

基础研究

急性脊髓损伤合并内毒素攻击时
脊髓内源性锌脂蛋白 A20 表达

朱凤臣, 蒋电明, 刘 渤

(重庆医科大学附属第一医院骨科、重庆市脊柱外科中心 400016)

【摘要】目的:研究急性脊髓损伤合并内毒素攻击时小鼠脊髓组织中锌脂蛋白 A20 的表达规律。**方法:**将健康昆明种小白鼠 225 只(雌雄不拘,体重 18~24g)随机分为 4 组:正常对照组(N 组, $n=9$),单纯尾静脉注射生理盐水 0.1ml;脊髓损伤组(A 组, $n=72$),按改良 Allen's 法制作 T10~T11 节段脊髓损伤模型;内毒素组(B 组, $n=72$),不进行脊髓损伤只行尾静脉注射内毒素(5mg/kg)0.1ml;脊髓损伤合并内毒素注射组(C 组, $n=72$),制作脊髓损伤模型后再行尾静脉注射内毒素(5mg/kg)0.1ml。A、B、C 组分别于处理后 0.5、1、2、4、8、12、24、48h, N 组于处理后 48h,取 T10~T11 节段脊髓组织。以 HE 染色观察脊髓损伤程度,以免疫组化(IHC)、逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)技术分别检测脊髓组织中 A20 蛋白及 mRNA 表达。**结果:**HE 染色显示 N 组和 B 组各时相点脊髓组织无明显变化;A 组打击后 0.5h 即出现染色质凝聚,染色变深,细胞核偏位、核固缩等现象,神经细胞肿胀,可见片状出血,炎性细胞浸润;至打击 8h 后可见核仁消失、核碎裂、核溶解,鬼影细胞现象;C 组较 A 组脊髓损伤更为明显,8h 除可见核固缩、碎裂、溶解外,还可见到细胞自溶、空泡形成,并随损伤时间的延长而逐渐加重。IHC 显示 N 组未见 A20 蛋白阳性表达, A、B 组未见或仅有少量 A20 蛋白阳性表达, C 组 2h 时少量表达, 8h 表达达高峰。RT-PCR 示 N 组 A20 mRNA 呈微量表达; A 组与 N 组比较表达升高, 与 B、C 组比较表达高峰延迟, 且在 12~24h 表达高于 B、C 组; B 组在注射内毒素后 0.5h, 锌脂蛋白 A20 mRNA 较 N 组升高明显, 1~2h 为 A20 mRNA 表达的高峰期; C 组锌脂蛋白 A20 mRNA 表达最明显, 表达高峰在 1~8h。**结论:**在脊髓损伤的早期就出现神经细胞变性死亡的进行性加重, 同时伴有锌脂蛋白 A20 表达增高, 合并内毒素注射时尤其明显, 锌脂蛋白 A20 可能对于调控脊髓损伤的炎症反应具有重要意义。

【关键词】脊髓损伤; 锌脂蛋白 A20; 内毒素

中图分类号: R683.2, R651.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2008)-12-0942-05

Expression of endogenous zinc finger protein A20 of spinal tissues after acute spinal cord injury with lipopolysaccharide infection/ZHU Fengchen, JIANG Dianming, LIU Bo//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2008, 18(12): 942-946

【Abstract】 Objective: To investigate the expression protocol of endogenous zinc finger protein A20 in mouse spinal cord tissues under the process of spinal cord injury (SCI) with lipopolysaccharide (LPS) infection. **Method:** A total of 225 healthy mice (either sex, from Kunming, Yunnan province) with a mean body weight of 21g (range, 18-24g) were randomized into 4 groups: animals in control group received Normal Saline of 0.1ml through tail vein (group N, $n=9$), the SCI model in T10~T11 was established according to Allen's method, animals in group A ($n=72$) received nothing, animals in group B ($n=72$) were given LPS through tail vein while spinal cord were kept intact; while animals in group C ($n=72$) received LPS (5mg/kg) 0.1ml secondary to SCI. Specimens of T10~T11 were taken at 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48h in group A, B and C after surgery respectively, and specimens in group N were taken at 48h. The intensity of injury to spinal cord was observed by hematoxylin-eosin (HE) stain. The expression protocol of zinc finger protein A20 protein were measured by immunohistochemistry (IHC) and its mRNA expression were measured by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Result:** There was no obvious change of spinal cord in group B and N at each time

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30500512)

第一作者简介: 男(1979-), 住院医师, 硕士在读, 研究方向: 脊柱外科

电话: (023)89011212 E-mail: zhufengchen001@163.com

通讯作者: 蒋电明、刘渤

point unde HE stain. In group A, karyopycnosis and chromatin condensation emerged at 0.5h after SCI with neurocytes swelling and patchy bleeding and inflammatory cells infiltration, and karyorrhexis, karyolysis and even "ghost cell" could be seen at 8h after SCI. In group C, the intensity of injury was the more serious than that in group A, with aqctocytolysis and vacuolation seen at 8h in group C which was deteriorating with time processing. There was no expression of positive A20 protein in group N under IHC, while no or little positive A20 protein were present in group A and B. In group C, and little positive A20 protein were evidenced at 2h but reached peak at 8h after SCI. A20 mRNA expressed at a low level in group N under RT-PCR. There was low expression of A20 mRNA in group A at the beginning, while higher than group those in B and C at 12-24h. After LPS infection, the expression of A20 mRNA in group B was elevated more obviously than that in control group at 0.5 hour, and reached peak during 0.5-2 hours, while in group C, the expression peak of A20 mRNA was observed at 1-8h. **Conclusion:** In the early stage of SCI, the degeneration of neurocytes deteriorate progressively with higher expression of zinc finger protein A20, and this process become more severe after LPS injection, which indicate that increased expression of A20 in spinal cord following SCI (or with LPS injection) may play an important role in regulating inflammatory response.

【Key words】 Spinal cord injury; Zinc finger protein A20; Endotoxin

【Author's address】 Department of Orthopaedics, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)功能缺失主要是由于脊髓神经元轴突和神经元的靶联系信息中断及 SCI 诱发神经元病理性死亡及凋亡引起的。目前脊髓损伤的病理学研究相对比较深入,并用神经科学的研究成果在临床进行了一些实验,但从结果来看,离临床使用还有很长的路要走,截至目前,SCI 仍无很好的治疗方法^[1,2]。锌脂蛋白 A20 是近年在细胞内源性保护机制的研究中发现的一类新的蛋白质分子, A20 通过终止内毒素(lipopolysaccharide, LPS) 或肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF) 诱导的核转录因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)活化来限制继发性损伤,对 NF- κ B 的活化具有重要的负反馈调控作用,是防止体内炎症反应失控重要的内源性调控蛋白^[3]。A20 研究的兴起,为深入揭示机体内源性保护机制以及进一步抑制创伤、感染及其并发症的发生、发展提供了一条新的途径。目前研究 A20 在脊髓损伤中作用的文章国内外鲜有报道。本实验旨在通过研究脊髓损伤并发内毒素血症时,脊髓组织内锌脂蛋白 A20 的表达变化规律,为进一步研究 A20 与神经元继发性损害的相互关系以及神经元内源性保护提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

2 月龄左右健康昆明种小鼠 225 只,体重 18~24g,雌雄不拘(第三军医大学野战外科研究所动

物实验中心提供)。实验前 12h 禁食,可自由饮水。随机将动物分为 4 组:(1)正常对照组(N 组, $n=9$),单纯尾静脉注射生理盐水(0.1ml);(2)脊髓损伤组(A 组, $n=72$),行脊髓打击,但不注射 LPS;(3)内毒素组(B 组, $n=72$),只行尾静脉注射 LPS(E.coli 026:B6, 美国 DIFCO 公司)5mg/kg,不打击脊髓;(4)脊髓损伤合并内毒素组(C 组, $n=72$),行脊髓打击同时尾静脉注射 LPS(5mg/kg)。A、B、C 组分别取处理后 0.5、1、2、4、8、12、24、48h 共 8 个时间点,每时间点 9 只动物;N 组注射生理盐水后 48h 取材,设 9 只动物。

1.2 动物模型制备及取材

A、C 组按改良 Allen's 撞击法制作脊髓损伤模型^[4]。将动物用 10%水合氯醛(0.35g/kg)腹腔麻醉后置于俯卧位,使背部弯曲以增加胸椎棘间隙宽度。定位 T10 棘突,以 T10 棘突为中心,用脱毛剂祛除该区毛发。常规消毒铺巾,显露 T10、T11 棘突间隙硬脊膜,以 3.0×2.5g·cm 力致伤。术毕人工挤压膀胱排尿,室温保持在 20℃~25℃。

A、B、C 组分别于各时间点随机选取 5 只动物, N 组亦随机选取 5 只动物, 10%水合氯醛(0.35g/kg)腹腔麻醉下剖胸后心脏插管,先灌注等渗盐水约 40ml 冲洗(至流出液澄清为止),再用 4%多聚甲醛约 40ml 灌注固定,解剖椎管, A 组和 C 组取出损伤段脊髓(以 T10 为中心)长约 5mm, B 组及 N 组打开椎板切除与脊髓损伤组相应段脊髓长约 5mm,再置于 4%多聚甲醛液内进行后

固定 48~72h。标本常规石蜡包埋, 4 μ m 连续切片, 用于 HE 和 ICH 检测。A、B、C 组各时间点剩余 4 只动物及 N 组剩余 4 只动物用于 RT-PCR 检测, 于腹腔麻醉下, 严格无菌操作下取出伤段脊髓组织(B 及 N 组取相应节段脊髓)约 5mm, 立即放入液氮中保存。

1.3 组织形态学观察

从 A、B、C 组各时间点及 N 组的每只动物的标本切片中随机选出 3 张, 经 HE 染色, 观察各组脊髓组织的形态和细胞坏死情况。

1.4 A20 蛋白的免疫组化检测

切片标本采用 S-P 免疫组化染色试剂盒(三鹰生物技术有限公司), 根据说明书进行染色。一抗 A20 单克隆抗体(小鼠来源 IG1, 美国 ACTIVE MOTIF 公司)浓度为 1:300, 二氨基联苯胺(DAB)显色。细胞质出现棕黄色颗粒为阳性结果。选取各组各时相点的切片染色, 每时相点 5 只动物, 每只动物随机取出 3 个层面, 经与本实验不相关的 2 位工作人员光镜下计数每个层面阳性细胞数, 取平均数即为每个标本平均阳性细胞数, 并对各时间点 5 只动物进行统计(以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $n=5$)。

1.5 脊髓组织总 RNA 抽提

依不同的实验分组, 将昆明鼠腹腔麻醉, 严格无菌操作下, 取出伤段脊髓组织(B 组及 N 组取相应节段脊髓)约 5mm, 采用 Tripure (Boehringer Mannheim 公司, 德国)试剂, 按说明书操作, 提取脊髓组织中的总 RNA, 最后溶于 20 μ l 焦碳酸二乙酯(DEPC)处理过的水中; 以紫外分光光度计进行总 RNA 纯度及含量测定, 并进行甲醛变性琼脂糖凝胶电泳以鉴定总 RNA 的纯度和完整性。

1.6 锌脂蛋白 A20 mRNA 的检测

A20 及内参照 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)、PCR 引物由上海生工公司合成; 逆转录试剂盒采用东洋纺生物科技有限公司产品。一切操作按说明书进行。(1) 逆转录反应体系为 25 μ l, 包括 10mmol/L dNTPs, 100U/ μ l 逆转录酶 ReverTra Ace, 5 $\times$ 逆转录酶反应缓冲液, 引物 Oligo(dT)20, RNA 酶抑制剂, RNA 样品。逆转录反应条件: 短暂离心, 30 $^{\circ}$ C, 10min; 42 $^{\circ}$ C, 1h; 99 $^{\circ}$ C, 5min; 4 $^{\circ}$ C, 5min; (2) PCR 反应体系为 15 μ l, 包括经 DEPC 处理过的无酶水, 10 $\times$ PCR 反应缓冲液, 15mmol/L MgCl₂, 10mmol/L dNTPs, 5U/ μ l Taq

DNA 聚合酶, 25mmol/L PCR 引物, 2 μ l cDNA。扩增条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 4min, 94 $^{\circ}$ C 变性 30s, 60 $^{\circ}$ C 退火 30s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 40s, 35 个循环后, 72 $^{\circ}$ C 再延伸 7min。扩增产物行琼脂糖凝胶电泳, 并于 UVP GDS 800 凝胶成像系统(英国)中进行扫描分析, 以 3 次的 A20 mRNA 灰度值/内参照 GAPDH mRNA 灰度值作为 A20 mRNA 含量的相对值, 每个时相点各组重复 4 次实验。

1.7 统计学分析

锌脂蛋白 A20 mRNA 总灰度比值以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 实验所得数据采用 SPSS 11.0 统计软件, 行样本单因素方差分析及 t 检验。 $P < 0.05$ 为有显著性差异。

2 结果

N、B 组无小鼠死亡, N 组活动进食等无明显改变, B 组小鼠注射 LPS 当天进食少, 精神欠佳; A、C 组脊髓打击后出现双侧后肢瘫痪, 精神、饮食差, C 组注射内毒素后更为明显, 早期 A、C 组均出现排尿困难, 需协助排尿, A 组死亡 8 只, C 组死亡 23 只, 死因考虑有脊髓损伤、内毒素作用、泌尿系感染、进食差、体温低及其他原因所致全身衰竭, 死亡动物通过随机原则补齐数量并重新造模。

2.1 HE 染色结果

光镜下 N 组和 B 组各时相点脊髓组织中未见明显细胞肿胀, 亦未见明显核固缩、破碎等。A 组打击后 0.5h 即出现染色质凝聚, 染色变深, 细胞核偏位、核固缩等, 以打击的浅层较明显, 神经细胞肿胀, 可见片状出血, 炎性细胞浸润; 至打击后 8h 比较明显地见到核仁消失、核碎裂、核溶解, 鬼影细胞现象。C 组较 A 组更为明显, 8h 除看到核固缩、碎裂、溶解外, 还可看到细胞自溶、空泡形成, 并随损伤时间的延长而逐渐加重(图 1, 后插图 V)。

2.2 免疫组化染色结果

N 组未见阳性表达。B 组各时相点未见明显阳性表达。A 组 8h 有可疑表达, 12h 有少量可疑阳性表达。C 组 2h 即有少量表达, 8h 达高峰(2h 至 48h 的 A20 蛋白表达阳性细胞计数分别是: 23.2 ± 3.6 、 40.7 ± 5.9 、 75.5 ± 11.4 、 56.5 ± 6.6 、 43.3 ± 4.5 及 19.1 ± 4.0)。免疫显色阳性细胞主要见于靠近损伤侧灰质位置(图 2, 后插图 V)。

2.3 RT-PCR 检测结果

各组不同时间点锌脂蛋白 A20 mRNA 的表达情况见表 1。N 组呈微量表达, A 组与 N 组比较表达升高, 与 B、C 组比较表达高峰延迟, 且在 12~24h 明显高于 B、C 组; B 组在注射内毒素后

0.5h, 锌脂蛋白 A20 mRNA 较 N 组升高明显, 内毒素注射后 1~2h 为 A20 mRNA 表达的高峰期; C 组锌脂蛋白 A20 mRNA 表达最明显, 表达高峰在 1~8h。

表 1 各组不同时间点脊髓组织内锌脂蛋白 A20 mRNA 的表达

($\bar{x} \pm s, n=4$)

时间(h)	正常对照组(N组)	脊髓损伤组(A组)	内毒素组(B组)	脊髓损伤合并内毒素组(C组)
0.5	/	0.366±0.055	0.563±0.064 ^{①③}	0.360±0.063 ^④
1	/	0.371±0.067	1.323±0.080 ^{①③}	1.560±0.082 ^{①③④}
2	/	0.391±0.074	0.957±0.069 ^{①③}	1.457±0.076 ^{①③④}
4	/	0.395±0.081	0.691±0.096 ^{①③}	0.965±0.081 ^{①③④}
8	/	0.533±0.073 ^①	0.380±0.058 ^③	0.945±0.066 ^{①③④}
12	/	0.737±0.076 ^①	0.340±0.063 ^③	0.320±0.070 ^③
24	/	0.708±0.075 ^①	0.342±0.055 ^③	0.326±0.073 ^③
48	0.337±0.056	0.454±0.085 ^②	0.320±0.056 ^③	0.313±0.067 ^③

注:与 N 组比较^① $P < 0.01$,^② $P < 0.05$;与 A 组比较^③ $P < 0.01$;与 B 组比较^④ $P < 0.01$

3 讨论

脊髓损伤常常导致损伤平面以下不同程度截瘫。近年来对脊髓损伤的研究主要集中在损伤后期脊髓组织再生方面,如神经干细胞移植或嗅鞘细胞移植等,但收效甚微。进而人们认识到受损神经元的存活是其再生的先决条件。在去除原发致伤因素的同时,应用多种手段,如:减轻炎症免疫反应、阻断神经毒性损伤、减少凋亡发生等,尽可能使继发性损伤的程度降低到最小^[9]。本组也证实脊髓损伤早期的继发性损害中,细胞的变性死亡逐渐加重,合并尾静脉注射较高剂量内毒素更为明显。抑制神经元的变性坏死和凋亡,是治疗脊髓损伤的关键。

A20 基因是一种 TNF-1 诱导下的原始反应基因^[6]。锌脂蛋白 A20 是一种存在于胞液中的 NF- κ B 活性负反馈调控蛋白, TNF α 、白介素 1 (IL-1)、革兰氏阴性菌脂多糖成分 (LPS)、CD40、外毒素、EB 病毒隐藏膜蛋白 1 (EBV-LMP1) 等都能够诱导细胞表达 A20^[7]。Lee 等^[3]发现锌脂蛋白 A20 缺陷小鼠对 LPS 和 TNF- α 的敏感性异常增高,注射 5mg/kg 的 LPS 或 0.1mg/kg 的 TNF- α , 2h 内小鼠全部死亡。野生型对照组小鼠即使注射 25mg/kg 的 LPS 或 0.4mg/kg 的 TNF- α , 小鼠仍然能够全部存活。Arvelo 等^[8]向 A20 缺陷 BALB/c 鼠和 A20 正常 BALB/c 对照鼠静脉注射氨基半乳糖和 LPS, 发现前者炎症刺激因子可以诱导肝细胞表达 A20, 后者通过抑制 NF- κ B 活性将炎症反应

限制在一定程度内,并且能够保护肝细胞免于发生大面积死亡。另外,一些凋亡研究报道称 A20 具有阻止 TNF α 诱导的包括外周血白细胞等在内的许多组织细胞发生凋亡的功效^[9]。近来一些学者用 A20 基因转染细胞取得一些可喜成果。Onose 等^[10]瞬时转染支气管上皮细胞使 A20 表达增强,可以降低 NF- κ B 的炎症激活作用,从而减轻流感病毒引起的肺部炎症和损伤。Li 等^[11]在转基因鼠中使 A20 基因过度表达,发现 A20 可以改善转基因鼠急性心梗模型的心脏功能,抑制心肌重构、心肌凋亡、炎症形成和心肌纤维化。上述研究提示, A20 在抗炎和抑制细胞坏死/凋亡方面有重要作用。

我们通过免疫组化和 RT-PCR 对小鼠脊髓组织锌脂蛋白 A20 蛋白及 mRNA 进行研究发现,正常情况下小鼠脊髓 A20 mRNA 呈微量表达,蛋白未见明显表达;脊髓损伤组 A20 mRNA 较正常对照组表达升高,而蛋白表达却不明显;内毒素组在注射内毒素后 0.5h, 锌脂蛋白 A20 mRNA 升高就较对照组明显,内毒素注射后 1~2h 为 A20 mRNA 表达的高峰期;脊髓损伤合并内毒素注射组与前者相比表现为 A20 mRNA 高峰期阶段较长,蛋白表达亦较另外三组明显。结合本研究结果,进一步说明锌脂蛋白 A20 mRNA 的表达既存在内毒素依赖性,又具有明显的时效性,在内毒素刺激的早期即可达到高峰表达。提示 A20 参与了脊髓损伤后脊髓组织内早期的炎症反应过程,并

可能与脊髓组织及细胞的内毒素炎性损害有关。但值得注意到是, 脊髓损伤合并内毒素注射组蛋白表达显著, 而单纯脊髓损伤或内毒素注射组表达低或不明显, 提示脊髓打击可以破坏血脑屏障, 内毒素对脊髓的损伤作用可能与血脑屏障的保护作用密切相关。

近年临床研究证实, 严重的创伤、休克、烧伤、大手术等患者常因肠道功能屏障受损致细菌移位, 产生内毒素血症和败血症, 最终可导致多器官功能衰竭^[12]。Liu 等^[13]研究表明, 脊髓损伤后早期, 肠壁结构即发生改变, 肠道蠕动减慢, 肠道器质性损害致使肠道屏障功能下降而发生肠道细菌移位。由于肠道动力不足, 肠道细菌生长过度而致内毒素大量产生, 通过肠道壁吸收而产生内毒素血症。Singh 等^[14]研究发现 LPS 并不能穿过血脑屏障, 但 LPS 可以与血脑屏障上的受体结合, 增加其通透性, 促进外周物质的侵入。Andrew 等^[15]甚至研究发现大鼠脊髓损伤后 2h 尾静脉注射微量的 LPS ($<500\mu\text{g/kg}$), 可以降低血中白细胞活性, 减少白细胞在损伤部位的聚集。Quan 等^[16]采用亚脓毒血症剂量 ($<500\mu\text{g/kg}$) LPS 外周注射可以诱导脑内前炎症因子 IL-1 β 和 TNF α 的表达。我们的实验也证明外周血 LPS 可以促进脊髓组织内源性锌脂蛋白 A20 mRNA 的表达增强, 合并脊髓损伤时更为明显, 但我们实验所使用的 LPS 剂量较高 (5mg/kg), 从病理看脊髓损伤合并内毒素注射组脊髓损伤较重, 实验中也发现该组动物 48h 死亡率已超过 30%。

综上所述, 在脊髓损伤的早期就出现神经细胞变性死亡的进行性加重, 同时伴有 A20 表达增高, 合并感染时尤其明显。说明在脊髓损伤(或合并感染)情况下, 锌脂蛋白 A20 可能对于调控脊髓损伤的炎症反应具有重要意义。但锌脂蛋白 A20 究竟对脊髓损伤炎症细胞因子的表达有何影响, 对凋亡通路有何作用等一系列相关问题还需要进一步研究和探讨。

4 参考文献

- Keane RW, Kraydieh S, Lotocki G, et al. Apoptotic and anti-apoptotic mechanisms following spinal cord injury [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2001, 60(5):422-429.
- Becker D, Sadowsky CL, McDonald JW. Restoring function after spinal cord injury [J]. *Neurolog*, 2003, 9(1):1-15.
- Lee EG, Boone DL, Chai S, et al. Failure to regulate TNF-induced NF- κ B and cell death responses in A20-deficient mice [J]. *Science*, 2000, 289(5488):2350-2354.
- 卢旻鹏, 权正学, 刘渤, 等. 小鼠脊髓损伤标准化重物打击模型的制备及评价 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2008, 22(8):928-932.
- 廖维宏, 张光铂. 进一步加强脊髓损伤修复研究 [J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2003, 13(9):517-519.
- Dixit VM, Green S, Sarma V, et al. Tumor necrosis factor- α induction of novel gene in human endothelial cells including a macrophage-specific chemotaxin [J]. *J Biol Chem*, 1990, 265(5):2973-2978.
- Rudi B, Karen H, Sofie VH. A20 and A20-binding proteins as cellular inhibitors of nuclear factor- κ B-dependent gene expression and apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(8):1143-1151.
- Arvelo MB, Cooper JT, Lougo C, et al. A20 protects mice from D-galactosamine/lipopolysaccharide acute toxic lethal hepatitis [J]. *Hepatology*, 2002, 35(3):535-543.
- He KL, Ting AT. A20 inhibits tumor necrosis factor (TNF) α -induced apoptosis by disrupting recruitment of TRADD and RIP to the TNF receptor 1 complex in Jurkat T cells [J]. *Mol Cell Bio*, 2002, 22(17):6034-6045.
- Onose A, Hashimoto S, Hayashi S, et al. An inhibitory effect of A20 on NF- κ B activation in airway epithelium upon influenza virus infection [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 541(3):198-204.
- Li HL, Zhuo ML, Wang D, et al. Targeted cardiac overexpression of A20 improves left ventricular performance and reduces compensatory hypertrophy after myocardial infarction [J]. *Circulation*, 2007, 115(14):1885-1894.
- Heinzelmann M, Scott M, Lam T. Factors predisposing to bacterial invasion and infection [J]. *Am J Surg*, 2002, 183(2):179-190.
- Liu J, An H, Jiang D, et al. Study of bacterial translocation from gut after paraplegia caused by spinal cord injury in rats [J]. *Spine*, 2004, 29(2):164-169.
- Singh AK, Jiang Y. How does peripheral lipopolysaccharide induce gene expression in the brain of rats [J]? *Toxicology*, 2004, 201(1-3):197-207.
- Davis AE, Campbell SJ, Wilainam P, et al. Post-conditioning with lipopolysaccharide reduces the inflammatory infiltrate to the injured brain and spinal cord: a potential neuroprotective treatment [J]. *Eur J Neurosci*, 2005, 22(10):2441-2450.
- Quan N, Stern EL, Whiteside MB, et al. Induction of pro-inflammatory cytokine mRNAs in the brain after peripheral injection of subseptic doses of lipopolysaccharide in the rat [J]. *J Neuroimmunol*, 1999, 93(1-2):72-80.

(收稿日期: 2008-01-14 修回日期: 2008-08-18)

(英文编审 蒋欣)

(本文编辑 彭向峰)