

基于免疫炎性反应探讨肠道菌群在缺血性脑卒中脑损伤中的作用

张亦舒¹, 李晓宁², 顾雪彤¹

摘要 新近研究发现,缺血性脑卒中的发生打破了肠道生态环境稳态,造成了肠道菌群结构改变及相关衍生产物失调。这种变化导致了卒中后局部的免疫炎性反应加剧和梗死体积的增大,是影响卒中预后的潜在危险因素。本文就缺血性脑卒中病程中的炎性反应过程、肠道菌群和相关衍生产物的变化以及脑损伤过程中由肠道菌群所介导的免疫炎性反应进行综述。

关键词 肠道菌群;缺血性脑卒中;免疫炎性反应

中图分类号 R741;R741.02;R743.3 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20220997

本文引用格式:张亦舒, 李晓宁, 顾雪彤. 基于免疫炎性反应探讨肠道菌群在缺血性脑卒中脑损伤中的作用[J]. 神经损伤与功能重建, 2024, 19(3): 157-160.

Role of Gut Microbiota in the Brain Injury after Ischemic Stroke Based on Immune Inflammatory Reaction ZHANG Yishu¹, LI Xiaoning², GU Xuotong¹. 1. Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 2. The Second Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150000, China

Abstract Ischemic stroke is a type of cerebrovascular disease with a high disability rate. Recent studies have found that ischemic stroke breaks the stability of the intestinal ecological environment, resulting in alterations in the composition of gut microbiota and related derivatives. These changes lead to the exacerbation of local immune inflammatory responses and the increase of infarct volume after stroke, which is a potential risk factor for stroke prognosis. This review aims to summarize the inflammatory response process, changes in gut microbiota and related derivatives, as well as the immune inflammatory reactions mediated by gut microbiota during cerebral infarction.

Keywords gut microbiota; ischemic stroke; immune inflammatory reaction

脑卒中是全球导致残疾的第三大致病因素,我国每年新发卒中患者超过200万人,其中半数以上为缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)^[1]。IS发生后,损伤部位的神经元和神经胶质细胞立即释放损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs)等因子,激活免疫系统,破坏血脑屏障,诱导外周淋巴细胞迁移至缺血区域组织炎性反应,催化组织死亡并导致临床结局恶化^[2]。

IS的发生和发展通常与环境 and 代谢有关(如吸烟、肥胖、衰老、高血压和2型糖尿病等),这些因素均会对肠道菌群结构和生物多样性造成破坏^[3]。肠道菌群作为肠-脑轴的重要一环,主要通过中枢神经、自主神经系统、内分泌系统和免疫系统途径参与肠道和大脑之间的双向沟通,从而维持机体内稳态^[4]。肠道菌群的基因量大约是人类的150倍,它们通过独特的代谢活动相互作用,参与炎性反应的调控。现代研究发现IS打破了肠道生态环境稳态,并证实肠道中一些特定的菌群和衍生产物的失调与炎性反应指标相关。临床中高达50%的IS患者由于菌群失调发生炎性并发症,这些患者往往需要更长的时间康复^[5]。因而肠道菌群失调既是急性脑损伤的病理结果,也是影响IS病程中炎性反应的关键效应因子,对预后具有重要影响。本文总结了近年来

IS发生后肠道菌群及相关代谢产物变化的研究进展,讨论肠道菌群在缺血后脑损伤过程中免疫炎性反应中的作用,以期为IS提供研究的新方向。

1 肠道菌群

肠道菌群是一个庞大复杂的生态系统,健康成年人肠道菌群结构相对稳定,小肠内菌群的主要门类由耐氧的厚壁菌和变形杆菌构成;结肠菌群主要由厌氧细菌构成,包括厚壁菌门(主要为瘤胃科)、拟杆菌门、放线杆菌门、变形菌门和疣微菌门^[6]。肠道菌群对中枢神经系统功能的影响在正常生理和疾病条件下均有表现。在生理状态下,肠道菌群参与神经的生成过程,包括血脑屏障的形成与通透性的调节、髓鞘形成、神经发生和小胶质细胞的成熟和分化、神经营养因子及神经递质的表达^[7]。在病理状态下,肠道菌群主要通过神经内分泌、神经免疫及代谢途径对中枢神经系统向上调节,特别是通过参与调控外周及中枢免疫细胞的成熟和激活,影响机体对神经炎症、脑损伤及自身免疫的反应,这在自闭症谱系障碍及帕金森病中得以证实^[8]。

2 IS病程中肠道菌群及衍生产物的变化

2.1 肠道菌群的变化

作者单位

1. 黑龙江中医药大学

哈尔滨 150040

2. 黑龙江中医药大学附属第二医院

哈尔滨 150000

收稿日期

2022-11-13

通讯作者

李晓宁

lixiaoning456@

163.com

早期动物研究发现,急性脑缺血可通过应激诱导的肠功能障碍引起小鼠肠道菌群失调,这种变化主要涉及普雷沃菌科水平的显著降低和消化球菌科水平的增加^[9]。如今多项临床研究也已证实IS患者存在菌群失调,但具体菌群差异仍存在争议。2015年,Yin等^[10]首次报道IS患者粪便中肠杆菌属、巨球形菌属、颤杆菌属和脱硫弧菌属增多,拟杆菌属、普雷沃氏菌属和粪杆菌属减少。经证实肠杆菌能够通过加速脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)/Toll样受体4(Toll-like receptors 4, TLR4)通路介导的全身炎症反应,加重大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)小鼠神经功能缺损,拟杆菌门的物种多样性降低则与肠屏障功能障碍和肠动力减弱有关^[11]。Yamashiro等^[12]发现,IS患者肠道中奇异菌群和瘤胃乳杆菌属的细菌数量增加,沙克乳酸杆菌的数量减少,且不受年龄、高血压和2型糖尿病的影响。瘤胃乳杆菌数量的增加加剧了卒中后的炎症反应,其机制与瘤胃乳杆菌诱导肠上皮促炎鞭毛蛋白及白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-8的过度表达相关。此外,研究证实脑卒中后患有认知障碍的患者具有特定的菌群结构特征。Ling等^[13]发现与无认知障碍的患者相比,IS后患有认知障碍的患者变形菌门的丰度显著增加,肠球菌、拟杆菌和志贺氏埃希氏菌的比例明显较高,粪杆菌的含量明显较低。经证实粪杆菌代谢产生的丁酸盐具有抗炎性能。Zeng等^[14]发现肠道菌群与IS长期风险相关,与低危组相比,高危组机会致病菌(肠杆菌、细孔菌)和产乳酸细菌(双歧杆菌、乳酸杆菌)增加,产丁酸细菌(瘤胃球菌)减少。

虽然由于样本制备方法和患者种族的不同,相关菌群在不同的研究中不同,但这些研究确定了一些IS共同的特征,即肠道微生物群多样性降低、变形菌门和脱铁杆菌门的丰度增加、厚壁菌门/拟杆菌门的比值显著降低^[15]。

2.2 衍生产物的变化

研究发现IS不仅影响肠道的生物多样性和菌群结构,还会导致相关衍生产物,如短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)、氧化三甲胺(trimethylamine N-oxide, TMAO)及LPS发生病理改变。

SCFAs是结肠中膳食纤维的细菌发酵产物,在肠道中以乙酸、丙酸和丁酸为主,乙酸与许多细菌代谢相关,丙酸主要来自拟杆菌门,丁酸主要来自厚壁菌门。SCFAs在维持血脑屏障和肠道屏障完整,抑制免疫炎症反应等方面均扮演重要角色。宏基因组分析表明,与健康对照组相比,IS患者的SCFAs生成途径减弱,这种功能变化可能导致肠道通透性增加,加速全身炎症和症状恶化,且肠道中低水平的SCFAs与IS后的出血性转化密切相关,往往导致预后不良^[16]。而在另一研究结果中却显示产生SCFAs的菌群有所增加^[17]。这种差异可能是由于受试者的年龄、脑卒中严重程度和饮食习惯等背景不同造成。

TMAO是一种由肠道菌群介导氧化代谢物,其浓度水平与普雷沃氏菌显著相关。血清中的TMAO可穿过血脑屏障影响中枢神经系统,是脑血管疾病的潜在风险因子。研究发现IS患者的血清TMAO平均水平增加了2.201 μmol/L, TMAO水平的

升高使患有卒中的风险增加了68%。入院时的高水平TMAO是急性缺血性卒中严重程度和梗死体积的独立预测因子,并与3个月后功能预后差和死亡率升高呈正相关^[18]。

LPS是革兰氏阴性菌外膜的组成部分,是炎症反应的有效激活剂。当肠道菌群失调破坏肠道屏障完整性时,LPS可进入血液循环,导致全身性炎症,破坏血脑屏障促进免疫细胞向大脑迁移,激活小胶质细胞,加剧神经炎症。Klimiec等^[19]发现血浆LPS活性在IS病程中升高,而高LPS活性与急性缺血性卒中患者不良预后呈正相关,其机制可能与TLR4的激活相关。

3 IS病程中的炎症反应过程

3.1 神经胶质细胞的诱导

神经胶质细胞是中枢神经系统的重要组成部分,在正常生理条件下参与中枢神经系统的发育,在发病机制和病理条件下参与先天和适应性免疫反应。IS发生后,损伤的神经元立即通过释放DAMPs等因子激活胶质细胞,诱导胶质细胞分泌炎症细胞因子、趋化因子和基质金属蛋白酶,破坏血脑屏障并诱导大量外周免疫细胞浸润,导致继发性脑组织损伤^[2]。小胶质细胞是最先感知缺血并立即作出反应的免疫细胞。被激活的小胶质细胞可以在形态学上转变为吞噬细胞,分泌肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、IL-1β、IL-6等炎症细胞因子参与免疫反应。少突胶质细胞与内皮细胞、小胶质细胞相互作用,调节髓鞘的形成,通过释放的髓鞘相关蛋白激活外周T细胞,诱导自身免疫反应^[20]。

除了促炎作用外,小胶质细胞在脑卒中后通过吞噬细胞碎片和分泌抗炎细胞因子、神经营养因子同时发挥着神经保护作用。同样具有保护作用的还有星形胶质细胞,它们通过促进调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)增殖,减轻神经炎症,修复脑损伤,在IS急性期对血脑屏障重建和维持中枢神经系统稳态至关重要^[20]。

3.2 T细胞的诱导

在过去的几年中,许多研究阐明了T细胞在IS病程中的免疫炎症反应中的重要功能。正常生理状态下,只有少数T细胞进入中枢神经系统与神经胶质细胞共同维持中枢神经系统的内稳态,IS发生后大量的T细胞浸润梗死组织周围。

CD8⁺T细胞通过分泌IL-16募集CD4⁺T细胞,肠源性CD4⁺T细胞向脑膜的迁移可引起小胶质细胞极化失衡,加重IS神经损伤^[21];辅助性T细胞(T helper cell, Th)1通过分泌促炎细胞因子γ-干扰素(interferon-γ, IFN-γ)、TNF-α诱导小胶质细胞M1极化,并产生大量活性氧和一氧化氮破坏血脑屏障,同时M1型小胶质细胞通过分泌IL-12、TNF-α募集Th1细胞;γδT细胞分泌促炎IL-17与Th17通过调节TNF-α信号通路激活M1小胶质细胞。Th40在全脑缺血早期分泌IFN-γ、IL-17A并浸润缺血损伤部位,但在MCAO小鼠模型中的作用还知之甚少^[22]。

在病程中发挥炎症抑制作用的主要是Treg和Th2^[22]。Treg细胞通过IL-10调节小胶质细胞向M2型极化,抑制促炎细胞因子的过度产生、淋巴细胞及小胶质细胞的浸润。它们不仅有助

于脑组织保护和从外周调节中枢神经系统损伤,同时还维持外周免疫反应的稳态平衡。Th2细胞通过分泌IL-4、IL-10、IL-13等抗炎细胞因子诱导M2极化,提高神经营养因子的水平,同时M2细胞也通过分泌IL-4募集Th2细胞。

3.3 炎症小体的活化

脑卒中后由受损的神经元所释放DAMPs和细胞因子被Toll样受体和TNF受体识别,核因子- κ B信号通路激活,诱导核苷酸结合寡聚化结构域(nucleotide-binding oligomerization domain, NOD)样受体蛋白3(NOD-Like Receptor 3, NLRP3)炎症小体组装和活化,大量释放IL-1 β 和IL-18,引发炎症反应,进而导致肠道菌群变化^[23]。观察MCAO模型发现,小鼠梗死灶内NLRP3、半胱天冬酶-1、IL-1 β 和IL-18表达增加,通过基因敲除证实NLRP3与脑水肿严重程度和梗死体积呈正相关,其机制可能与活化后的炎症小体通过产生半胱天冬酶-1切割细胞焦亡特异性的关键效应分子Gasdermin D,即GSDMD蛋白,引发细胞焦亡,加剧脑损伤相关^[24]。经证实由NLRP3炎症小体活化介导的炎症反应不仅可以直接损伤神经元,还会破坏血脑屏障,促进外周白细胞的迁移浸润。

此外,中性粒细胞被认为是最早浸润缺血部位的细胞之一,这些细胞破坏血脑屏障,间接促进了T细胞的渗入,通过诱导局部炎症反应、触发特异性免疫反应或改变神经元兴奋性促进神经元的死亡,其数量与梗死体积直接相关^[25]。

4 肠道菌群与衍生产物失调对IS病程中炎症反应的影响

最新研究表明,肠道菌群在调节脑卒中后的炎症反应中起着核心作用。从机制上看,肠道菌群介导的炎症反应很大程度上依赖于神经胶质细胞、淋巴细胞的反应。研究发现MCAO诱导的卒中小鼠会发生应激反应,造成严重的胃肠瘫痪,进而引发菌群失调和肠屏障功能受损。这种由菌群失调导致的肠道功能障碍及通透性增加先于中枢神经系统免疫反应,它导致肠道菌群及其衍生产物易位进入外周并释放大量炎症因子,穿过血脑屏障加重缺血部位神经炎症^[26]。

4.1 肠道菌群失调对炎症反应的影响

IS后肠道菌群的改变触发T细胞反应,显著增加了肠道淋巴结中的Th1细胞、Th17细胞和极化Treg细胞数量,并通过肠道菌群介导T细胞以极快的速度迁移至梗死周围组织,造成外周和脑组织中的IFN- γ 、IL-17大量表达和脑梗死体积的增加^[27]。研究发现,经氨苄西林或万古霉素预处理的小鼠卒中预后明显改善,其神经保护作用与抗生素引起的变形菌门和厚壁菌门的增加和拟杆菌门的减少有关^[28],表明T细胞极化可以由拟杆菌门和厚壁菌门诱导。相比之下,使用环丙沙星和甲硝唑的预处理的小鼠则表现出生存率降低,表明不同的菌群对脑缺血损伤恢复有不同的影响^[29]。Zhang等^[30]发现,阿托伐他汀可通过增加厚壁菌门和乳酸菌的丰度,降低拟杆菌门丰度,来增加MCAO小鼠粪便丁酸盐水平,减少单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1)、TNF- α 、IL-10的表达,改善肠道屏障和神经功能。此

外,研究者还发现定植来自MCAO小鼠肠道菌群的受体小鼠肠道黏膜CD11b⁺单核细胞数量增加,表明MCAO诱导的菌群失调同时激活了肠道固有免疫和适应性免疫细胞。

4.2 衍生产物失调对炎症反应的影响

新近研究发现,SCFAs可以穿过肠道上皮屏障到达固有层,增强CD4⁺Treg细胞对自反应T细胞的免疫抑制作用^[31],减少再灌注后的细胞凋亡、炎症反应及维持血脑屏障完整性。口服SCFAs产生菌或在饮用水中补充SCFAs的MCAO小鼠梗死部位Treg细胞数量增加、IL-17 γ δ T细胞数量降低,肢体运动功能得到显著改善,证实了SCFAs对小胶质细胞激活有助于皮质结构和功能重塑^[32]。然而,在另一研究中发现卒中后SCFAs的水平与促炎因子IL-6、TNF- α 、IL-17、MCP-1和血管细胞粘附分子-1呈正相关,与IS的严重程度及预后呈负相关^[33]。造成结果的差异可能是由于研究队列小,未来还需更高质量的大队列临床研究来进一步验证。

Smad泛素调节因子2(Smad ubiquitination regulatory factor 2, Smurf2)已被证实可通过泛素化和降解Zeste基因增强子同源物2增强神经元分化,促进缺血性卒中的神经功能恢复。Su等^[34]发现,脑缺血/再灌注大鼠的TMAO水平升高与神经功能恢复不良相关,其机制可能是TMAO通过抑制Smurf2的表达,上调激活素受体样激酶5,逆转了Smurf2对星形胶质细胞增殖、迁移和活力的抑制作用,促进了反应性星形胶质细胞的增殖和胶质瘢痕的形成,抑制了轴突再生,不利于卒中后神经功能的恢复。此外,较高水平的TMAO还与中间单核细胞(CD14⁺CD16⁺)亚群数量的增加相关^[35]。根据单核细胞上LPS受体CD14和Fc γ III型受体CD16的表达情况可以将单核细胞划分为3个亚群,其中CD14⁺CD16⁺被激活后分泌大量的TNF- α 炎症细胞因子,导致卒中后严重神经功能损伤和不良预后。

Kerr等^[36]发现脑卒中后一周内,肠道组织中NLRP3的激活和GSDMD蛋白裂解增加,特别是半胱天冬酶-1的表达比皮质组织中更高,其机制可能与卒中后TMAO水平升高有关。既往研究认为,血清中高水平的TMAO可能反映正在进行的炎症过程,TMAO诱导炎症细胞因子和粘附分子的表达,激活NLRP3炎症小体,增加IL-1 β 的生成和释放,破坏血脑屏障和神经元再生^[37]。反过来,NLRP3表达的增加又促进肠道形态改变、通透性增加,加剧了免疫炎症反应,并导致含有炎症小体蛋白的脑源性细胞外囊泡的释放增加,进一步加重神经损伤。

尽管肠道菌群可能通过免疫炎症反应和细菌易位对患者产生有害影响,但在IS急性期,肠道菌群也发挥保护作用。IS病程中的菌群失调打破了肠内的免疫稳态,通过改变树突状细胞活性诱导Treg细胞表达增强,同时抑制IL-17 γ δ T细胞分化,从而发挥神经保护作用^[38]。Singh等^[27]发现,完全缺乏肠道菌群的MCAO小鼠表现出梗死体积增加和严重的功能缺损,证实肠道菌群是T细胞启动脑保护机制所必需的。

5 展望

肠道菌群与大脑之间的因果关系十分复杂,不仅仅是疾病

状态和某些微生物之间的联系。现有研究虽证实肠道菌群失调与IS病程中的炎症反应密切相关,但研究结果可能受年龄、饮食、行为、抗生素使用、长期压力、环境和遗传等混杂因素的影响。且以上研究针对的都是粪便菌群,其结果被认为是结肠菌群的代表,未来还需对小肠内菌群进一步观察。除了免疫炎症反应,副交感神经和交感神经通路,以及下丘脑-垂体-肾上腺轴,都是肠-脑轴的重要参与者。因此,未来的研究有必要将这些通路与免疫炎症反应结合起来,分析特定菌群在这种高度复杂的相互作用中的贡献,以全面了解IS病程中肠-脑轴的作用。

参考文献

- [1] Wu S, Wu B, Liu M, et al. Stroke in China: advances and challenges in epidemiology, prevention, and management[J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18: 394-405.
- [2] Iadecola C, Anrather J. The immunology of stroke: from mechanisms to translation[J]. *Nat Med*, 2011, 17: 796-808.
- [3] Chidambaram SB, Rathipriya AG, Mahalakshmi AM, et al. The Influence of Gut Dysbiosis in the Pathogenesis and Management of Ischemic Stroke[J]. *Cells*, 2022, 11: 1239.
- [4] Cryan JF, O'Riordan KJ, Cowan CSM, et al. The Microbiota-Gut-Brain Axis[J]. *Physiol Rev*, 2019, 99: 1877-2013.
- [5] Camara-Lemarroy CR, Ibarra-Yruegas BE, Gongora-Rivera F. Gastrointestinal complications after ischemic stroke[J]. *J Neurol Sci*, 2014, 346: 20-25.
- [6] De Vos WM, Tilg H, Van Hul M, et al. Gut microbiome and health: mechanistic insights[J]. *Gut*, 2022, 71: 1020-1032.
- [7] Sharon G, Sampson TR, Geschwind DH, et al. The Central Nervous System and the Gut Microbiome[J]. *Cell*, 2016, 167: 915-932.
- [8] Fung TC, Olson CA, Hsiao EY. Interactions between the microbiota, immune and nervous systems in health and disease[J]. *Nat Neurosci*, 2017, 20: 145-155.
- [9] Houlden A, Goldrick M, Brough D, et al. Brain injury induces specific changes in the caecal microbiota of mice via altered autonomic activity and mucoprotein production[J]. *Brain Behav Immun*, 2016, 57: 10-20.
- [10] Yin J, Liao SX, He Y, et al. Dysbiosis of Gut Microbiota With Reduced Trimethylamine-N-Oxide Level in Patients With Large-Artery Atherosclerotic Stroke or Transient Ischemic Attack[J]. *J Am Heart Assoc*, 2015, 4: e002699.
- [11] Xu K, Gao X, Xia G, et al. Rapid gut dysbiosis induced by stroke exacerbates brain infarction in turn[J]. *Gut*, 2021, gutjnl-2020-323263.
- [12] Yamashiro K, Tanaka R, Urabe T, et al. Gut dysbiosis is associated with metabolism and systemic inflammation in patients with ischemic stroke[J]. *PLoS One*, 2017, 12: e0171521.
- [13] Ling Y, Gong T, Zhang J, et al. Gut Microbiome Signatures Are Biomarkers for Cognitive Impairment in Patients With Ischemic Stroke[J]. *Front Aging Neurosci*, 2020, 12: 511562.
- [14] Zeng X, Gao X, Peng Y, et al. Higher Risk of Stroke Is Correlated With Increased Opportunistic Pathogen Load and Reduced Levels of Butyrate-Producing Bacteria in the Gut[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019, 9: 4.
- [15] Wu W, Sun Y, Luo N, et al. Integrated 16S rRNA Gene Sequencing and LC-MS Analysis Revealed the Interplay Between Gut Microbiota and Plasma Metabolites in Rats With Ischemic Stroke[J]. *J Mol Neurosci*, 2021, 71: 2095-2106.
- [16] Huang Q, Di L, Yu F, et al. Alterations in the gut microbiome with hemorrhagic transformation in experimental stroke[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2022, 28: 77-91.
- [17] Li N, Wang X, Sun C, et al. Change of intestinal microbiota in cerebral ischemic stroke patients[J]. *BMC Microbiol*, 2019, 19: 191.
- [18] Wu C, Xue F, Lian Y, et al. Relationship between elevated plasma trimethylamine N-oxide levels and increased stroke injury[J]. *Neurology*, 2020, 94: e667-e677.
- [19] Klimiec E, Pera J, Chrzanowska-Wasko J, et al. Plasma endotoxin activity rises during ischemic stroke and is associated with worse short-term outcome[J]. *J Neuroimmunol*, 2016, 297: 76-80.
- [20] Xu S, Lu J, Shao A, et al. Glial Cells: Role of the Immune Response in Ischemic Stroke[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 294.
- [21] Feng Y, He X, Luo S, et al. Chronic colitis induces meninges traffic of gut-derived T cells, unbalances M1 and M2 microglia/macrophage and increases ischemic brain injury in mice[J]. *Brain Res*, 2019, 1707: 8-17.
- [22] Klebe D, McBride D, Flores JJ, et al. Modulating the Immune Response Towards a Neuroregenerative Peri-injury Milieu After Cerebral Hemorrhage[J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2015, 10: 576-586.
- [23] 罗涛, 刘志刚. 细胞焦亡在缺血性卒中的研究进展[J]. *神经损伤与功能重建*, 2022, 17: 82-84.
- [24] Ye A, Li W, Zhou L, et al. Targeting pyroptosis to regulate ischemic stroke injury: Molecular mechanisms and preclinical evidences[J]. *Brain Res Bull*, 2020, 165: 146-160.
- [25] Buck BH, Liebeskind DS, Saver JL, et al. Early neutrophilia is associated with volume of ischemic tissue in acute stroke[J]. *Stroke*, 2008, 39: 355-360.
- [26] Golomb SM, Guldner IH, Zhao A, et al. Multi-modal Single-Cell Analysis Reveals Brain Immune Landscape Plasticity during Aging and Gut Microbiota Dysbiosis[J]. *Cell Rep*, 2020, 33: 108438.
- [27] Singh V, Sadler R, Heindl S, et al. The gut microbiome primes a cerebroprotective immune response after stroke[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2018, 38: 1293-1298.
- [28] Benakis C, Poon C, Lane D, et al. Distinct Commensal Bacterial Signature in the Gut Is Associated With Acute and Long-Term Protection From Ischemic Stroke[J]. *Stroke*, 2020, 51: 1844-1854.
- [29] Winek K, Engel O, Koduah P, et al. Depletion of Cultivable Gut Microbiota by Broad-Spectrum Antibiotic Pretreatment Worsens Outcome After Murine Stroke[J]. *Stroke*, 2016, 47: 1354-1363.
- [30] Zhang P, Zhang X, Huang Y, et al. Atorvastatin alleviates microglia-mediated neuroinflammation via modulating the microbial composition and the intestinal barrier function in ischemic stroke mice[J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 162: 104-117.
- [31] Miyauchi E, Shimokawa C, Steimle A, et al. The impact of the gut microbiome on extra-intestinal autoimmune diseases[J]. *Nat Rev Immunol*, 2023, 23: 9-23.
- [32] Sadler R, Cramer JV, Heindl S, et al. Short-Chain Fatty Acids Improve Poststroke Recovery via Immunological Mechanisms[J]. *J Neurosci*, 2020, 40: 1162-1173.
- [33] Henry N, Frank J, McLouth C, et al. Short Chain Fatty Acids Taken at Time of Thrombectomy in Acute Ischemic Stroke Patients Are Independent of Stroke Severity But Associated With Inflammatory Markers and Worse Symptoms at Discharge[J]. *Front Immunol*, 2022, 12: 797302.
- [34] Su H, Fan S, Zhang L, et al. TMAO Aggregates Neurological Damage Following Ischemic Stroke by Promoting Reactive Astrocytosis and Glial Scar Formation via the Smurf2/ALK5 Axis[J]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15: 569424.
- [35] Haghikia A, Li XS, Liman TG, et al. Gut Microbiota-Dependent Trimethylamine N-Oxide Predicts Risk of Cardiovascular Events in Patients With Stroke and Is Related to Proinflammatory Monocytes[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38: 2225-2235.
- [36] Kerr NA, Sanchez J, O'Connor G, et al. Inflammasome-Regulated Pyroptotic Cell Death in Disruption of the Gut-Brain Axis After Stroke[J]. *Transl Stroke Res*, 2022, 13: 898-912.
- [37] Boini KM, Hussain T, Li PL, et al. Trimethylamine-N-Oxide Instigates NLRP3 Inflammasome Activation and Endothelial Dysfunction[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44: 152-162.
- [38] Benakis C, Brea D, Caballero S, et al. Commensal microbiota affects ischemic stroke outcome by regulating intestinal $\gamma\delta$ T cells[J]. *Nat Med*, 2016, 22: 516-523.