

温翔宇,张军宏,朱存良.七氟醚调控 NRF2/HO-1/HMGB1 通路减轻缺氧诱导的小胶质细胞炎症反应 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(2): 66-73.

Wen XY, Zhang JH, Zhu CL. Sevoflurane regulates the NRF2/HO-1/HMGB1 pathway and reduces hypoxia-induced inflammatory responses in microglia [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(2): 66-73.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.02.010

七氟醚调控 NRF2/HO-1/HMGB1 通路减轻缺氧诱导的小胶质细胞炎症反应

温翔宇^{1*}, 张军宏², 朱存良³

(1. 甘肃省定西市人民医院麻醉科, 甘肃 定西 743000; 2. 甘肃省定西市人民医院泌尿外科, 甘肃 定西 743000; 3. 湖南省娄底市中心医院, 湖南 娄底 417000)

【摘要】 目的 探讨七氟醚对缺氧诱导的小胶质细胞炎症反应的影响, 及对转录因子 NF-E2 相关因子 2 (NRF2) 及血红素加氧酶 1 (HO-1)/高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1) 通路的调控作用。方法 缺氧不同时间 (0、2、4、6、8、12 h) 诱导 BV-2 小胶质细胞活化建立炎症模型, 倒置显微镜观察细胞活化形态并计算活化细胞比例; Western blot 法检测小胶质细胞 NRF2、HO-1、HMGB1 及白介素 1 β (IL-1 β) 蛋白表达水平, 筛选最佳缺氧时间 8 h。观察缺氧 8 h 条件下七氟醚不同浓度 (0%、2%、4%、6%) 处理 30 min 对 NRF2、HO-1、HMGB1、IL-1 β 蛋白表达的影响。将 BV-2 细胞分为正常对照组、缺氧诱导组、6%七氟醚组、SnPP 组 (NRF2/HO-1 通路抑制剂-锡原卟啉)、6%七氟醚+SnPP 组, 计算活化细胞比例并检测细胞 NRF2/HO-1/HMGB1 通路蛋白及核转录因子- κ B p65 (NF- κ B p65)、磷酸化 NF- κ B p65 (p-NF- κ B p65)、IL-1 β 蛋白表达水平。结果 随着缺氧时间延长, 活化细胞比例及 HMGB1、IL-1 β 表达逐渐升高, NRF2、HO-1 蛋白在 8~12 h 时下降至最低水平 ($P<0.05$), 实验选用 8 h 为缺氧诱导条件。随着七氟醚浓度升高, 活化细胞比例、HMGB1、IL-1 β 表达逐渐减少, NRF2、HO-1 逐渐升高 ($P<0.05$), 且呈剂量依赖性, 选取 6%七氟醚为处理浓度。与正常对照组比较, 缺氧诱导组 NRF2、HO-1 表达降低, 活化细胞比例、HMGB1、IL-1 β 、p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 表达升高 ($P<0.05$)。6%七氟醚组上述指标变化与缺氧诱导组相反 ($P<0.05$); SnPP 组上述指标变化与缺氧诱导组一致且比缺氧诱导组严重 ($P<0.05$)。6%七氟醚+SnPP 组上述指标变化与 6%七氟醚组相反 ($P<0.05$)。结论 七氟醚可通过促进 NRF2/HO-1 活化, 抑制 HMGB1 表达, 来减轻缺氧诱导的 MG 活化及炎症反应进程。

【关键词】 七氟醚; 缺氧; 小胶质细胞; NRF2/HO-1/HMGB1 通路; 炎症反应

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 02-0066-08

Sevoflurane regulates the NRF2/HO-1/HMGB1 pathway and reduces hypoxia-induced inflammatory responses in microglia

WEN Xiangyu^{1*}, ZHANG Junhong², ZHU Cunliang³

(1. Department of Anesthesiology, Dingxi People's Hospital of Gansu Province, Dingxi 743000, China. 2. Department of Urology, Dingxi People's Hospital of Gansu Province, Dingxi 743000. 3. Loudi Central Hospital of Hunan Province, Loudi 417000)

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of sevoflurane on hypoxia-induced inflammatory responses of microglia and regulation of the nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2)/heme oxygenase 1 (HO-1)/high mobility group protein B1 (HMGB1) pathway. **Methods** BV-2 mouse microglia were activated by inducing hypoxia for 0, 2, 4, 6, 8 and 12 h to establish an inflammation model. The activated cells were observed by inverted microscope, and the

[基金项目] 2020 年度娄底市科技创新项目 (娄科发 [2020] 27 号)。

[作者简介] 温翔宇 (1983—), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 临床麻醉。E-mail: wxyzhj83@163.com

proportion of activated cells was calculated. Western blot were used to detect the expression levels of NRF2, HO-1, HMGB1 and interleukin (IL)-1 β proteins in microglia. The optimal hypoxia time was 8 h. BV-2 microglia were activated under hypoxic conditions for 8 h; treated with different concentrations of sevoflurane (0%, 2%, 4% and 6%) for 30 min; and NRF2, HO-1, HMGB1, IL-1 β protein expression was observed. BV-2 cells were divided into a control group, hypoxia-induction group, 6% sevoflurane group, SnPP group (NRF2/HO-1 pathway inhibitor stannous porphyrin), and 6% sevoflurane + SnPP group. The ratio of activated cells was calculated, and the protein expression levels of NRF2, HO-1, HMGB1, nuclear factor- κ B p65 (NF- κ B p65), phosphorylated NF- κ B p65 (p-NF- κ B p65) and IL-1 β were determined. **Results** With prolonged hypoxia time, the proportion of activated cells and expression of HMGB1 and IL-1 β gradually increased, and NRF2 and HO-1 proteins decreased to the lowest level at 8~12 h ($P<0.05$). Therefore, the hypoxia-induction time of 8 h was chosen. With the increase in sevoflurane concentration, the proportion of activated cells and expression of HMGB1 and IL-1 β gradually decreased, and NRF2 and HO-1 expression gradually increased ($P<0.05$). These effects were dose-dependent, and 6% sevoflurane was selected as the treatment concentration. Compared with that in the control group, the expression of NRF2 and HO-1 in the hypoxia-induced group decreased, and the proportion of activated cells and expression of HMGB1, IL-1 β and p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 expression increased ($P<0.05$). The changes in the above indices in the 6% sevoflurane group were opposite to those in the hypoxia-induced group ($P<0.05$). The changes in the SnPP group were consistent with those in hypoxia-induced group and were more serious than those in hypoxia-induced group ($P<0.05$). The changes in the above parameters in the 6% sevoflurane + SnPP group were opposite to those in 6% sevoflurane group ($P<0.05$). **Conclusions** Sevoflurane treatment reduced hypoxia-induced microglial activation and inflammatory processes by promoting NRF2/HO-1 activation and inhibiting HMGB1 expression.

【Keywords】 sevoflurane; hypoxia; microglia; NRF2/HO-1/HMGB1 pathway; inflammatory response

小胶质(microglia cells, MG)细胞可调节大脑发育及神经系统的损伤和修复,被称为大脑巨噬细胞^[1]。MG也是神经炎症反应关键介质,缺血、缺氧或炎症刺激状态下激活MG,可清除坏死组织并发挥神经保护作用,但MG过度活化及死亡会释放大量的炎性介质,并导致神经系统产生不可逆损伤^[2-3]。探究MG活化及其活化后炎症反应机制,对神经系统疾病治疗具有一定临床意义。近来研究发现转录因子NF-E2相关因子2(transcription factor NF-E2 related factor 2, NRF2)/血红素加氧酶1(heme oxygenase 1, HO-1)通路可参与机体抗氧化应激反应,并能通过抑制下游炎症通路高迁移率族蛋白B1(high mobility group protein B1, HMGB1)/核转录因子- κ B(nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B)通路表达来发挥抗炎反应,进而参与多种疾病生理过程^[4-5]。但NRF2/HO-1/HMGB1通路参与MG炎症反应过程的研究较少。目前临床常用麻醉剂-七氟醚能够促进MG活化,并抑制炎症反应来缓解创伤性脑损伤大鼠脑损伤进程^[6],但有研究显示七氟醚能够诱导MG活化并促进其炎症反应^[7]。因此对七氟醚的作用仍存在争议。本研究体外培养MG,并给予缺氧及七氟醚处理,以期验证七氟醚对MG活化及炎症反应的调控作用,并从NRF2/HO-1/HMGB1通路阐明其调控炎症反应的分子生物学机

制,为神经系统炎症性疾病的治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 细胞

BV-2小鼠MG细胞(货号:YCL-0493,武汉益普生物科技有限公司)。

1.2 主要试剂与仪器

七氟醚(批号:H20040772,美国Abbott公司); NRF2、HO-1、HMGB1、NF- κ B p65、磷酸化NF- κ B p65(p-NF- κ B p65)、白细胞介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)等抗体(货号:ab156883、ab189491、ab32536、ab79523、ab239882、ab234437,美国abcam)。麻醉气体检测仪(型号:Capnomac Datex AS/3,芬兰Datex. Ohmeda公司);光学显微镜(型号:SMZ745,日本尼康公司);化学发光仪(型号:GIS-500,杭州米欧仪器公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞复苏与培养

取BV-2小鼠MG细胞进行常规复苏后,置于5% CO₂、37℃、饱和湿度的恒温培养箱中,用DMEM培养基进行培养。每2 d更换1次培养基,5 d后传代进行后续试验。

1.3.2 细胞分组与处理

取细胞制备成每升 5×10^8 个的细胞悬液接种至96孔板上,每孔100 μ L,用无血清培养基孵育6~

12 h, 贴壁同步化后换用含血清培养基进行培养, 并进行如下分组处理: (1) 置于缺氧培养箱 (37℃、95% N₂、5% CO₂ 混合气体) 中进行培养, 并设置缺氧不同时间 (0、2、4、6、8、12 h) 组, 各组均在缺氧条件下处理后, 置于倒置显微镜下观察细胞活化形态, 并检测细胞活化比例及 NRF2、HO-1、HMGB1、IL-1β 蛋白表达水平, 选出最佳缺氧时间 8 h; (2) 设置七氟醚不同浓度 (0、2%、4%、6%) 组, 并置于两侧各有一小孔的密闭容器中, 一侧小孔接麻醉机, 输入氧气 (2 mL/min) 和七氟醚, 另一侧小孔端接麻醉气体监测仪测定七氟醚浓度达 0、2%、4%、6% 后, 维持 30 min 后, 置于缺氧培养箱中缺氧 8 h, 检测细胞活化比例及 NRF2、HO-1、HMGB1、IL-1β 蛋白表达水平; (3) 设置正常对照组、缺氧诱导组、6% 七氟醚组、SnPP 组 [NRF2/HO-1 通路抑制剂-锡原卟啉 (Sn-protoporphyrin, SnPP)]、6% 七氟醚+SnPP 组; 除正常对照组外, 其余各组均置于缺氧条件下培养 8 h; 6% 七氟醚组在缺氧前给予 6% 七氟醚处理 30 min; SnPP 组在缺氧处理前参考文献^[8]向培养基中加入终浓度为 5 μmol/L 的 SnPP; 6% 七氟醚+SnPP 组加入 SnPP 并进行 6% 七氟醚处理 30 min 后进行缺氧诱导。检测细胞活化比例及相关蛋白表达水平。

1.3.3 活化细胞比例检测

收集 1.3.2 项下各组细胞, 置倒置显微镜下观察细胞形态。每组取 3 个不同视野计数, 重复 3 次。MG 活化细胞比例 = (多极型细胞数量 + 纺锤样双极细胞数量) / 总细胞数量 × 100%。

1.3.4 Western blot 法检测细胞蛋白表达

收集 1.3.2 项下的各组细胞, 加入细胞裂解液抽提总蛋白后, 采用二喹啉甲酸法检测总蛋白浓度; 将变性后的蛋白样品行电泳及转膜反应后; 脱脂奶粉封闭聚偏氟乙烯膜 2 h 后, 加入一抗 (NRF2、HO-1、HMGB1、IL-1β、NF-κB p65、p-NF-κB p65 抗体, 稀释倍数为 1:1000, 内参抗体为 GAPDH, 稀释倍数为 1:2000), 在 4℃ 下孵育过夜; 次日, 加入稀释 5000 倍的二抗于室温下孵育 1 h。显影曝光后, 化学发光成像分析系统拍照并分析灰度值。每组试验重复 3 次。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 24.0 进行统计学分析。计量资料以平均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组比较行 *t* 检验; 多组间比较行单因素方差分析, 进一步两两比较采用

SNK-*q* 检验; *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 缺氧不同时间对细胞形态、活化比例及 NRF2、HO-1、HMGB1、IL-1β 表达的影响

缺氧 0 h 时 MG 呈圆形或者椭圆形, 随缺氧时间延长, MG 体积增大, 出现多极或两极延长, 分支样或纺锤样改变的细胞逐渐增多。与缺氧 0 h 相比, 缺氧 2、4、6、8、12 h 活化细胞比例、HMGB1、IL-1β 蛋白表达增多 (*P* < 0.05); NRF2、HO-1 蛋白表达在缺氧 2 h 时迅速升高, 4 h 时迅速下降, 并在 8~12 h 时下降至最低水平 (*P* < 0.05)。缺氧 8 h 后活化细胞比例最多, 8 h 与 12 h 相比, 上述指标变化差异无统计学意义 (*P* > 0.05), 见图 1~3。

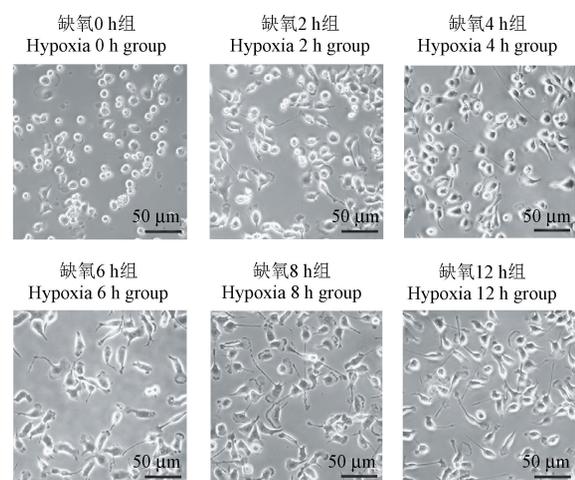
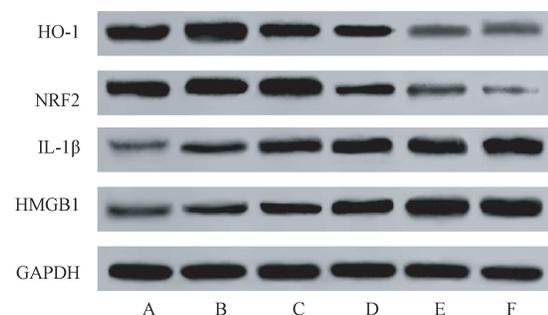


图 1 不同缺氧时间下 MG 形态变化图

Figure 1 Morphological changes of MG under different hypoxia time



注: A: 缺氧 0 h 组; B: 缺氧 2 h 组; C: 缺氧 4 h 组; D: 缺氧 6 h 组; E: 缺氧 8 h 组; F: 缺氧 12 h 组。

图 2 各组细胞 NRF2、HO-1、HMGB1、IL-1β 蛋白表达免疫印迹图

Note. A, Hypoxia 0 h group. B, Hypoxia 2 h group. C, Hypoxia 4 h group. D, Hypoxia 6 h group. E, Hypoxia 8 h group. F, Hypoxia 12 h group.

Figure 2 Western blot of NRF2, HO-1, HMGB1 and IL-1β expression in each group

2.2 七氟醚不同浓度处理对 MG 活化比例及 NRF2、HO-1、HMGB1、IL-1 β 蛋白表达的影响

七氟醚浓度为 0 时, MG 体积增大, 细胞分支样或纺锤样改变的细胞较多。与 0 七氟醚处理组相

比, 2%、4%、6% 七氟醚处理组活化细胞比例、HMGB1、IL-1 β 蛋白表达减少 ($P < 0.05$), NRF2、HO-1 蛋白表达升高 ($P < 0.05$), 且呈剂量依赖性, 见图 4~7。

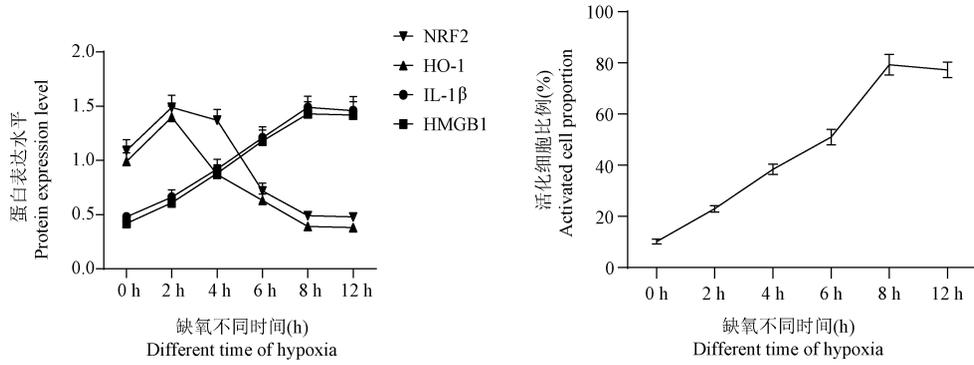


图 3 各组细胞 NRF2、HO-1、HMGB1、IL-1 β 表达及活化细胞比例比较

Figure 3 Comparison of expression levels of NRF2, HO-1, HMGB1, IL-1 β and activated cell proportion in each group

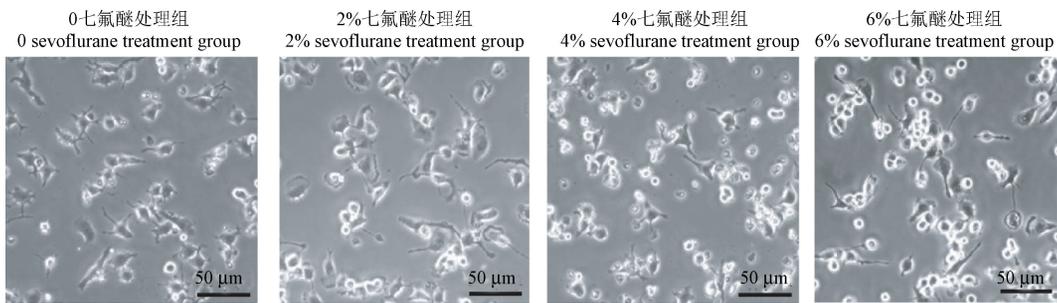
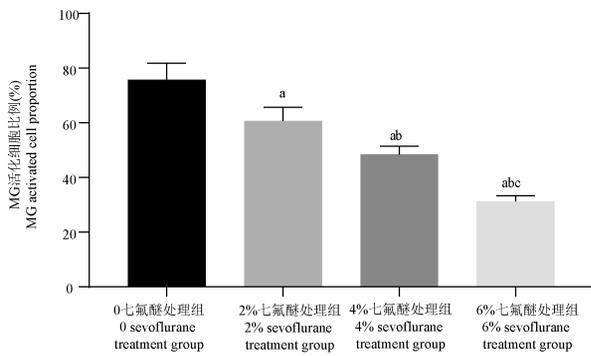


图 4 各组 MG 形态变化图

Figure 4 Morphological changes of MG in each group

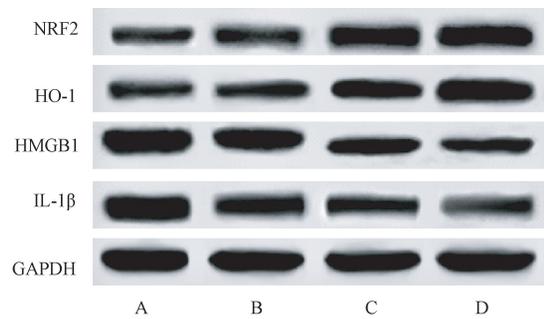


注: 与 0 七氟醚处理组比较, ^a $P < 0.05$; 与 2% 七氟醚处理组相比, ^b $P < 0.05$; 与 4% 七氟醚处理组比较, ^c $P < 0.05$ 。

图 5 各组 MG 活化细胞比例比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Note. Compared with 0 sevoflurane treatment group, ^a $P < 0.05$. Compared with 2% sevoflurane treatment group, ^b $P < 0.05$. Compared with 4% sevoflurane treatment group, ^c $P < 0.05$.

Figure 5 Comparison of MG activated cell proportion in each group



注: A: 0 七氟醚处理组; B: 2% 七氟醚处理组; C: 4% 七氟醚处理组; D: 6% 七氟醚处理组。

图 6 各组细胞 NRF2、HO-1、HMGB1、IL-1 β 蛋白表达免疫印迹图

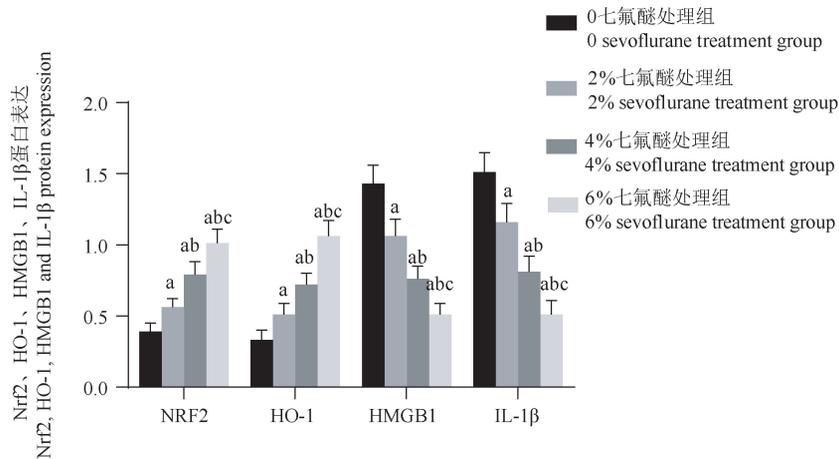
Note. A, 0 sevoflurane treatment group. B, 2% sevoflurane treatment group. C, 4% sevoflurane treatment group. D, 6% sevoflurane treatment group.

Figure 6 Western blot of NRF2, HO-1, HMGB1 and IL-1 β expression in each group

2.3 6%七氟醚与 SnPP 联合应用后对 MG 活化、NRF2、HO-1、HMGB1 及相关蛋白表达的影响

与正常对照组比较,缺氧诱导组活化细胞比例、HMGB1、IL-1 β 、p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 蛋白表达升高,NRF2、HO-1 蛋白表达降低($P<0.05$)。6%

七氟醚组上述指标变化与缺氧诱导组相反($P<0.05$);SnPP 组上述指标变化与缺氧诱导组一致且比缺氧诱导组变化更明显($P<0.05$)。6%七氟醚+SnPP 组上述指标变化与 6%七氟醚组相反($P<0.05$),见图 8~11。



注:与 0 七氟醚处理组比较,^a $P<0.05$;与 2%七氟醚处理组相比,^b $P<0.05$;与 4%七氟醚处理组比较,^c $P<0.05$ 。

图 7 各组细胞 NRF2、HO-1、HMGB1、IL-1 β 蛋白表达比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

Note. Compared with 0 sevoflurane treatment group,^a $P<0.05$. Compared with 2% sevoflurane treatment group,^b $P<0.05$. Compared with 4% sevoflurane treatment group,^c $P<0.05$.

Figure 7 Comparison of protein expression of NRF2, HO-1, HMGB1 and IL-1 β in each group

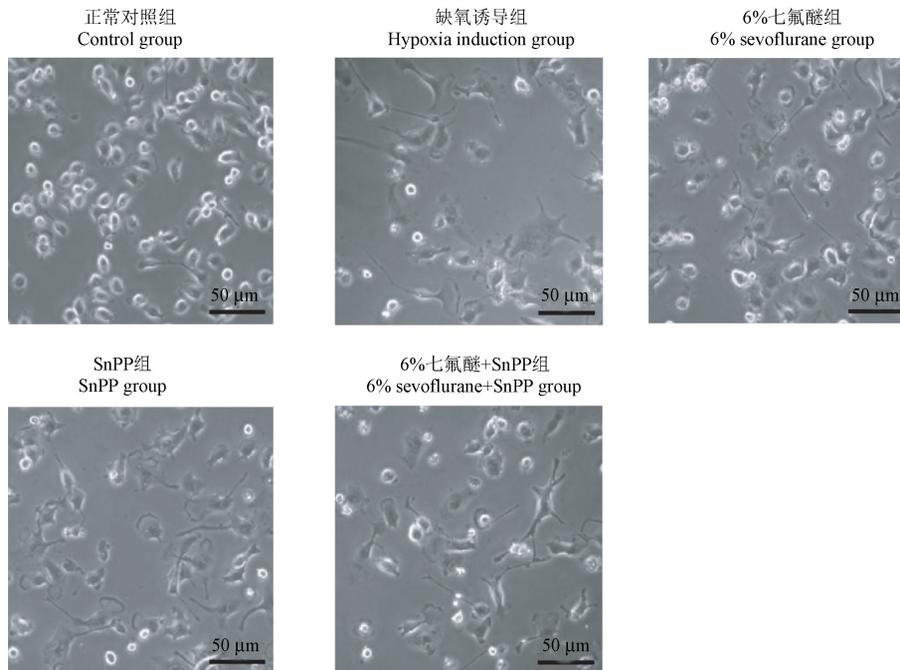
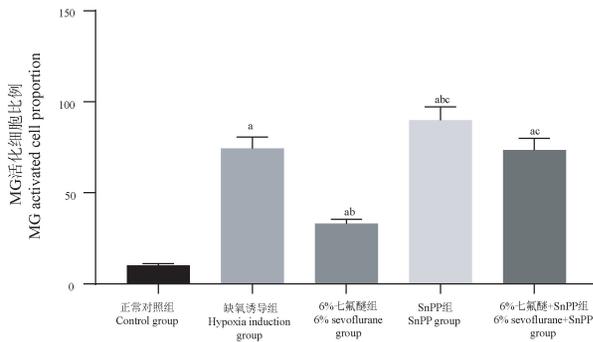


图 8 各组 MG 形态变化图

Figure 8 Morphological changes of MG

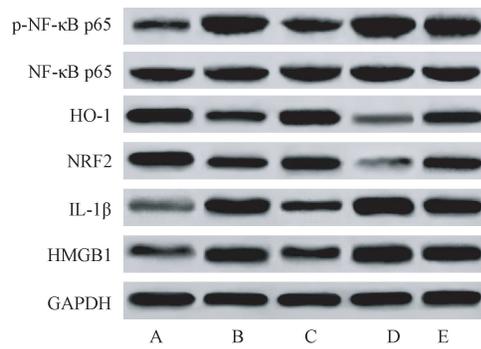


注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$;与缺氧诱导组比较,^b $P < 0.05$;与6%七氟醚组比较,^c $P < 0.05$ 。

图9 各组MG活化细胞比例比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

Note. Compared with control group, ^a $P < 0.05$. Compared with hypoxia induction group, ^b $P < 0.05$. Compared with 6% sevoflurane group, ^c $P < 0.05$.

Figure 9 Comparison of the proportion of MG activated cells in each group

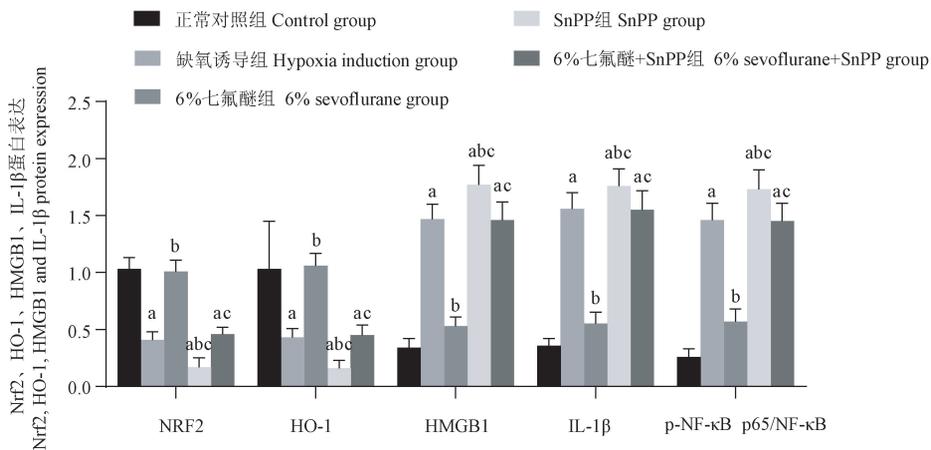


注:A:正常对照组;B:缺氧诱导组;C:6%七氟醚组;D:SnPP组;E:6%七氟醚+SnPP组。

图10 各组细胞NRF2、HO-1、HMGB1、IL-1β蛋白表达免疫印迹图

Note. A, Control group. B, Hypoxia induction group. C, 6% sevoflurane group. D, SnPP group. E, 6% sevoflurane+SnPP group.

Figure 10 Western blot of NRF2, HO-1, HMGB1 and IL-1β expression in each group



注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$;与缺氧诱导组比较,^b $P < 0.05$;与6%七氟醚组比较,^c $P < 0.05$ 。

图11 各组细胞NRF2、HO-1、HMGB1、IL-1β蛋白表达比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

Note. Compared with control group, ^a $P < 0.05$. Compared with hypoxia induction group, ^b $P < 0.05$. Compared with 6% sevoflurane group, ^c $P < 0.05$.

Figure 11 Comparison of relative protein expression levels of NRF2, HO-1, HMGB1 and IL-1β in each group

3 讨论

MG过度活化介导的炎症反应,是神经系统疾病发生发展的重要原因之一^[9]。缺血缺氧、炎症、感染等病理刺激均可激活MG,使MG由静息状态转变为活化状态而表现出促炎功能^[10]。本研究于37℃、5% CO₂条件下模拟MG缺氧条件,发现缺氧(0、2、4、6、8、12 h)条件下,MG出现分枝样或纺锤

样改变,且MG活化细胞比例及促炎因子IL-1β释放在缺氧(2、4、6、8 h)内随着缺氧时间的延长而升高,并在8~12 h内稍有下降,与参考文献^[11]MG活化状态下的形态改变及参考文献^[12]缺氧条件IL-1β的水平变化一致,表明缺氧8 h可稳定建立MG过度活化及炎症反应模型。近来研究发现,NRF2/HO-1/HMGB1通路是参与机体氧化及炎症反应的经典通路之一,Yu等^[13]发现敲除NRF2基因后,

NRF2 下游靶基因 HO-1 介导的抗氧化反应减弱, NRF2 调控的炎症复合体 - NOD 样受体蛋白 3 (NLRP3) 激活, 促进 HMGB1/NF- κ B 调控的炎症通路活化, 从而加重脓毒症小鼠肺组织炎症损伤进程。Tan 等^[5] 研究发现巨噬细胞中核因子 NRF2 的核易位可诱导 HO-1 表达, 而用 HO-1 抑制剂 SnPP 能逆转 NRF2/HO-1 途径的激活, 使脂多糖诱导的巨噬细胞中 NF- κ B p65 核转移增多, 促进巨噬细胞释放大量的促炎介质 HMGB1、IL-1 β 等而加重炎症反应, 提示 NRF2/HO-1/HMGB1 途径可能是炎症反应的重要途径之一。但 MG 过度活化介导的炎症反应过程中是否有 NRF2/HO-1/HMGB1 途径的参与, 还不甚明确。本研究结果显示, 随着缺氧时间的延长, NRF2、HO-1 蛋白表达持续降低, 而促炎介质 HMGB1 的释放也逐渐升高, 且 NRF2、HO-1 及 HMGB1 水平均于缺氧 8 h 时处于稳定状态, 表明 NRF2/HO-1/HMGB1 途径参与缺氧诱导的 MG 活化及炎症反应过程。

近年来 MG 介导的慢性神经炎症反应越来越受到临床及患者的重视^[14]。寻找特异性抑制 MG 过度活化及炎症反应的药物, 来缓解和治疗神经系统炎症性疾病, 也是广大学者研究的重要任务^[15]。七氟醚为临床常用麻醉药, 能够通过抑制炎症反应及氧化应激损伤缓解脑、肾、肺等多个脏器的缺血灌注损伤^[16], 且张国栋等^[6] 及赵丹等^[17] 研究发现七氟醚能通过抑制脑缺血再灌注诱发的 MG 活化, 来抑制大鼠脑组织炎症及氧化应激损伤而保护脑神经, 提示七氟醚可能是抑制 MG 活化的有效药物之一。但陈颖等^[7] 及赵敏等^[18] 离体培养 MG 后研究结果显示七氟醚能诱导 MG 活化并促进炎症反应及 Dang 等^[19] 在体研究显示七氟醚能促进 MG 活化, 与张国栋等^[6] 及赵丹等^[17] 七氟醚研究机制相反。七氟醚是促进还是抑制 MG 活化及炎症反应的机制仍存在争议。

本研究用缺氧处理 8 h 模拟 MG 活化及炎症反应状态后, 用七氟醚不同浓度 (2%、4%、6%) 进行干预发现, 随七氟醚浓度升高, MG 分枝样或纺锤样等活化状态改变明显减轻, MG 活化细胞比例及 IL-1 β 释放也呈剂量依赖性降低且均显著低于 0 七氟醚处

理组, 提示七氟醚能够抑制缺氧条件下 MG 活化及炎症反应, 这与 Yu 等^[20] 七氟醚抑制脂多糖诱导的 MG 活化发挥抗炎反应机制一致, 推测可能七氟醚处理浓度及干预时间不同, 对 MG 的影响也不同所致。本研究还发现, 随七氟醚浓度升高, 细胞中 NRF2、HO-1 蛋白表达逐渐升高, HMGB1 表达逐渐降低, 预示七氟醚抑制缺氧诱导的 MG 活化及炎症反应作用, 可能是通过促进 NRF2/HO-1 活化, 抑制 HMGB1 表达来实现的。为证明这一结论, 本研究用 SnPP 抑制 NRF2/HO-1 通路后, 发现 SnPP 组随着 NRF2 及 HO-1 蛋白表达的降低, HMGB1 促炎介质表达显著升高及 NF- κ B 炎症途径活化的同时, MG 活化细胞比例及 IL-1 β 释放也进一步高于缺氧诱导组, 提示抑制 NRF2/HO-1 活化, 可促进 HMGB1/NF- κ B 介导的炎症因子释放, 进而促进 MG 活化及炎症反应。进一步分析发现, 七氟醚对 MG 活化及炎症反应进程的抑制作用可被 SnPP 逆转, 表明七氟醚的上述作用与促进 NRF2/HO-1 途径活化, 抑制 HMGB1/NF- κ B 炎症途径活化有关。

综上所述, 七氟醚可通过促进 NRF2/HO-1 途径活化, 抑制 HMGB1/NF- κ B 炎症途径活化, 减轻缺氧诱导的 MG 活化及炎症反应进程, 为阐明 MG 活化及炎症反应的可能机制提供一定理论依据。但本研究还存在一定的不足, MG 活化及炎症反应的分子机制复杂, NRF2/HO-1/HMGB1 可能只是其中的一条调控机制, 对于其他可能的分子机制还有待进一步验证。

参考文献:

- [1] Colonna M, Butovsky O. Microglia function in the central nervous system during health and neurodegeneration [J]. *Annu Rev Immunol*, 2017, 35: 441-468.
- [2] 邓佳丽, 丁维俊. 小胶质细胞活化抑制与中枢炎症反应关系的研究进展 [J]. *临床与病理杂志*, 2020, 40(5): 1286-1290.
- [3] Abe N, Nishihara T, Yorozuya T, et al. Microglia and macrophages in the pathological central and peripheral nervous systems [J]. *Cells*, 2020, 9(9): 2132.
- [4] 高原, 于文慧, 张美君, 等. Nrf2/HO-1 信号通路与缺血再灌注损伤的研究进展 [J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2020,

- 26(4): 776-778.
- [5] Tan Y, Wang Q, She Y, et al. Ketamine reduces LPS-induced HMGB1 via activation of the Nrf2/HO-1 pathway and NF- κ B suppression [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2015, 78(4): 784-792.
- [6] 张国栋, 孙来广, 张家旗, 等. 七氟醚对大鼠创伤性颅脑损伤时小胶质细胞极化的影响 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2019, 39(9): 1143-1146.
- [7] 陈颖, 孟诗雨, 彭书峻. 吸入麻醉药七氟醚对小胶质细胞活化的影响 [J]. *岭南急诊医学杂志*, 2018, 23(1): 20-23.
- [8] 狄艳琪, 曹剑, 刘璐, 等. 上调血红素氧合酶-1 对尿酸介导脂肪细胞功能障碍的影响及可能机制 [J]. *中华老年医学杂志*, 2018, 37(1): 74-78.
- [9] Thurgur H, Pinteaux E. Microglia in the neurovascular unit: blood-brain barrier-microglia interactions after central nervous system disorders [J]. *Neuroscience*, 2019, 405: 55-67.
- [10] Lv Y, Sun B, Lu XX, et al. The role of microglia mediated pyroptosis in neonatal hypoxic-ischemic brain damage [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 521(4): 933-938.
- [11] 方明楚, 林振浪. 氯喹通过抑制 NF- κ B 和 MAPK 信号通路减轻脂多糖诱导的 BV2 小胶质细胞炎症反应 [J]. *中国病理生理杂志*, 2020, 36(7): 1320-1326.
- [12] 张洪喜, 吕水清, 王敦敬, 等. 青蒿琥酯对缺氧诱导的 BV-2 小胶质细胞激活的抑制作用及其可能机制 [J]. *中国医疗设备*, 2017, 32(S1): 84-85.
- [13] Yu Y, Yang Y, Yang M, et al. Hydrogen gas reduces HMGB1 release in lung tissues of septic mice in an Nrf2/HO-1-dependent pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 69: 11-18.
- [14] 潘赫男, 李俐涛. 小胶质细胞与缺血性脑卒中研究进展 [J]. *脑与神经疾病杂志*, 2020, 28(1): 45-47.
- [15] 崔雨沙, 路欣, 李峰. 疾病相关小胶质细胞在阿尔兹海默症发病中的作用研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(5): 132-136.
- [16] 庞红利, 宋俊杰, 范军朝, 等. 七氟醚后处理对脑缺血再灌注损伤大鼠的保护作用及对 Toll 样受体 4/核因子- κ B 信号通路的影响 [J]. *新乡医学院学报*, 2020, 37(1): 21-25, 29.
- [17] 赵丹, 袁林辉, 张静, 等. 七氟醚后处理对大鼠脑缺血-再灌注时氧化应激和炎症反应的影响 [J]. *临床麻醉学杂志*, 2017, 33(7): 688-692.
- [18] 赵敏, 赵品, 葛娜, 等. DHA 对七氟醚诱导小胶质细胞活化的影响 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2019, 39(7): 823-825.
- [19] Dang DD, Saiyin H, Yu Q, et al. Effects of sevoflurane preconditioning on microglia/macrophage dynamics and phagocytosis profile against cerebral ischemia in rats [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2018, 24(6): 564-571.
- [20] Yu X, Zhang F, Shi J. Effect of sevoflurane treatment on microglia activation, NF- κ B and MAPK activities [J]. *Immunobiology*, 2019, 224(5): 638-644.

[收稿日期]2020-12-03