DOI: 10.14188/j.1671-8852.2024.0496 **文章编号** 1671-8852(2025)02-0153-07

抗凝血酶Ⅲ通过降低肺泡屏障通透性减轻脓毒症急性肺损伤

李东旭[1] 宋振举[2] 王 璐[3] 于 兵[4] 戴青青[1]
[1]复旦大学附属妇产科医院重症医学科 上海 200082；
[2]复旦大学附属中山医院急诊科/复旦大学应急救援与急危重症研究所 上海 200032；
[3]武汉大学人民医院重症医学科 湖北 武汉 430060；
[4]中国人民解放军海军军医大学细胞生物学教研室 上海 200433

摘要 目的：探讨抗凝血酶Ⅲ(ATⅢ)对脓毒症急性肺损伤肺泡屏障的保护作用。方法：将雄性C57BL/6J小鼠随机分成3组，①脓毒症组(LPS组)：将小鼠饥饿16 h后，腹腔注射20 mg/kg脂多糖(LPS)；②脓毒症＋ATⅢ组(LPS＋ATⅢ组)：LPS注射2 h后，尾静脉注射750 IU/kg ATⅢ；③对照组(Control组)：参照LPS和ATⅢ的给药途径与时间分别注射等体积生理盐水。在ATⅢ给药24 h后收集血清、肺泡灌洗液以及肺组织等标本，采用HE染色结合肺损伤评分评价肺组织的形态结构与损伤程度；采用肺湿/干重比(W/D)、肺泡灌洗液(BALF)中的细胞数量与蛋白量以及FITC-Dextran渗透实验测量肺泡屏障通透性；采用免疫组织学染色检测肺组织细胞间紧密连接组成蛋白的表达量。结果：LPS组的肺损伤评分、肺湿/干重比(W/D值)、肺泡屏障通透性均较Control组显著升高($P<0.01$)，细胞间紧密连接的组成蛋白ZO-1、Occludin和Claudin3的表达水平均显著降低($P<0.001$)。而LPS＋ATⅢ组的肺损伤评分、W/D值、肺泡屏障通透性较LPS组均降低($P<0.05$)，ZO-1、Occludin和Claudin3表达水平升高($P<0.01$)。结论：ATⅢ增加细胞间紧密连接组成蛋白的表达，进而降低肺泡屏障的通透性，从而减轻脓毒症急性肺损伤。

关键词 脓毒症；急性肺损伤；抗凝血酶Ⅲ；肺泡屏障
中图分类号 R56
文献标识码 A **开放科学(资源服务)标识码(OSID)：**

Antithrombin Ⅲ reduces sepsis-induced acute lung injury by reducing alveolar barrier permeability

LI Dongxu[1], SONG Zhenju[2], WANG Lu[3], YU Bing[4], DAI Qingqing[1]
[1]Dept. of Critical Care Medicine, Obstetrics & Gynecology Hospital of Fudan University, Shanghai 200082, China;
[2]Dept. of Emergency, Zhongshan Hospital Fudan University & Institute of Emergency Rescue and Critical Care, Fudan University, Shanghai 200032, China;
[3]Dept. of Critical Care Medicine, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei, China;
[4]Dept. of Cell Biology, Naval Medical University, Shanghai 200433, China

Abstract

Objective: To explore the protective effect of antithrombin Ⅲ (ATⅢ) on the alveolar barrier in

课题来源：国家重点研发计划项目(项目号：2021YFC2501800)；国家自然科学基金青年科学基金(项目号：82002077)；上海市公共卫生体系建设三年行动计划(项目号：GWVI-2.1-3)
作者简介：李东旭，女，1993—，主要从事脓毒症的临床和基础研究，E-mail:1362371074@qq.com
通信作者：戴青青，女，1986—，医学博士，副主任医师，主要从事脓毒症/ARDS的临床和基础研究，E-mail: daiqingqing888@126.com

acute lung injury induced by sepsis. **Methods:** Male C57BL/6J mice were randomly divided into three groups, ①sepsis group (LPS group): after fasting the mice for 16 hours, 20 mg/kg lipopolysaccharide (LPS) was injected intraperitoneally; ②sepsis treated with ATⅢ group (LPS+ATⅢ group): 750 IU/kg ATⅢ was injected via the tail vein 2 hours after LPS injection; ③control group: equal volume of saline were injected according to the strategies of the administration of LPS and ATⅢ. The serum, bronchoalveolar lavage fluid (BALF), and lung tissue samples were collected 24 hours after ATⅢ administration. HE staining combined with lung injury scoring was used to assess the morphological structure and degree of damage in lung tissues; the lung wet/dry weight ratio (W/D), cell count and protein content in BALF, and FITC-Dextran permeability assay were employed to measure pulmonary barrier permeability; immunohistochemical staining was utilized to detect the expression levels of tight junction proteins in lung tissues. **Results:** The lung injury score, lung W/D value and the permeability of the alveolar barrier in the LPS group were significantly increased as compared with those in the control group ($P<0.01$); the expression levels of the components of tight junctions, ZO-1, occludin, and Claudin3 were significantly reduced ($P<0.001$). However, the lung injury score, W/D value, and the permeability of the alveolar barrier in the LPS+ATⅢ group were lower than those in the LPS group ($P<0.05$), and the expression level of ZO-1, occludin, and Claudin3 was higher ($P<0.01$). **Conclusion:** ATⅢ reduces the permeability of the alveolar barrier by increasing the expression of tight junction proteins, thus alleviating acute lung injury induced by sepsis.

Key Words Sepsis; Acute Lung Injury; Antithrombin Ⅲ; Alveolar Barrier

脓毒症(sepsis)是一种由机体对感染的反应失调而导致危及生命的器官功能障碍,严重时可导致多种器官功能障碍和(或)循环障碍。脓毒症的发生、发展伴随着多个重要器官功能障碍,常涉及肝脏、肺、肾脏的损伤,其中肺损伤最为常见[1]。脓毒症诱导的急性肺损伤(sepsis induced acute lung injury,SALI)是急性、弥漫性、炎症性肺损伤,通常会导致肺泡通透性增加、肺重量增加和充气肺组织减少。尽管数十年的临床试验和实验性研究在支持性治疗方面取得了进展,例如俯卧位通气、肺保护性通气策略、限制性液体管理、一氧化氮吸入和药物治疗,但目前仍缺乏针对SALI的有效治疗方案[2-3]。

抗凝血酶(antithrombin Ⅲ,ATⅢ)是一种维生素K非依赖性糖蛋白,可使凝血系统中的几种酶失活,并在凝血过程中作为生理性丝氨酸蛋白酶抑制剂发挥关键作用。此外,多项研究表明ATⅢ具有强大的抗炎作用,其可通过抑制炎症反应预防器官衰竭并提高脓毒症诱导肺损伤模型的存活率[4-8],但ATⅢ对肺泡通透性的影响尚不明确。因此,本研究拟在LPS诱导的SALI模型中明确ATⅢ对肺泡通透性的作用,从而为ATⅢ在脓毒症肺损伤治疗中的应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与材料 30只6~8周龄的雄性C57BL/6J小鼠购买自上海灵畅生物技术有限公司,小鼠自由进食、进水,环境温度20~25 ℃,12 h/12 h明暗交替。动物实验实施方案经过本院实验动物福利伦理委员会批准(伦理批号:2023-FCKYY-019,20230304号)。LPS(L4268)购自Merck公司、ATⅢ(FA1798)购自Kyowa Kirin公司,FITC-Dextran(GC19938)购自GLPBIO公司,超敏ECL发光液Enlight™-Plus(17100)购自ENGREEN公司;小鼠IL-6 ELISA试剂盒(KE10007)和小鼠TNF-α(KE10002) ELISA试剂盒购自Proteintech公司,小鼠CXCL15 ELISA试剂盒(E-EL-M0269)和小鼠hs-CRP ELISA试剂盒(E-EL-M0677)购自Elabscience公司。

1.2 动物分组及脓毒症肺损伤模型构建 30只小鼠被随机分为3组,每组各10只。①脓毒症组(LPS组):参照文献[6]报道的方法,将小鼠饥饿16 h后,腹腔注射20 mg/kg LPS;②脓毒症+ATⅢ组(LPS+ATⅢ组):LPS注射2 h后,尾静脉注射750 IU/kg ATⅢ;③对照组(Control组):参照LPS和ATⅢ的给药途径与时间分别注射等体积的生理盐水。在ATⅢ给药24 h后,用三溴乙醇麻醉小鼠,收

集血清、肺泡灌洗液以及肺组织等标本。

1.3　HE染色检测肺组织病理损伤　肺组织浸泡于4%多聚甲醛中固定24 h后，经乙醇溶液梯度脱水及二甲苯透明后，进行石蜡包埋并制备4 μm厚的切片。HE染色前，60 ℃烤片30 min，二甲苯脱蜡、乙醇溶液梯度复水后进行HE染色，随后脱水、中性树胶封片，镜下观察肺组织形态及病理结构的变化，并对肺组织病理损伤进行评分[9]：肺泡腔充血；肺泡腔出血；肺泡腔或血管壁中性粒细胞浸润或聚集；肺泡壁增厚/透明膜形成。无病变为0分，病变区域≤25%记1分，25%＜病变区域≤50%记2分，50%＜病变区域≤70%记3分，病变区域＞70%记4分，每项得分总和为肺损伤评分。

1.4　肺组织湿重/干重(W/D)比值　取小鼠右肺下叶，称量湿重；随后，置于60 ℃烘箱中烘干48 h，称量干重。W/D比值用于评估肺水肿的程度。

1.5　肺泡灌洗液(BALF)细胞计数与蛋白定量　将小鼠麻醉后，暴露气管，并用无菌盐水冲洗肺部3次，每次使用1 mL。在收集BALF后立即离心，通过BCA法测定上清液中的蛋白含量。细胞沉淀重悬后，用血球计数板测定BALF中的总细胞数。

1.6　FITC-Dextran渗透实验　根据文献[10]报道的方法，采用FITC-Dextran渗透实验测定肺内皮细胞和上皮细胞的通透性。收集标本前2 h，通过尾静脉给小鼠注射25 mg/kg体重的FITC-Dextran，2 h后收集BALF和血清。将100 μL稀释10倍后的血清和BALF加入96孔板中。用Tanon ABL X6在FITC通道中测量BALF和血清中的荧光强度，然后计算两者的比值。

1.7　免疫组织学染色　石蜡切片脱蜡复水后，使用0.1 mol/L Tris-EDTA(pH=9.0)抗原修复液于121 ℃保温2 min进行抗原修复，自然冷却后用PBS-T洗涤3次，置入3%过氧化氢中10 min封闭内源性过氧化物酶，PBS-T洗涤3次，5 min/次，滴加1% BSA封闭非特异性结合位点10 min，去除封闭液后，直接滴加一抗，于4 ℃孵育过夜，PBS-T洗涤3次，5 min/次。免疫组织化学染色，滴加辣根过氧化物标记的二抗，于37 ℃温箱孵育30 min后，PBS-T洗涤3次，滴加DAB显色液，5～10 min后自来水终止显色，苏木素复染细胞核后，脱水、透明、封片。免疫荧光染色，滴加荧光素标记的二抗，于37 ℃温箱孵育30 min，PBS-T洗涤3次，用DAPI复染细胞核后，抗荧光淬灭封片剂封片，荧光显微镜下观察拍照。

1.8　Western Blot法检测蛋白表达　称重各组收集的肺组织，每10 mg肺组织加入100 μL裂解液，用眼科剪剪碎组织，匀浆机匀浆后，超声破碎15 s(超声5 s，暂停5 s，超声5 s)，随后4 ℃，12 000 g离心10 min后取上清液，BCA法测定蛋白浓度后，置于－80 ℃保存样品。SDS-PAGE凝胶电泳前，将样品用5×上样缓冲液稀释后，沸水煮沸10 min，自然冷却后，每样品取20～40 μg总蛋白进行SDS-PAGE凝胶电泳，湿转法将蛋白转移至PVDF膜后，用5%脱脂牛奶封闭60 min，加入稀释后的一抗，4 ℃孵育过夜，TBS-T洗涤3次，5 min/次。加入稀释后的HRP标志的二抗，37 ℃孵育30 min，TBS-T洗涤3次，滴加ECL发光液显影。Western Blot的蛋白条带灰度采用Image-J软件分析。

1.9　酶联免疫吸附实验　血清中的炎症因子水平根据酶联免疫吸附实验(ELISA)检测试剂盒厂商提供的说明书进行检测。

1.10　统计学分析　使用GraphPad Prism 9.5(GraphPad Software，La Jolla，CA，USA)软件分析数据与可视化作图，数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。多组样本间的统计学差异采用单因素方差分析(one-way ANOVA analysis)，进一步比较采用LSD-t检验，以$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　ATⅢ缓解SALI　HE染色观察到的各组小鼠肺组织的结构变化显示，与Control组相比，LPS组小鼠肺泡间隔增厚、局部肺泡腔出血、中性粒细胞浸润以及肺组织病理学评分增加($P<0.001$)；与LPS组相比，LPS＋ATⅢ组肺泡间隔增厚减轻、局部肺泡腔出血减少、中性粒细胞浸润减少以及肺组织病理学评分降低($P<0.01$)(图1、表1)，这提示ATⅢ可缓解LPS所致的SALI。

2.2　ATⅢ降低SALI的炎症因子水平　ELISA检测结果显示，LPS组血清中的炎症因子IL-6、TNF-α、IL-8和hs-CRP的水平较Control组显著上升($P<0.001$)；而经ATⅢ治疗后，LPS诱导的肺损伤小鼠血清中上述炎症因子的水平明显降低(LPS＋ATⅢ vs LPS，$P<0.01$)，见表2。

2.3　ATⅢ减轻SALI的肺渗出　各组肺组织W/D值结果显示，LPS组小鼠肺组织的W/D值较Control组显著升高($P<0.001$)，而LPS＋ATⅢ组中小鼠肺组织的W/D值较LPS组明显降低

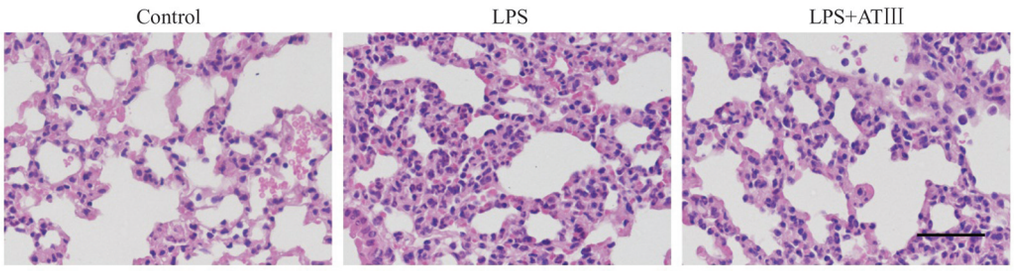


图1 小鼠肺组织HE染色结果(图中标尺:50 μm)

表1 各组肺组织损伤评分结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	评分	F	P
Control组	10	0.86±0.21	707.9	<0.000 1
LPS组	10	8.15±0.67*	—	—
LPS+ATⅢ组	10	4.33±0.26#	—	—

与Control组相比,*P<0.001;与LPS组相比,#P<0.05

(P<0.001)(图2A),这说明ATⅢ可明显缓解LPS诱导的SALI肺水肿。BALF中的细胞数量在LPS组中显著上升,而ATⅢ处理后,BALF中的细胞数量较LPS组明显减少(P<0.05)(图2B)。此外,BALF中的总蛋白量在LPS组中显著增高,而ATⅢ处理后,BALF中的总蛋白量较LPS组明显下降(P<0.001)(图2C)。

表2 各组小鼠血清中炎症因子的水平($\bar{x}\pm s$)

组别	IL-6(pg/mL)	TNF-α(pg/mL)	IL-8(pg/mL)	hs-CRP(ng/mL)
Control组(n=10)	53.22±5.23	405.05±19.15	229.21±36.85	83.90±12.76
LPS组(n=10)	82.10±5.97*	647.00±17.47*	418.99±73.19*	145.65±22.63*
LPS+ATⅢ组(n=10)	58.51±7.72#	426.50±69.27#	292.91±54.52#	92.22±17.93#
F	17.63	23.77	10.58	12.18
P	0.000 5	0.000 2	0.003 4	0.002 1

与Control组相比,*P<0.001;与LPS组相比,#P<0.01

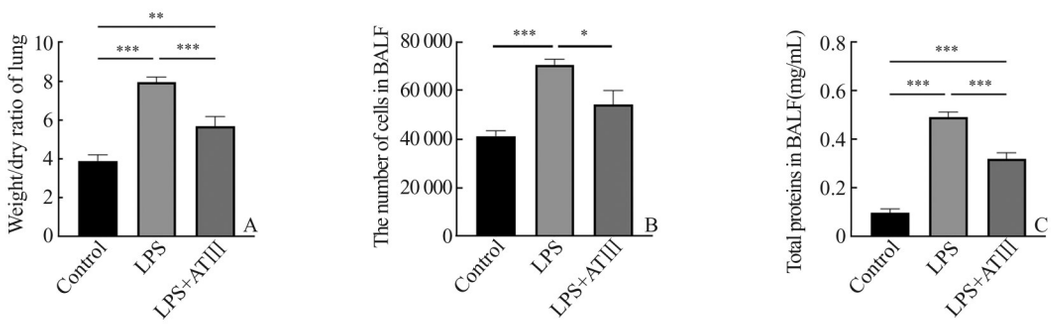


图2 ATⅢ减轻LPS诱导的SALI小鼠模型的肺组织渗出

A.各组肺组织的湿重/干重(W/D)比;B.各组BALF中的细胞总数;C.各组BALF中的总蛋白量。*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001

2.4 ATⅢ降低SALI肺组织的通透性 FITC-Dextran渗透实验的结果如图3所示,LPS组的BALF与血清中FITC-Dextran的荧光强度的比值较Control组显著升高(P<0.001)。而ATⅢ处理后,LPS+ATⅢ组的肺泡灌洗液与血清中FITC-Dextran的荧光强度较LPS组明显下降(P<0.01),这些结果说明ATⅢ可有效降低LPS诱导的SALI模型小鼠肺泡屏障通透性。

2.5 ATⅢ增强肺泡细胞间的紧密连接 免疫组织化学染色结果显示,细胞间紧密连接的组成蛋白Occludin(图4A)、Claudin3(图4B)和ZO-1(图4C)在LPS组肺组织中的表达水平较Control组显著降低(P<0.001)。而接受ATⅢ治疗的LPS+ATⅢ组小鼠肺组织中的Occludin、Claudin3和ZO-1的表达水平较LPS组均明显升高(P<0.05)。Western Blot检测的结果(图5A)进一步表明,ATⅢ可显著上调ZO-1(图5B)、Occludin(图5C)和Claudin3(图5D)在LPS诱导的SALI模型小鼠肺组织中的表达水平(P<0.05)。以上结果表明ATⅢ可明显增强LPS诱导的SALI模型小鼠肺组织细胞间紧密连接组成蛋白的表达,从而降低肺泡屏障的通透性。

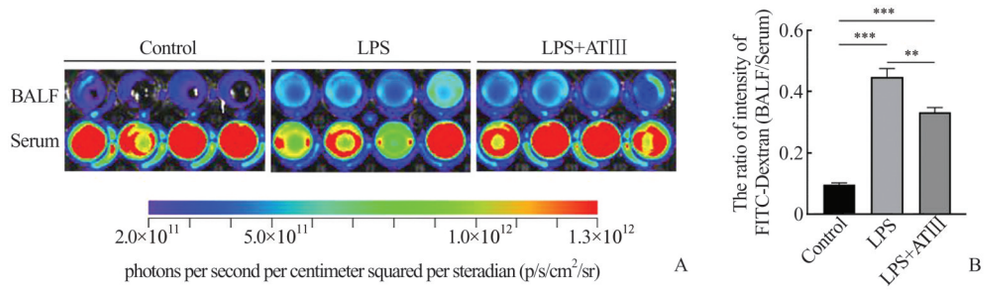


图 3　FITC-Dextran 在 BALF 和血清中的荧光强度

A. FITC-Dextran 在 BALF 和血清中的荧光强度；B. 各组 BALF 和血清中 FITC-Dextran 荧光强度比值的统计分析图。$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$

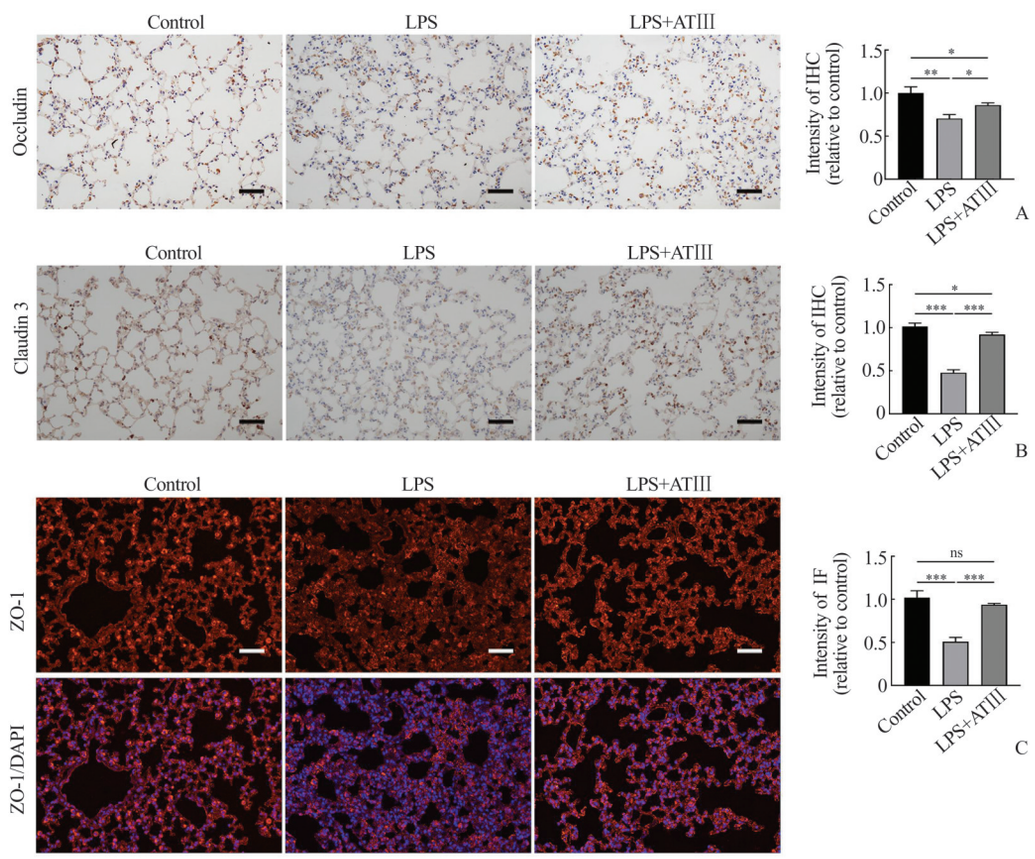


图 4　免疫组织学染色检测细胞间紧密连接相关蛋白的表达水平

A. 免疫组化染色检测 Occludin 的分布和表达；B. 免疫组化染色检测 Claudin3 的分布和表达；C. 免疫荧光染色检测 ZO-1 的分布和表达。图中标尺均为 50 μm；$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$，ns：$P>0.05$

3　讨论

本研究使用 LPS 诱导的 SALI 小鼠模型探讨了 AT Ⅲ对脓毒症肺损伤的治疗作用，结果发现 AT Ⅲ可明显减轻 LPS 诱导的 SALI 模型小鼠肺组织的损伤，降低血清中的炎症因子的水平。同时，AT Ⅲ也显著降低了肺泡屏障的通透性，从而减轻了 SALI 模型小鼠的肺水肿以及渗出，为 AT Ⅲ在脓毒症肺损伤治疗中的应用提供了实验依据。

肺泡屏障是由血管内皮组成的肺血管内皮屏障与肺上皮及其基底组成的肺泡上皮屏障共同组成[11]。肺泡屏障是保护肺组织的第一道防线，在维持肺部健康和正常功能中发挥着重要作用[12]。无论肺血管内皮屏障还是肺泡上皮屏障，都是由相连的细胞通过细胞间连接形成。细胞连接种类主要包括有紧密连接、缝隙连接和桥粒等，其中紧密连接是各类屏障的结构基础。紧密连接不仅对维持肺泡屏障的完整性至关重要，还控制着正常肺中液体和溶质交换的细胞旁途径[13]。紧密连接主要由 Occludin、ZO-1 和 Claudins 组成[14-15]。本研究发现，

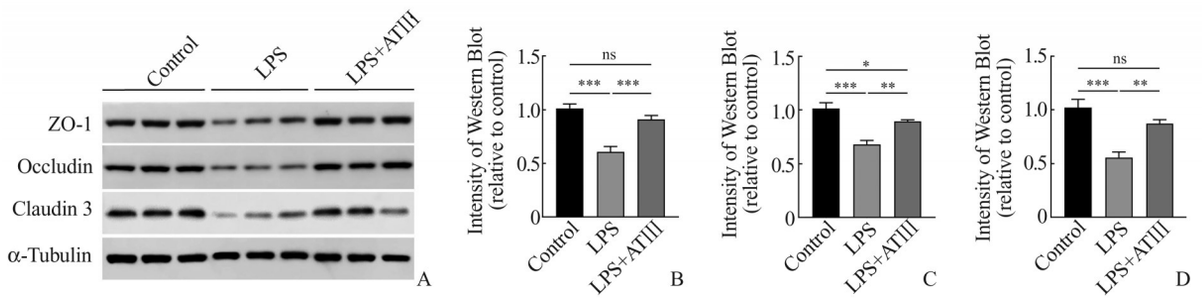


图5 Western Blot检测细胞间紧密连接组成蛋白的表达水平

A. Western Blot检测各组肺组织中ZO-1、Occludin和Claudin3的蛋白表达水平，α-Tubulin作为蛋白表达水平的内参照。B～D. 分别为ZO-1、Occludin和Claudin3的结果进行定量统计分析。$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$，ns：$P>0.05$

LPS诱导的SALI模型中肺组织的Occludin、ZO-1和Claudin3的表达水平较Control组明显降低，而ATⅢ处理后的SALI模型中肺组织的Occludin、ZO-1和Claudin3的表达水平较LPS组显著提升，说明ATⅢ可通过增强紧密连接组成蛋白的表达，降低SALI肺组织的通透性，减轻肺水肿和渗出。肺水肿通常由血管通透性增加所引起[16]。Yang等[17]研究发现在ALI中，肺泡上皮屏障的通透性远低于血管内皮屏障的通透性。在LPS诱导的肺损伤模型中通常伴有内皮屏障功能障碍[18]。然而，在内皮细胞损伤的情况下，肺泡上皮细胞也可以发挥屏障功能，清除肺泡液及防止蛋白的渗透[12]。因此，ATⅢ主要是通过降低肺泡上皮的通透性、通过血管内皮细胞的通透性减轻SALI小鼠模型的肺水肿与渗出仍需进一步的研究加以明确。

ATⅢ是由肝脏合成的单链糖蛋白，含432个氨基酸、3个二硫键和4个糖基化修饰位点。ATⅢ作为是一种生理性丝氨酸蛋白酶抑制剂，其含有两个重要的功能结构域，一个是蛋白酶抑制活性结构域，也就是ATⅢ与丝氨酸蛋白酶相互作用的位点。另一个是*D*-螺旋(*D*-helix)结构域，是肝素结合的位点。ATⅢ与肝素多聚糖链中的戊糖结合后引起自身构象改变使其活化。ATⅢ通过与FⅨa、FⅪa、凝血酶(FⅡa)、FⅦa等多种凝血因子结合而发挥抗凝作用[19]。近年来，研究发现ATⅢ除具有抗凝作用外，还具有抗炎作用。ATⅢ可通过其*D*-螺旋结构域与血管内皮细胞上的硫酸乙酰肝素蛋白多糖(heparan sulfate proteoglycans，HSPGs)相互作用，从而激活内皮细胞合成前列环素(prostacyclin，PGI2)，进而抑制核因子-κB(NF-κB)信号通路的活化并减少促炎细胞因子和细胞黏附分子的表达，从而抑制炎症反应。与此同时，PGI2亦是一种强效的血管舒张剂和血小板聚集抑制剂，可间接促进ATⅢ的抗凝功能。现已在多种动物的脓毒症模型中证实了ATⅢ依赖于PGI2的抗炎作用[19]。此外，ATⅢ还能与目标细胞膜上的特定受体结合抑制炎症反应，如ATⅢ可结合于白细胞(leukocytes)膜上的三种具有负向调节炎症信号传导作用的跨膜受体：CD13、CD300F、和脂蛋白受体相关蛋白1(lipoprotein receptor-related protein 1，LRP-1)，进而减少IL-6和TNF-α等炎症因子的分泌、降低炎症反应[20]。ATⅢ还可通过与内皮细胞上的硫酸肝素以及中性粒细胞上的syndecan-4结合，减轻LPS诱导活化的炎症反应[19]。此外，ATⅢ亦可保护LPS诱导SALI模型小鼠肺内皮细胞的糖萼(glycocalyx)，加速其增殖与修复[5-6]。因此，ATⅢ减轻LPS诱导的SALI模型小鼠的肺损伤以及减轻肺水肿与渗出的作用，可能与其抑制炎症反应等损伤因素以及对内皮细胞的保护作用有关。

本研究结果表明，ATⅢ通过降低肺泡屏障的通透性减轻了SALI模型小鼠的肺损伤。然而，本研究对ATⅢ在降低肺泡屏障通透性中的具体作用靶点及其机制的探讨尚显不足，缺乏在细胞和分子层面上的相关研究数据。目前，ATⅢ已广泛应用于临床，主要用于血栓的预防和抗凝治疗，如防止体外循环凝血，以及治疗遗传性抗凝血酶缺乏症、弥散性血管内凝血(DIC)、脓毒症引起的凝血障碍等。尽管已有临床试验评估ATⅢ在脓毒症和急性呼吸窘迫综合征(ARDS)中的疗效，并显示出潜在的益处，但总体证据的有效性仍需进一步增强。因此，未来研究需深入探讨ATⅢ在脓毒症肺损伤和ARDS治疗中的作用与机制，尤其是其在细胞信号转导途径中的具体作用靶点及通路。此外，研究ATⅢ与其他治疗方式(如抗炎药物、支持疗法等)的联合应用效果，也将为ATⅢ在脓毒症肺损伤治疗中的有效性提供必要的实验基础。

参考文献

[1] Darkwah S, Kotey F C N, Ahenkorah J, et al. Sepsis-related lung injury and the complication of extrapulmonary pneumococcal pneumonia[J]. Diseases, 2024, 12(4): 72.

[2] Wick K D, Aggarwal N R, Curley M A Q, et al. Opportunities for improved clinical trial designs in acute respiratory distress syndrome[J]. Lancet Respir Med, 2022, 10(9): 916-924.

[3] Gorman E A, O′Kane C M, McAuley D F. Acute respiratory distress syndrome in adults: Diagnosis, outcomes, long-term sequelae, and management[J]. Lancet, 2022, 400(10358): 1157-1170.

[4] Murakami K, McGuire R, Cox R A, et al. Recombinant antithrombin attenuates pulmonary inflammation following smoke inhalation and pneumonia in sheep[J]. Crit Care Med, 2003, 31(2): 577-583.

[5] Iba T, Levy J H, Hirota T, et al. Protection of the endothelial glycocalyx by antithrombin in an endotoxin-induced rat model of sepsis[J]. Thromb Res, 2018, 171: 1-6.

[6] Okamoto H, Muraki I, Okada H, et al. Recombinant antithrombin attenuates acute respiratory distress syndrome in experimental endotoxemia[J]. Am J Pathol, 2021, 191(9): 1526-1536.

[7] Wiedermann C J. Antithrombin as therapeutic intervention against sepsis-induced coagulopathy and disseminated intravascular coagulation: Lessons learned from COVID-19-associated coagulopathy[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(20): 12474.

[8] Biswas I, Panicker S R, Cai X S, et al. Extracellular histones bind vascular glycosaminoglycans and inhibit the anti-inflammatory function of antithrombin[J]. Cell Physiol Biochem, 2021, 55(5): 605-617.

[9] Zhu L J, Zhang Y, Zhang Z F, et al. Activation of PI3K/Akt/HIF-1α signaling is involved in lung protection of dexmedetomidine in patients undergoing video-assisted thoracoscopic surgery: A pilot study[J]. Drug Des Devel Ther, 2020, 14: 5155-5166.

[10] Qian T T, Qi B Y, Fei Y X, et al. PLD2 deletion alleviates disruption of tight junctions in sepsis-induced ALI by regulating PA/STAT3 phosphorylation pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2023, 114: 109561.

[11] 郝梦瑶 . 鞘氨醇-1-磷酸-1型受体激动剂IMMH002保护肺泡屏障稳态改善肺纤维化的机制研究 [D]. 北京：中国医学科学院，2023.
Hao M Y. The study on the mechanism of IMMH002, an agonist of sphingosine-1-phosphate type 1 receptor, in protecting alveolar barrier homeostasis and ameliorating pulmonary fibrosis [D]. Beijing: Chinese Academy of Medical Sciences, 2023.

[12] Brune K, Frank J, Schwingshackl A, et al. Pulmonary epithelial barrier function: Some new players and mechanisms[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2015, 308(8): L731-L745.

[13] Umeda K, Ikenouchi J, Katahira-Tayama S, et al. ZO-1 and ZO-2 independently determine where claudins are polymerized in tight-junction strand formation[J]. Cell, 2006, 126(4): 741-754.

[14] Rahimi N. Defenders and challengers of endothelial barrier function[J]. Front Immunol, 2017, 8: 1847.

[15] Kuo W T, Odenwald M A, Turner J R, et al. Tight junction proteins occludin and ZO-1 as regulators of epithelial proliferation and survival[J]. Ann N Y Acad Sci, 2022, 1514(1): 21-33.

[16] Takahashi Y, Kawasaki T, Sato H, et al. Functional roles for CD26/DPP4 in mediating inflammatory responses of pulmonary vascular endothelial cells[J]. Cells, 2021, 10(12): 3508.

[17] Yang J, Wang Y, Liu H, et al. C2-ceramide influences alveolar epithelial barrier function by downregulating ZO-1, occludin and claudin-4 expression[J]. Toxicol Mech Methods, 2017, 27(4): 293-297.

[18] Di Lorenzo F, Duda K A, Lanzetta R, et al. A journey from structure to function of bacterial lipopolysaccharides[J]. Chem Rev, 2022, 122(20): 15767-15821.

[19] Rezaie A R, Giri H. Anticoagulant and signaling functions of antithrombin[J]. J Thromb Haemost, 2020, 18(12): 3142-3153.

[20] Rodgers G M, Mahajerin A. Antithrombin therapy: Current state and future outlook[J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2023, 29: 10760296231205279.

（2024-09-10 收稿）
编辑　袁　靓