

抑制 NLRP3 炎性小体中 caspase-1 活化对慢性阻塞性

肺疾病大鼠肺功能及炎性因子分泌的影响

刘一鹏, 欧宗兴*, 陈忠仁, 王蕾, 沈彬, 梁海梅

(中南大学湘雅医学院附属海口医院呼吸内科, 海南 海口 570208)

摘要: 为了探讨核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3) 炎性小体在慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 发病中的作用, 同时讨论白细胞介素-18 (IL-18) 及白细胞介素-1 β (IL-1 β) 在 COPD 大鼠体内的分泌与肺功能的关系, 按照随机原则将 36 只 wistar 大鼠平均分为空白组、COPD 组及干预组, 其中 COPD 组及干预组建造大鼠模型, 干预组在造模的同时给予 AC-YVAD-CMK 抑制剂处理, 造模结束后测定 3 组大鼠的呼吸阻力、肺总量、肺顺应性及血、支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中的 IL-18 及 IL-1 β 的水平。结果显示: 1) 空白组与 COPD 组、干预组与 COPD 组的肺总量、肺顺应性差异显著 ($P < 0.05$), 3 组大鼠呼吸阻力大小依次为 COPD 组、干预组、空白组 ($P < 0.05$); 2) COPD 组大鼠血清 IL-1 β 水平高于空白组和干预组 ($P < 0.05$), COPD 组和干预组大鼠血清 IL-18 水平高于空白组 ($P < 0.05$); 3) COPD 组 BALF 中 IL-18 水平高于干预组、空白组 ($P < 0.05$), 3 组大鼠 BALF 中 IL-1 β 水平大小依次为慢阻肺组、干预组及空白组 ($P < 0.05$); 4) 炎性因子与肺功能指标的相关性分析结果表明, 大鼠 BALF 中 IL-18 水平与其呼吸阻力呈显著正相关 ($P < 0.05$)。由上述结果可知: COPD 模型大鼠肺总量、肺顺应性降低而、呼吸阻力升高, 体内 IL-18、IL-1 β 水平提高, 且 IL-18 水平与大鼠呼吸阻力呈相关性, 提示 IL-18 参与了 COPD 炎症反应; 阻断 NLRP3 炎性小体中 caspase-1 活化可以改善 COPD 大鼠肺功能及抑制体内 IL-18、IL-1 β 分泌, 提示 NLRP3 炎性小体可能参与了大鼠 COPD 发病过程。

关键词: 慢性阻塞性肺疾病; NLRP3 炎性小体; 白细胞介素-18; 白细胞介素-1 β ; 肺功能

中图分类号: R563.3

文献标志码: A

收稿日期: 2018-08-22 **录用日期:** 2018-11-26

基金项目: 海南省自然科学基金 (2017817386)

***通信作者:** ouzongxing@163.com

慢性阻塞性肺疾病（COPD）的发病原因及致病机理还不十分明确，当前观点是个体疾病易获得因素和外界因素共同造成的^[1]。在环境因素方面，吸烟是目前公认的最主要病因，烟草燃烧可以产生大量对人体有毒的物质，这些毒性物能够活化肺组织中的巨噬细胞、呼吸系统上皮细胞，促进其释放白细胞介素-18（IL-18）、白细胞介素-1 β （IL-1 β ）等炎症因子，将本应该存在于血管中的中性粒细胞透过肺泡毛细血管募集至呼吸系统，之后在呼吸系统内发生活化并发生脱颗粒效应使之具有生物学活性，具有生物学活性的中性粒细胞再通过释放氧自由基等多种物质，导致呼吸道发生病理性改变，造成气道及肺组织的大量组织损伤，从而促进 COPD 发生、发展^[2]。因此，COPD 与呼吸系统对毒性颗粒物及其他物质造成的长期炎症反应过度相关，肺的多个部分中出现炎性细胞聚集，进而炎性细胞释放出大量炎性物质，上述细胞和物质联合作用导致了肺部的慢性炎症，造成肺部反复损伤、修复，最终导致了肺部的结构改变^[3]。

炎性小体是指由多种蛋白形成的一个多蛋白复合体，NLRP3 炎性小体是目前研究的最透彻的一种，多种病原微生物及内源性危险信号均可被 NLRP3 感知而激活，后者可引起多种物质聚合，从而形成 NLRP3 炎性小体^[4]。在 NLRP3 炎症小体活化的经典通路中，NLRP3 炎性小体生成，接着把凋亡相关斑点样蛋白募集含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 1 前体（pro-cysteinyl aspartate specific proteinase-1, pro-caspase-1）剪切形成能够发挥生物学效应的含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 1（cysteinyl aspartate specific proteinase-1, caspase-1），后者继续剪切 pro-IL-1 β 和 pro-IL-18，生成成熟的 IL-1 β 及 IL-18 并被分泌到细胞外，最终起到其生物学作用造成对应的炎症反应^[5]。

本研究通过制造慢阻肺大鼠模型，研究使用 AC-YVAD-CMK 抑制剂阻断 NLRP3 炎性小体中 caspase-1 对呼吸道及血液中 IL-18、IL-1 β 和肺功能的影响，同时探讨 COPD 大鼠肺组织和血清 IL-18、IL-1 β 与肺功能的关系，以期为 COPD 的防治提供新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物

健康 1 月龄清洁级 wistar 大鼠 36 只，平均体重 100 g，由海南省动物实验中心提供。

1.1.2 主要试剂

IL-18 ELISA 试剂盒 (R&D 公司)、IL-1 β ELISA 试剂盒 (R&D 公司); 内毒素 (上海信裕生物公司); AC-YVAD-CMK (zzstandard 公司); 红梅牌香烟 (红塔集团)。

1.1.3 主要仪器与设备

强迫震荡式小动物肺功能检测仪 (SCIREQ); 酶标仪 (BIO-RAD); 烟熏染毒箱 (自制)。

1.2 实验方法

1.2.1 动物模型的制备及分组

采用随机数字表法将36只1月龄清洁级wistar大鼠随机等分成3组 (性别相同), 分别为空白组、COPD组、干预组。COPD组参考宋一平^[6]的方法制备模型。方法如下: 第1和第14天经气管滴入2000 μ L (质量浓度为1 μ g/ μ L) 内毒素, 后2~30 d (第14天除外), 将大鼠放入5%香烟烟雾中熏0.5 h/d。干预组在每次烟熏前, 均予腹腔注射AC-YVAD-CMK 10 mg/kg (质量浓度为1 mg/mL), 这是一种caspase-1的特异性抑制剂, 已被大量实验证实具有抑制caspase-1的作用^[7-8], 而COPD组和空白组在烟熏前腹腔注射等量的生理盐水。

1.2.2 肺功能检查

采用强迫震荡式小动物肺功能检测仪检测。将大鼠用2%戊巴比妥钠0.3 mL/100 g体重腹腔内麻醉后, 将其仰卧位固定于密闭体描箱内, 大鼠气管插管后气管导管另一端与动物呼吸机的皮管连接。大鼠呼吸时一个传感器受大鼠气管中压力变化, 另一个传感器感受体描箱内压力的变化并经过专业设备转化为电信号, 最后由计算机处理后得到肺功能的各项指标, 包括肺总量、肺顺应性和呼吸阻力。

1.2.3 标本制备

以2%戊巴比妥钠0.3 mL/100 g体重腹腔注射麻醉大鼠, 将其固定于仰卧位, 然后从腹主动脉抽取血液5 mL, 放入离心机3000 r/min离心10分钟后采集上清液尽早检测, 2~8 $^{\circ}$ C保存1 d, 需长期保持须置于冷冻 (-20 $^{\circ}$ C) 环境中, 同时避免反复冻融。在胸骨柄上方约5 mm处备皮并依次切开皮肤、皮下、肌层, 小心将气管剪开一斜向切口, 导入气管导管置气管隆突上10~15 mm处后用细线扎好, 使用5 mL重蒸水灌洗肺部, 反复冲洗3次, 并使其回抽重蒸水量在2 mL以上, 灌洗及回抽速度不宜过快或过慢, 保证于1~2 mL/min, 将最后回抽的支气管肺泡灌洗液 (BALF) 以1500 r/min离心10min, 使用移液器将其上清液转移至带有分组标记的EP管中待测。

1.2.4 酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测

采用双抗体两步夹心ELISA检测IL-18、IL-1 β 的水平。把待测样本、标准品加到酶标包被板孔内，温育并洗涤，后加入酶标工作液。温育后再次彻底洗涤，分别加入底物A、B，底物(TMB)在HRP催化下产物改变为蓝色，在酸的作用下又转为黄色。颜色的深浅随着待测样品中的待测物质含量增加而增加。用酶标仪在450 nm波长下检验OD值，最后通过电脑得出炎症因子浓度水平^[9]。

1.2.5 统计学处理

使用GraphPad Prism 6.0和SPSS 22.0统计软件进行数据处理。计量资料用平均值 \pm 标准差表示；正态分布的计量资料组间差异比较采用单因素方差分析；相关性分析采用Pearson分析法。所有检验均以 $P < 0.05$ 为显著。

2 结果与分析

2.1 3组大鼠基本情况比较

COPD组和干预组各有1只大鼠在造模时死亡。空白组大鼠营养状况良好，精神活跃，目光炯炯有神，皮毛洁白光泽，活动灵敏，反应迅速，呼吸平顺，无咳嗽、咳痰、呼吸困难等表现，未见异常鼻腔或口腔分泌物，未闻及哮鸣音；而另外两组存活大鼠在造模过程中逐渐出现营养不良，行动迟缓，精神萎靡，双目无神，反应迟钝，进食减少，皮毛枯槁发黄，触之易脱落，可见倒竖现象，口唇发绀，口角偶见分泌物流出，偶尔闻及哮鸣音。

空白组、COPD组、干预组大鼠造模结束后体重分别为(291.99 \pm 35.76) g、(302.80 \pm 48.95) g、(320.60 \pm 50.43) g，无显著差异 ($P > 0.05$)。

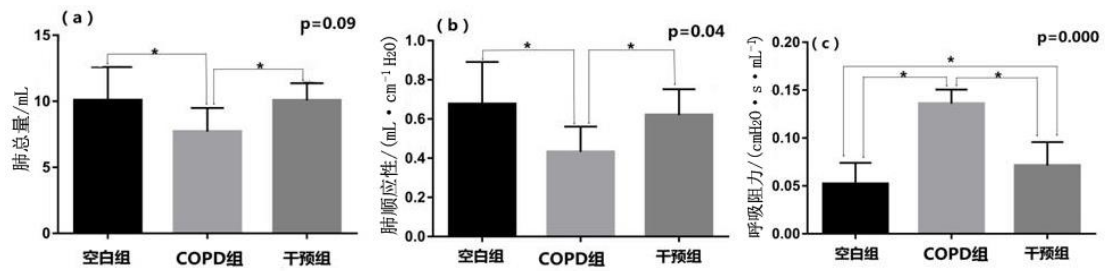
2.2 3组大鼠肺功能及IL-18、IL-1 β 水平的差异分析

2.2.1 肺功能

比较空白组与COPD组、干预组大鼠肺总量、肺顺应性、呼吸阻力的差异，结果发现(图1)：空白组与COPD组、干预组与COPD组的肺总量差异显著 ($P < 0.05$)；空白组、干预组的肺顺应性较COPD组明显降低 ($P < 0.05$)；3组大鼠的呼吸阻力差异显著 ($P < 0.05$)，大小顺序依次为COPD组、干预组、空白组；空白组与干预组的肺总量、肺顺应性之间无统计学差异 ($P > 0.05$)。

以上结果说明大鼠肺部受到烟熏及脂多糖毒性作用之后肺总量、肺顺应性降低，呼吸阻力升高，而使用AC-YVAD-CMK抑制剂后大鼠的呼吸阻力有所降低，说明抑制NLRP3炎

性小体中 caspase-1 活化可以在一定程度上改善 COPD 大鼠呼吸系统受到有害物质毒性作用之后的肺功能水平。



(a) 肺总量； (b) 肺顺应性； (c) 呼吸阻力。

图 1 3 组大鼠肺功能差异比较

Fig.1 Comparison of lung function of 3 groups

2.2.2 血清中炎性因子水平

比较 3 组大鼠血清中的炎性因子水平差异，结果发现（图 2）：空白组 IL-18 水平低于干预组、COPD 组 ($P < 0.05$)，而 COPD 组和干预组 IL-18 水平差异不显著 ($P > 0.05$)；COPD 组 IL-1 β 水平显著升高 ($P < 0.05$)，而空白组和干预组 IL-1 β 水平之间无统计学差异 ($P > 0.05$)。

由上述结果可知，大鼠经过烟熏和气管注射脂多糖之后，炎性因子 IL-1 β 和 IL-18 被成熟、活化并分泌至血清中，说明慢阻肺组大鼠全身的炎症反应呈现出增高状态，这与通常的认知“COPD 的核心是炎症”是一致的；同时，在使用 AC-YVAD-CMK 抑制 NLRP3 炎性小体中的 caspase-1 后，大鼠血清中 IL-1 β 明显较 COPD 组降低，表明抑制 NLRP3 中的 caspase-1 后下游的 IL-1 β 无法被活化，进而改善慢阻肺大鼠全身的炎症反应。

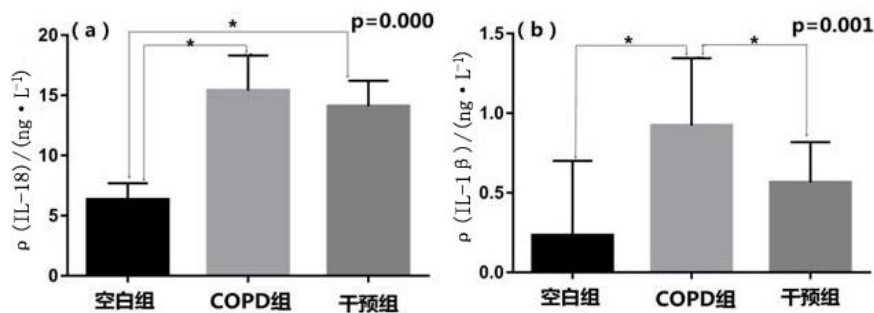


图 2 3 组大鼠血清 IL-18 (a) 及 IL-1 β (b) 水平比较

Fig.2 Comparison of IL-18 (a) and IL-1 β (b) levels in serum of 3 groups

2.2.3 BALF 中炎症因子水平

对比 3 组大鼠 BALF 的炎症因子差异, 结果发现 (图 3): 在 COPD 组 IL-18 水平较干预组、空白组升高 ($P < 0.05$), 而空白组和干预组的 IL-18 水平差异不显著 ($P > 0.05$); 3 组大鼠 BALF IL-1 β 大小依次为慢阻肺组、干预组及空白组, 差异均具有显著性 ($P < 0.05$)。

BALF 能够反映 COPD 大鼠肺部的损伤, 而 IL-18 和 IL-1 β 作为由 NLRP3 炎性小体调控的炎症因子, 能在一定程度上反映大鼠呼吸系统的炎症反应, 尤其是反映阻断 NLRP3 炎性小体中 caspase-1 后大鼠肺部的炎症作用。以上结果证明 COPD 大鼠肺部的炎症反应较重; 同时, 在使用 AC-YVAD-CMK 抑制 NLRP3 炎性小体中 caspase-1 后, 干预组大鼠 BALF 中 IL-18 和 IL-1 β 水平较 COPD 组降低, 说明抑制 NLRP3 中的 caspase-1 可以减轻 COPD 大鼠肺部的炎症, 进一步说明香烟、细颗粒物等有害物质是通过激活 NLRP3 炎性小体中的 caspase-1 而增强肺部的炎症, 甚至有可能最终导致了 COPD 的发生。

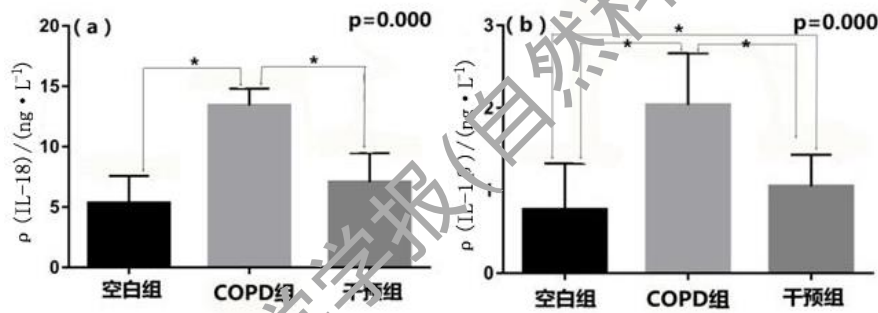


图 3 3 组大鼠 BALF 中 IL-18 (a) 及 IL-1 β (b) 水平比较

Fig.3 Comparison of IL-18 (a) and IL-1 β (b) levels in BALF of 3 groups

2.3 3组大鼠肺功能指标与炎症因子之间相关性分析

采用 Pearson 相关分析大鼠肺功能指标与炎症因子之间的相关性, 结果显示 (表 1): 肺总量与 BALF IL-18 水平呈显著负相关 ($P < 0.05$), 而与 BALF IL-1 β 、血清 IL-18、血清 IL-1 β 无显著相关性 ($P > 0.05$); 肺顺应性与 BALF IL-18、血清 IL-1 β 、血清 IL-18 呈显著负相关 ($P < 0.05$), 而与 BALF IL-1 β 无显著相关性 ($P > 0.05$); 呼吸阻力与 BALF IL-18、BALF IL-1 β 、血清 IL-18、血清 IL-1 β 均呈显著正相关 ($P < 0.05$)。采用偏相关分析去除混杂因素后, 结果发现 (表 2): BALF IL-18 与呼吸阻力仍呈极强的显著正相关 ($r > 0.8$, $P < 0.05$), 而其余指标与炎症因子之间均无显著相关性 ($P > 0.05$)。上述结果表明大鼠呼吸阻力与 BALF IL-18 呈显著正相关, 提示 IL-18 能用来了解 COPD 的病变进展情况。

表 1 大鼠肺功能指标与炎症因子之间的相关性

Tab. 1 Correlation between lung function levels and inflammatory factors in rats

	肺总量	肺顺应性	呼吸阻力
BALF IL-18	-0.546*	-0.587*	0.981*
BALF IL-1 β	-1.600	-0.222	0.572*
血清 IL-18	-0.330	-0.389*	0.602*
血清 IL-1 β	-0.321	-0.406*	0.476*

注: * $P < 0.05$, 下同。

表 2 去除混杂因素后大鼠肺功能指标与各炎症因子之间的相关性

Tab. 2 The correlation between lung function levels and inflammatory factors of rats after removing confounders

	肺总量	肺顺应性	呼吸阻力
BALF IL-18	-0.480	-0.208	0.957*
BALF IL-1 β	0.120	0.085	-0.104
血清 IL-18	0.020	-0.092	0.188
血清 IL-1 β	0.042	-0.188	0.089

3 讨论

香烟烟雾吸入是目前公认的导致 COPD 发生的高危因素。香烟燃烧产生的有毒烟雾最终诱导气管局部及全身炎症反应, 因此炎症反应是 COPD 重要的分子学机制, 多数学者支持炎症对 COPD 具有影响的理论, 认为最终可通过减少体内的炎症水平而达到减少 COPD 发生的目的, 但是炎症的来源以及存在的原因却一直未明。

NLRP3 炎症小体是目前研究较为深入的一种炎症小体, 当受到某些损伤或刺激后会发自身寡聚化和信号传导, 进而引起效应蛋白 caspase-1 活化, 而后引起促炎性细胞因子 IL-1 β 、IL-18 的成熟和释放^[11], 对炎症小体一定的干预可以有效调控促炎性细胞因子的成熟和释放^[12]。由于 caspase-1 蛋白是 NLRP3 炎症小体中最重要的蛋白之一, 并且 caspase-1 蛋白是一个关键的促炎性细胞因子调节因子, 在机体受到各种应激刺激后起到重要的调节作用。我们的研究结果显示, IL-1 β 、IL-18 在 COPD 大鼠肺组织和血液中分泌增加, 而 caspase-1 抑制剂 AC-YVAD-CMK 可以缓解 IL-1 β 、IL-18 分泌的程度, 对 COPD 的炎症反应产生了一定的保护作用。其作用机制可能是 AC-YVAD-CMK 通过抑制 caspase-1, 使其加工 pro-IL-1 β 、

pro-IL-18 产生成熟 IL-1 β 、IL-18 的能力减弱，从而减少 IL-1 β 、IL-18 的产生，缓解了呼吸系统炎症反应，进而减少了 COPD 大鼠肺功能的下降。

IL-18 是一种由巨噬细胞分泌的具有促炎作用的细胞因子，在对病原体天然免疫的防御中起到了重要的作用。通过粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子的介导，中性粒细胞能够被 IL-18 诱导以聚集至气管、支气管及肺组织，具有生物学活性的中性粒细胞产生氧自由基和水解酶，后者引起呼吸系统被破坏，最后导致 COPD 形成^[13]。IL-18 可以分泌并释放包括嗜酸性粒细胞趋化因子在内的一系列细胞因子，招募嗜酸性粒细胞等炎症细胞或炎症因子聚集至慢阻肺患者的气道中，不停加剧支气管和肺内的炎症作用，推动 COPD 的不断进展^[14]。这与临床中我们建议对嗜酸性粒细胞计数增多的病人使用吸入性类固醇激素的做法相一致。烟草燃烧是我国 COPD 的主要病因，同时也是 IL-18 升高的独立因素^[15]。IL-1 β 大部分是由白细胞，特别是单核巨噬细胞产生的炎性细胞因子，参与机体的炎症反应、免疫应答过程。IL-1 β 能够与辅助受体作用形成 IL-1 β /IL-1RI / IL-1RAcP 的复杂化合物，引起一系列炎性物质的产生^[16]。IL-1 β 还可以激活巨噬细胞等炎性细胞并释放炎性物质，在呼吸系统中能够造成呼吸系统炎性反应，该炎性反应以巨噬细胞、中性粒细胞聚集为特点，吸烟是主要的外界危险因素，但并非每一个有吸烟习惯的人均发展为慢阻肺。在对一些患者亲属以及孪生个体的研究中表明此病与遗传有关，可能原因是由于吸烟可以导致慢阻肺患者血清 IL-1 β 生成过多^[17]，而 IL-1 β 信号通路参与刺激诱导了杯状细胞的化生/增生，杯状细胞化生和黏液产生过多是 COPD 患者呼吸系统炎症经久不愈的关键组织学异常，同时 IL-1 β 还能与其他炎性物质相互诱导、共同作用，募集并激活中性粒细胞、巨噬细胞等大量炎性细胞^[18]。上述炎性细胞和炎性物质共同作用，导致肺组织重构，在 COPD 的形成中扮演重要角色。

本研究发现 COPD 大鼠血清及 BALF IL-18 高于健康大鼠，在给予 AC-YVAD-CMK 抑制 caspase-1 后 COPD 大鼠的血清 IL-18 未见明显降低，仍高于健康大鼠，但 BALF 中 IL-18 明显下降，提示了大鼠经过烟熏和气管注射脂多糖之后可能激活了 NLRP3 炎性体，导致下游的炎症因子 IL-18 成熟、活化，说明慢阻肺组大鼠不论是呼吸道还是全身的炎症反应均呈现出增高状态，这一结果与 Adelheid Kratzer 等^[19]研究结果一致。而使用 AC-YVAD-CMK 后大鼠 BALF IL-18 明显较慢阻肺组降低，表明抑制 NLRP3-caspas1-IL1 β -IL-1R 轴后肺组织中的 IL-18 无法被活化，COPD 大鼠的炎性作用显著下降；同时 COPD 组大鼠血清和 BALF 内 IL-1 β 高于空白组，给予 AC-YVAD-CMK 抑制 caspase-1 后 COPD 大鼠 BALF 中 IL-1 β 明显降低，但仍高于健康大鼠。由此看出 AC-YVAD-CMK 可下调 COPD 大鼠肺组织中的 IL-1 β

分泌水平,说明抑制 NLRP3 炎性小体能减轻 COPD 大鼠呼吸系统和全身炎症反应,对 COPD 起到一定的缓解作用。

此外,本研究采用 Pearson 相关分析还发现支气管肺泡灌洗液 IL-18 与大鼠呼吸阻力呈显著极强的正相关,而其余炎症因子与大鼠呼吸阻力无明显相关性。因此 IL-18 能够用来了解 COPD 病变进展情况。由此,我们推测 BALF 中高浓度的 IL-18 水平可能会引起 COPD 病人相关的病理学以及病理生理学改变,导致肺功能损害,提示 IL-18 在 COPD 气流受限过程中发挥了一定作用,因此减少 NLRP3 炎性小体中 caspase-1 的活化,能够抑制 IL-18 的病理作用,从而缓解 COPD 病人的临床症状。香烟烟雾及内毒素可能通过活化 NLRP3 炎症小体而造成呼吸道及机体的炎症应答及肺功能改变,在 COPD 病人的治疗方面,NLRP3 炎症小体的拮抗剂可能是一种新的选择。

综上所述,本研究通过构建大鼠 COPD 模型,采用强迫震荡式小动物肺功能检测仪、ELISA 等方法对 COPD 大鼠的肺功能及其体内 IL-18、IL-1 β 进行了探究,发现给予 AC-YVAD-CMK 后 COPD 大鼠肺功能相关指标及 IL-18、IL-1 β 有所好转,推测 NLRP3 炎症小体或许可以作为抑制 COPD 的位点,有望为临床评估及缓解 COPD 提供参考信息。

参考文献:

- [1] 蔡柏蔷,李龙芸.协和呼吸病学[M].第二版.北京:中国协和医科大学出版社,2011:1077-1077.
- [2] Barnes P J, Shapiro S D, Pauwels R A. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms[J]. European Respiratory Journal, 2003, 14(2):672-688.
- [3] BARNES P J, SHAPIRO S D, PAUWELS R A. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms[J]. European Respiratory Journal, 2003, 14(2):672-688.
- [4] Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta.[J]. Molecular Cell, 2002, 10(2):417-426.
- [5] Elliott E I, Sutterwala F S. Initiation and perpetuation of NLRP3 inflammasome activation and assembly.[J]. Immunological Reviews, 2015, 265(1):35-52.
- [6] 宋一平,崔德健,茅培英,等.慢性阻塞性肺疾病大鼠模型的建立及药物干预的影响[J].中华内科杂志, 2000, 39(8): 556—557
- [7] Sozen T, Tsuchiyama R, Hasegawa Y, et al. Role of Interleukin-1 β in Early Brain Injury After Subarachnoid Hemorrhage in Mice[J]. Stroke; a journal of cerebral circulation, 2009, 40(7):2519.
- [8] 刘莹,董文鹏,陈长富,等. Caspase-1 抑制剂在野百合碱诱导的肺动脉高压大鼠中的作用[J]. 广东医学, 2017, 38(23):3566-3570.
- [9] 刘一鹏. 抑制 NLRP3 炎性小体对 COPD 大鼠 IL-18、IL-1 β 及肺功能的影响[D]. 中南大学, 2018.
- [10] Muneshwarao J, Verma A K, Hassali Ahmad M A. Global initiative for chronic obstructive lung disease (GOLD) 2018 report: Highlighting an incorrect information.[J]. Pulmonary Pharmacology & Therapeutics, 2017, 49.

-
- [11] Haasken S, Sutterwala F S. Damage control: Management of cellular stress by the NLRP3 inflammasome[J]. *European Journal of Immunology*, 2013, 43(8):2003-2005.
- [12] Dinarello CA, Simon A, van JW. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2012, 11 (8) : 633-652.
- [13] FURUTATE R, ISHII T, MOTEGI T, et al. The Neutrophil to Lymphocyte Ratio Is Related to Disease Severity and Exacerbation in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease.[J]. *Internal Medicine*, 2016, 55(3):223.
- [14] Kitasato Y, Hoshino T, Okamoto M, et al. Enhanced expression of interleukin-18 and its receptor in idiopathic pulmonary fibrosis.[J]. *American Journal of Respiratory Cell & Molecular Biology*, 2004, 31(6):619-25.
- [15] ROVINA N, DIMA E, GERASSIMOU C, et al. Interleukin-1 in induced sputum: Association with lung function chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* 2009, 1: 1-7.
- [16] De D N, De C N, Latz E. New insights into mechanisms controlling the NLRP3 inflammasome and its role in lung disease.[J]. *American Journal of Pathology*, 2014, 184(1):42-54.
- [17] SATOH T, OTSUKA A, CONTASSOT E, et al. The inflammasome and IL-1 β : implications for the treatment of inflammatory diseases.[J]. *Immunotherapy*, 2015, 7(3):243-54.
- [18] Satoh T, Otsuka A, Contassot E, et al. The inflammasome and IL-1 β : implications for the treatment of inflammatory diseases.[J]. *Immunotherapy*, 2015, 7(3):243-54.
- [19] ADELHEID K, JONAS S, CLAUDIA N, et al. Role of IL-18 in Second-Hand Smoke-Induced Emphysema[J]. *American Journal of Respiratory Cell & Molecular Biology*, 2013, 48(6):725-732.

Influence of inhibiting caspase-1 in NLRP3 on lung function and inflammatory cytokines secretion in chronic obstructive pulmonary disease rats

LIU Yipeng, GU Zongxing*, CHEN Zhongren, WANG Lei, SHEN Bin,

LIANG Haimei

(Department of Respiratory Medicine, Central South University Xiangya School of Medicine

Affiliated Haikou Hospital, Haikou 570208, China)

Abstract: To investigate the pathogenesis of leucine-binding oligomerization domain-like receptors family pyrin domain containing 3(NLRP3) inflammasome of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) as well as to explore the relationship between the secretion of IL-18、IL-1 β in COPD rats and lung function ,we randomize 36 wistar rats into three groups: control

group (n=12), COPD group (n=12) and intervention group (n=12), and built the COPD rat models ,intervention group were given AC - YVAD - CMK at the same time in building. Respiratory resistance (Rrs), total lung capacity (TLC),lung compliance (Crs) and IL-1 β ,IL-18 were determined after building .Results: 1.The TLC 、 Crs of COPD group are lower than intervention group and control group ,and in order of the levels of Rrs of the three groups are COPD group, intervention group and control group($P<0.05$).2. IL-1 β in serum of rats in COPD group were higher than in the control group and intervention group, and the serum IL -18 level in the COPD group and intervention group was higher than that in the control group($P<0.05$). 3. The IL-18 in BALF of COPD group was higher than that in the intervention group and the control group .The level of BALF IL-1 β in the three groups was successively the COPD group, the intervention group and the control group, all of which were significant ($P<0.05$).4.Rrs is significantly negatively related to the level of BALF IL-18.Conclusions:1.The TLC, Crs, Rrs were deteriorated of COPD model rats, but IL-18, IL-1 β were increased. The hypersecretion of BLAF IL-18 in rats results in the increase of respiratory resistance. It was suggested that IL-18 was involved in the inflammatory response in COPD.2. The TLC, Crs, Rrs may be improved and IL-18,IL-1 β may be decreased in COPD rats by inhibitor of caspase-1 in NLRP3 inflammatory cytokines. It was suggested that NLRP3 was involved in the pathogenesis of COPD rats.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease; NLRP3; IL-18;IL-1 β ; lung function