

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.03.001

·基础研究·

TRPV1 介导 H4 组蛋白乳酸化调控 AD 炎症激活小胶质细胞 *

沙旭栋 鲁佳 林佳源 黄立栋 马小莉 虞志华[△]

(上海交通大学医学院药理学与化学生物学系 上海 200025)

摘要 目的:阿尔茨海默病(AD)中小胶质细胞的免疫监测和吞噬功能逐渐减弱并发生炎症激活。以往研究报告瞬时受体电位香草素1型(TRPV1)通道的激活可以缓解3xTg小鼠脑内小胶质细胞的炎症激活和吞噬功能障碍,作用机制尚不清楚。**方法:**首先,通过蛋白印迹法和免疫荧光实验测量3xTg小鼠大脑细胞核内组蛋白H4的12位赖氨酸乳酸化(H4K12la)的表达水平和细胞定位情况。其次,验证TRPV1的激活是否可以调控3xTg小鼠大脑细胞核内H4K12la的表达水平。最后,使用Imaris软件和流式细胞术分析TRPV1的激活对小胶质细胞炎症激活形态和生物标志物的影响。**结果:**蛋白印迹法显示3xTg小鼠大脑细胞核内H4K12la的表达水平上升,免疫荧光实验证明H4K12la与小胶质细胞共定位。TRPV1的激活可以减少3xTg小鼠脑内小胶质细胞中H4K12la的表达水平,缓解3xTg小鼠脑内小胶质细胞炎症激活。**结论:**TRPV1可以通过抑制组蛋白H4K12la表达缓解AD小胶质细胞炎症激活。

关键词:阿尔茨海默病;瞬时受体电位香草素1型;小胶质细胞;H4K12la

中图分类号:R-33;Q593.2;R749.16 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2024)03-401-04

TRPV1 Regulates Reactive Microglia in AD through H4 Histone Lactation*

SHA Xu-dong, LU Jia, LIN Jia-yuan, HUANG Li-dong, MA Xiao-li, YU Zhi-hua[△]

(Department of Pharmacology and Chemical Biology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, 200025, China)

ABSTRACT Objective: The immune monitoring and phagocytosis function of microglia in Alzheimer's disease (AD) is progressively weakened and inflammatory activation occurs. Previous studies have reported that activation of transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) channels alleviates microglial inflammatory activation and phagocytosis dysfunction in the brain of 3xTg mice, and the mechanism of action is still unclear. **Methods:** First, the expression level and cellular localization of H4K12la in the nuclei of 3xTg mice brain cells were measured by western blotting and immunofluorescence experiments. Second, it was verified whether activation of TRPV1 could regulate the expression level of H4K12la in the nuclei of 3xTg mice brain cells. Finally, the effects of TRPV1 activation on microglia inflammatory activation morphology and biomarkers were analyzed using Imaris software and flow cytometry. **Results:** Western blotting showed increased expression levels of H4K12la in the nuclei of 3xTg mice brain cells, and immunofluorescence experiments demonstrated that H4K12la co-localized with microglia. Activation of TRPV1 reduced the expression levels of H4K12la in microglia and alleviated inflammatory activation of microglia in the brain of 3xTg mice. **Conclusions:** These findings suggest that TRPV1 can alleviate AD microglia inflammatory activation by inhibiting histone H4K12la expression.

Key words: Alzheimer's disease; TRPV1; Microglia; H4K12la

Chinese Library Classification (CLC): R-33; Q593.2; R749.16 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2024)03-401-04

前言

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是最常见的神经退行性疾病,随着全球人类预期寿命的增加,AD的发病率持续上升^[1-4]。淀粉样蛋白斑块和tau神经纤维缠结的沉积是AD的两个典型病理特征,被认为是导致AD神经元丧失和认知能力下降的主要原因^[5,6]。越来越多的证据表明,小胶质细胞参与了

AD的病理进程,但其确切作用机制尚不明确^[7,8]。小胶质细胞是中枢神经系统中的驻留免疫细胞,在病理生理条件下支持免疫保护^[9,10]。随着衰老和多种神经退行性疾病的进展,小胶质细胞的免疫监测和清除功能逐渐丧失^[11-13]。近期有研究报告,在AD动物模型和AD患者死后脑组织中均检出组蛋白H4的12位赖氨酸乳酸化(H4K12la)水平上升,并通过糖酵解(glycolysis)/H4K12la/丙酮酸激酶(PKM2)正反馈回路不断加剧5xFAD小

* 基金项目:国家自然科学基金项目(82173791);上海市自然科学基金项目(23ZR1436600)

作者简介:沙旭栋(1998-),男,硕士研究生,主要研究方向:神经药理学,E-mail: ahmushaxudong@163.com

△ 通讯作者:虞志华,女,博士生导师,教授,主要研究方向:神经药理学,E-mail: yuzihua@shsmu.edu.cn

(收稿日期:2023-08-16 接受日期:2023-09-11)

鼠脑内小胶质细胞炎症激活^[14]。

瞬时受体电位香草素 1 型 (Transient receptor potential vanilloid type 1, TRPV1) 作为一种非选择性阳离子通道, 可以被辣椒素、一些毒液毒素和树脂毒素激活^[15,16]。TRPV1 广泛表达于脑内各类细胞中, 包括神经元和神经胶质细胞, 参与感觉系统痛觉感知等功能调控^[17]。TRPV1 在小胶质细胞中功能表达, 活化可引起多种效应, 如小胶质细胞吞噬作用^[18]、迁移^[19]、细胞因子产生^[20]和活性氧的产生^[21]。以往研究表明, TRPV1 通道参与调控炎症激活小胶质细胞的能量代谢和自噬功能障碍^[22-24]。目前尚不清楚 TRPV1 能否通过调控 H4K12la 来缓解小胶质细胞炎症激活。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 6-7 月龄 3xTg AD 转基因小鼠从杰克逊实验室购入并自行繁育 (no. 003378)。2 月龄 C57BL/6 小鼠购自中国科学院上海实验动物中心。实验动物和流程由上海交通大学医学院动物实验伦理委员会批准 (A-2023-123)。上述小鼠均饲养在温度受控的环境中, 保持 12 小时的光照 / 黑暗循环。

1.1.2 主要试剂 DMEM 培养基购自美国 Hyclone 公司; 胶原酶 IV (Sigma C4-28) 和 DNase I (Sigma D5025) 购自美国 sigma 公司; 辣椒素 (T1062) 购自上海陶术生物科技公司; 7-AAD (40745ES64) 和 IBA 抗体 (GB12105) 购自武汉赛维尔生物科技公司; H4K12la 抗体 (PTM-1411RM) 购自杭州景杰生物科技公司; DAPI、一抗稀释液、H4 抗体 (AF7107)、核浆蛋白提取试剂盒 (P0027)、PMSF 蛋白酶抑制剂、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG (G + L)、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG (G + L) 购自上海碧云天生物技术公司; 磷酸盐缓冲液、蓖麻油、甘氨酸、氯化钠、十二烷基硫酸钠、4X Tris-HCl/SDS 缓冲液 (pH 8.8)、4X Tris-HCl/SDS 缓冲液 (pH 6.8)、丙烯酰胺 / 甲叉双丙烯酰胺 (29:1) 溶液、三氨基甲烷、过硫酸铵、四甲基乙二胺、吐温-20 购自上海生工生物工程公司; 预染蛋白 marker、Goat anti-rabbit IgG (H+L) 555、Goat anti-mice IgG (H+L) 647 购自美国 Thermo 公司; CD45 (103154)、CD11b (101211)、MHC-II (107608) 购自上海达科为生物技术公司。

1.1.3 主要仪器和设备 蛋白电泳和转印系统 (美国 Bio-Rad 公司); 奥德赛双色红外成像系统 (美国 LI-COR 公司); 低温高速离心机 (德国 Eppendorf 公司); Leica TCS SP8 Confocal System (德国 Leica 公司); 流式细胞仪 (美国 Thermo 公司)。

1.2 方法

1.2.1 腹腔注射辣椒素 使用分析天平称取 0.35 mg 左右辣椒素后用 175 μL 蓖麻油, 在 50°C 水浴条件下溶解后加入 1575 μL 无菌水混匀, 按照小鼠每克体重 0.5 μL 体积连续腹腔注射治疗 30 天, 治疗方案参考已发表文献^[22]。

1.2.2 免疫荧光分析 麻醉 7 月龄 WT, 3xTg, 3xTg + CAP 小鼠后, 用 0.9% 的氯化钠溶液进行心脏灌注。接着将全脑浸泡于 4% PFA 溶液中 4°C 过夜, 在冷冻前用 20% 和 30% 的蔗糖溶液各梯度脱水 24 小时。从海马的喙部前部到尾部收集全脑的 30 微米冠状切片。用含 10% 山羊血清的磷酸盐缓冲液将组织切片封闭 1 小时, 在 4°C 下 IBA 和 H4K12la 孵育过夜。用磷酸盐

缓冲液清洗脑片三次, 并与相应的 Alexa Flour® 555 或 647 二抗在室温下孵育 2 小时。使用 TCS SP8 共焦激光扫描显微镜获取荧光图像。关于成像采集, 对所有样品进行预扫描, 以确保共聚焦设置低于饱和度。所有的图像都是在每个实验中应用相同的共聚焦设置获得的。

1.2.3 蛋白印迹法 核蛋白提取物用试剂盒制备。核蛋白提取液经热变性后, 用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离裂解液中的蛋白质, 然后转移至聚偏二氟乙烯膜上。室温下用含 5% 脱脂牛奶的 TBST (含 0.1% 吐温 20 的 Tris 盐缓冲液) 封闭膜 1 小时, 一抗 4°C 孵育过夜。然后用 TBST 冲洗三次, 在室温下二抗孵育 1 小时, TBST 冲洗三次。最后用增强化学发光底物检测免疫反应蛋白, 并用奥德赛双色红外成像系统显影。

1.2.4 小胶质细胞形态学统计 为了对共聚焦图像进行三维重建, 使用 Bitplane Imaris 9.9.0 软件的表面渲染功能将小胶质细胞 (IBA+) 转换为三维图像。小胶质细胞面积统计方法参考已发表文献^[25,26]。

1.2.5 流式细胞术 从 7 月龄 WT, 3xTg, 3xTg + CAP 小鼠脑组织中分离出单核细胞。首先, 用 1 mg/mL 胶原酶 IV 和 20 μg/mL DNase I 消化脑组织, 并用 DMEM 稀释。用 70 μm 细胞滤网分离单核细胞。细胞染色时, 分离出的细胞用 CD45、CD11b、MHC-II 以及 7-AAD 细胞活力染料。使用 Attune NxT 流式细胞仪和 FlowJo 软件对样本进行流式细胞术分析。

1.3 统计学分析

所有数据均以平均值和标准误差 (mean ± s.e.m) 表示。统计分析使用 Prism 软件 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA) 进行。用 Kolmogorov-Smirnov 正态性测试检验数据的高斯分布, 然后用单因素方差分析 (ANOVA) 和 Dunnett 的事后检验进行分析。统计学意义被设定为 *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.0001。

2 结果

2.1 TRPV1 减少 3xTg 小鼠大脑细胞核内 H4K12la 的表达水平

据报道, Glycolysis/H4K12la/PKM2 正反馈回路被认为是加剧 AD 中小胶质细胞炎症激活的重要因素^[14]。因此, 将 H4K12la 作为 AD 炎症激活小胶质细胞的生物学标志物。通过蛋白印迹法, 发现 3xTg 小鼠大脑细胞核内 H4K12la 的表达水平上升, 表明 3xTg 小鼠脑内存在炎症激活。其次, 蛋白印迹法显示 TRPV1 的激活可以减少 3xTg 小鼠大脑细胞核内 H4K12la 的表达水平, 表明 TRPV1 可以抑制 3xTg 小鼠大脑内炎症激活, 见图 1。

2.2 TRPV1 抑制 3xTg 小鼠脑内小胶质细胞 H4K12la 的表达水平

为了验证 3xTg 小鼠脑内小胶质细胞炎症激活, 通过免疫荧光实验, 发现 H4K12la 与小胶质细胞共定位。使用 ImageJ 分析 IBA+ H4K12la 的荧光强度, 发现 3xTg 小鼠脑内小胶质细胞 H4K12la 的表达水平上升, 表明 3xTg 小鼠脑内小胶质细胞炎症激活。TRPV1 的激活可以抑制 3xTg 小鼠脑内小胶质细胞 H4K12la 的表达水平, 表明 TRPV1 抑制 3xTg 小鼠脑内小胶质细胞炎症激活, 见图 2。

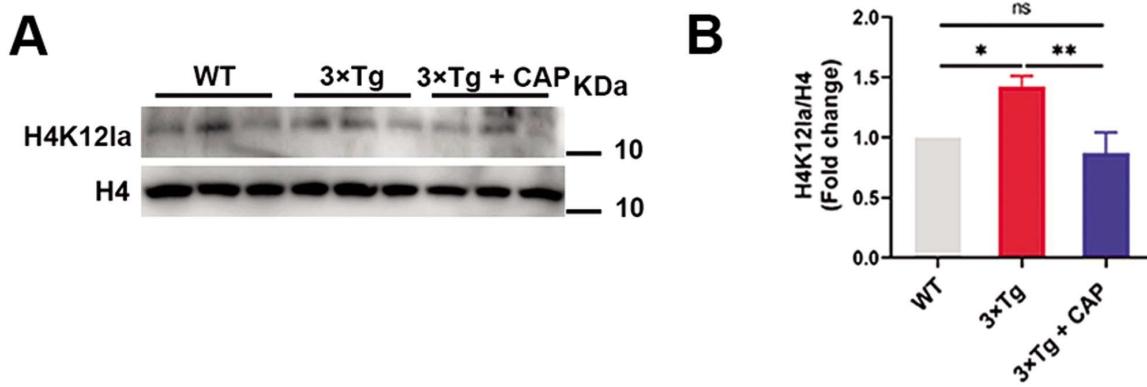


图 1 TRPV1 减少 3xTg 小鼠大脑细胞核内 H4K12la 的表达水平

Fig.1 TRPV1 reduce the expression level of H4K12la in the nuclei of 3xTg mice brain cells

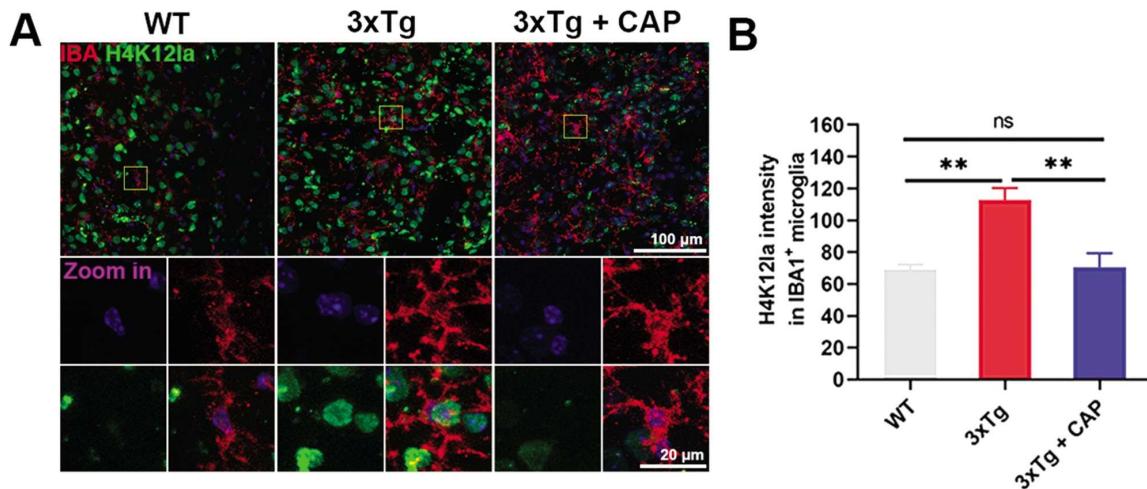
Note: Data were expressed as mean \pm s.e.m. n=3. *P<0.05, **P<0.01.

图 2 TRPV1 抑制 3xTg 小鼠脑内小胶质细胞 H4K12la 的表达水平

Fig.2 TRPV1 inhibit the expression levels of H4K12la in microglia of 3xTg mice

Note: Data were expressed as mean \pm s.e.m. n=3. **P<0.01, scale: 100 μm.

2.3 TRPV1 调控 3xTg 小鼠脑内小胶质细胞炎症激活

AD 炎症激活小胶质细胞往往呈现阿米巴样的形态, 表现为胞体增大, 突触减少^[25]。因此, 使用 Imaris 软件对 7 月龄 WT, 3xTg, 辣椒素治疗组(3xTg + CAP)小鼠大脑内小胶质细胞的形态进行分析, 发现 TRPV1 的激活可以挽救小胶质细胞的形态, 使其突触变长, 胞体面积减小, 见图 3A, B。据报道, MHC-II 被认为是 AD 炎症激活小胶质细胞的生物标志物^[27]。因此, 使用

流式细胞术检测 7 月龄 WT, 3xTg, 3xTg + CAP 小鼠脑内小胶质细胞 MHC-II 的表达水平。发现 3xTg 小鼠大脑内小胶质细胞 MHC-II 表达上调, 表明 3xTg 小鼠脑内小胶质细胞炎症激活。TRPV1 的激活可以抑制 3xTg 小鼠脑内小胶质细胞 MHC-II 的表达水平, 表明 TRPV1 的激活可以缓解 3xTg 小鼠脑内小胶质细胞炎症激活, 见图 3C。综上所述, TRPV1 可以通过调控 H4K12la 来缓解 3xTg 小鼠脑内小胶质细胞炎症激活。

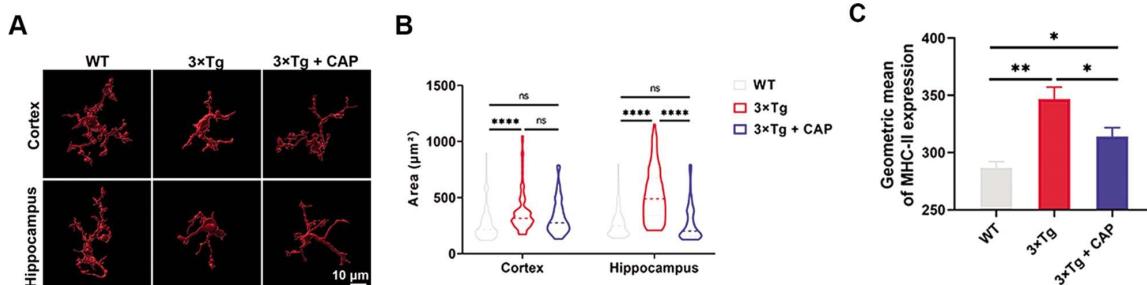


图 3 TRPV1 调控 3xTg 小鼠大脑内小胶质细胞炎症激活

Fig.3 TRPV1 alleviate AD microglia inflammatory activation

Note: Data were expressed as mean \pm s.e.m. n=3. *P<0.05, **P<0.01, ****P<0.0001, scale: 10 μm.

3 讨论

小胶质细胞是中枢神经系统中的驻留免疫细胞, 在病理生理条件下发挥免疫监测、吞噬、清除作用^[9]。小胶质细胞在 AD

初期往往会发生代谢重编程，从氧化磷酸化转变成有氧糖酵解，从而短时间内获取大量 ATP 执行免疫吞噬功能，但持续的有氧糖酵解被认为会损伤小胶质细胞的正常功能^[28,29]。随着 AD 的进展，小胶质细胞发生炎症激活并释放大量炎症因子，吞噬能力下降^[30,31]。以往研究已经发现 TRPV1 的激活可以缓解 3xTg 小鼠大脑内小胶质细胞的炎症激活和吞噬功能障碍^[22]，但具体机制仍不完全清楚。

研究人员发现，在 5xFAD 小鼠大脑内，glycolysis/H4K12la/PKM2 正反馈回路不断加剧小胶质细胞炎症激活^[14]。但 H4K12la 在其他 AD 小鼠模型脑内的表达水平尚不清楚，本研究通过蛋白印迹法，发现 H4K12la 在 3xTg 小鼠大脑细胞核内表达上升，TRPV1 的激活可以减少 3xTg 小鼠脑细胞核内 H4K12la 的表达水平（图 1），表明 TRPV1 通道可以调控组蛋白 H4 上的 12 位赖氨酸的乳酸化。进一步通过免疫荧光实验发现 H4K12la 与小胶质细胞共定位，使用 ImageJ 进行荧光强度分析，发现 3xTg 小鼠大脑内小胶质细胞 H4K12la 的表达水平升高，TRPV1 的激活可以下调小胶质细胞 H4K12la 的表达水平（图 2）。以往研究尚未分析 TRPV1 的激活对 3xTg 小鼠大脑内小胶质细胞的炎症激活形态和生物标志物的作用^[22]，使用 Imaris 软件分析小胶质细胞形态，发现 3xTg 小鼠大脑内小胶质细胞表面积增大，形态趋于阿米巴样，TRPV1 的激活可以改善小胶质细胞的炎症激活形态和生物标志物，减少胞体大小，细胞表面积（图 3）。综上所述，H4K12la 可以视为 AD 炎症激活小胶质细胞的生物学标志物，TRPV1 可以通过调控 H4K12la 缓解 AD 小胶质细胞炎症激活。但目前尚不清楚 TRPV1 介导组蛋白 H4 的 12 位赖氨酸的乳酸化水平的具体调控机制，其可能是通过调控乳酸的生成过程，从而调节组蛋白乳酸化，这需要进一步研究探明机制。

参考文献(References)

- [1] BONDI M W, EDMONDS E C, SALMON D P. Alzheimer's Disease: Past, Present, and Future [J]. Journal of the International Neuropsychological Society, 2017, 23(9-10): 818-831.
- [2] WELLER J, BUDSON A. Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment[J]. F1000Research, 2018, 7: 1161.
- [3] SCHELTON P, DE STROOPER B, KIVIPELTO M, et al. Alzheimer's disease[J]. The Lancet, 2021, 397(10284): 1577-1590.
- [4] ROSTAGNO A A. Pathogenesis of Alzheimer's Disease [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 24(1): 107.
- [5] HARDY J, SELKOE D J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics [J]. Science, 2002, 297(5580): 353-356.
- [6] HUANG Y, MUCKE L. Alzheimer mechanisms and therapeutic strategies[J]. Cell, 2012, 148(6): 1204-1222.
- [7] CALSOLARO V, EDISON P. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: Current evidence and future directions[J]. Alzheimer's & Dementia, 2016, 12(6): 719-732.
- [8] RODRIGUEZ-GOMEZ J A, KAVANAGH E, ENGSKOG-VLACHOS P, et al. Microglia: Agents of the CNS Pro-Inflammatory Response[J]. Cells, 2020, 9(7): 1717.
- [9] SIERRA A, PAOLICELLI R C, KETTENMANN H. Cien Anos de Microglia: Milestones in a Century of Microglial Research[J]. Trends in Neurosciences, 2019, 42(11): 778-792.
- [10] KWON H S, KOH S-H. Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: the roles of microglia and astrocytes [J]. Translational Neurodegeneration, 2020, 9(1).
- [11] HICKMAN S E, ALLISON E K, EL KHOURY J. Microglial dysfunction and defective beta-amyloid clearance pathways in aging Alzheimer's disease mice [J]. The Journal of Neuroscience, 2008, 28 (33): 8354-8360.
- [12] MAWENYEGA K G, SIGURDSON W, OVOD V, et al. Decreased clearance of CNS beta-amyloid in Alzheimer's disease [J]. Science, 2010, 330(6012): 1774.
- [13] HICKMAN S, IZZY S, SEN P, et al. Microglia in neurodegeneration [J]. Nature Neuroscience, 2018, 21(10): 1359-1369.
- [14] PAN R Y, HE L, ZHANG J, et al. Positive feedback regulation of microglial glucose metabolism by histone H4 lysine 12 lactylation in Alzheimer's disease[J]. Cell Metabolism, 2022, 34(4): 634-648.
- [15] CATERINA M J, SCHUMACHER M A, TOMINAGA M, et al. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway [J]. Nature, 1997, 389(6653): 816-824.
- [16] MARRONE M C, MORABITO A, GIUSTIZIERI M, et al. TRPV1 channels are critical brain inflammation detectors and neuropathic pain biomarkers in mice [J]. Nature Communications, 2017, 8 (1): 15292.
- [17] CATERINA M J, SCHUMACHER M A, TOMINAGA M, et al. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway [J]. Nature, 1997, 389(6653): 816-824.
- [18] HASSAN S, ELDEEB K, MILLNS P J, et al. Cannabidiol enhances microglial phagocytosis via transient receptor potential (TRP) channel activation [J]. British Journal of Pharmacology, 2014, 171 (9): 2426-2439.
- [19] MIYAKE T, SHIRAKAWA H, NAKAGAWA T, et al. Activation of mitochondrial transient receptor potential vanilloid 1 channel contributes to microglial migration[J]. Glia, 2015, 63(10): 1870-1882.
- [20] SAPPINTON R M, CALKINS D J. Contribution of TRPV1 to microglia-derived IL-6 and NFκB translocation with elevated hydrostatic pressure [J]. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2008, 49(7): 3004-3017.
- [21] SCHILLING T, EDER C. Importance of the non-selective cation channel TRPV1 for microglial reactive oxygen species generation[J]. Journal of Neuroimmunology, 2009, 216(1-2): 118-121.
- [22] LU J, ZHOU W, DOU F, et al. TRPV1 sustains microglial metabolic reprogramming in Alzheimer's disease [J]. EMBO Reports, 2021, 22 (6): e52013.
- [23] ZHANG Y, HOU B, LIANG P, et al. TRPV1 channel mediates NLRP3 inflammasome-dependent neuroinflammation in microglia[J]. Cell Death & Disease, 2021, 12(12): 1159.
- [24] LU J, WANG C, CHENG X, et al. A breakdown in microglial metabolic reprogramming causes internalization dysfunction of α-synuclein in a mouse model of Parkinson's disease [J]. Journal of Neuroinflammation, 2022, 19(1): 113.
- [25] FRIESS L, CHERAY M, KEANE L, et al. Atg7 deficiency in microglia drives an altered transcriptomic profile associated with an impaired neuroinflammatory response [J]. Molecular Brain, 2021, 14 (1): 87.

(下转第 474 页)

- diarrhea-predominant irritable bowel syndrome rats[J]. *Zhen Ci Yan Jiu*, 2020, 45(8): 633-639.
- [13] 陈嘉宜, 朱笑吉, 彭洋, 等. 艾灸对肠易激综合征小鼠行为学及色氨酸代谢相关产物的影响 [J]. 针灸推拿医学 (英文版), 2023, 21 (2): 91-100.
- [14] 管洁, 邓娜, 蔺晓源, 等. 腹泻型肠易激综合征及其中医病证结合动物模型的研究进展[J]. 中医药信息, 2023, 40(5): 73-78.
- [15] 张艳霞, 赵蓉, 吕双然, 等. 腹泻型肠易激综合征中医证候分布与VIP、SP、5-HT 动态变化的相关性分析 [J]. 河北中医药学报, 2022, 37(1): 17-20.
- [16] 张焕兰, 喻路, 荣佩. 安肠汤联合匹维溴铵治疗腹泻型肠易激综合征肝郁脾虚证对肠屏障功能及炎症反应的影响[J]. 实用中医药杂志, 2023, 39(1): 55-57.
- [17] 蔡林坤, 黄适, 彭卓蔚, 等. 从内脏敏感性角度探讨安肠汤治疗腹泻型肠易激综合征的临床疗效及其对血清5-羟色胺水平的影响研究[J]. 中国全科医学, 2019, 22(36): 4488-4492, 4498.
- [18] 王裴, 冯燕海, 王顺宾, 等. 肠型脂肪酸结合蛋白在严重烧伤小鼠早期肠屏障功能损害评估中的意义 [J]. 中华烧伤杂志, 2019, 35 (6): 459-463.
- [19] 魏薇, 王慧芬, 于康, 等. 腹泻型肠易激综合征患者膳食纤维摄入与肠屏障功能的相关性探究 [J]. 中华临床营养杂志, 2022, 30(4): 206-213.
- [20] 颜美珠, 沈曼茹, 崔英, 等. 腹泻型肠易激综合征患者肠屏障功能的治疗研究[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(1): 27-30.
- [21] 张晶, 刘莉, 徐慧荣, 等. 香附化学成分及药理作用研究新进展[J]. 化学工程师, 2021, 35(3): 55-57, 7.
- [22] 陈振鹤, 吴国泰, 任远. 枳壳的化学成分? 药理作用及临床应用[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(26): 95-97.
- [23] 吴亚宁, 周辉辉, 田雅晴, 等. 基于网络药理学和实验验证探讨肠安Ⅱ号方中白芍 - 白术药对治疗肠易激综合征的作用机制 [J]. 皖南医学院学报, 2023, 42(2): 120-126.
- [24] 肖金银, 林仁敬, 罗雯鹏, 等. 白术七物颗粒对慢传输型便秘小鼠肠道运动、Cajal间质细胞、c-Kit表达及肠道菌群的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(5): 83-90.
- [25] 黄秀芳, 庚国桢, 童晶晶. 基于网络药理学分析陈皮的药理作用机制[J]. 中成药, 2019, 41(12): 3038-3045.
- [26] 鲍璐璐, 崔立红. TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路的研究进展[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2019, 28(5): 568-572.
- [27] 翟金海, 陈兰, 徐速. 袁氏扶脾清化方通过调节miR-199a/TLR4/NF-κB 信号通路治疗腹泻型肠易激综合征的机制研究[J]. 中药材, 2022, 45(11): 2743-2748.
- [28] 肖先, 李春燕, 刘晓龙, 等. 甘草的主要化学成分及药理作用研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2023, 40(3): 280-285.
- [29] 李力恒, 陈丽萍, 胡晓阳, 等. 柴胡的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药学报, 2023, 51(2): 109-112.
- [30] 谢燕东, 张静瑜, 樊晴伶, 等. 参苓白术散联合复方谷氨酰胺肠溶胶囊对肠易激综合征患者的肠黏膜屏障功能及5-HT、IFN-γ、IL-8水平的影响[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(22): 4269-4272.

(上接第 404 页)

- [26] ST. PIERRE M, DUCK S A, NAZARETH M, et al. Unbiased Quantitative Single-Cell Morphometric Analysis to Identify Microglia Reactivity in Developmental Brain Injury[J]. *Life*, 2023, 13(4): 899.
- [27] JI J, XUE T-F, GUO X-D, et al. Antagonizing peroxisome proliferator-activated receptor γ facilitates M1-to-M2 shift of microglia by enhancing autophagy via the LKB1-AMPK signaling pathway[J]. *Aging Cell*, 2018, 17(4): e12774.
- [28] HU Y, MAI W, CHEN L, et al. mTOR-mediated metabolic reprogramming shapes distinct microglia functions in response to lipopolysaccharide and ATP[J]. *Glia*, 2020, 68(5): 1031-1045.
- [29] MCINTOSH A, MELA V, HARTY C, et al. Iron accumulation in microglia triggers a cascade of events that leads to altered metabolism and compromised function in APP/PS1 mice [J]. *Brain Pathology*, 2019, 29(5): 606-621.
- [30] CALSOLARO V, EDISON P. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: Current evidence and future directions [J]. *Alzheimers Dement*, 2016, 12(6): 719-732.
- [31] LENG F, EDISON P. Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here?[J]. *Nature Reviews Neurology*, 2021, 17(3): 157-172.