

## ◇ 基础医学研究 ◇

## 白介素 33 在百草枯诱导小鼠急性肺损伤中的作用机制研究

刘晨风<sup>1,2</sup>, 吴小红<sup>2</sup>, 曾 扬<sup>2</sup>, 高同同<sup>2</sup>, 于 虹<sup>2</sup>, 郭 彦<sup>2</sup>, 孙世惠<sup>2</sup>, 周育森<sup>1,2</sup>

**摘要** 目的 探讨白介素 33 (IL-33) 在百草枯 (PQ) 染毒小鼠急性肺损伤 (ALI) 模型中的表达及作用。方法 25 只 SPF 级雌性 BALB/c 小鼠平均分为正常对照组, PQ 损伤 6、12、24、48 h 组。腹腔注射 PQ (30 mg/kg) 建立小鼠 ALI 模型并于各时间点处死取材。评价肺组织病理变化和炎症细胞浸润; 观察血清白介素 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、IL-2、IL-6、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 和肺组织髓过氧化物酶 (MPO) 水平变化; RT-PCR、免疫组化和 Western blot 分别检测组织中 IL-33 mRNA 和蛋白表达水平变化。分析 IL-33 与病理损伤和炎症指标关联性以明确 IL-33 在调解内源性细胞因子及在 ALI 中的作用。结果 与正常对照组相比, PQ 损伤后小鼠肺组织弥漫性损伤伴有严重水肿及大量炎症细胞浸润, 促炎细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、MPO 明显升高, 抑炎细胞因子 IL-2 明显下调 ( $P < 0.05$ ); PQ 损伤后 IL-33 在 mRNA 和蛋白表达水平均显著下调 ( $P < 0.05$ )。关联性分析显示 IL-33 与病理损伤指标 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、MPO 均呈明显负相关 ( $P < 0.05$ ), 与 IL-2 呈正相关趋势, 但差异无统计学意义。结论 IL-33 在 PQ 诱导小鼠 ALI 中表达水平下降, 提示可能在调解内源性炎症因子平衡中发挥重要作用, 可为临床干预和治疗 ALI 的新靶点。

**关键词** 白介素 33; 百草枯; 急性肺损伤; 炎症

**中图分类号** S 482.4; R 363.1; R 392.7

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2014)08-1027-06

急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 发展到严重阶段称为急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS), 最终因形成全身炎症反应综合征 (systemic inflammatory response syndrome, SIRS) 和多器官功能障碍综合征 (multiple organ dys-

function syndrome, MODS) 而导致死亡<sup>[1]</sup>。由于 ALI 的发病机制较为复杂, 目前尚不清楚。其中由化学强毒除草剂百草枯 (paraquat, PQ) 中毒所致的 ARDS, 已导致数千人中毒死亡, 病死率高达 70%<sup>[2]</sup>。白介素 33 (interleukin-33, IL-33) 是 IL-1 家族的新成员, 在慢性炎症、心血管疾病和变态反应性疾病中发挥重要作用<sup>[3-6]</sup>。研究<sup>[3,5]</sup>显示 IL-33 既能作为促炎因子活化炎症, 加重组织损伤, 也可作为染色质相关核因子起转录抑制作用, 辅助抑制前炎症基因表达<sup>[7]</sup>。但目前鲜有报道评价 IL-33 在急性炎症中的作用。为此, 该实验使用 PQ 建立小鼠 ALI 模型, 系统研究了 IL-33 表达与 ALI 小鼠的病理和炎症细胞因子之间的动态变化关系, 阐述了 IL-33 在化学毒物造成的 ALI 中的重要调节作用。

## 1 材料与方法

**1.1 材料与试剂** PQ 购自上海先正达有限公司; Goat anti-mouse IL-33 抗体购自美国 R&D 公司; 中性粒细胞抗体购自美国 Santa Cruz 公司; Rabbit anti-GAPDH 抗体、Rabbit anti-goat IgG (HRP 标记) 和 Anti rabbit IgG (HRP 标记) 均购自美国 Cell Signaling 公司; IL-1 $\beta$ 、IL-2、IL-6 和肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) ELISA 预包被试剂盒均购自北京达科为生物技术有限公司; 髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) ELISA 试剂盒购自荷兰 Hycult biotechnology 公司; 总 RNA 提取试剂盒购自德国 Qiagen 公司; RNA 反转录 cDNA 试剂盒购自北京全式金生物技术公司; 实时荧光定量 PCR (SYBR Green) 试剂盒购自北京天根生物技术有限公司; 蛋白酶抑制剂混合物购自北京普利莱生物技术有限公司; 其余试剂均为国产分析纯, 由国药 (北京) 化工集团提供。

**1.2 动物模型建立及分组** 25 只 SPF 级雌性 BALB/c 小鼠 6~8 周龄, 体重 (20  $\pm$  1) g, 购自军事医学科学院实验动物中心。小鼠随机平均分为 5 组, 依次为正常对照组, PQ 注射后 6、12、24、48 h 取材组 (PQ 6、12、24、48 h)。腹腔注射 PQ (30 mg/kg) 建立小鼠 ALI 模型, 分别于相应时间段称重后处死。

2014-02-25 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81371805); 国家重点基础研究发展计划 (973) (编号: 2012CB518905)

作者单位: <sup>1</sup>安徽医科大学北京微生物流行病学研究所, 合肥 230032

<sup>2</sup>北京微生物流行病学研究所病原微生物生物安全国家重点实验室, 北京 100071

作者简介: 刘晨风, 男, 硕士研究生;

孙世惠, 女, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: sunsh01@163.com;

周育森, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: yszhou@bmi.ac.cn

收集小鼠血清,取小鼠肺组织称重后,左侧肺用于组织蛋白和 mRNA 鉴定;右肺置于 10% 中性福尔马林溶液,正常对照组作相同处理。

### 1.3 方法

**1.3.1 肺组织病理学检测** 首先评价相对肺组织重量变化,计算公式为相对肺组织重量变化 = [小鼠肺组织(mg)/小鼠总重量(g)];其次对右肺固定 72 h 后,常规梯度乙醇脱水、二甲苯透明,石蜡包埋,连续切片,切片厚度为 4  $\mu\text{m}$ ,苏木精-伊红(HE)染色,光镜下观察肺组织病理变化,使用病理评分方法进行肺组织损伤半定量分析<sup>[8]</sup>。

**1.3.2 免疫组织化学检测** 使用肺组织石蜡切片进行 IL-33 和中性粒细胞免疫组织化学检测,二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化,枸橼酸钠及微波进行抗原修复,晾至室温后,PBS 洗 3 遍(5 min/次,下同)后,加入 0.3% 过氧化氢封闭内源性过氧化氢酶,PBS 洗 3 遍后进行血清封闭,封闭后分别滴加兔抗 IL-33 (1:80)和大鼠抗中性粒细胞表面标记(1:50)抗体,4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜。次日,PBS 洗 3 遍后,分别加入 HRP 标记的抗山羊二抗和抗大鼠二抗,37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 40 min,PBS 洗 3 遍后,DAB 显色,苏木精衬染,盐酸酒精分化,PBS 返蓝,梯度乙醇依次脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。光镜下观察棕黄色颗粒为阳性结果。

**1.3.3 炎症细胞因子检测** MPO 检测使用肺组织匀浆液,组织匀浆液的制备过程参考 Hycult 说明书;收集小鼠血液,3 500 r/min 离心 20 min 后收集血清保存备用。炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-2、IL-10、TNF- $\alpha$  和 MPO 检测及浓度计算参考试剂盒说明书。

**1.3.4 总 RNA 提取、逆转录及实时荧光定量 PCR 检测** 提取小鼠肺组织总 RNA 用于检测小鼠肺组织中 IL-33 表达,使用总 RNA 提取试剂盒提取 RNA,具体操作步骤参考说明书;逆转录 PCR 使用 mRNA 逆转录 cDNA 试剂盒,具体操作方法及反应体系参考说明书;IL-33 PCR 反应检测使用 SYBR Green Realmaster Mix,具体反应体系请参考说明书,以 GAPDH 作为持家基因对照,分析在 ALI 不同时间点 IL-33 的表达水平变化。实时荧光定量 PCR 引物分别为:IL-33-F:GACACATTGAGCATCCAAGG,IL-33-R:AACAGATTGGTCATTGTATGTACTCAG;GAPDH-F:CTCTGACTTCAACAGCGACAC,GAPDH-R:CGTTGTCATACCAGGAAATGA。反应条件为:预变性:95  $^{\circ}\text{C}$  2 min;变性 95  $^{\circ}\text{C}$  15 s,退火 55  $^{\circ}\text{C}$  15 s,延伸 68  $^{\circ}\text{C}$  20 s,35 次循环,荧光实时定量 PCR 使用

Eppendorf realplex PCR 仪器。

**1.3.5 Western blot 检测** 提取小鼠肺组织总蛋白用于肺组织中 IL-33 和 GAPDH 表达检测。取 30 mg 肺组织于 500  $\mu\text{l}$  RIPA 中匀浆,并加入 5  $\mu\text{l}$  PMSF 和蛋白酶抑制剂混合物,0  $^{\circ}\text{C}$  条件下匀浆 20 min,匀浆后 14 000 r/min 离心 15 min 处理,取 400  $\mu\text{l}$  上清液备用。Western blot 实验按常规方法进行。抗-IL-33 抗体工作稀释度为 1:500,抗-GAPDH 为 1:1 000;二抗辣根过氧化物酶标记的 IgG 二抗为 1:5 000。使用软件计算 IL-33 灰度值比。

**1.4 统计学处理** 采用 GraphPad Prism 5 软件进行统计分析,指标关联分析使用 Stata 软件,多组均数比较采用方差分析。

## 2 结果

**2.1 PQ 染毒后小鼠 ALI 观察** 正常对照组小鼠肺泡上皮细胞形态结构正常,见图 1A;相比于正常对照组,PQ 染毒后可见肺组织随时间进程损伤加重。染毒后 6、12 h 仅主要表现为脉管周围肺泡间隔轻度增宽,以及少量炎性细胞浸润,见图 1B。PQ 染毒 24 h 特别是损伤 48 h 后,小鼠肺组织出现弥漫性损伤和明显水肿,肺泡组织明显塌陷,间隔增宽,肺泡上皮细胞大量坏死,以及伴有大量的炎症细胞浸润,见图 1C、D。组织病理学分析显示 PQ 染毒 6 h 后损伤评分均明显高于正常对照组,差异有统计学意义 ( $F = 75.11, P < 0.01$ ),见图 1E;为了进一步评价肺组织水肿情况,结果显示与正常对照组相比,PQ 损伤后肺相对重量增加,在损伤 24 h 后差异有统计学意义 ( $F = 34.75, P < 0.01$ )。见图 1F。

**2.2 PQ 染毒后小鼠肺组织中性粒细胞** 结果显示,正常对照组没有或极少有中性粒细胞,见图 2A。PQ 损伤后中性粒细胞逐渐增多,在 PQ 6 h 中性粒细胞主要聚集于气管腔和血管腔固有层周围(数据未显示),但随着损伤加重,在 PQ 12 h 后,中性粒细胞通过肺毛细血管微循环系统逐步释放到肺组织,见图 2B。在 PQ 损伤 24 h 和 48 h 后,中性粒细胞浸润到肺间质中,并在损伤严重部位呈弥散性分布,见图 2C、D。光镜下观察并统计 20 倍镜下 9 个视野的中性粒细胞平均个数发现中性粒细胞随损伤时间延长逐步增多,差异有统计学意义 ( $F = 134.70, P < 0.01$ ),见图 2E。在 PQ 诱导的 ALI 中,MPO 的表达明显上调,差异有统计学意义 ( $F = 84.09, P < 0.01$ ),见图 2F。

**2.3 PQ 染毒后小鼠炎症因子紊乱** 与对照组相

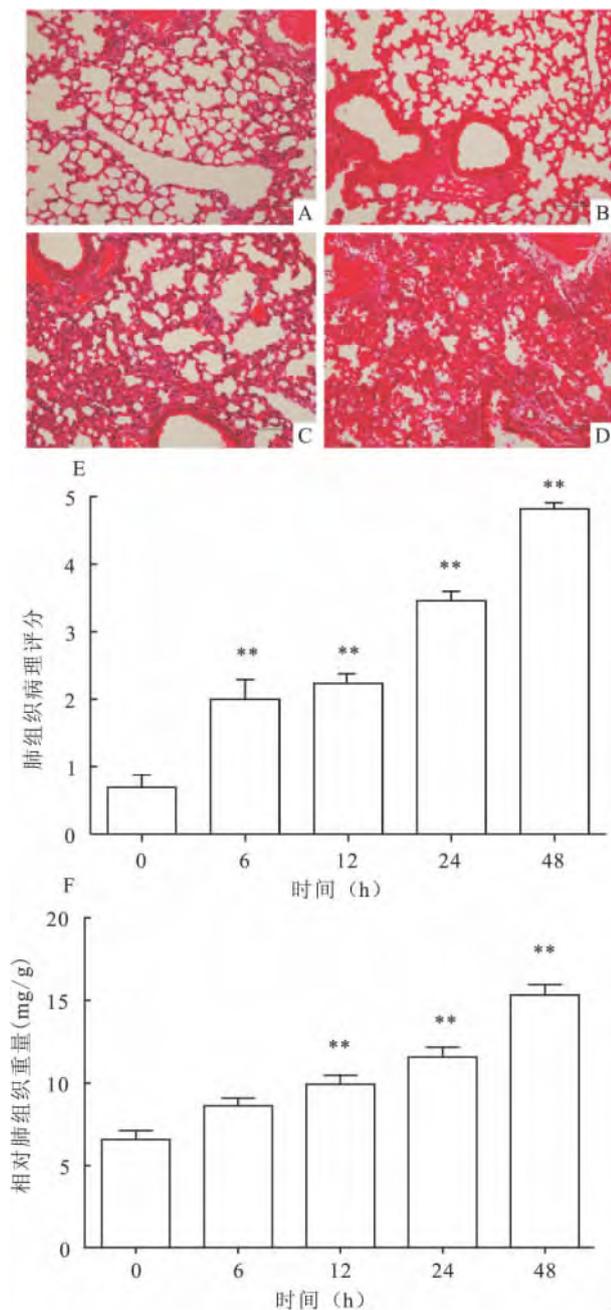


图1 PQ 染毒小鼠肺组织各时间点病理变化 HE × 200

A: 正常对照组; B: PQ 染毒 12 h 组; C: PQ 染毒 24 h 组; D: PQ 染毒 48 h 组; E: 肺组织病理评分; F: 肺组织相对比重; 与正常对照组 (0 h) 比较: \*\*  $P < 0.01$

比在 PQ 损伤 6 h 后, IL-1 $\beta$  表达水平明显增高, 并在损伤后 12 h 和 24 h 时达到顶峰, 差异均有统计学意义 ( $F = 55.74, P < 0.01$ ), 见图 3A; PQ 损伤 6 h 后, IL-2 有上升趋势, 但是在 12 h 后即观察到 IL-2 明显下降, 并随时间延长呈下降依赖趋势, 在 48 h 时达到最低值, 差异有统计学意义 ( $F = 16.88, P < 0.05$ ), 见图 3B; IL-6 在 PQ 损伤 6 h 即显著增高, 并随着损伤时间延长继续增高, 在 12 ~ 48 h 时持续保

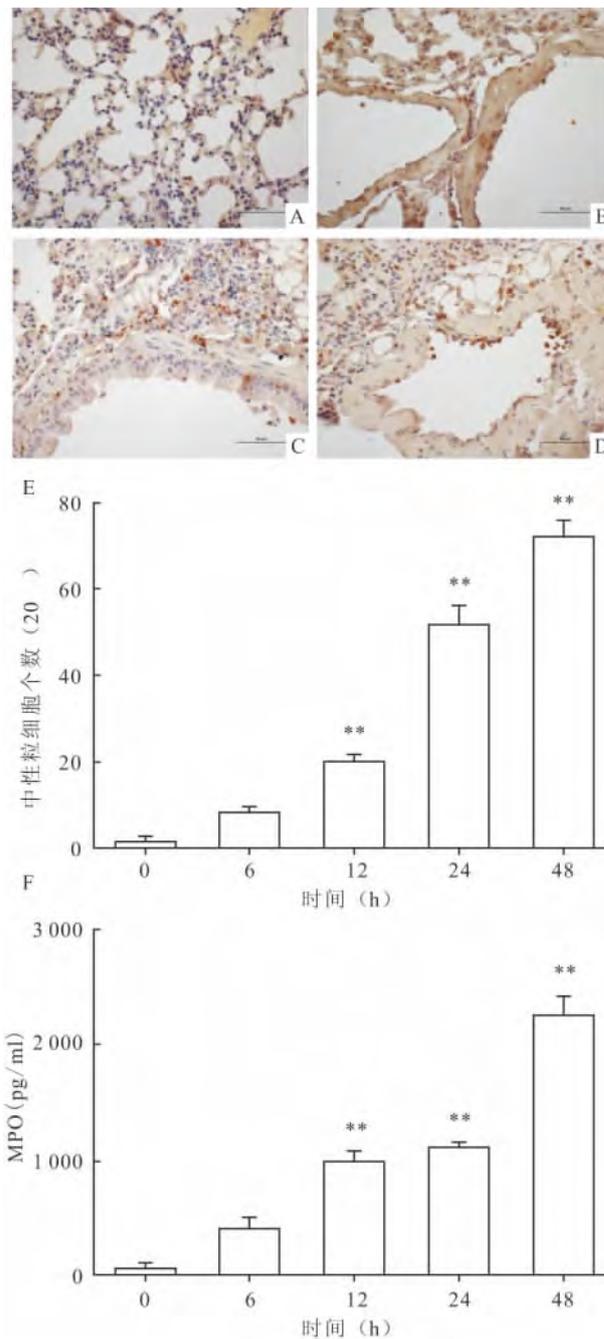


图2 PQ 染毒小鼠后不同时间点中性粒细胞浸润及 MPO 水平变化 IHC × 200

A: 正常对照组; B: PQ 染毒 12 h 组; C: PQ 染毒 24 h 组; D: PQ 染毒后 48 h 组; E: 肺组织 20 × 视野下中性粒细胞个数; F: 肺组织匀浆液中 MPO 表达水平变化; 与正常对照组 (0 h) 比较: \*\*  $P < 0.01$

持较高水平, 差异均有统计学意义 ( $F = 28.93, P < 0.01$ ), 见图 3C; TNF- $\alpha$  在 PQ 损伤 6 h 后同样增高明显, 并在 24 h 前持续增高并呈现时间依赖趋势, 在 PQ 损伤 48 h 后 TNF- $\alpha$  较 24 h 有所降低, 但是依然明显高于正常对照组, 差异有统计学意义 ( $F = 70.09, P < 0.01$ ), 见图 3D。

**2.4 PQ 染毒后小鼠肺组织中 IL-33 mRNA 水平**

与正常对照组相比,PQ 损伤 6 h 后 IL-33 表达水平明显降低 ( $P < 0.05$ ),并在 24 h 之内呈下降趋势 ( $P < 0.05, F = 127.5$ ) 尽管 PQ 损伤 48 h 时,IL-33 表达相对于 24 h 明显增高,差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ),但依然低于正常对照组,见图 4E。

**2.5 PQ 染毒后小鼠肺组织 IL-33 蛋白水平**

免疫组化显示,IL-33 在肺组织中广泛表达,特别集中于肺泡上皮细胞中。Western blot 法显示,在 PQ 损伤后,能够观察到 IL-33 蛋白表达下调,并在损伤 24 h 前具有时间依赖趋势 ( $F = 315.7, P < 0.01$ )。但是在 PQ 损伤 48 h 后,两种方法均显示 IL-33 的表达水平有上调趋势,推测与 IL-33 在炎症反应中的促炎/抑炎双重作用有关,见图 4(A ~ D, F)。

**2.6 IL-33 与各项指标关联分析**

IL-33 的水平变化与肺病理损伤评分,肺组织相对重量,IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  以及 MPO 的表达水平变化都呈负相关联,差异有统计学意义 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ) 尽管 IL-33

与 IL-2 有正相关趋势,但差异无统计学意义。以上结果提示 IL-33 在 PQ 诱导的小鼠 ALI 中具有重要的作用,在病理损伤以及炎症因子紊乱中,IL-33 可能处于较重要的位置,在平衡细胞因子紊乱中可能发挥着重要的作用,见表 1。

表 1 IL-33 mRNA 与其他指标关联性分析

关联分析	R 值	P 值
IL-33 mRNA + 肺组织损伤评分	-0.487 7	0.020 800
IL-33 mRNA + 肺相对重量	-0.506 0	0.044 500
IL-33 mRNA + IL-1 $\beta$	-0.839 6	0.000 119
IL-33 mRNA + IL-2	0.217 0	0.193 000
IL-33 mRNA + IL-6	-0.571 3	0.012 700
IL-33 mRNA + TNF- $\alpha$	-0.876 8	0.000 223
IL-33 mRNA + MPO	-0.537 0	0.012 500

R 为关联分析

**3 讨论**

引起 ALI 的因素包括 SARS、MERS 病毒以及高

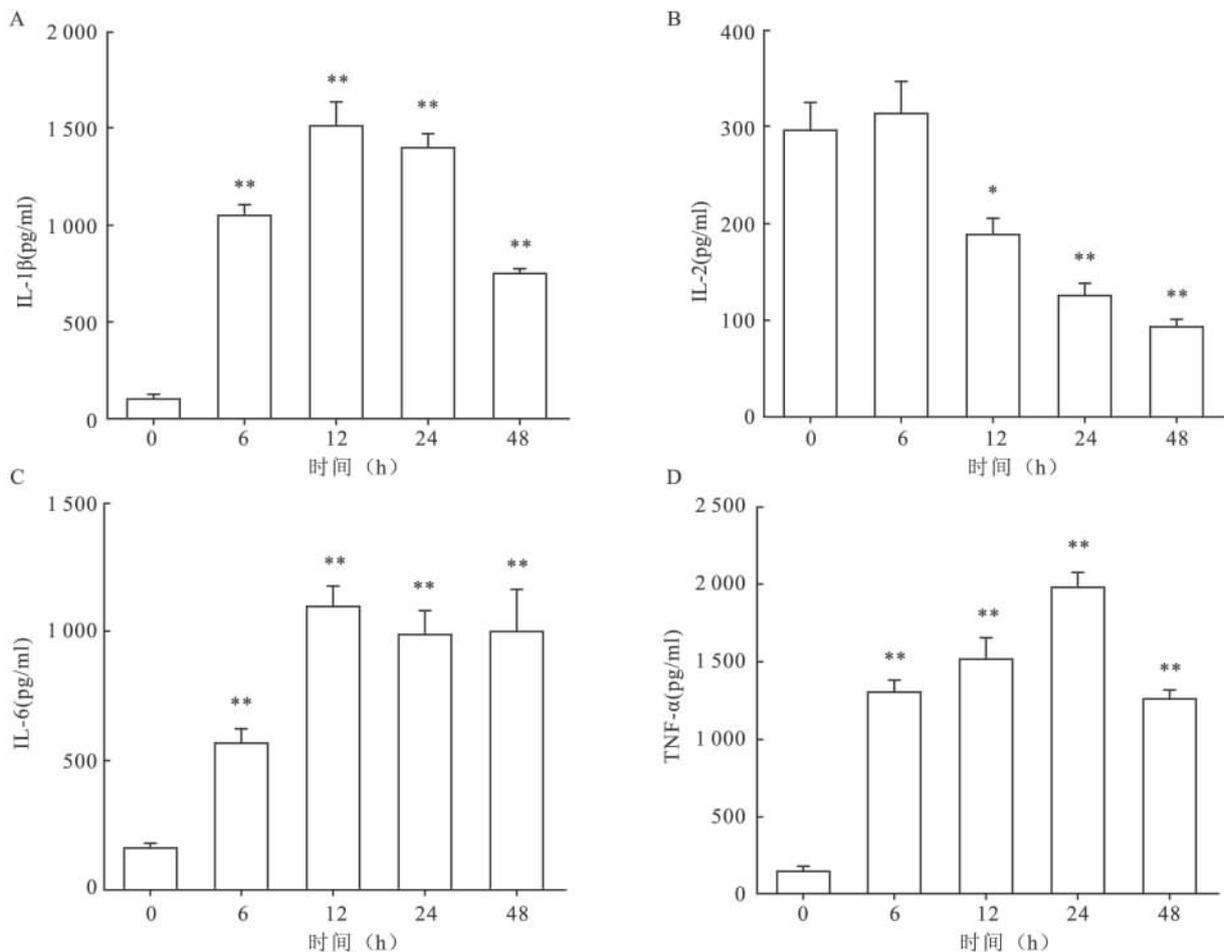


图 3 PQ 染毒小鼠后血清炎症因子变化  
与正常对照组(0 h)比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

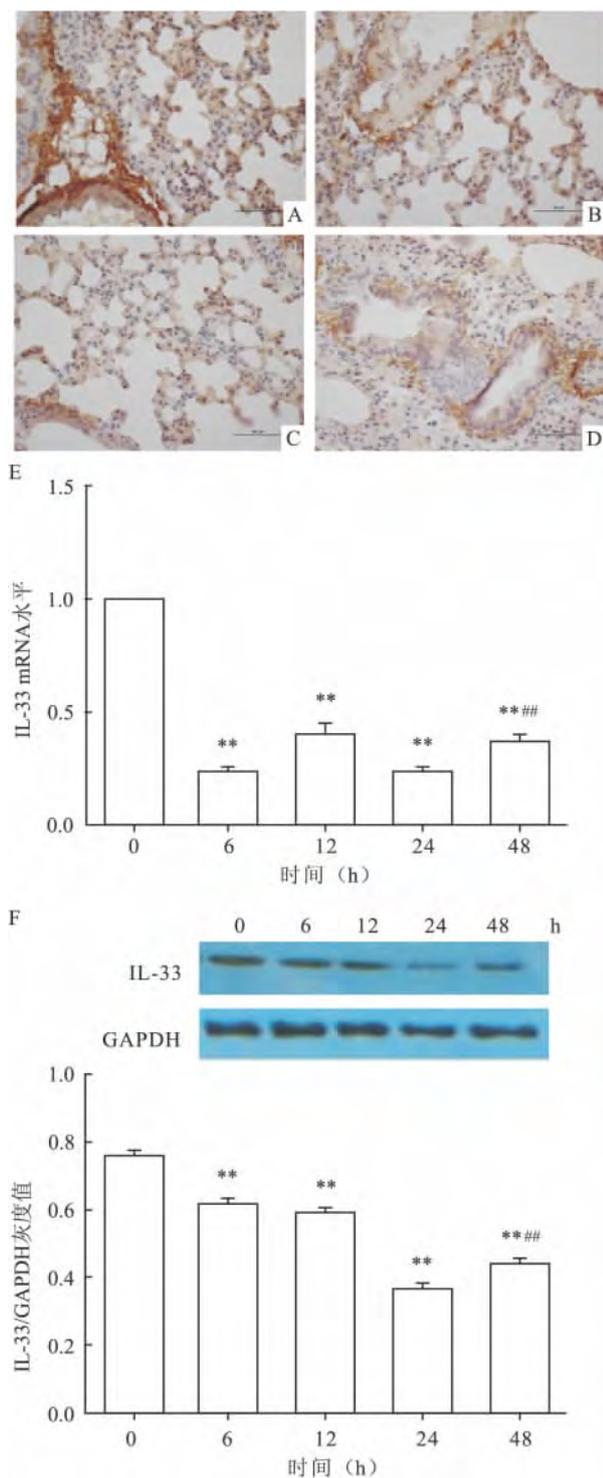


图4 PQ染毒后肺组织IL-33表达变化 IHC ×200

A:正常对照组;B:PQ染毒12 h组;C:PQ染毒24 h组;D:PQ染毒48 h组;E:PQ染毒后肺组织IL-33 mRNA表达变化;F:PQ染毒后肺组织IL-33蛋白水平变化;与正常对照组(0 h)比较:\*\* $P < 0.01$ ;与PQ 24 h比较:## $P < 0.01$

致病性H5N1病毒<sup>[8]</sup>、内毒素<sup>[9]</sup>、PQ等化学毒质<sup>[10]</sup>、及缺血再灌注、胃酸反流等。本实验使用PQ染毒小鼠建立ALI模型用以阐述ALI的致病机制及

免疫反应等。结果表明PQ染毒后期小鼠肺组织充血水肿,肺部实质性病变。

目前仅有报道<sup>[11-12]</sup>ALI与毒物富集、炎症爆发、氧化损伤等因素有关,但依然缺乏详实研究。研究<sup>[13]</sup>显示,中性粒细胞积聚在ALI中具有重要作用:一方面堵塞肺毛细血管引起微循环紊乱;另一方面中性粒细胞释放大量炎症因子引起组织损伤。本研究显示PQ损伤早期积聚于气管腔和血管腔固有层,晚期浸润到肺泡腔内呈现弥漫性分布,提示PQ染毒后诱发机体产生强烈的炎症反应。进一步检测到PQ染毒后促炎因子的上调、抑炎因子的下调等,这些炎症因子相互作用,级联放大,共同介导“炎症因子风暴”的发生,这种过激的免疫反应对组织造成二次损伤,促进ALI的发展成ARDS及MODS而导致机体死亡。

Hong et al<sup>[14]</sup>发现IL-33与其受体ST2的活化参与哮喘中Th2介导的肺部免疫应答及参与过敏原诱导的肥大细胞激活,提示IL-33在慢性炎症中发挥促炎作用。另一方面IL-33也可作为高内皮小静脉核因子起转录抑制作用,辅助抑制前炎症基因表达,具有抗炎作用。Hazlett et al<sup>[15]</sup>报道IL-33在细菌感染中通过上调Th2类细胞因子,抑制Th1类细胞因子清除细菌从而对机体起保护作用,外源性应用重组IL-33可以减轻感染铜绿假单胞菌引起的角膜炎。Walzl et al<sup>[16]</sup>研究发现用抗-ST2(IL-33受体)单克隆抗体给小鼠静脉注射后会减弱Th2类细胞因子相关的嗜酸性呼吸道炎症的形成。但是目前鲜有报道IL-33在急性炎症中的具体作用和功能评价。

本文研究显示,PQ染毒后小鼠肺组织中IL-33在mRNA和蛋白表达水平明显下调,提示IL-33在化学毒物PQ诱导ALI中可能发挥保护作用,这可能与IL-33转录抑制调控介导的抑炎作用有关。而在PQ损伤48 h后,IL-33 mRNA和蛋白水平呈现升高趋势,提示IL-33在抑制炎症和促进炎症的角色转换,推测ALI模型中IL-33也可能转化为促炎因子以发挥作用。而关联分析结果显示,IL-33与IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 及MPO呈现显著相关性,提示IL-33在PQ诱导ALI中发挥重要作用,并且在化学毒物诱导急性内源性炎症细胞因子的紊乱中,IL-33可能在早期发挥核转录抑制作用,缓解了促炎因子的积聚和爆发,推测IL-33在急性炎症中早期发挥重要的调控作用,提示在机体受到外界急性刺激后,有可能通过干预IL-33表达变化,以达到调控机体自

身炎症因子紊乱作用。

### 参考文献

- [1] Ware L B , Matthay M A . The acute respiratory distress syndrome [J]. *N Engl J Med* ,2000 ,342 (18) :1334 -49.
- [2] Onyeama H P , Oehme F W . A literature review of paraquat toxicity [J]. *Vet Hum Toxicol* ,1984 ,26(6) :494 -502.
- [3] Oboki K , Ohno T , Kajiwara N , et al. IL-33 and IL-33 receptors in host defense and diseases [J]. *Allergol Int* ,2010 ,59(2) :143 -60.
- [4] Xu D , Jiang H R , Kewin P , et al. IL-33 exacerbates antigen-induced arthritis by activating mast cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* ,2008 ,105(31) :10913 -8.
- [5] Miller A M . Role of IL-33 in inflammation and disease [J]. *J Inflamm (Lond)* ,2011 ,8(1) :22.
- [6] Schmitz J , Owyang A , Oldham E , et al. IL-33 , an interleukin-1-like cytokine that signals *via* the IL-1 receptor related protein ST2 and induces T helper type2-associated cytokines [J]. *Immunity* ,2005 ,23(5) :479 -90.
- [7] Carriere V , Roussel L , Ortega N , et al. IL-33 , the IL-1-like cytokine ligand for ST2 receptor , is a chromatin-associated nuclear factor *in vivo* [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* ,2007 ,104(1) :282 -7.
- [8] Sun S H , Zhao G Y , Liu C F , et al. Inhibition of complement activation alleviates acute lung injury induced by highly pathogenic avian influenza H5N1 virus infection [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol* ,2013 ,49(2) :221 -30.
- [9] Rittirsch D , Flierl M A , Day D E , et al. Acute lung injury induced by lipopolysaccharide is independent of complement activation [J]. *J Immunol* ,2008 ,180(11) :7664 -72.
- [10] Sun S H , Wang H B , Zhao G Y , et al. Complement inhibition alleviates paraquat-induced acute lung injury [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol* ,2011 ,45(4) :834 -42.
- [11] Imai Y , Kuba K , Neely G G , et al. Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury [J]. *Cell* ,2008 ,133(2) :235 -49.
- [12] Dolinay T , Kim Y S , Howrylak J , et al. Inflammasome-regulated cytokines are critical mediators of acute lung injury [J]. *Am J Respir Crit Care Med* ,2012 ,185(11) :1225 -34.
- [13] Mantovani A , Cassatella M A , Costantini C , et al. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity [J]. *Nat Rev Immunol* ,2011 ,11(8) :519 -31.
- [14] Hong Y S , Moon S J , Joo Y B , et al. Measurement of interleukin-33 (IL-33) and IL-33 receptors (sST2 and ST2L) in patients with rheumatoid arthritis [J]. *J Korean Med Sci* ,2011 ,26(9) :1132 -9.
- [15] Hazlett L D , McClellan S A , Barrett R P , et al. IL-33 shifts macrophage polarization , promoting resistance against *Pseudomonas aeruginosa* keratitis [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci* ,2010 ,51(3) :1524 -32.
- [16] Walzl G , Matthews S , Kendall S , et al. Inhibition of T1/ST2 during respiratory syncytial virus infection prevents T helper cell type2 (Th2) but not Th1-driven immunopathology [J]. *J Exp Med* ,2001 ,193(7) :785 -92.

## Role of interleukin-33 in paraquat-induced acute lung injury

Liu Chenfeng<sup>1 2</sup> , Wu Xiaohong<sup>2</sup> , Zeng Yang<sup>2</sup> , et al

(<sup>1</sup>Beijing Institute of Microbiology and Epidemiology , Anhui Medical University , Hefei 230032 ; <sup>2</sup>State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity , Beijing Institute of Microbiology and Epidemiology , Beijing 100071)

**Abstract Objective** To evaluate role of interleukin 33 (IL-33) in paraquat (PQ)-induced acute lung injury (ALI). **Methods** 25 female BALB/c mice were randomly divided into five group: control group (injection with physiological saline) , PQ 6 h group [6 h after paraquat poisoning (30 mg/kg) ] , PQ 12 h group , PQ 24 h group and PQ 48 h group. All mice were killed at indicated time after PQ poisoning. The lung tissue was weighted by the ratio of (lung /mouse) weight , and lung injury and neutrophil infiltration were observed by hematoxylin-eosin staining and immunohistochemistry respectively. Besides , interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) , IL-2 , IL-6 , tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in serum and myeloperoxidase (MPO) in lung tissue were determined by relevant ELISA kits. Furthermore , the IL-33 mRNA in lung tissue was detected by quantitative real time PCR , while the IL-33 protein was detected using immunohistochemistry and Western blot assay. Spearman's rank correlation between IL-33 and other variables or severity of lung impairment were analyzed simultaneously. **Results** There were marked histological lesions and neutrophils infiltration in lung tissue and a significant increase of IL-1 $\beta$  , IL-6 , TNF- $\alpha$  and MPO in serum after PQ poisoning at indicated time , while a lower level of IL-33 and IL-2 were found in serum compare with control group ( $P < 0.05$ ). There was a negative correlation between IL-33 and lung damage scores , relative lung weight , IL-1 $\beta$  , IL-6 , TNF- $\alpha$  and MPO ( $P < 0.05$ ). No significant correlation was found between IL-33 and IL-2. **Conclusion** Our study indicates that endogenous IL-33 fluctuation plays a crucial role in PQ-induced acute lung injury , which represents a potential target for clinical intervention during PQ-induced ALI.

**Key words** interleukin 33 ; paraquat ; acute lung injury ; inflammation