卓越医见：脓毒症发生机制与临床治疗 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.004112

IL-38对TCR信号活化后EL4细胞谷氨酰胺代谢网络调控酶基因表达的作用

陈佳伟，徐　昉
（重庆医科大学附属第一医院重症医学科，重庆　400016）

【摘　要】**目的**：探究急性呼吸窘迫综合征（acute respiratory distress syndrome，ARDS）时机体氨基酸代谢是否异常及白细胞介素38（interleukin 38，IL-38）对T细胞受体（T cell receptor，TCR）信号激活后EL4细胞谷氨酰胺代谢调控网络酶基因表达的作用。**方法**：募集ARDS患者及重症监护病房（intensive care unit，ICU）对照患者各3例，对其血浆进行高通量靶标代谢组学检测，筛选差异代谢物并进行通路富集分析；采用分化抗原簇（cluster of differentiation，CD）3/CD28抗体刺激EL4细胞TCR信号通路，并以IL-38干预24 h，实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应（real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction，RT-qPCR）检测谷氨酰胺代谢网络核心酶基因的信使核糖核酸（messenger ribonucleic acid，mRNA）表达水平。**结果**：在ARDS组患者血浆中鉴定出2-氧代苯丙氨酸、5-羟基赖氨酸、甲羟戊酸、2-羟基丁酸、L-胱氨酸、L-苯丙氨酸、3-甲基-2-氧代戊酸、L-缬氨酸、异亮氨酸等9种代谢物水平上调；IL-38干预组溶质载体家族1成员5（solute carrier family 1 member 5，*Slc1a5*）、谷氨酰胺合成酶（glutamine synthetase，*Gs*）、谷氨酸脱氢酶1（glutamate dehydrogenase 1，*Glud1*）、谷胱甘肽还原酶（Glutathione Reductase，*Gsr*）、谷氨酸-半胱氨酸连接酶调节亚基（glutamate-cysteine ligase modifier subunit，*Gclm*）、谷胱甘肽合成酶（glutathione synthetase，*Gss*）、异柠檬酸脱氢酶1（isocitrate dehydrogenase 1，*Idh1*）、谷胱甘肽过氧化物酶4（glutathione peroxidase 4，*Gpx4*）、十-十一易位甲基胞嘧啶双加氧酶1（Ten-Eleven Translocation 1，*Tet1*）的mRNA相对表达水平较对照组上调（$P<0.05$）。IL-38干预组Gpx1表达较对照组降低（$P<0.05$）。**结论**：ARDS患者存在明显氨基酸代谢异常，IL-38参与调控TCR信号活化后EL4细胞的谷氨酰胺代谢。

【关键词】白细胞介素38；谷氨酰胺代谢；急性呼吸窘迫综合征
【中图分类号】R392　　【文献标志码】A

Role of interleukin-38 in regulating the expression of enzyme genes in the glutamine metabolic network of EL4 cells after T cell receptor signal activation

Chen Jiawei，*Xu Fang*
（*Department of Critical Care Medicine*，*The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University*）

【**Abstract**】***Objective***：To investigate the presence or absence of abnormal amino acid metabolism in acute respiratory distress syndrome（ARDS），as well as the effect of interleukin-38（IL-38）on the expression levels of enzyme genes in the glutamine metabolic network of EL4 cells after T cell receptor（TCR）signal activation. ***Methods***：Three patients with ARDS and three patients admitted to the intensive care unit were enrolled，and high-throughput targeted metabolomics analysis was performed for their plasma samples to identify differentially expressed metabolites and conduct a pathway enrichment analysis. CD3/CD28 antibodies were used to stimulate the TCR signaling pathway of EL4 cells，followed by IL-38 intervention for 24 hours，and RT-qPCR was used to measure the mRNA expression levels of core enzyme genes in the glutamine metabolic network. ***Results***：In the ARDS group，nine metabolites were upregulated in plasma，i.e.，2-oxophenylalanine，5-hydroxylysine，mevalonic acid，2-hydroxybutyric acid，L-cystine，L-phenylalanine，3-methyl-2-oxovaleric acid，L-valine，and isoleucine. Compared with the control group，the IL-38 intervention group had significant increases in the relative mRNA expression levels of solute carrier family 1 member 5，glutamine synthetase，glutamate dehydrogenase 1，glutathione reductase，glutamate-cysteine ligase modifier subunit，glutathione synthetase，isocitrate dehydrogenase 1，glutathione peroxidase 1，glutathione peroxidase 4，and ten-eleven translocation 1（$P<0.05$）. ***Conclusion***：Significant abnormalities in amino acid metabolism are observed in ARDS patients，and IL-38 participates in the regulation

作者介绍：陈佳伟，Email：921220669@qq.com，
研究方向：危重症疾病的病理生理机制与临床治疗。
通信作者：徐　昉，Email：fangxu@hospital.cqmu.edu.cn。
基金项目：国家自然科学基金面上资助项目（编号：82172161）；重庆市科卫联合医学科研重点资助项目（编号：2023ZDXM004）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20260506.1800.004（2026-05-07）

of glutamine metabolism in EL4 cells after TCR signal activation.

【Key words】interleukin-38; glutamine metabolism; acute respiratory distress syndrome

白细胞介素-38（interleukin-38，IL-38）是白细胞介素-1（interleukin-1，IL-1）家族新发现的第10位成员，又称为IL-1家族成员10（interleukin-1 family member 10，IL1F10），在小鼠中由*Il1f10*基因编码[1]。IL-38作为炎症抑制性细胞因子，在类风湿关节炎[2]等自身免疫性疾病及急性呼吸窘迫综合征[3]等伴有急性炎症风暴的病理生理过程中发挥重要的调节与保护作用。研究表明IL-38对多种免疫细胞表型及功能具有调控作用，IL-38抑制B细胞向浆细胞分化减少抗体生成，同时IL-38抑制树突状细胞的成熟与抗原提呈能力从而减弱T细胞的激活[4]。IL-38对T细胞也存在直接作用。IL-38通过白细胞介素-36受体（interleukin-36 receptor，IL-36R）信号抑制Th1（T helper type-1）与Th17（T helper type-17）等效应性T淋巴细胞分化与功能[5]，同时IL-38可增强调节性T细胞（regulatory T cells，Tregs）的分化与抑制炎症反应的能力[5-6]。经典理论认为，不同类型免疫细胞存在不同的代谢模式。效应性T细胞的快速增殖与免疫功能依赖于有氧糖酵解与谷氨酰胺代谢途径获取能量与生物合成前体，而Tregs的免疫抑制活性与长期存活则需要更加高效的能量供给模式，因此依赖氧化磷酸化与脂肪酸氧化为主的代谢途径，并且Tregs的线粒体倾向于更加高效地产生三磷酸腺苷（adenosine triphosphate，ATP）而不是生物合成[7]。以代谢网络为靶点的药物通过代谢重编程介导免疫细胞的表型重塑，从而影响细胞的免疫功能。IL-38对T细胞的调控作用背后潜在的分子机制是否伴随细胞代谢模式的改变是本研究的关注重点。

谷氨酰胺代谢作为一种补充代谢途径，在T细胞激活、增殖、分化及免疫功能中发挥重要作用。激活后的T细胞需要摄取足够的谷氨酰胺来支撑其快速增殖的代谢需求。事实上，谷氨酰胺在T细胞免疫调控以及危重症病理生理中的作用并非一成不变。部分研究发现，补充谷氨酰胺可提高T细胞活性，增强免疫检查点抑制剂的疗效，延长荷瘤小鼠的生存时间[8-9]。另一方面，Leone RD等[10]的研究发现使用谷氨酰胺抑制剂可以破坏肿瘤微环境，抑制肿瘤细胞代谢，延长效应T细胞的寿命并增强其活性。因此，目前对于谷氨酰胺代谢在T细胞表型重塑中的作用尚存争议。同时，共性分子机制尚不明确，使得临床危重症患者使用谷氨酰胺补充剂或抑制剂进行治疗缺乏精准指导。例如，急性呼吸窘迫综合征（acute respiratory distress syndrome，ARDS）患者往往存在谷氨酰胺耗竭，而外源性谷氨酰胺的补充可望改善ARDS模型的氧化应激和炎症反应[11]，然而有研究指出谷氨酰胺在重症患者中使用可能带来“益处”与“危险”的潜在“双重作用”[12]。这使得本课题组有必要对谷氨酰胺代谢内源性调控机制对T细胞表型重塑的潜在作用展开更深层次的论证和阐述。T细胞内的谷氨酰胺代谢调控是一个复杂网络，谷氨酰胺被摄取后经谷氨酰胺酶（glutaminase，GLS）催化转化为谷氨酸，谷氨酸在谷氨酸脱氢酶（glutamate dehydrogenase，GDH）等催化下代谢生成α-酮戊二酸（α-ketoglutaric acid，α-KG）进入三羧酸循环（tricarboxylic acid cycle，TCA cycle），同时α-KG作为一系列双加氧酶[包括十-十一易位甲基胞嘧啶双加氧酶（ten-eleven translocation，*Tet*）家族基因与含Jumonji结构域的组蛋白去甲基化酶3（jumonji domain-containing protein 3，Jmjd3）等]的底物参与表观遗传修饰调控[13]，介导免疫细胞表型重塑与免疫功能调控。

EL4细胞是一种T淋巴细胞来源的小鼠淋巴瘤细胞，通常用于T细胞分化与增殖的分子机制研究。激活后的EL4细胞具有快速代谢谷氨酰胺的特征，是研究T细胞谷氨酰胺代谢调控机制的理想实验模型。

为探究IL-38对T细胞谷氨酰胺代谢调控酶基因的作用，在本研究中采用重组小鼠IL-38蛋白对T细胞受体（T cell receptor，TCR）信号活化后的EL4细胞进行干预，通过实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应（real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction，RT-qPCR）检测多个谷氨酰胺代谢酶基因相对表达水平。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 血浆采集 本研究根据柏林标准[14]纳入ARDS患者3

例，并根据年龄配对纳入重症医学科住院非ARDS对照患者3例[重症监护病房（intensive care unit，ICU）对照]。ARDS患者排除标准：①未取得患者或监护人知情同意；②肿瘤或有肿瘤病史；③自身免疫性疾病；④长期使用免疫抑制剂；⑤孕产妇。ICU对照患者排除标准：①未取得患者或监护人知情同意；②经主治医师判断存在感染征象；③肿瘤或有肿瘤病史；④自身免疫性疾病；⑤长期使用免疫抑制剂；⑥孕产妇。本研究样本为入组患者常规临床检验项目后剩余血浆，血浆在离体后48 h内分装冻存于-80 ℃，直至检测。本研究临床样本方案经重庆医科大学附属第一医院伦理委员会批准（审查批号：2023-426）。

1.1.2 EL4细胞 本研究所用EL4细胞购自中国科学院干细胞库（目录号TCM41），由9,10-二甲基-1,2-苯并蒽从C57BL/6小鼠诱导建立。支原体、细菌、真菌检测均为阴性，通过短串联重复序列（short tandem repeat，STR）种属污染鉴定，未发现人源及其他物种细胞污染。

1.1.3 试剂 甲醇（CAS：67-56-1）和甲酸（CAS：64-18-6）购自CNW Technologies；甲酸铵（CAS：540-69-2）购自阿拉丁（Aladdin）；超纯水购自屈臣氏（Watsons）。

重组小鼠IL-38蛋白（货号：AG-40B-0101）购自Adipo-Gen Life Sciences，以含5%海藻糖的无菌磷酸盐缓冲液（phosphate buffered saline，PBS）稀释至100 ng/μL。洛斯维·帕克纪念研究所（Roswell Park Memorial Institute，RPMI）1640基础培养基（货号：11875119）、胎牛血清（货号：10091148）、青霉素-链霉素双抗（货号：15140122）购自Gibco（美国赛默飞世尔科技）。核糖核酸（ribonucleic acid，RNA）快速提取试剂盒（货号：ES-RN001）购自上海奕杉生物，PrimerScrip™ RT Reagent Kit with gDNA Eraser（货号：RR047A）、TB GreenTM *Premix Ex Taq™* Ⅱ（货号：RR820A）购自Takara（日本）。本研究中聚合酶链式反应（polymerase chain reaction，PCR）引物均由上海生工生物工程有限公司合成，引物序列见表1。

表1 RT-PCR引物序列

基因名称	引物方向/引物序列
Slc1a5	forward primer：5'-TCTTCTAGCTCTGCCACCTTG-3'
	reverse primer：5'-CCCGTTTAGTTGTGCGATG-3'
Gls	forward primer：5'-CCTTGGCTAATGGTGGTTTC-3'
	reverse primer：5'-TGCATCAAGCTCAGTGTATTCC-3'
Gls2	forward primer：5'-ACTGCGCTCGGAAGTTAGAC-3'
	reverse primer：5'-GGCCGACAATGCAAACCTTC-3'
Gs	forward primer：5'-TTATGGGAACAGACGGCCAC-3'
	reverse primer：5'-TAACCTCCGCATTTGTCCCC-3'
Glud1	forward primer：5'-ATCATCAAGCCCTGCAACCA-3'
	reverse primer：5'-ACGTCAGTGCTGTAACGGAT-3'
Gsr	forward primer：5'-TGACAACATCCCTACTGTGGTCTT-3'
	reverse primer：5'-GGGTAAAGGCAGTCGAGTAGATTTTC-3'
Gclc	forward primer：5'-GGCTCTCTGCACCATCACTT-3'
	reverse primer：5'-GTTAGAGTACCGAAGCGGGG-3'
Gclm	forward primer：5'-GATGCCACCAGATTTGACTGC-3'
	reverse primer：5'-CTGGGCTTCAATGTCAGGGAT-3'
Gss	forward primer：5'-GCTAATGCGGTGGTGCTACT-3'
	reverse primer：5'-GACTGGGCATGTAGCCATCT-3'
Idh1	forward primer：5'-CTGTGGTGGAGATGCAAGGA-3'
	reverse primer：5'-CAACCCTCTTCTCATCGGGG-3'
Idh2	forward primer：5'-ATGGACGGTGACGAGATGAC-3'
	reverse primer：5'-GGTCTGGTCACGGTTTGGAA-3'
Gpx1	forward primer：5'-CGCTCTTTACCTTCCTGCGGAA-3'
	reverse primer：5'-AGTTCCAGGCAATGTCGTTGCG-3'
Gpx2	forward primer：5'-ACCGATCCCAAGCTCATCAT-3'
	reverse primer：5'-CAAAGTTCCAGGACACGTCTGA-3'
Gpx3	forward primer：5'-ATCCTGCCTTCTGTCCCTGCTC-3'
	reverse primer：5'-TGGTGAGGGCTCCATACTCGTA-3'
Gpx4	forward primer：5'-CCTCTGCTGCAAGAGCCTCCC-3'
	reverse primer：5'-CTTATCCAGGCAGACCATGTGC-3'
Gpx5	forward primer：5'-TGTGGCTACCTATTGCGGTCTG-3'
	reverse primer：5'-CGTTGAATGGCTTCAGCTCCTC-3'
Gpx6	forward primer：5'-GGAGCCAACATAGATGGTG-3'
	reverse primer：5'-CGTTGAATGGCTTCAGCTCCTC-3'
Gpx7	forward primer：5'-CGACTTCAAGGCGGTCAACATC-3'
	reverse primer：5'-AAGGCTCGGTAGTTCTGGTCTG-3'
Gpx8	forward primer：5'-TGCGAGACAGAACTACGGAGTC-3'
	reverse primer：5'-TTCCACCTTGGCTCCTTCTTGG-3'
Jmjd3	forward primer：5'-CCCCCATTTCAGCTGACTAA-3'
	reverse primer：5'-CTGGACCAAGGGGTGTGTT-3'
Tet1	forward primer：5'-TGGGAGAGCTCCCTTTGATGGTT-3'
	reverse primer：5'-TTGGGTCAATTGTGCTGCGACATC-3'
Tet2	forward primer：5'-TGTTGTTGTCAGGGTGAGAATC-3'
	reverse primer：5'-TCTTGCTTCTGGCAAACTTACA-3'
Tet3	forward primer：5'-AACCAGAACGCCAAGGTCAGTAGT-3'
	reverse primer：5'-TTGATCTTCTCTGGCGTGCTCAGT-3'
Actb	forward primer：5'-CCACCATGTACCCAGGCATT-3'
	reverse primer：5'-CAGCTCAGTAACAGTCCGCC-3'

1.2 方法

1.2.1 血浆高通量靶标代谢组学检测 代谢物提取：①将样本置于干冰上，涡旋20 s混匀；②移取样本100 μL于2 mL离心管中，加入400 μL提取液（甲醇，含内标），涡旋混匀；③冰水浴超声15 min，-40 ℃静置1 h；④12 000 r/min，4 ℃离心15 min，取上清至进样瓶中上机检测；⑤各样品取等体积混合为质量控制（quality control，QC）样品。

标准曲线：配制标准品混合溶液，依次稀释为系列浓度的标准品溶液上机检测，以绘制标准曲线。上机检测：使用Agilent 1290 Infinity Ⅱ超高效液相色谱系统，色谱柱采用ACQUITY UPLC BEH C18（1.7 μm，2.1 mm×150 mm）液相色

谱柱对目标化合物进行色谱分离。液相色谱A相为超纯水，含0.1%甲酸，B相为甲醇∶超纯水=95∶5，含10 mmol/L甲酸铵。样品盘温度：6 ℃，进样体积：1 μL。采用配备IonDrive Turbo V ESI离子源的SCIEX 6500 QTRAP+三重四极杆质谱仪，以多反应监测（multiple reaction monitoring，MRM）模式进行质谱采集。质谱数据采集及目标化合物定量分析均采用SCIEX Analyst Station Software（1.7.32）和自动化分析软件BIOTREE Bio Bud（v2.0.3）完成。高通量靶标代谢组学检测由上海百趣生物医学科技有限公司协助完成。

1.2.2 EL4细胞培养与rmIL-38干预 EL4细胞复苏后于RPMI 1640完全培养基中培养，1640完全培养基含有10%胎牛血清与1%青霉素-链霉素双抗。培养条件为37 ℃，5%CO_2，饱和湿度。使用PBS将Anti Mouse分化抗原簇（cluster of differentiation，CD）3单克隆抗体（货号：16-0032-85，eBioscience）稀释至3 μg/mL，并向6孔板中加入1 mL/孔，轻柔混匀使液体均匀湿润培养孔底板，6孔板置于细胞培养箱中过夜包被。收集EL4细胞于15 mL无菌离心管中，1 000 r/min，室温离心3 min，弃上清，以1 mL 1640完全培养基重悬细胞沉淀后计数，将细胞密度调整至1×10^6/mL，在6孔板中每孔接种EL4细胞10^6个，以1640完全培养基补齐体积至2 mL，向每孔中加入Anti Mouse CD28单克隆抗体（货号：16-0281-85，eBioscience）2 μL，使其工作浓度为1 μg/mL。向IL-38干预组每孔中加入重组鼠源白细胞介素-38（recombinant murine interleukin-38，rmIL-38）溶液2 μL，使其工作浓度为100 ng/mL，对照组加入等体积含5%海藻糖的PBS溶液，细胞继续培养24 h。

1.2.3 RT-qPCR 将6孔板中的细胞收集至15 mL离心管中，400×*g*，4 ℃离心5 min，弃上清，以1 mL预冷PBS重悬细胞沉淀，再次400×*g*，4 ℃离心5 min，弃上清。按照制造商的说明，使用RNA快速纯化试剂盒提取细胞总RNA，测定RNA浓度与纯度，稀释至200 ng/μL。按照制造商的说明，使用PrimerScrip™ RT Reagent Kit with gDNA Eraser试剂盒对RNA进行逆转录，对生成的互补脱氧核糖核酸（complementary deoxyribonucleic acid，cDNA）浓度进行测定，调整至50 ng/μL。qPCR反应体系中包括TB Green 5 μL，上、下游引物各0.5 μL，cDNA模板4 μL。采用两步法进行扩增，根据扩增的Ct值，按照$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算靶基因的相对表达水平。

1.3 统计学方法

数据统计分析采用GraphPad Prism 10.0软件完成。目标基因的相对表达值以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，符合正态分布且通过方差齐性检验的计量资料采用双尾非配对*t*检验进行2组间比较；不符合正态分布或未通过方差检验的数据则采用Mann-Whitney *U*检验。ARDS组与ICU对照组患者血浆差异代谢产物浓度采用箱式图展示，采用Mann-Whitney *U*检验。检验水准α=0.05。

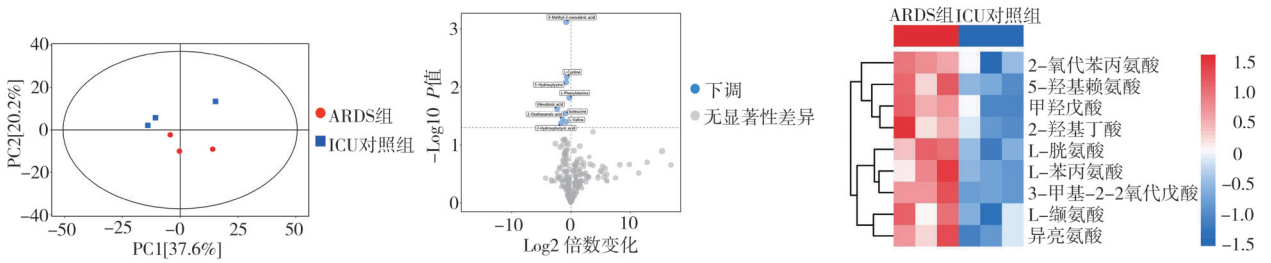
2 结 果

2.1 ARDS患者存在显著氨基酸代谢异常

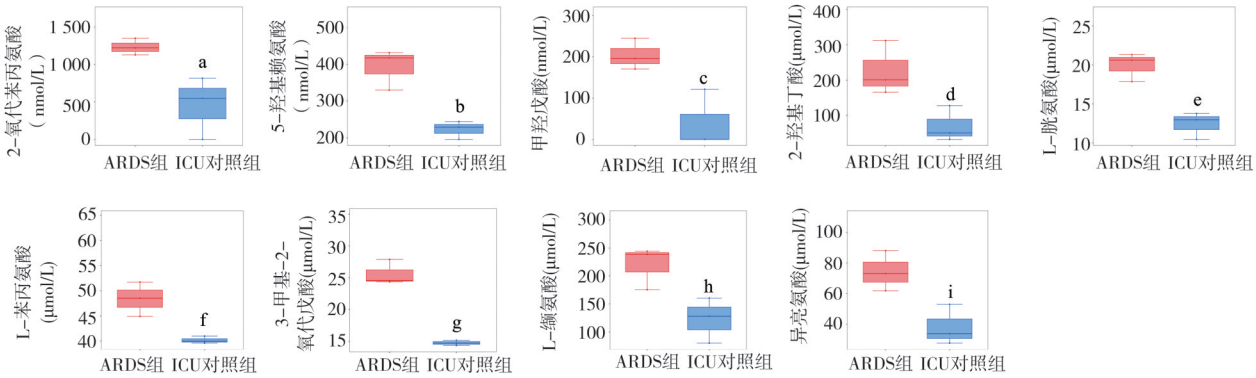
为了明确ARDS病理生理状态下，机体是否存在氨基酸代谢变化，本课题组对募集的3例ARDS与3例ICU对照患者血浆进行高通量氨基酸靶标代谢组学检测。血浆样本中共提取到276种代谢物，对单个代谢物进行过滤并对原始数据进行缺失值模拟后保留243个代谢物，对数据进行主成分分析（principal component analysis，PCA），全部样本的PCA得分散点图见图1A，可以体现样本代谢物种类和含量的总体分布趋势，本研究中样本处于95%置信区间内。根据学生*t*检验的*P*<0.05且正交偏最小二乘判别分析模型（partial least squares discriminant analysis，OPLS-DA）第一主成分的变量投影重要度（variable importance in the projection，VIP）>1为筛选标准，筛选出差异代谢物9个，分别为2-氧代苯丙氨酸、5-羟基赖氨酸、甲羟戊酸、2-羟基丁酸、L-胱氨酸、L-苯丙氨酸、3-甲基-2-氧代戊酸、L-缬氨酸、异亮氨酸。差异代谢物的火山图与层次聚类分析热图见图1B、C。比较这9种差异代谢物的水平，发现在ARDS患者组血浆中上述代谢物浓度均显著高于ICU对照患者（图1D）。京都基因与基因组百科全书（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG）通路富集分析发现差异代谢物参与氨基酸生物合成/降解、中心碳代谢、蛋白质消化与吸收、铁死亡等通路（图1E）。拓扑分析进一步筛选，发现与差异代谢物相关性最高的关键通路为缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸生物合成/降解，酰胺-转运核糖核酸（transfer ribonucleic acid，tRNA）生物合成、丙酸酯代谢、萜烯类骨架合成、苯丙氨酸代谢、胱氨酸与甲硫氨酸代谢途径（图1F）。

2.2 IL-38调控TCR信号活化的EL4细胞谷氨酰胺代谢酶基因表达水平

谷氨酰胺是T细胞激活后重要的补充代谢底物。为了探究IL-38对TCR信号激活的T细胞谷氨酰胺代谢的调控作用，采用抗CD3/CD28抗体激活EL4细胞，同时给予IL-38蛋白干预24 h，通过RT-qPCR检测谷氨酰胺代谢网络中的调控酶、谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase，*Gpx*）家族、*Jmjd3*、*Tet*家族基因表达水平。本研究发现IL-38可以显著上调溶质载体家族1成员5（solute carrier family 1 member 5，*Slc1a5*）（对照组：1.009±0.139，IL-38干预组：1.568±0.337，*t*=5.319，*P*<0.001）、谷氨酰胺合成酶（glutamine synthetase，*Gs*）（对照组：1.004±0.092，IL-38干预组：1.112±0.151，*t*=2.118，*P*=0.046）、谷氨酸脱氢酶1（glutamate dehydrogenase 1，*Glud1*）（对照组：1.003±0.085，IL-38干预组：1.121±0.177，*t*=2.077，*P*=0.005）、谷胱甘肽还原酶（glutathione reductase，*Gsr*）（对照组：1.005±0.099，IL-38干预组：1.130±0.113，*U*=30，*P*=0.015）、谷氨酸-半胱氨酸连接酶调节亚基（glutamate-cysteine ligase modifier subunit，*Gclm*）（对

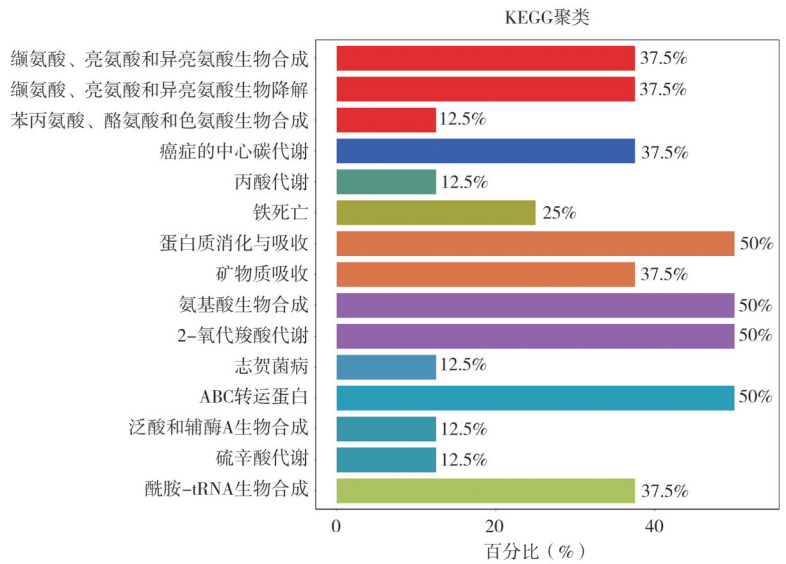


A. 全部样本的PCA得分散点图（n=3）　B. 差异代谢产物的火山图　C. 差异代谢产物层次聚类分析热图

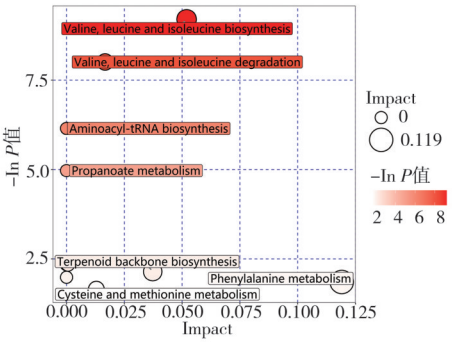


注：a，与ARDS组相比，P=0.035；b，与ARDS组相比，P=0.008；c，与ARDS组相比，P=0.024；d，与ARDS组相比，P=0.042；e，与ARDS组相比，P=0.007；f，与ARDS组相比，P=0.015；g，与ARDS组相比，P<0.001；h，与ARDS组相比，P=0.040；i，与ARDS组相比，P=0.028

D. 差异代谢产物浓度箱式图（n=3）



E. 差异代谢产物的KEGG通路聚类分析



注：valine，leucine and isoleucine biosynthesis，缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成途径；valine，leucine and isoleucine degradation，缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物降解途径；Aminoacy-tRNA biosynthesis，酰胺-tRNA生物合成途径；propanonate metabolism，丙酸代谢途径；terpenoid backbone biosynthesis，萜类化合物骨架生物合成途径；phenylalanine metabolism，苯丙氨酸代谢途径；cysteine and methionine metabolism，胱氨酸和甲硫氨酸代谢途径

F.与差异代谢产物相关性最高的代谢通路分析

图1　ARDS患者存在显著氨基酸代谢异常

照组：1.002 ± 0.071，IL-38干预组：1.108 ± 0.160，t=2.091，P=0.048）、谷胱甘肽合成酶（glutathione synthetase，*Gss*）（对照组：1.001 ± 0.052，IL-38干预组：1.128 ± 0.091，t=4.190，P<0.001）、异柠檬酸脱氢酶1（isocitrate dehydrogenase 1，*Idh1*）（对照组：1.006 ± 0.113，IL-38干预组：1.122 ± 0.130，t=2.324，P=0.030）、*Gpx4*（对照组：1.004 ± 0.096，IL-38干预组：1.140 ± 0.173，t=2.372，P=0.027）、*Tet1*（对照组：1.006 ± 0.114，IL-38干预组：1.192 ± 0.228，t=2.531，P=0.019）的mRNA相对表达水平，IL-38干预显著下调*Gpx1*的mRNA表达水平（对照组：1.001 ± 0.046，IL-38干预组：0.928 ± 0.090，t=2.528，P=0.019），但不影响*Gls*（对照组：1.015 ± 0.186，IL-38干预组：1.180 ± 0.294，U=43，P=0.101）、*Gls2*（对照组：

1.005 ± 0.103，IL-38干预组：1.092 ± 0.137，t=1.766，P=0.091）、谷氨酸-半胱氨酸连接酶催化亚基（glutamate-cysteine ligase catalytic subunit，*Gclc*）（对照组：1.006 ± 0.116，IL-38干预组：1.079 ± 0.196，t=1.096，P=0.285）、*Idh2*（对照组：1.003 ± 0.089，IL-38干预组：1.069 ± 0.189，t=1.091，P=0.287）、*Gpx2*（对照组：1.002 ± 0.069，IL-38干预组：0.983 ± 0.124，t=0.463，P=0.648）、*Gpx3*（对照组：1.005 ± 0.102，IL-38干预组：0.980 ± 0.236，t=0.335，P=0.741）、*Gpx6*（对照组：1.010 ± 0.144，IL-38干预组：0.941 ± 0.196，t=0.970，P=0.343）、*Jmjd3*（对照组：1.001 ± 0.042，IL-38干预组：0.988 ± 0.207，U=48，P=0.178）、*Tet2*（对照组：1.001 ± 0.042，IL-38干预组：0.952 ± 0.129，t=1.257，P=0.222）、*Tet3*（对照组：1.002 ± 0.058，IL-38干预组：0.995 ± 0.210，U=53，P=0.291）的基因表达，在EL4细胞中未能检测到*Gpx5*、*Gpx7*、*Gpx8*基因表达（图2）。

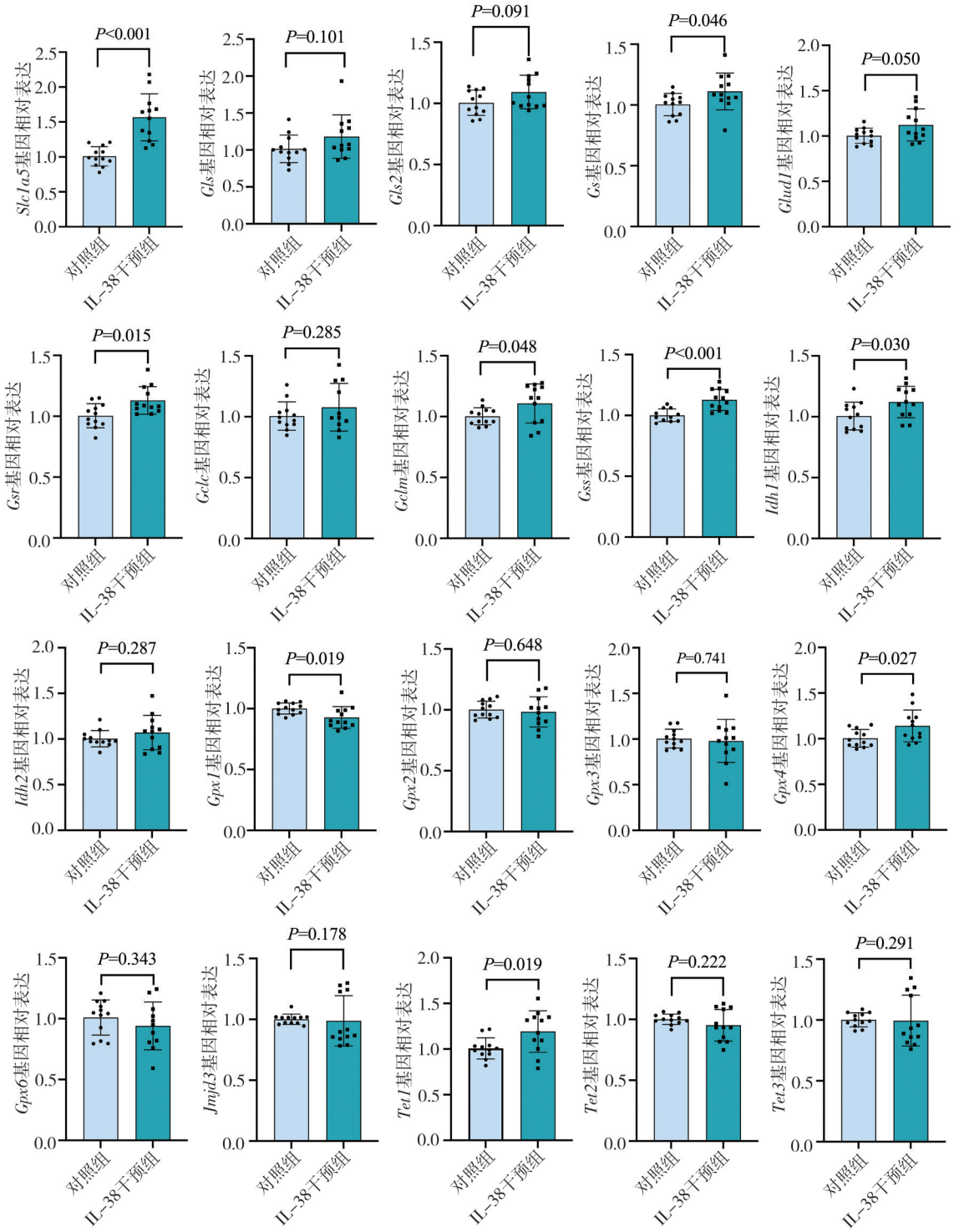


图2　IL-38调控TCR信号活化的EL4细胞谷氨酰胺代谢酶基因表达水平（n=12）

3 讨 论

ARDS是重症医学领域的重要临床综合征，具有高发病率、高死亡率的特点。针对ARDS的诊疗困境主要在于其显著异质性，早期识别效能不足。$CD4^+$T细胞等介导的适应性免疫应答在调控肺部炎症反应中的重要作用日益受到重视，ARDS时异常的炎症-代谢微环境影响免疫细胞代谢重编程与表型重塑，可能是实现ARDS精准免疫调节的潜在靶点。在本研究中，通过高通量血浆靶标代谢组学检测，发现相较于ICU对照，ARDS患者血浆中代谢物种类与浓度存在显著差异。在ARDS组，检测到2-氧代苯丙氨酸、5-羟基赖氨酸、甲羟戊酸、2-羟基丁酸、L-胱氨酸、L-苯丙氨酸、3-甲基-2-氧代戊酸、L-缬氨酸、异亮氨酸等9种差异代谢物，主要涉及氨基酸生物合成/分解代谢途径，表明ARDS时机体存在氨基酸代谢异常。谷氨酰胺作为重要补充代谢途径，在ARDS中呈现“双刃剑”效应，具有显著的疾病时相依赖性。ARDS早期，谷氨酰胺是免疫细胞和肺泡上皮修复的关键底物，是淋巴细胞活化后的重要能量来源。谷氨酰胺代谢生成谷胱甘肽，是清除氧自由基、保护细胞抵抗氧化应激损伤的重要机制。最新研究发现在ARDS后肺纤维化进程中，上调谷氨酰胺酶1（glutaminase 1，GLS1）可促进成纤维细胞谷氨酰胺代谢和胶原蛋白合成，促进肺纤维化，同时谷氨酰胺代谢活性与患者疾病严重程度和死亡风险相关，可作为预后评估指标[15]。对于ARDS患者的谷氨酰胺补充治疗，目前存在“矛盾”效应。部分研究发现预补充谷氨酰胺可以通过激活肺部免疫细胞抗炎通路[16]，维持肠道黏膜完整性、防止细菌移位，切断“二次打击”来源[17]，直接或间接减轻ARDS实验动物模型的急性肺损伤。然而在炎症和损伤建立后抑制谷氨酰胺代谢可加速急性肺损伤（acute lung injury，ALI）的肺组织修复，抑制过度炎症反应[18]。基础研究提示谷氨酰胺对ARDS存在双重作用，但目前仍缺乏高质量临床证据支持谷氨酰胺补充可使ARDS患者获益。因此，进一步阐释谷氨酰胺代谢参与免疫细胞表型重塑与ARDS炎症调控的复杂机制，聚焦代谢重编程的时相特异性，有助于开发ARDS阶段特异性精准免疫干预策略。

IL-38作为IL-1家族新近发现的成员，具有明确的抗炎与免疫调节作用。IL-38可促进$CD4^+CD25^+FOXP3^+$Treg细胞分化，改善脓毒症急性肺损伤与poly（I:C）诱导的肺炎模型[6,19]。目前对于IL-38促进Treg表型重塑的分子机制尚不明确，本研究尝试从代谢重编程的角度，初步探究IL-38调控TCR信号活化的T细胞中谷氨酰胺代谢关键调控酶基因表达的作用。本研究发现rmIL-38干预24 h可显著上调*Slc1a5*、*Gs*、*Glud1*、*Gsr*、*Gclm*、*Gss*、*Idh1*、*Gpx4*、*Tet1*的mRNA相对表达水平。*Slc1a5*基因编码ASCT2蛋白，作为最主要的谷氨酰胺转运体，ASCT2高表达可显著增强细胞对谷氨酰胺的摄取进而为细胞内三羧酸循环、核苷酸合成、谷胱甘肽合成等代谢途径提供关键底物，IL-38增强*Slc1a5*基因表达可能促进活化T细胞对谷氨酰胺的摄取，为下游谷氨酰胺代谢途径提供充足的原料。谷氨酰胺进入细胞后在谷氨酰胺酶（由*Gls*基因编码）催化下生成谷氨酸，该反应是可逆的，谷氨酸可以被谷氨酰胺合成酶（由*Gs*基因编码）催化重新合成谷氨酰胺。谷氨酸进一步被谷氨酸脱氢酶（由*Glud1*基因编码）催化生成α-酮戊二酸进入三羧酸循环参与能量代谢。异柠檬酸脱氢酶（由*Idh*基因编码）催化异柠檬酸代谢也可生成α-酮戊二酸。IL-38增强*Gs*、*Glud1*与*Idh1*基因表达，可能促进线粒体三羧酸循环能量生成以支持活化的免疫细胞强烈的能量需求，同时细胞内消耗的谷氨酰胺可由谷氨酸合成补充。谷氨酰胺代谢产物谷胱甘肽是细胞内重要的抗氧化物质，在谷氨酸-半胱氨酸连接酶的作用下，谷氨酸转变为谷胱甘肽，细胞内存在还原型与氧化型2种形式的谷胱甘肽。还原型谷胱甘肽失去电子被氧化为氧化型谷胱甘肽，这一过程伴随着自由基的清除，谷胱甘肽二硫化物还原酶（由*Gsr*基因编码）及时将氧化的谷胱甘肽二硫化物（glutathione disulfide，GSSG）转化为还原型谷胱甘肽，维持细胞内的氧化还原平衡[20-21]。*Gclc*基因编码谷氨酸-半胱氨酸连接酶催化亚基，*Gclm*编码其修饰亚基，谷氨酸-半胱氨酸连接酶是催化还原型谷胱甘肽（reduced glutathione，GSH）生成的第一步限速酶。谷胱甘肽合成酶（由*Gss*基因编码）则是催化其第二步反应限速酶。IL-38促进*Gsr*、*Gclm*与*Gss*基因表达，提示其可能参与调节谷胱甘肽生成过程，但具体作用及机制需要从蛋白表达及酶活性等层面进一步论证。*Gpx*家族基因编码谷胱甘肽过氧化物酶，是细胞抗氧化系统核心组分。在哺乳动物中*Gpx*家族至少有8个成员，目前对*Gpx4*的研究较多，GPX4蛋白属于膜结合型[22]，参与膜脂质过氧化调控，抑制细胞铁死亡。本研究发现IL-38促进*Gpx4*基因表达，表明IL-38可能增强细胞内基于GPX蛋白的抗氧化能力。谷氨酰胺代谢中间产物α-酮戊二酸作为双加氧酶的辅因子参与DNA去甲基化修饰，维持基因

组低甲基化状态[23]。IL-38上调*Glud1*与*Idh1*基因表达，可能促进细胞内α-酮戊二酸水平，同时IL-38促进*Tet1*表达，本课题组推测IL-38可以通过上述机制参与细胞内表观遗传修饰，然而确切的作用及机制仍待后续研究阐明。

总体而言，IL-38通过系统化调控谷氨酰胺代谢网络中关键酶基因的表达，参与细胞线粒体能量代谢、氧化应激调节与表观遗传修饰，这为后续基于T细胞代谢重编程与表型重塑开发ARDS精准免疫调控策略提供了基础，有助于推动IL-38等抑炎性细胞因子在ARDS等危重症治疗中的临床转化研究。本研究存在一定局限性，目前的实验验证局限于酶基因表达水平。诚然，RT-qPCR作为一种快速、低成本的检测手段可以帮助迅速锁定靶标基因，但是面对TCR信号激活后T细胞内复杂且系统化的代谢模式转变及其背后的生化机制，在未来的研究中必须更加关注酶蛋白与活性的变化与调控机制。同时，ARDS是高度异质性疾病，虽然具有共性病理生理机制，但患者的免疫特征及其对标准化治疗的反应性各不相同。本研究仅纳入3例ARDS患者样本，研究结论不可避免具有一定的局限性，在未来的研究中应当扩大ARDS临床队列，并且考虑从年龄、感染病原体类型与感染来源（肺内感染ARDS与肺外源性ARDS）对患者进行分层，系统描述不同ARDS患者的免疫-代谢特征，尝试构建稳健的预测模型，有助于实现ARDS的精准医疗。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 陈佳伟：研究方案设计、实施研究、数据分析、论文撰写；徐昉：研究方案设计、基金支持、论文修改

参 考 文 献

[1] Xie LH, Huang ZH, Li H, et al. IL-38: a new player in inflammatory autoimmune disorders[J]. Biomolecules, 2019, 9(8): 345.

[2] Boutet MA, Najm A, Bart G, et al. IL-38 overexpression induces anti-inflammatory effects in mice arthritis models and in human macrophages *in vitro*[J]. Ann Rheum Dis, 2017, 76(7): 1304-1312.

[3] Makaremi S, Asgarzadeh A, Kianfar H, et al. The role of IL-1 family of cytokines and receptors in pathogenesis of COVID-19[J]. Inflamm Res, 2022, 71(7/8): 923-947.

[4] Haghshenas MR, Zamir MR, Sadeghi M, et al. Clinical relevance and therapeutic potential of IL-38 in immune and non-immune-related disorders[J]. Eur Cytokine Netw, 2022, 33(3): 54-69.

[5] Xu Y, Zhang X, Liu SS, et al. The role of Interleukin-38 in modulating T cells in chronic Colitis: a mouse model study[J]. Cytokine, 2024, 184: 156769.

[6] Ge Y, Huang M, Wu Y, et al. Interleukin-38 protects against sepsis by augmenting immunosuppressive activity of $CD4^+$ $CD25^+$ regulatory T cells[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(2): 2027-2039.

[7] Ma SC, Ming YN, Wu JX, et al. Cellular metabolism regulates the differentiation and function of T-cell subsets[J]. Cell Mol Immunol, 2024, 21(5): 419-435.

[8] Zhang L, Xu ZY, Li YJ, et al. Glutamine supplementation improves the activity and immunosuppressive action of induced regulatory T cells *in vitro* and *in vivo*[J]. Transpl Immunol, 2024, 84: 102044.

[9] Guo CS, You ZY, Shi H, et al. SLC38A2 and glutamine signalling in cDC1s dictate anti-tumour immunity[J]. Nature, 2023, 620(7972): 200-208.

[10] Leone RD, Zhao L, Englert JM, et al. Glutamine blockade induces divergent metabolic programs to overcome tumor immune evasion[J]. Science, 2019, 366(6468): 1013-1021.

[11] Oliveira GP, de Abreu MG, Pelosi P, et al. Exogenous glutamine in respiratory diseases: myth or reality?[J]. Nutrients, 2016, 8(2): 76.

[12] Bracco D. Glutamine: a double edge sword in the intensive care unit?[J]. Crit Care Med, 2005, 33(11): 2692-2694.

[13] Liu PS, Wang HP, Li XY, et al. α-ketoglutarate orchestrates macrophage activation through metabolic and epigenetic reprogramming[J]. Nat Immunol, 2017, 18(9): 985-994.

[14] Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin definition[J]. JAMA, 2012, 307(23): 2526-2533.

[15] Chen MT, Meng XX, Zhu Y, et al. Cathepsin K aggravates pulmonary fibrosis through promoting fibroblast glutamine metabolism and collagen synthesis[J]. Adv Sci, 2025, 12(34): e13017.

[16] Yue LX, Yan YH. Metabolic regulation in acute respiratory distress syndrome: implications for inflammation and oxidative stress[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2025, 20: 373-388.

[17] Zhang DW, Lu JL, Dong BY, et al. Gut microbiota and its metabolic products in acute respiratory distress syndrome[J]. Front Immunol, 2024, 15: 1330021.

[18] Vigeland CL, Beggs HS, Collins SL, et al. Inhibition of glutamine metabolism accelerates resolution of acute lung injury[J]. Physiol Rep, 2019, 7(5): e14019.

[19] Gao X, Chan PKS, Lui GCY, et al. Interleukin-38 ameliorates poly(I:C) induced lung inflammation: therapeutic implications in respiratory viral infections[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(1): 53.

[20] Lapenna D. Glutathione and glutathione-dependent enzymes: from biochemistry to gerontology and successful aging[J]. Ageing Res Rev, 2023, 92: 102066.

[21] Lüersen K, Stegehake D, Daniel J, et al. The glutathione reductase GSR-1 determines stress tolerance and longevity in *Caenorhabditis elegans*[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e60731.

[22] Brigelius-Flohé R, Maiorino M. Glutathione peroxidases[J]. Biochim Biophys Acta BBA Gen Subj, 2013, 1830(5): 3289-3303.

[23] Joshi K, Liu SH, Breslin S J P, et al. Mechanisms that regulate the activities of TET proteins[J]. Cell Mol Life Sci, 2022, 79(7): 363.

（**收稿**：2025-12-25；**修回**：2026-03-31；**录用**：2026-03-31）

（责任编辑：周一青）

本文引用格式：

陈佳伟，徐 昉. IL-38对TCR信号活化后EL4细胞谷氨酰胺代谢网络调控酶基因表达的作用[J]. 重庆医科大学学报，2026，51(6)：784-791.