

. 实验研究 .

lncRNA LINC01089 对氧糖剥夺/复氧损伤后
小胶质细胞极化的影响

陈思思 朱馨艺 邓 钢 王 龙

【摘要】目的 探讨长链非编码 RNA(lncRNA) LINC01089 对小胶质细胞氧糖剥夺/复氧(OGD/R)损伤后表型和炎症反应的影响及其机制。**方法** 体外培养小鼠小胶质细胞 B-V2 细胞, OGD/R 损伤后, 转染 lncRNA LINC01089 过表达质粒及其空载质粒、沉默质粒 siRNA 及阴性对照, 以及 miR-449c-5p 模拟物、抑制剂及其阴性对照寡核苷酸。采用 qRT-PCR 检测 M1 型小胶质细胞标记物 iNOS mRNA 和 CD86 mRNA、M2 型小胶质细胞标记物 Arg1 mRNA 和 CD206 mRNA、lncRNA LINC01089、miR-449c-5p 的表达水平; 采用 ELISA 检测细胞上清液炎症因子的含量; 采用免疫印迹法检测细胞 STAT6 蛋白表达水平。荧光素酶报告基因实验验证 lncRNA LINC01089 与 miR-449c-5p 以及 miR-449c-5p 与 STAT6 的靶向关系。**结果** OGD/R 损伤后, B-V2 细胞 lncRNA LINC01089 表达水平显著下调, miR-449c-5p 表达水平显著上调。荧光素酶报告基因实验结果显示, lncRNA LINC01089 靶向负调控 miR-449c-5p 表达, miR-449c-5p 靶向负调控 STAT6 表达。过表达 lncRNA LINC01089, 显著降低 M1 型标记物 iNOS mRNA 和 CD86 mRNA 表达水平及细胞上清液促炎因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的含量, 明显增高 M2 型标记物 Arg-1 mRNA 和 CD206 mRNA 表达水平及细胞上清液抗炎因子 IL-4、IL-10 和 TGF- β 的含量。过表达 lncRNA LINC01089 可靶向负调控 B-V2 细胞 miR-449c-5p 表达, 促进 STAT6 蛋白表达。**结论** 小胶质细胞 OGD/R 损伤后, lncRNA LINC01089 表达下调, 促使小胶质细胞向 M1 型转化, 诱导炎症反应, 其机制可能与靶向负调控 miR-449c-5p/STAT6 信号轴有关。

【关键词】 小胶质细胞; 长链非编码 RNA; lncRNA LINC01089; miR-449c-5p; 小胶质细胞极化

【文章编号】 1009-153X(2022)03-0186-07 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 743

Effect of lncRNA LINC01089 on microglia polarization after oxygen-glucose deprivation/reoxygenation injury

CHEN Si-si, ZHU Xin-yi, DENG Gang, WANG Long. Department of Neurosurgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

【Abstract】 Objective To investigate the effect of lncRNA-LINC01089 on the phenotypic polarization of mouse microglia after oxygen-glucose deprivation/reoxygenation (OGD/R) injury. **Methods** The mouse microglia B-V2 cells were cultured in vitro. After OGD/R injury, lncRNA LINC01089 overexpression plasmid and its empty vector, silencing plasmid siRNA and negative control, as well as miR-449c-5p mimics, inhibitors and its negative control oligonucleotides were transfected into the cells. The expression levels of M1-type microglia markers iNOS and CD86 mRNAs, M2-type microglia markers Arg1 and CD206 mRNAs, lncRNA LINC01089, and miR-449c-5p were detected by qRT-PCR. The contents of inflammatory factors in cell supernatant were detected by ELISA. Western blotting was used to detect the expression level of STAT6 protein in B-V2 cells. The luciferase reporter gene experiment was used to verify the targeting relationship between lncRNA LINC01089 and miR-449c-5p, and miR-449c-5p and STAT6. **Results** After OGD/R injury, the expression level of lncRNA LINC01089 in B-V2 cells was significantly down-regulated, and the expression level of miR-449c-5p was significantly up-regulated. The results of the luciferase reporter gene assay showed that lncRNA LINC01089 targeted and negatively regulated the expression of miR-449c-5p, and miR-449c-5p targeted and negatively regulated the expression of STAT6. Overexpression of lncRNA LINC01089 significantly decreased the expression levels of M1-type markers iNOS and CD86 mRNAs, and significantly decreased the contents of pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6 and TNF- α in the cell supernatant, and significantly increased the M2-type marker Arg-1 and CD206 mRNAs expression levels, and significantly increased the contents of anti-inflammatory factors IL-4, IL-10 and TGF- β in cell supernatants. Overexpression of lncRNA LINC01089 can target and negatively regulate the expression of miR-449c-5p in B-V2 cells and promote the expression of STAT6 protein. **Conclusions** After OGD/R injury, the expression of lncRNA LINC01089 is down-regulated in microglia, which promotes the transformation of microglia to M1 type and induces inflammatory response. The mechanism may be related to the negative regulation of miR-449c-5p/STAT6 signaling axis.

【Key words】 Microglia; Long non-coding RNA; lncRNA LINC01089; miR-449c-5p; Microglia polarization

脑卒中是目前全球第二大死亡原因,其中缺血性卒中是最常见的脑卒中类型,约占 87%^[1]。缺血性卒中与小胶质细胞极化导致的氧化应激和炎症反应有关^[2]。研究发现,在特定条件下,M1 型和 M2 型小胶质细胞可相互转化并调节脑内炎症反应,其中 M1 型分泌促炎因子,M2 型分泌抗炎因子。了解缺血性卒中小胶质细胞极化的分子机制,有助于减轻卒中后炎症反应^[3]。长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是一类长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA,参与调控中枢神经系统的发育及多种疾病^[4]。本研究探讨 lncRNA LINC01089 对小胶质细胞氧糖剥夺/复氧 (oxygen-glucose deprivation/reoxygenation, OGD/R) 损伤后极性和炎症反应的影响及其机制。

1 材料与方法

- 1.1 细胞培养 BV-2 细胞(中国科学院上海生命科学研究院)培养于含 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM 培养基(美国 Invitrogen 公司)中培养。
- 1.2 OGD/R 小胶质细胞模型的构建 将 BV-2 细胞接

种于无糖培养基中,置于含 1% O₂、5% CO₂、94% N₂ 的培养箱中培养 150 min。然后,收集细胞置于正常培养基中,并在 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h。对照组细胞给予常规培养。

1.3 细胞转染和转染后分组 按照说明书,使用 Lipofectamine 2000 转染试剂(美国 Invitrogen 公司)将 lncRNA LINC01089 过表达质粒(pc-LINC01089)及其空载质粒(pc-NC)、siRNA (si-LINC01089)及阴性对照(si-NC)序列,miR-449c-5p 模拟物、抑制剂及其阴性对照寡核苷酸分别转染进 OGD/R 细胞中,记为 pc-LINC01089 组、pc-NC 组、si-LINC01089 组、si-NC 组、模拟物组、模拟物对照组、模拟物抑制剂组和模拟物抑制剂对照组。pc-LINC01089、pc-NC、si-LINC01089、si-NC 序列、miR-449c-5p 模拟物、抑制剂及其阴性对照均由上海吉玛公司构建。

1.4 实时荧光定量 PCR 检测 用 TRIzol 试剂提取细胞总 RNA,用 PrimeScript™ RT 试剂盒逆转录成 cDNA,然后进行实时荧光定量 PCR。引物序列见表 1, GAPDH 为 lncRNA LINC01089,以及信号传导及转录激活蛋白 6(signal transducer and activator of tran-

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

基因	引物序列
GAPDH	正义引物序列:5'-GAGTCAACGGATTGCTCGT-3'
	反义引物序列:5'-TTGATTTTGAGGGATCTCG-3'
LINC01089	正义引物序列:5'-GCAGTAAACAGTCCTCAGCGAAG-3'
	反义引物序列:5'-CGGTGCCATGGAGTCTAGAAGAT-3'
STAT6	正义引物序列:5'-GTCTGGTCTCCAAGATGCCC-3'
	反义引物序列:5'-ATATGCTCTCAAGGGTGCTGA-3'
iNOS	正义引物序列:5'-CTGCTGGTGGTGACAAGCACATTT-3'
	反义引物序列:5'-ATGTCATGAGCAAAGGCGCAGAAC-3'
CD86	正义引物序列:5'-TCTCCACGGAAACAGCATCT-3'
	反义引物序列:5'-CTTACGGAAGCACCCATGAT-3'
Arg-1	正义引物序列:5'-CACAGTCTGGCAGTTGGAAG-3'
	反义引物序列:5'-GGGAGTGTTGATGTCAGTGTG-3'
CD206	正义引物序列:5'-CAAGGAAGGTTGGCATTGT-3'
	反义引物序列:5'-CCTTTCAGTCCTTTGCAAGC-3'
U6	正义引物序列:5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAA-3'
	反义引物序列:5'-GCTTCACAATTTGCGTGCAT-3'
miR-449c-5p	正义引物序列:5'-CAGTGTATTGCTAGCGGCTGT-3'
	反义引物序列:5'-AGTCCGTGTCGTGGAGTC-3'

scription 6, STAT6)、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide, iNOS)、蛋白精氨酸合成酶-1(arginase-1, Arg-1)、白细胞分化抗原(cluster of differentiation, CD)86、CD206 等 mRNA 的内参, U6 为 miR-449-5p 内参。用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法评估表达水平。

1.5 ELISA 测定炎症因子的含量 取细胞上清液, 在 4℃ 条件下 6 200 转/min 离心 15 min, 去除沉淀, 使用 ELISA 试剂盒(武汉赛培生物科技有限公司)检测炎症因子的含量, 包括肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF- α)、白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-6、IL-4、IL-10 和转化生长因子 β (transform growth factor β , TGF- β)。

1.6 荧光素酶报告实验检测 lncRNA LINC01089 和 miR-449c-5p 的靶向关系 将野生型 LINC01089-WT、突变型 LINC01089-MUT、野生型 STAT6-WT、突变型 STAT6-MUT 扩增后克隆入 pmirGLO 荧光报告中, 使用 Lipofectamine 2000 将双荧光素酶报告基因、miR-449c-5p 模拟物及其阴性对照序列转染至细胞后 48 h, 使用 Luciferase reporter assay system 检测荧光素酶活性。

1.7 免疫印迹法检测 STAT6 蛋白的表达 收集处理后的细胞, 用 RIPA 裂解缓冲液提取细胞总蛋白, 使用 BCA 法(美国 Pierce 公司)定量蛋白, 12% SDS-PAGE、100 V 电泳 2 h。然后电转移至 PVDF 膜。用 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h 后, TBST 洗膜 3 次, 加入一抗 STAT6(1:1 000), 在 4℃ 下孵育过夜。TBST 洗膜后, 在室温下将膜用辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG(1:3 000)孵育 1 h。TBST 洗膜 3 次, 显色成像, 采用 Image J 分析蛋白灰度值。

1.8 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件分析; 定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析和 LSD- t 检验; 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OGD/R 损伤后 lncRNA LINC01089 的表达和小胶质细胞的极化状态 与对照组相比, OGD/R 组 lncRNA LINC01089 表达水平显著降低($P < 0.05$; 图 1A), 并且 OGD/R 组小胶质细胞 M1 型标记物 iNOS mRNA 和 CD86 mRNA 表达水平显著升高($P < 0.05$; 图 1B), M2 型标记物 Arg1 mRNA 和 CD206 mRNA 表达水平显著降低($P < 0.05$; 图 1B)。同时, OGD/R 组细胞上清液促炎因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平显著升高($P < 0.05$; 图 1C), 而抗炎因子 IL-4、IL-10 和 TGF- β 水平显著降低($P < 0.05$; 图 1D)。

2.2 lncRNA LINC01089 对 OGD/R 损伤后小胶质细胞极化和炎症反应的影响 与 pc-NC 组相比, pc-LINC01089 组小胶质细胞 M1 型标记物 iNOS mRNA 和 CD86 mRNA 表达水平以及细胞上清液促炎因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平显著降低($P < 0.05$; 图 2A、2C), M2 型标记物 Arg1 mRNA 和 CD206 mRNA 表达水平以及抗炎因子 IL-4、IL-10 和 TGF- β 水平显著增高($P < 0.05$; 图 2B、2D)。

与 si-NC 组相比, si-LINC01089 组小胶质细胞 M1 型标记物 iNOS mRNA 和 CD86 mRNA 表达水平以及细胞上清液促炎因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平显著增高($P < 0.05$; 图 2A、2C), M2 型标记物 Arg1 mRNA 和 CD206 mRNA 表达水平以及抗炎因子 IL-4、IL-10 和 TGF- β 水平显著降低($P < 0.05$; 图 2B、2D)。

2.3 lncRNA LINC01089 与 miR-449c-5p 的关系 通过在线网站 StarBase 预测 lncRNA LINC01089 与 miR-449c-5p 的结合位点(图 3A)。OGD/R 处理后, 小胶质细胞 miR-449c-5p 表达水平显著增高($P < 0.05$; 图 3B)。双荧光素酶报告实验结果显示, 与模拟物对照组相比, 模拟物组含 LINC01089-WT 荧光素酶活性显著降低($P < 0.05$; 图 3C), 而含 LINC01089-Mut 荧光素酶无显著差异($P > 0.05$; 图 3C), 表明 miR-449c-5p 显著抑制 LINC01089-WT 荧光素酶活性, 但不能抑制 LINC01089-Mut 荧光素酶活性。与 pc-NC 组相比, pc-LINC01089 组细胞 miR-449c-5p 表达水平显著降低($P < 0.05$)。与 si-NC 组相比, si-LINC01089 组细胞 miR-449c-5p 表达水平显著增高($P < 0.05$; 图 3D)。

2.4 miR-449c-5p 对小胶质细胞的活化与炎症反应影响 与模拟物对照组相比, miR-449c-5p 模拟物组 M1 型标志物 iNOS mRNA 和 CD86 mRNA 表达水平显著增高($P < 0.01$; 图 4A), 细胞上清液促炎因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 含量显著升高($P < 0.05$; 图 4B), M2 型标志物 Arg1 mRNA 和 CD206 mRNA 表达水平显著降低($P < 0.001$; 图 4C), 细胞上清液抗炎因子 IL-4、IL-10 和 TGF- β 含量显著降低($P < 0.01$; 图 4D)。而 miR-449c-5p 抑制剂干预后, 明显抑制 miR-449c-5p 模拟物的作用($P < 0.01$; 图 4)。

2.5 miR-449c-5p 与 STAT6 的关系 利用在线靶基因预测网站 TargetScan 预测 miR-449c-5p 的靶基因, 发现 miR-449c-5p 能够与 STAT6 的 3'-UTR 特定区域靶向结合(图 5A)。与模拟物对照组相比, miR-449c-5p 组含 STAT6-WT 荧光素酶活性显著降低

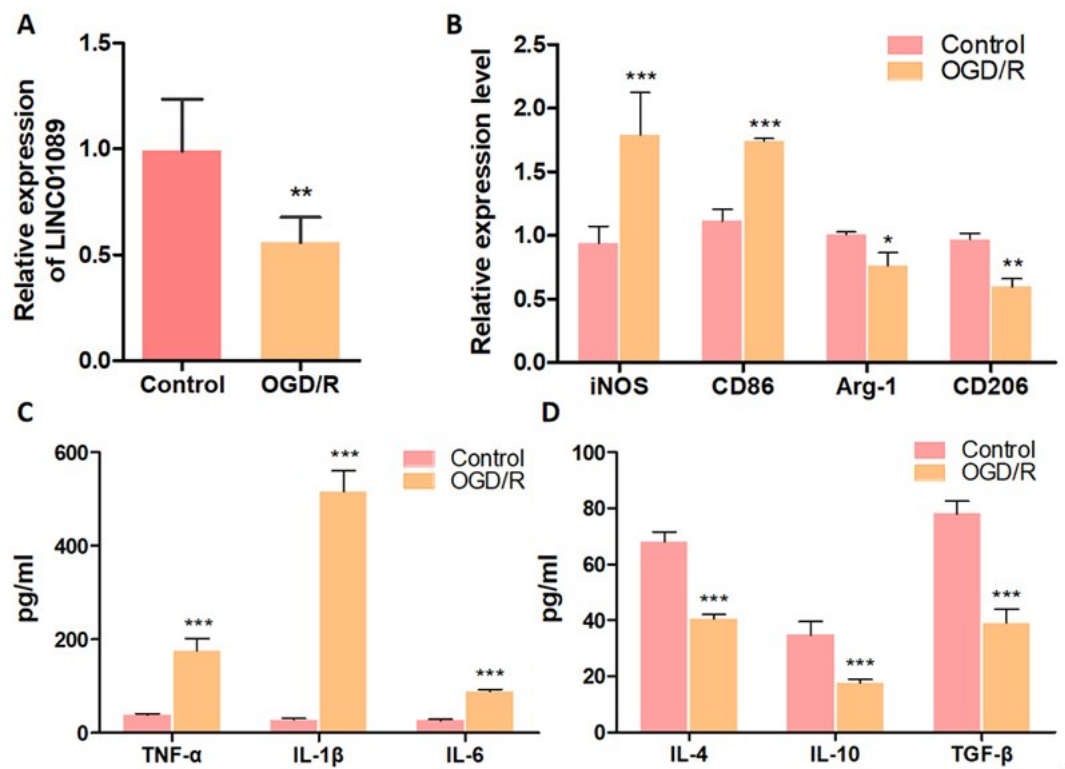


图1 小胶质细胞 OGD/R 损伤 lncRNA LINC01089 的表达和小胶质细胞的极化状态
A. 小胶质细胞 lncRNA LINC01089 表达; B. 小胶质细胞表型标志物表达; C. 小胶质细胞上清液促炎因子分泌水平;
D. 小胶质细胞上清液抗炎因子分泌水平;与对照组相应值比较, ** $P<0.01$, *** $P<0.01$

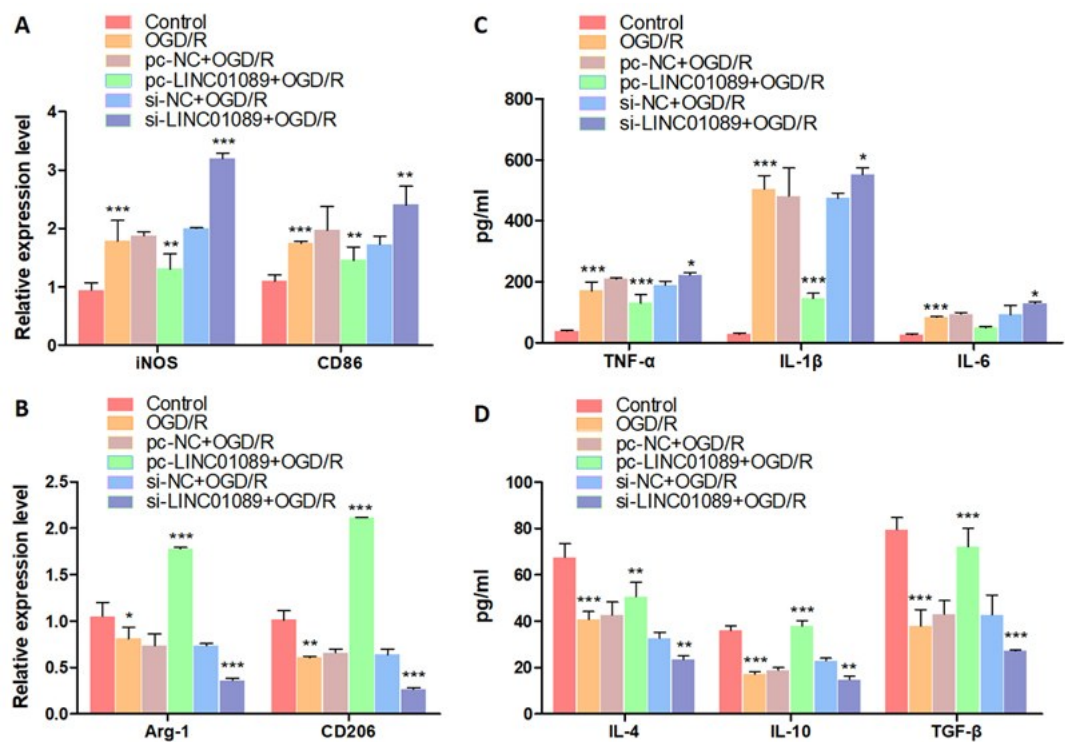


图2 lncRNA LINC01089 对小胶质细胞 OGD/R 损伤后极化和炎症反应的影响
A. 小胶质细胞 M1 型标志物 iNOS 和 CD86 mRNA 表达水平; B. 小胶质细胞 M2 型标志物 Arg1 和 CD206 mRNA 表达水平; C. 细胞上清液促炎因子 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 的含量; D. 细胞上清液抗炎因子 IL-4、IL-10 和 TGF-β 的含量;与 pc-NC 相应值组比较, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$;与 si-NC 组相应值比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

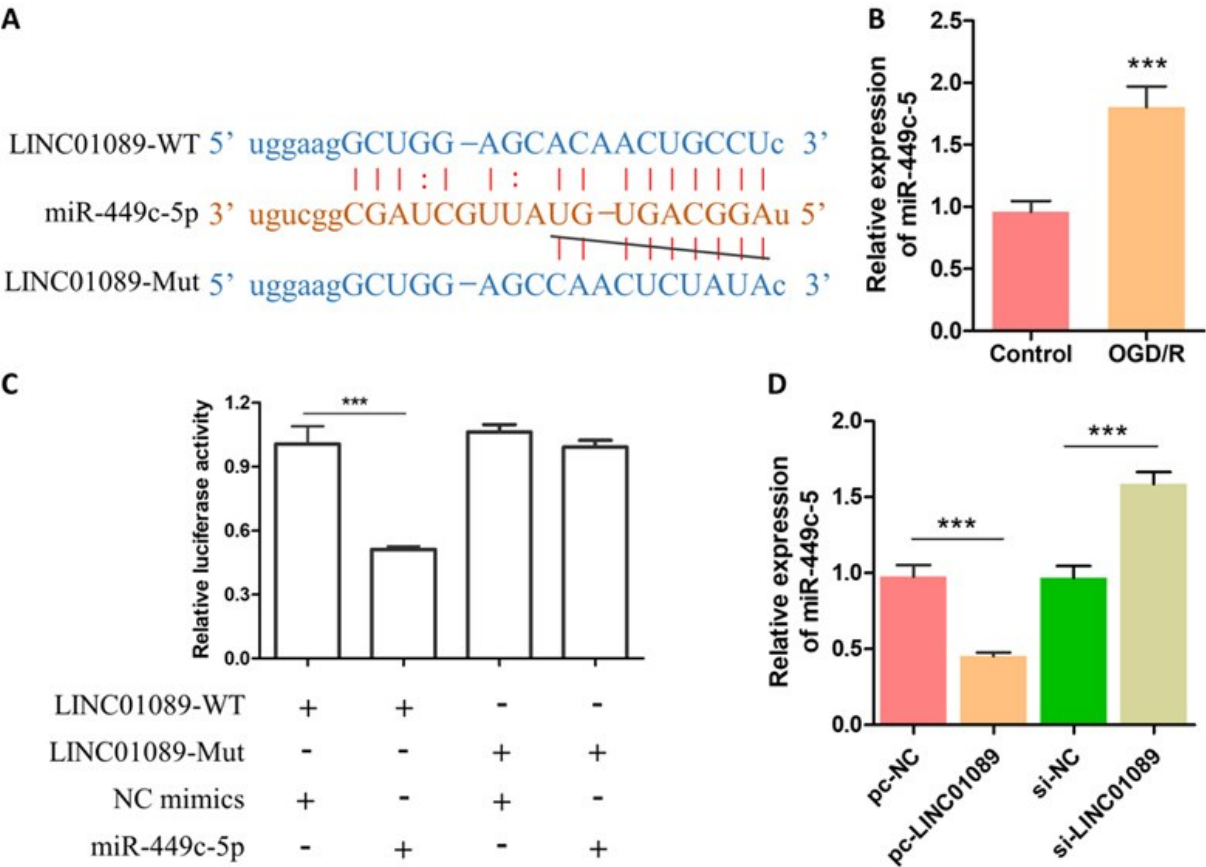


图3 荧光素酶报告基因实验验证lncRNA LINC01089与miR-449c-5p的关系

A. 网站检索预测lncRNA LINC01089与miR-449c-5p的结合位点序列;B. miR-449c-5p的表达水平,与对照组相应值比较,*** $P<0.001$; C. 荧光素酶活性实验验证miR-449c-5p能够与lncRNA LINC01089吸附结合降低其表达,*** $P<0.001$;D. lncRNA LINC01089过表达和低表达对miR-449c-5p的影响,*** $P<0.001$

($P<0.001$;图5B),而含STAT6-Mut荧光素酶活性无显著差异($P>0.05$;图5B)。与模拟物对照组相比,miR-449c-5p模拟物组miR-449c-5p表达水平显著增加($P<0.001$;图5C),STAT6蛋白表达水平明显降低($P<0.001$;图5D)。与pc-NC组相比,pc-LINC01089组STAT6蛋白表达水平明显增加($P<0.05$;图5D)。

3 讨论

本文结果表明,OGD/R损伤后,小胶质细胞lncRNA LINC01089表达水平显著下降,同时,OGD/R可诱导小胶质细胞向M1型转化,促进炎症反应;沉默lncRNA LINC01089的表达可以调控小胶质细胞向M2型转化,并减轻OGD/R损伤后炎症反应。过表达lncRNA LINC01089,靶向负调控miR-449c-5p表达,从而促进STAT6表达,促使小胶质细胞向M1型转化,促进炎症反应。

近年来,lncRNA已成为缺血性卒中研究的热点

[5]。lncRNA作为表现遗传修饰子,主要通过调控染色质的转录和转录后基因水平影响蛋白质表达,调节机体的生理和病理过程。小胶质细胞是单核吞噬细胞家族的成员,是中枢神经系统中重要的免疫细胞,参与许多神经系统疾病的发生、发展[6]。脑卒中引起的小胶质细胞极化导致多种炎症介质的释放。研究表明,M2型小胶质细胞通过分泌抗炎因子和生长因子促进组织修复[7]。相反,M1型小胶质细胞可分泌多种炎症因子和神经毒性化合物,包括一氧化碳、TNF- α 、IL-6和活性氧,损伤神经元[8]。M1型特征激活STAT1和NF- κ B,产生包括TNF- α 、IL-1、IL-6和IL-12在内的促炎细胞因子;M2型特征是转录因子STAT6的激活,甘露糖受体(CD206)的表达升高以及细胞因子的产生[9]。本研究发现,OGD/R损伤后小胶质细胞M1型功能标志物iNOS和CD86显著上调,并促进IL1 β 、TNF- α 和IL-6表达。

近年来,lncRNA在脑缺血性卒中过程中的研究越来越多。研究表明,lncRNA H19通过驱动HDAC1

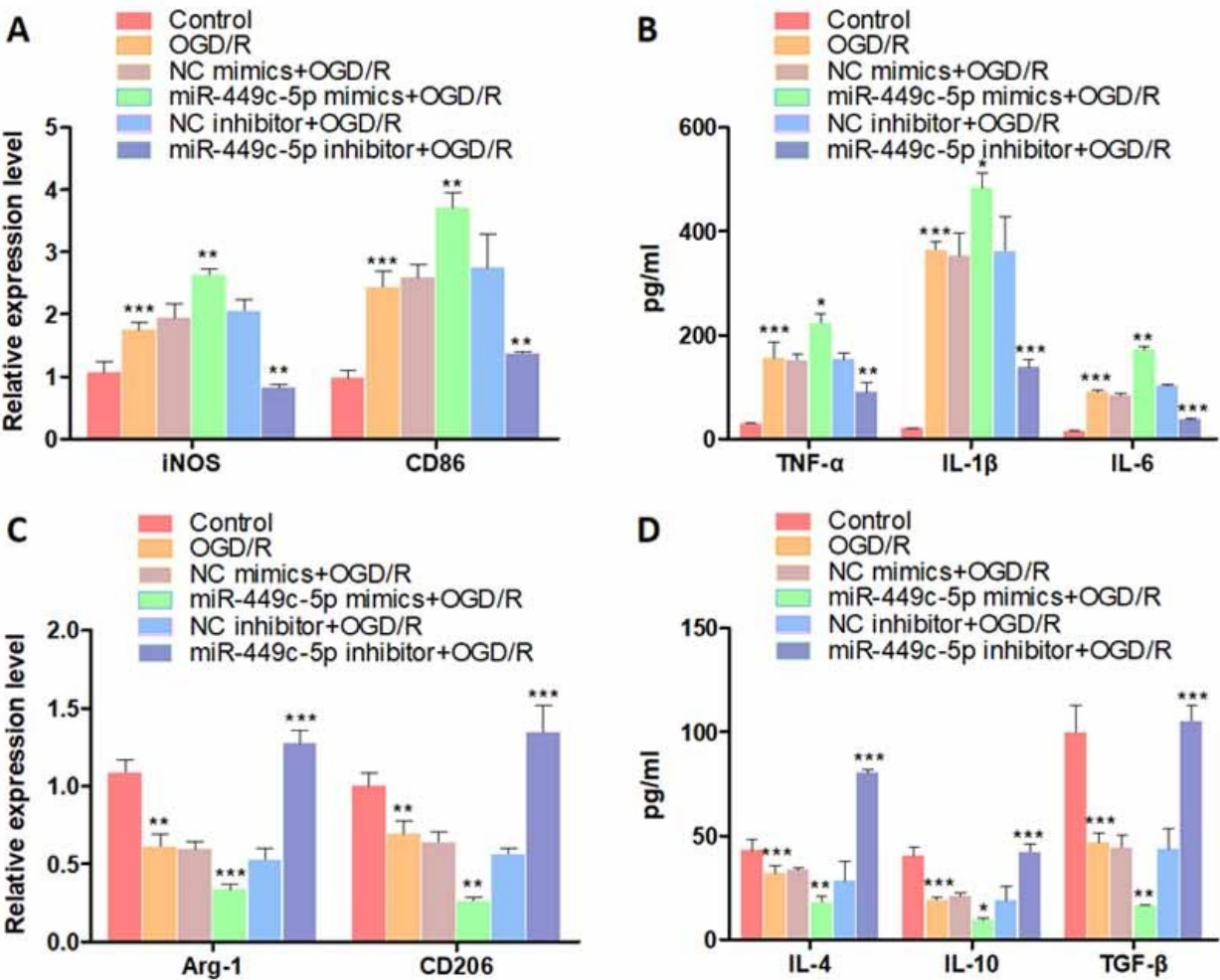


图4 miR-449c-5p对小胶质细胞的活化与炎症反应的影响

A. 小胶质细胞iNOS和CD86 mRNA的表达变化;B. 小胶质细胞Arg1和CD206 mRNA的表达变化;C. 细胞上清液促炎因子IL-1β、IL-6和TNF-α的含量;D. 细胞上清液抗炎因子IL-4、IL-10和TGF-β的含量;与NC mimics组比较,***P*<0.01,****P*<0.001;与NC inhibitors+OGD/R组比较,***P*<0.01,*****P*<0.001

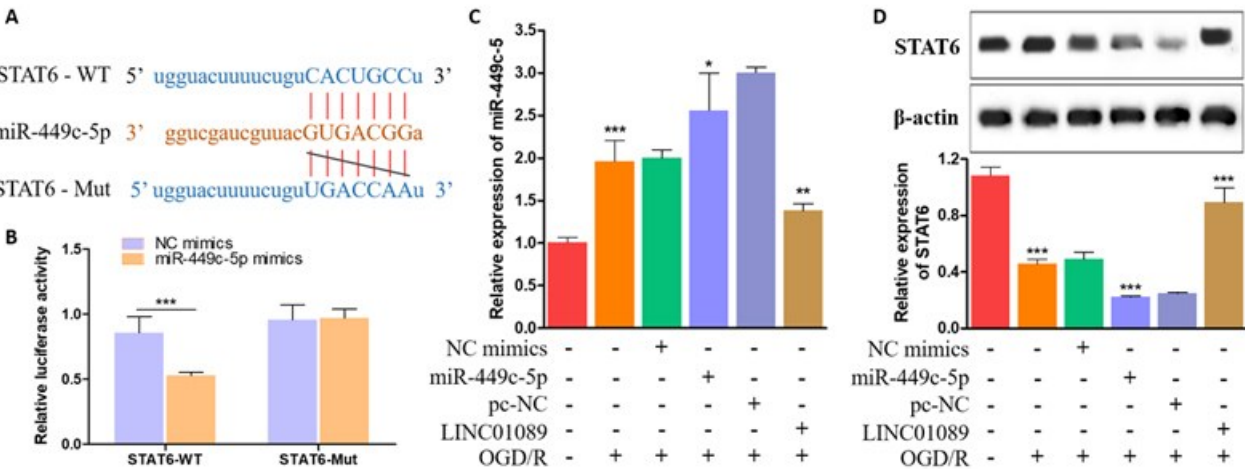


图5 荧光素酶报告基因实验验证STAT6是miR-449c-5p的下游靶点

A. 网站检索miR-449c-5p与STAT6互补结合位点;B. 用荧光素酶活性实验验证miR-449c-5p可与STAT6靶向结合;C. 细胞miR-449c-5p的表达水平;D. 细胞STAT6蛋白表达水平;与NC mimics组比,***P*<0.01,****P*<0.001;与pc-NC组比,*****P*<0.001

依赖性 M1 型小胶质细胞极化,促进神经炎症^[10]。miRNA 在调节巨噬细胞向经典型和交替激活型分化过程中起着关键的作用^[11]。研究表明,miR-124 下调 M1 型相关标志物的表达,并上调 M2 型相关标志物的表达^[12]。本研究发现,小胶质细胞 OGD/R 损伤后,小胶质细胞 lncRNA LINC01089 显著下调,miR-449c-5p 显著上调;此外,过表达 lncRNA LINC01089 和低表达 miR-449c-5p 可抑制促炎因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 表达,并促进抗炎因子 IL-4、IL-10 和 TGF- β 表达。

STAT 信号通路广泛参与细胞增殖、分化、凋亡以及免疫调节等过程,是众多细胞因子信号转导的重要途径^[13]。STAT6 是一种受其磷酸化状态调节的细胞质转录因子,可响应 IL-4 和 IL-13 而被激活。关键酪氨酸残基磷酸化后,STAT6 发生二聚化,从细胞质转移至细胞核,并与其同源 DNA 结合,从而导致靶基因的特异性转录上调^[14]。研究表明,IL-4/STAT6 信号通过炎症增强剂的直接转录抑制,诱导巨噬细胞对微生物、应激和损伤相关的内源性信号脱敏^[15]。研究发现,高血糖促进从暴露于 APAP 的肝脏中获得的肝内巨噬细胞的 M1 极化,抑制 M2 极化, MCP-1 和 iNOS 基因表达增加,而 Arg-1 和 CD206 基因表达降低并伴随 STAT1 激活增加而 STAT6 激活减少^[16]。本研究发现 miR-449c-5p 能够靶向负调控 STAT6 表达,miR-449c-5p 模拟物可以抑制 STAT6 的表达。

综上所述,lncRNA LINC01089 在调节小胶质细胞 OGD/R 处理后的炎症反应中具有潜在作用,其机制可能是下调 lncRNA LINC01089,靶向促进 miR-449c-5p 的表达,从而上调 STAT6 表达,促使小胶质细胞向 M1 型转化,促进炎症反应。

【参考文献】

[1] Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, *et al.* Heart disease and stroke statistics-2017 update: a report from the american heart association [J]. *Circulation*, 2017, 135(10): e146-e603.

[2] Moskowitz MA, Lo EH, Iadecola C. The science of stroke: mechanisms in search of treatments [J]. *Neuron*, 2010, 67(2): 181-198.

[3] Fisher M, Saver JL. Future directions of acute ischaemic stroke therapy [J]. *Lancet Neurol*, 2015, 14(7): 758-767

[4] Wang Y, Pan WY, Ge JS, *et al.* A review of the relationship

between long noncoding RNA and post-stroke injury repair [J]. *J Int Med Res*, 2019, 47(10): 4619-4624.

[5] Saugstad JA. Non-coding RNAs in stroke and neuroprotection [J]. *Front Neurol*, 2015, 6: 50.

[6] Salter MW, Beggs S. Sublime microglia: expanding roles for the guardians of the CNS [J]. *Cell*, 2014, 158(1): 15-24.

[7] Patel AR, Ritzel R, McCullough LD, *et al.* Microglia and ischemic stroke: a double-edged sword [J]. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*, 2013, 5(2): 73-90.

[8] Ma Y, Wang J, Wang Y, *et al.* The biphasic function of microglia in ischemic stroke [J]. *Prog Neurobiol*, 2017, 157: 247-272.

[9] Van Ginderachter JA, Movahedi K, Hassanzadeh Ghassabeh G, *et al.* Classical and alternative activation of mononuclear phagocytes: picking the best of both worlds for tumor promotion [J]. *Immunobiology*, 2006, 211(6-8): 487-501.

[10] Wang J, Zhao H, Fan Z, *et al.* Long noncoding RNA H19 promotes neuroinflammation in ischemic stroke by driving histone deacetylase 1-Dependent M1 microglial polarization [J]. *Stroke*, 2017, 48(8): 2211-2221.

[11] Ponomarev ED, Veremeyko T, Weiner HL. MicroRNAs are universal regulators of differentiation, activation, and polarization of microglia and macrophages in normal and diseased CNS [J]. *Glia*, 2013, 61(1): 91-103

[12] Ponomarev ED, Veremeyko T, Barteneva N, *et al.* MicroRNA-124 promotes microglia quiescence and suppresses EAE by deactivating macrophages via the C/EBP- α -PU.1 pathway [J]. *Nat Med*, 2011, 17(1): 64-70.

[13] Lawrence T, Natoli G. Transcriptional regulation of macrophage polarization: enabling diversity with identity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(11): 750-761.

[14] Hou J, Schindler U, Henzel WJ, *et al.* An interleukin-4-induced transcription factor: IL-4 Stat [J]. *Science*, 1994, 265(5179): 1701-1706.

[15] Czimmerer Z, Daniel B, Horvath A, *et al.* The transcription factor STAT6 mediates direct repression of inflammatory enhancers and limits activation of alternatively polarized macrophages [J]. *Immunity*, 2018, 48(1): 75-90.

[16] Wang Q, Wei S, Zhou H, *et al.* Hyperglycemia exacerbates acetaminophen-induced acute liver injury by promoting liver-resident macrophage proinflammatory response via AMPK/PI3K/AKT-mediated oxidative stress [J]. *Cell Death Discov*, 2019, 5: 119.