

# 长期低剂量离子辐射诱导小鼠皮层小胶质细胞中 $IL-1\beta$ 表达异常升高的信号转导途径研究

后少俊<sup>1</sup>, 宋伦<sup>2</sup>

(1.安徽医科大学 基础医学院,合肥 230032;2.军事医学研究院 军事认知与脑科学研究所,北京 100850)

**摘要:**低剂量离子辐射(low-dose ionizing radiation, LDIR)的环境暴露对人体健康的影响已成为公共卫生研究领域备受关注的重要问题,但相应的分子机制研究进展缓慢。为探讨 LDIR 对脑功能的潜在危害效应及相关分子机制,采用 8 周龄雄性小鼠构建长期间歇性低剂量  $\gamma$  射线( $Co^{60}$ )暴露的实验动物模型,采用免疫荧光、Western Blot、荧光定量 PCR(qPCR)等技术,对辐射暴露后小鼠脑组织中的小胶质细胞活化状态、炎症因子表达水平和信号转导途径中蛋白激酶和转录因子的表达及活化水平进行分析。采用同剂量射线照射小胶质细胞 N9 并分析相应指标,用以模拟小胶质细胞的体内辐射反应状态。结果显示,LDIR 暴露可诱导小鼠大脑皮层中小胶质细胞显著活化,并向 M1 型极化,以  $IL-1\beta$  为代表的神经炎症因子表达水平显著升高。N9 细胞经低剂量  $\gamma$  射线暴露后  $IL-1\beta$  表达水平上调,其潜在调节因子 c-Jun 和 ERKs 的活化水平升高。敲低 c-Jun 的表达水平或抑制 ERKs 激酶活性后, $IL-1\beta$  的诱导表达反应被显著抑制。实验结果表明,LDIR 暴露可激活小胶质细胞并促进 ERKs 活化,进而激活转录因子 c-Jun 并介导  $IL-1\beta$  表达上调反应,这可能在 LDIR 诱发小鼠神经炎症反应发生发展中具有重要作用。

**关键词:**低剂量离子辐射;小胶质细胞;神经炎症; $IL-1\beta$

**中图分类号:**Q691.5

**文献标志码:**A

**文章编号:**1000-2367(2024)05-0134-08

低剂量电离辐射(low-dose ionizing radiation, LDIR)的健康危害效应是辐射生物学和辐射医学领域内的重要研究内容。随着核科学与技术的日益进步,人们暴露于低剂量电离辐射的风险也相应增加。美国国家辐射防护和测量委员会将吸收剂量低于 100 mGy 条件定义为低剂量辐射<sup>[1]</sup>,这一标准被广泛接受。

与高剂量电离辐射引发的显著机体损伤相比,LDIR 的健康效应及其潜在机制更具争议性。以往的研究表明,LDIR 可诱发癌症<sup>[2-4]</sup>、心血管疾病<sup>[5]</sup>和长期心理问题<sup>[6]</sup>。然而,也有研究在一些实验体系中观察到 LDIR 的损伤保护效应或毒兴奋效应<sup>[7]</sup>。这种看似矛盾的结论可能与实验中所使用的动物品系、性别、年龄、目标组织器官、辐射源特性以及辐射暴露方式等因素有关。这些复杂因素和争议性结论推动着对低剂量辐射生物反应机制的深入研究。

小胶质细胞是中枢神经系统中的固有免疫细胞,与大脑中许多神经退行性疾病和其他炎症性疾病的发病密切相关,对于维持神经系统的稳态具有重要作用<sup>[8]</sup>。小胶质细胞可以响应不同的微环境干扰而极化为 M1 促炎表型或 M2 抗炎表型<sup>[9-10]</sup>。M1 型小胶质细胞产生炎症细胞因子和趋化因子,如肿瘤坏死因子

**收稿日期:**2024-01-26;**修回日期:**2024-03-04.

**基金项目:**国家自然科学基金(32070763);军队科技重点项目(XXX21X009).

**作者简介:**后少俊(1999-),男,安徽芜湖人,安徽医科大学硕士研究生,研究方向为环境应激源诱发脑损伤效应及机制, E-mail:hsj\_0105@163.com.

**通信作者:**宋伦,军事医学科学院研究员,博士,博士生导师,研究方向为细胞应激反应的信号转导网络研究, E-mail:lunsong0752@163.com.

**引用本文:**后少俊,宋伦.长期低剂量离子辐射诱导小鼠皮层小胶质细胞中  $IL-1\beta$  表达异常升高的信号转导途径研究[J].河南师范大学学报(自然科学版),2024,52(5):134-141.(Hou Shaojun, Song Lun. Signal transduction mechanism of abnormal  $IL-1\beta$  upregulation in the mouse cortex under long time low-dose ionizing radiation[J]. Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition), 2024, 52(5): 134-141. DOI: 10.16366/j.cnki.1000-2367.2024.01.26.0001.)

$\alpha$ (tumor necrosis factor alpha, TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6)、IL-1 $\beta$ 、IL-12 和趋化因子配体 2(CC chemokine ligand 2, CCL2)<sup>[11]</sup>, 诱导神经损伤<sup>[12]</sup>. M2 型小胶质细胞产生抗炎细胞因子 IL-4、IL-10、转化生长因子  $\beta$ (transforming growth factor, TGF- $\beta$ )、胰岛素样生长因子 1(insulin-like growth factor-1, IGF-1) 和脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)等<sup>[11]</sup>, 发挥神经损伤保护作用, 主要表现为促进细胞碎片和折叠错误蛋白质的吞噬, 促进细胞外基质的重建和组织修复, 并通过神经营养因子支持神经元的存活<sup>[13]</sup>.

IL-1 $\beta$  在许多慢性和急性炎症性疾病中发挥着重要作用. 在体内, 微量的 IL-1 $\beta$  可诱导各种炎症和免疫反应<sup>[14]</sup>. 细胞外信号调节激酶 1/2(extracellular signal-regulated kinase, ERK1/2) 是有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPK)家族成员之一. 一般来说, ERKs 在被细胞外刺激激活后转移到细胞核中, 并激活下游转录因子以调节基因表达<sup>[15]</sup>. c-Jun 是包含 c-Jun、JunB 和 JunD 的 Jun 家族成员, 是转录因子活化蛋白-1(AP-1)的组成部分, 是 ERKs 通路中重要的下游转录因子<sup>[16]</sup>. ERKs/c-Jun 途径参与包括细胞生长和抗凋亡在内的多种细胞内生物过程<sup>[17]</sup>. 本研究通过构建长期低剂量辐射暴露小鼠模型, 探究小胶质细胞在低剂量辐射暴露反应中的表型变化及相关效应因子, 以期为进一步深入研究低剂量辐射诱导脑功能损伤效应及机制提供基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

雄性 8 周龄 C57B6/J 小鼠购自北京斯贝福生物技术有限公司; N9 小鼠小胶质细胞系购自北京协和细胞库; 小鼠 c-Jun siRNA 购自广州锐博生物科技有限公司; 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 抗体和 RIPA 裂解液购自北京金普莱基因技术有限公司; ECL 发光液购自北京康为世纪生物科技有限公司; OCT 购自中山金桥生物公司; PD98059 购自 MCE 公司; RevertAid MM DNA Synthesis Super Mix、BCA 蛋白定量 Kit 购自 Thermo Fisher Scientific 公司; TRIzol 购自 Sigma Aldrich 公司; Opti-MEM 购自 Gibco 公司; IMDM Modified 购自 cytiva 公司; 抗 p-c-Jun、c-Jun 抗体购自 Cell Signaling Technology 公司; 抗 Iba1 抗体购自日本和光纯药工业株式会社; 0.22  $\mu$ m PVDF 膜购自 Millipore 公司; Goat anti-Rabbit IgG(H+L)-Alexa Fluor<sup>TM</sup>594 荧光二抗和 Lipofectamine<sup>TM</sup> RNAi MAX 购自 Invitrogen 公司. 本实验通过军事医学研究院动物福利伦理审查委员会审批(LACUC-DWZX-2023-546).

### 1.2 方法

#### 1.2.1 动物模型构建

体质量为 20 g 左右的 8 周龄 C57 小鼠, 在 SPF 级动物房饲养 1 周, 12 h 光照和 12 h 黑暗循环, 每天 07:00 开灯, 19:00 关灯, 07:00 记为 ZT0. 环境温度保持在 22~24  $^{\circ}$ C. 每天给予正常饮食和饮水. 将小鼠随机分为对照组(control 组)和长期低剂量离子辐射组(LDIR 组); 对照组正常饲养, LDIR 组每周一、周三和周五在早上 08:00 至 10:00 接受 0.01 Gy 剂量的 Co<sup>60</sup> 辐射, 共暴露 10 次; 并在最后 1 次暴露后 60 d 处死, 收集小鼠皮层组织.

#### 1.2.2 细胞培养与转染

小鼠小胶质细胞系 N9 使用含体积分数 10% 胎牛血清、100 U/mL 链霉素和青霉素的 IMDM 培养基中正常培养. 实验组细胞接受 0.1 Gy Co<sup>60</sup> 辐照, 12 h 后收集细胞.

N9 细胞以  $1.0 \times 10^5$  mL<sup>-1</sup> 的密度接种于 35 mm 培养皿中, 在培养箱中正常培养 16~18 h 后, 将 7.5  $\mu$ L 转染试剂 Lipofectamine RNA iMAX 和 2.5  $\mu$ L siRNA 分别加入 125  $\mu$ L Opti-MEM 进行稀释, 室温孵育 5 min, 将稀释后的 siRNA 缓慢加入稀释后的 Lipofectamine RNA iMAX 中, 混匀后静置 15~20 min 后加入培养皿中. 转染 24 h 后, 实验组接受 0.1 Gy 的 Co<sup>60</sup> 辐照, 12 h 后收集细胞, 用 Western Blot 以及 qPCR 检测相关目的蛋白和基因的表达变化.

#### 1.2.3 免疫荧光

小鼠麻醉后, 用生理盐水、质量分数 4% 多聚甲醛灌流后, 取出脑组织. 置于质量分数 4% 多聚甲醛中固定 48 h. 经质量分数 15% 及 30% 蔗糖溶液脱水后, OCT 包埋, 固定在冰冻切片机上切片, 厚度为 30  $\mu$ m. 切片经封闭液封闭 2 h, 一抗 4  $^{\circ}$ C 孵育 16 h 以及荧光二抗室温孵育 2 h 后, 固定在载玻片上. 置于激光共聚焦

显微镜下观察拍照。

#### 1.2.4 Western Blot 检测相关蛋白变化

将收集的小鼠皮层样品或 N9 细胞用裂解液充分裂解,4 °C、12 000 r/min 离心 20 min,取上清进行 BCA 蛋白定量,制备样品。用质量分数 10% 的 SDS-PAGE 进行电泳后,转印至 PVDF 膜上。转印结束后 PVDF 膜在含质量分数 5% 脱脂奶粉的 TBST 中封闭 1 h,然后封闭膜与一抗在 4 °C 中孵育过夜,膜用 TBST 洗涤 3 次,每次 5 min;接着与二抗在室温下孵育 1 h,TBST 洗涤 5 次,每次 5 min,最后用 ECL 发光液显色。

#### 1.2.5 qPCR 技术检测相关基因表达水平

将收集的小鼠皮层样品或 N9 细胞用 TRIzol 裂解,按每毫升 TRIzol 加入 200  $\mu$ L 氯仿的比例加入氯仿,混匀并静置 10 min;4 °C、12 000 r/min 离心 15 min,吸取上清,加入等体积的异丙醇,混匀并静置 10 min;4 °C、12 000 r/min 离心 10 min,弃上清,加入 1 mL 体积分数 75% 乙醇清洗沉淀;4 °C、8 000 r/min 离心 10 min,弃上清,晾干,加入适量 DEPC 水溶解 RNA,测取浓度后用反转录试剂盒反转录成 cDNA,用相应的引物进行 PCR 扩增,引物序列见附录表 S1。

### 1.3 数据统计与分析

两组之间差异比较采用独立样本 *t* 检验,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,数据采用 SPSS 20.0 统计,利用 Graph-pad Prism 6 作图, $p < 0.05$  表示具有统计学差异。

## 2 结 果

### 2.1 LDIR 暴露诱导小鼠皮层小胶质细胞活化

为了检测低剂量离子辐射(LDIR)暴露对小胶质细胞活化状态的影响,在 LDIR 暴露后 60 d,利用免疫荧光技术检测小鼠皮层和海马区的小胶质细胞活化状态(图 1(a)).结果显示:与对照组相比,LDIR 组小鼠皮层中小胶质细胞活化标志物分子 Iba1 的平均荧光强度显著升高(图 1(b,c)),提示 LDIR 可诱导皮层小胶质细胞活化.同样条件下,在海马区 Iba1 的荧光信号强度在 LDIR 暴露前后并未产生明显变化(图 1(d,e)).上述结果说明:皮层小胶质细胞具有显著的 LDIR 反应敏感性。

### 2.2 LDIR 暴露诱导小鼠皮层小胶质细胞向 M1 型极化

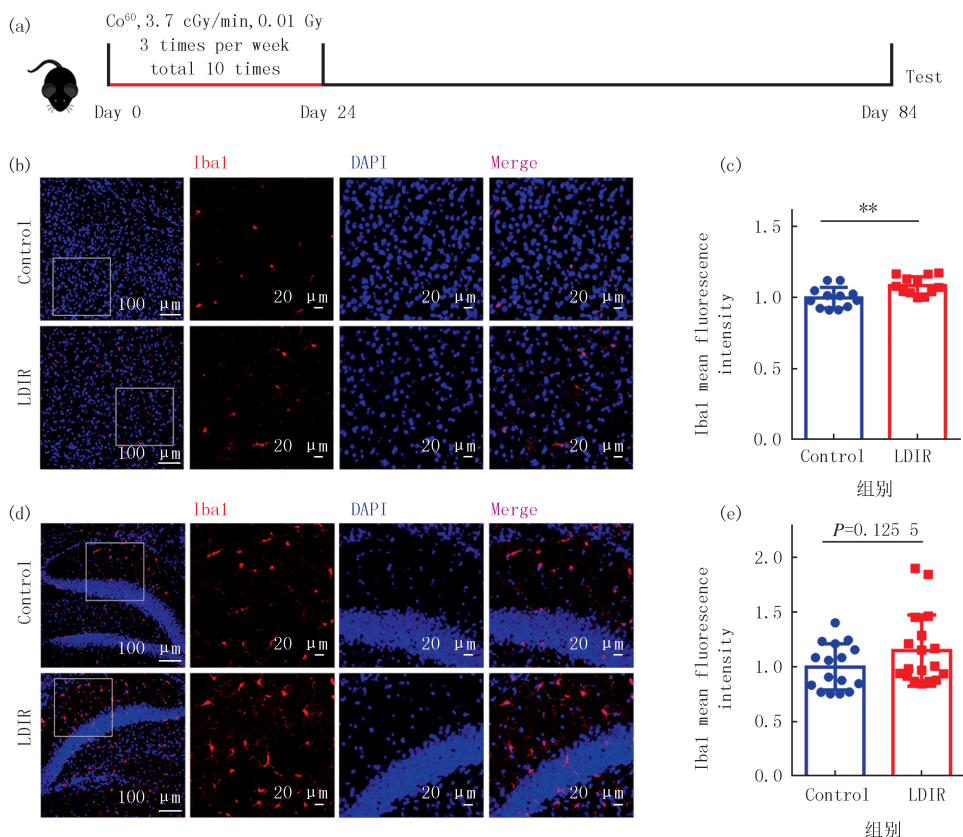
为了进一步明确皮层小胶质细胞的活化状态,采用 qPCR 技术检测小鼠皮层中的小胶质细胞 M1/2 分型标志物分子的表达水平变化.结果显示:与对照组相比,LDIR 组小鼠皮层中小胶质细胞 M1 促炎型标志物分子 *IL-1 $\beta$* 、*COX2*、*TNF $\alpha$* 、*CD86* 的表达水平显著上升(图 2a),而 M2 抑炎型标志物分子 *IL-4*、*IL-10*、*TGF- $\beta$ 1* 和 *CD206* 的表达水平无明显变化(图 2b).此结果提示 LDIR 暴露可诱导小鼠皮层小胶质细胞向 M1 型极化并介导神经炎症反应。

### 2.3 LDIR 暴露诱导小鼠小胶质细胞系 N9 中炎症因子 *IL-1 $\beta$* 表达水平升高

本研究发现 LDIR 暴露后 N9 细胞中 Iba1 表达水平显著提高(图 3a),这表明其活化反应增强.与此同时,*IL-1 $\beta$*  的表达水平也出现了同步上升(图 3b).为了探索 *IL-1 $\beta$*  表达水平上升的分子机制,利用 AL-GGEN-PROMO 程序预测了小鼠 *IL-1 $\beta$*  基因启动子区的潜在转录因子结合位点.结果显示:*IL-1 $\beta$*  基因启动子区存在转录因子 AP-1 组成亚基 c-Jun 的潜在结合位点(图 3c).随后,我们检测了 LDIR 暴露后 N9 细胞中 c-Jun 的活化情况,结果发现:c-Jun 活化水平在 LDIR 暴露后显著上升,但 AP-1 的另一组成亚基 c-Fos 的表达水平在 LDIR 刺激前后无明显变化(图 3d).这一发现提示:c-Jun 可能是调控 LDIR 暴露后 N9 细胞中 *IL-1 $\beta$*  表达增加的关键转录因子.蛋白激酶 ERKs 是负责 c-Jun 诱导活化的重要上游信号分子<sup>[18]</sup>.研究发现 ERKs 在 LDIR 暴露后的 N9 细胞中也能够被诱导活化(图 3e),提示 ERKs 可能在 LDIR 刺激反应中作为 c-Jun 的上游蛋白激酶发挥作用。

### 2.4 LDIR 暴露促进 ERKs/c-Jun 通路活化并介导 *IL-1 $\beta$* 表达上调反应

为了确定 ERKs 和 c-Jun 是否能调控 LDIR 暴露后 N9 细胞中 *IL-1 $\beta$*  的表达上调反应,在 N9 细胞中感染了 c-Jun 及其对照 siRNA.结果显示:抑制 c-Jun 的表达水平后,LDIR 刺激作用下的 *IL-1 $\beta$*  表达上调反应被显著抑制(图 4(a,b)).这说明 c-Jun 是调控 LDIR 暴露后 N9 细胞中 *IL-1 $\beta$*  表达增加的关键转录因子。



(a) 长期LDIR暴露动物实验流程图. LDIR组每周一、周三和周五在早上08:00至10:00接受0.01 Gy剂量的 $Co^{60}$ 辐射,共暴露10次;并在最后1次暴露后60 d处死,收集小鼠皮层组织;(b) LDIR暴露后小鼠皮层Iba1表达水平检测;(c) 小鼠皮层Iba1相对荧光强度定量分析结果;(d) LDIR暴露后小鼠海马区Iba1表达水平检测;(e) 小鼠海马区Iba1相对荧光强度定量分析结果.\*\* $P < 0.01$ .

图1 LDIR暴露诱导小鼠皮层小胶质细胞活化

Fig.1 LDIR exposure induces microglia activation in mouse cortex

随后,采用 ERKs 抑制剂 PD98059 预处理 N9 细胞并进行同样条件照射.实验结果显示,PD98059 预处理可显著抑制 ERK 的诱导活化反应,同时 c-Jun 的活化水平和  $IL-1\beta$  的表达上调反应也被显著抑制(图 4 (c,d)).上述结果表明,LDIR 暴露可通过活化 ERKs/c-Jun 通路介导  $IL-1\beta$  表达上调反应.

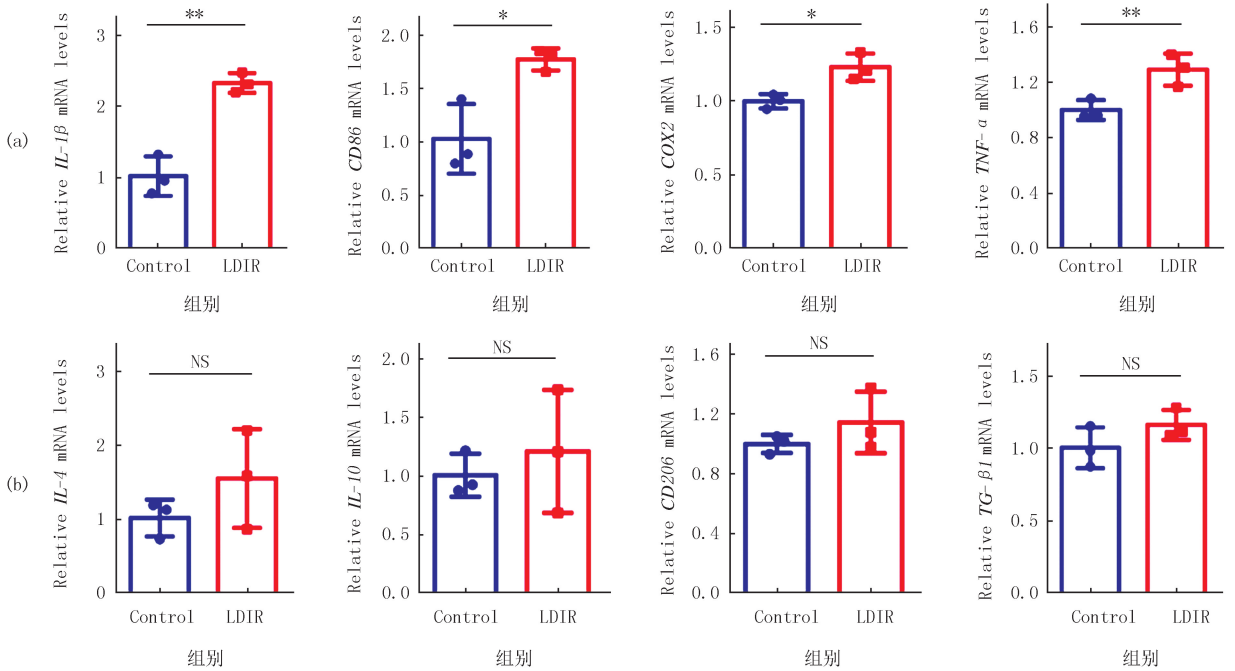
### 3 讨论

神经炎症是辐射诱导脑功能损伤的一种重要反应.经典观点认为,小胶质细胞、星形胶质细胞和血管内皮细胞是大脑中介导神经炎症反应的几种关键细胞.JENROW 等<sup>[19]</sup>在高剂量电离辐射(high-dose ionizing radiation, HDIR)(10 Gy,  $^{137}Cs$ , 3.2 Gy/min)反应中,发现小胶质细胞分泌多种炎性细胞因子,通过抑制海马神经发生从而介导持久的认知障碍.星形胶质细胞在 HDIR 反应中也有类似的发现,研究发现正常人星形胶质细胞 HA-1800 经过 20 Gy 的电离辐射暴露后 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  及 IL-6 等促炎因子的表达水平在 24 h 内显著升高<sup>[20]</sup>.本研究结果显示了小胶质细胞在长期低剂量离子辐射诱导的神经炎性分子表达反应中具有重要作用.星形胶质细胞是否也能够在长期 LDIR 诱导的神经炎症反应中发挥作用值得关注.

另有研究表明,内皮稳定性降低和神经血管单元功能障碍是导致 LDIR( $^{137}Cs$ , 1.4 和 4.1 mGy/h)诱导神经炎症反应和认知障碍的关键因素<sup>[21]</sup>.血管内皮细胞作为神经血管单元的关键组成部分,可通过表达趋化因子并招募外周嗜中性粒细胞、单核细胞、树突状细胞和 T 细胞等多种免疫细胞,参与调节 HDIR 暴露后大脑中的持续炎症反应<sup>[22-23]</sup>.这种血管内皮细胞分泌黏附分子和趋化因子介导的神经炎症机制是否也会在 LDIR 暴露诱导的长期神经炎症反应中发挥作用也值得进一步研究.

Erks/c-Jun(AP-1)是调控细胞内生物功能的重要信号途径.有报道显示,抑制 c-Jun(AP-1)的活性,可抑制 LPS 诱导的 IL-1 $\beta$  上调反应<sup>[24]</sup>.还有研究发现,在细菌毒素介导的炎症反应下,抑制 ERKs 活性可以减轻

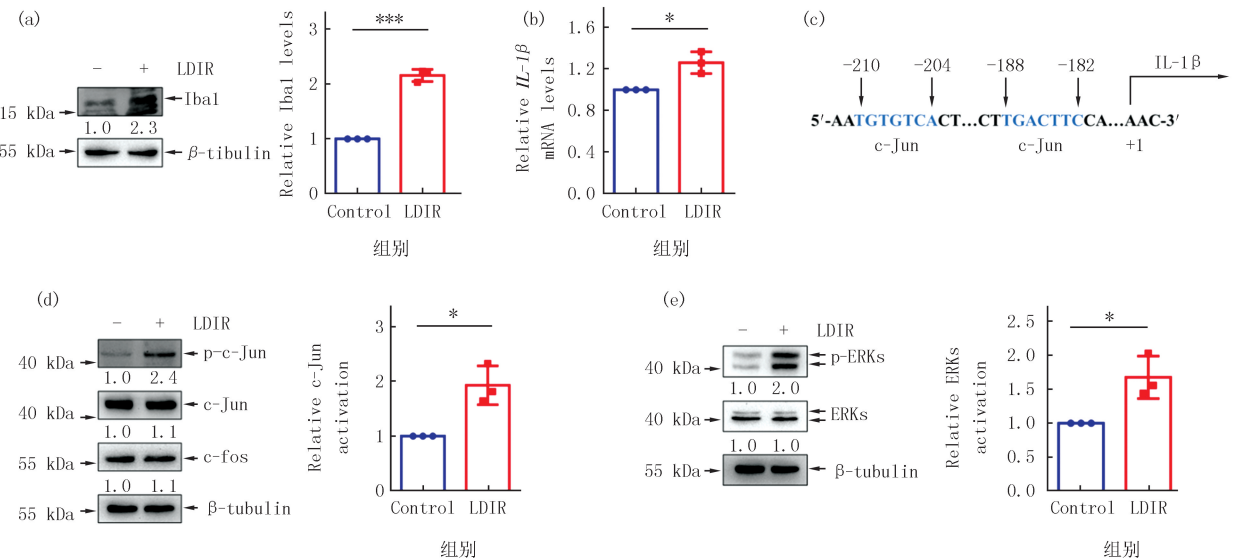
IL-1 $\beta$  等炎症因子介导的炎症反应<sup>[25]</sup>.有趣的是,在 IL-1 信号通路中,IL-1 $\beta$  通过受体 IL-1R1 激活 ERKs,进而激活 c-Jun(AP-1),从而促进多种促炎因子表达,增强炎症反应<sup>[26]</sup>.上述研究结果表明 ERKs/c-Jun 通路是调控 IL-1 $\beta$  表达的上游信号,而 IL-1 $\beta$  也可以促进 ERKs/c-Jun 通路活化.



(a) LDIR暴露后小鼠皮层中小胶质细胞M1促炎型标志物分子IL-1 $\beta$ 、COX2、TNF $\alpha$ 、CD86的表达水平; (b) LDIR暴露后小鼠皮层中小胶质细胞M2抑炎型标志物分子IL-4、IL-10、TGF- $\beta$ 1、CD206的表达水平. \* $P$ <0.05, \*\* $P$ <0.01, NS, 无组间差异.

图2 LDIR暴露诱导小鼠皮层小胶质细胞向M1型极化

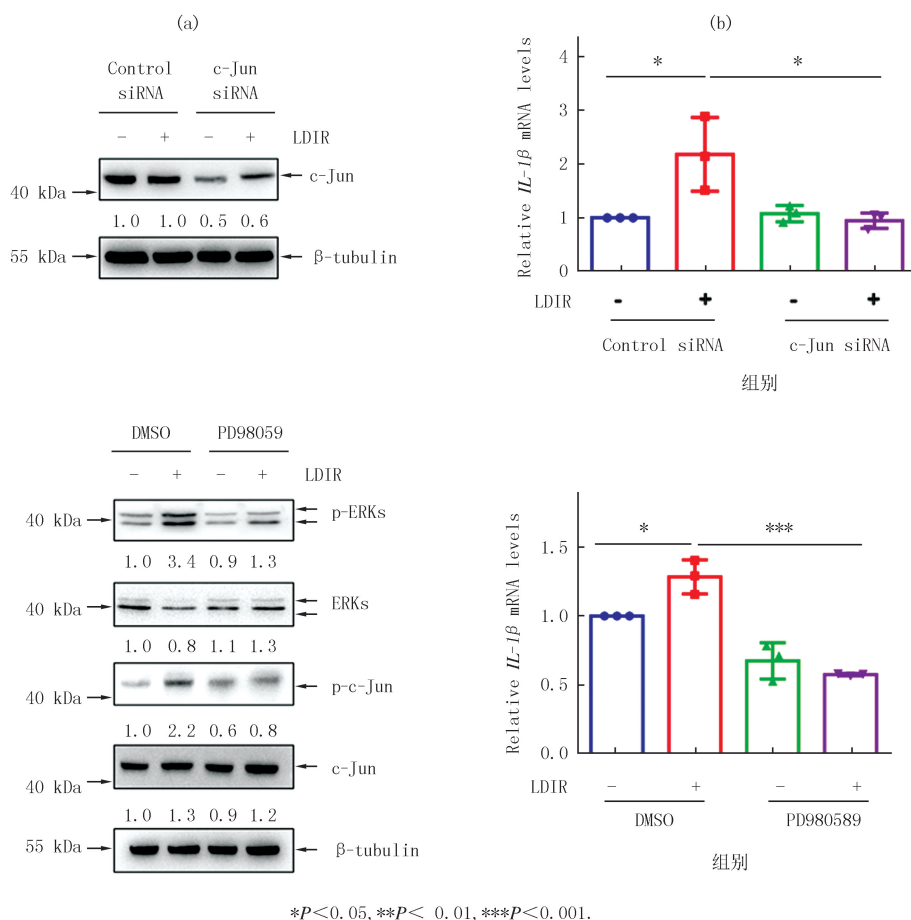
Fig.2 LDIR exposure induces polarization of microglia towards M1 type in mouse cortex



(a) LDIR暴露诱导N9细胞活化反应标志物Iba-1表达水平升高; (b) LDIR暴露诱导N9细胞中IL-1 $\beta$  表达水平上调; (c) 小鼠IL-1 $\beta$  基因启动子区潜在转录因子结合位点预测; (d) LDIR暴露对小胶质细胞N9中c-Jun活化状态的影响; (e) LDIR暴露对小胶质细胞N9中ERKs活化状态的影响. \* $P$ <0.05.

图3 LDIR暴露诱导小鼠N9细胞中炎症因子IL-1 $\beta$  表达水平升高

Fig.3 LDIR exposure induces increased expression levels of the inflammatory factor IL-1 $\beta$  in the mouse microglia cell line N9



\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

图4 LDIR暴露促进ERKs/c-Jun通路活化并介导*IL-1 $\beta$* 表达上调

Fig. 4 LDIR exposure promotes activation of ERKs/c-Jun pathway and mediates upregulation of *IL-1 $\beta$*  expression

*IL-1 $\beta$*  是一种重要的细胞因子,在脑功能调控中发挥着关键作用.除了调节神经系统的免疫反应外,*IL-1 $\beta$*  还对睡眠、突触可塑性和成体神经发生等非免疫学生理过程产生影响.研究发现,正常小鼠脑内的 *IL-1 $\beta$*  表达增加与自发睡眠增加有关,而抑制 *IL-1 $\beta$*  活性会减少睡眠<sup>[27]</sup>.在急性炎症小鼠模型中,小胶质细胞响应 TLR 激活并产生 *IL-1 $\beta$*  及其他因子(如 TNF- $\alpha$ )等,从而影响神经元突触可塑性<sup>[28]</sup>.在慢性轻度应激诱导的模型小鼠海马体中,*IL-1 $\beta$*  被诱导表达,导致海马神经发生减少,介导小鼠产生抑郁样行为<sup>[29]</sup>.*IL-1 $\beta$*  还参与调节神经内分泌系统中下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴功能,通过诱导促肾上腺皮质激素(ACTH),促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)和糖皮质激素(GC)的分泌影响大脑代谢状态<sup>[30]</sup>.这些发现揭示了 *IL-1 $\beta$*  在中枢神经系统中的复杂性和病理生理作用,也提示了 *IL-1 $\beta$*  在 LDIR 刺激作用下的脑内诱导表达可能介导除神经炎症反应之外的多种脑损伤效应.本文研究结果为长期 LDIR 诱导脑损伤反应的效应机制研究提供了新发现,同时也为防护性药物功能助剂研发提供了明确的干预靶标.

附录见电子版(DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2024.01.26.0001).

## 参 考 文 献

- [1] COUNCIL N. Health risks from exposure to low levels of ionizing radiation: BEIR VII, Phase 2[M]. Washington D.C.: National Academies Press, 2006.
- [2] CARDIS E, HOWE G, RON E, et al. Cancer consequences of the Chernobyl accident: 20 years on[J]. Journal of Radiological Protection, 2006, 26(2): 127-140.
- [3] HATCH M, RON E, BOUVILLE A, et al. The Chernobyl disaster: cancer following the accident at the Chernobyl nuclear power plant[J]. Epidemiologic Reviews, 2005, 27: 56-66.
- [4] SHAH D J, SACHS R K, WILSON D J. Radiation-induced cancer: a modern view[J]. The British Journal of Radiology, 2012, 85(1020):

e1166-e1173.

- [5] SUMNER D. Health effects resulting from the Chernobyl accident[J]. *Medicine, Conflict, and Survival*, 2007, 23(1): 31-45.
- [6] PASTEL R H. Radiophobia: long-term psychological consequences of Chernobyl[J]. *Military Medicine*, 2002, 167(2 Suppl): 134-136.
- [7] TANG F R, LOGANOVSKY K. Low dose or low dose rate ionizing radiation-induced health effect in the human[J]. *Journal of Environmental Radioactivity*, 2018, 192: 32-47.
- [8] SARLUS H, HENEKA M T. Microglia in Alzheimer's disease[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2017, 127(9): 3240-3249.
- [9] ZHANG B, WEI Y Z, WANG G Q, et al. Targeting MAPK pathways by naringenin modulates microglia M1/M2 polarization in lipopolysaccharide-stimulated cultures[J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2018, 12: 531.
- [10] SICA A, MANTOVANI A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2012, 122(3): 787-795.
- [11] COLONNA M, BUTOVSKY O. Microglia function in the central nervous system during health and neurodegeneration[J]. *Annual Review of Immunology*, 2017, 35: 441-468.
- [12] NGUYEN H M, GRÖSSINGER E M, HORIUCHI M, et al. Differential Kv1.3, KCa3.1, and Kir2.1 expression in "classically" and "alternatively" activated microglia[J]. *Glia*, 2017, 65(1): 106-121.
- [13] TANG Y, LE W D. Differential roles of M1 and M2 microglia in neurodegenerative diseases[J]. *Molecular Neurobiology*, 2016, 53(2): 1181-1194.
- [14] LI L M, FEI Z L, REN J K, et al. Functional imaging of interleukin 1 beta expression in inflammatory process using bioluminescence imaging in transgenic mice[J]. *BMC Immunology*, 2008, 9: 49.
- [15] TREISMAN R. Regulation of transcription by MAP kinase cascades[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 1996, 8(2): 205-215.
- [16] JOCHUM W, PASSEGUÉ E, WAGNER E F. AP-1 in mouse development and tumorigenesis[J]. *Oncogene*, 2001, 20(19): 2401-2412.
- [17] RAMOS J W. The regulation of extracellular signal-regulated kinase (ERK) in mammalian cells[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2008, 40(12): 2707-2719.
- [18] LI T J, SONG T, NI L, et al. The p-ERK-p-c-Jun-cyclinD1 pathway is involved in proliferation of smooth muscle cells after exposure to cigarette smoke extract[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2014, 453(3): 316-320.
- [19] JENROW K A, BROWN S L, LAPANOWSKI K, et al. Selective inhibition of microglia-mediated neuroinflammation mitigates radiation-induced cognitive impairment[J]. *Radiation Research*, 2013, 179(5): 549-556.
- [20] CHEN W, TONG W S, GUO Y J, et al. Upregulation of connexin-43 is critical for irradiation-induced neuroinflammation[J]. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, 2018, 17(7): 539-546.
- [21] ROMBOUTS C, AERTS A, QUINTENS R, et al. Transcriptomic profiling suggests a role for IGFBP5 in premature senescence of endothelial cells after chronic low dose rate irradiation[J]. *International Journal of Radiation Biology*, 2014, 90(7): 560-574.
- [22] MORAVAN M J, OLSCHOWKA J A, WILLIAMS J P, et al. Cranial irradiation leads to acute and persistent neuroinflammation with delayed increases in T-cell infiltration and CD11c expression in C57BL/6 mouse brain[J]. *Radiation Research*, 2011, 176(4): 459-473.
- [23] MORAVAN M J, OLSCHOWKA J A, WILLIAMS J P, et al. Brain radiation injury leads to a dose- and time-dependent recruitment of peripheral myeloid cells that depends on CCR2 signaling[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2016, 13: 30.
- [24] ZHANG Y, WANG C, JIA Z L, et al. Isoniazid promotes the anti-inflammatory response in zebrafish associated with regulation of the PPAR $\gamma$ /NF- $\kappa$ B/AP-1 pathway[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2020, 316: 108928.
- [25] WANG Y G, WANG S H, KELLY C P, et al. TPL2 Is a Key Regulator of Intestinal Inflammation in *Clostridium difficile* Infection[J]. *Infection and Immunity*, 2018, 86(8): e00095-e00018.
- [26] RIERA M F, GALARDO M N, PELLIZZARI E H, et al. Participation of phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B and ERK1/2 pathways in interleukin-1beta stimulation of lactate production in Sertoli cells[J]. *Reproduction*, 2007, 133(4): 763-773.
- [27] KRUEGER J M, FANG J, TAISHI P, et al. Sleep: A physiologic role for IL-1 beta and TNF-alpha[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1998, 856(1): 148-59.
- [28] DINARELLO C A. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases[J]. *Blood*, 2011, 117(14): 3720-3732.
- [29] GOSHEN I, KREISEL T, BEN-MENACHEM-ZIDON O, et al. Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression[J]. *Molecular Psychiatry*, 2008, 13(7): 717-728.
- [30] LIU X Y, QUAN N. Microglia and CNS interleukin-1: beyond immunological concepts[J]. *Frontiers in Neurology*, 2018, 9: 8.

## Signal transduction mechanism of abnormal *IL-1 $\beta$* upregulation in the mouse cortex under long time low-dose ionizing radiation

Hou Shaojun<sup>1</sup>, Song Lun<sup>2</sup>

(1. School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032, China; 2. Institute of Military Cognition and Brain Science, Academy of Military Medical, Beijing 100850, China)

**Abstract:** The health hazard effects of Low-Dose Ionizing Radiation (LDIR) exposure have become an issue in the re-

search area of public health, but the according mechanisms have not been clearly elucidated. To investigate the potentially harmful effects of long-term intermittent low-dose  $\gamma$ -radiation( $\text{Co}^{60}$ ) on the brain and the corresponding mechanisms involved, 8-week-old male mice were exposed to such radiation to construct the experimental model. Immunofluorescence, Western Blot, and quantitative fluorescence PCR(qPCR) were used to examine the activation status of microglia, the expression level of inflammatory factors, and the expression and activation status of the protein kinase and the transcription factors involved in mediating the responses in the brain of mice after radiation exposure. The microglial cells N9 were subjected to the same dose of radiation to mimic the response of microglia in vivo under radiation. The findings indicate that LDIR exposure induced significant activation of microglia in the mouse cerebral cortex, which underwent polarization towards M1 type. Under the same conditions, the expression level of the neuroinflammatory factors, represented by *IL-1 $\beta$* , was significantly increased after LDIR exposure. N9 cells exposed to low-dose  $\gamma$ -rays also showed a significantly increased expression of *IL-1 $\beta$*  and the activation of its potential regulators, c-Jun and ERKs. Furthermore, knocking down the c-Jun expression or inhibiting ERKs activity significantly suppressed the induced expression of *IL-1 $\beta$*  in the LDIR-induced N9 cells. The experimental results demonstrate that LDIR exposure induced activation of the microglia, in which ERKs and c-Jun were sequentially activated to mediate the up-regulation of *IL-1 $\beta$*  expression. These responses might play an important role in the development of LDIR-induced neuroinflammation in mice.

**Keywords:** low-dose ionizing radiation; microglia; neuroinflammation; *IL-1 $\beta$*

[责任编辑 刘洋 杨浦]

(上接第 90 页)

## Scenario analysis on carbon footprint of industrial energy consumption in Shanghai

Deng Shuangmei<sup>1</sup>, Lu Jiaqi<sup>2</sup>, Li Guanghui<sup>2</sup>

(1. Shanghai Energy Conservation Center, Shanghai 200083, China; 2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Shanghai University of Engineering Science, Shanghai 201620, China)

**Abstract:** As the economic hub of China, Shanghai has witnessed a steady increase in its high-quality development over the past decade, yet the transition towards low-carbon sustainability remains a significant challenge. This paper, drawing on public data such as statistical yearbooks, analyzes the energy evolution trends in Shanghai from 2010 to 2020, and employs emission factors and input-output methods, to identify the carbon footprint associated with energy use in the industrial sector. By establishing three scenarios for future decarbonization forecasts-including grid decarbonization, electrification of energy use, and hydrogen energy production scenario analysis, this study delves into the potential for emissions reduction through energy use in Shanghai's industrial sector. It was found that coal and oil consumption still accounts to over 60% of Shanghai's total energy use, remaining the primary sources of energy. Despite significant improvements in energy efficiency within the industrial sector, there is a heavy reliance on fossil fuel inputs and substantial losses, such as electrical energy loss, with the chemical products industry exhibiting the highest proportion of implicit carbon footprint in electricity use at 30.9%. This underscores the need for ongoing efforts in energy conservation, consumption reduction, and green energy substitution. Scenario analysis reveals that the emissions reduction impact of terminal energy electrification or hydrogen substitution depends on the decarbonization of the entire upstream industrial chain, with the wind power hydrogen production scenario showing the highest potential for emissions reduction, reaching 24.5%.

**Keywords:** energy-carbon analysis; energy carbon footprint; industrial decarbonization; scenario analysis; carbon emission reduction

[责任编辑 刘洋 杨浦]



附 录

表 S1 小鼠引物序列

Tab. S1 Mouse primer sequences

基因名称	序列(5-3)
<i>IL-1<math>\beta</math></i>	F: TGTGACGTTCCCATTAGACAG R: TGTGACGTTCCCATTAGACAG
<i>COX2</i>	F: GCAAATCCTTGCTGTTCCAACC R: GGAGAAGGCTTCCCAGCTTTTG
<i>TNF-<math>\alpha</math></i>	F: TGAGGTCAATCTGCCCAAGTA R: CAGGAAGAATCTGGAAAGGT
<i>CD86</i>	F: TAGGGATAACCAGGCTCTAC R: CGTGGGTGTCTTTTGCTGTA
<i>IL-4</i>	F: GGCACAGAGCTATTGATGGG R: CTCTGTGGTGTTCTTCGTTGC
<i>CD206</i>	F: AGTTGGGTCTCCTGTAGCCCAA R: ACTACTACCTGAGCCCACACCTGCT
<i>TGF-<math>\beta</math>1</i>	F: TGAGTGGCTGTCTTTTGACG R: GGTTCATGTCATGGATGGTG
<i>IL-10</i>	F: AATTCCTGGGTGAGAAGCTG R: TCATGGCCTTG TAGACACCTTG
<i><math>\beta</math>-actin</i>	F: AGCTATGAGCTGCCTGACGG R: GCAGCTCAGTAACAGTCCGC