DOI:10.16016/j.1000-5404.201509035

重度烧伤鼠肠上皮细胞及其刷状缘谷氨酰胺转运的变化

胡建红,王 超,吴 丹,彭 曦 (400038 重庆,第三军医大学西南医院全军烧伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室)

[摘要] **目的** 探讨烧伤后肠上皮细胞及其刷状缘谷氨酰胺(glutamine,Gln)转运变化规律。**方法** 将40只Sprague-Dawley大鼠随机分为正常对照组(8只)、烧伤组(烧伤后1、3、5、7 d,每个时相点8只)。正常对照组只麻醉和剃毛,不予烧伤;烧伤组给予90 ℃水烫伤18 s,造成30%体表面积Ⅲ度烧伤。2组给予正常饮食及饮水。联合应用胶原酶Ⅸ和中性蛋白酶Ⅰ消化法提取大鼠小肠上皮细胞(intestinal epithelial cells,IEC),采用Mg^{2+}差速离心法制备大鼠小肠刷状缘膜囊泡(brush border membrane vesicles,BBMV),检测进入BBMV及IEC中的[^{3}H]-Gln的放射性强度,观察伤前及烧伤后1、3、5、7 d大鼠肠道BBMV及IEC中Gln转运速率的变化。**结果** 采用Mg^{2+}差速离心法成功提取大鼠肠上皮BBMV。发现肠上皮细胞中Na^+依赖性Gln转运主要依靠BBMV,大约占总量的60%;烧伤第1天BBMV中Gln转运效率明显下降($P<0.05$,$P<0.01$),伤后3~7 d有所增高,但差异无统计学意义($P>0.05$)。IEC中Na^+依赖性Gln转运变化不明显,而非Na^+依赖性Gln转运则有逐步增高的趋势,在伤后7 d明显高于对照组($P<0.05$)。**结论** 肠上皮细胞对Gln的转运主要依靠BBMV中Na^+依赖性转运,烧伤后BBMV转运Gln的能力先降低后增高,而IEC对非Na^+依赖性Gln转运则呈逐步增高的趋势。

[关键词] 烧伤;谷氨酰胺;肠上皮刷状缘膜囊泡;小肠上皮细胞;大鼠
[中图法分类号] R322.45;R362;R644.02 [文献标志码] A

Alterations of glutamine transport in intestinal epithelial cells and brush border membrane in rats after severe burn injury

Hu Jianhong, Wang Chao, Wu Dan, Peng Xi (State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Burns, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the change of glutamine (Gln) transport in intestinal epithelial cells (IEC) and brush border membrane vesicles (BBMV) in rats after burn injury. **Methods** Forty Sprague-Dawley rats were randomly divided into normal control (C) group and burn injury (B) group. The rats in the C group only received anaesthesia and shaving. The rats in the B group were inflicted with 30% body surface area of full thickness burn by soaking in 90 ℃ water for 18 s. IEC was separated by digestion with collagenase Ⅸ and dispase Ⅰ, and BBMV was prepared by magnesium precipitation. The transport rate of [^{3}H]-Gln into BBMV and IEC was quantitatively detected by radioactivity count per minute (CPM) assay to observe the change of Gln transport rate before burn and on postburn day (PBD) 1, PBD3, PBD5 and PBD7. **Results** BBMV was successfully extracted from the rats by magnesium ion differential centrifugation. It was discovered that Na^+-dependent Gln transport in IEC mainly relied on the BBMV, accounting for about 60% of the total. Compared with the C group, the Gln transport rate in BBMV was slightly increased in the B group ($P>0.05$) after burn injury except remarkable decrease on PBD1 ($P<0.01$, $P<0.05$). The change of Na^+-dependent Gln transport in IEC was not significant ($P>0.05$), but Na^+-independent Gln transport in IEC showed a rising trend and significantly increased on PBD7 ($P<0.05$). **Conclusion** Gln transport in

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81372049)
[通信作者] 彭 曦,E-mail:pxlrmm@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20151207.1701.025.html (2015-12-07)

intestinal epithelial cells rely mainly on Na^+ dependent transport in BBMV. The overall trend of Gln transport in BBMV is firstly decreased and then increased after burn, while that in IEC shows a gradually increasing trend.

[**Key words**] burn; glutamine; brush border membrane vesicles; intestinal epithelial cells; rat

Supported by the General Program of Natural Science Foundation of China (81372049). Corresponding author: Peng Xi, E-mail: pxlrmm@163.com

谷氨酰胺(glutamine, Gln)是一种具有多种生理和药理功能的"条件必需氨基酸",在化学分类上属中性氨基酸[1]。早在20世纪70年代Windmueller等[2]就观察到小肠所需的主要能源物质是Gln而非葡萄糖。Gln在肠道的转运是肠道利用Gln的第1步,肠腔中的Gln主要通过肠上皮细胞的Gln转运载体摄取[3]。根据这些载体是否具有Na^+离子依赖性,将其分为Na^+依赖性氨基酸载体及非Na^+依赖性氨基酸载体两大类。前者由于可以利用细胞膜两侧Na^+电化学梯度产生的电势能量逆浓度梯度摄取氨基酸,在氨基酸经肠道吸收中起关键作用[4-5]。Niu等[6-7]发现,肠道缺血再灌注、腹部创伤和脓毒症时,肠上皮细胞刷状缘转运Gln的能力明显下降。Saha等[8]发现,炎症性肠病时新西兰兔肠上皮细胞刷状缘对Gln的转运能力明显降低。Ray等[9]观察到在行70%肠切除术的新西兰兔中,Na^+依赖性的Gln转运量下降了50%。严重创伤、感染及脓毒症时肠道Gln转运发生障碍,Gln利用率降低。烧伤属于严重创伤,其主要病理生理变化与创伤类似,推测烧伤后肠道对Gln的转运和利用可能降低。由于缺乏直接证据,目前对烧伤后肠道转运Gln能力的变化还不甚清楚。本研究观察烧伤后肠道谷氨酰胺转运变化规律,以期初步阐明烧伤对肠道Gln吸收及代谢的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 清洁级雄性Sprague-Dawley大鼠40只,体质量200~220 g,由第三军医大学动物实验中心提供。标准动物饲料喂养,饲养室温度25 ℃,环境湿度为50%。动物观察1周后用于实验。

1.1.2 主要试剂 磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline,PBS,武汉博士德生物工程有限公司),甘露醇、EGTA、Tris·HCl、NaCl、KCl、$MgSO_4$、SDS(上海生物工程有限公司),胶原酶Ⅸ、中性蛋白酶Ⅰ(Sigma),考马斯亮蓝G-250溶液、戊巴比妥钠、D-Hanks液(碧云天生物技术研究所),[^{3}H]-Gln(中国同辐股份有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 烧伤模型制作与分组 Sprague-Dawley大鼠40只,按随机数字表将其分为正常对照组(n=8),烧伤组(分烧伤后1、3、5、7 d 4个时相点,每个时相点8只)。烫伤前禁食12 h,自由饮水,1%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(40 mg/kg),正常对照组只给予麻醉和剃毛;烧伤组剃毛后于90 ℃水烫伤18 s,造成30%体表面积Ⅲ度烧伤。伤后立即给予腹腔注射生理盐水40 mL/kg抗休克。之后2组均给予正常饮食及饮水。实验时提取小肠刷状缘膜囊泡(brush border membrane vesicles, BBMV)、小肠上皮细胞(intestinal epithelial cells, IEC)。

1.2.2 制备IEC[10] ①取出小肠,置于无钙镁的D-Hanks液中,仔细去除肠系膜,用D-Hanks液冲洗肠管,再用眼科剪纵行剖开肠管,洗净黏膜表面的黏液。②将肠管剪成2~3 mm^2的组织块,用D-Hanks液清洗2 min,再剪成1 mm^3小块,加入20 mL酶消化液(胶原酶Ⅸ和中性蛋白酶Ⅰ,终浓度分别为300 U/mL和0.1 mg/mL),于37 ℃振荡消化30 min或更长时间。③用吸管轻轻反复吹打组织块3~5 min,以1 000 r/min离心5 min,弃酶消化液。再用D-Hanks液反复吹打,重新悬浮沉淀的肠绒毛组织。在倒置显微镜下观察,可见悬浮液主要由未分散的小肠隐窝器官样细胞团分散的单个黏膜上皮细胞和成纤维细胞等组成。④将分散的单个黏膜上皮细胞和肠隐窝细胞团移入25 mL分离管(可用离心管代替)。每管加入10 mL组织分散液(DMEM中含5% FCS、2%山梨醇),吹打均匀,静置1 min。收集含单个细胞和肠隐窝细胞团的上清液。⑤重复上述过程3次以上,最后收集上清液,去掉沉淀。将上清液离心(1 600 r/min,3 min),取沉淀重新悬浮在20 mL的组织分散液中。重复3次以上,去除碎片,分离得到肠上皮细胞。

1.2.3 制备BBMV[11] 动物麻醉(同烧伤模型制备)后,固定四肢于木板上,打开腹腔暴露小肠,尽量保持原解剖位置以维护小肠血流,找出约30 cm空肠肠段,两头开口,用15~30 mL含0.1 mmol/L PMSF的生理盐水轻轻冲洗肠管,剪断肠管置于冰盘上(BBMV制备在0~4 ℃条件下进行),迅速纵向剖开(小肠内表面暴露时间尽可能短),小心展平后用冰冷玻片刮取黏膜碎屑。将碎屑抖落在装有65 mL溶液A(300 mmol/L甘露醇、5 mmol/L EGTA、12 mmol/L Tris·HCl,使用时加入苯甲磺酰氟使其浓度为0.1 mmol/L)的100 mL烧杯中制成细胞悬液,然后将其倒入匀浆器中匀浆2 min,静置5 min,取出1 mL作为粗提取物检测纯度。

再往匀浆液中添加 65 mL 冰冻双蒸水和 18 mL 100 mmol/L $MgCl_2$,置于冰上用磁力搅拌棒持续搅拌 15 min,将此混悬液在 4 ℃ 3 000 × *g* 离心 15 min,弃去沉淀物(P1),收集上清液(S1),S1 再在 4 ℃ 20 000 × *g* 离心 30 min,弃去上清液(S2),留下沉淀物(P2),加入 2 ~ 3 mL 溶液 B(150 mmol/L 甘露醇、2.5 mmol/L EGTA、6 mmol/L Tris · HCl,使用时加入苯甲磺酰氟使其浓度为 0.1 mmol/L),轻轻吹打均匀,再加入 30 mL 溶液 B 和 4 mL 100 mmol/L $MgCl_2$,置于冰上用磁力搅拌棒持续搅拌 15 min,再将此混悬液在 4 ℃ 3 000 × *g* 离心 15 min,弃去沉淀物(P3),收集上清液(S3),S3 在 4 ℃ 20 000 × *g* 离心 30 min,弃去上清液(S4),留下沉淀物(P4)。取适量(500 ± 50)μL 溶液 C(300 mmol/L 甘露醇、5 mmol/L Tris · HCl)悬浮 P4,即为 BBMV 悬液。采用考马斯亮蓝法蛋白定量(4 ~ 5 mg/mL),Na^+-K^+-ATP 酶酶活性及碱性磷酸酶(AKP)酶活性鉴定产物纯度。

1.2.4 BBMV 纯度鉴定 通过检测腔侧膜碱性磷酸酶 AKP 及基底膜 Na^+-K^+-ATP 酶活性获得。AKP 酶活性/Na^+-K^+-ATP 酶活性值高代表相应制备的 BBMV 纯度高。通过分光光度计检测两种酶活性,碱性磷酸酶和 Na^+-K^+-ATP 酶分别在 410 nm 及 340 nm 波长处测定。

1.2.5 底物转运实验 通过快速混合滤过技术在有/无 Na^+ 梯度下检测[^{3}H]-Gln 的转运。取 40 μL BBMV 溶液[总量为(500 ± 50)μL,蛋白浓度为 4 ~ 5 mg/mL]或者 40 μL 大鼠 IEC 悬液[总量为(8 000 ± 500)μL,全蛋白浓度为 4 ~ 5 mg/mL]和 40 μL 摄取缓冲液(50 mmol/L KCl,0.1 mmol/L $MgSO_4$,50 mmol/L Tris,有/无 100 mmol/L NaCl 以及 0.5 μL 50 μmol/L 的[^{3}H]-Gln 底物,pH 7.5)加入 1.5 mL 离心管中混合。快速振动离心管 10 s 后,迅速加入 1 mL 预冷的上述缓冲液以终止反应。将反应混合物用滤纸过滤,BBMV 或者 IEC 留在滤纸上,并用 100 μL 1 nmol/L NaOH/0.2% SDS 破碎 BBMV 或 IEC,以液相闪烁仪检测同位素活性。

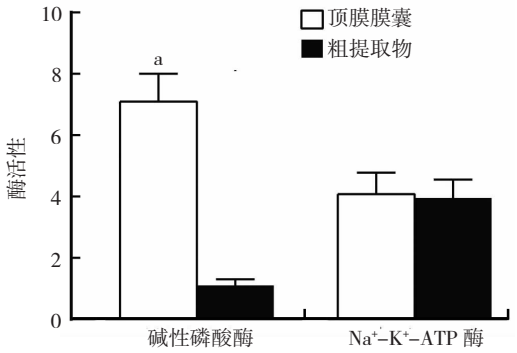
1.3 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用多因素方差分析,$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BBMV 纯度鉴定

Mg^{2+} 沉降/差速离心技术制备的 BBMV 中碱性磷酸酶 AKP 活性约为粗提取物的 6 倍,提取的 BBMV 纯度高达 90%(图 1)。电镜检测结果显示,正常对照组 BBMV 形态规则,边缘圆润;伤后 1 d 的 BBMV 形态各异,边缘毛糙;伤后 3 d 其形态相对规则,与正常对照组相比仍有部分破损(图 2)。

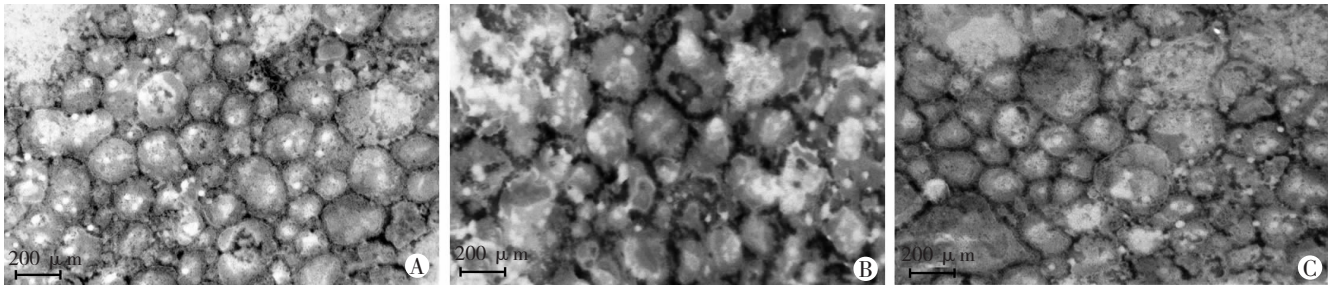


a:$P < 0.05$,与粗提取物比较

图 1 小肠刷状缘膜囊泡纯度鉴定

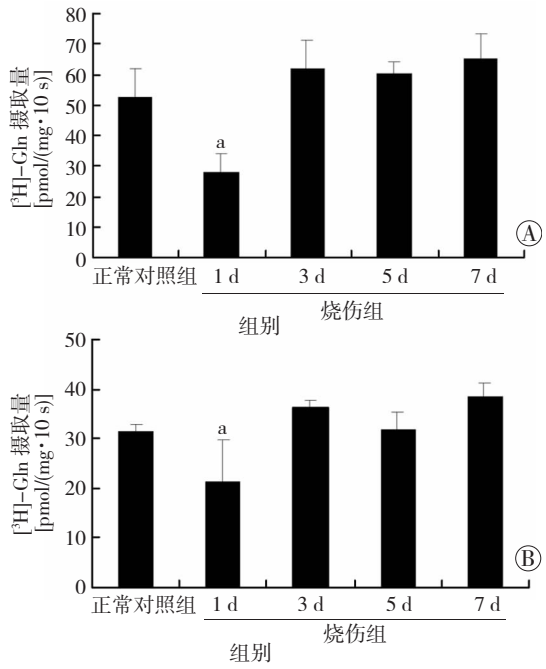
2.2 烧伤后大鼠 BBMV 中 Gln 转运速率的变化

烧伤后肠道 BBMV 对 Gln 的转运能力呈现先下降后增高的趋势(图 3)。烧伤第 1 天大鼠 BBMV 中 Na^+ 依赖性 Gln 的转运速率大幅下降,降幅达 46.84%($P < 0.01$),伤后 3、5、7 d 有所增加,增幅分别为 18%、14% 和 26%,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。非 Na^+ 依赖性 Gln 转运速率呈现类似的变化规律,只是变化幅度低于 Na^+ 依赖性 Gln 转运速率的变化,伤后第 1 天下降 31.77%($P < 0.05$),3、5、7 d 分别增加 16%、2% 及 20%,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。



A:正常大鼠;B:烧伤后 1 d;C:烧伤后 3 d

图 2 电镜观察 2 组大鼠小肠刷状缘膜囊泡形态

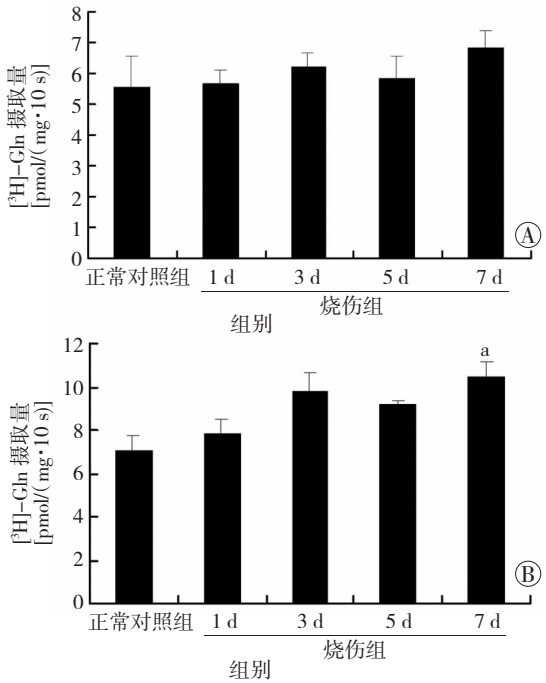


a:$P<0.05$,与正常对照组比较　A:Na^+依赖性;B:非 Na^+依赖性

图 3　烧伤对小肠刷状缘膜囊泡中 Gln 转运的影响

2.3　烧伤后大鼠 IEC 中 Gln 转运速率的变化

烧伤后大鼠 IEC 对 Gln 的转运能力呈现增高的趋势(图4)。Na^+依赖性 Gln 转运速率在伤后 1、3、5、7 d 增幅分别为 1%、12%、5%、20%,但差异无统计学意义($P>0.05$);非 Na^+依赖性 Gln 转运速率与 Na^+依赖性类似,除伤后 7 d 增幅达 40%($P<0.05$),其余差异无统计学意义($P>0.05$)。



A:Na^+依赖性;B:非 Na^+依赖性　a:$P<0.05$,与正常对照组比较

图 4　烧伤对小肠上皮细胞中 Gln 转运的影响

2.4　平均每只大鼠 BBMV 中 Gln 转运率所占的百分比

肠上皮细胞中 Na^+依赖性 Gln 转运主要依靠 BBMV,大约占总量的 60%。伤后第 1 天 BBMV 中 Na^+依赖性 Gln 转运速率大幅下降,所占比例降至 31%,下降幅度达 50% 左右($P<0.01$),伤后 3、5、7 d 基本恢复至伤前水平。BBMV 中非 Na^+依赖性 Gln 转运大约占整个肠上皮细胞的 30%,伤后第 1 天其比例降至 20%($P<0.05$),3、5、7 d 有所增高,但仍低于伤前水平,差异无统计学意义($P>0.05$,表 1)。

表 1　平均每只大鼠 BBMV 中 Gln 转运率所占的百分比(%)

组别	Na^+依赖	非 Na^+依赖
正常对照组	59.12	27.89
烧伤组		
1 d	30.93[b]	17.18[a]
3 d	62.01	23.33
5 d	64.65	21.82
7 d	61.35	24.74

a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与正常对照组比较

3　讨论

将肠上皮细胞胞体和刷状缘分开[12-14],获得高纯度的游离刷状缘是深入研究肠上皮细胞结构与功能的重要手段。本实验采用机械碾磨、Mg^{2+}沉淀和梯度离心等方法,分离出 BBMV[15-16]。本研究结果显示,在 BBMV 中转运 Gln 的载体主要为 Na^+依赖性的。因此,烧伤后肠道 Gln 转运发生障碍可能与 BBMV 的结构功能受损有关。

本研究电镜结果显示,正常对照组 BBMV 形态规则,边缘圆润;伤后 1 d BBMV 形态各异,边缘毛糙;伤后 3 d 其形态相对规则,与正常对照组相比仍有部分破损。这提示烧伤后肠道发生缺血缺氧性损害,肠黏膜结构受损,是导致 BBMV 结构异常的重要原因。BBMV 不能形成正确的组织结构,其功能将受到影响。

本研究结果显示,烧伤后 BBMV 中 Na^+依赖性 Gln 转运速率在伤后 1 d 明显降低($P<0.01$),3、5、7 d 有所增加,但差异无统计学意义;非 Na^+依赖性 Gln 转运速率在伤后 1 d 有所下降($P<0.05$),3、5、7 d 增幅分别为 16%、2% 及 20%($P>0.05$)。这与伤后 3 d BBMV 形态基本恢复正常相吻合。烧伤大鼠 BBMV 对 Gln 转运呈现先降低后增高的趋势,可能与烧伤后肠道血液灌流变化规律及肠道代偿反应有关。

前期研究发现,烧伤后肠道缺血高峰在伤后 24 h 内,肠黏膜血流量只有伤前的 50%[17],随后肠道血流有所恢复,与伤后 3、5、7 d BBMV 对 Gln 转运能力有所恢复相吻合。IEC 中 Na^+依赖性 Gln 转运速率在烧伤后变化不明显,非 Na^+依赖性 Gln 转运速率呈增高

趋势。我们推测烧伤对 BBMV 和 IEC 中 Gln 转运能力的影响略有不同,BBMV 在烧伤后的变化幅度更大。可能的机制为 BBMV 中 Gln 转运主要依靠 Na^+ 依赖性载体,非 Na^+ 依赖性的载体只占很小一部分 BBMV 和 IEC 对缺氧的敏感性不同,BBMV 是 IEC 中对缺氧最敏感的部分。就单一细胞而言,肠上皮细胞刷状缘较基底对缺氧更敏感。轻微缺氧即可造成刷状缘结构受损,功能障碍,而缺氧的改善也能迅速改善其结构与功能。本研究发现,无论是正常还是烧伤大鼠肠道 Gln 转运主要在 BBMV 中进行。因为 Gln 转运载体在 BBMV 和 IEC 中的分布有所不同,在 BBMV 中主要存在的是 Na^+ 依赖性载体,对 Gln 转运起主要作用的是 ASCT2 和 B0AT1 这两种 Na^+ 依赖性 Gln 转运载体。相关研究表明,肠道许多肠肽酶如氨基肽酶(APN)、血管紧张素转化酶 2(ACE2)等对这两种载体的定位、功能发挥起着保护性作用[18]。烧伤后,肠道发生肠源性高代谢反应,诸多肠肽酶的量及功能受到影响,进一步降低了 Gln 的转运率。Na^+ 依赖性载体依赖 Na^+-K^+-ATP 酶,在其作用下逆浓度梯度将钠、葡萄糖以及 Gln 转运至细胞内[6-7]。烧伤后肠道缺血缺氧能明显抑制 Na^+-K^+-ATP 酶活性,引起 Na^+ 依赖性转运载体活性下降,导致 BBMV 中 Gln 转运能力较 IEC 下降更明显。

本研究结果显示,烧伤后肠道对 Gln 的转运能力呈现一过性降低,随后小幅增加,与严重感染和脓毒症时肠道对 Gln 的低反应性明显不同[6,19]。这提示在未合并全身感染的情况下,机体并未发生严重的应激性反应[20],肠道 Gln 转运能力并未严重受损。但烧伤后 Gln 在肠道转运后的代谢变化,目前尚不清楚,值得深入研究。

参考文献:

[1] Oliveira G P, Dias C M, Pelosi P, *et al*. Understanding the mechanisms of glutamine action in critically ill patients[J]. An Acad Bras Cienc, 2010, 82(2): 417-430.

[2] Windmueller H G, Spaeth A E. Intestinal metabolism of glutamine and glutamate from the lumen as compared to glutamine from blood[J]. Arch Biochem Biophys, 1975, 171(2): 662-672.

[3] Choudry H A, Souba W W, Lin C, *et al*. Stimulation of expression of the intestinal glutamine transporter ATB0 in tumor-bearing rats[J]. Ann Surg Oncol, 2006, 13(12): 1747-1753.

[4] McGivan J D, Bungard C I. The transport of glutamine into mammalian cells[J]. Front Biosci, 2007, 12: 874-882.

[5] Avissar N E, Sax H C, Toia L. In human entrocytes, GLN transport and ASCT2 surface expression induced by short-term EGF are MAPK, PI3K, and Rho-dependent[J]. Dig Dis Sci, 2008, 53(8): 2113-2125.

[6] Niu L, Qiao W, Li G, *et al*. Different alterations in rat intestinal glutamine transport during the progression of CLP- and LPS-induced sepsis[J]. J Surg Res, 2011, 169(2): 284-291. DOI: 10.1016/j.jss.2009.11.732

[7] Niu L, Qiao W, Hu Z, *et al*. Berberine attenuates lipopolysaccharide-induced impairments of intestinal glutamine transport and glutaminase activity in rat[J]. Fitoterapia, 2011, 82(3): 323-330. DOI: 10.1016/j.fitote.2010.11.007

[8] Saha P, Arthur S, Kekuda R, *et al*. Na-glutamine co-transporters B(0)AT1 in villus and SN2 in crypts are differentially altered in chronically inflamed rabbit intestine[J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1818(3): 434-442. DOI: 10.1016/j.bbamem.2011.11.005

[9] Ray E C, Avissar N E, Salloum R, *et al*. Growth hormone and epidermal growth factor upregulate specific sodium-dependent glutamine uptake systems in human intestinal C2BBe1 cells[J]. J Nutr, 2005, 135(1): 14-18.

[10] Sundaram U, West A B. Effect of chronic inflammation on electrolyte transport in rabbit ileal villus and crypt cells[J]. Am J Physiol, 1997, 272(4 Pt 1): G732-G741.

[11] Cheeseman C I, O'Neill D. Isolation of intestinal brush-border membranes[J]. Curr Protoc Cell Biol, 2006, Chapter 3: Unit 3.21. DOI: 10.1002/0471143030.cb0321s30

[12] Aledo J C. Glutamine breakdown in rapidly dividing cells: waste or investment[J]. Bioessays, 2004, 26(7): 778-785.

[13] Bode B P. Recent molecular advances in mammalian glutamine transport[J]. J Nutr, 2001, 131(9 Suppl): 2475S-2487S.

[14] Boge G, Roche H, Balocco C. Amino acid transport by intestinal brush border vesicles of a marine fish, Boops salpa[J]. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, 2002, 131(1): 19-26.

[15] Broer S. Amino acid transport across mammalian intestinal and renal epithelia[J]. Physiol Rev, 2008, 88(1): 249-286. DOI: 10.1152/physrev.00018.2006

[16] Hyde R, Taylor P M, Hundal H S. Amino acid transporters: roles in amino acid sensing and signalling in animal cells[J]. Biochem J, 2003, 373(Pt 1): 1-18.

[17] Farina J A Jr, Rosique M J, Rosique R G. Curbing inflammation in burn patients[J]. Int J Inflam, 2013, 2013: 715645. DOI: 10.1155/2013/715645

[18] Fairweather S J, Broer A, O'Mara M L, *et al*. Intestinal peptidases form functional complexes with the neutral amino acid transporter B(0)AT1[J]. Biochem J, 2012, 446(1): 135-148. DOI: 10.1042/BJ20120307

[19] Karinch A M, Pan M, Lin C M, *et al*. Glutamine metabolism in sepsis and infection[J]. J Nutr, 2001, 131(9 Suppl): 2535S-2538S, 2550S-2551S.

[20] Diao L, Marshall A H, Dai X, *et al*. Burn plus lipopolysaccharide augments endoplasmic reticulum stress and NLRP3 inflammasome activation and reduces PGC-1α in liver[J]. Shock, 2014, 41(2): 138-144. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000075

(**收稿**:2015-09-08;**修回**:2015-11-09)

(编辑 龙 亮)