

· 基础研究 ·

脑膜淋巴管转运功能障碍加重脂多糖诱导的小鼠中枢炎症

谢 雯,董洪权,侍崇龙,金文杰*

南京医科大学第一附属医院麻醉科,江苏 南京 210029

[摘要] 目的:探讨脑膜淋巴管(meningeal lymphatic vessel, mLV)转运功能障碍对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的小鼠中枢神经系统炎症的影响。方法:①16只C57BL/6雄性小鼠随机分为4组,Control组腹腔注射生理盐水,LPS组分别腹腔注射LPS(2 mg/kg)12、24、72 h,而后观察小鼠mLV转运功能、海马区小胶质细胞(microglial, MG)活化、白介素(interleukin, IL)-6和IL-1 β 水平。②将8只小鼠随机分为2组,分别为Control组和VEGFR3抑制剂MAZ51组,观察MAZ51对mLV转运功能的影响。③将24只小鼠分为4组,分别为Control组、MAZ51组、LPS组、LPS+MAZ51组,对MAZ51组和LPS+MAZ51组预先腹腔注射MAZ51(10 mg/kg),每周5 d,共30 d,6周后对LPS组和LPS+MAZ51组注射LPS,1 d后行为学实验评估小鼠的逃避恐惧能力;免疫组化检测MG活化情况;ELISA法检测IL-6、IL-1 β 的表达量。结果:小鼠腹腔注射LPS 24 h后脑膜LYVE-1面积和颈深淋巴结内OVA-647面积明显减少($P < 0.01$),72 h内均低于基础水平($P < 0.01$),24 h后海马MG活化、IL-6和IL-1 β 均明显增加($P < 0.01$)。与Control组相比,MAZ51组OVA-647荧光面积显著减少($P < 0.01$)。LPS组小鼠海马区MG活化和IL-6、IL-1 β 的表达相对Control组均明显增加($P < 0.01$)且小鼠僵直时间明显降低($P < 0.01$);与LPS组相比,LPS+MAZ51组小鼠海马区MG活化和炎症因子的表达均增加($P < 0.01$)且僵直时间明显减少($P < 0.01$)。结论:mLV转运障碍通过增加炎性介质聚积,活化MG,加重LPS诱导的小鼠中枢炎症和认知功能障碍。

[关键词] 脑膜淋巴管;小胶质细胞;白介素-6;白介素-1 β ;MAZ51;脂多糖

[中图分类号] R512.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2023)07-927-07

doi:10.7655/NYDXBNS20230705

Meningeal lymphatic vessel transport dysfunction exacerbates LPS-induced central inflammation in mice

XIE Wen, DONG Hongquan, SHI Chonglong, JIN Wenjie*

Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** To explore the effects of meningeal lymphatic vessel transport dysfunction on lipopolysaccharide (LPS)-induced central nervous system inflammation in mice. **Methods:** Firstly, sixteen C57BL/6 mice were randomly divided into four groups, normal saline was injected intraperitoneally in the Control group. The LPS groups were injected intraperitoneally with LPS (2 mg/kg), and then the transport function of meningeal lymphatic vessels, activation of microglia and levels of interleukin-6 (IL-6) and interleukin-1 β (IL-1 β) in the hippocampus were observed after 12 h, 24 h and 72 h. Secondly, eight mice were randomly assigned to two groups: Control group and VEGFR3 inhibitor MAZ51 group, to observe the effects of MAZ51 on the transport function of meningeal lymphatic vessels. Finally, twenty-four mice were divided into four groups as follows: control group, MAZ51 group, LPS group, and LPS+MAZ51 group. MAZ51 (10 mg/kg) was preinjected intraperitoneally into MAZ51 group and LPS+MAZ51 group for five days per week with a total of 30 days. After six weeks, LPS was injected into LPS group and LPS+MAZ51 group. A day later, behavioral experiments that assess the ability of mice to escape from fear were conducted; the activation of microglia in the hippocampus was measured by immunohistochemistry; the expression of IL-6 and IL-1 β was evaluated by ELISA method. **Results:** The area of LYVE-1 in meninges and the area of OVA-647 in the deep cervical lymph nodes were significantly decreased 24 h after intraperitoneal injection of LPS ($P < 0.01$), and were lower than the basal level for 72 h ($P < 0.01$). The activation of microglia and levels of IL-6 and IL-1 β in the hippocampus were significantly increased after 24 h ($P < 0.01$). Compared with the control group, the area of OVA-647 fluorescence in the MAZ51 group was significantly reduced ($P < 0.01$). The activation of microglia and the expression of inflammatory factors in the

[基金项目] 江苏省自然科学基金青年基金(BK20171088)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: kinwj210@126.com

hippocampus of mice in the LPS+MAZ51 group were increased ($P < 0.01$) and the freezing time was significantly reduced ($P < 0.01$).

Conclusion: The impairing transport function of meningeal lymphatic vessels aggravates LPS-induced central inflammation and cognitive dysfunction in mice by increasing inflammatory mediator accumulation and activating microglia.

[Key words] meningeal lymphatic vessels; microglia; IL-6; IL-1 β ; MAZ51; LPS

[J Nanjing Med Univ, 2023, 43(07):927-933]

固有免疫激活是神经系统疾病病理过程的重要组成部分。中枢神经系统(central nervous system, CNS)的稳态与固有免疫的平衡息息相关^[1]。失调的CNS固有免疫参与多种CNS疾病的发生和发展。研究CNS与固有免疫之间的关系,有助于更好地了解神经系统疾病的发病机制,制定有效的治疗策略。

小胶质细胞(microglia, MG)是大脑固有免疫系统的主要细胞成分,受到压力、脑外伤、感染等刺激时被激活并向受损细胞游走迁徙,吞噬死去的细胞^[2]。大脑受损时,损伤相关分子模式(damage-related molecular pattern, DAMP)和病原相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)等作用于MG,产生活性氧、补体和促炎细胞因子,如白介素(interleukin, IL)-6、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)等,导致大脑功能进一步受损^[3]。MG的活化和促炎细胞因子的释放在中枢炎症中发挥核心作用。适当的中枢炎症可以促进细胞碎片的清除和组织修复,恢复神经元稳态并保护神经元的完整性^[4]。过度且持续的中枢炎症活化MG,促炎细胞因子大量释放,激活MG的神经毒性作用^[5]。大量证据表明,中枢炎症是CNS疾病中最常见的病理之一^[6-8]。因此,调控中枢炎症对于治疗CNS疾病具有重要的意义。

近几年的研究表明,脑膜淋巴管(meningeal lymphatic vessel, mLV)参与大脑中大分子毒性介质、免疫细胞、细胞碎片等物质的清除和引流^[9-10]。Absinta等^[11]通过体内磁共振成像的技术证实人类mLV的存在。mLV存在于硬脑膜中,表达淋巴管内皮细胞的特异性标志物:血管内皮生长因子受体3(vascular endothelial growth factor receptor 3, VEGFR3)和淋巴管内皮细胞透明质酸受体1(lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1, LYVE-1),受到血管内皮生长因子C(vascular endothelial growth factor C, VEGF-C)/VEGFR3信号的持续调控^[10]。它能够将外周免疫细胞、细胞因子、大分子蛋白和CNS衍生的抗原从脑膜间质和脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)中引流至颈深淋巴结(deep cervical

lymph node, dCLN),随后进入外周器官代谢清除。脑膜淋巴系统对于清除大脑中的 β -淀粉样蛋白(amyloid β , A β)、细胞外tau蛋白和 α -突触核蛋白至关重要^[12-14]。mLV转运功能损害可导致神经毒性物质的积累,导致认知功能障碍。然而,mLV转运功能在中枢炎症中的作用仍然知之甚少。

VEGFR3是一种酪氨酸激酶受体,它与VEGF-C结合可诱导淋巴管内皮细胞的增殖和迁移,从而促进淋巴管生成。MAZ51是VEGFR3选择性抑制剂,能够抑制mLV生成^[15]。本研究通过腹腔注射LPS建立小鼠中枢炎症模型^[16-17],观察中枢炎症对mLV的影响,使用VEGFR3抑制剂MAZ51抑制mLV生成,阐明mLV功能障碍对中枢炎症的影响,为临床治疗CNS疾病提供新思路。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

采用成年雄性SPF级C57BL/6小鼠(6~8周龄)建立模型。实验小鼠购于维通利华,放置在标准实验室条件中饲养[(25 \pm 2) $^{\circ}$ C, 12 h昼夜循环光照],自由饮水摄食。小鼠适应性饲养1周后进行实验。所有动物实验均经南京医科大学实验动物使用与管理委员会批准(批准号:IACUC-2008037)。

1.1.2 主要试剂与仪器

小鼠IL-6、IL-1 β Quantikine ELISA检测试剂盒(R&D公司,美国);LPS来自大肠杆菌0111:B4(Sigma Aldrich公司,美国);Iba-1抗体(Wako公司,日本);LYVE-1抗体(Abcam公司,美国);OVA-647(Thermo Fisher Scientific公司,美国);RIPA缓冲液(上海碧云天公司);蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂(Roche公司,瑞士);DAPI染液(Abcam公司,美国);脑立体定位仪(深圳瑞沃德公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及给药方法

首先将16只C57BL/6小鼠随机分为4组,LPS组12只,分别腹腔注射LPS(2 mg/kg), 12、24、72 h

后各取4只进行实验。Control组4只给予相同体积的生理盐水腹腔注射,作为对照。

其次将8只小鼠随机分为2组,分别为Control组和MAZ51组,将MAZ51溶解于二甲亚砜中,以10 mg/kg腹腔注射,持续30 d,每周5 d,共6周,对照组给予相同体积的二甲亚砜^[15]。42 d后枕大池注射荧光标记蛋白OVA-647(3 μ L),1 h后处死小鼠,取dCLN、硬脑膜进行分析。

另取24只小鼠随机分为Control组、MAZ51组、LPS组、LPS+MAZ51组,每组6只。用相同的方法腹腔注射MAZ51,42 d后将小鼠放入行为学仪器中进行训练,30 min后对LPS组和LPS+MAZ51组腹腔注射LPS,其余两组注射相同体积的生理盐水。1 d后进行行为学实验,实验结束后处死小鼠,取海马进行分析。

1.2.2 脑枕大池立体定位注射

腹腔注射50 mg/kg戊巴比妥钠麻醉小鼠,颈部皮肤剃毛消毒后放入脑立体定位仪中并三角固定。切开皮肤,暴露枕大池,用Hamilton微量注射器吸取OVA-647(3 μ L)以2 μ L/min的速率注入枕大池中。注射后,将注射器停留在原处2 min,以免CSF回流,然后缝合颈部皮肤,让小鼠在加热垫上恢复至完全清醒。

1.2.3 免疫荧光染色

麻醉小鼠后剪开颈部皮肤,向下牵拉胸锁乳突肌,暴露dCLN并用镊子取出,放入4%多聚甲醛中固定24 h,用20%和30%的蔗糖梯度脱水后连续冰冻切片(厚度10 μ m),用PBS洗去残余OCT包埋胶后DAPI封片。取完dCLN后用生理盐水和4%多聚甲醛灌注心脏,剪去颈部肌肉,剥出头盖骨,放入4%多聚甲醛中固定24 h,PBS洗涤1遍,在显微镜下用镊子剥出硬脑膜,贴在载玻片上,烘干。

LYVE-1染色:脑膜用PBS洗涤后,在室温下用含2 g/L Triton X-100牛血清白蛋白孵育1 h,加入带有红色荧光基团的兔抗-LYVE-1(1:200),在4 $^{\circ}$ C冰箱中孵育过夜,次日用PBS洗涤(5 min \times 3次)后,用DAPI封片。

封片后使用Thunder Imager快速高分辨倒置荧光成像系统(LEICA公司,德国)扫描拍照。计算mLV内皮细胞标志物LYVE-1荧光面积以及淋巴结内OVA-647荧光占整个淋巴结面积的百分比。

1.2.4 免疫组织化学染色

用戊巴比妥钠麻醉小鼠后,用生理盐水和4%

多聚甲醛进行灌注,取出大脑,用4%多聚甲醛固定24 h,蔗糖溶液梯度脱水,待沉底后用OCT胶包埋脑组织,固定后连续切片(厚度10 μ m),选出海马切片,用PBS清洗后在常温下放入3% H_2O_2 中浸泡10 min,洗涤后用5% BSA封闭液中封闭1 h,加入用1% BSA稀释后的一抗(1:200),在4 $^{\circ}$ C冰箱中过夜,次日用PBS洗涤3次后加入相应的二抗,孵育1 h后PBS洗涤3次,用DAPI封片。选取海马CA1和CA3区拍照。细胞计数应用NIH Image J软件。

1.2.5 ELISA

使用小鼠IL-6、IL-1 β Quantikine ELISA试剂盒测量小鼠海马组织匀浆中细胞因子IL-6、IL-1 β 水平。具体步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.2.6 逃避恐惧实验

逃避恐惧实验用来评估小鼠的海马依赖性记忆。训练小鼠将无条件刺激(足部电击)和条件刺激(音调)与环境联系起来。先进行训练,将小鼠放入TFC仪器中自由探索100 s,然后给予小鼠听觉刺激20 s(80 db,5 kHz),后立即给予足底电击(0.8 mA),重复2次,中间间隔100 s。刺激结束后30 min腹腔注射LPS,1 d后评估小鼠学习恐惧的情景记忆,通过视频跟踪软件(Xeye Fcs,北京天鸣鸿远科技发展有限公司)自动记录小鼠300 s内除呼吸以外没有任何运动的僵直反应时间。

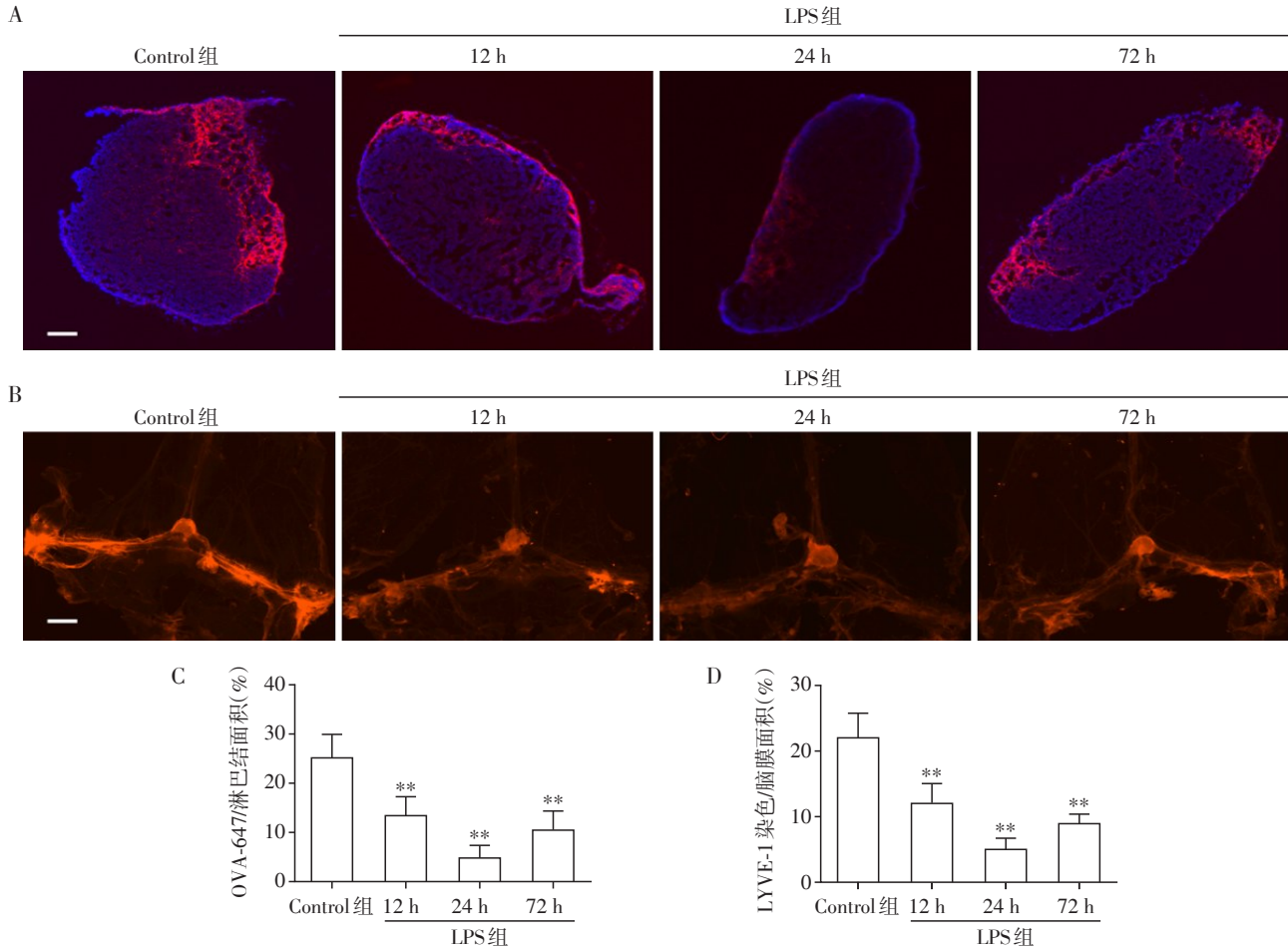
1.3 统计学方法

采用SPSS 25.0软件行统计学分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析和 t 检验确定差异显著性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LPS腹腔注射对mLV转运功能的影响

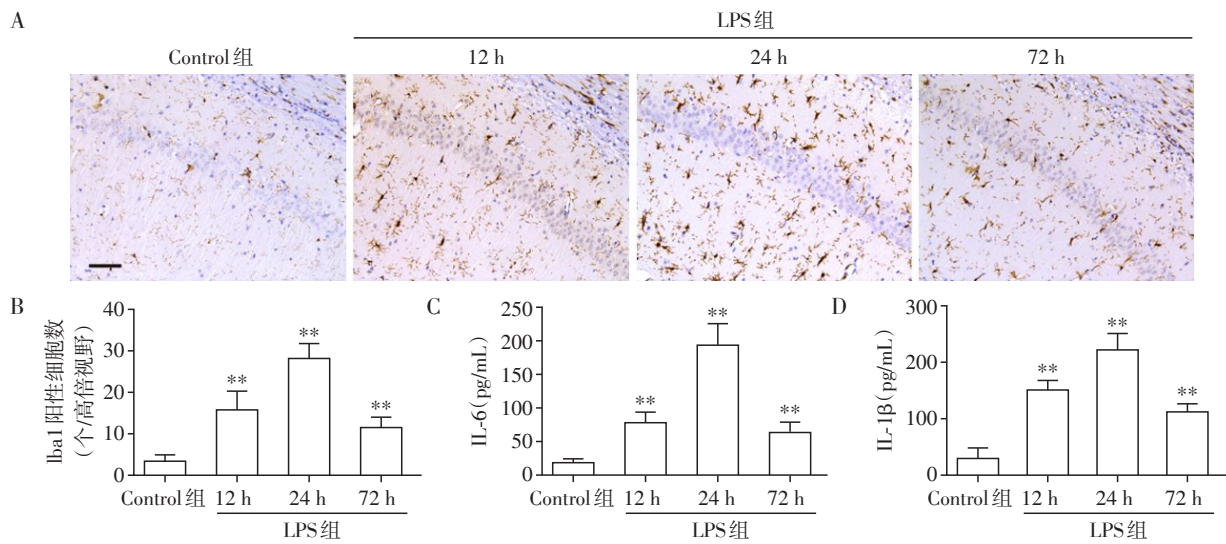
小鼠腹腔注射LPS,12、24、72 h后于枕大池中注射OVA-647(3 μ L),取脑膜和dCLN进行分析,如图1所示,与Control组相比,LPS组小鼠脑膜中mLV标志物LYVE-1面积、dCLN的OVA-647荧光面积明显减少,差异具有统计学意义,其中24 h时达到最低,72 h时面积有所回升,仍低于基础水平。取小鼠海马分析MG活化情况和炎症因子水平,MG活化标志物Iba-1、炎症因子IL-6、IL-1 β 水平在24 h达到最高($P < 0.01$,图2),72 h回落,说明LPS导致mLV转运功能下降,并随着时间有所恢复。



A、C: OVA-647 占颈深淋巴结面积的情况($\times 50, n=4$); B、D: 免疫荧光检测脑膜淋巴管内皮细胞标志物 LYVE-1 的表达情况($\times 100, n=3$)。与 Control 组相比, $^{**}P < 0.01$ 。

图1 LPS处理对小鼠脑膜淋巴管转运功能的影响

Figure 1 Effects of LPS treatment on the transport function of meningeal lymphatic vessels



A: 免疫组化检测海马区小胶质细胞活化标志物 Iba-1 的表达情况($\times 200$); B: Iba-1 阳性细胞数统计; C: 小鼠海马区 IL-6 的表达; D: 小鼠海马区 IL-1 β 的表达。与 Control 组相比, $^{**}P < 0.01 (n=3)$ 。

图2 LPS处理对海马小胶质细胞活化和炎症因子的影响

Figure 2 Effects of LPS treatment on microglia activation and inflammatory factors in the hippocampus

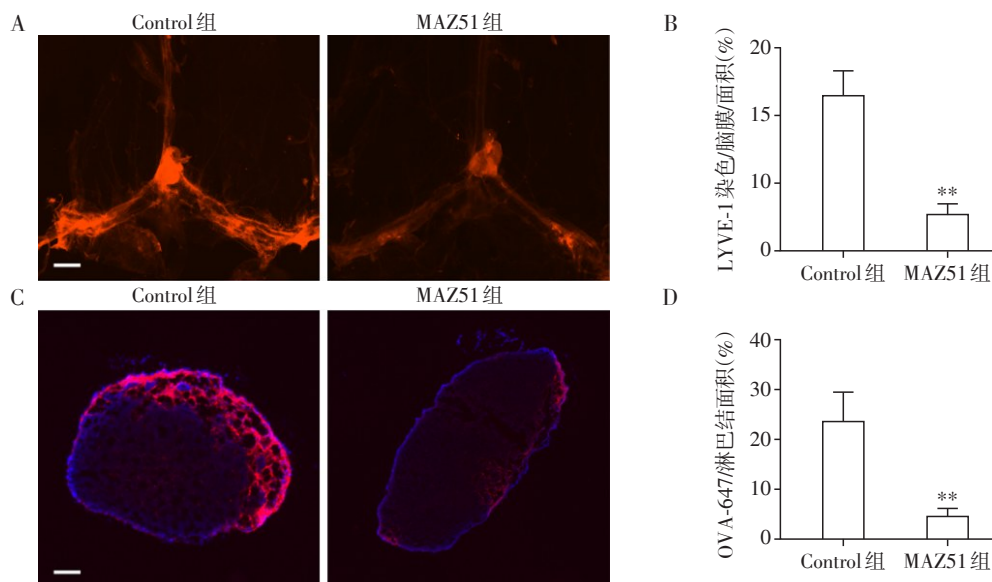
2.2 VEGFR3抑制剂可影响mLV转运功能

小鼠腹腔注射 VEGFR3 抑制剂 MAZ51, 42 d 后检测 mLV 的转运功能。如图 3 所示, 与 Control 组相比, MAZ51 组的 mLV 内皮细胞标志物 LYVE-1 荧光面积显著减少, OVA-647 面积减少, 提示 VEGFR3

抑制剂通过抑制 mLV 的生成来降低 mLV 的转运功能。

2.3 VEGFR3抑制剂促进LPS诱导的MG激活

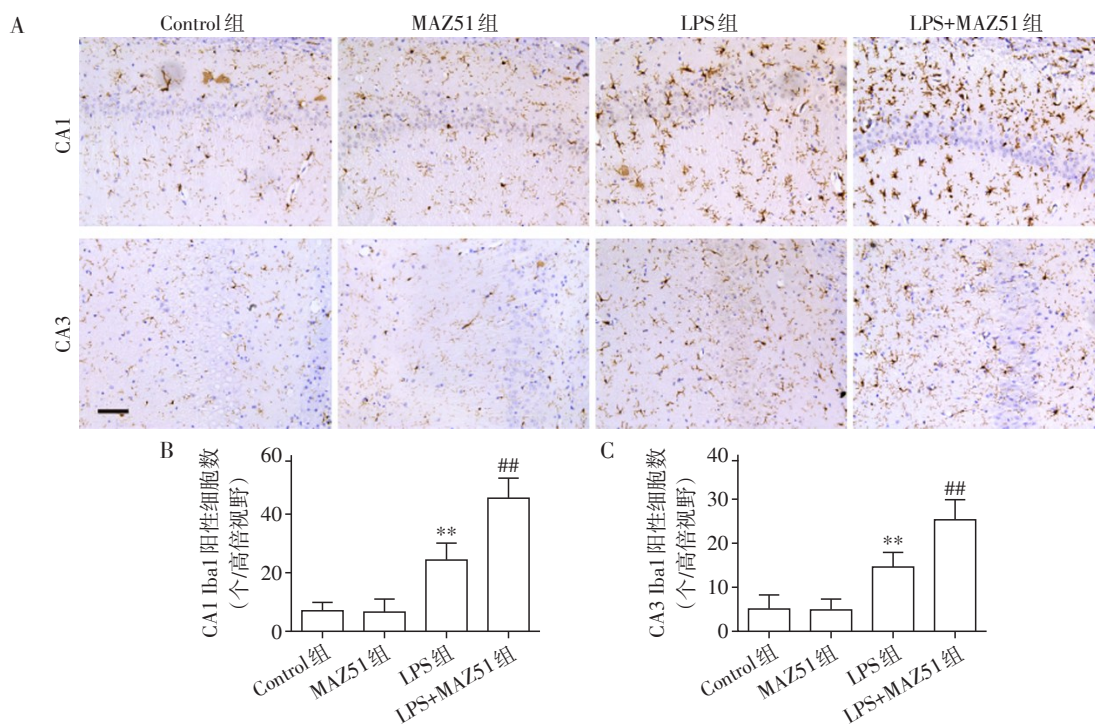
小鼠腹腔注射 MAZ51 后, 腹腔注射 LPS, 检测海马 MG 的活化情况。如图 4 所示, MAZ51 组的海



A、B:免疫荧光检测 LYVE-1 的表达情况($\times 50, n=3$);C、D:OVA-647 占颈深淋巴结面积的情况($\times 100, n=4$)。与 Control 组相比,** $P < 0.01$ 。

图3 MAZ51对脑膜淋巴管转运功能的影响

Figure 3 Effects of MAZ51 on the transport function of meningeal lymphatic vessels



A:免疫组化染色检测海马CA1和CA3区小胶质细胞标志物Iba-1的表达情况($\times 200$);B、C:CA1(B)和CA3(C)中Iba-1阳性细胞数统计。与Control组相比,** $P < 0.01$;与LPS组相比,## $P < 0.01$ ($n=4$)。

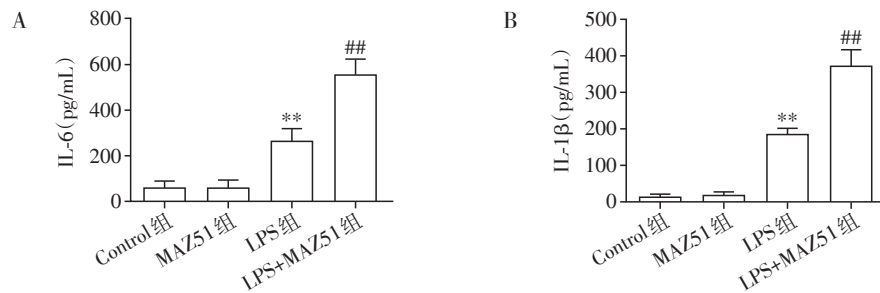
图4 MAZ51对小胶质细胞活化的影响

Figure 4 Effects of MAZ51 on the activation of microglia

马CA1、CA3区Iba-1表达量与Control组相比无差异。LPS组Iba-1表达相比Control组大幅提高,而LPS+MAZ51组Iba-1表达相比LPS组则进一步提高,提示预先注射MAZ51导致淋巴功能下降会进一步增加LPS引起的MG活化。

2.4 VEGFR3抑制剂可影响炎症因子的释放

通过ELISA测定小鼠海马区IL-6和IL-1 β 的含量。结果如图5所示,LPS和LPS+MAZ51组海马区炎症因子表达增加;与LPS组相比,LPS+MAZ51组炎症因子表达显著增加。以上结果说明LPS促进海马炎症因子的释放,VEGFR3抑制剂加剧这一过程。



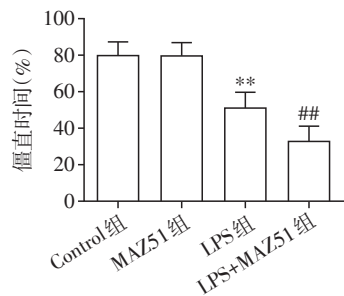
A:小鼠海马区IL-6的表达;B:小鼠海马区IL-1 β 的表达。与Control组相比,** $P < 0.01$;与LPS组相比,## $P < 0.01$ ($n=4$)。

图5 MAZ51对小鼠海马区炎症因子表达的影响

Figure 5 Effects of MAZ51 on expression of inflammatory cytokines in the hippocampus of mice

2.5 VEGFR3抑制剂可以加重LPS诱导的小鼠恐惧记忆损伤

许多疾病和状态都会出现mLV的损伤,伴随认知功能障碍,如阿尔兹海默症和衰老^[18],为此,本研究进行逃避恐惧实验评估小鼠的认知功能。如图6所示,MAZ51组小鼠并未出现恐惧记忆损伤,LPS组则出现明显的恐惧记忆损伤,僵直时间减少,LPS+MAZ51组小鼠僵直时间相比LPS组显著缩短,说明MAZ51导致的淋巴管转运功能下降加重LPS对认知功能的损伤。



与Control组相比,** $P < 0.01$;与LPS组相比,## $P < 0.01$ ($n=6$)。

图6 MAZ51加重LPS诱导的小鼠恐惧记忆损伤

Figure 6 MAZ51 exacerbates LPS-induced fear memory impairment in mice

3 讨论

本研究探讨了mLV转运功能障碍对LPS诱导的小鼠中枢炎症的影响。研究发现小鼠中枢炎症

模型建立后脑膜LYVE-1以及dCLN中OVA-647的荧光面积明显减少,mLV转运功能显著降低,1 d达到高峰,可至少持续3 d;同时伴有炎症因子IL-6、IL-1 β 的水平增加,MG活化标志物Iba-1表达增加。VEGFR3抑制剂MAZ51导致的mLV转运功能障碍可进一步升高海马中炎症因子IL-6、IL-1 β 的水平,促进MG活化,加重小鼠认知功能损伤。

CNS疾病是全世界死亡和残疾的主要原因。2016年全球疾病负担、伤害和风险因素研究分析发现CNS疾病是2016年全球第二大死因^[19]。中枢炎症是改善CNS疾病导致的认知功能损伤的重要靶点^[20]。研究表明,创伤性脑损伤前存在mLV功能障碍会导致与神经炎症和补体信号相关的基因在损伤后24 h表达升高^[15];对肝性脑病小鼠应用VEGF-C增强mLV功能可以降低促炎因子的表达^[21]。因此,本研究探讨mLV功能障碍对中枢炎症的影响。首先,本研究通过对小鼠腹腔注射LPS成功建立中枢炎症模型,并发现中枢炎症可以影响mLV转运清除功能,导致认知功能障碍。

为进一步研究的mLV功能障碍对中枢炎症的影响,本研究使用腹腔注射VEGFR3受体拮抗剂MAZ51,抑制mLV的转运功能,检测小鼠海马中IL-6和IL-1 β 的水平,以及MG活化情况。结果显示MAZ51组mLV标志物LYVE-1荧光面积相对于Control组显著减少,但海马炎症介质水平、MG活化水平以及小鼠行为学均无明显变化,提示年轻小鼠

mLV清除大分子毒性物质的功能由血脑屏障、自噬等途径代偿。中枢炎症会破坏血脑屏障,导致线粒体功能障碍, $A\beta$ 、 τ 等大分子毒性物质难以从脑实质中排出^[22-23]。mLV功能障碍导致脑实质/脑间质液大分子流出和进入dCLN减少,排出中枢大分子毒性物质的功能进一步下降^[18]。本研究结果还显示,与LPS组相比,注射MZA51的小鼠用LPS处理后,海马炎症因子水平增加,MG活化增多,与认知损伤趋势一致,说明预先存在的mLV功能损伤导致大分子毒性物质在脑内累积,引起IL-6、IL-1 β 等炎症介质在海马中聚集,诱导MG活化,使LPS处理后的小鼠更容易出现认知功能障碍。

综上所述,LPS诱导的中枢炎症损害mLV转运功能,而mLV功能损伤增加IL-6和IL-1 β 聚集,增加MG活化,加重LPS诱导的认知功能障碍。但是除了影响炎症介质聚积和MG活化,mLV损伤是否通过影响其他通路对中枢炎症产生作用,目前尚不清楚,未来还需更多的实验进行分析和判断。

[参考文献]

- [1] HENEKA M T, KUMMER M P, LATZ E. Innate immune activation in neurodegenerative disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(7): 463-477
- [2] KETTENMANN H, HANISCH U K, NODA M, et al. Physiology of microglia [J]. *Physiol Rev*, 2011, 91(2): 461-553
- [3] BECHER B, SPATH S, GOVERMAN J. Cytokine networks in neuroinflammation [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(1): 49-59
- [4] DEGAN D, ORNELLO R, TISEO C, et al. The role of inflammation in neurological disorders [J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(14): 1485-1501
- [5] BUTOVSKY O, WEINER H L. Microglial signatures and their role in health and disease [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2018, 19(10): 622-635
- [6] BRAMBILLA R. Neuroinflammation, the thread connecting neurological disease: cluster: "Neuroinflammatory mechanisms in neurodegenerative disorders" [J]. *Acta Neuropathol*, 2019, 137(5): 689-691
- [7] GILHUS N E, DEUSCHL G. Neuroinflammation-a common thread in neurological disorders [J]. *Nat Rev Neurol*, 2019, 15(8): 429-430
- [8] KWON H S, KOH S H. Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: the roles of microglia and astrocytes [J]. *Transl Neurodegener*, 2020, 9(1): 42
- [9] ASPELUND A, ANTILA S, PROULX S T, et al. A dural lymphatic vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules [J]. *J Exp Med*, 2015, 212(7): 991-999
- [10] LOUVEAU A, SMIRNOV I, KEYES T J, et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels [J]. *Nature*, 2015, 523(7560): 337-341
- [11] ABSINTA M, HA S K, NAIR G, et al. Human and nonhuman primate meninges harbor lymphatic vessels that can be visualized noninvasively by MRI [J]. *Elife*, 2017, 6: 29738
- [12] DING X B, WANG X X, XIA D H, et al. Impaired meningeal lymphatic drainage in patients with idiopathic Parkinson's disease [J]. *Nat Med*, 2021, 27(3): 411-418
- [13] PATEL T K, HABIMANA-GRIFFIN L, GAO X, et al. Dural lymphatics regulate clearance of extracellular tau from the CNS [J]. *Mol Neurodegener*, 2019, 14(1): 11
- [14] WANG L, ZHANG Y, ZHAO Y, et al. Deep cervical lymph node ligation aggravates AD-like pathology of APP/PS1 mice [J]. *Brain Pathol*, 2019, 29(2): 176-192
- [15] BOLTE A C, DUTTA A B, HURT M E, et al. Meningeal lymphatic dysfunction exacerbates traumatic brain injury pathogenesis [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 4524
- [16] BATISTA C R A, GOMES G F, CANDELARIO-JALIL E, et al. Lipopolysaccharide-induced neuroinflammation as a bridge to understand neurodegeneration [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(9): 2293
- [17] IP J P, NOÇON A L, HOFER M J, et al. Lipocalin 2 in the central nervous system host response to systemic lipopolysaccharide administration [J]. *J Neuroinflammation*, 2011, 8: 124
- [18] DA MESQUITA S, LOUVEAU A, VACCARI A, et al. Functional aspects of meningeal lymphatics in ageing and Alzheimer's disease [J]. *Nature*, 2018, 560(7717): 185-191
- [19] GBD 2016 NEUROLOGY COLLABORATORS. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990-2016: a systematic analysis for the global burden of disease study 2016 [J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(5): 459-480
- [20] 侍崇龙,董洪权,金文杰. α -FMH抑制小胶质细胞的活化改善大鼠相关炎症与认知功能障碍[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2021, 41(4): 561-521
- [21] HSU S J, ZHANG C, JEONG J, et al. Enhanced meningeal lymphatic drainage ameliorates neuroinflammation and hepatic encephalopathy in cirrhotic rats [J]. *Gastroenterology*, 2021, 160(4): 1315-1329
- [22] FUJIMOTO T, MOROFUJI Y, KOVAC A, et al. Pitavastatin ameliorates lipopolysaccharide-induced blood-brain barrier dysfunction [J]. *Biomedicines*, 2021, 9(7): 837
- [23] HARLAND M, TORRES S, LIU J, et al. Neuronal mitochondria modulation of LPS-induced neuroinflammation [J]. *J Neurosci*, 2020, 40(8): 1756-1765

[收稿日期] 2022-09-26

(责任编辑:蒋莉)