

丙酮酸乙酯调控 TXNIP/NLRP3/Caspase-1 通路对缺氧缺血新生大鼠海马神经元焦亡的影响

申慧英¹, 郝月梅¹, 李晓静¹, 乔素兰¹, 王光祖¹, 郑连红², 王琮民^{2, 3}, 布兰娜^{1*}

1. 邯郸市妇幼保健院&邯郸市儿童医院 新生儿科, 河北 邯郸 056000

2. 河北工程大学附属医院 神经内科, 河北 邯郸 056000

3. 河北工程大学 医学院, 河北 邯郸 056038

摘要: 目的 探究丙酮酸乙酯 (EP) 调控硫氧还蛋白结合蛋白 (TXNIP)/核苷酸结合域样受体蛋白3 (NLRP3)/半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1 (Caspase-1) 通路对缺氧缺血性脑损伤 (HIBI) 新生大鼠海马神经元焦亡的影响。方法 将SD大鼠随机分为假手术组, 模型组, 尼莫地平 ($8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组, EP低、高剂量 (1.5 、 $3.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组, EP ($3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) + 白藜芦醇 (Res, $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, TXNIP 抑制剂) 组。通过左颈总动脉结扎及缺氧处理构建 HIBI 大鼠模型, 于造模 24 h 后开始 ip 给药, 每天 1 次, 连续 2 周。采用 Longa 评分对各组大鼠神经功能损伤进行评估; ELISA 法检测大鼠海马组织白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-18 (IL-18) 含量; 透射电子显微镜下观察大鼠海马超微结构; HE 染色观察海马组织病理学情况; TUNEL 染色观察海马神经元凋亡; Western blotting 检测海马组织中 TXNIP/NLRP3/Caspase-1 通路相关蛋白表达。结果 与假手术组比较, 模型组 Longa 评分、海马组织 IL-1 β 和 IL-18 水平、神经元凋亡指数 (AI)、以及 TXNIP、NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白 (ASC)、cleaved Caspase-1 蛋白表达水平显著增加 ($P < 0.05$), 神经元损伤、海马组织病理学程度明显增加; 与模型组比较, 尼莫地平组和 EP 低、高剂量组 Longa 评分、IL-1 β 和 IL-18 水平、神经元 AI 以及 TXNIP、NLRP3、ASC、cleaved Caspase-1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$), 神经元损伤、海马组织病理学程度明显改善; 与 EP 高剂量组比较, EP + Res 组 Longa 评分、IL-1 β 和 IL-18 水平、神经元 AI 以及 TXNIP、NLRP3、ASC、cleaved Caspase-1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$), 神经元损伤、海马组织病理学程度改善更明显。结论 EP 可能通过抑制 TXNIP/NLRP3/Caspase-1 通路来减轻 HIBI 新生大鼠海马神经元焦亡。

关键词: 丙酮酸乙酯; 缺氧缺血性脑损伤; 硫氧还蛋白结合蛋白; 核苷酸结合域样受体蛋白3; 半胱氨酸天冬氨酸酶-1

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2022) 10-2024-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.10.012

Effect of ethyl pyruvate on pyrolysis of hippocampal neurons in neonatal rats with hypoxia-ischemia by regulating TXNIP/NLRP3/Caspase-1 pathway

SHEN Huiying¹, HAO Yuemei¹, LI Xiaojing¹, QIAO Sulan¹, WANG Guangzu¹, ZHENG Lianhong², WANG Congmin^{2, 3}, BU Lanna¹

1. Department of Neonatology, Handan Maternal and Child Health Hospital & Handan Children's Hospital, Handan 056000, China

2. Department of Neurology, Affiliated Hospital of Hebei University of Engineering, Handan 056000, China

3. School of medicine, Hebei University of Engineering, Handan 056038, China

Abstract: Objective To explore the effect of ethyl pyruvate (EP) on hippocampal neuronal pyrolysis in neonatal hypoxic-ischemic rats by regulating the thioredoxin-interacting protein (TXNIP)/nucleotide-binding domain-like receptor 3 (NLRP3)/cysteine aspartate proteinase-1 (Caspase-1) pathway. **Methods** SD rats were randomly divided into sham-operation group, model group, nimodipine ($8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), EP-L ($1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) group, EP-H ($3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) group, EP-H ($3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) + Res ($30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, TXNIP inhibitor Res) group, with 15 rats in each group. HIBI rat model was constructed by ligation of the left common carotid artery and hypoxia treatment.

收稿日期: 2022-04-06

基金项目: 河北省科技计划项目 (17277714D)

第一作者: 申慧英 (1980—), 女, 本科, 主治医师, 主要从事新生儿科工作。Tel: 15037031217 E-mail: yde569@163.com

*通信作者: 布兰娜 (1976—), 女, 本科, 副主任医师, 主要从事新生儿科工作。Tel: 13931063518

Rats were ip with corresponding doses once a day for two consecutive weeks after 24 hours of modeling. Longa score was used to evaluate the neurological damage of rats in each group. ELISA was used to detect the levels of interleukin 1 β (IL-1 β) and interleukin 18 (IL-18) in the hippocampus of rats. A transmission electron microscope was used to observe the ultrastructure of rat hippocampus. HE staining was used to observe the pathology of hippocampus. TUNEL staining was used to observe the apoptosis of hippocampal neurons. Western blotting was used to detect the expression of TXNIP/NLRP3/Caspase-1 pathway related proteins in hippocampus. **Results** Compared with the sham operation group, the nerve function damage scores, hippocampal IL-1 β and IL-18 levels, neuron damage, hippocampal histopathology, neuronal apoptosis index (AI), TXNIP, NLRP3, apoptosis-related speck-like protein (ASC) and cleaved Caspase-1 protein expression levels increased significantly in model group ($P < 0.05$). Compared model group, the nerve function damage scores, IL-1 β and IL-18 levels, neuron damage, hippocampal histopathology, neuronal AI, TXNIP, NLRP3, ASC and cleaved Caspase-1 protein expression levels decreased significantly in the nimodipine group, EP-L group, EP-H group ($P < 0.05$). Compared with EP-H group, the nerve function damage scores, IL-1 β and IL-18 levels, neuron damage, hippocampal histopathology, neuronal AI, TXNIP, NLRP3, ASC and cleaved Caspase-1 protein expression levels decreased significantly in the EP-H+Res group ($P < 0.05$). **Conclusion** EP may inhibit the TXNIP/NLRP3/Caspase-1 pathway to reduce the pyrolysis of hippocampal neurons in neonatal rats with HIBI.

Key words: ethyl pyruvate; hypoxic-ischemic brain injury; thioredoxin-interacting protein; nucleotide-binding domain-like receptor 3; cysteine aspartate proteinase-1

缺氧缺血性脑损伤(hypoxic-ischemic brain injury, HIBI)是新生儿围产期常见的一种疾病,可造成新生儿认知功能障碍、脑瘫等神经系统后遗症,甚至引起急性死亡的发生^[1-2]。低温治疗是新生儿 HIBI 治疗的主要手段,但具有神经保护不完全等缺点^[3]。在病理学上,细胞焦亡作为一种促炎程序性细胞死亡,参与 HIBI 的发生^[3-4]。详细了解 HIBI 神经细胞焦亡的发生及治疗机制有助于 HIBI 治疗新方法的开发。硫氧还蛋白结合蛋白(TXNIP)/NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NLRP3)/半胱氨酸天冬氨酸酶-1(Caspase-1)是一个重要的细胞焦亡通路,有研究表明, TXNIP/NLRP3/Caspase-1 通路在 HIBI 新生大鼠脑组织中被显著激活,抑制该通路可降低炎症反应,改善脑损伤^[5-6]。丙酮酸乙酯(ethyl pyruvate, EP)作为丙酮酸的稳定酯形式,在各种炎症性疾病中发挥有益作用,多项研究证实, EP 能够缓解 HIBI 大鼠神经元凋亡,具有脑保护作用^[7-8]。EP 可通过抑制 TXNIP/NLRP3/Caspase-1 通路来改善缺血再灌注心肌损伤^[8],但关于 EP 调控该通路对 HIBI 的影响还未见报道。因此本研究通过探究 EP 调控 TXNIP/NLRP3/Caspase-1 通路对 HIBI 新生大鼠海马神经元焦亡的影响,为 HIBI 治疗新方法的开发提供依据。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 SD 新生大鼠 90 只, 出生 6 d, 体重(13.2 $\pm$ 1.5)g, 购自上海交通大学, 实验动物生产许可证号 SCXK(沪)2018-0007, 于清洁、透气环境中适应性饲养 7 d(温度 24~26 $^{\circ}\text{C}$, 12 h 昼夜交替)。

本研究经邯郸市妇幼保健院动物伦理委员会批准实施(伦理编号 HDFY2020057)。

1.2 主要试剂与仪器

EP(质量分数 98%, 购自 Sigma-Aldrich 公司, 货号 617-35-6); 白藜芦醇(Res, 北京康瑞纳生物科技有限公司, 货号 A2845); HE 染色试剂盒(上海瑞楚生物科技有限公司, 货号 R100458); TUNEL 细胞检测试剂盒(杭州囊萤科技有限公司, 货号 G001-1-2); BCA 试剂盒(上海齐源生物科技有限公司, 货号 701780-480); 兔抗 cleaved Caspase-1、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、TXNIP、 β -actin、NLRP3 抗体、anti-rabbit IgG, HRP-linked antibody (Cell Signaling Technology, 货号分别为 4199、67824、14715、4970、15101、7074); 白细胞介素-18(IL-18)、白细胞介素 1 β (IL-1 β)试剂盒[本生(天津)健康科技有限公司, 货号 A-3070、BS-2923]; GE 凝胶成像仪(苏州艾比拓生物技术有限公司); 透射电子显微镜(深圳市研盟科技有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组与 HIBI 模型构建

将 SD 大鼠(90 只)随机分为假手术组, 模型组, 尼莫地平(8 mg $\cdot$ kg $^{-1}$)组^[9], EP 低、高剂量(1.5、3.0 mg $\cdot$ kg $^{-1}$)组^[7], EP(3 mg $\cdot$ kg $^{-1}$) + Res(30 mg $\cdot$ kg $^{-1}$, TXNIP 抑制剂)组^[10], 每组 15 只。HIBI 模型的建立: 水合氯醛麻醉大鼠, 暴露左颈总动脉, 于近远端双结扎, 并剪断左颈总动脉, 缝合伤口后 2 h 将大鼠放入 8% 氧浓度的缺氧箱中进行 1 h 缺氧, 若 Longa 评分为 1~3 即表示造模成功, 造模成功率 100%; 假手术组大鼠仅暴露左颈总动脉, 不进行

结扎及缺氧处理^[11]。于造模24 h后开始ip给药,每天1次,连续2周。假手术组和模型组ip等量生理盐水。

2.2 Longa评分评估大鼠神经功能损伤^[11]

给药结束后分别对各组大鼠进行Longa评分。0分:无神经功能缺损;1分:大鼠前肢不能完全伸展;2分:爬行时大鼠向偏瘫一侧旋转;3分:行走时大鼠向对侧倾倒;4分:大鼠无法自发性活动。

2.3 ELISA法检测大鼠海马组织上清液IL-1 β 及IL-18水平

给药结束24 h后随机选取5只大鼠,进行颈椎脱臼处死,取脑并分离海马组织,匀浆后一部分经12 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清,使用ELISA试剂盒测定海马组织中IL-18、IL-1 β 水平,另一部分海马组织用于Western blotting实验。

2.4 透射电子显微镜下观察大鼠海马超微结构

再次选取5只大鼠取脑,于戊二醛(2.5%)中处理后用锇酸(1%)固定,经乙醇脱水后环氧树脂包埋、切片,使用乙酸双氧铀及硝酸铅双重染色后于透射电子显微镜下观察、拍照($\times 30\,000$)。

2.5 HE染色

取剩余5只大鼠海马组织,多聚甲醛固定后依次经乙醇脱水及二甲苯透明,石蜡包埋、切片(4 μ m),一部分通过HE染色试剂盒进行染色、封片后显微镜下观察,另一部分切片进行后续TUNEL染色。

2.6 TUNEL染色

将“2.5”项所得切片进行烘干,置于TUNEL反应液中孵育(1 h),DAB显色后使用苏木精复染,经脱水后封片,光镜下观察并进行拍照,阳性染色细胞为棕褐色,Image ProPlus 6.0系统进行细胞计数,计算神经元凋亡指数(AI)。

AI=凋亡细胞数/总细胞数

2.7 Western blotting检测海马组织中TXNIP/NLRP3/Caspase-1通路相关蛋白表达

取“2.3”项所得海马组织匀浆液,加入裂解液进行裂解后离心取上清,BCA法定量蛋白,调整蛋白浓度后加热变性,以每孔40 μ g进行SDS-PAGE凝胶(10%)电泳分离蛋白,转至硝酸纤维素膜后牛血清白蛋白(5%)封闭1 h,兔抗NLRP3、cleaved Caspase-1、 β -actin、TXNIP抗体(按1:1 000稀释)孵育过夜,次日二抗孵育(2 h),ECL发光试剂显影后凝胶成像仪观察,Quantity One分析灰度值,计算TXNIP、NLRP3、ASC、cleaved Caspase-1表达水平。

2.8 统计学方法

SPSS 22.0分析数据,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,ONE-WAY ANOVA分析进行多组间比较,SNK-*q*检验进行2组间进一步比较。

3 结果

3.1 EP对各组大鼠Longa评分的影响

与假手术组比较,模型组Longa评分显著增加($P < 0.05$);与模型组比较,尼莫地平组和EP低、高剂量组Longa评分显著降低($P < 0.05$);与EP高剂量组比较,EP+Res组Longa评分显著降低($P < 0.05$)。见表1。

3.2 EP对大鼠海马组织IL-1 β 、IL-18水平的影响

如表2所示,与假手术组比较,模型组IL-1 β 、IL-18水平显著增加($P < 0.05$);与模型组比较,尼莫地平组和EP低、高剂量组IL-1 β 、IL-18水平显著降低($P < 0.05$);与EP高剂量组比较,EP+Res组

表1 EP对大鼠神经功能损伤评分的影响($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Longa评分
假手术	—	0.00 $\pm$ 0.00
模型	—	2.46 $\pm$ 0.45*
尼莫地平	8.0	0.33 $\pm$ 0.06 [#]
EP	1.5	1.70 $\pm$ 0.20 [#]
	3.0	0.79 $\pm$ 0.08 [#]
EP+Res	3.0+30.0	0.43 $\pm$ 0.04 ^{#Δ}

与假手术组比较: * $P < 0.05$;与模型组比较: [#] $P < 0.05$;与EP高剂量组比较: $\Delta P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs sham-operation group; [#] $P < 0.05$ vs model group; $\Delta P < 0.05$ vs EP high dose group

表2 EP对大鼠海马组织IL-1 β 、IL-18水平的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	IL-1 β /(pg·mL ⁻¹)	IL-18/(pg·mL ⁻¹)
假手术	—	22.33 $\pm$ 4.38	20.75 $\pm$ 5.37
模型	—	132.85 $\pm$ 13.67*	116.88 $\pm$ 12.53*
尼莫地平	8.0	30.20 $\pm$ 5.24 [#]	40.78 $\pm$ 5.20 [#]
EP	1.5	89.35 $\pm$ 8.66 [#]	80.54 $\pm$ 6.42 [#]
	3.0	48.09 $\pm$ 6.12 [#]	55.66 $\pm$ 4.63 [#]
EP+Res	3.0+30.0	32.53 $\pm$ 4.21 ^{#Δ}	41.57 $\pm$ 4.48 ^{#Δ}

与假手术组比较: * $P < 0.05$;与模型组比较: [#] $P < 0.05$;与EP高剂量组比较: $\Delta P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs sham-operation group; [#] $P < 0.05$ vs model group; $\Delta P < 0.05$ vs EP high dose group

IL-1 β 、IL-18水平显著降低($P<0.05$)。

3.3 大鼠海马组织超微结构观察

假手术组大鼠神经元结构完整、细胞核呈椭圆且核膜完整、染色质分布均匀,存在大量线粒体,细胞器结构正常;模型组神经元内质网肿胀、线粒体

嵴断裂,各种细胞器数量减少,细胞核不规则,轴突神经纤维溶解、断裂;与模型组比较,尼莫地平组和EP低、高剂量组线粒体等细胞器损伤减轻、数量增加,核质分布较为均匀,核膜较为完整;与EP高剂量组比较,EP+Res组上述损伤症状进一步改善。结果见图1。

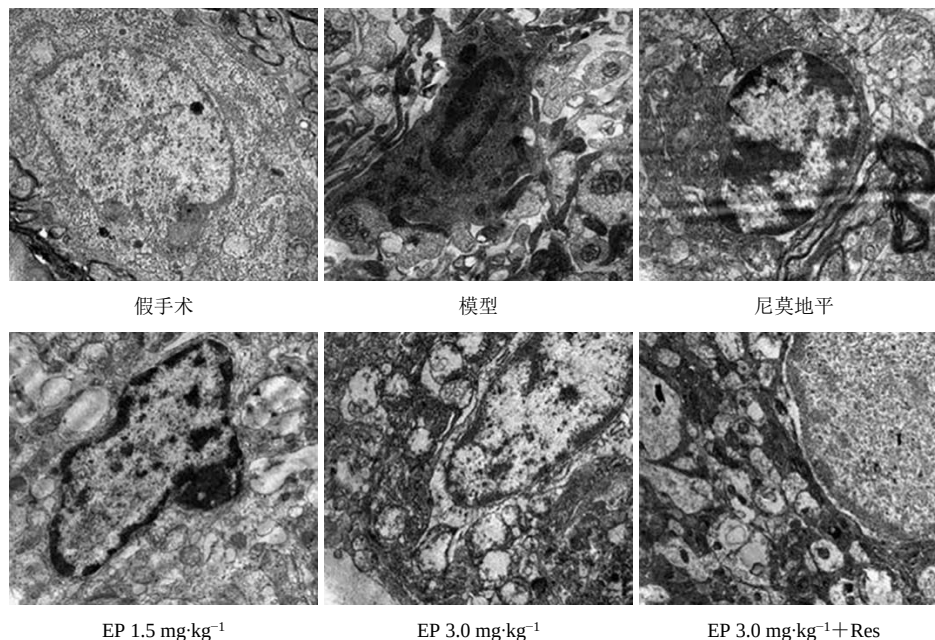


图1 大鼠海马组织超微结构观察($\times 30\ 000$)

Fig. 1 Ultrastructural observation of rat hippocampus ($\times 30\ 000$)

3.4 大鼠海马组织病理学观察

假手术组大鼠海马组织神经元胞膜完整,细胞核大且饱满,核膜核仁正常且清晰可见;模型组神经元丢失、排列散乱、间隙增加,核皱缩,水肿坏死明显,存在空泡;与模型组比较,尼莫地平组和EP低、高剂量组神经元丢失减少、结构改善,核皱缩、水肿坏死现象存在不同程度减轻;与EP高剂量组比较,EP+Res组病理程度进一步减轻。见图2。

3.5 EP对海马神经元凋亡的影响

与假手术组比较,模型组海马神经元AI显著增加($P<0.05$);与模型组比较,尼莫地平组和EP低、高剂量组AI显著降低($P<0.05$);与EP高剂量组比较,EP+Res组AI显著降低($P<0.05$)。结果见图3、表3。

3.6 EP对大鼠海马组织TXNIP/NLRP3/Caspase-1通路相关蛋白表达的影响

与假手术组比较,模型组TXNIP、NLRP3、ASC、cleaved Caspase-1水平显著增加($P<0.05$);与模型组比较,尼莫地平组和EP低、高剂量组TXNIP、NLRP3、ASC、cleaved Caspase-1水平显著降低($P<0.05$);与EP高剂量组比较,EP+Res组

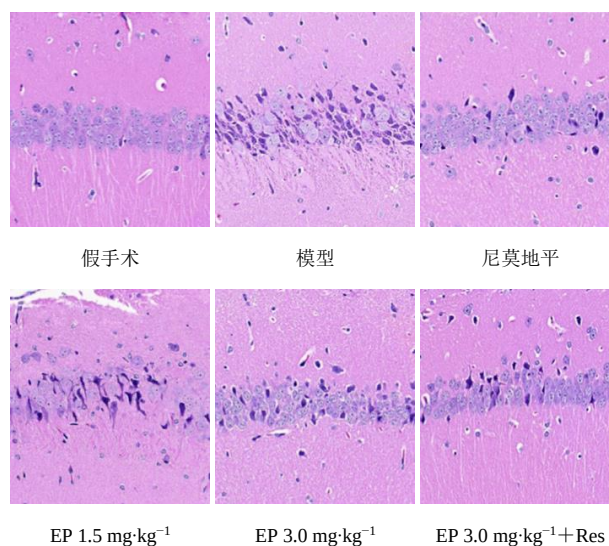


图2 海马组织病理学结果($\times 200$)

Fig. 2 Histopathological results of hippocampus ($\times 200$)

TXNIP、NLRP3、ASC、cleaved Caspase-1水平显著降低($P<0.05$),见图4和表4。

4 讨论

HIBI是一种导致围产期新生儿脑损伤的破坏性疾病,可造成认知障碍、脑瘫、癫痫、智力低下等长期神经系统后遗症,尽管HIBI的治疗取得了极大

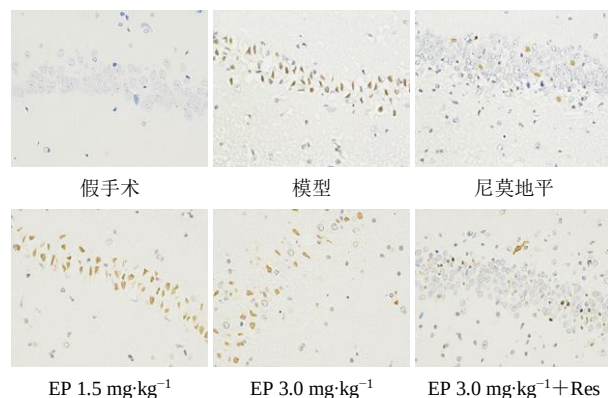


图3 EP对大鼠海马神经元凋亡的影响($\times 200$)
Fig. 3 Effect of EP on apoptosis of hippocampal neurons in rats ($\times 200$)

表3 EP对大鼠海马神经元凋亡的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)
Table 3 Effect of EP on apoptosis of hippocampal neurons in rats ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	剂量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	AI/%
假手术	—	2.30 $\pm$ 0.31
模型	—	42.05 $\pm$ 10.11*
尼莫地平	8.0	8.76 $\pm$ 1.20 [#]
EP	1.5	30.01 $\pm$ 4.38 [#]
	3.0	19.92 $\pm$ 3.10 [#]
EP+Res	3.0+30.0	10.13 $\pm$ 2.75 ^{#△}

与假手术组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与EP高剂量组比较: $\triangle P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs sham-operation group; [#] $P < 0.05$ vs model group; $\triangle P < 0.05$ vs EP high dose group

表4 EP对大鼠海马组织TXNIP/NLRP3/Caspase-1通路相关蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 4 Effect of EP on expression of TXNIP/NLRP3/Caspase-1 pathway related proteins in rat hippocampus ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	剂量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	TXNIP/ β -actin	NLRP3/ β -actin	ASC/ β -actin	cleaved Caspase-1/ β -actin
假手术	—	0.30 $\pm$ 0.03	0.45 $\pm$ 0.05	0.57 $\pm$ 0.06	0.68 $\pm$ 0.06
模型	—	1.85 $\pm$ 0.24*	1.73 $\pm$ 0.23*	1.96 $\pm$ 0.32*	1.64 $\pm$ 0.20*
尼莫地平	8.0	0.38 $\pm$ 0.05 [#]	0.54 $\pm$ 0.07 [#]	0.63 $\pm$ 0.08 [#]	0.70 $\pm$ 0.09 [#]
EP	1.5	1.31 $\pm$ 0.15 [#]	1.22 $\pm$ 0.14 [#]	1.42 $\pm$ 0.10 [#]	1.18 $\pm$ 0.10 [#]
	3.0	0.89 $\pm$ 0.06 [#]	0.78 $\pm$ 0.07 [#]	1.02 $\pm$ 0.09 [#]	0.90 $\pm$ 0.07 [#]
EP+Res	3.0+30.0	0.43 $\pm$ 0.04 ^{#△}	0.57 $\pm$ 0.05 ^{#△}	0.80 $\pm$ 0.05 ^{#△}	0.72 $\pm$ 0.06 ^{#△}

与假手术组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与EP高剂量组比较: $\triangle P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs sham-operation group; [#] $P < 0.05$ vs model group; $\triangle P < 0.05$ vs EP high dose group

症及内毒素血症^[14]。本研究发现,EP能够显著降低HIBI新生大鼠神经功能损伤评分、IL-1 β 及IL-18水平、神经元损伤、海马组织病理学程度、神经元AI,结果表明,EP能够有效抑制HIBI新生大鼠海马组织炎症反应及神经损伤,从而起到神经保护的作用,与前人研究结果相一致^[7],提示EP有作为HIBI

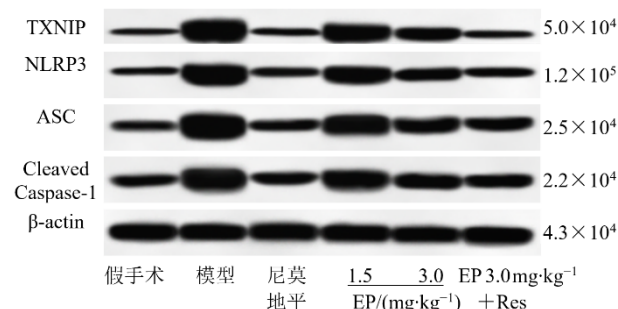


图4 EP对大鼠海马组织TXNIP/NLRP3/Caspase-1通路相关蛋白表达的影响
Fig. 4 Effect of EP on expression of TXNIP/NLRP3/Caspase-1 pathway related proteins in rat hippocampus

进步,但仍需探寻更加有效的治疗方法及药物^[12]。神经元细胞焦亡作为炎症相关程序性死亡形式,是神经损伤的一个重要原因,因此有效抑制神经元细胞焦亡可为新生儿HIBI的治疗指明新的方向^[12]。

EP是一种稳定的丙酮酸亲脂性酯衍生物,具有清除氧自由基及抗氧化作用,已有研究表明其具有抑制炎症反应、抗神经元凋亡等作用,在HIBI神经损伤中具有保护作用^[7]。EP可通过激活磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路来抑制HIBI新生大鼠海马神经元凋亡,改善脑组织损伤^[7]。在氧糖剥夺(OGD)条件下新生大鼠原代皮层神经元和HIBI新生大鼠模型中,EP给药对未成熟神经元具有保护作用^[13]。EP可通过抑制脂多糖诱导的Caspase-11依赖的巨噬细胞焦亡来预防败血

治疗药物的潜能。

TXNIP/NLRP3/Caspase-1通路是一个重要的细胞焦亡途径,缺氧缺血会引起内质网应激,促进TXNIP激活并使其从胞核转位至细胞质,与NLRP3结合并使其受体激活,促使由NLRP3、ASC和前体Caspase-1组成的NLRP3炎症小体形成,从而进一

步刺激 caspase-1 活化,诱导 IL-1 β 与 IL-18 的成熟及释放,放大炎症反应,除此之外, Caspase-1 活化后会激活消皮素 D(GSDMD),促进细胞焦亡^[6-7,15-17]。研究表明, TXNIP/NLRP3/Caspase-1 通路参与新生大鼠 HIBI 的发生,抑制该通路可减轻海马组织炎症反应及神经元损伤^[18]。抑制 IRE1 α 表达可通过促进 miR-17-5p 表达来降低新生大鼠 HIBI 后 TXNIP/NLRP3 炎症小体的激活,从而抑制脑损伤^[6]。在心肌缺血再灌注损伤大鼠中, EP 通过抑制 TXNIP 及 NLRP3 表达来抑制心肌损伤^[8]。本研究发现, EP 能够显著降低 TXNIP、NLRP3、ASC、cleaved Caspase-1 表达水平,该结果表明, EP 能够有效抑制 HIBI 新生大鼠 TXNIP/NLRP3/Caspase-1 通路激活。本研究还发现,抑制 TXNIP 表达可进一步促进 EP 对 HIBI 新生大鼠炎症反应及神经细胞焦亡的抑制作用,该结果表明, EP 对 HIBI 新生大鼠海马神经细胞焦亡的抑制可能与其抑制 TXNIP/NLRP3/Caspase-1 通路激活有关。

本研究结果表明, EP 可能通过抑制 TXNIP/NLRP3/Caspase-1 通路激活来改善 HIBI 新生大鼠海马神经元焦亡,从而起到神经保护的作用,其对 HIBI 具有潜在治疗作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 朱杏,唐振,向希盈,等. Toll样受体4抑制剂对新生大鼠缺氧缺血后脑海马神经元及树突棘的影响[J]. 第三军医大学学报, 2020, 42(8): 815-821.
Zhu X, Tang Z, Xiang X Y, et al. Effects of Toll-like receptor 4 inhibitor on hypoxic-ischemic hippocampal neurons and dendritic spines in neonatal rats [J]. J Third Mil Med Univ, 2020, 42(8): 815-821.
- [2] 高静,赖名殷,秦玮珣,等. 针对宫内窘迫缺血缺氧脑损伤新生大鼠行为学及海马神经元自噬的影响[J]. 针刺研究, 2020, 45(4): 275-280, 324.
Gao J, Lai M Y, Qin W X, et al. Acupuncture improves locomotor activity and learning-memory ability by improving hippocampal cellular autophagy in rats with fetal intrauterine distress [J]. Acupunct Res, 2020, 45(4): 275-280, 324.
- [3] Tan L L, Jiang X L, Xu L X, et al. TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator alleviates hypoxia/ischemia-induced microglial pyroptosis and ischemic brain damage [J]. Neural Regen Res, 2021, 16(6): 1037-1043.
- [4] Lv Y, Sun B, Lu X X, et al. The role of microglia mediated pyroptosis in neonatal hypoxic-ischemic brain damage [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 521(4): 933-938.
- [5] 杨洋,梅胜,辛龙. 桂枝附子汤调控 TXNIP/NLRP3/caspase-1 通路抑制软骨细胞焦亡的机制研究[J]. 现代实用医学, 2021, 33(6): 709-712, 696.
Yang Y, Mei S, Xin L. Mechanism of Guizhi Fuzi Decoction on inhibiting chondrocytes pyroptosis by regulating TXNIP/NLRP3/caspase-1 pathway [J]. Mod Pract Med, 2021, 33(6): 709-712, 696.
- [6] Chen D, Dixon B J, Doycheva D M, et al. IRE1 α inhibition decreased TXNIP/NLRP3 inflammasome activation through miR-17-5p after neonatal hypoxic-ischemic brain injury in rats [J]. J Neuroinflamm, 2018, 15(1): 32.
- [7] 周一博,苏军. 丙酮酸乙酯对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠海马神经元凋亡及 PI3K/Akt 信号通路的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2019, 17(4): 519-524.
Zhou Y B, Su J. The influence of ethyl pyruvate on apoptosis and PI3-K/Akt signaling pathway in hippocampal neurons of neonatal rats with hypoxic-ischemic brain injury [J]. Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis, 2019, 17(4): 519-524.
- [8] Jun J H, Shim J K, Oh J E, et al. Protective effect of ethyl pyruvate against myocardial ischemia reperfusion injury through regulations of ROS-related NLRP3 inflammasome activation [J]. Oxid Med Cell Longev, 2019, 2019: 4264580.
- [9] 王涛,刘宏祥,王颖,等. 清热化痰解毒方预处理对脑缺血再灌注损伤大鼠的保护作用及其对 TXNIP/NLRP3 通路的影响[J]. 重庆医学, 2018, 47(28): 3605-3609.
Wang T, Liu H X, Wang Y, et al. Protective effects of Qingre Huayu Jiedu Decoction on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats and its effect on TXNIP/NLRP3 pathway [J]. Chongqing Med J, 2018, 47(28): 3605-3609.
- [10] 赵清. 内质网应激介导的 TXNIP 在实验性 SAH 后早期脑损伤发生机制的研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2016.
Zhao Q. Mechanism of endoplasmic reticulum stress mediated TXNIP in early brain injury after experimental SAH [D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2016.
- [11] 申明琪,张丁宁. 脑苷肌肽对缺氧缺血性脑病新生大鼠 cGAS/STING 通路及海马神经元凋亡的影响[J]. 现代药物与临床, 2020, 35(10): 1943-1949.
Shen M Q, Zhang D N. Effects of cerebroside carnosine on cGAS/STING pathway and apoptosis of hippocampal neurons in neonatal rats with hypoxic-ischemic

- encephalopathy [J]. *Drugs & Clin*, 2020, 35(10): 1943-1949.
- [12] Huang J, Lu W T, Doycheva D M, et al. IRE1 α inhibition attenuates neuronal pyroptosis via miR-125/NLRP1 pathway in a neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy rat model [J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 152.
- [13] Rong Z H, Pan R, Chang L W, et al. Combination treatment with ethyl pyruvate and IGF-I exerts neuroprotective effects against brain injury in a rat model of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy [J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36(1): 195-203.
- [14] Qiu X H, Cheng X Y, Zhang J, et al. Ethyl pyruvate confers protection against endotoxemia and sepsis by inhibiting caspase-11-dependent cell pyroptosis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 78: 106016.
- [15] Jia Y F, Cui R X, Wang C, et al. Metformin protects against intestinal ischemia-reperfusion injury and cell pyroptosis via TXNIP-NLRP3-GSDMD pathway [J]. *Redox Biol*, 2020, 32: 101534.
- [16] An X, Zhang Y H, Cao Y, et al. Punicalagin protects diabetic nephropathy by inhibiting pyroptosis based on TXNIP/NLRP3 pathway [J]. *Nutrients*, 2020, 12(5): E1516.
- [17] 迟 坤, 付章宁, 宋成成, 等. 高尿酸通过TXNIP/NLRP3通路导致内皮细胞焦亡 [J]. *中华肾病研究电子杂志*, 2021, 10(2): 81-89.
- Chi K, Fu Z N, Song C C, et al. High uric acid caused pyroptosis of endothelial cells through the TXNIP/NLRP3 pathway [J]. *Chin J Kidney Dis Investig Electr Ed*, 2021, 10(2): 81-89.
- [18] 胡 兴. 细胞焦亡在新生大鼠缺氧缺血性脑损伤中的作用研究 [D]. 成都: 成都医学院, 2020.
- Hu X. The role of pyroptosis in hypoxic-ischemic brain damage in newborn rats [D]. Chengdu: Chengdu Medical College, 2020.

[责任编辑 兰新新]