DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20260810.001
网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/46.1089.r.20260810.1546.002

基于IGF2BP2介导的NLRP3 m6A甲基化修饰探讨二氢山柰酚抑制细胞焦亡治疗阿尔茨海默病的机制研究

王欣波[1],蔚冰洁[1],张宇琪[1],周亚滨[2]✉
(1.黑龙江中医药大学,黑龙江 哈尔滨 150040;2.黑龙江中医药大学附属第一医院,黑龙江 哈尔滨 150040)

[摘要] **目的**:观察二氢山柰酚(dihydrokaempferol,DHK)对IGF2BP2介导的N6-甲基腺苷(N6-methyladenosine,m6A)甲基化修饰的影响,阐明其抑制细胞焦亡发挥神经保护效应的分子机制。**方法**:小鼠原代海马神经元细胞随机分为空白组、模型组、DHK低剂量组、DHK高剂量组及IGF2BP2抑制剂CWI1-2组,采用$A\beta_{1-42}$诱导构建阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,AD)体外细胞焦亡模型。CCK-8法检测细胞活力,流式细胞术检测细胞焦亡比例,生化试剂盒检测超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)活性与丙二醛(malondialdehyde,MDA)含量,免疫荧光法检测活性氧(reactive oxygen species,ROS)水平,Western blot检测NLRP3、cleaved caspase-1、GSDMD-NT、mature IL-1β、pro-caspase-1及IGF2BP2蛋白表达,RT-qPCR检测*IGF2BP2* mRNA表达,斑点杂交检测RNA m6A甲基化水平。**结果**:与空白组比较,模型组细胞活力显著降低,焦亡细胞比例显著升高,SOD活性显著降低,MDA含量与ROS水平显著升高,NLRP3、cleaved caspase-1、GSDMD-NT、mature IL-1β及IGF2BP2蛋白表达显著上调,pro-caspase-1蛋白表达显著下调,m6A修饰显著增加,差异均有统计学意义($P<0.01$)。相较模型组,DHK可剂量依赖性提升细胞活力、降低焦亡比例、改善氧化应激指标、抑制焦亡相关蛋白表达、下调IGF2BP2表达并降低总RNAm6A甲基化水平,差异均有统计学意义($P<0.01$)。**结论**:DHK可能通过抑制IGF2BP2表达、降低*NLRP3* mRNA的m6A甲基化修饰水平,阻断NLRP3炎症小体活化介导的细胞焦亡通路,进而发挥抗AD神经元损伤的神经保护效应。

[关键词]二氢山柰酚;阿尔茨海默病;细胞焦亡;IGF2BP2;m6A甲基化;NLRP3炎症小体
[中图分类号]R749.16;R741 [文献标志码]A [文章编号]2097-5953(2026)18-1377-08

Dihydrokaempferol Inhibits Pyroptosis for Alzheimer's Disease Treatment via IGF2BP2-Mediated m6A Methylation Modification of NLRP3

WANG Xinbo[1], YU Bingjie[1], ZHANG Yuqi[1], ZHOU Yabin[2]✉
(1. *Heilongjiang University of Chinese Medicine*, *Harbin* 150040, *China*; 2. *The First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine*, *Harbin* 150040, *China*)

[*Foundation Project*]: *This study was supported by the Heilongjiang Provincial Traditional Chinese Medicine Research Project* (*ZHY*19-003); *General Program of Heilongjiang Natural Science Foundation* (*H*2018063).
[*Author*]: *WANG Xinbo*, *PhD.*, *Associate Chief Physician*, *Master's supervisor*. *E-mail*: 29427508@qq.com.
[*Correspondence to*]: *ZHOU Yabin*, *Professor*, *Doctoral supervisor*. *E-mail*: *zhouyabin*003@yeah.net.
Received: 2026-04-28 *Revised*: 2026-08-02 *JHMU*, 2026;32(18):1377-1384

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective**: To investigate the effect of dihydrokaempferol (DHK) on IGF2BP2-mediated N6-methyladenosine (m6A) methylation modification, and clarify its molecular mechanism of exerting neuroprotective effects by inhibiting neuronal pyroptosis. **Methods**: Primary mouse hippocampal neurons were randomly divided into control group, model group, low-dose DHK group, high-dose DHK group and IGF2BP2 inhibitor CWI1-2 intervention group. The *in vitro* Alzheimer's disease (AD) cell py-

[基金项目]黑龙江省中医药科研项目(ZHY19-003);黑龙江省自然科学基金面上项目(H2018063)
[作者简介]王欣波,博士,副主任医师,硕士研究生导师,E-mail:29427508@qq.com。
[通讯作者]周亚滨,教授,博士研究生导师,E-mail:zhouyabin003@yeah.net。
[收稿日期]2026-04-28 [修回日期]2026-08-02 网络出版时间:2026-08-11 07:52:42

roptosis model was established by $A\beta_{1-42}$ induction. Cell viability was detected using a CCK-8 assay, and the ratio of pyroptotic cells was determined using flow cytometry; Superoxide dismutase (SOD) activity and malondialdehyde (MDA) content were measured using biochemical detection kits; Reactive oxygen species (ROS) level was observed by immunofluorescence staining. Western blot was applied to detect the protein expressions of NLRP3, cleaved caspase-1, GSDMD-NT, mature IL-1β, pro-caspase-1 and IGF2BP2. RT-qPCR was used to test *IGF2BP2* mRNA expression, and dot blot assay was performed to determine total RNA m6A methylation level. **Results**: Compared to the control group, the model group exhibited significantly decreased cell viability, increased proportion of pyroptotic cells, reduced SOD activity, elevated MDA content and ROS level. The protein levels of NLRP3, cleaved caspase-1, GSDMD-NT, mature IL-1β and IGF2BP2 were markedly upregulated, while pro-caspase-1 protein expression was downregulated, accompanied by a notable increase in m6A methylation level ($P<0.01$). Compared to the model group, DHK treatment dose-dependently improved cell viability, reduced pyroptosis rate, ameliorated oxidative stress indicators, suppressed the expression of pyroptosis-related proteins, downregulated IGF2BP2 expression and decreased total RNA m6A methylation level with statistically significant differences ($P<0.01$). **Conclusion**: DHK may inhibit IGF2BP2 expression and reduce m6A methylation modification level of *NLRP3* mRNA, thereby blocking NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis pathway and exerting neuroprotective effects against neuronal injury in AD.

[**Key words**] Dihydrokaempferol; Alzheimer's disease; Cell pyroptosis; IGF2BP2; m6A methylation; NLRP3 inflammasome

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,AD)是以认知功能进行性减退为核心临床表现,同时合并精神行为紊乱及日常生活能力减退的神经系统退行性病变[1]。依据世界卫生组织2022年公布的数据显示,当前全球痴呆患者数量已达5 520万人,结合人口老龄化发展趋势,预估2050年全球痴呆患病人数或将增至1.39亿,我国65岁及以上人群痴呆的患病率约9.1%[2,3]。作为痴呆最常见的亚型,我国65岁及以上老年人中AD患病率约为3.2%,目前AD已成为我国第五大死因,且据预测,到2050年其相关治疗总成本将高达1.89万亿美元[4,5]。目前,AD的临床治疗仍以对症改善症状为主,如胆碱酯酶抑制剂常用于轻中度AD,对于中重度AD患者使用N-甲基-D-天冬氨酸受体拮抗剂,部分情况下联合应用,总体获益有限[6]。尽管近年来抗β淀粉样蛋白(β-amyloid protein,Aβ)单克隆抗体仑卡奈单抗、多奈单抗已在我国获批上市,标志着AD疾病修饰治疗领域取得重要突破,但尚未实现逆转认知功能衰退的核心目标[7]。因此,发掘安全、高效的早期干预靶点与天然活性药物,对延缓AD疾病进展、改善患者预后,具有重要的理论价值与迫切的现实意义。

细胞焦亡作为促炎性程序性细胞死亡,其异常激活与AD海马神经元丢失密切相关[8]。Aβ的异常沉积可通过驱动NLRP3炎症小体,诱导诱导半胱天冬氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)/Gasdermin D(GSDMD)介导的神经元焦亡,释放促炎因子,从而放大神经炎症并加重认知损伤[9]。N6-甲基腺苷(N6-methyladenosine,m6A)甲基化是真核生物mRNA上最丰富的内部化学修饰,参与RNA转录后调控[10,11]。m6A修饰由甲基转移酶、去甲基化酶及结合蛋白的协同作用,其中m6A结合蛋白通过特异性识别靶标mRNA的修饰位点,直接调控其稳定性、剪切/加工、核质转运及翻译与降解过程,进而参与AD的病理生理进程[12]。最新研究证实,IGF2BP2在AD海马神经元细胞中的表达显著升高,其通过结合*NLRP3* mRNA上的m6A修饰位点,增强*NLRP3* mRNA的稳定性,从而促进炎症小体活化与神经元焦亡[13]。

二氢山柰酚(dihydrokaempferol,DHK)是广泛存在于多种药用植物及中药复方中的天然黄酮类小分子,已被证实具有抗炎、抗氧化及神经保护等多重药理活性[14,15]。本课题组前期研究证实,DHK可通过抑制NLRP3乳酸化修饰阻断NLRP3/mTOR信号轴,恢复小胶质细胞自噬流,进而抑制AD神经炎症反应。然而,DHK调控NLRP3表达的上游机制尚不明确。基于此,本研究以$A\beta_{1-42}$诱导小鼠原代海马神经元细胞构建AD体外细胞焦亡模型,观察DHK对神经元焦亡、氧化应激及IGF2BP2/NLRP3/m6A信号轴的调控作用,系统阐明其抑制AD神经元损伤的分子机制。

1 材料与方法

1.1 细胞

小鼠原代海马神经元细胞购于上海瑾原生物科技有限公司(货号JY-J655)。细胞复苏后,以小鼠原代海马神经元细胞专用培养基(货号JY-Y375)置于37 ℃、5% CO_2恒温培养箱中培养。

1.2 试剂

DHK(批号HY-N2897)、CWI1-2(批号HY-153274)和$A\beta_{1-42}$(批号HY-P1388)均购于美国MedChemExpress公司。亚甲基蓝染色液(货号为G1301)购于北京索莱宝科技有限公司。FLICA 660 caspase-1试剂盒(货号为9122)购自美国Immu-

noChemistry Technologies公司。BCA蛋白定量试剂盒(货号为P0011)、特超敏ECL化学发光试剂盒(货号为P0018AS)、活性氧检测试剂盒(货号为S0033S)与RIPA裂解液(货号为P0013B)购自于碧云天生物科技有限公司。Trizol试剂(货号为15596018CN)购于美国赛默飞世尔科技公司。CCK-8试剂盒(货号为40203ES60)购于上海翌圣生物。丙二醛(malondialdehyde, MDA, 货号A003-1)与超氧化物歧化酶(superoxide Dismutase, SOD,货号A001-3)检测试剂盒均购自于南京建成生物工程研究所。逆转录试剂盒(PrimeScript™ RT Master Mix反转录,货号为RR047Q)和实时荧光定量聚合酶链式反应试剂盒(TB Green® Premix Ex Taq™ Ⅱ FAST试剂盒,货号为CN830S)购于日本Takara公司。Cleaved Caspase-1抗体(货号#4199)、Mature IL-1β抗体(货号#63124)和Pro-Caspase-1抗体(货号#2225)购于美国CST公司。Cleaved N-terminal GSDMD抗体(货号ab215203)购于英国Abcam公司。NLRP3抗体(货号30109-1-AP)、β-Actin抗体(货号66009-1-Ig)、m6A特异性抗体(货号68055-1-Ig)、IGF2BP2抗体(货号11601-1-AP)和HRP标记的二抗(货号RGAR001)购于武汉三鹰生物技术有限公司。

1.3 细胞分组与药物干预

取生长状态良好的小鼠原代海马神经元细胞接种于培养板,经无血清培养基同步化处理12 h后,随机分为空白组、模型组、DHK低剂量组、DHK高剂量组和IGF2BP2特异性抑制剂CWI1-2组。除空白组外,其余各组均加入30 μmol/L寡聚体$A\beta_{1\text{-}42}$诱导建立AD体外神经元焦亡模型[16]。DHK低剂量组、DHK高剂量组参照课题组前期研究,分别给予终浓度10、20 μmol/L DHK干预,CWI1-2组参照文献[17]加入终浓度10 μmol/L的CWI1-2,各组同步孵育24 h;空白组更换等体积正常完全培养基常规培养。干预结束后分别收集细胞及细胞上清液,−80 ℃保存备用。

1.4 指标检测

1.4.1 细胞活性检测 将生长状态良好的小鼠原代海马神经元以5×10^4个/mL接种于96孔板,每孔100 μL。细胞贴壁后无血清同步化12 h,按分组加入对应试剂同步孵育24 h。弃培养基,每孔加入无血清培养基(90 μL)与CCK-8试剂(10 μL),37 ℃孵育2 h,通过酶标仪测定吸光度值(450 nm),计算细胞活性。

1.4.2 流式细胞检测 收集各组处理后的细胞,1 000 r/min离心5 min,PBS洗涤2次,加入FAM-FLICA标记的Caspase 1抗体,37 ℃避光孵育60 min,洗涤后加PI染色,流式细胞仪检测,以Caspase 1+PI+细胞比例为焦亡水平。

1.4.3 生化检测 收集各组细胞,预冷PBS洗涤2次后,严格按照SOD和MDA检测试剂盒说明书操作,采用WST-1法检测SOD活性(波长450 nm),采用硫代巴比妥酸法检测MDA含量(波长532 nm),以酶标仪测定各孔吸光度,根据标准曲线计算各组SOD活性和MDA含量。

1.4.4 免疫荧光染色 细胞以2×10^5个/孔密度接种于置细胞爬片的24孔板,干预后弃培养基,PBS洗涤3次。加入含10 μmol/L DCFH-DA的无血清培养基,37 ℃避光孵育30 min,PBS洗去未结合探针。4%多聚甲醛室温固定15 min,PBS洗涤后DAPI避光复染细胞核5 min,封片。于荧光显微镜下进行观察(激发波长488 nm,发射波长525 nm),采用ImageJ软件定量分析ROS平均荧光强度。

1.4.5 蛋白质印迹法(Western blot) 通过RIPA裂解液提取细胞中总蛋白,BCA法测定蛋白质浓度。各组取等量蛋白样品进行凝胶电泳,转膜后使用5%脱脂奶粉在室温条件下封闭1.5 h。分别加入NLRP3(1∶2 000)、cleaved caspase-1(1∶1 000)、GSDMD-NT(1∶1 000)、mature IL-1β(1∶1 000)、pro-caspase-1(1∶1 000)、IGF2BP2(1∶2 000)及β-Actin(1∶20 000)一抗,置于4 ℃摇床中低速震荡孵育过夜。次日采用TBST洗去未结合一抗,加入稀释的HRP标记的二抗,室温恒温孵育1 h,滴加ECL发光试剂显影成像。通过Image J软件测定条带灰度值,计算目的蛋白的相对表达水平。

1.4.6 实时荧光定量聚合酶链式反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)

采用Trizol法提取细胞总RNA,Nanodrop检测浓度与纯度。参照Takara PrimeScript™ RT Master Mix反转录试剂盒说明书,将总RNA反转录合成cDNA。以GAPDH为内参基因,采用TB Green® Premix Ex Taq™ Ⅱ FAST试剂盒于实时荧光定量PCR仪上进行扩增。反应条件为95℃预变性30 s;95 ℃变性5 s,60 ℃退火延伸30 s,共40个循环。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算IGF2BP2 mRNA相对表达水平。引物序列见表1。

1.4.7 斑点杂交(dot blot) 采用Trizol法提取各组细胞总RNA,经DNase I处理去除基因组DNA污染。取等量RNA(500 ng)点样于尼龙膜,紫外交联固定后,5%脱脂奶粉室温封闭1 h,加入m6A特异性

表1　引物序列

Tab 1　Primer sequences

基因	引物序列(5′→3′)	产物大小(bp)
IGF2BP2	F: GGCACACATCAAACAGCTCGR: CCTGAGCCTTAAACTGGGCT	128
GAPDH	F: CTGGAAAGCTGTGGCGTGATR: TTCCCGTTCAGCTCTGGGAT	106

抗体(1∶1 000)4 ℃孵育过夜。TBST洗涤后,加入HRP标记二抗室温孵育1 h,ECL发光显影。以亚甲基蓝染色总RNA作为上样对照,Image J分析各斑点灰度值,计算各组总RNA m6A甲基化相对水平。

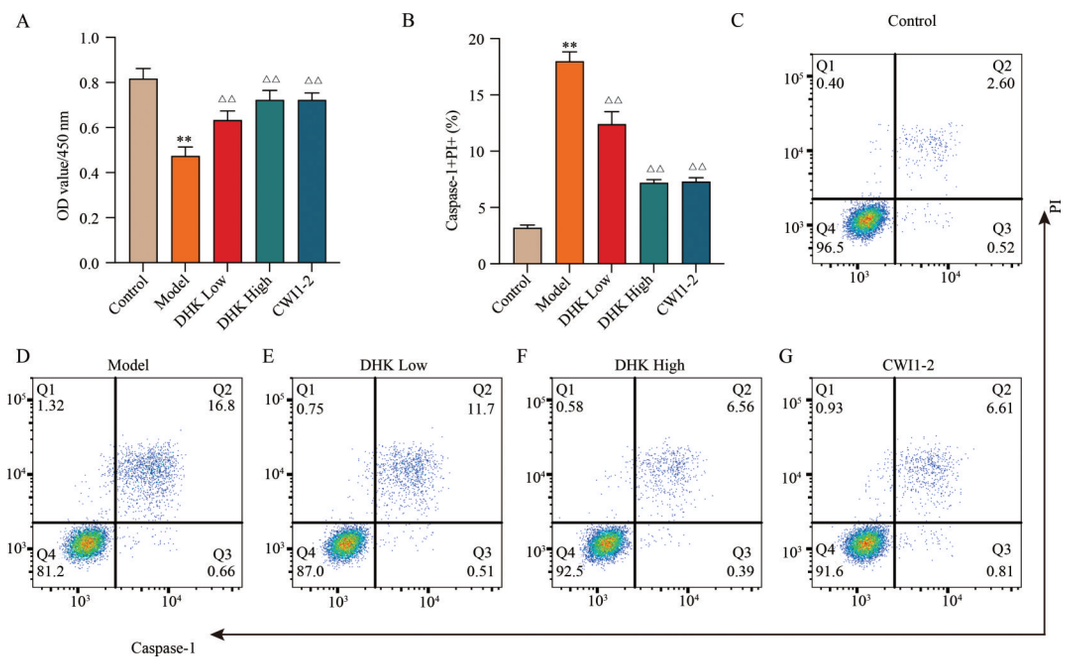
1.5　统计学处理

应用SPSS 27.0软件进行统计学分析,计量资料以$\bar{x}\pm s$表示,多组间比较采用单因素方差分析,组内两两样本的比较选用最小显著差异t检验,若数据方差不齐则改用邓尼特T3检验进行分析。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　二氢山柰酚对海马神经元细胞焦亡的影响

与空白组相比,$A\beta_{1\text{-}42}$诱导能够降低海马神经元细胞活性与增加焦亡细胞的比例,差异均有统计学意义($P<0.01$)。与模型组相比,DHK低、高剂量组及CWI1-2组细胞活性明显增加,焦亡细胞比例显著降低,差异均有统计学意义($P<0.01$),且呈剂量依赖性,提示DHK可有效抑制Aβ诱导的海马神经元细胞焦亡。见图1。



A:各组海马神经元细胞活性的比较;B:各组海马神经元细胞凋亡水平的比较;C:空白组流式散点图;D:模型组流式散点图;E:DHK低剂量组流式散点图;F:DHK高剂量组流式散点图;G:CWI1-2组流式散点图;与空白组比较,$^{**}P<0.01$,与模型组比较,$^{\triangle\triangle}P<0.01$,$n=3$。

图1　二氢山柰酚对海马神经元细胞活性和焦亡的影响

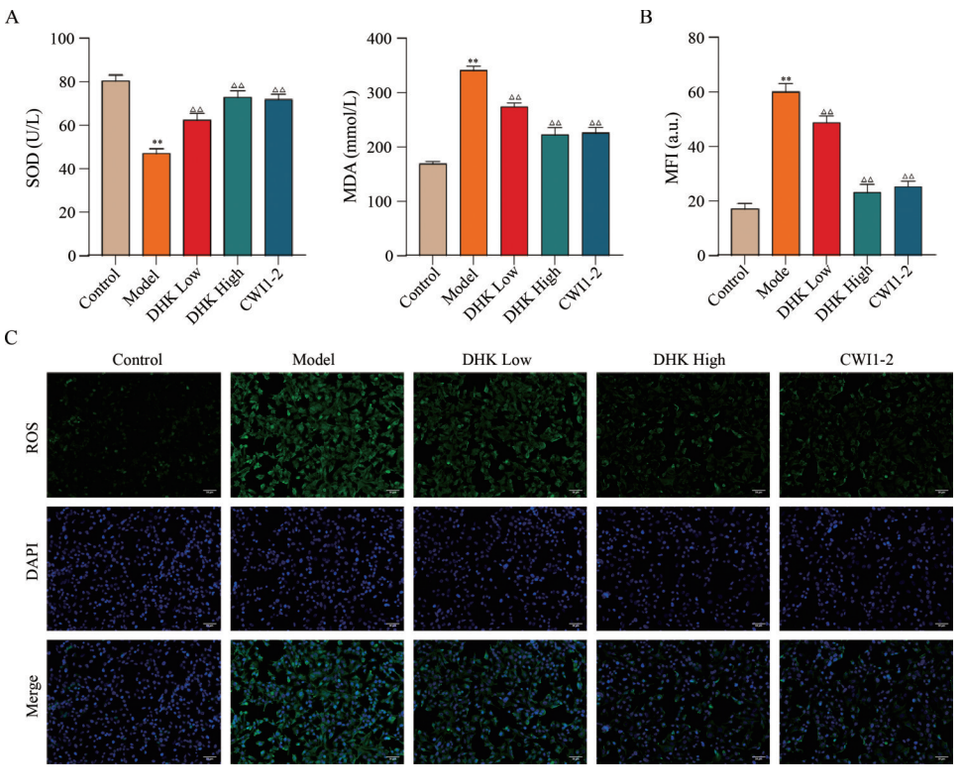
Fig 1　Effects of dihydrokaempferol on cell viability and pyroptosis of hippocampal neurons

2.2　二氢山柰酚对海马神经元细胞氧化应激的影响

与空白组相比,模型组SOD活性明显降低,MDA含量与ROS平均荧光强度明显升高,差异均有统计学意义($P<0.01$)。相较于模型组,DHK低、高剂量组及CWI1-2组SOD活性明显升高,MDA含量与ROS荧光强度明显降低,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。见图2。

2.3　二氢山柰酚对海马神经元细胞焦亡相关蛋白表达的影响

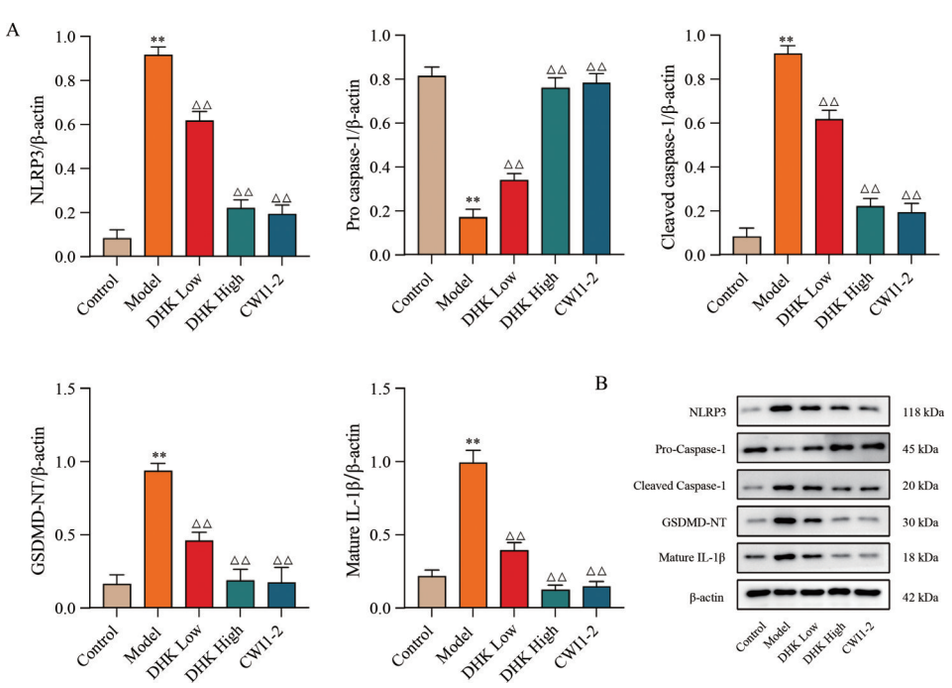
与空白组相比,模型组NLRP3、cleaved caspase-1、GSDMD-NT及mature IL-1β蛋白表达明显上调,pro-caspase-1表达明显下调,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。与模型组相比,DHK低、高剂量组及CWI1-2组海马神经元细胞中NLRP3、cleaved caspase-1、GSDMD-NT及mature IL-1β蛋白的表达水平均明显下调,而pro-caspase-1蛋白的表达水平明显增加,差异均有统计学差异($P<0.01$)。见图3。



A:各组海马神经元细胞SOD活性与MDA含量的比较;B:各组海马神经元细胞ROS定量评分;C:免疫荧光法检测各组海马神经元细胞ROS的水平(比例尺=50 μm);与空白组比较,$^{**}P<0.01$;与模型组比较,$^{\triangle\triangle}P<0.01$,$n=3$。

图2　二氢山柰酚对海马神经元细胞氧化应激的影响

Fig 2　Effects of dihydrokaempferol on oxidative stress in hippocampal neurons



A:各组海马神经元细胞NLRP3、Pro caspase-1、Cleaved caspase-1、GSDMD-NT和Mature IL-1β蛋白表达的定量评分;B:各组海马神经元细胞NLRP3、Pro caspase-1、Cleaved caspase-1、GSDMD-NT和Mature IL-1β蛋白条带图;与空白组比较,$^{**}P<0.01$;与模型组比较,$^{\triangle\triangle}P<0.01$, $n=3$

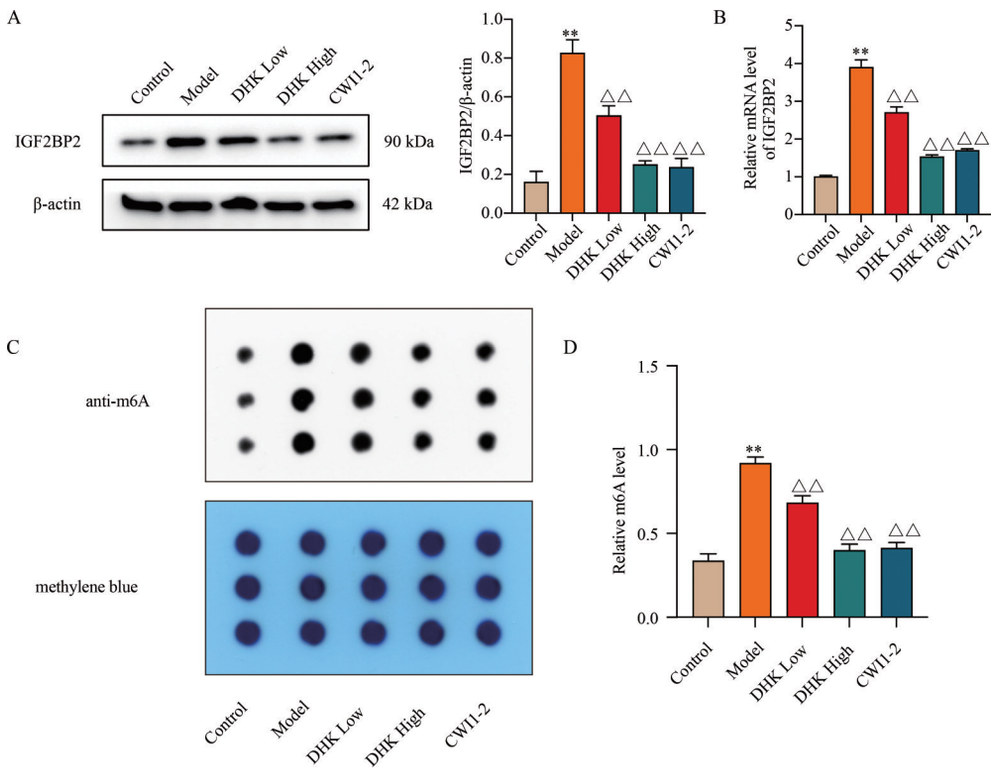
图3　二氢山柰酚对海马神经元细胞细胞焦亡相关蛋白表达的影响

Figure 3　Effects of dihydrokaempferol on the expression of pyroptosis-related proteins in hippocampal neurons

2.4　二氢山柰酚对海马神经元细胞IGF2BP2表达水平的影响

与空白组相比,模型组IGF2BP2的蛋白与mRNA表达水平均明显上调,差异均有统计学差异($P<0.01$)。相比于模型组,DHK低、高剂量组及CWI1-2组IGF2BP2的蛋白与mRNA表达均呈剂

量依赖性明显降低，差异均具有统计学意义（$P<0.01$）。提示DHK可有效抑制$A\beta_{1\text{-}42}$诱导的海马神经元细胞IGF2BP2的表达。见图4A、B。



A：各组海马神经元细胞IGF2BP2蛋白表达的比较；B：各组海马神经元细胞IGF2BP2 mRNA表达的比较；C：Dot-blot检测各组总RNA甲基化水平，亚甲基蓝染色为RNA上样参照；D：各组海马神经元细胞m6A水平的比较；与空白组比较，$^{**}P<0.01$；与模型组比较，$^{\triangle\triangle}P<0.01$，$n=3$。

图4　二氢山柰酚对海马神经元细胞IGF2BP2表达及m6A甲基化的影响

Fig 4　Effects of dihydrokaempferol on IGF2BP2 expression and m6A methylation in hippocampal neurons

2.5　二氢山柰酚对海马神经元细胞NLRP3 m6A水平的影响

Dot blot结果显示，与空白组相比，模型组细胞m6A甲基化水平明显的升高，差异有统计学意义（$P<0.01$）。相比于模型组，DHK低、高剂量组及CWI1-2组的m6A水平均显著降低，差异均具有统计学意义（$P<0.01$）。见图4C、D。

3　讨论

氧化应激是指机体氧化与抗氧化系统失衡导致的氧化损伤状态，其本质是ROS与活性氮生成超过机体抗氧化防御能力，从而引发细胞脂质、蛋白质及核酸损伤。研究证实，Aβ可通过促进ROS产生加剧氧化应激，从而引起突触功能和神经传递功能障碍，加剧AD的病理进程[18]。此外，ROS还可通过激活核因子-κB（Nuclear Factor-κB，NF-κB）与激活蛋白-1（Activator Protein-1，AP-1），直接促进TNF-α、IL-6及IL-1β等促炎因子基因表达，从而放大局部神经炎症并加重神经元损伤[19]。SOD作为一类以自由基为底物的金属酶，通过催化超氧阴离子自由基发生歧化反应，从而清除超氧阴离子、维持机体氧化与抗氧化平衡并保护细胞免受氧化损伤。MDA是脂质过氧化的终产物，常作为脂质过氧化水平与氧化损伤程度的标志物。本研究结果显示，DHK干预可剂量依赖性提升SOD活性、降低MDA含量及ROS水平，表明DHK可有效调节神经元氧化应激平衡，减轻氧化损伤，发挥基础神经保护作用。

细胞焦亡是一种由gasdermin家族蛋白介导、以细胞膜穿孔和裂解为特征的程序性细胞死亡方式[20]。其核心执行分子GSDMD在炎症性caspase激活后，被剪切并释放其N端片段（GSDMD-N），通过在细胞膜上寡聚并插入形成跨膜孔道，导致细胞渗透压失衡、细胞肿胀，最终发生细胞膜破裂与溶细胞死亡。在此过程中，包括IL-1β等促炎介质在内的细胞内容物随膜孔释放，放大局部炎症反应并造成组织损伤。细胞焦亡存在经典与非经典两条激活途径，经典途径主要由NLRP3、ASC及pro-caspase-1组装形成炎症小体，激活caspase-1，后

者进一步剪切GSDMD介导细胞膜穿孔。非经典途径则由caspase-4/5/11直接识别胞内脂多糖，激活后剪切GSDMD，启动细胞焦亡程序[21]。研究证实，ROS作为重要的炎症激活信号，可通过直接氧化修饰NLRP3蛋白，特异性激活NLRP3炎症小体，启动经典细胞焦亡通路[22]。本研究结果显示，DHK干预可剂量依赖性下调海马神经元细胞中NLRP3、cleaved caspase-1、GSDMD-NT及mature IL-1β蛋白的表达，降低焦亡细胞比例，表明DHK可有效抑制NLRP3介导的神经元焦亡，发挥神经保护作用。

m6A甲基化修饰是指真核生物RNA腺嘌呤碱基的第6位氮原子上添加甲基基团的表观遗传修饰类型，于1974年首次在哺乳动物mRNA中被鉴定出来[23]。该修饰具有动态可逆、分布广泛且高度保守的特点，通常发生在高度保守的DRACH/RRACH序列基序（D=A/G/U；R=A/G；H=A/C/U）中，并在mRNA终止密码子附近及3'UTR区域富集。IGF2BP2作为m6A结合蛋白家族的重要成员，通过识别并结合目标mRNA上的m6A修饰位点，增强其稳定性并促进翻译[24]。本研究中，$A\beta_{1\text{-}42}$诱导后，海马神经元细胞总RNA m6A甲基化水平显著升高，同时IGF2BP2的mRNA及蛋白表达均明显上调。DHK干预可剂量依赖性下调IGF2BP2表达及细胞总RNA m6A甲基化水平，且与IGF2BP2抑制剂CWI1-2组作用趋势一致，表明DHK对m6A甲基化修饰的调控作用可能依赖于抑制IGF2BP2表达实现。

本研究尚存在一定局限性。研究仅采用小鼠原代海马神经元构建体外细胞模型，缺乏AD动物体内实验验证，难以全面反映中枢神经系统复杂微环境及血脑屏障对DHK药效的影响。其次，当前的研究仅检测总RNA m6A整体甲基化水平，未通过MeRIP-qPCR、RIP实验直接证实IGF2BP2与NLRP3 mRNA的特异性结合，且缺少IGF2BP2过表达回补实验佐证通路依赖性。

综上所述，本研究表明，DHK通过抑制IGF2BP2的表达，下调NLRP3 mRNA的m6A甲基化修饰水平，阻断NLRP3炎症小体的过度活化及下游caspase-1/GSDMD介导的细胞焦亡通路，同时改善Aβ诱导的氧化应激损伤，从而发挥抗AD神经保护作用。本研究首次揭示了DHK通过调控"IGF2BP2-m6A-NLRP3"信号轴抑制神经元细胞焦亡的新型分子机制，为阿尔茨海默病的药物研发提供了新的候选靶点与实验基础。

作者贡献度说明

王欣波：实验方案设计、数据检测与统计分析、论文初稿撰写与修改；张宇琪和蔚冰洁：实验操作、标本检测、数据整理、图表绘制；周亚滨：课题实验方案审核、论文立意修正与学术指导。

所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

1 林璐，马辛，王刚，等. 中国阿尔茨海默病早期预防指南（2024）[J]. 阿尔茨海默病及相关病杂志，2024，7（3）：168-175.
Lin L，Ma X，Wang G，et al. Guidelines for early prevention of Alzheimer's disease in China（2024）[J]. J Alzheimer's Dis Relat Disord，2024，7(3)：168-175.

2 Zhao Y，Luo G，Huang C，et al. Comparative effects of some pharmacological and non-pharmacological interventions on cognitive function in Alzheimer's disease：A Bayesian network meta-analysis[J]. J Prev Alzheimers Dis，2026，13(6)：100564.

3 中国微循环学会神经变性病专业委员会，王盼，刘帅，等. 阿尔茨海默病诊断规范共识[J]. 中国现代神经疾病杂志，2026，26(2)：112-128.
Professional Committee of Neurodegenerative Diseases，Chinese Society of Microcirculation，Wang P，Liu S，et al. Consensus on standardized diagnosis of Alzheimer's disease[J]. Chin J Contemp Neurol Neurosurg，2026，26(2)：112-128.

4 中国老年保健协会阿尔茨海默病分会，中国中药协会脑病药物研究专业委员会. 阿尔茨海默病中西医结合诊疗中国专家共识[J]. 中华行为医学与脑科学杂志，2024，33(2)：97-108.
Alzheimer's Disease Branch of Chinese Geriatric Health Care Association，Professional Committee of Encephalopathy Drug Research，China Association of Chinese Medicine. Chinese expert consensus on integrated traditional Chinese and Western medicine diagnosis and treatment of Alzheimer's disease[J]. Chin J Behav Med Brain Sci，2024，33(2)：97-108.

5 王颖，孙亮，王刚，等. 基于社区的阿尔茨海默病三级综合防治中国专家共识（2025版）[J]. 中华老年医学杂志，2025，44(3)：227-237.
Wang Y，Sun L，Wang G，et al. Chinese expert consensus on three-level comprehensive community-based prevention and treatment of Alzheimer's disease（2025 edition）[J]. Chin J Geriatr，2025，44(3)：227-237.

6 Soni U，Singh K，Jain D，et al. Exploring Alzheimer's disease treatment：Established therapies and novel strategies for future care[J]. Eur J Pharmacol，2025，998：

177520.

7 中国医师协会神经内科医师分会，阿尔茨海默病疾病修饰治疗专家共识制订专家组. 阿尔茨海默病疾病修饰治疗专家共识(2025版)[J]. 中华医学杂志，2025，105(19)：1492-1502.
Neurologist Branch of Chinese Medical Doctor Association, Expert Consensus Formulation Group for Disease-Modifying Therapy of Alzheimer's Disease. Expert consensus on disease-modifying therapy for Alzheimer's disease (2025 edition)[J]. Natl Med J China, 2025, 105(19):1492-1502

8 Tang T. Pyroptosis in Alzheimer's Disease: Mechanisms and Therapeutic Potential[J]. Cell Mol Neurobiol, 2025, 45(1):57.

9 Xu W, Huang Y, Zhou R. NLRP3 inflammasome in neuroinflammation and central nervous system diseases[J]. Cell Mol Immunol, 2025, 22(4):341-355.

10 Qiu Z, Yuan X, Wang X, et al. Crosstalk between m6A modification and non-coding RNAs in HCC[J]. Cell Signal, 2024, 117:111076.

11 Xu X, Zhao J, Yang M, et al. The emerging roles of N6-methyladenosine RNA modifications in thyroid cancer[J]. Eur J Med Res, 2023, 28(1):475.

12 Yu S, Li C, Lu X, et al. The m^6A-ncRNAs axis in diabetes complications: novel mechanism and therapeutic potential[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2024, 15: 1426380.

13 Jingrui W, Haihui Y, Jinjin Y, et al. IGF2BP2 Regulates the Progression of Alzheimer's Disease Through m6A-Mediated NLRP3 Inflammasome[J]. Immun Inflamm Dis, 2025, 13(1):e70121.

14 Huang H, Wei S, Wu X, et al. Dihydrokaempferol attenuates CCl4-induced hepatic fibrosis by inhibiting PARP-1 to affect multiple downstream pathways and cytokines[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2023, 464: 116438.

15 Chen Q, Song D, Sun X, et al. Functional Characterization of F3H Gene and Optimization of Dihydrokaempferol Biosynthesis in Saccharomyces cerevisiae[J]. Molecules, 2024, 29(10):2196.

16 Ma J, Tian Y, Du C, et al. Cerium-doped Prussian blue biomimetic nanozyme as an amplified pyroptosis inhibitor mitigate Aβ oligomer-induced neurotoxicity in Alzheimer's disease[J]. J Nanobiotechnology, 2025, 23(1):181.

17 伊木然·伊拉木，陶震楠，孙毅，等. IGF2BP2抑制剂CWI1-2对胶质瘤细胞迁移、侵袭能力及替莫唑胺耐药性的影响[J]. 中华神经医学杂志，2025，24(2)：131-140.
Yimuran Y, Tao ZN, Sun Y, et al. Effects of IGF2BP2 inhibitor CWI1-2 on migration, invasion and temozolomide resistance of glioma cells[J]. Chin J Neuromed, 2025, 24(2):131-140

18 杨雪晗，耿心茹，王语馨，等. 衰老脑中AP1S1的下调加剧了阿尔茨海默病发生过程中神经元对β-淀粉样蛋白与氧化应激的易感性[J]. 神经药理学报，2025，15(5):48.
Yang XH, Geng XR, Wang YX, et al. Downregulation of AP1S1 in aged brain exacerbates neuronal susceptibility to β-amyloid and oxidative stress during Alzheimer's disease progression[J]. Acta Neuropharmacol, 2025, 15(5):48

19 Chong ZZ, Souayah N. Oxidative stress: Pathological driver in chronic neurodegenerative diseases[J]. Antioxidants, 2025, 14(6):696.

20 Li C, Liu C, Yin X, et al. Targeting pyroptosis in metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease: from molecular mechanisms to therapeutic innovation[J]. Mol Biol Rep, 2026, 53(1):774.

21 Broz P. Pyroptosis: molecular mechanisms and roles in disease[J]. Cell Res, 2025, 35(5):334-344.

22 Mellacheruvu M, Schroder K. ROS breaks the cofilin lock on NLRP3[J]. Nat Immunol, 2026, 27(5):888-889.

23 Sendinc E, Shi Y. RNA m6A methylation across the transcriptome[J]. Mol Cell, 2023, 83(3):428-441.

24 郭道通，张宗雷，孟凡华，等. IGF2BP2通过GPX4/SLC7A11/ACSL4信号轴介导OGD/R诱导的H9c2细胞铁死亡的作用机制[J]. 中国医药导报，2026，23(5)：67-73.
Guo DT, Zhang ZL, Meng FH, et al. Mechanism by which IGF2BP2 mediates OGD/R-induced ferroptosis in H9c2 cardiomyocytes via the GPX4/SLC7A11/ACSL4 signaling axis[J]. China Med Her, 2026, 23(5):67-73

［本文编辑］ 刘斯静