

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.22.014

PPAR γ 对结核分枝杆菌脂蛋白 P19 诱导的巨噬细胞炎症反应的影响 *刘 莉 刘锦程 Δ 仵倩红 牛国强 李 伟 周 伟

(陕西省结核病防治院 陕西 西安 710100)

摘要 目的:探讨 PPAR γ 对结核分枝杆菌细胞壁成分 19 kDa 脂蛋白(M.tb-P19)诱导的巨噬细胞免疫反应的影响。**方法:**以 M.tb H37Rv 和 M.tb-P19 刺激人源性巨噬细胞 48 h,观察其对巨噬细胞 PPAR γ 表达的影响。分别采用激动剂、拮抗剂干预 PPAR γ 活性,观察 PPAR γ 被激活或抑制后对 M.tb-P19 诱导的 ERK 磷酸化、NF- κ B 的表达以及炎症细胞因子 IL-6、TNF- α 的表达的影响。**结果:**M.tb-P19 感染的人巨噬细胞中 PPAR γ 的表达较正常对照细胞显著升高,且随作用时间的延长逐渐增加($P<0.05$),48h 达高峰。M.tb-P19 感染可显著增加人巨噬细胞中磷酸化 ERK、NF- κ B、TNF- α 和 IL-6 的表达($P<0.05$),PPAR γ 激动剂预处理可显著抑制 M.tb-P19 感染所致的磷酸化 ERK、NF- κ B、TNF- α 和 IL-6 的表达增加($P<0.05$),而 PPAR γ 拮抗剂预处理可进一步提高磷酸化 ERK、NF- κ B、TNF- α 和 IL-6 的表达($P<0.05$)。**结论:**PPAR γ 可能是通过激活 ERK 及 NF- κ B 信号通路,抑制 M.tb-P19 所介导的巨噬细胞炎症反应。

关键词:结核分枝杆菌;19kDa 脂蛋白;PPAR γ ;巨噬细胞;炎症反应

中图分类号:R749.3;R394.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)22-4260-05

The Influence of PPAR γ in *Mycobacterium Tuberculosis* Lipoprotein P19-induced Inflammatory Response in Human Macrophages*LIU Li, LIU Jin-cheng Δ , WU Qian-hong, NIU Guo-qiang, LI Wei, ZHOU Wei

(Tuberculosis hospital in Shaanxi Province, Xi'an, Shaanxi, 710100, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of PPAR γ on *Mycobacterium tuberculosis* lipoprotein P19(M.tb-P19)-induced inflammatory response in human macrophages. **Methods:** M.tb H37Rv and M.tb-P19 were used to stimulate human macrophages for 48 h. Its effect on macrophage PPAR γ expression were observed. By using the agonist/antagonist of PPAR γ , the effect of PPAR γ activation or inhibition on M.tb-P19-induced phosphorylation of ERK, NF- κ B and the expression of inflammatory cytokines such as IL-6, TNF- α expression were investigated. **Results:** Human macrophages infected with M.tb-P19 for 12 h induced the increase of PPAR γ expression with the extended response time ($P<0.05$), which reached the peak at 48h. Infection with M.tb-P19 could significantly increase the phosphorylation of ERK, NF- κ B, TNF- α and IL-6 expression ($P<0.05$). Furthermore, PPAR γ agonists could significantly block the phosphorylation of ERK, NF- κ B, TNF- α and IL-6 expression ($P<0.05$), while PPAR γ antagonist could significantly increase the phosphorylation of ERK, NF- κ B, TNF- α and IL-6 expression($P<0.05$). **Conclusion:** PPAR γ may inhibit M.tb-P19 induced inflammatory responses in human macrophages through activating the ERK and NF- κ B signaling pathways

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*; 19 kDa lipoprotein; PPAR γ ; Macrophage; Inflammatory response

Chinese Library Classification(CLC): R749.3; R394.3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)22-4260-05

前言

结核病是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, M.tb)感染所致的一种慢性传染性疾病,主要通过呼吸道传播,许多器官均可以累及,目前全球有 1/3 人口感染了结核杆菌,每年约有 800 万新增病例,约 200~300 万人死于结核病^[1]。当机体感染结核杆菌时,首先激活巨噬细胞清除结核杆菌,阻止其体内播散并促进细胞因子 TNF- α 、IL-6 等的释放,增强机体对 M.tb 的杀伤能力。因此,巨噬细胞在 M.tb 诱导的免疫反应中起

重要作用。M.tb 的致病性与其菌体成分及机体对菌体成分产生的免疫损伤密切相关, M.tb 细胞壁富含的脂质成分与巨噬细胞凋亡密切相关^[2]。M.tb 细胞壁成分 19 kDa 脂蛋白 (M.tb-P19)是一种糖基化的脂蛋白,被认为是 M.tb 的毒力因子之一。Aliprantis 等发现合成的细菌脂蛋白可以诱导细胞凋亡,提示 P19 可能是 M.tb 所致巨噬细胞凋亡的诱导因子,然而其具体机制尚不清楚。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptors gamma, PPAR γ)是一类由配体激活的核转录因子,属于 II 型核受体超家族成员,功能广泛,参与

* 基金项目:陕西省卫生厅科研基金项目《Toll 样受体及 PPAR γ 在结核分枝杆菌致病中的作用》

作者简介:刘莉(1980-),女,主治医师,研究方向:结核病信号转导信号通路机制研究

Δ 通讯作者:刘锦程,男,主任医师,研究方向:结核病分子机制研究

(收稿日期:2013-12-22 接受日期:2014-01-21)

体内众多生理和病理过程,如糖脂代谢和细胞分化等^[9]。近年研究发现,PPAR γ 与炎症反应关系十分密切,PPAR及其激动剂具有良好的抗感染效应^[4,9]。因此,本研究以 *M.tb*-P19 刺激人源性巨噬细胞,并分别采用激动剂、拮抗剂干预 PPAR γ 活性,旨在观察 *M.tb*-P19 对巨噬细胞 PPAR γ 表达的影响以及 PPAR γ 对 *M.tb*-P19 诱导巨噬细胞免疫反应的影响。

1 对象与方法

1.1 对象

巨噬细胞系 WBC 264-9C 购于 American Type Culture Collection 公司(ATCC,美国),批号 HB-8902;人结核分枝杆菌敏感株 H37Rv 株购于美国 ATCC 公司,批号 25618。主要试剂:PPAR γ 激动剂 BRL49653 和拮抗剂 GW9662 购自美国 Cayman 公司,溶于 0.01%的 DMSO 中。兔抗人 PPAR γ 、磷酸化 ERK、总 ERK、NF- κ B、TNF- α 、IL-6 和 GAPDH 抗体购自美国 Cell Signaling 公司。BCA 蛋白检测试剂盒购自美国 Pierce 公司;ECL 化学发光显影液购自美国 Amersham 公司,其它试剂均为进口或国产分析纯。

1.2 结核分枝杆菌 19 kDa 脂蛋白的制备和纯化

人结核分枝杆菌敏感株 H37Rv 株 19 kDa 脂蛋白(*M.tb*-P19)的依照 Sanchez 等^[10]的方法进行制备和纯化,采用 BCA 法测定纯化后的 *M.tb*-P19 蛋白浓度。

1.3 细胞培养和结核分枝杆菌感染

WBC 264-9C 巨噬细胞在含 10%胎牛血清的 RPMI 1640 中培养,全培养液中另附加 10 mM Hepes,2 mM L-谷氨酰胺,50 μ g/ml 庆大霉素。巨噬细胞置于 CO₂ 孵育箱内,在 37 $^{\circ}$ C、95% O₂、5% CO₂ 条件下培养。光镜下观察细胞为椭圆形或类圆形,呈悬浮样生长,锥虫蓝染色显示细胞存活率达 95%以上。将培养的巨噬细胞离心收集,重悬细胞浓度调整为 5×10^5 个/mL,置于平底 12 孔板中培养,每孔 1 mL 细胞悬液。细胞培养在含终浓度为 5 ng/mL 的 PMA 培养液中,于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞孵育箱内培养 24 h。待细胞分化贴壁后弃上清,以 PBS 液洗涤细胞三次,将未贴壁的细胞洗去。重新加入 1 mL 加入含 0.1%小牛血清的 RPMI-1640 培养液中培养 18 h 用于下一步实验。

为了验证人结核分枝杆菌敏感株 H37Rv 以及其细胞壁抗原 *M.tb*-P19 脂蛋白对 PPAR γ 的调控,我们对培养的 WBC 264-9C 人巨噬细胞进行 H37Rv 或 *M.tb*-P19 感染并检测 PPAR γ 的表达。于 12 孔板内每孔加入 1 mL 细胞悬液,再加入 900 μ L 细胞培养液至终体积为 2 mL,随后加入 100 μ L 人结核分枝杆菌 H37Rv 菌液(MOI=1:10)或纯化的 *M.tb*-P19(终浓度为 5 μ g/mL)进行不同时间的孵育后收集细胞。

1.4 PPAR γ 药理干预和 *M.tb*-P19 感染

为了验证 PPAR γ 的活性对人结核分枝杆菌细胞壁成分 P19 所致炎症作用的影响,我们对培养的 WBC 264-9C 人巨噬细胞进行 PPAR γ 药理干预和 *M.tb*-P19 感染。实验组分为:① *M.tb*-P19 感染组:加入 1 mL 细胞悬液后,再加入 900 μ L 细胞培养液至终体积为 2 mL,随后加入 100 μ L 纯化的 *M.tb*-P19(终浓度为 5 μ g/mL)进行孵育。② BRL49653 感染组:加入 1 mL 细胞悬液后,以 100 μ L 的 BRL49653(终浓度为 5 μ M)孵育 30 min 后加入 900 mL 细胞培养液进行孵育。③ BRL49653+*M.*

tb-P19 感染组:方法同 BRL49653 感染组,仅在 BRL49653 孵育后加入 100 μ L 纯化的 *M.tb*-P19 以及 800 mL 细胞培养液进行孵育。④ GW9662 感染组:加入 1 mL 细胞悬液后,加入 100 μ L 的 GW9662(终浓度为 1 μ M)孵育 30 min 后加入 900 mL 细胞培养液进行孵育。⑤ GW9662+*M.tb*-P19 感染组:方法同 GW9662 感染组,仅在 GW9662 孵育后加入 100 μ L 纯化的 *M.tb*-P19 以及 800 mL 细胞培养液进行孵育。⑥ 对照组:分别加入 0.01%的 DMSO 100 μ L 孵育 30 min,后加入 100 μ L 生理盐水以及 800 mL 细胞培养液进行孵育。各组细胞每孔细胞悬液终体积为 2 mL,培养 12 h 后收集细胞。

1.5 Western blot 法检测 PPAR γ 、磷酸化 ERK、TNF- α 和 IL-6 蛋白的表达

分别取各组细胞使用 RIPA 细胞裂解液提取总蛋白,用 BCA 法进行蛋白含量测定。取 40 μ g 蛋白在 10%的 SDS-PAGE 胶上进行电泳后,半干法将蛋白转移至 PVDF 滤膜。5%脱脂牛奶于 37 $^{\circ}$ C 摇床封闭 1 h,加入兔抗人 PPAR γ 、磷酸化 ERK、总 ERK、TNF- α 、IL-6(均为 1:1000)抗体 4 $^{\circ}$ C 摇床孵育过夜,加入 HRP 标记的鼠抗兔 IgG 抗体(1:10000)常温摇床孵育 1 h 后,使用 ECL 显影法在凝胶成像仪内曝光成像。以 GAPDH 为内参照。使用 QuantityOne 软件分析目的蛋白条带和 GAPDH 条带灰度值,相对表达量以两者的比值表示。

1.6 统计学分析

采用 GraphPad Prism 6.0 统计软件进行分析。数据以均值 $\pm$ 标准差(Mean $\pm$ SEM)表示,组间比较采用单因素方差分析并使用 Dunnett's 法进行两两比较检验,或使用独立样本 t 检验。以 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 H37Rv 和 *M.tb*-P19 感染巨噬细胞对 PPAR γ 表达的影响

Western blot 结果分析表明:巨噬细胞经 H37Rv 感染后其 PPAR γ 的表达在 48 h 内逐渐增加,12、24 和 48 h 时 PPAR γ 的表达显著高于 0h($F_{4,10}=35.34$, $P < 0.0001$)(图 1A)。巨噬细胞经 *M.tb*-P19 感染后其 PPAR γ 的表达亦逐渐升高,24 h 和 48 h 时 PPAR γ 的表达显著高于 0h($F_{4,10}=19.24$, $P < 0.01$)(图 1B),并在 48 h 达到高峰(4.10 倍, $P < 0.0001$)。

2.2 *M.tb*-P19 感染对人巨噬细胞中磷酸化 ERK、NF- κ B 表达的影响及 PPAR γ 的作用

如图 2 所示,与正常对照人巨噬细胞相比,*M.tb*-P19 感染人巨噬细胞 12 h 后,细胞内磷酸化 ERK (1.30 倍, $P < 0.05$)和 NF- κ B (3.1 倍, $P < 0.0001$)的表达水平均显著升高。单独给予 PPAR γ 激动剂 BRL49653 处理人巨噬细胞,细胞内磷酸化 ERK(0.46 倍, $P < 0.0001$)和 NF- κ B(0.31 倍, $P < 0.05$)的表达均较正常对照组显著降低,而单独给予拮抗剂 GW9662 则使磷酸化 ERK(2.19 倍, $P < 0.05$)和 NF- κ B(3.69 倍, $P < 0.0001$)表达显著增高。PPAR γ 激动剂 BRL49653 预处理可显著抑制 *M.tb*-P19 感染所诱导的磷酸化 ERK(0.62 倍, $P = 0.293$)和 NF- κ B (1.12 倍, $P = 0.799$)的表达增高;而 PPAR γ 拮抗剂 GW9662 预处理可更进一步增加 *M.tb*-P19 感染所诱导的磷酸化 ERK(2.32 倍, $P < 0.0001$)和 NF- κ B 表达增高(3.69 倍, $P < 0.0001$)。此外,PPAR γ 的激动剂 BRL49653 处理的人巨噬细胞与 *M.tb*-P19 感染的人巨

噬细胞相比,其磷酸化 ERK($P<0.0001$)和 NF- κ B($P<0.0001$)表达均显著降低。PPAR γ 的拮抗剂 GW9662 处理的人巨噬细胞

与 *M.tb*-P19 感染的人巨噬细胞相比,其磷酸化 ERK($P<0.05$)表达均出现增高,而 NF- κ B 表达则没有显著差异。

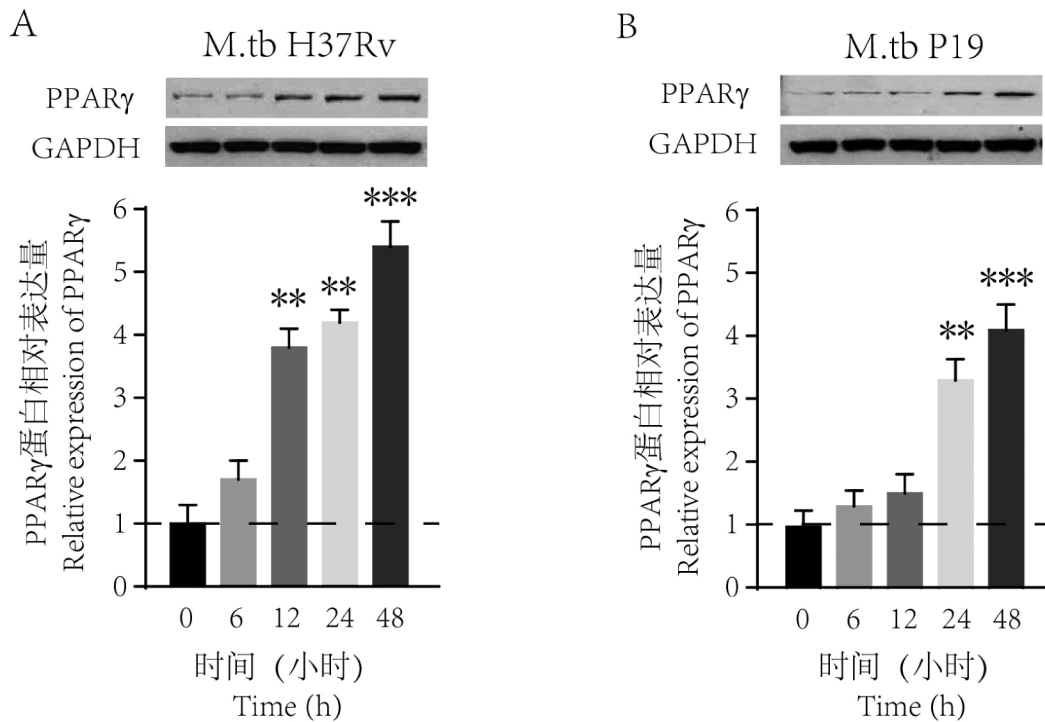


图 1 H37Rv 和 M.tb-P19 感染巨噬细胞对 PPAR γ 表达的影响

注:与感染 0 h 相比, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

Fig. 1 Effect of H37Rv and M.tb-P19 infection on the PPAR γ expression in human macrophages

Note: Compared with 0 h group, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

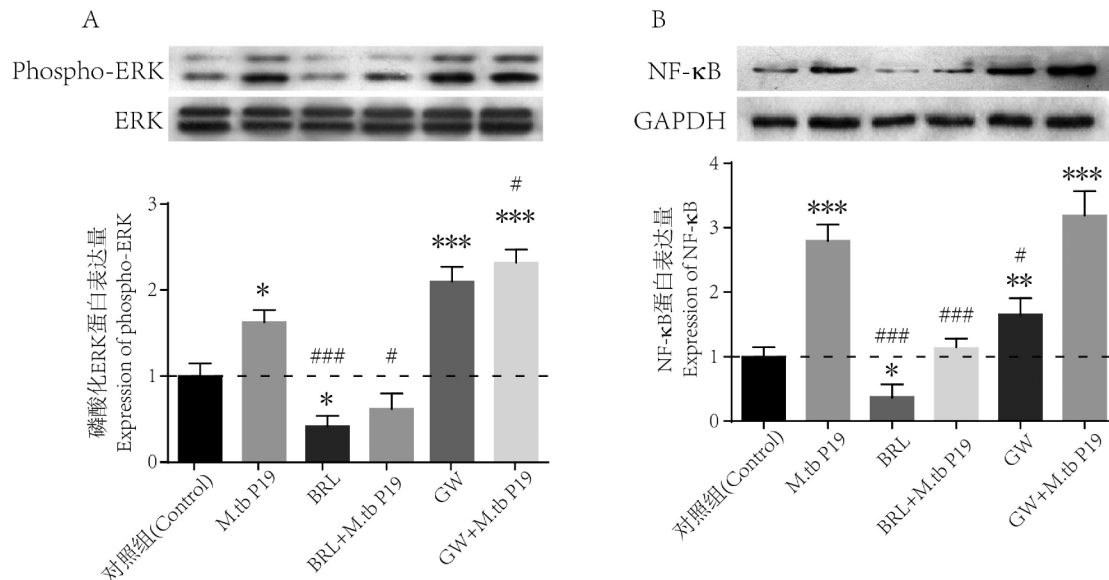


图 2 M.tb-P19 感染对人巨噬细胞中磷酸化 ERK、NF- κ B 表达的影响及 PPAR γ 的作用

注:与对照组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$;与 M.tb P19 感染组相比, # $P<0.05$, ### $P<0.001$ 。

Fig. 2 Influence of M.tb-P19 infection on the Phospho-ERK and NF- κ B expression in human macrophages and effect of PPAR γ

Note: Compared with control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$. Compared with M.tb P19 group, # $P<0.05$, ### $P<0.001$.

2.3 M.tb-P19 感染对人巨噬细胞中 TNF- α 和 IL-6 表达的影响及 PPAR- γ 的作用

如图 3 所示, M.tb-P19 感染的人巨噬细胞中 TNF- α 和 IL-6 的表达均较正常对照人巨噬细胞显著增加(TNF- α : 2.23 倍, $P<0.0001$; IL-6: 4.16 倍, $P<0.0001$)。PPAR γ 激动剂 BRL49653

预处理可显著抑制 M.tb-P19 感染所诱导的人巨噬细胞中 TNF- α 和 IL-6 表达的增加(TNF- α : 1.28 倍, $P=0.682$; IL-6: 0.53 倍, $P=0.061$), 而 PPAR γ 拮抗剂 GW9662 预处理可更进一步增加 M.tb-P19 感染所诱导的人巨噬细胞中 TNF- α 和 IL-6 的表达(TNF- α : 3.03 倍, $P<0.0001$; IL-6: 4.69 倍, $P<0.0001$)。此外,

PPAR γ 的激动剂 BRL49653 处理的人巨噬细胞与 *M.tb* P19 感染的人巨噬细胞相比,其 TNF- α ($P<0.05$)和 IL-6($P<0.0001$)表达均显著降低。PPAR γ 的拮抗剂 GW9662 处理的人巨噬细胞与

M.tb-P19 感染的人巨噬细胞相比,其 TNF- α ($P<0.05$)表达均出现增高,而 NF- κ B 表达则没有显著差异。

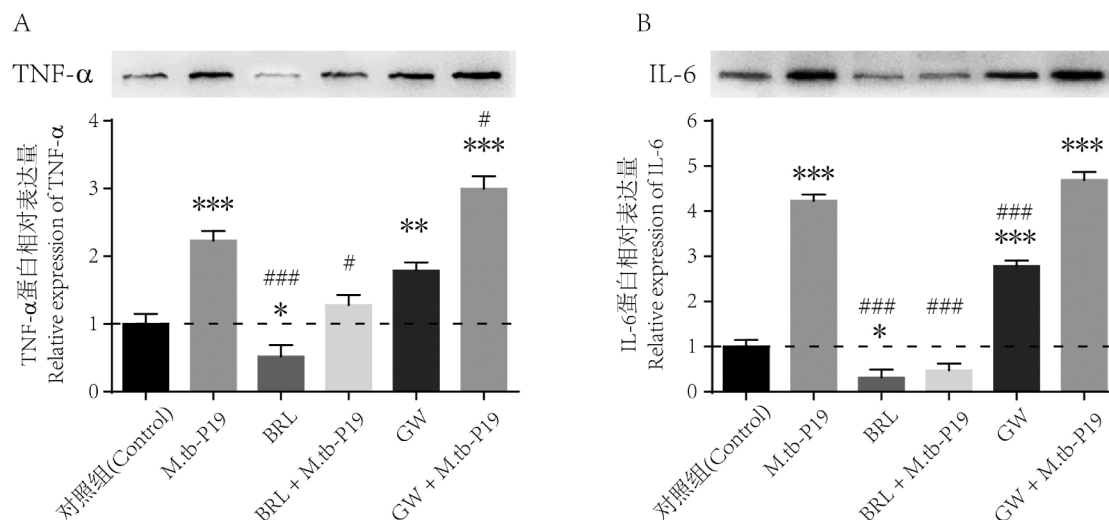


图3 *M.tb*-P19 感染对人巨噬细胞中 TNF- α 和 IL-6 表达的影响及 PPAR γ 的作用

与对照组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。与 *M.tb* P19 感染组相比, # $P<0.05$, ### $P<0.001$ 。

Fig. 3 Influence of *M.tb*-P19 infection on the TNF- α and IL-6 expression in human macrophages and effect of PPAR- γ .

Note: Compared with control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$. Compared with *M.tb* P19 group, # $P<0.05$, ### $P<0.001$.

3 讨论

PPAR γ 是一种可由配体激活的核转录因子,属 II 型核受体超家族成员,活化后可以调控多种核内靶基因的表达,具有多种生物学效应,可调节脂肪代谢和炎症免疫以及细胞分化等,参与诸多慢性免疫性疾病的发生及发展。最近众多研究致力于探索 PPAR 这一转录因子在基因、细胞和组织水平上的炎症和免疫反应中的作用。近年来,PPAR γ 潜在的抗炎活性不断地被揭示,其配体在多种慢性炎症性动物模型及患者中都表现出抗炎的作用^[6]。然而,PPAR γ 对 *M.tb* 导致的巨噬细胞炎症反应的作用还研究较少。

本实验结果显示,人巨噬细胞经 *M.tb* 敏感株 H37Rv 感染后,PPAR γ 的表达显著增多。Almeida 等的研究发现,C57BL/6 小鼠以及人单核细胞经过牛型结核菌 (*Mycobacterium bovis*, BCG) 感染可使 PPAR γ 的表达出现增高,PGE2 以及脂质体形成增多^[7]。结核杆菌表面成分十分复杂,侵入机体后它们可作为配体被巨噬细胞表面不同的特异受体所识别,为二者复杂的相互作用提供了物质基础。随着现代技术的发展和研究的深入,结核杆菌蛋白抗原不断被发现和应用。*M.tb* 细胞壁上 P19 是 *M.tb* 糖基化的脂蛋白,被认为是细菌的毒力因子之一,在活菌分裂增殖时可漏出胞浆^[8]。本实验采用 *M.tb*-P19 即是 *M.tb* 敏感株 H37Rv 经处理后,从细胞壁提取出的特异性抗原物质。我们利用 *M.tb*-P19 作为刺激信号,与巨噬细胞共同培养 48h 后发现 PPAR γ 同样发生表达增多,这与 H37Rv 所引起的现象相似。Jiang 等最近也报道用脂多糖刺激人单核细胞,可诱导炎症因子表达,并被曲格列酮、15d-PGJ2 等物质抑制。因此,我们认为 *M.tb*-P19 是 *M.tb* 所致巨噬细胞免疫反应中的一个关键抗原。

近年来的研究发现,ERK 的激活在微生物引起的免疫反应中具有重要作用^[9,10]。有研究在激活的人 T 细胞中观察到,PPAR γ 的激动剂 15d-PGJ2 能通过 ERK 途径诱导产生 IL-8^[11],在人 NK 细胞中,激活 PPAR γ 能抑制内毒素诱导的 ERK 磷酸化及 I- κ B 的降解,从而抑制内毒素诱导产生 IL-2、NO、TNF- α 和血栓素 B2^[12]。而核因子- κ B(Nuclear factor- κ B, NF- κ B)则可进入细胞核内与相应基因的启动子区相结合从而促进众多炎症细胞因子的转录表达^[13-15]。有研究报道,活化的 PPAR γ 通过与 NF- κ B 间蛋白-蛋白相互作用,阻止 NF- κ B 与炎症因子基因启动子区的同源顺式元件结合^[16]。通过 15d-PGJ2 激活 PPAR γ (0.1~0.5 μ mol/L) 可以抑制脂多糖诱导的经由 NF- κ B 介导的转录效应^[17]。

为了进一步研究巨噬细胞内 PPAR γ 是否通过调控其他分子参与了 *M.tb*-P19 所诱导的炎症反应,我们分别采用 PPAR γ 的激动剂或拮抗剂预处理巨噬细胞,并检测了细胞内磷酸化 ERK 和 NF- κ B 的表达。结果显示 *M.tb*-P19 可显著增高磷酸化 ERK、NF- κ B、TNF- α 和 IL-6 的表达,PPAR γ 激动剂预处理可抑制 *M.tb*-P19 感染所致的磷酸化 ERK、NF- κ B、TNF- α 和 IL-6 的过量表达,而 PPAR γ 拮抗剂预处理可进一步提高磷酸化 ERK、NF- κ B、TNF- α 和 IL-6 的表达。这些结果表明:巨噬细胞内 PPAR γ 可能是通过激活 ERK 及 NF- κ B 信号通路,抑制 *M.tb*-P19 所诱导的炎症反应。而以激活 PPAR γ 功能靶向研发新型免疫调节剂也许是将来研究的焦点,可为人类对抗结核病和 *M.tb* 感染提供新的方法及策略。

参考文献(References)

- [1] Branger J, Leemans JC, Florquin S, et al. Toll-like receptor 4 plays a protective role in pulmonary tuberculosis in mice [J]. International immunology, 2004, 16(3): 509-516

- [2] Luzzi VI, Scott MG, Gronowski AM. Negative thyrotropin assay interference associated with an IgGkappa paraprotein [J]. *Clinical chemistry*, 2003, 49(4): 709-710
- [3] Xu P, Xu K, Wang J, et al. Pioglitazone: a promising therapeutic tool in sodium taurocholate-induced severe acute pancreatitis. *Digestive diseases and sciences*, 2011, 56(4): 1082-1089
- [4] Duan SZ, Usher MG, Mortenson RM, et al. PPARs: the vasculature, inflammation and hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2009, 18(2): 128-133
- [5] XuP, XuK, WangJ, et al. Pioglitazone: a promising therapeutic tool in sodium taurocholate-induced severe acute pancreatitis[J]. *Dig Dis Sci*, 2011, 56 (4): 1082-1089
- [6] Jiang CY, Ting AT, Seed B. PPAR-gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines [J]. *Nature*, 1998, 391 (6662): 82-86
- [7] Almeida PE, Silva AR, Maya-Monteiro CM, et al. Mycobacterium bovis Bacillus Calmette-Guerin Infection Induces TLR2-Dependent Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma Expression and Activation: Functions in Inflammation, Lipid Metabolism, and Pathogenesis[J]. *J Immunol*, 2009, 183(2): 1337-1345
- [8] Alito A, McNair J, Girvin RM, et al. Identification of Mycobacterium bovis antigens by analysis of bovine T-cell responses after infection with a virulent strain[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2003, 36(11): 1523-1531
- [9] Kumar AS, Bansal K, Holla S, et al. ESAT-6 induced COX-2 expression involves coordinated interplay between PI3K and MAPK signaling[J]. *Mol Immunol*, 2012, 49(4): 655-663
- [10] Lee SH, Kim DW, Back SS, et al. Transduced Tat-Annexin protein suppresses inflammation-associated gene expression in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated Raw 264.7 cells[J]. *Bmb Rep*, 2011, 44(7): 484-489
- [11] Harris SG, Smith RS, Phipps RP. 15-deoxy-Delta (12,14)-PGJ(2) induces IL-8 production in human T cells by a mitogen-activated protein kinase pathway[J]. *J Immunol*, 2002, 168(3): 1372-1379
- [12] Yu TK, Caudell EG, Smid C, et al. IL-2 activation of NK cells: Involvement of MKK1/2/ERK but not p38 kinase pathway [J]. *J Immunol*, 2000, 164(12): 6244-6251
- [13] Adada, M.M., Orr-Gandy KA, Snider AJ, et al. Sphingosine Kinase 1 (SK1) regulates Tumor Necrosis Factor (TNF)-mediated RANTES Induction Through p38 MAPK but Independently of NF-kappaB Activation[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(38): 27667-27679
- [14] Ren, Z., Wang L, Lui J, et al. Resveratrol inhibits NF-kB signaling through suppression of p65 and I kappaB kinase activities [J]. *Pharmazie*, 2013, 68(8): 689-694
- [15] Gueguen, G., Kalamarz ME, Ramroop J, et al. Polydnviral Ankyrin Proteins Aid Parasitic Wasp Survival by Coordinate and Selective Inhibition of Hematopoietic and Immune NF-kappa B Signaling in Insect Hosts[J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9(8): e1003580
- [16] Nencioni A, Wesselborg S, Brossart P. Role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma and its ligands in the control of immune responses[J]. *Crit Rev Immunol*, 2003, 23(1-2): 1-13
- [17] Castrillo A, Diaz-Guerra MJM, Hortelano S, et al. Inhibition of I kappa B kinase and I kappa B phosphorylation by 15-deoxy-Delta (12,14)-prostaglandin J (2) in activated murine macrophages[J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(5): 1692-1698