

## 白介素 22 对星形胶质细胞转化的促进作用及机制研究



扫描二维码  
查看原文

甄瑾, 春梅, 李敏, 刘斌, 王梅玲, 云永利, 柳雅洁, 马翔凌

**【摘要】** **目的** 探究白介素 (IL)-22 对星形胶质细胞转化的促进作用及可能机制。**方法** 本实验时间为 2020-06-20 至 2021-09-23。根据研究目的将人星形胶质细胞进行分组, 并给予相应处理。采用 qPCR 检测补体 C3、FKBP5、GGTA1、Serp1、Srgn mRNA 表达水平, 采用 Western blot 法检测补体 C3 蛋白、磷酸化 p38 (p-p38)、磷酸化-丝裂原活化蛋白激酶活化的蛋白激酶 2 (p-MAPKAPK-2) 表达水平。比较对照组、IL-22 处理组、C1q+肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) +IL-1 $\alpha$  处理组、C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22 处理组补体 C3 mRNA、蛋白表达水平, 对照组和 IL-22 处理组 FKBP5、GGTA1、Serp1、Srgn mRNA 表达水平, 对照组、IL-22 处理组、丝裂原活化蛋白激酶 p38 (p38 MAPK) 抑制剂处理组、IL-22+p38 MAPK 抑制剂处理组 p-p38、p-MAPKAPK-2、补体 C3 蛋白表达水平。**结果** IL-22 处理组、C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$  处理组及 C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22 处理组补体 C3 mRNA、蛋白表达水平高于对照组, C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$  处理组和 C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22 处理组补体 C3 mRNA、蛋白表达水平高于 IL-22 处理组 ( $P < 0.05$ )。IL-22 处理组 FKBP5、GGTA1、Serp1、Srgn mRNA 表达水平高于对照组 ( $P < 0.05$ )。IL-22 处理组 p-p38、p-MAPKAPK-2、补体 C3 蛋白表达水平高于对照组, p38 MAPK 抑制剂处理组 p-p38、p-MAPKAPK-2、补体 C3 蛋白表达水平低于对照组 ( $P < 0.05$ ); IL-22+p38 MAPK 抑制剂处理组 p-p38、p-MAPKAPK-2、补体 C3 蛋白表达水平低于 IL-22 处理组, 但高于 p38 MAPK 抑制剂处理组 ( $P < 0.05$ )。**结论** IL-22 可促进星形胶质细胞向 A1 型星形胶质细胞转化, 其机制可能与 IL-22 促进丝裂原活化蛋白激酶活化的蛋白激酶 2 (MAPKAPK-2) 磷酸化, 进而激活 p38-丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路有关。

**【关键词】** 多发性硬化; 白介素 22; 星形胶质细胞; 细胞转化; 补体 C3

**【中图分类号】** R 744.51 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2022.00.308

甄瑾, 春梅, 李敏, 等. 白介素 22 对星形胶质细胞转化的促进作用及机制研究 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2022, 30 (11): 70-75. [www.syxnf.net]

ZHEN J, CHUN M, LI M, et al. Promoting effect and mechanism of interleukin 22 on astrocytes transformation [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2022, 30 (11): 70-75.

**Promoting Effect and Mechanism of Interleukin 22 on Astrocytes Transformation** ZHEN Jin, CHUN Mei, LI Min, LIU Bin, WANG Meiling, YUN Yongli, LIU Yajie, MA Xiangling

Department of Neurology, Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Huhhot 010017, China

Corresponding author: ZHEN Jin, E-mail: zhenjin2006106@126.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the promoting effect of interleukin (IL)-22 on astrocytes transformation and its possible mechanism. **Methods** The experiment was conducted from June 20, 2020 to September 23, 2021. According to the purpose of the study, human astrocytes were grouped and treated accordingly. The expression levels of complement C3, FKBP5, GGTA1, Serp1 and Srgn mRNA were detected by qPCR. The expression levels of complement C3 protein, phosphorylated p38 (p-p38), phosphorylated mitogen activated protein kinase activated protein kinase 2 (p-MAPKAPK-2) were detected by Western blot. The expression levels of complement C3 mRNA and protein in the control group, IL-22 interventional group, C1q+tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) +IL-1 $\alpha$  interventional group and C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22 interventional group were compared. The mRNA expression levels of FKBP5, GGTA1, Serp1 and Srgn between control group and IL-22 interventional group were compared. The expression levels of p-p38, p-MAPKAPK-2 and complement C3 protein in control group, IL-22 interventional group, p38 MAPK inhibitor interventional group and IL-22+p38 MAPK inhibitor interventional group were compared. **Results** The expression levels of mRNA and protein of complement C3 in IL-22 interventional group, C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$  interventional group and C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22 interventional group were higher than those in control group,

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目 (2019MS08077); 内蒙古自治区卫生健康科技计划项目 (202201029)

010017内蒙古自治区呼和浩特市, 内蒙古自治区人民医院神经内科

通信作者: 甄瑾, E-mail: zhenjin2006106@126.com

and the expression levels of mRNA and protein of complement C3 in C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$  interventional group and C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22 interventional group were higher than those in IL-22 interventional group ( $P < 0.05$ ). The mRNA expression levels of FKBP5, GGTA1, Serping1 and Srgn in IL-22 interventional group were higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ). The expression levels of p-p38, p-MAPKAPK-2 and complement C3 protein in IL-22 interventional group were higher than those in control group, and the expression levels of p-p38, p-MAPKAPK-2 and complement C3 protein in p38 MAPK inhibitor treatment group were lower than those in control group ( $P < 0.05$ ). The expression levels of p-p38, p-MAPKAPK-2 and complement C3 protein in IL-22+p38 MAPK inhibitor treatment group were lower than those in IL-22 interventional group, while higher than those in p38 MAPK inhibitor treatment group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** IL-22 can promote the transformation of astrocytes to A1 type astrocytes, and its mechanism may be related to IL-22 promoting mitogen activated protein kinase activated protein kinase 2 (MAPKAPK-2) phosphorylation and activating p38-mitogen activated protein kinase (MAPK) signaling pathway.

**【Key words】** Multiple sclerosis; Interleukin 22; Astrocyte; Cell transformation; Complement C3

白介素 (interleukin, IL) -22是由多种免疫细胞分泌的细胞因子, 包括辅助性T细胞 (helper T cell, Th) 17、NK22细胞和Th22<sup>[1]</sup>, 其可参与多种自身免疫性疾病的发生和发展, 如系统性红斑狼疮、类风湿关节炎、多发性硬化 (multiple sclerosis, MS)、干燥综合征和银屑病等。MS是典型的中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 特发性炎症脱髓鞘疾病 (idiopathic inflammatory demyelinating diseases, IIDDs), 其好发于年轻女性。研究证实, IL-22受体 $\alpha$ 2升高是MS的危险因素<sup>[2]</sup>, IL-22参与了血-脑脊液屏障 (blood brain barrier, BBB) 的破坏, 进而促进淋巴细胞进入CNS, 增加炎症因子释放, 加速MS进程<sup>[3]</sup>。

星形胶质细胞是CNS的一类重要细胞, 其可为CNS神经元提供营养支持, 促进神经突触形成, 且其在维持CNS稳态和功能中起关键作用。研究表明, 阿尔茨海默病、帕金森病、MS等神经系统疾病患者以补体C3高表达为特征的A1型星形胶质细胞含量升高<sup>[4]</sup>; 此外, FKBP5、GGTA1、Serping1、Srgn等蛋白表达增加也是A1型星形胶质细胞的重要特征<sup>[5]</sup>。活化的小胶质细胞可通过分泌IL-1 $\alpha$ 、肿瘤坏死因子 $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、C1q等细胞因子可诱导星形胶质细胞向A1型星形胶质细胞转化<sup>[4]</sup>。但IL-22作为MS病理进程中的重要细胞因子, 对星形胶质细胞向A1型星形胶质细胞转化是否有影响尚未见报道。本研究旨在探讨IL-22对星形胶质细胞转化的促进作用及可能机制, 以为MS发病机制的研究提供新的方向。

## 1 材料与方法

1.1 实验时间 本实验时间为2020-06-20至2021-09-23。

1.2 主要试剂和仪器 主要试剂: 重组人IL-22蛋白 (北京拜尔迪生物技术有限公司, 货号: bs-2623R), 重组人IL-1 $\alpha$  (北京拜尔迪生物技术有限公司, 货号: bs-4947p), 重组人TNF- $\alpha$  (Abcam公司, 货号: ab9642), 重组人C1q (Abcam公司, 货号: ab96363), TRIzol (美国Sigma公司), 反转

录试剂盒 (Vazyme公司), StarLighter Probe qPCR Mix (Universal) (北京启恒星科技有限公司, FS-Q3002), 兔抗C3单抗 (Abcam公司, 货号: ab200999), 兔抗磷酸化-丝裂原活化蛋白激酶p38 (phosphorylated p38 mitogen-activated protein kinase, p-p38 MAPK) 抗体 (北京拜尔迪生物技术有限公司, 货号: bs-5476R), 兔抗磷酸化-丝裂原活化蛋白激酶活化的蛋白激酶2 (phosphorylated mitogen activated protein kinase activated protein kinase 2, p-MAPKAPK-2) 抗体 (北京拜尔迪生物技术有限公司, 货号: bs-5503R), 二抗羊抗兔单克隆抗体 (上海碧云天生物技术有限公司, 货号: A0208)。主要仪器: 细胞二氧化碳培养箱 (SANYO, MCO-175), Vortex振荡器 (Kylin-Bell Lab Instruments, XW-80A), 移液器 (Eppendorf Reference, 4924000908), 混匀仪 (其林贝尔仪器制造有限公司, TS-100), Nanodrop分光光度计 (Thermo, 2000/2000C), qPCR仪 (ABI, VII7), SDS-Acryl/Bis蛋白电泳仪 (上海天能科技有限公司, VE-180), 蛋白转膜仪 (上海天能科技有限公司, VE-186), 化学发光成像系统 (GE, AI600)。

## 1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养 将人星形胶质细胞HA1800 (购自中国科学院上海细胞库) 在AM1801培养基中培养 (传代不超过10代), 待细胞生长融合至90%, 采用0.25%胰酶消化细胞并加入4 ml完全培养基, 轻轻吹打细胞, 转入15 ml离心管中, 800 r/min (离心半径10 cm) 离心3 min, 弃上清液。再用3 ml含10% FBS的完全培养基重悬细胞, 并将其分到3个T25细胞培养瓶中, 置于37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养。

1.3.2 qPCR 将人星形胶质细胞分为对照组、IL-22处理组、C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ 处理组及C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22处理组。对照组细胞未进行特殊处理, IL-22处理组细胞给予IL-22 (400 ng/ml) 处理48 h, C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ 处理组细胞给予C1q (400

ng/ml)、TNF- $\alpha$  (30 ng/ml)、IL-1 $\alpha$  (3 ng/ml)联合处理48 h, C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22处理组细胞给予C1q (400 ng/ml)、TNF- $\alpha$  (30 ng/ml)、IL-1 $\alpha$  (3 ng/ml)、IL-22 (400 ng/ml)联合处理48 h。之后采用胰蛋白酶消化并收集细胞。采用Trizol法提取细胞总RNA, Nanodrop 100分光光度计检测RNA浓度及质量。将1.0  $\mu$ g RNA进行反转录, 得到cDNA的第一链, 之后以cDNA为模板进行qPCR, 检测补体C3 mRNA表达水平, 实验独立重复3次。

将人星形胶质细胞分为对照组和IL-22处理组, 对照组细胞未进行特殊处理; IL-22处理组细胞给予IL-22 (400 ng/ml)处理48 h。采用qPCR检测FKBP5、GGTA1、Serp1g1、Srgn mRNA表达水平, 检测步骤同上, 实验独立重复3次。qPCR引物序列见表1。

表1 qPCR引物序列  
Table 1 qPCR primer sequences

目的基因	上游引物序列 (5'→3')	下游引物序列 (5'→3')
GAPDH	TGACTTCAACAGCGACACCCA	CACCCTGTTGCTGTAGCCAAA
补体C3	ACTACTCCACAATCCAGCCTTCT	GTAGACAGCAGCCTTGACTTCC
FKBP5	TGACTACTGATGAAGGTGCCAAGA	GTCTCCAATCATCGGCGTTTCC
GGTA1	CTGGTGGTTTCTGAGCTGCTTTA	TCCTTTGGTCTCTCTCTTCCTTT
Serp1g1	GACCTGTACTCTCTGCTCTGACT	GTAAGGAGGCTGGCGATGCT
Srgn	GTTCAAGGTATCTCTGCTCGGA	AAACAGGATCGGTCATCGGG

1.3.3 Western blot法 将人星形胶质细胞分为对照组、IL-22处理组、C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ 处理组及C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22处理组。对照组细胞未进行特殊处理, IL-22处理组细胞给予IL-22 (400 ng/ml)处理48 h, C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ 处理组细胞给予C1q (400 ng/ml)、TNF- $\alpha$  (30 ng/ml)、IL-1 $\alpha$  (3 ng/ml)联合处理48 h, C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22处理组细胞给予C1q (400 ng/ml)、TNF- $\alpha$  (30 ng/ml)、IL-1 $\alpha$  (3 ng/ml)、IL-22 (400 ng/ml)联合处理48 h。之后采用胰蛋白酶消化并收集细胞, 加入200  $\mu$ l细胞裂解液 (150 mmol/L NaCl, 1% NP-40, 0.1% SDS, 1 mmol/L PMSF, 1%蛋白酶抑制剂), 置于冰上裂解10 min。4  $^{\circ}$ C环境下, 12 000 r/min (离心半径10 cm)离心10 min。将上清液转移到新的EP管中, 加上样缓冲液; 4  $^{\circ}$ C环境下, 12 000 r/min (离心半径10 cm)离心1 min, 采用Bradford法检测总蛋白浓度。然后取20  $\mu$ g总蛋白进行SDS-PAGE, 电泳完成后将蛋白转移到PVDF膜上, 采用5%脱脂牛奶室温摇床封闭1 h, TBST洗膜3次, 5 min/次。加入一抗 (1:2 000), 4  $^{\circ}$ C过夜; 加入二抗 (1:3 000)室温孵育1 h。TBST洗膜3次, 10 min/次。采用ECL法显色, 检测补体C3蛋白表达水平, 实验独立重复3次。

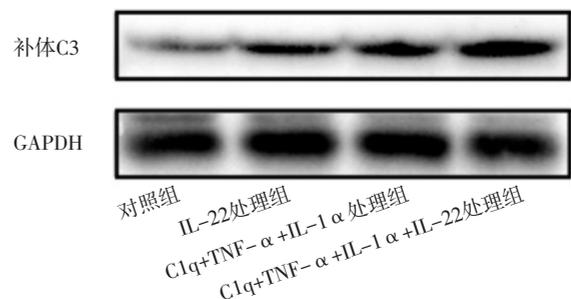
将人星形胶质细胞分为对照组、IL-22处理组、丝裂原活化蛋白激酶p38 (p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)抑制剂处理组、IL-22+p38 MAPK抑制剂处理组。对照组细胞未进行处理, IL-22处理组细胞采用IL-22 (400 ng/ml)处理60 min, p38 MAPK抑制剂处理组细胞采用p38 MAPK抑制剂SB202190 (10  $\mu$ mol/L)处理60 min, IL-22+p38 MAPK抑制剂处理组细胞采用IL-22 (400 ng/ml)、p38 MAPK抑制剂SB202190 (10  $\mu$ mol/L)处理60 min。采用Western blot法检测磷酸化p38 (phosphorylated p38, p-p38)、p-MAPKAPK-2、补体C3蛋白表达水平, 检测方法同上, 实验独立重复3次。

1.4 统计学方法 采用Graphpad prism 9.0软件进行统计学处理。符合正态分布的计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 $q$ 检验, 两组间比较采用成组 $t$ 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 IL-22促进星形胶质细胞补体C3 mRNA、蛋白表达 对照组、IL-22处理组、C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ 处理组、C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22处理组补体C3 mRNA、蛋白表达水平比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); IL-22处理组、C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ 处理组及C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22处理组补体C3 mRNA、蛋白表达水平高于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ 处理组、C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22处理组补体C3 mRNA、蛋白表达水平高于IL-22处理组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表2、图1。

2.2 IL-22促进星形胶质细胞FKBP5、GGTA1、Serp1g1、Srgn mRNA表达 IL-22处理组FKBP5、GGTA1、Serp1g1、Srgn mRNA表达水平高于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表3。



注: IL=白介素, TNF- $\alpha$ =肿瘤坏死因子 $\alpha$

图1 对照组、IL-22处理组、C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ 处理组、C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22处理组补体C3蛋白SDS-PAGE图  
Figure 1 SDS-PAGE of complement C3 protein in the control group, IL-22 interventional group, C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$  interventional group and C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22 interventional group

**表2** 对照组、IL-22处理组、C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ 处理组及C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22处理组补体C3 mRNA、蛋白表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

**Table 2** Comparison of expression levels of complement C3 mRNA and protein in the control group, IL-22 interventional group, C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$  interventional group and C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22 interventional group

组别	补体C3 mRNA	补体C3蛋白
对照组	1.001 $\pm$ 0.063	0.361 $\pm$ 0.023
IL-22处理组	1.848 $\pm$ 0.054 <sup>a</sup>	0.618 $\pm$ 0.029 <sup>a</sup>
C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ 处理组	2.622 $\pm$ 0.084 <sup>ab</sup>	0.720 $\pm$ 0.064 <sup>ab</sup>
C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22处理组	2.760 $\pm$ 0.096 <sup>ab</sup>	1.195 $\pm$ 0.075 <sup>ab</sup>
F值	340.700	132.787
P值	<0.001	<0.001

注: IL=白介素, TNF- $\alpha$ =肿瘤坏死因子 $\alpha$ ; <sup>a</sup>表示与对照组比较,  $P<0.05$ ; <sup>b</sup>表示与IL-22处理组比较,  $P<0.05$

**表3** 对照组和IL-22处理组FKBP5、GGTA1、Serping1、Srgn mRNA表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

**Table 3** Comparison of mRNA expression levels of FKBP5, GGTA1, Serping1 and Srgn between control group and IL-22 interventional group

组别	FKBP5	GGTA1	Serping1	Srgn
对照组	1.003 $\pm$ 0.087	0.813 $\pm$ 0.150	1.432 $\pm$ 0.076	1.585 $\pm$ 0.392
IL-22处理组	1.262 $\pm$ 0.084	1.566 $\pm$ 0.115	2.503 $\pm$ 0.368	2.655 $\pm$ 0.116
t值	-3.709	-6.900	-4.937	-4.533
P值	0.021	0.002	0.008	0.011

2.3 IL-22调控星形胶质细胞补体C3蛋白表达的相关信号通路 对照组、IL-22处理组、p38 MAPK抑制剂处理组、IL-22+p38 MAPK抑制剂处理组p-p38、p-MAPKAPK-2、补体C3蛋白表达水平比较, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ); IL-22处理组p-p38、p-MAPKAPK-2、补体C3蛋白表达水平高于对照组, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ); p38 MAPK抑制剂处理组p-p38、p-MAPKAPK-2、补体C3蛋白表达水平低于对照组, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ); IL-22+p38 MAPK抑制剂处理组p-p38、p-MAPKAPK-2、补体C3蛋白表达水平低于IL-22处理组, 但高于p38 MAPK抑制剂处理组, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 见表4、图2。

### 3 讨论

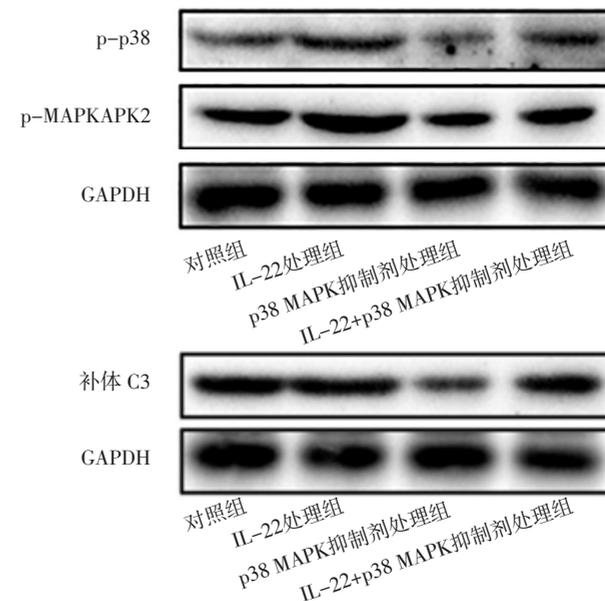
IL-22是IL-10家族成员, 人IL-22由146个氨基酸组成, 其与小鼠IL-22有80.8%的同源性, 是一个具有 $\alpha$ 螺旋的二级结构, 其通过与IL-22受体结合可发挥生物学活性<sup>[6]</sup>。IL-22受体属于II级细胞因子受体家族, 由两个亚单位组成, 即IL-22受体1和IL-10受体2, 前者主要表达于非免疫组织, 如皮肤、肺脏、肾脏、胰腺等; 后者广泛表达于免疫细胞, 如T淋巴细胞、B淋巴细胞、NK细胞等。研究表明, 在小鼠和人肾脏细胞中, IL-22受体被激活后可引起STAT3和STAT5磷酸化, 而IL-22可以活化JAK1和TYK2, 从而激活丝裂

**表4** 对照组、IL-22处理组、p38 MAPK抑制剂处理组、IL-22+p38 MAPK抑制剂处理组p-p38、p-MAPKAPK-2、补体C3蛋白表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

**Table 4** Comparison of expression levels of p-p38, p-MAPKAPK-2 and complement C3 protein in control group, IL-22 interventional group, p38 MAPK inhibitor interventional group and IL-22+p38 MAPK inhibitor interventional group

组别	p-p38	p-MAPKAPK-2	补体C3蛋白
对照组	0.761 $\pm$ 0.067	0.827 $\pm$ 0.018	0.956 $\pm$ 0.050
IL-22处理组	1.218 $\pm$ 0.043 <sup>a</sup>	1.244 $\pm$ 0.052 <sup>a</sup>	1.145 $\pm$ 0.068 <sup>a</sup>
p38 MAPK抑制剂处理组	0.631 $\pm$ 0.013 <sup>a</sup>	0.682 $\pm$ 0.011 <sup>a</sup>	0.574 $\pm$ 0.015 <sup>a</sup>
IL-22+p38 MAPK抑制剂处理组	0.755 $\pm$ 0.060 <sup>bc</sup>	0.872 $\pm$ 0.041 <sup>bc</sup>	0.912 $\pm$ 0.100 <sup>bc</sup>
F值	78.854	139.748	39.197
P值	<0.001	<0.001	<0.001

注: p38 MAPK=丝裂原活化蛋白激酶p38, p-p38=磷酸化p38, p-MAPKAPK-2=磷酸化-丝裂原活化蛋白激酶活化的蛋白激酶2; <sup>a</sup>表示与对照组比较,  $P<0.05$ ; <sup>b</sup>表示与IL-22处理组比较,  $P<0.05$ ; <sup>c</sup>表示与p38 MAPK抑制剂处理组比较,  $P<0.05$



注: p38 MAPK=丝裂原活化蛋白激酶p38, p-p38=磷酸化p38, p-MAPKAPK-2=磷酸化-丝裂原活化蛋白激酶活化的蛋白激酶2

**图2** 对照组、IL-22处理组、p38 MAPK抑制剂处理组、IL-22+p38 MAPK抑制剂处理组p-p38、p-MAPKAPK-2、补体C3蛋白SDS-PAGE电泳图

**Figure 2** SDS-PAGE electrophoresis of p-p38, p-MAPKAPK-2 and complement C3 protein in control group, IL-22 interventional group, p38 MAPK inhibitor interventional group and IL-22+p38 MAPK inhibitor interventional group

原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路<sup>[7-8]</sup>。

CNS受损时, 星形胶质细胞会转化成反应性星形胶质细胞, 但反应性星形胶质细胞对CNS的修复作用尚存在争议<sup>[9-10]</sup>。有研究者通过纯化和遗传分析反应性星形胶质细胞发现, 星形胶质细胞可以被激活成两种极化状态: A1型 (神经毒性或促炎表型) 和A2型 (神经保

护或抗炎表型)<sup>[11]</sup>，尽管上述分型并不能完全代表反应性星形胶质细胞表型，但其有助于理解不同CNS疾病中星形胶质细胞的反应状态。

星形胶质细胞是最丰富的胶质细胞，对CNS功能维持具有重要作用，其可以参与神经发育过程中神经元的突触形成、成熟和消除<sup>[12]</sup>。当CNS损伤时，星形胶质细胞在细胞外环境中可改变自身形态和功能特征，从而转化为反应性星形胶质细胞<sup>[13]</sup>。与正常星形胶质细胞相比，A1型星形胶质细胞具有以下特征：突触功能下降，吞噬能力降低，神经毒性增强<sup>[14]</sup>。一般情况下，神经胶质细胞能维持CNS中的神经元存活，但A1型星形胶质细胞可以分泌可溶性毒素，进而迅速杀伤神经元和成熟的少突胶质细胞<sup>[15]</sup>。而CNS中小胶质细胞分泌的多种炎症因子可共同活化星形胶质细胞，进而在多种CNS疾病中发挥生物学作用<sup>[16]</sup>。

研究表明，MS的发病机制复杂，涉及多种细胞和信号通路，除小胶质细胞、巨噬细胞等外，星形胶质细胞也在其中发挥了重要作用<sup>[15]</sup>。局灶性白质活动性病变患者星形胶质细胞肥大，可表达高水平的胶质纤维酸性蛋白，促进炎症细胞因子、趋化因子表达及髓鞘再生，进而参与MS的发生<sup>[17]</sup>；同时，在特定条件下星形胶质细胞还表现出抗原递呈细胞的特征，促进免疫细胞应答，加速CNS中的免疫损伤；再者，星形胶质细胞还与MS的硬化斑块形成直接相关<sup>[18]</sup>。因此，研究星形胶质细胞的转化机制可能对MS的治疗具有一定帮助。

研究表明，细胞因子IL-1 $\alpha$ 、TNF- $\alpha$ 和C1q可以诱导星形胶质细胞向A1型星形胶质细胞转化<sup>[12]</sup>。本研究结果显示，IL-22处理组补体C3 mRNA、蛋白表达水平及FKBP5、GGTA1、Serp1、Srgn mRNA表达水平均高于对照组，提示IL-22可以促进星形胶质细胞转化为A1型星形胶质细胞；C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ 处理组、C1q+TNF- $\alpha$ +IL-1 $\alpha$ +IL-22处理组补体C3 mRNA、蛋白表达水平高于IL-22处理组，提示C1q、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$ 对星形胶质细胞转化的促进作用强于IL-22，但其相互之间的作用复杂，其机制有待于进一步阐明。

IL-22作为一种重要的细胞因子，可以激活多种信号通路<sup>[19]</sup>。本研究结果显示，IL-22处理组p-p38、p-MAPKAPK-2、补体C3蛋白表达水平高于对照组；p38 MAPK抑制剂处理组p-p38、p-MAPKAPK-2、补体C3蛋白表达水平低于对照组；IL-22+p38 MAPK抑制剂处理组p-p38、p-MAPKAPK-2、补体C3蛋白表达水平低于IL-22处理组，但高于p38 MAPK抑制剂处理组；提示IL-22可能通过促进丝裂原活化蛋白激酶活化的蛋白激酶2 (mitogen activated protein kinase activated protein kinase 2, MAPKAPK-2) 磷酸化而激活p38-MAPK信号通路，进而促进补体C3蛋白表达。

综上所述，IL-22可促进星形胶质细胞向A1型星形胶质细胞转化，其机制可能与IL-22促进MAPKAPK-2磷酸化，进而激活p38-MAPK信号通路有关，这为MS发病机制的研究提供了新方向。

作者贡献：甄瑾、马翔凌进行文章的构思与设计；春梅、李敏、刘斌进行研究的实施与可行性分析；王梅玲、柳雅洁进行数据收集、整理、分析；春梅、云永利进行结果分析与解释；甄瑾撰写、修订论文，负责质量控制及审校，并对文章整体负责、监督管理。

本文无利益冲突。

## 参考文献

- [1] TRIFARI S, KAPLAN C D, TRAN E H, et al. Identification of a human helper T cell population that has abundant production of interleukin 22 and is distinct from T(H)-17, T(H)1 and T(H)2 cells [J]. *Nat Immunol*, 2009, 10(8): 864-871. DOI: 10.1038/ni.1770.
- [2] BEYEEN A D, ADZEMOVIC M Z, OCKINGER J, et al. IL-22RA2 associates with multiple sclerosis and macrophage effector mechanisms in experimental neuroinflammation [J]. *J Immunol*, 2010, 185(11): 6883-6890. DOI: 10.4049/jimmunol.1001392.
- [3] KEBIR H, KREYMBORG K, IFERGAN I, et al. Human TH17 lymphocytes promote blood-brain barrier disruption and central nervous system inflammation [J]. *Nat Med*, 2007, 13(10): 1173-1175. DOI: 10.1038/nm1651.
- [4] LIDDELOW S A, GUTTENPLAN K A, CLARKE L E, et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia [J]. *Nature*, 2017, 541(7638): 481-487. DOI: 10.1038/nature21029.
- [5] ZAMANIAN J L, XU L J, FOO L C, et al. Genomic analysis of reactive astrogliosis [J]. *J Neurosci*, 2012, 32(18): 6391-6410. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6221-11.2012.
- [6] WOLK K, SABAT R. Interleukin-22: a novel T- and NK-cell derived cytokine that regulates the biology of tissue cells [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2006, 17(5): 367-380. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2006.09.001.
- [7] SONNENBERG G F, FOUSSER L A, ARTIS D. Functional biology of the IL-22-IL-22R pathway in regulating immunity and inflammation at barrier surfaces [J]. *Adv Immunol*, 2010, 107: 1-29. DOI: 10.1016/B978-0-12-381300-8.00001-0.
- [8] XIE M H, AGGARWAL S, HO W H, et al. Interleukin (IL)-22, a novel human cytokine that signals through the interferon receptor-related proteins CRF2-4 and IL-22R [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(40): 31335-31339. DOI: 10.1074/jbc.M005304200.
- [9] VERKHRATSKY A, ZOREC R, PAPPAS V. Stratification of astrocytes in healthy and diseased brain [J]. *Brain Pathol*, 2017, 27(5): 629-644. DOI: 10.1111/bpa.12537.
- [10] LI L L, LI Y, HE B Q, et al. HSF1 is involved in suppressing A1 phenotype conversion of astrocytes following spinal cord injury in rats [J]. *J Neuroinflammation*, 2021, 18(1): 205. DOI:

- 10.1186/s12974-021-02271-3.
- [11] FAN Y Y, HUO J.A1/A2 astrocytes in central nervous system injuries and diseases: angels or Devils? [J]. *Neurochem Int*, 2021, 148: 105080.DOI: 10.1016/j.neuint.2021.105080.
- [12] CLARKE L E, LIDDELOW S A, CHAKRABORTY C, et al.Normal aging induces A1-like astrocyte reactivity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115 (8): E1896-1905.DOI: 10.1073/pnas.1800165115.
- [13] FAN Y Y, WANG Y J, GUO J, et al.Delayed metformin treatment improves functional recovery following traumatic brain injury via central AMPK-dependent brain tissue repair [J]. *Brain Res Bull*, 2020, 164: 146-156.DOI: 10.1016/j.brainresbull.2020.08.021.
- [14] LIDDELOW S A, BARRES B A.Reactive astrocytes: production, function, and therapeutic potential [J]. *Immunity*, 2017, 46 (6): 957-967.DOI: 10.1016/j.immuni.2017.06.006.
- [15] LIDDELOW S A, MARSH S E, STEVENS B.Microglia and astrocytes in disease: dynamic duo or partners in crime? [J]. *Trends Immunol*, 2020, 41 (9): 820-835.DOI: 10.1016/j.it.2020.07.006.
- [16] CEKANAVICIUTE E, BUCKWALTER M S.Astrocytes: integrative regulators of neuroinflammation in stroke and other neurological diseases [J]. *Neurotherapeutics*, 2016, 13 (4): 685-701.DOI: 10.1007/s13311-016-0477-8.
- [17] HEALY L M, STRATTON J A, KUHLMANN T, et al.The role of glial cells in multiple sclerosis disease progression [J]. *Nat Rev Neurol*, 2022, 18 (4): 237-248.DOI: 10.1038/s41582-022-00624-x.
- [18] RAWJI K S, GONZALEZ MARTINEZ G A, SHARMA A, et al.The role of astrocytes in remyelination [J]. *Trends Neurosci*, 2020, 43 (8): 596-607.DOI: 10.1016/j.tins.2020.05.006.
- [19] LINDAHL H, GUERREIRO-CACAIS A O, BEDRI S K, et al.IL-22 binding protein promotes the disease process in multiple sclerosis [J]. *J Immunol*, 2019, 203 (4): 888-898.DOI: 10.4049/jimmunol.1900400.
- (收稿日期: 2022-06-23; 修回日期: 2022-09-20)  
(本文编辑: 谢武英)

## · 信心速递 ·

# 2022版《全球哮喘管理和预防策略》更新要点摘登

### 1 对哮喘的诊断流程进行了修订

2022版《全球哮喘管理和预防策略》(GINA 2022)提出,诊断哮喘时需采取何种检查方法取决于患者是否已经接受控制治疗,并说明了检查时的注意事项。对于未接受控制治疗的患者,应在首次出现哮喘症状时记录有助于哮喘诊断的证据,由于哮喘的症状可以自行缓解或经治疗后缓解,故患者一旦开始接受控制治疗就很难确诊为哮喘;对于已经接受控制治疗的患者,由于许多在初级保健中被诊断为哮喘的患者(25%~35%)不能被确认患有哮喘,如果患者的哮喘诊断依据没有历史记录,应通过客观试验确诊。

### 2 对低收入国家哮喘的诊断和治疗方案提供了建议

GINA 2022提供了关于资源匮乏地区哮喘诊断和管理的详细指导,其中,鉴别诊断通常需要包括地方性呼吸道疾病和感染、结核病和人类免疫缺陷病毒(HIV)/艾滋病(AIDS)。GINA 2022承认难以获得肺功能检测结果是低收入和中等收入国家(LMICs)哮喘诊断的一个障碍,但GINA 2022仍不建议仅根据临床症状进行诊断。当无法进行肺功能测定时,可以通过呼气流量峰值(PEF)来确认可变呼气流受限。WHO基本非传染性疾病(PEN)干预措施包将PEF检测列为管理慢性呼吸系统疾病的一项基本工具,且WHO-PEN建议与慢性阻塞性肺疾病(COPD)和其他诊断相比,吸入2喷沙丁胺醇15 min后PEF改善 $\geq 20\%$ 可增加哮喘诊断的可能性。GINA 2022还建议,进行4周的抗炎试验性治疗且必要时进行1周的口服糖皮质激素(OCS)治疗后,若症状和PEF得到改善有助于在开始长期控制治疗之前确诊哮喘(或提示其他诊断)。

### 3 按需吸入型糖皮质激素(ICS)-福莫特罗的使用频率在哮喘控制评估中的作用

在评估症状控制状况时,不将每周按需ICS-福莫特罗的使用次数( $>2$ 次或 $\leq 2$ 次)作为评估指标之一,此次GINA 2022更新提出了更多理由:关于之前将短效 $\beta_2$ -受体激动剂(SABA)的使用频率( $<2$  d/周或 $\geq 2$  d/周)纳入症状控制的综合评估,是基于如果1周有 $>2$  d使用SABA,则患者需要开始控制性治疗或增加ICS剂量;且1年内更高的SABA使用次数与更高的严重发作风险相关,短时间内按需SABA的使用增加与随后数天或数周严重发作的风险增高相关。然而,如果患者将ICS-福莫特罗作为缓解剂,每周使用超过2 d已经提供了额外的控制治疗,因此可能不需要进一步增加ICS剂量;且与使用SABA作为缓解剂或单独使用SABA相比,按需ICS-福莫特罗的使用增加与患者在随后数天或数周内严重恶化风险降低相关。因此ICS-福莫特罗作为缓解剂,其使用频率( $\leq 2$ 次/周或 $>2$ 次/周)不包括在症状控制的综合评估中。然而在治疗决策中仍应考虑按需使用ICS-福莫特罗的平均频率。这一问题将在获得进一步研究证据后再次审议。

(来源: [https://www.chinagnp.net/CN/rich\\_html/10.12114/j.issn.1007-9572.2022.0554](https://www.chinagnp.net/CN/rich_html/10.12114/j.issn.1007-9572.2022.0554))