

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.003254

雌激素受体 GPR30 通过 TXNIP/NLRP3 信号通路减弱氧糖剥夺/复氧诱导的 BV-2 细胞氧化应激损伤和炎症反应

李智勇¹, 陈政刚², 彭俊³

(1. 海南医学院第一附属医院医疗质量理科, 海口 570102; 2. 海南医学院第一附属医院神经外科, 海口 570102;
 3. 中南大学湘雅医学院附属海口医院神经外科, 海口 570208)

【摘要】目的:通过研究雌激素受体 G 蛋白偶联受体 30(G protein-coupled receptor 30, GPR30)对氧糖剥夺/再灌注(oxygen-glucose deprivation and reperfusion, OGD/R)BV-2 小胶质细胞的氧化应激损伤和炎症反应的调控作用, 探讨其对 OGD/R BV-2 小胶质细胞的保护作用及其相关机制。**方法:**取 BV-2 小胶质细胞 ODG 4 h 后再灌注 2、4、6 或 12 h。Western blot 检测细胞中 GPR30 的蛋白表达水平。将 pcDNA3.1、pcDNA3.1-GPR30、sh-NC、sh-GPR30 质粒转染 BV-2 小胶质细胞, OGD 4 h 后再灌注 12 h。qRT-PCR 检测 GPR30 mRNA 的表达水平, 验证其转染效率, Western blot 检测细胞中 GPR30、硫氧还蛋白相互作用蛋白(thioredoxin-interacting protein, TXNIP)、NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶剪切体-1(cleaved cysteinyl aspartate specific proteinase-1, cleaved Caspase-1)的蛋白表达水平, ELISA 检测细胞中活性氧(reactive oxygen species, ROS)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-18(interleukin-18, IL-18)水平。**结果:**GPR30 在 OGD/R 后显著上升, 在 6 h 时达到峰值, 而在 12 h 时与对照组没有显著差异。随后确定 OGD 处理 4 h, 复氧 12 h 的时间点进行后续实验。**结论:**qRT-PCR 验证慢病毒转染成功, 与对照组相比, OGD/R 组细胞中 ROS、MDA、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-18 水平及 TXNIP、NLRP3、cleaved-Caspase-1 蛋白表达水平显著上升, SOD 活性显著下降($P < 0.05$); 过表达 GPR30 抑制了 ROS、MDA、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-18 水平及 TXNIP、NLRP3、cleaved-Caspase-1 蛋白表达水平, 促进了 SOD 活性; 而干扰 GPR30 表达发挥了相反的作用。

【关键词】G 蛋白偶联受体 30; 氧糖剥夺/再灌注; BV-2; 小胶质细胞; 氧化应激损伤; 炎症反应

【中图分类号】R743.9

【文献标志码】A

【收稿日期】2022-11-16

Estrogen receptor GPR30 attenuates oxygen-glucose deprivation and reperfusion-induced oxidative stress injury and inflammation in BV-2 cells through TXNIP/NLRP3 signaling pathway

Li Zhiyong¹, Chen Zhenggang², Peng Jun³

(1. Department of Medical Quality Management, The First Affiliated Hospital of Hainan Medical College;

2. Department of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital of Hainan Medical College; 3. Department of Neurosurgery, Haikou Affiliated Hospital of Central South University Xiangya School of Medicine)

【Abstract】**Objective:** To investigate the regulatory effects of estrogen receptor G protein-coupled receptor 30(GPR30) on oxidative stress injury and inflammatory response in oxygen-glucose deprivation and reperfusion(OGD/R) BV-2 cells, and to investigate its protective effect on OGD/R BV-2 cells and its related mechanism. **Methods:** BV-2 cells were treated with ODG for 4 h and then reperfused for 2 h, 4 h, 6 h or 12 h. The protein expression level of GPR30 was detected by Western blot. BV-2 cells were transfected with packaged pcDNA3.1, PCDNA3.1-GPR30, sh-NC, sh-GPR30 lentiviruses, and then reperfused for 12 h after treated with ODG for 4 h. qRT-PCR was used to detect the expression level of GPR30 mRNA to verify its transfection efficiency. Western blot was used to detect the protein expression levels of GPR30, thioredoxin-interacting protein(TXNIP), NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3(NLRP3), cleaved cysteinyl aspartate specific proteinase-1(cleaved Caspase-1) in cells. The levels of reactive oxygen species(ROS), malondialdehyde(MDA), superoxide dismutase(SOD), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6(IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-18(IL-18) in cells were detected by ELISA. **Results:** The expression level of GPR30 increased significantly after OGD/R, and reached the peak at 6 h. There was no significant difference compared with Control group at 12 h. And then the time points of OGD treatment for 4 h and reoxygenation for 12 h

作者介绍: 李智勇, Email: lizy0060@163.com,

研究方向: 脑血管病。

通信作者: 彭俊, Email: pengj060@163.com。

基金项目: 海南省自然科学基金青年资助项目(编号: 822RC865)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms2/detail/50.1046.R.20230710.0953.013.html>

(2023-07-10)

were determined for subsequent experiments. The lentivirus transfection was verified by qRT-PCR. Compared with the control group, the levels of ROS, MDA, TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-18 and the protein expression levels of TXNIP, NLRP3, cleaved Caspase-1 in OGD/R group were significantly increased. And SOD activity was significantly decreased ($P<0.05$). Overexpression of GPR30 inhibited the levels of ROS, MDA, TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-18 and the protein expression levels of TXNIP, NLRP3, cleaved Caspase-1, and it enhanced SOD activity; while interference with GPR30 expression had the opposite effect. **Conclusion:** GPR30 can inhibit the expression of protein of TXNIP/NLRP3 signaling pathway in BV-2 cells, and inhibit the oxidative stress injury and inflammation induced by OGD/R in BV-2 cells, which may be one of its molecular mechanisms for protecting OGD/R cells.

[Key words] G protein-coupled receptor 30; oxygen-glucose deprivation and reperfusion; BV-2; microglia; oxidative stress injury; inflammation

脑卒中是全世界残疾和死亡的第二大原因,全球每年有1500万例新发卒中,在个人和社会层面上都造成了惊人的负担。卒中通常分为缺血性卒中或出血性卒中,约87%的病例属于缺血性卒中^[1-3]。静脉溶栓治疗是临床主要的治疗手段,但只有少数患者在卒中发作后狭窄的治疗时间窗口(4~6 h)内接受有效的溶栓治疗,而且重建血流可能会导致继发性再灌注损伤^[4]。因此,制定有效的预防战略至关重要。

许多临床试验和基础研究表明,小胶质细胞介导的神经炎症反应在缺血/再灌注损伤中起着关键和复杂的作用,其激活后产生炎性介质^[5-6]。氧化应激是活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生和抗氧化防御之间的平衡紊乱,在脑缺血特别是炎症和再灌注中被诱导,氧化应激与缺血性卒中神经炎症之间的串扰已被广泛研究^[7]。而氧化应激和炎症因子的相互作用可能是脑缺血性损伤的关键病理机制和治疗靶点,所以通过减少氧化应激和炎症活动可能有助于改善缺血再灌注损伤^[8-9]。

NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)是一种经典的核苷酸结合寡聚结构域样受体,是研究最广泛的炎症复合物,被认为与无菌性炎症密切相关。缺血性卒中后,NLRP3炎症小体可产生多种促炎细胞因子,介导神经细胞功能障碍和脑水肿^[10]。硫氧还蛋白相互作用蛋白(thioredoxin-interacting protein, TXNIP)是氧化应激的关键调节剂,与炎症有关。TXNIP被假定为对TXNIP-NLRP3炎症小体轴的促炎开关起核心作用^[11]。TXNIP/NLRP3信号通路也被发现与卒中发病机制有关^[12-13]。

G蛋白偶联受体30(G protein-coupled receptor 30, GPR30)是一种新型雌激素受体,在大脑中高度表达,赋予啮齿动物和人类脑缺血性损伤强大的神经保护作用^[14]。GPR30参与脑卒中后的病理生理过程,如细胞炎症、细胞凋亡、自噬等^[14-15]。其在脑卒中可能发挥了保护因子的作用,但具体的潜在分子机制暂不清晰。同时研究发现,GPR30诱导的细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase,

ERK)磷酸化和选择性自噬接头蛋白1(sequestosome 1, SQSTM1/p62)积累导致核因子红系2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)信号通路激活,从而抑制ROS过度产生,最终缓解肠道屏障功能障碍^[16]。但GPR30是否通过调控TXNIP/NLRP3信号通路在脑缺血炎症损伤中发挥神经保护作用暂未被研究报道。

本研究拟通过构建体外氧糖剥夺/再灌注(oxygen-glucose deprivation and reperfusion, OGD/R)模型,探讨GPR30对缺血性脑卒中的神经保护作用以及潜在的分子机制。

1 材料及方法

1.1 材料及试剂

小神经胶质BV-2细胞(南京科默生物,中国);高糖DMEM培养基、胎牛血清(foetal bovine serum, FBS)、青霉素-链霉素(Gibco公司,美国);TXNIP抗体、NLRP3抗体、Cleaved-caspase-1抗体、GAPDH抗体(Abcam公司,美国);TRIzol(Invitrogen公司,美国);PrimeScript RT Master Mix(Takara公司,日本);FastStart Universal SYBR Green Master(Roche公司,瑞士);活性氧(reactive oxygen species, ROS)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-18(interleukin-18, IL-18)试剂盒(上海碧云天,中国)。

1.2 仪器

酶标仪、细胞培养箱(Thermo Fisher公司,美国);实时荧光定量PCR检测系统和ECL机器(Syngene公司,美国)。

1.3 细胞培养和处理

将pcDNA3.1、pcDNA3.1-GPR30、sh-NC、sh-GPR30质粒转染BV-2小胶质细胞,并在10%FBS、1%青霉素-链霉素的高糖培养基中培养,在培养箱(5%CO₂和95%O₂)中孵育。随后培养基更换为pH7.4的平衡盐缓冲液,使用三气培养箱(94%N₂、5%CO₂和1%O₂)在37℃下进行OGD(氧-葡萄糖剥夺4 h),更换为正常培养基后,在培养箱(5%CO₂和95%O₂)再灌注2、4、6或12 h。

1.4 Western blot检测细胞中GPR30、TXNIP、NLRP3、cleaved-Caspase-1的表达水平

使用RIPA裂解缓冲液提取蛋白质。根据制造商的说明,使用BCA蛋白质测定试剂盒测量蛋白质定量。将蛋白

质(10 μg)在10%SDS-聚丙烯酰胺(polyacryamide gel electrophoresis, PAGE)凝胶上分离并转移到聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上。用5%脱脂牛奶封闭膜1 h, 用Tris缓冲盐水加吐温-20(tris buffered saline with tween 20, TBST)洗涤3次(每次5 min)。将每层膜与其各自的一抗在4 °C下孵育过夜, 在TBST中洗涤3次(每次8 min), 并在室温下与二抗一起孵育2 h, 然后在TBST中再次洗涤3次(每次8 min)。使用电化学发光(electrochemiluminescence, ECL)检测蛋白条带, 并使用GAPDH对条带密度进行归一化。

1.5 qRT-PCR 检测细胞中GPR30 mRNA的表达水平

用TRIzol从BV-2细胞中分离总RNA。第一链cDNA用PrimeScript RT Master Mix (Takara)合成。实时PCR采用7500实时PCR系统和FastStart Universal SYBR Green Master (Roche, Basel, Switzerland)。PCR引物列表如下:GPR30上游引物, 5'-ACGAGACTGTGAAATCCGCA-3', 下游引物, 5'-CTCTCTGGGTACCTGCCGTC-3'; GAPDH上游引物, 5'-AGCCCAAGATGCCCTCAGT-3', 下游引物, 5'-CCGTGTTCCCTACC-3'。

1.6 ELISA 检测细胞中ROS、MDA、SOD、TNF-α、IL-6、IL-1β、IL-18水平

取细胞悬液, 按试剂盒说明书检测细胞中ROS、MDA、SOD、TNF-α、IL-6、IL-1β、IL-18水平。

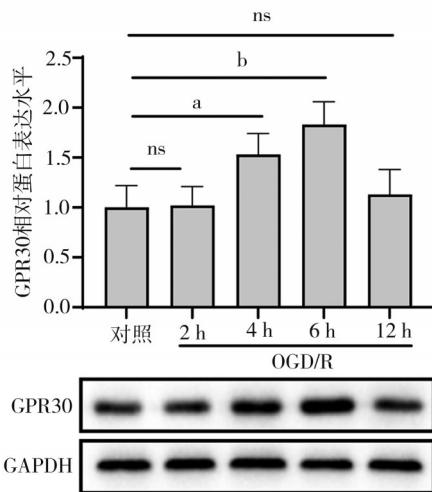
1.7 统计学处理

采用GraphPad Prism 9.0统计软件进行数据分析。结果采用均值±标准差($\bar{x} \pm s$)描述。组间比较采用t检验, 多组间比较采用单因素方差分析。所有实验均独立重复3次, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 OGD/R BV-2细胞中不同时间点GPR30的表达水平

建立OGD/R细胞模型, 检测OGD/R 2、4、6、12 h时GPR30蛋白表达水平。结果显示: GPR30在OGD/R后显著上升, 在6 h时达到峰值, 在12 h时与对照组没有显著差异(图1), 说明OGD/R 2、4、6、12 h时GPR30蛋白表达水平出现动态变化。同时, 本研究在OGD处理4 h、复氧12 h的时间点进行后续实验。

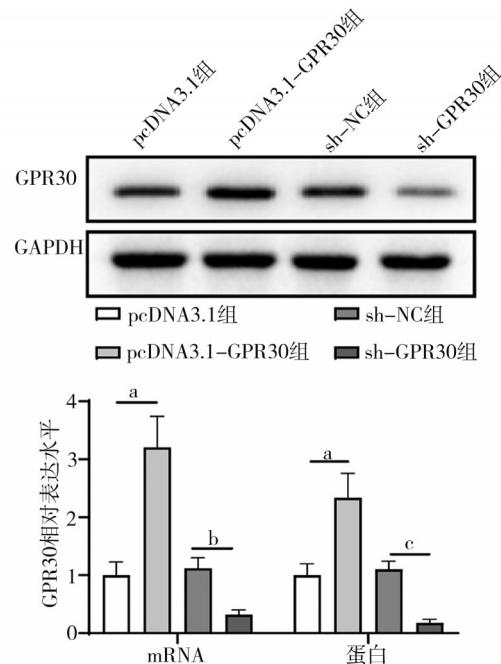


注:a, 与对照组相比, $P<0.05$; b: 与对照组相比, $P<0.01$;
ns: 无统计学差异

图1 OGD后复氧不同时间点BV-2细胞内GPR30蛋白的表达

2.2 各组BV-2细胞中GPR30的mRNA与蛋白表达水平

为了进一步研究GPR30在OGD/R BV-2细胞中的作用, 首先在BV-2细胞中转染pcDNA3.1-GPR30和sh-GPR30, 随后采用qRT-PCR及Western blot检测BV-2细胞中GPR30的表达水平。结果表明: 与pcDNA3.1组相比, pcDNA3.1-GPR30组的BV-2细胞中mRNA及蛋白表达水平显著上升, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 与sh-NC组相比, sh-GPR30组的BV-2细胞中mRNA及蛋白表达水平显著下降, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 如图2所示。以上结果表明转染成功。



注:a, 与pcDNA3.1组相比, $P<0.001$; b: 与sh-NC组相比, $P<0.05$; c: 与sh-NC组相比, $P<0.01$

图2 转染pcDNA3.1-GPR30和sh-GPR30的BV-2细胞内GPR30的表达

2.3 GPR30对OGD/R BV-2细胞的氧化应激影响

利用相关试剂盒分析GPR30对OGD/R BV-2细胞的氧化应激影响。结果显示: OGD/R组细胞中ROS水平及MDA含量显著上升, SOD活性显著下降, 较对照组差异具有统计学意义($P<0.05$); 而较pcDNA3.1组, pcDNA3.1-GPR30组细胞中ROS水平及MDA含量显著下降, SOD活性显著上升, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 与sh-NC组相比, sh-GPR30组细胞中ROS水平及MDA含量显著上升, SOD活性显著下降, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 见表1。

2.4 GPR30对OGD/R BV-2细胞中的TNF-α、IL-6、IL-1β、IL-18水平的影响

利用相关试剂盒分析GPR30对OGD/R BV-2细胞炎症水平的影响, 使用ELISA检测BV-2细胞中的TNF-α、IL-6、IL-1β、IL-18水平。结果显示: OGD/R组细胞中TNF-α、IL-6、IL-1β、IL-18水平显著上升, 较对照组差异具有统计学意义($P<0.05$); 而与pcDNA3.1组相比, pcDNA3.1-GPR30组细胞中TNF-α、IL-6、IL-1β、IL-18水平显著下降, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 与sh-NC组相比, sh-GPR30组细胞中TNF-α、IL-6、IL-1β、IL-18水平显著上升, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 见表2。

表 1 不同组间 BV-2 细胞氧化应激产物的比较 (n=3)

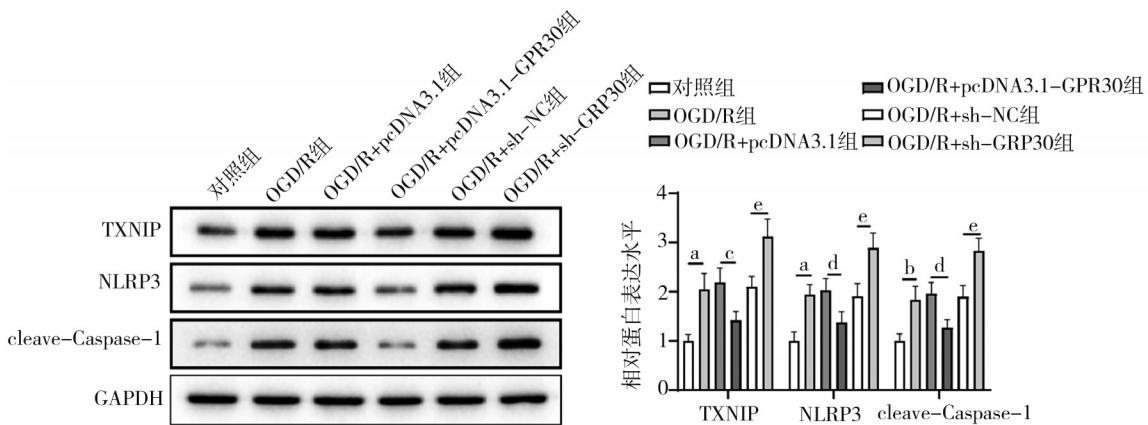
组别	ROS/(nmol/mg)	MDA/(nmol/mg)	SOD/(U/mL)
对照组	49.32 ± 2.48	4.31 ± 0.84	131.26 ± 21.14
OGD/R 组	125.36 ± 26.39 ^a	13.23 ± 1.79 ^b	63.21 ± 8.42 ^b
OGD/R+pcDNA3.1 组	116.37 ± 25.63	12.78 ± 1.71	70.32 ± 9.41
OGD/R+pcDNA3.1-GPR30 组	65.02 ± 10.58 ^c	6.25 ± 0.72 ^d	119.23 ± 15.23 ^d
OGD/R+sh-NC 组	120.63 ± 18.10	12.04 ± 1.21	65.29 ± 5.73
OGD/R+sh-GPR30 组	176.26 ± 14.65 ^e	18.26 ± 1.82 ^f	34.27 ± 5.21 ^e

注:与对照组相比,a,P<0.05,b,P<0.001;与OGD/R+pcDNA3.1组相比,c,P<0.05,d,P<0.01;与OGD/R+sh-NC组相比,e,P<0.05,f,P<0.01

表 2 不同组间 BV-2 细胞炎症因子水平的比较 (n=3; pg/mL)

组别	TNF-α	IL-6	IL-1β	IL-18
对照组	25.24 ± 3.14	84.67 ± 9.43	43.48 ± 4.28	17.29 ± 9.28
OGD/R 组	125.25 ± 14.81 ^b	157.25 ± 19.53 ^a	126.72 ± 12.19 ^b	210.29 ± 83.29 ^a
OGD/R+pcDNA3.1 组	121.82 ± 20.32	161.38 ± 18.27	123.82 ± 18.92	205.32 ± 64.29
OGD/R+pcDNA3.1-GPR30 组	75.02 ± 8.26 ^c	94.83 ± 10.53 ^d	69.23 ± 9.71 ^d	62.82 ± 8.21 ^c
OGD/R+sh-NC 组	118.47 ± 15.60	156.31 ± 20.24	134.29 ± 14.53	189.32 ± 21.38
OGD/R+sh-GPR30 组	178.38 ± 26.21 ^f	221.73 ± 26.29 ^f	183.93 ± 20.38 ^e	382.61 ± 58.19 ^f

注:与对照组相比,a,P<0.01,b,P<0.001;与OGD/R+pcDNA3.1组相比,c,P<0.05,d,P<0.01;与OGD/R+sh-NC组相比,e,P<0.05,f,P<0.01



注:与对照组相比,a,P<0.01,b,P<0.05;与OGD/R+pcDNA3.1组相比,c,P<0.01,d,P<0.05;与OGD/R+sh-NC组相比,e,P<0.001

图 3 不同组间 BV-2 细胞内 TXNIP、NLRP3、cleave-Caspase-1 的蛋白表达

2.5 GPR30 对 OGD/R BV-2 细胞中 TXNIP、NLRP3、cleave-Caspase-1 蛋白表达水平的影响

Western blot 结果表明:OGD/R 组细胞中 TXNIP、NLRP3、cleave-Caspase-1 蛋白表达水平显著上升,较对照组差异具有统计学意义 (P<0.05);而与 pcDNA3.1 组相比,pcDNA3.1-GPR30 组细胞中 TXNIP、NLRP3、cleave-Caspase-1 蛋白表达水平显著下降,差异具有统计学意义 (P<0.05);与 sh-NC 组相比,sh-GPR30 组细胞中 TXNIP、NLRP3、cleave-Caspase-1 蛋白表达水平显著上升,差异具有统计学意义 (P<0.05),见图 3。

3 讨 论

OGD/R 是一种体外模型,模拟由缺血再灌注引发的一系列病理反应的体内过程。本研究探讨了 GPR30 在体外 OGD/R BV-2 细胞模型中对缺血性损伤的神经保护作用。研究发现 GPR30 在小胶质细

胞中高度表达,并且在缺血性损伤后显著增加。同时,过表达 GPR30 抑制 OGD/R BV-2 细胞中氧化应激水平和炎症因子的释放,而干扰 GPR30 的表达发挥了相反的作用。此外,过表达 GPR30 显著降低 TXNIP、NLRP3、cleave-Caspase-1 的蛋白表达水平,抑制 TXNIP/NLRP3 信号通路激活,干扰 GPR30 的表达激活 TXNIP/NLRP3 信号通路。因此,GPR30 通过抑制 TXNIP/NLRP3 信号通路的激活介导 OGD/R BV-2 小胶质细胞的氧化应激和炎症对脑缺血性损伤发挥神经保护作用,表明 GPR30 可能是治疗缺血性卒中的潜在治疗靶点。

合成的选择性雌激素受体调节剂已被证明可以保护神经元和神经胶质细胞免受毒性损伤^[17-18],提示雌激素受体通过调节炎症、减少小胶质细胞的激活、增加抗氧化剂的表达等参与大脑的神经保护

反应^[19]。一些研究还表明,雌激素受体GPR30通过抑制TLR4介导的小胶质细胞炎症来减轻缺血性损伤^[14]。有趣的是,本研究表明过表达GPR30可以抑制OGD/R BV-2细胞中ROS的积累及MDA的产生,并抑制炎症因子TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和IL-18水平,同时增强SOD活性,进一步证实了GPR30可能通过减弱OGD/R诱导的小胶质细胞氧化应激和炎症水平在缺血性脑卒中中发挥保护因子的作用。

越来越多的研究表明,GPR30通过靶向下游信号通路来发挥其功能。激活GPR30下调P53-PUMA信号抑制全脑缺血诱导的海马神经元线粒体凋亡^[20]。且GPR30通过调节Akt相关通路,增强了右美托咪定对缺血再灌注诱导的心脏损伤保护作用^[21]。此外,GPR30参与17 β -雌二醇抑制氯胺酮致幼鼠海马神经细胞凋亡的过程,与上调p-ERK1/2表达有关^[22]。本研究发现GPR30减弱OGD/R诱导的小胶质细胞氧化应激和炎症水平在缺血性脑卒中中发挥保护因子的作用,可能与抑制TXNIP/NLRP3信号通路的激活有关。

综上所述,本研究结果表明TXNIP/NLRP3信号通路的激活参与OGD/R BV-2小胶质细胞损伤过程,而过表达GPR30能够通过抑制TXNIP/NLRP3信号通路的相关蛋白分子表达而对OGD/R BV-2小胶质细胞具有保护作用,提示GPR30有望成为治疗缺血性脑卒中的治疗靶点,并为治疗缺血性脑卒中提供新的研究思路。本研究还具有一定的局限性,以上结果还需进行TXNIP基因敲除的体外实验以及GPR30对TXNIP/NLRP3信号通路作用的体内实验进一步验证。

参 考 文 献

[1] Toman NG, Grande AW, Low WC. Neural repair in stroke[J]. Cell Transplant, 2019, 28(9/10): 1123-1126.

[2] Saini V, Guada L, Yavagal DR. Global epidemiology of stroke and access to acute ischemic stroke interventions[J]. Neurology, 2021, 97(20 Suppl 2): S6-S16.

[3] Ajoobalabady A, Wang SY, Kroemer G, et al. Targeting autophagy in ischemic stroke: from molecular mechanisms to clinical therapeutics[J]. Pharmacol Ther, 2021, 225: 107848.

[4] Xiong YY, Wakhloo AK, Fisher M. Advances in acute ischemic stroke therapy[J]. Circ Res, 2022, 130(8): 1230-1251.

[5] Liu M, Xu ZP, Wang L, et al. Cottonseed oil alleviates ischemic stroke injury by inhibiting the inflammatory activation of microglia and astrocyte[J]. J Neuroinflammation, 2020, 17(1): 270.

[6] Cui Y, Zhang NN, Wang D, et al. Modified *Citrus* pectin alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by inhibiting NLRP3 inflammasome activation via TLR4/NF- κ B signaling pathway in microglia[J]. J Inflamm Res, 2022, 15: 3369-3385.

[7] Jayaraj RL, Azimullah S, Beiram R, et al. Neuroinflammation: friend and foe for ischemic stroke[J]. J Neuroinflammation, 2019, 16(1): 142.

[8] He JL, Liu JY, Huang Y, et al. Oxidative stress, inflammation, and autophagy: potential targets of mesenchymal stem cells-based therapies in ischemic stroke[J]. Front Neurosci, 2021, 15: 641157.

[9] Chen S, Chen HS, Du QH, et al. Targeting myeloperoxidase (MPO) mediated oxidative stress and inflammation for reducing brain ischemia injury: potential application of natural compounds[J]. Front Physiol, 2020, 11: 433.

[10] Xu QX, Zhao B, Ye YZ, et al. Relevant mediators involved in and therapies targeting the inflammatory response induced by activation of the NLRP3 inflammasome in ischemic stroke[J]. J Neuroinflammation, 2021, 18(1): 123.

[11] Mohamed IN, Li LL, Ismael S, et al. Thioredoxin interacting protein, a key molecular switch between oxidative stress and sterile inflammation in cellular response[J]. World J Diabetes, 2021, 12(12): 1979-1999.

[12] Guo M, Wang X, Zhao YX, et al. Ketogenic diet improves brain ischemic tolerance and inhibits NLRP3 inflammasome activation by preventing Drp1-mediated mitochondrial fission and endoplasmic reticulum stress[J]. Front Mol Neurosci, 2018, 11: 86.

[13] Liu TL, Wang WJ, Liu MN, et al. Z-Guggulsterone alleviated oxidative stress and inflammation through inhibiting the TXNIP/NLRP3 axis in ischemic stroke[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 89 (Pt B): 107094.

[14] Zhang ZL, Qin P, Deng YL, et al. The novel estrogenic receptor GPR30 alleviates ischemic injury by inhibiting TLR4-mediated microglial inflammation[J]. J Neuroinflammation, 2018, 15(1): 206.

[15] Wang XS, Yue J, Hu LN, et al. Activation of G protein-coupled receptor 30 protects neurons by regulating autophagy in astrocytes[J]. Glia, 2020, 68(1): 27-43.

[16] Cao J, Lu MM, Yan WY, et al. Dehydroepiandrosterone alleviates intestinal inflammatory damage via GPR30-mediated Nrf2 activation and NLRP3 inflammasome inhibition in colitis mice[J]. Free Radic Biol Med, 2021, 172: 386-402.

[17] Hülskötter K, Lühder F, Flügel A, et al. Tamoxifen application is associated with transiently increased loss of hippocampal neurons following virus infection[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(16): 8486.

[18] Jin MH, Shiawku H, Tanaka H, et al. Tau activates microglia via the PQBP1-cGAS-STING pathway to promote brain inflammation[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 6565.

[19] Baez-Jurado E, Rincón-Benavides MA, Hidalgo-Lanussa O, et al. Molecular mechanisms involved in the protective actions of selective estrogen receptor modulators in brain cells[J]. Front Neuroendocrinol, 2019, 52: 44-64.

[20] 郭思含,孙立萍,赵雨逢,等. GPR30激活后下调P53-PUMA信号抑制全脑缺血诱导的海马神经元线粒体凋亡途径[J]. 医学研究生学报, 2021, 34(6): 568-574.

Guo SH, Sun LP, Zhao YF, et al. GPR30 activation inhibits mitochondrial apoptosis via down-regulating P53-PUMA signaling in the hippocampal CA1 region following global cerebral ischemia[J]. J Med Postgrad, 2021, 34(6): 568-574.

[21] Shao ZM, Shen QH, Kong M, et al. Involvement of GPR30 in protection effect of Dexmedetomidine against myocardial ischemia/reperfusion injury in rat via AKT pathway[J]. Acta Biochim Pol, 2021, 68(1): 119-126.

[22] 尚瑞媛,李建立,容俊芳. GPR30在17 β 雌二醇抑制氯胺酮致幼鼠海马神经细胞凋亡中的作用:与p-ERK1/2表达的关系[J]. 中华麻醉学杂志, 2019(8): 911-914.

Shang RY, Li JL, Rong JF. Role of GPR30 in 17 β estradiol-induced inhibition of ketamine-caused neuroapoptosis in hippocampus of newborn rats: the relationship with p-ERK1/2[J]. Chin J Anesthesiol, 2019 (8): 911-914.

(责任编辑:周一青)