

. 实验研究 .

ADS032 对急性缺血性脑卒中小鼠的神经保护作用

黄 文 李明阳 张勇刚 熊晓星

【摘要】目的 探讨 ADS032 对小鼠急性缺血性脑卒中后神经功能的作用及机制。**方法** 将 100 只雄性 C57BL/6 小鼠随机划分为 5 组:假手术组、模型组及低、中、高剂量 ADS032 组,每组 20 只。线栓法构建右侧大脑中动脉栓塞模型模拟缺血性脑卒中,脑缺血后立即腹腔注射 ADS032 (50、100、200 mg/kg) 治疗 3 d (1 次/d),依据 Longa 评分评估小鼠神经功能,使用 TTC 染色评估脑梗死体积,免疫荧光染色法检测梗死侧小胶质细胞含量的变化,利用实时荧光定量 PCR 检测梗死侧脑组织抗炎因子白细胞介素 (IL)-4、IL-10 以及促炎因子 IL-18、IL-1 β 的表达,利用免疫印迹法检测 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NLRP3) 炎症小体、凋亡相关斑点样蛋白 (ASC) 以及 IL-18、IL-1 β 的表达。**结果** 与假手术组相比,模型组小鼠脑梗死明显 ($P<0.05$),神经功能缺损加重 ($P<0.05$),梗死侧脑组织小胶质细胞数量明显增加 ($P<0.05$),NLRP3、ASC、IL-18、IL-1 β 水平明显升高 ($P<0.05$),IL-4、IL-10 水平明显下降 ($P<0.05$)。与模型组相比,ADS032 明显减小脑梗死体积 ($P<0.05$),明显改善神经功能缺损 ($P<0.05$),明显减少梗死侧脑组织小胶质细胞数量 ($P<0.05$),明显减轻神经炎症反应、增加抗炎因子水平 ($P<0.05$),并且呈剂量依赖性。**结论** ADS032 对小鼠急性缺血性脑卒中中具有显著的神经保护作用,其机制可能与抑制炎症反应有关。

【关键词】 急性缺血性脑卒中; ADS032; 神经炎症; 神经保护作用; 小鼠

【文章编号】 1009-153X (2024) 07-0415-07 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 743

Neuroprotective effect of ADS032 on acute ischemic stroke in mice

HUANG Wen, LI Ming-yang, ZHANG Yong-gang, XIONG Xiao-xing. Department of Neurosurgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

【Abstract】 Objective To explore the effect and mechanism of ADS032 on neurological function in mice after acute ischemic stroke. **Methods** One hundred male C57BL/6 mice were randomly divided into five groups: sham operation group, model group, and low-, medium-, and high-dose ADS032 groups, with 20 mice in each group. The middle cerebral artery occlusion model was established by suture method to simulate ischemic stroke. After ischemia, ADS032 (50, 100, 200 mg/kg) was intraperitoneally injected once a day for 3 days. The neurological function of mice was evaluated according to the Longa score, the cerebral infarction volume was evaluated by TTC staining, the content of microglia in the infarcted cerebral tissues was detected by immunofluorescence staining, the expressions of anti-inflammatory factors interleukin (IL)-4, IL-10 and pro-inflammatory factors IL-18, IL-1 β in the infarcted cerebral tissues were detected by real-time fluorescent quantitative PCR, and the expressions of NOD-like receptor pyrin domain-containing protein 3 (NLRP3) inflammasome, apoptosis-associated speck-like protein (ASC), and IL-18, IL-1 β were detected by Western blotting. **Results** Compared with the sham operation group, the model group had significant cerebral infarction ($P<0.05$), aggravated neurological deficit ($P<0.05$), a significant increase in the number of microglia in the infarcted cerebral tissues ($P<0.05$), significantly increased levels of NLRP3, ASC, IL-18, and IL-1 β ($P<0.05$), and significantly decreased levels of IL-4 and IL-10 ($P<0.05$). Compared with the model group, ADS032 significantly reduced the cerebral infarction volume ($P<0.05$), significantly improved the neurological deficit ($P<0.05$), significantly reduced the number of microglia in the infarcted cerebral tissues ($P<0.05$), significantly alleviated the neuroinflammatory response, and increased the levels of anti-inflammatory factors ($P<0.05$), in a dose-dependent manner. **Conclusion** ADS032 has a significant neuroprotective effect on acute ischemic stroke in mice, and its mechanism may be related to the inhibition of inflammatory response.

【Key words】 Acute ischemic stroke; ADS032; Neuroinflammation; Neuroprotective effect; Mice

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2024.07.007

基金项目:国家自然科学基金(82371346;82171336);湖北省科技创新重大专项项目(2023BCB021);武汉大学自主科研项目(2042022kf1216)

作者单位:430060 武汉,武汉大学人民医院神经外科(黄文、李明阳、张勇刚、熊晓星)

通信作者:熊晓星, Email: xiaoxingxiong@whu.edu.cn

缺血性脑卒中是一种常见的脑血管疾病,其发病率和致残率居高不下,给病人生活质量和社会医疗负担带来了极大的影响^[1,2]。血管介入治疗及药物溶栓已经在临床上取得应用,但其治疗时间窗狭窄,因而脑卒中的有效治疗仍然有限,寻找新的治疗靶点并开发新的药物以改善脑卒中病人的预后具有重大临床意义^[3]。炎症作为脑卒中病理反应的一环发

挥重要作用,抑制缺血性脑卒中后伴随的神经炎症反应可以有效改善卒中小鼠的神经功能^[4, 5]。ADS032 是一种新开发的 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白(Nod-like pyrin domain-containing, NLRP) 1、NLRP3 双重抑制剂,可抑制炎症小体的组装及炎症介质的释放,明显减轻矽肺病小鼠模型的肺部炎症反应^[6]。本文探讨 ADS032 对小鼠急性缺血性脑卒中后神经功能的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 取 100 只雄性 C57BL/6 小鼠, 8~10 周龄,体重 20~24g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,在武汉大学人民医院动物实验中心进行适应性饲养 1 周后进行实验。

将 100 只雄性小鼠随机分为 5 组:假手术组,模型组,低剂量 ADS032 组,中剂量 ADS032 组,高剂量 ADS032 组,每组各 20 只。

1.2 模型制作及干预 按文献[7]报道的方法制作模型。用 5% 异氟烷诱导麻醉小鼠,并用 2% 异氟烷维持麻醉。剪开颈部皮肤及皮下组织,分离出颈总动脉、颈内动脉和颈外动脉,用 6.0 mm 线栓(美国 Doccoll 公司)沿颈内动脉插入以闭塞左侧大脑中动脉。使用恒温加热垫来监测和稳定小鼠体温在(37±0.5)°C。假手术组不进行线栓闭塞。造模后,模型组死亡 2 只,低、中、高剂量 ADS032 组分别死亡 2、1、1 只,每组均补齐。ADS032 组在造模后腹腔注射 ADS032(50、100、200 mg/kg)治疗 3 d(1 次/d);假手术组和模型组腹腔注射等体积生理盐水。

1.3 神经功能缺损评分 依据 Longa 评分进行神经功能缺损评分,其中 0 分,无神经功能缺损;1 分,右前爪未能充分舒展开来;2 分,向右打圈;3 分,向右侧倒下;4 分,无自发运动活动,意识障碍。

1.4 脑梗死体积的测定 完成神经功能缺损评分后,每组取 5 只小鼠,使用过量异氟烷麻醉断头处死小鼠,收集新鲜脑组织,直接行连续冠状位切片(厚度 2 mm),然后将切片置于 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(triphenyltetrazolium chloride, TTC;武汉赛维尔生物科技有限公司)染液中,37 °C 避光孵育 20 min,并用 4% 多聚甲醛固定后拍照,以对侧脑组织为参照,利用 Image J 软件进行面积测量。

1.5 免疫荧光染色 完成神经功能缺损评分后,每组取 5 只小鼠,使用预冷的磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)灌注后分离梗死侧脑组织,在 4% 多聚甲醛固定后行冠状位石蜡切片(厚度 50 μm),

0.3% Triton X-100 孵育 10 min,并使用 5% 胎牛血清封闭 60 min, PBS 缓冲液洗涤三次(5 min/次)后加入兔抗鼠离子钙结合衔接分子-1(ionized calcium binding adaptor molecule-1, Iba-1)抗体(1:1 000;美国 Proteintech 公司),4 °C 孵育过夜,洗涤三次(5 min/次)后加入荧光二抗(1:2 000;美国 Millipore 公司)室温孵育 2 h, PBS 缓冲液洗涤后加入 DAPI 复染,荧光显微镜下观察 Iba-1 阳性细胞,使用 Image J 软件计算平均荧光强度。

1.6 实时荧光定量 PCR 完成神经功能缺损评分后,每组取 5 只小鼠,使用过量异氟烷麻醉处死,冰上分离梗死侧脑组织并制成组织匀浆,TRIzol 法(武汉赛维尔生物科技有限公司)提取总 RNA,并使用紫外分光光度计测量纯度及浓度,取一定量 RNA 通过逆转录获得 cDNA,然后进行基因片段扩增。以 β-actin 为内参,2^{-ΔΔCt}法计算 mRNA 相对表达量。引物由苏州吉玛生物科技有限公司合成提供,序列:β-actin 正向 5'-CCAGCCTTCCTTCTTGGGTAT-3',反向 5'-TGGCATAGAGGTCTTTACGGA-3'; IL-4 正向 5'-TCACAGCAACGAAGAACACCA-3',反向 5'-CAGGCATCGAAAAGCCCGAA-3'; IL-10 正向 5'-GTAGAAGTGATGCCCCAGGC-3',反向 5'-CACCTTGGTCTTGGAGCTTATT-3'; IL-18 正向 5'-TAACAGCATCCAGGCACAGC-3',反向 5'-CTGATGCTGGAGGTTGCAGA-3'; IL-1β 正向 5'-TGC-CACCTTTTGACAGTGATG-3',反向 5'-TGATGTGCTGCTGCGAGATT-3'。

1.7 免疫印迹分析 完成神经功能缺损评分后,每组取 5 只小鼠,使用过量异氟烷麻醉处死并分离梗死侧脑组织,通过 RIPA 裂解缓冲液冰上裂解提取总蛋白,并使用 BCA 试剂盒(美国 Biosharp 公司)定量检测蛋白浓度后上样,经 SDS-PAGE 电泳后转印到 PVDF 膜(美国 Millipore 公司),血清封闭后加入一抗 4 °C 孵育过夜:NLRP3(1:1 000;美国 abcam 公司),ASC(1:1 000;美国 Proteintech 公司),IL-18(1:1 000;美国 Proteintech 公司),IL-1β(1:1 000;美国 Proteintech 公司),β-actin(1:5 000;美国 Proteintech 公司),用含 TBST 洗涤 3 遍后,加入含辣根过氧化物酶的种属特异性二抗(1:2 000;美国 Millipore 公司)室温下孵育 2 h, TBST 缓冲液洗涤后, ECL 试剂盒显影,扫描拍照,使用 Image J 软件测量灰度值。

1.8 统计学分析 采用 Graphpad Prism 软件分析;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析和 *t* 检验;*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 ADS032 对小鼠脑梗死体积和神经功能的影响

与假手术组相比,模型组小鼠脑梗死体积和 Longa 评分明显增加($P<0.05$);与模型组相比,ADS032 组脑梗死体积和 Longa 评分显著降低($P<0.05$),而且呈剂

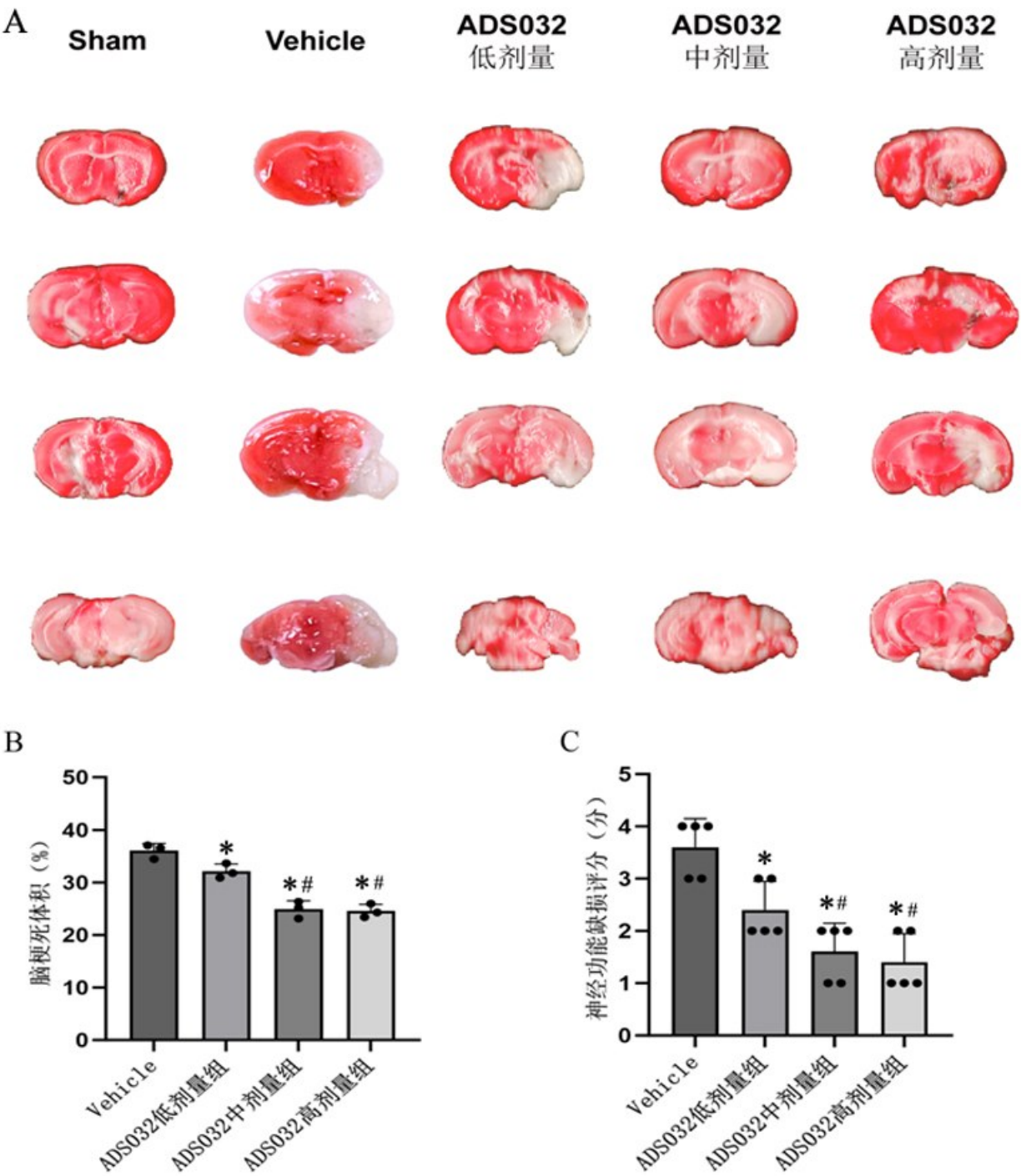


图1 ADS032对急性缺血性脑卒中小鼠脑梗死体积和神经功能的影响

A. TTC 染色;B. 梗死侧脑梗死体积与对侧比值;C. 神经系统评分;与 Vehicle 组比较,* $P<0.05$;与 ADS032 低剂量组相比较,# $P<0.05$;Sham. 假手术组;Vehicle. 模型组

Figure 1 Effects of ADS032 on cerebral infarction volume and neurological function in mice with acute ischemic stroke
A: TTC staining. B: The ratio of infarct volume in the infarcted side to the contralateral side. C: Neurological score. * $P<0.05$ compared with the Vehicle group. # $P<0.05$ compared with the low-dose ADS032 group. Sham: Sham operation group. Vehicle: Model group.

量依赖性($P<0.05$)。见图 1。

2.2 ADS032 对小鼠梗死脑组织小胶质细胞的影响
与假手术组相比,模型组梗死脑组织 Iba1 阳性小胶质细胞数量明显增加($P<0.05$);与模型组相比,ADS032 组梗死脑组织 Iba1 阳性小胶质细胞数量明显减少($P<0.05$),而且呈剂量依赖性($P<0.05$)。见图 2。

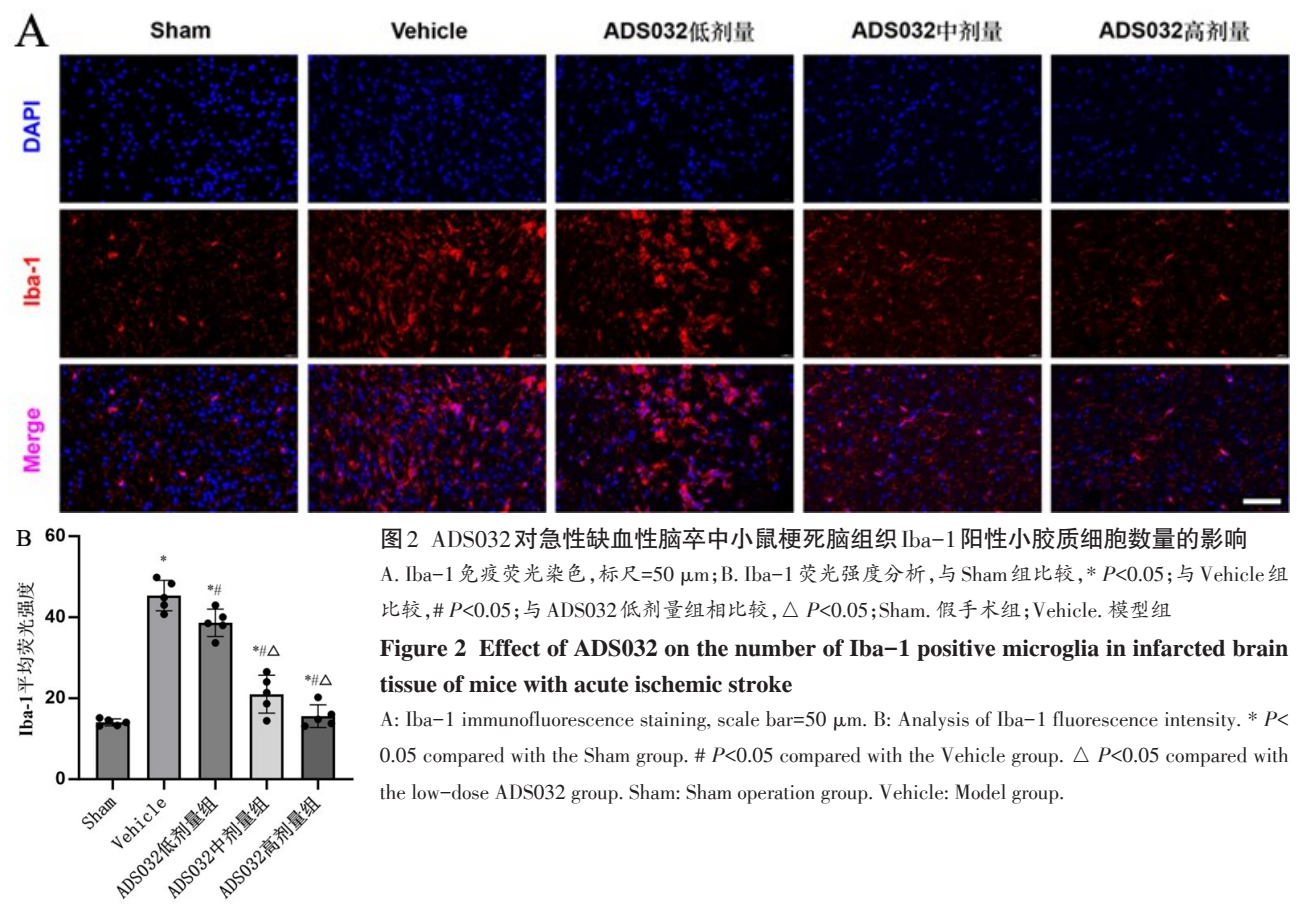
2.3 ADS032 对梗死脑组织炎症因子 mRNA 表达的影响
与假手术组相比较,模型组梗死脑组织抑炎因子 IL-4、IL-10 表达水平明显降低($P<0.05$),而促炎因子 IL-1 β 、IL-18 表达水平明显升高($P<0.05$);与模型组相比较,ADS032 组梗死脑组织抗炎因子 IL-4、IL-10 的表达明显上调($P<0.05$),促炎因子 IL-1 β 、IL-18 的表达明显下调($P<0.05$)。见图 3。

2.4 ADS032 对小鼠梗死脑组织炎症因子蛋白表达的影响
与假手术组相比,模型小鼠梗死脑组织 NLRP3 炎症小体、接头蛋白 ASC 以及炎症因子 IL-18、IL-1 β 的蛋白表达水平明显增加($P<0.05$);与模型组相比,ADS032 组小鼠梗死脑组织炎症小体 NLRP3 接头蛋白 ASC 以及炎症因子 IL-18、IL-1 β 的表达水平明显降低($P<0.05$)。见图 4。

3 讨论

ADS032 是一种新开发的 NLRP1 和 NLRP3 的双重抑制剂,可以快速、稳定并且可逆性地抑制炎症小体生成。ADS032 作为新的抗炎药物在多种疾病的病理进程中发挥保护作用。研究表明 ADS032 通过减少炎症小体的生成,减少巨噬细胞和支气管上皮细胞炎症因子 IL-1 β 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 的分泌,以减轻矽肺病小鼠模型肺部炎症,并且 ADS032 能够抑制尼日利亚霉素诱导的 IL-1 β 分泌^[6]。本研究发现 ADS032 明显减小脑缺血后脑梗死的体积,有效减轻小鼠神经功能缺损。这提示 ADS032 对小鼠脑缺血具有神经保护作用。

缺血性脑卒中后急性期的炎症反应严重影响脑卒中预后,其病理机制是由于脑组织缺血缺氧导致细胞内能量障碍、氧化应激、细胞膜受损以及细胞内容物释放后激活炎症小体^[8-10]。NLRP3 炎症小体是一种细胞内的蛋白质复合体,其接头蛋白 ASC 在感知细胞内环境损伤和应激后,聚集或寡聚化激活 NLRP3,通过剪切炎症因子前体,激活释放炎症因子



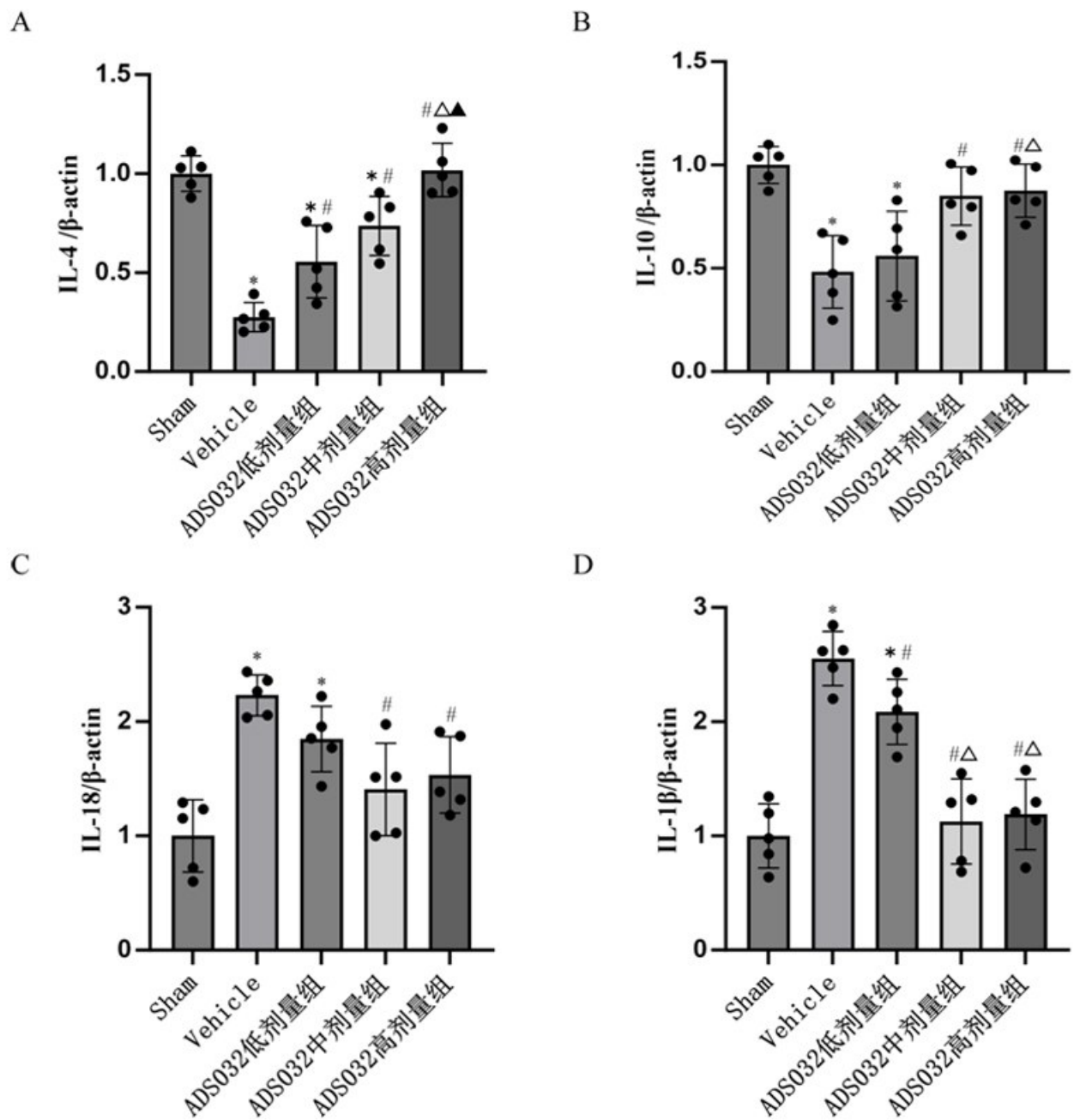


图3 ADS032对急性缺血性脑卒中小鼠梗死脑组织炎症因子mRNA表达的影响

A. IL-4 mRNA 表达水平;B. IL-10mRNA 表达水平;C. IL-18 mRNA 表达水平;D. IL-1 β mRNA 表达水平;与 Sham 组比较,* $P<0.05$;与 Vehicle 组比较,# $P<0.05$;与 ADS032 低剂量组相比较, Δ $P<0.05$;与 ADS032 中剂量组相比较, \blacktriangle $P<0.05$;Sham. 假手术组;Vehicle. 模型组

Figure 3 Effect of ADS032 on the mRNA expression of inflammatory factors in infarcted brain tissue of mice with acute ischemic stroke

A: Expression level of IL-4 mRNA. B: Expression level of IL-10 mRNA. C: Expression level of IL-18 mRNA. D: Expression level of IL-1 β mRNA. * $P<0.05$ compared with the Sham group. # $P<0.05$ compared with the Vehicle group. Δ $P<0.05$ compared with the low-dose ADS032 group. \blacktriangle $P<0.05$ compared with the medium-dose ADS032 group. Sham. Sham operation group. Vehicle: Model group.

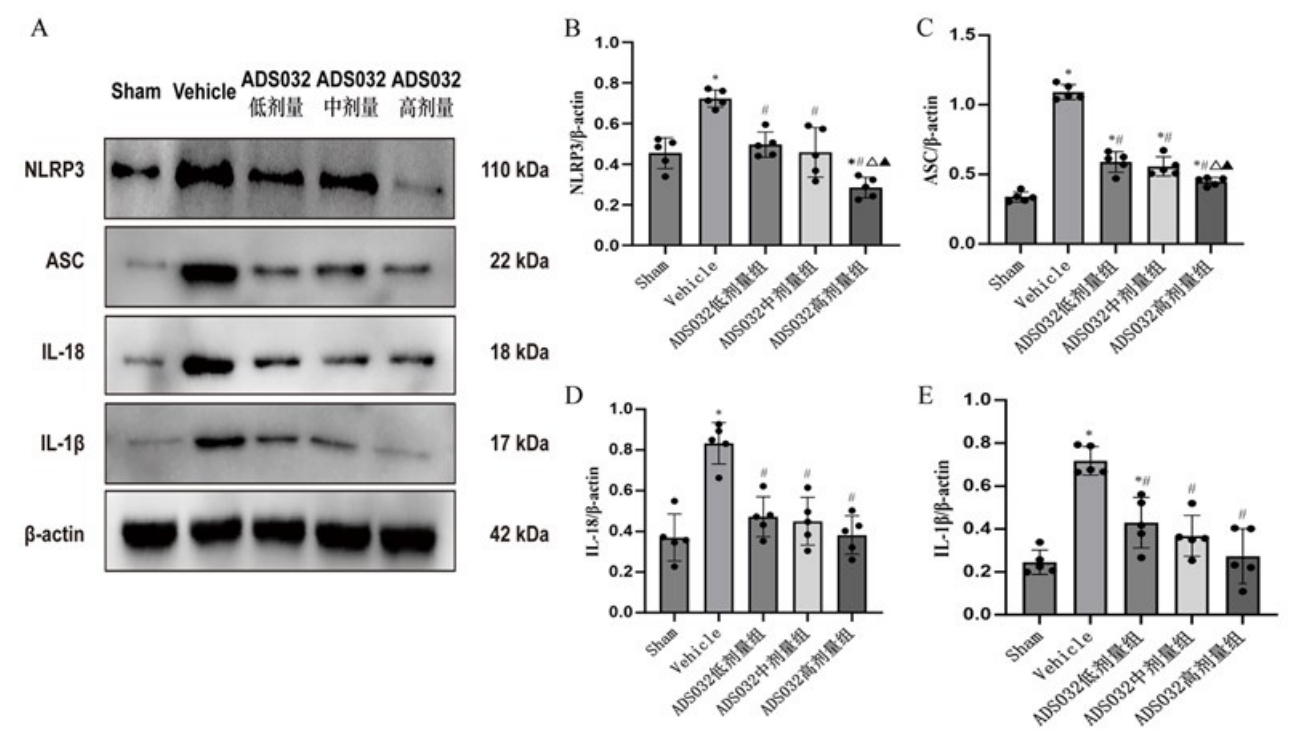


图4 ADS032对急性缺血性脑卒中小鼠梗死脑组织炎症小体和炎症因子蛋白表达的影响
A. 蛋白电泳图;B. NLRP3表达水平;C. ASC表达水平;D. IL-18表达水平;E. IL-1β表达水平;与Sham组比较,* $P<0.05$;与Vehicle组比较,# $P<0.05$;与ADS032低剂量组相比较,Δ $P<0.05$;与ADS032中剂量组相比较,▲ $P<0.05$;Sham. 假手术组;Vehicle. 模型组
Figure 4 Effects of ADS032 on the protein expression of inflammasomes and inflammatory factors in infarcted cerebral tissue of mice with acute ischemic stroke
A: Protein electrophoresis pattern. B: Expression level of NLRP3. C: Expression level of ASC. D: Expression level of IL-18. E: Expression level of IL-1β. * $P<0.05$ compared with the Sham group. # $P<0.05$ compared with the Vehicle group. Δ $P<0.05$ compared with the low-dose ADS032 group. ▲ $P<0.05$ Compared with the medium-dose ADS032 group. Sham: Sham operation group. Vehicle: Model group.

如IL-1β、IL-18,进而导致免疫细胞的聚集,引发炎症反应^[11]。小胶质细胞作为中枢神经系统主要的先天免疫细胞,因其在正常和缺血性脑卒中后大脑中的平衡和炎症作用而为人所知^[12-14]。炎症小体介导的炎症可能诱导小胶质细胞在缺血区的聚集,导致神经细胞死亡和功能障碍,并且趋化中性粒细胞向血管内皮的聚集导致血管内皮细胞受损,破坏血脑屏障,进一步加重脑水肿和细胞能量代谢障碍^[15-17]。由Ⅱ型辅助性T细胞分泌的IL-4、单核细胞和Ⅱ型辅助性T细胞分泌的IL-10作为抗炎因子,通过抑制巨噬细胞和Ⅰ型辅助性T细胞分泌的促炎因子发挥抗炎作用^[18,19]。本研究结果显示,与假手术组相比较,模型组小鼠梗死脑组织小胶质细胞过度聚集,同时NLRP3小体、ASC蛋白含量明显升高,促炎因子IL-18、IL-1β表达水平明显升高,抗炎因子IL-4、IL-10表达水平明显下调。这与既往研究一致^[20-22]。此外,本研究表明NLRP3炎症小体抑制剂ADS032显著减轻缺血后小胶质细胞的聚集,减少炎症小体的

激活和炎症介质的分泌,上调抗炎因子表达,改善小鼠脑梗死以及神经功能。

总之,ADS032作为一种新型炎症小体双重抑制剂,通过抑制NLRP3炎症小体的组装和激活,降低促炎因子的表达,并调节抗炎因子的基因表达水平,从而有效减轻缺血性脑卒中后炎症反应,发挥神经保护作用,突显了其在缺血性脑卒中后急性炎症反应阶段的潜在作用,同时也为开发新型抗炎药物提供了启示。

【伦理学声明】:所有动物实验均按照《实验动物-动物福利伦理审查指南》的伦理标准进行。本研究方案于2024年3月16日经武汉大学人民医院实验动物伦理委员会批准(批号WDRM动(福)第20240305A号)。

【利益冲突声明】:本文不存在任何利益冲突。

【作者贡献声明】:黄文负责研究设计、数据整理和分析、项目验证、撰写初稿;李明阳参与数据整理和分

析,修改文章;张勇刚参与数据分析,修改文章;熊晓星提供资源,参与研究设计、项目管理与监督、项目验证,修改文章。

【参考文献】

[1] CAMPBELL BCV, DE SILVA DA, MACLEOD MR, *et al.* Ischaemic stroke [J]. Nat Rev Dis Primers, 2019, 5(1): 70.

[2] RENEDO D, ACOSTA JN, LEASURE AC, *et al.* Burden of ischemic and hemorrhagic stroke across the US from 1990 to 2019 [J]. JAMA Neurol, 2024, 81(4): 394–404.

[3] DELONG JH, OHASHI SN, O’CONNOR KC, *et al.* Inflammatory responses after ischemic stroke [J]. Semin Immunopathol, 2022, 44 (5): 625–648.

[4] CAI W, HU M, LI C, *et al.* FOXP3⁺ macrophage represses acute ischemic stroke-induced neural inflammation [J]. Autophagy, 2023, 19(4): 1144–1163.

[5] DHANESHA N, PATEL RB, DODDAPATTAR P, *et al.* PKM2 promotes neutrophil activation and cerebral thromboinflammation: therapeutic implications for ischemic stroke [J]. Blood, 2022, 139 (8): 1234–1245.

[6] DOCHERTY CA, FERNANDO AJ, ROSLI S, *et al.* A novel dual NLRP1 and NLRP3 inflammasome inhibitor for the treatment of inflammatory diseases [J]. Clin Transl Immunology, 2023, 12(6): e1455.

[7] XIONG X, GU L, WANG Y, *et al.* Glycyrrhizin protects against focal cerebral ischemia via inhibition of T cell activity and HMGB1-mediated mechanisms [J]. J Neuroinflammation, 2016, 13(1): 241.

[8] PAN R, XIE Y, FANG W, *et al.* USP20 mitigates ischemic stroke in mice by suppressing neuroinflammation and neuron death via regulating PTEN signal [J]. Int Immunopharmacol, 2022, 103: 107840.

[9] FRANKE M, BIEBER M, KRAFT P, *et al.* The NLRP3 inflammasome drives inflammation in ischemia/reperfusion injury after transient middle cerebral artery occlusion in mice [J]. Brain Behav Immun, 2021, 92: 223–233.

[10] QIN C, YANG S, CHU YH, *et al.* Signaling pathways involved in ischemic stroke: molecular mechanisms and therapeutic interventions [J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 215.

[11] WANG L, REN W, WU Q, *et al.* NLRP3 inflammasome activation: a therapeutic target for cerebral ischemia-reperfusion injury [J].

Front Mol Neurosci, 2022, 15: 847440.

[12] XU S, LU J, SHAO A, *et al.* Glial cells: role of the immune response in ischemic stroke [J]. Front Immunol, 2020, 11: 294.

[13] ZENG J, BAO T, YANG K, *et al.* The mechanism of microglia-mediated immune inflammation in ischemic stroke and the role of natural botanical components in regulating microglia: a review [J]. Front Immunol, 2022, 13: 1047550.

[14] DOU X, JI W, DAI M, *et al.* Spatial and temporal mapping of neuron-microglia interaction modes in acute ischemic stroke [J]. Biochem Pharmacol, 2023, 216: 115772.

[15] ZHU H, JIAN Z, ZHONG Y, *et al.* Janus kinase inhibition ameliorates ischemic stroke injury and neuroinflammation through reducing NLRP3 inflammasome activation via JAK2/STAT3 pathway inhibition [J]. Front Immunol, 2021, 12: 714943.

[16] XU P, HONG Y, XIE Y, *et al.* TREM-1 exacerbates neuroinflammatory injury via NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis in experimental subarachnoid hemorrhage [J]. Transl Stroke Res, 2021, 12 (4): 643–659.

[17] HU J, ZENG C, WEI J, *et al.* The combination of panax ginseng and angelica sinensis alleviates ischemia brain injury by suppressing NLRP3 inflammasome activation and microglial pyroptosis [J]. Phytomedicine, 2020, 76: 153251.

[18] SARAFANIUK N, KLYMENKO M. Production of interleukins 1 β , 2, 4, 10 and C-reactive protein in ischemic stroke [J]. Wiad Lek, 2022, 75(3): 598–604.

[19] ZHU H, HU S, LI Y, *et al.* Interleukins and ischemic stroke [J]. Front Immunol, 2022, 13: 828447.

[20] LI J, XU P, HONG Y, *et al.* Lipocalin-2-mediated astrocyte pyroptosis promotes neuroinflammatory injury via NLRP3 inflammasome activation in cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. J Neuroinflammation, 2023, 20(1): 148.

[21] HUANG Y, LI K, DAI Q, *et al.* SCH 644343 alleviates ischemic stroke-induced neuroinflammation by promoting microglial polarization via the IL-4/SREBP-1 signaling pathway [J]. Eur J Pharmacol, 2023, 958: 176033.

[22] ZHAO H, LIU Y, CHEN N, *et al.* PHILDA1 blockade alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by affecting microglial M1/M2 polarization and NLRP3 inflammasome activation [J]. Neuroscience, 2022, 487: 66–77.

(2024-03-21 收稿, 2024-06-26 修回)