

## MAPK14 在皮肤中的表达分析

李旦<sup>1</sup>, 朱玉珍<sup>1</sup>, 李海博<sup>1</sup>, 吴紫薇<sup>1</sup>, 吴志宏<sup>1,2</sup>

(1. 浙江科技学院 生物与化学工程学院, 杭州 310023; 2. 德国基尔大学 医学院皮肤学研究所, 德国 基尔 24150)

**摘要:**【目的】人体中丝裂原激活蛋白激酶 14 (Mitogen-activated protein kinase 14, MAPK14, 又称 p38 $\alpha$ ) 主要调控应激和免疫反应。在皮肤组织中, MAPK14 信号通路是维护角质形成细胞稳定状态的关键因素, 因此需进一步探索 MAPK14 在皮肤组织中的表达状况。【方法】采用互补脱氧核糖核酸末端快速扩增技术和实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应技术对该基因的表达进行深度分析。【结果】在来源于婴儿包皮的角质形成细胞中发现了 2 个 MAPK14 新型剪接体, 即 MAPK14-v2a (Genbank 注册登记号为 OM256527) 和 MAPK14-v2b (Genbank 注册登记号为 OM256528)。实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应技术的分析结果表明, 除皮肤组织外这 2 个新型剪接体还在其他组织器官中广泛存在, 如肾脏、子宫、唾液腺和正常黏膜等。在生长分化期中, 发现 MAPK14-v2a 的表达量逐天显著提高, 而 MAPK14-v2b 的表达则相对稳定; 同时还发现, MAPK14-v2a 在基底细胞癌患者的病变组织中表达量显著提高。【结论】本研究发现了 2 种 MAPK14 新型剪接体, 它们是 MAPK14 在皮肤组织中的表达形式, 其中 MAPK14-v2a 与角质细胞增殖分化呈正相关, 并有潜力作为基底细胞癌诊断的分子标记。

**关键词:** MAPK14; 选择性剪接; 分子克隆; qRT-PCR

中图分类号: Q786

文献标志码: A

文章编号: 1671-8798(2023)03-0219-07

## Expression analysis of MAPK14 in skin

LI Dan<sup>1</sup>, ZHU Yuzhen<sup>1</sup>, LI Haibo<sup>1</sup>, WU Ziwei<sup>1</sup>, WU Zhihong<sup>1,2</sup>

(1. School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, Zhejiang, China; 2. Department of Dermatology, Hospital Schleswig-Holstein, Campus Kiel, 24105 Kiel, Germany)

**Abstract:** [Objective] Humans mitogen-activated protein kinase 14 (MAPK14, also known as p38 $\alpha$ ) mainly regulates stress and immune response. In the skin tissue, the signaling pathway of MAPK14 is a key factor in maintaining keratinocyte homeostasis, which calls for further exploration of MAPK14's expression in the skin tissue. [Method] The expression of MAPK14 was analyzed by the rapid-amplification of cDNA ends and real-time fluorescent quantitative reverse transcription polymerase chain reaction. [Result] Two novel splicing variants of MAPK14 were found in keratinocytes derived from infant foreskin, namely MAPK14-v2a

收稿日期: 2022-01-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(81673048, 81972922)

通信作者: 吴志宏(1966—), 男, 浙江省温州人, 研究员, 博士, 主要从事天然免疫和抗菌肽研究。E-mail: zhihong.wu@zust.edu.cn。

(Genbank accession number OM256527) and MAPK14-v2b (Genbank accession number OM256528). Real-time fluorescence quantitative reverse transcription polymerase chain reaction analysis showed that in addition to the skin, these two novel splicing variants also exist widely in other tissues and organs, such as kidney, uterus, salivary gland and normal mucosa. During the proliferation and differentiation of keratinocytes, the expression of MAPK14-v2a was significantly increasing daily, while the expression of MAPK14-v2b was relatively stable. In the abnormal tissue of patients with basal cell carcinoma, the expression of MAPK14-v2a was significantly increased. **[Conclusion]** This study has discovered two novel splicing variants of MAPK14, which are the expression forms of MAPK14 in the skin. Among them, MAPK14-v2a is positively correlated with the proliferation and differentiation of keratinocytes, and might be a molecular marker for the diagnosis of basal cell carcinoma.

**Keywords:** MAPK14; alternative splicing; molecular cloning; qRT-PCR

丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)是一组进化保守的丝氨酸-苏氨酸激酶,参与调控细胞刺激过程,包括增殖、分化、应激反应和免疫反应<sup>[1-2]</sup>。MAPK 有 3 个家族:p38 丝裂原激活蛋白激酶(p38 MAPK)、细胞外信号调节激酶(ERK)及 c-jun 末端激酶或应激激活蛋白激酶(JNK)<sup>[3]</sup>。作为研究较为广泛的信号通路,p38 MAPK 通过 MAPK 激酶 3 和 MAPK 激酶 6 双重磷酸化激活而发生构象变化<sup>[4]</sup>,改变了激酶结构域(N-末端、C-末端)排列,从而增强酶活性<sup>[5]</sup>,它有 p38 $\alpha$  (MAPK14)、p38 $\beta$ (MAPK11)、p38 $\gamma$ (MAPK12)和 p38 $\delta$ (MAPK13)4 种异构体<sup>[3,6]</sup>,这些异构体通过环中 TGY 基序中的苏氨酸和酪氨酸残基的磷酸化激活活性<sup>[7]</sup>,从而调控应激和免疫反应。4 种异构体中 p38 $\alpha$  的表达最多,对刺激反应最灵敏<sup>[8]</sup>。

在哺乳动物细胞中,MAPK14 不仅可以被白细胞介素 1(IL-1)、细菌脂多糖(LPS)和肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )<sup>[8]</sup>等细胞外因子激活,也可以被渗透压、内毒素、一些生长因子和共刺激分子激活<sup>[9-10]</sup>。MAPK14 受刺激会改变 IL-1b、IL-6、IL-10 和 TNF- $\alpha$  等重要炎症介质的浓度<sup>[11-14]</sup>,在皮肤炎症反应中发挥重要作用<sup>[15]</sup>。MAPK14 被激活时通过丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸残基的羟基基团的磷酸化来改变底物的功能<sup>[16]</sup>,影响细胞增殖、分化和凋亡等过程<sup>[17-18]</sup>。

MAPK14 位于 6 号染色体上<sup>[19]</sup>。迄今为止,已发现 4 种转录剪接体:MAPK14-v1、MAPK14-v2、MAPK14-v3 和 MAPK14-v4。目前研究发现 MAPK14-v2 有 3 个选择性剪接形式:MAPK14-v2、Mxi2 和 Exip。与主要表达形式 MAPK14-v2 亚型相比,Mxi2 和 Exip 与原始剪接体 MAPK14-v2 的差异在于 C 末端的变异:Mxi2 缺少整个 C 端<sup>[20]</sup>,Exip 跳跃了 10 号外显子<sup>[21]</sup>。Mxi2 免疫沉淀物携带的激酶活性可以被表皮生长因子持续激活<sup>[22]</sup>。Exip 结合 Toll 相互作用蛋白(Tollip),参与 IL-1 信号通路<sup>[23]</sup>,作为受体近端复合体的组成部分,激活核因子  $\kappa$ B(nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)的活性<sup>[24]</sup>。这些结果表明 MAPK14 分子机制的复杂性,需进一步研究。

在上述研究的基础上,本研究着重探索 MAPK 在皮肤中的表达形式,发现了 MAPK14-v2 的 2 个新型剪接体,MAPK14-v2a 和 MAPK14-v2b,并就此进行深入的表达分析。

## 1 材料和方法

### 1.1 试 剂

总核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)抽提试剂盒(TRIZOL™)购自上海生工生物技术有限公司;脱氧核糖核酸酶 I (DNase I)及核糖核酸酶 H(RNase H)均购自瑞士罗氏公司;互补脱氧核糖核酸(complementary DNA, cDNA)扩增试剂盒(SMARTer™ RACE cDNA Amplification Kit)和染料法实时荧光定量试剂盒(SYBR Premix Ex Taq™ Kit)均购自宝日医生物技术有限公司;细胞培养基购自德国西格玛公

司;青霉素及链霉素均购自美国生命技术公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 生物信息学分析

MAPK14 基因不同剪接体的检索采用美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information,NCBI)(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>),序列分析通过局部序列排比检索基本工具(basic local alignment search tool,BLAST),蛋白编码分析采用开放阅读框查找器(open reading frame finder,ORF Finder),蛋白功能单元分析采用蛋白结构域的数据库(<http://www.smart.ox.ac.uk>)中的 SMART(simple modular architecture research tool,简单模块构架搜索工具)。

### 1.2.2 细胞培养

包皮角质形成细胞按 Meyer-Hoffert 等<sup>[25]</sup>提出的方法制备。表皮标本使用胰蛋白酶处理后,在 37 ℃和体积分数为 5%的 CO<sub>2</sub> 条件下培养于含青霉素质量浓度为 10 μg/μL 和链霉素质量浓度为 0.1 μg/μL 的胎牛血清体积分数为 10%的组织培养皿中。当细胞融合度达 70%~80%后传代,第二次传代后的细胞用于试验。将细胞分离到 6 孔板上,然后用摩尔浓度为 1.7 mmol/L 的 Ca<sup>2+</sup> 刺激分化,分别取第 1、2、4、6、8 d 的细胞进行下一步试验。每个试验至少进行 2 次。

### 1.2.3 RNA 提取

癌症病人组织标本来源于基尔大学皮肤病理中心。包皮角质形成细胞培养、收集后,使用胰蛋白酶消化、离心,用试剂盒提取总 RNA。肾脏、子宫、唾液腺、皮肤、正常黏膜、胃、骨髓和脾等 20 种组织细胞的总 RNA 均购自宝日医生物技术有限公司。

### 1.2.4 cDNA 末端快速扩增

取 2 μg 的总 RNA,采用 cDNA 末端快速扩增技术(rapid-amplification of cDNA ends,RACE),使用 cDNA 扩增试剂盒合成第一链 cDNA 的 5'和 3'末端。5'端 RACE 采用引物 MAPK14-5'GST1:5'-GC-CACGTAGCCTGTCATTTTCATCA TCTG-3'和 MAPK14-5'GST2:5'-ATGTTGTTTCAGATCTGC-CCCCATGAGAT-3';3'端 RACE 采用引物 MAPK14-3'GST1:5'-TTTAAGACTCGTTGGAACCC-3'和 MAPK14-3'GST2:5'-AACTATATTTCAGTCTTTGAC TCAGA-3'。第一轮扩增条件:95 ℃预变性 1 min;95 ℃变性 20 s,72 ℃退火延伸 3 min,循环 5 次;95 ℃变性 20 s,70 ℃退火延伸 3 min,循环 5 次;95 ℃变性 20 s,68 ℃退火延伸 3 min,循环 20 次;72 ℃延伸 10 min。随后将第一轮扩增产物稀释 250 倍,作为第二轮扩增的模板进行扩增,扩增条件:95 ℃预变性 1 min;95 ℃变性 20 s,72 ℃退火延伸 3 min,循环 25 次;72 ℃延伸 10 min。扩增片段经凝胶纯化后,亚克隆到 pGEM-T 载体上,进行双向全测序。

### 1.2.5 实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应

使用染料法实时荧光定量试剂盒在荧光热循环仪中进行实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应(real-time fluorescent quantitative reverse transcription polymerase chain reaction,qRT-PCR)。设计、合成特异性引物:MAPK2a-RT-F:ATCTGTAAGGCGCCCTCAAG;MAPK2a-RT-R:CAACAGACCAATCA-CATTTTCATG;MAPK2b-RT-F:TATGCGGTCCAC CGTGTG;MAPK2b-RT-R:GAGATGGGT-CACCAGATACAC。反应条件:95 ℃变性 5 s,69 ℃退火 20 s(每次循环降低 1 ℃,最终降至 63 ℃),72 ℃延伸 20 s,循环 45 次;每个循环结束时,检测绿色荧光强度。为了计算相对转录扩增量,在每个 cDNA 中加入内参基因甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase,GAPDH)同时进行扩增,按说明书进行试验。mRNA 与 GAPDH 的相对值用 mean(SD)表示,所有试验重复 3 次。使用绘图软件 GraphPad prism 7.0 分析制图。使用 *T* 检验(Student *T* Test)比较不同剪接体的表达水平。

## 2 结果与讨论

### 2.1 MAPK14 新型剪接体的发现

BLAST 搜索发现人体细胞中 MAPK14 转录本有 6 个不同的剪接体(图 1(a))。采用特异引物

MAPK14-5'GST1 和 MAPK14-5'GST2(图 1(b))进行 5'端 RACE,结果如图 1(c)所示。虽然 2 轮 RACE 都只出现一条带,但测序结果发现 2 个有差异的序列,同已知 6 种 MAPK14 剪接体相比较,第 3 至第 7 外显子序列完全相同,差异点在于第 1 和第 2 外显子的选择。

为明确其他外显子的选择变化,采用正向引物 MAPK14-v2-RT-F 和反向引物 MAPK14-v2-RT-R(图 1(b))进行 qRT-PCR 分析。测序结果表明产物序列为单一的第 8、第 9、第 10 和第 11 外显子序列。为进一步明确全长序列,采用第 9 和第 10 外显子序列设计引物 MAPK14-3'GST1 和 MAPK14-3'GST2(图 1(b))进行 3'端 RACE 分析,结果如图 1(d)所示,测序结果表明为单一的序列,同 MAPK14-v2 的 3'端序列完全一致。

上述结果表明,包皮角质形成细胞中 MAPK14 基因的表达不存在已知的 6 种剪接体形式,而为 2 种新的转录本形式,即 MAPK14-v2a(Genbank 注册登记号为 OM256527)和 MAPK14-v2b(Genbank 注册登记号为 OM256528)。二者序列同 MAPK14-v2 相比较,只存在第 1 外显子的选择不同(图 1(a))。

比较分析 MAPK14-v2a 和 MAPK14-v2b 编码的蛋白序列,如图 1(e)所示,MAPK14-v2b 包含典型的 MAPK14 功能单元:丝氨酸-苏氨酸激酶结构域(S-TKc),而 MAPK14-v2a 虽然包含活性中心 TGY 基序和底物结合 ATRW 位点,但没有完整的 S\_TKc 结构域。由此可见,在包皮细胞中可能由 MAPK14-v2b 执行 MAPK14 的功能。

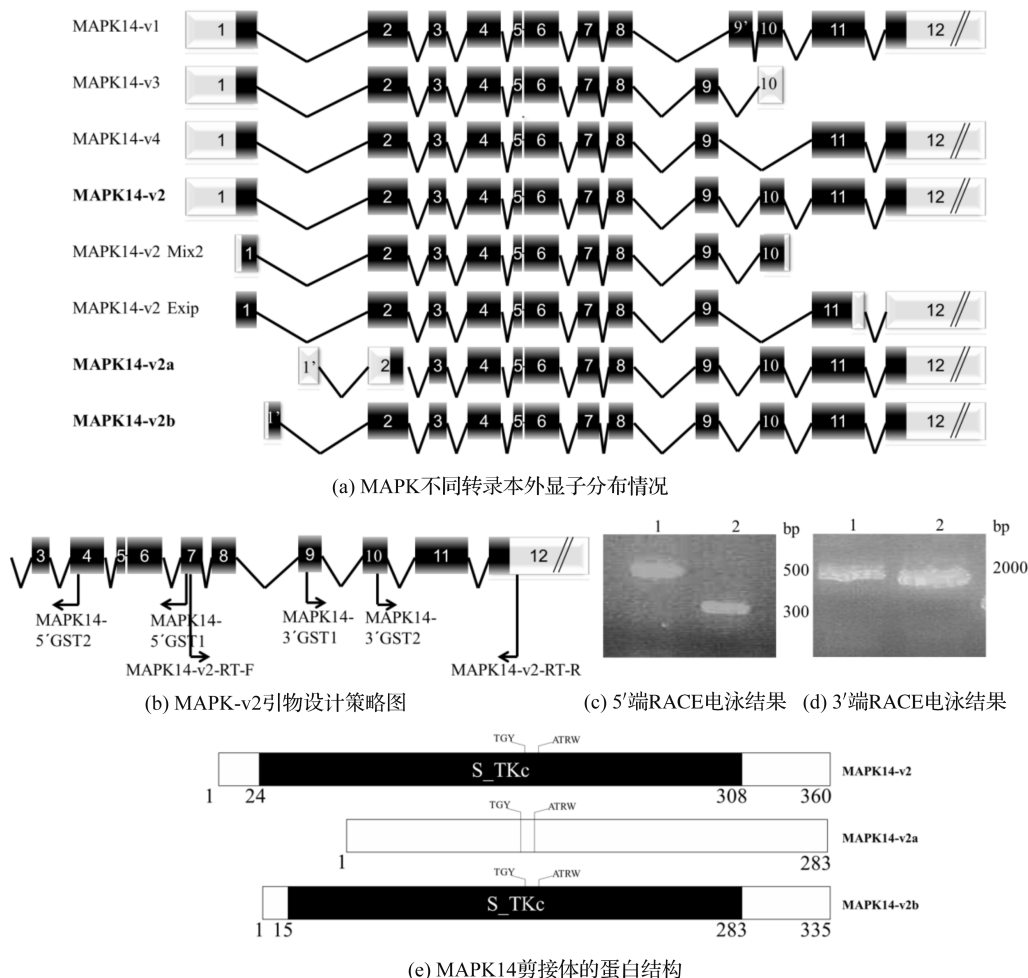


图 1 MAPK14 基因新型剪接体的鉴定

Fig. 1 Identification of novel splicing variants of the MAPK14 gene

## 2.2 MAPK14 新型剪接体的组织表达谱

为进一步探索 MAPK14 新型剪接体在其他组织和器官中的表达状况,采用特异引物 MAPK14-v2a-RT-F \ MAPK14-v2a-RT-R 和 MAPK14-v2b-RT-F \ MAPK14-v2b-RT-R(图 2(a))进行了 qRT-PCR 检

测分析。结果显示 MAPK14-v2a 和 MAPK14-v2b 都在肾脏中高表达,其中前者每 10 ng 总 mRNA 拷贝数达 81.72,后者每 10 ng 总 mRNA 拷贝数达 167.74,在子宫和唾液腺内中度表达,在皮肤、正常黏膜、胃、骨髓和脾中低度表达(图 2(b)、(c))。同时,在扁桃体、舌、咽和喉部组织也检测到 MAPK14-v2b 的中度表达,但未检测到 MAPK14-v2a 的表达。上述结果表明,2 个新型剪接体的表达不仅局限于皮肤组织,还存在其他组织和器官中。同时 MAPK14-v2b 更普遍的表达,以及在肾脏中的高拷贝,可佐证 MAPK14-v2b 是组织中执行 MAPK14 的功能的主要表达形式。

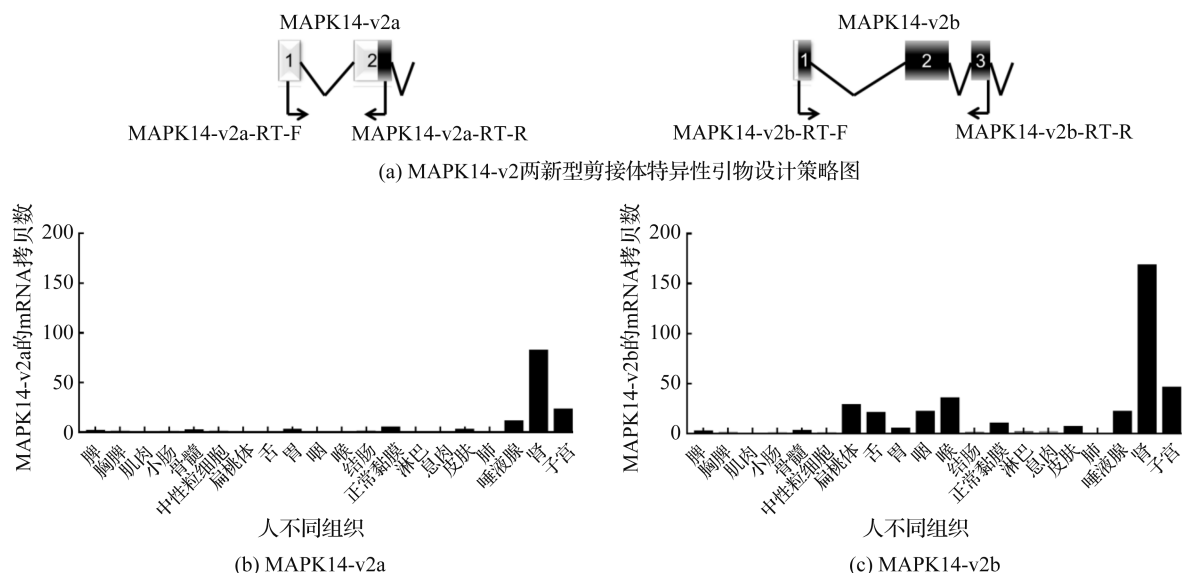


图2 MAPK14 基因表达分析

Fig.2 Expression analysis of the MAPK14 gene

### 2.3 MAPK14 在角质形成细胞中的表达变化

为了解 MAPK14 新剪接体与皮肤屏障功能的关系,采用 qRT-PCR 检测来源于包皮的角质形成细胞钙诱导过程中的生长分化情况。MAPK14 在角质形成细胞中的表达变化如图 3 所示,MAPK14-v2a 的表达在角质形成细胞受钙诱导分化后显著提高,而 MAPK14-v2b 的表达则相对稳定,其中\*\*表示  $P < 0.01$ ,\* 表示  $P < 0.05$ 。

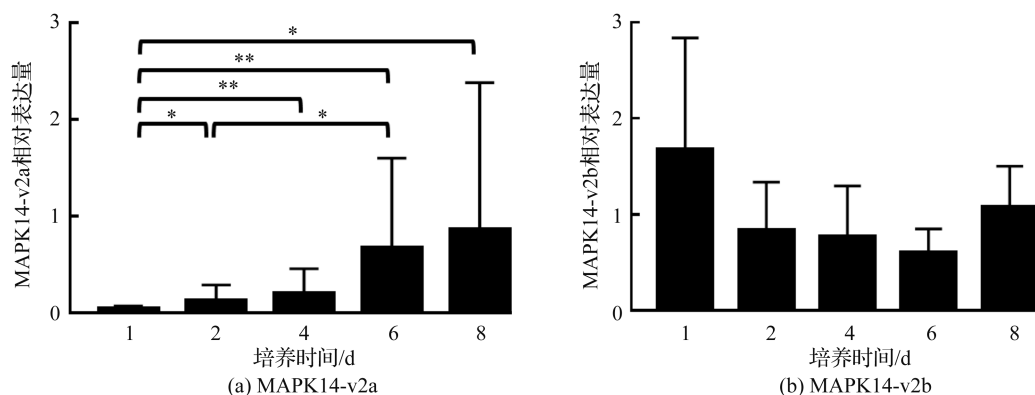


图3 MAPK14 在角质形成细胞中的表达变化

Fig.3 Expression changes of the MAPK14 in keratinocytes

由于 MAPK 通路是调节正常角质形成细胞分化的重要因素<sup>[26]</sup>,抑制 MAPK 通路会降低分化相关蛋白(细胞角蛋白 5、细胞角蛋白 14)、蛋白激酶 B 和 NF- $\kappa$ B 的表达<sup>[27]</sup>,MAPK14 的缺失导致了转化生长因子激酶 1、JNK、表皮生长因子受体和 ERK 在皮肤的不同显微解剖区域的异常激活,从而导致上皮组织表现出过度增殖、分化不足的现象<sup>[28]</sup>。因此,上述试验说明,MAPK14-v2a 在角质形成细胞增殖分化中起重要作用。

## 2.4 MAPK14 基因在皮肤肿瘤细胞中的表达分析

为了解 MAPK14 与皮肤疾病的相关性,对皮肤肿瘤患者的组织进行 qRT-PCR 分析。MAPK14 剪接体在皮肤癌症患者中的表达情况如图 4 所示,MAPK14-v2a 在癌前病变和鳞状细胞癌患者的健康组织与病变组织中表达没有显著性变化;在基底细胞癌患者的病变组织中表达量显著提高。MAPK14-v2b 在癌前病变、鳞状细胞癌和基底细胞癌患者的健康组织与病变组织中表达没有显著性变化,其中\*\*表示  $P < 0.01$ 。

MAPK14 会抑制上皮间质转化标记物表达,是皮肤癌的迁移和增殖的关键因子,MAPK14 基因表达量变低会抑制黑色素瘤细胞的迁移和增殖<sup>[29]</sup>。由此可见,MAPK14-v2a 在正常细胞中可能不是 MAPK14 功能的执行者,而是调控 MAPK14-v2b 的稳定表达的因子。MAPK14-v2a 在基底细胞癌患者病变组织中的显著性高表达,可能抑制了 MAPK14-v2b 的正常表达量,从而加重基底细胞癌的病症。

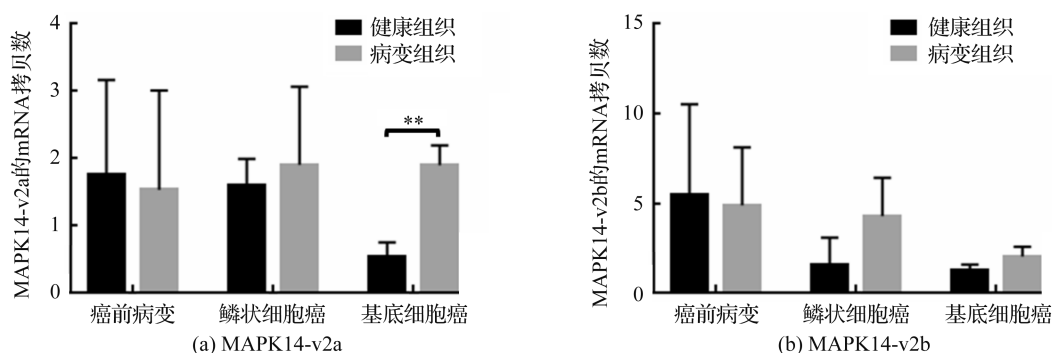


图 4 MAPK14 剪接体在皮肤癌症患者中的表达情况

Fig. 4 Expression of the MAPK14 splicing variants in patients with skin cancer

## 3 结 语

本研究发现 MAPK14 在人角质细胞中表达为 2 个新型的剪接体 MAPK14-v2a 和 MAPK14-v2b,这 2 个新型的剪接体也存在于其他组织中。MAPK14-v2b 具备完整的 S\_TKc 结构域作为 MAPK14 的功能执行者,而 MAPK14-v2a 与角质形成细胞的生长分化和基底细胞癌密切相关。因此对 MAPK14 2 个新型剪接体的研究有助于进一步了解 MAPK14 信号通路在皮肤稳态中的作用。

## 参考文献:

- [1] COSTANTINO F, TALPIN A, SAID-NAHAL R, et al. A family-based genome-wide association study reveals an association of spondyloarthritis with MAPK14[J]. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2017, 76(1): 310.
- [2] PATEL P H, PÉNALVA C, KARDORFF M, et al. Damage sensing by a Nox-Ask1-MKK3-p38 signaling pathway mediates regeneration in the adult drosophila midgut[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 8.
- [3] MAIK-RACHLINE G, WORTZEL I, SEGER R. Alternative splicing of MAPKs in the regulation of signaling specificity[J]. *Cells*, 2021, 10(12): 3466.
- [4] YANG Q, ZHANG Q, ZHANG X, et al. HoxA10 facilitates SHP-1-catalyzed dephosphorylation of p38 MAPK/STAT 3 to repress hepatitis B virus replication by a feedback regulatory mechanism[J]. *Journal of Virology*, 2019, 93(7): 01609.
- [5] MADKOUR M M, ANBAR H S, EL-GAMAL M I. Current status and future prospects of p38alpha/MAPK14 kinase and its inhibitors[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 213: 113216.
- [6] ELANGO J, ROBINSON J, ZHANG J, et al. Collagen peptide upregulates osteoblastogenesis from bone marrow mesenchymal stem cells through MAPK-runx2[J]. *Cells*, 2019, 8(5): 446.
- [7] KESHET Y, SEGER R. The MAP kinase signaling cascades: a system of hundreds of components regulates a diverse array of physiological functions[J]. *MAP Kinase Signaling Protocols*, 2010, 661(1): 5.
- [8] CARGNELLO M, ROUX P P. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2011, 75(1): 55.
- [9] GARY L, SCHIEVEN. The p38 $\alpha$  kinase plays a central role in inflammation[J]. *Current Topics in Medicinal*

- Chemistry, 2009, 9(11):1040.
- [10] LIU M Y, HUA W K, CHEN C J, et al. The MKK-dependent phosphorylation of p38 $\alpha$  is augmented by arginine methylation on Arg49/Arg149 during erythroid differentiation[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(10):3546.
- [11] ZHENG T, ZHAO W, LI H, et al. p38 $\alpha$  signaling in langerhans cells promotes the development of IL-17-producing T cells and psoriasiform skin inflammation[J]. Science Signaling, 2018, 11(521):1685.
- [12] LO U, SELVARAJ V, PLANE J M, et al. p38 $\alpha$  (MAPK14) critically regulates the immunological response and the production of specific cytokines and chemokines in astrocytes[J]. Scientific Reports, 2014, 4(1):5.
- [13] SHE H, HE Y L, ZHAO Y R, et al. Release the autophagy brake on inflammation: the MAPK14/p38 alpha-ULK1 pedal[J]. Autophagy, 2018, 14(6):1097.
- [14] ZHANG L, HAN B, LIU H L, et al. Circular RNA circACSL1 aggravated myocardial inflammation and myocardial injury by sponging miR-8055 and regulating MAPK14 expression[J]. Cell Death & Disease, 2021, 12(5):5.
- [15] FABRAZZO M, CIPOLLA S, SIGNORIELLO S, et al. A systematic review on shared biological mechanisms of depression and anxiety in comorbidity with psoriasis, atopic dermatitis, and hidradenitis suppurativa[J]. European Psychiatry, 2021, 64(1):71.
- [16] CUI L, YANG G, YAN J, et al. Genome-wide identification, expression profiles and regulatory network of MAPK cascade gene family in barley[J]. BMC genomics, 2019, 20(1):750.
- [17] DENISE MARTIN E, DE NICOLA G F, MARBER M S. New therapeutic targets in cardiology: p38 $\alpha$  mitogen-activated protein kinase for ischemic heart disease[J]. Circulation, 2012, 126(3):358.
- [18] YUE J, LÓPEZ J M. Understanding MAPK signaling pathways in apoptosis[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(7):2346.
- [19] WHITAKER R H, COOK J G. Stress relief techniques: p38 MAPK determines the balance of cell cycle and apoptosis pathways[J]. Biomolecules, 2021, 11(10):1444.
- [20] SUDO T, YAGASAKI Y, HAMA H, et al. Exip, a new alternative splicing variant of p38 $\alpha$ , can induce an earlier onset of apoptosis in HeLa cells[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2002, 291(4):839.
- [21] ZERVOS A S, FACCIO L, GATTO J P, et al. Mxi2, a mitogen-activated protein kinase that recognizes and phosphorylates max protein[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1995, 92(23):10532.
- [22] SANZ-MORENO V, CASAR B, CRESPO P. p38 $\alpha$  isoform Mxi2 binds to extracellular signal-regulated kinase 1 and 2 mitogen-activated protein kinase and regulates its nuclear activity by sustaining its phosphorylation levels[J]. Molecular and Cellular Biology, 2003, 23(9):3079.
- [23] DAKHAMA A, MUBARAK R A, PAVELKA N, et al. Tollip inhibits ST2 signaling in airway epithelial cells exposed to Type 2 cytokines and rhinovirus[J]. Journal of Innate Immunity, 2020, 12(1):105.
- [24] YAGASAKI Y, SUDO T, OSADA H. Exip, a splicing variant of p38 $\alpha$ , participates in interleukin-1 receptor proximal complex and downregulates NF- $\kappa$ B pathway[J]. FEBS Letters, 2004, 575(1):138.
- [25] MEYER-HOFFERT U, WU Z, SCHRODER J M. Identification of lympho-epithelial kazal-type inhibitor 2 in human skin as a kallikrein-related peptidase 5-specific protease inhibitor[J]. Plos One, 2009, 4(2):4372.
- [26] RAIKO L. Regulation of epidermal tight junctions by calcium ATPases and p38 [J]. Annales Universitatis Turkuensis D, 2013, 12(1):105.
- [27] MENG X, QIU L, SONG H, et al. MAPK pathway involved in epidermal terminal differentiation of normal human epidermal keratinocytes[J]. Open Medicine, 2018, 13(1):189.
- [28] CABALLERO-FRANCO C, CHOO M K, SANO Y, et al. Tuning of protein kinase circuitry by p38 $\alpha$  is vital for epithelial tissue homeostasis[J]. Journal of Biological Chemistry, 2013, 288(33):23788.
- [29] WEN S Y, CHENG S Y, et al. Roles of p38 $\alpha$  and p38 $\beta$  mitogenactivated protein kinase isoforms in human malignant melanoma A375 cells[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2019, 44(6):2123.