

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.24.006

维生素 C 对创伤性脑损伤后神经细胞焦亡及 NLRP3 通路的影响 *

陈燕伟 武秀权 王 利 李 侠 林 伟 蒋晓帆 张 磊[△]

(中国人民解放军空军军医大学西京医院神经外科 陕西 西安 710032)

摘要 目的: 考察创伤性脑损伤(TBI)中维生素 C(Vit C)预处理抗神经细胞焦亡的作用和分子机制。**方法:** 培养 HT22 细胞系,随机分为空白组(Sham 组)、DMSO 组(Con 组)和 Vit C 预处理组(Vit C 组),Vit C 组分为低剂量和高剂量 2 组。Vit C 组和 Con 组进行预处理 72 h 后划伤 12 h,制成神经细胞创伤性脑损伤模型。利用荧光免疫组化法和 Western-blot 检测 NLRP3 的表达变化;标准 ELISA 试剂盒检测 IL-1 β 和 IL-18 表达变化。**结果:** 相较于 Sham 组,Con 组和 Vit C 组中 HT22 细胞中 NLRP3 的染色阳性率高;与 Con 组比较,Vit C 组的 NLRP3 表达明显减少($P<0.05$),且 IL-1 β 和 IL-18 表达也显著降低($P<0.05$),各组间差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论:** TBI 后利用不同剂量 Vit C 均可有效降低神经细胞焦亡,可能是通过下调 NLRP3 表达水平,减少 IL-1 β 和 IL-18 等释放,发挥神经保护作用。

关键词: 维生素 C; Nod 样受体蛋白 3; 创伤性脑损伤; 白介素 -1 β ; 白介素 -18

中图分类号: R-33; R651.15; Q564 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2021)24-4632-05

Effects of Vitamin C on Nerve Cell Pyrolysis and NLRP3 Pathway Following with Traumatic Brain Injury*

CHEN Yan-wei, WU Xiu-quan, WANG Li, LI Xia, LIN Wei, JIANG Xiao-fan, ZHANG Lei[△]

(Department of Neurosurgery, Xijing Hospital, Air Force Medical University of PLA, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To observed the effect and molecular mechanism of vitamin C(Vit C) pretreatment against nerve cell pyroptosis in traumatic brain injury (TBI). **Methods:** The HT22 cell lines were randomly divided into the sham group (sham group), DMEM control group (Con group) and the Vit C pretreatment group (Vit C group); Con group and Vit C group pretreatment in 72 h, then the TBI model was induced by scratch injury in the groups for 12 h and then sampling. The expression of NLRP3 was detected by immunofluorescence staining and Western-blot; The standard ELISA kit was used to detect the expression of IL-1 β and IL-18. **Results:** Compared with the Sham group, the positive rate of NLRP3 staining in surviving neurons was high in the Con group and the Vit C groups; Compared with Con group, low and high dose Vit C can obviously reduce the expression level of NLRP3 protein, IL-1 β and IL-18($P<0.05$), and the difference among the low dose and the high dose groups was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion:** Different doses of Vit C effectively reduce nerve cell pyroptosis after TBI, possibly by alleviating the expression level of NLRP3, reducing the release of IL-1 β and IL-18, and play important neuroprotective effects.

Key words: Vitamin C; Nod-like receptor family pyrin domain containing 3; Traumatic brain injury; Interleukin -1 β ; Interleukin -18

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R651.15; Q564 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)24-4632-05

前言

近年来随着汽车等交通工具的普及和建筑产业的高速发展等,创伤性脑损伤(trumatic brain injury, TBI)的发病率居高不下,全球每年有超过 1000 万患者,其高致残率和致死率给社会和家庭造成了巨大的负担^[1]。研究报道,TBI 后受损区域及周围正常组织中神经细胞发生线粒体功能障碍、氧化应激、炎症反应和兴奋性氨基酸毒性反应等,如不及时治疗,会造成细胞不可逆改变,大量死亡^[2]。目前,细胞死亡形式除坏死、凋

亡、铁死亡外,还有一种细胞焦亡,发生速度更快,可诱发机体强烈的炎症反应,主要表现为 Nod 样受体蛋白 3(Nod-like-receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3) 和 Caspase1、ASC 结合为炎性小体,进而促进细胞分泌 IL-1 β 和 IL-18 并将进一步诱导细胞大量死亡;细胞焦亡在肿瘤、心脑血管疾病和神经系统疾病中发挥重要作用^[3,4]。维生素 C (Vitamin C, Vit C),即血浆抗坏血酸,一种重要的抗氧化剂和抗氧化酶,一般通过 NF- κ B 等调控 TNF- α 等炎症因子,保护机体免受炎症侵害^[5,6]。但尚未见到 Vit C 干预神经细胞焦亡,改善 TBI 预后的报道。

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81974188);陕西省国际科技合作计划项目(2019KW-039);陕西省重点研发计划项目(2018SF-154)

作者简介:陈燕伟(1983-),男,主治医师,硕士研究生,主要研究方向:颅脑创伤及脑血管疾病研究,E-mail: chen_yw888@126.com

[△] 通讯作者,张磊(1979-),男,讲师,博士研究生,主要研究方向:颅脑危重疾病的基础和临床转化研究,

E-mail: zhangleiafmmu@163.com,电话:029-84775567

(收稿日期:2021-03-23 接受日期:2021-04-18)

本研究采用不同剂量 Vit C 对 HT22 细胞划伤模拟 TBI 模型进行研究,旨在探讨其治疗效果及可能的分子机制,以期为临床提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药物和主要试剂 VitC、DMSO 购自西安展帆生物有限公司;兔抗大鼠 NLRP3 单克隆抗体购自美国 AdipoGen 公司;兔抗大鼠 β -Actin 单克隆抗体购自美国 Cell Signaling 公司;山羊抗兔 IgG/辣根酶标记购自北京中杉金桥生物技术有限公司;IL-1 β 和 IL-18 ELISA 试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司;链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶免疫组化试剂盒购自北京中山生物技术有限公司。

1.1.2 主要仪器 倒置显微镜和激光共聚焦显微镜购自日本 Olympus 株式会社;低温离心机、二氧化碳培养箱购自 Thermo Fisher Scientific 公司;电泳仪购自北京六一生物科技有限公司;凝胶成像系统购自北京赛智创业科技有限公司。

1.1.3 实验细胞株 HT22 细胞株购自上海吉凯基因有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 HT22 细胞经复苏、培养和扩增后,诱导其向交感神经元样细胞分化:取传五代以上 HT22 细胞,经消化分散后,制成 5×10^5 /mL 细胞悬液,接种于塑料培养皿中,置于培养箱内进行培养。每周换液两次,每次更换一半新鲜培养液,选 3~5 代细胞用于实验。

1.2.2 模型制作、实验分组与给药处理 准备 6 孔板,将 HT22 细胞悬液均匀铺种于孔板中,将孔板放置于 37°C 、5% CO_2 孵箱中进行培养 24 h,随机分为空白组 (Sham 组)、DMED 组 (Con 组) 和 Vit C 预处理组 (Vit C 组),Vit C 组分为低剂量和高剂量 2 组。给药培养 6 d 后,用 $10 \mu\text{L}$ 灭菌枪头划伤各孔均匀横竖 6 道 (共 12 道),再继续放置于 37°C 、5% CO_2 孵箱中培养 2 h 后提取细胞。Vit C 预处理组在第 2 天维持培养基 Vit C $10 \mu\text{mol/L}$ 、 $50 \mu\text{mol/L}$ 72 h,DMED 组在第 2 天给予等剂量 DMED,Sham 组细胞不做任何处理。

1.2.3 免疫荧光检测 NLRP3 空间表达 神经元经 4%多聚甲醛固定后,驴血清封闭 30 min,加入一抗抗体 (NLRP3 1:50) 4°C 过夜,PBS 洗涤 3 遍,加入驴抗兔荧光二抗抗体 (1:1000) 室温孵育 3 h,PBS 洗涤 5 遍,Hoechst 染料染核 5 min,PBS 洗涤 5 遍,镜检。

1.2.4 Western blot 检测 NLRP3 蛋白表达 收集各组处理过的神经元,提取细胞总蛋白,考马斯亮蓝法测定蛋白浓度,聚丙烯酰胺凝胶电泳,分离蛋白后转移到硝酸纤维素膜上,与 NLRP3 (1:500)、 β -actin (1:2 000) 抗体结合,然后与辣根过氧化物酶标记的二抗结合,电发光法显色后照相。最后用凝胶成像系统 (Image master VDS) 摄影,图像分析软件 (Image J) 行灰度扫描分析。以目的蛋白与 β -actin 的蛋白产物条带灰度值之比作为其蛋白水平的相对量。并进行扫描图像分析仪计算蛋白条带的表达。

1.2.5 标准 ELISA 试剂盒检测 IL-1 β 和 IL-18 表达变化 将 HT22 细胞接种于 96 孔板中,同体外培养 HT22 细胞缺血再灌注损伤的制作、Vit C 预处理及分组,按照 ELISA 试剂盒流程

进行 IL-1 β 和 IL-18 表达变化的检测。

1.2.6 统计学分析 应用 GraphPad 软件对数据进行处理。实验数据计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间均数比较采用单因素方差分析 (one way ANOVA),组间两两比较采用 Dunnett 检验进行统计分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Vit C 预处理对 HT22 细胞的影响及 NLRP3 空间表达定位

与 Sham 组比较,Con 组神经细胞发生死亡,存活神经细胞中 NLRP3 的染色阳性率很高 (图 1);与 Con 组比较,Vit C $10 \mu\text{mol/L}$ 和 $50 \mu\text{mol/L}$ 组神经细胞死亡数量减少,且 NLRP3 染色阳性率较高 (图 1)。上述结果提示缺血性损伤后,HT22 细胞发生焦亡,VitC 预处理后可能有效降低 NLRP3 表达,减轻 HT22 细胞焦亡。

2.2 Vit C 预处理对 HT22 细胞中 NLRP3 蛋白表达水平的影响

Western-blot 实验结果表明,与 Sham 组比较,Con 组中 NLRP3 表达水平增高,差异具有统计学意义 ($P < 0.01$),而 Vit C10 和 $50 \mu\text{mol/L}$ 组中 NLRP3 表达水平也增高 (图 2),差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);与 Con 组比较,Vit C10 和 $50 \mu\text{mol/L}$ 组的 NLRP3 表达水平较低 (图 2),差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$);与 Vit C $10 \mu\text{mol/L}$ 组比较, $50 \mu\text{mol/L}$ 组中 NLRP3 表达水平虽降低,但无统计学差异性 ($P > 0.05$)。上述结果与免疫荧光结果一致,从半定量角度,更进一步证实 VitC 预处理后可有效降低 NLRP3 表达水平,减轻因缺血造成的 HT22 细胞焦亡。

2.3 Vit C 预处理对 HT22 细胞中 IL-1 β 和 IL-18 表达水平的影响

和 NLRP3 的变化情况相似,与 Sham 组比较,炎性因子 IL-1 β 和 IL-18 的释放水平在 Con 组,Vit C 10 和 $50 \mu\text{mol/L}$ 组均高表达,差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$);同时,Vit C 低剂量和高剂量组间无差异 ($P > 0.05$)。由于 IL-1 β 和 IL-18 的释放水平标志细胞焦亡水平,因此提示,Vit C 可通过降低炎性因子 IL-1 β 和 IL-18 的释放水平,显著减轻 HT22 细胞焦亡。

3 讨论

TBI 是一种平、战时都十分常见的损伤,致残、致死率极高。其中闭合性损伤 (特别是轻伤) 则一时难以确定,后续某些症状逐渐表现出来,给个人工作和生活造成不同程度的影响。美国康复医学会对 TBI 的定义为外力引起的创伤性结构损伤和/或脑功能障碍,提示治疗 TBI 要从结构修复和功能障碍改善两方面着手,但目前由于 TBI 发生发展的分子病理机制不清楚,研发的治疗手段效果均欠佳^[7-9]。大量研究表明,TBI 后神经细胞会发生一系列反应,特别是原发性损伤会导致细胞膜破裂,血管破裂及血脑屏障破坏,随即出现离子失衡、兴奋性氨基酸释放、钙离子超载和线粒体功能障碍等,最终造成细胞死亡^[10,11]。而受损神经细胞释放的大量内源性因子,如炎症小体、线粒体 DNA、热激蛋白和高迁移率族蛋白,它们作为 DAMP 与 NF- κ B 和 TLR 结合,引起多种趋化因子和促炎性细胞因子的释放,加重神经细胞受损,乃至死亡^[12-14]。有研究表明,利用特异性 NLRP3 抑制剂可减轻 TBI 后以神经炎症为特征的损伤。这种

以 NLRPs、ASC 与 Caspase-1 形成炎性小体为特征,造成细胞死亡的形式,称之为焦亡^[15,16]。细胞发生焦亡时,呈充气球样,DNA 和染色体损伤并浓缩,但胞核等完整,胞膜脱离后细胞出

现胀破、溶解,在许多遗传病、自身炎症性疾病和肿瘤等疾病中扮演着重要的角色^[17-19]。

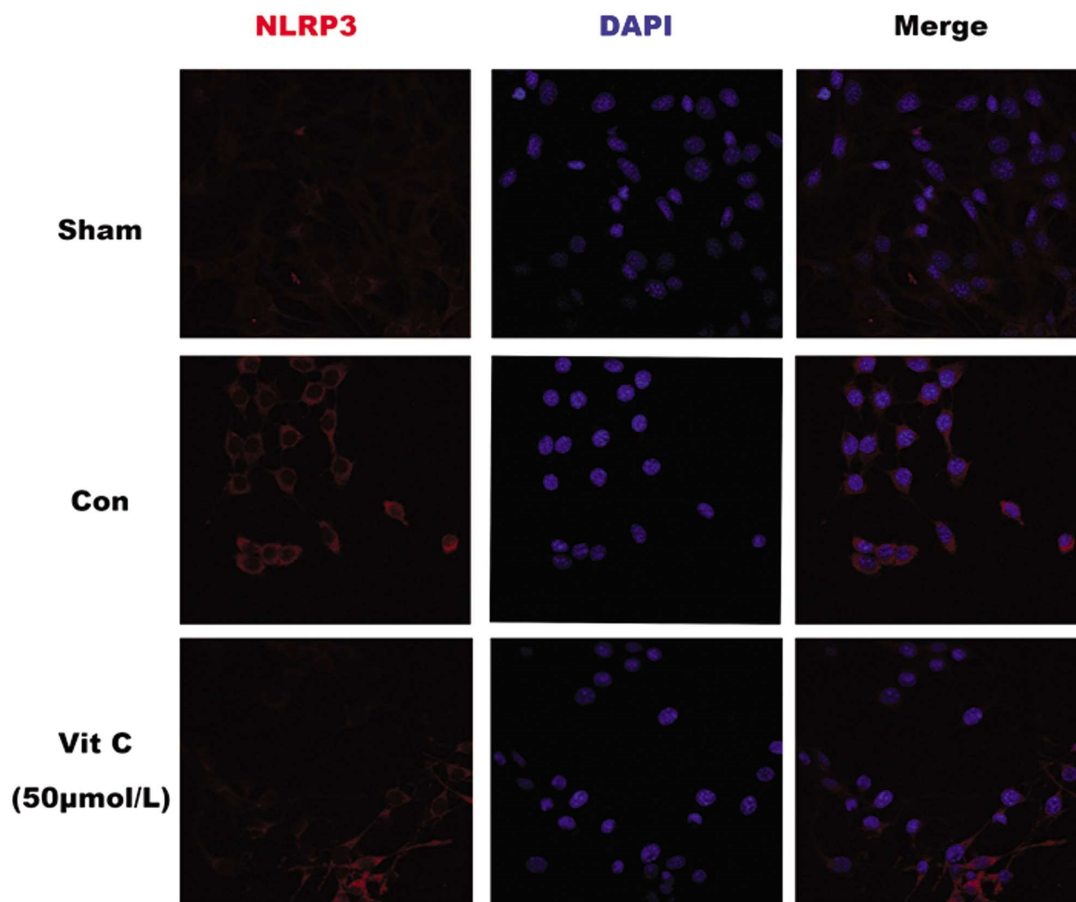


图 1 HT22 细胞 NLRP3 免疫组织化学图像(免疫荧光染色,× 400)(DAPI: 4',6-二脒基-2-苯基吲哚)

Fig.1 NLRP3 protein in four groups of HT22 cells by immunohistochemistry(immunofluorescent staining,× 400)

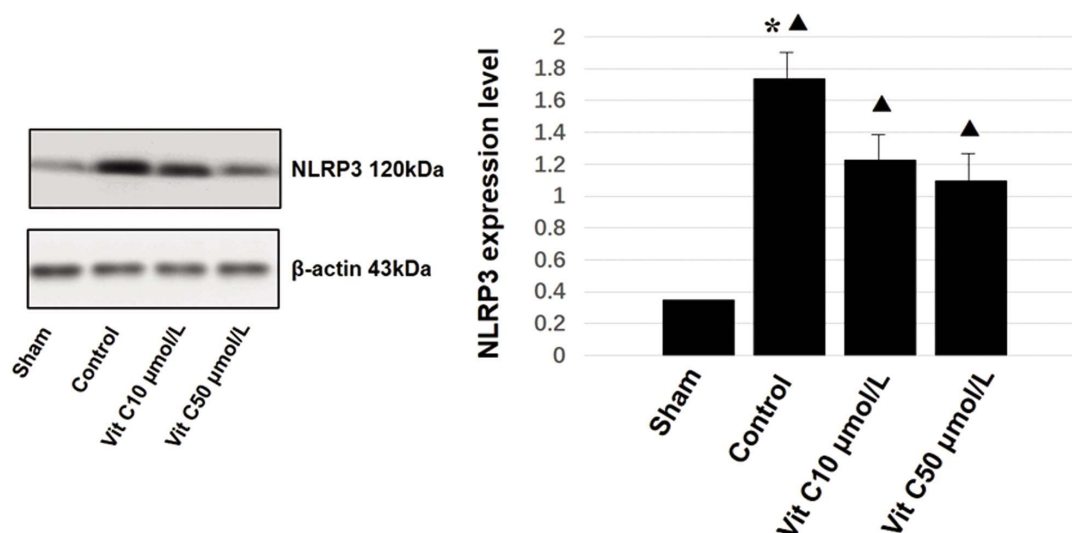


图 2 蛋白印迹检测 NLRP3 蛋白在各组中的表达变化

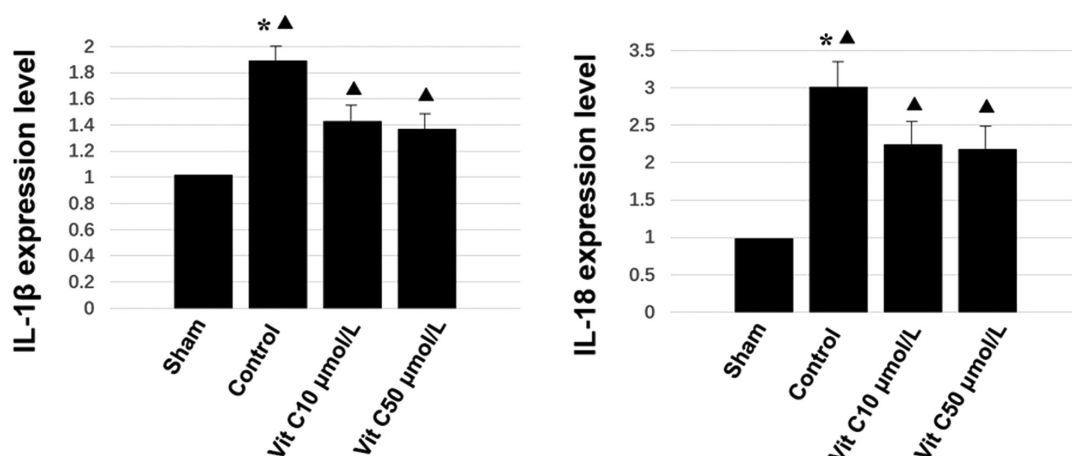
Fig.2 Detection of NLRP3 expression in the neurons of each group by western blot

与 Sham 组比较 ▲ $P<0.05$ * $P<0.01$; 与 Con 组比较 ▲ $P<0.05$

Compare with Sham group ▲ $P<0.05$ * $P<0.01$; Compare with Con group ▲ $P<0.05$

最新的研究提示,脑缺血性损伤后,受损细胞中 NLRP3 和 Caspase-1 等组成的炎性小体复合物形成,表达增高,激活炎性

因子 IL-1 β 和 IL-18 大量释放,造成细胞死亡,加重缺血性脑损伤^[20]。而本研究中,我们采用划痕神经细胞手段模拟 TBI,结果

图3 标准 ELISA 试剂盒检测 IL-1 β 和 IL-18 的表达变化Fig.3 Detection of IL-1 β and IL-18 expression in the neurons of each group by the standard ELISA kit与 Sham 组比较 ▲ $P<0.05$ * $P<0.01$; 与 Con 组比较 ▲ $P<0.05$ Compare with Sham group ▲ $P<0.05$ * $P<0.01$; Compare with Con group ▲ $P<0.05$

发现,受损的神经细胞内 NLRP3 染色高阳性率,且主要分布在细胞质和细胞膜上,细胞核未见表达,与上述文献结果一致。同时,代表焦亡水平的炎症因子 IL-1 β 和 IL-18 也显著大量释放,加重神经细胞发生焦亡,提示我们寻找有效拮抗神经炎症,特别是抑制炎症小体形成等的药物或方法可改善 TBI 的预后。

流行病学调查结果提示,应用血浓度较高的抗氧化有机物或从食物摄取剂量较大的抗氧化维生素,可有效降低感染、肿瘤及心脑血管疾病等的发生率^[21,22]。VitC 是一种多羟基化合物,化学式为 $C_6H_8O_6$ 。其具有酸的性质,又称抗坏血酸。维生素 C 具有很强的还原性,很容易被氧化成脱氢维生素 C,但其反应是可逆的,并且抗坏血酸和脱氢抗坏血酸具有同样的生理功能,作为一种电子供体,具有很强的抗氧化作用。在人体内,维生素 C 是高效抗氧化剂,用来减轻抗坏血酸过氧化物酶 sch 的氧化应激反应^[5,6]。许多研究发现它具有抗炎、免疫调节、延缓衰老、神经保护和抗凋亡等功能,是一种潜在辅助治疗脓毒症等感染性疾病的有效药物^[23]。因此,课题组认为,是否可以利用 VitC 这种强氧化剂,通过减轻氧化应激损伤抑制炎症反应,特别是炎症小体的形成,有效的降低神经细胞焦亡,最终治疗 TBI 本研究主要通过体外 HT22 细胞模型验证 VitC 对 TBI 的影响和分子机制。

Chen 等最新报道^[24],紫外线 B 容易造成婴幼儿角膜损伤,利用小鼠模型,发现 40 mg/kg Vit C 可有效降低炎症因子 IL-1, IL-6, 和 TNF- α 的大量释放,减轻炎症反应,挽救受损细胞。而与之相反的一篇文献报道^[25],利用高压气流损伤视网膜的模型中,低剂量 Vit C 先增加视网膜过氧化物,降低 SOD2,进一步激活 caspase-1 活化,并增加 IL-1 α , IL-1 β 和 IL-18 释放水平,加剧细胞损伤,乃至死亡,而利用 Vit E 或高剂量 Vit C 则可逆转这一变化,明显改善轴突变性和视力丧失。这些结果提示,氧化应激可诱导视觉系统神经外伤后炎症信号的启动和激活,尤其应用高剂量 Vit C 等抗氧化剂不仅可减少氧自由基的释放,更可以有有效的调控炎症因子的释放,避免炎症级联反应的发生,具有重要的抗炎作用。因此,本实验中采用 Western-blot,免疫荧光等方法,特别是炎症因子检测试剂盒观察细胞焦亡情况,并观察 VitC 对 HT22 细胞生物学功能的影响。结合我们的

研究结果:应用低剂量(10 μ mol/L)和高剂量(50 μ mol/L) Vit C 预处理 72 h 后,与损伤对照组比较,免疫荧光结果显示神经细胞焦亡数量减少,但 NLRP3 染色阳性率较高。免疫印迹结果为 Vit C10 和 50 μ mol/L 组的 NLRP3 表达水平较低,差异均有统计学意义。同时,神经细胞损伤后大量释放的 IL-1 β 和 IL-18 也被 VitC 显著降低,明显减轻神经细胞焦亡。但我们的结果显示低剂量和高剂量的 VitC 虽然均可降低 NLRP3 的表达,对神经细胞均有治疗作用,但组间无差异性。可能的保护作用机制是显著降低 NLRP3 为核心的炎症小体复合物的表达,进而降低炎症因子 IL-1 β 和 IL-18 的大量释放,阻断炎症反应信号的激活,从而降低神经细胞焦亡。本文没有采用上、下调 NLRP3 的方法更深入的探讨其作用机制,后续实验我们将强化这方面的研究。

结合文献,我们发现,包括视神经细胞在内的神经细胞受损后,细胞即刻发生的氧化应激和炎症协同加重细胞损伤及死亡,虽然低剂量 Vit C 对这种损伤或死亡的疗效研究结果不一,但高剂量的 Vit C 具有肯定的疗效,而这种保护作用可能是通过抑制 NLRP3 信号通路,显著减轻 IL-1 β 等炎症因子的释放,阻断炎症信号通路,挽救受损神经细胞,发挥重要的神经保护作用。

参考文献(References)

- [1] Khellaf A, Khan DZ, Helmy A. Recent advances in traumatic brain injury[J]. J Neurol, 2019, 266(11): 2878-2889
- [2] Ladak AA, Enam SA, Ibrahim MT. A Review of the Molecular Mechanisms of Traumatic Brain Injury [J]. World Neurosurg, 2019, 131: 126-132
- [3] Mangan MSJ, Olhava EJ, Roush WR, et al. Targeting the NLRP3 inflammasome in inflammatory diseases [J]. Nat Rev Drug Discov, 2018, 17(8): 588-606
- [4] Zhou R, Yazdi AS, Menu P, et al. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation[J]. Nature, 2011, 469(7329): 221-225
- [5] Sauberlich HE. Pharmacology of vitamin C [J]. Annu Rev Nutr, 1994, 14: 371-391
- [6] Monacelli F, Acquarone E, Giannotti C, et al. Vitamin C, Aging and Alzheimer's Disease[J]. Nutrients, 2017, 9(7): 670

- [7] 王正国, 张良. 创伤性脑损伤 [J]. 中华急诊医学杂志, 2015, 24(5): 465-466
- [8] Kay T, Harrington DE, Adams R, et al. Mild traumatic brain injury committee of the head injury interdisciplinary special interest group of the American Congress of Rehabilitation Medicine: definition of mild traumatic brain injury [J]. J Head Trauma Rehabil, 1993, 8(1): 86-87
- [9] Dixon KJ. Pathophysiology of Traumatic Brain Injury [J]. Phys Med Rehabil Clin N Am, 2017, 28(2): 215-225
- [10] Chitturi J, Santhakumar V, Kannurpatti SS. Beneficial Effects of Kaempferol after Developmental Traumatic Brain Injury Is through Protection of Mitochondrial Function, Oxidative Metabolism, and Neural Viability[J]. J Neurotrauma, 2019, 36(8): 1264-1278
- [11] Dorsett CR, McGuire JL, DePasquale EA, et al. Glutamate Neurotransmission in Rodent Models of Traumatic Brain Injury[J]. J Neurotrauma, 2017, 34(2): 263-272
- [12] Corps KN, Roth TL, McGavern DB. Inflammation and neuroprotection in traumatic brain injury[J]. JAMA Neurol, 2015, 72(3): 355-362
- [13] 宋鸽, 程世翔, 刘晓银, 等. 创伤性脑损伤后神经炎症药物治疗的研究进展[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2020, 2: 253-256
- [14] Jassam YN, Izzy S, Whalen M, et al. Neuroimmunology of Traumatic Brain Injury: Time for a Paradigm Shift [J]. Neuron, 2017, 95(6): 1246-1265
- [15] Shi J, Gao W, Shao F. Pyroptosis: Gasdermin-Mediated Programmed Necrotic Cell Death[J]. Trends Biochem Sci, 2017, 42(4): 245-254
- [16] Frank D, Vince JE. Pyroptosis versus necroptosis: similarities, differences, and crosstalk[J]. Cell Death Differ, 2019, 26(1): 99-114
- [17] 梅旦, 张玲玲, 魏伟. 细胞焦亡机制及与疾病的关系 [J]. 生理科学进展, 2020, 2: 151-156
- [18] Swanson KV, Deng M, Ting JP. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics [J]. Nat Rev Immunol, 2019, 19(8): 477-489
- [19] Mangan MSJ, Olhava EJ, Roush WR, et al. Targeting the NLRP3 inflammasome in inflammatory diseases [J]. Nat Rev Drug Discov, 2018, 17(8): 588-606
- [20] 秦灵芝, 李玮, 王晓娟, 等. 白藜芦醇预处理减轻神经元焦亡及对神经元缺血性损伤的保护作用 [J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2019, 48(1): 38-41
- [21] Satheesh NJ, Samuel SM, Büsselberg D. Combination Therapy with Vitamin C Could Eradicate Cancer Stem Cells [J]. Biomolecules, 2020, 10(1): 79
- [22] Jafari T, Fallah AA, Reyhanian A, et al. Effects of pomegranate peel extract and vitamin E on the inflammatory status and endothelial function in hemodialysis patients: a randomized controlled clinical trial[J]. Food Funct, 2020, 11(9): 7987-7993
- [23] Fowler AA, Truitt JD, Hite RD, et al. Effect of Vitamin C Infusion on Organ Failure and Biomarkers of Inflammation and Vascular Injury in Patients With Sepsis and Severe Acute Respiratory Failure: The CITRIS-ALI Randomized Clinical Trial [J]. JAMA, 2019, 322(13): 1261-1270
- [24] Chen W, Guo J, Guo H, et al. Protective Effect of Vitamin C against Infancy Rat Corneal Injury Caused by Acute UVB Irradiation [J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 8089273
- [25] Bernardo-Colón A, Vest V, Clark A, et al. Antioxidants prevent inflammation and preserve the optic projection and visual function in experimental neurotrauma[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(11): 1097

(上接第 4645 页)

- [21] 李忱菲, 周新, 李锋. 线粒体自噬在 COPD 发病机制中作用的研究进展[J]. 国际呼吸杂志, 2020, 40(8): 628-632
- [22] Zhang Y, Do DC, Hu X, et al. CaMKII oxidation regulates cockroach allergen-induced mitophagy in asthma [J]. J Allergy Clin Immunol, 2021, 147(4): 1464-1477. e11
- [23] Kim HJ, Woo J, Nam YR, et al. Flos Magnoliae and its Constituent Linoleic Acid Suppress T Lymphocyte Activation via Store-Operated Calcium Entry[J]. Am J Chin Med, 2019, 47(7): 1627-1641
- [24] Flores-Flores A, Estrada-Soto S, Millán-Pacheco C, et al. Functional mechanism of tracheal relaxation, antiasthmatic, and toxicological studies of 6-hydroxyflavone[J]. Drug Dev Res, 2019, 80(2): 218-229
- [25] Srisomboon Y, Squillace DL, Maniak PJ, et al. Fungal allergen-induced IL-33 secretion involves cholesterol-dependent, VDAC-1-mediated ATP release from the airway epithelium [J]. J Physiol, 2020, 598(10): 1829-1845
- [26] Shimada T, Takahashi K, Tominaga M, et al. Identification of molecular targets for toxic action by persulfate, an industrial sulfur compound[J]. Neurotoxicology, 2019, 72(5): 29-37
- [27] Heras AF, Veerappan A, Silver RB, et al. Increasing Sphingolipid Synthesis Alleviates Airway Hyperreactivity[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2020, 63(5): 690-698
- [28] Ding S, Zhang J, Yin S, et al. Inflammatory cytokines tumour necrosis factor- α and interleukin-8 enhance airway smooth muscle contraction by increasing L-type Ca²⁺ channel expression [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2019, 46(1): 56-64
- [29] Wang L, Ginnan RG, Wang YX, et al. Interactive Roles of CaMKI-I/Ryanodine Receptor Signaling and Inflammation in Lung Diseases [J]. Adv Exp Med Biol, 2021, 1303(1): 305-317
- [30] Bergantin LB. The Interplay Between Asthma and Other Diseases: Role of Ca²⁺/cAMP Signalling[J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2020, 20(3): 321-327