

小胶质细胞在脑缺血中发挥双相作用

张婷 易黎

【中图分类号】 R743 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2016)06-0471-05

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2016.06.024

缺血性脑卒中是以脑循环血流量减少为特征的脑血管疾病,严重危及人类健康,临床上较为常见,如不及时救助,其病死率、致残率均较高。发生缺血性脑卒中时脑内各种炎症免疫细胞被激活,各种炎症介质、细胞因子被释放,介导神经系统的二次损伤及修复过程,其中小胶质细胞在脑缺血时的炎症级联反应及防止神经元降解和坏死中均发挥重要作用。

小胶质细胞是中枢神经系统固有的免疫细胞,被认为是中枢神经系统内的主要免疫效应器,起免疫监视作用。小胶质细胞在脑内数量庞大,分布广泛,不论是在生理还是病理情况下小胶质细胞对脑内微环境稳态的维持以及应对内外界刺激造成的脑损伤方面都发挥着极其重要作用。大量的研究表明,脑缺血是引起小胶质细胞激活的一个重要的因素,而小胶质细胞的激活又会对脑缺血的结局造成很大的影响。虽然小胶质细胞在脑缺血中的重要地位已被大量研究证实,但小胶质细胞的具体激活路径、机制以及相关的炎症因子的作用尚未完全阐释清楚,还有待进一步研究。

1 小胶质细胞

小胶质细胞(Microglia, MG)在中枢神经系统分布较广,约占神经胶质细胞的 10%~20%,其数量与神经元的数量相当^[1]。小胶质细胞在形态学、免疫表型及生物学功能上与单核/巨噬细胞系相关,虽关于其起源尚存在争议,但大部分学者接受的观点是小胶质细胞来源于骨髓的单核细胞和(或)骨髓的造血干细胞^[2]。

在正常脑组织中小胶质细胞呈高度分枝状^[3],为静息状态,可以为正常大脑提供一个高度动态和高效的监测系统。小胶质细胞对外界刺激非常敏感,可迅速被激活并发挥其各种免疫效应功能。有研究显示,在动物永久性大脑中动脉闭

塞模型中缺血会导致小胶质细胞出现自噬,缺血后 12 h 可检测到自噬标记 LC3-II 增加^[4]。

2 小胶质细胞的生物学功能

小胶质细胞是中枢神经系统的免疫细胞,具有吞噬、抗原提呈和表达大量免疫相关因子的功能^[5]。小胶质细胞作为脑内重要的免疫监视器,可以在病理情况下如脑卒中、损伤、神经变形以及肿瘤入侵时迅速被激活,由多分枝状的静息态转变为阿米巴样的具有吞噬功能的活化小胶质细胞,迁移到受损区域,并分泌各种细胞因子、炎症介质,其中有的可以引起炎症级联反应或者有神经毒性,造成脑组织进一步损伤,有的具有神经保护作用,可以减少神经元坏死的数量和程度。有实验证明,小胶质细胞参与的急性炎症反应是通常有利于神经细胞的存活^[6],而小胶质细胞被长期过度激活引起的慢性炎症反应通常会造成神经组织损伤,导致神经退行性疾病的发生^[7]。因此,可以通过促进小胶质细胞分泌有神经保护作用的营养因子,抑制其分泌有促炎作用的炎症介质,以达到临床上减轻神经组织坏死、最大限度地保留神经功能的目的。

3 小胶质细胞的激活

引起小胶质细胞活化的因素有很多,其中脑缺血是最重要的激活因素之一。缺血后神经系统氧化应激损伤是造成脑损害的重要机制之一,其中小胶质细胞参与了氧化应激损伤的主要过程。

有动物实验证明,小胶质细胞在脑缺血/再灌注损伤后 3 h 开始活化,于脑缺血/再灌注后 2 d 达到高峰,并于脑缺血/再灌注 4 d 后基本达到静息状态,Iba-1 阳性的小胶质细胞数量减少,体积变小^[8]。对缺血性脑卒中患者进行的临床试验研究表明,患者发生脑缺血后的 72 h 内可见小胶质细

胞发生活化,并且直到脑缺血发生后 30 d,脑梗死区、缺血半暗带区仍可检测到活化的小胶质细胞^[9]。这些实验结果为脑缺血/再灌注损伤后小胶质细胞发生活化提供了直接证据。在脑缺血/再灌注后较长时间内均可检测到活化的小胶质细胞,提示可以适当延长脑卒中治疗的时间窗,有机会增加其治疗机会,减轻神经细胞损伤及改善患者预后。

在神经细胞混合培养中当神经元发生损伤时,与神经元靠近或接触的小胶质细胞的激活程度远大于远离神经元的小胶质细胞,提示与脑内损伤的神经细胞接触可能是激活小胶质细胞的一个重要因素^[10]。若神经元受到伤害性刺激后若未死亡,小胶质细胞被激活后可产生神经营养因子,促进神经元的恢复;若神经元死亡,小胶质细胞则释放毒性物质,加速神经元的死亡并清理吞噬已死亡的神元。脑缺血后局部脑损伤区域的小胶质细胞会被细胞因子诱导而激活,同时缺血神经元末梢释放的 Glu 也会激活远离缺血区的神经元 NMDA 受体,介导远离缺血区的小胶质细胞的激活^[11]。

4 小胶质细胞在缺血性脑卒中的双相作用

小胶质细胞在中枢神经系统受到伤害时可发挥加重脑组织损伤或是促进修复、保护神经的双重作用,脑缺血激活的小胶质细胞在脑损伤的过程中发挥重要的作用,除细胞因子外,多种酶、蛋白质和受体的表达参与了调节毒性物质和神经营养因子的分泌。

4.1 发挥神经毒性的物质

4.1.1 NADPH 氧化酶(NOX) 小胶质细胞表达的 NADPH 氧化酶(NOX)是细胞内氧自由基的一个重要来源,生理条件下可以维持小胶质细胞的正常功能,在病理条件下参与炎症反应及神经元坏死。NOX 是缺血期间产生有害氧自由基(ROS)一个主要的复合体,ROS 很不稳定,半衰期极短,能夺取电子而使其它的敏感分子或化合物氧化,具有参与链式反应的趋向,容易形成恶性循环。Yoshioka 等^[12]研究发现,大鼠短暂脑缺血后期小胶质细胞内活化的 NOX 表达增加。ROS 能与蛋白质、核酸、脂质及其它分子如透明质酸等反应并破坏其分子结构,发生超氧变化、交联或断裂,引起细胞结构和功能破坏。

虽然一定水平的活性氧对于维持机体正常的生理功能具有重要意义,但过量水平的活性氧则会对机体造成氧化损伤^[13]。一般生理状况下 ROS 会被抗氧化物酶清除,其中最重要的就是超氧化物歧化酶(SOD)。SOD 可以将过氧化物 ROS 转化为过氧化氢中间产物,并进而在过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶的作用下将过氧化氢中间产物活化为无害的水形式,最终将过氧化氢的毒害作用消除。在正常生理环境中这是个有机的动态平衡过程。但在脑缺血尤其是再灌注期由于氧化应激和复杂的病理生理过程,产生大量的 ROS 无法正常代谢,导致细胞的正常结构被攻击引起损伤。所以 ROS 产物的出现既是缺血的直接结果,但同时也是加重缺血后的各种神经损伤结果的诱因,因此抑制 NOX 可减

少 ROS 的产生,使小胶质细胞过度活化减少,氧化损伤减轻,神经元变性过程减少。

4.1.2 核转录因子 κ B(NF- κ B) 核转录因子 κ B(NF- κ B)是一个转录因子蛋白家族。小胶质细胞的激活可能与 NF- κ B 的活化有关。Nurmi 等^[14]的动物实验发现,大鼠局灶性脑缺血 24h 后 NF- κ B 转录活性明显增高,增高了 260%。脑梗死 1~2 d 后 NF- κ B 被诱导并移位至细胞核,23 h 时可见缺血半暗带的神经元胞质浓染,28 h 时胞核和胞质均有染色,38 h 时则以胞核浓染为主,提示人脑缺血后 NF- κ B 亦被激活,并从胞质移位至胞核。此外,IL-1 β 等细胞因子可被 NF- κ B 激活,而这些因子反过来又可激活 NF- κ B,使 NF- κ B 活化在组织间不断扩散,从而加重炎症反应加重脑损伤。

4.1.3 半乳糖凝集素-3(Gal-3) 半乳糖凝集素-3 是特异的 β -半乳糖苷外源凝集素蛋白家族成员之一,是一个可与细胞表面分子、细胞内糖蛋白和细胞外基质蛋白相互作用的细胞内和外凝集素。Gal-3 是缺血性脑损伤时小胶质细胞激活和增殖和迁移所必需的^[15],可以通过调节炎症反应参与脑缺血缺氧损伤。Doverhag 等^[16]的研究发现,缺血性脑损伤后 Gal-3 基因和蛋白表达增加,Gal-3 缺乏的小鼠脑组织内会积聚更多的小胶质细胞,但与此同时伴随有基质金属蛋白酶-9 和硝基酪氨酸的水平降低,这样的小鼠脑损伤较轻,尤其是海马和纹状体更为明显,提示 Gal-3 增加会引起脑缺血加重。

4.1.4 其他发挥毒性作用的物质 脑缺血后小胶质细胞活化,活化的小胶质细胞分泌 CC 趋化因子 CCL3 和 CCL5 增加。有研究发现新生鼠脑在急性胆缺血时 CCL3 浓度明显升高,8~72 h 达到高峰,结果显示 CCL3 上调与单核细胞和小胶质细胞聚集于脑损伤区域相关联^[17]。在小鼠侧脑室注射 CCL3 可以增加脑梗死体积,而注射趋化因子拮抗剂则可以剂量依赖性地减少脑梗死体积^[18]。在局灶性脑缺血模型中敲除 CCL5 后的小鼠与野生小鼠相比,梗死面积明显减少,血脑屏障的渗透性降低^[19],提示抑制 CCL5 有望减轻缺血后脑损伤。

小胶质细胞表面表达有 Toll-样受体(TLR)和 NOD-样受体(NLR),可以识别病原体和损伤的分子信号,引起促炎细胞因子的基因表达,局部感染、系统感染、神经退行性疾病和无菌性损伤都会促使小胶质细胞激活^[20]。TLR2 在小胶质细胞内表达上调及 TLR2 介导的信号通路是脑缺血中的重要事件,参与脑缺血的恶化^[21]。局灶性脑缺血后缺血脑组织 TLR2 mRNA 的表达明显上调。缺血性脑卒中患者的外周血细胞 TLR2 的表达明显上调,将脑卒中患者的外周血加入单核细胞和人脐带-静脉内皮细胞中,可诱导明显的炎症反应,且该反应可被 TLR2 抗体所抑制^[22]。有研究应用大鼠局部脑缺血/再灌注模型和体外氧糖剥夺再灌注系统进行实验,发现小胶质细胞上的 TLR2 受体活化可导致 IL-23 分泌,IL-23 可进一步刺激小胶质细胞分泌 IL-17^[23]。TLR2、IL-23 和 IL-17 通路激活可导致神经元凋亡增加,加

重脑缺血。

高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)是脑缺血后激活小胶质细胞的一个细胞因子。在大鼠脑缺血模型中 HMGB1 在血液中和脑脊液中的水平增加,促进神经炎症反应,导致缺血后神经退行性改变^[20]。血管紧张素 II(Ang II)在脑缺血后 12 h 同对照组相比表达明显下降,在 3 d 和 1 周后迅速上升,其受体(AT1/AT2)的表达也上调,在脑缺血后 12 h 达到高峰,随后下降。依达拉奉可通过抑制小胶质细胞 Ang II 及其受体的表达减轻神经炎症反应^[24]。此外,还有实验表明 Notch 信号、富含半胱氨酸的酸性蛋白(SPARC)会增加神经炎症反应和胶质化反应,在脑缺血中发挥神经毒性作用。

4.2 发挥神经保护作用的物质

脑缺血后小胶质细胞的功能活化在特定条件下可通过调节某些受体、蛋白或细胞因子的表达来发挥脑保护作用。有实验证实,脑缺血后在不进行任何干预的情况下脑梗死体积也有自然缩小的趋势,动物受损的肢体运动功能随时间延长也有很大程度的恢复^[25]。研究发现,缺失小胶质细胞的小鼠在脑缺血中脑梗死面积增加,神经元凋亡的机率也增加了 1 倍^[15],所以小胶质细胞在脑缺血中会通过某些机制发挥脑保护作用。

4.2.1 蛋白激酶 CK2 脑缺血后小胶质细胞在表达上调 NADPH 氧化酶的同时,也上调蛋白激酶 CK2。蛋白激酶 CK2 也称为酪蛋白激酶 2,在组织和细胞内广泛分布,为具有免疫活性的小分子多肽。神经系统内的 CK2 由小胶质细胞、神经细胞和星形胶质细胞共同分泌,作为一种调节递质在细胞和神经细胞之间发挥作用。Kim 等^[26]研究发现 CK2 具有负性调节 NADPH 氧化酶活性的作用,在实验性脑缺血中具有神经保护功能。氧化应激引起 ROS 增加时 CK2 的活性受到抑制,使 NADPH 氧化酶活性增加,从而促进活性氧产生及神经元变性。因此,在治疗脑缺血时可通过提高 CK2 的活性来延迟或阻断神经细胞死亡,从而保护受损组织的脑组织。

4.2.2 P2X7 受体 P2X7 受体是 P2 嘌呤受体家族的一个亚型,主要表达于小胶质细胞和巨噬细胞,与细胞外的三磷酸腺苷结合而被激活。Yanagisawa 等^[27]的动物实验发现,当大鼠局部脑组织发生缺血时缺血核心区和缺血半暗带的小胶质细胞活化,表达 P2X7 受体增多,结果证实 P2X7 受体可介导 ATP 信号通路,小胶质细胞可通过调节此通路发挥脑保护作用,如果持续阻断 P2X7 受体可加重缺血脑组织的损伤。Chu 等^[28]通过研究大鼠短暂性全脑缺血模型发现,阻断 P2X7 受体后大鼠行为障碍得到改善,激活的小胶质细胞分泌的炎症介质 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 也相应减少。

4.2.3 其他具有脑保护作用的物质 脑缺血后反应性小胶质细胞一方面转化为吞噬细胞,吞噬掉死亡的神经元;另一方面可分泌转化生长因子 β (TGF β)、干扰素 α (INF α)、胰岛素样生长因子 1(IGF1)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、

血小板源性生长因子(PDGF)和胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)等多种神经营养因子,支持神经元的存活,重建缺血区内的稳态^[29]。

4.3 可能发挥双相作用的物质

4.3.1 一氧化氮合酶(NOS) 一氧化氮合酶(NOS)是产生 NO 的重要酶类,分为神经型一氧化氮合酶(nNOS)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和内皮型一氧化氮合酶(eNOS)。脑缺血后活化的小胶质细胞、神经元及内皮细胞通过上调 iNOS 的表达产生 NO。Wakita 等^[30]的实验表明,小胶质细胞活化后所产生的 NO 具有高度毒性,可直接杀伤培养的人胚胎皮质神经元,还可使少突胶质细胞溶解。根据 Vannucchi 等^[31]的研究结果表明,脑缺血后 nNOS 免疫反应性神经元数量增加,小胶质细胞中等程度活化,大鼠预后较好;如果损伤严重,nNOS 免疫反应性神经元数量显著减少,iNOS 免疫反应性神经元数量增加,大量的小胶质细胞被活化,大鼠预后较差,推测 nNOS 和 iNOS 可以通过调控小胶质细胞的活化状态影响脑组织损伤后的结局。

4.3.2 肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 人体脑内的小胶质细胞可产生肿瘤坏死因子(TNF),在脑缺血和脑内炎症中发挥重要作用。TNF- α 在缺血性脑卒中中的作用仍然有争议,可能同时具有神经毒性和神经保护作用。有研究发现,TNF- α 参与缺血脑组织的损害过程,局灶性脑缺血 1 h 后皮质就观察到 TNF- α mRNA 的表达,12 h 达高峰,一直持续到 5 d 后^[32]。TNF- α 可促进血小板活化因子的合成与表达及第 11 因子的释放,抑制抗凝机制如血栓调节蛋白 C 蛋白,增加纤维蛋白溶酶原,增加血栓的形成^[33]。然而,Lambertsen 等^[34]研究发现,与野生型相比 TNF 敲除的小鼠皮层梗死体积增大,行为学障碍的发生也增加,说明小胶质细胞通过合成 TNF,在局部脑缺血的急性期发挥着脑保护作用。TLR9 配体通过 TNF- α 依赖性机制可发挥脑保护作用,Stevens 等^[35]研究发现脑缺血前给予 TLR9 配体预刺激,可时间依赖性及剂量依赖性地减少小鼠脑缺血程度。此外,TNF- α 刺激胶质细胞、成纤维细胞和星形细胞表达神经生长因子,有助于缺血脑区和周围脑区神经元的存活。

4.3.3 谷氨酸 发生缺血性脑损伤时小胶质细胞可释放一种神经毒素——谷氨酸,谷氨酸通过激活谷氨酸门控通道可使 Na⁺ 过度内流,造成细胞水肿,从而引起神经元损伤。此外,过度释放的谷氨酸可作用于 NMDA 受体,激活 NMDA 受体门控钙通道,引起 Ca²⁺ 内流,进而导致神经元迟发性死亡^[36]。但是,也有研究发现在大鼠的受损皮质中当谷氨酸在突触间隙过度积聚时周围的阿米巴样小胶质细胞会表达谷氨酸-天冬氨酸转运体(GLAST)和谷氨酸转运体-1(GLT-1),从而清除细胞外异常增加的谷氨酸,减轻其介导的神经元损伤,以起到神经保护作用^[37]。

4.3.4 白介素(IL) 中枢神经系统缺血缺氧性损伤时小胶质细胞被激活并分泌白介素,白介素是一种在白细胞或免疫细胞间起作用的淋巴因子,具有传递信息、激活与调节免疫

细胞等功能,在炎症反应中起重要作用,但是不同的白介素亚类在脑缺血中发挥不同的作用。

在中枢神经系统中正常情况下有少量 IL-1 表达,且主要为 IL-1 β ,可由神经元、星形胶质细胞和血管内皮细胞合成。脑缺血后 IL-1 β 升高,IL-1 β 可进一步激活小胶质细胞,激活的小胶质细胞可通过释放其他细胞因子加重脑损伤。此外,IL-1 β 还可趋化多形核细胞在炎症局部沉积,并在损伤部位活化,从而进一步加重脑损伤^[38]。有体外实验发现,活化的小胶质细胞分泌的 IL-1 β 可作用于 NMDA 受体,引起海马神经元损伤,而应用 IL-1 β 受体阻滞剂可减轻这种损伤^[39]。IL-1 β 还可刺激星形胶质细胞产生 NO 和 TNF- α ,并可进一步与 TNF- α 共同刺激星形胶质细胞产生更多的 NO,从而引起神经损害^[40]。然而,也有研究得出 IL-1 β 具有增强神经元抗损伤和促进修复的作用^[33]。所以,脑缺血后脑内 IL-1 β 增加可能具有损伤和修复双重作用,但是具体的可能作用机制还有待进一步研究。

Chang 等^[41]检测到高水平血清 IL-10 与急性脑卒中患者 48 h 后出现神经功能障碍有关。血清 IL-10 水平是急性脑卒中发生 90 d 后不良临床结局的独立预报因子。此外,IL-10 还可能通过介导 Bcl-2 表达增加和 caspase-3 活性抑制的抗细胞凋亡途径发挥细胞保护作用。

IL-6 在神经炎症中的作用往往是双重的角色,在小胶质细胞激活的过程中 IL-6 的释放增加有时介导了神经保护作用^[42],而有时介导了神经毒性作用,其机制与 IL-6 激活了其下游的信号通路分子 STAT 和 ERK 有关^[43]。在短暂局灶性脑缺血小鼠上 IL-6 可以有效减少缺血后脑梗死的体积,其机制与 IL-6 信号通路中的 gp130-STAT3 的激活以及超氧化物歧化酶的表达有关^[44]。

4.3.5 基质金属蛋白酶(MMPs) 基质金属蛋白酶是一种能够分解细胞外蛋白的一种酶,还可参与细胞外基质的重组。正常情况下 MMPs 位于胞浆,处于未活化状态,以酶原形式存在于小胶质细胞内。MMPs 可以被蛋白酶(如纤溶酶)分解,或者被其他处于活跃状态的 MMPs 分解^[45]。当发生炎症和缺氧等损伤时小胶质细胞激活引起 MMP-2 和 MMP-3 显著增加,增加的 MMP 会降解细胞外基质成分,对局部神经膜结构和功能产生损害,导致神经元变性和坏死。激活的小胶质细胞还可释放 MMP-3 和 MMP-9,与野生对照小鼠相比,缺少 MMP-3 或 MMP-9 的小鼠缺血后脑损伤减轻^[46]。实验研究表明,急性抑制 MMP 可缩小脑梗死体积、减轻脑水肿以及重组组织型纤溶酶原激活剂导致的出血^[47]。然而,缺血后持续抑制 MMPs 并不利于功能恢复,因为这些蛋白酶在脑缺血后神经血管重塑中起非常重要的作用^[48]。米诺四环素对野生型小鼠的永久性脑缺血起保护作用,而在缺 MMP-9 的小鼠中没有作用,提示 MMP-9 可能是米诺四环素发挥神经保护机制的重要物质^[49]。

5 总 结

脑缺血时小胶质细胞可通过调节受体、蛋白或细胞因子的表达发挥脑保护作用,也可以通过释放或分泌一系列炎症细胞因子、蛋白及其他生物活性物质介导神经毒性作用,引起继发性脑损伤,在脑缺血后炎症反应中具有重要的作用。因此,抑制小胶质细胞分泌神经毒性因子或拮抗其毒性作用、促进小胶质细胞分泌具有神经保护的物质、调控小胶质细胞表面或细胞内受体或蛋白分子、阻断小胶质细胞介导的炎症反应或氧化应激损伤等将为脑缺血的治疗及改善预后提供新思路。

参 考 文 献

- [1] Tambuyzer BR, Ponsaerts P, Nouwen EJ. Microglia: gatekeepers of central nervous system immunology[J]. J Leukoc Biol, 2009, 85(3):352-370.
- [2] Chan WY, Kohsaka S, Rezaie P. The origin and cell lineage of microglia: new concepts[J]. Brain Res Rev, 2007, 53(2):344-354.
- [3] Raivich G. Like cops on the beat: the active role of resting microglia[J]. Trends Neurosci, 2005, 28(11):571-573.
- [4] Yang Z, Zhong LA, Zhong SC, et al. Hypoxia induces microglia autophagy and neural inflammation injury in focal cerebral ischemia model[J]. Exp Mol Pathol, 2015, 98(2):219-224.
- [5] Streit WJ, Conde JR, Fendrick SE, et al. Role of microglia in the central nervous system's immune response[J]. Neurol Res, 2005, 27(7):685-691.
- [6] Polazzi E, Monti B. Microglia and neuroprotection: from in vitro studies to therapeutic applications[J]. Prog Neurobiol, 2010, 92(3):293-315.
- [7] Frank-Cannon TC, Alto LT, McAlpine FE, et al. Does neuroinflammation fan the flame in neurodegenerative diseases? [J]. Mol Neurodegener, 2009, 4:47.
- [8] Moon JB, Lee CH, Park CW, et al. Neuronal degeneration and microglial activation in the ischemic dentate gyrus of the gerbil [J]. J Vet Med Sci, 2009, 71(10):1381-1386.
- [9] Price CJ, Wang D, Menon DK, et al. Intrinsic activated microglia map to the peri-infarct zone in the subacute phase of ischemic stroke[J]. Stroke, 2006, 37(7):1749-1753.
- [10] 刘锋, 朱长庚. 小胶质细胞激活的分子机制[J]. 解剖科学进展, 2003, 9(2):177-180.
- [11] Wu YP, Ling EA. Induction of microglial and astrocytic response in the adult rat lumbar spinal cord following middle cerebral artery occlusion[J]. Exp Brain Res, 1998, 118(2):235-242.
- [12] Yoshioka H, Niizuma K, Katsu M, et al. NADPH oxidase mediates striatal neuronal injury after transient global cerebral ischemia[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2011, 31(3):868-880.
- [13] Ma QL, Zhang GG, Peng J. Vascular peroxidase 1: a novel enzyme in promoting oxidative stress in cardiovascular system [J]. Trends Cardiovasc Med, 2013, 23(5):179-183.
- [14] Nurmi A, Lindsberg PJ, Koistinaho M, et al. Nuclear factor-kappaB contributes to infarction after permanent focal ischemia [J]. Stroke, 2004, 35(4):987-991.
- [15] Lalancette-Hébert M, Swarup V, Beaulieu JM, et al. Galectin-3 is required for resident microglia activation and proliferation in response to ischemic injury [J]. J Neurosci, 2012, 32(30):

- 10383-10395.
- [16] Doverhag C, Hedtj rn M, Poirier F, et al. Galectin-3 contributes to neonatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. *Neurobiol Dis*, 2010, 38(1):36-46.
 - [17] Cowell RM, Xu H, Galasso JM, et al. Hypoxic-ischemic injury induces macrophage inflammatory protein-1 α expression in immature rat brain[J]. *Stroke*, 2002, 33(3):795-801.
 - [18] Mirabelli-Badenier M, Braunersreuther V, Viviani GL, et al. CC and CXC chemokines are pivotal mediators of cerebral injury in ischaemic stroke[J]. *Thromb Haemost*, 2011, 105(3):409-420.
 - [19] Terao S, Yilmaz G, Stokes KY, et al. Blood cell-derived RANTES mediates cerebral microvascular dysfunction, inflammation, and tissue injury after focal ischemia-reperfusion[J]. *Stroke*, 2008, 39(9):2560-2570.
 - [20] Taylor RA, Sansing LH. Microglial responses after ischemic stroke and intracerebral hemorrhage[J]. *Clin Dev Immunol*, 2013, 2013:746068.
 - [21] Ziegler G, Harhausen D, Schepers C, et al. TLR2 has a detrimental role in mouse transient focal cerebral ischemia[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 359(3):574-579.
 - [22] Brea D, Blanco M, Ramos-Cabrer P, et al. Toll-like receptors 2 and 4 in ischemic stroke: outcome and therapeutic values[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2011, 31(6):1424-1431.
 - [23] Lv M, Liu Y, Zhang J, et al. Roles of inflammation response in microglia cell through Toll-like receptors 2/interleukin-23/interleukin-17 pathway in cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Neuroscience*, 2011, 176:162-172.
 - [24] WuCY, Zha H, Xia QQ, et al. Expression of angiotensin II and its receptors in activated microglia in experimentally induced cerebral ischemia in the adult rats[J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 382(1/2):47-58.
 - [25] 韩书珍, 王果, 李泽宜, 等. CLSM 观察大鼠局灶性脑缺血半暗区小胶质细胞的变化及意义[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2010, 27(5):399-403.
 - [26] Kim GS, Jung JE, Niizuma K, et al. CK2 is a novel negative regulator of NADPH oxidase and a neuroprotectant in mice after cerebral ischemia[J]. *J Neurosci*, 2009, 29(47):14779-14789.
 - [27] Yanagisawa D, Kitamura Y, Takata K, et al. Possible involvement of P2X7 receptor activation in microglial neuroprotection against focal cerebral ischemia in rats[J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(6):1121-1130.
 - [28] Chu K, Yin B, Wang J, et al. Inhibition of P2X7 receptor ameliorates transient global cerebral ischemia/reperfusion injury via modulating inflammatory responses in the rat hippocampus[J]. 2012;69.
 - [29] 刘之荣, 李露斯. 小胶质细胞与脑缺血[J]. *国外医学脑血管疾病分册*, 2000, 8(1):15-17.
 - [30] Wakita H, Tomimoto H, Akiguchi I, et al. Ibudilast, a phosphodiesterase inhibitor, protects against white matter damage under chronic cerebral hypoperfusion in the rat[J]. *Brain Res*, 2003, 992(1):53-59.
 - [31] Vannucchi MG, Bizzoco E, Corsani L, et al. Relationships between neurons expressing neuronal nitric oxide synthase, degree of microglia activation and animal survival. A study in the rat cortex after transient ischemia[J]. *Brain Res*, 2007, 1132(1):218-227.
 - [32] Liu T, Clark RK, McDonnell PC, et al. Tumor necrosis factor- α expression in ischemic neurons[J]. *Stroke*, 1994, 25(7):1481-1488.
 - [33] 谢荣堂, 张微微. 脑缺血与小胶质细胞[J]. *医学综述*, 2001, 7(12):757-759.
 - [34] Lambertsen KL, Clausen BH, Babcock AA, et al. Microglia protect neurons against ischemia by synthesis of tumor necrosis factor[J]. *J Neurosci*, 2009, 29(5):1319-1330.
 - [35] Stevens SL, Ciesielski TM, Marsh BJ, et al. Toll-like receptor 9: a new target of ischemic preconditioning in the brain[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2008, 28(5):1040-1047.
 - [36] Wang Q, Rowan MJ, Anwyl R. Beta-amyloid-mediated inhibition of NMDA receptor-dependent long-term potentiation induction involves activation of microglia and stimulation of inducible nitric oxide synthase and superoxide[J]. *J Neurosci*, 2004, 24(27):6049-6056.
 - [37] Van Landeghem FK, Stover JF, Bechmann I, et al. Early expression of glutamate transporter proteins in ramified microglia after controlled cortical impact injury in the rat[J]. *Glia*, 2001, 35(3):167-179.
 - [38] Sairanen TR, Lindsberg PJ, Brenner M, et al. Global forebrain ischemia results in differential cellular expression of interleukin-1 β (IL-1 β) and its receptor at mRNA and protein level[J]. 1997;1120.
 - [39] Yin L, Ohtaki H, Nakamachi T, et al. Delayed expressed TNFR1 co-localize with ICAM-1 in astrocyte in mice brain after transient focal ischemia[J]. *Neurosci Lett*, 2004, 370(1):30-35.
 - [40] Badan I, Buchhold B, Hamm A, et al. Accelerated glial reactivity to stroke in aged rats correlates with reduced functional recovery[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2003, 23(7):845-854.
 - [41] Chang LT, Yuen CM, Liou CW, et al. Link between interleukin-10 level and outcome after ischemic stroke[J]. *Neuroimmunomodulation*, 2010, 17(4):223-228.
 - [42] Eskes C, Honegger P, Juillerat-Jeanneret L, et al. Microglial reaction induced by noncytotoxic methylmercury treatment leads to neuroprotection via interactions with astrocytes and IL-6 release[J]. *Glia*, 2002, 37(1):43-52.
 - [43] Krady JK, Lin HW, Liberto CM, et al. Ciliary neurotrophic factor and interleukin-6 differentially activate microglia[J]. *J Neurosci Res*, 2008, 86(7):1538-1547.
 - [44] Jung JE, Kim GS, Chan PH. Neuroprotection by interleukin-6 is mediated by signal transducer and activator of transcription 3 and antioxidative signaling in ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2011, 42(12):3574-3579.
 - [45] Rosenberg GA. Matrix metalloproteinases in neuroinflammation[J]. *Glia*, 2002, 39(3):279-291.
 - [46] Walker EJ, Rosenberg GA. TIMP-3 and MMP-3 contribute to delayed inflammation and hippocampal neuronal death following global ischemia[J]. *Exp Neurol*, 2009, 216(1):122-131.
 - [47] Yenari MA, Kauppinen TM, Swanson RA. Microglial activation in stroke: therapeutic targets[J]. *Neurotherapeutics*, 2010, 7(4):378-391.
 - [48] Zhao BQ, Wang S, Kim HY, et al. Role of matrix metalloproteinases in delayed cortical responses after stroke[J]. *Nat Med*, 2006, 12(4):441-445.
 - [49] Koistinaho M, Malm TM, Kettunen MI, et al. Minocycline protects against permanent cerebral ischemia in wild type but not in matrix metalloproteinase-9-deficient mice[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2005, 25(4):460-467.