

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.003481

颗粒蛋白前体对脓毒症急性肺损伤小鼠肺组织核转录因子-κB的表达的影响

彭乔治,徐 眇,林时辉

(重庆医科大学附属第一医院重症医学科,重庆 400016)

【摘要】目的:探讨颗粒蛋白前体(programulin, PGRN)对脓毒症急性肺损伤(acute lung injury, ALI)的影响及可能机制。**方法:**将C57BL/6小鼠随机分为对照组(Control组)、急性肺损伤组(CLP组)、颗粒蛋白前体治疗组(CLP+PGRN组)。采用盲肠结扎穿刺术(cecral ligation and puncture, CLP)构建小鼠脓毒症ALI模型,CLP+PGRN组在CLP处理半小时后使用PGRN腹腔注射。24 h后麻醉并处死小鼠,取小鼠肺HE染色观察肺组织病理损伤;TUNEL法检测肺部细胞凋亡情况;免疫荧光染色检测肺组织中核转录因子-κB(nuclear factor kappa B, NF-κB)水平;Western blot法检测NF-κB、总p65和磷酸化p65表达水平;RT-qPCR检测NF-κB和炎症细胞因子水平。**结果:**和Control组相比,CLP组和CLP+PGRN组肺损伤加重,促炎细胞因子升高,肺组织中细胞凋亡增加,NF-κB、p65和p-p65的表达水平明显增加;与CLP组相比,CLP+PGRN组肺组织损伤和凋亡减轻,促炎细胞因子降低,抑炎细胞因子升高,NF-κB、p65和p-p65的表达明显减少。**结论:**PGRN可以减轻脓毒症小鼠急性肺损伤,其机制可能与抑制NF-κB、p65表达和p65磷酸化有关。

【关键词】急性肺损伤;颗粒蛋白前体;组织核转录因子-κB;p65

【中图分类号】R563.8

【文献标志码】A

【收稿日期】2024-03-03

Effect of programulin on the expression of nuclear factor-kappa B in lung tissue of mice with acute lung injury

Peng Qiaozhi, Xu Fang, Lin Shihui

(Department of Critical Care Medicine, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect and possible mechanisms of programulin (PGRN) on acute lung injury (ALI) in sepsis. **Methods:** C57BL/6 mice were randomly divided into normal control group (Control group), acute lung injury group (CLP group), and PGRN treatment group (CLP+PGRN group). Cecal ligation and puncture (CLP) was used to establish a mouse model of septic ALI, and the mice in the CLP+PGRN group were given intraperitoneal injection of PGRN at half an hour after CLP treatment. The mice were anesthetized and sacrificed after 24 hours, and lung tissue was collected for HE staining to observe the pathological damage of lungs; the TUNEL method was used to observe cell apoptosis in lungs; immunofluorescent staining was used to measure the level of nuclear factor-kappa B (NF-κB) in lung tissue; Western blot was used to measure the expression levels of NF-κB, total p65, and phosphorylated p65 (p-p65), and RT-qPCR was used to measure the levels of NF-κB and inflammatory factors. **Results:** Compared with the Control group, the CLP group and the CLP+PGRN group had aggravated lung injury and significant increases in proinflammatory cytokines, cell apoptosis in lung tissue, and the expression levels of NF-κB, p65, and p-p65. Compared with the CLP group, the CLP+PGRN group had alleviation of lung injury and apoptosis, a reduction in proinflammatory cytokines, increases in anti-inflammatory cytokines, and significant reductions in the expression levels of NF-κB, p65, and p-p65. **Conclusion:** PGRN can alleviate ALI in mice with sepsis, possibly by inhibiting the expression of NF-κB and p65 and the phosphorylation of p65.

作者介绍:彭乔治,Email:pqz_cqmu@163.com,

研究方向:急性呼吸窘迫综合征潜在发病机制及治疗。

通信作者:林时辉,Email:linshihui07@126.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81801894)。

优先出版:<https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20240418.1537.042>

(2024-04-22)

[Key words] acute respiratory distress syndrome; programulin; nuclear factor-kappa B; p65

急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)是1类以顽固性低氧血症为明显特征的临床综合征,多急性起病,且伴随呼吸窘迫,用常规氧疗难以纠正^[1]。导致ARDS的原因较复杂,可以由肺内、肺外等多种因素引起,在众多致病因素中脓毒症导致的ARDS发病率高、死亡率高^[2]。1项全球50多个国家进行的多中心研究表明,重症监护病房中约10.4%的患者患有ARDS,重症监护室和医院ARDS患者的死亡率分别为35.3%和40.0%,有高占比、高死亡率的特点^[2]。尤其是在新冠肺炎的初期阶段,ARDS患者进入重症监护病房的死亡率从26%到61.5%不等^[3]。尽管ARDS的临床治疗标准在不断演变,例如临床实体定义、分组和精确治疗等,但ARDS是1种异质性综合征,寻找针对ARDS早期ALI阶段的个性化药物是未来治疗的发展方向^[4]。颗粒蛋白前体(progranulin, PGRN)是1种富含半胱氨酸的蛋白,在包括癌症、炎症、代谢疾病中发挥重要作用^[5]。有研究表明PGRN与肿瘤坏死因子受体-2(TNF receptor-2, TNFR2)的相互作用在PGRN对内毒素诱导的ALI的保护作用中起关键作用^[6]。NF-κB是1种蛋白质复合物,参与控制DNA转录、细胞因子生产和控制细胞凋亡等活动,在免疫应答的调节中发挥关键作用^[7]。多项研究表明,药物可以通过降低NF-κB的表达来缓解炎症状态^[8]。本文从动物实验角度研究PGRN对NF-κB表达的影响,探讨PGRN对脓毒症致急性肺损伤的影响及可能的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验小鼠购自重庆医科大学实验动物中心,均为无特定病原体(specific pathogens free, SPF)级。随机选择年龄8~12周龄,体质量20~25 g健康的雄性C57BL/6小鼠。

1.2 主要试剂

PGRN(MCE,美国);兔抗NF-κB抗体、兔抗p65抗体、兔抗p-p65抗体、小鼠抗GAPDH抗体购买于美国Abcam公司;TUNEL试剂盒(罗氏公司,瑞士)。

1.3 方法

1.3.1 动物分组及给药 取正常健康雄性C57BL/6小鼠15只,随机分为3组:对照组(Control组,n=5)、急性肺损伤组(CLIP组,n=5)、PGRN治疗组(CLIP+PGRN组,n=5)。在实验

开始前,将小鼠置于稳定的无特定病原体环境(室温25~27 °C)中1周后,采用CLP法构建脓毒症ALI模型,PGRN治疗组(CLIP+PGRN组)在建立CLP模型PGRN半小时后给予PGRN(2 μg/只,腹腔注射)。在给药后24 h用吸入异氟烷(RWD,美国)麻醉小鼠,取小鼠肺脏。

1.3.2 小鼠肺组织学染色 取小鼠左肺新鲜组织,在4%多聚甲醛中完全、充分浸泡24 h。对组织进行酒精梯度脱蜡、复水,并制备厚度为4 μm的石蜡包埋切片。苏木精-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色后光镜下观察肺组织病理改变情况。每组选择5个不同视野,通过盲法进行独立打分,最后汇总统计结果。根据肺泡充血、出血、中性粒细胞浸润和透明膜形成情况,以MIKAWA^[9]评分标准评价病理损伤,打分标准为:无或极轻,0分;轻,1分;中,2分;重,3分;极重,4分。肺损伤评分结果以盲法获得,总分越高,损伤越严重。

1.3.3 肺组织TUNEL检测 肺组织切片中的细胞凋亡率通过TUNEL检测试剂盒,遵循制造商提供的方案,在400倍放大倍数下测定显示TUNEL阳性的细胞数。每组选择5个不同视野,通过盲法独立计数,最后汇总结果进行统计。

1.3.4 小鼠肺组织炎症细胞因子、NF-κB mRNA检测 用RNAiso Plus(Takara,日本)从细胞和器官中提取细胞总RNA。用SYBR聚合酶链式反应试剂盒(Takara,日本)和ABI PRISM 7 000聚合酶链式反应系统(Bio-Rad,美国)合成cDNA。用特异性定量引物分析NF-κB、炎症细胞因子与GAPDH的相对量。NF-κB、TNF-α和IL-10引物由上海生工公司设计并合成,NF-κB序列为F:5'-ATGGCAGACGATGATCCCTAC-3',R:5'-CGGAATCGAAATCCCCTCTGTT-3';TNF-α序列为F:5'-CCAGGAGAGGCATTATGACCA-3',R:5'-ACTGTCGGAGGTAGGAGTGC-3';IL-10序列为F:5'-CTTACTGACTGGCATGAGGATCA-3',R:5'-GCAGCTCTAGGAGCATGTGG-3';GAPDH序列为F:5'-AGTCGGTGTGAACGGATTTG-3',R:5'-GGGTCGTTGATGGCAACA-3'。

1.3.5 小鼠肺组织NF-κB、p65和p-p65蛋白检测 肺组织和细胞在RIPA缓冲液(碧云天,中国)中裂解并添加蛋白酶和磷酸酶抑制剂,最后进行匀浆。使用BCA分析试剂盒(碧云天,中国)定量蛋白质浓度。通过PAGE胶分离蛋白质并转移到聚偏氟乙烯(PVDF)膜上,在NF-κB、p65、p-p65和GAPDH抗体溶液中4 °C孵育过夜。洗膜后与抗兔抗体常温孵育1 h,使用Bio-Rad系统进行条带成像和密度分析。以上涉及实验均重复3次或以上。

1.3.6 小鼠肺组织免疫荧光检测 取小鼠右肺上叶使用二甲苯进行脱蜡,然后用梯度酒精进行再水化。随后,将切片在正常山羊血清中浸泡30 min,将切片浸于NF-κB多克隆抗体溶液,并4 °C孵育过夜。用二氨基联胺显影,苏木素核染色,中性胶封口。使用VS200扫描仪(奥林巴斯,日本)获

取实验图像,通过盲法进行计数并分析。

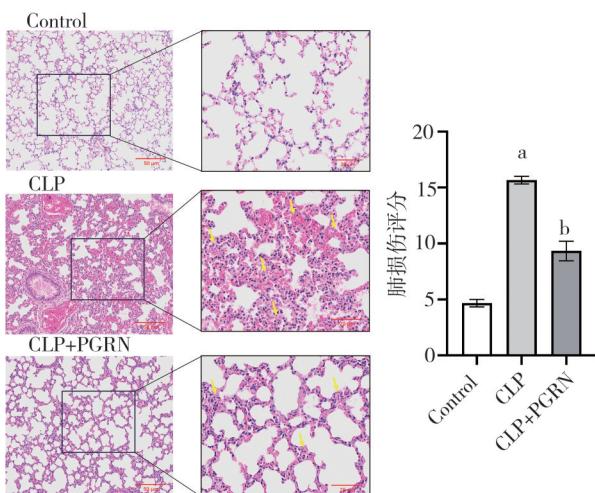
1.4 统计学方法

用 GraphPad Prism 8.0 和 SPSS 21.0 软件进行统计分析,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 呈现。多组间计量资料比较采用单因素方差分析,其组间两两比较采用 SNK-q 法,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 PGRN 缓解小鼠脓毒症 ALI 模型肺组织损伤

Control 组、CLP 组和 CLP+PGRN 组的肺部 HE 染色盲评损伤评分分别为 4.670 ± 0.471 、 15.670 ± 0.471 和 9.33 ± 1.24 ; 两两相比,相对于 Control 组,CLP 组肺部损伤程度明显升高 ($P=0.000$),CLP 组可见血管周围和间质充血水肿,肺泡间隙明显破坏,大量炎症细胞浸润(如黄色箭头所示);相对于 CLP 组,CLP+PGRN 组治疗组肺部损伤程度得到缓解,肺泡间隙破坏程度减轻,充血水肿得到改善,炎症细胞浸润同样减少(如黄色箭头所示),差异有统计学意义 ($P=0.002$)(图 1)。



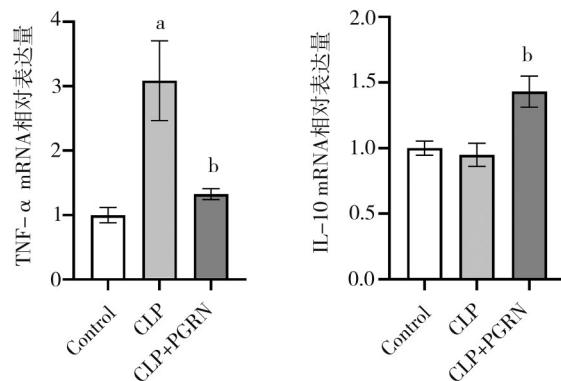
注:a,与 Control 组比较, $P=0.000$; b,与 CLP 组比较, $P=0.002$

图 1 HE 染色检测 PGRN 对 CLP 介导的肺部损伤的缓解情况

($\bar{x} \pm s, n=5$)

2.2 PGRN 降低肺部促炎因子表达,升高抑炎因子表达

造模、治疗后取小鼠肺组织提取 RNA,检测炎症因子在 mRNA 水平的表达情况,从而评估 PGRN 对损伤肺组织的炎症因子表达影响。其中,对于促炎细胞因子 TNF- α ,各组表达水平分别为 Control 组 1.000 ± 0.237 、CLP 组 3.09 ± 1.07 、CLP+PGRN 组 1.330 ± 0.148 ,CLP 组相较于 Control 组表达水平明显升高,差异有统计学意义 ($P=0.007$),经过治疗后 CLP+PGRN 组 TNF- α 表达水平相比 CLP 组降低明显 ($P=0.030$)。而对于抑炎细胞因子 IL-10,各组表达水平分别为 Control 组 1.000 ± 0.121 、CLP 组 0.949 ± 0.176 、CLP+PGRN 组 1.430 ± 0.237 ,经过 PGRN 治疗后 CLP+PGRN 组 IL-10 表达水平升高,差异有统计学意义 ($P=0.011$)(图 2)。

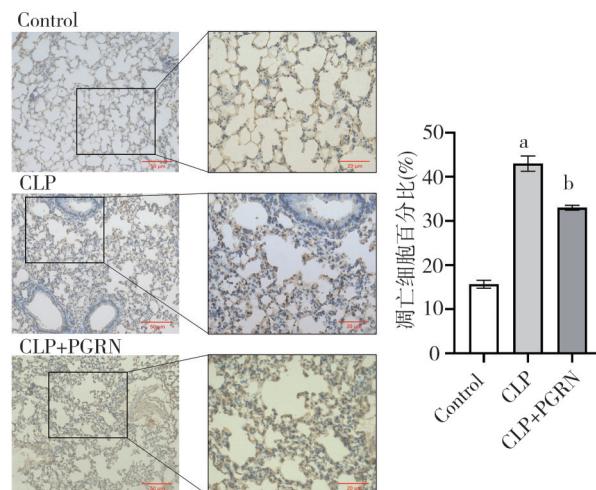


注:a,与 Control 组比较, $P=0.007$; b,与 CLP 组比较, $P=0.011$

图 2 PGRN 改变肺组织炎症因子表达 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

2.3 PGRN 抑制肺部凋亡

Control 组、CLP 组和 CLP+PGRN 组的肺部 TUNEL 染色结果显示凋亡细胞所占比例分别为 $(15.700 \pm 0.172)\%$ 、 $(43.000 \pm 0.300)\%$ 、 $(33.300 \pm 0.133)\%$ 。其中,CLP 组凋亡细胞占比相较于 Control 组明显升高 ($P=0.000$),而 CLP+PGRN 组则比 CLP 组明显降低 ($P=0.005$)(图 3)。



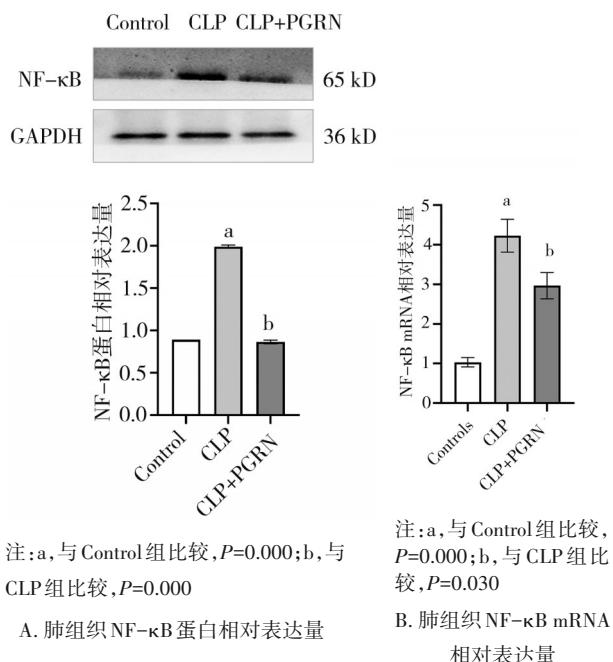
注:a,与 Control 组比较, $P=0.000$; b,与 CLP 组比较, $P=0.005$

图 3 TUNEL 染色检测肺组织凋亡水平 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

2.4 PGRN 抑制 NF- κ B 表达

通过 WB 检测小鼠肺组织 NF- κ B 蛋白水平,Control 组、CLP 组和 CLP+PGRN 组的结果分别为 0.891 ± 0.011 、 1.990 ± 0.207 、 0.862 ± 0.122 ,CLP+PGRN 组相比 CLP 组明显降低 ($P=0.000$)(图 4A)。通过 qRT-PCR 检测各组 NF- κ B 在 mRNA 层面的表达水平,Control 组、CLP 组和 CLP+PGRN 组的表达水平分别为 1.000 ± 0.031 、 4.220 ± 0.188 、 2.970 ± 0.103 。CLP 组相比 Control 组, NF- κ B 的表达水平明显升高 ($P=0.000$),而 CLP+PGRN 组相较于 CLP 组明显降低 ($P=0.030$)(图 4B)。根据免疫荧光染色的 Merge 结果统计,Control 组、CLP 组和 CLP+PGRN 组的 NF- κ B 阳性细胞占比分别为 $(13.40 \pm 3.17)\%$ 、 $(32.600 \pm 0.573)\%$ 、 $(16.20 \pm 3.37)\%$,NF- κ B 阳性细

胞占比在 CLP+PGRN 治疗组中相比 CLP 组明显降低,2 组差异有统计学意义($P=0.002$)(图 4C)。



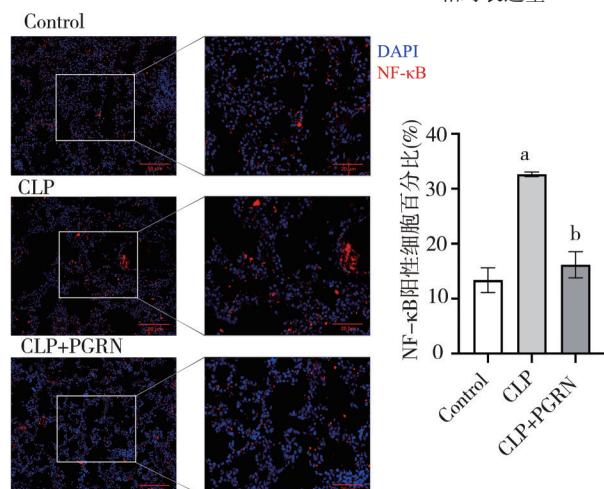
注:a,与 Control 组比较, $P=0.000$;b,与 CLP 组比较, $P=0.000$

A. 肺组织 NF-κB 蛋白相对表达量

注:a,与 Control 组比较,
 $P=0.000$;b,与 CLP 组比
较, $P=0.030$

B. 肺组织 NF-κB mRNA
相对表达量

C. 肺组织 NF-κB 阳性细胞占比

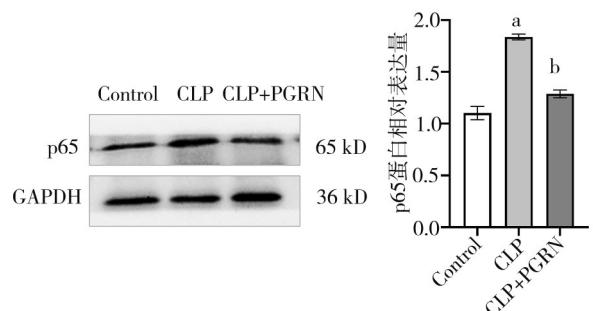


注:a,与 Control 组比较, $P=0.001$;b,与 CLP 组比较, $P=0.002$

图 4 PGRN 对肺组织 NF-κB 表达的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

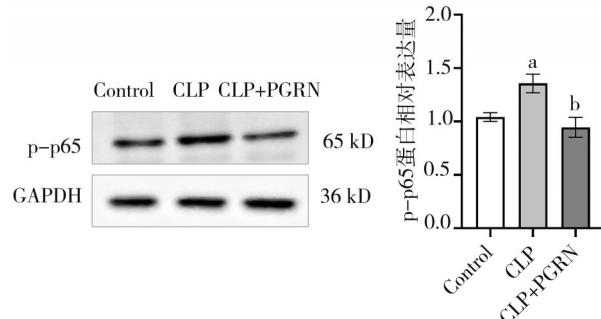
2.5 PGRN 抑制 p65 和 p-p65 表达

通过检测小鼠肺部 p65 和 p-p65 的蛋白水平来探究 p65 和 p-p65 的变化情况。在 WB 结果中可见,CLP 组 (1.830 ± 0.049) 使 p65 水平相较于对照组 (1.100 ± 0.110) 明显升高,CLP+PGRN 组治疗 (1.280 ± 0.066) 使 p65 水平相较于 CLP 组明显降低,且差异有统计学意义($P=0.000$)(图 5A)。小鼠肺组织检测 p65 磷酸化蛋白水平,各组表达水平分别为 Control 组 (1.000 ± 0.122)、CLP 组 (1.360 ± 0.123) 和 CLP+PGRN 组 (0.945 ± 0.132)。相比于 Control 组,CLP 组 p65 磷酸化水平升高明显($P=0.030$),PGRN 治疗后 CLP+PGRN 组相比 CLP 组明显降低($P=0.032$)(图 5B)。



注:a,与 Control 组比较, $P=0.000$;b,与 CLP 组比较, $P=0.000$

A. 肺组织 p65 蛋白相对表达量



注:a,与 Control 组比较, $P=0.030$;b,与 CLP 组比较, $P=0.032$

B. 肺组织 p-p65 蛋白相对表达量

图 5 PGRN 对肺组织 p65 和 p-p65 表达的影响

3 讨 论

急性呼吸窘迫综合征是重症医学领域高风险、高死亡率临床综合征,随着我国人口的老龄化,ARDS 的发病人数逐年提高。调查显示现重症监护室内 ARDS 发病率达到 10% 以上,死亡率达到 40% 以上^[10]。近年新型冠状病毒感染的全球大流行,更是增高 ARDS 在重症监护室中的占比和病死率,武汉初期救治的危重型 COVID-19 患者中,ARDS 发病率高达 67%,给社会和公共卫生资源带来沉重的负担^[11]。目前对 ARDS 的临床治疗手段较局限,主要分为机械通气治疗和非机械通气治疗 2 大类缺乏,特异性药物治疗手段的缺乏仍是 ARDS 所面临的一大挑战^[12]。在 ARDS 的发病机制中,错综复杂的细胞因子网络由通路构成级联反应,最终导致肺实质损伤、凋亡增加,早期阶段的诊疗至关重要^[13]。因此,寻找能有效控制细胞因子的 ALI 特异性治疗药物并研究其作用机制有十分重要的意义。

PGRN 是一种多功能糖蛋白,在中枢和外周内广泛表达,在上皮细胞、神经元和巨噬细胞中高度

表达,在一些免疫细胞,如T细胞和树突状细胞中也同样表达^[14]。中枢也可参与神经发育、神经炎症、自噬等生命活动,其功能障碍可能引起神经退行性疾病,外周参与免疫细胞功能的调节,促进癌细胞的增殖和转移^[15-16]。PGRN可在炎症疾病中发挥作用,有研究表明,PGRN可以通过调节免疫细胞的分化,参与免疫应答的过程,对免疫系统功能产生影响,如抑制巨噬细胞M1型极化,同时减低TNF- α 等炎症因子产生^[17]。此外,PGRN在组织修复和再生过程中发挥作用,能诱导细胞迁移和增殖,并在适当条件下参与皮肤和脊髓损伤的修复^[18]。该作用可能是通过促进细胞增殖、血管生成和胶原合成介导的^[19]。在一些神经系统疾病中,如阿尔茨海默病和帕金森病,PGRN可通过将衰老和功能障碍的小胶质细胞转化为抗病细胞,从而清除错误折叠的蛋白质和碎片^[20]。PGRN与神经炎症的发生和发展相关,可通过调控大脑免疫系统,将其从炎症状态转变为生理平衡状态,从而纠正神经退行性疾病^[21]。PGRN的水平或功能改变可能与炎症疾病的严重程度和预后相关,PGRN水平的降低可能导致较差的疾病结局^[22-23]。同时PGRN通过调控巨噬细胞功能和成纤维细胞外基质分泌对抗肺部炎症疾病中常见的纤维化的发生和发展^[24-25]。适当的细胞凋亡对于清除受损或异常的细胞是重要的,PGRN促进肿瘤坏死因子受体介导的内质网应激诱导调节细胞凋亡过程,有助于维持肺部的正常结构和功能^[26]。ARDS新生儿血清中PGRN高表达,miR-34b-5p可通过介导PGRN和炎症因子参与ARDS的发展^[6]。由此可见,PGRN可广泛参与炎症反应调节,调控巨噬细胞、中性粒细胞和淋巴细胞等免疫细胞的功能,在肺部炎症疾病中发挥作用^[17]。

为了探究PGRN在ALI中发挥的作用,本研究通过小鼠CLP造模诱导构建ALI模型,经过腹腔注射PGRN溶液治疗,观察相关损伤恢复和细胞因子表达情况。肺部HE染色结果表明,PGRN能有效缓解肺部损伤状态(图1);TUNEL染色检测肺组织凋亡水平,结果说明PGRN能抑制肺组织凋亡(图3);RT-qPCR检测肺组织炎症因子mRNA水平,在PGRN处理后促炎因子TNF- α 明显降低,抑炎因子IL-10明显升高(图2)。以上结果提示PGRN作为新靶向治疗药物应用于ALI的潜力。

NF- κ B是一种重要的转录因子,参与许多疾病

的发生和发展。最新研究发现,NF- κ B在炎症反应中发挥关键作用,可通过介导细胞因子和免疫细胞活化等方式参与类风湿关节炎、哮喘等炎症性疾病^[27]。NF- κ B也可参与免疫应答调节,如系统性红斑狼疮、多发性硬化等,NF- κ B的活化加重相关组织损伤^[28]。NF- κ B可以促进细胞增殖、抵抗凋亡,同时促进血管生成促进肿瘤的发生、发展和转移,与多种癌症的形成和演进相关^[29]。在ARDS中,NF- κ B可通过促进多种细胞因子基因转录导致炎症和组织损伤加重^[30]。NF- κ B由2类亚基形成二聚体,一类亚基包括p65(RelA)、RelB和C-Rel;另一类亚基包括p50和p52。p65是NF- κ B最常见的亚基之一,它参与细胞增殖、炎症以及免疫等多种病理生理过程。当受到外界因素刺激时,p65活化后启动多种炎症基因的转录,诱导各种细胞因子表达^[31]。在ARDS中,p65通过活化生成磷酸化p65(p-p65)促进炎症细胞的活化和浸润,影响肺泡上皮细胞和血管内皮细胞的功能,加重肺泡上皮细胞的高凝和纤溶,进一步加重炎症反应^[32-33]。此外,p-p65还可能参与ARDS中的氧化应激和细胞凋亡等过程^[34-35]。因此,降低NF- κ B、p65以及p-p65水平或可成为ARDS治疗的关键。

为了进一步探究PGRN在ALI中发挥作用的可能机制,本研究在PGRN治疗后通过免疫荧光、RT-qPCR和WB对NF- κ B途径相关蛋白进行不同层次的检测。小鼠肺部免疫荧光结果显示NF- κ B阳性细胞占比明显降低(图4C),且在WB(图4A)和RT-qPCR(图4B)的重复实验中出现相同结果;蛋白水平检测p65在小鼠肺部含量,结果显示PGRN治疗后明显降低p65含量(图5A);进一步验证p65活化情况,通过WB检测p-p65水平,结果显示CLP组小鼠肺组织p65活化明显升高,在PGRN治疗后明显降低(图5B)。以上结果提示,PGRN可能通过NF- κ B途径,即抑制NF- κ B及其亚基p65表达、抑制p65活化来发挥肺部损伤治疗作用。

综上所述,外源性给予PGRN可明显降低ALI肺部损伤程度,能有效保护肺部,达到治疗效果。同时,PGRN降低肺部NF- κ B及其亚基p65水平,抑制了p65活化,这可能是PGRN治疗作用的介导途径。这些研究结果提示,PGRN可能通过抑制NF- κ B表达和活化,减轻脓毒症急性肺损伤,这为ARDS的药物治疗提供了新的潜在靶点,为挽救ALI高死亡率提供新思路。

参 考 文 献

- [1] Villar J, Szakmany T, Grasselli G, et al. Redefining ARDS: a paradigm shift[J]. Crit Care, 2023, 27(1):416.
- [2] Schmidt M, Hajage D, Lebreton G, et al. Prone positioning during extracorporeal membrane oxygenation in patients with severe ARDS: the PRONECMO randomized clinical trial[J]. JAMA, 2023;330(24):2343-2353.
- [3] Attaway AH, Scheraga RG, Bhimraj A, et al. Severe covid-19 pneumonia: pathogenesis and clinical management[J]. BMJ, 2021, 372:n436.
- [4] Wilson JG, Calfee CS. ARDS subphenotypes: understanding a heterogeneous syndrome[J]. Crit Care, 2020, 24(1):102.
- [5] Saeedi-Boroujeni A, Purrahman D, Shojaeian A, et al. Progranulin (PGRN) as a regulator of inflammation and a critical factor in the immunopathogenesis of cardiovascular diseases[J]. J Inflamm, 2023, 20(1):1.
- [6] Xie W, Lu QC, Wang KL, et al. miR-34b-5p inhibition attenuates lung inflammation and apoptosis in an LPS-induced acute lung injury mouse model by targeting progranulin[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(9):6615-6631.
- [7] Mitchell S, Vargas J, Hoffmann A. Signaling via the NF κ B system [J]. Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med, 2016, 8(3):227-241.
- [8] Min Y, Kim MJ, Lee SN, et al. Inhibition of TRAF6 ubiquitin-ligase activity by PRDX1 leads to inhibition of NF κ B activation and autophagy activation[J]. Autophagy, 2018, 14(8):1347-1358.
- [9] Mikawa K, Nishina K, Takao Y, et al. ONO-1714, a nitric oxide synthase inhibitor, attenuates endotoxin-induced acute lung injury in rabbits[J]. Anesth Analg, 2003, 97(6):1751-1755.
- [10] Luyt CE, Bouadma L, Morris AC, et al. Pulmonary infections complicating ARDS[J]. Intensive Care Med, 2020, 46(12):2168-2183.
- [11] Asselah T, Durantel D, Pasmant E, et al. COVID-19; discovery, diagnostics and drug development[J]. J Hepatol, 2021, 74(1):168-184.
- [12] Meyer NJ, Gattinoni L, Calfee CS. Acute respiratory distress syndrome[J]. Lancet, 2021, 398(10300):622-637.
- [13] Lin SH, Wu H, Wang CJ, et al. Regulatory T cells and acute lung injury: cytokines, uncontrolled inflammation, and therapeutic implications[J]. Front Immunol, 2018, 9:1545.
- [14] Huang GW, Jian JL, Liu CJ. Progranulinopathy: a diverse realm of disorders linked to progranulin imbalances[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2023:S1359-S6101(23)00078-3.
- [15] Purrahman D, Shojaeian A, Poniatowski ŁA, et al. The role of progranulin (PGRN) in the pathogenesis of ischemic stroke[J]. Cell Mol Neurobiol, 2023, 43(7):3435-3447.
- [16] Logan T, Simon MJ, Rana A, et al. Rescue of a lysosomal storage disorder caused by Grn loss of function with a brain penetrant progranulin biologic[J]. Cell, 2024, 187(6):1565-1566.
- [17] Liu LL, Guo HM, Song AM, et al. Progranulin inhibits LPS-induced macrophage M1 polarization via NF- κ B and MAPK pathways [J]. BMC Immunol, 2020, 21(1):32.
- [18] Sun RX, Wang D, Song YX, et al. Granulin as an important immune molecule involved in lamprey tissue repair and regeneration by promoting cell proliferation and migration[J]. Cell Mol Biol Lett, 2022, 27(1):64.
- [19] Wei J, Hettinghouse A, Liu C. The role of progranulin in arthritis [J]. Ann N Y Acad Sci, 2016, 1383(1):5-20.
- [20] Boylan MA, Pincetic A, Romano G, et al. Targeting progranulin as an immuno-neurology therapeutic approach[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(21):15946.
- [21] Yan D, Zhang YN, Huang YH, et al. Progranulin facilitates corneal repair through dual mechanisms of inflammation suppression and regeneration promotion[J]. Inflammation, 2024;69-85.
- [22] Purrahman D, Mahmoudian-Sani MR, Saki N, et al. Involvement of progranulin (PGRN) in the pathogenesis and prognosis of breast cancer[J]. Cytokine, 2022, 151:155803.
- [23] Jian JL, Li GF, Hettinghouse A, et al. Progranulin: a key player in autoimmune diseases[J]. Cytokine, 2018, 101:48-55.
- [24] Zhao MY, Wang MZ, Chen XX, et al. Targeting progranulin alleviated silica particles-induced pulmonary inflammation and fibrosis via decreasing IL-6 and Tgf- β 1/Smad[J]. J Hazard Mater, 2024, 465:133199.
- [25] Du H, Wong MY, Zhang TT, et al. A multifaceted role of progranulin in regulating amyloid-beta dynamics and responses[J]. Life Sci Alliance, 2021, 4(7):e202000874.
- [26] Chen SC, Bie MJ, Wang XW, et al. PGRN exacerbates the progression of non-small cell lung cancer via PI3K/AKT/Bcl-2 antiapoptotic signaling[J]. Genes Dis, 2022, 9(6):1650-1661.
- [27] Efferth T, Oesch F. The immunosuppressive activity of artemisinin-type drugs towards inflammatory and autoimmune diseases [J]. Med Res Rev, 2021, 41(6):3023-3061.
- [28] Barrat FJ, Crow MK, Ivashkov LB. Interferon target-gene expression and epigenomic signatures in health and disease[J]. Nat Immunol, 2019, 20(12):1574-1583.
- [29] L.J. Schlein, D.H. Thamm. NF- κ B activation in canine cancer[J]. Veterinary Pathology 59(5) (2022) 724-732.
- [30] Zusso M, Lunardi V, Franceschini D, et al. Ciprofloxacin and levofloxacin attenuate microglia inflammatory response via TLR4/NF- κ B pathway[J]. J Neuroinflammation, 2019, 16(1):148.
- [31] Wu YQ, Wang YH, Liu B, et al. SN50 attenuates alveolar hypercoagulation and fibrinolysis inhibition in acute respiratory distress syndrome mice through inhibiting NF- κ B p65 translocation[J]. Respir Res, 2020, 21(1):130.
- [32] Devi K, Soni S, Tripathi V, et al. Ethanolic Extract of *Tridax procumbens* mitigates pulmonary inflammation via inhibition of NF- κ B/p65/ERK mediated signalling in an allergic asthma model[J]. Phytomedicine, 2022, 99:154008.
- [33] Cheng YM, Liu B, Qian H, et al. BAY11-7082 inhibits the expression of tissue factor and plasminogen activator inhibitor-1 in type-II alveolar epithelial cells following TNF- α stimulation via the NF- κ B pathway[J]. Exp Ther Med, 2021, 21(2):177.
- [34] Zhou J, Peng ZL, Wang J. Trelagliptin alleviates lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation and oxidative stress in acute lung injury mice[J]. Inflammation, 2021, 44(4):1507-1517.
- [35] Chen H, Zhang W, Luo S, et al. Lead exposure induces neuronal apoptosis via NF κ B p65/RBBP4/Survivin signaling pathway[J]. Toxicology, 2023, 499:153654.

(责任编辑:周一青)