

Bruton 酪氨酸激酶和核因子- κ B 在高氧诱导肺损伤中的作用

孟辉 曹大伟 刘超锋 侯明霞 何方 张新日

【摘要】目的 观察 Bruton 酪氨酸激酶 (Bruton's tyrosine kinase, Btk) 和核因子- κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 在高氧诱导的急性肺损伤 (hyperoxia-induced acute lung injury, HALI) 小鼠肺组织中的表达水平, 探讨两者在 HALI 发生中的作用机制。**方法** 雄性昆明小鼠 72 只, 按随机数字表法随机分为四组: 对照组、高氧暴露 3 d 组 (H3d 组)、高氧暴露 3 d + 抑制剂组 (H3d + I 组) 和抑制剂组。光镜下观察各组小鼠肺组织病理学改变, 测定支气管肺泡灌洗液 (BALF) 总蛋白含量 (TP) 和肺湿/干质量比值 (W/D); 采用 Western blot 法测定肺组织 Btk、p-Btk 和 pNF- κ B p65 蛋白表达; 采用 RT-qPCR 法测定肺组织白细胞介素-6 (IL-6) mRNA 表达, 采用 ELISA 法检测血清中单核细胞趋化因子-1 (MCP-1) 含量。各组间比较采用单因素方差分析。**结果** 对照组与抑制剂组比较, 各测定数据差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。与 H3d + I 组比较, H3d 组肺组织病理损伤明显增加且 BALF 总蛋白含量和 W/D 比值均明显增高, (分别为 $P = 0.002$, $P = 0.000$) 差异均具有统计学意义; H3d 组肺组织 Btk、p-Btk 和 pNF- κ B p65 表达量明显高于 H3d + I 组 (分别为 $P = 0.002$, $P = 0.013$, $P = 0.000$)。H3d 组肺组织 IL-6 mRNA 表达水平明显高于对照组 ($P = 0.004$)、抑制剂组 ($P = 0.000$) 和 H3d + I 组 ($P = 0.021$); H3d 组血清 MCP-1 含量均高于对照组 ($P = 0.002$)、抑制剂组 ($P = 0.000$) 和 H3d + I 组 ($P = 0.009$)。相关性分析结果显示, 各组小鼠肺组织 Btk 或 p-Btk 表达水平与 pNF- κ B p65 表达量之间呈正相关 ($r = 0.902$; $r = 0.954$, $P < 0.01$)。**结论** Btk 可能通过调控 NF- κ B 信号通路而介导 IL-6 和 MCP-1 等炎症细胞因子释放, 在 HALI 发生中起重要作用, 抑制 Btk 的活性可有效减轻肺损伤的严重程度。

【关键词】 高氧; 急性肺损伤; Bruton 酪氨酸激酶; 核因子- κ B; 小鼠; 湿/干质量比值; 单核细胞趋化因子-1; 信号通路

Effect of Bruton's tyrosine kinase in hyperoxia-induced acute lung injury Meng Hui, Cao Dawei, Liu Chaofeng, Hou Mingxia, He Fang, Zhang Xinri

Department of Respiratory Medicine, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Corresponding author: Zhang Xinri, Email: ykdzxr61@163.com

【Abstract】Objective To investigate both in mechanism of hyperoxia-induced acute lung injury (HALI) by vivo experiment, to observe the Bruton's tyrosine kinase (Btk) and nuclear factor kappa B (NF- κ B) signals expression level. **Methods** Total of 72 healthy male Kunming mice were randomly (random number) divided into four groups: air control group, hyperoxia exposure 3 days group (H3d group), hyperoxia exposure 3 days + inhibitor group (H3d + I group) and inhibitor groups. Then the pathological changes of lung tissues were observed under light microscope; The total protein content (TP) of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and wet/dry weight ratio (W/D) of lung were detected; The protein expression of Btk, p-Btk, pNF- κ B p65 were mersured by Western blot; the mRNA level of IL-6 was determined by real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR); the level of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in serum was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Statistical significance was determined by 1-way ANOVA. **Results** There were no significant difference in the data between the control group and the inhibitor group ($P > 0.05$). The pathological injury in light microscope, content of total protein in BALF, W/D ratio of lung tissues in H3d group were significantly higher than H3d + I group (Respectively $P = 0.002$, $P = 0.000$). Western blot analysis showed that expression of Btk, p-Btk, pNF- κ B p65 in H3d group were significantly higher than those in H3d + I group (Respectively $P = 0.002$, $P = 0.013$, $P = 0.000$). RT-qPCR results showed that the expression of IL-6 mRNA in H3d group were significantly higher than control group ($P = 0.004$), inhibitor group ($P = 0.000$) and H3d + I

group ($P=0.021$)。In addition, The serum MCP-1 levels in H3d group were higher markedly than the control group ($P=0.002$), inhibitor group ($P=0.000$) and H3d+I group ($P=0.009$)。The correlation analysis showed that pNF- κ B p65 were positively correlated with Btk and p-Btk ($r=0.902$ and 0.954 , $P<0.01$)。Conclusions Btk may trigger the release of IL-6 and MCP-1 by mediating the signaling pathway of NF- κ B in vivo study, which was most important in the occurrence of HALI. Therefore, inhibiting the Btk activity would alleviate the severity of lung injury effectively.

【Key words】 Hyperoxia; Acute lung injury; Bruton's tyrosine kinase; Nuclear factor-kappa B; Mice; Wet/dry weight ratio; Monocyte chemoattractant protein-1; Signaling pathway

机械通气和氧疗是治疗呼吸衰竭的主要手段,但长时间吸入高浓度氧气会产生大量氧自由基(ROS),诱发炎症效应,促进细胞凋亡,从而进一步加重肺损伤,称为高氧诱导的急性肺损伤(HALI)^[1]。核因子- κ B(NF- κ B)是一种核转录因子,参与多种炎症细胞因子的调控,在急性肺损伤的发病中扮演着重要角色^[2]。Bruton酪氨酸激酶(Btk)是Tec家族的一种非受体型酪氨酸激酶,在炎症过程中不但可触发下游炎症因子的产生和释放,还可调控凋亡蛋白的活性及ROS的产生^[3,4]。然而,Btk在HALI中有何作用,与NF- κ B有何关系目前尚不清楚。本研究通过建立小鼠高氧肺损伤模型,测定其肺组织Btk、p-Btk、pNF- κ B p65和白细胞介素-6(IL-6)表达水平以及血清单核细胞趋化因子-1(MCP-1)含量,以期探讨Btk与NF- κ B在HALI发生过程中的相互关系及作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及模型建立

健康雄性昆明小鼠72只,8~12周龄,体质量15~20g(山西医科大学实验动物中心提供),随机数字法分为4组:对照组、高氧暴露3天组(H3d组)、抑制剂组和高氧暴露3d+抑制剂组(H3d+I组),每组18只。对照组呼吸室内空气;H3d组置于氧气舱内吸入高浓度氧,内置测氧仪(沃赛特科技DR70c-O₂)持续检测舱内氧体积分数(95%左右);抑制剂组给予腹腔注射Btk特异性抑制剂LFM-A13(50mg/kg),每12h重复给药一次;H3d+I组同时给予上述两种干预措施,即腹腔注射LFM-A13后置于氧气舱内吸入高浓度氧。各组小鼠实施干预后,均以1%戊巴比妥钠(40mg/kg)腹腔注射麻醉,按实验设计留取血液、支气管肺泡灌洗液(BALF)和肺组织样本,处置方法符合动物伦理学标准。

1.2 主要试剂和仪器

LFM-A13(美国selleck公司);蛋白定量试剂

盒(Bicinchoninic acid, BCA, 武汉博士德);兔抗鼠Btk一抗和鼠抗鼠pNF- κ B p65一抗(美国CST公司);兔抗鼠pBtk一抗(美国Abcam公司);TRIzolRNA提取液(美国Life公司);逆转录试剂盒和Syber Green(日本Takara公司);MCP-1酶联免疫吸附试剂盒(中国Eliabscience公司);qPCR仪(美国ABI公司)。

1.3 肺损伤程度评估

肺组织损伤程度按以下方法进行评估。①肺湿/干质量比值(W/D):小鼠处死后立即取右肺,吸干表面血迹后称湿质量,然后置入60℃烤箱中过夜再称干质量,计算肺组织湿/干质量比值。②支气管肺泡灌洗液(BALF)蛋白浓度测定:采用BCA法测定BALF中总蛋白含量,操作按试剂盒中说明进行。③病理学评分:采用Andreas盲法评分^[5],即根据间质水肿、肺泡水肿,中性粒细胞渗出,实质出血及血管旁-支气管周出血等5个独立指标进行评分,分为4个等级:0肺无异常;1轻度;2中度;3重度。

1.4 肺组织Btk、pBtk及pNF- κ B p65蛋白表达测定

采用Western blot法测定肺组织Btk、pBtk及pNF- κ B p65蛋白表达水平,测定方法按试剂盒说明进行。同时检测 β -actin的表达作为内参照。应用Alpha view SA软件进行结果分析,以目的蛋白条带/内参蛋白条带的灰度值作为该蛋白的相对表达水平。

1.5 肺组织IL-6 mRNA表达水平测定

取等量肺组织加入TRIzol以提取RNA,经逆转录成cDNA后的用于qPCR,操作步骤严格按试剂盒说明书进行。引物设计参照Genebank,目的基因序列编码区采用Primer Premier 5.0软件完成,由Takara公司合成。目的基因IL-6的引物序列为F: 5'-GTGGCAGGTAGAGCAGGAAG-3'; R: 5'-CCAAATGAAAGGCACTCTGT-3'。内参基因 β -actin的引物序列为F: 5'-

CATCCGTAAGACCTCTATGCCAAC-3' ; R: 5' -ATGGAGCCACCGATCCACA-3'。反应体系 20 μ L: 2 \times SYBR Green qPCR Master mix (High Rox) 10 μ L, 目的 cDNA 模板: 1 μ L, 5 μ mol/L 的上下游引物各 1.6 μ L, dH₂O: 6.4 μ L; 扩增条件: 50 $^{\circ}$ C 2 min, 95 $^{\circ}$ C 10 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 反应 40 个循环, 反应程序由 ABI-7300 系统执行。

1.6 血清 MCP-1 含量测定

采用酶联免疫吸附试验 (ELISA 法) 测定血清 MCP-1 含量。操作步骤严格按试剂盒说明书进行。酶标仪设定的吸光度值为 450 nm, 绘制标准曲线, 根据测得的样本吸光度值在标准曲线上查找相应的样本浓度值。

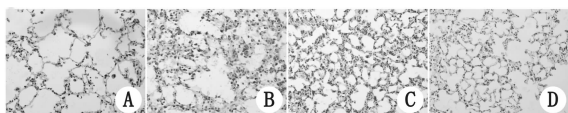
1.7 统计学方法

采用 GraphPad prism 6.01 软件对实验数据进行分析。所有数据均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用方差分析, 两组间差异比较采用成组 *t* 检验, 均数间两两比较采用 SNK-*q* 法, 相关性分析采用 Partial 相关分析法, 以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肺组织病理学改变

HE 染色光镜下观察, 对照组与抑制剂组小鼠肺泡结构完整, 肺泡间隔无明显增厚、水肿和炎症细胞浸润, Andreas 评分 < 1 ; H3d 组肺泡结构破坏明显, 肺泡及间质水肿伴大量炎症细胞浸润, Andreas 评分 = 8; H3d + I 组较 H3d 肺组织病理损伤明显减轻, 炎症细胞浸润减少, Andreas 评分 = 3。见图 1。



A: 对照组肺组织结构完整, 无炎症细胞浸润; B: H3d 组肺泡结构明显塌陷, 大量炎症细胞浸润; C: H3d + I 组肺间质轻度水肿, 炎症细胞浸润减少; D: 抑制剂组肺泡形态正常, 无明显炎症细胞浸润

图 1 光镜下 HE 染色的各组肺组织切片 ($\times 400$)

Fig 1 HE staining of lung tissue sections of each group under light microscope ($\times 400$)

2.2 肺组织 W/D 比值和 BALF 中蛋白含量

各组小鼠肺组织 W/D 比值和 BALF 总蛋白 (TP) 含量测定结果见表 1。结果显示, H3d 组小鼠肺组织 W/D 比值和 BALF 中 TP 含量均明显高于

对照组、抑制剂组和 H3d + I 组, 差异具有统计学意义 (分别为 $F = 122.838$, $F = 104.436$, $F = 51.324$, 均 $P < 0.01$ 和 $F = 149.165$, $F = 152.70$, $F = 26.022$, 均 $P < 0.01$)。

表 1 肺组织湿/干质量 (W/D) 和 BALF 中 TP 含量 ($n = 6$, $\bar{x} \pm s$)

Table 1 Lung tissue Wet/dry weight ratio and TP content ($n = 6$, $\bar{x} \pm s$)

组别	W/D 比值	TP (g/L)
对照组	3.380 \pm 0.19	0.033 \pm 0.007
H3d 组	5.808 \pm 0.452 ^a	0.349 \pm 0.057 ^a
H3d + I 组	4.030 \pm 0.323 ^b	0.194 \pm 0.037 ^{bc}
抑制剂组	3.378 \pm 0.028	0.028 \pm 0.009

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.01$, ^c $P < 0.05$; 与 H3d 组比较, ^b $P < 0.01$

2.3 肺组织 Btk、p-Btk 和 pNF- κ Bp65 蛋白表达水平

各组小鼠肺组织 Btk、p-Btk 和 pNF- κ Bp65 蛋白半定量测定结果见图 2。结果显示, 对照组和抑制剂组肺组织几乎无 pNF- κ Bp65 蛋白表达, 仅有少量 Btk 蛋白表达。H3d 组肺组织 Btk、p-Btk 和 pNF- κ Bp65 蛋白表达水平均明显高于对照组 ($F = 186.386$; $F = 1487.410$; $F = 183.719$, 均 $P < 0.01$) 和抑制剂组 ($F = 213.301$; $F = 1686.422$; $F = 173.547$, 均 $P < 0.01$); H3d + I 组肺组织 Btk、p-Btk 和 pNF- κ Bp65 蛋白表达水平虽高于对照组和抑制剂组, 但明显低于 H3d 组 ($F = 95.282$, $F = 893.986$, $F = 126.298$; 均 $P < 0.01$)。Partial 相关分析表明, 各组小鼠肺组织中 Btk 和 p-Btk 与 pNF- κ Bp65 蛋白表达量之间呈正相关 ($r = 0.902$, $r = 0.954$, 均 $P < 0.01$)。

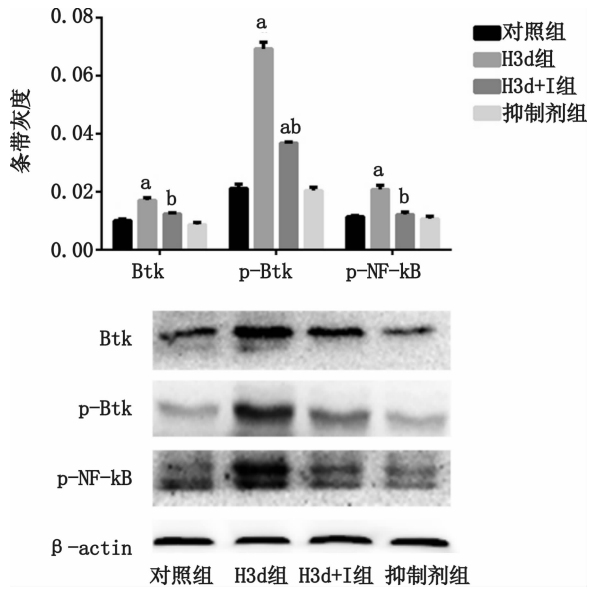
2.4 肺组织 IL-6 mRNA 表达水平

各组小鼠肺组织 IL-6 mRNA 表达水平见图 3。结果显示, H3d 组肺组织 IL-6 mRNA 的表达量均明显高于对照组和抑制剂组 ($F = 131.853$; $F = 139.822$, 均 $P < 0.01$); H3d + I 组肺组织 IL-6 mRNA 的表达量虽高于对照组和抑制剂组, 但明显低于 H3d 组 ($F = 58.556$, $P < 0.01$); 对照组和抑制剂组比较差异无统计学意义 ($F = 1.063$, $P > 0.05$)。

2.5 血清 MCP-1 含量测定结果

各组小鼠血清 MCP-1 含量测定结果显示, H3d 组血清 MCP-1 含量均明显高于对照组和抑制剂组 [(476.70 ± 84.25) pg/mL vs. (71.33 ± 15.61)]

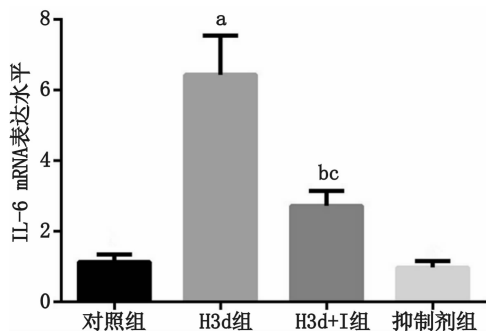
pg/mL, $F = 111.88$; (476.70 ± 84.25) pg/mL vs. (62.50 ± 13.08) pg/mL, $F = 114.424$, 均 $P < 0.01$]; H3d + I 组血清 MCP-1 含量虽高于对照组和抑制剂组, 但明显低于 H3d 组 [(183.50 ± 24.38) pg/mL vs. (476.70 ± 84.25) pg/mL, $F = 58.374$, $P < 0.01$]。对照组和抑制剂组比较差异无统计学意义 [(71.33 ± 15.61) pg/mL vs. (62.5 ± 13.08) pg/mL, $F = 0.291$, $P = 0.6$]。



与对照组比较, $^a P < 0.01$, 与 H3d 组比较, $^b P < 0.01$

图 2 Western blot 法检测各组小鼠肺组织中 Btk、p-Btk、pNF-κBp65 的蛋白表达情况

Fig 2 The expression level of Btk、phospho-Btk and p-NF-κB in the different group lung tissues of mice were detected by western blot



与对照组比较, $^a P < 0.01$, $^b P < 0.05$; 与 H3d 组比较, $^c P < 0.01$

图 3 RT-qPCR 法检测肺组织中 IL-6 mRNA 在各组间的表达水平

Fig 3 The expression level of IL-6 mRNA in the different group lung tissues of mice were detected by RT-qPCR

3 讨论

ALI/ARDS 是目前临床上常见的急危重症, 氧

疗是其在临床救治过程中不可替代的最基础治疗手段^[6]。但高浓度氧疗引发肺组织氧化应激损伤也是不可忽视的并发症。本实验结果显示, 95% 体积分数高氧暴露 3 天即可引起小鼠肺泡结构重塑, 肺间质水肿, 炎症细胞浸润等一系列病理改变, 称高氧诱导的急性肺损伤 (HALI)。有证据表明, 除氧化应激外, 炎症细胞和细胞因子也参与了 HALI 的发病过程^[7-8], 但具体作用机制有待进一步阐明。

NF-κB 是一种核转录因子, 包含 5 个亚基, 即 P50、P52、P65、c-Rel 和 RelB。在稳定状态下, NF-κB 位于胞浆中与 IκB 相结合处于失活状态。在 LPS、高浓度氧及大潮气量机械通气等因素刺激下, IκB 发生泛素化而与 NF-κB 解离, 后者活化后移位至胞核内特定位点, 从而调控靶基因的转录。研究表明, NF-κB 活化在 HALI 发生中扮演着重要角色, 可调控多种细胞因子和炎症介质的释放, 形成瀑布效应而引起肺组织损伤^[9], 其中包括 IL-6、MCP-1 等^[10]。在前期研究中发现, 高氧环境下肺组织 NF-κB 表达量与高氧暴露时间长短有密切关系^[11]。本实验结果显示, H3d 组肺组织损伤程度、pNF-κB p65 表达量、IL-6 mRNA 表达量及血清 MCP-1 含量均明显高于对照组, 提示高氧暴露可促使 NF-κB 发生活化, 上调 IL-6 和 MCP-1 等炎症因子表达, 是导致肺组织炎症性损伤的重要原因。然而, 高氧暴露究竟通过哪条细胞内信号转导通路激活 NF-κB 目前尚不清楚。

Btk 是一种非受体酪氨酸激酶, 几乎表达于除 T 细胞之外的所有髓系细胞中, 属于 Tec 家族, 包含 5 个成员, 即 Btk、Itk、Tec、Bmx 和 Txk。从结构上看, Btk 由 PH、TH、SH3、SH2 及 Src 等结构域组成, 这些结构域关联着许多细胞内的信号蛋白, 在炎症反应、免疫反应和氧化应激中扮演着重要角色^[3]。Zhou 等^[12]采用盲肠结扎穿刺术诱发脓毒症造成小鼠 ALI 模型, 通过 SiRNA 干扰技术下调 Btk 表达后发现, 肺组织损伤程度较对照组明显减轻。Krupa 等^[13]用脂多糖和免疫复合物 (LPS/IC) 联合诱导小鼠发生 ALI, 同样采用 SiRNA 干扰技术抑制肺组织中性粒细胞 Btk 的表达。结果发现, 肺组织中性粒细胞募集数量明显减少。本研究结果显示, 在高氧诱导的小鼠 ALI 模型中采用 Btk 特异性抑制剂 LFM-A13 进行干预后, 肺组织病理损伤程度、BALF 总蛋白含量和 W/D 比值均明显降低。提示, 肺组织 Btk 高表达是 HALI 发生的重

要原因,抑制 Btk 表达可有效改善高氧肺损伤的程度,发挥保护性效应。

研究表明, Btk 可调控细胞内多种关键信号转导蛋白的活性,包括 NF- κ B、NFAT、PKC、Pin1、TLRs 和 caveolin-1 等,其中以 NF- κ B 信号通路最为重要^[14-15]。Petro 等^[16]通过体外基因干扰实验证明,在 BCR 受体信号通路中 Btk 对于 NF- κ B 的活化具有关键作用,敲除 Btk 基因表达可使 NF- κ B 活性降低。Liang 等^[17]进一步通过水动力转染技术进行在体动物实验,并提出一种细胞内信号转导通路假想模式:BCR 受刺激后, Btk 位移至细胞膜脂筏与小窝蛋白(Caveolin)等构成多蛋白复合物。在这个复合物结构中, Btk 发生磷酸化而导致 NF- κ B 活化,后者的亚单位 P65/RelA 进入细胞核并结合在 Btk 启动子上,从而调控其基因转录,新合成的 Btk 可进一步活化 NF- κ B,从而形成一个正反馈环路。本研究结果显示, H3d + I 组肺组织 Btk、p-Btk 和 pNF- κ B p65 表达量较 H3d 组明显降低,且肺组织 Btk 和 p-Btk 表达水平与 pNF- κ B p65 表达量之间均呈正相关。说明在高氧肺损伤发生过程中, Btk 可能是通过激活 NF- κ B 发挥作用的。因此笔者推测,氧化应激促使 ROS(如 O₂⁻、H₂O₂、HO[·]等)大量释放,激活膜受体信号蛋白,通过接头蛋白(如 MyD88、Mal、TRIF 等)使 Btk 转移至胞膜,后者与 Caveolin-1 结合后发生活化,进而激活 NF- κ B,诱导 IL-6 和 MCP-1 等炎症因子释放,最终导致肺组织炎症性损伤。

参考文献

- [1] Zaher TE, Miller EJ, Morrow DM, et al. Hyperoxia-induced signal transduction pathways in pulmonary epithelial cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2007, 42 (7): 897-908. DOI: 10. 1016/j. freeradbiomed. 2007. 01. 021.
- [2] Michaelis KA, Agboke F, Liu T, et al. I κ B β -mediated NF- κ B activation confers protection against hyperoxic lung injury [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2014, 50 (2): 429-438. DOI: 10. 1165/ajrccm. 2013-0303OC.
- [3] The role of the Tec kinase Bruton's Tyrosine kinase in leukocyte recruitment [J]. *Int Rev Immunol*, 2012, 31 (2): 104-118. DOI: 10. 3109/08830185. 2012. 668982.
- [4] Honda F, Kano H, Kanegane H, et al. The kinase Btk negatively regulates the production of reactive oxygen species and stimulation-induced apoptosis in human neutrophils [J]. *Nat Immunol*, 2012, 13 (4): 369-378. DOI: 10. 1038/ni. 2234.
- [5] Schwingshagl A, Teng B. Deficiency of the two-pore-domain potassium channel TREK-1 promotes hyperoxia-induced lung injury [J]. *Crit Care Med*, 2014, 42 (11): e692-701. DOI: 10. 1097/CCM. 0000000000000603.
- [6] 刘松桥, 邱海波. 急性呼吸窘迫综合征诊治进展 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2014, 23 (3): 248-251. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1671-0282. 2014. 03. 002.
- [7] Sarma JV, Ward PA. Oxidants and redox signaling in acute lung injury [J]. *Compr Physiol*, 2011, 1 (3): 1365-1381. DOI: 10. 1002/cphy. c100068.
- [8] Bhandari V. Molecular mechanisms of hyperoxia-induced acute lung injury [J]. *Front Biosci*, 2008, 13: 6653-6661.
- [9] 陈蝶, 彭再梅. 急性呼吸窘迫综合征生物标志物与生物治疗研究 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2016, 25 (3): 264-267. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1671-0282. 2016. 03. 002.
- [10] Alvira CM. Nuclear factor-kappa-B signaling in lung development and disease: one pathway, numerous functions [J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2014, 100 (3): 202-216. DOI: 10. 1002/bdra. 23233.
- [11] 李佩林, 张娜, 曹大伟, 等. 高浓度氧对成年大鼠肺组织 NF- κ B 和 IL-8 表达的影响 [J]. *中华临床医师杂志*, 2014, 8 (7): 1279-1282. DOI: 10. 3969/cma. j. issn. 1674-0785. 2014. 07. 018.
- [12] Zhou P, Ma B, Xu S, et al. Knockdown of Bruton's tyrosine kinase confers potent protection against sepsis-induced acute lung injury [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2014, 70 (2): 1265-1275. DOI: 10. 1007/s12013-014-0050-1.
- [13] Krupa A, Fol M, Rahman M, et al. Silencing Bruton's tyrosine kinase in alveolar neutrophils protects mice from LPS/immune complex-induced acute lung injury [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2014, 307 (6): L435-448. DOI: 10. 1152/ajplung. 00234.
- [14] Lee KG, Xu S, Wong ET, et al. Bruton's tyrosine kinase separately regulates NF κ B p65/RelA activation and cytokine interleukin (IL)-10/IL-12 production in TLR9-stimulated B Cells [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283 (17): 11189-11198. DOI: 10. 1074/jbc. M708516200.
- [15] Mohamed AJ, Yu L, B ckesj CM, et al. Bruton's tyrosine kinase (Btk): function, regulation, and reformation with special emphasis on the PH domain [J]. *Immunol Rev*, 2009, 228 (1): 58-73. DOI: 10. 1111/j. 1600-065X. 2008. 00741. x.
- [16] Petro JB, Castro I, Lowe J, et al. Bruton's tyrosine kinase targets NF- κ B to the bcl-x promoter via a mechanism involving phospholipase C-gamma2 following B cell antigen receptor engagement [J]. *FEBS Lett*, 2002, 532 (1-2): 57-60. DOI: 10. 1016/S0014-5793 (02) 03623-2.
- [17] Yu L, Mohamed AJ, Simonson OE, et al. Proteasome-dependent autoregulation of Bruton tyrosine kinase (Btk) promoter via NF- κ B [J]. *Blood*, 2008, 111 (9): 4617-4626. DOI: 10. 1182/blood-2007-10-121137.

(收稿日期: 2016-07-01)

(本文编辑: 何小军)