

·论著·

BIN1 基因对阿尔茨海默病细胞模型 Tau 磷酸化及 p38MAPK/NF-κB 通路的影响

陈娟^{ab}, 满劲进^a, 李兴义^a, 杨帆^a, 陈显兵^a, 袁林^b

作者单位
湖北民族大学附属
民大医院 a. 神经
内科, b. 风湿性疾
病发生与干预湖北
省重点实验室
湖北 恩施 445000
基金项目
湖北省自然科学基
金项目(No. 2014C
FB617);
恩施州科技局基金
项目(No. JCY2021
000054)
收稿日期
2022-07-12
通讯作者
陈娟
404649594@qq.
com

摘要 目的:探讨 BIN1 基因对 AD 细胞模型 Tau 磷酸化及 p38MAPK/NF-κB 通路的影响。方法:①构建 BIN1 过表达质粒与 BIN1 的小干扰 RNA(siRNA),qPCR 检测 BIN1 表达效果,选取效果最佳片段转染 PC12 细胞。②通过 Aβ₂₅₋₃₅ 诱导转染的 PC12 细胞建立 AD 细胞模型,利用 qPCR 方法检测 Tau 和 p-Tau 的 mRNA 转录水平,MTT 法及 Caspase3 活性检测判断 AD 模型是否建立成功。③实验分为 4 组:空白组,AD 模型组,过表达组,siRNA 组。④Western blot 法检测各组细胞 BIN1 表达水平及 Tau、磷酸化 Tau (p-Tau, Ser396 位点)、p38MAPK、核因子κB (NF-κB)蛋白的表达;⑤生化试剂盒检测各组细胞上清中一氧化氮(NO)水平;ELISA 法检测各组细胞上清中肿瘤坏死因子(TNF)-α、白细胞介素(IL)-1β等炎症因子表达。**结果:**①BIN1 过表达质粒显著上调 BIN1 的转录水平($P<0.01$),siRNA 明显下调 BIN1 的转录水平表达($P<0.01$)。②MTT 实验结果显示,AD 模型组细胞存活率较空白组显著下降($P<0.01$);Caspase3 活性检测结果显示,AD 模型组细胞 Caspase3 活性较空白组显著增加($P<0.01$)。③Western blot 检测结果显示,BIN1 在 AD 模型组、过表达组中表达明显高于空白组($P<0.01$),在 siRNA 组中表达明显低于空白组($P<0.01$);空白组、siRNA 组、AD 模型组、过表达组中 Tau、p-Tau(Ser396)蛋白表达依次增多,组间两两比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。④与 AD 模型组相比较,过表达组中 p38MAPK 和 NF-κB 蛋白水平明显上升($P<0.05$),siRNA 组中 p38MAPK 和 NF-κB 蛋白水平明显降低($P<0.05$)。⑤空白组、siRNA 组、AD 模型组、过表达组中 IL-1β、TNF-α、NO 水平依次增多,单因素方差分析及组间两两比较,差异均有统计学意义($P<0.01$)。**结论:** BIN1 可能通过影响 p38MAPK/NF-κB 信号通路参与了 tau 蛋白的异常磷酸化过程,导致 AD 病程持续发展。

关键词 桥连整合蛋白 1;阿尔茨海默病;Tau;p38MAPK;核因子κB

中图分类号 R741;R741.02;R742 文献标识码 A DOI 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20220214

本文引用格式:陈娟, 满劲进, 李兴义, 杨帆, 陈显兵, 袁林. BIN1 基因对阿尔茨海默病细胞模型 Tau 磷酸化及 p38MAPK/NF-κB 通路的影响[J]. 神经损伤与功能重建, 2022, 17(12): 696-700.

Influence of Bin1 Gene on Tau Phosphorylation and Signaling Pathway of p38MAPK/NF-κB in Alzheimer's Disease Cell Model CHEN Juan^{a,b}, MAN Jin-jin^a, LI Xing-yr^a, YANG Fan^a, CHEN Xian-bin^a, YUAN Lin^b. a. Department of Neurology, b. Hubei Provincial Key Laboratory of Occurrence and Intervention of Rheumatic Diseases, Minda Hospital Affiliated to Hubei University for Nationalities, Hubei Enshi 445099, China

Abstract **Objective:** To investigate the effect of Bin1 gene on Tau phosphorylation and the p38MAPK/NF-κB pathway in the Alzheimer's disease (AD) cell model. **Methods:** (1) The Bin1 overexpression plasmid and Bin1 siRNA were constructed respectively. The expression of Bin1 was detected by qPCR, and the fragment with the best effect was selected to transfect PC12 cells. (2) The transfected PC12 cells were induced by Aβ₂₅₋₃₅ to establish the AD cell model. The mRNA expression of Tau and p-Tau was detected by qPCR to verify the successful construction of the AD model cells. The viability of model cells was detected by MTT and caspase-3. (3) The experiment included 4 groups: blank group, AD model group, overexpression group, and siRNA group. (4) Western blot was used to detect the expression level of Bin1 and the protein levels of Tau, phosphorylated Tau (p-tau, ser396 site), p38MAPK, and NF-κB in each group. (5) The level of NO in the cell supernatant was detected by a biochemical kit. Inflammatory factors such as TNFα and IL-1β in the cell supernatant were detected by ELISA. **Results:** (1) Bin1 overexpression plasmid significantly up-regulated Bin1 protein expression ($P<0.01$), and siRNA significantly down-regulated Bin1 protein expression ($P<0.01$). (2) MTT assay showed that cell survival in the AD model group was significantly lower than that in the blank group ($P<0.01$). Detection of caspase-3 activity showed that it was significantly higher in the AD model group than that in the blank group ($P<0.01$). (3) Western blot revealed that Bin1 expression was significantly greater in the AD model group and overexpression group than that in the blank group ($P<0.01$) and significantly lower in the siRNA group than that in the blank group ($P<0.01$). The protein expression of Tau and p-Tau (Ser396) in the blank group, siRNA group, AD model group, and overexpression group increased in the order listed, and pairwise comparison showed that the difference was statistically significant ($P<0.05$). (4) Compared with that in the AD model group, the expression of p38MAPK and NF-κB in the overexpression group increased significantly ($P<0.05$); the expression of p38MAPK and NF-κB in the siRNA group was decreased significantly ($P<0.05$). (5) The expression levels of IL-1 β, TNF-α, and NO in the blank

group, siRNA group, AD model group, and overexpression group were increased in that order, and the differences were statistically significant ($P<0.01$). **Conclusion:** Bin1 may affect the signaling pathway of p38MAPK/NF- κ B and be involved in the abnormal phosphorylation of tau protein, which leads to the sustained progression of AD.

Keywords Bin1; Alzheimer's disease; Tau; p38MAPK; NF- κ B

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是最常见的老年痴呆类型,患者以进行性记忆力下降、智能减退及精神症状为主要特征。我国 60 及 65 岁以上人群中 AD 患者分别占 18.7% 和 13.5%, 并呈上升趋势^[1,2]。

AD 病因和发病机制至今不明,无特效药改善或逆转其发生。2002 ~ 2012 年全球抗 AD 药物研发成功率仅为 0.4%^[3],研发新型、有效的 AD 治疗药物成为全球关注的热点。而对 AD 发病机制的探索,有助于新靶标药物的研发。桥连整合蛋白 1 (bridging integrator protein 1, BIN1) 是近年来发现的 AD 易感基因,其在 AD 发病中具体作用的研究尚不多。本团队在前期实验中发现 BIN1 与 AD 患者有关,本研究拟进一步探索 BIN1 基因是否与 AD 的致病有关。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与材料

PC12 细胞购于北京安诺伦生物科技有限公司 ATCC 库细胞; Lipo-fectamine 2000 购于 Thermo Scientific 公司; 胎牛血清 (FBS) 购于 Gibco 公司; 高糖 DMEM 培养基购于 HyClone 公司; A β -Amyloid25-35 购于 MedChemExpress 公司; Tau、磷酸化 Tau (phosphorylated Tau, p-Tau) 抗体购于 Abcam 公司; p38MAPK 抗体、核因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 抗体购于 CST 公司; BIN1 抗体购于武汉三鹰生物技术有限公司; 肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α 、白细胞介素 (interleukin, IL)-1 β 试剂盒购于武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司; 一氧化氮 (nitric oxide, NO) 试剂盒购于南京建成生物工程研究所; Pyrobes 酶购于 Clontech 公司; EcoRI、BamHI 购于 TAKARA 公司; pUC57-Rat Bin1 购于金斯瑞生物科技; 质粒小量制备试剂盒购于上海捷瑞生物工程有限公司; 质粒大提试剂盒购于北京康为世纪生物技术有限公司; 针对 BIN1 的 siRNA 及对照购于上海吉玛制药有限公司。

1.2 方法

1.2.1 BIN1 过表达质粒的构建 根据 GenBank 提供的 BIN1 的 CDS 序列, 消除终止密码子, 利用软件设计特异性引物, 采用 cDNA 文库为模板, 用 Pyrobtest 酶进

行 PCR 扩增, 回收后连入 pcDNA3.1(+)-N-eGFP 载体, 转化 DH5 α 感受态细菌, 按试剂盒说明抽取并纯化质粒, 测序证实。采用 EcoRI 和 BamHI 双酶切质粒 pcDNA3.1(+)-N-eGFP 和 pUC57-Rat Bin1, 重组质粒 pcDNA3.1(+)-N-eGFP- Rat Bin1, 应用双酶切鉴定。将重组质粒严格按照 Lipofectamine 2000 说明书进行转染。将 PC12 细胞于转染前 1 天接种于细胞培养板中。将细胞分为过表达组、空载组和空白组, 前 2 组分别转染搭载 BIN1 的 pcDNA3.1 质粒、pcDNA3.1 空质粒。实时荧光定量 PCR (Quantitative Real-time PCR, qPCR) 验证过表达效果。

1.2.2 BIN1 小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 转染 根据 GenBank 提供的序列设计合成 BIN1 siRNA, 见表 1。根据 PCR 检测筛选出最佳干扰片段。按常规进行 PC12 细胞复苏、传代、细胞转染。qPCR 验证干扰效果。

表1 BIN1 siRNA 序列	
名称	序列(5'-3')
Bin1-siRNA-1	正向:GCGUCCAGAAUUUCAUAATT
	反向:UUAUUGAAAUUCUGGACGCTT
Bin1-siRNA-2	正向:CCUGCUAUGGAUGGACUAUTT
	反向:AUAGUCCAUCCAUAGCAGGTT
Bin1-siRNA-3	正向:GCUCAUCUUGUAGCUCAAATT
	反向:UUUGAGCUACAAGAUGAGCTT
Negative control	正向:UUCUCCGAACGUGUCACGUTT
	反向:ACGUGACACGUUCGGAGAATT

1.2.3 AD 细胞模型建立与实验分组 (1)A β ₂₅₋₃₅ 配制方法: 将 1 mg A β ₂₅₋₃₅ 溶于 943 μ L 三蒸水, 配成 1000 μ mol/L 母液, 置于 37 $^{\circ}$ C 培养箱孵育 7 d, 使之老化, 分装, 于 -20 $^{\circ}$ C 冻存。用终浓度为 20 μ mol/L A β ₂₅₋₃₅ 诱导转染后 PC12 细胞 48 h, 建立 AD 细胞模型。

(2)AD 模型细胞成功判定: ①利用 qPCR 方法检测 Tau 和 p-Tau 的 mRNA 表达来验证 AD 模型细胞的成功构建。②MTT 法检测细胞存活率: 将处理的 PC12 细胞 (5×10^3 个/孔) 接种于 96 孔板, 培养 24 h; 每孔加入 10 μ L MTT, 37 $^{\circ}$ C 培养 4 h; 吸出培养基, 加入 150 μ L DMSO, 震荡 10 min, 充分溶解结晶; 酶标仪 490 nm 处, 测定各孔吸光度 OD 值。③模型细胞 Caspase-3 活性检

测:将处理的PC12细胞(5×10^3 个/孔)接种于96孔板,培养24 h;丢弃培养液,用预冷的PBS清洗细胞2遍,加入预冷的细胞裂解液,用细胞刮收集细胞;冰上孵育10 min后离心1 min;将上清液转移至预冷的新的EP管中,测定蛋白浓度;取出适量,配置反应体系,混匀,37 ℃孵育60~120 min后,检测各样品的吸光度OD值。

(3)确定BIN1过表达及沉默效果:AD细胞模型造模成功后,将细胞随机分为4组:空白组(PC12细胞)、AD模型组(加入 $A\beta_{25-35}$ 处理PC12细胞48 h建立AD细胞模型)、过表达组(BIN1过表达质粒转染PC12细胞成功后加入 $A\beta_{25-35}$ 处理48 h)、siRNA组(BIN1-siRNA转染PC12细胞成功后加入 $A\beta_{25-35}$ 处理48 h)。

1.2.4 蛋白表达水平检测 Western blot法检测各组细胞BIN1及Tau、p-Tau(Ser396)、p38MAPK、NF- κ B蛋白的表达。

1.2.5 NO水平检测 采用生化法检测各组NO水平。收集各组细胞上清液,按照NO试剂盒的操作步骤获得各组OD值,计算出各组细胞NO表达水平。

1.2.6 炎症因子表达水平检测 采用酶联免疫吸附法(ELISA)法检测各组细胞上清液中TNF- α 、IL-1 β 的表达水平,操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.3 统计学处理

采用SPSS 23.0软件对实验数据进行分析,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,2组间比较采用t检验,多组间比较采用单因素方差分析; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BIN1过表达质粒及BIN1-siRNA对BIN1表达水平的影响

qPCR验证过表达效果显示,过表达组BIN1转录水平显著高于空白组和空载组,过表达质粒pcDNA3.1(+)-BIN1构建成功,见图1。

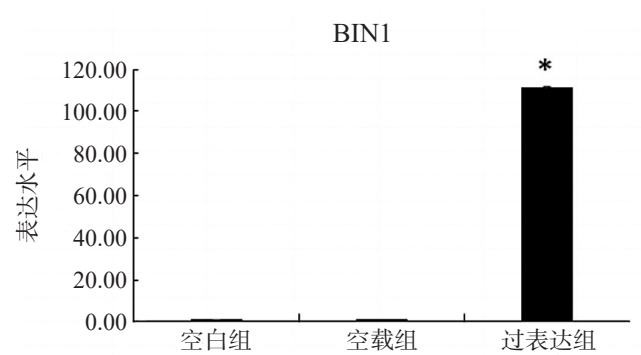
根据qPCR检测结果显示,在选择的3条siRNA(miR-262、miR-446、miR-696)中,miR-446干扰效果最佳,选择其用于后续研究,见图2。

2.2 AD细胞模型构建成功的验证

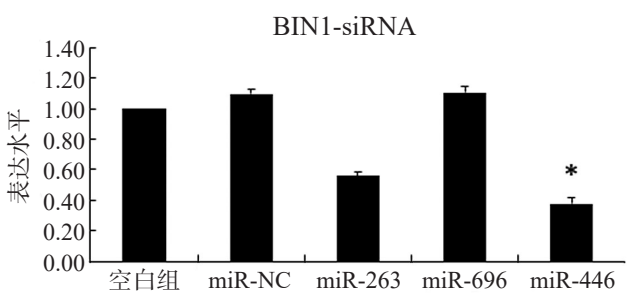
qPCR结果显示,与空白组比较,模型细胞Tau和p-Tau的mRNA转录水平显著升高($P<0.01$),见图3。

MTT实验结果显示,AD模型组细胞存活率较空白组显著下降($P<0.01$);Caspase3活性检测结果显示,AD模型组细胞Caspase3活性较空白组显著增加($P<0.01$),见表2。

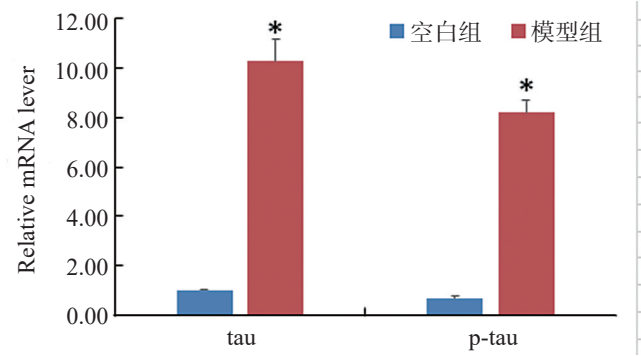
2.3 蛋白表达水平检测



注:与其他各组比较,* $P<0.01$
图1 各组BIN1转录水平比较



注:与其他各组比较,* $P<0.01$
图2 siRNA干扰BIN1转录水平效果



注:与空白组比较,* $P<0.01$
图3 AD模型细胞中Tau与p-Tau的mRNA转录水平

表2 MTT实验及Caspase3活性检测结果($\bar{x}\pm s$)

组别	数量	MTT	Caspase3
空白组	3	1.33±0.07	0.09±0.04
AD模型组	3	0.83±0.04 ^①	0.60±0.01 ^①

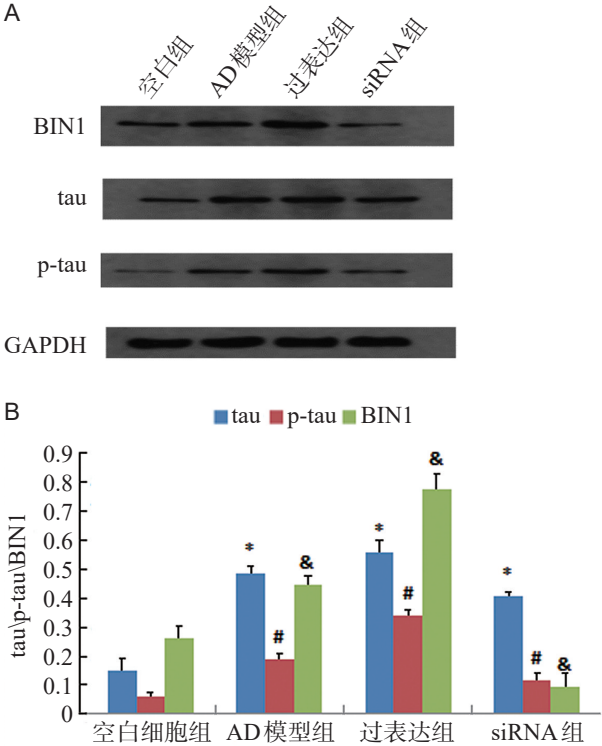
注:与空白组比较,^① $P<0.05$

Western blot检测结果显示,BIN1在AD模型组、过表达组中表达明显高于空白组($P<0.01$),在siRNA组中表达明显低于空白组($P<0.01$);空白组、siRNA组、AD模型组、过表达组中Tau、p-Tau(Ser396)蛋白表达依次增多,组间两两比较差异均有统计学意义($P<0.05$),见图4。

Western blot检测结果显示,与AD模型组相比较,过表达组中p38MAPK和NF- κ B蛋白水平明显上升($P<0.05$),siRNA组中p38MAPK和NF- κ B蛋白水平明显降低($P<0.05$),见图5、表3。

2.4 炎症因子水平检测

空白组、siRNA组、AD模型组、过表达组中IL-1β、TNF-α、NO水平依次增多,单因素方差分析及组间两两比较,差异均有统计学意义($P<0.01$),见表4。



注:(A)各组BIN1、Tau及p-Tau(ser396)蛋白western blot电泳图;(B)各组BIN1、Tau及p-Tau(ser396)蛋白表达水平比较;与空白组比较,* $P<0.01$;组间两两比较,* $P<0.05$,# $P<0.05$

图4 BIN1、Tau及p-Tau(ser396)蛋白表达水平比较

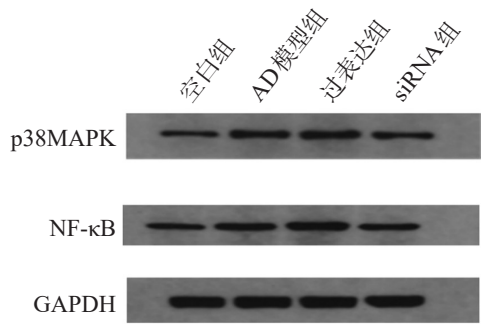


图5 各组p38MAPK、NF-κB蛋白western blot电泳图

3 讨论

AD是进行性发展的神经系统退行性病变,其特征性病理改变包括β-淀粉样蛋白(amyloid-β protein, Aβ)聚集成老年斑(senile plaque, SP)、tau蛋白磷酸化聚集成神经纤维缠结(neurofibrillary tangle, NFTs)等^[4],但其发病机制仍不明,亦无特效药物。

tau蛋白存在多个丝氨酸(Scrine, Ser)或苏氨酸(Threonine, Thr)磷酸化位点,一般胎儿期神经元中Ser396位点有磷酸化形成,成人后消失。而AD患者

表3 各组p38MAPK、NF-κB蛋白表达水平($\bar{x}\pm s$)

组别	数量	p38MAPK	NF-κB
空白组	3	0.28±0.05	0.32±0.03
AD模型组	3	0.49±0.05	0.48±0.04
过表达组	3	0.65±0.05 ^①	0.63±0.04 ^①
siRNA组	3	0.39±0.02 ^①	0.40±0.04 ^①
F值		36.672	31.037
P值		<0.01	<0.01

注:与AD模型组比较,^① $P<0.05$

表4 各组IL-1β、TNFα、NO炎症因子表达水平($\bar{x}\pm s$)

组别	数量	IL-1β/(pg/mL)
空白组	3	101.33±15.04
AD模型组	3	236.33±19.01 ^①
过表达组	3	300.33±29.37 ^{①②}
siRNA组	3	167.00±24.52 ^{①②③}
F值		43.305
P值		<0.01

组别	TNF-α/(pg/mL)	NO/(μmol/L)
空白组	60.33±8.51	29.01±3.33
AD模型组	170.67±17.01 ^①	60.14±6.98 ^①
过表达组	210.33±13.05 ^{①②}	80.32±7.58 ^{①②}
siRNA组	115.33±14.29 ^{①②③}	47.19±4.28 ^{①②③}
F值	69.749	41.302
P值	<0.01	<0.01

注:与空白组比较,^① $P<0.05$;与AD模型组比较,^② $P<0.05$;与过表达组比较,^③ $P<0.05$

的Ser396位点可再次发生磷酸化,故本研究选取Ser396位点研究tau蛋白磷酸化情况。

BIN1是近来发现的AD发病最重要的易感基因^[4]。通过全基因组关联分析已筛选出BIN1的多种亚型,但BIN1参与AD发病的具体机制报道有限,特别是细胞分子水平机制尚不清楚^[5]。在前期的研究中,我们通过收集湖北恩施土家族地区遗忘型轻度认知障碍患者血液进行BIN1基因多态性检测,结果证实BIN1基因的rs744373位点与其发病相关^[6]。

本研究鉴于以上理论基础,构建了BIN1过表达质粒及siRNA。研究发现,过表达组中Tau、p-Tau(ser396)蛋白表达增多,siRNA组中Tau、p-Tau(ser396)蛋白减少,说明BIN1可能参与了AD的发病。

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路是细胞生理活动信号转导通路的共同交汇通路之一。p38MAPK是MAPK亚族之一,几乎参与了机体应激与炎症激活的所有病理生理过程。研究发现p38MAPK途径的激活可能参与了AD发病过程中Aβ沉积,而Aβ进一步激活p38MAPK,促进细胞凋亡^[7,8]。此外,p38MAPK的活化与tau蛋白的

聚集量呈正相关^[9],与神经细胞间蛋白的磷酸化和去磷酸化平衡有关,导致神经纤维退变形成^[10]。

作为p38MAPK的下游转录因子之一的NF-κB是炎症信号相关的细胞转录因子,在细胞的炎症反应、免疫应答等过程中起关键作用^[11-13]。NF-κB也与突触的可塑性、记忆有关^[14]。已有研究在AD患者脑中检测到高度活化的NF-κB。NF-κB信号通路能够调节Aβ的毒性,而Aβ又可以激活NF-κB信号通路,并通过调节炎症因子及相关酶的表达来参与炎症反应^[15,16]。另发现p38MAPK可直接或间接参与NF-κB对细胞炎症反应基因转录的调控^[17]。所以本研究选择p38MAPK/NF-κB通路来研究BIN1在AD中的作用。

我们认为神经炎症可能贯穿了整个AD的发病过程。本实验过表达组中p38MAPK、NF-κB蛋白表达增多,siRNA组中p38MAPK、NF-κB蛋白减少,说明BIN1可能激活并增加了p38MAPK、NF-κB通路的活性,且p38MAPK、NF-κB蛋白促进了AD中Tau、p-tau蛋白的表达,从而加速了AD的病程。这与大部分文献报道一致,但亦有文献报道BIN1基因过表达可抑制MAPK信号通路的激活^[18]。这需要后续更多的实验来验证。

SP与NFTs都是神经炎症反应参与的结果,最终导致神经元凋亡坏死^[19]。AD病理过程中可见大量炎症因子释放,如前列腺素E2、TNF-α、NO、IL-1β等,但这些炎症因子在AD及其他神经退行性病变中的具体作用,仍不完全清楚。

Giovanni等^[20]体内实验研究验证了小胶质细胞中p38MAPK信号转导对Aβ诱导的神经炎症的重要性,小胶质细胞释放的IL-1β主要通过激活NF-κB的级联反应影响星形胶质细胞。其次,p38MAPK抑制剂可减轻AD的认知障碍^[21]。因此,通过靶向p38MAPK来改善和恢复突触功能障碍可能是缓解AD的途径之一。

鉴于以上理论,本研究显示过表达组中IL-1β、TNF-α、NO表达增多,siRNA组中IL-1β、TNF-α、NO减少,说明BIN1可能激活并增加了p38MAPK、NF-κB通路的活性,促进了炎症因子的表达,从而参与了AD中SP、NFTs的形成。

综上所述,BIN1基因可能增加AD发病的风险。BIN1基因可能通过调节p38MAPK/NF-κB信号通路,激发神经炎症反应,从而引起Aβ的异常沉积及tau蛋白的过度磷酸化,导致AD发病。本研究的结论为AD的发病机制提供潜在的生物学线索,而AD发病与多种分子机制相关,还需要进一步挖掘探索。

参考文献

[1] 国家统计局. 第七次全国人口普查公报(第五号)[R/OL]. 2021 [2021-09-01].http://www.stats.gov.cn/tjsj/zxfb/202105/t20210510_1817181.html

[2] 任汝静,殷鹏,王志会,等. 中国阿尔茨海默病报告2021[J]. 诊断学理论与实践, 2021, 20: 21.

[3] Adams SL, Tilton K, Kozubek JA, et al. Subcellular Changes in Bridging Integrator 1 Protein Expression in the Cerebral Cortex During the Progression of Alzheimer Disease Pathology[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2016, 75: 779-790.

[4] Tan MS, Yu JT, Tan L. Bridging integrator 1 (BIN1): form, function, and Alzheimer's disease[J]. Trends Mol Med, 2013, 19: 594-603.

[5] Wang HF, Wan Y, Hao XK, et al. Disease Neuroimaging Initiative Alzheimer' s.. Bridging Integrator 1 (BIN1) Genotypes Mediate Alzheimer's Disease Risk by Altering Neuronal Degeneration[J]. J Alzheimers Dis, 2016, 52: 179-190.

[6] 陈娟,夏燕,高成林,等. 湖北恩施土家族地区遗忘型轻度认知障碍患者BIN1、ApoE基因多态性[J]. 中华医学杂志, 2018, 98: 1322-1326.

[7] Pierucci F, Garcia-Gil M, Frati A, et al. Vitamin D3 protects agsinst A β peptide cytotoxicity in differentiated human neuroblas-toma SH-SY5Y cells: A role for SIPI/p38MAPK/ATF4 axis[J]. Neuropharmacology, 2017, 116: 328-342.

[8] Chen B, Teng Y, Zhang X, et al. Metformin Alleviated A β-Induced Apoptosis via the Suppression of JNK MAPK Signaling Pathway in Cultured Hippocampal Neurons[J]. Biomed Res Int, 2016, 2016: 1421430.

[9] Wang JZ, Gao X, Wang ZH. The physiology and pathology of microtubule-associated protein tau[J]. Essays Biochem, 2014, 56: 111-123.

[10] Lee JK, Kim NJ. Recent Advances in the Inhibition of p38 MAPK as a Potential Strategy for the Treatment of Alzheimer's Disease[J]. Molecules, 2017, 22: 1287.

[11] Hayden MS, Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling[J]. Cell, 2008, 132: 344-362.

[12] Jia YT, Ma B, Wei W, et al. Sustained activation of nuclear factor-kappaB by reactive oxygen species is involved in the path ogenesis of stress-induced gastric damage in rats[J]. Crit Care Med, 2007, 35: 1582-1591.

[13] Liu H, Deng Y, Gao J, et al. Sodium Hydrosulfide Attenuates Beta-Amyloid-Induced Cognitive Deficits and Neuroinflammation via Modulation of MAPK/NF-kappaB Pathway in Rats[J]. Curr Alzheimer Res, 2015, 12: 673-683.

[14] 陈治江,樊启红. 当归多糖减轻癫痫幼鼠海马组织炎症及凋亡的作用及机制[J]. 神经损伤与功能重建, 2021, 16: 222-224.

[15] Song XM, Yu Q, Dong X, et al. Aldose reductase inhibitors attenuate beta-amyloid-induced TNF-alpha production in microglia via ROS-PKC-mediated NF-kappaB and MAPK pathways[J]. Int Immunopharmacol, 2017, 9: 30-37.

[16] Sawikr Y, Yarla NS, Peluso I, et al. Neuroinflammation in Alzheimer's Disease: The Preventive and Therapeutic Potential of Polyphenolic Nutraceuticals[J]. Adv Protein Chem Struct Biol, 2017, 108: 33-57.

[17] Ono K, Han J. The p38 signal transduction pathway: activation and function[J]. Cell Signal, 2000, 12: 1-13.

[18] Wang J, Jia Y, Zhao S, et al. BIN1 reverses PD-L1-mediated immune escape by inactivating the c-MYC and EGFR/MAPK signaling pathways in non-small cell lung cancer[J]. Oncogene, 2017, 36: 6235-6243.

[19] Norden DM, Muccigrosso MM, Godbout JP. Microglial priming and enhanced reactivity to secondary insult in aging, and traumatic CNS injury, and neurodegenerative disease[J]. Neuropharmacology, 2015, 96: 29-41.

[20] Giovannini MG, Scali C, Prosperi C, et al. Beta-amyloid -induced in flammation and cholinergic hypofunction in the rat brain in vivo: Involvement of the p38MAPK pathway[J]. Neurobiol Dis, 2002, 11: 257-274.

[21] Ashabi G, Alamdry SZ, Ramin M, et al. Reduction of hippocampal apoptosis by intracerebroventricular administration of extracellular signal-regulated protein kinase and/or p38 inhibitors in amyloid beta rat model of Alzheimer' s disease: Involvement of nuclear-related factor-2 and nuclear factor-κB[J]. Basic Clin Phamacil Toxicol, 2013, 112: 145-155.

(本文编辑:唐颖馨)