

基础研究

论 著

枸杞多糖调节 NLRP3 炎症小体对 APP/PS1 小鼠细胞焦亡的影响及其机制

贾思玮^{1,2}, 郭敏芳², 代慧敏^{1,2}, 陈佳媛^{1,2}, 王记委^{1,2}, 孟涛², 马存根^{1*}, 尉杰忠^{1,2,3*}

¹山西中医药大学神经生物学研究中心/国家中医药管理局多发性硬化益气活血重点研究室/基于炎症反应的重大疾病创新药物山西省重点实验室, 山西晋中 030619; ²山西大同大学脑科学研究所/分子细胞免疫学大同市重点实验室, 山西大同 037009; ³山西大同大学附属第一医院/大同市第五人民医院神经医学中心, 山西大同 037056

[中图分类号] R285.5; R392.5; R741.02

[文献标志码] A

[DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.2073.2026.0121

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 贾思玮, 郭敏芳, 代慧敏, 等. 枸杞多糖调节 NLRP3 炎症小体对 APP/PS1 小鼠细胞焦亡的影响及其机制[J]. 解放军医学杂志, 2026, 51(4): 576-585.

[收稿日期] 2025-10-01

[录用日期] 2025-12-01

[上线日期] 2026-01-21

[摘要] 目的 探讨枸杞多糖(LBP)对阿尔茨海默病(AD)模型小鼠的治疗作用和神经细胞焦亡的影响及相关机制。方法 将16只6月龄淀粉样前体蛋白/早老蛋白-1(APP/PS1)双转基因小鼠随机分为AD组与AD+LBP组, 每组8只; 16只同龄野生型(WT)C57BL/6小鼠随机分为WT组与WT+LBP组, 每组8只。采用Morris水迷宫和Y迷宫实验检测各组小鼠认知功能; Western blotting检测小鼠脑组织Toll样受体4(TLR4)、髓样分化因子88(MyD88)、核因子 κ B(NF- κ B)亚基p65、核苷酸结合域样受体蛋白3(NLRP3)、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、胱天蛋白酶-1(caspase-1)、Gasdermin D蛋白(GSDMD)、GSDMD-N端、白细胞介素(IL)-18和IL-1 β 蛋白表达水平; 免疫荧光染色检测小鼠脑组织内 β -淀粉样蛋白1-42(A β_{1-42})、NLRP3、caspase-1、GSDMD、IL-1 β 与小胶质细胞共定位的表达情况。结果 与WT组和WT+LBP组比较, AD组小鼠认知功能下降($P<0.01$ 或 $P<0.001$), 脑组织内A β_{1-42} 、TLR4、MyD88、NF- κ B p65、NLRP3、ASC、caspase-1、GSDMD、GSDMD-N、IL-18和IL-1 β 蛋白表达均增加($P<0.05$ 、 $P<0.01$ 或 $P<0.001$); 与AD组比较, AD+LBP组小鼠认知功能明显改善($P<0.01$ 或 $P<0.001$), A β_{1-42} 、TLR4、MyD88、NF- κ B亚基p65、NLRP3、ASC、caspase-1、GSDMD、GSDMD-N、IL-18和IL-1 β 蛋白表达均减少($P<0.05$ 、 $P<0.01$ 或 $P<0.001$)。结论 LBP可能通过抑制TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路和NLRP3炎症小体活性, 减轻大脑中A β_{1-42} 沉积和细胞焦亡, 改善小鼠认知功能。

[关键词] 枸杞多糖; 阿尔茨海默病; NLRP3炎症小体; 细胞焦亡**Protective mechanism of lycium barbarum polysaccharide against pyroptosis in APP/PS1 mice via modulating the NLRP3 inflammasome**Jia Si-Wei^{1,2}, Guo Min-Fang², Dai Hui-Min^{1,2}, Chen Jia-Yuan^{1,2}, Wang Ji-Wei^{1,2}, Meng Tao², Ma Cun-Gen^{1*}, Yu Jie-Zhong^{1,2,3*}

¹Neurobiology Research Center, Shanxi University of Chinese Medicine/Key Research Laboratory of Qi-Boosting and Blood-Activating for Multiple Sclerosis, National Administration of Traditional Chinese Medicine/Shanxi Key Laboratory of Innovative Drugs for Major Diseases Based on Inflammatory Response, Jinzhong, Shanxi 030619, China

²Brain Science Institute, Shanxi Datong University/Datong Key Laboratory of Molecular and Cellular Immunology, Datong, Shanxi 037009, China

³Neuromedical Center, the First Affiliated Hospital of Shanxi Datong University/the Fifth People's Hospital of Datong, Datong, Shanxi 037056, China

[基金项目] 山西省基础研究计划项目(202303021211244); 山西省“四个一批”科技兴医创新计划项目(2022XM33); 山西省中医药科研课题计划项目(2023ZYB2042); 国家中医药管理局科研课题(2023ZYDA2038)

[作者简介] 贾思玮, 医学硕士, 主要从事神经变性疾病方面的基础研究

[通信作者] 尉杰忠, E-mail: sxdtyjz@qq.com; 马存根, E-mail: macungen@sxtcm.edu.cn

*Corresponding author. Yu Jie-Zhong, E-mail: sxdtjyz@qq.com; Ma Cun-Gen, E-mail: macungen@sxtcm.edu.cn

This work was supported by the Shanxi Province Basic Research Program (202303021211244), the Shanxi Province "Four Batch" Science and Technology Innovation Program (2022XM33), the Shanxi Province Chinese Medicine Scientific Research Topic Program (2023ZYYB2042), and the State Administration of Traditional Chinese Medicine Scientific Research Topic (2023ZYYDA2038)

[Abstract] **Objective** To investigate the therapeutic effect of lycium barbarum polysaccharide (LBP) on Alzheimer's disease (AD) model mice, as well as its effect on neuronal pyroptosis and the underlying mechanisms. **Methods** Sixteen 6-month-old amyloid precursor protein/presenilin-1 (APP/PS1) double-transgenic mice were randomly divided into AD group and AD+LBP group, with 8 mice in each group. Sixteen age-matched wild-type (WT) C57BL/6 mice were randomly divided into WT group and WT+LBP group, with 8 mice in each group. Morris water maze and Y-maze tests were performed to evaluate the cognitive function of mice in each group. Western blotting was used to detect the protein expression levels of Toll-like receptor 4 (TLR4), myeloid differentiation factor 88 (MyD88), nuclear factor κ B (NF- κ B) subunit p65, nucleotide-binding domain-like receptor protein 3 (NLRP3), apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC), caspase-1, Gasdermin D (GSDMD), GSDMD-N terminal, interleukin (IL)-18 and IL-1 β in mouse brain tissues. Immunofluorescence staining was conducted to detect the co-localization of β -amyloid 1-42 ($A\beta_{1-42}$), NLRP3, caspase-1, GSDMD and IL-1 β with microglia in the mouse brain. **Results** Compared with WT and WT+LBP groups, AD group exhibited significant cognitive decline ($P<0.01$ or $P<0.001$) and increased protein expression of $A\beta_{1-42}$, TLR4, MyD88, NF- κ B p65, NLRP3, ASC, caspase-1, GSDMD, GSDMD-N, IL-18 and IL-1 β in brain tissues ($P<0.05$ or $P<0.01$ or $P<0.001$). Compared with AD group, AD+LBP group showed markedly improved cognitive function ($P<0.01$ or $P<0.001$) and decreased protein expression of $A\beta_{1-42}$, TLR4, MyD88, NF- κ B p65, NLRP3, ASC, caspase-1, GSDMD, GSDMD-N, IL-18 and IL-1 β ($P<0.05$, $P<0.01$ or $P<0.001$). **Conclusion** LBP may reduce $A\beta_{1-42}$ deposition and pyroptosis in the brain, and improve cognitive function in mice by inhibiting the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway and the activity of the NLRP3 inflammasome.

[Key words] lycium barbarum polysaccharide; Alzheimer's disease; NLRP3 inflammasome; pyroptosis

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是常见的老年痴呆性疾病,炎症是其重要的发病因素,全程参与AD的发生发展^[1-2]。淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)、淀粉样蛋白聚集体和原纤维作为神经胶质的激活剂,可刺激小胶质细胞产生促炎因子,引起神经炎症,破坏神经元的环境致其功能障碍,促进细胞凋亡,在AD神经炎症中发挥关键作用^[3-5]。近年来,炎症小体介导神经炎症在AD相关研究中备受关注,特别是核苷酸结合域(NOD)样受体蛋白3(NOD-like receptor-pyrin domain containing protein 3, NLRP3)炎症小体^[6]。NLRP3炎症小体可发生于小胶质细胞中,当它被激活时,可促进白细胞介素(interleukin, IL)-18、IL-1 β 的产生使神经元受损,并导致 β -淀粉样蛋白(amyloid β -protein, $A\beta$)沉积增多,加速AD发展^[7-8]。

焦亡作为近年来发现的程序性细胞死亡方式,由 Gasdermin D 蛋白(GSDMD)介导^[9-10]。GSDMD 依赖性焦亡可由 NLRP3 炎症小体激活启动;GSDMD 作为胱天蛋白酶(caspase)的直接底物,可通过 caspase-1 裂解,形成有孔的 GSDMD-N 端,使 IL-1 β 和 IL-18 从孔膜排出,引起更强的炎症反应,导致炎症性疾病^[11-12]。研究发现,焦亡与 AD 的病理机制有关,且这种关联涉及细胞焦亡激活过程中 NLRP3 炎症小体及促炎因子^[13];而在炎症相关通路中核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)信号转导在小胶质细胞中可通过调节 NLRP3 炎症小体发挥作用^[14];抑

制 NLRP3 信号通路可减轻 AD 中 $A\beta$ 诱导的神经炎症^[15]。因此,抑制炎症细胞因子的表达或结合其受体可能是治疗 AD 的潜在途径^[16]。有多种中药及其提取物可抑制相关炎症因子和蛋白质的表达,减轻炎症反应,缓解 AD 的发展^[17]。枸杞多糖(lycium barbarum polysaccharide, LBP)提取自枸杞,可发挥缓解炎症和神经保护作用^[18-19];在炎症方面,可通过调控 NF- κ B、髓样分化因子 88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)、高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box 1 protein, HMGB1)等信号通路发挥抑制作用^[20]。研究显示, LBP 可抑制 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)/NF- κ B 信号通路,改善小胶质细胞极化^[21];但其能否调节 NLRP3 炎症小体及其介导的焦亡尚不清楚。本研究观察 LBP 对 APP/早老蛋白-1(presenilin-1, PS1)双转基因小鼠的疗效和对小胶质细胞 NLRP3 炎症小体介导的细胞焦亡及小鼠脑中 $A\beta$ 沉积的影响,探讨 LBP 缓解 AD 的可能机制,旨在为临床治疗 AD 提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与试剂 SPF 级 6 月龄雄性 APP/PS1 转基因小鼠和 C57BL/6J 野生型(WT)小鼠各 16 只,购自北京华阜康生物科技有限公司[实验动物生产许可证号:SCXK(京)2019-0008]。LBP 购自合肥博美生物科技有限公司;兔抗 TLR4(A11226)、IL-1 β (A20527)抗体,以及辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔/

鼠 IgG(AS014/AS003)购自武汉爱博泰克生物科技有限公司;鼠抗离子钙结合衔接分子1(ionized calcium binding adaptor molecule-1, Iba-1; ab283319)、NF- κ B 亚基 p65(ab16502)抗体, Alex Flour[®] 488/594 标记的山羊抗小鼠 IgG(ab1500113/ab150116)、Alex Flour[®] 488/594 标记的山羊抗兔 IgG(ab150077/ab150080)购自英国 Abcam 公司;兔抗 NLRP3(D4D8T)、凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC; D2W8U)、caspase-1(E2G2I)、GSDMD(E9S1X)、GSDMD-N 端 (E3E3P)、IL-18 (57058S)、MyD88(D80F5)、 $\text{A}\beta_{1-42}$ (D9A3A)、GAPDH (D16H11)和鼠抗神经原核(neuronal nuclei, NeuN; E4M5P)抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司;Difco 脱脂奶粉(232100)购自美国 BD 公司;TUNEL 试剂盒(K113421348B31)购自美国 OPEX BIO 公司。本研究获山西大同大学动物实验伦理委员会审批(2021017)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 将 16 只 APP/PS1 小鼠按简单随机法分为 AD 组与 AD+LBP 组,每组 8 只;同龄 16 只 WT C57BL/6 小鼠随机分为 WT 组与 WT+LBP 组,每组 8 只。100 mg LBP 粉末溶于 10 ml 生理盐水,充分混合。WT+LBP 组和 AD+LBP 组注射 50 mg/(kg·d) LBP^[22],AD 组和 WT 组注射等量生理盐水,给药时间为 2 个月。

1.2.2 Morris 水迷宫和 Y 迷宫实验检测小鼠行为学表现 (1)Morris 水迷宫实验。药物注射 2 个月后进行水迷宫实验。水迷宫为圆形水槽,高度 90 cm,分为 4 个象限,在西南象限放置 1 个高度 1~2 cm、直径 5 cm 的平台,水槽中装满 20℃左右的水没过平台。实验动物先进行连续 7 d 的训练,2 次/d,观察小鼠能否自主找到平台;若 60 s 内未能找到平台,则将小鼠引导至平台处停留 30 s。训练结束后正式测试,采用 SMART V3.0 系统记录小鼠表现的影像。(2)Y 迷宫实验。水迷宫实验结束后,进行 Y 迷宫测试。Y 迷宫为 3 个 20 cm×8 cm×15 cm 黑色臂组成的 Y 字型迷宫,随机将 3 只臂命名为起始臂、新异臂和其他臂。正式实验前先进行训练,用黑板挡住新异臂入口只留下另外两臂开放,每只小鼠从起始臂放入,自由探索 8 min。探索结束后间隔 1 h 进行正式测试,将黑色挡板去掉,让 Y 迷宫的 3 只臂都呈开放状态,将小鼠从起始臂放入,探索时间为 2 min。在训练、正式测试期间,每只小鼠使用过的 Y 迷宫用 75% 乙醇擦拭,去除气味、避免干扰,环境保持安静。使用 SMART V3.0 系统录像采集小鼠活动轨迹。

1.2.3 免疫荧光染色检测小鼠脑皮质 $\text{A}\beta_{1-42}$ 、NLRP3、IL-1 β 、caspase-1、GSDMD 的表达水平 行

为学测试结束后,制取小鼠脑组织冷冻切片标本。各组小鼠随机取 4 只,腹腔注射 0.5% 巴比妥钠麻醉后,行生理盐水心脏灌注,多聚甲醛固定;将小鼠断头处死,在冰上快速剥离头部小心取出全脑组织,之后固定、脱水、包埋、冷冻,切成厚度 10 μm 的脑切片,保存至 -80℃ 冰箱备用;脑切片室温晾干 30 min, PBS 清洗,缓慢添加封闭液(1% 牛血清白蛋白含 0.3% Triton X-100),封闭 1.5 h; PBS 清洗,分别加入兔抗 $\text{A}\beta_{1-42}$ 抗体(1:500)、小鼠抗 Iba-1(1:200)/兔抗 NLRP3 抗体(1:500)、小鼠抗 Iba-1/兔抗 IL-1 β 抗体(1:500)、小鼠抗 Iba-1/兔抗 caspase-1 抗体(1:500)和小鼠抗 NeuN(1:500)/兔抗 GSDMD 抗体(1:500),放入 4℃ 环境;第 2 天使用 PBS 清洗,加入相应的 Alex Flour[®] 488/594 标记的山羊抗兔/鼠 IgG(1:1000),避光环境 1.5 h,孵育结束后 PBS 清洗,加入含 DAPI 的封固试剂进行封固;将制备好的脑切片于激光共聚焦显微镜下观察皮质 M2 区,采用 Image-Pro Plus 软件分析荧光强度。

1.2.4 Western blotting 检测小鼠全脑 TLR4、MyD88、NF- κ B 亚基 p65、NLRP3、ASC、caspase-1、GSDMD、GSDMD-N、IL-18、IL-1 β 蛋白表达水平 每组余 4 只小鼠制备脑组织蛋白样本,麻醉和心脏灌注、小鼠断头处理同 1.2.3;取出全脑组织,加入裂解液(RIPA 与 PMSF 的 100:1 混合溶液),将脑组织破碎 1 min,冰盒静置 15 min,重复 3 次后待脑组织完全裂解进行离心,取上清测定各组脑组织蛋白浓度,随后分装至 EP 管置于 -80℃ 保存备用。取出脑蛋白先完成蛋白分离,转至 PVDF 膜上;TBST 溶液清洗,5% 脱脂奶粉封闭 2 h;依次加入兔抗 TLR4 (1:1000)、MyD88(1:500)、NF- κ B 亚基 p65(1:1000)、NLRP3(1:1000)、ASC(1:800)、caspase-1(1:800)、GSDMD(1:1000)、GSDMD-N(1:1000)、IL-18(1:1000)、IL-1 β (1:500)抗体,4℃ 过夜。第 2 天使用 TBST 溶液清洗,加入相应 HRP 山羊抗兔/鼠 IgG(1:5000),室温放置 2 h;最后,添加显影液进行显影。

1.2.5 TUNEL 染色检测小鼠脑组织中细胞凋亡情况 脑切片室温晾置 30 min,40 g/L 多聚甲醛溶液固定 30 min,加入封闭液(1% 牛血清白蛋白含 0.3% Triton X-100),室温 1.5 h; PBS 清洗,加入 NeuN 抗体(1:1000),4℃ 孵育过夜;第 2 天 PBS 清洗,加入相匹配的二抗避光孵育 2 h,严格按照试剂盒说明书配置 TUNEL 溶液,孵育 1 h, PBS 清洗,加入 DAPI 进行封固,最后将脑切片于激光共聚焦显微镜下观察。

1.3 统计学处理 采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计分析。计量资料正态分布且方差齐时以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 Dunnett-*t* 检验;若方差不齐则采用秩和检

验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LBP对APP/PS1小鼠行为学表现的影响 Morris水迷宫实验结果显示,与WT组和WT+LBP组比较,AD组小鼠逃避潜伏期、第一次进入西南(SW)象限的时间延长,SW象限停留时间百分比增加($P<0.01$ 或 $P<0.001$);与AD组比较,AD+LBP组小鼠逃避潜伏期、第一次进入SW象限的时间缩短SW象限停留时间百分比降低($P<0.01$ 或 $P<0.001$)。Y迷宫实验结果

显示,与WT组和WT+LBP组比较,AD组小鼠的自发交替率及在新异臂内花费时间百分比均增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与AD组比较,AD+LBP组小鼠的自发交替率及在新异臂内花费时间百分比均缩短($P<0.01$,图1)。

2.2 LBP对APP/PS1小鼠脑中 $A\beta$ 沉积的影响 免疫荧光染色结果显示,与WT组和WT+LBP组比较,AD组小鼠皮质区 $A\beta_{1-42}$ 沉积明显增加($P<0.001$);与AD组比较,AD+LBP组小鼠皮质区 $A\beta_{1-42}$ 沉积明显减少($P<0.001$,图2)。

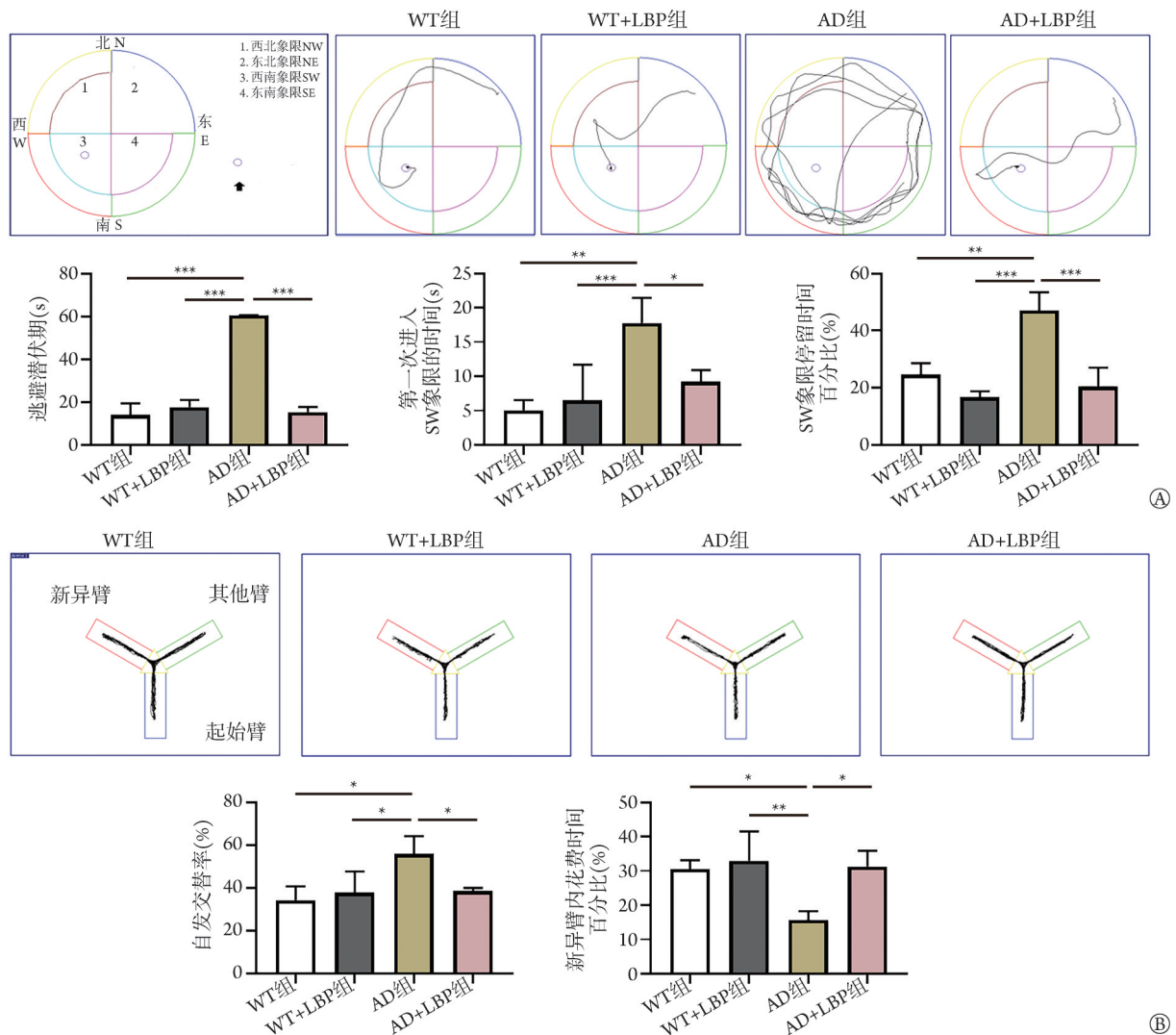


图1 LBP对各组小鼠行为学表现的影响(Morris水迷宫和Y迷宫实验, $n=8$)

Fig.1 Effects of LBP on the performance of mice in each group (Morris water maze and Y-maze tests, $n=8$)

A. 水迷宫实验, 小鼠运动轨迹、逃避潜伏期、第一次进入西南(SW)象限的时间和SW象限停留时间百分比; B. Y迷宫实验, 小鼠运动轨迹、自发交替率及在新异臂内花费时间百分比。* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。LBP. 枸杞多糖; AD. 阿尔茨海默病; WT. 野生型

2.3 LBP对APP/PS1小鼠脑神经细胞焦亡和凋亡的影响 免疫荧光染色及TUNEL染色检测结果显示,与WT组和WT+LBP组比较,AD组小鼠皮质区神经细胞凋亡明显增多($P<0.001$),GSDMD表达水平明显升高($P<0.001$);与AD组比较,AD+LBP组小鼠皮质

区神经元凋亡明显减少($P<0.001$),GSDMD表达水平明显降低($P<0.001$,图3A、B)。Western blotting检测结果显示,与WT组和WT+LBP组比较,AD组小鼠脑组织中焦亡因子GSDMD和GSDMD-N表达水平均增高($P<0.05$ 、 $P<0.01$ 或 $P<0.001$);与AD组比较,

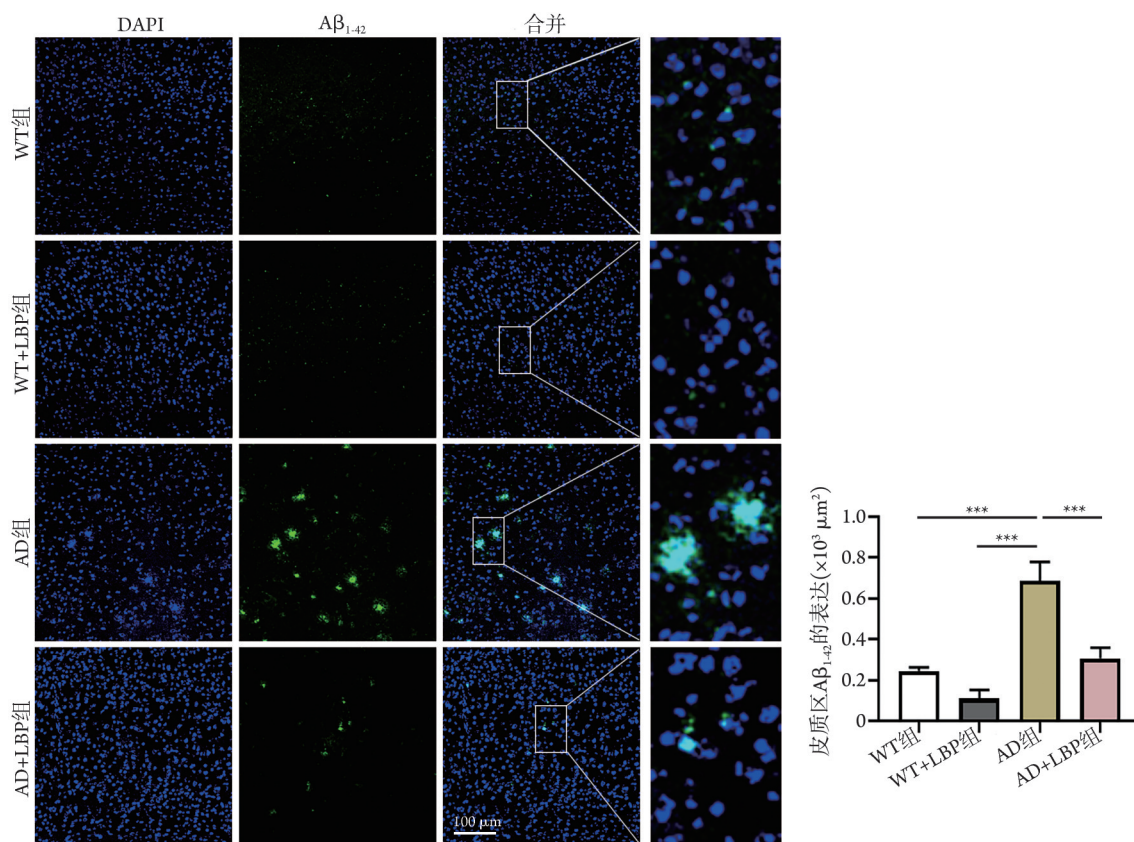


图2 LBP对小鼠大脑皮质区Aβ₁₋₄₂沉积的影响(免疫荧光染色, n=4)

Fig.2 Effect of LBP on Aβ₁₋₄₂ deposition in cortical areas of mice (immunofluorescence staining, n=4)

***P<0.001。LBP. 枸杞多糖; AD. 阿尔茨海默病; WT. 野生型; Aβ₁₋₄₂. β-淀粉样蛋白1-42

AD+LBP组小鼠脑组织中GSDMD和GSDMD-N表达水平均降低(P<0.05或P<0.001, 图3C)。

2.4 LBP对APP/PS1小鼠小胶质细胞NLRP3、ASC、caspase-1蛋白水平的影响 免疫荧光染色结果显示, 与WT组和WT+LBP组比较, AD组小鼠皮质区小胶质细胞内NLRP3和caspase-1表达水平升高(P<0.01或P<0.001); 与AD组比较, AD+LBP组小鼠皮质区小胶质细胞NLRP3和caspase-1表达水平降低(P<0.05或P<0.001)(图4A、B)。Western blotting检测结果显示, 与WT组和WT+LBP组比较, AD组小鼠脑中NLRP3、ASC和caspase-1蛋白表达明显增高(P<0.05或P<0.01或P<0.001); 与AD组比较, AD+LBP组小鼠脑中NLRP3、ASC、caspase-1蛋白表达明显降低(P<0.05, 图4C)。

2.5 LBP对APP/PS1小鼠脑组织中促炎细胞因子IL-18、IL-1β水平的影响 免疫荧光染色结果显示, 与WT组和WT+LBP组比较, AD组小鼠皮质区小胶质细胞IL-1β表达明显升高(P<0.001); 与AD组比较, AD+LBP组小鼠小胶质细胞IL-1β表达明显降低(P<0.001, 图5A)。Western blotting检测结果显示, 与WT组和WT+LBP组比较, AD组小鼠脑组织中IL-18和IL-1β表达明显升高(P<0.05或P<0.01或P<0.001);

与AD组比较, AD+LBP组小鼠脑组织中IL-18和IL-1β表达明显降低(P<0.05, 图5)。

2.6 LBP对APP/PS1小鼠TLR4/MyD88/NF-κB信号通路的影响 Western blotting检测结果显示, 与WT组和WT+LBP组比较, AD组小鼠脑组织中TLR4、MyD88蛋白和NF-κB亚基P65表达水平明显增高(P<0.05或P<0.01); 与AD组比较, AD+LBP组小鼠脑组织中TLR4、MyD88蛋白和NF-κB亚基P65表达水平明显降低(P<0.05或P<0.01, 图6)。

3 讨论

近年来AD相关研究取得很大进展, 但由于其发病机制复杂, AD治疗仍面临困难。关于AD的发病机制有多种假说, 其中炎症假说越来越被认为是关键因素^[23]。LBP具有抗氧化、抗衰老和神经保护等功效, 可通过多信号通路发挥作用^[24]。NLRP3炎症小体的激活在多种炎症性疾病中起关键作用, 其中包括感知Aβ的聚集、促进神经系统疾病的发生及发展^[25]。而NLRP3炎症小体的激活对AD的干预具有重要影响^[26]。因此, 本研究从炎症入手, 探讨LBP对小胶质细胞NLRP3炎症小体的调控作用, 及LBP对AD小鼠模型的治疗效果和可能的作用机制。

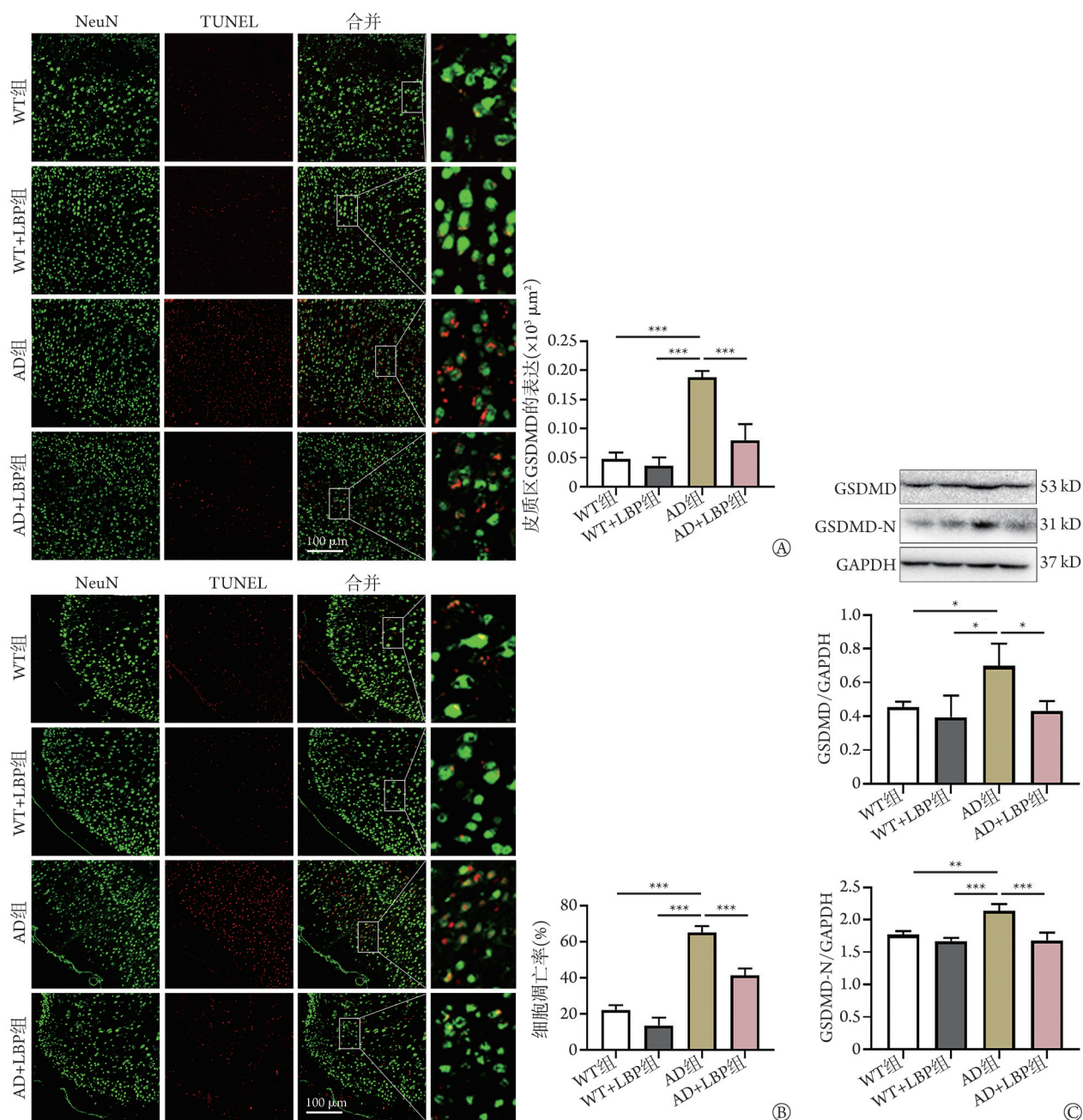


图3 LBP对APP/PS1小鼠脑中神经细胞焦亡和凋亡的影响

Fig.3 Effects of LBP on neuronal pyroptosis and apoptosis in the brain of APP/PS1 mice

A. 小鼠脑皮质区GSDMD的表达(免疫荧光染色); B. TUNEL染色结果和细胞凋亡结果统计图; C. GSDMD和GSDMD-N蛋白表达水平(Western blotting)。**P*<0.05, ***P*<0.01, ****P*<0.001。LBP. 枸杞多糖; APP. 淀粉样前体蛋白; PS1. 早老蛋白-1; AD. 阿尔茨海默病; WT. 野生型; GSDMD. Gasdermin-D蛋白; NeuN. 神经元核

近年来LBP的抗炎活性及神经保护作用在AD相关研究中受到关注。研究显示,LBP可缓解AD小鼠脑组织中Aβ蛋白沉积及改善学习记忆能力^[27]。本研究水迷宫和Y迷宫实验检测结果显示,与WT组比较,AD组小鼠记忆能力明显下降,且对新事物的探索能力和学习能力出现障碍;经过LBP治疗2个月后,AD+LBP组小鼠的记忆和对新事物学习的能力均得到明显改善,这与已有研究^[27]结果一致,提示LBP对AD小鼠模型具有治疗效果。

相关研究显示,细胞焦亡参与AD的发生发展,且与Aβ沉积和神经炎症密切相关^[28];抑制细胞焦亡可减缓AD的进展^[29]。本研究Western blotting和免疫荧光染色检测结果均显示,与AD组小鼠比较,LBP治疗的小鼠脑组织中焦亡相关蛋白GSDMD和GSDMD-N蛋白表达受到抑制。细胞凋亡的加剧会引起神经元的丢失,并进一步损害认知功能;本研究对小鼠脑组织的TUNEL染色结果显示,LBP治疗的小鼠脑组织中细胞凋亡得到一定程度的缓解。以上

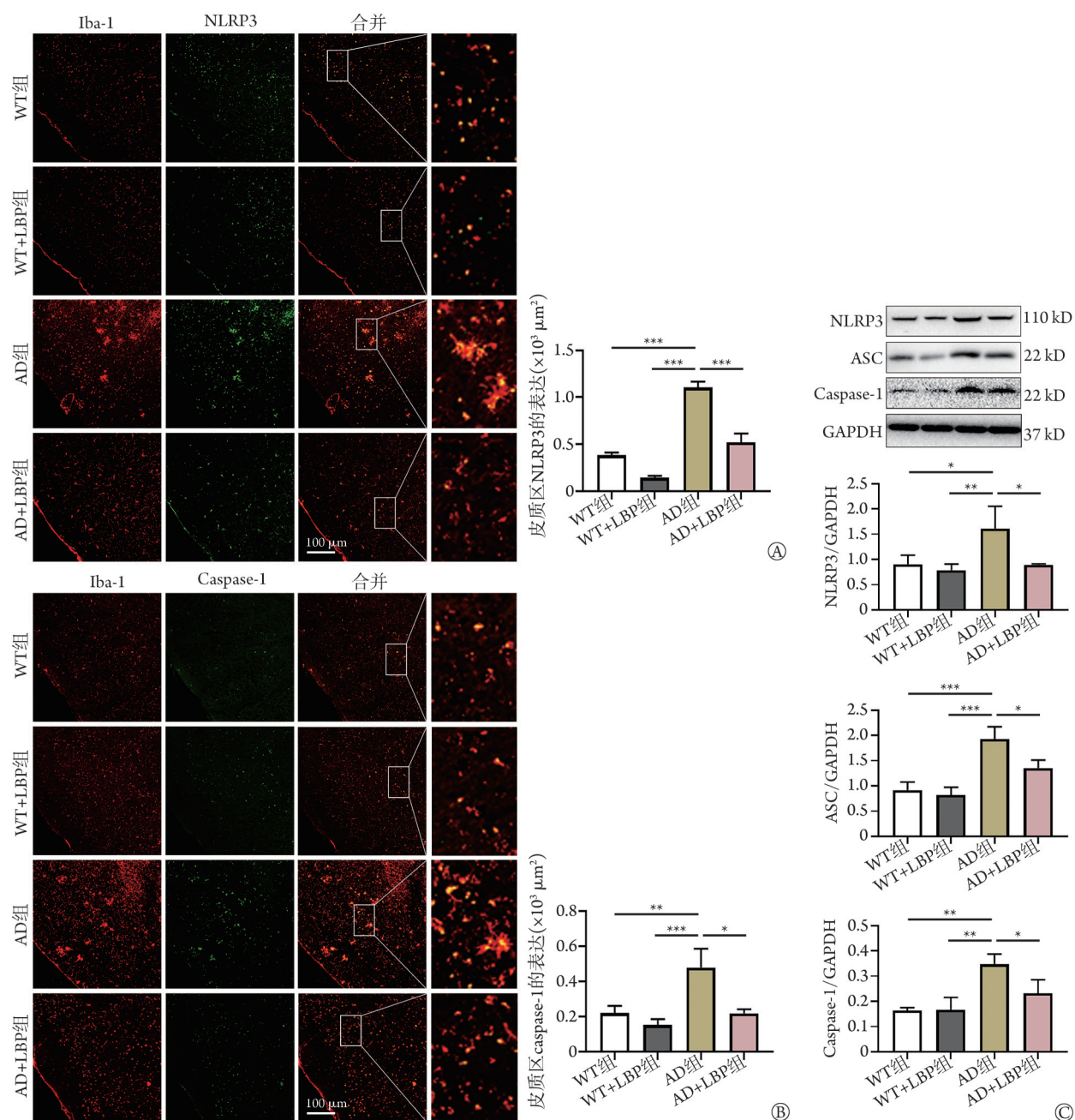


图4 LBP对小鼠脑组织NLRP3、ASC和caspase-1表达的影响($n=4$)

Fig.4 Effect of LBP on the expression of NLRP3, ASC and caspase-1 in the brain tissues of mice in each group ($n=4$)

A. 小鼠皮质区小胶质细胞NLRP3表达水平(免疫荧光染色); B. 小鼠皮质区小胶质细胞caspase-1表达水平(免疫荧光染色); 红色荧光为小胶质细胞标记物Iba-1, 绿色荧光分别为NLRP3和caspase-1的阳性细胞; C. 小鼠脑组织NLRP3、ASC和caspase-1蛋白表达水平(Western blotting)。* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。LBP. 枸杞多糖; AD. 阿尔茨海默病; WT. 野生型; NLRP3. 核苷酸结合域样受体蛋白3; ASC. 凋亡相关斑点样蛋白; Caspase-1. 胱天蛋白酶-1; Iba-1. 离子钙结合衔接分子1

结果提示, LBP可在一定程度上缓解细胞焦亡和凋亡的发生, 进而减轻小鼠的认知功能损伤。

小胶质细胞在AD进展中发挥重要作用。活化的小胶质细胞在大脑受损区附近积累是AD神经炎症的标志之一; 当脑中A β 碎片过度积累时, 会异常激活小胶质细胞, 加重神经炎症^[30]。本研究对小鼠脑组织中A β 免疫荧光染色结果显示, AD组小鼠脑组织中A β 沉积斑块较大, 而AD+LBP组小鼠脑组织中A β

沉积斑块变小且小胶质细胞活化减少; 提示LBP可减少AD小鼠大脑中A β 的沉积。

NLRP3炎症小体的激活可加重炎症反应^[31]。在炎症小体接收到启动信号后, 募集NLRP3、ASC和caspase-1原酶形成NLRP3炎症小体。之后, 激活的caspase-1, 可将IL-18、IL-1 β 的前体加工转变为成熟的细胞因子并排出, 引发炎症反应; 同时, NLRP3炎症小体可裂解GSDMD导致细胞焦亡, 促进AD的

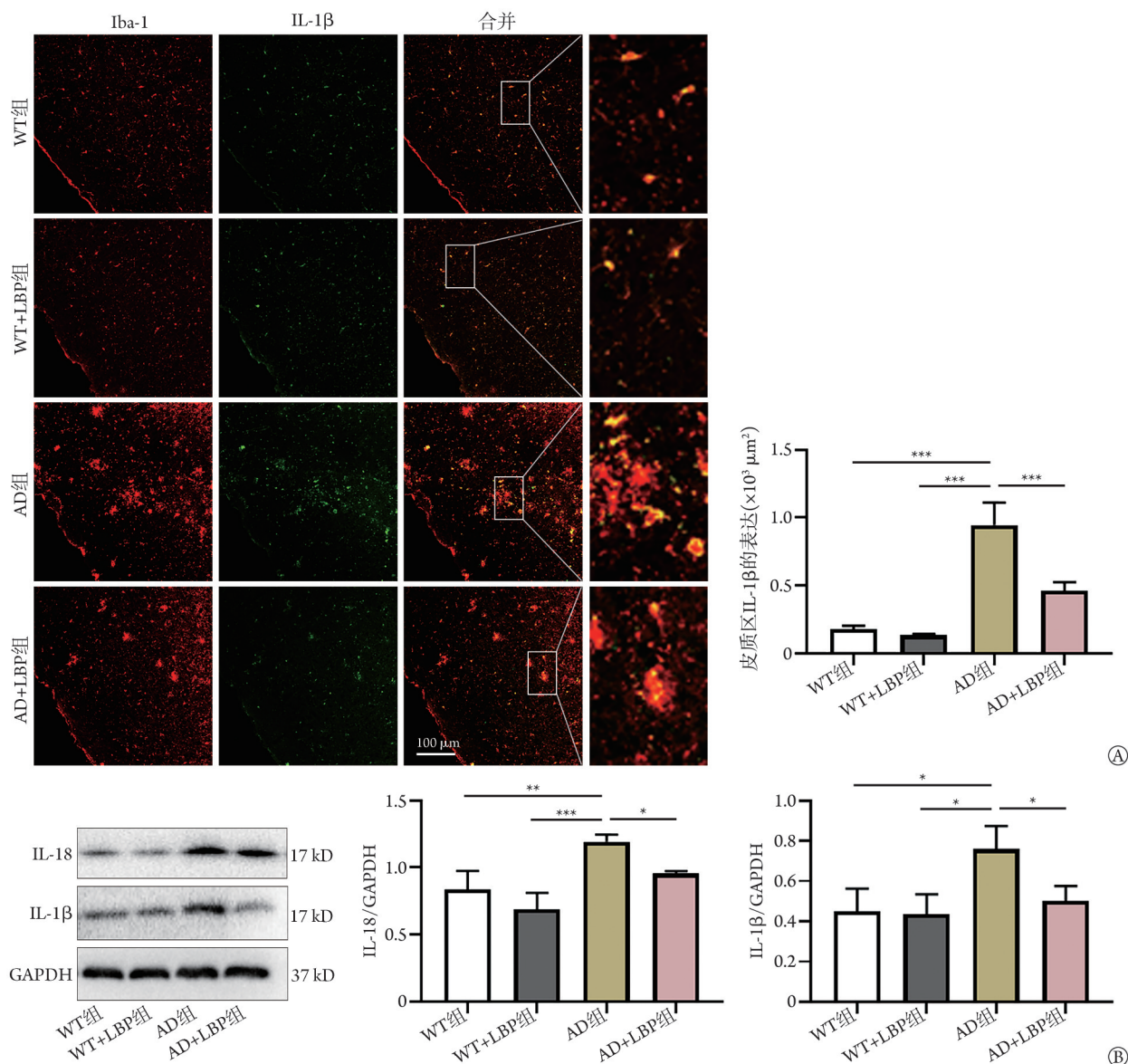


图5 LBP对小鼠皮质区及脑组织炎症因子及细胞焦亡的影响(n=4)

Fig.5 Effects of LBP on inflammatory factors and pyroptosis in cortical areas and brain tissues of mice in each group ($n=4$)
A. 小鼠皮质区 IL-1 β 水平(免疫荧光染色); B. 小鼠脑组织 IL-1 β 、IL-18 蛋白表达水平(Western blotting). * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.
LBP. 枸杞多糖; AD. 阿尔茨海默病; WT. 野生型; IL. 白细胞介素

进展^[32]。本研究 Western blotting 和免疫荧光染色结果均显示,与AD组小鼠比较,LBP治疗的小鼠脑组织中 NLRP3、ASC、caspase-1 表达受到抑制,IL-18、IL-1 β 表达也明显降低。这提示 LBP 可抑制 NLRP3 炎症小体的激活,减少小鼠脑组织中促炎因子的释放,可能是 LBP 缓解 AD 细胞焦亡的机制之一。

AD 脑组织中,TLR4 在小胶质细胞过表达,是参与炎症反应 NF- κ B 信号通路的经典激活途径^[33];而 TLR4 和 NLRP3 炎症小体与补体之间的串扰可加重 AD 的神经炎症,NF- κ B 作为 TLR4/MyD88 的下游靶点被激活后,又会增加 NLRP3 的启动^[34];因此,抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路和 NLRP3 炎症小体的激活可能是 AD 的潜在治疗靶点。本研究对

TLR4、MyD88 和 NF- κ B 信号通路的观察结果显示,AD 小鼠在 LBP 干预后,TLR4、MyD88 和 NF- κ B 表达均降低;上述结果进一步证实 LBP 可能抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路的激活,进而减少 NLRP3 炎症小体的激活,抑制小胶质细胞介导的炎症反应,抑制神经细胞焦亡,最终改善 AD 小鼠认知功能。

综上所述,本研究结果显示,LBP 可能通过抑制 AD 小鼠的 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路和 NLRP3 炎症小体的激活,减轻小鼠脑中 A β 沉积及小胶质细胞炎症反应,改善认知功能。本研究进一步揭示了天然产物 LBP 在预防 AD 方面具有一定的潜力,在 AD 及神经炎症的临床治疗中具有潜在的应用

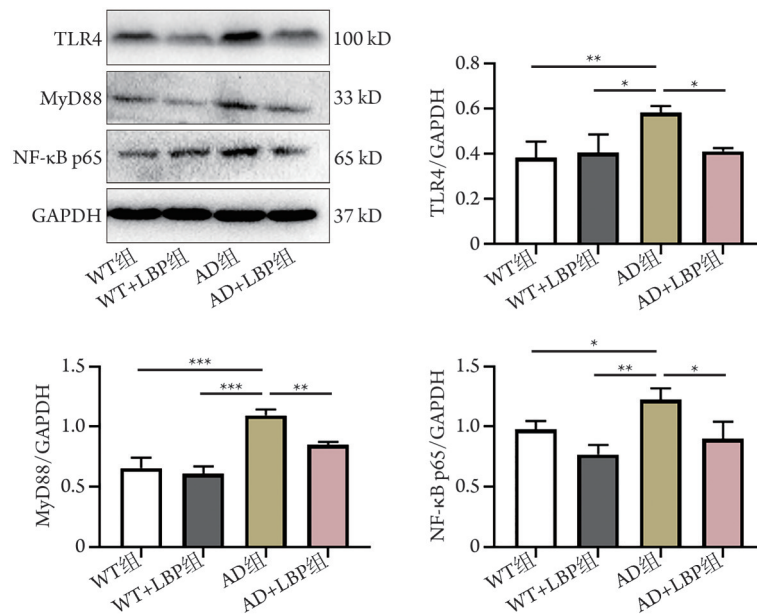


图6 LBP对小鼠脑组织TLR4、MyD88和NF-κB亚基p65表达的影响(Western blotting, $n=4$)

Fig.6 Effects of LBP on the expression of TLR4, MyD88 and NF-κB p65 in the brain tissue of mice in each group (Western blotting, $n=4$)

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$. LBP. 枸杞多糖; AD. 阿尔茨海默病; WT. 野生型; TLR4. Toll样受体4; MyD88. 髓样分化因子; NF-κB p65. 核因子κB亚基p65

前景。然而,本研究仍存在一定的局限性,例如,未深入探讨小胶质细胞NLRP3炎症反应与焦亡的调控机制,且研究仅限于动物实验。因此,未来需进一步开展体外实验,探讨LBP对小胶质细胞NLRP3炎症小体及焦亡的影响机制。

【参考文献】

- [1] Wang C, Zong S, Cui X, *et al.* The effects of microglia-associated neuroinflammation on Alzheimer's disease[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1117172.
- [2] 王亚楠,任凌,韩伟,等.阿尔茨海默病病理生理机制及其诊断研究进展[J]. *解放军医学杂志*, 2025, 50(5): 632-640.
- [3] Twarowski B, Herbet M. Inflammatory processes in Alzheimer's disease-pathomechanism, diagnosis and treatment: a review[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6518.
- [4] Rather MA, Khan A, Alshahrani S, *et al.* Inflammation and Alzheimer's disease: mechanisms and therapeutic implications by natural products[J]. *Mediators Inflamm*, 2021, 2021: 9982954.
- [5] 田娜,朱敏.阿尔茨海默病发病机制研究进展[J]. *中国实用内科杂志*, 2025, 45(10): 817-822.
- [6] Terzioglu G, Young-Pearse TL. Microglial function, INPP5D/SHIP1 signaling, and NLRP3 inflammasome activation: implications for Alzheimer's disease[J]. *Mol Neurodegener*, 2023, 18(1): 89.
- [7] McManus RM, Latz E. NLRP3 inflammasome signaling in Alzheimer's disease[J]. *Neuropharmacology*, 2024, 252: 109941.
- [8] Bai H, Zhang Q. Activation of NLRP3 inflammasome and onset of Alzheimer's disease [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 701282.
- [9] Wu J, Wang H, Gao P, *et al.* Pyroptosis: induction and inhibition strategies for immunotherapy of diseases[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2024, 14(10): 4195-4227.
- [10] 宋宇琪,杨文明,魏涛华,等.泛凋亡的分子机制及其在部分疾病中的作用研究进展[J]. *解放军医学杂志*, 2025, 50(2): 221-231.
- [11] Zhou YR, Dang JJ, Yang QC, *et al.* The regulation of pyroptosis by post-translational modifications: molecular mechanisms and therapeutic targets[J]. *EBioMedicine*, 2024, 109: 105420.
- [12] Shi J, Gao W, Shao F. Pyroptosis: gasdermin-mediated programmed necrotic cell death[J]. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42(4): 245-254.
- [13] Xue W, Cui D, Qiu Y. Research progress of pyroptosis in Alzheimer's disease[J]. *Front Mol Neurosci*, 2022, 15: 872471.
- [14] Dhapola R, Hota SS, Sarma P, *et al.* Recent advances in molecular pathways and therapeutic implications targeting neuroinflammation for Alzheimer's disease[J]. *Inflammopharmacology*, 2021, 29(6): 1669-1681.
- [15] Vasudevan SO, Behl B, Rathinam VA. Pyroptosis-induced inflammation and tissue damage[J]. *Seminars Immunol*, 2023, 69: 101781.
- [16] Fornari Laurindo L, Aparecido Dias J, Cressoni Araújo A, *et al.* Immunological dimensions of neuroinflammation and microglial activation: exploring innovative immunomodulatory approaches to mitigate neuroinflammatory progression[J]. *Front Immunol*, 2024, 14: 1305933.
- [17] Zhu M, Liu Y, Chen C, *et al.* TLR4/Rac1/NLRP3 pathway mediates amyloid-β-induced neuroinflammation in Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2024, 99(3): 911-925.
- [18] Zhang Z, Bai J, Zhang S, *et al.* The relationship between Alzheimer's disease and pyroptosis and the intervention progress of traditional Chinese medicine[J]. *Int J Gen Med*, 2024, 17: 4723-4732.
- [19] 王佩佩,岳云,曹丽翠,等.枸杞多糖对Hcy诱导的小鼠肝细胞损伤的保护作用及其机制[J]. *解放军医学杂志*, 2024, 49(5): 542-549.
- [20] Wang J, Li S, Zhang H, *et al.* A review of Lycium barbarum polysaccharides: extraction, purification, structural-property

- relationships, and bioactive molecular mechanisms[J]. *Carbohydr Res*, 2024, 544: 109230.
- [21] Qi Y, Duan G, Fan G, *et al.* Effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on cell signal transduction pathways[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 147: 112620.
- [22] 陈浩, 张皓洁, 师亮, 等. 枸杞多糖对帕金森病小鼠的抗氧化作用和神经保护效应[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2018, 44(10): 613-618.
- [23] Nasb M, Tao W, Chen N. Alzheimer's disease puzzle: delving into pathogenesis hypotheses[J]. *Aging Dis*, 2024, 15(1): 43-73.
- [24] Qi Y, Duan G, Fan G, *et al.* Effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on cell signal transduction pathways[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 147: 112620.
- [25] Chen Y, Ye X, Escames G, *et al.* The NLRP3 inflammasome: contributions to inflammation-related diseases[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2023, 28(1): 51.
- [26] McManus RM, Latz E. NLRP3 inflammasome signalling in Alzheimer's disease[J]. *Neuropharmacology*, 2024, 252: 109941.
- [27] Zhou Y, Duan Y, Huang S, *et al.* Polysaccharides from *Lycium barbarum* ameliorate amyloid pathology and cognitive functions in APP/PS1 transgenic mice[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 144: 1004-1012.
- [28] Tang T. Pyroptosis in Alzheimer's disease: mechanisms and therapeutic potential[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2025, 45(1): 57.
- [29] Cai Y, Chai Y, Fu Y, *et al.* Salidroside ameliorates Alzheimer's disease by targeting NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis[J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 13: 809433.
- [30] Cai Y, Liu J, Wang B, *et al.* Microglia in the neuroinflammatory pathogenesis of Alzheimer's disease and related therapeutic targets[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 856376.
- [31] Li Y, Chen X, Zhou M, *et al.* Microglial TLR4/NLRP3 inflammasome signaling in Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2024, 97(1): 75-88.
- [32] Rao Z, Zhu Y, Yang P, *et al.* Pyroptosis in inflammatory diseases and cancer[J]. *Theranostics*, 2022, 12(9): 4310-4329.
- [33] Sun E, Motolani A, Campos L, *et al.* The pivotal role of NF- κ B in the pathogenesis and therapeutics of Alzheimer's disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(16): 8972.
- [34] Yang J, Wise L, Fukuchi KI. TLR4 cross-talk with NLRP3 inflammasome and complement signaling pathways in Alzheimer's disease[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 724.

(责任编辑: 蒋铭敏)

解放军医学杂志®