

## 缬沙坦调控 NLRP3 炎症小体及 AMPK/SIRT1 通路改善老年小鼠衰弱及认知功能

杨帆航, 田甜, 李瑜, 米叶赛·艾尼瓦尔, 邢森森, 王红\* (新疆医科大学第一附属医院综合内二科, 乌鲁木齐 830011; \*通讯作者, E-mail: hong001w@163.com)

**摘要:** 目的 探讨缬沙坦对老年小鼠衰弱状态及认知功能的影响及其潜在分子机制。方法 采用31项衰弱指数(FI)评分评估20月龄雄性C57BL/6小鼠的衰弱程度。将FI $\geq$ 0.18的老年小鼠随机分为老年伴衰弱状态组和老年衰弱+缬沙坦组,6月龄雄性C57BL/6小鼠设为成年对照组。老年衰弱+缬沙坦组灌胃缬沙坦30 mg/kg,其余组给予等体积生理盐水,连续60 d。干预后以FI评分和Morris水迷宫评价衰弱程度及学习记忆能力;HE染色观察脑组织神经元病理改变;免疫荧光检测小胶质细胞标记物Iba1、星形胶质细胞标记物GFAP及炎症因子白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )的表达;Western blot检测Tau蛋白[Tau5与第181位苏氨酸磷酸化的Tau蛋白(p-Tau)],AMPK/SIRT1通路相关蛋白[5'-腺苷一磷酸活化蛋白激酶(AMPK)及其磷酸化形式(p-AMPK)、沉默信息调节因子1(SIRT1)]以及NOD样受体蛋白3(NLRP3)炎症小体焦亡相关蛋白[NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、半胱天冬酶-1(Caspase-1)及其活化形式(p-Caspase-1)、白细胞介素-18(IL-18)、IL-1 $\beta$ ]的表达。结果 与成年对照组比较,老年伴衰弱状态组小鼠FI升高、学习记忆能力下降( $P<0.05$ );脑组织结构紊乱,神经元数量减少;Iba1、GFAP、IL-1 $\beta$ 及p-Tau表达升高( $P<0.05$ ),p-AMPK和SIRT1表达降低( $P<0.05$ ),NLRP3炎症小体及下游焦亡相关蛋白(ASC、Caspase-1、p-Caspase-1、IL-18、IL-1 $\beta$ )表达增加( $P<0.05$ )。与老年伴衰弱状态组比较,老年衰弱+缬沙坦组FI降低、学习记忆能力改善( $P<0.05$ );脑组织结构较完整,神经元形态改善、病理损伤减轻;Iba1、GFAP、IL-1 $\beta$ 及p-Tau表达下降( $P<0.05$ ),NLRP3炎症小体及焦亡相关蛋白表达下调,p-AMPK和SIRT1表达上调( $P<0.05$ )。各组间Tau5及AMPK总蛋白表达差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 缬沙坦可改善老年小鼠的衰弱状态及认知功能,其作用可能与激活AMPK/SIRT1通路、抑制NLRP3炎症小体介导的神经炎症和焦亡有关。

**关键词:** 缬沙坦; 衰弱; 认知功能; NLRP3; AMPK/SIRT1 信号通路

中图分类号: R592.1 文献标识码: A 文章编号: 1007-6611(2026)03-0276-09 DOI:10.13753/j.issn.1007-6611.2026.03.005

### Valsartan improves frailty and cognitive function in aged mice by regulating NLRP3 inflammasome and AMPK/SIRT1 pathways

YANG Fanhang, TIAN Tian, LI Yu, Miyese Ainiwar, XING Miaomiao, WANG Hong\* (Department II of General Internal Medicine, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; \*Corresponding author, E-mail: hong001w@163.com)

**Abstract:** *Objective* To investigate the effects of Valsartan on frailty and cognitive function in aged mice and its potential molecular mechanisms. *Methods* Frailty in 20-month-old male C57BL/6 mice was assessed using the 31-item frailty index (FI) score. Aged mice with an FI $\geq$ 0.18 were randomly assigned into frail-aged group and frail-aged+Valsartan group. Six-month-old male C57BL/6 mice served as the young-adult control group. The mice in frail-aged+Valsartan group were orally administered Valsartan at 30 mg/kg, while the mice in the other two groups received an equal volume of saline for 60 consecutive days. After the intervention, frailty was assessed using the FI score, and learning and memory abilities were evaluated with the Morris water maze test. Neuronal pathology in brain tissue was evaluated by hematoxylin-eosin (HE) staining. Immunofluorescence was used to detect the expressions of the microglial marker Iba1, the astrocytic marker GFAP, and the inflammatory cytokine IL-1 $\beta$ . Western blot analysis was conducted to determine the expression levels of proteins involved in Tau pathology (Tau5, p-Tau), the AMPK/SIRT1 pathway (AMPK, p-AMPK, SIRT1), and the NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis (NLRP3, ASC, Caspase-1, p-Caspase-1, IL-18, IL-1 $\beta$ ). *Results* Compared with young-adult control group, FI was elevated ( $P<0.05$ ), learning and memory abilities were impaired in frail-aged group ( $P<0.05$ ), brain tissue structure was disrupted, and neuronal numbers were reduced; Iba1, GFAP, IL-1 $\beta$ , and p-Tau expressions increased ( $P<0.05$ ), while p-AMPK and SIRT1 expression decreased ( $P<0.05$ ); NLRP3 inflammasome and expressions of downstream pyroptosis-related proteins (ASC, Caspase-1, p-Caspase-1, IL-18, IL-1 $\beta$ ) increased ( $P<0.05$ ). Compared with frail-aged group, FI reduced, learning

基金项目:新疆维吾尔自治区重点研发计划项目(2022B03009-2)

作者简介:杨帆航,女,1995-04生,硕士,住院医师,E-mail: fine9505@163.com

收稿日期:2025-11-04

and memory abilities were improved in frail-aged+Valsartan group ( $P<0.05$ ), the brain tissue structure was more intact, neuronal morphology was improved, and the pathological damage was alleviated; the expressions of Iba1, GFAP, IL-1 $\beta$ , p-Tau and proteins in the NLRP3 inflammasome pyroptosis pathway were down-regulated, while the expressions of p-AMPK and SIRT1 were up-regulated ( $P<0.05$ ); Tau5 and total AMPK protein expressions showed no statistically significant differences among groups ( $P>0.05$ ). *Conclusion* Valsartan can improve frailty and cognitive function in aged mice, potentially through activation of the AMPK/SIRT1 pathway and inhibition of NLRP3 inflammasome-mediated neuroinflammation and pyroptosis.

**Keywords:** Valsartan; frailty; cognitive function; NLRP3; AMPK/SIRT1 signaling pathway

全球60岁以上人口呈现持续增长趋势,预计到2050年将会突破21亿<sup>[1]</sup>。衰弱作为一种与衰老密切相关的老年综合征,主要表现为多个系统功能储备的逐步下降,进而导致稳态调节能力的失衡,增加机体对不良事件的易感性<sup>[2]</sup>。既往有研究表明,衰弱不仅是全因死亡的重要预测因子,还与认知障碍的发生发展密切相关<sup>[3-6]</sup>。然而,针对衰弱伴随认知功能减退的有效干预策略目前仍缺乏明确共识。

血管紧张素系统不仅在外周内分泌系统中广泛分布,也在中枢神经系统中具有特异性表达,其活性状态已被证实与氧化应激、神经炎症以及认知维持等神经病理过程密切相关<sup>[7-11]</sup>。血管紧张素II(AngII)通过激活血管紧张素II 1型受体(AT1R)和2型受体(AT2R)发挥生理效应,异常激活可加速神经退行性病变。缬沙坦作为一种血管紧张素II 1型受体阻断剂,已被证实能够延缓衰老相关表型变化,并通过抑制中枢神经炎症、增强突出可塑性等途径改善认知功能<sup>[12]</sup>。

NOD样受体蛋白3(NOD-like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3)是一个多结构域蛋白,其激活可触发细胞焦亡并加剧年龄相关神经退行性病变<sup>[13]</sup>。5'-腺苷一磷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)/沉默信息调节因子1(sirtuin 1, SIRT1)信号通路轴在细胞焦亡的调控中发挥关键作用,其活化可减轻神经系统炎症和氧化损伤<sup>[14,15]</sup>。然而,目前关于该通路以及下游NLRP3介导的细胞焦亡机制在衰弱小鼠模型中的作用尚不明确。基于此,本研究对衰弱状态的C57BL/6老年小鼠进行缬沙坦干预,系统评估了缬沙坦对衰弱相关学习记忆功能减退的改善作用,旨在为临床延缓衰弱进展以及逆转学习记忆功能下降提供理论和实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

本实验选用17月龄雄性C57BL/6小鼠20只,小

鼠均饲养在SPF级屏障环境中,屏障内使用聚碳酸酯材质的独立通风笼(IVC系统),每笼饲养不超过6只动物。实验室温度控制在22~26℃之间,湿度维持在40%~55%,12h光照/12h黑暗的昼夜节律管理,并配备高效空气过滤系统以保持洁净通风。在整个实验过程中,小鼠可自由摄取经灭菌处理的饲料和纯净饮水,笼内垫料每周更换3~4次以维持清洁环境。另选6月龄雄性C57BL/6小鼠6只作为成年对照组,饲养条件同上。所有实验均已通过学校实验动物伦理委员会审批通过,伦理审查编号为IACUC-JT-202311247-03。

### 1.2 药物及试剂

缬沙坦分散片购自中国诺华制药有限公司。离子钙结合衔接分子1(ionized calcium-binding adaptor molecule 1, Iba1)、胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)、AMPK、SIRT1、含有CARD结构域的凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)、NLRP3、p-Caspase-1、IL-18、IL-1 $\beta$ 、第181位苏氨酸磷酸化的Tau蛋白(p-Tau)抗体购自美国Abcam公司;Caspase-1及Tau5抗体购自美国Thermo Fisher Scientific公司。

### 1.3 小鼠临床31项衰弱指数评估

在实验起始阶段(药物干预前),采用31项衰弱指数(Frailty Index, FI)评分量表<sup>[16]</sup>对17月龄雄性C57BL/6小鼠( $n=20$ )进行基线FI检测,计算方法参照Parks方法<sup>[17]</sup>。实验期间每周严格按照既定标准进行FI评分。3个月后,根据FI $\geq 0.18$ 的标准,筛选出12只小鼠用于后续实验;另有5只小鼠FI $< 0.18$ 未纳入后续实验;3只小鼠在筛选随访期间自然死亡,未纳入后续实验。

### 1.4 动物分组及给药方法

本研究共纳入18只小鼠。将FI $\geq 0.18$ 的12只小鼠按照随机数字表法分为两组,分别为老年伴衰弱状态组和老年衰弱+缬沙坦组,每组各6只;将6只6月龄雄性C57BL/6小鼠设为成年对照组。老年

衰弱+缬沙坦组给予缬沙坦(30 mg/kg)灌胃,持续60 d;成年对照组和老年伴衰弱状态组同期给予等体积0.9%生理盐水。

## 1.5 实验方法

### 1.5.1 Morris 水迷宫实验评估小鼠学习、记忆能力

Morris 水迷宫系统由直径120 cm、高度55 cm的白色圆形水池构成,池内水深约为30 cm,中央设有一隐蔽平台作为目标区域,平台顶端浸没于水面下约1 cm。影像采集装置固定于水池中心正上方2 m处,完整记录实验对象运动轨迹,所有行为数据均通过智能图像分析系统完成处理。定位巡航阶段,小鼠分别由四个不同点位面向水池壁入水,自行探索平台位置。记录各组小鼠的逃避潜伏期,若60 s内未成功定位,则人工引导至平台并维持10 s适应,该适应性训练持续5个自然日。空间探索测试于训练周期结束后第5日实施,撤除原有平台后,从固定入水点释放实验动物,在90 s观测周期内统计其穿越原平台坐标区域的次数及在该区域滞留的总时长。

### 1.5.2 苏木精-伊红(HE)染色观察小鼠脑组织病理变化

行为学测试结束之后,对小鼠实施安乐死并取出完整大脑组织。采用4%多聚甲醛溶液进行固定处理,经梯度脱水后完成石蜡包埋程序,使用切片机制备5  $\mu\text{m}$ 厚度连续切片。使用HE染色技术对各组小鼠大脑组织进行处理,采用光学显微成像系统观察各组小鼠脑组织病理学改变。

### 1.5.3 免疫荧光染色法检测小鼠大脑组织中 Iba1、GFAP 和 IL-1 $\beta$ 蛋白的表达

用多聚甲醛固定小鼠脑组织后,依次进行组织脱水、浸蜡和包埋,制备为10  $\mu\text{m}$ 厚切片。采用免疫荧光染色检测小胶质细胞标记物 Iba1、星形胶质细胞标记物 GFAP 及炎症因子 IL-1 $\beta$  的表达。

### 1.5.4 Western blot 法检测小鼠大脑组织中 AMPK/SIRT1 信号通路相关蛋白的表达

对各组小鼠大脑组织样本进行标准化处理,分离出海马组织置于预冷 RIPA 裂解液中充分裂解,高速离心(12 000  $g$ , 15 min),收集上清液,使用 BCA 蛋白质定量试剂盒进行浓度测定。取适量蛋白样本与上样缓冲液混合后加入电泳槽加样孔,通过聚丙烯酰胺凝胶电泳技术进行蛋白质电泳。采用湿转膜法将蛋白转移至 PVDF 膜,经5%脱脂乳封闭液室温封闭90 min,依次进行特异性一抗 AMPK(1:1 000)、P-AMPK(1:1 000)、SIRT1(1:1 000)、NLRP3(1:500)、ASC(1:500)、Caspase-1(1:1 000)、p-Caspase-1(1:500)、IL-18(1:500)、

IL-1 $\beta$ (1:500)、p-Tau(1:1 000)、Tau5(1:1 000)于4  $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜处理,再进行对应种属二抗(1:5 000)于37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育90 min处理,每次抗体孵育后均采用 TBST 缓冲液漂洗3次。最后使用 ECL 化学发光底物进行显影反应,通过 Image Pro Plus 软件对目标条带进行灰度值定量分析,以  $\beta$ -actin 作为内参蛋白。

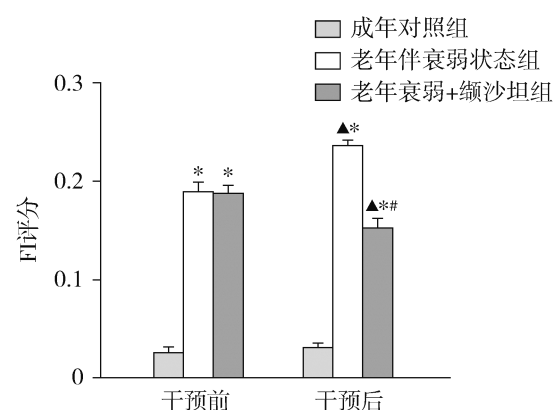
## 1.6 统计学分析

所有数据使用 SPSS 26.0 统计软件进行分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示。正态性采用 Shapiro-Wilk 检验,方差齐性采用 Levene 检验。干预前(基线)及干预后各时间点的组间比较采用单因素方差分析;差异有统计学意义时进行事后两两比较(LSD法)。同一组干预前后比较采用配对  $t$  检验。若不满足正态性或方差齐性等参数检验前提,则采用相应的非参数检验进行分析。 $P<0.05$  认为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 缬沙坦对小鼠衰弱评分的影响

以干预开始前(基线)为“干预前”,以末次给药后完成 FI 评估时(干预结束时)为“干预后”。FI 评分结果显示:干预前,与成年对照组相比,老年伴衰弱状态组和老年衰弱+缬沙坦组小鼠 FI 评分均显著升高(均  $P<0.05$ );干预后,与老年伴衰弱状态组相比,老年衰弱+缬沙坦组小鼠 FI 评分显著降低( $P<0.05$ ,见图1)。



注:与干预前相比,\* $P<0.05$ ;与成年对照组相比,<sup>▲</sup> $P<0.05$ ;与老年伴衰弱状态组相比,<sup>#</sup> $P<0.05$ 。

图1 缬沙坦对小鼠衰弱评分的影响

Figure 1 Effects of Valsartan on frailty scores in mice

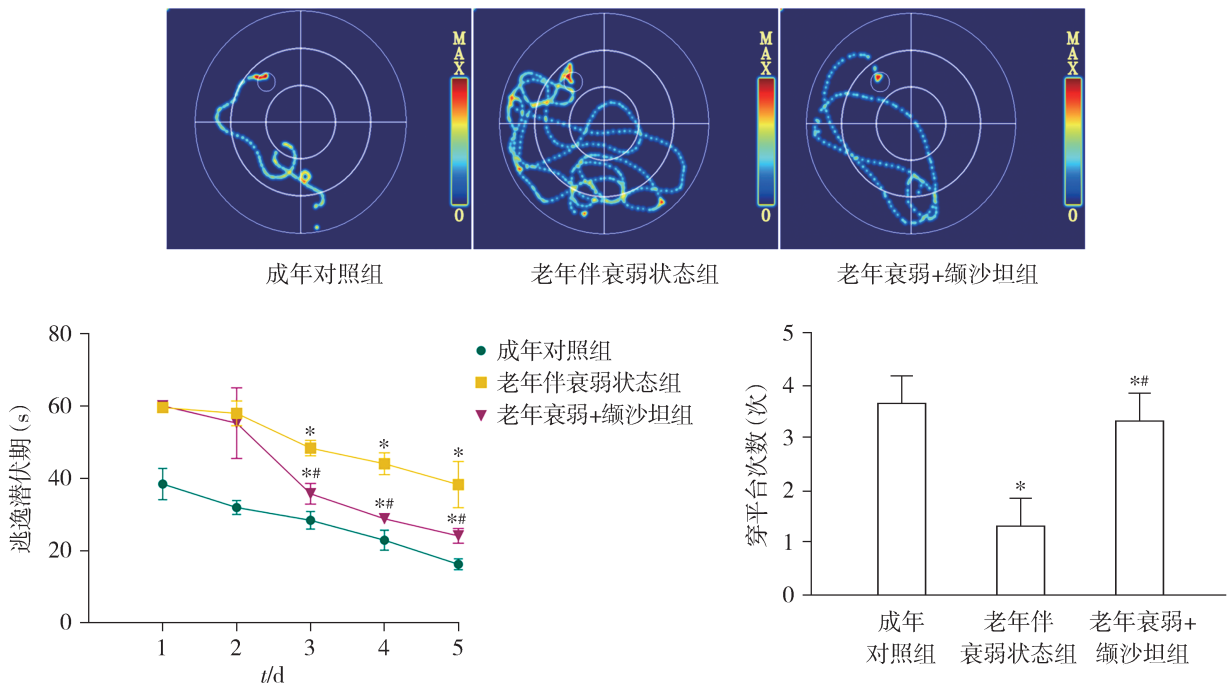
### 2.2 缬沙坦对小鼠学习、记忆能力的影响

Morris 水迷宫定位巡航阶段,随着时间延长,各组小鼠逃逸潜伏期(找到平台所需时间)逐渐缩短

(见图2)。与成年对照组相比,老年伴衰弱状态组小鼠逃逸潜伏期延长( $P<0.05$ ),表明老年伴衰弱状态组小鼠学习记忆能力下降。在定位巡航实验中第1~2天,老年伴衰弱状态组和老年衰弱+缬沙坦组小鼠逃逸潜伏期无明显变化( $P>0.05$ );在第3~5天,与老年伴衰弱状态组相比,老年衰弱+缬沙坦组小

鼠逃逸潜伏期明显缩短( $P<0.05$ ),提示小鼠学习记忆能力得到改善。

Morris水迷宫空间探索阶段,老年伴衰弱状态组小鼠穿越平台次数较成年对照组减少( $P<0.05$ ),而老年衰弱+缬沙坦组小鼠穿越平台次数较老年伴衰弱状态组显著增加( $P<0.05$ ,见图2)。



注:与成年对照组比较,\* $P<0.05$ ;与老年伴衰弱状态组比较,# $P<0.05$ 。

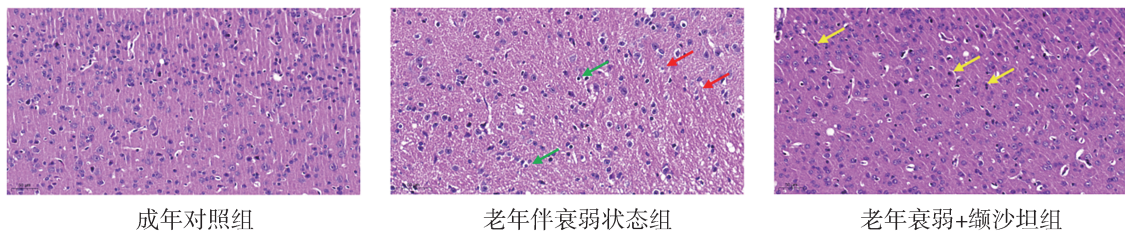
图2 缬沙坦对小鼠学习、记忆能力的影响

Figure 2 Effects of Valsartan on learning and memory in mice

### 2.3 缬沙坦对小鼠大脑组织病理损伤的影响

HE染色结果显示:成年对照组小鼠大脑组织结构完整,细胞排列较为规则,神经元形态正常;与成年对照组相比,老年伴衰弱状态组小鼠大脑组织结构紊乱,神经元数量减少,可见神经元缩小、胞质

嗜酸性增强及核固缩等变性改变,局部可见神经元减少、缺失、坏死样改变及组织疏松(空泡样)改变。与老年伴衰弱状态组相比,老年衰弱+缬沙坦组神经元形态有所改善,细胞排列趋于规则,组织结构较为完整,病理损伤减轻(见图3)。



注:绿色箭头示神经元核固缩并伴缩小变性;红色箭头示局灶性细胞缺失、坏死样改变;黄色箭头示局灶细胞聚集(倾向胶质细胞增多、炎性细胞聚集)。

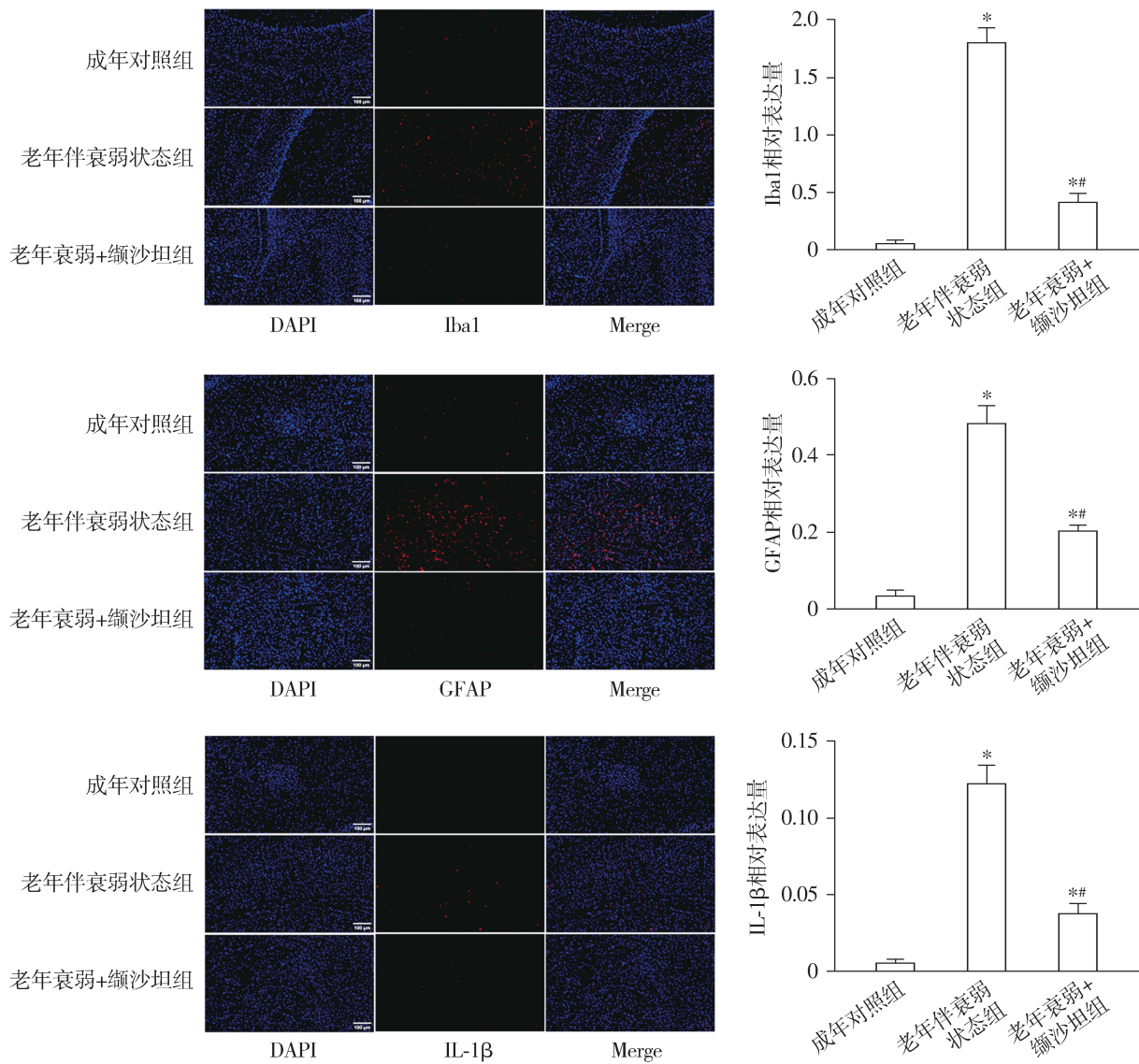
图3 缬沙坦对小鼠大脑组织病理损伤的影响

Figure 3 Effects of Valsartan on histopathological damage in mouse brain tissue

### 2.4 缬沙坦对小鼠大脑组织中 Iba1、GFAP 及 IL-1 $\beta$ 蛋白表达的影响

大脑组织切片免疫荧光染色结果显示,与成年对照组比较,老年伴衰弱状态组小鼠脑组织 Iba1、GFAP 及 IL-1 $\beta$  表达均呈明显上调趋势( $P < 0.05$ ),提

示存在胶质细胞活化与炎症反应;与老年伴衰弱状态组相比,老年衰弱+缬沙坦组小鼠大脑组织中 Iba1、GFAP 及 IL-1 $\beta$  蛋白表达均不同程度降低( $P < 0.05$ ,见图4),反映炎症状态得到缓解。



注:蓝色示 DAPI 标记细胞核,红色分别为 Iba1、GFAP 和 IL-1 $\beta$  阳性信号, Merge 为叠加图;比例尺=100  $\mu$ m。

与成年对照组比较, \* $P < 0.05$ ; 与老年伴衰弱状态组比较, # $P < 0.05$ 。

图4 缬沙坦对小鼠脑组织 Iba1、GFAP、IL-1 $\beta$  蛋白的影响

Figure 4 Effects of Valsartan on Iba1, GFAP, and IL-1 $\beta$  protein levels in mouse brain tissue

### 2.5 缬沙坦对小鼠脑组织 AMPK/SIRT1 信号通路、NLRP3、NLRP3 下游焦亡相关蛋白和 Tau 蛋白表达水平的影响

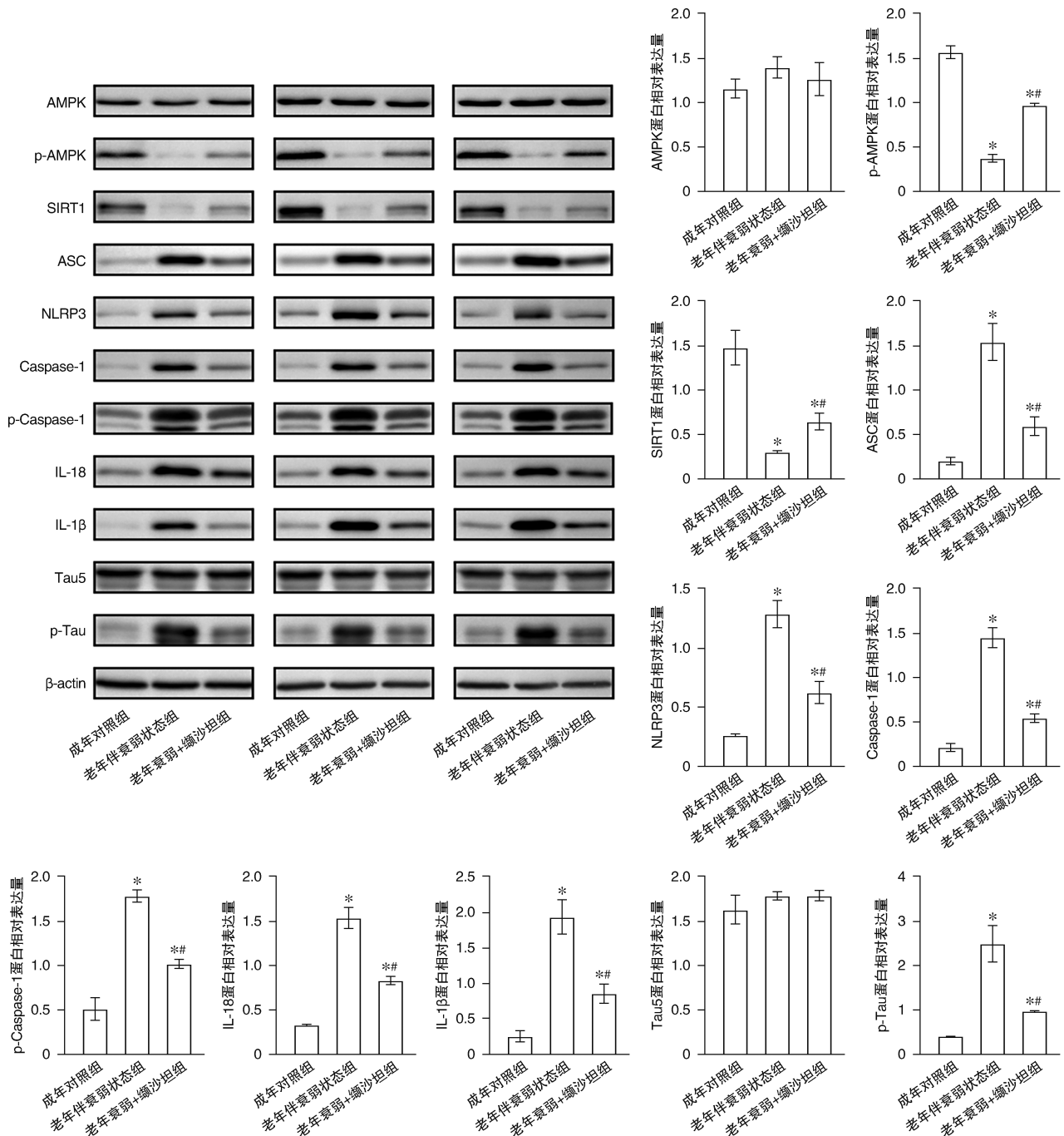
与成年对照组相比,老年伴衰弱状态组小鼠 p-AMPK、SIRT1 蛋白表达降低( $P < 0.05$ );与老年伴衰

弱状态组比较,老年衰弱+缬沙坦组 p-AMPK、SIRT1 蛋白表达显著增加( $P < 0.05$ ),这表明缬沙坦可能激活了 AMPK/SIRT1 信号通路轴;AMPK 总蛋白表达量在各组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ,见图5)。

与成年对照组相比,老年伴衰弱状态组小鼠

NLRP3炎症小体以及下游焦亡相关蛋白(ASC、Caspase-1、p-Caspase-1、IL-18、IL-1 $\beta$ )表达显著上调( $P < 0.05$ );经缬沙坦处理后,上述标志物均呈不同程度下降( $P < 0.05$ ,见图5),结果提示缬沙坦可抑制老年伴衰弱状态小鼠NLRP3炎症小体的激活及其下游焦亡相关蛋白的表达。

与成年对照组相比,老年伴衰弱状态组 p-Tau蛋白水平显著增加( $P < 0.05$ );与老年伴衰弱状态组相比,老年衰弱+缬沙坦组 p-Tau 表达降低( $P < 0.05$ )。各组间 Tau5 蛋白的表达量差异无统计学意义( $P > 0.05$ ,见图5)。



注:与成年对照组比较,\* $P < 0.05$ ;与老年伴衰弱状态组比较,# $P < 0.05$ 。

图5 缬沙坦对小鼠脑组织中 AMPK/SIRT1 信号通路、NLRP3 相关焦亡蛋白和 Tau 蛋白表达水平的影响  
Figure 5 Effects of Valsartan on the AMPK/SIRT1 signaling pathway and expression levels of NLRP3 inflammasome/ pyroptosis-related proteins and Tau protein in mouse brain tissue

### 3 讨论

随着老龄化加剧,全球老年人群中衰弱的发生率持续升高,研究表明这一现象与年龄增长密切相关<sup>[18,19]</sup>。衰弱与认知功能下降之间的关联越来越受到关注,衰弱不仅是认知能力减退的重要诱因,认知功能障碍也可能加剧个体衰弱,二者存在双向促进关系<sup>[20]</sup>。本研究采用31项衰弱指数评分量表评估老年小鼠的衰弱水平,并探讨缬沙坦在改善衰弱及认知功能减退方面的作用。

既往研究已证实血管紧张素受体阻滞剂(ARB)在认知功能调节方面的作用。缬沙坦作为一种血管紧张素Ⅱ1型受体阻断剂,其药理学研究表明,缬沙坦的预防性干预可显著缓解阿尔茨海默病模型动物认知功能的退行性改变<sup>[21]</sup>。类似地,在慢性乙醇暴露诱导的认知损伤模型中,另一种ARB氯沙坦的干预有效改善了实验对象的空间记忆能力和工作记忆能力<sup>[22]</sup>。Tian等<sup>[23]</sup>也在血管紧张素Ⅱ诱导的认知障碍模型中证实,氯沙坦经鼻长期给药可显著降低Tau蛋白过度磷酸化水平,并改善认知功能损伤。本研究结果进一步支持了ARB在认知改善中的作用,尤其是缬沙坦对衰弱老年小鼠的影响。本实验发现,老年伴衰弱状态组小鼠的31项衰弱指数评分显著高于成年对照组,且其学习记忆能力显著低于成年对照组。药物干预实验显示,缬沙坦单药治疗能够显著改善衰弱状态小鼠的学习记忆功能,这一结果进一步验证了缬沙坦在认知功能调节中的潜力。

相比程序性细胞凋亡,焦亡呈现独特的细胞死亡特征,其经典途径由炎症小体介导。NLRP3炎症小体是近年来的研究热点之一,已被证实在多种神经退行性疾病中具有重要致病作用<sup>[24]</sup>。作为一种胞质内多蛋白复合物,NLRP3炎症小体由模式识别受体NLRP3、适配蛋白ASC及效应蛋白酶Caspase-1共同构成。其中Caspase-1的活化是触发焦亡级联反应及IL-1 $\beta$ 与IL-18成熟释放的核心环节<sup>[25]</sup>。与程序性凋亡不同,焦亡以细胞膜孔道形成为主要特征,进而引发膜通透性变化和促炎因子释放,导致炎症反应扩散<sup>[26]</sup>。已有研究表明,NLRP3炎症小体介导的焦亡过程能够加速神经元退行性改变的进程<sup>[27]</sup>。例如,González-Dominguez团队在早衰动物模型中发现,靶向抑制NLRP3活化可有效延缓衰老表型<sup>[28]</sup>,而冠状动脉微栓塞模型研究则证实,激活

AMPK/SIRT1/NLRP3信号轴能够抑制心肌焦亡并改善心功能<sup>[29]</sup>。这些研究结果与本研究发现一致,提示NLRP3炎症小体在衰弱相关认知障碍中可能发挥重要作用。本研究观察到,老年伴衰弱状态组小鼠的NLRP3炎症小体及其下游效应分子(如ASC、Caspase-1、p-Caspase-1、IL-1 $\beta$ 、IL-18)表达水平显著高于成年对照组( $P<0.05$ ),这一发现进一步支持了NLRP3炎症小体在衰弱状态下的激活与认知障碍损伤之间的关系。通过缬沙坦的干预,发现小鼠脑组织中焦亡相关蛋白的表达显著下调( $P<0.05$ ),提示缬沙坦可能通过抑制NLRP3炎症小体介导的细胞焦亡,从而改善衰弱小鼠的学习记忆功能。

AMPK/SIRT1信号轴在细胞焦亡的发生和发展过程中起关键调控作用<sup>[30,31]</sup>。AMPK作为真核生物能量代谢核心调控因子,在心血管和神经退行性疾病中具有重要保护作用。而SIRT1作为依赖NAD<sup>+</sup>的脱乙酰化酶,其活性受AMPK正向调控。二者通过协同作用提升NAD<sup>+</sup>的生物利用度,并维持[NAD<sup>+</sup>]/[NADH]的动态平衡,从而参与细胞能量稳态和应激反应的调控<sup>[32]</sup>。既往研究表明,NAD<sup>+</sup>的消耗与多种衰老相关疾病的发生密切相关<sup>[33]</sup>。本研究结果显示,老年伴衰弱状态组小鼠脑组织中磷酸化AMPK(p-AMPK)及SIRT1的表达水平均显著低于成年对照组,提示AMPK/SIRT1信号通路在衰弱相关神经功能损伤中可能受到抑制。经缬沙坦干预后,p-AMPK和SIRT1表达显著上调,提示缬沙坦可能通过激活AMPK/SIRT1信号通路发挥神经保护作用。Li等<sup>[34,35]</sup>团队的研究证实,SIRT1过表达可有效抑制NLRP3炎症小体组装及Caspase-1的活化,从而逆转焦亡进程,该结果与本研究中观察到的变化趋势一致。本研究进一步发现,老年伴衰弱状态组小鼠NLRP3蛋白表达显著上调( $P<0.05$ )而缬沙坦干预后其表达水平显著下调( $P<0.05$ ),提示缬沙坦可通过激活AMPK/SIRT1信号通路,抑制NLRP3介导的焦亡级联反应,从而改善学习记忆功能减退。

Tau蛋白是重要的微管相关蛋白,其异常的磷酸化状态被认为是认知功能减退发生和发展的关键分子基础之一<sup>[36]</sup>。临床横断面研究进一步揭示,p-Tau水平与衰弱综合征间之间存在显著相关<sup>[37]</sup>,提示Tau病理改变可能参与衰弱相关的神经功能损伤过程。因此,脑组织Tau蛋白的磷酸化水平可作为评估神经功能状态的重要分子指标。本研究结

果显示,老年伴衰弱状态组小鼠脑组织中第181位点磷酸化Tau蛋白表达水平显著高于成年对照组( $P < 0.05$ ),提示衰弱状态伴随Tau异常磷酸化的发生。经缬沙坦干预后,p-Tau表达水平显著降低( $P < 0.05$ ),表明缬沙坦可能通过调控Tau蛋白异常磷酸化状态,减轻衰弱相关的神经功能损伤。这一结果进一步补充了ARB类药物在神经退行性改变中的潜在保护作用,也为缬沙坦改善衰弱相关认知功能障碍提供了新的分子学依据。

综上所述,本研究系统性地揭示了缬沙坦单药干预对于老年雄性C57BL/6小鼠衰弱状态及学习记忆功能减退的改善作用。研究结果表明,缬沙坦可显著下调NLRP3炎症小体活性,减轻神经炎症反应并抑制细胞焦亡,从而发挥神经保护效应。此外,缬沙坦干预后,小胶质细胞标志物Iba1、星形胶质细胞标志物GFAP、促炎因子IL-1 $\beta$ 、磷酸化Tau蛋白、NLRP3及其下游效应分子表达水平均显著降低,进一步支持其在逆转老年衰弱相关学习记忆功能下降中的潜在优势。上述发现不仅拓展了ARB类药物在神经功能调控方面的研究视角,也为其在衰弱综合征中的潜在临床应用提供了新的实验依据。然而,本研究存在一定局限性。首先,本研究主要基于老年雄性小鼠模型,尚未探讨性别差异对研究结果的影响;其次,尽管本研究提示缬沙坦可能通过调控NLRP3介导的细胞焦亡发挥作用,但尚未采用特异性抑制剂或基因干预手段对相关信号通路进行因果性验证;此外,本研究给药剂量主要参考既往老年小鼠相关研究,尚未设置不同剂量梯度以系统性评估其剂量-效应关系。因此,未来研究可进一步通过遗传学或药理学手段明确AMPK/SIRT1-NLRP3-焦亡信号轴在老年衰弱及认知功能减退中的具体作用机制,同时结合不同性别及多剂量干预策略,系统性评估缬沙坦的长期疗效和安全性,并为其在衰弱相关认知障碍中的临床应用提供更加充分的理论依据。

#### 参考文献:

- [1] World Health Organization. Ageing and health [R/OL]. Geneva: World Health Organization. (2025-10-01) [2025-11-01]. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>.
- [2] Vermeiren S, Vella-Azzopardi R, Beckwee D, et al. Frailty and the prediction of negative health outcomes: a meta-analysis [J]. *J Am Med Dir Assoc*, 2016, 17(12): 1163.e1-1163.e17.
- [3] Ferrucci L, Guralnik JM, Studenski S, et al. Designing randomized, controlled trials aimed at preventing or delaying functional decline and disability in frail, older persons: a consensus report [J]. *J Am Geriatr Soc*, 2004, 52(4): 625-634.
- [4] Fried LP, Ferrucci L, Darer J, et al. Untangling the concepts of disability, frailty, and comorbidity: implications for improved targeting and care [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2004, 59(3): M255-M263.
- [5] Mitnitski AB, Song X, Rockwood K. The estimation of relative fitness and frailty in community-dwelling older adults using self-report data [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2004, 59(6): M627-M632.
- [6] Mousa A, Savva GM, Mitnitski A, et al. Is frailty a stable predictor of mortality across time? Evidence from the cognitive function and ageing studies [J]. *Age Ageing*, 2018, 47(5): 721-727.
- [7] Rodriguez-Pallares J, Rey P, Parga JA, et al. Brain angiotensin enhances dopaminergic cell death via microglial activation and NADPH-derived ROS [J]. *Neurobiol Dis*, 2008, 31(1): 58-73.
- [8] Abadir PM. The frail renin-angiotensin system [J]. *Clin Geriatr Med*, 2011, 27(1): 53-65.
- [9] De Silva TM, Faraci FM. Effects of angiotensin II on the cerebral circulation: role of oxidative stress [J]. *Front Physiol*, 2013, 3: 484.
- [10] Labandeira-Garcia JL, Rodríguez-Perez AI, Garrido-Gil P, et al. Brain renin-angiotensin system and microglial polarization: implications for aging and neurodegeneration [J]. *Front Aging Neurosci*, 2017, 9: 129.
- [11] Forrester SJ, Booz GW, Sigmund CD, et al. Angiotensin II signal transduction: an update on mechanisms of physiology and pathophysiology [J]. *Physiol Rev*, 2018, 98(3): 1627-1738.
- [12] Kosugi R, Shioi T, Watanabe-Maeda K, et al. Angiotensin II receptor antagonist attenuates expression of aging markers in diabetic mouse heart [J]. *Circ J*, 2006, 70(4): 482-488.
- [13] Zhang L, Tang Y, Huang P, et al. Role of NLRP3 inflammasome in central nervous system diseases [J]. *Cell Biosci*, 2024, 14(1): 75.
- [14] Ammar RA, Mohamed AF, Kamal MM, et al. Neuroprotective effect of liraglutide in an experimental mouse model of multiple sclerosis: role of AMPK/SIRT1 signaling and NLRP3 inflammasome [J]. *Inflammopharmacology*, 2022, 30(3): 919-934.
- [15] Sadek MA, Rabie MA, El Sayed NS, et al. Neuroprotective effect of curcumin against experimental autoimmune encephalomyelitis-induced cognitive and physical impairments in mice: an insight into the role of the AMPK/SIRT1 pathway [J]. *Inflammopharmacology*, 2024, 32(2): 1499-1518.
- [16] Whitehead JC, Hildebrand BA, Sun M, et al. A clinical frailty index in aging mice: comparisons with frailty index data in humans [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2014, 69(6): 621-632.
- [17] Ratto D, Corana F, Mannucci B, et al. *Hericium erinaceus* improves recognition memory and induces hippocampal and cerebellar neurogenesis in frail mice during aging [J]. *Nutrients*,

- 2019, 11(4): 715.
- [18] Siriwardhana DD, Hardoon S, Rait G, *et al.* Prevalence of frailty and prefrailty among community-dwelling older adults in low-income and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis[J]. *BMJ Open*, 2018, 8(3): e018195.
- [19] Collard RM, Boter H, Schoevers RA, *et al.* Prevalence of frailty in community-dwelling older persons: a systematic review[J]. *J Am Geriatr Soc*, 2012, 60(8): 1487-1492.
- [20] Robertson DA, Savva GM, Kenny RA. Frailty and cognitive impairment—a review of the evidence and causal mechanisms[J]. *Ageing Res Rev*, 2013, 12(4): 840-851.
- [21] Wang J, Ho L, Chen L, *et al.* Valsartan lowers brain  $\beta$ -amyloid protein levels and improves spatial learning in a mouse model of Alzheimer disease[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(11): 3393-3402.
- [22] Tracy Jr HA, Wayner MJ, Armstrong DL. Losartan improves the performance of ethanol-intoxicated rats in an eight-arm radial maze[J]. *Alcohol*, 1997, 14(5): 511-517.
- [23] Tian M, Zhu D, Xie W, *et al.* Central angiotensin II-induced Alzheimer-like tau phosphorylation in normal rat brains[J]. *FEBS Lett*, 2012, 586(20): 3737-3745.
- [24] Mamik MK, Power C. Inflammasomes in neurological diseases: emerging pathogenic and therapeutic concepts[J]. *Brain*, 2017, 140(9): 2273-2285.
- [25] He WT, Wan H, Hu L, *et al.* Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1 $\beta$  secretion[J]. *Cell Res*, 2015, 25(12): 1285-1298.
- [26] Chen X, He WT, Hu L, *et al.* Pyroptosis is driven by non-selective gasdermin-D pore and its morphology is different from MLKL channel-mediated necroptosis[J]. *Cell Res*, 2016, 26(9): 1007-1020.
- [27] Yap JKY, Pickard BS, Chan EWL, *et al.* The role of neuronal NLRP1 inflammasome in Alzheimer's disease: bringing neurons into the neuroinflammation game[J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(11): 7741-7753.
- [28] González-Dominguez A, Montanez R, Castejón-Vega B, *et al.* Inhibition of the NLRP3 inflammasome improves lifespan in animal murine model of Hutchinson-Gilford progeria[J]. *EMBO Mol Med*, 2021, 13(10): e14012.
- [29] Li H, Yang H, Qin Z, *et al.* Colchicine ameliorates myocardial injury induced by coronary microembolization through suppressing pyroptosis via the AMPK/SIRT1/NLRP3 signaling pathway[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2024, 24(1): 23.
- [30] Hu Y, Zhao M, Zhao T, *et al.* The protective effect of pilose antler peptide on CUMS-induced depression through AMPK/Sirt1/NF- $\kappa$ B/NLRP3-mediated pyroptosis[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 815413.
- [31] Zheng Z, Bian Y, Zhang Y, *et al.* Metformin activates AMPK/SIRT1/NF- $\kappa$ B pathway and induces mitochondrial dysfunction to drive caspase3/GSDME-mediated cancer cell pyroptosis[J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(10): 1089-1104.
- [32] Fulco M, Cen Y, Zhao P, *et al.* Glucose restriction inhibits skeletal myoblast differentiation by activating SIRT1 through AMPK-mediated regulation of Nampt[J]. *Dev Cell*, 2008, 14(5): 661-673.
- [33] McReynolds MR, Chellappa K, Baur JA. Age-related NAD<sup>+</sup> decline[J]. *Exp Gerontol*, 2020, 134: 110888.
- [34] Li H, Zhou L, Zhi Z, *et al.* Lipopolysaccharide upregulates miR-132/212 in Hirschsprung-associated enterocolitis, facilitating pyroptosis by activating NLRP3 inflammasome via targeting Sirtuin 1 (SIRT1)[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(18): 18588-18602.
- [35] Chou X, Ding F, Zhang X, *et al.* Sirtuin-1 ameliorates cadmium-induced endoplasmic reticulum stress and pyroptosis through XBP-1s deacetylation in human renal tubular epithelial cells[J]. *Arch Toxicol*, 2019, 93(4): 965-986.
- [36] Chang CW, Shao E, Mucke L. Tau: enabler of diverse brain disorders and target of rapidly evolving therapeutic strategies[J]. *Science*, 2021, 371(6532): eabb8255.
- [37] Zhou L, Shi H, Cheng R, *et al.* Potential association between frailty and pTau in community-dwelling older adults[J]. *BMC Geriatr*, 2022, 22(1): 770.

(责任编辑:马艳霞)