

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.15.009

$\alpha 7$ nAChR 调控 STAT3 磷酸化在星形胶质细胞机械性损伤后炎症反应中的作用 *

王 琦¹ 武秀权² 戴舒惠² 高翔宇² 豆雅楠² 罗 鹏² 李 新^{3Δ}

(1 空军军医大学基础医学院学员一大队 陕西 西安 710032; 2 空军军医大学第一附属医院神经外科 陕西 西安 710032;
3 空军军医大学第一附属医院麻醉科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:通过建立星形胶质细胞机械性损伤模型,研究烟碱型乙酰胆碱受体 $\alpha 7$ 亚单位($\alpha 7$ nAChR)在创伤性脑损伤后星形胶质细胞炎症反应中的作用及调控机制。**方法:**建立星形胶质细胞机械性损伤模型,通过 ELISA 检测炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 、IL-10 和 TGF- β 的表达;利用 $\alpha 7$ nAChR 抑制剂 α -BGT 和激动剂 PHA-543613 处理星形胶质细胞,检测相关炎症因子表达,并通过 Western blot 检测信号传导及转录活化因子 3(STAT3)和磷酸化 STAT3(p-STAT3)的表达;利用 α -BGT 和 STAT3 抑制剂 Stattic 处理星形胶质细胞,检测相关炎症因子表达。**结果:**① 星形胶质细胞机械性损伤后,促炎因子 IL-1 β 、TNF- α 表达增加,抗炎因子 IL-10、TGF- β 表达降低($P<0.05$)。② 利用 α -BGT 抑制 $\alpha 7$ nAChR 可增加损伤后 IL-1 β 、TNF- α 的表达,减少 IL-10、TGF- β 的表达($P<0.05$);而利用 PHA-543613 激活 $\alpha 7$ nAChR 功能,则发挥相反作用($P<0.05$)。③ α -BGT 可促进 STAT3 磷酸化,而 PHA-543613 抑制 STAT3 磷酸化($P<0.05$)。④ STAT3 抑制剂 Stattic 可减少 IL-1 β 和 TNF- α 的表达,增加 IL-10 和 TGF- β 的表达,并部分阻断 α -BGT 对 IL-1 β 、TNF- α 、IL-10 及 TGF- β 表达的影响($P<0.05$)。**结论:**机械性损伤后,激活 $\alpha 7$ nAChR 可减轻星形胶质细胞炎症反应,而抑制 STAT3 磷酸化是其重要的下游机制。

关键词:创伤性脑损伤;星形胶质细胞;炎症反应;烟碱型乙酰胆碱受体 $\alpha 7$ 亚单位;信号传导及转录活化因子 3

中图分类号:R-33;R651.15;R364.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)15-2845-05

Effects of $\alpha 7$ nAChR in Regulation of STAT3 Phosphorylation after Astrocytic Mechanical Injury-induced Inflammation*

WANG Qi¹, WU Xiu-quan², DAI Shu-hui², GAO Xiang-yu², DOU Ya-nan², LUO Peng², LI Xin^{3Δ}

(1 First Troops of Basic Medicine College, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Department of Neurosurgery, Xijing Hospital, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

3 Department of Anesthesiology, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the role of nicotinic acetylcholine receptor alpha 7 subunit ($\alpha 7$ nAChR) in astrocyte-associated inflammation after traumatic brain injury via establishment of astrocytic mechanical injury model. **Methods:** After establishment of astrocytic mechanical injury, expressions of inflammatory factors, including IL-1 β , TNF- α , IL-10, and TGF- β , were detected by ELISA assay. After administration of $\alpha 7$ nAChR antagonist (α -BGT) and $\alpha 7$ nAChR agonist (PHA-543613), expressions of inflammatory factors were detected by ELISA assay and expressions of STAT3 and STAT3 phosphorylation (p-STAT3) were detected by Western blot. After administration of α -BGT and STAT3 antagonist (Stattic), expressions of inflammatory factors were detected by ELISA assay. **Results:** ① After astrocytic mechanical injury, expressions of pro-inflammatory factors, IL-1 β and TNF- α , were increased, while expressions of anti-inflammatory factors, IL-10 and TGF- β , were decreased ($P<0.05$). ② Inhibition of $\alpha 7$ nAChR by α -BGT increased the expressions of IL-1 β and TNF- α after injury and decreased the expressions of IL-10 and TGF- β ($P<0.05$), while activation of $\alpha 7$ nAChR by PHA-543613 showed the reverse effects on these inflammatory factors ($P<0.05$). ③ Administration of α -BGT increased the phosphorylation of STAT3, while administration of PHA-543613 decreased the phosphorylation of STAT3 ($P<0.05$). ④ Administration of STAT3 antagonist (Stattic) decreased the expressions of IL-1 β and TNF- α , increased the expressions of IL-10 and TGF- β , and partially reversed the effects of α -BGT on expressions of IL-1 β , TNF- α , IL-10, and TGF- β ($P<0.05$). **Conclusion:** After mechanical injury, activation of $\alpha 7$ nAChR reduces the inflammation in astrocytes. Inhibition of STAT3 phosphorylation acted as an important downstream mechanism of this process.

Key words: Traumatic brain injury; Astrocyte; Inflammation; Nicotinic acetylcholine receptor alpha 7 subunit; Signal transducer and

* 基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(81601149);陕西省高校科协青年人才托举计划项目(20180305);

陕西省自然科学基金项目(2017JQ8038)

作者简介:王琦(1997-),本科生,主要研究方向:脑损伤与脑保护机制,E-mail: 176214964@qq.com

Δ 通讯作者:李新,本科生指导老师,讲师,主要研究方向:脑损伤与脑保护机制,电话:029-84773484,E-mail: li_xin_mail@126.com

(收稿日期:2019-02-18 接受日期:2019-03-15)

activator of transcription 3

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R651.15; R364.5 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2019)15-2845-05

前言

创伤性脑损伤(trumatic brain injury, TBI)是头部遭受外力打击导致的一种严重神经系统损伤性疾病,是导致青壮年致残、致死的主要原因,已成为是全球范围内重要的公共卫生问题^[1]。TBI急性期会诱发神经炎症反应,而过度激活的炎症反应是重要的继发性脑损害因素之一,将加重神经损伤、阻碍神经修复。星形胶质细胞占脑内细胞总数90%左右,在TBI后可释放大炎症因子,对神经元造成损伤^[2]。因此,调节星形胶质细胞在TBI后炎症反应过程中的功能,已成为治疗TBI的潜在靶点。

烟碱型乙酰胆碱受体 $\alpha 7$ 亚单位(nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit, $\alpha 7$ nAChR)广泛表达于包括星形胶质细胞在内的多种细胞表面,是胆碱能抗炎通路的主要组成成分。前期研究证实, $\alpha 7$ nAChR激活后可通过信号传导及转录活化因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)通路抑制炎症细胞因子的合成和释放,是控制自身免疫反应最重要的内源性通路之一^[3]。但是,目前尚无研究报道 $\alpha 7$ nAChR能否通过星形胶质细胞调控TBI后炎症反应。因此,本研究拟利用细胞机械性损伤模型在原代培养星形胶质细胞上模拟TBI,进而探讨 $\alpha 7$ nAChR在TBI后星形胶质细胞相关炎症反应中的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物和试剂

孕14~16天C57BL/6小鼠购自空军军医大学实验动物中心;白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-10(Interleukin-10, IL-10)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)ELISA检测试剂盒购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;STAT3抗体、磷酸化STAT3(p-STAT3)抗体、 β -actin抗体购自美国CST公司;山羊抗兔二抗、兔抗小鼠二抗均购自北京鼎国公司; $\alpha 7$ nAChR抑制剂 α -BGT、 $\alpha 7$ nAChR激动剂PHA-543613和STAT3磷酸化抑制剂Stattic购自英国Tocris公司;10%胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、改良Eagle培养基(Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM)均购自美国Gibco公司;多聚赖氨酸、二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)均购自美国Sigma公司;蛋白裂解液(radio immunoprecipitation assay, RIPA)、苯甲基磺酰氟(phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF)、凝胶电泳试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司;蛋白定量试剂盒购自北京博奥森生物技术有限公司。

1.2 实验方法和步骤

1.2.1 小鼠星形胶质细胞原代培养 无菌条件下取1~3天新生C57BL/6小鼠大脑,分离大脑皮层组织,眼科镊充分剪碎,加入适量0.25%胰蛋白酶消化液37℃消化15 min,终止消化后反复吹打为单细胞悬液,接种入含20%FBS的DMEM培养

基;每3天一次半量换液含10%FBS的DMEM培养基,长满后于37℃恒温摇床(200~220 rpm)纯化14~16小时,去除小胶质细胞和少突胶质细胞;纯化后以适当密度接种于培养皿或培养板。

1.2.2 细胞机械性损伤模型 本实验采用离体细胞TBI模型,是在Mukhin等^[4]建立的离体神经细胞创伤模型的基础上,经由本实验室完善和改进的离体机械性损伤模型。以10 μ L的微量移液器塑料枪头于6孔板内划割,造成星形胶质细胞机械性损伤,划伤道宽度为1 mm,两相邻划伤道间隔4 mm。依据预先在培养皿底面画好的标记线(9 $\times$ 9)划割培养好的星形胶质细胞,标记线均匀分布在培养皿底面,保证同一组内的星形胶质细胞损伤程度和范围一致。

1.2.3 蛋白印迹法(Western blot)检测蛋白表达 将损伤区域脑组织加入蛋白裂解液后在冰上进行匀浆,完成后将组织匀浆离心30 min,取上清液进行蛋白定量检测,并制备成Western Blot样品。常规电泳,STAT3一抗(1:800)、p-STAT3一抗(1:800)、 β -actin一抗(1:1 500),显色压片后使用扫描仪采集电子图像信息进行分析。

1.2.4 酶联免疫吸附实验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 根据说明书准备反应试剂,将包被好的96孔板取出,加入标准品和培养上清样本。按照说明书要求,依次加入、孵育并清洗相关试剂;100 μ L生物素标记抗体,100 μ L生物素标记,100 μ L HRP标记的抗生物素蛋白和90 μ L TMB反应底物。最后加入90 μ L终止缓冲液,在酶标仪上450 nm波长出,检测吸光度。

1.3 统计学分析

实验数据采用均数 $\pm$ 标准误($\bar{x} \pm$ SEM)表示,通过Graph-Pad Prism software version 7.0对获得的数据进行统计。多区间数据比较采用双因素方差分析(ANOVA),若总体差异显著,再以t检验分析相应两组间的显著性差别。以 $P < 0.05$ 为有显著性差异。

2 结果

2.1 星形胶质细胞机械性损伤后炎症因子的表达变化

原代培养小鼠星形胶质细胞,并利用GFAP染色进行鉴定(图1A)。在原代培养星形胶质细胞上建立细胞机械性损伤模型,损伤后2 h、4 h、8 h、12 h和24 h分别利用ELISA检测炎症因子IL-1 β 、TNF- α 、IL-10、TGF- β 的表达。结果显示,促炎因子IL-1 β (Con:260 $\pm$ 17.2 pg/mL,2 h:305 $\pm$ 23.4 pg/mL,4 h:375 $\pm$ 26.2 pg/mL,8 h:420 $\pm$ 25.1 pg/mL,12 h:480 $\pm$ 28.3 pg/mL,24 h:510 $\pm$ 32.2 pg/mL)、TNF- α (Con:95 $\pm$ 8.3 pg/mL,2 h:125 $\pm$ 10.2 pg/mL,4 h:139 $\pm$ 11.5 pg/mL,8 h:153 $\pm$ 12.2 pg/mL,12 h:164 $\pm$ 13.7 pg/mL,24 h:175 $\pm$ 12.6 pg/mL)表达随损伤时间延长不断增加(图1B、C),而抗炎因子IL-10(Con:92 $\pm$ 4.8 pg/mL,2 h:110 $\pm$ 10.1 pg/mL,4 h:80 $\pm$ 6.3 pg/mL,8 h:72 $\pm$ 3.8 pg/mL,12 h:64 $\pm$ 4.3 pg/mL,24 h:60 $\pm$ 3.4 pg/mL)、TGF- β (Con:18 $\pm$ 1.3

pg/mL, 2 h: 22 ± 1.4 pg/mL, 4 h: 14 ± 1.3 pg/mL, 8 h: 13 ± 1.1 pg/mL, 12 h: 12 ± 1.3 pg/mL, 24 h: 10.5 ± 1.1 pg/mL) 表达随损伤

时间延长, 表现为先升高后降低(图 1D、E)。这些结果提示, 细胞机械性损伤会引起星形胶质细胞发生炎症反应。

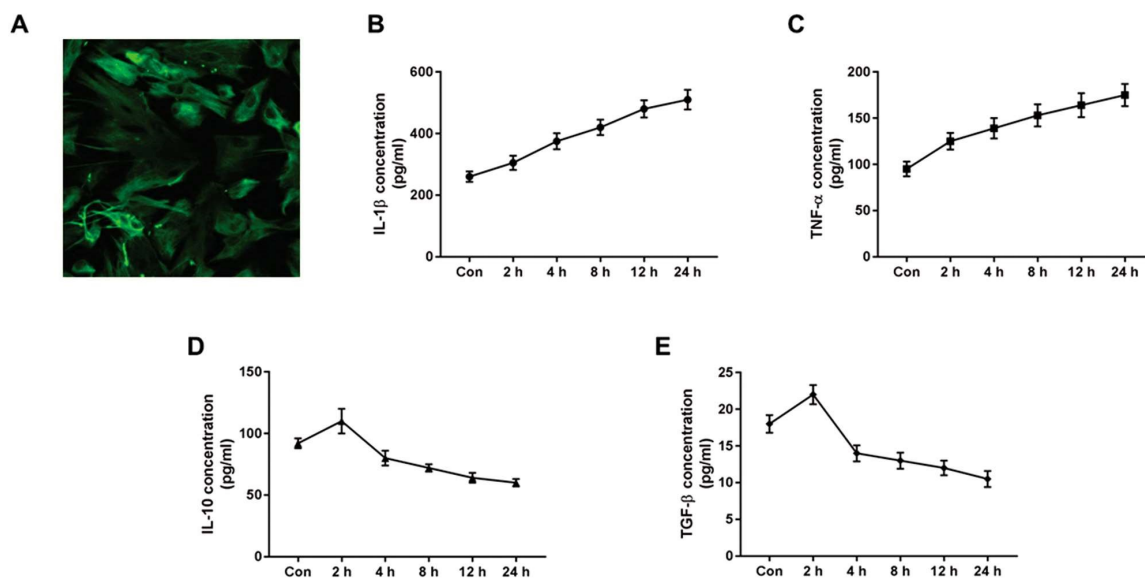


图1 星形胶质细胞机械性损伤后炎症因子的变化

Fig.1 Alterations of inflammatory factors after astrocytic mechanical injury

A: GFAP staining of astrocytes. B: ELISA assay showed a significant elevation of IL-1 β at 2 h, 4 h, 6 h, 12 h, and 24 h after injury. * $P < 0.05$ vs Con. C: ELISA assay showed a significant elevation of TNF- α at 2 h, 4 h, 6 h, 12 h, and 24 h after injury. * $P < 0.05$ vs Con. D: ELISA assay showed a significant elevation of IL-10 at 2 h and an obvious reduction of IL-10 at 4 h, 6 h, 12 h, and 24 h after injury. * $P < 0.05$ vs Con. E: ELISA assay showed a significant elevation of TGF- β at 2 h and an obvious reduction of TGF- β at 4 h, 6 h, 12 h, and 24 h after injury. * $P < 0.05$ vs Con.

2.2 星形胶质细胞机械性损伤后 $\alpha 7$ nAChR 对炎症因子的影响

利用 $\alpha 7$ nAChR 抑制剂 α -BGT (25 μ M) 和激动剂 PHA-543613 (25 μ M) 处理原代培养星形胶质细胞, 1 h 后建立细胞机械性损伤模型。损伤 24 h 后, ELISA 结果显示, α -BGT 组与溶剂组 (DMSO 组) 相比, 促炎因子 IL-1 β (α -BGT 组: 625 ± 36.5 pg/mL vs. DMSO: 515 ± 32.3 pg/mL, * $P < 0.05$)、TNF- α (α -BGT 组: 245 ± 16.2 pg/mL vs. DMSO: 180 ± 12.6 pg/mL, * $P < 0.05$) 表达明显升高, 抗炎因子 IL-10 (α -BGT 组: 48 ± 3.2 pg/mL vs. DMSO 组: 62 ± 3.5 pg/mL, * $P < 0.05$)、TGF- β (α -BGT 组: 7.8 ± 0.72 pg/mL vs. DMSO 组: 10 ± 1.1 pg/mL,

* $P < 0.05$) 表达明显降低(图 2); PHA-543613 组与 DMSO 组相比, 促炎因子 IL-1 β (PHA-543613 组: 352 ± 28.54 pg/mL vs. DMSO 组: 515 ± 32.3 pg/mL, # $P < 0.05$)、TNF- α (PHA-543613 组: 129 ± 13.3 pg/mL vs. DMSO 组: 180 ± 12.6 pg/mL, # $P < 0.05$) 表达明显降低, 抗炎因子 IL-10 (PHA-543613 组: 80 ± 8.2 pg/mL vs. DMSO 组: 62 ± 3.5 pg/mL, # $P < 0.05$)、TGF- β (PHA-543613 组: 15 ± 1.3 pg/mL vs. DMSO 组: 10 ± 1.1 pg/mL, # $P < 0.05$) 表达明显升高(图 2)。这些结果提示, $\alpha 7$ nAChR 在星形胶质细胞机械性损伤后发挥抗炎作用。

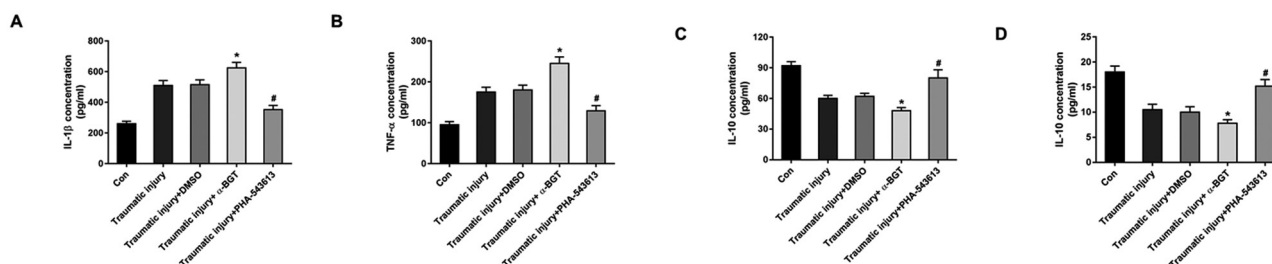


图2 $\alpha 7$ nAChR 在星形胶质细胞机械性损伤后炎症反应中的作用

Fig.2 Role of $\alpha 7$ nAChR in inflammation after astrocytic mechanical injury

A: ELISA assay showed a significant elevation of IL-1 β in α -BGT group (* $P < 0.05$ vs DMSO group), and a significant reduction of IL-1 β in PHA-543613 (# $P < 0.05$ vs DMSO group). B: ELISA assay showed a significant elevation of TNF- α in α -BGT group (* $P < 0.05$ vs DMSO group), and a significant reduction of TNF- α in PHA-543613 (# $P < 0.05$ vs DMSO group). C: ELISA assay showed a significant reduction of IL-10 in α -BGT group (* $P < 0.05$ vs DMSO group), and a significant elevation of IL-10 in PHA-543613 (# $P < 0.05$ vs DMSO group). D: ELISA assay showed a significant reduction of TGF- β in α -BGT group (* $P < 0.05$ vs DMSO group), and a significant elevation of TGF- β in PHA-543613 (# $P < 0.05$ vs DMSO group).

2.3 $\alpha 7$ nAChR 在星形胶质细胞机械性损伤后对 STAT3 磷酸化的作用

利用 $\alpha 7$ nAChR 抑制剂 α -BGT 和激动剂 PHA-543613 处理原代培养星形胶质细胞, 1 h 后建立细胞机械性损伤模型。损

伤 24 h 后, Western blot 结果显示, α -BGT 组与 DMSO 组相比, STAT3 表达水平无明显改变, 而 p-STAT3 (α -BGT 组: 3.6 ± 0.47 vs. DMSO 组: 2.5 ± 0.41 , $*P < 0.05$) 表达水平显著升高; PHA-543613 组与 DMSO 组相比, STAT3 表达水平无明显改变, 而 p-STAT3 (PHA-543613 组: 1.5 ± 0.24 pg/mL vs. DMSO 组: 2.5 ± 0.41 , $*P < 0.05$) 表达水平显著降低。这些结果提示, α 7nAChR 在星形胶质细胞机械性损伤后抑制 STAT3 磷酸化。

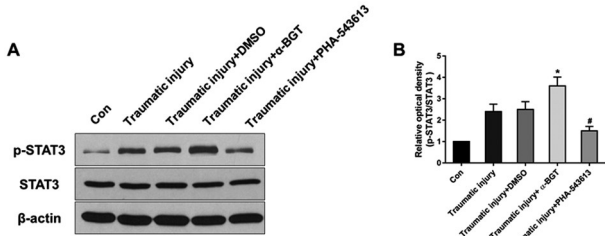


图 3 星形胶质细胞机械性损伤后 α 7nAChR 调控 STAT3 磷酸化

Fig.3 Regulation of STAT3 phosphorylation by α 7nAChR after astrocytic mechanical injury

A: Representative graph of Western blot. B: Statistical analysis of Western blot showed a significant elevation of p-STAT3 in α -BGT group ($*P < 0.05$ vs DMSO group), and a significant elevation of p-STAT3 in PHA-543613 ($*P < 0.05$ vs DMSO group).

2.4 α 7nAChR 调控 STAT3 磷酸化在星形胶质细胞机械性损伤

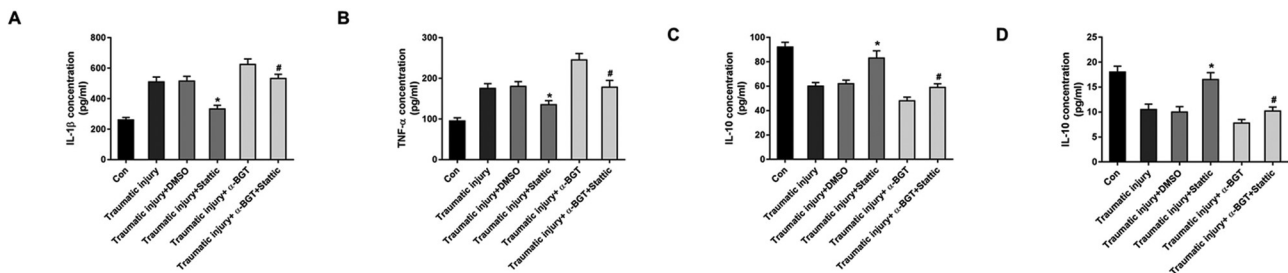


图 4 星形胶质细胞机械性损伤后 α 7nAChR 调控 STAT3 磷酸化对炎症反应的影响

Fig.4 Effects of α 7nAChR regulating STAT3 phosphorylation on inflammation after astrocytic mechanical injury

A: ELISA assay showed a significant reduction of IL-1 β in Stattic group ($*P < 0.05$ vs DMSO group), and in α -BGT+Stattic ($*P < 0.05$ vs α -BGT group).
B: ELISA assay showed a significant reduction of TNF- α in Stattic group ($*P < 0.05$ vs DMSO group), and in α -BGT+Stattic ($*P < 0.05$ vs α -BGT group).
C: ELISA assay showed a significant elevation of IL-10 in Stattic group ($*P < 0.05$ vs DMSO group), and in α -BGT+Stattic ($*P < 0.05$ vs α -BGT group).
D: ELISA assay showed a significant elevation of TGF- β in Stattic group ($*P < 0.05$ vs DMSO group), and in α -BGT+Stattic ($*P < 0.05$ vs α -BGT group).

3 讨论

创伤性脑损伤(TBI)在全球范围内的发病率持续上升,其致死率、致残率高,特别是导致青壮年人群丧失劳动和生活自理能力,带来了极大的社会负担,已成为严重的公共健康问题^[1]。目前,针对 TBI 的治疗仍以手术为主,但对于术后继发性脑损害的药物治疗,仍缺乏有效的干预手段^[5]。TBI 后,能量缺乏和细胞坏死产物的刺激大量炎症介质释放,引起神经细胞死亡;这些炎症介质进一步破坏血脑屏障,导致血液成分进入脑实质,更多的炎细胞渗出和浸润,释放更大量的炎性因子^[6]。这一反复放大的暴发性反应促使损伤周边区域神经细胞死亡,推动损伤范围扩大,加重缺血损伤。一系列研究证实,抑制 TBI 后的急性炎症反应,可减轻神经元损伤,改善损伤后的神经功

后炎症反应中的作用

利用 STAT3 磷酸化抑制剂 Stattic(20 μ M)处理星形胶质细胞,1 h 后建立细胞机械性损伤模型。损伤 24 h 后,ELISA 结果显示,Stattic 组与 DMSO 组相比,促炎因子 IL-1 β (Stattic 组: 332 ± 25.5 pg/mL vs. DMSO 组: 515 ± 32.3 pg/mL, $*P < 0.05$)、TNF- α (Stattic 组: 135 ± 10.3 pg/mL vs. DMSO 组: 180 ± 12.6 pg/mL, $*P < 0.05$) 表达明显降低,抗炎因子 IL-10 (Stattic 组: 83 ± 6.1 pg/mL vs. DMSO 组: 62 ± 3.5 pg/mL, $*P < 0.05$)、TGF- β (α -BGT 组: 16 ± 1.4 pg/mL vs. DMSO 组: 10 ± 1.1 pg/mL, $*P < 0.05$) 表达明显升高(图 4)。利用 α 7nAChR 抑制剂 α -BGT 和 STAT3 磷酸化抑制剂 Stattic 共同处理星形胶质细胞,1 h 后建立细胞机械性损伤模型。损伤 24 h 后,ELISA 结果显示, α -BGT+Stattic 组与 α -BGT 组相比,促炎因子 IL-1 β (α -BGT+Stattic 组: 532 ± 28.7 pg/mL vs. α -BGT 组: 625 ± 36.5 pg/mL, $*P < 0.05$)、TNF- α (α -BGT+Stattic 组: 178 ± 17.1 pg/mL vs. α -BGT 组: 245 ± 16.2 pg/mL, $*P < 0.05$) 表达明显降低,抗炎因子 IL-10(α -BGT+Stattic 组: 59 ± 3.8 pg/mL vs. α -BGT 组: 48 ± 3.2 pg/mL, $*P < 0.05$)、TGF- β (α -BGT 组: 10 ± 0.82 pg/mL vs. α -BGT 组: 7.8 ± 0.72 pg/mL, $*P < 0.05$) 表达明显升高(图 4)。这些结果提示,STAT3 磷酸化促进星形胶质细胞机械性损伤后的炎症反应,而 α 7nAChR 可通过调控 STAT3 磷酸化影响炎症反应。

能^[2]。然而,因此,调控 TBI 后急性炎症反应将有助于改善 TBI 的治疗,为防治 TBI 后神经损伤提供了新途径。

星形胶质细胞是哺乳动物中枢神经系统含量最丰富的细胞类型,约占全部细胞数量的 90% 以上,通过摄取和释放神经递质、维持细胞内外水和离子平衡、维持血脑屏障稳定性、参与能量代谢、抵抗氧化应激损伤等在中枢神经系统正常生理功能中发挥重要作用^[7]。尽管星形胶质细胞并不是传统意义上的免疫细胞,但大量研究表明,在 TBI 后,星形胶质细胞和小胶质细胞一起被激活,对神经炎症起到启动和调节作用^[8,9]。一方面,反应性活化的星形胶质细胞可释放 IL-6、TNF- α 、IL-1 α 、IL-1 β 、IFN γ 、HMGB1 等促炎细胞因子,加速神经细胞死亡;另一方面,星形胶质细胞可分泌抗炎因子 IL-10、TGF- β ,发挥神经保护作用^[10,11]。面对星形胶质细胞在炎症反应中的 "双刃剑" 作

用,调节其功能,使其在脑缺血急性期发挥抗炎作用而减少促炎因子的释放,可能为脑缺血防治提供新的思路和靶点。

多数情况下,炎症反应是自限性的,主要由免疫系统分泌的抗炎因子进行抑制性调控。Borovikova 等^[12]在 *Nature* 发表文章证实迷走神经可通过神经环路影响免疫细胞功能而对炎症反应进行调控。这一功能主要是通过胆碱能抗炎通路实现的:受到炎症刺激后(促炎因子 IL-1 β 、TNF- α 等),迷走神经分泌神经递质乙酰胆碱,作用于外周免疫细胞表面的 $\alpha 7$ nAChR,抑制促炎因子产生,增加抗炎因子释放,从而将炎症反应限制在一个适度的范围内,使其发挥保护而非损伤作用^[13]。STAT3 是 $\alpha 7$ nAChR 重要的下游分子,在神经炎症反应调节中发挥重要作用。近年来的研究证实, $\alpha 7$ nAChR 可通过抑制 STAT3 磷酸化,减轻神经元在脑出血等相关疾病中的炎症反应,从而发挥脑保护作用^[14-16]。但是, $\alpha 7$ nAChR/STAT3 信号途径调控 TBI 后星形胶质细胞炎症反应的具体作用和机制尚未见报道。

本实验通过建立细胞机械性损伤模型,在体外模拟 TBI,研究 $\alpha 7$ nAChR 在星形胶质细胞炎症反应中的作用及机制。结果显示,星形胶质细胞在 TBI 后可同时分泌促炎因子和抗炎因子,而促炎因子表达持续升高是加重炎症反应的重要因素。TBI 后,抑制星形胶质细胞 $\alpha 7$ nAChR 会加重炎症反应,而激活 $\alpha 7$ nAChR 则减轻炎症反应,表明 $\alpha 7$ nAChR 在星形胶质细胞中发挥抗炎效应。进一步的机制研究显示,星形胶质细胞 $\alpha 7$ nAChR 可负向调控 STAT3 磷酸化,从而抑制 STAT3 激活所导致的 TBI 后炎症反应。以上结果首次证实了 TBI 后 $\alpha 7$ nAChR 可通过 STAT3 磷酸化调控星形胶质细胞炎症反应,不但完善了 TBI 后炎症反应的调控机制,而且为 TBI 后脑保护策略提供了新的干预靶点。

参考文献(References)

- [1] Maas AIR, Menon DK, Adelson PD, et al. Traumatic brain injury: integrated approaches to improve prevention, clinical care, and research [J]. *Lancet Neurol*, 2017, 16(12): 987-1048
- [2] 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
- [3] Wazea SA, Wadie W, Bahgat AK, et al. Galantamine anti-colic effect: Role of alpha-7 nicotinic acetylcholine receptor in modulating Jak/STAT3, NF- κ B/HMGB1/RAGE and p-AKT/Bcl-2 pathways[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 5110
- [4] Mukhin AG, Ivanova SA, Knoblach SM, et al. New in vitro model of traumatic neuronal injury: evaluation of secondary injury and glutamate receptor-mediated neurotoxicity[J]. *J Neurotrauma* 1997, 14(9): 651-663
- [5] Kolias AG, Rubiano AM, Figaji A, et al. Traumatic brain injury: global collaboration for a global challenge[J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(2): 136-137
- [6] Corps KN, Roth TL, McGavern DB. Inflammation and neuroprotection in traumatic brain injury[J]. *JAMA Neurol*, 2015, 72(3): 355-362
- [7] Pekny M, Pekna M, Messing A, et al. Astrocytes: a central element in neurological diseases[J]. *Acta Neuropathol*, 2016, 131(3): 323-345
- [8] Liddelow SA, Guttenplan KA, Clarke LE, et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia [J]. *Nature*, 2017, 541(7638): 481-487
- [9] Karve IP, Taylor JM, Crack PJ. The contribution of astrocytes and microglia to traumatic brain injury [J]. *Br J Pharmacol*, 2016, 173(4): 692-702
- [10] Stephenson J, Nutma E, van der Valk P, et al. Inflammation in CNS neurodegenerative diseases[J]. *Immunology*, 2018, 154(2): 204-219
- [11] Corrigan F, Mander KA, Leonard AV, et al. Neurogenic inflammation after traumatic brain injury and its potentiation of classical inflammation[J]. *J Neuroinflammation*, 2016, 13(1): 264
- [12] Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin [J]. *Nature*, 2000, 405(6785): 458-462
- [13] Corsi-Zuelli FMDG, Brognara F, Quirino GFDS, et al. Neuroimmune Interactions in Schizophrenia: Focus on Vagus Nerve Stimulation and Activation of the Alpha-7 Nicotinic Acetylcholine Receptor[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 618
- [14] Krafft PR, McBride D, Rolland WB, et al. $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor Stimulation Attenuates Neuroinflammation through JAK2-STAT3 Activation in Murine Models of Intracerebral Hemorrhage[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 8134653
- [15] Shi S, Liang D, Bao M, et al. Gx-50 Inhibits Neuroinflammation via $\alpha 7$ nAChR Activation of the JAK2/STAT3 and PI3K/AKT Pathways [J]. *J Alzheimers Dis*, 2016, 50(3): 859-871
- [16] Zhao D, Xu X, Pan L, et al. Pharmacologic activation of cholinergic alpha7 nicotinic receptors mitigates depressive-like behavior in a mouse model of chronic stress[J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1): 234