

论 著

右美托咪定通过 $\alpha 7$ nAChR介导的TLR4/NF- κ B通路减轻脂多糖诱导的急性肺损伤姜远旭^{1,2}, 詹美俊^{1,2}, 幸志强^{1,2}, 刘占立^{1,2}, 魏安山^{1,2*}¹深圳市人民医院(南方科技大学第一附属医院/暨南大学第二临床医学院)麻醉科, 广东深圳 518020; ²深圳市麻醉医学工程技术研究中心, 广东深圳 518020

[摘要] **目的** 探讨右美托咪定是否通过 $\alpha 7$ 烟碱乙酰胆碱受体($\alpha 7$ nAChR)介导的Toll样受体4(TLR4)/核因子- κ B(NF- κ B)通路减轻脂多糖(LPS)诱导的急性肺损伤(ALI)。**方法** 24只Wistar大鼠随机分为对照组、急性肺损伤组、右美托咪定治疗组与 $\alpha 7$ nAChR抑制剂 α -BGT组, 每组6只。麻醉后, 对照组腹腔注射生理盐水; 急性肺损伤组股静脉注射LPS(10 mg/kg)诱导ALI模型; 右美托咪定治疗组给予LPS后即刻股静脉持续输注右美托咪定[5 μ g/(kg·h)]至实验结束; $\alpha 7$ nAChR抑制剂 α -BGT组在输注右美托咪定前半小时腹腔注射1 μ g/kg α -BGT, 其余处理同右美托咪定治疗组。LPS注射后12 h处死大鼠, 收集血液和肺组织。HE染色观察肺组织病理学变化并进行损伤评分。抽取颈动脉血检测氧分压(PaO₂)、碳酸氢根(HCO₃⁻)及乳酸(Lac)水平; 测定肺组织湿/干重比(W/D)和髓过氧化物酶(MPO)活性; 计数支气管肺泡灌洗液(BALF)中总细胞、中性粒细胞及巨噬细胞数; ELISA法检测血液中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、IL-10水平; Western blotting检测肺组织中 $\alpha 7$ nAChR、TLR4、p-NF- κ B蛋白表达水平。**结果** 肺组织病理学观察见右美托咪定治疗可明显减轻LPS诱导的肺泡壁和肺组织间隔增厚以及炎性细胞浸润, 降低肺损伤病理评分(P<0.01)。与对照组比较, 急性肺损伤组PaO₂、HCO₃⁻水平降低, Lac、W/D、TNF- α 、IL-6、IL-10水平及MPO活性升高, 总细胞、中性粒细胞及巨噬细胞计数增多, 肺组织中 $\alpha 7$ nAChR、TLR4、p-NF- κ B蛋白表达水平升高(P<0.01); 与急性肺损伤组比较, 右美托咪定治疗组PaO₂、HCO₃⁻、IL-10水平升高, Lac、W/D、TNF- α 、IL-6水平及MPO活性降低, 总细胞、中性粒细胞及巨噬细胞计数减少, 肺组织中 $\alpha 7$ nAChR蛋白表达水平升高, TLR4、p-NF- κ B蛋白表达水平降低(P<0.01)。而右美托咪定的作用可被 $\alpha 7$ nAChR抑制剂 α -BGT部分逆转。**结论** 右美托咪定可能通过 $\alpha 7$ nAChR介导的TLR4/NF- κ B通路减轻LPS诱导的ALI。

[关键词] 右美托咪定; 急性肺损伤; $\alpha 7$ 烟碱乙酰胆碱受体; Toll样受体4/核因子- κ B**[中图分类号]** R714.253 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0577-7402(2021)03-0231-07**[DOI]** 10.11855/j.issn.0577-7402.2021.03.03Dexmedetomidine alleviates LPS-induced acute lung injury by $\alpha 7$ nAChR mediated TLR4/NF- κ B pathwayJiang Yuan-Xu^{1,2}, Zhan Mei-Jun^{1,2}, Xing Zhi-Qiang^{1,2}, Liu Zhan-Li^{1,2}, Wei An-Shan^{1,2*}¹Department of Anesthesiology, Shenzhen People's Hospital (the First Affiliated Hospital of Southern University of Science and Technology/the Second Clinical Medical College of Ji'nan University), Shenzhen, Guangdong 518020, China²Shenzhen Engineering Research Center of Anesthesiology, Shenzhen, Guangdong 518020, China

*Corresponding author, E-mail: 13613051840@163.com

This work was supported by the Shenzhen Key Medical Discipline Construction Fund (SZXK044), and the Sanming Project of Medicine in Shenzhen (SZSM202011021)

[Abstract] **Objective** To investigate whether dexmedetomidine alleviates lipopolysaccharide (LPS)-induced acute lung injury (ALI) through alpha-7 nicotinic acetylcholine receptor ($\alpha 7$ nAChR) mediated TLR4/NF- κ B pathways. **Methods** Twenty-four Wistar rats were randomly divided into 4 groups: control group ($n=6$), acute lung injury group ($n=6$), dexmedetomidine treatment group ($n=6$), and $\alpha 7$ nAChR inhibitor α -BGT group ($n=6$). After anesthesia, rats in the control group were intraperitoneally injected with normal saline to serve as normal control; the rest rats all received LPS (10 mg/kg) *via* a femoral vein to induce the ALI model. For the dexmedetomidine treatment group, rats were continuously injected with dexmedetomidine (5 μ g/kg per hour) *via* the femoral vein immediately after

[基金项目] 深圳市医学重点学科建设经费(SZXK044); 深圳市“医疗卫生三名工程”项目(SZSM202011021)**[作者简介]** 姜远旭, 医学博士, 主任医师, 主要从事围术期器官损伤的基础与临床研究。E-mail: 13613051840@163.com**[通信作者]** 魏安山, E-mail: 13613051840@163.com

LPS administration. For the $\alpha 7$ nAChR inhibitor α -BGT group, rats received 1 μ g/kg α -BGT half an hour before dexmedetomidine administration as the dexmedetomidine treatment group. The rats were sacrificed 12 hours after LPS injection to collect the blood and lung tissues. Histology of the lungs was examined with HE staining. The lung injury score was calculated. In the blood sample, PaO₂, HCO₃⁻, Lac, W/D, MPO activity were measured. The number of total cells, neutrophils, and macrophages in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were measured, and the concentrations of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), IL-10 in serum were measured by ELISA. The protein expression of $\alpha 7$ nAChR, TLR4, p-NF- κ B were determined by Western blotting. **Results** Compared with the control group, LPS induced marked lung histological injury, which was less pronounced in the dexmedetomidine treatment group. Compared with the control group, the levels of PaO₂ and HCO₃⁻ were decreased, Lac, W/D, TNF- α , IL-6, IL-10, MPO, the total number of cells, neutrophils, and macrophages were increased in the acute lung injury group ($P < 0.01$). Compared with the acute lung injury group, PaO₂, HCO₃⁻ and IL-10 were increased, and Lac, W/D, TNF- α , IL-6, MPO, the total number of cells, neutrophils, and macrophages were decreased in the dexmedetomidine treatment group ($P < 0.01$). Compared with the control group, the protein levels of $\alpha 7$ nAChR, TLR4, p-NF- κ B were increased in the acute lung injury group ($P < 0.01$). Compared with the acute lung injury group, the protein levels of $\alpha 7$ nAChR was increased, and TLR4, p-NF- κ B were decreased in the dexmedetomidine treatment group ($P < 0.01$). However, the effect of dexmedetomidine was reversed by the $\alpha 7$ nAChR inhibitor α -BGT. **Conclusion** Dexmedetomidine may reduce LPS-induced ALI through $\alpha 7$ nAChR mediated TLR4/NF- κ B pathways.

[Key words] dexmedetomidine; acute lung injury; alpha-7 nicotinic acetylcholine receptor; Toll-like receptor 4/nuclear factor- κ B

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是一种危重症, 主要由各种致病因素导致的全身炎症反应失控所致^[1-2], 由于其病死率高而备受关注。既往动物研究发现, 右美托咪定可通过抑制炎症反应而减轻脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的ALI^[3]。临床研究发现, 右美托咪定可通过减轻炎症反应对行全胸腔镜二尖瓣手术患者的肺功能发挥保护作用^[4]。右美托咪定的抗炎作用比较明确, 但具体机制尚不清楚。Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)/核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路在炎症反应调控中扮演着重要角色^[5-6]。体内外研究发现, 右美托咪定可通过抑制TLR4/NF- κ B的表达而减轻炎症反应^[7]。烟碱型乙酰胆碱受体(nicotinic acetylcholine receptor, nAChRs)在调节胆碱能抗炎系统中起重要作用, 其中 $\alpha 7$ nAChR是研究最多的亚型之一。既往研究发现, $\alpha 7$ nAChR激动剂可能通过抑制TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路减轻体外循环诱导的大鼠脑神经元凋亡, 并对其脑损伤起到保护作用^[8]。在脓毒症模型中, 刺激 $\alpha 7$ nAChRs可抑制TLR4/NF- κ B的表达, 进而减轻脓毒症损伤^[9]。但右美托咪定减轻ALI的作用是否与 $\alpha 7$ nAChRs介导的TLR4/NF- κ B下调有关尚不明确。本研究旨在探讨右美托咪定是否通过 $\alpha 7$ nAChR介导的TLR4/NF- κ B通路减轻LPS诱导的ALI。

1 材料与方法

1.1 实验动物及试剂 SPF级Wistar大鼠24只, 4~7周龄, 体重180~200 g, 购自广东省医学实验动物中心。右美托咪定(江苏恒瑞医药股份有限公司); 脂多糖(*Escherichia coli* 055:BS, 美国Sigma公司); 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白

细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-10 ELISA试剂盒(美国R&D Systems公司); 抗 $\alpha 7$ nAChR、TLR4、p-NF- κ B抗体、辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG二抗、 β -actin(美国Abcam公司); 髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.2 方法

1.2.1 大鼠ALI模型制备及实验分组 大鼠腹腔注射3%戊巴比妥钠50 mg/kg麻醉, 股静脉置入24#套管供实验中补液和给药。颈部皮肤消毒, 正中切口, 暴露气管并造口, 插入自制气管导管。大鼠随机分为对照组、急性肺损伤组、右美托咪定治疗组与 $\alpha 7$ nAChR抑制剂 α -BGT组, 每组6只。麻醉后, 对照组腹腔注射生理盐水; 急性肺损伤组股静脉注射LPS(10 mg/kg)诱导ALI模型; 参照文献[10], 右美托咪定治疗组给予LPS后即刻股静脉持续输注右美托咪定[5 μ g/(kg·h)]至实验结束; $\alpha 7$ nAChR抑制剂 α -BGT组在输注右美托咪定前半小时腹腔注射1 μ g/kg α -BGT, 其余处理同右美托咪定治疗组。LPS注射后12 h处死大鼠, 收集血液和肺组织。实验过程符合国家 and 单位有关实验动物的管理和使用规定。

1.2.2 HE染色观察大鼠肺组织病理学变化 参照文献[11]进行肺组织病理学观察及肺损伤评分。取部分肺组织, 用10%多聚甲醛固定、石蜡包埋、切片、HE染色, 光镜下观察。采用半定量评分系统评价肺损伤情况, 包括肺泡充血、肺泡出血、中性粒细胞浸润和肺泡壁厚度。评分标准如下: 0分=无损伤; 1分=轻度损伤(25%); 2分=中度损伤(50%); 3分=重度损伤(75%); 4分=极重度损伤(100%)。各项评定分数相加为肺损伤总评分。

1.2.3 肺组织湿/干重比(W/D)测定 大鼠处死后,

取右肺上叶，滤纸蘸干表面水分，置于干燥洁净的玻璃瓶中，精确称重，然后置于75℃恒温烤箱中，烘烤24h至恒重，测定肺组织干重，计算W/D。

1.2.4 动脉血气分析 大鼠处死前抽取颈动脉血，检测氧分压(PaO₂)、碳酸氢根(HCO₃⁻)、乳酸(Lac)水平。

1.2.5 支气管肺泡灌洗液(BALF)中总细胞、中性粒细胞及巨噬细胞计数 开胸后，分离并结扎右侧主支气管，经气管缓慢注入冷生理盐水3ml，用注射器抽吸2或3次，每次间隔1min，收集BALF，取1ml于显微镜下在计数板上行细胞分类及计数。

1.2.6 肺组织MPO活性检测 取肺组织100mg解冻，制备肺组织匀浆测定MPO活性，具体操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.2.7 ELISA法检测血清TNF-α、IL-6、IL-10水平 取冰冻血清，解冻，采用ELISA法测定TNF-α、IL-6、IL-10水平，严格按照试剂盒说明书操作。

1.2.8 Western blotting检测肺组织中α7nAChR、TLR4、p-NF-κB蛋白的表达 取部分肺组织，经细胞裂解、蛋白定量、凝胶电泳分离及转膜后，5%脱脂奶粉封闭1h，加入抗α7nAChR(1:400)、TLR4(1:1000)、p-NF-κB(1:1000)一抗，1%脱脂奶粉孵育过夜。洗膜，加入辣根过氧化物酶二抗(1:2000)孵育；洗膜，加入化学发光增强剂自显影。采用ImageJ软件(美国国立卫生研究院)对蛋白条带进行扫描分析，以β-actin为内参，计算各蛋白

的相对表达量。

1.3 统计学处理 采用SPSS 13.0软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用SNK-q检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组肺组织病理学变化 HE染色结果显示，对照组肺组织结构基本正常；急性肺损伤组肺组织间隔增厚，肺血管充血，炎性细胞浸润；与急性肺损伤组比较，右美托咪定治疗组肺组织形态变化减轻(图1A)。与对照组比较，急性肺损伤组肺损伤病理评分升高[(0.17 ± 0.41)分 vs. (3.33 ± 0.52)分，P<0.01]；与急性肺损伤组比较，右美托咪定治疗组肺损伤病理评分降低[(1.50 ± 0.55)分，P<0.01]；与右美托咪定治疗组比较，α7nAChR抑制剂α-BGT组肺损伤病理评分升高[(3.00 ± 0.63)分，P<0.01，图1B)。

2.2 各组肺组织W/D比较 与对照组比较，急性肺损伤组W/D升高(P<0.01)；与急性肺损伤组比较，右美托咪定治疗组W/D降低(6.63 ± 0.53 vs. 4.62 ± 0.71, P<0.01)；与右美托咪定治疗组比较，α7nAChR抑制剂α-BGT组W/D升高(4.62 ± 0.71 vs. 5.42 ± 0.48, P<0.05, 图1C)。

2.3 各组大鼠PaO₂、HCO₃⁻、Lac水平比较 动脉血气分析结果显示，与对照组比较，急性肺

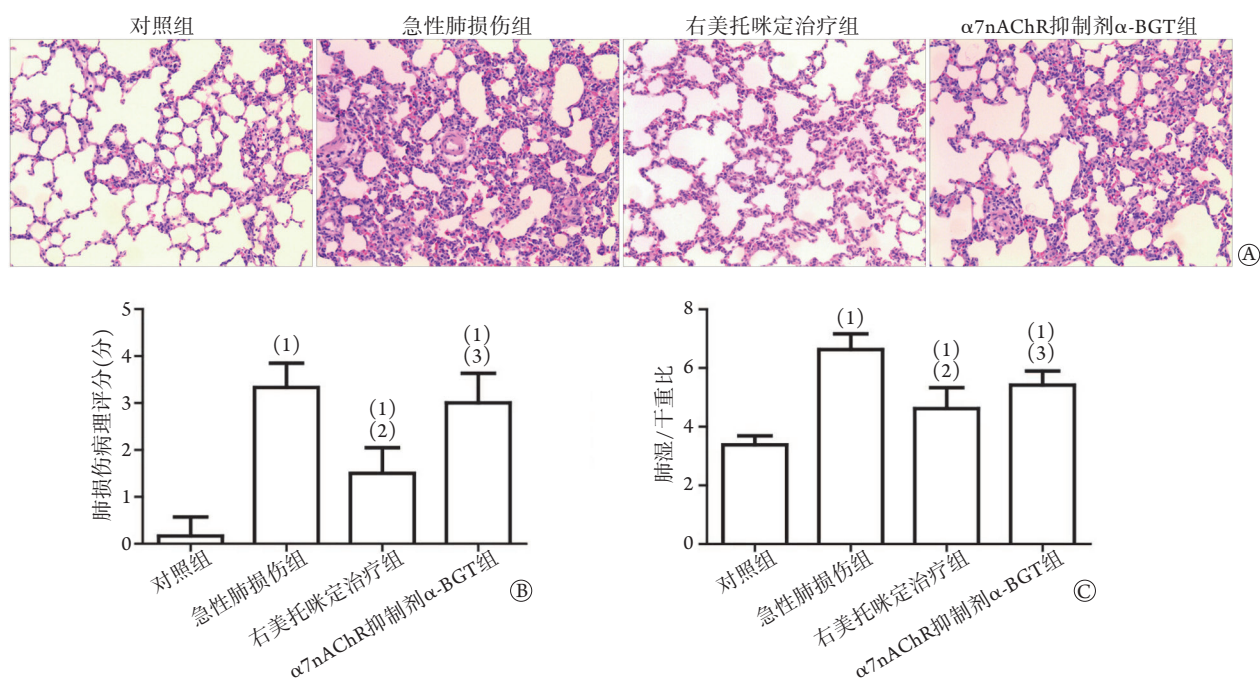


图1 右美托咪定对LPS诱导的ALI的影响(HE × 200)

Fig.1 Effects of dexmedetomidine on LPS-induced ALI (HE × 200)

LPS. 脂多糖; ALI. 急性肺损伤; A. 肺组织HE染色(×200); B. 肺损伤病理评分; C. 肺组织W/D; 与对照组比较, (1)P<0.01; 与急性肺损伤组比较, (2)P<0.01; 与右美托咪定治疗组比较, (3)P<0.05或P<0.01。

损伤组血液PaO₂、HCO₃⁻水平降低，Lac水平升高(P<0.01)；与急性肺损伤组比较，右美托咪定治疗组PaO₂、HCO₃⁻水平升高[(61±8) mmHg vs. (86±8) mmHg, (12.23±1.87) mmol/L vs. (20.08±1.93) mmol/L, P<0.01]，Lac水平降低[(4.95±0.51) mmol/L vs. (2.00±0.26) mmol/L, P<0.01]；与右美托咪定治疗组比较，α7nAChR抑制剂α-BGT组PaO₂、HCO₃⁻水平降低[(74±4) mmHg、(16.95±1.86) mmol/L]，Lac水平升高[(2.65±0.29) mmol/L, P<0.01, 图2]。

2.4 各组大鼠BALF中总细胞、中性粒细胞、巨噬细胞计数及肺组织MPO活性比较 与对照组比较，急性肺损伤组BALF中总细胞、中性粒细胞、

巨噬细胞计数增多(P<0.01)，肺组织MPO活性升高(P<0.01)；与急性肺损伤组比较，右美托咪定治疗组BALF中总细胞、中性粒细胞、巨噬细胞计数减少[(5.63±0.51)×10⁶/ml vs. (3.62±0.44)×10⁶/ml, (0.54±0.09)×10⁶/ml vs. (0.30±0.07)×10⁶/ml, (2.47±0.37)×10⁶/ml vs. (1.36±0.32)×10⁶/ml, P<0.01]，肺组织MPO活性降低[(4.22±0.63) U/g vs. (2.08±0.26) U/g, P<0.01]；与右美托咪定治疗组比较，α7nAChR抑制剂α-BGT组BALF中总细胞[(4.68±0.50)×10⁶/ml]、中性粒细胞[(0.41±0.04)×10⁶/ml]、巨噬细胞[(2.00±0.16)×10⁶/ml]计数增多，肺组织MPO活性升高[(3.11±0.28) U/g, P<0.01, 图3]。

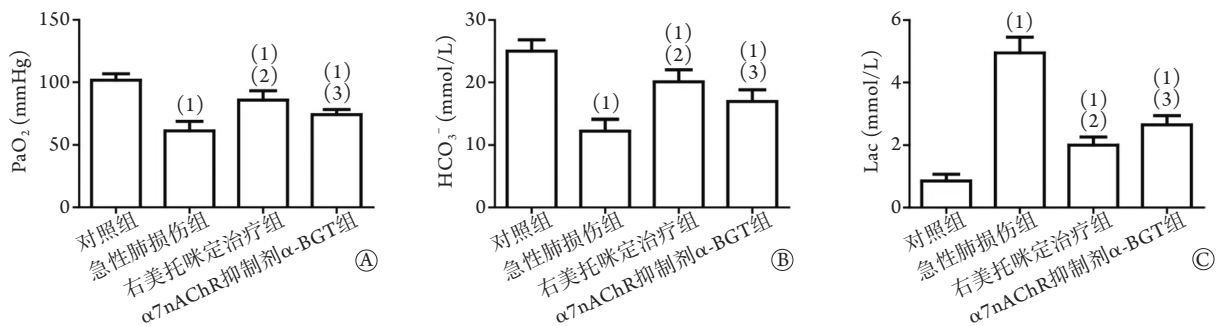


图2 右美托咪定对各组大鼠PaO₂、HCO₃⁻及Lac水平的影响

Fig.2 Effects of dexmedetomidine on PaO₂, HCO₃⁻ and Lac in arterial blood of rats in each group

PaO₂ 动脉血氧分压；HCO₃⁻ 碳酸氢根；Lac 乳酸；A. 各组大鼠PaO₂水平比较；B. 各组大鼠HCO₃⁻水平比较；C. 各组大鼠Lac水平比较；与对照组比较，(1)P<0.01；与急性肺损伤组比较，(2)P<0.01；与右美托咪定治疗组比较，(3)P<0.01。

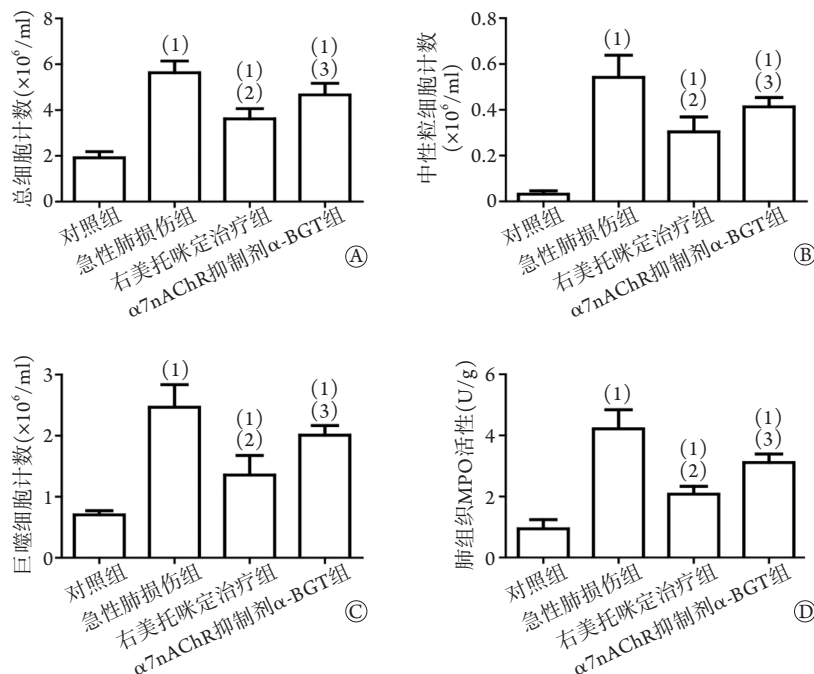


图3 右美托咪定对各组大鼠BALF中炎性细胞和肺组织MPO活性的影响

Fig.3 Effects of dexmedetomidine on inflammatory cells in bronchoalveolar lavage fluid and MPO activity in lung tissues of rats in each group

BALF 肺泡灌洗液；MPO 髓过氧化物酶；A. BALF中总细胞计数；B. BALF中中性粒细胞计数；C. BALF中巨噬细胞计数；D. 肺组织MPO活性；与对照组比较，(1)P<0.01；与急性肺损伤组比较，(2)P<0.01；与右美托咪定治疗组比较，(3)P<0.05或P<0.01。

2.5 各组大鼠血清TNF-α、IL-6、IL-10水平比较 ELISA法检测结果显示,与对照组比较,急性肺损伤组血清TNF-α、IL-6及IL-10水平升高($P<0.01$);与急性肺损伤组比较,右美托咪定治疗组TNF-α、IL-6水平降低 $[(1046.41 \pm 109.61) \text{ pg/ml vs. } (469.69 \pm 53.82) \text{ pg/ml}, (2347.94 \pm 196.11) \text{ pg/ml vs. } (1408.64 \pm 163.20) \text{ pg/ml}]$, IL-10水平升高 $[(652.94 \pm 53.49) \text{ pg/ml vs. } (1249.35 \pm 136.69) \text{ pg/ml}, P<0.01]$;与右美托咪定治疗组比较,α7nAChR抑制剂α-BGT组TNF-α、IL-6水平升高 $[(821.64 \pm 65.72) \text{ pg/ml}, (2007.788.64 \pm 142.67) \text{ pg/ml}]$, IL-10水平降低 $[(862.96 \pm 69.15) \text{ pg/ml}, P<0.01, \text{ 图4}]$ 。

2.6 各组大鼠肺组织α7nAChR、TLR4、p-NF-κB蛋白表达水平比较 Western blotting检测结果显示,与对照组比较,急性肺损伤组肺组织α7nAChR、TLR4、p-NF-κB蛋白表达水平升高 $(0.05 \pm 0.02、0.08 \pm 0.02、0.27 \pm 0.02, P<0.01)$;与急性肺损伤组比较,右美托咪定治疗组α7nAChR蛋白表达水平进一步升高 $(0.16 \pm 0.01 \text{ vs. } 0.36 \pm 0.01)$, TLR4、p-NF-κB蛋白表达水平降低 $(0.40 \pm 0.03 \text{ vs. } 0.15 \pm 0.01, 0.69 \pm 0.07 \text{ vs. } 0.33 \pm 0.03, P<0.01)$;与右美托咪定治疗组比较,α7nAChR抑制剂α-BGT组α7nAChR蛋白表达水平降低 (0.28 ± 0.02) , TLR4、p-NF-κB蛋白表达水平升高 $(0.21 \pm 0.02、0.46 \pm 0.02, P<0.01, \text{ 图5})$ 。

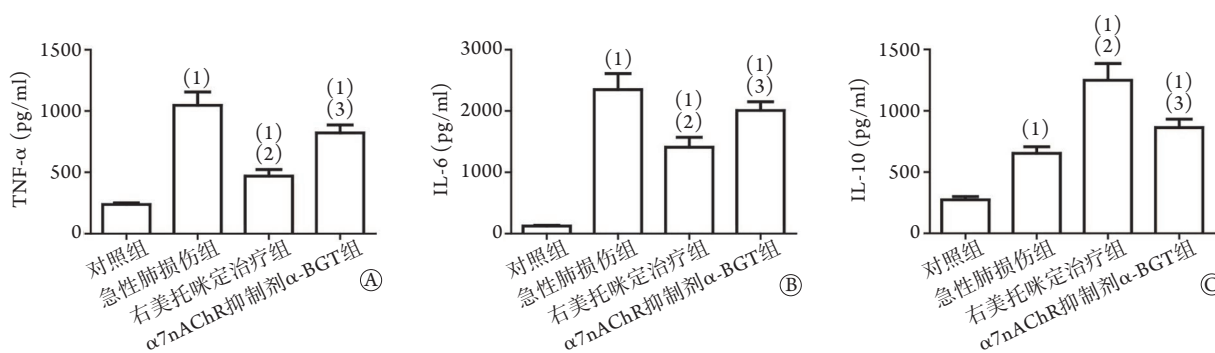


图4 右美托咪定对各组大鼠血清炎性细胞因子的影响

Fig.4 Effects of dexmedetomidine on inflammatory cytokines in blood of rats in each group

A. 各组大鼠血清TNF-α水平比较; B. 各组大鼠血清IL-6水平比较; C. 各组大鼠血清IL-10水平比较; 与对照组比较, (1) $P<0.01$; 与急性肺损伤组比较, (2) $P<0.01$; 与右美托咪定治疗组比较, (3) $P<0.01$ 。

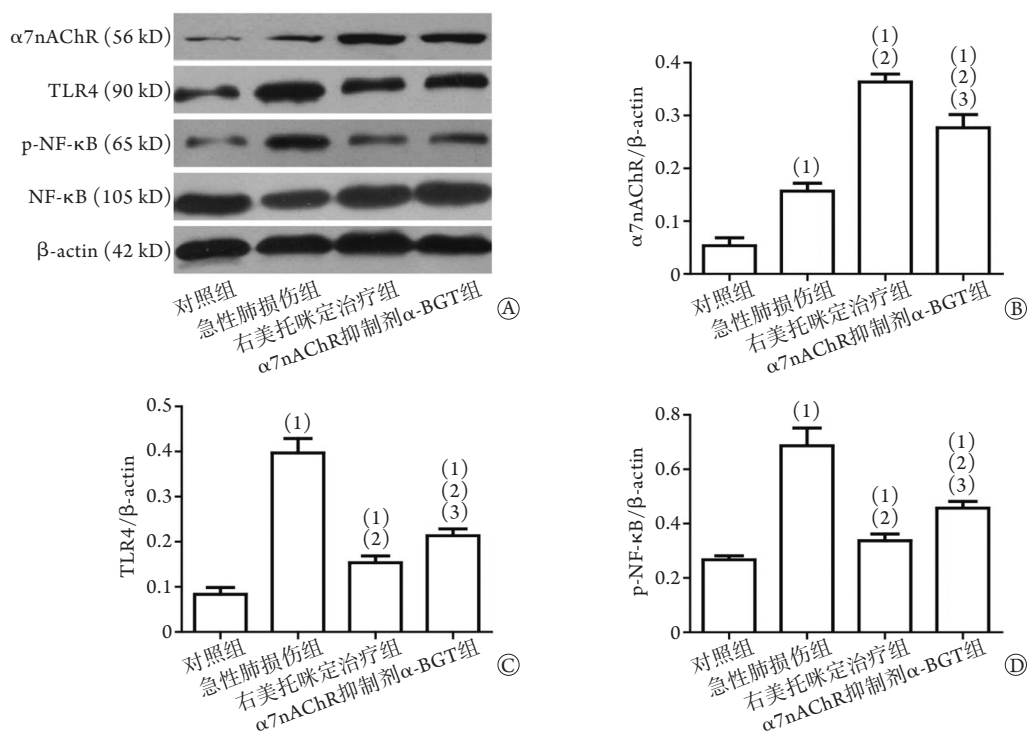


图5 右美托咪定对各组大鼠肺组织α7nAChR、TLR4、p-NF-κB蛋白表达的影响

Fig.5 Effects of dexmedetomidine on the expression of α7nAChR, TLR4 and p-NF-κB proteins in lung tissues of rats in each group

A. α7nAChR、TLR4、p-NF-κB蛋白表达; B—D. α7nAChR、TLR4、p-NF-κB蛋白定量; 与对照组比较, (1) $P<0.01$; 与急性肺损伤组比较, (2) $P<0.01$; 与右美托咪定治疗组比较, (3) $P<0.01$ 。

3 讨 论

LPS是革兰阴性杆菌细胞壁的主要成分,常用来诱导建立ALI模型^[12]。本研究动脉血气分析结果显示,静脉注射10 mg/kg LPS 12 h后,急性肺损伤组大鼠PaO₂水平降低, HCO₃⁻、Lac水平升高,表明大鼠出现明显的低氧血症及细胞缺氧;急性肺损伤组W/D增高表明肺组织水肿。MPO活性可反映中性粒细胞在组织中的聚集程度,本研究中急性肺损伤组MPO活性明显增高,提示肺组织中有大量中性粒细胞浸润;急性肺损伤组BALF中中性粒细胞、巨噬细胞计数明显增多,表明LPS诱导了明显的炎症反应。肺组织病理学观察显示,急性肺损伤组肺泡正常结构破坏,肺泡壁水肿,肺间质增厚,肺泡腔内有中性粒细胞等炎性细胞浸润;与对照组比较,急性肺损伤组肺损伤病理评分明显增高,提示股静脉注射LPS成功制备了大鼠ALI模型。

炎症反应在ALI发生发展中扮演着重要角色。LPS使中性粒细胞激活,然后巨噬细胞等炎性细胞被激活而大量释放TNF- α 等炎性细胞因子,这些炎性细胞因子反过来激活炎性细胞,最终形成炎症瀑布反应,损害各个器官的功能,其中肺组织最先受到打击。中性粒细胞激活后,通过释放ROS、中性粒细胞弹性蛋白酶等造成肺毛细血管内皮和肺泡上皮等实质细胞损伤,导致肺通透性增加^[13-14],从而使肺组织内液体生成增多。此外,中性粒细胞等炎性细胞释放的炎性细胞因子如TNF- α 、IL-6等还可导致肺泡内液体吸收减少。故炎症反应可导致严重的肺水肿,进而导致氧合功能障碍及严重的低氧血症。因此,抑制炎症反应在ALI的治疗中尤为重要。右美托咪定是一种高选择性的 α_2 肾上腺素能受体(α_2 AR)激动剂,因其镇静作用强且对呼吸的影响小而广泛应用于重症患者的镇静及作为全麻辅助用药^[15]。一项随机对照临床研究发现,右美托咪定可降低术后肺部并发症的发生率^[16]。近年来研究发现,右美托咪定具有抗炎作用^[17-18]。本研究结果显示,右美托咪定可降低肺组织MPO活性及BALF中中性粒细胞及巨噬细胞计数,抑制促炎细胞因子TNF- α 、IL-6等的释放,促进抗炎细胞因子IL-10的释放,提示右美托咪定可减轻LPS诱导的炎症反应。本研究结果显示,右美托咪定治疗可明显减轻LPS诱导的肺水肿,改善呼吸功能及减轻肺损伤,提示右美托咪定的治疗作用可能与抑制炎症反应有关。虽然右美托咪定减轻LPS诱导的炎症反应有明确的结论,但其具体作用机制仍不清楚。

近年来研究发现,自主神经系统在控制炎症及调节免疫反应方面发挥着重要作用^[19]。胆碱能抗炎

通路是一种神经免疫调节轴,可调节先天免疫细胞反应。胆碱能抗炎通路包括传出的迷走神经、乙酰胆碱和 α_7 nAChR。中枢神经胆碱能神经元被炎症激活,将信息传递给传出的迷走神经,从而释放乙酰胆碱,乙酰胆碱通过与免疫细胞上的 α_7 nAChR相互作用,抑制促炎因子的产生^[20]。因此,胆碱能抗炎通路在炎症发展中起到负反馈调节的作用。既往研究报道,在脓毒症和缺血再灌注损伤实验模型中,胆碱能抗炎通路能抑制炎性细胞因子的释放,进而抑制过度的炎症反应^[20-22]。既往研究发现,右美托咪定可通过加强副交感神经系统的活动而激活传出的迷走神经,进而抑制促炎细胞因子的生物合成和释放^[23],而通过选择性抑制剂抑制 α_7 nAChR或切断迷走神经后,其抗炎作用明显减弱^[24]。本研究结果与上述研究一致:右美托咪定减轻LPS诱导的炎症反应及肺损伤的作用被 α_7 nAChR抑制剂 α -BGT部分逆转,提示右美托咪定的抗炎作用与胆碱能通路有关。

TLR4是LPS的主要受体,广泛分布于肺组织中中性粒细胞中,LPS与TLR4结合后,可激活NF- κ B,促进炎性细胞因子释放。有研究发现,在LPS诱导的ALI中,TLR4/NF- κ B激活与过度炎症反应密切相关^[25]。最近研究发现,右美托咪定通过抑制TLR4/NF- κ B而发挥抗炎作用^[26]。既往有研究报道,右美托咪定下调TLR4依赖于 α_7 nAChR^[27],提示右美托咪定抑制TLR4/NF- κ B信号通路可能与 α_7 nAChR有关。本研究结果显示,给予LPS后,TLR4/NF- κ B表达增加,且 α_7 nAChR表达增加,分析原因为LPS作用后,机体在启动促炎反应的同时激发了抗炎反应系统,试图在促炎与抗炎之间达到平衡,以避免过度炎症反应对组织细胞的损伤,这是一种保护机制。本研究还观察到,给予右美托咪定治疗后, α_7 nAChR的表达进一步增加,而TLR4/NF- κ B表达减少,但 α_7 nAChR抑制剂 α -BGT部分逆转了右美托咪定对TLR4/NF- κ B的抑制作用,表明右美托咪定的抗炎作用与 α_7 nAChR介导的TLR4/NF- κ B表达抑制有关。

本研究存在以下局限性:(1)本研究未通过免疫组化证实 α_7 nAChR在肺组织中的分布及表达,因而不能证实右美托咪定的作用是否通过nAChR的其他亚基起作用;(2)本研究中右美托咪定的用量远超过临床用量,因而其临床作用仍需要进一步验证;(3)作为 α_2 AR激动剂,右美托咪定处理后 α_7 nAChR的表达是否与 α_2 AR有关尚待进一步研究。因此,仍需深入研究探讨右美托咪定的抗炎及器官保护作用的具体机制。

综上所述,本研究结果表明,右美托咪定可抑制LPS诱导的炎症反应及减轻ALI,其机制与增加 α_7 nAChR的表达及抑制TLR4/NF- κ B信号通路有

关。此外，在危重症患者的镇静及全麻术中，右美托咪定虽然可明显减少伤害性刺激，但其用于治疗ALI等炎症促发的危重疾病尚需深入的临床研究以观察治疗效果。

【参考文献】

- [1] Boskabad J, Mokhtari-Zaer A, Abareshi A, *et al.* The effect of captopril on lipopolysaccharide-induced lung inflammation[J]. *Exp Lung Res*, 2018, 44(4-5): 191-200.
- [2] Chen Y, Qiu JL, Ding CJ, *et al.* Effect and mechanism of monocytes/macrophages TREM-1 on acute lung injury in rats with severe heatstroke[J]. *Med J Chin PLA*, 2020, 45(1): 62-67. [陈烽, 邱嘉玲, 丁程佳, 等. 单核-巨噬细胞TREM-1对重症中暑大鼠急性肺损伤的作用及机制[J]. *解放军医学杂志*, 2020, 45(1): 62-67.]
- [3] Meng PZ, Liu J, Hu PS, *et al.* Protective effect of dexmedetomidine on endotoxin-induced acute lung injury in rats[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 4869-4875.
- [4] Cui J, Gao M, Huang H, *et al.* Dexmedetomidine improves lung function by promoting inflammation resolution in patients undergoing totally thoracoscopic cardiac surgery[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, (3): 8638301.
- [5] Huang C, Yang X, Huang J, *et al.* Porcine beta-defensin 2 provides protection against bacterial infection by a direct bactericidal activity and alleviates inflammation *via* interference with the TLR4/NF-kappaB pathway[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1673.
- [6] Li W, Dong WG. Toll-like receptors and inflammatory bowel disease correlation and drug therapy research progress[J]. *Trauma and Critical Care Medicine*, 2019, 7(3): 194-196. [李玮, 董卫国. Toll样受体与炎症性肠病相关性及其药物治疗研究进展[J]. *创伤与急危重病医学*, 2019, 7(3): 194-196.]
- [7] Wu Y, Liu Y, Huang H, *et al.* Dexmedetomidine inhibits inflammatory reaction in lung tissues of septic rats by suppressing TLR4/NF- κ B pathway[J]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013: 562154.
- [8] Chen K, Sun Y, Diao Y, *et al.* α 7 nicotinic acetylcholine receptor agonist inhibits the damage of rat hippocampal neurons by TLR4/Myd88/NF- κ B signaling pathway during cardiopulmonary bypass[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 164(4): 4770-4776.
- [9] Kim TH, Kim SJ, Lee SM. Stimulation of the α 7 nicotinic acetylcholine receptor protects against sepsis by inhibiting Toll-like receptor *via* phosphoinositide 3-kinase activation[J]. *J Infect Dis*, 2014, 209(10): 1668-1667.
- [10] Jiang YX, Dai ZL, Zhang XP, *et al.* Dexmedetomidine alleviates pulmonary edema by upregulating AQP1 and AQP5 expression in rats with acute lung injury induced by lipopolysaccharide[J]. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci*, 2015, 35(5): 684-688.
- [11] Zhang XP, Zhang L, Wang Y, *et al.* Study of the protective effects of dexamethasone on multiple organ injury in rats with severe acute pancreatitis[J]. *JOP*, 2007, 8(4): 400-412.
- [12] Chen H, Bai C, Wang X. The value of the lipopolysaccharide-induced acute lung injury model in respiratory medicine[J]. *Expert Rev Respir Med*, 2010, 4(6): 773-783.
- [13] Di A, Mehta D, Malik AB. ROS-activated calcium signaling mechanisms regulating endothelial barrier function[J]. *Cell Calcium*, 2016, 60(3): 163-171.
- [14] Suzuki K, Okada H, Takemura G, *et al.* Neutrophil elastase damages the pulmonary endothelial glycocalyx in lipopolysaccharide-induced experimental endoxemia[J]. *Am J Pathol*, 2019, 189(8): 1526-1535.
- [15] Mo Y, Shcherbakova N, Zeibeq J, *et al.* Clinical and economic impact of the use of dexmedetomidine for sedation in the intensive care unit compared to propofol[J]. *Int J Clin Pharm*, 2020, 42(6): 1419-1424.
- [16] Liu Y, Zhu X, Zhou D, *et al.* Dexmedetomidine for prevention of postoperative pulmonary complications in patients after oral and maxillofacial surgery with fibular free flap reconstruction: a prospective, double-blind, randomized, placebo controlled trial[J]. *BMC Anesthesiol*, 2020, 201(1): 127.
- [17] Flanders CA, Rocke AS, Edwardson SA, *et al.* The effect of dexmedetomidine and clonidine on the inflammatory response in critical illness: A systematic review of animal and human studies[J]. *Crit Care*, 2019, 231(1): 402.
- [18] Taniguchi T, Kidani Y, Kanakura H, *et al.* Effects of dexmedetomidine on mortality rate and inflammatory responses to endotoxin-induced shock in rats[J]. *Crit Care Med*, 2004, 32(6): 1322-1326.
- [19] Benarroch EE. Autonomic nervous system and neuroimmune interactions: new insights and clinical implications[J]. *Neurology*, 2019, 92 (8): 377-385.
- [20] Wang DW, Yin YM, Yao YM. Vagal modulation of the inflammatory response in sepsis[J]. *Int Rev Immunol*, 2016, 35(5): 415-433.
- [21] Capcha JMC, Rodrigues CE, Moreira RS, *et al.* Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells attenuate sepsis-induced organ injury partially *via* cholinergic anti-inflammatory pathway activation[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2020, 318(1): R135-R147.
- [22] Zhang J, Xia F, Zhao H, *et al.* Dexmedetomidine-induced cardioprotection is mediated by inhibition of high mobility group box-1 and the cholinergic anti-inflammatory pathway in myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *PLoS One*, 2019, 14(7): e0218726.
- [23] Liu Z, Wang Y, Wang Y, *et al.* Dexmedetomidine attenuates inflammatory reaction in the lung tissues of septic mice by activating cholinergic anti-inflammatory pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 35: 210-216.
- [24] Zi SF, Li JH, Liu L, *et al.* Dexmedetomidine-mediated protection against septic liver injury depends on TLR4/MyD88/NF- κ B signaling downregulation partly *via* cholinergic anti-inflammatory mechanisms[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 76: 105898.
- [25] Wang YM, Ji R, Chen WW, *et al.* Paclitaxel alleviated sepsis-induced acute lung injury by activating MUC1 and suppressing TLR-4/NF- κ B pathway[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 3391-3404.
- [26] Qiu R, Yao W, Ji H, *et al.* Dexmedetomidine restores septic renal function *via* promoting inflammation resolution in a rat sepsis model[J]. *Life Sci*, 2018, 204: 1-8.
- [27] Kim TH, Kim SJ, Lee SM. Stimulation of the α 7 nicotinic acetylcholine receptor protects against sepsis by inhibiting Toll-like receptor *via* phosphoinositide 3-kinase activation[J]. *J Infect Dis*, 2014, 209(10): 1688-1677.

(收稿日期: 2020-12-09; 修回日期: 2021-02-04)

(责任编辑: 纪方方)