

# 阿尔茨海默病患者血液中外泌体 miR-223 及 NLRP3 表达水平及临床意义

师俊亮<sup>1</sup> 郝豫萍<sup>2</sup> 夏源<sup>2</sup> 戴恩云<sup>2</sup>

(河南省职工医院,河南 郑州 450003 1 老年医学科; 2 神经内科)

**[摘要]** **目的** 探讨血清中外泌体 miR-223 及核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)表达水平与阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)发生及进展的关系。**方法** 选取 2018 年 3 月—2019 年 12 月于我院老年医学科就诊的老年 AD 患者 65 例作为研究组,分为轻度认知功能障碍(MCI)亚组(41 例)和痴呆(DAT)亚组(24 例);另外纳入同时期神经功能正常的老年人 60 例作为对照组。采用实时荧光定量聚合酶链式反应和酶联免疫吸附测定法检测受检者血清中外泌体 miR-223 及 NLRP3 表达水平。采用 Pearson 及 Spearman 检验分析受检者血清中外泌体 miR-223 及 NLRP3 与简易精神状态检查量表(MMSE)评分的关系。绘制受试者工作特征(ROC)曲线,计算血清中外泌体 miR-223 及 NLRP3 用于 AD 患者 MCI 诊断或者 DAT 鉴别诊断的曲线下面积(AUC)。**结果** 与对照组相比较,研究组受试者血清中外泌体 miR-223 的表达水平显著降低,NLRP3 表达水平显著升高( $t=6.623, Z=-9.451, P<0.05$ );与 MCI 亚组相比,DAT 亚组受试者血清中外泌体 miR-223 表达水平显著降低,NLRP3 表达水平显著升高( $t=3.190, Z=-5.288, P<0.05$ )。研究组受试者血清中外泌体 miR-223 表达水平与 NLRP3 表达水平呈负相关( $r=-0.859, P<0.001$ ),与 MMSE 评分呈正相关( $r=0.790, P<0.001$ ),研究组受试者血清中 NLRP3 表达水平与 MMSE 评分则呈负相关( $r=-0.776, P<0.001$ )。血清中外泌体 miR-223 联合 NLRP3 诊断 AD 患者 MCI 的 AUC 为 0.91(95%CI=0.86~0.97),灵敏度为 89.0%,特异度为 76.5%;其鉴别诊断 DAT 的 AUC 为 0.81(95%CI=0.75~0.88),灵敏度为 70.0%,特异度为 85.0%。**结论** miR-223/NLRP3 信号通路可能参与 AD 的发生和发展,血清中外泌体 miR-223 和 NLRP3 的检测对 AD 患者 MCI 和 DAT 的诊断或鉴别诊断具有一定价值,值得进一步深入研究。

**[关键词]** 阿尔茨海默病;认知功能障碍;微 RNAs;NLR 家族,热蛋白结构域包含蛋白 3;外泌体;曲线下面积;诊断;老年人

**[中图分类号]** R749.16 **[文献标志码]** A

**EXPRESSION OF BLOOD EXOSOMAL miR-223 AND NUCLEOTIDE-BINDING OLIGOMERIZATION DOMAIN-LIKE RECEPTOR PROTEIN 3 IN PATIENTS WITH ALZHEIMER'S DISEASE AND THEIR CLINICAL SIGNIFICANCE** SHI Junliang, HAO Yuping, XIA Yuan, DAI Enyun (Department of Geriatrics, Henan Workers' Hospital, Zhengzhou 450003, China)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the expression levels of serum exosomal miR-223 and nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3) in patients with Alzheimer's disease (AD) and their association with the development and progression of AD. **Methods** A total of 65 elderly patients with AD who attended Department of Geriatrics in our hospital from March 2018 to December 2019 were enrolled as study group and were divided into mild cognitive impairment (MCI) subgroup with 41 patients and dementia of Alzheimer type (DAT) subgroup with 24 patients, and 60 elderly individuals with normal neurological function were enrolled as control group. Quantitative real-time PCR and ELISA were used to measure the expression levels of serum exosomal miR-223 and NLRP3. The Pearson and Spearman tests were used to analyze the correlation of serum exosomal miR-223 and NLRP3 with Mini-Mental State Examination (MMSE) score. The receiver operating characteristic (ROC) curve was plotted to calculate the area under the ROC curve (AUC) of serum exosomal miR-223 and NLRP3 in the diagnosis of MCI in AD patients or the differential diagnosis of DAT. **Results** Compared with the control group, the study group had a significantly lower expression level of serum exosomal miR-223 and a significantly higher expression level of NLRP3 ( $t=6.623, Z=-9.451, P<0.05$ ), and compared with the MCI subgroup, the DAT subgroup had a significantly lower expression level of serum exosomal miR-223 and a significantly higher expression level of NLRP3 ( $t=3.190, Z=-5.288, P<0.05$ ). In the study group, the expression level of serum exosomal miR-223 was negatively correlated with that of NLRP3 ( $r=-0.859, P<0.001$ ) and was positively correlated with MMSE score ( $r=0.790, P<0.001$ ), while the expression level of serum NLRP3 was negatively correlated with MMSE score ( $r=-0.776, P<0.001$ ). Serum exosomal miR-223 combined with NLRP3 had an AUC of 0.91 (95%CI=0.86-0.97), a sensitivity of 89.0%, and a specificity of 76.5% in the diagnosis of MCI in AD patients, while it had an AUC of 0.81 (95%CI=0.75-0.88), a sensitivity of 70.0%, and a specificity of 85.0% in the differential diagnosis of DAT. **Conclusion** The miR-223/NLRP3 signaling pathway might be involved in the development and progression of AD, and measurement of serum ex-

**[收稿日期]** 2023-08-23; **[修订日期]** 2023-09-15  
**[基金项目]** 2019 年河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20191489)  
**[通讯作者]** 师俊亮,Email:mmc7887@163.com

osomal *miR*-223 and NLRP3 has a certain value in the diagnosis of MCI or the differential diagnosis of DAT in AD patients, which requires further studies in the future.

**[KEY WORDS]** Alzheimer disease; Cognitive dysfunction; MicroRNAs; NLR family, pyrin domain-containing 3 protein; Exosomes; Area under curve; Diagnosis; Aged

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)属于一种不可逆的神经退行性疾病,以认知功能障碍和进行性痴呆为主要特征<sup>[1]</sup>。美国国立老化研究所和阿尔茨海默病协会(NIA-AA)提出的最新 AD 研究框架指出,AD 是包括轻度认知功能障碍(MCI)和痴呆(DAT)在内的连续病程,在 AD 核心临床诊断标准的基础上,应综合考虑 AD 病理生理变化证据,并强调生物学标志物可以用于 AD 的早期诊断<sup>[2]</sup>。NOD 样受体蛋白(NLRs)属于细胞质模式识别受体,可以被部分病原微生物或者受损细胞释放的非微生物危险信号激活,进而启动炎症小体依赖性天然免疫反应<sup>[3]</sup>。目前动物实验证实,降低 AD 小鼠大脑皮质区小胶质细胞核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)的表达,可以明显改善 AD 小鼠的学习和记忆的能力<sup>[4]</sup>,由此可以推测 *miR*-223/NLRP3 信号通路可能参与 AD 的发生机制。本研究以我院老年医学科就诊的 65 例老年 AD 患者作为研究的对象,旨在探讨 *miR*-223/NLRP3 信号通路在 AD 的发生及发展中的作用,为血清中外泌体 *miR*-223 及 NLRP3 作为 AD 诊断和进展判断的血清学指标提供理论依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择 2018 年 3 月—2019 年 12 月于我院老年医学科就诊的老年 AD 患者作为研究组。纳入标准:①初诊者;②症状、实验室检查、简易精神状态检查量表(MMSE)评分<sup>[2]</sup>、脑部 CT 及 MRI 等检查结果符合 NIA-AA 提出的 AD 核心临床诊断标准<sup>[5]</sup>;③MMSE 评分 $\leq 26$ 分,日常生活能力保留者。排除标准:①合并其他疾病者,包括患有心肌梗死、恶性肿瘤、帕金森病、颅脑外伤、多发性硬化症等可能引起 *miR*-223 表达异常者;②存在其他类型痴呆(如血管性痴呆、额颞叶痴呆)者。依据 MMSE 量表,按认知功能障碍进展程度将研究组受试者分为 MCI 亚组和 DAT 亚组。另外选择 60 例神经功能正常的老年人作为对照组,纳入标准:①同时期自愿接受血样采集和 MMSE 问卷调查的同一社区人群;②年龄、性别、体质量指数(BMI)、基础疾病、受教育程度等基本资料与研究组受试者匹配者;③一般认

知功能及记忆正常,无痴呆临床症状及其他精神系统疾病者。排除标准同研究组。

研究组受试者共 65 例,其中 MCI 亚组 41 例, DAT 亚组 24 例。研究组与对照组受试者的年龄、性别、BMI、基础疾病、受教育程度等基本资料比较无显著差异( $P > 0.05$ ),两组受试者具有可比性。研究组受试者的 MMSE 评分和日常生活能力量表(ADL)评分显著低于对照组( $t = 13.981 \sim 18.371$ ,  $P < 0.001$ )。见表 1。

表 1 两组受试者一般资料比较

| 组别                                              | 对照组<br>( $n=60$ ) | AD 组<br>( $n=65$ ) | $t/\chi^2$ 值 | $P$ 值    |
|-------------------------------------------------|-------------------|--------------------|--------------|----------|
| 年龄(岁, $\bar{x} \pm s$ )                         | 71.72 $\pm$ 8.14  | 73.58 $\pm$ 7.85   | 1.300        | 0.196    |
| 男性[例( $\chi/\%$ )]                              | 38(63.33)         | 45(69.23)          | 0.486        | 0.486    |
| BMI( $\text{kg}/\text{m}^2$ , $\bar{x} \pm s$ ) | 23.67 $\pm$ 3.12  | 24.19 $\pm$ 4.25   | 0.774        | 0.440    |
| MMSE 评分(分, $\bar{x} \pm s$ )                    | 29.00 $\pm$ 0.64  | 18.98 $\pm$ 3.97   | 18.371       | $<0.001$ |
| ADL 评分(分, $\bar{x} \pm s$ )                     | 19.38 $\pm$ 4.55  | 36.58 $\pm$ 8.47   | 13.981       | $<0.001$ |
| 合并症                                             |                   |                    |              |          |
| 高血压[例( $\chi/\%$ )]                             | 26(43.33)         | 32(49.23)          | 0.436        | 0.509    |
| 糖尿病[例( $\chi/\%$ )]                             | 19(31.67)         | 28(43.08)          | 1.731        | 0.188    |
| 高脂血症[例( $\chi/\%$ )]                            | 28(46.67)         | 39(60.00)          | 2.230        | 0.135    |
| 冠心病[例( $\chi/\%$ )]                             | 13(21.67)         | 15(23.08)          | 0.036        | 0.850    |
| 受教育程度                                           |                   |                    |              |          |
| 文盲或小学[例( $\chi/\%$ )]                           | 21(35.00)         | 32(49.23)          |              |          |
| 初中及以上[例( $\chi/\%$ )]                           | 39(65.00)         | 33(50.77)          | 2.587        | 0.108    |

### 1.2 研究方法

**1.2.1 样本采集** 每位受试者禁食 12 h 后采集外周静脉血,室温下 3 000 r/min 离心 10 min,后 4 °C 下 12 000 r/min 离心 5 min。将采集的血清样本保存在 -80 °C 冰箱备用。

**1.2.2 血清中外泌体提取及鉴定** 取出冻存备用样本,于(25 $\pm$ 3)°C 室温下放置 20 min 复溶,使用外泌体分离试剂盒(美国 Invitrogen 公司)按照说明书步骤分离血清中外泌体。用 HT7700 透射电子显微镜(日本日立公司)观察外泌体形态及颗粒大小,用纳米粒径追踪技术分析粒径分布。采用蛋白质印迹法测定外泌体特征蛋白热休克蛋白 70(Hsp70)、溶酶体相关膜蛋白-3(CD63)以及内质网特征蛋白 Calnexin 的表达水平。

**1.2.3 血清中外泌体 *miR*-223 表达水平测定** 利用 miRNA 分离试剂盒提取上述外泌体中总 RNA,选取 microRNA First Strand cDNA 合成试剂盒(大

连宝生生物公司)在 20  $\mu\text{L}$  反应体系中进行逆转录反应,获得 cDNA。以 cDNA 为模板,U6 mRNA 为内源对照,采用 MicroRNAs Quantization PCR Kit (上海 Sangon 公司)和 LightCycler 480 实时 PCR 系统(德国 Roche applied science 公司)进行实时荧光定量聚合酶链式反应。反应进行条件为:95  $^{\circ}\text{C}$  10 min,1 个循环;95  $^{\circ}\text{C}$  15 s,59.5  $^{\circ}\text{C}$  30 s,36 个循环。*miR-223* 正向引物为 5'-CCACGCTCCGTGT-ATTTGAC-3',反向引物为 5'-CCGCACTTGGGG-TATTTGAC-3',使用公式  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  计算 *miR-223* 相对表达量,进行 3 次独立重复试验,结果选取 3 次试验的平均值。

**1.2.4 血清中 NLRP3 表达水平测定** 取出冻存备用样本,于 (25 $\pm$ 3) $^{\circ}\text{C}$  室温下放置 20 min 复溶,利用酶联免疫吸附测定试剂盒(加拿大 MyBioSource 公司),按照试剂盒说明检测血清中 NLRP3 水平。

### 1.3 统计方法

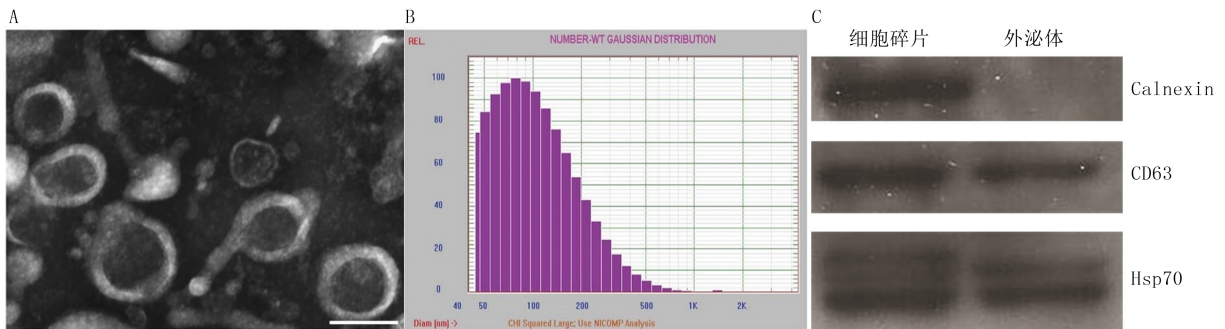
利用 SPSS 17.0 和 Graphpad prism 6.0 软件进

行数据分析。计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  或  $M(P_{25}, P_{75})$  表示,组间相关指标的比较采用  $t$  检验或非参数检验;分类变量以例(率)表示,组间比较采用卡方检验;相关分析采用 Pearson 检验或 Spearman 检验。绘制受试者工作特征(ROC)曲线,计算曲线下面积(AUC)、诊断灵敏度和特异度。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 血清中外泌体提取及鉴定结果

透射电子显微镜观察显示,分离出形状、大小不一的囊泡,具有典型的胞外体形态和双层膜结构(图 1A);粒径平均分布范围为 50.00~200.00 nm,平均粒径为 (158.52 $\pm$ 18.71)nm,稀释后调整粒子浓度为  $2.86 \times 10^9$  个/L(图 1B)。蛋白质印迹结果显示,内质网特征蛋白 Calnexin 蛋白表达阴性,而外泌体特征蛋白 Hsp70 以及溶酶体相关膜蛋白 CD63 则呈特异性高表达(图 1C)。



A:透射电镜观察外泌体形态,B:纳米粒径追踪分析颗粒粒径分布,C:蛋白质印迹法检测 Calnexin、CD63 和 Hsp70 蛋白表达

图 1 血清中外泌体特征分析结果

### 2.2 两组受试者血清中外泌体 *miR-223* 及 NLRP3 表达水平比较

研究组和对照组受试者血清中外泌体 *miR-223* 表达水平分别为  $0.67 \pm 0.34$ 、 $1.00 \pm 0.19$ ,NLRP3 水平分别为 12.31(7.82, 19.44)、4.45(2.45, 9.58),两组间上述两指标比较差异具有显著意义( $t = 6.623$ ,  $Z = -9.451$ ,  $P < 0.05$ )。在研究组中,DAT 亚组和 MCI 亚组受试者血清中外泌体 *miR-223* 表达水平分别为  $0.52 \pm 0.26$ 、 $0.76 \pm 0.31$ ,NLRP3 水平分别为 20.78(14.45, 28.52)、8.87(6.11, 12.63),两亚组当中上述两指标相比较差异具有显著意义( $t = 3.190$ ,  $Z = -5.288$ ,  $P < 0.05$ )。

### 2.3 研究组受试者血清中外泌体 *miR-223*、NLRP3 表达水平及 MMSE 评分间的相关性

Pearson 及 Spearman 检验示,研究组受试者血清中外泌体 *miR-223* 与 NLRP3 表达水平呈负相关

( $r = -0.859$ ,  $P < 0.001$ ),与 MMSE 评分呈正相关( $r = 0.790$ ,  $P < 0.001$ );血清中 NLRP3 表达水平与 MMSE 评分呈负相关( $r = -0.776$ ,  $P < 0.001$ )。

### 2.4 血清中外泌体 *miR-223*、NLRP3 的测定对 AD 患者 MCI 的诊断价值

将对照组受试者作为对照,绘制 ROC 曲线。血清中外泌体 *miR-223* 以及 NLRP3 诊断 AD 患者 MCI 的 AUC 分别为 0.85(95%CI = 0.76~0.91)和 0.84(95%CI = 0.75~0.89),最佳截断值为 0.74 和 8.15。该最佳截断值下,血清中外泌体 *miR-223* 和 NLRP3 诊断 AD 患者 MCI 的灵敏度分别为 89.4% 和 81.7%,特异度分别为 76.1% 以及 70.9%。另外,血清中外泌体 *miR-223* 联合 NLRP3 诊断 AD 患者 MCI 的 AUC 为 0.91(95%CI = 0.86~0.97),灵敏度和特异度分别为 89.0% 和 76.5%。见图 2。

### 2.5 血清中外泌体 *miR-223*、NLRP3 水平测定对

### DAT 的鉴别诊断价值

将 MCI 亚组受试者作为对照,绘制 ROC 曲线。血清中外泌体 *miR-223* 和 NLRP3 鉴别诊断 DAT 的 AUC 分别为 0.70(95%CI=50.64~0.78)和 0.79(95%CI=0.71~0.85),最佳截断值分别为 0.61 和 15.42。该最佳截断值下,血清中外泌体 *miR-223* 和 NLRP3 鉴别诊断 DAT 的灵敏度分别为 85.0%和 72.8%,特异度分别为 76.1%和 57.5%。血清中外泌体 *miR-223* 联合 NLRP3 鉴别诊断 DAT 的 AUC 为 0.81(95%CI=0.75~0.88),灵敏度和特异度分别为 70.0%和 85.0%。见图 3。

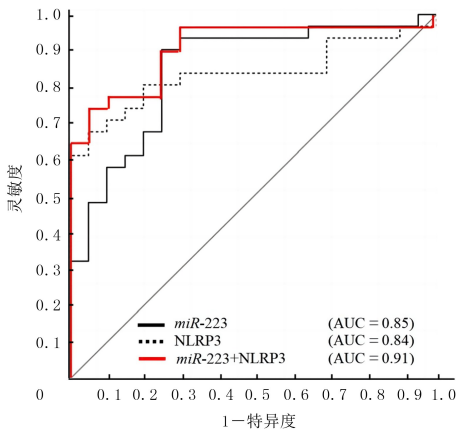


图 2 血清中外泌体 *miR-223*、NLRP3 诊断 AD 源性 MCI 的 ROC 曲线

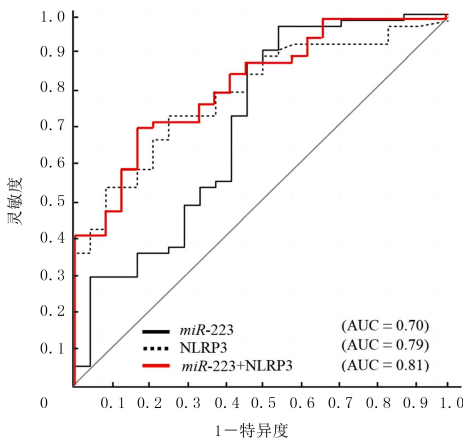


图 3 血清中外泌体 *miR-223*、NLRP3 鉴别诊断 DAT 的 ROC 曲线

### 3 讨 论

AD 属于一种不可逆转的认知功能进行性障碍综合征,受人口老龄化影响,近年来我国 AD 发病率明显上升<sup>[6]</sup>。大量研究表明,异常 miRNAs 在多种人类疾病的发生发展中起着重要作用。本研究结果显示,与对照组相比较,研究组受试者的血清中外泌体 *miR-223* 表达水平普遍降低,同时伴有血清中 NLRP3 水平升高;且与 MCI 亚组相比,DAT 亚组

受试者也存在上述变化。上述结果说明 *miR-223*/NLRP3 信号通路可能参与了 AD 的发生以及进展过程。

miRNAs 是神经系统当中大量存在的一种非编码小分子 RNA,是神经元细胞的重要功能调节因子<sup>[7-8]</sup>。众多研究在 AD 大脑组织和脑脊液中观察到了异常 miRNAs 表达,这表明不同 miRNAs 参与调节神经退行性变相关基因表达,可能是 AD 的发病机制之一<sup>[9]</sup>。miRNAs 不仅调节细胞内生物学过程,也存在于外周血外泌体中,在内分泌模式下调节其他细胞中的靶 mRNA<sup>[10]</sup>。例如 WEI 等<sup>[11]</sup>研究证实间充质干细胞衍生的外泌体 *miR-223* 通过磷酸酶张力蛋白同源物-磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B 信号通路保护神经元免于凋亡,并为 AD 治疗提供了一种潜在的靶点。在本研究中,研究组受试者血清中外泌体中 *miR-223* 表达水平较对照组下调,且 DAT 亚组受试者血清中外泌体 *miR-223* 表达水平低于 MCI 亚组,这可能是因为 *miR-223* 下调可能会干扰与神经元细胞周期相关的信号通路,从而导致与 AD 进展相关的神经元凋亡。另外,本研究的 ROC 曲线提示血清中外泌体 *miR-223* 用于 AD 患者 MCI 的早期诊断以及 DAT 的鉴别诊断,其灵敏度和特异度均较高。这些结果均证实了血清中外泌体 *miR-223* 作为 AD 诊断生物标志物的有效性。此外,血清样本相较于脑脊液样本较为简单易得,随着二代基因测序技术的发展,血清 miRNAs 检测也愈发方便准确。

神经退行性疾病与遗传易感性、蛋白质结构异常、线粒体功能障碍以及氧化应激失衡等密切相关, $\beta$ -淀粉样蛋白(A $\beta$ )沉积并激活小胶质细胞驱动脑神经炎症是 AD 主要的病理基础<sup>[12]</sup>。本研究结果显示,研究组血清中 NLRP3 表达水平普遍升高,且 DAT 亚组血清中 NLRP3 水平高于 MCI 亚组,这说明 NLRP3 是参与 AD 发生和进展的重要分子,对 AD 的识别和治疗具有一定指导意义。神经炎症是 AD 进行性神经病变的重要基础,脑组织中 NLRP3 在认知功能障碍早期即被激活,现有研究成果推测 NLRP3 炎症小体可能在 AD 的发生发展中起作用,这可能与其在小胶质细胞中被 A $\beta$  激活会引发神经炎症有关<sup>[13-15]</sup>。A $\beta$  聚集蛋白的积累以及小胶质细胞和星形胶质细胞的激活是 AD 的典型病理特征,后者可促进炎症分子的释放,上述过程都会损害神经元的结构和功能,导致偶发性记忆缺陷和认知功能障碍<sup>[16]</sup>。NLRP3 炎症小体被认为是 AD 关键及

常见的先天免疫应答物, NLRP3 炎症小体的激活是在小胶质细胞吞噬原纤维 A $\beta$  后开始的, 该过程导致溶酶体损伤, 组织蛋白酶 B 释放、半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白水解酶 1 激活和一氧化氮的释放, 进而促进 AD 病理的发展<sup>[17]</sup>。HENEKA 等<sup>[18]</sup>发现, 小胶质细胞中 NLRP3 炎症小体被 A $\beta$  激活是白细胞介素-1 $\beta$  成熟及随后炎症事件的基础, 并且推测抑制 NLRP3 炎症小体有望成为 AD 治疗的新型手段之一。

既往研究表明, NLRP3 为 *miR-223* 的重要靶点, 但 *miR-223* 并不会立即触发负反馈机制, 而是通过调节炎症因子, 到达启动机体炎症反应所需的“炎症水平”, 从而导致 NLRP3 炎症小体的激活<sup>[19]</sup>。本研究中, 研究组受试者的血清中外泌体 *miR-223* 与 NLRP3 表达水平呈负相关, 这也进一步提示了 *miR-223*/NLRP3 信号通路在 AD 中的作用机制。此外, ROC 曲线评估外泌体 *miR-223* 联合 NLRP3 诊断 AD 源性 MCI 的 AUC 为 0.91, 灵敏度及特异度分别为 89.0% 和 76.5%, 二者联合鉴别诊断 AD 患者 DAT 的 AUC 为 0.81, 灵敏度以及特异度分别为 70.0% 和 85.0%, 上述结果均表明 *miR-223* 联合 NLRP3 对 AD 具有良好的诊断效能, 且对评估该病进展具有一定意义。

综上所述, *miR-223*/NLRP3 信号通路可能参与 AD 的发生和发展, 检测血清中外泌体 *miR-223* 和 NLRP3 表达水平对于 AD 患者的早期 MCI 以及 DAT 进展具有一定的判断价值, 值得进一步深入研究。同时本文仍存在一定的局限性, 如 *miR-223* 与 NLRP3 之间的靶向调控关系, 以及两者在 AD 发生发展中的作用机制, 仍需要在细胞实验、动物实验乃至大样本临床研究中进一步验证。

**伦理批准和知情同意:** 本研究涉及的所有试验均已通过河南省职工医院伦理委员会的审核批准(文件号 L2019015)。所有试验过程均遵照《涉及人的生命科学和医学研究伦理审查办法》的条例进行。受试对象或其亲属已经签署知情同意书。

**作者声明:** 师俊亮、郝豫萍参与了研究设计; 夏源、师俊亮、戴恩云参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文, 且均声明不存在利益冲突。

## [参考文献]

[1] 汪惠琳, 徐清清, 郑国庆. 精神疾病治疗进展(四): 阿尔茨海默病[J]. 医药导报, 2017, 36(10): 1148-1152.

[2] JACK C R Jr, BENNETT D A, BLENNOW K, et al. NIA-AA research framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2018, 14(4):

535-562.

[3] 彭阳, 史伟峰. NLRs 信号转导通路在真菌感染中的作用机制[J]. 临床检验杂志, 2017, 35(7): 528-530.

[4] 李洋, 费洪新, 张晓杰. 芪苓益脑汤对阿尔茨海默病小鼠炎症小体 NOD 样受体蛋白 3 表达的影响[J]. 中国医药导报, 2019, 16(32): 14-17, 26, 181.

[5] GALVIN J E, SADOWSKY C H, NINCDS-ADRDA. Practical guidelines for the recognition and diagnosis of dementia[J]. *J Am Board Fam Med*, 2012, 25(3): 367-382.

[6] 朱琼, 陈星星. 阿尔茨海默病的流行病学调查及国内康复治疗现状分析[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2017, 39(11): 866-869.

[7] KORITZINSKY E H, STREET J M, STAR R A, et al. Quantification of exosomes[J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(7): 1587-1590.

[8] CHANG W S, WANG Y H, ZHU X T, et al. Genome-wide profiling of miRNA and mRNA expression in Alzheimer's disease[J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23: 2721-2731.

[9] SWARBRICK S, WRAGG N, GHOSH S, et al. Systematic review of miRNA as biomarkers in Alzheimer's disease[J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(9): 6156-6167.

[10] 张萍, 杨波, 蔡小玲, 等. 外泌体微小 RNA 研究进展及诊断价值[J]. 检验医学, 2019, 34(12): 1139-1144.

[11] WEI H, XU Y, CHEN Q, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomal miR-223 regulates neuronal cell apoptosis[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(4): 290-300.

[12] TIWARI S, ATLURI V, KAUSHIK A, et al. Alzheimer's disease: Pathogenesis, diagnostics, and therapeutics[J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 5541-5554.

[13] ISING C, VENEGAS C, ZHANG S S, et al. NLRP3 inflammasome activation drives tau pathology[J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 669-673.

[14] VAN-ZELLER M, DIAS D, SEBASTIÃO A M, et al. NLRP3 Inflammasome: A starring role in amyloid- $\beta$  and tau-driven pathological events in Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2021, 83(3): 939-961.

[15] KELLEY N, JELTEMA D, DUAN Y, et al. The NLRP3 inflammasome: An overview of mechanisms of activation and regulation[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13): 3328-3351.

[16] JANELIDZE S, MATTSSON N, STOMRUD E, et al. CSF biomarkers of neuroinflammation and cerebrovascular dysfunction in early Alzheimer disease[J]. *Neurology*, 2018, 91(9): e867-e877.

[17] FRIKER L L, SCHEIBLICH H, HOCHHEISER I V, et al.  $\beta$ -Amyloid clustering around ASC fibrils boosts its toxicity in microglia[J]. *Cell Rep*, 2020, 30(11): 3743-3754.

[18] HENEKA M T, KUMMER M P, STUTZ A, et al. NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice[J]. *Nature*, 2013, 493(7434): 674-678.

[19] LA-ROSA F, MANCUSO R, AGOSTINI S, et al. Pharmacological and epigenetic regulators of NLRP3 inflammasome activation in Alzheimer's disease[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2021, 14(11): 1187-1197. (本文编辑 范睿心 厉建强)