



电子、语音版

·论著·

沉默信息调节因子1与Toll样受体4信号通路在 1-甲基-4-苯基-吡啶离子帕金森病细胞模型 炎症反应中的作用

郑婷华¹, 邢瑶平², 陈敏³, 郭彦杰¹, 邢红霞¹

1. 河南医药大学第三附属医院, 河南 新乡 453000

2. 安阳市人民医院, 河南 安阳 455000

3. 福州市第二总医院, 福建 福州 350007

摘要:目的 探究沉默信息调节因子1(Sirt1)与Toll样受体4(TLR4)信号通路在1-甲基-4-苯基-吡啶离子(MPP⁺)帕金森病(PD)细胞模型炎症反应中的作用。方法 使用MPP⁺作用于SH-SY5Y细胞进行干预以构建PD细胞模型,使用白藜芦醇(RV)和EX527干预细胞模型中Sirt1的表达水平。将SH-SY5Y细胞分为对照组(control组)、模型组(MPP⁺组)、激活剂组(RV+MPP⁺组)、抑制剂组(EX527+MPP⁺组)置于高糖培养基中培养。采用细胞计数试剂盒-8(CCK-8)进行MPP⁺、RV和EX527的细胞毒性检测,最终选用MPP⁺(0.75 mmol/L)、RV(20 μmol/L)、EX527(80 μmol/L)作为干预浓度,均培养48 h。采用蛋白质印迹法检测酪氨酸羟化酶(TH)、Sirt1、TLR4炎症相关蛋白的表达情况。采用酶联免疫吸附分析(ELISA)检测细胞上清液中白细胞介素(IL)-1β、IL-6、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平。采用免疫荧光检测TH、Sirt1、TLR4以及相关炎症因子在细胞上的表达情况。结果 与control组相比,MPP⁺组TH、Sirt1表达降低,TLR4表达增高($P<0.05$);与MPP⁺组相比,RV+MPP⁺组TH、Sirt1表达增高,TLR4表达降低($P<0.05$);EX527+MPP⁺组TH、Sirt1表达较control组和RV+MPP⁺组降低,TLR4表达增高($P<0.05$)。ELISA结果显示,MPP⁺组和EX527+MPP⁺组IL-1β、IL-6、TNF-α水平较control组和RV+MPP⁺组显著增高($P<0.05$),与MPP⁺组比较,EX527+MPP⁺组IL-1β、IL-6、TNF-α表达水平增高($P<0.05$)。免疫荧光结果显示,与control组相比,MPP⁺组TH和Sirt1的表达水平减少,TLR4及炎症因子IL-1β、TNF-α的表达增高($P<0.01$);与MPP⁺组相比,RV+MPP⁺组TH、Sirt1的表达增高,TLR4、IL-1β及TNF-α的表达水平减少($P<0.01$);与MPP⁺组相比,EX527+MPP⁺组TH、Sirt1的表达水平降低,TLR4及炎症因子IL-1β、TNF-α的表达增高($P<0.01$)。结论 Sirt1-TLR4信号通路与PD神经炎症反应过程有一定的相关性,可能在疾病的发生、发展中发挥了作用。

关键词:帕金森病;沉默信息调节因子1;Toll样受体4;炎症反应;1-甲基-4-苯基-吡啶离子

中图分类号:R742.5

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2026.02.004

Role of the silent information regulator 1 - Toll-like receptor 4 signaling pathway in inflammatory response in a cell model of Parkinson disease induced by 1-methyl-4-phenyl pyridine ion

ZHENG Tinghua¹, XING Yaoping², CHEN Min³, GUO Yanjie¹, XING Hongxia¹

1. The Third Affiliated Hospital of Henan Medical University, Xinxiang, Henan 453000, China

2. The People's Hospital of Anyang City, Anyang, Henan 455000, China

3. Fuzhou Second General Hospital, Fuzhou, Fujian 350007, China

基金项目:2021年度河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20210548);2025年度河南省政府决策研究招标课题“河南康复作业治疗学人才培养的路径探索与实践研究”(2025JC093);2024年度河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20240510);河南省2025年科技发展计划河南省科技攻关项目(252102310279)。

收稿日期:2025-08-06;**修回日期:**2026-03-19

作者简介:郑婷华(1996—),女,硕士研究生,住院医师,硕士就读于新乡医学院,研究方向为帕金森病。

通信作者:邢红霞(1972—),女,博士,教授,河南医药大学第三附属医院副院长,研究方向为帕金森病。Email:xhxwh02@163.com。

Corresponding author: XING Hongxia, Email: xhxuh02@163.com

Abstract: Objective To investigate the role of the silent information regulator 1 (Sirt1) - Toll-like receptor 4 (TLR4) signaling pathway in inflammatory response in a cell model of Parkinson disease (PD) induced by 1-methyl-4-phenyl pyridine ion (MPP⁺). **Methods** SH-SY5Y cells were treated with MPP⁺ to establish a cell model of PD, and resveratrol (RV) and EX527 were used to modulate the expression of Sirt1 in the cell model. SH-SY5Y cells were divided into control group, model group (MPP⁺ group), activator group (RV+MPP⁺ group), and inhibitor group (EX527+MPP⁺ group), and the cells were cultured in a high-glucose medium. CCK-8 assay was used to assess the cytotoxicity of MPP⁺, RV, and EX527, and finally MPP⁺ (0.75 mmol/L), RV (20 μmol/L), and EX527 (80 μmol/L) were selected for 48 hours of intervention. Western blotting was used to measure the expression levels of tyrosine hydroxylase (TH), Sirt1, and the inflammation-related protein TLR4; ELISA was used to measure the levels of interleukin-1β (IL-1β), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor-α (TNF-α) in cell supernatant; immunofluorescence assay was used to measure the expression of TH, Sirt1, TLR4, and related inflammatory factors in cells. **Results** Compared with the control group, the MPP⁺ group had significant reductions in the expression levels of TH and Sirt1 and a significant increase in the expression level of TLR4 ($P<0.05$); compared with the MPP⁺ group, the RV+MPP⁺ group had significant increases in the expression levels of TH and Sirt1 and a significant reduction in the expression level of TLR4 ($P<0.05$); compared with the control group and the RV+MPP⁺ group, the EX527+MPP⁺ group had significant reductions in the expression levels of TH and Sirt1 and a significant increase in the expression level of TLR4 ($P<0.05$). ELISA showed that compared with the control group and the RV+MPP⁺ group, the MPP⁺ group and the EX527+MPP⁺ group had significant increases in the levels of IL-1β, IL-6, and TNF-α ($P<0.05$), and compared with the MPP⁺ group, the EX527+MPP⁺ group had significant increases in the levels of IL-1β, IL-6, and TNF-α ($P<0.05$). Immunofluorescence assay showed that compared with the control group, the MPP⁺ group had significant reductions in the expression levels of TH and Sirt1 and significant increases in the expression levels of TLR4 and the inflammatory factors IL-1β and TNF-α ($P<0.01$); compared with the MPP⁺ group, the RV+MPP⁺ group had significant increases in the expression levels of TH and Sirt1 and significant reductions in the expression levels of TLR4, IL-1β, and TNF-α ($P<0.01$); compared with the MPP⁺ group, the EX527+MPP⁺ group had significant reductions in the expression levels of TH and Sirt1 and significant increases in the expression levels of TLR4 and the inflammatory factors IL-1β and TNF-α ($P<0.01$). **Conclusions** The Sirt1-TLR4 signaling pathway is significantly associated with the process of neuroinflammation in PD and may play a role in the development and progression of the disease.

Keywords: Parkinson disease; silent information regulator 1; Toll-like receptor 4; inflammatory response; 1-methyl-4-phenyl pyridine ion

帕金森病(Parkinson disease, PD)是仅次于阿尔兹海默病的第二大常见神经退行性疾病,据统计,全球有700万~1 000万人患有PD,这给社会造成了相当大的负担^[1-3]。PD特征表现是黑质致密部多巴胺能神经元的丧失和纹状体内多巴胺(dopamine, DA)水平的降低^[4],导致患者出现运动迟缓、震颤、强直和姿势不稳等运动症状^[5]。目前,PD的发病机制尚不清楚。既往研究显示,神经炎症参与了PD的病理过程且被认为是PD发病的关键因素^[6-8]。沉默信息调节因子1(silent information regulator 1, Sirt1)作为Sirtuins家族成员之一,主要在细胞核与细胞质中表达^[9]。既往研究证实,在炎症的发生和发展过程中,Sirt1能够发挥调节作用,对于限制炎症过度、减轻炎症损伤具有重要的生物学意义^[10-12]。Toll样受体家族(Toll-like receptors, TLRs)在中枢神经系统广泛表达,尤其是Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)与神经炎症及神经退行性疾病相关^[13-15]。Perez-Pardo等^[16]的

研究表明,TLR4介导的炎症在肠道和(或)神经炎症中起重要作用,这可能是导致PD神经退行性变的关键因素之一。本研究课题组的前期研究发现,在PD患者血清中TLR4和白细胞介素(interleukin)-1β、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)水平均明显增高^[8],且在PD小鼠模型中也有相同的变化^[12]。基于以上,我们推测Sirt1-TLR4信号通路通过神经炎症反应过程,参与了PD的发生发展,为了验证这一假设,开展了本研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料及细胞培养方法

实验材料包括:人神经母细胞瘤细胞系SH-SY5Y(上海中科院细胞库);DMEM高糖培养基(北京索莱宝科技公司);10%胎牛血清(以色列Biological Industries);1%双抗(武汉碧云天生物技术公司)。

在37℃、5%二氧化碳(carbon dioxide, CO₂)条件下培养细胞。将处于对数生长期的细胞用胰蛋白酶消化,细

胞计数仪进行计数,然后按照一定的密度接种至96孔板、6孔板及培养皿,进行后续实验。

1.2 试剂和仪器

Sirt1 特异性抑制剂 EX527、Sirt1 激活剂白藜芦醇(resveratrol, RV)、1-甲基-4-苯基-吡啶离子(1-methyl-4-phenyl pyridine ion, MPP⁺)购自美国MCE公司;Sirt1 兔单克隆抗体、酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)兔单克隆抗体购自美国abcam公司;TNF- α 兔单克隆抗体购自美国CST公司;TLR4 兔单克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司; β -actin 兔单克隆抗体、HRP 标记的羊抗兔二抗、Cy3 标记的羊抗兔二抗、FITC 标记羊抗兔二抗购自武汉三鹰公司;人IL-1 β 、人IL-6、人TNF- α 、酶联免疫吸附分析(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)科研试剂盒购自江苏酶免实业有限公司。

1.3 实验分组及给药

取对数生长的SH-SY5Y细胞,分为对照组(control组)、模型组(MPP⁺组)、激活剂组(RV+MPP⁺组)和抑制剂组(EX527+MPP⁺组)。

因为药物稀释需要无菌双蒸水或二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO),因此control组中需加入与各加药组等量的无菌双蒸馏水及DMSO;MPP⁺组中加入0.75 mmol/L的MPP⁺(完全培养基稀释100 mmol/L的无菌双蒸馏水配制的药物原液)及各组等量DMSO;RV+MPP⁺组中加入20 μ mol/L的RV(完全培养基稀释100 mmol/L DMSO配制的药物原液)、0.75 mmol/L的MPP⁺及补足至等量DMSO;EX527+MPP⁺组中加入80 μ mol/L的EX527(完全培养基稀释100 mmol/L的DMSO配制的药物原液)、0.75 mmol/L的MPP⁺。

1.4 MPP⁺、RV和EX527细胞毒性检测

采用细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)检测SH-SY5Y细胞活性。SH-SY5Y细胞以5 000个/孔接种于96孔板中,分别设置MPP⁺浓度梯度(0.00、0.75、1.50、2.25及3.00 mmol/L)、RV浓度梯度(0、5、10、20、40及80 μ mol/L)及EX527浓度梯度(0、20、40、80、160及320 μ mol/L)。设置时间梯度(24、48及72 h)。同时设置仅有培养基不含细胞的空白对照孔。细胞接种12 h后,分别加入不同浓度的MPP⁺、RV及EX527,在细胞培养箱中培养不同时间后,每孔加入10 μ L的CCK-8溶液,用酶标仪测量450 nm处吸光度值,计算细胞活力。全部实验重复至少3次,取平均值。

1.5 细胞上清液IL-1 β 、IL-6和TNF- α 水平检测

采用酶联免疫吸附分析(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测细胞上清液中IL-1 β 、IL-6和TNF- α 水平。将SH-SY5Y细胞以 1×10^5 个/孔的密度接种至6孔板,在条件为37 $^{\circ}$ C、5% CO₂的培养箱中培养

12 h,细胞造模给药方法参照第1.3节。使用胰蛋白酶消化收集细胞,加入放射免疫沉淀法裂解缓冲液,在4 $^{\circ}$ C条件下,14 000 r/min离心10 min,收集细胞上清液。按照试剂盒说明书操作,检测细胞上清液中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的水平。

1.6 细胞TH、Sirt1、TLR4的表达水平检测

参照第1.3节,将细胞分组给药48 h后,用PBS洗涤2次,用放射免疫沉淀法裂解缓冲液裂解细胞。收集裂解液在4 $^{\circ}$ C下离心,上清液用二喹啉甲酸蛋白测定试剂盒进行蛋白定量。10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶将蛋白质分离,然后转移到聚偏二氟乙烯膜上。将膜在5%牛血清白蛋白中室温封闭1 h,然后将膜与TH(1:5 000)、Sirt1(1:1 000)、TLR4(1:500)、TNF- α (1:1 000)、 β -actin(1:10 000)抗体4 $^{\circ}$ C孵育过夜,用TBST缓冲液漂洗3次,再与二抗室温孵育1 h后,再次使用TBST缓冲液漂洗3次。采用超极敏增强化学发光试剂盒蛋白质印迹法检测系统对条带进行可视化。采用ImageJ软件定量,以 β -actin为内参。实验重复3次,取均值。

1.7 TH、Sirt1、TLR4、TNF- α 、IL-1 β 的表达水平检测

在6孔板中放入灭菌的细胞爬片,以 1×10^5 个/孔的密度接种细胞,在条件为37 $^{\circ}$ C、5% CO₂的培养箱中培养12 h,按照1.3节将细胞分组给药48 h后,弃去培养基,用磷酸盐缓冲盐水(phosphate buffered saline, PBS)轻柔漂洗3次,弃去漂洗液后用4%多聚甲醛室温固定细胞爬片30 min,固定后再次用PBS漂洗3次。用0.5%的Triton X-100透化细胞爬片10 min(膜蛋白省去此步骤),再次用PBS漂洗3次细胞爬片。接着用5%牛血清白蛋白室温封闭细胞爬片30 min,将细胞爬片与TH(1:200)、Sirt1(1:100)、TLR4(1:200)、TNF- α (1:200)4 $^{\circ}$ C孵育过夜。次日,先用PBS漂洗3次,再在室温下避光孵育荧光二抗1 h, PBS漂洗3次,用含DAPI的抗荧光淬灭封片剂封片,激光共聚焦显微镜下观察,并采集图片,使用ImageJ软件对数据进行分析。

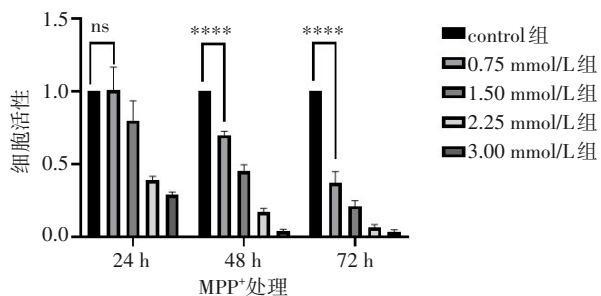
1.8 统计学方法

采用ImageJ软件进行计算,采用GraphPad Prism 8.0软件进行统计学分析与绘图。实验结果为计量资料,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用Tukey检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各药物最适浓度及加药时间的确定

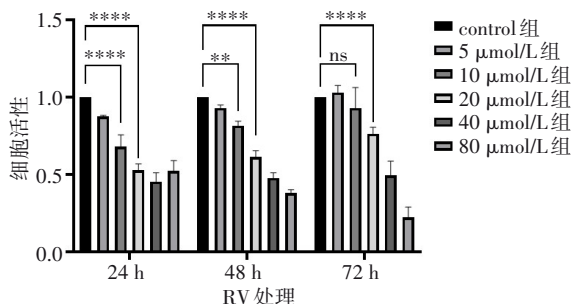
分别用0.00、0.75、1.50、2.25及3.00 mmol/L的MPP⁺处理SH-SY5Y细胞24、48及72 h。使用CCK-8检测细胞活性,结果显示,MPP⁺诱导了剂量依赖性的细胞活性下降,与control组相比,0.75 mmol/L组细胞增殖活性降低($P < 0.0001$)。根据细胞活性柱状图下降趋势取48 h为造模时间。见图1。



ns为差异无统计学意义;****为 $P<0.0001$ 。

图1 不同MPP⁺浓度及不同时间条件下处理的SH-SY5Y细胞活性

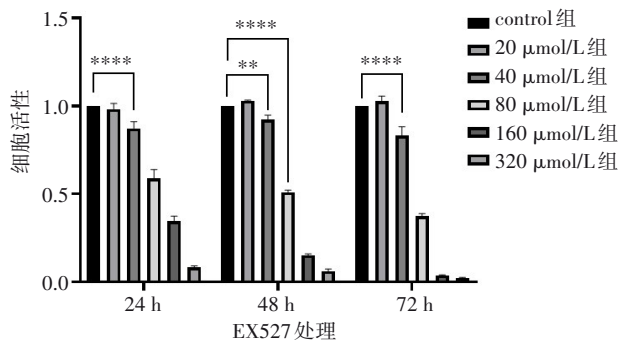
分别用0、5、10、20、40及80 μmol/L的RV处理SH-SY5Y细胞24、48及72 h。使用CCK-8检测细胞活性,结果显示,RV诱导了剂量依赖性的细胞增殖活性下降,与control组相比,20 μmol/L组细胞增殖活性降低($P<0.0001$),且不随时间的改变有较大变化(图2)。根据细胞活性柱状图下降趋势取48 h为造模时间。



ns为差异无统计学意义;**为 $P<0.01$;****为 $P<0.0001$ 。

图2 不同RV浓度及不同时间条件下处理的SH-SY5Y细胞活性

用浓度梯度为0、20、40、80、160及320 μmol/L的EX527处理SH-SY5Y细胞24、48及72 h。使用CCK-8检测细胞活性,结果显示,EX527诱导了剂量依赖性的细胞增殖活性下降,与control组相比,80 μmol/L组细胞增殖活性降低且稳定($P<0.0001$)。取48 h为造模时间。见图3。

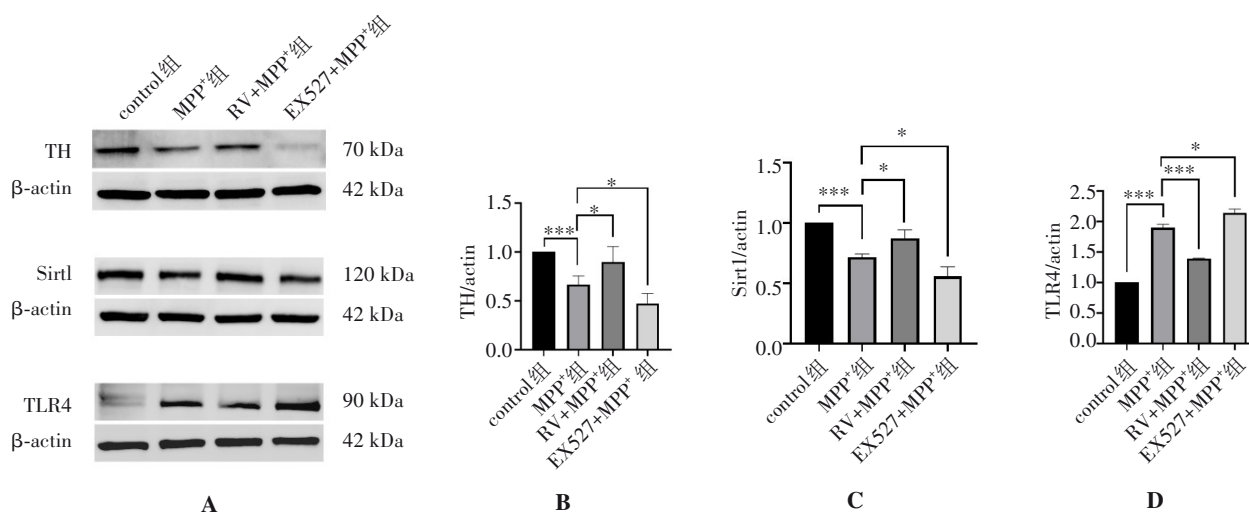


为 $P<0.01$;**为 $P<0.0001$ 。

图3 不同EX527浓度及不同时间条件下处理的SH-SY5Y细胞活性

2.2 蛋白质印迹法检测各组TH、Sirt1、TLR4的蛋白表达水平

MPP⁺组 TH、Sirt1 的蛋白表达水平低于 control 组,TLR4 的蛋白表达水平高于 control 组(均 $P<0.001$)。RV+MPP⁺组 TH、Sirt1 的蛋白表达水平高于 MPP⁺组(均 $P<0.05$),而 TLR4 的蛋白表达水平低于 MPP⁺组($P<0.001$)。EX527+MPP⁺组 TH、Sirt1 的蛋白表达水平低于 MPP⁺组($P<0.05$),而 TLR4 的蛋白表达水平高于 MPP⁺组($P<0.05$)。见图4。



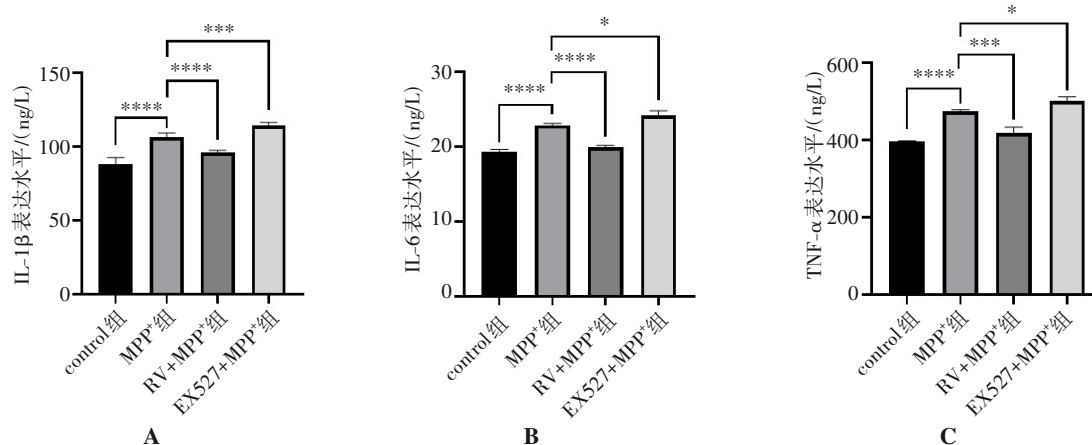
A: TH、Sirt1、TLR4 蛋白表达的电泳图;B:TH 的蛋白表达水平比较;C:Sirt1 的蛋白表达水平比较;D:TLR4 的蛋白表达水平比较;*为 $P<0.05$;***为 $P<0.001$ 。

图4 各组细胞中TH、Sirt1、TLR4的蛋白表达水平比较

2.3 ELISA 检测各组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的表达水平

与 control 组比较, MPP⁺ 组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达水平增高 (均 $P < 0.0001$); 与 MPP⁺ 组比较, RV+MPP⁺ 组

IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达水平降低 (均 $P < 0.001$); 与 MPP⁺ 组比较, EX527+MPP⁺ 组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达水平增高 (均 $P < 0.05$)。见图 5。



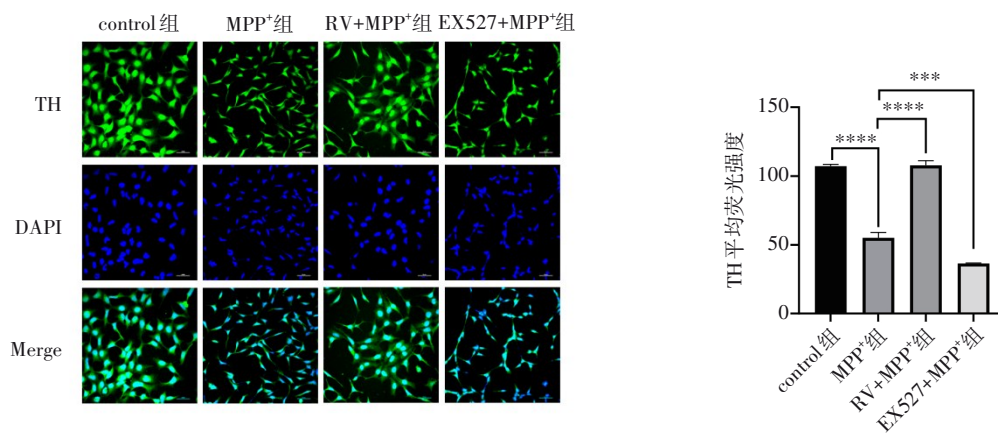
A: IL-1 β 表达水平; B: IL-6 表达水平; C: TNF- α 表达水平; *为 $P < 0.05$; ***为 $P < 0.001$; ****为 $P < 0.0001$ 。

图 5 各组细胞中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达水平比较

2.4 免疫荧光检测各组 TH、Sirt1、TLR4 及 IL-1 β 、TNF- α 的表达水平

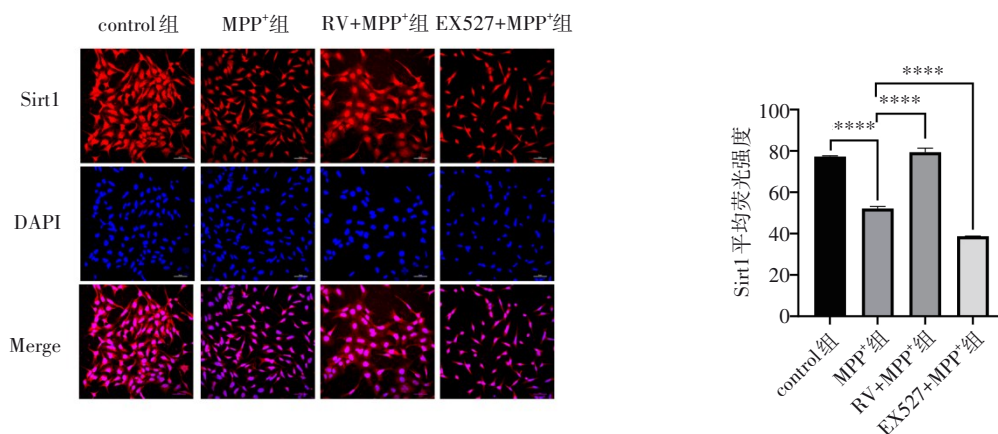
与 control 组比较, MPP⁺ 组 TH 和 Sirt1 的表达水平降低, 而 TLR4 及 IL-1 β 、TNF- α 的表达水平增高 (均 $P < 0.01$)。与 MPP⁺ 组比较, RV+MPP⁺ 组 TH、Sirt1 的表达水

平增高, 而 TLR4、IL-1 β 及 TNF- α 的表达水平降低 (均 $P < 0.01$)。与 MPP⁺ 组比较, EX527+MPP⁺ 组 TH、Sirt1 的表达水平降低, TLR4 及 IL-1 β 、TNF- α 的表达水平增高 (均 $P < 0.01$)。见图 6、图 7、图 8、图 9、图 10。



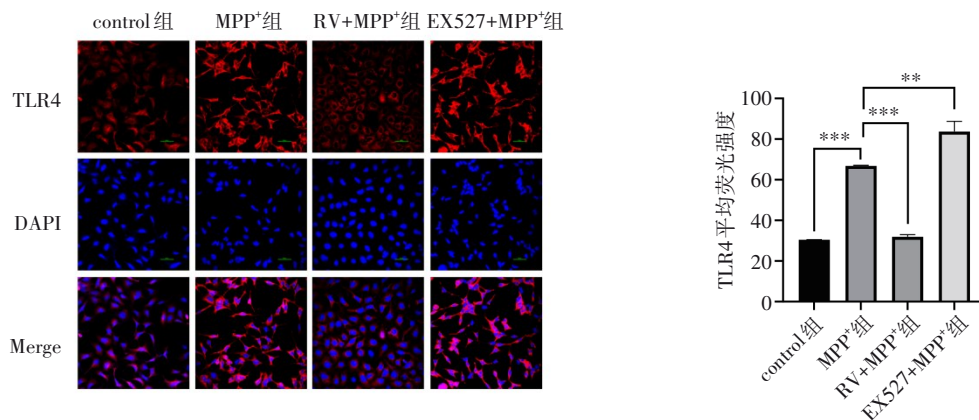
TH 蛋白发出绿色荧光, 荧光强度越强代表表达水平越高 (标尺 100 μm); ***为 $P < 0.001$; ****为 $P < 0.0001$ 。

图 6 各组细胞中 TH 蛋白免疫荧光图片及相关表达水平分析



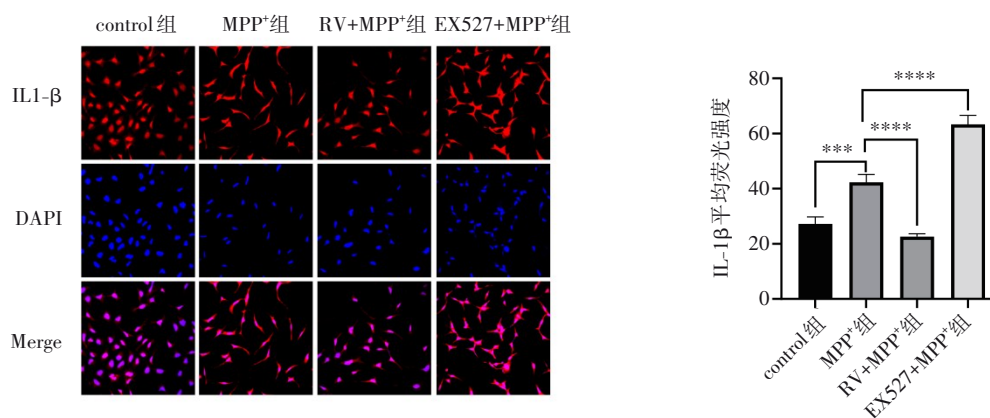
Sirt1 蛋白发出红色荧光, 荧光强度越强代表表达水平越高(标尺 100 μm); ****为 $P < 0.0001$ 。

图7 各组细胞中 Sirt1 蛋白免疫荧光图片及相关表达水平分析



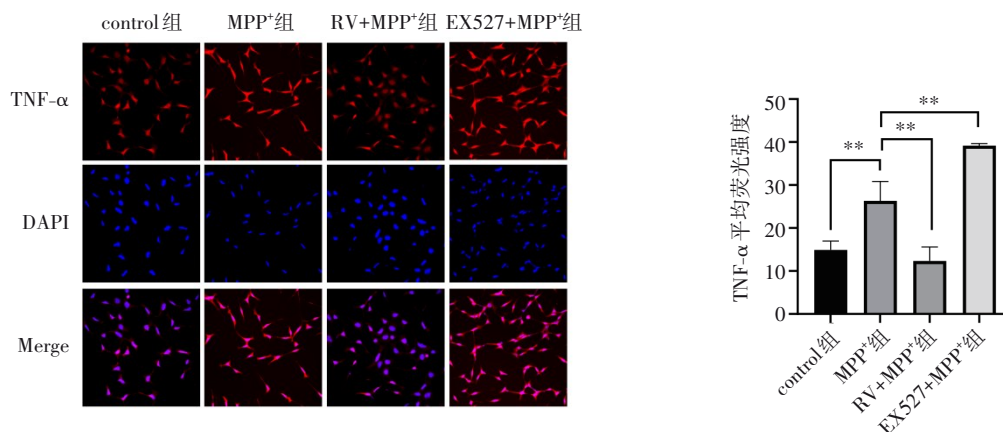
TLR4 蛋白发出红色荧光, 荧光强度越强代表表达水平越高(标尺 100 μm); **为 $P < 0.01$; ***为 $P < 0.001$ 。

图8 各组细胞中 TLR4 蛋白免疫荧光图片及相关表达水平分析



IL-1 β 蛋白发出红色荧光, 荧光强度越强代表表达水平越高(标尺 100 μm); ***为 $P < 0.001$; ****为 $P < 0.0001$ 。

图9 各组细胞中 IL-1 β 蛋白免疫荧光图片及相关表达水平分析



TNF- α 蛋白发出红色荧光, 荧光强度越强代表表达水平越高(标尺 100 μm); **为 $P < 0.01$ 。

图10 各组细胞中TNF- α 蛋白免疫荧光图片及相关表达水平分析

3 讨论

PD是一种较为常见的慢性神经退行性疾病,可造成多个系统受累,常常伴随多种运动症状和非运动症状,运动症状表现为静止性震颤、运动迟缓、冻结步态等,非运动症状则包括认知功能障碍以及焦虑抑郁情绪等。现有的治疗方案通常只能减轻患者的症状,但并不能延缓其病理发展进程。

MPP⁺是一种神经毒素,可使黑质纹状体系统的DA神经元受到损害,造成线粒体功能障碍及中枢神经系统退化^[17]。近年来,将MPP⁺作用于SH-SY5Y细胞被广泛用作制备PD的细胞模型。TH是DA合成的限速酶,其与脑内DA变化呈正相关。研究显示,TH在PD细胞模型、动物模型及患者中的表达水平及活性均有明显异常^[12]。本研究将MPP⁺作用于SH-SY5Y细胞制备PD的细胞模型,通过蛋白质印迹法检测及免疫荧光法检测其TH表达水平明显降低,证明PD细胞模型制备成功。

神经炎症通过复杂的机制导致DA神经元变性,进而使PD患者的疾病加重。TLR4是Toll样受体家族中的重要一员,作为存在于神经元、小胶质细胞及星形胶质细胞上的重要炎症受体,主要作用是促进炎症细胞因子的表达。本课题组前期的研究发现,在PD患者血清中被分泌的TLR4及其下游炎症因子呈高表达,且与PD分期密切相关^[8]。本研究结果显示,在神经细胞中MPP⁺组细胞TLR4、IL-1 β 、IL-6及TNF- α 表达水平均增高,这表明PD细胞存在大量炎症反应。Sirt1是去乙酰化酶家族中的一员,可以参与多种蛋白的去乙酰化作用,进而参与多种生理过程。既往研究表明,Sirt1是炎症的重要调节因子^[18-19],可以通过下调NF- κB 的活性来下调IL-6和TNF- α 等促炎细胞因子,进而缓解炎症^[20]。然而,目前关于Sirt1对PD细胞的作用机制尚未明确。本研究结果显示,MPP⁺

组细胞的Sirt1蛋白表达明显下降,提示Sirt1可能参与了PD的病程。

TLR4及Sirt1与炎症的发展都密切相关,TLR4在PD患者中呈高表达水平,Sirt1在炎症调节过程中发挥重要作用。因此,可以推测Sirt1通过调节TLR4及其下游炎症因子IL-1 β 、IL-6和TNF- α 的表达水平介导PD神经炎症的发生、发展。当前Sirt1激活剂在心血管方面的疾病治疗方面已投入使用,但其对PD治疗的研究欠缺。为探究Sirt1高表达水平是否能降低PD神经炎症的反应,本研究使用Sirt1激活剂RV进行干预,发现相对于PD组细胞,在其基础上加入RV后,TH、Sirt1的蛋白表达水平明显增高,而TLR4、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的蛋白表达水平明显下降,提示RV可以改善PD细胞的炎症状态。为了进一步验证Sirt1表达水平在PD细胞中的作用,本研究在PD组基础上加用Sirt1特异性抑制剂EX527进行干预,发现在EX527对Sirt1表达抑制后,相较于PD组细胞,TH、Sirt1的蛋白表达水平降低,而TLR4、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的蛋白表达水平增高,提示EX527可以加重PD细胞的炎症状态。由此进一步证明Sirt1可通过调节TLR4及其下游炎症因子IL-1 β 、IL-6和TNF- α 的表达水平介导PD的发生、发展。本研究结果可能为PD的治疗提供了新的思路。但Sirt1对TLR4通路的具体调控节点尚不明确,后续研究需进一步探究Sirt1如何调控TLR4通路的分子机制来影响PD的炎症进程。

本研究是基于SH-SY5Y细胞得出的结论,主要反映了神经元内在的炎症应答,而PD中则有更为复杂的神经炎症网络,包括胶质细胞的参与,未来需采用神经元-胶质细胞共培养,进一步验证该机制的普适性。

参 考 文 献

[1] PRAJWAL P, FLORES SANGA HS, ACHARYA K, et al.

- Parkinson's disease updates: addressing the pathophysiology, risk factors, genetics, diagnosis, along with the medical and surgical treatment[J]. *Ann Med Surg (Lond)*, 2023, 85(10): 4887-4902.
- [2] DURU IC, LECOMTE A, LAINE P, et al. Comparison of phage and plasmid populations in the gut microbiota between Parkinson's disease patients and controls[J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 13723.
- [3] FURGIUELE A, PEREIRA FC, MARTINI S, et al. Dopaminergic regulation of inflammation and immunity in Parkinson's disease: friend or foe?[J]. *Clin Transl Immunology*, 2023, 12(10): e1469.
- [4] NGUYEN TD, KHANAL S, LEE E, et al. Astaxanthin-loaded brain-permeable liposomes for Parkinson's disease treatment via antioxidant and anti-inflammatory responses[J]. *J Nanobiotechnology*, 2025, 23(1): 78.
- [5] BURTSCHER J, MORAUD EM, MALATESTA D, et al. Exercise and gait/movement analyses in treatment and diagnosis of Parkinson's disease[J]. *Ageing Res Rev*, 2024, 93: 102147.
- [6] ISIK S, YEMAN KIYAK B, AKBAYIR R, et al. Microglia mediated neuroinflammation in Parkinson's disease[J]. *Cells*, 2023, 12(7): 1012.
- [7] LÜ QK, TAO KX, WANG XB, et al. Role of α -synuclein in microglia: autophagy and phagocytosis balance neuroinflammation in Parkinson's disease[J]. *Inflamm Res*, 2023, 72(3): 443-462.
- [8] 郭清华,郭彦杰,宋净洋,等. 帕金森病患者血清中Toll样受体4及下游炎症因子的高表达与临床分期及分型的关系研究[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2022, 49(3): 41-45.
- [9] 郭彦杰. Resveratrol调控AMPK-SIRT1通路去乙酰化LC3对MPTP帕金森病小鼠的保护作用及机制研究[D]. 上海:上海交通大学, 2016.
- [10] LIAO HY, HUANG JG, LIU J, et al. Sirt1 regulates microglial activation and inflammation following oxygen-glucose deprivation/reoxygenation injury by targeting the Shh/Gli-1 signaling pathway[J]. *Mol Biol Rep*, 2023, 50(4): 3317-3327.
- [11] HUANG H, DUAN JB, DUAN WB, et al. Lutein ameliorates Parkinson's disease by regulating miR-135b-5p/SIRT1 to inhibit microglial M1 polarization and inflammation[J]. *Brain Res Bull*, 2025, 230: 111487.
- [12] 邢瑶平,郭彦杰,郭清华,等. SIRT1-TLR4信号通路在MPTP帕金森病小鼠模型炎症反应中的作用[J]. *广东医学*, 2023, 44(5): 550-557.
- [13] WANG Y, SADIKE D, HUANG B, et al. Regulatory T cells alleviate myelin loss and cognitive dysfunction by regulating neuroinflammation and microglial pyroptosis via TLR4/MyD88/NF- κ B pathway in LPC-induced demyelination[J]. *J Neuroinflammation*, 2023, 20(1): 41.
- [14] WEI X, ZHANG F, CHENG D, et al. Free heme induces neuroinflammation and cognitive impairment by microglial activation via the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway[J]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22(1): 16.
- [15] ZHU ZH, ZHANG LP, ELSHERBINI A, et al. The S1P receptor 1 antagonist ponosimod reduces TLR4-induced neuroinflammation and increases A β clearance in 5XFAD mice[J]. *EBioMedicine*, 2023, 94: 104713.
- [16] PEREZ-PARDO P, DODIYA HB, ENGEN PA, et al. Role of TLR4 in the gut-brain axis in Parkinson's disease: a translational study from men to mice[J]. *Gut*, 2019, 68(5): 829-843.
- [17] MARTÍN-JIMÉNEZ R, LURETTE O, HEBERT-CHATELAIN E. Damage in mitochondrial DNA associated with Parkinson's disease[J]. *DNA Cell Biol*, 2020, 39(8): 1421-1430.
- [18] RADA P, PARDO V, MOBASHER MA, et al. SIRT1 controls acetaminophen hepatotoxicity by modulating inflammation and oxidative stress[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 28(13): 1187-1208.
- [19] ZHAO Y, ZHANG JW, ZHENG YL, et al. NAD⁺ improves cognitive function and reduces neuroinflammation by ameliorating mitochondrial damage and decreasing ROS production in chronic cerebral hypoperfusion models through Sirt1/PGC-1 α pathway[J]. *J Neuroinflammation*, 2021, 18(1): 207.
- [20] XU FL, XU JX, XIONG X, et al. Salidroside inhibits MAPK, NF- κ B, and STAT3 pathways in psoriasis-associated oxidative stress via SIRT1 activation[J]. *Redox Rep*, 2019, 24(1): 70-74.

责任编辑:龚学民