

线粒体氧化应激在染铅小胶质细胞炎性活化中的作用研究

周 芹, 李立凡, 黄定帮, 陈开举, 张晓顺, 陈丽旋, 李和成, 孟晓静
(南方医科大学公共卫生学院职业卫生与职业医学系, 广州 510515)

摘要 **目的:** 探讨线粒体氧化应激在铅(Pb)导致的小胶质细胞炎症反应中的作用及机制。**方法:** 将BV2小胶质细胞分为4组, 分别用0 $\mu\text{mol/L}$ (对照组)、1 $\mu\text{mol/L}$ 、5 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 乙酸铅处理BV2细胞, 实时荧光定量PCR(RT-qPCR)检测小胶质细胞白细胞介素(IL)-6、IL-8、肿瘤坏死因子(TNF)- α mRNA的表达水平, 免疫荧光观察小胶质细胞激活状态以及线粒体活性氧(mtROS)表达, JC-1染色检测线粒体膜电位; 将C57BL/6小鼠分为对照组、Pb染毒组(Pb组)(100 ppm)、MitoTEMPO处理组(MitoTEMPO组)(5 mg/kg)、MitoTEMPO联合Pb处理组(MitoTEMPO+Pb组), 酶联免疫吸附实验(ELISA)法测定小鼠血清及大脑皮层炎症因子IL-1 β 和TNF- α 水平, 蛋白质免疫印迹(western blotting)法测定小鼠海马NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 蛋白水平。**结果:** Pb可使BV2小胶质细胞激活, 与对照组相比, Pb组的IL-6、IL-8和TNF- α mRNA水平出现剂量依赖性升高, mtROS增高, 线粒体膜电位下降; MitoTEMPO可抑制Pb导致的小鼠海马区小胶质细胞活化, 血清及大脑皮层炎症因子IL-1 β 和TNF- α 水平下降, 海马NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 蛋白水平增高(均 $P < 0.05$)。**结论:** Pb导致线粒体氧化应激, 可使小胶质细胞激活, 其机制可能与NLRP3炎症小体活化有关。

关键词 铅; 小胶质细胞; 线粒体氧化应激; 炎症反应; NLRP3炎症小体

中图分类号: R114 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-930X(2024)07-0945-07

DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.07.001

Effect of mitochondrial oxidative stress on lead-exposed inflammatory activation of microglia

ZHOU Qin, LI Lifan, HUANG Dingbang, CHEN Kaiju, ZHANG Xiaoshun, CHEN Lixuan, LI Hecheng, MENG Xiaojing. (Department of Occupational Health and Occupational Medicine, School of Public Health, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract **Objective:** To investigate the role and mechanism of mitochondrial oxidative stress in lead (Pb)-induced microglial inflammation. **Methods:** BV2 microglia cells were divided into 4 groups and treated with 0 $\mu\text{mol/L}$ (control group), 1 $\mu\text{mol/L}$, 5 $\mu\text{mol/L}$ and 10 $\mu\text{mol/L}$ lead acetate, respectively. The mRNA expression levels of interleukin (IL)-6, IL-8 and tumor necrosis factor (TNF- α) in microglia were detected by reverse transcription-quantitative PCR (RT-qPCR). The activation state of microglia and the expression of mitochondrial reactive oxygen species (mtROS) were observed by immunofluorescence, and the mitochondrial membrane potential was detected by JC-1. C57BL/6 mice were divided into control group, Pb exposure group (Pb group) (100 ppm), MitoTEMPO treatment group (MitoTEMPO group) (5 mg/kg), MitoTEMPO combined with Pb treatment group (MitoTEMPO+Pb group), and the levels of serum and cerebral cortex inflammatory factors IL-1 β and TNF- α were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The levels of NLRP3, Caspase-1 and IL-1 β in the hippocampus of mice were determined by western blotting. **Results:** Pb could activate BV2 microglia cells. Compared with the control group, the levels of IL-6, IL-8 and TNF- α mRNA in the Pb group were increased in a dose-dependent manner, mtROS was increased, and mitochondrial membrane potential was decreased. MitoTEMPO

[基金项目] 广东省基础与应用基础研究基金项目资助(No.2023A1515012500)

[共同第一作者] 周芹、李立凡

[通信作者] 孟晓静, E-mail: xiaojingmeng@smu.edu.cn

[收稿日期] 2024-04-07

could inhibit the activation of microglia in hippocampus of mice, decrease the levels of IL-1 β and TNF- α in serum and cerebral cortex, and increase the levels of NLRP3, Caspase-1 and IL-1 β proteins in hippocampus (all $P < 0.05$). **Conclusion:** Pb induces mitochondrial oxidative stress, which can activate microglia. The mechanism may be related to NLRP3 inflammasome activation.

Keywords Pb; microglia; mitochondrial oxidative stress; inflammatory reaction; NLRP3 inflammasome

铅(Pb)是一种天然存在的有毒金属^[1],可影响多个器官系统,对健康造成不利影响^[2]。铅的中枢神经系统毒性尤其突出,可导致学习记忆等一系列神经损害^[3-4]。神经炎症在Pb所致的学习记忆下降和神经行为异常等神经毒性中具有重要作用,小胶质细胞炎性活化是其中关键的环节。Pb可激活小胶质细胞并产生促炎因子^[5],也可促进线粒体活性氧(mitochondrial reactive oxygen species, mtROS)生成,在小胶质细胞炎性活化中起作用,而线粒体氧化应激和小胶质细胞活化之间的关系在Pb神经毒性中的作用和机制尚不清楚。

线粒体是产生线粒体氧化应激的主要细胞器,对活性氧(ROS)敏感^[6],在细胞能量代谢和程序性死亡调控中起着重要作用^[7],作为线粒体靶向抗氧化剂的MitoTEMPO可通过恢复线粒体DNA(mtDNA)损伤,减轻炎症反应^[8]。另外,NLRP3炎症小体信号通路在神经炎症过程中起重要作用^[9],与小胶质细胞活化和mtROS的产生存在密切相关^[10-11]。在Pb诱导的神经毒性过程中,NLRP3炎症小体可被激活,介导神经损伤,阻断NLRP3可使Pb的神经毒性得以减轻^[12]。而NLRP3炎症小体激活在Pb致小胶质细胞活化中的作用以及和线粒体氧化应激的关系尚不明确,本研究通过探讨线粒体氧化应激在Pb诱导的小胶质细胞活化中的作用及其机制,为缓解Pb诱导的神经毒性提供新思路。

1 材料和方法

1.1 材料

乙酸铅(Ⅱ)三水合物(Sigma-Aldrich,USA);白细胞介素(IL)-1 β 酶联免疫吸附实验(ELISA)试剂盒、肿瘤坏死因子(TNF)- α ELISA试剂盒(武汉酶免生物科技有限公司);兔抗NLRP3抗体、兔抗Caspase-1抗体(Cell Signaling Technology, USA);鼠抗IL-1 β 抗体(Santa Cruz Biotechnology, USA);IRDye 800CW Goat anti-Rabbit IgG(H+L)、IRDye 680RD Goat anti-Mouse IgG(H+L)(LI-COR Biosciences,

USA);DAPI染色液(江苏凯基生物技术股份有限公司);鼠抗mtROS、线粒体膜电位检测(JC-1染色)抗体(Rockland, USA)。本课题所使用的细胞为小鼠小胶质瘤细胞系BV2细胞,由山东大学公共卫生学院赵秀兰教授赠予。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 将小胶质细胞接种于DMEM高糖培养基(含有10%FBS)中进行培养。所有细胞均放置于含5% CO₂、湿度95%、温度37℃的细胞培养箱内进行培养。对细胞进行传代培养,并取处于对数生长期的细胞进行后续实验。

1.2.2 实时荧光定量PCR(RT-qPCR) 在细胞培养皿中加入适量Trizol裂解细胞,后转移至1.5 mL无酶离心管,再加入三氯甲烷(Trizol与三氯甲烷比例为5:2),涡旋后进行离心,将上清液转移至新的离心管,再加入适量异丙醇,涡旋后离心,底部少量白色沉淀物即为RNA。将RNA进行逆转录为cDNA后进行RT-qPCR实验。

1.2.3 动物实验 C57BL/6小鼠购自南方医科大学实验动物中心,共36只雄鼠,生产合格证号:SCXK(粤)2021-0041。按随机数字表法分为4组,每组9只,分别是对照组、Pb染毒组(Pb组)、MitoTEMPO处理组(MitoTEMPO组)、MitoTEMPO联合Pb处理组(MitoTEMPO+Pb组)。实验初始体重分别为对照组(16.21 $\pm$ 2.17)g、Pb组(16.48 $\pm$ 2.08)g、MitoTEMPO组(17.52 $\pm$ 1.52)g、MitoTEMPO+pb组(15.97 $\pm$ 1.19)g。其中Pb组与MitoTEMPO+pb组小鼠饮用含Pb(100 ppm,此Pb暴露剂量与本课题组之前的研究一致,在此暴露浓度下,小鼠血Pb浓度约为100 μ g/L,与我国现行血Pb标准限值相当)高压去离子水,对照组与MitoTEMPO组的小鼠饮用不含Pb高压去离子水。MitoTEMPO组与MitoTEMPO+Pb组腹腔注射MitoTEMPO,注射浓度为5 mg/kg,本研究MitoTEMPO剂量参考既往研究^[13],每周3次,共处理8周。

1.2.4 ELISA法检测各组小鼠血清、脑皮层中TNF- α 和IL-1 β 的含量 按照各个ELISA试剂盒的说明书

操作后置于酶标仪下测得各孔 450 nm 和 630 nm 波长的吸光度,在 Microsoft Excel 中绘制标准曲线,求得曲线方程(决定系数 $R^2>0.99$),根据曲线方程算得样本中相应细胞因子的浓度,实验独立重复 3 次。

1.2.5 蛋白质免疫印迹(western blotting)法检测各组小鼠海马组织中 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 蛋白的表达水平 取新鲜动物组织或-80℃冰箱保存的海马组织,放置于 1.5 mL EP 管中,并加入适量配置好的蛋白质裂解液,用无菌眼科剪稍夹碎,注意冰上操作。加入匀浆瓷珠,每管约 3 颗,置于匀浆机上匀浆,转速为 6 500 r/min,每次 15 s,暂停 20 s,共 4 次。匀浆后,置于冰上继续裂解 10 min,加入 RIPA 裂解液,4℃下 12 000 r/min 离心 30 min,上清液为总蛋白。向上清液中加入蛋白上样缓冲液后煮沸 10 min。采用 BCA 法检测蛋白浓度后进行凝胶电泳,转膜,5%脱脂牛奶室温封闭 2 h 后,一抗 NLRP3 (1:2 000)、Caspase-1 (1:5 000)、IL-1 β (1:5 000)和 β -actin (1:10 000)4℃孵育过夜;1 $\times$ TBST 洗涤后加入 HRP-二抗 (1:10 000)室温孵育 1 h,再次洗涤后加入 HRP 化学发光底物,化学发光成像仪 (iBright 1500, Invitrogen)检测,使用 Image J 软件对条带进行半定量分析,实验独立重复 3 次。

1.2.6 免疫荧光实验检测 mtROS 表达 将 BV2 细胞接种于 4 个玻底培养皿中,分别加入药物处理 12 h 后,弃上清液。使用预冷的 PBS 洗 1 遍,加入 1 mL 4%多聚甲醛,室温静置 15 min 以固定细胞,PBS 洗 3 遍。加入-20℃预冷的甲醇 1 mL,-20℃静置 20 min 以通透细胞,PBS 洗 3 遍。加入 PBS 配制的 5% BSA 封闭,室温静置 45 min,PBS 洗 3 遍。加入 80 μ L 一抗 mtROS、JC-1 (1:100)、置于湿盒中,4℃静置过夜,PBS 洗 3 遍。加入 100 μ L Alexa Fluor 标记的鼠二抗 (1:500),室温避光静置 2 h,PBS 洗 3 遍。加入 100 μ L 用甲醇现配的 DAPI 溶液 (1:20),室温避光静置 5 min,甲醇洗 3 遍。加入 200 μ L 封闭液 (PBS:丙三醇=1:1),于激光共聚焦显微镜 (confocal)镜下观察。

1.2.7 JC-1 染色检测线粒体膜电位 细胞线粒体膜电位:细胞收样,用 PBS 清洗一遍,用 DMEM 完全培养基配制 10 μ g/mL 的 JC-1 染液,37℃、5% CO₂ 细胞培养箱避光孵育 20 min,每个培养皿加入 200 μ L 染液,覆盖住细胞即可。染色结束后弃去染液,PBS 清洗 3 遍,随后置于激光共聚焦显微镜下拍照,设置激发波长为 594 nm 和 488 nm,在镜下观察红绿荧

光变化情况,记录图像数据。

1.2.8 免疫组化法检测小鼠大脑小胶质细胞激活状态 将石蜡包埋的脑组织切成 5 μ m 厚的切片,并在 60℃下烘烤 1 h。脱蜡和水合后,将切片在沸腾的柠檬酸盐缓冲液中加热 30 min 以进行抗原修复,再将切片与 H₂O₂-甲醇 (3%)孵育 10 min。然后将脑组织切片与 IBA-1 (1:100)4℃下避光孵育过夜,再与 HRP 偶联的二抗室温避光孵育 1 h。切片用 3,3'-N-二氨基联苯胺三盐酸盐 (DAB)染色,苏木精复染,脱水,透明,用 Ramsan 胶密封。

1.3 统计学方法

采用 IBM SPSS Statistics 18.0 进行统计分析,使用作图软件 GraphPad Prism 6。实验结果以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x}\pm s$)表示。两组间的比较采用独立样本 t 检验;多组间比较使用方差分析,先检验是否具有方差齐性,方差齐时使用 LSD 方法,方差不齐时使用 Dunnett' T3 方法。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组小鼠生长情况

小鼠实验的 8 周中,小鼠生长状态良好,每周记录一次体重,结果显示:体重随时间延长而逐渐增加,见图 1;分析各组小鼠实验初始和实验结束时的体重,各组小鼠体重无明显差异 ($P>0.05$),见表 1。

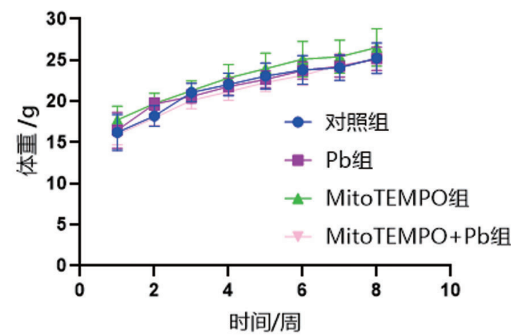


图1 各组小鼠的体重改变情况

表1 各组小鼠实验初始和结束时的体重

$\bar{x}\pm s, n=9$		
组别	实验初始体重/g	实验结束体重/g
对照组	16.21 $\pm$ 2.17	25.25 $\pm$ 1.86
Pb组	16.48 $\pm$ 2.08	25.16 $\pm$ 1.43
MitoTEMPO组	17.52 $\pm$ 1.52	26.54 $\pm$ 2.29
MitoTEMPO+Pb组	15.97 $\pm$ 1.19	25.03 $\pm$ 1.28

2.2 Pb染毒对小胶质细胞活化的影响

分别使用浓度为1 $\mu\text{mol/L}$ 、5 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 的Pb处理小胶质细胞,浓度参考既往研究,在1 $\mu\text{mol/L}$ 、5 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 的条件下,小胶质细胞的增殖没有影响^[14]。对照组小胶质细胞形态多呈圆形或者梭形,Pb组小胶质细胞的胞体变大,圆形细胞减少,部分细胞分枝增多、变长。圆形细胞在对照组和1 $\mu\text{mol/L}$ 、5 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ Pb处理组的占比分别为95%、85%、80%和70%,见图2A~图2D。Pb染毒使小胶质细胞*IL-6*、*IL-8*、*TNF- α* mRNA表达水平增高(均 $P<0.01$),见图2E。

2.3 Pb对线粒体氧化应激的影响

为了探讨Pb对小胶质细胞线粒体氧化应激的影响,本研究使用免疫荧光检测了mtROS水平。结果显示:随着Pb浓度的升高,mtROS水平明显上升,且差异具有统计学意义($P<0.05$)(图3A)。JC-1是一种广泛用于检测线粒体膜电位的荧光探针,当红色荧光逐渐变为绿色荧光,说明线粒体膜电位的下降。结果显示:随着Pb浓度的升高,绿色单体荧光逐渐增强,说明线粒体膜电位受到损伤(图3B)。

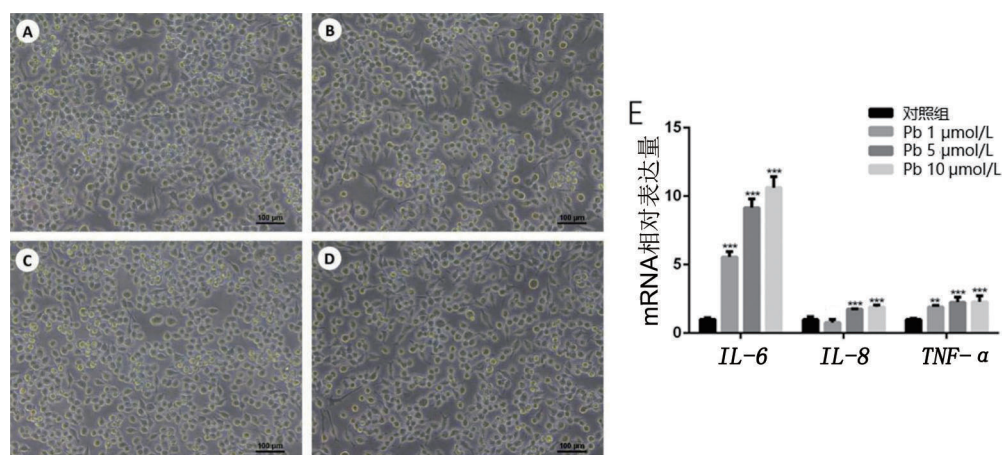
2.4 MitoTEMPO抑制Pb引起的小胶质细胞的炎性激活

为了验证线粒体氧化应激在Pb所致的小胶质

细胞活化中的作用,我们使用线粒体靶向抗氧化剂MitoTEMPO干预Pb暴露小鼠,检测炎性激活相关指标。结果显示:与对照组相比,Pb组血清中的IL-1 β 和TNF- α 水平均明显上升($P<0.001$),而与Pb组相比,MitoTEMPO+Pb组中的IL-1 β 和TNF- α 水平下降($P<0.05$)(图4A~图4B)。与对照组相比,Pb暴露小鼠脑皮层的炎症因子TNF- α 水平上升,与Pb组相比,MitoTEMPO+Pb组的TNF- α 水平下降($P<0.001$)(图4C~图4D)。另外,与对照组相比,Pb处理的小胶质细胞胞体增大,突起增多且变粗,小胶质细胞为活化状态,MitoTEMPO处理后大部分小胶质细胞突起减少,胞体小,提示MitoTEMPO能抑制Pb引起的小胶质细胞激活(图4E)。

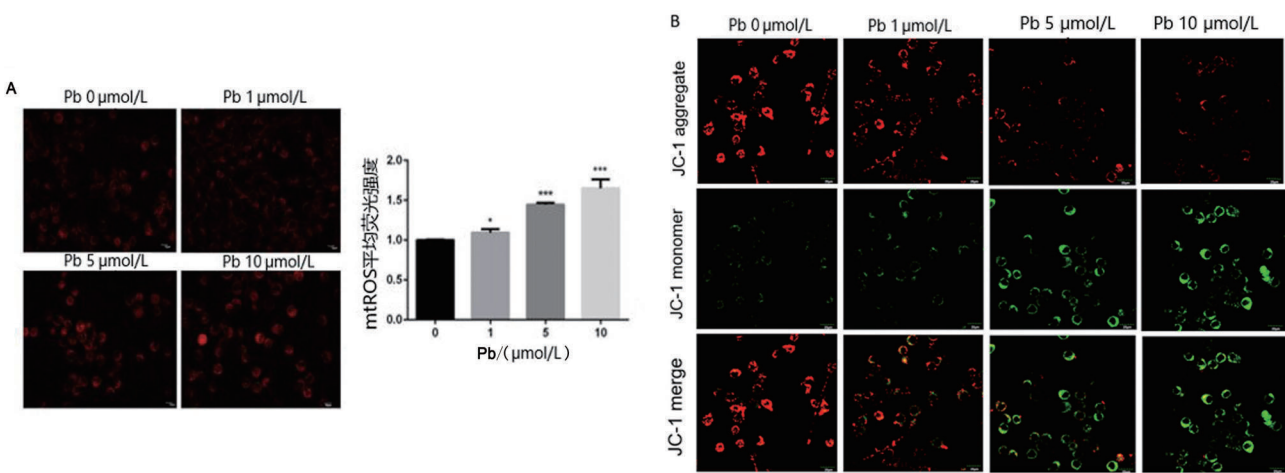
2.5 MitoTEMPO抑制Pb导致的NLRP3炎症小体及其下游蛋白激活

NLRP3炎症小体在Pb的神经毒性中发挥重要作用,本研究进一步探讨MitoTEMPO是否通过NLRP3及其下游蛋白从而缓解Pb引起的神经炎症损伤。Pb可引起NLRP3炎症小体($P<0.05$)及下游剪切蛋白Caspase-1和IL-1 β 表达增多($P<0.01$, $P<0.05$),而MitoTEMPO干预的染Pb小鼠NLRP3及Caspase-1、IL-1 β 的表达水平均得到恢复($P<0.05$, $P<0.01$),见图5。



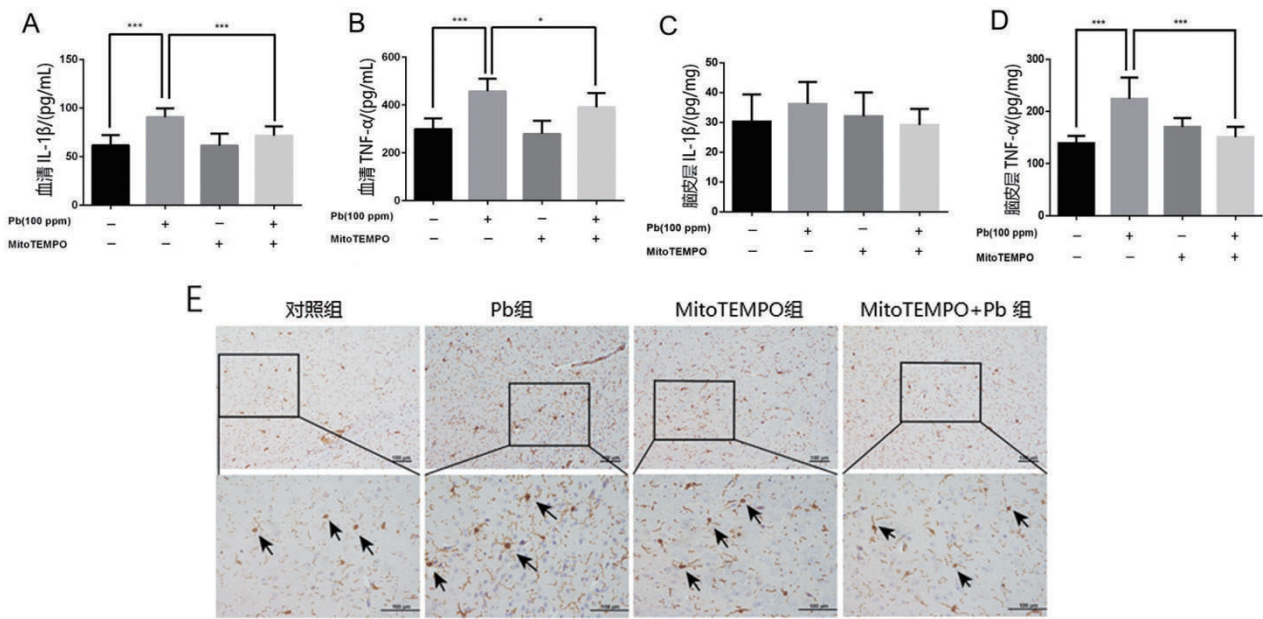
A~D 分别为对照组、1 $\mu\text{mol/L}$ 、5 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 的Pb处理组,比例尺=100 μm ;E:Pb染毒对BV2小胶质细胞*IL-6*、*IL-8*、*TNF- α* mRNA水平的影响;与对照组比较,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ 。

图2 不同浓度Pb染毒对小胶质细胞形态和炎性因子mRNA的影响



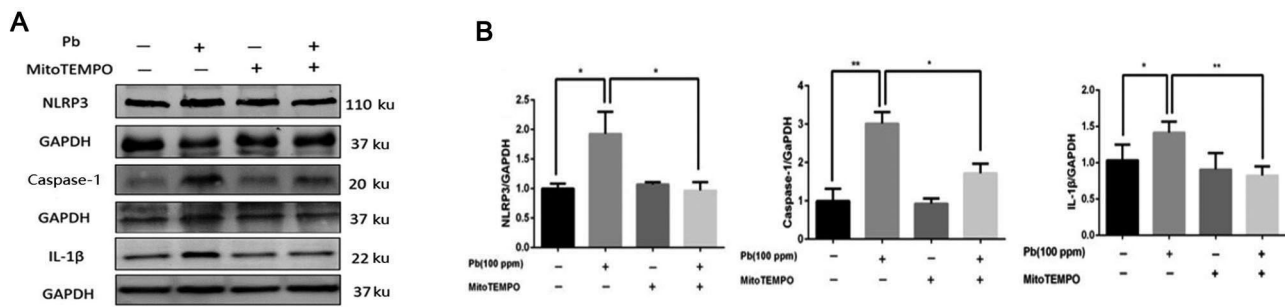
A: Pb 对小胶质细胞 mtROS 表达的影响; 比例尺=10 μm; B: Pb 对小胶质细胞线粒体膜电位的影响, 比例尺=20 μm; 与对照组相比, * $P<0.05$, *** $P<0.001$ 。

图3 Pb 对小胶质细胞线粒体氧化应激的影响



A: 血清 IL-1 β 表达水平; B: 血清 TNF- α 表达水平; C: 脑皮层 IL-1 β 表达水平; D: 脑皮层 TNF- α 表达水平; E: Pb 及 MitoTEMPO 处理下小胶质细胞的形态变化, 箭头表示活化的小胶质细胞, 比例尺=100 μm; 组间比较, * $P<0.05$, *** $P<0.001$ 。

图4 使用免疫组化 IBA1 标记 Pb 及 MitoTEMPO 处理下小胶质细胞的形态变化和小鼠炎症因子水平的改变



A: NLRP3 及其下游蛋白的表达; B: 蛋白统计分析; 与 Pb 组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

图5 Western blotting 检测小鼠海马组织中 NLRP3 及其相关蛋白的表达

3 讨论

Pb是一种普遍存在的金属污染物,具有很强的毒性。Pb暴露可激活小胶质细胞,使小胶质细胞发生促炎性M1型活化^[14-15],促发IL-1 β 、TNF- α 和IL-6等细胞因子的释放,从而导致神经毒性^[16-18]。TNF- α 主要由活化的小胶质细胞产生,可诱导和增强中枢神经炎症^[19],参与兴奋性毒性和神经炎症的调节,最终引发局部神经炎症并导致神经元细胞死亡^[20]。NLRP3炎症小体激活在神经系统疾病中起重要作用,通过抑制NLRP3炎症小体激活可以缓解神经炎症^[21-22]。本研究发现,Pb可导致小胶质细胞炎性激活,使mtROS升高,线粒体膜电位降低,MitoTEMPO可抑制Pb导致的小鼠血清及大脑皮层炎症因子IL-1 β 和TNF- α 水平和海马NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 蛋白水平增高,表明Pb通过线粒体氧化应激使小胶质细胞激活,其机制可能与NLRP3炎症小体改变有关。

小胶质细胞是中枢神经系统内固有的免疫细胞,激活的M1型小胶质细胞在炎症反应中扮演重要角色,可分泌IL-1 β 和IL-6等炎症因子,促进脑内炎症。在本研究中,Pb可使小胶质细胞活化,小胶质细胞胞体增大,突起增多且变粗,小胶质细胞为活化状态,使IL-6、IL-8、TNF- α mRNA表达增高,这与Magdalena等^[18]研究结果相似。线粒体的正常代谢和体内平衡的副产物包括ROS和Ca²⁺等,有证据表明,短暂的线粒体渗透性转换孔(mPTP)开放发挥重要的生理作用,引起线粒体内的氧化还原环境的变化,导致ROS释放,调节氧化还原应激的适应性,维持健康的线粒体稳态。在较高的ROS水平下,较长时间的mPTP开放可导致ROS爆发,使线粒体发生破坏,造成细胞损伤^[23]。在本研究中,随着Pb浓度的升高,mtROS水平明显上升,线粒体膜电位受到损伤。提示Pb可导致小胶质细胞线粒体氧化应激,线粒体功能失调。

MitoTEMPO是一种线粒体靶向抗氧化剂,有助于防止线粒体氧化、坏死和凋亡。在本研究中,Pb处理可使小鼠海马区小胶质细胞呈现活化状态,胞体增大,突起增多且变粗;小鼠血清及脑皮层TNF- α 水平增高,MitoTEMPO处理后大部分小胶质细胞突起减少,胞体小,且可抑制Pb引起的血清及脑皮层TNF- α 水平增高,提示MitoTEMPO可缓解Pb导致的小胶质细胞激活和炎症因子释放,这与Thangaraj等^[24]的研究结果相似。研究报道可卡因可导致小胶质细胞活化,线粒体受损,而MitoTEM-

PO可减轻可卡因介导的受损的线粒体自噬以及小胶质细胞活化^[24]。

炎症小体是细胞内蛋白质复合物,是大脑和其他组织炎症反应的关键调节因子,在大脑的神经元、小胶质细胞和星形胶质细胞中均有表达,和神经炎症的发生密切相关^[25]。NLRP3炎症小体在Pb中毒小鼠神经毒性机制中发挥重要作用^[9]。在本研究中,MitoTEMPO可恢复Pb导致的小鼠NLRP3炎症小体及下游剪切蛋白Caspase-1和IL-1 β 表达增多,提示MitoTEMPO可通过抑制NLRP3炎症小体激活,缓解Pb的神经毒性作用。在慢性肾脏病模型大鼠中,MitoTEMPO能显著抑制NLRP3炎症小体的活化,改善足细胞损伤^[26]。另有研究报道,MitoTEMPO预处理可以抑制脂多糖(LPS)诱导的小胶质细胞mtROS产生和NLRP3炎症小体激活^[27]。这些研究结果均与本研究结果相似。

本研究表明,MitoTEMPO可减轻Pb导致的小胶质细胞激活,使NLRP3及其下游因子Caspase-1、IL-1 β 的蛋白表达受到抑制,炎症因子IL-1 β 和TNF- α 水平降低,缓解神经毒性,提示Pb导致线粒体氧化应激可使小胶质细胞激活,其机制可能与NLRP3炎症小体有关,可为缓解Pb神经毒性提供新思路。

参考文献:

- [1] KUMAR A, KUMAR A, M M S C P, et al. Lead toxicity: health hazards, influence on food chain, and sustainable remediation approaches[J]. International journal of environmental research and public health, 2020, 17(7): 2179.
- [2] MITRA P, SHARMA S, PUROHIT P, et al. Clinical and molecular aspects of lead toxicity: an update[J]. Critical reviews in clinical laboratory sciences, 2017, 54(7/8): 506-528.
- [3] BIHAQI S W. Early life exposure to lead (Pb) and changes in DNA methylation: relevance to Alzheimer's disease [J]. Reviews on environmental health, 2019, 34(2): 187-195.
- [4] HUANG D B, CHEN L X, JI Q Y, et al. Lead aggravates Alzheimer's disease pathology via mitochondrial copper accumulation regulated by COX17[J]. Redox biology, 2024, 69: 102990.
- [5] LIU M C, LIU X Q, WANG W, et al. Involvement of microglia activation in the lead induced long-term potentiation impairment[J]. PLoS one, 2012, 7(8): e43924.
- [6] DAN DUNN J, ALVAREZ L A, ZHANG X Z, et al. Reactive oxygen species and mitochondria: a nexus of cellular homeostasis[J]. Redox biology, 2015, 6: 472-485.
- [7] BATTOGTOKH G, CHOI Y S, KANG D S, et al. Mito-

- chondria-targeting drug conjugates for cytotoxic, anti-oxidizing and sensing purposes: current strategies and future perspectives[J]. *Acta pharmaceutica sinica B*, 2018, 8(6): 862-880.
- [8] ZHAO M, WANG Y Z, LI L, et al. Mitochondrial ROS promote mitochondrial dysfunction and inflammation in ischemic acute kidney injury by disrupting TFAM-mediated mtDNA maintenance[J]. *Theranostics*, 2021, 11(4): 1845-1863.
- [9] ZHU J W, ZHOU F, ZHOU Q, et al. NLRP3 activation in microglia contributes to learning and memory impairment induced by chronic lead exposure in mice[J]. *Toxicological sciences: an official journal of the society of toxicology*, 2023, 191(1): 179-191.
- [10] ŚLUSARCZYK J, TROJAN E, GŁOMBIK K, et al. Targeting the NLRP3 inflammasome-related pathways via tianeptine treatment-suppressed microglia polarization to the M1 phenotype in lipopolysaccharide-stimulated cultures[J]. *International journal of molecular sciences*, 2018, 19(7): 1965.
- [11] JULIANA C, FERNANDES-ALNEMRI T, KANG S, et al. Non-transcriptional priming and deubiquitination regulate NLRP3 inflammasome activation[J]. *The journal of biological chemistry*, 2012, 287(43): 36617-36622.
- [12] SU P, WANG D Y, CAO Z P, et al. The role of NLRP3 in lead-induced neuroinflammation and possible underlying mechanism[J]. *Environmental pollution*, 2021, 287: 117520.
- [13] MENG P N, CHEN Z Y, SUN T H, et al. Sheng-Mai-Yin inhibits doxorubicin-induced ferroptosis and cardiotoxicity through regulation of Hmx1[J]. *Aging*, 2023, 15(19): 10133-10145.
- [14] TANG W, PENG J W, CHEN L X, et al. Lead inhibits microglial cell migration via suppression of store-operated calcium entry[J]. *Toxicology letters*, 2024, 393: 69-77.
- [15] SU P, ZHANG J B, WU J X, et al. TREM2 expression on the microglia resolved lead exposure-induced neuroinflammation by promoting anti-inflammatory activities[J]. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2023, 260: 115058.
- [16] CAO Y S, ZHAO W J, ZHONG Y Q, et al. Effects of chronic low-level lead (Pb) exposure on cognitive function and hippocampal neuronal ferroptosis: an integrative approach using bioinformatics analysis, machine learning, and experimental validation[J]. *The science of the total environment*, 2024, 917: 170317.
- [17] CHIBOWSKA K, BARANOWSKA-BOSIACKA I, FALKOWSKA A, et al. Effect of lead (Pb) on inflammatory processes in the brain[J]. *International journal of molecular sciences*, 2016, 17(12): 2140.
- [18] GAŚSOWSKA-DOBROWOLSKA M, CHLUBEK M, KOLASA A, et al. Microglia and astroglia-the potential role in neuroinflammation induced by pre- and neonatal exposure to lead (Pb)[J]. *International journal of molecular sciences*, 2023, 24(12): 9903.
- [19] PROBERT L. TNF and its receptors in the CNS: the essential, the desirable and the deleterious effects[J]. *Neuroscience*, 2015, 302: 2-22.
- [20] GONZALEZ CALDITO N. Role of tumor necrosis factor-alpha in the central nervous system: a focus on autoimmune disorders[J]. *Frontiers in immunology*, 2023, 14: 1213448.
- [21] GU Y, HU Z F, ZHENG D W, et al. Baohuoside I suppresses the NLRP3 inflammasome activation via targeting GPER to fight against Parkinson's disease[J]. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 2024, 126: 155435.
- [22] HAN Q Q, LI W H, CHEN P Q, et al. Microglial NLRP3 inflammasome-mediated neuroinflammation and therapeutic strategies in depression[J]. *Neural regeneration research*, 2024, 19(9): 1890-1898.
- [23] ZOROV D B, JUHASZOVA M, SOLLITT S J. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release[J]. *Physiological reviews*, 2014, 94(3): 909-950.
- [24] THANGARAJ A, PERIYASAMY P, GUO M L, et al. Mitigation of cocaine-mediated mitochondrial damage, defective mitophagy and microglial activation by superoxide dismutase mimetics[J]. *Autophagy*, 2020, 16(2): 289-312.
- [25] LEEMANS J C, CASSEL S L, SUTTERWALA F S. Sensing damage by the NLRP3 inflammasome[J]. *Immunological reviews*, 2011, 243(1): 152-162.
- [26] LIU B H, WANG D J, CAO Y W, et al. MitoTEMPO protects against podocyte injury by inhibiting NLRP3 inflammasome via PINK1/Parkin pathway-mediated mitophagy[J]. *European journal of pharmacology*, 2022, 929: 175136.
- [27] CHEON S Y, KIM M Y, KIM J, et al. Hyperammonemia induces microglial NLRP3 inflammasome activation via mitochondrial oxidative stress in hepatic encephalopathy[J]. *Biomedical journal*, 2023, 46(5): 100593.
- 本文引用格式:
周 芹,李立凡,黄定帮,等.线粒体氧化应激在染铅小胶质细胞炎性活化中的作用研究[J]. *广西医科大学学报*, 2024, 41(7): 945-951.DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.07.001
ZHOU Q, LI L F, HUANG D B, et al. Effect of mitochondrial oxidative stress on lead-exposed inflammatory activation of microglia[J]. *Journal of Guangxi medical university*, 2024, 41(7): 945-951. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.07.001