

益智对 TREM2 调控小胶质细胞表型转化的调节作用

彭 景, 杨云方, 张 悦, 吴 博, 贾 英, 颜廷旭*
(沈阳药科大学功能食品与葡萄酒学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: **目的** 研究益智对小胶质细胞表型转化的调节作用。**方法** 采用 LPS 诱导建立 M1 型小胶质细胞模型, 通过检测 M1 和 M2 型小胶质细胞标记物表达, 初步证实益智提取物可抑制 LPS 诱导的 M1 型小胶质细胞的过度活化并促进其向 M2 型的转化。TREM2-siRNA 转染实验敲低 BV2 细胞中 TREM2 蛋白表达, 通过 RT-qPCR 法检测 M1、M2 型细胞标志物的 mRNA 表达, 免疫荧光和 Western blot 法进一步验证 M1、M2 型细胞标志物的表达以及 PI3K/Akt 信号通路相关蛋白表达。**结果** 与对照组比较, LPS 处理的 BV2 细胞 M2 型标记物 IL-10、Arg-1 mRNA 与蛋白表达降低 ($P<0.01$); 与 LPS 组比较, 益智组 IL-10、Arg-1 mRNA 表达与蛋白升高 ($P<0.01$)。抑制 TREM2 蛋白表达后, 与转染对照组比较, 转染实验组 BV2 细胞 IL-10、Arg-1 mRNA 与蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), TNF- α mRNA 与蛋白表达升高 ($P<0.01$)。在无转染 TREM2 中, 给予益智提取物共培养后, PI3K、p-Akt/Akt 蛋白表达升高 ($P<0.01$), 而在抑制 TREM2 蛋白表达后, PI3K、p-Akt/Akt 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 益智可以通过 TREM2 受体蛋白激活 PI3K/Akt 信号通路, 调节 M1 和 M2 型小胶质的表型转化, 改善神经炎症。

关键词: 益智; 小胶质细胞表型转化; TREM2; 神经炎症

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)02-0666-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.02.053

小胶质细胞在神经系统性疾病的发生、发展和终止过程中起着重要调节作用, 活化的小胶质细胞有 M1 型 (促炎性) 和 M2 型 (抗炎型) 2 种表型^[1]。M1 型小胶质细胞会诱导肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、一氧化氮 (NO)、一氧化氮合酶 (iNOS) 等促炎细胞因子及促炎蛋白释放量的增加, 它们均为 M1 型小胶质细胞激活的标记物^[2-3]。活化的 M2 型小胶质细胞会促进抗炎介质白细胞介素-10 (IL-10)、精氨酸酶-1 (Arg-1) 等以及神经营养因子的表达, 从而促进神经系统的恢复和重塑进行神经保护, 这些蛋白也均为 M2 型小胶质细胞标记物^[4-7], 且这些促炎和抗炎介质的水平反应了小胶质细胞的激活状态。在正常生理条件下, 小胶质细胞呈现一种相对静止的监测表型, 然而当免疫稳态受到干扰或神经炎症发生时, 小胶质细胞就会进行无数次涉及细胞表型的调节过程, 并分泌多种细胞因子以反映脑内状态^[8-10]。研究表明, 益智提取物可以通过抑制神经炎症发挥神经保护作用^[11-16]。但目前没有关于益智是否可以抑制 M1 型小胶质细胞活化并促进 M2 型小胶质细胞激活的相关研究。故本实验以益智为研究对象, 探讨其对小胶质细胞表型转化的调节作用, 以期为其深入研究提供参考。

1 材料

1.1 药物 益智购于北京同仁堂辽宁药店有限责任公司,

产地海南, 生产厂家为亳州市京皖中药饮片厂, 经沈阳药科大学功能食品与葡萄酒学院贾英教授鉴定为 *Alpinia oxyphylla* Miq. 的干燥成熟果实。

1.2 细胞 小鼠神经胶质细胞 BV2 由沈阳药科大学续繁星老师提供。

1.3 试剂 DMEM 高糖培养基、BCA 蛋白定量试剂盒、放射性免疫沉淀分析 (RIPA) 裂解液、苯甲基磺酰氯 (PMSF) 蛋白酶抑制剂、蛋白磷酸酶抑制剂复合物 ($\times 100$)、十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 快速配制试剂盒、超敏 ECL 发光剂、BSA、脂多糖 (LPS) 购自大连美仑生物技术有限公司 (批号 MA0212、MA0082、MA0153、MA0001、MB12707-1、MA0159、MA0186、MB4219、MB5198); 上样缓冲液 ($5\times$) 购自上海碧云天生物技术有限公司 (批号 P0015L); Arg-1 抗体、磷酸肌醇-3-激酶 (PI3K) 抗体、蛋白激酶 (Akt) 抗体、磷酸化蛋白激酶 (p-Akt) 抗体购自美国 ProteinTech 公司 (批号 66129-1-Ig、67121-1-Ig、60203-2-Ig、66444-1-Ig); 钙离子结合受体分子-1 (Iba-1) 抗体、iNOS 抗体、 β -actin 抗体、FITC 山羊抗兔、CY3 山羊抗兔、488 山羊抗兔购自英国 Abcam 公司 (批号 ab178846、ab178945、ab8226、ab6717、ab6939、ab150077); siRNA 转染试剂购自长春金传科技有限公司 (批号 R19425015)。

收稿日期: 2023-01-13

作者简介: 彭 景 (1999—), 女, 硕士生, 研究方向为中药治疗阿尔兹海默症的机制。Tel: 15597769238, E-mail: 15597769238@139.com

*通信作者: 颜廷旭 (1984—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为神经退行性疾病的中药干预。Tel: 18842411904, E-mail: ytxsyphu@163.com

1.4 仪器 CO₂ 恒温培养箱、生物超净工作台、Spectra Max M2 型多功能酶标仪（美国 Thermo 公司）；冷冻离心机、高压灭菌锅（长沙市湘仪离心机仪器有限公司）；转膜装置、电泳仪（美国 Bio-Rad 公司）。

2 方法

2.1 益智提取物制备 取益智粉碎，过 4 号筛，95% 乙醇回流提取 3 次（液料比 10：1），每次 2 h，用八层纱布过滤提取液，减压旋蒸、干燥，得益智干燥浸膏，得率 16.47%，于凉暗处保存。取适量浸膏溶于无菌磷酸盐缓冲液（PBS）中，制成质量浓度为 1 mg/mL（生药量）的溶液，分装于 0.5 mL EP 管中，-20 ℃ 避光储存。取适量 LPS 溶于 DMSO 中，制成质量浓度为 5 mg/mL 的溶液，分装于 0.5 mL EP 管中，-20 ℃ 避光保存。

2.2 细胞培养 将于-80 ℃ 或液氮中冷冻保存的 BV2 小胶质细胞复苏后，取细胞培养瓶于显微镜下观察，当 BV2 细胞贴壁生长至培养瓶底面积的 90% 时进行传代，传代后于细胞培养箱中培养。选择生长状态良好的细胞冷冻保存，条件为 4 ℃ 30 min，-20 ℃ 1 h，-80 ℃ 冷冻。以复苏后的细胞作为第一代细胞，选择第 3~15 代 BV2 小胶质细胞进行实验。

2.3 MTT 法检测细胞活力 取 BV2 细胞，以 1×10⁴/mL 密度接种于无菌 96 孔板中，培养 24 h。待细胞长至 96 孔板底面积的 70% 时，设置对照组、模型组和给药组，每组 3 个复孔，继续培养 4 h，除对照组外，每孔均加入 5 mg/mL LPS，使其质量浓度为 1 μg/mL，继续培养 24 h。收集细胞，给药组加入 100、50、25、12.5、6.25、3.125、1.562 5 μg/mL 益智提取物溶液。作用 24 h 后每孔均加入 20 μL MTT（5 mg/mL）培养 4 h，加入 100 μL 由 SDS 10 g、异丁醇 5 mL、10 mol/L HCl 0.1 mL 配制的溶液，于细胞培养箱中培养过夜。次日，将 96 孔板放在摇床上快速振荡 5 min，待紫色结晶充分溶解，于 570 nm 波长处检测吸光度，计算细胞存活率。

2.4 Griess 比色法检测 NO 水平 按“2.3”项下方法处理并收集细胞。取每孔细胞上清液 50 μL 转移至另一无菌 96 孔板中。设置标准曲线组，将 3×9 个孔分别加入 50 μL 细胞完全培养液，每孔均加入不同体积的标准液，标准曲线组浓度梯度分别为 0、1、2、5、10、20、40、60、100 μmol/L。每孔按顺序加入 50 μL 2 种显色液，于 540 nm 波长处检测吸光度。

2.5 Western blot 法检测 iNOS、Arg-1、Akt、p-Akt、PI3K 蛋白表达 取 BV2 细胞，以 5×10⁵/mL 密度接种于无菌 6 孔板中，培养 24 h。按“2.3”项下方法处理并收集细胞，加入 RIPA 裂解液，每孔 100 μL，收集蛋白上清液，使用 BCA 蛋白定量试剂盒将各组蛋白浓度调整一致，加上样缓冲液混合均匀，沸水加热 3~5 min 使蛋白变性。将蛋白经 SDS-PAGE 电泳后转移至 NC 膜或 PVDF 膜上。5% 脱脂牛奶封闭 2 h，加入 iNOS（1：1 000）、Arg-1（1：5 000）、Akt（1：800）、p-Akt（1：800）、PI3K（1：1 000）、β-

actin（1：2 500）一抗 4 ℃ 孵育过夜。TBST 洗涤 3 次，加入相应二抗室温孵育 1.5~2 h，洗涤 3 次。显影、定影、冲洗、晾干，以 β-actin 为内参，对各组条带进行分析，计算蛋白相对表达量。

2.6 ELISA 法检测 IL-10、TNF-α 水平 按“2.3”项下方法处理并收集细胞，使用 BCA 蛋白定量试剂盒定量，按照相关试剂盒说明书检测 IL-10、TNF-α 水平。

2.7 细胞免疫荧光法检测 Iba-1、Arg-1 水平 取 BV2 细胞，以 1×10⁵/mL 密度接种于无菌 6 孔板中，待细胞长至 96 孔板底面积的 6% 时，按“2.3”项下方法处理并收集细胞，去除上清液后每孔加入 1 mL PBS，清洗细胞 2 次。4% 多聚甲醛透化，PBS 清洗 3 次。室温下加入 5% 牛血清白蛋白（BSA）封闭细胞 1 h，每孔加入 100 μL Iba-1（1：300）、Arg-1（1：400）抗体，4 ℃ 孵育过夜，清洗 3 次。每孔加入 100 μL 二抗稀释液（1：300），室温作用 1 h。在暗室中，载玻片上滴加含 DAPI 的抗荧光衰减剂 2 滴，取出爬片，倒扣至抗荧光衰减剂上，避光条件下使用正置荧光显微镜观察、拍照。

2.8 髓样细胞表达触发受体-2（TREM2）转染实验 取 BV2 细胞，以 1×10⁵/mL 密度接种于无菌 6 孔板中，每孔加入完全培养基 2 mL，培养 24 h，待细胞密度为 60% 时，将完全培养液更换为基础培养基，继续培养 4 h。设置对照组、LPS 组、益智组（益智提取物+LPS）、转染对照组（NC+益智提取物+LPS）、转染实验组（5 μL TREM2-siRNA+益智提取物+LPS）。按照相关试剂盒说明书操作，培养 4 h，加入 LPS（5 mg/mL）使每孔 LPS 质量浓度为 1 μg/mL，继续培养 24 h，去除细胞培养液，收集细胞用于实验。

2.9 RT-qPCR 法检测 IL-10、Arg-1、TNF-α、Iba-1 mRNA 表达 按“2.3”项下方法处理并收集细胞，益智给药质量浓度为 100 μg/mL，每个浓度设置 3 个复孔。按照试剂盒说明书提取细胞总 RNA 并合成 cDNA，反应体系为 95 ℃ 35 s，60 ℃ 30 s，共 40 个循环。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	序列(5'→3')
251siTREM2	正向 GAGGGUGUCAUGACUUAUTT
	反向 AUAAGUACAUGACACCCUCTT
411siTREM2	正向 GAUGACACCCUUGCUGGAATT
	反向 UUCCGCAAGGGUGUCAUCTT
430siTREM2	正向 CCGUCACCAUCACUCUGAATT
	反向 UUCAGAGUGAUGGUGACGGTT
IL-10	正向 CTTACTGACTGGCATGAGGATCA
	反向 GCAGCTCTAGGACATGTGG
TNF-α	正向 CAGGCGGTGCTTATGTCTC
	反向 CGATCACCCGAAGTTCAGTAG
Arg-1	正向 CTCCAAGCCAAAGTCCTTAGAG
	反向 GGAGCTGTCAATTAGGGACATCA
Iba-1	正向 CTTGAAGCGAATGCTGGAGAA
	反向 GGCAGCTCGGAGATAGCTTT
GAPDH	正向 AGGTCGGTGTGAACGGATTTG
	反向 GGGGTGCTTGATGGCAACA

2.10 统计学分析 通过 GraphPad Prism 8 软件进行处理,数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 益智提取物对 BV2 细胞活力的影响 如图 1 所示,在 0~100 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,益智提取物对 BV2 细胞的存活率无影响。因此,选择 0~100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内的益智提取物进行实验。

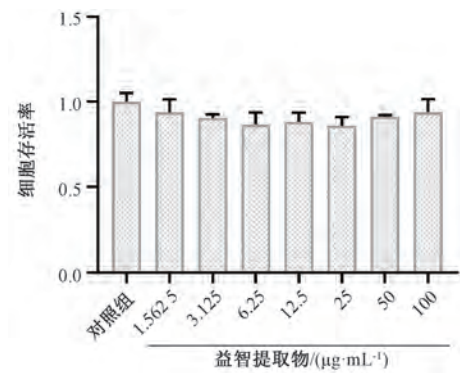
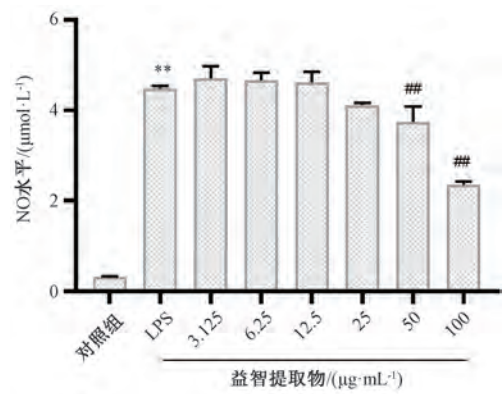


图 1 益智提取物对 BV2 细胞活力的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

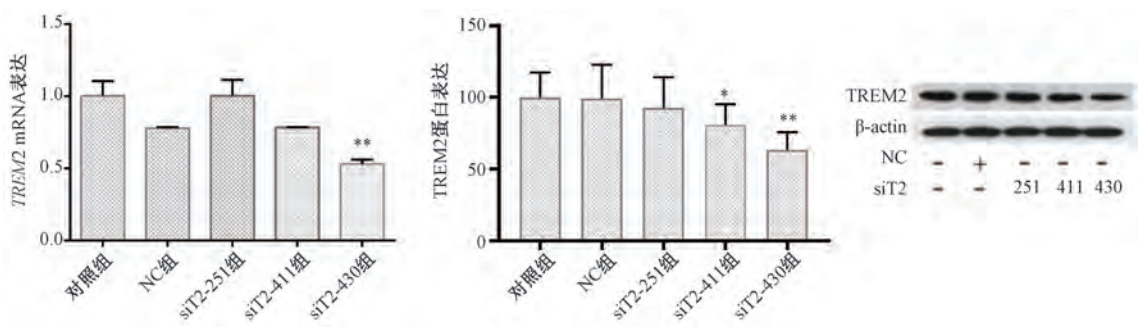
3.2 益智提取物对 LPS 诱导的 BV2 细胞 NO 水平的影响 如图 2 所示,与对照组比较,1 $\mu\text{g/mL}$ LPS 处理的 BV2 细胞中 NO 水平升高 ($P<0.01$);与 LPS 组比较,3.125~25 $\mu\text{g/mL}$ 益智提取物对 LPS 诱导的 BV2 细胞释放的 NO 无抑制作用,当质量浓度为 50、100 $\mu\text{g/mL}$ 时,可抑制 NO 释放 ($P<0.01$),并呈剂量依赖性。提示益智提取物可抑制 LPS 诱导的 BV2 细胞中 NO 的释放。因此,选择 50、100 $\mu\text{g/mL}$ 益智提取物进行后续实验。



注:与对照组比较,** $P<0.01$;与 LPS 组比较,## $P<0.01$ 。

图 2 益智提取物对 LPS 诱导的 BV2 细胞 NO 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

3.3 TREM2-siRNA 序列筛选 本实验设计了 3 条 TREM2-siRNA 序列,分别标为 251、411、430。通过 RT-qPCR 和 Western blot 法检测 TREM2 mRNA 和蛋白表达,筛选抑制 TREM2 表达效率最高的序列。如图 3 所示,与对照组比较,NC 组(一段不会对目的基因有影响的 si-RNA 序列,是 TREM2-siRNA 转染组的对照组)并没有对 TREM2 mRNA 的转录产生影响;与 NC 组比较,在 TREM2-siRNA 的 3 个序列中,只有 siT2-430 组 TREM2 mRNA 的转录被抑制,抑制效率大概为 50%;与对照组比较,NC 组同样没有对 TREM2 蛋白表达产生影响 ($P>0.05$);与 NC 组比较,siT2-411 组和 siT2-430 组 TREM2 蛋白的表达均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$),其中 siT2-430 更加有效地抑制了 TREM2 蛋白表达。因此,将选择 siT2-430 的 TREM2-siRNA 进行后续实验。

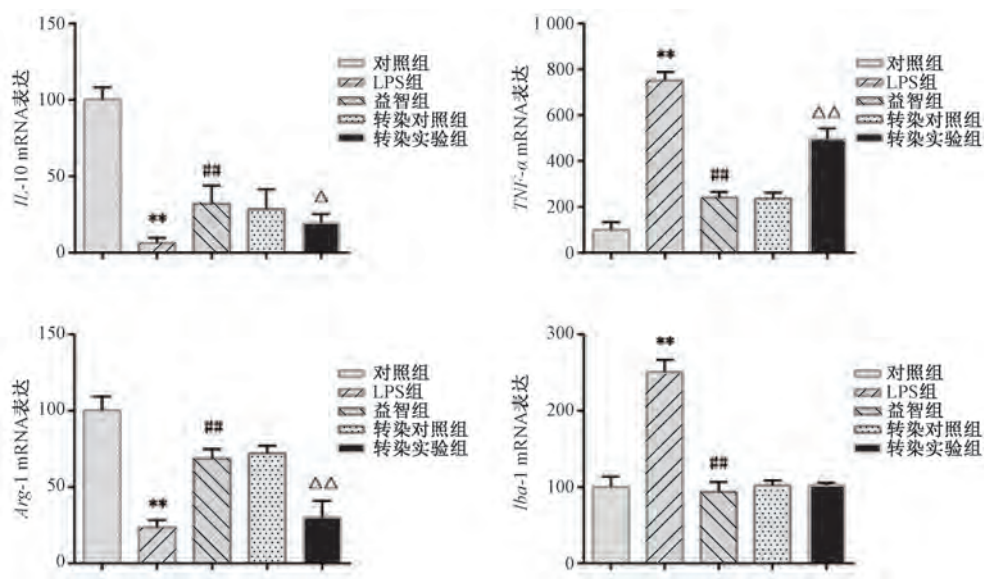


注:与 NC 组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

图 3 转染 TREM2-siRNA BV2 细胞的 TREM2 表达 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

3.4 益智对 LPS 诱导的 TREM2-siRNA BV2 细胞 M1 和 M2 型标记物 mRNA 表达的影响 如图 4 所示,与对照组比较,LPS 组 BV2 细胞 IL-10、Arg-1 mRNA 表达降低 ($P<0.01$),TNF- α 、Iba-1 mRNA 表达升高 ($P<0.01$);与 LPS 组比较,益智组 BV2 细胞 IL-10、Arg-1 mRNA 表达升高 ($P<0.01$),TNF- α 、Iba-1 mRNA 表达降低 ($P<0.01$);与转染对照组比较,转染实验组 BV2 细胞 IL-10、Arg-1 mRNA 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$),TNF- α mRNA 表达升高 ($P<0.01$)。

3.5 益智对 LPS 诱导的 TREM2-siRNA BV2 细胞 M1 和 M2 型标记蛋白表达的影响 如图 5 所示,与对照组比较,LPS 组 Iba-1 蛋白表达增加,Arg-1 蛋白的表达无影响;与转染对照组比较,转染实验组对 Iba-1 蛋白表达的抑制作用和对 Arg-1 蛋白表达的促进作用均被部分抑制。如图 6 所示,与对照组比较,LPS 组 BV2 细胞 IL-10、Arg-1 蛋白表达降低 ($P<0.01$),M1 型标记蛋白 TNF- α 、iNOS 蛋白表达升高 ($P<0.01$);与 LPS 组比较,益智组 BV2 细胞 IL-10、Arg-1



注：与对照组比较，** $P<0.01$ ；与 LPS 组比较，## $P<0.01$ ；与转染对照组比较， $\Delta P<0.05$ ， $\Delta\Delta P<0.01$ 。

图 4 益智提取物对 LPS 诱导的 TREM2-siRNA BV2 细胞 $TNF-\alpha$ 、 $IL-10$ 、 $Arg-1$ 、 $Iba-1$ mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=7$)

蛋白表达升高 ($P<0.01$)， $TNF-\alpha$ 、iNOS 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)；与转染对照组比较，转染实验组 BV2

细胞 $IL-10$ 、 $Arg-1$ 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)， $TNF-\alpha$ 、iNOS 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。

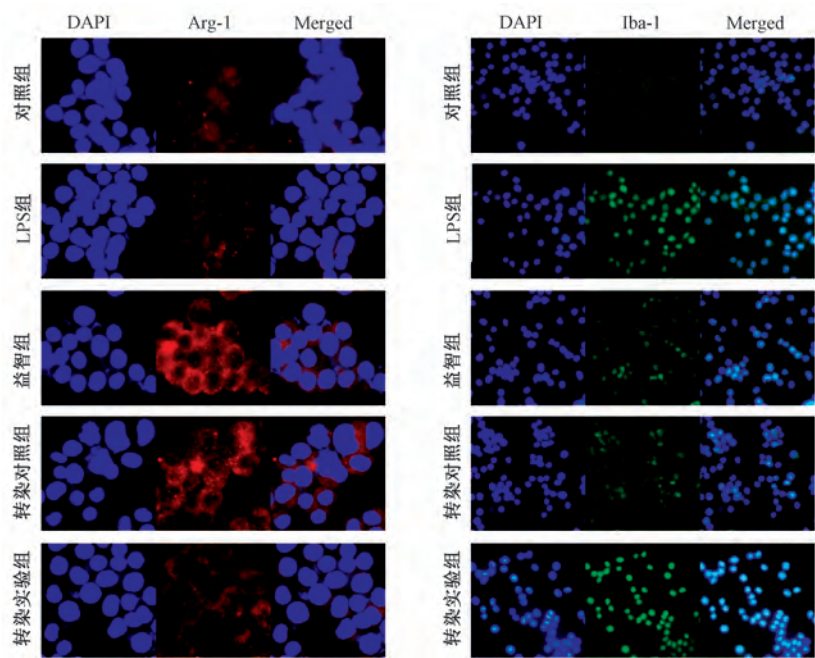
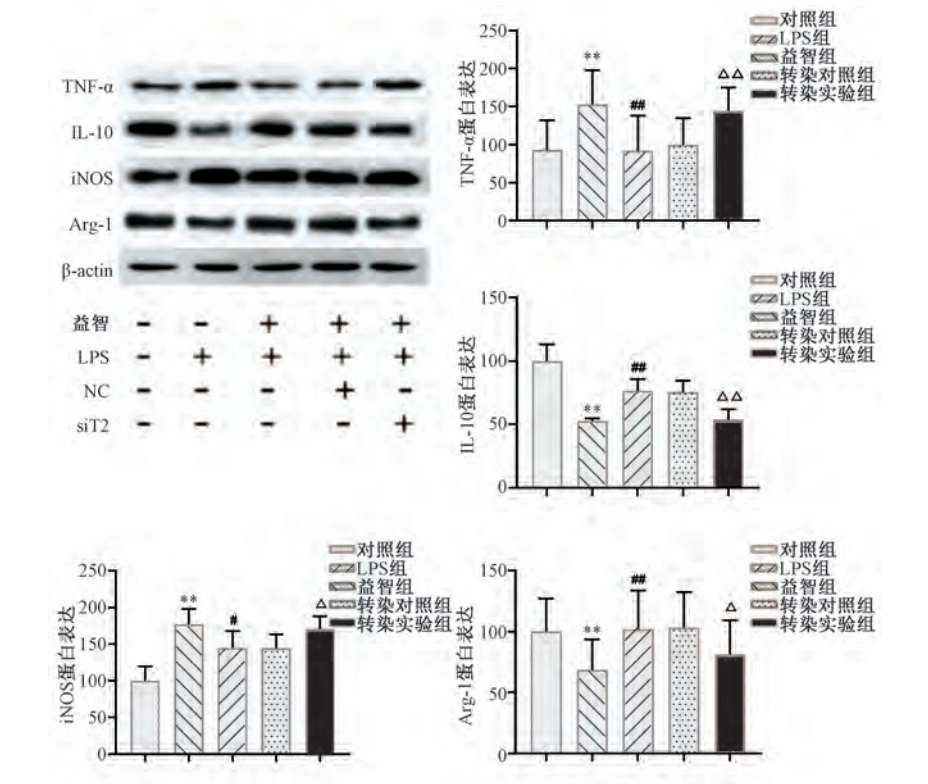


图 5 益智提取物对 LPS 诱导的 TREM2-siRNA BV2 细胞 $Arg-1$ 、 $Iba-1$ 蛋白表达的影响

3.6 益智对 LPS 诱导的 TREM2-siRNA BV2 细胞 PI3K/Akt 信号通路的影响 如图 7 所示，与对照组比较，LPS 组 BV2 细胞 PI3K、p-Akt/Akt 蛋白表达降低 ($P<0.01$)；与 LPS 组比较，益智组 BV2 细胞 PI3K、p-Akt/Akt 蛋白表达升高 ($P<0.01$)；与转染对照组比较，转染实验组 BV2 细胞 PI3K、p-Akt/Akt 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，表明益智可通过 TREM2 膜蛋白，激活 PI3K/Akt 信号通路以调节小胶质细胞表型转化。

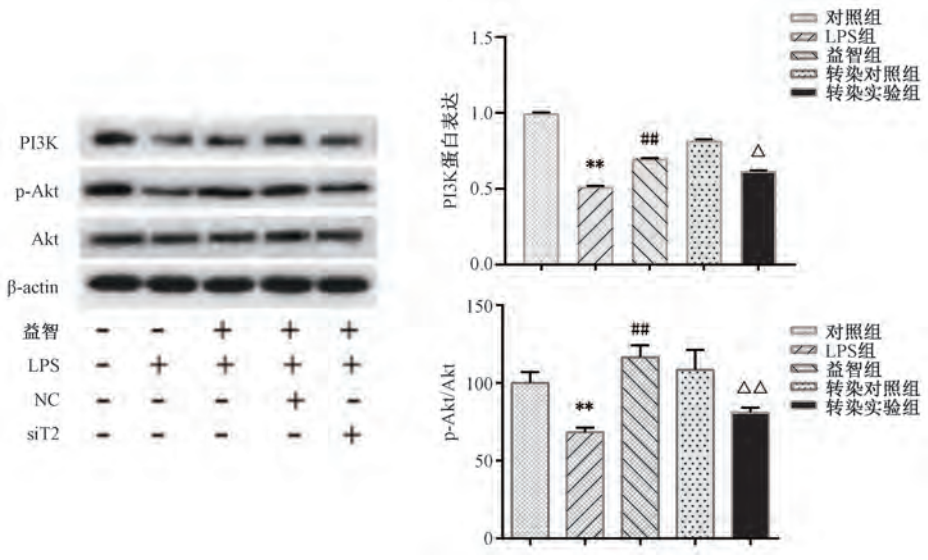
4 讨论

小胶质细胞作为中枢神经系统内的巨噬细胞，对神经炎症具有调节作用。本实验发现，益智可以改变 M1 和 M2 型小胶质细胞标记蛋白的表达以调节小胶质细胞表型。有研究表明，TREM2 是一种细胞跨膜蛋白，并且该蛋白高度表达于小胶质细胞中^[17]。小胶质细胞的表型转化在很大程度上依赖于 TREM2 受体蛋白，该蛋白表达提高后的抗炎作用已经在几种不同的细胞系和组织中得到证实。



注：与对照组比较，** $P<0.01$ ；与 LPS 组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ ；与转染对照组比较， Δ $P<0.05$ ， $\Delta\Delta$ $P<0.01$ 。

图 6 益智提取物对 LPS 诱导的 TREM2-siRNA BV2 细胞 TNF-α、IL-10、iNOS、Arg-1 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=7$)



注：与对照组比较，** $P<0.01$ ；与 LPS 组比较，## $P<0.01$ ；与转染对照组比较， Δ $P<0.05$ ， $\Delta\Delta$ $P<0.01$ 。

图 7 益智提取物对 LPS 诱导的 TREM2-siRNA BV2 细胞 PI3K、p-Akt、Akt 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

通过 TREM2-siRNA 转染实验，检测益智对不同表型小胶质细胞标记物 *Arg-1*、*Iba-1*、*TNF-α*、*IL-10* mRNA 表达以及小胶质细胞标记物蛋白表达的影响。结果表明 M1 向 M2 型小胶质细胞转化是由 TREM2 蛋白调控的。TREM2 可以激活 PI3K/Akt 通路，促进抗炎细胞因子的表达，从而调节小胶质细胞的表型转化^[18-19]。进一步对 PI3K/Akt 通路的蛋

白表达进行检测，发现益智可能介导 TREM2 蛋白进而激活 PI3K/Akt 信号通路发挥抗炎作用。

益智为四大南药之一，主要分布于广东和海南。益智含有多种化合物，包括萜类、庚烷类、甾醇类以及具有抗炎生物活性的黄酮类成分，如白杨素和杨芽黄素等^[20]。有研究表明，白杨素通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路发挥

抗炎作用^[21-22]，由此猜测白杨素可能是益智中主要调节小胶质细胞的表型转化的主要成分。但是白杨素是否具有这种作用还需进一步研究验证。

参考文献：

[1] Zhong Z Z, Chen A, Fa Z Q, *et al.* Adipose-derived stem cells modulate BV2 microglial M1/M2 polarization by producing GDNF[J]. *Stem Cells Dev*, 2020, 29(11) : 714-727.

[2] Jay T R, Hirsch A M, Broihier M L, *et al.* Disease progression-dependent effects of TREM2 deficiency in a mouse model of Alzheimer’s disease[J]. *J Neurosci*, 2017, 37(3) : 637-647.

[3] Peng H, Geil Nickell C R, Chen K Y, *et al.* Increased expression of M1 and M2 phenotypic markers in isolated microglia after four-day binge alcohol exposure in male rats[J]. *Alcohol*, 2017, 62(4) : 29-40.

[4] Bispo Da Silva A, Cerqueira Coelho P L, Alves Oliveira Amparo J, *et al.* The flavonoid rutin modulates microglial/macrophage activation to a CD150/CD206 M2 phenotype [J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 274(16) : 89-99.

[5] Orihuela R, Mcpherson C A, Harry G J. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states [J]. *Br J Pharmacol Chemother*, 2016, 173(4) : 649-665.

[6] Ma K, Guo J J, Wang G, *et al.* Toll-like receptor 2-mediated autophagy promotes microglial cell death by modulating the microglial M1/M2 phenotype[J]. *Inflammation*, 2020, 43(2) : 701-711.

[7] Shi H, Wang X L, Quan H F, *et al.* Effects of betaine on LPS-stimulated activation of microglial M1/M2 phenotypes by suppressing TLR4/NF-κB pathways in N9 cells[J]. *Molecules*, 2019, 24(2) : 367-381.

[8] Cherry J D, Olschowka J A, O’Banion M K. Neuroinflammation and M2 microglia: the good, the bad, and the inflamed[J]. *J Neuroinflammation*, 2014, 11(1) : 98-113.

[9] Qiu Z G, Lu P, Wang K, *et al.* Dexmedetomidine inhibits neuroinflammation by altering microglial M1/M2 polarization through MAPK/ERK pathway[J]. *Neurochem Res*, 2020, 45(2) : 345-353.

[10] Heneka M T, Kummer M P, Latz E. Innate immune activation in neurodegenerative disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(7) : 463-477.

[11] Qi Y, Cheng X H, Jing H T, *et al.* Combination of schisandrin and nootkatone exerts neuroprotective effect in Alzheimer’s

disease mice model [J]. *Metab Brain Dis*, 2019, 34(6) : 1689-1703.

[12] Wang Y L, Wang M S, Xu M J, *et al.* Nootkatone, a neuroprotective agent from *Alpinia Oxyphylla* Fructus, improves cognitive impairment in lipopolysaccharide-induced mouse model of Alzheimer’s disease [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 62(9) : 77-85.

[13] Bezerra Rodrigues Dantas L, Silva A L M, Da Silva Júnior C P, *et al.* Nootkatone inhibits acute and chronic inflammatory responses in mice[J]. *Molecules*, 2020, 25(9) : 2181-2194.

[14] He B S, Xu F X, Yan T X, *et al.* Tectochrysin from *Alpinia Oxyphylla* Miq. alleviates Aβ induced learning and memory impairments in mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 842(1) : 365-372.

[15] 侯 睿. 杨芽黄素在 LPS 刺激的巨噬细胞中发挥抗炎作用的机制研究[D]. 北京：北京协和医学院，2019.

[16] Hou R, Han Y X, Fei Q L, *et al.* Dietary flavone tectochrysin exerts anti-inflammatory action by directly inhibiting MEK1/2 in LPS-primed macrophages [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2018, 62(2) : 1-44.

[17] Hickman S E, Kingery N D, Ohsumi T K, *et al.* The microglial sensome revealed by direct RNA sequencing[J]. *Nat Neurosci*, 2013, 16(12) : 1896-1905.

[18] Lin L, Chen H B, Zhang Y X, *et al.* IL-10 protects neurites in oxygen-glucose-deprived cortical neurons through the PI3K/Akt pathway[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9) : e0136959.

[19] Wu M, Liao M L, Huang R F, *et al.* Hippocampal overexpression of TREM2 ameliorates high fat diet induced cognitive impairment and modulates phenotypic polarization of the microglia[J]. *Genes Dis*, 2020, 9(2) : 401-414.

[20] Konishi H, Kiyama H. Non-pathological roles of microglial TREM2/DAP12: TREM2/DAP12 regulates the physiological functions of microglia from development to aging[J]. *Neurochem Int*, 2020, 141(1) : 104878-104888.

[21] Yu S H, Kim H J, Jeon S Y, *et al.* Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of *Alpinia Oxyphylla* Miquel extracts in animal models [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 260(21) : 112985-112991.

[22] 蔡苏娜, 李 强, 周 慧, 等. 白杨素通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路发挥抗炎和抗氧化作用；基于蛋白质芯片方法 [J]. 南方医科大学学报, 2021, 41(10) : 1554-1561.