

热打击诱导血管内皮细胞 NOD 样受体蛋白 3 信号通路激活可被丙酮酸乙酯抑制

裴艳芳 曹彦 王惠芳 樊麦英 韩小彤

湖南省人民医院急诊科,长沙 410005

通信作者:韩小彤,Email:30254085@qq.com

【摘要】目的 探讨热打击所致血管内皮细胞中 NOD 样受体蛋白 3(NLRP3)信号通路激活能否被丙酮酸乙酯(EP)抑制。**方法** 体外培养人脐静脉内皮细胞(HUVEC),取对数生长期细胞进行实验。分别设置不同温度梯度(39、41、43℃热打击4h)及不同时间梯度(43℃分别持续热打击2、3、4h)的热打击条件,并将 HUVEC 分别置入相应条件的细胞培养箱内实施热打击,然后选取 43℃持续热打击 4h 为最终实验条件,作为热打击组;在实施热打击时加入 10 mmol/L 的 EP 进行干预;同时设置常温对照组,将细胞同步置于 37℃细胞培养箱中培养。采用蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测 HUVEC 中 NLRP3 的蛋白表达及天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1(caspase-1)的活性;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测细胞上清液中白细胞介素(IL-18、IL-1β)的释放水平。**结果** 经不同条件热打击后, HUVEC 中 NLRP3 的蛋白表达水平随着热打击温度不断升高或热打击时间不断延长而逐渐升高,以 43℃热打击 4h 时升高最为显著,与常温对照组比较差异均有统计学意义[NLRP3 蛋白表达(NLRP3/GAPDH): 1.54 ± 0.08 比 0.97 ± 0.17 , $P < 0.05$];而在 EP 干预后, HUVEC 中 NLRP3 的表达水平及 caspase-1 的活化水平均较热打击组明显下降[NLRP3 蛋白表达(NLRP3/GAPDH): 1.15 ± 0.07 比 1.57 ± 0.09 , caspase-1 活性: 40.87 ± 6.54 比 59.75 ± 9.92 , 均 $P < 0.05$],且细胞上清液中 IL-18 及 IL-1β 的释放也较热打击组明显下降[IL-18 (ng/L): 1.09 ± 0.08 比 1.41 ± 0.13 , IL-1β (ng/L): 1.38 ± 0.10 比 2.02 ± 0.10 , 均 $P < 0.05$]。**结论** 热打击所致血管内皮细胞中 NLRP3 信号通路激活可以明显被 EP 抑制;EP 的干预有助于减少热打击所诱导的血管内皮细胞中炎症因子的释放。

【关键词】 NOD 样受体蛋白 3; 炎症小体; 丙酮酸乙酯; 血管内皮细胞; 热打击; 天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1

基金项目:湖南省自然科学基金(2020JJ8082);湖南省技术创新引导计划项目(2018ZK4070)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200715-00527

Activation of NOD like receptor protein 3 signaling pathway in vascular endothelial cells induced by heat stress can be inhibited by ethyl pyruvate

Pei Yanfang, Cao Yan, Wang Hui Fang, Fan Maiying, Han Xiaotong

Department of Emergency, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410005, Hunan, China

Corresponding author: Han Xiaotong, Email: 30254085@qq.com

【Abstract】Objective To investigate whether the activation of NOD like receptor protein 3 (NLRP3) signaling pathway in vascular endothelial cells induced by heat stress (HS) could be inhibited by ethyl pyruvate (EP). **Methods** Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) were cultured *in vitro*, and the cells in logarithmic growth phase were taken to carry out experiment. Different temperatures gradients (39, 41, 43℃ for 4-hour HS) and different duration gradients (43℃ continuously HS respectively for 2, 3, 4 hours) were set up respectively. For HS group, HUVECs were placed in incubators with corresponding different conditions to carry out HS, then 43℃ persisting for 4-hour HS (43℃, 4 hours) was selected as the final experimental condition; during HS, EP 10 mmol/L was added. For control group, the cells were synchronously cultured in 37℃ cell incubator. The protein expression of NLRP3 in HUVEC and activity of aspartate specific cysteine protease 1 (caspase-1) were detected with Western blotting; enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the released levels of interleukins (IL-18 and IL-1β) in the cell culture supernatant fluid after HS. **Results** After HS, the protein expression level of NLRP3 in HUVEC was increased with the increasing of HS temperature or extension of exposure duration in HS condition, and reached to the highest in 43℃ for 4 hours. Compared with control group, there was significant difference [NLRP3 protein expression (NLRP3/GAPDH): 1.54 ± 0.08 vs. 0.97 ± 0.17 , $P < 0.05$]; after EP intervention, the expression of NLRP3 and the activation of caspase-1 in HUVEC were significantly lower than those in HS group [NLRP3 protein expression (NLRP3/GAPDH): 1.15 ± 0.07 vs. 1.57 ± 0.09 , caspase-1 activity: 40.87 ± 6.54 vs. 59.75 ± 9.92 , both $P < 0.05$], moreover, the released levels of IL-18 and IL-1β in cell supernatant were also significantly decreasing than those in HS group [IL-18 (ng/L): 1.09 ± 0.08 vs. 1.41 ± 0.13 , IL-1β (ng/L): 1.38 ± 0.10 vs. 2.02 ± 0.10 , both $P < 0.05$]. **Conclusion** The activation of NLRP3 signaling pathway in vascular endothelial cells induced by HS could be significantly inhibited by EP, which helps to reduce the release of inflammatory cytokines from vascular endothelial cells induced by HS.

【Key words】 NOD like receptor protein 3; Inflammasome; Ethyl pyruvate; Vascular endothelial cell; Heat stress; Aspartate specific cysteine protease 1

Fund program: Natural Science Foundation of Hunan Province (2020JJ8082); Hunan Provincial Technology Innovation Guidance Plan Program (2018ZK4070)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200715-00527

NOD样受体蛋白3(NLRP3)因能通过形成炎症小体启动相应信号通路发挥促炎效应及诱导细胞坏死,而成为目前备受关注的NOD样受体(NLR)家族成员之一^[1]。病原体相关分子模式(PAMP)和损伤相关分子模式(DAMP)均可诱导NLRP3活化,使其发挥相应的免疫效应,因此临床上多种疾病的发生都与其密切相关^[2-4]。NLRP3与凋亡相关斑点样蛋白(ASC)及天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶1(caspase-1)形成的三位一体的炎症小体是近年来研究的重点。该炎症小体不仅可以被细菌、真菌、病毒感染所激活,还可以被因细胞受损而外溢的三磷酸腺苷(ATP)等物质激活。研究证实,NLRP3可通过热蛋白结构域(PYD)-PYD交互作用募集到衔接分子ASC,ASC再通过其半胱氨酸天冬氨酸酶募集结构域(CARD区域)与caspase-1前体的CARD区域形成CARD-CARD交互来募集caspase-1前体,并使caspase-1前体激活,活化后的caspase-1不仅可作用于白细胞介素前体(pro-IL-18、pro-IL-1 β),使其变成有促炎效应的白细胞介素(IL-18、IL-1 β),还可诱导细胞发生焦亡坏死,使这些促炎因子被释放至细胞外而发挥生物学效应^[5-6]。

丙酮酸乙酯(EP)作为一种重要的内源性代谢产物,在内毒素血症及脓毒症相关研究中被证实可通过抑制经典促炎因子释放而发挥抗炎效应,被认为是一种治疗多器官炎症性损伤的新型制剂^[7-8]。心肌缺血/再灌注(I/R)损伤相关研究证实,EP可通过调节心肌I/R损伤发病过程中活性氧(ROS)介导的NLRP3炎症小体的活化来缓解I/R对心肌造成的损害^[9];还有研究显示,EP可通过抑制NLRP3炎症小体对抗炎症所致巨噬细胞线粒体损害^[10]。

中暑是一种继发于热损伤之后的全身炎症反应综合征(SIRS)^[11-13]。有研究证实,在重症中暑的早期阶段即可出现NLRP3炎症小体激活^[14],而且在肝细胞内可通过形成NLRP3炎症小体来激活caspase-1,从而诱导肝细胞发生焦亡^[15],但是对于作为中暑发病过程中关键角色的血管内皮细胞在此领域的相关研究却鲜有涉及^[16-17]。因此,本研究旨在探讨EP对热打击后血管内皮细胞中NLRP3信

号通路的作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料:人脐静脉内皮细胞(HUVEC)购自美国ScienCell研究实验室,细胞培养无菌装置购于无锡耐思生物科技有限公司,DMEM/F12培养基及胎牛血清购自美国Gibco公司,双抗、胰酶及辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗(兔抗)购自美国Invitrogen公司,EP购于美国Sigma-Aldrich公司,BCA蛋白定量检测试剂盒购自中国上海Wellbio公司,caspase-1活性检测试剂盒购自美国ImmunoChemistry公司,IL-18及IL-1 β 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒购于北京欣博盛生物科技有限公司,NLRP3抗体及caspase-1抗体均购自美国Abcam公司,3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)抗体购自美国Cell Signaling Technology公司, β -肌动蛋白(β -actin)抗体及HRP标记的二抗(鼠抗)均购自美国Proteintech公司。

1.2 HUVEC热打击模型的建立及分组:从液氮罐中取出HUVEC并复苏,之后将其转入培养瓶中,加入完全培养基(即含有10%胎牛血清、100 kU/L青霉素、100 kU/L链霉素的DMEM/F12细胞培养基),再将培养瓶置于37℃、5%二氧化碳(CO₂)及饱和湿度条件下继续培养,隔日换液1次,待细胞生长至80%融合后,用0.25%胰酶按1:3~1:5比例进行消化传代,取对数生长期的细胞进行后续实验。拟用于建立热打击模型的细胞在进行传代时,需按照1 \times 10⁵/mL的密度接种于无菌细胞培养皿中,然后按照热打击设置的温度将其分为常温对照组和39、41、43℃热打击组,其中43℃热打击组再根据不同的热打击时间分为2、3、4h3个亚组;在实验过程中实时监测各组细胞培养箱内的温度及湿度,以保证箱内温度分别稳定在(37.0 \pm 0.5)、(39.0 \pm 0.5)、(41.0 \pm 0.5)和(43.0 \pm 0.5)℃,且箱内湿度始终>90%。

1.3 EP干预实验:将EP用细胞培养液配制成终浓度为10 mmol/L的液体,选择43℃持续热打击4h作为干预点。在对HUVEC实施热打击前,将细胞培养基更换成含有EP的细胞培养基,然后再对其

实施 43 °C 持续热打击 4 h, 同步设置无 EP 干预的相同条件热打击组, 而常温对照组始终置于 37 °C 培养箱中培养。热打击完毕进行指标检测。

1.4 用蛋白质免疫印迹试验 (Western blotting) 检测 NLRP3 的蛋白表达及 caspase-1 活性: 提取各组细胞总蛋白, 并用 BCA 蛋白定量检测试剂盒测定各组样品的蛋白含量, 然后通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 将目的蛋白转移至硝酸纤维素膜上, 再将膜浸泡在 5% 的脱脂牛奶封闭液中室温封闭 2 h; 洗膜后加入 NLRP3 一抗 (1:1000) 或活化的 caspase-1 一抗 (1:1000), 4 °C 孵育过夜; 一抗孵育结束漂洗 3 次后, 加入 HRP 标记的兔抗二抗 (1:6000) 室温孵育 2 h; 二抗孵育结束后同样将膜漂洗 3 次, 再用电化学发光法 (ECL) 进行显色曝光。NLRP3 以 GAPDH 作为内参对照, 活化的 caspase-1 则以 β -actin 作为内参对照。应用 Image Lab 分析条带灰度值, 以 NLRP3 与内参照的电泳条带灰度值比值表示 NLRP3 的表达量; 应用 Quantity One 软件分析 caspase-1 的灰度值代表 caspase-1 的表达量。

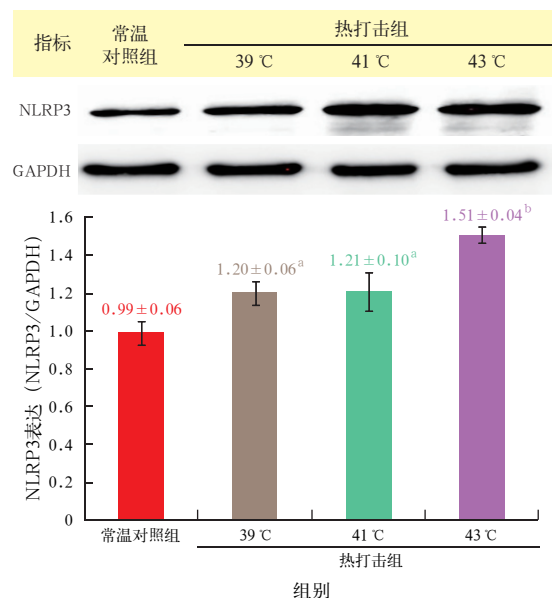
1.5 用 ELISA 检测 IL-18 及 IL-1 β 的含量: 收集各组细胞培养上清液, 离心 20 min, 除去上清液中的细胞碎片及杂质, 将实验所用样本液从离心管中吸出, 于 -20 °C 或 -80 °C 冰箱中保存, 避免反复冻融, 参照 ELISA 检测试剂盒说明书检测细胞培养上清液中 IL-18 及 IL-1 β 的含量。

1.6 统计学处理: 使用 SPSS 17.0 统计软件分析数据, 计量资料均符合正态分布, 以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 Tukey 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

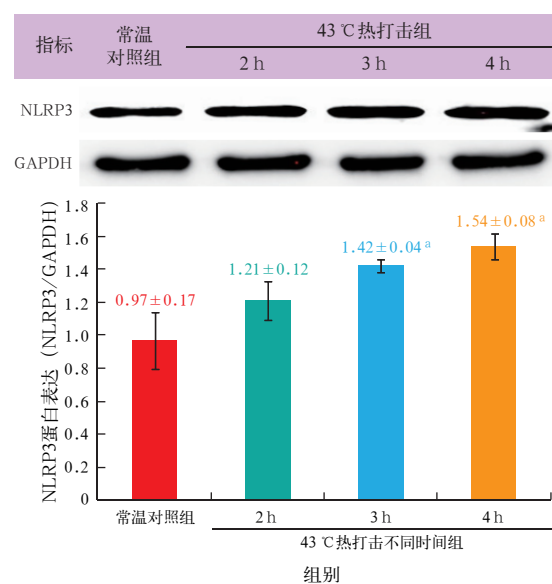
2.1 热打击对 HUVEC 中 NLRP3 蛋白表达的影响 (图 1~2): 与常温对照组相比, 39、41、43 °C 热打击组 HUVEC 经过不同温度、相同时间的热打击后, NLRP3 的蛋白表达水平均明显升高, 且以 43 °C 热打击组升高最为显著 (均 P < 0.05); 将 HUVEC 放置在 43 °C 环境中培养不同时间 (2、3、4 h) 后, 结果显示, 随着热打击时间的延长, HUVEC 中 NLRP3 的蛋白表达水平也逐渐升高, 以 4 h 时升高更加显著 (均 P < 0.05)。

2.2 EP 对热打击后 HUVEC 中 NLRP3 蛋白表达的影响 (图 3): 与常温对照组相比, 热打击组 HUVEC 中 NLRP3 蛋白表达明显升高 (P < 0.05); 而 EP 干



Western blotting 为蛋白质免疫印迹试验, HUVEC 为人脐静脉内皮细胞, NLRP3 为 NOD 样受体蛋白 3, GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶; 与常温对照组比较, ^aP < 0.05, ^bP < 0.01

图 1 Western blotting 检测各组 HUVEC 中经不同温度热打击 4 h 后 NLRP3 蛋白表达的变化

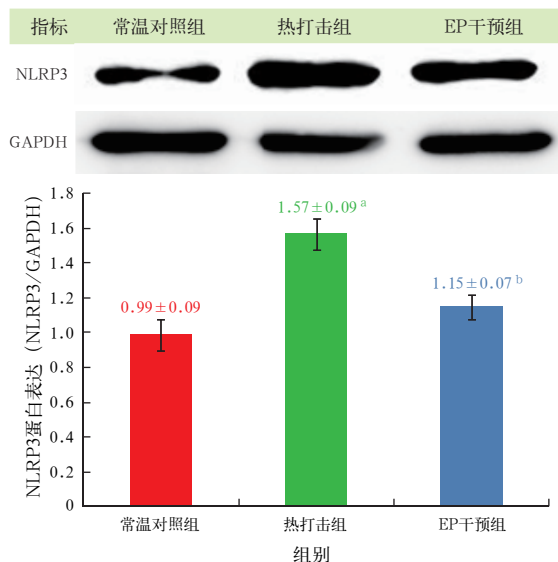


Western blotting 为蛋白质免疫印迹试验, HUVEC 为人脐静脉内皮细胞, NLRP3 为 NOD 样受体蛋白 3, GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶; 与常温对照组比较, ^aP < 0.05

图 2 Western blotting 检测各组 HUVEC 中经 43 °C 热打击不同时间后 NLRP3 蛋白表达的变化

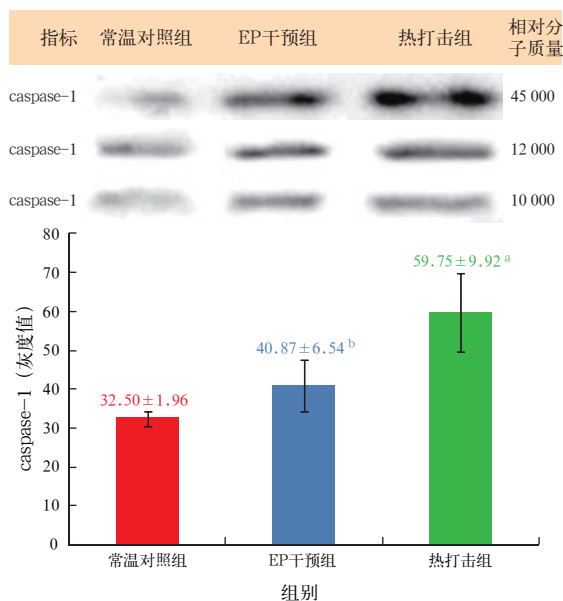
预组 HUVEC 中 NLRP3 的蛋白表达水平较热打击组明显降低 (P < 0.01)。

2.3 EP 对热打击后 HUVEC 中 caspase-1 活性的影响 (图 4): 与常温对照组相比, 热打击组 HUVEC 中 caspase-1 活化水平明显升高 (P < 0.05); 而 EP 干预组 HUVEC 中 caspase-1 活化水平较热打击组明显下降 (P < 0.05)。



Western blotting 为蛋白质免疫印迹试验, HUVEC 为人脐静脉内皮细胞, NLRP3 为 NOD 样受体蛋白 3, EP 为丙酮酸乙酯, GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶; 与常温对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与热打击组比较, ^b $P < 0.05$

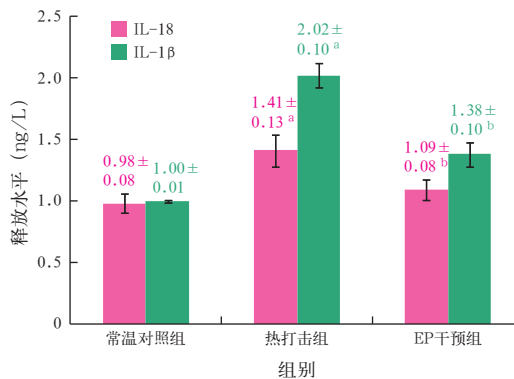
图 3 Western blotting 检测不同处理方法各组 HUVEC 中 NLRP3 的蛋白表达水平



Western blotting 为蛋白质免疫印迹试验, HUVEC 为人脐静脉内皮细胞, EP 为丙酮酸乙酯, caspase-1 为天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1; 与常温对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与热打击组比较, ^b $P < 0.05$

图 4 Western blotting 检测不同处理方法各组 HUVEC 中活化 caspase-1 表达水平

2.4 EP 对热打击后 HUVEC 培养上清液中 IL-18 及 IL-1 β 释放水平的影响 (图 5): 与常温对照组比较, 热打击组细胞上清液中 IL-18 及 IL-1 β 水平明显升高 (均 $P < 0.05$); 而 EP 干预组的细胞培养上清液中 IL-18 及 IL-1 β 水平均较热打击组明显降低 (均 $P < 0.05$)。



注: HUVEC 为人脐静脉内皮细胞, IL-18 为白细胞介素-18, IL-1 β 为白细胞介素-1 β , EP 为丙酮酸乙酯; 与常温对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与热打击组比较, ^b $P < 0.05$

图 5 不同处理方法各组 HUVEC 培养上清液中 IL-18 和 IL-1 β 含量的比较

3 讨论

NLR 家族分子主要包含 3 个结构域, 即 N 端的效应结构域、C 端的富含亮氨酸重复序列 (LRR) 结构域以及位于中央的 NACHT 结构域。非活化状态的 NLR 通常呈“U 字型”结构, 使其多聚化功能处于被抑制状态; 而一旦被 PAMP 或 DAMP 激活, NLR 的这种构象平衡就被破坏, 暴露出 N 端效应结构域 (即 CARD 域或 PYD 域), 通过 CARD-CARD 或 PYD-PYD 同型相互作用, 来募集下游有相同结构的衔接分子和信号蛋白, 并形成 NOD 小体或炎症小体启动相应的信号通路, 发挥生物学效应^[6, 18]。炎症小体形成后能够激活 caspase-1 前体, 从而诱导促炎因子 IL-18、IL-1 β 的活化及释放, 并使细胞发生焦亡坏死^[5]。目前, 已经被证实参与了炎症小体形成的 NLR 受体包括 NLRP3、NLRP1b 及 NLRc4, 其中 NLRP3 是当前研究的热点^[3]。

有研究证实中暑并发多器官损伤的原因除了各组织器官遭受直接热刺激以外, 还是内毒素、细胞因子和其他免疫调节因子共同作用, 导致体内促炎 / 抗炎细胞因子失衡, 继而引发 SIRS 的结果, SIRS 在中暑的整个发病过程中发挥着非常关键的作用^[12, 19-21]。

血管内皮细胞既属于感应细胞, 又属于效应细胞, 它不仅能够维持血管内膜的光滑, 保证血液在血管内正常流动, 而且还积极参与调节机体血管的舒缩功能、凝血功能、炎症反应、免疫活性以及物质的转运和生物活性物质的释放等多项生命活动, 因此当机体遭遇热打击时, 血管内皮细胞能够最先做出反应, 所以它也是中暑发病过程中出现形态及功能变化最常见的细胞之一。高热引起的血管内皮细胞的直接及间接损伤是导致 SIRS 及 MODS 发生的关

键^[17]。有研究证实,高热可引起脾脏淋巴细胞发生焦亡,而抑制肝脏细胞和脾脏淋巴细胞中 NLRP3 炎症小体的活性可以明显缓解中暑诱导的相应细胞发生焦亡^[22]。但迄今为止针对中暑发病过程中关键角色血管内皮细胞焦亡的相关研究较少。本研究通过建立不同温度梯度及不同时间梯度的 HUVEC 热打击模型,证实了热打击可显著诱导 HUVEC 中炎症小体的代表蛋白 NLRP3 的表达水平升高,且其升高水平与热打击的温度及时间相关。此外,本研究还表明,使用 EP 进行干预后,热打击所致 HUVEC 中 NLRP3 的表达明显受到抑制,不仅如此,与 NLRP3 共同构成 NLRP3 炎症小体的 caspase-1 活化水平也明显下降,而且下游被活化的 caspase-1 激活并释放至细胞外环境中的促炎因子 IL-18 及 IL-1 β 也显著减少。可见 EP 能对热打击后血管内皮细胞中 NLRP3/caspase-1/IL-18 或 IL-1 β 信号通路产生抑制作用,这为中暑的精准治疗又提供了一个潜在的靶点,也为临床上中暑治疗发掘了一种新的思路。

综上所述,本次研究通过体外实验证实了 EP 对热打击后 HUVEC 中 NLRP3 信号通路的抑制效应,但在体内是否也存在相同的影响仍需进一步通过动物体内实验来验证。另外,机体内炎症因子网络庞大且纷繁复杂,EP 作为一种广谱的抗炎制剂,既往大部分研究都关注其对于经典炎症因子高迁移率蛋白 B1 (HMGB1) 的抑制作用,本研究显示的 EP 对于 NLRP3 信号通路的抑制作用是否也与 EP 对 HMGB1 的抑制相关,尚需进一步深入研究探讨,为临床上重症中暑患者的救治提供更为明确细致的依据及靶点。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 王位,马远方,韩根成. NLRP3 炎症小体激活调控机制研究新进展[J]. 国际免疫学杂志, 2015, 38 (4): 343-347. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4394.2015.04.010.
- Wang W, Ma YF, Han GC. New progress on the activation mechanisms of NOD-like receptor, pyrin domain-containing 3 inflammasome [J]. Int J Immunol, 2015, 38 (4): 343-347. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4394.2015.04.010.
- He Y, Hara H, Núñez G. Mechanism and regulation of NLRP3 inflammasome activation [J]. Trends Biochem Sci, 2016, 41 (12): 1012-1021. DOI: 10.1016/j.tibs.2016.09.002.
- Man SM, Karki R, Kanneganti TD. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases [J]. Immunol Rev, 2017, 277 (1): 61-75. DOI: 10.1111/immr.12534.
- Wang YC, Liu QX, Zheng Q, et al. Dihydropyridinone alleviates sepsis-induced acute lung injury through inhibiting NLRP3 inflammasome-dependent pyroptosis in mice model [J]. Inflammation, 2019, 42 (4): 1301-1310. DOI: 10.1007/s10753-019-00990-7.
- Vande WL, Lamkanfi M. Pyroptosis [J]. Curr Biol, 2016, 26 (13): R568-R572. DOI: 10.1016/j.cub.2016.02.019.
- 刘菲,周光炎,路丽明. 胞内模式识别受体 NLR 的生物学特性及其在疾病中的作用 [J]. 中国免疫学杂志, 2014, 30 (12): 1710-1714. DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2014.12.029.
- Liu F, Zhou GY, Lu LM. Biological characteristics of intracellular pattern recognition receptor NLR and its role in diseases [J]. Chin J Immunol, 2014, 30 (12): 1710-1714. DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2014.12.029.
- 宋红娇,赵中夫,乔京贵,等. 丙酮酸乙酯对人脐静脉内皮细胞 HMGB1 表达的影响 [J]. 长治医学院学报, 2011, 25 (2): 87-90. DOI: 10.3969/j.issn.1006-0588.2011.02.002.
- Song HJ, Zhao ZF, Qiao JG, et al. The effects of ethyl pyruvate on expression of HMGB1 from human umbilical vein endothelial cells [J]. J Changzhi Med Coll, 2011, 25 (2): 87-90. DOI: 10.3969/j.issn.1006-0588.2011.02.002.
- Yang R, Zhu S, Tonnessen TI. Ethyl pyruvate is a novel anti-inflammatory agent to treat multiple inflammatory organ injuries [J]. J Inflamm (Lond), 2016, 13: 37. DOI: 10.1186/s12950-016-0144-1.
- Jun JH, Shim JK, Oh JE, et al. Protective effect of ethyl pyruvate against myocardial ischemia reperfusion injury through regulations of ROS-related NLRP3 inflammasome activation [J]. Oxid Med Cell Longev, 2019, 2019: 4264580. DOI: 10.1155/2019/4264580.
- Li S, Liang F, Kwan K, et al. Identification of ethyl pyruvate as a NLRP3 inflammasome inhibitor that preserves mitochondrial integrity [J]. Mol Med, 2018, 24 (1): 8. DOI: 10.1186/s10020-018-0006-9.
- Epstein Y, Yanovich R. Heatstroke [J]. N Engl J Med, 2019, 380 (25): 2449-2459. DOI: 10.1056/NEJMr1810762.
- Leon LR, Helwig BG. Heat stroke: role of the systemic inflammatory response [J]. J Appl Physiol (1985), 2010, 109 (6): 1980-1988. DOI: 10.1152/jappphysiol.00301.2010.
- Leon LR. Heat stroke and cytokines [J]. Prog Brain Res, 2007, 162: 481-524. DOI: 10.1016/S0079-6123(06)62024-4.
- Zhang M, Zhu X, Tong H, et al. AVE 0991 attenuates pyroptosis and liver damage after heatstroke by inhibiting the ROS-NLRP3 inflammatory signalling pathway [J]. Biomed Res Int, 2019, 2019: 1806234. DOI: 10.1155/2019/1806234.
- Geng Y, Ma Q, Liu YN, et al. Heatstroke induces liver injury via IL-1 β and HMGB1-induced pyroptosis [J]. J Hepatol, 2015, 63 (3): 622-633. DOI: 10.1016/j.jhep.2015.04.010.
- 古正涛,刘志锋,苏磊. 血管内皮细胞损伤与中暑发病机制关系的研究进展 [J]. 中华急诊医学杂志, 2013, 22 (7): 809-811. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2013.07.032.
- Gu ZT, Liu ZF, Su L. Research progress on the relationship between the injury of vascular endothelial cells and pathogenesis of heat stroke [J]. Chin J Emerg Med, 2013, 22 (7): 809-811. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2013.07.032.
- 苏磊,古正涛. 内皮细胞热损伤机制及其对重要脏器功能的影响 [J]. 解放军医学杂志, 2017, 42 (4): 271-278. DOI: 10.11855/j.issn.0577-7402.2017.04.01.
- Su L, Gu ZT. The mechanism of heat-induced damage of endothelial cells and its effect on vital organs [J]. Med J Chin PLA, 2017, 42 (4): 271-278. DOI: 10.11855/j.issn.0577-7402.2017.04.01.
- Lamkanfi M, Dixit VM. Mechanisms and functions of inflammasomes [J]. Cell, 2014, 157 (5): 1013-1022. DOI: 10.1016/j.cell.2014.04.007.
- 曹才文,何旋,李莉,等. 重症中暑早期肠黏膜屏障功能损害与全身炎症反应的相关性研究 [J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28 (4): 303-307. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.04.003.
- Cao CW, He X, Li L, et al. The correlation analysis of intestinal mucosal barrier function damage with systemic inflammation reaction during severe heatstroke [J]. Chin Crit Care Med, 2016, 28 (4): 303-307. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.04.003.
- 陈怿,董华生,潘志国,等. 血必净注射液预处理通过减轻小肠损伤缓解重症中暑大鼠全身炎症反应 [J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (8): 643-648. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.08.005.
- Chen Y, Tong HS, Pan ZG, et al. Pretreatment with Xuebijing injection alleviates systemic inflammatory response induced by severe heat-stroke via ameliorating intestinal injury in rats [J]. Chin Crit Care Med, 2015, 27 (8): 643-648. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.08.005.
- 殷宗宝,计超,向群,等. 血必净注射液对中暑大鼠血管内皮细胞功能的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2014, 21 (5): 360-363. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2014.05.010.
- Yin ZB, Ji C, Xiang Q, et al. Effects of Xuebijing injection on vascular endothelial cell function in rats with heat stress [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2014, 21 (5): 360-363. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2014.05.010.
- Wang G, Shen T, Li P, et al. The increase in IL-1 β in the early stage of heatstroke might be caused by splenic lymphocyte pyroptosis induced by miROS-Mediated activation of the NLRP3 inflammasome [J]. Front Immunol, 2019, 10: 2862. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02862.

(收稿日期: 2020-07-15)