

跑台运动训练对脊髓损伤后大鼠肺损伤及HMGB1/TLR4/NF- κ B信号通路表达的影响*

唐丹¹ 王先斌² 杨香莲¹ 吴霜^{1,2,3}

摘要

目的:探讨跑台运动训练对脊髓损伤(SCI)后大鼠肺损伤及HMGB1/TLR4/NF- κ B信号通路表达的影响。

方法:选取54只SD雌性大鼠,随机分成3组,包括假手术组、SCI制动组、SCI运动组。SCI运动组及SCI制动组分别于术后第3天开始跑台运动训练或制动干预, BBB评分评定大鼠脊髓损伤后后肢运动功能。分别在运动或制动后第3天、第7天取肺组织, HE染色检测大鼠肺组织病理结构变化;免疫组化检测肺组织HMGB1蛋白表达情况; qRT-PCR检测HMGB1、TLR4、NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、TNF- α mRNA表达情况; Western Blot检测HMGB1、TLR4、NF- κ B蛋白表达情况。

结果: BBB评分结果显示,与假手术组比较, SCI制动组、SCI运动组 BBB评分均显著下降($P < 0.05$); SCI运动组与SCI制动组评分结果比较无显著性差异($P > 0.05$)。HE染色结果显示, SCI制动组及SCI运动组第3天、第7天肺组织中均出现水肿、出血、炎性细胞浸润,相较于SCI制动组, SCI运动组肺损伤评分显著降低($P < 0.05$)。qRT-PCR、免疫组化、Western Blot结果均显示,与假手术比较, SCI制动组、SCI运动组第3天、第7天肺组织中HMGB1、TLR4、NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等因子的表达均显著上调($P < 0.05$),且SCI运动组较SCI制动组显著降低($P < 0.05$)。

结论:跑台运动训练可改善脊髓损伤后大鼠肺损伤,其机制可能与调节HMGB1/TLR4/NF- κ B信号通路,抑制肺组织炎症反应相关。

关键词 跑台运动训练; 脊髓损伤; 肺损伤; 高迁移率族蛋白1; 激活核因子- κ B; Toll样受体4

中图分类号: R651.2, R493 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1242(2023)-02-0159-08

Effects of treadmill training on lung injury and HMGB1/TLR4/NF- κ B signaling pathway after spinal cord injury in rats/TANG Dan, WANG Xianbin, YANG Xianglian, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2023, 38(2): 159-166

Abstract

Objective: To explore the effect of treadmill training on lung injury and the expression of HMGB1/TLR4/NF- κ B signaling pathway in rats after spinal cord injury (SCI).

Method: Fifty-four SD female rats were selected and randomly divided into 3 groups, including sham operation group, SCI brake group, and SCI treadmill training group. The SCI treadmill training group and SCI brake group started treadmill training or braking respectively on the 3rd day after operation, the BBB score was used to evaluate the motor function of the hind limbs after the spinal cord injury in the rats. Lung tissues were taken on the 3rd and 7th day after treadmill training or braking, HE staining was used to detect the pathological changes of rats lung tissue, immunohistochemistry(IHC) was used to detect the expression of HMGB1 protein in lung tissue, qRT-PCR was used to detect HMGB1, TLR4, NF- κ B, IL-1 β , IL-6, TNF- α mRNA expression, Western Blot detection of HMGB1, TLR4, NF- κ B protein expression.

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2023.02.004

*基金项目:国家自然科学基金委员会地区项目(82060419);贵州省科技计划项目(黔科合基础-ZK[2022]重点045);贵州医科大学附属医院博士科研启动基金项目(gyfybsky-2021-5)

1 贵州医科大学,贵州省贵阳市,550000; 2 贵州医科大学附属医院康复医学科; 3 通讯作者

第一作者简介:唐丹,女,硕士研究生,住院医师; 收稿日期:2021-07-22

Result: The BBB score results showed that compared with the sham operation group, the BBB scores of the SCI brake group and the SCI treadmill training group decreased ($P < 0.05$), and there is no statistical difference in the scores between the SCI exercise group and the SCI brake group ($P > 0.05$). The results of HE staining of lung tissue showed that edema, hemorrhage, and inflammatory cell infiltration occurred in both the SCI brake group and the SCI treadmill training group on the 3rd day ($P < 0.05$). The results of qRT-PCR, IHC, and Western Blot showed that the expressions of HMGB1, TLR4, NF- κ B, IL-1 β , IL-6, TNF- α and other factors were significantly up-regulated at each time point after SCI ($P < 0.05$), and the SCI treadmill training group was significantly lower than the SCI brake group ($P < 0.05$).

Conclusion: Treadmill training can improve lung injury in rats after spinal cord injury. The mechanism may be related to the regulation of HMGB1/TLR4/NF- κ B signaling pathway and inhibition of lung inflammation.

Author's address Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou, 550000

Key word treadmill training; spinal cord injury; lung injury; high mobility group box-1; nuclear factor- κ B; Toll-like receptor 4

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是一种严重的创伤,脊髓损伤后呼吸肌无力导致呼吸系统并发症是脊髓损伤患者死亡的重要原因^[1]。根据一项长达70年的英国研究发现,在1944—2014年间的2170例SCI患者中,呼吸系统并发症引起SCI患者死亡的比例逐年上升,高达34.1%^[1]。大量的研究聚焦于颈段脊髓损伤时引起受损平面对应的神经损伤引起呼吸肌瘫痪,出现肺炎、呼吸衰竭等并发症^[2-4]。然而,临床发现,在主要呼吸肌群功能完好的胸段脊髓损伤患者中,仍存在呼吸功能障碍。有研究发现,胸段脊髓损伤后仍出现继发性肺损伤,其机制可能与全身炎症反应有关^[5-6]。大量研究表明,高迁移率族蛋白1(high mobility group protein box 1, HMGB1)是各类坏死损伤模型中重要的炎性递质,在细胞损伤或受到炎症刺激后被释放至细胞外,细胞外HMGB1通过诱导细胞因子释放和招募白细胞触发和维持炎症反应^[7]。近年研究表明HMGB1可通过结合Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR4),激活核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B),进而释放促炎因子,在多种肺损伤疾病中的表达水平显著升高^[8]。此外,有研究证实, HMGB1/TLR-4/NF- κ B信号通路参与调控肺损伤中的炎症反应,且抑制HMGB1可明显减轻肺损伤程度^[9]。运动训练作为脊髓损伤后重要的康复手段,可明显改善脊髓损伤后肺功能^[10],但在脊髓损伤继发肺损伤中,运动训练与HMGB1/TLR-4/NF- κ B信号通路的调控机制仍不明确。因此,本研究为探讨跑台运动训练是否通过调控HMGB1/TLR-4/NF- κ B信号通路调节炎症反应,从而

减轻脊髓损伤继发肺损伤程度,为临床治疗脊髓损伤继发肺损伤提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

小动物跑步机(ZS-PT,北京众实迪科技发展有限公司);荧光定量PCR仪(Applied Biosystems公司,美国);HMGB1多克隆一抗(Abcam公司,美国);TLR4(三鹰公司,中国);p-P65(博奥森公司,中国);逆转录试剂盒、PCR试剂盒(TAKARA公司,日本)。

1.2 实验动物

SPF级6周龄SD雌性大鼠。实验动物来源:辽宁长生生物技术股份有限公司,质量合格证编号:SCXK(辽)2020-0001。适应性喂养1周后,随机分为假手术组(n=18)、SCI制动组(n=18)、SCI运动组(n=18)。实验过程中动物处置均符合贵州医科大学动物实验伦理委员会标准。批准号:2018-114-01。

1.3 制备大鼠脊髓损伤模型

1%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(50mg/kg),常规术区备皮、消毒,以T10棘突为中心作2—3cm纵行切口,暴露T9—T11棘突,钝性分离两侧的肌肉及筋膜,小咬骨钳咬除T9—T10棘突及椎板,充分暴露脊髓,眼科手术刀于T10节段将脊髓和硬脊膜一同快速离断,观察到脊髓迅速出血,大鼠双后肢快速抖动、尾部卷曲摆动提示造模成功,切除断段上下约2mm脊髓组织,并轻轻挑起两侧断段,以证实脊髓完全离断。逐层缝合肌肉、筋膜、皮肤。假手术组仅

剥除椎板,不离断脊髓,其他处理同脊髓损伤组。术后常规予以青霉素(20万U/kg)腹腔注射2—3天预防感染,每天按压膀胱协助排尿3次。

1.4 大鼠跑台运动训练及制动

脊髓损伤造模后,SCI运动组、SCI制动组术后正常饲养,SCI运动组大鼠于术后第3天开始跑台运动训练,予声、光、电刺激大鼠使其持续运动,每天2次,每次训练30min(每运动训练10min休息5min),速度为5m/min;SCI制动组于术后第3天开始置于改良鼠笼中制动饲养。

1.5 BBB评分

造模前、造模即刻及干预后第3天、第7天对所有大鼠采用双盲法用BBB评分进行后肢运动功能评价,最后评分为双人评分的平均值,该评分表分值为0—21分,0分表示后肢无可见运动,21分表示后肢活动正常。

1.6 HE染色

各组大鼠分别于干预后第3天、第7天经戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(50mg/kg),自左心室插管后剪开右心耳,生理盐水快速灌注冲洗,待无明显血性液体自右心耳流出后,用4%多聚甲醛经心脏灌注,至肝脏发白时即可停止,取出右下叶肺组织,在4%多聚甲醛中固定24h,石蜡包埋,制备3.5 μ m厚的组织切片,65 $^{\circ}$ C烘箱烤片30min,二甲苯中浸泡3次,每次10min,100%、90%和85%的乙醇中脱水5min,双蒸水浸泡2min;苏木素复染5min,水洗2min,1%盐酸乙醇分化5s,自来水返蓝15min,0.5%伊红染色5min,水洗2min,梯度酒精(85%、90%、100%乙醇)脱水,中性树胶封片,在普通光学显微镜下观察,在高倍(400 \times)放大下计算组织学评分。根据炎症细胞浸润、水肿、充血和肺泡内出血的程度进行组织学评分,0分为正常,1分为轻度,2分为中度,3分为重度,最大得分为12分^[11]。

1.7 免疫组化

将石蜡切片常规脱蜡,梯度乙醇水化,PBS清洗3次,每次5min,EDTA pH9.0微波加热进行抗原修复,自然冷却2h后PBS清洗3次,10%双氧水37 $^{\circ}$ C孵育10min阻断内源性过氧化物酶,10%山羊血清37 $^{\circ}$ C封闭30min,减少非特异性染色,HMGB1(美国Abcam公司,货号:ab79823)用0.3%胎牛血清以1:1500配制,每张切片滴加40 μ l覆盖组织,4 $^{\circ}$ C过夜,次日37 $^{\circ}$ C水浴锅复温30min,PBS洗涤(5min \times 4),滴加二抗,37 $^{\circ}$ C水浴锅孵育30min,PBS洗涤,DAB显色15s,显微镜下观察组织可见棕黄色阳性表达即可终止,苏木精复染5min,透明,封片。

1.8 qRT-PCR

肺组织充分研磨匀浆,加入1ml Trizol试剂(美国Ambion公司)超声破碎2min,加入200 μ l三氯甲烷混匀后静置10min,13000 r/min 4 $^{\circ}$ C离心10min,取上清(避免吸入中间的白色沉淀),在上清液中加入200 μ l异丙醇轻微震荡后静置5min,13000 r/min 4 $^{\circ}$ C离心10min,EP管底部可见白色沉淀,去上清液,加入1ml 75%乙醇轻微震荡,7500r/min 4 $^{\circ}$ C离心5min,并反复2次,去上清液,将EP管倒立风干,加入20 μ l无酶水溶解白色沉淀,测定RNA浓度并进行浓度配平。根据说明书(日本TAKARA公司)的操作程序合成第一链cDNA。PCR循环参数:95 $^{\circ}$ C 30s;95 $^{\circ}$ C 5s,60 $^{\circ}$ C 34s,40个循环;95 $^{\circ}$ C 15s,60 $^{\circ}$ C 1min,95 $^{\circ}$ C 15s。以GAPDH为内参,用2^{- $\Delta\Delta$ CT}法计算目的基因的相对表达水平。引物序列见表1。

1.9 Western Blot

将各组肺组织匀浆破碎,加入RIPA组织裂解液与PMSF以100:1混匀,冰上静置30min,使细胞充分裂解,13000r/min 4 $^{\circ}$ C离心20min,取上清备用。用BCA蛋白测定试剂盒测定各组样本蛋白质浓度。以4:1加入5 \times 上样缓冲液,100 $^{\circ}$ C加热10min使

表1 引物合成序列

基因名称	上游引物	下游引物
HMGB1	AGATATGGCAAAGGCTGACAAGGC	GGGCGGTACTCAGAACAACAAG
TLR4	GGTGGTCAGTGTGCTTGTGGTAG	CTCGTTTCTCACCCAGTCCTCATTC
NF- κ B	TGTGGTGGAGGACTTGCTGAGG	AGTGCTGCCTTGCTGTTCTTGAG
IL-1 β	GACAAGAGCTTCAGGAAGGCAGTG	TCATCATCCCACGAGTCACAGAGG
IL-6	TCTGCTCTGGTCTTCTGGAGTTCC	GCATTGGAAGTTGGGGTAGGAAGG
TNF- α	ATGGGCTCCCTCTCATCAGTTCC	GCTCCTCCGCTTGGTGGTTTTG
GAPDH	AGGTCGGTGTGAACGGATTG	TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA

样本高温变性,加入十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶中进行电泳,经湿转法电转至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,1×TBST配置5%脱脂奶粉,室温封闭1h,后孵加一抗HMGB1(美国Abcam公司,货号:ab79823,1:2000)、TLR4(武汉三鹰公司,货号:66350-1-Ig,1:1000)、p-P65(北京博奥森公司,货号:bs-5510R,1:1000)4℃过夜,TBST洗膜(10min×3),山羊抗兔二抗室温摇床孵育1h,再次经TBST清洗后,加ECL显影剂曝光显影,保存图片。实验重复3次,蛋白水平半定量检测目标蛋白表达量。

1.10 统计学分析

数据采用SPSS 23.0统计软件进行统计分析,数据以均值±标准差表示,定量资料经Shapiro-Wilks检验后,数据均满足正态性,BBB评分结果采用重复测量方差分析。组间采用两因素方差分析比较肺组织中各指标的相对表达量后,组内使用Turkey检验进行两两比较。 $P<0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

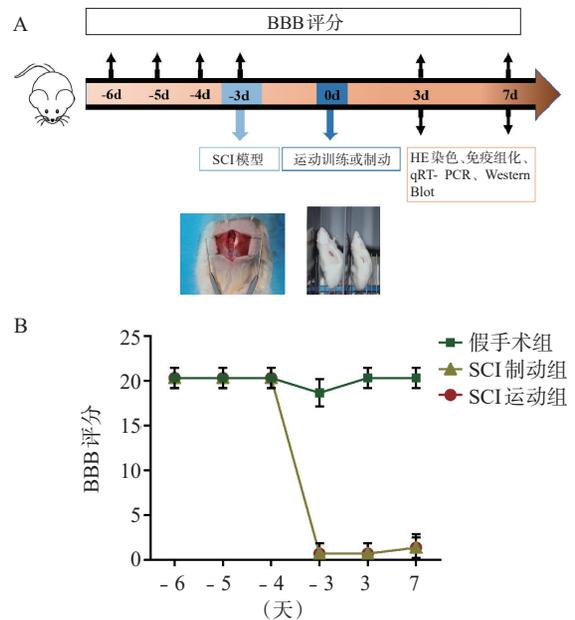
2.1 BBB评分

各组术前BBB评分均为21分,SCI制动组及SCI运动组术后即刻和干预后第3天BBB评分均为0分,提示造模成功。干预后第7天,SCI制动组BBB评分为0分,SCI运动组1分,SCI制动组与SCI运动组比较差异无显著性意义($P>0.05$)。见图1B。

2.2 HE染色

与假手术组比较,干预后第3天,SCI制动组及SCI运动组均可见间质增厚、炎症细胞浸润及出血,且SCI制动组较SCI运动组损伤程度更为显著。干预后第7天,SCI制动组及SCI运动组均可见肺组织损伤程度明显减轻,其中SCI运动组较SCI制动组肺组织损伤程度减轻更加显著(见图2A)。肺组织病理学评分结果显示,与假手术组比较,干预后第3天、第7天,SCI制动组及SCI运动组肺组织病理学评分均显著增高(见图2B, $P<0.05$),SCI制动组较SCI运动组增高更为显著($P<0.05$)。干预后第3天,与SCI运动组比较,SCI制动组肺组织病理学评分明显升高($P<0.05$);干预后第7天,与第3天比较,SCI制动组及SCI运动组病理评分均降低($P<0.05$),SCI运动组较SCI制动组降低更为显著($P<0.05$)。

图1 实验流程图及各组大鼠BBB评分结果



注:A:实验流程图;B:各组大鼠术前、术中即刻及术后BBB评分

2.3 免疫组化

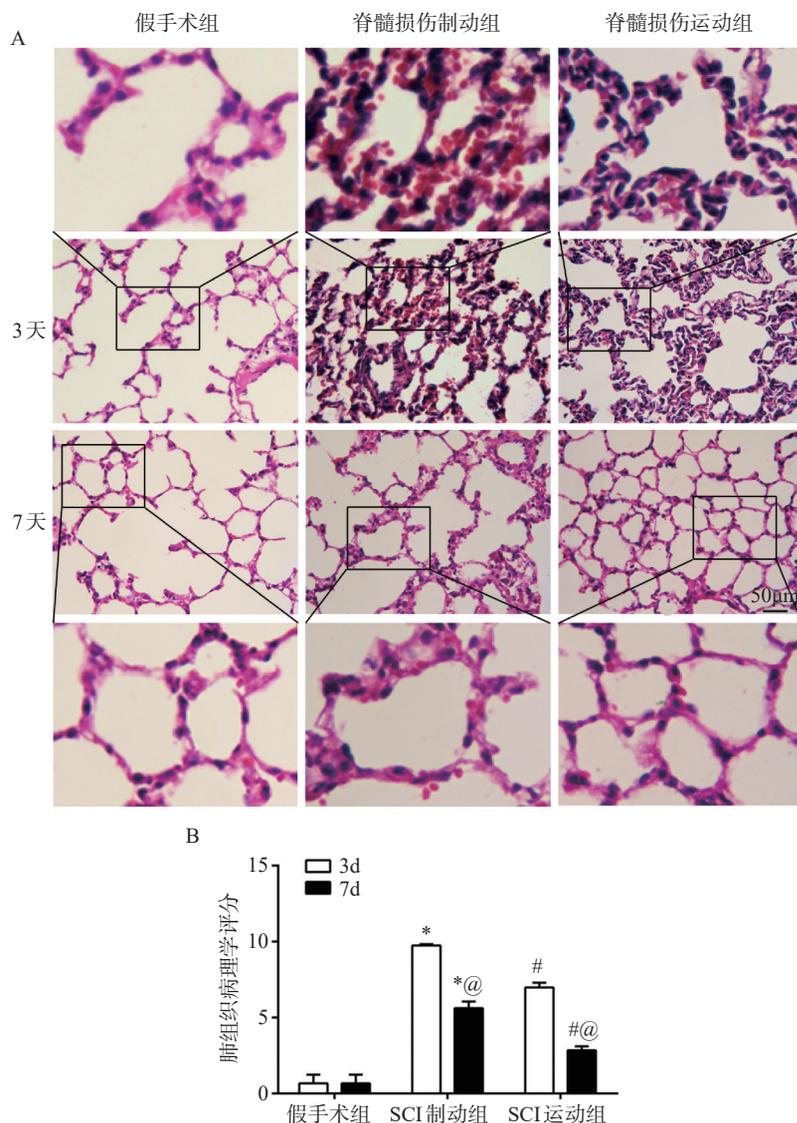
免疫组化结果显示,第3天、第7天,假手术组HMGB1阳性细胞率均低表达,相比假手术组,SCI制动组及SCI运动组阳性细胞率明显增高(见图3, $P<0.05$),且SCI制动组增高更为显著(见图3, $P<0.05$);干预后第3天和第7天,与SCI制动组比较,SCI运动组HMGB1细胞阳性率均显著降低(见图3, $P<0.05$)。与干预后第3天比较,SCI制动组及SCI运动组在第7天阳性细胞率显著降低(见图3, $P<0.05$)。

2.4 qRT-PCR

与假手术组比较,干预后第3天、第7天,SCI制动组及SCI运动组炎症因子HMGB1、TLR4、NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、TNF- α mRNA相对表达量均明显增高(见图4, $P<0.05$),且SCI制动组增高更为显著(见图4, $P<0.05$);干预后第3天和第7天,与SCI制动组比较,SCI运动组炎症因子HMGB1、TLR4、NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、TNF- α mRNA相对表达量显著降低(见图4, $P<0.05$);与第3天比较,SCI制动组及SCI运动组在干预后第7天炎症因子HMGB1、TLR4、NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、TNF- α mRNA相对表达量均明显降低(见图4, $P<0.05$)。

2.5 Western Blot

图2 各组大鼠肺组织病理学评分结果 (HE染色,×400)



注:A:肺组织HE染色;B:肺组织病理评分(与假手术组比较,* $P<0.05$;与SCI制动组比较,# $P<0.05$;组内比较,@ $P<0.05$)bar=50 μ m

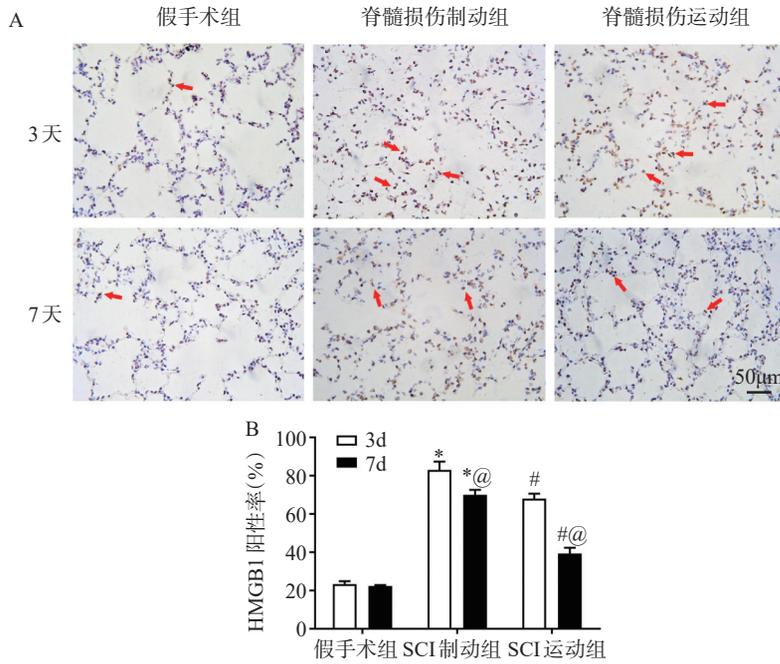
结果显示,干预后第3天、第7天,与假手术组比较,SCI制动组及SCI运动组中HMGB1、TLR4、p-P65蛋白表达水平显著升高(见图5, $P<0.05$)。与SCI制动组比较,SCI运动组中HMGB1、TLR4、p-P65蛋白表达水平显著降低(见图5, $P<0.05$);与第3天比较,干预后第7天SCI制动组及SCI运动组中HMGB1、TLR4、p-P65蛋白表达水平明显降低(见图5, $P<0.05$)。

3 讨论

本研究发现,跑台运动训练可显著抑制脊髓损伤后大鼠肺组织中的炎症反应,显著降低肺组织中炎症细胞因子的释放,如IL-1 β 、IL-6和TNF- α 等因子,对脊髓损伤大鼠的肺组织起到了保护作用。其机制可能是通过调控HMGB1/TLR-4/NF- κ B信号通路抑制机体炎症反应,从而降低脊髓损伤大鼠肺损伤程度。有研究证实,呼吸肌麻痹是脊髓损伤继发性肺损伤的主要原因^[3],但这并不能解释低位胸段出现肺损伤的原因。针对低位胸段脊髓损伤继发性肺损伤,相关研究表明脊髓损伤后的全身炎症反应综合征是发生呼吸系统并发症的病理基础^[12]。已有研究表明,在大鼠T10 SCI模型中,观察到SCI大鼠在术后6h肺部开始出现水肿、出血、中性粒细胞、巨噬细胞渗出等病理改变,72h出现肺泡塌陷、弥漫性出血,肺损伤程度达到峰值^[13-14]。本研究结果显示,脊髓损伤后第3天,SCI制动组与SCI运动组肺组织仍可见间质增厚、水肿、炎性细胞浸润、出血等病理改变,与以往研究结果一致。其机制有研究表明,脊髓损伤后将触发循环血液中中性粒细胞和巨噬细胞急剧增加,并上调促炎介质的表达,激活炎性级联反应导致炎性损伤,并将中性粒细胞募集到肺组织中,在肺中表现出更强的活性,介导肺组织中的炎症反应^[15-17]。

本研究通过免疫组化染色、qRT-PCR及Western Blot对脊髓损伤后大鼠肺组织检测,结果均提示脊髓损伤后肺组织HMGB1、TLR-4、NF- κ B蛋白及mRNA表达水平显著增高,炎性因子IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达水平显著上调。因此,低位胸段脊髓损伤后将引起全身炎症反应,引起肺损伤。本研究还

图3 各组大鼠肺组织 HMGB1 免疫组织化学染色结果 (×400)

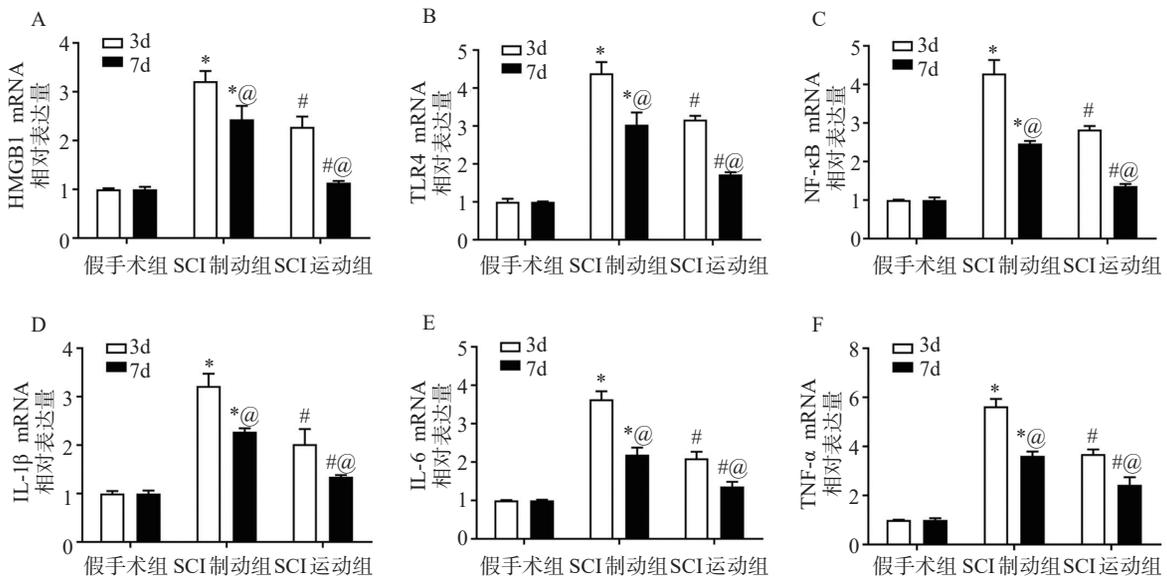


注:A: HMGB1 免疫组化结果; B: HMGB1 阳性率柱状图统计结果(与假手术组比较, * $P < 0.05$; 与 SCI 制动组比较, # $P < 0.05$; 组内比较, @ $P < 0.05$) bar=50 μ m

发现通过跑台运动训练干预脊髓损伤大鼠7天后,脊髓损伤运动组大鼠肺损伤评分较制动组显著降低,表明跑台运动训练可减轻脊髓损伤大鼠肺损伤程度,改善脊髓损伤后大鼠肺功能。然而,其中的机制还不明确。

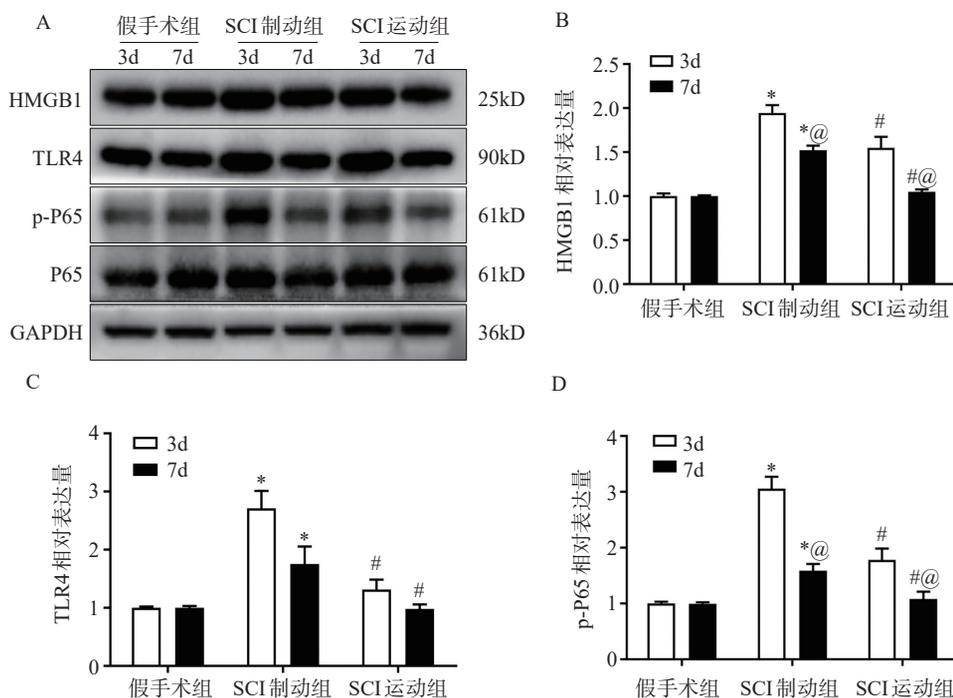
运动训练是脊髓损伤康复治疗的一项重要方法。有研究证实,运动训练可通过呼吸相关的神经重塑、增强呼吸肌肌力与肌耐力等,从而改善脊髓损伤后患者的肺功能障碍^[18-20]。Tiftik^[21]及 Terson^[19]也提出运动训练可提高 FVC 占预计值百分比(FVC%)、用力呼气量占用力肺活量比值(FEV1/FVC%)等肺功能指标,从而改善脊髓损伤患者的肺功能。根据本研究结果提示,跑台运动训练干预脊髓损伤大鼠7天后,与制动组比较,运动训练组大鼠肺

图4 各组大鼠肺组织目的基因相对表达 qRT-PCR 检测结果比较



注:A-C: HMGB1/TLR4/NF-κB 信号通路中 HMGB1、TLR4、NF-κB mRNA 相对表达; D-F: 炎症因子 IL-1β、IL-6、TNF-α mRNA 相对表达与假手术组比较, * $P < 0.05$; 与 SCI 制动组比较, # $P < 0.05$; 组内比较, @ $P < 0.05$

图5 各组大鼠肺组织蛋白质表达水平 Western Blot 检测结果



注:A:各组HMGB1、TLR4、p-P65蛋白相对表达量;B-D:各组HMGB1、TLR4、p-P65蛋白相对表达量的统计与假手术组比较,* $P < 0.05$;与SCI制动组比较,# $P < 0.05$;组内比较,@ $P < 0.05$

组织中HMGB1、TLR-4、NF- κ B蛋白及mRNA表达水平显著降低,炎性因子IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达水平显著降低。因此,跑台运动训练可能调控了HMGB1/TLR-4/NF- κ B信号通路,抑制了脊髓损伤大鼠肺组织中的炎症反应,从而起到改善肺功能的作用。

HMGB1是一种DNA结合蛋白,主要存在于细胞核内,是HMGB亚族中含量最丰富的核蛋白^[22]。作为一种炎症介质,一旦激活后将通过两个核定位点(nuclear localization sites, NLS)乙酰化,然后被免疫细胞的主动和被动途径释放到细胞外^[23-24]。HMGB1的受体主要有晚期糖基化终产物的受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)和TLRs,如TLR2和TLR4,通过与受体结合促进NF- κ B、TNF- α 、IL-1及IL-6等促炎因子的合成与释放,参与炎症反应^[25-26]。有大量的研究证实, HMGB1/TLR-4/NF- κ B信号通路在肺损伤的发生发展中发挥了重要作用,例如Zheng等^[9]研究发现甘草甜素通过抑制HMGB1/TLR-4信号通路,下调炎症因子表达,改善放射引起的肺损伤。Wang等^[27]指出

丙泊酚通过抑制HMGB1/TLR-4/NF- κ B信号通路,可明显减轻脂多糖引起的大鼠急性肺损伤。相较于药物干预,跑台运动训练作为一种临床安全且可行的干预手段,其在治疗脊髓损伤患者肺功能障碍等方面有广泛的临床应用价值。综合本研究结果,跑台运动训练可能通过抑制HMGB1/TLR-4/NF- κ B信号通路的激活,并抑制下游的炎症因子释放,从而抑制了脊髓损伤大鼠肺组织中的炎症反应,起到了保护肺组织的作用。

本研究为阐明跑台运动训练可抑制脊髓损伤大鼠肺组织中炎症反应,起到了保护肺组织的作用,提供了理论依据。不过本研究尚有部分不足之处,如仅观察了跑台运动训练对HMGB1/TLR-4/NF- κ B信号通路中相关因子的表达情况,而其调控的机制有待进一步研究。

4 结论

跑台运动训练可通过抑制HMGB1/TLR4/NF- κ B信号通路,降低IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等促炎因子的释放,减轻脊髓损伤后肺组织中的炎症反应,从而

起到改善大鼠脊髓损伤后肺功能的作用。

参考文献

- [1] Savic G, Devivo MJ, Frankel HL, et al. Causes of death after traumatic spinal cord injury—a 70-year British study[J]. *Spinal Cord*, 2017, 55(10): 891—897.
- [2] Hardy TA, Chadwick MR, Davies MJ. Mechanisms of improved exercise capacity following respiratory muscle training in athletes with cervical spinal cord injury[J]. *The Journal of Physiology*, 2019, 597(23): 5531—5532.
- [3] Gee CM, Williams AM, Sheel AW, et al. Respiratory muscle training in athletes with cervical spinal cord injury: effects on cardiopulmonary function and exercise capacity[J]. *The Journal of Physiology*, 2019, 597(14): 3673—3685.
- [4] Bach JR, Burke L, Chiou M. Conventional respiratory management of spinal cord injury[J]. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America*, 2020, 31(3): 379—395.
- [5] Jiang W, Li M, He F, et al. Inhibition of NLRP3 inflammasome attenuates spinal cord injury-induced lung injury in mice[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2019, 234(5): 6012—6022.
- [6] Jiang W, Li M, He F, et al. Protective effects of asiatic acid against spinal cord injury-induced acute lung injury in rats[J]. *Inflammation*, 2016, 39(6): 1853—1861.
- [7] Tang Y, Zhao X, Antoine D, et al. Regulation of posttranslational modifications of HMGB1 during immune responses [J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2016, 24(12): 620—634.
- [8] Lotze MT, Tracey KJ. High-mobility group box 1 protein (HMGB1): nuclear weapon in the immune arsenal[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2005, 5(4): 331—342.
- [9] Zheng L, Zhu Q, Xu C, et al. Glycyrrhizin mitigates radiation-induced acute lung injury by inhibiting the HMGB1/TLR4 signalling pathway[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020, 24(1): 214—226.
- [10] Boswell-Ruys CL, Lewis CRH, Wijeyesuriya NS, et al. Impact of respiratory muscle training on respiratory muscle strength, respiratory function and quality of life in individuals with tetraplegia: a randomised clinical trial[J]. *Thorax*, 2020, 75(3): 279—288.
- [11] Matute-Bello G, Winn RK, Jonas M, et al. Fas (CD95) induces alveolar epithelial cell apoptosis in vivo: implications for acute pulmonary inflammation[J]. *The American Journal of Pathology*, 2001, 158(1): 153—161.
- [12] Jiang W, Li M, He F, et al. Dopamine D1 receptor agonist A-68930 inhibits NLRP3 inflammasome activation and protects rats from spinal cord injury-induced acute lung injury[J]. *Spinal Cord*, 2016, 54(11): 951—956.
- [13] He B, Nan G. Pulmonary edema and hemorrhage after acute spinal cord injury in rats[J]. *The Spine Journal*, 2016, 16(4): 547—551.
- [14] Chu R, Wang J, Bi Y, et al. The kinetics of autophagy in the lung following acute spinal cord injury in rats[J]. *The Spine Journal*, 2018, 18(5): 845—856.
- [15] Gris D, Hamilton EF, Weaver LC. The systemic inflammatory response after spinal cord injury damages lungs and kidneys[J]. *Experimental Neurology*, 2008, 211(1): 259—270.
- [16] Xie YC, Dong XW, Wu XM, et al. Inhibitory effects of flavonoids extracted from licorice on lipopolysaccharide-induced acute pulmonary inflammation in mice[J]. *International Immunopharmacology*, 2009, 9(2): 194—200.
- [17] Sun X, Jones ZB, Chen XM, et al. Multiple organ dysfunction and systemic inflammation after spinal cord injury: a complex relationship[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2016, 13(1): 260.
- [18] Cheung EYY, Yu KKK, Kwan RLC, et al. Effect of EMG-biofeedback robotic-assisted body weight supported treadmill training on walking ability and cardiopulmonary function on people with subacute spinal cord injuries - a randomized controlled trial[J]. *BMC Neurology*, 2019, 19(1): 140.
- [19] Terson De Paleville D, Mckay W, Aslan S, et al. Locomotor step training with body weight support improves respiratory motor function in individuals with chronic spinal cord injury[J]. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 2013, 189(3): 491—497.
- [20] Lemos JR, Da Cunha FA, Lopes AJ, et al. Respiratory muscle training in non-athletes and athletes with spinal cord injury: a systematic review of the effects on pulmonary function, respiratory muscle strength and endurance, and cardiorespiratory fitness based on the FITT principle of exercise prescription[J]. *Journal of Back and Musculoskeletal Rehabilitation*, 2020, 33(4): 655—667.
- [21] Tiftik T, Gökaya NK, Malas F, et al. Does locomotor training improve pulmonary function in patients with spinal cord injury?[J]. *Spinal Cord*, 2015, 53(6): 467—470.
- [22] Goodwin GH, Sanders C, Johns EW. A new group of chromatin-associated proteins with a high content of acidic and basic amino acids[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1973, 38(1): 14—19.
- [23] Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice[J]. *Science (New York, NY)*, 1999, 285(5425): 248—251.
- [24] Andersson U, Yang H, Harris H. Extracellular HMGB1 as a therapeutic target in inflammatory diseases[J]. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 2018, 22(3): 263—277.
- [25] Alikiaii B, Bagherniya M, Askari G, et al. The role of phytochemicals in sepsis: a mechanistic and therapeutic perspective[J]. *BioFactors (Oxford, England)*, 2021, 47(1): 19—40.
- [26] Wang M, Gauthier A, Daley L, et al. The role of HMGB1, a nuclear damage-associated molecular pattern molecule, in the pathogenesis of lung diseases[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2019, 31(13): 954—993.
- [27] Wang X, Liu C, Wang G. Propofol protects rats and human alveolar epithelial cells against lipopolysaccharide-induced acute lung injury via inhibiting HMGB1 expression [J]. *Inflammation*, 2016, 39(3): 1004—1016.