

- 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 通路探讨黄芪总皂苷对 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”法针刺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-1 β 、TNF- α 、IL-6 水平, 免疫荧光和 Western blot 法检测细胞 HMGB1、TLR4、NF- κ B 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 μ mol/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-1 β 、TNF- α 、IL-6 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 细胞 HMGB1、TLR4、NF- κ B 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-κB 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-1β、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 °C、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 μmol/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 μmol/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 μmol/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 μmol/L)、EP+甘草酸组 (10 μmol/L+50 mmol/L)、TAK-242 组 (1 μmol/L)、TAK-242+甘草酸组 (1 μmol/L+50 mmol/L), 模型组采用 40 μmol/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 μmol/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 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 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 μL CCK8 试剂, 于 37 °C、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-1β、TNF-α、IL-6 水平 取对数生长期的 BV2 细胞, 以 $8 \times 10^4/\text{mL}$ 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 °C、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-1β、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 $8 \times 10^4/\text{mL}$ 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 °C 孵育过夜, 次日加入相应二抗于 37 °C 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。

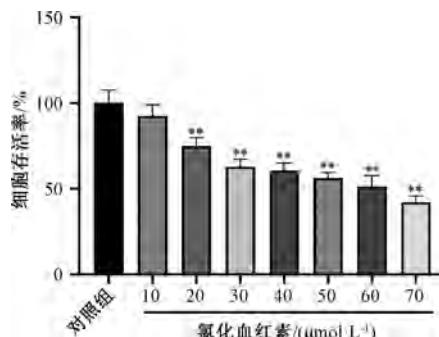
2.5 Western blot 法检测细胞 HMGB1、TLR4、CD86、NF-

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。

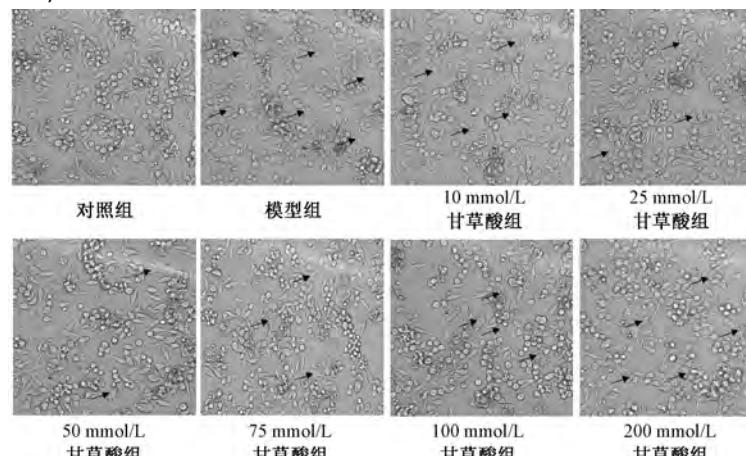
3 结果

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 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 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 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。



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 ($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

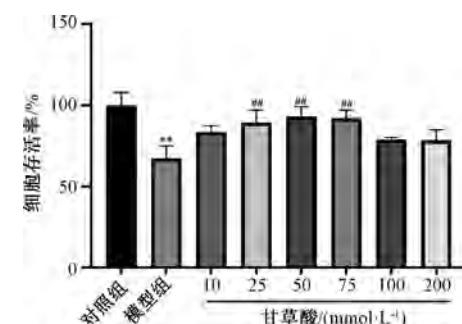


注: 黑色箭头所指为活化的 BV2 细胞。

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。

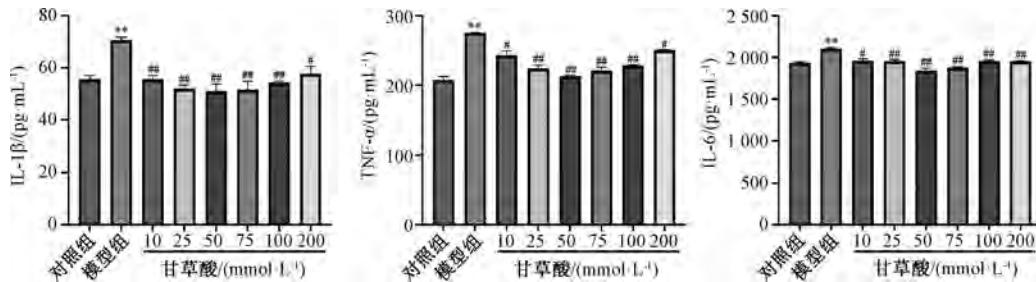


注: 与对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ## $P < 0.01$ 。

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



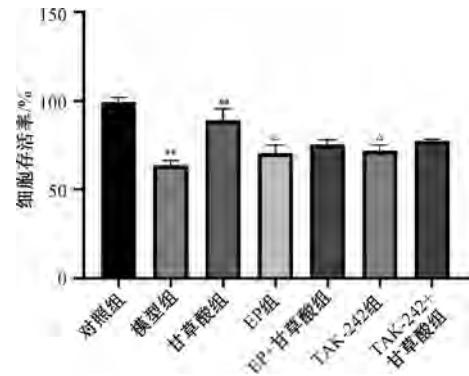
注：与对照组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。

图4 不同浓度甘草酸对BV2细胞上清液IL-1 β 、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 μmol/L甘草酸。

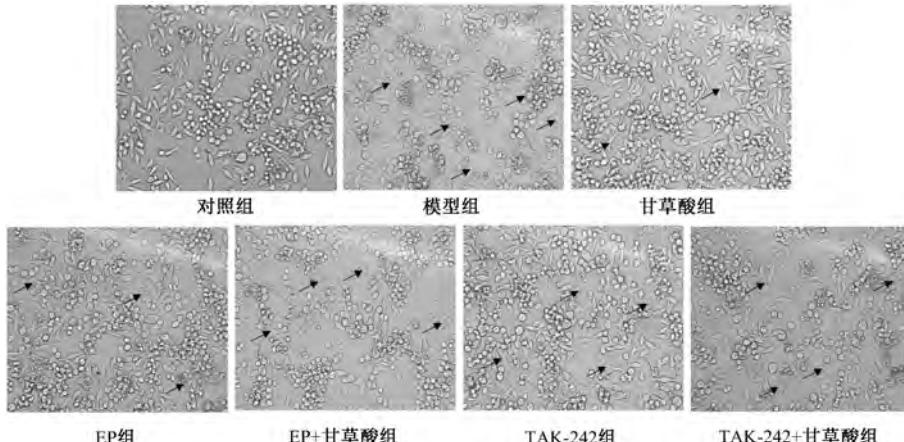
3.3 甘草酸对氯化血红素诱导BV2细胞存活率的影响 如图5所示，与对照组比较，模型组BV2细胞存活率降低 ($P < 0.01$)；与模型组比较，甘草酸组细胞存活率升高 ($P < 0.01$)；与甘草酸组比较，EP组和TAK-242组细胞存活率降低 ($P < 0.05$)，EP+甘草酸组和TAK-242+甘草酸组细胞存活率无明显变化 ($P > 0.05$)。

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，△ $P < 0.05$ 。

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。

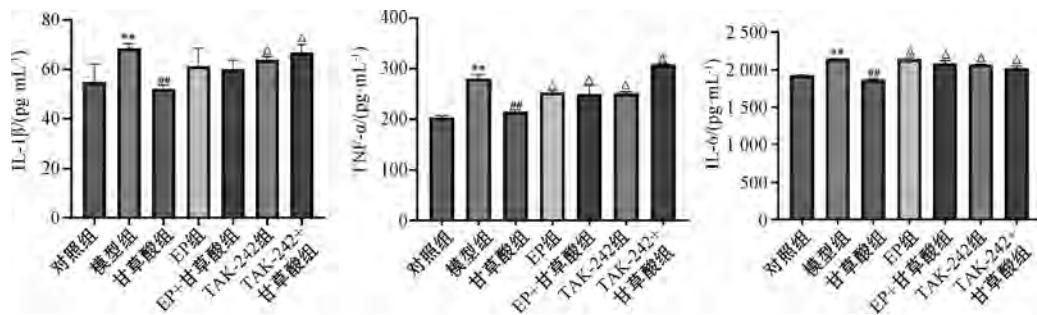
图6 各组BV2细胞形态 ($\times 100$)

3.5 甘草酸对氯化血红素诱导BV2细胞上清液IL-1 β 、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-1 β 、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-1 β 、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水平平均升高 ($P < 0.05$)，TAK-242组和TAK-242+甘草酸组细胞上清液IL-1 β 水平平均升高 ($P < 0.05$)。

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

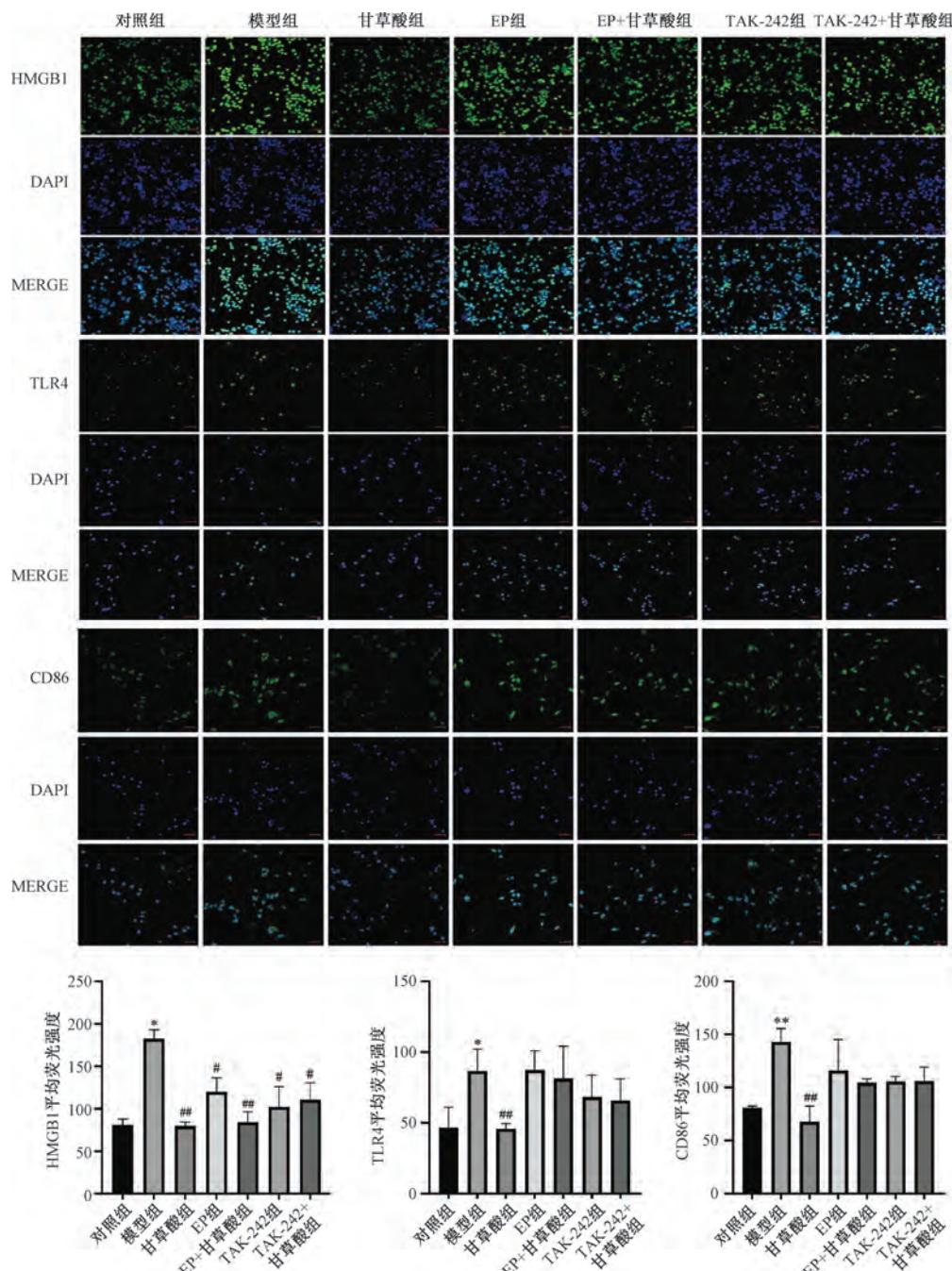
($P < 0.05$, $P < 0.01$)；与模型组比较，甘草酸组细胞HMGB1、TLR4及CD86平均荧光强度降低 ($P < 0.01$)，EP组、EP+甘草酸组、TAK-242组和TAK-242+甘草酸组HMGB1平均荧光强度降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，而TLR4及CD86平均荧光强度无明显变化 ($P > 0.05$)。

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TAK-242+甘草酸组细胞HMGB1、TLR4、CD86、NF-κB P65蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。



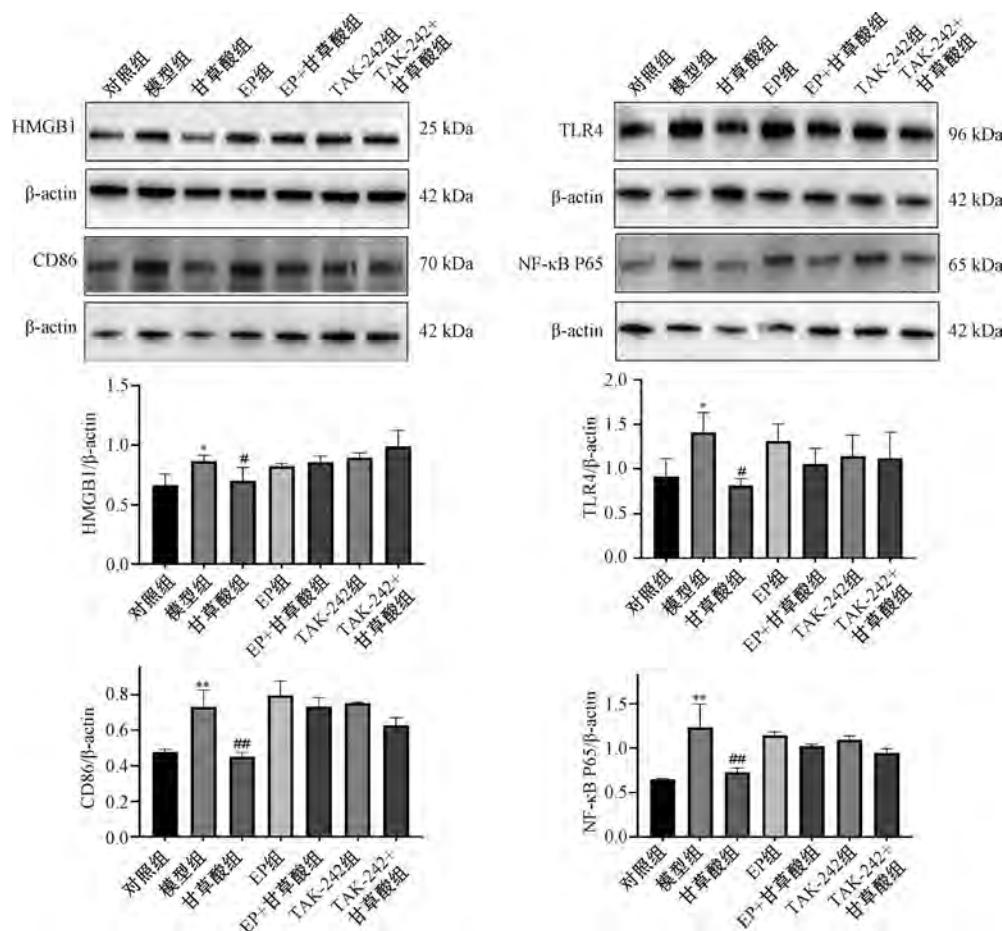
注：与对照组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ ；与甘草酸组比较，+ $P<0.05$ 。

图7 各组BV2细胞上清液IL-1 β 、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

的炎症反应并改变血肿情况^[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了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] Mracska 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, 曾以勤, 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 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.