

DOI:10.19296/j.cnki.1008-2409.2023-05-003

· 论 著 ·

· ORIGINAL ARTICLE ·

异甘草素对实验性自身免疫性神经炎大鼠模型的影响及机制研究^①

何谷芬^②, 符 婉, 肖子建^③

(南华大学附属第一医院神经内科, 湖南 衡阳 421001)

摘要 目的:观察异甘草素(ISL)对大鼠实验性自身免疫性神经炎(EAN)的影响并探讨机制。方法:足底注射P₂₅₇₋₈₁多肽建立EAN大鼠模型,免疫后1h,每天腹腔注射ISL(60 mg/kg)溶液,共14 d。观测大鼠发病情况,运用HE染色及透射电镜观察坐骨神经结构,ELISA法检测血清中炎症因子水平,Western blot检测脾脏单核巨噬细胞中诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和精氨酸酶1(Arg1)、信号转导及转录激活因子3(STAT3)包括t-STAT3和p-STAT3的蛋白表达。结果:与EAN组比较,EAN+ISL组大鼠行为评分显著降低,体重明显增加,坐骨神经中炎症细胞浸润数明显减少,坐骨神经的脱髓鞘现象明显减少,血清中白介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6(IL-6)和干扰素- γ (IFN- γ)水平明显降低,脾脏单核巨噬细胞中iNOS蛋白表达显著下调,Arg1表达显著上调,p-STAT3蛋白表达及p-STAT3/t-STAT3比值均明显降低($P<0.05$)。结论:ISL对EAN具有抑制作用,其机制可能与调控STAT3-巨噬细胞极化途径有关。

关键词:异甘草素;实验性自身免疫性神经炎;大鼠;巨噬细胞极化;信号转导及转录激活因子3

中图分类号:R745.43

文献标志码:A

文章编号:1008-2409(2023)05-0016-08

Effects of isoliquiritigenin on experimental autoimmune neuritis in rats and its mechanism^①

HE Gufen^②, FU Wan, XIAO Zijian^③

(Dept. of Neurology, the First Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang 421001, China)

Abstract Objective: To observe the effects of isoliquiritigenin (ISL) on experimental autoimmune neuritis (EAN) in rats and to explore its possible mechanism. Methods: Male specific pathogen free (SPF) Lewis rats were injected P₂₅₇₋₈₁ polypeptide through plantar injection to establish an EAN model. The solution of ISL (60 mg/kg) was injected intraperitoneally every day for 14 days after 1 h immunization. The structure of sciatic nerve of rats was observed by HE staining and transmission electron microscopy. The levels of inflammatory factors in serum of rats were detected by ELISA. The protein expressions of inducible nitric oxide synthase (iNOS), arginase 1 (Arg1), signal transduction and activator of transcription 3

① 基金项目:湖南省自然科学基金项目(2019JJ50551);衡阳市科技计划指导项目(hkf201947221)。

② 第一作者简介:何谷芬,本科,主管护师,研究方向为神经内科重症护理管理与卒中健康管理。

③ 通信作者:肖子建,E-mail: zijian6340@21cn.com。

(STAT3) including t-STAT3 and p-STAT3 in spleen mononuclear macrophages of rats were tested by Western blot. Results: Compared with EAN model group, the behavioral scores of rats was significantly reduced, body weight of rats was significantly increased, the number of inflammatory cells infiltrating in the sciatic nerve of rats was significantly reduced, the demyelination of the sciatic nerve of rats was significantly reduced, the levels of serum interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and interferon- γ (IFN- γ) of rats were significantly reduced. At the same time, the protein expression of iNOS in spleen mononuclear macrophages of rats was significantly down-regulated, while the protein expression of Arg1 was significantly up-regulated. Moreover, the protein expression of p-STAT3 and the ratio of p-STAT3 to t-STAT3 were significantly decreased in EAN + ISL group ($P < 0.05$). Conclusion: ISL inhibits EAN, and the mechanism may be related to the regulation of STAT3-macrophage polarization pathway.

Keywords: isoliquiritigenin; experimental autoimmune neuritis; rats; macrophage polarization; signal transduction and activator of transcription 3

吉兰-巴雷综合征 (Guillain-Barre syndrome, GBS) 是一种周围神经系统自身免疫性疾病, 主要病理学特征包括炎症细胞的浸润和周围神经的脱髓鞘病变^[1-2]。GBS 的确切病因和详细的发病机制目前仍未完全阐明, 置换血浆和免疫球蛋白治疗可以缓解 GBS 的病情, 但是治疗费用较高^[3-4], 因此, 寻找新的高效 GBS 防治途径具有十分重要的意义。实验性自身免疫性神经炎 (experimental autoimmune neuritis, EAN) 是公认的理想 GBS 动物模型, 在 GBS 和 EAN 的病变部位均有大量的炎症细胞浸润, 而巨噬细胞是主要的功能细胞。巨噬细胞存在两种主要的极化表型, 既具有促炎效应的 M1 型, 也具有抗炎效应的 M2 型^[5]。研究显示, 调控巨噬细胞的极化, 抑制 M1 型, 促进 M2 的转化, 能有效缓解 EAN 大鼠的神经炎症^[6-7]。信号转导及转录激活因子 3 (signal transduction and activator of transcription 3, STAT3) 是一种核内转录因子, 是巨噬细胞极化的重要调节因子^[8-9]。

异甘草素 (isoliquiritigenin, ISL) 是一种二氢黄酮类化合物, 是从中草药甘草中分离得到的有效成分。ISL 具有广泛的药理学作用, 如清除自由基、抗病毒、抑制炎症反应和抑制肿瘤生长等^[10-11]。目前关于 ISL 对外周神经炎症性疾病 GBS 抑制作用的研究较少。鉴于此, 本研究旨在探讨 ISL 对 EAN 大鼠模型的影响, 并从 STAT3-巨噬细胞极化的角度探讨其可能的作用机制, 为 GBS 的防治提供新线索。

1 材料与方法

1.1 实验动物和实验试剂

无特定病原体级雄性的 Lewis 大鼠 (购自北京维通利华实验动物有限责任公司), 约 8 周龄, 体重为 (180.62 \pm 20.15) g。将大鼠饲养于标准动物房中。在大鼠适应性喂养 1 周后开始进行实验。本实验方案经南华大学第一附属医院医学伦理委员会审核批准 (NO.2021LL0316004)。

周围神经髓鞘抗原 (P₂₅₇₋₈₁) 多肽、完全弗氏佐剂、ISL、胰蛋白酶、噻唑蓝 (美国 Sigma 公司)。RPMI1640 培养基和小牛血清 (美国 Invitrogen 公司)。白介素-1 β (interleukin 1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ) 酶联免疫吸附测定试剂盒 (购自武汉博士德生物工程公司)。山羊抗大鼠诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthetase, iNOS)、精氨酸酶 1 (arginase 1, Arg1)、t-STAT3、p-STAT3 和 β -actin 多克隆抗体及相应二抗 (美国 Santa Cruz 公司)。

1.2 EAN 大鼠模型的建立及实验分组

电子天平称取 P₂₅₇₋₈₁ 多肽, 加至磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer, PBS) 100 μ L 中, 配制成多肽溶液 (2 g/L)。将多肽溶液与同体积的完全弗氏佐剂混匀, 乳化, 配制成抗原乳剂 (1 g/L)。抽取抗原乳剂, 在大鼠的后肢足底进行注射, 每只大鼠左右后肢的

足底分别注射抗原乳剂溶液 50 μL , 诱导 EAN 大鼠模型^[12]。

按照随机数字表法分为对照组、EAN 组、ISL 组、EAN+ISL 组, 每组 10 只大鼠。ISL 组大鼠每天通过腹腔注射给药 ISL (60 mg/kg), 共 14 d; EAN+ISL 大鼠每天在大鼠免疫后 1 h 通过腹腔注射给药 ISL (60 mg/kg), 共 14 d。对照组和 EAN 组大鼠每天通过腹腔注射给予等剂量的生理盐水。

1.3 大鼠行为评分

从免疫前 1 天开始的每日同一时间段称量大鼠体重并观察发病情况。每天对大鼠进行行为评分, 行为评分的标准如下。正常记 0 分。大鼠出现尾部无力, 肌张力降低记 1 分。大鼠开始出现后肢瘫痪, 翻正反射部分消失记 2 分。大鼠出现明显的后肢瘫痪, 翻正反射全部消失记 3 分。大鼠出现四肢瘫痪记 4 分。大鼠出现死亡记 5 分^[13]。

1.4 动物处死及取材

ISL 处理结束后的第 2 天通过脱颈椎的方法处死大鼠, 将大鼠的右侧坐骨神经取出, 神经干的中枢端做病理切片, 外周端进行透射电镜检测。

1.5 坐骨神经病理学观察

将坐骨神经组织常规固定、石蜡包埋、切片、HE 染色, 光镜下观测。在每张切片中随机取 5 个观察视野, 计算炎症细胞的数量。

1.6 坐骨神经的超微结构检测

大鼠处死后, 将右侧坐骨神经的外周端浸泡在 0.2 mol/L 的戊二醛溶液中 2 h, 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下进行固定。经脱水、包埋、切片和染色流程后, 进行透射电镜检测。

1.7 脾脏单核巨噬细胞的分离

大鼠处死后, 在 75% 的乙醇溶液中浸泡 10 min。无菌操作要求下, 在超净台内剪开大鼠腹腔, 取出脾脏。将脾脏置于碾钵中, 磨碎, 用 200 μm 孔径的尼龙筛网过滤到 RPMI1640 培养基中, 制备组织匀浆。收集组织匀浆, 室温下以 1 500 r/min 的速度离心 10 min。吸去上清液, 再加入 3 mL 红细胞裂解液, 混匀。5 min 后加入 PBS 3 mL, 混匀, 室温下以 1 500 r/min 的速度离心 10 min。重复用 PBS 洗 2 次。用 RPMI1640 培养基 (10% 小牛血清) 重悬细胞。

1.8 酶联免疫吸附法检测

ISL 处理后的第 2 天, 通过尾静脉采集血液, 静置 1 h 后, 以 1 500 r/min 的速度离心 5 min, 取上清液。按试剂盒操作说明书进行操作, 采用酶标仪测量, 设置波长为 450 nm, 检测各孔的 OD 值。根据标准曲线, 计算出血清中 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 和 IFN- γ 的水平。

1.9 Western bolt 法检测

收集脾脏单核巨噬细胞, 加入蛋白裂解液, 冰上裂解, 提取细胞的总蛋白。蛋白浓度测量通过 BCA 法。取总蛋白样本加入到上样缓冲液中, 烧开变性蛋白。分离蛋白通过 SDS-PAGE 电泳法, 电转将蛋白转移到 PVDF 膜上。将 PVDF 膜浸泡在牛血清白蛋白溶液中 2 h, 封闭非特异的抗原。加入 iNOS (1 : 400)、Arg1 (1 : 300)、t-STAT3 (1 : 300)、p-STAT3 (1 : 400) 和 β -actin (1 : 500) 的一抗, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育过夜。PBS 洗膜, 加入二抗工作液, 室温下孵育 2 h。洗膜, 采用 ECL 试剂盒曝光显色。凝胶成像系统观察并拍照, 图像分析软件对结果进行半定量分析。

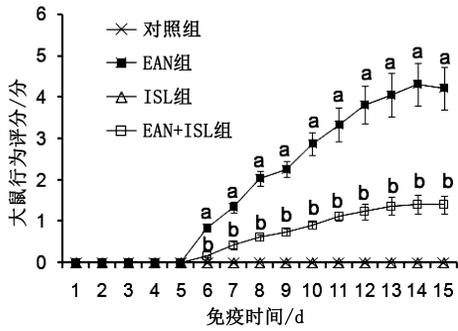
1.10 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件分析数据, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间的差异比较采用单因素方差分析, 而组间的差异比较采用 LSD- t 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠行为评分

EAN 组大鼠在免疫第 6 天首次出现症状, 此后的大鼠行为评分逐渐增加, 在免疫第 8 天所有大鼠的行为学评分均达到 2 分以上, 提示 EAN 大鼠模型的建立是成功的。与对照组比较, EAN 组大鼠的行为评分从免疫第 6 天开始到第 15 天均显著升高 ($t = 5.242, 5.671, 6.515, 6.972, 7.327, 7.813, 7.978, 8.546, 8.277, P < 0.05$)。与 EAN 组比较, EAN+ISL 组大鼠从免疫第 6 天开始到第 15 天行为评分均显著下降 ($t = 4.87, 5.12, 5.67, 5.95, 6.08, 6.36, 6.85, 7.04, 7.13, P < 0.05$), 对照组和 ISL 组的大鼠均没有观测到明显的神经功能障碍, 行为评分均为 0 分。各组大鼠行为评分的变化见图 1。



与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 EAN 组比较,^b $P < 0.05$ 。

图 1 各组大鼠行为评分的变化

2.2 大鼠体重变化

EAN 组大鼠在免疫第 3 天开始出现体重减轻的现象,从免疫第 6 天到免疫第 15 天的体重均明显低于对照组($P < 0.05$);对照组和 ISL 组大鼠体重比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与 EAN 组比较,EAN+ISL 组大鼠从免疫第 9 天至第 15 天体重均明显增加($P < 0.05$),见表 1。

表 1 各组大鼠体重变化比较($\bar{x} \pm s, g$)

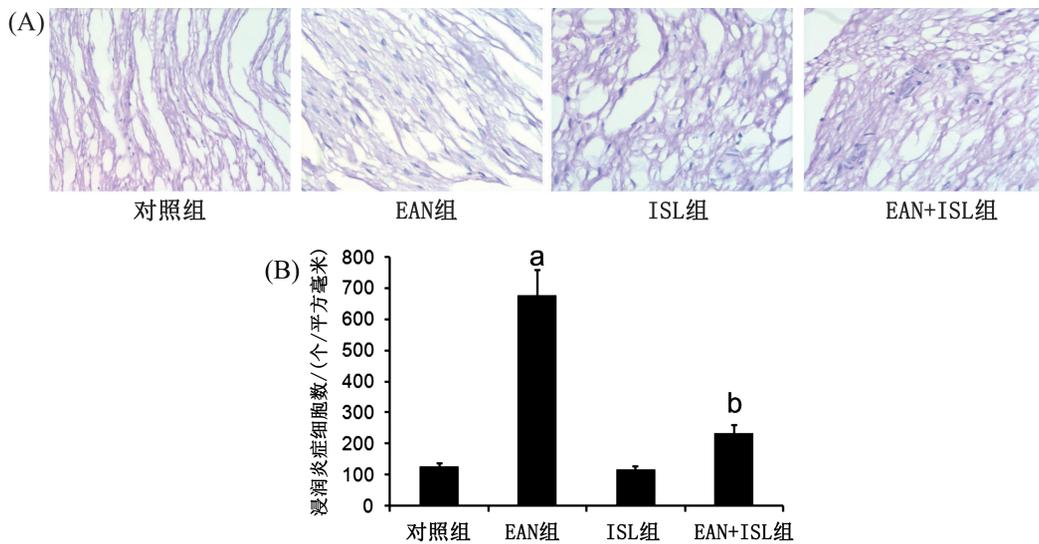
组别	n	免疫第 1 天	免疫第 3 天	免疫第 6 天	免疫第 9 天	免疫第 12 天	免疫第 15 天
对照组	10	187.34 ± 6.72	195.05 ± 6.94	204.23 ± 7.71	213.84 ± 7.29	227.43 ± 7.33	237.71 ± 8.13
EAN 组	10	186.77 ± 7.13	188.21 ± 7.64	185.39 ± 8.59 ^a	191.27 ± 9.42 ^a	193.64 ± 9.37 ^a	196.77 ± 9.01 ^a
ISL 组	10	188.06 ± 7.41	197.83 ± 7.93	206.74 ± 8.42	215.61 ± 8.11	219.31 ± 8.34	240.06 ± 9.15
EAN+ISL 组	10	190.07 ± 6.87	193.64 ± 7.14	196.72 ± 7.08	208.67 ± 7.04 ^b	214.86 ± 8.01 ^b	218.19 ± 8.11 ^b
F		3.521	4.817	8.642	11.054	15.756	14.843
P		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 EAN 组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.3 大鼠坐骨神经的形态结构变化

4 组大鼠坐骨神经中浸润的炎症细胞数量比较,差异具有统计学意义[对照组、EAN 模型组、ISL 组和 EAN+ISL 组大鼠坐骨神经中浸润的炎症细胞数分别为(125.37 ± 11.77)、(675.89 ± 80.67)、(117.32 ± 9.15)和(233.45 ± 25.13)个/平方毫米, $F = 13.753, P <$

0.05];EAN 组大鼠坐骨神经中浸润的炎症细胞数量与对照组比较,差异有统计学意义($t = 6.497, P < 0.05$);与 EAN 组比较,EAN+ISL 组大鼠坐骨神经中浸润的炎症细胞数明显减少($t = 5.716, P < 0.05$)。各组大鼠坐骨神经的形态结构变化见图 2。



与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 EAN 组比较,^b $P < 0.05$ 。

图 2 各组大鼠坐骨神经的形态结构变化(HE 染色, ×400)

2.4 各组大鼠坐骨神经的超微结构变化

对照组大鼠坐骨神经的髓鞘结构正常,髓鞘的形状大部分呈现椭圆形,髓板层的结构显示清晰,轴索的结构显示完整。EAN 组大鼠的坐骨神经中发现有明显的髓鞘结构破坏和髓鞘脱失的现象,鞘板层

中发现有空泡样病变。与 EAN 组比较,EAN+ISL 组大鼠坐骨神经的髓鞘结构得到了明显的改善,脱髓鞘现象明显减少,鞘板层内空泡样病变明显减少。各组大鼠坐骨神经的超微结构变化见图 3。

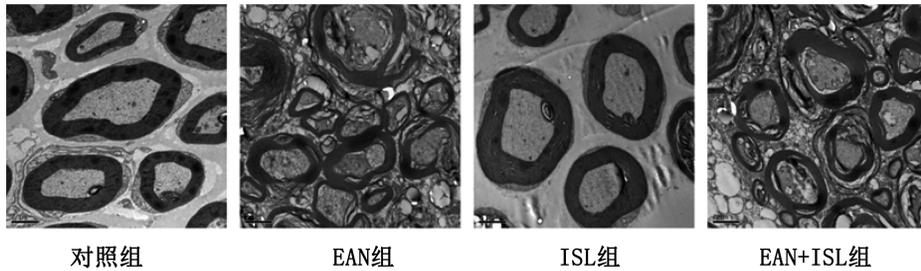


图 3 各组大鼠坐骨神经的超微结构变化(比例标尺:2 μm)

2.5 各组大鼠血清 IL-1β、TNF-α、IL-6 和 IFN-γ 水平的变化

与对照组比较,EAN 组大鼠的血清中促炎细胞因子 IL-1β、TNF-α、IL-6 和 IFN-γ 水平均明显增加

($P < 0.05$);与 EAN 组比较,EAN+ISL 组大鼠血清中促炎细胞因子 IL-1β、TNF-α、IL-6 和 IFN-γ 水平均明显降低($P < 0.05$),见表 2。

表 2 各组大鼠血清 IL-1β、TNF-α、IL-6 和 IFN-γ 水平的变化($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

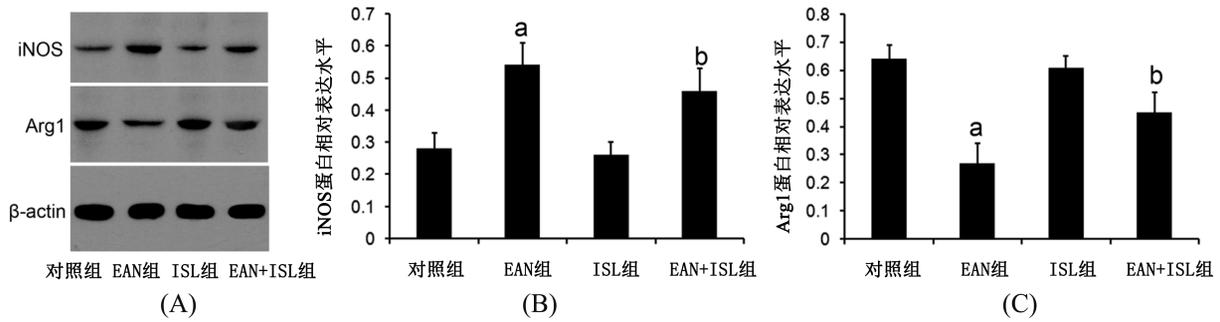
组别	n	IL-1β	TNF-α	IL-6	IFN-γ
对照组	10	4.11 ± 0.42	13.74 ± 1.64	16.84 ± 2.54	7.42 ± 0.89
EAN 组	10	10.73 ± 0.97 ^a	47.93 ± 5.77 ^a	30.02 ± 4.73 ^a	29.51 ± 3.27 ^a
ISL 组	10	4.03 ± 0.37	13.98 ± 1.51	14.93 ± 2.15	7.48 ± 0.59
EAN+ISL 组	10	6.27 ± 0.49 ^b	26.19 ± 1.84 ^b	19.36 ± 2.79 ^b	13.28 ± 1.67 ^b
F		7.246	8.921	11.827	8.159
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 EAN 组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.6 异甘草素对大鼠的脾脏单核巨噬细胞中 iNOS 和 Arg1 蛋白表达的影响

与对照组比较,EAN 组大鼠的脾脏单核巨噬细胞中 iNOS 蛋白的表达显著上调,而 Arg1 蛋白的表达显著下调($t = 5.27, 5.93, P < 0.05$)。与 EAN 组比

较,EAN+ISL 组大鼠的脾脏单核巨噬细胞中 iNOS 蛋白的表达显著下调,而 Arg1 蛋白的表达显著上调($t = 4.08, 4.17, P < 0.05$)。ISL 对大鼠的脾脏单核巨噬细胞中 Arg1 和 iNOS 蛋白表达的影响见图 4。



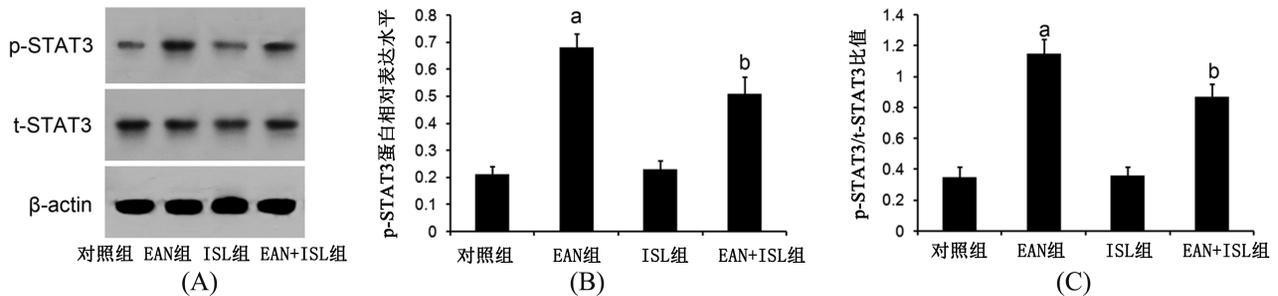
A. 各组大鼠脾脏单核巨噬细胞中 iNOS 和 Arg1 蛋白表达直观图 (Western blot 法); (B, C). 各组大鼠脾脏单核巨噬细胞中 iNOS 和 Arg1 蛋白表达比较 (灰度扫描图)。与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 EAN 组比较, ^b $P < 0.05$ 。

图 4 ISL 对大鼠的脾脏单核巨噬细胞中 Arg1 和 iNOS 蛋白表达的影响

2.7 ISL 对大鼠脾脏单核巨噬细胞中 STAT3 蛋白表达的影响

EAN 组大鼠的脾脏单核巨噬细胞中 p-STAT3 蛋白表达水平及 p-STAT3/t-STAT3 比值, 与对照组比

较显著增加 ($t = 5.37, 4.85, P < 0.05$); 与 EAN 组比较, EAN+ISL 组大鼠的脾脏单核巨噬细胞中 p-STAT3 蛋白表达水平及 p-STAT3/t-STAT3 比值明显降低 ($t = 6.77, 5.41, P < 0.05$), 见图 5。



A. 各组大鼠脾脏单核巨噬细胞中 STAT3 蛋白表达直观图 (Western blot 法); (B, C). 各组大鼠脾脏单核巨噬细胞中 STAT3 蛋白表达比较 (灰度扫描图)。与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 EAN 组比较, ^b $P < 0.05$ 。

图 5 ISL 对大鼠脾脏单核巨噬细胞中 STAT3 蛋白表达的影响

3 讨论

GBS 是神经系统常见的自身免疫性疾病, 是导致患者出现急性肌无力的主要原因。GBS 的临床发病率为 1.2~1.8 例/10 万, 患者包括各个年龄阶段, 而以中老年患者最为常见, 临床表现主要有肢体的感觉障碍, 四肢出现麻木感, 四肢发生迟缓性瘫痪、四肢无力等症状^[14]。目前的治疗手段, 如免疫球蛋白注射及血浆置换等, 只对部分 GBS 患者有一定的缓解, 其整体的治疗效果仍达不到理想状态^[15-16]。当前 GBS 病死率为 5%~8%, 部分患者在急性期恢复良好, 但依然有多种长期后遗症存在, 约 1/5 的患

者在 1 年内有肢体残疾的症状^[17]。

EAN 是一种由 T 细胞介导的急性自身免疫性疾病的动物模型, 主要的病理特征包括有周围神经的髓鞘脱失病变。反应性 T 细胞、B 细胞以及巨噬细胞在神经干中浸润, 由于许多临床、病理学及免疫学的特征与 GBS 类似, 而被公认为是研究 GBS 的理想动物模型^[18-19]。尽管 EAN 的病变主要由 T 细胞介导和启动, 但是巨噬细胞通过抗原提呈, 介导炎症反应, 局部浸润神经组织, 是导致周围神经纤维发生髓鞘脱失等病变的主要功能细胞, 在 EAN 的发生进展进程中发挥关键作用^[20]。

ISL 是一种黄酮类化合物,是从传统中药材甘草中提取得到的有效成分,其药理学功效非常广泛,如抗病毒、抑菌、拟肾上腺皮质激素作用、抗氧化、抗抑郁、抗肿瘤、拟雌激素作用和抑制血小板聚集等^[21-22]。近年来大量的研究发现,ISL 在体内、体外均展示出较好抑制炎症反应的作用^[23-24]。本研究结果显示,ISL 能显著增加 EAN 模型大鼠的体重,显著降低 EAN 模型大鼠的行为评分,减少 EAN 模型大鼠的坐骨神经中浸润的炎症细胞数量,明显改善坐骨神经纤维的髓鞘脱失现象,这些结果表明 ISL 对 EAN 具有抑制作用。

巨噬细胞根据其功能表型以及产生的细胞因子而被分为两种不同的极化类型,即 M1 型和 M2 型^[25]。M1 型巨噬细胞主要分泌促炎因子,如: TNF- α 、IL-1、IL-12 和 IL-23 等,也可高表达 iNOS,主要有促进炎症反应的作用,发挥宿主地针对入侵微生物的免疫功能,也可引发正常组织的损伤^[26]。M2 型巨噬细胞主要分泌抗炎细胞因子,如:IL-4、IL-10、IL-13 和转化生长因子- β 等,也可诱导 Arg1 的表达,主要有抑制炎症反应的作用,促进组织损伤的修复^[27]。研究显示,二甲基延胡索酸可促进 M1 型巨噬细胞向 M2 型极化,从而缓解 EAN 的临床症状^[28],提示抑制 M1 型巨噬细胞或促进其向 M2 型极化可能是 GBS 新的治疗手段。STAT3 家族是一种转录因子,参与多种生理及病理过程,如:细胞增殖、凋亡及免疫应答等,也是调控巨噬细胞极化的重要信号分子^[29]。当胞外的刺激信号通过跨膜信号转导机制诱导 STAT3 磷酸化,磷酸化的 STAT3 可发生核转移,进入细胞核后可调控下游靶基因的表达^[30]。研究显示,ISL 对 STAT3 信号具有调控作用^[31]。本研究结果显示,ISL 显著降低 EAN 模型大鼠血清中促炎细胞因子 TNF- α 、IFN- γ 、IL-1 β 和 IL-6 的水平,显著下调 EAN 模型大鼠的脾脏单核巨噬细胞中 iNOS 蛋白的表达,而显著上调 Arg1 蛋白的表达,明显降低大鼠的脾脏单核巨噬细胞中 p-STAT3 蛋白表达水平及 p-STAT3/t-STAT3 比值。这些结果提示,ISL 可抑制巨噬细胞 M1 型极化,而促进 M2 型极化,这可能是 ISL 抑制 EAN 的原因,而其机制可能涉及到 STAT3 信号通路。

综上所述,本实验的研究结果表明,ISL 对 EAN 大鼠模型具有抑制作用,其机制可能与 ISL 抑制 STAT3 信号通路,进而抑制巨噬细胞 M1 型极化,而促进 M2 型极化,抑制神经炎症有关。本实验的研究结果可为 GBS 的防治提供新的思路和靶点。

参考文献:

- [1] LUNN M P, CORNBLATH D R, JACOBS B C, et al. COVID-19 vaccine and Guillain-Barré syndrome: let's not leap to associations[J]. *Brain*, 2021, 144(2): 357-360.
- [2] LAMAN J D, HUIZINGA R, BOONS G J, et al. Guillain-Barré syndrome: expanding the concept of molecular mimicry[J]. *Trends Immunol*, 2022, 43(4): 296-308.
- [3] BARNES S L, HERKES G K. Guillain-Barré syndrome: clinical features, treatment choices and outcomes in an Australian cohort [J]. *Intern Med J*, 2020, 50(12): 1500-1504.
- [4] RAJABALLY Y A. Immunoglobulin and monoclonal antibody therapies in Guillain-Barré syndrome[J]. *Neurotherapeutics*, 2022, 19(3): 885-896.
- [5] DU T, YANG C L, GE M R, et al. M1 macrophage derived exosomes aggravate experimental autoimmune neuritis via modulating Th1 response [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1603.
- [6] 张蒙,张本铮,吴向辉,等.双膦酸盐纳米乳在大鼠实验性自身免疫性神经炎中的应用[J].*南京医科大学学报(自然科学版)*, 2019, 39(1): 43-49, 103.
- [7] PRATEEK Neupane, 肖胜军,李全忠.动脉粥样硬化中的巨噬细胞极化[J].*华夏医学*, 2014, 27(6): 174-177.
- [8] CHU J, HU X C, LI C C, et al. KLF14 alleviated breast cancer invasion and M2 macrophages polarization through modulating SOCS₃/RhoA/Rock/STAT3 signaling[J]. *Cell Signal*, 2022, 92: 110242.
- [9] 陈云,张晓梅,谷欢,等. STAT3、Cyclin D1、ADAM12 蛋白在胃黏膜癌变过程的表达及其意义[J].*华夏医学*, 2019, 32(2): 1-5.
- [10] HE J J, PENG H, WANG M F, et al. Isoliquiritigenin inhibits TGF- β 1-induced fibrogenesis through activating autophagy via PI3K/AKT/mTOR pathway in MRC-5 cells [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2020, 52(8): 810-820.
- [11] LEE D G, NAM B R, HUH J W, et al. Isoliquiritigenin

- reduces LPS-induced inflammation by preventing mitochondrial fission in BV-2 microglial cells [J]. *Inflammation*, 2021, 44(2):714-724.
- [12] 周寿红,薛瑞瑞,郭潇潇,等.辣椒素通过抑制自噬活性抑制实验性自身免疫性神经炎[J].*中国药理学通报*, 2018, 34(2):191-197.
- [13] 乔保俊,周树虎,郑培兵,等.瞿麦治疗小鼠实验性自身免疫性神经炎的疗效及机制研究[J].*中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2018, 25(6):420-423, 438.
- [14] WILLISON H J, JACOBS B C, VAN DOORN P A. Guillain-barré syndrome [J]. *Lancet*, 2016, 388(10045):717-727.
- [15] ALESSANDRO L, CASTIGLIONE J I, BRAND P, et al. Treatment-related fluctuations in Guillain-Barré syndrome: clinical features and predictors of recurrence [J]. *Arq Neuropsiquiatr*, 2022, 80(5):516-522.
- [16] PHAM H P, SCHWARTZ J. Therapeutic plasma exchange in Guillain-Barre syndrome and chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy [J]. *Presse Med*, 2019, 48(11 Pt 2):338-346.
- [17] LIU S, DONG C L, UBOGU E E. Immunotherapy of Guillain-Barré syndrome [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2018, 14(11):2568-2579.
- [18] 郭圣挥,陈勇喜,农必华,等.射频消融术联合臭氧治疗顽固性枕大神经炎的效果观察[J].*华夏医学*, 2022, 35(5):50-54.
- [19] LAMAN J D, HUIZINGA R, BOONS G J, et al. Guillain-Barré syndrome: expanding the concept of molecular mimicry [J]. *Trends Immunol*, 2022, 43(4):296-308.
- [20] XU L, LI L, ZHANG C Y, et al. Natural diterpenoid Oridonin ameliorates experimental autoimmune neuritis by promoting anti-inflammatory macrophages through blocking Notch pathway [J]. *Front Neurosci*, 2019, 13:272.
- [21] HUANG S, WANG Y H, XIE S W, et al. Isoliquiritigenin alleviates liver fibrosis through caveolin-1-mediated hepatic stellate cells ferroptosis in zebrafish and mice [J]. *Phyto-medicine*, 2022, 101:154117.
- [22] ANGELINE P, THOMAS A, SANKARANARAYANAN S A, et al. Effect of pH on Isoliquiritigenin (ISL) fluorescence in lipo-polymeric system and metallic nanosystem [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2021, 252:119545.
- [23] SONG Z Z, ZHANG Y, ZHANG H Z, et al. Isoliquiritigenin triggers developmental toxicity and oxidative stress-mediated apoptosis in zebrafish embryos/larvae via Nrf2-HO1/JNK-ERK/mitochondrion pathway [J]. *Chemosphere*, 2020, 246:125727.
- [24] CHEN X, CAI X D, LE R R, et al. Isoliquiritigenin protects against sepsis-induced lung and liver injury by reducing inflammatory responses [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 496(2):245-252.
- [25] MOREIRA LOPES T C, MOSSER D M, GONÇALVES R. Macrophage polarization in intestinal inflammation and gut homeostasis [J]. *Inflamm Res*, 2020, 69(12):1163-1172.
- [26] 刘伟伟,聂卫,崔晓雪,等.复方景川片对大鼠缺血性脑损伤的保护作用及对小胶质细胞/巨噬细胞极化的影响[J].*天津医药*, 2021, 49(8):824-828.
- [27] DONG R, ZHANG B, TAN B Q, et al. Long non-coding RNAs as the regulators and targets of macrophage M2 polarization [J]. *Life Sci*, 2021, 266:118895.
- [28] HAN R R, XIAO J T, ZHAI H, et al. Dimethyl fumarate attenuates experimental autoimmune neuritis through the nuclear factor erythroid-derived 2-related factor 2/hemoxygenase-1 pathway by altering the balance of M1/M2 macrophages [J]. *J Neuroinflammation*, 2016, 13(1):97.
- [29] QIAN M Y, WANG S B, GUO X F, et al. Hypoxic glioma-derived exosomes deliver microRNA-1246 to induce M2 macrophage polarization by targeting TERF₂IP via the STAT3 and NF- κ B pathways [J]. *Oncogene*, 2020, 39(2):428-442.
- [30] SHIRAKAWA K, ENDO J, KATAOKA M, et al. IL (interleukin)-10-STAT3-galectin-3 axis is essential for osteopontin-producing reparative macrophage polarization after myocardial infarction [J]. *Circulation*, 2018, 138(18):2021-2035.
- [31] WANG J R, LUO Y H, PIAO X J, et al. Mechanisms underlying isoliquiritigenin-induced apoptosis and cell cycle arrest via ROS-mediated MAPK/STAT3/NF- κ B pathways in human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Drug Dev Res*, 2019, 80(4):461-470.

[收稿日期:2023-03-13]

[责任编辑:杨建香 英文编辑:阳雨君]