

MCC950 能减轻线粒体损伤相关分子模式对肺泡巨噬细胞的致炎效应

彭菲菲 曾振国 邵强 赵宁 江榕 钱克俭 刘芬

330006 江西南昌,南昌大学第一附属医院重症医学科

通讯作者:刘芬,Email:liufenicu@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.11.006

【摘要】 目的 观察一种化学合成小分子物质 MCC950 对线粒体损伤相关分子模式 (MTDs) 诱导肺泡巨噬细胞炎症反应的影响,并分析其可能的机制。**方法** 利用差速离心法提取 SD 大鼠肝脏组织来源的 MTDs。体外培养大鼠肺泡巨噬细胞 NR8383 细胞株,并分为空白对照组、LPS 阳性对照组 (1 mg/L LPS 刺激 12 h)、MTDs 组 (50、100、200 mg/L MTDs 刺激 12 h)、MCC950 组 (0.1 μ mol/L MCC950 处理 30 min)、MCC950 + MTDs 组 (终浓度 0.001、0.01、0.1、1.0 μ mol/L MCC950 预处理 30 min + 100 mg/L MTDs 刺激 12 h) 5 组。收集各组细胞上清液及细胞,采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素 (IL-1 β 、IL-18) 含量;采用蛋白质免疫印迹试验 (Western Blot) 检测细胞中天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1 及其前体 (caspase-1、pro-caspase-1)、IL-1 β 及其前体 (pro-IL-1 β) 的蛋白表达。**结果** ① 与空白对照组相比,50、100、200 mg/L 的 MTDs 刺激组细胞上清液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 含量均显著升高 [TNF- α (ng/L): 459.17 ± 66.71 、 968.27 ± 124.29 、 1128.6 ± 172.02 比 34.67 ± 11.66 , IL-1 β (ng/L): 341.57 ± 38.09 、 685.00 ± 75.36 、 784.97 ± 89.28 比 26.33 ± 8.04 , IL-18 (ng/L): 175.87 ± 37.43 、 364.23 ± 39.24 、 370.60 ± 44.55 比 73.77 ± 12.10 , 均 $P < 0.05$], 且呈剂量依赖性;并与 LPS 组具有类似的致炎作用。② 与 MTDs 组相比,0.01、0.1 及 1.0 μ mol/L MCC950 + MTDs 组细胞上清液中 IL-1 β 、IL-18 含量显著降低 [IL-1 β (ng/L): 334.23 ± 33.56 、 38.67 ± 12.89 、 36.13 ± 17.69 比 724.00 ± 77.45 , IL-18 (ng/L): 165.77 ± 25.47 、 71.37 ± 5.99 、 66.80 ± 14.61 比 412.23 ± 40.15 均 $P < 0.05$], 其中 0.1 μ mol/L 为产生抗炎作用的最佳有效浓度。而各浓度 MCC950 对 TNF- α 影响不大。③ 与 MTDs 组相比,0.01 μ mol/L MCC950 + MTDs 组细胞中 caspase-1 及 IL-1 β 蛋白表达显著下降 (A 值: 14753.29 ± 950.31 比 19222.50 ± 1234.13 , 9981.06 ± 673.63 比 12759.26 ± 574.69 , 均 $P < 0.05$), pro-caspase-1 及 pro-IL-1 β 蛋白表达无明显变化 (A 值: 17856.08 ± 1076.20 比 17059.01 ± 966.37 , 23020.19 ± 3463.57 比 20642.36 ± 1714.36 , 均 $P > 0.05$)。**结论** MCC950 能够减少 MTDs 诱导的肺泡巨噬细胞炎性因子分泌,可能通过抑制炎性体活化发挥作用。

【关键词】 急性呼吸窘迫综合征; 线粒体损伤相关分子模式; MCC950; 炎症反应; 炎性体

基金项目: 国家自然科学基金 (81460292, 81260288, 81460015); 江西省教育厅科学技术研究项目 (GJJ150240); 南昌大学研究生创新专项资金立项项目 (cx2015192)

MCC950 alleviate the inflammatory effect of mitochondrial damage associated molecular patterns in alveolar macrophages Peng Feifei, Zeng Zhenguo, Shao Qiang, Zhao Ning, Jiang Rong, Qian Kejian, Liu Fen

Department of Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi, China

Corresponding author: Liu Fen, Email: liufenicu@163.com

【Abstract】 Objective To observe the effect of a chemosynthetic small molecule substance MCC950 on the inflammatory mediators in alveolar macrophages (AM) induced by mitochondrial damage associated molecular patterns (mitochondrial DAMPs, MTDs), and analyze its potential molecular mechanism. **Methods** Differential centrifugation was used to extract MTDs derived from liver of SD rat. The rat AM NR8383 cell was cultured *in vitro*, which was divided into five groups: blank control group, LPS positive control group (stimulated with 1 mg/L LPS for 12 hours), MTDs group (stimulated with 50, 100, 200 mg/L MTDs for 12 hours), MCC950 group (stimulated with 0.1 μ mol/L MCC950 for 30 minutes), and MCC950+MTDs group (stimulated with 0.001, 0.01, 0.1, 1.0 μ mol/L MCC950 for 30 minutes before stimulated with 100 mg/L MTDs for 12 hours). The supernatants and cells of each group were collected, and the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to assay the contents of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukins (IL-1 β and IL-18), the Western Blot was used to assay the expression of caspase-1, pro-caspase-1, IL-1 β and pro-IL-1 β in the cell. **Results** ① Compared with the blank control group, the contents of TNF- α , IL-1 β , IL-18 in supernatants in the 50, 100 and 200 mg/L MTDs group were significantly higher [TNF- α (ng/L): 459.17 ± 66.71 , 968.27 ± 124.29 , 1128.6 ± 172.02 vs. 34.67 ± 11.66 , IL-1 β (ng/L): 341.57 ± 38.09 , 685.00 ± 75.36 , 784.97 ± 89.28 vs. 26.33 ± 8.04 , IL-18 (ng/L): 175.87 ± 37.43 , 364.23 ± 39.24 , 370.60 ± 44.55 vs. 73.77 ± 12.10 , all $P < 0.05$], in a dose-dependent manner; with the similar inflammatory effect in lipopolysaccharide (LPS) positive control group.

② Compared with the MTDs group, the contents of IL-1 β , IL-18 in the 0.01, 0.1 and 1.0 $\mu\text{mol/L}$ MCC950+MTDs group were remarkably decreased [IL-1 β (ng/L): 334.23 ± 33.56 , 38.67 ± 12.89 , 36.13 ± 17.69 vs. 724.00 ± 77.45 , IL-18 (ng/L): 165.77 ± 25.47 , 71.37 ± 5.99 , 66.80 ± 14.61 vs. 412.23 ± 40.15 , all $P < 0.05$], and 0.1 $\mu\text{mol/L}$ is the optimal effective concentration of anti-inflammation. The influence of MCC950 in various concentrations on the TNF- α was little. ③ Compared with the MTDs group, the expression of caspase-1 and IL-1 β in the 0.01 $\mu\text{mol/L}$ MCC950 group was inhibited significantly (A value: $14\,753.29 \pm 950.31$ vs. $19\,222.50 \pm 1\,234.13$, $9\,981.06 \pm 673.63$ vs. $12\,759.26 \pm 574.69$, both $P < 0.05$), but the change of pro-caspase-1 and pro-IL-1 β was incomparable (A value: $17\,856.08 \pm 1\,076.20$ vs. $17\,059.01 \pm 966.37$, $23\,020.19 \pm 3\,463.57$ vs. $20\,642.36 \pm 1\,714.36$, both $P > 0.05$).

Conclusion Inflammatory mediators secreted from MTDs induced-AM could be reduced by MCC950, which may be the effect of inflammasome inhibition.

【Key words】 Acute respiratory distress syndrome; Mitochondrial damage associated molecular patterns; MCC950; Inflammation; Inflammasome

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81460292, 81260288, 81460015); Jiangxi Provincial Department of Education Science and Technology Research Project (GJJ150240); Nanchang University graduate innovation special funds project(cx2015192)

严重感染导致的脓毒症或严重创伤导致的休克,均能诱发大量损伤相关分子模式(DAMP)释放入血,通过 Toll 样受体(TLR)或核苷酸结合寡聚化结构域样受体(NLR)激活免疫细胞及效应细胞,从而活化 NLRP3 炎性体通路,放大炎症级联反应,加重器官炎症性损伤^[1-2]。炎性体活化是炎性因子失控性释放导致急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的主要机制之一^[3-4],而抑制肺泡巨噬细胞的炎性体活化,减少炎性因子释放是抑制线粒体 DAMP(MTDs)引起肺损伤的关键。有研究报道,一种化学合成的小分子物质 MCC950 能够抑制经典及非经典 NLRP3 炎性体通路,改善自身免疫性脑脊髓膜炎^[5],但目前 MCC950 对 ARDS 的作用鲜见报道。

本研究利用差速离心法提取 SD 大鼠肝脏组织来源的线粒体以获得 MTDs,用不同剂量的外源性 MTDs 刺激肺泡巨噬细胞,观察其致炎效应,并观察不同浓度 MCC950 预处理对 MTDs 诱导炎症反应的影响,初步探讨 MCC950 发挥作用的可能途径,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 实验动物及主要试剂: SD 大鼠购自南昌大学动物科学部(合格证号:43004700013905);大鼠肺泡巨噬细胞 NR8383 细胞株购自中国科学院细胞库;MCC950 购自美国 MedChem Express 公司;脂多糖(LPS)、HamF-12K 培养基购自美国 Sigma-Aldrich 公司;胎牛血清购自美国 Gibco 公司;大鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL-1 β 、IL-18)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒购于上海依科赛科技实业有限公司;天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1(caspase-1)p10 抗体购自美国 Santa Cruz 公司,IL-1 β 抗体购自英国 Abcam Cambridge 公司,

β -肌动蛋白(β -actin)及辣根过氧化物酶(HRP)标记二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司;组织线粒体提取试剂盒购自南京碧云天生物科技有限公司;詹姆斯绿 B 购自北京索莱宝科技有限公司。

1.2 细胞培养: 肺泡巨噬细胞株 NR8383 培养于含 15% 胎牛血清、1.5 g/L 碳酸氢钠的 HamF-12K 完全培养基中,37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱内培养,2~3 d 更换 1 次培养基,当细胞生长融合至 85% 时传代 1 次。在细胞培养过程中使用经去热源处理的一次性耗材。

1.3 实验分组及处理: 取对数生长期的 NR8383 细胞,按照每孔 2×10^6 个细胞接种于 6 孔板。实验分为 5 组:① 空白对照组;② LPS 阳性对照组:细胞培养基中加 1 mg/L LPS 刺激 12 h;③ MTDs 组:分别在细胞培养基中加入 50、100、200 mg/L 的 MTDs 刺激 12 h;④ MCC950 组:用 0.1 $\mu\text{mol/L}$ MCC950 处理 NR8383 细胞 30 min;⑤ MCC950 + MTDs 组:分别加入 0.001、0.01、0.1、1 $\mu\text{mol/L}$ 的 MCC950 预处理 NR8383 细胞 30 min,然后更换培养基,加入 100 mg/L MTDs 刺激 12 h。收集各组细胞上清液及细胞以备检测。

1.4 线粒体及 MTDs 的提取: 取 SD 大鼠肝脏,磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗、剪碎,加入线粒体分离试剂 A,匀浆 10 次,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 5 min 取上清,再离心 10 min,去上清,沉淀即为分离得到的线粒体。纯化线粒体并于冰浴中用超声波细胞破碎仪破碎细胞(450 W,破碎 30 s,间歇 30 s,10 个循环)。离心取上清,获得 MTDs,于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。BCA 法进行 MTDs 蛋白定量。

1.5 詹纳斯绿 B 鉴定提取的线粒体: 配置 0.04% 詹纳斯绿 B 染液,分别加入 10 μL 的线粒体悬液和

詹纳斯绿 B 染液,染色 5 min 后,于 400 倍光镜下观察、拍照。

1.6 炎性因子测定:按照 ELISA 试剂盒说明书步骤检测细胞上清液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 水平,于波长 450 nm 处测定吸光度(A)值,绘制标准曲线,计算出炎性因子含量。

1.7 蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测细胞中 caspase-1、IL-1 β 蛋白表达:裂解细胞,提取总蛋白,采用 BCA 法定量蛋白,进行凝胶电泳、转膜、封闭,加一抗、二抗,洗膜后电化学发光(ECL)增强发光,电化学凝胶成像系统显影,记录目的蛋白与内参照 β -actin 的 A 值比值作为表达量。

1.8 统计学分析:应用 SPSS 17.0 软件进行数据分析,计量数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组比较采用单因素方差分析,并进一步采用 Dunnett- t 检验或 LSD- t 检验进行组间比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 线粒体鉴定(图 1):詹纳斯绿 B 染色后,线粒体悬液中可以看到大量内膜被染成绿色的线粒体,表明线粒体及 MTDs 提取成功。

2.2 不同浓度 MTDs 对大鼠肺泡巨噬细胞的致炎效应(图 2):50、100、200 mg/L MTDs 刺激 NR8383 肺泡巨噬细胞后,细胞上清液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 含量均较空白对照组显著升高(均 $P < 0.05$),证实 MTDs 能诱导大鼠肺泡巨噬细胞炎症反应,且与 LPS 具有类似的致炎作用。且 MTDs 的致炎作用呈剂量依赖性,100 mg/L MTDs 组细胞上清液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 含量均显著高于 50 mg/L MTDs 组,而 200 mg/L MTDs 组除 IL-1 β 显著高于

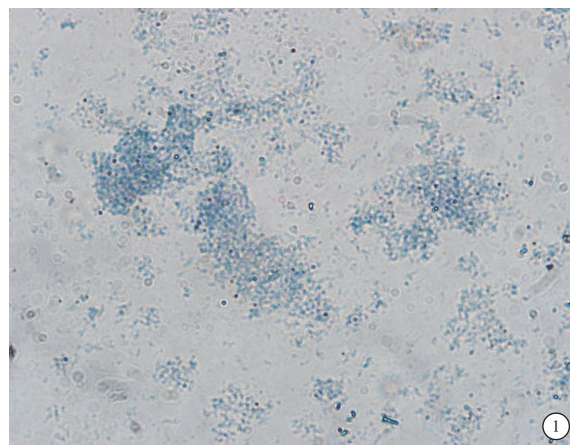
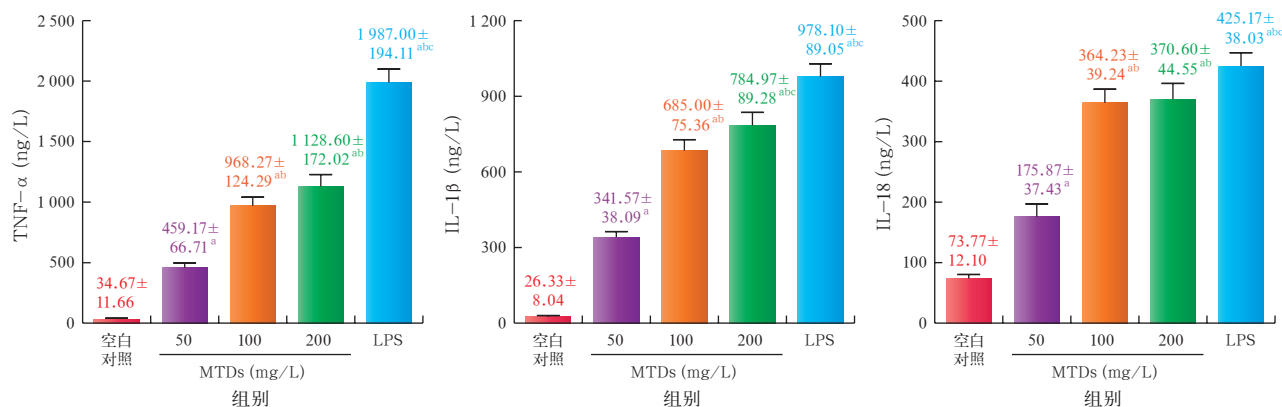


图 1 光镜下观察从 SD 大鼠肝脏中提取的线粒体损伤相关分子模式(MTDs),大量内膜被染成绿色,表明 MTDs 提取成功 詹纳斯绿 B 染色 高倍放大

100 mg/L MTDs 组外, TNF- α 、IL-18 均维持在高水平。

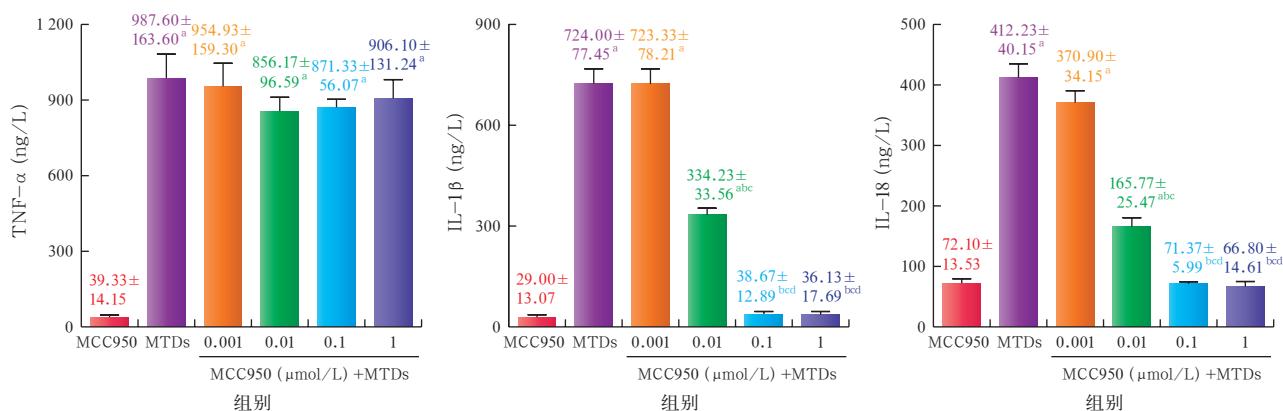
2.3 不同浓度 MCC950 对 MTDs 致炎效应的影响(图 3):与 MTDs 组相比,0.001 $\mu\text{mol/L}$ MCC950 对 MTDs 刺激肺泡巨噬细胞细胞上清液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 含量无明显影响(均 $P > 0.05$);0.01、0.1、1.0 $\mu\text{mol/L}$ 的 MCC950 可以显著降低细胞上清液中 IL-1 β 、IL-18 含量(均 $P < 0.05$),但 TNF- α 含量下降不明显(均 $P > 0.05$)。其中 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 为 MCC950 对 MTDs 诱导肺泡巨噬细胞产生抗炎作用的最佳有效浓度。

2.4 MCC950 对 MTDs 诱导肺泡巨噬细胞 caspase-1 和 IL-1 β 蛋白表达的影响(图 4;表 1):MCC950 + MTDs 组肺泡巨噬细胞 caspase-1、IL-1 β 蛋白表达较 MTDs 组明显下降($P < 0.05$);而 caspase-1、IL-1 β 前体(pro-caspase-1、pro-IL-1 β)蛋白表达则无明显变化(均 $P > 0.05$)。



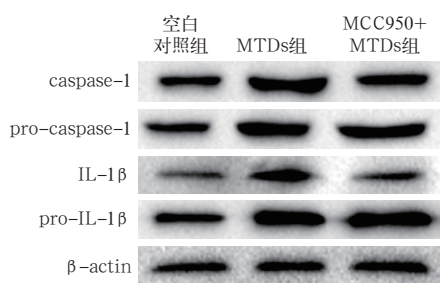
注: LPS 为脂多糖, TNF- α 为肿瘤坏死因子- α , IL-1 β 、IL-18 为白细胞介素-1 β 、-18;与空白对照组比较, ^a $P < 0.05$;与 50 mg/L MTDs 组比较, ^b $P < 0.05$;与 100 mg/L MTDs 组比较, ^c $P < 0.05$

图 2 不同剂量外源性线粒体损伤相关分子模式(MTDs)对肺泡巨噬细胞的致炎效应



注: TNF-α 为肿瘤坏死因子-α, IL-1β、IL-18 为白细胞介素-1β、-18; 与 0.1 μmol/L MCC950 组比较, ^a*P*<0.01; 与 100 mg/L MTDs 组比较, ^b*P*<0.05; 与 0.001 μmol/L MCC950+MTDs 组比较, ^c*P*<0.05; 与 0.01 μmol/L MCC950+MTDs 组比较, ^d*P*<0.05

图 3 不同浓度 MCC950 对外源性线粒体损伤相关分子模式 (MTDs) 诱导肺泡巨噬细胞致炎效应的减轻作用



注: MTDs 为线粒体损伤相关分子模式, caspase-1、pro-caspase-1 为天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1 及其前体, IL-1β、pro-IL-1β 为白细胞介素-1β 及其前体, β-actin 为 β-肌动蛋白

图 4 蛋白质免疫印迹试验 (Western Blot) 检测 MCC950 对肺泡巨噬细胞中 pro-caspase-1、pro-IL-1β 蛋白剪切成熟的影响

表 1 MCC950 预处理对 MTDs 诱导肺泡巨噬细胞中 caspase-1、IL-1β 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数 (孔)	caspase-1 (A 值)	pro-caspase-1 (A 值)
空白对照组	3	11976.66 ± 960.32	10814.51 ± 1022.12
MTDs 组	3	19222.50 ± 1234.13 ^a	17059.01 ± 966.37 ^a
MCC950+MTDs 组	3	14753.29 ± 950.31 ^{ab}	17856.08 ± 1076.20 ^a

组别	样本数 (孔)	IL-1β (A 值)	pro-IL-1β (A 值)
空白对照组	3	9438.99 ± 486.93	13415.04 ± 1359.92
MTDs 组	3	12759.26 ± 574.69 ^a	20642.36 ± 1714.36 ^a
MCC950+MTDs 组	3	9981.06 ± 673.63 ^{ab}	23020.19 ± 3463.57 ^a

注: MTDs 为线粒体损伤相关分子模式, caspase-1、pro-caspase-1 为天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1 及其前体, IL-1β、pro-IL-1β 为白细胞介素-1β 及其前体; 与空白对照组比较, ^a*P*<0.05; 与 MTDs 组比较, ^b*P*<0.05

3 讨论

组织或细胞在受到强烈应激或严重损伤时,可释放出一类物质被 TLR 和 NLR 识别而诱导免疫应答,这类来源于宿主自身受损或死亡细胞的物质被称为 DAMP^[6-7]。最近有研究者证实线粒体来源的 DAMP 是机体严重创伤、休克时内源性 DAMP 的主要来源之一^[8-9], MTDs 是线粒体受损时释放的物质,主要包括线粒体 DNA、甲酰肽、三磷酸腺苷、活

性氧簇等。Li 等^[10]和 Zhang 等^[11]研究显示,将线粒体碎片经尾静脉注入大鼠体内可诱发全身炎症反应,且 3 h 后出现肺水肿等病理学改变,支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中的中性粒细胞计数、TNF-α 及 IL-6 含量均明显升高。Gu 等^[12]也发现,将线粒体 DNA 注射到小鼠体内可诱导急性肺损伤 (ALI),伴有大量肺泡巨噬细胞浸润。本课题组前期研究也发现,线粒体 DNA 能够剂量依赖性地诱导肺泡巨噬细胞 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 等炎症因子表达^[13]。本研究采用不同剂量 MTDs 刺激大鼠肺泡巨噬细胞 12 h 后发现,细胞上清液中 TNF-α、IL-1β、IL-18 含量均显著增多,证实 MTDs 具有较强的致炎效应,与文献报道相一致;此外本研究发现,MTDs 的致炎效应呈剂量依赖性,100 mg/L MTDs 组各炎症因子显著高于 50 mg/L MTDs 组,而 200 mg/L MTDs 组 TNF-α、IL-18 虽有增加趋势,但差异无统计学意义,说明 100 mg/L MTDs 的致炎作用相对稳定。鉴于 MTDs 的致炎效应,如何有效阻断其诱导炎症因子分泌尤为重要。

MCC950 是一种含二芳基磺酰脲的复合物, Coll 等^[5]首次发现 MCC950 能特异性抑制 NLRP3 炎症体的组装,同时抑制经典及非经典 NLRP3 炎症体通路,减少体内外 IL-1β 的分泌,在自体免疫或自身炎症性疾病小鼠模型中均能有效抑制炎症反应。本研究利用不同浓度 MCC950 预处理大鼠肺泡巨噬细胞 30 min 后发现,0.01、0.1 和 1.0 μmol/L 的 MCC950 均可显著降低 MTDs 刺激后细胞上清液中 IL-1β、IL-18 含量,其中 0.1 μmol/L 为抗炎最佳有效浓度,但各浓度对 TNF-α 含量的影响不明显。进一步研究发现,0.1 μmol/L MCC950 能够明显抑制 MTDs 刺激后细胞中 caspase-1、IL-1β 蛋白表达,而不影响

pro-caspase-1、pro-IL-1 β 蛋白表达。以上结果证实, MCC950 能减轻 MTDs 刺激后肺泡巨噬细胞的炎症反应, 初步分析其机制可能与 NLRP3 炎性体的活化有关。NLRP3 炎性体活化需要经过两步, 先由胞外刺激诱导 NLRP3、pro-caspase-1 和 pro-IL-1 β 表达, 随后 NLRP3、pro-caspase-1 与凋亡相关点样蛋白 (ASC) 形成炎性体蛋白单体, 再由 DAMP 诱导组装成炎性体多聚体, 发挥活性作用, 促进 IL-1 β 、IL-18 剪切成熟并分泌^[14-16]。有研究表明, NLRP3 炎性体活化参与了脓毒症或全身炎症反应综合征 (SIRS) 所致的 ARDS^[17-20]; 而限制炎性体活化可以改善盲肠结扎穿孔术 (CLP) 所致的肺内炎症和肺纤维化^[21]; 减少炎性疾病模型小鼠的炎症反应^[22]; 减少 LPS 诱导的肺内炎性细胞浸润, 抑制炎性因子入血, 减轻肺内炎症, 改善 ALI^[23-25]。

综上所述, 结合本研究结果, 初步分析 MCC950 减轻 MTDs 的致炎效应可能是通过抑制 MTDs 诱导的肺泡巨噬细胞炎性体活化, 从而抑制 IL-1 β 、IL-18 剪切成熟及分泌, 故其上游的 pro-caspase-1、pro-IL-1 β 表达不受影响。MCC950 对 TNF- α 无作用的原因可能为 TNF- α 不需要经 NLRP3 炎性体通路活化成熟, 故其分泌不受影响。但是 MCC950 的具体分子机制仍需要进一步体内外研究明确。

参考文献

- [1] Bosmann M, Ward PA. The inflammatory response in sepsis [J]. Trends Immunol, 2013, 34 (3): 129-136. DOI: 10.1016/j.it.2012.09.004.
- [2] Lenz A, Franklin GA, Cheadle WG. Systemic inflammation after trauma [J]. Injury, 2007, 38 (12): 1336-1345. DOI: 10.1016/j.injury.2007.10.003.
- [3] Sweeney RM, McAuley DF. Acute respiratory distress syndrome [J]. Lancet, 2016 [2016-09-19]. [published online ahead of print April 28, 2016]. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00578-X.
- [4] De Nardo D, De Nardo CM, Latz E. New insights into mechanisms controlling the NLRP3 inflammasome and its role in lung disease [J]. Am J Pathol, 2014, 184 (1): 42-54. DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.09.007.
- [5] Coll RC, Robertson AA, Chae JJ, et al. A small-molecule inhibitor of the NLRP3 inflammasome for the treatment of inflammatory diseases [J]. Nat Med, 2015, 21 (3): 248-255. DOI: 10.1038/nm.3806.
- [6] Kaczmarek A, Vandenabeele P, Krysko DV. Necroptosis: the release of damage-associated molecular patterns and its physiological relevance [J]. Immunity, 2013, 38 (2): 209-223. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.02.003.
- [7] Tolle LB, Standiford TJ. Danger-associated molecular patterns (DAMPs) in acute lung injury [J]. J Pathol, 2013, 229 (2): 145-156. DOI: 10.1002/path.4124.
- [8] Krysko DV, Agostinis P, Krysko O, et al. Emerging role of damage-associated molecular patterns derived from mitochondria in inflammation [J]. Trends Immunol, 2011, 32 (4): 157-164. DOI: 10.1016/j.it.2011.01.005.
- [9] 张建政, 孙天胜, 刘智. 线粒体损伤相关分子模式与创伤后炎症反应综合征 [J]. 中华骨科杂志, 2012, 32 (4): 369-371. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2352.2012.04.013.
- [10] Zhang JZ, Sun TS, Liu Z. Mitochondrial damage-associated molecular patterns and post-traumatic inflammatory response syndrome [J]. Chin J Orthop, 2012, 32 (4): 369-371. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2352.2012.04.013.
- [11] Li H, Itagaki K, Sandler N, et al. Mitochondrial damage-associated molecular patterns from fractures suppress pulmonary immune responses via formyl peptide receptors 1 and 2 [J]. J Trauma Acute Care Surg, 2015, 78 (2): 272-281. DOI: 10.1097/TA.0000000000000509.
- [12] Zhang Q, Raof M, Chen Y, et al. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury [J]. Nature, 2010, 464 (7285): 104-107. DOI: 10.1038/nature08780.
- [13] Gu X, Wu G, Yao Y, et al. Intratracheal administration of mitochondrial DNA directly provokes lung inflammation through the TLR9-p38 MAPK pathway [J]. Free Radic Biol Med, 2015, 83: 149-158. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.02.034.
- [14] 刘芬, 曾振国, 李勇, 等. 线粒体 DNA 诱导肺泡巨噬细胞炎症反应的实验研究 [J]. 南昌大学学报 (医学版), 2014, 54 (1): 1-3. Liu F, Zeng ZG, Li Y, et al. Induction of Alveolar Macrophage Inflammatory Response by Mitochondrial DNA [J]. J Nanchang Univ (Med Sci), 2014, 54 (1): 1-3.
- [15] Lamkanfi M, Dixit VM. Mechanisms and functions of inflammasomes [J]. Cell, 2014, 157 (5): 1013-1022. DOI: 10.1016/j.cell.2014.04.007.
- [16] Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes [J]. Cell, 2010, 140 (6): 821-832. DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.040.
- [17] 刘桂青, 赵自刚, 牛春雨. NOD 样受体蛋白炎性小体在休克致器官损伤中的作用 [J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (11): 934-937. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.11.017. Liu GQ, Zhao ZG, Niu CY. Role of NOD like receptor protein in the organ injury induced by shock [J]. Chin Crit Care Med, 2015, 27 (11): 934-937. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.11.017.
- [18] Grailer JJ, Canning BA, Kalbitz M, et al. Critical role for the NLRP3 inflammasome during acute lung injury [J]. J Immunol, 2014, 192 (12): 5974-5983. DOI: 10.4049/jimmunol.1400368.
- [19] Liao J, Kapadia VS, Brown LS, et al. The NLRP3 inflammasome is critically involved in the development of bronchopulmonary dysplasia [J]. Nat Commun, 2015, 6: 8977. DOI: 10.1038/ncomms9977.
- [20] 张涛, 熊旭东, 赵敏. 通腑泻肺方对脓毒症急性肺损伤大鼠 NLRP3 调控作用的实验研究 [J]. 中国中医急症, 2014, 23 (8): 1406-1408, 1440. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2014.08.004. Zhang T, Xiong XD, Zhao M. Experimental Study of Tongfuxiefei Decoction on Regulating NLRP3 in Rats with Sepsis in Acute Lung Injury [J]. JETCM, 2014, 23 (8): 1406-1408, 1440. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2014.08.004.
- [21] 张维康, 潘灵辉. NOD 样受体蛋白 3 炎性小体在呼吸机相关性肺损伤中的作用机制研究 [J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (10): 821-825. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.10.008. Zhang WK, Pan LH. Role and mechanism of the NOD-like receptor 3 inflammasome in ventilator-induced lung injury in rats [J]. Chin Crit Care Med, 2015, 27 (10): 821-825. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.10.008.
- [22] dos Santos G, Rogel MR, Baker MA, et al. Vimentin regulates activation of the NLRP3 inflammasome [J]. Nat Commun, 2015, 6: 6574. DOI: 10.1038/ncomms7574.
- [23] Youm YH, Nguyen KY, Grant RW, et al. The ketone metabolite β -hydroxybutyrate blocks NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory disease [J]. Nat Med, 2015, 21 (3): 263-269. DOI: 10.1038/nm.3804.
- [24] Luo YP, Jiang L, Kang K, et al. Hemin inhibits NLRP3 inflammasome activation in sepsis-induced acute lung injury, involving heme oxygenase-1 [J]. Int Immunopharmacol, 2014, 20 (1): 24-32. DOI: 10.1016/j.intimp.2014.02.017.
- [25] Zhang Y, Li X, Grailer JJ, et al. Melatonin alleviates acute lung injury through inhibiting the NLRP3 inflammasome [J]. J Pineal Res, 2016, 60 (4): 405-414. DOI: 10.1111/jpi.12322.
- [26] Zhong Z, Umemura A, Sanchez-Lopez E, et al. NF- κ B restricts inflammasome activation via elimination of damaged mitochondria [J]. Cell, 2016, 164 (5): 896-910. DOI: 10.1016/j.cell.2015.12.057.

(收稿日期: 2016-09-20)

(本文编辑: 保健媛, 李银平)