

IL-39 调控 PHB2/PINK1/Parkin 通路抑制线粒体自噬加重脓毒症大鼠心肌损伤

罗婧,凌受毅,肖姣,王景晶
(苏州高新区人民医院急诊科,江苏 苏州 215000)

【摘要】目的: 探究白细胞介素 39(IL-39)对脓毒症大鼠线粒体自噬和心肌损伤的影响,及抗增殖蛋白 2/磷酸酶及张力蛋白同源物诱导的蛋白激酶 1/帕金蛋白(PHB2/PINK1/Parkin)通路在其中的调控作用。**方法:** 80 只大鼠随机分为假手术组、盲肠结扎穿孔(CLP)组、CLP+IL-39 组、CLP+IL-39 抑制剂组、CLP+Ad-NC 组、CLP+Ad-PHB2 组、CLP+IL-39+Ad-NC 组、CLP+IL-39+Ad-PHB2 组,每组各 10 只。采用 CLP 法建立大鼠脓毒症模型,经过相应干预后,超声心动图检测大鼠心功能;ELISA 检测血清心肌损伤标志物[心肌肌钙蛋白 I(c-TnI)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)]和炎症因子[肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、IL-1 β 、IL-6]水平;HE 染色观察心肌病理损伤;透射电镜观察心肌线粒体形态和线粒体自噬小体形成;蛋白质印迹法检测心肌 IL-39、PHB2、PINK1、Parkin、微管相关蛋白 1 轻链 3 II(LC3 II)、p62 蛋白表达。**结果:** 与假手术组比较,CLP 组大鼠左室射血分数(LVEF)、左室短轴缩短率(LVFS)值降低,左室收缩末期内径(LVESD)、左室舒张末期内径(LVEDD)值升高,血清 c-TnI、CK-MB、LDH、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平升高,心肌细胞排列紊乱,炎症细胞浸润明显,心肌线粒体肿胀变形、嵴断裂/溶解,线粒体自噬小体形成减少,心肌 IL-39、p62 表达升高,PHB2、PINK1、Parkin、LC3 II 表达降低($P<0.05$);与 CLP 组比较,CLP+IL-39 组大鼠 LVEF、LVFS 值降低,LVESD、LVEDD 值升高,血清 c-TnI、CK-MB、LDH、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平升高,心肌细胞排列紊乱,炎症细胞浸润明显,心肌线粒体肿胀变形、嵴断裂/溶解,线粒体自噬小体形成减少,心肌 IL-39、p62 表达升高,PHB2、PINK1、Parkin、LC3 II 表达降低($P<0.05$);CLP+IL-39 抑制剂组 LVEF、LVFS 值升高,LVESD、LVEDD 值降低,血清 c-TnI、CK-MB、LDH、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平降低,心肌病理损伤减轻,线粒体结构损伤缓解,线粒体自噬小体形成增加,心肌 IL-39、p62 表达降低,PHB2、PINK1、Parkin、LC3 II 表达升高($P<0.05$);与 CLP+Ad-NC 组比较,CLP+Ad-PHB2 组大鼠 LVEF、LVFS 值升高,LVESD、LVEDD 值降低,血清 c-TnI、CK-MB、LDH、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平降低,心肌病理损伤减轻,线粒体结构损伤缓解,线粒体自噬小体形成增加,心肌 p62 表达降低,PHB2、PINK1、Parkin、LC3 II 表达升高($P<0.05$);与 CLP+IL-39+Ad-NC 组比较,CLP+IL-39+Ad-PHB2 组大鼠 LVEF、LVFS 值升高,LVESD、LVEDD 值降低,血清 c-TnI、CK-MB、LDH、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平降低,心肌病理损伤减轻,线粒体结构损伤缓解,线粒体自噬小体形成增加,心肌 p62 表达降低,PHB2、PINK1、Parkin、LC3 II 表达升高($P<0.05$)。**结论:** IL-39 通过抑制 PHB2/PINK1/Parkin 通路介导的线粒体自噬,加重脓毒症大鼠心肌损伤。

【关键词】 脓毒症;白细胞介素 39;PHB2/PINK1/Parkin 通路;线粒体自噬;心肌损伤
【中图分类号】 R459.7 **【文献标志码】** A

IL-39 aggravates myocardial injury in septic rats by regulating PHB2/PINK1/Parkin pathway and inhibiting mitophagy

LUO Jing, LING Shou-yi, XIAO Jiao, WANG Jing-jing
(Department of Emergency, the People's Hospital of SND, Suzhou 215000, Jiangsu, China)

【Abstract】Objective: To investigate the effects of interleukin-39 (IL-39) on mitophagy and myocardial injury in septic rats, as well as the regulatory role of Prohibitin2/PTEN induced putative kinase 1/Parkin (PHB2/PINK1/Parkin) pathway. **Methods:** 80 rats were randomly divided into sham group, cecal ligation and puncture (CLP) group, CLP+IL-39 group, CLP+IL-39 inhibitor group, CLP+Ad-NC group, CLP+Ad-PHB2 group, CLP+IL-39+Ad-NC group, CLP+IL-39+Ad-PHB2 group, with 10 rats in each group. A rat sepsis model was established using CLP method. After corresponding intervention, echocardiography was used to detect the cardiac function of rats, ELISA was used to detect serum myocardial injury marker [cardiac troponin I (c-TnI), creatine kinase-myocardial band (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH)] and inflammatory factor

[tumor necrosis factor (TNF- α), IL-1 β , IL-6] levels. HE staining was used to observe myocardial pathological damage, transmission electron microscopy was used to observe myocardial mitochondrial morphology and mitophagosome formation, Western blotting was used to detect the expression of IL-39, PHB2, PINK1, Parkin, microtubule-associated protein light chain 3 II (LC3 II), and p62 protein in myocardium. **Results:** Compared with sham group, left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular fractional shortening (LVFS) values of rats in CLP group decreased, left ventricular end-systolic diameter (LVESD) and left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD) values increased, serum c-TnI, CK-MB, LDH, TNF- α , IL-1 β , and IL-6 levels increased. The myocardial cells were disordered with marked inflammatory cell infiltration, myocardial mitochondria were swollen and deformed, with cristae rupture and lysis, and mitophagosome formation was decreased, the expression of IL-39 and p62 in myocardium increased, while the expression of PHB2, PINK1, Parkin, and LC3 II decreased ($P < 0.05$). Compared with CLP group, LVEF and LVFS values of rats in CLP+IL-39 group decreased, LVESD and LVEDD values increased, serum c-TnI, CK-MB, LDH, TNF- α , IL-1 β , and IL-6 levels increased. The myocardial cells were disordered with marked inflammatory cell infiltration, myocardial mitochondria were swollen and deformed, with cristae rupture and lysis, and mitophagosome formation was decreased, the expression of IL-39 and p62 in myocardium increased, while the expression of PHB2, PINK1, Parkin, and LC3 II decreased ($P < 0.05$). LVEF and LVFS values of rats in CLP+IL-39 inhibitor group increased, LVESD and LVEDD values decreased, serum c-TnI, CK-MB, LDH, TNF- α , IL-1 β , and IL-6 levels decreased. Myocardial pathological damage was alleviated, mitochondrial structural damage was relieved, and mitophagosome formation was increased, the expression of myocardial IL-39 and p62 decreased, while the expression of PHB2, PINK1, Parkin, and LC3 II increased ($P < 0.05$). Compared with CLP+Ad-NC group, LVEF and LVFS values of rats in CLP+Ad-PHB2 group increased, LVESD and LVEDD values decreased, serum c-TnI, CK-MB, LDH, TNF- α , IL-1 β , and IL-6 levels decreased. Myocardial pathological damage was alleviated, mitochondrial structural damage was relieved, and mitophagosome formation was increased, the expression of myocardial p62 decreased, while the expression of PHB2, PINK1, Parkin, and LC3 II increased ($P < 0.05$). Compared with CLP+IL-39+Ad-NC group, LVEF and LVFS values of rats in CLP+IL-39+Ad-PHB2 group increased, LVESD and LVEDD values decreased, serum c-TnI, CK-MB, LDH, TNF- α , IL-1 β , and IL-6 levels decreased. Myocardial pathological damage was alleviated, mitochondrial structural damage was relieved, and mitophagosome formation was increased, the expression of myocardial p62 decreased, while the expression of PHB2, PINK1, Parkin, and LC3 II increased ($P < 0.05$). **Conclusion:** IL-39 exacerbates myocardial injury in septic rats by inhibiting PHB2/PINK1/Parkin pathway mediated mitophagy.

【Key words】 Sepsis; IL-39; PHB2/PINK1/Parkin pathway; Mitophagy; Myocardial injury

脓毒症是由感染引发的全身炎症反应综合征,其发病率和死亡率在重症医学领域居高不下,严重威胁人类健康^[1]。心肌作为全身代谢较活跃的器官,极易在脓毒症状态下发生损伤,不仅会导致心功能不全、心律失常等并发症,还会增加脓毒症患者死亡风险^[2]。线粒体是心肌细胞能量代谢的核心场所,其结构和功能完整性直接决定心肌细胞存活状态。线粒体自噬可特异性识别并清除受损线粒体以维持细胞内环境稳态,是心肌细胞对应激损伤的重要保护机制^[3]。脓毒症状态下,过度炎症反应会破坏线粒体自噬平衡,导致受损线粒体大量蓄积,进而引发心肌细胞凋亡和炎症反应加剧,最终加重心肌损伤^[4]。抗增殖蛋白 2/磷酸酶及张力蛋白同源物诱导的蛋白激酶 1/ Parkin, PHB2/PINK1/ Parkin)通路是调控线粒体自噬的核心通路。当线粒体受损时, PINK1 会在受损线粒体膜上蓄积并激活,招募 Parkin 转移至线粒体,并泛素化修饰标记受损线粒体,而 PHB2 可与泛素化修饰的线粒体及微管相关蛋白轻链 3(microtubule-associated protein light chain 3, LC3)结合,介导自噬体对受损线

粒体的识别与吞噬,最终完成线粒体降解^[5]。研究已证实脓毒症状态下 PINK1/Parkin 通路活性被显著降低,而上调 PHB2/PINK1/Parkin 通路可通过增加线粒体自噬水平,进而缓解心肌损伤^[6-7]。

白细胞介素 39(interleukin-39, IL-39)是 IL-12 家族的新成员,主要由活化的 B 细胞分泌。IL-12 家族其他成员已被证实广泛参与脓毒症炎症调控过程,其中 IL-12、IL-23 通过促进促炎因子释放加重脓毒症损伤^[8-9],而 IL-27、IL-35 则具有抗炎保护作用^[10-11]。研究^[12-13]发现 IL-39 在支气管哮喘、自身免疫性甲状腺病中发挥促炎作用。此外,本研究前期发现 IL-39 参与了脓毒症心肌线粒体损伤和心肌凋亡,但具体机制尚未明确,IL-39 可能是脓毒症心肌病的治疗靶点。考虑到 IL-12 可通过抑制自噬加重炎症损伤^[14],而脓毒症中心肌损伤与线粒体自噬异常密切相关,推测 IL-39 也可能通过调控炎症和线粒体自噬,参与脓毒症心肌损伤的发生发展。基于此,本研究采用盲肠结扎穿孔(cecal ligation and puncture, CLP)法建立大鼠脓毒症模型,拟探究 IL-39 对脓毒症大鼠线粒体自噬和心肌损伤的影响,明确 PHB2/PINK1/Parkin 通路在其中的调控作用。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

80 只 SPF 级雄性 SD 大鼠,8 周龄,体质量为 220~240 g,购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司[生产许可证号 SCXK(苏)2023-0009],相关研究已通过苏州高新区人民医院伦理委员会批准(批准号:20240521)。重组大鼠 IL-39 蛋白、IL-39 中和抗体(抑制剂)购自南京德泰生物工程有限公司(批号 DTD0312、DTA0712);心肌肌钙蛋白 I(cardiac troponin I, c-TnI)、肌酸激酶同工酶(creatine kinase-myocardial band, CK-MB)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF- α)、IL-1 β 和 IL-6 ELISA 试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司(批号 mL003145、mL092665、mL106660、mL002859、mL037361、mL064292);IL-39 抗体购自美国 Thermo Fisher 公司(批号 46-7823-42);PHB2、PINK1、Parkin、LC3、p62、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体购自江苏亲科生物研究中心有限公司(批号 AF6551、DF7742、AF0235、AF5402、AF5384、AF7018);Vevo 3100 小动物超声成像系统购自上海瑞孚迪生物医学有限公司;ELX800 酶标仪购自美国 Bio-Tek 公司;ChemiDoc MP 成像系统购自美国 Bio-Rad 公司;CX33 光学显微镜购自日本 Olympus 公司;Tecnai G2 Spirit 透射电子显微镜购自美国 FEI 公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组和处理 80 只大鼠随机分为假手术组、CLP 组、CLP+IL-39 组、CLP+IL-39 抑制剂组(CLP+IL-39 inhibitor)、CLP+空载腺病毒组(CLP+Ad-NC)、CLP+PHB2 过表达腺病毒组(CLP+Ad-PHB2)、CLP+IL-39+Ad-NC 组、CLP+IL-39+Ad-PHB2 组,每组各 10 只。大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉后,仰卧位固定。腹部备皮后常规消毒、铺巾。假手术组仅逐层切开腹部皮肤及腹膜,分离盲肠后即刻回纳并逐层缝合,术后腹腔注射 5 mL/kg 生理盐水补液;其余 7 组均采用 CLP 法建立脓毒症模型,即逐层切开腹部约 2 cm,找到盲肠后于末端 1/3 处用 4-0 丝线结扎,以 18G 无菌针头在结扎点远端对侧肠壁穿刺 2 孔,轻挤盲肠使少量粪便溢出确认造模成功,回纳盲肠后逐层缝合,术后同法补液。各组干预如下:CLP+IL-39 组、CLP+IL-39 抑制剂组于造模后分别尾静脉注射重组 IL-39 蛋白(10 μ g/kg)、IL-39 中和抗体(50 μ g/kg),CLP+Ad-NC 组、CLP+Ad-PHB2 组于造模前 3 d 分别尾静脉注射 Ad-NC、Ad-PHB2(均为 1×10^9 PFU),CLP+IL-39+Ad-NC 组、CLP+IL-39+Ad-

PHB2 组于造模前 3 d 分别尾静脉注射 Ad-NC、Ad-PHB2(均为 1×10^9 PFU),且造模后即刻尾静脉注射重组 IL-39 蛋白(10 μ g/kg),假手术组、CLP 组于相应时间点注射等量生理盐水。造模 24 h 后检测大鼠心功能;随后取腹主动脉血和心肌备用。

1.2.2 超声心动图检测心功能 大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉后,仰卧位固定。胸部备皮,涂抹耦合剂,通过小动物超声成像系统获取左心室短轴切面图像,分别测量左室收缩末期径(left ventricular end-systolic diameter, LVESD)、左室舒张末期径(left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD),并计算左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、左室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening, LVFS)。

1.2.3 ELISA 检测血清心肌损伤标志物和炎症因子水平 取大鼠腹主动脉血,离心取血清。按照试剂盒说明进行 ELISA 检测,通过酶标仪检测血清 c-TnI、CK-MB、LDH、TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平。

1.2.4 HE 染色观察心肌病理损伤 取大鼠心肌组织,放入 4%多聚甲醛中固定 24 h,梯度脱水后制作石蜡切片(厚度 5 μ m)。按照试剂盒说明进行 HE 染色,通过光学显微镜观察心肌病理损伤。

1.2.5 透射电镜观察心肌线粒体形态和线粒体自噬小体形成 取大鼠心肌组织,置于 2.5%戊二醛中固定 24 h,1%锇酸后固定 2 h,包埋环氧树脂后制作超薄切片(厚度 70 nm)。切片经醋酸铀-枸橼酸铅双重染色,通过透射电镜观察心肌细胞内线粒体形态和线粒体自噬小体形成。

1.2.6 蛋白质印迹法检测心肌 IL-39、PHB2、PINK1、Parkin、LC3 II、p62 蛋白表达 取大鼠心肌组织,裂解后离心取上清液,BCA 法测定蛋白浓度后进行电泳并转 PVDF 膜。膜封闭后加入一抗(IL-39、PHB2、PINK1、Parkin、LC3、p62、 β -actin, 1:1 000)孵育过夜;洗涤后加入 HRP 标记二抗(1:5 000)孵育 2 h。膜滴加发光液,通过成像系统显影,Image J 1.8.0 软件分析蛋白灰度值,以 β -actin 为内参,计算蛋白表达水平。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据分析,所有数据均符合正态分布和方差齐性,以($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-39 加重脓毒症大鼠心功能障碍

与假手术组比较,CLP 组大鼠 LVEF 值(图

1A)、LVFS 值(图 1B)降低,LVESD 值(图 1C)、LVEDD 值(图 1D)升高($P<0.05$);与 CLP 组比较,CLP+IL-39 组大鼠 LVEF、LVFS 值降低,LVESD、LVEDD 值升高($P<0.05$),而 CLP+IL-39 抑制剂组大鼠 LVEF、LVFS 值升高,LVESD、LVEDD 值降低($P<0.05$);与 CLP+Ad-NC 组比

较,CLP+Ad-PHB2 组大鼠 LVEF、LVFS 值升高,LVESD、LVEDD 值降低($P<0.05$);与 CLP+IL-39+Ad-NC 组比较,CLP+IL-39+Ad-PHB2 组大鼠 LVEF、LVFS 值升高,LVESD、LVEDD 值降低($P<0.05$)。

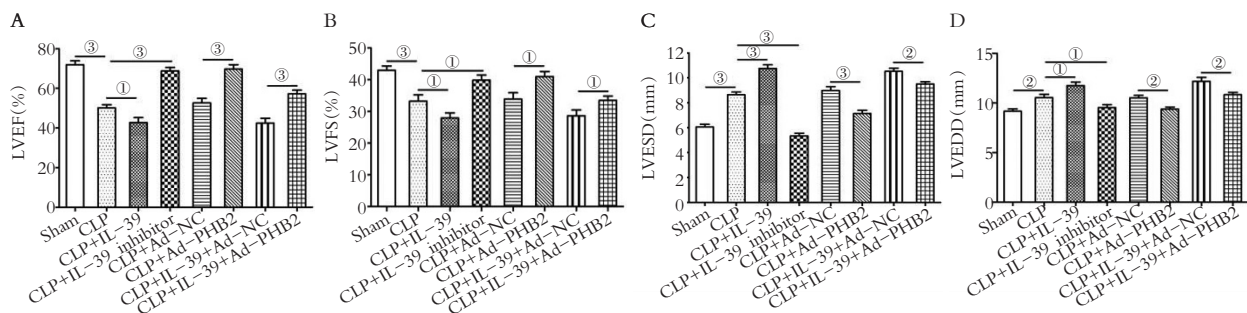


图 1 超声心动图检测大鼠心功能($n=10$)

A. LVEF 值;B. LVFS 值;C. LVESD 值;D. LVEDD 值。① $P<0.05$;② $P<0.01$;③ $P<0.001$ 。

2.2 IL-39 升高脓毒症大鼠血清心肌损伤标志物及炎症因子水平

与假手术组比较,CLP 组大鼠血清 c-TnI(图 2A)、CK-MB(图 2B)、LDH(图 2C)、TNF- α (图 2D)、IL-1 β (图 2E)、IL-6(图 2F)水平升高($P<0.05$);与 CLP 组比较,CLP+IL-39 组大鼠血清 c-TnI、CK-MB、LDH、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平升高($P<0.05$),而 CLP+IL-39 抑制剂组大鼠血清

c-TnI、CK-MB、LDH、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平降低($P<0.05$);与 CLP+Ad-NC 组比较,CLP+Ad-PHB2 组大鼠血清 c-TnI、CK-MB、LDH、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平降低($P<0.05$);与 CLP+IL-39+Ad-NC 组比较,CLP+IL-39+Ad-PHB2 组大鼠血清 c-TnI、CK-MB、LDH、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平降低($P<0.05$)。

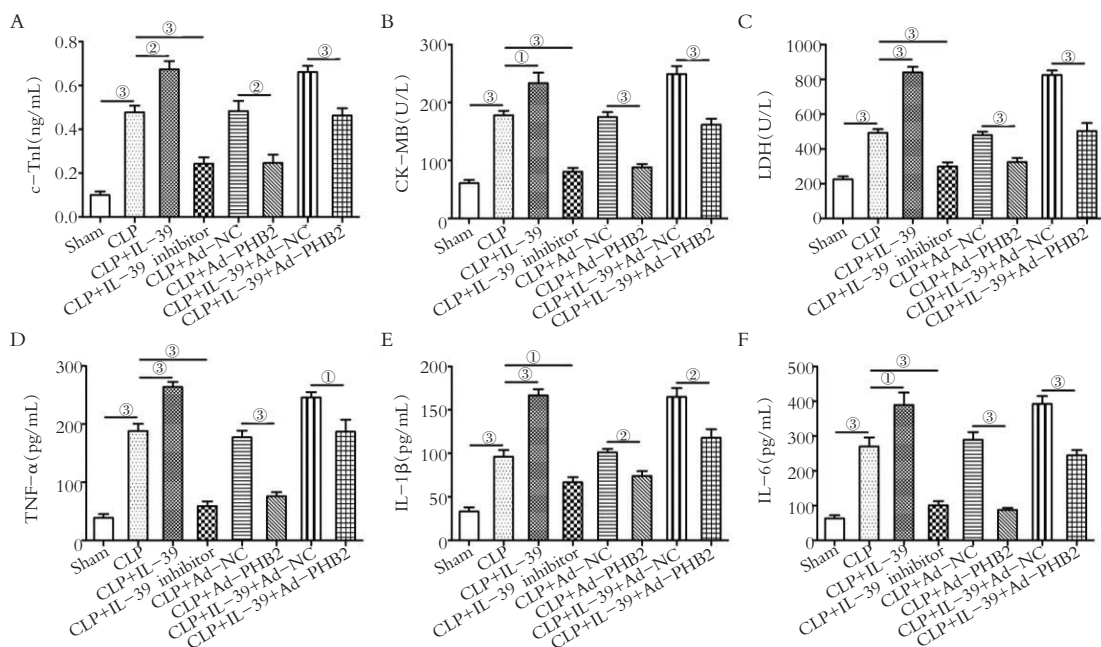


图 2 ELISA 检测大鼠血清 c-TnI、CK-MB、LDH、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平($n=10$)

A. 血清 c-TnI 水平;B. 血清 CK-MB 水平;C. 血清 LDH 水平;D. 血清 TNF- α 水平;E. 血清 IL-1 β 水平;F. 血清 IL-6 水平。① $P<0.05$;② $P<0.01$;③ $P<0.001$ 。

2.3 IL-39 加重脓毒症大鼠心肌组织病理损伤

假手术组大鼠心肌纤维排列整齐,无明显炎症细

胞浸润和心肌细胞损伤;CLP 组、CLP+IL-39 组、CLP+Ad-NC 组、CLP+IL-39+Ad-NC 组、CLP+IL-

39+Ad-PHB2 组大鼠心肌病理损伤严重,表现为纤维排列紊乱,炎症细胞浸润明显,心肌细胞肿胀甚至坏死,以 CLP+IL-39 组、CLP+IL-39+Ad-NC 组损

伤更为严重;CLP+IL-39 抑制剂组、CLP+Ad-PHB2 组大鼠心肌病理损伤减轻,心肌纤维排列较整齐,炎症细胞浸润及坏死细胞较少。见图 3。

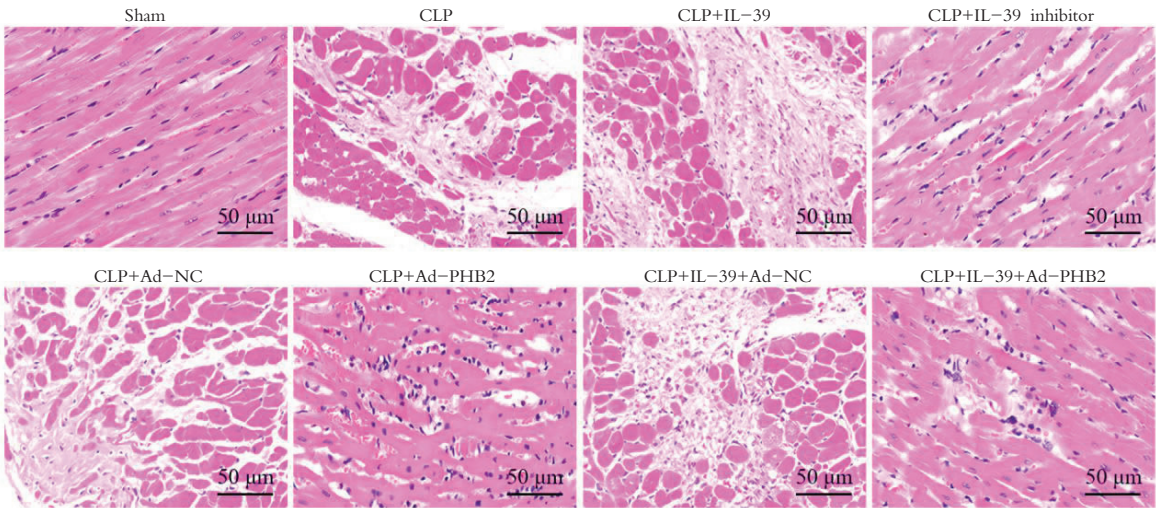
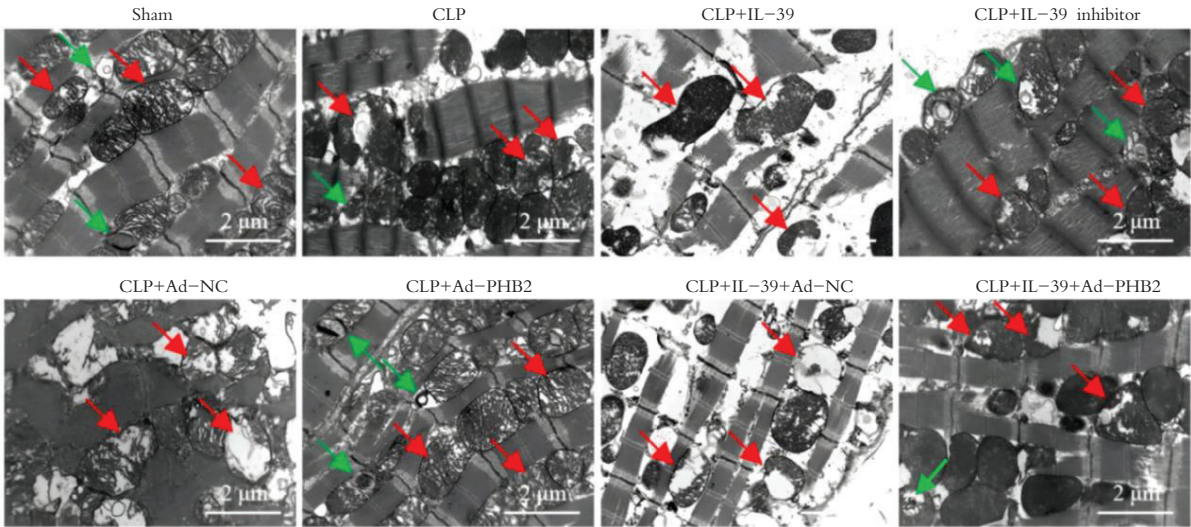


图 3 HE 染色观察心肌病理损伤(×400)

2.4 IL-39 加重脓毒症大鼠心肌线粒体损伤,并抑制线粒体自噬

假手术组大鼠心肌线粒体形态规则,线粒体嵴致密且排列整齐,细胞质中偶见少量线粒体自噬小体;CLP 组、CLP+IL-39 组、CLP+Ad-NC 组、CLP+IL-39+Ad-NC 组、CLP+IL-39+Ad-PHB2 组大

鼠心肌线粒体损伤严重,表现为线粒体肿胀,嵴断裂、溶解甚至消失,部分线粒体呈空泡化改变,线粒体自噬小体形成减少;CLP+IL-39 抑制剂组、CLP+Ad-PHB2 组大鼠心肌线粒体损伤减轻,线粒体形态趋于正常,线粒体自噬小体形成增加。见图 4。



红色箭头指示线粒体,绿色箭头指示线粒体自噬小体。

图 4 透射电镜观察心肌线粒体形态和自噬小体形成(×10 000)

2.5 IL-39 抑制脓毒症大鼠心肌 PHB2/PINK1/Parkin 通路激活及线粒体自噬相关蛋白表达

与假手术组比较,CLP 组大鼠心肌 IL-39、p62 表达升高,PHB2、PINK1、Parkin、LC3 II 表达降低($P<0.05$);与 CLP 组比较,CLP+IL-39 组大鼠心肌 IL-39、p62 表达升高,PHB2、PINK1、Parkin、LC3 II 表达降低($P<0.05$),而 CLP+IL-39 抑制

剂组大鼠心肌 IL-39、p62 表达降低,PHB2、PINK1、Parkin、LC3 II 表达升高($P<0.05$);与 CLP+Ad-NC 组比较,CLP+Ad-PHB2 组大鼠心肌 IL-39 表达差异无统计学意义($P>0.05$),p62 表达降低,PHB2、PINK1、Parkin、LC3 II 表达升高($P<0.05$);与 CLP+IL-39+Ad-NC 组比较,CLP+IL-39+Ad-PHB2 组大鼠心肌 IL-39 表达差异无统计

学意义($P>0.05$), p62 表达降低, PHB2、PINK1、Parkin、LC3 II 表达升高($P<0.05$)。见图 5。

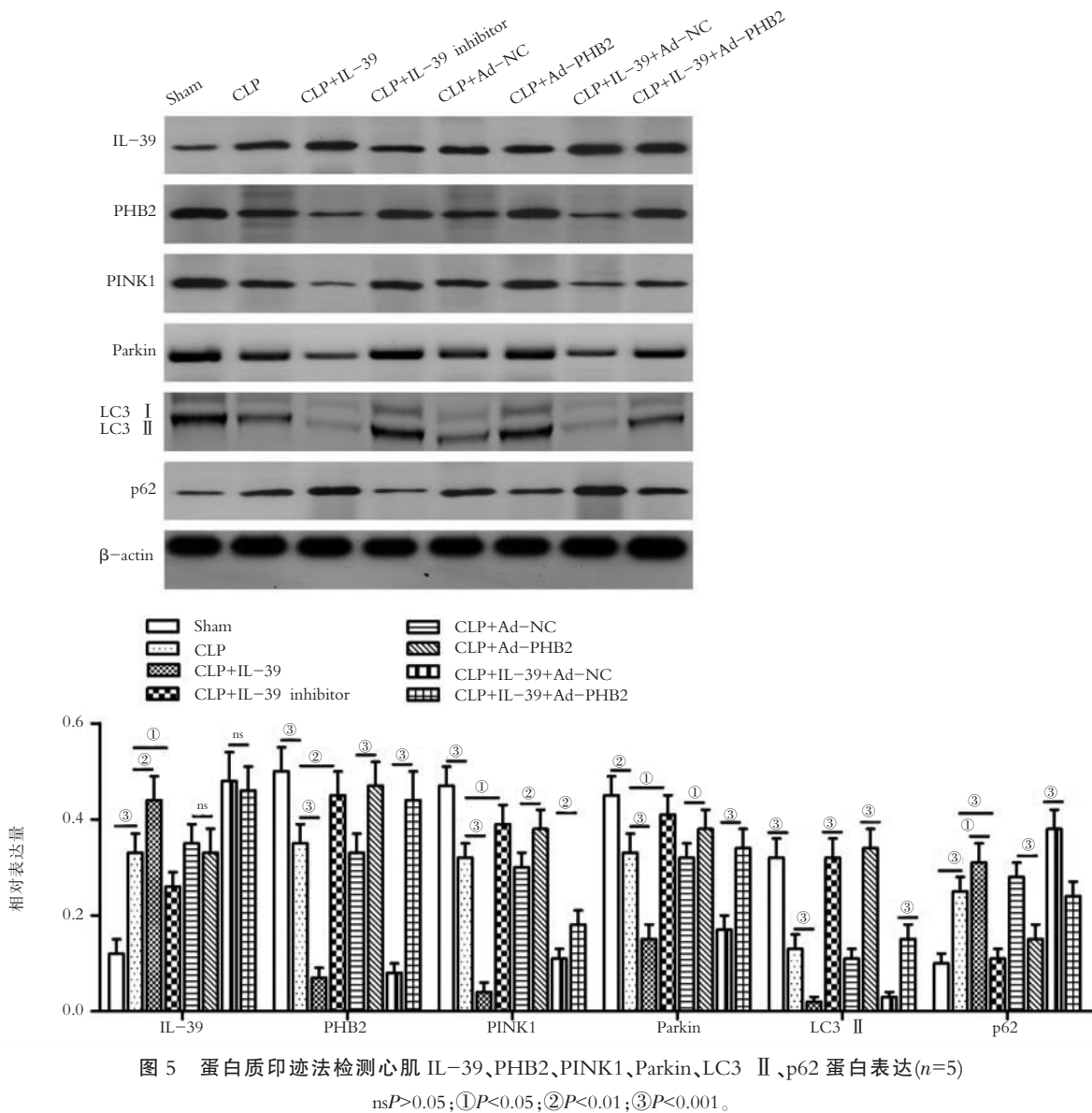


图 5 蛋白质印迹法检测心肌 IL-39、PHB2、PINK1、Parkin、LC3 II、p62 蛋白表达($n=5$)

ns $P>0.05$; ① $P<0.05$; ② $P<0.01$; ③ $P<0.001$ 。

3 讨论

心肌损伤是脓毒症常见的并发症,炎症风暴、氧化应激及线粒体功能障碍等因素可导致心功能障碍,进而引发心力衰竭^[15]。因此,阐明其关键调控机制并寻找有效干预靶点具有重要意义。IL-12 家族成员是重要的炎症调控因子,在脓毒症中作用各异:IL-12 促进巨噬细胞 M1 型极化,加剧脓毒症心肌炎症损伤^[16];IL-23 则诱导 IL-17 表达,加重全身炎症反应^[17];而 IL-27 可通过激活调节性 T 细胞发挥抗炎作用^[18];IL-35 则减轻脓毒症凝血功能障碍^[19]。IL-39 是该家族新成员,相关研究尚处起步阶段。现有证据显示,IL-39 在类风湿关节炎^[20]、系统性红斑狼疮^[21]等自身免疫性疾病中呈促炎作用,可通过促进炎症因子分泌、激活免疫细胞增强炎症

反应。结合 IL-12 家族在脓毒症中的调控特点,推测 IL-39 可能通过放大炎症反应加重脓毒症器官损伤,而心肌作为脓毒症易损器官,或是其重要靶点。

本研究采用 CLP 法建立大鼠脓毒症模型,该模型模拟临床腹腔感染病理过程,可稳定诱导大鼠全身炎症反应及多器官损伤,兼具操作简便、重复性好的优点,是脓毒症机制研究的经典动物模型。本研究结果显示,CLP 大鼠出现明显心肌损伤:心功能指标 LVEF、LVFS 降低,LVESD、LVEDD 升高,血清心肌损伤标志物(c-TnI、CK-MB、LDH)及促炎因子(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6)水平升高,心肌组织病理损伤严重,且心肌 IL-39 表达上调。这表明脓毒症状态下内源性 IL-39 表达升高,且与心肌损伤程度密切相关,提示 IL-39 可能参与脓毒症心肌损伤过程。为验证 IL-39 的调控作用,本研究通过外源性补充

IL-39 蛋白、注射 IL-39 中和抗体干预。结果显示 IL-39 蛋白干预后大鼠心肌损伤进一步加重,心功能障碍更显著,血清心肌损伤标志物和促炎因子水平持续升高;而 IL-39 抑制剂作用则相反,大鼠心肌损伤减轻,心功能改善,炎症因子水平降低。这明确证实了 IL-39 在脓毒症心肌损伤中发挥促进作用,抑制 IL-39 表达则可缓解损伤过程。

线粒体自噬通过清除受损线粒体维持线粒体稳态,在细胞应激中发挥关键保护作用。脓毒症状态下,心肌细胞线粒体易受损伤,而线粒体自噬激活可及时清除受损线粒体,减少心肌细胞损伤^[22]。本研究结果显示,CLP 大鼠心肌线粒体明显损伤,线粒体自噬小体形成减少,同时心肌 LC3 II 表达降低,p62 表达升高,提示脓毒症状态下心肌线粒体自噬被抑制,受损线粒体无法被有效清除,进而加重心肌损伤。而 IL-39 蛋白干预进一步抑制线粒体自噬;IL-39 抑制剂则能促进线粒体自噬。这表明 IL-39 加重脓毒症心肌损伤的作用与抑制线粒体自噬有关。PHB2/PINK1/Parkin 通路是调控线粒体自噬的经典通路^[23]。正常生理状态下,三者被协同激活,通过介导受损线粒体的选择性清除,维持心肌线粒体功能稳态。脓毒症状态下,心肌线粒体持续遭受炎症因子侵袭与氧化应激损伤,膜电位下降本应促使 PINK1 聚集活化并招募胞质 Parkin 至线粒体表面。但脓毒症引发的剧烈炎症风暴、持续氧化应激等病理微环境,会显著下调 PHB2、PINK1、Parkin 蛋白表达,导致 Parkin 泛素化修饰功能减弱,PHB2 识别泛素化信号并结合受损线粒体的能力下降,且与自噬相关蛋白 LC3 II 相互作用受阻,最终线粒体自噬小体形成减少,受损线粒体大量堆积无法降解,通路功能被显著抑制。近年来,研究发

现激活 PHB2/PINK1/Parkin 通路可通过促进线粒体自噬减少受损线粒体积累,改善心肌缺血再灌注损伤^[24];在脓毒症心肌病中,该通路的激活可缓解心肌炎症和氧化应激,改善心肌损伤^[25]。然而,在脓毒症心肌损伤中该通路 与 IL-39 的关联尚未明确。本研究结果显示,CLP 大鼠心肌 PHB2、PINK1、Parkin 及 LC3 II 表达降低,p62 表达升高,线粒体自噬小体减少,证实脓毒症状态下 PHB2/PINK1/Parkin 通路被抑制,直接导致线粒体自噬功能下降,这也是脓毒症心肌损伤的重要机制之一。进一步干预实验显示,IL-39 蛋白可进一步抑制 PHB2/PINK1/Parkin 通路激活,加剧线粒体自噬功能障碍;而 IL-39 抑制剂则可逆转脓毒症对该通路的抑制作用,恢复线粒体自噬功能。为直接验证该通路的介导作用,本研究通过腺病毒介导 PHB2 过表达开展 rescue 实验。结果显示,过表达 PHB2 可通过激活 PHB2/PINK1/Parkin 通路及其介导的线粒体自噬,逆转 CLP 及 IL-39 对心功能和心肌炎性损伤的影响。这表明 PHB2 可逆转 IL-39 对 PHB2/PINK1/Parkin 通路的抑制作用,恢复线粒体自噬功能,从而拮抗 IL-39 的促心肌损伤效应。见图 6。

综上,IL-39 通过抑制 PHB2/PINK1/Parkin 通路介导的线粒体自噬,加重脓毒症大鼠心肌损伤,这一结果阐明了 IL-39 在脓毒症心肌损伤中的调控作用及分子机制,为脓毒症心肌损伤的防治提供了新的潜在靶点。然而,本研究不足之处在于仅聚焦于 PHB2/PINK1/Parkin 通路,未深入探讨 IL-39 调控该通路的上游分子机制。今后将寻找 IL-39 的特异性受体及下游信号分子,为脓毒症心肌损伤的临床治疗提供更有效的方案。

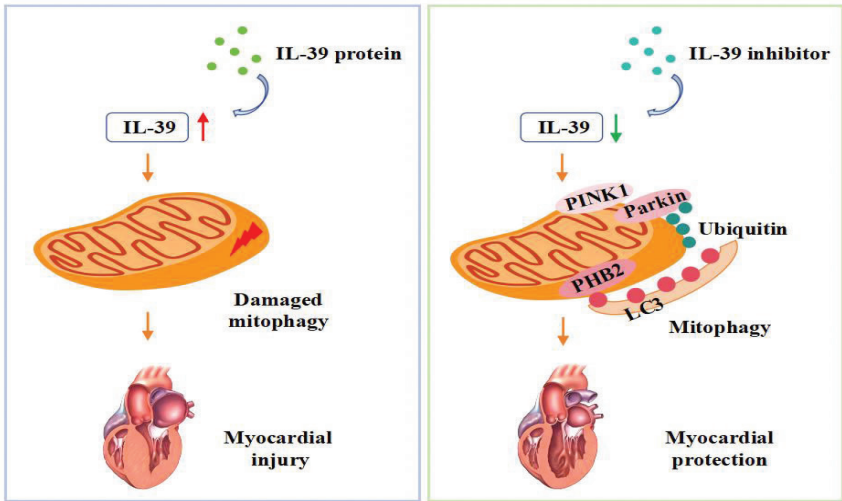


图 6 IL-39 调控 PHB2/PINK1/Parkin 通路抑制线粒体自噬加重脓毒症大鼠心肌损伤

参考文献

- [1] Akcan Arian A, Ostermann M, Goldstein SL, *et al.* Sepsis criteria and kidney function: eliminating sex, age and economic status biases[J]. *Nature Reviews Nephrology*, 2025, 21(8): 565—575.
- [2] Yang WW, Cao YT, Li JY, *et al.* Pathogenesis and treatment strategies of sepsis-induced myocardial injury: modern and traditional medical perspectives[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2025, 21(8): 3478—3504.
- [3] Chen Z, Liu T, Xiong L, *et al.* Shen - fu injection modulates HIF-1 α /BNIP3-mediated mitophagy to alleviate myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *Cardiovascular Toxicology*, 2025, 25(6): 898—914.
- [4] Tang R, Jiang MH, Tang X, *et al.* Narciclasine mitigates sepsis-induced cardiac dysfunction by enhancing BNIP3-mediated mitophagy and suppressing ferroptosis [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2025, 238: 220—234.
- [5] Ma ZY, Zhang D, Sun J, *et al.* Formononetin inhibits hepatic I/R-induced injury through regulating PHB2/PINK1/parkin pathway[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 2022: 6481192.
- [6] 赵滋苗, 秦金燕, 臧倩, 等. 黄连解毒汤靶向 PINK1/Parkin 通路调控线粒体自噬缓解脓毒症心肌损伤的机制研究[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2025, 35(10): 901—908, 914.
- [7] Zhang J, Zhao Y, Yan L, *et al.* Corosolic acid attenuates cardiac ischemia/reperfusion injury through the PHB2/PINK1/parkin/mitophagy pathway[J]. *iScience*, 2024, 27(8): 110448.
- [8] Luo WJ, Yu SL, Chang CC, *et al.* HLJ1 amplifies endotoxin-induced sepsis severity by promoting IL-12 heterodimerization in macrophages[J]. *eLife*, 2022, 11: e76094.
- [9] Dong H, Zhang Y, Zhou Y, *et al.* *Gastrodia elata* Blume extract alleviates sepsis-induced lung injury by suppressing IL-23/IL-17 A axis[J]. *Fitoterapia*, 2025, 184: 106624.
- [10] 虞伟妃, 符丹丽, 汪笑秋, 等. 白细胞介素-27 调控辅助性 T 细胞 17/调节性 T 细胞在多发性骨髓瘤合并脓毒症中的作用机制[J]. *中国药物与临床*, 2025, 25(20): 1334—1338.
- [11] Liu PT, Zhang C, Guo MK, *et al.* IL-35 alleviates ferroptosis in macrophage by activating the NRF2/GPX4 pathway to improve sepsis-induced ARDS[J]. *Cytokine*, 2026, 198: 157086.
- [12] 张思琪, 王晓丽, 赵慧敏, 等. 白细胞介素-39 在支气管哮喘及其他疾病中的作用及机制的研究进展[J]. *临床肺科杂志*, 2023, 28(9): 1413—1416.
- [13] 杜鹏, 高超群, 祝洁, 等. 自身免疫性甲状腺病中血浆 IL-39 水平的变化及临床意义[J]. *中国免疫学杂志*, 2025, 41(12): 2956—2958, 2964.
- [14] Merkley SD, Goodfellow SM, Guo Y, *et al.* Non-autophagy role of Atg5 and NBR1 in unconventional secretion of IL-12 prevents gut dysbiosis and inflammation[J]. *Journal of Crohn's and Colitis*, 2022, 16(2): 259—274.
- [15] Sanchez PA, Obeidalla S, Kerchberger VE, *et al.* Heterogeneity in association of myocardial injury and mortality in sepsis or acute respiratory distress syndrome by subphenotype: a retrospective study[J]. *Critical Care*, 2025, 29(1): 363.
- [16] 王震. IL-12A 在脓毒症心肌损伤中的作用和机制研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2022.
- [17] 叶森青. 基于 IL-23/IL-17 轴探讨血必净对脓毒症临床疗效的影响[D]. 广州: 广州中医药大学, 2024.
- [18] 张登容, 刘春瑶, 卜婷婷, 等. IL-27 在脓毒症炎症调节机制中的研究进展[J]. *东南大学学报(医学版)*, 2022, 41(4): 587—592.
- [19] 许晓辰, 潘慧斌, 李国栋. IL-35 参与脓毒症大鼠凝血功能障碍发生的作用机制[J]. *浙江实用医学*, 2025, 30(3): 189—192, 197.
- [20] Sharquie IK, Gorali FI, Al-Ghuraibawi ZA, *et al.* Machine learning-based analysis of serum interleukin-39 and interleukin-40 levels for differentiating rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus[J]. *Medeniyet Medical Journal*, 2025, 40(4): 235—240.
- [21] Chen Z, Liu S, Xie R, *et al.* Cytokine networks and therapeutic advances in systemic lupus erythematosus [J]. *Frontiers in Immunology*, 2025, 16: 1680418.
- [22] Deng Z, He M, Hu H, *et al.* Melatonin attenuates sepsis-induced acute kidney injury by promoting mitophagy through SIRT3-mediated TFAM deacetylation[J]. *Autophagy*, 2024, 20(1): 151—165.
- [23] 段晓鑫, 刘嘉琪, 宋胡丹, 等. 基于 PHB2/PGAM5/PINK1/Parkin 信号轴探讨安肠汤改善溃疡性结肠炎大鼠肠上皮细胞线粒体自噬的作用机制[J/OL]. *中华中医药学刊* (2026—01—04)[2026—01—15]. <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.R.20260104.0920.002>.
- [24] 张俊. 科罗索酸通过 PHB2/PINK1/Parkin 通路调控线粒体自噬改善心肌缺血再灌注损伤[D]. 苏州: 苏州大学, 2024.
- [25] 孔晨. 橙皮素通过促进线粒体自噬改善脂多糖诱导大鼠脓毒症心肌病的作用研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2024.

(收稿日期: 2026—01—15)

修回日期: 2026—03—16)