

丰富环境通过抑制 NOD 样受体蛋白 3 炎性小体活化缓解脂多糖小鼠的认知障碍

牛磊¹ 罗诗诗¹ 李威¹ 罗丹² 刘志文³ 曹文字¹ 徐杨^{4*} 刘政海^{1*}

(1.南华大学衡阳医学院应用解剖学与生殖医学研究所,湖南 衡阳 421001; 2.南华大学衡阳医学院肿瘤研究所,湖南 衡阳 421001; 3.南华大学附属第二医院麻醉科,湖南 衡阳 421001; 4.南华大学衡阳医学院生理学教研室和神经科学研究所,湖南 衡阳 421001)

[摘要] 目的 探讨丰富环境(EE)对脂多糖(LPS)诱导的小鼠认知功能障碍的影响及其可能机制。方法 36 只 3 周龄昆明小鼠进行 8 周的 EE 刺激或者标准环境(SE)饲养后分为以下 3 组:标准环境+生理盐水(SE+NS)组、标准环境+脂多糖(SE+LPS)组及丰富环境+脂多糖(EE+LPS)组。采用旷场实验检测小鼠的活动度;新旧事物识别实验检测小鼠认知功能;免疫组织化学方法检测小胶质细胞标记物离子钙接头蛋白分子 1(IBA1)表达;Western blotting 方法检测海马组织小胶质细胞激活标记物 CD68 及 NOD 样受体蛋白 3(NOD-like receptor protein3, NLRP3)炎性小体相关蛋白的表达。结果 旷场实验中,各组小鼠穿越的总格数无明显差异。在新旧事物识别实验中,与 SE+NS 组相比,SE+LPS 组新事物辨别指数明显下降($P<0.05$);与 SE+NS 组相比,小胶质细胞标记物 IBA1 表达上调($P<0.05$);SE+LPS 组海马 CD68 及 NLRP3 炎性小体相关蛋白的表达明显上调($P<0.05$);而丰富环境可以逆转上述改变($P<0.05$)。结论 丰富环境可缓解脂多糖诱导的认知功能损伤,其机制可能与抑制海马小胶质细胞激活及 NLRP3 炎性小体的产生有关。

[关键词] 炎性小体;脂多糖;认知功能障碍;小胶质细胞;海马;免疫印迹法;小鼠

[中图分类号] R749.93;R322.81 [文献标志码]A [DOI] 10.16098/j.issn.0529-1356.2020.02.004

Environmental enrichment ameliorates lipopolysaccharide-induced cognitive impairment by inhibiting NOD-like receptor protein 3 in inflammasome activation in mice

NIU Lei¹, LUO Shi-shi¹, Li Wei¹, Luo Dan², LIU Zhi-wen³, CAO Wen-yu¹, XU Yang^{4*}, LIU Zheng-hai^{1*}

(1.Clinical Anatomy and Reproductive Medicine Application Institute, School of Medicine, University of South China, Hunan Hengyang 421001, China; 2.Department of Pathology, Medical College, University of South China, Hunan Hengyang 421001, China; 3.Department of Anesthesiology, the Second Affiliated Hospital of University of South China, Hunan Hengyang 421001, China; 4.Department of Physiology and Institute of Neuroscience Medical School, University of South China, Hunan Hengyang 421001, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of environmental enrichment (EE) on lipopolysaccharide (LPS) induced cognitive dysfunction in mice. **Methods** A total of thirty six 3 weeks old Kunming mice experienced 8 weeks of EE or standard environment (SE) feeding. After 8 weeks, they were divided into three groups: standard environment+normal saline (SE+NS) group, standard environment+lipopolysaccharide (SE+LPS) group, environmental enrichment+lipopolysaccharide (EE+LPS) group. The open field test was used to measure the locomotive of mice, and the cognitive function was determined by novelty object recognition test. The expression of microglial marker ionized calcium binding adaptor molecule-1 (IBA-1) in hippocampus was determined by immunohistochemical staining. The expression of microglial activation marker CD68 and NOD-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome related protein in the hippocampus was

[收稿日期] 2019-02-15 [修回日期] 2019-03-16
[基金项目] 湖南省自然科学基金(2019JJ40242);湖南省自然科学基金青年基金(2018JJ3460,2018JJ3429);湖南省自然科学基金省市联合基金(2018JJ4034);湖南省教育厅优秀青年项目(17B230);大学生研究性学习和创新实验设计计划项目(201810555016)
[作者简介] 牛磊(1992—),男(汉族),安徽省合肥市人,在读硕士研究生。

* 通讯作者(To whom correspondence should be addressed)
E-mail: liuzhenghai@yahoo.com Tel:(0734)8281134
E-mail: xuyang2117@163.com Tel:(0734)8281134

detected by Western blotting. **Results** In the open field test, there was no difference in the activity among the three groups. Compared with the SE + NS group, SE + LPS group showed decreased discrimination ratio in novelty object recognition task, with remarkably up-regulated expression of CD68 in the hippocampus ($P<0.01$). In addition, SE+LPS group exhibited significantly enhanced expression of NLRP3, apoptosis associated speck-like protein (ASC), Caspase-1 and interleukin-1 β (IL-1 β) in the hippocampus compared with SE+NS group ($P<0.05$). Compared with the SE+LPS group, EE+LPS group showed enhanced discrimination ratio in the object recognition task, with down-regulated expression of CD68, NLRP3, ASC, Caspase-1, IL-1 β and IL-18 in the hippocampus ($P<0.01$). **Conclusion** Environmental enrichment can alleviate LPS induced cognitive dysfunction, which might be attributed to the inhibiting of microglia and NLRP3 activation in the hippocampus.

[**Key words**] Inflammasome; Lipopolysaccharide; Cognitive dysfunction; Microglia; Hippocampus; Western blotting; Mouse

认知障碍的临床表现主要为学习与记忆能力的下降^[1],目前机制尚不明确且临床尚无有效的治疗方法。越来越多的研究表明,炎症在认知障碍中发挥重要的作用^[2],多种神经退行性疾病存在炎症因子的高表达^[3]。小胶质细胞作为脑内第一道免疫防线被证实参与了认知功能的调节^[4]。进一步研究发现,小胶质细胞的活化伴随着 NOD 样受体蛋白 3(NOD-like receptor protein3, NLRP3)炎性小体的激活^[5]。NLRP3 炎性小体是一种细胞质内的多蛋白聚合物^[6],主要由 NLRP3、Caspase-1 和凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis associated speck-like protein, ASC)组成,是天然免疫系统的重要组成部分,促使白细胞介素 1 β 前体(pro-interleukin 1 β , pro-IL-1 β)及 pro-IL-18 转化为成熟的 IL-1 β 和 IL-18^[7],进而参与炎症反应的调节。

丰富环境(environmental enrichment, EE)被定义为复杂的、无生命物与社会刺激的复合体。既往研究表明,EE 具有抑制炎症及提高认知功能等作用^[8]。本实验通过建立脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的认知障碍模型,采用 Western blotting 方法检测活化小胶质细胞标记物 CD68 及 NLRP3 炎性小体在 LPS 模型中的表达,并观察幼年期 EE 对成年小鼠海马 CD68 及 NLRP3 炎性小体表达的影响。

材料和方法

1. 实验动物分组与处理

36 只 3 周龄昆明小鼠,动物合格证号:SYXK(湘)2015-0001,随机分为 3 组:标准环境(standard environment, SE)+生理盐水(normal saline, NS)组(SE+NS, $n=12$),标准环境+脂多糖组(SE+LPS, $n=12$);丰富环境+脂多糖组(EE+LPS, $n=12$)。所有动物在 EE 或 SE 条件下饲养 8 周,8 周后 SE+LPS 组和 EE+LPS 组小鼠予以单次腹腔注射 LPS(0.83 mg/kg)构建认知功能障碍模型,给药 24 h 后进行认知功能行为学检测。室内环境温度控制在($22\pm$

1) $^{\circ}\text{C}$,湿度保持在(50 ± 5)%,并维持 12 h 明/暗周期,自由饮水与摄食。

2. 旷场实验

旷场实验(open field test, OFT)用于检测小鼠的自主活动。该实验采用旷场装置(长 \times 宽 \times 高=40 cm \times 40 cm \times 40 cm)进行。该装置底面等分为 25 个正方形方格。实验期将小鼠由旷场正中放入,相机记录小鼠 5 min 内在装置中的总穿越格子数,用以评价动物的活动度。

3. 新旧事物识别实验

新旧事物识别实验(novel object recognition test, NORT)是一种非奖赏性的、简单的认知记忆实验。该实验的原理即小鼠对之前从未见过的事物表现出更强的好奇心。实验分为训练期和检测期。训练期在旷场对称位置处放置两个完全相同的物体,将小鼠由旷场正中放入进行识别训练,5 min 后取出小鼠。间隔 1 h 后进行检测期检测,将旷场内的其中一个物体更换为另一形状、材质完全不同的新物体并保持两物体在旷场中的位置不变,再次将小鼠由旷场正中放入,相机记录并统计小鼠 5 min 内对两物体的探索次数。每个实验结束后用 75%的乙醇去除旷场及其内物体小鼠残留气味。新事物识别指数(discrimination ratio)用以下公式进行计算:(新物体探索次数-旧物体探索次数)/(新物体探索次数+旧物体探索次数) $\times 100\%$,该指标越高代表小鼠记忆能力越好。

4. Western blotting 检测

行为学实验结束后 24 h,立即脱颈处死小鼠,迅速剥离双侧海马组织,利用组织蛋白抽提液盒(裂解酶:裂解液为 1:99)提取一侧海马组织总蛋白,采用 BCA 法测定蛋白浓度并配平样品浓度,沸水浴变性 10 min,每孔蛋白上样量为 20 μg ,蛋白样品先经 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,再电转移到 0.45 μm 硝酸纤维素膜上,经 10%脱脂奶粉室温封闭 2 h 后加入相应一抗兔抗 CD68 单克隆抗体(Proteintech 公司,25747- I -AP, 1:1000)、兔抗 NLRP3 单克隆抗

体(CST 公司,D4D8T,1:500)、鼠抗 ASC 单克隆抗体(Santa Cruz 公司,sc-514414,1:1000)、鼠抗 Caspase-1 单克隆抗体(Santa Cruz 公司,sc-56036,1:1000)、兔抗 IL-1 β 单克隆抗体(北京博奥森生物技术有限公司,Bs0812-R,1:500)、兔抗 IL-18 多克隆抗体(武汉博士德生物工程有限公司,BA14935,1:500),室温孵育 2 h,4℃ 冰箱过夜,次日 TBST 漂洗 10 min \times 3 次,分别加入相应 HRP 标记的特异性二抗(山羊抗兔及山羊抗鼠抗体,1:1000,CWBIO),室温孵育 2 h;TBST 漂洗 10 min \times 3 次后,在成像系统中滴加化学发光液进行显影,采用凝胶图像分析系统摄片,采用 Image J 1.4.3.67 软件进行吸光度(absorbance, A)分析。

5. 免疫组织化学检测

行为学结束后,立即采用 10% 水合氯醛(40 mg/kg)腹腔注射麻醉小鼠,依次用生理盐水和 4% 多聚甲醛从心尖灌注,完整取出脑组织并置于 4% 多聚甲醛中后固定,经 15% 和 30% 蔗糖梯度脱水后,双蒸水包埋行冠状连续冷冻切片。浸入 3% H₂O₂ 28 min 后漂洗;经 5% 兔血清(0.01 mol/L PBS 稀释)室温封闭 2 h 后,一抗羊抗离子钙接头蛋白分子 1 (ionized calcium binding adaptor molecule-1, IBA-1) 抗体(1:1000,Abcam 公司)室温孵育 2 h,4℃ 过夜。次日将切片复温 1 h 后用 0.01 mol/L PBS (pH 7.4)漂洗 3 次,每次 10 min,随后的实验步骤均用此法漂洗;浸入二抗(兔抗山羊抗体,1:200,Cwbio 公司)中孵育 2 h 后漂洗;再将提前配置好的 AB 液(A:B 液为 1:200,Vector 公司)加入到切片中孵育 2 h 后漂洗;光学显微镜控制 DAB 染色反应时间,染色完成后常规贴片,晾干,脱水脱脂及中性树脂胶封片。所有数据均于光学显微镜(Olympus 公司,LH100-3)下统计。

6. 统计学分析

采用 GraphPad Prism 6 统计学软件进行分析,实验数据以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组之间比较采用单因素方差分析,Posthoc Tests 进行组间多重比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. EE 对 LPS 小鼠自主活动的影响

结果显示,各组小鼠 5 min 内在旷场中穿越的总格数差异无显著性 [$F_{(2, 21)} = 0.6899, P > 0.05$,图 1],说明 EE 或 LPS 处理对小鼠的自主活动无影响。

2. EE 对 LPS 小鼠认知功能的影响

结果显示,EE 可逆转 LPS 小鼠新事物识别指数的减少 [$F_{(2, 33)} = 25.71, P < 0.05$,图 2]。与 SE + NS 组 (34.290 \pm 3.591) 相比,SE + LPS 组

(-5.540 \pm 3.597) 小鼠对新事物的识别指数显著降低 ($P < 0.01$);与 SE + LPS 组 (-5.540 \pm 3.597) 相比,EE + LPS 组 (18.81 \pm 4.606) 小鼠对新事物的识别指数显著增加 ($P < 0.01$)。

3. EE 对 LPS 小鼠海马齿状回小胶质细胞活化的影响

结果显示,EE 可以抑制 LPS 小鼠海马齿状回 IBA1 阳性细胞数目 [$F_{(2, 24)} = 28.62, P < 0.05$,图 3A] 和活化小胶质细胞标记物 CD68 的表达 [$F_{(2, 24)} = 15.69, P < 0.05$,图 3C]。与 SE + NS 组相比,SE + LPS 组小鼠海马区 IBA1 阳性细胞数目 (299.3 \pm 12.65 vs 410.5 \pm 11.78, $P < 0.05$) 表达上调,CD-68 (1.000 \pm 0.224 vs 1.999 \pm 0.259, $P < 0.05$) 表达上调;与 SE + LPS 组相比,EE + LPS 组小鼠海马 IBA1 阳性细胞数目 (410.5 \pm 11.78 vs 344.3 \pm 5.443, $P < 0.05$) 表达下调,CD-68 (1.999 \pm 0.259 vs 1.221 \pm 0.182, $P < 0.05$) 表达下调,差异有统计学意义。

4. EE 对 LPS 小鼠海马 NLRP3 炎性小体表达的影响

结果显示,EE 可以抑制 LPS 小鼠海马区小胶质炎性小体的表达 [$F_{(2, 9)} = 39.91, P < 0.05$,图 4]。与 SE + NS 组相比,SE + LPS 组海马区 NLRP3 (1.000 \pm 0.020 vs 1.459 \pm 0.059, $P < 0.05$)、Caspase-1 (1.000 \pm

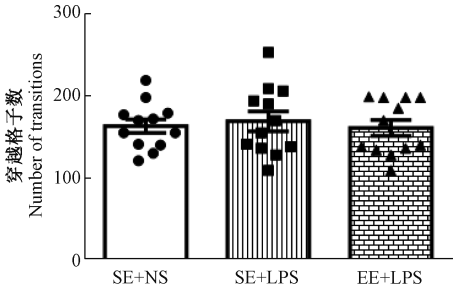


图 1 EE 和 LPS 对小鼠活动度的影响
SE+LPS 组与 SE+NS 组比较, $P > 0.05$; SE+LPS 组与 EE+LPS 组比较, $P > 0.05$, 每组 12 只

Fig.1 Effects of EE and LPS on the activity of mice
SE+NS group vs SE+LPS group, $P > 0.05$; SE+LPS group vs EE+LPS group, $P > 0.05$; $n = 12$ per group

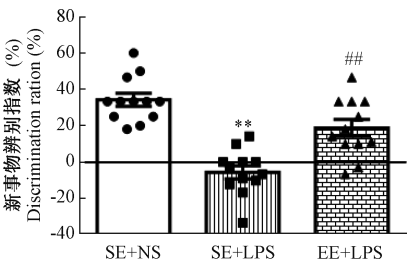


图 2 EE 对 LPS 小鼠新事物接触时间比率的影响
SE+LPS 组与 SE+NS 组比较, ** $P < 0.01$; SE+LPS 组与 EE+LPS 组比较, ## $P < 0.01$; 每组 12 只

Fig.2 Effect of EE and LPS on the performance of mice in novel object recognition test
SE+NS group vs SE+LPS group, ** $P < 0.01$; EE+LPS group vs SE+LPS group, ## $P < 0.01$; $n = 12$ per group

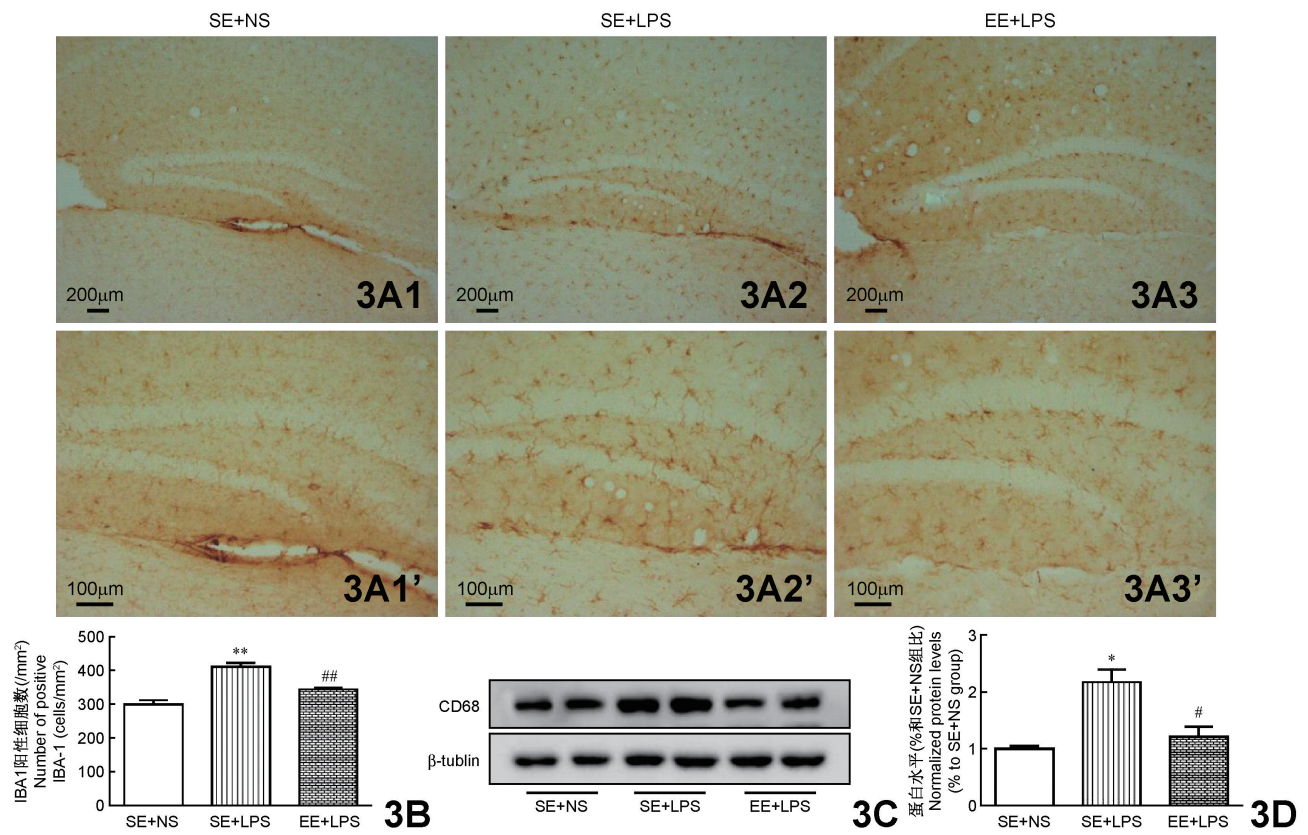


图3 EE对LPS小鼠海马齿状回小胶质细胞活化的影响
A、B.分别为小鼠海马区IBA1阳性细胞数目的表达水平(免疫组织化学染色)和统计分析;A1.SE+NS组;A2.SE+LPS组;A3.EE+LPS组;A1~A3.标尺示200 μm;A1'~A3'.相应A1~A3各组海马齿状回局部放大图,标尺示100 μm;C、D.分别为小鼠海马CD68免疫蛋白印记的表达水平和统计分析;SE+LPS组与SE+NS组比较,* $P<0.05$;** $P<0.01$;SE+LPS组与EE+LPS组比较,## $P<0.05$;### $P<0.01$,每组6只
Fig.3 Effects of EE on the activity of microglia in hippocampus after the administration of LPS
A,B, Immunohistochemistry and quantification analysis of IBA-1 in hippocampus of mice; A1, SE+NS group; A2, SE+LPS group; A3, EE+LPS group; A1-A3, Bar=200 μm; A1'-A3', Amplification figure of the local dentate gyrus for the A1-A3 corresponding group, Bar=100 μm; C, D, Results and statistical analysis of immunoprotection of CD68 in hippocampus of mice; SE+LPS group vs SE+NS group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; SE+LPS group vs EE+LPS group, ## $P<0.05$; ### $P<0.01$, $n=6$ per group

0.020 vs 1.149 ± 0.059 , $P<0.05$)、ASC (1.000 ± 0.164 vs 1.972 ± 0.169 , $P<0.05$)、IL-1 β (1.000 ± 0.044 vs 1.574 ± 0.096 , $P<0.05$)及 IL-18 (1.000 ± 0.057 vs 1.358 ± 0.027 , $P<0.05$)表达上调;与 SE+LPS 组相比, EE+LPS 组 NLRP3 (1.459 ± 0.059 vs 1.244 ± 0.008 , $P<0.05$)、Caspase-1 (1.000 ± 0.020 vs 1.019 ± 0.159 , $P<0.05$)、ASC (1.972 ± 0.169 vs 1.465 ± 0.062 , $P<0.05$)、IL-1 β (1.574 ± 0.096 vs 1.286 ± 0.041 , $P<0.05$)及 IL-18 (1.358 ± 0.027 vs 1.098 ± 0.069 , $P<0.05$)表达下调, 差异有统计学意义。

讨 论

越来越多的研究表明,炎症参与了认知障碍的形成,术后认知功能障碍以及阿尔茨海默症患者也存在炎症因子升高^[9]。因此,探究炎症所致认知功能障碍的机制和防治方法,具有重要临床意义。
脂多糖是革兰阴性菌细胞壁的主要致病成分,其通过与巨噬细胞细胞膜受体 Toll 样受体 4 (toll

like receptor 4,TLR4) 转导的信号可引起机体免疫防御反应并产生炎症反应^[10]。越来越多的研究认为,当受到外界刺激时,小胶质细胞作为中枢系统的第一道免疫防线,产生巨噬细胞样活化并引发脑内的炎症反应^[11]。我们的实验结果发现,给予 LPS 注射后,小鼠在新旧事物识别实验中出现明显认知功能障碍,且伴随着海马活化的小胶质细胞标记物 IBA1 及 CD-68 上调。Ji 等^[12]的研究也证明,大剂量 LPS 腹腔注射可以引起小鼠脑内活化小胶质细胞大量增加及炎症因子 IL-1 β 的释放,引起认知功能下降。此外 Xu 等^[13]发现,异丙肾上腺素可以通过抑制小胶质细胞的活化来缓解 β -淀粉样蛋白 (amyloid beta-peptides, A β) 小鼠的认知障碍,并且抑制中枢神经系统炎症反应。这些结果表明,活化的小胶质细胞参与了认知障碍的发生发展。研究发现,活化的小胶质细胞存在 NLRP3 炎性小体产生增加^[5]。NLRP3 属于模式识别受体 NOD 样受体 (NOD-like receptors, NLRs) 受体家族^[6],可与 ASC

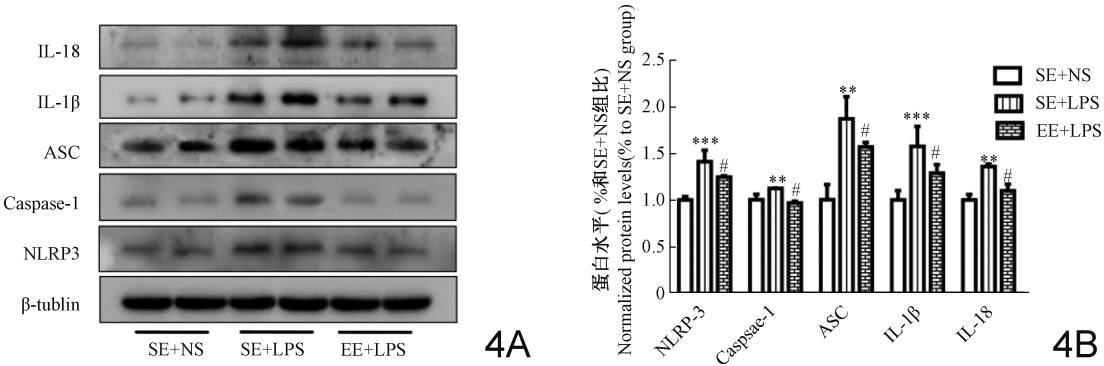


图4 EE对LPS小鼠炎性小体相关蛋白的影响

A、B.分别为小鼠海马 NLRP3、Caspase-1、ASC、IL-1β 及 IL-18 免疫蛋白印迹的表达水平和统计学分析;SE+LPS 组与 SE+NS 组比较, NLRP3、ASC、IL-1β 及 IL-18 表达上调,而 EE 下调这些蛋白的表达; ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, # $P<0.05$;每组 4 只

Fig.4 Effect of EE on the expression NLRP3 inflammasome related protein in the hippocampus of Mice

A and B were respectively the results and statistical analysis of immunoprotection of NLRP3, Caspase-1, ASC, IL-1β and IL-18 in hippocampus of mice; SE+LPS group vs SE+NS group, NLRP3, Caspase-1, ASC, IL-1β and IL-18 were up-regulated, while environmental enrichment down-regulated the expression of these proteins; ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, # $P<0.05$; $n=4$ per group

结合形成炎症小体^[14],进一步促使 Pro-IL-1β 及 Pro-IL-18 转化为成熟的 IL-1β 和 IL-18,广泛参与组织破坏等多种病理损伤过程^[15]。我们的实验进一步发现,小鼠在给予 LPS 注射后,海马 NLRP3 炎性小体相关蛋白(NLRP3 和 ASC)及其下游的炎症因子 IL-1β 和 IL-18 表达上调。NLRP3 炎性小体在多种炎症感染模型中都明显活化^[16]。Li 等^[17]的研究进一步证明,抑制 NLRP3 炎性小体可以缓解 Aβ 诱导小胶质细胞的炎症反应。因此,我们推测,LPS 注射后会引发脑内小胶质细胞活化,从而激活 NLRP3 炎性小体,促使脑内炎症因子 IL-1β 和 IL-18 的释放增加,进而引发认知障碍。

研究发现,丰富的活动可以延缓阿尔茨海默症的进程,且对多种神经退行性疾病模型的认知功能有明显的改善作用^[18]。EE 不仅可以改善认知,增强记忆,还有一定的抗炎作用^[19]。但是 EE 缓解炎症性认知障碍的具体机制尚不清楚。我们的行为学实验结果表明,小鼠幼年期经历 EE 刺激后,在其成年期可以改善 LPS 诱导的认知功能障碍,并且 EE 可以下调海马 CD68 和 NLRP3 炎性小体相关蛋白的表达,表明,EE 可能是通过抑制小胶质细胞活化,减少 NLRP3 炎性小体的产生,降低炎症因子 IL-1β 及 IL-18 的释放,从而缓解认知障碍。现有研究也指出,EE 能够抑制小胶质细胞的活化缓解 β-淀粉样蛋白 (amyloid β-peptide, Aβ) 诱导的认知障碍^[20]。另有研究提出,EE 可以中和脑脊液中的炎症因子,减少炎症因子 IL-1β 的释放,进而改善认知功能^[13]。

总之,我们的实验结果提示,EE 可以改善 LPS 诱导的认知障碍,其机制可能通过抑制海马小胶质细胞的活化及 NLRP3 炎性小体的形成。

参 考 文 献

[1] Jansen WJ, Wilson RS, Visser PJ, et al. Age and the association of dementia-related pathology with trajectories of cognitive decline [J]. *Neurobiol Aging*, 2018,61:138-145.

[2] Tang YJ, Ouyang W. Inflammation-relevant mechanisms for postoperative cognitive dysfunction and the preventive strategy [J]. *Journal of Central South University (Medical Sciences)*, 2017,42 (11):1321-1326. (in Chinese)
唐玉洁,欧阳文. 术后认知功能障碍炎症相关机制及其防治 [J]. *中南大学学报(医学版)*, 2017,42(11):1321-1326.

[3] Valero J, Bernardino L, Cardoso FL, et al. Impact of neuroinflammation on hippocampal neurogenesis: relevance to aging and Alzheimer's disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2017, 60 (s1): S161-S168.

[4] Maier SF, Watkins LR. Cytokines for psychologists: implications of bidirectional immune-to-brain communication for understanding behavior, mood, and cognition [J]. *Psychol Rev*, 1998, 105 (1): 83-107.

[5] Fu Q, Wu J, Zhou XY, et al. NLRP3/Caspase-1 pathway-induced pyroptosis mediated cognitive deficits in a mouse model of sepsis-associated encephalopathy [J]. *Inflammation*, 2019, 42 (1): 306-318.

[6] Miura K, Yang L, van Rooijen N, et al. Toll-like receptor 2 and palmitic acid cooperatively contribute to the development of nonalcoholic steatohepatitis through inflammasome activation in mice [J]. *Hepatology*, 2013,57(2):577-589.

[7] Zhou R, Yazdi AS, Menu P, et al. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation [J]. *Nature*, 2011, 469 (7329): 221-225.

[8] Marmol F, Sanchez J, Torres MN, et al. Environmental enrichment in the absence of wheel running produces beneficial behavioural and anti-oxidative effects in rats [J]. *Behav Processes*, 2017,144: 66-71.

[9] Kokiko-Cochran ON, Godbout JP. The inflammatory continuum of traumatic brain injury and Alzheimer's disease [J]. *Front Immunol*, 2018,9:672.

[10] Li N, Xu H, Ou Y, et al. LPS-induced CXCR7 expression

promotes gastric cancer proliferation and migration via the TLR4/MD-2 pathway[J]. Diagn Pathol, 2019,14(1):3.

[11] Frank MG, Baratta MV, Sprunger DB, et al. Microglia serve as a neuroimmune substrate for stress-induced potentiation of CNS pro-inflammatory cytokine responses[J]. Brain Behav Immun, 2007, 21(1):47-59.

[12] Ji MH, Tang H, Luo D, et al. Environmental conditions differentially affect neurobehavioral outcomes in a mouse model of sepsis-associated encephalopathy[J]. Oncotarget, 2017, 8(47): 82376-82389.

[13] Xu H, Gelyana E, Rajsombath M, et al. Environmental enrichment potently prevents microglia-mediated neuroinflammation by human amyloid beta-protein oligomers[J]. J Neurosci, 2016,36(35):9041-9056.

[14] Chen S, Yao L, Huang P, et al. Blockade of the NLRP3/Caspase-1 axis ameliorates airway neutrophilic inflammation in a toluene diisocyanate-induced murine asthma model[J]. Toxicol Sci, 2019, 170(2):462-475.

[15] Patil T, More V, Rane D, et al. Pro-inflammatory cytokine interleukin-1beta (IL-1beta) controls leishmania infection [J]. Cytokine, 2018,112:27-31.

[16] Fu Q, Wu J, Zhou XY, et al. NLRP3/Caspase-1 pathway-induced pyroptosis mediated cognitive deficits in a mouse model of sepsis-associated encephalopathy[J]. Inflammation, 2018,42(1):306-318.

[17] Li Q, Chen L, Liu X, et al. Pterostilbene inhibits amyloid-beta-induced neuroinflammation in a microglia cell line by inactivating the NLRP3/Caspase-1 inflammasome pathway [J]. J Cell Biochem, 2018,119(8):7053-7062.

[18] Costa DA, Cracchiolo JR, Bachstetter AD, et al. Enrichment improves cognition in AD mice by amyloid-related and unrelated mechanisms[J]. Neurobiol Aging, 2007,28(6):831-844.

[19] Jurgens HA, Johnson RW. Environmental enrichment attenuates hippocampal neuroinflammation and improves cognitive function during influenza infection[J]. Brain Behav Immun, 2012, 26(6): 1006-1016.

[20] Arendash GW, Garcia MF, Costa DA, et al. Environmental enrichment improves cognition in aged Alzheimer’s transgenic mice despite stable beta-amyloid deposition[J].Neuroreport, 2004, 15(11): 1751-1754.

(编辑 张立克)

《解剖学报》授权声明

《解剖学报》已经与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签署了数字版权独家合作协议,《解剖学报》自2020年1月1日至2020年12月31日将数字版权独家授予《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司。《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司在此期间拥有《解剖学报》的数字版复制权、发行权、信息网络传播权、汇编权及有关收益权。其他任何机构和个人使用上述期或文献数据,均为非法。《解剖学报》已授权《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司以其名义进行维权。

特此声明!

《解剖学报》编辑部
2020年1月