DOI:10.16016/j.2097-0927.202107131

血红素加氧酶通过抑制 NLRP3 炎性小体的活化减轻小鼠骨骼肌萎缩

任春光[1],蒲荣喜[2],胡 蝶[2],张亚莲[1],蔡 星[1],舒 彬[1],杨 忠[2] 401331 重庆,重庆医科大学附属大学城医院康复中心[1];400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)药学与检验医学系临床血液学教研室[2]

[摘要] **目的** 探讨诱导血红素加氧酶 1(heme oxygenase-1, HO-1)是否通过抑制 NLRP3 炎性小体的活化减轻小鼠骨骼肌萎缩。**方法** 32 只 8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠按照简单随机抽样法分为正常组、尾悬吊组(采用尾悬吊法建立下肢肌萎缩模型)、氯化血红素组(在尾悬吊组建模基础上腹腔注射 10 mg/μL 的氯化血红素 hemin 诱导 HO-1 表达)和锌原卟啉组(在氯化血红素组基础上腹腔注射 10 mg/μL 的 ZnPP 拮抗 HO-1 表达),每组 8 只;另取 8 只同龄同种系小鼠进行胫前肌慢病毒注射并同步建立下肢肌萎缩模型,左侧为慢病毒干预组(胫前肌注射 NLRP3-RNAi 慢病毒抑制 NLRP3 的表达),右侧为慢病毒对照组(胫前肌注射慢病毒空载体)。各组处理 2 周后,通过 HE 染色、肌肉体质量比观察肌肉大小的变化情况;免疫印迹法检测胫前肌 NLRP3、ASC、Caspase-1 等蛋白表达;ELISA 法检测胫前肌 IL-1β、IL-18 含量及氧化应激分子改变。**结果** 通过尾悬吊建立了典型的小鼠下肢肌萎缩模型,在诱导 HO-1 的实验中,与尾悬吊组相比,氯化血红素组肌萎缩明显减轻,炎性小体 NLRP3 及相关蛋白 ASC、Caspase-1 表达降低($P<0.05$);锌原卟啉组 NLRP3 相关蛋白的表达与尾悬吊组无明显差异。通过慢病毒干预 NLRP3 表达,与慢病毒对照组相比,慢病毒干预组抑制 NLRP3 表达后肌萎缩明显减轻,同时 NLRP3 炎性小体相关蛋白表达降低($P<0.05$),下游 IL-1β、IL-18 含量降低($P<0.05$);肌组织氧化应激状态减轻($P<0.05$)。**结论** 诱导 HO-1 能通过抑制 NLRP3 炎性小体的活化减轻尾悬吊小鼠骨骼肌萎缩。

[关键词] HO-1;骨骼肌萎缩;NLRP3 炎性小体

[中图法分类号] R322.74; R345; R392.3 [文献标志码] A

Induction of heme oxygenase alleviates skeletal muscle atrophy in mice by inhibiting the activation of NLRP3 inflammasome

REN Chunguang[1], PU Rongxi[2], HU Die[2], ZHANG Yalian[1], CAI Xing[1], SHU Bin[1], YANG Zhong[2] [1]Rehabilitation Center, University City Hospital Affiliated to Chongqing Medical University, Chongqing, 401331; [2]Department of Clinical Hematology, Faculty of Pharmacy and Laboratory Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate whether induction of heme oxygenase-1 (HO-1) can reduce skeletal muscle atrophy in mice by inhibiting the activation of NLRP3 inflammasome. **Methods** Thirty-two 8-week-old male C57BL/6 mice were randomly divided into normal group, model group (the model of lower limb muscular atrophy was established by tail suspension), heme chloride group (HO-1 expression was induced by intraperitoneal injection of hemin in the model mice), and zinc protoporphyrin group (on the basis of hemin chloride group, ZnPP was injected intraperitoneally to antagonize HO-1 expression), with 8 mice in each group. Another 8 mice at the same age were injected with lentivirus into tibialis anterior muscle and the

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(31571242);航天医学实验领域专项(HYZHXM01017)

[通信作者] 舒 彬, E-mail:shubin1017@163.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

model of lower limb muscle atrophy was established simultaneously, with the left side as lentivirus intervention subgroup (injection of lentiviral vector of NLRP3 RNAi to inhibit the expression of NLRP3), and the right side as lentivirus control subgroup (injection of blank lentiviral vector). The changes of muscle volume were observed by HE staining and muscle/body weight ratio. The protein levels of NLRP3, ASC and Caspase-1 in the tibialis anterior muscle were determined by Western blotting. The levels of IL-1β and IL-18 and oxidative stress molecules in the muscle tissues were determined by ELISA. **Results** The typical mouse model of lower extremity muscular atrophy was successfully established by tail suspension. HO-1 induction resulted in significantly reduced muscular atrophy and decreased expression of NLRP3 inflammasome related proteins ASC and Caspase-1 in the heme chloride group when compared with the model group ($P<0.05$). There were no significant differences in the protein levels of above 2 molecules between the zinc protoporphyrin group and the model group. Knockdown of NLRP3 by lentiviral vector led to significantly reduced muscle atrophy, decreased expression of NLRP3 inflammasome related proteins ($P<0.05$), and lower levels of downstream proteins IL-1 β and IL-18 ($P<0.05$) when compared with the lentivirus control subgroup; The oxidative stress of muscle tissue was alleviated ($P<0.05$). **Conclusion** Induction of HO-1 can reduce skeletal muscle atrophy in tail suspension mice by inhibiting the activation of NLRP3 inflammasome.

[**Key words**] heme oxygenase-1; skeletal muscle atrophy; NLRP3 inflammasome

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (31571242) and the Special Project of Space Medical Experiment of China (HYZHXM01017). Corresponding author: SHU Bin, E-mail: shubin1017@163.com

由各种原因所致的骨骼肌萎缩在临床极为常见,主要表现为骨骼肌体积/质量的减少和肌力等功能的减退;严重的肌萎缩不仅加重原发性疾病,同时还常常引起多种并发症;目前临床尚缺乏有效的病理性肌萎缩防治手段[1-2]。

血红素加氧酶 1(heme oxygenase-1,HO-1)是机体内血红素分解代谢的关键酶,具有重要的抗炎、抗氧化等作用。近年研究显示诱导 HO-1 表达能显著减轻由制动及脓毒症等所致的骨骼肌萎缩[3-4];但有关此过程的细胞分子机制尚不清楚。炎性小体(inflammasome)是胞内由模式识别受体、适配蛋白和效应分子胱冬肽酶(Caspase-1)组成的蛋白复合物,其中 NLRP3 是分布广泛、研究最多的受体蛋白。近年有研究发现 NLRP3 参与炎症及衰老所致的骨骼肌萎缩,敲除 NLRP3 基因能有效阻止上述情况下骨骼肌萎缩的发生[5-6],同时结合在一些病理情况下 HO-1 对炎性小体活化的抑制作用[7-8],我们推测 HO-1 的肌萎缩拮抗效应可能是通过对骨骼肌组织内 NLRP3 炎性小体活化的抑制发挥其作用。因此,本研究首先应用小鼠尾悬吊方法建立下肢肌萎缩模型[9],然后观察注射 HO-1 诱导剂血红素对骨骼肌萎缩的拮抗作用,重点检测了诱导 HO-1 对 NLRP3 等炎性小体分子表达的影响,并通过慢病毒干预抑制 NLRP3 表达,同步观察其对肌萎缩发生的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 8 周雄性 C57BL/6 小鼠 40 只,购自陆军军医大学实验动物中心。小鼠在 12 h 光照-黑暗周期、温度 22 ℃下饲养;动物饲料为 SPF 级大小鼠维持饲料,均由华阜康生物提供。

1.1.2 主要试剂 氯化血红素、锌原卟啉(上海麦克林);NLRP3-RNAi 慢病毒(上海吉凯);RIPA 裂解液、苯甲基磺酰氟化物(PMSF)及 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天);兔单克隆 NLRP3 抗体、兔多克隆 ASC 抗体、兔多克隆 Caspase-1 抗体、鼠单克隆 GAPDH 抗体、封闭液(武汉博士德);辣根过氧化物酶标记羊抗兔抗体、辣根过氧化物酶标记羊抗鼠抗体(北京中杉金桥);PVDF 膜(美国 Bio-Rad);ECL 检测试剂(美国 Millipore);小鼠 IL-1β ELISA 试剂盒、小鼠 IL-18 ELISA 试剂盒、超氧化物歧化酶活性检测试剂盒、丙二醛含量检测试剂盒、NAD+检测试剂盒(北京索莱宝)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 32 只 8 周雄性 C57BL/6 小鼠,按照简单随机抽样法分为 4 组,每组 8 只。适应性喂养 1 周后,进行持续性干预。①正常组:正常饲料喂养,不做其他干预;②尾悬吊组:进行尾悬吊干预+腹腔注射 140 μL 等量二甲亚砜(DMSO),建立经典的后

肢肌萎缩模型;③氯化血红素组:进行尾悬吊干预+腹腔注射 100 μL 浓度为 10 mg/μL 的氯化血红素(hemin)溶液+40 μL 等量 DMSO,诱导 HO-1 表达;④锌原卟啉组:进行尾悬吊干预+腹腔注射 100 μL 浓度为 10 mg/μL 的 hemin+40 μL 浓度为 10 mg/μL 的 ZnPP 溶液,拮抗 HO-1 表达。以上均为隔天注射,从第 1 天悬吊起注射,隔天注射 1 次,共注射 7 次,持续干预 2 周后处死,部分小鼠直接取材用于蛋白检测,另一部分固定用于 HE 染色等。

在上述实验的基础上,通过慢病毒转染对诱导 HO-1 降低 NLRP3 炎性小体及其相关分子表达以缓解骨骼肌萎缩进行分子机制研究。另取 8 只 8 周雄性 C57BL/6 小鼠,异氟烷麻醉后剃除两侧小腿毛,75%酒精棉球擦拭胫前肌表面,每侧小腿胫前肌从近心端至远心端依次选取 5 个点注射 5 μL 浓度为 10^9 TU/mL 的 RNAi 慢病毒,左侧小腿胫前肌注射 NLRP3-RNAi 慢病毒作为慢病毒干预组(LV-Nlrp3),并同时建立尾悬吊模型,NLRP3-RNAi 的作用为抑制 NLRP3 的表达,另一侧注射等量慢病毒空载体作为对照组(LV-CON),并将其与正常组、尾悬吊组进行比较。持续干预 2 周后处死。分离小鼠胫前肌,称量,保存于-80 ℃。

1.2.2 骨骼肌肌肉体质量比检测 小鼠干预 2 周后,隔夜禁食,行脱颈处死,记录体质量和两侧胫前肌(tibialis anterior,TA)质量,比较不同组间肌肉体质量比的差异。

1.2.3 肌纤维横截面积的检测 小鼠脱颈处死,迅速取出胫前肌置于多聚甲醛中固定 24 h,然后依次经洗涤、脱水、透明、透蜡、包埋、切片等步骤,制作厚度约 8 μm 的石蜡切片,并进行 HE 染色。通过成像系统观察 HE 染色结果,在 200 倍视野下随机选取 5 个视野,采用 Image-Pro Plus 6.0 软件计算肌纤维相对横截面积。

1.2.4 骨骼肌 ASC、NLRP3、Caspase-1 蛋白表达的检测 小鼠脱颈后处死,取胫前肌标本,放于液氮中速冻;RIPA 裂解液和 PMSF 混合后提取总蛋白;通过 BCA 法测定蛋白浓度,加入上样缓冲液混匀,100 ℃水浴加热 5 min 使蛋白变性,进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,湿转后封闭液封闭 2 h,一抗 4 ℃恒温摇床孵育过夜,TBST 洗膜 5 次,每次 9 min,二抗室温孵育 1 h,洗膜 5 次,每次 7 min,洗膜后进行 ECL 检测,通过凝胶成像仪进行化学发光检测。使用 Image J 软件分析实验结果。

1.2.5 炎性因子 IL-1β、IL-18 的含量检测 小鼠脱颈后处死,取胫前肌标本,放于液氮中速冻;RIPA 裂解液和 PMSF 混合后提取总蛋白;BCA 法测定蛋白浓度,按照 ELISA 试剂盒说明书步骤检测 IL-1β、IL-18 炎性因子含量。

1.2.6 抗炎抗氧化作用的检测 小鼠脱颈后处死,取胫前肌标本,放于液氮中速冻;称取约 0.1 g 组织,加入 1 mL 提取液,按照试剂盒说明书步骤检测 SOD 的活性、MDA 及 NAD+的含量。

1.3 统计学分析

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 Graphpad Prism 8.0 软件进行统计分析及图像生成,多组间的连续变量比较采用单因素方差分析,随后通过图基检验进行多重比较;两组间比较采用独立样本 t 检验。$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 诱导 HO-1 对小鼠骨骼肌萎缩的影响

各组干预 2 周后,HE 结果显示:尾悬吊组胫前肌萎缩较正常组明显加重,氯化血红素组胫前肌萎缩较尾悬吊组明显改善,锌原卟啉组胫前肌萎缩较氧化血红素组加重(图 1A)。与正常组相比,尾悬吊组肌纤维相对横截面积显著减少($P<0.05$,图 1B);与尾悬吊组相比,氯化血红素组肌纤维相对横截面积显著增加($P<0.05$,图 1B),肌肉体质量比增加($P<0.05$,图 1C)。

2.2 诱导 HO-1 抑制 NLRP3 炎性小体相关分子的表达

各组干预 2 周后,蛋白免疫印迹结果显示,氯化血红素组 NLRP3、ASC、Caspase-1 表达均低于尾悬吊组($P<0.05$),提示诱导 HO-1 能够降低 NLRP3、ASC、Caspase-1 的表达;锌原卟啉组的 NLRP3 炎性小体相关分子表达较氯化血红素组有一定程度的升高,但结果并不显著。见图 2。

2.3 NLRP3-RNAi 调控 NLRP3 对小鼠骨骼肌萎缩的影响

肌注慢病毒 2 周后,与 LV-CON 组相比,LV-Nlrp3 组肌肉体质量比增加($P<0.05$);HE 结果显示:LV-CON 组胫前肌萎缩较正常组明显加重,LV-Nlrp3 组胫前肌萎缩较 LV-CON 明显改善。与正常组相比,LV-CON 组肌纤维横截面积显著减少($P<0.05$);与 LV-CON 组相比,LV-Nlrp3 组肌纤维相对横截面积显著增加($P<0.05$)。见图 3。

2.4 NLRP3-RNAi 抑制 NLRP3 炎性小体相关分子的表达

慢病毒干预 3 d 后,蛋白免疫印迹结果显示,LV-Nlrp3 组 NLRP3 表达低于 LV-CON 组($P<0.05$),但 ASC、Caspase-1 无明显差异(图 4A、B)。慢病毒干

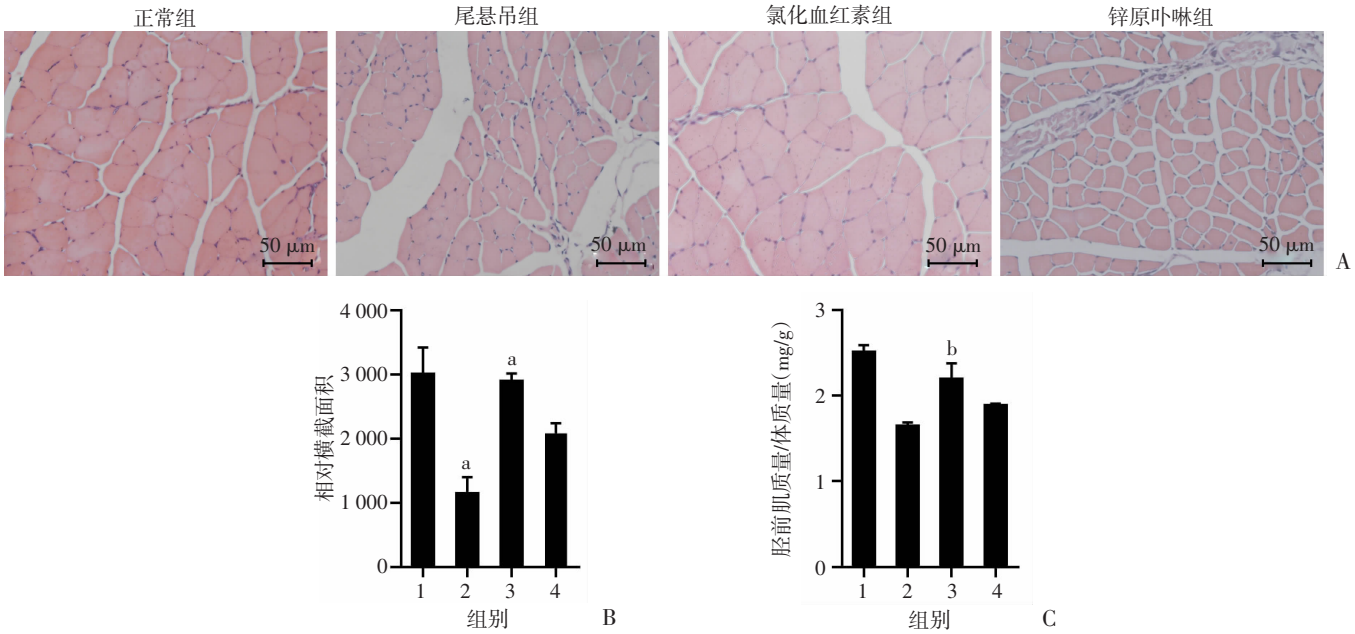
预 2 周后,蛋白免疫印迹结果显示,LV-Nlrp3 组 NLRP3、ASC、Caspase-1 表达均低于 LV-CON 组($P<0.05$,图 4C、D)。提示慢病毒干预有效降低了 NLRP3 表达,且降低 NLRP3 表达能够降低 ASC、Caspase-1 的表达。

2.5 NLRP3-RNAi 调控 NLRP3 降低炎性因子 IL-1β 和 IL-18 的含量

慢病毒干预 2 周后,LV-Nlrp3 组 IL-1β、IL-18 含量均低于 LV-CON 组($P<0.05$,图 5)。显示降低 NLRP3 表达可显著降低肌组织 IL-1β、IL-18 含量。

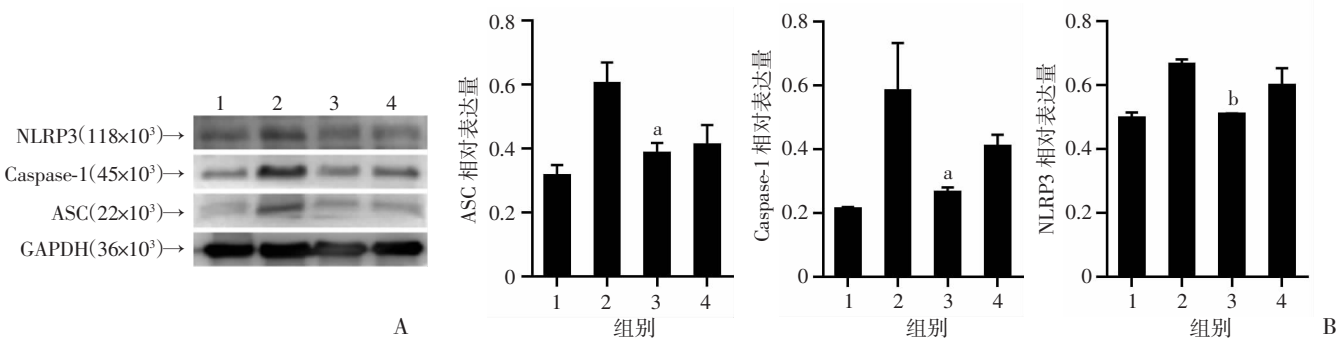
2.6 NLRP3-RNAi 调控 NLRP3 促进小鼠骨骼肌抗炎和抗氧化作用

慢病毒干预 2 周后,LV-Nlrp3 组较 LV-CON 组 SOD 活性升高($P<0.01$,图 6A),且 MDA、NAD+水平下降($P<0.05$,图 6B、C)。显示降低 NLRP3 表达后,小鼠肌组织抗炎、抗氧化能力提高。



1:正常组;2:尾悬吊组;3:氯化血红素组;4:锌原卟啉组;a:$P<0.05$,与正常组比较;b:$P<0.05$,与尾悬吊组比较;A:HE 染色观察各组胫前肌萎缩情况;B:各组胫前肌相对横截面积比较;C:各组胫前肌肌肉体质量比

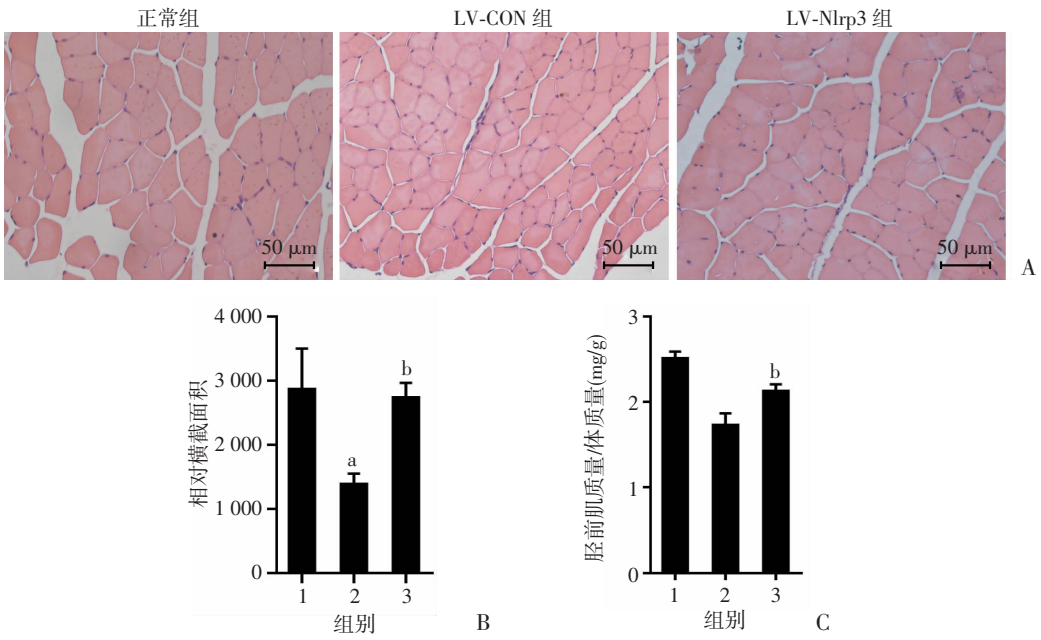
图 1 诱导 HO-1 对尾悬吊小鼠骨骼肌萎缩的影响



1:正常组;2:尾悬吊组;3:氯化血红素组;4:锌原卟啉组;a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与尾悬吊组比较

A:Western blot 检测诱导 HO-1 后 NLRP3 炎性小体相关分子的表达;B:半定量分析

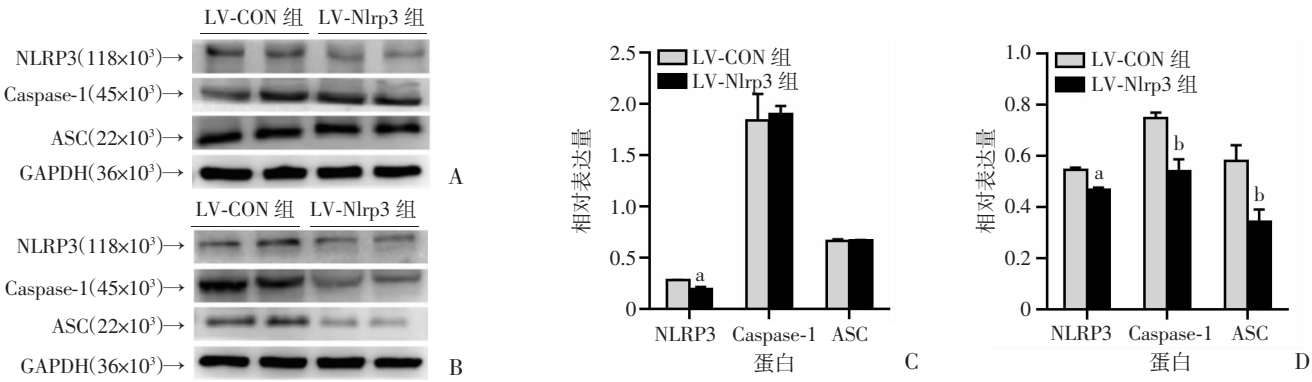
图 2 诱导 HO-1 对骨骼肌萎缩小鼠 NLRP3 炎性小体相关分子的影响



1:正常组;2:LV-CON 组;3:LV-Nlrp3 组;a:$P<0.01$,与正常组比较;b:$P<0.05$,与 LV-CON 组比较

A:HE 染色观察各组胫前肌萎缩情况;B:胫前肌相对横截面积比较;C:胫前肌肌肉体质量比比较

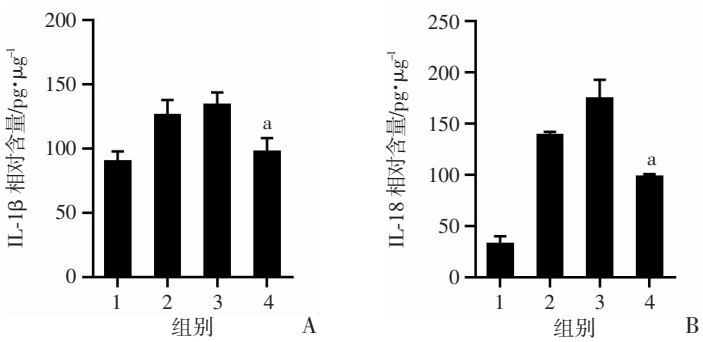
图 3 NLRP3-RNAi 调节 NLRP3 对小鼠骨骼肌萎缩的影响



a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与 LV-CON 组比较

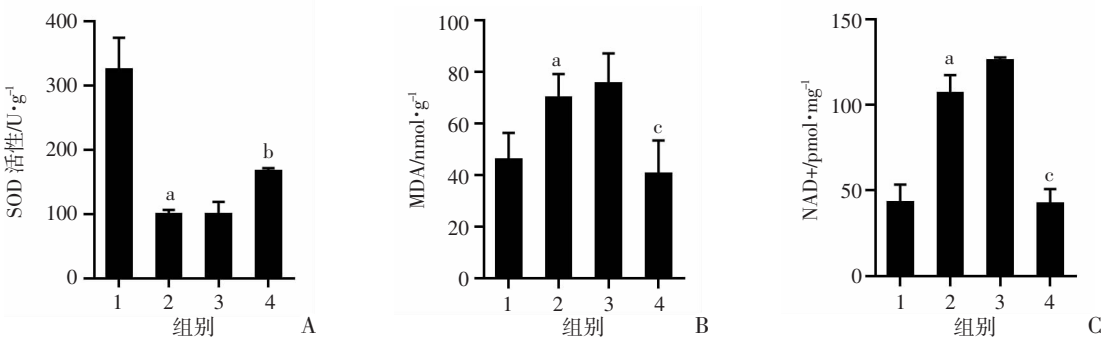
A、C:注射慢病毒降低 NLRP3 表达 3 d 后相关蛋白表达及半定量分析;B、D:注射慢病毒降低 NLRP3 表达 2 周后相关蛋白表达及半定量分析

图 4 Western blot 检测 NLRP3-RNAi 对 NLRP3 炎性小体及相关蛋白表达的影响



1:正常组;2:尾悬吊组;3:LV-CON 组;4:LV-Nlrp3 组;a:$P<0.05$,与 LV-CON 组比较

图 5 NLRP3-RNAi 调节 NLRP3 对肌组织炎性因子 IL-1β(A)和 IL-18(B)含量的影响



1:正常组;2:尾悬吊组;3:LV-CON 组;4:LV-Nlrp3 组;a:$P<0.05$,与正常组比较;b:$P<0.01$,c:$P<0.05$,与 LV-CON 组比较;A~C:分别为降低 NLRP3 表达后,SOD 活性及 MDA、NAD+水平的比较

图 6 NLRP3-RNAi 调节 NLRP3 对肌组织抗炎、抗氧化分子的影响

3 讨论

骨骼肌是机体极为重要的运动和代谢器官,具有很强的可塑性。在生物化学水平,肌萎缩的发生是由于肌组织内蛋白合成和降解平衡被破坏导致肌组织内蛋白含量下降,从而使肌纤维萎缩,进而引起肌肉质量/体积的下降。肌萎缩在临床上极为常见,与多种疾病的预后不良有关。但是目前有关其分子调控机制尚不明确,在临床上尚缺乏预防病理性肌萎缩的有效手段[1-2,10]。

在导致骨骼肌萎缩的分子病理机制中,慢性炎症被认为是一个重要原因[4,11]。肌组织慢性炎症在一些退行性疾病如增龄性肌肉减少症、骨质疏松症等较为常见[12]。NLRP3 炎性小体是先天免疫系统的重要组成部分,作为模式识别受体通过募集 ASC,可介导 Caspase-1 激活,活化的 Caspase-1 通过切割 IL-1β/IL-18 前体加工形成其成熟形式。近年有研究发现 NLRP3 炎性小体的活化与慢性炎症有非常紧密的联系[13-14];在脓毒症及衰老所致的骨骼肌萎缩中,显示敲除 NLRP3 能有效阻止上述情况下骨骼肌萎缩的发生[5-6]。此外,NLRP3 炎性小体的异常激活还与多种炎症性疾病有关[15]。

HO-1 作为调节血红素代谢的关键酶,具有重要的抗炎和抗氧化作用[16];研究表明 HO-1 是多种抗炎分子的作用介质[17-18];同时,近年有报道在一些病理模型下,诱导 HO-1 表达能显著减轻由慢性炎症所致的骨骼肌萎缩[3-4]。

近年的研究提示,HO-1 与 NLRP3 在一些病理条件下有紧密的联系,例如脓毒症、慢性阻塞性肺疾病、糖尿病、脂肪肝、骨关节炎等[7,19-22]。然而,诱导 HO-1 缓解骨骼肌萎缩是否与抑制 NLRP3 炎性小体活化有关尚不明确。本研究结果显示:通过尾悬吊建立下肢肌萎缩模型后,小鼠胫前肌明显萎缩;通过诱导 HO-1 可以降低 NLRP3 炎性小体相关分子的表达,并有效缓解骨骼肌萎缩,提示抑制 NLRP3 炎性小体的活化与 HO-1 的升高有关;然后通过胫前肌慢病毒注射干预 NLRP3 的表达,显示降低了 NLRP3 炎性小体相关分子的表达并减少了肌组织 IL-1β、IL-18 的含量,同时有效缓解了骨骼肌萎缩,进一步说明抑制 NLRP3 炎性小体的活化是诱导 HO-1 表达缓解骨骼肌萎缩的重要机制。

综上所述,本研究结果显示 HO-1 通过抑制 NLRP3 炎性小体对抗肌萎缩,为临床上通过药物治疗肌萎缩提供了一个潜在靶点;但本实验仅从尾悬吊引起制动萎缩的病理模型中证明此机制,后续仍需要在不同病理条件下验证。

作者贡献声明 任春光:主要负责进行实验、收集和分析数据、论文的撰写及退改回复;蒲荣喜、胡蝶:主要负责部分实验及数据的分析;张亚莲、蔡星:主要通过查阅文献等提出研究方案;舒彬、杨忠:主要负责提出研究思路和方案,并负责对文章进行审阅和提出修改意见

参考文献:

[1] SARTORI R, ROMANELLO V, SANDRI M. Mechanisms of muscle atrophy and hypertrophy: implications in health and disease[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 330. DOI: 10.1038/s41467-020-20123-1.

[2] FURRER R, HANDSCHIN C. Muscle wasting diseases: novel targets and treatments[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2019, 59: 315-339. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-010818-021041.

[3] YU X, HAN W, WANG C, *et al*. Upregulation of heme oxygenase-1 by hemin alleviates sepsis-induced muscle wasting in mice[J]. Oxid Med Cell Longev, 2018, 2018: 8927104. DOI: 10.1155/2018/8927104.

[4] PARK C H, JU T J, KIM Y W, *et al*. Hemin, heme oxygenase-1 inducer, attenuates immobilization-induced skeletal

muscle atrophy in mice[J]. Life Sci, 2013, 92(12): 740-746. DOI: 10.1016/j.lfs.2013.02.008.

[5] MCBRIDE M J, FOLEY K P, D'SOUZA D M, *et al*. The NLRP3 inflammasome contributes to sarcopenia and lower muscle glycolytic potential in old mice[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2017, 313(2): E222-E232. DOI: 10.1152/ajpendo.00060.2017.

[6] HUANG N, KNY M, RIEDIGER F, *et al*. Deletion of Nlrp3 protects from inflammation-induced skeletal muscle atrophy[J]. Intens Care Med Exp, 2017, 5(1): 3. DOI: 10.1186/s40635-016-0115-0.

[7] CHEN Z, ZHONG H, WEI J, *et al*. Inhibition of Nrf2/HO-1 signaling leads to increased activation of the NLRP3 inflammasome in osteoarthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2019, 21(1): 300. DOI: 10.1186/s13075-019-2085-6.

[8] VITALI S H, FERNANDEZ-GONZALEZ A, NADKARNI J, *et al*. Heme oxygenase-1 dampens the macrophage sterile inflammasome response and regulates its components in the hypoxic lung[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2020, 318(1): L125-L134. DOI: 10.1152/ajplung.00074.2019.

[9] MARZUCA-NASSR G N, VITZEL K F, MURATA G M, *et al*. Experimental model of hindlimb suspension-induced skeletal muscle atrophy in rodents[J]. Methods Mol Biol, 2019, 1916: 167-176. DOI: 10.1007/978-1-4939-8994-2_16.

[10] BONALDO P, SANDRI M. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy[J]. Dis Model Mech, 2013, 6(1): 25-39. DOI: 10.1242/dmm.010389.

[11] BYUN M K, CHO E N, CHANG J, *et al*. Sarcopenia correlates with systemic inflammation in COPD[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2017, 12: 669-675. DOI: 10.2147/COPD.S130790.

[12] SUZUKI K. Chronic inflammation as an immunological abnormality and effectiveness of exercise[J]. Biomolecules, 2019, 9(6): 223. DOI: 10.3390/biom9060223.

[13] HE M, CHIANG H H, LUO H Z, *et al*. An acetylation switch of the NLRP3 inflammasome regulates aging-associated chronic inflammation and insulin resistance[J]. Cell Metab, 2020, 31(3): 580-591.e5. DOI: 10.1016/j.cmet.2020.01.009.

[14] AHECHU P, ZOZAYA G, MARTÍ P, *et al*. NLRP3 inflammasome: a possible link between obesity-associated low-grade chronic inflammation and colorectal cancer development[J]. Front Immunol, 2018, 9: 2918. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02918.

[15] KELLEY N, JELTEMA D, DUAN Y H, *et al*. The NLRP3 inflammasome: an overview of mechanisms of activation and regulation[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(13): E3328. DOI: 10.3390/ijms20133328.

[16] GONG X, ZHANG L, JIANG R, *et al*. Anti-inflammatory effects of mangiferin on Sepsis-induced lung injury in mice via up-regulation of heme oxygenase-1[J]. J Nutr Biochem, 2013, 24(6): 1173-1181. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2012.09.003.

[17] CHEN H G, XIE K L, HAN H Z, *et al*. Heme oxygenase-1 mediates the anti-inflammatory effect of molecular hydrogen in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages[J]. Int J Surg, 2013, 11(10): 1060-1066. DOI: 10.1016/j.ijsu.2013.10.007.

[18] SUBEDI L, LEE J, YUMNAM S, *et al*. Anti-inflammatory effect of sulforaphane on LPS-activated microglia potentially through JNK/AP-1/NF-κB inhibition and Nrf2/HO-1 activation[J]. Cells, 2019, 8(2): 194. DOI: 10.3390/cells8020194.

[19] KUO N C, HUANG S Y, YANG C Y, *et al*. Involvement of HO-1 and autophagy in the protective effect of magnolol in hepatic steatosis-induced NLRP3 inflammasome activation *in vivo* and *in vitro*[J]. Antioxidants (Basel), 2020, 9(10): E924. DOI: 10.3390/antiox9100924.

[20] BIAN H T, WANG G H, HUANG J J, *et al*. Dihydrolipoic acid protects against lipopolysaccharide-induced behavioral deficits and neuroinflammation via regulation of Nrf2/HO-1/NLRP3 signaling in rat[J]. J Neuroinflamm, 2020, 17(1): 166. DOI: 10.1186/s12974-020-01836-y.

[21] CASTEJON M L, SÁNCHEZ-HIDALGO M, APARICIO-SOTO M, *et al*. Dietary oleuropein and its new acyl-derivate attenuate murine lupus nephritis through HO-1/Nrf2 activation and suppressing JAK/STAT, NF-κB, MAPK and NLRP3 inflammasome signaling pathways[J]. J Nutr Biochem, 2019, 74: 108229. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2019.108229.

[22] GAO Y, LI J, CHU S, *et al*. Ginsenoside Rg1 protects mice against streptozotocin-induced type 1 diabetic by modulating the NLRP3 and Keap1/Nrf2/HO-1 pathways[J]. Eur J Pharmacol, 2020, 866: 172801. DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.172801.

(收稿:2021-07-20;修回:2021-09-29)

(编辑 汪勤俭)