

网络出版时间: 2020-3-30 17:09 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20200330.0846.014.html>

ASIC1a 对急性肺损伤大鼠内质网应激的影响

朱月琴^{1,2,3} 潘学胜^{1,2,3} 杜 娜^{1,2,3} 刘敬浩^{1,2,3} 刘 兰^{1,2,3} 吴 县^{1,2,3} 王媛媛⁴ 胡成穆^{1,2,3} 黄 艳^{1,2,3}

摘要 目的 探讨酸敏感离子通道-1a 对脂多糖(LPS)诱导的急性肺损伤大鼠肺组织内质网应激相关蛋白表达的影响。方法 将 40 只体质量 180~220 g 的 SPF 级雄性 Sprague-Dawley 大鼠随机均分为 4 组:对照组、模型组、阿米洛利组和地塞米松组。观察大鼠的肺组织病理学变化,ELISA 法检测血清中白细胞介素-6(IL-6)的表达;实时荧光定量 PCR 检测葡萄糖调节蛋白 78(GRP78)、CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白(CHOP)和丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶/内切核糖核酸酶肌醇需要酶 1(IRE-1)、人 X 盒结合蛋白 1(XBP-1)的表达水平;Western blot 检测肺组织中 GRP78、剪切的半胱氨酸蛋白酶蛋白-12(c-caspase-12)、IRE-1 和 XBP-1 表达水平。结果 与对照组相比,模型组肺组织肺泡塌陷,间质性水肿;IL-6 的表达上调($P < 0.01$)。阿米洛利组以及地塞米松组肺组织相关指标改善。Western blot 结果提示,模型组的内质网应激相关基因的蛋白表达相比于对照组增加,阿米洛利组内质网应激相关基因的蛋白表达相比于模型组降低($P < 0.01$)。实时荧光定量 PCR 结果显示模型组的内质网应激相关基因的 mRNA 表达相比于对照组增加,阿米洛利组内质网应激相关基因的 mRNA 表达相比于模型组降低($P < 0.01$)。结论 LPS 诱导的大鼠急性肺损伤中 ASIC1a 的上调可能介导内质网应激反应。

关键词 急性肺损伤;酸敏感离子通道;脂多糖;阿米洛利;内质网应激

中图分类号 R 320.2415; R 350.99

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)03-0396-06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.03.014

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是由败血症、创伤、休克等各种肺内、外因素所致的急性缺氧性呼吸衰竭,其发展到一定阶段(氧合指数 > 200)

2019-12-02 接收

基金项目:安徽省自然科学基金杰出青年项目(编号:1908085J30);

2019 年大学生创新创业训练计划省级立项

作者单位:¹安徽医科大学药学院,合肥 230032

²安徽医科大学重大自身免疫性疾病安徽省重点实验室,合肥 230032

³安徽省创新药物产业共性技术研究院,合肥 230032

⁴安徽医科大学第二附属医院药剂科,合肥 230601

作者简介:朱月琴,女,硕士研究生;

黄 艳,女,博士,教授,硕士生导师,责任作者,E-mail:aydhy@126.com

称为急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)^[1]。ARDS 起病快,病情发展猛烈,死亡率高达 30% 以上^[2]。Ashbaugh et al^[3] 在 1967 年提出肺损伤,有关 ALI 的研究很多,但患病率和死亡率依然很高。因此,ALI 的发病机制和临床治疗是临床重症监护领域的重点和重要研究方向。

酸敏感离子通道(acid-sensitive ion channels, ASICs)是上皮钠通道(ENaC/DEG)超家族中的一类阳离子通道蛋白复合物,参与了炎症、局部缺血和肿瘤等伴有组织酸化的疾病^[4]。ASIC1a 是 ASICs 亚基中能通透 Ca^{2+} 的主要亚基,当胞外 pH 下降时可被激活^[5]。内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)可通过缺血缺氧、氧化应激、缺乏营养物质(如氨基酸、葡萄糖等)和 Ca^{2+} -ATP 酶抑制剂介导^[6-9],这些因素也是 ALI 发病过程中的常见因素。ASIC1a 和 ERS 均参与 ALI 疾病的发生发展,且其变化均与 Ca^{2+} 水平有密切联系,而两者在 ALI 发病中是否有关联,且机制如何,国内外尚无报道。因此拟在课题组前期研究 ASIC1a 通道及 ALI 的基础上,在 LPS 诱导的 ALI 大鼠模型中,检测 ASIC1a 对内质网应激相关指标的影响,为临床预防和治疗 ALI 以及新药开发提供新的方向和思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 40 只 SPF 级雄性 Sprague-Dawley 大鼠,体质量(180~220)g,由安徽医科大学实验动物中心提供,生产许可证编号:SYXK(皖)2017-006,饲养于温度为(25 ± 2)℃ 和湿度为 60% 的室内,通风良好,人工控制 12 h 昼夜节律,可自由摄食饮水。

1.1.2 药品与试剂 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、阿米洛利(美国 Sigma 公司);地塞米松(美国 Solarbio 公司);细胞组织裂解液 RIPA、蛋白酶抑制剂 PMSF、一抗稀释液(上海碧云天生物技术有限公司);ASIC1a 一抗(美国 Affinity 公司); β -actin 一抗(北京博奥森生物技术有限公司);TRIzol 裂解液

(美国 ThermoFisher 公司);山羊抗兔、山羊抗小鼠二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司);PVDF 膜(北京索莱宝科技有限公司);显影液(美国 Advanta 公司);ELISA 试剂盒(武汉基因美生物技术有限公司);BD 动脉血液采集装置(新乡市康尔健医疗用品有限公司)。

1.1.3 主要仪器 Centrifuge 5424 R 冷冻离心机(德国 eppendorf 公司);小型垂直电泳槽、小型 Trans-blot 转印槽(湿转)、基础型电泳电源(美国 Biorad 公司);荧光倒置显微镜(日本 Olympus 公司);4 ℃、-20 ℃ 低温冰箱(日本三洋公司);ChemiDoc MP System 全能型成像系统、CFX Connect 实时定量 PCR 仪(美国 Biorad 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 实验处理与分组 40 只雄性 SD 大鼠随机均分为 4 组:对照组、模型组、阿米洛利组、地塞米松组。对照组和模型组各自腹腔注射生理盐水 2 ml,阿米洛利组和地塞米松组分别腹腔注射 2 ml 阿米洛利(10 mg/kg)和 2 ml 地塞米松(5 mg/kg),30 min 后,对照组腹腔注射 1 ml 生理盐水,其余 3 组注射 1 ml LPS(5 mg/kg)。处理完成 16 h 后,通过腹腔内注射戊巴比妥钠(3% 40 mg/kg)麻醉,取腹主动脉血以及肺组织留存。

1.2.2 HE 染色 取大鼠右肺下叶,4% 多聚甲醛固定后包埋在石蜡中,切片,HE 染色,封固,光镜下观察。

1.2.3 ELISA 法检测大鼠血清中白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6) 表达 将取出的血液 4 ℃、3 000 r/min 离心 10 min, 分离出血清。根据 ELISA 试剂盒说明书测定每个标本血清中 IL-6 的表达水平。为每个样本和标准品设置双重复孔,以获取酶标仪在 450 nm 处吸光度(optical density, OD) 值。根据 OD 值绘制标准曲线,计算各个样本 IL-6 含量。

1.2.4 免疫组化检测肺组织中 ASIC1a 蛋白表达 对肺组织右肺叶标本进行染色,高温高压抗原修复。封闭后滴加一抗过夜。洗脱后孵育二抗 1 h,DAB 显色后水洗,苏木精复染,烘烤组织切片,封片。

1.2.5 实时荧光定量 PCR 检测大鼠肺组织相关基因 用 TRIzol 提取肺组织总 RNA,反转录为 cDNA 后,按以下程序扩增:94 ℃ 预变性 5 min,再以 94 ℃ 20 s,60 ℃ 20 s,72 ℃ 20 s,87 ℃ 10 s;循环 55 次。选择 β -actin 作为内参基因, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各样本葡萄糖调节蛋白 78(glucose-regulated protein 78, GRP78)、CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白(C/

EBP-homologous protein, CHOP) 和丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶/内切核糖核酸酶肌醇需要酶 1 (inositol-requiring kinase 1, IRE-1)、人 X 盒结合蛋白 1(X box binding protein 1, XBP-1) 的相对表达量,引物由生工生物工程(上海)有限公司设计合成。引物序列如表 1 所示。

表 1 RNA 引物序列

基因名	引物序列(5'-3')
GRP78	F:CTGTCAGCAGGACATCAAGTC R:TGTTCGCCACCTCCATTATCA
IRE-1	F:TGGACTGGCGGGAGAACATC R:GAGCTCCGGTAGTGGTGTC
XBP-1	F:TCGAGCACTCAGACTACGG R:GGCAACAGCGTCAGAACATCA
CHOP	F:ATGAGGACCTGCAAGAGGTCC R:TCCTCCTCACTCAGCCAAGC
β -actin	F:ACCACAGCTGAGAGGGAAATCG R:AGAGGTCTTTACGGATGTCAACG

1.2.6 Western blot 检测肺组织中相关蛋白的表达

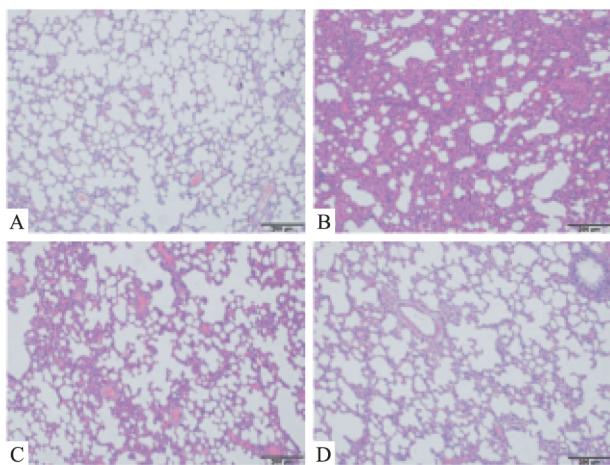
RIPA 裂解液提取肺组织总蛋白后,根据 BCA 试剂盒测定各组的蛋白含量,调整蛋白浓度并加入上样缓冲液。SDS-PAGE 电泳分离 90 min, 200 mA 恒流 2 h 转至 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉封闭 1 h。TBST 洗去封闭液,加入 GRP78、CHOP、ASIC1a 等一抗(1:1 000),4 ℃ 孵育过夜。用 TBST 在摇床上洗涤后将膜放入通用二抗中,并在室温下慢摇温育 1 h,洗涤后经化学发光成像系统成像,并使用 Image J 软件进行分析,将各目的蛋白条带荧光强度与内参蛋白 β -actin 比较,判断各组目的蛋白的表达水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间差异比较采用 *t* 检验,多组间差异比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠肺组织病理学变化 大鼠肺组织染色结果显示,对照组肺泡腔结构清晰,间质血管无充血。模型组中肺泡的正常结构消失,肺泡隔增厚且间隙变窄,一些肺泡腔塌陷,炎性细胞浸润肺泡腔,微血栓形成。与模型组相比,阿米洛利组和地塞米松组中大鼠肺间质及肺泡出血渗出较模型组减轻。见图 1。

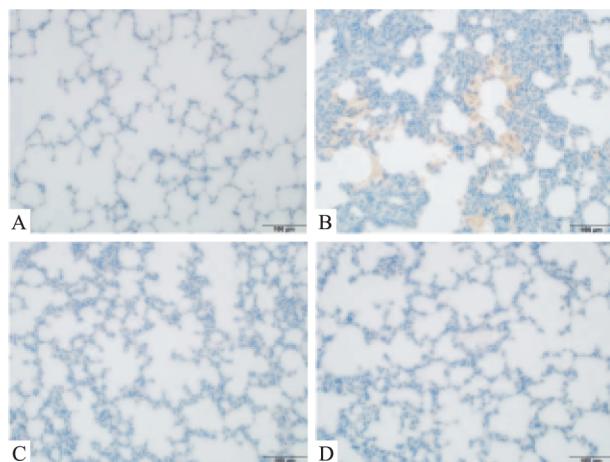
2.2 血清炎症因子 IL-6 的表达变化 模型组血清 IL-6(71.54 ± 0.9316) pg/ml 高于对照组($49.03 \pm$

图1 各组肺组织HE染色结果 $\times 200$

A:对照组;B:模型组;C:阿米洛利组;D:地塞米松组

0.7035) pg/ml ($t = 19.28, P < 0.01$)。阿米洛利组 (53.87 ± 0.4263) pg/ml 和地塞米松组 (41.44 ± 1.1380) pg/ml 血清中 IL-6 的水平均低于模型组 ($F = 230.3, P < 0.01$)。

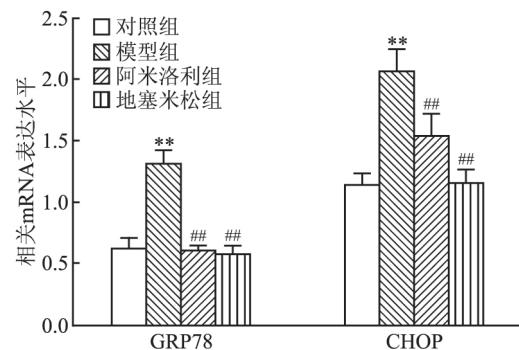
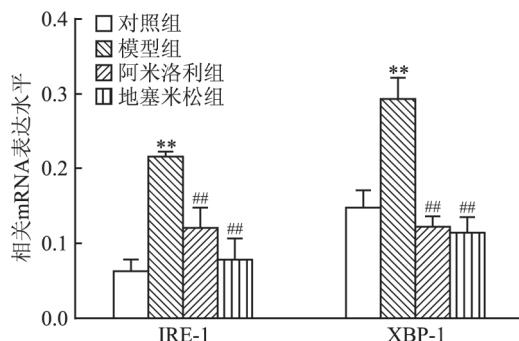
2.3 ASIC1a 在各组大鼠肺组织中的表达 免疫组化法测定肺组织中 ASIC1a 的表达,结果如图 2,模型组中 ASIC1a 的表达量较对照组增加,阿米洛利组和地塞米松组相比于模型组减少。

图2 各组肺组织ASIC1a的免疫组织化学 $\times 400$

A:对照组;B:模型组;C:阿米洛利组;D:地塞米松组

2.4 各组大鼠肺组织中 GRP78 和 CHOP 及下游基因 mRNA 的表达变化 模型组大鼠肺组织中 GRP78、CHOP mRNA 的表达量高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。而阿米洛利组和地塞米松组中 GRP78、CHOP mRNA 表达量与模型组相比下降,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),见图 3。模型组

中 IRE-1 和 XBP-1 的表达量高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。而阿米洛利组和地塞米松组中 IRE-1、XBP-1 mRNA 的表达量与模型组相比下降,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),见图 4。

图3 各组大鼠肺组织中 GRP78 和 CHOP 的 mRNA 表达 ($n = 3$)与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$ 图4 各组大鼠肺组织中 IRE-1 和 XBP-1 的 mRNA 表达 ($n = 3$)与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$

2.5 Western blot 法检测大鼠肺组织中 GRP78、c-caspase12 及下游基因 IRE-1 和 XBP-1 蛋白表达的变化 模型组大鼠肺组织中 GRP78 和 c-caspase-12 的蛋白表达量高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。阿米洛利组和地塞米松组中 GRP78 和 c-caspase-12 的蛋白表达量与模型组相比均下降,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),见图 5。而模型组中 IRE-1 和 XBP-1 的蛋白表达量高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。与模型组相比,阿米洛利组和地塞米松组中 IRE-1 和 XBP-1 的蛋白表达量下降,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),见图 6。

2.6 Western blot 检测大鼠肺组织中 AKT 的表达及其磷酸化水平 模型组大鼠肺组织中 AKT 的磷酸化水平 (p-AKT) 高于对照组 ($P < 0.01$),差异有统计学意义。阿米洛利组和地塞米松组中 p-AKT 与模型组相比明显下降 ($P < 0.01$),差异有统计学意义,见图 7。

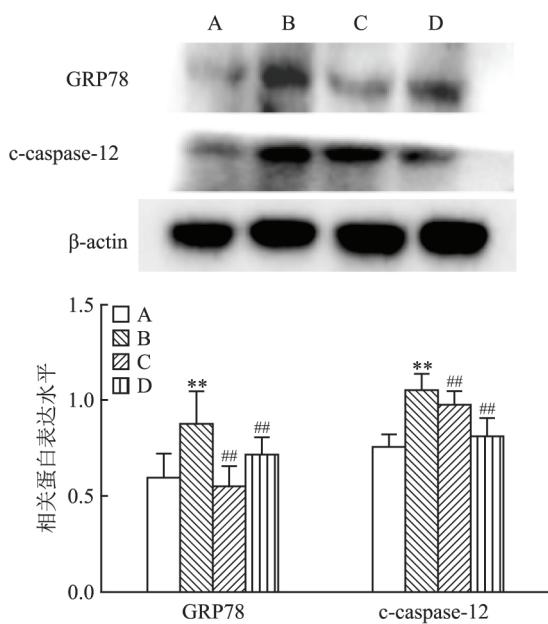


图5 各组大鼠肺组织中 GRP78 和 c-caspase-12 的蛋白表达($n=3$)

A:对照组;B:模型组;C:阿米洛利组;D:地塞米松组;与对照组比较: $^{**} P < 0.01$;与模型组比较: $^{##} P < 0.01$

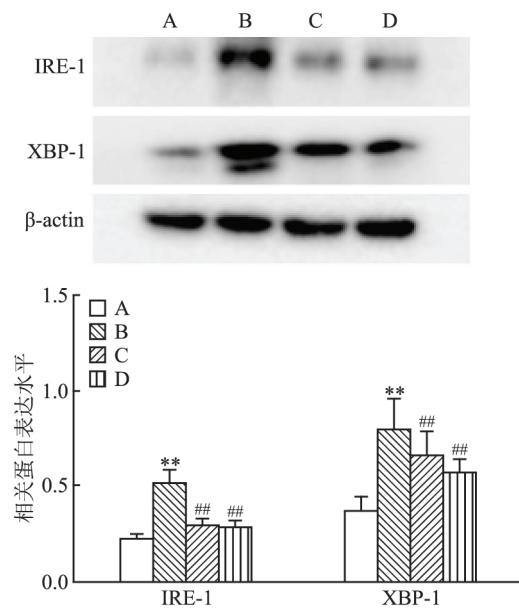


图6 各组大鼠肺组织中 IRE-1 和 XBP-1 的蛋白表达($n=3$)

A:对照组;B:模型组;C:阿米洛利组;D:地塞米松组;与对照组比较: $^{**} P < 0.01$;与模型组比较: $^{##} P < 0.01$

3 讨论

本实验首先对各组大鼠的肺组织切片进行 HE 染色观察病理学变化以及 ELISA 实验检测血清中 IL-6 的表达差异,证明 ALI 大鼠模型造模成功。本实验在前期课题组研究 ASIC1a 在大鼠 ALI 肺组织

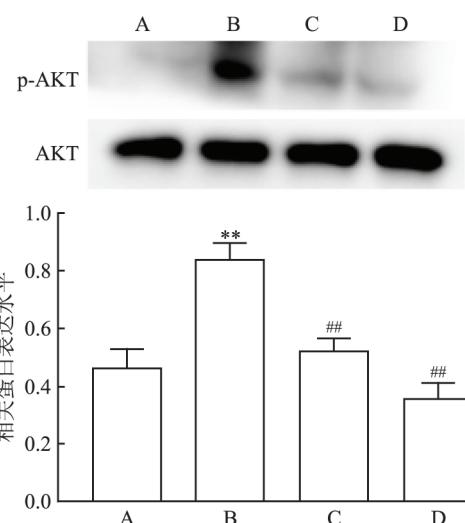


图7 各组大鼠肺组织中 AKT 和 p-AKT 的蛋白表达($n=3$)

A:对照组;B:模型组;C:阿米洛利组;D:地塞米松组;与对照组比较: $^{**} P < 0.01$;与模型组比较: $^{##} P < 0.01$

的表达的基础上,探究大鼠 ALI 肺组织中 ASIC1a 的上调对 ERS 反应的影响。免疫组化实验结果显示在 LPS 诱导的 ALI 大鼠模型中 ASIC1a 的表达增加,实时荧光定量 PCR 和 Western blot 结果显示模型组的内质网相关标志性基因的 mRNA 和蛋白表达增加,提示 ALI 的发病过程有 ERS 反应的发生。

目前的研究^[10]显示 ALI 的疾病发生机制可能与肺泡液体清除异常等因素相关,而上皮钠通道在清除肺水肿液中起重要作用。课题组前期研究^[11]表明 LPS 导致 ALI 大鼠的肺组织中 ASIC1a 的表达量显著增加,结果表明 ALI 的发病机制可能与 ASIC1a 的开放有关。并且有研究^[12]显示 ASIC1a 通路的表达也与 Ca^{2+} 水平的调控密切相关。而阿米洛利作为 ASIC1a 的阻断剂和阳性对照药地塞米松对 ALI 都有一定的治疗作用,可以抑制模型组中 ASIC1a 的表达,减轻 ALI 的病情,ERS 反应也相应减轻。提示 ALI 肺组织中 ASIC1a 与 ERS 存在关联性,ASIC1a 可以介导 ERS 反应,影响疾病进展和转归。

作为真核细胞中的重要细胞器,内质网具备多种生理功能,例如折叠翻译蛋白和均衡细胞内钙稳定性。ERS 是指内质网通过激活胞内信号转导来对腔内未折叠蛋白的压力作出反应,导致内质网中未折叠或错误折叠蛋白的积累^[13]。另有研究^[14]证明,ERS 参与了 ALI 和糖尿病等病症。内质网调节胞质内 Ca^{2+} 信号,储存 Ca^{2+} ,且已有报道 ALI 的发生和发展过程有 ERS 参与^[15]。并发现 ALI 疾病的

发生机制也与 Ca^{2+} 水平的调控密切相关^[16]。课题组前期证明了 ASIC1a 可能参与 ALI 发病, 抑制 ASIC1a 的表达能够在一定程度上有效地减轻 ALI^[11]。另外, 肝纤维化以及活化的肝星状细胞中 ASIC1a 活化并发生膜转运, 同时存在 ERS 的发生, 而 ASIC1a 活化可诱导 Ca^{2+} 内流, 诱发 ERS, 此过程受 PI3K/AKT 通路的调控^[17]。本实验在此基础上旨在探究大鼠 ALI 进程中 ERS 是否发生及其与 ASIC1a 的表达变化之间的关联, 为进一步研究 ALI 的 ERS 特异性机制提供新的思路和方法。

抑制 ASIC1a 的表达可以减轻 ALI 的程度, 大鼠肺组织的 ERS 相关蛋白减少。提示 LPS 诱导 ALI 大鼠肺组织中 ASIC1a 的上调可能参与诱导 ERS 过程。

参考文献

- Hussain M, Xu C Y, Wu X L, et al. A CRTH2 antagonist, CT-133, suppresses NF- κ B signalling to relieve lipopolysaccharide-induced acute lung injury [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 854: 79–91.
- Wang Y, Zhang J H, Bo J S, et al. Hydrogen-rich saline ameliorated LPS-induced acute lung injury via autophagy inhibition through the ROS/AMPK/mTOR pathway in mice [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2019, 244(9):721–7.
- Ashbaugh D G, Bigelow D B, Petty T L. Acute respiratory distress in adults [J]. *Lancet*, 1967, 2:319–23.
- Cheng Y R, Jiang B Y. Acid-sensing ion channels: dual function proteins for chemo-sensing and mechano-sensing [J]. *J Biomed Sci*, 2018, 25:46.
- Wu X, Ren G, Zhou R, et al. The role of Ca in acid-sensing ion channel 1a-mediated chondrocyte pyroptosis in rat adjuvant arthritis [J]. *Lab Invest*, 2019, 99:499–513.
- Muneer A. Endoplasmic reticulum stress: Implications for neuro-psychiatric disorders [J]. *Chonnam Med J*, 2019, 55:8–19.
- Ghemrawi R, Battaglia-Hsu S F. Endoplasmic reticulum stress in metabolic disorders [J]. *Cells*, 2018, 7(6):63.
- Mollazadeh H, Atkin S L, Butler A E, et al. The effect of statin therapy on endoplasmic reticulum stress [J]. *Pharmacol Res*, 2018, 137:150–8.
- Bozaykut P, Sahin A, Karademir B. Endoplasmic reticulum stress related molecular mechanisms in nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Mech Ageing Dev*, 2016, 157:17–29.
- Vadász I. Gas Exchange Disturbances regulate alveolar fluid clearance during acute lung injury [J]. *Front Immunol*, 2017, 8:757.
- 孙礼宾, 朱月琴, 潘学胜, 等. 酸敏感离子通道 1a 在急性肺损伤大鼠肺组织中的表达及作用初探 [J]. 中国药理学通报, 2019, 35(8):1155–9.
- Wang Y, Sun Y, Zuo L, et al. ASIC1a promotes high glucose and PDGF-induced hepatic stellate cell activation by inducing autophagy through CaMKK β /ERK signaling pathway [J]. *Toxicol Lett*, 2019, 300:1–9.
- Hetz C. ER stress and the unfolded protein response in neurodegeneration [J]. *Nat Rev Neurol*, 2017, 13(8):477–91.
- Shah D, Romero F, Guo Z, et al. Obesity-induced endoplasmic reticulum stress causes lung endothelial dysfunction and promotes acute lung injury [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2017, 57(2):204–15.
- 孟凡亮, 汪应红, 左龙泉, 等. LPS 诱导大鼠肺泡上皮细胞 RLE-6TN 内质网应激及凋亡研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2016, 51(12):1804–7.
- Li C, Bo L, Liu Q, et al. Activation of TRPV1-dependent calcium oscillation exacerbates seawater inhalation-induced acute lung injury [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(3):1989–98.
- Zuo L, Zhu Y, Hu L, et al. PI3-kinase/Akt pathway-regulated membrane transportation of acid-sensing ion channel 1a/Calcium ion influx/endoplasmic reticulum stress activation on PDGF-induced HSC activation [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(6):3940–50.

Effects of ASIC1a on the endoplasmic reticulum stress in acute lung injury rats

Zhu Yueqin^{1 2 3}, Pan Xuesheng^{1 2 3}, Du Na^{1 2 3}, et al

(¹School of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032; ²Anhui Province Key Laboratory of Major Autoimmune Diseases, Hefei 230032; ³Anhui Institute of Innovative Drugs, Hefei 230032)

Abstract **Objective** To investigate the effect of acid-sensitive ion channel 1a on the expression of endoplasmic reticulum stress-related protein in rats with acute lung injury induced by lipopolysaccharide (LPS). **Methods** 40 SPF male Sprague Dawley rats weighing 180~220 g were randomly divided into 4 groups (10 in each group): Control group, Model group, Amiloride group and Dexamethasone (Dex) group. The pathological changes of lung tissue were observed in rats, and the expression of interleukin-6 (IL-6) in serum was detected by ELISA. The expression levels of glucose-regulated protein 78 (GRP78), C/EBP-homologous protein (CHOP), Inositol-requiring

网络出版时间: 2020-3-30 17:09 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20200330.0846.015.html>

调 Q 纳秒脉冲 Cr ,Er: YSGG 激光 作用于牙釉质能量密度的研究

屠姗姗¹ 王 礼²

摘要 目的 通过摸索激光消融牙釉质的阈值和处理牙釉质最佳的能量密度,以及记录分析纳秒脉冲激光作用过程中牙釉质温度变化,研究波长 2.79 μm 的调 Q 纳秒脉冲 Cr ,Er: YSGG 激光在纳秒时间尺度上对牙釉质辐照的最佳能量密度。方法 采用调 Q 纳秒脉冲 Cr ,Er: YSGG 激光,使用 5 组不同激光能量密度分别处理牙釉质样本,利用场发射扫描电镜观察表面形貌,找到消融阈值和最佳能量密度;能量弥散 X 射线谱检测化学成分;利用高性能红外热像仪对 Cr ,Er: YSGG 激光作用过程中的温度变化进行实时监测并记录。结果 分析出牙釉质激光消融阈值以及激光处理牙釉质最佳的能量密度区间,同时观察到低能量下不同能量密度对应的牙釉质表面温度变化。结论 采用调 Q 纳秒脉冲 Cr ,Er: YSGG 激光处理牙釉质,快速有效,干净无污染,且避免了对牙釉质及周围组织包括牙髓产生热损伤,提高了治疗安全性,为纳秒激光在口腔领域的临床应用提供研究基础。

关键词 Cr ,Er: YSGG 激光; 纳秒脉冲; 牙釉质; 消融阈值; 能量密度

2019-11-28 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 61505224); 安徽医科大学科学基金资助项目(编号: 2017xkj045)

作者单位: ¹安徽医科大学第二附属医院口腔科, 合肥 230601

²中科院合肥物质科学研究院医学物理与技术中心, 合肥 230031

作者简介: 屠姗姗, 女, 硕士, 主治医师, 责任作者, E-mail: 472984263
@qq.com

中图分类号 R 318.51; R 78

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)03-0401-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.03.015

牙齿表面牙釉质脱矿是很多口腔牙体疾病的始动因素, 形成的白垩斑影响口腔健康和美观, 进一步发展可导致龋坏等牙齿疾病^[1], 已成为口腔临床急需解决的难题。激光因其无噪音、治疗时间短和无交叉感染风险等优点在口腔临床中具有很好的应用前景, 而调 Q 纳秒脉冲 Cr ,Er: YSGG 激光器可以降低牙釉质及其周围组织包括牙髓的热沉积, 进一步提高了激光在口腔临床应用中的安全性, 调 Q 纳秒脉冲 Cr ,Er: YSGG 激光在牙齿表面处理方面的优势有待开发。对于激光防脱矿, 首先应摸索激光作用于牙釉质的始动能量, 其次是能量密度。

1 材料与方法

1.1 实验方法 选取正畸治疗中拔除的前磨牙 36 个, 牙体要求完整、无色斑、无龋坏、无充填, 未经修复和正畸治疗。新鲜离体牙用牙周刮治器刮除表面结石、软垢、组织残留物, 再用生理盐水冲洗, 依次用砂纸抛光至 2 000 目, 置于生理盐水中超声震荡清洗 30 min, 最后将牙组织样品保存于 0.9% 的生理盐水中, 并在 1 个月内用于实验。激光消融实验前

kinase 1 (IRE-1) and X box binding protein 1 (XBP-1) were detected by Real-time quantitative PCR. GRP78, c-caspase-12, IRE-1α and XBP-1 in lung tissue were detected by Western blot. **Results** Compared with the Control group, lung tissues in the Model group showed alveolar collapse and interstitial edema; the expression of IL-6 was up-regulated ($P < 0.01$). The expression of indicators related to lung tissue decreased in the amiloride group and the Dex group. Western blot results showed that the protein expression of endoplasmic reticulum stress-related genes in the Model group was increased compared with the Control group, and the protein expression of endoplasmic reticulum stress-related genes in the Amiloride group was lower than that in the Model group ($P < 0.01$). Real-time quantitative PCR results showed that the mRNA expression of endoplasmic reticulum stress-related genes in the Model group was increased compared with the Control group, and the mRNA expression of endoplasmic reticulum stress-related genes in the Amiloride group was lower than that in the Model group ($P < 0.01$). **Conclusion** Up-regulation of ASIC1a in LPS-induced acute lung injury rats may mediate endoplasmic reticulum stress response.

Key words acute lung injury; acid-sensitive ion channels; lipopolysaccharide; amiloride; endoplasmic reticulum stress