DOI:10.16016/j.1000-5404.202003125

琥珀酸脱氢酶抑制剂对内毒素血症大鼠心肌组织内琥珀酸代谢和炎性损伤的影响

漆 波[1],张翕珠[2],江 飞[1],张 鹤[1],蔡佳君[1],李国智[1] 621700 四川 江油,江油市九〇三医院重症医学科[1];030001 太原,山西医科大学基础医学院病理学与病理生理学教研室[2]

[**摘要**] **目的** 探讨琥珀酸脱氢酶抑制剂对内毒素血症大鼠心肌组织内琥珀酸代谢和炎性损伤的影响。**方法** SPF 级健康雄性 SD 大鼠 40 只,体质量 200~220 g,采用随机数字表法,将大鼠随机分为 4 组(n=10):正常对照组(C 组)、琥珀酸脱氢酶抑制剂(丙二酸二甲酯)对照组(DC 组)、内毒素血症组(E 组)和抑制剂+内毒素血症组(DE 组)。E 组和 DE 组腹腔注射脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)20 mg/kg 建立内毒素血症模型,C 组和 DC 组给予等容量生理盐水。LPS 处理 4 h 后,DC 组和 DE 组大鼠腹腔注射琥珀酸脱氢酶抑制剂 160 mg/kg,C 组和 E 组给予等容量生理盐水。采用 ELISA 检测血清肌钙蛋白 I(cTnI)浓度以及心肌组织肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)和白介素-1β(interleukin-1β,IL-1β)的含量。采用琥珀酸含量检测试剂盒检测心肌组织内琥珀酸的含量。采用 Western blot 法和免疫荧光法检测琥珀酸脱氢酶的表达。采用 Western blot 检测心肌组织核因子 κB 抑制蛋白-α(inhibitor of NF-κB,IκB-α)磷酸化程度和缺氧诱导因子-1α(hypoxia inducible factor-1α,HIF-1α)的表达。**结果** 与 C 组比较,E 组和 DE 组大鼠血清 cTnI 浓度、心肌组织琥珀酸、琥珀酸脱氢酶、IκB-α 磷酸化程度、HIF-α、TNF-α 和 IL-1β 水平显著升高(P<0.05)。与 E 组比较,DE 组大鼠血清 cTnI 浓度及心肌组织琥珀酸、IκB-α 磷酸化程度、HIF-α、TNF-α 和 IL-1β 水平显著降低(P<0.05)。**结论** 内毒素血症大鼠心肌组织内琥珀酸和琥珀酸脱氢酶含量显著升高,抑制琥珀酸脱氢酶活性可有效降低琥珀酸的堆积,进而可能通过抑制 NF-κB 和 HIF-1α 通路降低心肌组织内炎性细胞因子的产生。

[**关键词**] 琥珀酸;琥珀酸脱氢酶;内毒素血症;丙二酸二甲酯;心肌损伤
[**中图法分类号**] R322.11; R631.1; R963 [**文献标志码**] A

Effects of succinate dehydrogenase inhibitor on succinate metabolism and inflammatory injury in myocardial tissue of endotoxemic rats

QI Bo[1], ZHANG Xizhu[2], JIANG Fei[1], ZHANG He[1], CAI Jiajun[1], LI Guozhi[1] [1]Department of Critical Medicine, Jiangyou 903 Hospital, Jiangyou, Sichuan Province, 621700; [2]Department of Pathology and Pathophysiology, College of Basic Medical Sciences, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi Province, 030001, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effects of succinate dehydrogenase (SDH) inhibitor on succinate metabolism and inflammatory injury in myocardial tissue of endotoxemic rats. **Methods** Forty specific pathogen free male Sprague-Dawley rats, weighing 200~220 g, were randomly divided into 4 groups (n=10): saline treatment group (group C), SDH inhibitor dimethyl malonate (DMM)+saline treatment group (group DC), LPS treatment group (group E) and DMM+LPS treatment group (group DE). Lipopolysaccharide (LPS, 20 mg/kg) was intraperitoneally injected to rats in group E and DE to establish the endotoxemia model. After LPS administration for 4 h, the rats in the group DC and DE were treated with DMM (160 mg/kg) through intraperitoneal injection. After DMM administration for 4 h, the serum level of cardiac troponin I (cTnI), and the contents of TNF-α and IL-1β in myocardial tissue were detected with enzyme-linked immunosorbent assay. The myocardial succinate level was determined with a commercial succinate detection kit. The myocardial SDH expression was detected with Western blotting and immunofluorescence

[**通信作者**] 漆 波,E-mail:674660470@qq.com

assay. The myocardial expression levels of hypoxia inducible factor-1α (HIF-1α), phosphorylated inhibitor of NF-κB (p-IκB-α) and total IκB-α were determined with Western blotting. **Results** Compared with those in group C, the levels of cTnI, succinate, SDH, HIF-1α, p-IκB-α, TNF-α and IL-1β were significantly elevated in group E and group DE ($P<0.05$). And the levels of cTnI, succinate, TNF-α, IL-1β, HIF-1α and p-IκB-αe were markedly decreased in the group DE than the group E ($P<0.05$). **Conclusion** The myocardial contents of succinate and SDH are remarkably increased in endotoxemic rats. SDH inhibition with DMM can effectively attenuate the accumulation of succinate and subsequently alleviate the productions of TNF-α and IL-1β, which possibly through suppressing the NF-κB and HIF-1α pro-inflammatory pathway.

[**Key words**] succinate; succinate dehydrogenase; endotoxemia; dimethyl malonate; myocardial impairment

Corresponding author: QI Bo, E-mail: 674660470@qq.com

脓毒血症时,内毒素(lipopolysaccharide,LPS)进入体内导致全身炎症反应综合征,进一步造成重要脏器功能障碍。内毒素导致的心脏功能障碍表现为心脏收缩功能障碍和心肌顺应性降低。内毒素导致的心肌损伤由多种相互影响的因素导致,包括炎性损伤、氧自由基损伤、能量代谢障碍和心肌细胞凋亡或者坏死[1]。能量代谢障碍是内毒素导致心肌受损的重要机制。

琥珀酸是三羧酸循环中关键的中间产物。生理条件下,线粒体内琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase, SDH)将琥珀酸氧化为延胡索酸,同时释放电子参与氧化磷酸化[2]。内毒素可使巨噬细胞内琥珀酸含量增加,堆积的琥珀酸可作为信号传导因子促进巨噬细胞炎性因子释放并且抑制抗炎细胞因子的合成[3]。另外,缺血心肌细胞内也存在琥珀酸大量堆积,是心肌缺血再灌注损伤的重要机制[2,4-5]。由于琥珀酸的堆积与 SDH 活性的改变密切相关,本研究采用 LPS 处理大鼠建立脓毒血症心肌损伤模型,探讨琥珀酸和 SDH 在心肌组织中的变化和对心肌炎性损伤的影响。

1 材料与方法

1.1 动物选择和试剂

SPF 级健康雄性 SD 大鼠 40 只, 2~3 月龄,体质量 200~220 g,由重庆医科大学实验动物中心提供。脂多糖(055:B5)、SDH 抑制剂丙二酸二甲酯(Dimethyl malonate,DMM)和琥珀酸检测试剂盒购自美国 Sigma-Aldrich 公司。SDH 抗体(SDH-a 抗体)购于美国 Abcam 公司。核因子 κB 抑制蛋白-α(inhibitor of NF-κB, IκB-α)抗体和磷酸化 IkB-α 抗体购自美国 CST 公司。缺氧诱导因子-1α(hypoxia inducible factor-1α,HIF-1α)抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 二抗、FITC 标记荧光二抗和 2, 6-二异丙基苯胺(2, 6-diisopropyl aniline,DAPI)购自武汉博士德生物工程有限公司。大鼠肌钙蛋白 I(cTnI)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)和白介素-1β(interleukin-1β,IL-1β)酶联免疫(ELISA)检测试剂盒购自美国 R&D 公司。

1.2 分组和药物处理

采用随机数字表法将大鼠分为 40 组($n=8$):生理盐水处理组(C 组)、琥珀酸脱氢酶抑制剂 DMM+生理盐水处理组(DC 组)、LPS 处理组(E 组)和 DMM+LPS 处理组(DE 组)。E 组和 DE 组腹腔注射 LPS 20 mg/kg,建立大鼠内毒素血症模型,C 组和 DC 组给予等容量生理盐水。在给予大鼠 LPS 4 h 后,DC 组和 DE 组给予腹腔注射 DMM 160 mg/kg,C 组和 E 组给予等量生理盐水。DMM 处理 4 h 后(即 LPS 处理 8 h 后)收集标本做进一步检测。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 标本的采集及制备 LPS 处理大鼠 8 h 后,腹腔注射戊巴比妥钠(45 mg/kg)麻醉起效后,剪开大鼠腹部,采集腹主动脉血样 2 mL, 低温离心 10 min (3 500×g,4 ℃,离心半径 12 cm),取上清液,-70 ℃保存,用于测定血清 cTnI 含量。剖开胸腔,迅速摘取心脏,置于 PBS 液中清洗 3 次。冰浴下剪碎心脏,RIPA 裂解液裂解,研磨匀浆,低温离心 10 min(12 000×g, 4 ℃,离心半径 10 cm)。提取上清液,用于 Western Blot 检测心肌组织内相关蛋白表达和 ELISA 检测心肌组织内 TNF-α 和 IL-1β 含量。

1.3.2 心肌组织内琥珀酸含量的检测 实验结束后,麻醉大鼠后立即打开胸腔,取出心脏并于 PBS 液中清洗 3 次后,将心脏放入液氮速冻(2 min 左右完成)。液氮条件下将心肌组织研磨成粉,取 10 mg 组织粉末加入 100 μL 琥珀酸检测缓冲液在 4 ℃条件下迅速匀浆,低温离心 5 min(10 000×g,4 ℃,离心半径 10 cm)后取上清液待测。采用琥珀酸检测试剂盒并按照说明书操作流程检测心肌组织内琥珀酸含量。

1.3.3 免疫荧光法检测心肌组织内 SDH 的表达 实验完成后,腹腔注射戊巴比妥钠(45 mg/kg)麻醉大

鼠,摘取心脏,取心室肌组织部分 PBS 清洗,4%多聚甲醛固定,脱水,石蜡包埋,切片,烤片。此后二甲苯脱蜡,不同梯度乙醇浸泡复水,双蒸水清洗 3 次,每次 2 min。将切片放于盛有枸橼酸盐缓冲液的溶液中,置于微波炉内加热(95 ℃)10 min。室温冷却 15 min,PBS 清洗。蒸馏水清洗,PBS 浸泡 5 min。在切片组织上滴加正常山羊血清,室温封闭 60 min。吸水纸吸掉封闭液,再在每张切片组织上滴加足够量的兔抗大鼠 SDH-a 抗体(比例为 1∶200)并放入湿盒,4 ℃孵育过夜。阴性对照用 PBS 液代替一抗。取出湿盒,室温复温 30 min,PBS 浸洗切片 3 次,每次 3 min。吸水纸吸干切片组织上多余液体后滴加稀释好的 FITC 荧光二抗(比例为 1∶800),湿盒中 37 ℃孵育 60 min。PBS 清洗 3 次,每次 3 min。滴加 DAPI 避光孵育 15 min。PBS 清洗 4 次,每次 5 min。用含有抗荧光淬灭剂的封片液封片,然后在激光扫描共聚焦显微镜下观察采集图像。

1.3.4 Western blot 法检测心肌组织内 SDH、HIF-1α、IκB-α 和磷酸化 IκB-α 的表达量 心肌组织检测标本制备同前。蛋白浓度采用 BCA 蛋白浓度检测试剂盒测定。取蛋白样本 50 μg,上样于 SDS-PAGE 电泳凝胶,并在 80 V 下电泳。将凝胶中的目标蛋白电转于 PVDF 膜上。在含 5%脱脂奶粉的 TBST 液中封闭 2 h 后,将兔抗大鼠抗 SDH-a、HIF-1α、IκB-α 和磷酸化 IκB-α 抗体(稀释度均为 1∶1 000)孵于膜上,4 ℃过夜。PBS 洗涤 3 次,将辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 孵于膜上,并在37℃环境中孵育 2 h。PBS 洗涤 3 次,使用 ECL-plus 显色剂在 Bio-Rad 显色仪中显色。采用 Quentity One 软件测定条带灰度值,以目的蛋白条带灰度值与内参 β-actin 灰度值的比值反映目的蛋白表达水平。

1.3.5 血清 cTnI 及心肌组织 TNF-α 和 IL-1β 含量的检测 采用大鼠 cTnI、TNF-α 和 IL-1β 酶联免疫(ELISA)检测试剂盒检测血清 cTnI 浓度及心肌组织 TNF-α 和 IL-1β 的含量。按照 ELISA 试剂盒说明书进行操作。

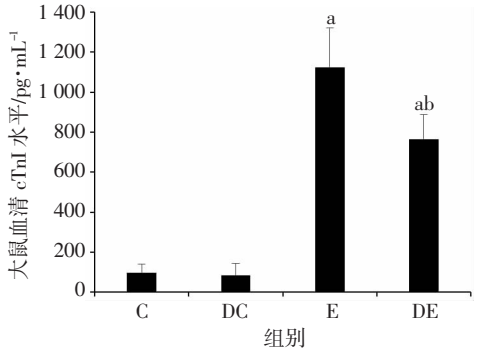
1.4 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计学软件进行分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,采用 Tukey test 进行进一步比较。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SDH 抑制剂 DMM 对内毒素血症大鼠血清 cTnI 浓度的影响

C 组和 DC 组大鼠血清 cTnI 浓度无明显差异($P>0.05$)。与对照组(C 组)比较,LPS 处理大鼠 8 h 后,E 组和 DE 组血清 cTnI 浓度显著升高(C 组与 E 组、DE 组比较,$P<0.05$)。DMM 处理内毒素血症大鼠 4 h 后,血清 cTnI 浓度显著降低(DE 组与 E 组比较,$P<0.05$)。如图 1。

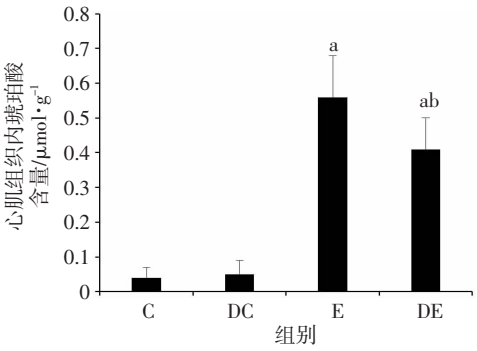


C:生理盐水处理组;DC:SDH 抑制剂 DMM+生理盐水处理组;E:LPS 处理组;DE:SDH 抑制剂 DMM+LPS 处理组
a:$P<0.05$,与 C 组比较;b:$P<0.05$,与 E 组比较

图 1 SDH 抑制剂 DMM 对内毒素血症大鼠血清 cTnI 含量的影响

2.2 DMM 对内毒素血症大鼠心肌组织内琥珀酸含量的影响

C 组和 DC 组大鼠心肌组织内琥珀酸含量无明显差异($P>0.05$)。与 C 组比较,E 组和 DE 组心肌组织内琥珀酸含量显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 E 组比较,DE 组心肌组织内琥珀酸含量显著降低($P<0.05$),说明 SDH 抑制剂 DMM 能有效抑制内毒素血症大鼠心肌组织内的琥珀酸含量增加,如图 2。



C:生理盐水处理组;DC:SDH 抑制剂 DMM+生理盐水处理组;E:LPS 处理组;DE:SDH 抑制剂 DMM+LPS 处理组
a:$P<0.05$,与 C 组比较;b:$P<0.05$,与 E 组比较

图 2 DMM 对内毒素血症大鼠心肌组织内琥珀酸含量的影响

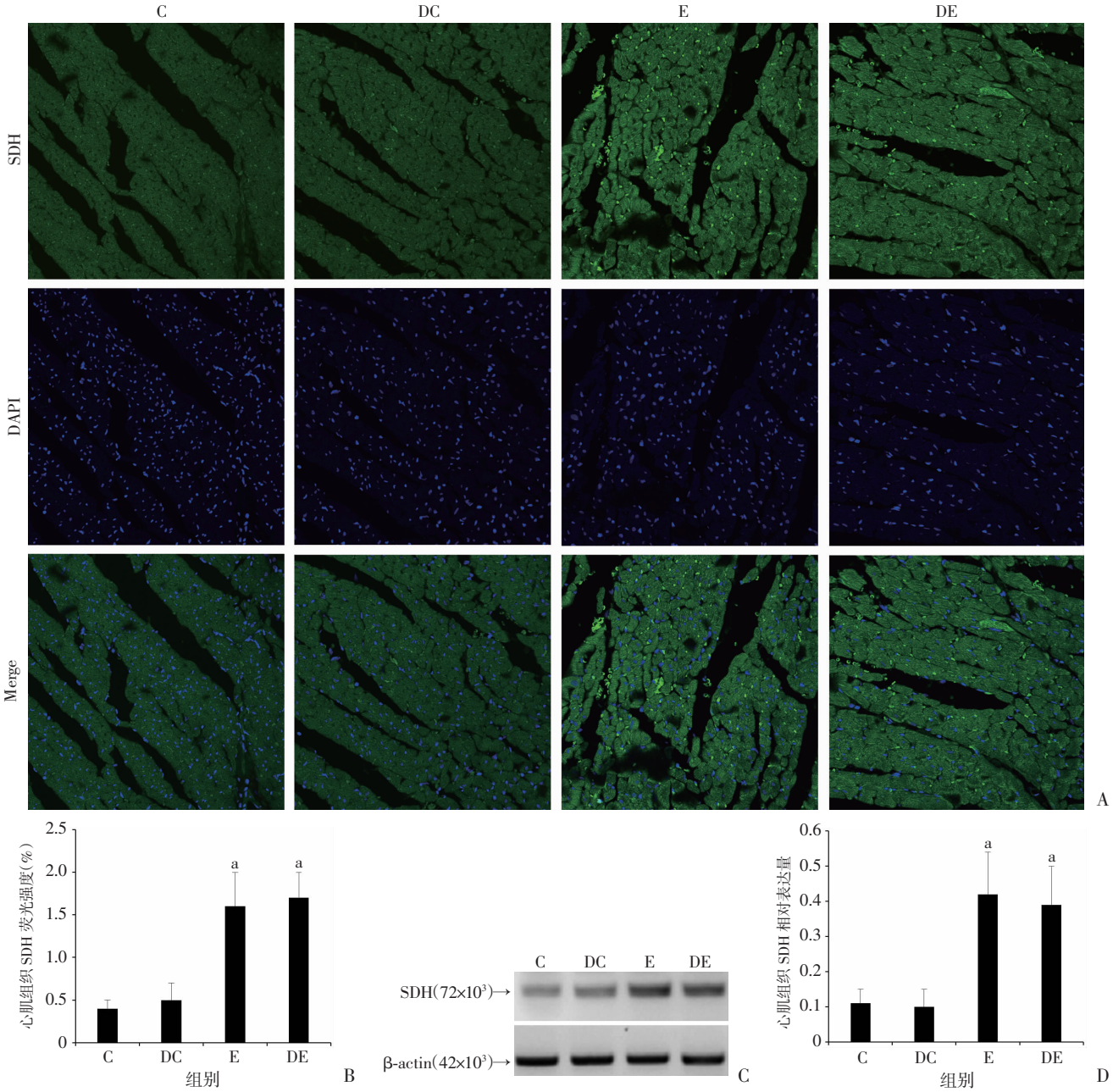
2.3 各组大鼠心肌组织 SDH 表达量的比较

C 组和 DC 组大鼠心肌组织内 SDH 表达量无明显差异。与 C 组比较,E 组和 DE 组心肌组织内 SDH 表达水平显著升高($P<0.05$)。E 组和 DE 组大鼠心肌组织内 SDH 表达量无明显差异($P>0.05$)。该结果表明 LPS 处理可显著提高大鼠心肌组织内 SDH 表达量,

而 DMM 对大鼠体内琥珀酸脱氢酶表达量无明显影响,如图 3。

2.4　DMM 对内毒素血症大鼠心肌组织内 IκB-α 磷酸化程度和 HIF-1α 表达量的影响

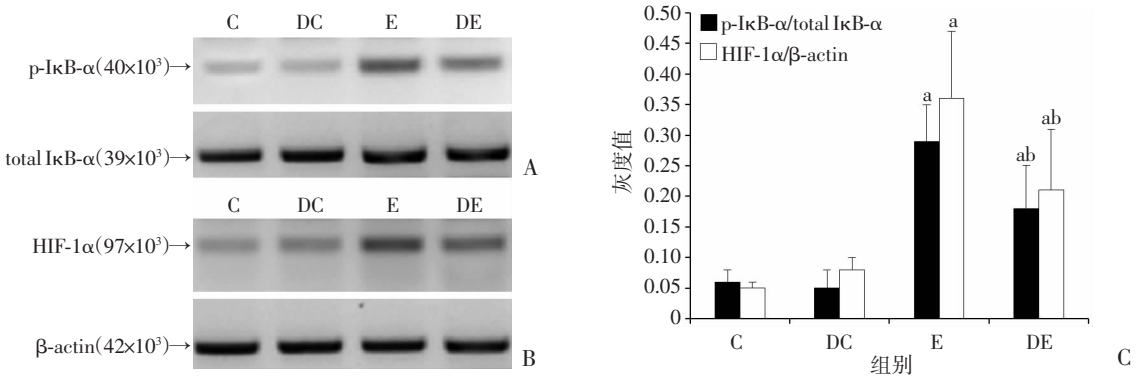
C 组和 DC 组大鼠心肌组织内 IκB-α 磷酸化程度和 HIF-1α 表达量无明显差异($P>0.05$)。与 C 组比较,E 组和 DE 组心肌组织内 IκB-α 磷酸化程度和 HIF-1α 表达量显著升高($P<0.05$),提示 LPS 处理明显激活大鼠心肌组织的炎性反应。与 E 组比较,DE 组心肌组织内 p-IκB-α 和 HIF-1α 的表达量显著降低($P<0.05$),提示 DMM 有效抑制内毒素血症大鼠心肌组织炎性反应通路,如图 4。



C:生理盐水处理组;DC:SDH 抑制剂 DMM+生理盐水处理组;E:LPS 处理组;DE:SDH 抑制剂 DMM+LPS 处理组;a:$P<0.05$,与 C 组比较

A:免疫荧光检测心肌组织内 SDH 的表达(×400 倍);B:采用 imageJ 软件分析各组心肌组织 SDH 荧光强度并比较;C:Western Blot 检测各组心肌组织内 SDH 表达所获得的免疫条带;D:各组心肌组织内 SDH 的相对表达量(即 SDH 免疫条带与 β-actin 免疫条带的灰度值之比)

图 3　各组大鼠心肌组织琥珀酸脱氢酶表达量的比较



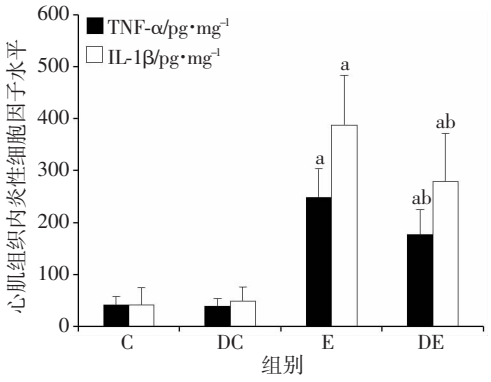
C 组:生理盐水处理组;DC 组:SDH 抑制剂 DMM+生理盐水处理组;E 组:LPS 处理组;DE 组:SDH 抑制剂 DMM+LPS 处理组;a:$P<0.05$,与 C 组比较;b:$P<0.05$,与 E 组比较

A:Western Blot 检测各组心肌组织 p-IκB-α 和总 IκB-α 表达所获得的免疫条带;B:Western Blot 检测各组心肌组织内 HIF-1α 表达所获得的免疫条带;C:各组心肌组织 IκB-α 磷酸化相对表达量

图 4 DMM 对内毒素血症大鼠心肌组织内 IκB-α 磷酸化程度和 HIF-1α 表达量的影响

2.5 DMM 对内毒素血症大鼠心肌组织内 TNF-α 和 IL-1β 含量的影响

C 组和 DC 组大鼠心肌组织内 TNF-α 和 IL-1β 水平无明显差异($P>0.05$)。与 C 组比较,E 组和 DE 组心肌组织内 TNF-α 和 IL-1β 水平显著升高($P<0.05$)。与 E 组比较,DE 组心肌组织内 TNF-α 和 IL-1β 水平显著降低($P<0.05$)。该结果说明 DMM 有效抑制内毒素血症大鼠心肌组织内炎性因子的产生,图 5。



C:生理盐水处理组;DC:SDH 抑制剂 DMM+生理盐水处理组;E:LPS 处理组;DE:SDH 抑制剂 DMM+LPS 处理组

a:$P<0.05$,与 C 组比较;b:$P<0.05$,与 E 组比较

图 5 DMM 对内毒素血症大鼠心肌组织内 TNF-α 和 IL-1β 含量的影响

3 讨论

本研究大鼠内毒素血症模型参照文献 BRENT[6] 和 LIU 等[7] 介绍的方法建立。DMM 的给予剂量参考 MILLS 等[3] 的研究。本研究发现:首先,内毒素血症大鼠心肌组织内琥珀酸和 SDH 含量均升高;其次,SDH 抑制剂能显著抑制内毒素血症大鼠心肌组织内的琥珀酸含量升高;最后,SDH 抑制剂可能通过调节 NF-κB 和 HIF-1α 通路而降低内毒素血症大鼠心肌组织内的炎性反应。

脓毒血症期间,血管功能异常和免疫细胞有氧代谢显著升高导致其余器官组织氧供明显降低,能量获取方式从氧化磷酸化转变为糖酵解(Warburg effect)[8],同时伴有明显的线粒体功能障碍和代谢中间产物的堆积[9]。在缺血心肌组织中,SDH 被反向激活和酮戊二酸脱氢酶催化导致缺血心肌中琥珀酸堆积[2,4,10]。由于琥珀酸有促进炎性反应的作用,本研究检测了内毒素血症大鼠心肌组织内琥珀酸含量和其关键调节酶 SDH 的表达变化和其关系。结果发现,内毒素血症大鼠心肌组织内琥珀酸含量和 SDH 的表达均明显升高,而 SDH 抑制剂 DMM 能有效减少内毒素血症大鼠心肌组织内的琥珀酸含量,提示该模型下 SDH 也被反向激活,进而促进琥珀酸的堆积。SDH 的反向激活与 CHOUCHANI 等的研究结果相似,而与 MILLS 等的结果相反,其可能原因在于本研究涉及的细胞与前者一致,而与后者不同[2-3]。

已有多个研究证实,琥珀酸作为信号传递因子通过促进 HIF-1α 的表达而导致细胞内炎性细胞因子 IL-1β 的产生,其可能机制包括抑制脯氨酰羟化酶活性和诱导活性氧的产生等[3,5,10-11]。本研究中,DMM 可抑制琥珀酸堆积而降低 HIF-1α 的表达和 IL-1β 的合成,从反面提示该模型中琥珀酸参与 HIF-1α 介导的炎性通路,其机制可能和以上研究阐述的机制相关。本研

究还发现,DMM 可抑制琥珀酸堆积而降低 IκB-α 的磷酸化水平。IκB-α 是转录因子 NF-κB 的抑制性结合蛋白 IκB 的一个亚型,IκB-α 磷酸化后被水解性降解,使 NF-κB 游离并转位至细胞核中而激活 TNF-α 等基因的转录[12]。因此,本研究结果提示琥珀酸堆积促进 IκB-α 磷酸化,进而通过 NF-κB 介导 TNF-α 的合成,其具体机制可能是琥珀酸通过产生活性氧和炎性细胞因子而间接促进 IκB-α 磷酸化和激活 NF-κB 炎症通路[13]。

缺血心肌细胞中,大量堆积的琥珀酸可通过自分泌的方式,分泌至心肌细胞外并激活心肌细胞膜上的琥珀酸受体 1(succinate receptor 1, SUCNR1),使后者活化而加重心肌损伤[5]。由于琥珀酸-SUCNR1 通路与炎性反应密切相关,该模型中琥珀酸是否可通过激活 SUCNR1 而调节 HIF-1α 和 IκB-α 有待进一步研究[14]。

总之,本研究发现琥珀酸在内毒素血症大鼠心肌组织中的含量变化和炎性损伤的关系,以及 SDH 活性抑制剂在其中的保护作用,为研究和治疗脓毒血症心肌损伤提供了新的靶点。

参考文献:

[1] FLYNN A, MANI B C, MATHER P J. Sepsis-induced cardiomyopathy: a review of pathophysiologic mechanisms [J]. Heart Fail Rev, 2010, 15 (6): 605-11. DOI: 10.1007/s10741-010-9176-4.

[2] CHOUCHANI E T, PELL V R, GAUDE E, *et al*. Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS[J]. Nature, 2014, 515 (7527): 431-435. DOI: 10.1038/nature13909.

[3] MILLS E L, KELLY B, LOGAN A, *et al*. Succinate dehydrogenase supports metabolic repurposing of mitochondria to drive inflammatory macrophages [J]. Cell, 2016, 167 (2): 457-470.e13. DOI: 10.1016/j.cell.2016.08.064.

[4] CHOUCHANI E T, PELL V R, JAMES A M, *et al*. A unifying mechanism for mitochondrial superoxide production during ischemia-reperfusion injury [J]. Cell Metab, 2016, 23 (2): 254-63. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.12.009.

[5] LI J, YANG Y L, LI L Z, *et al*. Succinate accumulation impairs cardiac pyruvate dehydrogenase activity through GRP91-dependent and independent signaling pathways: therapeutic effects of ginsenoside Rb1 [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2017, 1863 (11), 2835-2847 DOI: 10.1016/j.bbadis.2017.07.017.

[6] BRENT R, MARIUXI C, JEREMY L, *et al*. Mesenchymal stem cells attenuate myocardial functional depression and reduce systemic and myocardial inflammation during endotoxemia [J]. Surgery, 2010, 148 (2): 444-452. DOI: 10.1016/j.surg.2010.03.010.

[7] LIU Ling, WANG P, LIANG C, *et al*. Distinct effects of nampt inhibition on mild and severe models of lipopolysaccharide-induced myocardial impairment [J]. Int Immunopharmacol, 2013, 17 (2): 342-349. DOI: 10.1016/j.intimp.2013.06.017.

[8] VANDERHAEGHEN T, VANDEWALLE J, LIBERT C, *et al*. Hypoxia-inducible factors in metabolic reprogramming during sepsis [J]. FEBS J, 2020 [Online ahead of print]. DOI: 10.1111/febs.15222.

[9] JOSEPH L C, REYES M V, LAKKADI K R, *et al*. PKCdelta causes sepsis-induced cardiomyopathy by inducing mitochondrial dysfunction [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2020. [Online ahead of print]. DOI: 10.1152/ajpheart.00749.2019.

[10] MURPHY M P, O´NEILL L A J. Krebs cycle reimagined: the emerging roles of succinate and itaconate as signal transducers [J]. Cell, 2018, 174 (4): 780-784. DOI: 10.1016/j.cell.2018.07.030.

[11] TANNAHILL G M, CURTIS A M, ADAMIK J, *et al*. Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1β through HIF-1α [J]. Nature, 2013, 496 (7444): 238-242 DOI: 10.1038/nature11986.

[12] LEE T H, JUNG M, BANG M, *et al*. Inhibitory effects of a spinasterol glycoside on lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide and proinflammatory cytokines via down-regulating MAP kinase pathways and NF-κB activation in RAW264.7 macrophage cells [J]. Int Immunopharmacol, 2012, 13 (3): 264-70 DOI: 10.1016/j.intimp.2012.05.005.

[13] LEPETSOS P, PAPAVASSILIOU K A, PAPAVASSILIOU A G, *et al*. Redox and NF-κB signaling in osteoarthritis [J]. Free Radic Biol Med, 2019, 132: 90-100 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.025.

[14] LITTLEWOOD-EVANS A, SARRET S, APFEL V, *et al*. GPR91 senses extracellular succinate released from inflammatory macrophages and exacerbates rheumatoid arthritis [J]. J Exp Med, 2016, 213 (9): 1655-1662. DOI: 10.1084/jem.20160061.

(收稿:2020-03-23;修回:2020-06-03)

(编辑 郭建秀)