

# 脓毒症肠道损伤模型中 NLRP3 炎症小体活化介导炎症反应及细胞凋亡

古丽菲热·塔依尔 杨春波 李祥 王毅 于湘友

新疆医科大学第一附属医院重症医学科, 乌鲁木齐 830054

通信作者: 于湘友, Email: yu2796@163.com

**【摘要】** 目的 探讨不同严重程度脓毒症肠道损伤模型中 NOD 样受体蛋白 3(NLRP3)炎症小体表达及其介导的炎症反应和凋亡。方法 体外培养人结肠腺癌细胞株(Caco-2),取对数生长期细胞分为空白对照组(用完全培养基正常培养)及脂多糖(LPS)1、2、4 mg/L 组(用含 1、2、4 mg/L LPS 的完全培养基培养)。分别于 6、12、24 h 收集细胞上清液,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测炎症因子肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(IL-6、IL-1 $\beta$ 、IL-18)水平;采用流式细胞仪检测细胞凋亡水平。收集细胞,采用实时荧光定量反转录-聚合酶链反应(RT-qPCR)检测 NLRP3、沉默信息调节因子 1(SIRT1)的 mRNA 表达;采用蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测 NLRP3、SIRT1、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1(caspase-1)以及凋亡相关点样蛋白(ASC)的蛋白表达。**结果** ELISA 结果显示,在同一干预时间点,与空白对照组相比,LPS 各组细胞上清液中 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  及 IL-18 水平均呈剂量依赖性增加,并呈一定时间依赖性,其中 24 h 时 LPS 4 mg/L 组升高最为显著[IL-6 (ng/L):  $3.55 \pm 0.06$  比  $0.67 \pm 0.09$ , TNF- $\alpha$  (ng/L):  $15.37 \pm 0.19$  比  $5.04 \pm 0.14$ , IL-1 $\beta$  (ng/L):  $2.26 \pm 0.10$  比  $0.56 \pm 0.09$ , IL-18 (ng/L):  $433.92 \pm 22.55$  比  $93.55 \pm 21.13$ , 均  $P < 0.05$ ]。细胞凋亡检测结果显示,与空白对照组相比,LPS 各组细胞凋亡率均有增加趋势,并呈一定剂量依赖性和时间依赖性,以 24 h 时 LPS 4 mg/L 组细胞凋亡率升高最为显著[( $14.83 \pm 3.73$ )% 比 ( $5.87 \pm 1.17$ )%,  $P < 0.05$ ]。RT-qPCR 结果显示,随 LPS 剂量增加和干预时间延长,细胞 NLRP3 mRNA 表达逐渐升高,而 SIRT1 mRNA 表达则呈下降趋势,24 h 时 LPS 4 mg/L 组与空白对照组比较差异均有统计学意义[NLRP3 mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ):  $8.20 \pm 2.82$  比  $1.00 \pm 0.36$ , SIRT1 mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ):  $0.58 \pm 0.01$  比  $1.03 \pm 0.06$ , 均  $P < 0.05$ ]。Western blotting 显示,与空白对照组相比,LPS 各组 NLRP3、caspase-1、ASC 的蛋白表达均明显升高,SIRT1 蛋白表达明显降低;在各干预时间点,随 LPS 剂量增加,NLRP3、caspase-1、ASC 的蛋白表达逐渐升高,而 SIRT1 蛋白表达逐渐降低,24 h 时 LPS 4 mg/L 组与空白对照组比较差异均有统计学意义[NLRP3 蛋白(NLRP3/ $\beta$ -actin):  $1.48 \pm 0.03$  比  $0.90 \pm 0.12$ , caspase-1 蛋白(caspase-1/ $\beta$ -actin):  $1.18 \pm 0.11$  比  $0.72 \pm 0.09$ , ASC 蛋白(ASC/ $\beta$ -actin):  $1.09 \pm 0.01$  比  $0.82 \pm 0.03$ , SIRT1 蛋白(SIRT1/ $\beta$ -actin):  $0.48 \pm 0.03$  比  $0.76 \pm 0.05$ , 均  $P < 0.05$ ]。**结论** 在体外脓毒症肠道炎症模型中,随 LPS 剂量增加及干预时间延长,肠道炎症反应及细胞凋亡呈增加趋势,可能与 NLRP3 炎症小体及下游分子 ASC 与 caspase-1 表达上调、SIRT1 表达下调相关。

**【关键词】** 脓毒症; 肠道; NOD 样受体蛋白 3 炎症小体; 炎症反应; 凋亡

**基金项目:** 新疆维吾尔自治区高校科研项目(XJEDU2018I011)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210323-00725

## Activation of NOD-like receptor protein 3 inflammasome mediates inflammatory response and apoptosis in septic intestinal injury model

Gulifeire Tayier, Yang Chunbo, Li Xiang, Wang Yi, Yu Xiangyou

Department of Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Corresponding author: Yu Xiangyou, Email: yu2796@163.com

**【Abstract】** **Objective** To investigate the expression of NOD-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome in intestinal injury models with different severity of sepsis and the inflammatory response and apoptosis mediated by NLRP3 inflammasome. **Methods** Human colorectal adenocarcinoma cells (Caco-2) were cultured *in vitro*. The logarithmic growth phase cells were divided into blank control group (normal culture in complete medium) and lipopolysaccharide (LPS) 1, 2 and 4 mg/L groups (complete medium containing 1, 2 and 4 mg/L LPS, respectively). The supernatant were collected at 6, 12 and 24 hours, and the levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukins (IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-18) were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The apoptotic level of cells was detected by flow cytometry. The cells were harvested, and the real-time fluorescence quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-qPCR) was used to detect the mRNA expressions of NLRP3 and silent information regulator 1 (SIRT1). Western blotting was used to detect the protein expressions of NLRP3, SIRT1, caspase-1 and apoptosis-associated speck-like protein (ASC). **Results** ELISA results showed that the levels of IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-18 in cell supernatant of LPS groups increased in a dose-dependent and time-dependent manner as compared with the blank control group during the same intervention period. The increase was most significant in LPS 4 mg/L group at 24 hours [IL-6

(ng/L):  $3.55 \pm 0.06$  vs.  $0.67 \pm 0.09$ , TNF- $\alpha$  (ng/L):  $15.37 \pm 0.19$  vs.  $5.04 \pm 0.14$ , IL-1 $\beta$  (ng/L):  $2.26 \pm 0.10$  vs.  $0.56 \pm 0.09$ , IL-18 (ng/L):  $433.92 \pm 22.55$  vs.  $93.55 \pm 21.13$ , all  $P < 0.05$ ]. The results of the apoptotic test showed that, compared with the blank control group, the apoptotic rate of LPS groups increased in a dose-dependent and time-dependent manner, and the apoptotic rate of LPS 4 mg/L group increased most significantly at 24 hours [ $(14.83 \pm 3.73)\%$  vs.  $(5.87 \pm 1.17)\%$ ,  $P < 0.05$ ]. RT-qPCR results showed that the expression level of NLRP3 mRNA was increased, while the expression level of SIRT1 mRNA was decreased with the increase of LPS intervention dose and the prolonging of intervention time. At 24 hours, there were significant differences between LPS 4 mg/L group and blank control group [NLRP3 mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ):  $8.20 \pm 2.82$  vs.  $1.00 \pm 0.36$ , SIRT1 mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ):  $0.58 \pm 0.01$  vs.  $1.03 \pm 0.06$ , both  $P < 0.05$ ]. Western blotting showed that compared with the blank control group, the protein expression levels of NLRP3, caspase-1 and ASC in LPS groups were significantly increased, while the protein expression levels of SIRT1 were significantly decreased. During each intervention period, with the increase of LPS dose, the expressions of NLRP3, caspase-1 and ASC protein increased gradually, while the expression of SIRT1 protein decreased gradually. At 24 hours, the difference between the LPS 4 mg/L group and the blank control group was significant [NLRP3 protein (NLRP3/ $\beta$ -actin):  $1.48 \pm 0.03$  vs.  $0.90 \pm 0.12$ , caspase-1 protein (caspase-1/ $\beta$ -actin):  $1.18 \pm 0.11$  vs.  $0.72 \pm 0.09$ , ASC protein (ASC/ $\beta$ -actin):  $1.09 \pm 0.01$  vs.  $0.82 \pm 0.03$ , SIRT1 protein (SIRT1/ $\beta$ -actin):  $0.48 \pm 0.03$  vs.  $0.76 \pm 0.05$ , all  $P < 0.05$ ]. **Conclusion** *In vitro*, in the sepsis induced intestinal inflammation model, with the increase of LPS intervention dose and the prolongation of intervention time, intestinal inflammatory response and cell apoptosis showed an increasing trend, which may be related to the up-regulation of NLRP3 inflammasome and its downstream products ASC and caspase-1, and to the down-regulation of SIRT1 expression.

**[Key words]** Sepsis; Intestinal tract; NOD-like receptor protein 3 inflammasome; Inflammatory response; Apoptosis

**Fund program:** University Research Program Foundation of the Xinjiang Uygur Autonomous Region of China (XJEDU2018I011)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210323-00725

脓毒症因高发病率、高病死率一直是危重症领域研究的热点及难点。在脓毒症发病过程中,机体释放大量炎性介质,导致炎症反应失控,常伴发器官功能障碍。肠道由于特殊的结构和功能,不仅参与脓毒症的发生发展,也会作为靶器官损伤自身功能,从而造成恶性循环。NOD样受体蛋白3(NOD-like receptor protein 3, NLRP3)炎症小体是细胞质中一类模式识别受体,能够识别保守微生物信号及宿主危险信号,激活相关炎症信号通路,诱导炎症反应与免疫应答,进而启动防御机制。已有研究证实, NLRP3在脓毒症患者体内高表达<sup>[1]</sup>,且通过增加促炎因子的成熟释放、诱导凋亡,调控中性粒细胞吞噬能力等多种机制,与脓毒症的发生发展和不良预后密切相关<sup>[2-3]</sup>。本研究通过制备不同严重程度体外脓毒症肠道损伤模型,探讨脓毒症状态下 NLRP3 炎症小体活化对炎症反应及细胞凋亡的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 细胞培养与实验分组:**体外培养人结肠腺癌细胞株(colorectal adenocarcinoma cells, Caco-2; 购于武汉普诺赛生命科技有限公司),以每瓶  $5 \times 10^5$  个细胞密度接种到培养瓶,置于恒温箱中培养 24 h。细胞贴壁进入对数生长期后,分为空白对照组(用完全培养基正常培养)及脂多糖(lipopolysaccharide, LPS) 1、2、4 mg/L 组(用含 1、2、4 mg/L LPS 的完全培养基培养),并分别于 6、12、24 h 收集细胞进行后续实验。本实验中所有操作均符合伦理学标准,并

通过新疆医科大学实验动物伦理委员会审批(审批号: IACUC20190720-01)。

## 1.2 检测指标及方法

**1.2.1 酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assays, ELISA)**检测细胞上清液中炎性因子水平:取 Caco-2 细胞,4 °C 下离心 10 min 取上清液,采用 ELISA 法检测肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )和白细胞介素(interleukins, IL-6、IL-1 $\beta$ 、IL-18)水平,均按照试剂盒说明书步骤操作。

**1.2.2 流式细胞仪检测细胞凋亡情况:**各组细胞经胰酶消化、离心弃上清液,重悬于 200  $\mu$ L 结合缓冲液,加 10  $\mu$ L 膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-fluorescein isothiocyanate, Annexin V-FITC)混匀,室温避光反应 15 min,加 300  $\mu$ L 结合缓冲液及 5  $\mu$ L 碘化丙啶(propidium iodide, PI)反应 15 min,上机检测。

**1.2.3 实时荧光定量反转录-聚合酶链反应(real-time fluorescence quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-qPCR)**检测细胞 NLRP3 和沉默信息调节因子 1(silent information regulator 1, SIRT1)的 mRNA 表达:加 TRIzol 收集细胞,提取细胞总 RNA,测定纯度和浓度后,反转录成 cDNA;按试剂盒说明书进行 qPCR。反应条件:95 °C 预变性 15 min;95 °C 变性 10 s, 60 °C 退火 32 s, 72 °C 延伸 30 s, 40 个循环。引物设计及合成由深圳华大基因有限公司完成。以 3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)作为内参。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计

算 NLRP3 及 SIRT1 的 mRNA 表达量。

**1.2.4 蛋白质免疫印迹试验 (Western blotting)** 检测细胞中 NLRP3、SIRT1、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1 (caspase-1) 及凋亡相关点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein, ASC) 的蛋白表达: 使用蛋白裂解液裂解细胞, 提取细胞总蛋白后定量, 经过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE), 再电转移到聚偏二氟乙烯膜上, 用含吐温 20 的磷酸盐缓冲液洗涤, 5% 脱脂奶粉封闭 2 h。磷酸盐缓冲液再次洗涤后分别加入抗 NLRP3、SIRT1、ASC 及 caspase-1 一抗, 4 °C 摇床过夜; 加入二抗室温避光孵育 2 h 后, 化学发光法显影, 以  $\beta$ -肌动蛋白 ( $\beta$ -actin) 为内参。采用 Image Lab 软件分析各条带灰度值, 以目的蛋白与内参蛋白的灰度值比值作为目的蛋白的表达量。

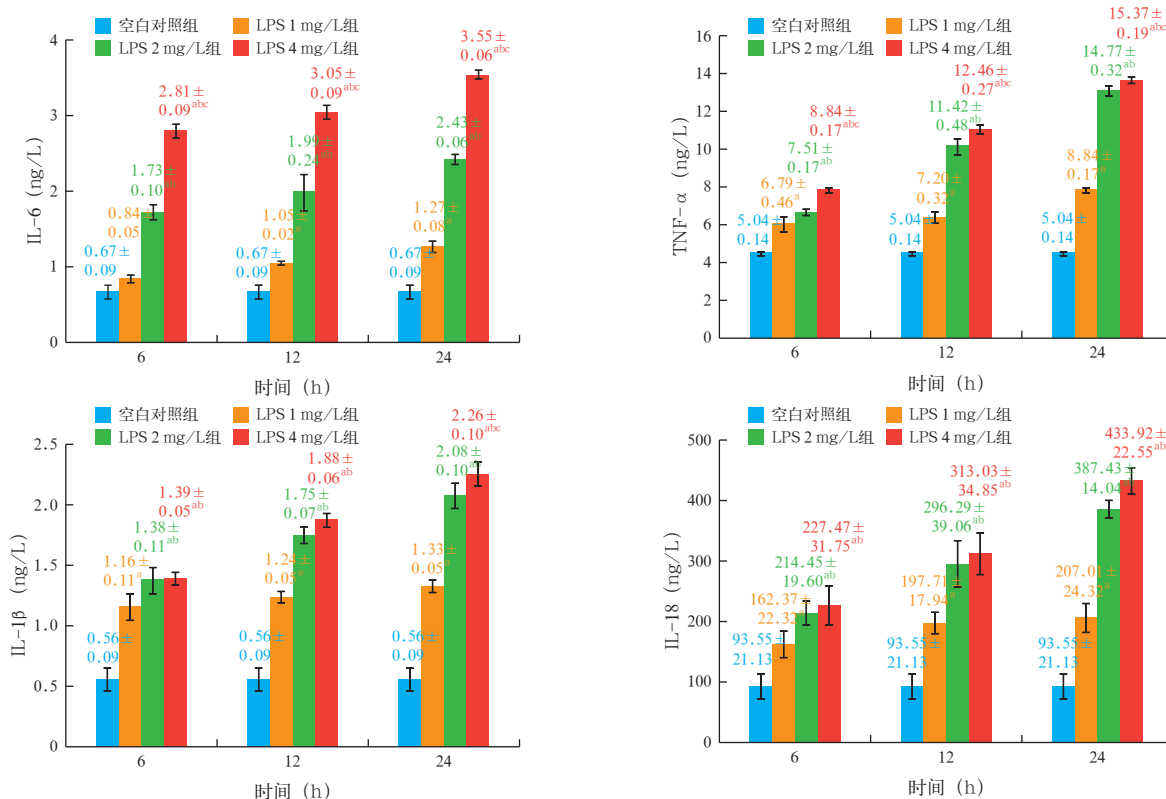
**1.3 统计学分析:** 应用 SPSS 20.0 软件分析数据。计量资料符合正态分布, 以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较采用方差齐性检验, 方差齐时采用单因素方差分析, 两两比较应用 SNK 法; 方差不齐则采用 Dunnett 检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组 Caco-2 细胞上清液中炎症因子水平比较 (图 1):** 在同一干预时间点, 与空白对照组相比, 不同剂量 LPS 各组细胞上清液中 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  及 IL-18 水平呈剂量依赖性增加 (均  $P < 0.05$ )。说明 LPS 刺激 Caco-2 细胞后能够呈剂量依赖性增加炎症因子水平。

**2.2 各组 Caco-2 细胞凋亡情况比较 (图 2~3):** 与空白对照组相比, LPS 各组细胞凋亡率均有增加趋势。6 h 时, 与空白对照组相比, LPS 各组细胞凋亡率呈剂量依赖性增加 (均  $P < 0.05$ ); 且随时间延长, LPS 各组细胞凋亡进一步加重, 24 h 时 LPS 4 mg/L 组细胞凋亡率显著高于空白对照组及 LPS 1 mg/L 组 (均  $P < 0.05$ )。

**2.3 各组 Caco-2 细胞中 NLRP3 及 SIRT1 的 mRNA 表达比较 (图 4):** 与空白对照组比较, LPS 各组细胞 NLRP3 mRNA 表达显著升高, 而 SIRT1 mRNA 表达显著降低 (均  $P < 0.05$ ); 不同剂量 LPS 各组间差异虽不明显, 但随着 LPS 剂量增加及干预时间延长, NLRP3 mRNA 表达呈升高趋势, SIRT1 mRNA 表达呈降低趋势。



注: Caco-2 为人结肠腺癌细胞株, LPS 为脂多糖, IL-6 为白细胞介素-6, TNF- $\alpha$  为肿瘤坏死因子- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  为白细胞介素-1 $\beta$ , IL-18 为白细胞介素-18; 与空白对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 LPS 1 mg/L 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 LPS 2 mg/L 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

图 1 各组不同时间点 Caco-2 细胞上清液中炎症因子水平变化比较

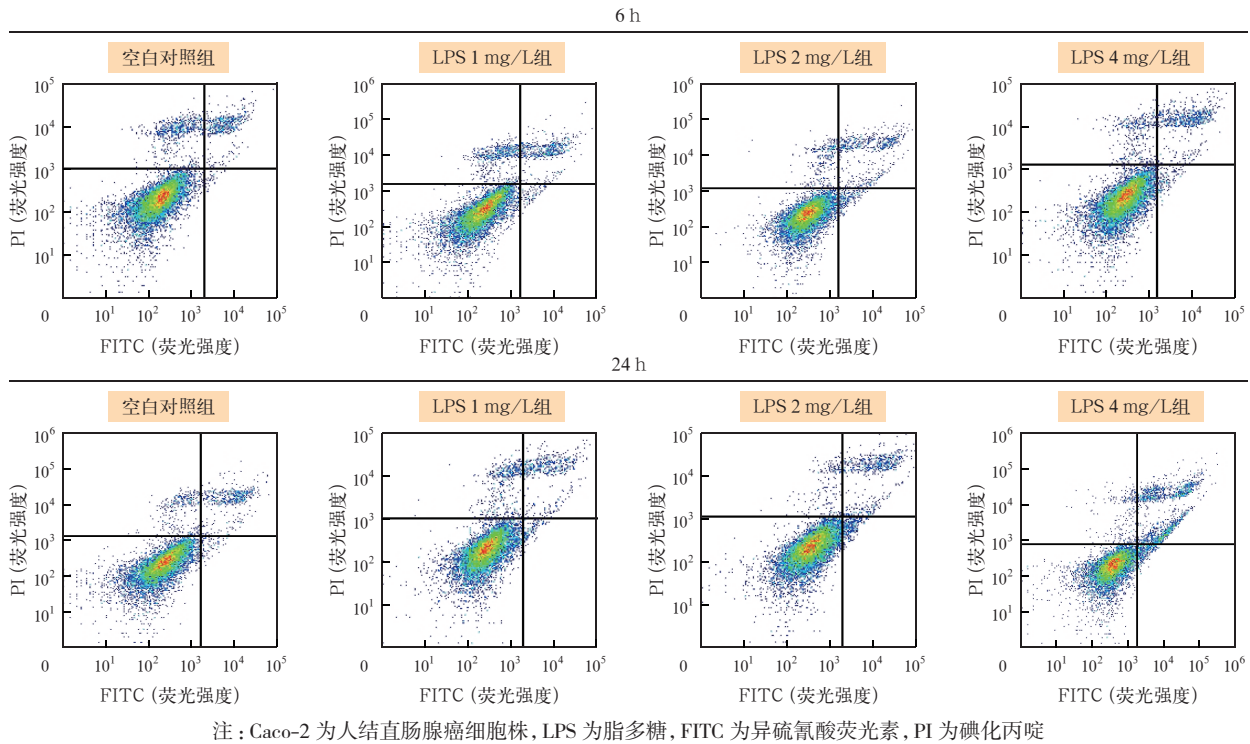


图2 流式细胞仪检测各组不同时间点 Caco-2 细胞凋亡情况

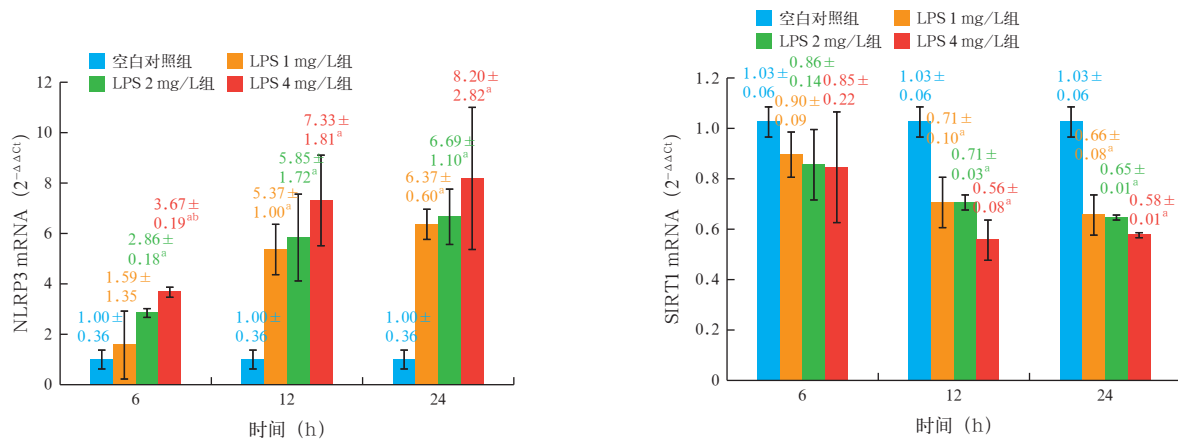


图4 各组不同时间点 Caco-2 细胞 NLRP3 及 SIRT1 的 mRNA 表达变化比较

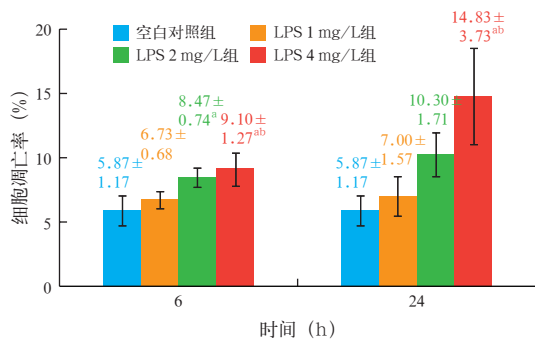
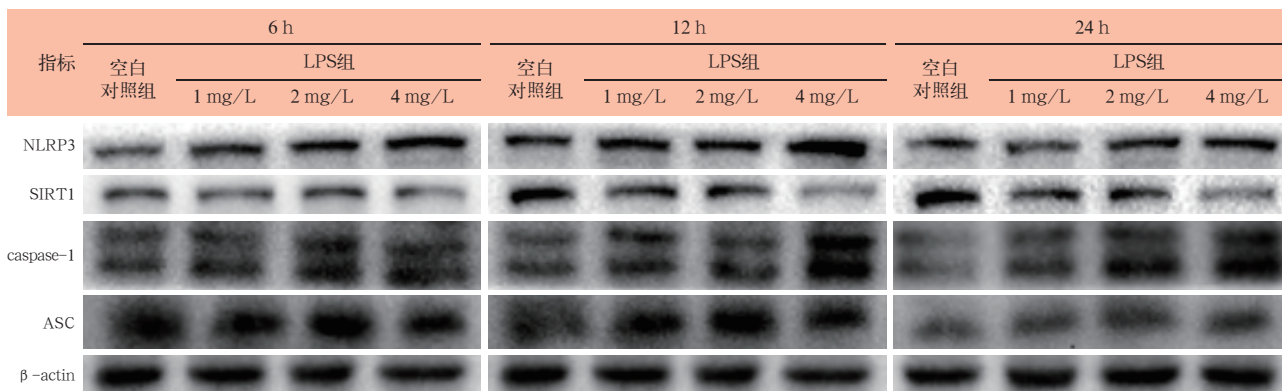


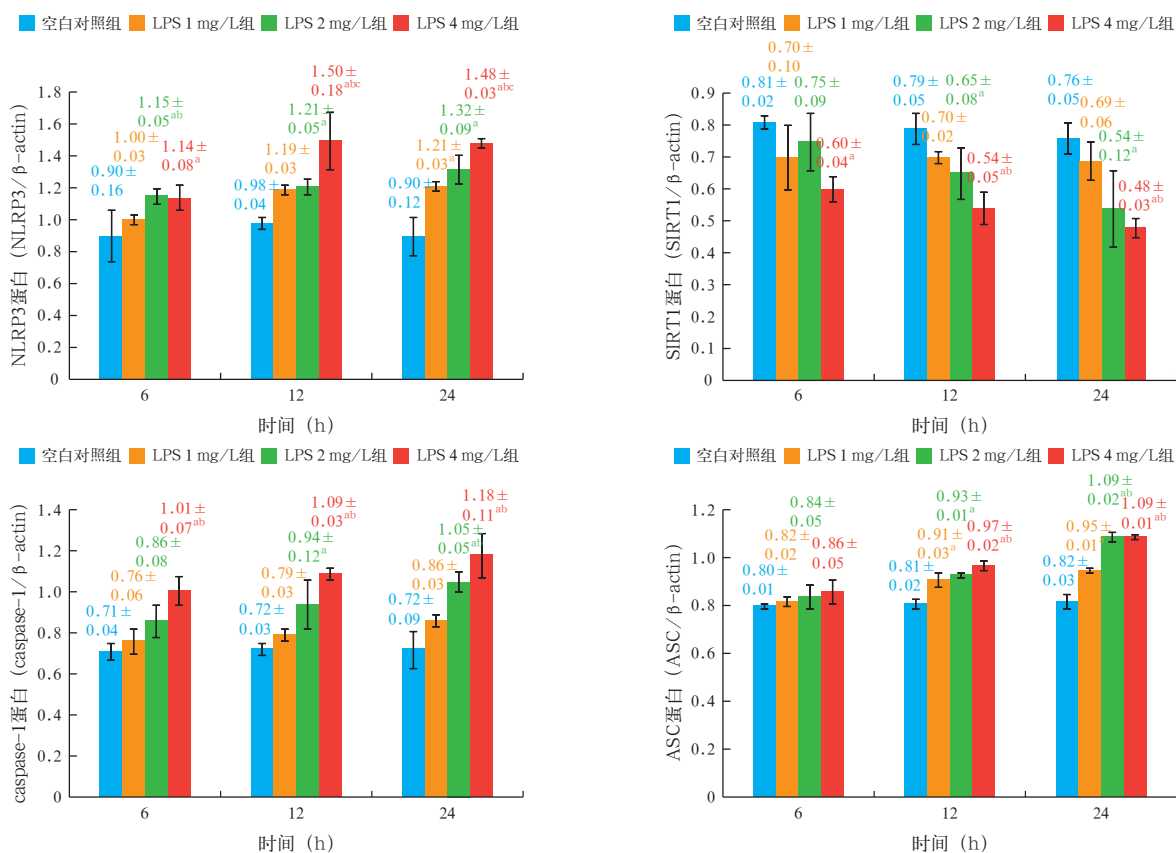
图3 各组不同时间点 Caco-2 细胞凋亡率变化比较

2.4 各组 Caco-2 细胞 NLRP3、SIRT1、caspase-1 及 ASC 的蛋白表达比较(图 5 ~ 6):与空白对照组相比,不同剂量 LPS 各组细胞 NLRP3、caspase-1 及 ASC 的蛋白表达均显著升高,而 SIRT1 蛋白表达显著降低(均  $P < 0.05$ )。在不同干预时间点,随着 LPS 剂量增加, NLRP3、caspase-1 及 ASC 的蛋白表达均逐渐升高,而 SIRT1 蛋白表达则逐渐降低, LPS 4 mg/L 组与空白对照组比较差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。说明 LPS 刺激 Caco-2 细胞后,在炎症状态下 NLRP3 炎症小体及其下游分子 caspase-1、ASC 表达增加, SIRT1 表达减少。



Caco-2 为人结直肠腺癌细胞株, NLRP3 为 NOD 样受体蛋白 3, SIRT1 为沉默信息调节因子 1, caspase-1 为天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1, ASC 为凋亡相关点样蛋白, LPS 为脂多糖,  $\beta$ -actin 为  $\beta$ -肌动蛋白

图5 蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测各组不同时间点 Caco-2 细胞 NLRP3、SIRT1、caspase-1 及 ASC 的蛋白表达



注: Caco-2 为人结直肠腺癌细胞株, NLRP3 为 NOD 样受体蛋白 3, SIRT1 为沉默信息调节因子 1, caspase-1 为天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1, ASC 为凋亡相关点样蛋白, LPS 为脂多糖,  $\beta$ -actin 为  $\beta$ -肌动蛋白; 与空白对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 LPS 1 mg/L 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 LPS 2 mg/L 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

图6 各组不同时间点 Caco-2 细胞 NLRP3、SIRT1、caspase-1 及 ASC 的蛋白表达比较

### 3 讨论

脓毒症时血液中细菌毒素及炎性因子急剧升高,导致肠道黏膜屏障受损,进而引起肠内病原微生物及其毒素移位入血,加剧脓毒症的发生发展<sup>[4]</sup>。引起脓毒症肠道功能障碍的重要病理生理基础可能是肠上皮细胞炎症反应及凋亡<sup>[5]</sup>。NLRP3 是存在于细胞质的一类模式识别受体,与 ASC 和 caspase-1

前体组装形成 NLRP3 炎症小体,后者再通过激活 caspase-1 诱导炎症反应和细胞凋亡,从而启动防御机制,是机体先天性免疫反应的重要构成部分<sup>[6]</sup>。脓毒症状态下,机体 NLRP3 炎症小体及下游分子高表达,通过增加促炎因子的成熟释放及诱导凋亡反应,参与调控脓毒症免疫反应,与器官功能障碍及不良预后密切相关。相关研究报道,微小 RNA-21

(microRNA-21, miR-21) 基因缺陷小鼠在脓毒症时可通过抑制骨髓间质细胞中 NLRP3 活化, 下调 ASC 及 caspase-1 表达, 进而减缓炎症反应并减少凋亡<sup>[7]</sup>。NLRP3 炎症小体也参与脓毒症肠道功能障碍的发展与转归。研究证实, 盲肠结扎穿孔术 (cecal ligation perforation, CLP) 致脓毒症大鼠模型 NLRP3 炎症小体激活, 细胞因子大量释放, 肠屏障通透性增加<sup>[8]</sup>。

以上研究均支持本实验结果, 在体外脓毒症肠道炎症模型中 NLRP3 炎症小体活化, 且 NLRP3 上调程度与脓毒症严重程度成正比。NLRP3 炎症小体下游分子 caspase-1 表达及其调控的 IL-1 $\beta$ 、IL-18 等炎症因子分泌也随 LPS 剂量增加及干预时间延长而相应增多。ASC 表达在 LPS 干预中晚期明显上调, 这与流式细胞仪检测的凋亡结果一致, 提示脓毒症 NLRP3 炎症小体活化诱导肠上皮细胞凋亡在晚期高剂量 LPS 干预时最显著。相关研究报道, NLRP3 炎症小体抑制剂 MCC950 对减轻 LPS 诱导的肠上皮细胞损伤和焦亡具有显著作用<sup>[9]</sup>。通过本实验初步预测, 临床中脓毒症肠道功能损伤与 NLRP3 炎症小体的活化相关, 且有待更深入地探讨脓毒症状态下 NLRP3 抑制剂能否通过改善肠道炎症及凋亡, 进而发挥肠道功能保护作用。

SIRT1 是高度保守的 NAD<sup>+</sup> 依赖的蛋白去乙酰化酶和 (或) 二磷酸腺苷 (adenosine diphosphate, ADP) 核糖基转移酶, 能作为炎症抑制剂参与调节肠道炎症反应和组织稳态。研究表明, 在严重失血性休克所致的小肠缺血 / 再灌注损伤模型中, 肠道 SIRT1 下调与上皮细胞凋亡增加及肠屏障的破坏密切相关<sup>[10]</sup>; 炎症性肠病患者和结肠炎小鼠 SIRT1 下调, 且激活 SIRT1 有助于减轻肠道的炎症反应<sup>[11]</sup>。本研究通过检测 SIRT1 蛋白及 mRNA 表达量发现, 脓毒症体外肠道功能损伤模型中 SIRT1 表达随着脓毒症严重程度增加呈进行性降低。在脓毒症状态下, NLRP3 炎症小体活化引起促炎因子分泌并诱导细胞凋亡, 且 SIRT1 表达下调, 两者之间可能存在联系。相关研究报道, SIRT1 可通过调节血管内皮细胞 NLRP3 炎症小体活性而发挥其潜在的抗炎作用<sup>[10]</sup>; SIRT1 激活剂能够显著抑制小鼠巨噬细胞 caspase-1 的成熟, 意味着 SIRT1 可能参与了 NLRP3 炎症小体的调节<sup>[12]</sup>。后续仍需要进一步探讨脓毒症时调控 SIRT1 介导 NLRP3 炎症小体活化在肠道功能中的影响及机制, 并为临床防治脓毒症器官功能损伤提供新的研究方向和科研思路。

综上所述, 本研究表明, 在体外脓毒症肠道损伤模型中, 随 LPS 剂量增加及干预时间延长, 肠道炎症反应及细胞凋亡加剧, 这与肠上皮中 NLRP3 炎症小体及其下游分子 ASC 与 caspase-1 表达上调、SIRT1 表达下调密切相关, 其中 SIRT1 可能是调控 NLRP3 炎症小体活化、影响脓毒症肠道病理改变的重要靶点。但本研究结果仅能解释 Caco-2 细胞模型中的变化, 且样本量小, 不能完全排除随机误差, 仍需进行大样本动物实验及临床试验进一步明确 NLRP3 炎症小体在脓毒症肠道功能障碍中的作用及其能否成为脓毒症治疗干预靶点。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] Garnacho-Montero J, Palacios-García I, Díaz-Martín A, et al. Sequential changes of NLRP3 inflammasome activation in sepsis and its relationship with death [J]. Shock, 2020, 54 (3): 294-300. DOI: 10.1097/SHK.0000000000001521.
- [2] 张飞, 李湘民, 张方杰. NOD 样受体家族核苷酸结合寡聚化结构域样受体 3 炎症小体在脓毒症中的作用 [J/CD]. 中华危重症医学杂志 (电子版), 2018, 11 (6): 420-424. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6880.2018.06.014.
- [3] Zhang F, Li XM, Zhang FJ. Role of NOD-like receptor family nucleotide binding oligomerization domain like receptor 3 inflammasome in sepsis [J/CD]. Chin J Crit Care Med (Electronic Edition), 2018, 11 (6): 420-424. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6880.2018.06.014.
- [4] Danielski LG, Giustina AD, Bonfante S, et al. The NLRP3 inflammasome and its role in sepsis development [J]. Inflammation, 2020, 43 (1): 24-31. DOI: 10.1007/s10753-019-01124-9.
- [5] 韩磊, 任爱民. 脓毒症胃肠功能损伤机制及保护修复的研究进展 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2009, 16 (5): 314-317. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2009.05.025.
- [6] Han L, Ren AM. A research progress on mechanism of functional damage of gastro-intestine induced by sepsis and its protection and repair [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2009, 16 (5): 314-317. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2009.05.025.
- [7] Negroni A, Cucchiara S, Stronati L. Apoptosis, necrosis, and necroptosis in the gut and intestinal homeostasis [J]. Mediators Inflamm, 2015, 2015: 250762. DOI: 10.1155/2015/250762.
- [8] Zhong ZY, Sanchez-Lopez E, Karin M. Autophagy, NLRP3 inflammasome and auto-inflammatory/immune diseases [J]. Clin Exp Rheumatol, 2016, 34 (4 Suppl 98): 12-16.
- [9] Xue ZY, Xi Q, Liu HK, et al. miR-21 promotes NLRP3 inflammasome activation to mediate pyroptosis and endotoxic shock [J]. Cell Death Dis, 2019, 10 (6): 461. DOI: 10.1038/s41419-019-1713-z.
- [10] 李祥, 杨春波, 古丽菲热·塔依尔, 等. 乌司他丁通过抑制脓毒症大鼠肠道 NLRP3 炎症小体活化发挥肠道黏膜屏障的保护作用 [J]. 中华危重病急救医学, 2021, 33 (2): 192-197. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20201208-00747.
- [11] Li X, Yang CB, Gulifeire T, et al. Ulinastatin protects intestinal mucosal barrier by inhibiting the activation of intestinal NLRP3 inflammasomes in septic rats [J]. Chin Crit Care Med, 2021, 33 (2): 192-197. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20201208-00747.
- [12] Zhang XY, Chen X, Zhang HF, et al. Propofol does not reduce pyroptosis of enterocytes and intestinal epithelial injury after lipopolysaccharide challenge [J]. Dig Dis Sci, 2018, 63 (1): 81-91. DOI: 10.1007/s10620-017-4801-x.
- [13] Zeng ZH, Chen ZQ, Xu SQ, et al. Polydatin alleviates small intestine injury during hemorrhagic shock as a SIRT1 activator [J]. Oxid Med Cell Longev, 2015, 2015: 965961. DOI: 10.1155/2015/965961.
- [14] Caruso R, Marafini I, Franzè E, et al. Defective expression of SIRT1 contributes to sustain inflammatory pathways in the gut [J]. Mucosal Immunol, 2014, 7 (6): 1467-1479. DOI: 10.1038/mi.2014.35.
- [15] Misawa T, Saitoh T, Kozaki T, et al. Resveratrol inhibits the acetylated  $\alpha$ -tubulin-mediated assembly of the NLRP3-inflammasome [J]. Int Immunol, 2015, 27 (9): 425-434. DOI: 10.1093/intimm/dxv018.

(收稿日期: 2021-03-23)