

社交挫败应激通过上调转录因子 C/EBP β 表达来介导阿尔茨海默病的认知功能障碍

李芳 秦冬冬 李易易 高峰 余杭 王舰浩 王嘉贝 陈洪玉
刘松燕 张茜 李翔 王雅梅 张兆辉 王志昊

【摘要】 目的 探讨慢性情感应激如社交挫败应激 (Social defeat stress, SDS) 对阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 发病的影响及 SDS 促进 AD 发病的可能机制。**方法** 随机挑选 8~10 周龄的三重转基因 (Triple-transgenic, 3xTg) AD 模型小鼠, 性别不限; 实验组小鼠给予持续 4 d 的 SDS, 未经历 SDS 的小鼠作为对照; SDS 处理后利用 Morris 水迷宫和场景恐惧实验观察小鼠是否有认知功能障碍的加重; 蛋白质免疫印迹和实时定量逆转录-聚合酶链反应分析其海马中转录因子 CCAAT 增强子结合蛋白 β (CCAAT-enhancer binding protein β , C/EBP β) 水平变化以及 C/EBP β 的水平变化与认知功能障碍的相关性; 最后, 为了理解慢性情感应激加重 AD 认知功能障碍的分子机制, 使用 C/EBP β 杂合敲除的 3xTg (3xTg/C/EBP β + / -) 小鼠观察 SDS 对认知功能的损伤是否得到改善。**结果** SDS 可以明显加重 AD 模型小鼠的认知功能障碍, 这种作用可能是通过转录因子 C/EBP β 介导的。**结论** SDS 通过上调转录因子 C/EBP β 表达来加重 AD 认知功能障碍, 这可能是情感障碍或者是慢性情感应激促进 AD 发病的重要分子机制之一。

【关键词】 阿尔茨海默病 社交挫败应激 3xTg 小鼠 转录因子 CCAAT 增强子结合蛋白 β 认知功能障碍

【中图分类号】 R742 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2023)05-0433-07

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2023.05.002

Social defeat stress mediates cognitive impairment in Alzheimer's disease through up-regulation of transcription factor C/EBP β Li Fang, Qin Dongdong, Li Yiyi, et al. Department of Neurology, Center for Neurodegenerative Disease Research, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060

【Abstract】 Objective To explore the impact of chronic emotional stress, such as social defeat stress (SDS), on the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD) and the possible mechanism by which SDS promotes the pathogenesis of AD. **Methods** 3xTg AD model mice aged 2-3 months were randomly selected, regardless of gender. SDS-treated mice were given SDS for 4 days, and mice that did not undergo SDS served as controls. After SDS treatment, we used the Morris water maze and fear conditioning to observe whether the mice had cognitive impairment. Western blotting and real-time quantitative PCR were used to analyze the changes in the transcription factor C/EBP β in the hippocampus and the correlation between the changes in C/EBP β and cognitive impairment. Finally, to understand the molecular mechanism by which chronic emotional stress aggravates cognitive impairment in AD, 3xTg/C/EBP β + / - mice were used to observe whether the impairment of cognitive function caused by SDS was improved. **Results** SDS can significantly aggravate cognitive impairment in AD mice, which is mediated by upregulation of the transcription factor C/EBP β . **Conclusion** SDS aggravates cognitive impairment in AD by upregulating the transcription factor C/EBP β , which may be one of the important molecular mechanisms by which affective disorder or chronic emotional stress promotes the pathogenesis of AD.

【Key words】 Alzheimer's disease social defeat stress 3xTg mice transcription factor C/EBP β cognitive impairment

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (82101479); 国家重点研究计划项目 (2021YFA1302400); 湖北省实验动物研究领域项目 (2022DFE021); 武汉大学人民医院交叉创新人才项目 (JCRCZN-2022-002)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院神经内科、神经退行性疾病研究中心 [李芳 秦冬冬 李易易 高峰 余杭 王舰浩 王嘉贝 陈洪玉 刘松燕 张茜 李翔 王雅梅 张兆辉 王志昊 (通信作者)]

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种不可逆的神经退行性疾病,也是痴呆最常见的原因^[1]。随着人类寿命的延长和人口老龄化的发生,全球 AD 患病率预计还会大幅上升^[2]。AD 的病理特征包括脑细胞外 β 淀粉样蛋白(Amyloid- β , A β)形成的老年斑以及神经元内 Tau 的异常聚集所致的神经原纤维缠结(Neurofibrillary tangles, NFTs)^[3]。尽管 AD 的确切原因尚不完全清楚,但目前观点认为 AD 是一种多因素疾病^[4-5]。已知有多种因素会增加患此病的风险比如年龄、遗传、生活方式和环境因素等^[4-5]。其中,慢性的情感应激可以加重 AD 的认知功能障碍,然而具体的机制尚不明确^[6]。

CCAAT 增强子结合蛋白 β (CCAAT-enhancer binding protein β , C/EBP β)是一种在中枢神经系统中呈年龄依赖性上调的转录因子,在衰老和 AD 进程中它上调 δ -分泌酶 mRNA,加重 AD 病变^[7]。 δ -分泌酶也称为天冬酰胺内肽酶(Asparagine endopeptidase, AEP),是一种溶酶体半胱氨酸蛋白酶,已有研究发现 AEP 剪切淀粉样前体蛋白(Amyloid β precursor protein, APP)的 N585 位点和 Tau 的 N368 位点,促进 A β 和 NFTs 的形成,从而介导 AD 的发生^[7]。此外,转录因子 C/EBP β 也通过上调包括 APP, Tau 在内的一系列 AD 相关效应分子的表达来参与 AD 的病变^[8-9]。但 C/EBP β 是否参与了情感应激导致的 AD 认知功能障碍尚不明确。本研究使用 3xTg AD 转基因小鼠,利用不同的方法在体外模型中验证转录因子 C/EBP β 在慢性情感应激加重 AD 认知功能障碍中的作用,且在转录因子 C/EBP β 杂合敲除的 3xTg 小鼠中发现慢性情感应激对认知功能障碍的损伤得到改善,这可能为 AD 的治疗提供了新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 SPF(Specific pathogen free, SPF)级 8~10 周龄 3xTg 小鼠和 C/EBP β 敲除小鼠均购自 Jackson 实验室(货号分别为 #034830 和 #006873)。由于 C/EBP β 全敲除(C/EBP β -/-)小鼠不能存活,故将 C/EBP β 杂合敲除(C/EBP β +/-)小鼠与 3xTg[APP、微管相关蛋白 Tau(Microtubule-associated protein tau, MAPT)和早老素 1(Presenilin 1, PSEN1)]AD 转基因小鼠进行杂交,以获得 3xTg/C/EBP β +/- 小鼠和 3xTg/C/EBP β

+ / + 小鼠。实验前的小鼠保持在 24 °C 恒温、50% 恒湿环境下适应性饲养 1 周,12 h 光暗交替,可自由获取饲料和饮水;通过使用随机数字表将小鼠随机分配给每组;样品体量由 Power and precision (Biostat)测定;所有动物实验方案均获得武汉大学人民医院实验动物福利伦理委员会的批准(WDRM 202200141);根据动物护理指南和武汉大学指南进行动物护理和处理;所有涉及动物的程序均遵循武汉大学人民医院机构动物护理和使用委员会的道德标准。

1.1.2 主要试剂、耗材和仪器 放射免疫沉淀缓冲液(Radio immunoprecipitation assay, RIPA)裂解液、一抗稀释液购自 Beyotime;二辛可宁酸(Bicinchoninic acid, BCA)试剂盒购自 Thermo;增强化学发光液(Enhanced chemiluminescence, ECL)购自 Bio-Rad;脱脂奶粉购自 Becton Dickinson & Company;20x 含有 0.1% 吐温 20 的 Tris 缓冲盐水(Tris-buffered saline with Tween 20, TBST)购自 Monad;抗体:抗 C/EBP β 抗体(sc-7962)购自 Santa Cruz;抗 Tubulin 抗体购自 Abclonal;辣根过氧化物酶(Horseradish peroxidase, HRP)山羊抗小鼠、兔二抗购自 Biosharp。聚偏二氟乙烯(Polyvinylidene fluoride, PVDF)膜购自 Merck Millipore;C/EBP β 活性检测试剂盒(44196)购自 Active motif;Fast-Pure 细胞/组织总 RNA 分离试剂盒购自 Vazyme;NG Script I cDNA 合成试剂盒购自 HLINGENE;TaqMan® 实时定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)检测试剂盒购自赛默飞世尔;组织研磨仪购自 Servicebio;涡旋仪购自 Monad;离心机购自 Thermo;多功能酶标仪购自 SpectraMax i3x;金属浴购自 Kylin-Bell;蛋白质免疫印迹电泳仪、化学发光凝胶成像系统以及实时定量逆转录聚合酶链反应(Quantitative real-time reverse transcription-polymerase chain reaction, qRT-PCR)仪购自 Bio-Rad;超微量生物检测仪购自 Nanodrop。

1.2 方法

1.2.1 分组及模型构建

1.2.1.1 随机选择 8~10 周龄 3xTg 小鼠分成 2 组,性别不限;经历 SDS 的小鼠给予持续 4 d 的社交挫败应激(Social defeat stress, SDS);未经历 SDS 的小鼠作为对照;SDS 模型与慢性社交挫败应激模型相似,但 3xTg 小鼠连续 4 d(而不是 10 d)接触新的、具有攻击性的 CD1 小鼠。

1.2.1.2 随机选择杂交获得的 8~10 周龄 C/EBP β +/- 的 3xTg 小鼠,分为 2 组,性别不限;给予的所有处理与以上 2 组相同。

1.2.2 社交挫败应激(Social defeat stress, SDS)

经历 SDS 的小鼠,连续 4 d 与新的、体型更大以及具有攻击性的 CD1 小鼠单独接触 5~10 min,其余时间与当天攻击它们的 CD1 小鼠待在同一笼中,但中间用带孔透明隔板隔开两种小鼠;对照小鼠无应激刺激,只需连续 4 d 与新的 CD1 小鼠住在中间放有带孔透明隔板的笼子两侧^[10]。

1.2.3 Morris 水迷宫(Morris water maze, MWM)

MWM 用于检测小鼠空间位置与方向的学习记忆能力。首先,将迷宫自行划分为东、南、西、北 4 个方向,贴几处标记以给予小鼠记忆提示,水下透明平台放置于任意 1 个方向的中间位置;平台区域即为以平台为中心、迷宫的中心与侧壁围成的 90 度扇形区域;然后,将小鼠分别从另外 3 个方向(无平台方向)沿着且面向水迷宫侧壁放入水中自由游泳,记录小鼠 1 min 内找到且登上平台时间(潜伏期)和游泳速度;1 min 内未找到平台的小鼠潜伏期记为 60 s,再将其置于平台上 15 s;小鼠仅从除了平台方向以外的 3 个方向放入水中;3 次/d,共训练 5 d,且同 1 只小鼠的 2 次训练之间至少间隔 30 min;第 6 d 撤去平台,选择与原先平台位置相反的方向将小鼠放入水中,记录小鼠 1 min 内停留在平台区域的时间。

1.2.4 场景恐惧(Fear conditioning, FC)实验

FC 实验用来检测小鼠学习记忆以及恐惧记忆能力,使其学习厌恶的无条件刺激(轻微的足底电击),并表现出僵直反应;测试在隔音 FC 设备中的测试笼(20 cm×20 cm×30 cm)中以红光进行,笼底部可人为控制产生电击。首先,将小鼠置于测试笼中,适应 3 min 后小鼠将受到足底电击(0.4 mA, 2 s),电击共 3 次,每次间隔 1 min,然后将小鼠放回原笼;24 h 后在没有电击的情况下小鼠再次放在同一测试笼中,观察 3 min 内小鼠僵直情况。僵直被定义为小鼠身体偏离 10% 以内的情况^[11];每只小鼠进行实验前测试笼都用 75%酒精擦拭干净;记录僵直时间,计算僵直百分比,即在 3 min 测试期间花在僵直行为上的时间百分比。

1.2.5 样品采集与处理

小鼠经腹腔注射 6%水合氯醛(6 mL/kg)麻醉后脱颈处死,取脑冻于-80℃冰箱,待大脑成型后分

离海马。

1.2.6 蛋白质免疫印迹(Western blotting, WB)

样品制备:裂解组织用 4℃预冷的 1x RIPA 裂解液(含有 1%的蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂),按每 20 mg 组织加入 150~250 μ L 裂解液的比例加裂解液;再用组织研磨仪进行超声研磨,随后将样品置于冰上 30 min,5 min 涡旋 1 次,1 次 15 s;4℃离心,13300 r/min,10 min 后取上清;用 BCA 试剂盒测定蛋白水平;样品都取出,部分用裂解液稀释至同一水平;加入 5x loading buffer(终水平为 1x),混匀后置于 95℃金属浴中加热 10 min,再于冰上冷却备用;凝胶电泳:十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE);转膜:湿转;转膜夹中放置湿海绵、滤纸、凝胶、聚偏二氟乙烯膜(Polyvinylidene fluoride, PVDF)膜(用前已激活)、滤纸和海绵;封闭:5%脱脂牛奶(1x TBST 配制),常温 1 h;抗体孵育:一抗(一抗稀释液 1:3000 稀释)4℃摇床孵育过夜;1xTBST 洗膜 4 次,每次 5 min;二抗(3%脱脂牛奶 1:5000 稀释)室温孵育 2 h,随后洗膜 6 次,每次 5 min;蛋白质检测和可视化:制备新鲜 ECL 显影液;用显影液反复吹打带有蛋白的 PVDF 膜 2 min,然后化学发光凝胶成像系统曝光并拍照记录蛋白质条带;分析:ImageJ 软件分析条带灰度值。

1.2.7 实时定量 PCR(Quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)

先用 RNA 分离试剂盒从组织中分离总 RNA,并在超微量生物检测仪中测定 RNA 水平;再用 cDNA 合成试剂盒将 1 μ g 总 RNA 合成 cDNA;随后将样品放入 qRT-PCR 仪,设定程序:95℃ 10 min,再进行 40 次 95℃ 15 s、60℃ 30 s 和 72℃ 30 s 的循环;样品均有 3 个复孔;基因表达的相对定量标准化为甘油醛-3-磷酸脱氢酶(Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) mRNA 水平,且使用 $\Delta\Delta$ Ct 方法计算;基因表达分析以相对于对照的 mRNA 水平表达;qRT-PCR 探针购自 TaqMan®。

1.2.8 统计学处理

使用 GraphPad Prism 9.0 分析,数据表示为 3 个或多个独立实验平均值 \pm 标准误差;2 组比较采用非配对 *t* 检验和 Welch 校正;对于 MWM 数据采用双因素方差分析和 Bonferroni 校正;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 SDS加重 AD 认知功能障碍

为了明确 SDS 是否会加重 AD 认知功能障碍,首先在 3xTg 小鼠中建立 SDS 诱导的慢性情感应激模型(图 1);在连续 4 d 的 SDS 处理后通过 MWM 和 FC 观察小鼠的认知功能,随后收集脑组织(图 1)。

在 MWM 中与未给予 SDS 的 3xTg(3xTg Naive)小鼠比较,经历 SDS 的 3xTg(3xTg Stress)小鼠 1~5 d 潜伏期延长(图 2)和第 6 d 停留于平台区域时间减少(图 2),但 2 组小鼠游泳速度无明显差异($P>0.05$)(图 2);在 FC 中 3xTg Stress 小鼠的

僵直时间比 3xTg Naive 小鼠短(图 2)。即 SDS 可加重 3xTg 小鼠认知功能障碍。

2.2 海马中上调的 C/EBPβ 水平与情感刺激导致的认知功能障碍呈正比

为了验证 3xTg 小鼠海马中 C/EBPβ 水平与其情感刺激导致认知功能障碍的关系,对 3xTg 小鼠海马组织进行 WB 和 qRT-PCR,分别检测 C/EBPβ 的蛋白水平和 mRNA 水平。在 WB 中与 3xTg Naive 比较,3xTg Stress 的 C/EBPβ 蛋白水平明显增高(图 3);灰度分析比较发现与 3xTg Naive 比较,3xTg Stress 中的 C/EBPβ 蛋白水平明显增高,即 3xTg 小鼠经历 SDS 后海马中的 C/EBPβ 蛋白水平显

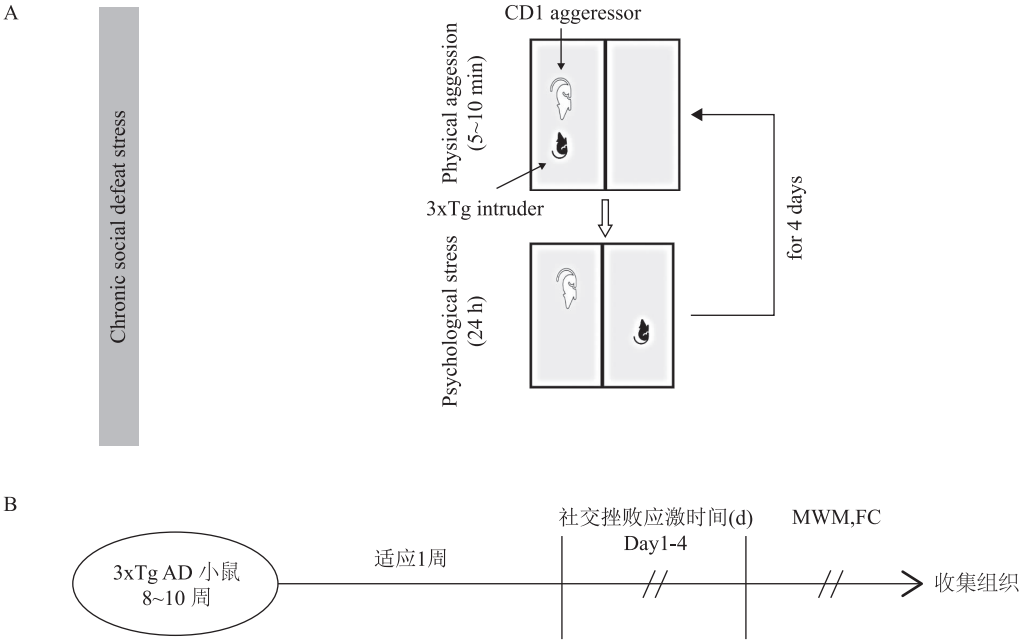


图 1 构建 SDS 诱导的慢性情感应激模型以及实验流程 A 为经历 SDS 的 3xTg 小鼠连续 4 d 与新的、体型更大以及具有攻击性的 CD1 小鼠单独接触 5~10 min,其余时间与当天攻击它们的 CD1 小鼠待在同一笼中,但中间用带孔透明隔板隔开两种小鼠;对照小鼠无应激刺激,只需连续 4 d 与新的 CD1 小鼠住在中间放有带孔透明隔板的笼子两侧;B 为实验流程。随机挑选 8~10 周 3xTg AD 小鼠,适应 1 周后给予 SDS,再用 MWM 和 FC 测试其认知功能,再收集脑组织

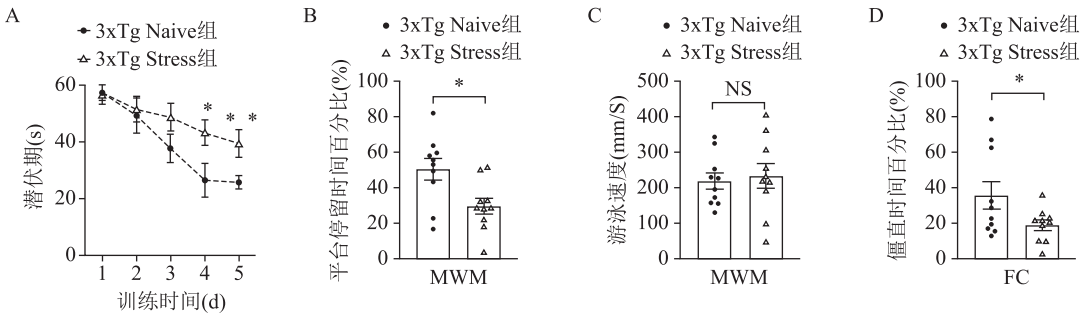


图 2 SDS 导致 3xTg 小鼠的认知功能障碍加重 A 为 MWM 中小鼠 1~5 d 到达平台的潜伏期,2 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;B 为 MWM 中小鼠第 6 d 停留在平台区域的时间百分比,2 组比较, * $P<0.05$;C 为 MWM 中 2 组小鼠的游泳速度,2 组比较, $^{NS} P>0.05$;D 为 FC 中小鼠的僵直时间百分比,2 组比较, * $P<0.05$

著增高(图 3);在 qRT-PCR 中与 3xTg Naive 比较, 3xTg Stress 的 C/EBP β mRNA 水平明显升高(图 3);同时,FC 检测显示 3xTg Stress 的 C/EBP β 活性较 3xTg Naive 明显增强(图 3)。另外,C/EBP β mRNA 水平与 MWM 的数据的相关性分析显示 C/EBP β 活性的上调与认知功能障碍呈正相关($r^2 = 0.4771, P = 0.0129$)(图 3)。即海马中上调的 C/EBP β 水平与情感刺激导致的认知功能障碍呈正比。

2.3 C/EBP β 的下调逆转了 SDS 导致的认知功能障碍

为了明确 SDS 加重 AD 认知功能障碍的分子机制,首先用 WB 检测了杂交获得的 3xTg/C/EBP β +/+ 和 3xTg/C/EBP β +/− 小鼠海马中 C/EBP β 蛋白水平。与 3xTg/C/EBP β +/+ 小鼠比较, 3xTg/C/EBP β +/− 小鼠的 C/EBP β 蛋白水平明显降低,即 C/EBP β 的有效敲除(图 4),且条带灰度分析比较有明显差异($P < 0.05$)(图 4);然后,将 3xTg/C/EBP β +/− 小鼠予以 SDS 处理,经历 SDS 的为 3xTg/C/EBP β +/− (Stress),未经历 SDS 作为对照,即 3xTg/C/EBP β +/− (Naive);随后进行 MWM 和 FC 两种认知相关的行为学实验;在

MWM 中与 3xTg/C/EBP β +/− (Naive)小鼠比较, 3xTg/C/EBP β +/− (Stress)小鼠的 1~5 d 潜伏期(图 4)、第 6 d 停留在平台区域时间百分比(图 4)以及游泳速度(图 4)均无明显变化。此外,在 FC 中 3xTg/C/EBP β +/− (Stress)小鼠与 3xTg/C/EBP β +/− (Naive)小鼠比较,僵直时间百分比没有明显差异($P > 0.05$)(图 4)。即脑内 C/EBP β 的下调可以逆转 SDS 导致的认知功能障碍。

3 讨论

本研究在 3xTg AD 模型小鼠中采用 SDS 建立慢性情感应激模型,以研究慢性情感应激加重 AD 认知功能障碍的分子机制,结果表明 SDS 可通过上调转录因子 C/EBP β 表达来加重 3xTg 小鼠 AD 认知功能障碍,并且海马中上调的 C/EBP β 水平与情感刺激导致的认知功能障碍呈正比;随后,对 C/EBP β 杂合敲除(C/EBP β +/−)的 3xTg 小鼠进行 SDS 处理,在 MWM 和 FC 两种认知相关的行为学中观察到经历 SDS 的 3xTg/C/EBP β +/− 小鼠认知功能得到明显改善。因此,敲除 C/EBP β 可以缓解 SDS 导致的认知功能障碍。

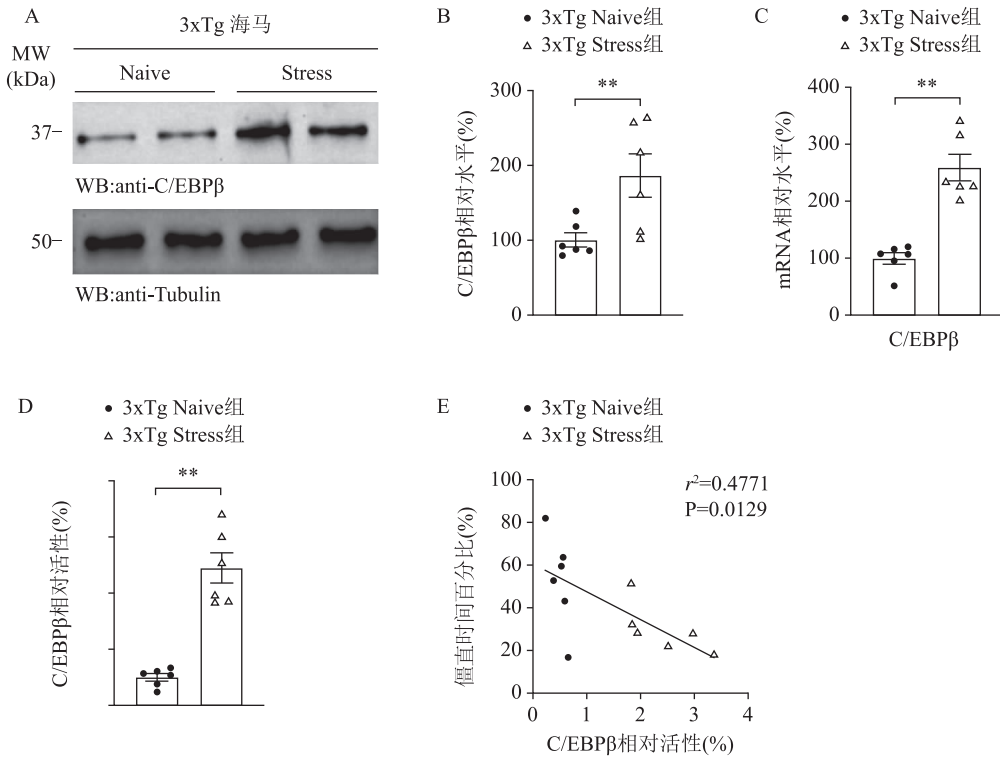


图 3 3xTg 小鼠海马中 C/EBP β 水平与其认知功能障碍呈正比 A 为 3xTg Naive 和 3xTg Stress 小鼠海马中 C/EBP β 蛋白水平;B 为 C/EBP β 蛋白水平灰度分析,两两比较, ** $P < 0.01$;C 为 C/EBP β mRNA 水平,2 组比较, ** $P < 0.01$;D 为 C/EBP β 活性分析,2 组比较, ** $P < 0.01$;E 为 C/EBP β 活性与认知功能障碍的相关性分析, $r^2 = 0.4771, P = 0.0129$

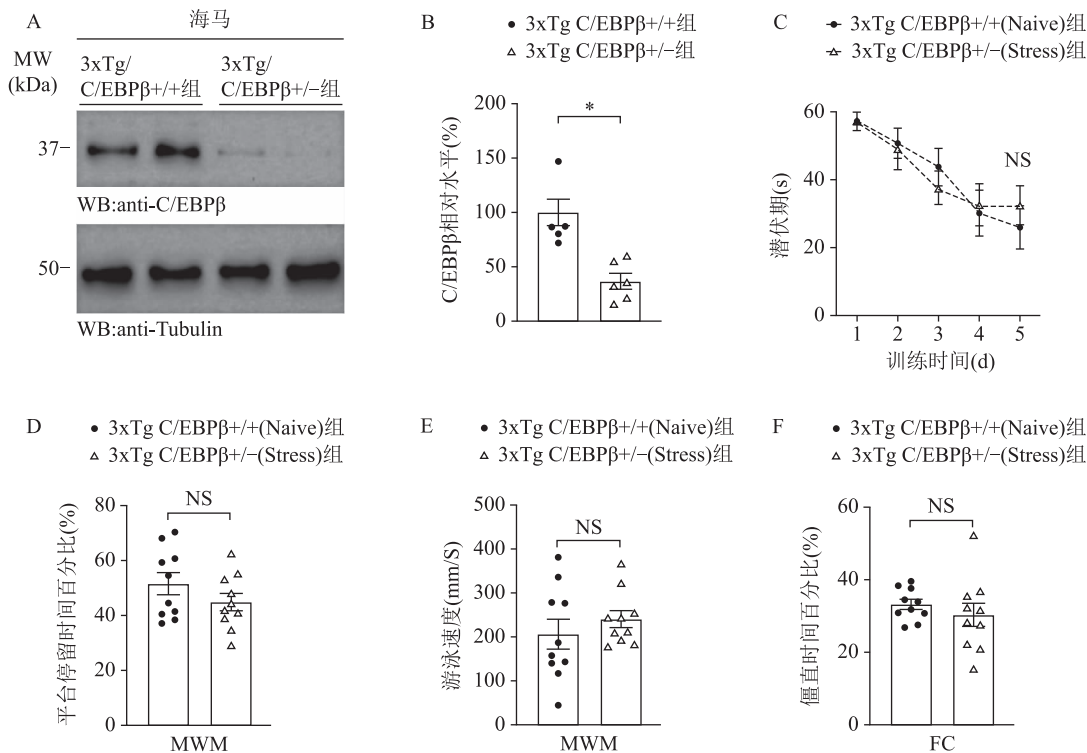


图4 C/EBP β 的下调逆转了SDS导致的认知功能障碍 A为C/EBP β 蛋白水平;B为C/EBP β 蛋白水平灰度分析,2组比较,* $P<0.05$;C-E分别为MWM中小鼠1~5 d到达平台的潜伏期、第6 d停留在平台区域时间百分比和游泳速度,2组比较,^{NS} $P>0.05$;F为FC中小鼠的僵直时间百分比,2组比较,^{NS} $P>0.05$

已有研究表明,情感几乎可以影响认知的各个方面包括感知、注意力、思维、学习和记忆等^[12]。不同的影响因素决定了情感对认知功能的影响是积极的,还是消极的^[12]。在情感应激相关疾病的患者中符合认知功能障碍标准的至少有20%^[13]。长期暴露于应激刺激的个体可表现出持续的情感失调和认知功能障碍,导致心理健康和生活质量的恶化^[14]。慢性情感应激模型是一种经典的动物模型,经常被用于诱发动物出现抑郁样行为和认知功能障碍^[15]。小鼠在经历反复的社交挫败应激后出现了抑郁样行为包括快感缺乏、社交回避、体重变化和昼夜节律紊乱等以及学习和记忆等认知功能障碍^[14]。

C/EBP β 是一种参与大脑中的神经发生和炎症基因表达的转录因子,并且介导的基因调控与多种神经退行性疾病有关,比如AD、多发性硬化和肌萎缩侧索硬化等^[16]。已被证明C/EBP β 在突触可塑性和记忆形成中发挥着关键作用^[17]。C/EBP β /AEP可通过切割APP和Tau这两种AD标志性蛋白来介导AD的病理^[18-19]。

本研究发现,经历SDS的3xTg小鼠相较于未经历SDS的3xTg小鼠,认知功能障碍明显加重且

海马中上调的C/EBP β 水平与情感刺激导致的认知功能障碍呈正比,这可能提示C/EBP β 在其中起着重要作用。因此,本研究推测转录因子C/EBP β 可能是慢性情感应激与AD之间的桥梁。为了进一步验证本研究的假说,给予3xTg/C/EBP β +/+/-小鼠SDS处理,最后通过MWM和FC观察到C/EBP β 的下调逆转了SDS导致的认知功能障碍。

综上所述,C/EBP β 很可能是情感应激导致的AD认知功能障碍中颇具潜力的治疗靶点。

参 考 文 献

- [1] Zhang XX, Tian Y, Wang ZT, et al. The epidemiology of Alzheimer's disease modifiable risk factors and prevention[J]. J Prev Alzheimers Dis, 2021,8(3):313-321.
- [2] Nichols E, Steinmetz JD, Vollset SE, et al. Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: an analysis for the global burden of disease study 2019[J]. The Lancet Public Health, 2022,7(2):e105-e125.
- [3] Wang ZH, Gong K, Liu X, et al. C/EBP β regulates delta-secretase expression and mediates pathogenesis in mouse models of Alzheimer's disease[J]. Nat Commun, 2018,9(1):1784.
- [4] Silva MVF, Loures CDMG, Alves LCV, et al. Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures[J]. J Biomed Sci, 2019,26(1):33.
- [5] Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive review on Alzheimer's dis-

- ease; causes and treatment[J]. *Molecules*, 2020, 25(24):5789.
- [6] Justice NJ. The relationship between stress and Alzheimer's disease[J]. *Neurobiology of Stress*, 2018, 8:127-133.
- [7] Wang ZH, Xia Y, Liu P, et al. ApoE4 activates C/EBP β / δ -secretase with 27-hydroxycholesterol, driving the pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. *Prog Neurobiol*, 2021(427/441):102032.
- [8] Liao JM, Chen GQ, Liu X, et al. C/EBP β /AEP signaling couples atherosclerosis to the pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. *Mol Psychiatry*, 2022, 27(7):3034-3046.
- [9] Xiong J, Zhang Z, Ye K. C/EBP β /AEP signaling drives Alzheimer's disease pathogenesis[J]. *Neurosci Bull*, 2023:1-13.
- [10] Liu J, Guo M, Zhang D, et al. Adiponectin is critical in determining susceptibility to depressive behaviors and has antidepressant-like activity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, 109(30):12248-12253.
- [11] Wang X, Liu Q, Li XG, et al. T217-Phosphorylation exacerbates Tau pathologies and Tau-Induced cognitive impairment[J]. *J Alzheimers Dis*, 2021, 81(4):1403-1418.
- [12] Tyng CM, Amin HU, Saad MNM, et al. The influences of emotion on learning and memory[J]. *Frontiers in Psychology*, 2017, 8:1454.
- [13] Pfau ML, Russo SJ. Neuroinflammation regulates cognitive impairment in socially defeated mice[J]. *Trends Neurosci*, 2016, 39(6):353-355.
- [14] Mckim DB, Niraula A, Tarr AJ, et al. Neuroinflammatory dynamics underlie memory impairments after repeated social defeat[J]. *Journal of Neuroscience*, 2016, 36(9):2590-2604.
- [15] Qiong W, Feng S, Weiwen W. Region-dependent alterations in cognitive function and ERK1/2 signaling in the PFC in rats after social defeat stress[J]. *Neural Plast*, 2018;1-11.
- [16] Canchi SRA, Swinton MK, Rissman RA, et al. Transcriptomic analysis of brain tissues identifies a role for CCAAT enhancer binding protein β in HIV-associated neurocognitive disorder[J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1):112.
- [17] Morales-Garcia JA, Gine E, Hernandez-Encinas E, et al. CCAAT/enhancer binding protein β silencing mitigates glial activation and neurodegeneration in a rat model of Parkinson's disease[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):13526.
- [18] Chen C, Ahn EH, Kang SS, et al. Gut dysbiosis contributes to amyloid pathology, associated with C/EBP β /AEP signaling activation in Alzheimer's disease mouse model[J]. *Science Advances*, 2020, 6(31): eaba0466.
- [19] Wang HL, Liu X, Chen SD, et al. Spatiotemporal activation of the C/EBP β / δ -secretase axis regulates the pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(52):E12427-E12434.

(2023-04-19 收稿)

(上接第 432 页)

Tau 聚集体促进 BV2 细胞表达 Gal-9 蛋白,后者进一步诱导小胶质细胞激活和促炎因子释放,二者形成正反馈而加重神经损伤。这为 Tau 蛋白介导神经炎症研究提供了 1 个潜在的新靶点。Gal-9 通过何种通路激活小胶质细胞以及其在 Tau 蛋白介导的神经炎症中发挥何种作用将是下一步的研究内容。监测 AD 患者外周血和脑脊液中 Gal-9 水平变化,探讨其与 Tau 蛋白病理的关系,并探寻其作为认知功能障碍严重程度标志物的可能性,将为监测 AD 进展和促进个体化治疗提供新的指标。

参 考 文 献

- [1] Frost JL, Schafer DP. Microglia: architects of the developing nervous system[J]. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(8):587-597.
- [2] John S, Mishra R. mRNA transcriptomics of galectins unveils heterogeneous organization in mouse and human brain[J]. *Front Mol Neurosci*, 2016;139.
- [3] Wang X, Niu Y, Yue CX, et al. Increased ileal bile acid binding protein and galectin-9 are associated with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease[J]. *J Psychiatr Res*, 2019, 119:102-106.
- [4] Hansen DV, Hanson JE, Sheng M. Microglia in Alzheimer's disease[J]. *J Cell Biol*, 2018, 217(2):459-472.
- [5] Hong S, Beja-Glasser VF, Nfonoyim BM, et al. Complement and microglia mediate early synapse loss in Alzheimer mouse models[J]. *Science*, 2016, 352(6286):712-716.
- [6] Rmm DA, Afm DE, Olca DE, et al. Alzheimer's disease; is there a role for galectins? [J]. *Eur J Pharmacol*, 2021:174437.
- [7] Steelman AJ, Li J. Astrocyte galectin-9 potentiates microglial TNF secretion[J]. *J Neuroinflammation*, 2014;144.
- [8] Bellac CL, Coimbra RS, Simon F, et al. Gene and protein expression of galectin-3 and galectin-9 in experimental pneumococcal meningitis[J]. *Neurobiol Dis*, 2007, 28(2):175-183.
- [9] Steelman AJ, Smith R, Welsh CJ, et al. Galectin-9 protein is up-regulated in astrocytes by tumor necrosis factor and promotes encephalitogenic t-cell apoptosis [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288(33):23776-23787.
- [10] Burman J, Svenningsson A. Cerebrospinal fluid concentration of Galectin-9 is increased in secondary progressive multiple sclerosis[J]. *J Neuroimmunol*, 2016, 292:40-44.
- [11] Stancic M, van Horssen J, Thijssen VL, et al. Increased expression of distinct galectins in multiple sclerosis lesions[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2011, 37(6):654-671.
- [12] Liu J, Huang S, Lu F. Galectin-3 and galectin-9 May differentially regulate the expressions of microglial M1/M2 markers and T helper 1/Th2 cytokines in the brains of genetically susceptible C57BL/6 and resistant BALB/c mice following peroral infection with toxoplasma gondii[J]. *Front Immunol*, 2018;1648.
- [13] Chen ZQ, Yu H, Li HY, et al. Negative regulation of glial Tim-3 inhibits the secretion of inflammatory factors and modulates microglia to antiinflammatory phenotype after experimental intracerebral hemorrhage in rats[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2019, 25(6):674-684.
- [14] Merighi S, Nigro M, Travagli A, et al. Microglia and Alzheimer's Disease [J]. *International journal of molecular sciences*, 2022, 23(21).

(2023-04-07 收稿)