

NF- κ B p65 对肺炎链球菌诱导的肺泡上皮细胞凋亡及炎性因子表达的影响

王勇¹, 孙朝峰², 胡钱红³

1. 成都市妇女儿童中心医院, 四川 成都 610091; 2. 宁波市北仑区妇幼保健院; 3. 温州医科大学附属第二医院

摘要: **目的** 探讨核因子- κ B p65 (nuclear factor- κ B p65, NF- κ B p65) 对肺炎链球菌诱导的肺泡上皮细胞凋亡及炎性因子的表达影响。**方法** 将肺泡上皮细胞分为 4 组, 依次为对照组、感染组、干扰组、阴性对照组 (NC 组), 其中感染组、干扰组和 NC 组用肺炎链球菌处理细胞, 干扰组和 NC 组分别为转染 NF- κ B p65 小干扰 RNA (siRNA NF- κ B p65) 和阴性对照序列 (siRNA control) 后的细胞, 对照组不做处理。ELISA 法检测细胞培养液上清中的白细胞介素-10 (IL-10) 和白细胞介素-6 (IL-6) 含量, 流式细胞术检测细胞凋亡, RT-PCR 检测细胞中 NF- κ B p65 水平, Western blot 检测细胞中活化的含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3 (Cleaved Caspase-3)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 水平。**结果** 感染组和 NC 组 NF- κ B p65 水平、IL-6 含量、细胞凋亡率及 Cleaved Caspase-3、Bax 水平均明显高于对照组, 而 IL-10 水平明显低于对照组 ($P < 0.01$)。干扰组细胞中 NF- κ B p65 水平、IL-6 含量、细胞凋亡率及 Cleaved Caspase-3、Bax 水平均明显低于感染组 ($P < 0.01$), 而 IL-10 水平明显高于感染组 ($P < 0.01$)。**结论** NF- κ B p65 能够抑制肺炎链球菌诱导的肺泡上皮细胞凋亡及炎性因子的表达, 作用机制可能与 Cleaved Caspase-3、Bax 水平有关。

关键词: 肺炎链球菌; 肺泡上皮细胞; NF- κ B p65; 凋亡

中图分类号: R378 文献标识码: A 文章编号: 1006-3110(2018)05-0547-05 DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2018.05.009

Effect of NF- κ B p65 on apoptosis of alveolar epithelial cells induced by *Streptococcus pneumoniae* and expression of inflammatory cytokines

WANG Yong*, SUN Zhao-feng, HU Qian-hong

* Chengdu Women and Children's Central Hospital, Chengdu, Sichuan 610091, China

Abstract: **Objective** To explore the impact of nuclear factor- κ B p65 (NF- κ B p65) on the apoptosis of alveolar epithelial cells induced by *Streptococcus pneumoniae* and the expression of inflammatory cytokines. **Methods** Alveolar epithelial cells were divided into the control group, the infection group, the interference group and the negative control (NC) group. The infection group, the interference group and the NC group were treated with *Streptococcus pneumoniae*. The interference group and the NC group were transfected with siRNA NF- κ B p65 and siRNA control respectively, while the control group was not treated. ELISA assay was used to detect the levels of IL-10 and IL-6 in cell culture supernatant, flow cytometry to detect cell apoptosis, RT-PCR to detect NF- κ B p65 level in cells, and Western blot to detect Cleaved Caspase-3 and Bcl-2-associated X protein (Bax) levels in cells. **Results** The levels of NF- κ B p65, IL-6, Cleaved Caspase-3 and Bax and the cell apoptosis rate were all significantly higher in the infection group and the NC group than in the control group, while the level of IL-10 was significantly lower in the above-mentioned two groups than in the control group ($P < 0.01$). Compared with the infection group, the levels of NF- κ B p65, IL-6, Cleaved Caspase-3 and Bax and the cell apoptosis rate were all significantly lower in the interference group (all $P < 0.01$), while the level of IL-10 was significantly higher in the interference group ($P < 0.01$). **Conclusions** NF- κ B p65 can inhibit the apoptosis of alveolar epithelial cells induced by *Streptococcus pneumoniae* and the expression of inflammatory cytokines, and its mechanism may be related to the levels of Cleaved Caspase-3 and Bax.

Key words: *Streptococcus pneumoniae*; alveolar epithelial cell; NF- κ B p65; apoptosis

肺泡上皮细胞是一种覆盖在肺组织肺泡上的一层细胞, 有屏障功能。肺组织损伤发生时, 肺组织修复过程与肺泡上皮细胞有关。肺炎链球菌广泛存在于自然界中, 感染后可导致肺炎发生, 肺泡上皮细胞凋亡是肺

作者简介: 王勇 (1981-), 男, 本科学历, 主治医师, 主要从事儿童急危重症疾病的诊疗工作。

炎发生的主要病理变化^[1-2]。核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 参与炎症反应, 最早发现于 B 淋巴细胞, NF- κ B p65 是 NF- κ B 蛋白家族的成员之一, 参与肺炎导致的肺损伤发生过程^[3]。有研究表明, NF- κ B p65 参与肺组织中炎症因子的合成过程, 并且能够通过调控 Caspase 蛋白家族和 Bax 蛋白水平影响肺泡上

皮细胞的凋亡^[4]。NF- κ B p65 在体外培养的肺泡上皮细胞凋亡中的具体作用机制尚不十分清楚,本研究以肺泡上皮细胞来源的 A549 细胞为研究对象,通过细胞转染和肺炎链球菌处理后,探讨 NF- κ B p65 在肺炎链球菌诱导的肺泡上皮细胞凋亡中的作用,以期为治疗肺炎提供理论基础。

1 材料与方 法

1.1 细胞及肺炎链球菌 肺泡上皮细胞 A549 购自于中国科学院细胞库。ATCC BAA-255 肺炎链球菌购自于美国 ATCC,用含有 5%脱纤维羊血的血平板培养,实验开始时将肺炎链球菌在含有 0.5%酵母的托体二氏溶液中培养过夜。

1.2 主要仪器及试剂 胰蛋白酶购自于美国 Sigma;NF- κ B p65 小干扰 RNA(siRNA NF- κ B p65)和阴性对照序列(siRNA control)均购自于山东维真生物科技有限公司;RPMI1640 培养基、胎牛血清均购自于美国 Gibco;白细胞介素-10(interleukin-10,IL-10)和白细胞介素-6(interleukin-6,IL-6)酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)检测试剂盒均购自于上海纪宁生物科技有限公司;二喹啉甲酸(bicinchoninic acid,BCA)蛋白浓度测定试剂盒购自于上海翊圣生物科技有限公司;活化的含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3(Cleaved cysteinyl aspartate specific proteinase 3,Cleaved Caspase-3)抗体、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 associated X Protein, Bax)抗体、NF- κ B p65 抗体、 β 肌动蛋白(β -actin)抗体均购自于美国 Abcam;SP-2300A2 型酶标仪购自于上海闪谱生物科技有限公司。

1.3 细胞培养 保存在液氮中的肺泡上皮细胞在 37℃融化 1 min,3 ml 细胞培养液(10%胎牛血清、100 U/L青霉素、100 mg/L链霉素的 RPMI1640 培养基)悬浮后,接种到细胞培养瓶中培养。细胞传代:细胞密度达到 90%时,用 0.25%的胰蛋白酶消化细胞,以 1:2 的比例接种到细胞瓶中继续培养。

1.4 实验分组及处理 肺泡上皮细胞分为 4 组,依次为对照组、感染组、干扰组、阴性对照组(NC 组),感染组、干扰组和 NC 组细胞密度生长至 90%左右时,用 1×10^8 CFU/ml 的肺炎链球菌培养细胞。其中干扰组和 NC 组在用肺炎链球菌刺激前 48 h 转染 siRNA NF- κ B p65 和 siRNA control。对照组细胞为未转染的细胞正常培养。

1.5 细胞转染 观察肺泡上皮细胞培养至对数生长期时,用胰蛋白酶消化,加入细胞培养液调整细胞浓度

为 4×10^5 个/ml。以每孔 2 ml 接种至六孔细胞培养板中,放在 37℃,5%CO₂ 培养箱中培养,待细胞浓度为 60%左右时,在细胞转染前 1 h 吸除细胞培养液,换成是不含有胎牛血清的细胞培养液孵育 1 h 增加转染效率。将不含有胎牛血清的细胞培养液与 NF- κ B p65 siRNA、siRNA control 混合后在室温下孵育 5 min 后记为 A 液,将 Lipofectamine 2000 转染试剂与不含有胎牛血清的细胞培养液混合记为 B 液,将 A 液与 B 液混合后,在室温条件下放置 20 min。在细胞中加入 A 液与 B 液的混合液培养 6 h,吸除上清液,加入含有胎牛血清的细胞培养液继续培养 48 h。

1.6 NF- κ B p65 mRNA 表达检测 取对照组、感染组、干扰组、NC 组细胞,按照 1.3 中处理后,培养 24 h,提取细胞中的 RNA,反转录合成 cDNA,以 β -actin 为内参,RT-PCR 检测细胞中 NF- κ B p65 水平,引物如下:NF- κ B p65 上游引物为 5'-ACAACCCCTTCAAGTTC-3',下游引物 5'-TGGTCCCCTGAAATACACCT-3'。 β -actin 上游引物为 5'-GGACCTGACTGACTACCTC-3',下游引物 5'-TACTCCTGCTTGCTGAT-3'。反应程序:预变性:95℃ 5 min;变性:94℃ 30 s;退火:56℃ 30 s;延伸:92℃ 60 s,共 40 个循环,72℃末次延伸 10 min。

1.7 IL-6 和 IL-10 表达检测 取对照组、感染组、干扰组、NC 组细胞,按照 1.3 中处理后,培养 24 h,收集细胞培养液上清,用 ELISA 法检测 IL-6 和 IL-10 含量,操作步骤参照 IL-6 和 IL-10 ELISA 检测试剂盒说明书。

1.8 细胞凋亡检测 取对照组、感染组、干扰组、NC 组细胞,按照 1.3 中处理后,培养 24 h,收集 10^6 个细胞,加入冰预冷的 PBS 重悬 3 次后,加入 500 μ l 的结合缓冲液充分混合,依次加入 10 μ l 的碘化丙啶(Propidium Iodide,PI)和 5 μ l 的膜联蛋白 V-FITC(Annexin V-FITC),在避光条件下,室温静置 5 min,流式细胞仪检测凋亡情况。

1.9 Cleaved Caspase-3、Bax、NF- κ B p65 蛋白表达检测 取对照组、感染组、干扰组、NC 组细胞,按照 1.3 中处理后,培养 24 h,加入裂解液(每 10^6 个细胞加入 20 μ l 的细胞裂解液),放置于冰上裂解 30 min 后,4℃,12 000 rpm 离心 20 min 后,用 BCA 法检测上清中的蛋白浓度,蛋白凝胶用 12%的分离胶和 5%的浓缩胶。将蛋白样品与 5 \times Loading buffer 按照 4:1 的比例混合,煮沸 5 min。每孔加入 40 μ l 变性蛋白样品,浓缩胶中 80 V 电压电泳,分离胶中 130 V 电泳。4℃,300 mA 恒流,转膜 120 min。封闭:5%脱脂奶

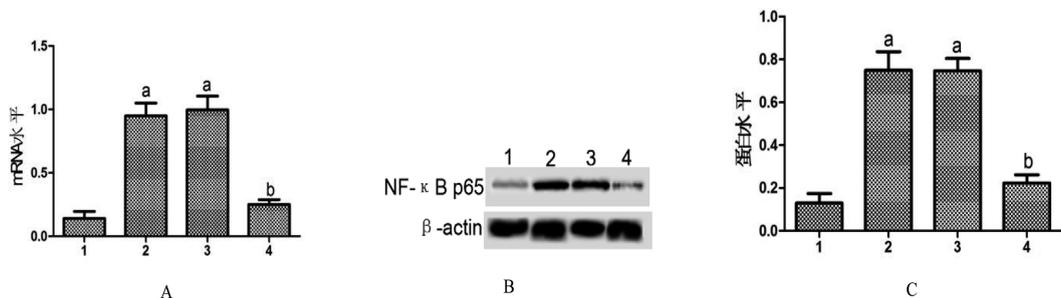
粉,室温孵育 90 min。一抗孵育:500 倍稀释,4 ℃ 过夜。二抗孵育:1 000 倍稀释,室温下孵育 90 min。曝光,以 β -actin 为内参,用 Bio-Rad Quantity One 分析目的蛋白表达水平。

1.10 统计学处理 所得的实验数据均采用 SPSS 22.0 统计学软件分析。计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)进行统计描述,多组数据的组间比较采用方差分析(总体方差齐,进一步通过 SNK-*q* 检验进行多重比较)或 Kruskal-Wallis *H* 检验(总体方差不齐,进一步

通过 Nemenyi 法进行多重比较)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞转染效果 结果见图 1。肺炎链球菌能够诱导肺泡上皮细胞中 NF- κ B p65 表达升高。siRNA NF- κ B p65 能够降低肺泡上皮细胞中 NF- κ B p65 表达水平。以上差异均有统计学意义($P < 0.05$)。



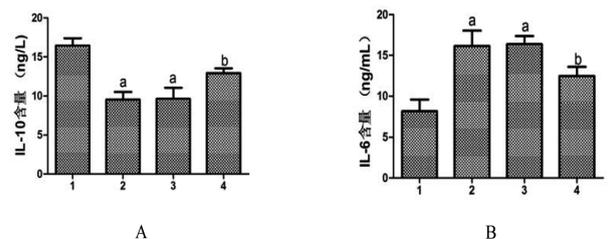
注:A:NF- κ B p65 mRNA 表达水平;B:Western blot 检测蛋白水平;C:NF- κ B p65 蛋白表达水平;1:对照组;2:感染组;3:NC 组;4:干扰组;a 与对照组相比, $P < 0.01$;b 与感染组相比, $P < 0.01$ 。

图 1 转染后细胞中 NF- κ B p65 水平

2.2 IL-6 和 IL-10 表达检测结果 结果见图 2。肺炎链球菌作用后的肺泡上皮细胞分泌的 IL-10(抗炎因子)含量下降,IL-6(促炎因子)含量升高。而 siRNA NF- κ B p65 能够抑制肺炎链球菌对炎症因子的作用。以上差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

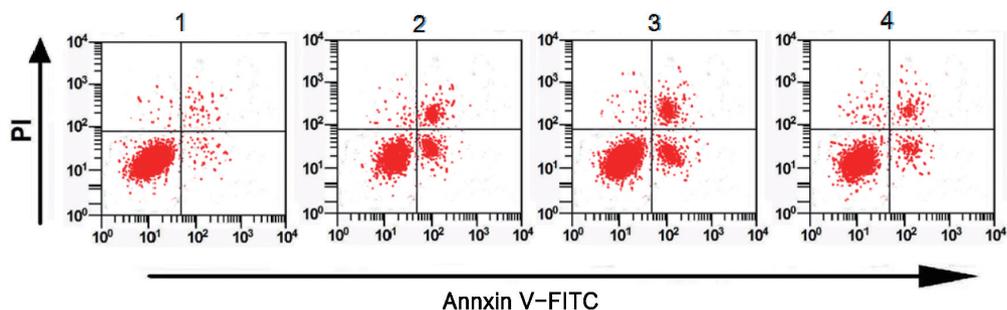
2.3 细胞凋亡检测结果 见图 3。对照组、感染组、NC 组、干扰组细胞凋亡率依次为 $(21.54 \pm 1.35)\%$ 、 $(47.21 \pm 4.18)\%$ 、 $(47.81 \pm 5.06)\%$ 、 $(32.57 \pm 2.89)\%$ 。感染组、NC 组细胞凋亡率明显高于对照组($P < 0.01$),干扰组细胞凋亡率明显低于感染组($P < 0.01$),提示肺炎链球菌能够诱导肺泡上皮细胞凋亡,而干扰 NF- κ B

p65 能够拮抗肺炎链球菌促肺泡上皮细胞凋亡的作用。



注:A:IL-10 含量;B:IL-6 含量;1:对照组;2:感染组;3:NC 组;4:干扰组;a 与对照组相比, $P < 0.01$;b 与感染组相比, $P < 0.01$ 。

图 2 IL-6 和 IL-10 表达检测结果

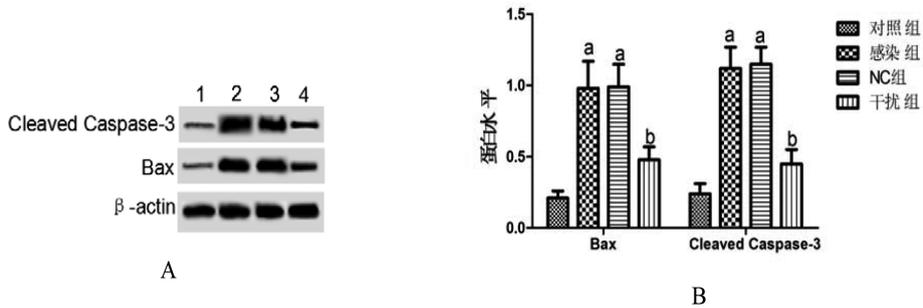


注:1:对照组;2:感染组;3:NC 组 4:干扰组。

图 3 细胞凋亡检测结果

2.4 Bax、Cleaved Caspase-3 表达检测结果 结果见图 4。肺炎链球菌能够诱导肺泡上皮细胞表达 Bax、Cleaved Caspase-3($P < 0.01$),而干扰 NF- κ B p65 能够

拮抗肺炎链球菌促肺泡上皮细胞对 Bax、Cleaved Caspase-3 的诱导作用($P < 0.01$)。



注:A:Western blot 结果;B:Bax、Cleaved Caspase-3 表达水平;1:对照组;2:感染组;3:NC 组;4:干扰组;a 与对照组相比, $P < 0.01$;b 与感染组相比, $P < 0.01$ 。

图 4 Western blot 检测 Bax、Cleaved Caspase-3 表达

3 讨论

NF- κ B 蛋白家族有 5 个成员,在正常状态下,NF- κ B 没有转录活性,以三聚体的形式存在于细胞质中^[5]。NF- κ B p65 是 NF- κ B 蛋白家族的成员之一,参与机体内炎症反应。胡根等^[6]用肿瘤坏死因子- α 在体外刺激 A549 细胞,发现细胞中 NF- κ B p65 水平明显升高,而通过细胞转染 NF- κ B p65 小干扰 RNA 分子后,A549 细胞的凋亡率为原来的 1/4。石榴等^[7]通过干扰小鼠 Ana-1 细胞中 NF- κ B p65 的表达发现,细胞分泌的促炎因子表达减少,而抑炎因子表达增多。银翘散、清肺通络膏等均能够通过调控 NF- κ B 的表达而减少肺炎导致的肺损伤^[8-9]。这些研究结果均说明,NF- κ B p65 参与肺炎发生过程。

肺炎的发生与肺泡上皮细胞的凋亡密不可分。在肺泡上皮凋亡过程中,多种凋亡相关蛋白均参与其中^[10]。Bax 是一种促凋亡蛋白,属于 Bcl-2 家族成员。Bax 主要存在于细胞浆中,能够在线粒体膜上形成通道,从而改变线粒体膜电位发生改变,致使线粒体内的细胞因子和细胞色素通过通道发生外漏^[11]。而细胞色素能够通过 Cypase 蛋白家族成员结合,激活 Cypase 级联反应,促进凋亡的发生。Cypase 蛋白家族成员较多,在细胞凋亡过程中发挥不同的作用,其中只有 Cypase-1、Cypase-11、Cypase-4 在细胞凋亡过程中没有直接作用,其他成员都参与 Cypase 级联反应诱导的细胞凋亡过程^[12-14]。Cypase-3、Cypase-6、Cypase-7 在细胞凋亡过程中发挥凋亡执行因子的功能,而 Cypase-3 活化后标志着细胞凋亡进入不可逆的阶段^[15]。在肺炎发生过程中,Cypase-3 活化水平异常升高,Bax 表达水平也明显升高^[16]。这些均表明,肺炎发生时,肺泡上皮细胞凋亡与 Cypase-3、Bax 水平有关。

本研究以 A549 细胞为研究对象,细胞转染了 NF-

κ B p65 小干扰 RNA,用肺炎链球菌处理细胞,发现肺炎链球菌处理后的 A549 细胞凋亡增多,细胞中 Cypase-3 活化水平升高,细胞中 Bax 蛋白也明显增多。这说明,本研究成功构建了肺泡上皮细胞肺炎链球菌感染模型。本研究结果还发现,干扰 NF- κ B p65 表达后细胞凋亡率减低,细胞中 Cypase-3 活化水平和 Bax 水平也有所降低,这提示,干扰 NF- κ B p65 能够拮抗肺炎链球菌诱导的肺泡上皮细胞凋亡。

在肺炎发生过程中,肺组织中炎症因子合成和释放增多,而这些炎症因子能够导致全身炎症反应综合征的发生^[17]。IL-6 是一种促炎因子,而 IL-10 是一种抑炎因子^[18]。在肺炎组织中,IL-6 表达增多,而 IL-10 合成减少^[19]。本研究结果发现,肺炎链球菌作用后的肺泡上皮细胞分泌的 IL-6 含量增多,而 IL-10 含量降低,干扰 NF- κ B p65 能够降低 IL-6 水平,提高 IL-10 水平。

综上所述,肺炎链球菌能够诱导肺泡上皮细胞凋亡,增加促炎因子 IL-6 的分泌,减少抑炎因子 IL-10 的分泌,而干扰 NF- κ B p65 表达减弱降低肺炎链球菌对肺泡上皮细胞的作用,作用机制可能与 Cypase-3 和 Bax 表达有关。本研究为靶向 NF- κ B p65 治疗肺炎提供了理论基础,为进一步研究肺炎链球菌感染导致的肺炎的发病机制奠定了基础。本研究只在体外进行了细胞实验,后续会在体内进行验证。

参考文献

- [1] Maier BB, Hladik A, Lakovits K, et al. Type I interferon promotes alveolar epithelial type II cell survival during pulmonary *Streptococcus pneumoniae* infection and sterile lung injury in mice[J]. Euro J Immunol, 2016, 46(9):2175-2186.
- [2] Walters KA, D'agnillo F, Sheng ZM, et al. 1918 pandemic influenza virus and *Streptococcus pneumoniae* co-infection results in activation of coagulation and widespread pulmonary thrombosis in mice and humans [J]. J Pathol, 2016, 238(1):85-97.

为 12.8%; 9~11 岁的肺炎链球菌阳性携带率为 15.89%; 12~13 岁的肺炎链球菌阳性携带率为 7.35%, 同时, 在分离的 50 株肺炎链球菌对阿莫西林和四环素的敏感性高达 100%, 且青霉素、氯霉素以及头孢曲松敏感性也比较高; 而对红霉素和阿奇霉素的耐药性高达 96.00%, 对四环素耐药性高达 78.00%, 该研究结果和 Araki 等^[12] 统计结果基本相符, 其研究发现 3 岁儿童肺炎链球菌携带率为 27.1%, 4 岁携带率 32.6%, 5 岁携带率 37.5%; 且肺炎链球菌耐青霉素约占 21.3%, 本次研究中口服青霉素耐药率为 10%, 可能与人群年龄分布差异有关。

综上, 儿童鼻咽部肺炎链球菌不同年龄携带分布普遍, 并且携带肺炎链球菌株对阿莫西林、左氧氟沙星、青霉素、氯霉素和头孢曲松有较高的敏感性。

参考文献

- [1] 蒋丽华, 谭丽丽, 侯云生, 等. 柳州市健康儿童鼻咽部肺炎链球菌的耐药性分析[J]. 现代预防医学, 2015, 42(22): 4091-4093.
- [2] 陈长会, 史伟, 彭拥军, 等. 中国西部单中心二级医院呼吸道感染住院患儿鼻咽部肺炎链球菌携带及其血清型和耐药性的横断面调查[J]. 中国循证儿科杂志, 2016, 11(4): 241-246.
- [3] 郎明芝, 黄辉, 吕敏, 等. 北京市东城区 221 名 1~12 岁健康儿童肺炎链球菌携带状况研究[J]. 疾病监测, 2012, 27(8): 595-598.
- [4] 高志鹏, 赵小娟, 李超, 等. 北京市怀柔区 2~5 岁儿童肺炎链球菌

鼻咽带菌率现状及 7 价肺炎球菌结合疫苗效果研究[J]. 首都公共卫生, 2014, 8(1): 13-17.

- [5] 刘尊杰, 姚开虎, 袁林, 等. 1997-2007 年上呼吸道感染患儿鼻咽部 6 群肺炎链球菌分离株的耐药性变化[J]. 中国感染与化疗杂志, 2010, 10(3): 182-187.
- [6] Kodithuwakku SP, Pang RT. Decoction in treating phlegm blocking collateral type stroke sequela in 50 cases[J]. Lab Invest, 2013, 31(1): 16-21.
- [7] Cheung HY. Law treatment of acute period of stroke: clinical observation of 98 cases[J]. Lab Invest, 2014, 14(1): 21-28.
- [8] Hoegh A, Lindholt JS. Basic science review: vascular distensibility as a predictive tool in the management of small asymptomatic abdominal aortic aneurysms[J]. Vasc Endovascular Surg, 2013, 43(4): 333-338.
- [9] Shingu Y, Shiiya N, Ooka T, et al. Augmentation index elevated in aortic aneurysm and dissection[J]. Ann Thorac Surg, 2011, 87(5): 1373-1377.
- [10] Várady E, Feher E, Levai A, et al. Estimation of vessel age and early diagnose of atherosclerosis in progeria syndrome by using echo-tracking[J]. Clin Hemorheol Microcirc, 2014, 44(4): 297-301.
- [11] Guerin O, Soto ME, Brocker P, et al. Nutritional status assessment during Alzheimer's disease[J]. J Nutr Health Aging, 2012, 9(2): 81-84.
- [12] Araki T, Emoto M, Teramura M, et al. Effect of adiponectin on carotid arterial stiffness in type 2 diabetic patients treated with pioglitazone and metformin[J]. Metabolism, 2012, 55(8): 996-1001.

收稿日期: 2017-04-21

(上接第 550 页)

- [3] Dong S, Zhong Y, Lu W, et al. Baicalin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation through signaling NF- κ B pathway in HBE16 airway epithelial cells[J]. Inflammation, 2015, 38(4): 1493-1501.
- [4] Relja B, Omid N, Wagner N, et al. Ethanol, ethyl and sodium pyruvate decrease the inflammatory responses of human lung epithelial cells via Akt and NF- κ B *in vitro* but have a low impact on hepatocellular cells[J]. Int J Mol Med, 2016, 37(2): 517-525.
- [5] Jing W, Chunhua M, Shumin W. Effects of acteoside on lipopolysaccharide-induced inflammation in acute lung injury via regulation of NF- κ B pathway *in vivo* and *in vitro*[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2015, 285(2): 128-135.
- [6] 胡根. NF- κ B/p65 基因在 TNF- α 诱导肺泡上皮细胞凋亡中的作用及可能机制[D]. 广州: 南方医科大学, 2010.
- [7] 石榴, 李理, 袁伟锋, 等. RNAi 沉默 NF- κ B p65 对小鼠巨噬细胞细胞因子表达的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(7): 1264-1269.
- [8] Hou J, Wang T, Xie Q, et al. N-Myc-interacting protein (NMI) negatively regulates epithelial-mesenchymal transition by inhibiting the acetylation of NF- κ B/p65[J]. Cancer Lett, 2016, 376(1): 22-33.
- [9] Sau A, Lau R, Cabrita MA, et al. Persistent activation of NF- κ B in BRCA1-deficient mammary progenitors drives aberrant proliferation and accumulation of DNA damage[J]. Cell Stem Cell, 2016, 19(1): 52-65.
- [10] Weibel ER. On the tricks alveolar epithelial cells play to make a good lung[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2015, 191(5): 504-513.
- [11] Li L, Wu W, Huang W, et al. NF- κ B RNAi decreases the Bax/Bcl-

2 ratio and inhibits TNF- α -induced apoptosis in human alveolar epithelial cells[J]. Inflamm Res, 2013, 62(4): 387-397.

- [12] Kropski JA, Blackwell TS, Loyd JE. The genetic basis of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Eur Respir J, 2015, 45(6): 1717-1727.
- [13] Mbeh DA, Mireles LK, Stanicki D, et al. Human alveolar epithelial cell responses to core-shell superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs)[J]. Langmuir, 2015, 31(13): 3829-3839.
- [14] Fujita K, Fukuda M, Fukui H, et al. Intratracheal instillation of single-wall carbon nanotubes in the rat lung induces time-dependent changes in gene expression[J]. Nanotoxicology, 2015, 9(3): 290-301.
- [15] Kim S J, Cheres P, Williams D, et al. Mitochondria-targeted Ogg1 and aconitase-2 prevent oxidant-induced mitochondrial DNA damage in alveolar epithelial cells[J]. J Biol Chem, 2014, 289(9): 6165-6176.
- [16] Goncharova EA, Goncharov DA, James ML, et al. Folliculin controls lung alveolar enlargement and epithelial cell survival through E-cadherin, LKB1, and AMPK[J]. Cell Rep, 2014, 7(2): 412-423.
- [17] Thacker S, Moran A, Lionakis M, et al. Restoration of lung surfactant protein D by IL-6 protects against secondary pneumonia following hemorrhagic shock[J]. J Infect, 2014, 68(3): 231-241.
- [18] Mao ZR, Zhang SL, Feng B. Association of IL-10 (-819T/C, -592A/C and -1082A/G) and IL-6 -174G/C gene polymorphism and the risk of pneumonia-induced sepsis[J]. Biomarkers, 2017, 22(2): 106-112.
- [19] 吴文伟, 郑世翔, 翁钦永, 等. 柚皮素缓解小鼠金黄色葡萄球菌肺炎的损伤作用及其机制[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(14): 3849-3850.

收稿日期: 2017-04-06