

· 论著 · 脓毒症及其机制研究 ·

本文亮点:

- (1) 证明在模拟脓毒症状态下小鼠树突状细胞(DC)内干扰素基因刺激因子(STING)活化显著,并对 DC 内酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4(ACSL4)介导的铁死亡具有明显促进效应。
- (2) 从动物水平证实,抑制 STING 活化能显著改善小鼠脓毒症状态下 DC 内 ACSL4 介导的铁死亡,为脓毒症免疫精准调理策略开辟新方向。

Highlights:

- (1) It was demonstrated that the stimulator of interferon gene (STING) in mouse dendritic cells (DCs) was significantly activated under simulated sepsis, and it had a pronounced promoting effect on acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (ACSL4)-mediated ferroptosis in DCs.
- (2) It was confirmed at the animal level that inhibiting STING activation could significantly improve ACSL4-mediated ferroptosis in DCs under sepsis in mice, opening up new directions in the strategy for precise immunoregulation of sepsis.



干扰素基因刺激因子对脓毒症状态下小鼠树突状细胞内酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4 介导铁死亡的影响

吴梦瑶¹ 贺鹏翼¹ 段昱¹ 郑丽玉¹ 姚人骐² 周岐原¹ 陈钰¹ 董宁¹ 吴瑶¹
姚咏明¹

¹解放军总医院医学创新研究部、第四医学中心,北京 100853;²解放军总医院第一医学中心普通外科,北京 100853

通信作者:姚咏明,Email:c_ff@sina.com

【摘要】 目的 探讨干扰素基因刺激因子(STING)对脓毒症状态下小鼠树突状细胞(DC)内酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4(ACSL4)介导铁死亡的影响,为改善由创面感染等因素引发的脓毒症免疫应答失调提供依据。方法 该研究为实验研究。取第 3~10 代对数生长期的小鼠 DC 系 DC2.4,按随机数字表法(分组方法下同)分为内毒素/脂多糖(LPS)刺激 0 h(不刺激)组、LPS 刺激 6 h 组、LPS 刺激 12 h 组、LPS 刺激 18 h 组和 LPS 刺激 24 h 组,用 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS(浓度下同)培养相应时间后,采用蛋白质印迹法检测细胞中磷酸化 STING(p-STING)、STING 和 ACSL4 的蛋白表达;将成功转染含 *STING* 基因小干扰 RNA(下称 siSTING)慢病毒的 DC2.4 分为 siSTING+磷酸盐缓冲液(PBS)组、siSTING+LPS 组,将成功转染空载慢病毒的 DC2.4 分为空载体+PBS 组、空载体+LPS 组,给予 PBS 或 LPS 刺激并培养 24 h,同前检测细胞中 p-STING、STING 和 ACSL4 的蛋白表达,采用脂质过氧化检测试剂盒观察细胞脂质过氧化程度,采用流式细胞术检测细胞凋亡率。以上细胞实验中样本数均为 3。将 80 只 6~8 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠分为假手术+生理盐水组、盲肠结扎穿孔(CLP)+生理盐水组、假手术+C-176 组、CLP+C-176 组,每组 20 只。对 2 个 C-176 组小鼠先经腹腔注射 C-176、2 个生理盐水组小鼠先经腹腔注

DOI:10.3760/cma.j.cn501225-20240518-00184

本文引用格式:吴梦瑶,贺鹏翼,段昱,等.干扰素基因刺激因子对脓毒症状态下小鼠树突状细胞内酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4 介导铁死亡的影响[J].中华烧伤与创面修复杂志,2024,40(10):920-929. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20240518-00184.

Wu MY, He PY, Duan Y, et al. Effects of stimulator of interferon gene on ferroptosis mediated by acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 in mouse dendritic cells under sepsis[J]. Chin J Burns Wounds, 2024, 40(10): 920-929. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20240518-00184.



射等量生理盐水, 1 h 后对 2 个假手术组小鼠行假手术、对 2 个 CLP 组小鼠行 CLP 术构建脓毒症模型。术后 24 h, 将每组 10 只小鼠处死后提取脾脏 DC, 同前行蛋白表达、脂质过氧化程度、凋亡率检测(样本数均为 3); 另行苏木精-伊红染色观察小鼠心、肝、肺、肾病理组织损伤。观察各组剩余 10 只小鼠术后 7 d 内存活情况。 **结果** LPS 刺激 24 h 组 DC2.4 中 p-STING、STING、ACSL4 的蛋白表达及 p-STING/STING 比值均明显高于 LPS 刺激 0 h 组 ($P < 0.05$)。培养 24 h 后, siSTING+LPS 组和空载体+PBS 组 DC2.4 中 p-STING、STING 和 ACSL4 的蛋白表达均明显低于空载体+LPS 组 ($P < 0.05$); siSTING+LPS 组和空载体+PBS 组 DC2.4 脂质过氧化程度均弱于空载体+LPS 组; 空载体+PBS 组、空载体+LPS 组、siSTING+PBS 组与 siSTING+LPS 组 DC2.4 凋亡率分别为 (15.7±3.0)%、(37.8±2.9)%、(13.1±2.1)% 与 (20.6±1.8)%, 其中空载体+PBS 组、siSTING+LPS 组 DC2.4 凋亡率均明显低于空载体+LPS 组 ($P < 0.05$)。术后 24 h, CLP+生理盐水组小鼠脾脏 DC 中 p-STING、ACSL4 的蛋白表达及 p-STING/STING 比值均明显高于假手术+生理盐水组和 CLP+C-176 组 ($P < 0.05$), CLP+生理盐水组小鼠脾脏 DC 中 STING 的蛋白表达明显高于假手术+生理盐水组 ($P < 0.05$); CLP+C-176 组和假手术+生理盐水组小鼠脾脏 DC 脂质过氧化程度均弱于 CLP+生理盐水组; 假手术+生理盐水组、CLP+C-176 组小鼠脾脏 DC 凋亡率均明显低于 CLP+生理盐水组 ($P < 0.05$), CLP+C-176 组小鼠脾脏 DC 凋亡率明显高于假手术+C-176 组 ($P < 0.05$); CLP+生理盐水组小鼠心、肝、肺、肾病理组织损伤均较假手术+生理盐水组明显加重, CLP+C-176 组小鼠各脏器上述病理组织损伤均较 CLP+生理盐水组明显减轻。CLP+生理盐水组小鼠术后 7 d 内存活比明显低于假手术+生理盐水组 ($\chi^2=8.30, P < 0.05$)。 **结论** 脓毒症状态下, 小鼠 DC 内 STING 显著活化, ACSL4 介导的铁死亡增强; 抑制 STING 活化能够显著降低脓毒症时小鼠 DC 内 ACSL4 介导的铁死亡水平, 从而改善脓毒症小鼠存活情况。

【关键词】 脓毒症; 免疫调节; 细胞死亡; 树突细胞; 铁死亡; 干扰素基因刺激因子; 酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (82130062、82241062); 解放军总医院青年自主创新科学基金扶持项目 (22QNFC017)

Effects of stimulator of interferon gene on ferroptosis mediated by acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 in mouse dendritic cells under sepsis

Wu Mengyao¹, He Pengyi¹, Duan Yu¹, Zheng Liyu¹, Yao Renqi², Zhou Qiyuan¹, Chen Yu¹, Dong Ning¹, Wu Yao¹, Yao Yongming¹

¹Medical Innovation Research Division and the Fourth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100853, China; ²Department of General Surgery, the First Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: Yao Yongming, Email: c_ff@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of stimulator of interferon gene (STING) on ferroptosis mediated by acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (ACSL4) in mouse dendritic cells (DCs) under sepsis, providing a basis for improving the dysregulation of immune response in sepsis caused by factors such as wound infection. **Methods** This study was an experimental research. The mouse DC line DC2.4 in the logarithmic growth phase (with passages 3–10) were divided into lipopolysaccharide (LPS) stimulation 0 h (unstimulated) group, LPS stimulation 6 h group, LPS stimulation 12 h group, LPS stimulation 18 h group, and LPS stimulation 24 h group according to the random number table (the same grouping method below), which were cultured with 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS (the same concentration below) for the corresponding time. The protein expressions of phosphorylated STING (p-STING), STING, and ACSL4 in cells were determined by Western blotting. DC2.4 successfully transfected with lentivirus containing STING gene small interfering RNA (hereinafter referred to as siSTING) were divided into siSTING+phosphate buffer solution (PBS) group and siSTING+LPS group. DC2.4 successfully transfected with empty lentivirus were divided into empty vector+PBS group and empty vector+LPS group. After being stimulated with PBS or LPS and cultured for 24 hours, the protein expressions of p-STING, STING, and ACSL4 in cells were determined as above. Cell lipid peroxidation degrees were observed using the lipid peroxidation assay kit, and cell apoptosis rates were detected using flow cytometry. The sample numbers in the above cell experiments were all 3. Eighty male C57BL/6J mice aged 6 to 8 weeks were divided into sham surgery+normal saline (NS) group, cecal ligation and puncture (CLP)+NS group, sham surgery+C-176 group, and CLP+C-176 group, with 20 mice in each group. Mice in the

two C-176 groups were intraperitoneally injected with C-176, while mice in the two NS groups were intraperitoneally injected with an equivalent volume of NS. One hour later, sham surgery was performed on the mice in the two sham surgery groups, and CLP surgery was performed on the mice in the two CLP groups to establish a sepsis model. At 24 h post-surgery, 10 mice from each group were sacrificed to extract spleen DCs, and protein expression, lipid peroxidation, and apoptosis rates were detected as above ($n=3$). Hematoxylin-eosin staining was performed to observe pathological damage in the heart, liver, lung, and kidney tissue. The remaining 10 mice in each group were observed for survival within 7 days after surgery. **Results** The protein expressions of p-STING, STING, and ACSL4, as well as the p-STING/STING ratio in DC2.4 in LPS stimulation 24 h group were significantly higher than those in LPS stimulation 0 h group ($P<0.05$). After 24 h of culture, the protein expressions of p-STING, STING, and ACSL4 in DC2.4 in siSTING+LPS group and empty vector+PBS group were significantly lower than those in empty vector+LPS group ($P<0.05$); the lipid peroxidation degrees of DC2.4 in siSTING+LPS group and empty vector+PBS group were weaker than those in empty vector+LPS group. The apoptosis rates of DC2.4 in empty vector+PBS group, empty vector+LPS group, siSTING+PBS group, and siSTING+LPS group were $(15.7\pm 3.0)\%$, $(37.8\pm 2.9)\%$, $(13.1\pm 2.1)\%$, and $(20.6\pm 1.8)\%$, respectively. The apoptosis rates of DC2.4 in empty vector+PBS group and siSTING+LPS group were significantly lower than that in empty vector+LPS group ($P<0.05$). At 24 h post-surgery, the protein expressions of p-STING and ACSL4, and the p-STING/STING ratio in spleen DCs of mice in CLP+NS group were significantly higher than those in sham surgery+NS group and CLP+C-176 group ($P<0.05$); the protein expression of STING in spleen DCs of mice in CLP+NS group was significantly higher than that in sham surgery+NS group ($P<0.05$); the lipid peroxidation degrees of spleen DCs of mice in CLP+C-176 group and sham surgery+NS group were weaker than that in CLP+NS group. The apoptosis rates of spleen DCs of mice in sham surgery+NS group and CLP+C-176 group were significantly lower than that in CLP+NS group ($P<0.05$), and the apoptosis rate of spleen DCs of mice in CLP+C-176 group was significantly higher than that in sham surgery+C-176 group ($P<0.05$). Pathological tissue damage in the heart, liver, lung, and kidney of mice in CLP+NS group was significantly worse than that in sham surgery+NS group, while such damage in the above organs of mice in CLP+C-176 group was significantly alleviated compared with that in CLP+NS group. The survival ratio of mice in CLP+NS group within 7 days after surgery was significantly lower than that in sham surgery+NS group ($\chi^2=8.30, P<0.05$). **Conclusions** Under sepsis, STING activation in mouse DCs is significant, which enhances ACSL4-mediated ferroptosis. Inhibiting STING activation can significantly reduce ACSL4-mediated ferroptosis level in mouse DCs under sepsis, thereby improving the survival rate of septic mice.

【 Key words 】 Sepsis; Immunomodulation; Cell death; Dendritic cells; Ferroptosis; Stimulator of interferon gene; Acyl-CoA synthetase long-chain family member 4

Fund program: Key Program of National Natural Science Foundation of China (82130062, 82241062); The Youth Independent Innovation Science Fund Support Project of PLA General Hospital (22QNFC017)

干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon gene, STING)是一种定位于内质网膜的模式识别受体^[1],其活化后能够通过诱导干扰素调节因子3和核因子 κ B活化,促进I型干扰素及多种炎症细胞因子产生^[2]。业已明确,STING活化是机体抗病毒免疫的重要途径^[3-4],其异常激活与多条程序性细胞死亡信号通路密切相关^[5-6]。铁死亡是近年来新发现的程序性细胞死亡方式,细胞膜的过度脂质过氧化是铁死亡最明显的特征。本研究团队前期研究显示,脓毒症状态下小鼠树突状细胞(dendritic cell, DC)可发生铁死亡,并致使机体呈现严重免疫失调反应^[7]。然而,关于STING对于脓毒症状态下DC铁死亡的调控效应目前仍不清楚。本研究旨在

探讨脓毒症状态下小鼠脾脏DC中STING活化水平的变化规律,并通过干预STING活化观察抑制STING对于DC内酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4)介导铁死亡的影响,为脓毒症免疫精准调理提供新思路。

1 材料与amp;方法

本实验研究经解放军总医院医学伦理委员会批准,实验操作严格遵守该委员会相关规定。

1.1 细胞、动物及主要试剂与仪器来源

小鼠DC系DC2.4购自北京乾兆信业生物科技有限公司。80只6-8周龄体重约20g健康无特殊

病原体级雄性野生型 C57BL/6J 小鼠购自北京华康生物科技股份有限公司, 许可证号: SCXK(京) 2019-0008。含 *STING* 基因小干扰 RNA(下称 siSTING)慢病毒、空载慢病毒及慢病毒转染试剂盒购自上海吉凯基因医学科技股份有限公司。胎牛血清购自美国 Gibco 公司, RPMI 1640 培养基购自北京索莱宝科技有限公司, PBS 购自天津灏洋华科生物科技有限公司, LPS 购自美国 Sigma-Aldrich 公司, *STING* 强效共价抑制剂 C-176 和 Hoechst 33342 染料购自美国 MCE 公司, 免疫分离试剂盒购自德国 Miltenyi Biotec 公司, 兔抗小鼠 *STING* 单克隆抗体购自美国 Abcam 公司, 兔抗小鼠磷酸化 *STING* (phosphorylated stimulator of interferon gene, p-*STING*) 单克隆抗体、兔抗小鼠 *ACSL4* 单克隆抗体购自美国 CST 公司, 小鼠抗小鼠 β 肌动蛋白单克隆抗体、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗兔 IgG 单克隆抗体、HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 单克隆抗体购自北京华兴博创基因技术有限公司, 脂质过氧化检测试剂盒、超敏化学发光试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司, 膜联蛋白 V-藻红蛋白/7-氨基放线菌素 D 检测试剂盒、膜联蛋白 V-别藻蓝蛋白/7-氨基放线菌素 D 检测试剂盒、CANTO PLUS 型流式细胞仪均购自美国 BD 公司。

DYY-7 型蛋白电泳仪购自北京六一仪器厂, ImageQuant LAS 4000 型化学发光成像分析仪购自美国通用电气公司, Spectra MR 型多功能酶标仪购自美国 DYNEX Technologies 公司, Leica SP5 型激光扫描共聚焦显微镜、Leica CTR4000 型倒置相差荧光显微镜购自德国 Leica 公司。

1.2 细胞实验

1.2.1 细胞培养 采用 T25 培养瓶培育小鼠 DC 系 DC2.4, 加入 8 mL 含体积分数 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 U/mL 链霉素、5 958 mg/L 缓冲剂和 2 mmol/L L-谷氨酰胺的 RPMI 1640 培养基(以下称为完全培养基), 置于 37 °C、含体积分数 5% 二氧化碳培养箱中进行常规培养。每 2 天换液, 待细胞生长达 80% 融合时传代, 取第 3~10 代对数生长期的细胞进行实验。

1.2.2 LPS 刺激后细胞中 p-*STING*、*STING*、*ACSL4* 的蛋白表达检测 将细胞按随机数字表法(分组方法下同)分为 LPS 刺激 0 h(不刺激)组、LPS 刺激 6 h 组、LPS 刺激 12 h 组、LPS 刺激 18 h 组

和 LPS 刺激 24 h 组, 用 1 μ g/mL LPS(浓度下同)培养相应时间后, 收集各组细胞约 2×10^6 个(细胞数下同), 提取细胞总蛋白后, 采用蛋白质印迹法检测细胞中 p-*STING*、*STING*、*ACSL4* 的蛋白表达。一抗为兔抗小鼠 *STING* 单克隆抗体、兔抗小鼠 p-*STING* 单克隆抗体、兔抗小鼠 *ACSL4* 单克隆抗体和小鼠抗小鼠 β 肌动蛋白单克隆抗体(稀释比均为 1:1 000), 二抗为 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 单克隆抗体和 HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 单克隆抗体(稀释比均为 1:5 000)。采用超敏化学发光试剂盒显影、成像, 化学发光成像分析仪观察后, 采用 ImageJ 软件(美国国立卫生研究院)分析目的蛋白灰度值, 将 β 肌动蛋白作为内参照, 计算目的蛋白相对表达量, 另计算 p-*STING*/*STING* 比值。该实验样本数为 3。

1.2.3 细胞内 *STING* 基因敲除与鉴定 将细胞以 3×10^4 个/mL 重新悬浮于完全培养基中, 按每孔 2 mL 接种于 6 孔板中, 分为转染空载慢病毒的空载体组以及转染含 siSTING 慢病毒的 siSTING 组。参照慢病毒转染试剂盒说明书中的基因转染方法, 将细胞与相应慢病毒共培养 24 h 后, 更换新的完全培养基, 另将仅常规培养的细胞设为空白对照组。继续培养 72 h 后(即转染后 72 h)在倒置相差荧光显微镜 200 倍放大倍数下观察细胞的绿色荧光蛋白携带状态, 其中能够携带绿色荧光蛋白且活力较好的细胞为成功转染慢病毒的细胞。收集细胞用于后续实验。

1.2.4 干预 *STING* 基因对 LPS 刺激下 DC2.4 内 *ACSL4* 介导细胞铁死亡的影响

1.2.4.1 细胞中 p-*STING*、*STING*、*ACSL4* 的蛋白表达检测 把成功转染空载慢病毒的细胞分为空载体+PBS 组、空载体+LPS 组, 把成功转染含 siSTING 慢病毒的细胞分为 siSTING+PBS 组、siSTING+LPS 组, 对 2 个 LPS 组细胞给予 LPS 刺激、2 个 PBS 组细胞给予等量 PBS 刺激。培养 24 h 后, 收集各组细胞同 1.2.2 采用蛋白质印迹法检测细胞中 p-*STING*、*STING*、*ACSL4* 的蛋白表达。该实验样本数为 3。

1.2.4.2 细胞脂质过氧化程度观察 取 1.2.4.1 中培养 24 h 后的细胞, 采用脂质过氧化检测试剂盒及 Hoechst 33342 染料染色 30 min 后, 于激光扫描共聚焦显微镜 630 倍放大倍数下观察细胞荧光表达情况。还原态细胞呈红色, 发生脂质过氧化细胞呈绿色, 绿色荧光越强, 提示细胞脂质过

氧化程度越明显。

1.2.4.3 细胞凋亡率检测 取 **1.2.4.1** 中培养 24 h 后的细胞,采用流式细胞仪检测细胞凋亡率。该实验样本数为 3。

1.3 动物实验

1.3.1 动物分组与处理 将 80 只小鼠分为假手术+生理盐水组、盲肠结扎穿孔(cecal ligation and puncture, CLP)+生理盐水组、假手术+C-176组、CLP+C-176组,每组 20 只。于术前 1 h,对 2 个 C-176 组小鼠经腹腔注射终物质的量浓度为 750 nmol/L 的 C-176,对 2 个生理盐水组小鼠经腹腔注射等量生理盐水。1 h 后参照文献[19]对 2 个假手术组小鼠行假手术,对 2 个 CLP 组小鼠行 CLP 术构建脓毒症模型。术后,每组各取 10 只小鼠另安置于新鼠笼,于术后 24 h 行颈椎脱臼法处死后,采用免疫分离法提取小鼠脾脏 DC 备用;留取小鼠心、肝、肺、肾脏器组织,常规制成厚度为 4~5 μm 的切片备用。

1.3.2 抑制 STING 活化对脓毒症状态下小鼠脾脏 DC 内 ACSL4 介导铁死亡的影响

1.3.2.1 细胞中 p-STING、STING、ACSL4 的蛋白表达检测 取 **1.3.1** 中细胞,同 **1.2.2** 采用蛋白质印迹法检测细胞中 p-STING、STING、ACSL4 的蛋白表达并计算 p-STING/STING 比值。该实验样本数为 3。

1.3.2.2 细胞脂质过氧化程度观察 取 **1.3.1** 中细胞,同 **1.2.4.2** 采用脂质过氧化检测试剂盒观察细胞脂质过氧化程度。

1.3.2.3 细胞凋亡率检测 取 **1.3.1** 中细胞,同 **1.2.4.3** 采用流式细胞仪检测细胞凋亡率。该实验样本数为 3。

1.3.2.4 小鼠各脏器病理组织损伤观察 取 **1.3.1** 中小鼠心、肝、肺、肾组织切片,进行 HE 染色,于倒置相差荧光显微镜 200 倍放大倍数下观察小鼠脏器病理组织损伤。

1.3.2.5 小鼠术后 7 d 内存活比观测 取 **1.3.1** 中每组剩余的 10 只小鼠,观察小鼠术后 1~7 d 的存活状况,计算每天的存活比。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 25.0 统计软件进行数据分析。计量资料数据均符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,单因素下组间总体比较行单因素方差分析,组间两两比较行 Dunnett 检验;多因素下组间总体比较行析因设计方差分析,单独效应行单因素方差分析和 LSD 检验。计数资料数据采用频数(比)表示,组间比较采用 log-rank (Kaplan-Meier) 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LPS 刺激后 DC2.4 中 p-STING、STING、ACSL4 的蛋白表达

LPS 刺激 24 h 组细胞中 p-STING、STING、ACSL4 的蛋白表达及 p-STING/STING 比值均明显高于 LPS 刺激 0 h 组($P < 0.05$)。见表 1、图 1。

2.2 DC2.4 转染慢病毒后 STING 基因表达

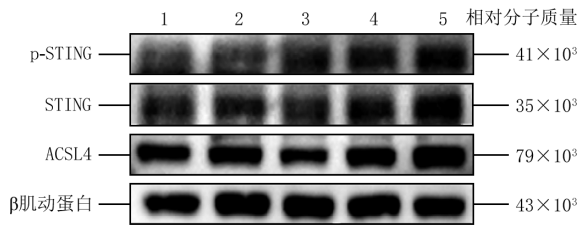
转染后 72 h,空载体组和 siSTING 组细胞均携

表 1 5 组小鼠 DC 系 DC2.4 中 STING 及 p-STING 与 ACSL4 的蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the protein expressions of STING, p-STING, and ACSL4 in mouse DC line DC2.4 in 5 groups

组别	样本数	p-STING	STING	p-STING/STING 比值	ACSL4
LPS 刺激 0 h 组	3	0.58±0.12	0.72±0.10	0.792±0.056	0.74±0.10
LPS 刺激 6 h 组	3	0.56±0.12	0.72±0.13	0.780±0.069	0.56±0.22
LPS 刺激 12 h 组	3	0.63±0.08	0.74±0.16	0.867±0.126	0.39±0.19
LPS 刺激 18 h 组	3	0.82±0.08	0.90±0.14	0.911±0.050	0.68±0.13
LPS 刺激 24 h 组	3	1.15±0.29	1.14±0.26	1.036±0.012	1.30±0.30
F 值		7.65	3.64	6.10	8.86
P 值		0.004	0.044	0.009	0.003
P_1 值		0.999	0.999	0.999	0.664
P_2 值		0.980	0.999	0.547	0.171
P_3 值		0.235	0.516	0.203	0.987
P_4 值		0.004	0.036	0.007	0.020

注:DC 为树突状细胞,STING 为干扰素基因刺激因子,p-STING 为磷酸化 STING,ACSL4 为酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4,LPS 为内毒素/脂多糖;F 值、P 值为组间各指标总体比较所得; P_1 值、 P_2 值、 P_3 值、 P_4 值分别为 LPS 刺激 6 h 组、LPS 刺激 12 h 组、LPS 刺激 18 h 组、LPS 刺激 24 h 组与 LPS 刺激 0 h (不刺激)组各指标比较所得

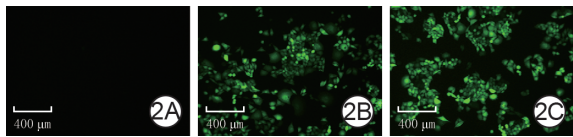


注:p-STING为磷酸化干扰素基因刺激因子,STING为干扰素基因刺激因子,ACSL4为酰基辅酶A合成酶长链家族成员4,LPS为内毒素/脂多糖,DC为树突状细胞;条带上方1、2、3、4、5分别指示LPS刺激0h(不刺激)组、LPS刺激6h组、LPS刺激12h组、LPS刺激18h组、LPS刺激24h组

图1 蛋白质印迹法检测的5组小鼠DC系DC2.4中STING及p-STING与ACSL4的蛋白表达

Figure 1 The protein expressions of STING, p-STING, and ACSL4 in mouse DC line DC2.4 in 5 groups detected by Western blotting

带高强度绿色荧光蛋白,而空白对照组细胞在相同时间点无荧光表现。见图2。



注:空载体组和干扰素基因刺激因子基因小干扰RNA(下称siSTING)组细胞分别转染空载体慢病毒、含siSTING慢病毒,空白对照组细胞仅常规培养

图2 2个转染组小鼠树突状细胞(DC)系DC2.4转染后72h与空白对照组细胞相应时间点荧光表达 绿色荧光蛋白×200。2A、2B、2C.分别为空白对照组、空载体组、siSTING组,图2A无荧光表现,图2B、2C携带明显绿色荧光

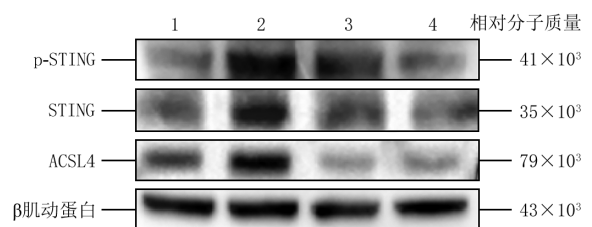
Figure 2 The fluorescence expression of mouse dendritic cell (DC) line DC2.4 in 2 transfected groups at 72 h post-transfection and cells in blank control group at the corresponding time point

2.3 干预 STING 基因对 LPS 刺激下 DC2.4 内 ACSL4 介导铁死亡的影响

2.3.1 细胞中 p-STING、STING、ACSL4 的蛋白表达 培养 24 h 后,siSTING+LPS 组和空载体+PBS 组细胞中 p-STING、STING 和 ACSL4 的蛋白表达均明显低于空载体+LPS 组($P < 0.05$)。见图 3、表 2。

2.3.2 细胞脂质过氧化程度 培养 24 h 后,siSTING+LPS 组和空载体+PBS 组细胞脂质过氧化程度均弱于空载体+LPS 组,siSTING+LPS 组细胞脂质过氧化程度与 siSTING+PBS 组相近。见图 4。

2.3.3 细胞凋亡率 培养 24 h 后,空载体+PBS 组、空载体+LPS 组、siSTING+PBS 组与 siSTING+LPS 组细胞凋亡率分别为(15.7±3.0)%、(37.8±2.9)%、(13.1±2.1)%与(20.6±1.8)% (刺激类型的



注:p-STING为磷酸化干扰素基因刺激因子,STING为干扰素基因刺激因子,ACSL4为酰基辅酶A合成酶长链家族成员4,PBS为磷酸盐缓冲液,LPS为内毒素/脂多糖,DC为树突状细胞;条带上方1、2、3、4分别指示空载体+PBS组、空载体+LPS组、STING基因小干扰RNA(下称siSTING)+PBS组、siSTING+LPS组;空载体+PBS组和空载体+LPS组细胞先转染空载体慢病毒、siSTING+PBS组和siSTING+LPS组细胞先转染含siSTING慢病毒,然后对2个PBS组细胞另给予PBS刺激、2个LPS组细胞另给予LPS刺激

图3 蛋白质印迹法检测的4组小鼠DC系DC2.4培养24h后STING及p-STING与ACSL4的蛋白表达

Figure 3 The protein expressions of STING, p-STING, and ACSL4 in mouse DC line DC2.4 in 4 groups after 24 h of culture detected by Western blotting

表2 4组小鼠DC系DC2.4培养24h后STING及p-STING与ACSL4的蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the protein expressions of STING, p-STING, and ACSL4 in four groups of mouse DC line DC2.4 after 24 h of culture

组别	样本数	p-STING	STING	ACSL4
空载体+PBS组	3	0.67±0.12	0.67±0.18	0.70±0.51
空载体+LPS组	3	1.73±0.47	1.29±0.09	1.41±0.30
siSTING+PBS组	3	0.78±0.11	0.72±0.09	0.41±0.27
siSTING+LPS组	3	0.71±0.10	0.60±0.17	0.53±0.34
P_1 值		0.041	0.025	0.034
P_2 值		0.936	0.436	0.571
P_3 值		0.043	0.021	0.023

注:DC为树突状细胞,STING为干扰素基因刺激因子,p-STING为磷酸化STING,ACSL4为酰基辅酶A合成酶长链家族成员4,PBS为磷酸盐缓冲液,LPS为内毒素/脂多糖;空载体+PBS组和空载体+LPS组细胞先转染空载体慢病毒、STING基因小干扰RNA(下称siSTING)+PBS组和siSTING+LPS组细胞先转染含siSTING慢病毒,然后对2个PBS组细胞另给予PBS刺激、2个LPS组细胞另给予LPS刺激;p-STING、STING、ACSL4的细胞转染类型的主效应, F 值分别为8.81、10.42、51.23, P 值分别为0.097、0.084、0.019;刺激类型的主效应, F 值分别为10.94、5.07、17.04, P 值分别为0.080、0.153、0.054;二者交互作用, F 值分别为34.35、70.51、24.41, P 值分别为0.027、0.013、0.038; P_1 值为空载体+LPS组与空载体+PBS组各指标比较所得, P_2 值为siSTING+LPS组与siSTING+PBS组各指标比较所得, P_3 值为siSTING+LPS组与空载体+LPS组各指标比较所得

主效应, $F=87.61, P=0.011$;细胞转染类型的主效应, $F=51.22, P=0.019$;二者交互作用, $F=26.58,$

$P=0.035$)。空载体+PBS组、siSTING+LPS组细胞凋亡率均明显低于空载体+LPS组(P 值分别为0.020、0.033), siSTING+LPS组与 siSTING+PBS组细胞凋亡率相近($P=0.152$)。

2.4 抑制 STING 活化对脓毒症状态下小鼠脾脏 DC 内 ACSL4 介导铁死亡的影响

2.4.1 细胞中 p-STING、STING、ACSL4 的蛋白表达

术后 24 h, CLP+生理盐水组小鼠细胞中 p-STING、ACSL4 的蛋白表达及 p-STING/STING 比值均明显高于假手术+生理盐水组和 CLP+C-176 组($P<0.05$), CLP+生理盐水组小鼠细胞中 STING 的蛋白表达明显高于假手术+生理盐水组($P<0.05$)。见表 3、图 5。

2.4.2 细胞脂质过氧化程度

术后 24 h, CLP+C-176 组和假手术+生理盐水组小鼠细胞脂质过氧化程度均弱于 CLP+生理盐水组, CLP+C-176 组小鼠细胞脂质过氧化程度与假手术+C-176 组相近。

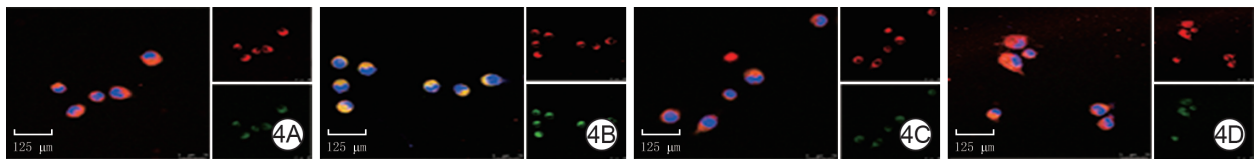
见图 6。

2.4.3 细胞凋亡率

术后 24 h, 假手术+生理盐水组、假手术+C-176 组、CLP+生理盐水组与 CLP+C-176 组小鼠细胞凋亡率分别为(59.1±3.4)%、(54.0±2.9)%、(86.4±0.8)%与(74.3±3.0)% (造模类型的主效应, $F=975.20, P=0.001$; 抑制剂类型的主效应, $F=15.48, P=0.058$; 二者交互作用, $F=3.67, P=0.195$)。假手术+生理盐水组、CLP+C-176 组小鼠细胞凋亡率均明显低于 CLP+生理盐水组(P 值分别为0.008、0.042), CLP+C-176 组小鼠细胞凋亡率明显高于假手术+C-176 组($P=0.015$)。

2.5 小鼠各脏器病理组织损伤

术后 24 h, CLP+生理盐水组小鼠心、肝、肺、肾病理组织损伤均较假手术+生理盐水组明显加重, 其中, 心肌纤维排列紊乱, 肝索结构紊乱, 肺泡壁增厚、水肿, 肾小管肿胀、有明显炎症细胞浸润; CLP+



注:空载体+磷酸盐缓冲液(PBS)组和空载体+内毒素/脂多糖(LPS)组细胞先转染空载慢病毒、干扰素基因刺激因子基因小干扰RNA(下称 siSTING)+PBS组和 siSTING+LPS 组细胞先转染含 siSTING 慢病毒,然后对 2 个 PBS 组细胞另给予 PBS 刺激,2 个 LPS 组细胞另给予 LPS 刺激;各图中右上小图是呈红色的还原态细胞,右下小图是呈绿色的发生脂质过氧化的细胞,左侧大图为细胞核 Hoechst 33342 染色(蓝色)和右侧 2 张小图的合成图

图 4 4 组小鼠树突状细胞(DC)系 DC2.4 培养 24 h 后脂质过氧化程度 Alexa Fluor 581-Alexa Fluor 591-Hoechst 33342×630。4A、4B、4C、4D. 分别为空载体+PBS 组、空载体+LPS 组、siSTING+PBS 组、siSTING+LPS 组,图 4B 中细胞脂质过氧化程度较图 4A、4D 明显增强,图 4D 细胞脂质过氧化程度与图 4C 相近

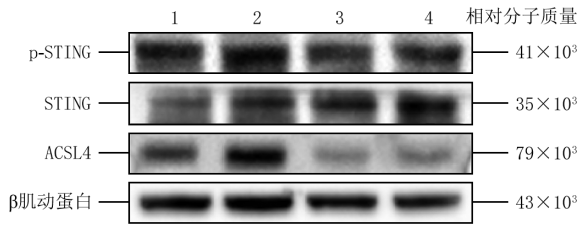
Figure 4 The lipid peroxidation degrees in mouse dendritic cell (DC) line DC2.4 in 4 groups after 24 h of culture

表 3 4 组小鼠术后 24 h 脾脏 DC 中 STING 及 p-STING 与 ACSL4 的蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of the protein expressions of STING, p-STING, and ACSL4 in spleen DCs in 4 groups of mice at 24 h post-surgery

组别	样本数	p-STING	STING	p-STING/STING 比值	ACSL4
假手术+生理盐水组	3	0.71±0.13	0.68±0.13	0.824±0.295	0.54±0.11
假手术+C-176 组	3	0.58±0.10	0.88±0.22	0.679±0.099	0.35±0.20
CLP+生理盐水组	3	1.36±0.14	1.00±0.06	1.483±0.108	1.15±0.08
CLP+C-176 组	3	0.68±0.15	1.06±0.23	0.628±0.173	0.46±0.18
P_1 值		0.049	0.033	0.008	0.032
P_2 值		0.763	0.094	0.604	0.538
P_3 值		0.048	0.499	0.004	0.025

注:DC 为树突状细胞,STING 为干扰素基因刺激因子,p-STING 为磷酸化 STING,ACSL4 为酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4,CLP 为盲肠结扎穿孔;假手术+生理盐水组、CLP+生理盐水组小鼠注射生理盐水后分别行假手术、CLP 术,对假手术+C-176 组、CLP+C-176 组小鼠注射 C-176 后分别行假手术、CLP 术;p-STING、STING、p-STING/STING、ACSL4 的抑制剂类型的主效应, F 值分别为 15.41、2.88、7.64、11.22, P 值分别为 0.059、0.231、0.109、0.078;造模类型的主效应, F 值分别为 30.40、29.20、8.70、69.56, P 值分别为 0.031、0.032、0.098、0.014;二者交互作用, F 值分别为 17.55、6.64、182.90、25.42, P 值分别为 0.052、0.123、0.005、0.037; P_1 值为 CLP+生理盐水组与假手术+生理盐水组各指标比较所得, P_2 值为 CLP+C-176 组与假手术+C-176 组各指标比较所得, P_3 值为 CLP+C-176 组与 CLP+生理盐水组各指标比较所得



注: p-STING 为磷酸化干扰素基因刺激因子, STING 为干扰素基因刺激因子, ACSL4 为酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4, CLP 为盲肠结扎穿孔, DC 为树突状细胞; 条带上方 1、2 及 3、4 分别指示小鼠注射生理盐水后分别行假手术、CLP 术的假手术+生理盐水组、CLP+生理盐水组及小鼠注射 C-176 后分别行假手术、CLP 术的假手术+C-176 组、CLP+C-176 组

图 5 蛋白质印迹法检测的 4 组小鼠术后 24 h 脾脏 DC 中 STING 及 p-STING 与 ACSL4 的蛋白表达

Figure 5 The protein expressions of STING, p-STING, and ACSL4 in spleen DCs in 4 groups of mice at 24 h post-surgery detected by Western blotting

C-176 组小鼠各脏器上述病理组织损伤均较 CLP+生理盐水组明显减轻。假手术+生理盐水组和假手术+C-176 组各脏器组织结构均无明显变化。

2.6 小鼠术后 7 d 内存活比

4 组小鼠术后 7 d 内存活比比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2=14.37, P=0.002$)。CLP+生理盐水组小鼠术后 7 d 内存活比明显低于假手术+生理盐水组 ($\chi^2=8.30, P=0.004$), CLP+C-176 组小鼠术后 7 d 内存活比与假手术+C-176 组、CLP+生理盐水组小鼠相近 (χ^2 值分别为 3.36、1.51, P 值分别为 0.067、0.218)。见图 7。

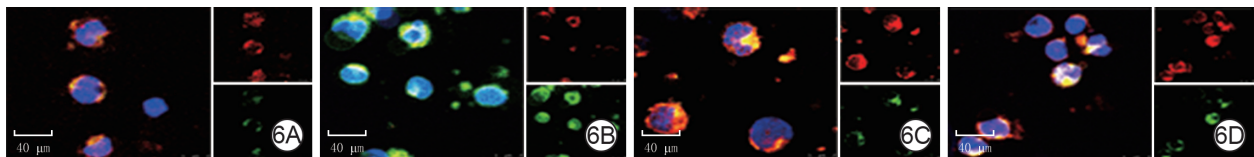
3 讨论

铁死亡是基于细胞内代谢通路紊乱而诱发的细胞死亡方式, 与细胞脂质代谢尤为相关^[8]。ACSL4 是参与多不饱和脂肪酸-磷脂酰乙醇胺在细胞膜内生物合成和重塑的关键脂质代谢酶^[9-11], 在诱导细胞发生铁死亡中具有重要作用^[12-15]。DC 作

为机体免疫系统中重要的“桥梁”细胞^[16], 其功能状态及数量减少是影响脓毒症免疫应答的关键^[17-19]。本研究团队前期研究显示, DC 铁死亡是导致脓毒症状态下机体免疫反应失调的重要机制, 当 DC 铁死亡程度加重时, DC 凋亡率增加, 数量明显减少, 脓毒症小鼠呈现更严重的免疫抑制和更高的死亡率; 而抑制 DC 铁死亡则能够维持 DC 免疫功能稳态, 明显缓解脓毒症小鼠免疫抑制状态^[7]。

作为直接的免疫传感器, STING 被激活后能够促进多种炎症细胞因子的合成与释放, 从而调节机体免疫应答, STING 还被证明可介导多种程序性细胞死亡过程。有研究证实, 脓毒症小鼠模型中线粒体 DNA 增加可通过 STING 信号通路驱动小鼠肝脏库普弗细胞内坏死性凋亡程序^[20]; Hu 等^[21]在脓毒症小鼠肠上皮细胞中也观察到 STING 依赖的凋亡信号通路活化。另据报道, STING 过度激活还可诱导患者弥漫性大 B 细胞淋巴瘤细胞泛凋亡的发生^[22]。上述研究均提示, STING 在识别和放大由死亡细胞引发免疫反应方面发挥重要调节作用^[23-24]。许多研究证明, STING 可通过多重途径诱导细胞铁死亡^[25-27], 除了 STING-干扰素调节因子 3 信号通路外, 有资料提示, STING 还可通过与核受体共激活因子 4 相互作用来诱导巨噬细胞铁死亡, 进而加剧脓毒症所致多器官损伤^[28-29]。基于此, 本研究观察了脓毒症状态下小鼠 DC2.4 中的 p-STING、STING 和 ACSL4 动态活化规律, 与 LPS 刺激 0 h 组比较, LPS 刺激 24 h 组小鼠 DC2.4 中 p-STING、STING、ACSL4 的蛋白表达均明显升高, 故后续将 24 h 作为 LPS 刺激时间点。

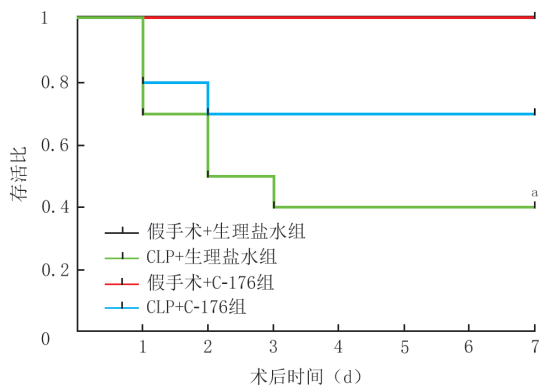
一项关于高血压相关慢性肾脏病的研究显示, STING 可与 ACSL4 结合并通过靶向 ACSL4 介导的铁死亡途径, 诱导小鼠巨噬细胞铁死亡^[29]。为了深入探究脓毒症状态下 STING 对于 DC 内 ACSL4 介导



注: 假手术+生理盐水组、盲肠结扎穿孔 (CLP)+生理盐水组小鼠注射生理盐水后分别行假手术、CLP 术, 假手术+C-176 组、CLP+C-176 组小鼠注射 C-176 后分别行假手术、CLP 术; 各图中右上小图是呈红色的还原态细胞, 右下小图是呈绿色的发生脂质过氧化的细胞, 左侧大图为细胞核 Hoechst 33342 染色 (蓝色) 和右侧 2 张小图的合成图

图 6 4 组小鼠术后 24 h 脾脏树突状细胞 (DC) 脂质过氧化程度 Alexa Fluor 581-Alexa Fluor 591-Hoechst 33342×630。6A、6B、6C、6D 分别为假手术+生理盐水组、CLP+生理盐水组、假手术+C-176 组、CLP+C-176 组, 图 6B 中细胞脂质过氧化程度较图 6A、6D 明显增强, 图 6D 中细胞脂质过氧化程度与图 6C 相近

Figure 6 The lipid peroxidation degrees in spleen dendritic cells (DCs) in 4 groups of mice at 24 h post-surgery



注:假手术+生理盐水组、盲肠结扎穿孔(CLP)+生理盐水组小鼠注射生理盐水后分别行假手术、CLP术,假手术+C-176组、CLP+C-176组小鼠注射C-176后分别行假手术、CLP术;与假手术+生理盐水组比较,* $P < 0.05$

图7 4组小鼠术后7 d内存活比(样本数为10)

Figure 7 The survival ratio in 4 groups of mice within 7 days after surgery

铁死亡的潜在影响,本研究团队对小鼠DC2.4转染含 siSTING 慢病毒和空载慢病毒,并检测细胞中 p-STING、STING、ACSL4 的蛋白表达及铁死亡情况。结果证实,培养 24 h 后,siSTING+LPS 组小鼠 DC2.4 内 ACSL4 的蛋白表达、脂质过氧化程度及细胞凋亡率均明显低于空载体+LPS 组,表明脓毒症状态下,抑制 STING 表达能够有效缓解小鼠 DC2.4 内 ACSL4 介导的铁死亡的发生。

本研究团队进一步采用 CLP 术构建脓毒症小鼠,并给予 STING 强效共价抑制剂 C-176 干预,在动物水平验证干预 STING 活化对脓毒症时小鼠 DC 内 ACSL4 介导铁死亡的影响。结果提示,术后 24 h,CLP+C-176 组小鼠脾脏 DC 中 p-STING/STING 比值明显低于 CLP+生理盐水组,提示 STING 活化被有效抑制,同时细胞内 ACSL4 的蛋白表达水平、脂质过氧化程度及细胞凋亡率也明显降低,表明抑制 STING 活化后,脓毒症小鼠脾脏 DC 内 ACSL4 介导的铁死亡被显著缓解。HE 染色结果提示,CLP+C-176 组小鼠术后 24 h 心、肝、肺、肾组织病理损伤程度均较 CLP+生理盐水组明显减轻;CLP+生理盐水组小鼠术后 7 d 内存活比明显低于假手术+生理盐水组,CLP+C-176 组小鼠术后 7 d 内存活比与 CLP+生理盐水组相近($P > 0.05$)。由此可见,在脓毒症状态下,STING 能通过 ACSL4 对 DC 铁死亡发挥促进效应,进而导致脓毒症动物生存率的下降。另据报道,在狼疮性肾炎患者肾组织细胞中,抑制 STING 表达可明显降低 ACSL4 的蛋白表达水平,减

轻细胞脂质过氧化程度,缓解细胞铁死亡,从而使机体肾组织损伤程度明显好转^[30]。这与本实验中观察到的结果基本相符,进一步验证了 STING 对于 ACSL4 介导细胞铁死亡的调控作用。值得说明的是,尽管本研究和其他研究已证实 STING 活化在 ACSL4 介导铁死亡中的重要作用,但脓毒症状态下 STING 通过 ACSL4 轴调节 DC 铁死亡的确切信号机制还有待探索。此外,本研究目前仅针对 STING 活化抑制对于脓毒症状态下 DC 铁死亡的影响进行探索,尚未阐明脓毒症状态下过度激活 STING 对 DC 铁死亡水平的调控作用;下一步将构建含 STING 基因过表达 RNA 慢病毒及 STING 基因过表达小鼠模型,从多角度多层次深入探究脓毒症状态下 DC 内 STING 与 ACSL4 介导铁死亡之间的本质联系。

本研究结果表明,STING 对于脓毒症状态下小鼠 DC 内 ACSL4 介导铁死亡具有明显促进效应,干预 STING 活化有助于调节脓毒症时 ACSL4 介导的小鼠 DC 铁死亡的发生发展进程,进而改善脓毒症小鼠存活比。该研究将为阐明脓毒症免疫应答失调机制及其精准调理策略开辟新方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 吴梦瑶:实施研究、起草文章;贺鹏翼、段昱、郑丽玉、姚人骥:实施研究、采集数据;周岐原、陈钰:分析/解释数据;董宁、吴瑶:统计分析、技术支持;姚咏明:研究指导、论文修改、经费支持

参考文献

- [1] Gao KM, Marshak-Rothstein A, Fitzgerald KA. Type-1 interferon-dependent and -independent mechanisms in cyclic GMP-AMP synthase-stimulator of interferon genes-driven auto-inflammation[J]. Curr Opin Immunol, 2023, 80:102280. DOI: 10.1016/j.coi.2022.102280.
- [2] Sun Z, Hornung V. cGAS-STING signaling[J]. Curr Biol, 2022, 32(13): R730-R734. DOI:10.1016/j.cub.2022.05.027.
- [3] Ishikawa H, Barber GN. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling[J]. Nature, 2008, 455(7213): 674-678. DOI:10.1038/nature07317.
- [4] Morere J, Hognon C, Miclot T, et al. How fragile we are: influence of stimulator of interferon genes (STING) variants on pathogen recognition and immune response efficiency[J]. J Chem Inf Model, 2022, 62(12): 3096-3106. DOI:10.1021/acs.jcim.2c00315.
- [5] Messaoud-Nacer Y, Culerier E, Rose S, et al. STING agonist diABZI induces PANoptosis and DNA mediated acute respiratory distress syndrome (ARDS) [J]. Cell Death Dis, 2022, 13(3): 269. DOI: 10.1038/s41419-022-04664-5.
- [6] Guo XF, Wu Y, Jia Q, et al. PERK-STING-RIPK3 pathway facilitates cognitive impairment by inducing neuronal necroptosis in sepsis-associated encephalopathy[J]. CNS Neurosci Ther, 2023, 29(4): 1178-1191. DOI: 10.1111/cns.14095.
- [7] Li JY, Ren C, Wang LX, et al. Sestrin2 protects dendrite cells

- against ferroptosis induced by sepsis[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(9): 834. DOI: 10.1038/s41419-021-04122-8.
- [8] Dixon SJ, Olzmann JA. The cell biology of ferroptosis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2024, 25(6): 424-442. DOI: 10.1038/s41580-024-00703-5.
- [9] Tuo QZ, Liu Y, Xiang Z, et al. Thrombin induces ACSL4-dependent ferroptosis during cerebral ischemia/reperfusion[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 59. DOI: 10.1038/s41392-022-00917-z.
- [10] Zhang HL, Hu BX, Li ZL, et al. PKC β II phosphorylates ACSL4 to amplify lipid peroxidation to induce ferroptosis[J]. *Nat Cell Biol*, 2022, 24(1): 88-98. DOI: 10.1038/s41556-021-00818-3.
- [11] Zhou X, Zhao R, Lv MF, et al. ACSL4 promotes microglia-mediated neuroinflammation by regulating lipid metabolism and VGLL4 expression[J]. *Brain Behav Immun*, 2023, 109:331-343. DOI: 10.1016/j.bbi.2023.02.012.
- [12] Jia B, Li J, Song Y, et al. ACSL4-mediated ferroptosis and its potential role in central nervous system diseases and injuries[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(12):10021. DOI: 10.3390/ijms241210021.
- [13] He S, Li R, Peng Y, et al. ACSL4 contributes to ferroptosis-mediated rhabdomyolysis in exertional heat stroke[J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2022, 13(3): 1717-1730. DOI: 10.1002/jcsm.12953.
- [14] Lan J, Deng Z, Wang Q, et al. Neuropeptide substance P attenuates colitis by suppressing inflammation and ferroptosis via the cGAS-STING signaling pathway[J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(7):2507-2531. DOI: 10.7150/ijbs.94548.
- [15] Wang ME, Chen JQ, Lu Y, et al. RB1-deficient prostate tumor growth and metastasis are vulnerable to ferroptosis induction via the E2F/ACSL4 axis[J]. *J Clin Invest*, 2023, 133(10):e166647. DOI: 10.1172/JCI166647.
- [16] Lu ZQ, Zhang C, Zhao LJ, et al. Matrix metalloproteinase-8 regulates dendritic cell tolerance in late polymicrobial sepsis via the nuclear factor kappa-B p65/ β -catenin pathway [J/OL]. *Burns Trauma*, 2024, 12: tkad025[2024-05-18]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38425412/>. DOI: 10.1093/burnst/tkad025.
- [17] 姚咏明, 张卉, 吴瑶. 靶向树突状细胞的脓毒症免疫调节新策略[J]. *中华烧伤与创面修复杂志*, 2023, 39(7): 606-611. DOI:10.3760/cma.j.cn501225-20230321-00087.
- [18] 姚咏明, 栾樱译. 严重烧伤创伤感染及其并发症的免疫新认识[J]. *中华烧伤杂志*, 2021, 37(6): 519-523. DOI:10.3760/cma.j.cn501120-20210118-00025.
- [19] 贺鹏翼, 董宁, 吴瑶, 等. 脓毒症小鼠脾脏树突状细胞焦亡及其对炎症反应和免疫功能的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2023, 48(5): 537-544. DOI: 10.11855/j.issn.0577-7402.2023.05.0537.
- [20] Zhang Q, Wei J, Liu Z, et al. STING signaling sensing of DRP1-dependent mtDNA release in kupffer cells contributes to lipopolysaccharide-induced liver injury in mice[J]. *Redox Biol*, 2022, 54: 102367. DOI: 10.1016/j.redox.2022.102367.
- [21] Hu Q, Ren H, Li G, et al. STING-mediated intestinal barrier dysfunction contributes to lethal sepsis[J]. *EBioMedicine*, 2019, 41: 497-508. DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.02.055.
- [22] Cai Y, Chen X, Lu T, et al. Activation of STING by SAMHD1 deficiency promotes PANoptosis and enhances efficacy of PD-L1 blockade in diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(14): 4627-4643. DOI: 10.7150/ijbs.85236.
- [23] Xiao Y, Zhao C, Tai Y, et al. STING mediates hepatocyte pyroptosis in liver fibrosis by epigenetically activating the NLRP3 inflammasome[J]. *Redox Biol*, 2023, 62: 102691. DOI: 10.1016/j.redox.2023.102691.
- [24] Tani T, Mathsyaraja H, Campisi M, et al. TREX1 inactivation unleashes cancer cell STING-interferon signaling and promotes antitumor immunity[J]. *Cancer Discov*, 2024, 14(5):752-765. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-23-0700.
- [25] Wu X, Jiang Y, Li R, et al. Ficolin B secreted by alveolar macrophage exosomes exacerbates bleomycin-induced lung injury via ferroptosis through the cGAS-STING signaling pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(8): 577. DOI: 10.1038/s41419-023-06104-4.
- [26] Hu X, Zhang H, Zhang Q, et al. Emerging role of STING signalling in CNS injury: inflammation, autophagy, necroptosis, ferroptosis and pyroptosis[J]. *J Neuroinflammation*, 2022, 19(1):242. DOI: 10.1186/s12974-022-02602-y.
- [27] Zhao QX, Yan SB, Wang F, et al. STING deficiency alleviates ferroptosis through FPN1 stabilization in diabetic kidney disease[J]. *Biochem Pharmacol*, 2024, 222: 116102. DOI: 10.1016/j.bcp.2024.116102.
- [28] Wu J, Liu Q, Zhang X, et al. The interaction between STING and NCOA4 exacerbates lethal sepsis by orchestrating ferroptosis and inflammatory responses in macrophages [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(7): 653. DOI: 10.1038/s41419-022-05115-x.
- [29] Gao L, Zhang J, Yang T, et al. STING/ACSL4 axis-dependent ferroptosis and inflammation promote hypertension-associated chronic kidney disease[J]. *Mol Ther*, 2023, 31(10): 3084-3103. DOI: 10.1016/j.yjmt.2023.07.026.
- [30] Chen J, Chen P, Song Y, et al. STING upregulation mediates ferroptosis and inflammatory response in lupus nephritis by upregulating TBK1 and activating NF- κ B signal pathway [J]. *J Biosci*, 2024, 49:9. DOI: 10.1007/s12038-023-00381-z.

(收稿日期: 2024-05-18)