

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002439

颗粒蛋白前体通过调控调节性 T 细胞影响急性肺损伤 白细胞介素-10 表达和肺巨噬细胞极化的实验研究

陈彦青, 林时辉

(重庆医科大学附属第一医院急诊科 & 重症医学科, 重庆 400016)

【摘要】目的:研究颗粒蛋白前体(progranulin, PGRN)在小鼠急性肺损伤(acute lung injury, ALI)模型中对调节性 T 细胞(regulatory T cells, Tregs)的调控及其对白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)表达和肺巨噬细胞极化的影响。**方法:**将 C57BL/6 小鼠随机分为 Control 组、脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)组、LPS+PGRN 治疗组。用 LPS 气道滴注诱导小鼠 ALI 模型, LPS+PGRN 治疗组在 LPS 处理半小时后采用 0.1 mg/kg 的 PGRN 气道滴注。给药 24 h 后用水合氯醛麻醉小鼠, 取小鼠肺组织及肝素抗凝血。肺组织病理切片 HE 染色评估肺损伤; 流式细胞术检测外周血 Tregs; 酶联免疫吸附法检测血浆 IL-6、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、IL-10 表达; 免疫荧光检测肺巨噬细胞表型。**结果:**不同处理组间外周血 Tregs, 血浆中 IL-6、TNF- α 、IL-10, 肺组织中 M1、M2 型肺巨噬细胞存在统计学差异($F=69.340, P=0.000; F=73.100, P=0.000; F=17.800, P=0.000; F=11.780, P=0.003; F=67.560, P=0.000; F=197.100, P=0.000$)。并且 PGRN 治疗后, ALI 小鼠肺损伤明显减轻, 外周血 Tregs 明显增高[LPS: $(4.714 \pm 0.265)\%$, LPS+PGRN: $(8.930 \pm 0.255)\%$, $P=0.000$], 血浆中促炎因子 IL-6[LPS: $(3\ 021.000 \pm 294.900)$ pg/mL, LPS+PGRN: (276.700 ± 148.000) pg/mL, $P=0.000$]和 TNF- α 表达[LPS: (90.980 ± 10.240) pg/mL, LPS+PGRN: (20.410 ± 9.190) pg/mL, $P=0.002$]明显降低, 血浆抑炎因子 IL-10 表达明显上升[LPS: (296.400 ± 44.280) pg/mL, LPS+PGRN: $(2\ 551.000 \pm 0\ 655.100)$ pg/mL, $P=0.014$], M1 型肺巨噬细胞减少[LPS: $(17.870 \pm 1.890)\%$, LPS+PGRN: $(4.436 \pm 0.248)\%$, $P=0.000$], M2 型肺巨噬细胞增多[LPS: $(2.284 \pm 0.444)\%$, LPS+PGRN: $(11.920 \pm 0.458)\%$, $P=0.000$]。**结论:**在小鼠 ALI 模型中, PGRN 能够通过调控 Tregs 改变 IL-10 的表达, 影响肺巨噬细胞极化。

【关键词】颗粒蛋白前体; 急性呼吸窘迫综合征; 急性肺损伤; 调节性 T 细胞; 白细胞介素-10

【中图分类号】R459.7

【文献标志码】A

【收稿日期】2019-12-09

Effect of progranulin on expression of interleukin-10 and polarization of pulmonary macrophages through the regulation of regulatory T cells

Chen Yanqing, Lin Shihui

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

【Abstract】Objective: To study the effect of progranulin(PGRN) on the expression of interleukin(IL)-10 and the polarization of pulmonary macrophages through the regulation of regulatory T cells(Tregs) in mouse model with acute lung injury(ALI). **Methods:** The C57BL/6 mice were randomly divided into the normal control group(Control group), the lipopolysaccharides(LPS) group and the LPS+PGRN treatment group(LPS+PGRN group). The ALI mouse model was induced by LPS(2.5 mg/kg) via intratracheal instillation. The LPS+PGRN group was treated with 0.1 mg/kg PGRN after half an hour of LPS instillation. The mice were anesthetized with 3% chloral hydrate at 24h after LPS instillation, lung tissues and heparin anticoagulant blood were taken. The severity of lung injury was evaluated by histopathology with hematoxylin and eosin staining. The Tregs in peripheral blood was detected by flow cytometry.

The expression of IL-6, tumor necrosis factor(TNF)- α and IL-10 in plasma were tested by enzyme linked immunosorbent assay. The phenotype of macrophages in lung tissue was detected by immunofluorescence. **Results:** The ratio of Tregs in peripheral blood, the expression of IL-6, TNF- α , and IL-10 in plasma, and the proportion of M1 and M2 macrophages in the lung tissue between different groups had statistically significant differences($F=69.340, P=0.000; F=73.100, P=0.000; F=17.800,$

作者介绍: 陈彦青, Email: 492688038@qq.com,

研究方向: 急性呼吸窘迫综合征的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); 重庆市科委基础科学与前沿技术研究资助项目(编号: cstc2019jcyj-msxmX0301)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20200413.1310.016.html>
(2020-04-16)

$P=0.000; F=11.780, P=0.003; F=67.560, P=0.000; F=197.100, P=0.000$). After PGRN treatment, the lung injury of ALI mouse model was significantly reduced and the proportion of Tregs in peripheral blood was higher[LPS: $(4.714 \pm 0.265)\%$, LPS+PGRN: $(8.930 \pm 0.255)\%$, $P=0.000$]. The expression of proinflammatory cytokines IL-6[LPS: $(3\ 021.000 \pm 294.900)$ pg/mL, LPS+PGRN: (276.700 ± 148.000) pg/mL, $P=0.000$] and TNF- α [LPS: (90.980 ± 10.240) pg/mL, LPS+PGRN: (20.410 ± 9.190) pg/mL, $P=0.002$] was significantly decreased. The expression of anti-inflammatory cytokine IL-10 in plasma significantly was increased[LPS: (296.400 ± 44.280) pg/mL, LPS+PGRN: (2551.000 ± 655.100) pg/mL, $P=0.014$], and M1 lung macrophages was decreased[LPS: $(17.870 \pm 1.890)\%$, LPS+PGRN: $(4.436 \pm 0.248)\%$, $P=0.000$], while M2 lung macrophages was increased[LPS: $(2.284 \pm 0.444)\%$, LPS+PGRN: $(11.920 \pm 0.458)\%$, $P=0.000$]. **Conclusion:** PGRN can increase the expression of IL-10 and M2 lung macrophages through the regulation of Tregs in ALI mouse model, so as to influence the polarization of lung macrophages.

[Key words] progranulin; acute respiratory distress syndrome; acute lung injury; regulatory T cells; interleukin-10

急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)在 1967 年首次提出^[1]。ARDS 是一种以低氧血症和弥漫性肺泡损伤为特征的急性肺损伤(acute lung injury, ALI)^[2]。1 项全球性的大规模多中心临床研究显示,重症监护病房(intensive care units, ICUs)中 ARDS 的发病率为 10.4%,病死率超过 34.9%^[3]。尽管对 ARDS 的认识越来越丰富,但对 ARDS 的诊断仍依赖各种临床特征和胸部影像学检查,缺乏生物标志物^[4]。由于 ARDS 发病原因多种多样,其治疗也多以治疗原发病、支持性治疗为主,缺乏针对其潜在致病机制的药物治疗^[5]。因此,寻找一种潜在的能够特异性治疗 ARDS 的生物标志物亟不可待。颗粒蛋白前体(progranulin, PGRN)在上皮细胞、淋巴细胞和神经细胞等细胞中广泛表达^[6],参与伤口愈合、宿主防御及神经退行性病变等各种生理功能和疾病过程^[7-9]。尽管其抗炎作用已经得到广泛认可,但在不同疾病及疾病不同阶段, PGRN 的作用可能不同^[10]。研究表明,在脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)诱导的小鼠急性肺损伤模型中, PGRN 能够调控调节性 T 细胞(regulatory T cells, Tregs)的功能。Tregs 是 CD4⁺ T 细胞的重要亚群,在免疫介导的炎症负调节中发挥重要作用^[11]。它能分泌白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10),抑制过度的免疫应答,从而保护宿主^[12-13]。巨噬细胞作为宿主的第一道防线,当受到环境刺激后极化成为完全不同的 2 种表型:促炎的 M1 型和抑炎的 M2 型,参与炎症的调节与组织修复^[14-15]。本实验通过研究小鼠急性肺损伤(acute lung injury, ALI)模型中, PGRN 对 Tregs 的调控及其对 IL-10 表达和肺巨噬细胞极化的影响,探讨 PGRN 对 ARDS 肺损伤治疗的潜在机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

15 只年龄 8~12 周,体质量 20~25 g 的 SPF 级健康雄性 C57BL/6 小鼠购自重庆医科大学实验动物中心。15 只年龄 8~12 周,体质量 20~25 g 的 SPF 级雄性 C57BL/6 背景的 PGRN 缺陷型(PGRN^{-/-})小鼠购自 The Jackson Laboratory,饲养于重庆医科大学实验动物中心。

1.2 主要试剂

PGRN(R & D Systems, 明尼阿波利斯, 明尼苏达州, 美国); LPS(*Escherichia coli* O55:B5, Sigma, 美国); 抗小鼠 CD4-异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)、CD25-藻红蛋白(phycoerythrin, PE)、Foxp3-别藻蓝蛋白(allophycocyanin, APC)、固定/破膜试剂盒(eBioscience, 圣迭戈, 加利福尼亚州, 美国); 小鼠 IL-10 酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测试剂盒(R & D Systems, 美国); 山羊抗鼠 IL-10、兔抗鼠 F4/80、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、CD206 抗体(赛维, 武汉, 中国)。

1.3 动物分组及给药

取正常健康雄性适龄 C57BL/6 小鼠 15 只,随机分为 3 组:正常组(Control 组, $n=5$)、ALI 模型组(LPS 组, $n=5$)和 PGRN 治疗 ALI 模型组(LPS+PGRN 组, $n=5$)。正常喂养 1 周后, LPS 组给予气道滴注 LPS 2.5 mg/kg 建造急性肺损伤模型, PGRN 组于气道滴注 LPS 建立 ALI 模型半小时后给予 0.1 mg/kg 的 PGRN, 给药后 24 h 用 3%水合氯醛麻醉小鼠,取小鼠肝素抗凝血及肺脏。取雄性适龄 PGRN^{-/-}小鼠 15 只,随机分为 3 组:正常组(Control 组, $n=5$)、ALI 模型组(LPS 组, $n=5$)和 PGRN 治疗 ALI 模型组(LPS+PGRN 组, $n=5$)。按同样的方法处理小鼠,取小鼠肺组织。

1.4 小鼠肺组织损伤严重程度的检测

将肺组织固定、包埋、切片, HE 染色进行组织病理学

分析。

1.5 小鼠血浆中 IL-6、TNF- α 、IL-10 蛋白的检测

取得的各组小鼠肝素抗凝血在室温、2 500 r/min 离心 10 min, 获得上层血浆, 用 R&D 公司试剂盒检测小鼠血浆 IL-6、TNF- α 、IL-10 的表达量。

1.6 小鼠外周血 Tregs 的检测

收集分离血浆后的血细胞, 用红细胞裂解液裂解红细胞。随后根据试剂说明书孵育荧光抗体、固定破膜后, 上流式细胞仪检测 Tregs。

1.7 小鼠肺巨噬细胞极化的检测

肺石蜡切片用二甲苯脱蜡, 并在梯度浓度酒精中水化。用柠檬酸钠溶液进行抗原修复, 用正常山羊血清孵育切片。加入兔抗小鼠 F4/80、iNOS 和 CD206 抗体, 并在 4℃ 湿盒中孵育过夜。随后加入山羊抗兔抗体室温避光孵育 1 h, F4/80 抗体与 FITC 荧光偶联, iNOS 与 PE-花青(cyanin, Cy3)偶联, CD206 与 Alexa Fluor 荧光偶联。最后用 4', 6-二 D 基-2-苯基吲哚染细胞核并用中性树胶密封。

1.8 统计学处理

应用 GraphPad Prism 6.0 软件进行统计学分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。3 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 对小鼠 LPS 诱导的 ALI 模型肺损伤严重程度的影响

小鼠肺组织病理切片显示(图 1), LPS 气道滴注诱导的

ALI 小鼠肺泡充血、出血、血管壁中性粒细胞浸润或聚集、肺泡间隔增厚(如图 1B 中箭头所示)。PGRN 治疗后小鼠肺组织中中性粒细胞减少、肺泡内渗出减少, 肺泡间隔厚度与正常组相似(如图 1C 中箭头所示), 肺损伤减轻。

2.2 PGRN 对小鼠 LPS 诱导的 ALI 模型外周血中 Tregs 功能的影响

小鼠外周血 Tregs 比例在 Control 组 $[(5.924 \pm 0.192)\%]$ 、LPS 组 $[(4.714 \pm 0.265)\%]$ 与 LPS+PGRN 组 $[(8.930 \pm 0.255)\%]$ 之间存在统计学差异 ($F=69.340, P=0.000$)。在小鼠 ALI 模型中, 外周血 Tregs 比例与正常组相比明显降低 ($q=5.230, P=0.003$)。PGRN 治疗后, 外周血 Tregs 明显增多 ($q=16.540, P=0.000$)。见图 2。

2.3 PGRN 对小鼠 LPS 诱导的 ALI 模型血浆中炎症因子的影响

小鼠血浆 IL-6 的表达在 Control 组 $[(117.000 \pm 22.920) \text{ pg/mL}]$ 、LPS 组 $[(3021.000 \pm 294.900) \text{ pg/mL}]$ 与 LPS+PGRN 组 $[(276.700 \pm 148.000) \text{ pg/mL}]$ 总体之间存在统计学差异 ($F=73.100, P=0.000$)。LPS 组小鼠与 Control 组小鼠血浆 IL-6 的表达相比, 明显升高 ($q=15.210, P=0.000$)。PGRN 治疗后, LPS+PGRN 组 IL-6 的表达量明显低于 LPS 组 ($q=14.370, P=0.000$)。

小鼠血浆 TNF- α 的表达在 Control 组 $[(45.730 \pm 5.100) \text{ pg/mL}]$ 、LPS 组 $[(90.980 \pm 10.240) \text{ pg/mL}]$ 与 LPS+PGRN 组 $[(20.410 \pm 9.190) \text{ pg/mL}]$ 总体之间存在统计学差异 ($F=17.800, P=0.000$)。与 Control 组小鼠相比, LPS 组小鼠血浆 TNF- α 的表达明显增高 ($q=5.340, P=0.007$)。与 LPS 组相比, LPS+PGRN 组 TNF- α 的表达量明显降低 ($q=8.328, P=0.002$)。

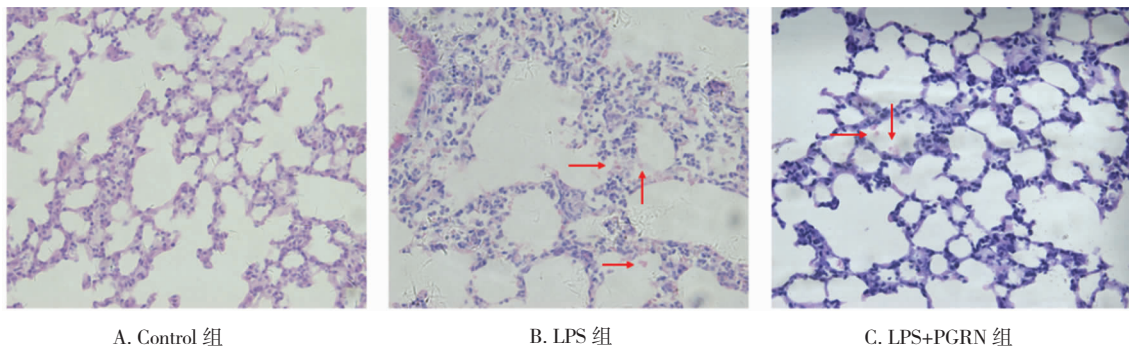


图 1 LPS 组和 PGRN 组肺损伤严重程度比较 (HE 染色, 400 $\times$)

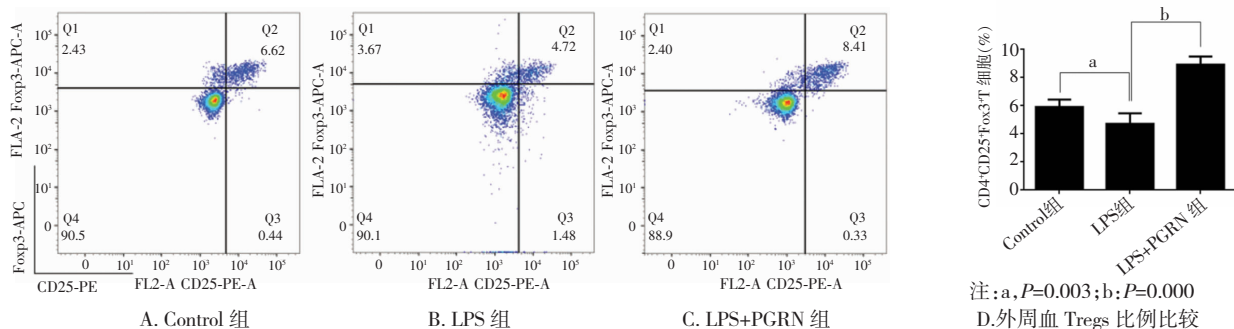


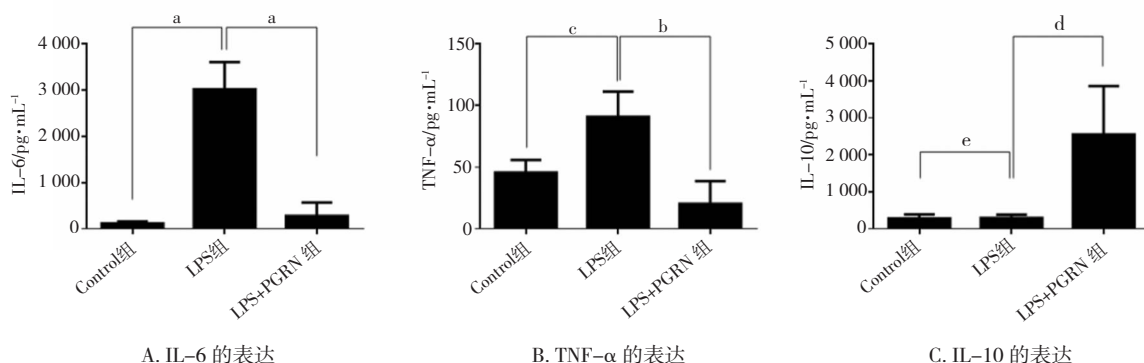
图 2 LPS 组和 PGRN 组外周血中 Tregs 比例比较 (流式细胞术)

小鼠血浆中 IL-10 的表达在 Control 组 (282.000 ± 56.800) pg/mL、LPS 组 (296.400 ± 44.280) pg/mL 与 LPS+PGRN 组 (2551.000 ± 655.100) pg/mL 总体之间存在统计学差异 $(F=11.780, P=0.003)$ 。LPS 组小鼠与 Control 组小鼠血浆的 IL-10 表达无统计学差异 $(q=0.038, P=0.849)$, LPS+PGRN 组的 IL-10 表达量明显高于 LPS 组 $(q=5.926, P=0.014)$ 。具体如图 3

所示。

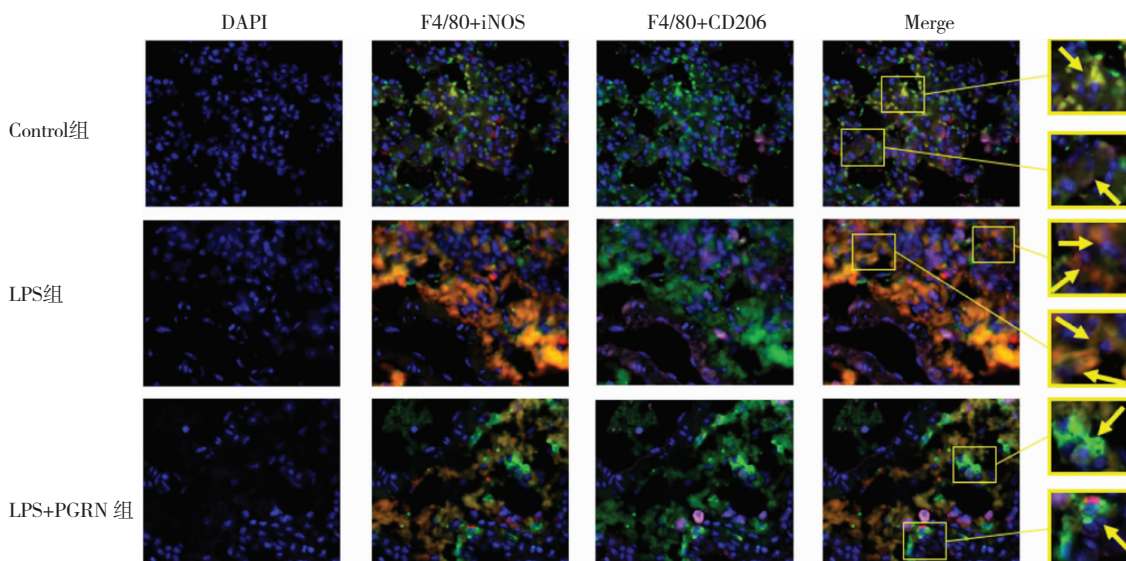
2.4 PGRN 对小鼠 LPS 诱导的 ALI 模型肺巨噬细胞极化的影响 (图 4)

肺巨噬细胞的极化在肺组织及肺泡腔炎症与修复中发挥重要作用。M1 型肺巨噬细胞通过释放各种促炎介质来加重肺损伤, M2 型肺巨噬细胞通过消除凋亡细胞并参与

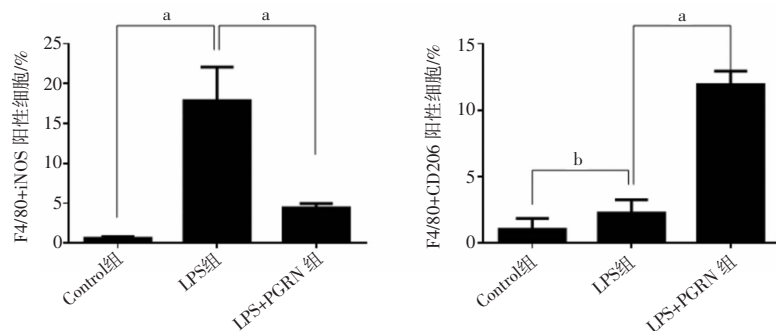


注: a, $P=0.000$; b, $P=0.007$; c, $P=0.002$; d, $P=0.014$; e: 无统计学差异

图 3 LPS 组和 PGRN 组小鼠血浆中炎症因子的表达情况 (ELISA)



A. 肺巨噬细胞极化情况



B. M1 型肺巨噬细胞

C. M2 型肺巨噬细胞

注: a, $P=0.000$; b: 无统计学差异

图 4 LPS 组和 PGRN 组肺巨噬细胞极化情况 (免疫荧光, $900\times$)

ARDS 的肺组织修复来减轻肺损伤^[16-17]。PGRN^{-/-}小鼠各组 M1 型肺巨噬细胞 ($F=67.560, P=0.000$) 与 M2 型肺巨噬细胞 ($F=197.100, P=0.000$) 数目不同。与 Control 组比较 [M1: $(0.628 \pm 0.100)\%$, M2: $(1.040 \pm 0.364)\%$], LPS 组 M1 型肺巨噬细胞较多 [$(17.870 \pm 1.890)\%$, $q=15.650, P=0.000$], 而 M2 型肺巨噬细胞轻微增多 [$(2.284 \pm 0.444)\%$], 但无统计学意义 ($q=2.933, P=0.062$)。经 PGRN 治疗后, 较 LPS 组, LPS+PGRN 组小鼠肺组织中 M1 型肺巨噬细胞急剧减少 [$(4.446 \pm 0.248)\%$, $q=12.190, P=0.000$], 而 M2 型肺巨噬细胞明显增多 [$(11.920 \pm 0.458)\%$, $q=22.720, P=0.000$]。

3 讨论

ARDS 是一种多样化的综合征^[2], 不仅在不同发病原因的患者间存在不同, 即便在同一患者疾病的不同阶段, ARDS 的临床表现、病理特征也变化多样, 这让独立地阐述 ARDS 的机制或者程序化地治疗 ARDS 变得十分困难^[18]。ARDS 的特征是急性肺泡损伤、炎症、细胞因子产生和中性粒细胞积聚, 许多炎性介质和炎性细胞参与了 ARDS 的炎性损伤过程^[19]。当前, 微小核糖核酸 (microRNA)、间充质干细胞、IL-10 等生物治疗是 ARDS 治疗的一种策略^[20-21]。可见, 如何控制炎症是 ARDS 治疗研究的重要目标, 生物治疗已被证明是控制 ARDS 炎症的重要手段。

在炎症中, IL-10 与巨噬细胞的关系错综复杂。巨噬细胞, 特别是 2 型巨噬细胞, 能分泌 IL-10, 而 IL-10 的抗炎作用又可能通过巨噬细胞的代谢重编程介导, 并且 IL-10 是巨噬细胞生成活性氧过程的重要抑制剂。血浆 IL-10 的表达与 ARDS 的发展有关^[22]。IL-10 可以通过调节肺部的炎症反应改善氧合作用, 抑制氧化应激发挥抗炎特性^[23]。Tregs 作为一种抑制介质参与 ALI^[24], 在维持免疫稳态和免疫耐受中十分重要^[25]。研究表明, Tregs 在 ARDS 的缓解和治疗中协调、控制一系列复杂的炎症发生发展过程, 发挥核心作用^[18]; 调节 IL-2、IL-6、IL-10、TNF- α 、肿瘤生长因子 (tumor growth factor, TGF)- β 等炎症因子的分泌, 抑制辅助性 T 细胞 (helper T lymphocytes, Th) 1、Th2 的分化及巨噬细胞活化。

PGRN 在多种组织或细胞中丰富表达, 发挥多样性的作用。众所周知, 完整的 PGRN 具有抗炎作用。在自身免疫疾病中, PGRN 的抗炎作用和相关治疗的应用已被广泛讨论, 并达成共识。但 PGRN 的

降解物颗粒体蛋白 (granulin, GRN) 却具有促炎作用^[8, 26-27], 甚至在肥胖和胰岛素抵抗性糖尿病中, PGRN 也发挥促炎作用。因此, PGRN 的作用随着炎症的不同种类及发展阶段不同而变化。在炎症条件下, PGRN 可以调控 Tregs 的功能, 而 PGRN 发挥抗炎作用时, IL-10 是其关键介质^[28]。本课题组之前的研究发现, 脓毒症中 PGRN 的保护作用与促进腹腔巨噬细胞聚集有关。虽然已有研究表明 PGRN 能够改善 LPS 诱导的 ALI, 但 PGRN 治疗炎症性 ARDS 的机制, 特别是 PGRN 介导 IL-10 产生的分子调控机制尚不明确。

本研究发现, 在 C57BL/6 小鼠中, PGRN 治疗后, 肺脏病理学显示 LPS+PGRN 组较 LPS 组, 肺泡充血、出血、血管壁中性粒细胞浸润或聚集减少, 肺泡间隔增厚减轻, 无透明膜形成。同时, LPS+PGRN 组外周血 Tregs 增多, 血浆中促炎因子 IL-6 和 TNF- α 表达减少, 而抑炎因子 IL-10 表达增加。可见, LPS 支气管滴注诱导的小鼠 ALI 模型中, PGRN 这一干预因素能减轻肺损伤并在一定程度上抑制 ALI 的炎症反应进程。随后发现, PGRN 能够调节 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺巨噬细胞的极化。更为有趣的是, 本研究发现 PGRN 组 Tregs 增高与血浆中促炎因子 IL-6 和 TNF- α 表达降低, 抑炎因子 IL-10 表达增高、肺损伤严重程度减轻、M1 型巨噬细胞比例降低、M2 型巨噬细胞比例增高趋势一致。这在一定程度上提示, PGRN 对 LPS 诱导的 C57BL/6 小鼠 ALI 模型的调控炎症因子 IL-10 的表达与促进肺巨噬细胞向 M2 型极化的作用与 PGRN 调控 Tregs 功能有关。究其原因, 可能与 PGRN 促进 T 淋巴细胞活化, 使其向 Treg 转化^[29]和促进 Tregs 增殖^[30]有关; 也可能与其增强 Tregs 抑制效应 T 细胞增殖、促炎因子释放及促进 IL-10 等抑炎因子分泌等免疫抑制功能有关^[29]。巨噬细胞的极化也可能是 IL-10 的另一种免疫调节机制。本研究的不足之处在于未分别抑制 Tregs 和 IL-10 后再检测对彼此及巨噬细胞的影响。究竟是 PGRN 通过调控 Tregs 功能促进 IL-10 分泌改变了巨噬细胞极化, 还是 PGRN 通过调控 Tregs 功能促进巨噬细胞向 M2 极化改变了 IL-10 的表达, 这是一个值得进一步探讨的问题。

综上所述, PGRN 降低 ALI 的严重程度与调控 Tregs 功能有关。调节 IL-10 的表达和肺巨噬细胞极化是 PGRN 对 ARDS 抗炎作用的重要组成部分, 这

与 Tregs 的功能有关。

参 考 文 献

- [1] Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, et al. Incidence and outcomes of acute lung injury[J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(16): 1685–1693.
- [2] Force ADT, Ranieri VM, Rubenfeld GD, et al. Acute respiratory distress syndrome; the Berlin definition[J]. *JAMA*, 2012, 307(23): 2526–2533.
- [3] Bellani G, Laffey JG, Pham T, et al. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries[J]. *JAMA*, 2016, 315(8): 788–800.
- [4] Thompson BT, Chambers RC, Liu KD. Acute respiratory distress syndrome[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(6): 562–572.
- [5] Fan E, Brodie D, Slutsky AS. Acute respiratory distress syndrome: advances in diagnosis and treatment[J]. *JAMA*, 2018, 319(7): 698–710.
- [6] Bateman A, Bennett HP. The granulin gene family: from cancer to dementia[J]. *Bioessays*, 2009, 31(11): 1245–1254.
- [7] He Z, Ong CH, Halper J, et al. Progranulin is a mediator of the wound response[J]. *Nat Med*, 2003, 9(2): 225–229.
- [8] Zhu J, Nathan C, Jin W, et al. Conversion of proepithelin to epithelins: roles of SLPI and elastase in host defense and wound repair[J]. *Cell*, 2002, 111(6): 867–878.
- [9] Baker M, Mackenzie IR, Pickering-Brown SM, et al. Mutations in progranulin cause tau-negative frontotemporal dementia linked to chromosome 17[J]. *Nature*, 2006, 442(7105): 916–919.
- [10] Jian J, Konopka J, Liu C. Insights into the role of progranulin in immunity, infection, and inflammation[J]. *J Leukoc Biol*, 2013, 93(2): 199–208.
- [11] Lei H, Schmidt-Bleek K, Dienelt A, et al. Regulatory T cell-mediated anti-inflammatory effects promote successful tissue repair in both indirect and direct manners[J]. *Front Pharmacol*, 2015, 6: 184.
- [12] Zhu J, Yamane H, Paul WE. Differentiation of effector CD4 T cell populations[J]. *Annu Rev Immunol*, 2010, 28: 445–489.
- [13] Rubtsov YP, Rasmussen JP, Chi EY, et al. Regulatory T cell-derived interleukin-10 limits inflammation at environmental interfaces[J]. *Immunity*, 2008, 28(4): 546–558.
- [14] Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(12): 958–969.
- [15] Martinez FO, Gordon S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation; time for reassessment[J]. *F1000Prime Rep*, 2014, 6: 13.
- [16] Huang X, Xiu H, Zhang S, et al. The role of macrophages in the pathogenesis of ALI/ARDS[J]. *Mediators Inflamm*, 2018, 2018: 1264913.
- [17] Rentsendorj O, D'Alessio FR, Pearce DB. Phosphodiesterase 2A is a major negative regulator of iNOS expression in lipopolysaccharide-treated mouse alveolar macrophages[J]. *J Leukoc Biol*, 2014, 96(5): 907–915.
- [18] Lin S, Wu H, Wang C, et al. Regulatory T cells and acute lung injury: cytokines, uncontrolled inflammation, and therapeutic implications[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1545.
- [19] Blondonnet R, Constantin JM, Sapin V, et al. A pathophysiologic approach to biomarkers in acute respiratory distress syndrome[J]. *Dis Markers*, 2016, 2016: 3501373.
- [20] Yi X, Wei X, Lv H, et al. Exosomes derived from microRNA-30b-3p-overexpressing mesenchymal stem cells protect against lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting SAA3[J]. *Exp Cell Res*, 2019, 383(2): 111454.
- [21] Kapur R, Kim M, Aslam R, et al. T regulatory cells and dendritic cells protect against transfusion-related acute lung injury via IL-10[J]. *Blood*, 2017, 129(18): 2557–2569.
- [22] Aisiku IP, Yamal JM, Doshi P, et al. Plasma cytokines IL-6, IL-8, and IL-10 are associated with the development of acute respiratory distress syndrome in patients with severe traumatic brain injury[J]. *Crit Care*, 2016, 20: 288.
- [23] Chen J, Lin J, Luo H, et al. Effects of human interleukin-10 on ventilator-associated lung injury in rats[J]. *Inflammation*, 2019, 42(2): 538–547.
- [24] Song H, Zhou Y, Li G, et al. Regulatory T cells contribute to the recovery of acute lung injury by upregulating Tim-3[J]. *Inflammation*, 2015, 38(3): 1267–1272.
- [25] Gershon RK. A disquisition on suppressor T cells[J]. *Transplant Rev*, 1975, 26: 170–185.
- [26] Tolkatchev D, Malik S, Vinogradova A, et al. Structure dissection of human progranulin identifies well-folded granulin/epithelin modules with unique functional activities[J]. *Protein Sci*, 2008, 17(4): 711–724.
- [27] Kojima Y, Ono K, Inoue K, et al. Progranulin expression in advanced human atherosclerotic plaque[J]. *Atherosclerosis*, 2009, 206(1): 102–108.
- [28] Fu W, Hu W, Shi L, et al. Foxo4- and Stat3-dependent IL-10 production by progranulin in regulatory T cells restrains inflammatory arthritis[J]. *FASEB J*, 2017, 31(4): 1354–1367.
- [29] Kwack KH, Lee HW. Progranulin inhibits human T lymphocyte proliferation by inducing the formation of regulatory T lymphocytes[J]. *Mediators Inflamm*, 2017, 2017: 7682083.
- [30] Hu Y, Xiao H, Shi T, et al. Progranulin promotes tumour necrosis factor-induced proliferation of suppressive mouse CD4⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells[J]. *Immunology*, 2014, 142(2): 193–201.

(责任编辑: 冉明会)