

· 基础研究 ·

消退素 D1 通过影响小胶质细胞代谢抑制神经炎症改善阿尔茨海默病认知功能

张本峥, 张 蒙, 任怡稚, 赵晓晶, 张志远*

南京医科大学基础医学院病理学系, 江苏 南京 210029

[摘要] 目的: 观察消退素 D1(reslovin D1, RvD1)对 A β 诱导的小胶质细胞炎症激活和代谢紊乱的影响以及对阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)转基因小鼠认知功能的影响。方法: 培养小胶质细胞株 BV2, 予以脂多糖(LPS)、淀粉样蛋白(amyloid β , A β)和 RvD1 处理, 使用 RT-PCR 方法观察 Nod 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(Nod-like receptor pyrin domain-containing protein 3, NLRP3)炎症小体的表达, 使用共聚焦显微镜观察细胞线粒体形态学改变。通过给予 AD 转基因小鼠腹腔内连续 10 d 注射 RvD1 5 mg/(kg·d), 分别使用免疫组织化学染色(IHC)、免疫荧光(IF)、实时荧光定量 PCR(RT-PCR)方法观察 AD 小鼠海马区 NLRP3 炎症小体通路、小胶质细胞标记物(Iba1)以及线粒体代谢调控相关因子的表达变化, 并通过条件恐惧测试(FCT)探究其对于 AD 小鼠行为学的影响。结果: RvD1 抑制了小胶质细胞 NLRP3 炎症小体激活。RvD1 处理后小胶质细胞线粒体形态结构由异常的点状碎片状变为正常的条索状。RvD1 治疗后, AD 小鼠海马区 NLRP3 以及 Iba1 表达水平显著降低, 同时线粒体代谢紊乱得到改善, 并且认知功能得到恢复。结论: RvD1 可能通过改善小胶质细胞线粒体代谢紊乱, 抑制神经炎症, 最终提高 AD 小鼠的认知功能。

[关键词] 消退素 D1; NLRP3 炎症小体; 线粒体; 阿尔茨海默病; 认知

[中图分类号] R749.16

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2019)05-629-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20190501

RvD1 improves cognitive function in Alzheimer's disease via influencing microglia metabolism and inhibiting neuroinflammation

Zhang Benzhen, Zhang Meng, Ren Yizhi, Zhao Xiaojing, Zhang Zhiyuan*

Department of Pathology, School of Basic Medicine, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of reslovin D1 (RvD1) on A β -mediated inflammasome activation and metabolic disturbance of microglia and cognitive function in AD transgenic mice. **Methods:** Firstly, microglia (BV2 cell line) was cultured and treated with LPS, A β and RvD1. By RT-PCR technique and confocal microscopy, we observed the activation of Nod-like receptor pyrin domain-containing protein 3 (NLRP3) inflammasome and changes of mitochondrial morphology, respectively. Moreover, continuous intraperitoneal injection of RvD1 5 mg/(kg·d) for 10 days was performed to AD transgenic mice. IHC, IF and RT-PCR were used to observe the activation of NLRP3 inflammasome, microglial marker (Iba1) and expression of mitochondrial metabolism-related factors. Ultimately, behavioral effect on AD mice was tested by fear conditioning test (FCT). **Results:** RvD1 inhibited the activation of the NLRP3 inflammation. After RvD1 applied, mitochondria morphology in microglia changed from dot fragment to strip shape. Compared with AD mice, AD mice treated with RvD1 revealed lower NLRP3 and Iba1 expression, improved mitochondrial metabolic disturbance in hippocampus and better cognitive function. **Conclusion:** RvD1 improves cognitive function in AD mice via alleviating the disturbance of mitochondria metabolism and inhibiting the activation of NLRP3 inflammasome in microglia.

[Key words] reslovin D1; NLRP3 inflammasome; mitochondria; Alzheimer's disease; cognitive function

[J Nanjing Med Univ, 2019, 39(05): 629-635]

[基金项目] 国家自然科学基金(81571240)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: zzy@njmu.edu.cn

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种神经退行性疾病,淀粉样蛋白($\text{amyloid } \beta, \text{A}\beta$)刺激小胶质细胞激活导致的神经炎症在AD的病理进程中起关键作用^[1]。作为脑内的“免疫细胞”,小胶质细胞可以吞噬脑内的毒性物质A β ,但这种吞噬同时会导致小胶质细胞本身的过度激活,引起小胶质细胞内溶酶体破裂,进而激活 nod 样受体热蛋白结构域相关蛋白3(nod-like receptor pyrin domain-containing protein3, NLRP3)炎症小体,导致神经炎症^[2]。

NLRP3 炎症小体是目前研究最为广泛的神经炎症相关信号通路之一,已有大量文献提示 NLRP3 炎症小体激活途径与AD等诸多神经退行性疾病有关^[3-5]。它由 Nod 样受体家族的 NLRP3、凋亡相关的斑点样蛋白 ASC 以及 Caspase-1 组成。NLRP3 与 ASC 相互作用可以激活 Caspase-1,裂解白介素(IL)-1 β 前体并产生炎症因子 IL-1 β 成熟体,进而引起脑内炎症和组织损伤。这个过程同时伴有更多的小胶质细胞激活,进一步放大炎症造成的损伤^[6]。

另外,已有研究发现,A β 毒性造成的线粒体功能紊乱以及大脑能量代谢失调在AD发病机制中起着明显作用。在淀粉样前体蛋白(APP)转基因小鼠脑内存在线粒体功能紊乱和线粒体形态改变,而以上线粒体的异常又可以进一步增加毒性A β 聚积,形成恶性循环^[7]。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助因子1(PGC1)主要在转录水平上控制线粒体生物合成,并且其活性与线粒体能量代谢密切相关^[8];线粒体融合蛋白(OPA1)是介导线粒体融合的关键蛋白,对于维持线粒体的稳定和抑制活性氧(ROS)的产生具有重要作用。在细胞及动物模型上,PGC1与OPA1表达水平的变化已经被证明与AD密切相关^[9]。

消退素 D1(resolvin D1, RvD1)是一种由 ω -3 脂肪酸衍生的内源性抗炎脂质分子,主要发挥促进炎症主动消退的作用,RvD1已被发现在诸多慢性炎症性疾病,如风湿性关节炎、炎症性肠病和哮喘中有良好的治疗作用^[10]。然而,RvD1对于AD的作用目前研究较少。

本研究利用AD转基因小鼠以及A β 刺激BV2细胞,通过体内体外实验证明RvD1可以抑制A β 引起的小胶质细胞NLRP3炎症小体的激活和线粒体紊乱,最终提高AD小鼠的认知功能。

1 材料和方法

1.1 材料

AD 转基因小鼠(Thy1-APP_{KM670/671NL}; Thy-1-

PS1_{L166P})购于南京大学动物模式研究所,体重25~30 g,适宜温度、湿度环境饲养,自由取食、取水,通风良好,小鼠8月龄时进行实验;BV2小胶质细胞系获自南京医科大学基础医学院神经生物学系,胎牛血清和RPMI1640培养基(Gibco公司,美国),100 U/L青霉素和100 mg/mL链霉素(Hyclone公司,美国)。RvD1溶液(#10012554, Cayman Chemical公司,德国)。

1.2 方法

1.2.1 A β 寡聚体的制备与鉴定

将A β_{1-42} 冻干粉(上海强耀生物公司)溶解于六氟异丙醇(1,1,1,3,3,3-hexafluoro, HFIP)中至浓度为1 mmol/L。在化学通风橱中将HFIP完全蒸发后-80℃保存备用。聚合过程中先将蒸发后的A β 用DMSO溶解至5 mmol/L,再用RPMI1640培养基稀释至200 μ mol/L,4℃孵育24 h后,14 000 r/min离心取上清即为可溶性A β_{1-42} 寡聚体,将上清转移至新的EP管中4℃保存,去除离心管下部不溶的纤维体。

1.2.2 BV2细胞系的培养及干预

BV2细胞是小鼠源性永生化的小胶质细胞,培养于正常含有10%胎牛血清的RPMI1640培养基中,按 1×10^5 个/cm²接种于12孔板中过夜,将细胞随机分为5组:对照组、脂多糖(LPS)预处理组、LPS持续处理组、LPS+A β 处理组、RvD1+LPS+A β 处理组,每组设置3个复孔。其中LPS浓度为1 μ g/mL,A β 浓度为10 μ mol/L,RvD1浓度为10 nmol/L。给药方法如下:LPS预处理为4 h,LPS持续处理为28 h,LPS+A β 处理组为LPS处理4 h后再给予A β 处理24 h,RvD1+LPS+A β 处理组为LPS和A β 处理前给予RvD1处理30 min。

1.2.3 AD转基因小鼠分组及干预

将本次实验用到的8月龄AD转基因雌性小鼠随机分为对照组与治疗组,每组24只。治疗组小鼠给予RvD1治疗[5 mg/(kg·d)],连续10 d腹腔内注射;对照组连续10 d腹腔注射等量生理盐水。

1.2.4 实时荧光定量PCR(gRT-PCR)检测

BV2细胞NLRP3、ASC、Caspase-1的mRNA表达水平通过qRT-PCR进行检测(引物序列见表1,由苏州GENEWIZ公司合成)。利用TRIzol试剂(南京翼飞雪公司)对上述组织、细胞样本进行总RNA提取。检测RNA纯度指标 $D(260 \text{ nm})/D(280 \text{ nm})$ 比值于1.8~2.0之间,用逆转录试剂盒(南京Vazyme Biotech公司)在42℃ 60 min,85℃ 5 s条件下进行cDNA合成,用Light Cycler 96实时荧光定量仪器(Roche公司,瑞士)进行cDNA扩增。反应采用20 μ L

体系:2 μL引物、3 μL超纯水、5 μL cDNA、10 μL qPCR Master Mix (Without ROX) (南京 Vazyme Biotech公司)在95 °C 10 s,60 °C 10 s,72 °C 20 s条件下进行40个循环。每个样本设置3个复孔,β-actin作为内参基因,mRNA的水平用相对表达量 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 进行比较, $\Delta\Delta C_T=(\text{治疗组的目的基因 } C_T\text{值}-\text{治疗组内参基因 } C_T\text{值})-(\text{对照组的目的基因 } C_T\text{值}-\text{对照组内参基因 } C_T\text{值})$ 。

表1 引物序列
Table 1 Primer sequence

基因名	引物序列(5'→3')
NLRP3	F:TGCTCTTCACTGCTATCAAGCCCT R:ACAAGCCTTTGCTCCAGACCCTAT
ASC	F:GACAGTGCAACTGCGAGAAG R:CGACTCCAGATAGTAGCTGACAA
Caspase-1	F:AATACAACCACTCGTACACGTC R:AGCTCCAACCTCGGAGAAA
PGC1-α	F:AAGTGGTGTAGCGACCAATCG R:AATGAGGGCAATCCGTCTTCA
PGC1β	F:GCCCTGTCCCAGAGTGAAAG R:GCATGTAGCGAATGAGCTGTA
OPA1	F:TGGAAAATGGTTCGAGAGTCAG R:CATTCCGTCTCTAGGTTAAAGCG
β-actin	F:TGGAATCCTGTGGCATCCATGAAA R:TAAAACGCAGCTCAGTAACAGTCCG

1.2.5 免疫组织化学染色(IHC)检测

用1%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉小鼠,剪开胸腔暴露心脏,剪断下腔静脉,经左心室灌注PBS以及4%多聚甲醛。灌注完成后剖取整个脑组织,置于4%多聚甲醛溶液中4 °C冰箱过夜。用PBS洗涤后,置于含0.02% NaN₃的保存液内。此后,将脑组织依次经过脱水、透明、浸蜡、包埋,制作石蜡切片。石蜡切片切至5 μm的冠状切片,并经脱蜡、用5%BSA室温封闭2 h,一抗Iba1抗体(1:1 000,#Ab178847,Abcam公司,美国)孵育2 h,二抗室温孵育2 h后,PBST洗涤后二氨基联苯胺(DAB)(上海基因科技公司)避光显色,观察Iba1表达变化。利用Image J软件进行图像的分析处理。

1.2.6 免疫荧光(IF)检测

①动物脑组织荧光成像:同上方法取脑组织置于4%多聚甲醛中固定。随后将脑组织依次进行蔗糖梯度脱水、OCT胶包埋。放于冰冻切片(Leica公司,德国)切至25 μm冠状面连续切片,收集脑片,用PBST洗涤脑片,5%BSA常温1 h封闭,一抗NL-

RP3(#Ab4207,Abcam公司,美国)4 °C孵育24 h后,PBST洗涤3遍,荧光二抗避光常温孵育1 h,PBST洗涤后加入DAPI(#HY-D0814,MCE公司,中国)孵育10 min,PBST洗涤3遍后,贴片封片,镜下观察。②BV2细胞线粒体共聚焦荧光成像:将培养的BV2细胞以 1×10^5 个/mL的密度种于共聚焦皿,24 h后弃去原有的培养基,予以含有DAPI与Mito-Tracker Red(#M7513,Thermo Fisher公司,美国)的培养基孵育20 min。随后用完全培养基洗涤细胞,进行共聚焦成像,观察线粒体形态改变。

1.2.7 条件恐惧(FCT)检测

条件恐惧实验分为环境学习与记忆测试两个阶段。①环境-声音学习阶段:将转基因AD小鼠放入FCT条件恐惧箱体内,适应180 s后,给予30 s、90 dB、5 000 Hz的声音刺激,声音刺激结束后紧跟2 s、0.8 mA不可逃避的足底部电击刺激,以上声音和电击刺激为第1组刺激,间隔100 s后进行第2组刺激。两组刺激结束后将小鼠继续放置在箱体内停留60 s后取出。学习当日记为第0天,学习阶段后的第7天进行记忆测试。②认知记忆测试阶段:环境测试:将学习后第10天的小鼠放入之前相同的条件恐惧箱体内,不给予任何刺激,观察小鼠300 s内小鼠保持僵直状态的时间。声音测试:在环境测试结束2 h后,将小鼠放置于与之前空间构造完全不同的箱体内,适应180 s后给予相同声音信号30 s,间隔60 s后再给予相同声音信号30 s,间隔60 s后第3次给予声音信号30 s,停留60 s后取出,记录4.5 min内小鼠的僵直时间及百分比。

1.3 统计学方法

实验数据采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)或均数±标准误($\bar{x} \pm s_x$)表示,应用SPSS22.0统计,组间比较采用单因素方差分析。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

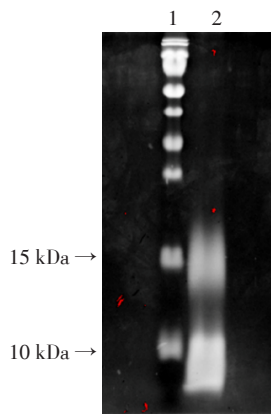
2 结果

2.1 Aβ寡聚体的制备和鉴定

对制备好的Aβ寡聚体进行SDS-PAGE蛋白免疫印迹方法及考马斯亮蓝染色发现,Aβ寡聚体分子量多在10~15 kDa之间,即Aβ寡聚体制备成功(图1)。

2.2 RvD1抑制了Aβ激活的小胶质细胞NLRP3/ASC/Caspase1炎症信号通路

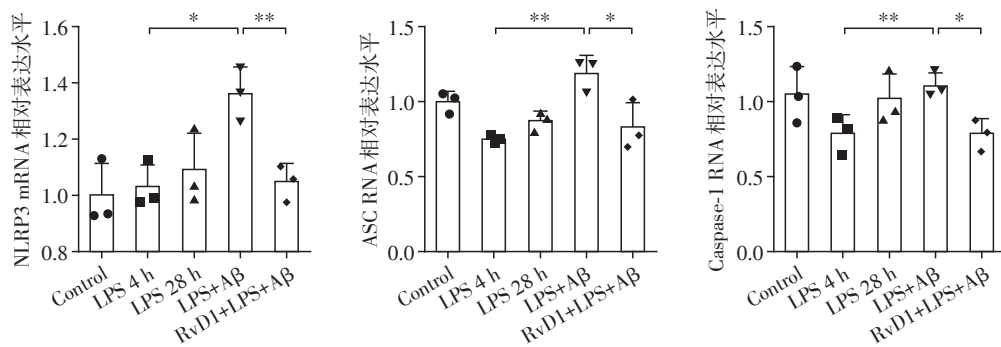
BV2细胞系被广泛用于小胶质细胞信号通路的研究。实验结果显示LPS+Aβ处理组对比LPS预处理组,BV2细胞中NLRP3、ASC、Caspase1的mRNA表达水平显著升高($P < 0.05$,图2)。给予RvD1处



考马斯亮蓝染色SDS-PAGE胶鉴定Aβ寡聚体;1:为蛋白marker;2:均为制备的Aβ₁₋₄₂,可以看到Aβ₁₋₄₂多集中于10~15 kDa左右,即证实为Aβ₁₋₄₂寡聚体。

图1 Aβ寡聚体的制备与验证

Figure 1 Preparation and identification of Aβ oligomer



两组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$, $n=3$ 。

图2 RvD1抑制了Aβ激活的小胶质细胞NLRP3/ASC/Caspase1炎症信号通路

Figure 2 RvD1 inhibited Aβ induced activation of NLRP3/ASC/Caspase1 inflammation signaling pathway in microglia

了AD小鼠脑内小胶质细胞的激活以及炎症水平的升高($P < 0.05$,图4)。

2.5 RvD1缓解AD小鼠海马区线粒体关键酶的紊乱

AD小鼠经RvD1治疗后,海马区OPA1、PGC1α、PGC1β的mRNA表达量明显上升,提示AD小鼠脑内由Aβ引起的线粒体功能紊乱得到了明显缓解($P < 0.05$,图5)。

2.6 RvD1缓解了AD小鼠的认知能力障碍

在条件恐惧实验中,与AD对照组相比较,RvD1治疗组AD小鼠的认知能力障碍得到显著改善。对比AD对照组,治疗组小鼠环境状态下的僵直明显升高,提示经过RvD1治疗后,AD小鼠海马区依赖的认知记忆功能得到改善($P < 0.05$,图6A、B);而不依赖海马区的声音线索相关的声音信号下的僵直两组之间未见明显差异,提示RvD1对于依赖海马区的认知记忆功能有治疗作用(图6A、C)。

理后,Aβ激活的NLRP3、ASC、Caspase1的mRNA表达水平被显著抑制($P < 0.05$,图2)。

2.3 RvD1改善了小胶质细胞的线粒体形态

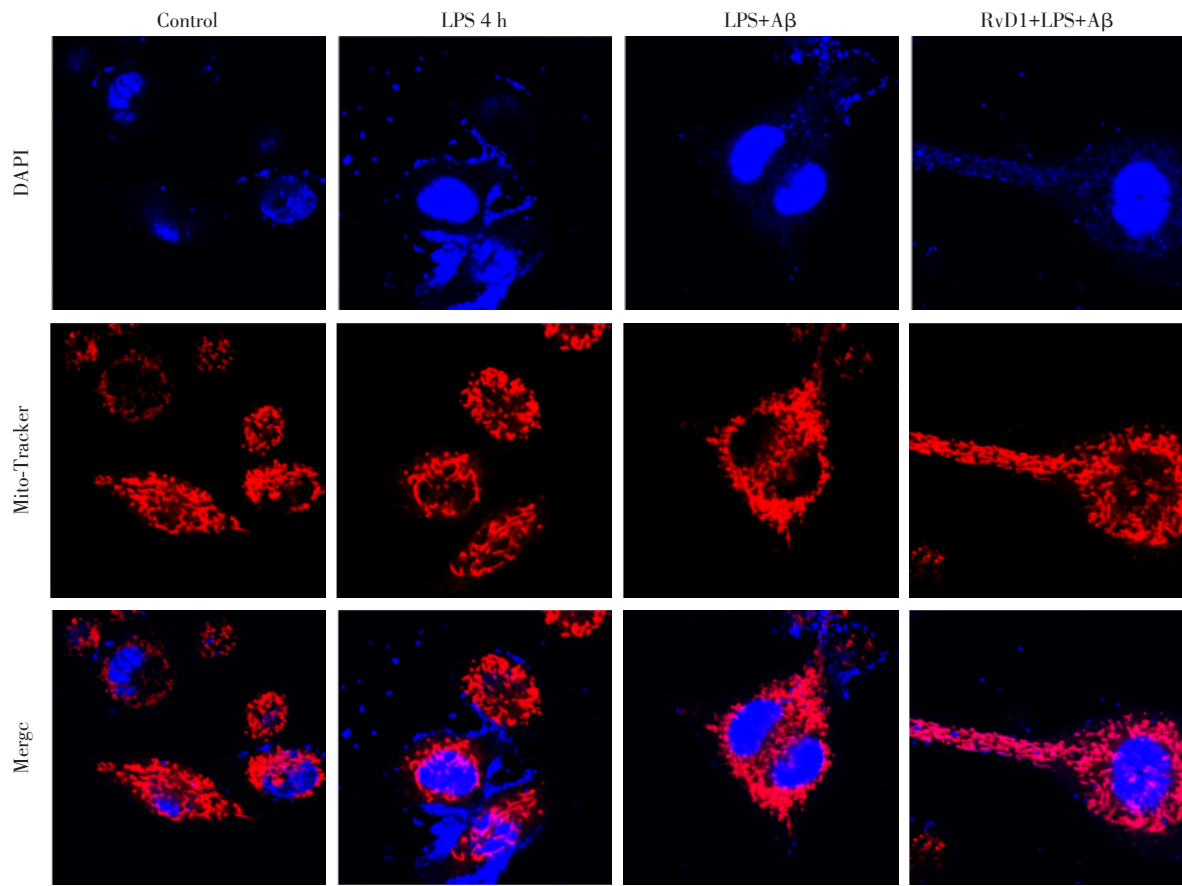
共聚焦显微镜观察结果显示,对照组BV2细胞线粒体形态呈条索状并且分布良好,在给予LPS+Aβ刺激后形成团状、散点状,提示线粒体聚集、碎裂,预示着线粒体功能以及细胞能量供应呈现病理状态;而RvD1治疗组BV2细胞线粒体恢复为条索状并且分布良好,预示细胞线粒体功能以及细胞能量供应有恢复的趋势(图3)。

2.4 RvD1抑制了AD小鼠海马区小胶质细胞及NLRP3炎症小体的激活

免疫组化检测结果显示,RvD1腹腔注射10d后,AD小鼠脑内Iba1⁺小胶质细胞数量明显减少,NLRP3⁺细胞数量也明显降低,表明RvD1有效抑制

3 讨论

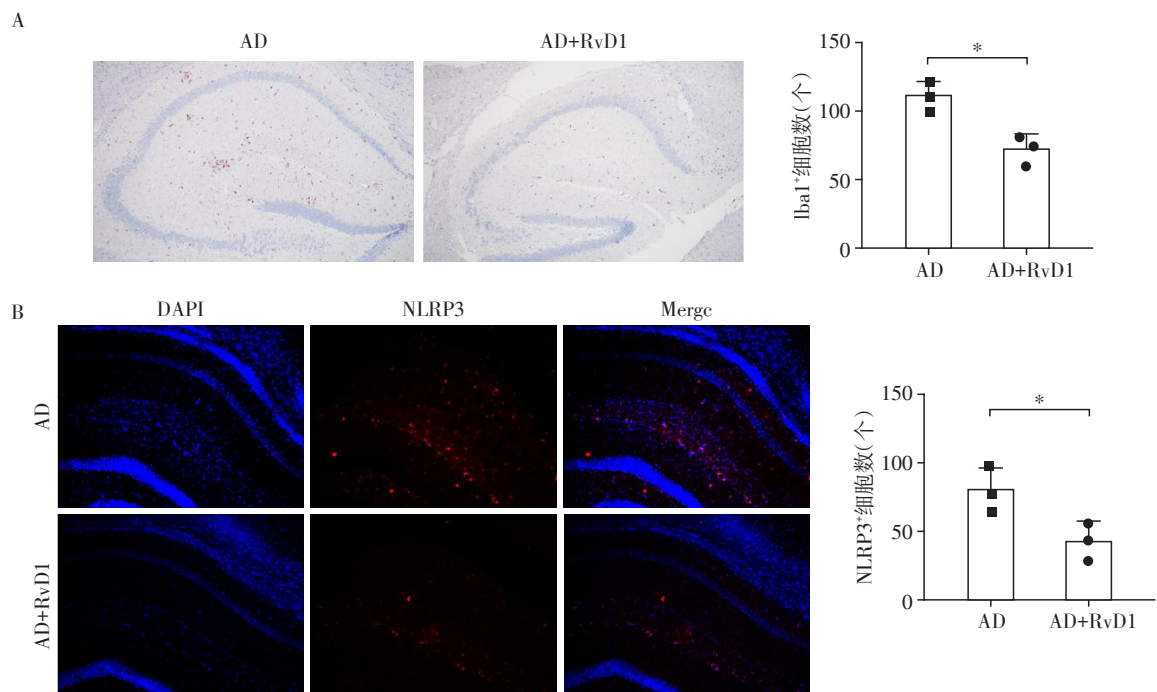
小胶质细胞是重要的神经系统特异性免疫细胞,对维持中枢神经系统稳态发挥着重要作用。然而,如小胶质细胞长期处于Aβ、α突触核蛋白等毒性蛋白刺激中,小胶质细胞内的NLRP3炎症信号通路将会激活,并引起下游炎症因子的释放,即小胶质细胞向M1型转化,进而造成中枢的炎症损伤^[11]。Everts等^[12]发现LPS刺激下小胶质细胞的激活经历了两个阶段:第1个阶段为线粒体功能正常时,小胶质细胞以氧化磷酸化和糖酵解共同作为能量供应的阶段(M2型主要代谢方式);第2个阶段为线粒体功能受损时,以糖酵解为主要能量供应的阶段(M1型主要代谢方式)^[12-13]。因此,小胶质细胞线粒体功能正常与否,与小胶质细胞在神经炎症中发挥的作用密切相关。已有研究表明,Aβ可以引起小胶质细



共聚焦显微镜下观察线粒体形态改变。LPS+Aβ刺激后线粒体呈团状,散点状。对照组、RvD1处理组线粒体呈条索状。

图3 RvD1改善了AD小鼠小胶质细胞线粒体形态($\times 100$)

Figure 3 RvD1 improved mitochondrial morphology of microglia in AD mice ($\times 100$)



A: Iba1⁺细胞(免疫组化, $\times 10$); B: NLRP3⁺细胞(免疫荧光, $\times 10$)。两组比较, $P < 0.05$, $n=3$ 。

图4 RvD1抑制了AD小鼠海马区小胶质细胞及NLRP3炎症小体的激活

Figure 4 RvD1 suppressed the activation of microglia and NLRP3 inflammasome in AD mice

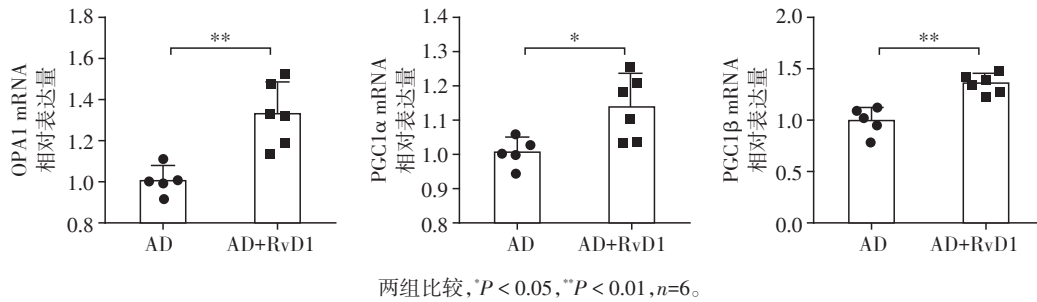
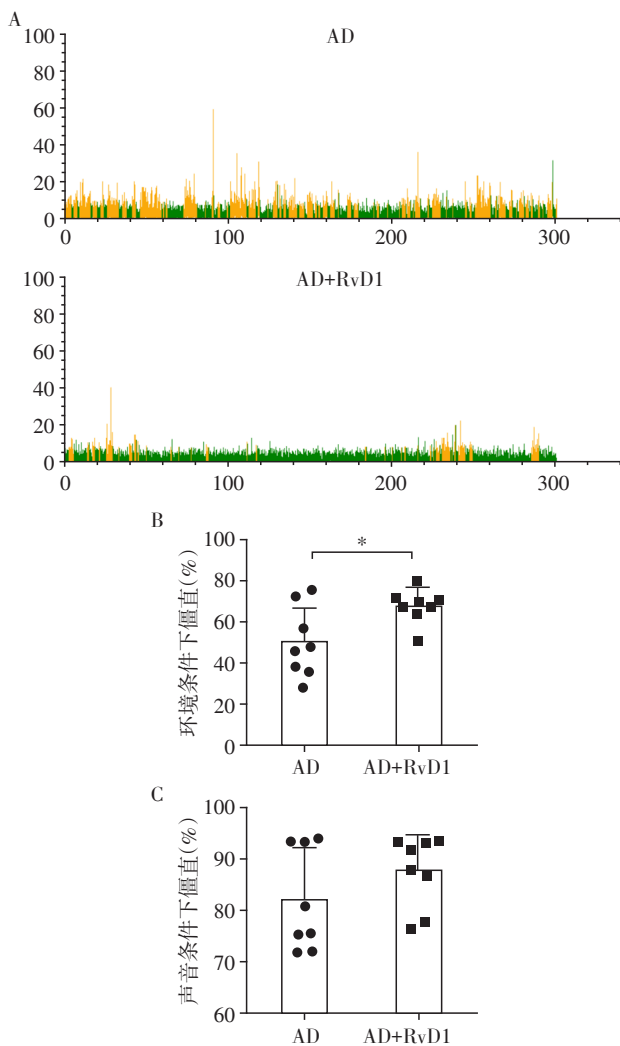


图5 RvD1抑制了AD小鼠海马区线粒体功能的紊乱

Figure 5 RvD1 suppressed the dysfunction of mitochondria in hippocampus of AD mice



A: 僵直状态示意图; B: 环境条件下 RvD1 增加僵直时间; C: 声音条件下 RvD1 未改变僵直时间。两组比较, * $P < 0.05$, $n=8$ 。

图6 RvD1改善了AD小鼠的认知功能障碍

Figure 6 RvD1 improved cognitive function in AD mice

胞线粒体受损,并且小胶质细胞内线粒体过多的ROS将导致更多核因子 κ B(NF- κ B)下游通路激活,加剧小胶质细胞的促炎效应^[14]。

本研究中荧光共聚焦成像同样发现毒性A β 能

够导致小胶质细胞线粒体形态改变。A β 处理的小胶质细胞线粒体呈现点状或碎片状,提示线粒体功能以及细胞能量供应呈现病理状态。给予RvD1治疗后,小胶质细胞线粒体形态得到明显改善。在mRNA水平上,给予RvD1治疗后,与线粒体能量代谢密切相关的PGC1和OPA1表达水平得到明显恢复。提示RvD1可以有效缓解小胶质细胞的线粒体结构异常和功能紊乱。

已有研究提出,小胶质细胞的能量代谢方式与小胶质细胞的表型转化有关^[15]。线粒体的功能和糖酵解率可以同时转录水平以及转录后水平影响小胶质细胞向促炎型转化^[16]。使用 γ 干扰素(IFN- γ)与LPS共同刺激所得的M1型小胶质细胞糖酵解相关酶活性进一步增强;而对比IL-4刺激下的M2小胶质细胞糖酵解明显减少、乳酸合成减少^[17]。以上研究结果提示线粒体功能障碍在小胶质细胞的表型转化中发挥重要作用。

因此,RvD1对AD的治疗作用很可能是通过提高PGC1及OPA1的表达水平,维持线粒体形态和功能的稳定,达到抑制NLRP3炎症小体激活的作用,使小胶质细胞表型更多向M2型转化进而改善AD的认知功能。但是RvD1如何通过改善小胶质细胞线粒体功能,最终影响其表型变化的详细机制仍需要进一步研究。

Sun等^[18]发现依赖海马的认知功能特别容易受到炎症的损伤,主要表现在环境相关认知功能障碍^[18-20]。本研究在行为学测试中发现,RvD1治疗组AD小鼠对依赖海马的环境认知功能明显强于对照组AD小鼠,而在非依赖海马的声音认知功能与对照组AD小鼠没有显著差异,与之前研究相符。

本研究证明RvD1可以有效改善AD小鼠的认知功能障碍,减少AD小鼠脑内激活的Iba1⁺小胶质细胞比例以及NLRP3炎症小体的激活。同时,在体外实验中发现,RvD1治疗不仅可以抑制NLRP3炎

症通路的激活,同时对于异常的线粒体形态有明显的改善作用。提示 RvD1 作为一种内源性抗炎脂质分子可以通过改善小胶质细胞线粒体代谢紊乱,抑制神经炎症,为改善 AD 认知功能障碍和延缓 AD 病程提供了可能的治疗思路。

[参考文献]

- [1] Hong S, Beja-Glasser VF, Nfonoyim BM, et al. Complement and microglia mediate early synapse loss in Alzheimer mouse models [J]. *Science*, 2016, 352 (6286) : 712-716
- [2] Heneka MT, Kummer MP, Latz E. Innate immune activation in neurodegenerative disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(7):463-477
- [3] Heneka MT, Kummer MP, Stutz A, et al. NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice [J]. *Nature*, 2013, 493(7434) : 674-678
- [4] Daniels MJ, Rivers-Auty J, Schilling T, et al. Fenamate NSAIDs inhibit the NLRP3 inflammasome and protect against Alzheimer's disease in rodent models [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12504
- [5] Song L, Pei L, Yao S, et al. NLRP3 Inflammasome in neurological diseases, from functions to therapies [J]. *Front Cell Neurosci*, 2017, 11(1) : 63
- [6] Strowig T, Henao-Mejia J, Elinav E, et al. Inflammasomes in health and disease [J]. *Nature*, 2012, 481(7381) : 278-286
- [7] Bell SM, Barnes K, Clemmens H, et al. Ursodeoxycholic acid improves mitochondrial function and redistributes drp1 in fibroblasts from patients with either sporadic or familial Alzheimer's disease [J]. *J Mol Biol*, 2018, 430 (21) : 3942-3953
- [8] West AP, Shadel GS, Ghosh S. Mitochondria in innate immune responses [J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11 (6) : 389-402
- [9] Yuk JM, Kim TS, Kim SY, et al. Orphan nuclear receptor ERR α controls macrophage metabolic signaling and A20 expression to negatively regulate TLR-induced inflammation [J]. *Immunity*, 2015, 43(1) : 80-91
- [10] Yin Y, Chen F, Wang W, et al. Resolvin D1 inhibits inflammatory response in STZ-induced diabetic retinopathy rats: Possible involvement of NLRP3 inflammasome and NF- κ B signaling pathway [J]. *Mol Vis*, 2017, 23: 242-250
- [11] 董银凤,邢青青,常瑶,等. ClC-3 氯通道调节氧糖剥夺所诱导的小胶质细胞的表型转化 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2016, 36(10) : 1192-1197
- [12] Everts B, Amiel E, Huang SC, et al. TLR-driven early glycolytic reprogramming via the kinases TBK1-IKK ϵ supports the anabolic demands of dendritic cell activation [J]. *Nat Immunol*, 2014, 15(4) : 323-332
- [13] Orihuela R, McPherson CA, Harry GJ. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states [J]. *Br J Pharmacol*, 2016, 173(4) : 649-665
- [14] Wang HM, Zhang T, Huang JK, et al. Edaravone attenuates the proinflammatory response in amyloid- β -treated microglia by inhibiting NLRP3 inflammasome-mediated IL-1 β secretion [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(3) : 1113-1125
- [15] Gimeno-Bayón J, López-López A, Rodríguez MJ, et al. Glucose pathways adaptation supports acquisition of activated microglia phenotype [J]. *J Neurosci Res*, 2014, 92 (6) : 723-731
- [16] Ghosh S, Castillo E, Frias ES, et al. Bioenergetic regulation of microglia [J]. *Glia*, 2018, 66(6) : 1200-1212
- [17] Voloboueva LA, Emery JF, Sun X, et al. Inflammatory response of microglial BV-2 cells includes a glycolytic shift and is modulated by mitochondrial glucose-regulated protein 75/mortalin [J]. *FEBS Lett*, 2013, 587(6) : 756-762
- [18] Sun L, Dong R, Xu X, et al. Activation of cannabinoid receptor type 2 attenuates surgery-induced cognitive impairment in mice through anti-inflammatory activity [J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1) : 138
- [19] Cibelli M, Fidalgo AR, Terrando N, et al. Role of interleukin-1beta in postoperative cognitive dysfunction [J]. *Ann Neurol*, 2010, 68(3) : 360-368
- [20] Terrando N, Yang T, Ryu JK, et al. Stimulation of the α 7 nicotinic acetylcholine receptor protects against neuroinflammation after tibia fracture and endotoxemia in mice [J]. *Mol Med*, 2015, 20: 667-675

[收稿日期] 2018-10-13