

预知子提取物的不同分离部位对脂多糖诱导BV2细胞介导神经炎症作用及其机制的研究

陈欢¹, 查红群², 尹增盛³, 李静³, 刘文波¹, 凌云¹, 金洪光^{1,4*} (1. 九江学院, 江西九江 332005; 2. 九江市第一人民医院, 江西九江 332000; 3. 九江学院附属医院, 江西九江 332000; 4. 九江浔农创生物科技有限公司, 江西九江 332005)

摘要:目的 探讨预知子提取物不同分离部位对脂多糖(LPS)诱导的神经炎症反应的影响及其潜在机制。方法 通过乙醇回流法提取预知子提取物(JE), 并利用系统溶剂萃取法分离出正己烷层(JE1)、二氯甲烷层(JE2)、乙酸乙酯层(JE3)和正丁醇层(JE4); 利用LPS诱导BV2细胞构建炎症模型; 采用四甲基偶氮唑蓝(MTT)法评估细胞活力; 通过Griess反应测定细胞内NO浓度; 使用ELISA法检测细胞内PGE₂、IL-6、TNF- α 水平; 运用Western Blot法检测COX-2、iNOS蛋白和MAPK、NF- κ B信号通路相关蛋白表达水平。结果 JE1和JE2显著降低了LPS诱导的BV2细胞中NO、PGE₂、IL-6、TNF- α 水平及COX-2和iNOS蛋白表达, 并且JE1和JE2显著抑制了P38、ERK、JNK和NF- κ B蛋白表达。结论 预知子提取物的JE1和JE2部位能够改善LPS诱导的BV2细胞神经炎症反应, 其作用机制或许与抑制NF- κ B和MAPK信号通路相关。

关键词:预知子提取物; 脂多糖; BV2细胞; 神经炎症

中图分类号:R285.6

文献标志码:A

在神经退行性疾病研究领域, 免疫机制的探讨主要集中在巨噬细胞与小胶质细胞在中枢神经系统内的驻留现象。小胶质细胞在大脑发育、神经发生以及神经元活动的生理稳态维持中扮演着至关重要的角色。然而, 在被激活的情况下, 小胶质细胞会通过多种机制清除病原体和神经元细胞残骸, 同时促进促炎因子的释放, 引发神经炎症^[1-2]。神经炎症是指中枢神经系统内发生的炎症反应, 其诱因多样, 包括脑损伤、感染、衰老及神经退行性病变等。在这些病理条件下, 中枢神经系统内的小胶质细胞会迅速激活并迁移到受损区域, 释放多种炎症免疫介质^[3]。脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)作为革兰阴性细菌细胞壁的主要成分, 能够诱导小胶质细胞的表型转化, 并促使其分泌一系列炎症介质, 如一氧化氮(NO)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、前列腺素E₂(PGE₂)、白细胞介素(ILs)、肿瘤坏死因子(TNF- α)、环氧合酶-2(COX-2)等, 从而导致炎症反应和组织损伤^[4]。

核因子- κ B(NF- κ B)作为iNOS、COX-2、TNF- α 、IL-6等基因的重要转录因子^[5], 参与细胞因子的产生过程, 并对炎症刺激做出响应^[6]。NF- κ B的激活

可促使促炎细胞因子, 如TNF- α 、IL-6等的表达水平提高^[7]。在生理状态下, NF- κ B与I κ B- α 结合形成复合体, 滞留于细胞质中。然而, 炎症刺激可使LPS诱导I κ B- α 降解, 随着I κ B- α 的降解, 细胞质中的NF- κ B得以自由进入细胞核。丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路作为细胞表面至细胞核内信号传导的关键介质, 是细胞增殖、应激反应、炎症及细胞凋亡等信号转导途径的共同汇聚点。其主要亚族成员包括细胞外信号调节激酶(ERK)、P38激酶和c-Jun N-末端激酶(JNK)^[8]。在受到刺激的情况下, MAPK途径中的蛋白质发生磷酸化, NF- κ B信号途径被激活。

预知子亦称八月炸、野香蕉等, 为木通科植物木通(Akebia quinata)、三叶木通(Akebia trifoliata)或白木通(Akebia trifoliata var. australis)的干燥近成熟果实^[9]。预知子具备疏肝理气、活血止痛、利尿散结等药理功效, 可应用于腕胁胀痛、痰核痞块、痛经经闭、小便不利等病症的治疗^[10]。药理学研究显示, 预知子及其提取物具有抗抑郁、抗氧化、抗肿瘤等多种生物学功能^[11-13]。作为夜交藤预知子汤方剂中的主要组成部分, 预知子的提取物已被证实具有抗抑郁作

基金项目:国家自然科学基金项目(31660104); 江西省中医药管理局科技计划-重点项目(2021Z017); 江西省科技厅自然科学基金面上项目(20224BAB206095)

作者简介:陈欢(2004—), 男, 江西赣州人, 本科生, 主要从事天然药物研究。

通信作者:金洪光, 教授(E-mail:108458989@qq.com)

用,且对脑卒中后认知功能障碍具有一定的缓解效应^[14-15]。

目前,关于预知子神经炎症的研究尚显不足。已有文献指出,预知子中含有多种化学成分,其中种子富含油脂类成分,其他类型包括三萜及其皂苷类、酚苷类、苯丙素类及绿原酸类衍生物等^[16],这些化合物因种类不同而表现出不同的极性特征。为了明确预知子提取物中哪一类成分具有抗神经炎活性,本研究对预知子提取物的不同极性分离部位进行了系统的研究,旨在为阐明其有效部位的抗神经炎活性,并为预知子资源的综合开发利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

预知子为三叶木通未成熟果实,于2024年8月采集自九江学院三叶木通种植基地,并经九江学院李同建教授鉴定样品符合实验要求。实验中使用的鼠脑小神经胶质细胞BV2细胞系由韩国圆光大学药学院提供。

PGE₂、TNF- α 、IL-6细胞因子ELISA试剂盒(美国R&D systems公司);兔抗鼠iNOS、COX-2、MAPK通路相关蛋白(p-ERK、p-P38、p-JNK、ERK、P-38、JNK)、NF- κ B通路相关蛋白(p-P65、p-I κ B- α 、P65)以及 β -actin抗体(美国Cell signaling Technology公司);山羊抗兔辣根过氧化物酶标记的IgG二抗(德国Santa Cruz Biotechnology公司);MTT(美国Sigma-Aldrich公司);RPMI培养基含胎牛血清(美国Gibco BRL Co.公司);ECL显影液(北京普利莱基因技术有限公司);其他试剂为分析纯(国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 预知子提取物及分离部位的制备

精确称取2.00 kg预知子粗粉,采用70%乙醇进行回流提取,持续3 h,分3次完成提取过程。合并提取液后,进行浓缩和干燥处理,获得预知子总提取物(JE)。将预知子提取物溶解于适量蒸馏水中,置于分液漏斗中,依次使用正己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取。对各萃取液进行浓缩和冷冻干燥处理,得到正己烷萃取物(JE1)、二氯甲烷萃取物(JE2)、乙酸乙酯萃取物(JE3)和正丁醇萃取物(JE4)。

1.3 细胞培养

选用添加10%胎牛血清、100 U/mL链霉素和青

霉素的RPMI培养基培养BV2细胞,放置于5% CO₂ 37 °C的环境中,待细胞生长至密度达到80%~90%时即可进行传代培养。

1.4 实验分组与处理

选取处于对数生长期且状态优良的BV2细胞混悬液,接种于6孔板,接种密度为4 \times 10⁶个/孔。待BV2细胞生长至融合度达80%时,添加不同浓度(6.25~200 mg/L)的JE、JE1、JE2、JE3、JE4进行30 min预处理,随后加入200 μ g/L的LPS刺激BV2细胞24 h。将BV2细胞分为对照组、模型组以及预知子提取物JE、JE1、JE2、JE3、JE4干预组。不同处理完成后,收集各组细胞上清液及细胞,作为后续实验的检测样本。

1.5 细胞相对活力检测

采用MTT法检测细胞相对活力。将处于对数生长期的BV2细胞接种于96孔板,每组设置6个复孔。细胞贴壁后,于各孔中分别加入终浓度为6.25、12.5、25、50、100、200 mg/L的样品进行细胞生存率实验筛选。对照组则加入等体积的RPMI培养基。孵育24 h后,移除孔内上清液,并向每个孔中加入30 μ L的MTT溶液。继续孵育3 h,随后在37 °C条件下向每个孔中加入150 μ L的DMSO。将孔板置于摇床中10 min,使用酶标仪在波长540 nm处测定各孔的吸光度,计算细胞活力。

1.6 NO浓度测定

将处于对数生长期的BV2细胞接种至24孔板中,密度为1 \times 10⁶个/mL。细胞贴壁后,在每个孔内加入各提取部位最大无毒性浓度的实验样品,对照组则加入体积相同的RPMI培养基,每组设置3个复孔。培养4 h后,除对照组外其余组均加入LPS,至最终质量浓度为1 mg/L,继续培养24 h,再收集各孔上清液。NO浓度的测定采用Griess法,根据试剂盒提供的操作指南,利用50 μ L NaNO₂对照品进行梯度对半稀释,制作标准曲线。于96孔板的各孔内,添加50 μ L细胞培养液上清液,随后加入等量的Griess反应试剂。利用酶标仪在540 nm波长条件下检测各孔的吸光度。通过与标准曲线进行比对,最终确定NO的浓度。

1.7 细胞因子PGE₂、IL-6、TNF- α 水平检测

在细胞快速增殖阶段,于24孔板中每毫升接种1 \times 10⁶个BV2细胞。待细胞贴壁后,分别添加已知浓度的各组样品,对照组则加入等体积的RPMI培养

基。每组设置3个复孔,培养4 h后,除对照组外的所有实验组均添加LPS,使其终浓度达到1 mg/L,继续培养24 h,随后收集各孔表面的液体。采用ELISA法测定样品上清液中PGE₂、IL-6和TNF- α 的含量。实验严格按照试剂盒说明书的步骤进行,样品需稀释5倍后再进行分析。测定过程中使用样品稀释液对样品/对照品进行稀释,加入亲和素及显色液、生物素化抗体、HRP标记,最终通过标准曲线计算出各炎症因子的浓度。

1.8 蛋白相对表达水平检测

Western blot法检测蛋白表达。在对数生长期的BV2细胞中进行铺板操作,将细胞浓度调整至 1×10^6 个/mL后接种于6孔板中。待细胞贴壁后,向各孔中分别添加不同浓度的实验样品。对照组则加入等体积的RMPI培养基。培养4 h后,除对照组外其余各组均添加最终质量浓度为1 mg/L的LPS。继续培养18 h以表达COX-2和iNOS蛋白,随后用裂解液裂解细胞,取上清液进行蛋白提取。再培养30 min后进一步表达MAPK和NF- κ B蛋白,使用裂解液与磷酸酶抑制剂(比例为100:3)的混合液裂解细胞,取上清液进行蛋白定量分析。采用12%的SDS-PAGE检测蛋白相对表达水平测定。对各待测蛋白样品进行定量上样,每孔30 μ L,并在120 V电压下执行垂直电泳,持续时间90 min。随后,移除浓缩胶,保留分离胶部分,并在45 V恒定电流条件下进行转膜,持续时间90 min。转膜后,使用5%脱脂奶粉溶液在室温条件下封闭1 h,继而在4 $^{\circ}$ C条件下与一抗溶液进行过

夜孵育。抗体稀释按照如下比例进行iNOS(1:500)、COX-2(1:500)、p-ERK(1:1000)、p-P38(1:1000)、p-JNK(1:1000)、p-P65(1:1000)、p-I κ B- α (1:2000)和 β -Actin(1:2000)。孵育完成后,采用0.05% Tween-20 TBS溶液进行洗涤,随后在室温条件下进行二抗溶液孵育1 h。洗涤后,利用ECL显色剂进行显色反应,反应时间控制在3~5 min,随后进行曝光、显影和定影操作。

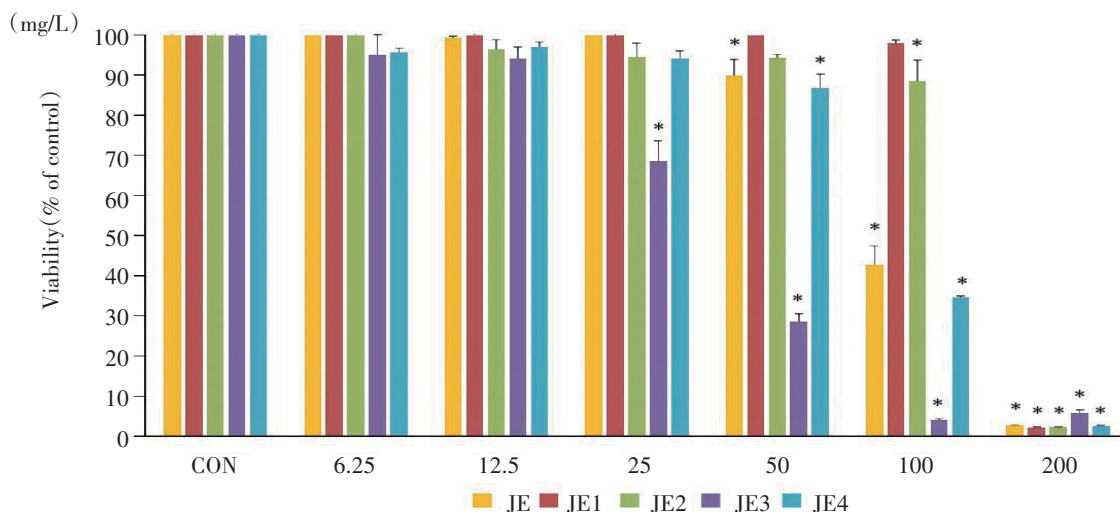
1.9 统计学处理

运用Graphpad Prism软件开展数据分析并生成图表。数据以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。在进行不同组间比较时,若符合方差齐性条件,则采用独立样本 t 检验进行分析。在对多个数据集进行比较时,采用单因子方差分析(ANOVA)方法。统计学意义的阈值设定为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 预知子提取物及其分离部位对BV2细胞存活率的影响

正常对照组与JE(6.25~25 mg/L)、JE1(6.25~100 mg/L)、JE2(6.25~50 mg/L)、JE3(6.25~12.5 mg/L)、JE4(6.25~25 mg/L)药物组之间细胞存活率无显著差异($P > 0.05$)。确定各部位实验样品最大无毒性浓度,JE为25 mg/L,JE1为100 mg/L,JE2为50 mg/L,JE3为12.5 mg/L,JE4为25 mg/L作为后续实验给药浓度。结果见图1。

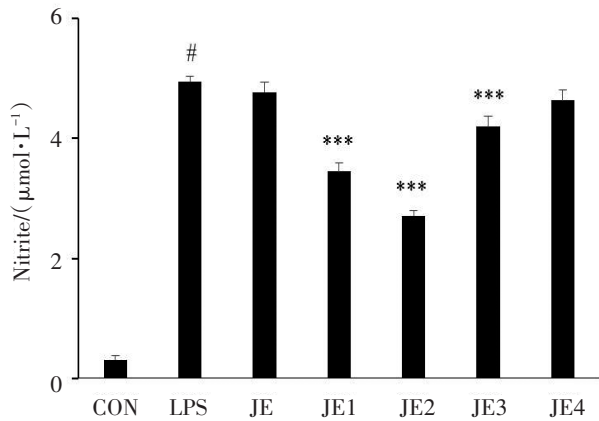


*:与正常对照组比较, $P < 0.001$ 。

图1 预知子提取物及其分离部位对BV2细胞活力的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

2.2 预知子提取物及其分离部位对LPS诱导BV2细胞NO含量的影响

与正常对照组相比,LPS模型组细胞中的NO含量显著上升($P<0.001$);相较于模型组,JE1、JE2、JE3预处理组的NO含量显著降低($P<0.001$)。本研究表明预知子JE1、JE2和JE3的分离部位对LPS诱导的NO释放具有一定的抑制效应。结果见图2。



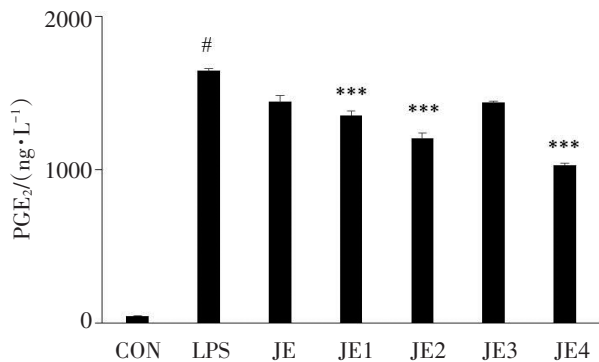
#: LPS模型组与正常对照组比较, $P<0.001$;

***: 给药组与模型组比较, $P<0.001$ 。

图2 预知子提取物及其分离部位对LPS诱导BV2细胞NO含量的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

2.3 预知子提取物及其分离部位对LPS诱导BV2细胞PGE₂、IL-6及TNF- α 水平的影响

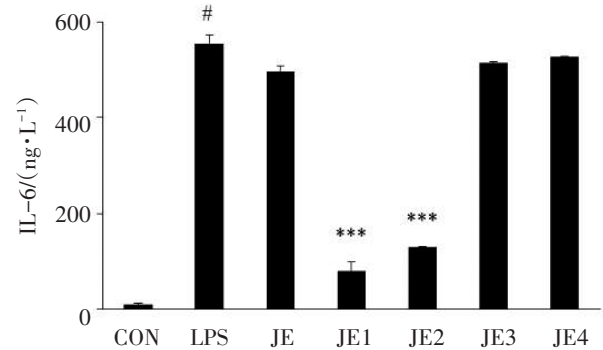
与正常对照组相比,LPS模型组细胞中PGE₂含量显著升高($P<0.001$);与LPS模型组相比,JE1、JE2、JE4预处理后细胞上清液中PGE₂水平显著降低($P<0.001$)。此结果表明预知子JE1、JE2、JE4分离部位能有效抑制LPS诱导的BV2细胞PGE₂释放。结果见图3。



#: 与正常对照组比较, $P<0.001$;***: 与模型组比较, $P<0.001$ 。

图3 预知子提取物及其分离部位对LPS诱导BV2细胞PGE₂水平的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

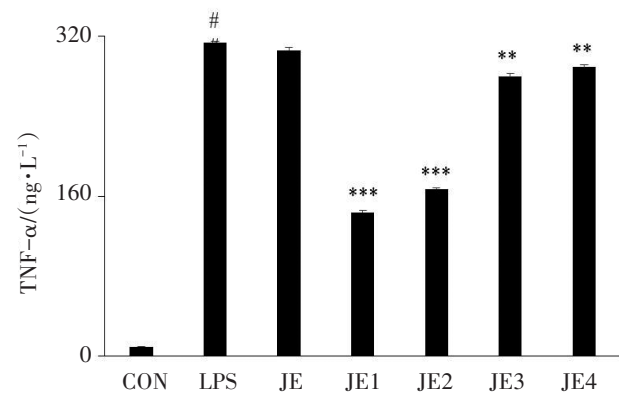
与正常对照组相比,LPS模型组细胞中IL-6的水平显著升高($P<0.001$);与LPS模型组相比,JE1和JE2预处理显著降低了细胞上清液中IL-6的水平($P<0.001$),这表明预知子JE1和JE2的分离部位能够有效抑制由LPS诱导的BV2细胞IL-6的释放。结果见图4。



#: 与正常对照组比较, $P<0.001$;***: 与模型组比较, $P<0.001$ 。

图4 预知子提取物及其分离部位对LPS诱导BV2细胞IL-6水平的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

与正常对照组相比,LPS模型组细胞中TNF- α 水平显著升高($P<0.001$)。与LPS模型组相比,经JE1、JE2处理后,细胞上清液中TNF- α 水平均显著降低($P<0.001$),JE3、JE4处理后TNF- α 水平降低($P<0.01$),这表明预知子JE1、JE2、JE3、JE4的分离部位能够抑制LPS诱导的BV2细胞TNF- α 释放。结果见图5。



与正常对照组比较,#: $P<0.001$;

与模型组比较,**: $P<0.01$,***: $P<0.001$ 。

图5 预知子提取物及其分离部位对LPS诱导BV2细胞TNF- α 水平的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

2.4 预知子提取物及其分离部位对LPS诱导BV2细胞iNOS及COX-2蛋白表达的影响

相较于正常对照组,经LPS处理的实验组中,iNOS与COX-2蛋白的表达量显著上升。通过JE1、JE2、JE3预处理,观察到iNOS蛋白表达量显著下降;JE1和JE2预处理同样导致COX-2蛋白表达量显著减少。这些结果表明,预知子JE1和JE2分离部位能够显著抑制LPS诱导的BV2细胞中COX-2和iNOS蛋白表达量的增加,而预知子JE3的分离部位亦能显著抑制iNOS蛋白表达量的增加。结果见图6。

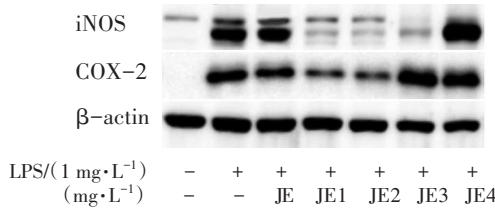


图6 预知子提取物及其分离部位对LPS诱导BV2细胞iNOS和COX-2蛋白表达的影响

2.5 预知子JE1和JE2分离部位对LPS诱导BV2细胞NF-κB信号通路相关蛋白表达的影响

相较于正常对照组,经LPS处理的实验组细胞中,细胞质及细胞核内总P65磷酸化蛋白和IκB-α磷酸化蛋白的表达显著增加,而IκB-α蛋白的表达量则显著降低。在引入已知的JE1和JE2分离部位后,观察到JE1和JE2分离部位对IκB-α磷酸化具有抑制效应,此效应导致IκB-α总蛋白表达量的增加,并同时抑制了P65磷酸化蛋白的表达。结果见图7。

2.6 预知子JE1和JE2分离部位对LPS诱导BV2细胞MAPK信号通路相关蛋白表达的影响

相较于正常对照组,经LPS处理的实验组中P38、ERK和JNK磷酸化蛋白的表达量显著上升。然而,在引入了预知子JE1和JE2的分离部位后,P38、ERK和JNK的表达水平出现了显著的下趋势,结果见图8。

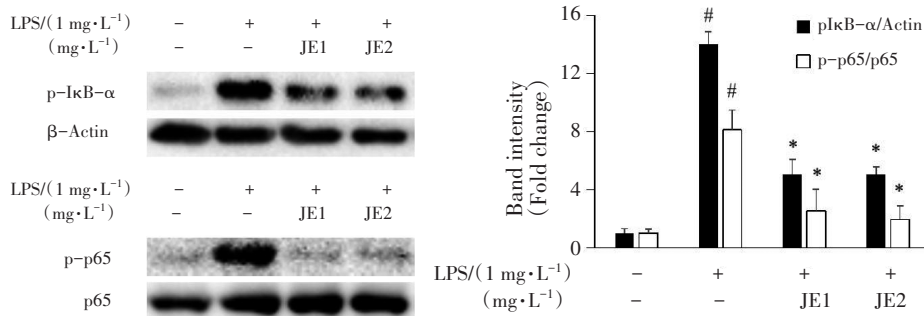


图7 预知子JE1和JE2分离部位对LPS诱导BV2细胞NF-κB蛋白表达的影响

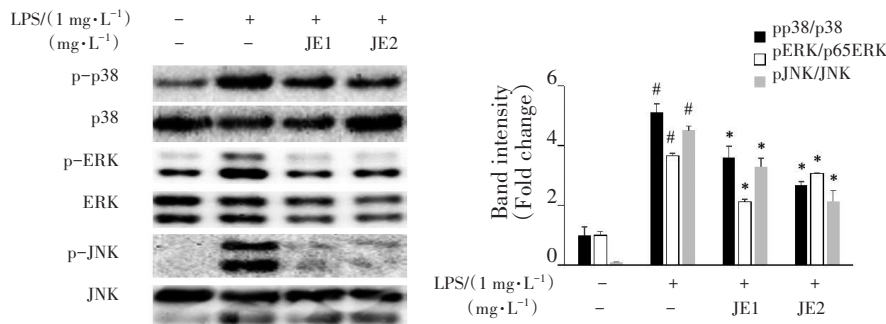


图8 预知子JE1和JE2分离部位对LPS诱导BV2细胞MAPK蛋白表达的影响

3 讨论

先前的研究成果揭示了预知子提取物具有显著的抗抑郁和抗炎活性。具体而言,预知子提取物的抗抑郁效应与调节单胺类神经递质水平存在紧密关

联,对抑郁性损伤显示出保护效应^[11,14-15]。此外,多项研究指出,预知子及其果皮提取物在LPS诱导的RAW264.7细胞中展现了显著的抗炎活性^[17-18]。然而,关于预知子提取物不同分离部位对神经炎症反应及其作用机制的影响,目前尚缺乏相关研究报告。

小胶质细胞作为中枢神经系统内的关键免疫细胞,在神经炎症反应的启动与维持过程中发挥着重要作用。激活后的小胶质细胞虽具有清除神经系统病原体的功能,但其释放的炎性因子也可对神经系统造成继发性损伤^[19-20]。LPS作为革兰阴性菌外膜的重要组成成分,能够激活神经系统内的BV2小胶质细胞,使其大量分泌iNOS、COX-2、NO、TNF- α 、PGE2和IL-6等炎症因子。这些炎症因子可作用于其他胶质细胞,进而引发后续的炎症反应。本研究发现,在LPS刺激下,BV2细胞上清液中NO、PGE2、IL-6和TNF- α 等炎症介质的表达增加,细胞内iNOS、COX-2蛋白的表达也显著上升。然而,预知子JE1和JE2的分离部位预处理能够显著降低NO、PGE2、IL-6和TNF- α 的释放,以及iNOS、COX-2蛋白的表达,这表明预知子JE1和JE2的分离部位对细胞炎症反应具有显著的抑制效果。JE3在降低LPS诱导的NO、TNF- α 和iNOS蛋白表达方面有显著效果,但对PGE2和COX-2蛋白表达无明显影响,提示JE3可能有抗炎作用,但需要更多证据支持。JE4在降低LPS诱导的NO、PGE2、TNF- α 表达方面表现出显著作用,但对iNOS及COX-2蛋白表达无明显影响,表明JE4可能具有较弱的抗炎作用,然而PGE2与COX-2的实验结果相悖,其降低PGE2的作用可能与其他信号通路相关。

LPS可激活NF- κ B和MAPK信号通路。本研究中,LPS刺激后BV2细胞中总P65磷酸化蛋白的表达在细胞质和细胞核中都有所增加,同时I κ B- α 磷酸化蛋白在细胞质中的表达和I κ B- α 的降解都有所增加。然而,预知子JE1和JE2的分离部位可以抑制这两者的磷酸化表达,减少I κ B- α 的降解,上述结果表明预知子JE1和JE2的分离部位可能通过NF- κ B信号通路抑制炎症反应的发生。

综上,LPS处理组的ERK、JNK和P38磷酸化蛋白表达显著上升,而预知子JE1和JE2分离部位能够显著降低ERK、JNK和P38的磷酸化蛋白表达水平。这表明,预知子JE1和JE2的分离部位通过抑制ERK、JNK和P38信号通路起到抑制炎症反应发生的作用。

预知子JE1和JE2分离部位主要为亲脂性成分,包括脂肪酸类、三萜类化合物等。这些成分具有显著的脂水分配系数,能够透过脂溶性膜,进而进入中枢神经系统,发挥抗神经炎症和神经保护作用。未

来,针对预知子JE1和JE2分离部位的单体化合物进行分离纯化以及体内抗神经炎症作用的研究,将为预知子作为潜在药物,用于防治神经退行性疾病提供实验基础。

参考文献:

- [1] LENG F, EDISON P. Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here? [J]. *Nat Rev Neurol*, 2021, 17(3): 157-172.
- [2] COLONNA M, BUTOVSKY O. Microglia function in the central nervous system during health and neurodegeneration [J]. *Annu Rev Immunol*, 2017, 35: 441-468.
- [3] VILLA A, VEGETO E, POLETTI A, et al. Estrogens, neuroinflammation and neurodegeneration [J]. *Endocr Rev*, 2016, 37(4): 372-402.
- [4] 王英红, 曾克武, 宁显玲, 等. 咖啡酸苯乙酯对抗脂多糖诱导的小胶质细胞炎症反应的作用及其机制的研究 [J]. *中国药理学杂志*, 2014, 49(18): 1599-1604.
- [5] LIU J, CHANG G, HUANG J, et al. Sodium butyrate inhibits the inflammation of lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice by regulating the toll-like receptor 4/nuclear factor κ B signaling pathway [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(6): 1674-1682.
- [6] TONG L, TERGAONKAR V. Rho protein GTPases and their interactions with NF- κ B: crossroads of inflammation and matrix biology [J]. *Biosci Rep*, 2014, 34(3): 283-295.
- [7] GILMORE T D. Introduction to NF- κ B: players, pathways, perspectives [J]. *Oncogene*, 2006, 25(51): 6680-6684.
- [8] LIU H E, CHANG A S, TENG C M, et al. Potent anti-inflammatory effects of denbinobin mediated by dual inhibition of expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase 2 [J]. *Shock*, 2011, 35(2): 191-197.
- [9] 周莉, 李琛, 曹风军, 等. 抗癌中药预知子/燕覆: 本草变迁与资源分布 [J]. *中医药临床杂志*, 2019, 31(5): 799-803.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [S] (2020版一部). 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [11] 毛峻琴, 伊佳, 李铁军. 中药预知子乙醇提取物抗抑郁作用的实验研究 [J]. *药学实践杂志*, 2009, 27(2): 126-128.
- [12] 郭林新, 马养民, 乔珂, 等. 三叶木通化学成分及其抗氧化活性 [J]. *中成药*, 2017, 39(2): 338-342.
- [13] 曹琳娜, 彭佩克, 潘志强. 木通属植物提取物抗肿瘤作用的研究进展 [J]. *中草药*, 2022, 53(13): 4187-4197.
- [14] 周丹. 预知子提取物对抑郁症大鼠海马神经可塑性相关蛋白BDNF/CREB/Bcl-2的影响研究 [J]. *药物生物技术*

- 术,2019,26(2):110-113.
- [15] 薛天,梁宝方,袁欣,等. 预知子提取物对大鼠脑组织中单胺类神经递质含量的影响[J]. 中药材,2013,36(5):797-800.
- [16] 王芙蓉,谢中国,贺江,等. 三叶木通果实成分、生物活性及保鲜加工研究进展[J]. 食品工业科技,2024,45(21):387-396.
- [17] WANG X Y, YU N X, PENG H L, et al. The profiling of bioactives in *Akebia trifoliata* pericarp and metabolites, bioavailability and *in vivo* anti-inflammatory activities in DSS-induced colitis mice [J]. *Food Funct*, 2019, 10(7): 3977-3991.
- [18] WANG X Y, YU N X, PENG H L, et al. *Akebia trifoliata* pericarp extract ameliorates inflammation through NF- κ B/ MAPK signaling pathways and modifies gut microbiota [J]. *Food Funct*, 2020, 11(5):4682-4696.
- [19] 郭壮,周利君. 星形胶质细胞-小胶质细胞的交互对话在神经炎症中的双重作用[J]. 实用医学杂志,2021,37(18):2432-2436.
- [20] 胡月,曾常茜. 小胶质细胞活化与神经炎症相关信号通路的研究进展[J]. 医学综述,2021,27(20):4005-4010.

Mechanism of Action of Different Isolated Parts of *Akebiae Fructus* Extract on LPS-Induced Neuro-Inflammation in BV2 Cells

CHEN Huan¹, ZHA Hongqun², YIN Zengsheng³, LI Jing³, LIU Wenbo¹, LIN Yun¹, JIN Hongguang^{1,4*} (1. School of Pharmacy and Life Sciences, Jiujiang University, Jiujiang, Jiangxi Province 332005; 2. Jiujiang First People's Hospital, Jiujiang, Jiangxi Province 332000; 3. Jiujiang University Affiliated Hospital, Jiujiang, Jiangxi Province 332000; 4. Jiujiang Xunnungchuang Biotechnology Co., Ltd., Jiujiang Jiangxi Province 332005, Chian)

Abstract: Objective To investigate the anti-neuroinflammatory effects of different fractions of the *Akebiae Fructus* extract on lipopolysaccharide (LPS)-induced BV2 cells and to explore the underlying mechanisms. **Methods** The *Akebiae Fructus* extract (JE) was obtained by ethanol reflux extraction, and the systematic solvent extraction method was used to separate the n-hexane fraction (JE1), dichloromethane fraction (JE2), ethyl acetate fraction (JE3), and n-butanol fraction (JE4). An inflammatory model was established using LPS-induced BV2 cells; MTT assay was used to observe the cell viability. The content of NO in cell supernatant was measured by Griess reagent. The levels of PGE₂, IL-6 and TNF- α were detected by ELISA kits. Detection of COX-2, iNOS protein and MAPK, NF- κ B signaling pathway related protein expression levels using Western Blot method. **Results** Both JE1 and JE2 significantly reduced the levels of NO, PGE₂, IL-6, TNF- α and the protein expressions of COX-2 and iNOS in LPS-induced BV2 cells, and also significantly decreased the protein expressions of P38, ERK, JNK, and NF- κ B. **Conclusion** The JE1 and JE2 fractions of the *Akebiae Fructus* extract can effectively prevent LPS-induced neuroinflammatory responses occur in BV2 cells, and the underlying mechanism is associated with the inhibition of the inflammatory NF- κ B and MAPK signaling pathways.

Keywords: *Akebiae Fructus* extract; lipopolysaccharide; BV2 cells; neuro-inflammation

(收稿日期:2025-05-28)