

· 基础研究 ·

甲基苯丙胺引起BV2小胶质细胞炎症反应:基于Toll样受体-Peli1信号通路的研究

须怀沙¹,王易欣²,陈旭锋³,蒋 雷³,王 军²,张久平^{4*}¹南京鼓楼医院医学心理科,江苏 南京 210008;²南京医科大学公共卫生学院卫生毒理系,江苏 南京 211166;³南京医科大学第一附属医院急诊科,江苏 南京 210029;⁴南京医科大学附属脑科医院儿童心理卫生研究中心,江苏 南京 210029

[摘要] 目的:探讨Toll样受体(Toll like receptor, TLR)-E3泛素连接酶Pellino 1(Peli1)介导的炎症通路在甲基苯丙胺(methamphetamine, Meth)引起BV2小胶质细胞炎症反应中的作用。方法:利用Western blot观察Meth作用后Toll样家族中多种TLR的表达及其下游接头蛋白髓样分化因子(myeloid differentiation factor 88, MyD88)、 β 干扰素TIR结构域衔接蛋白(TIR-domain-containing adaptor inducing interferon- β , TRIF)水平的改变,同时观察上述接头蛋白下游Peli1蛋白的表达,利用ELISA、实时定量PCR(real time-PCR)及Western blot观察Peli1调节的下游炎症因子及信号通路的改变。结果:Meth作用于BV2细胞后,TLR3、TLR4、TLR7、TLR8、TLR11在特定时间内表达明显上调,同时下游MyD88及TRIF蛋白表达显著增加,其中TRIF具有浓度依赖效应。Meth作用后亦可引起泛素化蛋白Peli1的表达,而利用RNA干扰的方法将Peli1下调后,炎症因子诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、白细胞介素(interleukin-6, IL)-6表达下降,核因子(nuclear factor, NF)- κ B的激活明显缓解。结论:TLR介导的炎症信号在Meth引起BV2细胞炎症反应过程中发挥重要作用。因此,基于TLRs-Peli1靶信号轴的干预可能为Meth神经毒性的干预提供靶点,具有潜在的应用意义。

[关键词] 甲基苯丙胺;Toll样受体家族;Peli1;神经炎症反应;BV2细胞**[中图分类号]** R392.12**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2021)03-324-07**doi:** 10.7655/NYDXBNS20210303

Methamphetamine induced neuroinflammation in microglial BV2 cells based on the roles of Toll like receptors-Peli1 pathway

XU Huaisha¹, WANG Yixin², CHEN Xufeng³, JIANG Lei³, WANG Jun², ZHANG Jiuping^{4*}¹Department of Clinical Psychology, Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing 210008; ²Department of Toxicology, School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166; ³Department of Emergency, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029; ⁴Child Mental Health Research Center, Nanjing Brain Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** This study aims to investigate the roles of Toll like receptor(TLR)-Pellino 1(Peli1) axis in methamphetamine (Meth)-mediated microglial inflammation and pathway in BV2 cells. **Methods:** Western blot was used to observe the expression of Toll like receptors(TLR), the downstream adaptor proteins of myeloid differentiation factor 88(MyD88) and TIR-domain-containing adaptor inducing interferon- β (TRIF). In parallel, the expression of Peli1 protein was detected by Western blot. The downstream inflammatory factors and signal pathway regulated by Peli1 were observed by ELISA, real-time PCR and Western blot. **Results:** The expression of TLR3, TLR4, TLR7, TLR8 and TLR11 was significantly up-regulated after Meth treatment in BV2 cells. Meanwhile, the expression of MyD88 and TRIF was significantly increased, and TRIF level exhibited a concentration-dependent effect. Meanwhile, Meth obviously induced the expression of ubiquitin protein Peli1. Noteworthily, after Peli1 was down-regulated by RNA interference, the expression of inflammatory factors including inducible nitric oxide synthase (iNOS), tumor necrosis factor (TNF)- α and interleukin (IL)-6 were dramatically decreased, accompanied by the significant attenuation of nuclear factor (NF)- κ B activation. **Conclusion:** The TLRs-

[基金项目] 国家自然科学基金(81673213);江苏省自然科学基金(BK20191349)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: zjpcn@126.com

mediated inflammatory signal plays an important role in the process of microglial inflammatory response induced by Meth. Therefore, the TLRs-Peli1 signal axis may be a promising target for the intervention of Meth neurotoxicity, which displays significant application.

[Key words] methamphetamine; Toll like receptors; Peli1; neuroinflammation; BV2 cell

[J Nanjing Med Univ, 2021, 41(03): 324-330]

甲基苯丙胺(methamphetamine, Meth), 俗称冰毒, 其滥用已成为世界性公共卫生问题, Meth滥用表现为肝脏、肾脏、免疫、精神、神经多组织多系统损伤, 甚至导致死亡^[1]。研究显示, 神经系统是Meth作用的主要靶器官, 因其损伤导致的学习记忆能力下降、海马区体积缩小、多巴胺能神经元特异性凋亡等神经退行性病变虽近年来引起人们的广泛关注^[2], 但其毒性作用及机制仍有待明确。神经炎症反应被认为是Meth滥用引起神经元损伤的主要机制之一, 涉及脑中小胶质细胞的激活伴随大量炎症因子的释放。利用体外实验, 我们前期研究发现, Meth暴露可引起Toll样受体(Toll like receptors, TLR)-4的高表达, 伴随下游炎症通路丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)及核因子(nuclear factor, NF)- κ B的激活^[3], 然而Toll样受体家族包含多个亚型受体, Meth暴露是否可引起其他亚型TLR表达改变, TLR与下游信号通路如何进行信号传递? 这些问题仍不清楚。因此, 本研究通过Meth暴露后对TLR的表达, 下游接头蛋白髓样分化因子(myeloid differentiation factor 88, MyD88)、 β 干扰素TIR结构域衔接蛋白(TIR-domain-containing adaptor inducing interferon- β , TRIF)及泛素化蛋白E3泛素连接酶Pellino 1(Peli1)的探讨, 旨在阐述TLR-Peli1轴在Meth引起小胶质细胞炎性反应中的作用, 从而为Meth神经毒性的干预提供潜在靶点。

1 材料和方法

1.1 材料

BV2细胞系来自ATCC(美国), Meth(北京中国食品药品检定研究所, 标准品号: 171212, 纯度99.9%), DMEM(Hyclone公司, 美国), 胎牛血清(Gibco公司, 美国), BCA蛋白定量试剂盒(Thermo Scientific公司, 美国), Anti-TLR3、Anti-TLR4、Anti-TLR8、Anti-TLR11、Anti-TRIF、Anti-MyD88(Abcam公司, 美国), Anti-TLR7(Santa Cruz公司, 美国), Anti-NF- κ B p65、Anti-Phospho NF- κ B p65(Cell Signaling Technology公司, 美国), Anti-Peli1(Santa Cruz, 美

国), Anti- β -actin(Sigma Aldrich公司, 美国), HRP标记的二抗: HRP Goat Anti-Rabbit IgG(H+L)、HRP Goat Anti-Mouse IgG(H+L)、HRP Goat Anti-Rat IgG(H+L)(Jacksonimmuno公司, 美国), PVDF膜及ECL发光液(Millipore公司, 美国), Lipofectamin 2000转染试剂(Thermo Fisher Scientific公司, 美国), Peli1 siRNA、TLR siRNA及对照组 siRNA(上海吉玛公司), TNF- α 及IL-6 ELISA试剂盒(R&D公司, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

将BV2(小鼠小胶质细胞)培养于DMEM(含10%胎牛血清、1%青霉素和链霉素)培养液, 置于细胞培养箱(37℃、5% CO₂)培养2~4 d, 隔天更换培养液。该细胞经Meth处理后, 进行后续实验。

1.2.2 蛋白免疫印迹分析

将细胞PBS清洗后, 用含Cocktail的蛋白裂解液(RIPA, 1:500)裂解, 离心后取上清, 利用BCA蛋白试剂盒进行定量。每孔泳道加入30 μ g蛋白进行电泳, 将蛋白转至PVDF膜, 利用5%脱脂奶粉溶液进行封闭, 并与一抗进行预孵过夜。次日, 与二抗孵育1 h, 将ECL发光液A液、B液(1:1)均匀覆于膜上, 置于Bio-Rad凝胶成像系统成像。Western blot条带经Image J软件进行灰度扫描分析。

1.2.3 ELISA检测炎症因子

在孔板上设标准品孔8孔, 在第1孔加标准品200 μ L, 然后从第1孔取100 μ L加到第2孔(第2~8孔都含有标准品稀释液), 混匀后, 再从第2孔取出100 μ L加入第3孔, 依次进行梯度稀释, 最后一孔仅为稀释液不再添加标准品。稀释后各孔加样量都为100 μ L, 浓度分别为1 000.0、500.0、250.0、125.0、62.5、31.3、15.7、0 ng/mL。Meth与BV2细胞孵育24 h后, 取其上清10 μ L, 加入到预先加有90 μ L稀释液的孔中(即每孔100 μ L), 孵育2 h, 洗涤, 每孔加入酶标抗体工作液1 h, 洗涤后, 加入底物工作液100 μ L, 反应20 min后加入50 μ L终止液, 混匀, 在492 nm波长下测定其吸光度值。该实验分别重复3次(即细胞与Meth染毒3次), 每次每个样本设3个平行复

孔,数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)形式表示。

1.2.4 实时定量PCR

提取BV2细胞mRNA后,通过PrimeScript™ RT reagent Kit反转录试剂(TaKaRa公司,日本),取0.5 μ g mRNA将其逆转录成cDNA,按PrimeScript™ reagent Kit试剂盒说明书进行扩增,重复3次,每次平行复孔5个, β -actin作为内参,通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法对结果进行定量。

1.2.5 BV2细胞siRNA干扰

为研究Peli1、TLR4在Meth引起炎症因子释放中的作用,将BV2细胞分为对照组(不做任何处理)、NC组(加入对照siRNA)、Meth组(加入Meth处理)、NC+Meth组(加入对照siRNA和Meth处理)、SiPeli1组(加入Peli1 siRNA处理)、SiTLR4+Meth组(加入TLR4 siRNA和Meth处理)、SiPeli1+Meth组(加入Peli1 siRNA和Meth处理)。siRNA由上海吉玛制药技术有限公司设计,将 5×10^5 个细胞接种于6孔板(不含抗生素)中,利用Lipofectamine 2000进行转染,用200 μ L Opti-MEM I Reduced Serum Medium (Thermo Fisher Scientific公司,美国)稀释,加入Peli1 siRNA,室温静置20 min,形成siRNA-转染试剂混和物,将siRNA-转染试剂混和液加入含有细胞及培养液的孔中,均匀混和。在37 $^{\circ}$ C的CO₂培养箱中培养,6 h后可将培养基换为含血清的完全培养基;24 h后在蛋白水平观察Peli1干扰后的表达水平。

1.3 统计学方法

使用SPSS20.0软件进行统计学分析,多组定量资料比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)检验,多组间数据两两比较用Dunnett-*t*检验,两组定量数据比较用Student's *t* test, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,绘图使用GraphPad Prism 7.0。

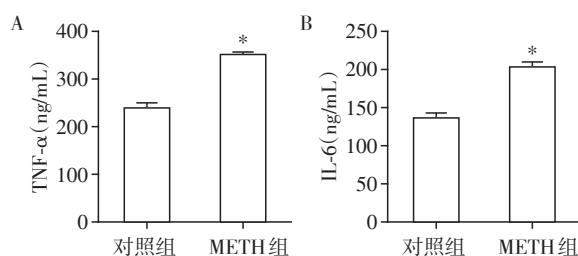
2 结果

2.1 Meth对小胶质细胞IL-6、TNF- α 表达的影响

基于我们前期工作中Meth的使用浓度结合Meth滥用后在人体液中浓度的报道^[4-5],300 μ mol/L Meth用来处理小胶质细胞24 h。Meth作用后,利用ELISA检测细胞上清液炎症因子的浓度,结果显示,Meth处理的BV2细胞分泌的IL-6、TNF- α 的含量与对照组比较显著上升,差异有统计学意义($P < 0.001$,图1A、1B)。

2.2 Meth对多种亚型TLR蛋白的作用

TLR在引发小胶质细胞IL-6及TNF- α 表达及分泌过程中发挥重要作用。因此,我们在蛋白水平观



A: Meth处理BV2细胞24 h后,TNF- α 分泌水平的变化;B: Meth处理BV2细胞24 h后,IL-6分泌水平的变化。与对照组相比,* $P < 0.001$ ($n=3$)。

图1 Meth对小胶质细胞TNF- α 、IL-6分泌的影响

Figure 1 Effects of Meth on TNF- α and IL-6 excretion in BV2 cells

察了Meth对小胶质细胞TLR家族中4、7、8亚型受体蛋白的表达(图2A~D)。将BV2细胞分别与0、100、300、900 μ mol/L Meth孵育24 h,发现TLR7、TLR8蛋白表达量随Meth浓度的增加而升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。接着,利用300 μ mol/L Meth与BV2细胞分别孵育0、6、12、24、48 h(图2E~G),发现TLR7、TLR8在Meth作用24 h时表达最高。

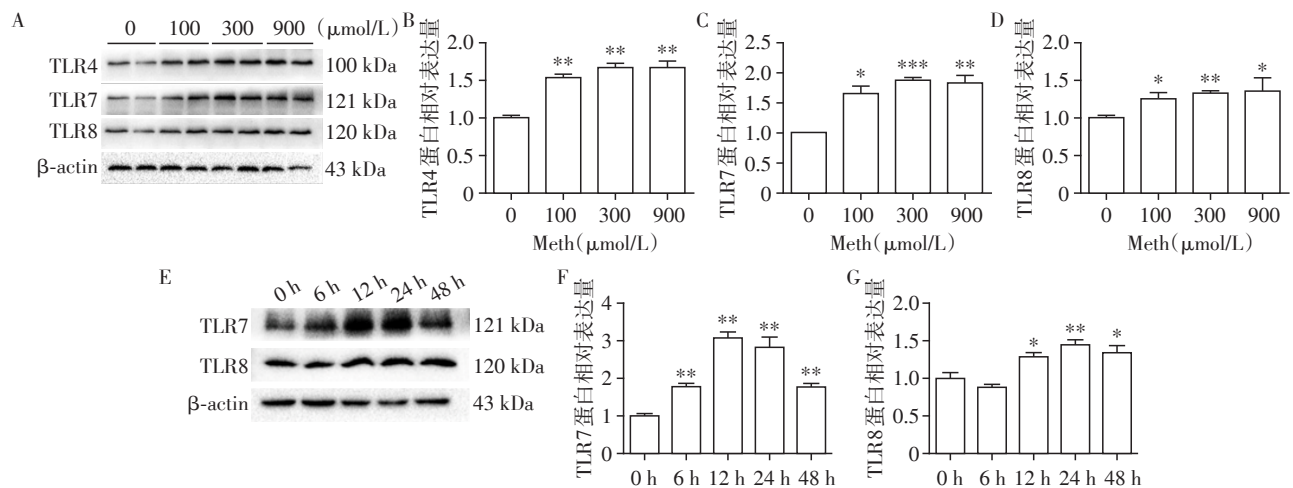
上述受体皆可通过MyD88这一接头蛋白传递炎症信号,而TLR3是唯一通过TRIF这一接头蛋白传递下游信号的^[6],因此,本研究亦观察了Meth对TLR3表达的改变,不同浓度Meth(0、100、300、900 μ mol/L)与BV2细胞孵育24 h后,TLR3表达呈浓度依赖性增高(图3A、B),而将Meth与BV2细胞孵育不同时间(0、6、12、24、48 h)后,发现TLR3在12 h及24 h时间点上上调,后逐渐恢复(图3C、D);此外,本研究亦观察了TLR11在Meth作用后的改变。Meth作用BV2细胞后,TLR11的表达显著上升(图3E、F),与BV2细胞分别孵育不同时间点后(图3G、H),与对照组相比,各时间点的TLR11表达显著增高($P < 0.05$)。

2.3 Meth对接头蛋白MyD88及TRIF通路表达的影响

接着对TLR介导的下游MyD88依赖型和MyD88非依赖型TRIF信号通路进行了探讨。不同浓度Meth处理BV2细胞24 h后,TRIF蛋白表达增高,与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$,图4A、C);此外,300 μ mol/L Meth与BV2细胞孵育不同时间,TRIF在各时间点均表达增高,其中24 h时间点TRIF的表达达到峰值(图4B、D)。此外,MyD88在Meth暴露后,亦有明显增加的趋势,且差异有统计学意义(图A、B、E、F, $P < 0.05$)。

2.4 Meth对小胶质细胞Peli1蛋白表达的影响

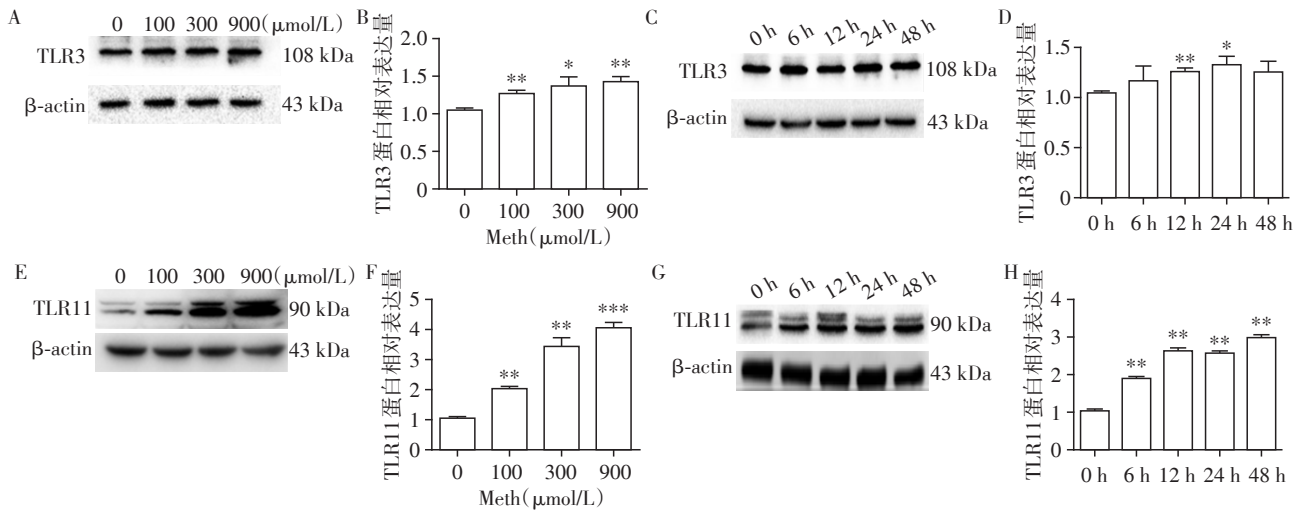
Peli1蛋白在TLR4介导的小胶质细胞炎症反应中起“桥梁”作用,因而本研究探讨了Meth对小胶



A: 0、100、300、900 $\mu\text{mol/L}$ Meth 处理 BV2 细胞 24 h, TLR4、TLR7、TLR8 蛋白表达的变化; B~D: TLR4(B)、TLR7(C)、TLR8(D) 蛋白表达变化的统计图。E: 300 $\mu\text{mol/L}$ Meth 处理 BV2 细胞 0~48 h, TLR7、8 蛋白表达的变化; F、G: TLR7(F)、TLR8(G) 蛋白表达变化的统计图。与对照组相比, $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$ ($n=3$)。

图2 Meth对小胶质细胞TLR家族蛋白表达水平的影响

Figure 2 Effects of Meth on the expression of Toll like receptor family proteins in BV2 cells



A、B: 不同浓度 Meth 处理 BV2 细胞 24 h, TLR3 蛋白表达的变化(A)及统计图(B); C、D: 300 $\mu\text{mol/L}$ Meth 处理 BV2 细胞 0、6、12、24、48 h 后, TLR3 蛋白表达的变化(C)及统计图(D); E、F: 不同浓度 Meth 处理 BV2 细胞 24 h, TLR11 蛋白表达的变化(E)及统计图(F); G、H: 300 $\mu\text{mol/L}$ Meth 处理 BV2 细胞 0、6、12、24、48 h 后, TLR11 蛋白表达的变化(G)及统计图(H)。与对照组相比, $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ ($n=3$)。

图3 Meth对小胶质细胞TLR3和TLR11蛋白的调节作用

Figure 3 Effects of Meth on expression of TLR3 and TLR11 proteins

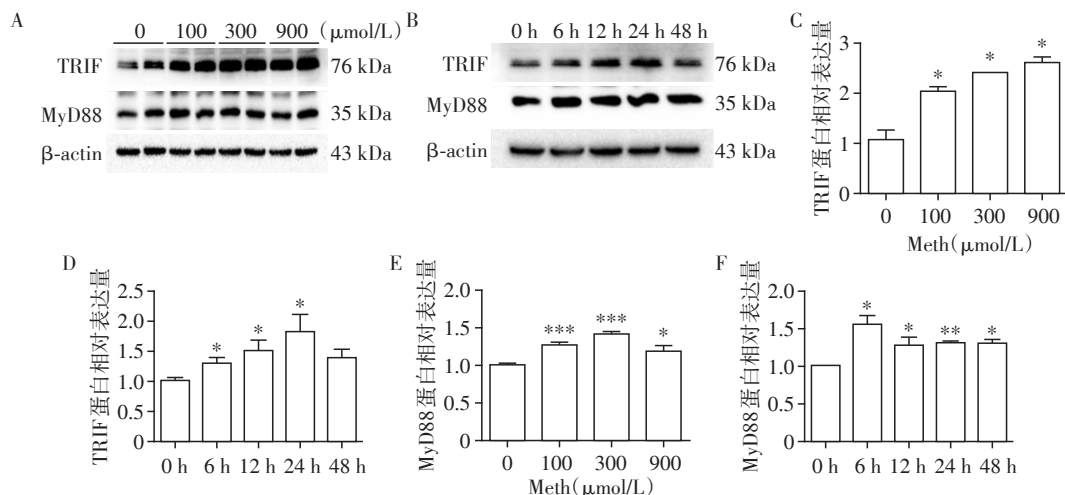
质细胞中 Peli1 蛋白表达的影响。300 $\mu\text{mol/L}$ Meth 处理 BV2 细胞 0、15 min、30 min、1 h、3 h、6 h、12 h 和 24 h, Peli1 蛋白表达随时间逐渐升高, 3 h 达到峰值后有下降趋势, 但均高于未处理组 ($P < 0.05$, 图 5)。

2.5 Peli1 对 Meth 引起小胶质细胞炎症因子表达、释放及 NF- κB 通路的影响

TLR4 是唯一可以同时介导 MyD88 及 TRIF 通路的 TLR^[7], 因此, 本研究观察了 TLR4 及 Peli1 在 Meth 引起炎症反应中的作用。Peli1 经 siRNA 干扰后, 蛋白表达量明显降低(图 6A); Meth 暴露促进 TNF- α 及 IL

-6 的表达, 而 Peli1 干扰后, TNF- α 及 IL-6 分泌降低(图 6B~D)。此外, 在 mRNA 水平, Peli1 的敲减同样缓解了 Meth 引起炎症因子 iNOS 及 TNF- α mRNA 表达的增多(图 6E、F)。

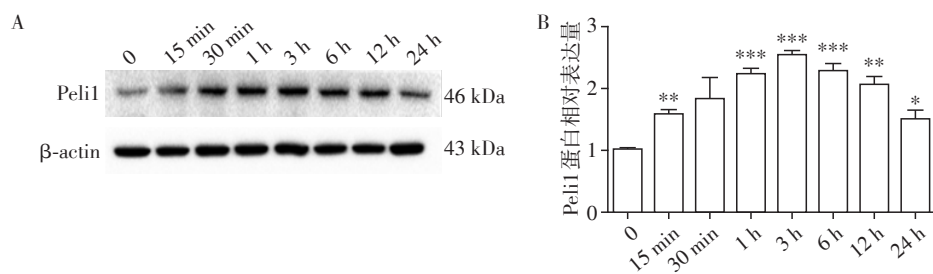
基于上述 Peli1 下调可明显逆转 Meth 促进炎症递质产生的现象, 观察了炎症调节的关键通路 NF- κB 的激活情况。Peli1 干扰 24 h 后, Meth 作用 BV2 细胞 30 min, NF- κB 被显著激活, 而将 Peli1 下调后, Meth 引起 NF- κB 的激活情况被明显逆转, 差异有统计学意义(图 7)。



A: 不同浓度 Meth 处理 BV2 细胞 24 h, TRIF 和 MyD88 蛋白表达的变化; B: 300 $\mu\text{mol/L}$ Meth 处理 BV2 细胞 0、6、12、24、48 h 后, TRIF 和 MyD88 蛋白表达的变化; C: 不同浓度 Meth 处理 BV2 细胞 24 h TRIF 蛋白的定量分析; D: 300 $\mu\text{mol/L}$ Meth 处理 BV2 细胞 0、6、12、24、48 h 后, TRIF 蛋白的定量分析; E: 不同浓度 Meth 处理 BV2 细胞 24 h MyD88 蛋白表达的变化; F: 300 $\mu\text{mol/L}$ Meth 处理 BV2 细胞 0、6、12、24、48 h 后, MyD88 蛋白的定量分析。与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ ($n=3$)。

图4 Meth对TRIF和MyD88蛋白水平的影响

Figure 4 Effects of Meth on TRIF and MyD88 protein expression



A: 300 $\mu\text{mol/L}$ Meth 处理 BV2 细胞不同时间, Peli1 蛋白水平的变化; B: Peli1 蛋白定量统计图。与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ ($n=3$)。

图5 Meth对BV2细胞Peli1蛋白表达的影响

Figure 5 Effects of Meth on Peli1 protein expression in BV2 cells

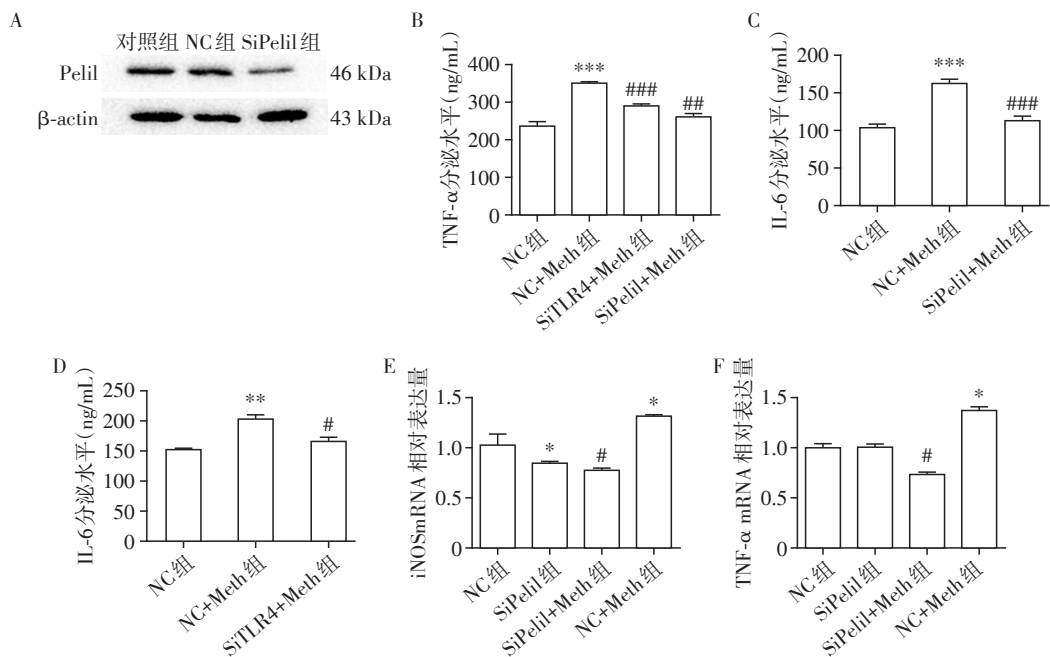
3 讨论

目前,以苯丙胺类、氯胺酮为代表的新型合成类毒品滥用增长迅速,且向低龄化趋势发展。现有数据表明,在多种苯丙胺毒品中,Meth造成的全球健康威胁最大。该威胁不仅在于其全球快速蔓延,更重要的是,Meth滥用引起机体极大的损伤,尤其是中枢神经系统,研究显示,Meth滥用可引起神经退行性病理蛋白的聚集,继而损伤神经细胞^[8]。因此,Meth的滥用已成为全球范围内日益严峻的公共卫生问题。

Meth损伤神经元的机制比较复杂,主要涉及氧化应激损伤、兴奋性毒性、恶性高热及炎症反应等^[9],而这些机制的探讨多建立在Meth对神经元的直接损伤上,对数量10倍于神经元的胶质细胞的作用研

究较少。越来越多的证据显示,神经元及胶质细胞所处的微环境改变对神经元生理、病理的变化发挥重要作用,尤其是小胶质细胞介导的炎性微环境。

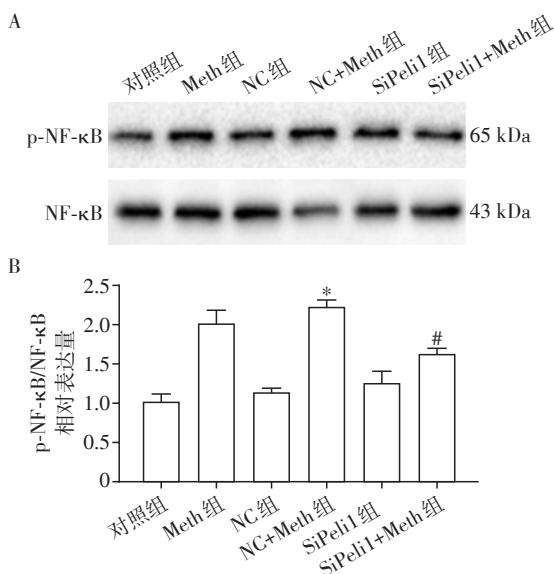
TLR是I型跨膜蛋白,其胞外结构参与多种病原体的识别,胞内含有Toll/IL-1受体同源区,参与信号转导。研究显示,小胶质细胞表达多种Toll样受体蛋白^[10],在调节神经炎性微环境、引起神经元损伤的过程中发挥重要作用。TLR介导的信号传递主要分为MyD88依赖性和MyD88非依赖性两种,前者通过激活肿瘤坏死因子受体活化因子6(TNF receptor associated factor 6, TRAF6)支配MAPK和NF- κ B信号转导途径,产生炎性因子^[11]。而后者通过接头蛋白TRIF激活下游信号IRF3的转录及NF- κ B磷酸化,诱导炎症反应^[12]。目前关于Meth对TLR的调节多集中于TLR4,研究显示,Meth可通过结合并稳定



A: Peli1 的干扰效果图; B: Peli1、TLR4 干扰后, 300 $\mu\text{mol/L}$ Meth 处理 BV2 细胞 24 h TNF- α 的变化; C、D: Peli1 干扰(C)、TLR4 干扰(D)后, 300 $\mu\text{mol/L}$ Meth 处理 BV2 细胞 24 h IL-6 的变化; E、F: Peli1 干扰后, 300 $\mu\text{mol/L}$ Meth 处理 BV2 细胞 24 h 后, iNOS(E)和 TNF- α (F)mRNA 的变化。与 NC 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与 NC+Meth 组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ ($n=3$)。

图6 Peli1 干扰后 Meth 诱导 BV2 细胞产生炎症因子的变化

Figure 6 Effects of Meth on inflammatory factors after silence of Peli1 in BV2 cell



A: 干扰 Peli1 后 Meth 引起 NF- κ B 磷酸化水平的改变; B: NF- κ B 磷酸化水平统计图。与 NC 组相比, * $P < 0.01$; 与 NC+Meth 组相比, # $P < 0.05$ ($n=3$)。

图7 Peli1 对 NF- κ B 通路的影响

Figure 7 Role of Peli1 in NF- κ B signaling pathway after Meth treatment

MD-2 受体与 TLR4 的结合,引起小胶质细胞的激活及 IL-6 大量分泌,引起中枢伏隔核多巴胺释放增多,导致神经毒性^[3]。既往研究显示,Meth 可通过上

调 TLR4 的表达,引起下游炎症通路激活及炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的释放^[13]。此外,最近研究显示,Meth 同样可通过其他 TLR 介导炎症反应。Burns 等^[14]将 Meth 与巨噬细胞孵育,发现炎症因子 TNF- α 、IL-8、CXCL1、CXCL16 显著升高,而这一过程依赖于 TLR9。本研究首次发现,Meth 作用后,除了 TLR4 及 TLR9,TLR3、TLR7、TLR8 及 TLR11 蛋白水平表达亦显著增高,提示这 4 种 TLR 的亚型可能在 Meth 引起小胶质细胞的炎症反应或其他功能中发挥潜在作用,但其作用及机制仍需进一步深入挖掘。因 TLR3 通过 TRIF 途经调节下游信号,TLR4 可同时调节 MyD88 及 TRIF 介导的下游信号,而其他 TLR 仅通过 MyD88 完成下游信号的传递,因此,对 TLR 下游信号进行进一步探索,发现 Meth 作用后,接头蛋白 MyD88 表达上调,同时另一接头蛋白 TRIF 表达亦明显增加,进一步证明了上述多种 TLR 参与 Meth 引起炎症反应的可能性。此外,本研究还证明了 Peli1 在 Meth 引起下游炎症信号传递中的作用。Peli 家族有 Peli1、Peli2、Peli3,近年来,Peli1 介导的炎症作用在多种炎症模型中被揭示。有学者利用脂多糖建立小胶质细胞炎症模型,发现 Peli 家族中仅有 Peli1 上调,提示 Peli1 在小胶质细胞炎症反应中的特异性。Chang 等^[15]通过建立小鼠脓毒血症体

克模型,发现高剂量脂多糖在9 h内引起大多数小鼠死亡,而Peli1敲除的脓毒性休克小鼠24 h后亦未发生死亡现象。本研究将Peli1敲减后,Meth引起的TNF- α 、IL-6等炎症因子分泌及表达显著降低,而调节炎症信号的NF- κ B活性被显著抑制,说明Peli1在Meth引起的小胶质细胞炎症反应中发挥重要作用。

综上所述,Meth暴露可引起多种TLR的表达,引起大量炎症因子的表达及分泌,在该过程中,MyD88、TRIF及其下游泛素化蛋白Peli1发挥重要作用(图8)。因此,针对TLR-MyD88/TRIF-Peli1将有利于Meth神经毒性的干预。

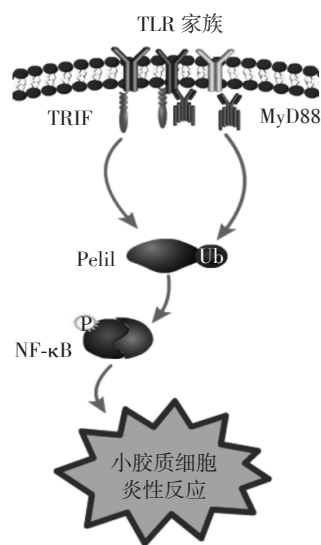


图8 TLR-Peli1在Meth引起小胶质细胞炎症反应中作用的示意图

Figure 8 Schematic representation of the effects of TLR-Peli1 on Meth induced BV2 microglial inflammation

[参考文献]

- [1] KRASNOVA I N, CADET J L. Methamphetamine toxicity and messengers of death [J]. Brain Res Rev, 2009, 60 (2):379-407
- [2] LONDON E D, KOHNO M, MORALES A M, et al. Chronic methamphetamine abuse and corticostriatal deficits revealed by neuroimaging [J]. Brain Res, 2015, 1628 (Pt A):174-185
- [3] WAN F, ZANG S, YU G, et al. Ginkgolide B suppresses methamphetamine-Induced microglial activation through TLR4-NF- κ B signaling pathway in BV2 cells [J]. Neurochem Res, 2017, 42 (10):2881-2891
- [4] REYNOLDS J L, MAHAJAN S D, SYKES D, et al. Proteomic analyses of methamphetamine (METH) - induced differential protein expression by immature dendritic cells (IDC) [J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 1774 (4):433-442
- [5] YU G Q, SONG Y, XIE C W, et al. MiR-142a-3p and miR-155-5p reduce methamphetamine-induced inflammation: role of the target protein Peli1 [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2019, 370:145-153
- [6] FITZPATRICK JM, MINOGUE E, CURHAM L, et al. MyD88-dependent and -independent signalling via TLR3 and TLR4 are differentially modulated by Δ (9) -tetrahydrocannabinol and cannabidiol in human macrophages [J]. J Neuroimmunol, 2020, 343:577217
- [7] WU Y, YE J, GUO R, et al. TRIF regulates Bic/miR-155 via the ERK signaling pathway to control the ox-LDL-induced macrophage inflammatory response [J]. J Immunol Res, 2018, 2018:6249085
- [8] 胡 歆, 吕梦倩, 王 宇, 等. 甲基苯丙胺通过L型钙通道致皮质神经元病理性蛋白APP及p-Tau过表达 [J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2019, 39 (4):491-494
- [9] KIM B, YUN J, PARK B. Methamphetamine-induced neuronal damage: neurotoxicity and neuroinflammation [J]. Biomol Ther (Seoul), 2020, 28 (5):381-388
- [10] KUMAR V. Toll-like receptors in the pathogenesis of neuroinflammation [J]. J Neuroimmunol, 2019, 332:16-30
- [11] FOLEY N M, WANG J, REDMOND H P, et al. Current knowledge and future directions of TLR and NOD signaling in sepsis [J]. Mil Med Res, 2015, 2 (1):1
- [12] KIM T H, SHIN S J, PARK Y M, et al. Critical role of TRIF and MyD88 in *Mycobacterium tuberculosis* Hsp70-mediated activation of dendritic cells [J]. Cytokine, 2015, 71 (2):139-144
- [13] WANG X, NORTHUTT A L, COCHRAN T A, et al. Methamphetamine activates toll-like receptor 4 to induce central immune signaling within the ventral tegmental area and contributes to extracellular dopamine increase in the nucleus accumbens shell [J]. ACS Chem Neurosci, 2019, 10 (8):3622-3634
- [14] BURNS A, CIBOROWSKI P. Acute exposure to methamphetamine alters TLR9-mediated cytokine expression in human macrophage [J]. Immunobiology, 2016, 221 (2):199-207
- [15] CHANG M, JIN W, SUN S C. Peli1 facilitates TRIF-dependent Toll-like receptor signaling and proinflammatory cytokine production [J]. Nat Immunol, 2009, 10 (10):1089-1095

[收稿日期] 2020-09-09