

# 谷氨酰胺抑制 NLRP3/Caspase-1 通路减轻坏死性小肠结肠炎大鼠肠损伤<sup>\*</sup>

赖永森<sup>1</sup> 向绍蓉<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>深圳市龙华区人民医院儿科, 广东深圳 518109

<sup>2</sup>湖北民族大学附属民大医院新生儿科 湖北恩施, 445000

**摘要** 目的:探究谷氨酰胺(Gln)对坏死性小肠结肠炎(NEC)新生大鼠肠损伤的保护作用,及其与核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NLRP3)/半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶1(Caspase-1)通路之间的关系。方法:将新生SD大鼠随机分成对照组、模型组、谷氨酰胺(Gln)组和Gln+NLRP3激活剂(DDC)组,每组12只。除对照组外,其他3组均采用缺氧和冷刺激建立NEC模型。在造模的同时,Gln组大鼠给予Gln 0.3 g/kg灌胃,DDC组大鼠给予Gln 0.3 g/kg和二乙基二硫代氨基甲酸酯(DDC)30 mg/kg灌胃,给药1次/d,连续3 d,末次灌胃空腹24 h后,采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测4组大鼠血清中白介素-18(IL-18)、白介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平;心脏取血后打开腹腔,取回盲部近端肠组织1~2 cm,苏木素-伊红(HE)染色检测大鼠肠组织病理学变化并进行损伤评分;TUNEL试剂盒检测大鼠肠细胞凋亡指数;蛋白印迹(WB)法检测肠组织NLRP3、Caspase-1蛋白表达水平。结果:模型组、Gln组和DDC组大鼠在造模24 h后,相继出现不同程度的腹胀、腹泻、活动减少等现象;与模型组比较,Gln组大鼠临床症状出现较晚且程度减轻,活动度较好。与对照组比较,模型组大鼠肠组织可见大量炎性细胞浸润、结构坏死等病变,肠组织损伤评分、细胞凋亡指数、IL-18、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 含量及NLRP3、Caspase-1蛋白相对表达量显著升高( $P$ 均 $<0.05$ )。与模型组比较,Gln组肠组织病变减轻,肠组织损伤评分、细胞凋亡指数、IL-18、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 含量及NLRP3、Caspase-1蛋白相对表达量显著降低( $P$ 均 $<0.05$ )。与Gln组比较,DDC组大鼠肠组织病变加重,肠组织损伤评分、细胞凋亡指数、IL-18、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 含量及NLRP3、Caspase-1蛋白相对表达量显著升高( $P$ 均 $<0.05$ )。结论:Gln可减轻NEC大鼠的炎症水平,保护肠组织结构,其机制可能与抑制NLRP3/Caspase-1信号通路有关。

**关键词** 谷氨酰胺; 坏死性小肠结肠炎; 新生大鼠; 炎症反应; NLRP3/Caspase-1 通路

中图分类号 R285.5

文献标识码 A

DOI 10.11768/nkjwzzz20220617

**Glutamine alleviates intestinal injury in rats with necrotizing enterocolitis by inhibiting the NLRP3/Caspase-1 pathway** LAI Yong-sen<sup>1</sup>, XIANG Shao-rong<sup>2\*</sup>. <sup>1</sup>Department of Pediatrics, Longhua District People's Hospital of Shenzhen, Guangdong Shenzhen 518109, China; <sup>2</sup>Department of Neonatology, Hubei Minzu University Hospital, Hubei Enshi 445000, China  
Corresponding author: XIANG Shao-rong, E-mail: n83pgg@163.com

**Abstract** Objective: To explore the protective effect of glutamine (Gln) on intestinal injury in neonatal rats with necrotizing enterocolitis (NEC) and its relationship with the nucleotide binding oligomeric domain-like receptor protein 3 (NLRP3)/cysteine aspartic proteolytic enzyme 1 (Caspase-1) pathway. Methods: Neonatal SD rats were randomly divided into control group, model group, Gln group and glutamine + NLRP3 activator (diethylthiocarbamate, DDC) group, with 12 rats in each group. Except the control group, the NEC model was established by hypoxia and cold stimulation in other groups. At the same time of modeling, rats in Gln group were given Gln 0.3 g/kg by gavage, rats in DDC group were given Gln 0.3 g/kg and DDC 30 mg/kg by gavage. The levels of inflammatory cytokines [interleukin-18 (IL-18), IL-1 $\beta$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )] in serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). After taking blood from the heart, the abdominal cavity was opened, and the intestinal tissue at the proximal end of the cecum for 1-2 cm was retrieved. The hematoxylin eosin (HE) staining was used to detect the pathological changes of intestinal tissue and the injury score was evaluated. TUNEL kit was used to detect the apoptosis index of intestinal cells. The expression levels of NLRP3 and Caspase-1 were detected by Western blotting. Results: At 24 h after modeling, the rats in model group, Gln group and DDC group successively showed abdominal distension, diarrhea and decreased activity in different degrees. Compared

\* 基金项目:深圳市龙华区医疗卫生机构区级科研项目(No:2020097)

\* 通信作者:向绍蓉,E-mail:n83pgg@163.com,湖北省恩施市市航空花园小区15号

with the model group, the clinical symptoms of Gln group appeared later and the degree was alleviated, the degree of activity was better. Compared with the control group, a large number of inflammatory cell infiltration and structural necrosis were found in the intestinal tissue of the model group, the intestinal injury score, apoptosis index, contents of IL-18, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and the relative protein expression of NLRP3 and Caspase-1 were significantly higher (all  $P < 0.05$ ). Compared with model group, the pathological changes of intestinal tissue in Gln group were alleviated, the intestinal injury score, apoptosis index, contents of IL-18, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and the relative protein expression of NLRP3 and Caspase-1 were significantly lower (all  $P < 0.05$ ). Compared with Gln group, the intestinal lesions in DDC group were more severe, the intestinal injury score, apoptosis index, contents of IL-18, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and the relative protein expression of NLRP3 and Caspase-1 were significantly higher (all  $P < 0.05$ ). Conclusions: Gln can reduce the inflammatory level and protect the intestinal structure of NEC rats. The mechanism may be related to the inhibition of NLRP3/Caspase-1 signaling pathway.

**Key words** Glutamine; Necrotizing enterocolitis; Neonatal rats; Inflammatory response; NLRP3/Caspase-1 pathway

坏死性小肠结肠炎 (necrotizing enterocolitis, NEC) 是一种肠道急性炎症性疾病, 主要影响早产儿, 是新生儿重症监护病房发病率和死亡率的主要原因<sup>[1]</sup>。NEC 常见的并发症包括神经发育迟缓、胃肠道粘连狭窄、伴有或不伴有肠道衰竭的短肠综合征<sup>[2]</sup>。核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3) 炎症小体与各种疾病的发生发展有关, 包括代谢紊乱、炎症性肠病及其他自身免疫和自身炎症性疾病<sup>[3]</sup>。半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶 1 (cysteinyl aspartate specific proteinase 1, Caspase-1) 可作用于病原体和内源性介质, 通过形成炎性体复合物而被激活<sup>[4]</sup>。NLRP3 通过激活 Caspase-1, 进一步诱导促炎性细胞因子白介素 (interleukin)-1 $\beta$  释放, 加重机体炎症反应<sup>[5]</sup>。谷氨酰胺 (glutamine, Gln) 是人体中最丰富、用途最广泛的氨基酸, 对维持肠黏膜完整性具有保护作用<sup>[6,7]</sup>。研究发现, 补充 Gln 在预防早产儿 NEC 的过程中起重要作用<sup>[8]</sup>。本研究通过构建新生大鼠 NEC 模型, 探究 Gln 在 NLRP3/Caspase-1 通路的作用, 为进一步研究 Gln 对 NEC 的预防治疗作用提供实验基础。

## 材料与方法

**实验动物** 新生大鼠, 雌雄兼有, 体质量 12 ~ 15 g 左右, 购自长春中医药大学, 许可证号: SYXK (吉)2018-0014。

**主要试剂** L-谷氨酰胺 (纯度  $\geq 98.5\%$ , 货号: G8230), IL-18 试剂盒 (货号: SEKR-0007)、IL-1 $\beta$  试剂盒 (SEKR-0002), 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 试剂盒 (货号: SEKR-0009), 苏木素-伊红 (hematoxylin and eosin, HE) 染色试剂盒 (货号: G1120), 原位缺口末端标记法 (TdT mediated dUTP nick end labeling, TUNEL) 细胞凋亡检测试剂盒 (货号: T2190) 均购自北京索莱宝生物技术有限公司。二乙基二硫代氨基

甲酸酯 (Diethyldithiocarbamate, DDC, 货号: S-0319) 购自美国 Sigma 公司。NLRP3 一抗 (货号: MA5-23919), Caspase-1 一抗 (货号: 14-9832-82) 及羊抗鼠二抗 (货号: G-21040) 均购自美国 Thermo Fisher 公司。

**实验仪器** 酶标仪购自美国 Thermo Scientific 公司, 光学显微镜购自日本 Nikon 公司, 蛋白电泳仪购自北京六一仪器厂, 凝胶成像系统购自北京大龙兴创实验仪器有限公司。

## 实验方法

1. 实验动物分组及处理。将购入的不同窝别、出生 48 h 的 SD 新生大鼠与母鼠分离, 随机分成: 对照组、模型组、谷氨酰胺 (Gln) 组、Gln + NLRP3 激活剂 (DDC) 组, 每组 12 只。4 组大鼠给予代乳品人工喂养。模型组、Gln 组和 DDC 组大鼠定时给予缺氧和冷刺激<sup>[9]</sup>。即新生大鼠依次置于 100% CO<sub>2</sub> 10 min, 4℃ 5 min, 97% O<sub>2</sub> 5 min, 2 次/d, 连续 3 d, 建立大鼠 NEC 模型。在造模的同时, Gln 组大鼠给予 Gln 0.3 g/kg 灌胃<sup>[10]</sup>; DDC 组大鼠给予 Gln 0.3 g/kg 和 DDC 30 mg/kg 灌胃<sup>[11]</sup>; 对照组和模型组给予等量生理盐水灌胃。各组大鼠灌胃给药 1 次/d, 连续 3 d。

2. 样本采集。末次灌胃后, 空腹 24 h, 麻醉后处死大鼠, 立即心脏取血, 离心取上清, 置于 -80℃ 中保存备用。迅速打开腹腔, 取出十二指肠下端至回盲部肠组织, 取回盲部近端组织 1 ~ 2 cm, 立即用 10% 甲醛固定。另一部分肠组织置于液氮中速冻, 置于 -80℃ 中保存。

3. 检测血清炎性因子含量。按照酶联免疫吸附测定法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒说明书检测血清中 IL-18、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平, 酶标仪测定吸光度。

4. 大鼠肠组织病理学检测及肠组织损伤评分。肠组织固定 48 h 后取出, 脱水透明, 浸蜡包埋, 切片, HE 染色, 使用光学显微镜观察 4 组大鼠肠组织

病理学变化。对肠组织进行损伤评分<sup>[12]</sup>。以样品中观察的最高分数为肠道损伤程度评分。病理评分标准:0 分:肠组织结构正常,黏膜绒毛组织完整;1 分:肠组织结构轻度损伤,绒毛顶部脱落;2 分:肠组织肿胀,绒毛中部坏死;3 分:局部绒毛脱落,水肿严重;4 分:肠组织结构坏死,绒毛消失。

5. 肠细胞凋亡指数检测。石蜡切片按照 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒说明书操作,每张切片选取 5 个具有代表性的不同高倍视野(×400)。计算凋亡的细胞数和细胞总数,以凋亡指数(凋亡细胞数/细胞总数×100%)表示。

6. 大鼠肠组织中 NLRP3/Caspase-1 蛋白表达水平测定。取出冻存的肠组织,加入细胞裂解液,提取总蛋白,使用二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)试剂盒检测蛋白总浓度。SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)分离蛋白转膜,脱脂奶粉封闭,加 NLRP3、Caspase-1、β-actin 一抗(稀释倍数为 1:1000),4℃孵育过夜,加二抗,孵育 1 h,避光显色,蛋白凝胶成像系统拍照和定量分析。

统计学分析 采用 SPSS 22.0 统计学软件,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较,采用 SNK-*q* 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

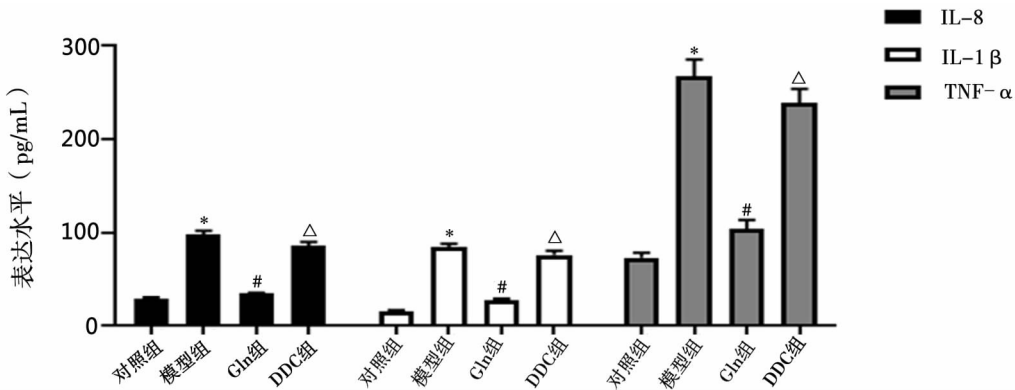
结 果

大鼠一般状态 对照组大鼠生长发育良好,进食、排便正常,无腹泻,体质量增加。模型组、Gln 组和 DDC 组大鼠在开始造模(即初次给予缺氧和冷刺激)24 h 后,相继出现不同程度的腹胀、腹泻、活动减少等现象。与模型组比较,Gln 组大鼠临床症状出现较晚且程度减轻,活动度较好。

炎症因子 模型组大鼠血清 IL-18、IL-1β、TNF-α 含量显著高于对照组(*P* 均 < 0.05),Gln 组大鼠血清 IL-18、IL-1β、TNF-α 含量显著低于模型组(*P* 均 < 0.05),DDC 组大鼠血清 IL-18、IL-1β、TNF-α 含量显著高于 Gln 组(*P* 均 < 0.05),见图 1。

肠组织病理学检测及肠组织损伤评分 对照组大鼠肠组织结构完整,腺体排列规则,无炎性细胞浸润。模型组和 DDC 组大鼠肠组织结构坏死,腺体排列紊乱,肠粘膜充血水肿,有大量炎性细胞浸润,肠绒毛脱落或消失。与模型组比较,Gln 组肠组织结构坏死情况较轻,充血水肿程度较轻,炎性细胞浸润较少,腺体排列稍紊乱,见图 2。

与对照组比较,模型组大鼠肠组织损伤评分显著升高(*P* < 0.05);与模型组比较,Gln 组大鼠肠组织损伤评分显著降低(*P* < 0.05);与 Gln 组比较,DDC 组大鼠肠组织损伤评分显著升高(*P* < 0.05),见图 3。



注:与对照组比较,\**P* < 0.05;与模型组比较,#*P* < 0.05;与 Gln 组比较,Δ*P* < 0.05

图 1 4 组大鼠血清中炎症因子水平的比较

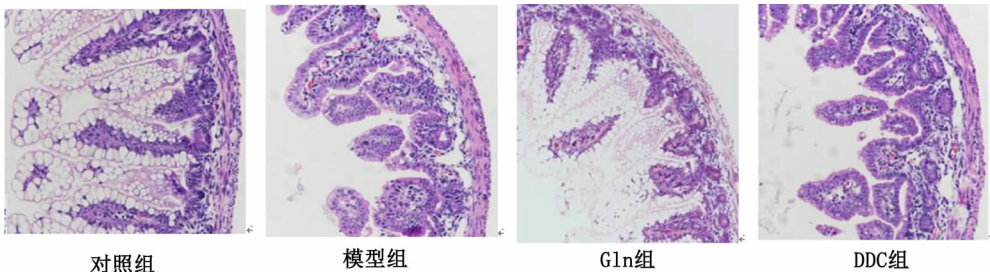
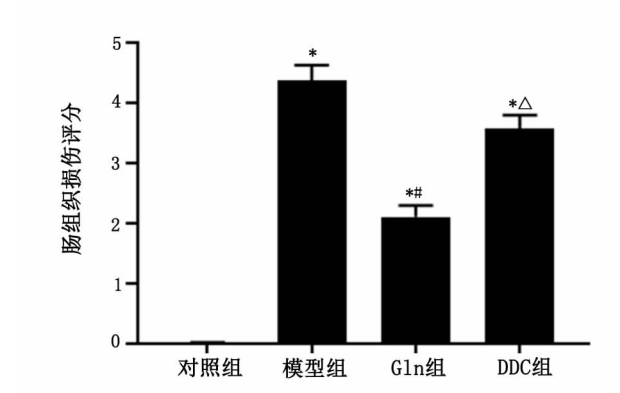


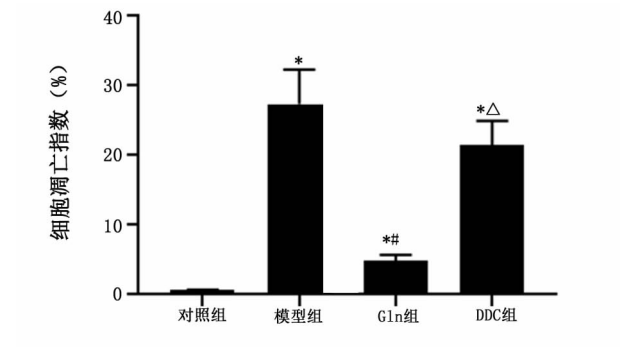
图 2 4 组大鼠肠组织病理学比较(HE×200)



注:与对照组比较, \*  $P < 0.05$ ;与模型组比较, #  $P < 0.05$ ;与 Gln 组比较,  $\Delta P < 0.05$

图3 4组大鼠肠组织损伤评分的比较

**肠细胞凋亡指数** 对照组大鼠肠组织几乎无凋亡细胞。模型组、Gln 组和 DDC 组大鼠肠细胞凋亡指数显著升高( $P$  均  $< 0.05$ )。与模型组比较,Gln 组大鼠肠细胞凋亡指数显著降低( $P < 0.05$ )。与 Gln 组比较,DDC 组大鼠肠细胞凋亡指数显著升高( $P < 0.05$ ),见图 4。



注:与对照组比较, \*  $P < 0.05$ ;与模型组比较, #  $P < 0.05$ ;与 Gln 组比较,  $\Delta P < 0.05$

图4 各组大鼠肠细胞凋亡指数的比较

**肠组织中 NLRP3、Caspase-1 蛋白表达水平** 采用蛋白印迹(western blot, WB)检测肠组织 NLRP3、Caspase-1 蛋白水平。与对照组比较,模型组大鼠肠组织中 NLRP3、Caspase-1 蛋白相对表达量显著升高( $P < 0.05$ )。与模型组比较,Gln 组的 NLRP3、Caspase-1 蛋白相对表达量明显下降( $P < 0.05$ )。与 Gln 组比较,DDC 组大鼠肠组织中 NLRP3、Caspase-1 蛋白相对表达量显著升高( $P < 0.05$ ),见图 5、6。

讨 论

NEC 可能是由早产儿肠道对肠道菌群激发的先天免疫反应引起的肠道损伤<sup>[13~15]</sup>。NEC 发病机理的特征是肠道炎症,并可发展成全身性感染,从而

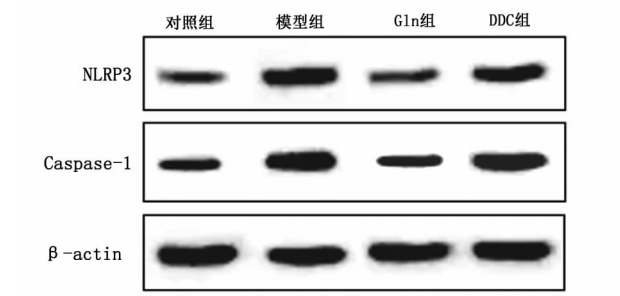
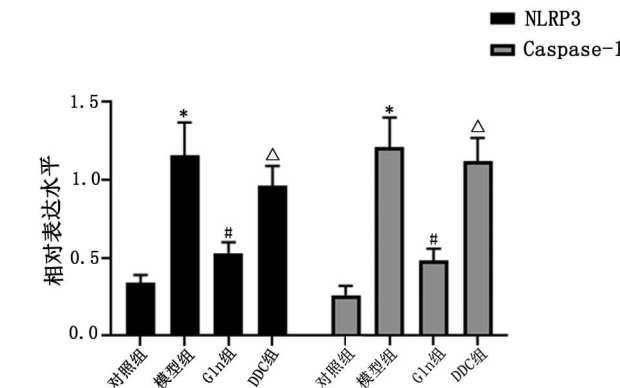


图5 4组大鼠肠组织 WB 检测结果



注:与对照组比较, \*  $P < 0.05$ ;与模型组比较, #  $P < 0.05$ ;与 Gln 组比较,  $\Delta P < 0.05$

图6 4组大鼠肠组织中 NLRP3、Caspase-1 蛋白表达水平比较

诱发多器官衰竭,最终导致死亡<sup>[16]</sup>。基于配方喂养和对肠道损伤的低氧应激的新生大鼠模型仍被认为是成功的 NEC 模型<sup>[9,17]</sup>。在本研究中,采用人工喂养、缺氧和冷刺激的方式诱导大鼠 NEC 模型,发现模型组大鼠活动减少,出现腹胀、腹泻等现象,肠组织有大量炎性细胞浸润、坏死严重,肠绒毛脱落或消失,肠组织损伤评分、细胞凋亡指数及血清 IL-18、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平显著升高,提示 NEC 模型建立成功,NEC 大鼠肠组织损伤严重。

Gln 是人体内一种丰富的氨基酸,可为肠道提供主要能量来源。在创伤、大手术和感染等应激状态下,血液中的 Gln 水平显著降低,适当补充 Gln 对维持肠黏膜完整性有保护作用。Gln 可通过降低肠道通透性、增强肠道免疫力、防止黏膜细胞凋亡、减少肠道菌群移位来保护肠道。Zhou 等<sup>[18]</sup>研究发现,Gln 可下调 TLR2 和 TLR4 表达,保护 NEC 早产新生大鼠的肠道组织。临床研究表明,Gln 能降低极低体重出生儿的肠道通透性,改善早产儿的 NEC<sup>[19]</sup>。本研究中 NEC 大鼠补充 Gln 后,与模型组比较,临床症状出现较晚且程度减轻,肠组织病变程度减轻,肠组织损伤评分、细胞凋亡指数显著降低,

表明 Gln 可改善 NEC 大鼠肠组织损伤。研究发现<sup>[20]</sup>,Gln 在人的肠黏膜中可减少分泌促炎细胞因子 IL-18 和 IL-1β,减轻机体炎症反应。本研究中,Gln 组大鼠血清中 IL-18、IL-1β、TNF-α 含量显著低于模型组,与研究结果一致。因此本文推测 Gln 可通过降低 NEC 大鼠炎症反应,保护肠组织。

NLRP3 炎性小体为先天免疫系统的重要组成部分,可响应微生物感染和细胞损伤<sup>[21]</sup>,在炎症反应中起重要作用。在病原体的作用下,NLRP3 可诱导成熟 Caspase-1 的产生并与凋亡相关斑点样蛋白形成多蛋白复合物。然后复合物裂解 Pro-IL-1β 并形成促炎因子 IL-1β<sup>[22]</sup>。Chen 等<sup>[23]</sup>研究发现,阪崎肠杆菌可通过调节 NLRP3 炎性小体的表达促进 NEC 的发展。本研究发现,NEC 大鼠肠组织中 NLRP3、Caspase-1 蛋白表达水平显著上调,表明在 NEC 大鼠肠组织中,NLRP3/Caspase-1 通路被激活。大量研究发现,Gln 在大鼠肠缺血再灌注损伤的保护作用中起到重要作用<sup>[24]</sup>。Gln 治疗后的 NEC 大鼠肠组织 NLRP3、Caspase-1 蛋白表达量明显低于模型组,进一步分析发现,Gln 对 NEC 新生大鼠肠组织的保护作用可被 NLRP3 激活剂逆转,提示 Gln 可通过调控 NLRP3/Caspase-1 信号通路,改善 NEC 大鼠肠组织损伤。

综上所述,Gln 可通过抑制 NLRP3/Caspase-1 信号通路,减轻 NEC 新生大鼠的炎症反应,减轻肠组织损伤。但 NEC 的发病机制比较复杂,Gln 对 NEC 新生大鼠的具体保护机制仍需进一步研究。

参 考 文 献

1 Bellodas Sanchez J,Kadrofske M. Necrotizing enterocolitis[J]. Neurogastroenterol Motil,2019,31(3):e13569.  
2 Bazacliu C, Neu J. Necrotizing enterocolitis: long term complications [J]. Curr Pediatr Rev,2019,15(2):115-124.  
3 Shao BZ,Xu ZQ,Han BZ, et al. NLRP3 inflammasome and its inhibitors: a review[J]. Front Pharmacol,2015,6(1):262.  
4 Boucher D, Monteleone M, Coll RC, et al. Caspase-1 self-cleavage is an intrinsic mechanism to terminate inflammasome activity[J]. J Exp Med,2018,215(3):827-840.  
5 Haneklaus M,O'Neill LA. NLRP3 at the interface of metabolism and inflammation[J]. Immunol Rev,2015,265(1):53-62.  
6 沈丽娟,王倩,吴锡平,等. 谷氨酰胺对脓毒症大鼠急性肠黏膜损伤的保护作用[J]. 内科急危重症杂志,2018,24(3):253-255,260.  
7 Hu X,Deng J,Yu T, et al. ATF4 deficiency promotes intestinal inflammation in mice by reducing uptake of glutamine and expression of antimicrobial peptides[J]. Gastroenterology,2019,156(4):1098-1111.

8 Garg BD,Kabra NS. Role of amino acid supplementation in the prevention of necrotizing enterocolitis in preterm neonates-a review of current evidences[J]. J Matern Fetal Neonatal Med,2018,31(17):2349-2366.  
9 Liang S,Lai P,Li X, et al. Ulinastatin reduces the severity of intestinal damage in the neonatal rat model of necrotizing enterocolitis[J]. Med Sci Monit,2019,25(1):9123-9130.  
10 邓庆先,贺湘英,黄永坤,等. 谷氨酰胺对新生鼠坏死性小肠结肠炎增殖细胞核抗原的影响[J]. 临床儿科杂志,2015,33(3):276-279.  
11 朱四民,王会芳,林风平,等. 葛根提取物通过调控 NOD 样受体蛋白 3/半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 1 通路减轻糖尿病大鼠肾损伤的研究[J]. 中国糖尿病杂志,2019,27(11):852-857.  
12 席世兵,杨敏,谢集建,等. 新生鼠坏死性小肠结肠炎模型建立方法的改进及评价[J]. 实验动物科学,2019,36(1):36-40.  
13 黄晓伟,丁强,罗学来,等. 溃疡性结肠炎合并中毒性巨结肠 1 例及文献复习[J]. 内科急危重症杂志,2021,27(2):170-176.  
14 Meister AL,Doheny KK,Travagli RA. Necrotizing enterocolitis: It's not all in the gut[J]. Exp Biol Med (Maywood),2020,245(2):85-95.  
15 Neu J,Pammi M. Necrotizing enterocolitis: the intestinal microbiome,metabolome and inflammatory mediators[J]. Semin Fetal Neonatal Med,2018,23(6):400-405.  
16 MohanKumar K,Namachivayam K,Song T, et al. A murine neonatal model of necrotizing enterocolitis caused by anemia and red blood cell transfusions[J]. Nat Commun,2019,10(1):3494.  
17 Liu J,Li Y,Feng Y, et al. Patterned progression of gut microbiota associated with necrotizing enterocolitis and late onset sepsis in preterm infants: a prospective study in a Chinese neonatal intensive care unit [J]. PeerJ,2019,7(1):e7310.  
18 Zhou W,Li W,Zheng XH, et al. Glutamine downregulates TLR-2 and TLR-4 expression and protects intestinal tract in preterm neonatal rats with necrotizing enterocolitis[J]. J Pediatr Surg,2014,49(7):1057-1063.  
19 Sevastiadou S,Malamitsi-Puchner A,Costallos C, et al. The impact of oral glutamine supplementation on the intestinal permeability and incidence of necrotizing enterocolitis/septicemia in premature neonates [J]. J Matern Fetal Neonatal Med,2011,24(10):1294-1300.  
20 Coëffier M,Marion R,Ducrotté P, et al. Modulating effect of glutamine on IL-1beta-induced cytokine production by human gut[J]. Clin Nutr,2003,22(4):407-413.  
21 Kelley N,Jeltema D,Duan Y, et al. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation[J]. Int J Mol Sci,2019,20(13):3328.  
22 王梅芳,杨国康,郭凯文. 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 在冠状动脉粥样硬化性心脏病发病中作用的研究进展[J]. 内科急危重症杂志,2021,27(1):65-67,88.  
23 Chen Z,Zhang Y,Lin R, et al. Cronobacter sakazakii induces necrotizing enterocolitis by regulating NLRP3 inflammasome expression via TLR4[J]. J Med Microbiol,2020,69(5):748-758.  
24 华进,戴起宝. 谷氨酰胺对大鼠肠缺血再灌注损伤的保护作用及相关机制[J]. 中国临床药理学杂志,2019,35(8):776-779.