

冬凌草甲素介导 NLRP3 炎症小体对戊四氮慢性癫痫模型小鼠发作易感性的调控作用

张耀丹
(成都中医药大学附属医院神经内科,四川 成都 610075)

【摘要】目的:探讨冬凌草甲素介导 NLRP3 炎症小体对戊四氮慢性癫痫模型小鼠发作易感性的调控作用。**方法:**利用不同剂量 Ori 治疗戊四氮诱导的慢性癫痫小鼠,观察治疗前后小鼠行为学(癫痫发作等级、发作潜伏期及频率),并用 HE 染色检测治疗前后小鼠海马组织细胞形态,Western blot 检测 NLRP3 及相关蛋白表达水平。**结果:**行为学结果显示,冬凌草甲素治疗后能延长癫痫发作潜伏期,改善癫痫发作严重程度,降低癫痫自发作频率,特别是中高剂量治疗组。HE 染色、Western blot 检测结果与行为学结果一致,经 Ori 治疗后能一定程度减轻癫痫引起的病理损伤,减少炎症浸润,降低颅内 NLRP3 及相关蛋白表达水平。**结论:**冬凌草甲素调控癫痫易感性,可能是通过抑制 NLRP3 炎症小体通路介导,说明 Ori 对癫痫有一定的神经保护作用。

【关键词】癫痫;炎症;冬凌草甲素;NLRP3
【中图分类号】 R742.1 **【文献标志码】** A

Regulatory effect of oridonin-mediated NLRP3 inflammasome on seizure susceptibility in PTZ-induced chronic epileptic mice

ZHANG Yao-dan
(Department of Neurology, Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, Sichuan, China)

【Abstract】Objective:To explore regulatory effect of oridonin (Ori)-mediated NLRP3 inflammasome on seizure susceptibility in PTZ-induced chronic epileptic mice. **Methods:**Chronic epilepsy was induced in mice using pentylenetetrazol (PTZ), and the mice were treated with different doses of Ori. Behavioral changes (seizure severity, latency, and frequency) were observed before and after treatment. Hippocampal tissues were examined using HE staining, and the expression levels of NLRP3 and related proteins were detected by Western blot. **Results:**Behavioral results showed that Ori treatment prolonged seizure latency, reduced seizure severity, and decreased the frequency of spontaneous seizures, particularly in the medium- and high-dose groups. HE staining and Western blot results were consistent with the behavioral findings. Ori treatment alleviated epilepsy-induced pathological damage, reduced inflammatory infiltration, and downregulated the expression levels of NLRP3 and related proteins in the brain. **Conclusion:**Ori may regulate epilepsy susceptibility by inhibiting the NLRP3 inflammasome pathway, suggesting that Ori has a protective effect against epilepsy.

【Key words】 Epilepsy; Inflammation; Oridonin; NLRP3

全球癫痫患者已超 5 000 万,且发病人数不断攀升,每年约有 240 万新诊断的癫痫患者。目前我国约有 1 000 万癫痫患者,其中 30%~40% 的患者诊断为难治性癫痫,虽然经积极的抗癫痫治疗,仍不能控制发作^[1]。近 40 年的随访观察发现,癫痫患者的治疗仍存在诸多困境,并没有明显的进步。近年来,针对炎症、神经元兴奋性及细胞焦亡等病理机制的研究为癫痫治疗提供了新的思路,例如冬凌草甲素等天然化合物的神经保护作用,可能为未来癫痫治疗开辟新的方向^[2-3]。中药治疗癫痫因其副作用小,并且具有多

靶点调控作用,可改善脑血流,抗氧化应激,减轻癫痫导致的神经元损伤,逐渐受到研究者的青睐。

冬凌草甲素(oridonin, Ori)是从传统中药冬凌草中分离而来的中药单体,纯度可达 98% 以上,主要分布在中草药冬凌草及相关植物中^[3]。由于其多种药理和生理特性,较少溶于水,能有效溶解于二甲基亚砜(DMSO)溶液中,具有抗炎、清热去火、抗肿瘤、预防肝纤维化、缓解疼痛及对中枢神经系统的重要作用引起广泛关注^[4-6]。Ori 抑制 NF- κ B 通路,并激活 BDNF/TrkB/CREB 和 Nrf2 信号通路,可

抑制 Aβ1-42 诱导的神经炎症和 LPS 激活的小胶质细胞炎症,防止突触丢失^[7]。这些神经保护作用说明 Ori 能给阿尔茨海默病等神经退行性疾病的治疗带来希望^[8]。目前 Ori 强大的抗炎活性已得到广大研究者的认可,但具体作用机制及靶点尚不明确。

NOD 样受体蛋白结构域 3 炎性小体(nod-like receptor family pyrin domain-containing 3, NLRP3)是一种多蛋白复合物,主要由 NLRP3 蛋白分子、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)和半胱天冬酶-1(Caspase-1)组成。NLRP3 炎症小体异常激活会增加肿瘤、癫痫及炎症疾病的易感性^[9-10]。近年来对 NLRP3 炎症通路的靶向阻断剂进行了广泛研究,以期该类炎症相关疾病治疗提供新的诊疗手段^[11]。NIMA 相关蛋白激酶 7(nima-related kinase 7, NEK7),因其能靶向调控 NLRP3 炎症小体引起众研究者极大兴趣^[12-13]。研究^[14]显示,NEK7 缺失会抑制 NLRP3 炎症信号通路下游 Caspase-1 和 IL-1β 的激活,而对 NLRC4 或 AIM2 炎症小体信号通路不产生影响。更有趣的是,NEK7 家族中 NEK6 和 NEK9 不参与 NLRP3 炎症小体信号通路的激活^[15-16]。这些证据均表明 NEK7-NLRP3 相互作用在 NLRP3 炎症小体激活中独特性。

炎症与癫痫密不可分。研究^[17-19]表明,癫痫动物模型中 NLRP3 炎症小体及其上下游分子蛋白表达异常,癫痫的发生发展与 NLRP3 炎症小体信号通路关系密切,但具体作用机制不明。Ori 具有明显的抗炎作用,是 NLRP3 炎症小体的特异性共价抑制剂,可直接靶向调控 NLRP3 炎症小体,是 NLRP3 炎症通路的关键因子^[20]。结合 Ori 抗炎活性及靶向调控 NLRP3 炎症通路的生物特性,推测 Ori 经 NLRP3 炎症通路介导产生抗癫痫作用,对癫痫起一定的保护作用。目前关于 Ori 治疗癫痫的研究报道较少,本研究利用不同浓度的 Ori 治疗戊四氮(Pentylenetetrazol, PTZ)诱导的慢性癫痫小鼠,观察实验动物行为学,利用 Western blot 及 HE 染色等实验技术检测治疗前后相关指标,初步探讨冬凌草甲素经 NLRP3 炎症通路调控癫痫易感性。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验 C57BL/6 小鼠均由成都达硕实验动物有限公司提供,体质量为 20~30 g 雄性成年小鼠。在标准清洁级(SPF 级)环境中饲养,给予 12 h 昼夜交替循环节律饲养,所有动物可以自由饮食,严格遵照四川大学实验动物伦理委员批准(SUC43-2402-07)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组 分别采用 5、10、40 mg 3 种

低、中、高浓度腹腔注射 C57 小鼠两周,再行 PTZ 造模。小鼠分 5 组,每组各 15 只,具体为:生理盐水组(每天按体重腹腔注射等体积生理盐水;DMSO(二甲亚砜溶液)组(每天腹腔注射等体积稀释比例的二甲亚砜溶液);DMSO + 5 mg Ori 组(给予腹腔注射 5 mg·kg⁻¹·d⁻¹ Ori 溶液);DMSO + 10 mg Ori 组(给予腹腔注射 10 mg·kg⁻¹·d⁻¹ Ori 溶液);DMSO + 40 mg Ori 组(给予腹腔注射 40 mg·kg⁻¹·d⁻¹ Ori 溶液)。按 Ori:DMSO = 1:9 的比例配置混合溶液,经腹腔注射给药,连续给药 14 d。

1.2.2 PTZ 慢性癫痫动物模型建立 上述各组经腹腔注射治疗 14 d 后,各组小鼠用戊四氮(GABA 受体拮抗剂)阈下剂量 35 mg/kg,每天固定时间进行 1 次腹腔注射,连续注射 15 次。采用 Racine^[21]标准来判定发作等级并记录每只小鼠发作情况,每次注射完 PTZ 后视频记录小鼠发作情况 30 min,观察小鼠发作等级、发作潜伏期及发作次数等。连续 4 次(符合 Racine 标准发作等级 4 级或以上)发作者,则认为造模成功形成慢性癫痫。造模结束后,每组分别随机选取 4 只小鼠用于 Western blot 检测及 HE 染色。

1.2.3 HE 染色 Ori 治疗组在 PTZ 造模前及造模后,分别进行 HE 染色,随机抽取小鼠灌注取脑,再进行切片、脱蜡、分化返蓝、伊红染色、脱水、透明、封片等 HE 染色步骤后,显微镜下观察组织病理学变化并采集图片。

1.2.4 Western blot 实验 脑组织样本在含有 1% cocktail 和 1% PMSF 的裂解液中收集。蛋白浓度通过 BCA 蛋白进行测定。将等量的蛋白质(40 μg)添加到 10% SDS-PAGE 凝胶中并且转移到 PVDF 膜。在室温下将膜封闭 1 h,然后与稀释的一抗在 4 ℃ 孵育过夜。次日用过氧化物酶结合二抗室温孵育 1 h,最后 Tris 缓冲盐水洗涤 3 次。采用 Fusion 系统进行显影分析,Image-Pro Plus 6.0 软件测量条带的光密度。首先检测空白对照组 PTZ 诱导慢性癫痫模型中小鼠脑组织中 NLRP3、NEK7 蛋白分子表达水平;经 Ori 不同浓度干预治疗 PTZ 造模后,再次检测脑组织中 NLRP3、NEK7 蛋白表达水平。其中 Western blot 所用一抗:NLRP3 一抗(武汉三鹰,中国)、NEK7 一抗(Abcam,美国)、兔抗 α-Tubulin(华安生物,中国)。Western blot 所用二抗:山羊抗兔 IgG。

1.3 统计学分析

采用 SPSS22.0 软件对数据进行处理与分析。计量资料符合正态分布且方差齐性,以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较行独立样本 *t* 检验,多组间比较行单因素方差分析,进一步两两比较行 LSD-*t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Ori 治疗后 (PTZ 造模前) 小鼠脑组织 HE 染色结果

给予 Ori 腹腔注射治疗 2 周后,观察各组小鼠毛发正常,进食正常,未引起小鼠生活行为习惯等改变,无小鼠死亡。DMSO + Ori 组小鼠脑组织 HE 染色可见海马区神经元形态完整,饱满,无皱缩坏死,细胞排列规则,无炎性细胞浸润。见图 1。

2.2 Ori 治疗后对 PTZ 诱导慢性癫痫模型小鼠行为学的影响

经不同浓度 Ori 治疗后,再行 PTZ 造模,通过视频监控观察各组小鼠行为学。结果显示,与 DMSO 组相比,DMSO + 5 mg Ori 组能一定程度延长癫痫发作潜伏期,改善发作严重程度,降低发作频率,但差异均无统计学意义 ($P > 0.05$);而 DMSO + 10 mg Ori 组及 DMSO + 40 mg Ori 组,与 DMSO 组及 DMSO + 5 mg Ori 组相比,能有效减轻癫痫发作严重程度,

延缓癫痫发作潜伏期,降低自发作频率,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 2。

2.3 HE 染色检测 Ori 治疗后进行 PTZ 诱导对慢性癫痫模型小鼠海马组织的影响

PTZ 慢性癫痫造模成功后,各组随机选取 3 只小鼠进行海马区 HE 染色,结果显示,经不同剂量 Ori 干预治疗后,小鼠脑组织海马神经损伤情况得到改善,其中 DMSO + 10 mg Ori 组效果明显,完整细胞增多,排列紧密,细胞侧枝丰富,炎症减轻。见图 3。

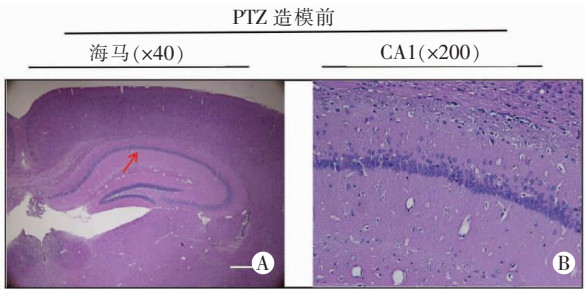


图 1 DMSO+Ori 组脑组织 HE 染色
A. 低倍镜下左侧海马脑组织;B. 高倍镜下小鼠海马 CA1 区脑组织。

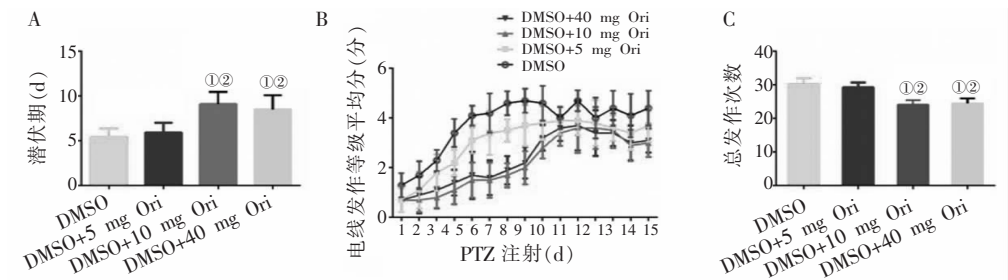


图 2 Ori 治疗后对 PTZ 诱导慢性癫痫小鼠行为学的影响
A. PTZ 注射后的癫痫发作潜伏期;B. 癫痫发作等级平均值与注射天数关系图;C. 小鼠癫痫自发作等级 4 级及以上的总次数统计。① $P < 0.05$,与 DMSO 组相比;② $P < 0.05$,与 DMSO+5 mg Ori 组相比。

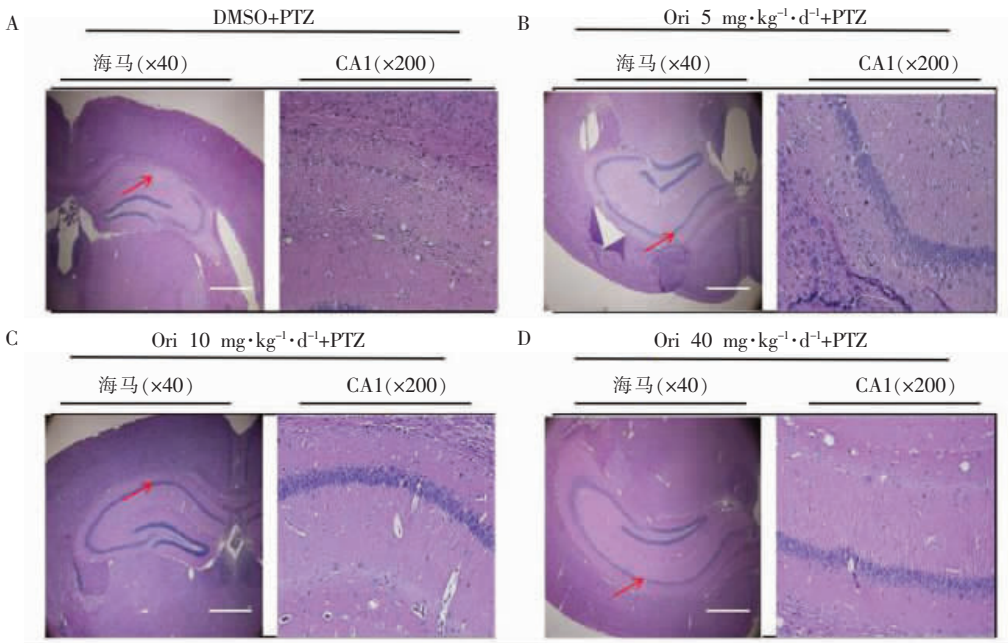


图 3 Ori 治疗后进行 PTZ 诱导慢性癫痫模型小鼠海马组织病理学
A. PTZ 诱导慢性癫痫模型小鼠海马神经元 HE 染色;B-D. 经不同剂量 Ori 干预治疗后小鼠脑组织海马神经元 HE 染色图(低倍镜下观察整个海马脑组织,高倍镜下观察小鼠海马 CA1 区脑组织)。

2.4 Ori 治疗前后 NLRP3 蛋白表达水平

Ori 治疗前,与空白对照组相比,PTZ 诱导的慢性癫痫小鼠海马区 NLRP3 炎性小体蛋白表达水平增高($P < 0.01$)。经 Ori 低、中、高剂量治疗后,与 DMSO 组相比较,其中 DMSO + 5 mg Ori 组能一定程度减轻 NLRP3 蛋白表达水平,但差异无统计学意义($P > 0.05$);给予 DMSO + 10 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹ Ori 及 DMSO + 40 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹ Ori 干预治疗后,两组小鼠海马及皮质脑组织中 NLRP3 蛋白表达水平降低($P < 0.01$);但 DMSO + 10 mg Ori 与 DMSO + 40 mg Ori 两组 NLRP3 蛋白表达水平无统计学差异($P > 0.05$)。见图 4 及图 5。

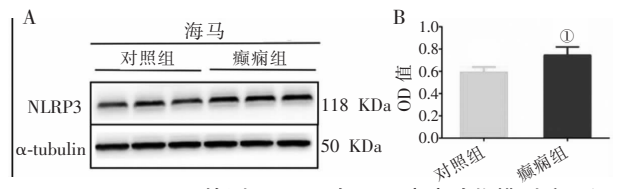


图 4 Western blot 检测 NLRP3 在 PTZ 癫痫动物模型脑组织中的表达

A. 正常对照组与癫痫组小鼠海马中 NLRP3 蛋白表达水平;B. 两组蛋白表达对应的灰度值统计柱状图。① $P < 0.05$,与对照组相比。

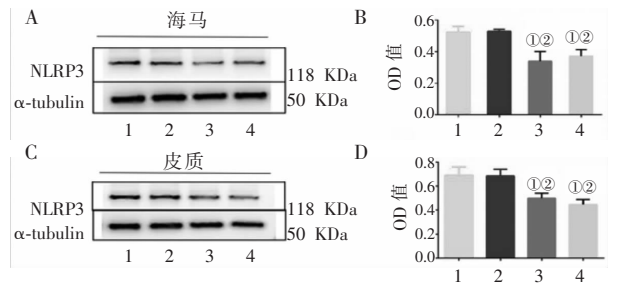


图 5 经 Ori 治疗后 PTZ 癫痫动物模型脑组织中的 NLRP3 蛋白表达

A-B. NLRP3 在小鼠海马中的蛋白表达水平;C-D. NLRP3 在小鼠皮质中的蛋白表达水平。① $P < 0.05$,与 DMSO 组相比;② $P < 0.05$,与 DMSO+5 mg Ori 组相比。1:DMSO 组;2:DMSO+5 mg Ori 组;3:DMSO+10 mg Ori 组;4:DMSO+40 mg Ori 组。

2.5 Ori 治疗前后 NEK7 蛋白表达

Ori 治疗前,与空白对照组相比,PTZ 诱导的慢性癫痫小鼠海马区 NEK7 蛋白表达水平也增高($P < 0.01$)。经 Ori 低、中、高剂量治疗后,与 DMSO 组相比较,DMSO + 5 mg Ori 组能一定程度减轻 NEK7 蛋白表达水平,但差异无统计学意义($P > 0.05$);给予 DMSO + 10 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹ Ori 及 DMSO + 40 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹ Ori 干预后,两组小鼠海马及皮质脑组织中 NEK7 蛋白表达水平降低($P < 0.01$);但 DMSO + 10 mg Ori 与 DMSO + 40 mg Ori 两组 NEK7 蛋白表达水平无统计学差异($P > 0.05$)。见图 6 及图 7。

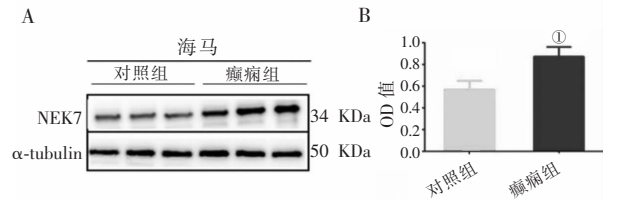


图 6 WB 检测 NEK7 在 PTZ 癫痫动物模型脑组织中的表达

A. 正常对照组与癫痫组小鼠海马中 NEK7 蛋白表达水平;B. 两组蛋白表达对应的灰度值统计柱状图。① $P < 0.05$,与对照组相比。

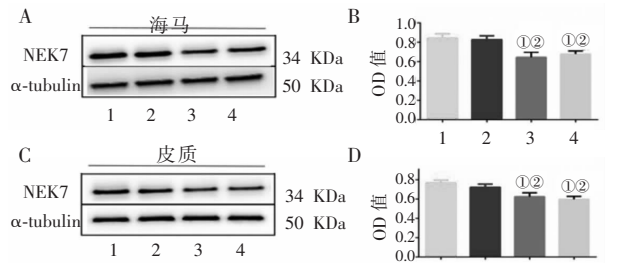


图 7 经 Ori 治疗后 PTZ 癫痫动物模型脑组织中的 NEK7 蛋白表达

A-B. NEK7 在小鼠海马中的蛋白表达水平;C-D. NEK7 在小鼠皮质中的蛋白表达水平。① $P < 0.05$,与 DMSO 组相比;② $P < 0.05$,与 DMSO+5 mg Ori 组相比。1:DMSO 组;2:DMSO+5 mg Ori 组;3:DMSO+10 mg Ori 组;4:DMSO+40 mg Ori 组。

3 讨论

癫痫是一种发病率及死亡率较高的神经系统常见疾病,全球约有数千万患者深受其困扰。尽管现有的抗癫痫药物在一定程度上能够控制病情,但仍有约 30% 的患者对药物治疗反应不佳,成为难治性癫痫患者^[2]。学界长期致力于探索新的治疗策略和药物干预治疗难治性癫痫,是现今医学研究的重点和难点。神经炎症在癫痫的发生发展演变过程中具有重要作用。神经炎症反应可以通过激活星形胶质细胞、小胶质细胞以及释放促炎性因子(如 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α)来加剧神经元的异常兴奋性和突触可塑性改变,从而促进癫痫发作^[22]。此外,炎症相关通路(如 NLRP3 炎性体通路)的激活可能导致神经元焦亡和神经损伤,进一步加重癫痫的病理损伤^[23]。针对炎症通路的干预策略,如抑制炎性体激活或调控炎症因子释放,可能为癫痫治疗提供新的突破口,为难治性癫痫治疗提供新的靶标。

NLRP3 炎性小体在癫痫的发病机制中扮演了重要角色,近年来成为研究的热点之一^[5]。NLRP3 炎性小体介导神经炎症和神经元焦亡,在癫痫的发病机制中扮演重要角色。针对 NLRP3 通路的干预策略(如抑制 NLRP3 活性或阻断其下游炎症因子)可能为难治性癫痫治疗提供新的方向和防控思路^[19]。Ori 是从传统中药提取而来的中药单体,因其抗肿瘤及抗炎活性引起大家的关注^[5,24]。Ori 有

效抑制 NLRP3 炎症小体活化,且对 NLRP3 炎症相关疾病有较好的治疗作用,主要是因为 Ori 与 NLRP3 的相关结构基团结合形成共价键,从而有效阻断 NLRP3-NEK7 相互作用^[25-26]。诸多证据^[27-28]显示 Ori 是 NLRP3 炎症小体的特异性和共价抑制剂,其安全性和有效性得到大家的共识。目前尚未有 Ori 用于治疗癫痫的相关研究,结合 Ori 抗炎功能,能有效抑制 NLRP3 炎症小体炎症通路的特性,推测 Ori 对癫痫有一定的神经保护作用。

PTZ 诱导的癫痫模型是一种广泛应用于癫痫研究的经典动物模型。PTZ 是 GABA 受体拮抗剂,具有操作简便、重复性高的特点,适当剂量的 PTZ 在数分钟内诱导大鼠短暂惊厥发作,发作潜伏时间与持续时间均比较恒定,研究^[29-30]证实 PTZ 模型是最适用于抗癫痫药物筛选和药物疗效评价的癫痫动物模型。本实验分别给予不同剂量的 Ori 溶液腹腔注射治疗小鼠,对 PTZ 诱导的慢性癫痫动物模型行为学进行观察,分别采用分子生物学及组织病理学等技术检测相关指标,初步研究 Ori 对癫痫是否具有调控作用。

在 PTZ 诱导慢性癫痫模型之前,将 Ori 溶于有机溶剂 DMSO 中进行腹腔注射干预治疗,HE 病理染色显示两种药物 (Ori + DMSO) 对脑组织没有明显影响,小鼠神经元细胞形态完整,排列整齐,且未引起小鼠生活行为习惯改变,说明注射的药物是安全的。在动物实验中,通过对小鼠行为学的观察能比较客观反映药物的真实治疗效果。本实验中各组小鼠经药物干预治疗后,再行 PTZ 造模,PTZ 通过阈下剂量腹腔注射的方式,逐渐降低癫痫发作阈值,反复刺激并最终成功点燃癫痫发作,成为慢性癫痫模型。课题组通过观察小鼠行为学,给予 Ori 治疗后能延长癫痫发作潜伏期,改善癫痫发作严重程度,降低自发发作的频率,特别是中高剂量治疗组 (10 mg 组及 40 mg Ori 组) 差异有统计学意义。实验结果说明 Ori 安全有效,对 PTZ 诱导的癫痫小鼠有一定神经调控作用。

癫痫反复自发发作会引起海马区相应的病理生理状态改变,引起相应的蛋白分子发生变化。分别检测各组小鼠海马脑组织 HE 染色,DMSO 空白对照组经反复 PTZ 诱发形成癫痫模型,通过形态学观察发现,该组完整神经元细胞明显减少,细胞膜破坏明显,细胞形态排列紊乱,神经元细胞结构紊乱,变性、坏死,有空泡状细胞出现,核仁有不同程度的溶解,可见炎细胞浸润,较少出现完整的细胞。经过 Ori 腹腔注射治疗后再行 PTZ 造模,HE 染色结果显示小鼠海马区病理损伤明显减轻,炎症浸润减轻,能

有效减少对神经元细胞的破坏,使细胞排列趋于正常,侧枝丰富,有一定代偿作用,特别是 10 mg Ori 组改善明显,细胞侧枝丰富,完整细胞明显增多,细胞紧密排列。上述研究表明,经 Ori 干预治疗后,能改善 PTZ 诱导慢性癫痫模型小鼠海马脑组织引起的组织病理学改变。

在海人酸诱导癫痫模型中 NLRP3、活性 Caspase-1 及 IL-1 β 蛋白分子表达增加。但癫痫小鼠经姜黄素干预治疗后,能有效抑制海马区上述 NLRP3 相关蛋白因子表达,HE 染色显示经治疗后海马神经元细胞丢失减少,能有效保护神经元损伤^[31]。本研究 Western blot 结果显示,NLRP3、NEK7 蛋白表达在 DMSO + PTZ 癫痫模型海马组织中升高,与既往研究结果相一致。经 Ori 低、中、高剂量干预治疗后,分别检测各组小鼠皮质和海马中 NLRP3、NEK7 蛋白表达水平。与 DMSO 组相比,DMSO + 5 mg Ori 组能一定程度降低 NLRP3、NEK7 蛋白表达水平,但无统计学意义 ($P > 0.05$); 经 10 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹ Ori 及 40 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹ Ori 治疗后,两组小鼠海马及皮质脑组织中 NLRP3、NEK7 蛋白表达水平降低 ($P < 0.01$)。这部分分子生物学研究结果和行为学以及病理染色结果一致,说明经 Ori 治疗后,能一定程度减轻癫痫引起的病理损伤,减少炎症浸润,降低 NLRP3、NEK7 蛋白表达水平。

综上,Ori 对癫痫有一定的神经保护作用,可以调控癫痫发作,机制可能是通过抑制 NLRP3 炎症小体通路的信号介导,进而减少 PTZ 慢性癫痫小鼠发作,但具体机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] Pressler RM, Abend NS, Auvin S, *et al.* Treatment of seizures in the neonate: guidelines and consensus-based recommendations-special report from the ILAE task force on neonatal seizures[J]. *Epilepsia*, 2023, 64(10): 2550-2570.
- [2] He LY, Hu MB, Li RL, *et al.* Natural medicines for the treatment of epilepsy: bioactive components, pharmacology and mechanism[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 604040.
- [3] Li X, Zhang CT, Ma W, *et al.* Oridonin: a review of its pharmacology, pharmacokinetics and toxicity[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 645824.
- [4] Abdullah NA, Hashim NFM, Ammar A, *et al.* An insight into the anti-angiogenic and anti-metastatic effects of oridonin: current knowledge and future potential[J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2021, 26(4): 775.
- [5] Li Y, Xie J, Du X, *et al.* Oridonin, a small molecule inhibitor of cancer stem cell with potent cytotoxicity and differentiation potential[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2024, 975: 176656.
- [6] Zhao Y, Jin H, Lei K, *et al.* Oridonin inhibits inflammation of epithelial cells via dual-targeting of CD31 Keap1 to ameliorate acute

- lung injury[J]. *Frontiers in Immunology*, 2023, 14: 1163397.
- [7] Shao YY, Guo Y, Feng XJ, *et al.* Oridonin attenuates TNBS-induced post-inflammatory irritable bowel syndrome via PXR/NF- κ B signaling[J]. *Inflammation*, 2021, 44(2): 645–658.
- [8] Ishabiyi FO, Ogidi JO, Olukade BA, *et al.* Computational evaluation of Azadirachta indica-derived bioactive compounds as potential inhibitors of NLRP3 in the treatment of Alzheimer's disease[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2023, 94(s1): S67–S85.
- [9] He KL, Yu X, Xia L, *et al.* A new perspective on the regulation of neuroinflammation in intracerebral hemorrhage: mechanisms of NLRP3 inflammasome activation and therapeutic strategies[J]. *Frontiers in Immunology*, 2025, 16: 1526786.
- [10] Fu J, Wu H. Structural mechanisms of NLRP3 inflammasome assembly and activation[J]. *Annual Review of Immunology*, 2023, 41: 301–316.
- [11] Liu D, Zeng X, Li X, *et al.* Advances in the molecular mechanisms of NLRP3 inflammasome activators and inactivators[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2020, 175: 113863.
- [12] He Y, Zeng MY, Yang D, *et al.* NEK7 is an essential mediator of NLRP3 activation downstream of potassium efflux[J]. *Nature*, 2016, 530(7590): 354–357.
- [13] Liu G, Chen X, Wang Q, *et al.* NEK7: a potential therapy target for NLRP3-related diseases[J]. *Bioscience Trends*, 2020, 14(2): 74–82.
- [14] Sdelci S, Bertran MT, Roig J. Nek9, Nek6, Nek7 and the separation of centrosomes[J]. *Cell Cycle (Georgetown, Tex)*, 2011, 10(22): 3816–3817.
- [15] Moraes EC, Meirelles GV, Honorato RV, *et al.* Kinase inhibitor profile for human nek1, nek6, and nek7 and analysis of the structural basis for inhibitor specificity[J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2015, 20(1): 1176–1191.
- [16] Sharma S, Tiarks G, Haight J, *et al.* Neuropathophysiological mechanisms and treatment strategies for post-traumatic epilepsy[J]. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2021, 14: 612073.
- [17] Foadelli T, Santangelo A, Costagliola G, *et al.* Neuroinflammation and status epilepticus: a narrative review unraveling a complex interplay[J]. *Frontiers in Pediatrics*, 2023, 11: 1251914.
- [18] Chen J, Gao Y, Liu N, *et al.* Mechanism of NLRP3 inflammasome in epilepsy and related therapeutic agents[J]. *Neuroscience*, 2024, 546: 157–177.
- [19] He C, Liu J, Li J, *et al.* Hit-to-lead optimization of the natural product oridonin as novel NLRP3 inflammasome inhibitors with potent anti-inflammation activity[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2024, 67(11): 9406–9430.
- [20] Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation; II. Motor seizure[J]. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 1972, 32(3): 281–294.
- [21] Li W, Wu J, Zeng Y, *et al.* Neuroinflammation in epileptogenesis: from pathophysiology to therapeutic strategies[J]. *Frontiers in Immunology*, 2023, 14: 1269241.
- [22] Hong Y, Wei C, Fu M, *et al.* MCC950 alleviates seizure severity and angiogenesis by inhibiting NLRP3/IL-1 β signaling pathway-mediated pyroptosis in mouse model of epilepsy[J]. *International Immunopharmacology*, 2024, 126: 111236.
- [23] Palumbo L, Carinci M, Guarino A, *et al.* The NLRP3 inflammasome in neurodegenerative disorders: insights from epileptic models[J]. *Biomedicine*, 2023, 11(10): 2825.
- [24] Ou H, Wu Z, Ning J, *et al.* In vitro and in vivo characterization of oridonin analogs as anti-inflammatory agents that regulate the NF- κ B and NLRP3 inflammasome axis[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2025, 16: 1512740.
- [25] He H, Jiang H, Chen Y, *et al.* Oridonin is a covalent NLRP3 inhibitor with strong anti-inflammasome activity[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 2550.
- [26] Zhao N, Li CC, Di B, *et al.* Recent advances in the NEK7-licensed NLRP3 inflammasome activation: mechanisms, role in diseases and related inhibitors[J]. *Journal of Autoimmunity*, 2020, 113: 102515.
- [27] Li M, Zhang Y, Qiu S, *et al.* Oridonin ameliorates noise-induced hearing loss by blocking NLRP3 - NEK7 mediated inflammasome activation[J]. *International Immunopharmacology*, 2021, 95: 107576.
- [28] Zhao T, Zhang X, Cui X, *et al.* Oridonin exerts anticonvulsant profile and neuroprotective activity in epileptic mice by inhibiting NLRP3-mediated pyroptosis[J]. *International Immunopharmacology*, 2024, 134: 112247.
- [29] Liu Z, Huang W, Zhu MM, *et al.* Mechanism of Robol in the pentylenetetrazol-kindled epilepsy mouse model[J]. *Ibrain*, 2023, 9(4): 369–380.
- [30] Vincent P, Mulle C. Kainate receptors in epilepsy and excitotoxicity[J]. *Neuroscience*, 2009, 158(1): 309–323.
- [31] He Q, Jiang L, Man S, *et al.* Curcumin reduces neuronal loss and inhibits the NLRP3 inflammasome activation in an epileptic rat model[J]. *Current Neurovascular Research*, 2018, 15(3): 186–192.

(收稿日期: 2025-02-23

修回日期: 2025-04-15)