

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.02.005
文章编号: 1005-8982 (2018) 02-0026-07

阿米福汀对小鼠放射性肺损伤的防护作用研究*

宣伟¹, 李帅¹, 吴秀艳², 耿艳¹, 张卓¹

(大连医科大学附属第二医院 1. 肿瘤放疗科, 2. 肿瘤科, 辽宁 大连 116023)

摘要: 目的 探讨阿米福汀 (Amifostine, AMI) 对小鼠放射性肺损伤 (RILI) 的防护作用机制。**方法** 将 24 只雌性 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组、单纯照射组、AMI 组。用直线加速器 6MV-X 射线单次 12Gy 照射小鼠全肺, 照射前 30 min 腹腔注射 AMI, 对照组和单纯照射组注射同等剂量的生理盐水。照射 14 d 后, 留取小鼠肺组织标本, 采用苏木精-伊红染色法 (HE) 观察病理改变; 酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测支气管肺泡灌洗液中白介素 6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、转化生长因子- β_1 (TGF- β_1) 表达水平; 凝胶电泳迁移实验检测核转录因子- κ B (NF- κ B) 活性; 免疫组织化学法观察 NLRP3 蛋白的表达和定位; 实时荧光定量聚合酶链反应检测肺组织中 NLRP3 和 IL-1 β mRNA 的表达; Western blot 检测 NF- κ B p65、NLRP3、IL-1 β 蛋白的表达。**结果** 照射后第 14 天, AMI 组与单纯照射组比较, AMI 组肺组织急性炎症反应减轻; AMI 组支气管肺泡灌洗液中 IL-6、TNF- α 水平下降, TGF- β_1 水平升高 ($P < 0.05$); AMI 组肺组织中 NF- κ B 活性下降 ($P < 0.05$); AMI 组肺组织中 NLRP3 蛋白表达下降 ($P < 0.05$); AMI 组 NLRP3 和 IL-1 β mRNA 表达下降 ($P < 0.05$); AMI 组 NF- κ B p65、NLRP3、IL-1 β 蛋白表达下降 ($P < 0.05$)。**结论** AMI 可能通过抑制辐射引起的 NF- κ B 激活, 进而抑制 NLRP3 基因的转录和表达, 抑制炎症因子的释放, 减轻 RILI。

关键词: 阿米福汀; 放射性肺损伤; NF- κ B; NLRP3; 白介素-1 β

中图分类号: R818.74

文献标识码: A

Protective effect of Amifostine against radiation-induced lung injury in mice and its mechanism*

Wei Xuan¹, Shuai Li¹, Xiu-yan Wu², Yan Geng¹, Zhuo Zhang¹

(1. Department of Radiotherapy, 2. Department of Medical Oncology, the Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian, Liaoning 116023, China)

Abstract: Objective To investigate the radioprotective function of Amifostine (AMI) in mice with acute radiation-induced lung injury and its mechanism. **Methods** Totally 24 female C57BL/6J mice were randomized into 3 groups as AMI group (treated by AMI 200 mg/kg plus radiation), radiation group and solvent control group. The mouse lungs in the radiation group and the AMI group were irradiated with linear accelerator 6MV X-ray at a single dose of 12 Gy, and those in the solvent control group received sham radiation. The mice in the AMI group were intraperitoneally injected with Amifostine 30 minutes before irradiation, while the same volume of solvent was given to the control and radiation groups. The mice were sacrificed and the mouse lung tissue was collected 14 days after irradiation. The pathological changes in the lung tissue were observed after HE staining. The levels of IL-6, TNF- α and TGF- β_1 in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were measured by ELISA. The NF- κ B activity was detected

收稿日期: 2016-12-14

* 基金项目: 辽宁省科学技术计划项目 (No: 2014225003)

[通信作者] 张卓, E-mail: 7998832582@qq.com

by EMSA. The expression and positioning of nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat containing protein 3 (NLRP3) in the lung tissue were observed by immunohistochemical method. The expressions of NLRP3 and IL-1 β mRNAs in the lung tissue were assayed by qRT-PCR. And the expressions of NF- κ B p65, NLRP3 and IL-1 β proteins in the lung tissue were assayed by Western blot. **Results** On the 14th day after irradiation, compared with the radiation group, acute inflammatory reaction of the lung tissue was alleviated, the IL-6 and TNF- α levels in BALF were markedly decreased ($P < 0.05$), the level of TGF- β 1 in BALF rose slightly ($P < 0.05$), and NF- κ B activity in the lung tissue was obviously reduced ($P < 0.05$) in the AMI group. Immunohistochemical results showed that the expressions of NLRP3 and IL-1 β mRNAs were obviously reduced ($P < 0.05$), and the expressions of NF- κ B p65, NLRP3 and IL-1 β proteins in the lung tissue were obviously reduced ($P < 0.05$) in the AMI group compared to the radiation group. **Conclusions** Amifostine can down-regulate the activity of NF- κ B, then inhibit transcription and expression of *NLRP3* gene and effectively reduce the release of inflammatory cytokines, therefore alleviate acute radiation-induced lung injury in mice.

Keywords: Amifostine; radiation-induced lung injury; nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat containing proteins; nuclear factor- κ B; interleukin-1 β

放射治疗会引起不同级别的肺损伤, 其疗效也会因肺损伤的发生受到严重的影响。阿米福汀 (Amifostine, AMI) 是首个世界上被权威组织承认的广谱细胞保护药物, 在不影响放疗疗效的前提下, 降低放、化疗毒性, 一定程度上提高患者对放疗的依从性^[1-2]。已知核转录因子- κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 可被电离辐射刺激活化, 通过提高 NF- κ B 活性, 介导细胞释放炎症因子, 降低 NF- κ B 活性, 能有效抑制炎症反应^[3-4]。NF- κ B 又可调控 NLRP3 炎症复合体的转录和表达^[5]。本实验复制放射性肺损伤 (radiation-induced lung injury, RILI) 小鼠模型, 研究 AMI 是否参与调节 NF- κ B、NLRP3 的表达, 从而探讨其干预 RILI 的作用机制

1 材料与方法

1.1 分组与照射方法

24 只 8 周龄 C57BL/6J 雌性小鼠, 重量 (20 \pm 2)g, 购于大连医科大学动物实验中心。将其随机分成对照组、单纯照射组、AMI 组, 每组 8 只。AMI 组: AMI 溶于生理盐水, 照射前 30 min 通过腹腔注射给药 200 mg/kg; 对照组和单纯照射组注射同等剂量的溶剂。4% 水合氯醛腹腔注射 (0.1 ml/10 g) 充分麻醉小鼠, 塑料鼠夹固定, 6MV-X 射线 (美国 UNIQUE 直线加速器), 剂量率 0.4 Gy/min, 源皮距 =100 cm。对照组小鼠全肺假照射 0 Gy, 其余两组小鼠给予全肺单次照射 12 Gy。实验过程中未发生小鼠死亡。

1.2 主要试剂和仪器

AMI (大连美罗大药厂), TRIzol Reagent (美

国 Invitrogen 公司), 实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 试剂盒 (日本 TaKaRa 公司), 兔抗 NLRP3 多克隆抗体 (美国 Novus 公司), 兔抗 NF- κ B p65 单克隆抗体 (美国 CST 公司), 鼠抗 β -actin 单克隆抗体 (美国 Protein Tech 公司), 提取蛋白试剂盒 (江苏凯基生物公司、美国 Pierce Biotech 公司), BCA 试剂盒 (北京索莱宝公司), Western blot 检测试剂盒、二抗购自 (江苏碧云天公司), GE ECL 发光液 (美国 Sigma 公司), 小鼠白介素 6 (Interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、转化生长因子- β ₁ (transforming growth factor- β ₁, TGF- β ₁) 酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒购自江苏雨桐生物科技公司, 免疫组织化学法、DAB 试剂盒购自北京中杉金桥生物公司, Eppendor 低温冷冻离心机 (德国 Eppendor 公司), 凝胶成像仪 (美国 UVP 公司), 安捷伦荧光定量 PCR 仪 (美国安捷伦公司), UNIQUE 直线加速器 (美国瓦里安公司)。

1.3 苏木精-伊红染色和免疫组织化学法

解剖小鼠取肺组织, 4% 多聚甲醛固定 24 h, 常规脱水、透明、浸蜡、包埋、制备组织切片。常规脱蜡至水后苏木精-伊红染色 (hematoxylin-eosin staining, HE), 显微镜下观察组织病理改变。免疫组织化学法步骤: 常规脱蜡至水, 3% 双氧水 H₂O₂ 室温作用 18 min, PBS 冲洗 3 次, 3 min/次。0.01 mol/L 柠檬酸盐缓冲液 (pH =6.0) 抗原修复, 冷却至室温后, PBS 冲洗 3 次, 3 min/次。正常山羊血清封闭, 室温 15 min; 滴加 NLRP3 一抗工作液 (1 : 100), 4 $^{\circ}$ C 过

夜 (>18 h); 37℃复温 1 h, PBS 冲洗 3 次, 3 min/次; 生物二抗 37℃作用 15 min, PBS 冲洗 3 次, 3 min/次; 生物三抗 37℃作用 15 min, PBS 冲洗 3 次, 3 min/次。DAB 溶液显色, 适时终止反应; 苏木精复染, 脱水透明封片。显微镜观察组织标本中 NLRP3 蛋白的定位及表达。

1.4 ELISA

照射后 2 周, 用 4% 水合氯醛 (0.1 ml/10 g) 充分麻醉后切开颈部皮肤, 游离气管后用静脉留置针进行气管插管操作, 0.8 ml 生理盐水盥洗全肺后回收液体, 重复 3 次, 收集约 2 ml, 4℃、1 000 r/min 离心 15 min, 收集上清后用 ELISA 试剂盒测定 TNF- α 、IL-6、TGF- β_1 炎症因子浓度。

1.5 凝胶电泳迁移实验

提取肺组织中核蛋白, 非放射性凝胶电泳迁移实验 (electrophoretic mobility shift assay, EMSA) 试剂盒 (Ds-Bio-NFKB probes: Bio-5' -AGTTGAGGGGAC TTTCCCAGGC-3' -Bio, 工作液浓度 500 fmol/ μ l, 用量 1.0 μ l, 500 fmol; Ds-Cold-NFKB probes: Cold5' -AGTTGAGGGGACTTTCCCAGGC-3' -Cold, 工作液浓度 15 pmol/ μ l, 用量 3.3 μ l, 30 pmol, 100 \times 竞争) 检测 NF- κ B 活性。步骤如下: 结合体系 10 \times 结合液 2 μ l, poly (di: dC) 1 μ l, 核蛋白 1~3 μ l, 生物素标记的探针 0.5 μ l, 补水至 10 μ l, 室温放置 20 min, 加入 10 \times 上样缓冲液; 制备 6.5% 聚丙烯酰胺凝胶; 预电泳 120 V、1 h; 上样后 180 V 电泳 70 min; 转膜, 稳流 390 mA, 40 min; 紫外交联 5 min; 封闭 30 min, 1: 750 streptavidin-HRP 反应 20 min; 1 \times Wash Buffer 洗膜 4 次, 5 min/次; 平衡 5 min, 化学发光检测。

1.6 RNA 提取及 qRT-PCR

Trizol 法提取组织中总 RNA, 定量测定纯度后逆转录合成 cDNA。NLRP3 正向引物: 5' -ACAGCATTGAAGAGGAGTGG-3', 反向引物: 5' -TCGTGTGTAGCGTTTGTGAG-3'; IL-1 β 正向引物: 5' -GTGGCAATGAGGATGACTTGT-3', 反向引物: 5' -TGTAGTGGTGGTCCGAGATTC-3'; GAPDH 正向引物: 5' -GGTGAAGGTCGGTGTGAACCGA-3', 反向引物: 5' -CCAAAGTTGTCATGGATGACCTTGG-3'。反应体系: SYBR Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) (2 \times 10 μ l), 正反向引物各 1 μ mol/L, ROX Reference Dye (50 \times) 0.4 μ l, DNA 模板 2 μ l, dH₂O 5.6 μ l。反

应条件: 95℃预变性 30 s, 95℃变性 3 s, 55℃退火 30 s, 72℃延伸 30 s, 共 40 个循环; 熔解曲线 95℃、1 min, 55℃、30 s, 95℃、30 s。

1.7 Western blot 检测

液氮研磨肺组织 30 ~ 50 mg, 冰上超声裂解后 4℃、12 000 r/min 离心 10 min, 提取上清, BCA 测定蛋白浓度。电泳条件: 浓缩胶电压 80 V, 分离胶电压 120 V; 转膜条件 (湿转): 恒流 200 mA, 2 h; 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, NF- κ B p65、NLRP3、IL-1 β 一抗 (1: 1 000)、内参 β -actin (1: 3 000) 4℃孵育过夜, TBST 缓冲盐溶液 (1 \times TBS+0.1% Tween 20) 洗膜 3 次, 15 min/次, 二抗 (1: 5 000) 室温孵育 1 h, 洗膜 3 次, 15 min/次。采用 ECL 化学显色试剂盒显影, Image Lab 凝胶成像系统显色发光, Gelpro 32 软件计算目的及内参的灰度值, 最终得出 NF- κ B p65、NLRP3、IL-1 β 蛋白的相对表达量。

1.8 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 用单因素方差分析, 两两比较用 SNK- q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病理组织学改变

HE 显示, 对照组肺组织中肺泡毛细血管结构清晰, 肺泡壁完整, 无红细胞渗出。单纯照射组小鼠肺组织中可见明显的肺泡毛细血管亚单位破坏, 肺泡壁表现为代偿性增厚, 肺泡腔缩小; 炎症及红细胞渗出为主要的病理学改变, 肺泡壁及间质肺组织中毛细血管充血扩张, 伴有中性粒细胞及淋巴细胞等炎症细胞浸润; 肺泡壁中 II 型上皮细胞明显增多, 可见吞噬颗粒的巨噬细胞。AMI 组肺泡壁毛细血管破坏较单纯照射组轻, 炎症渗出及充血的病理变化也相对不明显。见图 1。

2.2 肺组织中 NLRP3 蛋白表达

对照组肺组织中 NLRP3 蛋白主要表达于肺间质及细胞胞浆中, 呈现弱阳性表达; 单纯照射组巨噬细胞、上皮细胞及肺间质中 NLRP3 表达有所增加, 呈现阳性表达; 与照射组比较, AMI 组肺间质及上皮细胞胞浆中 NLRP3 蛋白表达受抑制。见图 2。

2.3 IL-6、TNF- α 、TGF- β_1 含量

3 组小鼠肺泡灌洗液中 IL-6、TNF- α 、TGF- β_1

含量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与对照组比较, 单纯照射组小鼠肺泡灌洗液中 IL-6、TNF- α 、TGF- β_1 含量增加 ($q = 28.425$ 、 3.307 和 16.615 , 均 $P = 0.000$)。AMI 组中 IL-6、TNF- α 含量较单纯照射组降低 ($q = -20.498$ 和 3.921 , 均 $P = 0.000$), 但 TGF- β_1 含量增加 ($q = 11.273$, $P = 0.009$)。见附表。

2.4 NF- κ B 的活性

对照组、单纯照射组、AMI 组小鼠肺组织中 NF- κ B 活性比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 186.631$, $P = 0.000$)。对照组中 NF- κ B 仅检测

到微弱的激活现象。与对照组相比, 单纯照射组肺组织中 NF- κ B 的活性升高 ($q = 51.751$, $P = 0.008$); 与单纯照射组相比, AMI 组 NF- κ B 活性受到抑制 ($q = -42.903$, $P = 0.009$)。见图 3。

2.5 小鼠肺组织中 NLRP3 和 IL-1 β mRNA 的表达

3 组小鼠肺组织中 NLRP3 和 IL-1 β mRNA 的表达比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 33.912$ 和 850.332 , $P = 0.009$ 和 0.000)。与对照组相比, 单纯照射组 NLRP3 和 IL-1 β mRNA 表达升高 ($q = 3.752$ 和 18.322 , 均 $P = 0.001$)。与单纯照射组相比, AMI

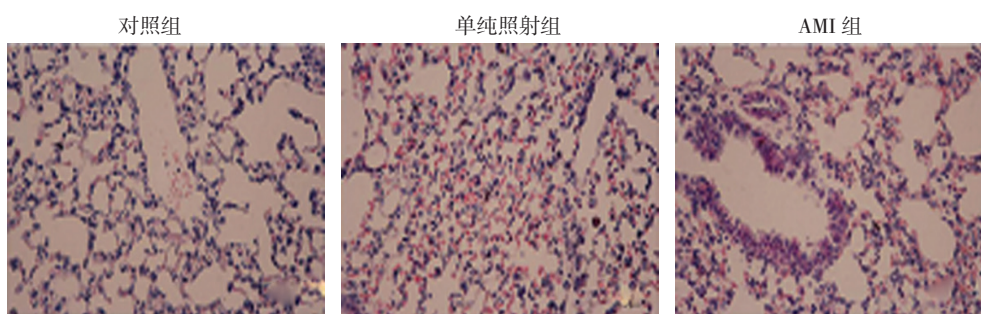
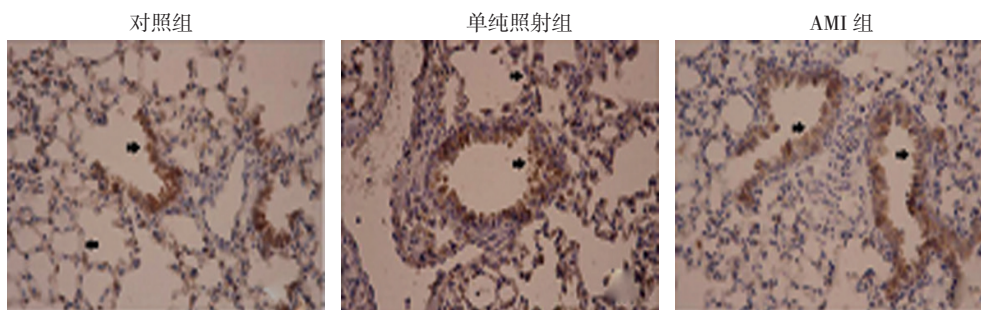


图 1 3 组小鼠肺组织病理变化 (HE 染色 $\times 400$)



箭头是阳性表达

图 2 3 组小鼠肺组织中 NLRP3 的表达 (免疫组织化学法 $\times 400$)

附表 3 组小鼠肺泡灌洗液中 IL-6、TNF- α 、TGF- β_1 含量比较 ($n = 8$, pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

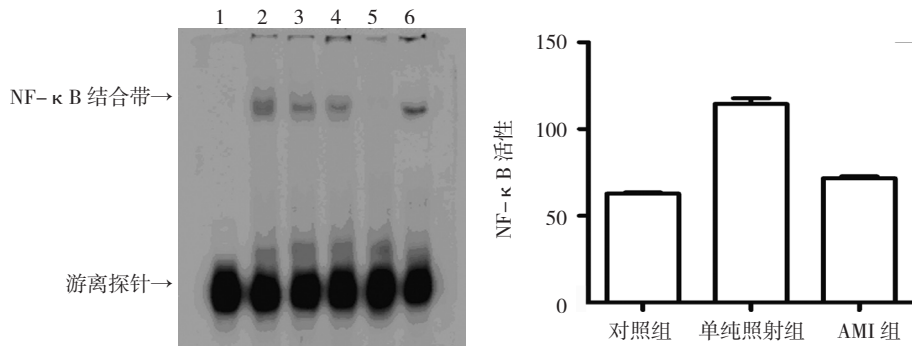
组别	IL-6	TNF- α	TGF- β_1
对照组	9.18 \pm 0.46	102.84 \pm 3.75	17.91 \pm 0.57
单纯照射组	55.11 \pm 1.34 ¹⁾	213.66 \pm 3.79 ¹⁾	33.16 \pm 0.57 ¹⁾
AMI 组	21.99 \pm 0.99 ²⁾	82.26 \pm 3.15 ²⁾	34.33 \pm 0.72 ²⁾
F 值	4 518.365	3 129.542	2 091.413
P 值	0.000	0.000	0.000

注: 1) 与对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与单纯照射组比较, $P < 0.05$

组 NLRP3 和 IL-1 β mRNA 表达降低 ($q = -4.405$ 和 22.329 , $P = 0.000$ 和 0.002)。见图 4。

2.6 小鼠肺组织中 NF- κ B p65、NLRP3、IL-1 β 蛋白的表达

3 组小鼠肺组织中 NF- κ B p65、NLRP3、IL-1 β 蛋白表达比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 441.404$ 、 168.947 和 139.347 , 均 $P = 0.000$)。单纯照射组 NLRP3 蛋白表达较对照组升高 ($q = 9.357$, $P = 0.001$), AMI 组 NLRP3 蛋白表达较单纯照射组降低 ($q = -9.016$, $P = 0.000$)。单纯照射组 NF- κ B p65、



1: 阴性对照组; 2: 单纯照射组; 3: AMI 组; 4: 对照组; 5: 游离探针; 6: 阳性对照组

图 3 3 组小鼠肺组织中 NF-κ B 活性比较

IL-1β 蛋白表达较对照组降低 ($q = -13.557$ 和 -2.893 , $P = 0.001$ 和 0.043), AMI 组 NF-κ B p65、IL-1β 蛋白表达较单纯照射组降低 ($q = -15.881$ 和 -9.409 , $P = 0.027$ 和 0.007)。见图 5、6。

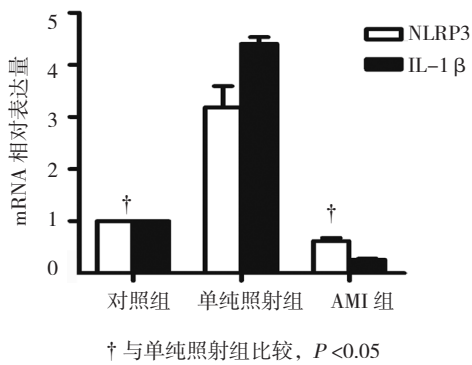


图 4 3 组小鼠肺组织 NLRP3、IL-1β mRNA 表达比较

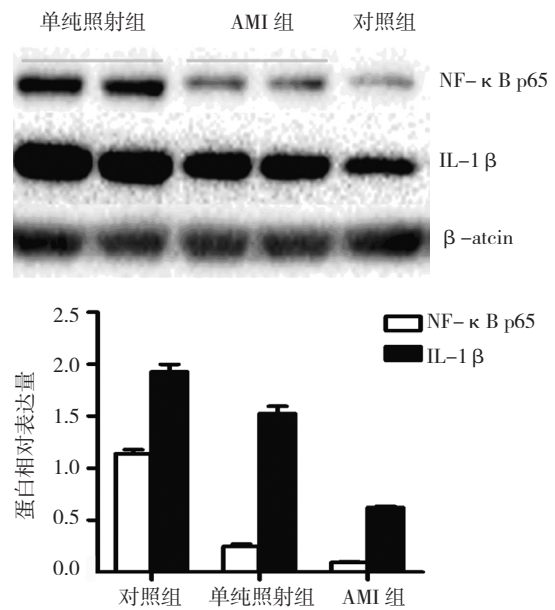


图 6 3 组小鼠肺组织 NF-κ B p65、IL-1β 蛋白表达比较

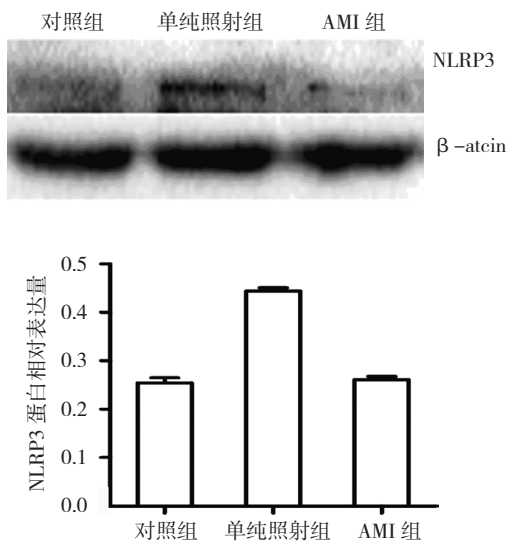


图 5 3 组小鼠肺组织 NLRP3 蛋白表达比较

3 讨论

肺泡功能亚单位对辐射中度敏感, 在受到超过其辐射阈值的照射后, 靶区周边的正常组织会出现不同级别的损伤。随着放射治疗设备更新及技术提高, RILI 的发生率并没有明显降低, 文献报道其发生率为 14.6% ~ 37.2%^[6]。RILI 阻碍了放疗技术的实践与应用, 很大程度上影响患者生存期和生活质量。RILI 是肺泡上皮细胞、巨噬细胞等细胞介导并释放炎症相关因子, 协同调控的复杂病理过程。辐射损伤后的通过巨噬细胞、血管内皮细胞分泌 TNF-α、IL-1、IL-6 等炎症因子调控炎症病理进程, 进而激活巨噬细胞分泌 TGF-β₁, 诱导成纤维细胞增生转化, 并合成基质蛋白, 最终导致肺间质纤维化。

AMI是一类与巯基乙胺化学结构相似的半胱氨酸药物,进入体内可识别细胞膜上的碱性磷酸酶,脱磷酸水解代谢后成为活性的WR-1065和硫醇自由基^[1]。WR-1065可消除放射线产生的自由基,从而产生防护作用。HOFFER等^[7]研究表明,在正常组织中,AMI防护电离辐射引起的DNA损伤,但是在肿瘤细胞中,干扰辐射引起损伤DNA双链的修复。VUJASKOVIC等^[8]研究表明,AMI发挥防护放射性损伤的机制与减少炎症相关因子的表达有关。各类炎症细胞因子和信号通路参与RILI病理生理机制的调控,已知NF- κ B通过放大炎症刺激信号,在炎症因子的合成及释放中发挥重要作用^[9-10]。近年来研究发现,NLRP3炎症复合体高表达与急性肺损伤及肺间质纤维化关系密切^[11-12]。而NLRP3转录表达必须依赖于NF- κ B^[5]。本研究通过12 Gy全肺单次照射小鼠,复制RILI模型,研究AMI是否参与调节NF- κ B及其下游NLRP3通路炎症因子表达,从而干预放射性肺炎的发生。

通过EMSA和Western blot检测发现,单纯照射组较对照组小鼠肺组织中NF- κ B活性增高,NF- κ B p65蛋白的表达升高;照射前给以AMI干预后NF- κ B活性降低,NF- κ B p65蛋白表达受抑制,两者变化基本一致。辐射防护的机制主要是通过消除电离辐射产生的自由基。LAM等^[4]研究表明,自由基活性与NF- κ B和DNA结合活性相关联,抑制NF- κ B活性可以降低炎症因子表达,发挥抗炎作用。NF- κ B是一类具有多向转录调节作用的核蛋白因子,广泛存在于多种组织细胞中,激活后参与众多基因的转录调控,主要参与炎症、免疫、氧化应激、细胞增殖和凋亡等病理生理进程调控。ELISA检测发现,照射后小鼠肺泡盥洗液中TNF- α 、IL-6、TGF- β_1 炎症因子含量升高,AMI干预后TNF- α 、IL-6炎症因子表达降低,与MITCHELL等^[13]研究一致。NF- κ B主要是通过c-Jun氨基末端激酶的活化、I κ B激酶的活化及TNF- α 磷酸化,从而激活蛋白激酶级联反应过程,抑制NF- κ B活性,能有效减缓炎症进程。p65是组成NF- κ B三聚体成员之一,可通过乙酰化和磷酸化调节,活化的NF- κ B可进入细胞核内,与DNA结合调控基因转录和蛋白表达^[14]。但AMI干预后的TGF- β_1 含量略有升高,与陈志霄等^[15]研究类似,AMI作用后,小鼠血清中TGF- β_1 含量呈先升高后降低的趋势。但对该种现象的原因及其机制尚不明确,相关报道也未提及。最近DADRICH等^[16]研究报道,TGF- β_1 主要

介导纤维化机制调控,所以IL-6、TNF- α 水平对于预测早期RILI的发生更有意义。

实验结果还发现,照射引起小鼠肺组织中NF- κ B活性增加的同时,NLRP3、IL-1 β mRNA和蛋白表达也上升,并且趋势与NF- κ B活性一致。NLRP3炎症复合体是存在于真核细胞中的一组多蛋白聚合物,主要存在于巨噬细胞、上皮细胞、中性粒细胞、平滑肌细胞胞浆中,通过与凋亡相关的斑点样蛋白接合,诱导活化Caspase-1,调控IL-1 β 、IL-18等多种促炎细胞因子的合成与分泌,参与急性肺损伤、特发性肺纤维化疾病等多种肺部疾病调控^[12, 17]。电离辐射可通过活化NF- κ B,激活下游NLRP3靶基因引起的IL-1 β 升高及炎症因子释放。给予AMI干预后,NLRP3、IL-1 β mRNA和蛋白表达同时降低。免疫组织化学法观察到,辐射后小鼠肺组织中NLRP3蛋白表达水平升高,并且同病理学结果一致。然而,经过AMI干预后小鼠肺组织内的NLRP3炎症复合体表达受抑制,与ZHONG等^[18]研究一致,研究证实通过抑制NF- κ B活性,可下调炎症复合体的表达,修复组织损伤,维持内环境稳定。

综上所述,AMI发生防护作用的机制之一可能是通过抑制辐射引起的NF- κ B激活,进而抑制NLRP3基因的转录和蛋白表达,从而减少IL-1 β 等炎症因子修饰和表达来实现的。随着临床研究的深入及基础医学的发展,AMI放射防护的具体分子机制及其通路将会被逐一阐明,从而提供有效的防治RILI的方法。

参考文献:

- [1] KOUVARIS J R, KOULOULIAS V E, VLAHOS L J. Amifostine: the first selective-target and broad-spectrum radioprotector[J]. *The Oncologist*, 2007, 12(6): 738-747.
- [2] WU H Y, HU Z H, JIN T. Sustained-release microspheres of amifostine for improved radio-protection, patient compliance, and reduced side effects[J]. *Drug Deliv*, 2016: 1-8.
- [3] HU Z, XING Y, QIAN Y, et al. Anti-radiation damage effect of polyethylenimine as a toll-like receptor 5 targeted agonist[J]. *J Radiat Res*, 2013, 54(2): 243-250.
- [4] LAM R K, HAN W, YU K N. Unirradiated cells rescue cells exposed to ionizing radiation: activation of NF-kappa B pathway in irradiated cells[J]. *Mutat Res*, 2015, 782: 23-33.
- [5] BAUERNFEIND F G, HORVATH G, STUTZ A, et al. Cutting edge: NF-kappa B activating pattern recognition and cytokine receptors license NLRP3 inflammasome activation by regulating NLRP3 expression[J]. *J Immunol*, 2009, 183(2): 787-791.
- [6] BENVENISTE M F, WELSH J, GODOY M C, et al. New era of

- radiotherapy: an update in radiation-induced lung disease[J]. *Clin Radiol*, 2013, 68(6): e275-e290.
- [7] HOFER M, FALK M, KOMURKOVA D, et al. Two new faces of amifostine: protector from DNA damage in normal cells and inhibitor of DNA repair in cancer cells[J]. *J Med Chem*, 2016, 59(7): 3003-3017.
- [8] VUJASKOVIC Z, FENG Q F, RABBANI Z N, et al. Radioprotection of lungs by amifostine is associated with reduction in profibrogenic cytokine activity[J]. *Radiat Res*, 2002, 157(6): 656-660.
- [9] LEE J E, CHO S M, PARK E, et al. Anti-inflammatory effects of *rubus coreanus miquel* through inhibition of NF-kappa B and MAP kinase[J]. *Nutr Res Pract*, 2014, 8(5): 501-508.
- [10] KWON D J, BAE Y S, JU S M, et al. Salicortin suppresses lipopolysaccharide-stimulated inflammatory responses via blockade of NF-kappa B and JNK activation in RAW 264.7 macrophages[J]. *BMB Rep*, 2014, 47(6): 318-323.
- [11] FUKUMOTO J, FUKUMOTO I, PARTHASARATHY P T, et al. NLRP3 deletion protects from hyperoxia-induced acute lung injury[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2013, 305(2): C182-C189.
- [12] LEE S, SUH GY, RYTER S W, et al. Regulation and function of the nucleotide binding domain leucine-rich repeat-containing receptor, pyrin domain-containing-3 inflammasome in lung disease[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2016, 54(2): 151-160.
- [13] MITCHELL S, VARGAS J, HOFFMANN A. Signaling via the NF-kappa B system[J]. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, 2016, 8(3): 227-241.
- [14] GONZALEZ-RAMOS R, DEFRERE S, DEVOTO L. Nuclear factor-kappa B: a main regulator of inflammation and cell survival in endometriosis pathophysiology[J]. *Fertil Steril*, 2012, 98(3): 520-528.
- [15] 陈志霄, 周道安, 赵国旗. 氨磷汀对小鼠肺部照射后超微结构及血清 TGF- β 1 的影响 [J]. *中华放射肿瘤学杂志*, 2008(6): 484-485.
- [16] DADRICH M, NICOLAY N H, FLECHSIG P, et al. Combined inhibition of TGF beta and PDGF signaling attenuates radiation-induced pulmonary fibrosis[J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(5): DOI: org/10.1080/e1123366.
- [17] LIU Z, ZHAO H, LIU W, et al. NLRP3 inflammasome activation is essential for paraquat-induced acute lung injury[J]. *Inflammation*, 2015, 38(1): 433-444.
- [18] ZHONG Z, UMEMURA A, SANCHEZ-LOPEZ E, et al. NF-kappa B restricts inflammasome activation via elimination of damaged mitochondria[J]. *Cell*, 2016, 164(5): 896-910.

(童颖丹 编辑)