

· 论著精粹 ·

MCC950调控线粒体丙酮酸载体对阿尔茨海默病模型Tau蛋白影响

齐越¹, 安阳², 董笑博², 夏春鹏², 王籍贤², 范广坤², 李纪彤³, 李昭⁴

(1. 徐州医药高等职业学校, 江苏 徐州 221116; 2. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110847;
3. 宁波大学附属第一医院, 浙江 宁波 315010; 4. 沈阳医学院, 辽宁 沈阳 110002)

摘要: **目的** 探讨MCC950通过抑制线粒体丙酮酸载体降低阿尔茨海默病模型Tau蛋白的作用机制。**方法** 采用冈田酸(20 nmol/L)诱导SH-SY5Y细胞, 添加UK5099(1 μmol/L), CCK8法检测细胞生存率; 免疫荧光法测定AT-8表达; 荧光探针法测定活性氧; Rho 123测定线粒体膜电位; Western blot测定丙酮酸载体及Tau-5表达水平; ELISA法测定NOD样受体蛋白3、白细胞介素-1β、白细胞介素-18含量。**结果** MCC950在10 μmol/L浓度下对SH-SY5Y细胞具有保护作用($P<0.01$); 可增加线粒体膜电位, 减少活性氧的产生, 抑制AT-8、Tau-5、白细胞介素-1β、白细胞介素-18及丙酮酸酶载体的表达($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 但对NOD样受体蛋白3无明显抑制作用。**结论** MCC950对冈田酸诱导的SH-SY5Y细胞具有减少炎症因子、抑制Tau蛋白过度磷酸化的作用, 其作用机制与抑制丙酮酸载体、改善线粒体功能有关。

关键词: MCC950; 阿尔茨海默病; 丙酮酸载体; Tau蛋白; 线粒体膜电位; 活性氧

中图分类号: R277.7, R749.16 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-5031(2024)01-0006-07

Effect of MCC950 Regulation of Mitochondrial Pyruvate Carrier on Tau Protein in Alzheimer's Disease Model

QI Yue¹, AN Yang², DONG Xiaobo², XIA Chunpeng², WANG Jixian², FAN Guangkun², LI Jitong³, LI Zhao⁴
(1. Xuzhou Higher Vocational School of Medicine, Xuzhou 221116, Jiangsu, China; 2. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, Liaoning, China; 3. First Affiliated Hospital of Ningbo University, Ningbo 315010, Zhejiang, China; 4. Shenyang Medical College, Shenyang 110002, Liaoning, China)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of MCC950 reducing Tau protein in Alzheimer's disease model by inhibiting mitochondrial pyruvate carrier (MPC). **Methods** SH-SY5Y cells were induced by gonadic acid (20 nmol/L), supplemented with UK5099 (1 μmol/L), and the survival rate of SH-SY5Y cells was detected by CCK8 method. The expressions of AT-8 was determined by immunofluorescence method. Active oxygen species was determined by DCFH-DA method. Mitochondrial membrane potential was measured by Rho 123. The expression levels of MPC and IL-1β were determined by Western blot. The levels of NLRP3, IL-1β and IL-18 were determined by ELISA. **Results** MCC950 had a protective effect on SH-SY5Y cells at 10 μmol/L concentration ($P<0.01$). It could increase the mitochondrial membrane potential, decrease the production of reactive oxygen species, and inhibit the expression of AT-8, Tau-5, IL-18, IL-1β and MPC ($P<0.05$ or $P<0.01$), but it had no significant inhibitory effect on NLRP3. **Conclusion** MCC950 can reduce the expression of inflammasome and inhibit Tau hyperphosphorylation in okada-induced SH-SY5Y cells. The mechanism is related to inhibiting mitochondrial pyruvate carrier and improving mitochondrial function.

Keywords: MCC950; Alzheimer's disease; mitochondrial pyruvate carrier; Tau protein; mitochondrial membrane potential; oxidative stress

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是最为常见的神经退行性疾病, 主要病理特征为过度磷酸化的Tau蛋白导致细胞内神经纤维缠结形成, 从

而诱导细胞外老年斑沉积。但AD的具体发病机制尚不明确。随着致病机制的深入研究, 炎症小体被认为是AD发展中的一个核心组成部分^[1]。以NOD

基金项目: 江苏省药品监管科学研究计划重大项目(202309); 浙江省教育厅项目(ZX2021000605); 徐州市科技局项目(KC22134)

作者简介: 齐越(1977-), 女, 辽宁沈阳人, 教授, 博士, 研究方向: 神经药理学。

通讯作者: 李昭(1979-), 女, 辽宁沈阳人, 副教授, 博士, 研究方向: 神经药理学。E-mail: lizhao77720@126.com。

引用格式: 齐越, 安阳, 董笑博, 等. MCC950调控线粒体丙酮酸载体对阿尔茨海默病模型Tau蛋白影响[J]. 中西医结合慢性病杂志, 2024, 1(1): 6-12.

样受体蛋白3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) 炎症小体研究最为广泛^[2]。因此, 靶向NLRP3炎症小体的研究可为AD的治疗提供方向。MCC950(也被称为CRID3、CP-456, 773和CAS 210826-40-7) 是NLRP3炎症小体的选择性小分子抑制剂, 主要通过结合NLRP3并阻断NLRP3的ATP酶活性, 抑制炎症小体的形成和激活而发挥作用^[3]。MCC950可通过减少A β 沉积, 增强血脑屏障功能^[4-6], 改善APP/PS1小鼠的认知能力, 但MCC950是否通过抑制丙酮酸载体(mitochondrial pyruvate carrier, MPC) 逆转线粒体损伤, 减少Tau蛋白磷酸化, 发挥神经细胞保护作用尚不明确。因此, 本研究选采用冈田酸(okada acid, OA) 诱导SY5Y细胞, 添加MPC抑制剂UK5099, 探究MCC950抑制Tau蛋白过度磷酸化的作用机制。

1 仪器与材料

Infinite M Nano型酶标仪(美国TECAN公司)、300型凝胶成像系统(美国Azure公司)、DMI3000 B型光学显微镜(德国Leica公司)、CLM-170B-8-NF型二氧化碳细胞培养箱(新加坡艺思高科技有限公司)。

MCC950(批号S7809, 纯度为99.98%)由美国Selleck公司提供; 兔源 β -肌动蛋白(β -actin)多克隆抗体(批号为bs-10966R)购自北京博奥森生物技术有限公司; 鼠源磷酸化Tau(Ser202, Thr205)单克隆抗体[Phospho-Tau(Ser202, Thr205), AT8]和鼠源Tau单克隆抗体(货号分别为MN1020B和MN1010)购自美国Invitrogen公司; 兔源NLRP3单克隆抗体、MPC(批号分别为ab263899、ab74871)均购自美国abcam公司; 二喹啉甲酸(diquinoline formic acid, BCA)蛋白浓度测定试剂盒、兔抗免疫荧光染色试剂盒Alexa Fluor 555和线粒体膜电位检测试剂盒(rhodamine 123, Rho 123)(批号分别为120219200821、P0179和062022230512)均购自上海碧云天生物技术有限公司; DMEM/F12培养基(批号KGM12500-500)购自江苏凯基生物技术股份有限公司; 胎牛血清(批号13011-8611)购自浙江天杭生物有限公司; 细胞增殖检测试剂盒(cell counting kit-8, CCK-8)(批号CA1210-500T)购自北京索莱宝生物科技有限公司, 冈田酸(okadaic acid, OA)(货号: S30686)购自上海源叶生物科技有限公司, UK-5099(货号: HY-15475)购自美国MCE公司, NLRP3、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)

及白细胞介素-18(interleukin-18, IL-18)试剂盒(批号为ml063259、ml058059、ml058055)购自上海酶联生物科技有限公司。人神经母细胞瘤(human neuroblastoma cells, SH-SY5Y)(货号: SCSP-5014)来源于中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。

2 方法

2.1 细胞培养及传代

将SH-SY5Y细胞株放置在DMEM/F12的培养基中(内含10%的胎牛血清, 100 U \cdot mL⁻¹青霉素及100 U \cdot mL⁻¹链霉素), 37 $^{\circ}$ C, 体积分数为5% CO₂的培养箱中常规培养, 当细胞生长至铺满培养瓶底面积80%~90%时进行细胞传代。传代时将0.25%胰酶1 mL加入到培养瓶内进行消化, 并置于显微镜下观察, 见细胞间有明显间隙时, 迅速加入含有质量分数为10%胎牛血清的DMEM/F12培养液终止消化, 力度均匀吹打细胞悬液后置于离心管中, 800 r/min, 常温下离心5 min, 弃去离心管中的液体, 再加入新鲜含有质量分数为10%胎牛血清的DMEM/F12培养液, 再次吹打细胞, 使细胞重悬传代。传代比例为1:2, 每3 d传代1次。

2.2 CCK-8测定细胞生存率

取对数生长期的SH-SY5Y细胞, 按 1.0×10^5 个/mL浓度接种于96孔板中, 100 μ L/孔, 分为空白组(control组)、OA组、OA+UK5099组、OA+MCC950组、OA+UK5099+MCC950组, 每组3个复孔, 培养24 h。前期的研究中, 我们分别采用终浓度为1、5、10、20 μ mol/L的MCC950作用于OA诱导的SH-SY5Y细胞, 发现10 μ mol/L的MCC950作用后, 细胞生存率较好, 故本实验中采用此剂量。参照文献并加以改进, 添加的UK5099的终浓度为1 μ mol/L, 继续培养24 h, 除空白组外, 其余各组加入OA 20 nmol/L, 空白组加入等体积的培养液^[7]。24 h后, 各孔均加入CCK-8 10 μ L, 37 $^{\circ}$ C培养1 h, 酶标仪检测各孔的吸收值(optical density, OD值), 计算细胞生存率。

2.3 免疫荧光观察AT-8的表达

取对数期生长的SH-SY5Y细胞, 按 1.0×10^5 个/mL, 接种到6孔板中, 分组与处置同“2.2”, 每组设3个复孔, 培养24 h后, 0.1 mol/L PBS冲洗3次, 每次5 min, 4%多聚甲醛固定20~30 min, PBS冲洗3次, 每次5 min, 0.2% TritonX-100孵育15 min, PBS冲洗3次, 每次5 min, 37 $^{\circ}$ C, 质量分数为10%胎牛血清封闭2 h, 分别加入一抗AT8(1:100), 4 $^{\circ}$ C过

夜, PBS冲洗3次, 每次5 min, 再加入相应荧光二抗(1:3000), DAPI染细胞核, 脱水封片。荧光显微镜下观察, 拍照采集图像, 并用Image J软件进行图像分析。

2.4 荧光探针法测定细胞内活性氧水平

取对数生长期的SH-SY5Y细胞, 24孔板细胞爬片, 细胞密度 1.0×10^5 个/mL, 500 μ L/孔, 分组与处置同“2.2”, 每组设3个复孔, 培养24 h后, 去除培养液, 加入10 μ mol/L无血清培养液稀释DCFH-DA, 500 μ L/孔, 37 $^{\circ}$ C孵育20 min, 无血清培养液洗涤细胞3次后, 荧光显微镜下观察, 采用JEOA 801D形态学图像分析系统计算活性氧的平均荧光强度值。

2.5 Rho 123测定线粒体膜电位水平

取对数生长期的SH-SY5Y细胞, 按照 1.0×10^5 个/mL接种到24孔板, 500 μ L/孔, 分组与处置同“2.2”, 每组设3个复孔, 培养24 h, 吸除培养液, 每孔加入 $1 \times$ Rho 123工作液500 μ L, 37 $^{\circ}$ C孵育30 min, 去除上清液, 用预热的完全细胞培养液洗涤2次后, 再加入1 mL预热的细胞培养液, 荧光显微镜下观察, 采用JEOA 801D形态学图像分析系统计算线粒体膜电位的平均荧光强度值。

2.6 WB检测MPC及Tau-5表达水平

取对数生长期的SH-SY5Y细胞, 按照 1.0×10^5 个/mL接种到24孔板, 500 μ L/孔, 分组与处置同“2.2”, 每组设3个复孔, 培养24 h, 吸除培养液, 蛋白裂解液提取蛋白, BCA法测定蛋白浓度, 采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶进行电泳, 转膜; 封闭后加入MPC、Tau-5和 β -actin一抗(稀释比例分别为1:500、1:400和1:1000), 4 $^{\circ}$ C过夜; 室温孵育二抗(稀释比例为1:3000)2 h; 加入超敏发光液曝光, 凝胶成像系统成像, Image J软件进行灰度值分析, 以 β -actin作为内参来确定MPC及Tau-5组间蛋白表达的差异和变化。

2.7 ELISA检测NLRP3、IL-1 β 及IL-18含量

取对数期生长的SH-SY5Y细胞, 按照 1.0×10^5 个/mL接种到24孔板中, 分组与处置同“2.2”, 每组设8个复孔, 培养24 h后, 收集细胞上清液, 将细胞上清液用样品稀释液稀释5倍后用于NLRP3、IL-1 β 及IL-18含量测定。主要步骤如下: 酶标包被板上设置样品孔和空白孔, 样品孔加入50 μ L待测样品, 空白孔内加入等体积的样品稀释液, 除空白

孔外, 每孔加入酶标试剂100 μ L, 封板膜封板, 37 $^{\circ}$ C孵育60 min; 甩去孔中液体, 每孔加入1倍的洗涤液350 μ L, 静置30 s后弃去, 如此重复5次, 滤纸上拍干; 分别加入显色剂A和显色剂B各50 μ L, 37 $^{\circ}$ C避光显色15 min; 加入终止液50 μ L, 终止反应, 酶标仪于450 nm处测定吸光度值, 在绘制好的标准曲线上, 利用测得的吸光度值计算样品内NLRP3、IL-1 β 及IL-18含量。

2.8 统计学方法

使用SPSS 27.0及GraphPad Prism 9统计学软件进行数据统计分析, 实验数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 以 $P < 0.05$ 表示组间差异有统计学意义。

3 结果

3.1 MCC950对SH-SY5Y细胞生存率的影响

与control组比较, OA组SH-SY5Y细胞生存率明显降低($P < 0.01$); 与OA组比较, UK5099、MCC950及合用组可显著增加SH-SY5Y细胞生存率($P < 0.01$)。见表1。

表1 各组SH-SY5Y细胞生存率实验结果

组别	n	细胞生存率/%
control	3	101.12 \pm 4.01
OA	3	80.41 \pm 3.56 [#]
OA+UK5099	3	90.21 \pm 3.65 [*]
OA+MCC950	3	92.16 \pm 3.48 [*]
OA+UK5099+MCC950	3	96.28 \pm 1.69 [*]

注: #与control组比较, $P < 0.01$; *与OA组比较, $P < 0.01$ 。

3.2 MCC950对AT-8表达的影响

与control组比较, OA组AT-8表达水平显著增加($P < 0.01$); 与OA组比较, UK5099、MCC950及合用组SH-SY5Y细胞中AT-8表达水平降低($P < 0.01$)。见图1。

3.3 MCC950对SH-SY5Y细胞活性氧的影响

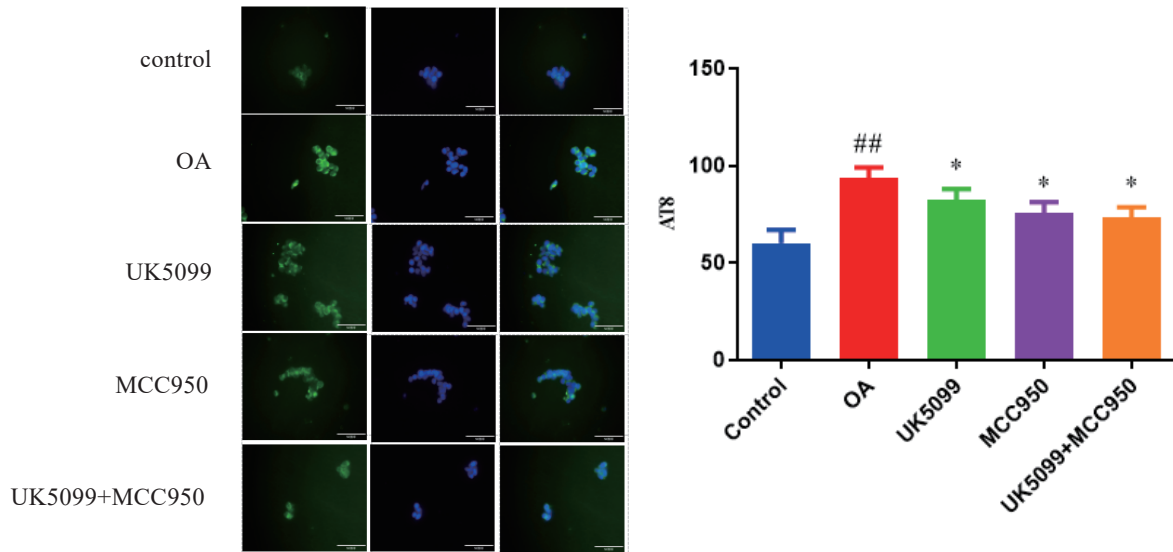
与control组比较, OA组活性氧水平表达显著增加($P < 0.01$); 与OA组比较, UK5099、MCC950及合用组中活性氧水平降低($P < 0.01$)。见图2。

3.4 MCC950对SH-SY5Y细胞线粒体膜电位的影响

与control组比较, OA组线粒体膜电位水平显著增加($P < 0.01$); 与OA组比较, UK5099、MCC950及合用组SH-SY5Y细胞中线粒体膜电位水平降低($P < 0.01$)。见图3。

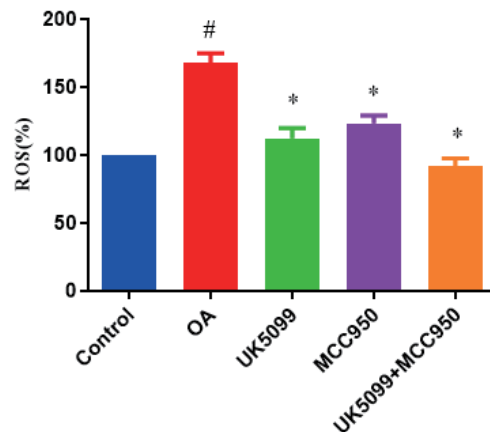
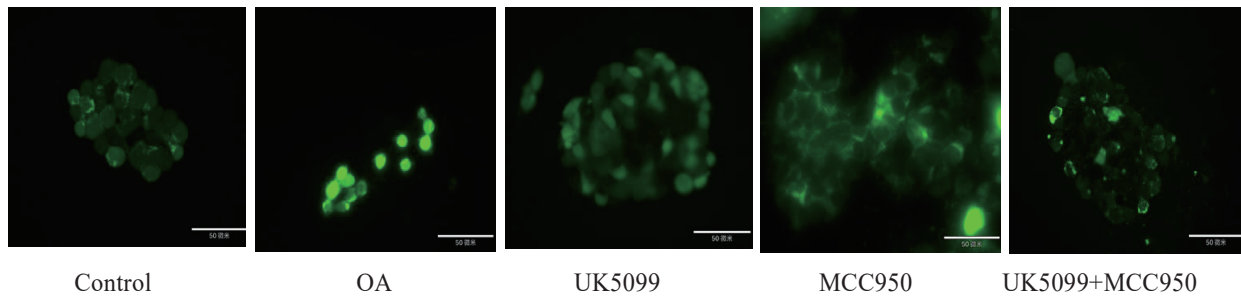
3.5 MCC950对SH-SY5Y细胞MPC及Tau-5表达的影响

与control组比较, OA组MPC及Tau-5显著增



注: ##与control组比较, $P < 0.01$; *与OA组比较, $P < 0.01$ 。

图1 免疫荧光法检测各组SH-SY5Y细胞AT-8表达



注: #与control组比较, $P < 0.01$; *与OA组比较, $P < 0.01$ 。

图2 DCFH-DA法测定各组SH-SY5Y细胞活性氧

加($P < 0.01$);与OA组比较, UK5099、MCC950及合用组可降低MPC及Tau-5表达($P < 0.01$)。见图4。

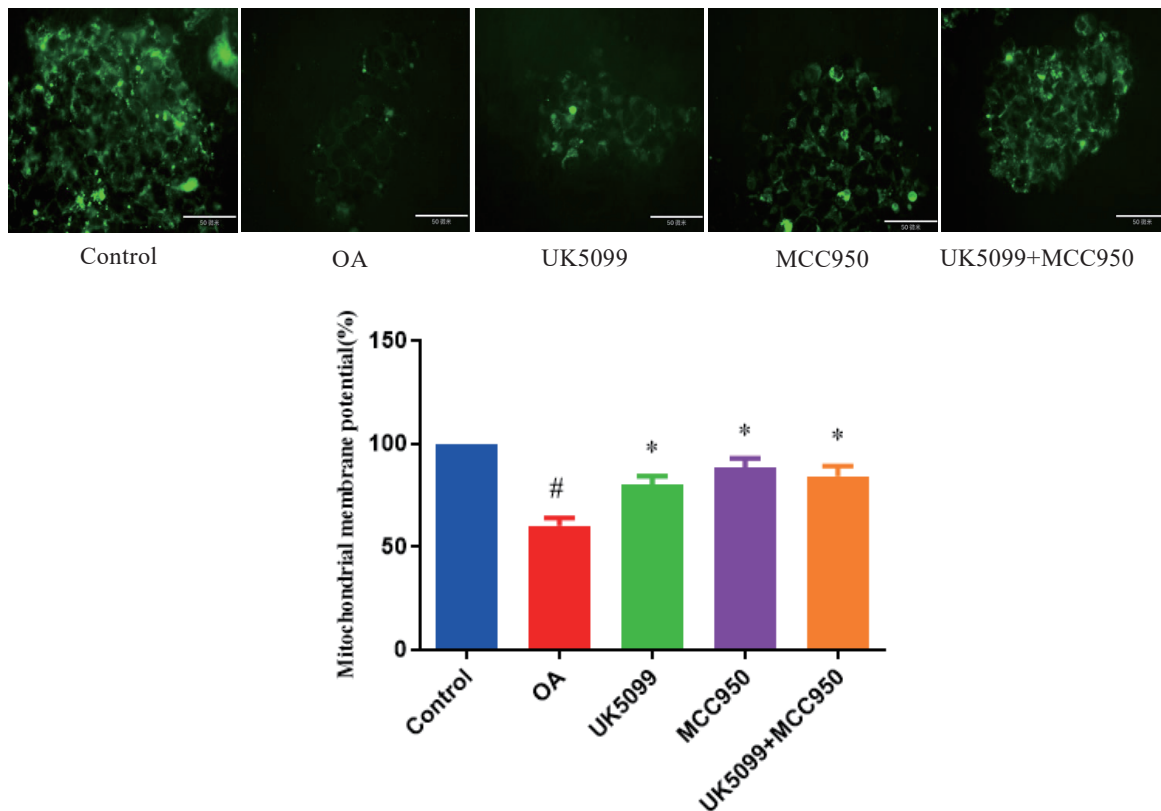
3.6 MCC950对SH-SY5Y细胞上清中NLRP3、IL-1 β 及IL-18含量的影响

与control组比较, OA组NLRP3、IL-1 β 及IL-18显著增加($P < 0.05$);与OA组比较, UK5099、MCC950及合用组可降低SH-SY5Y细胞上清中IL-1 β 及

IL-18含量($P < 0.01$), NLRP3含量测定中, UK5099可显著降低NLRP3含量($P < 0.01$), MCC950及合用组差异无统计学意义。见图5。

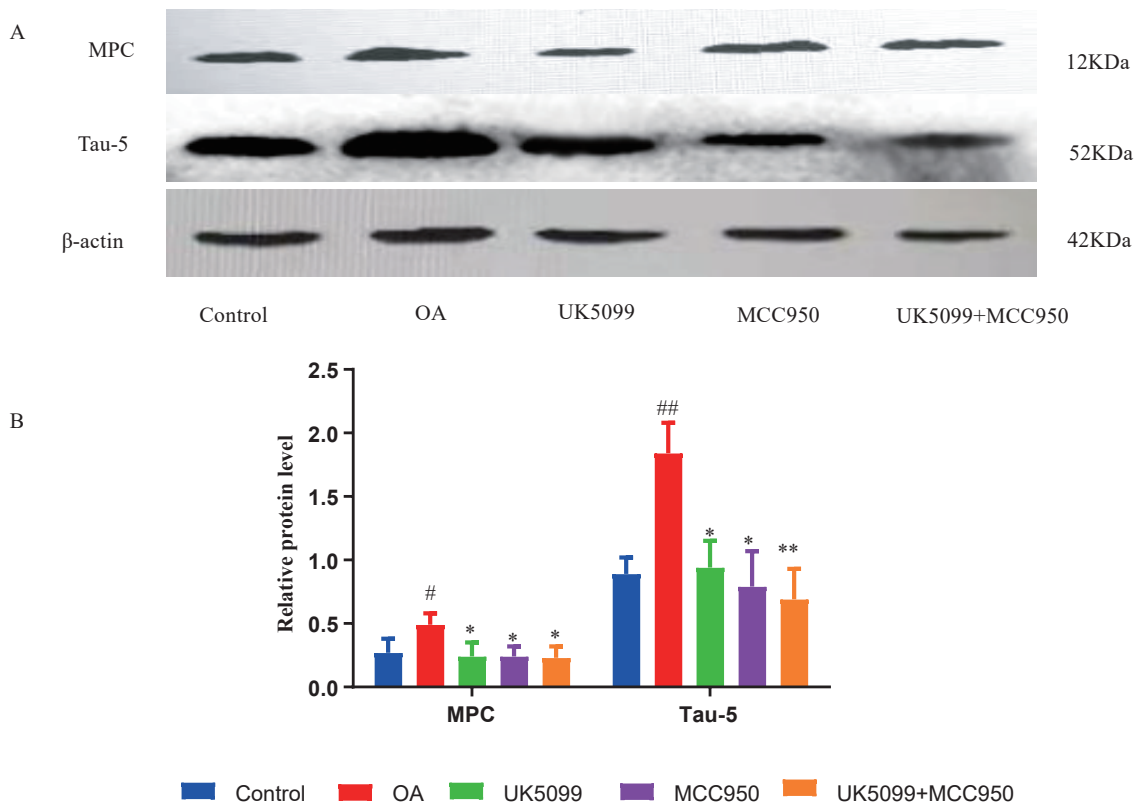
4 讨论

AD作为常见的神经退行性疾病,与NLRP3炎症小体密切相关。本研究采用OA诱导SH-SY5Y细胞,并添加MPC抑制剂UK5099,证实了NLRP3炎症小体抑制剂MCC950可通过降低MPC表达发挥抑制



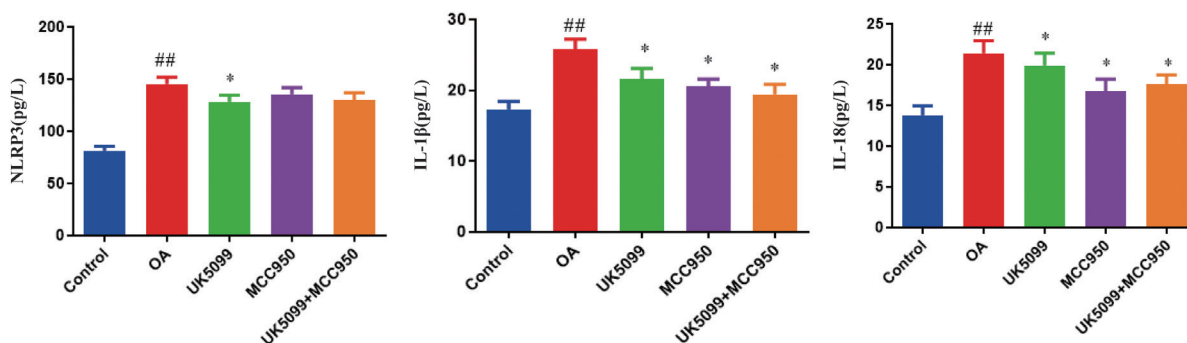
注: #与control组比较, $P < 0.01$; *与OA组比较, $P < 0.01$ 。

图3 Rho123法测定各组SH-SY5Y细胞线粒体膜电位



注: A. WB测定MPC和Tau-5蛋白表达水平; B. MPC与Tau-5相对蛋白质水平。#, ##均与control组比较, $P < 0.01$; *, **与OA组比较, $P < 0.01$ 。

图4 WB检测SH-SY5Y细胞MPC及Tau-5蛋白的表达



注: ##与control组比较, $P < 0.05$; *与OA组比较, $P < 0.01$ 。

图5 ELISA检测SH-SY5Y细胞上清中NLRP3、IL-1 β 及IL-18蛋白的含量

Tau蛋白磷酸化的作用。

近年来的研究证实神经炎症是促使AD发生的重要因素。在NLRP家族的14个成员中,以NLRP3炎症小体研究最为广泛,并在AD疾病中发挥重要作用^[8-9]。NLRP3通过含有CARD的凋亡相关斑点样蛋白剪切caspase1前体为有活性的Caspase-1 p20/p10复合物后,切割细胞因子pro-IL-1 β 和pro-IL-18为有活性的IL-1 β 和IL-18^[10],介导细胞功能的调控。以往研究表明小胶质细胞活化可释放NLRP3^[11]。本实验采用20 nmol/L OA诱导SH-SY5Y细胞,NLRP3表达明显增加,说明OA可促使SH-SY5Y细胞NLRP3的激活,与以往研究相同^[12-13]。值得注意的是虽然OA组的NLRP3表达增加,但MCC950对其并没有抑制作用。研究者们认为MCC950作为NLRP3的小分子抑制剂,可通过竞争性作用抑制NLRP3的形成,NLRP3的总蛋白水平并不需要因为MCC950的抑制而改变,但可影响与NLRP3直接相关的下游因子,如细胞因子IL-1 β 和IL-18,与文献报道一致^[14-15]。

研究发现通过将已建立的Tau22小鼠与Caspase 1缺失的小鼠杂交,抑制NLRP3表达可导致海马Tau磷酸化减少,说明NLRP3位于Tau的上游,NLRP3活化后释放的IL-1 β 诱导Tau蛋白集聚,加速神经元变性^[16],NLRP3缺乏,则可抑制Tau蛋白磷酸化,提高认知功能^[17-18]。OA作为一种蛋白磷酸酯酶抑制剂,通过抑制体内磷酸酯酶活性,诱导Tau过度磷酸化,破坏神经细胞骨架,影响轴突的运输功能,最终导致神经元细胞的退行性变化。因此本实验采用OA诱导SH-SY5Y细胞,结果表明20 nmol/L OA诱导SH-SY5Y细胞24 h后,Tau-5蛋白表达增加,MCC950具有抑制Tau-5表达的作用。Tau蛋白的过度磷酸化被认为是AD的关键病理特征。由于

AT-8对包含人Tau序列的Ser199/202或Ser205/208的两个双磷酸基序具有交叉反应,因此常用作Tau蛋白磷酸化的检测指标^[19]。在本研究中OA组可诱导AT8表达增加,MCC950则具有抑制AT8表达的作用。

活性氧的大量生成是OA诱导SH-SY5Y细胞产生Tau蛋白磷酸化的主要原因之一^[20]。细胞中活性氧的主要来源为线粒体,且活性氧的过量生成与NLRP3炎症小体的激活密切相关。本研究的结果表明OA能够诱导SH-SY5Y细胞中活性氧的产生,而MCC950则具有抑制活性氧生成的作用。MPC广泛分布在中枢神经系统的神经细胞线粒体内膜上^[21],神经系统正常生理功能的维持需要大量的ATP,一旦能量来源受到损伤,则引发疾病的发生。丙酮酸作为线粒体合成ATP的核心物质,可通过MPC由细胞质进入线粒体内,参与ATP的生成。因此MPC对于维持中枢神经的稳态发挥着关键性的作用^[22]。线粒体作为细胞内的“供能站”,其功能障碍可引起细胞内ATP供应不足和活性氧释放增加,诱导Tau蛋白集聚^[23]。AD模型大鼠海马中,MPC蛋白表达明显升高,使用MPC抑制剂拉帕替尼可改善AD大鼠的认知功能,抑制Tau蛋白过度磷酸化^[24]。NLRP3激活剂通过诱导MPC功能失调,促使线粒体功能紊乱,能量代谢受损,加速Tau蛋白磷酸化^[25]。为了考察MCC950抑制Tau蛋白磷酸化是否与MPC有关,我们在OA组添加了MPC的抑制剂UK5099,结果发现UK5099具有降低MPC、AT8及活性氧的表达,增加线粒体膜电位水平的作用,且UK5099与MCC950联合应用后,效果优于单独作用组,说明MCC950可通过抑制MPC改善线粒体功能,抑制Tau蛋白过度磷酸化。

本研究以SH-SY5Y细胞为研究对象,结果表

明MCC950可减轻神经炎症,抑制Tau蛋白过度磷酸化,其机制与抑制MPC蛋白表达、改善线粒体功能有关。但对于本研究仍有一些问题需要探索,如MCC950通过何种途径抑制MPC表达,以及明确MCC950的毒副作用等。这些问题都将促使我们对MCC950进行下一步的研究。

参考文献

- [1] JIANG D, CHEN S, SUN R, et al. The NLRP3 inflammasome : role in metabolic disorders and regulation by metabolic pathways [J]. *Cancer Lett*, 2018, 41 (9): 8-19.
- [2] SWANSON K V, DENG M, TING J P. The NLRP3 inflammasome : molecular activation and regulation to therapeutics [J]. *Nat Rev Immunol*, 2019, 19 (8): 477-489.
- [3] COLL R C, HILL J R, DAY C J, et al. MCC950 directly targets the NLRP3 atp-hydrolysis motif for inflammasome inhibition [J]. *Nat Chem Biol*, 2019, 15 (6): 556-559.
- [4] PRIMIANO M J, LEFKER B A, BOWMAN M R, et al. Efficacy and pharmacology of the NLRP3 inflammasome inhibitor cp-456, 773 (CRID3) in murine models of dermal and pulmonary inflammation [J]. *J Immunol*, 2016, 197 (6): 2421-2433.
- [5] WARD R, LI W, ABDUL Y, et al. NLRP3 inflammasome inhibition with MCC950 improves diabetes-mediated cognitive impairment and vasoneuronal remodeling after ischemia [J]. *Pharmacol Research*, 2019, 142: 237-250.
- [6] 董笑博, 安阳, 杨彩瑜, 等. MCC950抑制NLRP3炎性小体活性改善阿尔茨海默病模型小鼠血脑屏障功能研究 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2023, 25 (9): 57-62.
- [7] XU H, CHEN J, CAO Z, et al. Glycolytic potential enhanced by blockade of pyruvate influx into mitochondria sensitizes prostate cancer to detection and radiotherapy [J]. *Cancer Biol Med*, 2022, 19 (9): 1315-1333.
- [8] TUCKER A E, ALICEA P C, BARNETT A M, et al. Chronic ethanol causes persistent increases in alzheimer's Tau pathology in female 3xtg-ad mice : a potential role for lysosomal impairment [J]. *Front Behav Neurosci*, 2022, 11 (16): 886634.
- [9] JAYARAMAN A, HTIKE T T, JAMES R, et al. Tnf-mediated neuroinflammation is linked to neuronal necroptosis in Alzheimer's disease hippocampus [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2021, 9 (1): 159.
- [10] SITA G, GRAZIOSI A, HRELIA P, et al. NLRP3 and infections : beta-amyloid in infammasome beyond neurodegeneration [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 6984.
- [11] DE D C. Infammasome activation under high cholesterol load triggers a protective microglial phenotype while promoting neuronal pyroptosis [J]. *Transl Neurodegener*, 2023, 12 (1): 10.
- [12] ZHONG X. Epigallocatechin-3-gallate attenuates microglial infammation and neurotoxicity by suppressing the activation of canonical and noncanonical infammasome via TLR4/NF-kappab pathway [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2019, 63: e1801230.
- [13] KAMMOUN H L, ALLEN T L, HENSTRIDGE D C, et al. Evidence against a role for NLRP3-driven islet inflammation in db/db mice [J]. *Molecular Metabolism*, 2018, 10: 66-73.
- [14] FREEMAN L C, TING J P. The pathogenic role of the inflammasome in neurodegenerative diseases [J]. *J Neurochem*, 2016, 3 (1): 9-38.
- [15] JAYARMAN A, HTIKE T T, JAMES R, et al. Tnf-mediated neuroinflammation is linked to neuronal necroptosis in Alzheimer's disease hippocampus [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2021, 9 (1): 159.
- [16] VOSSEL K A, ZHANG K, BRODBECK J, et al. Tau reduction prevents abeta-induced defects in axonal transport [J]. *Science*, 2010, 330 (6001): 198.
- [17] ISING C, VENEGAS C, ZHANG S, et al. NLRP3 inflammasome activation drives Tau pathology [J]. *Nature*, 2019, 575 (11): 669-673.
- [18] STANCU I C, CREMERS N, VANRUSSELT H, et al. Aggregated Tau activates NLRP3-asc inflammasome exacerbating exogenously seeded and non-exogenously seeded Tau pathology in vivo [J]. *Acta Neuropathol*, 2019, 137 : 599-617.
- [19] MICHAEL S L, EFROSINI A, BRIAN D H, et al. Tau seeding without Tauopathy [J]. *Biol Chem*, 2023, 300 (1): 105545.
- [20] TUSHAT D, PREETI K, THULASIRAM H V, et al. Bacopa monnieri reduces Tau aggregation and Tau-mediated toxicity in cells [J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 234: 123171.
- [21] GUIMARES N C, ALVES D, VILELA W R, et al. Mitochondrial pyruvate carrier as a key regulator of fever and neuroinflammation [J]. *Brain Behav Immun*, 2020, 92 : 90-101.
- [22] MANSOUR H M, FAWZY H M, EL-KHATIB A S, et al. Inhibition of mitochondrial pyruvate carrier 1 by lapatinib ditosylate mitigates Alzheimer's-like disease in dgalactose/ ovariectomized rats [J]. *Neurochem Int*, 2021, 150: 105178.
- [23] FANG E F, HOU Y J, PALIKARAS K, et al. Mitophagy inhibits amyloid- β and Tau pathology and reverses cognitive deficits in models of alzheimer's disease [J]. *Nat Neurosci*, 2019, 22 (3): 401-412.
- [24] LI X, HUANG L, LAN J, et al. Molecular mechanisms of mitophagy and its roles in neurodegenerative diseases [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 163: 105240.
- [25] HAN Y, XU X, TANG C, et al. Reactive oxygen species promote tubular injury in diabetic nephropathy : the role of the mitochondrial ros-tnip-NLRP3 biological axis [J]. *Redox Biology*, 2018, 16: 32-46.

《中西医结合慢性病杂志》版权声明

为适应我国信息化建设,扩大本刊及作者知识信息交流渠道,本刊已被国内各文献索引、文摘和全文数据库收录,作者著作权使用费与本刊稿酬一次性给付。如作者不同意文章被收录,请在来稿时向本刊声明,本刊将做适当处理。