

# 蛋白激酶 C 在急性肺损伤 / 急性呼吸窘迫综合征中作用的研究进展

丛竹凯 吕向鹏 李丹 陶一凡 朱曦

急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 主要发病机制是多种肺内 / 肺外因素引起的急性炎症反应破坏了肺泡 - 血管内皮屏障, 导致富含蛋白质和炎症细胞的液体渗出到肺泡与肺间质形成了弥漫性肺水肿<sup>[1]</sup>。ALI 起病急, 进展速度快, 预后差, 严重者可致急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS), 病死率高达 41.9% ~ 50.4%<sup>[2]</sup>。目前, 针对 ALI/ARDS 的治疗主要是通过机械通气、液体管理和抗炎等方式, 尚无特效的药物治疗方法, 主要原因是由于 ALI/ARDS 的发病机制尚未完全明确<sup>[3]</sup>。

蛋白激酶 C (PKC) 是由多种同工酶组成的蛋白激酶家族, 能够磷酸化底物蛋白的丝氨酸和苏氨酸残基, 参与和调控生物体内的许多生命活动<sup>[4]</sup>。大量研究表明, PKC 的异常表达与癌症、心脏病、肺部疾病、肾脏疾病和自身免疫疾病等均有密切关联, 其在 ALI/ARDS 发病过程中也发挥着重要的调控作用<sup>[5]</sup>, 因此, 本文对 PKC 在 ALI/ARDS 中发挥的作用进行综述。

## 1 PKC 分类与激活

PKC 是由氨基端的催化区域和羧基端的调节区域构成的单条多肽链。目前研究发现, 动物组织中的 PKC 共有 10 种亚型, 根据不同亚型的结构模式和被激活的方式又归为三大类, 其中, 经典型 PKC 包括 PKC- $\alpha$ 、 $\beta$  I、 $\beta$  II、 $\gamma$ , 需要在  $Ca^{2+}$  与二脂酰甘油 (DAG) 共同作用的条件下被激活; 新型 PKC 包括 PKC- $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\theta$ 、 $\eta$ , 只需 DAG 即可被激活; 非典型 PKC 包括 PKC  $\zeta$  和 PKC  $\lambda$ /PKC  $\iota$ , 不受  $Ca^{2+}$  与 DAG 的影响, 主要被磷脂酰丝氨酸 (PS) 激活<sup>[6]</sup>。

PKC 的激活方式比较复杂, 未激活的 PKC 位于胞浆中, 合成后很快会被降解。为了维持自身的稳定性, 在被激活之前 PKC 本身需要进行三步有序的磷酸化反应。完成磷酸化的 PKC 会与胞浆中的假性底物结合仍保持无活性状态, 只有当细胞受到胞外信号的刺激导致细胞内 PS、DAG、

$Ca^{2+}$  等辅酶因子增加时, 磷酸化的 PKC 才会与假性底物分离并从胞浆转位到细胞膜上, 然后对底物蛋白的丝氨酸和苏氨酸残基进行磷酸化发挥作用<sup>[7]</sup>。

## 2 ALI/ARDS 发病机制研究进展

ALI/ARDS 的发病机制复杂, 根据诱发因素的不同, 可以分为肺内原因与肺外原因引起的 ALI/ARDS, 其中, 肺内原因包括感染性肺炎、误吸、肺创伤等<sup>[8]</sup>, 肺外原因包括脓毒症、烧伤、休克等<sup>[9]</sup>。尽管不同的病因导致的 ALI/ARDS 的发生机制、发病过程有所差异, 研究发现其发生发展的关键机制之一的是失控的炎症反应破坏了肺泡 - 血管内皮屏障<sup>[10-11]</sup>。

已知, 适度的炎症反应能保护机体抵抗病原菌的侵袭, 而过度激活的炎症反应会对正常组织造成破坏<sup>[1, 12]</sup>。在 ALI/ARDS 发生过程中则会出现炎症反应的失衡, 包括巨噬细胞、中性粒细胞等大量炎症细胞在肺部的聚集和激活, TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、ROS、弹性蛋白酶等促炎介质的释放, 均会对肺泡 - 血管内皮屏障造成严重破坏<sup>[13-14]</sup>。作为肺部重要的保护屏障, 肺泡 - 血管内皮屏障由肺泡上皮细胞和血管内皮细胞组成, 在进行气体交换、防止病原侵袭和肺部液体清除中发挥着重要作用<sup>[15]</sup>, 同时肺泡上皮细胞和血管内皮细胞也可以释放炎症因子参与肺部炎症反应<sup>[16-17]</sup>。当肺泡 - 血管内皮屏障被破坏, 通透性增加, 屏障的液体清除能力降低, 大量富含蛋白质、炎症细胞和红细胞液体会渗出到肺泡中并且无法被清除, 使肺泡与肺间质出现弥漫性的水肿, 影响肺的气体交换功能, 最终导致 ALI/ARDS 患者出现顽固性低氧血症<sup>[18]</sup>。因此, 如何控制 ALI/ARDS 患者肺部炎症反应的过度激活并维持肺泡 - 血管内皮屏障的结构与功能的完整性, 对保护肺脏有重要意义<sup>[1, 19]</sup>。

## 3 PKC 在 ALI/ARDS 中的作用

PKC 是最早被发现的蛋白激酶家族之一, 其作用范围广泛, 涉及细胞的增殖、凋亡、形态改变、分泌、受体表达等众多细胞功能活动, 一直是国内外研究的热点<sup>[20]</sup>。目前, 大量研究表明 PKC 在不同病因诱导的 ALI/ARDS 中发挥着重要的调控作用<sup>[21-22]</sup>, 其参与调控的方式是多方面的,

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2018.04.024

基金项目: 国家自然科学基金 (81372043); 北京市自然科学基金 (7162199)

作者单位: 100191 北京, 北京大学第三医院危重医学科 (丛竹凯、吕向鹏、李丹、朱曦), 麻醉科 (陶一凡)

通信作者: 朱曦, Email: xizhucm@163.com

既包括影响肺部炎症细胞的激活和炎症介质的释放,也包括改变肺泡-血管内皮细胞屏障结构和功能的稳定,因此对于研究 ALI/ARDS 发生机制具有重要意义<sup>[23]</sup>。

### 3.1 PKC 对 ALI/ARDS 中炎症细胞的作用

3.1.1 PKC 对肺部巨噬细胞炎症介质的释放和吞噬作用的调控 肺部巨噬细胞是肺在正常条件下含量最多的免疫细胞,根据分布位置不同可以分为肺泡巨噬细胞和肺间质巨噬细胞,其中肺泡巨噬细胞在维持肺部免疫稳态和宿主防御中位于核心地位<sup>[24]</sup>。肺泡巨噬细胞作为抵抗外界侵袭的第一道防线,能够吞噬、清除病原体,并在激活条件下释放活性氧(ROS)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )等炎症介质,释放的炎症介质可以刺激周围的肺泡上皮细胞和其他巨噬细胞释放多种趋化因子,从血液循环中募集大量中性粒细胞、单核-巨噬细胞、淋巴细胞等到肺组织进一步增强炎症反应<sup>[25]</sup>。

ROS 是 ALI/ARDS 中重要的促炎介质,激活的巨噬细胞和中性粒细胞均可以产生 ROS,对血管内皮细胞造成破坏<sup>[26]</sup>。Lim 等<sup>[27]</sup>在研究石棉纤维刺激肺泡巨噬细胞产生 ROS 的机制中发现,使用 PKC 抑制剂与磷脂酶 C (PLC) 抑制剂可以减少大鼠肺泡巨噬细胞 ROS 的表达。巨噬细胞释放的另一重要炎症因子 TNF- $\alpha$  同样受 PKC 的影响,Corsini 等<sup>[28]</sup>研究结果显示 PKC  $\beta$  II 参与到大鼠肺泡巨噬细胞功能的成熟和 TNF- $\alpha$  的释放。除了对巨噬细胞炎症介质释放的调节,在外部因素的刺激下,激活 PKC 通路还能促进巨噬细胞对外来异物的吞噬作用<sup>[29-30]</sup>。因此,不同 PKC 亚型的激活对肺部巨噬细胞炎症介质的释放和吞噬作用的调控均有重要意义。

3.1.2 PKC 对中性粒细胞的调节作用 中性粒细胞是 ALI/ARDS 疾病进展的关键因素,ARDS 患者肺泡灌洗液中中性粒细胞的数量与其病情严重程度成正相关<sup>[31]</sup>。伴随着炎症的发生和肺泡-血管内皮屏障的破坏,大量中性粒细胞在趋化因子的作用下浸润到肺组织,并产生许多细胞毒性物质,包括颗粒酶、ROS、促炎因子以及中性粒细胞外诱捕网(NETs)等。这些毒性物质在抵抗细菌、病毒等病原体的同时,也会对正常肺组织造成进一步的损伤<sup>[32]</sup>。

PKC 参与中性粒细胞中 NADPH 氧化酶的激活<sup>[33-35]</sup>,而 NADPH 氧化酶是促进 ROS 产生的主要酶类之一<sup>[36]</sup>。NETs 是 2004 年新发现的一种中性粒细胞的杀菌方式,主要通过局部形成高浓度的抗菌多肽以及 ROS 来杀灭病原菌<sup>[37]</sup>,可以明确的是 PKC 在 NETs 形成过程中发挥着不可替代的调控作用<sup>[38-39]</sup>。另外,为了维持免疫反应的稳定,避免正常组织的损伤,未激活的中性粒细胞通过自发凋亡的方式来控制自身细胞数量<sup>[40]</sup>;而激活的中性粒细胞则因凋亡延迟存活时间明显延长,并在局部组织持续释放细胞毒性物质造成严重破坏。Kilpatrick 等<sup>[41]</sup>研究发现,抑制

中性粒细胞中 PKC  $\delta$  的激活可以阻断 TNF- $\alpha$  诱导的细胞凋亡延迟作用。以上研究的结果显示,抑制 PKC 不仅可以调控中性粒细胞的存活周期控制其数量,还可以抑制中性粒细胞的激活减少细胞毒性物质的过度产生。

### 3.2 PKC 对肺泡-毛细血管屏障结构与功能的调控作用

3.2.1 PKC 对肺血管内皮细胞的影响 PKC 与肺血管内皮细胞(pulmonary vascular endothelial cell, PVEC)的渗透性关系密切<sup>[42]</sup>。PVEC 是肺部的一种半渗透性的屏障结构,能将肺部的血液循环和肺间质分隔开,对两者之间大分子物质、营养物质、白细胞和液体的转运有重要意义<sup>[43]</sup>。目前认为,PVEC 屏障的完整性主要依赖于稳定的细胞骨架和细胞之间的连接<sup>[44]</sup>。

在 ALI/ARDS 中,TNF- $\alpha$ 、IL-6、ROS 和机械牵拉等刺激可以引起内皮细胞中骨架蛋白的收缩并牵拉细胞,使原来相邻的细胞分离形成细胞间隙,最终导致屏障的渗透性增加<sup>[45-46]</sup>。肌球蛋白是细胞骨架的重要组成部分,肌球蛋白的轻链(MLC)在被肌球蛋白轻链激酶(MLCK)磷酸化后可以引起内皮细胞的收缩反应<sup>[47]</sup>。Garcia 等<sup>[48]</sup>的研究结果则显示,抑制 PVEC 中 PKC 的活性可以降低凝血酶诱导的 MLC 的磷酸化,使屏障功能障碍得到明显改善。ERM 蛋白是一种细胞骨架-细胞膜连接蛋白,也参与到内皮细胞渗透性的调节<sup>[49]</sup>,有研究表明在内毒素(LPS)诱导的 PVEC 渗透性增加过程中,细胞内 ERM 蛋白磷酸化水平的升高是通过 PKC 介导的<sup>[50]</sup>。

血管内皮细胞间的紧密连接和黏着连接是维持其屏障功能稳定的另一重要因素。紧密连接主要由 claudin 蛋白,occludin 蛋白和连接黏附分子组成。目前,尚无研究表明 PVEC 中紧密连接与 PKC 之间存在明确关联,但是在 ALI/ARDS 中,PKC 的激活常伴随着 occludin 蛋白表达的减少<sup>[51]</sup>。另外,有研究表明,长期暴露于酒精中的脑微血管内皮细胞,其紧密连接蛋白表达下调是通过 PKC  $\alpha$  信号通路实现的<sup>[52]</sup>。黏着连接主要由钙黏着糖蛋白组成,钙黏着糖蛋白通过与 p120 连环素的结合保持自身稳定,Vandenbroucke 等<sup>[53]</sup>曾在人肺微血管内皮细胞研究中发现,PKC  $\alpha$  可以磷酸化 p120 连环素的丝氨酸残基,导致 p120 连环素与钙黏着糖蛋白分离,最终引起细胞黏着连接的分解。

PVEC 不仅是炎症介质和炎症细胞攻击的靶细胞,同时可以作为效应细胞分泌炎症因子和细胞黏附分子,参与炎症反应。流感病毒感染引起的肺部炎症中 PVEC 可以产生干扰素- $\alpha$ (interferon- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ )、IL-6、TNF- $\alpha$  和干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN  $\gamma$ )等多种细胞因子<sup>[54]</sup>。Tsai 等<sup>[55]</sup>在研究缺氧诱导的大鼠肺损伤中发现,用经典型 PKC 的抑制剂对分离的血管内皮细胞进行干预,能够下调内皮细

胞 TNF- $\alpha$  的表达。在血管内皮中, PKC 同样参与 NADPH 氧化酶的激活, 促进 ROS 的产生, 加重炎症反应破坏<sup>[56]</sup>。细胞间黏附分子 ICAM-1 和 VCAM-1 能够介导炎症细胞和内皮细胞的黏附激活, 抑制 PKC  $\delta$  可以下调脓毒症大鼠 PVEC 中 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达, 调节中性粒细胞和血管内皮的相互作用<sup>[57]</sup>。

3.2.2 PKC 对肺泡上皮细胞的影响 肺泡上皮由 I 型肺泡上皮细胞和 II 型肺泡上皮细胞构成, 其中, I 型肺泡上皮细胞约占肺泡表面积的 95%, 主要负责肺泡腔与血液间的气体交换; II 型肺泡上皮细胞所占面积少, 主要通过分泌肺泡表面活性物质降低肺泡表面张力。上皮细胞可以通过两种方式控制肺部液体平衡, 一种是在上皮细胞间形成紧密连接, 限制蛋白质跨屏障转运, 从而维持屏障两侧的渗透压, 防止肺水肿发生; 另一种是利用细胞膜上的离子通道和水通道蛋白清除聚集在肺泡内的液体<sup>[58]</sup>。

与血管内皮细胞相似, 肺泡上皮细胞间也存在紧密连接, 并且与肺泡上皮屏障功能密切相关<sup>[59]</sup>。有研究称, 蛋白质跨屏障转运的阻力超过 90% 来源于肺泡上皮细胞<sup>[16]</sup>。在机械通气诱导的大鼠肺损伤中, 用 PKC 抑制剂预处理则可以使肺泡上皮细胞 occludin 连接蛋白的表达增加, 减轻肺损伤<sup>[60]</sup>。

上皮细胞阿米洛利敏感钠离子通道 (amiloride-sensitive epithelial sodium channels, ENaC) 是肺泡上皮最具特点的离子通道, 肺泡腔内的钠离子可以通过上皮细胞顶端侧的 ENaC 进入细胞, 然后经基底侧的钠钾泵泵入肺间质, 在肺间质与肺泡间形成渗透梯度, 肺泡内的液体在渗透梯度的作用下通过上皮细胞的水通道蛋白和细胞间通路被清除<sup>[16]</sup>。在流感病毒引起的肺损伤中, 上皮细胞 ENaC 的开放能力降低, 导致肺水肿, 用 PKC 抑制剂可以阻断这种作用<sup>[61]</sup>。另有研究发现, 缺氧和 ROS 可以通过激活 PKC  $\zeta$ , 使钠钾泵的  $\alpha$  亚基磷酸化, 影响其转运功能, 抑制肺泡液体的重吸收<sup>[62]</sup>。

近期有研究表明, PKC 也可以调控肺泡上皮细胞炎症因子的释放。用真菌感染人类肺泡上皮细胞系, 可以诱导 IL-6 和 IL-8 的分泌, 用短 RNA 干扰技术或抑制肽抑制 PKC  $\delta$  可以降低 IL-6 和 IL-8 水平<sup>[63]</sup>。

## 4 结语与展望

目前, 对 ALI/ARDS 的治疗主要以通气性与非通气性治疗策略为基础。对肺损伤患者通过呼吸机管理的呼吸支持治疗已经取得不俗进展, 但是在药物治疗方面一直没有突破, 究其原因, 主要与 ALI/ARDS 复杂的发病机制有关。ALI/ARDS 的发生不仅涉及炎症反应的失控, 还包括肺泡-血管内皮屏障结构与功能的破坏。PKC 作为体内重要的蛋白激酶, 可以通过多种机制参与 ALI/ARDS 的发生发展。

一方面, PKC 可以调控肺泡巨噬细胞、中性粒细胞、血管内皮细胞、肺泡上皮细胞等释放多种炎症介质, 促使肺组织中炎症反应失衡的发生, 对肺泡-血管内皮屏障造成破坏; 另一方面, PKC 可以直接参与肺泡-血管内皮屏障稳定性的调整, 导致屏障通透性增加, 肺水清除能力下降, 最终引起弥漫性的肺水肿。

随着 PKC 在调控细胞功能方面研究的不断深入, 我们对 PKC 在 ALI/ARDS 中的作用机制也有了一定的了解, 同时也为 ALI/ARDS 的药物治疗提供了新的思路, PKC 或许可以作为药物干预的靶点, 通过多重治疗机制来改善 ALI/ARDS。但是, 由于 PKC 亚型分类众多, 并且在不同细胞中发挥的功能也不尽相同, 因此, 对不同亚型的 PKC 在不同细胞中发挥作用的机制需要进一步深入研究。

## 参 考 文 献

- [1] Matthay MA, Ware LB, Zimmerman GA. The acute respiratory distress syndrome[J]. J Clin Invest, 2012,122(8):2731-2740.DOI: 10.1172/JCI60331.
- [2] Bellani G, Laffey JG, Pham T, et al. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries[J]. JAMA, 2016,315(8):788-800. DOI: 10.1001/jama.2016.0291.
- [3] 卫阔, 闫亚敏. 急性呼吸窘迫综合征的药物治疗[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2011,31(6):544-548.DOI: 10.3969/j.issn.1673-2588.2011.12.020.
- [4] Inoue M, Kishimoto A, Takai Y, et al. Studies on a cyclic nucleotide-independent protein kinase and its proenzyme in mammalian tissues. II. Proenzyme and its activation by calcium-dependent protease from rat brain[J]. J Biol Chem, 1977,252(21):7610-7616.
- [5] Mochly-Rosen D, Das K, Grimes KV. Protein kinase C, an elusive therapeutic target?[J]. Nat Rev Drug Discov, 2012,11(12):937-957. DOI: 10.1038/nrd3871.
- [6] Lim PS, Sutton CR, Rao S. Protein kinase C in the immune system: from signalling to chromatin regulation[J]. Immunology, 2015,146(4):508-522.DOI: 10.1111/imm.12510.
- [7] Newton AC. Protein kinase C: structural and spatial regulation by phosphorylation, cofactors, and macromolecular interactions[J]. Chem Rev, 2001,101(8):2353-2364.
- [8] Reiss LK, Uhlig U, Uhlig S. Models and mechanisms of acute lung injury caused by direct insults[J]. Eur J Cell Biol, 2012,91(67):590-601.DOI: 10.1016/j.ejcb.2011.11.004.
- [9] Perl M, Lomas-Neira J, Venet F, et al. Pathogenesis of indirect (secondary) acute lung injury[J]. Expert Rev Respir Med, 2011,5(1):115-126.DOI: 10.1586/ers.10.92.
- [10] 董亮, 邱海波. 急性肺损伤的治疗进展[J]. 中华急诊医学杂志, 2012,21(3):235-238.DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2012.03.002.

- [ 11 ] Herold S, Gabrielli NM, Vadasz I. Novel concepts of acute lung injury and alveolar-capillary barrier dysfunction[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2013,305(10):L665-681.DOI: 10.1152/ajplung.00232.2013.
- [ 12 ] Park WY, Goodman RB, Steinberg KP, et al. Cytokine balance in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001,164(10 Pt 1):1896-1903.DOI: 10.1164/ajrccm.164.10.2104013.
- [ 13 ] 卞佳兰, 莫清飞, 罗欢, 等. 生长停滞特异性蛋白 6 对脓毒症小鼠急性肺损伤的保护研究 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2017,26(2):161-167.DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2017.02.008.
- [ 14 ] Wei M, Gong YJ, Tu L, et al. Expression of phosphatidylinositol-3 kinase and effects of inhibitor Wortmannin on expression of tumor necrosis factor-alpha in severe acute pancreatitis associated with acute lung injury[J]. *World J Emerg Med*, 2015,6(4):299-304.DOI: 10.5847/wjem.j.1920-8642.2015.04.009.
- [ 15 ] Bhattacharya J, Matthay MA. Regulation and repair of the alveolar-capillary barrier in acute lung injury[J]. *Annu Rev Physiol*, 2013,75:593-615.DOI: 10.1146/annurev-physiol-030212-183756.
- [ 16 ] Short KR, Kroeze E, Fouchier R, et al. Pathogenesis of influenza-induced acute respiratory distress syndrome[J]. *Lancet Infect Dis*, 2014,14(1):57-69.DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70286-X.
- [ 17 ] Teijaro JR, Walsh KB, Cahalan S, et al. Endothelial cells are central orchestrators of cytokine amplification during influenza virus infection[J]. *Cell*, 2011,146(6):980-991.DOI: 10.1016/j.cell.2011.08.015.
- [ 18 ] Ware LB, Matthay MA. Alveolar fluid clearance is impaired in the majority of patients with acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001,163(6):1376-1383.DOI: 10.1164/ajrccm.163.6.2004035.
- [ 19 ] Liu ZW, Wang HY, Guan L, et al. Regulatory effects of hydrogen sulfide on alveolar epithelial cell endoplasmic reticulum stress in rats with acute lung injury[J]. *World J Emerg Med*, 2015,6(1):67-73.DOI: 10.5847/wjem.j.1920-8642.2015.01.012.
- [ 20 ] Dempsey EC, Newton AC, Mochly-Rosen D, et al. Protein kinase C isozymes and the regulation of diverse cell responses[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2000,279(3):L429-438.
- [ 21 ] Hammerschmidt S, Vogel T, Jockel S, et al. Protein kinase C inhibition attenuates hypochlorite-induced acute lung injury[J]. *Respir Med*, 2007,101(6):1205-1211.DOI: 10.1016/j.rmed.2006.11.003.
- [ 22 ] Chichger H, Grinnell KL, Casserly B, et al. Genetic disruption of protein kinase Cdelta reduces endotoxin-induced lung injury[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012,303(10):L880-L888.DOI: 10.1152/ajplung.00169.2012.
- [ 23 ] Brieland JK, Balazovich K, Fantone JC. The effect of acute inflammatory lung injury on the respiratory burst and protein kinase C activity of rat pulmonary alveolar macrophages[J]. *Am Rev Respir Dis*, 1989,139(2):378-381.DOI: 10.1164/ajrccm/139.2.378.
- [ 24 ] Byrne AJ, Mathie SA, Gregory LG, et al. Pulmonary macrophages: key players in the innate defence of the airways[J]. *Thorax*, 2015,70(12):1189-1196.DOI: 10.1136/thoraxjnl-2015-207020.
- [ 25 ] Hussell T, Bell T J. Alveolar macrophages: plasticity in a tissue-specific context[J]. *Nat Rev Immunol*, 2014,14(2):81-93.DOI: 10.1038/nri3600.
- [ 26 ] Ziltener P, Reinheckel T, Oxenius A. Neutrophil and alveolar macrophage-mediated innate immune control of legionella pneumophila lung infection via TNF and ROS[J]. *PLoS Pathog*, 2016,12(4):e1005591.DOI: 10.1371/journal.ppat.1005591.
- [ 27 ] Lim Y, Kim SH, Kim KA, et al. Involvement of protein kinase C, phospholipase C, and protein tyrosine kinase pathways in oxygen radical generation by asbestos-stimulated alveolar macrophage[J]. *Environ Health Perspect*, 1997,105 Suppl 5:1325-1327.
- [ 28 ] Corsini E, Viviani B, Lucchi L, et al. Ontogenesis of protein kinase C betaII and its anchoring protein RACK1 in the maturation of alveolar macrophage functional responses[J]. *Immunol Lett*, 2001,76(2):89-93.
- [ 29 ] Tang R, Zhang G, Chen SY. Response gene to complement 32 protein promotes macrophage phagocytosis via activation of protein kinase C pathway[J]. *J Biol Chem*, 2014,289(33):22715-22722.DOI: 10.1074/jbc.M114.566653.
- [ 30 ] Corsini E, Viviani B, Lucchi L, et al. Ontogenesis of protein kinase C betaII and its anchoring protein RACK1 in the maturation of alveolar macrophage functional responses[J]. *Immunol Lett*, 2001,76(2):89-93.
- [ 31 ] Weiland JE, Davis WB, Holter J F, et al. Lung neutrophils in the adult respiratory distress syndrome. Clinical and pathophysiologic significance[J]. *Am Rev Respir Dis*, 1986,133(2):218-225.DOI: 10.1164/arrd.1986.133.2.218.
- [ 32 ] Grommes J, Soehnlein O. Contribution of neutrophils to acute lung injury[J]. *Mol Med*, 2011,17(34):293-307.DOI: 10.2119/molmed.2010.00138.
- [ 33 ] Fontayne A, Dang PM, Gougerot-Pocidalo MA, et al. Phosphorylation of p47phox sites by PKC alpha, beta II, delta, and zeta: effect on binding to p22phox and on NADPH oxidase activation[J]. *Biochemistry*, 2002,41(24):7743-7750.
- [ 34 ] Dekker LV, Leitges M, Altschuler G, et al. Protein kinase C-beta contributes to NADPH oxidase activation in neutrophils[J]. *Biochem J*, 2000,347 Pt 1:285-289.
- [ 35 ] Jancinova V, Perecko T, Nosal R, et al. The natural stilbenoid piceatannol decreases activity and accelerates apoptosis of human neutrophils: involvement of protein kinase C[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2013,2013:136539.DOI: 10.1155/2013/136539.
- [ 36 ] 张洁洁, 彭军. NADPH 氧化酶激活机制和病理意义 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2014,28(1):139-142.DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2014.01.021.
- [ 37 ] 宋明明, 王旭, 孙炳伟. 脓毒症中中性粒细胞胞外诱捕网的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2015(2):152-154.DOI: 10.3760/

- cma.j.issn.2095-4352.2015.02.016.
- [ 38 ] Gray RD, Lucas CD, MacKellar A, et al. Activation of conventional protein kinase C (PKC) is critical in the generation of human neutrophil extracellular traps[J]. *J Inflamm (Lond)*, 2013,10(1):12. DOI: 10.1186/1476-9255-10-12.
- [ 39 ] Neeli I, Radic M. Opposition between PKC isoforms regulates histone deimination and neutrophil extracellular chromatin release[J]. *Front Immunol*, 2013,4:38. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00038.
- [ 40 ] Luo HR, Loison F. Constitutive neutrophil apoptosis: mechanisms and regulation[J]. *Am J Hematol*, 2008,83(4):288-295. DOI: 10.1002/ajh.21078.
- [ 41 ] Kilpatrick LE, Lee JY, Haines KM, et al. A role for PKC-delta and PI 3-kinase in TNF-alpha-mediated antiapoptotic signaling in the human neutrophil[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2002,283(1):C48-57. DOI: 10.1152/ajpcell.00385.2001.
- [ 42 ] Siflinger-Birnboim A, Johnson A. Protein kinase C modulates pulmonary endothelial permeability: a paradigm for acute lung injury[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2003,284(3):L435-451. DOI: 10.1152/ajplung.00106.2002.
- [ 43 ] Millar FR, Summers C, Griffiths MJ, et al. The pulmonary endothelium in acute respiratory distress syndrome: insights and therapeutic opportunities[J]. *Thorax*, 2016,71(5):462-473. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2015-207461.
- [ 44 ] Kasa A, Csontos C, Verin AD. Cytoskeletal mechanisms regulating vascular endothelial barrier function in response to acute lung injury[J]. *Tissue Barriers*, 2015,3(12):e974448. DOI: 10.4161/21688370.2014.974448.
- [ 45 ] Millar FR, Summers C, Griffiths MJ, et al. The pulmonary endothelium in acute respiratory distress syndrome: insights and therapeutic opportunities[J]. *Thorax*, 2016,71(5):462-473. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2015-207461.
- [ 46 ] Maniatis NA, Orfanos SE. The endothelium in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome[J]. *Curr Opin Crit Care*, 2008,14(1):22-30. DOI: 10.1097/MCC.0b013e3282f269b9.
- [ 47 ] Rigor RR, Shen Q, Pivetti CD, et al. Myosin light chain kinase signaling in endothelial barrier dysfunction[J]. *Med Res Rev*, 2013,33(5):911-933. DOI: 10.1002/med.21270.
- [ 48 ] Garcia JG, Davis HW, Patterson CE. Regulation of endothelial cell gap formation and barrier dysfunction: role of myosin light chain phosphorylation[J]. *J Cell Physiol*, 1995,163(3):510-522. DOI: 10.1002/jcp.1041630311.
- [ 49 ] 吴莹, 张淑静, 张晨月, 等. 靶向 ezrin、radixin、moesin 的 siRNA 慢病毒感染原代肺微血管内皮细胞促进流感病毒的复制 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2015,31(4):456-461.
- [ 50 ] Kovacs-Kasa A, Gorshkov BA, Kim KM, et al. The protective role of MLCP-mediated ERM dephosphorylation in endotoxin-induced lung injury in vitro and in vivo[J]. *Sci Rep*, 2016,6:39018. DOI: 10.1038/srep39018.
- [ 51 ] Liu M, Gu C, Wang Y. Upregulation of the tight junction protein occludin: effects on ventilation-induced lung injury and mechanisms of action[J]. *BMC Pulm Med*, 2014,14:94. DOI: 10.1186/1471-2466-14-94.
- [ 52 ] Yu H, Wang C, Wang X, et al. Long-term exposure to ethanol downregulates tight junction proteins through the protein kinase Calpha signaling pathway in human cerebral microvascular endothelial cells[J]. *Exp Ther Med*, 2017,14(5):4789-4796. DOI: 10.3892/etm.2017.5180.
- [ 53 ] Vandebroucke SAE, Tauseef M, Vogel S M, et al. PKCalpha activation of p120-catenin serine 879 phospho-switch disassembles VE-cadherin junctions and disrupts vascular integrity[J]. *Circ Res*, 2012,111(6):739-749. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.112.269654.
- [ 54 ] Teijaro JR, Walsh KB, Cahalan S, et al. Endothelial cells are central orchestrators of cytokine amplification during influenza virus infection[J]. *Cell*, 2011,146(6):980-991. DOI: 10.1016/j.cell.2011.08.015.
- [ 55 ] Tsai BM, Patel K, Wang M, et al. Selective protein kinase C inhibition attenuates pulmonary artery cytokine expression without affecting hypoxic pulmonary vasoconstriction[J]. *Shock*, 2007,27(1):36-39. DOI: 10.1097/01.shk.0000235128.97610.b2.
- [ 56 ] Huang Y, Yan L, Rong S, et al. TNF-alpha induces endothelial dysfunction via PKC-zeta-dependent NADPH oxidase activation[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2012,32(5):642-647. DOI: 10.1007/s11596-012-1011-9.
- [ 57 ] Mondrinos MJ, Zhang T, Sun S, et al. Pulmonary endothelial protein kinase C-delta (PKCdelta) regulates neutrophil migration in acute lung inflammation[J]. *Am J Pathol*, 2014,184(1):200-213. DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.09.010.
- [ 58 ] Budinger GR, Sznajder JI. The alveolar-epithelial barrier: a target for potential therapy[J]. *Clin Chest Med*, 2006,27(4):655-669. DOI: 10.1016/j.ccm.2006.06.007.
- [ 59 ] 毕继蕊, 杨进, 汪影, 等. 丙咪嗪对小鼠急性肺损伤肺泡上皮屏障功能保护作用的研究 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2017,26(6):638-643. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2017.06.008.
- [ 60 ] Liu M, Gu C, Wang Y. Upregulation of the tight junction protein occludin: effects on ventilation-induced lung injury and mechanisms of action[J]. *BMC Pulm Med*, 2014,14:94. DOI: 10.1186/1471-2466-14-94.
- [ 61 ] Chen XJ, Seth S, Yue G, et al. Influenza virus inhibits ENaC and lung fluid clearance[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004,287(2):L366-373. DOI: 10.1152/ajplung.00011.2004.
- [ 62 ] Dada LA, Sznajder JI. Hypoxic inhibition of alveolar fluid reabsorption[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2007,618:159-168.
- [ 63 ] Alcantara C, Maza PK, Barros BC, et al. Role of protein kinase C in cytokine secretion by lung epithelial cells during infection with *Paracoccidioides brasiliensis*[J]. *Pathog Dis*, 2015,73(7):pii: ftv045. DOI: 10.1093/femspd/ftv045.

(收稿日期: 2017-12-18)

(本文编辑: 何小军)