

· 论著 ·

DOI: 10.12464/j.issn.0253-9802.2024-0462

miR-223-3p 通过靶向 NLRP3 恢复高血压脑出血大鼠的认知功能

余梦擎, 吴金波[✉], 赖志勇, 陈忠强

(广东医科大学附属医院急诊医学中心, 广东 湛江 524001)

【摘要】 **目的** 探索 miR-223-3p 对高血压脑出血大鼠认知功能恢复的影响及其调控机制。**方法** 构建高血压脑出血大鼠模型, 分析 miR-223-3p 表达和认知功能改变; 过表达 / 敲降 miR-223-3p, 探讨其对 NOD 样受体家族含 pyrin 结构域 3 (NLRP3) 炎症小体表达和大鼠认知功能的影响; 敲降 NLRP3, 确认该炎症小体对脑出血大鼠认知功能的作用; 通过荧光素酶实验鉴定 miR-223-3p 对 NLRP3 的直接靶向作用。**结果** 高血压脑出血大鼠的脑组织中 miR-223-3p 表达上调。miR-223-3p 抑制 NLRP3 的表达, 并恢复大鼠认知功能。荧光素酶实验结果表明 miR-223-3p 可以直接靶向 NLRP3 的 mRNA 并下调其表达。**结论** miR-223-3p 通过与 NLRP3 的 mRNA 结合下调 NLRP3 的表达, 从而恢复脑出血大鼠的认知功能。

【关键词】 miR-223-3p; 炎症小体; NLRP3; 高血压; 脑出血; 大鼠

miR-223-3p recover cognitive function in rats with hypertensive intracerebral hemorrhage by targeting NLRP3

YU Mengqing, WU Jinbo[✉], LAI Zhiyong, CHEN Zhongqiang

(Emergency Medicine Center, the Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China)

Corresponding author: WU Jinbo, E-mail: jinbowu1971@163.com

【Abstract】 **Objective** To explore the effects of miR-223-3p on cognitive function recovery in rats with hypertensive intracerebral hemorrhage (HICH) and its regulatory mechanisms. **Methods** The rat model of HICH was constructed to analyze changes in miR-223-3p expression and cognitive function. Subsequently, miR-223-3p was overexpressed or knocked down to investigate its effects on the expression of the inflammasome NLRP3 and cognitive function in rats. NLRP3 was then knocked down to confirm its role in cognitive function in HICH rats. Finally, a luciferase assay was performed to identify the direct targeting effect of miR-223-3p on NLRP3. **Results** The expression of miR-223-3p was upregulated in the brain tissues of HICH rats. miR-223-3p inhibits NLRP3 expression and recovers cognitive function in rats. The luciferase assay demonstrated that miR-223-3p could directly target the mRNA of NLRP3 and downregulate its expression. **Conclusion** miR-223-3p downregulates NLRP3 expression by binding to its mRNA, thereby promoting the recovery of cognitive function in rats with intracerebral hemorrhage.

【Key words】 miR-223-3p; Inflammasome; NLRP3; Hypertension; Intracerebral hemorrhage; Rats

脑出血是由脑组织中的血管破裂引起的严重神经疾病, 其特征是高死亡率和严重的神经功能障碍。在美国和欧洲, 脑出血约占所有中风病例的 10%~15%^[1], 而在亚洲, 脑出血约占所有中风病例的 20%~30%^[2], 其中, 高血压和淀粉样血管病占原发性脑出血的 78%~88%^[3]。神经炎症在脑出血后继发性脑损伤的病理生理机制中起着关键

作用^[4]。当血液成分释放到实质中时, 立即触发了以炎症细胞的动员和活化为特征的炎症反应。神经炎症的过度触发可导致持续的脑损伤, 如血脑屏障功能的破坏、脑水肿、神经元凋亡以及轴突变性和缺失^[5,6]。近年来, NOD 样受体家族含 pyrin 结构域 3 (NOD-like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3) 炎症小体被认为是神经炎症的重要

收稿日期: 2024-11-08

基金项目: 广东省医学科研基金-青年项目 (A2023578)

作者简介: 余梦擎, 主治医师, 研究方向: 心脑血管病急症, E-mail: yumengqin0224@163.com; 吴金波, 通信作者, 主任医师, 研究方向: 心脑血管病急症、急性中毒, E-mail: jinbowu1971@163.com

参与者,并被证明是促炎细胞因子分泌和后续炎症反应的关键因素^[7]。此外,当NLRP3炎症小体被抑制时,由ICH引起的继发性脑损伤减轻^[8]。有报道指出,转录后的NLRP3受到多种微RNA (microRNAs, miRNAs) 的调节^[9]。miRNAs是约22个核苷酸长度的单链非编码RNA分子,其识别靶信使RNA (mRNA) 的3'-UTR,并诱导mRNA降解或抑制其翻译。已发现miRNAs在多种神经疾病中失调,例如阿尔茨海默病、肌萎缩性脊髓侧索硬化症、帕金森病、亨廷顿舞蹈症、老年性黄斑变性和多发性硬化症^[10-12],并与高血压患者的血管内皮功能障碍相关^[13]。一项关于蛛网膜下腔出血中miRNAs表达的研究指出,数量庞大的miRNAs在出血后的表达均发生改变,其中microRNA-223-3p (miR-223-3p) 表达上调^[14]。然而miR-223-3p对高血压脑出血 (hypertension-induced intracerebral hemorrhage, HICH) 大鼠认知功能恢复的影响及其调控机制仍然不是很清楚。

本研究构建大鼠的HICH模型,通过过表达/敲降miR-223-3p,探讨其对炎症小体NLRP3表达和大鼠认知功能的影响;通过敲降NLRP3,确认该炎症小体对脑出血大鼠认知功能的作用;通过荧光素酶实验等最终确定miR-223-3p是否通过与NLRP3的mRNA结合下调NLRP3的表达,从而恢复脑出血大鼠的认知功能;旨在进一步探索miR-223-3p在HICH认知功能恢复过程中的作用与机制。

1 材料与方法

1.1 材料

0.4% NaCl的大鼠饲料购自Purina (美国),大鼠胶质瘤细胞C6购自美国细胞培养收藏中心 (American Type Culture Collection, ATCC, 美国)。过表达/敲降相关的病毒浓缩液购自擎科生物 (北京)。miRNA抽提试剂盒购自SanPrep (上海),反转录试剂盒购自Invitrogen (美国),荧光定量PCR试剂盒购自Takara (日本)。蛋白免疫印迹相关试剂及抗体购自碧云天生物科技有限公司 (北京)。Lipofectamine 2000购自Invitrogen (美国)。

1.2 研究方法

1.2.1 高血压脑出血大鼠模型的建立

Dahl盐敏感大鼠品系SD大鼠购于南方医科大学实验动物中心,随机分为正常组和HICH组,

每组5只。HICH组给予喂养Purina公司含0.4% NaCl的大鼠饲料,对照组则喂养维持正常饮食的0.23% NaCl大鼠饲料。本动物实验经广东医科大学附属伦理委员会批准 (批件号: 2024-LL-11)。

1.2.2 细胞培养和转染

大鼠胶质瘤细胞C6在补充有2.5%胎牛血清和15%马血清的F-12K培养基中于37℃、5% CO₂培养,使用0.25%的胰酶进行传代。传代比例为1:2或1:3,每周传代2~3次。将细胞均匀铺在24孔细胞培养板中,培养24h后生长至孔面积的90%,使用Lipofectamine 2000进行荧光素酶报告基因相关质粒的转染。

1.2.3 敲降与过表达实验

敲降实验采用10只HICH大鼠模型,随机分为2组: sh-NC组 (乱序靶位点敲降的大鼠)、sh-miR-223-3p组 (敲降miR-223-3p的大鼠)。对于过表达实验,同样采用10只HICH大鼠模型,随机分为2组: Control组 (转染空病毒载体的大鼠)、miR-223-3p组 (转染过表达miR-223-3p病毒载体的大鼠)。通过腹腔注射3%戊巴比妥钠 (1 mL/kg) 对大鼠进行麻醉,将稀释到合适滴度的慢病毒溶液注射于大鼠的大脑双侧。将完成病毒侵染后的大鼠深度麻醉,取脑组织进行荧光定量PCR和蛋白免疫印迹分析。

1.2.4 荧光定量PCR

将大鼠深度麻醉并用10 mL冰冷的磷酸盐缓冲液 (phosphatic buffer solution, PBS) 灌注,从颅骨中取出大脑组织,并研磨成匀浆。利用SanPrep柱式miRNA抽提试剂盒抽提大鼠脑组织的miRNA和总RNA,使用英潍捷基 (Invitrogen) 的SuperScript III First-Strand Synthesis System for RT-PCR试剂盒进行反转录,并用TaKaRa的Mir-X miRNA qRT-PCR TB Green和TB Green Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) 试剂盒进行定量分析。

1.2.5 蛋白免疫印迹分析

从麻醉后的大鼠颅骨中获取大脑并研磨成匀浆,在RIPA缓冲液中4℃旋转裂解90 min。将样品离心,收集上清液,并通过Bradford试验对蛋白质进行定量,然后将样品冷冻在-80℃或立即使用。通过4%~15% tris-甘氨酸凝胶在100 V下电泳70 min分离总蛋白,并在100 V稳压60 min下将蛋白转移到PVDF膜上。在TBST中用5%脱脂奶粉室温封闭1 h,用特定的一抗在4℃孵育过夜,

TBST 洗涤膜 3 次, 然后与辣根过氧化物酶标记的二抗在室温下温育 1 h, TBST 洗涤膜 3 次, 使用碧云天的 BeyoECL Moon (极超敏 ECL 化学发光试剂盒) 孵育 30 s 后显影。使用 ImageJ 软件对条带进行灰度分析。

1.2.6 认知功能评估

使用由 Sugawara 等^[15]开发的复合分级系统, 对大鼠进行认知功能评分, 取各项得分的总分, 实验组通过对比对照组进行归一化处理。表 1 列出了相关项目的描述和具体得分。

1.2.7 荧光素酶活性检测

采用 TargetScan 与 Diana-Microt 两个软件预测 miR-223-3p 潜在的靶点, 综合 TargetScan 与 Diana-

Microt 两个软件的预测结果, 初步得出 miR-223-3p 其中的一个假定靶点为 NLRP3。从大鼠脑组织中克隆出 NLRP3 的野生型 3'-UTR 序列, 插入 pMIR 荧光素酶报告基因载体中, 同时构建 miR-223-3p 靶位点突变的载体, 使用 Lipofectamine 2000 进行转染, 48 h 后使用 Promega 的双荧光素酶报告基因系统测定荧光素酶的活性。

1.3 统计学方法

使用 SPSS 19.0 和 GraphPad Prism 10.0 进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 法。以双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 认知功能评分标准
Table 1 Criteria for assessing cognitive function

测 试	得分			
	0	1	2	3
5 min 内自发活动	没有动静	几乎不移动位置	移动但不接近笼子 3 个侧面	移动并接近笼子的 3 面
所有肢体自发运动	没有动静	四肢轻微动弹	缓慢移动所有肢体	正常运动所有肢体
抓住尾巴的前肢的伸展	不外展	轻微外展	外展有限	外展正常
钢丝笼上爬	爬不上	爬不上	稍微爬上一点	正常爬上
躯干两侧触摸反应	没反应	没反应	微弱反应	反应正常
触须触摸反应	没反应	没反应	微弱反应	反应正常

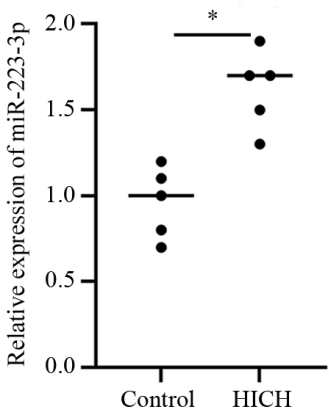
2 结 果

2.1 高血压大鼠出血大鼠的 miR-223-3p 表达情况

在成功构建 HICH 大鼠模型后, 检测大鼠脑组织中 miR-223-3p 的表达变化。通过定量 PCR 发现, 在 HICH 大鼠中 miR-223-3p 的表达上调 (1.06 ± 0.21 vs. 1.71 ± 0.25), 见图 1。

2.2 miR-223-3p 抑制 NLRP3 表达并恢复认知功能

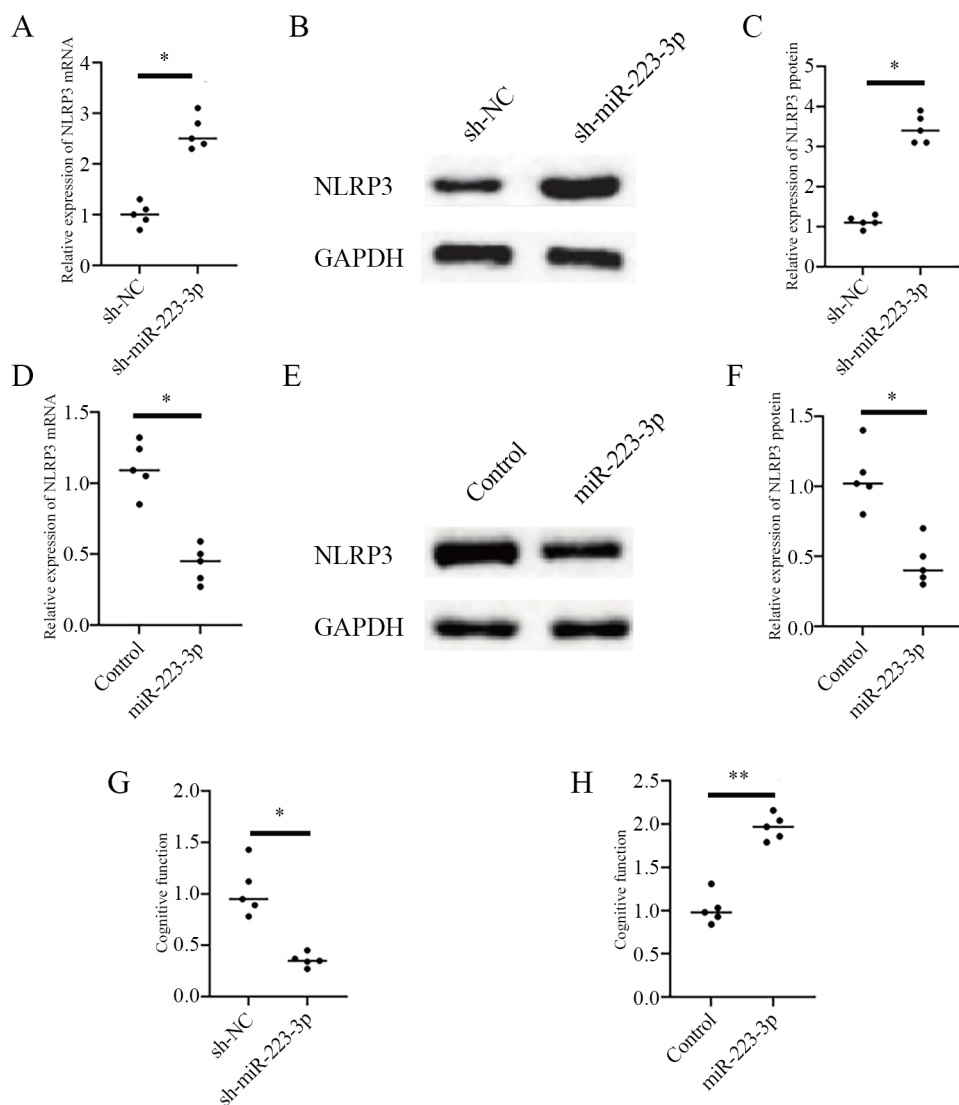
敲降 HICH 大鼠中 miR-223-3p 后发现, NLRP3 的表达上调 (mRNA: 1.02 ± 0.18 vs. 2.63 ± 0.33 ; 蛋白: 1.12 ± 0.15 vs. 3.44 ± 0.36 , 图 2A~C), 大鼠认知能力下降 (1.03 ± 0.25 vs. 0.35 ± 0.06 , 图 2G)。然而, 在过表达 miR-223-3p 的 HICH 大鼠中, 随着炎症小体 NLRP3 的表达下调 (mRNA: 1.11 ± 0.18 vs. 0.43 ± 0.13 ; 蛋白: 1.06 ± 0.22 vs. 0.45 ± 0.16 , 图 2D~F), 认知功能恢复 (1.02 ± 0.18 vs. 1.96 ± 0.15 , 图 2H)。结果表明, HICH 大鼠中表达上调的 miR-223-3p 可以下调炎症小体 NLRP3 的表达, 可能对大鼠认知功能的恢复发挥积极作用。



注: Control 为正常喂养的大鼠, HICH 为高盐诱导高血压脑出血大鼠。* 表示 $P < 0.05$ 。

图 1 正常喂养大鼠和高血压脑出血大鼠的 miR-223-3p 表达情况

Figure 1 The expression of miR-223-3p in normally-fed rats and hypertensive rats with intracerebral hemorrhage



注: A~C 为敲降 miR-223-3p 后 NLRP3 的表达情况, sh-NC 为乱序靶位点敲降的大鼠, sh-miR-223-3p 为敲降 miR-223-3p 的大鼠。D~F 为过表达 miR-223-3p 后 NLRP3 的表达情况, Control 为转染空载体的大鼠, miR-223-3p 为过表达 miR-223-3p 的大鼠。G 和 H 分别为敲降和过表达 miR-223-3p 后大鼠的认知功能变化。* 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$ 。

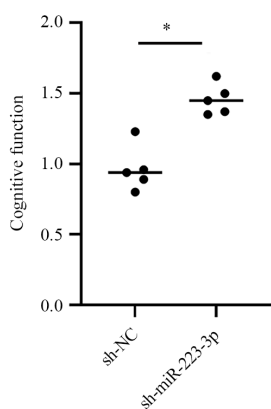
图 2 miR-223-3p 在高血压脑出血大鼠中的调控作用

Figure 2 The regulatory role of miR-223-3p in hypertensive rats with intracerebral hemorrhage

2.3 NLRP3 的敲降恢复了脑出血大鼠的部分认知功能

上述结果表明 HICH 大鼠中 miR-223-3p 对炎症小体的表达抑制和大鼠认知功能恢复发挥了积极作用。然而, miR-223-3p 是否通过抑制 NLRP3 表达并恢复部分认知功能进而发挥调控作用, 其中

受到表达抑制的 NLRP3 对 HICH 大鼠的影响还需要进一步验证。对 HICH 大鼠中的 NLRP3 进行了敲降, 同样发现大鼠的认知功能得到了一定恢复 (0.96 ± 0.17 vs. 1.46 ± 0.11), 见图 3。该结果与过表达 miR-223-3p 后相类似, 表明 miR-223-3p 可以通过抑制 NLRP3 的表达提高 HICH 大鼠的认知功能。

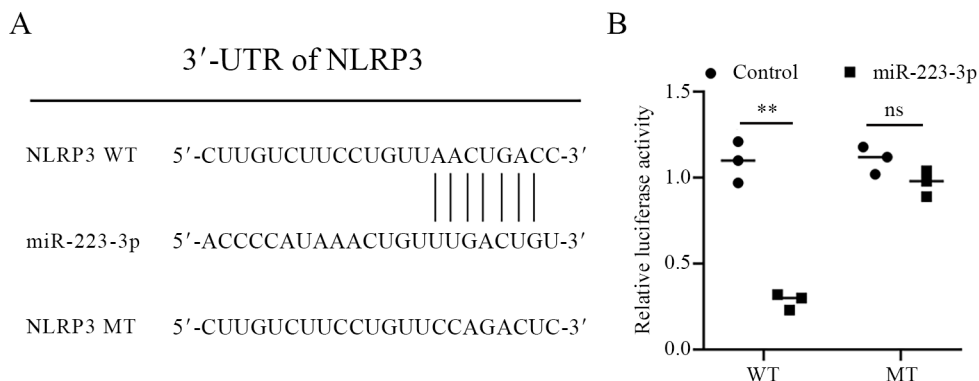


注: sh-NC 为乱序靶位点敲降的大鼠, sh-NLRP3 为敲降 NLRP3 的大鼠, * 表示 $P < 0.05$ 。

图3 敲降 NLRP3 对高血压脑出血大鼠认知功能的影响
Figure 3 The effect of knocking down NLRP3 on cognitive function in hypertensive rats with intracerebral hemorrhage

2.4 荧光素酶实验验证 miR-223-3p 直接靶向 NLRP3

通过生物信息学方法分析 miR-223-3p 的作用靶点, 结果表明, miR-223-3p 在 NLRP3 mRNA 的 3'-UTR 区域存在结合位点 (图 4A), NLRP3 极有可能是 miR-223-3p 的一个作用靶点。双荧光素酶报告实验结果发现, 共转染 miR-223-3p 后, 含有 miR-223-3p 结合靶位点的荧光素酶载体活性降低 (1.09 ± 0.12 vs. 0.28 ± 0.05), 当把该位点进行突变之后, 荧光素酶活性得到一定的恢复 (1.11 ± 0.08 vs. 0.97 ± 0.08), 见图 4B。该结果表明, miR-223-3p 可以直接靶向 NLRP3 的 mRNA, 下调 NLRP3 的表达。



注: A 为 miR-223-3p 在 NLRP3 上预测结合位点和对应的荧光素酶报告基因突变载体的序列。B 中 WT 包含 NLRP3 mRNA 3'-UTR 原始序列的荧光素酶载体, MT 为该 mRNA 3'-UTR 与 miR-223-3p 预测结合位点突变的荧光素酶载体。** 为 $P < 0.01$, ns 为 $P > 0.05$ 。

图4 荧光素酶实验验证 miR-223-3p 与 NLRP3 RNA 的结合

Figure 4 Verification of miR-223-3p binding to NLRP3 RNA by luciferase assay

3 讨论

本研究以建立的 HICH 大鼠模型为对象, 探究了炎症小体 NLRP3 在脑出血大鼠认知功能恢复中的作用, 结果表明, 在 HICH 大鼠的脑组织中, 炎症反应相关的负调控因子 miR-223-3p 表达上调, miR-223-3p 通过靶向脑组织中的炎症小体 NLRP3 的 mRNA 3'-UTR, 降低了出血脑组织中 NLRP3 的表达水平, 最终使 HICH 大鼠的认知功能得到一定恢复。

脑出血的原发性脑损伤通常发生在发病的最初几个小时内, 由水肿的形成引起, 导致邻近脑

组织因压迫而受到机械损伤^[16]。尽管对脑出血患者进行手术清除血肿可以降低颅内压, 但是在以往的临床试验中并未显示出很好的治疗效果^[17]。原因可能是手术血肿清除不能解决脑出血后的继发性脑损伤。脑出血后继发性脑损伤的病理生理学较复杂, 涉及多种致病机制, 如炎症、氧化应激和凋亡^[18-20]。其中, 神经炎症是继发性脑损伤的重要源头之一。除了促进神经元凋亡和破坏血脑屏障, 神经炎症还可以通过增加血肿周围血脑屏障的通透性来加剧占位效应, 脑组织的压迫导致继发性缺血, 从而加速细胞死亡^[21]。并且, 这些细胞死亡后释放的炎症介质会进一步加剧神经炎

症。因此,控制脑出血后神经炎症的发生对 HICH 患者的治疗尤为重要。目前有多项证据表明,在脑出血模型中,选择性 NLRP3 炎症小体抑制剂可有效降低促炎细胞因子(如 IL- β 和 IL-6)的表达,增加抗炎细胞因子(如 IL-10 和 TGF- β)的表达^[22-24]。当 NLRP3 炎症小体被抑制时,脑组织中小胶质细胞表型转变为抗炎状态。在本研究中,NLRP3 在脑出血大鼠的敲降使得大鼠认知功能恢复。这可能是由于 NLRP3 的减少促进了促炎因子的降低和抗炎因子的增加,导致脑组织细胞表型改变和炎症反应下降。这一结果也提示了 NLRP3 作为阻断脑出血后神经炎症加重的潜在靶点。

miRNAs 是一组高度保守的非蛋白编码小核糖核酸,是基因表达的转录后调节物。它参与许多生物过程的调节,包括代谢、炎症和癌症。miRNAs 的调控一般通过与靶基因的完全或不完全互补结合,阻止其翻译或者进行 mRNA 链的切割,从而达到调控基因表达的目的^[25]。有报道表明,miR-223-3p 在 NLRP3 应答细胞中的表达一直很高,在预防炎症小体的过度激活中发挥重要作用。比如,miR-223-3p 在结核病患者的血液和肺组织中表达上调^[26],miR-223-3p 缺失与结核分枝杆菌感染易感性增加之间存在联系,miR-223-3p 在金黄色葡萄球菌感染中起保护作用^[27]。此外,miR-146a 可直接抑制脂多糖的受体 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 的表达,从而下调炎症小体活性^[28-29]。在本研究中,miR-223-3p 在 HICH 大鼠中的表达也上调,这种上调的 miRNA 可能通过抑制脑组织中炎症小体 NLRP3 的表达,保护了 HICH 大鼠的脑组织免受出血的继发性炎症损伤。

本研究存在一定的局限性:对大鼠 HICH 后的继发性脑损伤只以认知功能评分进行判断,并未进行更直观的实验验证,比如 CT 或者病理切片的实验;此外,单凭荧光素酶的实验可能无法证明 miR-223-3p 与 NLRP3 mRNA 的直接结合,加上 RNA 免疫共沉淀或许更有说服力。后续我们将在本研究的基础上,继续深入发掘 HICH 中 miRNAs 与炎症相关的调控机制,明确 miRNAs 在其中发挥的作用以及调控方式,为临床上寻找 HICH 的治疗靶点提供一定理论依据。

利益冲突声明: 本研究未受到企业、公司等第三方资助,不存在潜在利益冲突。

参 考 文 献

- [1] European Stroke Organisation. ESOC 2023 Abstract Book [C]. Eur Stroke J, 2023, 8 (2 Suppl): 3-669.
- [2] PARRY-JONES A R, KRISHNAMURTHI R, ZIAI W C, et al. World stroke organization (WSO): global intracerebral hemorrhage factsheet 2025 [J]. Int J Stroke, 2025, 20 (2): 145-150. DOI: 10.1177/17474930241307876.
- [3] MAGID-BERNSTEIN J, GIRARD R, POLSTER S, et al. Cerebral hemorrhage: pathophysiology, treatment, and future directions [J]. Circ Res, 2022, 130 (8): 1204-1229. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.121.319949.
- [4] SCHRAG M, KIRSHNER H. Management of intracerebral hemorrhage: JACC focus seminar [J]. J Am Coll Cardiol, 2020, 75 (15): 1819-1831. DOI: 10.1016/j.jacc.2019.10.066.
- [5] ABRAMSON J R, CASTELLO J P, KEINS S, et al. Biological and social determinants of hypertension severity before vs after intracerebral hemorrhage [J]. Neurology, 2022, 98 (13): e1349-e1360. DOI: 10.1212/WNL.0000000000200003.
- [6] WIDIMSKÝ J. Therapy of hypertension in elderly population and its potential risks [J]. Vnitr Lek, 2022, 68 (7): 461-464. DOI: 10.36290/vnl.2022.097.
- [7] TSCHOE C, BUSHNELL C D, DUNCAN P W, et al. Neuroinflammation after intracerebral hemorrhage and potential therapeutic targets [J]. J Stroke, 2020, 22 (1): 29-46. DOI: 10.5853/jos.2019.02236.
- [8] YU H, CAO X, LI W, et al. Targeting connexin 43 provides anti-inflammatory effects after intracerebral hemorrhage injury by regulating YAP signaling [J]. J Neuroinflammation, 2020, 17 (1): 322. DOI: 10.1186/s12974-020-01978-z.
- [9] ZHU H, JIAN Z, ZHONG Y, et al. Janus kinase inhibition ameliorates ischemic stroke injury and neuroinflammation through reducing NLRP3 inflammasome activation via JAK2/STAT3 pathway inhibition [J]. Front Immunol, 2021, 12: 714943. DOI: 10.3389/fimmu.2021.714943.
- [10] LI W, ALI T, HE K, et al. Ibrutinib alleviates LPS-induced neuroinflammation and synaptic defects in a mouse model of depression [J]. Brain Behav Immun, 2021, 92: 10-24. DOI: 10.1016/j.bbi.2020.11.008.
- [11] MARTINEZ B, PELOW P V. microRNA biomarkers in frontotemporal dementia and to distinguish from Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis [J]. Neural Regen Res, 2022, 17 (7): 1412-1422. DOI: 10.4103/1673-5374.330591.
- [12] CHANG X, ZHU G, CAI Z, et al. miRNA, lncRNA and circRNA: targeted molecules full of therapeutic prospects in the development of diabetic retinopathy [J]. Front Endocrinol, 2021, 12: 771552. DOI: 10.3389/fendo.2021.771552.
- [13] 成非, 樊延明, 陈丹, 等. 血清微小 RNA-29b 和微小 RNA-204 水平与原发高血压患者血管内皮功能的相关性 [J]. 中华高血压杂志 (中英文), 2024, 32 (12): 1180-1183. DOI: 10.16439/j.issn.1673-7245.2024.12.013.

- CHENG F, FAN Y M, CHEN D, et al. Correlation between serum microRNA-29b and microRNA-204 levels and vascular endothelial function in patients with essential hypertension[J]. Chin J Hypertens, 2024, 32 (12): 1180-1183. DOI: 10.16439/j.issn.1673-7245.2024.12.013.
- [14] SU L, LI R, ZHANG Z, et al. Identification of altered exosomal microRNAs and mRNAs in Alzheimer's disease[J]. Ageing Res Rev, 2022, 73 : 101497. DOI: 10.1016/j.arr.2021.101497.
- [15] SUGAWARA S K, YAMAMOTO T, NAKAYAMA Y, et al. Premovement activity in the mesocortical system links peak force but not initiation of force generation under incentive motivation[J]. Cereb Cortex, 2023, 33 (23): 11408-11419. DOI: 10.1093/cercor/bhad376.
- [16] DODD W S, NODA I, MARTINEZ M, et al. NLRP3 inhibition attenuates early brain injury and delayed cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage[J]. J Neuroinflammation, 2021, 18 (1): 163. DOI: 10.1186/s12974-021-02207-x.
- [17] WU X, PAN S, LUO W, et al. Roseburia intestinalis-derived flagellin ameliorates colitis by targeting miR-223-3p-mediated activation of NLRP3 inflammasome and pyroptosis[J]. Mol Med Rep, 2020, 22 (4): 2695-2704. DOI: 10.3892/mmr.2020.11351.
- [18] ZHAO J, CHEN C, GE L, et al. TAK1 inhibition mitigates intracerebral hemorrhage-induced brain injury through reduction of oxidative stress and neuronal pyroptosis *via* the NRF2 signaling pathway[J]. Front Immunol, 2024, 15 : 1386780. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1386780.
- [19] LAN X, WANG Q, LIU Y, et al. Isoliquiritigenin alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury by reducing oxidative stress and ameliorating mitochondrial dysfunction *via* activating the Nrf2 pathway[J]. Redox Biol, 2024, 77 : 103406. DOI: 10.1016/j.redox.2024.103406.
- [20] TSAI Y C, CHANG C H, CHONG Y B, et al. microRNA-195-5p inhibits intracerebral hemorrhage-induced inflammatory response and neuron cell apoptosis[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25 (19): 10321. DOI: 10.3390/ijms251910321.
- [21] LI B, ZHAO A R, TIAN T, et al. Mechanobiological insight into brain diseases based on mechanosensitive channels: common mechanisms and clinical potential[J]. CNS Neurosci Ther, 2024, 30 (6): e14809. DOI: 10.1111/ens.14809.
- [22] CHIARINI A, GUI L, VIVIANI C, et al. NLRP3 inflammasome's activation in acute and chronic brain diseases-an update on pathogenetic mechanisms and therapeutic perspectives with respect to other inflammasomes[J]. Biomedicines, 2023, 11 (4): 999. DOI: 10.3390/biomedicines11040999.
- [23] CHOUDHURY S M, MA X, ZENG Z, et al. Senecavirus a 3D interacts with NLRP3 to induce IL-1 β production by activating NF- κ B and ion channel signals[J]. Microbiol Spectr, 2022, 10 (2): e0209721. DOI: 10.1128/spectrum.02097-21.
- [24] DANIELPOUR D. Advances and challenges in targeting TGF- β isoforms for therapeutic intervention of cancer: a mechanism-based perspective[J]. Pharmaceuticals, 2024, 17 (4): 533. DOI: 10.3390/ph17040533.
- [25] CANDELARIO-JALIL E, DIJKHUIZEN R M, MAGNUS T. Neuroinflammation, stroke, blood-brain barrier dysfunction, and imaging modalities[J]. Stroke, 2022, 53 (5): 1473-1486. DOI: 10.1161/STROKEAHA.122.036946.
- [26] SHEPELKOVA G S, EVSTIFEV V V, TARASOV R V, et al. microRNAs as biomarkers of active pulmonary TB course[J]. Microorganisms, 2023, 11 (3): 626. DOI: 10.3390/microorganisms11030626.
- [27] PENG X, HE F, MAO Y, et al. miR-146a promotes M2 macrophage polarization and accelerates diabetic wound healing by inhibiting the TLR4/NF- κ B axis[J]. J Mol Endocrinol, 2022, 69 (2): 315-327. DOI: 10.1530/JME-21-0019.
- [28] WONG Y H, WONG S H, WONG X T, et al. Genetic associated complications of type 2 diabetes mellitus[J]. Panminerva Med, 2022, 64 (2): 274-288. DOI: 10.23736/S0031-0808.21.04285-3.
- [29] PAPATHANASIOU I, BALIS C, TRACHANA V, et al. The synergistic function of miR-140-5p and miR-146a on TLR4-mediated cytokine secretion in osteoarthritic chondrocytes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 522 (3): 783-791. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.11.168.

(责任编辑:郑巧兰)