

双链 RNA 依赖的蛋白激酶活性抑制剂对脓毒症小鼠器官损伤及炎症因子的影响

邱春芳 吴健锋 裴飞 王陆豪 梅美华 欧阳彬 管向东

中山大学附属第一医院重症医学科, 广州 510080

通信作者: 管向东, Email: carlg@163.com

【摘要】 **目的** 观察双链 RNA 依赖的蛋白激酶(PKR)抑制剂 2-氨基嘌呤(2-AP)对盲肠结扎穿孔刺(CLP)的脓毒症模型小鼠器官损伤血浆炎症因子表达及死亡率的影响。**方法** 无特异病原体(SPF)级 C57BL/6 小鼠 40 只, 随机分为假手术(Sham)组、CLP 组、2-AP 组和 CLP+2-AP 组($n=10$)。术后 24 h 收集外周血血清, 进行丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、血肌酐(Cr)、血尿素氮(BUN)及炎症因子(IL-1 β 、IL-10 和 TNF- α)的检测; 取肺组织进行病理检测; 取外周血和腹腔灌洗液进行细菌清除率检测。另外取 60 只 C57BL/6 小鼠, 按照上述分组($n=15$)进行 7 d 生存率观察。组间计量资料比较采用独立样本 t 检验。**结果** CLP 组和 CLP+2-AP 组小鼠肝损伤指标(ALT 和 AST 水平)和肾损伤指标(Cr 和 BUN)均较 Sham 组显著升高(均 $P<0.001$)。CLP+2-AP 组 ALT 和 AST 水平均显著低于 CLP 组($t=27.88, 11.33$, 均 $P<0.001$); 肾功能损伤指标方面, CLP+2-AP 组 Cr 和 BUN 水平均较 CLP 组显著下降($t=11.02, 7.15$, 均 $P<0.001$)。与 Sham 组相比, CLP 组血浆中促炎(IL-1 β 和 TNF- α)及抑炎(IL-10)细胞因子水平均显著升高(均 $P<0.001$); CLP+2-AP 组小鼠血浆 IL-1 β 和 IL-10 水平均显著降低(均 $P<0.001$), 而血浆 TNF- α 水平下降不明显($P=0.33$)。Sham 组小鼠 7 d 生存率为 100%, CLP+2-AP 组为 13.3%, 2-AP 组为 86.7%, CLP+2-AP 组为 20.0%。抑制 PKR 活化可轻微改善 CLP 模型小鼠 7 d 生存率趋势(Mantel-Cox 检验分析, $\chi^2=0.0012, P=0.97$)。**结论** 在脓毒症小鼠模型中, 抑制 PKR 活性可对降低血浆中炎症因子表达, 减少血液和腹腔中细菌负荷, 对器官损伤具有保护作用, 提示抑制 PKR 活性在脓毒症治疗中具有应用潜力。

【关键词】 脓毒症; 双链 RNA 依赖的蛋白激酶抑制剂; 炎症因子

基金项目: 广东省自然科学基金(2016A030313269)

DOI:10.3760/cma.j.cn112137-20190825-01888

Effect of inhibiting the activity of double-stranded RNA-dependent protein kinase in sepsis mice

Qiu Chunfang, Wu Jianfeng, Pei Fei, Wang Luhao, Mei Meihua, Ouyang Bin, Guan Xiangdong

Department of Critical Care Medicine, First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China

Corresponding author: Guan Xiangdong, Email: carlg@163.com

【Abstract】 **Objective** To observe the effects of 2-aminopurine (2-AP), a double-stranded RNA-dependent protein kinase (PKR) inhibitor, on organ function, plasma inflammatory factor expression and 7 days mortality in sepsis mice induced by cecal ligation puncture (CLP). **Methods** Forty specific pathogen free C57BL/6 mice were randomly divided into sham group ($n=10$), CLP group ($n=10$), CLP+2-AP group ($n=10$) and 2-AP group ($n=10$). CLP was used to establish sepsis mice models. Peripheral blood serum was collected 24 hours after operation, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), serum creatinine (Cr), blood urea nitrogen (BUN) and inflammatory factors (IL-1 β , IL-10 and TNF- α) were detected; peripheral blood and peritoneal lavage fluid were taken for bacterial clearance detection. Another 60 C57BL/6 mice were selected to observe the 7-day survival rate according to the above groups ($n=15$). Independent sample t test was used to compare the measurement data between groups. **Results** The levels of ALT, AST, Cr and BUN in CLP Group and CLP + 2-AP group were significantly higher than those in sham group (all $P<0.001$). The levels of ALT and AST in CLP+2-AP group were significantly lower than those in CLP Group ($t=27.88, 11.33$, both $P<0.001$); the levels of Cr and BUN

in CLP + 2-AP group were significantly lower than those in CLP Group ($t=11.02, 7.15$, both $P<0.001$). Compared with sham group, the levels of pro-inflammatory (IL-1 β and TNF- α) and anti-inflammatory (IL-10) cytokines in CLP group were significantly higher (all $P<0.001$); the levels of IL-1 β and IL-10 in CLP+2-AP group were significantly lower (all $P<0.001$), but the levels of TNF- α in CLP + 2-AP group were not significantly lower ($P=0.33$). The 7-day survival rate was 100% in sham group, 13.3% in CLP+2-AP group, 86.7% in 2-AP group and 20.0% in CLP+2-AP group. Inhibition of PKR activation slightly improved the trend of 7-days survival rate of CLP model mice (analysis by mantel Cox test, $\chi^2=0.0012, P=0.97$).

Conclusion In sepsis mice model, inhibition of PKR activity can reduce the expression of inflammatory factors in plasma, decrease bacterial load in blood and abdominal cavity, and protect organ function, which could suggest that inhibition of PKR activity has potential application in sepsis treatment.

【 Key words 】 Sepsis; Double-stranded RNA-dependent protein kinase inhibitor; Inflammatory factors

Fund program: Guangdong Natural Science Foundation (2016A030313269)

DOI:10.3760/cma.j.cn112137-20190825-01888

自 2002 年起《国际拯救脓毒症运动脓毒症和脓毒性休克治疗指南》制定了一系列针对脓毒症治疗的策略和规范,但全球脓毒症发病率和病死率仍未得到有效控制^[1-4]。由于目前对脓毒症的发病机制仍不甚明确,因此临床缺乏特异、有效的治疗手段^[5]。目前比较公认的观点认为细胞因子的释放与失控性炎症反应的发生、免疫细胞凋亡与免疫功能改变、血管内皮细胞活化与凝血系统功能障碍等机制在脓毒症的发生发展中发挥重要作用^[6-7]。双链 RNA 依赖性蛋白激酶 (double-stranded RNA-dependent protein kinase, PKR) 是一种丝/苏氨酸蛋白激酶,位于人染色体 2p21-22 或鼠染色体 17E2 上^[8]。目前发现它可通过调控炎症、凋亡和自噬等相关通路影响机体炎症和免疫功能状态^[8-11]。由此我们推测在脓毒症中通过抑制 PKR 的活性可能达到抑制细胞因子的释放与失控性炎症反应的发生,从而改善脓症患者预后。因此,本研究以盲肠结扎穿刺 (CLP) 脓毒症小鼠为疾病模型,通过给予 PKR 抑制剂,检测其对小鼠器官损伤、血浆炎症因子表达及 7 d 死亡率的影响,评估其对脓毒症的潜在治疗作用。

材料与方法

一、实验试剂

异氟烷 (货号 DA0504, 河北一品制药有限公司), 盐酸曲马多注射液 (湖北潜江制药股份有限公司), PKR 抑制剂 2-氨基嘌呤 (2-AP) (货号 A3509, 美国 Sigma 公司), 琼脂粉 (广州艾斯金生物公司), 胰蛋白大豆肉汤 (美国 BD 公司), 肌酐测定试剂盒 (肌氨酸氧化酶法)、天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)

测定试剂盒 (IFCC 法)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 测定试剂盒 (中国迈瑞公司), 尿素测定试剂盒 (中生北控生物公司), 白细胞介素 (IL)-1 β 、IL-10 和肿瘤坏死因子 (TNF)- α 检测试剂盒 (美国 eBioscience 公司), 安尔碘溶液、75% 乙醇及其他试剂 (广州艾斯金生物科技有限公司)。

二、实验动物

雄性无特定病原体级 (SPF 级) C57BL/6 小鼠, 10~12 周龄, 体重 22~30 g, 购自南京大学南京生物医药研究院。所有小鼠在进行实验之前均在中山大学附属第一医院动物实验中心进行适应性饲养至少 1 周。本研究经中山大学附属第一医院伦理委员会审查通过, 所有实验均遵循实验动物保护和指南。

三、CLP 模型建立

对经检疫的小鼠进行称重、随机编号; 使用小动物麻醉机持续气体麻醉, 异氟烷浓度 (4% 用于麻醉诱导, 1.5%~2.0% 用于麻醉维持); 小鼠麻醉诱导后仰面放置于鼠板上, 沿着中下腹腹中线剪开 0.5~1.0 cm 的切口, 小心钳取盲肠 (通常在左腹部); 充分暴露盲肠, 用 6-0 不可吸收丝线结扎盲肠远端 1/2, 并在结扎之远端肠管的中部用 18G 针头贯穿 (结扎位置和穿孔数目决定了脓毒症的严重程度), 挤出少许肠内容物, 造成肠梗阻穿孔腹腔感染状态, 用生理盐水湿润肠管, 按生理位置轻柔还纳盲肠, 而后用 4-0 带针线逐层关腹; 皮下注射曲马多 (20 mg/kg) 镇痛, 每 12 h 注射 1 次; 术毕, 所有实验小鼠均于背部皮下注射 37 $^{\circ}$ C 的 0.9% 生理盐水 1 ml 进行液体复苏, 术后 4 h 内置于 27 $^{\circ}$ C 保温毯上保温, 妥善标记后放回鼠笼, 等待自由苏醒, 假手术组小鼠除不进行盲肠结扎和穿孔外, 其余步骤与实验组相同。术后观察: 小鼠

术前及处死时体重测量,实验全程生命体征,活动状态、毛发、腹部形态、进食、排便等的观察;每只小鼠的死亡时间,术后出血、伤口感染等情况。

四、实验分组及样本收集

将 40 只小鼠随机分成假手术组(Sham 组, $n=10$),盲肠结扎穿刺模型组(CLP 组, $n=10$),假手术加 2-AP 处理组(2-AP 组, $n=10$)及 CLP 模型加 2-AP 处理组(CLP+2-AP 组, $n=10$)。Sham 和 CLP 组术后 30 min 腹腔注射溶剂(含 2.7% 蚁酸的生理盐水),剂量为 5 $\mu\text{l/g}$ 体重;2-AP 组和 CLP+2-AP 组为术后 30 min 腹腔注射 2-AP,剂量为 0.01 mmol/kg 体重。CLP 模型建立 24 h 后,异氟烷麻醉,采用 2 ml 0.9% 生理盐水进行腹腔灌洗,收集灌洗液;使用腹主动脉采血方式采集小鼠外周血(每组中随机 5 只采用抗凝血采集,5 只采用促凝血采集);采血完毕后立即使用颈椎脱臼方法处死小鼠,分离小鼠左肺,采用 4% 多聚甲醛固定。

五、肺组织染色

肺组织经固定、脱水、包埋、切片后进行苏木精-伊红染色(HE 染色)后,光镜下观察拍照,评估肺部病理损伤情况,包括炎症浸润、渗出等。

六、肝肾损伤指标检测

ALT 和 AST 的测定均采用谷丙转氨酶检测试剂盒法。血肌酐(Cr)测定采用肌氨酸氧化酶法,血尿素氮(BUN)的测定是采用酶偶联速率法。均采用日立全自动生化检测仪,每个指标所需的血清用量约为 100 μl 。

七、血浆炎症因子检测

采用 ELISA 方法检测 IL-1 β 、IL-10 和 TNF- α 在血浆中的浓度水平,方法参考检测 ELISA 检测试剂盒内提供方法(美国 eBioscience 公司)。

八、细菌清除率检测

采用营养琼脂平板培养法检测倍比稀释后的小鼠外周血和腹腔灌洗液菌落形成单位(CFU_s)。用去离子水配制营养琼脂,称重 15g 琼脂粉和 15g 胰蛋白大豆肉汤粉加入可高压窄口玻璃容器中,加入 1 000 ml 去离子水,用活塞封口,震荡混匀后立即放入高压锅中进行高压蒸汽灭菌,使用前维持琼脂温度在 55~60 $^{\circ}\text{C}$,以保持液体状态。在超净台内用移液器将 100 μl 预先倍比稀释(1:10、1:100、1:1 000、1:10 000、1:100 000)的对应浓度的样品与琼脂混匀,待琼脂凝胶在室温凝固,凝固后加盖,倒置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 18 h。选取适合浓度梯度的琼脂平板,计数上面的菌落数,计算实验

小鼠外周血及腹腔灌洗液中细菌菌落数,单位为 CFU/ml。所有血标本和腹腔灌洗液在培养之前保存于冰上或 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中。本步实验目的是以外周血和腹腔灌洗液细菌负荷量(培养后的细菌菌落数)反应小鼠细菌感染程度。

九、7 d 生存率检测

另取 60 只 C57BL/6 小鼠,随机分 4 组(Sham 组、CLP 组、2-AP 组和 CLP+2-AP 组),每组 15 只,术后观察 7 d,记录小鼠的死亡时间,计算生存率。

十、统计学方法

采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析,组间计量资料比较采用独立样本 t 检验,采用生存分析(Mantel-Cox 检验)比较 7 d 生存率的组间差异,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、抑制 PKR 活化可减低肺部炎症反应和减轻 CLP 模型小鼠肝、肾损伤

如图 1 所示,Sham 组和 2-AP 组肺组织中肺泡、支气管结构清晰,处于正常状态;CLP 组中肺泡间质增厚,肺泡内有大量的炎性细胞浸润和液体渗出;CLP+2-AP 组中肺泡间质增厚,且肺泡内出现少量炎性细胞浸润。与 CLP 组相比,CLP+2-AP 组中肺部病理损伤明显改善,炎症细胞浸润和肺泡间质增厚均明显低于 CLP 组。CLP 组和 CLP+2-AP 组小鼠肝损伤指标(ALT 和 AST 水平)和肾损伤指标(Cr 和 BUN)均较 Sham 组显著升高(均 $P<0.001$)。CLP+2-AP 组 ALT 和 AST 水平均显著低于 CLP 组($t=27.88$ 、 11.33 ,均 $P<0.001$);肾功能损伤指标方面,CLP+2-AP 组 Cr 和 BUN 水平均较 CLP 组显著下降($t=11.02$ 、 7.15 ,均 $P<0.001$)(表 1)。

二、抑制 PKR 活化显著改善小鼠外周血和腹腔灌洗液细菌感染程度

Sham 组和 2-AP 组血培养平板中未发现细菌菌落形成,而 CLP 组和 CLP+2-AP 组血培养平板中均发现大量菌落。与 CLP 组相比,CLP+2-AP 组血培养平板中细菌菌落数显著减少[(1.10 ± 0.04) $\times 10^4$ CFU/ml 比 (3.23 ± 0.22) $\times 10^4$ CFU/ml, $t=30.12$, $P<0.001$]。

Sham 组和 2-AP 组腹腔灌洗液培养平板中未见细菌菌落,而 CLP 组和 CLP+2-AP 组腹腔灌洗液培养平板中均发现大量菌落。与 CLP 组相比,CLP+2-AP 组腹腔灌洗液培养平板中细菌菌落数显著减少[(5.10 ± 0.22) $\times 10^7$ CFU/ml 比 (9.40 ± 0.59) $\times 10^7$

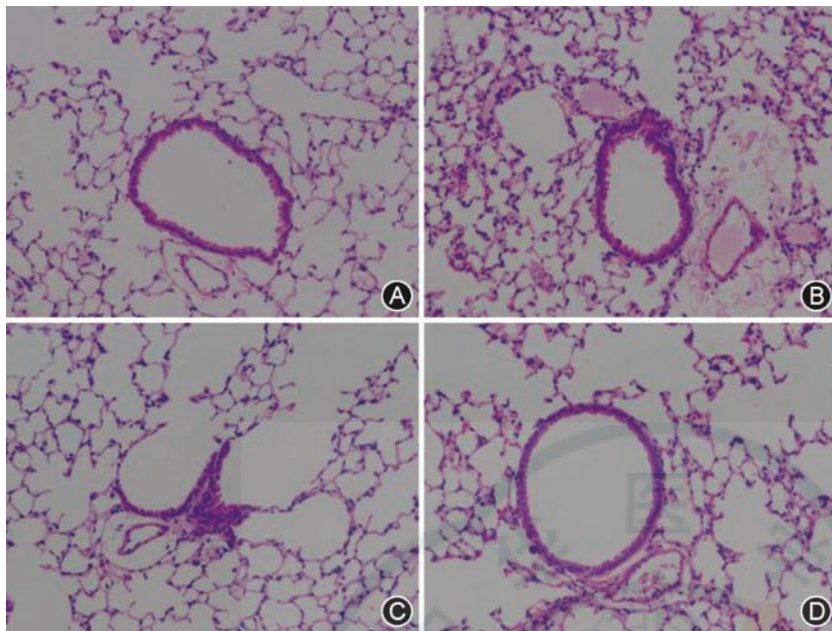


图1 各组小鼠肺组织苏木精-伊红染色结果(×200):A为假手术组(Sham组),镜下可见清晰的肺泡和支气管结构;B为盲肠结扎穿刺模型组(CLP组),镜下可见肺泡间质增厚,肺泡内有大量的炎性细胞浸润和液体渗出;C为2-AP处理组(2-AP组),镜下可见清晰的肺泡和支气管结构;D为CLP+2-AP处理组,镜下可见肺泡间质增厚,肺泡内有少量的炎性细胞浸润和液体渗出

讨 论

本研究发现使用PKR活性抑制剂2-AP可减轻CLP脓毒症模型小鼠的炎症反应、缓解器官损伤及提高细菌清除能力,提示PKR蛋白活性抑制对脓毒症小鼠具有保护效应。

PKR作为应对细胞内、外应激的哨兵激酶,近年来大量研究已经证实其在调控炎症反应、细胞凋亡和免疫调节等方面发挥重要作用^[8,10,12]。PKR在多种细胞内、外因素如dsRNA、TNF-α及LPS等刺激下发生活化,通过介导和调控多条信号转导通路和多种免疫炎症相关的核转录因子的表达如IRF3、NF-κB、c-Jun和ATF等对炎症产生影响^[13-17]。PKR活化对细胞和机体炎症反应的影响在于可以激活炎症

CFU/ml, $t=21.59, P<0.001$]

三、抑制PKR活化可降低CLP模型小鼠血浆炎症因子IL-1β、IL-10和TNF-α水平

与Sham组相比,CLP组血浆中促炎(IL-1β和TNF-α)及抑炎(IL-10)细胞因子水平均显著升高(均 $P<0.01$);CLP+2-AP组小鼠血浆IL-1β和IL-10水平均显著降低(均 $P<0.001$),而血浆TNF-α水平下降不明显($P=0.33$)(表1)。

四、抑制PKR活化可轻度改善CLP模型小鼠7d生存率

Sham组小鼠7d生存率为100%,CLP组为13.3%,2-AP组为86.7%,CLP+2-AP组为20.0%。抑制PKR活化可轻微改善CLP模型小鼠7d生存率趋势(Mantel-Cox检验分析, $\chi^2=0.0012, P=0.97$)(图2)。

小体导致多种炎症因子的释放增加,如炎症因子IL-1β、IL-10、TNF-α和HMGB1等释放增加^[9]。同时PKR活化还可导致多种促炎性细胞因子的大量释放,致使机体免疫相关细胞如巨噬细胞和杀伤T细胞凋亡增加^[12],而抑制PKR活化具有明显地降低高炎症状态^[9-10]。我们推测,抑制PKR活化可能有助于降低脓毒症模型小鼠的炎症反应,减少免疫细胞凋亡,可在宏观水平上减轻脓毒症小鼠的器官损伤和增加其细菌清除能力,并最终改善脓毒症模型小鼠预后。

本研究发现腹腔注射2-AP的CLP模型小鼠,血浆中促炎因子IL-1β和抑炎因子IL-10表达同时出现下降,通过对脓毒症发生时最易受侵袭的肺部进行病理观察,发现肺部的炎症浸润明显下降,提

表1 各组小鼠肝肾损伤检测指标和外周血炎症因子水平($n=5, \bar{x} \pm s$)

| 组别 | ALT (U/L) | AST (U/L) | Cr (μmol/L) | BUN(mmol/L) | IL-1β(μg/L) | IL-10(μg/L) | TNF-α(μg/L) |
|----------|-----------|------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|
| Sham | 26.0±1.3 | 67.2±5.5 | 12.13±0.27 | 5.4±0.6 | 9.6±1.2 | 8.3±1.4 | 6.1±1.3 |
| CLP | 273.7±7.0 | 424.7±10.1 | 38.65±1.07 | 13.7±0.4 | 150.5±18.8 | 1795.5±199.5 | 1087.3±154.4 |
| 2-AP | 35.2±1.1 | 98.4±2.2 | 7.50±0.33 | 10.1±0.6 | 9.1±1.0 | 9.4±1.0 | 7.3±1.4 |
| CLP+2-AP | 132.4±8.9 | 358.3±8.3 | 32.24±0.74 | 11.9±0.3 | 86.5±7.9 | 638.1±91.2 | 989.6±143.0 |
| t值 | 27.88 | 11.33 | 11.02 | 7.15 | 7.01 | 11.80 | 1.04 |
| P值 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | 0.330 |

注:Sham为假手术组;CLP为盲肠结扎穿刺模型组;2-AP为假手术加2-AP处理组;CLP+2-AP为CLP模型+2-AP处理组;t值和P值为CLP组与CLP+2-AP组比较获得

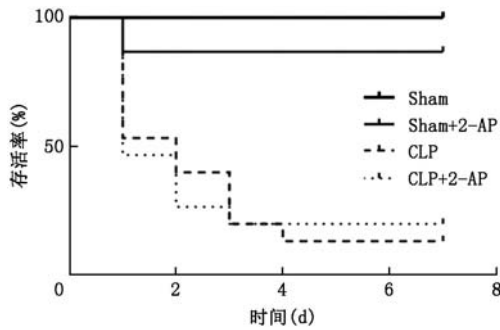


图2 各组小鼠7d生存曲线(n=15)

示虽然 2-AP 同时降低脓毒症小鼠血浆内促炎和抑炎因子水平,但总体表现是降低了脓毒症小鼠的整体高炎症状态。研究结果还显示了促炎因子 TNF- α 并未出现具有统计学意义的下降,但存在下降趋势,可能由于本研究只选取 CLP 模型建立后 24 h 进行研究,未能完整展示 TNF- α 表达改变,需进一步验证。另外,我们检测了肝肾损伤指标 (ALT 和 AST、Cr 和 BUN),发现 2-AP 可减轻脓毒症发生时机体重要器官肝肾损伤。同时我们还发现在注射 2-AP 的 CLP 模型组中外周血和腹腔灌洗液中细菌清除率明显提高,这可能与抑制 PKR 活性可减少免疫相关细胞如巨噬细胞等凋亡的功能相关,这一推测需进一步证实。

通过观察 PKR 抑制剂对脓毒症小鼠 7 d 生存率的影响,我们发现使用抑制剂组小鼠 7 d 生存率上升至 20%,虽然无统计学差异,但是有改善趋势。这也提示了单一地通过降低机体的炎症状态但不能达到改善预后的目的,需要结合其他治疗手段,这需要进一步的摸索。结果还发现注射 2-AP 组的小鼠也出现死亡,均在 24 h 内出现,这可能与 2-AP 的急性毒性相关或是操作相关,需进一步确定。

总之,本研究结果提示:抑制 PKR 活化可改善 CLP 脓毒症模型小鼠炎症反应、减轻肝、肾损伤和肺组织炎性浸润,增强脓毒症小鼠对细菌的清除能力,提示抑制 PKR 活化可能成为脓毒症治疗新的治疗方向,但尚需进一步研究加以证实。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016[J]. *Intensive Care Med*, 2017, 43(3): 304-377. DOI: 10.1007/s00134-017-4683-6.
- [2] Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving Sepsis

- Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012[J]. *Intensive Care Med*, 2013, 39(2):165-228. DOI: 10.1007/s00134-012-2769-8.
- [3] Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008[J]. *Intensive Care Med*, 2008, 34(1):17-60. DOI: 10.1007/s00134-007-0934-2.
- [4] Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, et al. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock[J]. *Crit Care Med*, 2004, 32(3): 858-873. DOI: 10.1097/01.ccm.0000117317.18092.e4.
- [5] Coopersmith CM, De Backer D, Deutschman CS, et al. Surviving sepsis campaign: research priorities for sepsis and septic shock[J]. *Crit Care Med*, 2018, 46(8): 1334-1356. DOI: 10.1097/CCM.0000000000003225.
- [6] van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, et al. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(7): 407-420. DOI: 10.1038/nri.2017.36.
- [7] Pool R, Gomez H, Kellum JA. Mechanisms of organ dysfunction in sepsis[J]. *Crit Care Clin*, 2018, 34(1): 63-80. DOI: 10.1016/j.ccc.2017.08.003.
- [8] Williams BR. PKR; a sentinel kinase for cellular stress[J]. *Oncogene*, 1999, 18(45): 6112-6120. DOI: 10.1038/sj.onc.1203127.
- [9] Kang R, Tang D. PKR-dependent inflammatory signals[J]. *Sci Signal*, 2012, 5(247):pe47. DOI: 10.1126/scisignal.2003511.
- [10] Lu B, Nakamura T, Inouye K, et al. Novel role of PKR in inflammasome activation and HMGB1 release[J]. *Nature*, 2012, 488(7413):670-674. DOI: 10.1038/nature11290.
- [11] Supinski GS, Callahan LA. β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) prevents sepsis-induced diaphragm dysfunction in mice [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2014, 196:63-68. DOI: 10.1016/j.resp.2014.02.015.
- [12] Rathinam VA, Vanaja SK, Fitzgerald KA. Regulation of inflammasome signaling[J]. *Nat Immunol*, 2012, 13(4): 333-342. DOI: 10.1038/ni.2237.
- [13] McAllister CS, Toth AM, Zhang P, et al. Mechanisms of protein kinase PKR-mediated amplification of beta interferon induction by C protein-deficient measles virus[J]. *J Virol*, 2010, 84(1):380-386. DOI: 10.1128/JVI.02630-08.
- [14] Kapil P, Stohlman SA, Hinton DR, et al. PKR mediated regulation of inflammation and IL-10 during viral encephalomyelitis[J]. *J Neuroimmunol*, 2014, 270(1-2): 1-12. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2014.02.012.
- [15] Li Y, Xiao J, Tan Y, et al. Inhibition of PKR ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by suppressing NF- κ B pathway in mice[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2017, 39(4):165-172. DOI: 10.1080/08923973.2017.1303839.
- [16] Xiao J, Tan Y, Li Y, et al. The specific protein kinase R (PKR) inhibitor C16 protects neonatal hypoxia-ischemia brain damages by inhibiting neuroinflammation in a neonatal rat model[J]. *Med Sci Monit*, 2016, 22:5074-5081. DOI: 10.12659/msm.898139.
- [17] Nakamura T, Furuhashi M, Li P, et al. Double-stranded RNA-dependent protein kinase links pathogen sensing with stress and metabolic homeostasis[J]. *Cell*, 2010, 140(3): 338-348. DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.001.

(收稿日期:2019-08-25)

(本文编辑:霍永丰)