

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2026.10.007
文章编号: 1005-8982 (2026) 10-0039-13

实验研究·论著

原花青素B2靶向小胶质细胞调节TLR4/MyD88/ NF- κ B信号通路对双环己酮草酰二胺小鼠 髓鞘脱失的影响*

郑璐璐, 郭羽, 蒲萌, 张紫薇, 陈莹, 刘健, 温煜杰, 隋子焱, 王青, 张俐敏

(山西中医药大学 神经生物学研究中心, 山西 晋中 030619)

摘要: 目的 探究原花青素B2 (PCB2) 靶向小胶质细胞调节TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路对双环己酮草酰二胺 (CPZ) 小鼠髓鞘脱失的影响。**方法** 将40只雄性C57BL/6小鼠随机分为Normal组、PCB2组、CPZ组和CPZ+PCB2组。用含0.2% CPZ的饲料喂养CPZ组和CPZ+PCB2组6周, 复制小鼠急性脱髓鞘模型, CPZ+PCB2组另采用PCB2治疗小鼠2周。采用高架十字迷宫和旷场实验评估小鼠行为学变化; 黑金髓鞘染色、髓鞘碱性蛋白 (MBP) 及降解髓鞘碱性蛋白 (dMBP) 免疫荧光染色观察胼胝体区域髓鞘脱失情况; 免疫荧光染色观察小胶质细胞标记物离子钙结合接头分子1 (Iba1) 及其M1型极化标志物诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)、M2型极化标志物精氨酸酶1 (Arg1) 表达; 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 测定脑组织匀浆中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6)、IL-1 β 及IL-10水平; 逆转录实时荧光定量聚合酶链反应 (RT-qPCR) 和Western blotting实验检测脑组织匀浆中Toll样受体4 (TLR4)、髓样分化因子88 (MyD88)、核因子 κ B (NF- κ B) mRNA、蛋白表达水平。**结果** 与Normal组相比, CPZ组进入开放臂活动的总距离、进入开放臂次数均增加 ($P < 0.05$), PCB2组与Normal组进入开放臂活动的总距离及进入开放臂的次数比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与CPZ组相比, CPZ+PCB2组进入开放臂活动的总距离、进入开放臂次数均降低 ($P < 0.05$); 与Normal组相比, CPZ组在旷场活动总距离、旷场中心区域活动距离均增加 ($P < 0.05$), PCB2组与Normal组在旷场活动的总距离与在旷场中心区域活动距离比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与CPZ组相比, CPZ+PCB2组在旷场活动总距离、旷场中心区域活动距离均降低 ($P < 0.05$)。与Normal组相比, CPZ组TrueGold染色的胼胝体区域变小, 着色浅而稀疏, 平均光密度值降低 ($P < 0.05$), PCB2组与Normal组TrueGold染色结果比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与CPZ组相比, CPZ+PCB2组True gold染色的胼胝体区域髓鞘脱失程度减轻, 着色加深, 平均光密度值升高 ($P < 0.05$); 与Normal组相比, CPZ组胼胝体区域MBP荧光强度下降 ($P < 0.05$), PCB2组与Normal组MBP表达水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与CPZ组相比, CPZ+PCB2组MBP表达水平升高 ($P < 0.05$); 与Normal组相比, CPZ组胼胝体区域dMBP表达水平升高 ($P < 0.05$), PCB2组与Normal组dMBP表达水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与CPZ组相比, CPZ+PCB2组dMBP表达水平下降 ($P < 0.05$)。与Normal组相比, CPZ组小鼠脑内Iba1表达水平增加 ($P < 0.05$), PCB2组与Normal组Iba1表达水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与CPZ组相比, CPZ+PCB2组脑内Iba1表达水平降低 ($P < 0.05$)。与Normal组相比, CPZ组脑内Iba1/iNOS表达水平增多, Iba1/iNOS阳性细胞平均荧光强度增加 ($P < 0.05$), PCB2组与Normal组Iba1/iNOS表达结果比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与CPZ组相比, CPZ+PCB2组脑内Iba1/iNOS表达水平降低, Iba1/iNOS阳性细胞平均荧光强度下降 ($P < 0.05$)。各组髓鞘区域Iba1/Arg1表达水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与Normal组相比, CPZ组TNF- α 、IL-1 β 和IL-6的表达水平均升高 ($P < 0.05$), IL-10表达水平降低 ($P < 0.05$); PCB2组与Normal组TNF- α 、IL-1 β 、IL-6及IL-10表达水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与CPZ组相比, CPZ+PCB2组TNF- α 、IL-1 β 和IL-6表达水平均下降 ($P < 0.05$), IL-10表达水平升高 ($P < 0.05$)。与Normal组相比, CPZ组TLR4、MyD88、NF- κ B mRNA表达水

收稿日期: 2025-12-08

* 基金项目: 山西省基础研究计划项目 (202303021222201, 202303021221162); 山西省教育厅科技创新项目 (2023L193); 国家自然科学基金青年科学基金 (81903596)

[通信作者] 张俐敏, E-mail: 15834135139@163.com

平均升高 ($P < 0.05$), PCB2组与Normal组TLR4、MyD88、NF- κ B mRNA表达水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与CPZ组相比, CPZ+PCB2组TLR4、MyD88和NF- κ B的mRNA表达水平平均降低 ($P < 0.05$)。与Normal组相比, CPZ组TLR4、MyD88和NF- κ B蛋白表达水平平均升高 ($P < 0.05$); PCB2组与Normal组TLR4、MyD88和NF- κ B p65蛋白表达水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与CPZ组相比, CPZ+PCB2组TLR4、NF- κ B和MyD88蛋白表达水平平均降低 ($P < 0.05$)。结论 PCB2可能通过抑制TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路及小胶质细胞向M1型极化, 减轻神经炎症, 缓解CPZ诱导的脱髓鞘。

关键词: 髓鞘脱失; 原花青素B2; 神经炎症; 小胶质细胞; TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路

中图分类号: R742.1

文献标识码: A

Effects of proanthocyanidins B2 on cuprizone-induced demyelination in mice by targeting microglia to regulate the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway*

Zheng Lu-lu, Guo Yu, Pu Meng, Zhang Zi-wei, Chen Ying, Liu Jian, Wen Yu-jie, Sui Zi-yan, Wang Qing, Zhang Li-min

(Research Center of Neurobiology, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong, Shanxi 030619, China)

Abstract: Objective To explore the effect of proanthocyanidins B2 (PCB2) on cuprizone (CPZ)-induced demyelination in mice by targeting microglia to regulate the Toll-like receptor-4 (TLR4)/myeloid differentiation factor 88 (MyD88)/nuclear factor- κ B (NF- κ B) signaling pathway. **Methods** Forty male C57BL/6 mice were randomly divided into the normal group, PCB2 group, CPZ group and CPZ + PCB2 group. The mice in the CPZ group and the CPZ + PCB2 group were fed with a diet containing 0.2% CPZ for a total of 6 weeks to establish the acute demyelination model of mice, and the mice in the CPZ + PCB2 group were additionally treated with PCB2 for 2 weeks. The behavioral changes of mice were evaluated by using elevated plus maze and open field experiments. TrueGold myelin staining, myelin basic protein (MBP) and degraded myelin basic protein (dMBP) immunofluorescence staining were used to observe the loss of myelin in the corpus callosum. Immunofluorescence staining was used to observe the expression of microglial marker ionized calcium-binding adaptor molecule 1 (Iba1), M1-type polarization marker inducible nitric oxide synthase (iNOS), and M2-type polarization marker arginase 1 (Arg1). The levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-6, IL-1 β and IL-10 in brain tissue homogenates were determined by ELISA. The mRNA contents and protein expression levels of TLR4, MyD88 and NF- κ B in brain tissue homogenates were detected by RT-qPCR and Western blotting. **Results** Compared with the normal group, the CPZ group showed increased total distance traveled in the open arms and increased number of entries into the open arms ($P < 0.05$). There was no significant difference in the total distance traveled in the open arms or the number of entries into the open arms between the PCB2 group and the normal group ($P > 0.05$). Compared with the CPZ group, the CPZ + PCB2 group exhibited decreased total distance traveled in the open arms and decreased number of entries into the open arms ($P < 0.05$). Compared with the normal group, the CPZ group showed increased total distance traveled in the open field and increased distance traveled in the center zone of the open field ($P < 0.05$). There was no significant difference in the total distance traveled in the open field or the distance traveled in the center zone between the PCB2 group and the normal group ($P > 0.05$). Compared with the CPZ group, the CPZ + PCB2 group exhibited decreased total distance traveled in the open field and decreased distance traveled in the center zone of the open field ($P < 0.05$). Compared with the normal group, the CPZ group showed a smaller corpus callosum area with TrueGold staining, which appeared lighter and sparser, along with decreased mean optical density values ($P < 0.05$). There was no significant difference in TrueGold staining results between the PCB2 group and the normal group ($P > 0.05$). Compared with the CPZ group, the CPZ + PCB2 group exhibited alleviated myelin loss in the corpus callosum with TrueGold staining, showing deeper staining and increased mean optical density values ($P < 0.05$). Compared with the normal group, the CPZ group showed

decreased MBP fluorescence intensity in the corpus callosum ($P < 0.05$). There was no significant difference in MBP expression levels between the PCB2 group and the normal group ($P > 0.05$). Compared with the CPZ group, the CPZ + PCB2 group exhibited increased MBP expression levels ($P < 0.05$). Compared with the normal group, the CPZ group showed increased dMBP expression levels in the corpus callosum ($P < 0.05$). There was no significant difference in dMBP expression levels between the PCB2 group and the normal group ($P > 0.05$). Compared with the CPZ group, the CPZ + PCB2 group exhibited decreased dMBP expression levels ($P < 0.05$). Compared with the normal group, the CPZ group showed increased Iba1 expression in the brain ($P < 0.05$). There was no significant difference in Iba1 expression between the PCB2 group and the normal group ($P > 0.05$). Compared with the CPZ group, the CPZ + PCB2 group exhibited decreased Iba1 expression in the brain ($P < 0.05$). Compared with the normal group, the CPZ group showed increased Iba1/iNOS expression in the brain and increased mean fluorescence intensity of Iba1/iNOS-positive cells ($P < 0.05$). There was no significant difference in Iba1/iNOS expression between the PCB2 group and the normal group ($P > 0.05$). Compared with the CPZ group, the CPZ + PCB2 group exhibited decreased Iba1/iNOS expression in the brain and decreased mean fluorescence intensity of Iba1/iNOS-positive cells ($P < 0.05$). There was no significant difference in Iba1/Arg1 expression levels in the myelinated region among all groups ($P > 0.05$). Compared with the normal group, the CPZ group showed elevated expression levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 ($P < 0.05$) and decreased IL-10 expression levels ($P < 0.05$). There was no significant difference in the expression levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6, or IL-10 between the PCB2 group and the normal group ($P > 0.05$). Compared with the CPZ group, the CPZ + PCB2 group exhibited decreased expression levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 ($P < 0.05$) and increased IL-10 expression levels ($P < 0.05$). Compared with the normal group, the CPZ group showed elevated mRNA expression levels of TLR4, MyD88, and NF- κ B ($P < 0.05$). There was no significant difference in the mRNA expression levels of TLR4, MyD88, or NF- κ B between the PCB2 group and the normal group ($P > 0.05$). Compared with the CPZ group, the CPZ + PCB2 group exhibited decreased mRNA expression levels of TLR4, MyD88, and NF- κ B ($P < 0.05$). Compared with the normal group, the CPZ group showed elevated protein expression levels of TLR4, MyD88, and NF- κ B p65 ($P < 0.05$). There was no significant difference in the protein expression levels of TLR4, MyD88, or NF- κ B p65 between the PCB2 group and the normal group ($P > 0.05$). Compared with the CPZ group, the CPZ + PCB2 group exhibited decreased protein expression levels of TLR4, MyD88, and NF- κ B ($P < 0.05$). **Conclusion** PCB2 may alleviate neuroinflammation and relieve CPZ-induced demyelination by inhibiting the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway and the polarization of microglia to M1 type.

Keywords: demyelination; proanthocyanidin B2; neuroinflammation; microglia; TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway

多发性硬化症 (multiple sclerosis, MS) 是常见的中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 脱髓鞘疾病, 其发病机制复杂, 涉及神经炎症反应、小胶质细胞异常活化及增殖等过程^[1]。MS 高发于青中年群体, 病灶多分布于大脑白质、脊髓、皮质下结构、脑干、小脑及视神经等区域, 易反复发作。目前临床缺乏根治性的药物, 且随着病情进展可导致患者出现肌肉运动失调、认知功能减退、视力损伤等不可逆症状, 严重损害患者生存质量^[2]。因此, 研究 MS 的发病机制并探索有效的治疗药物及相关作用机制具有重要意义。

双环己酮草酰二胺 (Cuprizone, CPZ) 是一种铜离子螯合剂, 是复制 MS 动物模型的经典化学诱导剂。该化合物通过干扰少突胶质细胞代谢, 诱

导 CNS 脱髓鞘, 模拟 MS 的核心病理特征。少突胶质细胞死亡及其引发的广泛脱髓鞘, 可导致大量髓鞘碎片释放至细胞外环境。这些髓鞘碎片可被 CNS 内的免疫细胞识别为“危险相关分子模式”或“损伤相关分子模式”, 并通过其模式识别受体触发免疫细胞的活化。小胶质细胞作为 CNS 内的常驻免疫细胞, 在 CPZ 模型中亦是最早响应脱髓鞘事件的免疫细胞, 其主要负责吞噬清除髓鞘碎片, 同时也是最主要的促炎介质生产者^[3]。活化的小胶质细胞会发生阿米巴样形态学变化, 并释放大量促炎细胞因子如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、趋化因子及活性氧等, 启动神经炎症级联反应, 进一步杀伤健康的少突胶质细胞或

阻碍少突胶质前体细胞的存活、增殖等，加剧髓鞘脱失并阻碍其再生，因此靶向调控小胶质细胞功能是 MS 治疗研究的关键方向^[4-5]。

原花青素 B2 (proanthocyanidins B2, PCB2) 作为 B 型原花青素二聚体，具有显著的抗炎、抗氧化及神经保护活性^[6]，在 MS 治疗中有很好的研究价值。本课题组前期围绕 PCB2 在 CPZ 诱导的脱髓鞘模型中的保护作用及其机制开展了一系列研究。刘健等^[7]发现，PCB2 可通过调节星形胶质细胞的 xCT/GSH/GPX4 轴，缓解氧化应激与铁死亡，抑制髓鞘损伤。苑舒文等^[8]进一步报道了 PCB2 通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路，改善脑内铁代谢紊乱和氧化应激，促进髓鞘修复。这些工作有力地证实了 PCB2 在脱髓鞘疾病中的治疗潜力，并初步阐明了其在抗氧化应激和调节铁代谢方面的分子机制。然而，神经炎症作为多发性硬化及 CPZ 模型的核心病理环节之一，其中小胶质细胞的活化及极化状态在神经炎症的启动与消退中起着至关重要的作用。目前，PCB2 是否通过调控小胶质细胞介导的神经炎症反应来缓解脱髓鞘损伤，尚不清楚。

1 材料与方法

1.1 实验动物

无特定病原体级 (specific pathogen free, SPF) C57BL/6 雄性小鼠 (8~10 周龄) 40 只[实验动物生产许可证号: SCXK (京) 2021-0006, 实验动物使用许可证号: SYXK (晋) 2020-0006]购于北京维通利华实验动物有限公司。本实验规程和方案符合山西中医药大学伦理审查标准并获得批准 (AWE202307347)。

1.2 主要试剂

PCB2 (成都瑞芬思生物科技有限公司, RFS-Y07902105024), CPZ (美国 Sigma 公司, 370-81-0), TrueGold 髓鞘染色试剂盒 (浙江欧赛思生物科技有限公司, BK-AC001), 大鼠抗髓鞘碱性蛋白 (myelin basic protein, MBP) (美国 Bio-RAD 公司, MCA209S), 兔抗降解髓鞘碱性蛋白 (degraded myelin basic protein, dMBP) (美国 Millipore 公司, AB5864), 离子钙结合接头分子 1 (ionized calcium-binding adaptor molecule1, Iba1) (浙江欧赛思生物科技有限公司, N2302156), 兔源多克隆诱导型一氧化氮合酶抗体

(inducible nitric oxide synthase, iNOS) (杭州华安生物技术有限公司, ER1706-89), 羊抗大鼠免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) (H+L) (美国 Abcam 公司, ab150157), 羊抗鼠 IgG (H+L) (美国 Alexa Fluor 公司, A-11001), 含 DAPI 的抗荧光淬灭封片液 (上海碧云天生物技术有限公司, P0131), 兔源单克隆 Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4) (美国 Affinity 公司, AF7017), 兔源多克隆髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) (美国 Affinity 公司, AF5195), 兔源单克隆核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 轻链增强子 p65 (杭州华安生物技术有限公司, ET1603-32), 兔源单克隆 β -Tubulin (美国 Bioworld 公司, AP0064), 羊抗兔 IgG (H+L) (美国 Alexa Fluor 公司, A-11012), 肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 试剂盒 (美国 Invitrogen 公司, 88-7324-88), IL-1 β 、IL-6、IL-10 试剂盒 (美国 Invitrogen 公司, 88-7013A-88、88-7064-22、88-7105-88)。

1.3 主要仪器

冰冻切片机 (德国 Leica 公司, CM1950), 荧光定量 PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司, CFX96 Optics Module), 正置荧光显微镜 (日本 Olympus 公司, BX51), 多功能全波长酶标仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司, Varioskan LUX), 凝胶电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司, PowerPacTM), 蛋白电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司, Mini-Protean Tetra Cell), 增强型化学发光仪 (美国 Azure biosystems 公司, Azure c300), 纯水仪 (美国 Millipore 公司, Q3), 涡旋仪 (上海田源生物技术有限公司, SCIOLOGEX)。

1.4 方法

1.4.1 模型复制与分组 将 40 只小鼠随机分成 Normal 组、PCB2 组、CPZ 组和 CPZ+PCB2 组, 各 10 例。用含 0.2% CPZ 的饲料喂养 CPZ 组和 CPZ+PCB2 组小鼠 6 周, 复制急性脱髓鞘模型; Normal 组和 PCB2 组给予正常饲料。自第 5 周起, PCB2 组和 CPZ+PCB2 组每日腹腔注射 PCB2 (60 mg/kg), Normal 组和 CPZ 组注射等体积生理盐水, 均 1 次/d, 持续 14 d。CPZ 急性脱髓鞘模型复制参照经典文献及本团队已建立的成熟方法进行^[9-10], 模型复制成功的评价标准为病理和荧光脑切片观察到髓鞘脱失, 即通过 TrueGold 髓鞘染色及 MBP 免疫荧光染色, 在胼胝体

区域观察到髓鞘结构破坏或荧光信号丢失。

1.4.2 行为学检测 ①高架十字迷宫实验: 高架十字迷宫由开放臂和闭合臂交叉组合构成, 将小鼠缓慢放于高架十字迷宫中央交叉区域, 观察并记录小鼠 5 min 的行为变化, 用 75% 的酒精清洁迷宫后开展下一组小鼠实验; ②旷场实验: 将小鼠面朝箱壁缓慢放置于底部为正方形的清洁无异味的旷场箱中, 用行为学软件观察记录小鼠 5 min 的活动情况, 用 75% 的酒精清洁旷场后开展下一组小鼠实验。行为学实验过程中保持环境安静以免影响实验结果。

1.4.3 组织标本制备 各组小鼠随机均分为两部分, 分别用两种方式取材制备组织标本, 用于后续实验。首先用生理盐水配制 30 mg/mL 的戊巴比妥钠水溶液, 随机按 50 mg/kg 剂量腹腔注射麻醉每组小鼠的一半, 将麻醉后的小鼠固定在蜡盘上, 开胸暴露出心脏, 从右心耳剪开, 在心尖部灌注生理盐水直至肝脏发白, 取出脑组织, 生理盐水清洗后存放于 -80°C 冰箱, 用于后续酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、逆转录实时荧光定量聚合酶链反应 (reverse transcription quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR) 及 Western blotting 实验。每组剩余小鼠在生理盐水完全灌注心脏后, 继续用 4% 多聚甲醛灌注, 完整取出脑组织, 放于多聚甲醛溶液内固定, 随后依次浸入不同浓度 (10%、20%、30%) 的蔗糖溶液中进行脱水处理各 24 h, 最后用最佳切割温度复合物 (optimal cutting temperature compound, OCT) 包埋并存放于 -80°C 冷冻保存, 用冰冻切片机制备 10 μm 厚切片, 用于后续免疫荧光染色。

1.4.4 TrueGold 髓鞘染色 取出脑组织冰冻切片, 恢复至室温, 37°C 烘箱中烘 30 min, 用去离子水稀释所需剂量的染色剂和染色终止剂, 将切片置于湿盒上, 滴加染色剂, 45°C 避光显色 30 min。用稀释后的 $1\times$ 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 漂洗 2 次, 1 min/次, 加入染色终止剂 45°C 温育 3 min, 随后用 $1\times$ PBS 漂洗, 1 min/次, 漂洗 3 次, 使脑切片上能明显区分灰质和白质, 最后用封片剂封片, 镜下观察髓鞘部分染色情况并采集图像。使用 Image J 2.14.0 软件分析结果。

1.4.5 免疫荧光染色 取出脑组织冰冻切片, 恢

复至室温, 用 $1\times$ PBS 漂洗, 5 min/次, 漂洗 3 次去除 OCT 包埋剂。用组化笔沿组织边缘绘制封闭圈, 防止试剂扩散。配制含 1% 牛血清白蛋白及 0.3% 聚乙二醇辛基苯基醚的 $1\times$ PBS 的封闭-通透混合液, 按比例稀释一抗工作液 MBP (1: 1 000)、dMBP (1: 250)、Iba1 (1: 1 000)、iNOS (1: 150)、Arg1 (1: 150), 将混合抗体工作液按 250 μL /片分别均匀覆盖组织区域, 转移至湿盒内, 4°C 低温孵育 12~18 h。次日用 $1\times$ PBS 漂洗切片, 5 min/次, 漂洗 3 次, 滴加对应种属的荧光二抗 (1: 1 000 稀释于封闭液), 室温避光孵育 1 h; 再次用 $1\times$ PBS 漂洗 3 次, 5 min/次, 去除非特异性结合, 最后用封片液封片, 并在荧光显微镜下观察 MBP、dMBP、Iba1、Iba1/iNOS、Iba1/Arg1 表达情况, 使用 Image J 2.14.0 软件分析结果。

1.4.6 ELISA 法检测脑组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10 含量 各组脑组织加入适量的组织裂解液, 充分研磨成脑匀浆, 将脑匀浆放置到冰上裂解 30 min, 每隔 5 min 置于涡旋仪上震荡 1 次, 使裂解充分, 随后将脑匀浆放入低温高速离心机内, 以 12 000 r/min 离心 15 min, 收集上清液, 按试剂盒说明书检测各组小鼠脑组织中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10 含量。

1.4.7 RT-qPCR 检测脑组织中 TLR4、MyD88、NF- κ B mRNA 表达水平 各组取适量脑组织加入 RNA 提取液, 研磨成匀浆状, 收集至无 RNA 酶离心管内。然后按照 RNA 提取试剂盒说明书提取总 RNA 并测定浓度, 测定浓度后逆转录合成 cDNA, 将反转录的 cDNA 进行荧光定量聚合酶链反应, 反应程序: 94°C 预变性 2 min, 94°C 变性 10 s, 60°C 退火 20 s, 72°C 延伸 20 s, 共 40 个循环。以 GAPDH 作为内参, mRNA 的相对表达量按照 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算。引物序列见表 1。

1.4.8 Western blotting 实验检测脑组织中 TLR4、MyD88、NF- κ B p65 蛋白表达水平 各组取适量脑蛋白加入强裂解液, 低温研磨成匀浆, 4°C 低温裂解 30 min, 每 5 min 振荡 1 次, 采用 4°C 离心机以 12 000 r/min 离心 10 min, 收取上清液, 用 BCA 试剂盒检测并调整样本蛋白浓度, 向样本中加入 Loading buffer 上样缓冲液, 100°C 煮沸 10 min。SDS-PAGE 不连续凝胶电泳分离组织蛋白, 电泳后低温湿转到聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜上,

表 1 RT-qPCR引物序列

基因	引物序列(5'-3')	长度/bp
TLR4	正向:CACTAACGGGAGAATCCTGTG	21
	反向:AGGGACCATCTTCATTTCCAT	21
MyD88	正向:AAGTGGGGTGCCTTTGCTAC	20
	反向:AACTCCTGATTCTCCTGCCTC	21
NF-κB	正向:TGACAAGGTTTCAGAAAGATG	20
	反向:GAAGACAATGGCAAACCTG	18
GAPDH	正向:GACACTGAGCAAGAGAGGCCCTA	23
	反向:TGGGATGGAAATTCTGAGGGA	21

用 5% 的脱脂奶粉室温封闭 PVDF 膜 2 h, 按照比例将 TLR4(1:1 000)、NF-κB p65 (1:1 000)、MyD88 (1:1 000) 和 β-Tubulin(1:6 000) 稀释, PVDF 膜放入对应一抗 4 ℃ 过夜, 次日用 Tris 缓冲盐溶液含 0.1% Tween-20 (Tris-buffered saline tween-20, TBST) 洗涤 3 次, 5 min/次, 稀释对应的二抗 (1:5 000), 摇床室温孵育 PVDF 膜 2 h, TBST 洗涤 3 次, 用 ECL 化学发光液显影获取对应图像, Image J 2.14.0 软件对条带图像的灰度值进行分析。

1.5 统计学方法

数据分析采用 GraphPad Prism 8.0.2 统计软件。

计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用 *t* 检验或单因素方差分析, 进一步的两两比较用 LSD-*t* 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PCB2对CPZ小鼠行为学的影响

各组进入开放臂活动总距离、进入开放臂次数、旷场活动总距离和旷场中心区域活动距离比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 (P < 0.05); 与 Normal 组相比, CPZ 组进入开放臂活动的总距离、进入开放臂次数均增加 (P < 0.05), PCB2 组与 Normal 组进入开放臂活动的总距离及进入开放臂的次数比较, 差异无统计学意义 (P > 0.05); 与 CPZ 组相比, CPZ+PCB2 组进入开放臂活动的总距离、进入开放臂次数均降低 (P < 0.05); 与 Normal 组相比, CPZ 组在旷场活动总距离、旷场中心区域活动距离均增加 (P < 0.05), PCB2 组与 Normal 组在旷场活动的总距离与在旷场中心区域活动距离比较, 差异无统计学意义 (P > 0.05); 与 CPZ 组相比, CPZ+PCB2 组在旷场活动总距离、旷场中心区域活动距离均降低 (P < 0.05)。见图 1、2 和表 2。

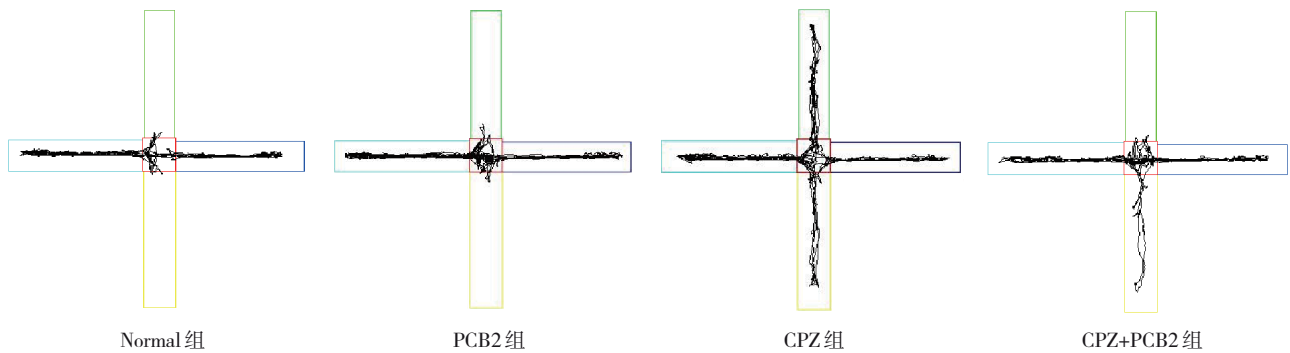


图 1 各组小鼠高架十字迷宫运动轨迹

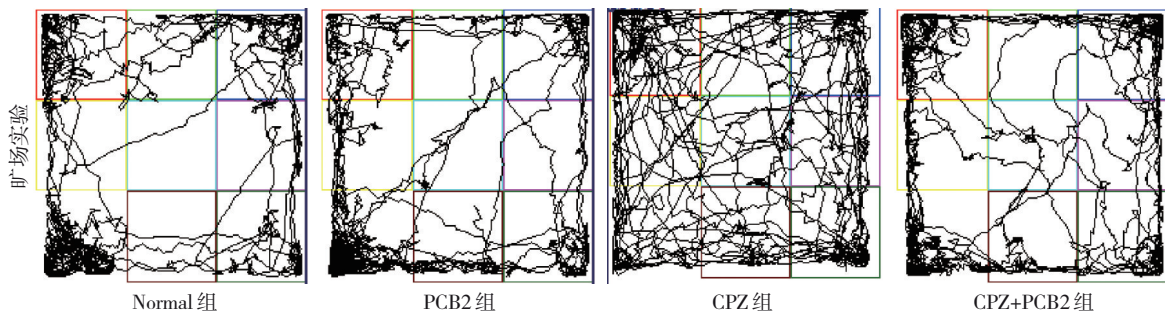


图 2 各组小鼠旷场运动轨迹

2.2 PCB2对CPZ小鼠胼胝体区髓鞘脱失的影响

各组髓鞘区域 TrueGold 染色、MBP 免疫荧光染

色 (×100)、MBP 免疫荧光染色 (×200) 和 dMBP 免疫荧光染色表达水平比较, 经方差分析, 差异均有

表 2 各组十字迷宫实验、旷场实验比较 ($n=5, \bar{x} \pm s$)

组别	十字迷宫实验		旷场实验	
	进入开放臂活动总距离/cm	进入开放臂次数	旷场活动总距离/cm	旷场中心区域活动距离/cm
Normal 组	7.13 \pm 5.71	3.60 \pm 1.95	2 888.35 \pm 65.84	25.86 \pm 17.58
PCB2 组	7.90 \pm 5.44	4.60 \pm 1.82	3 011.37 \pm 75.90	36.73 \pm 22.90
CPZ 组	84.35 \pm 7.83	16.80 \pm 3.35	3 571.80 \pm 93.58	260.35 \pm 19.54
CPZ+PCB2 组	35.31 \pm 4.65	8.60 \pm 1.14	3 168.92 \pm 60.28	107.31 \pm 18.77
F 值	180.860	36.762	78.724	149.050
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

统计学意义 ($P < 0.05$); 与 Normal 组相比, CPZ 组 TrueGold 染色的胼胝体区域变小, 着色浅而稀疏, 平均光密度值降低 ($P < 0.05$), PCB2 组与 Normal 组 TrueGold 染色结果比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与 CPZ 组相比, CPZ+PCB2 组 True gold 染色的胼胝体区域髓鞘脱失程度减轻, 着色加深, 平均光密度值升高 ($P < 0.05$); 与 Normal 组相比, CPZ 组胼胝体区域 MBP 荧光强度下降 ($P < 0.05$),

PCB2 组与 Normal 组 MBP 表达水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与 CPZ 组相比, CPZ+PCB2 组 MBP 表达水平升高 ($P < 0.05$); 与 Normal 组相比, CPZ 组胼胝体区域 dMBP 表达水平升高 ($P < 0.05$), PCB2 组与 Normal 组 dMBP 表达水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与 CPZ 组相比, CPZ+PCB2 组 dMBP 表达水平下降 ($P < 0.05$)。见表 3 和图 3、4。

表 3 各组髓鞘区域 TrueGlod、MBP ($\times 100$)、dMBP ($\times 200$) 及 MBP ($\times 200$) 表达水平比较 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	TrueGlod	MBP ($\times 100$)	dMBP	MBP ($\times 200$)
Normal 组	1.00 \pm 0.03	1.00 \pm 0.09	1.00 \pm 0.11	89.64 \pm 5.80
PCB2 组	0.96 \pm 0.02	0.91 \pm 0.05	1.06 \pm 0.14	91.09 \pm 6.31
CPZ 组	0.88 \pm 0.01	0.67 \pm 0.05	1.62 \pm 0.13	65.81 \pm 5.10
CPZ+PCB2 组	0.94 \pm 0.02	0.84 \pm 0.04	1.21 \pm 0.13	80.34 \pm 3.36
F 值	14.592	16.801	13.958	14.634
P 值	0.001	0.000	0.001	0.001

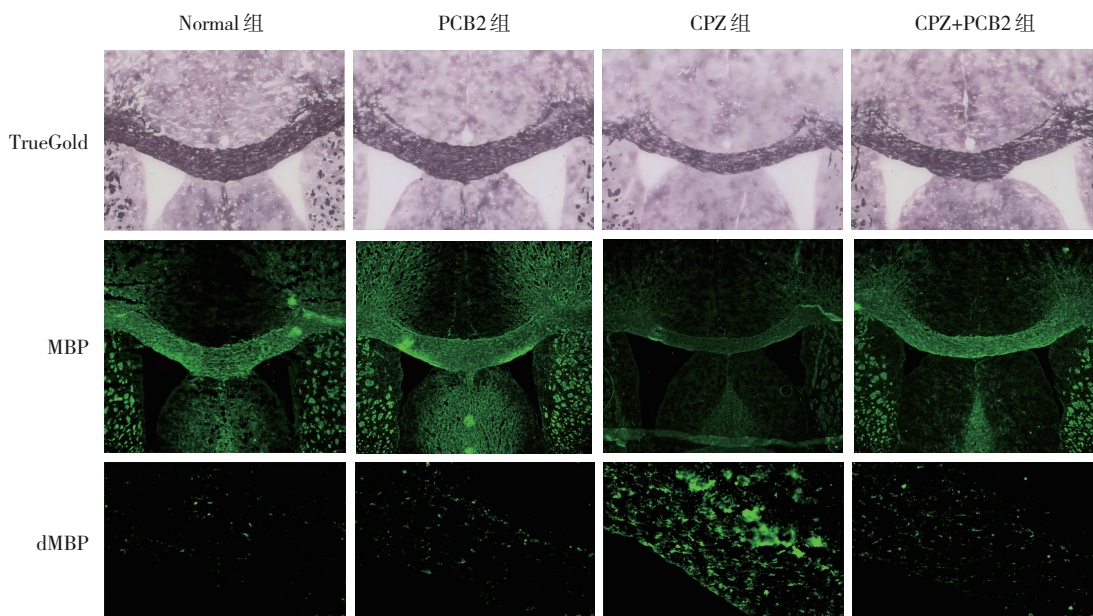


图 3 各组小鼠胼胝体区域 True glod、MBP ($\times 100$)、dMBP ($\times 200$) 染色图

2.3 PCB2对CPZ小鼠脑内小胶质细胞异常活化的影响

各组髓鞘区域 Iba1 表达水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 Normal 组相比, CPZ 组小鼠脑内 Iba1 表达水平增加 ($P < 0.05$), PCB2 组与 Normal 组 Iba1 表达水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与 CPZ 组相比, CPZ+PCB2 组脑内 Iba1 表达水平降低 ($P < 0.05$)。见图 5 和表 4。

2.4 PCB2对CPZ小鼠脑中小胶质细胞异质性的影响

各组髓鞘区域 Iba1/iNOS 表达水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 Normal 组相比, CPZ 组脑内 Iba1/iNOS 表达增多, Iba1/iNOS 阳性细胞平均荧光强度增加 ($P < 0.05$), PCB2

组与 Normal 组 Iba1/iNOS 表达结果比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与 CPZ 组相比, CPZ+PCB2 组脑内 Iba1/iNOS 表达降低, Iba1/iNOS 阳性细胞平均荧光强度下降 ($P < 0.05$)。各组髓鞘区域 Iba1/Arg1 表达水平比较, 经方差分析, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4 和图 6、7。

2.5 PCB2对CPZ小鼠脑组织内炎症因子的影响

各组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-10 表达水平比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 Normal 组相比, CPZ 组 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的表达水平均升高 ($P < 0.05$), IL-10 表达水平降低 ($P < 0.05$); PCB2 组与 Normal 组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 IL-10 表达水平比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 与 CPZ 组相比, CPZ+PCB2 组

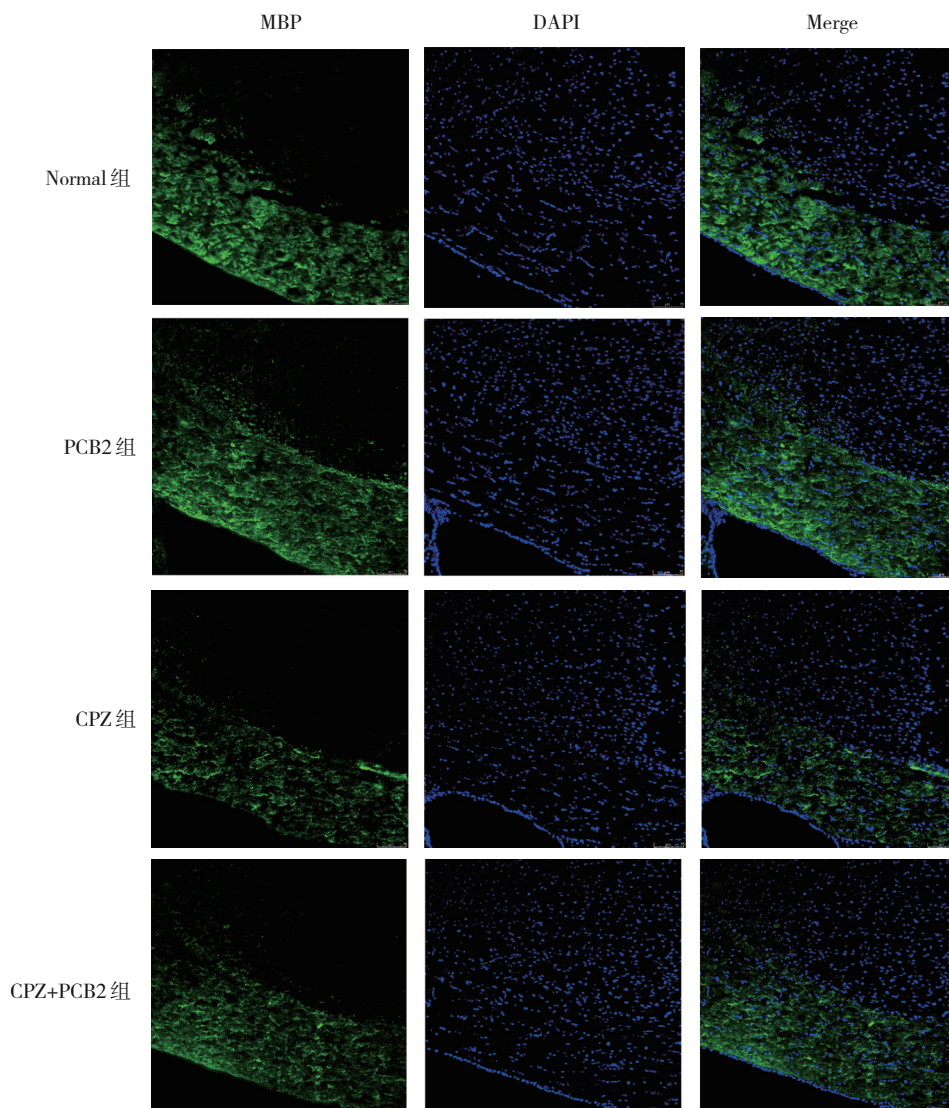


图 4 各组小鼠胼胝体区域 MBP 免疫荧光染色图 ($\times 200$)

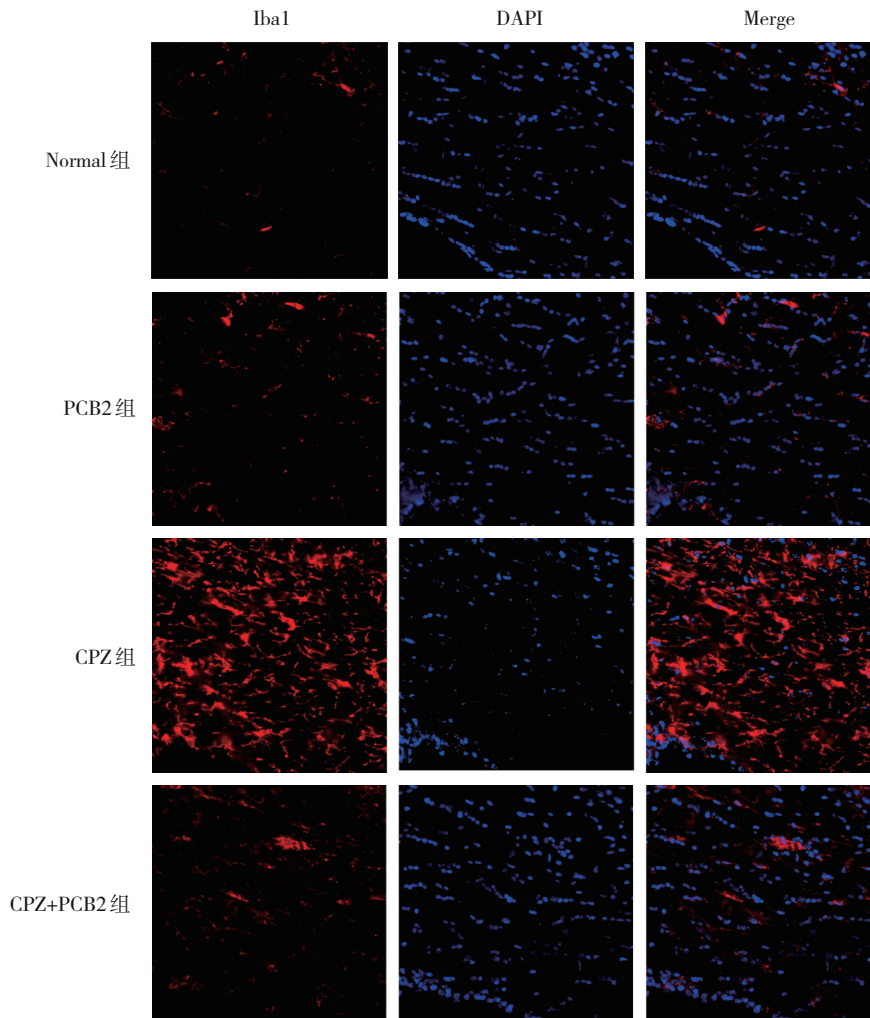


图 5 各组小鼠胼胝体区域 Iba1 阳性小胶质细胞免疫荧光染色图 (×200)

表 4 各组髓鞘区域 Iba1、Iba1/iNOS、Iba1/Arg1 表达水平比较 (n=3, $\bar{x} \pm s$)

组别	Iba1	Iba1/iNOS	Iba1/Arg1
Normal 组	12.16 ± 2.49	60.51 ± 9.86	96.03 ± 10.36
PCB2 组	12.73 ± 4.25	58.43 ± 6.82	101.41 ± 6.54
CPZ 组	107.75 ± 3.15	95.52 ± 7.63	104.64 ± 12.68
CPZ+PCB2 组	28.40 ± 2.76	70.70 ± 9.03	102.94 ± 11.91
F 值	597.390	12.261	0.368
P 值	0.000	0.002	0.778

TNF-α、IL-1β 和 IL-6 的表达水平均下降 (P < 0.05), IL-10 的表达水平升高 (P < 0.05)。见表 5。

2.6 PCB2 对小鼠脑组织内 TLR4、MyD88、NF-κB mRNA 表达水平的影响

各组脑组织内 TLR4、MyD88、NF-κB mRNA 表达水平比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 (P < 0.05); 与 Normal 组相比, CPZ 组 TLR4、

MyD88、NF-κB mRNA 表达水平均升高 (P < 0.05), PCB2 组与 Normal 组 TLR4、MyD88、NF-κB mRNA 表达水平比较, 差异无统计学意义 (P > 0.05); 与 CPZ 组相比, CPZ+PCB2 组 TLR4、MyD88 和 NF-κB 的 mRNA 表达水平均降低 (P < 0.05)。见表 6。

2.7 PCB2 对小鼠脑组织内 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白表达水平的影响

各组脑组织内 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白表达水平比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 (P < 0.05); 与 Normal 组相比, CPZ 组 TLR4、MyD88 和 NF-κB 蛋白表达水平均升高 (P < 0.05); PCB2 组与 Normal 组 TLR4、MyD88 和 NF-κB 蛋白表达水平比较, 差异无统计学意义 (P > 0.05); 与 CPZ 组相比, CPZ+PCB2 组 TLR4、NF-κB 和 MyD88 蛋白表达水平均降低 (P < 0.05)。见表 7 和图 8。

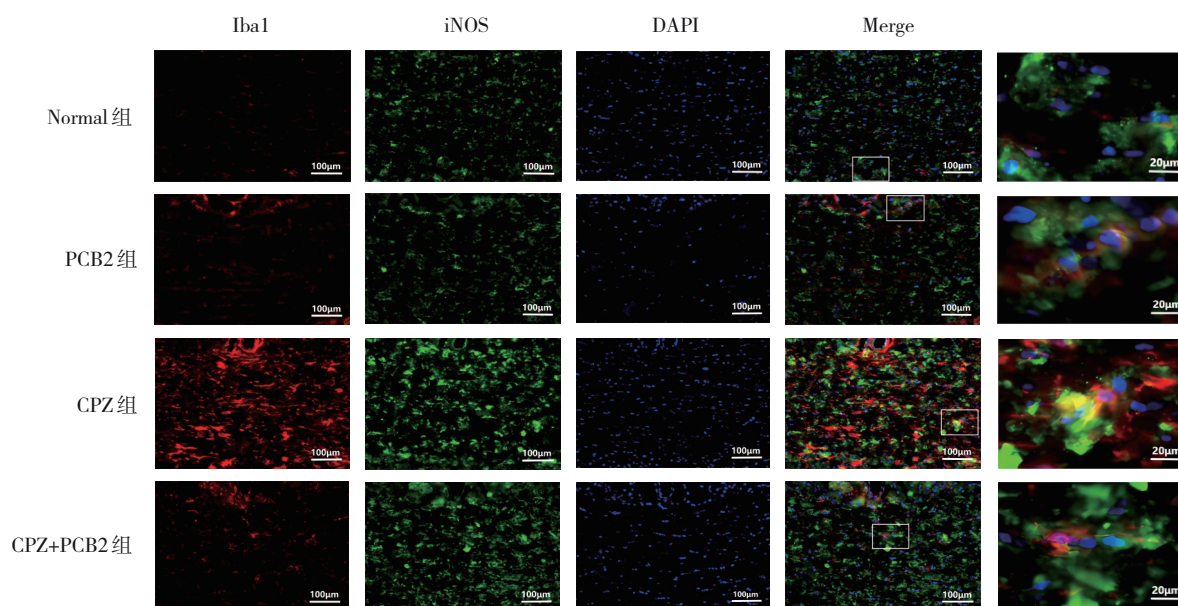


图6 各组小鼠脾脏区域Iba1/iNOS阳性细胞免疫荧光染色图

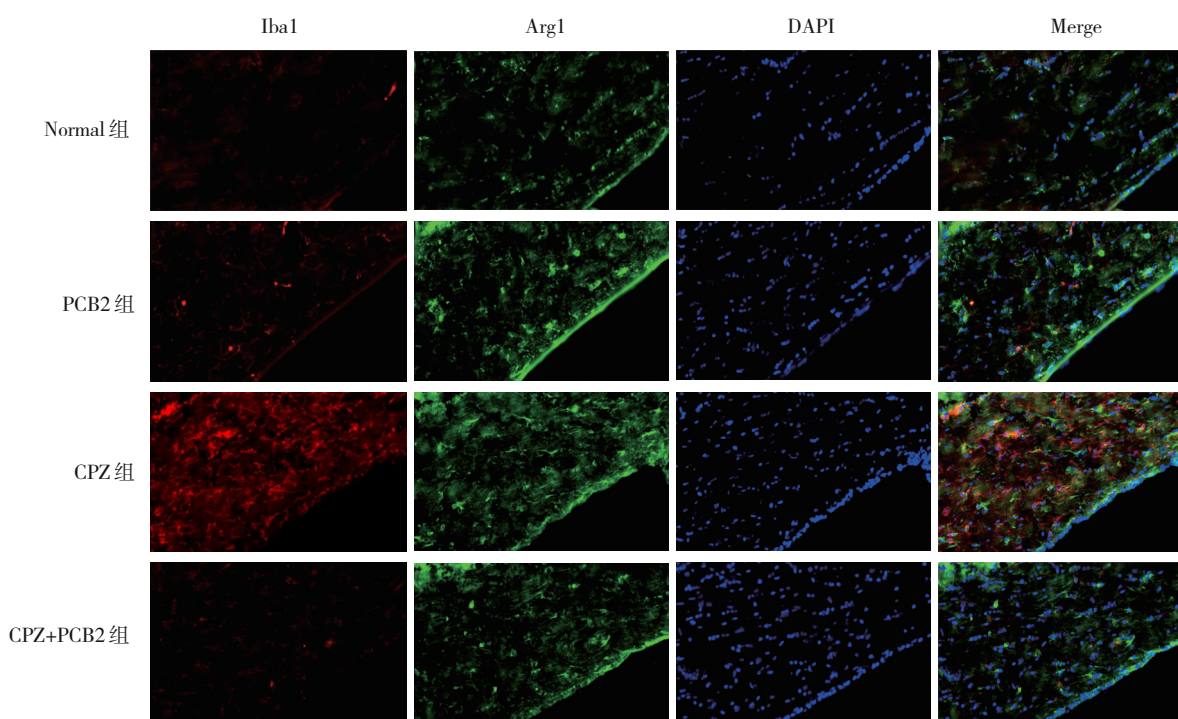


图7 各组小鼠脾脏区域Iba1/Arg1阳性细胞免疫荧光染色图 (×200)

表5 各组TNF-α、IL-1β、IL-6和IL-10表达水平比较 (n=3, pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	TNF-α	IL-1β	IL-6	IL-10
Normal组	76.59 ± 8.36	59.45 ± 1.57	13.82 ± 1.48	468.27 ± 24.69
PCB2组	67.16 ± 2.54	57.79 ± 7.58	13.50 ± 0.96	457.60 ± 12.00
CPZ组	123.71 ± 10.13	101.73 ± 1.82	25.87 ± 2.20	364.27 ± 13.01
CPZ+PCB2组	85.09 ± 12.11	71.27 ± 5.96	18.84 ± 1.79	437.60 ± 40.00
F值	22.701	50.388	36.024	10.449
P值	0.000	0.000	0.000	0.003

表 6 各组脑组织内 TLR4、MyD88、NF-κB mRNA 表达水平比较 (n=3, $\bar{x} \pm s$)

组别	TLR4	MyD88	NF-κB
Normal 组	1.00 ± 0.14	1.00 ± 0.42	1.00 ± 0.22
PCB2 组	1.14 ± 0.18	1.22 ± 0.34	0.89 ± 0.13
CPZ 组	7.14 ± 0.76	5.22 ± 0.80	4.40 ± 0.64
CPZ+PCB2 组	2.87 ± 0.60	2.64 ± 0.46	1.11 ± 0.29
F 值	99.100	38.675	62.807
P 值	0.000	0.000	0.000

表 7 各组小鼠脑组织 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白表达水平比较 (n=3, $\bar{x} \pm s$)

组别	TLR4	MyD88	NF-κB p65
Normal 组	0.57 ± 0.06	0.63 ± 0.15	0.63 ± 0.09
PCB2 组	0.59 ± 0.17	0.81 ± 0.03	0.66 ± 0.05
CPZ 组	1.09 ± 0.06	1.08 ± 0.11	0.98 ± 0.07
CPZ+PCB2 组	0.77 ± 0.11	0.77 ± 0.09	0.76 ± 0.09
F 值	13.789	9.573	12.695
P 值	0.001	0.005	0.002

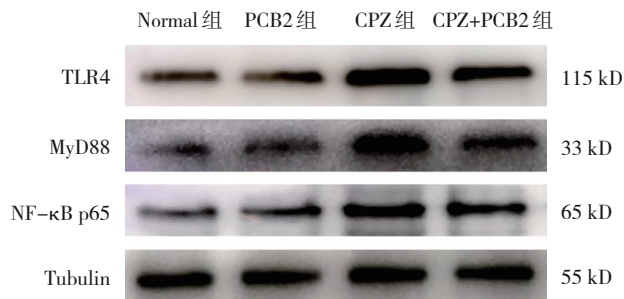


图 8 各组小鼠脑组织内 TLR4、MyD88、NF-κB 的蛋白条带图

3 讨论

小胶质细胞是 CNS 的固有免疫细胞, 占成人脑细胞总数的 5% ~ 10%, 在维持大脑稳态中发挥着关键作用。在生理状态下, 小胶质细胞处于“静息”的监视状态, 通过高度分支的突起持续监视细胞外微环境, 一旦感知到病原体、神经元损伤或代谢异常, 即可快速迁移至损伤或病灶部位, 吞噬凋亡细胞碎片或异常蛋白^[11]。然而, 在多种 CNS 疾病 (如阿尔茨海默病、帕金森病及多发性硬化) 中, 小胶质细胞可被异常激活, 其吞噬功能受损并释放大量神经毒性物质, 进而加剧神经炎症与组织损伤^[12]。

多发性硬化是一种以 CNS 炎症脱髓鞘为主要

病理特征的慢性疾病。尽管传统上认为 T 细胞和 B 细胞介导的适应性免疫在其发病中起主导作用, 但近年研究表明, 小胶质细胞作为天然免疫的核心成员, 在疾病启动、进展乃至慢性化过程中均扮演关键角色^[13-14]。在 MS 患者脑组织中, 小胶质细胞呈现持续活化状态, 通过分泌 TNF-α、IL-1β 等促炎因子, 形成炎症微环境, 加剧髓鞘破坏和轴突损伤^[15]。另外, 在活动性病灶中, 小胶质细胞还可通过补体受体介导的吞噬作用直接清除尚存功能的髓鞘结构, 从而加速脱髓鞘进程。另一方面, 小胶质细胞亦具备修复潜能, 可通过分泌 IL-10 等抗炎因子及脑源性神经营养因子等, 促进少突胶质前体细胞分化与髓鞘再生。因此, 精准调控小胶质细胞功能状态, 成为 MS 治疗的重要策略之一, 小胶质细胞的双重作用使其成为 MS 诊疗的重要靶点。

本文检测了 PCB2 对 CPZ 脱髓鞘小鼠的治疗作用。CPZ 组小鼠在高架十字迷宫和旷场实验中表现出在危险环境中焦虑、迟钝的异常情感行为。病理学检测观察到小鼠胼胝体区大范围髓鞘脱失, MBP 表达量显著降低, 而 dMBP 表达量相应增加。其中, MBP 是髓鞘的主要结构蛋白, 能够维持髓鞘的紧密结构和完整性, dMBP 是降解的髓磷脂碎片, 上述变化共同表明了髓鞘完整性受损。经 PCB2 干预后, CPZ 小鼠胼胝体区髓鞘结构和致密程度增强, MBP 表达升高且 dMBP 表达量下降, 这些结果表明 PCB2 在 CPZ 诱导的脱髓鞘小鼠模型中具有较好的治疗作用, 能够有效地抑制脱髓鞘。

随后, 本研究进一步评估了 PCB2 对 CPZ 脱髓鞘小鼠中小胶质细胞的影响, 发现 CPZ 组小鼠大脑胼胝体区异常活化的小胶质细胞数量显著增多, 这与既往报道一致^[16]。PCB2 可以使脑内异常活化的小胶质细胞的数量明显减少, 并伴随促炎因子 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 水平下降, 以及抗炎因子 IL-10 上升。表明 PCB2 抑制了小胶质细胞增殖或迁移, 这种炎症微环境的改善与髓鞘结构的恢复及行为学表现的改善相一致。

小胶质细胞的复杂功能与其可塑性密切相关。经典激活的 M1 表型高表达 iNOS 等标志分子, 并释放大量促炎因子, 具有较强的神经毒性; 而替代性激活的 M2 表型则高表达 Arg1 等标志物, 并分泌

IL-10 等抗炎因子与神经营养因子, 发挥免疫调节与组织修复功能^[17-20]。在 MS 等脱髓鞘疾病中, M1 表型占优势往往导致炎症加剧与髓鞘破坏, 而促进 M2 极化或恢复 M1/M2 平衡被视为缓解疾病进展的关键策略。

本研究结果显示, PCB2 干预可显著下调小胶质细胞 M1 型标志物 iNOS 蛋白表达, 并减少促炎因子分泌, 表明其有效抑制了小胶质细胞向 M1 表型的极化。然而, 本研究并未观察到 M2 型标志物 Arg1 的表达发生显著变化, PCB2 选择性地抑制 M1 极化而并未诱导 M2 表型并非孤立现象, 近期研究表明, 无论在自身免疫性脑脊髓炎还是 CPZ 模型中, 其他具有抗炎神经保护作用的化合物如黄芩素、二甲双胍也呈现出类似的调控模式^[21-22]。M2 极化不明显, 表明 PCB2 的治疗作用可能并非通过促进小胶质细胞 M2 极化发挥作用。这也可能与模型及干预时间点有关, 在 CPZ 模型中, 造模后小鼠脑内会出现明显的髓鞘脱失和小胶质细胞聚集, 且小胶质细胞高表达 iNOS、NF- κ B, 提示 CPZ 模型中的小胶质细胞主要向 M1 表型极化^[16]; 从时间上来看, M2 型极化往往在炎症高峰期后期出现, 实验采样时间可能尚未覆盖 Arg1 表达的峰值。此外, 尽管 Arg1 未上调, 但 IL-10 水平显著升高, 提示 PCB2 可能诱导小胶质细胞进入一种非经典 M2、但仍具有抗炎特性的功能状态, 从而为髓鞘内源性修复营造一个有利的微环境。近年来研究表明, 小胶质细胞的表型实为一个连续的功能谱系, 存在大量兼具 M1 与 M2 特征的中间状态^[23]。因此, PCB2 的作用可能并非简单地将细胞从 M1 “推向” M2, 而是将其从高炎症状态 “拉回” 至一种相对静息或中间表型, 从而削弱其神经毒性。

为进一步探讨 PCB2 调控小胶质细胞表型的上游机制, 本研究聚焦于 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路。TLR4 作为模式识别受体, 在小胶质细胞表面高表达, 可识别髓鞘碎片等内源性损伤相关分子模式, 进而通过 MyD88 依赖途径激活 NF- κ B, 驱动促炎基因转录, 促进 M1 极化及神经炎症^[24-25]。本研究结果显示, CPZ 组中 TLR4、MyD88 及 NF- κ B 在 mRNA 与蛋白水平均显著上调, 而 PCB2 干预可有效抑制该通路的活化。结合小胶质细胞 M1 极化受抑及炎症因子释放减少的结果, 推测 PCB2 可能

通过阻断 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号转导, 在转录水平抑制 M1 相关基因表达, 从而缓解神经炎症与髓鞘损伤。

本课题组前期研究已从星形胶质细胞抗氧化途径及铁代谢调控等角度揭示了 PCB2 的髓鞘保护机制。本研究进一步发现, PCB2 还可调节小胶质细胞表型极化, 提示其具备多靶点、协同发挥神经保护作用的潜力。值得注意的是, NF- κ B 不仅是调控炎症反应的核心转录因子, 亦可被氧化应激激活^[26-27]。因此, 推测 PCB2 的抗氧化效应可能间接地抑制 NF- κ B 通路, 从而与本研究观察到的抗炎作用形成正向反馈, 共同打破 “氧化应激-神经炎症” 恶性循环, 但仍需通过进一步的实验来验证这一潜在关系。

然而, 本研究仍存在一定局限: 目前的研究主要验证了 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路中关键分子的表达及活性变化, 虽然提示 PCB2 可能通过调控此通路发挥作用, 并为髓鞘损伤相关疾病的干预提供了潜在的作用靶点, 但缺少反向验证, 因此无法明确该通路与小胶质细胞活化之间的因果关系及其特异性。此外, 除该通路外, PCB2 是否影响其他炎症相关信号传导尚待进一步探索。因此, 未来研究需使用特异性拮抗剂等策略进行反向验证, 并可结合单细胞转录组学等技术, 深入解析 PCB2 调控下小胶质细胞的功能状态, 从而系统阐明其免疫调节机制。

综上所述, 本研究初步揭示了 PCB2 能够抑制小胶质细胞的 M1 表型极化, 进而减轻神经炎症、缓解髓鞘脱失。TLR4/MyD88/NF- κ B 通路下调可能是 PCB2 减轻神经炎症和脱髓鞘的关键机制之一。

参 考 文 献 :

- [1] 禹恺, 帅哲玮, 黄洪军, 等. 小胶质细胞在中枢神经系统炎症性疾病中的作用和机制研究进展[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2025, 45(5): 630-638.
- [2] 刘健, 梁亚杰, 陈莹, 等. 中医药治疗多发性硬化的研究热点及其进展[J]. 中国医院药学杂志, 2024, 44(20): 2414-2421.
- [3] 唐云哲, 张云云, 张颖, 等. 靶向小胶质细胞吞噬作用治疗多发性硬化的研究进展[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2024, 31(5): 406-411.
- [4] 梁诗婷, 施心贤, 陈晨, 等. 槲皮素通过 RIPK1/NLRP3/Caspase-1 抑制 mPFC 小胶质细胞激活改善髓鞘损伤和 VaD 精神行为异常[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(24): 126-134.
- [5] 李航, 王思远, 孟祎凡, 等. 竹节参总皂苷调节 MAPK 信号通路

- 对 EAE 小鼠小胶质细胞活化的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2025, 32(9): 91-97.
- [6] 杨文丽, 覃思, 吕承豪, 等. 原花青素 B2 抗氧化与抗炎活性及分子机制研究[J]. 食品与机械, 2025, 41(8): 143-148.
- [7] 刘健, 陈莹, 梁亚杰, 等. 原花青素 B2 通过 NRF2/HO-1/xCT/GPX4 轴抑制氧化应激减轻 H₂O₂ 诱导的人少突胶质细胞的损伤[J]. 中国药理学通报, 2024, 40(9): 1735-1743.
- [8] 苑舒文, 陈莹, 刘健, 等. 原花青素 B2 在双环己酮草酰二胺诱导脱髓鞘模型中调节铁代谢和减轻氧化应激促进髓鞘再生作用机制研究[J]. 中国新药杂志, 2024, 33(8): 825-835.
- [9] SÁGHY É, SIPOS É, ÁCS P, et al. TRPA1 deficiency is protective in cuprizone-induced demyelination—a new target against oligodendrocyte apoptosis[J]. *Glia*, 2016, 64(12): 2166-2180.
- [10] 安俊, 何燕, 阴俊俊, 等. 小胶质细胞在双环己酮草酰二胺诱导的急性脱髓鞘小鼠模型中的动态变化及意义[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2021, 28(1): 47-52.
- [11] 张程程, 张欣雨, 刘璐. 神经炎症疾病中星形胶质细胞和小胶质细胞互作机制的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2025, 41(11): 2756-2763.
- [12] 张艳菊, 潘婷婷, 杨辉, 等. 愈痫灵含药血清抑制小胶质细胞 Panx1/P2X7R-NLRP3 炎症活化及神经元保护效应研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(12): 2280-2287.
- [13] 单纯, 杨勇. 小胶质细胞在多发硬化症中的作用研究进展[J]. 药学研究, 2024, 43(11): 1101-1108.
- [14] TIAN J, JIANG L L, CHEN Z X, et al. Tissue-resident immune cells in the pathogenesis of multiple sclerosis[J]. *Inflamm Res*, 2023, 72(3): 363-372.
- [15] 曹文达, 胡娜娜, 李磊, 等. 小胶质细胞极化在神经系统炎症反应中的作用机制[J]. 新医学, 2025, 56(03): 316-322.
- [16] GOLALEH N, PARICHEHR P, MARYAM B, et al. Microglia polarization by methylprednisolone acetate accelerates cuprizone induced demyelination[J]. *J Mol Histol*, 2018, 49(5): 471-479.
- [17] 魏晓冬, 郭瑞, 张启春. 小胶质细胞表型和功能研究进展[J]. 中国药理学通报, 2024, 40(3): 410-415.
- [18] 汪静, 殷智宇, 郭君, 等. 电针对神经病理性疼痛大鼠痛阈值及脊髓小胶质细胞 M1/M2 活化状态的影响[J]. 上海中医药杂志, 2025, 59(4): 8-12.
- [19] 刘学飞, 武萌萌, 孙翔, 等. 益气活血化浊解毒方调控 KAT3B/STING 轴介导的小胶质细胞极化对缺血性脑卒中大鼠神经功能的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2025, 35(1): 1-8.
- [20] 史旭, 李瑞语, 张兵, 等. 小胶质细胞极化介导炎症反应在脊髓损伤中的作用[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(1): 121-129.
- [21] MA X R, WANG S, LI C L, et al. Baicalein inhibits the polarization of microglia/macrophages to the M1 phenotype by targeting STAT1 in EAE mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 113(Pt A): 109373.
- [22] ABDI M, PASBAKHSR P, SHABANI M, et al. Metformin therapy attenuates pro-inflammatory microglia by inhibiting NF- κ B in cuprizone demyelinating mouse model of multiple sclerosis[J]. *Neurotox Res*, 2021, 39(6): 1732-1746.
- [23] 丁智斌, 宋丽娟, 王青, 等. 从动物模型的视角研究多发性硬化髓鞘保护和再生的小胶质细胞靶点[J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38(6): 753-757.
- [24] 吴静, 梁大毅, 张迪, 等. 鸡血藤通过 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号抑制小胶质细胞活化干预神经病理性疼痛的作用机制[J]. 中国中药杂志, 2025, 50(22): 6419-6429.
- [25] 陈莹, 夏天晴, 滑键林, 等. 多发硬化中 TLRs/MyD88/NF- κ B 信号通路的作用及机制[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(28): 4578-4585.
- [26] 田立东, 赵丽丽, 刘文娜, 等. PRP-Exos 通过 TLR4/NF- κ B 通路对神经病理性疼痛的作用及其机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2025, 35(20): 53-59.
- [27] VILHARDT F, HASLUND-VINDING J, JAQUET V, et al. Microglia antioxidant systems and redox signalling[J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(12): 1719-1732.

(李科 编辑)

本文引用格式: 郑璐璐, 郭羽, 蒲萌, 等. 原花青素 B2 靶向小胶质细胞调节 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路对双环己酮草酰二胺小鼠髓鞘脱失的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2026, 36(10): 39-51.

Cite this article as: ZHENG L L, GUO Y, PU M, et al. Effects of proanthocyanidins B2 on cuprizone-induced demyelination in mice by targeting microglia to regulate the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2026, 36(10): 39-51.