

网络出版时间:2024-04-12 11:31:23 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20240410.1008.003

α -倒捻子素通过 NF- κ B 途径抑制 LPS/ATP 诱导的小胶质细胞中 NLRP3 炎症小体的激活

陈 敏,陶 静,朱慧艳

摘要 目的 探究 α -倒捻子素(α -mangostin)在脊髓损伤后小胶质细胞炎症模型中作用及相关机制。方法 体外培养小鼠小胶质细胞系 BV-2 细胞,利用脂多糖和三磷酸腺苷(LPS/ATP)联合诱导的方式建立 BV-2 炎症模型。CCK-8 法检测不同浓度(0、10、20、40、80 μ mol/L)的 α -mangostin 对 LPS/ATP 刺激下的细胞增殖活力影响以筛选适宜的 α -mangostin 浓度范围;将 BV-2 细胞分为 Ctrl 组、LPS/ATP 组、40 μ mol/L α -mangostin 组和不同浓度(10、20、40 μ mol/L)的 α -mangostin 干预组(分别记为 LPS/ATP + 10 μ mol/L α -mangostin 组、LPS/ATP + 20 μ mol/L α -mangostin 组与 LPS/ATP + 40 μ mol/L α -mangostin 组)。ELISA 实验检测各组 BV-2 细胞上清液中促炎因子白介素-6/1 β /18(IL-6、IL-1 β 、IL-18)和肿瘤坏死因子(TNF- α)含量,Western blot 检测各组细胞中 NOD 样受体蛋白 3(NLRP3)炎症小体相关蛋白 NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、裂解型半胱氨酸蛋白酶 1(cleaved caspase-1)和白介素 1 β (IL-1 β)表达及核因子

κ B(NF- κ B)途径中 p65 的磷酸化水平(p-p65/p65)和 BV-2 细胞核中 p65 的表达。结果 与 Ctrl 组相比,LPS/ATP 组细胞增殖活力明显降低($P < 0.05$),但低浓度(10、20、40 μ mol/L)的 α -mangostin 可显著改善 LPS/ATP 对小胶质细胞增殖活力的抑制作用($P < 0.05$),但高浓度(80 μ mol/L) α -mangostin 可促进 LPS/ATP 对小胶质细胞的损伤($P < 0.05$)。与 Ctrl 组相比,40 μ mol/L α -mangostin 组小胶质细胞上清液中炎症因子 IL-6、IL-1 β 、IL-18、TNF- α 含量和细胞中 NLRP3、ASC、cleaved caspase-1、IL-1 β 和 p-p65/p65 比值及细胞核中 p65 蛋白均无明显改变($P > 0.05$),而 LPS/ATP 组均显著增加($P < 0.05$);与 LPS/ATP 组相比,不同浓度 α -mangostin 干预组中 IL-6、IL-1 β 、IL-18、TNF- α 含量和 BV-2 细胞中 NLRP3、ASC、cleaved caspase-1、IL-1 β 和 p-p65/p65 比值及细胞核中 p65 蛋白表达随 α -mangostin 浓度的增加而依次降低,其中以 LPS/ATP + 40 μ mol/L α -mangostin 组的降低程度最为明显($P < 0.01$)。结论 α -mangostin 可通过 NF- κ B 途径抑制 BV-2 细胞中 NLRP3 炎症小体活化所介导的神经炎症反应。

关键词 脊髓损伤; α -倒捻子素;脂多糖;小胶质细胞;NLRP3 炎症小体;NF- κ B 途径

中图分类号 R 744;R 285

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)04-0575-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.04.003

2024-02-19 接收

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金(编号:2022D01C112)

作者单位:新疆维吾尔自治区人民医院康复医学科,乌鲁木齐 830001

作者简介:陈 敏,女,硕士,主治医师;

陶 静,女,副主任医师,责任作者,E-mail:721529182@qq.com

(D1DR), dopamine receptor d2 (D2DR), dopamine receptor d3 (D3DR), dopamine receptor d5 (D5DR), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), tumour necrosis factor- α (TNF- α), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), alpha-smooth muscle actin (α -SMA) and smooth muscle protein 22-alpha (SM22 α). **Results** Compared to the control group, the BAPN group exhibited significant formation of TAA. Elastic fiber disruption was also observed in the thoracic aortic wall, along with a significant decrease in the mRNA levels of D1DR and D5DR. The BAPN + FNDP group showed a significant reduction in the incidence of TAA formation and the rate of aneurysm rupture compared to the BAPN group. The disruption and rupture of elastic fibers in the thoracic aortic wall were significantly improved in the BAPN + FNDP group. The levels of MMP2 and MMP9 in the thoracic aortic wall significantly decreased, and the enzymatic activity of MMP2 in the serum was significantly reduced. Moreover, macrophage infiltration in the thoracic aortic wall was significantly reduced and the mRNA levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α and MCP-1 also significantly decreased after FNDP treatment. There was no statistically significant difference in the mRNA levels of α -SMA and SM22 α . **Conclusion** FNDP shows an inhibitory effect on TAA progression in mice, suggesting a potential of FNDP as a therapeutic agent for TAA.

Key words thoracic aortic aneurysm; dopamine receptors; fenoldopam; macrophages; inflammation; extracellular matrix degradation

脊髓损伤是一种可致残疾的严重外伤。研究表明在脊髓损伤发生后,损伤灶中的小胶质细胞被迅速激活,诱导炎症的发生,并加剧神经功能障碍和损伤^[1-3],而通过抑制小胶质细胞介导的神经炎症的治疗策略则有助于脊髓损伤的恢复。由 NOD 样受体蛋白 3 (NOD-like receptor pyrin domain containing 3, NLRP3) 介导的经典炎症小体途径可通过激活下游信号通路转导,引起炎症介质的表达和释放,从而引起严重的炎症反应^[4-6]。有研究^[5]报道,在脊髓损伤组织, NLRP3 炎性小体的活化水平和其诱导的炎症因子表达均异常升高。这提示 NLRP3 炎性小体可能参与脊髓损伤中小胶质细胞介导的炎症反应^[5]。 α -倒捻子素 (α -mangostin) 是从山竹果皮和树皮中提取的多酚类酮,研究显示, α -mangostin 可通过抑制 NLRP3 炎性小体的活化来治疗多种炎症性疾病^[7-9]。然而,在脊髓损伤中, α -mangostin 是否同样能够下调 NLRP3 炎性小体来介导小胶质细胞的炎症反应尚不清楚。因此,该研究通过建立小胶质细胞体外炎症模型来探讨 α -mangostin 作用及相关机制。

1 材料与方法

1.1 细胞系和主要试剂 小鼠小胶质细胞系 BV-2 购自武汉普诺赛生命科技有限公司。DMEM 培养基、胎牛血清和青霉素链霉素混合液 (美国 Hyclone 公司); α -mangostin (浙江博迈科生物医药研发有限公司); 脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 和三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) (美国 Sigma 公司); 检测肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 和 IL-6 和 IL-18 的 ELISA 试剂盒 (杭州联科生物技术股份有限公司); CCK-8 细胞增殖实验检测试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司); 兔抗 NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein, ASC)、抗裂解型 caspase-1 (cleaved caspase-3)、抗 p65、抗磷酸化 p65 (phosphorylated p65, p-p65)、抗核 p65 (nuclear p65)、抗 LaminB 抗体 (美国 CST 公司); 兔抗 GAPDH 抗体、辣根过氧化物酶偶联的山羊抗兔二抗 (美国 Abcam 公司)。ECL 试剂、NE-PERTM 细胞核蛋白提取试剂盒 (美国 Thermo 公司)。

1.2 细胞培养和处理 采用含 10% 胎牛血清和 1% 青链霉素的 DMEM 培养基在 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养 BV-2 细胞。按处理方式的不同将 BV-2 细胞分为 6 组: 正常培养的 Ctrl 组、LPS 与

ATP 处理的 LPS/ATP 组、单独 40 μ mol/L α -mangostin 处理组 (40 μ mol/L α -mangostin 组) 和不同浓度 (10、20、40 μ mol/L) 的 α -mangostin 干预组, 分别记为 LPS/ATP + 10 μ mol/L α -mangostin、LPS/ATP + 20 μ mol/L α -mangostin 与 LPS/ATP + 40 μ mol/L α -mangostin。BV-2 细胞分组处理前, 按 5×10^4 个/孔接种至 96 孔板中, 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养过夜后, 加入不同浓度 α -mangostin (10、20、40 μ mol/L) 处理 4 h 后, 再参考文献^[10]方法依次采用 1 μ g/ml 的 LPS 处理 5.5 h 和 5 mmol/L 的 ATP 处理 0.5 h 以建立 BV-2 细胞炎症模型。

1.3 CCK-8 法检测细胞增殖活力 取生长状态良好的 BV-2 细胞, 5×10^4 个/孔接种至 96 孔板中, 首先单独采用不同浓度 α -mangostin (10、20、40、80 μ mol/L) 处理细胞 4 h 后, 每孔加入 10 μ l 的 CCK-8 试剂继续在细胞培养箱中孵育 2 h, 然后根据试剂盒说明书方法在微板测量仪上测量每孔在 450 nm 处的吸光度值。然后再根据 1.2 项中的方法对 BV-2 细胞进行分组处理后, 按前述方法测量每组细胞在 450 nm 处的吸光度值。每组细胞的吸光度值为细胞的增殖活力。

1.4 ELISA 实验 取各组 BV-2 细胞的培养上清液, 4 °C 下 2 240 r/min 离心 10 min 后, 去除底层沉淀, 采用 ELISA 试剂盒并参考说明书方法测量上清液中的 IL-6、IL-1 β 、IL-18 和 TNF- α 含量。

1.5 Western blot 实验 分别采用含有蛋白酶抑制剂混合物的 RIPA 裂解液和 NE-PERTM 试剂盒提取各组 BV-2 细胞胞质和胞核中的蛋白质。BCA 法测定蛋白浓度, 取 30 μ g 等量的蛋白样品通过 10% SDS-PAGE 凝胶进行分离, 湿转法转移至聚偏二氟乙烯膜上后, 5% 的脱脂奶粉进行封闭。加入稀释后的一抗置于 4 °C 下孵育过夜, 一抗分别为: NLRP3 (1 : 500)、ASC (1 : 1 000)、IL-1 β (1 : 500)、cleaved caspase-1 (1 : 800)、p65 (1 : 1 000)、p-p65 (1 : 1 000)、LaminB (1 : 2 000) 和 GAPDH (1 : 2 000)。次日加入辣根过氧化物酶偶联的山羊抗兔二抗 (1 : 5 000), 并在室温下孵育 1 h。最后加入 ECL 试剂在凝胶成像系统中对膜进行可视化, 并分别以 GAPDH 和 LaminB 作为胞质和胞核蛋白的内参, 利用 ImageJ 软件分析蛋白条带灰度值。

1.6 统计学处理 采用 GraphPad 7.0 软件进行统计分析。本研究中每项试验均单独重复 3 次, 所有数据均以均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。用 K-S 法检验数据的正态性, 采用单因素方差分析检验方差齐性。

所有数据均呈正态分布且方差齐,组间差异采用单因素方差分析及 Tukey-kramer 多重比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 α -mangostin 保护 LPS/ATP 诱导的小胶质细胞损伤 CCK-8 法检测结果表明各组间的细胞增殖活力差异均有统计学意义 ($F = 112.615, 327.196, P < 0.05$)。与 Ctrl 组相比,低浓度 (10、20、40 $\mu\text{mol/L}$) 的 α -mangostin 对小胶质细胞增殖活力无明显影响 ($P > 0.05$),而高浓度 (80 $\mu\text{mol/L}$) 的 α -mangostin 可显著降低细胞的增殖活力 ($P < 0.05$);与 Ctrl 组相比,LPS/ATP 组细胞增殖活力明显降低 ($P < 0.05$),但低浓度 (10、20、40 $\mu\text{mol/L}$) 的 α -mangostin 可显著改善 LPS/ATP 对小胶质细胞增殖活力的抑制作用 ($P < 0.05$),高浓度 (80 $\mu\text{mol/L}$) α -mangostin 可促进 LPS/ATP 对小胶质细胞的损伤 ($P < 0.05$)。见图 1。基于此,40 $\mu\text{mol/L}$ 的 α -mangostin 对细胞无毒性,但对 LPS/ATP 诱导的损伤的保护作用最强,因此单独 α -mangostin 处理组中使用 40 $\mu\text{mol/L}$ 。

2.2 各组小胶质细胞中炎症因子的表达 ELISA

检测结果显示,各组间 IL-6、IL-1 β 、IL-18 和 TNF- α 的含量差异均有统计学意义 ($F = 426.184, 268.545, 414.872, 321.368, P < 0.05$)。与 Ctrl 组相比,40 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组小胶质细胞上清液中炎症因子 IL-6、IL-1 β 、IL-18 和 TNF- α 含量均无明显改变 ($P > 0.05$),而 LPS/ATP 组的上清液中均显著增加 ($P < 0.05$);与 LPS/ATP 组相比,不同浓度 α -mangostin 干预组上清液中炎症因子 IL-6、IL-1 β 、IL-18 和 TNF- α 含量随 α -mangostin 浓度的增加而依次降低,其中以 LPS/ATP + 40 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组降低程度最为明显 ($P < 0.01$)。见表 1。

2.3 各组小胶质细胞中 NLRP3 炎症小体的表达

Western blot 检测结果显示,各组间 NLRP3、ASC、cleaved caspase-1 和 IL-1 β 的表达水平差异均有统计学意义 ($F = 594.310, 392.621, 511.531, 416.508, P < 0.05$)。与 Ctrl 组相比,40 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组小胶质细胞中 NLRP3 炎症小体相关蛋白 NLRP3、ASC、cleaved caspase-1 和 IL-1 β 表达均无明显差异 ($P > 0.05$),LPS/ATP 组小胶质细胞中 NLRP3、ASC、cleaved caspase-1 和 IL-1 β 的蛋白表达均显著升高 ($P < 0.01$);与 LPS/ATP 组相比,不同浓度

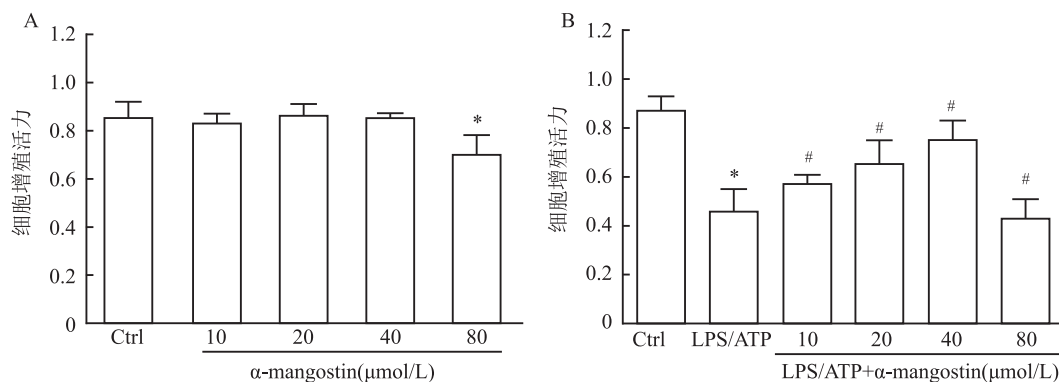


图 1 CCK-8 检测各组小胶质细胞的增殖活力

A: CCK-8 检测 α -mangostin 对小胶质细胞增殖的影响; B: CCK-8 检测 α -mangostin 对 LPS/ATP 诱导的小胶质细胞损伤的保护作用; 与 Ctrl 组比较: * $P < 0.05$; 与 LPS/ATP 组比较: # $P < 0.05$

表 1 各组小胶质细胞中炎症因子 IL-6、IL-1 β 、IL-18 和 TNF- α 含量的比较 (pg/ml, $n = 3, \bar{x} \pm s$)

组别	IL-6	IL-1 β	IL-18	TNF- α
Ctrl	162.15 $\pm$ 19.14	74.01 $\pm$ 11.79	148.36 $\pm$ 19.11	103.12 $\pm$ 16.30
α -mangostin 40 $\mu\text{mol/L}$	170.31 $\pm$ 21.24	69.25 $\pm$ 14.81	152.07 $\pm$ 17.41	94.75 $\pm$ 10.94
LPS/ATP	762.54 $\pm$ 43.58 **	223.62 $\pm$ 25.35 **	405.18 $\pm$ 41.09 **	362.18 $\pm$ 33.67 **
LPS/ATP + 10 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin	607.10 $\pm$ 68.59 #	174.36 $\pm$ 19.44 #	332.76 $\pm$ 28.50 #	240.55 $\pm$ 23.41 #
LPS/ATP + 20 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin	429.45 $\pm$ 56.01 #	153.28 $\pm$ 21.02 #	276.35 $\pm$ 20.51 #	180.19 $\pm$ 17.73 #
LPS/ATP + 40 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin	366.89 $\pm$ 41.84 ##	121.65 $\pm$ 18.77 ##	198.32 $\pm$ 22.74 ##	146.35 $\pm$ 18.12 ##
F 值	426.184	268.545	414.872	321.368
P 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

与 Ctrl 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 LPS/ATP 组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

α -mangostin 干预组中 NLRP3、ASC、cleaved caspase-1 和 IL-1 β 的蛋白表达呈 α -mangostin 浓度依赖性而显著降低 ($P < 0.05$), 并以 LPS/ATP + 40 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组的降低最为明显 ($P < 0.01$), 见图 2。

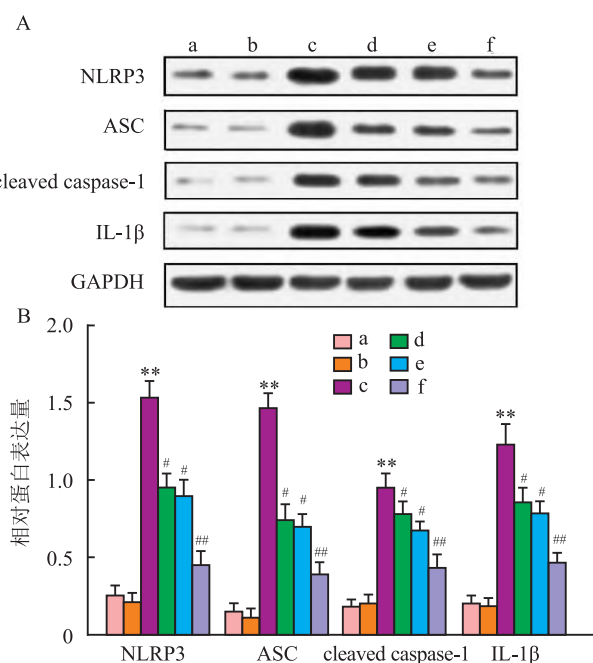


图2 各组小胶质细胞中 NLRP3 小体相关

蛋白 NLRP3、ASC、cleaved caspase-1 和 IL-1 β 的表达

A: 各组小胶质细胞中 NLRP3 小体相关蛋白 NLRP3、ASC、cleaved caspase-1 和 IL-1 β 表达的 Western blot 检测; B: 各组小胶质细胞中 NLRP3 小体相关蛋白 NLRP3、ASC、cleaved caspase-1 和 IL-1 β 表达的定量分析; a: Ctrl 组; b: 40 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组; c: LPS/ATP; d: LPS/ATP + 10 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组; e: LPS/ATP + 20 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组; f: LPS/ATP + 40 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组; 与 Ctrl 组比较: ** $P < 0.01$; 与 LPS/ATP 组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

2.4 各组小胶质细胞中 NF- κ B 途径的表达

Western blot 检测结果显示, 各组间 p-p65/p65 比值以及细胞核中 p65 的表达水平差异均有统计学意义 ($F = 501.839, 514.842, P < 0.05$)。与 Ctrl 组相比, 40 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组小胶质细胞中 p-p65/p65 比值无明显变化 ($P > 0.05$), LPS/ATP 组小胶质细胞中 p-p65/p65 比值显著升高 ($P < 0.05$); 与 LPS/ATP 组相比, 不同浓度 α -mangostin 干预组中 p-p65/p65 比值随 α -mangostin 浓度升高而显著降低 ($P < 0.05$), 其中以 LPS/ATP + 40 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组的降低趋势最为明显 ($P < 0.01$), 见图 3A、3B。随后, 再次应用 Western blot 检测小胶质细胞核中 p65 改变, 结果显示, 与 Ctrl 组相比, 40 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组小胶质细胞核中 p65 无明显改变 ($P >$

0.05), LPS/ATP 组小胶质细胞核中 p65 表达显著升高 ($P < 0.01$); 与 LPS/ATP 组相比, 不同浓度 α -mangostin 组中 p65 均显著降低 ($P < 0.05$), 其中以 LPS/ATP + 40 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组的降低最为明显 ($P < 0.01$), 见图 4A、4B。

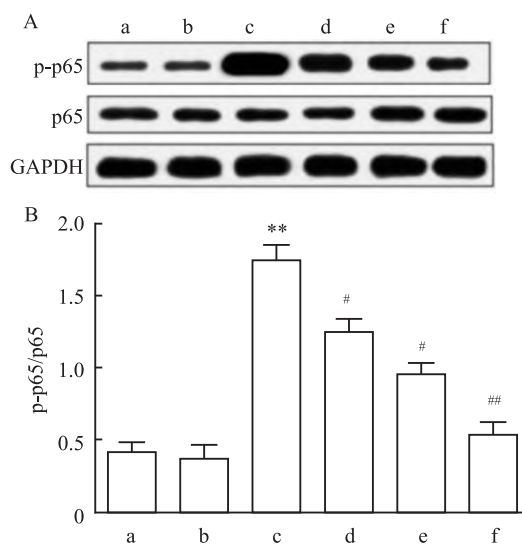


图3 各组小胶质细胞中 p-p65/p65 比值变化

A: 各组小胶质细胞中 p-p65、p65 蛋白表达的 Western blot 检测; B: 各组小胶质细胞中 p-p65、p65 蛋白表达的定量分析; a: Ctrl 组; b: 40 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组; c: LPS/ATP; d: LPS/ATP + 10 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组; e: LPS/ATP + 20 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组; f: LPS/ATP + 40 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组; 与 Ctrl 组比较: ** $P < 0.01$; 与 LPS/ATP 组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

3 讨论

α -mangostin 具有多种生物活性和药理作用, 包括可以调节 NLRP3 炎症小体的活性^[5-6, 11-12]。本研究显示, α -mangostin 可通过下调小胶质细胞中 NF- κ B 信号通路来降低 NLRP3 炎症小体的激活水平, 从而改善 LPS/ATP 诱导小胶质细胞炎症反应。这表明 α -mangostin 可能具有改善神经炎症损伤的效果。

NLRP3 炎症小体在多种炎症性疾病中起关键作用, 包括神经病变和其他神经系统相关疾病。神经炎症损伤导致 NLRP3 的异常激活, 可能与过度积聚的炎性细胞因子刺激小胶质细胞活化与增殖有关^[5, 13-14], 然后通过引起胶质屏障形成和胶质瘢痕转化, 导致神经元结构与功能的不可逆损伤^[13]。本研究结果显示, 通过降低 NLRP3、ASC 和 cleaved caspase-1 的表达水平, 并抑制促炎细胞因子的产生, α -mangostin 抑制了 LPS 和 ATP 联合诱导小胶质

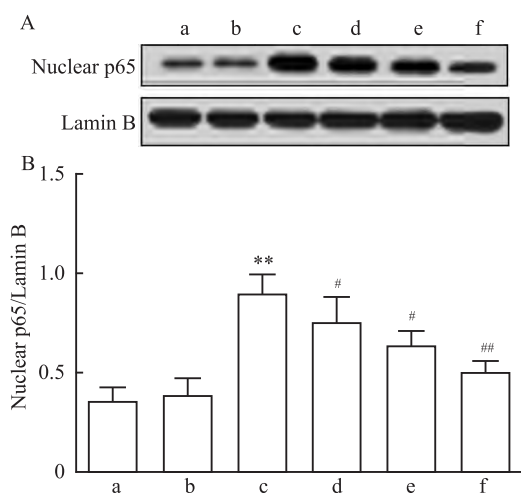


图4 各组小胶质细胞核中 p65 表达

A: 各组小胶质细胞中细胞核 p65 蛋白表达的 Western blot 检测; B: 各组小胶质细胞中细胞核 p65 蛋白表达的定量分析; a: Ctrl 组; b: 40 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组; c: LPS/ATP; d: LPS/ATP + 10 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组; e: LPS/ATP + 20 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组; f: LPS/ATP + 40 $\mu\text{mol/L}$ α -mangostin 组; 与 Ctrl 组比较: ** $P < 0.01$; 与 LPS/ATP 组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

细胞中 NLRP3 炎症小体的激活。之前的研究也支持了 α -mangostin 调节小胶质细胞和 NLRP3 炎症小体的活性和功能^[9,15]。因此,本研究证明了 α -mangostin 通过抑制小胶质细胞中的 NLRP3 炎症小体的激活,改善了神经炎症损伤的作用。这使得 α -mangostin 成为潜在的治疗神经炎症性疾病的药物选择。

NF- κ B 的活化是 NLRP3 炎症小体激活的关键^[16],同时,NF- κ B 在小胶质细胞介导的神经炎症中也发挥着重要作用^[17-19]。本研究显示 α -mangostin 可以显著抑制 LPS/ATP 作用下小胶质细胞中 NF- κ B 信号通路的激活,并且这种抑制作用与 α -mangostin 的浓度相关,随着浓度的增加,对 NF- κ B 的抑制效果越明显。这与以前关于 α -mangostin 抗炎作用的研究一致。例如,Guan et al^[20]报道 α -mangostin 通过抑制 LPS 诱导的 Toll 样受体 4 的表达和 NF- κ B 的激活来减轻小胶质细胞介导的神经炎症。Zuo et al^[21]在佐剂关节炎大鼠模型中发现, α -mangostin 可以显著降低 NF- κ B 通路中关键蛋白的表达和磷酸化,抑制 p65 的核易位,从而发挥抗炎功能,改善关节病变^[21]。以上研究均表明, α -mangostin 可以显著抑制 NF- κ B 的激活,从而抑制小胶质细胞中 NLRP3 炎症小体的活化。

综上所述, α -mangostin 通过抑制 NF- κ B 的激活抑制了小胶质细胞中 NLRP3 炎症小体的活化。因

此, α -mangostin 可改善神经炎症和小胶质细胞的炎症性损伤。 α -mangostin 有可能成为防治继发性脊髓损伤过程中的潜在临床药物。

参考文献

- [1] 魏江曼, 安郁坤, 胡梦莹, 等. 夹脊电针通过抑制 Notch 信号通路对脊髓损伤大鼠运动功能的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2023, 58(8):1280-6.
- [2] Quadri S A, Farooqui M, Ikram A, et al. Recent update on basic mechanisms of spinal cord injury[J]. Neurosurg Rev, 2020, 43(2):425-41.
- [3] Kroner A, Rosas Almanza J. Role of microglia in spinal cord injury[J]. Neurosci Lett, 2019, 12(709):e134370.
- [4] Wang L, Hauenstein A V. The NLRP3 inflammasome: mechanism of action, role in disease and therapies[J]. Mol Aspects Med, 2020, 19(76):e100889.
- [5] Lin S, Mei X. Role of NLRP3 inflammasomes in neuroinflammation diseases[J]. Eur Neurol, 2020, 83(6):576-80.
- [6] 王卓群, 胡 萍, 余少文. α -mangostin 的生物活性与药理作用研究进展[J]. 中国药房, 2014, 25(19):1808-11.
- [7] 董彦浩, 曾千龙, 卢 倩, 等. α -mangostin 神经保护作用的研究进展[J]. 中国新药与临床杂志, 2022, 41(6):321-6.
- [8] Ge Y, Xu X, Liang Q, et al. α -mangostin suppresses NLRP3 inflammasome activation via promoting autophagy in LPS-stimulated murine macrophages and protects against CLP-induced sepsis in mice[J]. Inflamm Res, 2019, 68(6):471-9.
- [9] Yin P, Zou W, Li J, et al. Using high-throughput sequencing to explore the anti-inflammatory effects of α -mangostin[J]. Sci Rep, 2019, 9(1):e15626.
- [10] Hu Z, Xuan L, Wu T, et al. Taxifolin attenuates neuroinflammation and microglial pyroptosis via the PI3K/Akt signaling pathway after spinal cord injury[J]. Int Immunopharmacol, 2023, 114:109616.
- [11] Chen Y, Wu L, Shi M, et al. Electroacupuncture inhibits NLRP3 activation by regulating CMPK2 after spinal cord injury[J]. Front Immunol, 2022, 13(6):e788556.
- [12] Jiang W, Li M, He F, et al. Targeting the NLRP3 inflammasome to attenuate spinal cord injury in mice[J]. J Neuroinflammation, 2017, 14(1):207-14.
- [13] Holbrook J A, Jarosz-Griffiths H H, Caseley E, et al. Neurodegenerative disease and the NLRP3 inflammasome[J]. Front Pharmacol, 2021, 12(91):e643254.
- [14] Wang L, Ren W, Wu Q, et al. NLRP3 inflammasome activation: a therapeutic target for cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. Front Mol Neurosci, 2022, 61(15):e847440.
- [15] 刘国勇, 汤玲玲, 余 健, 等. α -mangostin 抑制阿霉素诱导的小鼠局灶性肾小球硬化[J]. 中南大学学报(医学版), 2018, 43(10):1089-96.
- [16] Zusso M, Lunardi V, Franceschini D, et al. Ciprofloxacin and levofloxacin attenuate microglia inflammatory response via TLR4/NF- κ B pathway[J]. J Neuroinflammation, 2019, 16(1):148-

- 53.
- [17] Lei L Y, Wang R C, Pan Y L, et al. Mangiferin inhibited neuroinflammation through regulating microglial polarization and suppressing NF- κ B, NLRP3 pathway[J]. *Chin J Nat Med*, 2021, 19(2):112–9.
- [18] Li Y, Xia Y, Yin S, et al. Targeting microglial α -Synuclein/TLRs/NF-kappaB/NLRP3 inflammasome axis in Parkinson's disease[J]. *Front Immunol*, 2021, 12(53):e719807.
- [19] Li W, Cao T, Luo C, et al. Crosstalk between ER stress, NLRP3 inflammasome, and inflammation[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, 104(14):6129–40.
- [20] Guan H, Li J, Tan X, et al. Natural xanthone α -mangostin inhibits LPS-induced microglial inflammatory responses and memory impairment by blocking the TAK1/NF- κ B signaling pathway [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2020, 64(14):e2000096.
- [21] Zuo J, Yin Q, Wang Y W, et al. Inhibition of NF- κ B pathway in fibroblast-like synoviocytes by α -mangostin implicated in protective effects on joints in rats suffering from adjuvant-induced arthritis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 18(56):78–89.

α -mangostin inhibits LPS/ATP-induced NLRP3 inflammasome activation in microglia *via* the NF- κ B pathway

Chen Min, Tao Jing, Zhu Huiyan

(*Dept of Rehabilitation Medicine, Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Urumqi 830001*)

Abstract Objective To investigate the effects and underlying mechanisms of α -mangostin in a spinal cord injury model of microglial cell inflammation. **Methods** Mouse microglial cell line BV-2 was cultured *in vitro*, and an inflammation model was established by co-treatment with lipopolysaccharide and adenosine triphosphate (LPS/ATP). The CCK-8 assay was used to test the influence of different concentrations (0, 10, 20, 40, 80 μ mol/L) of α -mangostin on cell proliferation vitality under LPS/ATP stimulation to select an appropriate concentration range of α -mangostin; BV-2 cells were divided into Ctrl group, LPS/ATP group, 40 μ mol/L α -mangostin group, and intervention groups with different concentrations (10, 20, 40 μ mol/L) of α -mangostin (designated as LPS/ATP + 10 μ mol/L α -mangostin group, LPS/ATP + 20 μ mol/L α -mangostin group, and LPS/ATP + 40 μ mol/L α -mangostin group, respectively). ELISA experiments were conducted to detect the levels of pro-inflammatory cytokines interleukin-6/1 β /18 (IL-6, IL-1 β , IL-18) and tumor necrosis factor (TNF- α) in the supernatants of each group, and Western blot was used to detect the expression of NLRP3, ASC, cleaved caspase-1, IL-1 β , and the phosphorylation levels of p65 (p-p65/p65) in the NF- κ B pathway, as well as the expression of p65 in the nuclei of BV-2 cells. **Results** Compared with the Ctrl group, cell proliferation vitality in the LPS/ATP group was significantly reduced ($P < 0.05$), but low concentrations (10, 20, 40 μ mol/L) of α -mangostin significantly improved the inhibitory effect of LPS/ATP on microglial cell proliferation vitality ($P < 0.05$), while a high concentration (80 μ mol/L) of α -mangostin exacerbated the damage to microglial cells caused by LPS/ATP ($P < 0.05$). Compared with the Ctrl group, the levels of inflammatory factors IL-6, IL-1 β , IL-18, TNF- α , and the expression of NLRP3, ASC, cleaved caspase-1, IL-1 β , and the p-p65/p65 ratio in the 40 μ mol/L α -mangostin group, as well as the expression of p65 protein in the nuclei, showed no significant changes ($P > 0.05$), whereas these significantly increased in the LPS/ATP group ($P < 0.05$). Compared with the LPS/ATP group, the levels of IL-6, IL-1 β , IL-18, TNF- α , and the expression of NLRP3, ASC, cleaved caspase-1, IL-1 β , and the p-p65/p65 ratio in the intervention groups, as well as the expression of p65 protein in the nuclei, decreased in a concentration-dependent manner with increasing α -mangostin concentration, with the most significant reduction observed in the LPS/ATP + 40 μ mol/L α -mangostin group ($P < 0.01$). **Conclusion** α -mangostin can inhibit the neuroinflammatory response mediated by NLRP3 inflammasome activation in BV-2 cells through the NF- κ B pathway.

Key words spinal cord injury; α -mangostin; lipopolysaccharide; microglia; NLRP3 inflammasome; NF- κ B pathway