

丁苯酞对糖氧剥夺条件下人脑微血管内皮细胞炎症反应的调节作用

韩晨阳, 张晓玲, 官俏兵, 王琰萍* (嘉兴市第二医院, 浙江 嘉兴, 314001)

摘要: 目的 研究丁苯酞调节糖氧剥夺(oxygen-glucose deprivation, OGD)条件下人脑微血管内皮细胞(human brain microvascular endothelial cells, HBMEC)炎症反应的机制。方法 采用 OGD 方法处理 HBMEC, 将细胞分为对照组、模型组和丁苯酞低、中、高剂量组。其中对照组为正常培养的 HBMEC, 模型组为 OGD 处理的细胞, 低剂量组为 OGD+5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的丁苯酞, 中剂量组为 OGD+10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的丁苯酞, 高剂量组为 OGD+20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的丁苯酞。采用流式细胞术检测细胞凋亡水平, CCK-8 法检测细胞活力的变化, Western-Blot 法检测细胞中 HMGB1、TLR4、NF- κ B(p-P65)、caspase-1 和 procaspase-1 的表达水平, 免疫酶联法检测上清中白细胞介素 1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 6(IL-6) 的分泌水平。实时荧光定量 PCR 检测 HMGB1、TLR4、NF- κ B(P65)、caspase-1、IL-1 β 的 mRNA 表达。结果 OGD 处理可以诱导 HBMEC 活力下调和 HBMEC 细胞凋亡, 且具有时间依赖性, 相比对照组具有显著性差异($P<0.05$); 而丁苯酞干预后, HBMEC 细胞活力比模型组显著上调($P<0.05$), 细胞凋亡率比模型组显著下降($P<0.05$)。OGD 处理可以导致 HBMEC 中 HMGB1-TLR4-NF- κ B 信号的激活, 诱导炎症因子 caspase-1、IL-1 β 的表达上调, 相比对照组具有显著性差异($P<0.05$); 而丁苯酞干预可以显著下调 HMGB1-TLR4-NF- κ B 信号的表达, 下调 caspase-1、IL-1 β 的表达。结论 丁苯酞可能通过抑制 HMGB1-TLR4-NF- κ B 信号的表达调节 OGD 下 HBMEC 细胞炎症反应。

关键词: 丁苯酞; 糖氧剥夺; 人脑微血管内皮细胞; 炎症反应

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2019)07-0804-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.07.007

引用本文: 韩晨阳, 张晓玲, 官俏兵, 等. 丁苯酞对糖氧剥夺条件下人脑微血管内皮细胞炎症反应的调节作用[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(7): 804-808.

Regulate Effect of Butylphthalide on the Inflammatory Response of HBMEC under Glucose and Oxygen Deprivation

HAN Chenyang, ZHANG Xiaoling, GUAN Qiaobing, WANG Yanping* (The Second Hospital of Jiaxing, Jiaxing 314001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effect of butylphthalide(NBP) on the inflammatory response of human brain microvascular endothelial cells(HBMEC) under the condition of glucose and oxygen deprivation(OGD). **METHODS** HBMEC cells were treated by OGD. The cells were divided into control group, model group, low, middle high dose of NBP group. The control group was normal cultured, the model group were OGD treated, the low dose group was OGD+5 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NBP, the middle dose group was OGD+10 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NBP, and the high dose group was OGD+20 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NBP. The cell apoptosis was detected by flow cytometry. The changes of cell vitality were detected by CCK-8. The expression of HMGB1, TLR4, NF- κ B (p-P65), caspase-1 and procaspase-1 were detected by Western-Blot. The secretion level of interleukin 1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor α (TNF- α) and interleukin 6(IL-6) in supernatant were detected by immunoenzyme linked immunosorbent assay. The mRNA expression of HMGB1, TLR4, NF- κ B(P65), Caspase-1 and IL-1 β were detected by real time fluorescence quantitative PCR. **RESULTS** OGD treatment could induce HBMEC activity and apoptosis of HBMEC to be down regulated and time-dependent, which was significantly different from that of the control group($P<0.05$). After NBP treatment, the activity of HBMEC was significantly higher than that of the model group($P<0.05$), and the apoptotic rate was decreased significantly compared with the model group($P<0.05$). OGD treatment could lead to the activation of HMGB1-TLR4-NF- κ B signal in HBMEC, and the expression of inflammatory factors caspase-1 and IL-1 β was up-regulated. Compared with the control group, there was a significant difference($P<0.05$). NBP could reduce the expression of HMGB1-TLR4-NF- κ B signal and down regulate the expression of caspase-1 and IL-1 β . **CONCLUSION** NBP may regulate the inflammatory response of HBMEC cells under OGD by inhibiting the expression of HMGB1-TLR4-NF- κ B signaling.

KEYWORDS: butylphthalide; glucose and oxygen deprivation; human brain microvascular endothelial cells; inflammatory response

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目(2017KY653); 嘉兴市科技计划项目(2017BY18023)

作者简介: 韩晨阳, 男, 硕士, 药师 Tel: 13736496736 E-mail: 691513770@qq.com *通信作者: 王琰萍, 女, 博士, 主任医师 Tel: 1348631646 E-mail: ypwang93@163.com

脑血管病是目前发病率较高的一种中枢神经系统类疾病,临床中常见的疾病有缺血性脑卒中和出血性卒中。而缺血性脑卒中目前是中老年人群的高发疾病,其原因与日常饮食、生活、工作压力、遗传等密切相关^[1-2]。缺血性卒中发病急,预后致残率较高,早发现、早治疗是治疗的原则。目前,在临床上治疗缺血性卒中的药物中,丁苯酞是疗效较确切、效果较佳的药物之一^[3]。临床研究证明,丁苯酞对于缺血性卒中患者有着良好的治疗效果^[4-5],其病理生理机制较为复杂,包括钙超载、自由基抑制、线粒体保护、能量代谢改善、抗缺血后炎症等作用^[6-7]。在脑缺血的过程中,缺血缺氧条件下,脑血管内皮细胞大量凋亡,形成脑血管缺血后半暗带区,在一定意义上,半暗带区的面积可以反应脑缺血的严重程度^[8],所以如何尽早开通血管,保护血管内皮细胞成为了脑缺血研究的重点。本研究以人脑微血管内皮细胞(human brain microvascular endothelial cells, HBMEC)为对象,研究在糖氧剥夺(oxygen-glucose deprivation, OGD)条件下丁苯酞对于 HBMEC 炎症反应的作用及机制,为丁苯酞治疗缺血性卒中提供支持。

1 材料和方法

1.1 材料和试剂

丁苯酞对照品(中检所,批号:101035;纯度99%);HBMEC(中国科学院上海生科院细胞资源中心);Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒(BD公司,批号:556550);cDNA 试剂盒(凯基生物技术有限公司,批号:KGA1311);实时定量 PCR 试剂盒 /SYBR Green Realtime PCR Master Mix(sinobio,批号:E090);总 RNA 提取试剂盒(TRIZOL 法, BioTeKe 公司,批号:RP2041);CCK-8 试剂盒(碧云天生物技术有限公司,批号:C0037);HMGB1、TLR4、NF- κ B(p-P65)、caspase-1 和 procaspase-1 的一抗及 HRP 标记的二抗(Cell Signaling Technology,批号分别为 6893, 14358, 3033, 3866, 4199);白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的 ELISA 试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 H002, H009, H052);ECL 发光试剂盒(Sangon Biotech,批号:J06668);AMV First cDNA Synthesis Kit 试剂盒(Roche,批号:11483188)。

1.2 细胞分组及 OGD 模型的构建及给药

将 HBMEC 复苏后,用 10% FBS 的 DMEM 培养基培养,待细胞长至对数期时消化,将细胞随机分为对照组、模型组和丁苯酞低、中、高剂量组。对照组为常规培养的细胞,余下 4 组进行 OGD 环境处理,在 OGD 环境构建前给予丁苯酞干预,其中低剂量组为 OGD+5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的丁苯酞、中剂量组为 OGD+10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的丁苯酞、高剂量组为 OGD+20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的丁苯酞(终浓度)。OGD 环境的构建:将 DMEM 培养基换成无糖型 DMEM 培养基,将细胞放入厌氧培养箱内,培养箱内通入 5%的二氧化碳、10%氢气、85%氮气混合气体,箱内氧气浓度<1%。

1.3 检测指标

1.3.1 CCK-8 法检测细胞活力 将对数期的 HBMEC 分组加入不同浓度丁苯酞处理后,在 OGD 环境下培养 0, 3, 6, 12, 18, 24, 36, 48 h 后,每孔加入 CCK-8 试剂 10 μL ,继续在常规培养箱中培养 4 h 后,在 480 nm 处检测吸光度,设置空白对照,按照检测结果绘制细胞活力变化曲线。

1.3.2 流式细胞术检测细胞凋亡率 将对数期的 HBMEC 分组加入不同浓度丁苯酞处理后,在 OGD 环境下培养,设置时间为 24 h,收集所有细胞后,将细胞使用 PBS 洗 2 次后重悬,分别加入 Annexin V-FITC 和 PI,避光孵育 15 min 后,采用流式细胞仪检测细胞凋亡的水平。

1.3.3 Western-Blot 法检测细胞中 HMGB1、TLR4、NF- κ B(p-P65)、caspase-1 和 procaspase-1 的表达水平 将对数期的 HBMEC 分组加入不同浓度丁苯酞处理后,在 OGD 环境下培养,设置时间为 24 h,使用无菌细胞刮刮下所有细胞后,使用 PBS 洗 2 次后,在冰上使用 NP-40 裂解液裂解细胞,30 min 后离心,去除细胞碎片后取上清液,经过 BCA 蛋白定量后调整蛋白浓度,加入 5 $\times$ loading Buffer 煮沸后,使用 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白, PVDF 转膜、5%脱脂奶粉封闭后,使用 1:1 000 稀释后的一抗过夜孵育,次日选择 HRP 标记的二抗标记,再采用 ECL 发光试剂盒显影,采用 Bio-Rad 凝胶成像系统检测染色条带的强度,计算目的蛋白和内参蛋白的光密度比值。

1.3.4 ELISA 法检测上清液中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的表达水平 将对数期的 HBMEC 分组加入不同浓度丁苯酞处理后,在 OGD 环境下培养,设置时

间为 24 h, 收集每组细胞上清液, 离心后去除细胞碎片和细胞, 按 ELISA 试剂盒的说明书操作, 检测细胞因子的表达情况。

1.3.5 RT-QPCR 检测 HMGB1、TLR4、NF- κ B (P65)、Caspase-1、IL-1 β 的 mRNA 水平 按 TRIzol 试剂盒操作, 提取组织中总 RNA, UV 检测总浓度, 定量后按 AMV First cDNA Synthesis Kit 试剂盒方法进行反转录, 得到的 cRNA 在 -20 $^{\circ}$ C 保存, 最后利用 qPCR 检测 HMGB1、TLR4、NF- κ B(P65)、caspase-1、IL-1 β 的 mRNA 表达。每个样本设置 3 个复孔, 计算平均 C_t 值, 设置阴性对照。采用 $2^{-(\Delta\Delta C_t)}$ 计算拷贝数, 并且以 GAPDH 为内参。引物设计见表 1。

表 1 引物设计

Tab. 1 Design of primer

名称	引物序列
GAPDH	正向引物 5'-GGTTGTCTCTGCGACTTCA-3' 反向引物 5'-TGGTCCAGGTTTCTTACTCC-3'
Caspase-1	正向引物 5'-GCCTGTTCTCTGTGATGTGGAG-3' 反向引物 5'-TGCCACACAGACATTTCATACAGTTTC-3'
HMGB1	正向引物 5'-AAACGAAAAGGAAGC-3' 反向引物 5'-GCGCAGAACCAACACC-3'
IL-1 β	正向引物 5'-TCATTGTGGCTGTGGAGAAG-3' 反向引物 5'-AGGCCACAGGTATTTTGT-3'
TLR4	正向引物 5'-TTTATTTCAGAGCCGTTGG-3' 反向引物 5'-GGCTATCTGTGAGCGTGT-3'
NF- κ B(P65)	正向引物 5'-GGGAAGGAACGCTGTGACAG-3' 反向引物 5'-TAGCCTCAGGGTACTCCATCA-3'

1.4 统计学处理

采用 SPSS 17.0 软件进行数据处理, 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 对组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 细胞活力采用 two-way ANOVA 分析, 并用 Bonferoni 校正的 t 检验进行组间两两比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞活力的检测结果

对照组细胞活力在 48 h 内无显著变化; 模型组细胞活力 48 h 内明显下降, 且具有时间依赖性。而丁苯酞干预后, 各时间点的细胞活力相比模型组显著增高 ($P < 0.05$), 且高剂量组优于低剂量组, 说明丁苯酞在 OGD 条件下, 可以提高 HBMEC 的细胞活力。结果见图 1。

2.2 细胞凋亡率的试验结果

对照组细胞的自然凋亡率为 $(8.2 \pm 1.2)\%$, 模型组细胞凋亡率为 $(44.5 \pm 3.54)\%$, 说明 OGD 条件下可以促进 HBMEC 的凋亡。而低、中、高剂量丁

苯酞干预后, 细胞凋亡率分别为 $(28.5 \pm 3.5)\%$, $(21.3 \pm 2.5)\%$, $(18.5 \pm 2.5)\%$, 说明丁苯酞干预后可以抵抗 OGD 诱导 HBMEC 的凋亡, 且相比模型组具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结果见图 2。

2.3 培养基中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达水平

ELISA 法检测培养基上清液中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达, 结果显示, 与对照组相比, 模型组中炎症因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的表达水平显著增高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。丁苯酞干预后, 炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达水平显著降低, 与模型组相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 结果见表 1。

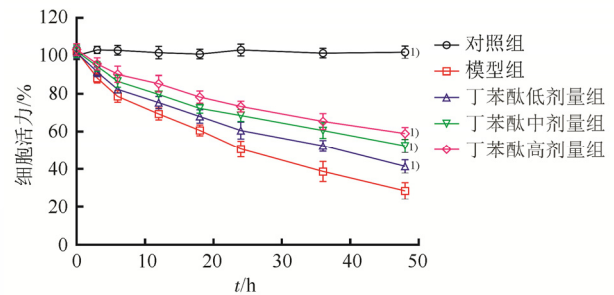


图 1 细胞活力的检测结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

与模型组比较, $^{1)}P < 0.05$ 。

Fig. 1 Results of cell viability detection ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Compared with the model group, $^{1)}P < 0.05$.

表 1 培养基中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的表达水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Tab. 1 Expression levels of IL-1, IL-6 and TNF- α in culture medium ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	IL-1 β	IL-6	TNF- α
对照组	2.32 $\pm$ 1.21	8.54 $\pm$ 1.05	6.57 $\pm$ 1.02
模型组	31.55 $\pm$ 3.21 $^{1)}$	29.32 $\pm$ 2.57 $^{1)}$	22.65 $\pm$ 1.54 $^{1)}$
丁苯酞低剂量组	26.31 $\pm$ 2.87 $^{1)2)}$	22.34 $\pm$ 2.87 $^{1)2)}$	18.35 $\pm$ 2.21 $^{1)2)}$
丁苯酞中剂量组	20.21 $\pm$ 2.14 $^{1)2)}$	17.35 $\pm$ 2.66 $^{1)2)}$	15.32 $\pm$ 1.87 $^{1)2)}$
丁苯酞高剂量组	16.35 $\pm$ 2.87 $^{1)2)}$	15.34 $\pm$ 2.11 $^{1)2)}$	12.52 $\pm$ 1.54 $^{1)2)}$

注: 与对照组比较, $^{1)}P < 0.05$, 与模型组较, $^{2)}P < 0.05$ 。

Note: Compared with the control group, $^{1)}P < 0.05$; compared with the model group, $^{2)}P < 0.05$.

2.4 细胞中 HMGB1、TLR4、NF- κ B(p-P65)、caspase-1 和 procaspase-1 的表达水平

模型组细胞中 HMGB1、TLR4、NF- κ B(p-P65)、caspase-1 和 procaspase-1 的表达水平相比对照组显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。丁苯酞干预后可以下调细胞中 HMGB1、TLR4、NF- κ B(p-P65)、caspase-1 和 procaspase-1 的表达水平, 与模型组相比, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结果见图 3。

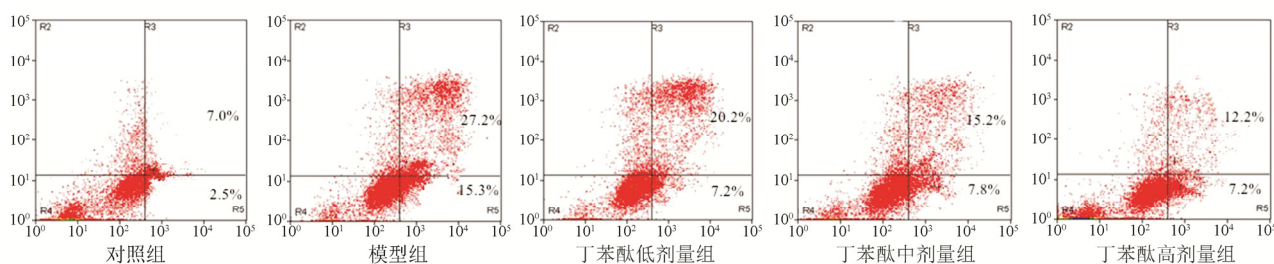


图2 流式细胞术检测细胞凋亡的实验结果($n=3$)

Fig. 2 Results of apoptosis detected by flow cytometry($n=3$)

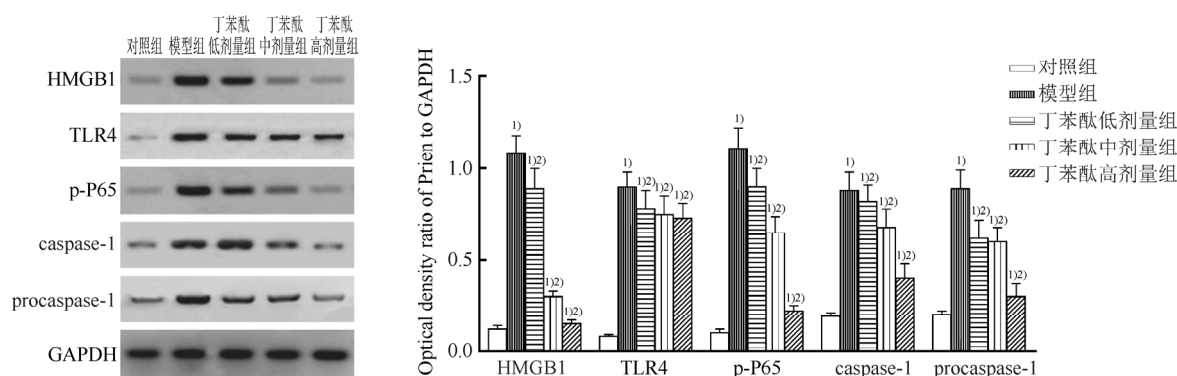


图3 细胞中 HMGB1、TLR4、NF- κ B(p-P65)、caspase-1 和 procaspase-1 的表达水平($\bar{x} \pm s, n=3$)

与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$, 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 3 Expression levels of HMGB1, TLR4, NF- κ B(p-P65), caspase-1 and procaspase-1 in cells($\bar{x} \pm s, n=3$)

Compared with the control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

2.5 细胞中 HMGB1、TLR4、NF- κ B(P65)、caspase-1、IL-1 β 的 mRNA 表达水平

模型组细胞中 HMGB1、TLR4、NF- κ B(P65)、caspase-1 和 procaspase-1 的 mRNA 表达水平相比对照组显著升高, 差异有统计学意义($P<0.05$)。丁苯酞干预后可以下调细胞中 HMGB1、TLR4、NF- κ B(P65)、caspase-1 和 procaspase-1 的 mRNA 表达水平, 与模型组相比, 差异具有统计学意义($P<0.05$)。结果见图 4。

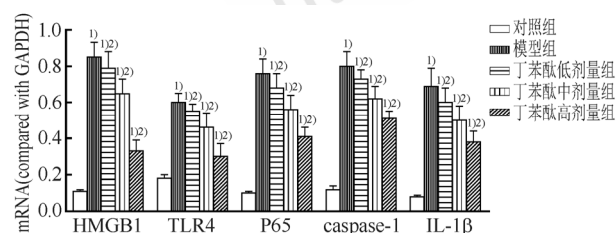


图4 细胞中 HMGB1、TLR4、NF- κ B(P65)、caspase-1、IL-1 β 的 mRNA 表达水平($\bar{x} \pm s, n=3$)

与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$, 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 4 mRNA expression level of HMGB1, TLR4, NF- κ B(P65), caspase-1 and IL-1 β in cells($\bar{x} \pm s, n=3$)

Compared with the control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

3 讨论

缺血性脑卒中的发生发展中, 炎症反应起到了重要且关键的作用。脑缺血后以脑微血管内白细胞聚集并穿透血管壁、浸润脑组织, 同时伴有微血管功能紊乱及局部组织中液体和蛋白质积聚为标志的急性炎症过程, 其与脑卒中继发性脑损害密切相关^[9-10]。在炎症反应中, HMGB1-TLR4 及下游 NF- κ B 是重要的信号通路, HMGB1 在缺血过程中会大量表达, HMGB1 通过 TLR4 相应配体结合, 活化细胞内表面 MyD88 等蛋白, 促发炎症级联反应^[11]。TLR4 是一种 Toll 样受体, 可以通过识别真菌和病毒细胞壁成分发挥免疫作用, 最新的研究发现^[12-13], TLR4 可以介导 MyD88 参与炎症病理反应, 其损伤因子和脂多糖可以触发 TLR4 信号, 激活下游 MyD88 引起肝组织炎症因子、趋化因子的释放。MyD88 是 TLR4 转接蛋白, 又是 NF- κ B 的一个连接蛋白, 一些细胞外的炎症信号可以通过 TLR4 传导给 MyD88, MyD88 与 IRAK4 作用, 导致 IRAK4 的磷酸化后继续作用于 TAB-1/TAB-2 并激活 TAK-1, 最终作用于 NF- κ B 导致 I κ B 激酶激活^[14-15]。NF- κ B 以 P50 和 P65 结

合形成二聚体存在,接受上游信号后,I κ B 在 IKK 作用下磷酸化激活,之后可以进一步释放炎症细胞因子,而释放的炎症因子又可以进一步激活 NF- κ B。所以 HMGB1-TLR4-NF- κ B 信号可以说是促进炎症反应的一条信号轴^[16]。

LPS 是可以引起多种组织炎症的致炎因子,尤其是炎症损伤。从本研究结果来看,LPS 可以诱导 HBMEC 的炎症反应,关键的细胞因子 TNF- α 、IL-6 及 IL-1 β 表达均显著增高,而 IL-1 β 作为 caspase-1 介导的 NLRP3 炎症小体活化的关键细胞因子,发挥重要的致炎作用。NF- κ B 可以激活炎症小体 NLRP3 的激活,NLRP3 是重要的炎症反应小体,可以通过切割 procaspase-1 产生 caspase-1 以及 IL-1 β ,进一步放大炎症反应^[17],而实验结果显示 HMGB1-TLR4-NF- κ B 可以进一步诱导 caspase-1 和 IL-1 β 的表达。丁苯酞作为一种芹菜素中提取的单体类药物,目前在临床中主要用于缺血性脑卒中的治疗,其作用机制与卒中的多个病理环节相关。本研究结果显示,丁苯酞可以降低 OGD 条件下 HBMEC 的细胞凋亡率,而机制与 HMGB1-TLR4-NF- κ B 信号的抑制有关,降低下游 caspase-1、IL-1 β 的表达。这说明 OGD 条件下丁苯酞对于血管内皮细胞有着较好的保护作用,其机制和抑制炎症反应有关。

综上,丁苯酞可能通过抑制 HMGB1-TLR4-NF- κ B 信号及下游炎症因子的表达保护 OGD 下 HBMEC,这是丁苯酞治疗缺血性卒中的机制之一。

REFERENCES

- [1] KERNAN W N, VISCOLI C M, FURIE K L, et al. Pioglitazone after ischemic stroke or transient ischemic attack. [J]. J Vasc Surg, 2016, 64(1): 260.
- [2] DEMAERSCHALK B M, KLEINDORFER D O, ADEOYE O M, et al. Scientific rationale for the inclusion and exclusion criteria for intravenous alteplase in acute ischemic stroke: a statement for healthcare professionals from the american heart association/american stroke association [J]. Stroke, 2016, 47(2): 581-641.
- [3] CUI L Y, ZHU Y C, GAO S, et al. Ninety-day administration of dl-3-n-butylphthalide for acute ischemic stroke: a randomized, double-blind trial [J]. Chin Med J(中华医学杂志英文版), 2013, 126(18): 3405-3410.

- [4] ZHAN Y, LIU P J, XIAO C C, et al. Improving effect of butylphthalide on cognitive impairment in young and middle-aged cerebral infarction [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2017, 26(13): 1546-1550.
- [5] AN W F. Clinical observation of butyl phthalide sodium chloride injection in the treatment of ischemic cerebral stroke [J]. Chin J Pract Nerv Dis(中国实用神经疾病杂志), 2016, 29(1): 1-7.
- [6] 李延可, 刘宁, 陈江君. 丁苯酞对急性缺血性脑卒中的作用及机制研究[J]. 中国医药导刊, 2012, 14(2): 254-255.
- [7] GÓMEZBOMBARELLI R, GONZÁLEZPÉREZ M, CALLE E, et al. Correction to potential of the NBP method for the study of alkylation mechanisms: NBP as a DNA-Model [J]. Chem Res Toxicol, 2012, 25(6): 1176.
- [8] 李力卓, 何松柏. 创伤性脑损伤后损伤半暗带区的病理生理改变[J]. 临床误诊误治, 2016, 29(5): 105-109.
- [9] NAGATA K, KUMASAKA K, BROWNE K D, et al. Unfractionated heparin after TBI reduces *in vivo* cerebrovascular inflammation, brain edema and accelerates cognitive recovery [J]. J Trauma Acute Care Surg, 2016, 81(6): 1088-1094.
- [10] MAJEROVA P, GARRUTO R M, KOVAC A. Cerebrovascular inflammation is associated with tau pathology in Guam parkinsonism dementia [J]. J Neural Transmission, 2018(2): 1-13.
- [11] NAIR A R, EBENEZER P J, SAINI Y, et al. Angiotensin II-induced hypertensive renal inflammation is mediated through HMGB1-TLR4 signaling in rat tubulo-epithelial cells [J]. Exp Cell Res, 2015, 335(2): 238-247.
- [12] HRITZ I, MANDREKAR P, VELAYUDHAM A, et al. The critical role of TLR4 in alcoholic liver disease is independent of the common TLR adapter MyD88 [J]. Hepatology 48: 1224-1231.
- [13] LAI J L, LIU Y H, LIU C, et al. Indirubin inhibits lps-induced inflammation via, TLR4 abrogation mediated by the nf-kb and mapk signaling pathways [J]. Inflammation, 2017, 40(1): 1-12.
- [14] MAZUR-BIALY A I, POCHÉĆ E, ZARAWSKI M. Anti-inflammatory properties of irisin, mediator of physical activity, are connected with tlr4/myd88 signaling pathway activation [J]. Int J Molecul Sci, 2017, 18(4): E701. Doi: 10.3390/ijms18040701.
- [15] SEGOVIA J, SABBAB A, MGBEMENA V, et al. TLR2/MyD88/NF- κ B pathway, reactive oxygen species, potassium efflux activates NLRP3/ASC inflammasome during respiratory syncytial virus infection [J]. Plos One, 2012, 7(1): e29695.
- [16] DOUGLASS J D, DORFMAN M D, FASNACHT R, et al. Astrocyte IKK β /NF- κ B signaling is required for diet-induced obesity and hypothalamic inflammation [J]. Molecul Metabolism, 2017, 6(4): 366-373.
- [17] LI Y, LIU M, ZUO Z, et al. TLR9 Regulates the NF- κ B-NLRP3-IL-1 β pathway negatively in salmonella-induced NKG2D-Mediated intestinal inflammation [J]. J Immunol, 2017, 199(2): ji1601416.

收稿日期: 2018-06-12

(本文责编: 蔡珊珊)