

## 甲泼尼龙对大鼠烟雾吸入性急性肺损伤的治疗作用及其机制

李虎明<sup>1,2</sup>, 陈旭昕<sup>1,2</sup>, 李泳群<sup>1,2</sup>, 张春阳<sup>1,2</sup>, 张燕<sup>1,2</sup>, 陈韦<sup>1,2</sup>, 韩志海<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>解放军总医院第六医学中心呼吸与危重症医学科, 北京 100048; <sup>2</sup>解放军总医院第八医学中心呼吸与危重症医学科, 北京 100091

[中图分类号] R563 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.1927.2025.0407

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 李虎明, 陈旭昕, 李泳群, 等. 甲泼尼龙对大鼠烟雾吸入性急性肺损伤的治疗作用及其机制[J]. 解放军医学杂志, 2025, 50(7): 890-896.

[收稿日期] 2024-11-24

[录用日期] 2025-01-14

[上线日期] 2025-04-07

**[摘要]** 目的 观察不同剂量甲泼尼龙(MP)对大鼠烟雾吸入性急性肺损伤(SI-ALI)的治疗作用, 探究水通道蛋白(AQPs)的表达变化及缓解肺损伤的相关机制。方法 健康成年雄性SD大鼠共86只, 分为对照组( $n=6$ )、吸入性损伤组(SI组,  $n=20$ )、低MP组(吸入性损伤+0.4 mg/kg MP,  $n=20$ )、中MP组(吸入性损伤+4 mg/kg MP,  $n=20$ )和高MP组(吸入性损伤+40 mg/kg MP,  $n=20$ )。建立烟雾吸入性肺损伤模型, 观察各组大鼠的存活情况, 于损伤后24 h收集肺组织, 测定肺组织湿/干重比(W/D)、动脉血氧分压(PaO<sub>2</sub>)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和白细胞介素-6(IL-6)浓度, HE染色评估肺损伤程度, 实时定量PCR和Western blotting检测肺组织AQP1和AQP5 mRNA及蛋白表达水平。结果 与对照组比较, SI组大鼠存活率明显降低( $P<0.05$ ); 与SI组比较, 中MP组、高MP组大鼠存活率均明显升高( $P<0.05$ )。与对照组比较, SI组大鼠PaO<sub>2</sub>明显降低( $P<0.05$ ), 肺组织W/D、肺损伤评分明显升高( $P<0.05$ ); 与SI组比较, 低、中和高MP组PaO<sub>2</sub>均明显升高( $P<0.05$ ), 中MP组和高MP组大鼠肺组织W/D、肺损伤评分明显降低( $P<0.05$ )。ELISA法检测结果显示, 与对照组比较, SI组大鼠血清TNF- $\alpha$ 和IL-6浓度均明显升高( $P<0.05$ ); 与SI组比较, 中MP组和高MP组大鼠血清TNF- $\alpha$ 和IL-6浓度均明显下降( $P<0.05$ )。HE染色显示, SI组大鼠肺泡结构破坏严重; 与SI组比较, 中MP组、高MP组肺泡结构破坏减轻。实时定量PCR、Western blotting检测结果显示, 与对照组比较, SI组大鼠肺组织AQP1和AQP5 mRNA、蛋白表达水平均明显降低( $P<0.05$ ); 与SI组比较, 低、中和高MP组大鼠肺组织AQP1和AQP5 mRNA、蛋白表达水平均明显增高( $P<0.05$ )。结论 烟雾吸入可导致大鼠急性肺损伤, 下调肺组织AQP1和AQP5的表达。MP干预可缓解烟雾吸入所致的大鼠肺水肿及组织损伤, 诱导AQP1和AQP5表达上调。

**[关键词]** 急性肺损伤; 烟雾吸入; 水通道蛋白; 甲泼尼龙; 治疗

## Therapeutic efficacy and its mechanism of methylprednisolone on smoke inhalation-induced acute lung injury in rats

Li Hu-Ming<sup>1,2</sup>, Chen Xu-Xin<sup>1,2</sup>, Li Yong-Qun<sup>1,2</sup>, Zhang Chun-Yang<sup>1,2</sup>, Zhang Yan<sup>1,2</sup>, Chen Wei<sup>1,2</sup>, Han Zhi-Hai<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, the Sixth Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100048, China<sup>2</sup>College of Pulmonary and Critical Care Medicine, the Eighth Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100091, China

\*Corresponding author, E-mail: hanzhihai@301hospital.com.cn

This work was supported by the Beijing Natural Science Foundation (7232169)

**[Abstract]** **Objective** To observe the therapeutic effects of different doses of methylprednisolone (MP) on smoke inhalation-induced acute lung injury (SI-ALI) in rats, and to explore the changes in the expression of aquaporins (AQPs) and the underlying mechanisms for alleviating lung injury. **Methods** A total of 86 healthy adult male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into five groups: control group ( $n=6$ ), smoke inhalation injury (SI) group ( $n=20$ ), low-dose MP group (LMP, SI+

[基金项目] 北京市自然科学基金(7232169)

[作者简介] 李虎明, 医学硕士, 主治医师, 主要从事肺损伤与呼吸危重症临床方面的研究

[通信作者] 韩志海, E-mail: hanzhihai@301hospital.com.cn

0.4 mg/kg MP,  $n=20$ ), medium-dose MP group (MMP, SI+4 mg/kg MP,  $n=20$ ), and high-dose MP group (HMP, SI+ 40 mg/kg MP,  $n=20$ ). A model of smoke inhalation-induced lung injury was established. The survival status of the rats in each group was monitored. Lung tissues were collected 24 hours after injury to determine the wet-to-dry (W/D) ratio of the lung tissues, arterial oxygen partial pressure ( $\text{PaO}_2$ ), and the expression levels of inflammatory cytokines TNF- $\alpha$  and IL-6. The degree of lung injury was evaluated using HE staining, and the mRNA and protein expression levels of AQP1 and AQP5 in the lung tissues were detected. **Results** Compared with control group, the survival rate of the rats in SI group was significantly decreased ( $P<0.05$ ); compared with SI group, the survival rates of the rats in MMP and HMP groups were significantly increased ( $P<0.05$ ). Compared with control group, the  $\text{PaO}_2$  of the Rats in SI group was significantly decreased ( $P<0.05$ ), and the wet-to-dry (W/D) ratio and lung injury scores were significantly increased ( $P<0.05$ ). Compared with SI group, the  $\text{PaO}_2$  of the rats in LMP, MMP, and HMP groups ( $P<0.05$ ) was significantly increased ( $P<0.05$ ), and the lung W/D ratio and injury scores in MMP and HMP groups were significantly decreased ( $P<0.05$ ). ELISA results showed that compared with control group, the serum concentrations of TNF- $\alpha$  and IL-6 in SI group were significantly increased ( $P<0.05$ ); compared with SI group, the concentrations of TNF- $\alpha$  and IL-6 in MMP and HMP groups were significantly decreased ( $P<0.05$ ). HE staining revealed that the alveolar structure of the rats in SI group was severely damaged; compared with SI group, the damage to the alveolar structure in MMP and HMP groups was alleviated. Real-time PCR and Western blotting analysis results showed that compared with control group, the mRNA and protein expression levels of AQP1 and AQP5 in lung tissues in SI group were significantly decreased ( $P<0.05$ ); however, compared with SI group, these levels in LMP, MMP, and HMP groups were significantly increased ( $P<0.05$ ). **Conclusions** Smoke inhalation can induce acute lung injury in rats and down-regulate the expression levels of AQP1 and AQP5 in the lung tissues. Methylprednisolone can alleviate pulmonary edema and tissue damage in rats caused by smoke inhalation, and induce the up-regulation of the expression of AQP1 and AQP5.

**[Key words]** acute lung injury; smoke inhalation; aquaporins; Methylprednisolone; treatment

火灾时热空气、烟雾等吸入可导致烟雾吸入性急性肺损伤(smoke inhalation-induced acute lung injury, SI-ALI)<sup>[1]</sup>。SI-ALI发病率较高,并严重影响烧伤患者的预后,急性肺水肿是其重要的临床表现,主要治疗措施包括氧疗支持、糖皮质激素抗炎、液体管理等<sup>[2-3]</sup>。甲泼尼龙(methylprednisolone, MP)是临床常用的糖皮质激素,可抑制炎症反应,改善毛细血管通透性,减轻肺水肿;但其有导致感染的潜在风险,在吸入性肺损伤治疗中的应用存在争议。水通道蛋白(aquaporins, AQPs)是一组在细胞膜广泛表达的跨细胞膜的膜水通道,与水跨膜转运密切相关<sup>[4]</sup>;其中, AQP1和AQP5广泛表达于肺泡上皮细胞和肺毛细血管内皮细胞,可调节肺泡与毛细血管之间的水交换,与肺水肿形成和消散密切相关,在肺组织水平平衡维持中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。有研究显示,脂多糖可诱导大鼠急性肺损伤,并降低肺组织中AQP1和AQP5的表达;而地塞米松可减轻急性肺损伤,且其救治可能与AQP1和AQP5有关<sup>[6]</sup>。本研究通过烟雾吸入建立大鼠SI-ALI模型,观察不同剂量MP对SI-ALI救治效果的影响,并检测肺组织中AQP1和AQP5水平变化,探究AQPs在MP治疗SI-ALI中的作用。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物、试剂及仪器** 2~3月龄SPF级成年雄性SD大鼠86只,体重180~220g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司[实验动物生产许可证号:

SCXK(京)2016-0006];饲养于解放军总医院第六医学中心动物中心[实验动物使用许可证号:SYXK(军)2012-0011]。实验前于SPF级动物房适应性饲养1周,室温20~24℃,环境湿度50%~70%,昼夜12h节律,自由摄食和饮水。肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(IL-6)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(英国Abcam公司);抗AQP1、AQP5、GAPDH兔多克隆抗体(AF5231、AF5169、AF7021,江苏亲科生物研究中心有限公司)。自制烟雾产生装置(专利号ZL201721317512.6);电热恒温干燥箱(上海上迈电子仪器有限公司);离心机、酶标仪(美国赛默飞世尔科技公司);DYY-5D型电泳仪(北京六一生物科技有限公司);IX73显微镜(日本Olympus公司);StepOne Plus实时定量PCR仪(美国ABI公司)。

## 1.2 方法

**1.2.1 实验分组** 将健康成年雄性SD大鼠分为对照组( $n=6$ )、吸入性损伤组(SI组,  $n=20$ )、低MP组(吸入性损伤+0.4 mg/kg MP,  $n=20$ )、中MP组(吸入性损伤+4 mg/kg MP,  $n=20$ )和高MP组(吸入性损伤+40 mg/kg MP,  $n=20$ )。除对照组外,大鼠均吸入烟雾30 min,制备SI-ALI模型;各MP干预组于吸入性损伤前腹腔注射相应剂量MP,吸入性损伤后24 h每组随机选取6只大鼠,戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉、处死并收集标本。本研究获解放军总医院第六医学中心(原海军总医院)伦理学委员会审批(HJZY20170901),实验过程符合国家和单位有关实验动物的管理和使用规定。

**1.2.2 大鼠烟雾吸入致伤方案** 采用现代装饰、装修常用材料作为产烟物质,包括木屑、棉花、化纤材料、塑料、颗粒板材和电线,上述材料各10 g研磨成粉混合为产烟材料,采用自行研发的烟雾产生装置进行造模。产烟材料置于电磁炉上方的托盘中,控制电磁炉温度为300℃,待产烟箱中烟雾充盈后用排风机将烟雾通过管道排入试验箱中,同时用烟气检测仪检测箱内气体的浓度,主要气体浓度控制为一氧化碳(CO)400~550 ppm、硫化氢(H<sub>2</sub>S) 10~15 ppm、氧气(O<sub>2</sub>) 18%~20%,上述成分的含量通过控制排风机维持,烟熏完将大鼠移至空气流通处进一步观察,内容包括状态、活动等一般情况,以及存活情况。

**1.2.3 大鼠动脉血氧分压检测** 采集大鼠腹主动脉血1 ml,检测动脉血氧分压(arterial partial pressure of oxygen, PaO<sub>2</sub>)。

**1.2.4 ELISA法检测大鼠血清炎症指标TNF- $\alpha$ 、IL-6浓度** 腹主动脉采集动脉血5 ml于抗凝管中,混匀,于4℃静止0.5 h,800 g/min离心15 min,取上清液,进行EP管分装,-80℃保存。根据ELISA试剂盒操作,测定大鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6的浓度。

**1.2.5 大鼠肺组织苏木精-伊红(HE)染色** 分离收集大鼠右肺下叶,用4%多聚甲醛溶液固定、石蜡包埋、制作切片、脱蜡,按步骤进行HE染色,通过单盲法由两名病理科医师光镜下进行组织学观察和肺组织损伤程度评分。采用Murao等<sup>[7]</sup>的方案进行肺组织损伤程度评分,包括肺泡壁厚度、肺泡充血、肺水肿、肺泡出血、间质及肺泡内中性粒细胞浸润,评分标准为无损伤(0分)、轻度(1分)、中度(2分)以及重度(3分)。评分时随机选取5个高倍视野,采用各评分总和的平均值作为肺损伤评分。

**1.2.6 肺组织湿/干重比(wet-to-dry ratio, W/D)测定** 大鼠处死后,分离右肺各叶,取右肺上叶组织,用滤纸蘸干表面水分和血渍,精确称重(W),然后置于恒温干燥箱内烘烤72 h左右至恒重,测定肺组织干重(D),计算肺组织W/D。

**1.2.7 实时定量PCR检测肺组织AQP1和AQP5 mRNA表达水平** 取50 mg肺组织,采用TRIzol法提取总RNA,检测其浓度和纯度。RT-PCR反应条件:95℃预变性30 s;95℃5 s,58℃20 s,72℃20 s,共进行40个循环,以GAPDH作为内参照,AQP1和AQP5基因表达采用荧光定量PCR仪上的配套软件进行半定量分析。引物序列如下:AQP1(280 bp)上游5'-TCACTTGGCCGAAATGACCTG-3',下游5'-GTCC CACCCAGAAAATCCAGT-3';AQP5(151 bp)上游5'-TCCAGGACCACACCAGAAAG-3',下游5'-ATAAATA GCACTCCGTGAGCC-3';GAPDH(226 bp)上游5'-GC

TGAGTATGTCGTGGAGTC-3',下游5'-GATGCATT GCTGACAATCTT-3'。

**1.2.8 Western blotting检测大鼠肺组织AQP1和AQP5蛋白表达水平** 取肺组织于低温下研磨、裂解,于冰上孵育30 min收集裂解液,4℃离心10 min取上清,蛋白定量至5 g/L,行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离,转至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,封闭2 h后,加入AQP1抗体(1:1000)、AQP5抗体(1:1000)一抗4℃孵育过夜,洗膜,与二抗室温孵育1 h,用增强型化学发光试剂进行显色,采用ImageJ软件对蛋白条带进行半定量分析,以GAPDH为内参。

**1.2.9 免疫组化检测大鼠肺组织AQP1和AQP5蛋白表达水平** 取右肺下叶,用4%多聚甲醛溶液固定、石蜡包埋、制作切片、脱蜡、抗原修复、洗涤等,加入AQP1抗体(1:200)、AQP5抗体(1:200)一抗4℃孵育过夜,次日加入二抗进行孵育,DAB显色、苏木精复染、脱水等处理后封片,使用免疫荧光显微镜观察并采集图像。

**1.3 统计学处理** 使用GraphPad Prism 9.0软件进行统计分析。计量资料均符合正态分布,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),进一步两两比较采用LSD-*t*检验。计数资料以例(%)表示,组间比较采用Fisher检验。*P*<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

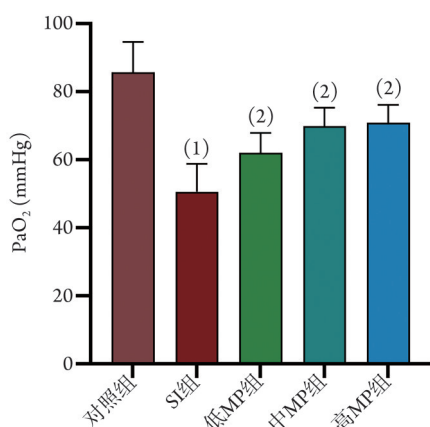
**2.1 各组大鼠一般情况** 对照组大鼠精神状态佳,反应灵敏,呼吸平稳,活动正常,被毛光洁,存活6只(100%);SI组大鼠出现呼吸急促,发绀,焦躁不安,可见口鼻分泌物增多,烟熏后被毛泛黄无光泽,活动减少,存活11只(55%);低MP组、中MP组和高MP组大鼠的上述症状有所缓解,分别存活13只(65%)、17只(85%)和16只(80%)。

与对照组比较,SI组大鼠存活率明显降低(*P*<0.05);与SI组比较,中MP组、高MP组大鼠存活率均明显升高(*P*<0.05)。

**2.2 MP治疗对大鼠PaO<sub>2</sub>的影响** 与对照组比较,SI组大鼠PaO<sub>2</sub>明显降低(*P*<0.05);与SI组比较,低、中和高MP组PaO<sub>2</sub>均明显升高(*P*<0.05,图1)。

**2.3 MP对大鼠血清TNF- $\alpha$ 和IL-6浓度的影响** ELISA法检测结果显示,与对照组比较,SI组大鼠血清TNF- $\alpha$ 和IL-6浓度均明显升高(*P*<0.05);与SI组比较,中MP组和高MP组大鼠血清TNF- $\alpha$ 和IL-6浓度均明显降低(*P*<0.05,图2)。

**2.4 MP对大鼠肺组织W/D的影响** 与对照组比较,SI组大鼠肺组织W/D明显升高(*P*<0.05);与SI组比



PaO<sub>2</sub> 动脉血氧分压; SI. 烟雾吸入; MP. 甲泼尼龙; 与对照组比较, (1) $P<0.05$ ; 与SI组比较, (2) $P<0.05$

图1 MP对烟雾吸入性急性肺损伤大鼠PaO<sub>2</sub>的影响

Fig. 1 Effects of MP on PaO<sub>2</sub> in rats with smoke inhalation-induced acute lung injury

较, 中MP组和高MP组大鼠肺组织W/D均明显降低( $P<0.05$ , 图3)。

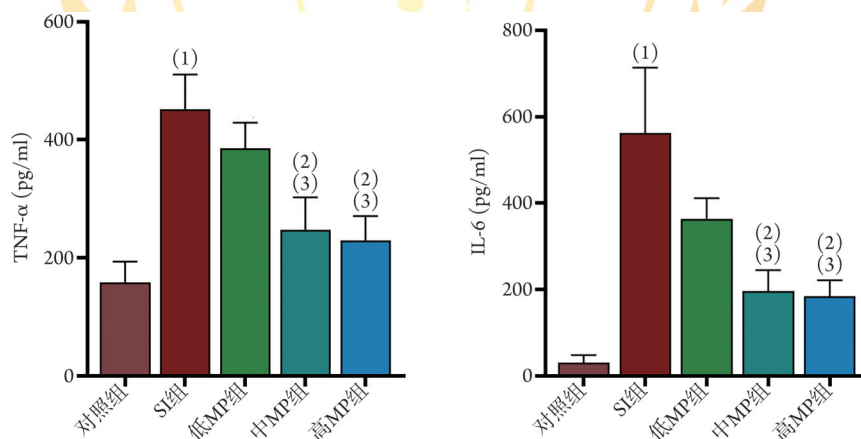
**2.5 MP对大鼠肺组织病理变化的影响** HE染色显示, 对照组肺泡结构完整, 肺泡间隔均匀一致, 无增厚、水肿及中性粒细胞浸润; SI组肺泡结构破坏

严重, 肺泡间隔明显增厚、断裂, 可见水肿、出血, 间质及肺泡内见中性粒细胞浸润; 与SI组比较, MP治疗后肺泡结构破坏减轻, 肺泡间隔增厚、水肿、出血减轻, 中性粒细胞浸润减少, 其中中MP组、高MP组肺组织病理改善更明显(图4)。与对照组比较, SI组大鼠肺损伤评分明显升高( $P<0.05$ ); 与SI组比较, 中MP组和高MP组大鼠肺损伤评分均明显降低( $P<0.05$ , 图4)。

## 2.6 MP对大鼠肺组织AQP1和AQP5表达的影响

实时定量PCR、Western blotting检测结果显示, 与对照组比较, SI组大鼠肺组织AQP1和AQP5 mRNA、蛋白表达水平均明显降低( $P<0.05$ ); 与SI组比较, 低、中和高MP组大鼠肺组织AQP1和AQP5 mRNA、蛋白表达水平均明显增高( $P<0.05$ , 图5A、B)。

免疫组化检测结果显示, 对照组大鼠肺组织呈棕黄色染色, 肺组织肺泡间隔中可见明显蓝染颗粒, 即AQP1和AQP5蛋白; SI组大鼠肺组织染色变浅, AQP1和AQP5蛋白表达减少; 低MP组、中MP组和高MP组大鼠肺组织蓝染颗粒逐渐增多, 染色明显加深, AQP1和AQP5蛋白表达升高(图5C)。



TNF-α. 肿瘤坏死因子-α; IL-6. 白细胞介素-6; SI. 烟雾吸入; MP. 甲泼尼龙; 与对照组比较, (1) $P<0.05$ ; 与SI组比较, (2) $P<0.05$ ; 与低MP组相比, (3) $P<0.05$

图2 MP对烟雾吸入性急性肺损伤大鼠血清TNF-α和IL-6浓度的影响

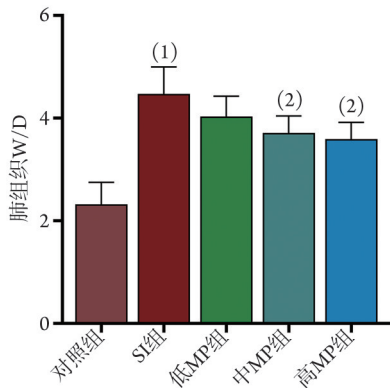
Fig. 2 Effects of MP on serum TNF-α and IL-6 concentrations in rats with smoke inhalation-induced acute lung injury

## 3 讨论

**3.1 吸入性损伤概述** 随着化纤等材料的广泛应用以及密闭空间场景增多, 火灾时吸入性损伤发生率逐渐升高。一项大型荟萃分析显示, 烧伤时吸入性损伤发生率为15.7%, 且并发吸入性损伤患者病死率显著升高<sup>[8]</sup>。吸入性损伤是火灾时的常见并发症, 严重者可导致急性肺损伤或急性呼吸窘迫综合征, 其主要病理表现包括炎症反应、肺泡损伤及气道病变等, 其中肺泡上皮损伤导致的急性肺水肿是影响

患者预后的关键环节<sup>[9]</sup>。研究显示, 糖皮质激素可减轻炎症反应, 改善肺毛细血管通透性, 促进肺水肿的恢复<sup>[10]</sup>; 但其在SI-ALI中的应用尚存在争议。本课题组前期研究显示, MP在吸入性损伤中有较好的救治作用<sup>[11]</sup>; 因此, 本研究建立SI-ALI动物模型, 通过肺组织渗透性、炎症因子、氧合情况以及病理学观察来评估肺损伤程度<sup>[12-13]</sup>, 评估不同剂量MP在SI-ALI中的救治效果, 并探究其缓解肺水肿的潜在机制。

**3.2 MP对肺水肿和炎症反应的影响** 肺水肿和肺



W/D.湿/干重比; SI.烟雾吸入; MP.甲泼尼龙; 与对照组比较, (1) $P<0.05$ ; 与SI组比较, (2) $P<0.05$

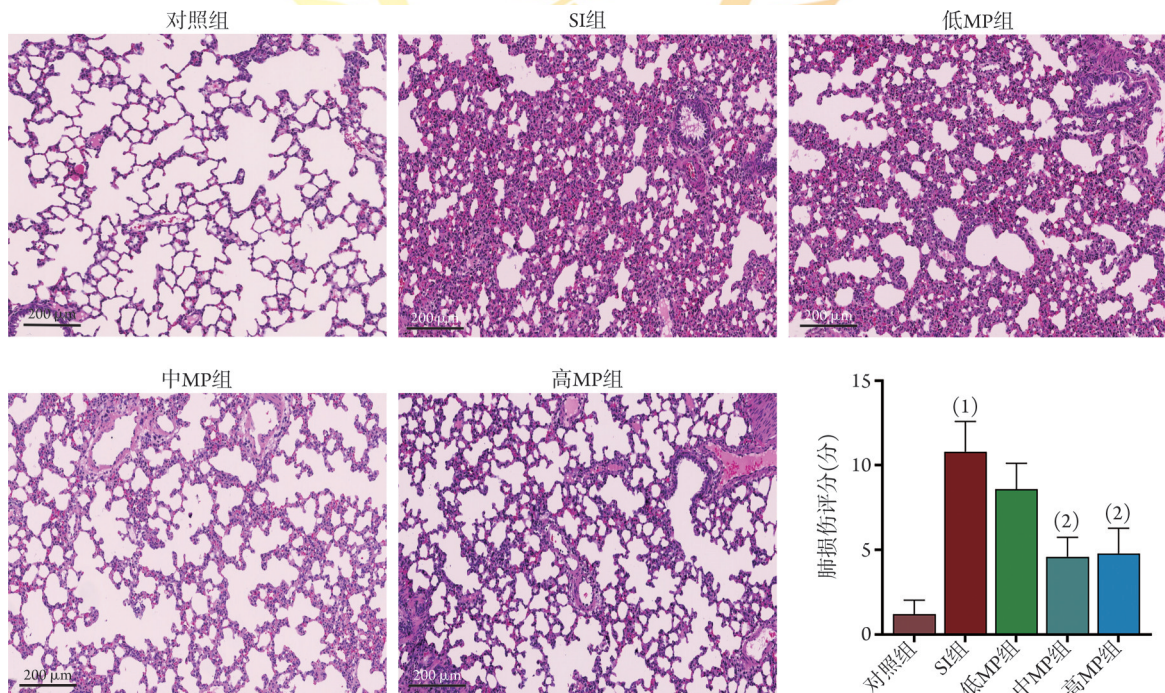
**图3** MP对烟雾吸入性急性肺损伤大鼠肺组织W/D的影响

**Fig.3** Effects of MP on lung tissue W/D ratio in rats with smoke inhalation-induced acute lung injury

泡液体清除功能是影响SI-ALI预后的重要因素,其中,肺组织W/D是反映肺水肿程度的重要指标。本研究结果显示,烟雾吸入性损伤前给予MP干预,可降低血清炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-6浓度和肺组织W/D,减轻肺组织损伤程度,以中剂量MP和高剂量MP作用效果较好。糖皮质激素在SI-ALI治疗中的使用尚存在争议。一方面,已有研究显示,糖皮质激素可减轻炎症反应,改善肺通透性,从而减轻肺组织损伤<sup>[14]</sup>;早期应用糖皮质激素可抑制炎症反应<sup>[15]</sup>,改

善肺功能<sup>[16]</sup>,进而改善患者预后。另一方面,也有研究认为,糖皮质激素可能抑制免疫功能,增加感染风险,甚至导致死亡率增高<sup>[17]</sup>,因而不建议常规用于吸入性损伤的救治<sup>[18]</sup>。分析这些矛盾的研究结果,笔者认为,糖皮质激素的剂量是影响治疗效果的关键因素,适量干预可抑制炎症反应并缓解肺损伤,但过高剂量可能增加感染的潜在风险。

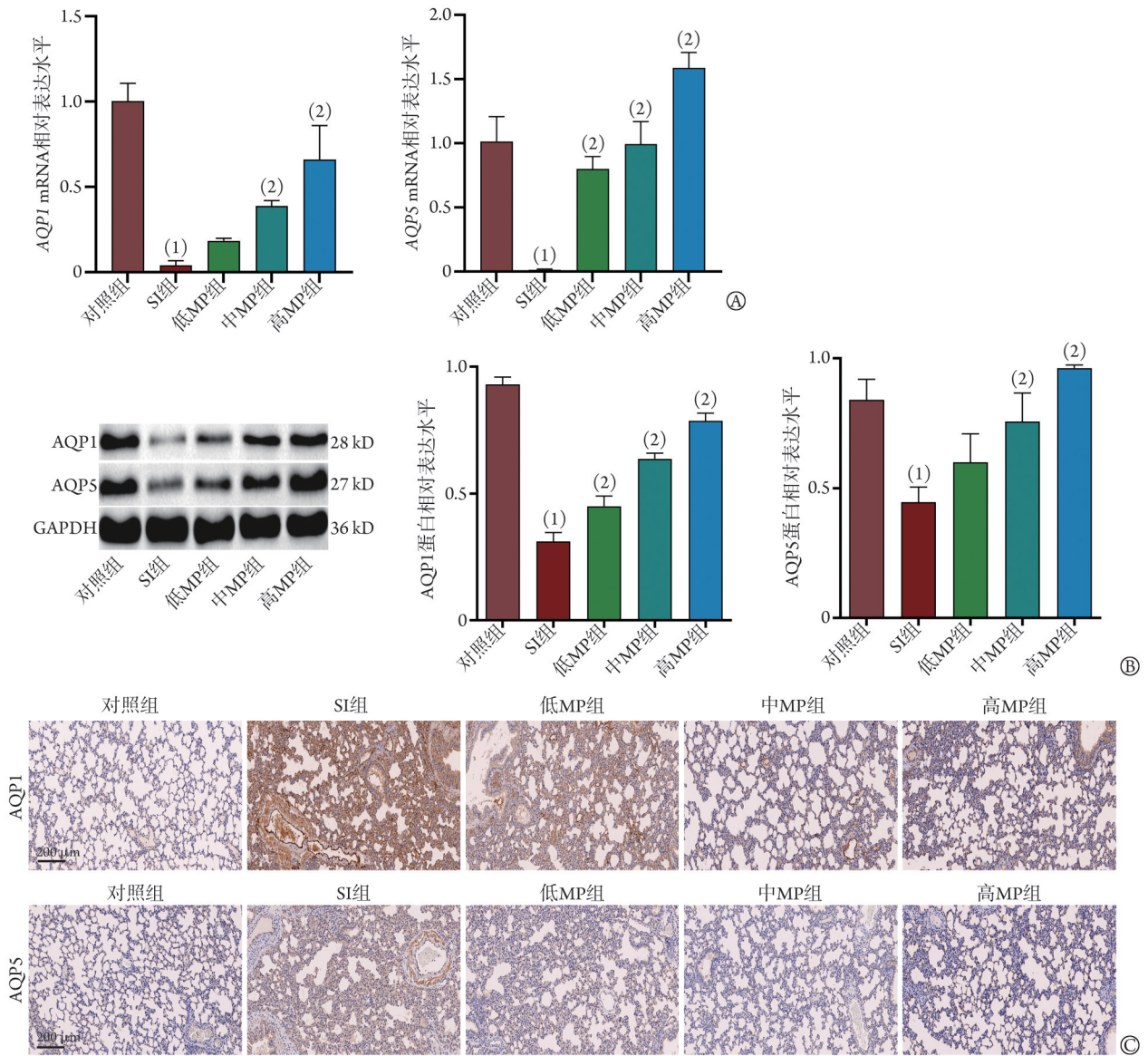
**3.3 MP对肺组织渗透性及AQP5表达的影响** 肺组织渗透性增加是SI-ALI的重要损伤机制。本研究观察了MP治疗过程中肺组织渗透性变化,特别是AQP5的调控作用。AQP1主要参与血管内外的液体交换,而AQP5主要在肺泡上皮细胞介导肺泡内液体的清除,二者协同调节肺内液体平衡<sup>[19]</sup>。然而,不同类型的肺损伤对AQP5表达的影响不同,如在LPS诱导的ALI中,AQP1和AQP5表达显著下降<sup>[20]</sup>;而在爆震伤引起的肺水肿中,AQP1和AQP5表达则升高<sup>[21]</sup>;提示肺损伤的类型不同,AQP5表达模式亦有所不同。此外,已有研究显示,某些药物可通过调控AQP5水平缓解肺损伤<sup>[22-23]</sup>。本研究结果显示,烟雾吸入后,SI-ALI大鼠肺组织出现明显水肿,且AQP1和AQP5 mRNA及蛋白表达水平均明显降低;这一现象与LPS诱导的ALI表现一致<sup>[24]</sup>,提示烟雾吸入时,可导致AQP1和AQP5表达下调,进而影响肺泡内液体的清除,导致肺水肿。MP处理后,AQP1和AQP5 mRNA及蛋白表达水平均明显上调,这一结



SI.烟雾吸入; MP.甲泼尼龙; 与对照组比较, (1) $P<0.05$ ; 与SI组比较, (2) $P<0.05$

**图4** MP对烟雾吸入性急性肺损伤大鼠肺组织病理变化(HE染色)及肺损伤评分的影响

**Fig.4** Effects of MP on pathological changes of lung tissue (HE staining) and lung injury scores in rats with smoke inhalation-induced acute lung injury



SI. 烟雾吸入; MP. 甲泼尼龙; AQP. 水通道蛋白; A. AQP1、AQP5 mRNA 相对表达水平; B. AQP1、AQP5 蛋白相对表达水平; C. 免疫组化检测肺组织 AQP1、AQP5 蛋白表达情况; 与对照组比较, (1) $P < 0.05$ ; 与 SI 组比较, (2) $P < 0.05$

图 5 MP 对烟雾吸入性急性肺损伤大鼠肺组织 AQP1 和 AQP5 表达的影响

Fig.5 Effects of MP on AQP1 and AQP5 expression in lung tissues of rats with smoke inhalation acute lung injury

果与 Zhang 等<sup>[25]</sup>报道基本一致。本研究结果显示, MP 可促进肺泡液清除, 减轻肺水肿, 进而缓解肺损伤, 其机制可能与上调肺组织 AQP1 和 AQP5 的表达有关。

**3.4 MP 作用的剂量依赖性及潜在不良反应** 有趣的是, 本研究发现 MP 诱导 AQP1 和 AQP5 表达呈剂量依赖性, 即 MP 剂量越高, AQP5 表达水平越高; 然而, 高剂量 MP 组大鼠肺水肿、氧合情况及肺损伤程度并不优于中剂量 MP 组; 这一现象提示, 糖皮质激素作用存在复杂性。虽然高剂量 MP 可更有效地上调 AQP5 的表达, 纠正 AQP5 的抑制状态, 但其也可抑制免疫反应, 这可能是高 MP 组疗效未能进一步提高的原因。综合考虑糖皮质激素的治疗效

果和感染等潜在风险, 中剂量 MP 可能是 SI-ALI 治疗的较好选择。此外, 烟雾吸入不仅造成呼吸道局部损伤, 还可诱导全身炎症反应; 为了获得更优的全身治疗效果, 本研究选择腹腔注射 MP, 而非局部雾化吸入。

**3.5 研究局限性及未来展望** 本研究存在一定局限性: 基于动物实验验证 MP 在 SI-ALI 治疗中的作用, 以及 AQP5 在其中的作用, 然而, 本研究尚未进一步验证 AQP5 发挥作用的具体机制, 这将是下一步的研究方向。此外, 近年来, 干细胞治疗、质子泵抑制剂、靶向纳米疗法等新型治疗方法已在动物模型中呈现良好的效果<sup>[26]</sup>, 未来还需要进一步验证这些新兴疗法对 SI-ALI 的治疗价值。

综上所述, 烟雾吸入可导致急性肺损伤, MP可减轻烟雾吸入导致的肺水肿和组织损伤, 其中, 中剂量的MP(4 mg/kg)优于其他剂量组。烟雾吸入可下调肺组织AQP1和AQP5的表达, 而MP可诱导AQP1和AQP5的表达上调, 进而减轻烟雾吸入导致的肺水肿和损伤, 发挥治疗作用。未来可探索靶向AQP5用于吸入性肺损伤治疗的可能。

#### 【参考文献】

- [1] 顾彩虹, 李小民, 康秀文. 吸入性损伤致重度急性呼吸窘迫综合征1例[J]. 中华烧伤与创面修复杂志, 2023, 39(12): 1185-1189.
- [2] 侯亚宁, 郭光华. 国际专家组确定烧伤吸入性损伤最佳诊断和治疗的改良德尔菲法研究[J]. 中华烧伤与创面修复杂志, 2024, 40(11): 1015.
- [3] Milton-Jones H, Soussi S, Davies R, *et al.* An international RAND/UCLA expert panel to determine the optimal diagnosis and management of burn inhalation injury[J]. *Crit Care*, 2023, 27(1): 459.
- [4] Login FH, Nejsum LN. Aquaporin water channels: roles beyond renal water handling[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2023, 19(9): 604-618.
- [5] Wang L, Wang J, Zhu X, *et al.* Aquaporins in respiratory system[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2023, 1398:137-144.
- [6] 王旭红, 王瑞哲, 寇育乐, 等. 地塞米松联合谷氨酰胺减轻急性肺损伤大鼠肺组织炎症和肺水肿的机制[J]. 细胞与免疫学杂志, 2023, 39(11): 996-1002.
- [7] Murao Y, Loomis W, Wolf P, *et al.* Effect of dose of hypertonic saline on its potential to prevent lung tissue damage in a mouse model of hemorrhagic shock[J]. *Shock*, 2003, 20(1): 29-34.
- [8] Galeiras R, Seoane-Quiroga L, Pertega-Diaz S. Prevalence and prognostic impact of inhalation injury among burn patients: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2020, 88(2): 330-344.
- [9] Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome[J]. *N Engl J Med*, 2000, 342(18): 1334-1349.
- [10] Noetzlin S, Breville G, Seebach JD, *et al.* Short-term glucocorticoid-related side effects and adverse reactions: a narrative review and practical approach[J]. *Swiss Med Wkly*, 2022, 152: w30088.
- [11] Song LC, Chen XX, Meng JG, *et al.* Effects of different corticosteroid doses and durations on smoke inhalation-induced acute lung injury and pulmonary fibrosis in the rat[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 71: 392-403.
- [12] Leiphkrpam PD, Weber HR, Ogun T, *et al.* Rat model of smoke inhalation-induced acute lung injury[J]. *BMJ Open Respir Res*, 2021, 8(1): e000879.
- [13] 向小琴, 张婷婷, 钟江姗, 等. 短链脂肪酸对脂多糖诱导的大鼠急性呼吸窘迫综合征的影响及其作用机制[J]. 解放军医学杂志, 2022, 47(6): 561-568.
- [14] Zhang J, Ge P, Liu J, *et al.* Glucocorticoid treatment in acute respiratory distress syndrome: an overview on mechanistic insights and clinical benefit[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(15): 12138.
- [15] Villar J, Ferrando C, Martinez D, *et al.* Dexamethasone treatment for the acute respiratory distress syndrome: a multicentre, randomised controlled trial[J]. *Lancet Respir Med*, 2020, 8(3): 267-276.
- [16] Focerrada G, Culnan DM, Capek KD, *et al.* Inhalation injury in the burned patient[J]. *Ann Plast Surg*, 2018, 80(3 Suppl 2): S98-S105.
- [17] Ruan SY, Lin HH, Huang CT, *et al.* Exploring the heterogeneity of effects of corticosteroids on acute respiratory distress syndrome: a systematic review and meta-analysis[J]. *Crit Care*, 2014, 18(2): R63.
- [18] Enkhbaatar P, Pruitt BJ, Suman O, *et al.* Pathophysiology, research challenges, and clinical management of smoke inhalation injury[J]. *Lancet*, 2016, 388(10052): 1437-1446.
- [19] Yadav E, Yadav N, Hus A, *et al.* Aquaporins in lung health and disease: emerging roles, regulation, and clinical implications[J]. *Respir Med*, 2020, 174: 106193.
- [20] Hasan B, Li FS, Siyit A, *et al.* Expression of aquaporins in the lungs of mice with acute injury caused by LPS treatment[J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2014, 200: 40-45.
- [21] 卢琪珏, 李春光, 张冠鑫. 水通道蛋白1和水通道蛋白5在肺爆震伤肺水肿中的敏感性和特异性分析[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志, 2016, 23(4): 278-282.
- [22] Zhang S, Yue Y, Liu J, *et al.* Fusu mixture alleviates inflammatory reactions in lipopolysaccharide-induced acute respiratory distress syndrome mice *via* regulation of surfactant-associated protein C, aquaporin 5, and Notch1[J]. *J Thorac Dis*, 2023, 15(6): 3409-3420.
- [23] Hang CC, Guo YH, Li CS, *et al.* Ulinastatin exerts the protective effects of lung by up-regulating aquaporins expression in a two-hit porcine model of acute respiratory distress syndrome[J]. *Biomed Environ Sci*, 2021, 34(12): 1029-1032.
- [24] 刘永浩. 血管内皮生长因子和水通道蛋白在肺水肿中的表达分析[J]. 中国医学创新, 2019, 16(23): 19-22.
- [25] Zhang HH, Zhou XJ, Zhong YS, *et al.* Naringin suppressed airway inflammation and ameliorated pulmonary endothelial hyperpermeability by upregulating aquaporin1 in lipopolysaccharide/cigarette smoke-induced mice[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 150: 113035.
- [26] Mercel A, Tsihlis ND, Maile R, *et al.* Emerging therapies for smoke inhalation injury: a review[J]. *J Transl Med*, 2020, 18(1): 141.

(责任编辑: 蒋铭敏)