

补骨脂二氢黄酮甲醚对 A β 诱导 PC12 细胞损伤的保护作用及机制研究

杨柳, 李爽, 王业秋, 安丽凤, 李建民, 陈巧云, 黄敬文, 薛慧(黑龙江中医药大学佳木斯学院, 黑龙江 佳木斯 154007)

摘要: **目的** 探讨补骨脂二氢黄酮甲醚对 β 淀粉样蛋白(β -amyloid protein, A β)诱导 PC12 细胞损伤的保护作用及其相关机制。**方法** 采用 A β ($1.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)诱导的 PC12 细胞作为阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)细胞模型, 并以补骨脂二氢黄酮甲醚($1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、雌二醇($1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)进行干预。实验设置空白组、A β 组、补骨脂二氢黄酮甲醚组、雌二醇组。采用四甲基噻唑蓝(MTT)法检测细胞活力; 流式细胞术检测细胞凋亡率; 试剂盒检测细胞线粒体膜电位, 以及超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)活性和丙二醛(MDA)含量; 采用 Western Blot 法检测细胞中白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)蛋白表达水平。**结果** 与空白组比较, A β 组的细胞存活率、线粒体膜电位及 SOD、GSH-PX 活性明显降低($P < 0.01$), 细胞凋亡率、MDA 含量以及 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白表达水平明显升高($P < 0.01$)。与 A β 组相比, 补骨脂二氢黄酮甲醚组的细胞存活率、线粒体膜电位及 SOD、GSH-PX 活性明显升高($P < 0.01$), 细胞凋亡率、MDA 含量以及 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白表达水平明显降低($P < 0.01$)。**结论** 补骨脂二氢黄酮甲醚对 A β 诱导的 PC12 细胞损伤具有保护作用, 可能与提高其抗氧化酶活性及线粒体膜电位, 减少炎症因子分泌有关。

关键词: 阿尔茨海默病; β 淀粉样蛋白; PC12 细胞; 补骨脂二氢黄酮甲醚; 氧化应激; 炎症因子; 线粒体膜电位

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2021)01-0068-05

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.01.009

Protective Effect of Bavachinin A on PC12 Cells Injury Induced by A β and Its Mechanism

YANG Liu, LI Shuang, WANG Yeqiu, AN Lifeng, LI Jianmin, CHEN Qiaoyun, HUANG Jingwen, XUE Hui (Jiamusi college, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Jiamusi 154007 Heilongjiang, China)

Abstract: **Objective** To investigate the protective effect of bavachinin A on PC12 cell injury induced by A β and its related mechanism. **Methods** The Alzheimer's disease cell model was induced by applying A β ($1.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) in PC12 cells. After the preliminary experiment, A β ($1.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$), bavachinin A($1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) and estradiol ($1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) were selected for the subsequent experimental study. In this study, there were blank control group, A β group, bavachinin A group, estradiol group. Tetramethylthiazolium (MTT) was used to detect the viability of cells. Flow cytometry was used to detect apoptosis rate. Mitochondrial membrane potential detection kit (JC-1) was used to detect mitochondrial membrane potential. Superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and malondialdehyde (MDA) kits were used to detect the activities of antioxidant enzymes and content of MDA in cells. The expression levels of interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected by Western Blot. **Results** Compared with the blank group, the cell survival rate, SOD,

收稿日期: 2019-12-06

作者简介: 杨柳, 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 中药药效物质基础研究。Email: 419956419@qq.com。通信作者: 安丽凤, 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 中医外科临床研究。Email: 1269187258@qq.com。李建民, 男, 硕士, 主任医师, 研究方向: 中药药效物质基础研究。Email: ljm_1030@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81274035); 黑龙江中医药大学科研基金资助项目(201820); 黑龙江省中医药管理局科研项目(ZHY16-102, ZHY18-049); 黑龙江省卫生计生委科研项目(2017-578); 黑龙江省大学生创新创业训练计划项目(201910228058)。

GSH-PX, mitochondrial membrane potential and activities in group A β were decreased ($P < 0.01$), and the cell apoptosis rate, MDA content, expression levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α protein were increased ($P < 0.01$). Compared with group A β , the cell survival rate, mitochondrial membrane potential, SOD and GSH-Px activities of bavachinin A group were increased ($P < 0.01$), while the cell apoptosis rate, MDA content, IL-1 β , IL-6 and TNF- α protein expression levels were decreased ($P < 0.01$). **Conclusions** The protective effect of bavachinin A on PC12 cell damage induced by A β may be related to increasing the activity of antioxidases and mitochondrial membrane potential, reducing the secretion of inflammatory factors.

Keywords: Alzheimer's disease; β -amyloid protein; PC12 cells; bavachinin A; oxidative stress; inflammatory cytokines; mitochondrial membrane potential

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种脑部中枢神经系统病变引起的疾病,能导致记忆、认知以及精神障碍^[1]。其主要的病理特征是神经细胞外 β 淀粉样蛋白(β -amyloid protein, A β)沉积导致的 A β 聚集斑块,也会引起细胞内的神经纤维缠结,神经元死亡^[2]。AD 在现代社会老龄化不断加剧的背景下呈现逐渐增长的趋势。该疾病的发生不仅给患者带来痛苦,而且还会消耗大量的社会资源。因此,近年来 AD 越来越引起人们的关注。

补骨脂二氢黄酮甲醚是补肾中药补骨脂中的黄酮类成分,具有抗炎^[3]、抗氧化^[4]、抗菌、抗病毒^[5]、调节免疫^[6]、雌激素活性^[7]及抗 AD^[8]等多种药理作用。本课题组在前期预实验中发现,补骨脂二氢黄酮甲醚对 A β 诱导的 PC12 细胞具有保护作用,可以有效抑制细胞的凋亡。因此,本研究拟采用 A β 诱导的 PC12 细胞作为 AD 细胞模型,探讨补骨脂二氢黄酮甲醚对 PC12 细胞增殖、凋亡、线粒体膜电位,以及有关氧化指标和炎症指标的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞及其培养 PC12 细胞,购自上海中乔新舟生物科技有限公司。选用 DMEM 培养液加入 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素,在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。次日更换培养液,待细胞密度达到 80% 以上,使用胰酶消化、离心、传代,于培养瓶中继续培养。

1.2 药品及试剂 补骨脂二氢黄酮甲醚,纯度 $\geq 98\%$ (批号: 20130819),购自宝鸡市辰光生物科技有限公司;雌二醇,纯度 $\geq 98\%$ (批号: L750N46),购自北京百灵威科技有限公司。DMEM (批号: SH300022.01),购自美国 Hyclone 公司;四甲基噻唑蓝(MTT,批号: 021005),购自美国 Sigma 公司;线

粒体膜电位检测试剂盒(JC-1)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)检测试剂盒(批号: 20151214)、超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒(批号: A001-1)、丙二醛(MDA)检测试剂盒,均购自南京建成生物工程研究所;兔抗 β -actin 多克隆抗体(批号: AG07197903S)、兔抗白细胞介素(IL)-1 β 多克隆抗体(批号: AG10247524S)、兔抗 IL-6 多克隆抗体(批号: AG01161255S)、兔抗肿瘤坏死因子(TNF)- α 多克隆抗体(批号: AG09074515S);羊抗兔 IgG/HRP (批号: AG03297461S)、A β_{25-35} (批号: Y-0044),均购自北京博奥森生物技术有限公司。

1.3 仪器 IX-71-21PH 型倒置显微镜,日本 Olympus 公司;HF90 型 CO₂ 培养箱,上海智城公司;MK3 型酶标仪,上海热电仪器有限公司;HPC-150 型流式细胞仪,加拿大 Handyem 公司;Mini-PROTEAN Tetra Cell 型电泳仪、Trans-Blot SD Cell 型半干转膜仪,美国 Bio-Rad 公司;Smart Chemi500 型化学发光成像仪,北京赛智创业科技公司;MS-500A 型半自动生化分析仪,四川美生科技有限公司。

1.4 溶液配制

1.4.1 补骨脂二氢黄酮甲醚溶液 称取补骨脂二氢黄酮甲醚粉末 3.68 mg,加入 10 μ L DMSO 溶解药物,再加入 DMEM 基础培养基定容至 10 mL,浓度为 10^{-6} mol·L⁻¹。

1.4.2 A β 溶液 称取 A β_{25-35} 粉末 5 mg,加入 30 μ L DMSO 使其溶解,再加入 31.3 mL 灭菌水,配制成 1.5×10^{-4} mol·L⁻¹ 溶液;然后,置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中,待 1 周后使其变成凝聚态;最后,置于 -20 °C 条件下,使用时稀释为 20 μ mol·L⁻¹。

1.4.3 雌二醇溶液 称取雌二醇粉末 2.18 mg,加入 20 μ L DMSO 使其溶解,再加入 20 mL DMEM 培养

液配制成 $4 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液；以 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤除菌，然后按照浓度梯度进行稀释，最终为 $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ， -20°C 条件下储存。

1.4.4 JC-1 染色工作液 取 $50 \mu\text{L}$ JC-1 ($200\times$) 加入 8 mL 纯水，混匀，随后倒入 2 mL JC-1 染色缓冲液 ($5\times$)，再混匀，备用。

1.4.5 JC-1 染色缓冲液 ($1\times$) 取 3 mL JC-1 染色工作液 ($5\times$) 加入 12 mL 纯水，混匀，将其置于冰浴中备用。

1.5 MTT 法检测细胞活力 取生长密度达到 80% 以上的 PC12 细胞，接种于 96 孔板中，培养 24 h 后，参照文献[7]，将其分为 4 组：空白组 (加入新鲜培养液)、 $\text{A}\beta$ 组 (加入 $1.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{A}\beta$ 溶液)、补骨脂二氢黄酮甲醚组 ($10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 补骨脂二氢黄酮甲醚溶液 + $1.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{A}\beta$ 溶液)、雌二醇组 ($10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 雌二醇溶液 + $1.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{A}\beta$ 溶液)。其中，补骨脂二氢黄酮甲醚组和雌二醇组分别先加入 $10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 补骨脂二氢黄酮甲醚溶液和 $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 雌二醇溶液， 2 h 后再分别加入 $\text{A}\beta$ ；继续培养 24 h 后，加入 $20 \mu\text{L}$ MTT 溶液 ($5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)；待 4 h 后，加入 $150 \mu\text{L}$ DMSO，于摇床震荡 10 min ，使用酶标仪检测各组细胞的光密度 (OD) 值。计算：细胞存活率 (%) = 给药组 OD_{490} / 空白组 $\text{OD}_{490} \times 100\%$ 。

1.6 流式细胞术检测细胞凋亡率 细胞分组、处理同“1.5”项。消化、离心后收集已培养好的各组细胞，使用 1 mL PBS 重悬并计数；取 10^5 个细胞的重悬液，离心 ($1\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 5 min) 后移除上清；按照凋亡试剂盒说明书步骤操作，分别加入 $100 \mu\text{L}$ $1\times$ Binding buffer、 $5 \mu\text{L}$ Annexin V-FITC、 $5 \mu\text{L}$ PI，室温下反应 10 min ；每个样品中各加入 $400 \mu\text{L}$ $1\times$ Binding buffer 混匀，筛网过滤，采用流式细胞仪检测。

1.7 细胞线粒体膜电位检测 细胞分组、处理同“1.5”项。收集已培养好的各组细胞，分别置于 1.5 mL 离心管中；参照文献[9]操作，每管中分别加入 0.5 mL 培养液及 0.5 mL JC-1 染色工作液，混匀，于 37°C 培养箱中孵育 20 min ；加入 1 mL JC-1 染色缓冲液 ($1\times$) 重悬，于 4°C 、 $600 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min ；弃上清，重复 2 次；再加入 1 mL JC-1 染色缓冲液 ($1\times$) 重悬，于流式细胞仪检测。

1.8 SOD、GSH-PX 活性及 MDA 含量检测 细胞分组、处理同“1.5”项，收集已培养好的各组细胞，加入胰酶消化、离心，弃去上清液，将含 1% PMSF 的裂解液添加到各离心管中；采用 BCA 蛋白

定量试剂盒测定蛋白浓度；按照 SOD、GSH-PX、MDA 检测试剂盒说明书步骤操作。

1.9 Western Blot 法检测 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白表达水平 细胞分组、处理同“1.5”项。收集已培养好的各组细胞，加入胰酶消化、离心，收集细胞；加入细胞裂解液 (RIPA : PMSF = 99 : 1) 进行细胞裂解，采用 BCA 蛋白定量试剂盒测各组蛋白浓度。取 $10 \mu\text{L}$ 样品上样，经聚丙烯酰胺电泳 100 min 后，转膜 35 min ，将 PVDF 膜置于脱脂奶粉中封闭 2 h ；加入一抗 ($1 : 300$) 孵育过夜后，取出洗涤；加入二抗 ($1 : 10\,000$)，常温孵育 1 h ，洗膜 3 次；加入 ECL 发光液，于化学发光成像仪内成像，并获得各条带的灰度值。将目的条带灰度值与内参 (β -actin) 灰度值的比值作为目的蛋白的表达水平。

1.10 统计学处理方法 采用 SPSS 23.0 统计软件进行数据分析；计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示；多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA)，两两比较采用 LSD 检验；以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 补骨脂二氢黄酮甲醚对 $\text{A}\beta$ 诱导 PC12 细胞活力的影响 结果见表 1。与空白组比较， $\text{A}\beta$ 组的细胞活力明显下降 ($P < 0.01$)；与 $\text{A}\beta$ 组比较，补骨脂二氢黄酮甲醚组、雌二醇组的细胞活力明显上升 ($P < 0.01$)。

表 1 补骨脂二氢黄酮甲醚对 $\text{A}\beta$ 诱导 PC12 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 1 Effect of bavachinin A on the survival rate of PC12 cells induced by $\text{A}\beta$ ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	浓度 / ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	光密度 (OD) 值	细胞存活率 / %
空白组	-	0.479 ± 0.006	100.00
$\text{A}\beta$ 组	1.5×10^{-4}	$0.302 \pm 0.007^{**}$	63.04
补骨脂二氢黄酮甲醚组	10^{-6}	$0.459 \pm 0.003^{**}$	95.82
雌二醇组	10^{-5}	$0.465 \pm 0.005^{**}$	97.07

注：与空白组比较， $^{**}P < 0.01$ ；与 $\text{A}\beta$ 组比较， $^{**}P < 0.01$

2.2 补骨脂二氢黄酮甲醚对 $\text{A}\beta$ 诱导 PC12 细胞凋亡的影响 结果见表 2。与空白组比较， $\text{A}\beta$ 组的细胞凋亡率明显上升 ($P < 0.01$)；与 $\text{A}\beta$ 组比较，补骨脂二氢黄酮甲醚组、雌二醇组的细胞凋亡率明显下降 ($P < 0.01$)。

2.3 补骨脂二氢黄酮甲醚对 $\text{A}\beta$ 诱导 PC12 细胞线粒体膜电位的影响 结果见表 3。与空白组比较，

表 2 补骨脂二氢黄酮甲醚对 A β 诱导 PC12 细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 2 Effects of bavachinin A on PC12 cell apoptosis induced by A β ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	浓度/(mol·L ⁻¹)	细胞凋亡率/%
空白组	-	5.49 ± 0.32
A β 组	1.5×10 ⁻⁴	29.43 ± 0.95 ^{##}
补骨脂二氢黄酮甲醚组	10 ⁻⁶	7.63 ± 0.47 ^{**}
雌二醇组	10 ⁻⁵	8.73 ± 0.87 ^{**}

注: 与空白组比较, ^{##} $P < 0.01$; 与 A β 组比较, ^{**} $P < 0.01$

表 3 补骨脂二氢黄酮甲醚对 A β 诱导 PC12 细胞线粒体膜电位的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 3 Effects of bavachinin A on mitochondrial membrane potential induced by A β in PC12 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	浓度/(mol·L ⁻¹)	线粒体膜电位
空白组	-	29.84 ± 0.36
A β 组	1.5×10 ⁻⁴	7.78 ± 5.94 ^{##}
补骨脂二氢黄酮甲醚组	10 ⁻⁶	27.69 ± 5.08 ^{**}
雌二醇组	10 ⁻⁵	28.97 ± 8.19 ^{**}

注: 与空白组比较, ^{##} $P < 0.01$; 与 A β 组比较, ^{**} $P < 0.01$

A β 组的细胞线粒体膜电位明显降低 ($P < 0.01$); 与 A β 组比较, 补骨脂二氢黄酮甲醚组、雌二醇组的细胞线粒体膜电位明显升高 ($P < 0.01$)。

2.4 补骨脂二氢黄酮甲醚对 A β 诱导 PC12 细胞抗氧化酶活性的影响 结果见表 4。与空白组比较, A β 组细胞的 SOD、GSH-PX 活性明显降低 ($P < 0.01$), MDA 含量明显升高 ($P < 0.01$); 与 A β 组比较, 补骨脂二氢黄酮甲醚组、雌二醇组细胞的 SOD、GSH-PX 活性明显升高 ($P < 0.01$), MDA 含量明显降低 ($P < 0.01$)。

表 4 补骨脂二氢黄酮甲醚对 A β 诱导 PC12 细胞抗氧化酶活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

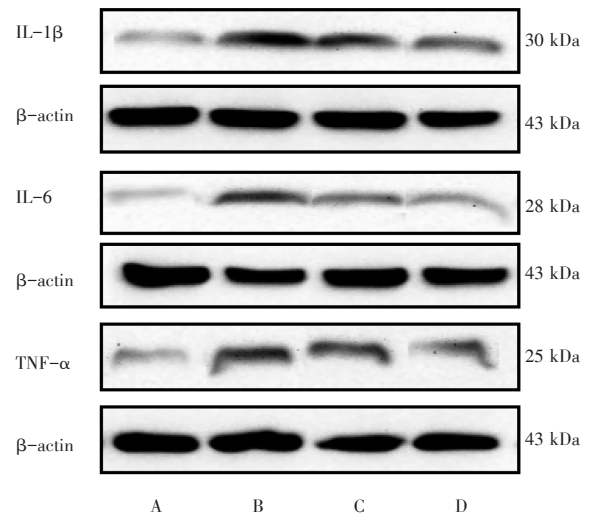
Table 4 Effect of bavachinin A on antioxidant enzyme activity in PC12 cells induced by A β ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	浓度/(mol·L ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	GSH-PX/(U·mg ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)
空白组	-	66.52 ± 1.12	5.952 ± 0.684	1.537 ± 0.243
A β 组	1.5×10 ⁻⁴	36.81 ± 2.20 ^{##}	2.753 ± 0.645 ^{##}	3.114 ± 0.502 ^{##}
补骨脂二氢黄酮甲醚组	10 ⁻⁶	54.31 ± 1.41 ^{**}	4.387 ± 0.374 ^{**}	2.341 ± 0.992 ^{**}
雌二醇组	10 ⁻⁵	57.30 ± 2.80 ^{**}	4.487 ± 0.391 ^{**}	2.121 ± 0.690 ^{**}

注: 与空白组比较, ^{##} $P < 0.01$; 与 A β 组比较, ^{**} $P < 0.01$

2.5 补骨脂二氢黄酮甲醚对 A β 诱导的 PC12 细胞 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白表达的影响 结果见图 1、表 5。与空白组比较, A β 组细胞的 IL-1 β 、IL-6、

TNF- α 蛋白表达明显上调 ($P < 0.01$); 与 A β 组比较, 补骨脂二氢黄酮甲醚组、雌二醇组细胞的 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白表达均明显下调 ($P < 0.01$)。



注: A. 空白组; B. A β 组; C. 补骨脂二氢黄酮甲醚组; D. 雌二醇组

图 1 补骨脂二氢黄酮甲醚对 A β 诱导的 PC12 细胞 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白表达水平的影响

Figure 1 Effect of bavachinin A on the expression levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in PC12 cells induced by A β

表 5 补骨脂二氢黄酮甲醚对 A β 诱导的 PC12 细胞 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 5 Effects of bavachinin A on the expression levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in PC12 cells induced by A β ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	浓度/(mol·L ⁻¹)	IL-1 β /β-actin	IL-6/β-actin	TNF- α /β-actin
空白组	-	0.220 ± 0.097	0.251 ± 0.037	0.343 ± 0.049
A β 组	1.5×10 ⁻⁴	0.645 ± 0.065 ^{##}	0.568 ± 0.053 ^{##}	0.923 ± 0.047 ^{##}
补骨脂二氢黄酮甲醚组	10 ⁻⁶	0.447 ± 0.025 ^{**}	0.433 ± 0.025 ^{**}	0.512 ± 0.053 ^{**}
雌二醇组	10 ⁻⁵	0.420 ± 0.053 ^{**}	0.419 ± 0.054 ^{**}	0.463 ± 0.035 ^{**}

注: 与空白组比较, ^{##} $P < 0.01$; 与 A β 组比较, ^{**} $P < 0.01$

3 讨论

目前, 阿尔茨海默病(AD)的发病机制有多种学说, 其中氧化应激和炎症对于 AD 发病机制的研究备受关注^[10-12]。大量研究^[13]证实, 氧化应激是 AD 发病的重要机制之一, 贯穿于 AD 始终。脑组织特别容易受到氧化应激和活性氧(ROS)的损伤, 体内氧化与抗氧化的平衡决定 AD 的发生发展。超氧化物歧化酶(SOD)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)是生物体内至关重要的氧自由基清除剂, 体内 SOD 及 GSH-PX 活性的高低可反映机体清除自由基的能力^[14]。丙二醛(MDA)是氧化应激反应中脂质过氧化的产物, 其含量可间接反应 AD 病理状态下脂质过氧化水平的高

低,反映组织损伤程度^[15]。在AD的病理损伤过程中,还有大量的炎症因子参与,其中白细胞介素1 β (IL-1 β)、白细胞介素6(IL-6)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)可以导致白细胞的聚积与活化,扩大炎症级联反应并诱导神经细胞凋亡^[16]。研究^[17]还认为,线粒体膜电位崩解是细胞凋亡的特异性标志,当线粒体膜受到损伤后,膜电位消失。PC12细胞株来源于移植的大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤单克隆的细胞株,具有存活时间长、容易获得,以及呈现神经元样的功能特点,广泛应用于体外进行神经生物、神经化学及神经系统疾病的研究,故本实验选择PC12细胞进行研究。

本研究结果表明,与空白组相比,模型组细胞的MDA、IL-1、IL-6、TNF- α 含量均明显升高,而SOD、GSH-PX活性和线粒体膜电位显著降低,进一步说明,氧化应激、炎症反应与AD密切相关,可能是AD的发病机制之一。而补骨脂二氢黄酮甲醚能有效地抑制A β 诱导的PC12细胞损伤,其可能通过抗氧化、抗炎反应、抑制细胞凋亡及提高线粒体膜电位的作用,发挥对神经细胞的保护作用。

参考文献:

- [1] 任丽玲,汪子琪,王江红,等.阿尔茨海默病患者的护理人员负担与倦怠现状及应对策略[J].西部医学,2019,31(8):1298-1301.
- [2] 毕丹蕾,文朗,熊伟,等.阿尔茨海默病的可能药物靶点和临床治疗研究进展[J].中国药理学与毒理学杂志,2015,29(4):507-535.
- [3] MATSUDA H, KIYOHARA S, SUGIMOTO S, et al. Bioactive constituents from Chinese natural medicines.XXXIII.Inhibitors from the seeds of psoralea corylifolia on production of nitric oxide in lipopolysaccharide-activated macrophages[J]. Biol Pharm Bull, 2009, 32(1): 147-149.
- [4] 聂丽娟,李红梅,郭星,等.补骨脂抗氧化及抗肿瘤活性成分的研究[J].蚌埠医学院学报,2015,40(11):1461-1464.
- [5] KIM D W, SEO K H, CURTIS- LONG M J, et al. Phenolic phytochemical displaying SARS-Co V papain-like protease inhibition from the seeds of Psoralea corylifolia[J]. J Enzyme Inhib Med Chem, 2014, 29(1): 59-63.
- [6] CHEN X, SHEN Y, LIANG Q, et al. Effect of Bavachinin and its derivatives on T cell differentiation[J]. Int Immunopharmacol, 2014, 19(2): 399-404.
- [7] 刘国良,于英君,姚远,等.补骨脂二氢黄酮甲醚对A375细胞黑色素合成及ER/MAPK信号通路的影响[J].中国医药导报,2015,12(36):4-8.
- [8] CHEN X, YANG Y, ZHANG Y. Isobavachalcone and bavachinin from psoraleae fructus modulate A β 42 aggregation process through different mechanisms *in vitro*[J]. FEBS Lett, 2013, 587(18): 2930-2935.
- [9] 李伟,刘国杰,邢晓越,等.tBHQ对NaAsO₂诱导HaCaT细胞凋亡的拮抗作用[J].中国地方病防治杂志,2012,27(6):408-412.
- [10] ZAMOLODCHIKOV D, STRICKL S. A possible new role for A β in vascular and inflammatory dysfunction in Alzheimer's disease[J]. Thromb Res, 2016, 141(2): 59-61.
- [11] WOODLING N S, COLAS D, WANG Q, et al. See comment in PubMed Commons below (Epub ahead of print) Cyclooxygenase inhibition targets neurons to prevent early behavioural decline in Alzheimer's disease model mice[J]. Brain, 2016, 13: 117-125.
- [12] 苏国华,刘立海,陈慧丽,等.黄芪多糖对AD大鼠模型氧化应激反应与Wnt信号通路的影响[J].中国煤炭工业医学杂志,2020,23(1):21-26.
- [13] 尉海洋,陈松,徐政,等.丝素肽对A β 25-35致SH-SY5Y细胞损伤的保护作用及机制研究[J].中国药科大学学报,2017,48(5):609-613.
- [14] 杨硕,苏畅,张永亮,等.急性低压缺氧大鼠脑组织中细胞红蛋白、MDA、SOD、CAT的表达变化[J].山东医药,2016,56(13):30-32.
- [15] 缪建春,曾繁勇,邱双凤,等.黄芪、灯盏花素复方制剂对阿尔茨海默病大鼠记忆能力及血、脑组织中超氧化物歧化酶、过氧化脂质和乳酸脱氢酶的影响[J].中国药师,2017,20(6):1046-1048.
- [16] 李晓琼,何玲玲,刘晓蕾,等.加味不忘散对阿尔茨海默病模型大鼠海马神经元细胞凋亡及炎症反应的影响[J].中国中医基础医学杂志,2019,25(10):1362-1365.
- [17] SUGAYA K. Neuroreplacement therapy and stem cell biology under disease conditions[J]. Cell Mol Life Sci, 2003, 60(9): 1891-902.

(编辑:邹元平)