

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.07.003

## HERV-HLTR 相关蛋白 2 在肝癌中的表达及其临床意义\*

李 国<sup>1</sup>, 张晓峰<sup>1</sup>, 太云翔<sup>1</sup>, 代亚海<sup>1</sup>, 汤旭东<sup>2,3</sup>, 陈 琨<sup>2Δ</sup>

(1. 四川省凉山彝族自治州第一人民医院肝胆外科 615000; 2. 第三军医大学附属西南医院消化内科, 重庆 400038; 3. 重庆医科大学附属第一医院呼吸内科 400016)

**[摘要]** **目的** 检测肝细胞癌组织中 HERV-HLTR 相关蛋白 2(HHLA2) 的表达及其与不同病理分级、临床分期、肝功能及甲胎蛋白(AFP)的关系。**方法** 采用免疫组化法检测 150 例肝癌石蜡包埋组织标本中 HHLA2 的表达阳性率,并以 10 例患者正常肝脏组织标本作为正常对照,比较在不同的病理分级、临床分期、肝功能分级及 AFP 水平情况下肝癌组织中 HHLA2 的表达差异。**结果** 肝癌组织中 HHLA2 的阳性表达率显著高于正常对照( $P < 0.05$ ),低分化肝癌 HHLA2 表达阳性率最高,低分化、中分化肝癌组 HHLA2 表达阳性率显著高于高分化组( $P < 0.05$ );肝癌巴塞罗那分期 C 期、D 期患者 HHLA2 阳性表达率显著高于 A 期、B 期( $P < 0.05$ );肝功能 Child-Pugh A 级的患者 HHLA2 阳性表达率明显低于 B 级及 C 级( $P < 0.01$ );不同年龄、不同血清 AFP 水平患者肝癌组织中 HHLA2 的表达率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** 肝癌细胞癌患者癌组织中 HHLA2 的阳性表达率明显升高,HHLA2 可能在肝癌的发生、发展、转移中具有一定的作用。

**[关键词]** 癌,肝细胞;淋巴细胞;HERV-HLTR 相关蛋白 2;免疫逃逸**[中图分类号]** R735.7**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2018)07-0871-04**Expression and clinical significance of HERV-H LTR-associating protein 2 in hepatocellular carcinoma\***LI Guo<sup>1</sup>, ZHANG Xiaofeng<sup>1</sup>, TAI Yunxiang<sup>1</sup>, Dai Yahai<sup>1</sup>, TANG Xudong<sup>2,3</sup>, CHEN Kun<sup>2Δ</sup>

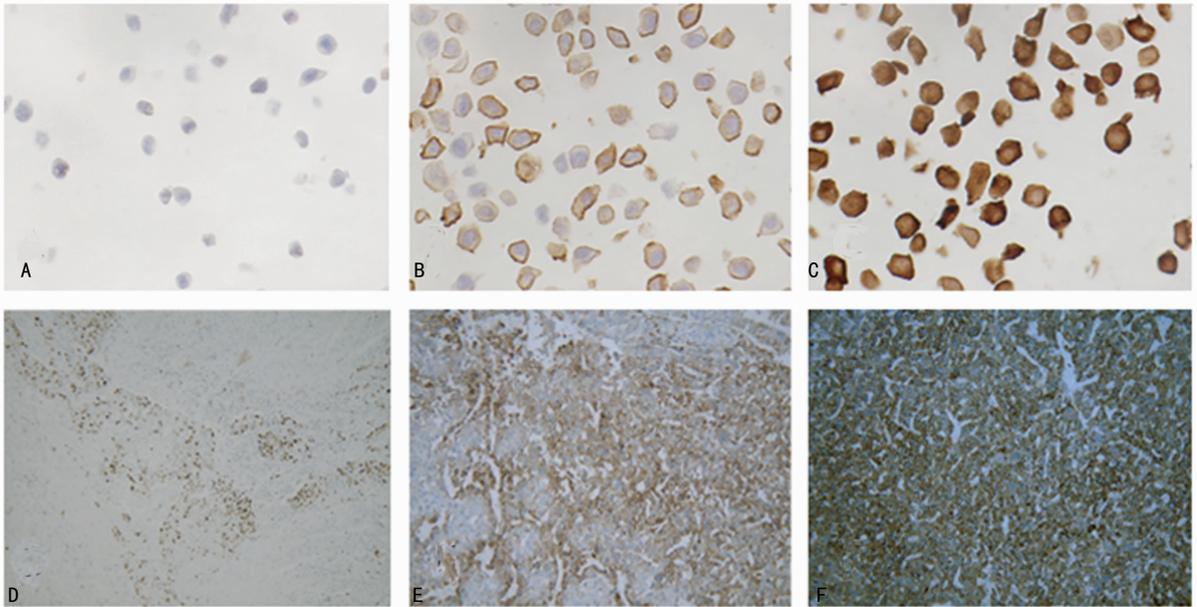
(1. Department of Hepatobiliary Surgery, First People's Hospital of Liangshan Yi Autonomous Prefecture, Liangshan Yi Autonomous Prefecture, Sichuan 615000, China; 2. Department of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China; 3. Department of Respiration, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the expression of HERV-HLTR-associating protein 2(HHLA2) in hepatocellular carcinoma(HCC) tissue and its relationship with different pathological grades, clinical stages, liver function and serum AFP level. **Methods** The positive rate of HHLA2 expression in 150 cases of paraffin-embedded HCC tissues was detected by immunohistochemistry. Ten cases of normal liver tissue specimens from health donors served as the normal control. The differences of HHLA2 expression in HCC tissues were compared among different pathological grades, clinical stage, liver function grades and serum AFP levels. **Results** The positive expression rate of HHLA2 in HCC tissue was significantly higher than that in normal control ( $P < 0.05$ ). The positive rate of HHLA2 expression in low differentiated HCC tissue was highest. The positive rate of HHLA2 expression in the low differentiation and moderate differentiation HCC groups was significantly higher than that in the high differentiation group ( $P < 0.05$ ). The positive expression rate in the patients with Barcelona stage C and D was significantly higher than that in the patients with the stage A and B ( $P < 0.05$ ). The positive expression rate in the patients with Child-Pugh stage A was significantly higher than that in the patients with stage B and C ( $P < 0.01$ ). While the HHLA2 expression rate had no statistically significant difference among different ages and different serum AFP levels ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The positive expression rate of HHLA2 in cancer tissues of HCC patients is significantly increased. HHLA2 might play a certain role in the occurrence, development and metastasis of HCC.

**[Key words]** carcinoma, hepatocellular; lymphocytes; HHLA2; immune escape

原发性肝癌是我国最为常见的肿瘤之一,在我国肿瘤相关死亡原因中居第三位。机体的免疫系统功能状况与肿瘤的发生关系密切,一旦肝细胞癌变,机体免疫系统能通过多种免疫监视机制将癌变细胞清除,但由于肝癌细胞能够通过多种机制逃避免疫系统的攻击而发病。既往的研究表明,共刺激/共抑制(Co-stimulatory/Co-inhibitory)B7 家族是惟一能从抗原递呈细胞(antigen presenting cells, APC)单向传送信号给 T 细胞的分子。在 T 细胞的活化过程中, B7 家族与 CD28 家族以配体-受体结合的形式在 T 细胞活化过程中提供正负双重信号。HERV-HLTR 相关蛋白 2(HERV-HLTR-associating protein

2, HHLA2) 是最新发现的 B7 家族成员。新近的研究表明, HHLA2 与 T 细胞上可能的受体结合后,可以抑制 CD4 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞的增殖和活化,负性调控机体免疫应答过程<sup>[1]</sup>。在多种不同器官、组织来源的肿瘤细胞中, HHLA2 均呈高水平表达。目前的研究表明,在结肠癌、食道癌、肾癌、肺癌、膀胱癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌及黑色素瘤中 HHLA2 均为过表达<sup>[2-3]</sup>。目前国内外少见文献报道 HHLA2 在肝癌中的表达情况,本研究拟采用免疫组织化学检测四川省凉山彝族自治州第一人民医院肝细胞癌患者肿瘤及癌旁组织中 HHLA2 的表达水平,探讨 HHLA2 在患者肝癌组织表达的水平及



A: 阴性细胞切片对照; B: 弱阳性细胞对照; C: 强阳性细胞对照; D: 高分化肝癌中 HHLA2 的表达; E: 中分化肝癌中 HHLA2 的表达; F: 低分化肝癌 HHLA2 的表达

图 1 不同病理分级肝癌组织中 HHLA2 的表达( $\times 400$ )

其在肝癌患者预后中的作用。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 回顾性分析 2006—2016 年在四川省凉山州彝族自治州第一人民医院病理科存档的 150 例患者肝细胞癌石蜡标本。其中男 113 例,女 37 例,年龄 27~76 岁,中位年龄 58 岁,所有患者标本均经苏木素-伊红(HE)染色,由病理科医师读片,确认为肝细胞癌患者。所有患者均在该院接受手术切除治疗,采集新鲜肝癌组织和癌旁肝脏组织标本,按照病理检查结果分为高、中、低分化,其中高分化患者 58 例,中分化患者 67 例,低分化患者 25 例。150 例患者中,121 例患者为 HBV 感染者。所有患者均未接受化疗、放疗及生物免疫治疗,并且不合并其他自身免疫性疾病及其他器官肿瘤。同时收集在该院消化内科住院,并接受肝组织活检的 10 例患者正常肝组织作为对照。本研究对病例资料的收集获得该院伦理委员会审查批准。

## 1.2 方法

**1.2.1 免疫组化检测** 所有临床标本均用 4% 甲醛溶液浸泡固定,常规脱水、透明、石蜡包埋后切片,切片厚度为 5  $\mu\text{m}$ ;切好的病理片用 60  $^{\circ}\text{C}$  烤箱融化石蜡,依次经二甲苯脱蜡,并置于 100%、90%、80%、70% 乙醇内水化;然后将切片置 0.3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  中浸泡 10 min 以去除内源性抗原;然后将切片置于抗原修复溶液(DAKO, S1700, USA),微波炉加热 2 min 后将切片置于蒸锅中蒸 30 min 进行热修复;然后加入小鼠抗人 HHLA2 单克隆抗体(RnD, USA, Clone # 907812),1:200 稀释,于 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 50 min;加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的兔抗鼠二抗[DAKO ENVISION + HRP, anti-mouse (K4000), 丹麦],DAB 显色,苏木素复染细胞核,染色完成后,分别在 70%、80%、95%、100% 乙醇中脱水各 3 min,中性树脂封片。阴性对照为磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗,阳性对照为稳定转染人 HHLA2 的小鼠 3T3 成纤维细胞组织胶石蜡切片。

**1.2.2 结果判断标准** 免疫组化染色的切片分别由 2 名资深病理科医师双盲独立观察评估,以细胞质或细胞膜出现黄色至棕褐色颗粒判定为阳性染色。首先在低倍镜观察切片,并随机选取肿瘤细胞及肿瘤间质的 5 个高倍视野( $\times 400$ )进行细胞计

数,按细胞染色强度分级:无着色计 0 分,淡黄色着色计 1 分,棕黄色着色计 2 分,棕褐色计 3 分;染色阳性细胞密度百分比分级:阳性细胞数  $\leq 10\%$  为 1 分,  $10\% <$  阳性细胞数  $\leq 50\%$  为 2 分,阳性细胞数  $> 50\%$  为 3 分;以上 2 项积分相乘结果  $\geq 3$  分为阳性表达。肿瘤细胞及肿瘤间质内任一项阳性均认定为阳性表达。

**1.3 统计学处理** 统计学分析采用 Prism 6 软件进行,HHLA2 的表达水平以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用  $t$  检验,多组间比较采用方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 不同病理分化肝癌组织中 HHLA2 的表达及分布** HHLA2 在肝癌组织中的表达均增强(染色为黄色以上,1 分以上),主要表达于肝癌的细胞膜和细胞质内,呈棕黄色至棕褐色颗粒、团块状,呈多区域分布,HHLA2 在肝癌患者中的表达阳性率为 75.3% (113/150);而 HHLA2 在癌旁组织中阳性率为 8.6% (13/150),而正常肝脏组织中 HHLA2 不表达。肝癌组织中 HHLA2 阳性表达率明显高于癌旁组织和正常组织 ( $P < 0.05$ )。并且,在不同的病理分化程度肝癌组织中,HHLA2 的表达强度亦不相同,病理分化程度低的肝癌中,HHLA2 的表达更高,HHLA2 在高分化组、中分化组、低分化组及对照组中的表达情况,见图 1、表 1。

表 1 不同病理分级肝癌组织中 HHLA2 的阳性表达率( $\bar{x} \pm s, \%$ )

病理分化	<i>n</i>	HHLA2
高分化	58	32.340 $\pm$ 1.348
中分化	67	48.370 $\pm$ 1.514 <sup>a</sup>
低分化	25	53.400 $\pm$ 2.665 <sup>a</sup>
对照组	10	1.520 $\pm$ 0.399 <sup>abc</sup>
<i>F</i>		69.68
<i>P</i>		0.0018

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与高分化组比较;<sup>b</sup>:  $P < 0.05$ ,与中分化组比较;<sup>c</sup>:  $P < 0.05$ ,与低分化组比较

**2.2 不同年龄分组 HHLA2 的表达** 按患者年龄  $\geq 50$  岁与小于 50 岁分组,  $\geq 50$  岁患者 HHLA2 的阳性表达率为  $(41.610 \pm 1.733)\%$ ,  $< 50$  岁患者 HHLA2 的阳性表达率为  $(44.480 \pm 1.600)\%$ , 两组间 HHLA2 的阳性表达率差异无统计学意义 ( $t = 1.218, P = 0.225$ )。

**2.3 不同肝功能 Child-Pugh 分级患者肝癌组织中 HHLA2 的表达及分布** 在 Child-Pugh 分级为 A 级的患者 HHLA2 阳性表达率明显低于肝功能 B 级及 C 级患者, 肝功能 B 级患者与肝功能 C 级患者肝癌组织中 HHLA2 的阳性表达率差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 2。

**表 2 不同肝功能 Child-Pugh 分级患者肝癌组织 HHLA2 的阳性表达率 ( $\bar{x} \pm s, \%$ )**

Child-Pugh 分级	n	HHLA2
A 级	83	35.80 $\pm$ 1.385
B 级	45	51.13 $\pm$ 1.552 <sup>a</sup>
C 级	22	53.64 $\pm$ 2.955 <sup>a</sup>
F		32.87
P		< 0.01

<sup>a</sup>:  $P < 0.01$ , 与 A 级比较

**2.4 不同肝癌分期患者肝癌组织中 HHLA2 的表达率** 肝癌分期采用巴塞罗那 (BCLC) 分期, 不同分期肝癌患者癌组织中 HHLA2 的表达率随着肿瘤分期的进展逐渐升高, 以巴塞罗那分期 D 期患者肝癌组织中的 HHLA2 表达率最高, A 期与 B 期比较、B 期与 C 期比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), C 期与 D 期比较 HHLA2 表达率, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 3。

**表 3 HHLA2 在不同 BCLC 分期肝癌组织中的阳性表达率 ( $\bar{x} \pm s, \%$ )**

BCLC 分期	n	HHLA2
A 期	42	31.79 $\pm$ 1.584
B 期	48	40.52 $\pm$ 1.996 <sup>a</sup>
C 期	35	52.49 $\pm$ 1.487 <sup>ab</sup>
D 期	25	53.40 $\pm$ 2.665 <sup>ab</sup>
F		27.54
P		< 0.01

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与 A 期比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与 B 期比较

**2.5 不同血清甲胎蛋白 (AFP) 水平组患者肝癌组织 HHLA2 的阳性表达率** 以血清 AFP 作为分组标准, 将患者分为 AFP  $\geq 400 \mu\text{g/L}$  组与 AFP  $< 400 \mu\text{g/L}$  组, AFP  $\geq 400 \mu\text{g/L}$  组 HHLA2 的阳性表达率为  $(45.440 \pm 2.561)\%$ , AFP  $< 400 \mu\text{g/L}$  组为  $(42.250 \pm 1.339)\%$ , 两组患者肝癌组织中 HHLA2 的阳性表达率差异无统计学意义 ( $t = 1.00, P > 0.05$ )。

**3 讨 论**

免疫尤其是细胞免疫是机体抑制肿瘤发生的主要机制, T 细胞是细胞免疫最重要的角色, B7 家族配体与 CD28 家族受体是主要的 T 细胞共刺激/共抑制分子。既往的研究表明, 这些分子在恶性肿瘤发生、发展过程中具有重要的影响, 尤其是共抑制分子在肿瘤细胞的异位表达, 共抑制分子配体与其受体结合后能抑制 T 细胞的活性, 抑制 T 细胞增殖, 并且诱导 T 细胞凋亡。在肿瘤细胞逃避机体的免疫监视中具有极其重要的

作用, 是肿瘤发生、发展的关键。B7 家族成员 PD-1 与 HHLA2 相近, 都是免疫抑制调节分子, 肿瘤细胞表达 PD-L1 在肿瘤的免疫逃逸中发挥重要作用<sup>[4-9]</sup>; 阻断 PD-1/PD-L1 之间的结合之后, 机体针对肿瘤的免疫杀伤明显增强<sup>[10-12]</sup>。因此 B7 家族是肿瘤免疫治疗重要的靶点。目前 PD-1/PD-L1 阻断抗体已经上市, 在临床肿瘤免疫治疗中已经显示出良好的治疗效果, 大有取代传统化疗的趋势<sup>[13]</sup>。

HHLA2 是目前发现的最新免疫共抑制分子, HHLA2 主要表达于人单核细胞, 可能与 T 细胞上尚未发现的受体结合, 抑制 CD4<sup>+</sup> 及 CD8<sup>+</sup> T 细胞的活化、增殖, 并且还能在体外明显降低干扰素 (IFN- $\gamma$ )、肿瘤坏死因子 (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 (IL)-5、IL-10、IL-13、IL-17A 及 IL-22 的分泌, 在免疫抑制中具有重要的作用<sup>[1]</sup>。

目前的研究发现, HHLA2 仅低水平表达于小肠、乳腺、肾脏、膀胱及胎盘组织的上皮细胞。其中胎盘组织中 HHLA2 的表达较高, 原因可能是为了保护胎儿不受母体免疫系统的攻击<sup>[2]</sup>。在本研究中采用免疫组化分析了 HHLA2 在肝癌及正常癌旁组织中的表达情况, 结果表明 HHLA2 在正常组织中表达水平极低、表达率仅为  $(1.520 \pm 0.399)\%$ 。癌组织过表达 HHLA2 可造成肿瘤细胞逃避机体免疫监视, 导致肿瘤发生、发展<sup>[14]</sup>。既往的研究已经发现, HHLA2 在结肠癌、乳腺癌、肺癌、神经胶质瘤等肿瘤中呈阳性表达<sup>[15]</sup>, 但 HHLA2 在肝癌组织中的表达情况, 尚少见文献报道。

本研究中发现, HHLA2 在肝癌尤其是进展期肝癌组织中高度表达。HHLA2 作为最新发现的免疫共抑制分子, 可能在肝癌进展中发挥重要的免疫抑制作用, 以帮助肿瘤细胞免遭机体免疫系统的清除。进一步的分析发现, HHLA2 在高分化肝癌中的表达显著低于中分化、低分化组, 又以低分化肝癌中的表达阳性率最高, 该结果提示 HHLA2 的表达可能与其信号通路激活有关, 但目前 HHLA2 的受体尚未明确。

BCLC 分期被认为是目前肝癌最好的分期系统, 在大量的临床研究中使用。在本研究中发现, BCLC 分期以 C、D 期患者 HHLA2 的阳性表达率高, 显著高于 A、B 期患者, C 期与 D 期患者之间 HHLA2 的表达差异无统计学意义; 该研究结果表明, 随着 BCLC 分期的进展, HHLA2 在肝癌组织中的表达也随之增高, 提示 HHLA2 与肝癌的生长和转移可能存在一定的关系。并且最近的研究表明, 在胶质瘤患者中, 转移灶的 HHLA2 表达水平明显高于原发灶, 因此认为, HHLA2 亦可能在肿瘤转移中发挥一定的作用。但 AFP  $\geq 400 \mu\text{g/L}$  组与 AFP  $< 400 \mu\text{g/L}$  组患者 HHLA2 的阳性表达率差异无统计学意义。此外, 不同年龄组患者之间肝癌组织 HHLA2 的表达差异无统计学意义。

本研究结果提示, HHLA2 在肝癌组织中呈高表达, HHLA2 可能与肿瘤的免疫逃逸有关, 有研究观察到 HHLA2 蛋白能够结合到 CD3 阳性的 T 细胞表面<sup>[1]</sup>。该结果表明在 T 细胞表面存在 HHLA2 的受体, 但目前 HHLA2 在 T 细胞表面的受体尚未阐明, 可能 HHLA2 结合到 T 细胞表面受体, 通过抑制 T 细胞活化、增殖, 并诱导 T 细胞凋亡以协助肿瘤细胞逃避机体免疫监视。

综上所述, 在肝癌患者癌组织中 HHLA2 的表达阳性率明显升高, 其表达可能在肝癌的发生、发展及转移中具有一定的作用; 并且, HHLA2 可能作为一种肿瘤诊断、判断预后的指标, 由于 HHLA2 的共抑制作用在肿瘤发生、发展中具有重要作用, 因此也可能作为肿瘤抗体治疗的靶标<sup>[16-17]</sup>。

## 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<sup>+</sup> T lymphocytes in pancreatic cancer[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):7848.
- [9] 李秀玉, 胡波, 李忠新. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> 调节性 T 细胞和 PD-1<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T 细胞对宫颈内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- $\gamma$ -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- $\alpha$  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-butenoic acid decreases substance P-induced TNF- $\alpha$  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 MAPK 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)