

· 论 著 ·

舒芬太尼调节 AMPK/TXNIP/NLRP3 信号通路对脂多糖诱导的肺泡上皮细胞焦亡的影响

刘忠涛¹, 孙天琪¹, 杨雅婷¹, 孙 茜²

佳木斯市中心医院; 1. 麻醉科; 2. 呼吸内科, 黑龙江佳木斯 154002

摘要:目的 探讨舒芬太尼通过调节腺苷单磷酸活化蛋白激酶(AMPK)/硫氧还蛋白互作蛋白(TXNIP)/核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)信号通路对脂多糖诱导的肺泡上皮细胞焦亡的影响。方法 将人肺泡上皮Ⅱ型细胞(AECⅡ)细胞培养至对数期,然后分为对照组(正常葡萄糖培养)、脂多糖组(50 $\mu\text{g/mL}$ 脂多糖诱导损伤)、低浓度舒芬太尼组(20 $\mu\text{mol/L}$)、高浓度舒芬太尼组(40 $\mu\text{mol/L}$)、高浓度舒芬太尼(40 $\mu\text{mol/L}$) + AMPK-IN-3 组(50 $\mu\text{mol/L}$ AMPK 抑制剂)。MTT 法检测细胞增殖能力, Hoechst 33342 和碘化丙啶(PI)双染色检测细胞焦亡,酶联免疫吸附试验检测细胞上清液中白细胞介素(IL)-1 β 、IL-18、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平,实时荧光定量 PCR 检测细胞焦亡相关因子半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、焦孔素 D(GSDMD) mRNA 的表达,蛋白质印迹法检测细胞中 AMPK、磷酸化腺苷单磷酸活化蛋白激酶(p-AMPK)、TXNIP、NLRP3 蛋白表达。结果 与对照组比较,脂多糖组 AECⅡ细胞的细胞存活率降低,PI+阳性细胞增多,炎症因子 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 释放增加,Caspase-1、ASC、GSDMD mRNA 表达增加,p-AMPK/AMPK 表达减少,TXNIP、NLRP3 表达增加($P < 0.05$)。与脂多糖组比较,低浓度舒芬太尼组、高浓度舒芬太尼组 AECⅡ细胞的细胞存活率升高,PI+阳性细胞减少,炎症因子 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 释放减少,Caspase-1、ASC、GSDMD mRNA 表达降低,p-AMPK/AMPK 表达增多,TXNIP、NLRP3 表达减少($P < 0.05$)。与高浓度舒芬太尼组比较,高浓度舒芬太尼 + AMPK-IN-3 组 AECⅡ细胞存活率降低,PI+阳性细胞增多,炎症因子 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 释放增加,Caspase-1、ASC、GSDMD mRNA 表达增加,p-AMPK/AMPK 表达减少,TXNIP、NLRP3 表达增加($P < 0.05$)。结论 舒芬太尼可能通过调控 AMPK/TXNIP/NLRP3 信号通路改善脂多糖诱导的肺泡上皮细胞焦亡。

关键词:舒芬太尼; 腺苷单磷酸活化蛋白激酶; 硫氧还蛋白互作蛋白; 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3; 脂多糖; 焦亡

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.12.003

中图法分类号:R563.9

文章编号:1673-4130(2024)12-1419-06

文献标志码:A

Effects of sufentanil on lipopolysaccharide-induced pyroptosis in alveolar epithelial cells by regulating AMPK/TXNIP/NLRP3 signaling pathway

LIU Zhongtao¹, SUN Tianqi¹, YANG Yating¹, SUN Xi²

1. Department of Anesthesia; 2. Department of Respiratory, Jiamusi Central Hospital, Jiamusi, Heilongjiang 154002, China

Abstract: Objective To explore the sufentanil by adjusting the adenosine monosodium phosphate activated protein kinase (AMPK)/thioredoxin interacting proteins (TXNIP)/nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3) signaling pathways of the alveolar epithelial cells induced by lipopolysaccharide to the dead. **Methods** Human alveolar epithelial type II cell (AECⅡ) were cultured to logarithmic phase. Then they were divided into control group (normal glucose culture), lipopolysaccharide group (lipopolysaccharide induced injury by 50 $\mu\text{g/mL}$), low concentration sufentanil group (20 $\mu\text{mol/L}$), high concentration sufentanil group (40 $\mu\text{mol/L}$), high concentration sufentanil (40 $\mu\text{mol/L}$) + AMPK-IN-3 group (50 $\mu\text{mol/L}$ AMPK inhibitors). MTT assay was used to detect cell proliferation. Pyroptosis was detected by Hoechst 33342 and propidium iodide (PI) double staining. The levels of interleukin (IL)-1 β , IL-18 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in cell supernatant were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. Quantitative real-time PCR was used to detect the mRNA expression of focal death related factors cysteinyl proteinase-1 (Caspase-1), apoptosis-associated speck-like protein (ASC), and gasdermin D (GSDMD). The protein expression of AMPK, phosphorylated adenosine monosodium phosphate activated protein kinase (p-AMPK), TXNIP

and NLRP3 were detected by Western blot. **Results** Compared with the control group, the survival rate of AEC II cells in the lipopolysaccharide group decreased, the number of PI+ positive cells increased, the release of inflammatory factors IL-1 β , IL-18 and TNF- α increased, the expression of Caspase-1, ASC and GSDMD mRNA increased, the expression of p-AMPK/AMPK decreased, and the expression of TXNIP and NLRP3 increased ($P < 0.05$). Compared with the lipopolysaccharide group, the survival rate of AEC II cells in the low concentration sufentanil group and the high concentration sufentanil group increased, PI+ positive cells decreased, the release of inflammatory factors IL-1 β , IL-18 and TNF- α decreased, the expression of Caspase-1, ASC and GSDMD mRNA decreased, the expression of p-AMPK/AMPK increased, and the expression of TXNIP and NLRP3 decreased ($P < 0.05$). Compared with the high concentration sufentanil group, the survival rate of AEC II cells in the high concentration sufentanil+AMPK-IN-3 group decreased, the number of PI+ positive cells increased, the release of inflammatory factors IL-1 β , IL-18 and TNF- α increased, the expression of Caspase-1, ASC and GSDMD mRNA increased, the expression of p-AMPK/AMPK decreased, and the expression of TXNIP and NLRP3 increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Sufentanil may improve lipopolysaccharide induced alveolar epithelial cell pyroptosis by regulating AMPK/TXNIP/NLRP3 signaling pathway.

Key words: sufentanil; adenosine monosodium phosphate activated protein kinase; thioredoxin interacting proteins; nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3; lipopolysaccharide; pyroptosis

肺部炎症经常会导致急性肺损伤(ALI),其特征是肺泡上皮细胞死亡或者功能障碍导致的肺泡毛细血管屏障破坏^[1]。而细胞焦亡与凋亡均为程序性细胞死亡,但焦亡是病理性的,且与炎症相关,而凋亡是生理条件下的基因调控,与炎症无关。细胞焦亡发生时炎症小体会激活相关炎症因子表达从而诱导细胞死亡^[2]。有研究显示,ALI的特点就是强烈的炎症反应及氧化应激,进而导致细胞发生焦亡及相关因子水平发生明显变化,最终使患者健康受到威胁^[3]。抑制疾病导致的肺部细胞焦亡,有利于减轻ALI带来的危害。舒芬太尼是具有镇痛作用的特异性阿片受体激动剂,有研究表明其可以预防缺血再灌注引发的急性肾损伤、心肌损伤等,扩大了舒芬太尼的临床应用^[4-5]。而后报道称舒芬太尼可以减轻肺组织病理学损伤,降低肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等炎症因子水平,发挥保护作用^[6]。ZHANG等^[7]关于胰腺炎及LIU等^[8]关于心肌损伤、焦亡的研究均显示,促进腺苷单磷酸活化蛋白激酶(AMPK)磷酸化,抑制硫氧还蛋白互作蛋白(TXNIP)和核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NLRP3)表达可以抑制炎症因子释放。同样在ALI中,药物激活AMPK可减少NLRP3炎症小体增加,达到抑制脂多糖诱导ALI的治疗效果^[9]。故本文对舒芬太尼、AMPK/TXNIP/NLRP3信号通路在脂多糖诱导的肺泡上皮细胞焦亡中的作用进行初步探究。

1 材料与方法

1.1 材料来源 人肺泡上皮II型细胞(AEC II)购自上海细胞库。

1.2 仪器与试剂 DMEM培养基购自北京拜尔迪生物技术有限公司,舒芬太尼购自宜昌人福药业有限责任公司,AMPK抑制剂AMPK-IN-3购自上海碧咸医药科技有限公司,MTT购自湖北兴恒康化工科技

有限公司,Hoechst 33342和碘化丙啶(PI)细胞焦亡试剂盒购自上海研谨生物科技有限公司,白细胞介素(IL)-1 β 检测试剂盒购自西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司,IL-18检测试剂盒购自上海茁彩生物科技有限公司,TNF- α 试剂盒购自爱必信(上海)生物科技有限公司,Trizol试剂、二喹啉甲酸(BCA)蛋白浓度测定试剂盒购自江苏星科元信息科技有限公司,逆转录试剂盒购自武汉赛维尔生物科技有限公司,PCR引物购自上海圻明生物科技有限公司,实时荧光定量PCR(qPCR)试剂盒购自上海一研生物科技有限公司,兔源一抗AMPK、 β -Tubulin购自爱必信(上海)生物科技有限公司,兔源一抗磷酸化腺苷单磷酸活化蛋白激酶(p-AMPK)、TXNIP、NLRP3购自上海沪震实业有限公司,辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔二抗购自北京泰泽嘉业科技发展有限公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养及分组 将AEC II细胞置于补充10% FBS、1%青霉素和链霉素的DMEM培养基中,并置于37℃、5% CO₂的培养箱中培养。

将细胞分为对照组、脂多糖组、低浓度舒芬太尼组、高浓度舒芬太尼组、高浓度舒芬太尼+AMPK-IN-3组。对照组细胞未进行其他处理,其余组细胞模拟ALI,均以50 μ g/mL脂多糖孵育以诱导损伤^[10],然后脂多糖组不再作其他处理;低浓度舒芬太尼组细胞再用20 μ mol/L舒芬太尼处理;高浓度舒芬太尼组用40 μ mol/L舒芬太尼处理^[10];高浓度舒芬太尼+AMPK-IN-3组用50 μ mol/L舒芬太尼和AMPK-IN-3处理^[11]。

1.3.2 MTT法检测各组细胞活性 将各组细胞以 1×10^4 个细胞/孔的密度接种在96孔板中,分别处理,孵育24 h后,根据MTT使用说明书,向每个孔中加入10 μ L CCK-8溶液,在37℃培养箱中孵育1 h

后,用多功能酶标仪在 450 nm 处检测吸光度值(A),计算细胞存活率:存活率=($A_{\text{实验组}} - A_{\text{空白组}}$)/($A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}}$) $\times 100\%$ 。

1.3.3 Hoechst 33342 和 PI 双染色法检测各组 AEC II 细胞焦亡 将各组细胞接种在 24 孔板中并孵育 24 h,然后按照细胞焦亡试剂盒操作指示进行处理。将细胞用 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的 Hoechst 33342 和 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的 PI 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下染色 30 min,然后用荧光显微镜观察并拍照,通过 Image J 软件对染色细胞进行分析(PI+ 为阳性细胞)。

1.3.4 各组 AEC II 细胞上清液中 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平检测 收集各组细胞的上清液,分别根据 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 检测试剂盒相关说明进行检测,用酶标仪在 450 nm 处检测 A,然后计算 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平。

1.3.5 qPCR 检测细胞焦亡相关因子半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)mRNA、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)mRNA、焦孔素 D(GSDMD) mRNA 的表达 使用 Trizol 提取细胞总 RNA,逆转录试剂盒用于逆转录得到 cDNA,然后进行 PCR 扩增。以 β -actin 作为 Caspase-1 mRNA、ASC mRNA、GSDMD mRNA 的内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算上述蛋白的相对表达水平。引物: Caspase-1 正向,5'-GAACCTCGAGCTGAT CT-TCG-3',反向,5'-CTGAGCTCCGATTCGAAGG-3'; ASC 正向,5'-TTATGGAA GAGTCTGGAGCTGTGG-3',反向,5'-AATGAGTGCTTGCCTGTGTTGG-3'; GSDMD 正向,5'-GCCTCCACAACCTTCCTGACAGATG-3',反向,5'-GGTCTCCACCTCTGCCGTAG-3'。 β -actin 正向,5'-GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA-3',反向,5'-GACTCATCGTACTCCTGCTTGCTG-3'。

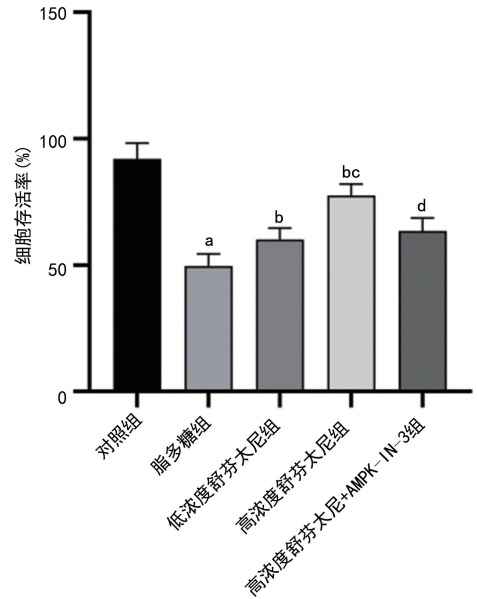
1.3.6 蛋白质印迹法(Western blot)检测各组 AEC II 细胞中 AMPK、p-AMPK、TXNIP、NLRP3 蛋白表达 将各组 AEC II 细胞在含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 缓冲液中裂解 30 min,使用 BCA 蛋白质测定试剂盒测量蛋白质浓度,并在 SDS-PAGE 凝胶上分离,然后将蛋白质转移到 PVDF 膜上,用 5% 的脱脂奶粉封闭 1 h,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下用一抗 AMPK(1 : 2 000)、p-AMPK(1 : 2 000)、TXNIP(1 : 1 000)、NLRP3(1 : 1 000)、 β -Tubulin(1 : 1 000)孵育过夜。第 2 天洗涤 PVDF 膜,将其用 HRP 偶联的二抗在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下再孵育 1 h。通过 ECL 检测蛋白质条带,使用 Image J 软件分析蛋白质表达情况。

1.4 统计学处理 采用 Graphpad Prism9.0 对数据进行处理和分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两组比较采用 SNK- q 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组 AEC II 细胞存活率比较 与对照组比较,

脂多糖组细胞存活率降低($P < 0.05$);与脂多糖组比较,低浓度舒芬太尼组、高浓度舒芬太尼组细胞存活率升高($P < 0.05$);与低浓度舒芬太尼组比较,高浓度舒芬太尼组细胞存活率升高($P < 0.05$);与高浓度舒芬太尼组比较,高浓度舒芬太尼 + AMPK-IN-3 组细胞存活率降低($P < 0.05$)。见图 1。



注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与脂多糖组比较,^b $P < 0.05$;与低浓度舒芬太尼组比较,^c $P < 0.05$;与高浓度舒芬太尼组比较,^d $P < 0.05$ 。

图 1 各组 AEC II 细胞存活率比较

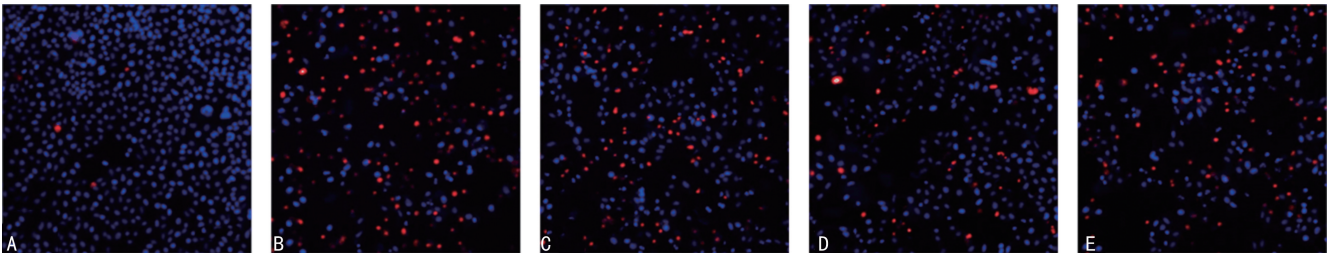
2.2 各组 AEC II 细胞焦亡情况比较 与对照组比较,脂多糖组 PI+ 阳性细胞增多,细胞焦亡增多($P < 0.05$);与脂多糖组比较,低浓度舒芬太尼组、高浓度舒芬太尼组 PI+ 阳性细胞减少,细胞焦亡减少($P < 0.05$);与低浓度舒芬太尼组比较,高浓度舒芬太尼组 PI+ 阳性细胞减少,细胞焦亡减少($P < 0.05$);与高浓度舒芬太尼组比较,高浓度舒芬太尼 + AMPK-IN-3 组 PI+ 阳性细胞增多,细胞焦亡增加($P < 0.05$)。见图 2、3。

2.3 各组 AEC II 细胞上清液中 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平比较 与对照组比较,脂多糖组 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平升高($P < 0.05$);与脂多糖组比较,低浓度舒芬太尼组、高浓度舒芬太尼组 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平降低($P < 0.05$);与低浓度舒芬太尼组比较,高浓度舒芬太尼组 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平降低更明显($P < 0.05$);与高浓度舒芬太尼组比较,高浓度舒芬太尼 + AMPK-IN-3 组 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平升高($P < 0.05$)。见图 4。

2.4 各组 AEC II 细胞中 Caspase-1 mRNA、ASC mRNA、GSDMD mRNA 表达比较 与对照组比较,脂多糖组 Caspase-1 mRNA、ASC mRNA、GSDMD mRNA 表达升高($P < 0.05$);与脂多糖组比较,低浓度舒芬太尼组、高浓度舒芬太尼组 Caspase-1 mRNA、ASC mRNA、GSDMD mRNA 表达降低($P < 0.05$);

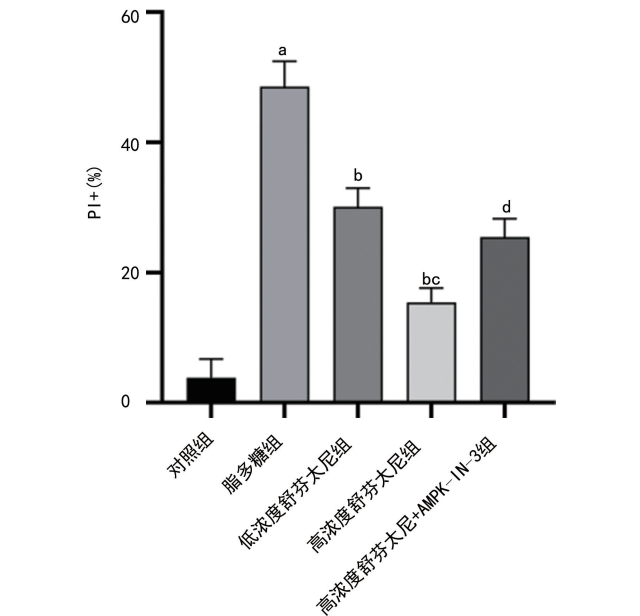
与低浓度舒芬太尼组比较,高浓度舒芬太尼组 Caspase-1 mRNA、ASC mRNA、GSDMD mRNA 表达降低($P<0.05$);与高浓度舒芬太尼组比较,高浓度舒芬太尼+

AMPK-IN-3 组 Caspase-1 mRNA、ASC mRNA、GSDMD mRNA 表达升高($P<0.05$)。见图 5。



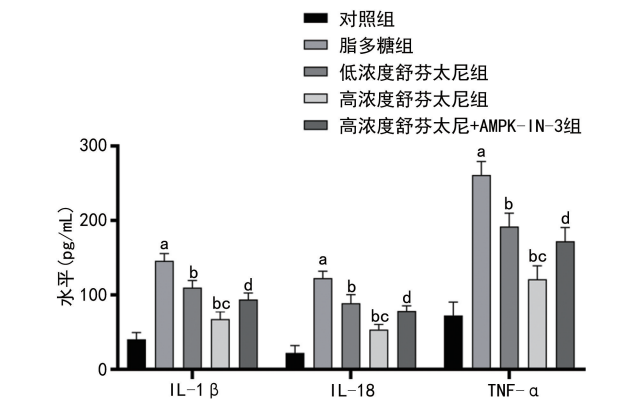
注:A 为对照组;B 为脂多糖组;C 为低浓度舒芬太尼组;D 为高浓度舒芬太尼组;E 为高浓度舒芬太尼+AMPK-IN-3 组。

图 2 Hoechst 33342 和 PI 双染色检测各组 AEC II 细胞焦亡情况



注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与脂多糖组比较,^b $P<0.05$;与低浓度舒芬太尼组比较,^c $P<0.05$;与高浓度舒芬太尼组比较,^d $P<0.05$ 。

图 3 各组 AEC II 细胞焦亡情况比较

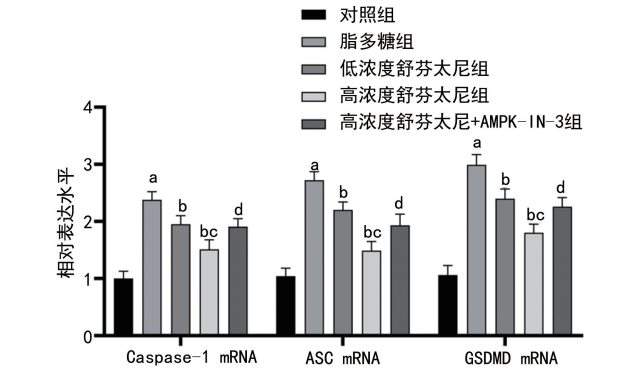


注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与脂多糖组比较,^b $P<0.05$;与低浓度舒芬太尼组比较,^c $P<0.05$;与高浓度舒芬太尼组比较,^d $P<0.05$ 。

图 4 各组 AEC II 细胞上清液中 IL-1β、IL-18、TNF-α 水平比较

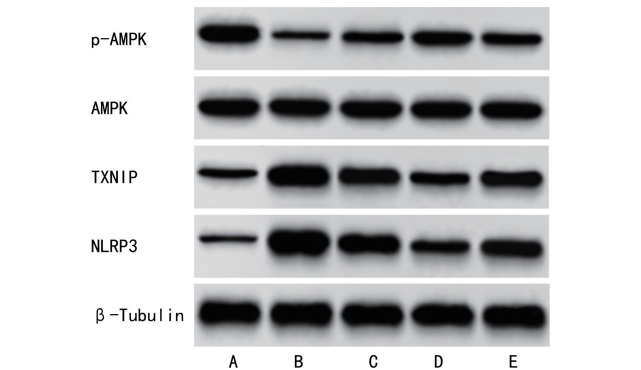
2.5 各组 AEC II 细胞中 AMPK、p-AMPK、TXNIP、NLRP3 蛋白表达比较 与对照组比较,脂多糖组 p-AMPK/AMPK 蛋白表达降低, TXNIP、NLRP3 蛋白

表达升高($P<0.05$);与脂多糖组比较,低浓度舒芬太尼组、高浓度舒芬太尼组 p-AMPK/AMPK 蛋白表达升高, TXNIP、NLRP3 蛋白表达降低($P<0.05$);与低浓度舒芬太尼组比较,高浓度舒芬太尼组 p-AMPK/AMPK 蛋白表达升高, TXNIP、NLRP3 蛋白表达降低($P<0.05$);与高浓度舒芬太尼组比较,高浓度舒芬太尼+AMPK-IN-3 组 p-AMPK/AMPK 蛋白表达降低, TXNIP、NLRP3 蛋白表达升高($P<0.05$)。见图 6、7。



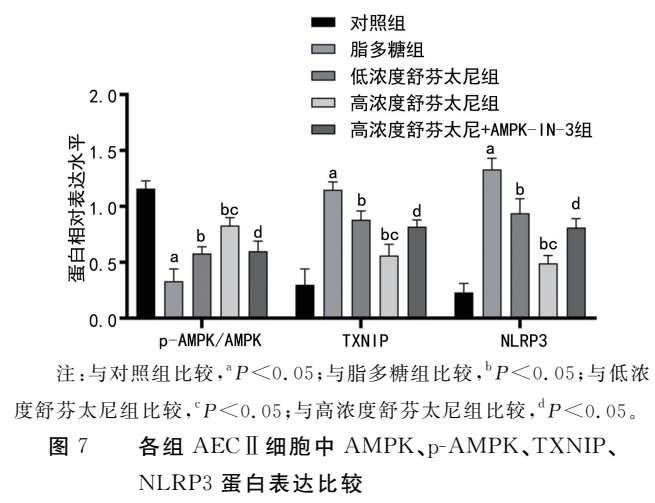
注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与脂多糖组比较,^b $P<0.05$;与低浓度舒芬太尼组比较,^c $P<0.05$;与高浓度舒芬太尼组比较,^d $P<0.05$ 。

图 5 各组 AEC II 细胞中 Caspase-1 mRNA、ASC mRNA、GSDMD mRNA 表达比较



注:A 为对照组;B 为脂多糖组;C 为低浓度舒芬太尼组;D 为高浓度舒芬太尼组;E 为高浓度舒芬太尼+AMPK-IN-3 组。

图 6 Western blot 检测 AEC II 细胞中 AMPK、p-AMPK、TXNIP、NLRP3 蛋白表达



3 讨 论

ALI 的特征为急性呼吸功能不全并伴有呼吸急促、弥漫性肺泡浸润等现象,甚至可发展为急性呼吸窘迫综合征^[12]。在 ALI、急性胰腺炎及相关肺损伤等炎症性疾病中,细胞焦亡已被证实具有重要作用,抑制细胞焦亡可以减轻肺损伤^[13-14]。故本文用脂多糖诱导人肺泡上皮细胞 AEC II 损伤,研究细胞焦亡在损伤细胞中的作用。结果显示,与对照组比较,脂多糖组细胞增殖能力下降,细胞焦亡增加,炎症因子 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平及细胞焦亡标志性因子 Caspase-1、ASC 和 GSDMD 的 mRNA 水平均升高,提示脂多糖诱导可使人肺泡上皮细胞产生损伤,并且发生细胞焦亡现象。

近期研究显示,舒芬太尼除了用于癌症疼痛及术后镇痛,在乳腺癌、肺癌、胃癌等的治疗中也发挥作用,可以抑制癌细胞活力、侵袭和炎症^[15-16]。自此之后逐渐有团队开始探究舒芬太尼在组织损伤中的作用,结果显示舒芬太尼通过降低炎症反应减轻肝损伤^[17]。与此研究结果相似,本研究发现,舒芬太尼干预脂多糖诱导的 AEC II 细胞后,细胞的增殖活性提高,焦亡减少,炎症因子释放及焦亡相关因子 mRNA 表达降低。表明舒芬太尼可以减轻脂多糖诱导的人肺泡上皮细胞的焦亡和炎症情况,减少细胞损伤。

AMPK 调节细胞能力代谢及应激平衡,是多种疾病的潜在靶标;TXNIP 在氧化应激下会诱导 NLRP3 引发炎症;NLRP3 作为炎症小体激活后会引发 Caspase-1、ASC、GSDMD 活化进而诱发细胞焦亡^[18-19]。在脓毒症诱导的 ALI 中,丁双胍可以使 p-AMPK 水平升高,并通过 AMPK 抑制 NLRP3 炎症小体,促进自噬和炎症小体降解^[20]。故推测 AMPK/TXNIP/NLRP3 通路可能影响脂多糖诱导的肺上皮细胞损伤。本文结果显示,脂多糖可降低 AEC II 细胞 p-AMPK/AMPK 蛋白表达,升高 TXNIP、NLRP3 蛋白表达;而经低、高浓度舒芬太尼干预后,上述指标均呈相反表达。由此推测舒芬太尼可能通过调控

AMPK/TXNIP/NLRP3 信号通路对损伤细胞发挥保护作用。因此本文利用 AMPK/TXNIP/NLRP3 通路抑制剂 AMPK-IN-3 来干预高浓度舒芬太尼处理的脂多糖诱导损伤的 AEC II 细胞。结果显示 AMPK-IN-3 明显减弱了高浓度舒芬太尼对脂多糖诱导的 AEC II 细胞的损伤,表明舒芬太尼可能通过激活 AMPK/TXNIP/NLRP3 信号通路影响脂多糖诱导的 AEC II 细胞,抑制细胞炎症因子释放,从而抑制细胞焦亡。

综上所述,舒芬太尼可通过激活 p-AMPK,抑制 TXNIP 和 NLRP3 通路,抑制炎症因子释放,从而抑制脂多糖诱导的肺泡上皮细胞焦亡。但是舒芬太尼在肺损伤相关的体内探究还未进行,其相关作用机制可能更为复杂,还待进一步深入探讨。

参考文献

- [1] LONG M E, MALLAMPALLI R K, HOROWITZ J C. Pathogenesis of pneumonia and acute lung injury[J]. Clin Sci (Lond), 2022, 136(10):747-769.
- [2] YU P, ZHANG X, LIU N, et al. Pyroptosis: mechanisms and diseases[J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1):128-148.
- [3] KANG J Y, XU M M, SUN Y, et al. Melatonin attenuates LPS-induced pyroptosis in acute lung injury by inhibiting NLRP3-GSDMD pathway via activating Nrf2/HO-1 signaling axis [J]. Int Immunopharmacol, 2022, 109(1):108782-108796.
- [4] 路艳,朴宗方,李建玲,等. 舒芬太尼通过上调 MICRORNA-145 促进自噬和改善缺血再灌注诱导的急性肾损伤[J]. 中南大学学报(医学版), 2022, 47(10):1315-1323.
- [5] WU Q, SHANG Y, BAI Y, et al. Sufentanil preconditioning protects against myocardial ischemia/reperfusion injury via miR-125a/DRAM2 axis [J]. Cell Cycle, 2021, 20(4):383-391.
- [6] GAO Q, CHANG N, LIU D. In vitro and in vivo assessment of the protective effect of sufentanil in acute lung injury[J]. J Int Med Res, 2021, 49(2):300060520986351.
- [7] ZHANG Y, AISKER G, DONG H, et al. Urolithin A suppresses glucolipotoxicity-induced ER stress and TXNIP/NLRP3/IL-1 β inflammation signal in pancreatic β cells by regulating AMPK and autophagy [J]. Phytomedicine, 2021, 93(1):153741-153758.
- [8] LIU Y, SHU J, LIU T, et al. Nicorandil protects against coronary microembolization-induced myocardial injury by suppressing cardiomyocyte pyroptosis via the AMPK/TXNIP/NLRP3 signaling pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2022, 936(1):175365-175382.
- [9] LV H, LIU Q, WEN Z, et al. Xanthohumol ameliorates lipopolysaccharide (LPS)-induced acute lung injury via induction of AMPK/GSK3 β -Nrf2 signal axis[J]. Redox Biol, 2017, 12(1):311-324.

[10] HU Q, WANG Q, HAN C, et al. Sufentanil attenuates inflammation and oxidative stress in sepsis-induced acute lung injury by downregulating KNG1 expression[J]. Mol Med Rep, 2020, 22(5): 4298-4306.

[11] MATHESON C J, CASALVIERI K A, BACKOS D S, et al. Substituted oxindol-3-ylidenes as AMP-activated protein kinase (AMPK) inhibitors[J]. Eur J Med Chem, 2020, 197(1): 112316-112369.

[12] MOKRÁ D. Acute lung injury-from pathophysiology to treatment[J]. Physiol Res, 2020, 69 (Suppl 3): S353-S366.

[13] ZHANG Y, ZHANG H, LI S, et al. Metformin alleviates LPS-induced acute lung injury by regulating the SIRT1/NF- κ B/NLRP3 pathway and inhibiting endothelial cell pyroptosis[J]. Front Pharmacol, 2022, 13(1): 801337-801352.

[14] FAN R, SUI J, DONG X, et al. Wedelolactone alleviates acute pancreatitis and associated lung injury via GPX4 mediated suppression of pyroptosis and ferroptosis[J]. Free Radic Biol Med, 2021, 173(1): 29-40.

[15] LI M, GU K, KONG Q, et al. Sufentanil inhibits the metastasis and immune response of breast cancer via mediating the NF- κ B pathway[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2023, 45(6): 663-671.

[16] GUAN M, HUANG Y, LIN X. Sufentanil inhibits the proliferation and epithelial mesenchymal transition of lung cancer cells through Wnt/beta-catenin signaling pathway[J]. Bioengineered, 2022, 13(4): 10857-10865.

[17] LIAN Y H, FANG J, ZHOU H D, et al. Sufentanil preconditioning protects against hepatic ischemia-reperfusion injury by suppressing inflammation[J]. Med Sci Monit, 2019, 25(1): 2265-2273.

[18] LI H, YANG D H, ZHANG Y, et al. Geniposide suppresses NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis via the AMPK signaling pathway to mitigate myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. Chin Med, 2022, 17(1): 73-92.

[19] YU J, WANG W N, MATEI N, et al. Ezetimibe attenuates oxidative stress and neuroinflammation via the AMPK/Nrf2/TXNIP pathway after MCAO in rats[J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020(1): 4717258-4717271.

[20] LIU B, WANG Z, HE R, et al. Buformin alleviates sepsis-induced acute lung injury via inhibiting NLRP3-mediated pyroptosis through an AMPK-dependent pathway[J]. Clin Sci (Lond), 2022, 136(4): 273-289.

(收稿日期: 2023-08-22 修回日期: 2024-03-15)

(上接第 1418 页)

参考文献

[1] FAVALORO E J, LIPPI G. Recent advances in mainstream hemostasis diagnostics and coagulation testing[J]. Semin Thromb Hemost, 2019, 45(3): 228-246.

[2] 寿玮龄, 刘丹, 陈倩, 等. 血栓与止血筛查试验全自动流水线的应用与优化[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(11): 1124-1127.

[3] Clinical and Laboratory Standards Institute. User demonstration of performance for precision and accuracy; EP-5A [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2001.

[4] Clinical and Laboratory Standards Institute. Method comparison and bias estimation using patient samples; EP9-A2 [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2002.

[5] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 临床血液学检验常规项目分析质量要求: WS/T 406-2012 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.

[6] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 临床化学设备线性评价指南: WS/T 408-2012 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.

[7] 国家食品药品监督管理总局. 凝血分析仪: YY/T 0659-2017 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.

[8] 曲林琳, 吴俊, 吴卫, 等. 凝血检验结果自动审核规则建立与验证的多中心研究[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(8): 802-811.

[9] GARDINER C, LANE P, LANGLEY K, et al. A comparative evaluation of the CN-6000 haemostasis analyser using coagulation, amidolytic, immuno-turbidometric and light transmission aggregometry assays[J]. Int J Lab Hematol, 2020, 42(5): 643-649.

[10] NGUYEN G, LEJEUNE M, GAALOUL M, et al. Performance evaluation of the fully automated random-access multiparameter Sysmex CN-6000 hemostasis analyzer at a core laboratory with a high sample throughput[J]. Int J Lab Hematol, 2022, 44(2): 385-392.

[11] DA-RIN G, LIPPI G. Total laboratory automation of routine hemostasis testing[J]. J Lab Autom, 2014, 19(4): 419-422.

[12] TANASIJEVIC M J, MELANSON S E F, TOLAN N V, et al. Significant operational improvements with implementation of next generation laboratory automation[J]. Lab Med, 2021, 52(4): 329-337.

[13] MLINARIC A, MILOS M, COEN-HERAK D, et al. Autovalidation and automation of the postanalytical phase of routine hematology and coagulation analyses in a university hospital laboratory[J]. Clin Chem Lab Med, 2018, 56(3): 454-462.

(收稿日期: 2023-09-10 修回日期: 2024-03-10)