

· 基础研究 ·

敲除腺苷A_{2A}受体基因对慢性低 O₂ 高 CO₂ 模型小鼠前额叶皮质细胞凋亡及磷酸化 p38MAPK 蛋白的影响

任惠明¹ 王小同² 崔志慧³ 袁海⁴

¹中国科学院大学宁波华美医院康复医学科, 宁波 315010; ²温州医科大学附属第二医院脑科康复中心, 温州 325027; ³宁波卫生职业技术学院, 宁波 315010; ⁴合肥市第二人民医院康复医学科, 合肥 230011

通信作者: 崔志慧, Email: huigoodlucky@163.com

【摘要】 目的 观察敲除腺苷 A_{2A} 受体基因对慢性低 O₂ 高 CO₂ 模型小鼠前额叶皮质细胞凋亡以及磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p-p38MAPK)蛋白表达的影响。**方法** 采用随机数字表法将 16 只腺苷 A_{2A} 受体野生型(+/+)小鼠和 16 只腺苷 A_{2A} 受体基因敲除型(-/-)小鼠各分为 2 个亚组, 分别是对照-野生基因组、4 周低 O₂ 高 CO₂-野生基因组(简称模型-野生基因组)、对照-基因敲除组、4 周低 O₂ 高 CO₂-基因敲除组(简称模型-基因敲除组), 每组各 8 只小鼠。将模型-野生基因组、模型-基因敲除组小鼠置于常压低 O₂ 高 CO₂ 动物舱内, 舱内 O₂ 浓度维持在 9%~11% 水平, CO₂ 浓度维持在 5.5%~6.5% 水平, 每天干预 8 h, 每周干预 6 d, 持续干预 4 周。于 4 周制模结束后采用原位末端标记法(TUNEL)检测各组小鼠前额叶皮质细胞凋亡情况, 采用蛋白免疫印迹法检测各组小鼠前额叶皮质磷酸化 p38MAPK 蛋白表达水平。**结果** 两模型亚组前额叶皮质凋亡细胞数量均较相应的对照亚组明显增加($P<0.05$), 并且模型-野生基因组皮质凋亡情况较模型-基因敲除组更显著($P<0.05$); 两模型亚组前额叶皮质 p-p38MAPK 蛋白表达均较相应的对照亚组明显上调($P<0.05$), 并且模型-野生基因组 p-p38MAPK 蛋白表达上调幅度较模型-基因敲除组更显著($P<0.05$)。**结论** 敲除腺苷 A_{2A} 受体基因能抑制慢性低 O₂ 高 CO₂ 模型小鼠前额叶皮质 p38MAPK 信号转导通路活化, 减少前额叶皮质神经细胞凋亡, 为改善慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者认知功能提供更多实验依据。

【关键词】 腺苷 A_{2A} 受体; 低氧; 高碳酸血症; 细胞凋亡; p38MAPK; 小鼠

基金项目: 浙江省中医药管理局项目(2020ZT005); 中国科学院大学宁波华美医院华美基金项目(2018HMZY104)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2021.06.002

Adenosine A_{2A} receptor deficiency prevents p38MAPK activation and apoptosis of prefrontal cortex cells in mice with chronic hypoxic hypercapnia

Ren Huiming¹, Wang Xiaotong², Cui Zhihui³, Yuan Hai⁴

¹Department of Rehabilitation Medicine, Hua Mei Hospital, University of the Chinese Academy of Sciences, Ningbo 315010, China; ²The Center of Rehabilitation & Neurology, The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325027, China; ³Department of Rehabilitation, Ningbo College of Health Sciences, Ningbo 315010, China; ⁴Department of Rehabilitation Medicine, The Second People's Hospital of Hefei City, Hefei 230011, China

Corresponding author: Cui Zhihui, Email: huigoodlucky@163.com

【Abstract】 Objective To observe the effect of genetic inactivation of adenosine A_{2A} receptor on apoptosis in the prefrontal cortex and on the expression of phosphorylated p38 mitogen-activated protein kinase (p38MAPK) in mice with chronic hypoxic hypercapnia. **Methods** Sixteen male wild-type mice and 16 male mice in which the adenosine A_{2A} receptor gene had been knocked out were randomly divided into a 4 weeks group (including 4HH+/+ and 4HH-/- subgroups) and a normal control group (including NC+/+ and NC-/- subgroups). The 4HH+/+ and 4HH-/- group mice were exposed to an atmosphere containing 9-11% O₂ and 5-6% CO₂ 8 hours a day, 6 days a week for 4 weeks. The apoptosis index (AI) in their prefrontal cortices was then evaluated using terminal-deoxynucle-

oitide transferase mediated nick end labelling (TUNEL) staining. The expression of p38MAPK protein in the prefrontal cortices was measured using western blotting. **Results** The average AI had increased significantly in the 4HH+/+ and 4HH-/- groups compared with the controls, with significantly more apoptotic cells in the 4HH+/+ group than in the 4HH-/- group. In the 4HH+/+ and 4HH-/- groups the average expression of p38 protein in the prefrontal cortex was significantly higher than among their controls. Moreover, the average expression of p-p38MAPK protein in the prefrontal cortex of the 4HH-/- group was significantly lower than in the 4HH+/+ group. **Conclusion** Adenosine A_{2A} receptor knockout inhibits apoptosis in the prefrontal cortex and down-regulates the p38MAPK activation of mice after exposure to chronic hypoxic hypercapnia.

【Key words】 Adenosine A_{2A} receptor; Hypoxia; hypercapnia; Apoptosis; Mice; p38 mitogen-activated protein kinase

Funding: A Zhejiang Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine Project (2020ZT005); The Research Foundation of Hwa Mei Hospital (2018HMZY104)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2021.06.002

咖啡因、茶碱等腺苷 A_{2A}受体非选择性拮抗剂已被临床作为辅助性治疗药物应用,但拮抗腺苷 A_{2A}受体对神经组织的保护作用机制并未明确^[1]。近期研究发现,拮抗腺苷 A_{2A}受体对神经组织的保护作用主要与抑制兴奋性氨基酸释放、减轻炎症反应及抑制活性氧产生有关^[2]。有学者发现拮抗腺苷 A_{2A}受体对慢性神经退行性疾病(以细胞凋亡为特点)具有神经保护作用^[3],故推测腺苷 A_{2A}受体可能在调控各种损伤引起的神经元凋亡方面具有重要作用。

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)患者普遍存在认知功能受损,但目前并未引起临床足够重视^[4]。慢性低 O₂ 高 CO₂ 作为一种常见的病理生理过程,在 COPD 患者中普遍存在。慢性低 O₂ 高 CO₂ 动物模型可模拟 COPD 病理生理过程,并且还可进一步研究其导致的认知功能损害。本课题组前期研究发现,慢性低 O₂ 高 CO₂ 模型大鼠存在空间学习记忆障碍^[5];慢性低 O₂ 高 CO₂ 模型小鼠前额叶皮质有大量神经细胞凋亡,其磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白激酶(phosphorylated p38mitogen-activated protein kinase, p-p38MAPK)表达明显增强^[6]。

MAPK 信号转导通路与腺苷受体间关系密切^[7]。有学者针对成年大鼠大脑中动脉缺血再灌注模型研究后发现,选择性 A_{2A}受体拮抗剂可抑制 p38MAPK 磷酸化,从而抑制炎症细胞因子释放,促进抗炎因子表达,进而减轻脑损伤,发挥中枢神经保护作用^[8]。本实验通过制作慢性低 O₂ 高 CO₂ 小鼠模型,并观察敲除腺苷 A_{2A}受体基因对该模型小鼠前额叶皮质细胞凋亡以及 p-p38MAPK 蛋白表达的影响,为 COPD 患者认知功能康复提供实验依据。

材料与方法

一、实验材料

本研究主要仪器包括常压低 O₂ 高 CO₂ 清洁级动

物饲养舱(温州医科大学肺心病研究室制)、低温高速离心机(德国 Hettich 公司)、显微镜(日本奥林巴斯公司)、酶标仪(美国 ABI 公司)、胶图像分析系统(上海复日科技有限公司)、扫描仪(上海中晶科技有限公司)、可见光/紫外凝胶扫描分析系统(美国 UVP 公司)等。本研究主要试剂包括原位末端标记(TUNEL)试剂盒(江苏碧云天生物技术研究所在)、蛋白酶 K(德国 Merck 公司)、抗荧光淬灭封片液(江苏碧云天生物技术研究所在)、兔抗鼠 p-p38MAPK、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的羊抗兔二抗、β-tubulin 抗体、预染蛋白质 Marker(美国 Cell Signal Technology 公司)等。

温州医科大学实验动物中心从美国波士顿大学实验动物中心引进腺苷 A_{2A}受体基因敲除杂合子(+/-)小鼠,并在清洁级条件下对其进行繁殖,根据基因型鉴定结果筛选实验所需的腺苷 A_{2A}受体基因敲除型和野生型小鼠。本研究选取雄性 C57BL/6 小鼠 32 只,包括腺苷 A_{2A}受体基因野生型(+/+)16 只和腺苷 A_{2A}受体基因敲除型(-/-)16 只,小鼠 9~10 月龄,体重 26~28 g。

二、分组及干预

采用随机数字表法分别将 16 只腺苷 A_{2A}受体基因野生型(+/+)小鼠和 16 只腺苷 A_{2A}受体基因敲除型(-/-)小鼠各分为 2 个亚组,包括对照-野生基因组、4 周低 O₂ 高 CO₂-野生基因组(简称模型-野生基因组)、对照-基因敲除组、4 周低 O₂ 高 CO₂-基因敲除组(简称模型-基因敲除组),每组各 8 只小鼠。

将模型-野生基因组、模型-基因敲除组小鼠置于常压低 O₂ 高 CO₂ 动物饲养舱内,调节舱内 O₂ 浓度使其维持在 9%~11%水平,CO₂ 浓度维持在 5.5%~6.5%水平,每天进舱 8 h,每周干预 6 d,持续干预 4 周。上述模型组小鼠在其余时间均与两对照组(包括对照-野生基因组、对照-基因敲除组)在同一室内

环境下饲养,室温 15 ~ 20 ℃,相对湿度 50% ~ 70%^[9]。

三、取材及切片制作

各组小鼠于 4 周制模结束后腹腔注射戊巴比妥钠麻醉并仰卧位固定,经生理盐水心脏灌注后取出心脏,用止血钳夹住主动脉弓,经左颈总动脉插管处灌注生理盐水,迅速将小鼠断头并剥离颅骨取出全脑置于冰盘上,沿矢状裂将脑组织切分为左、右两部分,快速分离出前额叶皮质。将左侧前额叶皮质置于液氮中迅速冷冻,再转移至-80 ℃冰箱内冻存,用于 Western blot 检测。将右侧前额叶皮质置入 4% 多聚甲醛中固定 4 h,依次行梯度酒精脱水、二甲苯透明、浸蜡、包埋、5 μm 厚连续切片,用于细胞凋亡原位末端标记法 (terminal-deoxynucleotidyltransferase mediated nick end labeling, TUNEL) 检测。

四、前额叶皮质细胞凋亡检测

将各组小鼠脑组织切片依次置入二甲苯中脱蜡 5~10 min×2 次,无水乙醇中 5 min,90%乙醇中 2 min,70%乙醇中 2 min,蒸馏水中 2 min,再滴加 20 μg/ml 不含 DNase 的蛋白酶 K (37 ℃) 作用 30 min。在样品上滴加 50 μl TUNEL 检测液,37 ℃避光孵育 60 min,用抗荧光淬灭封片液封片后置于荧光显微镜下观察,有荧光细胞为凋亡细胞。每张切片随机取 5 个视野,记录凋亡细胞数量并计算凋亡指数 (apoptotic index, AI)。

五、蛋白免疫印迹法检测前额叶皮质 p-p38MAPK 蛋白含量

取各组小鼠前额叶皮质组织 50 mg,加入裂解液 500 μl 制成匀浆液,测定蛋白浓度。预先将 PVDF 膜置于甲醇中浸泡 15 s,然后用 ddH₂O 漂洗数秒后浸泡于转移缓冲液中。在水中撬胶,修胶后将胶浸泡于转移缓冲液中平衡 15 min。按黑面 (负极) → 海绵 → 滤纸 → 胶 → PVDF 膜 → 滤纸 → 海绵 → 红面 (正极) 的顺序制备转膜“三明治”。将电转仪置于冰水中,380 mA 恒流转膜 40 min,孵育小盒中加入 5% BSA 稀释的兔抗鼠磷酸化 P38MAPK 单克隆抗体 (1 : 500) 及内参 β-tublin (1 : 2000),4 ℃ 孵育过夜。约 24 h 后采用三羟甲基氨基甲烷盐缓冲液 (tris-buffered saline with tween-20, TBST) 洗膜 5 min×3 次,加 HRP 标记的羊抗兔二抗 (1 : 1000),室温下孵育 2 h。经 TBST 洗膜后用保鲜膜包好 PVDF 膜,在暗室中用 X 胶片感光,显影 90 s,定影 3 min。本研究采用 Quantity One 凝胶软件系统分析 p-p38MAPK 和内参 β-tublin 光密度值,以目的蛋白 p-p38MAPK 条带光密度与内参 β-tublin 条带光密度比值表示 p-p38MAPK 光密度值,重复检测 3 次取平均值。

六、统计学分析

本研究采用 SPSS 20.0 版统计学软件包进行数据分析,正态计量数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组正态分布资料比较采用单因素方差分析 (one-way analysis of variance, ANOVA),组间两两比较采用最小显著差异法 (least-significant difference, LSD), $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、各组小鼠前额叶皮质凋亡情况比较

对照-野生基因组与对照-基因敲除组小鼠前额叶皮质凋亡情况组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$),两模型亚组前额叶皮质凋亡细胞数量均较相应的对照亚组明显增加 ($P < 0.05$),并且模型-野生基因组皮质凋亡情况较模型-基因敲除组更显著 ($P < 0.05$),具体情况见表 1 及图 1-4。

表 1 各组小鼠前额叶皮质细胞凋亡指数及 p-p38MAPK 蛋白表达比较

组别	只数	前额叶皮质 AI	磷酸化 p38MAPK 蛋白表达
对照-基因敲除组	8	1.31±0.25	0.32±0.016
对照-野生基因组	8	1.28±0.30	0.29±0.020
模型-基因敲除组	8	7.71±1.16 ^a	0.56±0.022 ^a
模型-野生基因组	8	10.56±1.65 ^{bc}	0.81±0.026 ^{bc}

注:与对照-基因敲除组比较,^a $P < 0.05$;与对照-野生基因组比较,^b $P < 0.05$;与模型-基因敲除组比较,^c $P < 0.05$

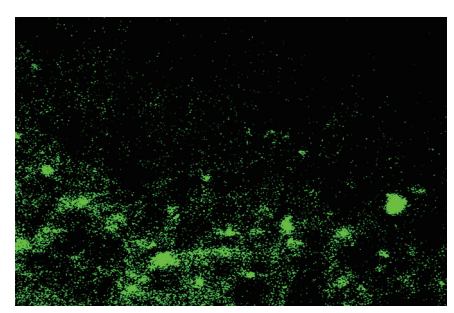


图 1 对照-基因敲除组小鼠前额叶皮质凋亡细胞观察 (TUNEL 染色,×400)

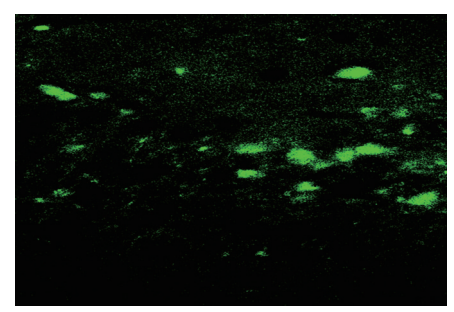


图 2 对照-野生基因组小鼠前额叶皮质凋亡细胞观察 (TUNEL 染色,×400)

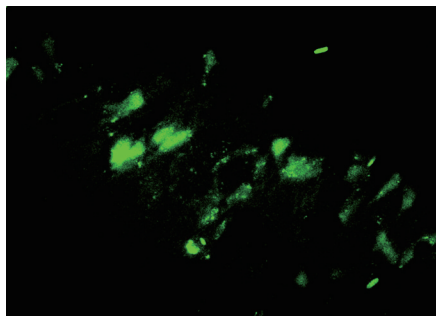


图 3 模型-基因敲除组小鼠前额叶皮质凋亡细胞观察 (TUNEL 染色, ×400)

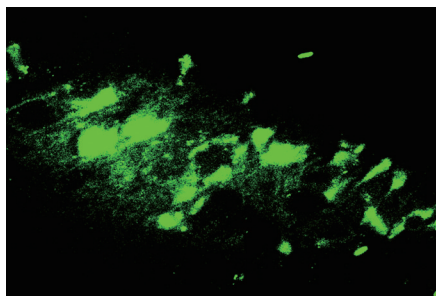


图 4 模型-野生基因组小鼠前额叶皮质凋亡细胞观察 (TUNEL 染色, ×400)

二、各组小鼠前额叶皮质 p-p38MAPK 蛋白表达比较

对照-野生基因组与对照-基因敲除组小鼠前额叶皮质 p-p38MAPK 蛋白表达组间差异无统计学意义 ($P>0.05$), 两模型亚组前额叶皮质 p-p38MAPK 蛋白表达均较相应的对照亚组明显上调 ($P<0.05$), 并且模型-野生基因组 p-p38MAPK 蛋白表达上调幅度较模型-基因敲除组更显著 ($P<0.05$), 具体情况见表 1、图 5。

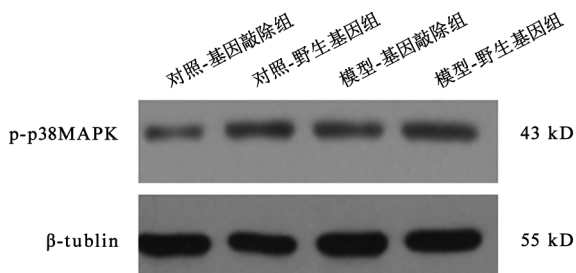


图 5 各组小鼠前额叶皮质 p-p38MAPK 表达量比较

讨 论

腺苷普遍存在于神经系统、消化系统、呼吸系统、心血管系统等全身多种组织器官内, 通过不同的受体发挥相应生物学效应。目前已确定的腺苷受体亚型包括 A_1 、 A_{2A} 、 A_{2B} 和 A_3 共 4 种, 其中 A_1 及 A_{2A} 为高表达受体, 在正常状态下低浓度水平腺苷就可产生生理作

用, 而 A_{2B} 和 A_3 表达量较低, 仅在腺苷大量增加病理状态下活化, 进而产生一系列病理生理效应^[10]。腺苷作为一种重要的神经递质, 在神经系统中广泛分布。当中枢神经系统发生损伤时, 细胞外腺苷浓度会大幅升高, 腺苷受体活性明显增强, 腺苷 A_1 受体过度激活后会出现脱敏, 因此腺苷 A_{2A} 受体在脑损伤过程中发挥主要作用^[11]。由于腺苷 A_{2A} 受体在中枢神经系统损伤中的作用机制非常复杂, 在不同类型组织细胞、不同损伤程度以及不同损伤阶段可能会产生保护或损伤两种截然不同的效应^[12]。本课题组前期研究发现敲除腺苷 A_{2A} 受体基因可减少肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 产生, 抑制慢性低 O_2 高 CO_2 模型小鼠前额叶皮质炎症反应^[13]。Paula 和 Carla 等^[14-15]发现腺苷 A_{2A} 受体拮抗剂可抑制 β 淀粉样蛋白以及星状孢子素引起的神经元凋亡。Li 等^[16]研究发现敲除腺苷 A_{2A} 受体基因可减少急性脑外伤后期受损部位神经元凋亡。本实验结果显示, 慢性低 O_2 高 CO_2 模型小鼠其前额叶皮质凋亡指数较相应的对照组均明显升高, 而敲除腺苷 A_{2A} 受体基因可降低该模型小鼠前额叶皮质凋亡指数, 提示敲除腺苷 A_{2A} 受体基因可抑制慢性低 O_2 高 CO_2 模型小鼠前额叶皮质细胞凋亡。

MAPK 是哺乳动物细胞内普遍存在的一种丝/苏氨酸蛋白激酶, 在细胞外信号传导至细胞内过程中发挥重要作用。迄今为止实验室鉴定出的 MAPK 成员包括细胞外信号调节激酶、c-Jun N 端激酶、应激活化蛋白激酶及 p38 等^[17]。有研究发现, 脑缺血缺氧模型大鼠其丝裂原活化蛋白激酶 c-Jun N 端激酶、应激活化蛋白激酶、p38 通路均有激活^[18], 如选择性抑制上述任意一条通路都能发挥一定程度的神经保护作用^[19]。P38MAPK 属于应激性蛋白激酶, 与应激条件下细胞凋亡密切相关。当发生缺血、缺氧等中枢神经系统损伤时, 腺苷 A_{2A} 受体可通过 MAPK 信号通路, 激活 p38, 从而释放自由基、细胞因子及前列腺素等炎性因子, 最终导致神经元或脑胶质细胞凋亡^[20], 而特异性 A_{2A} 受体拮抗剂 SCH 58261 可通过抑制 p38MAPK 通路发挥神经保护作用^[8, 14]。本实验中慢性低 O_2 高 CO_2 模型小鼠前额叶皮质中 p-p38MAPK 蛋白表达较对照组明显增强; 并且与模型-基因敲除组比较, 模型-野生基因组 p-p38MAPK 蛋白表达增加幅度更显著, 提示敲除腺苷 A_{2A} 受体基因可抑制慢性低 O_2 高 CO_2 模型小鼠前额叶皮质细胞 p-p38MAPK 蛋白表达。

综上所述, 本研究发现敲除腺苷 A_{2A} 受体基因能抑制慢性低 O_2 高 CO_2 模型小鼠前额叶皮质 p38MAPK 信号转导通路活化, 减少前额叶皮质神经细胞凋亡, 为改善 COPD 患者认知功能提供更多实验依据。

参 考 文 献

- [1] Sebastiao AM, Alexre DM, Alexre RJ. Neuroprotection during hypoxic insults; role of adenosine [J]. *Drug Dev Res*, 2010, 52(2): 291-295. DOI: 10.1002/ddr.1126.
- [2] Colella M, Zinni M, Pansiot J, et al. Modulation of microglial activation by adenosine A_{2a} receptor in animal models of perinatal brain injury [J]. *Front Neurol*, 2018, 9(5): 1967-1975. DOI: 10.3389/fneur.2018.00605.
- [3] Xu K, Luca D, Orru M, et al. Neuroprotection by caffeine in the MPTP model of parkinson's disease and its dependence on adenosine A_{2A} receptors [J]. *Neurosci*, 2016, 31(11): 321-326. DOI: 10.1007/978-1-4614-5836-4-103.
- [4] Dag E, Bulcun E, Turkel Y, et al. Factors influencing cognitive function in subjects with COPD [J]. *Respir Care*, 2016, 61(8): 398-401. DOI: 10.4187/respcare.04403.
- [5] Huo XL, Min JJ, Pan CY, et al. Efficacy of lovastatin on learning and memory deficits caused by chronic intermittent hypoxia-hypercapnia; through regulation of NR2B-containing NMDA receptor-ERK pathway [J]. *PLoS One*, 2014, 31(11): 456-560. DOI: 10.1371/journal.pone.0094278.
- [6] 任惠明, 王小同, 袁海, 等. 慢性低 O₂ 高 CO₂ 对小鼠海马细胞凋亡、caspase-3 和 p38 MAPK 活性的影响 [J]. *温州医科大学学报*, 2017, 47(12): 895-897. DOI: 10.3969/j.issn.2095-9400.2017.12.008.
- [7] Pliyev BK, Dimitrieva TV, Savchenko VG. Diadenosine diphosphate (Ap(2)A) delays neutrophil apoptosis via the adenosine A(2A) receptor and cAMP/PKA pathway [J]. *Biochem Cell Biol*, 2014, 92(5): 1-5. DOI: 10.1139/bcb-2014-0059.
- [8] Melani A, Gianfriddo M, Vannucchi MG, et al. The selective A_{2A} receptor antagonist SCH 58261 protects from neurological deficit, brain damage and activation of p38 MAPK in rat focal cerebral ischemia [J]. *Brain Res*, 2006, 1073(1): 470-480. DOI: 10.1016/j.brainres.2005.12.010.
- [9] 夏晓东, 徐正, 毕云天, 等. 大鼠慢性缺氧高二氧化碳肺动脉高压模型可溶性鸟苷酸环化酶的表达 [J]. *中华内科杂志*, 2003, 42(9): 628-631. DOI: CNKI.SUN.ZHNC.0.2003-09-015.
- [10] Fredholm BB, Arslan G, Halldner L, et al. Adenosine receptor signaling in vitro and in vivo [J]. *Drug Dev Res*, 2010, 52(1-2): 274-282. DOI: 10.1002/ddr.1124.
- [11] Soliman AM, Fathalla AM, Moustafa AA. Adenosine role in brain functions: pathophysiological influence on Parkinson's disease and other brain disorders [J]. *Pharmacol Rep*, 2018, 70(4): 661-669. DOI: 10.1016/j.pharep.2018.02.003.
- [12] Kabra A, Sharma R, Kabra R, et al. Emerging and alternative therapies for Parkinson disease: an updated review [J]. *Curr Pharm Design*, 2015, 28(3): 367-374. DOI: 10.1007/978-3-319-20273-0-4.
- [13] 李笑蓉, 李宁, 吴彬, 等. 腺苷 A_{2A} 受体与慢性低 O₂ 高 CO₂ 小鼠神经系统炎症的关系 [J]. *温州医学院学报*, 2009, 39(2): 119-122. DOI: 10.3969/j.issn.1000-2138.2009.02.007.
- [14] Canas PM, Porciuncula LO, Cunha GM, et al. Adenosine A_{2A} receptor blockade prevents synaptotoxicity and memory dysfunction caused by beta-amyloid peptides via p38 mitogen-activated protein kinase pathway [J]. *J Neurosci*, 2009, 29(47): 14741-14751. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3728-09.2009.
- [15] Silva CG, Lisiane O, Canas PM, et al. Blockade of adenosine A_{2A} receptors prevents staurosporine-induced apoptosis of rat hippocampal neurons [J]. *Neurobiol Dis*, 2007, 27(2): 182-189. DOI: 10.1016/j.nbd.2007.04.018.
- [16] Li W, Dai S, An J, et al. Genetic inactivation of adenosine A_{2A} receptors attenuates acute traumatic brain injury in the mouse cortical impact model [J]. *Exp Neurol*, 2009, 215(1): 69-76. DOI: 10.1016/j.expneurol.2008.09.012.
- [17] Walczak K, Turski WA, Rajtar G. Kynurenic acid inhibits colon cancer proliferation in vitro; effects on signaling pathways [J]. *Amino Acids*, 2014, 46(10): 2393-2401. DOI: 10.1007/s00726-014-1790-3.
- [18] Mendes FF, Rodrigues DF, Dias TA, et al. PEQUI (caryocar brasiliense) extract alters mitogen-regulated kinase activation in brain ischaemia and reperfusion injury in rats fed a high-calorie diet [J]. *J Comp Pathol*, 2015, 152(1): 78. DOI: 10.1016/j.jcpa.2014.10.149.
- [19] He J, Zhou L, Liu J, et al. Modulation of surface structure and catalytic properties of cerium oxide nanoparticles by thermal and microwave synthesis techniques [J]. *Appl Surf Sci*, 2017, 402(30): 469-477. DOI: 10.1016/j.apsusc.2017.01.149.
- [20] Zhi L, Yu Y, Jiang Z, et al. Mir-355 functions as an important link between p38 MAPK signaling and insulin signaling in the regulation of innate immunity [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1-13. DOI: 10.1038/s41598-017-15271-2.

(修回日期: 2021-03-20)

(本文编辑: 易 浩)