

loperamide-induced constipation in rats by regulating expression of aquaporins[J]. *J Tradit Chin Med*, 2023, 43 (6): 1160-1167.

[13] Luo M, Xie P W, Deng X H, *et al.* Rifaximin ameliorates loperamide-induced constipation in rats through the regulation of gut microbiota and serum metabolites[J]. *Nutrients*, 2023, 15(21): 4502.

[14] Wang L, Chen Y, Xu M M, *et al.* Electroacupuncture alleviates functional constipation in mice by activating enteric glial cell autophagy *via* PI3K/AKT/mTOR signaling[J]. *Chin J Integr Med*, 2023, 29(5): 459-469.

[15] 马雷雷, 李继安, 徐文轩, 等. 基于 PI3K/Akt 通路探讨黄芪皂苷对 2 型糖尿病大鼠肌少症的影响[J]. *中成药*, 2024, 46(11): 3612-3619.

[16] 陈 玲, 张锦佳, 黄宇钧, 等. Biphalin 激活 PI3K/Akt 通路减轻氧糖剥夺/复氧诱导的神经元损伤[J]. *中南民族大*

学学报 (自然科学版), 2025, 44(3): 357-364.

[17] Wu R, Zhang Z B, Xu Q X, *et al.* Integration of network pharmacology and experimental verifications reveals the Bian-Se-Tong mixture can alleviate constipation in STC rats by reducing apoptosis of cajal cells *via* activating PI3K-Akt signaling pathway[J]. *Heliyon*, 2024, 10(7): e28022.

[18] 王 红, 吴 容, 张智彬, 等. 中医药调控 PI3K/Akt 信号通路治疗慢传输型便秘的研究进展[J]. *中医药导报*, 2024, 30(3): 126-131; 159.

[19] 林仁敬, 郭夏君, 王梨力, 等. 白术七物颗粒调控 PI3K/AKT/mTOR 通路抑制 Cajal 间质细胞凋亡治疗慢传输型便秘机制研究[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2023, 25(8): 5-9; 22.

[20] 白 妍, 肖 艳, 林玉杰, 等. “调神畅志”法针对帕金森伴便秘模型大鼠结肠组织 PI3K/AKT/eNOS 信号通路的影响[J]. *针灸临床杂志*, 2023, 39(6): 68-73.

基于 HMGB1/TLR4 通路探讨甘草酸对血红素诱导 BV2 细胞炎症反应的影响

董 焕¹, 刘 芳¹, 曾 艳¹, 李春辉¹, 周旭晴¹, 吕 笑¹, 刘皓昕², 郭 纯^{1*}
(1. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007; 2. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410007)

摘要：目的 探讨甘草酸对血红素诱导 BV2 细胞炎症反应的改善作用。方法 采用氯化血红素诱导 BV2 细胞建立体外脑出血炎症反应细胞模型，确定最佳的甘草酸作用浓度。将 BV2 细胞分为对照组、模型组、甘草酸组、EP（HMGB1 抑制剂丙酮酸乙酯）组、EP+甘草酸组、TAK-242（TLR4 抑制剂）组、TAK-242+甘草酸组。ELISA 法检测细胞上清液炎症因子 IL-1β、TNF-α、IL-6 水平，免疫荧光和 Western blot 法检测细胞 HMGB1、TLR4、NF-κB P65 和 CD86 蛋白表达。结果 氯化血红素诱导 BV2 细胞的最佳浓度为 40 μmol/L，甘草酸作用最佳浓度为 50 mmol/L。与模型组比较，甘草酸组细胞存活率升高（*P*<0.01），细胞上清液 IL-1β、TNF-α、IL-6 水平降低（*P*<0.05，*P*<0.01），细胞 HMGB1、TLR4、NF-κB P65 和 CD86 蛋白表达降低（*P*<0.05，*P*<0.01）。结论 甘草酸可减轻血红素诱导 BV2 细胞 M1 型极化及炎症反应，其作用机制可能与调控 HMGB1/TLR4 通路相关。

关键词：甘草酸；BV2 细胞；HMGB1/TLR4 通路；炎症反应；M1 型极化

中图分类号：R285.5 文献标志码：B 文章编号：1001-1528(2025)11-3782-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2025.11.038

收稿日期：2025-02-15

基金项目：湖南省自然科学基金面上项目（2024JJ5316）；湖南省卫生健康委员会科研项目（W20242018）；长沙市自然科学基金（kq2208208）；湖南中医药大学校级研究生创新课题（2024CX124）

作者简介：董 焕（2001—），女，硕士生，从事中医药防治脑病的研究。Tel: 15129538201, E-mail: donghuan011028@163.com

* 通信作者：郭 纯（1979—），女，博士，研究员，从事中医药防治脑病的研究。Tel: 13787115232, E-mail: 27392668@qq.com

脑出血（intracerebral hemorrhage, ICH）通常由血管破裂引起，在世界范围内严重威胁人类生命健康，具有较高的发病率、死亡率及致残率^[1]。炎症在 ICH 血肿形成后立即开始，是诱导继发性脑损伤的关键因素^[2]。ICH 后红细胞分解产物如血红蛋白、血红素和铁，会加重 ICH 诱导的炎症损伤^[3]。小胶质细胞作为最早对脑损伤做出反应的免疫细胞，被激活并形成典型的 M1 促炎表型或 M2 抗炎表型来响应急性脑损伤^[4]。M1 型小胶质细胞被认为是早期 ICH 中很有前途的治疗靶点，有研究表明 ICH 小鼠小胶质细胞会迅速转化为 M1 表型，抑制神经元发育和再生，抑制 M1 型极化可以减轻 ICH 中的神经炎症^[5-6]。

ICH 后高迁移率族蛋白 B1（high mobility group box 1, HMGB1）从细胞核释放到细胞质中，上调 Toll 样受体 4（Toll-like receptor 4, TLR4）表达，诱导神经功能缺损，通过下调 HMGB1、TLR4 的表达可减轻细胞凋亡、炎症反应、神经功能缺损^[7-8]。甘草中的甘草酸是常用的 HMGB1 拮抗剂，可以作为治疗 ICH 的潜在候选药物^[9]。有动物实验证明，甘草酸可通过与 HMGB1 相互作用抑制其活性及释放，降低胞体中 HMGB1 的表达，从而发挥抗炎作用，减轻 ICH 神经损伤^[10-11]。因此，本研究使用氯化血红素诱导 BV2 细胞建立体外 ICH 炎症细胞模型，旨在观察甘草酸是否通过调节 HMGB1/TLR4 通路抑制小胶质细胞 M1 型极化减轻炎症反应。

1 材料

1.1 细胞株 小鼠小胶质细胞 BV2 细胞（货号 CL-0493），购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

1.2 药物与试剂 甘草酸、HMGB1 抑制剂丙酮酸乙酯（ethyl pyruvate, EP）、氯化血红素（美国 MedChemExpress 公司，货号 HY-N0184、HY-Y1362、H140872）；TLR4 抑制剂 TAK-242（德国 Merck 公司，货号 614316）。DMEM/F12（武汉普诺赛生命科技有限公司，货号 PM150312）；RIPA 蛋白裂解液（江苏康为世纪生物科技股份有限公司，货号 CW2333s）；DAPI 溶液（即用型）（北京索莱宝科技有限公司，货号 C0065）；HMGB1 抗体（英国 Abcam 公司，货号 ab79823）；TLR4、CD86、 β -actin 抗体、Fluorescein（FITC）-conjugated Goat Anti-Rabbit IgG（H + L）、Fluorescein（FITC）-conjugated Goat Anti-Mouse IgG（H+L）（武汉三鹰生物技术有限公司，货号 19811-1-AP、13395-1-AP、20536-1-AP、SA00003-2、SA00003-1）；NF- κ B P65 抗体（湖南艾方生物科技有限公司，货号 AF10761）；HRP-Goat Anti-Rabbit IgG（H+L）、HRP-Goat Anti-Mouse IgG（H+L）（武汉戴安生物技术有限公司，货号 Q1002、Q1001）；IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 检测试剂盒、BCA 检测试剂盒（武汉伊莱瑞特生物科技有限公司，货号 E-EL-M0037、E-EL-M3063、E-EL-M0044、E-BC-K318-M）。

1.3 仪器 HERAcell 240i 型二氧化碳培养箱（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；MIX60 型倒置显微镜和 MSX-2 细胞成像分析系统（广州明美光电技术有限公司）；

L530R 型台式低速冷冻离心机（湖南湘仪实验仪器开发有限公司）；Enspire 型多功能酶标仪（美国 Perkin Elmer 公司）；LSM800 型超高分辨率激光共聚焦显微镜（德国 Zeiss 公司）；PowerPac Basic 基础型电源、Mini-PROTEAN Tetra 垂直蛋白电泳槽和 Mini Trans-Blot 湿电转印系统（美国 Bio-Rad 公司）。

2 方法

2.1 细胞培养及分组处理 BV2 细胞复苏后培养在含有 10% FBS 及 1% 双抗的 DMEM/F12 培养基中，并将其放置在 37℃、5% CO₂ 的湿润恒温培养箱中培养，2~3 d 传代 1 次。使用氯化血红素诱导 BV2 细胞建立体外 ICH 炎症反应模型^[12-13]，以 10、20、30、40、50、60、70 μ mol/L 氯化血红素诱导 BV2 细胞，并选出细胞存活率约为 60% 的诱导浓度开展后续实验。

BV2 细胞设对照组、模型组、6 个不同浓度的甘草酸组，对照组为正常生长的 BV2 细胞，模型组采用 40 μ mol/L 氯化血红素诱导 BV2 细胞 24 h，给药组用不同浓度（10、25、50、75、100、200 mmol/L）甘草酸处理 1 h 后再加入 40 μ mol/L 氯化血红素诱导 BV2 细胞 24 h，以此筛选甘草酸最佳的作用浓度。

BV2 细胞设对照组、模型组、甘草酸组（50 mmol/L）、EP 组（10 μ mol/L）、EP+甘草酸组（10 μ mol/L+50 mmol/L）、TAK-242 组（1 μ mol/L）、TAK-242+甘草酸组（1 μ mol/L+50 mmol/L），模型组采用 40 μ mol/L 氯化血红素诱导 BV2 细胞 24 h，各药物干预组使用相应浓度药物处理 1 h 后再使用 40 μ mol/L 氯化血红素诱导 BV2 细胞 24 h，以此探讨甘草酸抗炎效应及机制。

2.2 CCK8 法检测细胞存活率 取对数生长期的 BV2 细胞，以 5×10^4 /mL 密度接种至 96 孔板，按“2.1”项下分组处理 23 h 后，每孔加入 10 μ L CCK8 试剂，于 37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 1 h，用酶标仪测定 450 nm 波长处的光密度（OD）值，并计算细胞存活率。

2.3 ELISA 法检测炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 水平 取对数生长期的 BV2 细胞，以 8×10^4 /mL 密度接种至 24 孔板，按“2.1”项下分组处理 24 h，收集各组细胞上清液，高速冷冻离心机 4℃、3 000 r/min 离心 10 min，取上清，按照 ELISA 试剂盒说明书，在酶标仪 450 nm 波长处检测标准品及各组 OD 值，标准品拟合标准曲线后计算各组炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 水平。

2.4 免疫荧光法检测细胞 HMGB1、TLR4、CD86 蛋白表达 取对数生长期的 BV2 细胞，以 8×10^4 /mL 密度接种至 24 孔板，按“2.1”项下分组处理 24 h，弃去上清液，使用 4% 多聚甲醛固定细胞 30 min，0.25% Triton X-100 通透 20 min，并用 5% BSA 封闭 30 min 后，加入一抗于 4℃孵育过夜，次日加入相应二抗于 37℃避光孵育 30 min，滴加 DAPI 染细胞核，并在激光扫描共聚焦显微镜下观察并拍照，并使用 ZEN 软件对图片进行荧光强度分析。

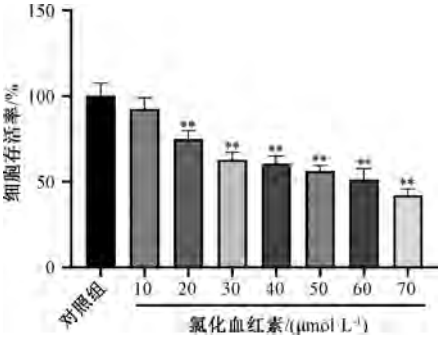
2.5 Western blot 法检测细胞 HMGB1、TLR4、CD86、NF-

κB P65 蛋白表达 取对数生长期的 BV2 细胞，以 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 密度接种至 6 孔板，按“2.1”项下分组处理 24 h，收集各组细胞，使用 RIPA 裂解液从细胞中裂解并分离提取蛋白质，使用 BCA 试剂盒对蛋白进行定量，加入一定量的 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液，95 ℃煮沸 10 min 使蛋白变性。上样于 4% ~ 20% 的预制胶（ACE）中进行电泳，并转到 PVDF 膜上，之后用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h，TBST 清洗 3 次，加入一抗 4 ℃ 孵育过夜，次日加入相应二抗室温摇床孵育 1 h，滴加显影液进行显色、曝光。通过 Image J 软件分析条带灰度值，以 β -actin 为内参，计算目的蛋白相对表达量。

2.6 统计学分析 通过 GraphPad Prism 9 软件进行处理，计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示，符合正态性和方差齐性时，多组间比较采用单因素方差分析，进一步多重比较采用 Tukey 检验法；不符合正态性和方差齐性时，采用秩和检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

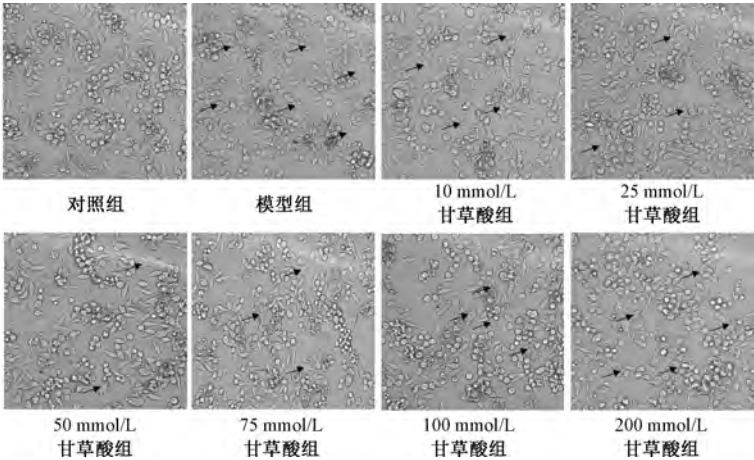
3 结果

3.1 不同浓度氯化血红素诱导对 BV2 细胞存活率的影响 如图 1 所示，与对照组比较，20、30、40、50、60、70 $\mu\text{mol/L}$ 氯化血红素组存活率均降低（ $P < 0.01$ ）。后续实验选择 BV2 细胞存活率约为 60% 的氯化血红素浓度作为体外脑出血炎症反应细胞模型的诱导浓度，即 40 $\mu\text{mol/L}$ 。



注：与对照组比较，** $P < 0.01$ 。

图 1 不同浓度氯化血红素浓度对 BV2 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

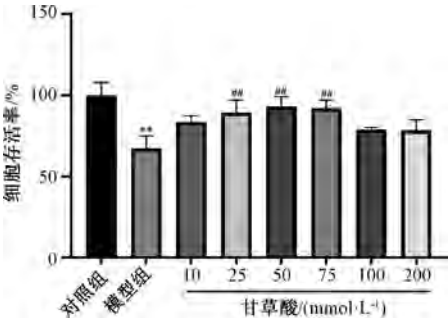


注：黑色箭头所指为活化的 BV2 细胞。

图 3 不同浓度甘草酸对 BV2 细胞形态的影响 ($\times 100$)

3.2 甘草酸给药浓度筛选

3.2.1 不同浓度甘草酸对 BV2 细胞存活率的影响 如图 2 所示，与模型组比较，低浓度（10 mmol/L）和高浓度（100、200 mmol/L）甘草酸处理对 BV2 细胞存活率无显著影响（ $P > 0.05$ ），而 25、50、75 mmol/L 甘草酸处理能提高 BV2 细胞存活率（ $P < 0.01$ ）。其中，50 mmol/L 甘草酸对氯化血红素诱导的 BV2 细胞活力的恢复作用最明显。

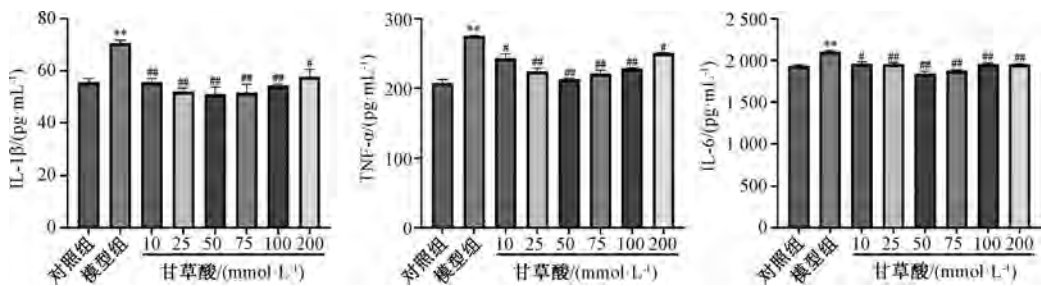


注：与对照组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，### $P < 0.01$ 。

图 2 不同浓度甘草酸对 BV2 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

3.2.2 不同浓度甘草酸对 BV2 细胞形态的影响 如图 3 所示，与正常组比较，模型组部分贴壁细胞突起缩短变厚，胞体增大，呈现阿米巴样。与模型组比较，不同浓度甘草酸处理后细胞形态有不同程度恢复，10、25、50 mmol/L 甘草酸组随着浓度升高，阿米巴样细胞数量变少；当浓度继续提升时，75、100、200 mmol/L 甘草酸组阿米巴样细胞数量相应变多。其中，50 mmol/L 甘草酸对氯化血红素诱导的 BV2 细胞状态的恢复作用最好。

3.2.3 不同浓度甘草酸对 BV2 细胞上清液 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 水平的影响 如图 4 所示，与正常组比较，模型组细胞上清液促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平升高（ $P < 0.01$ ）；与模型组比较，不同浓度甘草酸组细胞上清液 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平均降低（ $P < 0.05$, $P < 0.01$ ）。其中，50 mmol/L 甘草酸为降低氯化血红素诱导 BV2 细胞上



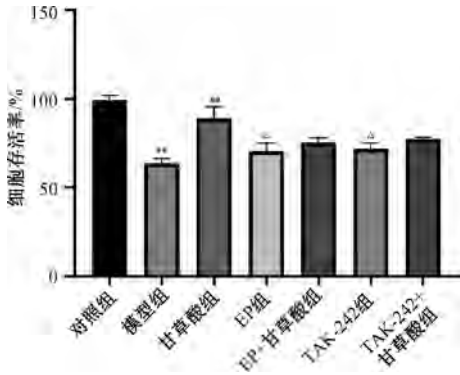
注：与对照组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

图 4 不同浓度甘草酸对 BV2 细胞上清液 IL-1β、TNF-α、IL-6 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)

清液炎症因子水平的最佳浓度。结合“3.2.1”“3.2.2”结果，后续实验选择 50 mmol/L 甘草酸。

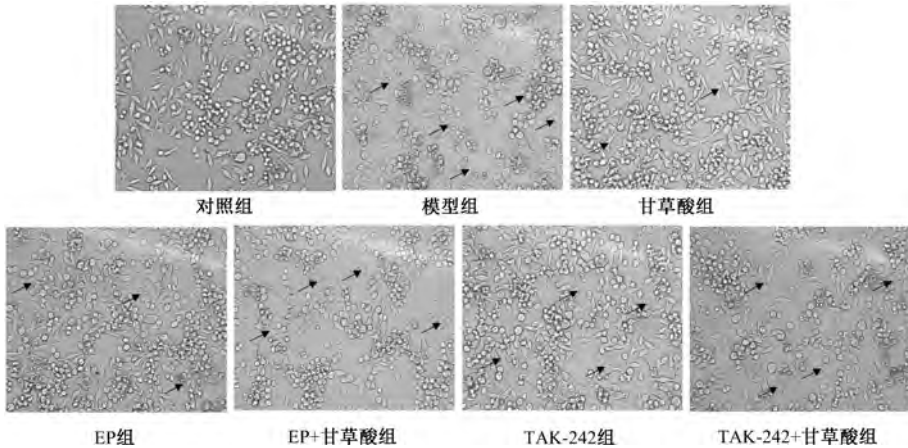
3.3 甘草酸对氯化血红素诱导 BV2 细胞存活率的影响 如图 5 所示，与对照组比较，模型组 BV2 细胞存活率降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，甘草酸组细胞存活率升高 ($P<0.01$)；与甘草酸组比较，EP 组和 TAK-242 组细胞存活率降低 ($P<0.05$)，EP+甘草酸组和 TAK-242+甘草酸组细胞存活率无明显变化 ($P>0.05$)。

3.4 甘草酸对氯化血红素诱导 BV2 细胞形态的影响 如图 6 所示，与模型组比较，甘草酸组细胞形态阿米巴样细胞数量最少，而 EP 组、EP+甘草酸组、TAK-242 组和 TAK-242+甘草酸组大部分细胞呈现阿米巴样活化状态。



注：与对照组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ ；与甘草酸组比较， $\Delta P<0.05$ 。

图 5 各组 BV2 细胞存活率比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)



注：黑色箭头所指为活化的 BV2 细胞。

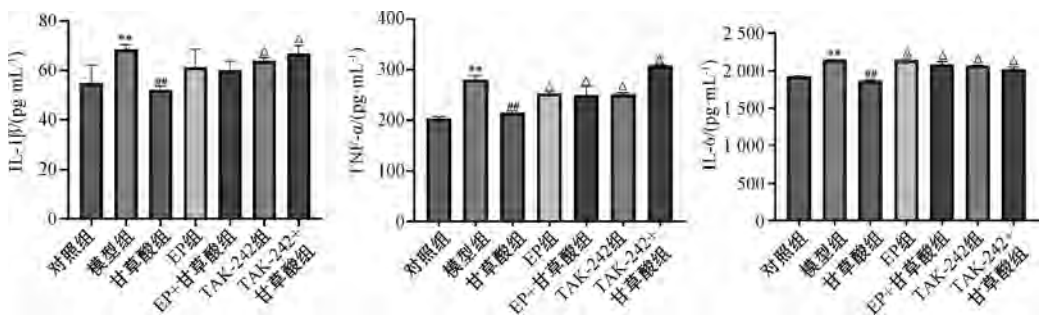
图 6 各组 BV2 细胞形态 ($\times 100$)

3.5 甘草酸对氯化血红素诱导 BV2 细胞上清液 IL-1β、TNF-α、IL-6 水平的影响 如图 7 所示，与对照组比较，模型组细胞上清液 IL-1β、TNF-α、IL-6 水平升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，甘草酸组细胞上清液 IL-1β、TNF-α、IL-6 水平降低 ($P<0.01$)；与甘草酸组比较，EP 组、EP+甘草酸组、TAK-242 组和 TAK-242+甘草酸组细胞上清液 TNF-α、IL-6 水平均升高 ($P<0.05$)，TAK-242 组和 TAK-242+甘草酸组细胞上清液 IL-1β 水平均升高 ($P<0.05$)。

3.6 甘草酸对氯化血红素诱导 BV2 细胞 HMGB1、TLR4、CD86 平均荧光强度的影响 如图 8 所示，与对照组比较，模型组细胞 HMGB1、TLR4 及 CD86 平均荧光强度升高

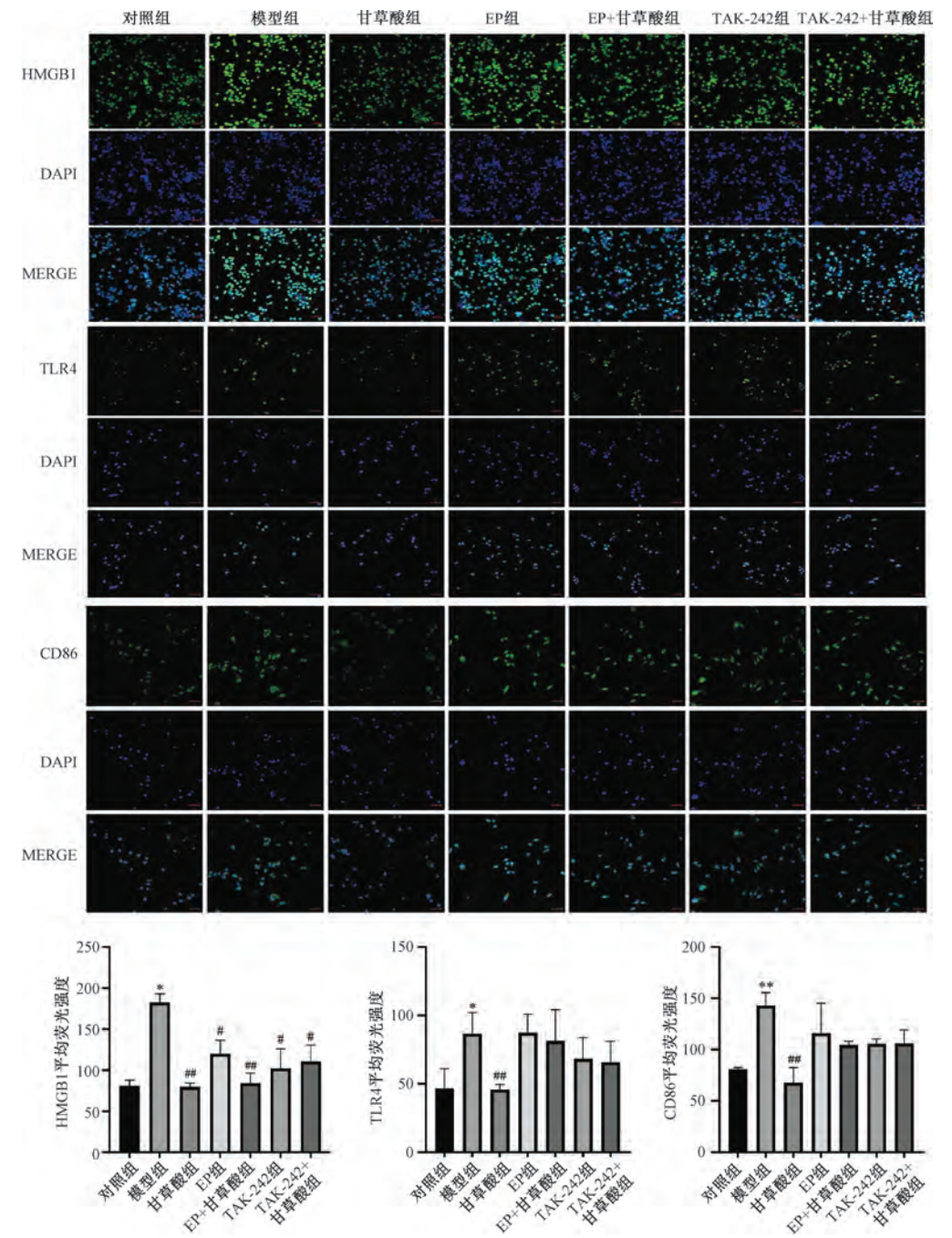
($P<0.05$, $P<0.01$)；与模型组比较，甘草酸组细胞 HMGB1、TLR4 及 CD86 平均荧光强度降低 ($P<0.01$)，EP 组、EP+甘草酸组、TAK-242 组和 TAK-242+甘草酸组 HMGB1 平均荧光强度降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，而 TLR4 及 CD86 平均荧光强度无明显变化 ($P>0.05$)。

3.7 甘草酸对氯化血红素诱导 BV2 细胞 HMGB1、TLR4、CD86、NF-κB P65 蛋白表达的影响 如图 9 所示，与对照组比较，模型组细胞 HMGB1、TLR4、CD86、NF-κB P65 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)；与模型组比较，甘草酸组细胞 HMGB1、TLR4、CD86、NF-κB P65 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，EP 组、EP+甘草酸组、TAK-242 组和



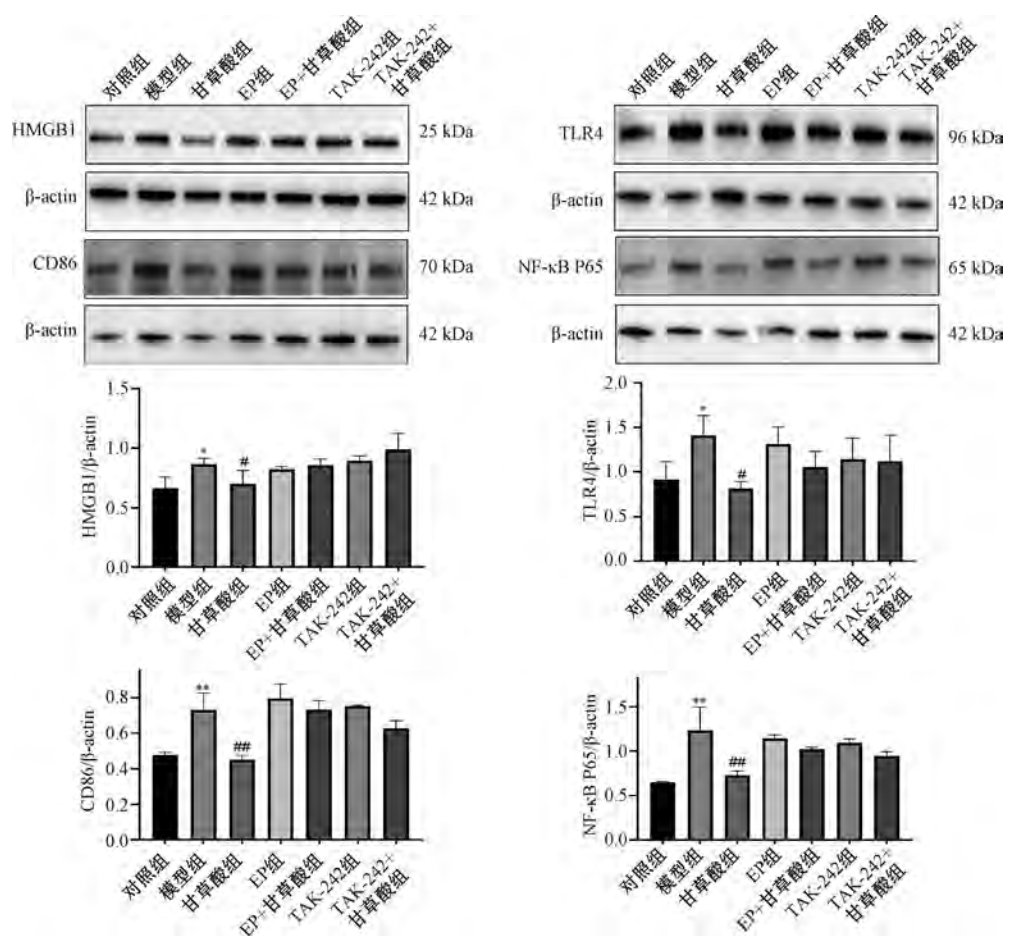
注：与对照组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较， $^{##}P<0.01$ ；与甘草酸组比较， $^{\Delta}P<0.05$ 。

图 7 各组 BV2 细胞上清液 IL-1β、TNF-α、IL-6 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)



注：与对照组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与模型组比较， $^{\#}P<0.05$ ， $^{##}P<0.01$ 。

图 8 各组 BV2 细胞 HMGB1、TLR4、CD86 荧光表达比较 ($\times 100$, $\bar{x}\pm s$, $n=3$)



注：与对照组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

图 9 各组 BV2 细胞 HMGB1、TLR4、NF-κB P65、CD86 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

TAK-242+甘草酸组细胞 HMGB1、TLR4、CD86、NF-κB P65 蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$)。

4 讨论

ICH 后小胶质细胞可被血液成分包括红细胞、血红素等激活，从而引起炎症反应，是继发性损伤导致神经元死亡的主要原因，因此如何有效抑制炎症反应是治疗 ICH 的重要研究方向^[14-15]。HMGB1/TLR4 信号通路与脑内的神经炎症密切相关^[16-17]。甘草酸作为一种来自甘草的生物活性化合物，已有体内实验研究证明其能抑制 HMGB1 表达，减轻 ICH 诱导的炎症反应，改善神经功能缺损，减轻脑损伤^[18-19]。因此，本研究聚焦于 HMGB1/TLR4 信号通路，探讨甘草酸如何通过抑制该通路减轻氯化血红素诱导的 BV2 细胞炎症反应。

本研究结果表明，在 40 μmol/L 氯化血红素诱导的 BV2 细胞炎症模型中，使用 50 mmol/L 甘草酸进行干预可提高氯化血红素诱导 BV2 细胞的细胞活力，并降低 IL-1β、TNF-α、IL-6 等炎症因子水平，这一抗炎作用伴随着 HMGB1 和 TLR4 等关键蛋白表达的下调。抑制 HMGB1/TLR4 信号通路，减少促炎因子释放，这可能是甘草酸减轻 BV2 细胞炎症的核心机制之一。BV2 细胞在 ICH 病变周围被激活并产生极化^[20]，减少 M1 型极化状态能减轻 ICH 后

的炎症反应并改变水肿情况^[21]。CD86 作为 M1 型小胶质细胞的表面标志物，甘草酸组 CD86 蛋白表达降低，表明甘草酸能有效抑制 BV2 细胞向促炎的 M1 型极化。

值得注意的是本研究中使用 HMGB1 抑制剂 (EP) 和 TLR4 抑制剂 (TAK-242) 作为对照，虽然 2 种抑制剂均能部分抑制氯化血红素诱导 BV2 细胞的炎症反应，但效果不及单纯使用甘草酸，这提示甘草酸可能不仅作用于 HMGB1/TLR4 通路，还能通过 HMGB1/GPX4^[22]、HMGB1-RAGE^[23]、HMGB1/p38MAPK^[24]、PI3K/AKT/NF-κB^[25] 等旁路发挥协同抗炎作用。而 2 种抑制剂分别与甘草酸联用后抗炎作用反而变弱，推测这 2 种抑制剂与甘草酸间可能存在竞争性抑制作用，为后续研究提供了思路。

综上所述，本研究通过体外细胞实验证实了甘草酸通过调控 HMGB1/TLR4 信号通路，有效减轻氯化血红素诱导的 BV2 细胞模型中的炎症反应。未来研究需在原代小胶质细胞和动物模型中进一步验证这一机制，并深入探索甘草酸与其他信号通路的交互作用，以全面解析其神经保护机制。

参考文献：

[1] Magid-Bernstein J, Girard R, Polster S, et al. Cerebral

hemorrhage; pathophysiology, treatment, and future directions[J]. *Circ Res*, 2022, 130(8): 1204-1229.

[2] Mracsko E, Veltkamp R. Neuroinflammation after intracerebral hemorrhage[J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 388.

[3] Zhou Y, Wang Y, Wang J, *et al.* Inflammation in intracerebral hemorrhage; from mechanisms to clinical translation[J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 115: 25-44.

[4] Guo Y, Dai W, Zheng Y, *et al.* Mechanism and regulation of microglia polarization in intracerebral hemorrhage[J]. *Molecules*, 2022, 27(20): 7080.

[5] Zille M, Farr T D, Keep R F, *et al.* Novel targets, treatments, and advanced models for intracerebral haemorrhage[J]. *EBioMedicine*, 2022, 76: 103880.

[6] Chao C, Li Y, Li Q, *et al.* Inhibitory effect and mechanism of rosiglitazone on M1 type polarization of central microglia in intracerebral hemorrhage mice based on JNK/STAT3 signaling pathway[J]. *Brain Behav*, 2023, 13(12): e3275.

[7] 李阳阳, 方 建, 王晓雪. 伏立诺他调节高迁移率族蛋白 B1/Toll 样受体 4 信号通路对脑出血小鼠神经功能损伤的影响[J]. *临床神经病学杂志*, 2024, 37(4): 292-296.

[8] Lei C, Li Y, Zhu X, *et al.* HMGB1/TLR4 induces autophagy and promotes neuroinflammation after intracerebral hemorrhage[J]. *Brain Res*, 2022, 1792: 148003.

[9] Machida A, Banshoya K, Miyamaru A, *et al.* A glycyrrhizin derivative with a more potent inhibitory activity against high-mobility group box 1 efficiently discovered by chemical synthesis inspired by the bioconversion products of an endophytic fungus isolated from licorice[J]. *J Med Chem*, 2024, 67(18): 16328-16337.

[10] 林维斌, 陈祥荣, 曾以勒, 等. 高迁移率族蛋白 B1 介导大鼠创伤性脑损伤后小胶质细胞 M1 极化和神经炎症[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2021, 30(5): 405-411.

[11] Ohnishi M, Katsuki H, Fukutomi C, *et al.* HMGB1 inhibitor glycyrrhizin attenuates intracerebral hemorrhage-induced injury in rats[J]. *Neuropharmacology*, 2011, 61(5-6): 975-980.

[12] Hu L, Zhang H, Wang B, *et al.* MicroRNA-152 attenuates neuroinflammation in intracerebral hemorrhage by inhibiting thioredoxin interacting protein (TXNIP) -mediated NLRP3 inflammasome activation[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 80: 106141.

[13] 张 瑛, 高晓峰, 郭 纯, 等. 基于 PPAR γ 信号通路探讨安脑平冲方极化 M2 型小胶质细胞减轻脑出血后神经炎症的作用机制[J]. *湖南中医药大学学报*, 2023, 43(3): 405-412.

[14] Alsbrook D L, Di Napoli M, Bhatia K, *et al.* Neuroinflammation in acute ischemic and hemorrhagic stroke[J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2023, 23(8): 407-431.

[15] Yang G, Fan X, Mazhar M, *et al.* Neuroinflammation of microglia polarization in intracerebral hemorrhage and its potential targets for intervention[J]. *Front Mol Neurosci*, 2022, 15: 1013706.

[16] Lei C, Li Y, Zhu X, *et al.* HMGB1/TLR4 induces autophagy and promotes neuroinflammation after intracerebral hemorrhage[J]. *Brain Res*, 2022, 1792: 148003.

[17] Guo C, Zhou X, Wang X, *et al.* Annao Pingchong decoction alleviate the neurological impairment by attenuating neuroinflammation and apoptosis in intracerebral hemorrhage rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 310: 116298.

[18] Machida A, Banshoya K, Eto T, *et al.* Development of an injectable formulation of a water-insoluble glycyrrhizin derivative that potently inhibits high-mobility group box1 in murine intracerebral hemorrhage[J]. *Mol Pharm*, 2025, 22(5): 2581-2589.

[19] Li Y, Wu J, Du F, *et al.* Neuroprotective potential of glycyrrhizic acid in ischemic stroke: mechanisms and therapeutic prospects[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2024, 17(11): 1493.

[20] Lan X, Han X, Li Q, *et al.* Modulators of microglial activation and polarization after intracerebral haemorrhage[J]. *Nat Rev Neurol*, 2017, 13(7): 420-433.

[21] Zhang Z, Zhang Z, Lu H, *et al.* Microglial polarization and inflammatory mediators after intracerebral hemorrhage[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(3): 1874-1886.

[22] Zhu K, Zhu X, Liu S, *et al.* Glycyrrhizin attenuates hypoxic-ischemic brain damage by inhibiting ferroptosis and neuroinflammation in neonatal rats *via* the HMGB1/GPX4 pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 8438528.

[23] Fan H, Tang H B, Chen Z, *et al.* Inhibiting HMGB1-RAGE axis prevents pro-inflammatory macrophages/microglia polarization and affords neuroprotection after spinal cord injury[J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 295.

[24] Luo Z, Xu M, Zhang L, *et al.* Glycyrrhizin regulates the HMGB1/P38MAPK signalling pathway in status epilepticus[J]. *Mol Med Rep*, 2023, 27(2): 45.

[25] 胡志平, 何绍前, 王传明, 等. 甘草酸抑制 PI3K/AKT/NF- κ B 减轻胶原诱导型类风湿关节炎大鼠炎症反应[J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40(13): 2852-2856.