

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research田蓯苣脂质体下调 ROS/NLRP3 途径改善
巨噬细胞焦亡的研究Research of Tilianin liposomes downregulating ROS/NLRP3 pathway to improve
macrophage pyroptosis

杨慧玲^{1a}, 孙 敏^{1b}, 何中山²,
国梦然², 罗尧尧², 刘茹月^{1b},
阮徐莉^{1b}, 宋相容², 曹文疆^{1b},
王新春^{1b}, 王 忠^{1a}

(1. 石河子大学 第一附属医院, a. 心内科; b. 药剂科, 新疆维吾尔自治区 石河子 832008; 2. 四川大学 华西医院 重症医学科, 四川 成都 610041)

YANG Hui - ling^{1a}, SUN Min^{1b},
HE Zhong - shan², GUO Meng - ran²,
LUO Yao - yao², LIU Ru - yue^{1b},
RUAN Xu - li^{1b},
SONG Xiang - rong²,
CAO Wen - jiang^{1b},
WANG Xin - chun^{1b},
WANG Zhong^{1a}

(1. a. Department of Cardiology; b. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; 2. Department of Critical Care Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81960766); 兵团科技计划项目重点领域科技攻关计划基金资助项目 (2022AB020)

作者简介: 杨慧玲(1996 -), 女, 硕士研究生, 主要从事心血管方向的相关研究

通信作者: 王忠, 主任医师, 博士生导师
Tel: (0993)2855827
E - mail: wangzshz@163. com

摘要:目的 探究田蓯苣脂质体调控活性氧(ROS)/Nod样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)改善巨噬细胞焦亡的作用机制。方法 用脂多糖(LPS)联合腺苷三磷酸(ATP)建立巨噬细胞焦亡模型。将小鼠RAW 264.7巨噬细胞分为对照组、模型组和实验组。模型组和实验组在造模后,实验组在含 $5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 田蓯苣脂质体的完全培养基中培养12 h,对照组和模型组均在不含药的完全培养基中正常培养12 h。用微板法检测乳酸脱氢酶(LDH)的释放情况,用酶联免疫吸附试验法检测白细胞介素(IL)-1 β 和IL-18含量,用流式细胞术检测细胞中ROS含量,用蛋白质印迹法检测NLRP3的表达水平。结果 实验组、对照组和模型组的LDH释放量分别为 (568.54 ± 68.04) 、 (556.05 ± 83.31) 和 $(984.41\pm138.82)\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$,IL-1 β 含量分别为 (8.99 ± 2.17) 、 (5.51 ± 0.49) 和 $(38.78\pm3.33)\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$,IL-18含量分别为 (35.95 ± 5.24) 、 (20.95 ± 2.36) 和 $(64.14\pm9.73)\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$,ROS释放量分别为 4.00 ± 0.48 、 0.68 ± 0.50 和 9.58 ± 0.42 ,NLRP3蛋白相对表达水平分别为 2.44 ± 0.46 、 1.00 ± 0.10 和 4.76 ± 0.61 。实验组和对照组的上述指标与模型组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。结论 田蓯苣脂质体可以降低内源性ROS的产生,改善LPS/ATP诱导的RAW 264.7巨噬细胞焦亡,其机制可能与调控ROS/NLRP3炎症小体信号通路有关。

关键词:田蓯苣脂质体;Nod样受体热蛋白结构域相关蛋白3;细胞焦亡;活性氧

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.08.004

中图分类号:R28 **文献标志码:**A

文章编号:1001-6821(2025)08-1067-05

Abstract: Objective To explore the mechanism of regulating reactive oxygen species (ROS)/Nod-like receptor family pyrin domain-containing protein 3 (NLRP3) by Tilianin liposomes improved macrophage pyroptosis. **Methods** Macrophage pyroptosis model using lipopolysaccharide (LPS) combined with adenosine triphosphate (ATP) was established. They were divided into control group, model group, and experimental group (RAW 264.7 macrophages). The experimental group was treated with $5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ Tilianin liposomes for 12 hours, while the control group and model group were cultured normally in complete culture medium without medication for 12 hours. Microplate method was used to detect the release of lactate dehydrogenase (LDH). Enzyme linked immunosorbent assay was used to detect the contents of interleukin (IL)-1 β and IL-18. Detection of ROS content in cells was done by flow cytometry. Western blotting was used to detect the relative

expression levels of NLRP3. **Results** The LDH release levels in the experimental, control and model groups were (568.54 ± 68.04) , (556.05 ± 83.31) and (984.41 ± 138.82) $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$; the IL-1 β contents were (8.99 ± 2.17) , (5.51 ± 0.49) and (38.78 ± 3.33) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; the IL-18 contents were (35.95 ± 5.24) , (20.95 ± 2.36) and (64.14 ± 9.73) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; the ROS release levels were 4.00 ± 0.48 , 0.68 ± 0.50 and 9.58 ± 0.42 ; the relative expression levels of NLRP3 protein were 2.44 ± 0.46 , 1.00 ± 0.10 and 4.76 ± 0.61 , respectively. The above indicators in the experimental and control groups were compared with those in the model group, and there were statistically significant differences (all $P < 0.01$). **Conclusion** Tiliacin liposomes can reduce endogenous ROS production and improve LPS/ATP induced RAW 264.7 macrophage pyroptosis, which may be related to the regulation of ROS/NLRP3 inflammasome signaling pathway.

Key words: Tiliacin liposomes; Nod-like receptor family pyrin domain-containing protein 3; cell pyroptosis; reactive oxygen species

田蓟苷(Tiliacin, Til)是香青兰总黄酮中的主要活性成分,具有降血脂、抗炎、抗氧化应激的功效,其可以抑制脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的巨噬细胞炎症反应^[1-2]。本课题组研究发现,叶酸修饰田蓟苷脂质体可以靶向巨噬细胞。细胞焦亡作为一种促炎性程序性细胞死亡方式,在动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)的发生发展过程中发挥着极为重要的功能,AS相关细胞如巨噬细胞、血管内皮细胞和血管平滑肌细胞等均可发生细胞焦亡^[3-4]。本研究旨在探索田蓟苷脂质体(Tiliacin liposomes, TNP-Til)对LPS/腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)诱导的巨噬细胞焦亡的作用。

材料和方法

1 材料

细胞 小鼠 RAW 264.7 巨噬细胞株,购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

药品与试剂 田蓟苷,规格:每瓶 1 g,纯度: $\geq 98\%$,批号:YRT045-220201,购自成都仪睿有限公司;LPS,规格:每瓶 25 mg,批号:0000189843、ATP,规格:每瓶 30 mg,纯度: $\geq 99\%$,批号:SLCN6552、聚乙烯醇(polyvinyl alcohol, PVA),规格:每瓶 500 g,纯度: $> 80\%$,批号:SLCB4371、维生素 E 聚乙二醇琥珀酸酯(tocopherol polyethylene glycol succinate, TPGS),规格:每瓶 25 g,批号:DHR3RRE9,均购自美国 Sigma 公司;大豆卵磷脂,规格:每瓶 50 mg;批号:SY-S0-211003,购自上海艾伟拓医药科技有限公司;胆固醇,规格:每瓶 25 g,纯度:99%,批号:EA150121,购自成都市科隆化学品有限公司。乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)测定试剂盒,购自南京建成生物工程研究所;活性氧(reactive oxygen species, ROS)试剂盒,

购自北京索莱宝公司;Nod样受体热蛋白结构域相关蛋白3(Nod-like receptor family pyrin domain-containing protein 3, NLRP3)、胱天蛋白酶-1(caspase-1),均购自武汉三鹰生物技术有限公司;Gasdermin D(GSDMD),购自美国 Abcam 公司;白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-18 试剂盒,均购自武汉攸克生物技术公司。

仪器 Synergy H1 酶标仪、GelDoc XR+凝胶成像系统、CFX96/CFX384 荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)仪,均为美国 Bio-Rad 公司产品;ZEISS LSM880 激光共聚焦显微镜,德国 Carl-Zeiss 公司产品;DYCZ-25D 电泳、DYCZ-40G 电转仪,均为北京六一生物科技有限公司产品。

2 实验方法

2.1 TNP-Til 制备

称量 Til 2.1 mg 溶于二甲基甲酰胺(dimethylformamide, DMF) 50 μL 后,快速注入 0.30% PVA(w/v)及 0.08% TPGS(w/v)的稳定溶液后进行冰浴超声处理。将大豆卵磷脂、胆固醇、mPEG2000-Chol 和 FA-PEG2000-Chol 以 4.00:1.00:0.25:0.25 的质量比溶解在无水乙醇中,进行真空旋蒸处理,在圆底烧瓶底部得到均匀致密的脂质薄膜,向烧瓶中加入冰浴超声后的含药溶液,通过旋蒸、水化、冰浴超声后得到 TNP-Til。

2.2 模型构建^[5-6]

用“两步法”活化 NLRP3 炎症小体,构建 RAW 264.7 巨噬细胞焦亡模型。第 1 步给予 $500 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ LPS 刺激细胞 12 h 作为 NLRP3 炎症小体活化的启动信号,第 2 步给予 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ATP 刺激细胞 30 min 作为 NLRP3 炎症小体活化的激活信号。

2.3 细胞分组与给药方法^[6]

选取生长状态良好的小鼠 RAW 264.7 巨噬细

胞,分为对照组、模型组和实验组。模型组和实验组均按“2.2”的方法进行造模。待造模后,实验组在含 $5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ TNP-Til 的完全培养基中培养 12 h,对照组和模型组均在不含药的完全培养基中正常培养 12 h。

2.4 细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8) 法测定细胞活力^[5]

将密度为 $1.0\times 10^3\text{ cell}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的小鼠 RAW 264.7 巨噬细胞接种于 96 孔板中,每孔 $100\text{ }\mu\text{L}$,按“2.3”的方法进行分组和处置,其中,实验组在造模完成后分别给予 5 、 10 、 $20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 TNP-Til,每组设 9 个复孔,培养 12 h 后,加入 CCK-8 溶液 $10\text{ }\mu\text{L}$ 并孵育 1 h。用酶标仪在 450 nm 处测定光密度值。

2.5 激光共聚焦显微镜观察细胞形态^[7]

将密度为 $1.0\times 10^5\text{ cell}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的小鼠 RAW 264.7 巨噬细胞接种到共聚焦培养皿中,孵育过夜,按“2.2”的方法进行造模,模型组设 9 个复皿,加入 Annexin V 染色 30 min,用磷酸盐缓冲溶液 (phosphate buffered solution, PBS) 清洗 3 遍,在共聚焦显微镜下观察细胞的形态。

2.6 微板法检测 LDH 释放量^[6]

将密度为 $1.0\times 10^5\text{ cell}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的小鼠 RAW 264.7 巨噬细胞接种于 24 孔板,按“2.3”的方法进行分组和处置,每组设 9 个复孔,培养 12 h 后,收集细胞上清液,按照说明书的步骤进行操作,用微板法检测细胞上清液中 LDH 的水平。

2.7 细胞内 ROS 测量^[5]

将小鼠 RAW 264.7 巨噬细胞按每孔 1.0×10^5 个接种于 24 孔板,按“2.3”的方法进行分组和处置,每组设 9 个复孔,培养 12 h 后,弃上清液,用 PBS 清洗细胞 3 次,DCFH-DA 用无血清 DMEM 培养基稀释,每孔加入 DCFH-DA 稀释液 $500\text{ }\mu\text{L}$, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min,用 PBS 洗涤 3 次,将细胞收集于流式管,用流式仪在 488 nm 处检测荧光强度。

2.8 酶联免疫吸附试验法检测 IL-1 β 和 IL-18 的含量^[6]

收集“2.3”方法下的细胞上清液,以 $1\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min。按照酶联免疫吸附试验测定试剂盒说明书的步骤进行操作,用酶标仪在 450 nm 处检测光密度值,并根据标准曲线计算细胞上清液中 IL-1 β 和 IL-18 的含量。

2.9 PCR 法检测 mRNA 的表达情况^[6]

用 NCBI Genbank 数据库检索目的及内参基因,设计引物,并委托上海生物工程股份有限公司合成。按照说明书的步骤提取细胞总 RNA,并反转录为

cDNA。用 SYB Green Mater Mix 试剂测量各基因 mRNA 水平,分别用目的和内参基因引物进行扩增,按 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 *NLRP3*、*Caspase-1* 和 *GSDMD* mRNA 的相对表达水平。

2.10 蛋白质印迹法检测蛋白的表达情况^[6]

用 RIPA + PMSF 提取细胞蛋白,并对提取的全蛋白的浓度进行定量。样品上样后,恒压 80 V 电泳,待跑到浓缩分离胶分界时换为 120 V ,待酚蓝染料电泳至分离胶底端时结束。将目的蛋白转膜,在冰浴条件下 180 mA 恒流 1 h,用 5% 脱脂奶粉封闭,用对应一抗在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜。TBST 洗膜 3 次后,二抗孵育 1 h,再次洗膜后,显影、曝光。以 β -actin 为内参,用 Image J 软件分析目的蛋白的灰度值。

3 统计学处理

用 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计分析。结果数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组数据用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 检验。

结 果

1 TNP-Til 的简单表征

通过薄膜水化-超声法制得的 TNP-Til 粒径大小分布均匀,粒径为 $(94.53\pm 1.65)\text{ nm}$,且脂质体带负电,其电位为 $(-8.35\pm 1.39)\text{ mV}$,表明磷脂双分子层成功包裹药物。制剂外观清亮泛蓝色乳光,且在激光笔的照射下,对比水溶液,TNP-Til 溶液有一条光亮的通路,可见制剂具有丁达尔效应,为均匀的胶体溶液。这表明所制备的脂质体粒径和电位的体系是稳定的,符合实验样品的要求。

2 TNP-Til 对小鼠 RAW 264.7 巨噬细胞的影响

实验组给予含 $5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ TNP-Til 的完全培养基培养,对照组和模型组均在不含药的完全培养基中培养。

对照组和模型组的细胞存活率分别为 $(101.94\pm 1.90)\%$ 和 $(35.22\pm 0.97)\%$,模型组与对照组相比,细胞活力显著下降,可以导致大约 70% 细胞死亡,说明 LPS 联合 ATP 可以导致细胞死亡率增加,提示造模成功。

实验组给予 5 、 10 、 $20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ TNP-Til 处理 12 h 后的细胞存活率分别为 $(40.69\pm 1.10)\%$ 、 $(42.84\pm 2.16)\%$ 和 $(44.77\pm 2.08)\%$,与模型组比较,在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P<0.05$)。实验组与模型组相比,TNP-Til 以剂量依赖的方式上调细胞活力,故选择 $5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 用于后续研究。

3 LPS + ATP 诱导小鼠 RAW 264.7 巨噬细胞焦亡的形态

小鼠 RAW 264.7 巨噬细胞表现出典型的焦亡形态学特征,包括细胞肿胀和膜快速突起形成的巨大空泡(如箭头所指),且在共聚焦显微镜下可以更直观地看到这一结果。结果见图 1。

4 TNP - Til 对小鼠 RAW 264.7 巨噬细胞发生焦亡 LDH、炎症因子及细胞内 ROS 产生的影响

模型组与对照组相比,LDH、IL - 1 β 、IL - 18 和 ROS 水平均显著升高,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。实验组与模型组比较,LDH、IL - 1 β 、IL - 18 和 ROS 水平均显著降低,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。结果见表 1。

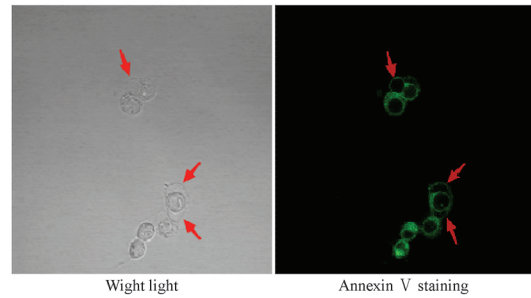


图 1 脂多糖(LPS)和腺苷三磷酸(ATP)诱导 RAW 264.7 巨噬细胞发生焦亡的细胞形态($\times 40$)

Figure 1 Lipopolysaccharide (LPS) and adenosine triphosphate (ATP) induced cell morphology of RAW 264.7 macrophages undergoing pyroptosis($\times 40$)

表 1 3 组巨噬细胞培养上清液中乳酸脱氢酶(LDH)、白细胞介素(IL) - 1 β 、IL - 18 和活性氧(ROS)水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of lactate dehydrogenase (LDH), interleukin - 1 β (IL - 1 β), IL - 18 and reactive oxygen species (ROS) in cell culture supernatant in three groups of macrophages($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	LDH(U · L ⁻¹)	IL - 1 β (pg · mL ⁻¹)	IL - 18 (pg · mL ⁻¹)	ROS
Control	9	556.05 $\pm$ 83.31	5.51 $\pm$ 0.49	20.95 $\pm$ 2.36	0.68 $\pm$ 0.50
Model	9	984.41 $\pm$ 138.82 **	38.78 $\pm$ 3.33 **	64.14 $\pm$ 9.73 **	9.58 $\pm$ 0.42 **
Experimental	9	568.54 $\pm$ 68.04 ##	8.99 $\pm$ 2.17 ##	35.95 $\pm$ 5.24 ##	4.00 $\pm$ 0.48 ##

Control group: Normal culture; Model group: Normal culture; Experimental group: 5 μ g · mL⁻¹ Tilanin liposomes (TNP - Til); Compared with control group, ** $P < 0.01$; Compared with model group, ## $P < 0.01$.

表 2 3 组巨噬细胞中 Nod 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NLRP3) 炎症小体相关基因和蛋白表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the expression of Nod - like receptor family pyrin domain - containing protein 3 (NLRP3) inflammasome - associated mRNA and protein in three groups of macrophages ($\bar{x} \pm s$)

Group	mRNA			Protein		
	NLRP3	Caspase - 1	GSDMD	NLRP3	Caspase - 1	GSDMD
Control	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.10	1.00 $\pm$ 0.05	1.00 $\pm$ 0.10
Model	3.56 $\pm$ 0.31 **	2.97 $\pm$ 0.30 **	3.03 $\pm$ 0.59 **	4.76 $\pm$ 0.61 **	2.22 $\pm$ 0.21 **	2.84 $\pm$ 0.45 **
Experimental	1.43 $\pm$ 0.28 ##	1.23 $\pm$ 0.24 ##	1.49 $\pm$ 0.40 ##	2.44 $\pm$ 0.46 ##	1.54 $\pm$ 0.16 ##	1.60 $\pm$ 0.30 ##

Dose and *n* refer to table 1; GSDMD: Gasdermin D; Compared with control group, ** $P < 0.01$; Compared with model group, ## $P < 0.01$.

5 TNP - Til 对小鼠 RAW 264.7 巨噬细胞发生焦亡 NLRP3、Caspase - 1 和 GSDMD mRNA 表达的影响

模型组与对照组相比, NLRP3、Caspase - 1 和 GSDMD mRNA 相对表达水平均显著升高,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。实验组与模型组比较, NLRP3、Caspase - 1 和 GSDMD mRNA 相对表达水平均显著降低,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。结果见表 2。

6 TNP - Til 对小鼠 RAW 264.7 巨噬细胞发生焦亡 NLRP3、Caspase - 1 和 GSDMD 蛋白表达的影响

如表 2 和图 2 所示:模型组与对照组相比, NLRP3、Caspase - 1 和 GSDMD 蛋白相对表达水平均显著升高,在统计学上差异均有统计学意义(均

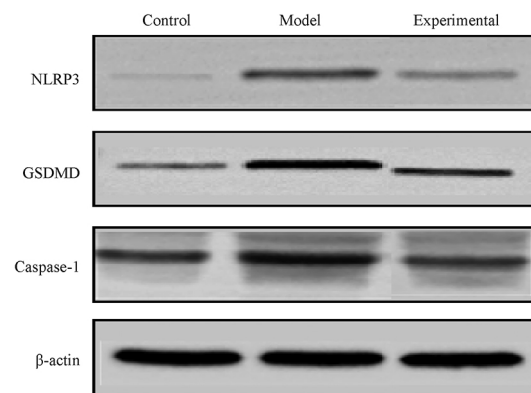


图 2 田蓟苷脂质体对巨噬细胞发生焦亡 NLRP3 炎症小体相关蛋白表达的影响

Figure 2 Effect of TNP - Til on the expression of NLRP3 inflammasome - associated proteins in macrophages undergoing pyroptosis

$P < 0.01$)。实验组与模型组比较,NLRP3、Caspase-1和GSDMD蛋白相对表达水平均显著降低,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。

讨 论

细胞焦亡是一种促炎症性程序性细胞死亡方式,由NLRP3激活Caspase-1,进一步切割GSDMD,促进IL-18和IL-1 β 的成熟与释放,这是经典的细胞焦亡途径^[8]。当细胞发生焦亡时,细胞肿胀,细胞膜出现孔洞,继而使促炎因子(如IL-1 β 和IL-18)、LDH、高迁移率族蛋白B1等大量释放,最终诱发级联放大性的炎症反应^[9]。炎症是许多自身免疫性疾病的驱动力,焦亡可以看成细胞因过度炎症而死亡的过程。

细胞焦亡的发生通过启动和激活两步信号活化NLRP3炎症小体。本研究首先在共聚焦显微镜下观察到,模型组在发生焦亡时,细胞肿大及膜胀大,形成大空泡的典型特征。模型组与对照组相比,LDH含量显著上升,这与CHEN^[7]和LIU^[10]等的研究一致。实验组经TNP-Til处理后,LDH水平下降,这可能与给药后抑制细胞膜的损伤有关。ROS可以作为损伤相关分子模式激活NLRP3炎症小体^[11-12],发生细胞焦亡。本研究发现,实验组经TNP-Til处理后,ROS水平显著下调。经Caspase-1和NLRP3炎症小体激活后,细胞裂解发生焦亡产生IL-1 β 和IL-18 2种标志性的促炎细胞因子^[13],本研究在TNP-Til给药后发现,NLRP3、Caspase-1、GSDMD蛋白和mRNA相对表达水平均明显下调,IL-1 β 和IL-18含量也均明显下降,其作用机制可能与TNP-Til能够通过抑制细胞内ROS生成、NLRP3炎症小体的激活、促炎细胞因子释放等因素来调节细胞焦亡有关。

本研究提示:TNP-Til可以通过下调ROS/NLRP3途径来改善LPS/ATP诱导的巨噬细胞焦亡,阐明其对细胞焦亡的影响,为下一步研究奠定理论基础。

参考文献:

- [1] 姜雯,杨浩,席梅,等. 田藊苷对高脂饮食ApoE^{-/-}小鼠抗动脉粥样硬化活性及作用机制[J]. 中成药,2021,43(8):2024—2029.
- [2] SHEN W, ANWAIER G, CAO Y, et al. Atheroprotective mechanisms of tilianin by inhibiting inflammation through down-regulating NF- κ B pathway and foam cells formation [J/OL]. *Front Physiol*, 2019, 10: 825. 2019-07-02 [2024-06-19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31333487/>.
- [3] ZHANG X, WANG Z, LI X, et al. Polydatin protects against atherosclerosis by activating autophagy and inhibiting pyroptosis mediated by the NLRP3 inflammasome [J/OL]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 309: 116304. 2023-06-12 [2024-06-19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36870461/>.
- [4] IMAI T, VAN T-M, PASPARAKIS M, et al. Smooth muscle cell specific NEMO deficiency inhibits atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 12538.
- [5] TAO Z, ZHAODONG L, HONG C. Melatonin alleviates lipopolysaccharide (LPS) / adenosine triphosphate (ATP) - induced pyroptosis in rat alveolar type II cells (RLE-6TN) through nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) - driven reactive oxygen species (ROS) downregulation [J]. *Bioengineered*, 2022, 13(1): 1880—1892.
- [6] 田源,肖雯,侯常苗,等. 灯盏细辛通过VDAC1/ROS/NLRP3通路减轻H₂O₂诱导的心肌细胞损伤[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(20): 2927—2931.
- [7] CHEN B, YAN Y, YANG Y, et al. A pyroptosis nanotuner for cancer therapy [J]. *Nat Nanotechnol*, 2022, 17(7): 788—798.
- [8] TOLDO S, ABBATE A. The role of the NLRP3 inflammasome and pyroptosis in cardiovascular diseases. *Nat Rev Cardiol*, 2024, 21(4): 219—237.
- [9] VASUDEVAN S O, BEHL B, RATHINAM V A. Pyroptosis - induced inflammation and tissue damage [J/OL]. *Semin Immunol*, 2023, 69: 101781. 2023-06-21 [2024-06-19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37352727/>.
- [10] LIU W, HAN X, LI Q, et al. Igaratimod ameliorates bleomycin - induced pulmonary fibrosis by inhibiting the EMT process and NLRP3 inflammasome activation [J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 153: 113460. 2022-07-25 [2024-06-19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36076570/>.
- [11] QIU Y, SHI Y N, ZHU N, et al. A lipid perspective on regulated pyroptosis [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(8): 2333—2348.
- [12] ZHAO J, LI J, LI G, et al. The role of mitochondria - associated membranes mediated ROS on NLRP3 inflammasome in cardiovascular diseases [J/OL]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 1059576. 2022-12-14 [2024-06-19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36588561/>.
- [13] PAGLIARO P, PENNA C. Inhibitors of NLRP3 inflammasome in ischemic heart disease: Focus on functional and redox aspects [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2023, 12(7): 1396.

(收稿日期 2024-10-14)