

丹参酮ⅡA通过NLRP3炎症体信号通路对小胶质细胞糖氧剥夺/再灌注损伤的保护作用

蔡琳, 易小波, 袁利邦, 巩固[△]

成都军区总医院 麻醉科 (成都 610083)

【摘要】 目的 探讨丹参酮ⅡA对小胶质细胞BV-2糖氧剥夺/再灌注(oxygen-glucose deprivation and reperfusion, OGD/R)损伤的保护作用及其机制。**方法** 取对数生长期的BV-2细胞OGD 3 h后再灌注4~24 h, 采用Western blot筛选细胞内Nod受体蛋白3(NLRP3)表达水平最高的再灌注时间。将实验组细胞OGD处理3 h后分别加入终质量浓度为0~2.5 μg/mL的丹参酮ⅡA, CCK8法检测细胞存活率, 筛选丹参酮ⅡA的最大有效质量浓度。对BV-2细胞OGD 3 h后分别加入0、0.5、1.0、2.0 μg/mL丹参酮ⅡA, 再灌注12 h, Western blot检测BV-2细胞内NLRP3和凋亡蛋白caspase-1的表达水平, ELISA检测BV-2细胞白介素(IL)-1β和IL-18的质量浓度。**结果** OGD 3 h后, 再灌注12 h时NLRP3蛋白表达水平最高。CCK8法显示丹参酮ⅡA最大有效质量浓度为2.0 μg/mL。NLRP3、caspase-1、IL-1β和IL-18表达均随着丹参酮ⅡA质量浓度的升高而降低。**结论** 丹参酮ⅡA能抑制OGD/R处理后BV-2细胞内NLRP3炎症体信号通路分子的表达, 这可能是其保护OGD/R细胞的分子机制之一。

【关键词】 脑缺血 丹参酮ⅡA 糖氧剥夺/再灌注 NLRP3

The Protective Effect of Tanshinone Ⅱ A on Oxygen-glucose Deprivation and Reperfusion Injury of Microglia Through the NLRP3 Inflammatory Signaling Pathway CAI Lin, YI Xiao-bo, YUAN Li-bang, GONG Gu[△]. *Department of Anesthesiology, General Hospital of Chengdu Military Region of PLA, Chengdu 610083, China*

[△] Corresponding author, E-mail: gugongcd@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the protective effect of Tanshinone Ⅱ A (TSA) on oxygen-glucose deprivation and reperfusion (OGD/R) injury of BV-2 cell and its NLRP3 inflammatory signaling pathway. **Methods** The highest expression level of NLRP3 in BV-2 cells was detected by Western blot after oxygen-glucose deprivation (OGD) for 3 h and reperfusion for different time, to determine the most suitable reperfusion time. Cell viability of TSA (0-2.5 μg/mL) treatment was detected by CCK8 assay to determine the maximum effect concentration of TSA. In TSA 0 (also called OGD group), 0.5, 1.0, 2.0 μg/mL groups, expression levels of NLRP3 and caspase-1 were detected by Western blot, while IL-1β and IL-18 in culture medium of those groups were detected by ELISA assay. **Results** The highest expression level of NLRP3 came to 12 h of reperfusion. The maximum effective concentration of TSA was 2.0 μg/mL. The expression levels of NLRP3, caspase-1, IL-1β and IL-18 decreased with the increase of TSA concentration. **Conclusion** TSA can inhibit the expression of protein and cytokines of NLRP3 inflammatory signaling pathway in OGD/R BV-2 cells, which may be one of the molecular mechanisms of the protective effect of TSA on OGD/R cells.

【Key words】 Cerebral ischemia Tanshinone Ⅱ A Oxygen-glucose deprivation and reperfusion NLRP3

脑卒中即脑中风,是目前导致人类死亡的三大主要疾病之一,严重危害人类健康,其中缺血性脑卒中发病率占60%~80%,并呈上升和年轻化趋势^[1]。Nod受体蛋白3(NLRP3)是一种重要的胞质内受体蛋白,NLRP3被激活后与caspase-1形成的炎症小体是人体固有免疫的重要组分,在包括缺血性脑血管病等多种疾病的发生发展过程中发挥了重

要作用^[2-6]。在动脉粥样硬化(AS)的发生发展过程中,胆固醇结晶可以通过激活巨噬细胞内的NLRP3炎症复合体参与AS的早期形成^[2];在肺部疾患中,NLRP3过度激活已被证实在哮喘和慢性阻塞性肺疾患的慢性炎症的发展过程中发挥了重要作用^[3];此外,有研究提示,β-淀粉样蛋白(Aβ)通过激活NLRP3使白介素(IL)-1β成熟和释放,引起脑组织的炎症反应,这可能是阿尔兹海默病的重要机制^[4]。在鼠脑缺血/再灌注损伤过程中,NLRP3

主要作用为增加细胞因子 IL-1 β 、IL-18 释放和促进神经元凋亡^[5]。另一项研究发现敲除 *NLRP3* 基因小鼠行大脑中动脉缺血/再灌注模型后,其血脑屏障损伤及脑梗死容积明显减少^[6]。丹参酮 II A 是丹参有效活性成分的代表物质,具有抗氧化^[7]、抗癌^[8]、改善血循环^[9]等多种药理作用。近年来,丹参酮 II A 在心脑血管疾病中得到广泛应用^[10]。丹参酮 II A 磺酸钠能够通过抑制核因子(NF)- κ B/肿瘤坏死因子(TNF)- α 信号通路而抑制氧糖剥夺/再灌注(OGD/R)引起的心肌细胞凋亡^[11]。丹参酮 II A 对大鼠脑缺血/再灌注损伤也具有保护作用^[12]。多项研究表明^[13-15],丹参酮 II A 可通过抑制炎症、减轻氧化应激和抑制细胞凋亡等多种途径发挥神经保护作用。严如华等^[13]观察到丹参酮 II A 可明显改善大脑中动脉闭塞所致局灶性脑缺血/再灌注大鼠的神经学症状,明显缩小脑梗死范围,减轻脑水肿程度;还可以改善实验动物的凝血功能、血液流变性,降低血小板聚集率。李浩等^[14]通过研究表明,丹参酮 II A 可通过减少缺血/再灌注后炎症反应,减轻氧化性损伤和改善能量代谢障碍,发挥对缺血/再灌注损伤的保护作用;此外,丹参酮 II A 还可通过增加 Bcl-2 表达,减少 Bax 表达,上调 Bcl-2/Bax 比值发挥抗凋亡作用^[15]。

对脑缺血/再灌注损伤机制的研究一般分为在体和离体两种。离体细胞 OGD/R 模型能较好模拟在体缺血/再灌注对细胞造成的损害,且有利于排除体内的众多干扰因素,便于较为直接、准确地了解缺血/再灌注后细胞形态、功能及调控机制的变化^[16]。丹参酮 II A 对脑缺血/再灌注损伤过程中 NLRP3 的影响目前还不明确,本研究通过建立体外 OGD/R 模型探讨丹参酮 II A 对脑缺血/再灌注损伤的保护作用能否通过作用于 NLRP3 炎症体信号通路进行,为进一步研究脑缺血分子机制和寻找临床治疗新靶点提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

小胶质细胞 BV-2 购自中国科学院昆明细胞库。高糖 DMEM 培养基、胎牛血清购自美国 Gibco 公司。丹参酮 II A 购自中国药品生物制品鉴定所,为化学标准品。NLRP3 抗体、 β -actin 抗体、caspase-1 抗体、cleaved caspase-1 抗体购自美国 Abcam 公司,CCK8 试剂盒购自日本同仁化学研究所。免疫印迹化学发光(ECL)系统购自 Syngene 公

司。IL-1 β 、IL-18 ELISA 检测试剂盒购自美国 Bioscience 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 BV-2 细胞培养 BV-2 细胞用含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 U/mL 链霉素的高糖 DMEM 培养基培养,置入 37 °C、体积分数 5% CO₂+体积分数 95% O₂ 培养箱孵育。

1.2.2 Western blot 检测 OGD/R 处理后 NLRP3 蛋白水平变化 取对数生长期的 BV-2 细胞,以细胞浓度 1×10^8 mL⁻¹ 接种于 10 cm² 培养皿中。24 h 后,进行糖氧剥夺(OGD)3 h,随后进行不同时间的再灌注(复糖复氧)。OGD 步骤:将细胞培养基换为 pH 7.4 的 BSS 缓冲液(此培养基有利于葡萄糖的剥夺)后,置于缺氧小室中,充入体积分数 5% CO₂、体积分数 95% N₂ 的混合气体后将缺氧小室置于培养箱。再灌注(复糖复氧)步骤:取出培养皿换为正常培养基,放入培养箱,37 °C、体积分数 5% CO₂+体积分数 95% O₂ 分别继续培养 4 h、6 h、12 h、24 h。对照组 BV-2 细胞不做任何处理。

将培养皿中的细胞用 PBS 洗涤后加入预冷 PBS,刮下细胞,1 000 r/min,4 °C 离心 10 min,向沉淀中加入 300 μ L 细胞裂解液裂解细胞提取总蛋白。100 g/L SDS-PAGE 凝胶进行 100 V 恒压电泳,电泳结束后,恒流 300 mA 转移至 PVDF 膜。5% 脱脂牛奶封闭 2 h 后,加入 1:1 000 稀释的 NLRP3 一抗和 1:2 000 稀释的内参 β -actin 一抗,4 °C 孵育过夜。次日 PBST 洗膜,1:4 000 稀释的二抗室温孵育 2 h,PBST 洗膜。用化学发光法显色,凝胶成像系统采集图像,以各条带灰度值与内参条带灰度值的比值反映不同时间点 NLRP3 蛋白表达水平。选择 NLRP3 蛋白表达最高的再灌注时间进行后继实验。

1.2.3 CCK8 检测细胞存活率 取对数生长期的 BV-2 细胞,以细胞浓度 1×10^5 mL⁻¹ 接种于 96 孔板,每孔 100 μ L,37 °C、体积分数 5% CO₂+体积分数 95% O₂ 培养。细胞培养 24 h 后,对照组细胞正常培养;实验组细胞则继续进行 OGD 处理 3 h 后,换为正常培养基,分别加入终质量浓度为 0(OGD 组)、0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 μ g/mL 的丹参酮 II A,每个质量浓度梯度设 3 个复孔,再灌注 12 h。CCK8 测定各组 490 nm 波长处的吸光度(A₄₉₀)值。A₄₉₀ 值越高,细胞存活率越高。根据细胞存活率筛选丹参酮 II A 的最高质量浓度。

1.2.4 Western blot 检测细胞中 NLRP3、caspase-

1、cleaved caspase-1 蛋白的表达 取对数生长期的 BV-2 细胞,以细胞浓度 $1\times 10^8\text{ mL}^{-1}$ 接种于 10 cm^2 培养皿中, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、体积分数 $5\%\text{CO}_2$ +体积分数 $95\%\text{O}_2$ 培养 24 h ,分为对照组,OGD 组,低($0.5\text{ }\mu\text{g/mL}$)、中($1.0\text{ }\mu\text{g/mL}$)、高($2.0\text{ }\mu\text{g/mL}$)浓度丹参酮 II A 组。对照组细胞正常培养,其余组细胞则继续进行 OGD 处理 3 h 后,换为正常培养基,分别加入终质量浓度为 0 (OGD 组)、 0.5 、 1.0 、 $2.0\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的丹参酮 II A,每个质量浓度梯度设 3 个复孔,再灌注 12 h 。收集蛋白进行 Western blot 检测(检测方法见 1.2.3)。其中 NLRP3、caspase-1、cleaved caspase-1 一抗滴度为 $1:1\text{ }000$, β -actin 一抗滴度为 $1:2\text{ }000$ 。

1.2.5 ELISA 检测细胞中 IL-1 β 和 IL-18 的质量浓度 取对数生长期的 BV-2 细胞,以细胞浓度 $1\times 10^5\text{ mL}^{-1}$ 接种于 96 孔板,每孔 $100\text{ }\mu\text{L}$, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、体积分数 $5\%\text{CO}_2$ +体积分数 $95\%\text{O}_2$ 培养 24 h 。随后的分组和处理同 1.2.4。ELISA 试剂盒检测 BV-2 细胞培养基上清中 IL-1 β 和 IL-18 的质量浓度。检测方法按说明书进行。

1.3 统计学方法

结果用 $\bar{x}\pm s$ 描述。组间比较行单因素方差分析,进一步两两比较采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Western blot 检测 NLRP3 蛋白的表达

见图 1。Western blot 的检测结果显示,ODG

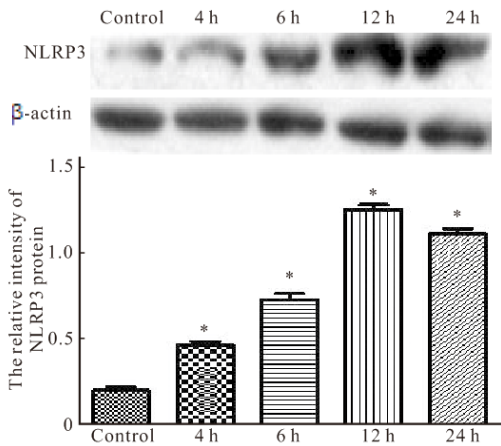


图 1 OGD 后复氧复糖不同时间 BV-2 细胞内 NLRP3 蛋白的表达
Fig 1 The expression level of NLRP3 in BV-2 cell after OGD for 3 h and reperfusion for different time

* $P<0.001$, vs. control group

3 h 后,复糖复氧 12 h NLRP3 蛋白的表达最高($P<0.05$), 24 h 后略有降低,但与 12 h 相比差异无统计学意义($P>0.05$)。因此,我们将 12 h 作为后续研究的再灌注时间。

2.2 CCK8 检测各组 BV-2 细胞存活率

见表 1。OGD 组细胞存活率最低,与对照组相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。随着丹参酮 II A 质量浓度的升高,BV-2 细胞存活率也随之提高,丹参酮 II A $1.0\text{ }\mu\text{g/mL}$ 及以上质量浓度,均恢复至对照组水平($P>0.05$);丹参酮 II A $2.0\text{ }\mu\text{g/mL}$ 时 BV-2 细胞存活率达到最高值($P>0.05$,与前一质量浓度相比),丹参酮 II A 质量浓度高于 $2.0\text{ }\mu\text{g/mL}$ 后细胞存活率不再升高[与前一质量浓度组相比,差异无统计学意义($P>0.05$)]。为避免高质量浓度丹参酮 II A 对细胞产生毒性,我们将丹参酮 II A $2.0\text{ }\mu\text{g/mL}$ 作为处理 BV-2 细胞最高质量浓度。

表 1 丹参酮 II A(TSA)对 OGD/R 细胞存活率的影响($n=3$)

Table 1 Survival rates of OGD/R cells in TSA groups ($n=3$)

Group	A ₄₉₀
Control	1.021±0.057
TSA/(μg/mL)	
0	0.746±0.052*
0.25	0.795±0.028*
0.5	0.827±0.064*
1.0	0.891±0.069#.△
1.5	0.925±0.053#.△
2.0	0.976±0.074#.△
2.5	0.964±0.062#

* $P<0.05$, vs. control group; # $P<0.05$, vs. OGD (TSA $0\text{ }\mu\text{g/mL}$) group; △ $P<0.05$, vs. former concentration

2.3 Western blot 检测各组细胞 NLRP3 和 caspase-1 蛋白的表达

见图 2。OGD 组 NLRP3 和 caspase-1 均较对照组升高($P<0.001$)。与 OGD 组相比,各质量浓度丹参酮 II A 细胞内 NLRP3 和 caspase-1 的表达降低,丹参酮 II A 质量浓度越高,表达水平越低,至 $2.0\text{ }\mu\text{g/mL}$ 时,与 OGD 组相比差异均最为明显($P<0.001$)。

2.4 ELISA 检测各组 IL-1 β 和 IL-18 的表达

见表 2。BV-2 细胞在 OGD/R 后大量分泌炎症因子 IL-1 β 和 IL-18,各丹参酮 II A 组与对照组相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。丹参酮 II A 处理后细胞的 IL-1 β 和 IL-18 分泌量均低于 OGD 组,差异有统计学意义($P<0.05$),并且 IL-1 β 和 IL-18 的质量浓度随着丹参酮 II A 质量浓度的升高而降低($P<0.05$)。

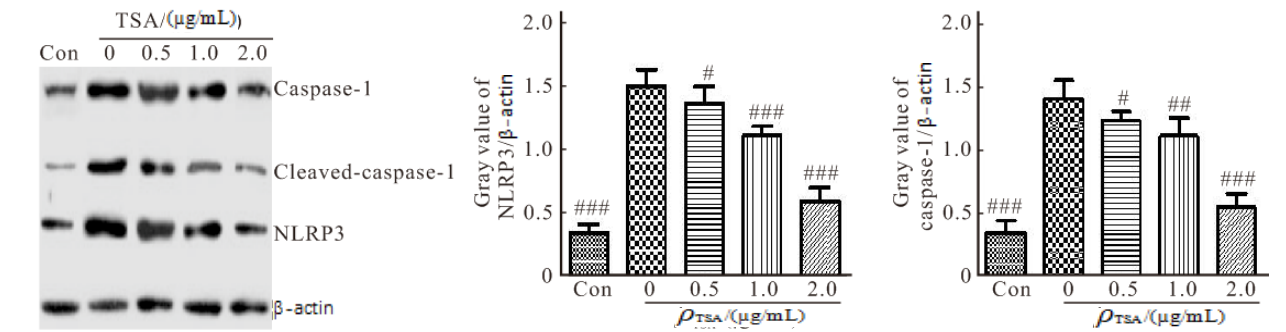


图 2 丹参酮 II A 对 OGD/R 的 BV-2 细胞 NLRP3 和 caspase-1 表达影响

Fig 2 NLRP3 and caspase-1 protein expressions of OGD/R BV-2 cells in TSA groups

$P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$, vs. OGD (TSA 0 μg/mL) group. Con: Control

表 2 不同质量浓度的丹参酮 II A 对 OGD/R 的 BV-2 细胞 IL-1β 和 IL-18 分泌量的影响/(pg/mL)

Table 2 The levels of IL-1β and IL-18 of OGD/R BV-2 cells in TSA groups/(pg/mL)

Cytokine	Control group	OGD group	TSA group		
			0, 5 μg/mL	1, 0 μg/mL	2, 0 μg/mL
IL-1β	15.82±5.35	376.70±24.76 *	302.64±31.75 *·#	203.82±31.51 *·#·△	137.54±21.93 *·#·△
IL-18	17.65±8.71	359.70±38.47 *	282.45±26.83 *·#	182.49±28.37 *·#·△	117.36±25.14 *·#·△

$P<0.05$, vs. control group; # $P<0.05$, vs. OGD (TSA 0 μg/mL) group; △ $P<0.05$, vs. former concentration

3 讨论

缺血性脑卒中(脑缺血)是一种发病机理复杂、死亡率和致残率很高的常见心脑血管病^[16],明确脑缺血发生机制和病理过程对脑缺血的治疗至关重要。OGD 损伤模型是常用的脑缺血细胞模型^[17]。NLRP3 是细胞内模式识别受体之一,NLRP3 被激活后募集 caspase-1 形成炎症复合体,引发相应的免疫效应。丹参酮 II A 是治疗脑缺血的临床常用中药,对脑缺血/再灌注损伤具有保护作用,但对其保护作用的分子机制目前研究很少。

研究表明,NLRP3 炎症小体在缺血/再灌注损伤中发挥着重要作用^[18],能够加重小鼠脑缺血/再灌注损伤。本研究结果显示,BV-2 细胞在 OGD/R 处理后,OGD 组细胞内 NLRP3 和 caspase-1 以及下游炎症因子 IL-1β 和 IL-18 的表达高于对照组,说明在细胞 OGD/R 损伤过程中,NLRP3 炎症体信号通路被激活,这之前 NLRP3 参与小鼠脑缺血/再灌注损伤过程的报道相符^[6]。本研究的结果表明,在最大质量浓度范围内,OGD/R 处理后的 BV-2 细胞存活率随着丹参酮 II A 质量浓度的增加而升高,验证了丹参酮 II A 对 OGD/R 的 BV-2 细胞损伤有保护作用。既往研究表明,被激活后的 NLRP3 炎性体可以促进 caspase-1 表达,并进一步导致 IL-1β、IL-18、IL-6、TNF-α 等一些与炎症级联反应有关

的多种细胞因子的活化^[19-20]。此外,在动脉结扎所致脑缺血/再灌注的大鼠模型中,丹参酮 II A 可明显降低脑内 TNF-α 和 IL-6 等细胞因子的水平^[21]。在本研究中,丹参酮 II A 能够有效抑制 OGD 3 h 后 BV-2 细胞内 NLRP3 及 caspase-1 的表达,并降低 NLRP3 炎症体信号通路下游的细胞因子 IL-1β 和 IL-18 的表达,其抑制程度随着丹参酮 II A 质量浓度的升高而增强,提示丹参酮 II A 能够抑制 NLRP3 信号通路的激活,从而减轻 OGD/R 对 BV-2 细胞的损伤作用。因此,本研究是对丹参酮 II A 脑保护作用机制的进一步阐述。

综上所述,本研究的结果表明,NLRP3 炎症体信号通路能够参与细胞 OGD/R 损伤过程,而丹参酮 II A 能够通过抑制 NLRP3 炎症体信号通路中相关分子的表达而对 OGD/R 细胞起到保护作用,但以上结果仍需要进行 NLRP3 基因的敲除以及丹参酮 II A 对 NLRP3 炎症体信号通路作用的体内实验来进一步验证,期望可以通过深入研究其分子机制为治疗脑缺血提供新的研究思路和治疗靶点。

参 考 文 献

[1] 范晓迪,刘建勋,林成仁. 动脉粥样硬化脑缺血/再灌注动物模型的研究进展. 中国药理学通报,2014,30(3):300-305.

[2] RAJAMAKI K, LAPPALAINEN J, OORNI K, et al. Cholesterol crystals activate the NLRP3 inflammasome in human macrophages: a novel Link between cholesterol

- metabolism and inflammation. PLoS One, 2010, 5(7): e11765 [2016-01-17]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2909263/pdf/pone.0011765.pdf>. doi: 10.1371/journal.pone.0011765.
- [3] DE NARNO D, DE NARNO CM, LATZ E. New insights into mechanisms controlling the NLRP3 inflammasome and its role in lung disease. Am J Pathol, 2014, 184(1): 42-54.
- [4] TAN MS, YU JT, JIANG T, *et al.* The NLRP3 inflammasome in Alzheimer's disease. Mol Neurobiol, 2013, 48(3): 875-882.
- [5] 易敏, 高荔, 庞博, 等. NLRP3 炎性体加重小鼠脑缺血再灌注损伤的机制探讨. 山东医药, 2014, 54(25): 7-9.
- [6] YANG F, WANG Z, WEI X, *et al.* NLRP3 deficiency ameliorates neurovascular damage in experimental ischemic stroke. J Cereb Blood Flow Metab, 2014, 34(4): 660-667.
- [7] 续洁琨, 栗原博, 郑洁静, 等. 丹参酮类化合物对小鼠应激性肝损伤的保护作用. 药学报, 2006, 41(7): 631-635.
- [8] 郑言博, 马卓. 葱醌类化合物抗菌及抗肿瘤生物活性的研究. 湖北中医杂志, 2012, 34(2): 74-76.
- [9] 张世英, 刘继光, 赵刚. 丹参酮 II A 局部注射正畸牙移动后复发阶段破骨细胞分化因子的表达. 中国组织工程研究, 2014, 18(11): 1730-1736.
- [10] 李玉萍, 顾兵, 刘建涛, 等. 丹参酮 II A 的研究进展. 时珍国医国药, 2010, 21(7): 1770-1772.
- [11] WU WY, WANG WY, MA YL, *et al.* Sodium tanshinone II A silicate inhibits oxygen-glucose deprivation/recovery-induced cardiomyocyte apoptosis via suppression of the NF- κ B/TNF- α pathway. Br J Pharmacol, 2013, 169(5): 1058-1071.
- [12] 何治, 潘志红, 鲁文红. 丹参酮 II A 对局灶性脑缺血大鼠的神经保护作用及其机制初探. 中药药理与临床, 2009, 25(5): 32-34.
- [13] 严如华, 范乃兵. 丹参酮 II A 对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用. 首都医药, 2010, 17(14): 56.
- [14] 李浩, 刘开祥, 俸军林, 等. 丹参酮 II A 对脑缺血再灌注损伤大鼠的保护作用及机制. 时珍国医国药, 2008, 19(7): 1648.
- [15] 李浩, 俸军林, 刘开祥. 丹参酮 II A 对鼠脑缺血再灌注损伤凋亡基因表达的影响. 时珍国医国药, 2009, 20(1): 82.
- [16] 吴丽蓉, 罗勇. 大鼠大脑皮质神经元氧糖剥夺/复氧模型的建立. 中风与神经疾病杂志, 2008, 25(1): 62.
- [17] PENDLEBURY ST, ROTHWELL PM. Prevalence, incidence and factors associated with pre-stroke and post-stroke dementia: a systematic review and meta-analysis. Lancet Neurol, 2009, 8(11): 1006-1018.
- [18] WATANABE T, YUKI S, EGAWA M, *et al.* Protective effects of MCF-186 on cerebral ischemia: possible involvement of free radical scavenging and antioxidant actions. J Pharmacol Exp Ther, 1994, 268(3): 1597-1604.
- [19] FANN DY, LEE SY, MANZANERO S, *et al.* Intravenous immunoglobulin suppresses NLRP1 and NLRP3 inflammasome-mediated neuronal death in ischemic stroke. Cell Death Disease, 2013, 4(9): e790 [2016-04-26]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3789184/pdf/cddis.2013.326.pdf>. doi: 10.1038/journal.cddis.2013.326.
- [20] MCGETTRICK AF, O'NEILL LA. NLRP3 and IL-1 β in macrophages as critical regulators of metabolic diseases. Diabetes Obes Metab, 2013, 15(Suppl 3): 19-25.
- [21] MARTINON F. Detection of immune danger signals by NALP3. Leukoc Biol, 2008, 83(3): 507-511.
- [22] CHEN Y, WU X, YU S, *et al.* Neuroprotection of tanshinone II A against cerebral ischemia/reperfusion injury through inhibition of macrophage migration inhibitory factor in rats. PLoS One, 2012, 7(6): e40165 [2016-01-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3387137/pdf/pone.0040165.pdf>. doi: 10.1371/journal.pone.0040165.

(2016-02-02 收稿, 2016-06-03 修回)

编辑 吕熙

(上接第 641 页)

- [20] SMITH NM, GACHULINCOVA I, HO D, *et al.* An unexpected transient breakdown of the blood brain barrier triggers passage of large intravenously administered nanoparticles. Sci Rep, 2016(6): 22595 [2016-03-04]. <http://www.nature.com/articles/srep22595>. doi: 10.1038/srep22595.
- [21] ECHEVERRY S, SHI XQ, RIVEST S, *et al.* Peripheral nerve injury alters blood-spinal cord barrier functional and molecular integrity through a selective inflammatory pathway. J Neurosci, 2011, 31(30): 10819-10828.
- [22] VILLACAMPA N, ALMOLDA B, VILELLA A, *et al.* Astrocyte-targeted production of IL-10 induces changes in microglial reactivity and reduces motor neuron death after facial nerve axotomy. Glia, 2015, 63(7): 1166-1184.
- [23] CHABOT S, YONG VW. Interferon beta-1b increases interleukin-10 in a model of T cell-microglia interaction: relevance to MS. Neurology, 2000, 55(10): 1497-1505.

(2016-05-04 收稿, 2016-07-27 修回)

编辑 汤洁