

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.06.004

天麻素抑制脂多糖诱导的 BV-2 小胶质细胞炎症反应及机制研究 *

孟德姣^{1,2} 黄玲^{1,3} 何慧敏² 刘璐² 胡雯^{1,4△}

(1 四川大学华西公共卫生学院 四川 成都 610041; 2 成都医学院第一附属医院营养室 四川 成都 610500;

3 成都医学院第一附属医院药剂科 四川 成都 610500; 4 四川大学华西医院临床营养科 四川 成都 610041)

摘要 目的:研究天麻素对脂多糖(LPS)诱导的小胶质细胞炎症反应的影响,并探讨其潜在的作用机制。**方法:**BV-2 小胶质细胞分为对照组、LPS 组和天麻素组。LPS 和天麻素处理 24 h 后,MTT 和 LDH 试验检测细胞活性。ELISA 实验检测炎症因子白介素-1 β (IL-1 β)、白介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的含量。Western blot 检测细胞中 Iba-1 和 TLR4 的表达,以及 I κ B α 的降解和 NF κ B-P65 的核转位情况。**结果:**LPS 刺激后,BV-2 细胞活性下降(65.46 $\pm$ 3.70 %),LDH 释放量增加(264.54 $\pm$ 17.78 U/L),各炎症因子水平也显著升高。给予天麻素处理后,细胞活性升高(74.33 $\pm$ 4.22 %),LDH 释放量减少(173.88 $\pm$ 15.23 U/L),炎症反应降低。同时,天麻素显著抑制 LPS 诱导的 BV-2 细胞 Iba-1 升高,降低了 LPS 处理后细胞 TLR4 的升高,I κ B α 的磷酸化水平和 P65 的核转位。**结论:**天麻素可以提高 BV-2 细胞活性,缓解 LPS 诱导的炎症反应。其作用机制可能是通过抑制 BV-2 细胞的过度活化,调控 TLR4/NF κ B 信号通路,最终减少炎症因子的表达。

关键词:天麻素;阿尔茨海默病;神经炎症;小胶质细胞

中图分类号:R-33; R741.02; R285.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)06-1020-04

Inhibitory Effects of Gastrodin on LPS-induced Inflammatory Response on BV-2 Microglia Cells *

MENG De-jiao^{1,2}, HUANG Ling^{1,3}, HE Hui-min², LIU Lu², HU Wen^{1,4△}

(1 West China School of Public Health, Sichuan University, Chengdu, Sichuan, 610041, China;

2 Department of Nutrition, The First Affiliated Hospital to Chengdu Medical College, Chengdu, Sichuan, 610500, China;

3 Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital to Chengdu Medical College, Chengdu, Sichuan, 610500, China;

4 Department of Clinical Nutrition, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan, 610041, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of gastrodin on inflammatory response of microglia induced by lipopolysaccharide (LPS) and to explore its potential mechanism. **Methods:** BV-2 microglia cells were divided into control group, LPS group and gastrodin group. 24 h after LPS and gastrodin treatment, MTT and LDH tests were performed to detect cell viability. ELISA assay was used to detect the levels of proinflammatory cytokines, including IL-1 β , IL-6 and TNF- α . Western blot were carried out to detect the expression of Iba-1 and TLR4 in cells, and the degradation of I κ B α and the nuclear translocation of NF κ B-P65. **Results:** After the stimulation of LPS, the viability of BV-2 cells was decreased (65.46 $\pm$ 3.70 %), and the levels of LDH were significantly increased (264.54 $\pm$ 17.78 U/L), as well as the inflammatory cytokines. While after treatment with gastrodin, the cell viability was increased (74.33 $\pm$ 4.22 %), the inflammatory reaction and LDH levels were decreased (173.88 $\pm$ 15.23 U/L). At the same time, gastrodin significantly inhibited the expression of Iba-1 induced by LPS, and decreased the elevation of TLR4, the phosphorylation level of I κ B α and the nuclear translocation of P65. **Conclusions:** Gastrodin can increase the viability of BV-2 cells and alleviate the inflammatory response induced by LPS. The underlying mechanism may be through inhibiting the over activation of BV-2 cells, regulating the TLR4/NF κ B signaling pathway, and ultimately reducing the expression of proinflammatory cytokines.

Key words: Gastrodin; Alzheimer's disease; Neuroinflammation; Microglia

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R741.02; R285.5 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2018)06-1020-04

前言

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是常见的中枢神经系统(central nervous system, CNS)退行性病变^[1],小胶质细胞

介导的慢性神经炎症反应是其重要的病理基础^[2]。当大脑内环境失衡后,小胶质细胞受到刺激被激活,进而诱发性炎症因子的持续过量释放,最终导致神经炎症损伤和神经元退行性病变^[3]。天麻素(Gastrodin)是天麻的主要药效物质,具有抗炎、抗氧化、

* 基金项目:四川省医学科研青年创新课题(Q16016)

作者简介:孟德姣(1986-),硕士研究生,营养师,主要研究方向:营养与疾病

△ 通讯作者:胡雯,硕士生导师,教授,主要研究方向:营养与疾病,E-mail: 983156803@qq.com

(收稿日期:2017-10-18 接受日期:2017-11-14)

抗肿瘤和脑保护等作用^[4],广泛用于神经系统疾病的治疗。研究报道,天麻素可显著抑制阿尔茨海默病模型小鼠脑内 A β 纤维斑块,从而改善学习记忆和认知能力^[5]。但是天麻素对小胶质细胞介导的炎症反应鲜有报道。本实验首先观察了天麻素对脂多糖(LPS)诱导的 BV-2 小胶质细胞炎症反应的抑制作用,并进一步对其作用机制进行了探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

BV-2 小胶质细胞购自中国医学科学院基础医学研究所,天麻素购自中国药品生物制品检定所,LPS 购自 Sigma 公司,胎牛血清(FBS)和 DMEM 培养基购自 Glibco 公司,MTT 和 LDH 检测试剂盒购自碧云天生物技术研究所,白介素-1 β (IL-1 β)、白介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)ELISA 检测试剂盒购自南京森贝伽生物科技有限公司,抗 TLR4、Iba-1 抗体购自 CST 公司,抗 I κ B α 、NF κ B-P65 抗体购自 Abcam 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与给药 BV-2 细胞于 DMEM 培养基中(含 10% FBS,100 U/mL 青霉素,100 μ g/mL 链霉素)常规培养(37 $^{\circ}$ C,5% CO₂)。隔 1 天换液一次,细胞生长至 80% 左右时传代培养。将对数生长期细胞接种于 6 孔板(1×10^5 / 孔)并分为三组,分别是对照组(Control group):PBS 处理;LPS 组(LPS group):10 μ g/mL LPS 处理;天麻素组(Gastrodin group):10 μ g/mL LPS +10 μ mol/L 天麻素处理。培养 24 小时后进行检测。

1.2.2 细胞活性检测 各组细胞处理 24 h 后,分别根据 MTT

和 LDH 试剂盒说明书进行细胞活力和 LDH 释放检测。

1.2.3 ELISA 检测 细胞处理 24 h 后,收集上清液,根据试剂盒说明书操作,分别测定 IL-1 β ,IL-6 和 TNF- α 吸光度。

1.2.4 WB 检测 细胞分别提取总蛋白、胞浆蛋白和核蛋白后,BCA 法测定蛋白浓度。各组蛋白进行凝胶电泳,随后将分离的蛋白转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。用 5% 的脱脂奶粉室温封闭 1 h,分别用抗 TLR4、Iba-1 抗体(1:500)和磷酸化的 I κ B α (p-I κ B α)抗体、NF κ B-P65 抗体(1:1000)4 $^{\circ}$ C 过夜孵育。条带用 TBST 洗涤后,加入相应的二抗室温孵育 1 h。滴加 ECL 发光液后用凝胶成像仪显影。用 Image J 对蛋白表达进行定量分析。

1.3 统计学分析

所有实验均重复 3 次,数据用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析,以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间差异用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示有统计学差异。

2 结果

2.1 天麻素可提高 BV-2 细胞活性

MTT 检测结果显示,LPS 处理后,BV-2 细胞活性降低至 $65.46 \pm 3.70\%$,天麻素处理后细胞活性升高至 $74.33 \pm 4.22\%$,与 LPS 组相比有显著性差异($P < 0.05$)。LDH 释放实验结果显示,对照组细胞 LDH 释放量为 54.92 ± 4.06 U/L,LPS 组细胞 LDH 释放量升高至 264.54 ± 17.78 U/L,天麻素组 LDH 释放量为 173.88 ± 15.23 U/L,与 LPS 组相比有显著性差异($P < 0.05$)。见图 1。



图 1 天麻素对 LPS 诱导的 BV-2 细胞活性和 LDH 释放的影响($\bar{x} \pm s$)

Fig. 1 The effects of Gastrodin on the viability and LDH release on BV-2 cells induced by LPS($\bar{x} \pm s$)

2.2 天麻素可抑制 LPS 诱导的 BV-2 细胞炎症因子释放

如图 2 所示,与对照组相比,BV-2 细胞在 LPS 刺激后,IL-1 β 炎症因子水平从 54.67 ± 9.07 pg/mL 升高至 356.00 ± 33.51 pg/mL,IL-6 炎症因子水平从 71.03 ± 16.64 pg/mL 升高至 601.33 ± 60.68 pg/mL,TNF- α 从 48.33 ± 14.05 pg/mL 升高至 299.46 ± 31.26 pg/mL($P < 0.05$)。天麻素处理后,这些炎症因子的水平分别降至 209.67 ± 38.53 pg/mL、 402.33 ± 50.52 pg/mL 和 175.67 ± 30.53 pg/mL,与 LPS 组相比有显著性差异($P < 0.05$)。

2.3 天麻素可抑制 LPS 诱导的 BV-2 小胶质细胞的活化

Iba-1 是小胶质细胞的特异性蛋白,其表达水平的高低反应了小胶质细胞的活化状态。本研究中,BV-2 细胞在 LPS 刺激

后,Iba-1 表达显著升高($P < 0.05$),表明 BV-2 细胞被激活。而天麻素可显著降低 Iba-1 的表达水平($P < 0.05$),抑制 BV-2 细胞的活化(图 3)。

2.4 天麻素可抑制 LPS 诱导的 BV-2 细胞中 TLR4 的表达

Western blot 结果显示(图 4),相比对照组,LPS 组细胞 TLR4 表达上调($P < 0.05$)。而天麻素组细胞中 TLR4 表达被显著抑制($P < 0.05$)。

2.5 天麻素可抑制 LPS 诱导的 BV-2 细胞中 I κ B α 的降解

结果显示,LPS 处理后,BV-2 细胞中 p-I κ B α 水平显著升高($P < 0.05$),天麻素处理后,p-I κ B α 水平显著降低($P < 0.05$)。见图 5。

2.6 天麻素可抑制 LPS 诱导的 BV-2 细胞中 NF κ B 的核转位

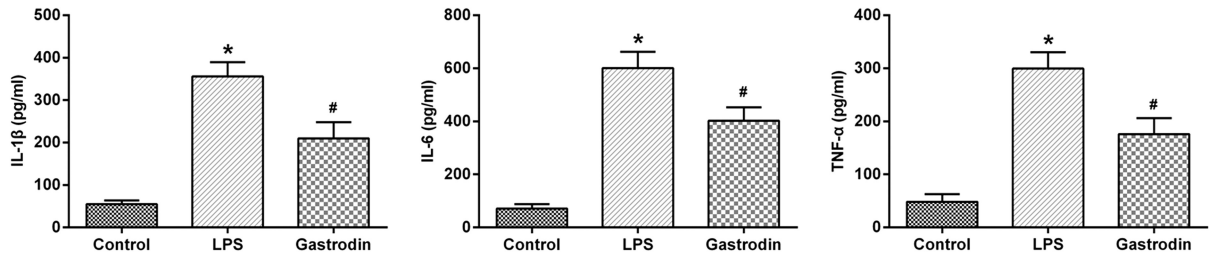


图 2 天麻素对 LPS 诱导的 BV-2 细胞炎症因子的影响($\bar{x} \pm s$)

Fig. 2 Effect of gastrodin on inflammatory cytokines induced by LPS in BV-2 cells ($\bar{x} \pm s$)

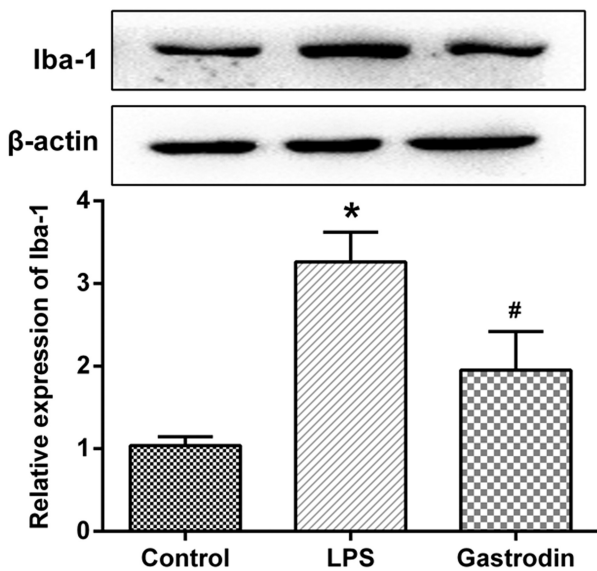


图 3 天麻素对 LPS 诱导的 BV-2 小胶质细胞 Iba-1 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$)

Fig. 3 Effect of gastrodin on the expression of Iba-1 induced by LPS in BV-2 cells($\bar{x} \pm s$)

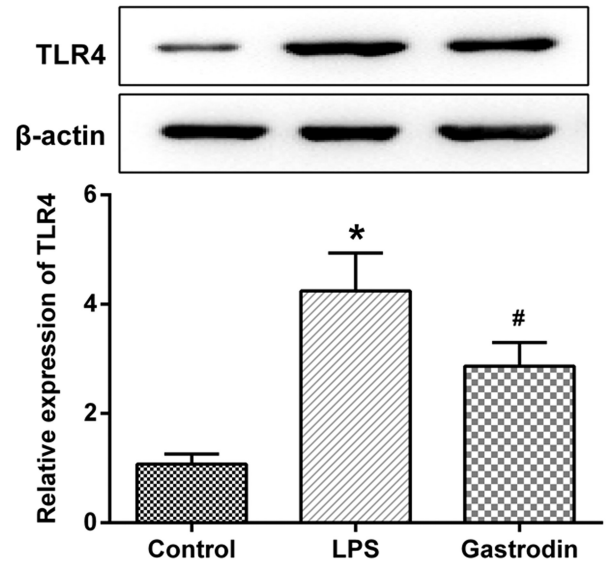


图 4 天麻素对 LPS 诱导的 BV-2 小胶质细胞 TLR4 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$)

Fig. 4 Effect of gastrodin on the expression of TLR4 induced by LPS in BV-2 cells($\bar{x} \pm s$)

Western blot 检测了 NFκB-P65 在各组 BV-2 细胞浆和细胞核中的含量(图 6)。结果表明,LPS 诱导 BV-2 细胞后,胞浆中 P65(c-P65)水平降低,相应的胞核中 P65(n-P65)水平显著

升高($P < 0.05$)。天麻素处理后,细胞核中升高的 P65 被抑制,胞浆中的 P65 含量回升($P < 0.05$)。

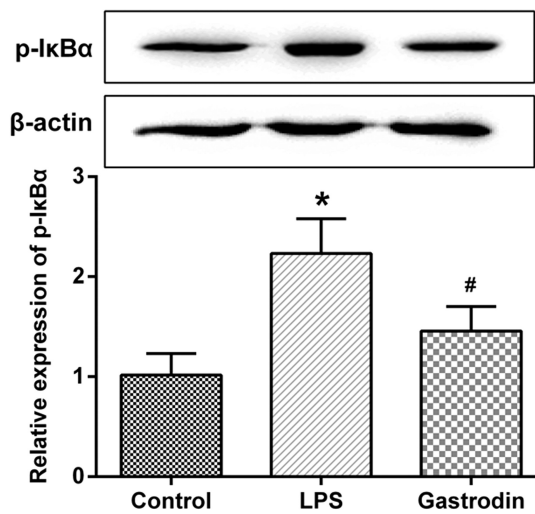


图 5 天麻素对 LPS 诱导的 BV-2 小胶质细胞 IκBα 磷酸化的影响($\bar{x} \pm s$)

Fig. 5 Effect of gastrodin on the phosphorylation of IκBα induced by LPS in BV-2 cells($\bar{x} \pm s$)

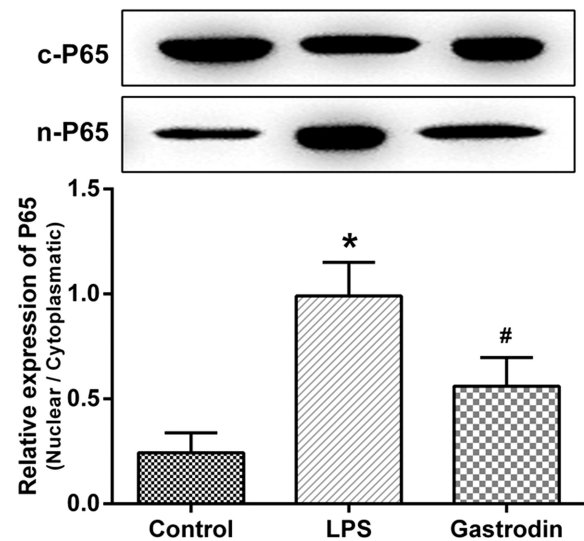


图 6 天麻素对 LPS 诱导的 BV-2 小胶质细胞 NFκB-P65 核转位的影响($\bar{x} \pm s$)

Fig. 6 Effect of gastrodin on the nuclear translocation of NFκB-P65 induced by LPS in BV-2 cells($\bar{x} \pm s$)

3 讨论

阿尔茨海默病是一种弥散性中枢神经退化性疾病,主要表现为进行性的认知功能下降,对患者的正常生活和心理健康造成了严重影响,随着我国逐渐步入老龄化社会,阿尔茨海默病患者人数逐年增加。研究表明小胶质细胞介导的神经炎症是阿尔茨海默病等多种中枢神经系统疾病的重要病理基础^[6]。生理情况下,小胶质细胞处于静息状态,在调节脑内环境,保护脑组织免受损害中发挥重要作用^[7]。当中枢神经系统受到刺激时,分枝状的小胶质细胞转变成活化状态的阿米巴样。大量活化的小胶质细胞介导了炎症因子的持续释放,最终导致或加重大脑损害^[8]。因此抑制小胶质细胞的活化以及相关的神经炎症反应可以有有效的保护中枢神经系统^[9]。

天麻是我国传统中药材,为兰科天麻属植物天麻的块茎。其有效成分天麻素,化学名称为对羟基苯甲醇—吡喃葡萄糖苷半水合物。以天麻素为主要成分的天麻素注射液在临床上广泛用于治疗失眠、高血压、冠心病、中风、眩晕、神经衰弱和老年痴呆等疾病。研究表明,天麻素可以通过抑制 A β 及其纤维斑块的形成而改善认知能力^[10],提示天麻素可作为阿尔茨海默病伴随的神经炎症的潜在治疗药物。

本文以经典的 LPS 诱导 BV-2 小胶质细胞炎症反应模型^[11]为研究对象,观察天麻素的抗神经炎症作用。前期预实验中,分别给予 BV-2 小胶质细胞 0.1、1、10 $\mu\text{mol/L}$ 天麻素处理,观察天麻素的细胞保护作用,预实验结果显示,10 $\mu\text{mol/L}$ 天麻素可以显著提高 BV-2 细胞的生存率,同时未发现细胞毒性。因此在本研究中确定天麻素的给药剂量为 10 $\mu\text{mol/L}$ 。结果表明,BV-2 细胞在 LPS 刺激后,细胞活性降低 ($65.46 \pm 3.70\%$),LDH 释放量增加 ($264.54 \pm 17.78 \text{ U/L}$),表明 LPS 对细胞产生了毒性反应,加重了细胞损伤。相比于模型组,给药组的细胞活性显著升高 ($74.33 \pm 4.22\%$, $P < 0.05$),LDH 释放量显著降低 ($173.88 \pm 15.23 \text{ U/L}$, $P < 0.05$),表明天麻素对 BV-2 小胶质细胞有保护作用。

IL-1 β , IL-6 和 TNF- α 等炎症因子是炎症反应的直接产物,当小胶质细胞发生活化后,产生大量的炎症因子,加重神经炎症反应。同时这些炎症因子也可进一步刺激小胶质细胞,诱导活化的小胶质细胞持续释放炎症因子^[7]。因此,抑制这些炎症因子的释放可以减轻神经炎症反应。在本研究中,模型组小胶质细胞在 LPS 刺激 24 h 后,细胞内炎症因子 RNA 水平分别升高至 $356.00 \pm 33.51 \text{ pg/mL}$, $601.33 \pm 60.68 \text{ pg/mL}$ 和 $299.46 \pm 31.26 \text{ pg/mL}$,给予 10 $\mu\text{mol/L}$ 天麻素刺激后,这些炎症因子水平显著降低 (分别为 $209.67 \pm 38.53 \text{ pg/mL}$, $402.33 \pm 50.52 \text{ pg/mL}$ 和 $175.67 \pm 30.53 \text{ pg/mL}$)。这些结果初步明确了天麻素的抗炎作用。

Iba-1 是小胶质细胞的特异性标志蛋白,其表达的高低可反应小胶质细胞的活化状态^[12]。免疫印迹结果显示,BV-2 小胶质细胞中 Iba-1 表达水平在 LPS 刺激后显著升高,表明细胞 LPS 诱导了小胶质细胞的活化。在天麻素处理后,Iba-1 表达水平相比模型组显著降低,说明天麻素是通过抑制小胶质细胞活化介导的炎症反应而发挥抗神经炎症作用的。

Toll 样受体(Toll like receptors, TLRs)是存在于人细胞表面的一种模式识别受体,与先天性免疫密切相关^[13]。TLRs 及其下游通路的激活可诱导炎症因子、趋化因子等的表达,导致免疫疾病及炎症反应的发生。TLR4 在人体内分布广泛,尤其在脑组织包括星形胶质细胞和小胶质细胞中表达丰富^[14]。TLR4 参与脑组织病理损伤中小胶质细胞介导的神经毒性,在炎症反应中发挥重要作用^[15]。在本研究中,相比对照组,模型组 BV-2 小胶质细胞 TLR4 表达显著升高,而天麻素刺激后表达降低,表明激活的 TLR4 可被天麻素抑制。

小胶质细胞表面 TLR4 的表达增高,可以导致其下游 NF κ B 的激活^[16]。NF κ B 是炎症反应调节中关键的转录因子,包括 5 个家族成员: NF- κ B1 (p50)、NF- κ B2 (p52)、RelA(p65)、RelB 和 C-Rel。生理条件下,这些成员分子相互结合后在细胞浆与抑制因子 I- κ B 结合,呈无活性状态。在炎症因子及其他刺激因素的作用下,I- κ B 发生磷酸化并降解^[17],NF κ B 游离后从胞浆转入胞核中,结合在相应的 DNA 位点上,发挥中心性转录调控作用,从而参与诸多生理病理过程,如免疫应答、组织稳态、炎症反应等^[18]。研究表明,抑制该通路的激活可以缓解神经炎症反应^[19]。在本研究中,LPS 刺激后,BV-2 细胞中 I κ B α 的磷酸化水平显著升高,细胞浆中 NF κ B-P65 表达显著降低,同时细胞核中 NF κ B-P65 表达增高,说明 BV-2 细胞在 LPS 的诱导下,NF κ B 二聚体上的 I κ B α 降解,P65 发生核转位。而给予天麻素处理后,I κ B α 的磷酸化水平降低,胞浆中 NF κ B-P65 水平回升,胞核中 NF κ B-P65 表达被显著抑制,表明天麻素可以抑制 NF κ B 的激活而发挥抗炎作用。综上所述,天麻素可通过抑制小胶质细胞活化介导的炎症反应发挥抗神经炎症作用,其机制可能是通过抑制 TLR4/NF κ B 信号通路的激活,从而减少炎症因子的释放,减轻其对神经系统的损害,最终延缓阿尔茨海默病进程。

参考文献(References)

- [1] Athanasopoulos D, Karagiannis G, Tsolaki M. Recent Findings in Alzheimer Disease and Nutrition Focusing on Epigenetics [J]. Adv Nutr, 2016, 7(5): 917-927
- [2] Woodling N S, Wang Q, Priyam P G, et al. Suppression of Alzheimer-associated inflammation by microglial prostaglandin-E2 EP4 receptor signaling[J]. J Neurosci, 2014, 34(17): 5882-5894
- [3] Culbert A A, Skaper S D, Howlett D R, et al. MAPK-activated Protein Kinase 2 Deficiency in Microglia Inhibits Pro-inflammatory Mediator Release and Resultant Neurotoxicity [J]. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(33): 23658-23667
- [4] Chen L, Liu X, Wang H, et al. Gastrodin Attenuates Pentylentetrazole-Induced Seizures by Modulating the Mitogen-Activated Protein Kinase-Associated Inflammatory Responses in Mice[J]. Neurosci Bull, 2017, 33(3): 264-272
- [5] Zhou Nan-nan, Zhu Ran, Zhao Xue-mei, et al. Effect and mechanism of traditional Chinese herbs against A β expression in brain tissues of mice with Alzheimer's disease[J]. Chin J Pathol, 2016, 11: 780-785
- [6] Mrak R E. Microglia in Alzheimer Brain: A Neuropathological Perspective [J]. International Journal of Alzheimer's Disease, 2012, 2012: 1-6

- Patient-Based Factors With the Potential to Impact Patients' Satisfaction, Quality of Life Measures and Perceptions Toward Dental Implant Treatment[J]. *Implant Dent*, 2017, 26(4): 581-591
- [22] Ata-Ali J, Flichy-Fernández AJ, Alegre-Domingo T, et al. Impact of heavy smoking on the clinical, microbiological and immunological parameters of patients with dental implants: a prospective cross-sectional study[J]. *J Investig Clin Dent*, 2016, 7(4): 401-409
- [23] Cionca N, Hashim D, Cancela J, et al. Pro-inflammatory cytokines at zirconia implants and teeth. A cross-sectional assessment [J]. *Clin Oral Investig*, 2016, 20(8): 2285-2291
- [24] Duarte PM, Serrão CR, Miranda TS, et al. Could cytokine levels in the peri-implant crevicular fluid be used to distinguish between healthy implants and implants with peri-implantitis? A systematic review[J]. *J Periodontol Res*, 2016, 51(6): 689-698
- [25] Escalante MG, Eubank TD, Leblebicioglu B, et al. Comparison of Azithromycin and Amoxicillin Before Dental Implant Placement: An Exploratory Study of Bioavailability and Resolution of Postoperative Inflammation[J]. *J Periodontol*, 2015, 86(11): 1190-1200
- [26] Yaghobee S, Khorsand A, Rasouli Ghohroudi AA, et al. Assessment of interleukin-1beta and interleukin-6 in the crevicular fluid around healthy implants, implants with peri-implantitis, and healthy teeth: a cross-sectional study [J]. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*, 2014, 40(5): 220-224
- [27] Stavroullakis A, Brito C, Chen HY, et al. Dental implant surface treatments may modulate cytokine secretion in *Porphyromonas gingivalis*-stimulated human gingival fibroblasts: a comparative study [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2015, 103(3): 1131-1140
- [28] Bönmicke W, Gabbert O, Koob A, et al. Comparison of immediately loaded flapless-placed one-piece implants and flapped-placed conventionally loaded two-piece implants, both fitted with all-ceramic single crowns, in the posterior mandible: 3-year results from a randomised controlled pilot trial[J]. *Eur J Oral Implantol*, 2017, 10(2): 179-195
- [29] Ziebolz D, Klipp S, Schmalz G, et al. Comparison of different maintenance strategies within supportive implant therapy for prevention of peri-implant inflammation during the first year after implant restoration. A randomized, dental hygiene practice-based multicenter study[J]. *Am J Dent*, 2017, 130(4): 190-196
- [30] Chen Z, Chen D, Zhang S, et al. Antibiotic prophylaxis for preventing dental implant failure and postoperative infection: A systematic review of randomized controlled trials [J]. *Am J Dent*, 2017, 30(2): 89-95

(上接第 1023 页)

- [7] Li Y, Xu L, Zeng K, et al. Propane-2-sulfonic acid octadec-9-enylamide, a novel PPAR α / γ dual agonist, protects against ischemia-induced brain damage in mice by inhibiting inflammatory responses [J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2017 [Epub ahead of print]
- [8] Zhang M, Wu X, Xu Y, et al. The cystathionine β -synthase/hydrogen sulfide pathway contributes to microglia-mediated neuroinflammation following cerebral ischemia[J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2017 [Epub ahead of print]
- [9] Simmons L J, Surles-Zeigler M C, Li Y, et al. Regulation of inflammatory responses by neuregulin-1 in brain ischemia and microglial cells in vitro involves the NF-kappa B pathway[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2016, 13: 237
- [10] Zhou Nan-nan, Zhu Ran, Zhao Xue-mei, et al. Effect and mechanism of gastrodin inhibiting β -amyloid plaques in brain of mice [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2016, 51(4): 588-594
- [11] Li N, Liu B, Ren W, et al. GLP-2 Attenuates LPS-Induced Inflammation in BV-2 Cells by Inhibiting ERK1/2, JNK1/2 and NF-k B Signaling Pathways [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(2): 190
- [12] Biasibetti H, Pierozan P, Rodrigues A F, et al. Hypoxanthine Intrastriatal Administration Alters Neuroinflammatory Profile and Redox Status in Striatum of Infant and Young Adult Rats [J]. *Molecular Neurobiology*, 2017, 54(4): 2790-2800
- [13] Shi Y W, Zhang X C, Chen C, et al. Schisantherin A attenuates ischemia/reperfusion-induced neuronal injury in rats via regulation of TLR4 and C5aR1 signaling pathways [J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2017[Epub ahead of print]
- [14] Wu Y, Li W, Zhou C, et al. Ketamine Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Astrocytes Activation by Suppressing TLR4/NF- κ B Pathway [J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2012, 30(3): 609-617
- [15] Zhou H, Yang W, Li Y, et al. Oleoylethanolamide attenuates apoptosis by inhibiting the TLR4/NF- κ B and ERK1/2 signaling pathways in mice with acute ischemic stroke [J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2017, 390(1): 77-84
- [16] Xu Y, Yang B, Hu Y, et al. Wogonin prevents TLR4-NF- κ B-mediated neuro-inflammation and improves retinal ganglion cells survival in retina after optic nerve crush [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(45): 72503-72517
- [17] Jiang X, Zhou Y, Wu K K L, et al. APPL1 prevents pancreatic beta cell death and inflammation by dampening NF κ B activation in a mouse model of type 1 diabetes[J]. *Diabetologia*, 2017, 60(3): 464-474
- [18] Pan N, Lu L, Li M, et al. Xylometolol B alleviates cerebral infarction and neurologic deficits in a mouse stroke model by suppressing the ROS/TLR4/NF- κ B inflammatory signaling pathway [J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2017 [Epub ahead of print]
- [19] Zhou C, Zhu Y, Zhao P, et al. Propofol Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Responses in Spinal Astrocytes via the Toll-Like Receptor 4/MyD88-Dependent Nuclear Factor- κ B, Extracellular Signal-Regulated Protein Kinases1/2, and p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Pathways[J]. *Anesthesia & Analgesia*, 2015, 120(6): 1361-1368