

PLCE1 在机械通气致肺微血管内皮细胞通透性增加中的作用机制研究

杨国梅¹, 王文法², 王莉¹, 田玲芳², 刘睿¹, 罗静^{3*}

(1. 云南省第一人民医院麻醉科, 云南昆明 650032; 2. 云南省楚雄彝族自治州人民医院麻醉科, 云南楚雄 675000; 3. 云南省第一人民医院疼痛科, 云南昆明 650032)

[摘要] 目的 对比观察不同磷脂酶 CE1(pathogenic role of phospholipase C epsilon-1, PLCE1)表达水平对机械通气(mechanical ventilation, MV)实验大鼠肺组织胞质型磷脂酶 A2 (cytoplasmic phospholipase A2, C-PLA2) 表达及其代谢产物生成的影响, 阐明 PLCE1 在 MV 致肺微血管内皮细胞(Pulmonary microvascular endothelial cell, PMVEC)通透性增加中的作用。方法 SPF 级大鼠 24 只, 雌雄不拘, 8~10 周龄, 体重 180~200 g, 随机均分为 4 组 ($n=6$): ①野生型大鼠+“肺保护性”MV 组(WPM 组); ②野生型大鼠+“伤害性”MV 组(WIM 组); ③PLCE1^{+/-}杂合子大鼠+“肺保护性”MV 组(PPM 组); ④PLCE1^{+/-}杂合子大鼠+“伤害性”MV 组(PIM 组)。对实验大鼠实施时长为 2 h 的“肺保护性”MV[潮气量(tidal volume, VT)=7 mL/kg, 呼气末正压(positive end expiratory pressure, PEEP)=5 cmH₂O(1 cmH₂O=0.098 kPa)]或“伤害性”MV(VT=20 mL/kg, PEEP=0 cmH₂O)MV。蛋白免疫印迹(Western-blot)和实时定量聚合酶链式反应(real-time quantitative PCR, Q-PCR)分别检测肺组织 PLCE1 和 C-PLA2 蛋白及 mRNA 表达水平; 酶联免疫法测定肺组织花生四烯酸(arachidonic acid, AA)代谢产物前列环素(prostacyclin, PGI₂)、血栓素 A₂(thromboxane A₂, TXA₂)和白三烯 B₄(leukotriene B₄, LTB₄)含量; 肺通透性指数和肺湿/干重(W/D)比值评价 PMVEC 通透性; 肺组织病理形态学评分评估肺损伤的严重程度。结果 与 WPM 组及 PPM 组相比, WIM 组及 PIM 组大鼠肺组织 PLCE1 和 C-PLA2 蛋白及 mRNA 表达明显上调($P<0.05$); 肺组织 PGI₂、TXA₂ 和 LTB₄ 含量增多($P<0.05$); 肺通透性指数、肺 W/D 比值及肺组织病理形态学评分明显增高($P<0.05$)。相同通气模式下, PIM 组及 PPM 组大鼠肺组织 PLCE1 和 C-PLA2 蛋白及 mRNA 表达水平、肺内 PGI₂、TXA₂ 和 LTB₄ 含量及肺损伤评价各项指标较 WIM 组及 WPM 组大鼠均明显降低($P<0.05$)。结论 下调 PLCE1 可以通过抑制 C-PLA2 活性减轻 MV 导致的 PMVEC 通透性增加, 发挥肺保护作用, 提示 PLCE1 可能是抗 VILI 治疗的一个潜在干预作用的靶点。

[关键词] 呼吸机相关性肺损伤; 呼吸, 人工; 内皮细胞 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2024.08.004

[中图分类号] R563.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2024)08-0885-07

Study on the mechanism of phospholipase C epsilon-1 in mechanical ventilation-induced increased permeability of pulmonary microvascular endothelial cells

YANG Guo-mei¹, WANG Wen-fa², WANG Li¹, TIAN Ling-fang², LIU Rui¹, LUO Jing^{3*}

(1. Department of Anesthesiology, the First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, China; 2. Department of Anesthesiology, People's Hospital of Chuxiong Yi Autonomous Prefecture, Yunnan Province, Chuxiong 675000, China; 3. Department of Pain Management, the First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, China)

[收稿日期] 2023-08-30

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81760018); 云南省科技厅地方高校联合专项(202001BA070001-146); 云南省第一人民医院临床医学中心开放项目(2022YJZX-FC22)

[作者简介] 杨国梅(1996-), 女, 彝族, 云南丽江人, 云南省第一人民医院医师, 医学硕士, 从事临床麻醉及基础麻醉研究。

* 通信作者。E-mail: lj13769179376@163.com

[Abstract] **Objective** To compare and observe the effects of different levels of phospholipase C epsilon-1 (PLCE1) expression on the expression of cytoplasmic phospholipase A2 (C-PL2) and its metabolic products in lung tissue of rats undergoing mechanical ventilation (MV), and to elucidate the role of phospholipase C epsilon-1 (PLCE1) in MV-induced increased permeability of pulmonary microvascular endothelial cells (PMEC). **Methods** Twenty-four 8–10 week-old SPF rats (weighing 180–200 g) with an equal number of males and females were randomized equally into wild-type rats + "lung protective" or "injurious" MV group (WPM group or WIM group) and PLCE1 knock-down (PLCE1-KD) rats + "lung protective" or "injurious" MV group (PPM group or PIM group). Rats were subjected to 2 h "lung protective" tidal volume (TV) = 7 mL/kg, positive end expiratory pressure (PEEP) = 5 cmH₂O or "injurious" (TV = 20 mL/kg, PEEP = 0 cmH₂O) MV. The expressions of PLCE1 and cytoplasmic phospholipase A2 (C-PLA2) were examined by Western blotting and real-time quantitative PCR (QPCR). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of arachidonic acid (AA) metabolites such as prostacyclin (PGI₂), thromboxane A₂ (TXA₂) and leukotriene B₄ (LTB₄) in the lung tissue. The pulmonary permeability index and the lung wet/dry weight (W/D) ratio were determined to evaluate the permeability of PMEC (PMVECs). The severities of lung injury were evaluated by pathological morphology scores of lung tissues. **Results** In WIM and PIM groups, PLCE1 and C-PLA2 expressions at both the protein and mRNA levels were significantly upregulated, the levels of PGI₂, TXA₂ and LTB₄ in lungs were increased, and pulmonary permeability index, lung W/D ratio, and pathological morphology scores of lung tissues were significantly increased as compared with those in WPM and PPM groups ($P < 0.05$). Under the same MV mode, the expression levels of PLCE1 and C-PL2 at both the protein and mRNA levels in rat lung tissue, the levels of PGI₂, TXA₂, and LTB₄ in the lungs, and various indicators for evaluating lung injury were significantly lower in PIM and PPM groups than in WIM and WPM groups ($P < 0.05$). **Conclusion** Downregulation of PLCE1 can alleviate MV-induced increased PMVEC permeability by inhibiting C-PL2 activity, exerting a protective effect on the lungs, suggesting that PLCE1 may be a potential intervention target for anti-VILI therapy.

[Key words] ventilator-induced lung injury; respiration, artificial; endothelial cells

目前临床除将“肺保护性通气策略”用于防范呼吸机诱导的肺损伤 (ventilator induced lung injury, VILI) 外,尚缺乏有效的药物干预治疗措施^[1],但大量研究却发现“肺保护性通气策略”并不能彻底防范它的发生^[2-5]。在前期的研究中显示磷脂酶 CE1 (pathogenic role of phospholipase C epsilon-1, PLCE1) 在 MV 致 PMVEC 通透性增加中发挥重要作用,但具体作用机制有待深入阐明。结合前期研究结果和相关文献报道提出“PLCE1 在 MV 致 PMVEC 通透性增加中的作用机制与上调 C-PLA2 活性使肺内致炎性花生四烯酸代谢产物大量生成有关”。本研究拟在“肺保护性”和“伤害性”MV 动物模型中证实该科学假说,为临床药物防治呼吸机诱导的肺损伤提供一定的实验研究基础。

1 材料与 方法

1.1 主要试剂 PGI₂、TXA₂ 和 LTB₄ 检测试剂盒 (E-EL-0051c, 上海酶联生物科技有限公司); C-PLA2 抗体 (AF6329, santa cruz 公司); GAPDH 抗体 (MA9166S, abmart 公司); HRP 标记二抗 (M21001, 江苏亲科生物研究中心有限公司)。

1.2 实验动物 SPF 级 Sprague dawley 大鼠,购至昆明医科大学实验动物中心,许可证号:SCXK(滇)K2020-0004。PLCE1^{+/-} 基因工程大鼠由项目组前期购至广州赛业生物科技有限公司的 PLCE1 基因敲除工程大鼠繁育而得。所有实验动物均为 8~10 周龄,雌雄各半,体重 180~200 g。分笼饲养于 SPF 级动物房,温度 23 ℃,湿度 30%,光/暗周期 12 h。

本研究项目获云南省第一人民医院实验动物伦理委员会批准 (2018LH022)。

1.3 实验动物分组 实验大鼠随机分为4组($n=6$):①野生型大鼠+“肺保护性”MV组(WPM组);②野生型大鼠+“损伤性”MV组(WIM组);③PLCE1^{+/-}杂合子大鼠+“肺保护性”MV组(PPM组);④PLCE1^{+/-}杂合子大鼠+“损伤性”MV组(PIM组)。

1.4 MV致PMVEC通透性增加动物模型构建 腹腔注射戊巴比妥钠40 mg/kg麻醉后分离暴露气管,置入鼠用气管导管后接小动物呼吸机分别实施时长为2 h的“肺保护性”MV或“伤害性”MV,同时调整呼吸频率维持呼末CO₂在35~45 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)范围内。术中持续监测左颈动脉血压,右股静脉恒速输注林格液(10 mL·kg⁻¹·h⁻¹),维持血压波动在基础值±20%之间。以恒速输注丙泊酚(8 mg·kg⁻¹·h⁻¹)和瑞芬太尼(10 μg·kg⁻¹·h⁻¹),每30 min追加维库溴铵0.1 mg/kg维持麻醉。

由于最新国际专家共识推荐对外科手术患者采用VT=6~8 mL/kg加个体化PEEP的“肺保护性通气策略”,且建议将PEEP的初始值设置为5 cmH₂O(1 cmH₂O=0.098 kPa)^[2]。所以本研究将“肺保护性”MV实验动物的呼吸参数设置为:VT=7 mL/kg,PEEP=5 cmH₂O。又因在某些非均质性肺部疾病(肺气肿、肺部感染、急性呼吸窘迫综合征等)患者中,即使将潮气量设置为7 mL/kg

(理想体重),通气局部肺组织的潮气量仍接近或超过了20 mL/kg^[6-7]。为了研究结果更具实用价值,本研究将“伤害性”MV实验动物的呼吸参数设置为:VT=20 mL/kg,PEEP=0 cmH₂O。

1.5 PMVEC通透性评价 以肺W/D比值和肺通透性指数作为评价PMVEC通透性的指标。具体为:取右肺前叶外1/2部分组织,记录湿重(W)之后将标本置于干燥箱内(80℃,72 h),充分干燥至恒重后再次称重(D),计算W/D比值;以左肺支气管肺泡灌洗液中总蛋白浓度与血清总蛋白浓度之比为肺通透性指数。血清及支气管肺泡灌洗液中的总蛋白测定采用二喹啉甲酸(BCA)法。

1.6 ELISA检测肺组织PGI₂、TXA₂和LTB₄含量 因PGI₂和TXA₂的体内消除半衰期较为短暂(分别为30 s和3 min),很难直接测得,本实验通过测定各自稳定代谢产物6-K-PGF_{1α}和TXB₂以分别作为反映其在肺组织内含量的指标^[8]。ELISA法测定大鼠右肺中叶和副叶肺组织中6-K-PGF_{1α}、TXB₂和LTB₄含量。具体方法按试剂盒说明书进行操作。

1.7 Q-PCR检测肺组织PLCE1和C-PLA2 mRNA表达 提取肺组织总RNA后,各组等量RNA上样,进行Q-PCR实验。以2^{-ΔΔC_t}计算各样品表达量的相对值。PCR反应引物见表1。

表1 基因名及其引物序列

Table 1 Gene names and their primer sequences

基因	NCBI ID		序列(5'-3')	Tm(℃)
PLCE1	74 055	F	TGGAGCACTAGAAACCCAG	56.66
		R	ATCTCATCGTCCGTCACCTC	56.76
C-PLA2	24 653	F	GTTCTACGTGCCACCAAAGTAAC	56.80
		R	CATCCATGACGTAATTGGCATCC	57.77
β-actin	81 822	F	CGGGAGGATGTGAAGAATGAGAT	61.23
		R	GTAATGCACACCCTCACAGATCT	62.73

1.8 Western-blot检测肺组织PLCE1和C-PLA2蛋白表达 取右肺后叶组织,加入裂解液电动匀浆提取蛋白质并用BCA试剂盒测定蛋白浓度。恒定上样后凝胶电泳分离,使蛋白转移到PVDF膜上。5%脱脂奶粉室温封闭2 h后,将PVDF膜用合适浓度的PLCE1一抗(1:1 000),C-PLA2一抗(1:1 000)和内参GAPDH(1:5 000),4℃孵育过夜。洗膜后加入HRP标记的二抗(1:5 000)孵育1 h后,TBST漂洗PVDF膜4次,每次5 min。通过增强化学发光法显影免疫反应带,所得图片用Image J软件分析灰度值。

1.9 肺组织学评分 右肺前叶内1/2用于HE染

色制备病理切片,行肺组织学评分。具体方法同之前研究^[9-12]。

1.10 统计学方法 应用SPSS 21.0统计软件分析数据。计量资料采用单因素方差分析、SNK-*q*检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠肺组织6-K-PGF_{1α}、TXB₂、LTB₄含量变化 WIM组及PIM组大鼠肺组织6-K-PGF_{1α}、TXB₂和LTB₄含量较WPM组及PPM组大鼠均显著增加;相同通气模式下,PIM组及PPM组大鼠肺组织上述指标较WIM组及WPM大鼠均

明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表2。

表2 各组肺组织 6-K-PGF1 α 、TXB2、LTB4 含量

Table 2 The levels of 6-K-PGF1 α , TXB2 and LTB4 in rat lungs in different groups

组别	$(n=6, \bar{x} \pm s)$		
	6-K-PGF1 α ($\mu\text{g/g}$)	TXB2 ($\mu\text{g/g}$)	LTB4 (ng/g)
WPM组	157.64 \pm 13.26	56.03 \pm 7.30	9.19 \pm 0.95
WIM组	201.34 \pm 21.56*	74.38 \pm 11.02*	13.61 \pm 1.80*
PPM组	115.54 \pm 13.83*#	41.79 \pm 6.42*#	7.15 \pm 1.02*#
PIM组	167.40 \pm 22.16*# Δ	58.72 \pm 6.73*# Δ	9.52 \pm 0.71*# Δ
F 值	22.639	16.389	30.941
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

* P 值<0.05 与 WPM 组比较 # P 值<0.05 与 WIM 组比较
 Δ P 值<0.05 与 PPM 组比较(SNK- q 检验)

2.2 各组大鼠肺组织 PLCE1 和 C-PLA2 蛋白及 mRNA 表达变化 与 WPM 组及 PPM 组相比, WIM 组及 PIM 组明显上调大鼠肺组织 PLCE1 和

表3 各组大鼠肺组织 PLCE1 和 C-PLA2 蛋白及 mRNA 表达水平

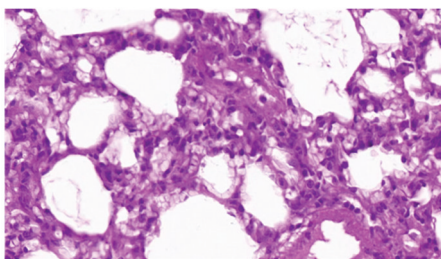
Table 3 The expression levels of PLCE1 and C-PLA2 at both the protein and mRNA levels in lung tissues of rats in different groups

组别	$(n=6, \bar{x} \pm s)$			
	PLCE1/GAPDH	C-PLA2/GAPDH	PLCE1 mRNA	C-PLA2 mRNA
WPM组	0.86 \pm 0.07	0.33 \pm 0.07	2.40 \pm 0.28	1.02 \pm 0.13
WIM组	1.10 \pm 0.06*	0.64 \pm 0.09*	3.15 \pm 0.27*	2.44 \pm 0.35*
PPM组	0.44 \pm 0.09*#	0.19 \pm 0.05*#	1.18 \pm 0.13*#	0.63 \pm 0.09*#
PIM组	0.72 \pm 0.11*# Δ	0.49 \pm 0.09*# Δ	1.96 \pm 0.23*# Δ	1.95 \pm 0.13*# Δ
F 值	64.483	37.975	73.473	100.861
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

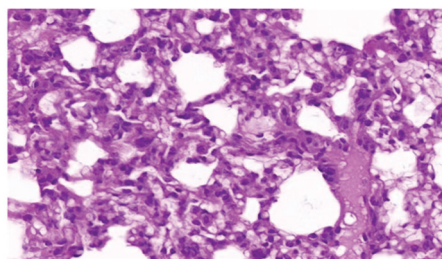
* P 值<0.05 与 WPM 组比较 # P 值<0.05 与 WIM 组比较 Δ P 值<0.05 与 PPM 组比较(SNK- q 检验)

2.3 各组肺组织形态学变化(HE 染色) WPM 组和 PPM 组大鼠肺组织未见明显充血、出血灶,肺泡腔有少量红细胞和炎细胞浸润。WIM 组大鼠肺组织大面积充血、出血,肺泡腔内有大量红细胞和炎细胞浸润,肺泡壁广泛充血、增厚和渗出。PIM 组大鼠肺组织上述病理学改变较 WIM 组明显减轻。见图2。

2.4 各组大鼠肺损伤各项指标变化 在同一类型



WPM



PPM

C-PLA2 蛋白及 mRNA 表达,差异有统计学意义($P < 0.05$);相同通气模式下,PIM 组及 PPM 组大鼠肺组织 PLCE1 和 C-PLA2 的蛋白及 mRNA 表达水平较 WIM 组及 WPM 组大鼠均明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图1,表3。

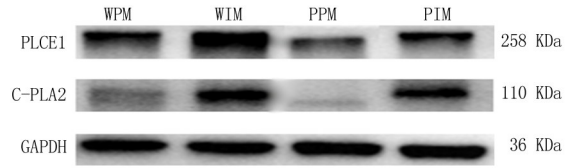


图1 各组大鼠肺组织 PLCE1 和 C-PLA2 蛋白表达水平 WPM:野生型大鼠+“肺保护性”MV 组; WIM:野生型大鼠+“伤害性”MV 组; PPM:PLCE1 $^{+/-}$ 杂合子大鼠+“肺保护性”MV; PIM:PLCE1 $^{+/-}$ 杂合子大鼠+“伤害性”MV
 Figure 1 The expression levels of PLCE1 and C-PLA2 proteins in lung tissues of rats in different groups

实验动物中,WPM 组及 PPM 组实验动物肺 W/D 比值、肺通透性指数及肺组织学评分较 WIM 组及 PIM 组实验动物均显著降低($P < 0.05$);“伤害性”通气模式状态下,PIM 组大鼠上述指标较 WIM 组大鼠均明显降低($P < 0.05$);“肺保护性”通气模式下,PPM 组大鼠肺通透性指数较 WPM 组大鼠明显降低($P < 0.05$),但肺 W/D 比值和肺组织学评分差异无统计学意义($P > 0.05$),见表4。

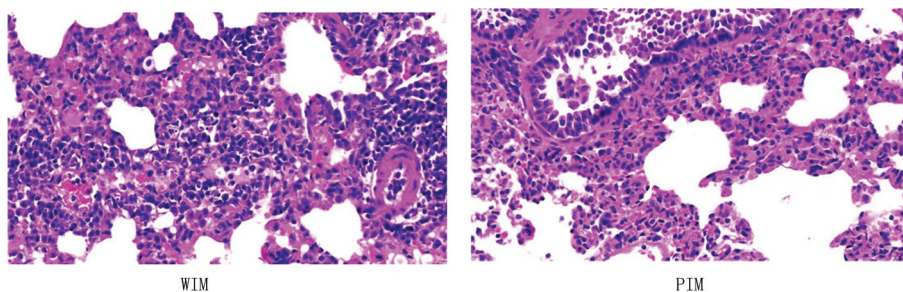


图2 各组大鼠肺组织病理形态学变化(HE染色 ×400)

Figure 2 Pathological and morphological changes in lung tissue of rats in different groups (HE staining ×400)

表4 各组大鼠肺 W/D 比值、肺通透性指数和肺组织学评分

Table 4 Lung wet/dry (W/D) ratio, pulmonary permeability index and lung histological scores of rats in different groups

组别	肺 W/D 比值	肺通透指数	肺组织学评分 (分)
WPM	4.22±0.71	0.047±0.005	2.33±0.82
WIM	7.44±0.94*	0.072±0.010*	8.67±2.16*
PPM	4.03±0.80#	0.031±0.006*#	2.00±0.89#
PIM	5.81±1.19*#△	0.050±0.012*#△	5.83±1.47*#△
F 值	16.446	22.686	28.829
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

* P 值<0.05 与 WPM 组比较 # P 值<0.05 与 WIM 组比较

△P 值<0.05 与 PPM 组比较(SNK-q 检验)

3 讨论

病理学研究发现, VILI 与其他炎症性肺损伤有着类似的病理学变化特征, 是一种以 PMVEC 和肺泡上皮细胞通透性增加及肺炎症反应为特征的病理过程, 在动物模型中所见类似于临床急性呼吸窘迫综合征^[6-8]。由于 PMVEC 是 MV 致肺损伤首当其冲的效应细胞, 也是最早出现病理学改变的细胞, PMVEC 通透性的增加不仅会引起肺内皮屏障功能的破坏和肺水肿, 导致气体交换功能障碍, 还会通过表达特定的标记物和蛋白增加血管张力、促进凝血、激活肺内炎症信号通路并募集白细胞引起炎症级联反应故被看做是引起 VILI 的重要效应细胞^[9-10]。但目前对 MV 造成 PMVEC 通透性增加确切的分子机制尚不完全清楚。

PLCE1 是近年来发现的磷脂酶家族 C (phospholipase A, PLC) 的新成员, 在 PMVEC 等多种细胞都有表达, 已被证明在细胞增殖、分化、凋亡、存活以及细胞的运动和黏附等生物学功能中扮演着关键控制枢纽角色^[11-13]。C-PLA2 因可选择性水解含有 AA 的细胞膜磷脂以响应细胞刺激, 被认为是 AA 代谢途径的关键限速酶^[14-17]。本研究发现, WIM 及 PIM 组大鼠肺组织 PLCE1 和 C-PLA2 蛋

白及 mRNA 表达、肺内花生四烯酸代谢产物 PGI₂、LTB₄ 和 TXA₂ 生成、肺组织通透性指数、肺 W/D 比值及肺组织形态学评分均较 WPM 及 PPM 组大鼠明显增加, 这表明大潮气量“伤害性”MV 不仅可通过 PLCE1 所介导的信号通路引起 PMVEC 通透性增加, 还可通过激活 AA 代谢途径关键限速酶 C-PLA2 使肺内致炎性代谢产物大量生成, 从而引起 PMVEC 通透性增加。这一研究结果与我们之前在大潮气量“伤害性”单肺通气动物模型中所见相同^[18-19]。

本研究新的发现是, 在“伤害性”通气模式状态下, PIM 组大鼠肺组织 C-PLA2 表达水平、肺内 PGI₂、LTB₄ 和 TXA₂ 生成、PMVEC 通透性评价指标和肺组织学评分较 WIM 组均明显降低, 这一研究结果提示下调 PLCE1 可通过 C-PLA2/PGI₂、LTB₄ 和 TXA₂ 信号通路对 PMVEC 通透性进行调控。在前期的研究中我们发现 PLCE1 可通过调控 p38MAPK、ERK1/2、TLR4、CXCL8 和 NF-κB 活性增加 PMVEC 通透性^[18-19], 而他人研究发现 p38MAPK^[20-21]、ERK1/2^[22]、TLR4^[23-26] 和 NF-κB^[27-29] 均对 C-PLA2 具有调控作用。据此推测 PLCE1 调控 C-PLA2 的具体作用机制与上述因子有关。

本研究进一步发现, 实施了“肺保护性”MV 后, PPM 组大鼠肺组织 C-PLA2 表达水平、PGI₂、LTB₄ 和 TXA₂ 生成及肺通透性指数均显著降低于 WPM 组大鼠。此研究结果在进一步证实 PLCE1 可通过调控 C-PLA2/PGI₂、LTB₄ 和 TXA₂ 信号通路在 MV 致 PMVEC 通透性增加中发挥作用之外, 还提示“肺保护性通气策略”并不能完全阻断 PLCE1 和花生四烯酸代谢途径的激活。由于肺并不是一个均质性的器官(受重力及胸腔内地形的影响, 不同区域肺组织的顺应性并不相同)。在采用容量控制模式进行 MV 时, 呼吸机不可能将事先设置好的潮气量均匀地分配到各个肺泡, 这意味着顺应性好的肺组织会被分配到更多的气体; 若采用压力

控制模式进行 MV, 相同的压力势必会造成顺应性较好肺组织的拉伸幅度远高于顺应性较差部位的肺组织。这些都会使顺应性好的肺组织面临“容量伤”和“气压伤”的风险, 而顺应性差的肺组织则会面临“不张伤”的风险; 研究显示, 运用电阻抗断层成像技术对患者设置个体化最佳 PEEP 并实施“肺保护性”机械通气时, 仍可同时监测到处于过度拉伸和塌陷的肺组织^[30-31]。所以, 本研究中“肺保护性”MV 实验动物肺组织 PLCE1 和 C-PLA2 活化的原因与此种“肺保护性”MV 状态下仍有肺组织出现了“容量伤”和“不张伤”有关。

此外, 本研究还发现, 下调 PLCE1 表达虽可显著下调 WPM 及 PPM 组实验动物肺内 PGI₂、LTB₄ 和 TXA₂ 的生成并降低肺通透性指数, 但并不伴有肺 W/D 比值和肺组织形态学评分的改变。其原因可能是“肺保护性”MV 所引起的肺损伤并不是一种均质且广泛性的病变^[3, 32-33], 本研究在进行肺 W/D 比值测定和肺组织形态学评分时所取组织比较局限, 不能真实反映整个肺组织的情况所造成的。此外, 还可能与本研究中“肺保护性”MV 实验动物肺损伤程度较轻, 尚不足以引起形态学的改变有关。

综上所述, 本研究首次发现下调 PLCE1 可以通过抑制 C-PLA2/PGI₂、LTB₄ 和 TXA₂ 信号通路发挥抗 MV 致 PMVEC 通透性增加保护作用。这提示 PLCE1 可能是抗 VILI 治疗的一个潜在干预作用的靶点, 有助于为临床药物防治 VILI 提供一定的实验研究基础。

[参考文献]

- [1] Felten M, Ferencik S, Teixeira Alves LG, et al. Ventilator-induced lung injury is modulated by the circadian clock[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2023, 207(11): 1464-1474.
- [2] Odor PM, Bampoe S, Gilhooly D, et al. Perioperative interventions for prevention of postoperative pulmonary complications: systematic review and meta-analysis[J]. *BMJ*, 2020, 368: m540.
- [3] 袁凌跃, 李江, 杨泳, 等. 白三烯 B₄ 在“肺保护性”通气致肺损伤中的作用机制[J]. *南方医科大学学报*, 2020, 40(10): 1465-1471.
- [4] Nguyen TK, Nguyen VL, Nguyen TG, et al. Lung-protective mechanical ventilation for patients undergoing abdominal laparoscopic surgeries: a randomized controlled trial[J]. *BMC Anesthesiol*, 2021, 21(1): 95.
- [5] Kim JE, Min SK, Ha E, et al. Effects of deep neuromuscular block with low-pressure pneumoperitoneum on respiratory mechanics and biotrauma in a steep trendelenburg position [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 1935.

- [6] Shah N, Katira BH. Role of cardiopulmonary interactions in development of ventilator-induced lung injury-experimental evidence and clinical implications[J]. *Front Physiol*, 2023, 14: 1228476.
- [7] Abulaiti Z, Chen L, Xiao Q, et al. PLCE1 as a diagnostic and prognostic biomarker by promoting the growth and progression of oral squamous cell carcinoma[J]. *J Oral Pathol Med*, 2022, 51(9): 771-779.
- [8] Atchison DK, O'Connor CL, Menon R, et al. Hypertension induces glomerulosclerosis in phospholipase C- ϵ 1 deficiency [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2020, 318(5): F1177-F1187.
- [9] Tsumura H, Harris E, Brandon D, et al. Review of the mechanisms of ventilator induced lung injury and the principles of intraoperative lung protective ventilation[J]. *AANA J*, 2021, 89(3): 227-233.
- [10] Becker S, Schnitzler R, Rembecki M, et al. Individualized flow-controlled versus conventional pressure-controlled ventilation in on-pump heart surgery (FLOWVENTIN HEARTSURG): study protocol for a randomized controlled trial[J]. *Trials*, 2023, 24(1): 195.
- [11] Rohrs EC, Bassi TG, Fernandez KC, et al. Diaphragm neurostimulation during mechanical ventilation reduces atelectasis and transpulmonary plateau pressure, preserving lung homogeneity and [Formula: see text]/[Formula: see text][J]. *J Appl Physiol* (1985), 2021, 131(1): 290-301.
- [12] Garcia-Flores AE, Gross CM, Zemskov EA, et al. Loss of SOX18/CLAUDIN5 disrupts the pulmonary endothelial barrier in ventilator-induced lung injury[J]. *Front Physiol*, 2022, 13: 1066515.
- [13] Strazza M, Adam K, Smrcka AV, et al. PLC ϵ 1 suppresses tumor growth by regulating murine T cell mobilization[J]. *Clin Exp Immunol*, 2020, 200(1): 53-60.
- [14] Chen P, Liu H, Xin H, et al. Inhibiting the cytosolic phospholipase A₂-arachidonic acid pathway with arachidonyl trifluoromethyl ketone attenuates radiation-induced lung fibrosis[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2023, 115(2): 476-489.
- [15] Zhang HJ, Chen YT, Hu XL, et al. Functions and mechanisms of cytosolic phospholipase A₂ in central nervous system trauma[J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(2): 258-266.
- [16] Liu Y, Chen P, Liu T, et al. Docosahexaenoic acid attenuates radiation-induced myocardial fibrosis by inhibiting the p38/ET-1 pathway in cardiomyocytes[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2023, 115(5): 1229-1243.
- [17] Wang S, Li B, Solomon V, et al. Calcium-dependent cytosolic phospholipase A₂ activation is implicated in neuroinflammation and oxidative stress associated with ApoE4[J]. *Mol Neurodegener*, 2021, 16(1): 26.
- [18] Luo J, Ma Q, Tang H, et al. LTB₄ promotes acute lung injury via upregulating the PLC ϵ -1/TLR4/NF- κ B pathway in one-lung ventilation[J]. *Dis Markers*, 2022, 2022: 1839341.

- [19] Guo X, Yang Y, Ma JQ, et al. PLCe1 mediates one-lung ventilation injury by regulating the p38/RhoA/NFκB activation loop[J]. *Mol Immunol*, 2021, 133: 135–145.
- [20] Plastira I, Bernhart E, Joshi L, et al. MAPK signaling determines lysophosphatidic acid (LPA)-induced inflammation in microglia[J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 127.
- [21] Joshi L, Plastira I, Bernhart E, et al. Inhibition of autotaxin and L-lysophosphatidic acid receptor 5 attenuates neuroinflammation in LPS-activated BV-2 microglia and a mouse endotoxemia model[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(16): 8519.
- [22] Santerre-Anderson JL, Werner DF. Ethanol stimulation of microglia release increases ERK1/2-dependent neuronal cPLA2 activity in immature cultured cortical preparations[J]. *Neurochem Res*, 2020, 45(7): 1592–1601.
- [23] Gao LN, Yan M, Zhou L, et al. Puerarin alleviates depression-like behavior induced by high-fat diet combined with chronic unpredictable mild stress via repairing TLR4-induced inflammatory damages and phospholipid metabolism disorders[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 767333.
- [24] Chen H, Ma Y, Chen M, et al. Safflower extract improves depression in mice by inhibiting the TLR4-NLRP3 inflammation signaling pathway[J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(7): 8015–8023.
- [25] Wu B, Gan A, Wang R, et al. Volatile oil ameliorates depressive behaviors and inhibits neuroinflammation in CUMS-exposed mice by inhibiting the TLR4-mediated MyD88/NF-κB signaling pathway[J]. *J Chem Neuroanat*, 2023, 130: 102270.
- [26] Wang YL, Wu HR, Zhang SS, et al. Catalpol ameliorates depressive-like behaviors in CUMS mice via oxidative stress-mediated NLRP3 inflammasome and neuroinflammation[J]. *Transl Psychiatry*, 2021, 11(1): 353.
- [27] Davis FM, Tsoi LC, Wasikowski R, et al. Epigenetic regulation of the PGE2 pathway modulates macrophage phenotype in normal and pathologic wound repair[J]. *JCI Insight*, 2020, 5(17): e138443.
- [28] Zhao XH, An N, Xia MH, et al. Nootkatone improves chronic unpredictable mild stress-induced depressive-like behaviors by repressing NF-κB/NLRP3-mediated neuroinflammation[J]. *Chin J Integr Med*, 2023, 29(1): 37–43.
- [29] Liu H, Yang X, Liu G. Regulation of cell proliferation and transdifferentiation compensates for ventilator-induced lung injury mediated by NLRP3 inflammasome activation[J]. *Immun Inflamm Dis*, 2023, 11(10): e1062.
- [30] de Jongh SAM, Heines SJH, de Jongh FHC, et al. Regional peak flow as a novel approach to assess regional pulmonary mechanics by electrical impedance tomography: an observational validation study[J]. *Ann Transl Med*, 2023, 11(6): 253.
- [31] Sella N, Pettenuzzo T, Zarantonello F, et al. Electrical impedance tomography: A compass for the safe route to optimal PEEP[J]. *Respir Med*, 2021, 187: 106555.
- [32] Wang L, Li J, Zhu Y, et al. Low tidal volume ventilation alleviates ventilator-induced lung injury by regulating the NLRP3 inflammasome[J]. *Exp Lung Res*, 2022, 48(4/6): 168–177.
- [33] Liu M, Zhang Y, Yan J, et al. Aerobic exercise alleviates ventilator-induced lung injury by inhibiting NLRP3 inflammasome activation[J]. *BMC Anesthesiol*, 2022, 22(1): 369.

(本文编辑:刘斯静)