

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.08.008

NLRP3 炎症小体表达与慢性阻塞性肺疾病合并肺癌的相关性研究 *

赵 明 宋 勇[△] 戴 伟 吕 镗 峰 刘 红 兵 辛 晓 峰 张 剑 雅

(海军军医大学南京临床学院 南京总医院 呼吸内科 江苏 南京 210002)

摘要 目的:分析核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)炎症小体表达与慢性阻塞性肺疾病(COPD)合并肺癌的相关性。**方法:**选取 2015 年 1 月-2018 年 2 月我院收治的 COPD 合并肺癌患者 62 例作为实验组及同期 88 例 COPD 患者作为对照组。酶联免疫吸附法(ELISA)检测两组患者外周血 IL-1 β 、IL-18 浓度,免疫组化法检测两组患者术后肺病理组织中 Caspase-1、ASC、NLRP3、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达量,并比较不同病理特征下患者术后肺病理组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达量的差异,并分析其与 COPD 合并肺癌的相关性。**结果:**实验组患者外周血 IL-1 β 、IL-18 水平均明显高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);实验组患者术后肺病理组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达量均明显高于对照组,差异均具有统计学意义($P<0.05$);中低分化、临床分期 III 期、淋巴结有转移的急性加重期 COPD 合并肺癌患者术后肺病理组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达量高于高分化、临床分期 I-II 期、淋巴结无转移的稳定期 COPD 合并肺癌患者,差异具有统计学意义($P<0.05$)。经 Spearman 秩相关性分析发现,患者术后肺病理组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达量与 COPD 合并肺癌患者病情严重程度、淋巴结转移情况、分化程度以及病情所处时期均呈正相关($r>0$, $P<0.05$)。**结论:**NLRP3 炎症小体通路可能参与了 COPD 合并肺癌的发展过程,其释放的细胞因子 IL-1 β 、IL-18 水平升高可能与患者持续炎症有关,并进一步导致机体免疫病理损伤,促进疾病进展。

关键词:慢性阻塞性肺疾病;肺癌;NLRP3;炎症小体;相关性

中图分类号:R563;R734.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)08-1436-05

A Study on the Correlation between the Expression of NLRP3 Inflammasome and Chronic Obstructive Pulmonary Disease Combined with Lung Cancer*

ZHAO Ming, SONG Yong[△], DAI Wei, LV Tang-feng, LIU Hong-bing, XIN Xiao-feng, ZHANG Jian-ya

(Department of Respiratory Medicine, Nanjing Clinical College of Naval Medical University,

Nanjing General Hospital, Nanjing, Jiangsu, 210002, China)

ABSTRACT Objective: To analyze the correlation between the nucleotide binding oligomerization domain like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome expression and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) combined with lung cancer. **Methods:** 62 patients with COPD and lung cancer admitted in the hospital from January 2015 to February 2018 were selected as experimental group, and 88 COPD patients were selected as control group at the same time. The concentration of peripheral blood interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-18 (IL-18) in the two groups were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The relative expression of Caspase-1, ASC, NLRP3, IL-1 β , IL-18 protein in the postoperative pulmonary pathological tissues of the two groups were detected by immunohistochemistry. The difference in the relative expression of NLRP3, ASC, Caspase-1, IL-1 β and IL-18 protein in the postoperative pulmonary pathological tissues of patients with different pathological features was compared, and its correlation with COPD and lung cancer was analyzed. **Results:** The results of ELISA showed that: the levels of peripheral blood IL-1 β and IL-18 in experimental group were significantly higher than those in control group ($P<0.05$); The relative expression of NLRP3, ASC, Caspase-1, IL-1 β and IL-18 protein in the postoperative pulmonary pathological tissues in experimental group were significantly higher than those in control group ($P<0.05$); The relative expression of NLRP3, ASC, Caspase-1, IL-1 β , IL-18 protein in the postoperative pulmonary pathological tissues in the acute exacerbation of COPD and lung cancer patients with histological type of moderate and low differentiation, clinical stage III, lymph node metastasis were higher than those in the stable COPD and lung cancer patients with histological type of high-differentiation, clinical stage I-II, without lymph node metastasis ($P<0.05$); Spearman rank correlation analysis showed that the relative expression of NLRP3, ASC, Caspase-1, IL-1 β , IL-18 protein in the postoperative pulmonary pathological tissues of patients had positive correlation with the severity of disease, lymph node metastasis, degree of differentiation, staging of disease in COPD and lung cancer patients ($r>0$, $P<0.05$). **Conclusion:** NLRP3 inflammasome pathway may be involved in the development of

* 基金项目:江苏省自然科学基金(面上)项目(BK20161386);国家自然科学基金(面上)项目(81772500)

作者简介:赵明,男,硕士,主治医师,主要研究方向:肺癌,电话:15852911899, E-mail: zhaoaming@163.com

[△] 通讯作者:宋勇,男,博士,主任医师,主要研究方向:肺癌,急性肺损伤

(收稿日期:2018-09-05 接受日期:2018-10-09)

COPD combined with lung cancer. The elevated levels of released cytokines such as IL-1 β and IL-18 may be associated with the persistent inflammation of patients, and further lead to immune pathological damage and promote disease progression.

Key words: Chronic obstructive pulmonary disease; Lung cancer; NLRP3; Inflammasome; Correlation

Chinese Library Classification(CLC): R563; R734.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)08-1436-05

前言

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)的特征为持续性气流受限、呼吸道受累,该病具有气流阻塞特征的慢性支气管炎或肺气肿^[1]。有害气体及有害颗粒的异常炎症反应是 COPD 的发病因素,具有较高的致残率和病死率,居慢性呼吸系统疾病死亡之首。患者临床表现为小气道反复感染,机体肺血管缺乏氧气及二氧化碳,肺小血管出现原位血栓,机体内皮功能紊乱。部分患者肺循环阻力增加,出现低氧血症及高碳酸血症^[2,3]。

原发性支气管肺癌源于支气管黏膜或腺体,为常见的恶性肿瘤。COPD 及肺癌是临床两种重要的公共健康问题,慢性阻塞性疾病的死亡率仅次于肺癌^[4,5]。众所周知,吸烟是肺部疾病发病的主要原因,患者气道以及全身出现炎症反应,引发肺组织产生病变,而由 COPD 引发的炎症反应是肺癌发生的重要原因。机体抵御外界病原体入侵以及物理、化学性损伤的免疫反应称为炎症,慢性炎症可能会导致肿瘤的发生。炎症小体是一种蛋白复合物,核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NOD-like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3)是目前研究最多且能够被刺激物活化的炎症小体,参与多种肿瘤的进展过程。因此,本研究主要对 NLRP3 炎症小体表达与 COPD 合并肺癌的相关性进行分析,结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2015 年 1 月-2018 年 2 月我院 COPD 合并肺癌患者 62 例纳入实验组,同期选取 88 例 COPD 患者纳入对照组。实验组男 32 例,女 30 例;年龄 41-79 岁,平均年龄(56.28 $\pm$ 8.03)岁;体重 47-75 kg,平均体重(62.23 $\pm$ 8.06)kg;身体质量指数(Body Mass Index, BMI)为 19.00-24.12 kg/m²,平均 BMI (21.12 $\pm$ 0.36)kg/m²;病程 1-3 年,平均病程(2.01 $\pm$ 0.42)年;其中 21 例鳞癌,41 例腺癌;按照国际精准分型标准, TNM 分期: I 期 18 例, II 期 20 例, III 期 24 例;细胞分化程度:高分化 24 例,中分化 20 例,低分化 18 例;淋巴结未转移 35 例,淋巴结转移 27 例,稳定期 36 例,急性加重期 26 例。对照组男 46 例,女 42 例;年龄 42-80 岁,平均年龄(55.66 $\pm$ 9.02)岁;体重 47-72 kg,平均体重 (61.99 $\pm$ 8.01)kg; BMI 为 19.02-24.23 kg/m²,平均 BMI (22.54 $\pm$ 0.37)kg/m²;病程 0-3.5 年,平均病程(2.36 $\pm$ 0.12)年;其中稳定期 33 例,急性加重期 29 例。两组患者一般资料对比,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经我院医学伦理委员会批准,患者及其家属均同意参加本研究,并自愿签署知情书。

1.2 入选标准

① 纳入标准:患者年龄 40-80 岁;所有受检者均参考《慢性

阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版)》^[6]且符合阻塞性肺疾病诊断标准,并经临床确诊;所有患者均进行手术治疗并保留肺病理组织标本;依从性良好。② 排除标准:合并其他恶性肿瘤;有自身免疫性疾病患者;有严重的肝肾功能不全及消化道疾病者;具有血液系统疾病严重原发者;妊娠期及哺乳期妇女;患有精神类疾病;其他肺部疾病如支气管哮喘、肺结核等疾病引起的肺功能下降者。

1.3 方法

1.3.1 酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 采用 ELISA 检测患者外周血 IL-1 β 、IL-18。蒸馏水将 60 mL 浓缩洗涤液稀释至 600 mL,标本稀释液 1.0 mL 将冻干标准品复溶,室温条件下静置 15 min 后,放于螺旋震荡仪混匀,等比稀释 8 个浓度以备后用。按照实验用量以酶结合物稀释液稀释浓缩酶结合物,比例为 1:250,震荡摇匀后用于稀释浓缩生物素化抗体,比例 1:250。取出平衡至室温的板条,按照对应顺序将样品加入对应微孔中,加入不同浓度的标准品至相应孔中,每个小孔为 100 μ L,封紧后室温孵育 120 min。丢掉板中液体,洗涤液洗涤 5 次,每次洗涤后浸泡 1 min。加入检测工作液于孔中,空白孔除外,100 μ L 每孔,室温孵育 60 min。洗涤液洗涤 5 次,加入 A、B 底物,每孔 50 μ L,室温避光孵育 25 min,加入 50 μ L 终止液至每个孔中,震荡混匀。采用 450 nm 波长处测量各孔 OD 值绘制标准曲线,计算标本 IL-1 β 、IL-18 浓度。ELISA 试剂盒采购于赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

1.3.2 免疫组化法 免疫组化法检测两组患者肺病理组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达量。步骤如下:① 福尔马林固定组织,脱水,包埋,脱蜡。PBS 冲洗,孵育 10 min,冲洗。高温修复抗原,滴加 50 μ L 山羊血清,室温放置 30 min,晾干切片。② 加入一抗、PBS 阴性对照。4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜,加入鼠 IgG 抗体 -HRP50 μ L,室温孵育 30 min。③ DAB100 μ L 染色处理后放入苏木素溶液中染色 1 min。盐酸酒精染缸约 30 s 后用蒸馏水冲洗 3 min(促进苏木素的分解)。返蓝处理后脱水,二甲苯溶液浸泡 2 次,封片、记录、拍照。每张切片置于 200 倍镜下随机选取 20 个视野,采用 Image-pro plus6.0 软件进行分析。

1.4 观察指标

① 两组患者 NLRP3 炎症小体表达指标:两组患者外周血 IL-1 β 、IL-18 浓度比较,术后肺病理组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达量;② 比较不同病理特征下患者术后肺病理组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达差异,并分析其与 COPD 合并肺癌的相关性。

1.5 统计学处理

用 SPSS 21.0 统计学软件进行数据分析,计数资料以百分数和例数表示,组间比较用 χ^2 检验;计量资料用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,组间比较用 t 检验,相关性采用 Spearman 秩相关性分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者外周血 IL-1 β 、IL-18 浓度比较

酶联免疫吸附法结果显示:实验组患者外周血 IL-1 β 、IL-18 水平均明显高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者患者外周血 IL-1 β 、IL-18 浓度比较($\bar{x}\pm s$, pg/mL)

Table 1 Comparison of the concentration of peripheral blood IL-1 β and IL-18 between the two groups($\bar{x}\pm s$, pg/mL)

Groups	IL-1 β (pg/mL)	IL-18(pg/mL)
Experimental group (n=62)	19.48 $\pm$ 2.58	404.59 $\pm$ 105.03
Control group (n=62)	7.98 $\pm$ 1.96	183.18 $\pm$ 18.66
t	31.012	16.402
P	0.000	0.000

2.2 两组患者术后肺病理组织 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达量比较

ASC、Caspase-1 蛋白相对表达量均明显高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

免疫组化法结果显示:实验组患者肺病理组织中 NLRP3、

表 2 两组患者术后病理组织 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达量比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of the relative expression of NLRP3, ASC, Caspase-1, IL-1 β , IL-18 protein in the postoperative pathological tissues between the two groups($\bar{x}\pm s$)

Groups	NLRP3	ASC	Caspase-1	IL-1 β	IL-18
Experimental group (n=62)	0.37 $\pm$ 0.02	0.42 $\pm$ 0.01	0.40 $\pm$ 0.01	0.41 $\pm$ 0.15	0.39 $\pm$ 0.22
Control group (n=62)	0.19 $\pm$ 0.01	0.22 $\pm$ 0.01	0.21 $\pm$ 0.01	0.19 $\pm$ 0.06	0.20 $\pm$ 0.09
t	63.385	111.355	105.788	10.723	6.294
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

2.3 不同病理特征 COPD 合并肺癌患者术后肺病理组织 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达比较

中低分化、临床分期 III、淋巴结有转移的急性加重期 COPD 合并肺癌患者术后肺病理组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达高于高分化、临床分期 I-II 期、淋巴结无转移的稳定期 COPD 合并肺癌患者,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.4 术后肺病理组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达与 COPD 合并肺癌的相关性

经 Spearman 秩相关性分析发现,术后肺病理组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达水平与 COPD 合并肺癌患者病情严重程度、淋巴结转移情况、分化程度以及病情所处时期均呈正相关($r>0$, $P<0.05$)。见表 4。

3 讨论

COPD 患者免疫系统出现障碍,肺部并发感染时,机体免疫防御机制被进一步破坏,炎症反应发生,病情进一步恶化^[7,8]。近年来,关于 COPD 作为肺癌发病的重要因素的报道越来越多^[9]。肺部慢性炎症导致患者肺组织反复出现损伤-修复-损伤,引起瘢痕,进一步导致肿瘤的发生^[10]。目前,COPD 合并肺癌的具体发病机制尚未见准确报道^[11]。有学者认为吸烟是导致慢阻肺及肺癌的危险因素,香烟中含有大量有害物质,能够发挥刺激巨噬细胞等炎症细胞的作用,最终导致此类细胞在机体肺泡腔聚集并活化,大量氧自由基及弹性蛋白酶被释放出来^[12]。

肺泡结构被破坏,肺组织弹性消失,肺部病变产生^[13]。因此,炎症反应被认为是导致肺癌发病的主要因素之一^[14,15]。相关研究报道,炎症与肿瘤关系密切,肿瘤发生的区域常伴有一定的炎症反应,其持续时间与肿瘤发生的危险性呈正相关^[16,17]。

多种蛋白质相结合形成炎症小体,其是由胞浆内模式识别受体参与组装的多蛋白复合物,是天然免疫系统的重要组成部分能够调节 caspase-1 的活化^[18,19]。有研究指出,炎症小体参与了针对多种病原体的宿主防御反应,病原体也已经进化出多种相应的机制来抑制炎症小体的表达^[20,21]。NLRP3 炎症小体为固有免疫的重要组分,广泛参与机体免疫反应及疾病发生过程^[22,23]。NLRP3 炎症小体被多种类型的病原体或危险信号激活^[24]。在多种疾病过程中均发挥了关键作用^[25]。患者外周血 NLRP3 炎症小体及其下游分子 mRNA 能够被细菌、病毒等病原体激活,分泌的 IL-1 β 和 IL-18 有着明显的促炎作用,从而引起炎症反应,是当前研究的热点。作为炎症反应的核心,在未来的临床治疗中 NLRP3 炎症小体有望成为各种炎症性疾病的新的靶点^[26,27]。有研究报道,NLRP3 炎症小体能够促进肺腺癌细胞的增殖与分化,但对于 COPD 合并肺癌并无详细报道^[28]。NLRP3 蛋白分子高表达与人类细胞系,当机体受到感染时,NLRP3 蛋白聚合形成复合体,即为炎症小体。该炎症小体能够活化 Caspase-1 的活性,释放 IL-1 β 、IL-18。本次研究以我院 62 例 COPD 合并肺癌患者以及 88 例 COPD 患者作为研究对象,结果显示实验组患者外周血 IL-1 β 、IL-18 水平均明显高于对照组,患者术后肺病理组织中 Caspase-1、ASC、NLRP3、IL-1 β 、

表 3 不同病理特征 COPD 合并肺癌患者术后病理组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达比较($\bar{x}\pm s$)Table 3 Comparison of the relative expression of NLRP3, ASC, Caspase-1, IL-1 β , IL-18 protein in the postoperative pathological tissues in the COPD combined with lung cancer patients with different pathological features($\bar{x}\pm s$)

Factors		NLRP3	ASC	Caspase-1	IL-1 β	IL-18
Degree of differentiation	High differentiation (n=24)	0.24 $\pm$ 0.22	0.22 $\pm$ 0.15	0.20 $\pm$ 0.19	0.21 $\pm$ 0.17	0.19 $\pm$ 0.18
	Moderate and low differentiation (n=38)	0.45 $\pm$ 0.28	0.41 $\pm$ 0.36	0.39 $\pm$ 0.36	0.41 $\pm$ 0.26	0.40 $\pm$ 0.17
	t	4.449	2.449	2.380	3.339	4.632
	P	0.000	0.017	0.021	0.001	0.000
TNM staging	I - II stage (n=38)	0.15 $\pm$ 0.12	0.23 $\pm$ 0.12	0.21 $\pm$ 0.17	0.23 $\pm$ 0.12	0.15 $\pm$ 0.14
	III stage (n=24)	0.36 $\pm$ 0.31	0.41 $\pm$ 0.38	0.42 $\pm$ 0.30	0.42 $\pm$ 0.39	0.39 $\pm$ 0.23
	t	3.767	2.724	3.521	2.811	5.117
	P	0.000	0.008	0.001	0.007	0.000
Lymph node metastasis	With lymph node metastasis (n=27)	0.41 $\pm$ 0.25	0.39 $\pm$ 0.28	0.40 $\pm$ 0.33	0.40 $\pm$ 0.31	0.36 $\pm$ 0.35
	Without lymph node metastasis (n=35)	0.26 $\pm$ 0.17	0.25 $\pm$ 0.16	0.22 $\pm$ 0.15	0.20 $\pm$ 0.17	0.20 $\pm$ 0.19
	t	2.809	2.482	2.870	3.242	2.303
	P	0.007	0.016	0.006	0.002	0.025
Stage	Stable period (n=36)	0.19 $\pm$ 0.16	0.23 $\pm$ 0.16	0.23 $\pm$ 0.16	0.20 $\pm$ 0.19	0.26 $\pm$ 0.26
	Acute exacerbation period (n=26)	0.39 $\pm$ 0.27	0.77 $\pm$ 0.29	0.44 $\pm$ 0.29	0.49 $\pm$ 0.30	0.50 $\pm$ 0.39
	t	3.651	9.386	3.650	4.656	2.908
	P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005

表 4 术后肺病理组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达与 COPD 合并肺癌的相关性Table 4 The correlation between the relative expression of NLRP3, ASC, Caspase-1, IL-1 β , IL-18 protein in the postoperative pulmonary pathological tissues and COPD combined with lung cancer

Related indexes	NLRP3		ASC		Caspase-1		IL-1 β		IL-18	
	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P
TNM staging	0.273	0.040	0.366	0.029	0.388	0.014	0.369	0.023	0.389	0.022
Lymph node metastasis	0.289	0.036	0.352	0.027	0.441	0.008	0.374	0.016	0.352	0.036
Degree of differentiation	0.324	0.031	0.346	0.024	0.396	0.011	0.371	0.019	0.365	0.031
Stag	0.398	0.014	0.320	0.021	0.465	0.002	0.386	0.013	0.385	0.025

IL-18 蛋白相对表达均明显高于对照组。这可能是因为 NLRP3 炎症小体激活 Caspase-1, 活化的 Caspase-1 切割 IL-1 β 和 IL-18 的前体,产生相应的成熟细胞因子。此类细胞因子释放到细胞外,引发炎症反应,从而促进肿瘤的发生。组织学类型为中低分化、临床分期 III、淋巴结有转移的急性加重期 COPD 合并肺癌患者术后肺病理组织中 Caspase-1、ASC、NLRP3、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达水平高于组织学类型为高分化、临床分期 I - II 期、淋巴结无转移的稳定期急性加重期 COPD 合并肺癌患者。经 Spearman 秩相关性分析发现,术后肺病理组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白相对表达水平与 COPD 合并肺癌患者病情严重程度、淋巴结转移情况、分化程

度以及病情所处时期均呈正相关。这可能是因为 NLRP3 炎症小体的表达,需要 NLRP3 与 ASC 相连接,ASC 募集 Caspase-1, 剪切 IL-1 β 和 IL-18 后产生活性,信号通路加强,对细胞有一定的促增殖作用。IL-1 β 作为促炎因子,可诱导表达 IL-6、诱导型一氧化氮合酶、环氧合酶 2 等其他炎症因子,激活免疫细胞,促进炎症反应。另外,IL-1 β 能够促使 DNA 甲基化,在肿瘤的发展过程中起着促进作用。IL-18 能够活化 PI3K-ALK 信号通路,产生缺氧诱导因子 1 α , 促进肿瘤的生长。这也进一步说明, NLRP3 炎症小体主要通过 IL-1 β 和 IL-18 的自分泌以及旁分泌来发挥促细胞增殖作用。

综上所述,NLRP3 炎症小体通路可能参与了 COPD 合并

肺癌的发展过程,其释放的细胞因子 IL-1 β 、IL-18 水平升高可能与患者持续炎症有关,并进一步导致机体免疫病理损伤,促进疾病进展。

参考文献(References)

- [1] Divo MJ, Celli BR, Poblador-Plou B, et al. Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) as a disease of early aging: Evidence from the EpiChron Cohort[J]. *Plos One*, 2018, 13(2): e0193143
- [2] Mukundu L, Matiti MR. Managing COPD using pulmonary rehabilitation: a literature review [J]. *Nursing Standard*, 2015, 30(14): 38-43
- [3] Millares L, Pérezbrocal V, Ferrari R, et al. Functional Metagenomics of the Bronchial Microbiome in COPD [J]. *Plos One*, 2015, 10(12): e0144448
- [4] Fischer F, Kraemer A. Meta-analysis of the association between second-hand smoke exposure and ischaemic heart diseases, COPD and stroke[J]. *Bmc Public Health*, 2015, 15(1): 1202
- [5] Sun J, Xiao X, Huang RJ, et al. In vitro Dynamic Pharmacokinetic/Pharmacodynamic (PK/PD) study and COPD of Marbofloxacin against *Haemophilus parasuis* [J]. *Bmc Veterinary Research*, 2015, 11(1): 293
- [6] Chronic obstructive pulmonary disease group, respiratory medicine branch of Chinese Medical Association. Guidelines for diagnosis and treatment of chronic obstructive pulmonary disease (revised version 2013)[J]. *Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases*, 2013, 6(4): 255-264
- [7] Migone C, O'Connor M, Kelly E, et al. Patients Hospitalised with an Acute Exacerbation of COPD: Is There a Need for a Discharge Bundle of Care?[J]. *Irish Medical Journal*, 2015, 108(9): 273-275
- [8] Liu Z, Li W, Lv J, et al. Identification of potential COPD genes based on multi-omics data at the functional level[J]. *Molecular Biosystems*, 2016, 12(1): 191-204
- [9] Mitten RL. Managing a patient with COPD and comorbidities: a case study[J]. *Nurs Stand*, 2015, 30(13): 46-51
- [10] Kamenski G, Bendova J, Fink W, et al. Does COPD have a clinically relevant impact on hearing loss? A retrospective matched cohort study with selection of patients diagnosed with COPD [J]. *Bmj Open*, 2015, 5(11): e008247
- [11] Zhou Xin, Tao Shi-shi, Qiu Mo-xian, et al. Expression and clinical significance of miR-191 in non-small cell lung cancer [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2018, 18(3): 496-499
- [12] Li XN, Qiu D, Pan X, et al. Mutation of the epidermal growth factor receptor gene and its impact on the efficacy of gefitinib in advanced non-small cell lung cancer [J]. *International Journal of Clinical & Experimental Medicine*, 2015, 8(4): 5397-5405
- [13] Traynor K. Pharmacists can improve COPD care [J]. *American journal of health-system pharmacy: AJHP: official journal of the American Society of Health-System Pharmacists*, 2015, 72(23): 2004
- [14] Guan X. Cancer metastases: challenges and opportunities [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2015, 5(5): 402-418
- [15] Yin Chao, Yu Hong-lan, Yang Mei, et al. Expression and clinical significance of IL-6 and P-selectin in non-small cell lung cancer [J]. *Guizhou Medical Journal*, 2017, 41(6): 578-580
- [16] Mlika M, Laabidi S, Afrit M, et al. Genomic classification of lung cancer: toward a personalized treatment [J]. *La Tunisie Medicale*, 2015, 93(6): 339
- [17] Mark K, Thomas M, Alexander H, et al. Differential diagnostic value of CD5 and CD117 expression in thoracic tumors: A large scale study of 1465 non-small cell lung cancer cases [J]. *Diagnostic Pathology*, 2015, 10(1): 210
- [18] Misawa T, Saitoh T, Kozaki T, et al. Resveratrol inhibits the acetylated α -tubulin-mediated assembly of NLRP3-inflammasome[J]. *International Immunology*, 2015, 27(9): 425
- [19] Abderrazak A, Couchie D, Darweesh Mahmood DF, et al. Response to Letter Regarding Article, "Anti-inflammatory and Antiatherogenic Effects of the Inflammasome NLRP3 Inhibitor Arglabin in ApoE2.Ki Mice Fed a High-Fat Diet"[J]. *Circulation*, 2015, 132(21): 250-251
- [20] Karasawa T, Takahashi M. Letter by Karasawa and Takahashi Regarding Article, "Anti-inflammatory and Antiatherogenic Effects of the Inflammasome NLRP3 Inhibitor Arglabin in ApoE2.Ki Mice Fed a High-Fat Diet"[J]. *Circulation*, 2015, 132(21): e249
- [21] Ye W, Lei Y, Yu M, et al. NLRP3 inflammasome is responsible for Hantavirus inducing interleukin-1 β in THP-1 cells [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2015, 35(6): 1633
- [22] Zhao Y, Li Q, Zhao W, et al. Astragaloside IV and cycloastragenol are equally effective in inhibition of endoplasmic reticulum stress-associated TXNIP/NLRP3 inflammasome activation in the endothelium [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2015, 169 (20): 210-218
- [23] Kariya S, Okano M, Zhao P, et al. Activation of NLRP3 inflammasome in human middle ear cholesteatoma and chronic otitis media[J]. *Acta Otolaryngol*, 2016, 136(2): 136-140
- [24] Choubey D, Panchanathan R. Comment on "Deficient NLRP3 and AIM2 Inflammasome Function in Autoimmune NZB Mice" [J]. *Journal of Immunology*, 2015, 195(10): 4551
- [25] Liu P, Xie Q, Wei T, et al. Activation of the NLRP3 inflammasome induces vascular dysfunction in obese OLETF rats[J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2015, 468(1-2): 319-325
- [26] Nomura J, So A, Tamura M, et al. Intracellular ATP Decrease Mediates NLRP3 Inflammasome Activation upon Nigericin and Crystal Stimulation[J]. *Journal of Immunology*, 2015, 195(12): 5718-5724
- [27] Hwang I, Lee E, Jeon SA, et al. Histone deacetylase 6 negatively regulates NLRP3 inflammasome activation [J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2015, 467(4): 973-978
- [28] Mocanu AO, Mulya A, Huang H, et al. Effect of Roux-en-Y Gastric Bypass on the NLRP3 Inflammasome in Adipose Tissue from Obese Rats[J]. *Plos One*, 2015, 10(10): e0139764