

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.01.009

创伤性脑损伤后 IL-1 β 在神经胶质细胞中经时定位表达的研究*吴涛 丁志斌 许刚柱 盛旭东 卢文超 钟海 张俊锋 Δ

(西安医学院第一附属医院神经外科 陕西 西安 710077)

摘要 目的:探讨创伤性脑损伤(TBI)后白细胞介素-1 β (IL-1 β)在神经胶质细胞中的经时定位表达情况。**方法:**选择 72 只 SPF 级雄性小鼠分为假手术组(sham 组)、TBI 6h 组、TBI 12h 组、TBI 1d 组、TBI 4d 组与 TBI 7d 组,每组 12 只,分别在脑损伤后 6h、12h、1d、4d、7d 时获取血清和脑组织并且制作切片。ELISA 检测损伤后炎症因子 IL-1 β 、白细胞介素-6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的表达。Western blot 检测钙离子结合蛋白-1 (IBA-1) 和胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 的表达。应用免疫荧光双重染色技术观察炎症因子 IL-1 β 在小胶质细胞和星形胶质细胞中的定位表达情况。**结果:**TBI 后 6h-7d 时炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达量均高于 sham 组 ($P<0.05$)。Western blot 结果显示,IBA-1 的表达在损伤后 6h-7d 时高于 sham 组,GFAP 的表达在损伤后 1d-7d 时高于 sham 组 ($P<0.05$)。免疫荧光双重染色技术显示,6h、12h 时 IL-1 β 主要表达在小胶质细胞中,IL-1 β 和 IBA-1 共表达细胞数量多于 sham 组 ($P<0.05$);1d、4d、7d 时 IL-1 β 主要表达在星形胶质细胞中,IL-1 β 和 GFAP 共表达细胞数量多于 sham 组 ($P<0.05$)。**结论:**TBI 诱导了胶质细胞和炎症因子的表达,其表达随脑损伤的时间而变化,IL-1 β 早期定位表达于小胶质细胞,后期定位表达于星形胶质细胞中。

关键词:创伤性脑损伤;炎症因子;小胶质细胞;星形胶质细胞;表达

中图分类号:R-33; R651.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)01-43-04

Research of the Time Orientation Expression of IL-1 β in Glial Cells after Traumatic Brain Injury*WU Tao, DING Zhi-bin, XU Gang-zhu, SHENG Xu-dong, LU Wen-chao, ZHONG Hai, ZHANG Jun-feng Δ

(First Department of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710077, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the time orientation expression of interleukin-1 β (IL-1 β) in glial cells after traumatic brain injury (TBI). **Methods:** 72 cases of SPF male mice were selected and divided into sham operation group (group sham), group TBI 6h, group TBI 12h, group TBI 1d, group TBI 4d, group TBI 7d, 12 cases in each group. Serum and brain tissues were obtained after brain injury at 6h, 12h, 1d, 4d and 7d. The expression of IL-1 β , interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected by ELISA. The expression of ionized calcium binding adaptor molecule-1 (IBA-1) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) were detected by Western blot. The expression of IL-1 β in microglia and astrocytes was observed by immunofluorescence double staining. **Results:** The expression inflammatory factors IL-1 β , IL-6, TNF- α were higher than sham group at 6h-7d after TBI ($P<0.05$). Western blot results showed that the expression of IBA-1 were higher than sham group at 6h-7d after injury, the expression of GFAP were higher than sham group at 1d-7d after injury ($P<0.05$). Immunofluorescence double staining showed that IL-1 β was mainly expressed in microglia at 6h and 12h, the number of IL-1 β and IBA-1 coexpressed were more than that in sham group ($P<0.05$). IL-1 β was mainly expressed in astrocytes at 1d, 4d and 7d, the number of IL-1 β and GFAP coexpressed were more than that in sham group ($P<0.05$). **Conclusion:** TBI induced the expression of glial cells and inflammatory factors, and the expression changes with the time of brain damage. IL-1 β is expressed in the microglia at an early stage and it is expressed in astrocytes at the later stage.

Key words: Traumatic brain injury; Inflammatory factors; Microglia; Astrocytes; Expression

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R651.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)01-43-04

前言

创伤性脑损伤 (traumatic brain injury, TBI) 是一种危及人类生命的常见急重症,病人病情变化快、死亡率和致残率高,对家庭和社会造成了严重的危害^[1-3]。虽然随着医学技术的进步和

发展,不少颅脑损伤的患者可以得到及时治疗,但是目前它的致残致死率仍居全身创伤的首位,尤其是我国的 TBI 治疗现状仍与国外先进水平存在一定的差距,因此,展开 TBI 的基础研究对脑损伤的临床诊断和治疗有重要意义^[4-6]。相关文献已有报道^[7,8],炎症反应损伤中枢神经系统是影响脑损伤病人预后的重

* 基金项目:陕西省社会发展科技攻关项目(2015FS0638)

作者简介:吴涛(1977-),男,硕士,主治医师,从事颅脑损伤方面的研究,E-mail: msdgee@163.com

Δ 通讯作者:张俊锋(1980-),男,硕士,主治医师,从事颅脑损伤方面的研究,E-mail: yzmgoe@163.com

(收稿日期:2018-08-07 接受日期:2018-08-28)

要原因之一,多种细胞因子作为启动因素引起脑损伤后继发炎症反应,参与炎症反应发生、发展的全过程,并引发二次损伤。白细胞介素家族在 TBI 后的继发损伤中起着重要作用,主要是参与介导炎症反应,其中与之关系最为密切的是来源于血管内皮细胞、星形胶质细胞和小胶质细胞的白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β), IL-1 β 能够通过激活脑组织内的神经胶质细胞,进而产生参与炎症反应的炎症因子,最后加重损伤^[9-11]。因此,研究 IL-1 β 在 TBI 后不同时期对胶质细胞活化对继续研究 TBI 后的病理变化机制及预后具有重要意义。本研究通过建立 TBI 损伤小鼠模型,检测 IL-1 β 在神经胶质细胞中经时定位表达,以进一步了解神经胶质细胞与炎症因子的关系,为神经损伤的预后治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 黑质纹状体通路损伤模型的制备

用于本实验的 8 周龄 SPF 级雄性小鼠 72 只,购于西安医学院实验动物中心,许可证号:SYXK(陕)2016-004。将实验动物随机分为 6 组,每组 12 只:sham 组、TBI 6h 组、TBI 12h 组、TBI 1d 组、TBI 4d 组、TBI 7d 组。采用 10%水合氯醛(50mg/kg)进行麻醉小鼠,将小鼠固定在脑立体定位仪上,门齿栏置于耳屏线下 3 mm,嘴设置在 0 mm 刻度线上。固定结束以后,消毒手术部位,清除颅骨表面骨膜,钻出缺口,暴露大脑。距离大脑 5.5 mm 处插入刀片,随后缓慢拔出,止血消毒后缝合伤口。sham 组仅暴露颅骨。TBI 造模结果:其中 1 只因为麻醉意外死亡,2 只在建模结束后出现心跳停止死亡,按照死亡数量进行补充。所有的动物都在相同的环境条件(温度 22 $\pm$ 3 $^{\circ}$ C, 12/12h 光暗循环),食物和水供给充足,遵循相关动物伦理学规定。

1.2 小鼠脑组织获取及其切片制备

小鼠 TBI 模型制备后,在 6h、12h、1d、4d、7d 获取 TBI 和 sham 组脑组织。麻醉小鼠后进行心脏灌流,甲醛固定过夜,待脑组织沉入瓶底后,采用北京华兴科仪科技发展有限公司生产的冷冻切片机制成 10 μ m 厚水平位冰冻切片,样品切片 -20 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.3 免疫组织化学方法检测造模结果

0.02 mol/L PBS 冲洗切片,3% H₂O₂ 和 0.1% Triton X-100 的混合液中常温孵育 10 min,清洗后加 1%脱脂奶粉 37 $^{\circ}$ C 封闭 30 min,一抗兔抗酪氨酸羟化酶(TH, Millipore, 1:1000)(沈阳万类生物科技有限公司,中国)4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;一抗孵育后用生物素标记的抗兔 IgG(vector laboratories, 1:100),在 37 $^{\circ}$ C 条件下孵育 30 min;含有 0.1 mg/mL DAB 与 0.3% H₂O₂ 的混合显色液中显色 3 min。以上各步骤之间冲洗切片的均用 0.02 mol/L PBS,洗 3 次,每次 5 min。所有抗体均用含 0.5%脱脂奶粉进行稀释。

1.4 ELISA 检测损伤周围炎症因子的经时表达

TBI 造模成功后,进行断尾取血,检测炎症因子 IL-1 β 、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)在损伤后定量表达。具体操作根据 ELISA 试剂盒(北京达科为生物科技有限公司,中国)说明书进行,检测 sham 组以及损伤炎症因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的表达情况。

1.5 Western blot 检测钙离子结合蛋白-1 (ionized calcium binding adaptor molecule-1, IBA-1) 和胶质纤维酸性蛋白 (glial

fibrillary acidic protein, GFAP) 经时表达

TBI 造模成功后,在 6h、12h、1d、4d 和 7d 冰上取脑并取 2 mm 组织进行称重后,按 1:10 比例加入生理盐水在冰上用剪刀剪碎组织至成 1 mm³ 左右,4 $^{\circ}$ C、12000 $\times$ g 高速离心 30 min 后弃上清,反复 3 次;按组织重量加入裂解液、蛋白酶抑制剂 PMSF 和磷酸酶抑制剂,超声波细胞破碎仪 (SONICS, 美国)完全打碎后 4 $^{\circ}$ C 条件下裂解 30 min;12000 $\times$ g 低温高速离心 30 min,取上清。按照 BCA 试剂盒(沈阳万类生物科技有限公司,中国)说明书测定蛋白浓度,通过 SDS-PAGE 分离蛋白,用 TBST 清洗膜 3 次,每次 10 min,然后加入封闭液;加一抗,兔抗鼠多克隆 IBA-1 (1:100),GFAP (1:30000) 和 GAPDH (1:5000) 4 $^{\circ}$ C 摇晃过夜。结束后 TBST 洗膜 3 次,每次清洗 10 min,加入 HRP 标记的羊抗兔抗体 (1:5000),37 $^{\circ}$ C 孵育 90 min。

1.6 免疫荧光双重染色方法

室温放置 30 min 的冰冻切片在 PBS 中室温孵育 10 min, PBS 清洗 3 次,孵育过夜。一抗混合液为山羊抗 IBA-1 (1:100) + 兔抗 IL-1 β (abcam, 1:100) 或鸡抗 GFAP (Millipore, 1:500) + 兔抗 IL-1 β (abcam, 1:100)。第二天 0.02 mol/L PBS 冲洗 3 次后,加入二抗混合液分别为 488 标记的抗兔 IgG (沈阳万类生物科技有限公司, 1:100) + 594 标记的抗山羊 IgG (沈阳万类生物科技有限公司, 1:100) 和 488 标记的抗兔 IgG (沈阳万类生物科技有限公司, 1:100) + cy3 标记的抗鸡 IgG (沈阳万类生物科技有限公司, 1:100), 37 $^{\circ}$ C 下孵育 60 min。避光用抗荧光封片剂封片。应用荧光显微镜 (尼康, 日本) 观察切片的数字图像并以 TIF 文件保存。每张图片选取损伤处的固定部位,计数阳性细胞数,进行统计学分析。

1.7 统计学处理

采用 SPSS 22.0 进行统计分析,所有数据均用均数 $\pm$ 标准差表示,实施 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 TH 免疫组织化学染色

TH 免疫组织化学染色结果显示,黑质纹状体通路切断后,TH 染色被切断,损伤上端几乎没有 TH 阳性表达,TH 染色未被切断且 TH 阳性表达均匀,则为未损伤或者模型不成功。

2.2 脑损伤后炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达

ELISA 结果显示损伤后 6h 时炎症因子的 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达量与 sham 组比较均增高 ($P < 0.05$), 12h 时表达量达到高峰, 1d 时表达水平开始下降,一直持续到损伤后 7d 时,表达水平与 sham 组相比差异仍有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1。

2.3 脑损伤后胶质细胞的表达

Western blot 结果显示,在损伤后 6h 时 IBA-1 表达高于 sham 组 ($P < 0.05$),随着时间增加表达水平增加;损伤后 1d 时 GFAP 的表达高于 sham 组 ($P < 0.05$), 4d 时表达进一步增加, 7d 时表达水平最高,见表 2。

2.4 炎症因子 IL-1 β 在胶质细胞中的表达

在损伤前期 (6h~12h) IL-1 β 主要定位表达在小胶质细胞中, 6h 时 IL-1 β 和 IBA-1 共表达细胞数量为 (24.53 $\pm$ 4.25) 个, 12h 时共表达细胞数量为 (57.29 $\pm$ 7.63) 个,均多于 sham 组的

表 1 损伤后炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达($\bar{x}\pm s$)Table 1 Expression of inflammatory factors IL-1 β , IL-6 and TNF- α after injury($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	IL-1 β (pg/mL)	IL-6(pg/mL)	TNF- α (pg/mL)
Group sham	12	29.51 $\pm$ 2.43	51.47 $\pm$ 3.59	42.18 $\pm$ 2.96
Group TBI 6h	12	80.47 $\pm$ 4.97*	147.62 $\pm$ 5.28*	141.67 $\pm$ 5.06*
Group TBI 12h	12	118.62 $\pm$ 6.84*	180.56 $\pm$ 7.12*	175.69 $\pm$ 6.27*
Group TBI 1d	12	91.56 $\pm$ 5.49*	153.84 $\pm$ 5.91*	153.46 $\pm$ 5.91*
Group TBI 4d	12	79.62 $\pm$ 4.25*	104.36 $\pm$ 4.97*	113.72 $\pm$ 4.86*
Group TBI 7d	12	65.81 $\pm$ 4.03*	92.57 $\pm$ 4.58*	87.56 $\pm$ 3.88*

Note: Compared with sham group,* $P<0.05$.

表 2 损伤后 IBA-1 和 GFAP 的相对表达量($\bar{x}\pm s$)Table 2 Relative expression of IBA-1 and GFAP after injury($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	IBA-1	GFAP
Group sham	12	0.19 $\pm$ 0.05	0.17 $\pm$ 0.03
Group TBI 6h	12	0.41 $\pm$ 0.09*	0.19 $\pm$ 0.04
Group TBI 12h	12	0.52 $\pm$ 0.08*	0.20 $\pm$ 0.05
Group TBI 1d	12	0.60 $\pm$ 0.13*	0.25 $\pm$ 0.08*
Group TBI 4d	12	0.65 $\pm$ 0.16*	0.49 $\pm$ 0.12*
Group TBI 7d	12	0.79 $\pm$ 0.11*	0.61 $\pm$ 0.15*

Note: Compared with sham group,* $P<0.05$.

(10.46 $\pm$ 0.98)个($P<0.05$)。在损伤后期(1d~7d)IL-1 β 主要定位表达在星形胶质细胞中,1d、4d、7d 时 IL-1 β 和 GFAP 共表达细胞数量分别为 (20.05 $\pm$ 3.67) 个、(38.26 $\pm$ 5.51) 个、(17.93 $\pm$ 3.27)个,均多于 sham 组的(10.29 $\pm$ 1.56)个($P<0.05$)。

3 讨论

本研究通过建立黑质纹状体通路损伤作为 TBI 模型,经过脑损伤后炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的经时表达检测,通过 Western blot 检测 IBA-1 和 GFAP 各高峰表达状况,从而确定损伤后 IL-1 β 在小胶质细胞和星形胶质细胞中的表达情况,结果观察到在损伤前(6h~1d)IL-1 β 主要定位表达在小胶质细胞中,且在 12h 时共表达细胞的数量最多;在损伤后期(1d~7d)IL-1 β 主要定位表达在星形胶质细胞中,且在 4d 时共表达细胞的数量达到高峰,7d 时共表达细胞数量明显减少,说明可能是 IL-1 β 通过某种方式促进了小胶质细胞和星形胶质细胞的表达,并且其表达水平随时间而变化,活化后的细胞正反馈调节炎症因子的表达,最终造成神经元的损失甚至死亡,这在相关研究中有类似报道^[12,13]。

小胶质细胞是中枢神经系统的免疫细胞,具有吞噬功能^[14]。当小胶质细胞变形和增殖时,它们开始新表达一些粘附分子/细胞因子/生长因子受体,如 IL-1 β 、TNF- α 和转化生长因子- β 1^[15-17]。这些分泌型因子促进细胞间信息交流,同时促进小胶质细胞向具有免疫作用的细胞转换。星形胶质细胞是神经系统内分布最广泛的胶质细胞,也是脑中数量最多的非神经元细胞^[18-20]。星形胶质细胞能够合成分泌多种神经营养因子、激素、神经递质等,其主要功能是免疫调节、信号转导和维持着神经元内外环境^[21,22]。缺血性或外伤性脑损伤后,星形胶质细胞进行

增殖和细胞肥大,GFAP 表达增加,成为反应性星形胶质细胞,其可能阻碍神经损伤修复^[23-25]。ELISA 结果显示损伤后 6h-7d 时炎症因子的 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达量与 sham 组比较均增高。有研究指出,JNK 信号转导通路可激活 IL-1 β 的表达,当 IL-1 β 水平增加后又可以进一步激活 JNK 信号转导通路,促进星形胶质细胞释放更多炎症因子,从而造成了一种恶性循环,进而更严重的损伤了神经元^[26-28]。IL-1 β 是细胞内或体液中重要的炎症因子,其可通过多种方式参与损伤神经元,如诱导氨基酸、浸润白细胞、诱导黏附分子等^[29-30]。

本研究结果显示 TBI 诱导了胶质细胞和炎症因子的表达,其表达随脑损伤的时间变化,TBI 能使炎症因子 IL-1 β 等以及 IBA-1、GFAP 表达增高,且 IL-1 β 在损伤后可经时定位表达于小胶质细胞和星形胶质细胞中。损伤前期(12h 以内)IL-1 β 主要定位表达在小胶质细胞中,损伤后期(1d 到 4d)IL-1 β 主要定位表达于星形胶质细胞中,为保护神经元、减轻炎症反应、促进损伤的恢复奠定了研究基础。

参考文献(References)

- [1] Patrick SP, Gaudet LA, Krebs L D, et al. Emergency Physician Training on Mild Traumatic Brain Injury: A Systematic Review[J]. AEM Educ Train, 2017, 1(4): 346-356
- [2] Hazama A, Ziechmann R, Arul M, et al. The Effect of Keppra Prophylaxis on the Incidence of Early Onset, Post-traumatic Brain Injury Seizures[J]. Cureus, 2018, 10(5): e2674
- [3] Castranio EL, Wolfe CM, Nam KN, et al. ABCA1 haploinsufficiency affects the brain transcriptome following traumatic brain injury in mice expressing human APOE isoforms [J]. Acta Neuropathol Commun, 2018, 6(1): 69
- [4] Dash PK, Zhao J, Kobori N, et al. Activation of Alpha 7 Cholinergic

- Nicotinic Receptors Reduce Blood-Brain Barrier Permeability following Experimental Traumatic Brain Injury [J]. *J Neurosci*, 2016, 36(9): 2809-2818
- [5] 刘晓斌,侯明山,李民,等.tBHQ 和 SFN 在创伤性脑损伤小鼠中的疗效比较性分析[J].现代生物医学进展,2017,17(28): 5445-5448
Liu Xiao-bin, Hou Ming-shan, Li Min, et al. Comparative Analysis of Therapeutic Effect between tBHQ and SFN in Rats with Traumatic Brain Injury [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2017, 17 (28): 5445-5448
- [6] 付江泉,兰青,王迪芬,等.富氢水对创伤性脑损伤大鼠炎症因子及线粒体损伤的影响[J].中华危重病急救医学,2018,30(4): 317-321
Fu Jiang-quan, Lan Qing, Wang Di-fen, et al. Effect of hydrogen-rich water on the chondriosome damage and cytokines in brain tissue of rats with traumatic brain injury [J]. *Chinese Critical Care Medicine*, 2018, 30(4): 317-321
- [7] Bosak V, Murata K, Bludau O, et al. Role of the immune response in initiating central nervous system regeneration in vertebrates: learning from the fish[J]. *Int J Dev Biol*, 2018, 62(6-7-8): 403-417
- [8] Kamimura D, Ohki T, Arima Y, et al. Gateway reflex:neural activation-mediated immune cell gateways in the central nervous system[J]. *Int Immunol*, 2018, 30(7): 281-289
- [9] Toldo S, Van Tassell BW, Abbate A. Interleukin-1 Blockade in Acute Myocardial Infarction and Heart Failure: Getting Closer and Closer [J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2017, 2(4): 431-433
- [10] Hwangbo Y, Cheong HT, Yang BK, et al. Effects of 17 β -estradiol, Interleukin-1 β , and Human Chorionic Gonadotropin on Activity and mRNA Expression of Plasminogen Activators in Porcine Endometrial Cells[J]. *Dev Reprod*, 2018, 22(2): 155-163
- [11] Hajek E, Krebs F, Bent R, et al. BRAF inhibitors stimulate inflammasome activation and interleukin 1 beta production in dendritic cells[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(47): 28294-28308
- [12] 陈祥荣,谢宝缘,郭树凯,等. ω -3 多不饱和脂肪酸抑制大鼠创伤性脑损伤后小胶质细胞介导的炎症反应 [J]. 中华临床营养杂志, 2016, 24(6): 369-375
Chen Xiang-rong, Xie Bao, Wu Shu-kai, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids supplementation attenuates microglia-induced inflammation after traumatic brain injury in rats[J]. *Chinese Journal of Clinical Nutrition*, 2016, 24(6): 369-375
- [13] Zhang P, Bi RY, Gan YH. Glial interleukin-1 β upregulates neuronal sodium channel 1.7 in trigeminal ganglion contributing to temporomandibular joint inflammatory hypernociception in rats [J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1): 117
- [14] Saavedra LM, Fenton Navarro B, Torner L. Early Life Stress Activates Glial Cells in the Hippocampus but Attenuates Cytokine Secretion in Response to an Immune Challenge in Rat Pups [J]. *Neuroimmunomodulation*, 2017, 24(4-5): 242-255
- [15] Krasnow SM, Knoll JG, Verghese SC, et al. Amplification and propagation of interleukin-1 β signaling by murine brain endothelial and glial cells[J]. *J Neuroinflammation*, 2017,14(1): 133
- [16] Holló K, Ducza L, Hegyi Z, et al. Interleukin-1 receptor type 1 is overexpressed in neurons but not in glial cells within the rat superficial spinal dorsal horn in complete Freund adjuvant-induced inflammatory pain[J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1): 125
- [17] Santos R, Vadodaria KC, Jaeger BN, et al. Differentiation of Inflammation-Responsive Astrocytes from Glial Progenitors Generated from Human Induced Pluripotent Stem Cells[J]. *Stem Cell Reports*, 2017, 8(6): 1757-1769
- [18] 李杰,周军媚,田绍文.小胶质细胞生物学特性及对神经元调控作用 [J].基础医学与临床,2018,38(4): 563-567
Li Jie, Zhou Jun-mei, Tian Shao-wen. Cell biological properties of microglia and its role in neurons regulation [J]. *Basic & Clinical Medicine*, 2018, 38(4): 563-567
- [19] 李忠秋,焦建伟.小胶质细胞的发育及在中枢神经系统的功能研究进展[J].中国药理学与毒理学杂志,2017,31(11): 1050-1056
Li Zhong-qiu, Jiao Jian-wei. Progress in microglia cell development and its function in central nervous system [J]. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2017, 31(11): 1050-1056
- [20] Yue N, Huang H, Zhu X, et al. Activation of P2X7 receptor and NLRP3 inflammasome assembly in hippocampal glial cells mediates chronic stress-induced depressive-like behaviors [J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1): 102
- [21] Lagerstedt L, Egea-Guerrero JJ, Bustamante A, et al. Combining H-FABP and GFAP increases the capacity to differentiate between CT-positive and CT-negative patients with mild traumatic brain injury[J]. *PLoS One*, 2018, 13(7): e0200394
- [22] Pinchi E, Frati A, Cipolloni L, et al. Clinical-pathological study on β -APP, IL-1 β , GFAP, NFL, Spectrin II, 8OHdG, TUNEL, miR-21, miR-16, miR-92 expressions to verify DAI-diagnosis,grade and prognosis[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2387
- [23] Jones A, Jarvis P. Review of the potential use of blood neuro-biomarkers in the diagnosis of mild traumatic brain injury[J]. *Clin Exp Emerg Med*, 2017, 4(3): 121-127
- [24] Lewis LM, Schloemann DT, Papa L, et al. Utility of Serum Biomarkers in the Diagnosis and Stratification of Mild Traumatic Brain Injury[J]. *Acad Emerg Med*, 2017, 24(6): 710-720
- [25] 李瑞,李丹,刘国,等.创伤性脑损伤后白细胞介素 1 β 在星形胶质细胞中的表达[J].解剖学杂志,2016,39(3): 324-326, 346
Li Rui, Li Dan, Liu Nan, et al. Expression of IL-1 β in astrocyte after traumatic brain injury [J]. *Chinese Journal of Anatomy*, 2016, 39(3): 324-326, 346
- [26] 侯良娟,黄小环.川芎嗪对慢性脑缺血小鼠认知功能障碍及海马星形胶质细胞胶质原纤维蛋白表达的影响[J].中国生物制品学杂志, 2018, 31(2): 150-154, 159
Hou Liang-juan, Huang Xiao-huan. Effect of tetramethylpyrazine on cognitive impairment and expression of glial fibrillary acidic protein in hippocampal astrocytes of mice with chronic cerebral ischemia[J]. *Chinese Journal of Biologicals*, 2018, 31(2): 150-154, 159
- [27] Sankar SB, Donegan RK, Shah KJ, et al. Heme and hemoglobin suppress amyloid β -mediated inflammatory activation of mouse astrocytes[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(29): 11358-11373
- [28] Du J, Zhang C, Na X, et al. Andrographolide protects mouse astrocytes against hypoxia injury by promoting autophagy and S100B expression[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2018, 51(6): e7061
- [29] Tamai M, Kobayashi N, Shimada K, et al. Increased interleukin-1 β and basic fibroblast growth factor levels in the cerebrospinal fluid during human herpesvirus-6B (HHV-6B) encephalitis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 486(3): 706-711
- [30] Patraca I, Martí nez N, Busquets O, et al. Anti-inflammatory role of Leptin in glial cells through p38 MAPK pathway inhibition [J]. *Pharmacol Rep*, 2017, 69(3): 409-418