

· 控烟专题 论著 ·

电子烟急性暴露对小鼠BALF及肺表面活性蛋白的影响研究

王寅丹, 李婷, 张国庆, 章璐, 张进娜, 胡人杰, 刘翠清

浙江中医药大学公共卫生学院, 浙江 杭州 310056

摘要: **目的** 探索急性暴露于电子烟的小鼠支气管肺泡灌洗液 (BALF) 白细胞计数、总蛋白含量以及肺表面活性蛋白水平, 为电子烟的呼吸系统损害作用机制研究提供实验依据。**方法** 21只 C57BL/6N 雌鼠随机分为空白对照组、溶剂对照组和尼古丁组。溶剂对照组和尼古丁组小鼠每天分别暴露于电子烟烟液载体溶剂气溶胶和含 25 mg/mL 尼古丁的电子烟气溶胶 3 h, 空白对照组饲养在洁净空气中。暴露 3 d 后收集小鼠 BALF, 通过瑞氏-姬姆萨染色镜观察细胞形态, 统计白细胞数量, 采用 BCA 法检测总蛋白含量; 取小鼠肺组织采用实时荧光定量 PCR 检测表面活性蛋白基因 mRNA 表达水平。**结果** 3组小鼠生长状况良好, 无明显异常, 无死亡。尼古丁组小鼠 BALF 含大量单核-巨噬细胞, 空白对照组和溶剂对照组相对较少。空白对照组、溶剂对照组和尼古丁组小鼠 BALF 中白细胞数分别为 $(2.00 \pm 0.77) \times 10^7$ 个/L、 $(1.79 \pm 0.99) \times 10^7$ 个/L 和 $(4.00 \pm 1.35) \times 10^7$ 个/L, 总蛋白含量分别为 (0.16 ± 0.03) 、 (0.12 ± 0.02) 、 (0.16 ± 0.04) mg/mL, 肺表面活性蛋白 B (SP-B) mRNA 相对表达量分别为 1.00 ± 0.14 、 0.82 ± 0.12 和 0.74 ± 0.07 , SP-D mRNA 相对表达量分别为 1.00 ± 0.06 、 0.90 ± 0.02 和 0.71 ± 0.15 , 3组比较差异均有统计学意义 ($F=9.199, P=0.002$; $F=3.610, P=0.048$; $F=5.491, P=0.028$; $F=10.460, P=0.005$)。尼古丁组小鼠白细胞数高于空白对照组和溶剂对照组小鼠 ($P=0.007, 0.003$), 总蛋白含量高于溶剂对照组小鼠 ($P=0.060$), SP-B mRNA 相对表达量低于空白对照组小鼠 ($P=0.025$), SP-D mRNA 相对表达量低于空白对照组和溶剂对照组小鼠 ($P=0.004, 0.041$)。**结论** 电子烟急性暴露引起小鼠肺内炎症水平升高, 肺部毛细血管屏障受损并降低肺表面活性蛋白的表达。

关键词: 电子烟; 尼古丁; 白细胞; 支气管肺泡灌洗液; 肺表面活性蛋白

中图分类号: R361.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-5087 (2022) 05-0456-05

Effect of acute exposure to electronic cigarette on bronchoalveolar lavage fluid and pulmonary surfactant protein in mice

WANG Yindan, LI Ting, ZHANG Guoqing, ZHANG Lu, ZHANG Jinna, HU Renjie, LIU Cuiqing
School of Public Health, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou, Zhejiang 310056, China

Abstract: Objective To assess the effects of acute exposure to electronic cigarette (e-cigarette) on leukocyte and total protein levels in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and pulmonary surfactant protein expression in a mouse model, so as to provide insights into the elucidation of the mechanism underlying the damages to the respiratory system caused by e-cigarette. **Methods** Twenty-one C57BL/6N female mice were randomly divided into the blank control group, the solvent control group and the nicotine group. Mice in the solvent control group and the nicotine group were exposed to the solvent aerosol or e-cigarette aerosol containing 25 mg/mL nicotine for 3 hours daily, while mice in the blank control group were bred in clean air. Following 3-day exposure, mouse BALF and lung specimens were collected. The cell morphology was observed using microscopy following Wright-Giemsa staining and the leukocyte count was estimated in BALF, while the total protein expression was quantified using bicinchoninic acid (BCA) assay. In addition, the mRNA expression of pulmonary surfactant protein genes was detected in mouse lung specimens using quantitative real-time PCR (qPCR) assay. **Results** All mice in three groups grew well without obvious abnormality or death seen. Wright-Gi-

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2022.05.006

作者简介: 王寅丹, 硕士研究生在读

通信作者: 刘翠清, E-mail: liucuiqing@zcmu.edu.cn

emsa staining showed a higher number of mononuclear macrophages in mouse BALF in the nicotine group than in the blank control group and the solvent control group. The leukocyte counts were $(2.00\pm 0.77)\times 10^7$, $(1.79\pm 0.99)\times 10^7$ and $(4.00\pm 1.35)\times 10^7$ cells/L ($F=9.199$, $P=0.002$), and the total protein levels were (0.16 ± 0.03) , (0.12 ± 0.02) and (0.16 ± 0.04) mg/mL in mouse BALF in the blank control group, solvent control group and nicotine group ($F=3.610$, $P=0.048$), and the relative mRNA expression of pulmonary surfactant protein B (SP-B) and SP-D was 1.00 ± 0.14 , 0.82 ± 0.12 and 0.74 ± 0.07 ($F=5.491$, $P=0.028$), and 1.00 ± 0.06 , 0.90 ± 0.02 and 0.71 ± 0.15 in mouse lung specimens, respectively ($F=10.460$, $P=0.005$). The leukocyte count was significantly higher in the nicotine group than in the blank control group and solvent control group ($P=0.007$, 0.003), and the total protein content was higher in the nicotine group than in the solvent control group ($P=0.060$), while the relative SP-B mRNA expression was lower in the nicotine group than in the blank control group ($P=0.025$), and the relative SP-D mRNA expression was lower in the nicotine group than in the blank control group and solvent control group ($P=0.004$, 0.041). **Conclusion** Acute exposure to e-cigarette results in elevated intrapulmonary inflammatory responses, pulmonary capillary barrier impairment and reduced pulmonary surfactant protein expression.

Keywords: electronic cigarette; nicotine; leukocyte; bronchoalveolar lavage fluid; pulmonary surfactant protein

电子烟烟液的主要成分包括丙二醇 (propylene glycol, PG)、植物甘油 (vegetable glycerin, VG)、尼古丁和香精等, 烟液加热后产生的气溶胶仍可危害呼吸系统^[1]。有研究表明, 电子烟会引起氧化应激和呼吸道炎症^[2], 还会加速哮喘模型中过敏性气道炎症的发展, 抑制宿主防御功能, 引发与慢性阻塞性肺疾病相似的损伤效应^[3]。但是, 电子烟暴露引起呼吸系统疾病的毒性作用机制尚未明确。

支气管肺泡灌洗 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 是一种获取肺泡细胞及生化成分的临床方法, 能反映肺部的病理改变^[4]。目前关于电子烟暴露引起 BALF 改变的研究结果并不一致, 如 GLYNOS 等^[5] 研究显示在电子烟暴露 3 天后, BALF 总细胞数和巨噬细胞数增加, 而 WANG 等^[6] 发现 BALF 总细胞数和巨噬细胞数均无变化。肺泡表面活性物质是一种由 II 型肺泡上皮细胞分泌的脂蛋白, 肺表面活性蛋白是肺泡表面活性物质中与磷脂结合的蛋白质。肺表面活性蛋白功能异常可导致多种呼吸系统疾病, 该物质缺乏可能与过敏、自身免疫性疾病、感染或接触有毒物质有关^[7]。本研究探索小鼠急性暴露于电子烟气溶胶后 BALF 中白细胞数量、蛋白含量以及肺组织内肺表面活性蛋白表达水平, 为电子烟对呼吸系统的损害作用机制研究提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂 电子烟发生器 (本项目组研发产品, 专利号 ZL202020233576.3, 山东巨康科技公司生产); 组织快速破碎仪 (上海净信, Gastprp-64); 超微量天平 (Mettler-Toledo, XPR6U/AC); 实时荧光定量 PCR 仪 (Applied-biosystems, QuantStudio 7 Flex)。磷酸盐缓冲液 (Hyclone, SH30256.01);

SYBRGreen (Applied-biosystems, 718821); 特氟龙膜 (Whatman, CAT NO.7592-104); 尼古丁 (北京诺博莱德科技有限公司, CAS NO.54-11-5); PG (百灵威, LG90T53); VG (深圳市进步时代科技有限公司); 白细胞稀释液 (源叶生物, R20340); 瑞氏-姬姆萨染色液 (珠海贝索生物技术有限公司, BA-4017); BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (Beytime, P0012); RNAisoPlus (Takara, T9108); cDNA 反转录试剂盒 (Takara, RR036A)。

1.2 实验动物 清洁级 C57BL/6N 雌鼠 21 只, 体重 20~24 g, 由维通利华提供, 生产许可证号为 SYXK (浙) 2021-0012, 使用许可证号为 SYXK (浙) 2021-0012。实验前将小鼠适应性饲养 2 周, 饲养环境温度 20~22 °C、相对湿度为 55%~60%, 给予充足的水和营养支持。实验方法完全遵循动物实验管理规范^[8], 研究通过浙江中医药大学动物实验中心伦理审查, 审批号: IACUC-20210927-04。

1.3 方法

1.3.1 电子烟烟液制备 PG 和 VG 按体积 1:1 混合制备电子烟烟液载体溶剂。该溶剂中加入尼古丁配制成尼古丁浓度为 25 mg/mL 的烟液。

1.3.2 电子烟暴露模型建立 C57BL/6N 雌鼠随机分为空白对照组、溶剂对照组和尼古丁组 3 组。空白对照组小鼠饲养在经高效空气过滤器过滤的洁净空气中; 溶剂对照组小鼠暴露于电子烟烟液载体溶剂气溶胶; 尼古丁组小鼠暴露于含 25 mg/mL 尼古丁的电子香烟液气溶胶。溶剂对照组和尼古丁组小鼠分别置于体积约 0.35 m² 的全身吸入式动式染毒系统, 向电子烟发生装置雾化器中添加不含尼古丁和含尼古丁的烟液, 分别与相应暴露仓体连接, 控制进气量约为 50 L/min。每次暴露开始前 5 min 打开电子烟发生

器,使其浓度稳定。电子烟发生器每隔 10 s 产生电子烟气溶胶 5 s,并通过控制电压调节暴露浓度;每暴露 1 h,关闭电子烟发生器并迅速打开洁净空气进气阀,给予小鼠洁净空气 30 min。小鼠每天暴露 3 h,在第 3 天暴露结束后使用电子天平称取小鼠体重,通过颈椎脱臼处死小鼠并取肺称重。

1.3.3 小鼠电子烟气溶胶暴露剂量测定 根据公式 $D=C \times RMV \times d / BW$ 计算小鼠电子烟气溶胶暴露剂量^[9];其中 D 为暴露剂量 (mg/kg), C 为气溶胶浓度 (mg/L), RMV 为每分钟呼吸量 (L/min) = $0.608 \times BW^{0.852}$, d 为每日暴露持续时间 (min), BW 为体重 (kg, 小鼠约为 0.02 kg)。采用滤膜采样法监测溶剂对照组和尼古丁组暴露仓内的电子烟气溶胶浓度,每小时测定 1~2 次。

1.3.4 BALF 收集和检测 结扎小鼠左肺,分离颈部皮肤及肌肉使气管暴露,用 0.6 mm 穿刺针插入气管上端后将穿刺针与支气管结扎固定,将预冷的 0.5 mL 磷酸盐缓冲液通过穿刺针缓慢注入右肺后以最大限度回收灌洗液,重复 3 次。将收集到的

BALF 置于冰上,混匀后取 50 μ L BALF 加入 50 μ L 白细胞计数液,通过血细胞计数板计算白细胞数量绝对值。剩余的 BALF 在 4 $^{\circ}$ C, 1 000 r/min, 离心半径 5.5 cm 的条件下离心 30 min。取上清液采用 BCA 法检测总蛋白含量;收集沉淀部分加入 100 μ L 磷酸盐缓冲液重悬后涂片,待其自然干燥后用瑞氏-姬姆萨染色液染色流水冲洗,显微镜下观察细胞形态。

1.3.5 肺表面活性蛋白基因 mRNA 表达检测 取小鼠右肺组织 50~100 mg,加入 RNAisoPlus 试剂,用组织破碎仪匀浆处理后提取总 RNA,采用 cDNA 反转录试剂盒将 RNA 反转录成 cDNA,加入 SYBRGreen 后采用实时荧光定量 PCR 仪检测肺组织中肺表面活性蛋白 A (surfactant protein-A, SP-A)、肺表面活性蛋白 B (surfactant protein-B, SP-B)、肺表面活性蛋白 C (surfactant protein-C, SP-C) 和肺表面活性蛋白 D (surfactant protein-D, SP-D) 基因 mRNA 表达,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算相对表达量。以 β -actin 为内参基因,PCR 引物序列见表 1。

表 1 肺表面活性蛋白和 β -actin 的引物序列

Table 1 The primer sequences of pulmonary surfactant protein and β -actin

基因 Gene	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer
SP-A	GAGGAGCTTCAGACTGCACTC	AGACTTTATCCCCACTGCACAG
SP-B	CCACCTCCTCACAAAGATGAC	TTGGGGTTAATCTGGCTCTGG
SP-C	ATGGACATGACTAGCAAAGAGGT	CACGATGAGAAGGCGTTTGAG
SP-D	CCTGGAGACAGGAATCAAAGGT	CAGGGAACAATGCAGCTTTCTGA
β -actin	TGTGATGCTGGGAATGGGTCAGAA	TGTGTTGCCAGATCTTCTCCATGT

1.4 统计分析 采用 Graphpad Prism 8.0 软件统计分析。定量资料服从正态分布,采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 描述,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 Tukey 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠一般情况及电子烟气溶胶暴露剂量 各组小鼠生长状况良好,无明显异常行为活动,无小鼠死亡。暴露 3 d 后,空白对照组、溶剂对照组和尼古丁组小鼠体重分别为 (22.91 \pm 1.53) g、(22.61 \pm 1.47) g 和 (23.13 \pm 1.47) g,肺脏器系数分别为 (0.97 \pm 0.08) %、(0.93 \pm 0.06) %和 (0.91 \pm 0.05) %,差异均无统计学意义 ($F=0.210$, $P=0.813$; $F=1.261$, $P=0.307$)。溶剂对照组仓内电子烟气溶胶暴露剂量为

(533.19 \pm 174.27) μ g/L, 尼古丁组为 (465.27 \pm 187.87) μ g/L。

2.2 各组小鼠 BALF 细胞形态、白细胞数和总蛋白含量 3 组小鼠 BALF 中均以单核-巨噬细胞为主,其中尼古丁组出现大量单核-巨噬细胞,空白对照组和溶剂对照组较少。3 组小鼠 BALF 中白细胞数比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 两两比较结果显示,尼古丁组小鼠白细胞数高于空白对照组 ($P=0.007$) 和溶剂对照组小鼠 ($P=0.003$); 溶剂对照组与空白对照组小鼠白细胞数差异无统计学意义 ($P=0.925$)。3 组小鼠 BALF 中总蛋白含量比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 两两比较结果显示,尼古丁组小鼠总蛋白含量高于溶剂对照组小鼠 ($P=0.060$); 溶剂对照组与空白对照组总蛋白含量差异无统计学意义 ($P=0.105$)。见表 2。

表 2 各组小鼠 BALF 中白细胞数和总蛋白含量比较 ($\bar{x}\pm s, n=7$)

Table 2 Comparison of white blood cell counts and total protein contents in BALF of mice among three groups ($\bar{x}\pm s, n=7$)

组别 Group	白细胞数 White blood cell count/ ($\times 10^7/L$)	总蛋白含量 Total protein content/ (mg/mL)
空白对照组 Blank control group	2.00±0.77	0.16±0.03
溶剂对照组 Solvent control group	1.79±0.99	0.12±0.02
尼古丁组 Nicotine group	4.00±1.35	0.16±0.04
F 值	9.199	3.610
P 值	0.002	0.048

表 3 各组小鼠肺表面活性蛋白 mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x}\pm s, n=4$)

Table 3 Comparison of relative mRNA expression of pulmonary surfactant proteins in mice among three groups ($\bar{x}\pm s, n=4$)

组别 Group	mRNA 相对表达量 Relative mRNA expression			
	SP-A	SP-B	SP-C	SP-D
空白对照组 Blank control group	1.00±0.15	1.00±0.14	1.00±0.19	1.00±0.06
溶剂对照组 Solvent control group	1.33±0.37	0.82±0.12	1.39±0.55	0.90±0.02
尼古丁组 Nicotine group	0.94±0.20	0.74±0.07	0.55±0.25	0.71±0.15
F 值	2.616	5.491	2.242	10.460
P 值	0.127	0.028	0.162	0.005

3 讨论

近年来, 流行病学研究表明电子烟使用会导致哮喘、慢性阻塞性肺疾病、急性呼吸窘迫综合征等慢性呼吸系统疾病^[10]。一般情况下, 人体每天雾化吸入的电子烟液不大于 4 mL, 包含 2.1 g PG、2.5 g VG 和 80 mg 尼古丁^[6, 11], 据此可推算体重 60 kg 的成年人日均电子烟暴露剂量最大约为 78 mg/kg。本研究设置尼古丁组小鼠的暴露剂量为 83.75 mg/kg, 与成人日均电子烟暴露剂量接近, 对于阐明人类短期使用电子烟所产生的健康危害有一定意义。

空气污染等环境因素对人体的健康危害存在性别差异^[12]。既往研究多选用雄性小鼠评价电子烟暴露的损伤效应, 发现电子烟急性暴露、亚慢性暴露均可导致雄性小鼠 BALF 内白细胞数显著上升^[5]。本研究选用雌性小鼠进行实验, 结果显示, 尼古丁组雌性小鼠 BALF 中含有大量单核-巨噬细胞, 白细胞数升高, 提示电子烟急性暴露可引起雌性小鼠肺部炎症。同时, 尼古丁组雌性小鼠 BALF 总蛋白含量升高, 反映了肺泡毛细血管膜通透性降低^[13], 提示暴露于更长时间或更高浓度的电子烟可能会导致肺部毛细血

管损伤和屏障功能障碍。GLYNOS 等^[5]的研究也支持这一结果。

肺表面活性蛋白是维持肺内免疫稳态与肺泡功能的基本成分, 与维持肺内环境稳定的先天免疫和炎症反应密切相关^[14]。为进一步探索电子烟暴露对肺部的影响, 本研究检测了小鼠肺组织内 4 种不同表面活性蛋白 SP-A、SP-B、SP-C 和 SP-D。SP-A 是肺表面活性蛋白中含量最丰富的一种, 有助于形成水性表面活性剂聚集体, 调节表面活性剂的回收和分泌, 并维持其生物活性^[15]。SP-B 能够降低表面张力并维持出生后早期肺功能, 对 SP-C 前体蛋白的加工、板层体中表面活性剂磷脂的调控、肺泡中管状髓鞘的形成至关重要^[16]。SP-C 受到 SP-B 的调控, 主要功能是保持脂质的生物物理表面活性, 增强体外表面活性剂磷脂的再摄取^[16]。SP-D 可与微生物结合增强宿主细胞的吞噬能力, 发挥抗菌功能并抑制炎症反应的产生^[17]。本研究结果显示, 小鼠短期暴露于电子烟后肺内 SP-B、SP-D 的 mRNA 表达水平降低, 提示使用电子烟可能增加肺泡表面张力, 破坏肺内免疫稳态引起炎症反应, 甚至导致肺气肿和肺泡纤维化发展等相关呼吸系统疾病。但尼古丁组小鼠 SP-B mRNA 表

达水平与溶剂对照组相比并无明显变化,提示吸入电子烟载体溶剂产生的气溶胶也可能对呼吸系统存在损伤效应,具体机制仍需深入研究。电子烟暴露并未引起 SP-A、SP-C mRNA 表达水平的改变,这是否与暴露时间有关尚待进一步探索。此外,上述结果也表明,相较于 SP-A 和 SP-C, SP-B 和 SP-D 对电子烟暴露更为敏感,有望成为评价电子烟对呼吸系统危害的生物标志物。

短期急性暴露电子烟导致小鼠肺内炎症、肺部毛细血管屏障受损并影响肺表面活性蛋白的表达,表明电子烟对呼吸系统具有毒性作用。需进一步探索电子烟暴露对肺功能的潜在影响,同时明确肺泡表面活性物质改变在电子烟吸入导致肺部损伤中的作用,开展电子烟暴露的慢性影响研究。

参考文献

- [1] CALLAHAN-LYON P. Electronic cigarettes: human health effects [J]. *Tob Control*, 2014, 23 (Suppl.2): ii36-ii40.
- [2] MUTHUMALAGE T, PRINZ M, ANSAH K O, et al. Inflammatory and oxidative responses induced by exposure to commonly used e-cigarette flavoring chemicals and flavored e-liquids without nicotine [J]. *Front Physiol*, 2017, 8: 1-13.
- [3] MUTHUMALAGE T, LAMB T, FRIEDMAN M R, et al. E-cigarette flavored pods induce inflammation, epithelial barrier dysfunction, and DNA damage in lung epithelial cells and monocytes [J/OL]. *Sci Rep*, 2019, 9 (1) [2022-04-02]. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51643-6>.
- [4] LIU Z, YAN J, TONG L, et al. The role of exosomes from BALF in lung disease [J]. *J Cell Physiol*, 2022, 237 (1): 161-168.
- [5] GLYNOS C, BIBLI S I, KATSAOUNOU P, et al. Comparison of the effects of e-cigarette vapor with cigarette smoke on lung function and inflammation in mice [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2018, 315 (5): L662-L672.
- [6] WANG J, ZHANG T, JOHNSTON C J, et al. Protein thiol oxidation in the rat lung following e-cigarette exposure [J/OL]. *Redox Biol*, 2020, 37 [2022-04-02]. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101758>.
- [7] GRIESE M. Pulmonary surfactant in health and human lung diseases: state of the art [J]. *Eur Respir J*, 1999, 13 (6): 1455-1476.
- [8] 魏强. 动物生物安全实验室管理和技术要点 [J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30 (3): 94-97.
WEI Q. Issues of animal experiments in biosafety laboratories [J]. *Chin J Comp Med*, 2020, 30 (3): 94-97.
- [9] LAYDEN J E, GHINAI I, PRAY I, et al. Pulmonary illness related to e-cigarette use in Illinois and Wisconsin—final report [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382 (10): 903-916.
- [10] 崔紫阳, 刘朝, 程安琪, 等. 电子烟对人体健康的影响研究进展 [J]. *中华健康管理学杂志*, 2020, 14 (6): 596-600.
CUI Z Y, LIU C, CHENG A Q, et al. Research progress on the effect of electronic cigarette on human health [J]. *Chin J Health Manag*, 2020, 14 (6): 596-600.
- [11] PHILLIPS B, TITZ B, KOGEL U, et al. Toxicity of the main electronic cigarette components, propylene glycol, glycerin, and nicotine, in Sprague-Dawley rats in a 90-day OECD inhalation study complemented by molecular endpoints [J]. *Food Chem Toxicol*, 2017, 109 (Pt 1): 315-332.
- [12] LI R, SUN Q, LAM S M, et al. Sex-dependent effects of ambient PM_{2.5} pollution on insulin sensitivity and hepatic lipid metabolism in mice [J]. *Part Fibre Toxicol*, 2020, 17 (1): 1-14.
- [13] MATUTE-BELLO G, DOWNEY G, MOORE B B, et al. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 44 (5): 725-738.
- [14] KIEFMANN M, TANK S, TRITT M O, et al. Dead space ventilation promotes alveolar hypocapnia reducing surfactant secretion by altering mitochondrial function [J]. *Thorax*, 2019, 74 (3): 219-228.
- [15] STRAYER D S, KORUTLA L. Activation of surfactant protein-B transcription: signaling through the SP-A receptor utilizing the PI3 kinase pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2000, 184 (2): 229-238.
- [16] WHITSETT J A, WEAVER T E. Hydrophobic surfactant proteins in lung function and disease [J]. *N Engl J Med*, 2002, 347 (26): 2141-2148.
- [17] SORENSEN G L. Surfactant protein D in respiratory and non-respiratory diseases [J/OL]. *Front Med*, 2018, 5 [2022-04-02]. <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00018>.

收稿日期: 2022-03-07 修回日期: 2022-04-02 本文编辑: 徐文璐