

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.003360

CX3CL1 通过抑制小胶质细胞焦亡改善阿尔茨海默病小鼠的神经元功能

杜娟, 郎红梅, 严娜, 黄昶荃, 王宾友, 赵宝玉, 张兴平

(成都市第二人民医院全科医疗科, 成都 610000)

【摘要】目的:通过外源性注射趋化因子(C-X3-C基序)配体1(Fractalkine, CX3CL1)探索其对阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)小鼠神经元功能的影响及机制。**方法:**采用APP/PS1双转基因小鼠建立AD模型。将小鼠随机分为4组:对照组、AD模型组、AD+PBS溶剂组、AD+CX3CL1组。AD+CX3CL1组颅内给予CX3CL1。AD+PBS溶剂组注射等容积的PBS溶剂。采用旷场实验和Morris水迷宫测试小鼠认知行为,免疫荧光染色、TUNEL染色、尼氏染色、蛋白质印迹和RT-PCR技术对小鼠海马组织进行分析。**结果:**①AD小鼠接受CX3CL1注射后增加了移动距离,但没有显著差异($P=0.189$);在水迷宫测试中,AD+CX3CL1组寻找水下平台的移动距离显著缩短($P=0.001$);②AD模型组中GSDMD(Gasdermin D)蛋白和炎症相关蛋白表达显著升高($P<0.05$),而CX3CL1注射能显著降低这些蛋白的表达水平($P<0.05$);③AD模型组的尼氏体数量、突触相关蛋白25 kDa (synaptosomal-associated protein of 25 kDa, SNAP25)、突触后致密区蛋白95(post synaptic density protein 95, PSD95)和囊泡相关膜蛋白1(vesicle-associated membrane protein 1, VAMP1)表达水平显著降低,而CX3CL1组尼氏体数量($P=0.001$)和SNAP25、PSD95、VAMP1蛋白的表达增加($P=0.043$, $P=0.026$, $P=0.003$)。**结论:**外源性CX3CL1注射能够通过调节炎症因子和减少细胞焦亡来改善AD小鼠的神经元功能,保护神经元免受损伤。

【关键词】阿尔茨海默病;趋化因子(C-X3-C基序)配体1;炎性小体;细胞焦亡;神经保护

【中图分类号】R749.16

【文献标志码】A

【收稿日期】2023-08-23

CX3CL1 improves neuronal function in mice with Alzheimer's disease by inhibiting microglial pyroptosis

Du Juan, Lang Hongmei, Yan Na, Huang Changquan, Wang Binyou, Zhao Baoyu, Zhang Xingping

(Department of General Medicine, Chengdu Second People's Hospital)

【Abstract】Objective: To investigate the effect of exogenous injection of chemokine C-X3-C-motif ligand 1 (CX3CL1) on neuronal function in mice with Alzheimer's disease (AD) and its mechanism. **Methods:** APP/PS1 double transgenic mice were used to establish a model of AD, and the mice were randomly divided into control group, AD model group, AD+PBS group, and AD+CX3CL1 group. The mice in the AD+CX3CL1 group were given intracranial administration of CX3CL1, and those in the AD+PBS group were injected with an equal volume of PBS solvent. The open field test and the Morris water maze test were used to assess the cognitive behavior of mice, and immunofluorescent staining, TUNEL staining, Nissl staining, Western blotting, and RT-PCR were used to analyze hippocampal tissue. **Results:** The AD mice receiving CX3CL1 injection showed an increase in movement distance, but without a significant difference ($P=0.189$); however, in the water maze test, the AD+CX3CL1 group showed a significant reduction in the movement distance to reach the submerged platform ($P=0.001$). The AD model group had significant increases in the expression levels of gasdermin D and inflammation-related proteins ($P<0.05$), while CX3CL1 injection significantly reduced the expression levels of these proteins ($P<0.05$). The AD model group had significant reductions in the number of Nissl bodies and the expression levels of (synaptosomal-associated protein of 25 kDa (SNAP25), post synaptic density protein 95 (PSD95), and vesicle-associated membrane protein 1 (VAMP1), while the CX3CL1 group showed significant increases in the number of Nissl bodies ($P=0.001$) and the expression levels of SNAP25, PSD95, and VAMP1 ($P=0.043$, 0.026 , and 0.003).

Conclusion: Exogenous CX3CL1 injection can improve neuronal function and protect neurons from damage in AD mice by regulating inflammatory factors and reducing pyroptosis.

【Key words】 Alzheimer's disease; chemokine C-X3-C-motif ligand 1; inflammasome; pyroptosis; neuroprotection

作者介绍: 杜娟, Email: dd15882615003@163.com,

研究方向: 老年神经方向。

通信作者: 张兴平, Email: 194955495@qq.com。

基金项目: 四川省科技厅资助项目(编号: 2020YFS0486)。

优先出版: <https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20231101.1438.012>

(2023-11-02)

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种常见的导致语言、记忆和认知功能进行性丧失的神经退行性疾病^[1]。其病理学特征是 Tau 蛋白过度磷酸化引起的神经元纤维缠结和 β 淀粉样蛋白 (Amyloid β -protein, A β) 沉积物的形成^[2]。炎症小体激活和小胶质细胞激活引起的神经炎症在 AD 的发病机制中发挥重要作用^[3]。小胶质细胞的持续激活导致炎症介质持续释放细胞因子和趋化因子,诱导小胶质细胞神经炎症反应,从而促进 AD 的发展^[4-5]。

趋化因子 (C-X3-C 基序) 配体 1 (Fractalkine, CX3CL1) 是脑组织中表达的趋化因子,分为膜结合型和可溶性 2 种。CX3CL1 可以与小胶质细胞上的独特受体 CX3CR1 结合并调节关键的神经信号通路^[6-7]。神经元可以通过 CX3CL1/CX3CR1 轴调节受体,并通过控制炎症细胞因子的释放、突触可塑性和认知功能来调节小胶质细胞的活化^[8]。既往研究发现,外源性 CX3CL1 对缺血性中风小鼠具有长期的神经保护作用^[9]。此外多项临床研究发现 AD 患者脑脊液中 CX3CL1 水平显著降低^[10-11]。这些结果表明, CX3CL1 可能参与了 AD 的发病机制。

炎症小体激活是半胱氨酸蛋白酶 1 (caspase-1) 激活的关键调节因子,而白细胞介素 (interleukin, IL-1 β) 和 IL-18 的分泌主要受激活的 caspase-1 调节^[12]。既往研究表明,当 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) 等炎症小体被激活时,它们会释放炎症因子并导致细胞焦亡^[13]。因此,抑制炎症小体激活可能是治疗 AD 的有效方法。基于以上发现,本研究旨在探究 CX3CL1 对 AD 小鼠神经元功能的影响及其潜在机制,通过使用小鼠 AD 模型评估 CX3CL1 的治疗效果,并进一步研究了其对小胶质细胞功能和焦亡的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及实验流程

APP/PS1 双转基因小鼠 (SPF 级) 购自上海南方模式生物有限公司 (中国上海)。雄性 C57BL/6 小鼠购自成都达硕生物科技有限公司 (中国四川)。在手术前,小鼠可以自由获取水和食物,同时保持正常的 12 h/12 h 光/暗循环周期。实验方案经四川大学华西医院动物伦理委员会批准 (批准号: 20221203007)。APP/PS1 双转基因小鼠适应 1 周后,随机分为 3 组 (每组 $n=6$): AD 模型组、AD+PBS 溶剂组、AD+CX3CL1 组,对照组选择雄性 C57BL/6 雌性小鼠。AD+PBS 溶剂组和

AD+CX3CL1 组小鼠进行立体定向注射^[14]。用 1% 戊巴比妥钠 (0.04 mL/10 g) 麻醉小鼠,将其头部固定在立体定位仪上。钝性解剖将大脑皮肤和筋膜与颅骨表面分开,以暴露前囟、V 形缝和矢状缝。然后,在前囟后 1.2 mm、矢状缝外侧 2.5 mm 的立体定位坐标处,在头骨上钻一个小孔。使用注射器,将 0.5 μ g/ μ r CX3CL1 (0.2 μ L/min) 注射到 AD+CX3CL1 组小鼠颅骨表面以下约 2.2 mm 处。AD+PBS 溶剂组注射等量 PBS 溶剂。7 d 后进行旷场实验和水迷宫 (Morris Water Maze) 实验,以评估其认知能力。颈椎脱臼处死小鼠后,取小鼠海马区组织进行后续分析。

1.1.1 旷场实验 为了测试 CX3CL1 对 AD 小鼠认知行为的影响,在安静的环境中进行旷场实验。实验采用黑色的旷场实验箱 (40 cm \times 40 cm \times 30 cm), 底面用白线划分为 16 个小方块。数码相机安装在正上方 2 m 处,视野覆盖开阔视野。每次测试开始时,将每只大鼠放在开放空间的中央,并对其行为进行录像 3 min。在每次测试之间,用 50% 乙醇清洗该区域并使其完全干燥。最后,利用矩阵实验室 (Matrix Laboratory, Matlab) 分析小鼠的行为轨迹,记录全程移动距离。

1.1.2 水迷宫实验 Morris 水迷宫实验用于测试小鼠的认知功能。小鼠被训练去寻找一个隐藏在水面下的固定逃生平台,以避免待在水面上。水池分为 4 个象限,平台位于其中一个象限的中央。每只小鼠都被放置在迷宫的 4 个起始位置之一,需要在那里游泳直到找到隐藏的平台。如果小鼠在 2 min 内没有游到平台,则将其引导到平台并在那里停留 10 s。使用 ANY maze 软件收集和处理小鼠的游泳路径。

1.1.3 免疫荧光染色 将含有小鼠海马组织的石蜡切片脱蜡并用微波加热以进行抗原修复。加入山羊血清封闭液 (博士德生物工程公司, 武汉) 并在室温下孵育 20 min。分别添加一抗 (GSDMD, cat.no. A18281, 1:100, Abclonal; IBA1, cat.no. GB12105, 1:100, Servicebio), 并在 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜。然后加入二抗 (FITC-labeled anti rabbit goat IgG, cat.no. GB22303, Servicebio; CY3-labeled goat anti-mouse IgG, cat.no. GB21301, Servicebio), 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min。切片在成像前用抗褪色溶液密封。使用微型相机系统 (麦克奥迪集团有限公司, 厦门) 拍摄图像, 并使用 ImageJ 图像分析系统 (美国国立卫生研究院) 分析图像的荧光强度。

1.1.4 TUNEL 染色 使用原位细胞凋亡检测试剂盒 (瑞士罗氏) 进行 TUNEL 染色。海马体组织样本脱水, 石蜡包埋, 并用切片机 (德国徕卡公司) 切片。然后, 将组织切片脱蜡并重新水化。抗原修复用柠檬酸溶液和微波加热 8 min, 然后用 PBS 洗涤 3 次 (每次 5 min)。TdT 介导的 dUTP 缺口末端标记 (TUNEL), 将反应混合物加入切片, 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h, 然后用 PBS 漂洗 5 min \times 3 次。DAPI 染色 15 min, PBS 漂洗后用 50% 甘油包埋。使用 Pannorama 250 载玻片扫描仪 (3DHISTECH LTD, 匈牙利) 扫描载玻片。计算细胞凋亡率 = 凋亡细胞数 / 细胞总数 \times 100%。

1.1.5 尼氏染色 将小鼠海马组织用自动脱水机脱水、包埋、切片。接下来, 将切片浸泡在 APES 中并在 60 $^{\circ}$ C 下干燥

60 min 以确保紧密黏附。将组织切片脱蜡、复水,并置于 0.1% 甲苯胺蓝(Servicebio,武汉,中国)中,在 56 °C 恒温槽中放置 20 min。用去离子水洗切片。然后,将切片在 95% 乙醇中分化并在 100% 乙醇中脱水。用二甲苯清洗并用中性树脂胶固定后,使用光学显微镜(BA210Digital, Motic China Group Co.Ltd.)获取海马组织的图像,并对正常运动神经元进行定量。尼氏小体在无色的背景中呈现出深蓝色。

1.1.6 蛋白质印迹法 海马组织样品在 RIPA 缓冲液中 4 °C 裂解 30 min。4 °C、12 000 r/min 离心 10 min 后取上清液,采用 BCA 蛋白定量试剂盒(碧云天生物技术研究所在所)测定蛋白浓度。蛋白质通过 10%SDS-PAGE 分离,然后转移到 PVDF 膜上。PVDF 膜在 TBST 缓冲液中稀释的 5% 脱脂牛奶中封闭 1 h。PVDF 膜在一抗(anti-ASC, cat.no.A1170, 1:2 000, Abclonal; anti-Caspase1, cat.no.ab138483, 1:1 000, Abcam; anti-cleaved-N-GSDMD, cat.no.34667, 1:1 000, CST; anti-CX3CL1, cat.no.A14198, 1:2 000, Abclonal; anti-GSDMD, cat.no.A20728, 1:2 000, Abclonal; anti-IL-1 β , cat.no.A16288, 1:2 000, Abclonal; anti-IL-18, cat.no.A1115, 1:2 000, Abclonal; anti-NLRP3, cat.no.A5652, 1:2 000, Abclonal; anti-PSD95, cat.no.A0131, 1:2 000, Abclonal; anti-SNAP25, cat.no.A2234, 1:2 000, Abclonal; anti-VAMP1, cat.no.A3533, 1:2 000, Abclonal; β -actin, cat.no.AC026, 1:50 000, Abclonal) 4 °C 过夜,然后加入二抗[biotin-labeledgoatanti-rabbitIgG (H+L), cat.no.S0001, 1:5 000, Affinity]室温孵育 2 h。然后将 PVDF 膜用 TBST 洗涤 3 次,每次 10 min。最后,使用凝胶成像分析仪获得蛋白质结果图,并使用 QuantityOne 软件(Bio-Rad, USA)进行定量分析。

1.1.7 RT-PCR 用动物总 RNA 提取试剂盒(Foregene, 中国)从小鼠海马区组织中提取总 RNA。随后,使用 Prime-ScriptRT 试剂盒(Takara, 日本)将 RNA 逆转录为 cDNA。QRT-PCR 反应条件为:95 °C 预变性 30 s, 95 °C 变性 5 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 45 个循环。根据制造商的说明,使用 TBGreenPreMixExTaqTMII (TliRNAseHPlus, Takara)测定 SNAP25、PSD95 和 VAMP1 的相对表达。

1.2 统计学处理

使用 Graph-Pad Prism 8.0 软件进行统计分析,计量数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。选择单因素方差分析比较不同组小鼠的移动距离及游泳路径。采用独立样本 *t* 检验比较不同组免疫荧光染色、TUNEL 染色、尼氏染色、蛋白质印迹法和 RT-PCR 的差异。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 CX3CL1 对 AD 小鼠认知行为的改善作用

如图 1A 所示,与对照组相比,AD 小鼠的体质量显著下降($P=0.001$)。与 AD 模型组相比,AD+PBS 溶剂组和 AD+CX3CL1 组体质量差异无统计学意义。在旷场实验中,AD

小鼠表现出自主运动能力下降,表现为运动距离显著减少($P=0.039$)(图 1B、C)。尽管 CX3CL1 组增加了移动距离,但差异无统计学意义($P=0.189$)。在 Morris 水迷宫实验中,与对照组相比,AD 模型组的空间学习能力显著降低,表现为寻找隐蔽平台的移动距离显著延长($P=0.001$)。同时,与对照组相比,AD+CX3CL1 组小鼠的空间学习能力得到提高,寻找水下平台的移动距离显著缩短($P=0.001$),而 AD+PBS 溶剂组无明显改善(图 1D、E)。CX3CL1 可以改善 APP/PS1 小鼠的认知能力。各组之间的游泳速度差异无统计学意义($P>0.05$)(图 1F)。

2.2 CX3CL1 在 AD 小鼠中的表达

本研究使用蛋白质印迹法检测了海马组织中 CX3CL1 和 CX3CR1 的相对表达和定量分析(图 2)。与对照组相比,AD 模型组 CX3CL1 的表达显著降低,而 CX3CR1 表达显著升高($P=0.001$ 、 $P=0.028$)。与 AD 模型组比较,AD+CX3CL1 组中 CX3CL1 的相对表达量显著增加($P=0.018$)。

2.3 CX3CL1 对 AD 小鼠 GSDMD 的抑制作用

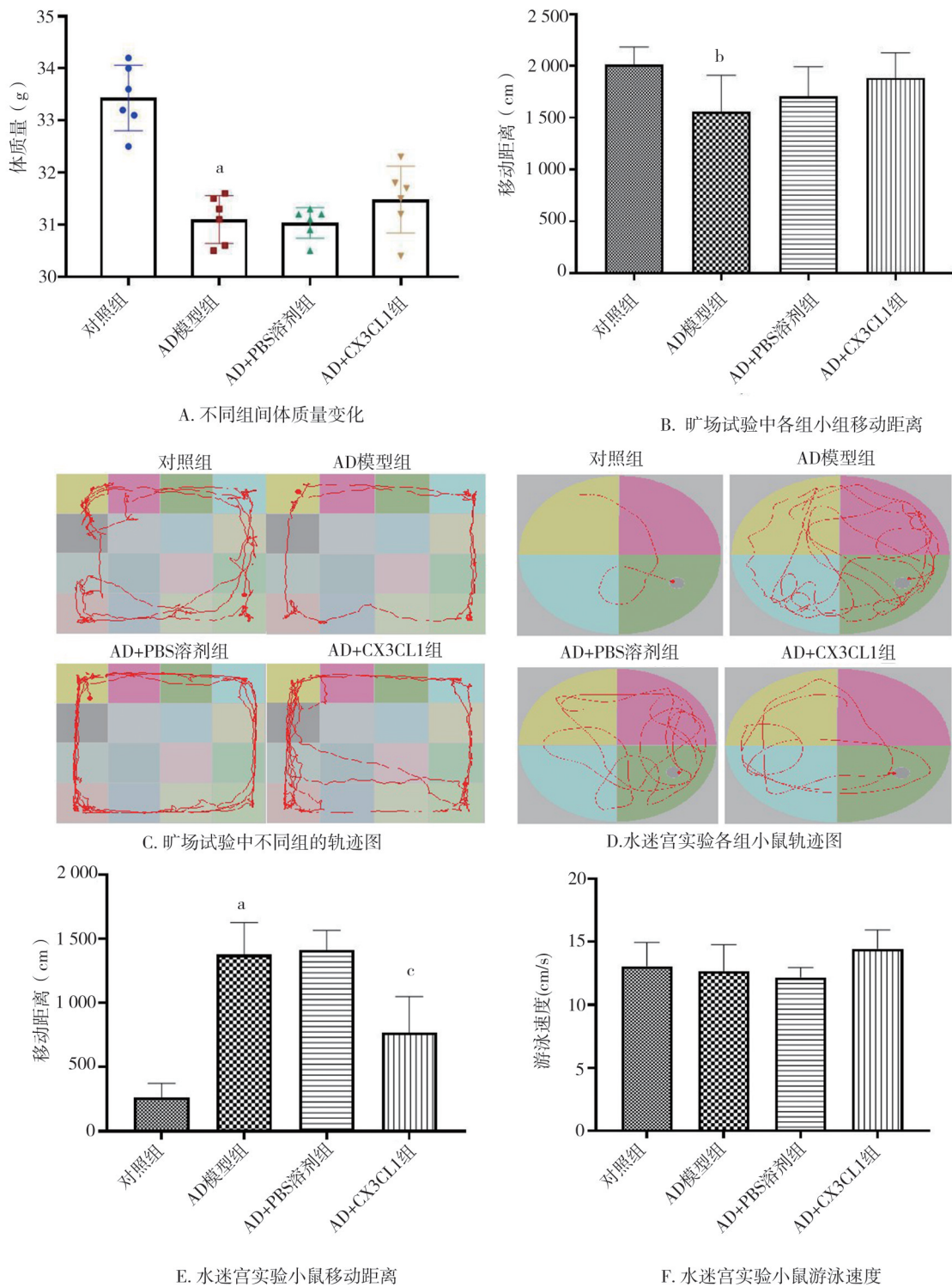
为了研究 CX3CL1 对 AD 小鼠小胶质细胞的影响,采用了免疫荧光染色和蛋白质印迹分析了海马组织中中介导细胞焦亡的必需底物蛋白 gasdermin-D (GSDMD) 的表达。免疫染色结果显示,AD 模型组 GSDMD 和 Iba-1 小胶质细胞共染阳性细胞显著增多,CX3CL1 导致 GSDMD/Iba-1 小胶质细胞显著减少($P=0.001$ 、 $P=0.002$)(图 3A、B)。此外,免疫印迹结果显示,AD 模型组中 GSDMD 和 cleaved-N-GSDMD 表达量较对照组显著升高($P=0.001$ 、 $P=0.043$),而 rCX3CL1 表达量较对照组显著降低 GSDMD($P=0.003$)(图 3C~E)。减少的 cleaved-N-GSDMD 水平低于 AD 模型组,但差异无统计学意义($P=0.510$)。

2.4 CX3CL1 对 AD 小鼠 NLRP3 炎症小体及细胞焦亡的抑制作用

上述研究表明 CX3CL1 能够降低细胞内焦亡相关蛋白的表达水平,进一步研究将探讨 CX3CL1 对炎症小体和焦亡的影响。TUNEL 染色结果显示 AD 模型组与对照组相比凋亡细胞数量显著增加;然而与 AD 模型组相比,AD+CX3CL1 组显著减少了凋亡细胞的数量($P=0.001$ 、 $P=0.001$)(图 4)。使用蛋白质印迹法检查了 CX3CL1 对 NLRP3、炎症小体接头凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)和促炎症细胞因子 Caspase1、IL-1 β 和 IL-18 的影响。结果表明,AD 模型组 NLRP3、ASC、Caspase1、IL-1 β 、IL-18 蛋白表达水平显著升高($P=0.001$ 、 $P=0.001$ 、 $P=0.002$ 、 $P=0.005$ 、 $P=0.004$),并且 CX3CL1 显著逆转了这些效应($P=0.002$ 、 $P=0.013$ 、 $P=0.016$ 、 $P=0.040$ 、 $P=0.050$)(图 5)。

2.5 CX3CL1 对 AD 小鼠神经元活动和突触可塑性的改善作用

为了评估海马组织的神经损伤,进一步检测了 CX3CL1



注:a,与对照组比较, $P<0.001$;b:与对照组比较, $P<0.05$;c:与AD模型组比较, $P<0.001$

图1 CX3CL1对AD小鼠认知行为的改善作用

对AD小鼠神经元活动和突触可塑性的影响。尼氏染色结果显示,与AD模型组相比,AD模型组尼氏体数量显著减少,而CX3CL1显著增加尼氏体数量($P=0.001$, $P=0.001$) (图6)。使用蛋白质印迹和RT-PCR分析突触相关蛋白(包

括SNAP25、PSD95和VAMP1)的相对表达水平。免疫印迹结果表明,与对照组相比,AD模型组的SNAP25、PSD95和VAMP1表达水平显著降低($P=0.001$, $P=0.001$, $P=0.001$),并且这些改变被显著逆转CX3CL1处理($P=0.043$, $P=0.026$, $P=$

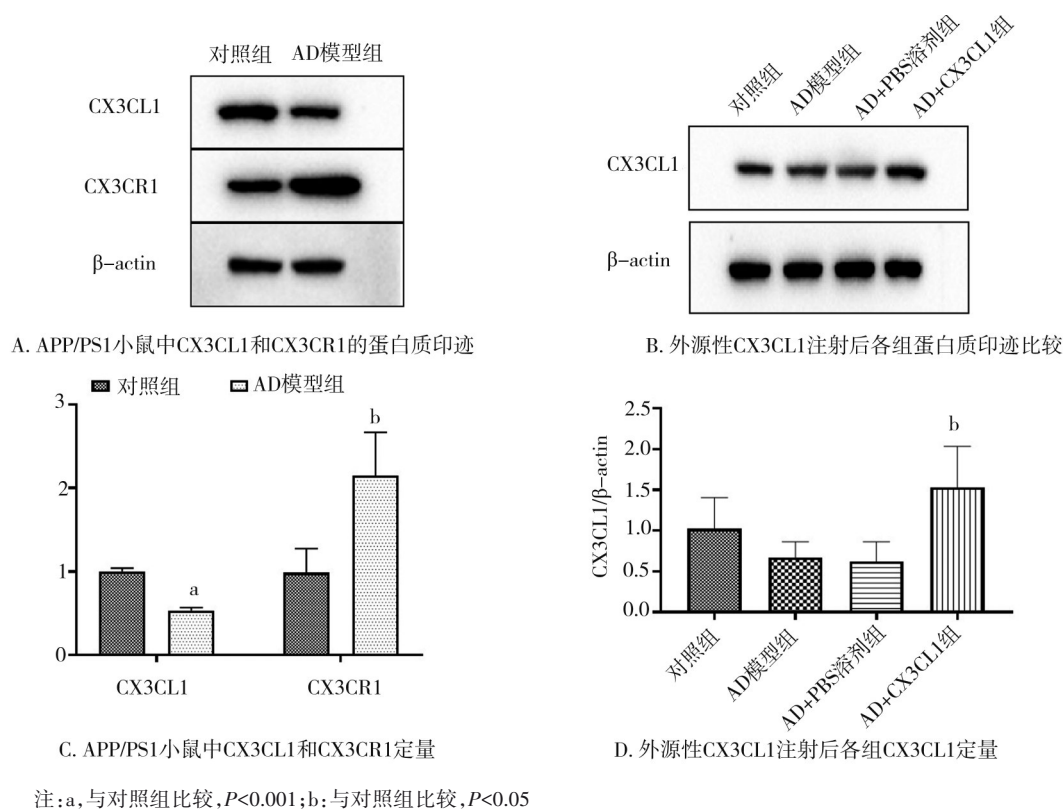


图2 注射CX3CL1后APP/PS1小鼠免疫印迹及CX3CL1和CX3CR1定量变化

0.003)(图7A~D)。这些结果也通过RT-PCR分析得到证实(图7E)。这些结果进一步证实了CX3CL1对AD小鼠的神经保护和突触保护作用

3 讨论

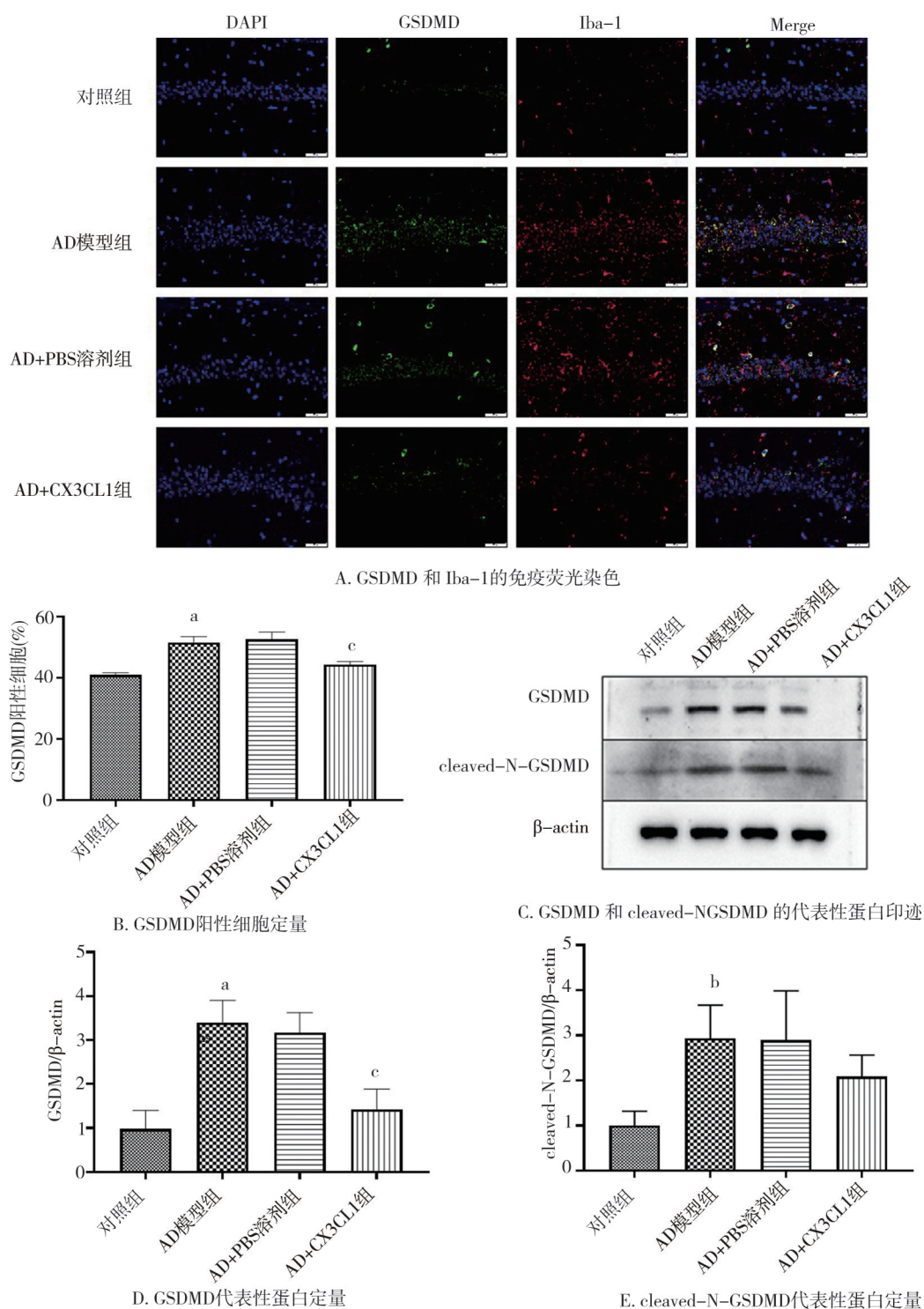
本研究观察到将外源性CX3CL1注射到AD小鼠中可以改善其神经元功能,并且CX3CL1可以通过调节AD小鼠的炎症因子来减少小胶质细胞的细胞焦亡。

过去的研究已经表明,AD作为一种神经退行性病变,炎症不仅是其表现之一,也是影响疾病进展的重要因素。其中小胶质细胞作为中枢神经系统中的免疫细胞,在AD神经炎症发展中起着关键作用,并且是炎症因子的主要来源,而趋化因子在炎症发生的过程中发挥着重要调节作用^[15]。CX3CL1是CX3C家族中唯一的成员,属于小分泌趋化因子,CX3CL1及其受体CX3CR1相互作用调节小胶质细胞活化,维持中枢神经系统稳定性^[16]。在AD发展过程中,CX3CL1/CX3CR1轴发生紊乱,导致CX3CL1表达减少,引发小胶质细胞过度炎症反应,

最终导致神经元功能损伤^[17]。

既往的研究发现,AD小鼠海马区CX3CL1表达水平显著降低,导致自主运动和认知能力受损,神经炎症反应增强^[18-19]。本项研究通过在APP/PS1小鼠中颅内注射CX3CL1,发现外源性CX3CL1能够显著增强CX3CL1的表达,进一步减少小胶质细胞脱落,抑制神经炎症反应,改善AD小鼠的认知障碍。因此,将外源性CX3CL1注入侧脑室可能有助于保护神经元免受AD损伤。

炎症小体是一种多蛋白复合物,由NLRP3、ASC和caspase1等组成^[20]。ASC蛋白是炎症体复合物中的衔接蛋白,在炎症体激活时积累并介导炎症和细胞焦亡的传播^[21]。本研究还发现外源性CX3CL1注射可使小鼠海马中NLRP3、ASC、Caspase 1、IL-1 β 和IL-18的表达显著下降。持续刺激后,ASC从细胞核转移到细胞质,并与NLRP3炎症小体结合,激活caspase-1^[22]。激活的caspase-1促进IL-1 β 和IL-18的释放,诱导更多炎症因子的产生,并引发炎症级联反应^[23]。反复的神经炎症反应导致细胞凋亡或细胞焦亡,最终导致AD。因此,外源性CX3CL1可以减少NLRP3炎症小体,从而减少细胞焦亡



注:a,与对照组比较, $P<0.001$;b:与对照组比较, $P<0.05$;c:与对照组比较, $P<0.01$

图3 外源性CX3CL1对AD小鼠GSDMD的作用

作用^[24]。

此外,GSDMD是一种关键的炎症细胞死亡效应分子,可被NLRP3炎症小体激活并在炎症反应中发挥重要作用^[25]。本研究发现,GSDMD和Iba1(小

胶质细胞标记物)的免疫荧光共染色显示外源性CX3CL1的给药显著减少了小胶质细胞的细胞焦亡。GSDMD蛋白表达在AD小鼠中上调,外源性CX3CL1的给药显著抑制GSDMD表达。

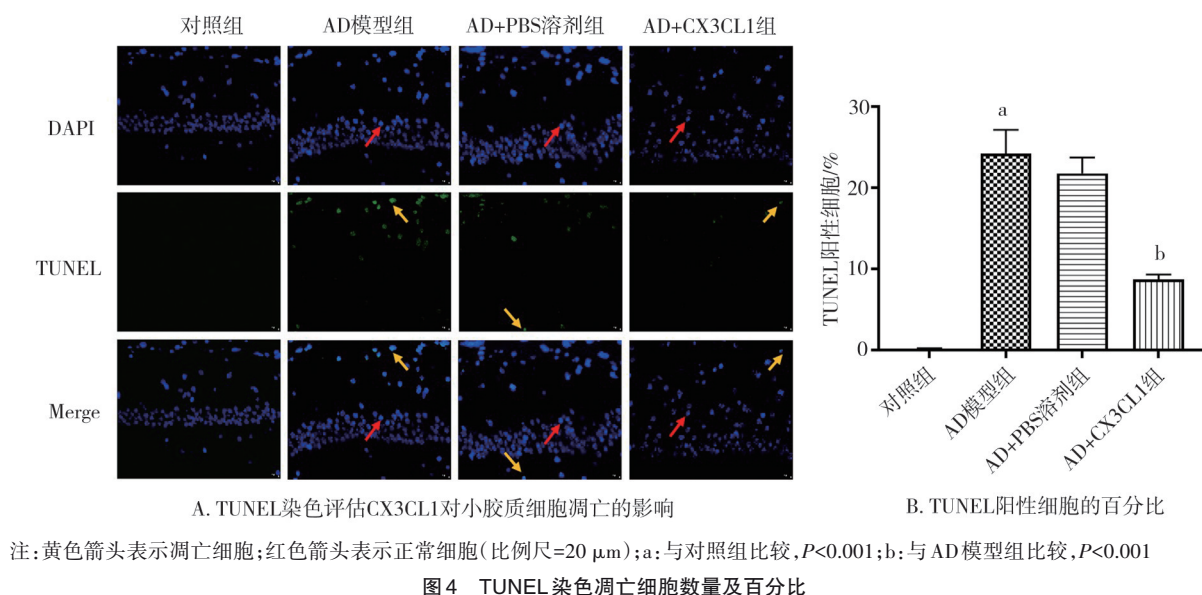
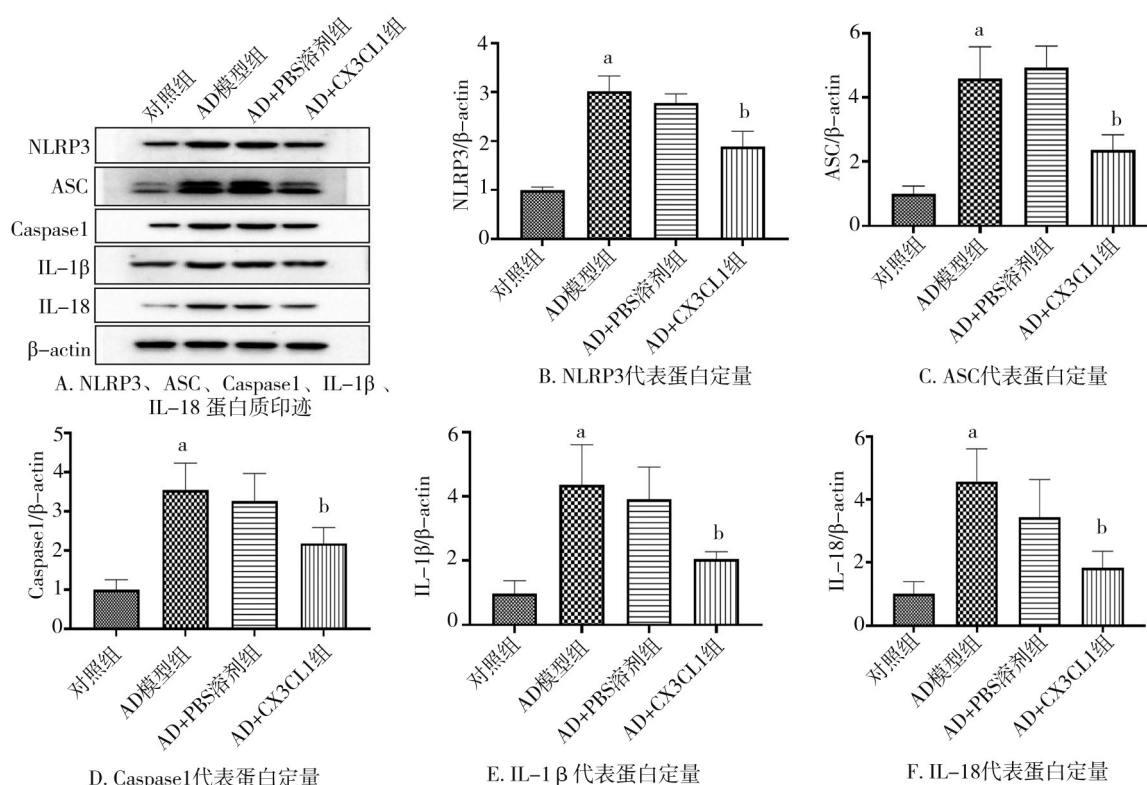


图4 TUNEL染色凋亡细胞数量及百分比

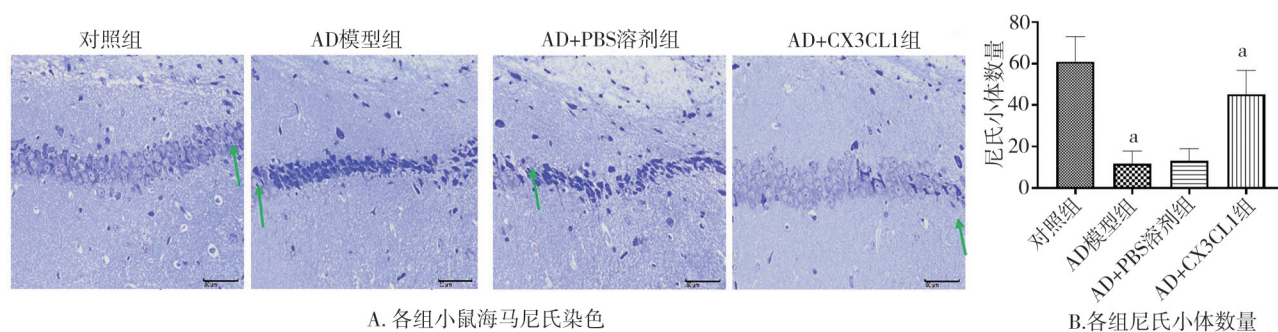


注:a,与对照组比较, $P<0.01$;b:与AD模型组比较, $P<0.05$

图5 NLRP3及其他炎症小体免疫印迹及定量

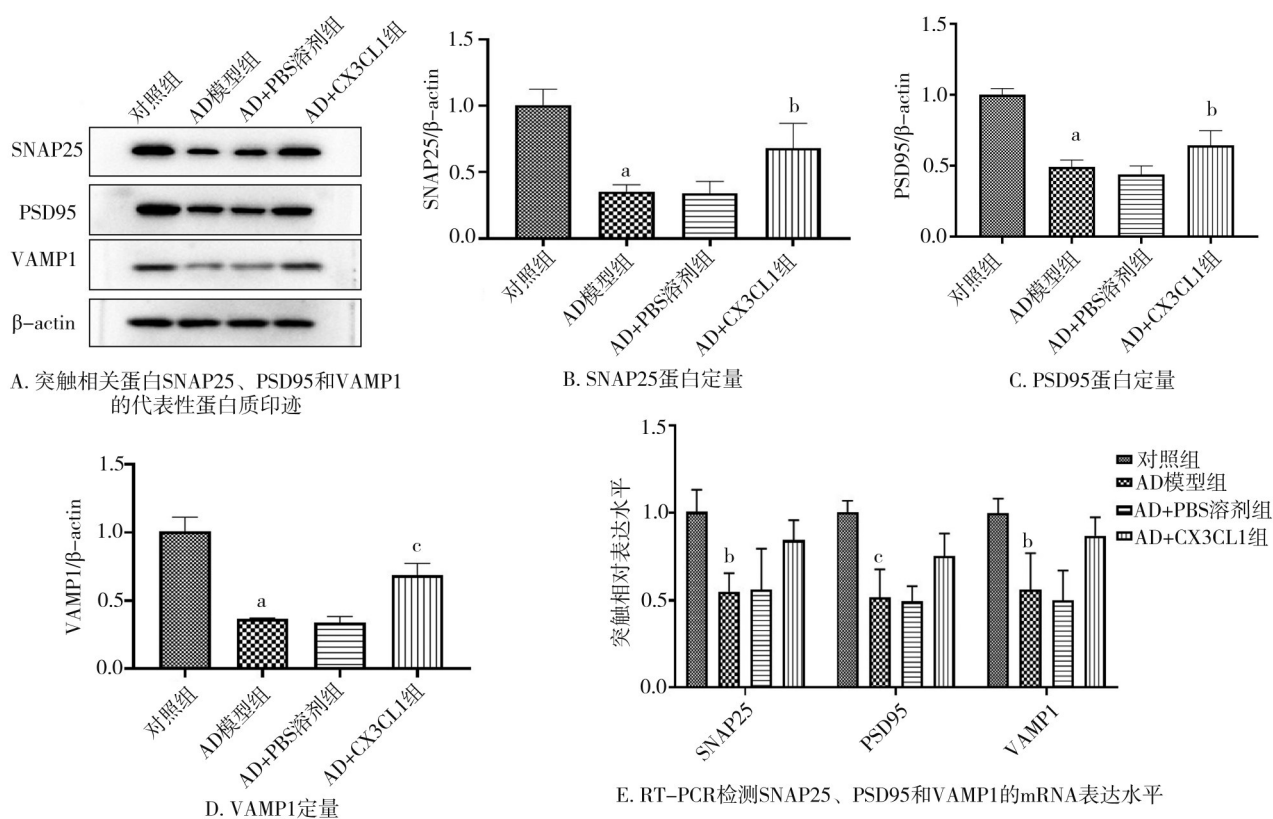
本项研究结果还显示外源性 CX3CL1 注射对 AD 小鼠的神经元活动和突触可塑性具有积极的影响。突触是神经元之间进行信息传递的关键连接点,突触可塑性是神经系统适应环境变化和学习记忆的基础^[26]。在 AD 中,由于神经炎症和 A β 蛋白的

沉积,突触可塑性受到削弱,导致认知功能下降^[26]。通过和 PBS 溶剂组和 AD 模型组的对比发现,外源性 CX3CL1 注射能够显著增加突触相关蛋白的表达,如 SNAP25、PSD95 和 VAMP1 的表达。这些蛋白负责突触的形成、稳定和函数调节,它们的增



注: 尼氏体显示为深蓝色, 绿色箭头代表幸存的神经元, 比例尺=50微米; a, 与对照组比较, $P<0.001$

图6 各组小鼠海马尼氏染色结果



注: a, 与对照组比较, $P<0.001$; b, 与对照组比较, $P<0.05$; c, 与对照组比较, $P<0.01$

图7 各组小鼠 SNAP25、PSD95 和 VAMP1 蛋白表达及定量

加表明外源性 CX3CL1 可能促进了突触的发育和恢复^[27]。

最后, 尼氏小体是神经元细胞核内的一种特殊酸性染色物质, 其减少被认为与 AD 的病理变化密切相关。在本项研究中, AD 模型组的尼氏小体数量明显减少, 而 CX3CL1 可以导致尼氏小体数量的增加。这表明 CX3CL1 可能在调节神经元核内酸性染色物质的表达和积累中发挥着重要的作用。AD

模型中, 神经元的丧失是疾病进展的一个重要特征, 而外源性 CX3CL1 注射能够保护神经元免受氧化应激、炎症损伤和其他致命因子的影响^[28]。这种保护效应有助于维持神经元的健康状态, 从而改善了 AD 小鼠的神经元活动和突触可塑性。

综上所述, 本研究发现外源性 CX3CL1 注射能够通过调节炎症因子和减少细胞焦亡来改善 AD 小鼠的神经元功能, 保护神经元免受损伤, 提供了一

种潜在的治疗策略来缓解阿尔茨海默病的发展。今后需要进一步研究来验证其在临床应用中的安全性和疗效。

本研究存在一些局限性,本研究仅研究了 CX3CL1 在体内对 NLRP3 炎性小体的调节作用,需要更多研究来进一步阐明 CX3CL1 在 AD 病理机制和相关信号通路中的作用。另外,本研究主要通过颅内给药,全身给药 CX3CL1 是否能够改善 AD 还有待研究。

参 考 文 献

- [1] Walsh S, Merrick R, Richard E, et al. Lecanemab for Alzheimer's disease[J]. BMJ, 2022, 379: 3010.
- [2] Fan LY, Mao CY, Hu XC, et al. New insights into the pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. Front Neurol, 2020, 10: 1312.
- [3] Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, et al. Alzheimer's disease[J]. Lancet, 2021, 397(10284): 1577–1590.
- [4] Antignano I, Liu YX, Offermann N, et al. Aging microglia[J]. Cell Mol Life Sci, 2023, 80(5): 126.
- [5] Zhang S, Liu FB, Li JM, et al. A 4.7-kDa polysaccharide from *Panax ginseng* suppresses A β pathology via mitophagy activation in cross-species Alzheimer's disease models[J]. Biomedicine Pharmacother, 2023, 167: 115442.
- [6] Subbarayan MS, Joly-Amado A, Bickford PC, et al. CX3CL1/CX3CR1 signaling targets for the treatment of neurodegenerative diseases[J]. Pharmacol Ther, 2022, 231: 107989.
- [7] Mecca C, Giambanco I, Donato R, et al. Microglia and aging: the role of the TREM2-DAP12 and CX3CL1-CX3CR1 axes[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(1): 318.
- [8] Zhang JJ, Liu YF, Liu XY, et al. Dynamic changes of CX3CL1/CX3CR1 axis during microglial activation and motor neuron loss in the spinal cord of ALS mouse model[J]. Transl Neurodegener, 2018, 7: 35.
- [9] Ge YY, Wang L, Wang CC, et al. CX3CL1 inhibits NLRP3 inflammasome-induced microglial pyroptosis and improves neuronal function in mice with experimentally-induced ischemic stroke[J]. Life Sci, 2022, 300: 120564.
- [10] Perea JR, Lleó A, Alcolea D, et al. Decreased CX3CL1 levels in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease[J]. Front Neurosci, 2018, 12: 609.
- [11] Bolós M, Llorens-Martín M, Perea JR, et al. Absence of CX3CR1 impairs the internalization of tau by microglia[J]. Mol Neurodegener, 2017, 12(1): 59.
- [12] Lénárt N, Brough D, Dénes Á. Inflammasomes link vascular disease with neuroinflammation and brain disorders[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2016, 36(10): 1668–1685.
- [13] Lin JW, Cheng A, Cheng K, et al. New insights into the mechanisms of pyroptosis and implications for diabetic kidney disease[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(19): 7057.
- [14] Spangenberg EE, Green KN. Inflammation in Alzheimer's disease: lessons learned from microglia-depletion models[J]. Brain Behav Immun, 2017, 61: 1–11.
- [15] Dong YF, Yong VW. Aging microglia: old friends greet new enemies[J]. Aging, 2022, 14(18): 7190–7192.
- [16] Korbecki J, Simińska D, Kojder K, et al. Fractalkine/CX3CL1 in neoplastic processes[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(10): 3723.
- [17] Lauro C, Chece G, Monaco L, et al. Fractalkine modulates microglia metabolism in brain ischemia[J]. Front Cell Neurosci, 2019, 13: 414.
- [18] Robinson N, Ganesan R, Hegedűs C, et al. Programmed necrotic cell death of macrophages: focus on pyroptosis, necroptosis, and parthanatos[J]. Redox Biol, 2019, 26: 101239.
- [19] Zhang YY, Chen X, Gueydan C, et al. Plasma membrane changes during programmed cell deaths[J]. Cell Res, 2018, 28(1): 9–21.
- [20] Paerewijck O, Lamkanfi M. The human inflammasomes[J]. Mol Aspects Med, 2022, 88: 101100.
- [21] Wu PJ, Hung YF, Liu HY, et al. Deletion of the inflammasome sensor Aim2 mitigates A β deposition and microglial activation but increases inflammatory cytokine expression in an Alzheimer disease mouse model[J]. Neuroimmunomodulation, 2017, 24(1): 29–39.
- [22] Liu ZH, Wang CP, Rathkey JK, et al. Structures of the gasdermin D C-terminal domains reveal mechanisms of autoinhibition[J]. Structure, 2018, 26(5): 778–784.
- [23] Leu WJ, Chen JC, Guh JH. Extract from *Plectranthus amboinicus* inhibit maturation and release of interleukin 1 β through inhibition of NF- κ B nuclear translocation and NLRP3 inflammasome activation[J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 573.
- [24] Mangan MSJ, Olhava EJ, Roush WR, et al. Targeting the NLRP3 inflammasome in inflammatory diseases[J]. Nat Rev Drug Discov, 2018, 17(9): 688.
- [25] Cao RP, Fang D, Wang JH, et al. ALDH2 overexpression alleviates high glucose-induced cardiotoxicity by inhibiting NLRP3 inflammasome activation[J]. J Diabetes Res, 2019, 2019: 4857921.
- [26] Rajendran L, Paolicelli RC. Microglia-mediated synapse loss in Alzheimer's disease[J]. J Neurosci, 2018, 38(12): 2911–2919.
- [27] Li P, He YF, Yang Q, et al. NEK7 inhibition attenuates A β ₄₂-induced cognitive impairment by regulating TLR4/NF- κ B and the NLRP3 inflammasome in mice[J]. J Clin Biochem Nutr, 2023, 73(2): 145–153.
- [28] Zhang PF, Hu H, Tan L, et al. Microglia biomarkers in Alzheimer's disease[J]. Mol Neurobiol, 2021, 58(7): 3388–3404.

(责任编辑:曾 玲)