

# 1-甲基色氨酸对大鼠脑缺血再灌注模型小胶质细胞活化的干预作用

杨毅, 韩晨阳, 郭丽, 官俏兵\* (嘉兴市第二医院, 浙江 嘉兴 314001)

**摘要:** 目的 研究 IDO 抑制剂 1-甲基色氨酸(1-methyltryptophan, 1-MT)对大鼠脑缺血再灌注模型小胶质细胞活化的干预作用及相关炎症因子表达的影响。方法 SD 大鼠分为假手术组、模型组和 1-MT 组。使用大鼠中动脉闭塞法(middle cerebral artery occlusion, MCAO)构建缺血再灌注模型。对大鼠进行神经功能缺损评分, TTC 法测定脑梗死体积, HE 染色检测梗死区域的病理形态变化, 免疫组化法检测梗死区域 IBA-1 和 GFAP 的表达, 免疫荧光技术检测 NeuN 阳性细胞数, Western blot 法检测组织中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B 的表达水平。体外培养 BV2 细胞, 采用氧糖剥夺法(oxygen glucose deprivation, OGD)模拟缺血缺氧条件, 设置对照组、模型组和 1-MT 组, Western blot 法检测小胶质细胞标志物 IBA-1、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 以及 TNF- $\alpha$  的表达水平。结果 1-MT 可以显著改善 MCAO 大鼠的神经功能, 缩小梗死面积, 抑制小胶质细胞的活化和相关炎症因子的表达。细胞实验中, 1-MT 可以显著下调 OGD-BV2 细胞中 IBA-1 的表达水平和 IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$  的水平。结论 IDO 抑制剂 1-MT 对于大鼠脑缺血再灌注模型有着很好的保护作用, 其作用机制与小胶质细胞的活化抑制以及相关炎症因子的表达有关。

**关键词:** IDO 抑制剂; 1-甲基色氨酸; 缺血再灌注; 小胶质细胞; 活化

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2018)12-1776-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.12.005

引用本文: 杨毅, 韩晨阳, 郭丽, 等. 1-甲基色氨酸对大鼠脑缺血再灌注模型小胶质细胞活化的干预作用[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(12): 1776-1781.

## Effect of 1-Methyltryptophan on the Activation of Microglia in Rat Model of Cerebral Ischemia Reperfusion

YANG Yi, HAN Chenyang, GUO Li, GUAN Qiaobing\* (The Second Hospital of Jiaxing, Jiaxing 314001, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To study the IDO inhibitor of 1-methyltryptophan (1-MT) intervened on microglia activation and inflammatory factor expression on cerebral ischemia reperfusion rat. **METHODS** SD rats were divided into sham operation group, model group, and 1-MT group. The model of ischemia reperfusion was constructed by the middle cerebral artery occlusion (MCAO) method. The nerve function defect was scored in rats. Determination of cerebral infarction volume by TTC method. The pathological changes of infarct area were detected by HE staining. Immunohistochemical method was used to detect the expression of IBA-1 and GFAP in the infarct area. The number of NeuN positive cells was detected by immunofluorescence. The expression of IL-1 $\beta$ , NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$  in the tissue was detected by Western blot. BV2 cells were cultured *in vitro*, and oxygen glucose deprivation(OGD) was used to simulate the conditions of ischemic and anoxia. The control group, model group and 1-MT group were set up. The expression levels of IBA-1, IL-1 $\beta$ , NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$  were detected by Western blot. **RESULTS** 1-MT could significantly improve the neural function of MCAO rats, reduce the infarct size, inhibit the activation of microglia and the expression of related inflammatory factors. 1-MT could significantly reduce the IBA-1 expression of IBA-1, IL-1 $\beta$ , NF- $\kappa$ B and TNF- $\alpha$  in OGD-BV2 cells. **CONCLUSION** IDO inhibitor 1-MT has a good protective effect on the cerebral ischemia-reperfusion in rats, and its mechanism is related to the inhibition of microglia and the expression of related inflammatory factors.

**KEYWORDS:** IDO inhibitor; 1-methyltryptophan; ischemia-reperfusion; microglia; activation

脑缺血再灌注损伤是一种神经系统疾病, 一般发生在缺血性卒中的溶栓、拔栓后。再灌注损伤中氧化应激性损伤和炎症因素促进的神经细胞凋亡、细胞内超钙是造成损伤的主要因素之一<sup>[1]</sup>。小胶质细胞是神经系统中参与免疫的重要细胞,

一般小胶质细胞的激活可以促进白介素类炎症因子的释放, 造成炎症因子级联反应<sup>[2]</sup>。吲哚胺 2, 3-双加氧酶(IDO)是一种色氨酸-犬尿氨酸途径代谢的限速酶, 在色氨酸经过该途径时会产生具有神经毒性的代谢中间体, 炎症因子 IFN- $\gamma$  可以在

基金项目: 嘉兴市科技计划项目(2017BY18023)

作者简介: 杨毅, 男, 副主任药师 Tel: 13967351048 E-mail: wasd911@126.com \*通信作者: 官俏兵, 女, 主任医师 Tel: 13757373957 E-mail: qbguan@126.com

转录水平上调 IDO 的表达<sup>[3]</sup>。在神经系统的疾病中,已有文献报道 IDO 抑制剂和巨噬细胞、胶质细胞等免疫细胞有关,IDO 抑制剂可以抑制巨噬细胞的活化,进而进一步抑制炎症反应以及小胶质细胞的激活,在中枢退行性疾病中具有重要的意义<sup>[4]</sup>。而在脑缺血再灌注损伤中,小胶质细胞同样具有重要的促进炎症因子释放的作用,IDO 抑制剂是否可以通过调节小胶质细胞的激活减轻缺血再灌注的损伤,目前尚未有报道。本研究探讨脑缺血再灌注损伤中,经典的 IDO 抑制剂[1-甲基色氨酸(1-methyltryptophan, 1-MT)]是否可以通过抑制小胶质细胞的活化来缓解损伤。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物和细胞系

SPF 级 SD 大鼠 30 只,♀♂各半,体质量 200~230 g,购于浙江中医药大学动物实验中心,实验动物许可证号:SCXK(浙)2013-0184。大鼠分笼饲养,每笼 8 只。动物实验室温度为 20~25 °C,湿度为(70±5)%,依据国家标准啮齿类动物干燥饲料喂养,大鼠活动、摄食自由。

### 1.2 试剂

1-MT(美国 Sigma 公司,纯度>99.0%,货号:M7636);2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC,索来宝公司,批号:17254);多克隆兔抗 IBA-1 和 GFAP 均购自 Abcam 公司,批号分别为 ab13847,ab7260;单克隆兔抗 NeuN(Millipore 公司,批号:A17554);免疫组织化学试剂盒(批号:PV-9001)、荧光二抗和封闭液均购自北京中杉金桥生物技术有限公司;IBA-1、NF-κB 以及 TNF-α 的一抗和 HRP 标记的二抗均购自 abcam 公司,批号分别为 ab15690,ab32360;IL-1β 和 TNF-α 的一抗(Santa Cruz 公司,批号:sc-52012,sc-48090);BV2(武汉普诺赛生物科技有限公司)。

### 1.3 动物模型的构建和分组

将 30 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组和 1-MT 组。模型组和 1-MT 组大鼠利用大脑中动脉闭塞法(middle cerebral artery occlusion, MCAO)构建缺血再灌注模型:使用 10%的水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠,手术中保持环境温度为 37 °C,大鼠仰卧后使用碘伏消毒,无菌手术刀分离肌层后暴露右侧颈动脉和颈外动脉,分别置 3-0 尼龙缝合线备用,结扎颈总动脉和颈外动脉后在颈内、外动脉交汇处剪口,将多聚赖氨酸处理的鱼线插补

颈内动脉,鱼线进入 20 mm。最后结扎颈内动脉,固定鱼线并缝合切口。缺血 30 min 后,将鱼线抽拉至颈内外动脉交汇处,实现再灌注。假手术组进行插入手术而不插入鱼线。1-MT 组在手术前灌胃给药 1-MT 30 μg·kg<sup>-1</sup>,假手术组和模型组给予等量生理盐水。

### 1.4 神经功能缺损的评分

大鼠模型缺血再灌注 24 h 后,按照 Longa 评分标准进行神经功能缺损的评分:0 分为正常,无功能损伤,无神经学征象,1 分为大鼠无法伸展左边前肢,2 分为大鼠左侧肢体瘫痪,3 分为大鼠在运动时左侧跌倒、无法站立,4 为大鼠无法自发活动,意识障碍。经过评分后 1~3 分为模型构建成功,0 分或者 4 分的大鼠剔除实验。神经功能缺损评分后立即处死大鼠,取大鼠全脑后使用 PBS 清洗 2 次,分离得到梗死部位的脑组织。

### 1.5 TTC 法检测大鼠脑梗死体积

大鼠模型缺血再灌注 24 h 后,将大鼠断颈处死,迅速取脑组织,在-20 °C 中冰冻 30 min,将全脑除去脑干、小脑等组织后以冠状位切成 6 等分,置于 2%的 TTC 溶液中避光染色 30 min。脑梗死体积(%)=白色区质量/总质量×100%。

### 1.6 HE 染色检测梗死组织病理的改变

大鼠模型缺血再灌注 24 h,将大鼠断颈处死后,取脑组织加入 4%的多聚甲醛固定后,石蜡包埋切片,常规苏木精-伊红染色,光学显微镜下观察病理组织改变。

### 1.7 免疫组织化学检测

将大鼠断颈处死后,取脑组织,放入 4%的多聚甲醛固定 1 d,常规石蜡包埋切片。按照免疫组化试剂盒说明书,采用石蜡切片微波修复抗原免疫组化 PV 二步法染色。切片后厚度为 4 μm,将切片在 60 °C 下烤片 30 min,二甲苯 I、II 各 10 min、乙醇提取脱水 5 min;将切片浸在 0.01 mol·L<sup>-1</sup>的枸橼酸盐缓冲液,微波进行抗原修复 15 min、3%的双氧水孵育 10 min 后加入内源性过氧化物酶,PBS 洗涤后,分别滴加稀释后的 IBA-1 一抗(1:100)和 GFAP 一抗(1:100),孵育后使用 HRP 标记的二抗孵育,DAB 溶液显色,最后经过复染、脱水、透明、封片后显微镜下观察。

### 1.8 免疫荧光技术检测 NeuN 的表达

将大鼠断颈处死后,4%的多聚甲醛固定 24 h,蔗糖梯度脱水后制成 10 μm 的组织切片,将切片

晾干后丙酮固定 30 min, 使用 0.2% Triton100 破膜 20 min, 37 °C 孵育、封闭、加入 NeuN 一抗(1 : 100), 过夜后加入荧光二抗(1 : 100), 避光孵育 2 h 后漂染, 采用 DAPI 染色 5 min, 猝灭后封片。在镜下观察 NruN 阳性细胞。

### 1.9 Western blot 法检测组织中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B 的表达水平

取脑组织用无菌剪剪碎后, 取 0.1 mg 的组织加入 RIPA 裂解液 1 mL, 冰上匀浆后, 裂解 30 min, 3 000 r $\cdot$ min<sup>-1</sup>离心 30 min, 取上清液。BCA 试剂盒进行蛋白定量后, 调整蛋白浓度, 经过 SDS-PAGE 凝胶电泳、转膜、封闭、一抗孵育、二抗孵育、显色等进行条带的吸光度比较。

### 1.10 细胞实验设计

将 BV2 细胞使用 DMEM 高糖培养基培养, 传代后将 BV2 细胞进行氧糖剥夺(oxygen glucose deprivation, OGD)处理, 即使用无糖的 DMEM 培养基在缺氧培养箱(95%氮气+5%二氧化碳)1 h 处理, 然后换成正常的 DMEM 培养基和常规培养箱培养 1 h。将细胞分为对照组、模型组、1-MT 组, 其中对照组为常规培养的 BV2 细胞, 模型组为 OGD 处理的 BV2 细胞, 1-MT 组为使用 10  $\mu$ mol $\cdot$ L<sup>-1</sup>的 1-MT 处理 OGD BV2 细胞 24 h。按“1.9”项下处理方法, 使用 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白, Western blot 法检测小胶质细胞标志物 IBA-1、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 以及 TNF- $\alpha$  的表达水平。

### 1.11 统计学处理

应用 SPSS 20.0 版本进行统计学处理, 计数资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 各组间比较采用方差分析, 两两比较采用 *t* 检验, 神经功能评分的等级资料采用秩和检验。*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 1-MT 对大鼠神经功能的影响

神经功能评分显示, 假手术组大鼠无神经功能的缺损, 模型组和 1-MT 组大鼠出现了不同程度的明显的神经行为障碍, 但 1-MT 大鼠较模型组显著改善, 神经行为评分明显降低, 具有显著性差异(*P* < 0.05)。结果见图 1。

### 2.2 1-MT 对于大鼠脑梗死体积的影响

TTC 染色显示, 假手术组大鼠无明显梗死灶, 而模型组和 1-MT 组的大鼠梗死灶明显。且 1-MT 组相比模型组梗死体积显著降低(*P* < 0.05), 结果见图 2。

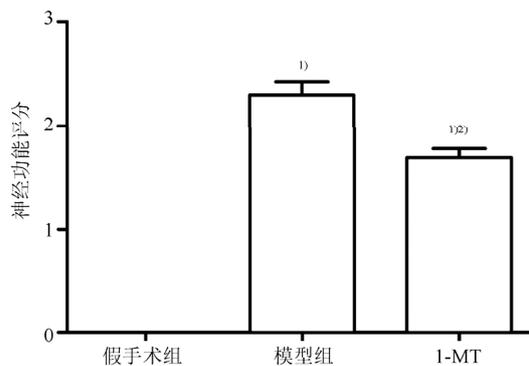


图 1 大鼠神经功能评分的结果(*n*=10)

与假手术组比较, <sup>1)</sup>*P* < 0.05; 与模型组比较, <sup>2)</sup>*P* < 0.05。

Fig. 1 The results of neural function score in rats(*n*=10)

Compared with sham group, <sup>1)</sup>*P* < 0.05; compared with model group, <sup>2)</sup>*P* < 0.05.

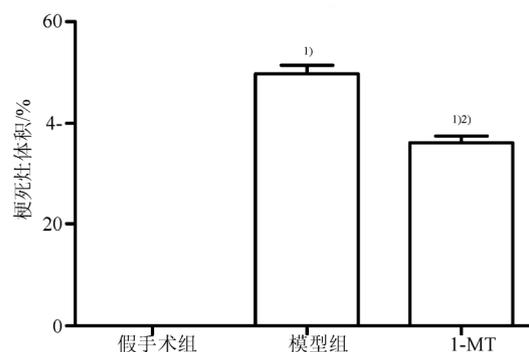


图 2 大鼠脑组织梗死灶体积的比较( $\bar{x} \pm s$ , *n*=10)

与假手术组比较, <sup>1)</sup>*P* < 0.05; 与模型组比较, <sup>2)</sup>*P* < 0.05。

Fig. 2 The comparison of infarct volume in the brain tissue of rats( $\bar{x} \pm s$ , *n*=10)

Compared with sham group, <sup>1)</sup>*P* < 0.05; compared with model group, <sup>2)</sup>*P* < 0.05.

### 2.3 脑组织 HE 染色的结果

HE 染色显示, 假手术组大鼠皮质神经元密集, 细胞质丰富, 形态完整, 而模型组大鼠脑组织中神经细胞排列散乱, 细胞疏松明显的水肿状态, 1-MT 中情况显著优于模型组。结果见图 3。

### 2.4 大鼠脑组织中 IBA-1 和 GFAP 的表达

IBA-1 和 GFAP 为小胶质细胞的特异性蛋白, 可以间接反映小胶质细胞的激活和数量。假手术组大鼠小胶质细胞数量较少, 而模型组小胶质数量显著上升; 1-MT 组相比模型组, 小胶质细胞数量有所下调。结果见图 4~5。

### 2.5 大鼠脑组织中 NeuN 的表达

免疫荧光显示, 假手术组中几乎均为 NeuN 表达, 说明假手术组中神经细胞活性较高, 而模型组中 NeuN 表达显著下调, 说明缺血再灌注后神经细胞凋亡明显, 而 1-MT 组相比模型组情况显著好转。结果见图 6。

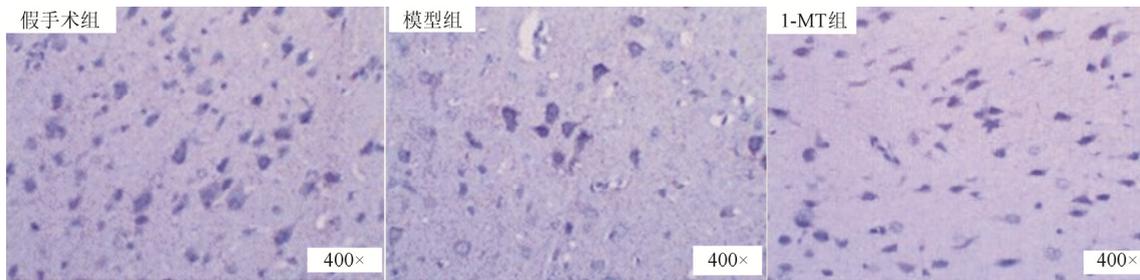


图3 大鼠脑组织 HE 染色结果

Fig. 3 HE staining of brain tissue in rats

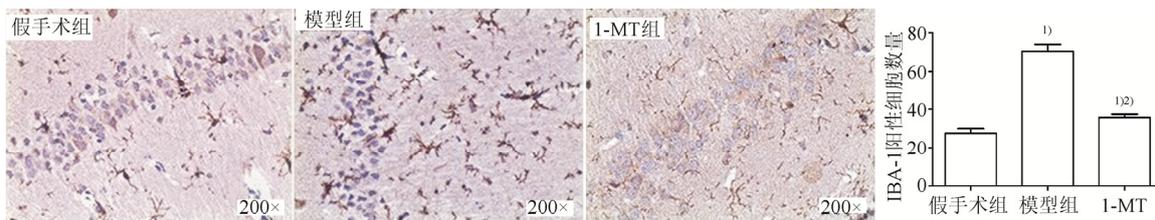


图4 大鼠脑组织 IBA-1 的表达结果及细胞数量统计( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

与假手术组比较, <sup>1)</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>2)</sup> $P < 0.05$ 。

Fig. 4 The expression of IBA-1 in rat brain tissue and the count of cell number( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Compared with sham group, <sup>1)</sup> $P < 0.05$ ; compared with model group, <sup>2)</sup> $P < 0.05$ .

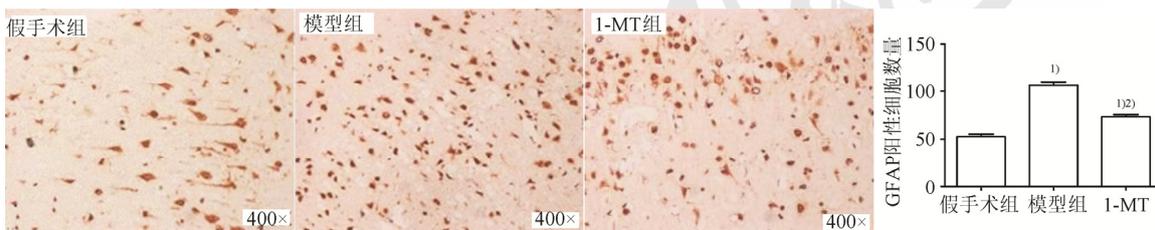


图5 大鼠脑组织 GFAP 的表达结果及细胞数量统计( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

与假手术组比较, <sup>1)</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>2)</sup> $P < 0.05$ 。

Fig. 5 The expression of GFAP in rat brain tissue and the count of cell number( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Compared with sham group, <sup>1)</sup> $P < 0.05$ ; compared with model group, <sup>2)</sup> $P < 0.05$ .

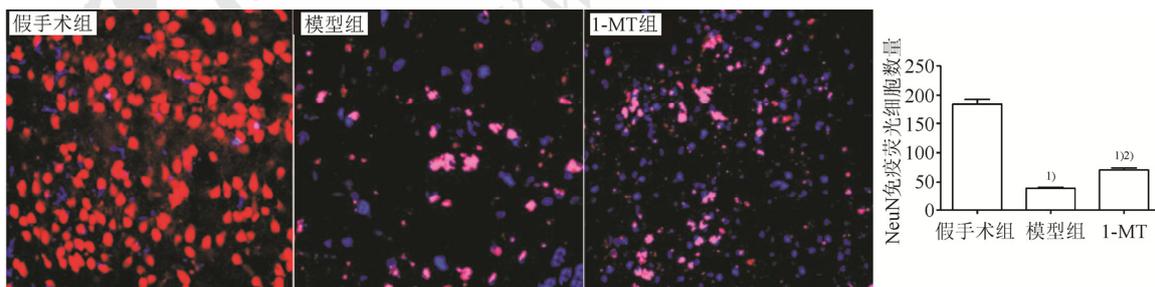


图6 大鼠脑组织中 NeuN 免疫荧光的结果及细胞数量统计( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

与假手术组比较, <sup>1)</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>2)</sup> $P < 0.05$ 。

Fig. 6 The results of NeuN immunofluorescence and number of cells in the brain tissue of rats( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Compared with sham group, <sup>1)</sup> $P < 0.05$ ; compared with model group, <sup>2)</sup> $P < 0.05$ .

## 2.6 大鼠脑组织中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B 的表达水平

假手术组中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B 的表达水平显著低于模型组, 而 1-MT 组中相比模型组显著降低( $P < 0.05$ )。结果见图 7。

## 2.7 BV2 细胞中 IBA-1、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 以及 TNF- $\alpha$ 的表达水平

模型组中 IBA-1、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 以及 TNF- $\alpha$  的表达水平显著高于对照组( $P < 0.05$ ), 说明小胶质细胞在缺血再灌注下可以得到激活并释放一系列

的炎症因子。1-MT 组 IBA-1、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 以及 TNF- $\alpha$  的表达显著低于模型组( $P<0.05$ ),说明 1-MT

可以抑制小胶质细胞的激活,同时抑制炎症因子的释放。结果见图 8。

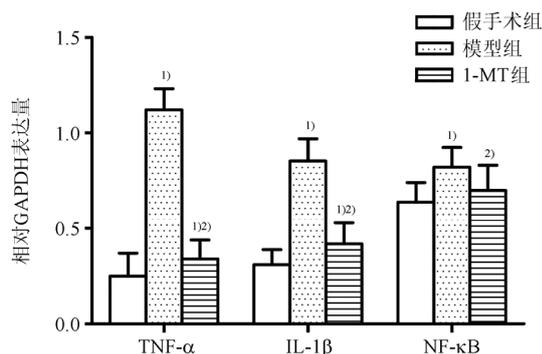
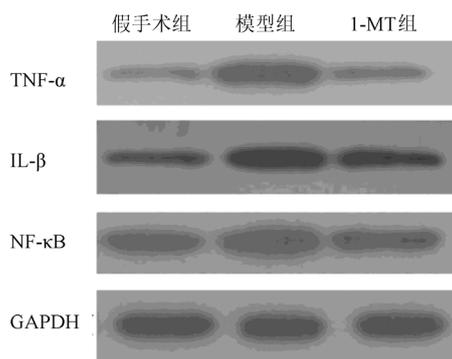


图 7 大鼠脑组织中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B 的表达水平( $\bar{x} \pm s, n=5$ )与假手术组比较, <sup>1)</sup> $P<0.05$ ; 与模型组比较, <sup>2)</sup> $P<0.05$ 。

Fig. 7 The expression level of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B in brain tissue of rats( $\bar{x} \pm s, n=5$ ) Compared with sham group, <sup>1)</sup> $P<0.05$ ; compared with model group, <sup>2)</sup> $P<0.05$ .

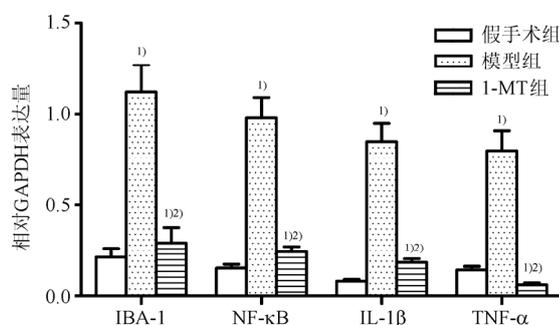
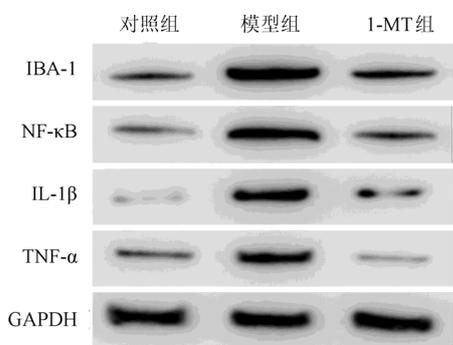


图 8 BV2 细胞中 IBA-1、IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 以及 TNF- $\alpha$  的表达( $\bar{x} \pm s, n=5$ )与对照组比较, <sup>1)</sup> $P<0.05$ ; 与模型组比较, <sup>2)</sup> $P<0.05$ 。

Fig. 8 The expression level of IBA-1, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B in BV2 cells( $\bar{x} \pm s, n=5$ ) Compared with control group, <sup>1)</sup> $P<0.05$ ; compared with model group, <sup>2)</sup> $P<0.05$ .

### 3 讨论

IDO 可以催化细胞内色氨酸反应生成犬尿氨酸,在抗原呈递细胞和多种肿瘤细胞中呈现高表达,IDO 的水平升高使得肿瘤细胞可以逃避免疫杀伤<sup>[5-6]</sup>。所以 IDO 和免疫的调节有着一定的关系。在以往的研究中发现,IDO 抑制剂对于 PTSD 大鼠的神经元凋亡和炎症因子的释放有着明显的抑制作用<sup>[7]</sup>。但是目前机制不明。

缺血性卒中是目前神经系统发病率较高的疾病之一,它的发生可以导致神经细胞的不可逆损伤,还可以导致组织中胶质细胞的变化<sup>[8]</sup>。在神经系统疾病中,越来越多的证据显示胶质细胞对于缺血后的神经功能有着重要的调节作用,在脑缺血缺氧早期,小胶质细胞可以引起炎症反应,促进谷氨酸释放,激活水通道蛋白 4、上调内皮细胞

生长因子表达,释放 NO,从而进一步导致脑水肿脑炎症的发生,而随着缺血性卒中的进展,小胶质细胞可以进一步形成胶质疤痕,以及进一步释放炎症因子和神经毒性分子,从而加重神经元障碍<sup>[9]</sup>。所以在此过程中如何调节小胶质细胞激活及其关键的炎症因子释放,对于缺血后卒中是具有重要意义的。NF- $\kappa$ B 是胶质细胞炎症信号的核心,它的表达增高与下游的 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  具有密切的关系<sup>[10-11]</sup>。本研究发现在大鼠 MCAO 模型和 BV2 细胞 OGD 模型中,缺血缺氧可以导致小胶质细胞的激活,从而提高 IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 以及 TNF- $\alpha$  的表达。

GFAP 和 IBA-1 是小胶质细胞的特异性蛋白,而 NeuN 作为成熟神经元细胞的特异性蛋白,在指示大鼠神经元细胞存活和小胶质细胞活化中具有

重要的意义<sup>[12]</sup>, 在以往的研究中已经证实, 大鼠脑缺血 10 min 后可以观察到海马区 CA1 区中 GFAP 阳性细胞数目增多, 而神经元数量显著减少<sup>[13-15]</sup>。在本研究中也发现 MCAO 大鼠模型中, 脑组织中 GFAP 和 IBA-1 阳性细胞数显著增高, HE 染色结果也显示 MCAO 大鼠神经元凋亡严重。NeuN 免疫荧光显示, 阳性细胞数显著较少。这可以说明缺血再灌注损伤中, 存在小胶质细胞的激活, 而进一步的检测发现, 小胶质细胞的激活伴随着炎症因子 IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 以及 TNF- $\alpha$  的表达水平上调, 这一结果与以往所发现的小胶质细胞激活促进炎症因子释放相一致。而使用 IDO 抑制剂 1-MT 干预后, MCAO 大鼠脑中小胶质细胞的激活明显减少, 病理显示神经细胞凋亡明显好转, 而炎症因子 IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 以及 TNF- $\alpha$  的表达水平也显著下调, 其中炎症因子的表达结果与 BV2 细胞 OGD 模型中结果显示一致。

综上, 本研究发现 IDO 的典型抑制剂 1-MT 可以抑制缺血再灌注大鼠模型中小胶质细胞的激活, 进而抑制其炎症因子的释放, 从而调节大鼠脑组织的损伤。这为 IDO 抑制剂的药理研究提供了支持。

## REFERENCES

- [1] YU Z, LIN L, WANG X. Chapter 24-Pathophysiology of Ischemia-Reperfusion Injury and Hemorrhagic Transformation in the Brain [M]. *Primer on Cerebrovascular Diseases*, 2017: 121-124. DOI: 10.1016/B978-0-12-803058-5.00024-2.
- [2] AHMED A, WANG L L, ABDELMAKSOU S, et al. Minocycline modulates microglia polarization in ischemia-reperfusion model of retinal degeneration and induces neuroprotection [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 14065. Doi: 10.1038/s41598-017-14450-5.
- [3] GRANT R S, NAIF H, ESPINOSA M, et al. IDO induction in IFN-gamma activated astroglia: a role in improving cell viability during oxidative stress [J]. *Redox Rep*, 2000, 5(2/3): 101-104.
- [4] 姜伟. IL-10 对大鼠星形胶质细胞中 IFN- $\gamma$  诱导 IDO 表达调

控机制[D]. 成都: 电子科技大学, 2014.

- [5] YU J, WANG Y, YAN F, et al. Response to comment on "Myeloid-derived suppressor cells suppress antitumor immune responses through IDO expression and correlate with lymph node metastasis in patients with breast cancer" [J]. *J Immunol*, 2013, 190(11): 5341.
- [6] MUNN D H, MELLOR A L. IDO in the tumor microenvironment: Inflammation, counter-regulation, and tolerance [J]. *Trends Immunol*, 2016, 37(3): 193-207.
- [7] YIN L, WANG M Y, DUAN F L, et al. Expression changes of indoleamine 2,3-dioxygenase in the hippocampus of rat with post-traumatic stress disorder [J]. *Chin J Behav Med Brain Sci(中华行为医学与脑科学杂志)*, 2016, 25(6): 510-514.
- [8] KIM J Y, PARK J, JI Y C, et al. Inflammation after ischemic stroke: The role of leukocytes and Glial cells [J]. *Exp Neurol*, 2016, 25(5): 241-251.
- [9] SUN D, KAHLE K T. Dysregulation of diverse ion transport pathways controlling cell volume homeostasis contribute to neuroglial cell injury following ischemic stroke [J]. *Transl Stroke Res*, 2014, 5(1): 1-2.
- [10] HULEIHEL M, FADLON E, ABUELHIJA A, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) induced migration of spermatogonial cells *in vitro* via MEK and NF- $\kappa$ B pathways. [J]. *Fertil Sterility*, 2011, 96(3): 38-47.
- [11] KUZUMAKI N, IKEGAMI D, IMAI S, et al. Enhanced IL-1 $\beta$  production in response to the activation of hippocampal glial cells impairs neurogenesis in aged mice [J]. *Synapse*, 2010, 64(9): 721-728.
- [12] ROMEROSANDOVAL A, CHAI N, NUTILEMCMENEMY N, et al. A comparison of spinal Iba1 and GFAP expression in rodent models of acute and chronic pain [J]. *Brain Research*, 2008, 1219(2): 116.
- [13] GIRBOVAN C, PLAMONDON H. Resveratrol downregulates type-1 glutamate transporter expression and microglia activation in the hippocampus following cerebral ischemia reperfusion in rats [J]. *Brain Research*, 2015, 1608: 203-214.
- [14] PEI Z b. Clinical observation of mouse nerve growth factor combined with acutobin injection on acute cerebral infarction [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2015, 32(12): 1502-1505.
- [15] LI Q Y, ZHANG Z Y, LU Y, et al. Effect of Xueshuantong injection on plasma NSE, S100B, MBP and GFAP concentrations in patients with traumatic cerebral infarction [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2013, 30(5): 482-486.

收稿日期: 2018-02-11

(本文责编: 曹粤锋)