基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003694

右美托咪定调控巨噬细胞TLR4/ACOD1免疫代谢偶联减轻小鼠急性肺损伤实验研究

李克锋，徐　昉
（重庆医科大学附属第一医院急诊与重症医学科，重庆　400016）

【摘　要】目的：探究右美托咪定（Dexmedetomidine，DEX）调控巨噬细胞Toll样受体-4（toll-like receptors-4，TLR4）/乌头酸脱羧酶（aconitate decarboxylase 1，ACOD1）免疫代谢偶联对小鼠肺损伤的影响。**方法：**将RAW264.7细胞分为Control、LPS、LPS+DEX 3组，应用Western blot、ELISA实验检测TLR4、ACOD1与促炎细胞因子蛋白表达。将C57 BL/6小鼠分为Control、盲肠结扎穿刺术（cecal ligation and puncture，CLP）、CLP+DEX 3组，实验探究小鼠7 d生存率、肺损伤情况，同时检测肺组织中TLR4、ACOD1表达，以及与肺泡巨噬细胞、外周血中促炎因子蛋白表达情况。随后，在*Acod1*全身性敲除小鼠（*Acod1*$^{-/-}$）中检测CLP+DEX治疗后肺损伤情况与野生型（wild type，WT）小鼠CLP+DEX治疗后的变化。最后提取WT与*Acod1*$^{-/-}$小鼠骨髓来源巨噬细胞（bone marrow-derived macrophages，BMDM），检测巨噬细胞iNOS表达情况。**结果：**LPS刺激RAW264.7后，TLR4、诱导型一氧化氮合酶（inducible nitric oxide synthase，iNOS）、肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor，TNF-α）与白细胞介素（interleukin，IL）-6蛋白表达升高，DEX治疗后降低。体内实验中，DEX治疗降低了CLP诱导的ARDS/ALI模型小鼠7 d死亡率、弥漫性肺泡损伤、肺水肿以及外周血中促炎细胞因子TNF-α与IL-6的表达，还降低了肺组织与肺泡巨噬细胞中iNOS的表达。DEX也降低了CLP小鼠肺组织内TLR4的表达。而*Acod1*基因的敲除逆转了DEX的治疗效果，使肺损伤加重，使BMDM细胞表达iNOS增强。**结论：**右美托咪定可调控巨噬细胞TLR4/ACOD1免疫代谢偶联，降低LPS刺激后的巨噬细胞炎症因子释放，同时减轻小鼠急性肺损伤。

【关键词】急性呼吸窘迫综合征；巨噬细胞；右美托咪定；乌头酸脱羧酶
【中图分类号】R56　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2024-05-14

Dexmedetomidine alleviates acute lung injury in mice by regulating Toll-like receptor 4/aconitate decarboxylase 1 immune metabolism coupling in macrophages: an experimental study

Li Kefeng，Xu Fang
（*Department of Emergency and Critical Care Medicine，The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University*）

【Abstract】*Objective*：To investigate the effect of dexmedetomidine（DEX）on lung injury in mice by regulating Toll-like receptor-4（TLR4）/aconitate decarboxylase 1（ACOD1）immune metabolism coupling in macrophages. ***Methods*：**RAW264.7 cells were divided into control group，LPS group，and LPS+DEX group，and Western blot and ELISA were used to measure the expression levels of TLR4，ACOD1，and proinflammatory cytokines. C57 BL/6 mice were divided into control group，cecal ligation and puncture（CLP）group，and CLP+DEX group，and experiments were conducted to observe the 7-day survival rate and lung injury of mice，as well as the expression levels of TLR4 and ACOD1 in lung tissue and the expression levels of proinflammatory cytokines in alveolar macrophages and peripheral blood. Subsequently，Acod1 systemic knockout（*Acod1*$^{-/-}$）mice were used to observe the condition of lung injury after CLP+DEX treatment and the changes after CLP+DEX treatment in wild-type（WT）mice. Finally，bone marrow-derived macrophages（BMDMs）were extracted from WT and *Acod1*$^{-/-}$ mice to measure the expression level of inducible nitric oxide synthase（iNOS）in macrophages. ***Results*：**After LPS stimulation of RAW264.7 cells，there were increases in the expression levels of TLR4，iNOS，tumor necrosis factor-α（TNF-α），and interleukin-6（IL-6），which were reduced

作者介绍：李克锋，Email：1569723689@qq.com，研究方向：急性呼吸窘迫综合征的发病机制与精准治疗。
通信作者：徐　昉：Email：xufang828@126.com。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20250106.1327.008（2025-01-06）

after DEX treatment. *In vivo* experiments showed that DEX treatment reduced the 7-day mortality rate, diffuse alveolar injury, pulmonary edema, and the expression levels of the proinflammatory cytokines TNF-α and IL-6 in peripheral blood in mice with CLP-induced acute respiratory distress syndrome/acute lung injury, and it also reduced the expression level of iNOS in lung tissue and alveolar macrophages. In addition, DEX reduced the expression level of TLR4 in the lung tissue of CLP mice. Knockout of the *Acod1* gene reversed the therapeutic effect of DEX, aggravated lung injury, and increased the expression of iNOS in BMDMs. ***Conclusion***: Dexmedetomidine can regulate TLR4/ACOD1 immune metabolism coupling in macrophages, reduce the release of inflammatory cytokines in macrophages after LPS stimulation, and alleviate acute lung injury in mice.

【Key words】acute respiratory distress syndrome; macrophages; dexmedetomidine; aconitate decarboxylase 1

急性呼吸窘迫综合征（acute respiratory distress syndrome，ARDS）及其早期阶段急性肺损伤（acute lung injury，ALI）是重症医学科（intensive care unit，ICU）内常见的一种弥漫性肺部炎症及水肿的综合征，主要表现为急性呼吸衰竭，严重时可致患者死亡[1]。明确 ARDS 失控性炎症的病理生理学机制并寻找其可能的治疗靶点对其早期诊断与精准治疗具有重要意义。

ARDS 肺泡微环境中存在复杂失控性炎症调节机制，由巨噬细胞不同表型介导的炎症免疫调控在其中发挥重要作用。作为先天性免疫细胞，静息巨噬细胞（M0）在不同环境下可极化为 2 种不同表型，即具有促炎作用的 M1 型与发挥组织修复与抑炎效应的 M2 型[2]。不同表型的巨噬细胞通过多种途径发挥免疫炎症调节作用。其中，免疫代谢调节已被认为是一种由免疫代谢物在免疫细胞受刺激后激活并反过来调控免疫炎症反应的机制[3]。衣康酸是一种在巨噬细胞中发挥重要功能的免疫代谢物，其生成需要由限速酶乌头酸脱羧酶（aconitate decarboxylase 1，ACOD1）调控[4]。研究发现，ACOD1 在巨噬细胞线粒体内高表达，其功能则主要是通过调控巨噬细胞炎症表型在 ARDS 中抑制炎症反应[5]。ACOD1 表达的常见调节方式是在脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）刺激巨噬细胞后由 Toll 样受体-4（toll-like receptors-4，TLR4）应答并激活 ACOD1 的表达[6]。TLR4 作为 LPS 的特异性识别受体介导其下游炎症细胞信号，发挥促炎作用。巨噬细胞 TLR4/ACOD1 在巨噬细胞中受 LPS 激活后发挥着复杂的促炎-抑炎重叠效应，如何抑制 TLR4 促炎作用并增强 ACOD1 的抑炎效应，可作为减轻 ARDS 肺炎症损伤的一种新思路。

右美托咪定（Dexmedetomidine，DEX）是一种 α 2-肾上腺素受体激动剂，临床上将其应用于镇痛、镇静中。此外，它在多种疾病中发挥的抗炎作用已被认为是具有抗炎潜力的药物[7-8]。也有研究发现，DEX 可通过抑制 TLR4 及其下游通路如核因子 κB（nuclear factor kappa-B，NF-κB）从而降低 LPS 刺激后巨噬细胞的促炎反应，并减轻小鼠肺损伤[9]。因此，本文通过动物与细胞实验探讨了 DEX 通过对巨噬细胞 TLR4/ACOD1 通路的影响在 ARDS 中的潜在作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物来源与饲养

野生型（wild type，WT）C57 BL/6 小鼠来源于重庆医科大学实验动物中心，*Acod1* 全身性敲除小鼠（*Acod1*$^{-/-}$）购买自赛业（苏州）生物科技有限公司。小鼠饲养在无特定病原体（specific pathogen free，SPF）水平的动物屏障设施中，恒温 22 ℃，光照 12 h，黑暗 12 h 环境下提供自由进食与喝水饲养。所有小鼠实验前均在上述条件下饲养 7 d 以适应新环境。本方案经重庆医科大学动物伦理委员会审核通过。

1.2 方法

1.2.1 小鼠基因型鉴定 提取小鼠尾组织 DNA 并进行聚合酶链反应（polymerase chain reaction，PCR）扩增获取 DNA 模板，根据赛业生物提供的动物基因鉴定引物序列（*Acod1*$^{-/-}$，野生型基因：WT-forward：TGTTACAGTCAGAGATGGAGAGG，WT-reverse：TGTGTCAGGTACGGTAATGAGTG；突变型基因：Mut-forward：CTCCAATCTGACACGTCTTCTAG，Mut-reverse：AGAGGAAGATGAAGTGGGAGAATT）进行琼脂糖凝胶电泳实验，测量 WT 小鼠 DNA 模板、ddH_2O 阴性对照、*Acod1*$^{-/-}$小鼠 DNA 模板中对应基因在凝胶成像仪中的表达情况。

1.2.2 实验动物模型构建 取 8~10 周龄的雄性小鼠，吸入异氟烷麻醉小鼠后，取仰卧位，沿腹部中线切开约 1 cm，露

出腹腔，定位盲肠。在距盲肠末端1 cm处结扎，用22号针穿刺，挤出少量肠道内容物，然后将盲肠放回腹腔，小心缝合切口后即为盲肠结扎穿刺术（cecal ligation and puncture，CLP）组。对于假手术组（Control组）小鼠仅暴露腹腔并缝合切口，未结扎和穿刺盲肠。CLP+DEX治疗组在手术后30 min腹腔注射DEX（Sigma-Aldrich，SML0956）50 μg/kg，其他组别同时予以腹腔注射等量PBS作溶剂对照。术后正常喂养24 h后，在吸入麻醉下对小鼠实施安乐死。收集外周血、肺组织或肺泡灌洗液（bronchoalveolar lavage fluid，BALF）用于下一个实验。

1.2.3 骨髓来源巨噬细胞（bone marrow-derived macrophages，BMDM）的提取与纯化 对吸入麻醉后的小鼠实施安乐死，从股骨和胫骨采集骨髓，然后将其加入含有20 ng/mL巨噬细胞集落刺激因子M-CSF（PeproTech，AF-315-02）的DMEM完全培养基中（DMEM+10%胎牛血清+1%青霉素/链霉素，购自Gibco，USA）并在37 ℃和5% CO_2条件下培养7 d，以获得成熟的BMDM。

1.2.4 细胞来源及分组 小鼠单核巨噬细胞RAW264.7由中国科学院干细胞库提供。将所有细胞在DMEM完全培养基及37 ℃+5% CO_2培养箱环境中培养。在稳定RAW264.7与BMDM后，给予500 ng/mL LPS（Sigma，L2880）刺激12 h以诱导巨噬细胞炎症表型极化。治疗组在LPS刺激的同时给予1 μmol/L DEX，12 h后收集细胞培养基和细胞用于随后的实验。

1.2.5 生存曲线 将8周龄大WT小鼠随机分为3个组，即Controls组、CLP组、CLP+DEX组。按前述步骤构建实验动物模型。然后将小鼠正常饲养，自由摄食与饮水，每24 h观察1次小鼠存活情况，记录7 d。最后在Graphpad Prism v8.0软件中通过Mantel-Cox检验和Gehan-Breslow-Wilcoxon检验分析并绘制生存曲线。

1.2.6 苏木精和伊红（hematoxylin-eosin staining，H&E）染色与肺损伤病理评分 将肺叶固定在4%多聚甲醛溶液中24 h并进行石蜡包埋切片。然后进行H&E染色，并在光学显微镜下获取病理图像。最后，由3位具有病理学知识的研究人员使用Mikawa的半定量方法对每张图像进行独立评分：①肺泡充血；②出血；③中性粒细胞浸润；④肺泡隔增厚或形成透明膜；根据各指标损伤的严重程度（0：无损伤或极轻微损伤；1：轻度损伤；2：中度损伤；3：重度损伤；4：极严重损伤）进行半定量分析，将总分累加为肺损伤评分[10]。

1.2.7 肺湿干重比（wet to dry weight ratio，W/D） W/D实验取左肺叶进行。首先对左肺叶湿重进行称重并记录，然后将其置入敞口EP管中75 ℃金属浴干燥48 h，称量记录干重，最后计算湿重与干重的比值。

1.2.8 蛋白提取与Western blot 首先，使用含有PMSF和磷酸酶抑制剂的RIPA裂解缓冲液（Beyotime）从肺组织和细胞中分离蛋白质。然后，使用BCA蛋白质测定试剂盒（Beyotime）测量蛋白质浓度，并进行随后的蛋白质印迹实验。每个样本加入50 μg蛋白质通过SDS-PAGE方法分离，然后将其转移到PVDF膜上。使用脱脂牛奶封闭蛋白后，将相应的抗体在低温下孵育过夜。一抗：TLR4（A0007，ABclonal），ACOD1（ab222411，Abcam），诱导型一氧化氮合酶（inducible nitric oxide synthase，iNOS）（ab202417，Abcam）、Actin（60008，Proteintech）。然后将其与HRP连接的二抗（S0001，Affinity）在室温下孵育60 min。最后，使用凝胶成像系统（Fusion，Vilber，French）通过化学发光检测和分析蛋白质表达。

1.2.9 酶联免疫吸附试验（enzyme linked immunosorbent assay，ELISA） 使用ELISA试剂盒检测小鼠外周血血清和RAW264.7细胞培养基中肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor，TNF-α）、白细胞介素（interleukin，IL）-6（CME0004、ME0006，四正柏生物技术有限公司）的浓度。按照说明书进行抗体孵育、洗涤和酶标记的主要步骤后，读取450 nm处的吸光度。根据标准曲线得到相应的样品浓度。

1.2.10 肺泡巨噬细胞（AM）免疫荧光染色及激光共聚焦显微镜拍照 首先，对构建模型后24 h对小鼠实施安乐死。然后使用冷PBS彻底收集BALF，并在4 ℃下离心400 g 5 min。丢弃上清液，然后用DMEM完全培养基重悬并沉淀到共聚焦培养皿上。在37 ℃、5% CO_2培养箱中培养2 h后，弃去悬浮细胞，将粘附的AM进行免疫荧光染色。使用PBS清洗并以4%多聚甲醛固定AM，通过0.5% Triton-100（Sigma-Aldrich）透膜，并以山羊血清室温封闭细胞。然后使用一抗iNOS Rabbit Polyclonal antibody（18985-1-AP，Proteintech）4℃孵育细胞过夜。清洗细胞并加入带荧光通道的对应二抗Goat Anti-Rabbit IgG-FITC（SA00003-2，Affinity）室温避光孵育1 h。再予以DAPI染料室温避光孵育5 min。于激光共聚焦显微镜下获得图像。

1.3 统计学方法

研究采用GraphPad Prism_8和SPSS_22.0软件完成数据分析。每组n=3。所有测试都重复了3次。所有数据均表示为均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）。采用t检验（2组）或单因素方差分析（多组）用于确定统计学上的显著差异。检验水准α=0.05。

2 结 果

2.1 LPS上调巨噬细胞RAW264.7中TLR4与ACOD1蛋白表达

首先，本研究使用LPS刺激RAW264.7构建了巨噬细胞促炎表型，随后提取该细胞总蛋白，进行Western blot实验比较LPS组与Control组之间的TLR4/ACOD1通路蛋白表达情

况。实验结果发现：相较于 Control 组，LPS 刺激上调了巨噬细胞内 TLR4 与 ACOD1 的蛋白表达水平（图 1）。

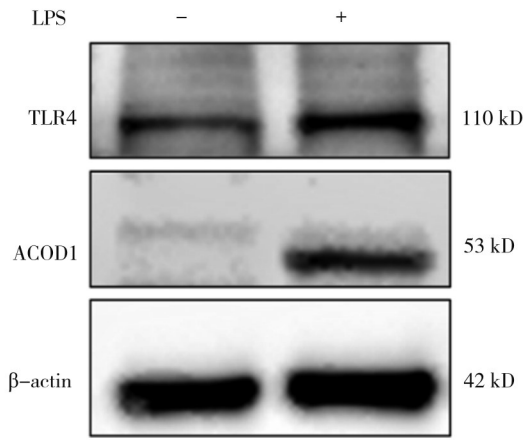


图 1　Western blot 检测 TLR4、ACOD1 蛋白水平

2.2　DEX 可降低 LPS 刺激后巨噬细胞 TLR4 表达并减轻巨噬细胞炎症因子表达 TLR4 识别

LPS 刺激后通常引起巨噬细胞炎症反应的发生。为此本课题组通过 Western blot 实验发现在受到 LPS 刺激后高表达 TLR4 蛋白的 RAW264.7 细胞中促炎因子 iNOS 蛋白表达水平明显升高（图 2）。这提示该状态下的巨噬细胞存在着强烈的炎症反应。随后，本研究在 LPS 刺激后的 RAW264.7 细胞中加入 DEX 治疗。结果显示 DEX 降低了 LPS 对 TLR4 蛋白的激活效应，同时也下调了 iNOS 的蛋白表达（图 2）。

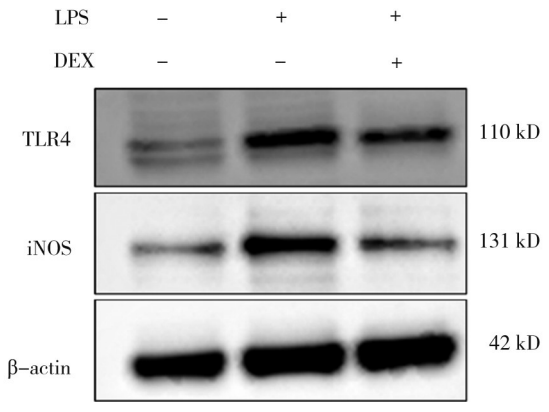
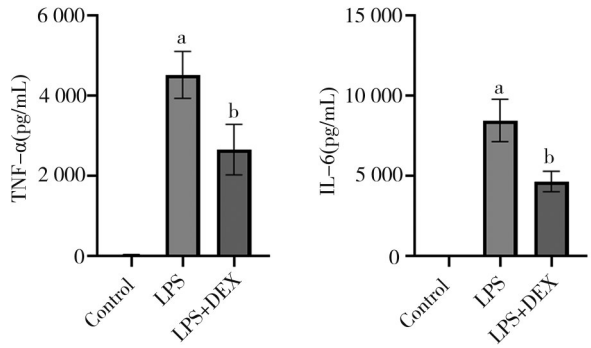


图 2　Western blot 检测 TLR4、iNOS 蛋白水平

为了进一步验证 DEX 对炎症反应的调节作用，本研究通过 ELISA 对 RAW264.7 细胞培养基中的分泌蛋白进行了检测。结果提示：LPS 刺激后 RAW264.7 细胞分泌至培养基中的炎症细胞因子 TNF–α 与 IL–6 蛋白表达上调，给予 DEX 治疗后二者蛋白表达水平皆明显下降（图 3）。以上结果提示，DEX 降低了 LPS 刺激巨噬细胞后激活的 TLR4 与 ACOD1 表达水平，并抑制炎症反应发生。



注：a，与对照组比较 $P<0.05$；b，与 LPS 组比较 $P<0.05$

图 3　ELISA 检测 TNF–α、IL–6 表达

2.3　DEX 降低 CLP 诱导的 ARDS/ALI 实验动物模型小鼠全身炎症水平与肺炎症损伤

在体内实验，本团队在小鼠中通过 CLP 术构建了 ALI 实验动物模型。生存实验证明 CLP 组小鼠 7 d 生存率降低，DEX 治疗后其生存情况得到改善（图 4）。

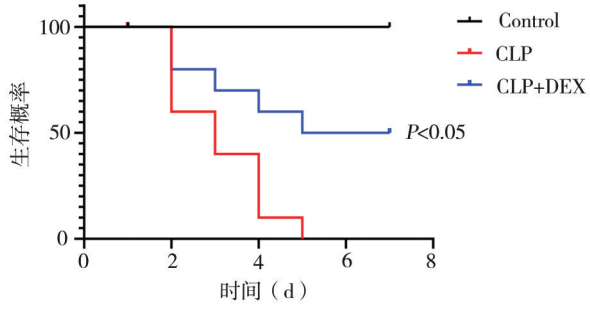


图 4　小鼠 7 d 生存曲线

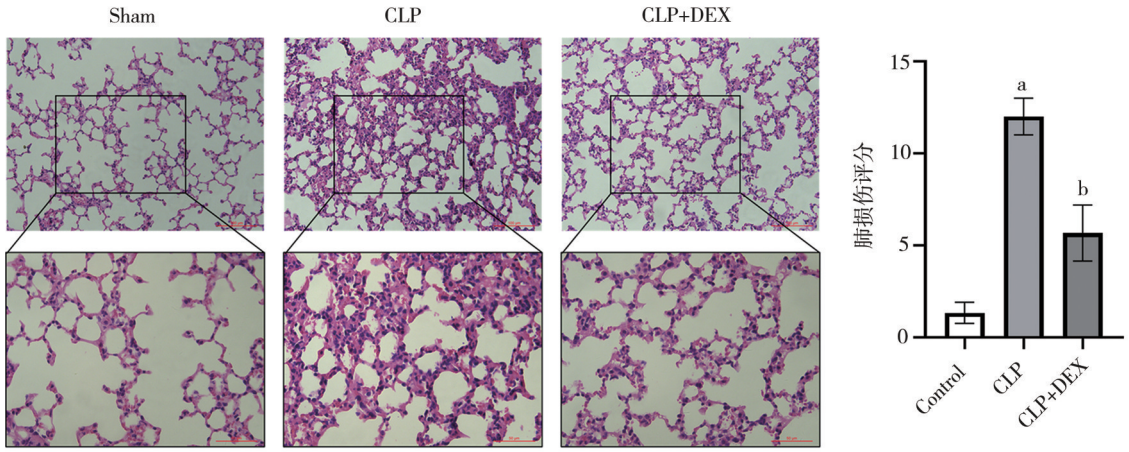
H&E 显示 CLP 小鼠肺组织出现了严重的出血、肺泡塌陷、肺泡壁增厚及炎性细胞浸润等弥漫性肺泡损伤表现，并且其 W/D 比值升高也提示了肺水肿的发生。随后，本实验又证明上述由 CLP 诱导的小鼠肺损伤表现在接受 DEX 治疗后得到明显缓解（图 5、6）。

此外，DEX 治疗还降低了 CLP 小鼠外周血中异常升高的促炎细胞因子 TNF–α 与 IL–6 的表达（图 7）。

本研究还提取了小鼠肺组织总蛋白并进行 Western blot 实验，结果发现 DEX 治疗也降低了 CLP 组小鼠肺组织中 M1 型巨噬细胞标志物 iNOS 蛋白的表达（图 8）。进一步地，本研究提取了小鼠肺泡巨噬细胞并进行免疫荧光染色，通过激光共聚焦显微镜观察发现促炎因子 iNOS 在 CLP 小鼠肺泡巨噬细胞内高表达，受到 DEX 治疗后表达降低（图 9）。这些结果说明 DEX 具有减轻 ARDS/ALI 小鼠全身性炎症水平与肺炎症损伤的作用。

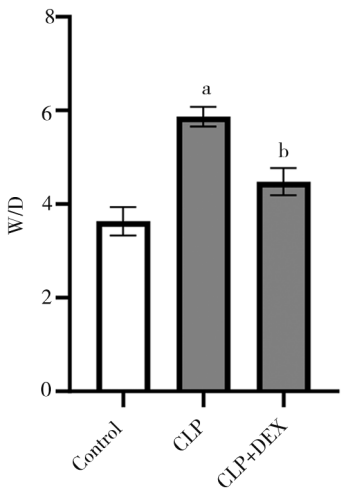
2.4　DEX 调控巨噬细胞 TLR4/ACOD1 免疫代谢偶联抑制 ARDS/ALI 小鼠肺炎症损伤

本团队对提取的小鼠肺组织蛋白再次进行 Western blot 实验发现，DEX 治疗降低了 CLP 模型小鼠肺组织内高表达的 TLR4 水平，而对 ACOD1 蛋白未见明显调控作用（图 10）。



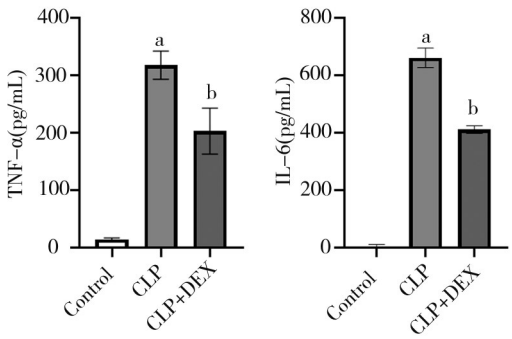
注：放大 200×、400×；a，与对照组比较 $P<0.05$；b，与 CLP 组比较 $P<0.05$

图 5　小鼠肺组织 H&E 染色与肺损伤评分



注：a，与对照组比较 $P<0.05$；b，与 CLP 组比较 $P<0.05$

图 6　小鼠肺组织湿干重比（W/D）



注：a，与对照组比较 $P<0.05$；b，与 CLP 组比较 $P<0.05$

图 7　ELISA 检测小鼠外周血 TNF-α、IL-6 表达

为了探寻 ACOD1 在 DEX 治疗效应中的具体作用，本团队在 *Acod1*$^{-/-}$ 小鼠体内进行实验（S1-S6），结果提示 DEX 治疗 CLP 模型小鼠缓解的肺损伤情况在 *Acod1*$^{-/-}$ 小鼠中明显加重（图 11）。

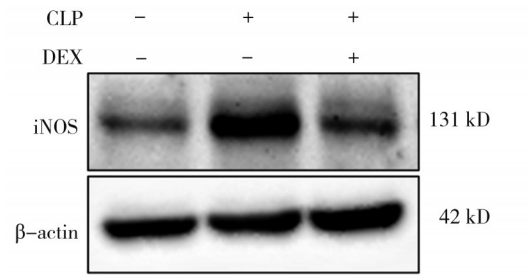
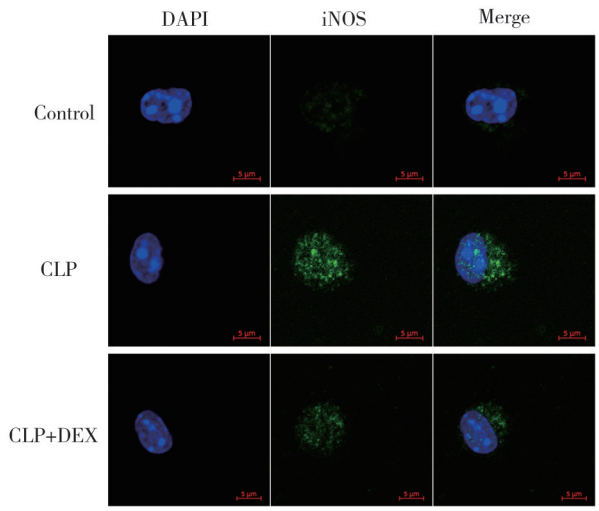


图 8　Western blot 检测 iNOS 蛋白水平



注：绿色荧光为 iNOS，放大 800×

图 9　iNOS 在小鼠肺泡巨噬细胞中的免疫荧光表达

最后，本研究提取了小鼠原代巨噬细胞 BMDM 进行体外实验。发现 *Acod1*$^{-/-}$ 小鼠 BMDM 受 DEX 治疗后 iNOS 蛋白水平较 WT 明显上调（图 12）。这提示 ACOD1 在 DEX 的治疗效应中同样发挥着抑炎作用。综上，DEX 调控 TLR4/ACOD1 免疫代谢偶联，在巨噬细胞内通过降低 TLR4 表达或上调 ACOD1 表达减轻 ARDS/ALI 小鼠肺炎症损伤。

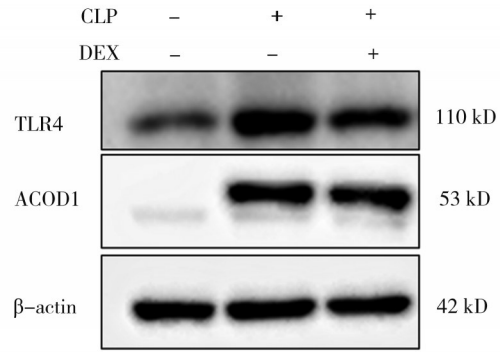
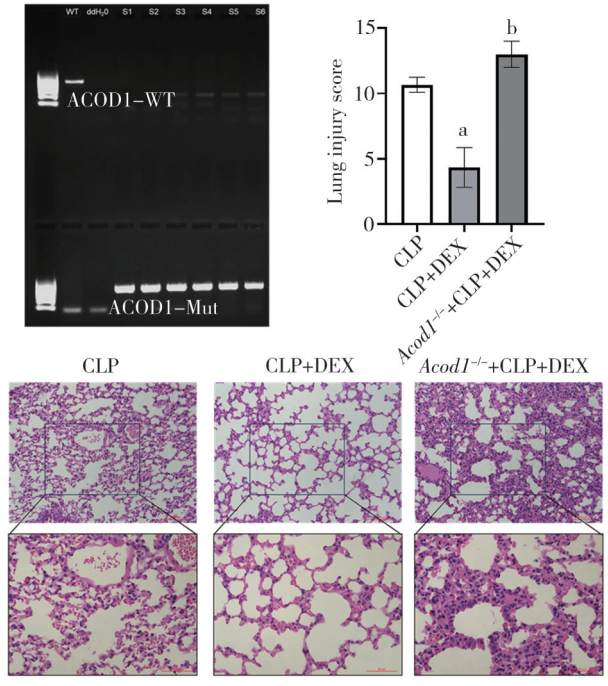


图 10　Western blot 检测 TLR4、ACOD1 蛋白水平



注：WT，野生型基因，Mut，突变型基因；放大 200×、400×；a，与对照组比较 $P<0.05$；b，与 CLP 组比较 $P<0.05$

图 11　*Acod1*$^{-/-}$小鼠基因型鉴定与小鼠肺组织 H&E 染色及肺损伤评分

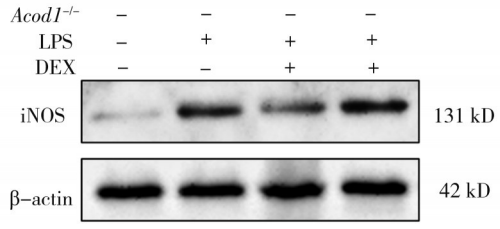


图 12　Western blot 检测 iNOS 蛋白水平

3　讨　论

免疫代谢偶联介导了 ARDS 的炎症失衡。病理条件下，巨噬细胞通过模式识别受体如 TLR4 感知损伤相关分子模式 LPS 的刺激，从而调控衣康酸限速酶 ACOD1 的表达[5]。由 TLR4 激活后的 ACOD1 与其介导的衣康酸代谢发挥抑制炎症的作用，而 TLR4 参与了调控下游炎症信号如 NF-κB 等通路发挥强大的促炎作用，并介导巨噬细胞释放大量炎症因子如 TNF-α、IL-6、iNOS 等[11-12]。iNOS 作为一氧化氮合酶催化产生一氧化氮（NO），在巨噬细胞内发挥重要的杀伤肿瘤与细菌的作用[13]。然而，iNOS 在巨噬细胞内过度表达将产生持续的炎症损伤效应，是经典的 M1 型巨噬细胞促炎标志物之一[14]。在这样的促炎-抑炎拉锯效应中，有研究认为 ACOD1/Itaconate 的抑炎作用是一种响应 TLR4 激活后的负反馈机制。最终，TLR4 的促炎效应掩盖了 ACOD1 的抑炎效应，加重了 ARDS 中的炎症损伤[6]。本研究发现 TLR4 与 ACOD1 在 LPS 刺激后的巨噬细胞与 CLP 诱导的 ARDS/ALI 实验动物模型中高表达，并介导了炎症反应的发生。因此，鉴于 TLR4/ACOD1 在 ARDS 中的复杂炎症调控效应，本研究进一步探究了药物对该通路的调控作用。

DEX 是一种被广泛应用于镇静、镇痛的临床药物。作为一种 α2-肾上腺素受体激动剂，DEX 还被认为发挥着重要的抗炎、抗氧化等作用。已有研究证明，DEX 通过调控自噬、缺氧诱导因子（hypoxia-Inducible Factor-1α，HIF-1α）等在 ARDS 中降低炎症反应的发生[15-16]。DEX 还减轻了 LPS 激活后的巨噬细胞促炎因子的表达[17]。DEX 对 TLR4 的调节作用也有研究，其通过抑制 TLR4/MyD88/NF-κB 通路在小鼠气道炎症、炎症性肠病中发挥抑制炎症作用[9,18]。本研究同样发现，DEX 在 LPS 刺激的促炎表型巨噬细胞和 CLP 诱导的 ARDS/ALI 实验动物模型中均降低了 TLR4 的表达。在代谢方面，DEX 可激活能量代谢关键核心 AMPK 的表达[19]。然而，DEX 对衣康酸代谢及其关键限速酶 ACOD1 的调控作用暂未见报道。目前的研究认为，TLR4 是调控 ACOD1 表达的强大因素。而本研究中在存在 TLR4 这一调控因素的疾病模型下，发现 ACOD1 表达相较于 Control 组已升高十分明显，此时再予以 DEX 刺激对其表达的调控作用并不明显。为了探究 ACOD1 是否与 DEX 的治疗作用有关，本研究进行了体内外实验并结合 *Acod1*$^{-/-}$小鼠，初步探讨了 ACOD1 在 DEX 抑炎效应中的作用功能。研究结果中，DEX 对 TLR4/ACOD1 的调控作用有效促进了其对 ARDS/

ALI小鼠的肺保护性作用。

本研究仍存在部分局限性。比如：在后续的深入研究中，本团队期望应用基因编辑手段对TLR4与ACOD1的基因进行过表达，以进一步探讨它们在DEX发挥作用中的具体机制，DEX对ACOD1的调控作用也应进一步探究。同时，应进一步对代谢产物衣康酸的表达与功能进行分析，更直观地阐述TLR4/ACOD1通路在代谢层面发挥的作用机制。

总的来说，本研究发现：在LPS刺激巨噬细胞所激活的TLR4/ACOD1通路中，外源性给予DEX可抑制TLR4表达，而*Acod1*基因的敲除降低了DEX的治疗效应。因此，研究认为，右美托咪定可调控巨噬细胞TLR4/ACOD1免疫代谢偶联，降低LPS刺激后的巨噬细胞炎症因子释放，同时减轻小鼠急性肺损伤。

参 考 文 献

[1] ARDS Definition Task Force, Ranieri VM, Rubenfeld GD, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition[J]. JAMA, 2012, 307(23): 2526-2533.

[2] Glass CK, Natoli G. Molecular control of activation and priming in macrophages[J]. Nat Immunol, 2016, 17(1): 26-33.

[3] Ryan DG, O'Neill LAJ. Krebs cycle reborn in macrophage immunometabolism[J]. Annu Rev Immunol, 2020, 38: 289-313.

[4] Shan WJ, Cui J, Song YJ, et al. Itaconate as a key player in cardiovascular immunometabolism[J]. Free Radic Biol Med, 2024, 219: 64-75.

[5] Wu RL, Chen F, Wang N, et al. ACOD1 in immunometabolism and disease[J]. Cell Mol Immunol, 2020, 17(8): 822-833.

[6] Wu RL, Liu J, Tang DL, et al. The dual role of ACOD1 in inflammation[J]. J Immunol, 2023, 211(4): 518-526.

[7] Sun HQ, Hu HY, Xu XP, et al. Protective effect of dexmedetomidine in cecal ligation perforation-induced acute lung injury through HMGB1/RAGE pathway regulation and pyroptosis activation[J]. Bioengineered, 2021, 12(2): 10608-10623.

[8] Borger M, von Haefen C, Bührer C, et al. Cardioprotective effects of dexmedetomidine in an oxidative-stress *in vitro* model of neonatal rat cardiomyocytes[J]. Antioxidants, 2023, 12(6): 1206.

[9] Zhou Y, Du XY, Wang QY, et al. Dexmedetomidine protects against airway inflammation and airway remodeling in a murine model of chronic asthma through TLR4/NF-κB signaling pathway[J]. Mediators Inflamm, 2023, 2023: 3695469.

[10] Mikawa K, Nishina K, Takao Y, et al. ONO-1714, a nitric oxide synthase inhibitor, attenuates endotoxin-induced acute lung injury in rabbits[J]. Anesth Analg, 2003, 97(6): 1751-1755.

[11] Wu RL, Kang R, Tang DL. Mitochondrial ACOD1/IRG1 in infection and sterile inflammation[J]. J Intensive Med, 2022, 2(2): 78-88.

[12] Zheng YY, Gao YY, Zhu WR, et al. Advances in molecular agents targeting toll-like receptor 4 signaling pathways for potential treatment of sepsis[J]. Eur J Med Chem, 2024, 268: 116300.

[13] Kashfi K, Kannikal J, Nath N. Macrophage reprogramming and cancer therapeutics: role of iNOS-derived NO[J]. Cells, 2021, 10(11): 3194.

[14] Locati M, Curtale G, Mantovani A. Diversity, mechanisms, and significance of macrophage plasticity[J]. Annu Rev Pathol, 2020, 15: 123-147.

[15] Han DW, Oh JE, Lim BJ, et al. Dexmedetomidine attenuates subarachnoid hemorrhage-induced acute lung injury through regulating autophagy and TLR/NFκB signaling pathway[J]. Korean J Anesthesiol, 2022, 75(6): 518-529.

[16] Chen SY, Wu JJ, Yang L, et al. Dexmedetomidine leads to the mitigation of myocardial ischemia/reperfusion-induced acute lung injury in diabetic rats via modulation of hypoxia-inducible factor-1α[J]. Braz J Cardiovasc Surg, 2022, 37(3): 370-379.

[17] Han QQ, Li XY, Wang YX. Dexmedetomidine attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation through macrophageal IL-10 expression following α7 nAchR activation[J]. Int Immunopharmacol, 2022, 109: 108920.

[18] Ye XJ, Xu HL, Xu Y. Dexmedetomidine alleviates intestinal barrier dysfunction and inflammatory response in mice via suppressing TLR4/MyD88/NF-κB signaling in an experimental model of ulcerative colitis[J]. Folia Histochem Cytobiol, 2022, 60(4): 311-322.

[19] Chen SY, Wu JJ, Li AM, et al. Effect and mechanisms of dexmedetomidine combined with macrophage migration inhibitory factor inhibition on the expression of inflammatory factors and AMPK in mice[J]. Clin Exp Immunol, 2023, 212(1): 61-69.

（责任编辑：李青颖）

本文引用格式：

李克锋，徐　昉. 右美托咪定调控巨噬细胞TLR4/ACOD1免疫代谢偶联减轻小鼠急性肺损伤实验研究[J]. 重庆医科大学学报，2025，50(1)：65-71.