

综述

小胶质细胞在脓毒症相关性脑病中作用的研究进展

龙陆红, 曹文宇, 徐杨, 向宇燕*

南华大学衡阳医学院应用解剖学与生殖医学研究所, 衡阳 421001

摘要: 脓毒症相关性脑病(sepsis-associated encephalopathy, SAE)是指由脓毒症引起的弥漫性脑功能障碍, 其临床主要特征为注意力下降, 定向力障碍, 易激惹, 严重时患者会出现昏睡、昏迷等症状。SAE的发病机制主要包括神经炎症、血脑屏障破坏、脑血管功能障碍以及神经代谢改变, 其中神经炎症是SAE的核心病理过程。小胶质细胞被视为中枢神经系统的重要免疫细胞, 在神经炎症中具有重要作用。本文系统描述了小胶质细胞在SAE发生和发展中扮演的角色, 并详细探讨了小胶质细胞的表型和相关信号通路, 以期明确小胶质细胞在SAE中的作用, 为临床治疗提供理论基础。

关键词: 脓毒症相关性脑病; 脓毒症; 小胶质细胞; 神经炎症

Research progress on the role of microglia in sepsis-associated encephalopathy

LONG Lu-Hong, CAO Wen-Yu, XU Yang, XIANG Yu-Yan*

Reproductive Medicine Application Institute, Hengyang Medical School, University of South China, Hengyang 421001, China

Abstract: Sepsis-associated encephalopathy (SAE) refers to diffuse brain dysfunction caused by sepsis, which is characterized by decreased attention, directional impairment, being prone to irritation, and in severe cases the patient will experience drowsiness and coma. The pathogenesis of SAE mainly includes neuroinflammation, damage of blood-brain barrier, cerebral vascular dysfunction, and neurometabolic changes, among which neuroinflammation is the core pathological process. Microglia are considered to be important immune cells of the central nervous system and play an important role in neuroinflammation. This article systematically describes the role of microglia in the development of SAE, and discusses the phenotype and related signaling pathways of microglia, in order to clarify the role of microglia in SAE and provide a theoretical basis for clinical treatment of SAE.

Key words: sepsis-associated encephalopathy; sepsis; microglia; neuroinflammation

脓毒症相关性脑病 (sepsis-associated encephalopathy, SAE) 是脓毒症患者的中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 并发症, 指大脑在没有直接感染证据的前提下, 因全身感染而引起的弥漫性或多灶性脑功能障碍, 以行为、认知、觉醒和意识改变为特征, 严重时可导致患者死亡^[1]。尽管 SAE 已经引起了人们的广泛关注, 但其致病机理目前尚不明确, 深入研究 SAE 发生和发展的病理过程, 寻找治疗新靶点, 对降低 SAE 的发病率及死亡率, 提高患者的生存质量具有重要意义。

小胶质细胞作为 CNS 的常驻免疫细胞, 在维持 CNS 稳态和神经功能方面起着至关重要的作用^[2]。临床检测脓毒症患者的脑组织发现, 其小胶质细胞标记物 CD68 的表达水平显著增加, 此外, 在脓毒症小鼠模型脑内同样检测到小胶质细胞被大量激活^[3], 这表明小胶质细胞在 SAE 的发生和发展中扮演着重要角色。本文综述了小胶质细胞在 SAE 相关发病机制中的研究进展, 旨在为 SAE 的防治提供重要依据。

1 小胶质细胞与SAE

1.1 小胶质细胞简述

小胶质细胞是1919年被西班牙神经科学家 Piodel Rio-Hortega 首次发现的一种特殊细胞类型, 占人脑细胞的6%~18%, 并在大脑各个区域均有分布, 其中在海马、黑质、嗅端脑和基底神经节中含量丰富, 但在脑干和小脑中较少^[4]。原生小胶质细胞起源于胚胎期的卵黄囊, 在胎儿发育早期迁移到大脑, 并在整个成年生活中始终保持增殖能力。在大脑发育过程中, 小胶质细胞吞噬凋亡细胞, 参与突触发生, 并可分泌多种神经营养因子如胰岛素样生长因子-1 (insulin like growth factor-1, IGF-1)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 和脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 等^[5], 在调控神经发生和神经元存活方面发挥着关键作用。另外, 小胶质细胞对于维持脑内稳态平衡也是必不可少的。在正常生理情况下, 小胶质细胞处于静息态 (M0 表型), 具有多个对称分布的突起, 可以迅速监测微环境变化, 发挥“免疫监视”作用^[6]。然而在病理状态下, 小胶质细胞被迅速激活并伴随转录适应性功能变化, 从分枝状态转变为变形虫状态^[7]。除此之外, 还存在着双极/杆状的过渡状态^[8], 以及其他类型的小胶质细胞, 如肥厚型小胶质细胞、营养不良型 (衰老型) 小胶质细胞、卫星小胶质细胞、gitter 细胞样小胶质细胞和深色小胶质细胞等^[9]。

1.2 小胶质细胞在SAE中的表型变化

当病理性损害因子出现时, 小胶质细胞表面的损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs) 和病原体相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 可与损害因子结合, 诱导小胶质细胞迅速激活^[10]。在脓毒症期间, 已经证实细菌成分是经过 Toll 样受体 (TLR-2、TLR-4 和 TLR-9) 和核苷酸结合寡聚化结构域-2 (nucleotide-binding oligomerization domain 2, NOD2) 激活小胶质细胞, 并且外周产生的细胞因子 [特别是肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α), 白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 和白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)] 也通过受损的血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB) 传递信号并激活小胶质细胞^[11]。通常根据两种宽泛状态来定义活化的小胶质细胞: 即 M1 经典激活表型和 M2 替代激活表型。经典激活型 (M1 极化) 小胶质细胞由脂多糖 (lipo-

polysaccharide, LPS)、干扰素 γ (interferon- γ , INF- γ) 或 β -淀粉样蛋白诱发, 可引起转录因子核因子- κ B (nuclear factor κ -B, NF- κ B) 和 STAT1 激活, 导致大量促炎因子, 如 TNF- α 、白细胞介素 (IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-17, IL-18, IL-23)、趋化因子 [chemokine (C-C motif) ligand 12/CXC chemokine ligand-10, CCL12/CXCL10]、活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 和活性氮 (reactive nitrogen species, RNS) 以及诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 和环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)^[12] 等促炎介质的释放, 短期激活可杀灭病原体, 但 M1 的持续激活会严重影响神经系统疾病的治疗和预后。替代激活型 (M2 极化) 小胶质细胞则由 IL-4/IL-13 触发, 伴随着 JAK1/3-STAT6 通路激活, 分泌大量的抗炎细胞因子如 IL-4, IL-10, IL-13 及 TGF- β , 拮抗 M1 的促炎反应, 通过促进组织修复和再生发挥神经保护作用^[13]。M2 表型主要包含 M2a、M2b 和 M2c 三种激活状态, 其中 M2a 被认为是抗炎、吞噬和伤口愈合的相关表型, M2b 小胶质细胞通常为炎症调节表型, M2c 表型则在基质重塑、组织修复和免疫调节中发挥重要作用^[14]。除了 M1、M2 这两种极化表型外, 近期研究人员^[15]发现在创伤性脑损伤 (traumatic brain injury, TBI) 后会再生出一种新型的小胶质细胞, 该细胞比原始小胶质细胞拥有更长且分支更多的突起, 对大脑认知功能损伤具有强大的修复作用, 但不同于其他表型的小胶质细胞, 这种再生的小胶质细胞具有严格的窗口期。M1 型和 M2 型小胶质细胞并不是两种不同的活化状态, 而是代表各种活化表型的连续谱, 因此会有中间表型的存在。例如, 在 TBI 模型中发现一部分 TGF- β (M2 标志物) 阳性小胶质细胞也共表达 M1 标记物 CD16/32^[16], 同时在 rd1 视网膜变性小鼠模型 (经典的遗传性视网膜变性模型) 中也找到了一种称为“M1 $\frac{1}{2}$ ”的中间极化状态^[17]。因此, 过度简化的 M1/M2 范式并不能准确描述小胶质细胞表型的复杂性, 但本综述引用小胶质细胞广泛的 M1/M2 表型特征是为了更好地说明其促炎神经毒性和抗炎有益性。

1.3 SAE相关的小胶质细胞表型异质性

多年来, 疾病条件下小胶质细胞表型的表征一直都是研究重点, 许多研究结果表明小胶质细胞是异质性和动态的, 因此有效评估小胶质细胞表型的异质性至关重要。值得注意的是, 传统的小胶质细

胞单细胞分析技术,如流式细胞术、原位杂交或免疫组织化学,仅限于根据一些细胞表面标志物对细胞群进行分类,可能会掩盖其他小胶质细胞亚型的存在,极大地阻碍了全面概述小胶质细胞异质性和复杂性。但是随着单细胞 RNA 测序 (single-cell RNA sequencing, scRNA-seq) 和空间质谱分析 (cytometry by time-of-flight mass spectrometry, CyTOF) 技术的出现,使得我们能够使用高通量数据集分析单细胞,并根据其转录特征定义小胶质细胞簇,由此极大地丰富了我们对于体内平衡和各种疾病条件下小胶质细胞的理解^[18]。在脓毒症模型中,单细胞转录组学研究也证实了小胶质细胞存在明显的转录异质性。Sousa 等人^[19]发现, LPS 刺激后小胶质细胞内稳态基因 (*Olfml3*、*Fcrl3*、*Tmem119*、*lr34*、*P2ry12* 和 *Mef2c*)、吞噬基因 (如 *Tyrobp* 和 *Trem2*) 和抗炎基因 (如 *Mrc1* 和 *Arg1*) 的表达显著降低,而经典促炎基因 (如 *Il1b*、*Tnf* 和 *Ccl2*) 的表达显著增加。通过同样的方法,Shemer 等人^[20]也得出了类似结论,同时他们的研究也观察到神经退行性疾病中存在某些基因上调。这些研究表明,在 SAE 中,被激活的小胶质细胞被认为是一个异质细胞群,并且这种异质性以典型的 M1 样小胶质细胞为主,可能伴有 M2 样小胶质细胞和神经退行性小胶质细胞。

1.4 小胶质细胞与其他细胞类型之间的串扰

星形胶质细胞是 CNS 中最丰富的神经胶质细胞,为神经元提供营养和代谢支持,调节突触活动,同时控制神经营养因子分泌。小胶质细胞与星形胶质细胞之间的分子对话研究一直是神经胶质细胞研究的前沿课题,新的证据表明,星形胶质细胞与小胶质细胞通过复杂的细胞-细胞之间相互作用控制发育、炎症、代谢和神经元活动,并且在 CNS 损伤中,小胶质细胞与星形胶质细胞的串扰可以相互调节并决定彼此的命运^[21]。Liddelow 等人^[22]研究表明, LPS 激活的小胶质细胞分泌 IL-1 α 、TNF- α 和补体成分亚基 1q (complement component 1q, C1q),诱导星形胶质细胞表型从神经保护型转变为神经毒性特征 (A1 极化星形胶质细胞)。与经典星形胶质细胞相比, A1 星形胶质细胞失去了促进神经元存活和组织修复的能力,并有助于促进小胶质细胞活化相关的炎症反应。IL-33 是大脑中由星形胶质细胞和少突胶质细胞释放的细胞因子, Cao 等人^[23]证明脑室内注射 LPS 会引起 IL-33 mRNA 和蛋白质水平表达增加,而来源于星形胶质细胞的 IL-33 能

够通过促进小胶质细胞活化并激活脑内皮细胞,介导白细胞募集来增强先天免疫反应,此外体外研究也表明用 LPS 和 IL-33 处理的小鼠小胶质细胞系 BV2 细胞可以产生较高的 TNF- α 和 IL-6。

除了星形胶质细胞,小胶质细胞和内皮细胞之间也存在重要的串扰。Wang 等人^[24]发现内皮细胞活化可引起白细胞黏附增加,而白细胞黏附是导致内皮细胞上趋化因子 CX3CL1 表达升高的关键因素,能够促进脓毒症期间小胶质细胞的激活并引导其往病灶区域移动。此外,内皮细胞上的 TLR-4 能调节 CXCL10、TNF- α 和 IL-1 β 的分泌,因而成为小胶质细胞活化的重要诱导剂^[25]。

小胶质细胞与神经元之间也存在着相互作用,小胶质细胞的激活状态和表型直接受到小胶质细胞-神经元相互作用的影响。事实上,神经元来源的可溶性因子会影响健康大脑中小胶质细胞的激活以及神经炎症和神经变性,比如血清素、多巴胺或 GABA 等神经递质可以使小胶质细胞失活,而神经递质谷氨酸却能导致小胶质细胞活化^[26]。另外神经元还分泌几种可溶性因子,包括 TGF- β 、CD22、ATP、UDP、NO、甘氨酸、谷氨酸、神经营养因子 -3 (neurotrophin-3, NT-3)、BDNF 和 IL-34^[27],这些因子被小胶质细胞上的受体接收后,能够调节小胶质细胞的增殖、分化/激活、运动性、趋化性、吞噬能力以及促炎/抗炎分子的产生。此外,在损伤或疾病期间,小胶质细胞对损伤的反应也是由神经元和神经胶质细胞之间复杂的串扰所介导的。因此总体而言,小胶质细胞-神经元相互作用模式对于小胶质细胞和神经元的功能活动至关重要。

2 小胶质细胞在SAE发病机制中的作用

研究证实,神经炎症、脑灌注减少、BBB 破坏、内皮损伤、神经递质功能障碍是 SAE 的主要病理表现。小胶质细胞参与 SAE 的病理过程,与 SAE 的发生和发展密切相关。

2.1 神经炎症

神经炎症是 CNS 中由小胶质细胞和星形胶质细胞激活的免疫应答,通常在 CNS 损伤、感染、毒素的刺激下或在自身免疫的作用下出现。神经炎症在许多疾病的发展中起着至关重要的作用,包括肿瘤、感染性疾病、自身免疫性疾病和神经退行性疾病,另外我们研究发现小胶质细胞介导的神经炎症在神经精神类疾病中也发挥着关键作用^[28, 29]。尸

检报告指出小胶质细胞特异性标志物在脓毒症患者脑内高度表达, 表明神经炎症可能有助于 SAE 的发展^[30]。

在脓毒症期间, 外周炎症因子可通过神经、体液等多种方式向 CNS 转运, 主要包括跨细胞扩散、载体蛋白转运、受体介导的胞吞和转胞吞作用等^[31]。当这些炎症因子进入 CNS 后, 小胶质细胞被迅速激活, 进一步启动炎症信号级联反应, 上调炎症介质转录如 TNF- α 、IL-1 β 和单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein 1, MCP-1) 等^[32], 由此导致突触损伤, 神经元死亡, 同时再生神经元的数量也会受到抑制。IL-1 β 通过增加前列腺素 E2 的生成, 促进突触前谷氨酸释放, 并激活突触后的 *N*-甲基-D-天冬氨酸 (*N*-methyl-D-aspartic acid, NMDA) 受体, 从而诱发突触功能障碍。而当 NF- κ B 通路被抑制时, TNF 则会激活 TNF 受体 1 并募集 caspase-8, 引起神经元凋亡。高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box-1 protein, HMGB1) 是一种存在于真核细胞核中的非组蛋白 DNA 结合蛋白, 已被确定为脓毒症炎症反应的关键参与者。在实验脓毒症模型和脓毒症患者中, 循环中 HMGB1 的水平持续升高, 并且 HMGB1 浓度与炎症和疾病的严重程度呈正相关^[33]。此外, 许多研究证实 HMGB1 是介导 SAE 小胶质细胞活化的关键因子, Yin 等人^[34]发现在 SAE 动物模型中, HMGB1 介导小胶质细胞激活, 进而诱导海马体突触消除异常和神经元功能障碍, 最终导致 SAE 小鼠认知障碍。有研究报道, 脑室内注射米诺环素可以阻断小胶质细胞的激活, 减轻脓毒症患者由神经炎症反应介导的长期认知功能障碍^[35]。

2.2 氧化应激

在脓毒症发病过程中, 氧化应激是造成患者脑部功能障碍的重要因素, 而氧化应激主要表现为 ROS 或自由基的过量产生^[36]。其中线粒体是 ROS 的重要来源, 脓毒症时, 小胶质细胞识别 DAMPs 后, 激活分泌促炎细胞因子 IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 等以及 NO, 进而诱导线粒体功能障碍, 引起 ROS 大量产生。此外, 线粒体还是脑部重要的缓冲系统, 线粒体功能改变可能直接导致神经元 Ca²⁺ 稳态被破坏, 引起神经元死亡。大脑功能几乎完全依赖于动脉循环的葡萄糖和氧气供应, 而由于氧化应激, 红细胞膜肿胀破裂, 则会导致脑组织能量供应不足, 损害大脑相关功能^[37]。并且不受控制的 ROS 也会对细胞造

成不可逆的损害, 引发神经元凋亡级联反应, 进一步加重脑损伤^[38]。因此, 我们推测小胶质细胞介导的神经炎症在 SAE 中起着重要作用, 早期识别并预防小胶质细胞激活是治疗 SAE 的关键手段。

2.3 脑缺血和灌注的改变

与其他器官相比, 大脑中的持续氧气供应更为重要, 因为脑组织需要消耗人体 20% 以上的供氧量。微循环灌注则是负责供氧的重要途径, 因此微循环改变可能是引发脑部功能障碍的关键因素, 正常的微循环对维持 CNS 功能至关重要。然而, 在脓毒症休克死亡患者的尸检中却观察到了弥漫性脑缺血病变^[39], 这提示脑循环受损可能与 SAE 的发生存在关联。

临床研究表明, 脓毒症患者的脑血管自动调节功能明显受损, 这将造成脑血流量灌注不足, 从而引发级联性脑缺血, 也是大脑进一步损伤的重要原因。而更重要的是, 小胶质细胞激活是脑缺血后最早的事件之一, 并且已有大量研究证实了小胶质细胞在脑缺血再灌注中的关键地位, 对于疾病后续的发展或转归都具有重要影响。小胶质细胞首先被炎症细胞因子、碎片或死细胞释放的分子触发激活, 接着分化为 M1 和 M2 表型, M1 小胶质细胞表现出促炎特征, 释放细胞因子, 并将星形胶质细胞极化为神经毒性表型, 加剧炎症反应。M2 小胶质细胞则释放抗炎细胞因子, 维持 BBB 完整性, 并介导少突胶质细胞祖细胞 (oligodendrocyte precursor cell, OPC) 向 NG2 细胞分化, 增加成熟少突胶质细胞的生成, 从而促进脑缺血后的损伤修复^[40]。但是 M2 小胶质细胞仅在缺血早期发挥抗炎作用, 而在中期逐渐从 M2 型转变为 M1 型小胶质细胞^[41]。因此, 对 SAE 中不同活化状态的小胶质细胞进行深入探讨, 有望为其临床防治提供新策略。

2.4 BBB变化

磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 观察发现 SAE 患者出现血管源性水肿和高强度白质, 表明脓毒症期间 BBB 被破坏, 其通透性增加^[42]。BBB 的主要结构包括微血管内皮细胞、紧密连接蛋白、星形胶质细胞终足、周细胞和毛细血管基底膜^[43]。在正常的生理情况下, BBB 主要充当物理屏障, 选择性地阻止某些分子由血液进入脑组织, 因而可减少或避免血流中各种毒性物质对大脑的损伤, 维持脑内环境的基本稳态。因此, BBB 完整性对维持 CNS 功能稳定具有重要的生物学意义。

在脓毒症发生过程中,全身炎症反应导致 BBB 损伤,大量炎症因子进入大脑激活小胶质细胞。M1 小胶质细胞分泌产生的促炎因子(如 IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , CCL2)和 ROS 能够激活内皮细胞,增加内皮通透性,进而破坏 BBB 结构,并且 ROS 释放增加也会损害 BBB 的大分子,导致线粒体功能障碍并激活基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase 9, MMP9),损伤细胞外基质^[44]。另外,血管周围的小胶质细胞对内皮细胞有明显的吞噬作用,将会引起内皮损伤及 BBB 的进一步崩解。IL-1 α 是激活内皮细胞诱导 CXCL1 和 IL-6 表达的重要介质,能够诱导星形胶质细胞中水通道蛋白 4 的表达,导致 BBB 功能恶化和脑水肿^[45]。而小胶质细胞衍生的 TNF- α 可与 TNF 受体 1 结合进而诱导内皮细胞坏死性凋亡^[46]。另外, TNF- α 也会诱导 MMP9 表达,由此降低内皮细胞中胶原蛋白 IV 的表达,使 BBB 的通透性显著增高^[47],同时 IL-1 β 、IFN- γ 和 IL-6 上调细胞间黏附分子 1 和血管黏附分子 1 的表达,促进外周免疫细胞浸润。M2 小胶质细胞则通过 IL-4、IL-10 和 TGF- β 的分泌以及免疫细胞的吞噬达到减轻炎症反应,促进炎症消散的作用^[48]。因为 IL-4 和 IL-10 会限制 IFN- γ 、TNF- α 和 IL-1 β 的表达,并同时抑制 NF- κ B 的活化,从而减少大脑中促炎因子的释放,减轻脑部功能损害^[49]。此外,IL-10 和 TGF- β 能够直接保护 BBB 通透性不被破坏,IL-10 下调 STAT3 途径中的 caspase-3,减弱内皮细胞凋亡^[50],TGF- β 则抑制 MMP 的活性,减少细胞外基质降解。综上,脓毒症诱导的 BBB 通透性增加可能是 SAE 发病的重要因素,而小胶质细胞激活与 BBB 破坏之间存在着重要联系,以此为靶点可能是治疗 SAE 的创新方法。

2.5 补体系统

补体系统是先天免疫系统的关键环节,在大脑功能稳态的维持中发挥着重要作用。研究表明,小胶质细胞、星形胶质细胞,甚至神经元在一定条件下都是补体蛋白的主要来源^[51]。在多种微生物诱导的脓毒症模型中,补体及补体产物都具有强大的促炎和促血栓特性,将会导致脓毒症小鼠细胞损伤和多器官功能障碍。因此,补体过度激活是诱发 SAE 的重要因素之一,抑制其激活可能是 SAE 治疗的潜在靶点。在啮齿动物盲肠结扎穿孔术(cecal ligation and puncture, CLP)脓毒症期间,应用 C5a 中和抗体能够显著减少器官功能障碍和 BBB 损伤,小鼠肺

球菌败血症也得到了明显改善^[52]。而有研究证实,补体 C5a 在脓毒症患者的脑小胶质细胞中表达上调^[53]。同样, C3 作为补体系统中的另一重要成员,与脓毒症所致的 BBB 损伤有着密切联系。在 LPS 诱导的脓毒症小鼠模型中发现,海马小胶质细胞中 C3a 受体的表达显著升高,而 C3 和 C3a 受体的相互作用会进一步诱导小胶质细胞活化^[54],导致炎症细胞因子和趋化因子的大量合成与释放,从而影响 BBB 的通透性,导致脑水肿并加速 SAE 进程。

2.6 神经递质改变

脓毒症期间,多巴胺能、 β -肾上腺素能、GABA 受体以及胆碱能神经系统会出现一定程度的损伤,而神经递质通路的变化则被视为 SAE 的标志,与谵妄密切相关^[55]。其中多巴胺能神经与胆碱能神经之间的比例失衡是造成认知障碍和大脑功能损害的重要原因^[56]。谷氨酸是脑中最丰富的兴奋性神经递质,可以调控神经元的兴奋性及突触传导,是维持神经系统功能正常的重要物质,但其蓄积则会引起神经元兴奋性损伤^[57]。体外研究表明,活化的小胶质细胞获得 M1 表型,然后在细胞外空间产生过多的谷氨酸,导致对神经元回路和认知障碍的兴奋毒性加剧^[58]。其中小胶质细胞主要通过 3 种机制改变神经递质稳态:①兴奋毒素的释放,包括谷氨酸,喹啉酸盐, D-丝氨酸和 ATP^[59];②谷氨酸摄取紊乱,主要通过星形胶质细胞进行,引起谷氨酸在胞外大量堆积;③改变星形胶质细胞的递质释放(包括谷氨酸)或突触传递^[60],并且研究表明,在脓毒症的动物实验中,抑制谷氨酸的大量释放可以减少认知缺陷并增加脓毒症实验动物的存活率^[61]。由此可见,深入探讨神经递质与 SAE 之间的相关联系,对寻找新的干预靶点,改善脓毒症患者的预后及生活质量具有重要意义。

2.7 内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)

内质网是存在于所有真核细胞中的重要细胞器,它主要通过调控 Ca²⁺ 储存和蛋白质的合成与修饰,进而参与细胞功能的执行。但是,当机体出现蛋白质合成超过负荷、自噬缺陷、营养缺乏或过剩、炎症、氧化应激等刺激时,会导致内质网功能紊乱,使大量不正确折叠的蛋白质在内质网中堆积,引起 ERS。一旦出现 ERS 反应时,机体可以通过未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)来保证细胞功能的正常发挥。UPR 是机体在进化过程中形成的通过激活蛋白激酶 R 样内质网激酶(protein

kinase R-like endoplasmic reticulum kinase, PERK)、肌醇需求酶 1 α (inositol-requiring enzyme 1 α , IRE1 α) 和激活转录因子 6 (activating transcription factor 6, ATF6) 以促进下游靶基因的表达, 从而恢复内质网的蛋白质折叠能力^[62]。最近一项研究表明, 脓毒症患者血清中 ERS 激活标志物 CHOP 和 GRP78 的蛋白质水平迅速持续增加^[63], 也有研究发现脓毒症显著上调了 ERS 相关蛋白 PERK、p-eIF2 α 以及 CHOP 的表达水平^[64], 并且在我们课题组研究中发现, 阻断 LPS 刺激引起的 ERS 能够有效地改善脓毒症预后^[65], 由此表明 ERS 在脓毒症的发生和发展中发挥重要作用。而活化的小胶质细胞会释放促炎细胞因子, 加重内质网中未折叠或错误折叠蛋白质的积累, 从而促进 ERS, 同时 ERS 可激活损伤细胞的炎症信号, 进而加强炎症反应, 与神经炎症形成正反馈, 引起继发性损伤。近期 Yin 等人^[66]研究发现在 LPS 诱导的 SAE 小鼠中, 过度激活的小胶质细胞中 ERS 相关蛋白 PERK/CHOP 表达显著升高, 而白藜芦醇糖苷能够抑制过度激活的小胶质细胞, 以此缓解了 LPS 诱导的小鼠认知功能障碍, 这提示小胶质细胞介导的 ERS 可能是临床治疗脓毒症的潜在新靶点。

2.8 炎症小体激活

目前认为, 脓毒症是一个复杂且动态的过程, 而宿主免疫反应失调是脓毒症的重要致病机制。炎症小体在 2002 年首次被提出, 它是多种蛋白质组成的复合体, 在骨髓细胞中产生, 是天然免疫系统的重要组成部分^[67]。炎症小体能够在感知外界病原体或损伤后, 传递信号给免疫系统, 启动炎症, 进而维持人体内环境稳态。炎症小体是由核苷酸结合寡聚化结构域样受体 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor, NLR)、黑色素瘤缺乏因子 2 样受体 (absent in melanoma 2-like receptor, ALR) 或 Pyrin 组装, 可以直接或间接通过含有半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶募集结构域 (caspase recruitment domain, CARD) 的接头蛋白——凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing caspase recruitment domain, ASC) 激活 caspase-1, 诱导细胞焦亡^[68]。已发现的炎症小体有多种, 包括 NLRP1 炎症小体、NLRP3 炎症小体、NLRC4 炎症小体和 AIM2 炎症小体等, 其中 NLRP3 是 CNS 中含量最高的炎性小体, 也是神经系统疾病中小胶质细胞活化和神经炎症的关键因素之一^[69]。NLRP3

炎症小体主要包括 N 端热蛋白结构域 (pyrin domain, PYD)、中间的 NACH 结构域 (NOD) 和 C 端富含亮氨酸的重复结构域 (leucine-rich repeat, LRR) 3 个部分^[70]。NLRP3 与自噬、细胞凋亡和焦亡密切相关, 当受到激动剂 (如 ROS 压力、细菌 mRNA、微生物毒素、 β -淀粉样蛋白、 α -突触核蛋白、代谢产物饱和脂肪酸等) 刺激时, NLRP3 炎症小体激活, 促使 pro-caspase-1 发生水解, 产生具有酶活性的 caspase-1, 从而促进 IL-1 β 、IL-18 的成熟与释放^[71]。

在脓毒症的急性期, 单核细胞、中性粒细胞中都发现了 NLRP3 炎症小体的激活, 最近 Cui 等人^[72]也报道在 25 例脓毒症患者的中性粒细胞和单核细胞中检测到了 ASC 斑点形成, 并伴随促炎细胞因子的释放。NLRP3 炎症小体在脓毒症的免疫反应中起重要作用, NLRP3 炎症小体激活在脓毒症中的保护作用已在小鼠中得到证实, 研究表明 NLRP3 或 caspase-1 基因敲除小鼠更容易感染病菌死亡^[73]。Guo 等人^[74]在 CLP 小鼠模型中证明 IL-1 β 介导中性粒细胞向炎症组织募集和免疫细胞 (包括树突状细胞和单核细胞) 激活, 而 NLRP3 炎症小体激活可以增加 IL-1 β 的分泌。但是实验研究也证实, NLRP3 炎症小体激活在脓毒症中可能发挥有害作用, 因为抑制 NLRP3 炎症小体对脓毒症小鼠的炎症控制和寿命延长显示出了极大益处。Lee 等^[75]利用 CLP 小鼠模型证实 NLRP3 基因敲除小鼠比野生型小鼠对脓毒症的抵抗力更强, Jin 等人也发现给予 MCC950 (一种 NLRP3 抑制剂) 治疗对 CLP 小鼠有明显的积极作用^[76]。另外 NLRP3 炎症小体激活会介导小鼠相关脏器的衰竭, 比如用 NLRP3 抑制剂治疗的脓毒症小鼠会出现更少的器官损伤, 如急性肾损伤、SAE 等^[77, 78], 并且研究也证明 NLRP3 激活可能驱动脓毒症患者出现严重的弥散性血管内凝血^[79]。因此, 虽然 NLRP3 炎症小体的适度激活对脓毒症有保护作用, 但过度焦亡会引起炎症失调, 导致脓毒症急性期多器官衰竭和死亡。此外, 一些证据表明, NLRP3 炎症小体可能在脓毒症损伤后耗竭, 导致先天和适应性免疫系统的免疫功能受损^[80], 这需要进行进一步实验研究来更准确地解读其在脓毒症中的影响。

3 小胶质细胞参与 SAE 的信号通路

3.1 PI3K-AKT 信号通路

PI3K-AKT 信号通路是一种高度保守的细胞内

通路,存在于所有真核细胞中,该通路能够协调生长、运动和新陈代谢,并参与免疫系统中的防御机制^[81]。PI3K 是一类细胞内脂质激酶,可转导来自细胞表面受体的信号,根据其结构和底物主要分为三类(I~III)^[82]。AKT 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,是 PI3K-AKT 信号通路的核心,主要包括 3 种亚型:AKT1、AKT2 和 AKT3^[83]。AKT1 广泛分布于身体的所有组织中,主要参与细胞生长、增殖和血管生成^[84]。AKT2 则主要分布于哺乳动物骨骼肌和脂肪组织中,介导细胞生长、增殖及葡萄糖稳态。而人们对 AKT3 知之甚少,但它对大脑发育和恶性胶质瘤细胞的存活至关重要^[85]。

越来越多的研究证明,PI3K-AKT 是调控神经系统功能的关键信号通路。在大脑中,AKT 的活性会影响神经元发育和神经胶质细胞活动,并且 PI3K-AKT 信号的异常转导也与各种疾病有关,包括癌症、神经退行性病变和神经炎症性疾病^[86]。此外,最近研究证实,PI3K-AKT 信号通路在脓毒症的发病机制中发挥正向调控作用,该信号通路不仅抑制细胞凋亡,而且抑制炎症反应以提高脓毒症患者存活率^[87]。在脓毒症 CLP 模型中,LPS 组中 p-PI3K、p-AKT 和 p-mTOR 蛋白的表达水平显著降低,而磷酸化对于 PI3K 和 AKT 的活化至关重要^[88],Shang 等人^[89]也证实 PI3K 抑制剂可以逆转脓毒症诱导的神经元损伤。研究发现,PI3K-AKT 信号通路可调节小胶质细胞的功能,而小胶质细胞也影响 PI3K-AKT 的信号转导,例如用抗炎细胞因子 TGF- β 刺激小鼠 BV-2 小胶质细胞可减少 PI3K-AKT 驱动的 NO 产生并改善细胞存活率,而用神经毒性斑块却可刺激原发性新生小鼠小胶质细胞和 Ra3 小胶质细胞系中的 PI3K-AKT 信号转导,并且许多激活 PI3K-AKT 通路的关键调节受体都由小胶质细胞表达^[90]。同样,PI3K-AKT 信号通路被认为是小胶质细胞活性的中枢调节因子,响应包括 LPS 和炎症细胞因子在内的外在刺激,以此活化或抑制小胶质细胞^[81]。然而,尽管已知 PI3K-AKT 通路在 SAE 和小胶质细胞中的重要作用,但 PI3K-AKT 通路是否是通过调控小胶质细胞功能在 SAE 中发挥关键作用仍然未知,需要进一步的实验研究来更准确地解读。

3.2 TLR-4/NF- κ B 信号通路

TLR 是机体对病原菌成分进行检测的模式识别受体,TLR 家族共有 13 个成员,其中 TLR-4 在大

脑的小胶质细胞、星形胶质细胞以及巨噬细胞中表达,并可以被 LPS 激活。NF- κ B 是免疫发育、免疫反应以及炎症的关键调节因子,由 TLR 触发^[91]。而大量文献报道称,TLR-4/NF- κ B 信号通路是一条可调控炎症、细胞凋亡、细胞黏附、应激及免疫的经典途径,并具有大量靶基因。研究已经证实,在脓毒症炎症反应中,内毒素是最主要的诱发因素,而 TLR 则是 LPS 信号转导的重要受体,它可以通过触发 PAMPs 或 DAMPs 激活 TLR-4/NF- κ B 经典信号通路^[92],并且目前研究表明,TLR-4 缺乏能够显著改善脓毒症小鼠的存活和免疫功能障碍^[93]。另外,在小胶质细胞中,TLR-4/NF- κ B 是一种传统的转录因子,参与小胶质细胞活化,被激活后还能够调节促炎细胞 M1 型小胶质细胞的大多数表达特征,并且是调节小胶质细胞中 M1/M2 平衡的关键介质^[94]。综上所述,TLR-4/NF- κ B 信号通路与脓毒症病理生理、小胶质细胞激活有关,但具体机制需要进一步阐明。

3.3 JAK-STAT 信号通路

JAK-STAT 信号通路已经被公认为是介导先天性和适应性免疫的最重要通路之一,参与大多数病理状况。JAK-STAT 信号通路包括细胞表面受体 JAK 和两个信号转导器以及 STAT 蛋白^[95]。JAK 家族主要有 4 个成员:JAK1, JAK2, JAK3 和 TYK2,每个成员有超过 1 000 个氨基酸残基,而细胞质中的 STAT 家族则是 JAK 的下游靶标,由 7 个成员组成,分别为 STAT2, STAT3, STAT4, STAT5, STAT5a, STAT6b 和 STAT11。JAK-STAT 是一条受多种细胞因子调控的复杂信号转导途径,在细胞增殖和细胞死亡方面发挥着关键作用^[96]。并且已有报道证实 JAK-STAT 信号通路能够影响 CLP 所致的脓毒症大鼠多器官功能障碍过程,是参与脓毒症的主要信号通路之一。在脓毒症时,JAK-STAT 是许多受体参与免疫反应的主要途径:这些受体包括粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)、巨噬细胞炎症蛋白 2 (macrophage inflammatory protein 2, MIP-2)、白介素(IL-4、IL-6、IL-10、IL-12 和 IL-13)以及干扰素(IFN- α 、IFN- β 和 IFN- γ)等的受体^[97]。更重要的是,体外研究证明 JAK-STAT 信号通路是启动小胶质细胞激活并诱导其促炎基因表达的主要途径,并且 JAK2-STAT3 通路作为神经炎症的正向调节因子,可调节小胶质细胞的活化表型并在神经炎症中发挥关键作用。例如近期研究^[98]

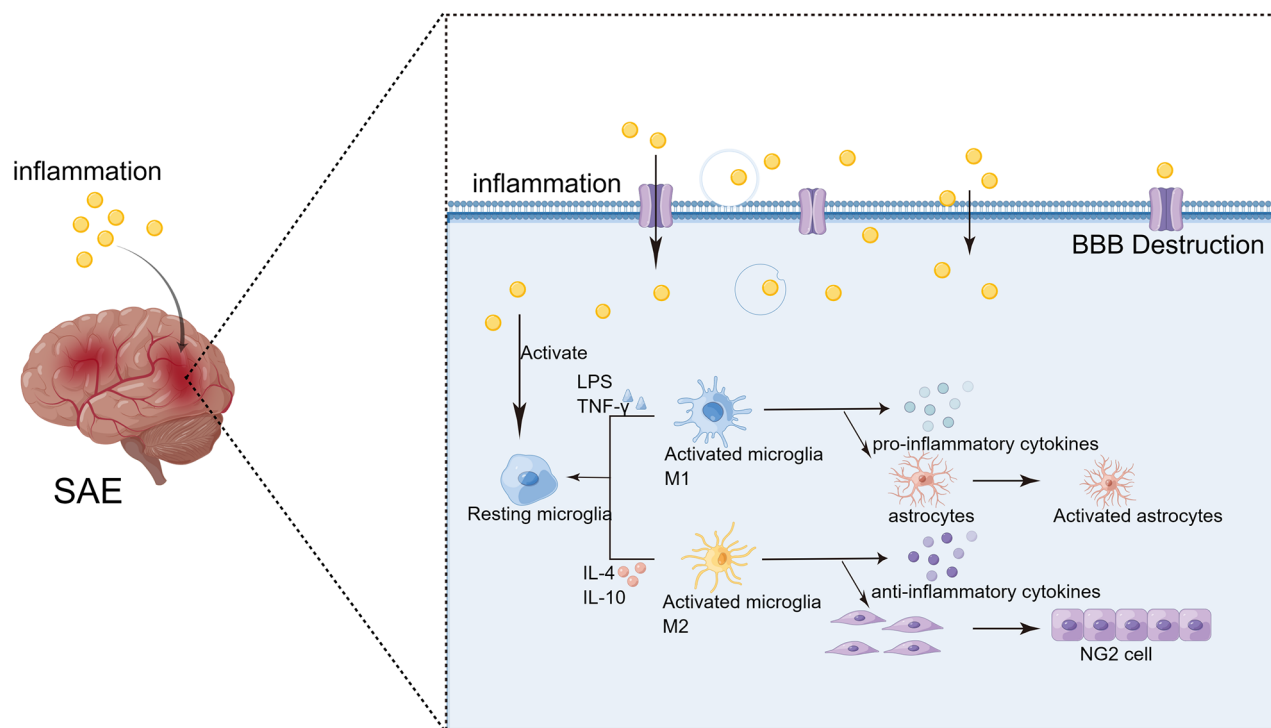


图 1. 小胶质细胞在脓毒症相关性脑病发病机制中的关键作用(本图由Figdraw绘制)

Fig. 1. The key role of microglia in the pathogenesis of sepsis-associated encephalopathy (SAE). During sepsis, peripheral inflammatory factors enter the central nervous system by direct diffusion, carrier protein transport, receptor-mediated cytotaxis, and transcytosis and directly affect the blood-brain barrier (BBB), which causes an increase in BBB permeability, thereby disrupting BBB homeostasis. After the inflammatory factor enters the CNS, the microglia are activated rapidly, and M1 microglia (the pro-inflammatory phenotype) release the pro-inflammatory factors and polarize the astrocytes into a neurotoxic phenotype, exacerbating the inflammatory response. However, M2 microglia (the anti-inflammatory phenotype) release anti-inflammatory cytokines and mediate the regulation of NG2 glial cell proliferation, differentiation, and apoptosis. NG2 glial cells can be used not only as precursor cells of oligodendrocytes for the repair of myelin under the condition of nerve injury but also as immune cells. By Figdraw (www.figdraw.com).

揭示了激活 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体 ($\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor, $\alpha 7$ nAChR) 能够促进大鼠海马 CA1 区内抗炎性 M2 型小胶质细胞激活, 并使大脑内促炎细胞因子 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 的水平下降, 抗炎性因子 IL-4 的水平升高, 进而对 SAE 发挥保护作用, 而这种保护作用与 JAK2-STAT3 通路的激活相关。以上结果提示, JAK-STAT 通路可能是连接小胶质细胞激活和 SAE 的重要纽带, 并在 SAE 中发挥重要作用。

4 结论

SAE 是一种常见的神经功能障碍, 近年来人们对其病理生理的认识不断加深, 但至今尚无预防或者逆转 SAE 的靶向治疗方法。长期以来, 神经炎症一直被认为是 CNS 病理性损伤后引起继发损伤

的介质, 而小胶质细胞作为大脑的主要免疫细胞, 已经被认为是参与炎症结果的关键细胞。然而越来越多的证据表明, 小胶质细胞是 SAE 中的一把双刃剑, 一方面 M1 型小胶质细胞释放神经毒性因子、介质和 ROS, 加重继发性脑损害, 另一方面小胶质细胞在神经元再生、修复和神经发生中发挥着必不可少的作用 (图 1)。因此, 如何适当调节促炎性和神经保护性小胶质细胞之间的平衡至关重要, 可能为 SAE 治疗研究提供新方向, 并促进 SAE 治疗策略的创新。

参考文献

- 1 Czempik PF, Pluta MP, Krzych LJ. Sepsis-associated brain dysfunction: a review of current literature. *Int J Environ Res Public Health* 2020; 17(16): 5852.
- 2 Bennett ML, Bennett FC. The influence of environment and

- origin on brain resident macrophages and implications for therapy. *Nat Neurosci* 2020; 23(2): 157–166.
- 3 Szollosi D, Hegedus N, Veres DS, Futo I, Horvath I, Kovacs N, Martinecz B, Denes A, Seifert D, Bergmann R, Lebeda O, Varga Z, Kaleta Z, Szigeti K, Mathe D. Evaluation of brain nuclear medicine imaging tracers in a murine model of sepsis-associated encephalopathy. *Mol Imaging Biol* 2018; 20(6): 952–962.
- 4 Wendimu MY, Hooks SB. Microglia phenotypes in aging and neurodegenerative diseases. *Cells* 2022; 11(13): 2091.
- 5 Miyamoto A, Wake H, Ishikawa AW, Eto K, Shibata K, Murakoshi H, Koizumi S, Moorhouse AJ, Yoshimura Y, Nabekura J. Microglia contact induces synapse formation in developing somatosensory cortex. *Nat Commun* 2016; 7: 12540.
- 6 Hoogland IC, Houbolt C, van Westerloo DJ, van Gool WA, van de Beek D. Systemic inflammation and microglial activation: systematic review of animal experiments. *J Neuroinflammation* 2015; 12: 114.
- 7 Heneka MT, Carson MJ, El Khoury J, Landreth GE, Brosseron F, Feinstein DL, Jacobs AH, Wyss-Coray T, Vitorica J, Ransohoff RM, Herrup K, Frautschy SA, Finsen B, Brown GC, Verkhatsky A, Yamanaka K, Koistinaho J, Latz E, Halle A, Petzold GC, Town T, Morgan D, Shinohara ML, Perry VH, Holmes C, Bazan NG, Brooks DJ, Hunot S, Joseph B, Deigendesch N, Garaschuk O, Boddeke E, Dinarello CA, Breitner JC, Cole GM, Golenbock DT, Kummer MP. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2015; 14(4): 388–405.
- 8 Au NPB, Ma CHE. Recent advances in the study of bipolar/rod-shaped microglia and their roles in neurodegeneration. *Front Aging Neurosci* 2017; 9: 128.
- 9 Savage JC, Picard K, González-Ibáñez F, Tremblay M. A brief history of microglial ultrastructure: distinctive features, phenotypes, and functions discovered over the past 60 years by electron microscopy. *Front Immunol* 2018; 9: 803.
- 10 Lauro C, Limatola C. Metabolic reprogramming of microglia in the regulation of the innate inflammatory response. *Front Immunol* 2020; 11: 493.
- 11 Li Y, Yin L, Fan Z, Su B, Chen Y, Ma Y, Zhong Y, Hou W, Fang Z, Zhang X. Microglia: a potential therapeutic target for sepsis-associated encephalopathy and sepsis-associated chronic pain. *Front Pharmacol* 2020; 11: 600421.
- 12 Chauhan P, Sheng WS, Hu S, Prasad S, Lokensgard JR. Differential cytokine-induced responses of polarized microglia. *Brain Sci* 2021; 11(11): 1482.
- 13 Orihuela R, McPherson CA, Harry GJ. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. *Br J Pharmacol* 2016; 173(4): 649–665.
- 14 Song GJ, Suk K. Pharmacological modulation of functional phenotypes of microglia in neurodegenerative diseases. *Front Aging Neurosci* 2017; 9: 139.
- 15 Willis EF, MacDonald KPA, Nguyen QH, Garrido AL, Gillespie ER, Harley SBR, Bartlett PF, Schroder WA, Yates AG, Anthony DC, Rose-John S, Ruitenberg MJ, Vukovic J. Repopulating microglia promote brain repair in an IL-6-dependent manner. *Cell* 2020; 180(5): 833–846.e6.
- 16 Kumar A, Alvarez-Croda DM, Stoica BA, Faden AI, Loane DJ. Microglial/macrophage polarization dynamics following traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2016; 33(19): 1732–1750.
- 17 Zhou T, Huang Z, Sun X, Zhu X, Zhou L, Li M, Cheng B, Liu X, He C. Microglia polarization with M1/M2 phenotype changes in rd1 mouse model of retinal degeneration. *Front Neuroanat* 2017; 11: 77.
- 18 Spurgat MS, Tang SJ. Single-cell RNA-sequencing: astrocyte and microglial heterogeneity in health and disease. *Cells* 2022; 11(13): 2021.
- 19 Sousa C, Golebiewska A, Poovathingal SK, Kaoma T, Pires-Afonso Y, Martina S, Coowar D, Azuaje F, Skupin A, Balling R, Biber K, Niclou SP, Michelucci A. Single-cell transcriptomics reveals distinct inflammation-induced microglia signatures. *EMBO Rep* 2018; 19(11): e46171.
- 20 Shemer A, Scheyltjens I, Frumer GR, Kim JS, Grozovski J, Ayanaw S, Dassa B, Van Hove H, Chappell-Maor L, Boura-Halfon S, Leshkowitz D, Mueller W, Maggio N, Movahedi K, Jung S. Interleukin-10 prevents pathological microglia hyperactivation following peripheral endotoxin challenge. *Immunity* 2020; 53(5): 1033–1049.e7.
- 21 Charabati M, Wheeler MA, Weiner HL, Quintana FJ. Multiple sclerosis: Neuroimmune crosstalk and therapeutic targeting. *Cell* 2023; 186(7): 1309–1327.
- 22 Liddelow SA, Barres BA. Reactive astrocytes: production, function, and therapeutic potential. *Immunity* 2017; 46(6): 957–967.
- 23 Cao K, Liao X, Lu J, Yao S, Wu F, Zhu X, Shi D, Wen S, Liu L, Zhou H. IL-33/ST2 plays a critical role in endothelial cell activation and microglia-mediated neuroinflammation modulation. *J Neuroinflammation* 2018; 15(1): 136.
- 24 Wang X, Zhang Y, Peng Y, Hutchinson MR, Rice KC, Yin H, Watkins LR. Pharmacological characterization of the opioid inactive isomers (+)-naltrexone and (+)-naloxone as antagonists of toll-like receptor 4. *Br J Pharmacol* 2016; 173(5): 856–869.
- 25 Chen Z, Trapp BD. Microglia and neuroprotection. *J Neurochem* 2016; 136 Suppl 1: 10–17.
- 26 Haidar MA, Ibeh S, Shakkour Z, Reslan MA, Nwaiwu J, Moqidem YA, Sader G, Nickles RG, Babale I, Jaffa AA,

- Salama M, Shaito A, Kobeissy F. Crosstalk between microglia and neurons in neurotrauma: an overview of the underlying mechanisms. *Curr Neuroparmacol* 2022; 20(11): 2050–2065.
- 27 Tian L, Ma L, Kaarela T, Li Z. Neuroimmune crosstalk in the central nervous system and its significance for neurological diseases. *J Neuroinflammation* 2012; 9: 155.
 - 28 Guo D, Xu Y, Liu Z, Wang Y, Xu X, Li C, Li S, Zhang J, Xiong T, Cao W, Liang J. IGF2 inhibits hippocampal over-activated microglia and alleviates depression-like behavior in LPS- treated male mice. *Brain Res Bull* 2023; 194: 1–12.
 - 29 Li W, Xu Y, Liu Z, Shi M, Zhang Y, Deng Y, Zhong X, Chen L, He J, Zeng J, Luo M, Cao W, Wan W. TRPV4 inhibitor HC067047 produces antidepressant-like effect in LPS-induced depression mouse model. *Neuropharmacology* 2021; 201: 108834.
 - 30 Singer BH, Dickson RP, Denstaedt SJ, Newstead MW, Kim K, Falkowski NR, Erb-Downward JR, Schmidt TM, Huffnagle GB, Standiford TJ. Bacterial dissemination to the brain in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2018; 197(6): 747–756.
 - 31 Erickson MA, Banks WA. Neuroimmune axes of the blood-brain barriers and blood-brain interfaces: bases for physiological regulation, disease states, and pharmacological interventions. *Pharmacol Rev* 2018; 70(2): 278–314.
 - 32 Sonnevile R, Verdonk F, Rauturier C, Klein IF, Wolff M, Annane D, Chretien F, Sharshar T. Understanding brain dysfunction in sepsis. *Ann Intensive Care* 2013; 3(1): 15.
 - 33 Li L, Lu YQ. The Regulatory role of high-mobility group protein 1 in sepsis-related immunity. *Front Immunol* 2020; 11: 601815.
 - 34 Yin XY, Tang XH, Wang SX, Zhao YC, Jia M, Yang JJ, Ji MH, Shen JC. HMGB1 mediates synaptic loss and cognitive impairment in an animal model of sepsis-associated encephalopathy. *J Neuroinflammation* 2023; 20(1): 69.
 - 35 Michels M, Vieira AS, Vuolo F, Zapelini HG, Mendonça B, Mina F, Domingui D, Steckert A, Schuck PF, Quevedo J, Petronilho F, Dal-Pizzol F. The role of microglia activation in the development of sepsis-induced long-term cognitive impairment. *Brain Behav Immun* 2015; 43: 54–59.
 - 36 Tarafdar A, Pula G. The role of NADPH oxidases and oxidative stress in neurodegenerative disorders. *Int J Mol Sci* 2018; 19(12): 3824.
 - 37 Arulkumaran N, Deutschman CS, Pinsky MR, Zuckerbraun B, Schumacker PT, Gomez H, Gomez A, Murray P, Kellum JA; ADQI XIV Workgroup. Mitochondrial function in sepsis. *Shock* 2016; 45(3): 271–281.
 - 38 Checa J, Aran JM. Reactive oxygen species: drivers of physiological and pathological processes. *J Inflamm Res* 2020; 13: 1057–1073.
 - 39 Crippa IA, Subirà C, Vincent JL, Fernandez RF, Hernandez SC, Cavicchi FZ, Creteur J, Taccone FS. Impaired cerebral autoregulation is associated with brain dysfunction in patients with sepsis. *Crit Care* 2018; 22(1): 327.
 - 40 Hernández IH, Villa-González M, Martín G, Soto M, Pérez-Álvarez MJ. Glial cells as therapeutic approaches in brain ischemia-reperfusion injury. *Cells* 2021; 10(7): 1639.
 - 41 Lyu J, Xie D, Bhatia TN, Leak RK, Hu X, Jiang X. Microglial/Macrophage polarization and function in brain injury and repair after stroke. *CNS Neurosci Ther* 2021; 27(5): 515–527.
 - 42 Stubbs DJ, Yamamoto AK, Menon DK. Imaging in sepsis-associated encephalopathy--insights and opportunities. *Nat Rev Neurol* 2013; 9(10): 551–561.
 - 43 Honig G, Mader S, Chen H, Porat A, Ochani M, Wang P, Volpe BT, Diamond B. Blood-brain barrier deterioration and hippocampal gene expression in polymicrobial sepsis: an evaluation of endothelial MyD88 and the vagus nerve. *PLoS One* 2016; 11(1): e0144215.
 - 44 Chung HY, Wickel J, Brunkhorst FM, Geis C. Sepsis-associated encephalopathy: from delirium to dementia? *J Clin Med* 2020; 9(3): 703.
 - 45 Murata Y, Sugimoto K, Yang C, Harada K, Gono R, Harada T, Miyashita Y, Higashisaka K, Katada R, Tanaka J, Matsumoto H. Activated microglia-derived macrophage-like cells exacerbate brain edema after ischemic stroke correlate with astrocytic expression of aquaporin-4 and interleukin-1 alpha release. *Neurochem Int* 2020; 140: 104848.
 - 46 Chen AQ, Fang Z, Chen XL, Yang S, Zhou YF, Mao L, Xia YP, Jin HJ, Li YN, You MF, Wang XX, Lei H, He QW, Hu B. Microglia-derived TNF- α mediates endothelial necroptosis aggravating blood brain-barrier disruption after ischemic stroke. *Cell Death Dis* 2019; 10(7): 487.
 - 47 Ding XW, Sun X, Shen XF, Lu Y, Wang JQ, Sun ZR, Miao CH, Chen JW. Propofol attenuates TNF- α -induced MMP-9 expression in human cerebral microvascular endothelial cells by inhibiting Ca²⁺/CAMK II/ERK/NF- κ B signaling pathway. *Acta Pharmacol Sin* 2019; 40(10): 1303–1313.
 - 48 Gao Q, Hernandez MS. Sepsis-associated encephalopathy and blood-brain barrier dysfunction. *Inflammation* 2021; 44(6): 2143–2150.
 - 49 Mazeraud A, Righy C, Bouchereau E, Benghanem S, Bozza FA, Sharshar T. Septic-associated encephalopathy: a comprehensive review. *Neurotherapeutics* 2020; 17(2): 392–403.
 - 50 Lin R, Chen F, Wen S, Teng T, Pan Y, Huang H. Interleukin-10 attenuates impairment of the blood-brain barrier in a severe acute pancreatitis rat model. *J Inflamm (Lond)* 2018; 15: 4.
 - 51 Alexander JJ. Blood-brain barrier (BBB) and the comple-

- ment landscape. *Mol Immunol* 2018; 102: 26–31.
- 52 Flierl MA, Stahel PF, Rittirsch D, Huber-Lang M, Niederbichler AD, Hoesel LM, Touban BM, Morgan SJ, Smith WR, Ward PA, Ipaktchi K. Inhibition of complement C5a prevents breakdown of the blood-brain barrier and pituitary dysfunction in experimental sepsis. *Crit Care* 2009; 13(1): R12.
 - 53 Zetoune FS, Ward PA. Role of complement and histones in sepsis. *Front Med (Lausanne)* 2020; 7: 616957.
 - 54 Li SM, Li B, Zhang L, Zhang GF, Sun J, Ji MH, Yang JJ. A complement-microglial axis driving inhibitory synapse related protein loss might contribute to systemic inflammation-induced cognitive impairment. *Int Immunopharmacol* 2020; 87: 106814.
 - 55 Heming N, Mazeraud A, Verdonk F, Bozza FA, Chrétien F, Sharshar T. Neuroanatomy of sepsis-associated encephalopathy. *Crit Care* 2017; 21(1): 65.
 - 56 van Gool WA, van de Beek D, Eikelenboom P. Systemic infection and delirium: when cytokines and acetylcholine collide. *Lancet* 2010; 375(9716): 773–775.
 - 57 Li Y, Ji M, Yang J. Current understanding of long-term cognitive impairment after sepsis. *Front Immunol* 2022; 13: 855006.
 - 58 Thomas AG, O'Driscoll CM, Bressler J, Kaufmann W, Rojas CJ, Slusher BS. Small molecule glutaminase inhibitors block glutamate release from stimulated microglia. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 443(1): 32–36.
 - 59 Domercq M, Vázquez-Villoldo N, Matute C. Neurotransmitter signaling in the pathophysiology of microglia. *Front Cell Neurosci* 2013; 7: 49.
 - 60 Mahmoud S, Gharagozloo M, Simard C, Gris D. Astrocytes maintain glutamate homeostasis in the CNS by controlling the balance between glutamate uptake and release. *Cells* 2019; 8(2): 184.
 - 61 Toklu HZ, Uysal MK, Kabasakal L, Sirvanci S, Ercan F, Kaya M. The effects of riluzole on neurological, brain biochemical, and histological changes in early and late term of sepsis in rats. *J Surg Res* 2009; 152(2): 238–248.
 - 62 Chen X, Cubillos-Ruiz JR. Endoplasmic reticulum stress signals in the tumour and its microenvironment. *Nat Rev Cancer* 2021; 21(2): 71–88.
 - 63 Ma SL (马少林), Shao L, Liu Y, Li ZX, Ye HY, Lu HJ, Zhang CJ, Zhu XP. A study of lymphocyte apoptosis and endoplasmic reticulum stress in the development of sepsis and their association with outcome in septic patients. *Chin Crit Care Med (中华危重病急救医学)* 2015; 27(2): 115–120 (in Chinese).
 - 64 Li Y, Guo Y, Tang J, Jiang J, Chen Z. New insights into the roles of CHOP-induced apoptosis in ER stress. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2014; 46(8): 629–640.
 - 65 Zhong X, Wang Y, Liu D, Liang Y, Liu W, Huang Y, Xie L, Cao W, Xu Y, Chen L. HC067047 ameliorates sepsis-associated encephalopathy by suppressing endoplasmic reticulum stress and oxidative stress-induced pyroptosis in the hippocampi of mice. *Neuroscience* 2023; 517: 117–127.
 - 66 Yin Y, Lv G, Zhang W, Yuan J, Yang Y, Wang Y, Liu S, Wang S, Yan B, Bo H, Ye C. Resveratrol glycoside mediates microglial endoplasmic reticulum stress to mitigate LPS-induced sepsis-associated cognitive dysfunction. *Behav Brain Res* 2023; 443: 114326.
 - 67 Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol Cell* 2002; 10(2): 417–426.
 - 68 Noonin C, Thongboonkerd V. Exosome-inflammasome crosstalk and their roles in inflammatory responses. *Theranostics* 2021; 11(9): 4436–4451.
 - 69 Vigneron C, Py BF, Monneret G, Venet F. The double sides of NLRP3 inflammasome activation in sepsis. *Clin Sci (Lond)* 2023; 137(5): 333–351.
 - 70 Sharma BR, Kanneganti TD. NLRP3 inflammasome in cancer and metabolic diseases. *Nat Immunol* 2021; 22(5): 550–559.
 - 71 Chen N, Chen P, Zhou Y, Chen S, Gong S, Fu M, Geng L. HuNoV non-structural protein P22 induces maturation of IL-1 β and IL-18 and N-GSDMD-dependent pyroptosis through activating NLRP3 inflammasome. *Vaccines (Basel)* 2023; 11(5): 993.
 - 72 Cui J, Oehrl S, Ahmad F, Brenner T, Uhle F, Nusschag C, Rupp C, Funck F, Meisel S, Weigand MA, Morath C, Schäkel K. Detection of *in vivo* inflammasome activation for predicting sepsis mortality. *Front Immunol* 2020; 11: 613745.
 - 73 Gonçalves AC, Ferreira LS, Manente FA, de Faria C, Polesi MC, de Andrade CR, Zamboni DS, Carlos IZ. The NLRP3 inflammasome contributes to host protection during *Sporothrix schenckii* infection. *Immunology* 2017; 151(2): 154–166.
 - 74 Guo HL, Shi FD, Zhou Q, Liu QY, Wang YX, Song Y, Wu ZS, Shi YH, Zhang L, Xu KZ, Song GD. Interleukin-1 β protection against experimental sepsis in mice. *Inflammation* 2021; 44(1): 358–370.
 - 75 Lee S, Nakahira K, Dalli J, Siempos II, Norris PC, Colas RA, Moon JS, Shinohara M, Hisata S, Howrylak JA, Suh GY, Ryter SW, Serhan CN, Choi AMK. NLRP3 inflammasome deficiency protects against microbial sepsis via increased lipoxin B₄ synthesis. *Am J Respir Crit Care Med* 2017; 196(6): 713–726.
 - 76 Jin L, Batra S, Jeyaseelan S. Deletion of Nlrp3 augments

- survival during polymicrobial sepsis by decreasing autophagy and enhancing phagocytosis. *J Immunol* 2017; 198(3): 1253–1262.
- 77 Borges-Rodriguez M, Shields CA, Travis OK, Tramel RW, Baik CH, Giachelli CA, Tardo GA, Williams JM, Cornelius DC. Platelet inhibition prevents NLRP3 inflammasome activation and sepsis-induced kidney injury. *Int J Mol Sci* 2021; 22(19): 10330.
 - 78 Lin L, Xu L, Lv W, Han L, Xiang Y, Fu L, Jin M, Zhou R, Chen H, Zhang A. An NLRP3 inflammasome-triggered cytokine storm contributes to Streptococcal toxic shock-like syndrome (STSLs). *PLoS Pathog* 2019; 15(6): e1007795.
 - 79 Shi J, Tang Y, Liang F, Liu L, Liang N, Yang X, Zhang N, Yi Z, Zhong Y, Wang W, Zhao K. NLRP3 inflammasome contributes to endotoxin-induced coagulation. *Thromb Res* 2022; 214: 8–15.
 - 80 Ballbach M, Hall T, Brand A, Neri D, Singh A, Schaefer I, Herrmann E, Hansmann S, Handgretinger R, Kuemmerle-Deschner J, Hartl D, Rieber N. Induction of myeloid-derived suppressor cells in cryopyrin-associated periodic syndromes. *J Innate Immun* 2016; 8(5): 493–506.
 - 81 Chu E, Mychasiuk R, Hibbs ML, Semple BD. Dysregulated phosphoinositide 3-kinase signaling in microglia: shaping chronic neuroinflammation. *J Neuroinflammation* 2021; 18(1): 276.
 - 82 Fruman DA, Chiu H, Hopkins BD, Bagrodia S, Cantley LC, Abraham RT. The PI3K pathway in human disease. *Cell* 2017; 170(4): 605–635.
 - 83 Revathidevi S, Munirajan AK. Akt in cancer: Mediator and more. *Semin Cancer Biol* 2019; 59: 80–91.
 - 84 Linnerth-Petrik NM, Santry LA, Moorehead R, Jücker M, Wootton SK, Petrik J. Akt isoform specific effects in ovarian cancer progression. *Oncotarget* 2016; 7(46): 74820–74833.
 - 85 Ghoneum A, Said N. PI3K-AKT-mTOR and NFκB pathways in ovarian cancer: implications for targeted therapeutics. *Cancers (Basel)* 2019; 11(7): 949.
 - 86 Xu F, Na L, Li Y, Chen L. Roles of the PI3K/AKT/mTOR signalling pathways in neurodegenerative diseases and tumours. *Cell Biosci* 2020; 10(1): 54.
 - 87 Liu XY, Zhou XY, Hou JC, Zhu H, Wang Z, Liu JX, Zheng YQ. Ginsenoside Rd promotes neurogenesis in rat brain after transient focal cerebral ischemia via activation of PI3K/Akt pathway. *Acta Pharmacol Sin* 2015; 36(4): 421–428.
 - 88 Jia X, Wen Z, Sun Q, Zhao X, Yang H, Shi X, Xin T. Apatinib suppresses the proliferation and apoptosis of gastric cancer cells via the PI3K/Akt signaling pathway. *J BUON* 2019; 24(5): 1985–1991.
 - 89 Shang X, Lin K, Yu R, Zhu P, Zhang Y, Wang L, Xu J, Chen K. Resveratrol protects the myocardium in sepsis by activating the phosphatidylinositol 3-kinases (PI3K)/AKT/mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway and inhibiting the nuclear factor-κB (NF-κB) signaling pathway. *Med Sci Monit* 2019; 25: 9290–9298.
 - 90 Cianciulli A, Porro C, Calvello R, Trotta T, Lofrumento DD, Panaro MA. Microglia mediated neuroinflammation: Focus on PI3K modulation. *Biomolecules* 2020; 10(1): 137.
 - 91 Mitchell S, Vargas J, Hoffmann A. Signaling via the NFκB system. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med* 2016; 8(3): 227–241.
 - 92 Wang YM, Ji R, Chen WW, Huang SW, Zheng YJ, Yang ZT, Qu HP, Chen H, Mao EQ, Chen Y, Chen EZ. Paclitaxel alleviated sepsis-induced acute lung injury by activating MUC1 and suppressing TLR-4/NF-κB pathway. *Drug Des Devel Ther* 2019; 13: 3391–3404.
 - 93 Shalmani AA, Ghahremani MH, Jeivad F, Shadboorestan A, Hassanzadeh G, Beh-Pajooch A, Ganbari-Erdi M, Kasirzadeh S, Mojtahedzadeh M, Sabzevari O. Monomethyl fumarate alleviates sepsis-induced hepatic dysfunction by regulating TLR-4/NF-κB signalling pathway. *Life Sci* 2018; 215: 152–158.
 - 94 Taetzsch T, Levesque S, McGraw C, Brookins S, Luqa R, Bonini MG, Mason RP, Oh U, Block ML. Redox regulation of NF-κB p50 and M1 polarization in microglia. *Glia* 2015; 63(3): 423–440.
 - 95 Rusek M, Smith J, El-Khatib K, Aikins K, Czuczwar SJ, Pluta R. The role of the JAK/STAT signaling pathway in the pathogenesis of Alzheimer's disease: new potential treatment target. *Int J Mol Sci* 2023; 24(1): 864.
 - 96 Jain M, Singh MK, Shyam H, Mishra A, Kumar S, Kumar A, Kushwaha J. Role of JAK/STAT in the neuroinflammation and its association with neurological disorders. *Ann Neurosci* 2021; 28(3–4): 191–200.
 - 97 Clere-Jehl R, Mariotte A, Meziani F, Bahram S, Georgel P, Helms J. JAK-STAT targeting offers novel therapeutic opportunities in sepsis. *Trends Mol Med* 2020; 26(11): 987–1002.
 - 98 Xue P (薛萍). Effect of α7 nicotinic acetylcholinergic receptor on polarization anti-inflammatory microglia via JAK2/STAT3 pathway in septic encephalopathy rats and its mechanism [D/OL]. Qingdao: Qingdao University (青岛大学), 2021 (in Chinese). https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=r-3vL8vLwqngN8GxfzrJ-P-7-Q1y1Ykdgg-8GEc2h1SZzktlibm5M7e2g2t8FtlllQK5IFvkvfyNizuOAbc-UOTQvwRQ420_ji_W6wArke2khxvFYnfQK7A==&uniplatform=NZKPT&language=gb