DOI:10.16016/j.2097-0927.202308112

甲硫氨酸摄入限制对 LPS 诱导急性肺损伤小鼠巨噬细胞的影响及作用机制

廖先建[1],文 静[1],段家翔[1],向伦理[2],杨 贞[1],何青盈[1],甯交琳[1] 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院:麻醉科[1],肾病内科[2]

[摘要] **目的** 探究甲硫氨酸摄入限制(methionine restriction, MR)对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的急性肺损伤(acute lung injury, ALI)小鼠的巨噬细胞的影响及其作用机制。**方法** 将 36 只体质量为(23±2) g 的雄性 C57BL/6J 小鼠(6~8 周龄)按随机数字表法分为 3 组(n=12):Sham 组、LPS 组和 LPS+MR 组。对各组小鼠的肺组织行 HE 染色和肺损伤病理评分。采用 RT-qPCR 和 Western blot 检测肺组织中脂多糖结合蛋白(lipopolysaccharide binding protein,LBP)和 Toll 样受体-4(Toll-like receptor-4, TLR4)mRNA 和蛋白的表达水平;利用免疫组化技术对各组肺组织巨噬细胞的浸润情况及其相关趋化因子巨噬细胞集落刺激因子(macrophage-colony stimulating factor,M-CSF)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage-colony stimulating factor, GM-CSF)和 C-C 基序趋化因子配体 3(chemokine C-C motif ligand 3, CCL3)的表达水平进行分析。**结果** 与 Sham 组小鼠比较,LPS 组小鼠肺组织损伤的病理评分显著升高(P<0.01)。LBP 和 TLR4 的 mRNA 和蛋白表达均显著增加; CD11b 和 F4/80 阳性细胞的数量增加,肺间质和肺泡巨噬细胞浸润明显;M-CSF、GM-CSF 和 CCL3 的阳性细胞数量显著升高(P 均<0.01)。MR 可以显著改善 LPS 诱导的 ALI,降低 LPS 组小鼠肺损伤病理评分(P<0.01);MR 可以减少 ALI 小鼠肺组织 LBP 和 TLR4 mRNA 和蛋白的表达(P<0.01);与 LPS 组小鼠相比较,LPS+MR 组小鼠肺组织 CD11b、F4/80M-CSF、GM-CSF 和 CCL3 阳性细胞数量显著降低(P<0.01)。**结论** MR 可通过抑制巨噬细胞趋化因子的表达、进而减少巨噬细胞浸润和活化、减轻 LPS 诱导的肺损伤。

[关键词] 急性肺损伤;巨噬细胞;甲硫氨酸摄入限制;趋化因子;脂多糖
[中图法分类号] R392.12; R563; R977.4 [文献标志码] A

Effects and mechanism of methionine restriction on macrophage for lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice

LIAO Xianjian[1], WEN Jing[1], DUAN Jiaxiang[1], XIANG Lunli[2], YANG Zhen[1], HE Qingying[1], NING Jiaolin[1]
[1]Department of Anaesthesiology, [2]Department of Nephrology, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effects of methionine restriction (MR) on macrophages in lipopolysaccharide (LPS)-induced acute lung injury (ALI) and to explore the underlying mechanism. **Methods** According to the random number table method, 36 male C57BL/6J mice (6~8 weeks old, 23±2 g) were divided into 3 groups with 12 mice in each group: the sham group, the LPS group and the LPS+MR group. HE staining and pathological scoring of lung injury were performed in lung tissues. The expression of LPS-binding protein (LBP) and Toll-like receptor-4 (TLR4) was detected by RT-qPCR and Western blotting. Macrophage-colony stimulating factor (M-CSF), granulocyte-macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) and chemokine C-C motif ligand 3(CCL3) which are all macrophage-associated chemokines were analyzed by immunohistochemistry. **Results** Compared with the sham group, the pathological score of lung

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82270095)
[通信作者] 甯交琳,E-mail:njiaolin1976@126.com

2097-0927/Copyright © 2024, 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/)

injury in the LPS group was significantly increased ($P<0.01$); The mRNA and protein expression levels of LBP and TLR4 were significantly increased; The number of positive cells of CD11b, F4/80, M-CSF, GM-CSF and CCL3 were significantly increased ($P<0.01$). MR significantly improved LPS-induced ALI, and decreased the pathological score of lung injury ($P<0.01$); The mRNA and protein expression levels of LBP and TLR4 were decreased; Compared with the LPS group, the number of positive cells of CD11b, F4/80, M-CSF, GM-CSF and CCL3 were reduced in the LPS+MR group ($P<0.01$). **Conclusion** MR could attenuate LPS-induced ALI by inhibiting the expression of macrophage chemokines and preventing infiltration and activation of macrophage to lungs.

[**Key words**] acute lung injury; macrophage; methionine restriction; chemokines; lipopolysaccharide

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China(82270095). Corresponding author: NING Jiaolin, E-mail: njiaolin1976@126.com

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是由多种直接或间接致病因素(如感染、创伤、烧伤和输血等)引发的以炎症细胞浸润、肺毛细血管内皮细胞-肺泡上皮细胞屏障受损和肺毛细血管通透性增加为主要病理特征的临床综合征,临床表现为顽固性的低氧血症和进行性的呼吸窘迫[1]。ALI 是临床上脓毒症患者常见的并发症,发生率为 68.2 %,即使随着机械通气模式的改进、广谱抗生素和体外膜肺的应用,合并 ALI 的脓毒症患者 90 d 的病死率仍高达 35.5 %,而急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)是其死亡的重要原因[2-3]。因此,寻找有效的 ALI 干预措施仍然是目前重症医学亟待解决的问题。甲硫氨酸摄入限制(methionine restriction, MR)是近年来研究较多的饮食限制方案之一,它除了可以延缓衰老、延长寿命以及降低代谢相关性疾病的发生外,还可以显著减轻肾脏缺血再灌注引起的心肌损伤,促进急性结肠炎和急性肾损伤等疾病的恢复[4-6]。本课题组前期研究发现,MR 可降低脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的 ALI 小鼠死亡率,并可通过胱硫醚-γ 裂解酶(cystathionine-gamma-lyase, CSE)/硫化氢(hydrogen sulfide, H_2S)通路减轻 LPS 引起的肺泡上皮损伤[7]。巨噬细胞在 LPS 诱导的 ALI 发生发展中具有至关重要的作用,然而目前尚不清楚 MR 对 LPS 诱导的 ALI 中的巨噬细胞的影响及其作用机制,本研究将观察 MR 对 LPS 诱导 ALI 小鼠模型中肺巨噬细胞的影响,并探索相关调控机制,为 ALI 的临床治疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 动物模型及分组

36 只 6~8 周龄(体质量 20~25 g)雄性 C57BL/6J 小鼠购自湖南 SJA 实验动物有限公司,饲养于陆军军医大学实验动物中心。建模前先给予小鼠 1 周的适应时间,饲养环境温度为(23±1) ℃,湿度为(55±10)%,每天暴露于自然光照下 12 h,自由摄食饮水。所有实验步骤符合实验动物伦理,并由陆军军医大学实验动物福利伦理委员会批准(AMUWEC20224012)。为避免在模型建立期间因小鼠反流误吸而导致的肺损伤加重或死亡,小鼠在建模前 8 h 予以禁食禁饮。采用改良的非暴露冷光源气管滴注法构建 LPS 诱导的小鼠 ALI 模型[7]。采用随机数字表法将小鼠分为 3 组,Sham 组($n=12$):全程给予正常饮食(甲硫氨酸含量 0.86%),小鼠肺内按照改良的非暴露冷光源气管滴注法注入 100 μL 生理盐水;LPS 组($n=12$):全程给予正常饮食(甲硫氨酸含量 0.86%),采用改良的非暴露冷光源气管滴注法将 100 μL 的 LPS 溶液滴入气管内(LPS 剂量为 15 mg/kg)建立小鼠 ALI 模型;LPS+MR 组($n=12$):建立小鼠 ALI 模型前 7 d 给予限制蛋氨酸饮食(甲硫氨酸含量 0.43%)持续至取材时间。前期研究发现,建立 LPS 诱导的 ALI 小鼠模型的第 3 天,小鼠肺组织出现典型的炎症细胞浸润和血气屏障通透性增高等特征性病理改变,因此本研究所有小鼠均在建模后第 3 天取材。

1.2 肺 HE 染色和肺损伤病理评分

给予小鼠 LPS 后第 3 天,将小鼠麻醉并经左心室进行 PBS 溶液灌注,取其右侧肺组织置于 4% 多聚甲醛固定后,进行石蜡包埋切片和 HE 染色。每组小鼠样本量为 12 只,采用 CellSens 软件对 HE 染色的肺组织切片进行拍照,并按照本课题组前期的方法进行肺损伤评分,即采用单盲法由 1 名对切片编号不知情的研究者根据出血、水肿、炎症细胞浸润和肺不张 4 个方面对肺损伤情况进行病理评分[8]。每 1 项的分数范围为 0(无)~4(非常严重)分,具体如下:无损伤为 0 分;病变范围<25%为 1 分;25%≤病变范围<50%为 2 分;50%≤病变范围<75%为 3 分;病变范围≥75%为 4 分。

1.3 免疫组化染色及其表达量分析

对巨噬细胞集落刺激因子(macrophage-colony

stimulating factor, M-CSF)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocytemacrophage-colony stimulating factor, GM-CSF)和 C-C 基序趋化因子配体 3(Chemokine C-C motif ligand 3, CCL3)这 3 个巨噬细胞趋化因子进行免疫组化染色。其具体步骤如下:首先将肺组织石蜡切片经过 65 ℃恒温烤箱中烘烤、二甲苯溶液中浸泡、不同浓度乙醇脱水、蒸馏水清洗后,依次加入抗原修复液、10%山羊血清封闭后,加入一抗置于 4 ℃孵育过夜、PBS 溶液清洗后、滴加相应 HRP 标记的二抗,37 ℃恒温孵育 60 min、PBS 溶液清洗后滴加 DAB 显色,后滴加中性树胶进行封片。封片后置于室温晾干 24 h,显微镜拍照。每个分组选择 5 张来自不同小鼠的切片,每张切片在 40 倍物镜下随机选择 5 个视野拍照,用 ImagePro Plus 软件统计拍摄图片中蛋白的光密度值。F4/80 和 CD11b 蛋白分析:每张图片随机选择 3 个肺泡,统计每个肺泡有阳性表达的细胞数量,取平均值。

1.4 小鼠肺组织的 RT-qPCR 检测

提取肺组织总 RNA,反转录合成 cDNA 后,采用 RT-qPCR 检测肺组织中脂多糖结合蛋白(lipopolysaccharide binding protein,LBP)和 Toll 样受体-4(toll-like receptor 4,TLR4)的 mRNA 表达水平。基因序列如下:*Tlr*4 上游引物为 5′-GCCGTTGGTGTATCTTTG-3′,下游引物为 5′-GCTGTTTGCTCAGGATTC-3′;*Lbp* 上游引物为 5′-GTGAACCTGTTCCAGGCATT-3′,下游引物为 5′-AGTCGAGGTCGTGGAGCTTA-3′;*Gapdh* 上游引物为 5′-AGGTCGGTGTGAACGGATTTG-3′,下游引物为 5′-TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA-3′。实验重复 3 次。

1.5 小鼠肺组织的 Western blot 检测

将小鼠的肺组织用 4 ℃预冷的 PBS 洗涤 3 次,然后置于冰上并加入 RIPA 裂解液进行裂解 30 min。4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min 后,取上清获得总蛋白,用 BCA 法进行蛋白定量。接着按 1∶4 比例向总蛋白溶液中加入 5×蛋白上样缓冲液,沸水浴中加热变性 5 min;十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)进行电泳以分离蛋白条带并转膜,5% 脱脂牛奶室温下封闭 2 h 后,分别加入一抗 LBP(1∶1 000)、TLR4(1∶500)和 GAPDH(1∶1 000)后,4 ℃摇床孵育过夜;经 TBST 清洗 3 次,每次 5 min,再用 HRP 标记的山羊抗兔二抗(1∶5 000)室温摇床孵育 1 h;再次 TBST 清洗 3 次,每次 5 min。最后将膜在暗室中均匀加入混匀的 ECL 发光液,用凝胶成像仪进行曝光拍照。Image J 软件检测蛋白条带的灰度值,以目标蛋白与内参 GAPDH 的比值作为目标蛋白的相对含量。

1.6 统计学分析

实验数据采用 GraphPad 8.0 软件进行统计分析。正态分布计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,若方差齐,采用 one-way 单因素方差分析检验;若方差不齐,采用 Brown-Forsythe 和 Welch 校正的单因素方差分析检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MR 对 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺组织的病理学变化的影响

MR 对 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺组织病理改变如图 1 所示,与 Sham 组小鼠比较,LPS 组小鼠的肺组织出现明显的出血、炎症细胞浸润、肺间质和肺泡水肿、肺间隔断裂等表现,肺组织损伤的病理评分显著升高(2.00±0.85 *vs* 13.50±3.12, $P<0.01$);与 LPS 组小鼠比较,MR 可显著改善 LPS 组小鼠的肺损伤,出血区域显著减少,炎症细胞浸润减少,肺不张及肺水肿减轻,肺组织病理评分显著降低(13.50±3.12 *vs* 5.42±1.73, $P<0.01$)。

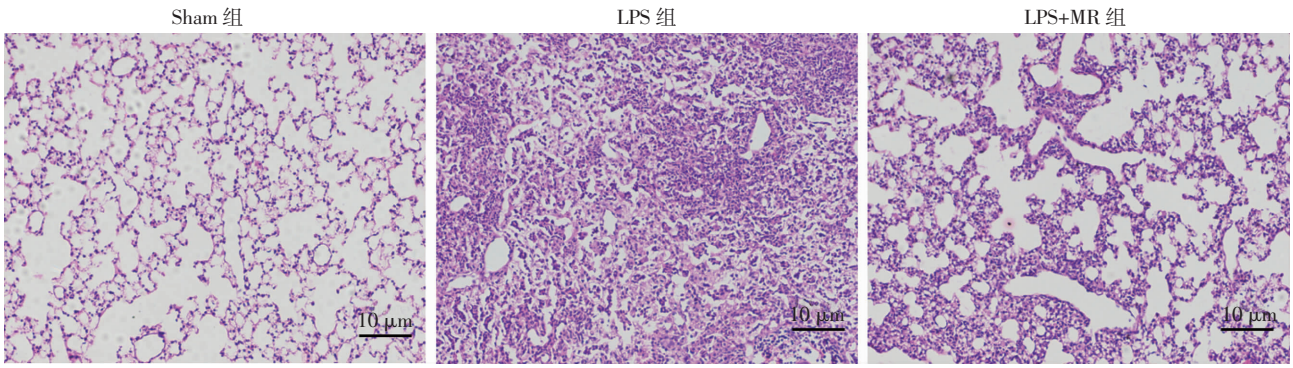


图 1 MR 后 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺组织的 HE 染色观察

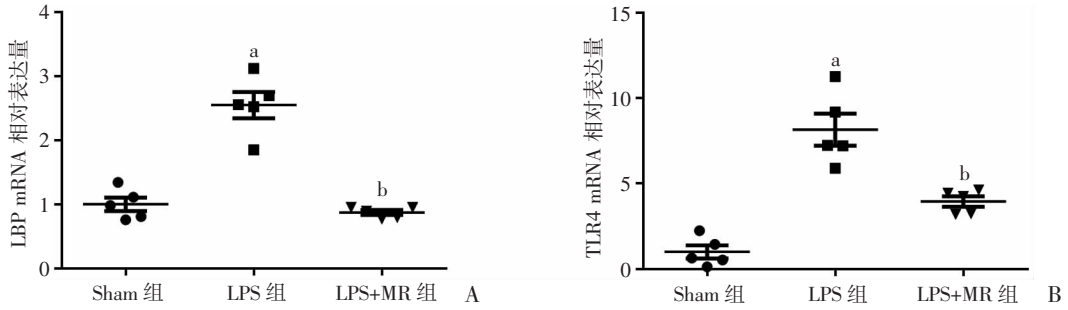
2.2 MR 对 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺组织的 LBP 和 TLR4 的影响

与 Sham 组比较,LPS 组小鼠的肺组织 LBP 和 TLR4 mRNA 表达显著增加,而 MR 处理可显著降低 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺组织 LBP 和 TLR4 mRNA 表达水平($P<0.01$,图 2)。与 Sham 组比较,LPS 组小鼠的肺组织 LBP 和 TLR4 蛋白表达显著增加,而 MR 处理可显著降低 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺组织 LBP 和 TLR4 蛋白表达水平($P<0.01$,图 3)。

2.3 MR 对 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺组织的巨噬细胞及其相关趋化因子的影响

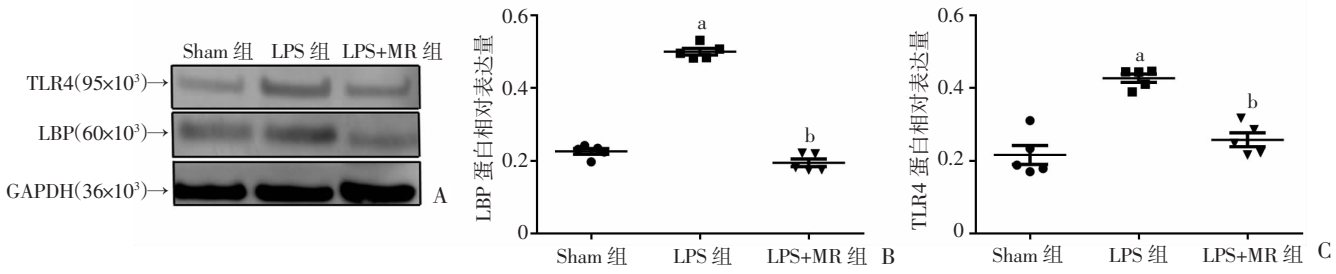
采用 CD11b 和 F4/80 标记巨噬细胞,图 4A 中红色箭头所指处为 CD11b 或 F4/80 阳性细胞,与 Sham 组比较,LPS 诱导的 ALI 小鼠的 CD11b(图 4B)和 F4/80(图 4C)阳性细胞数显著增加,肺间质和肺泡巨噬细胞浸润明显,而 MR 处理组 ALI 小鼠 CD11b(图 4B)和 F4/80(图 4C)阳性细胞数显著降低,肺间质和肺泡巨噬细胞浸润显著减少。

M-CSF 是巨噬细胞存活、增殖和分化的主要调节因子,粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 GM-CSF 是诱导造血干细胞分化成巨噬细胞或其他相关细胞类型的分泌型细胞因子。图 5A 中红色箭头所指处为 M-CSF 或 GM-CSF 阳性细胞。与 Sham 组小鼠比较,LPS 诱导的 ALI 小鼠肺组织 M-CSF(图 5B)和 GM-CSF(图 5C)阳性细胞明显增多,且主要定位与于肺间质和肺泡内,而 MR 预处理后肺间质和肺泡 M-CSF(图 5B)和 GM-CSF(图 5C)的阳性细胞显著减少。CCL3 又名巨噬细胞炎性蛋白 1-α(Macrophage inflammatory protein 1α,MIP-1α),是一种重要的趋化因子,能够特异性的趋化单核细胞/巨噬细胞到达受损组织。如图 6 所示,与 Sham 组小鼠比较,LPS 诱导的 ALI 小鼠的肺组织 CCL3 阳性细胞明显增多(10.29 ± 2.63 *vs* 41.54 ± 16.41),主要聚集在肺间质和肺泡中,而 MR 处理可显著减少肺间质和肺泡 CCL3 阳性细胞数量(41.54 ± 16.41 *vs* 28.38 ± 10.42, $P<0.01$)。



a: $P<0.01$, 与 Sham 组比较;b: $P<0.01$,与 LPS 组比较

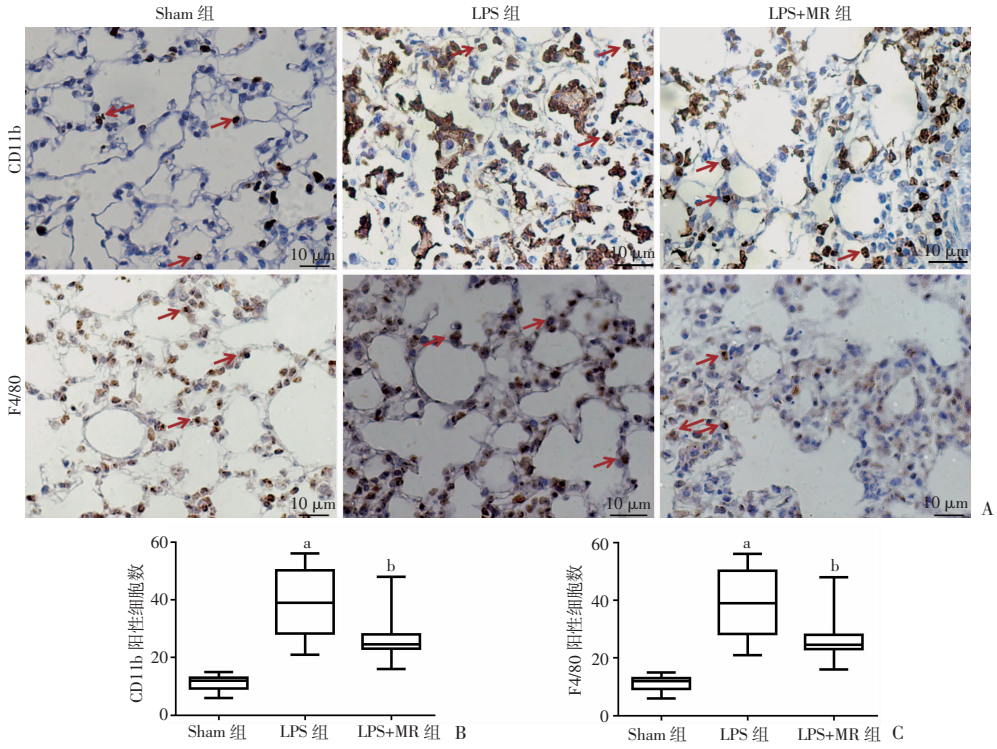
图 2 MR 对 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺 LBP(A)和 TLR4(B)的 mRNA 表达的影响($n=5$,$\bar{x}\pm s$)



a: $P<0.01$, 与 Sham 组比较;b: $P<0.01$,与 LPS 组比较

A:Western blot 检测 MR 后 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺 LBP 和 TLR4 蛋白的表达;B:MR 后 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺 LBP 蛋白表达量变化的比较;C:MR 后 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺 TLR4 蛋白表达量变化的比较

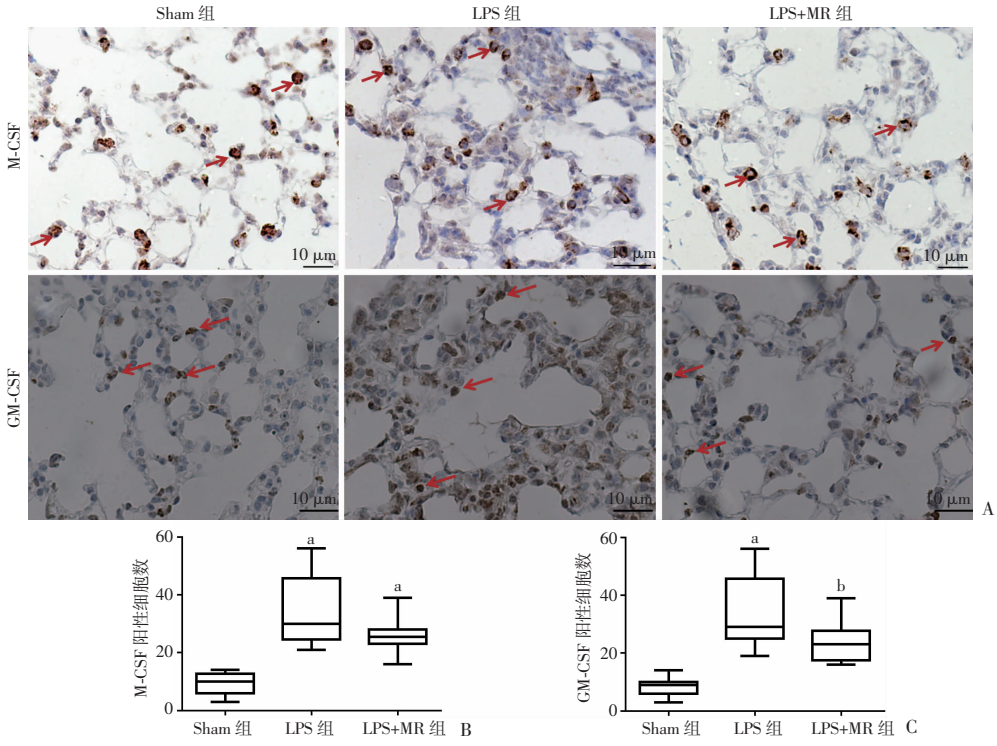
图 3 MR 对 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺 LBP 和 TLR4 蛋白表达的影响($n=5$,$\bar{x}\pm s$)



a: $P<0.01$, 与 Sham 组比较;b: $P<0.01$,与 LPS 组比较

A:MR 对 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺 CD11b 和 F4/80 阳性细胞数量的影响 箭头:示 CD11b 或 F4/80 阳性细胞;B:MR 后 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺 CD11b 阳性细胞数量变化的比较;C:MR 后 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺 F4/80 阳性数量变化的比较

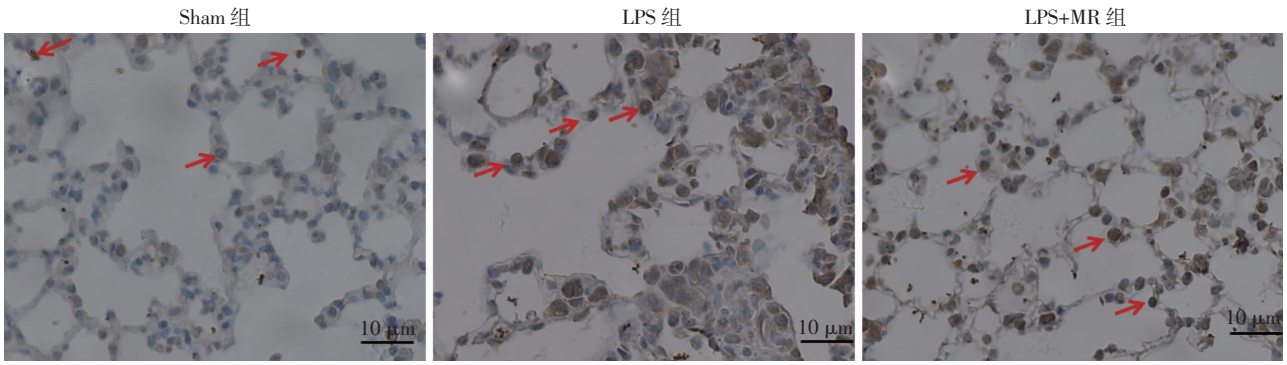
图 4 MR 对 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺巨噬细胞浸润的影响($n=5$,$\bar{x}\pm s$)



a: $P<0.01$, 与 Sham 组比较;b: $P<0.01$,与 LPS 组比较

A:MR 对 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺 M-CSF 和 GM-CSF 表达的影响 箭头:示 M-CSF 或 GM-CSF 阳性细胞;B:MR 后 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺 M-CSF 阳性细胞数量变化的比较;C:MR 后 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺 GM-CSF 阳性数量变化的比较

图 5 MR 对 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺 M-CSF 和 GM-CSF 表达的影响($n=5$,$\bar{x}\pm s$)



箭头:示 CCL3 阳性细胞

图 6 MR 对 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺 CCL3 表达的影响

3 讨论

ALI 常见的病因分为感染性和非感染性 2 大类,其中革兰氏阴性杆菌是引起 ALI/ARDS 最常见的原因。肺泡巨噬细胞(alveolar macrophage, AM)作为先天免疫系统中最重要的细胞,参与 ALI 炎症反应发生发展的全过程[9-11]。有大量研究表明 MR 可诱导自噬、减少线粒体中活性氧和增加 H_2S 产生,降低氧化应激水平,从而发挥机体保护的作用[12-14]。本研究发现 MR 可显著抑制 LPS 诱导的巨噬细胞在肺泡聚集及浸润,减少 ALI 小鼠肺组织 LBP 和 TLR4 表达,并降低巨噬细胞相关趋化因子 M-CSF、GM-CSF 和 CCL3 的表达,从而减轻 LPS 诱导的肺组织损害。

LBP 是存在于正常人和动物血清中的一种糖蛋白,主要由肝细胞合成,因其与 LPS 结合而命名。LBP 是诊断脓毒症的标志物,脓毒症时,患者血浆 LBP 可显著增高[15]。TLR4 是目前研究最多的免疫炎性模式识别受体之一,TLR4 在进化上高度保守,属于Ⅰ型跨膜蛋白,由富含亮氨酸的胞外 N 端结构域、跨膜区域和胞内 C 端结构域构成。胞外 N 端结构域能够识别 LPS 而启动炎症反应。LPS 进入肺组织后首先被炎症细胞表达的 TLR4 感知。一方面,TLR4 通过识别 LPS,通过髓样分化因子(myeloid differentiation factor, MyD88)依赖性途径激活核因子 κB(nuclear factor kappa-B, NF-κB)和丝裂原活化蛋白(mitogen-activated protein, MAP)激酶信号通路的核转位,最终导致诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)和多种促炎细胞因子、趋化因子及其受体的快速表达,启动/放大炎症反应;另一方面,LPS 在肺损伤的急性渗出期会诱导未分化 AM 极化为 M1 型,M1 型 AM 可产生多种炎症因子和趋化因子,招募更多的单核/巨噬细胞和中性粒细胞等炎症细胞到肺组织,使得肺部炎症反应不断放大,加重肺组织的损伤[16-17]。本研究首先发现 MR 干预后 LPS 小鼠 TLR4 和 LBP 的基因和蛋白表达显著降低,说明 MR 干预后可减少 TLR4、LBP 与 LPS 的结合,从而降低机体对 LPS 的敏感性,减轻巨噬细胞的激活和浸润。此外,本研究还发现 MR 干预后 LPS 小鼠肺巨噬细胞相关趋化因子 M-CSF、GM-CSF 和 CCL3 的表达显著下降。M-CSF、GM-CSF 和 CCL3 这些趋化因子在单核/巨噬细胞的募集、浸润和活化过程中发挥至关重要的调控作用[18-22]。M-CSF 是巨噬细胞存活、增殖和分化的主要调节因子,启动并增强巨噬细胞释放细胞因子和其他炎症介质,增强巨噬细胞的吞噬作用[18]。GM-CSF 在激活免疫反应中起重要作用,主要促进粒细胞、巨噬细胞增殖还能增加 TNF、IL-1、IL-6 等炎症因子的表达,促进炎症反应[21]。CCL3 是巨噬细胞经 LPS 诱导后在巨噬细胞培养上清液中发现的、相对分子量约为 8 kDa 的 2 个肽链组成的细胞因子,在炎症放大的病理生理过程中具有重要的作用[20-22]。本课题组前期研究已报道,MR 可以上调 LPS 诱导的 ALI 小鼠体内的 H_2S 水平[7]。H_2S 可促进巨噬细胞极化为 M2 表型增多,其中 M1 型巨噬细胞是促炎细胞,而 M2 型巨噬细胞是抗炎细胞,从而导致巨噬细胞产生的炎症因子和趋化因子减少,进而减少各种炎症细胞的招募和浸润,减轻组织损伤[23-24]。

综上所述,MR 可以通过减少 LBP 和 TLR4 的表达,抑制 LPS 诱导的趋化因子 M-CSF、GM-CSF 和 CCL3 的表达,抑制巨噬细胞的浸润和活化,进而减轻肺损伤。

参考文献:

[1] HUGHES K T, BEASLEY M B. Pulmonary manifestations of acute lung injury: more than just diffuse alveolar damage[J]. Arch Pathol Lab Med, 2017, 141(7): 916-922. DOI: 10.5858/arpa.2016-0342-RA.

[2] MARK-CHRISTENSEN A, KJÆR M D, GANESALINGAM S, *et al*. Increasing incidence of pelvic sepsis following ileal pouch-anal anastomosis for ulcerative colitis in Denmark: a

nationwide cohort study[J]. Dis Colon Rectum, 2019, 62(8): 965-971. DOI: 10.1097/DCR.0000000000001404.

[3] XIE J F, WANG H L, KANG Y, *et al*. The epidemiology of sepsis in Chinese ICUs: a national cross-sectional survey[J]. Crit Care Med, 2020, 48(3): e209-e218. DOI: 10.1097/CCM.0000000000004155.

[4] PAN Y Y, FU M H, CHEN X H, *et al*. Dietary methionine restriction attenuates renal ischaemia/reperfusion-induced myocardial injury by activating the CSE/H_2S/ERS pathway in diabetic mice[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(17): 9890-9897. DOI: 10.1111/jcmm.15578.

[5] LIU G, YU L, FANG J, *et al*. Methionine restriction on oxidative stress and immune response in DSS-induced colitis mice[J]. Oncotarget, 2017, 8(27): 44511-44520. DOI: 10.18632/oncotarget.17812.

[6] COOKE D, OUATTARA A, ABLES G P. Dietary methionine restriction modulates renal response and attenuates kidney injury in mice[J]. FASEB J, 2018, 32(2): 693-702. DOI: 10.1096/fj.201700419r.

[7] DUAN J X, XIANG L L, YANG Z, *et al*. Methionine restriction prevents lipopolysaccharide-induced acute lung injury via modulating CSE/H_2S pathway[J]. Nutrients, 2022, 14(2): 322. DOI: 10.3390/nu14020322.

[8] DUAN J X, YANG Z, HUANG J, *et al*. Inhibition of tyrosine kinases protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury by preventing nuclear export of Nrf2[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(8): 12331-12339. DOI: 10.1002/jcb.28497.

[9] CHEN X X, TANG J, SHUAI W Z, *et al*. Macrophage polarization and its role in the pathogenesis of acute lung injury/acute respiratory distress syndrome[J]. Inflamm Res, 2020, 69(9): 883-895. DOI: 10.1007/s00011-020-01378-2.

[10] BELCHAMBER K B R, DONNELLY L E. Macrophage dysfunction in respiratory disease[J]. Results Probl Cell Differ, 2017, 62: 299-313. DOI: 10.1007/978-3-319-54090-0_12.

[11] LEE J W, CHUN W, LEE H J, *et al*. The role of macrophages in the development of acute and chronic inflammatory lung diseases[J]. Cells, 2021, 10(4): 897. DOI: 10.3390/cells10040897.

[12] TAMANNA N, KROEKER K, BRAUN K, *et al*. The effect of short-term methionine restriction on glutathione synthetic capacity and antioxidant responses at the whole tissue and mitochondrial level in the rat liver[J]. Exp Gerontol, 2019, 127: 110712. DOI: 10.1016/j.exger.2019.110712.

[13] MARTÍNEZ Y, LI X, LIU G, *et al*. The role of methionine on metabolism, oxidative stress, and diseases[J]. Amino Acids, 2017, 49(12): 2091-2098. DOI: 10.1007/s00726-017-2494-2.

[14] YANG Y H, ZHANG Y H, XU Y C, *et al*. Dietary methionine restriction improves the gut microbiota and reduces intestinal permeability and inflammation in high-fat-fed mice[J]. Food Funct, 2019, 10(9): 5952-5968. DOI: 10.1039/c9fo00766k.

[15] 焦京, 蒋宇, 高敏, 等. 脂多糖结合蛋白在脓毒症患者诊断和预后预测中的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2015, 31(7): 1294-1299. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2015.07.025.
JIAO J, JIANG Y, GAO M, *et al*. Measurement of serum lipopolysaccharide binding protein for diagnosis and prognosis prediction in septic patients[J]. Chin J Pathophysiol, 2015, 31(7): 1294-1299. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2015.07.025.

[16] LI X, HUANG R, LIU K, *et al*. Fucoxanthin attenuates LPS-induced acute lung injury *via* inhibition of the TLR4/MyD88 signaling axis[J]. Aging (Albany NY), 2020, 13(2): 2655-2667. DOI: 10.18632/aging.202309.

[17] 司徒杰, 曾诚. 腺花素对急性肺损伤模型小鼠的保护作用及其机制[J]. 医药导报, 2022, 41(9): 1289-1296. DOI: 10.3870/j.issn.1004-0781.2022.09.007.
SITU J, ZENG C. Effects and mechanism of adenanthin on acute lung injury model in mice[J]. Her Med, 2022, 41(9): 1289-1296. DOI: 10.3870/j.issn.1004-0781.2022.09.007.

[18] SHI T, DENNEY L, AN H Z, *et al*. Alveolar and lung interstitial macrophages: definitions, functions, and roles in lung fibrosis[J]. J Leukoc Biol, 2021, 110(1): 107-114. DOI: 10.1002/jlb.3ru0720-418r.

[19] 陈涛, 欧阳运萍, 李鹏, 等. 脂肪酸结合蛋白5在急性肺损伤中作用机制研究[J]. 创伤与急危重病医学, 2023, 11(3): 165-169. DOI: 10.16048/j.issn.2095-5561.2023.03.05.
CHEN T, OUYANG Y P, LI P, *et al*. Mechanism of fatty acid binding protein 5 in acute lung injury[J]. Trauma Crit Care Med, 2023, 11(3): 165-169. DOI: 10.16048/j.issn.2095-5561.2023.03.05.

[20] HOLLOMAN B L, CANNON A, WILSON K, *et al*. Characterization of chemotaxis-associated gene dysregulation in myeloid cell populations in the lungs during lipopolysaccharide-7mediated acute lung injury[J]. J Immunol, 2023, 210(12): 2016-2028. DOI: 10.4049/jimmunol.2200822.

[21] HAMILTON J A. GM-CSF in inflammation[J]. J Exp Med, 2020, 217(1): e20190945. DOI: 10.1084/jem.20190945.

[22] MAURER M, VON STEBUT E. Macrophage inflammatory protein-1[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2004, 36(10): 1882-1886. DOI: 10.1016/j.biocel.2003.10.019.

[23] MILLS C. M1 and M2 macrophages: oracles of health and disease[J]. Crit Rev Immunol, 2012, 32(6): 463-488. DOI: 10.1615/critrevimmunol.v32.i6.10.

[24] PUSHPAKUMAR S, KUNDU S, WEBER G, *et al*. Exogenous hydrogen sulfide and miR-21 antagonism attenuates macrophage-mediated inflammation in ischemia reperfusion injury of the aged kidney[J]. GeroScience, 2021, 43(3): 1349-1367. DOI: 10.1007/s11357-020-00299-6.

(收稿:2023-08-30;修回:2023-10-18)

(编辑 刘秋池)