

# 霍山石斛多糖调控NLRP3炎症小体对帕金森病模型神经炎性损伤的抑制作用

尚小龙<sup>1</sup>, 徐陈陈<sup>1</sup>, 董健健<sup>1</sup>, 慈春玲<sup>1</sup>, 张培<sup>1</sup>, 张良杰<sup>1</sup>, 金洪洋<sup>2</sup>, 李婕<sup>2</sup>, 王训<sup>1\*</sup>

(1. 安徽中医药大学神经病学研究所, 合肥 230038;

2. 安徽三生缘时代生物科技有限公司, 合肥 230093)

**[摘要]** 目的:研究霍山石斛多糖(DHP)对帕金森病(PD)模型神经元炎性损伤的抑制机制。方法:将SH-SY5Y细胞分为空白组、模型组和DHP组,噻唑蓝(MTT)比色法检测干预后各组SH-SY5Y细胞存活率,比色分析法检测细胞乳酸脱氢酶(LDH)、活性氧(ROS)、丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)的水平;将小胶质细胞(BV-2)分为空白组、模型组、DHP组和MCC950组(对照组),应用酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )和白细胞介素-18(IL-18)含量;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测NOD样受体蛋白3(NLRP3)、接头蛋白凋亡相关的点状蛋白(ASC)、胱天蛋白酶-1(Caspase-1)及IL-1 $\beta$ 蛋白的表达量。C57BL/6小鼠设置空白组、模型组、DHP低剂量(100 mg·kg<sup>-1</sup>)组、DHP高剂量(350 mg·kg<sup>-1</sup>)组及MCC950组(对照组),每组10只。通过平衡木实验、悬挂实验和转棒实验观察小鼠运动平衡和协调能力;免疫荧光染色法检测小鼠中脑黑质小胶质细胞Iba-1和酪氨酸羟化酶(TH)表达水平;FJB染色检测中脑黑质多巴胺神经元损伤情况;ELISA检测小鼠中脑组织IL-1 $\beta$ 、IL-18和TNF- $\alpha$ 等炎症因子表达水平;Western blot检测NLRP3、ASC、Caspase-1和IL-1 $\beta$ 蛋白表达水平。结果:与空白组比较,模型组细胞存活率降低,LDH、ROS和MDA水平升高( $P<0.05$ ),SOD水平降低( $P<0.05$ );与模型组比较,DHP组细胞存活率升高,LDH、ROS和MDA水平降低( $P<0.01$ ),SOD水平升高( $P<0.01$ )。与空白组比较,BV-2细胞模型组炎症因子IL-1 $\beta$ 、IL-18和TNF- $\alpha$ 水平升高( $P<0.05$ ),NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 及ASC蛋白表达增多( $P<0.05$ );与模型组比较,DHP组及MCC950组炎症因子IL-1 $\beta$ 、IL-18和TNF- $\alpha$ 水平降低( $P<0.01$ ),NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 及ASC蛋白表达减少( $P<0.01$ )。与空白组比较,模型组小鼠通过平衡木时间增多( $P<0.05$ ),转棒实验在棒时间减少( $P<0.05$ ),IL-1 $\beta$ 、IL-18和TNF- $\alpha$ 水平升高( $P<0.05$ ),Iba-1表达增多( $P<0.05$ ),TH表达水平降低( $P<0.05$ ),中脑黑质神经元阳性细胞数增多( $P<0.05$ ),NLRP3、Caspase-1、ASC及IL-1 $\beta$ 蛋白表达增多( $P<0.05$ );与模型组比较,DHP组及MCC950组小鼠通过平衡木时间减少( $P<0.01$ ),转棒实验中在棒时间增多( $P<0.01$ ),中脑炎症因子IL-1 $\beta$ 、IL-18和TNF- $\alpha$ 水平降低( $P<0.01$ ),中脑黑质Iba-1表达减少( $P<0.01$ ),TH表达水平升高( $P<0.01$ ),FJB染色中脑黑质神经元阳性细胞数减少( $P<0.01$ ),MCC950组NLRP3、ASC及IL-1 $\beta$ 蛋白降低( $P<0.01$ ),DHP高剂量组NLRP3、ASC、Caspase-1及IL-1 $\beta$ 蛋白降低( $P<0.01$ )。结论:DHP具有抗氧化应激作用;DHP可能通过调控NLRP3炎症小体表达,抑制小胶质细胞过度活化,进而降低PD模型神经炎性损伤,发挥神经保护作用。

**[关键词]** 帕金森病; 霍山石斛多糖; 氧化应激; 神经炎症; NOD样受体蛋白3(NLRP3)炎症小体

**[中图分类号]** R2-0;R33;R289;R742 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)11-0097-09

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20230437

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20230316.1459.002.html>

**[网络出版日期]** 2023-03-17 15:19:29

## Mechanism of *Dendrobium huoshanense* Polysaccharide Against Neuroinflammation in Parkinson's Disease Model: Based on NLRP3 Inflammasome

SHANG Xiaolong<sup>1</sup>, XU Chenchen<sup>1</sup>, DONG Jianjian<sup>1</sup>, CI Chunling<sup>1</sup>, ZHANG Pei<sup>1</sup>, ZHANG Liangjie<sup>1</sup>,  
JIN Hongyang<sup>2</sup>, LI Jie<sup>2</sup>, WANG Xun<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Neurology, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China;

**[收稿日期]** 2022-12-14

**[基金项目]** 安徽省自然科学基金项目(2208085QH262);2020年安徽中医药大学神经病学研究所临床专项基金项目(2020sjzd04)

**[第一作者]** 尚小龙,在读硕士,从事中西医结合防治神经退行性疾病研究,E-mail:18749826775@163.com

**[通信作者]** \*王训,博士,教授,博士生导师,从事中西医结合防治神经退行性疾病研究,E-mail:neurodoc@163.com

2. Anhui Sanshengyuan Times Biotechnology Co. Ltd., Hefei 230093, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the mechanism of *Dendrobium huoshanense* polysaccharide (DHP) against inflammatory damage of neurons in Parkinson's disease (PD) model. **Method:** SH-SY5Y cells were randomized into blank group, model group, and DHP group. The survival rate of cells was measured by thiazole blue (MTT) assay, and the levels of lactate dehydrogenase (LDH), reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA), and superoxide dismutase (SOD) were measured by colorimetric analysis. BV-2 microglia were classified into blank group, model group, DHP group, and MCC950 group (positive control group), and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was applied to detect the levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), and interleukin-18 (IL-18). The expression of NOD-like receptor protein 3 (NLRP3), adaptor protein apoptosis-associated dot protein (ASC), cysteine aspartic protease-1 (Caspase-1), and IL-1 $\beta$  was measured by Western blot. A total of 50 C57BL/6 mice were randomized into blank group, model group, DHP low-dose (100 mg·kg<sup>-1</sup>) group, DHP equivalent-dose (350 mg·kg<sup>-1</sup>) group, and MCC950 group (positive control group), 10 mice in each group. The motor balance and coordination of C57BL/6 mice were observed by beam walking test, tail suspension test and rotarod test. The levels of Iba-1 and tyrosine hydroxylase (TH) were detected by immunofluorescence staining. The damage of dopaminergic neurons in the substantia nigra was detected by FJB staining. The levels of inflammatory factors such as IL-1 $\beta$ , IL-18, and TNF- $\alpha$  in mouse midbrain tissues were detected by ELISA and the protein levels of NLRP3, ASC, Caspase-1, and IL-1 $\beta$  protein were measured by Western blot. **Result:** Compared with the blank group, the SH-SY5Y model group showed decreased cell survival, increased levels of LDH, ROS, and MDA ( $P < 0.05$ ), and decreased levels of SOD ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the DHP group demonstrated increased cell survival, decreased levels of LDH, ROS, and MDA ( $P < 0.01$ ), and increased level of SOD ( $P < 0.01$ ). Compared with the blank group, BV-2 model group had high levels of IL-1 $\beta$ , IL-18, and TNF- $\alpha$  ( $P < 0.05$ ) and high protein expression of NLRP3, Caspase-1, IL-1 $\beta$ , and ASC ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, DHP and MCC950 groups demonstrated low levels of IL-1 $\beta$ , IL-18, and TNF- $\alpha$  ( $P < 0.01$ ) and low protein expression of NLRP3, Caspase-1, IL-1 $\beta$ , and ASC ( $P < 0.01$ ). Compared with the blank group, the C57BL/6 model group displayed long time to pass the balance wood ( $P < 0.05$ ), short time spent on the rod in the rotarod test ( $P < 0.05$ ), high levels of IL-1 $\beta$ , IL-18, and TNF- $\alpha$  ( $P < 0.05$ ) and expression of Iba-1 in the midbrain substantia nigra ( $P < 0.05$ ), low TH expression ( $P < 0.05$ ), more positive neurons in the FJB staining ( $P < 0.05$ ), and high expression of NLRP3, Caspase-1, ASC, and IL-1 $\beta$  proteins ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the mice in the DHP and MCC950 groups had short time to pass the balance beam ( $P < 0.01$ ), long time spent on the rod ( $P < 0.01$ ), low levels of IL-1 $\beta$ , IL-18, and TNF- $\alpha$  ( $P < 0.01$ ), low Iba-1 expression in midbrain substantia nigra ( $P < 0.01$ ), high TH expression ( $P < 0.01$ ), and small number of positive neurons in the midbrain substantia nigra ( $P < 0.01$ ). The expression of NLRP3, ASC, and IL-1 $\beta$  proteins was lower in the MCC950 group ( $P < 0.01$ ), and the expression of NLRP3, ASC, Caspase-1 and IL-1 $\beta$  proteins was lower in the DHP equivalent-dose group ( $P < 0.01$ ) than in the model group. **Conclusion:** DHP has anti-oxidative stress effect. It regulates the expression of NLRP3 inflammasome and inhibits the overactivation of microglia, thereby alleviating the neuroinflammatory injury in PD and exerting the neuroprotective effect.

**[Keywords]** Parkinson's disease; *Dendrobium huoshanense* polysaccharide; oxidative stress; neuroinflammation; NOD-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome

帕金森病(PD)是一种常见的神经退行性疾病,以黑质纹状体区多巴胺能神经元进行性缺失和纹状体多巴胺含量显著减少为特征。随着我国人口

老龄化加剧,PD的高患病率与高致残率将带来沉重的社会负担<sup>[1]</sup>。目前PD临床药物治疗主要采用复方左旋多巴、多巴胺受体激动剂及单胺氧化酶B抑

制剂(MAOI-B)等<sup>[2]</sup>,缺乏可以阻止PD病情进展、具备循证依据的疾病修饰疗法<sup>[3]</sup>。关于PD相关基因靶向药物仍在探索中,仅少数家族性早发型PD可能获益<sup>[4-6]</sup>。因此探索中医药在PD疾病进展中修饰疗法的潜在可能意义重大。

霍山石斛是中国特有的安徽道地药材,是石斛中的极品,临床配伍应用于肝肾阴虚型帕金森病患者,疗效确切。霍山石斛多糖(DHP)是其主要抗炎部位<sup>[7]</sup>,具有调节免疫、保肝、抗衰老等作用<sup>[8-10]</sup>。研究表明,DHP对1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)诱导的PD小鼠具有抑制氧化应激和减轻神经炎症损伤作用,但并没有阐释DHP减轻神经炎症损伤的机制<sup>[11]</sup>。为探究DHP对PD可能作用及机制,早期以SH-5YSY细胞模型为基础,观察DHP抗氧化应激作用;逐步构建PD神经炎症细胞模型和动物模型,在实验室前期研究基础上,以NOD样受体蛋白3(NLRP3)炎症小体为突破点,观察DHP对减轻PD神经炎症损伤的可能机制。

## 1 材料

**1.1 细胞及动物** 人神经母瘤细胞SH-SY5Y细胞和小鼠小胶质细胞BV-2细胞均购于合肥苗苗生物科技有限公司,编号分别为BNCC100158、BNCC337749。分别培养于含10% FBS、1%抗生素(包括青霉素100 U·mL<sup>-1</sup>,链霉素100 g·L<sup>-1</sup>)、1% L-谷氨酰胺MEM/F12培养基中,分别已传至6、3代。培养条件:37℃恒温、5% CO<sub>2</sub>,每2~3 d传代1次。

SPF级雄性C57BL/6小鼠50只,体质量22~25 g,6~8周龄,购于杭州子源实验动物科技有限公司,动物合格证号SCXK(浙)2022-0002,适应性喂养1周。动物实验符合3R原则,由中国科学院合肥物质科学研究院动物伦理委员会批准并指导进行,编号IACUC190001。

**1.2 药品和试剂** DHP(上海源叶生物,批号M20HS177550),纯度为60.4%;细胞噻唑蓝(MTT)试剂盒、细胞乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒、活性氧(ROS)荧光测定试剂盒(北京索莱宝生物科技有限公司,批号分别为20220012、20220220、20220414、20220207、20220301);MPP<sup>+</sup>、MPTP(美国Sigma公司,批号分别为0000096704、SLCJ8770);MCC950(美国Selleckchem公司,批号S780904); $\beta$ -微管蛋白( $\beta$ -tubulin)兔单克隆抗体(成都正能生物技术有限公司,批号KK03180);辣根酶标记山羊抗兔免疫球

蛋白(Ig)G(H+L)(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号L18AU60);胱天蛋白酶-1(Caspase-1)、NLRP3、接头蛋白凋亡相关的点状蛋白(ASC)、IL-1 $\beta$ 抗体(英国Abcam公司,批号分别为ab138483、ab270449、ab175449、ab254360);细胞和小鼠IL-18、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(上海江莱生物科技有限公司,批号分别为JL2022040006、JL2022030011、JL2022040001、JL2022080001、JL2022010001、JL2022090003)。

**1.3 仪器** CKX41型荧光倒置显微镜(日本Olympus公司);Epoch2型全波长酶标仪(美国BioTek公司);Fine DO X6型全自动化学发光图像分析系统(上海天能科技有限公司);TGL-16型医用高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器公司);Powerpac Basic型电泳仪(美国Bio-Rad公司);XR1514型转棒疲劳测试仪(上海欣软信息科技有限公司)。

## 2 方法

**2.1 细胞及小鼠PD模型的构建** 应用1 mmol·L<sup>-1</sup>浓度MPP<sup>+</sup>作用SH-SY5Y细胞12 h构建PD细胞模型;应用0.25 mg·L<sup>-1</sup>脂多糖(LPS)诱导3 h,再以100  $\mu$ mol·L<sup>-1</sup>浓度MPP<sup>+</sup>作用BV-2细胞8 h以构建PD神经炎症模型;体内实验采用30 mg·kg<sup>-1</sup> MPTP连续5 d皮下注射C57BL/6小鼠建立PD小鼠模型,注射完成后,小鼠出现自主活动减少、运动迟缓、震颤、步态不稳、竖毛等现象则造模成功<sup>[12]</sup>。

**2.2 药物制备** 体外实验DHP用MEM培养基30 mL稀释,超声波辅助溶解,参数设置为温度37℃、时间120 min、超声频率90 kHz,离心3 000 r·min<sup>-1</sup>,微孔滤膜针式过滤器过滤,配制1 000 mg·L<sup>-1</sup>母液,现用现配;体内实验DHP使用ddH<sub>2</sub>O稀释,60℃水浴加热至完全溶解,分别配置4.4、15.4 kg·L<sup>-1</sup>溶液。

**2.3 分组及干预** 按照2.1项方法构建PD相关模型。SH-5YSY细胞实验:设置空白组、模型组和DHP组,空白组加入无血清培养液,DHP组加入DHP作用6 h后,DHP组及模型组加入MPP<sup>+</sup>作用12 h;BV-2细胞相关预实验应用不同浓度(2、4、6、8、12.5、25、50、100、200、400 mg·L<sup>-1</sup>) DHP作用于BV-2细胞模型,ELISA检测IL-1 $\beta$ 水平,筛选得到50、100 mg·L<sup>-1</sup>作为DHP应用于BV-2细胞的质量浓度。设置空白组、模型组、DHP组和MCC950组(阳性对照)。DHP组加入DHP预保护6 h,阳性对照组加入100 nmol·L<sup>-1</sup> MCC950作用1 h后,空白组加入完全无血清培养液,DHP组、模型组及MCC950组加入MPP<sup>+</sup>作用8 h;细胞实验各组均设6个样本。

体内实验除设置空白组、模型组及MCC950组外,参考2020年版《中华人民共和国药典》及相关文献<sup>[13]</sup>,按成人 $9\text{ g}\cdot\text{d}^{-1}$ 用量及提取率,设置小鼠DHP临床等效剂量组即 $350\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 为高剂量组,另设置 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 为低剂量组。造模完成后,空白组灌胃ddH<sub>2</sub>O 0.5 mL,1次/d;DHP组灌胃0.5 mL,1次/d;MCC950组腹腔注射MCC950  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,1次/d,持续2周<sup>[14]</sup>。

**2.4 MTT比色法检测细胞存活率** 按2.3项下方法,其中DHP组设置质量浓度2、4、6、8、12.5、25、50、100、200、400  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,各组均设置6个复孔。MPP<sup>+</sup>作用时间结束后,每孔加入MTT溶液20  $\mu\text{L}$ (避光),继续培养3 h,每孔加入DMSO溶液150  $\mu\text{L}$ (避光),酶标仪450 nm处测定各孔吸光度 $A$ 。细胞存活率= $A_{\text{给药组}}/A_{\text{空白组}}\times 100\%$ 。

**2.5 LDH漏出率检测** 按照2.3项下方法收集的SH-5YSY细胞取出1份,消化收集上清液,按照LDH试剂盒说明书进行检测。

**2.6 细胞MDA和SOD水平检测** 按照2.3项下方法收集的SH-5YSY细胞取出各1份,以RIPA裂解液裂解细胞提取总蛋白,按照MDA和SOD测定试剂盒测定其MDA和SOD水平。

**2.7 流式细胞仪检测细胞内的ROS水平** 按2.3项下方法收集SH-5YSY细胞悬液,1 500  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心5 min,弃上清,加入4℃预冷的PBS 3 mL完全重悬细胞,离心弃上清。沉淀震荡混匀。按1:1 000用无血清培养基稀释DCFH-DA,终浓度10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,放于培养箱内孵育20 min,每隔3~5 min颠倒混匀1次,使探针和细胞充分接触,无血清培养液洗涤3次。流式细胞仪进行检测,FlowJo软件分析结果。

**2.8 ELISA检测中脑组织IL-1 $\beta$ 、IL-18和TNF- $\alpha$ 水平** 按2.3项下方法,体外实验各组均设置6个复孔,消化收集上清液;体内实验取材各组小鼠中脑组织,经RIPA裂解液裂解等处理后加入酶标板,按照ELISA各试剂盒说明书进行检测。

**2.9 免疫荧光法检测中脑黑质Iba-1及TH表达水平** 小鼠取材后,石蜡切片,烘烤,脱蜡后,0.3% Triton X-100打孔5 min,5%正常驴血清封闭1 h,特异性一抗(1:500)孵育过夜。二抗室温孵育2 h,封片后闭光保存。观察中脑黑质部位染色呈阳性的神经元,高倍镜下各组随机选取10个视野,计数Iba-1及TH染色阳性细胞数,并观察其形态变化。

**2.10 FJB染色法检测小鼠中脑黑质多巴胺能神经元损伤情况** 小鼠取材,PBS清洗后,放入组织固定

液中。石蜡切片脱蜡至水,用现配的0.1%冰乙酸做溶剂,按1:50~1:100配制FJB工作液,混匀,滴加到组织上室温孵育20 min;纯水冲洗,DAPI染核,PBS冲洗;吹风机吹干,二甲苯透明2 min,中性树脂封片。在荧光显微镜下观察并采集图像,观察中脑黑质部位染色呈阳性的神经元,高倍镜下各组随机选取10个视野计数。

**2.11 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测中脑黑质NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 蛋白表达** 裂解细胞及动物组织,3 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,加入蛋白上样缓冲液,100℃水浴加热8 min,-80℃冰箱保存备用。12%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,将蛋白转移到NC膜。用PBST封闭液4℃摇床孵育过夜,PBST洗涤,一抗常温摇床孵育4 h,PBST缓冲液洗涤,将NC膜与二抗(1:10 000)室温摇床孵育1.5 h。使用ECL化学发光试剂盒曝光,运用Image J软件分析条带灰度值,以目的蛋白与内参蛋白灰度值比值作为该蛋白表达量。

## 2.12 行为学检测

**2.12.1 平衡木实验** 训练小鼠通过平衡木进入黑色方盒。实验前每只小鼠训练3次,为期3 d。记录小鼠通过平衡木的时间,每只记录3次,取平均值。

**2.12.2 悬挂实验** 将一条细线连接在长约60 cm、高50 cm纸箱上端正中部,下铺软垫,将小鼠前爪横挂线上。记录悬挂时间,每只测定3次,取平均值。

**2.12.3 转棒实验** 用转棒疲劳测试仪进行检测,转速为30  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,记录小鼠在转棒上运动时间,测试3次取平均值。

**2.13 统计学方法** 实验数据采用SPSS 26.0软件进行统计学分析,计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。Levene检验判断方差齐性,各组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),多重比较采用最小显著性差异法(LSD)检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 对MPP<sup>+</sup>诱导的SH-SY5Y细胞存活率的影响

MTT实验结果显示,与空白组比较,模型组细胞存活率降低( $P<0.05$ );与模型组比较,DHP多个浓度组细胞存活率升高( $P<0.01$ ),其中DHP  $6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 为最佳质量浓度( $P<0.01$ );选择3、12  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 作为对照质量浓度进行后续实验。见表1。

**3.2 对MPP<sup>+</sup>诱导的SH-SY5Y细胞LDH漏出率的影响** 与空白组比较,模型组LDH漏出率明显增加( $P<0.05$ );与模型组比较,DHP 3、6、12  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组LDH漏出率显著降低( $P<0.01$ )。见表2。

表1 DHP对SH-SY5Y细胞活性的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 1 Effect of DHP on activity of SH-SY5Y cell ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	细胞活性/%
空白组		100.00±0.00
模型组		42.56±8.55 <sup>1)</sup>
DHP组	2	79.90±11.44 <sup>2)</sup>
	4	85.12±16.87 <sup>2)</sup>
	6	88.93±6.22 <sup>2)</sup>
	8	86.63±16.44 <sup>2)</sup>
	12.5	72.96±15.05 <sup>2)</sup>
	25	73.37±12.81 <sup>2)</sup>
	50	75.81±25.58 <sup>2)</sup>
	100	77.20±9.07 <sup>2)</sup>
200	83.98±28.74 <sup>2)</sup>	
400	69.02±15.27	

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较<sup>2)</sup> $P<0.01$ (表2-表10同)

表2 DHP对SH-SY5Y细胞模型漏出率的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 2 Effect of DHP on leakage rate of SH-SY5Y cell ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	LDH漏出率/%
空白组		15.07±3.81
模型组		69.05±4.96 <sup>1)</sup>
DHP组	3	46.25±5.56 <sup>2)</sup>
	6	32.50±5.69 <sup>2)</sup>
	12	53.62±3.17 <sup>2)</sup>

3.3 对MPP<sup>+</sup>诱导SH-SY5Y细胞氧化应激反应的影响 与空白组比较,模型组MDA水平和ROS荧光强度提高,SOD水平下降( $P<0.05$ );与模型组比较,DHP 3、6、12  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 质量浓度组MDA水平和ROS荧光强度均降低,SOD水平显著升高( $P<0.01$ )。见表3。

3.4 对MPP<sup>+</sup>诱导BV-2细胞炎症因子水平的影响 与空白组比较,模型组炎症因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-18水平明显增高( $P<0.05$ );与模型组比较,DHP 50、100  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 质量浓度组及MCC950组IL-1 $\beta$ 、

表5 DHP对BV-2细胞NLRP3炎症小体相关蛋白表达的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 5 Effect of DHP on expression of NLRP3 inflammasome associated protein ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	浓度	NLRP3/ $\beta$ -tubulin	IL-1 $\beta$ / $\beta$ -tubulin	Caspase-1/ $\beta$ -tubulin	ASC/ $\beta$ -tubulin
空白组		0.18±0.01	0.54±0.07	0.30±0.02	0.61±0.23
模型组		1.11±0.10 <sup>1)</sup>	1.09±0.08 <sup>1)</sup>	0.92±0.09 <sup>1)</sup>	0.88±0.40 <sup>1)</sup>
DHP组	50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.97±0.10	0.49±0.03 <sup>2)</sup>	0.42±0.03 <sup>2)</sup>	0.60±0.31
	100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.74±0.10 <sup>2)</sup>	0.35±0.02 <sup>2)</sup>	0.37±0.04 <sup>2)</sup>	0.36±0.17 <sup>2)</sup>
MCC950组	100 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	0.82±0.10	0.68±0.07 <sup>2)</sup>	0.46±0.08 <sup>2)</sup>	0.25±0.09 <sup>2)</sup>

表3 DHP对MPP<sup>+</sup>诱导SH-SY5Y细胞MDA、ROS和SOD水平的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 3 Effect of DHP on MDA, ROS and SOD levels of SH-SY5Y cells induced by MPP<sup>+</sup> ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	MDA/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	ROS荧光强度	SOD/ $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$
空白组		0.03±0.01	1 104.03±84.42	12.37±0.91
模型组		0.14±0.02 <sup>1)</sup>	14 686.42±1 501.02 <sup>1)</sup>	6.45±1.17 <sup>1)</sup>
DHP组	3	0.09±0.01 <sup>2)</sup>	6 897.25±483.81 <sup>2)</sup>	8.18±0.52 <sup>2)</sup>
	6	0.06±0.01 <sup>2)</sup>	4 873.34±608.24 <sup>2)</sup>	10.23±0.87 <sup>2)</sup>
	12	0.10±0.01 <sup>2)</sup>	7 897.12±483.83 <sup>2)</sup>	8.82±1.00 <sup>2)</sup>

TNF- $\alpha$ 、IL-18水平均显著降低( $P<0.01$ )。见表4。

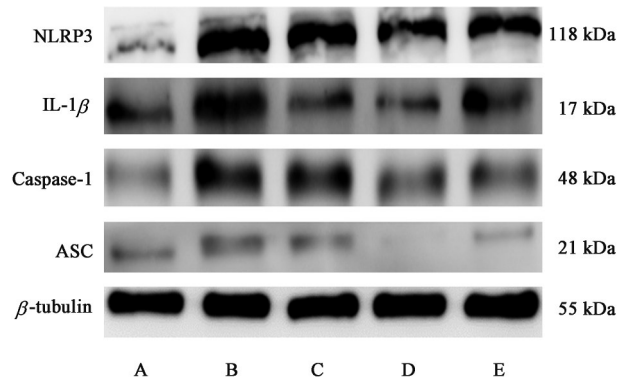
表4 DHP对MPP<sup>+</sup>诱导BV-2细胞IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-18水平的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 4 Effect of DHP on IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and IL-18 in BV-2 cells induced by MPP<sup>+</sup> ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	浓度	IL-1 $\beta$	TNF- $\alpha$	IL-18
空白组		79.96±8.05	2.65±0.18	22.14±0.94
模型组		172.51±12.70 <sup>1)</sup>	6.44±0.28 <sup>1)</sup>	40.24±5.26 <sup>1)</sup>
DHP组	50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	107.03±8.58 <sup>2)</sup>	4.71±0.47 <sup>2)</sup>	25.58±0.75 <sup>2)</sup>
	100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	116.32±10.76 <sup>2)</sup>	4.47±0.42 <sup>2)</sup>	25.83±0.83 <sup>2)</sup>
MCC950组	100 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	112.11±10.35 <sup>2)</sup>	4.90±0.35 <sup>2)</sup>	26.82±0.67 <sup>2)</sup>

3.5 对MPP<sup>+</sup>诱导BV-2细胞NLRP3炎症小体相关蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 蛋白表达明显增加( $P<0.05$ );与模型组比较,DHP 50  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组Caspase-1、IL-1 $\beta$ 蛋白表达显著降低( $P<0.01$ ),DHP 100  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组和MCC950组NLRP3、ASC、Caspase-1及IL-1 $\beta$ 蛋白表达均显著降低( $P<0.01$ )。见表5、图1。

3.6 对C57BL/6小鼠行为学表现的影响 与空白组比较,模型组小鼠通过平衡木时间明显延长( $P<0.05$ );与模型组比较,DHP组及对照组通过平衡木时间显著缩短( $P<0.01$ )。悬挂实验各组间比较无统计学意义。与空白组比较,模型组转棒时间明显缩短( $P<0.05$ ),与模型组比较,DHP组及MCC950组



注：A. 空白组；B. 模型组；C. DHP 50 mg·L<sup>-1</sup>组；D. DHP 100 mg·L<sup>-1</sup>组；E. MCC950组

图1 各组BV-2细胞NLRP3炎症小体相关蛋白表达电泳  
Fig. 1 Electrophoresis of NLRP3 inflammasome associated protein of BV-2 cells

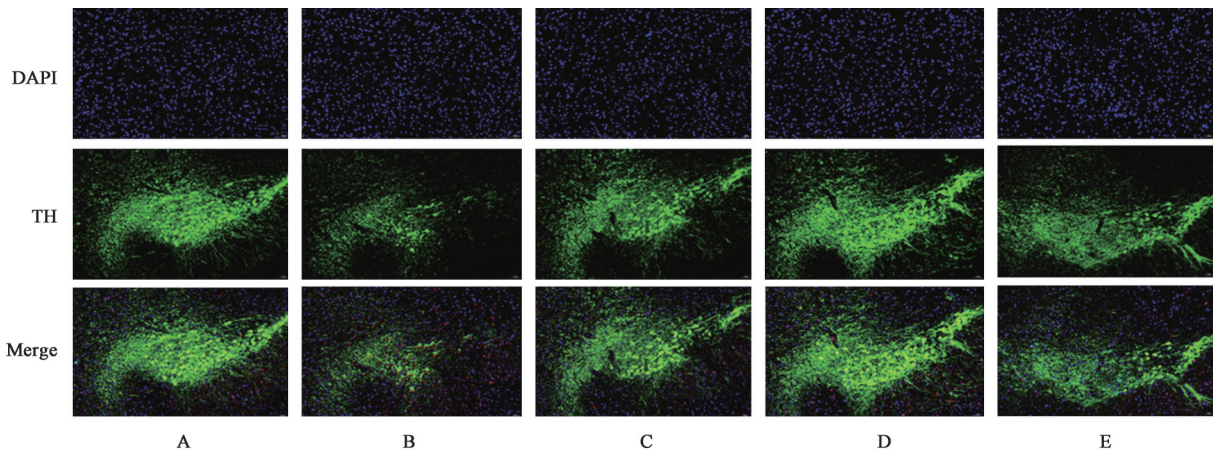
时间均显著延长,差异具有统计学意义( $P<0.01$ )。见表6。

表6 DHP对C57BL/6小鼠行为学表现的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 6 Effect of DHP on behavioral performance in C57BL/6 mice ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	平衡木实验 时间	悬挂实验 时间	转棒实验 时间
空白组		11.23±1.05	34.41±11.83	43.92±16.41
模型组		13.92±1.59 <sup>1)</sup>	34.22±16.03	23.21±6.41 <sup>1)</sup>
DHP低剂量组	100	12.53±0.91 <sup>2)</sup>	35.61±16.60	34.52±8.89 <sup>2)</sup>
DHP高剂量组	350	11.64±0.82 <sup>2)</sup>	36.54±11.62	38.21±7.10 <sup>2)</sup>
MCC950组	10	12.20±1.42 <sup>2)</sup>	31.73±11.76	31.33±9.18 <sup>2)</sup>

3.7 对C57BL/6小鼠中脑黑质TH及Iba-1表达水平的影响 与空白组比较,模型组TH表达水平明显下降( $P<0.05$ ),Iba-1表达明显增强( $P<0.05$ );与模型组比较,DHP组及MCC950组TH表达水平显著升高( $P<0.01$ ),MCC950组及DHP组Iba-1表达显著降低( $P<0.01$ )。见图2和图3、表7。



注：A. 空白组；B. 模型组；C. DHP低剂量组；D. DHP高剂量组；E. MCC950组(图3-图5同)

图2 DHP对C57BL/6小鼠中脑黑质TH表达的影响(免疫荧光,×20)

Fig. 2 Effect of DHP on TH expression in midbrain substantia nigra of various groups of C57BL/6 mice (IF, ×20)

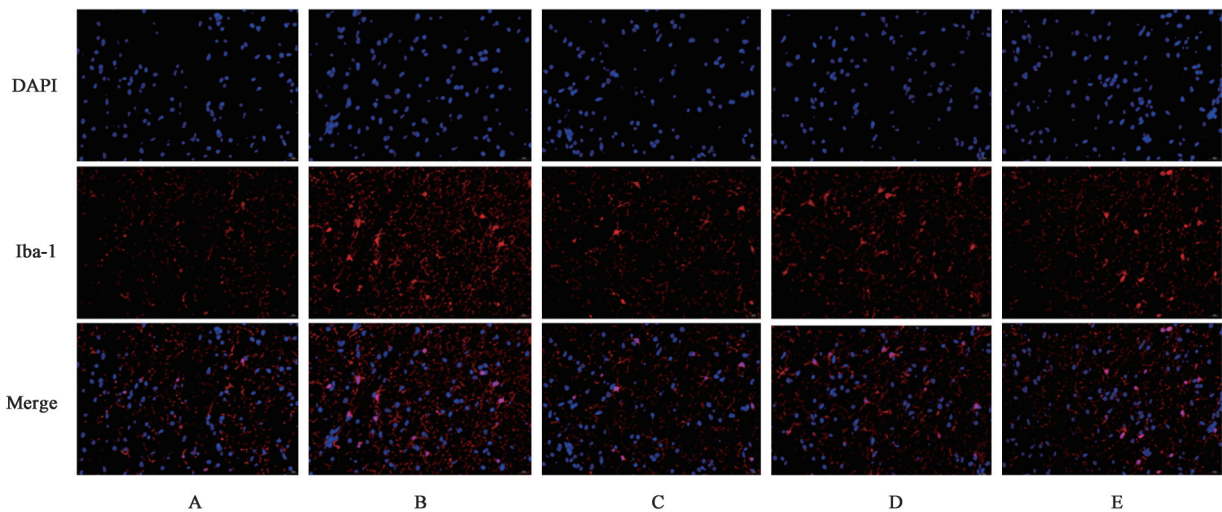


图3 DHP对C57BL/6小鼠中脑黑质Iba-1表达的影响(免疫荧光,×60)

Fig. 3 Effect of DHP on expression of Iba-1 in midbrain substantia nigra of various groups of C57BL/6 mice (IF, ×60)

表7 DHP对C57BL/6小鼠中脑黑质Iba-1及TH表达的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 7 Effect of DHP on expression of Iba-1 and TH in midbrain substantia nigra of C57BL/6 mice ( $\bar{x}\pm s, n=10$ ) 个

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	Iba-1	TH
空白组		10.80±2.14	75.72±2.08
模型组		22.32±2.85 <sup>1)</sup>	28.01±4.36 <sup>1)</sup>
DHP低剂量组	100	16.74±3.01 <sup>2)</sup>	44.72±3.51 <sup>2)</sup>
DHP高剂量组	350	14.52±2.07 <sup>2)</sup>	58.73±3.50 <sup>2)</sup>
MCC950组	10	14.67±1.21 <sup>2)</sup>	43.03±4.60 <sup>2)</sup>

3.8 对C57BL/6小鼠中脑黑质多巴胺能神经元损伤的影响 与空白组比较,模型组中脑神经元损伤程度明显升高( $P<0.05$ );与模型组比较,DHP组及MCC950组中脑黑质神经元损伤程度显著降低( $P<0.01$ )。见表8、图4。

3.9 对C57BL/6小鼠中脑炎症因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 和IL-18的水平的影响 与空白组比较,模型组小鼠中脑炎症因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 和IL-18水平明显升高( $P<0.05$ );与模型组比较,MCC950组IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 水平显著降低( $P<0.01$ ),DHP组IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 和IL-18水平均显著降低( $P<0.01$ )。见表9。

3.10 对C57BL/6小鼠中脑NLRP3炎症小体相关蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组NLRP3、ASC、Caspase-1及IL-1 $\beta$ 蛋白表达明显增加( $P<0.05$ );与模型组比较,DHP低剂量组NLRP3、ASC蛋白表达显著降低( $P<0.01$ ),MCC950组NLRP3、

表8 DHP对MPTP诱导的C57BL/6小鼠中脑黑质神经元损伤的影响 ( $n=3$ )

Table 8 Effect of DHP on MPTP-induced substantia nigra injury in C57BL/6 mice ( $n=3$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	FJB阳性细胞数 /个( $\bar{x}\pm s$ )	FJB/DAPI /%
空白组		11.71±2.16	8.87
模型组		60.22±7.01 <sup>1)</sup>	45.76
DHP低剂量组	100	44.34±4.32 <sup>2)</sup>	33.71
DHP高剂量组	350	38.71±4.76 <sup>2)</sup>	29.41
MCC950组	10	43.82±3.66 <sup>2)</sup>	33.33

表9 DHP对C57BL/6小鼠中脑炎症因子水平IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 和IL-18的水平的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 9 Effect of DHP on reducing levels of midbrain inflammatory factors IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and IL-18 in C57BL/6 mice ( $\bar{x}\pm s, n=6$ ) ng·L<sup>-1</sup>

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	IL-1 $\beta$	TNF- $\alpha$	IL-18
空白组		80.51±15.18	73.61±16.98	29.33±8.78
模型组		190.10±14.68 <sup>1)</sup>	132.71±13.52 <sup>1)</sup>	61.62±0.92 <sup>1)</sup>
DHP低剂量组	100	115.03±13.94 <sup>2)</sup>	91.65±13.95 <sup>2)</sup>	46.54±5.95 <sup>2)</sup>
DHP高剂量组	350	89.72±14.31 <sup>2)</sup>	79.81±9.25 <sup>2)</sup>	39.22±2.94 <sup>2)</sup>
MCC950组	10	92.91±12.24 <sup>2)</sup>	86.30±14.83 <sup>2)</sup>	52.71±12.51

ASC及IL-1 $\beta$ 蛋白表达显著降低( $P<0.01$ ),DHP高剂量组NLRP3、ASC、Caspase-1及IL-1 $\beta$ 蛋白表达均显著降低( $P<0.01$ )。见图5、表10。

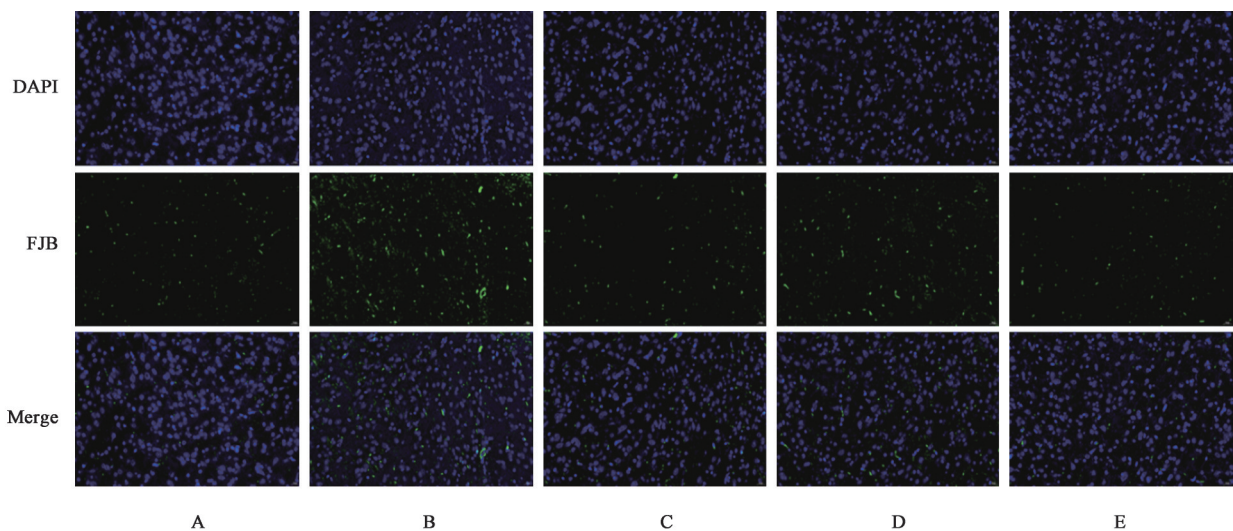


图4 DHP对MPTP诱导的C57BL/6小鼠中脑黑质神经元损伤的影响(FJB染色,×40)

Fig. 4 Effect of DHP on MPTP-induced substantia nigra injury in C57BL/6 mice (FJB staining, ×40)

#### 4 讨论

PD属祖国医学“颤拘”之发病范畴<sup>[15]</sup>,基本病

机为肝风内动,经脉失养。中医学认为帕金森病总属本虚标实。本虚以肝肾亏虚为主,致使筋脉失养

表10 DHP对小鼠中脑NLRP3炎症小体相关蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 10 Effect of DHP on expression of NLRP3 inflammasome associated protein in C57BL/6 mice midbrain ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	NLRP3/ $\beta$ -tubulin	IL-1 $\beta$ / $\beta$ -tubulin	Caspase-1/ $\beta$ -tubulin	ASC/ $\beta$ -tubulin
空白组		0.11±0.07	0.54±0.04	0.16±0.08	0.79±0.16
模型组		1.11±0.06 <sup>1)</sup>	1.29±0.01 <sup>1)</sup>	1.10±0.04 <sup>1)</sup>	1.11±0.21 <sup>1)</sup>
DHP低剂量组	100	0.37±0.08 <sup>2)</sup>	1.14±0.11	0.83±0.07	0.53±0.34 <sup>2)</sup>
DHP高剂量组	350	0.28±0.08 <sup>2)</sup>	0.72±0.05 <sup>2)</sup>	0.23±0.06 <sup>2)</sup>	0.34±0.37 <sup>2)</sup>
MCC950组	10	0.35±0.05 <sup>2)</sup>	0.83±0.04 <sup>2)</sup>	0.99±0.05	0.47±0.20 <sup>2)</sup>

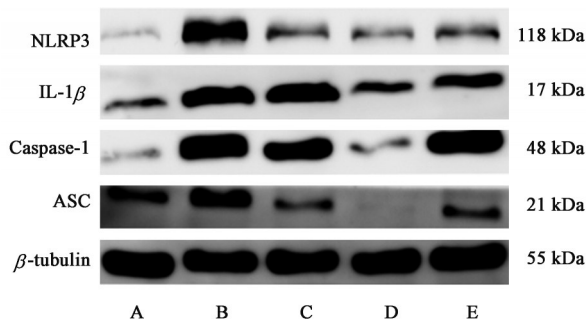


图5 C57BL/6小鼠中脑NLRP3炎症小体相关蛋白表达电泳  
Fig. 5 Electrophoresis of NLRP3 inflammasome associated protein of C57BL/6 mice midbrain

而出现姿势平衡障碍、运动迟缓、静止性震颤和肌强直等症状。故而中医临床实践中多应用滋补肝肾之品。霍山石斛归胃、肾经,长于滋胃肾之阴,用于补五脏虚劳羸瘦,强阴益精,补肾益力。DHP是霍山石斛主要效用成分。虽无DHP直接治疗PD患者的报道,但霍山石斛在临床中对PD的潜在治疗作用可能与DHP有关。

PD发病机制复杂,中脑黑质区多巴胺能神经元死亡是其主要病理特征。由于遗传、环境和年龄因素之间的复杂相互作用,以及多巴胺能神经元丧失的潜在机制,包括氧化应激、神经炎症和线粒体功能障碍等多种致病因素在经历了复杂级联生化反应过程后,最终导致神经元死亡<sup>[16-17]</sup>。氧化应激反应产生ROS,可攻击所有大分子(包括脂质、蛋白质和核酸)导致氧化损伤,加剧线粒体功能障碍和神经炎症;而线粒体损伤(总体线粒体负荷)、蛋白质负荷(包括受损的蛋白质稳态及受损的功能)和损伤相关分子模式(DAMP)能触发应激反应和炎症反应,促使炎症信号传导及神经胶质激活、ROS产生,加重神经元病变<sup>[18-19]</sup>。在SH-SY5Y细胞实验中,经MPP<sup>+</sup>诱导后,SH-SY5Y细胞存活率降低,LDH、ROS及MDA等水平升高,SOD降低;经DHP干预后,与模型组比较,DHP多个浓度组均能提高细胞存活率,降低LDH、ROS及MDA水平,提高SOD水平,显示DHP能有效减轻细胞膜损伤,抑制氧化应

激反应。在体内、外实验研究中发现,与空白组比较,炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-18、IL-1 $\beta$ 水平升高;而经DHP干预后炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-18、IL-1 $\beta$ 水平降低,有研究表明,DHP对MPTP诱导的PD小鼠具有抑制氧化应激和神经炎症反应作用,但该研究并没有进一步揭示DHP作用机制<sup>[20]</sup>。

小胶质细胞是存在于中枢神经系统的先天免疫细胞,其持续激活是中枢神经系统神经炎症的关键环节<sup>[21]</sup>。NLRP3炎症小体位于胶质细胞层状体内,由ASC、NLRP3和Caspase-1组成,在神经炎症反应中发挥重要调控作用<sup>[22]</sup>。PD相关病理蛋白,如 $\alpha$ -突触核蛋白( $\alpha$ -Syn)进入细胞后,被NLRP3的LRR结构域识别为内源性危险信号,NLRP3和ASC先期应答,进而激活Caspase-1,Caspase-1将下游炎症因子IL-1 $\beta$ 和IL-18由前体剪切为成熟态,并释放到细胞外;IL-1 $\beta$ 和IL-18分泌增多损害多巴胺能神经元(DA),导致 $\alpha$ -Syn释放增加,从而形成恶性循环,导致DA不可逆损伤<sup>[23]</sup>。MPTP能够通过血脑屏障,激活脑内小胶质细胞,对小鼠中脑黑质多巴胺能神经元造成选择性损伤。实验结果显示,与空白组比较,模型组小鼠中脑黑质小胶质细胞Iba-1被激活,NLRP3炎症小体相关蛋白表达增强,炎症因子IL-18、IL-1 $\beta$ 分泌增多,TH和FJB染色结果显示中脑黑质DA受损明显;经DHP和MCC950干预后,PD小鼠中脑黑质Iba-1表达降低,NLRP3炎症小体相关蛋白降低,IL-18、IL-1 $\beta$ 分泌减少,TH和FJB染色提示中脑黑质DA受损减轻。MCC950作为一种有效的、选择性NLRP3抑制剂,已在多项研究中被证实<sup>[24]</sup>。因此,DHP可能是通过调控NLRP3炎症小体表达,抑制小胶质细胞过度活化,减轻PD神经炎症损伤,进而发挥神经保护作用的。

综上所述,DHP能改善PD小鼠运动功能障碍,减轻中脑黑质DA能神经元损伤,这可能与抑制氧化应激反应,调控NLRP3炎症小体表达,抑制小胶质细胞过度活化,减轻神经炎症损伤有关。

本实验尚有一定的局限性,如小鼠的慢性神经炎症模型可能更为适合;小鼠的行为学实验设计中,悬挂实验随机性过强,未能体现出PD小鼠行为学变化特点。探索DHP抑制PD神经炎症反应与其调节肠黏膜免疫的相关性,是进一步研究的方向。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 中华医学会神经病学分会帕金森病及运动障碍学组,中国医师协会神经内科医师分会帕金森病及运动障碍学组. 中国帕金森病治疗指南(第四版)[J]. 中华神经科杂志, 2020, 53(12): 973-986.

[2] RAZA C, ANJUM R, SHAKEEL N. Parkinson's disease: Mechanisms, translational models and management strategies[J]. Life Sci, 2019, 226: 77-90.

[3] NAOI M, MARUYAMA W, SHAMOTO-NAGAI M. Disease-modifying treatment of Parkinson's disease by phytochemicals: Targeting multiple pathogenic factors [J]. J Neural Transm (Vienna), 2022, 129 (5/6): 737-753.

[4] TOLOSA E, VILA M, KLEIN C, et al. LRRK2 in Parkinson disease: Challenges of clinical trials[J]. Nat Rev Neurol, 2020, 16(2): 97-107.

[5] HAQUE M E, AKTHER M, AZAM S, et al. Targeting  $\alpha$ -synuclein aggregation and its role in mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease[J]. Br J Pharmacol, 2022, 179(1): 23-45.

[6] ALBANESE A, DI GIOVANNI M, LALLI S. Dystonia: Diagnosis and management [J]. Eur J Neurol, 2019, 26(1): 5-17.

[7] 谷仿丽,黄仁术,何晓梅,等. 霍山石斛抗急性炎症有效部位筛选研究[J]. 宜春学院学报, 2022, 44(3): 1-5.

[8] 徐海军,方予,汪俊涛,等. 霍山石斛多糖对小鼠的双向免疫调节作用[J]. 免疫学杂志, 2018, 34(8): 731-736.

[9] 聂春艳,汪鹤,潘利华,等. 霍山石斛水溶性多糖抗亚急性酒精性肝损伤研究[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(17): 100-105.

[10] 徐海军,高温婷,杨健,等. 霍山石斛多糖对衰老模型大鼠肠道消化吸收功能和形态结构的影响[J]. 皖西学院学报, 2018, 34(2): 1-4.

[11] 刘川,李环,王大伟. 霍山石斛多糖对帕金森病模型小鼠脑组织氧化应激和炎症反应的影响[J]. 吉林大学学报:医学版, 2023, 49(1): 110-115.

[12] DONG J, ZHANG X, WANG S, et al. Thymoquinone prevents dopaminergic neurodegeneration by

attenuating oxidative stress via the Nrf2/ARE pathway [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 615598.

[13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020.

[14] GAO M R, WANG M, JIA Y Y, et al. Echinacoside protects dopaminergic neurons by inhibiting NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$  signaling pathway in MPTP-induced Parkinson's disease model [J]. Brain Res Bull, 2020, 164: 55-64.

[15] 锥晓东,李哲,朱美玲,等. 帕金森病(颤拘病)中医临床诊疗专家共识[J]. 中医杂志, 2021, 62(23): 2109-2116.

[16] GUO J D, ZHAO X, LI Y, et al. Damage to dopaminergic neurons by oxidative stress in Parkinson's disease (Review) [J]. Int J Mol Med, 2018, 41(4): 1817-1825.

[17] ARENA G, SHARMA K, AGYEAH G, et al. Neurodegeneration and neuroinflammation in Parkinson's disease: A self-sustained loop [J]. Curr Neurol Neurosci Rep, 2022, 22(8): 427-440.

[18] FORLONI G, LA VITOLA P, CEROVIC M, et al. Inflammation and Parkinson's disease pathogenesis: Mechanisms and therapeutic insight [J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2021, 177: 175-202.

[19] HIRSCH E C, BREIDERT T, ROUSSELET E, et al. The role of glial reaction and inflammation in Parkinson's disease [J]. Ann N Y Acad Sci, 2003, 991: 214-228.

[20] 刘川,高妍,张赫. 霍山石斛多糖对MPTP诱导的帕金森病小鼠模型的神经保护作用[J]. 吉林医药学院学报, 2022, 43(3): 164-167.

[21] KAM T I, HINKLE J T, DAWSON T M, et al. Microglia and astrocyte dysfunction in parkinson's disease [J]. Neurobiol Dis, 2020, 144: 105028.

[22] SARKAR S, MALOVIC E, HARISHCHANDRA D S, et al. Mitochondrial impairment in microglia amplifies NLRP3 inflammasome proinflammatory signaling in cell culture and animal models of Parkinson's disease [J]. NPJ Parkinsons Dis, 2017, 3: 30.

[23] WANG S, YUAN Y H, CHEN N H, et al. The mechanisms of NLRP3 inflammasome/pyroptosis activation and their role in Parkinson's disease [J]. Int Immunopharmacol, 2019, 67: 458-464.

[24] BAKHSHI S, SHAMSI S. MCC950 in the treatment of NLRP3-mediated inflammatory diseases: Latest evidence and therapeutic outcomes [J]. Int Immunopharmacol, 2022, 3: 106.

[责任编辑 孙丛丛]