

活血通督汤抑制脊髓损伤后炎症反应的实验研究

汪今朝¹ 张俐^{1△}

[摘要] 目的:观察活血通督汤对大鼠脊髓损伤后 NLRP3、IL-1 β 及 IL-18 表达的影响,探讨该方对脊髓损伤后炎症的作用及其机制。方法:将 24 只成年 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、活血通督汤组(各 8 只)。假手术组行椎板切除术(不损伤脊髓),模型组和活血通督汤组采用 NYU 脊髓损伤打击器复制脊髓损伤模型。造模成功后,假手术组和模型组给予生理盐水灌胃,活血通督汤组给予活血通督汤灌胃,给药剂量为 12.6 mL/(kg·d),术后第 3 天取材。采用免疫组化法检测 NLRP3 炎症体的表达,尼氏染色法观察神经细胞形态,ELISA 法检测炎症因子 IL-1 β 和 IL-18 的表达。结果:尼氏染色显示活血通督汤组大鼠神经细胞的形态结构优于模型组。免疫组化法显示:与假手术组比较,模型组 NLRP3 炎症体表达较高,差异有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,活血通督汤组 NLRP3 表达减少,差异有统计学意义($P<0.05$)。ELISA 法检测结果显示模型组血清中 IL-1 β 和 IL-18 表达较假手术组高,差异有统计学意义($P<0.05$);活血通督汤组 IL-1 β 和 IL-18 低于模型组。结论:活血通督汤能抑制脊髓损伤后炎症反应,其机制可能与其抑制 NLRP3 的表达有关。

[关键词] 脊髓损伤;活血通督汤;炎症体

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2019)07-0001-05

Effects and Mechanism of Huoxue Tongdu Decoction on Rat after Spinal Cord Injury

WANG Jinzhao¹ ZHANG Li^{1△}

¹Xiamen Medical College, Xiamen 361023, Fujian China.

Abstract Objective: To observe the effect of Huoxue Tongdu decoction on the expression of NLRP3, IL-1 β , IL-18 after spinal cord injury in rats, and to explore the mechanism of Huoxue Tongdu decoction on inflammation after spinal cord injury. **Methods:** 24 adult SD rats were randomly divided into sham operation group, model group, Huoxue Tongdu decoction group ($n=8$). After the success of the model, the sham operation group and the model group were given normal saline every day. Huoxue Tongdu decoction group was given Huoxue Tongdu decoction. After 3 d, tissues were gathered for Nissl's staining, NLRP3 were detected by immunohistochemical staining while IL-1 β , IL-18 were detected by ELISA. **Results:** Nissl's staining showed that the structure and morphology of neurons in the Huoxue Tongdu decoction group was better than that of model group with the improvement of the neuronal damage condition. Compared to sham group, there were more NLRP3 expression in the model group ($P<0.05$), and the expression of NLRP3 in Huoxue Tongdu decoction was less than that of model group ($P<0.05$). Compared to sham group, there were more IL-1 β , IL-18 expression in the model group ($P<0.05$), and the expression of IL-1 β , IL-18 in Huoxue Tongdu decoction was less than that of model group ($P<0.05$). **Conclusion:** Huoxue Tongdu decoction can inhibit inflammation and promote rehabilitation and repairment of neuron after acute spinal cord injury with a mechanism that Huoxue Tongdu decoction can inhibit the expression of NLRP3.

Keywords: spinal cord injury; Huoxue Tongdu decoction; inflammasomes

脊髓损伤(Spinal Cord Injury, SCI)是一种严重的

神经系统疾病,患者多伴有损伤段以下感觉和运动功能的减退或消失^[1,2]。SCI 后大量炎症因子聚集将严重破坏神经细胞及其周围组织,造成神经系统功能失调,最终瘫痪。

活血通督汤常用于治疗脊柱源性疼痛^[4,5]。研究证实^[6-10]活血通督汤能抑制 SCI 后的炎症反应,促进

基金项目:福建省百千万领军人才项目[闽委人才 2014(14)号]

福建省厦门市双百计划[厦委人才办 2018(1)号]

¹ 厦门医学院(福建 厦门, 361023)

[△]通信作者 E-mail: zhangli626@163.com

受损神经元的恢复,但其抑制炎症的作用机制尚不明确。本研究观察活血通督汤对 SCI 后 NLRP3, IL-1 β 及 IL-18 表达的影响,探讨其抑制炎症的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

24 只 2 个月龄健康雌性 SPF 级 SD 大鼠,体质量 (220 \pm 20)g,由上海斯莱克实验动物责任有限公司提供,实验动物许可证号为 SCXK(沪)2014-0006,于福建中医药大学实验动物中心饲养。

1.2 药品、试剂

活血通督汤由黄芪、地龙、泽兰叶、牛膝、川芎、赤芍、白芍组成,购于福建中医药大学附属第三人民医院中药科,并于该院药剂科加工成 1 g/mL 的汤药(即每 1 mL 汤药含有生药 1 g),无菌密封后置于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用;兔抗鼠 NLRP3 抗体(Proteintech);免疫组化试剂盒(博士德);ELISA 试剂盒(博士德);尼氏染色试剂盒(索莱宝)。

1.3 仪器

脊髓打击器、4000B/DFC425C 显微镜、Image-lab 图像分析系统、Image-Pro 图像分析系统、石蜡包埋机、酶标仪

1.4 方法

1.4.1 SCI 模型制备 采用脊髓打击器复制脊髓损伤模型^[11,12]。大鼠麻醉成功后,脱 T₉~T₁₁ 区域毛,取俯卧位固定脊柱,于 T₉~T₁₁ 区域沿脊柱棘突作一长约 2.5 cm 纵行切口,充分暴露手术区域白色脊髓组织。将大鼠置于脊髓打击器固定台上,调整打击杆,朝着暴露的脊髓正中,调整打击杆高度为 12.5 mm,松开打击杆,使其自由下落直击脊髓,此时出现大鼠后肢回缩,尾部摆动,头部肌肉收缩,术后大鼠肢体瘫痪,提示造模成功。术后大鼠单笼分开饲养,人工按摩大鼠腹部,每日早晚各 2 次以助大鼠排尿排便。术后每日注射青霉素 4 \times 10⁴ U/只,连续 3 d,预防感染。

1.4.2 分组 将 24 只 SD 大鼠采用随机数表法随机分为假手术组、模型组和活血通督汤组,每组各 8 只。其中假手术组行椎板切除术(不损伤脊髓),其余两组使用脊髓打击器击打脊髓从而建立 SCI 模型。

1.4.3 药物干预 术后第 1 天开始,活血通督汤组大鼠给予活血通督汤灌胃,2 次/d,灌胃剂量为 12.6 mL/(kg \cdot d)^[13];模型组和假手术组大鼠给予等量生理盐水灌服,2 次/d。三组大鼠连续灌胃 3 d。

1.4.4 取材与标本制备 灌胃 3 d 后取材,大鼠麻醉后,剪开大鼠腹腔,行腹主动脉取血后用止血钳夹闭主动脉,自心尖处剪以小缺口后进针,用生理盐水对心脏快速冲洗后 4% 的多聚甲醛灌注固定,取 T₉~T₁₁ 段长约 2~3 cm 脊髓段,置入 4% 多聚甲醛中固定,48 h 后常

规梯度脱水、二甲苯透明、浸蜡、石蜡包埋后制成厚度 4 μ m 的石蜡切片,用于尼氏染色以及免疫组化检测。

1.5 指标检测

1.5.1 ELISA 实验 取腹主动脉血后离心,取上清液,采用 ELISA 试剂盒进行实验,每孔上样 100 μ L 后于 37 $^{\circ}$ C 温箱中反应 40 min,洗板,每孔滴加一抗 100 μ L,37 $^{\circ}$ C 温箱中反应 20 min 后洗板,加入酶标抗体工作液反应 10 min 后洗板,加入底物工作液避光反应 10 min 后加入终止液,使用酶标仪检测,设置波长为 450 nm,检测各孔吸光度值,根据标准曲线计算出各孔的炎症因子表达量。

1.5.2 尼氏染色 将厚度 4 μ m 的石蜡切片常规脱蜡后放入尼氏染色液中,置于 60 $^{\circ}$ C 温箱中浸染 50 min,蒸馏水迅速冲洗 3 遍,再用分色液分色 1~2 min,室温晾干后,中性树脂胶封片,镜下观察,采集图片。

1.5.3 免疫组化 采用免疫组化试剂盒进行染色,步骤如下:组织切片脱蜡后,采用枸橼酸钠抗原修复,室温冷却;PBS 漂洗 3 次,每次 5 min;加入过氧化物酶阻断剂室温下孵育,PBS 漂洗;加入封闭液孵育 1 h,不洗,滴加一抗,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;次日复温后 PBS 漂洗,加入二抗室温孵育,加入链霉菌抗生物素-过氧化物酶溶液,室温孵育,PBS 漂洗后滴加 DAB 显色液,苏木素复染后置于 PBS 中返蓝,梯度酒精脱水干燥,二甲苯透明,中性树脂透明封片。光学显微镜下观察。

1.6 统计学方法

用 SPSS 20.0 统计软件对所得实验数据进行统计学分析,实验数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,符合正态分布用 t 检验或单因素方差分析,非正态分布资料用秩和检验。 $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 活血通督汤对 SCI 后神经元结构的影响

假手术组神经元结构完整、形态规则,呈饱满的梭形状,胞质内可见清晰的虎斑样尼氏体,尼氏体饱满,细胞核明显;模型组神经细胞损伤严重,局部可见瘀血斑块,细胞水肿或碎裂,无细胞核,尼氏体萎缩或较小,神经细胞周围可见空泡样变,活血通督汤组神经细胞形态有所改善,瘀血面积较小,尼氏体较饱满,神经细胞周围空泡样改变较少,细胞水肿减轻(见图 1,上方红色箭头所指为瘀血,下方红色箭头所指为神经元形态)。

2.2 活血通督汤对 SCI 后 NLRP3 定位表达的影响

免疫组化发现 NLRP3 阳性表达呈深灰褐色,主要在细胞胞浆中表达。假手术组只见少量 NLRP3 表达,模型组 NLRP3 在胞浆中大量弥散性较高,活血通督汤组 NLRP3 表达较模型组少,差异有统计学意义 ($P<0.05$),见图 2 及表 1。

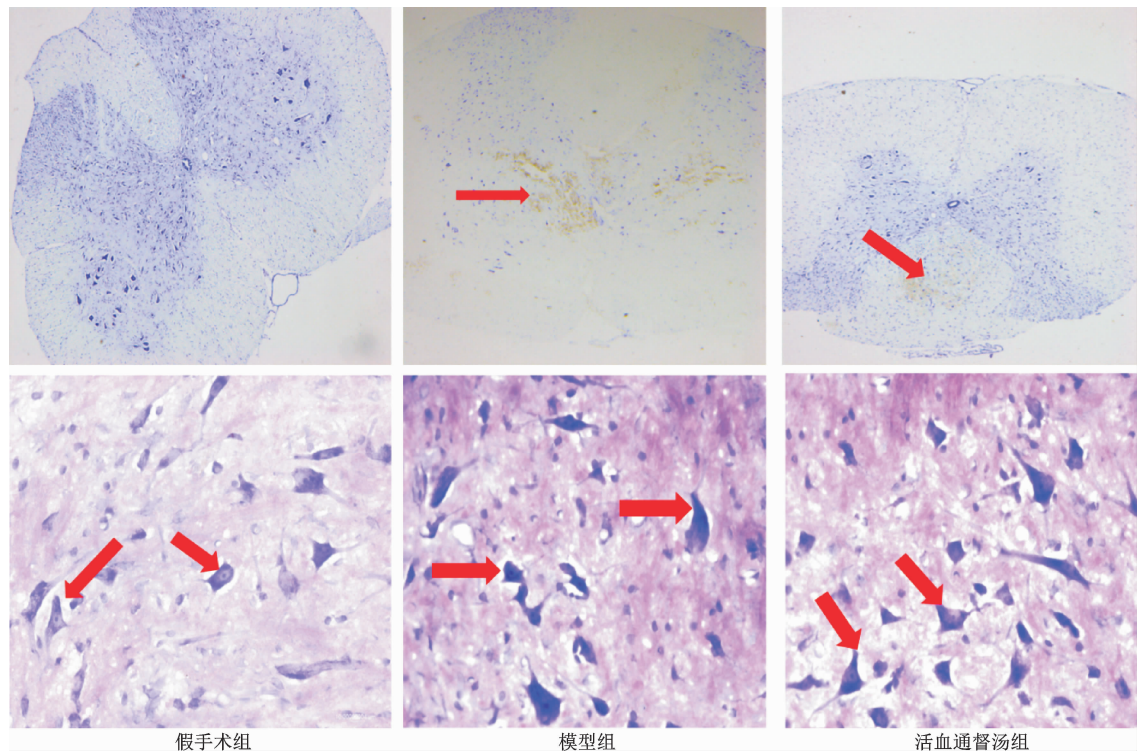


图 1 三组尼氏染色,神经细胞形态结构(上 50×,下 400×)

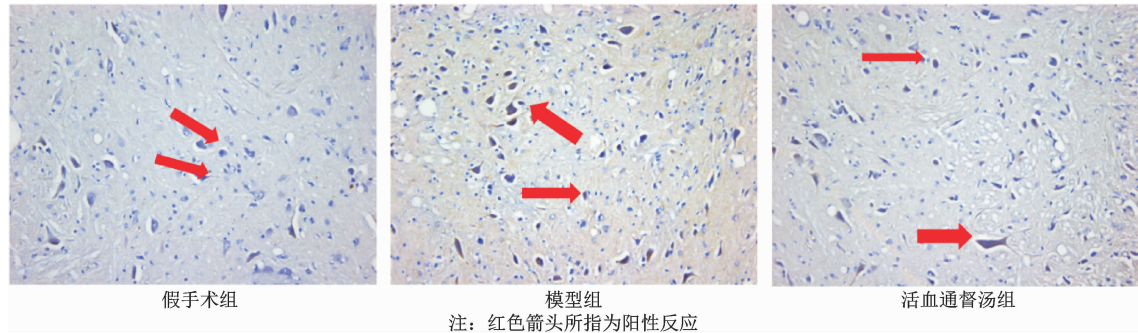


图 2 三组 NLRP3 免疫组化结果(红色箭头所指为阳性反应,400×)

表 1 NLRP3 表达平均光密度值($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	NLRP3
假手术组	8	0.22±0.01
模型组	8	0.58±0.01 ¹⁾
活血通督汤组	8	0.41±0.01 ²⁾
<i>F</i>		1 470.941
<i>P</i>		<0.001

注:1)与假手术组比较, $P<0.05$;2)与模型组比较, $P<0.05$.

2.3 活血通督汤对 IL-1 β 和 IL-18 定位表达的影响

活血通督汤对 IL-1 β 和 IL-18 定位表达的影响见表 2.

表 2 各组炎症因子表达水平($\bar{x} \pm s$,pg/mL)

组别	<i>n</i>	IL-1 β	IL-18
假手术组	8	3.04±0.09	7.43±0.05
模型组	8	28.12±0.52 ¹⁾	29.42±0.66 ¹⁾
活血通督汤组	8	15.99±0.13 ²⁾	22.46±1.15 ²⁾
<i>F</i>		12 566.143	1 726.838
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:1)与 Sham 组比较, $P<0.05$;2)与模型组比较, $P<0.05$.

3 讨论

SCI 发生后局部的病理变化十分复杂,出现局部炎症、组织缺血水肿、血管痉挛、细胞自噬大量病理产物堆积、代谢紊乱、各种离子失衡以及氨基酸毒性反应等一系列复杂的级联反应。这些复杂级联反应侵害神经细胞,使其脱髓鞘,细胞膜裂解,形成胶质瘢痕阻断轴突的生长,最终使神经功能受到不可逆性损害^[14]。目前认为^[15]ASCI 后神经功能的修复需要克服以下几种困难:1)轴突破坏后如何使其再生甚至延长;2)如何消除胶质瘢痕对轴突的阻断作用;3)如何控制重建的轴突向目标区域转移或者加强与目标区域的联系;4)如何加强突触之间信号传导最终恢复正常的功能。在 SCI 后的一些列级联病理反应中,炎症反应首当其冲,它会对机体产生极为不利的影响,例如进一步破坏损伤处的神经元、血管、组织,使得神经细胞发生坏死、凋亡,轴突继而脱髓鞘,周围组织出现水肿,进而加重了脊髓的损伤,且这些炎症因子被释放后会大量聚集于损伤处,并迅速到达其巅峰后继续维持至伤后 72 h,对机体造成巨大的损害^[16-18]。因此,假如任由这些炎

症因子释放,其结果势必会对机体组织造成不可挽回的损伤,终将使神经系统难以修复。

炎症体是一种存在于细胞胞浆中的多蛋白复合体,是机体多种促炎因子加工成熟的场所,能激活炎症因子介导的固有免疫反应,在机体的固有免疫应答防护中有重要的作用^[19,20]。人类所患各种炎症性疾病与异常的炎症体活化紧密相关^[21],机体内参与免疫应答的炎症体有许多,而 NLRs 炎症体家族却是其主要的组成成员,在机体炎症反应信号识别、过滤、加工中扮演有重要角色。在 NLRs 炎症体家族当中,NLRP3(也可称为 NALP3)炎症体是存在最多、研究最为广泛的炎症体。其构成主要有 NLRP3 支架蛋白,ASC 接头蛋白(包含 PYD,CARD 结构)以及末端的 Caspase-1 蛋白组成,其中 NLRP3 支架蛋白构造也较为复杂,蛋白结构包括 NACHT 结构域(负责捕捉结合核苷酸及蛋白质寡聚化)、LRR 结构域(炎症体受到刺激后,能够控制自动抑制免疫反应)以及许多不同的末端氨基结构域(用以区别辨析不同种类的 NLRs 家族成员)。NLRP3 炎症体被刺激后,NACHT 结构域发生寡聚化从而诱导自身 PYD 结构功能区发生聚合形成六聚体的高分子复合物,使来源相同的 PYD 功能区与 ASC 蛋白之间相互作用^[22]。ASC 是与凋亡相关的点状蛋白,是炎症体结构中的主体接头蛋白,其氨基末端存在 PYD 结构域,其羧基末端存在 CARD 结构域,这些结构域有募集作用,在炎症体的活性反应中,这些结构域能募集其它类似拥有 PYD 结构域和 CARD 结构域的接头蛋白,同时 ASC 接头蛋白也能通过自身同类型蛋白 CARD 与 PYD 功能区间的相互作用从而在 NLRP3 炎症体的激活反应中发挥重要的作用^[23]。最新研究显示,异常的炎症体活化能对机体造成毒性反应,而炎症体相关基因缺失却能对组织起到保护作用。

研究表明炎症体在机体内的激活途径有 3 种,第一种途径:胞外聚集的 ATP 刺激膜上的 P2X7 受体,此受体作为监控 ATP 离子通道被激活后,胞内钾离子大量外排,胞膜上形成 Pannexin-1 膜孔^[23,24],膜孔打开后,NLRP3 炎症体激活剂能直接从其中穿过,进而进入细胞质中,激活胞质内的 NLRP3 炎症体。第二种途径:胞外的白矾、二氧化硅、 β 淀粉样蛋白等许多结晶颗粒被 MG 吞噬后致使 MG 自身溶酶体受损,此时 MG 会代偿分泌溶酶体组成物质,而这些由 MG 释放的溶酶体组成物质却能激活 NLRP3 炎症体,从而充当自身激活剂^[25,26]。其中有一种特殊的溶酶体蛋白酶-组织蛋白酶 B 因其自身具有炎症体 NLRP3 的功能而被研究者特别研究^[27,28]。第三种途径:所有存在于细胞内外能产生 ROS 的物质均能激活 NLRP3 炎症体,从而充当 NLRP3 炎症体的激活剂^[29]。然而,无论通过何种途径激活的 NLRP3,均可使 NLRP3 的支架蛋白与炎症体末端 Pro-caspase-1 之间的连接蛋

白 ASC 接头蛋白通过自身结构域募集下游同源 Pro-caspase-1 上的结构域,并通过两者间相互作用致使未活化的 Pro-caspase-1 发生改变,成为分子量大小分别为 10 kDa 以及 20 kDa 的两个亚单位 α 和 β ,再由 α 和 β 自身进行组装成为四聚体 $\alpha_2\beta_2$,即有活性的 Caspase-1(p20),从细胞质内被运转到细胞膜内表面,与底物发生接触结合后通过特异性的天冬氨酸酶进行酶切作用,从而发挥其生物学效应^[30],使游离的 IL-1 β 和 IL-18 从非活性的前体蛋白转活化为成熟的促炎性因子 IL-1 β 及 IL-18,并以此活化成熟的方式分泌到胞外^[31,32],由此介导体内炎症的发生。

大量研究表明,中医药在治疗 SCI 上有其独特的经验和优势。活血通督汤组方由黄芪、地龙、泽兰叶、赤芍、白芍、川芎、牛膝七味中药组成。该方取黄芪行气活血之功为君药;取地龙通络之功为臣药;泽兰叶破血通经,赤芍化瘀止痛,白芍补血柔肝,川芎活血行气、止痛,此四位药为佐药;牛膝入肝肾经,引血下行为使药。此七味药环环相扣,体现张氏用药精髓,诸药合用,共奏“益气活血,通督复髓”之效,从而改善脊髓损伤后局部瘀血、肢体感觉功能减退或消失等一系列症状。因此,基于中医基础理论,活血通督汤用来治疗脊髓损伤是可行的。林庆宾等^[7,8]进行动物实验研究证实,活血通督汤能降低脊髓损伤后炎症因子 IL-1 β 和 TNF- α 的分泌,抑制神经细胞凋亡。张纪浩等^[9,10]研究发现活血通督汤能减少损伤脊髓区血管内皮细胞分泌 ICAM-1,降低白细胞的活化,从而减轻炎症反应。损伤大鼠灌胃活血通督汤后,c-fos 蛋白和 c-jun 蛋白表达减少,因此损伤后细胞凋亡减少;同时白细胞的活化减弱,进而抑制损伤早期的炎症反应。同时,活血通督汤还可提高 BDNF 和 NGF 神经营养因子表达,抑制胶质瘢痕形成从而促进轴突的生长,共同促进损伤神经元的恢复^[10]。活血通督汤能通过抑制小胶质细胞 P2X7 受体活化,从而抑制急性脊髓损伤后的炎症。因此,活血通督汤治疗脊髓损伤亦是十分有效的。

在本研究中,通过尼式染色实验证实活血通督汤可以改善 SCI 后局部缺血状况,加快受损神经元的修复及神经细胞的再生;免疫组化检测发现 SCI 后 NLRP3 炎症体表达显著升高,而活血通督汤能抑制 NLRP3 炎症体的活化。ELISA 实验结果表明活血通督汤能显著降低脊髓损伤后 IL-1 β 和 IL-18 炎症因子的表达水平,说明活血通督汤可抑制大鼠脊髓损伤后的炎症反应,促进脊髓损伤的恢复。其作用机制是通过抑制 NLRP3 炎症体的产生,从而减少炎症因子的释放,即活血通督汤能抑制 SCI 后 NLRP3 炎症体所介导的神经炎症,减少炎症因子对组织的毒性反应,最终促进 SCI 的恢复。

参考文献

- [1] VOLAREVIC V,ERCEG S,BHATTACHARYA S S,et al. Stem cell-based therapy for spinal cord injury[J]. Cell

- Transplant, 2013, 22(8):1309-1323.
- [2] MIN S H, LEE S H, SHIM H, et al. Development of complete thoracic spinal cord transection model in rats for delayed transplantation of stem cells[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2011, 36(3):155-163.
 - [3] ANIK I, KOKTURK S, GENÇ H, et al. Immunohistochemical analysis of TIMP-2 and collagen types I and IV in experimental spinal cord ischemia-reperfusion injury in rats[J]. J Spinal Cord Med, 2011, 34(3):257-264.
 - [4] 刘宇, 张纪浩, 张俐. 运用张安桢教授治疗脊髓损伤经验的心得[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2014, 22(2):63-65.
 - [5] 张纪浩, 张俐. 张俐教授妙用活血通督汤举隅[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(6):1875-1877.
 - [6] 张俐, 张纪浩, 陈凯, 等. 活血通督汤对脊髓缺血再灌注损伤 NF- κ B, VCAM-1 表达的作用[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(4):1020-1023.
 - [7] 林庆宾, 张俐. 活血通督汤对家兔脊髓缺血再灌注损伤 TNF- α , IL-1 β , IL-8 表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(7):2477-2480.
 - [8] 林庆宾, 张俐. 活血通督汤对脊髓缺血再灌注损伤神经细胞凋亡的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2014, 22(8):1-3.
 - [9] 张纪浩, 张俐. 中药对脊髓缺血再灌注损伤微环境的作用及机制研究[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(1):208-211.
 - [10] 吴杨鹏, 范筱, 张俐. 活血通督汤对大鼠急性脊髓损伤后神经生长因子和胶质纤维酸蛋白表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(2):697-701.
 - [11] DUNHAM K A, FLOYD C L. Contusion models of spinal cord Injury in rats[M]. [s. l.]: Humana Press, 2011:345-362.
 - [12] CHEN W F, CHEN C H, CHEN N F, et al. Neuroprotective effects of direct intrathecal administration of granulocyte colony-stimulating factor in rats with spinal cord injury[J]. CNS Neurosci Ther, 2015, 21(9):698-707.
 - [13] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002:226-230.
 - [14] UNG R V, LAPOINTE N P, ROULEAU P, et al. Non-assisted treadmill training does not improve motor recovery and body composition in spinal cord-transected mice[J]. Spinal Cord, 2010, 48(10):750-755.
 - [15] BINAN L, AJJI A, DE C G, et al. Approaches for neural tissue regeneration[J]. Stem Cell Reviews & Reports, 2014, 10(1):44-59.
 - [16] 郑晶晶, 姚安会, 刘芳芳, 等. 小鼠急性脊髓损伤早期不同炎症因子的表达变化[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2012, 28(4):391-394.
 - [17] 王涛丽, 顾兵, 李华南, 等. 急性脊髓损伤后的炎症反应及其抗炎治疗[J]. 中国药理学通报, 2015, 31(4):452-457.
 - [18] 柏亮杰, 梅晰凡, 袁亚江, 等. 甲基强的松龙对大鼠脊髓损伤节段炎性细胞因子和自噬因子表达的影响[J]. 神经解剖学杂志, 2014, 30(1):13-18.
 - [19] JIANG W, ZHU F G, BHAGAT L, et al. A toll-like receptor 7, 8, and 9 antagonist inhibits Th1 and Th17 responses and inflammasome activation in a model of IL-23-induced psoriasis[J]. Journal of Investigative Dermatology, 2013, 133(7):1777-1784.
 - [20] AACHOUI Y, SAGULENKO V, MIAO E A, et al. Inflammasome-mediated pyroptotic and apoptotic cell death, and defense against infection[J]. Current Opinion in Microbiology, 2013, 16(3):319-326.
 - [21] WALSH J G, MURUVE D A, POWER C. Inflammasomes in the CNS[J]. Nature Reviews Neuroscience, 2014, 15(2):84-97.
 - [22] 潘徐彪, 李向玉, 王志鑫, 等. NLRP3-(Caspase-1)/IL-1 β 信号通路的研究进展[J]. 中国医药导报, 2019, 16(1):41-44.
 - [23] JIANG W, LV H, WANG H, et al. Activation of the NLRP3/caspase-1 inflammasome in human dental pulp tissue and human dental pulp fibroblasts[J]. Cell and Tissue Research, 2015, 361(2):541-555.
 - [24] CHAMPAGNE F A, MEANEY M J. Pannexin-1-mediated recognition of bacterial molecules activates the cryopyrin inflammasome independent of toll-like receptor signaling[J]. Immunity, 2007, 26(4):433-443.
 - [25] HALLE A, HORNUNG V, PETZOLD G C, et al. The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid-beta[J]. Nature Immunology, 2008, 9(8):857-865.
 - [26] HORNUNG V, BAUERNFEIND F, HALLE A, et al. Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization[J]. Nature Immunology, 2008, 9(8):847-856.
 - [27] DOSTERT C, GUARDA G, ROMERO J F, et al. Malarial hemozoin is a Nalp3 inflammasome activating danger signal[J]. Plos One, 2009, 4(8):e6510.
 - [28] NEWMAN Z L, LEPLA S H, MOAYERI M. CA-074Me protection against anthrax lethal toxin[J]. Infection & Immunity, 2009, 77(10):4327-4336.
 - [29] CASSEL S L, EISENBARTH S C, LYER S S, et al. The Nalp3 inflammasome is essential for the development of silicosis[J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2008, 105(26):9035-9040.
 - [30] DENES A, LOPEZCASTEJON G, BROUGH D. Caspase-1: is IL-1 just the tip of the ICEberg? [J]. Cell Death Disease, 2012, 3:e338.
 - [31] IM HOF M, WILLIAMSON L, SUMMERFIELD A, et al. Effect of synthetic agonists of toll-like receptor 9 on canine lymphocyte proliferation and cytokine production in vitro[J]. Vet Immunol Immunopathol, 2008, 124(1/2):120-131.
 - [32] WANG M, TAN J, WANG Y, et al. IL-18 binding protein-expressing mesenchymal stem cells improve myocardial protection after ischemia or infarction[J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2009, 106(41):17499-17504.

(收稿日期:2019-04-02)