因子/趋化因子的释放; 动物水平上 Brefeldin A 可显著抑制 LPS 所致 BALF 中白细胞

总数的增多及 TNF- α 水平的升高, 降低肺组织内 MPO 活性及 cAMP 含量, 显著抑制 MAPK 信号通路中 ERK 蛋白激酶的磷酸化, 改善 ALI 中各种炎症的病理变化, 同时值得关注的是, Brefeldin A 不同于地塞米松, 在动物水平对 IL-1 和 IL-6 等炎症因子无显著性影响, 提示 Brefeldin A 能产生不同于激素的独特作用, Brefeldin A 减轻 LPS 引起的急性肺损伤的机制可能与抑制相关炎症因子释放、升高细胞内 cAMP 的含量、抑制 ERK 磷酸化等途径有关。

参考文献

- [1] 宣国平, 张琳, 钟明媚. 脂多糖致大鼠急性肺损伤模型取材时间选择[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2015, 29(2): 136-138.
- [2] Huang H, Liu T, Guo J, et al. Brefeldin A enhances docetaxel-induced growth inhibition and apoptosis in prostate cancer cells in monolayer and 3D cultures [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2017, 27(11): 2286-2291.
- [3] Raekiansyah M, Mori M, Nonaka K, et al. Identification of novel antiviral of fungus-derived brefeldin A against dengue viruses [J]. Trop Med Health, 2017, 45(1): 32.
- [4] Yu X, Zhang Q, Zhao Y. Activation of G protein-coupled estrogen receptor 1 induces coronary artery relaxation via Epac/Rap1-mediated inhibition of RhoA/Rho kinase pathway in parallel with PKA [J]. PLoS One, 2017, 12(3): e0173085.
- [5] de Galarreta MR, Navarro A, Ansorena E. Unfolded protein response induced by Brefeldin A increases collagen type I levels in hepatic stellate cells through an IRE1 α , p38 MAPK and Smad-dependent pathway [J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1863(8): 2115-2123.
- [6] Nam YJ, Lee CS. Brefeldin A reduces tumor necrosis factor- α -stimulated production of inflammatory mediators by suppressing the Akt, mTOR, and NF- κ B pathways in human keratinocytes [J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2016, 389(9): 951-960.
- [7] Umbrello M, Formenti P, Bolgiaghi L, et al. Current Concepts of ARDS: A Narrative Review [J]. Int J Mol Sci, 2016, 18(1): 64.
- [8] 赵利利, 戎浩, 孙芳云. 内毒素致急性肺损伤的发病机制研究进展 [J]. 实用药物与临床, 2015, 18(4): 466-469.
- [9] Butt Y, Kurdowska A, Allen TC. Acute Lung Injury: A Clinical and Molecular Review [J]. Arch Pathol Lab Med, 2016, 140(4): 345-50.
- [10] Amin Z, Rahmawati FN. Recent insight into potential acute respiratory distress syndrome [J]. Saudi Med J, 2017, 38(4): 344-349.
- [11] 姜琴, 张文凯. 脂多糖致急性肺损伤机制研究进展及还原型谷胱甘肽保护作用 [J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2017, 11(4): 645-649.
- [12] Jandl K, Stacher E, Búlint Z, et al. Activated prostaglandin D2 receptors on macrophages enhance neutrophil recruitment into the lung [J]. J Allergy Clin Immunol, 2016, 137(3): 833-843.
- [13] 王耀炜, 王惠芳. 乌司他丁对小鼠肺泡巨噬细胞 TREM 蛋白表达的影响研究 [J]. 贵州医药, 2016, 40(12): 1249-1251.
- [14] Chimenti L, Camprubí-Rimblas M, Guillaumat-Prats R, et al. Nebulized Heparin Attenuates Pulmonary Coagulopathy and Inflammation through Alveolar Macrophages in a Rat Model of Acute Lung Injury [J]. Thromb Haemost, 2017, 117(11): 2125-2134.

综上,本研究显示, siRNA 技术沉默人胶质瘤 U251 细胞 COX-2 基因表达可以提高细胞的放射敏感性,后续会进一步探讨 COX-2 基因沉默与放疗的增敏作用以及胶质瘤患者的临床获益。

参考文献

[1] Ostrom QT, Bauchet L, Davis FG, et al. The epidemiology of glioma in adults; a “state of the science” review [J]. *Neuro Oncol*, 2014, 16 (7):896-913.

[2] Cloughesy TF, Cavenee WK, Mischel PS. Glioblastoma: from molecular pathology to targeted treatment [J]. *Annu Rev Pathol*, 2014, 9:1-25.

[3] Caragher SP, Sachdev S, Ahmed A. Radiotherapy and Glioma Stem Cells; Searching for Chinks in Cellular Armor [J]. *Curr Stem Cell Rep*, 2017, 3(4):348-357.

[4] Zhao Y, de Toledo SM, Hu G, et al. Connexins and cyclooxygenase-2 crosstalk in the expression of radiation-induced bystander effects [J]. *Br J Cancer*, 2014, 111(1):125-131.

[5] Salehifar E, Hosseinimehr SJ. The use of cyclooxygenase-2 inhibitors for improvement of efficacy of radiotherapy in cancers [J]. *Drug Discov Today*, 2016, 21(4):654-662.

[6] Sfanos KS, Yegnasubramanian S, Nelson WG, et al. The inflammatory microenvironment and microbiome in prostate cancer development [J]. *Nat Rev Urol*, 2018, 15(1):11-24.

[7] Leonardi GC, Accardi G, Monastero R, et al. Ageing: from inflammation to cancer [J]. *Immunity & Ageing*, 2018, 15(1):1-4.

[8] Long AG, Lundsmith ET, Hamilton KE. Inflammation and Colorectal Cancer [J]. *Curr Colorectal Cancer Rep*, 2017, 13(4):341-351.

[9] Korniluk A, Koper O, Kemona H, et al. From inflammation to cancer [J]. *Ir J Med Sci*, 2017, 186(1):57-62.

[10] Aoki T, Narumiya S. Prostaglandin E2-EP2 signaling as a node of chronic inflammation in the colon tumor microenvironment [J]. *Inflamm Regen*, 2017, 37(1):4-8.

[11] Shimizu K, Okita R, Saisho S, et al. Prognostic value of Cox-2 and PD-L1 expression and its relationship with tumor-infiltrating lymphocytes in resected lung adenocarcinoma [J]. *Cancer Manag Res*, 2017, 9:741-750.

[12] Kang X, Jiang S, Xu D, et al. Research on the Anti-inflammatory of COX-3 [J]. *Shandong Chemical Industry*, 2016, 45(6):33-37.

[13] Moraes JL, Moraes AB, Aran V, et al. Functional analysis of polymorphisms in the COX-2 gene and risk of lung cancer [J]. *Mol Clin Oncol*, 2017, 6(4):494-502.

[14] Rumzhum NN, Ammit AJ. Cyclooxygenase 2: its regulation, role and impact in airway inflammation [J]. *Clin Exp Allergy*, 2016, 46(3):397-410.

[15] Harris RE, Casto BC, Harris ZM. Cyclooxygenase-2 and the inflammation of breast cancer [J]. *World J Clin Oncol*, 2014, 5(4):677-692.

[16] Moraes JL, Moraes AB, Aran V, et al. Functional analysis of polymorphisms in the COX-2 gene and risk of lung cancer [J]. *Mol Clin Oncol*, 2017, 6(4):494-502.

[17] Esbona K, Inman D, Saha S, et al. COX-2 modulates mammary tumor progression in response to collagen density [J]. *Breast Cancer Res*, 2016, 18(1):35.

[18] Cronin-Fenton DP, Heide-Jørgensen U, Ahern TP, et al. Low-dose aspirin, non-steroidal anti-inflammatory drugs, selective COX-2 inhibitors and breast cancer recurrence [J]. *Epidemiology*, 2016, 27(4):586-593.

[19] You S, Li R, Park D, et al. Disruption of STAT3 by niclosamide reverses radioresistance of human lung cancer [J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(3):606-616.

[20] Han ZQ, Liao H, Shi F, et al. Inhibition of cyclooxygenase-2 sensitizes lung cancer cells to radiation-induced apoptosis [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(5):5959-5965.

[21] Yang J, Yue JB, Liu J, et al. Effect of Celecoxib on Inhibiting Tumor Repopulation During Radiation Therapy in Human FaDu Squamous Cell Carcinoma [J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2014, 18(4):260-267.

[22] Xu K, Wang L, Shu HK. COX-2 overexpression increases malignant potential of human glioma cells through Id1 [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(5):1241-1252.

[23] Yang J, Yue JB, Liu J, et al. Effect of Celecoxib on Inhibiting Tumor Repopulation During Radiation Therapy in Human FaDu Squamous Cell Carcinoma [J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2014, 18(4):260-267.

[24] Xiong W, Li WH, Jiang YX, et al. Parecoxib: an enhancer of radiation therapy for colorectal cancer [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(2):627-633.

(本文编辑:赵瑞)

收稿日期:2018-02-27

(上接第 692 页)

[15] Dong XY, Tang SQ. Classical swine fever virus NS5A protein changed inflammatory cytokine secretion in porcine alveolar macrophages by inhibiting the NF-κB signaling pathway [J]. *Virology*, 2016, 13(1):1-9.

[16] Kasper M, Barth K. Potential contribution of alveolar epithelial type I cells to pulmonary fibrosis [J]. *Biosci Rep*, 2017, 37(6):pii: BSR20171301.

[17] Gill SE, Yamashita CM, Veldhuizen RA. Lung remodeling associated with recovery from acute lung injury [J]. *Cell Tissue Res*, 2017, 367(3):495-509.

[18] 蒋金泉,李俊杰,魏桂枝,等. 炎症反应在急性肺损伤中的作用机制研究进展 [J]. *临床急诊杂志*, 2017, 18(3):185-189.

[19] Ito Y, Toyooka K, Fujimoto M. The trans-Golgi Network and the Golgi

Stacks Behave Independently During Regeneration After Brefeldin A Treatment in Tobacco BY-2 Cells [J]. *Plant Cell Physiol*, 2017, 58(4):811-821.

[20] Liu T, Li H, Hong W. Brefeldin A-inhibited guanine nucleotide exchange protein 3 is localized in lysosomes and regulates GABA signaling in hippocampal neurons [J]. *J Neurochem*, 2016, 139(5):748-756.

[21] Tian K, Xu F, Gao X, et al. Nitric oxide-releasing derivatives of brefeldin A as potent and highly selective anticancer agents [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 136:131-143.

[22] 吴明松,郑翔,耿娜娜,等. 布雷非德菌素 A 通过激活 IRE1-XBP1 信号通路增强顺铂诱导的人肺癌 GLC-82 细胞凋亡 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2016, 32(6):672-677.

(本文编辑:赵瑞)

收稿日期:2017-09-30