

张雪儿,安红伟. 缺氧诱导因子 1 α 对小胶质细胞 M1 极化的影响及其机制研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(9): 34-38.

Zhang XE, An HW. Effect of hypoxia-inducible factor 1 α on microglia M1 polarization and its mechanism [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(9): 34-38.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.09.005

缺氧诱导因子 1 α 对小胶质细胞 M1 极化的影响及其机制研究

张雪儿,安红伟*

(广西中医药大学第三附属医院神经内科,广西 柳州 545000)

【摘要】 目的 研究缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α) 对小胶质细胞 M1 极化的影响及其影响机制。方法 将小胶质细胞 (BV-2 细胞) 随机分为 6 个组: Control 组和 10、50、100、200、500 μ g/L 重组 HIF-1 α 蛋白刺激处理组。采用荧光共聚焦法观察各组 BV-2 细胞的形态变化; 采用免疫蛋白印迹法定量分析重组 HIF-1 α 蛋白刺激处理后 NF- κ B p65、p-STAT1 和 TRAF6 蛋白含量变化。结果 与对照组相比, 重组 HIF-1 α 蛋白刺激后小胶质细胞胞体变大, 呈圆形或吞噬状, 突起变粗变短; 胞内 NF- κ B p65、TRAF6 蛋白较对照组显著增加, 不同浓度重组 HIF-1 α 蛋白刺激处理组对比结果有显著差异。结论 HIF-1 α 可刺激小胶质细胞 M1 极化, 不同浓度重组 HIF-1 α 蛋白刺激处理有量效关系, 其机制可能与通过 TLR4/Myd88/NF- κ B 通路调节 TRAF6 和 NF- κ B 活化有关。

【关键词】 缺氧诱导因子 1 α ; 缺血性卒中; 小胶质细胞

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 09-0034-05

Effect of hypoxia-inducible factor 1 α on microglia M1 polarization and its mechanism

ZHANG Xueer, AN Hongwei*

(Department of Neurology, the Third Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Liuzhou 545000, China)

【Abstract】 **Objective** To study the effect of hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) on microglia M1 polarization and its mechanism. **Methods** Microglia (BV-2 cells) were randomly divided into six groups: control, 10, 50, 100, 200 and 500 μ g/L recombinant HIF-1 α groups. Morphological changes of BV-2 cells were observed by fluorescence confocal microscopy. Changes of nuclear factor (NF)- κ B p65, p-STAT1 and TRAF6 protein contents after recombinant HIF-1 α protein stimulation were quantitatively analyzed by Western blot. **Results** Compared with the control group, microglia cells stimulated by recombinant HIF-1 α protein became larger, round or phagocytic, and their processes became thicker and shorter. Intracellular NF- κ B p65 and TRAF6 proteins were significantly increased compared with the control group, and the result of groups with varying concentrations of recombinant HIF-1 α protein stimulation were significantly different. **Conclusions** HIF-1 α can stimulate microglial M1 polarization and there was a dose-effect relationship between different concentrations of recombinant HIF-1 α , which may be related to the regulation of TRAF6 and NF- κ B activation through the TLR4/Myd88/NF- κ B pathway.

【Keywords】 HIF-1 α ; ischemic stroke; microglial

【基金项目】 国家自然科学基金 (81760413); 柳州市重点研发科技计划项目 (2019BJ10611); 中医药适宜技术开发与推广项目 (GZSY21-64)。

【作者简介】 张雪儿 (1996—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 脑血管病的基础与临床。E-mail: 540076344@qq.com

【通信作者】 安红伟 (1971—), 男, 主任医师, 硕士, 研究方向: 脑血管病的基础与临床。E-mail: ahw0305@163.com

缺血性卒中 (ischemic stroke) 是指脑缺血缺氧导致脑组织损伤, 进而产生神经功能缺损的一类疾病, 其主要原因为脑供血动脉狭窄或闭塞。缺血性卒中是全球致死和残疾的第二大原因^[1]。小胶质细胞 (microglial) 作为大脑的巨噬细胞, 可以监测微环境并启动免疫应答。在对各种脑损伤的反应中, 小胶质细胞被激活并极化为 M1 型小胶质细胞 (促炎) 或 M2 型小胶质细胞 (抗炎)^[2]。这些小胶质细胞所产生的免疫调节分子如各种炎症因子和趋化因子分别与缺血性脑卒中后的继发性脑损伤或脑修复密切相关; 近年来, 许多研究发现在脑灌注不足的动物模型中发现小胶质细胞细胞数量显著增加, 且小胶质细胞 M1 极化产生的炎症免疫反应与缺血性脑卒中息息相关^[2-4]。转录激活因子 1 (signal transducers and activators of transcription1, STAT1)、核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 和肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6) 是小胶质细胞 M1 极化相关通路中的关键因子^[1]。近期研究发现在机体缺血缺氧状态下, HIF-1 α 表达升高, 小胶质细胞活化明显^[5]。因此, 研究推测 HIF-1 α 参与小胶质细胞活化极化过程。本研究用不同浓度的重组 HIF-1 α 蛋白处理体外培养的小胶质细胞, 观察 HIF-1 α 对小胶质细胞形态的影响以及对小胶质细胞 p-STAT1、NF- κ B p65 和 TRAF6 蛋白的表达影响, 以期明确 HIF-1 α 是否参与小胶质细胞 M1 极化过程以及其参与机制。

1 材料和方法

1.1 细胞

小鼠小胶质细胞—BV-2 细胞系 (武汉普诺赛生命科技有限公司)。

1.2 主要试剂与仪器

DMEM/F12 培养基 (gibco, 货号: C11330500BT); 南美胎牛血清 (gibco, 货号: 10270106); 双抗 (gibco, 货号: 15140122); 重组 HIF-1 α 蛋白 (prospec, 货号: PRO-477); 蛋白 marker (thermo, 货号: 26616); iba1 抗体 (novus biologicals, 货号: NB100-1028); 猴抗羊 IgG-FITC (proteintech, 货号: SA00003-3); DAPI (abcam, 货号: ab104139); GAPDH (CST, 货号: D16H11); NF- κ B p65 (bioss, 货号: BSM-33059M); p-STAT1 (santa, 货号: sc-8394); TRAF6 (santa, 货号: sc-8409); 羊抗兔 IgG (bioss, 货号: bs-0295G); 羊抗鼠 IgG (bioss, 货号: bs-40296G); 10% 山羊血清 (beyotime, 货号: C0265); BSA (biofrox, 货号: 4240GR100); meilunbio 飞克特

超敏 ECL 发光液 (meilunbio, 货号: MA0186); 抗体稀释液 (beyotime, 货号: WB100D)。

共聚焦显微镜 (nikon); 化学发光仪 (BLT); 酶标仪 (thermo); 电泳槽 (晟利科技, 货号: seli-1-0248); 电泳仪 (bio-rad); 电转芯 (easybio, 货号: BE6092); CO₂ 培养箱 (biobase)。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养

采用 DMEM/F12 培养基、胎牛血清和双抗培养 BV-2 小胶质细胞, 置于 5% CO₂、37°C 培养箱培养并传代。取对数生长期细胞, 接种于 24 孔板 (细胞爬片提前置于 24 孔板内) 和 6 孔板, 加培养基培养 1 d 后随机分为 6 组: Control 组、10、50、100、200 和 500 μ g/L 缺氧诱导因子 1 α 重组蛋白刺激组, 每组设 3 个副孔。Control 组不作处理; 重组 HIF-1 α 蛋白处理组分别用重组 HIF-1 α 蛋白 10、50、100、200 和 500 μ g/L 处理 BV-2 细胞 24 h。

1.3.2 iba1 荧光共聚焦

吸净二十四孔板里的培养基, PBS 洗 1 遍; 用 4% 多聚甲醛将二十四孔板里的细胞爬片固定 15 min, PBS 洗 3 遍; 用 0.5% Triton 通透细胞爬片 10 min, 洗 3 遍; 扣出细胞爬片放入湿盒, 用 10% 山羊血清室温保湿封闭 1 h; 往每张爬片上滴加 Iba1 抗体 (1:500, 羊抗) 4°C 保湿孵育过夜。次日洗 3 遍后, 滴加猴抗羊 IgG-FITC (1:100), 室温保湿避光孵育 1 h, 洗 3 遍, DAPI 避光复染后, 共聚焦荧光显微镜下观察拍照。

1.3.3 蛋白免疫印迹

按照上述分组处理细胞后, 收集各组细胞, 采用 BCA 法对各组蛋白进行定量, 计算上样量。取样进行 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白, 湿转法电转移至 PVDF 膜, 据需要的目的蛋白分子量切取条带, BSA 封闭 2 h, 放入稀释好的 GAPDH (1:1000, 兔抗)、NF- κ B p65 (1:1000, 兔单克隆抗体)、p-STAT1 (1:200, 鼠单克隆抗体) 和 TRAF6 (1:200, 鼠单克隆抗体), 4°C 孵育过夜, 后放置于羊抗兔 IgG (1:5000)、羊抗鼠 IgG (1:5000), 4°C 孵育 2 h, 加入发光液, 放入仪器成像。采用 Image J 软件测量条带灰度值并进行分析。

1.4 统计学方法

数据采用 Graphpad Prism 9.2 进行统计分析, 计量资料采用平均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 两组比较采用 *t* 检验, 多组比较采用单因素方差分析 (One-ANOVA), *P* < 0.05 表示差异具有统计学意义, 所有实验均重复 3 次以上。

2 结果

2.1 重组 HIF-1 α 蛋白对小胶质细胞形态的影响

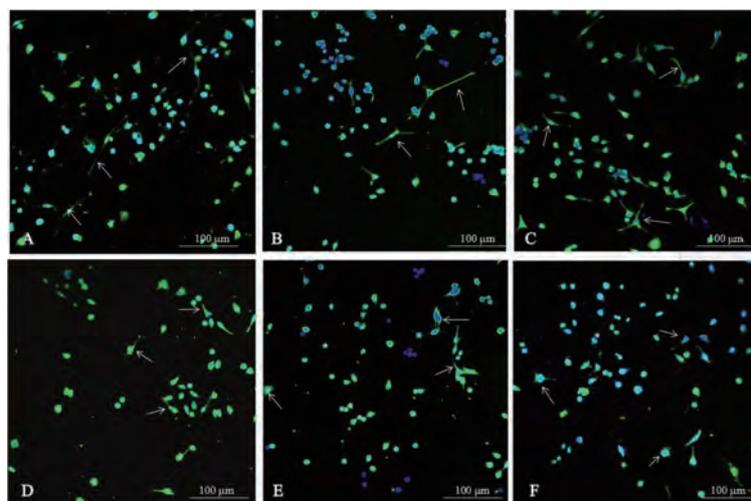
Control 组可观察到 BV-2 细胞突起较多,呈细长状,且胞体较为扁平(图 1A 箭头);与 Control 相比,10、50 $\mu\text{g/L}$ 重组 HIF-1 α 蛋白处理组 BV-2 变化相对不明显,仅为突起稍变短(图 1B、1C 箭头);然而,与 Control 组相比,100、200、500 $\mu\text{g/L}$ HIF-1 α 重组蛋白组 BV-2 细胞可观察到突起变少变粗短,胞体变圆变钝(图 1D、1E 箭头),尤其 500 $\mu\text{g/L}$ 组 BV-2 细胞类似于巨噬细胞,胞体相对更为圆钝(图 1F 箭头)。

2.2 蛋白免疫印迹检测结果

重组 HIF-1 α 蛋白刺激前后的细胞 NF- κ B p65 和 TRAF6 蛋白表达具有统计学差异($P < 0.05$), p-STAT1 蛋白表达不具有统计学差异($P > 0.05$)。Control 组 NF- κ B p65 和 TRAF6 蛋白表达量很少,经 HIF-1 α 重组蛋白刺激后,不同浓度组 NF- κ B p65 和 TRAF6 蛋白表达量升高(图 2)。给予重组 HIF-1 α 蛋白刺激后,与 Control 组相比,50 $\mu\text{g/L}$ 浓度以上各组 NF- κ B p65 表达均明显上升,100 $\mu\text{g/L}$ 浓度以上各组 TRAF6 表达均明显升高,且 NF- κ B p65 和 TRAF6 蛋白表达在刺激浓度不同的组间也有明显差异(图 3, $P < 0.05$);然而不同浓度组 p-STAT1 蛋白与 Control 相比含量均无统计学意义(图 3, $P > 0.05$)。

3 讨论

缺血性脑卒中一直是老年人病死及致残的一大原因,对社会及个人均产生较大的负担。M1 型小胶已被证实可分泌促炎细胞因子,使机体保持促炎状态,进而促进缺血性脑卒中后脑损伤的发生^[6]。研究表明在缺血性卒中发生后, M1 型小胶质细胞被活化,从而发挥有害作用。梗死模型小鼠中发现,小胶质细胞数量显著增加,小胶质细胞趋于 M1 型极化,其产生的趋化因子可将 CD8⁺ 的杀伤 T 细胞招募到缺血脑组织,被认为是加重脑梗死的主要因素^[7],而其分泌炎症因子可增加缺血性卒中后内皮坏死和血脑屏障渗漏,进一步促进神经炎症和脑水肿,最终导致预后不良^[8]。因此,本研究从 M1 型小胶质细胞极化的影响因素及其机制进行探讨,为探索治疗缺血性卒中新方向奠定基础。研究表明当机体缺氧时,体内 HIF-1 α 上升,大脑内小胶质细胞活化且炎症介质表达增高,当抑制 NF- κ B 的活化, HIF-1 α 的产生减少^[9],此外,在癫痫小鼠体内, HIF-1 α 表达增加可导致小胶质细胞数量增加,并诱导其极化至 M1 型,从而触发促炎介质的释放^[10],且当下调 HIF-1 α 表达及其参与通路可减少小胶质细胞 M1 型极化,从而减弱机体炎症反应^[11]。虽然上述过往及最新研究均表明 HIF-1 α 可能与小胶质细胞 M1 型极化相关,但是 HIF-1 α 是否



注:A:对照组;B:10 $\mu\text{g/L}$ 缺氧诱导因子 1 α 重组蛋白刺激组;C:50 $\mu\text{g/L}$ 缺氧诱导因子 1 α 重组蛋白刺激组;D:100 $\mu\text{g/L}$ 缺氧诱导因子 1 α 重组蛋白刺激组;E:200 $\mu\text{g/L}$ 缺氧诱导因子 1 α 重组蛋白刺激组;F:500 $\mu\text{g/L}$ 缺氧诱导因子 1 α 重组蛋白刺激组。

图 1 缺氧诱导因子 1 α 诱导小胶质细胞 M1 极化

Note. A, Control group. B, 10 $\mu\text{g/L}$ HIF-1 α treatment group. C, 50 $\mu\text{g/L}$ HIF-1 α treatment group. D, 100 $\mu\text{g/L}$ HIF-1 α treatment group. E, 200 $\mu\text{g/L}$ HIF-1 α treatment group. F, 500 $\mu\text{g/L}$ HIF-1 α treatment group.

Figure 1 HIF-1 α induced polarization of M1 in microglia

能直接作用于小胶质细胞进而引起其 M1 极化并不明确,因此,本研究采用体外实验证明 HIF-1 α 对小胶质细胞的作用。本研究采用重组 HIF-1 α 蛋白胞外直接刺激小胶质细胞,用共聚焦免疫荧光显微镜观察小胶质细胞的形态,发现小胶质细胞形态偏向 M1 型极化,说明 HIF-1 α 可能促使小胶质细胞发生 M1 型极化。目前国内外关于 HIF-1 α 对小胶质细胞 M1 型极化的作用机制并不明确。过往研究表明当机体缺血/缺氧时, NF- κ B 在小胶质细胞内被激活,从而促使小胶质细胞释放促炎细胞因子,如 IL-

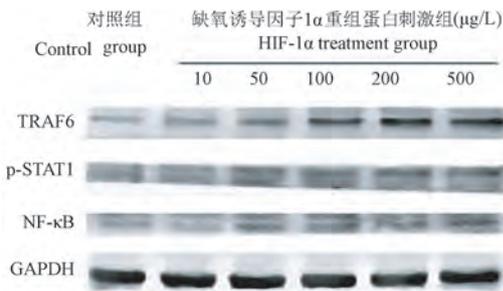
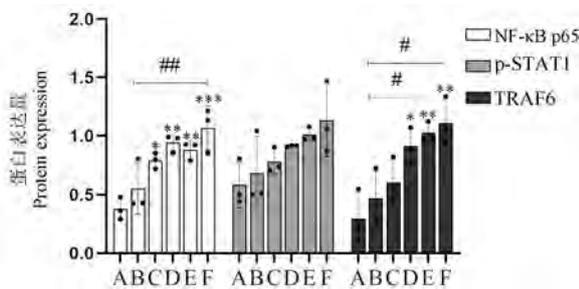


图 2 蛋白免疫印迹检测 BV-2 细胞 NF- κ B p65、p-STAT1 和 TRAF6 表达

Figure 2 Expressions of NF- κ B p65, p-STAT1 and TRAF6 in BV-2 cells were investigated by Western blot



注:A:对照组;B:10 μ g/L 缺氧诱导因子 1 α 重组蛋白刺激组;C:50 μ g/L 缺氧诱导因子 1 α 重组蛋白刺激组;D:100 μ g/L 缺氧诱导因子 1 α 重组蛋白刺激组;E:200 μ g/L 缺氧诱导因子 1 α 重组蛋白刺激组;F:500 μ g/L 缺氧诱导因子 1 α 重组蛋白刺激组。与对照组相比, * P <0.05, ** P <0.1, *** P <0.01;与 200, 500 μ g/L 缺氧诱导因子 1 α 重组蛋白刺激组相比, # P <0.05;与 500 μ g/L 缺氧诱导因子 1 α 重组蛋白刺激组相比, ## P <0.01。

图 3 缺氧诱导因子 1 α 对 NF- κ B p65、p-STAT1 和 TRAF6 蛋白表达量的影响

Note. A, Control group. B, 10 μ g/L HIF-1 α treatment group. C, 50 μ g/L HIF-1 α treatment group. D, 100 μ g/L HIF-1 α treatment group. E, 200 μ g/L HIF-1 α treatment group. F, 500 μ g/L HIF-1 α treatment group. Compared with control group, * P <0.05, ** P <0.1, *** P <0.01. Compared with 200 and 500 μ g/L HIF-1 α treatment group, # P <0.05. Compared with 500 μ g/L HIF-1 α treatment group, ## P <0.01.

Figure 3 Effects of HIF-1 α on the expression of NF- κ B p65, p-STAT1 and TRAF6 proteins

1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 等,最终导致继发性脑功能受损;转录因子 NF- κ B 被证实可以激活小胶质细胞,并将这些激活的细胞转化为 M1 表型,黄芩素通过减少 NF- κ B p65 的核转位抑制 NF- κ B 信号转导,抑制小胶质细胞 M1 极化,从而减少促炎因子 IL-6、IL-18 和 TNF- α 的释放^[12],此外,抑制激活的 NF- κ B 上调可减少 HIF-1 α 的产生,从而减弱缺血性卒中后产生的一系列的脑神经免疫炎症反应^[13]。本研究聚焦于 NF- κ B p65 蛋白,发现经过重组 HIF-1 α 蛋白刺激后, NF- κ B p65 表达量明显上升 (图 3),说明 NF- κ B p65 参与小胶质细胞 M1 型极化过程。既往研究发现小胶质细胞 M1 极化涉及的通路包括酪氨酸激酶 (janus kinase, JAK)/

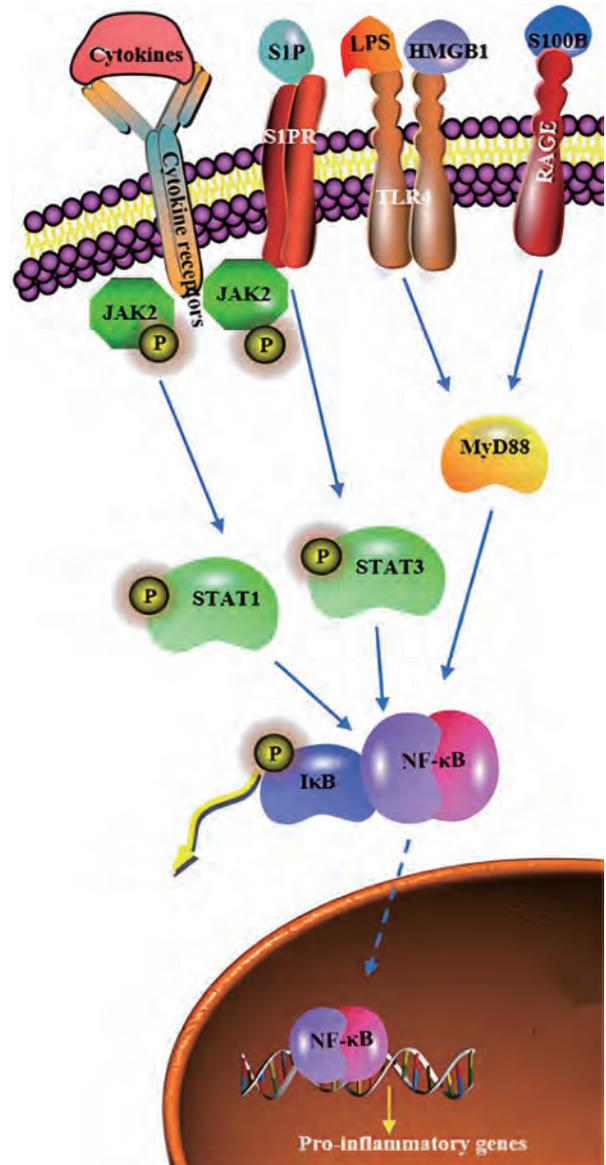


图 4 小胶质细胞 M1 极化的机制图^[1]

Figure 4 Mechanistic diagram of M1 polarization in microglia

STAT1/NF- κ B 通路、JAK2/STAT3/NF- κ B 通路和 Toll 样受体 (toll-like receptor-4, TLR4)/髓样分化蛋白抗原 (myeloid differential protein-88, myd88)/NF- κ B 通路^[1], 具体见图 4。在缺氧状态时, 发现激活的 BV-2 细胞中 p-STAT1 水平显著升高, 同时 M1 小胶质细胞标记物白细胞分化簇 (cluster of differentiation, CD68) 表达水平升高^[14]。Luo 等^[15]和 Zhou 等^[16]发现 TLR4 是小胶质细胞 M1 极化可能的细胞因子受体, 而 TRAF6 是 TLR4/Myd88 通路中的关键因子, TRAF6 可能与小胶质 M1 极化有关。为了验证 p-STAT1 和 TRAF6 对小胶质细胞 M1 极化的影响, 本研究检测了 p-STAT1 和 TRAF6 蛋白表达量, 发现 TRAF6 在重组 HIF-1 α 蛋白刺激后表达显著升高, 而 p-STAT1 表达没有显著变化 (图 3), 说明 TRAF6 和 NF- κ B p65 参与小胶质细胞 M1 极化过程, 我们推测 HIF-1 α 可能通过 TLR4/Myd88/NF- κ B 通路引起小胶质细胞发生 M1 型极化, p-STAT1 经 HIF-1 α 刺激后无显著差异, 这可能是因为主要经过其他通路使小胶质细胞发生 M1 型极化, 也可能是因为磷酸化的位点本次实验采用的位点, 可以增加其他磷酸化位点的 p-STAT1 进行再一次验证。然而有意思的是 NF- κ B p65 在 HIF-1 α 浓度为 50 μ g/L 以上才有明显升高, 而 TRAF6 需要 HIF-1 α 浓度达到 100 μ g/L 以上才有明显提高, 关于两个蛋白 HIF-1 α 刺激阈浓度的不同有待进一步研究; 但值得肯定的是两者在 HIF-1 α 为 10 μ g/L 时均不出现明显变化 (图 3), 且从共聚焦的图片来看, HIF-1 α 的刺激浓度超过 50 μ g/L 才会开始使小胶质细胞 M1 极化 (图 1), 这些结果说明需要达到一定的浓度 HIF-1 α 才能使小胶质细胞发生 M1 型极化。本研究初步探索了 HIF-1 α 对小胶质细胞 M1 极化的可能机制。然而, HIF-1 α 对小胶质细胞 M1 极化是否存在其他的共同作用机制尚不完全清楚, 需要进一步的体外和体内研究来证实。

综上, 本研究发现 HIF-1 α 可诱导小胶质细胞 M1 型极化, 其作用机制可能通过上调 TLR4/Myd88/NF- κ B 通路来实现的。

参考文献:

- [1] Jiang CT, Wu WF, Deng YH, et al. Modulators of microglia activation and polarization in ischemic stroke (Review) [J]. Mol Med Rep, 2020, 21(5): 2006-2018.
- [2] Ma YY, Wang JX, Wang YT, et al. The biphasic function of microglia in ischemic stroke [J]. Prog Neurobiol, 2017, 157(10): 247-272.
- [3] Fowler JH, McQueen J, Holland PR, et al. Dimethyl fumarate improves white matter function following severe hypoperfusion;

- involvement of microglia/macrophages and inflammatory mediators [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2018, 38(8): 1354-1370.
- [4] Liu M, Xu ZP, Wang L, et al. Cottonseed oil alleviates ischemic stroke injury by inhibiting the inflammatory activation of microglia and astrocyte [J]. J Neuroinflammation, 2020, 17(1): 270-285.
 - [5] Wang XT, Ma J, Fu Q, et al. Role of hypoxia-inducible factor-1 α in autophagic cell death in microglial cells induced by hypoxia [J]. Mol Med Rep, 2017, 15(4): 2097-2105.
 - [6] Xiong XY, Liu L, Yang QW. Functions and mechanisms of microglia/macrophages in neuroinflammation and neurogenesis after stroke [J]. Prog Neurobiol, 2016, 142(1): 23-44.
 - [7] Wang SW, Zhang H, Xu Y. Crosstalk between microglia and T cells contributes to brain damage and recovery after ischemic stroke [J]. Neurol Res, 2016, 38(6): 495-503.
 - [8] Chen AQ, Fang Z, Chen XL, et al. Microglia-derived TNF- α mediates endothelial necroptosis aggravating blood brain-barrier disruption after ischemic stroke [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(7): 487-505.
 - [9] Sheu SY, Hong YW, Sun JS, et al. Radix scrophulariae extracts (harpagoside) suppresses hypoxia-induced microglial activation and neurotoxicity [J]. BMC Complement Altern Med, 2015, 15(9): 324-333.
 - [10] Butturini E, Boriero D, Carcereri-de Prati A, et al. STAT1 drives M1 microglia activation and neuroinflammation under hypoxia [J]. Arch Biochem Biophys, 2019, 669(7): 22-30.
 - [11] Xu JW, Tu YY, Wang Y, et al. Prodrug of epigallocatechin-3-gallate alleviates choroidal neovascularization via down-regulating HIF-1 α /VEGF/VEGFR2 pathway and M1 type macrophage/microglia polarization [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 121(1): 1-9.
 - [12] Yang SL, Wang HG, Yang YL, et al. Baicalein administered in the subacute phase ameliorates ischemia-reperfusion-induced brain injury by reducing neuroinflammation and neuronal damage [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 117(9): 1-12.
 - [13] Liu R, Liao XY, Pan MX, et al. Glycine exhibits neuroprotective effects in ischemic stroke in rats through the inhibition of M1 microglial polarization via the NF- κ B p65/HIF-1 α signaling pathway [J]. J Immunol, 2019, 202(6): 1704-1714.
 - [14] Fu M, Zhu YQ, Zhang JQ, et al. miR-221-3p suppresses the microglia activation and seizures by inhibiting of HIF-1 α in valproic acid-resistant epilepsy [J]. Front Pharmacol, 2021, 12(8): 1-15.
 - [15] Luo Y, Wang C, Li WH, et al. Madecassoside protects BV-2 microglial cells from oxygen-glucose deprivation/reperfusion-induced injury via inhibition of the toll-like receptor 4 signaling pathway [J]. Brain Res, 2018, 1679(1): 144-154.
 - [16] Zhou LJ, Liu ZJ, Wang ZX, et al. Astragalus polysaccharides exerts immunomodulatory effects via TLR4-mediated MYD88-dependent signaling pathway *in vitro* and *in vivo* [J]. Sci Rep, 2017, 7(3): 1-13.

[收稿日期] 2021-12-08