

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.07.002

❖ 基础研究 ❖

氟比洛芬酯介导 MAPK 信号通路保护脑缺血再灌注损伤大鼠血脑屏障功能的机制研究

程晶晶,程少飞,迟晓慧

(邯郸市中心医院麻醉科,河北 邯郸 056000)

【摘要】目的:探讨氟比洛芬酯介导丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路保护脑缺血再灌注损伤大鼠血脑屏障功能的机制。**方法:**选取72只健康雄性SD大鼠,随机分为假手术组(Sham组)、脑缺血再灌注损伤组(IR组)和氟比洛芬酯组(F组),每组各24只。建立大鼠脑缺血再灌注经典模型,缺血时间为2h,再灌注24h,称湿干重测量脑组织含水量,伊文思蓝(EB)染色法检测大鼠血脑屏障通透性,免疫组化法检测缺血区脑组织的磷酸化p38 MAPK蛋白表达,免疫印迹法检测磷酸化p38 MAPK蛋白相对表达量。**结果:**F组的脑组织含水量及EB含量高于Sham组,低于IR组($P < 0.05$);p38 MAPK蛋白阳性表达的等级及相对表达量高于Sham组,低于IR组($P < 0.05$)。**结论:**氟比洛芬酯可减轻大鼠脑缺血再灌注损伤,保护血脑屏障功能,机制可能与抑制MAPK信号通路、下调p38 MAPK表达有关。

【关键词】脑缺血再灌注损伤;氟比洛芬酯;血脑屏障;p38;丝裂原活化蛋白激酶;大鼠

【中图分类号】R743.3 **【文献标志码】**A

Mechanism of flurbiprofen axetil on protecting blood-brain barrier function in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury by mediating MAPK signaling pathway

CHENG Jing-jing, CHENG Shao-fei, CHI Xiao-hui

(Department of Anesthesiology, Handan Central Hospital, Handan 056000, Hebei, China)

【Abstract】 Objective: To explore the mechanism of flurbiprofen axetil on protecting blood-brain barrier function in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury (CIRI) by mediating mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway. **Methods:** A total of 72 healthy male SD rats were enrolled and randomly divided into sham operation group (Sham group), CIRI group (IR group) and flurbiprofen axetil group (F group), 24 cases in each group. The classic model of cerebral ischemia-reperfusion was constructed, the ischemia time was 2 hours. After 24 h of reperfusion, wet/dry weight was weighed to measure the water content of brain tissue. The permeability of blood-brain barrier was detected by Evans blue (EB) staining. The expression of phosphorylated p38 MAPK protein in brain tissue of ischemic area was detected by immunohistochemistry. The relative expression level of phosphorylated p38 MAPK protein was detected by Western blot. **Results:** The water content and EB content of brain tissue in F group were higher than those in Sham group, which were lower than those in IR group ($P < 0.05$). The positive expression grade and relative expression of p38 MAPK protein in F group were higher than those in Sham group, which were lower than that in IR group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Flurbiprofen axetil can reduce CIRI in rats, and protect blood-brain barrier function. The mechanism may be related to inhibiting MAPK signaling pathway and down-regulating p38 MAPK expression.

【Key words】 Cerebral ischemia reperfusion injury; Flurbiprofen axetil; Blood-brain barrier; p38; Mitogen-activated protein kinase; Rat

缺血性脑血管疾病在临床上具有发病率高、致残率高和死亡率高等特点^[1]。脑缺血在一定时间内恢复血液供应后,如不采取积极的进一步治疗,会出现更严重的神经功能障碍,即为脑缺血再灌注损伤^[2]。寻找疗效明确的治疗缺血性脑血管疾病的

药物以及机制探讨一直是临床研究的热点。氟比洛芬酯是一种非甾体类靶向镇痛消炎药,国外研究^[3]发现,氟比洛芬酯有一定的抗脑缺血再灌注损伤、保护血脑屏障的作用,但作用机制尚未明确。丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,

MAPK)是信号从细胞表面传导到细胞核内部的重要传递者,MAPK 信号通路在基因表达调控中发挥关键作用^[4]。研究发现^[5-6],MAPK 信号通路为参与血脑屏障保护作用的重要通路,p38 MAPK 是 MAPKs 的亚类之一,是此通路的关键蛋白。本研究旨在探讨氟比洛芬酯对脑缺血再灌注损伤大鼠血脑屏障功能的影响,分析氟比洛芬酯介导磷酸化 p38 MAPK 信号通路保护血脑屏障功能的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

健康雄性 Sprague Dawley (SD)大鼠 72 只,体重 280 ~ 320 g,由邯郸市中心医院实验动物中心提供,并获实验伦理委员会审批通过。采用随机数字表法将大鼠分为假手术组 (Sham 组)、脑缺血再灌注损伤组 (IR 组)和氟比洛芬酯组 (F 组),每组各 24 只大鼠。氟比洛芬酯注射液购于北京泰德制药股份有限公司;磷酸化 p38 MAPK 单克隆抗体试剂盒购于上海信裕生物科技有限公司;伊文思蓝 (EB)溶液由美国 Sigma 公司生产;澳美耐 OMNI Sonic Ruptor 4000 超声波细胞破碎仪由美国 OMNI 公司生产;DR6000 紫外-可见光分光光度计由美国 HACH 公司生产。

1.2 方法

1.2.1 脑缺血再灌注大鼠模型制作 F 组和 IR 组大鼠采用改良 Koizumi 线栓法建立脑缺血再灌注经典模型^[7],具体步骤为:腹腔注射 10% 水合氯醛 100 mg 进行麻醉,起效后,切开大鼠颈正中皮肤,暴露颈部血管,4-0 尼龙线头端制作成鼓槌状。分离左侧颈总动脉、颈外动脉,并从分叉处插入尼龙线至颈内动脉,深度约 17 mm,并保持有一定阻力,以阻断大脑中动脉起始端所有的侧支循环血流造成脑缺血。2 h 后,将尼龙线抽出,恢复大脑中动脉血供,即再灌注。Sham 组只实施麻醉、切开大鼠颈正中皮肤、分离血管但不结扎大脑中动脉。

1.2.2 给药方法 再灌注即刻给药,F 组大鼠腹腔注射氟比洛芬酯 10 mg/kg,Sham 组和 IR 组大鼠腹腔注射等体积生理盐水。

1.2.3 指标检测 (1)大鼠脑组织含水量检测:再灌注 24 h,每组各随机抽取 6 只大鼠,断头并低温摘取大鼠脑组织,分离左右大脑半球,先称湿重,然后置于烤箱烘干水分后称干重。脑组织含水量百分比 = (湿重 - 干重) / 湿重 × 100%。(2)大鼠血脑屏障通透性检测:再灌注 24 h,每组各随机抽取 6 只大鼠,股静脉注入 2% 伊文思蓝 (EB)溶液 2 mL/kg 染色。1 h 后,1% 戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉后打开胸

腔,经心脏灌流肝素钠生理盐水,断头并低温摘取大鼠缺血区的脑组织,吸去残余水分,然后每 100 mg 脑组织加入甲酰胺溶液 1 mL,60 °C 水浴 24 h,1 000 rpm 离心 5 min,用 DR6000 紫外-可见光分光光度计在 620 nm 波长处测吸光度。作出标准曲线,计算脑组织 EB 含量。肉眼观察各组大鼠脑组织 EB 染色形态学大体外观,并于荧光显微镜观察各组大鼠脑组织 EB 红斑分布。(3)p38 MAPK 蛋白表达检测:再灌注 24 h,每组各随机抽取 6 只大鼠,采用免疫组化技术检测 p38 MAPK 蛋白表达。具体方法为:①组织切片制作。麻醉后打开胸腔,经心脏灌流肝素钠生理盐水,断头并低温摘取大鼠缺血区的脑组织,经过脱水、固定、包埋等步骤制作石蜡切片。取 500 mL 的抗原修复工作液浸泡组织切片,120 °C 加热煮沸 20 min,冷却至室温,取出组织切片用磷酸盐缓冲液冲洗 3 min、自来水冲洗 3 min。组织切片晾干后滴加 10% 非免疫羊血清,孵育 30 min。②SP 法进行免疫组化染色。加入 p38 MAPK 一抗 (p38 MAPK 的羊抗鼠单克隆抗体工作液)40 μL,另外选取磷酸盐缓冲液作为一抗的阴性对照,4 °C 孵育过夜。加入辣根过氧化物酶标记的二抗,37 °C 孵育 30 min,磷酸盐缓冲液冲洗 3 次,每次 5 min。滴加二氨基联苯胺显色液 50 μL,染色时间大约 5 ~ 10 min,显微镜下观察。③评分标准。由病理中心两名医师独立阅片,采用 Bresalier 半定量法分两部分评分^[8]。显色深浅度评分:0 分为不显色,1 分为浅黄色,2 分为棕黄色,3 分为棕褐色;阳性细胞数评分:0 分为阳性细胞数 < 5%,1 分为阳性细胞数 5% ~ 25%,2 分为阳性细胞数 26% ~ 50%,3 分为阳性细胞数 51% ~ 75%,4 分为阳性细胞数 ≥ 76%。累计得分 0 ~ 1 分为 (-),2 ~ 3 分为 (+),4 ~ 5 分为 (++),6 ~ 7 分为 (+++)。(4)p38 MAPK 蛋白相对表达量检测:再灌注 24 h,每组各随机抽取 6 只大鼠,采用免疫印迹 (Western blot)检测 p38 MAPK 蛋白相对表达量。具体方法为:麻醉后打开胸腔,经心脏灌流肝素钠生理盐水,断头并低温摘取大鼠缺血区的脑组织,每 100 mg 组织加入蛋白裂解液 1 mL,刀片式组织破碎匀浆器 1 000 ~ 3 000 rpm 高速匀浆 3 次,离心取上清液,调整所有蛋白样本至等浓度。聚丙烯酰胺凝胶电泳,然后转移到硝酸纤维束薄膜上,封闭,加入 p38 MAPK 一抗,室温下孵育 1 h,洗涤;再加入辣根过氧化物酶标记的二抗,室温下孵育 1 h,洗涤。采用 HRP-ECL 发光法曝光,取出胶片浸入显影液至完全显影,清水冲净晾干。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH)为内参照计算 p38 MAPK 蛋白的相对表达量。免疫印迹重复试验至少 3 次。蛋白含量根据

western blot 结果条带的灰度值计算,使用 Image J 软件,导入 western blot 条带图片,把图片转化成灰度图片,设置定量参数把 Western blot 条带图片转换成亮带,选定亮带,点击菜单栏 Analyze 下拉出现的 measurement,弹出选定区域的灰度统计值,重复上述步骤直至所有条带都被测量。在 Excel 表格录入数据,将目的蛋白的灰度值除以 GAPDH 内参蛋白的灰度值,得到 p38 MAPK 蛋白的相对表达量。

1.3 统计学分析

使用 SPSS 22.0 软件对数据进行分析与处理。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较采用方差分析,两两比较采用 SNK 检验。计数资料以 $[n(\%)]$,等级比较采用 Kruskal-Wallis 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组脑组织含水量比较

F 组的脑组织含水量高于 Sham 组,但低于 IR 组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1。

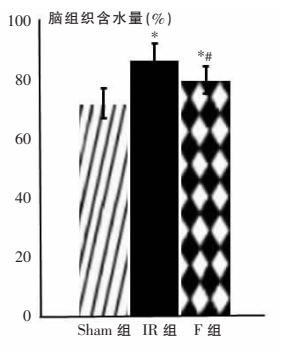


图 1 各组脑组织含水量

* $P < 0.05$,与 Sham 组相比;# $P < 0.05$,与 IR 组相比。

2.2 各组脑组织 EB 含量比较

F 组的脑组织 EB 含量高于 Sham 组,但低于 IR 组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 2-图 4。

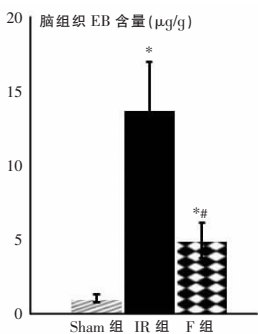


图 2 各组脑组织 EB 含量

* $P < 0.05$,与 Sham 组相比;# $P < 0.05$,与 IR 组相比。

2.3 各组脑组织切片免疫组化法的 p38 MAPK 蛋白表达比较

F 组的脑组织切片 p38 MAPK 蛋白阳性表达的

等级高于 Sham 组,但低于 IR 组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1、图 5。

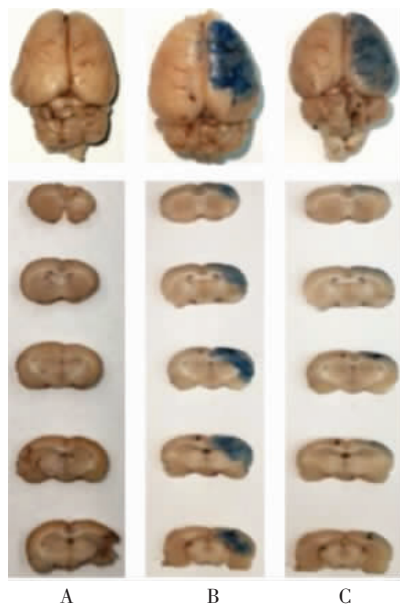


图 3 再灌注后各组大鼠脑组织 EB 染色形态学大体表现

A. 假手术组几乎没有 EB 染色区域;B. IR 组 EB 染色区域明显扩大;C. F 组 EB 染色区域较假手术组和 IR 组明显缩小。

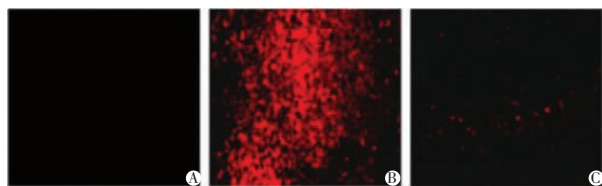


图 4 荧光显微镜观察各组大鼠脑组织 EB 含量

A. Sham 组几乎未见 EB 荧光显影;B. IR 组可见大量 EB 荧光显影;C. F 组可见少量 EB 荧光显影。

表 1 各组脑组织免疫组化法的 p38 MAPK 蛋白表达比较 $[n(\%)]$

组别	-	+	++	+++
Sham 组 ($n = 6$)	4 (66.67)	2 (33.33)	-	-
IR 组 ($n = 6$)	-	-	3 (50.00)	3 (50.00)
F 组 ($n = 6$)	1 (16.67)	3 (50.00)	2 (33.33)	-
Z 值 ($n = 6$)				12.185
P 值				0.002

注:多组等级资料比较采用 Kruskal-Wallis 检验,Z 为统计值。

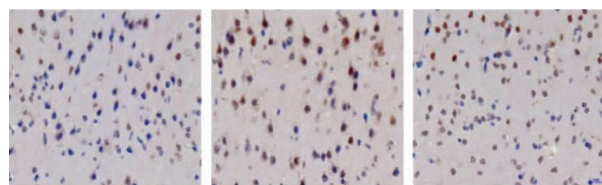


图 5 免疫组化染色观察各组大鼠脑组织切片 p38 MAPK 蛋白表达 ($\times 400$)

A. Sham 组可见极少量棕褐色阳性细胞;B. IR 组可见大量棕褐色阳性细胞;C. F 组可见部分棕褐色阳性细胞。

2.4 各组脑组织免疫印迹法的 p38 MAPK 蛋白相对表达量比较

F 组的脑组织 p38 MAPK 蛋白相对表达量高于

Sham 组,但低于 IR 组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 6。

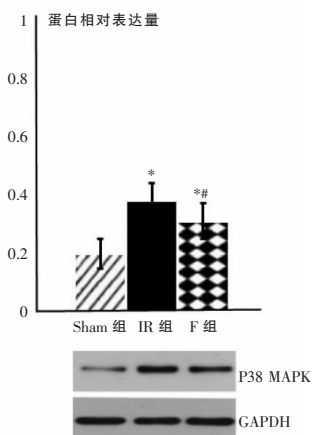


图 6 Western blot 检测各组 p38mapk 蛋白情况
* $P < 0.05$,与 Sham 组相比;# $P < 0.05$,与 IR 组相比。

3 讨论

脑缺血再灌注损伤的病理机制较为复杂,目前主流学说提出可能与自由基及脂质过氧化、线粒体功能障碍、细胞内钙超载、炎症免疫反应、兴奋性氨基酸毒性、高能磷酸化合物缺乏等有关^[9-10]。血脑屏障是维持脑组织内环境稳定的重要屏障,可阻止有害物质由血液进入大脑,其功能受损是脑缺血再灌注损伤的重要表现之一,易引起脑水肿,神经元死亡,加重脑损害。本研究采用大鼠脑缺血再灌注经典模型,缺血 2 h,再灌注 24 h 后测大鼠脑组织含水量及 EB 含量,结果发现,与 Sham 组比较,IR 组的脑组织含水量明显增高,提示大鼠脑缺血再灌注后发生脑水肿;IR 组的 EB 含量也明显增高,提示大鼠血脑屏障受到破坏,血脑屏障通透性增加,结果与 Guo 等^[11]研究报道相符,说明建模成功。

近年研究^[12]发现,p38 MAPK 与血脑屏障功能密切相关。在脑缺血病理情况下,脑组织 p38 MAPK 表达明显增加。本研究采用免疫组化及免疫印迹法检测 p38 MAPK 表达量,发现 IR 组的脑组织 p38 MAPK 蛋白相对表达量高于 Sham 组,提示大鼠脑缺血再灌注后 p38 MAPK 表达上调,与 Jiang 等^[13]研究报道相符。p38 MAPK 是 MAPK 家族成员之一,参与应激压力与炎症细胞因子的激活,p38 介导炎症免疫反应与细胞凋亡,因此目前多将 p38 作为抗炎药物的靶位^[14-15]。p38 MAPK 信号通路也由三级激酶链组成,表现为逐级磷酸化,包括 MKK3、MKK4 及 MKK6,是 p38 的特异性蛋白激酶^[16]。

本研究进一步探讨了氟比洛芬酯对保护血脑屏

障功能的影响及介导 MAPK 信号通路的机制,结果发现,F 组脑组织含水量、脑组织 EB 含量均低于 IR 组,提示氟比洛芬酯能降低血脑屏障通透性、减轻脑水肿。此外,F 组脑组织 p38 MAPK 蛋白相对表达量低于 IR 组,提示氟比洛芬酯减轻大鼠脑缺血再灌注损伤、保护血脑屏障功能的机制可能与抑制 MAPK 信号通路、下调 p38 MAPK 表达有关。侯莉莉等^[17]对大鼠局灶性脑缺血再灌注模型实施氟比洛芬酯后处理,同样发现缺血区脑组织的 p38 MAPK 表达下调,并认为氟比洛芬酯降低血脑屏障通透性的机制可能与其抑制 p38 MAPK 信号通路激活有关。Wu 等^[18]采取氟比洛芬酯预先给药,脑组织含水量和 EB 含量均降低,且炎症细胞因子肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 和白介素-1 (IL-1) 水平降低,同样提示其机制可能与抑制炎症反应有关,且 MAPK 信号通路在其中有重要作用。还有研究^[19]发现,脑缺血再灌注经氟比洛芬酯处理后,环氧酶-2 (COX-2) 及 p38 MAPK 蛋白表达下调,并认为其机制可能是氟比洛芬酯抑制了 p38MAPK 信号通路,下调了 COX-2 表达,从而减轻炎症反应。脑缺血再灌注后,在炎症反应介导下一些炎症细胞因子如 TNF- α 、IL-1 等激活 p38 MAPK 信号通路,导致内皮细胞、基底膜、星形胶质细胞的细胞膜的脂溶性改变,血脑屏障通透性增加,引起脑水肿和神经元损伤。氟比洛芬酯是一种非甾体类消炎药,通过抑制 p38 MAPK 信号通路,并进一步抑制 COX-2,阻断花生四烯酸转化为前列腺素,减少炎症细胞因子生成,减轻了脑缺血再灌注后的炎症反应以及氧化应激,进而保护神经功能。

综上所述,氟比洛芬酯可减轻大鼠脑缺血再灌注损伤,保护血脑屏障功能,机制可能与抑制 MAPK 信号通路、下调 p38 MAPK 表达有关,可为氟比洛芬酯血脑屏障保护作用的机制研究提供参考。

参考文献

- [1] Hu X, Silva TM, Chen J, et al. Cerebral vascular disease and neurovascular injury in ischemic stroke [J]. *Circ Res*, 2017, 120(3): 449 - 471.
- [2] Surinkae P, Sawaddiruk P, Apaijai N, et al. Role of microglia under cardiac and cerebral ischemia/reperfusion (I/R) injury [J]. *Metab Brain Dis*, 2018, 33(4): 1019 - 1030.
- [3] Wu H, Tang C, Tai LW, et al. Flurbiprofen axetil attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury by reducing inflammation in a rat model of transient global cerebral ischemia/reperfusion [J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(4): 1562 - 1569.
- [4] Guo YJ, Pan WW, Liu SB, et al. ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(3): 1997 - 2007.
- [5] Liang YJ, Yang WX. Kinesins in MAPK cascade; How kinesin mo-

- tors are involved in the MAPK pathway[J]. *Gene*,2019,5(684):1-9.
- [6] Lee JK, Kim NJ. Recent advances in the inhibition of p38 MAPK as a potential strategy for the treatment of alzheimer's disease[J]. *Molecules*,2017,22(8):1287.
- [7] 袁洪霞,朱世杰. 线栓法大鼠局灶性脑缺血模型制备研究进展[J]. *现代医药卫生*,2019,35(5):677-678.
- [8] Crowe AR, Yue W. Semi-quantitative determination of protein expression using immunohistochemistry staining and analysis:an integrated protocol[J]. *Bio Protoc*,2019,9(24):3465-3469.
- [9] Wang Y, Ren Q, Zhang X, *et al.* Neuroprotective mechanisms of ealycosin against focal cerebral ischemia and reperfusion injury in rats[J]. *Cell Physiol Biochem*,2018,45(2):537-546.
- [10] Dou Z, Rong X, Zhao E, *et al.* Neuroprotection of resveratrol against focal cerebral ischemia/reperfusion injury in mice through a mechanism targeting gut-brain axis[J]. *Cell Mol Neurobiol*,2019,39(6):883-898.
- [11] Guo P, Jin Z, Wu H, *et al.* Effects of irisin on the dysfunction of blood-brain barrier in rats after focal cerebral ischemia/reperfusion[J]. *Brain Behav*,2019,9(10):1425-1428.
- [12] Lu H, Wang B, Cui N, *et al.* Artesunate suppresses oxidative and inflammatory processes by activating Nrf2 and ROS-dependent p38 MAPK and protects against cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Mol Med Rep*,2018,17(5):6639-6646.
- [13] Jiang R, Liao J, Yang MC, *et al.* Lidocaine mediates the progression of cerebral ischemia/reperfusion injury in rats via inhibiting the activation of NF- κ B p65 and p38 MAPK[J]. *Ann Transl Med*,2020,8(8):548-557.
- [14] Li D, Ren W, Jiang Z, *et al.* Regulation of the NLRP3 inflammatory and macrophage pyroptosis by the p38 MAPK signaling pathway in a mouse model of acute lung injury[J]. *Mol Med Rep*,2018,18(5):4399-4409.
- [15] Reustle A, Torzewski M. Role of p38 MAPK in atherosclerosis and aortic valve sclerosis[J]. *Int J Mol Sci*,2018,19(12):3761-3767.
- [16] Li W, Zhu J, Dou J, *et al.* Phosphorylation of LAMP2A by p38 MAPK couples ER stress to chaperone-mediated autophagy[J]. *Nat Commun*,2017,8(1):1763-1769.
- [17] 侯莉莉,陈琳,杨晓玫,等. 氟比洛芬酯后处理对大鼠局灶性脑缺血再灌注时血脑屏障通透性的影响[J]. *中华麻醉学杂志*,2020,40(7):813-816.
- [18] Wu HS, Guo PP, Zhang ZZ, *et al.* Effect of flurbiprofen axetil pretreatment on blood-brain barrier permeability in rats with global cerebral ischemia-reperfusion [J]. *Chin J Anesthesiol*,2018,30(11):1384-1387.
- [19] 吕帅国,董铁立,卢锡华,等. 氟比洛芬酯对神经病理性疼痛大鼠脊髓背角 p38 丝裂原活化蛋白激酶活化的影响[J]. *中华实验外科杂志*,2015,32(7):1503-1505.

(收稿日期:2021-01-16

修回日期:2021-03-12)

(上接第 820 页)

- [11] Naidu BV, Woolley SM, Farivar AS, *et al.* Early tumor necrosis factor- α release from the pulmonary macrophage in lung ischemia-reperfusion injury[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*,2004,127(5):1502-1508.
- [12] Toba H, Tomankova T, Wang YC, *et al.* XB130 deficiency enhances lipopolysaccharide-induced septic response and acute lung injury[J]. *Oncotarget*,2016,7(18):25420-25431.
- [13] Goodman RB, Pugin J, Lee JS, *et al.* Cytokine-mediated inflammation in acute lung injury[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*,2003,14(6):523-535.
- [14] Chu X, Ci X, Wei M, *et al.* Licochalcone a inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response in vitro and in vivo[J]. *J Agric Food Chem*,2012,60(15):3947-3954.
- [15] Tseng TL, Chen MF, Tsai MJ, *et al.* Oroxylin-A rescues LPS-induced acute lung injury via regulation of NF- κ B signaling pathway in rodents[J]. *PLoS One*,2012,7(10):e47403.
- [16] Soromou LW, Chen N, Jiang L, *et al.* Astragalosin attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses by down-regulating NF- κ B signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2012,419(2):256-261.
- [17] Bai GZ, Yu HT, Ni YF, *et al.* Shikonin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice[J]. *J Surg Res*,2013,182(2):303-311.
- [18] Laubach V, Sharma A. Mechanisms of lung ischemia-reperfusion injury[J]. *Curr Opin Organ Transplant*,2016,21(3):246-252.
- [19] Czapski GA, Avram D, Sakharov DV, *et al.* Activated neutrophils oxidize extracellular proteins of endothelial cells in culture:effect of nitric oxide donors[J]. *Biochem J*,2002,365(3):897-902.
- [20] Mittal SK, Cho KJ, Ishido S, *et al.* Interleukin 10 (il-10)-mediated immunosuppression march-i induction regulates antigen presentation by macrophages but not dendritic cells[J]. *Journal of Biological Chemistry*,2015,290(45):27158-27167.
- [21] Alam Z, Devalaraja S, Li M, *et al.* Counter Regulation of Spic by NF- κ B and STAT Signaling Controls Inflammation and Iron Metabolism in Macrophages[J]. *Cell Reports*,2020,31(13):107825.
- [22] Bai D, Ueno L, Vogt PK. Akt-mediated regulation of NF- κ B and the essentialness of NF- κ B for the oncogenicity of PI3K and Akt[J]. *Int J Cancer*,2009,125(12):2863-2870.
- [23] Rahmani F, Asgharzadeh F, Avan A, *et al.* Rigosertib potently protects against colitis-associated intestinal fibrosis and inflammation by regulating PI3K/AKT and NF- κ B signaling pathways[J]. *Life Sci*,2020,15(249):117470.
- [24] Wang F, Wang F, Li F, *et al.* Methane attenuates lung ischemia-reperfusion injury via regulating PI3K-AKT-NF- κ B signaling pathway[J]. *J Recept Signal Transduct Res*,2020,40(3):209-217.

(收稿日期:2021-03-21

修回日期:2021-05-08)