

阿魏酸钠对 NALP3 炎性复合体的调节及在肺纤维化中的作用*

况 菊, 魏小林, 谢 敏[△]

四川大学华西医院 呼吸与危重症医学科(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨 NALP3 炎性复合体在肺纤维化过程中的活化情况,并观察阿魏酸钠(sodium ferulate, SF)在肺纤维化过程中对炎性复合体的影响。**方法** 体内实验以博来霉素(BLM)气管滴注构建小鼠肺纤维化模型(BLM 组),治疗组在用 BLM 建模后第 2 天以 SF(100 mg/kg)每日 1 次腹腔注射(SF 组),对照组(不建模)和 BLM 组注射等量磷酸盐缓冲液,建模后第 21 天取肺组织行 Masson 染色,观察肺组织胶原沉积(Ashcroft 评分)情况;以碱水解法测定肺组织羟脯氨酸(HYP)含量;体外实验以 H₂O₂ 刺激小鼠胚胎成纤维细胞 NIH-3T3 以构建成纤维细胞氧化应激模型,干预组以 SF 400 μg/mL 预处理 2 h,再用 H₂O₂ 培养细胞,采用 Real time-PCR 检测小鼠肺组织及体外实验分组处理细胞相关炎性细胞因子 NALP3、caspase-1、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、collagen-1、α 平滑肌肌动蛋白(α-SMA) mRNA,Western blot 检测小鼠肺组织 NALP3 蛋白,分组处理细胞 NALP3、collagen-1、α-SMA 蛋白的表达;ELISA 测定肺组织上清及细胞上清中 IL-1β 质量浓度。**结果** 体内实验 SF 处理后,肺纤维化模型小鼠 Ashcroft 评分及 HYP 含量较 BLM 组有所减少($P<0.05$);肺组织 NALP3 炎性复合体 NALP3、ASC、caspase-1 mRNA, NALP3 蛋白的表达和 IL-1β 的合成较 BLM 组均有减少($P<0.05$)。体外实验显示 H₂O₂ 能有效刺激 NALP3 炎性复合体 NALP3、ASC、caspase-1 mRNA 的表达($P<0.05$)与 IL-1β 的分泌($P<0.05$),并且能有效促进成纤维细胞 NALP3 蛋白、collagen-1 和 α-SMA 的表达($P<0.05$);SF 预处理能在基因水平抑制 NALP3、ASC、caspase-1、collagen-1 和 α-SMA 的表达($P<0.05$),且在蛋白水平减少 NALP3、collagen-1、α-SMA 的表达($P<0.05$),降低 IL-1β 水平($P<0.05$)。**结论** 阿魏酸钠可能通过抑制氧化应激诱导的 NALP3 炎症复合体活化,从而抑制成纤维细胞活化,展现其抗纤维化作用。

【关键词】 肺纤维化 成纤维细胞 NALP3 炎性复合体 阿魏酸钠

The Effect of Sodium Ferulate in Experimental Pulmonary Fibrosis via NALP3 Inflammasome KUANG Ju, WEI Xiao-lin, XIE Min[△]. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

[△] Corresponding author, E-mail: xieminhuaxi@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the activation of NALP3 inflammasome in the process of experimental pulmonary fibrosis (PF), and evaluate the effect of sodium ferulate (SF) in the relationship of NALP3 and PF. **Methods** Establishing PF experimental model via bleomycin (BLM) intratracheal injection (BLM group, SF group), treated with SF daily (SF group) or PBS [BLM group, control (CON) group] and mice were executed on day 21. Ashcroft score was used to assess lung fibrosis in mice PF model. The content of hydroxyproline (HYP) in lung tissue was determined by alkaline hydrolysis. Fibroblast NIH-3T3 was treated with H₂O₂ to trigger cell oxidative stress *in vitro* experiments (H₂O₂ group). Cell was pre-administrated with SF 2 h before H₂O₂ stimulation in H₂O₂+SF group. Blank group without any treatments, was set as control. Real time-PCR was used to investigate the expressions of three elements of inflammasome [NALP3, caspase-1, apoptosis-associated speck-like protein (ASC)], collagen-1 and α smooth muscle actin (α-SMA) mRNA in both lung tissue and fibroblast. Western blot was used to detect protein level of NALP3 in mice lung tissue and collagen-1, α-SMA in fibroblast as well. Meanwhile, IL-1β content in lung tissue and cell supernatant was measured by ELISA. **Results** *In vivo* experiment, SF treated mice showed lower Ashcroft score and HYP content and decreased NALP3, ASC, caspase-1 mRNA expressions and IL-1β production, NALP3 protein level compared with BLM group ($P<0.05$). *In vitro* experiment, H₂O₂ increased NALP3 ($P<0.05$), ASC ($P<0.01$), caspase-1 ($P<0.05$) expressions and IL-1β releasing ($P<0.05$) and promoted the expressions of collagen-1 and α-SMA in both gene and protein levels ($P<$

* 四川省科技厅科技支撑计划项目(No. 0040205301A53)资助

[△] 通信作者, E-mail: xieminhuaxi@163.com

0.05) in NIH-3T3. NALP3 activation was partly inhibited in H_2O_2 + SF group ($P < 0.05$). The mRNA expression levels of collagen-1 and α -SMA were reduced in H_2O_2 + SF group ($P < 0.05$) and the protein expressions of α -SMA and collagen-1 were decreased ($P < 0.05$) compared with those of H_2O_2 group. **Conclusion** Sodium ferulate may suppress oxidative stress mediated NALP3 activation to inhibit fibroblast activation in the anti-fibrosis effect.

[Key words] Pulmonary fibrosis Fibroblast NALP3 inflammasome Sodium ferulate

肺纤维化是一系列以肺间质及实质纤维组织过度增生、肺结构不可逆性破坏、肺功能进行性恶化为特点的异质性疾病。其主要病理学特征为成纤维细胞增殖活化、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)沉积,但其发病机制依然不明。NALP3 (NLRP3 或 cryopyrin)炎性复合体是由核苷酸结合寡聚化结构域样受体(nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors, NLRs)家族成员 NALP3、接头蛋白凋亡相关斑点样蛋白(ASC)和效应蛋白半胱氨酸天冬氨酸酶-1(caspase-1)组成的大分子多蛋白复合体。NALP3 受体可以识别一系列外源性或内源性危险信号并被激活,然后募集下游的接头蛋白 ASC 和效应蛋白 caspase-1 从而组装成为完整的 NLRP3 炎性复合体;活化的 caspase-1 将加工促炎细胞因子前体 pro-IL-1 β 和 pro-IL-18,促进它们成熟和分泌。成熟的 IL-1 β 和 IL-18 会引起一系列炎症反应,参与肺纤维化过程^[1]。阿魏酸钠(SF)是多种中药材中的水溶性活性成分,具有抗凝、清除自由基、抗炎等作用。临床上多应用于肿瘤、肾脏及心血管疾病的治疗。有研究认为 SF 对肝纤维化^[2]、肾纤维化^[3]等具有一定拮抗作用,但具体机制不明。本研究通过用 SF 体外干预氧化应激状态下的成纤维细胞,检测炎性复合体相关因子及纤维化指标的变化,探讨 SF 对成纤维细胞的干预作用;并以肺纤维化动物模型为实验对象,观察 SF 干预治疗后肺纤维化的改善程度及其与炎性复合体的关系,探讨 SF 对炎性复合体的作用及在肺纤维化过程中的作用。

1 材料与方法

1.1 细胞及实验动物

小鼠胚胎成纤维细胞 NIH-3T3 由四川大学生物治疗国家重点实验室干细胞研究室提供;48 只 8 周龄 SPF 级健康雄性 C57BL/6 小鼠购于四川大学实验动物中心。小鼠体质量 20~24 g。

1.2 主要试剂

SF 购于大连美仑公司;DMEM/高糖培养基购

于 Hyclone 公司;胎牛血清购于杭州四季青公司;博莱霉素购于日本化药株式会社;羟脯氨酸(HYP)试剂盒购于南京建成公司。Trizol 购于 Invitrogen 公司;逆转录试剂盒及荧光定量试剂盒购于 TOYOBO 公司;引物由擎科公司合成;IL-1 β ELISA 试剂盒购于依科赛公司;抗 NALP3 抗体、抗 collagen-1 抗体、抗 α 滑肌肌动蛋白(α -SMA)抗体、抗 β -actin 抗体均购于 Abcam 公司;辣根过氧化物酶标记的 IgG 二抗购于北京中杉金桥公司。

1.3 体内实验小鼠肺纤维化模型制备及分组

将 48 只小鼠随机分为 3 组:对照组(CON 组)、博莱霉素诱导肺纤维化组(BLM 组)、肺纤维化阿魏酸钠治疗组(SF 组)。BLM 和 SF 组一次性气管内滴入博莱霉素(5 mg/kg)建立肺纤维化模型,CON 组气管内给予等量 PBS。从第 2 天起,SF 组每天 1 次给予阿魏酸钠(100 mg/kg)腹腔注射,BLM 组和 CON 组给予等量 PBS 腹腔注射。在造模第 21 天处死小鼠。

1.4 体外实验细胞培养及分组

1.4.1 NIH-3T3 细胞培养 细胞复苏后用含 10% 胎牛血清的 DMEM/高糖培养基于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数为 5%的 CO_2 、100%湿度的培养箱培养。细胞融合 80%左右传代,传代 4 次后用于实验。

1.4.2 细胞分组 培养的 NIH-3T3 细胞分为 3 组。空白对照组(Blank):不加任何药物处理; H_2O_2 组:细胞铺板 24 h 后 H_2O_2 200 $\mu\text{mol/L}$ 处理;SF 组:铺板 22 h 后 SF 400 $\mu\text{g/mL}$ 预处理 2 h,再用含 H_2O_2 200 $\mu\text{mol/L}$ 的培养基继续培养。每组实验重复 3 次。

1.5 检测指标

1.5.1 肺组织病理学检测 处死小鼠后,剪下左肺下叶于体积分数为 4%多聚甲醛中固定 48 h,常规石蜡包埋、切片,行 Masson 染色,显微镜下观察肺组织胶原沉积情况。Ashcroft 法^[4]评估纤维化程度。

1.5.2 肺组织 HYP 测定 取适量肺组织清洗称量后剪碎,根据 HYP 试剂盒说明以碱水解法测定

HYP 含量。

表 1 引物序列

Table 1 Sequences of primers

Gene		Primer sequence (5'-3')	Product size/bp
NALP3	Forward	ATTACCCGCCGAGAAAGG	83
	Reverse	TCGCAGCAAAGATCCACACAG	
Caspase-1	Forward	AATACAACCACTCGTACACGTC	78
	Reverse	AGCTCCAACCCCTCGGAGAAA	
ASC	Forward	GACAGTGCAACTGCGAGAAG	106
	Reverse	CGACTCCAGATAGTAGCTGACAA	
Collagen-1	Forward	GCTCCTCTTAGGGGCCACT	91
	Reverse	ATTGGGGACCCCTTAGGCCAT	
α -SMA	Forward	CCCAGACATCAGGGAGTAATGG	104
	Reverse	TCTATCGGATACTTCAGCGTCA	
β -actin	Forward	GTGACGTTGACATCCGTAAAGA	245
	Reverse	GCCGGACTCATCGTACTCC	

1.5.3 RT-PCR 检测相关炎性细胞因子 NALP3、caspase-1、ASC、collagen-1、 α -SMA mRNA 表达
Trizol 法提取 H_2O_2 刺激 18 h 后的细胞及肺组织总 RNA,取 1 μ g 行逆转录及 PCR 扩增,引物序列见表 1。PCR 反应条件:预变性 95 $^{\circ}C$ 1 min,再 95 $^{\circ}C$ 变性 15 s,60 $^{\circ}C$ 延伸 60 s,共扩增 40 个循环。每个样品 3 个复孔。以 β -actin 作内参照,用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法,并设 CON 组或 Blank 组基因表达量为 1,计算各组基因相对表达量。

1.5.4 Western blot 检测蛋白表达 采用 Western blot 检测各组小鼠肺组织 NALP3 蛋白,各分组处理细胞 NALP3、collagen-1、 α -SMA 蛋白的表达。常规方法提取 H_2O_2 刺激 36 h 后的细胞及肺组织总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。SDS-PAGE 凝胶电泳,PVDF 膜转膜;5%脱脂奶粉/TBST 封闭;一抗(NALP3 为 1 : 500; α -SMA 1 : 1 000;collagen-1 1 : 1 000; β -actin 1 : 1 000)4 $^{\circ}C$ 孵育过夜;二抗(1 : 5 000)室温孵育 2 h,洗膜

30 min后增强化学发光显影。Image Lab 5.1 软件分析条带灰度值,以 β -actin 为内参,计算各组蛋白相对表达量。

1.5.5 ELISA 测定 IL-1 β 质量浓度 细胞培养 48 h后收集细胞上清及肺组织上清,根据 ELISA 试剂盒说明书检测 IL-1 β 的质量浓度。试剂盒灵敏度 15 pg/mL。

1.6 统计学方法

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间差异采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Tukey's 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体内实验 SF 对小鼠肺组织纤维化的影响

2.1.1 小鼠肺组织形态学改变及 Ashcroft 评分
Masson 染色显示:CON 组小鼠肺组织结构清晰,有极少量纤维组织沉积,未见肺泡间隔增宽。BLM 组小鼠肺组织结构破坏严重,部分肺泡塌陷融合,肺泡间隔明显增厚,肺间质内出现大量宽带状及片状胶原纤维,呈弥漫性肺纤维化。提示肺纤维化模型制备成功。SF 组小鼠仍有纤维化形成,但纤维化程度与 BLM 组相比明显减少,未见弥漫性纤维化,病变部位呈局灶性分布,见图 1A。Ashcroft 评分显示,小鼠肺纤维化造模第 21 天,BLM 组肺纤维化程度较 CON 组有所增加($P < 0.01$),SF 组较 BLM 组有所减轻($P < 0.05$),但仍高于 CON 组($P < 0.05$),见图 1B。

2.1.2 小鼠肺组织 HYP 含量变化 BLM 组小鼠肺组织 HYP 含量较 CON 组增加($P < 0.01$),SF 组较 CON 组亦有所增加($P < 0.05$),但较 BLM 组减少($P < 0.05$),见图 1C。

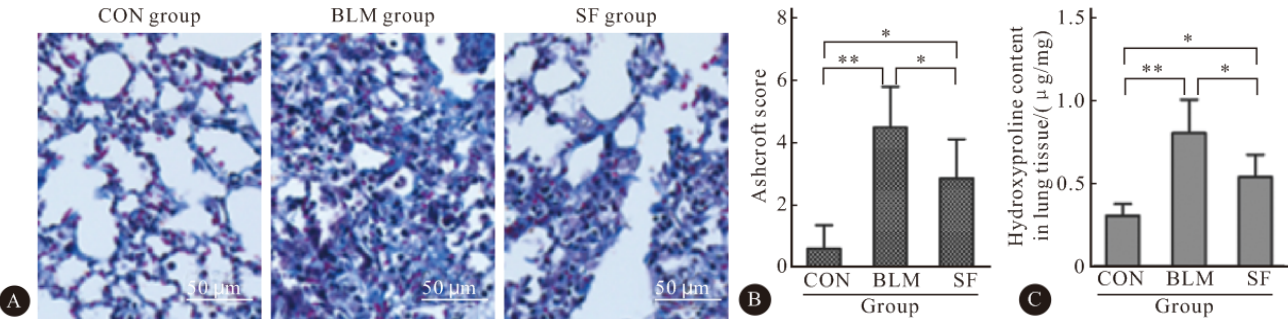


图 1 肺组织纤维化程度分析
Fig 1 The fibrosis degree analysis of lung tissues

A: Masson staining; B: Ashcroft score; C: HYP content; CON: Control; BLM: Bleomycin; SF: Sodium ferulate; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.2 SF 对小鼠肺组织 NALP3 炎性复合体的影响

2.2.1 小鼠肺组织 NALP3 mRNA、caspase-1 和 ASC mRNA 表达的变化 Real time-PCR 检测结果显示:BLM 组 NALP3、caspase-1 和 ASC mRNA 表达较 CON 组均上调 ($P < 0.05$), 而 SF 组 NALP3、caspase-1 mRNA 水平较 BLM 组均下调 ($P < 0.05$), ASC mRNA 水平也下调, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), SF 组此 3 个 mRNA 均下调至 CON 组水平 ($P > 0.05$)。见图 2。

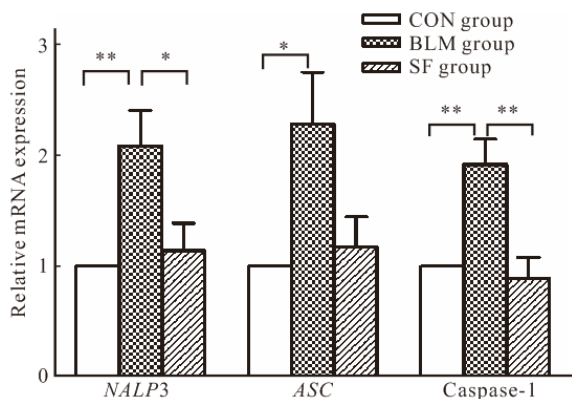


图 2 肺组织炎性复合体 mRNA 表达的变化

Fig 2 The expression of inflammasome mRNAs of lung tissue

Denotes the same as fig 1

2.2.2 小鼠肺组织 NALP3 蛋白表达及 IL-1 β 质量浓度变化 Western blot 检测结果显示, BLM 组小鼠肺组织 NALP3 蛋白表达较 CON 组增高 ($P < 0.01$); 给予 SF 治疗后, NALP3 的表达量较 BLM 组有所减少 ($P < 0.05$), 与 CON 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 3。ELISA 检测结果显示: BLM 组小鼠 IL-1 β [(197.92 $\pm$ 43.48) pg/mg] 较 CON 组 [(55.27 $\pm$ 26.74) pg/mg] 有所升高 ($P < 0.05$), SF 治疗后 [(134.31 $\pm$ 64.46) pg/mg] 能减少 BLM 所致肺组织 IL-1 β 增加 ($P < 0.05$), 与 CON 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.3 体外实验 SF 对氧化应激状态下小鼠成纤维细胞 NALP3 炎性复合体活化的影响

2.3.1 NIH-3T3 细胞 NALP3、caspase-1、ASC mRNA 表达的变化 在 H₂O₂ 的刺激下, NALP3、caspase-1、ASC mRNA 较 Blank 组均升高 ($P < 0.05$), SF 能有效降低三者的表达量 ($P < 0.05$), SF 组较 Blank 组 ASC mRNA 有所升高 ($P < 0.05$), 而 NALP3、caspase-1 mRNA 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 4。

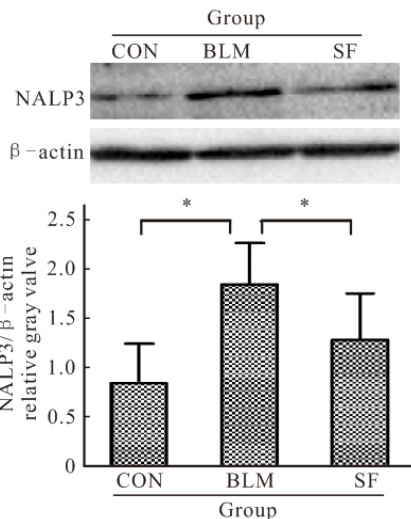


图 3 肺组织 NALP3 蛋白表达变化

Fig 3 The changes of NALP3 protein expression in lung tissues

Denotes the same as fig 1

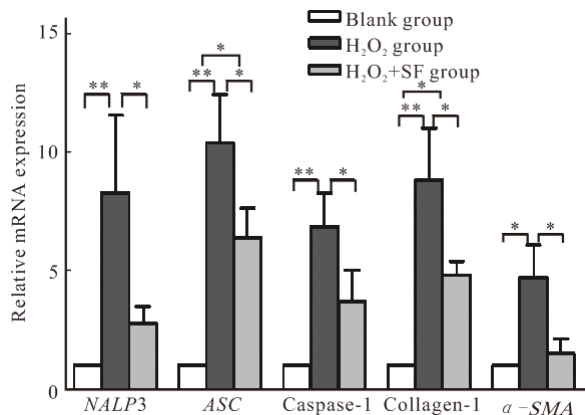


图 4 NIH-3T3 细胞 mRNA 相对表达量

Fig 4 The relative expression of mRNA in NIH-3T3 cells

Blank; Blank control; SF; Sodium ferulate; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.3.2 NIH-3T3 细胞 NALP3 蛋白表达及 IL-1 β 质量浓度的变化 H₂O₂ 刺激能明显促进 NALP3 蛋白的表达 ($P < 0.05$), SF 处理能一定程度减少 NALP3 蛋白表达 ($P < 0.05$), SF 与 Blank 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 5。细胞上清 IL-1 β 在 H₂O₂ [(39.51 $\pm$ 8.56) pg/mL] 的刺激下也较 Blank 组 [(6.17 $\pm$ 1.90) pg/mL] 升高 ($P < 0.05$), SF 处理 [(22.07 $\pm$ 6.57) pg/mL] 也能一定程度减少 IL-1 β 的分泌 ($P < 0.05$), SF 组与 Blank 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.4 SF 对氧化应激状态下小鼠成纤维细胞胶原合成的影响

2.4.1 NIH-3T3 细胞 collagen-1、 α -SMA mRNA 表达的变化 在 H₂O₂ 的刺激下, 成纤维细胞

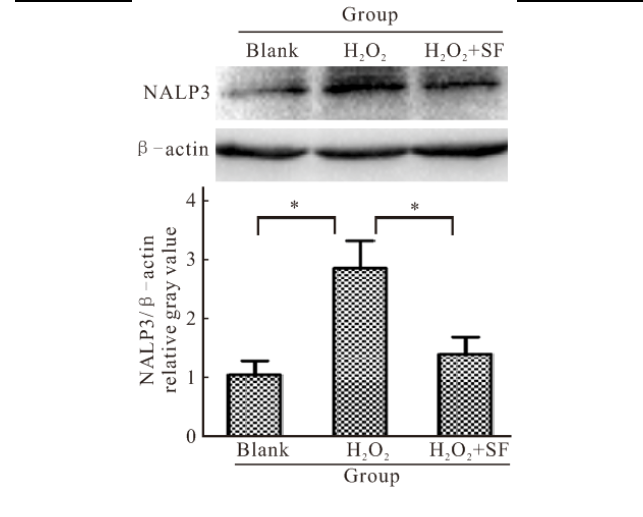


图 5 NIH-3T3 细胞 NALP3 蛋白表达变化

Fig 5 The changes of NALP3 protein expression in NIH-3T3 cells

Denotes the same as fig 4

α -SMA、collagen-1 mRNA 表达较 Blank 组均有升高($P<0.05$),SF 处理后,细胞 collagen-1、 α -SMA mRNA 表达较 H_2O_2 组有所减少($P<0.05$),SF 组与 Blank 组比较,collagen-1 mRNA 表达差异有统计学意义($P<0.05$); α -SMA mRNA 表达差异无统计学意义($P>0.05$),见图 4。

2.4.2 NIH-3T3 细胞 collagen-1、 α -SMA 蛋白表达的变化 见图 6。 H_2O_2 能有效促进 collagen-1 和 α -SMA 蛋白的表达($P<0.05$),SF 能一定程度减少 α -SMA、collagen-1 蛋白的表达($P<0.05$),SF 组与 Blank 组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

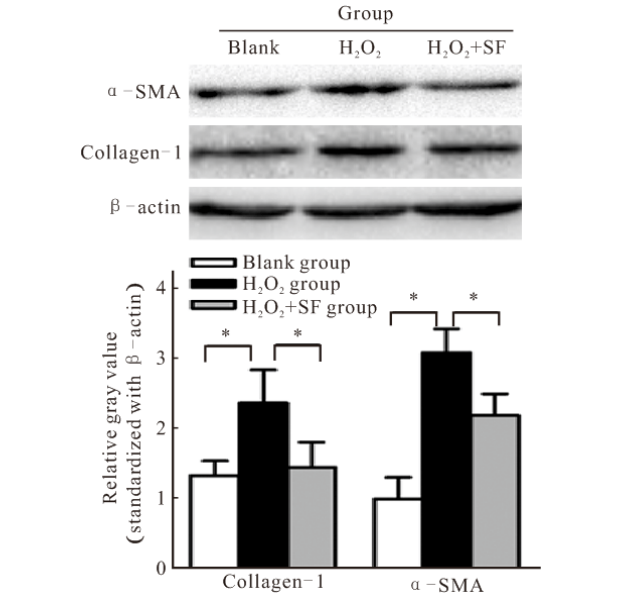


图 6 NIH-3T3 细胞 collagen-1、 α -SMA 蛋白表达量

Fig 6 The protein levels of collagen-1 and α -SMA in NIH-3T3 cells

Denotes the same as fig 4

3 讨论

常规激素及免疫抑制剂对肺纤维化效果不佳,美国药品食品管理局(FDA)批准的抗肺纤维化药物吡啡尼酮效果差强人意,患者 5 年生存率仍不到 50%。因此,深入研究肺纤维化的发生机制具有重要意义。近年来,多项研究发现 NALP3 炎性复合体在 BLM 致肺纤维化过程中起到重要作用。并且有学者在特发性肺纤维化^[5]、风湿疾病继发肺纤维化^[6]患者中发现 NALP3 炎性复合体的异常活化。由此可见,NALP3 炎性复合体在肺纤维化病理生理过程中有重要意义。SF 及其衍生药是物临床应用较广泛的一种中药成分。有研究报道:阿魏酸(ferulic acid, FA)可通过抑制 Smad/ILK/Snail 通路,减少转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)介导的肾小管上皮细胞 EMT^[7],从而影响肾纤维化;XU 等^[8]发现,在肝星状细胞中,FA 亦可能通过黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)依赖的 ERK1/2 和 Smad 信号通路抑制 collagen-1 和纤连蛋白的转录和表达,但其在肺纤维化过程中起到的作用并不明确。本研究首次揭示了 SF 可能通过干预实验动物肺纤维化模型中 NALP3 炎性复合体的活化,从而达到干预肺纤维化进程的作用。同时,也在肺纤维化最主要的效应细胞——成纤维细胞中验证了 NALP3 炎性复合体在 ECM 沉积中的促进作用,首先发现了 SF 可能通过抑制成纤维细胞的氧化应激,进而抑制由 NALP3 活化导致的胶原增生。

GASSE 等^[9]首先研究 NALP3 炎性复合体在 BLM 诱导肺纤维化过程中起到的促炎及促进纤维化作用,并且证实 NALP3/caspase-1/IL-1 β 轴和 IL-1R1/MyD88/NF- κ B 信号通路在 BLM 致肺纤维化过程中起到的重要作用。本实验发现:SF 可以明显缓解实验动物的肺纤维化程度,并且对 NALP3 炎性复合体的活化有一定削弱作用。肺纤维化早期,肺泡上皮细胞损伤释放大量活性氧簇(ROS),ROS 是炎性复合体最重要的激活物之一。SF 的抗氧化作用可以通过清除氧自由基等过程实现^[10]。并且,我们的前期研究已在体外验证了 SF 对炎性复合体的抑制作用^[11],因此可以假设 SF 有可能通过抑制炎性复合体的活化而起到抗肺纤维化作用。为进一步了解此作用,我们观察了 SF 对体外培养成纤维细胞的影响。

ARTLETT 等^[6]发现在系统性硬化患者来源的成纤维细胞中,NALP3 炎性复合体在 collagen-

1A、collagen-3A1 的合成和肌成纤维细胞的分化过程中起到重要作用;抑制 caspase-1 的活性能有效减少胶原的合成。CAI 等^[12]也发现,在氧化应激介导的肝星状细胞胶原合成时,敲除 *NALP3* 基因能有效减少胶原和 α -SMA 的合成。本研究首次以 H_2O_2 处理成纤维细胞,诱导成纤维细胞氧化应激状态,并在该状态下检测 *NALP3* 炎性复合体的活化情况及胶原相关分子的表达情况。结果显示: H_2O_2 能通过促进炎性复合体的表达来促进其活化,并且在氧化应激状态下,成纤维细胞表达 collagen-1 及肌成纤维细胞标志物 α -SMA 增加。所以我们推测:*NALP3* 炎性复合体可能通过 *NALP3*/caspase-1 参与胶原合成和肌成纤维细胞分化的过程;同时,我们用 SF 处理氧化应激状态的成纤维细胞,结果发现:细胞胶原蛋白合成和 α -SMA 合成减少,并且伴随 *NALP3* 炎性复合体各成分表达的减少及 IL-1 β 的减少,推测 SF 可能是通过阻断 ROS 对炎性复合体的活化,从而抑制 *NALP3* 对成纤维细胞纤维化的影响。目前有学者发现炎性复合体的生物学作用已不仅仅局限于 *NALP3* 复合体下游的 IL-1 β 和 IL-18 等炎症因子。*NALP3* 蛋白和 ASC 蛋白都有可能各自独立的生物学作用。BRACEY 等^[13]发现,在 TGF- β 介导的心脏成纤维细胞分化的过程中,没有 IL-1 β 、IL-18 和 caspase-1 的含量改变,只有 *NALP3* 蛋白的上调,该作用被称为 *NALP3* 的复合体非依赖型方式。而 SF 是否能够通过干预该“新通路”从而影响肺纤维化过程尚无法推论。

总之,本研究表明,SF 对 BLM 所致的肺纤维化小鼠有一定的保护作用,其原因可能部分源于 SF 对 *NALP3* 炎性复合体的抑制作用和抗氧化作用,从而抑制肺组织炎性损伤及 ECM 的合成。SF 作为一种临床应用较广的药物,其对肺纤维化的具体作用机制还需更全面的研究,以充分探索其在抗肺纤维化治疗中的作用。

参 考 文 献

- [1] LATZ E, XIAO TS, STUTZ A. Activation and regulation of the inflammasomes. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(6):397-411.
- [2] LI FQ, SU H, CHEN X, *et al.* Mannose 6-phosphate-modified bovine serum albumin nanoparticles for controlled and targeted delivery of sodium ferulate for treatment of hepatic fibrosis. *J Pharm Pharmacol*, 2009, 61(9):1155-1161.
- [3] SHOKEIR AA, HUSSEIN AA, SOLIMAN SA, *et al.* Recoverability of renal functions after relief of partial ureteric obstruction of solitary kidney: impact of ferulic acid. *BJU Int*, 2012, 110(6):904-911.
- [4] HUBNER RH, GITTER W, EL MOKHTARI NE, *et al.* Standardized quantification of pulmonary fibrosis in histological samples. *Biotechniques*, 2008, 44(4):507-511, 514-517.
- [5] LASITHIOTAKI I, GIANNARAKIS I, TSITOURA E, *et al.* NLRP3 inflammasome expression in idiopathic pulmonary fibrosis and rheumatoid lung. *Eur Respir J*, 2016, 47(3):910-918.
- [6] ARTLETT CM, SASSI-GAHA S, RIEGER JL, *et al.* The inflammasome activating caspase 1 mediates fibrosis and myofibroblast differentiation in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(11):3563-3574.
- [7] WEI MG, SUN W, HE WM, *et al.* Ferulic acid attenuates TGF- β 1-induced renal cellular fibrosis in NRK-52E cells by inhibiting smad/ILK/Snail pathway. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015:619720[2016-07-12]. <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2015/619720/>. doi 10.1155/2015/619720.
- [8] XU T, PAN Z, DONG M, *et al.* Ferulic acid suppresses activation of hepatic stellate cells through ERK1/2 and Smad signaling pathways *in vitro*. *Biochem Pharmacol*, 2015, 93(1):49-58.
- [9] GASSE P, MARY C, GUENON I, *et al.* IL-1R1/MyD88 signaling and the inflammasome are essential in pulmonary inflammation and fibrosis in mice. *J Clin Invest*, 2007, 117(12):3786-3799.
- [10] SRINIVASAN M, SUDHEER AR, MENON VP. Ferulic acid: therapeutic potential through its antioxidant property. *J Clin Biochem Nutr*, 2007, 40(2):92-100.
- [11] 何高燕, 谢敏, 高艳, 等. *NALP3* 及 NF- κ B 信号通路在氧化应激反应中的作用及阿魏酸钠的干预效应. *四川大学学报(医学版)*, 2015, 46(3):367-371.
- [12] CAI S, YANG R, LI Y, *et al.* Angiotensin-(1-7) improves liver fibrosis by regulating the NLRP3 inflammasome via redox balance modulation. *Antioxid Redox Signal*, 2016, 24(14):795-812.
- [13] BRACEY NA, GERSHKOVICH B, CHUN J, *et al.* Mitochondrial NLRP3 protein induces reactive oxygen species to promote smad protein signaling and fibrosis independent from the inflammasome. *J Biol Chem*, 2014, 289(28):19571-19584.

(2017-01-17 收稿, 2017-04-13 修回)

编辑 沈进