

# AHR/SOCS2 通路调控氧糖剥夺再灌注星形胶质细胞炎症反应的研究

叶涵斌, 黄维一, 任冰焱, 邵君飞

**【摘要】** 目的 探讨芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AHR)/细胞因子信号转导抑制因子 2(suppressor of cytokine signaling 2, SOCS2)通路对氧糖剥夺再灌注(oxygen glucose deprivation/reperfusion, OGD/R)后星形胶质细胞炎症反应的影响。方法 体外分离培养大鼠星形胶质细胞,建立 OGD/R 星形胶质细胞模型。将细胞分为以下各组:ctrl 组(正常培养),OGD/R 组,OGD/R + 阴性对照组,OGD/R + AHR 过表达组,OGD/R + AHR 过表达 + SOCS2 敲减组。采用 Western blot 和 RT-PCR 检测各组 AHR、SOCS2 和炎症因子表达,验证 SOCS2 能否阻断 AHR 调控的 OGD/R 后星形胶质细胞炎症因子肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素 6(interleukin 6, IL-6)、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的表达。结果 AHR、SOCS2 过表达后 TNF- $\alpha$ 、IL-6、iNOS 表达水平升高,抑制 SOCS2 表达可阻断 AHR 对 TNF- $\alpha$ 、IL-6、iNOS 表达的上调作用。结论 AHR/SOCS2 通路参与调控 OGD/R 后的星形胶质细胞炎症反应。

**【关键词】** 星形胶质细胞; 氧糖剥夺再灌注; AHR; SOCS2; 炎症因子

**【中图分类号】** R739.41 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-7770(2019)03-0235-07

**AHR/SOCS2 pathway regulates astrocyte inflammatory response induced by cerebral ischemia reperfusion injury** YE Han-bin, HUANG Wei-yi, REN Bing-yan, et al. Department of Neurosurgery, the Affiliated Wuxi People's Hospital of Nanjing Medical University, Wuxi 214000, China

Corresponding author: SHAO Jun-fei

**Abstract: Objective** To investigate the role of AHR/SOCS2 pathway on astrocyte inflammatory response after oxygen deprivation. **Methods** Astrocytes (AS) were isolated and cultured in vitro to establish astrocyte oxygen glucose deprivation(OGD/R) model. AS were divided into the following groups as ctrl group(normal culture), OGD/R group, OGD/R + negative control group, OGD/R + AHR overexpression group, OGD/R + AHR overexpression + SOCS2 knockdown group. Western blot and RT-PCR were used to detect the expression of AHR, SOCS2 and inflammatory factors in each group. It was used to confirm whether SOCS2 could block the expression of AS inflammatory factors TNF- $\alpha$ , IL-6 and iNOS after OGD/R which was regulated by AHR. **Results** The expression levels of TNF- $\alpha$ , IL-6 and iNOS were increased after overexpression of AHR and SOCS2. Knocking down SOCS2 could block the up-regulation of TNF- $\alpha$ , IL-6 and iNOS which was caused by AHR. **Conclusion** The AHR/SOCS2 pathway is involved in the regulation of AS inflammation after OGD/R.

**Key words:** astrocyte; OGD/R; AHR; SOCS2; inflammatory factors

缺血性脑卒中是一种严重危害人类生命的疾

基金项目:国家自然科学基金(81701216);江苏省自然科学基金青年基金(BK20160197);江苏省自然科学基金(BK20161140);中国无锡青年医学人才(QNRC086)

作者单位:214000 无锡,南京医科大学附属无锡人民医院神经外科(叶涵斌,黄维一,邵君飞),神经内科(任冰焱)

通信作者:邵君飞

病,是导致成年人永久性残疾的最常见原因<sup>[1]</sup>。目前临床上治疗缺血性脑卒中唯一被证实有效的是早期静脉注射重组组织型纤溶酶原激活剂(rt-PA)和机械取栓,但是由于存在严格的时间窗,导致其临床应用受到极大的限制<sup>[2]</sup>。缺血性脑卒中的发生发展涉及不同的发病机制,但越来越多的证据表明,先

天免疫途径的激活在其致病进展中起了关键作用<sup>[3]</sup>。星形胶质细胞是大脑中最丰富的细胞类型,大量证据表明其在中枢神经系统免疫反应的局部调节中具有重要作用<sup>[4]</sup>。芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AHR)是一种配体激活的转录因子,属螺旋-环-螺旋(HLH)超家族中的 bHLH-PAS 亚家族成员<sup>[5]</sup>。有研究证明 AHR 活化在中枢神经系统炎症中起重要作用<sup>[6]</sup>。因此,明确缺血性脑卒中发生过程中 AHR 对炎症反应的调控作用,对缺血性脑卒中的治疗具有重要意义。SOCS2 是炎症因子和生长因子信号通路的重要调节因子;有研究表明,SOCS2 可能参与先天性和适应性免疫细胞的分化,从而有助于形成炎症反应<sup>[7-8]</sup>。有研究显示 SOCS2 蛋白参与模式识别受体(PRR)信号传导,尤其是在 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLR)活化时上调并调节白介素 1 $\beta$ (interleukin 1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )和白介素 10(interleukin 10, IL-10)的表达<sup>[9]</sup>,在 TLR8 和核苷酸寡聚化结构域(NOD)样受体(NLR)信号传导下,SOCS2 在单核细胞衍生的树突细胞中被诱导,从而控制促炎性介质从树突细胞(DC)的释放<sup>[10]</sup>。在心肌炎及糖尿病患者中,AHR 能够通过调控 SOCS2,进一步调节炎症反应发展过程<sup>[11-12]</sup>。由此假设 SOCS2 可能参与 AHR 的炎症调控过程。本研究建立体外星形胶质细胞的氧糖剥夺再灌注(oxygen glucose deprivation/reperfusion, OGD/R)模型,探讨 OGD/R 对星形胶质细胞相关炎症因子表达的影响,及其潜在的机制;明确 AHR/SOCS2 对 OGD/R 后星形胶质细胞炎症反应的调控作用。为星形胶质细胞在缺血性脑卒中的作用提供新的理论基础及治疗靶点。

## 1 材料与方 法

1.1 材料 Wistar 大鼠购自常州市卡文斯实验动物有限公司,动物实验程序经南京医科大学伦理委员会批准;所有手术均在戊巴比妥钠麻醉下进行,努力减少动物的痛苦。本实验用 DMEM/F12 完全培养基常规传代培养,DMEM/F12 培养基(美国 Thermo 公司)使用时用 10% 新生牛血清配制成 DMEM/F12 完全培养液;胎牛血清(以色列 BI 公司);细胞 RNA 抽提试剂盒(日本 TAKARA 公司);RNA 逆转录试剂盒、实时定量 PCR 试剂盒 SYBR Premix Ex Taq<sup>TM</sup> II(DRR081A)(日本 TAKARA 公司);引物(上海生工生物工程有限公司设计合成);AHR 抗体、SOCS2 抗体(美国 abcam 公司)。

### 1.2 方 法

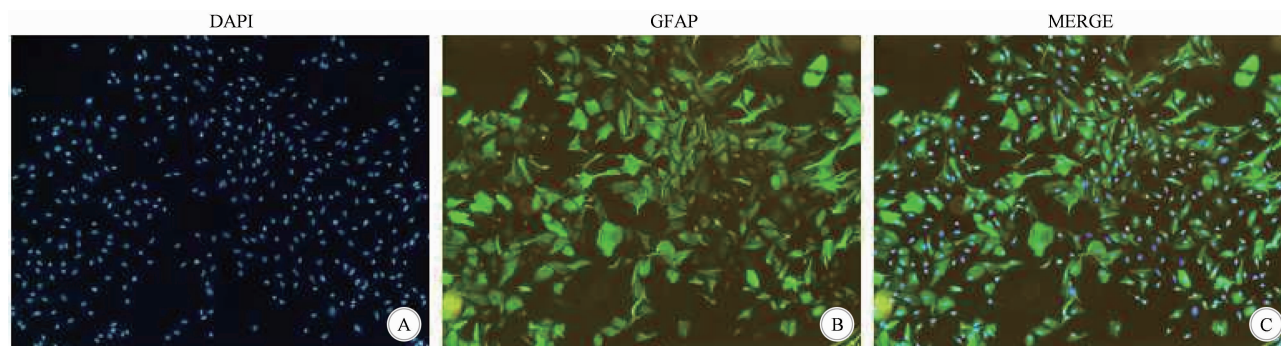
1.2.1 体外星形胶质细胞原代培养 将出生 1 d

内的 Wistar 大鼠浸泡于 75% 乙醇消毒、断头处死,在无茵条件下剪开大鼠颅骨取脑。将鼠脑置于装有预冷 D-Hank's 平衡盐溶液的培养皿中,显微镜下用眼科镊剥离脑血管和脑膜,分离出双侧大脑皮层。迅速将分离好的大脑皮层移入新的培养皿,用眼科剪将其剪碎,加入 0.125% 胰酶,37 °C 消化 15 min,每隔 5 min 取出用吸管吹打。然后,加入含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养液(完全培养基)终止消化,1 000 r/min 离心 10 min,去上清。用完全培养基重悬细胞,筛网过滤,收集滤液,1 000 r/min 离心 10 min;收集沉淀、重悬方法同前,以  $1 \times 10^6$ /mL 密度种植于多聚赖氨酸铺底的培养瓶。置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中,每 3 d 换液 1 次;待细胞铺满瓶底时,将培养瓶固定于 37 °C 水平摇床,260 r/min 摇动 12 h,以去除少突胶质细胞和小胶质细胞。将旧培养基倒去,PBS 平衡盐溶液洗 2 遍;然后,加入 0.25% 胰酶。当细胞变圆、变透亮时,加入完全培养基终止消化,吹打瓶底,使细胞完全脱壁,计数后,根据实验要求,接种至培养板;将培养板置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。

1.2.2 星形胶质细胞的免疫荧光鉴定 将星形胶质细胞按  $1.0 \times 10^5$ /mL 密度,种植在预先放有多聚赖氨酸包被的细胞爬片的 6 孔培养板中,37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱孵育,待密度合适时取出,弃去旧培养基,用 PBS 洗 3 次,4% 多聚甲醛室温固定 30 min;PBS 洗 3 次;0.2% TritonX-100 透膜 10 min,PBS 洗 3 次。10% 羊血清封闭 1 h 后,加入 1:400 稀释的一抗小鼠抗胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP),湿盒 4 °C 过夜;PBS 洗 3 次,加入 1:200 稀释的 FITC 标记的羊抗小鼠的二抗,室温避光孵育 45 min;PBS 洗 3 次,用 DAPI 染核,室温孵育 10 min;PBS 洗 3 次,用 50% 甘油封片,置于荧光显微镜 100 倍下观察(图 1)。

### 1.2.3 OGD/R 细胞模型构建及慢病毒转染

(1)借鉴 Guo 等<sup>[13]</sup>的实验方法构建体外 OGD/R 星形胶质细胞模型。首先弃去六孔板内的培养基,将长至 70% ~ 80% 融合的星形胶质细胞用无糖 DMEM 浸洗 2 遍,每孔加入 2 mL 无胎牛血清的无糖 DMEM,将六孔板放入含 5% CO<sub>2</sub>、95% 氮的 37 °C 培养箱,孵育 6 h;弃去培养基,PBS 洗 3 遍,加入完全培养基后放入 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱孵育,模拟再灌注损伤。ctrl 组不做任何处理,继续原培养条件培养。(2)取对数生长期的星形胶质细胞,以适宜的细胞数接种于 6 孔板,待细胞生长至 10% ~ 20% 融合度时进行病毒感染,转染阴性对照病毒、



A:DAPI(蓝); B:GFAP(绿),显示星形胶质细胞的标志物 GFAP 表达阳性; C:DAPI 和 GFAP 的融合,GFAP 细胞的阳性率达 95%  
图 1 星形胶质细胞的免疫荧光鉴定

AHR 过表达病毒、SOCS2 过表达病毒,同时转染 AHR 过表达病毒和 SOCS2 敲减病毒。采用实时 RT-PCR 检测 AHR、SOCS2 转染效率。转染成功后的星形胶质细胞用于后续 OGD/R 处理。

1.2.4 实验细胞分组 (1)为了检测 OGD 6 h 不同 R 时间处理后细胞的 TNF- $\alpha$ 、IL-6、iNOS、AHR、SOCS2 表达水平的动态变化,将细胞分为以下 4 组:对照组(ctrl 组)、OGD 6 h/R 0 h(6-0 组)、OGD 6 h/R 6 h(6-6 组)、OGD 6 h/R 12h(6-12 组)。(2)为了明确 AHR、SOCS2 能否调控 OGD/R 炎性因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6、iNOS 表达,将细胞分为 OGD/R + 阴性对照组(NC 组)、OGD/R + AHR 过表达组和 OGD/R + SOCS2 过表达组。(3)为了明确 AHR 能否通过 SOCS2 调控 OGD/R 处理后炎性因子表达,将细胞分为 OGD/R + 阴性对照组(NC 组)、OGD/R + AHR 过表达组及 OGD/R + AHR 过表达 + SOCS2 敲减组。

1.2.5 RNA 分离和 RT-PCR 检测 Trizol 试剂提取培养的星形胶质细胞总 RNA,用逆转录试剂盒从 1  $\mu$ g 总 RNA 中合成 cDNA;最后用 RT-PCR 试剂盒按使用说明程序,每次实验设置 3 个副孔,用 7500 型荧光 PCR 仪检测 AHR、SOCS2、TNF- $\alpha$ 、IL-6、iNOS mRNA 的表达水平。采用比较 CT 分析( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ )获得数据。

1.2.6 Western blot 检测 裂解缓冲液(RIPA)提取蛋白后,用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度。10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳法分离等量蛋白样品(20  $\mu$ L 蛋白/泳道),并转移至 PVDF 膜;室温下用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h 后,用 TBST 清洗 3 次,一抗(SOCS2、AHR 以 1:1 000 稀释,GAPDH 以 1:5 000 稀释)4  $^{\circ}$ C 摇床孵育一夜;TBST 清洗 3 次,HRP 标记的羊抗兔或鼠二抗(1:5 000 稀释)培育 1 h;TBST 清洗 3 次,化学发光试剂曝光检测蛋白条带;用 Image J 灰度分析软件进行图像分析。

1.3 统计学方法 采用 SPSS18.0 软件进行数据比较和分析。各组均数间差异先用单因素方差分析,

再用最小显著性差异检验; $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

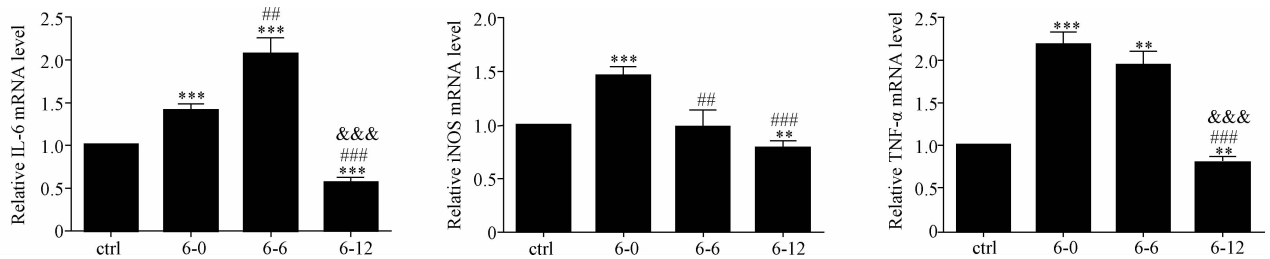
2.1 OGD/R 后星形胶质细胞中炎症因子表达水平 RT-PCR 检测结果显示,IL-6 mRNA 表达水平:与 ctrl 组相比,OGD/R 6-0 组和 6-6 组显著升高(均  $P < 0.001$ ),OGD/R 6-12 组明显降低( $P < 0.01$ );与 OGD/R 6-0 组相比,OGD/R 6-6 组显著升高( $P < 0.01$ ),6-12 组明显下降( $P < 0.001$ );与 OGD/R 6-6 组相比,OGD/R 6-12 组明显下降( $P < 0.001$ ) (图 2)。iNOS mRNA 表达水平:与 ctrl 组相比,OGD/R 6-0 组显著升高( $P < 0.001$ ),6-12 组明显降低( $P < 0.01$ ),6-6 组的差异无统计学意义;与 OGD/R 6-0 组相比,OGD/R 6-6 组和 6-12 组明显降低(均  $P < 0.01$ );与 OGD/R 6-6 组相比,OGD/R 6-12 组的差异无统计学意义(图 2)。TNF- $\alpha$  mRNA 表达水平:与 ctrl 组相比,OGD/R 6-0 组和 6-6 组显著升高(均  $P < 0.001$ ),6-12 组明显降低( $P < 0.01$ );与 OGD/R 6-0 组相比,OGD/R 6-6 组的差异无统计学意义,6-12 组明显降低( $P < 0.001$ );与 OGD/R 6-6 组相比,OGD/R 6-12 组明显降低( $P < 0.001$ ) (图 2)。结果表明 OGD/R 处理后,炎性因子 IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS mRNA 的表达水平随再灌注时间的变化呈现出“升高-降低”的趋势,并且在再灌注 12 h 达到低点。为进一步研究相关机制,选择 OGD/R 6-12 组细胞进行后续实验。

2.2 OGD/R 后星形胶质细胞中 AHR、SOCS2 蛋白和 mRNA 的表达水平 Western blot 和 RT-PCR 检测结果显示,AHR 蛋白表达水平:与 ctrl 组相比,OGD/R 6-0 组和 6-6 组显著升高,6-12 组明显降低(图 3A)。AHR mRNA 表达水平:与 ctrl 组相比,OGD/R 6-6 组显著升高( $P < 0.05$ ),6-0 组的差异无统计学意义,6-12 组明显降低( $P < 0.001$ );与 OGD/R

R 6-0 组相比, OGD/R 6-6 组显著升高 ( $P < 0.001$ ), 6-12 组明显下降 ( $P < 0.01$ ); 与 OGD/R 6-6 组相比, 6-12 组明显下降 ( $P < 0.001$ ) (图 3B)。SOCS2 蛋白表达: 与 ctrl 组相比, OGD/R 6-0 和 6-6 组显著升高, 6-12 组明显降低 (图 3A)。SOCS2 mRNA 表达: 与 ctrl 组相比, OGD/R 6-0 组和 6-6 组显著升高 ( $P < 0.05$ ), 6-12 组明显降低 ( $P < 0.001$ ); 与 OGD/R 6-0 组相比, OGD/R 6-6 组显著升高 ( $P < 0.01$ ), 6-12 组明显降低 ( $P < 0.001$ ); 与 OGD/R 6-6 组相比, OGD/R 6-12 组明显降低 ( $P < 0.001$ ) (图 3B)。结果表明, OGD/R 处理后细胞 AHR 与 SOCS2 的表达水平随着再灌注时间的变化也呈现出“升高-降

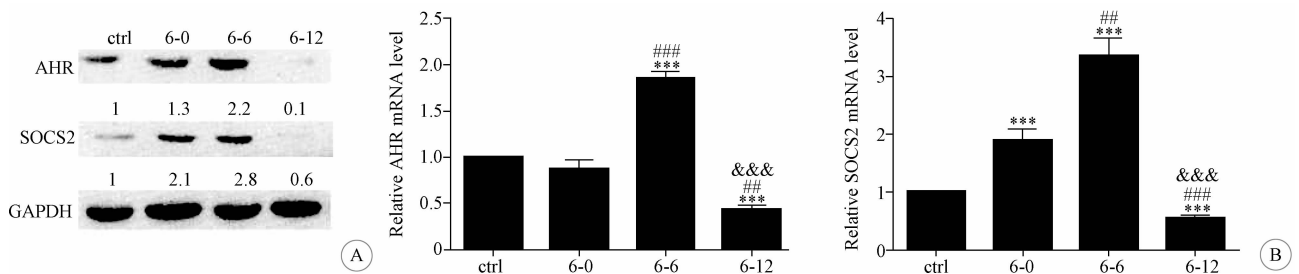
低”的趋势, 再灌注后 12 h 达最低点; 提示 AHR、SOCS2 通路可能参与调控 OGD/R 后星形胶质细胞炎症因子的表达。

2.3 OGD/R 后 AHR 调控星形胶质细胞中 SOCS2 蛋白和炎症因子的表达 与 NC 组相比, OGD/R + AHR 过表达组的 AHR、SOCS2 蛋白和 mRNA 表达水平显著升高 (均  $P < 0.001$ ) (图 4A、4B)。与 NC 组相比, OGD/R + AHR 过表达组的 IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS mRNA 表达水平均显著升高 (均  $P < 0.001$ ) (图 4C)。结果表明, AHR 过表达细胞构建成功, 且 AHR 能够调控 OGD/R 处理后细胞的 SOCS2 及炎症因子 IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS 表达。



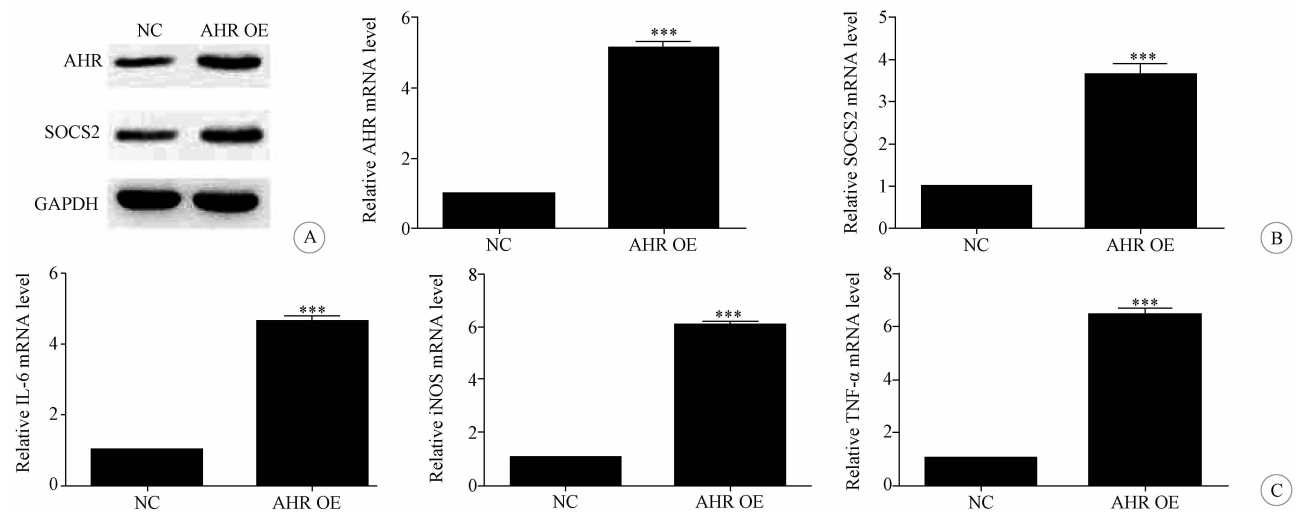
各 OGD/R 组和 ctrl 组细胞的 IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS mRNA 的相对表达水平比较。注: 与 ctrl 组比较 \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ; 与 OGD/R 6-0 组比较 ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$ , 与 OGD/R 6-6 组相比 &&& $P < 0.001$

图 2 OGD/R 后星形胶质细胞中炎症因子的表达水平



A: 各组细胞的 AHR、SOCS2 蛋白表达水平 (GAPDH 为内参照); B: 各组细胞 AHR、SOCS2 mRNA 相对表达水平比较。注: 与 ctrl 组相比 \*\*\* $P < 0.001$ ; 与 OGD/R 6-0 组相比 ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$ ; 与 OGD/R 6-6 组相比 &&& $P < 0.001$

图 3 OGD/R 后星形胶质细胞中 AHR、SOCS2 蛋白和 mRNA 的表达水平



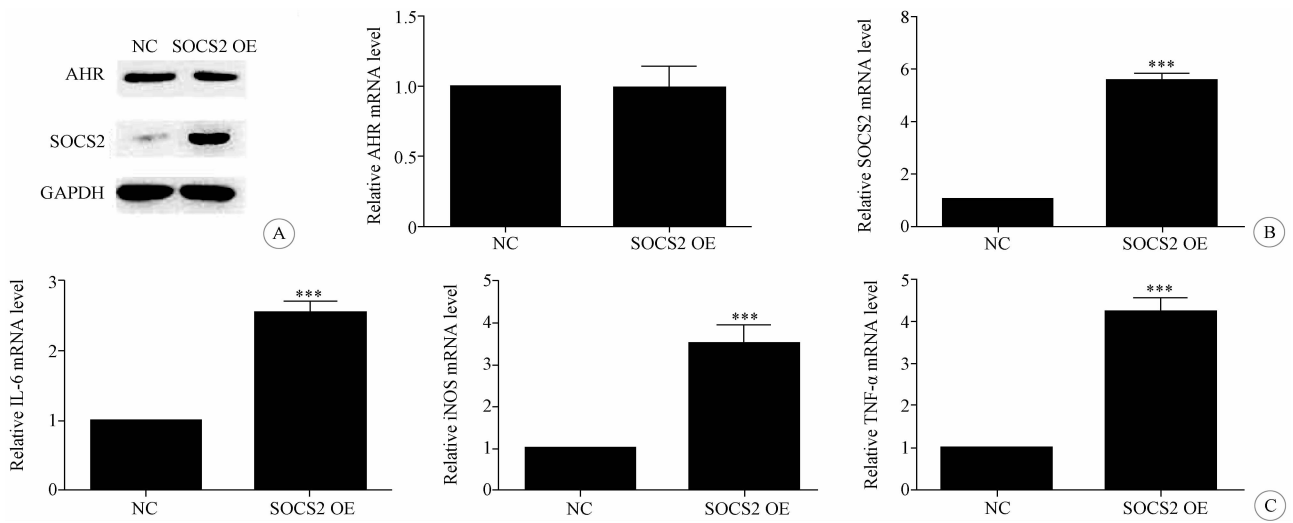
A: AHR、SOCS2 蛋白表达水平 (GAPDH 为内参照); B: AHR 和 SOCS2 mRNA 相对表达水平; C: IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS mRNA 相对表达水平。注: 与 NC 组相比 \*\*\* $P < 0.001$

图 4 OGD/R 后 AHR 调节星形胶质细胞中 SOCS2 和炎症因子的表达水平

2.4 OGD/R 后 SOCS2 调控星形胶质细胞炎症因子的表达 与 NC 组相比,OGD/R + SOCS2 过表达组的 AHR 蛋白和 mRNA 表达水平的差异无统计学意义(图 5A、B),SOCS2 的表达水平显著升高(图 5C)。与 NC 组相比,OGD/R + SOCS2 过表达组的 IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS mRNA 表达水平均显著升高(均  $P < 0.001$ )。结果表明,SOCS2 过表达细胞构建成功,且 SOCS2 能够调控 OGD/R 细胞的 IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS 表达。

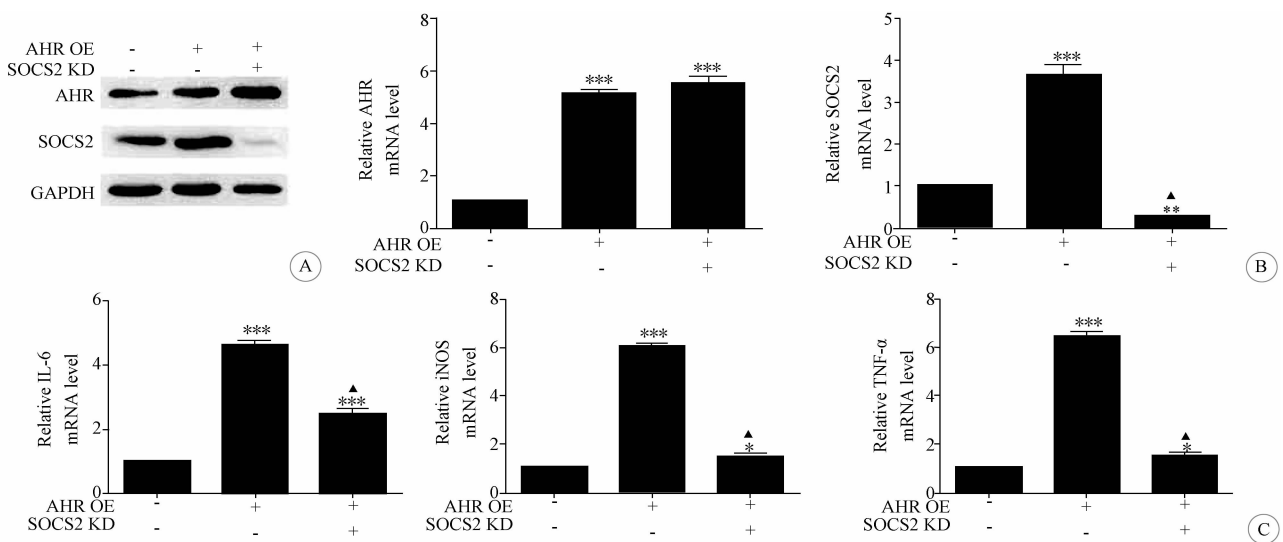
2.5 OGD/R 后 AHR 通过 SOCS2 调控星形胶质细胞炎症因子的表达 与 NC 组相比,OGD/R + AHR

过表达组和 OGD/R + AHR 过表达 + SOCS2 敲减组细胞的 AHR 蛋白和 mRNA 表达水平显著升高(均  $P < 0.001$ ),OGD/R + AHR 过表达组 SOCS2 表达水平的显著升高,OGD/R + AHR 过表达 + SOCS2 敲减组 SOCS2 的表达水平显著降低(均  $P < 0.001$ )(图 6A、B)。与 OGD/R + AHR 过表达组相比,OGD/R + AHR 过表达 + SOCS2 敲减组的 IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS mRNA 表达水平均显著降低(均  $P < 0.001$ )(图 6C)。结果表明,AHR 能够通过调控 SOCS2 影响 OGD/R 细胞的 IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS 表达。



A: AHR, SOCS2 蛋白表达水平 (GAPDH 为内参照); B: AHR, SOCS2 的 mRNA 相对表达水平; C: IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS 的 mRNA 相对表达水平。注:与 NC 组相比 \*\*\* $P < 0.001$

图 5 OGD/R 后 SOCS2 调控星形胶质细胞炎症因子的表达



A: AHR, SOCS2 蛋白表达水平 (GAPDH 为内参照); B: AHR, SOCS2 的 mRNA 相对表达水平; C: IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS 的 mRNA 相对表达水平。

注:与 NC 组相比 \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ;与 AHR OE 组相比  $\blacktriangle P < 0.001$

图 6 OGD/R 后 AHR 通过 SOCS2 调控星形胶质细胞炎症因子的表达

### 3 讨论

脑缺血性损伤由细胞兴奋性毒性<sup>[14]</sup>、线粒体功

能障碍<sup>[15]</sup>、氧化应激<sup>[16]</sup>和炎症反应<sup>[17]</sup>等不同途径介导,具有复杂的相互作用机制;而缺血后再灌注进一步引发炎症反应,造成神经元不可逆性损伤。因此,

减轻炎症反应有利于改善脑缺血性损伤。近来,越来越多的研究证据表明,星形胶质细胞在炎症反应的病理过程中有发挥重要作用的潜力。虽然星形胶质细胞不是传统的炎症细胞,但其是中枢神经系统中最为丰富的细胞。已知星形胶质细胞能表达不同类型的炎症介质(细胞因子和趋化因子),可调节白细胞浸润,调节小胶质细胞、少突胶质细胞和适应性免疫细胞对各种中枢神经系统疾病的反应;如中枢神经系统创伤和脑卒中、急性实验性自身免疫性脑炎(EAE)、阿尔茨海默病和慢性中枢神经系统炎症。缺血性脑卒中后星形胶质细胞反应性增生,其特征是GFAP表达增强和形态肥大<sup>[18-19]</sup>;随后反应性星形胶质细胞产生活性氧(ROS),炎症介质表达,释放各种细胞因子和趋化因子。本研究中,OGD 6 h 诱导反应性星形胶质细胞IL-6、iNOS、TNF- $\alpha$ 表达水平明显增高,再灌注12 h时IL-6、iNOS、TNF- $\alpha$ 表达水平显著下降;证实了缺血再灌注影响了星形胶质细胞炎症反应。

AHR在中枢神经系统免疫反应中起重要作用。在EAE模型中<sup>[20]</sup>,敲减AHR增加EAE的疾病评分,而AHR激动剂[如TCDD、吡啶-3-甲醇(3C)和二吡啶基甲烷(DIM)]的激活,通过增加叉头转录因子(Forkhead Box P3,FOXP3)表达,增加抗炎调节性T细胞(Treg)和减少辅助性T细胞17(T helper cell 17,TH17)扩增来抑制EAE疾病进展<sup>[6,20-22]</sup>。有研究发现,AHR缺陷鼠表现出髓鞘结构失调,促炎细胞因子基因表达增加和STAT1靶基因失调<sup>[23]</sup>。SOCS2属于SOCS蛋白家族之一,该家族蛋白是炎症因子和生长因子信号通路的重要调节子。有研究报道,SOCS2可参与调控牛痘病毒5(BoHV-5)所致脑膜炎<sup>[24]</sup>。在创伤性脑损伤(TBI)中,抑制SOCS2表达能够减轻神经组织炎症反应<sup>[25]</sup>。但是AHR与SOCS2在脑缺血损伤中对星形胶质细胞的炎症反应有何影响,目前尚未见相关报道。本研究发现,星形胶质细胞经OGD 6 h/R 0、6、12 h后,AHR、SOCS2及IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS的表达呈现升高再降低的趋势;经慢病毒过表达AHR后,SOCS2、IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS的表达水平上调。以上结果表明AHR能够影响脑缺血后炎症因子的表达。与NC组相比,SOCS2过表达组细胞的IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS表达水平显著上调;显示SOCS2可以影响脑缺血后的炎症反应。另外,Barroso等研究发现,AHR通过调控SOCS2来调控恰加斯病引起的心肌炎的发生发展过程<sup>[11]</sup>。Yeste等研究发现,在I型糖尿病中AHR调控SOCS2,能够减少促炎细胞因子的产生<sup>[12]</sup>。为进一步验证AHR与SOCS2在调节

脑缺血星形胶质细胞的炎症反应过程中的作用机制,本研究对星形胶质细胞在过表达AHR的同时敲减SOCS2,然后进行OGD/R处理。结果显示,SOCS2敲减能够反转随着AHR上调而上调的IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS表达。此结果证实,AHR能够正调控SOCS2的表达,从而影响OGD/R星形胶质细胞的IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS的表达。

综上所述,AHR/SOCS2通路参与调控OGD/R处理后星形胶质细胞炎症因子IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS的表达。通过本研究,进一步明确了脑缺血后星形胶质细胞炎症反应的潜在调控机制,以期对脑缺血后星形胶质细胞介导炎症反应的病理生理学发展过程及干预靶点提供实验基础。

#### [参 考 文 献]

- [1] Shekhar S, Cunningham MW, Pabbidi MR, *et al.* Targeting vascular inflammation in ischemic stroke: Recent developments on novel immunomodulatory approaches [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 833:531.
- [2] Tilley BC, Lyden PD, Brott TG, *et al.* Total quality improvement method for reduction of delays between emergency department admission and treatment of acute ischemic stroke. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group [J]. *Arch Neurol*, 1997, 54:1466.
- [3] Lehnardt S. Innate immunity and neuroinflammation in the CNS: the role of microglia in toll-like receptor-mediated neuronal injury [J]. *Glia*, 2010, 58:253.
- [4] Sofroniew MV. Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2015, 16:249.
- [5] Wei YL, Chen YQ, Gong H, *et al.* Fecal microbiota transplantation ameliorates experimentally induced colitis in mice by upregulating AhR [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9:1921.
- [6] Rothhammer V, Maccanoni ID, Bunse L, *et al.* Type I interferons and microbial metabolites of tryptophan modulate astrocyte activity and central nervous system inflammation via the aryl hydrocarbon receptor [J]. *Nat Med*, 2016, 22:586.
- [7] Farquharson C, Ahmed SF. Inflammation and linear bone growth: the inhibitory role of SOCS2 on GH/IGF-1 signaling [J]. *Pediatric Nephrol*, 2013, 28:547.
- [8] Mcberry C, Gonzalez RM, Shryock N, *et al.* SOCS2-Induced Proteasome-Dependent TRAF6 degradation: a common anti-inflammatory pathway for control of innate immune responses [J]. *PLoS One*, 2012, 7:e38384.
- [9] Posselt G, Schwarz H, Duschl A, *et al.* Suppressor of cytokine signaling 2 is a feedback inhibitor of TLR-induced activation in human monocyte-derived dendritic cells [J]. *J Immunol*, 2011, 187:2875.
- [10] Schwarz H, Posselt G, Wurm P, *et al.* TLR8 and NOD signaling synergistically induce the production of IL-1 beta and IL-23 in monocyte-derived DCs and enhance the expression of the feedback inhibitor SOCS2 [J]. *Immunobiology*, 2013, 218:533.

(下转第244页)

痛苦,减少手术出血,节约住院时间和医疗费用。

### [参 考 文 献]

- [1] Delalande OP, Basevant C. Hemispherotomy: a new procedure for central disconnection [J]. *Epilepsia*, 1992, 33:99.
- [2] Cbt A. Hemispherectomy—a modification [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1983, 46:617.
- [3] Rasmussen T. Hemispherectomy for seizures revisited [J]. *Can J Neurol Sci*, 1983, 10:71.
- [4] Schramm J, Behrens E, Entzian W. Hemispherical deafferentation: an alternative to functional hemispherectomy [J]. *Neurosurgery*, 1995, 36:509.
- [5] Delalande O, Bulteauc C, Dellatolas G, *et al.* Vertical parasagittal hemispherotomy: Surgical procedures and clinical long-term outcomes in a population of 83 children [J]. *Neurosurgery*, 2007, 60:ONS19.
- [6] Villemure JG, Daniel RT. Peri-insular hemispherotomy in paediatric epilepsy [J]. *Childs Nervous System*, 2006, 22:967.
- [7] Sood S, Marupudi NI, Asano E, *et al.* Endoscopic corpus callosotomy and hemispherotomy [J]. *J Neurosurg Pediatr*, 2015, 16:681.
- [8] Villemure JG, Mascott CR. Peri-insular hemispherotomy: surgical principle and anatomy [J]. *Neurosurgery*, 1995, 37:975.
- [9] 秦广彪, 张培胜, 马康平, 等. 大脑半球切开术治疗儿童顽固性癫痫 [J]. *临床神经外科杂志*, 2016, 13:285.
- [10] Cook SW, Nguyen ST, Hu B, *et al.* Cerebral hemispherectomy in paediatric patients with epilepsy: comparison of three techniques by pathological substrate in 115 patients [J]. *J Neurosurg*, 2004, 100:125.
- [11] Vadera S, Griffith SD, Rosenbaum BP, *et al.* National trends and in-hospital complication rates in more than 1600 hemispherectomies from 1988 to 2010: a nationwide inpatient sample study [J]. *Neurosurgery*, 2015, 77:185.
- [12] Koubeissi MZ, Syed TU, Syed I, *et al.* Hemispherectomy-associated complications from the kid's inpatient Database [J]. *Epilepsy Res*, 2009, 87:47.
- [13] Piastra M, Pietrini D, Caresta E, *et al.* Hemispherectomy procedures in children: haematological issues [J]. *Childs Nervous System*, 2004, 20:453.
- [14] Lew SM, Koop JI, Mueller WM, *et al.* Fifty consecutive hemispherectomies: outcomes, evolution of technique, complications, and lessons learned [J]. *Neurosurgery*, 2014, 74:182.
- [15] 赵瑞, 周渊峰, 杨皓玮, 等. 改良大脑半球离断术治疗儿童半球病变导致的难治性癫痫 [J]. *中华神经外科杂志*, 2017, 33:1224.
- [16] 林久鑫, 周文静, 左焕棕, 等. 大脑半球切除治疗难治性癫痫的术前评估及手术改良 (附 58 例报告) [J]. *中华神经外科杂志*, 2012, 28:1049.
- (收稿 2018-11-09 修回 2019-01-01)
- 
- (上接第 240 页)
- [11] Barroso A, Gualdrón-Lopez M, Esper L, *et al.* The Aryl hydrocarbon receptor modulates production of cytokines and reactive oxygen species and development of myocarditis during trypanosoma cruzi infection [J]. *Infect Immun*, 2016, 84:3071.
- [12] Yeste A, Takenaka MC, Mascanfroni ID, *et al.* Tolerogenic nanoparticles inhibit T cell-mediated autoimmunity through SOCS2 [J]. *Sci Signal*, 2016, 9:a61.
- [13] Guo JB, Duckles SP, Weiss JH, *et al.* 17 beta-Estradiol prevents cell death and mitochondrial dysfunction by an estrogen receptor-dependent mechanism in astrocytes after oxygen-glucose deprivation/reperfusion [J]. *Free Radical Biol Med*, 2012, 52:2151.
- [14] Qi J, Xian XH, Li L, *et al.* Sulbactam protects hippocampal neurons against oxygen-glucose deprivation by up-regulating astrocytic GLT-1 via p38 MAPK signal pathway [J]. *Front Mol Neurosci*, 2018, 11:281.
- [15] Zhou KC, Wu JY, Chen J, *et al.* Schaftoside ameliorates oxygen glucose deprivation-induced inflammation associated with the TLR4/Myd88/Drp1-related mitochondrial fission in BV2 microglia cells [J]. *J Pharmacol Sci*, 2019, 139:15.
- [16] Xu N, Meng H, Liu TY, *et al.* TRPC1 deficiency exacerbates cerebral ischemia/reperfusion-Induced neurological injury by potentiating Nox4-derived reactive oxygen species generation [J]. *Cell Phys Biochem*, 2018, 51:1723.
- [17] Luo G, Huang Y, Mo D, *et al.* Tyrosol attenuates pro-inflammatory cytokines from cultured astrocytes and NF-kappaB activation in vitro oxygen glucose deprivation [J]. *Neurochem Int*, 2018, 121:140.
- [18] Sofroniew MV. Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation [J]. *Trends Neurosci*, 2009, 32:638.
- [19] Yang Q, Wang EY, Huang XJ, *et al.* Blocking epidermal growth factor receptor attenuates reactive astrogliosis through inhibiting cell cycle progression and protects against ischemic brain injury in rats [J]. *J Neurochem*, 2011, 119:644.
- [20] Busbee PB, Rouse M, Nagarkatti MA. Use of natural AhR ligands as potential therapeutic modalities against inflammatory disorders [J]. *Nutr Rev*, 2013, 71:353.
- [21] Quintana FJ. Regulation of central nervous system autoimmunity by the aryl hydrocarbon receptor [J]. *Semin Immunopathol*, 2013, 35:627.
- [22] Hanieh H. Toward understanding the role of Aryl hydrocarbon receptor in the immune system: current progress and future trends [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014:520763.
- [23] Juricek L, Carcaud J, Pelhaitre A, *et al.* AhR-deficiency as a cause of demyelinating disease and inflammation [J]. *Sci Rep*, 2017, 7:9794.
- [24] Aparecida SA, Freitas VA, Fonseca DL, *et al.* Role of the suppressor of cytokine signaling 2 (SOCS2) during meningoencephalitis caused by bovine herpesvirus 5 (BoHV-5) [J]. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 2016, 47:26.
- [25] Basrai HS, Christie KJ, Turbic A, *et al.* Suppressor of cytokine signaling-2 (SOCS2) regulates the microglial response and improves functional outcome after traumatic brain injury in mice [J]. *PLoS One*, 2016, 11:e153418.
- (收稿 2019-01-11 修回 2019-02-20)