

DOI: 10.16016/j.1000-5404.201801166

靶向抗 ICAM-1 的载伊马替尼和液态氟碳脂质体对内毒素诱导的急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征模型小鼠的治疗研究

胡聪¹, 李攀², 王志刚², 江德鹏¹ 400010 重庆, 重庆医科大学: 附属第二医院呼吸内科¹, 超声分子影像重庆市重点实验室²

[摘要] 目的 探讨靶向抗细胞间黏附分子-1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1) 的载伊马替尼(imatinib mesylate, IM) 和液态氟碳(liquid fluorocarbon, LF) 脂质体对内毒素(lipopolysaccharides, LPS) 诱导的急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征(acute lung injury/acute respiratory distress syndrome, ALI/ARDS) 模型小鼠的治疗效果。方法 用旋转蒸发法制备靶向抗 ICAM-1 的载伊马替尼和液态氟碳脂质体, 用马尔文粒径仪检测其粒径, 透射电镜下观察脂质体内部载药情况。光镜下观察其形态, 置于 37.5 °C 恒温加热板上观察其相变情况。体外模拟体内药物释放环境, 观察脂质体内包载的伊马替尼药物的释放。6~8 周大小 30 只 C57BL/6 小鼠按随机数字表法分为: 对照组, LPS 造模组, 靶向抗 ICAM-1 脂质体治疗组, 每组 10 只。治疗结束 1 d 后观察肺石蜡切片 HE 染色和肺石蜡切片免疫荧光 ICAM-1 的分布情况, 肺组织提取 mRNA, 用 qRT-PCR 检测 IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α 表达情况, 同时对比肺的病理切片, 小鼠肺湿干重比和小鼠肺泡液体清除率。靶向抗 ICAM-1 脂质体和非靶向脂质体分别尾静脉注射入 ALI/ARDS 小鼠体内, 各个器官做冰冻切片, 共聚焦激光显微镜下观察两组脂质体在小鼠体内各个器官的分布。结果 成功制备靶向抗 ICAM-1 的载伊马替尼和液态氟碳脂质体, 其粒径为(320.8 \pm 58.7) nm, 透射电镜下观察其内部成功包载药物, 光镜下看到脂质体大小均匀, 在 37.5 °C 恒温板发生相变形成微泡。12 h 脂质体药物释放达到高峰, 绘出脂质体药物的释放曲线。与对照组相比, LPS 造模组有典型的 ALI/ARDS 病理特征, 肺损伤明显, 病理切片评分增加($P < 0.01$), 炎症因子 IL-6, IL-8, TNF- α 增加($P < 0.01$), IL-10 减少($P < 0.05$)。湿干重比(W/D)增高($P < 0.01$), 而小鼠肺泡液体清除率(alveolar fluid clearance, AFC)明显减弱($P < 0.01$)。靶向抗 ICAM-1 脂质体治疗组肺损伤减缓, 病理切片评分下降($P < 0.05$), 炎症因子 IL-6, IL-8, TNF- α 减少($P < 0.05$), IL-10 增加($P < 0.05$)。肺湿干重比下降($P < 0.05$), 而小鼠肺泡液体清除率好转($P < 0.05$)。结论 靶向抗 ICAM-1 载伊马替尼和液态氟碳脂质体对 LPS 诱导的小鼠 ALI/ARDS 有明显的治疗作用。

[关键词] 急性肺损伤; 急性呼吸窘迫综合征; 伊马替尼; 脂质体; 细胞间黏附分子-1

[中图分类号] R-332; R563.8; R944.9 **[文献标志码]** A

Anti-ICAM targeted liposomes loaded with imatinib and liquid fluorocarbon treat ALI/ARDS mouse model induced by LPS

HU Cong¹, LI Pan², WANG Zhigang², JIANG Depeng¹ ¹Department of Respiratory Diseases, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400010; ²Chongqing Key Laboratory of Ultrasound Molecular Imaging, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China

[Abstract] **Objective** To determine the therapeutic effect of intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) targeted liposomes loaded with imatinib (IM) and liquid fluorocarbon (LF) on the treatment of lipopolysaccharides (LPS)-induced mouse model of acute lung injury/acute respiratory distress syndrome (ALI/ARDS). **Methods** The anti-ICAM-1 liposomes were prepared by rotary evaporation to load IM and LF, and the particle size was detected by Malvin particle size analyzer. Transmission electron microscopy was

[基金项目] 国家自然科学基金应急管理项目(81650003)

[通信作者] 江德鹏, 电话: (023) 63693094, E-mail: depengjiang@163.com

[优先出版] http://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1126.R.20180408.0712.009.html

used to observe the loading of drugs in the liposomes, while under light microscopy for the shape of the prepared liposomes. Phase transformation was observed at constant temperature heating plate at 37.5 °C, and release rate of the drugs from the liposomes was observed *in vitro*. A total of 30, 6~8-week-old C57BL/6 mice were randomly divided into control group, LPS model group, and targeting ICAM-1 liposomes treatment group ($n=10$). In 1 d after the end of treatment, HE staining and immunofluorescence assay were employed to observe the morphology and distribution of ICAM-1 in the lung paraffin sections respectively. The mRNA levels of IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- α in the lung tissue were detected by qRT-PCR. Pathological changes, wet-to-dry (W/D) lung weight ratio, and alveolar fluid clearance (AFC) were compared in the different groups. ICAM-1 targeted liposomes and non-targeted liposomes were injected into ALI/ARDS mice by tail vein. All organs were collected for frozen sections, and the distributions of the liposomes in various organs were observed under confocal laser microscope. **Results** ICAM-1 targeted liposomes loaded with IM and LF were successfully prepared, with a particle size of 320.8 ± 58.7 nm. Transmission electron microscopy displayed the drugs were successfully encapsulated inside them, while light microscopy showed the liposomes were uniform in size, and gradually formed into microbubbles at 37.5 °C. The release of liposomes reached peak at 12 h, and the release curve of drugs was plotted. Compared with the control group, the mice of the LPS group presented typical pathological features of ALI/ARDS and obvious lung injury, and had increased pathological score ($P < 0.01$), elevated IL-8, IL-6 and TNF- α levels ($P < 0.01$) while reduced IL-10 level ($P < 0.05$), and increased W/D ratio ($P < 0.01$) and decreased AFC ($P < 0.01$). ICAM-1 targeted liposomes treatment obviously attenuated the lung injury, decreased pathological score ($P < 0.05$) and IL-8, IL-6 and TNF- α levels ($P < 0.05$), but increased IL-10 level ($P < 0.05$), reduced the W/D ratio of the lung ($P < 0.05$), and improved AFC ($P < 0.05$). **Conclusion** ICAM-1 targeted liposomes loaded with IM and LF have obvious therapeutic effect on LPS-induced ALI/ARDS mice.

[Key words] acute lung injury; acute respiratory distress syndrome; imatinib; liposomes; intercellular cell adhesion molecule-1

Supported by the Emergency Management Program of National Natural Science Foundation (81650003). Corresponding author: JIANG Depeng, Tel: 86-23-63693094, E-mail: depengjiang@163.com

目前对急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征(acute lung injury/acute respiratory distress syndrome, ALI/ARDS)的临床诊疗水平有所提高,但无法达到满意的疗效,病死率依然较高^[1-2]。

血管内皮细胞功能障碍在ARDS的发生、发展中居重要作用。最新研究发现血管内皮细胞功能障碍和非受体酪氨酸激酶受体位点 Arg 和 c-Abl 相关^[3],这些激酶可能参与调节内皮细胞的粘附、增殖、分化和迁移^[4]。伊马替尼是一种非受体酪氨酸蛋白激酶 Arg 和 c-Abl 抑制剂,用于治疗费城染色体阳性慢性髓性白血病及其他恶性肿瘤^[5]。已经有研究提示伊马替尼在小鼠模型中有抗炎和抗纤维化作用^[6],也有研究提示伊马替尼对肺有保护作用^[7]。但是伊马替尼副作用较大,常规剂量会引起恶心、肌痛和骨水肿等副作用^[8-9]。

脂质体能够将药物选择性的聚集于靶器官或组织,有效减少药物副作用。ICAM-1 是相对分子量为 $(74 \sim 114) \times 10^3$ 的 I 型跨膜蛋白,主要表达于 II 型肺泡上皮细胞。液态氟碳在体内温度条件下可发生液气相变。我们选择使用 ICAM-1 抗体进一步提高药物的

靶向聚集,观察靶向抗 ICAM-1 的载伊马替尼和液态氟碳脂质体对 LPS 诱导的 ALI/ARDS 小鼠模型的治疗效果,以及在各个靶器官的分布。

1 材料与方法

1.1 实验动物

30 只 6~8 周大小 C57BL/6 小鼠,雌雄随机,体重 20~25 g,购自重庆医科大学实验动物中心,并在动物中心代养。

1.2 实验试剂

甲磺酸伊马替尼(IM),内毒素(LPS)购自美国 Sigma 公司。IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α 引物由上海生工合成。1-棕榈酰基-2-硬脂酰基卵磷脂(HSPC),二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 2000-生物素(DSPE-PEG2000-Biotin),二棕榈酰磷脂酰甘油(DPPG),胆固醇(Cholesterol)购自瑞士 Corden 公司,anti-ICAM-1-Biotin 购自北京博奥森生物有限公司。TRIzol 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司,荧光定量 PCR 试剂盒购自日本 TaKaRa 公司。链霉素,细胞膜红色荧光探针

(Dil) ,异硫氰酸荧光素(FITC)等其他试剂均购于上海碧云天生物技术有限公司。

1.3 靶向抗 ICAM 载伊马替尼和液态氟碳脂质体制备

HSPC ,DPPG ,DSPE-PEG2000-Biotin , Cholesterol 以一定的比例溶在 10 mL 氯仿中 装入圆底烧瓶 瓶口密封;完全溶解后 将圆底烧瓶置于旋转蒸发仪 50 °C 减压蒸发 2 h 蒸干氯仿 转速 80 r/min;待圆底烧瓶底部形成均匀脂膜后加入 PBS 溶液 将其置于恒温箱内缓慢振荡直至水化完全;冰浴条件下 声振仪乳化时间为 8 min 乳化过程中同时逐滴加入液态氟碳和伊马替尼 最后得到乳白色混悬液 即为载药液态氟碳纳米粒;在 4 °C 条件下将纳米粒离心洗涤 2 次 保存于 4 °C。加入链霉素孵育一段时间 并与 anti-ICAM-1-Biotin 孵育。

1.4 载伊马替尼和液态氟碳脂质体体外相变和体外药物释放曲线

光镜下观察脂质体 置于 37.5 °C 的恒温加热板上。在透析袋内加入 4 mL 载伊马替尼和液态氟碳脂质体 放入 50 mL 烧杯中 加入 30 mL PBS 缓冲液 (pH=7.4) 将烧杯放在 37.5 °C 恒温水浴箱振荡 (转速 100 r/min);设置取样时间点 1、2、4、6、12、24 h 每次取样 2 mL 取完后补回 2 mL PBS 缓冲液。测量取出的药物浓度 计算药物释放率。

1.5 实验动物分组及 ALI/ARDS 模型构建

采用随机数字表法将 30 只 C57BL/6 小鼠分为 3 组 每组 10 只: I 组为对照组; II 组为 LPS 造模组; III 组为靶向抗 ICAM-1 载伊马替尼(IM)脂质体治疗组。其中 I 组尾静脉注射 100 μL PBS; II 组气管给予 50 μL LPS(1 mg/kg) 尾静脉注射 100 μL PBS; III 组气管给予 50 μL LPS(1 mg/kg) 尾静脉注射 100 μL 靶向抗 ICAM-1 脂质体。取肺组织 4% 多聚甲醛固定 用肺组织做石蜡切片 HE 染色。同时取各组老鼠器官新鲜样本 做冰冻切片 共聚焦观察脂质体在各个器官冰冻切片的分布。

1.6 ALI/ARDS 的病理切片染色评分系统及标准^[10]

肺组织石蜡切片 HE 染色观察。评分标准: (1) 肺泡出血; (2) 肺泡水肿; (3) 肺泡腔中性粒细胞浸润或聚集; (4) 肺泡壁增厚和透明膜形成及炎症细胞浸润。依据病变轻重评分(0 分为无病变; 1 分为轻度病变; 2 分为中度病变; 3 分为重度病变; 4 分为极重度病变)。ARDS 总评分为各项评定总和。

1.7 小鼠肺湿干重比(W/D)

称量肺湿重 烤箱烤干到恒重称量得到干重。根据公式计算肺 W/D 值。

1.8 qPCR 法测定小鼠肺组织

依据 RNA 提取试剂盒说明书提取小鼠肺组织总

mRNA 测量 RNA 浓度 反转录为 cDNA。随后按照扩增试剂盒说明书进行 PCR 扩增 ,TNF-α 上游引物为 5'-CGAGTGACAAGCCCCGTAGCC-3' ,下游引物为 5'-GG-ATGAACACGCCAGTCGCC-3'; IL-6 上游引物为 5'-GCA-CTGGCAGAAAACAACCT-3' ,下游引物 5'-TCAAACCTC-CAAAAGACCAGTGA-3'。IL-8 上游引物为 5'-CCAA-CACAGAAATTATTGTAAAGC-3' ,下游引物 5'-TGAAT-TCTCAGCCCTCTTCAA-3' ,IL-10 上游引物为 5'-AGCT-GGACAACATACTGC-3' ,下游引物 5'-TCATTCATGGC-CTTGTAG-3' ,内参 β-actin 上游引物 5'-CGAGCGGGC-TACAGCTTC-3' ,下游引物为 5'-GTCACGCACGATTC-CCTCT-3'。PCR 反应条件: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s , 57 °C 30 s , 72 °C 60 s , 72 °C 10 min 共 35 个循环。

1.9 小鼠肺泡液体清除率(alveolar fluid clearance , AFC)

气管滴注 4% 伊文氏蓝标记白蛋白生理盐水 机械通气后 测定肺泡白蛋白浓度 并计算 AFC。AFC (%) = (Vi - Vf) / Vi × 100% , Vf = Vi × Pi / Pf ,其中 Vi 为注入肺泡内液体的量 ,Vf 为肺泡内剩余的液体量 ,Pi 为最初白蛋白浓度 ,Pf 为最终的白蛋白浓度。

1.10 统计学方法

采用 SPSS 13 统计软件分析 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。其两两比较采用 LSD-t 法 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 载伊马替尼脂质体的基本特性及在模拟体内环境的体外释放曲线

光镜下观察靶向抗 ICAM-1 的载伊马替尼和液态氟碳脂质体 分布均匀 大小粒径为 (320.8 ± 58.7) nm ,电镜下观察到脂质体内部有黑色颗粒药物。在 37.5 °C 的恒温板上 观察到液态氟碳的相变 显微镜下见脂质体逐渐变大形成微泡 最后破裂。Dil 染的脂质体发出红色荧光。用 FITC 标记连靶脂质体靶点抗体 观察到脂质体发出蓝色荧光。同时 体外模拟人体环境中 随着时间的延长 药物缓慢释放 2 h 药物释放率约 40.6% ,12 h 后药物释放率约 75.8% ,开始进入平台期 24 h 后药物几乎停止释放(图 1)。

2.2 ICAM-1 在各组小鼠肺中的表达

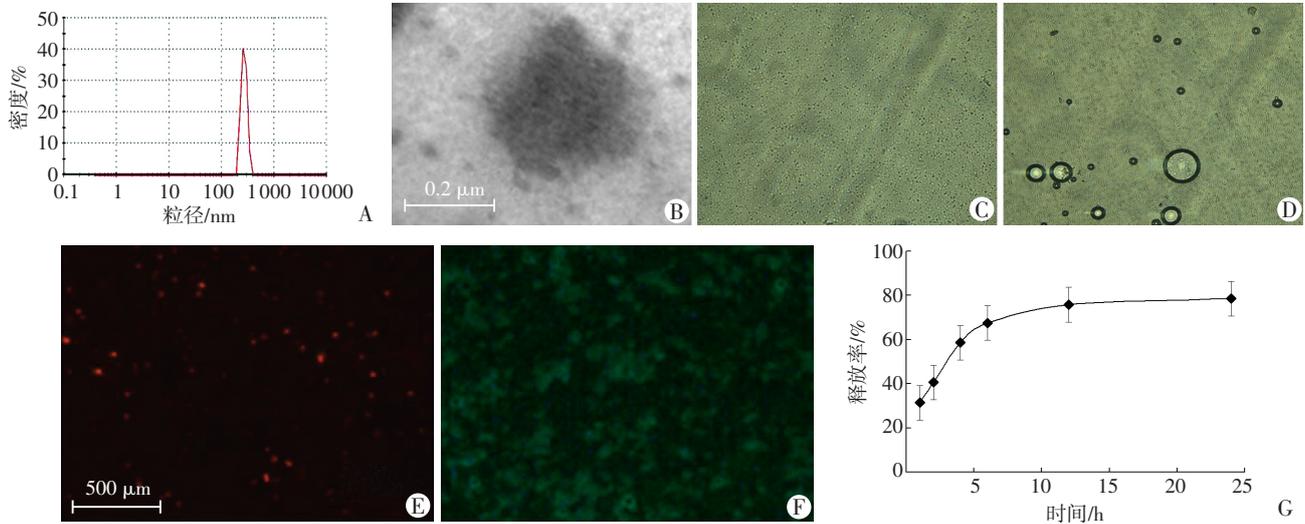
免疫荧光观察 ICAM-1 在肺的表达情况(图 2) 与对照组相比 ,LPS 造模组 ICAM-1 表达明显增加 且 ICAM-1 在肺的表达随炎症的加重而增多。在靶向抗 ICAM-1 脂质体治疗组 ICAM-1 表达比对照组增加。

2.3 靶向抗 ICAM-1 脂质体对 LPS 诱导的小鼠模型治疗效果评价

对照组小鼠精神状态佳 呼吸平稳 双肺正常 肺

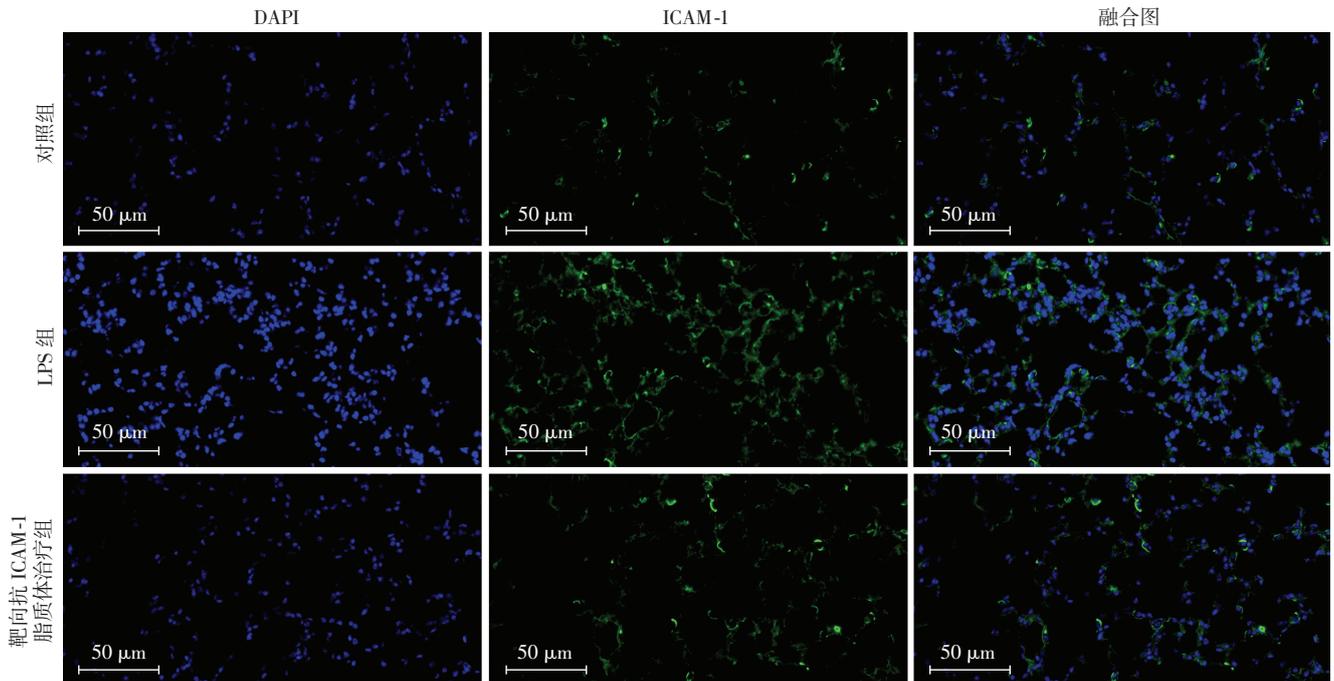
组织切片无明显病理变化; LPS 造模组小鼠出现精神萎靡, 呼吸急促, 双肺肿胀, 明显出血斑, 肺病理 HE 染色切片可见肺泡间隔明显增厚, 肺泡充血水肿, 大量炎症细胞浸润; 靶向抗 ICAM-1 脂质体治疗组小鼠精神状态和离体肺肉眼观察均明显好转, 切片可见肺泡间隔轻度增厚伴少量炎症细胞浸润, 肺泡轻度出血水肿。通过肺的 HE 染色切片评分比较, 我们发现 LPS 造模组平均切片评分(14 分)与对照组(2 分)相比增高

($P < 0.01$)。靶向抗 ICAM-1 脂质体治疗后, 炎症有所减缓, 平均评分(7 分)下降($P < 0.05$) (图 3)。与对照组相比, LPS 造模组 IL-6, IL-8, TNF- α mRNA, 小鼠 W/D 明显升高($P < 0.01$), IL-10 mRNA 和 AFC 明显降低($P < 0.01$)。靶向抗 ICAM-1 脂质体对 LPS 诱导的小鼠肺 IL-6, IL-8, TNF- α mRNA 和小鼠 W/D 升高有明显抑制作用($P < 0.01$), IL-10 和 AFC 结果则上升($P < 0.05$)。见图 4。



A: 靶向抗 ICAM-1 的载伊马替尼和液态氟碳脂质体的粒径分布; B: 透射电镜观察; C: 脂质体的光镜观察 ($\times 200$); D: 在 37.5 °C 加热板上脂质体相变光镜观察 ($\times 200$); E: 脂质体红色荧光观察; F: 靶向抗 ICAM-1 脂质体连接 FITC 发出绿色荧光 ($\times 200$); G: 在模拟体内环境下 24 h 靶向脂质体药物的释放曲线

图 1 载伊马替尼脂质体的基本形态及在模拟体内环境的体外释放特征



绿色荧光示 ICAM-1 表达, DAPI 染细胞核

图 2 免疫荧光染色观察 ICAM-1 在 3 组小鼠肺组织中的表达

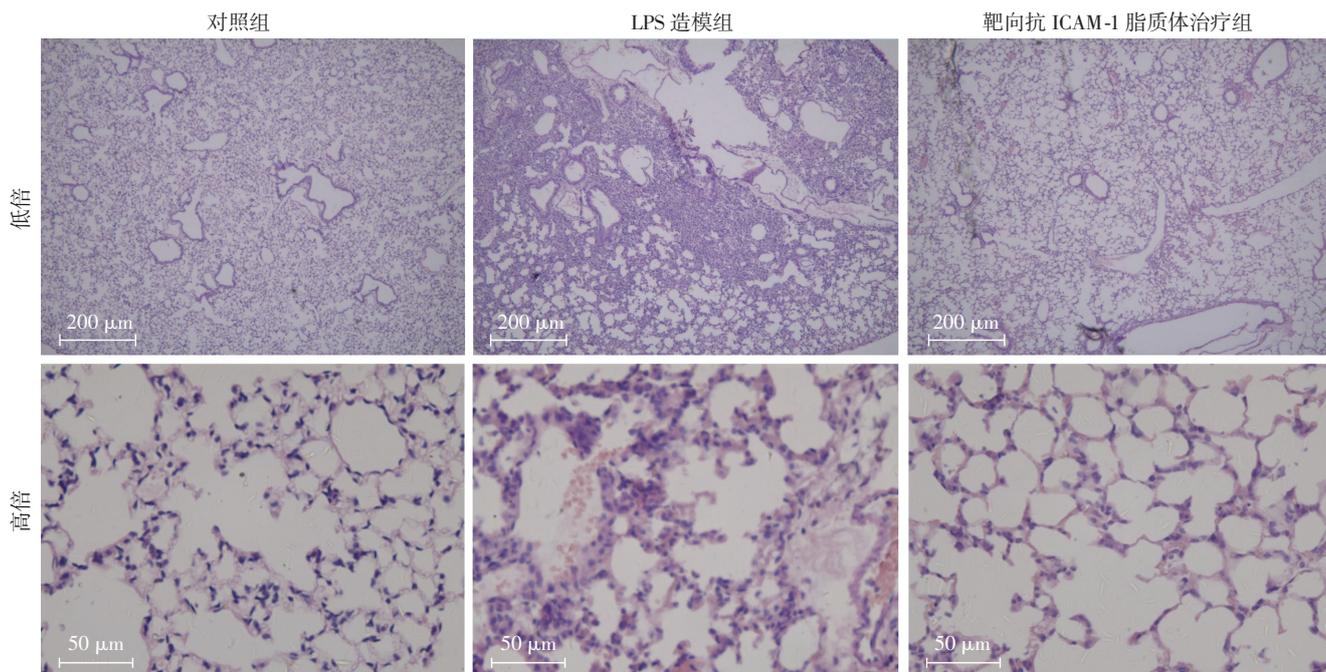
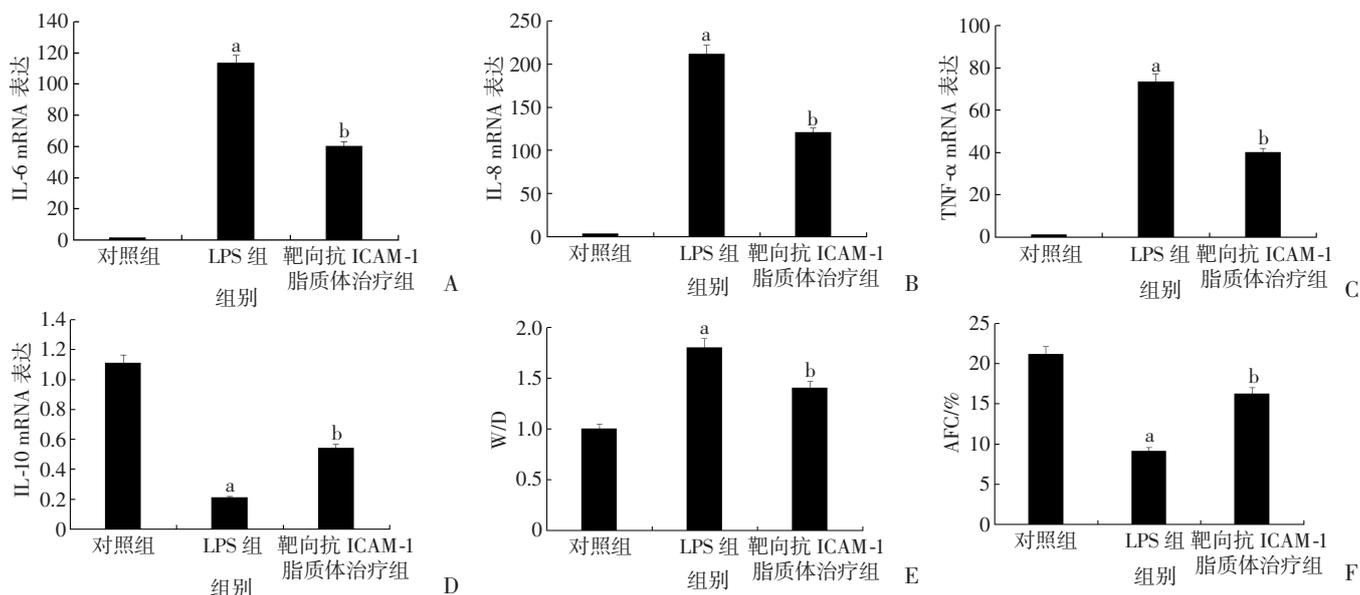


图3 3组小鼠肺石蜡切片 HE 染色观察



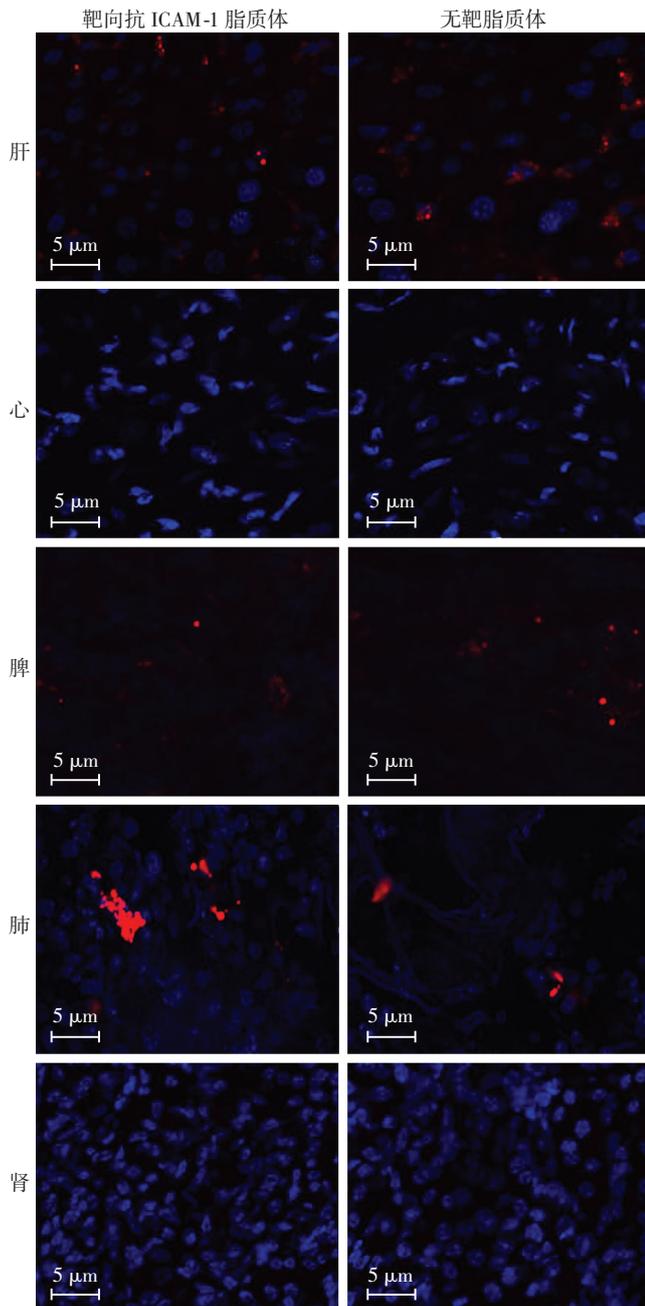
A: IL-6 mRNA; B: IL-8 mRNA; C: TNF-α mRNA; D: IL-10 mRNA; E: 肺湿干重比; F: 肺泡液体清除率; a: P < 0.01 与对照组比较; b: P < 0.05 与 LPS 造模组比较

图4 3组小鼠各炎症因子 mRNA 的表达及肺湿干重比和肺泡液体清除率的比较

2.4 评价靶向抗 ICAM-1 脂质体和无靶脂质体在 ALI/ARDS 小鼠各个器官的分布

对 LPS 诱导的 ALI/ARDS 小鼠尾静脉注射靶向抗 ICAM-1 脂质体和非靶向脂质体 24 h 后取肝、心、脾、肺、

肾做冰冻切片,共聚焦激光显微镜观察显示脂质体集中在肺、脾、肝,与非靶向脂质体治疗组相比,靶向抗 ICAM-1 脂质体治疗组中,脂质体在肺部的分布比例更多(图 5),说明靶向抗 ICAM-1 脂质体能够将药物集中在靶器官肺。



蓝色: DAPI 染核 红色: Dil 染脂质体

图5 共聚焦下观察脂质体在各个器官分布

3 讨论

ALI/ARDS 的致病环节中,血管内皮细胞不仅是炎症反应损害的主要靶细胞,同时也在炎症级联反应中发挥炎症细胞的作用。内毒素等外界致病因子作用下,肺血管内皮出现肿胀、通透性改变以及胞内颗粒分泌增多等形态和功能的改变,继而发生凋亡,损伤脱落,破坏血管完整性。由于血管内皮细胞的损伤,使内皮下膜暴露,白细胞和单核细胞的聚集黏附于血管内皮表面,形成小栓子,加重肺组织的缺血缺氧^[11-13]。

有研究提示血管内皮受体位点 Arg 和 c-Abl 抑制剂可以抑制多种炎症因子的转录,减少炎症因子释放,降低血管通透性,减轻血管渗漏,恢复血管内皮屏障功能^[14-16]。本实验结果提示 Arg 和 c-Abl 抑制剂伊马替尼对 LPS 诱导的 ALI/ARDS 小鼠有显著的保护作用,抑制促炎因子作用,增加抑炎因子表达。伊马替尼可以降低肺血管通透性,减缓炎症性血管渗漏,有效减轻 ALI/ARDS 的损伤。故伊马替尼有望通过保护血管内皮细胞为 ALI/ARDS 的治疗提供新的思路。

但是伊马替尼作为抗肿瘤药,副作用大,而 ALI/ARDS 患者多伴有不同程度的多个器官功能损害,难以耐受副作用较大的药物。因此,我们使用纳米脂质体来减轻伊马替尼的副作用,对 ARDS 进行靶向药物治疗。纳米脂质体首次进入重症监护医疗领域是 1990 年美国食品药品监督管理局批准的两性霉素脂质体制剂^[17]。此后,纳米药物阿米卡星脂质体用于治疗支气管扩张症,表现出临床应用价值^[18]。纳米载体应用的关键是提高载体的靶向性, MUZYKANTOV 等^[19-20]发现通过连接抗体可以显著提高纳米脂质体的靶向药物聚集。

本实验以 ICAM-1 作为脂质体的靶点,成功将靶向抗 ICAM-1 脂质体靶向运输至靶器官肺。同时,我们在实验中通过液态氟碳的相变达到在人体环境中释放药物的目的。液态氟碳常温常压下沸点为 29.2 °C,在体内温度条件下,载液态氟碳脂质体可以发生液气相变形成脂质微泡,最后破裂释放药物。我们研究提示靶向脂质体的靶点 ICAM-1 在肺炎症部位表达增强,在正常的肺区表达较低。在小鼠动物 ALI/ARDS 模型中,通过尾静脉注射靶向抗 ICAM-1 脂质体,靶向抗 ICAM-1 脂质体表面的 ICAM-1 抗体可与肺炎区明显高表达的 ICAM-1 抗原高亲和力结合,发挥主动靶向性,显著提高伊马替尼对 ALI/ARDS 的靶向治疗作用。在此基础上,脂质体同时可以通过缺氧性血管收缩分流到达远端的肺部,最终在肺的分布与 ALI/ARDS 小鼠空间异质性的病理相符合。

参考文献:

- [1] BERNARD G R, ARTIGAS A, BRIGHAM K L, *et al.* The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1994, 149 (3 Pt 1): 818 - 824. DOI: 10.1164/ajrccm.149.3.7509706.
- [2] WARE L B, MATTHAY M A. The acute respiratory distress syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2000, 342 (18): 1334 - 1349. DOI: 10.1056/NEJM200005043421806.

- [3] CHISLOCK E M, RING C, PENDERGAST A M. Abl kinases are required for vascular function, Tie2 expression, and angiopoietin-1-mediated survival [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(30): 12432–12437. DOI: 10.1073/pnas.1304188110.
- [4] GREUBER E K, SMITH-PEARSON P, WANG J, *et al.* Role of ABL family kinases in cancer: from leukaemia to solid tumours [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(8): 559–571. DOI: 10.1038/nrc3563.
- [5] MOEN M D, MCKEAGE K, PLOSKER G L, *et al.* Imatinib: a review of its use in chronic myeloid leukaemia [J]. *Drugs*, 2007, 67(2): 299–320. DOI: 10.2165/00003495-200767020-00010.
- [6] RHEE C K, LEE S H, YOON H K, *et al.* Effect of nilotinib on bleomycin-induced acute lung injury and pulmonary fibrosis in mice [J]. *Respiration*, 2011, 82(3): 273–287. DOI: 10.1159/000327719.
- [7] AMAN J, PETERS M J, WEENINK C, *et al.* Reversal of vascular leak with imatinib [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 188(9): 1171–1173. DOI: 10.1164/rccm.201301-0136LE.
- [8] DOS SANTOS L V, LIMA J P, ABDALLA K C, *et al.* Imatinib-induced bone edema: case report and review of literature [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2013, 11(10): 1187–1191. DOI: 10.6004/jncn.2013.0140.
- [9] DRUKER B J, TALPAZ M, RESTA D J, *et al.* Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(14): 1031–1037. DOI: 10.1056/NEJM200104053441401.
- [10] WANG Q, ZHENG X, CHENG Y, *et al.* Resolvin D1 stimulates alveolar fluid clearance through alveolar epithelial sodium channel, Na⁺K-ATPase via ALX/cAMP/PI3K pathway in lipopolysaccharide-induced acute lung injury [J]. *J Immunol*, 2014, 192(8): 3765–3777. DOI: 10.4049/jimmunol.1302421.
- [11] 刘俊彦, 吕学军, 赵维, 等. Sirt1 通过去乙酰化 NF- κ B/p65 减轻小鼠肺泡 II 型上皮细胞脂多糖损伤 [J]. *第三军医大学学报*, 2017, 39(14): 1415–1421. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201611089.
LIU J Y, LYU X J, ZHAO W, *et al.* Sirt1 alleviated lipopolysaccharide damage in alveolar type II epithelial cells by deacetylated NF-kappa B/p65 in [J]. *J Third Mil Med Univ* 2017, 39(14): 1415–1421. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201611089.
- [12] 梁家宁, 周倩倩, 张天相, 等. TNF- α 和 IL-1 β 在急性呼吸窘迫综合征小鼠肺组织表达的变化及评价 [J]. *细胞与分子免疫学杂志* 2017, 33(2): 159–163. DOI: 10.13423/j.cnki.cjemi.008006.
LIANG J N, ZHOU Q Q, ZHANG T X, *et al.* Changes of TNF-alpha and IL-1 beta in lung tissues of mice with acute respiratory distress syndrome and evaluation of [J]. *Cell Mol Immunol*, 2017, 33(2): 159–163. DOI: 10.13423/j.cnki.cjemi.008006.
- [13] 王川江, 徐昉. 过度自噬对白介素-1 β 在急性呼吸窘迫综合征中失控性炎症的调节作用研究 [J]. *重庆医科大学学报* 2017, 42(1): 15–20. DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001144.
WANG C J, XU F. Excessive autophagy on interleukin-1 beta in acute respiratory distress syndrome in the comprehensive regulation of inflammatory effect [J]. *J Chongqing Med Univ* 2017, 42(1): 15–20. DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001144.
- [14] LETSIU E, RIZZO A N, SAMMANI S, *et al.* Differential and opposing effects of imatinib on LPS- and ventilator-induced lung injury [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 308(3): L259–L269. DOI: 10.1152/ajplung.00323.2014.
- [15] CHANDEL N S, BUDINGER G R, MUTLU G M, *et al.* Keratinocyte growth factor expression is suppressed in early acute lung injury/acute respiratory distress syndrome by smad and c-Abl pathways [J]. *Crit Care Med*, 2009, 37(5): 1678–1684. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31819fc81a.
- [16] MITSOPOULOS P, OMRI A, ALIPOUR M, *et al.* Effectiveness of liposomal-N-acetylcysteine against LPS-induced lung injuries in rodents [J]. *Int J Pharm*, 2008, 363(1/2): 106–111. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2008.07.015.
- [17] STEIMBACH L M, TONIN F S, VIRTUOSO S, *et al.* Efficacy and safety of amphotericin B lipid-based formulations—A systematic review and meta-analysis [J]. *Mycoses*, 2017, 60(3): 146–154. DOI: 10.1111/myc.12585.
- [18] OLIVIER K N, GRIFFITH D E, EAGLE G, *et al.* Randomized trial of liposomal amikacin for inhalation in nontuberculous Mycobacterial lung disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2017, 195(6): 814–823. DOI: 10.1164/rccm.201604-0700OC.
- [19] MUZYKANTOV V R, CHRISTOFIDOU-SOLOMIDOU M, BALLYASNIKOVA I, *et al.* Streptavidin facilitates internalization and pulmonary targeting of an anti-endothelial cell antibody (platelet-endothelial cell adhesion molecule 1): a strategy for vascular immunotargeting of drugs [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(5): 2379–2384. DOI: 10.1073/pnas.96.5.2379.
- [20] BRENNER J S, BHAMIDIPATI K, GLASSMAN P M, *et al.* Mechanisms that determine nanocarrier targeting to healthy versus inflamed lung regions [J]. *Nanomedicine*, 2017, 13(4): 1495–1506. DOI: 10.1016/j.nano.2016.12.019.

(收稿: 2018-02-01; 修回: 2018-03-29)

(编辑 邓强庭)