

锰诱导BV2细胞炎症活化与线粒体自噬有关

贺宏健¹, 韦兰成¹, 石倩倩¹, 桂文亮¹, 叶子煜¹, 唐 深², 董振山³, 吕阳波³, 胡志忠³, 胡 超³, 李习艺¹, 陆彩玲¹
(1. 广西医科大学公共卫生学院, 南宁 530021; 2. 广西医科大学基础医学院, 南宁 530021; 3. 广西中烟工业有限责任公司, 南宁 530001)

摘要 目的: 探究锰诱导的BV2细胞炎症活化是否与线粒体自噬有关。方法: 小鼠小胶质细胞BV2予以不同浓度锰暴露(0 $\mu\text{mol/L}$ 、50 $\mu\text{mol/L}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$) 12 h, 并以1 $\mu\text{g/mL}$ 脂多糖(LPS)为阳性对照组; 刃天青法检测细胞活性; 荧光探针检测溶酶体数量及荧光强度变化; 透射电镜观察自噬变化; 共聚焦显微镜观察溶酶体和线粒体荧光共定位的程度; 蛋白免疫印迹(western blotting)实验检测不同浓度锰暴露12 h后细胞炎症蛋白NLRP3、自噬相关蛋白(p62、LC3-II/I)以及线粒体外膜蛋白VDAC1的表达水平; 线粒体自噬抑制剂巴弗洛霉素A1预处理验证锰暴露对自噬流及上述炎症标志蛋白表达的影响。结果: BV2细胞染锰浓度 $\geq 50 \mu\text{mol/L}$ 时, BV2细胞存活率下降, NLRP3表达上调($P < 0.01$), 溶酶体数量及与线粒体共定位显著增加($P < 0.05$); 锰暴露组VDAC1和自噬标志蛋白LC3-II/I的蛋白表达水平下降, p62的蛋白表达水平升高($P < 0.05$); 巴弗洛霉素A1预处理后, 显著逆转除p62外的其他自噬标记蛋白表达($P < 0.05$)。结论: 50~100 $\mu\text{mol/L}$ 染毒剂量下, 锰诱导BV2细胞炎症活化和线粒体自噬增加; 巴弗洛霉素A1抑制线粒体自噬可促进锰暴露诱导的BV2细胞炎症活化。

关键词 锰; 炎症; 线粒体自噬; 小胶质细胞

中图分类号: R543.5 文献标志码: A 文章编号: 1005-930X(2024)07-0989-07

DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.07.007

Inflammatory activation of BV2 cells induced by manganese involving with mitophagy

HE Hongjian¹, WEI Lancheng¹, SHI Qianqian¹, GUI Wenliang¹, YE Ziyu¹, TANG Shen², DONG Zhenshan³, LYU Yangbo³, HU Zhizhong³, HU Chao³, LI Xiyi¹, LU Cailing¹. (1. School of Public Health, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2. School of Basic Medical Sciences, Guangxi medical university, Nanning 530021, China; 3. Guangxi China Tobacco Industry Co., Ltd, Nanning 530001, China)

Abstract Objective: To investigate whether manganese-induced inflammatory activation in BV2 cells is associated with mitophagy. **Methods:** Mouse microglia cells BV2 were exposed to different concentrations of manganese (0 $\mu\text{mol/L}$, 50 $\mu\text{mol/L}$ and 100 $\mu\text{mol/L}$) for 12 h, and 1 $\mu\text{g/mL}$ lipopolysaccharide (LPS) was used as a positive control group. Cell viability was detected by Alamarblue assay and changes of lysosomal number and fluorescence intensity were detected by fluorescent probe; autophagic changes were observed by transmission electron microscopy; the extent of lysosomal and mitochondrial fluorescence co-localization was observed by confocal microscopy; western blotting was performed to detect the expression levels of cellular inflammatory proteins NLRP3, autophagy-related proteins (p62, LC3-II/I), and mitochondrial outer membrane protein VDAC1 after 12 h of exposure to different concentrations of manganese. Mitophagy inhibitor Bafilomycin A1 pretreatment verified the effect of manganese exposure on autophagic flow and the aforementioned inflammatory hallmarks protein expression. **Results:** When BV2 cells were exposed to manganese at concentrations greater than 50 $\mu\text{mol/L}$, the BV2 cell survival rate was decreased, NLRP3 expression was increased ($P < 0.01$), and the number of lysosomes and their co-localization with mitochondria significantly were increased ($P < 0.05$). The protein expression levels of VDAC1 and autophagy marker protein LC3-II/I were decreased and p62 was increased in the manganese-exposed group ($P < 0.05$). Bafilomycin A1 pretreatment significantly reversed the autophagy marker protein

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.82360651); 广西自然科学基金资助项目(No.2024GXNSFAA010348)

[通信作者] 陆彩玲, E-mail: lcling78@163.com

[收稿日期] 2024-04-01

expression except p62 ($P<0.05$). **Conclusion:** Manganese induces inflammatory activation in BV2 cells and increases mitophagy at 50-100 $\mu\text{mol/L}$ exposure dose. Inhibition of mitophagy by Bafilomycin A1 can promote manganese exposure-induced inflammatory activation in BV2 cells.

Keywords manganese; inflammation; mitophagy; microglia cells

锰广泛分布在地壳中,是机体可能必需微量元素^[1]。锰参与多种生理过程,包括免疫反应、血糖调节和活性氧(reactive oxygen species, ROS)的稳态等^[2-3]。适当的锰水平对于生命是必要的,但过量或长期低剂量的锰暴露可产生毒性作用^[4]。过量锰对神经系统损伤显著,其毒性机制被认为与神经炎症反应有关^[5]。

小胶质细胞是中枢神经系统内的先天性免疫细胞,具有巨噬细胞的特性,在脑疾病的发生和发展中有着“双刃剑”的作用^[5-6]。锰选择性蓄积在线粒体并诱导氧化损伤^[7]。当严重受损的线粒体未被适当清除时,其有害内容物释放并介导炎症级联反应^[8]。清除受损线粒体的过程称为线粒体自噬^[9]。研究表明,锰诱导的炎症反应与自噬障碍有关^[10-12],这是否与靶向清除受损线粒体(线粒体自噬)异常有关却少有研究。本研究拟以BV2细胞为研究对象,建立锰暴露模型,探讨线粒体自噬是否参与锰诱导的BV2细胞炎症活化。

1 材料与方法

1.1 材料

BV2细胞(小鼠小胶质细胞,中国科学院细胞库);DMEM完全培养基、胎牛血清(美国Gibco公司);青霉素、链霉素(北京索莱宝科技有限公司);刃天青、四水氧化锰($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)、巴弗洛霉素A1(美国Sigma公司);Anti-p62、Anti-LC3(Cell Signaling Technology公司);Anti-NLRP3(美国Abcam公司);Anti-VDAC1(美国Santa Cruz公司);倒置生物显微镜(日本尼康公司);EvoSFL全自动荧光成像系统;蛋白质免疫印迹法(western blotting)实验系统(美国Bio-Rad公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与细胞形态学观察 BV2细胞培养体系为DMEM完全培养基(含10%胎牛血清、1%青霉素、链霉素混合液),每2 d更换新鲜培养基,置于37℃、5% CO_2 培养箱中培养。

将BV2细胞接种于6孔板(2×10^5 个/孔),培养箱中生长24 h。不同浓度锰(0 $\mu\text{mol/L}$ 、50 $\mu\text{mol/L}$ 、

100 $\mu\text{mol/L}$ 、200 $\mu\text{mol/L}$)处理12 h后,用倒置显微镜观察细胞形态变化并拍照记录。

1.2.2 实验分组与刃天青法检测细胞存活率 根据研究需要,细胞实验设计4组,对照组(0 $\mu\text{mol/L}$ 锰)、单独锰暴露组(50 $\mu\text{mol/L}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$ 、200 $\mu\text{mol/L}$)、1 $\mu\text{g/mL}$ 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)作为炎症诱导阳性组及巴弗洛霉素A1干预组。干预浓度基于(0 $\mu\text{mol/L}$ 、2.5 $\mu\text{mol/L}$ 、5 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 、20 $\mu\text{mol/L}$ 、40 $\mu\text{mol/L}$ 、80 $\mu\text{mol/L}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$)巴弗洛霉素A1分别处理2 h、4 h后确定的最大无作用剂量。上述各组细胞取100 μL 对数生长期的BV2细胞接种于96孔板中(1×10^3 个/孔),细胞贴壁后用含上述试剂相应浓度的完全培养基处理,置于37℃、5% CO_2 细胞培养箱中培养12 h。各处理结束后,弃去旧培养基,加入100 μL 0.002%刃天青溶液,避光孵育1 h,用酶标仪在590 nm处测荧光强度,并计算细胞存活率,细胞存活率=(处理组荧光强度-空白组荧光强度)/(对照组荧光强度-空白组荧光强度) $\times 100\%$ 。

1.2.3 荧光探针检测锰暴露对BV2细胞溶酶体数量变化 BV2细胞接种于96孔板中,细胞贴壁后分别染锰(0 $\mu\text{mol/L}$ 、50 $\mu\text{mol/L}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$)、LPS(1 $\mu\text{g/mL}$)各6 h、12 h。待处理时间到后,弃去旧培养基,PBS洗涤一遍。溶酶体探针用PBS按照1:18 000的比例稀释后以400 μL /孔加入并置于培养箱避光孵育30 min。酶标仪测定635 nm波长处的荧光强度,全自动荧光成像系统观察红色荧光的分布范围和强度。上述实验操作均避光进行。

1.2.4 透射电子显微镜检测锰暴露对BV2细胞线粒体形态影响 取处于对数期的BV2细胞种于6孔板中(4×10^5 个/孔),待稳定贴壁后,弃掉旧培养基,加入锰(100 $\mu\text{mol/L}$)和LPS(1 $\mu\text{g/mL}$)处理12 h后,弃掉培养基,用PBS清洗细胞,加入2.5%的常温戊二醛固定液,常温固定5 min,用细胞刮子沿一个固定方向轻轻刮下细胞,转移至1.5 mL EP管中,常温2 500 r/min离心2 min,弃去固定液后加入新的固定液,将细胞团轻轻挑起,悬浮于固定液中。室温避光固定30 min,4℃保存条件送赛维尔公司制样及检测。

1.2.5 细胞蛋白收集及 western blotting 实验 将BV2细胞种在6孔板(2×10^5 个/孔),置于CO₂细胞培养箱贴壁生长。用不同浓度锰(0 $\mu\text{mol/L}$ 、50 $\mu\text{mol/L}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$)和LPS(1 $\mu\text{g/mL}$)处理BV2细胞12 h。收集细胞后,使用BCA蛋白定量试剂盒进行蛋白定量并确定上样量。经SDS-PAGE凝胶电泳及转膜后,用5%脱脂牛奶封闭1 h,按照相应抗体的推荐稀释比例在2.5%脱脂牛奶中加入一抗(p62 1:1 000; LC3 1:500; NLRP3 1:1 000; VDAC1 1:1 000),摇床上4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。洗膜3次后,加入相应的二抗(HRP山羊抗兔/鼠IgG 1:4 000),置于摇床上室温孵育2 h。洗膜3次后,滴加适量化学发光液,使用iBright蛋白免疫印迹成像系统对条带进行快速显影,并用该系统对应软件对蛋白条带的灰度值进行定量分析。

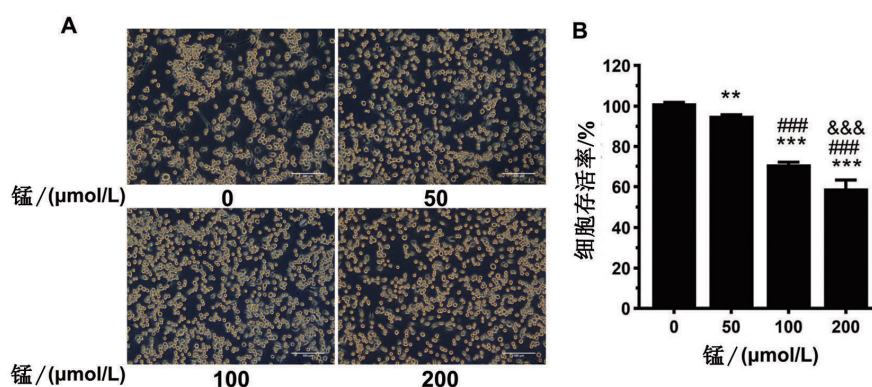
1.3 统计学方法 采用SPSS 25.0统计软件分析数

据,所有数据采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示;多组间比较采用单因素方差分析,进一步组间两两比较采用LSD-*t*法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 锰暴露抑制BV2细胞活性

与对照组相比,50~200 $\mu\text{mol/L}$ 锰暴露组中BV2细胞数量随着锰浓度的增加而减少,突起逐渐变短甚至消失,细胞体积变小、皱缩,甚至脱离支持物底壁(见图1A)。刃天青实验结果显示:BV2细胞存活率随锰浓度升高而降低,且呈现明显的剂量依赖性关系,当锰的浓度 ≥ 50 $\mu\text{mol/L}$ 时,细胞存活率显著降低($P < 0.01$)(见图1B)。这说明当锰浓度超过50 $\mu\text{mol/L}$ 时,BV2细胞的活性明显降低,且随着剂量增加,活性下降更为显著。



A:不同浓度锰暴露12 h对BV2细胞形态的影响($\times 100$);B:不同浓度锰暴露12 h对BV2细胞存活率的影响;与对照组比较,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$;与50 $\mu\text{mol/L}$ 锰暴露组比较,#### $P < 0.001$;与100 $\mu\text{mol/L}$ 锰暴露组比较,&&&*** $P < 0.001$, $n=4$ 。

图1 锰对BV2细胞活性的影响

2.2 锰暴露对BV2细胞溶酶体和线粒体的影响

溶酶体探针结果显示,随着时间的延长,溶酶体红色荧光由颗粒状转变为密集团块状,同时,随着锰暴露浓度不断升高,溶酶体红色荧光信号增强($P < 0.001$),提示染锰后溶酶体的数量增加(见图2A、图2B)。透射电镜结果显示,对照组核膜和线粒体嵴清晰。50 $\mu\text{mol/L}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$ 锰暴露组有大量线粒体肿胀、嵴断裂和少量线粒体自噬小体。结果提示染锰可诱导线粒体受损(见图2C)。

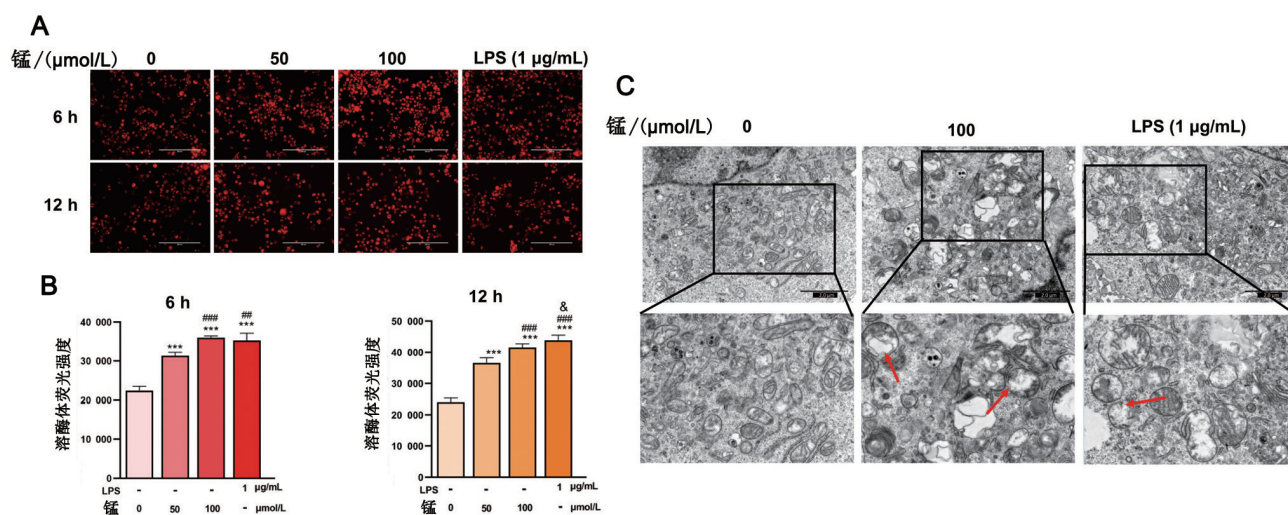
2.3 锰暴露对BV2细胞溶酶体和线粒体共定位的影响

通过观察溶酶体和线粒体共定位结果,发现橙色荧光强度随着锰浓度升高而增加,共定位荧光的散点图量化结果Pearson系数升高($P < 0.05$)。结果

提示溶酶体和线粒体的融合增加,溶酶体靶向降解线粒体不断增加(见图3)。

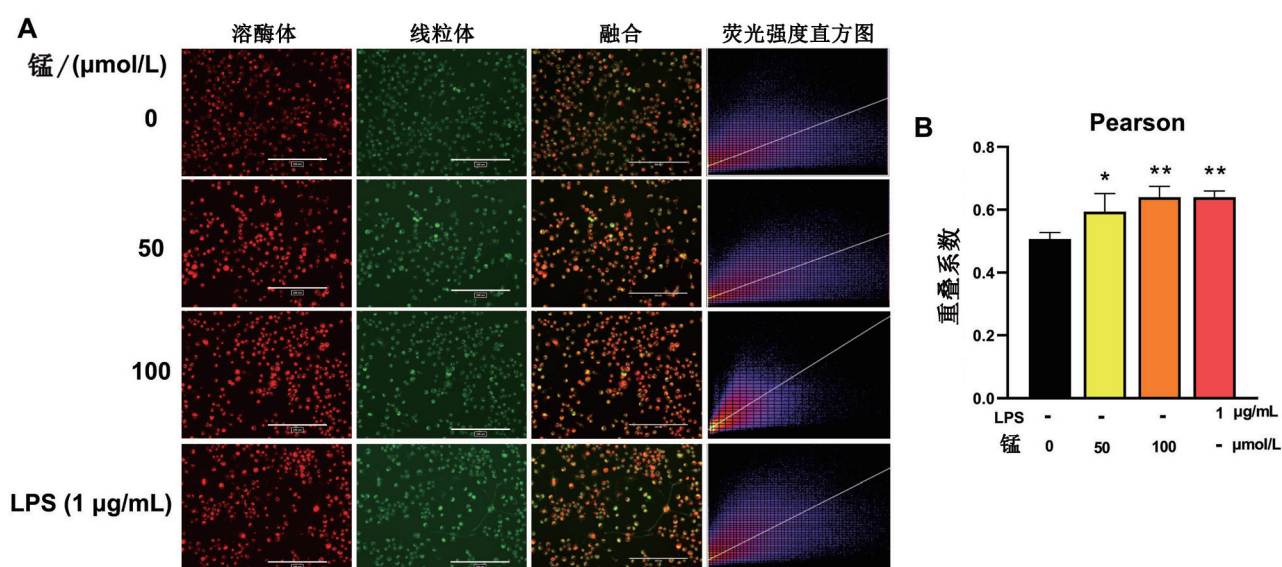
2.4 锰暴露诱导BV2细胞炎症活化和线粒体自噬激活

选择LPS作为阳性对照。Western blotting结果表明,随着锰暴露浓度增加,与对照组相比,BV2细胞炎症活化标记物NLRP3表达水平显著增高($P < 0.01$),提示锰暴露诱导BV2细胞炎症活化,自噬标记蛋白LC3-II/I和VDAC1蛋白表达水平下降($P < 0.05$),自噬溶酶体连接蛋白p62的表达水平明显上升($P < 0.01$),见图4。结合透射电镜、荧光探针和溶酶体与线粒体荧光共定位的结果,提示锰暴露可激活BV2细胞线粒体自噬。



A: 不同浓度锰暴露 6 h, 12 h 对 BV2 细胞溶酶体的数量影响($\times 400$); B: 不同浓度锰暴露 6 h, 12 h 对 BV2 细胞溶酶体荧光强度的影响; 与对照组比较, $***P < 0.001$; 与 50 $\mu\text{mol/L}$ 锰暴露组比较, $##P < 0.01$, $###P < 0.001$; 与 100 $\mu\text{mol/L}$ 锰暴露组比较, $^{\&}P < 0.05$, 比例尺=2.0 μm , $n=4$; C: 透射电镜观察锰暴露 12 h 对 BV2 细胞线粒体的影响($\times 10\,000$), 红色箭头表示线粒体自噬小体形成。

图2 锰暴露对 BV2 细胞溶酶体和线粒体的影响



A: 不同浓度锰暴露 12 h 对 BV2 细胞溶酶体和线粒体荧光共定位的形态影响($\times 400$); B: 溶酶体和线粒体荧光共定位的定量分析; 与对照组比较, $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $n=3$ 。

图3 锰暴露 12 h 对 BV2 细胞溶酶体和线粒体共定位

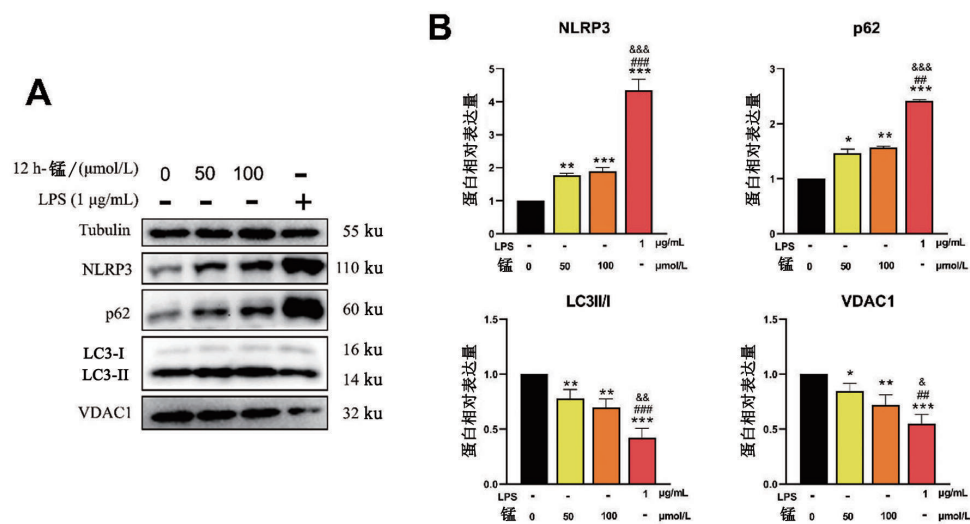
2.5 巴弗洛霉素 A1 工作浓度与时间确定

不同浓度巴弗洛霉素 A1 处理 BV2 细胞 2 h, 当浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 、20 $\mu\text{mol/L}$ 时, 可抑制细胞活性 ($P < 0.05$); 处理 BV2 细胞 4 h, 当浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 能抑制细胞生长 ($P < 0.05$) (见图 5)。综合上述实验结果, 结合时间与剂量反应, 确定 40 $\mu\text{mol/L}$ 的巴弗洛霉素 A1 处理 BV2 细胞 2 h 进行后续实验。

2.6 锰暴露诱导线粒体自噬障碍促进 BV2 细胞炎

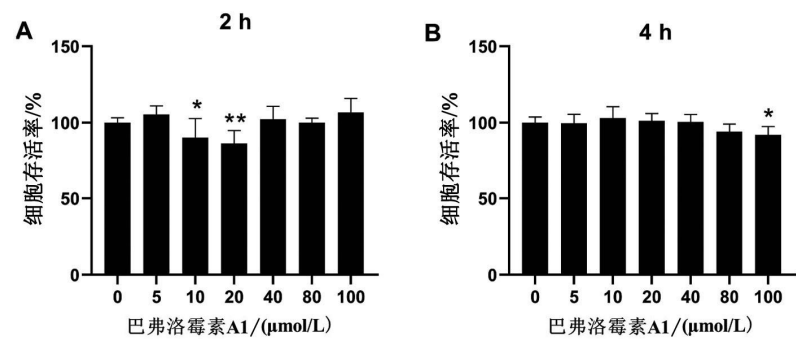
症活化

Western blotting 结果表明, 与锰暴露组相比, 巴弗洛霉素 A1 预处理后锰暴露组 BV2 细胞炎症活化标记物 NLRP3 表达水平显著增高 ($P < 0.05$), 提示巴弗洛霉素 A1 预处理后, 锰暴露加重 BV2 细胞炎症活化; p62、LC3-II/I 和 VDAC1 蛋白表达水平明显上升 ($P < 0.01$), 提示巴弗洛霉素 A1 可抑制锰暴露诱导的线粒体自噬水平 (见图 6)。



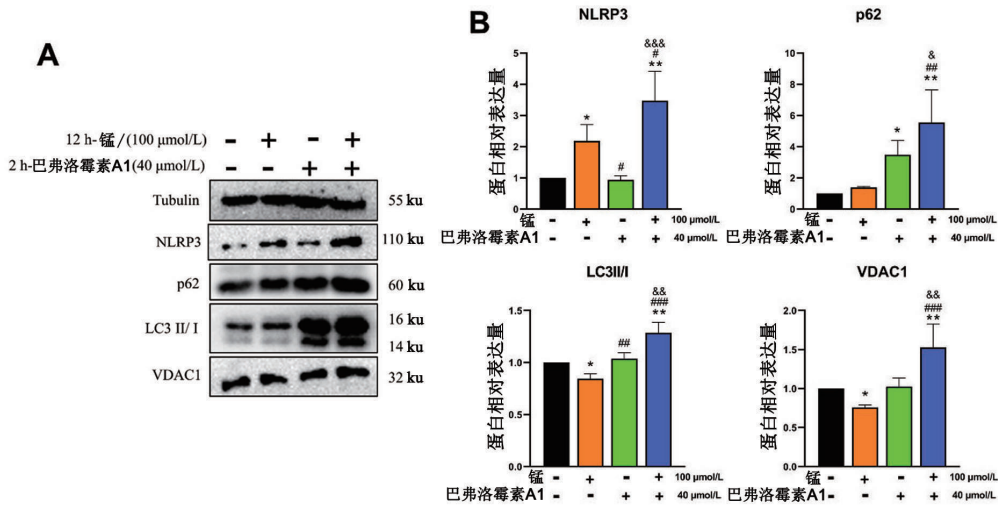
A:不同浓度锰暴露12 h对BV2细胞炎症和自噬相关蛋白条带变化;B:对A中蛋白条带的定量分析;与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$;与50 $\mu\text{mol/L}$ 锰暴露组比较,## $P<0.01$,### $P<0.001$;与100 $\mu\text{mol/L}$ 锰暴露组比较,& $P<0.05$,&& $P<0.01$,&&& $P<0.001$, $n=3$ 。

图4 锰暴露12 h对BV2细胞炎症和自噬的影响



A:不同浓度巴弗洛霉素A1处理2 h对BV2细胞存活率的影响;B:不同浓度巴弗洛霉素A1处理4 h对BV2细胞存活率的影响;与0 $\mu\text{mol/L}$ 巴弗洛霉素A1比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$, $n=3$ 。

图5 巴弗洛霉素A1对BV2细胞活性的影响



A:巴弗洛霉素A1预处理2 h后,染锰12 h对BV2细胞炎症和自噬相关蛋白表达变化的影响;B:对A中蛋白条带的定量分析;与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与100 $\mu\text{mol/L}$ 锰暴露组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$,### $P<0.001$;与40 $\mu\text{mol/L}$ 巴弗洛霉素A1组比较,& $P<0.05$,&& $P<0.01$,&&& $P<0.001$, $n=3$ 。

图6 巴弗洛霉素A1预处理后锰暴露对BV2细胞炎症和自噬的影响

3 讨 论

小胶质细胞炎性活化是锰诱导神经毒性较为成熟的机制。本研究结果表明,随着锰浓度增加,细胞活性呈剂量依赖性下降,炎症小体NLRP3表达显著上调,提示锰诱导BV2细胞炎症活化,进而介导锰的神经毒性。有文献报道,锰可增加N2a细胞NLRP3表达进而促进神经炎症^[13]。动物实验表明,通过饮用水给予大鼠锰(200 mg/L,持续5周)可增加NLRP3和裂解的Caspase1和IL-1 β 水平^[14]。上述研究表明,在不同模型中,锰可上调脑组织细胞NLRP3表达。研究锰诱导炎症激活的机制,可为与之有关的神经炎症及神经损伤提供防治支持。

自噬是溶酶体参与的降解细胞内异常折叠蛋白(如tau、 β -淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β))、受损细胞器(如线粒体、高尔基体等)并回收降解细胞成分的进化保守过程^[7]。其中,线粒体自噬靶向清除受损的线粒体,对于线粒体质量控制和维护病理应激下的正常细胞功能至关重要^[15]。本研究中,锰暴露后p62表达上调,而LC3-II/I和VDAC1表达下调,透射电镜发现线粒体受损和线粒体自噬小体形成,结合溶酶体的数量和溶酶体与线粒体的融合增加,提示锰激活BV2细胞线粒体自噬发生。进一步地,采用巴弗洛霉素A1抑制线粒体自噬体—溶酶体融合后,线粒体自噬水平抑制的同时也增加了炎症标志表达。有文献报道,锰暴露激活PINK1/Parkin介导的线粒体自噬,并保护神经细胞免受锰的损伤^[16]。研究表明,锰可激活SH-SY5Y细胞线粒体自噬,从而触发SH-SY5Y细胞凋亡^[17]。上述研究表明锰可激活线粒体自噬,但在不同模型中产生的生物学效应不同。

在大多数情况下,自噬激活确保了饥饿或应激条件下的细胞存活^[7]。自噬通过调整细胞内细胞器含量来保障免疫细胞发育、分化等功能,还可以通过自噬受体识别泛素等标签促进炎症反应^[18-19]。但线粒体自噬与炎症的关系并不非常明确。线粒体在机体固有免疫中发挥重要作用,其结构、功能受损可影响机体炎症的发生、发展进程^[20]。线粒体是细胞ROS产生的主要部位,氧化应激是炎症发生的重要诱因^[21]。研究发现,槲皮素通过促进线粒体自

噬进而抑制小胶质细胞NLRP3炎症小体激活来预防神经元损伤^[22]。抑制线粒体自噬/自噬可以导致ROS产生的线粒体积累,从而激活NLRP3炎症小体^[23]。锰首先在线粒体中积累,诱导线粒体氧化应激增加^[24]。结合本研究所观察到的线粒体损伤及与溶酶体共定位结果、自噬流的改变,我们推测锰诱导线粒体损伤增加并激活线粒体自噬,诱导小胶质细胞活化,NLRP3炎症小体表达,抑制线粒体自噬水平可进一步加重锰诱导的炎症活化。这与Wu等^[25]的研究结果一致。

综上,在本研究模型中,锰暴露可诱导BV2细胞炎性活化,该过程伴随线粒体自噬发生;巴弗洛霉素A1抑制线粒体自噬后,可促进锰暴露诱导的BV2细胞炎症活化。

参考文献:

- [1] YAN D Y, YANG Y Q, LANG J, et al. SIRT1/FOXO₃ mediated autophagy signaling involved in manganese-induced neuroinflammation in microglia[J]. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2023, 256: 114872.
- [2] PORTE ALCON S, GOROJOD R M, KOTLER M L. Kinetic and protective role of autophagy in manganese-exposed BV-2 cells[J]. *Biochimica et biophysica acta Molecular cell research*, 2020, 1867(10): 118787.
- [3] HORNING K J, CAITO S W, TIPPS K G, et al. Manganese is essential for neuronal health[J]. *Annual review of nutrition*, 2015, 35: 71-108.
- [4] MARTINS A C, KRUM B N, QUEIRÓS L, et al. Manganese in the diet: bioaccessibility, adequate intake, and neurotoxicological effects[J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2020, 68(46): 12893-12903.
- [5] ZHANG J W, ZHENG Y L, LUO Y, et al. Curcumin inhibits LPS-induced neuroinflammation by promoting microglial M2 polarization via TREM2/TLR4/NF- κ B pathways in BV2 cells[J]. *Molecular immunology*, 2019, 116: 29-37.
- [6] YAN A J, LIU Z H, SONG L, et al. Idebenone alleviates neuroinflammation and modulates microglial polarization in LPS-stimulated BV2 cells and MPTP-induced Parkinson's disease mice[J]. *Frontiers in cellular neuroscience*, 2018, 12: 529.
- [7] ZHANG Z Y, YAN J Q, BOWMAN A B, et al. Dysregulation of TFEB contributes to manganese-induced autophagy

- gic failure and mitochondrial dysfunction in astrocytes[J]. *Autophagy*, 2020, 16(8): 1506-1523.
- [8] LI Y, XIA X H, WANG Y, et al. Mitochondrial dysfunction in microglia: a novel perspective for pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. *Journal of neuroinflammation*, 2022, 19(1): 248.
- [9] GOROJOD R M, ALAIMO A, PORTE ALCON S, et al. The autophagic-lysosomal pathway determines the fate of glial cells under manganese-induced oxidative stress conditions[J]. *Free radical biology & medicine*, 2015, 87: 237-251.
- [10] 徐怡璐. PP2Ac 甲基化介导锰抑制N2a细胞自噬的机制研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2020.
- [11] PAJARILLO E, KIM S, DIGMAN A, et al. The role of microglial LRRK2 kinase in manganese-induced inflammatory neurotoxicity via NLRP3 inflammasome and RAB10-mediated autophagy dysfunction[J]. *The journal of biological chemistry*, 2023, 299(7): 104879.
- [12] YANG Y Q, GAO L, MENG J, et al. Manganese activates autophagy and microglia M2 polarization against endoplasmic reticulum stress-induced neuroinflammation: involvement of GSK-3 β signaling[J]. *Biomedecine & pharmacotherapie*, 2024, 170: 116053.
- [13] SINGH S, SHAIKH I A, MORE S S, et al. Blockage of KHSRP- NLRP3 by MCC950 can reverse the effect of manganese-induced neuroinflammation in N2a cells and rat brain[J]. *International journal of molecular sciences*, 2022, 23(21): 13224.
- [14] WANG H, YANG F, XIN R H, et al. The gut microbiota attenuate neuroinflammation in manganese exposure by inhibiting cerebral NLRP3 inflammasome[J]. *Biomedecine & pharmacotherapie*, 2020, 129: 110449.
- [15] NGUYEN T N, PADMAN B S, LAZAROU M. Deciphering the molecular signals of PINK1/parkin mitophagy[J]. *Trends in cell biology*, 2016, 26(10): 733-744.
- [16] LIU K, LIU Z Q, LIU Z F, et al. Manganese induces S-nitrosylation of PINK1 leading to nerve cell damage by repressing PINK1/Parkin-mediated mitophagy[J]. *The science of the total environment*, 2022, 834: 155358.
- [17] HUANG Y N, WEN Q L, HUANG J F, et al. Manganese (II) chloride leads to dopaminergic neurotoxicity by promoting mitophagy through BNIP3-mediated oxidative stress in SH-SY5Y cells[J]. *Cellular & molecular biology letters*, 2021, 26(1): 23.
- [18] CLARKE A J, SIMON A K. Autophagy in the renewal, differentiation and homeostasis of immune cells[J]. *Nature reviews immunology*, 2019, 19(3): 170-183.
- [19] DERETIC V. Autophagy in inflammation, infection, and immunometabolism[J]. *Immunity*, 2021, 54(3): 437-453.
- [20] WEINBERG S E, SENA L A, CHANDEL N S. Mitochondria in the regulation of innate and adaptive immunity[J]. *Immunity*, 2015, 42(3): 406-417.
- [21] 韩孝先, 刘泽宇, 周庆彪, 等. 线粒体在炎症调控中的作用研究进展[J]. *癌变·畸变·突变*, 2017, 29(6): 467-470, 475.
- [22] HAN X J, XU T S, FANG Q J, et al. Quercetin hinders microglial activation to alleviate neurotoxicity via the interplay between NLRP3 inflammasome and mitophagy[J]. *Redox biology*, 2021, 44: 102010.
- [23] ZHOU R B, YAZDI A S, MENU P, et al. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation[J]. *Nature*, 2011, 469(7329): 221-225.
- [24] HARISCHANDRA D S, GHASISAS S, ZENITSKY G, et al. Manganese-induced neurotoxicity: new insights into the triad of protein misfolding, mitochondrial impairment, and neuroinflammation[J]. *Frontiers in neuroscience*, 2019, 13: 654.
- [25] WU X, GONG L J, XIE L, et al. NLRP3 deficiency protects against intermittent hypoxia-induced neuroinflammation and mitochondrial ROS by promoting the PINK1-parkin pathway of mitophagy in a murine model of sleep apnea[J]. *Frontiers in immunology*, 2021, 12: 628168.

本文引用格式:

贺宏健, 韦兰成, 石倩倩, 等. 锰诱导BV2细胞炎症活化与线粒体自噬有关[J]. 广西医科大学学报, 2024, 41(7): 989-995. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r. 2024.07.007

HE H J, WEI L C, SHI Q Q, et al. Inflammatory activation of BV2 cells induced by manganese involving with mitophagy [J]. *Journal of Guangxi medical university*, 2024, 41(7): 989-995. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r. 2024.07.007