

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.07.002

ASK1 在大鼠脊髓损伤后炎症因子介导继发损伤中的机制研究^{*}

夏永智,黎天尊,廖正步,夏海坚,晏 怡[△]

(重庆医科大学附属第一医院神经外科 400016)

[摘要] **目的** 探讨细胞凋亡信号调节蛋白 1(ASK1)在炎症因子介导的大鼠脊髓损伤(SCI)中的作用。**方法** 采用大鼠脊髓夹伤模型,48 只大鼠分为假手术组(Sham 组)、生理盐水组(Saline 组)及炎症因子组(Cytokine 组),用 Western blot 法检测 ASK1 和磷酸化的 ASK1(pASK1)的表达,用 BBB 评分及 Grid Walking 法检测后肢行为学变化,用体感诱发电位(SEP)及运动诱发电位(MEP)检测电生理变化。**结果** SCI 后 1 周各组 ASK1 mRNA 及蛋白水平的表达无明显变化,Cytokine 组 pASK1 的表达较 Saline 组显著上调($P=0.002$);SCI 后 3、4 周时,Cytokine 组 BBB 评分较 Saline 组明显下降($P=0.000,0.000$);SCI 后 4 周,与 Saline 组相比,Cytokine 组大鼠后肢踏空率增加($P=0.032$),SEP 及 MEP 潜伏期延长($P=0.043,0.045$),波峰值无显著变化($P=0.889,0.434$)。**结论** 炎症细胞因子可导致大鼠 SCI 后后肢运动功能障碍加重,机制可能与 ASK1 磷酸化水平升高有关。

[关键词] 脊髓损伤;大鼠;细胞凋亡信号调节蛋白 1;炎症细胞因子

[中图分类号] R744.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)07-0868-03

Study on mechanism of apoptosis signal regulating kinase 1 in inflammatory cytokine mediated secondary injury after spinal cord injury in rats^{*}

XIA Yongzhi, LI Tianzun, LIAO Zhengbu, XIA Haijian, YAN Yi[△]

(Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

[Abstract] **Objective** To explore the role of apoptosis signal regulating kinase 1(ASK1) in inflammatory mediated secondary injury after spinal cord injury(SCI) in rats. **Methods** The rat contusion SCI model was used. Forty-eight rats were randomly divided into the sham operation group(Sham), normal saline(Saline group) and inflammatory factors group(Cytokine group) respectively. The expressions of ASK1 and phosphorylated ASK1(pASK1) were detected by using Western blot. The Basso Beattie Bresnahan(BBB) scores and Grid Walking method were performed to assess the behavior changes of injured rat hindlimbs. Somatosensory evoked potential(SEP) and motor evoked potential(MEP) were used to examine the electrophysiological change. **Results** The expression levels of ASK1 mRNA and protein had no obvious change at 1 week after SCI; the pASK1 expression level in the Cytokine group was significantly up-regulated compared with the Saline group($P=0.002$); the BBB scores at 3 or 4 weeks after SCI in the Cytokine group was significantly decreased compared with the Saline group($P=0.000, P=0.000$); the hindlimbs missed step rate at 4 weeks following SCI in the Cytokine group was increased compared with the Saline group($P=0.032$); the latent period of SEP and MEP in the Cytokine group was prolonged($P=0.043, P=0.045$), while the wave peak value had no obvious changed($P=0.889, P=0.434$). **Conclusion** Inflammatory cytokines may lead the hindlimbs movement dysfunction to be aggravated after SCI in rat, its mechanism may be related with the phosphorylation elevation of ASK1.

[Key words] spinal cord injury; rats; apoptosis signal regulating kinase 1; inflammatory cytokine

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)后在损伤局部星形胶质细胞开始增殖,胞体肥大,突起交织成网状,中间丝蛋白胶质纤维酸性蛋白(GFAP)与波形蛋白(Vimentin)积聚,最终导致胶质瘢痕的形成。主流观点一直认为胶质瘢痕是中枢神经系统(central nervous system, CNS)损伤后神经再生的主要障碍之一^[1]。近年来,炎症机制在胶质瘢痕形成过程中的作用越来越受到重视^[2]。CNS 损伤后,以小胶质细胞为主要的炎症细胞在损伤区局部浸润,且与 SCI 后血脊髓屏障通透性明显增强的区域一致;损伤区内活化的小胶质细胞 SCI 后长达 2 周的时间内持续分泌白细胞介素(IL)-1 β 、肿瘤坏死因子(TNF)- α 等多种炎症因子^[3],提示在 SCI 后炎症因子可能参与了损伤区胶质瘢痕形成的启动与成熟。细胞凋亡信号调节蛋白 1(apoptosis signal regulating kinase 1, ASK1)属促分裂原活化蛋白激酶家族成员,其可能在星形胶质细胞反应性增生及 GFAP 和 vimentin 的表达中起重要作用^[4]。前期研究发现,抑制磷酸化的 ASK1(phosphorylated ASK1, pASK1)后 SCI 大鼠损伤区

GFAP、vimentin 表达明显下调,同时行为学有明显改善^[5]。本实验拟通过大鼠 SCI 模型,给予外源性炎症因子,观察其对 SCI 后 ASK1 的表达及其磷酸化的影响,以进一步明确炎症细胞因子在 SCI 后继发性损伤的相关机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SD 雌性大鼠 48 只,购自重庆医科大学实验动物中心,生产许可证号:SYXK(渝)2002-0001,体质量(180 $\pm$ 10)g;分为假手术组(Sham 组)、生理盐水组(Saline 组)及炎症因子组(Cytokine 组),每组 16 只。本研究符合重庆医科大学实验动物伦理委员会所制订的伦理学标准。

1.2 主要试剂 试剂:炎症因子[TNF- α 、IL-1 β 、干扰素(IFN) γ 各 100 ng/mL]^[6]购自美国 Abcam 公司,ASK1 及 pASK1 单体购自美国 Sigma 公司,山羊抗兔二抗购自上海碧云天公司,Western blot 凝胶试剂盒购自北京康为世纪公司,磷酸盐缓冲液(PBS)、PBST、10%血清封闭液为实验室配制。

1.3 方法

1.3.1 大鼠 SCI 模型的建立 参照 USUL 等^[7] 建立大鼠脊髓夹伤模型,并作适当改进。以苯巴比妥钠(40 mg/kg,腹腔腔内注射)麻醉大鼠,于显微镜下打开 T11 脊髓节段椎板,显露硬脊膜,使用 Yasargil 动脉瘤夹,以 0.88 N 力夹持脊髓 15 s,移除动脉瘤。于大鼠立体定向仪下,以 10 μ L 微量注射器缓慢注射生理盐水或炎症因子 10 μ L 至硬膜下,注射时间 10 min。Sham 组只打开椎板,不进行损伤。术后给予人工按摩膀胱辅助排尿,每日 2 次。

1.3.2 RT-PCR 法检测 ASK1 mRNA 的表达 SCI 后 1 周,每组大鼠选取 4 只,以损伤区中点为中心,取出长 6 mm 脊髓组织,采用 Roche 公司 Tripure 试剂提取总 RNA,采用 TaKa-Ra 公司 RNA PCR Ver. 3.0 试剂盒行 RT-PCR。设计 ASK1 的上游引物序列为 5'-CCG CAG CCC ACT CGT TT-3',下游引物序列为 5'-CAG TCG CCC GGC ACC TAC-3',扩增基因片段产物长度 225 bp;以 β -actin 作为内参照,上游引物序列为 5'-CCT TCC TTC CTG GGC ATG GAG TCC TG-3',下游序列为 5'-AGG AGC AAT GAT CTT GAC TTC-3',扩增基因片段产物长度 165 bp。设定 PCR 反应条件为 94 $^{\circ}$ C 2 min,94 $^{\circ}$ C 30 s,54 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 1 min,30 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。产物以 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测,用 Quantity One 4.6.2 软件进行结果分析,以 ASK1 与 β -actin 条带的面积与光密度乘积的比值作为 ASK1 mRNA 相对表达量。

1.3.3 Western blot 法检测 ASK1、pASK1 的水平 SCI 后 1 周,每组动物随机取 4 只,以损伤区中点为中心,取出长 6 mm 脊髓组织提取总蛋白,置 -80 $^{\circ}$ C 保存。Bradford 法测定蛋白质浓度,聚丙烯酰胺凝胶(SDS)电泳,Bio-Rad 法转膜,封闭液 37 $^{\circ}$ C 封闭 90 min,一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,PBST 洗涤 3 次(每次 5 min),辣根过氧化物酶标记的二抗 37 $^{\circ}$ C 孵育 60 min,PBST 洗涤 3 次(每次 5 min),DAB 显色。以 GAPDH 为内参照,条带经扫描后采用 Quantity One 4.6.2 软件分析结果。

1.3.4 Grid Walking 法检测大鼠后肢网格踏空率 SCI 前 1 周行网格行走适应性训练。正常大鼠后爪几乎均能踩到构成网格的铁丝上,而 SCI 大鼠的后肢常踏空到网格内,计算大鼠双侧后爪踏空次数与总步数的比值,每次计时 3 min,计数 3 次,取平均值。

1.3.5 BBB 评分法检测大鼠后肢运动功能 分别于 SCI 后 1 d、1 周、2 周、3 周及 4 周行大鼠后肢运动功能 BBB 评分观测。BBB 评分主要观察后肢、尾部及后部躯干的活动及协调能力,是针对大鼠 SCI 后运动功能的评分标准。运动能力完全丧失计 0 分,完全正常计 21 分,作为 SCI 后后肢运动功能的间接反应。实验采用双盲法评估。

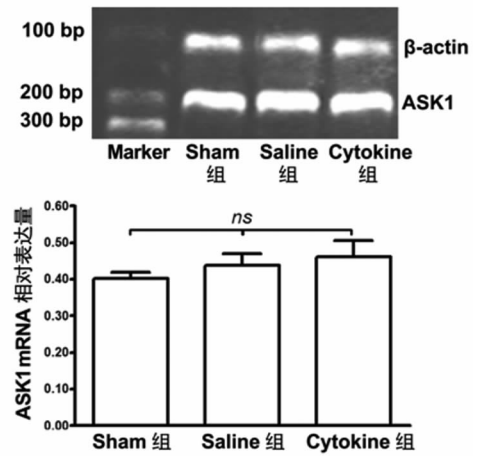
1.3.6 体感诱发电位(SEP)及运动诱发电位(MEP)检测神经电生理变化 SCI 后 4 周,以 Keypoint 4 诱发电位仪测定 SEP 和 MEP。SEP 检测时予直流方波电脉冲刺激,刺激电极固定于后肢,记录电极安放于冠状缝和矢状缝交汇处皮下,电流强度 5~15 mA,波宽 0.2 ms,频率 3 Hz,叠加次数 50~60 次,记录潜伏期和波幅变化。MEP 检测时刺激电极置于冠状缝前 2 mm、矢状缝旁 2 mm 处头皮下(即皮层后肢运动区),电流强度 40 mA,波宽 0.1 ms,频率 1 Hz,叠加次数 300~500 次。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学处理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,双样本均数的比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 法,检验标准 $\alpha=0.05$ 。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 RT-PCR 法检测 ASK1 mRNA 的表达 SCI 后 1 周,各

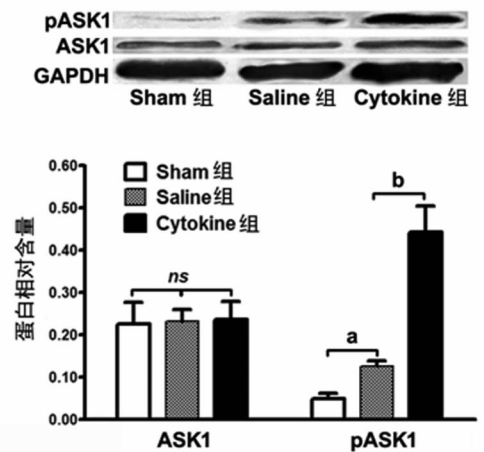
组 ASK1 mRNA RT-PCR 条带见图 1。软件分析,Sham 组、Saline 组及 Cytokine 组 ASK1 mRNA 相对表达量分别为 0.431 ± 0.043 、 0.438 ± 0.077 、 0.462 ± 0.107 ,各组之间差异无统计学意义($F=0.869$, $P=0.439$),见图 1。



Marker: 相对分子质量标记物; ns: $P>0.05$

图 1 ASK1 RT-PCR 产物及半定量分析

2.2 Western blot 检测 ASK1、pASK1 的水平 SCI 后 1 周,各组 ASK1、pASK1 条带见图 2。Sham 组、Saline 组及 Cytokine 组 ASK1 相对表达量分别为 0.227 ± 0.086 、 0.233 ± 0.045 、 0.237 ± 0.074 ,各组之间差异无统计学意义($F=0.016$, $P=0.985$);各组 pASK1 相对表达量分别为 0.051 ± 0.022 、 0.127 ± 0.022 、 0.442 ± 0.109 ,各组间差异有统计学意义($F=30.405$, $P=0.001$);两两比较,与 Sham 组相比,Saline 组及 Cytokine 组均增高($P=0.038$),同时 Cytokine 组较 Saline 组显著增高($P=0.002$),见图 2。



ns: $P>0.05$; *: $P=0.038$; b: $P=0.002$

图 2 Western blot 示 SCI 后 1 周 ASK1、pASK1 的表达

2.3 BBB 评分结果 各观察时间点,Sham 组大鼠 BBB 评分均为 (21.00 ± 0.00) 分;SCI 1 d 时 Saline 组 BBB 评分下降至 (1.92 ± 0.80) 分,1 周时恢复至 (7.08 ± 0.86) 分,3 周时为 (11.00 ± 1.05) 分,观察期内 4 周达峰值 (11.34 ± 2.50) 分;与 Saline 组相比,Cytokine 组 BBB 评分在 1 d、1 周、2 周时差异均无统计学意义($P>0.05$);3 周、4 周则明显降低,分别为 (8.42 ± 1.93) 分($F=164.21$, $P=0.000$)、 (8.91 ± 1.83) 分($F=76.73$, $P=0.000$),见图 3A。

2.4 Grid Walking 检测 SCI 4 周时 3 组大鼠后肢踏空率差异有统计学意义($F=14.897$, $P=0.000$),Sham 组后肢踏空率

为 0.002 ± 0.002 , 与之相比 Saline 组显著升高至 0.128 ± 0.020 ($P=0.048$); 与 Saline 组相比, Cytokine 组明显增高, 为 0.263 ± 0.142 ($P=0.032$), 见图 3B。

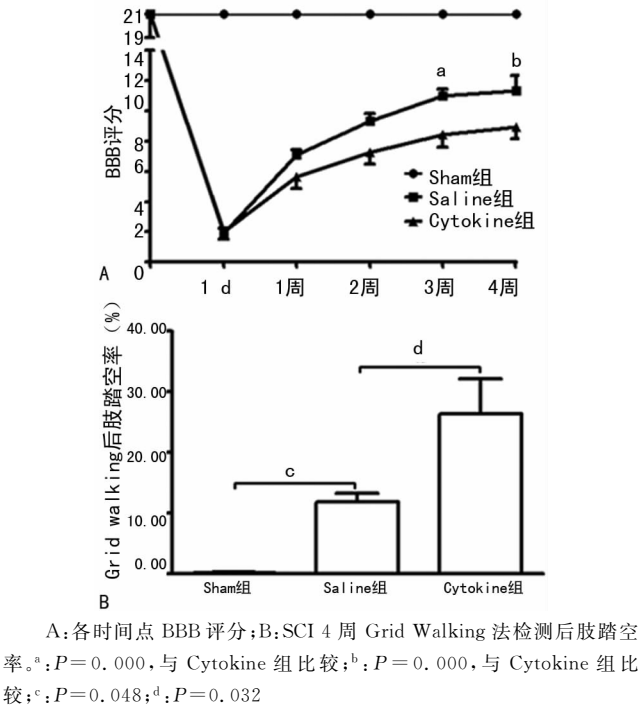


图 3 大鼠行为学检测结果

2.5 SEP 和 MEP 检测 SCI 4 周时, 与 Sham 组相比, Saline 组大鼠 SEP 和 MEP 潜伏期显著延长 ($P=0.000, 0.001$), 同时波幅显著降低 ($P=0.001, 0.012$); 与 Saline 组相比, Cytokine 组 SEP 和 MEP 潜伏期延长 ($P=0.043, 0.045$), 波幅变化差异无统计学意义 ($P=0.889, 0.434$), 见表 1。

组别	SEP		MEP	
	潜伏期(ms)	波幅(μV)	潜伏期(ms)	波幅(μV)
Sham 组	12.04±2.56 ^a	5.05±1.38 ^a	3.45±1.85 ^d	7.40±1.83 ^f
Saline 组	26.43±4.03	1.11±0.52	16.24±5.70	3.95±1.94
Cytokine 组	21.58±2.59 ^b	1.35±0.40 ^c	23.36±5.35 ^e	2.64±1.62 ^g
F	32.73	37.57	28.35	11.18
P	0.000	0.000	0.000	0.001

与 Saline 组比较, ^a: $P=0.000$, ^b: $P=0.043$, ^c: $P=0.889$, ^d: $P=0.001$, ^e: $P=0.045$, ^f: $P=0.012$, ^g: $P=0.434$

3 讨 论

SCI 后胶质瘢痕长期被认为中枢神经轴突再生的物理及化学障碍, 如何有效地去除胶质瘢痕是神经科学研究领域长期的热点。虽然新近有研究认为, 胶质瘢痕对中枢神经的再生可能起了某些促进作用^[8], 但胶质瘢痕作为再生神经轴突难以穿越的屏障这一观点, 有大量的实验依据支持。但这也说明, 目前对胶质瘢痕的形成机制及其作用的认识远远不够。

CNS 损伤后以小胶质细胞为主的炎症细胞活化, 释放出多种炎症因子, 引起损伤局部的炎症反应^[9-10]; 而抗炎物质能通过减少巨噬细胞内 P 物质诱导的 TNF- α 分泌而抑制 ASK1 的活化^[11], 这提示抗炎物质可通过减少炎症因子的释放, 而抑制 ASK1 信号通路的活化。课题组前期研究已证实, 抑制 SCI 后损伤区 ASK1 的磷酸化可抑制 GFAP、Vimentin 的表达上调, 但其具体机制尚待进一步研究^[5]。ASK1 分子结构中包含

丝氨酸/苏氨酸激酶结构域, 其磷酸化后可激活 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)和 p38 促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)。研究提示, ASK1-JNK/p38 信号通路的活化或抑制, 可影响炎症反应进程, 加剧或减轻炎症反应^[12]。因此, 有理由推测炎症因子可能通过与 ASK1-JNK/p38 信号通路的相互活化, 促进反应性胶质化, 启动星形胶质细胞增生及中间丝蛋白 GFAP、Vimentin 的表达上调, 最终导致胶质瘢痕的形成。

实验发现, 炎症因子使大鼠后肢行为学及电生理结果明显恶化, 其机制并非通过影响损伤局部 ASK1 在 mRNA 或蛋白水平的表达。炎症因子组 ASK1 的磷酸化水平明显升高, 这提示炎症因子可能通过激活 ASK1 磷酸化进一步影响其下游信号通路, 影响胶质瘢痕形成, 并最终导致动物行为学恶化。本实验在给予炎症因子后 1 周检测到 ASK1 磷酸化水平增高, 说明炎症因子的作用时间持续较久; 而在 SCI 后 3、4 周时才检测出动物行为学统计意义的改变, 一方面可能与行为学检测方法的敏感性不足有关, 另一方面可能是其后续生物学效应需要一定的时间才能达到累积效应。

有研究发现, ASK-JNK/p38 通路活化在引起体外培养细胞株的 GFAP 表达增加的同时, 还可导致蛋白酶体活性下降, 而蛋白酶体活性的抑制又可激活该信号通路, 并进而使 GFAP 表达上调, 同时 GFAP 表达增加也促进了该信号通路的激活。这种复杂的反馈调节导致网络状的恶性循环级联放大, 使 GFAP 表达迅速升高^[12-14]。这与前期研究发现, p38 MAPK 磷酸化可促进 SCI 后胶质瘢痕的形成的结论相吻合^[15]; 而本实验证实, 炎症因子可促进 SCI 后 ASK1 信号通路的磷酸化。因此 ASK1 磷酸化水平的升高可能是炎症因子介导的 SCI 后继发性损伤加重的关键因素之一。

综上所述, 本实验初步证实了炎症因子可导致 SCI 大鼠脊髓继发性损伤加重, 而损伤局部 ASK1 磷酸化可能是炎症因子导致继发性损伤加重的重要机制。然而 ASK-JNK/p38 磷酸化如何进一步启动星形胶质细胞大量合成 GFAP 的表达, 其机制仍不清楚, 还需进一步研究。

参考文献

- [1] FITCH M T, SILVER J. CNS injury, glial scars, and inflammation: Inhibitory extracellular matrices and regeneration failure[J]. Exp Neurol, 2008, 209(2): 294-301.
- [2] GRAEBER M B. Changing face of microglia[J]. Science, 2010, 330(6005): 783-788.
- [3] BECK K D, NGUYEN H X, GALVAN M D, et al. Quantitative analysis of cellular inflammation after traumatic spinal cord injury: evidence for a multiphasic inflammatory response in the acute to chronic environment[J]. Brain, 2010, 133(Pt 2): 433-447.
- [4] LEE K W, ZHAO X, IM J Y, et al. Apoptosis signal-regulating kinase 1 mediates MPTP toxicity and regulates glial activation[J]. PLoS One, 2012, 7(1): e29935.
- [5] 黎天尊, 晏怡, 刘强, 等. 细胞凋亡信号调节蛋白 1 对大鼠脊髓损伤后 GFAP、vimentin 表达及后肢运动功能的影响[J]. 南方医科大学学报, 2015, 35(6): 795-800.
- [6] KAMINSKA B, GOZDZ A, ZAWADZKA M, et al. MAPK signal transduction underlying brain inflammation and gliosis as therapeutic target[J]. Anat Rec (Hoboken), 2009, 292(12): 1902-1913.

(下转第 874 页)

参考文献

- [1] ZHAO R, CHINAI J M, BUHL S, et al. HHLA2 is a member of the B7 family and inhibits human CD4 and CD8 T-cell function[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(24):9879-9884.
- [2] JANAKIRAM M, CHINAI J M, FINEBERG S, et al. Expression, Clinical Significance, and Receptor Identification of the Newest B7 Family Member HHLA2 Protein[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(10):2359-2366.
- [3] BYERS J T, PANICCIA A, KAPLAN J, et al. Expression of the Novel Costimulatory Molecule B7-H5 in Pancreatic Cancer[J]. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22(Suppl 3):S1574-1579.
- [4] MASUGI Y, NISHIHARA R, YANG J, et al. Tumour CD274(PD-L1) expression and T cells in colorectal cancer [J]. *Gut*, 2017, 66(8):1463-1473.
- [5] TORABI A, AMAYA C N, WIANS F H Jr, et al. PD-1 and PD-L1 expression in bone and soft tissue sarcomas [J]. *Pathology*, 2017, 49(5):506-513.
- [6] 申媛媛, 厉红元. PD-1/PD-L1 在乳腺肿瘤中的研究进展 [J]. *重庆医学*, 2015, 44(12):1708-1711.
- [7] AJONA D, ORTIZ-ESPINOSA S, MORENO H, et al. A combined PD-1/C5a blockade synergistically protects against lung cancer growth and metastasis[J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(7):694-703.
- [8] SHEN T, ZHOU L, SHEN H, et al. Prognostic value of programmed cell death protein 1 expression on CD8⁺ T lymphocytes in pancreatic cancer[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):7848.
- [9] 李秀玉, 胡波, 李忠新. CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺调节性 T 细胞和 PD-1⁺CD4⁺ T 细胞对宫颈上皮细胞瘤预后的作用 [J]. *重庆医学*, 2015, 44(18):2477-2479.
- [10] CHANG C H, WANG Y, LI R, et al. Combination therapy with bispecific antibodies and PD-1 blockade enhances the antitumor potency of T cells[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(19):5384-5394.
- [11] SHI X, ZHANG X, LI J, et al. PD-1/PD-L1 blockade enhances the efficacy of SA-GM-CSF surface-modified tumor vaccine in prostate cancer[J]. *Cancer Lett*, 2017, 406(1):27-35.
- [12] AYERS M, LUNCEFORD J, NEBOZHYN M, et al. IFN- γ -related mRNA profile predicts clinical response to PD-1 blockade[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(8):2930-2940.
- [13] KILLOCK D. Immunotherapy: PD-1 blockade exploiting MMR deficiency[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14(8):459.
- [14] KORIALA P, ROTH ME, GILL J, et al. HHLA2, a member of the B7 family, is expressed in human osteosarcoma and is associated with metastases and worse survival[J]. *Sci Rep*, 2016(6):31154.
- [15] CHENG H, JANAKIRAM M, BORCZUK A, et al. HHLA2, a new immune checkpoint member of the B7 family, is widely expressed in human lung cancer and associated with EGFR mutational status[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(3):825-832.
- [16] JANAKIRAM M, PAREEK V, CHENG H, et al. Immune checkpoint blockade in human cancer therapy: lung cancer and hematologic malignancies [J]. *Immunotherapy*, 2016, 8(7):809-819.
- [17] JANAKIRAM M, CHINAI J M, ZHAO A, et al. HHLA2 and TMIGD2: new immunotherapeutic targets of the B7 and CD28 families [J]. *Oncoimmunology*, 2015, 4(8):e1026534.

(收稿日期:2017-06-19 修回日期:2017-08-27)

(上接第 870 页)

- [7] USUL H, CAKIR E, ARSLAN E, et al. Effects of clotrimazole on experimental spinal cord injury[J]. *Arch Med Res*, 2006, 37(5):571-575.
- [8] ANDERSON M A, BURDA J E, REN Y, et al. Astrocyte scar formation aids central nervous system axon regeneration[J]. *Nature*, 2016, 532(7598):195-200.
- [9] GUO X, HARADA C, NAMEKATA K, et al. Regulation of the severity of neuroinflammation and demyelination by TLR-ASK1-p38 pathway[J]. *EMBO Mol Med*, 2010, 2(12):504-515.
- [10] 潘宏, 王凌志, 陶岳峰, 等. 电刺激迷走神经和甲基泼尼松龙对兔脊髓损伤后 TNF- α 水平的影响 [J]. *重庆医学*, 2016, 45(15):2051-2054.
- [11] LUCREZI J D, BURNS T J, MATESIC D F, et al. Inhibition of JNK and p38 MAPK phosphorylation by 5-(acetylamino)-4-oxo-6-phenyl-2-hexenoic acid methyl ester and 4-phenyl-butenic acid decreases substance P-induced TNF- α upregulation in macrophages [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 21(1):44-50.
- [12] UM J W, IM E, PARK J, et al. ASK1 negatively regulates the 26 S proteasome[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(47):36434-36446.
- [13] PERNG M D, WEN S F, GIBBON T, et al. Glial fibrillary acidic protein filaments can tolerate the incorporation of assembly-compromised GFAP-delta, but with consequences for filament organization and alphaB-crystallin association[J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(10):4521-4533.
- [14] THELLUNG S, VILLA V, CORSARO A, et al. ERK1/2 and p38 MAP kinases control prion protein fragment 90-231-induced astrocyte proliferation and microglia activation[J]. *Glia*, 2007, 55(14):1469-1485.
- [15] 王富贵, 夏永智, 余海军, 等. P38 MAPK 在大鼠脊髓损伤后胶质瘢痕形成早期对 GFAP、vimentin 表达的调控作用 [J]. *基础医学与临床*, 2016, 36(4):462-467.

(收稿日期:2017-06-18 修回日期:2017-08-26)