

IL-37通过抑制NLRP3炎症小体介导的细胞焦亡改善急性肺损伤的机制研究

曹敬¹, 李帅¹, 孙武装², 张玲³, 王志华⁴, 王永红⁵, 曹晓玮⁶, 浦浩⁷, 晁灵善^{1*}

(1.河北医科大学第二医院呼吸与危重症医学科一科,河北石家庄050000;2.河北医科大学第一医院呼吸与危重症医学科,河北石家庄050031;3.河北省胸科医院呼吸与危重症医学一科,河北石家庄050041;4.河北省邢台市人民医院呼吸与危重症医学科,河北邢台054001;5.河北省邯郸市中心医院呼吸与危重症医学科一病区,河北邯郸056001;6.河北省石家庄市人民医院呼吸与危重症医学科,河北石家庄050000;7.河北省石家庄市冰缘医学检验实验室有限公司,河北石家庄050000)

[摘要] 目的 探究白细胞介素37(interleukin-37, IL-37)通过调控NOD样受体蛋白3(NOD-like receptor protein 3, NLRP3)炎症小体介导的细胞焦亡,在脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的急性肺损伤(acute lung injury, ALI)中的保护作用及分子机制。**方法** 将6~8周龄人源IL-37转基因小鼠和同源野生型C57BL/6小鼠采用随机数字表法分为①WT+Sham组;②WT+LPS组;③hIL-37tg+Sham组;④hIL-37tg+LPS组,每组12只,采用10 mg/kg LPS气管内滴注构建ALI模型,对照组注入等量生理盐水。造模24 h后,苏木素-伊红染色观察肺组织病理改变;酶联免疫吸附试验检测肺泡灌洗液中白细胞介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)水平;蛋白质印迹法检测肺组织NLRP3通路相关蛋白NLRP3、半胱氨酸蛋白酶1(cysteine aspartate-specific protease-1, Caspase-1)、焦孔素D(Gasdermin D, GSDMD)表达;结合免疫组织化学与蛋白质印迹法评估NLRP3表达, TUNEL染色观察细胞焦亡情况。**结果** WT+Sham组和hIL-37tg+Sham组各个指标差异均无统计学意义($P>0.05$)。WT+LPS组损伤评分显著高于WT+Sham组,肺泡灌洗液中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平显著高于WT+Sham组,肺组织中NLRP3阳性表达显著高于WT+Sham组,肺组织中NLRP3、Cleaved-Caspase-1(p20)、GSDMD-NT蛋白相对表达量均显著高于WT+Sham组,肺组织中阳性细胞显著增多,细胞死亡阳性率显著高于WT+Sham组;经IL-37干预后, hIL-37tg+LPS组损伤评分显著低于WT+LPS组,肺泡灌洗液中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平均显著低于WT+LPS组,肺组织中NLRP3阳性表达明显低于WT+LPS组,肺组织中NLRP3、Cleaved-Caspase-1(p20)、GSDMD-NT蛋白相对表达量均显著降低于WT+LPS组,阳性细胞数显著减少,细胞死亡阳性率显著低于WT+LPS组,差异有统计学意义($P<0.001$)。**结论** IL-37可通过抑制NLRP3炎症小体激活及细胞焦亡,减轻ALI小鼠肺部损伤与炎症反应,为ALI的靶向治疗提供新的实验依据和潜在分子靶点。

[关键词] 急性肺损伤;脂多糖类;白细胞介素37;细胞焦亡 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2026.04.007

[中图分类号] R563.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2026)04-0417-09

Mechanism of interleukin-37 in ameliorating acute lung injury via suppression of NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis

CAO Jing¹, LI Shuai¹, SUN Wu-zhuang², ZHANG Ling³, WANG Zhi-hua⁴, WANG Yong-hong⁵,
CAO Xiao-wei⁶, PU Hao⁷, CHAO Ling-shan^{1*}

(1. The First Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China; 2. Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031, China; 3. The First Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, Hebei Chest Hospital, Shijiazhuang 050041, China; 4. Department of

[收稿日期] 2026-02-05

[基金项目] 河北省省级科技计划资助项目(22377714D)

[作者简介] 曹敬(1987-),女,河北石家庄人,河北医科大学第二医院副主任医师,医学博士,从事呼吸危重症与肺血管介入研究。

*通信作者。E-mail: lingshanchao@163.com



Pulmonary and Critical Care Medicine, Xingtai People's Hospital, Hebei Province, Xingtai 054001, China; 5.the First Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, Handan Central Hospital, Hebei Province, Handan 056001, China; 6.Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, Shijiazhuang People's Hospital, Shijiazhuang 050000, China; 7.Shijiazhuang Bingyuan Medical Laboratory Co., Ltd., Shijiazhuang 050000, China)

[Abstract] Objective To investigate the protective effect and molecular mechanism of interleukin-37 (IL-37) in lipopolysaccharide (LPS)-induced acute lung injury (ALI) by regulating NOD-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome-mediated pyroptosis. **Methods** Six- to eight-week-old human IL-37 transgenic (hIL-37tg) mice and homologous wild-type (WT) C57BL/6 mice were divided into 4 groups: WT+Sham group, WT+LPS group, hIL-37tg+Sham group and hIL-37tg+LPS group, with 12 mice in each group, using a random number table. The ALI model was established by intratracheal instillation of 10 mg/kg LPS, and the control group were injected with the same volume of normal saline. At 24 h after modeling, hematoxylin-eosin staining was used to observe the pathological changes of lung tissue; enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in bronchoalveolar lavage fluid. Western blotting was used to detect the expression of NLRP3 pathway-related proteins including NLRP3, cysteine aspartate-specific protease-1 (Caspase-1) and Gasdermin D (GSDMD) in lung tissue. Immunohistochemistry combined with Western blotting was used to evaluate the expression of NLRP3, and TUNEL staining was used to observe cell pyroptosis. **Results** No significant differences were observed in all indicators between the WT+Sham group and the hIL-37tg+Sham group ($P>0.05$). Compared with the WT+Sham group, the WT+LPS group showed a significantly higher lung injury score, remarkably elevated levels of TNF- α , IL-6 and IL-1 β in bronchoalveolar lavage fluid, significantly increased positive expression of NLRP3 in lung tissue, and notably up-regulated relative expression levels of NLRP3, Cleaved-Caspase-1 (p20) and GSDMD-NT proteins in lung tissue. In addition, the number of positive cells in lung tissue was significantly increased, and the positive rate of cell death was markedly higher in the WT+LPS group. After IL-37 intervention, the hIL-37tg+LPS group exhibited a significantly lower lung injury score, significantly reduced levels of TNF- α , IL-6 and IL-1 β in bronchoalveolar lavage fluid, and obviously decreased positive expression of NLRP3 in lung tissue compared with the WT+LPS group. The relative expression levels of NLRP3, Cleaved-Caspase-1 (p20) and GSDMD-NT proteins in lung tissue were also significantly down-regulated, accompanied by a notable reduction in the number of positive cells and a significant decrease in the positive rate of cell death in the hIL-37tg+LPS group ($P<0.001$). **Conclusion** IL-37 can alleviate lung injury and inflammatory response in mice with ALI by inhibiting the activation of NLRP3 inflammasome and cell pyroptosis, providing new experimental support and potential targets for the targeted treatment of ALI.

[Key words] acute lung injury; lipopolysaccharides; interleukin-37; pyroptosis

急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 是危重症领域临床难题, 核心病理为肺泡屏障破坏及失控性炎症, 脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 是主要致病因子, 临床缺乏特异性治疗^[1]。NOD样受体蛋白3 (NOD-like receptor protein 3, NLRP3) 炎症小体过度活化介导的细胞焦亡是ALI发生发展的关键环节, 可形成“炎症放大—细胞焦亡”的恶性循环^[2]。白细胞介素37 (interleukin-37, IL-37) 为白细胞介素1 (interleukin-1, IL-1) 家族抗炎因子, 可能参与肺部炎症调控^[3-4], 但关于其是否作用于NLRP3-焦亡轴改善ALI尚缺乏直接实验证据。本研究利用表达人源IL-37基因的转基因 (mice with transgenic expression of human IL-37 gene,

hIL-37tg) 小鼠构建LPS诱导的ALI模型, 探究IL-37对ALI的保护作用及潜在分子机制, 为ALI治疗挖掘新靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物 采用同源重组技术构建hIL-37tg小鼠, 为IL-37转基因杂交C57BL/6鼠的F1代, 由北京百奥赛图基因生物技术有限公司提供, 实验动物生产许可证号: SCXK (京) 2025-0008。通过合笼交配及基因型鉴定筛选纯合子雄性小鼠, 实验用hIL-37tg小鼠年龄6~8周, 平均体重(20 \pm 3) g。选取同年龄、同体重的C57BL/6野生型小鼠 (wide type, WT) 作为对照, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 实验动物生产

许可证号：SCXK（京）2019-0008。所有小鼠饲养于SPF级动物房，环境温度控制在 (22 ± 2) ℃，湿度 $(55\pm 5)\%$ ，采用标准饲料喂养，自由饮水摄食。动物饲养于河北医科大学第二医院实验动物中心。

本研究经医院医学伦理委员会审批通过（批准文号：2021-AE061），严格遵循动物实验伦理规范^[4]。

1.2 主要试剂与仪器 主要试剂：脂多糖（lipopolysaccharide, LPS）（血清型O111；B4，纯度 $\geq 98\%$ ）购自美国Sigma公司；小鼠白细胞介素 1β （interleukin- 1β , IL- 1β ）、白细胞介素6（interleukin-6, IL-6）、肿瘤坏死因子 α （tumor necrosis factor- α , TNF- α ）酶联免疫吸附试验（enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA）检测试剂盒及TUNEL细胞焦亡检测试剂盒（荧光法）购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司；兔抗小鼠NLRP3单克隆抗体、兔抗小鼠Caspase-1（含p20片段）单克隆抗体、兔抗小鼠GSDMD（含NT片段）单克隆抗体、兔抗小鼠Tubulin单克隆抗体购自中国艾比玛特医药科技上海有限公司；辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG二抗购自中国成都正能生物技术有限责任公司；苏木素-伊红（hematoxylin-eosin, HE）染色试剂盒、RIPA裂解液（含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂）、BCA蛋白定量试剂盒、增强化学发光显影试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司；无菌手术器械（手术刀、手术镊等）、24 G静脉留置针购自上海医疗器械股份有限公司。

主要仪器：光学显微镜（德国Zeiss公司）、荧光显微镜（日本Olympus公司，型号H-7500）、酶标仪（美国Bio-Tek公司）、蛋白电泳仪及转膜仪（美国Bio-Rad公司）、凝胶成像系统（美国Bio-Rad公司）、高速冷冻离心机（美国Thermo Scientific公司）、电子分析天平（赛多利斯科学仪器北京有限公司，型号BSA124S-CW）、恒温烘箱（上海一恒科学仪器有限公司，型号DHG-9070A）、小动物手术台（苏州赛奥仪器有限公司，型号SA-III）、微量进样器（美国Eppendorf公司）^[5]。

1.3 实验分组与ALI模型构建 适应性喂养结束后，采用随机数字表法将小鼠分为4组，每组12只：①WT+Sham组；②WT+LPS组；③hIL-37tg+Sham组；④hIL-37tg+LPS组。造模前，采用3%戊巴比妥钠（40 mg/kg）腹腔注射麻醉所有

小鼠，使其仰卧固定于小动物手术台，颈部脱毛后用碘伏消毒液常规消毒皮肤。用无菌镊子轻抬小鼠下颌，充分暴露颈部气管轮廓，另一只手持去除针芯的24 G静脉留置针作为微量气管导管，沿气管走向缓慢试探插入，待导管插入气管内3~4 mm后，观察到导管随小鼠呼吸节律同步起伏，即确认插管成功^[6]。其中，对照组（WT对照组、hIL-37tg对照组）通过导管连接100 μ L微量进样器，缓慢注入生理盐水0.05 mL；模型组及hIL-37tg干预组（WT+LPS模型组、hIL-37tg+LPS组）则通过导管注入致炎剂量LPS溶液（10 mg/kg，用生理盐水稀释至0.05 mL）构建ALI模型。推注完成后，用0.01 mL生理盐水冲管，避免药液残留于导管内。随后缓慢拔出气管导管，将小鼠直立并轻拍背部1~2 min，帮助药液均匀分布至双肺。假手术组操作同模型组，仅气管内滴注等量生理盐水。术后将小鼠放回饲养环境，常规喂养，于造模后24 h收集样本进行后续检测。

1.4 检测指标与方法

1.4.1 肺组织病理形态观察及损伤评分 每组随机选取6只小鼠进行肺组织分离，采用3%戊巴比妥钠（40 mg/kg）腹腔注射麻醉小鼠，待角膜反射消失、痛觉反应完全消失后，采用颈椎脱臼法处死小鼠。迅速分离左肺组织，用预冷生理盐水冲洗表面血迹，无菌滤纸吸干水分后，置于4%多聚甲醛中固定48 h。取右肺组织（上、中、下叶），去除结缔组织和血管，放入预冷的冻存管中，液氮速冻后转移至-80℃冰箱保存，用于后续蛋白质印迹法（Western blot, WB）检测。将甲醛固定的肺组织，再经梯度乙醇脱水、石蜡包埋、连续切片（5 μ m），常规脱蜡水化后进行HE染色，光学显微镜下观察肺组织病理形态。采用半定量评分法评估损伤程度：①肺泡充血；②出血；③肺泡腔/血管壁中性粒细胞浸润；④肺泡壁增厚/透明膜形成，每项按病变程度评0~4分（无病变0分、轻度1分、中度2分、重度3分、极重度4分），4项得分总和为总评分^[7]。

1.4.2 肺泡灌洗液收集及炎症因子检测 每组随机选取6只小鼠，小鼠经麻醉后气管切开、气管插管收集支气管肺泡灌洗液。通过气管插管，分3次注入每次0.7 mL无菌生理盐水，灌洗时轻柔按压小鼠胸部数次。每次操作确保回收率超过85%。收集灌洗液后于4℃下3 000 r/min离心20 min，取上清液。严格按照试剂盒说明书采用ELISA检测

肺泡灌洗液中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的表达水平，酶标仪读取吸光度值并计算浓度^[8]。

1.4.3 肺组织 NLRP3 蛋白的免疫组织化学检测 取肺组织石蜡切片，切片经脱蜡水化后，行高压热修复（柠檬酸钠缓冲液，pH 6.0，121 °C 2 min）。3% H₂O₂ 室温避光孵育 15 min 以阻断内源性过氧化物酶，5% 牛血清白蛋白封闭 30 min 后，滴加 NLRP3 一抗（1:200，4 °C 湿盒过夜）^[9]。次日磷酸盐缓冲液洗片，加入 HRP 标记二抗（1:500）室温孵育 30 min，二氨基联苯胺显色（镜下控制 3~5 min），苏木素复染封片。显微镜下拍照，采用 Image J 软件分析阳性区域的灰度值，定量检测 NLRP3 蛋白的表达水平。

1.4.4 肺组织蛋白表达检测 肺组织剪碎后（约 50 mg），加含苯甲基磺酰氟和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液，研磨机研磨至匀浆，冰上静置裂解 30 min，4 °C、12 000×g 离心 20 min，吸上清。BCA 法定量，取 30 μ g 蛋白沸水浴变性 5 min，10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（先 80 V 跑浓缩胶，后 120 V 跑分离胶），湿转（300 mA，90 min）至聚偏氟乙烯膜。5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h，加一抗 NLRP3（1:1 000）、Cleaved-Caspase-1（p20）（1:1 000）、GSDMD-NT（1:1 000）及 β -Tubulin（1:5 000），4 °C 摇床慢摇过夜。次日三羟甲基氨基甲烷缓冲盐溶液洗膜 3 次，每次 10 min（摇床震荡），再加辣根过氧化物酶标记二抗（1:5 000）室温孵育 1 h，三羟甲基氨基甲烷缓冲盐溶液洗后增强化学发光显色，化学发光成像系统曝光，Image J 分析条带灰度值，目的蛋白与内参比值表示相对表达量^[10]。

1.4.5 细胞焦亡检测 采用 TUNEL 染色法，取

肺组织石蜡切片，65 °C 烘烤 1 h，脱蜡水化后，用蛋白酶 K 孵育 15 min，磷酸盐缓冲液洗涤 3 次。按照试剂盒说明书加入荧光标记的 dUTP 和末端转移酶，37 °C 孵育 60 min，蓝色荧光染核 5 min，用荧光显微镜进行检查并收集照片。随机选择 5 个观察区域，统计 TUNEL 阳性细胞（呈现绿色荧光）与总细胞数（呈现蓝色），计算焦亡率=阳性细胞数/总细胞数×100%^[11]。

1.5 统计学方法 应用 SPSS 27.0 统计软件分析数据。正态分布的计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，比较采用单因素方差分析（one-way ANOVA）和 LSD-*t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 IL-37 对 ALI 小鼠肺组织病理损伤的影响

HE 染色结果显示（图 1），WT+Sham 组与 hIL-37tg+Sham 组小鼠肺组织结构完整，肺泡腔形态规则，肺泡壁薄且均匀，肺间质及肺泡内无明显炎症细胞浸润。WT+LPS 组小鼠肺组织呈现典型 ALI 病理特征，表现为肺泡壁显著增厚、肺泡腔塌陷融合，大量炎性细胞浸润至肺间质及肺泡内，同时伴有明显肺水肿。与 WT+LPS 组相比，hIL-37tg+LPS 组小鼠肺组织病理损伤明显缓解，肺泡壁增厚程度减轻，肺泡腔结构基本恢复，炎性细胞浸润数量显著减少。肺组织损伤评分结果显示，WT+Sham 组和 hIL-37tg+Sham 组损伤评分均较低，差异无统计学意义（*P* > 0.05）；WT+LPS 组损伤评分显著高于 WT+Sham 组，经 IL-37 干预后，hIL-37tg+LPS 组损伤评分显著低于 WT+LPS 组，差异有统计学意义（*P* < 0.001），见表 1。

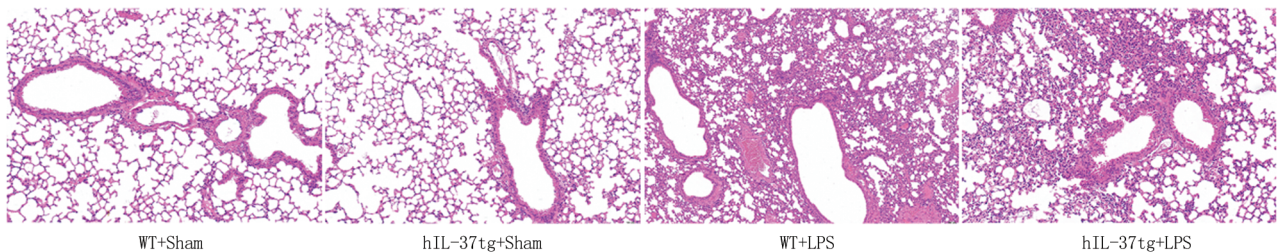


图 1 各组小鼠肺组织 HE 染色结果 (×100)

Figure 1 Hematoxylin-eosin staining results of lung tissue in mice from each group (×100)

2.2 IL-37 对 ALI 小鼠肺泡灌洗液炎症因子表达的影响 ELISA 检测结果显示，WT+Sham 组与 hIL-37tg+Sham 组小鼠肺泡灌洗液中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平均维持在较低水平，差异无统计学意义（*P* > 0.05）。WT+LPS 组肺泡灌洗液中

TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平显著高于 WT+Sham 组；经 IL-37 干预后，hIL-37tg+LPS 组肺泡灌洗液中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平均显著低于 WT+LPS 组，差异有统计学意义（*P* < 0.001），见表 2。

表1 各组小鼠肺组织病理变化比较

Table 1 Comparison of pathological changes of lung tissue in mice from each group

(n=6, $\bar{x} \pm s$, 分)

组别	病理损伤评分
WT+Sham组	0.67±0.52
WT+LPS组	7.17±1.17*
hIL-37tg+Sham组	0.67±0.52
hIL-37tg+LPS组	4.17±0.75 [#]
F值	95.676
P值	<0.001

*P值<0.05与WT+Sham组比较 [#]P值<0.05与WT+LPS组比较(LSD-t检验)

2.3 IL-37对ALI小鼠肺组织NLRP3蛋白表达的影响 免疫组织化学染色结果表明(图2), NLRP3阳性表达主要定位于肺组织炎症细胞及肺泡上皮细胞胞质,呈棕黄色颗粒。WT+Sham组和hIL-37tg+Sham组小鼠肺组织中仅见少量微弱的NLRP3阳性表达,阳性区域占比低,差异无统计学意义($P>0.05$)。WT+LPS组小鼠肺组织中

表2 各组小鼠肺泡灌洗液中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平比较
Table 2 Comparison of IL-1 β , IL-6 and TNF- α levels in bronchoalveolar lavage fluid in each group(n=6, $\bar{x} \pm s$, ng/L)

组别	IL-1 β	IL-6	TNF- α
WT+Sham组	147.25±4.30	57.00±3.50	314.56±4.49
WT+LPS组	335.44±22.26*	123.94±11.32*	735.98±38.36*
hIL-37tg+Sham组	156.30±8.26	62.52±3.13	354.43±42.00
hIL-37tg+LPS组	248.91±29.90 [#]	99.27±8.02 [#]	532.21±49.54 [#]
F值	127.334	112.183	155.975
P值	<0.001	<0.001	<0.001

*P值<0.05与WT+Sham组比较 [#]P值<0.05与WT+LPS组比较(LSD-t检验)

NLRP3阳性表达显著增强,棕黄色颗粒增多、着色加深,阳性区域占比显著升高,与WT+Sham组比较差异有统计学意义($P<0.001$);经IL-37干预后,hIL-37tg+LPS组肺组织中NLRP3阳性表达明显减弱,棕黄色颗粒减少、着色变浅,阳性区域占比显著低于WT+LPS组,差异有统计学意义($P<0.001$),见表3。

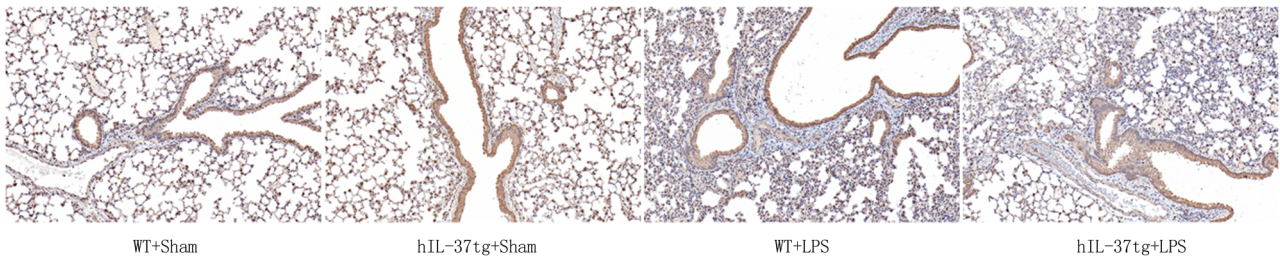


图2 各组小鼠中肺组织NLRP3免疫组织化学染色结果(x100)

Figure 2 Immunohistochemical staining results of NLRP3 in lung tissue of mice from each group (x100)

表3 各组小鼠中肺组织NLRP3表达比较

Table 3 Comparison of NLRP3 expression in lung tissue of rats from each group

(n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	NLRP3 表达
WT+Sham组	13.47±1.69
WT+LPS组	29.09±3.08*
hIL-37tg+Sham组	12.94±1.61
hIL-37tg+LPS组	19.09±1.90 [#]
F值	72.793
P值	<0.001

*P值<0.05与WT+Sham组比较 [#]P值<0.05与WT+LPS组比较(LSD-t检验)

2.4 IL-37对ALI小鼠肺组织NLRP3通路相关蛋白表达的影响 WB检测结果显示(图3),WT+Sham组与hIL-37tg+Sham组小鼠肺组织中NLRP3、Cleaved-Caspase-1(p20)、GSDMD-NT

蛋白相对表达量差异无统计学意义($P>0.05$)。WT+LPS组小鼠肺组织中NLRP3、Cleaved-Caspase-1(p20)、GSDMD-NT蛋白相对表达量均显著高于WT+Sham组;经IL-37干预后,hIL-37tg+LPS组小鼠肺组织中NLRP3、Cleaved-Caspase-1(p20)、GSDMD-NT蛋白相对表达量均显著降低于WT+LPS组,差异有统计学意义($P<0.01$),4组间GSDMD全长蛋白(GSDMD-FL)差异无统计学意义($P>0.05$),见表4。

2.5 IL-37对ALI小鼠肺组织细胞焦亡的影响

TUNEL染色结果显示(图4),绿色荧光标记的TUNEL阳性焦亡细胞主要分布于肺组织炎症区域,蓝色荧光标记细胞核。WT+Sham组与hIL-37tg+Sham组小鼠肺组织中仅见少量绿色荧光信号,细胞死亡阳性率较低,差异无统计学意义($P>0.05$);WT+LPS组肺组织中阳性细胞显

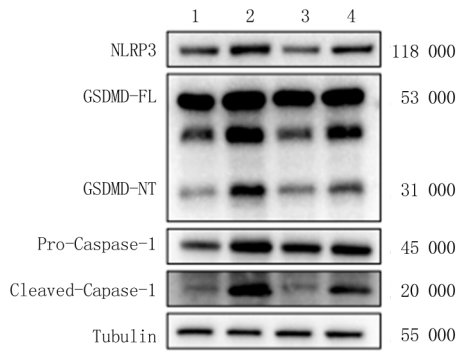


图3 各组小鼠肺组织 NLRP3 通路相关蛋白免疫印迹检测结果

1. WT+Sham 组; 2. WT+LPS 组; 3. hIL-37tg+Sham 组; 4. hIL-37tg+LPS 组; Tubulin 为内参蛋白

Figure 3 Western blotting results of NLRP3 pathway-related proteins in lung tissue of mice from each group

著增多, 细胞死亡阳性率显著高于 WT+Sham 组; 经 IL-37 干预后, hIL-37tg+LPS 组阳性细胞数显著减少, 细胞死亡阳性率显著低于 WT+LPS 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$), 见表 5。

3 讨 论

ALI 是由 LPS 等多种因素诱导的肺部急性炎症性疾病, 其核心病理机制为炎症信号通路异常激活导致的失控性炎症反应及细胞程序性死亡紊乱, 严重威胁危重症患者的生命预后^[1, 12]。目前临床缺乏特异性靶向治疗手段, 挖掘内源性抗炎因子并明确其调控机制成为 ALI 研究的热点。IL-37 作为 IL-1 家族的重要抗炎因子, 可通过多通路调控抑制炎症反应, 在类风湿关节炎、脓毒症等炎症性疾病中发挥组织保护作用^[13-15], Xu 等^[4] 近

表 4 各组小鼠肺组织 NLRP3 通路相关蛋白表达水平比较

Table 4 Comparison of expression levels of NLRP3 pathway-related proteins in lung tissue of rats from each group

($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	NLRP3	GSDMD-FL	GSDMD-NT	Pro-Caspase1	Cleaved-Caspase1
WT+Sham 组	1	1	1	1	1
WT+LPS 组	2.99±0.41*	1.17±0.12	4.54±0.86*	1.41±0.12*	4.35±0.23*
hIL-37tg+Sham 组	0.98±0.12	1.01±0.10	1.10±0.20	0.98±0.06	0.98±0.07
hIL-37tg+LPS 组	1.54±0.23 [#]	1.05±0.07	1.63±0.13 [#]	1.23±0.05 [#]	1.79±0.11 [#]
F 值	46.043	2.578	42.328	23.357	436.803
P 值	<0.001	0.126	<0.001	<0.001	<0.001

* P 值 < 0.05 与 WT+Sham 组比较 [#] P 值 < 0.05 与 WT+LPS 组比较 (LSD- t 检验)

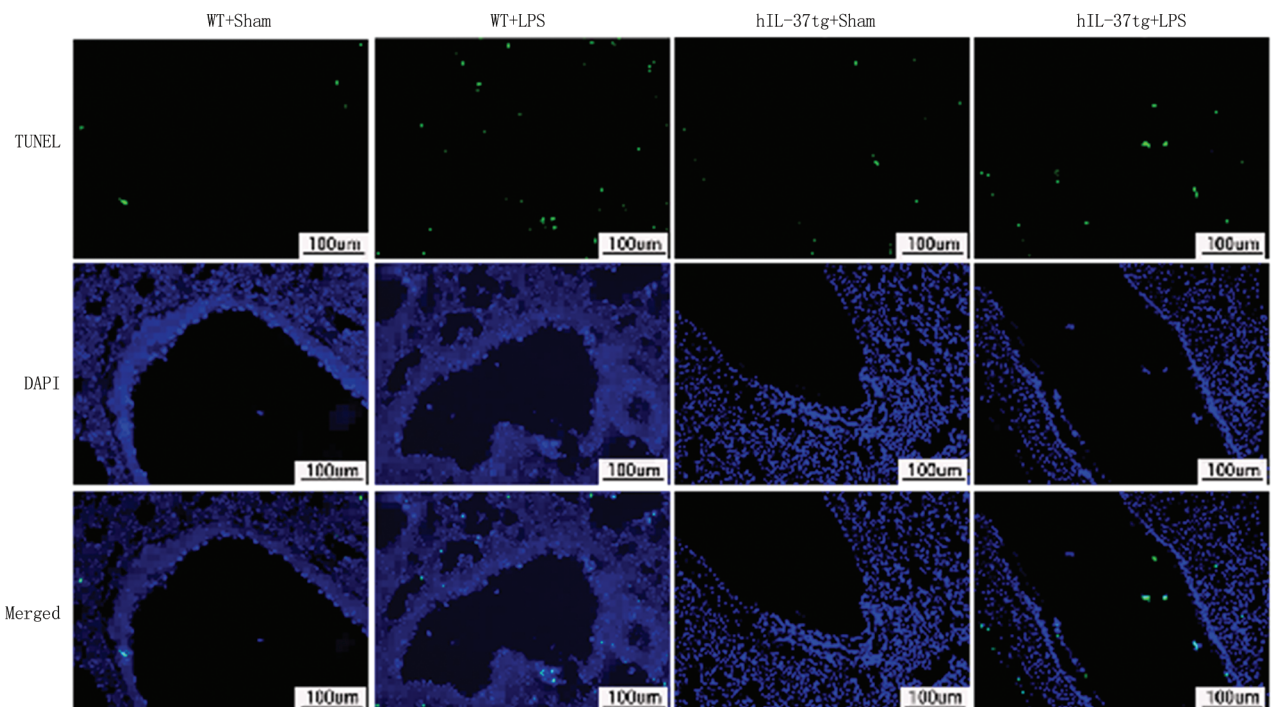


图 4 各组小鼠肺组织 TUNEL 染色结果 (x400)

Figure 4 TUNEL staining results of lung tissue of mice from each group (x400)

表5 各组小鼠肺组织细胞死亡阳性率比较
Table 5 Comparison of positive rates of cell death
in lung tissue of mice from each group

组别	细胞死亡阳性率 ($n=6, \bar{x} \pm s, \%$)
WT+Sham组	1.50±0.55
WT+LPS组	20.50±3.27*
hIL-37tg+Sham组	1.67±0.52
hIL-37tg+LPS组	11.33±1.63#
F值	142.089
P值	<0.001

*P值<0.05与WT+Sham组比较 #P值<0.05与WT+LPS组比较(LSD-*t*检验)

期在呼吸机相关性肺损伤模型中也证实, IL-37过表达可显著减轻肺部炎症损伤, 提示其在肺损伤中的保护潜能, 但IL-37在LPS诱导ALI中的具体作用及分子机制尚未完全阐明。本研究通过构建hIL-37tg小鼠ALI模型, 首次证实IL-37可通过抑制NLRP3炎症小体介导的细胞焦亡, 减轻ALI小鼠的肺部病理损伤并抑制肺部炎症反应, 为ALI的靶向治疗提供了新的实验依据。

本研究结果显示, LPS气管内滴注可成功构建小鼠ALI模型, 表现为肺组织肺泡壁增厚、炎性细胞大量浸润、肺水肿等典型病理改变, 同时肺泡灌洗液中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 等促炎因子水平显著升高, 与既往研究结果一致^[14]。而hIL-37tg小鼠在LPS刺激后, 肺部病理损伤明显缓解, 炎症因子释放显著减少, 提示IL-37对LPS诱导的ALI具有明确的肺保护作用^[16]。这一结果与Xu等^[4]关于IL-37抑制NLRP3激活减轻呼吸机相关性肺损伤的研究结论相互印证, 进一步证实了IL-37在肺部炎症性疾病中的抗炎保护作用。值得注意的是, 正常小鼠体内无功能性内源性IL-37表达, 仅存在结构相似的同源类似物且表达量极低, 无明显个体差异^[17-18], 因此本研究构建的hIL-37tg小鼠实现了人源IL-37的外源性高表达, 为模拟人体IL-37的生物学活性、探究其在ALI中的作用提供了理想的实验模型。

NLRP3炎症小体过度活化介导的细胞焦亡是ALI发生发展的关键环节, 其激活需经历“启动信号”和“激活信号”两个连续阶段^[2]: LPS通过与Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)结合激活核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)通路, 上调NLRP3、前体IL-1 β 的转录表达, 为炎症小体激活提供启动信号^[19]; 随后细胞内K⁺外流、

活性氧积累等触发激活信号, 促使NLRP3与凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)、前体Caspase-1组装为功能性复合物, 激活Caspase-1生成Cleaved-Caspase-1(p20)^[20]。活化的Caspase-1一方面切割前体IL-1 β 生成成熟的IL-1 β 并释放至胞外, 放大肺部炎症反应; 另一方面切割GSDMD蛋白产生GSDMD-NT, 该结构域在细胞膜上形成非选择性孔道, 导致细胞肿胀、破裂并释放胞内炎症因子, 引发细胞焦亡^[21-22]。Wang等^[23]系统综述了NLRP3炎症小体介导的细胞焦亡在ALI各类型肺细胞中的作用机制, 指出肺泡上皮细胞、肺微血管内皮细胞和肺泡巨噬细胞的焦亡共同驱动ALI进展, 靶向NLRP3炎症小体及其下游焦亡通路已成为ALI治疗的重要策略。本研究结果显示, LPS诱导可显著上调ALI小鼠肺组织NLRP3蛋白表达, 同时下游Cleaved-Caspase-1(p20)、GSDMD-NT蛋白表达显著升高, 提示NLRP3炎症小体被激活并介导细胞焦亡发生; 而hIL-37tg+LPS组小鼠肺组织中上述蛋白表达均显著下调, 且与肺部病理损伤减轻、炎症因子释放减少的趋势一致, 提示IL-37的肺保护作用可能通过抑制NLRP3炎症小体激活及下游细胞焦亡通路实现。

Xu等^[4]采用呼吸机相关性肺损伤模型发现, IL-37转基因小鼠肺组织中NLRP3和Cleaved-Caspase-1表达显著下调, 肺部炎症损伤明显减轻, 提示IL-37通过抑制NLRP3炎症小体激活发挥肺保护作用。Guo等^[6]在脓毒症肺损伤研究中进一步证实, IL-37除调控NLRP3通路外, 还可通过TGF- β /Smad3通路抑制炎症因子释放, 提示IL-37的抗炎作用具有多通路协同特征。张迎欣等^[24]系统总结了IL-37在呼吸系统疾病中的调控机制, 指出IL-37可通过细胞内与Smad3结合、抑制NF- κ B和NLRP3通路, 亦可在细胞外与IL-18R α /IL-1R8复合物结合激活抗炎信号, 为理解IL-37在ALI中的多靶点调控作用提供了重要理论依据。上述研究共同强化了IL-37作为内源性抗炎因子在肺部炎症性疾病中的核心地位, 也提示其作用机制可能涉及多条信号通路的交叉对话。

本研究在机制探索中发现, IL-37可显著下调NLRP3蛋白的表达水平, 从源头阻断NLRP3炎症小体的组装与激活, 进而减少Cleaved-Caspase-1(p20)的生成, 最终抑制GSDMD的切割和细胞焦亡的发生。这一调控机制与穗花杉双黄酮、党参多糖等通过抑制NLRP3通路改善ALI的研究

结论相似^[14, 25], 进一步验证了NLRP3炎症小体是ALI干预的有效靶点, 而IL-37作为内源性抗炎因子, 可通过靶向调控该通路发挥肺保护作用。此外, IL-37的抗炎作用具有多通路协同特性, 除调控NLRP3炎症小体外^[26-27], 还可在细胞内与Smad3结合形成复合物, 抑制TNF- α 、IL-6、IL-1 β 等促炎因子的基因转录^[28-29]; 亦可在细胞外与IL-18R α /IL-1R8复合物结合, 激活信号转导和转录激活因子3/磷酸酶及张力蛋白同源物 (signal transducer and activator of transcription 3/phosphatase and tensin homolog, STAT3/P TEN) 通路, 抑制NF- κ B、磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin, PI3K/Akt/mTOR) 等炎症信号通路的传导^[30]。本研究团队前期还发现IL-37可通过AKT/mTOR通路抑制自噬, 减轻PM2.5诱导的肺损伤^[31], 提示IL-37可能通过调控不同的细胞死亡方式 (自噬、焦亡) 在不同病理条件下发挥组织保护作用, 其在ALI中的调控网络可能涉及多通路交叉对话, 需进一步深入研究。

本研究在深入揭示IL-37保护机制的同时, 亦存在若干局限性, 需在后续研究中加以完善。第一, 本研究主要通过相关性分析揭示了IL-37对NLRP3通路的抑制作用。未来需引入NLRP3特异性抑制剂 (如MCC950)^[32] 或激动剂, 或在体外细胞模型中进行NLRP3的敲低与过表达实验, 以确证IL-37的保护作用是否依赖于该通路。第二, 细胞焦亡检测方法存在一定局限, TUNEL染色无法特异性区分焦亡与凋亡, 虽已检测GSDMD-NT、Cleaved-Caspase-1 (p20) 作为佐证, 后续仍需补充免疫共定位及LDH释放实验以提高检测特异性。第三, 炎症小体激活的判定指标尚不全面。本研究未检测ASC斑点形成、Caspase-1酶活性及成熟IL-1 β (p17) 与未切割前体的区分, 后续需补充相关实验以更完整地解析炎症小体的活化状态。第四, 研究设计为单向验证。由于野生型小鼠无内源性IL-37表达, 本研究仅通过hIL-37tg小鼠证实了IL-37的增益性功能。后续可在体外细胞模型中利用siRNA敲低IL-37或使用中和抗体阻断其活性, 观察对NLRP3通路及细胞焦亡的影响, 以进一步确证IL-37在该通路中的直接调控作用。

综上所述, 本研究基于hIL-37tg小鼠模型证实, IL-37可通过抑制NLRP3炎症小体的激活, 下调下游Cleaved-Caspase-1 (p20)、GSDMD-NT蛋

白表达, 减少肺组织细胞死亡及炎症因子释放, 从而减轻LPS诱导的小鼠ALI。IL-37作为内源性抗炎因子, 生物相容性良好, 可同步调控NLRP3通路多个关键环节, 具有潜在的临床转化价值。后续研究需进一步明确IL-37调控NLRP3炎症小体的具体分子靶点及通路交叉对话机制, 开展特异性干预、反向验证及体外细胞实验, 为IL-37成为ALI临床治疗的新靶点提供更充分的实验依据。

[参考文献]

- [1] 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.
- [2] Gu W, Zeng Q, Wang X, et al. Acute lung injury and the NLRP3 inflammasome[J]. *J Inflamm Res*, 2024, 17: 3801-3813.
- [3] Cao J, He K, Chen Z, et al. Interleukin-37 in respiratory diseases: Molecular mechanisms and immune modulation[J]. *Front Immunol*, 2025, 16:1675791.
- [4] Xu X, Liu W, Xu Y, et al. IL-37 protects against ventilator-induced lung injury by inhibiting NLRP3 activation[J]. *Cell Biochem Funct*, 2025, 43(5):e70080.
- [5] Luo L, Zhuang X, Fu L, et al. The role of the interplay between macrophage glycolytic reprogramming and NLRP3 inflammasome activation in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome[J]. *Clin Transl Med*, 2024, 14(12):e70098.
- [6] Guo Y, Zhang L, Wang H, et al. IL-37 alleviates sepsis-induced lung injury by inhibiting inflammatory response through the TGF- β /Smad3 pathway[J]. *Immunol Invest*, 2025, 54(3):412-426.
- [7] Liao J, Chen X, Huang Y, et al. Pyroptosis in acute respiratory distress syndrome and pulmonary fibrosis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2025, 178:117634.
- [8] Luo Y, Ge P, Zhang J, et al. Targeting HSPA8/C/EBP β -TRAF6 complex inhibits alveolar macrophage NLRP3-mediated pyroptosis in severe acute pancreatitis-associated acute lung injury[J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 289:138716.
- [9] 王蓓莹, 李大鹏, 张丹丹, 等. 脓毒症小鼠急性肺损伤时ASAHI与细胞焦亡的关系[J]. *中华麻醉学杂志*, 2024, 44(7): 876-880.
- [10] 朱鹏飞, 赖晓蓉, 熊沿, 等. 蟛蜞菊内酯通过抑制AMPK/NLRP3/Caspase-1信号通路减轻脂多糖诱导的肺上皮细胞焦亡[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2024, 23(7):488-494.
- [11] Li Y, Chu HX, Zhao MS, et al. IL-37d negatively regulates NLRP3 transcription via receptor-mediated pathway and alleviates DSS-induced colitis[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2023, 29(2):284-293.
- [12] Wei R, Han X, Li M, et al. The nuclear cytokine IL-37a controls lethal cytokine storms primarily via IL-1R8-independent transcriptional upregulation of PPAR γ [J]. *Cell*

- Mol Immunol, 2023, 20(12):1428-1444.
- [13] Sun L, Yuan H, Zhao G. IL-37 alleviates coxsackievirus B3-induced viral myocarditis via inhibiting NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis[J]. Sci Rep, 2023, 13(1):1077.
- [14] 孙亚磊, 罗萌, 郭长胜, 等. 穗花杉双黄酮通过抑制细胞焦亡减轻小鼠急性肺损伤[J]. 南方医科大学学报, 2025, 45(4): 692-701.
- [15] Cavalli G, Dinarello CA. Suppression of inflammation and acquired immunity by IL-37[J]. Immunol Rev, 2018, 281(1): 179-190.
- [16] Zhao P, Xiao H, Xing J, et al. The IL-37/IL-1R8 axis regulates the inflammatory response in acute lung injury [J]. Int Immunopharmacol, 2023, 115:108599.
- [17] Li Y, Chu HX, Zhao MS, et al. IL-37d negatively regulates NLRP3 transcription via receptor-mediated pathway and alleviates DSS-induced colitis [J]. Inflamm Bowel Dis, 2021, 27(1):84-93.
- [18] Chan JD, Binger KJ, Sheng Y, et al. Recombinant IL-37 expressed in plants displays in vitro and in vivo immunosuppressive activities in human cells [J]. Front Immunol, 2023, 14:955144.
- [19] He Y, Hara H, Nunez G. Mechanism and regulation of NLRP3 inflammasome activation [J]. Trends Biochem Sci, 2016, 41(12):1012-1021.
- [20] Dai Z, Liu WC, Chen XY, et al. Gasdermin D-mediated pyroptosis: Mechanisms, diseases, and inhibitors [J]. Front Immunol, 2023, 14:1178662.
- [21] Ma N, Yuan C, Shi J, et al. Interleukin-37 protects against acinar cell pyroptosis in acute pancreatitis [J]. JCI Insight, 2023, 8(5):e161244.
- [22] Kayagaki N, Stowe IB, Lee BL, et al. Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling [J]. Nature, 2015, 526(7575):666-671.
- [23] Wang J, Li LL, Zhao ZA, et al. NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis in acute lung injury: Roles of main lung cell types and therapeutic perspectives [J]. Int Immunopharmacol, 2025, 154:114560.
- [24] 张迎欣, 刘汝洋, 张国鹏, 等. 白细胞介素-37在呼吸系统疾病中的研究进展[J]. 中国现代医生, 2025, 63(12):31-35.
- [25] 肖凌, 高春蕾, 郭伟, 等. 党参多糖通过调控MAPK/NF- κ B信号通路对脂多糖诱导的急性肺损伤小鼠肺组织的保护作用[J]. 实用医学杂志, 2024, 40(7):948-954.
- [26] Li L, Li J, Li S, et al. IL-37 alleviates alveolar bone resorption and inflammatory response through the NF- κ B/NLRP3 signaling pathway in male mice with periodontitis [J]. Arch Oral Biol, 2023, 147:105629.
- [27] Wang Y, Zhang J, Wu B, et al. IL-37 improves mice myocardial infarction via inhibiting YAP-NLRP3 signaling mediated macrophage programming [J]. Eur J Pharmacol, 2023, 934:175293.
- [28] Schröder A, Lunding LP, Zissler UM, et al. IL-37 regulates allergic inflammation by counterbalancing pro-inflammatory IL-1 and IL-33 [J]. Allergy, 2023, 78(3):856-869.
- [29] Bulau AM, Nold MF, Li S, et al. Role of caspase-1 in nuclear translocation of IL-37, release of the cytokine, and IL-37 inhibition of innate immune responses [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(7):2650-2655.
- [30] Nold-Petry CA, Lo CY, Rudloff I, et al. IL-37 requires the receptors IL-18R α and IL-1R8 (SIGIRR) to carry out its multifaceted anti-inflammatory program upon innate signal transduction [J]. Nat Immunol, 2015, 16(4):354-365.
- [31] Cao J, Hou S, Chen Z, et al. Interleukin-37 relieves PM2.5-triggered lung injury by inhibiting autophagy through the AKT/mTOR signaling pathway in vivo and in vitro [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2024, 269:115816.
- [32] Coll RC, Robertson AAB, Chae JJ, et al. A small-molecule inhibitor of the NLRP3 inflammasome for the treatment of inflammatory diseases [J]. Nat Rev Drug Discov, 2023, 22(6): 465-482.

(本文编辑:赵丽洁)