

·基础研究·

RAGE-STAT3 通路介导帕金森模型纹状体神经元线粒体损伤

郭 威, 田滕梓, 朱耀峰
(吉首大学医学院医学研究中心, 吉首 湖南 416000)

摘 要:【目的】探讨晚期糖基化终末产物受体(RAGE)-信号传导和转录激活因子3(STAT3)信号通路介导递质剥夺诱导纹状体/基质神经元线粒体损伤的分子机制。【方法】使用6-OHDA诱导的多巴胺剥夺帕金森病(PD)大鼠模型,予以RAGE阻滞剂FPS-ZM1处理。通过免疫组织化学、透射电镜(TEM)、蛋白质免疫印迹(Western blot)和qRT-PCR等技术,观测纹状体/基质微环路中RAGE表达、STAT3分子的变化及线粒体超微结构。【结果】PD模型组纹状体/基质组内RAGE阳性结构密度显著高于对照组($P<0.05$),Western blot显示RAGE蛋白表达水平显著上调。免疫组化和荧光双标显示STAT3在纹状体神经元中广泛表达,神经元(NeuN)-STAT3双标记细胞在PD模型组显著增多($P<0.05$);Western blot和qRT-PCR均证实PD模型组STAT3蛋白及mRNA水平显著升高($P<0.05$)。TEM显示PD模型组神经元线粒体密度显著降低($P<0.05$),线粒体截面积增大($P<0.05$),线粒体嵴数量减少($P<0.05$),伴有嵴膜断裂、外膜破损等病理改变,然而注射FPS-ZM1可逆转这些变化。【结论】RAGE信号通路关键位点转录因子STAT3参与纹状体/基质组神经元线粒体结构紊乱的病理机制,纹状体/基质组为整体探查纹状体神经元线粒体损伤及PD的发病机制研究提供了新的靶点。

关键词:帕金森病;晚期糖基化终末产物受体;信号转导与转录激活因子3;纹状体;线粒体;多巴胺

中图分类号:R742.5

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2026)04-0681-09

DOI:10.11714/jysu.med.YX20260055

Mechanism of RAGE-STAT3 Pathway-mediated Mitochondrial Injury in Striatum Neurons of Parkinson's Disease Model

GUO Wei, TIAN Tengzi, ZHU Yaofeng
(Institute of Medicine, College of Medicine, Jishou University, Jishou 416000, China)
Correspondence to: ZHU Yaofeng; E-mail: zhuyaofeng@jsdxxy1.wecom.work

Abstract:【Objective】To investigate the molecular mechanisms by which the receptor for advanced glycation end products (RAGE)-signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signaling pathway mediates mitochondrial injury in striosome/matrix compartment neurons under dopaminergic depletion in Parkinson's disease (PD).【Methods】A 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-induced rat model of PD was established and treated with the RAGE inhibitor FPS-ZM1. Immunohistochemistry, double immunofluorescence staining, transmission electron microscopy (TEM), Western blotting, and quantitative real-time PCR (qRT-PCR) were performed to evaluate RAGE and STAT3 expression as well as mitochondrial ultrastructure alterations in the striosome/matrix compartment.【Results】The density of RAGE-positive structures and the protein expression level of RAGE in the striosome/matrix compartment were significantly increased in PD rats compared with controls ($P<0.05$). Immunohistochemical and double immunofluorescence analyses demonstrated widespread STAT3 expression in striatal neurons, while the number of NeuN/STAT3 double-positive cells was

收稿日期:2026-04-08

录用日期:2026-07-09

基金项目:国家自然科学基金(82260264);湖南省自然科学基金(2025JJ50707);湖南省教育厅重点项目(23A0397)

作者简介:郭威,第一作者,研究方向:神经退行性疾病的分子机制,E-mail: 1585873881@qq.com;田滕梓,共同第一作者,E-mail: 2455323429@qq.com;朱耀峰,通信作者,副教授,硕士生导师,研究方向:神经解剖学,E-mail: zhuyaofeng@jsdxxy1.wecom.work

significantly elevated in the PD group ($P<0.05$). Western blotting and qRT-PCR further confirmed significant upregulation of STAT3 protein and mRNA expression in PD rats ($P<0.05$). TEM analysis revealed marked mitochondrial abnormalities in PD neurons, including reduced mitochondrial density, enlarged mitochondrial area, decreased cristae number, cristae membrane disruption, and outer membrane damage (all $P<0.05$). Notably, FPS-ZM1 treatment partially reversed these mitochondrial ultrastructural alterations.【Conclusion】 Activation of the RAGE-STAT3 signaling pathway contributes to mitochondrial structural disruption in striosome/matrix compartment neurons in PD. These findings suggest that the striosome/matrix compartment may represent a novel pathological target for investigating mitochondrial dysfunction and neurodegeneration in PD.

Key words: Parkinson's disease; receptor for advanced glycation end products; signal transducer and activator of transcription 3; striosomes; mitochondria; dopamine

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2026, 47(4):681-689]

纹状小体/基质的神经递质系统在皮质-丘脑-基底神经节回路中起中心作用,是多种运动和行为障碍以及药物成瘾的基础。纹状体损伤导致的神经环路失衡是帕金森病(Parkinson's disease, PD)发生的关键环节。因此,探讨PD的发病机制,寻找和优化治疗方案,仍然是PD防治研究的重点。

研究证实,纹状体机能障碍是导致PD患者和模型动物出现运动障碍和神经精神紊乱的主要原因;同时研究发现纹状体神经元呈现不同程度的损伤,以及在此基础上发生的神经微环路失衡。但是,纹状小体/基质神经微环路以及PD病理过程中的结构和功能重塑尚不明确。本研究旨在挖掘神经元(neuron, NeuN)在纹状小体/基质组构介观水平的微环路作用机制,为PD的防治提供新的靶点。纹状体是不均匀的、异质性的神经化学组织,可以分化为神经化学上离散的纹状小体(striosomes)和基质(matrix)^[1-4]。纹状小体参与大脑皮质和边缘系统的神经环路调节及神经精神活动,其损害会导致神经认知机能障碍,涉及PD患者的非运动症状。基质参与皮质感觉运动环路以调节躯体运动,该区域受损表现为躯体运动障碍,与PD患者的运动症状密切相关。纹状小体/基质组构与纹状体一直接通路和纹状体一间接通路神经元的对应关系目前仍然存在争议,但无论是在遗传特征上神经元的分类还是神经化学上纹状体的分区,均在正常生理机能和临床病理机制方面具有极其重要的意义。

最新的研究和新的实验工具表明纹状小体和基质之间的区别对纹状体突触功能和微环路有明显的影响^[5]。PD病理过程中纹状小体和基质的中间神经元表现出不同的损伤敏感程度^[6-7]。有研究

表明,纹状体神经元损伤敏感程度不同有多种因素,如递质失衡、脑内慢性炎症反应、氧化应激、线粒体功能障碍等^[8]。我们研究表明,晚期糖基化终末产物受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)在PD模型大鼠纹状体表达增高,尤其是纹状小体/基质组构明显增加。这提示我们,RAGE是PD相关的细胞死亡通路中的一种,探查RAGE分子与纹状体神经细胞之间的相互作用是进行有效神经保护的关键靶点。RAGE的激活及其调控的下游信号转导共同决定了纹状小体/基质组构的神经细胞命运,进而影响突触连接的重塑和神经环路的失衡。因此,将纹状小体/基质组构作为一个整体来探查纹状体神经微环路的机能,研究RAGE信号通路上游配体S100B钙结合蛋白(S100 calcium binding protein B, S100B)、高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)和下游关键位点转录因子包括核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)、信号转导和转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、胱天蛋白酶-3(cysteiny aspartate specific proteinase-3, Caspase-3)参与纹状小体/基质组构神经微环路的机制,具有重要意义。多巴胺(dopamine, DA)剥夺的病理过程中,STAT3参与线粒体损伤的关系还未明确,因此本研究重点探究STAT3的表达变化,其他转录因子将在后续的研究中探查。

1 材料与方法

1.1 实验材料

动物:Hsd: Sprague Dawley SD品系, Hsd: SD

(Envigo)来源,雄性大鼠48只(8周龄,200~250 g)医学实验动物2级,购自中山大学实验动物中心。吉首大学伦理委员会批准了所有大鼠护理和处理程序(编号:JSDX-2022-0018)。本研究严格遵循《实验动物护理和使用指南》进行实验操作。大鼠每笼5只,可自由获取食物和水,饲养环境温度为 $(22\pm 0.5)^{\circ}\text{C}$,相对湿度为40%~70%,并遵循12 h光/暗循环。所有手术过程均使用戊巴比妥钠(50 mg/kg,腹腔注射)作为麻醉剂。

试剂:6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA; Sigma, H116)、四氧化锇(Ted Pella PELCO, 18456)、PELCO Eponate 12™试剂盒(Ted Pella, 18010)、ABC-HRP试剂盒(VECTOR, PK-8200)、兔抗RAGE(Abcam, ab3611)、小鼠抗NeuN(Millipore, MAB377)、兔抗STAT3(Cell Signaling Technology, 8768S)、羊抗兔IgG(Thermo Fisher Scientific, A32740)、PCR试剂盒(碧云天, D7232)、4-氯-N-环己基-N-(苯基甲基)苯甲酰胺(FPS-ZM1, Sigma, 553030)。

仪器:脑立体定位仪(Stoelting, Kopf)、LKB超薄切片机(Leica, EM UC6)、透射电镜(FEI, Tecnai G2 Spirit Twin)、化学发光成像分析系统(GE, ImageQuant Las6000mini)、实时荧光定量PCR系统(ABI, PRISM 7700)、激光扫描共聚焦显微镜(Olympus, FV3000)。

1.2 实验分组

48只实验大鼠被随机分为3组:①PD模型组($n=16$),向内侧前脑束(medial forebrain bundle, MFB)注射8 μL 6-OHDA溶液(浓度2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$);②对照组($n=16$),注射等体积含抗坏血酸的生理盐水至MFB的同一位点;③6-OHDA+FZM1组($n=16$),建模后予以RAGE阻滞剂4-氯-N-环己基-N-(苯基甲基)苯甲酰胺(FPS-ZM1)处理,腹腔注射(1 mg/kg/d, 2 mL)连续1周。术后4周,对动物进行腹腔麻醉(戊巴比妥钠, 50 mg/kg腹腔注射),用40 g/L多聚甲醛灌注,收集固定组织或新鲜组织用于Western blot和免疫组织化学实验。

1.3 PD模型构建

6-OHDA诱导的DA剥夺是常用的PD造模方法^[9]。使用30 g/L戊巴比妥钠(50 mg/kg腹腔注射)对实验大鼠进行深度麻醉后,固定在Kopf脑立体定位仪上(Stoelting, USA)。依据Paxinos著《The Rat Brain》图谱选定在右侧MFB注射6-OHDA(浓

度为2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$)溶液8 μL 。注射位点:前囟-4.2 mm,中线-1.8 mm,硬膜下-8.1 mm。分2次间断注射,每次注射4 μL ,每次停针5 min,注射完毕留针15 min,缓慢退针。6-OHDA单侧损毁MFB后,通过阿扑吗啡诱导旋转试验验证模型成功。

1.4 透射电镜检测纹状小体/基质超微结构

造模术后4周,用于电镜检测的大鼠(每组3只)按照前述方法进行灌注固定,但固定液中额外添加质量分数0.6%戊二醛。快速取出全脑,置于含40 g/L多聚甲醛和质量分数15%饱和苦味酸的0.1 mol/L磷酸缓冲液(phosphate buffer, PB)中,4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下固定过夜;随后使用振动切片机切取50 μm 厚度的脑切片。每只动物选取5张脑切片用于电镜分析^[10]。

处理后的切片经0.1 mol/L、pH 7.2的二甲胍酸钠缓冲液漂洗,再使用质量分数2%四氧化锇后固定1 h;经梯度乙醇脱水后,用质量分数1%乙酸铀的无水乙醇溶液浸染,再采用Eponate 12树脂进行水平包埋。所有切片先在光镜下观察,从切片上切取背外侧纹状小体/基质区域,黏合至树脂块顶端。使用LKB超薄切片机将切片置于载网,并用质量分数0.4%柠檬酸铅—4.0%乙酸铀双染色,采用透射电镜观察并采集图像。

1.5 免疫组织化学检测纹状小体/基质RAGE和STAT3表达

ABC法:选取大鼠(每组5只)脑切片进行预处理:3 mL/L H_2O_2 (0.1 mol/L PB稀释, pH 7.4),室温孵育30 min;兔抗RAGE(1:400)抗体稀释剂Buffer(5 g/L BSA和体积分数0.3% Triton溶于PB中),4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育24 h;相应的羊抗兔Bio-IgG室温孵育3 h;按试剂盒说明加入ABC复合物室温孵育2 h;5 g/L DAB+1 mL/L H_2O_2 显色。各步骤之间用0.1 mol/L PB(pH 7.4)洗3次,每次5 min。显色之后裱片,梯度酒精脱水、二甲苯透明、中性树脂封片,显微镜下观察并拍照。阴性对照为一抗孵育时不加入相应抗体,其余步骤相同。

荧光双标法:预处理同上;一标一抗采用小鼠单克隆抗NeuN抗体(1:800),4 $^{\circ}\text{C}$ 放置24 h;一标二抗采用罗丹明标记的羊抗小鼠IgG(1:400),室温避光孵育2 h;二标一抗采用兔抗STAT3(1:200),4 $^{\circ}\text{C}$ 放置24 h;二标二抗采用荧光标记的羊抗兔IgG(1:400),室温避光孵育2 h。各步骤之间用0.1 mol/L PB(pH 7.4)洗3次,每次3 min;裱片后防荧光淬灭

剂封片,全自动荧光正立显微镜采集图像。

1.6 Western blot检测 RAGE 和 STAT3 蛋白表达

各组大鼠(每组5只)30 g/L戊巴比妥钠(50 mg/kg腹腔注射)麻醉后断头,冰上快速取出纹状体,制取蛋白样品。取等量样品进行电泳、转膜、封闭后,根据各蛋白的分子量取相应位置的PVDF膜,分别加入兔抗 RAGE(1:1 000)、兔抗 STAT3(1:200)抗体4℃孵育过夜,TBST清洗3次,每次10 min,加入相应的HRP标记的羊抗兔 IgG(1:5 000)室温孵育2 h,TBST清洗3次,每次10 min;然后进行曝光并用图像分析软件处理分析结果。

1.7 qRT-PCR检测 STAT3 mRNA 表达

大鼠(每组3只)使用RNA提取试剂盒提取总RNA,使用试剂盒进行cDNA制备,最后采用实时荧光定量PCR检测STAT3的相对表达量。引物序列如下:STAT3正向引物5'-TTAACATTCTGGGCACGAACA-3',STAT3反向引物5'-TGACAATCAAGGAGGCATCAC-3'; β -actin正向引物5'-GAACCCTAAGGCCAAC-3', β -actin反向引物5'-TGTCACGCACGATTTCC-3'。以 β -actin作为内参基因,使用2^{- $\Delta\Delta$ CT}方法测定基因相对表达量,所有样品一式三份运行。

1.8 统计学处理

用于免疫组织化学染色的大鼠,每组中各个大鼠均选取5张脑片进行统计计数,在每个测量区域内随机选取5个不重叠的0.01 mm²大小的正方形进行细胞计数。电镜数据的分析与定量均在数字化电镜图像上完成:每张图像选取5个互不重叠、面积为10 μ m²的视野,统计每10 μ m²内线粒体的平均周长、截面积和嵴数,每只动物基于30张电镜图像完成分析^[11]。所有数据均采用GraphPad Prism 10.6.0软件对数据进行统计分析。实验结果以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,符合正态分布的两组间比较采用 t 检验,数据采用单因素方差分析(ANOVA)模型配合Tukey多重比较(One-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons)进行组间差异显著性判定, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 DA剥夺后纹状小体/基质 RAGE 表达增高

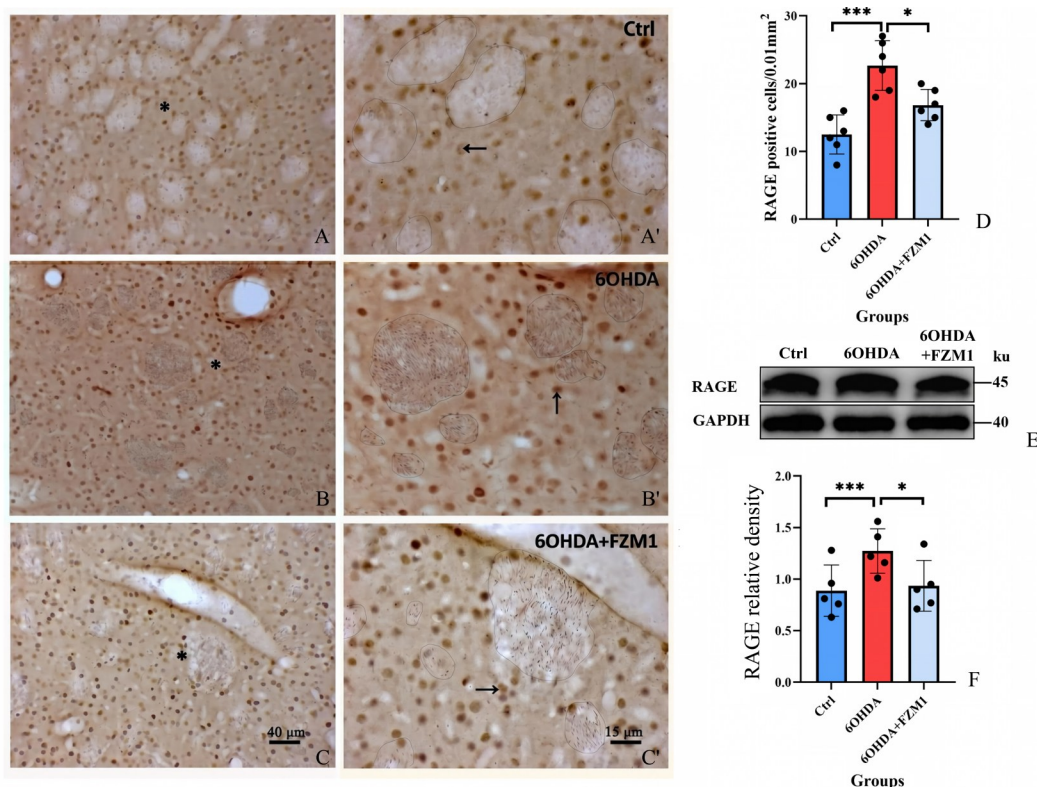
RAGE作为一种多模态跨膜机能蛋白,其与多种配体作用调节神经元的生理机能,近来研究证实

RAGE明显牵涉到PD病理过程。免疫组织化学探查结果显示,正常大鼠纹状体可探查到大量均匀分布的RAGE阳性细胞,尤其是在纹状小体/基质结构中可见RAGE阳性标记,纹状小体区域以细线圈标示(图1A,A')。PD模型组纹状小体/基质结构内RAGE阳性结构的数量明显高于对照组,阳性细胞密度增大、染色加深(图1B,B'),而FPS-ZM1处理后6-OHDA+FPS-ZM1组的上述表现有所减轻(图1C,C')。统计比较结果显示,PD模型组纹状小体/基质结构内RAGE阳性细胞密度[(22.7 $\pm$ 1.5)/0.01 mm², $t=15.1$, $P=0.0001$]显著高于对照组[(12.5 $\pm$ 1.2)/0.01 mm², $t=10.6$, $P<0.001$],但FPS-ZM1处理后6-OHDA+FPS-ZM1组[(16.8 $\pm$ 1.0)/0.01 mm², $t=17.8$, $P<0.001$]低于PD模型组(图1D)。Western blot探查结果也显示,纹状体DA剥夺显著上调RAGE蛋白表达水平(1.3 $\pm$ 0.2, $t=13.2$, $P=0.0002$),其蛋白量与对照组(0.9 $\pm$ 0.2, $t=8.0$, $P=0.0013$)之间差异有统计学意义,FPS-ZM1治疗后RAGE蛋白表达水平下降(0.9 $\pm$ 0.2, $t=8.5$, $P=0.0011$;图1E-F)。

2.2 纹状小体/基质 RAGE 通路 STAT3 分子参与 PD 的病理过程

分子生物学研究证实RAGE为转录因子STAT3的上游受体蛋白,其通过多种复杂的蛋白激酶途径调节其作用。为此,目前研究欲证实STAT3在纹状小体/基质结构中DA剥夺性神经元损伤病理过程中的反应。免疫组化实验探查显示,大鼠纹状体可探查到STAT3的强阳性反应:阳性细胞密集均匀地分布于纹状体,其胞体中等大小、呈圆球状,少数细胞可见稀疏分支;同时可见一些染色较深和体积偏大的阳性细胞,并有稀少突起,其在形态学方面为中间神经元的形态特征。

实验借助免疫荧光双标记进一步证实STAT3阳性细胞与神经元具有共存关系。实验探查显示,对照组纹状体神经元呈现NeuN(绿色)和STAT3(红色)的双标记,NeuN-STAT3共存细胞呈黄色(图2A,A',A*)。PD模型组中NeuN-STAT3双标记细胞明显增多,STAT3阳性信号增强(图2B,B',B*),FPS-ZM1处理后NeuN-STAT3双标记细胞明显减少(图2C,C',C*)。统计比较结果显示,PD模型组纹状小体/基质结构NeuN-STAT3荧光双标记细胞[(17.8 $\pm$ 2.3)/0.01 mm², $t=17.5$, $P<0.001$]高于对照组[(12.8 $\pm$ 2.8)/0.01 mm², $t=10.3$, $P<0.001$],6-OHDA+FPS-ZM1组[(13.0 $\pm$ 1.9)/0.01 mm², $t=15.5$, $P<0.001$]低于PD模型组,差异有统计学意义(图2D)。



A, A': RAGE immunohistochemistry in the striosome/matrix compartment of control group. Dashed circles indicate striosome regions. The areas marked with asterisks correspond to the magnified regions on the right, and the black arrows indicate the cell bodies of RAGE-positive cells. B, B': RAGE immunohistochemistry in the 6-OHDA group, showing increased RAGE-positive cells with enhanced staining intensity, which was reduced in the 6OHDA+FZM1 group (C, C'). D: Quantitative analysis of RAGE-positive cell density. E: Representative Western blot bands of RAGE (45 ku) and GAPDH (37 ku) in control, 6-OHDA groups and 6-OHDA+FZM1 group. F: Quantitative analysis of RAGE protein relative density. Scale bars: 40 μm (A, B, C), 15 μm (A', B', C'). $n=5$, $*P<0.05$, $***P<0.001$ vs. Ctrl, independent samples t -test.

图1 DA剥夺后纹状小体/基质RAGE表达变化

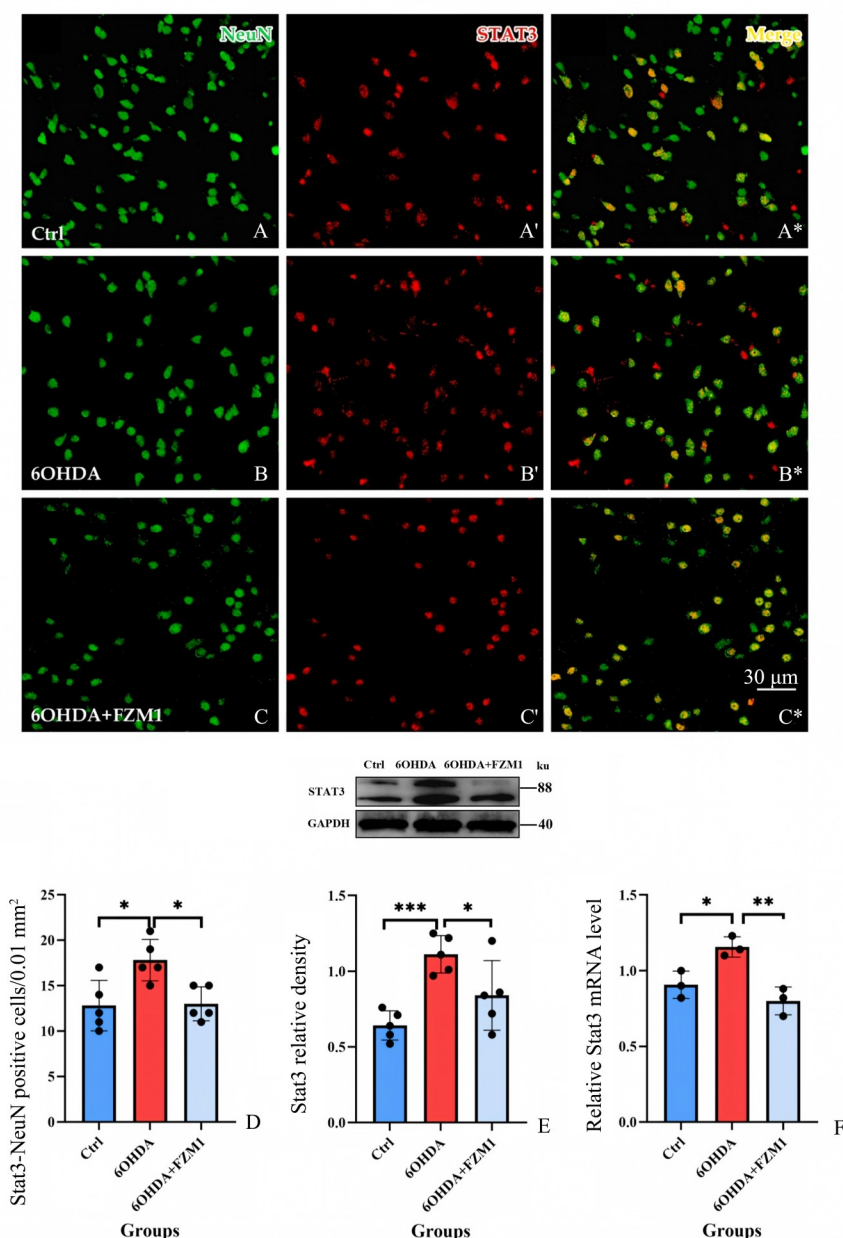
Fig. 1 Changes of RAGE expression in striosome/matrix compartment after DA deprivation

借助免疫印迹探查DA剥夺后STAT3蛋白表达水平的变化,PD模型组STAT3蛋白水平(1.1 ± 0.1 , $t=20.1$, $P<0.001$)与对照组(0.6 ± 0.1 , $t=14.9$, $P<0.001$)之间差异有统计学意义(图2E),6-OHDA+FZM1组表达水平下降(0.8 ± 0.2 , $t=8.2$, $P=0.001$)。借助qRT-PCR技术进一步探查DA剥夺诱导STAT3 mRNA表达水平的变化,PD模型组STAT3 mRNA表达水平(1.2 ± 0.1 , $t=30.1$, $P=0.001$)明显高于对照组(0.9 ± 0.1 , $t=17.4$, $P=0.003$;图2F),6-OHDA+FZM1组表达水平下调(0.8 ± 0.1 , $t=15.1$, $P=0.004$)。

2.3 DA剥夺诱导纹状小体/基质组构线粒体超微结构改变

实验借助TEM在超微结构水平探查纹状小体/基质组构线粒体的变化。电镜观察显示,对照组纹状小体/基质组构神经元线粒体大多呈杆状,在视野中呈现密集分布,线粒体嵴清晰可见(图3A, A');在PD模型组神经元线粒体分布稀疏、体积增

大、嵴膜增厚、外膜破损、嵴膜断裂(图3B, B'),FPS-ZM1处理后缓解(图3C, C')。定量资料显示,PD模型组神经元线粒体平均周长[(1.8 ± 0.3) μm, $t=20.5$]显著高于对照组(1.5 ± 0.2 μm, $t=20.3$, $P<0.001$),FPS-ZM1处理后[(1.5 ± 0.3) μm, $t=18.9$, $P<0.001$]比PD模型组小;PD模型组神经元线粒体平均截面积[(0.21 ± 0.04)/μm², $t=15.5$, $P<0.001$]明显大于对照组[(0.16 ± 0.01)/μm², $t=26.8$, $P<0.001$],然而6-OHDA+FZM1组比6OHDA组小[(0.16 ± 0.02)/μm², $t=19.3$, $P<0.001$];对照组纹状体神经元线粒体嵴密度为[(10.5 ± 4.2)/μm², $t=9.0$, $P<0.001$]而PD模型组则为[(6.5 ± 2.8)/μm², $t=8.3$, $P<0.001$],PD模型组纹状体神经元线粒体嵴密度较对照组显著下降,两者之间差异有统计学意义($P<0.05$),6-OHDA+FZM1组[(9.4 ± 3.4)/μm², $t=10.1$, $P<0.001$]比6-OHDA组多(表1)。



A, A', A*: Double immunofluorescence labeling of NeuN (green), STAT3 (red), and merged image (yellow) in the control group. B, B', B*: Compared with the control group, the Parkinson's disease model group exhibited a significant increase in NeuN/STAT3 double-positive cells, together with elevated STAT3 immunoreactivity. C, C', C*: Treatment with FPS-ZM1 markedly reduced the number of NeuN/STAT3 double-positive cells. D: Quantitative analysis of STAT3-NeuN double-labeled cell density, $n=5$. E: Representative Western blot bands of STAT3 and GAPDH. Quantitative analysis of STAT3 protein relative density, $n=5$. F: Quantitative analysis of relative STAT3 mRNA expression level by qRT-PCR, $n=3$. Scale bar: 30 μm . * $P<0.05$ vs. Ctrl, independent samples t -test.

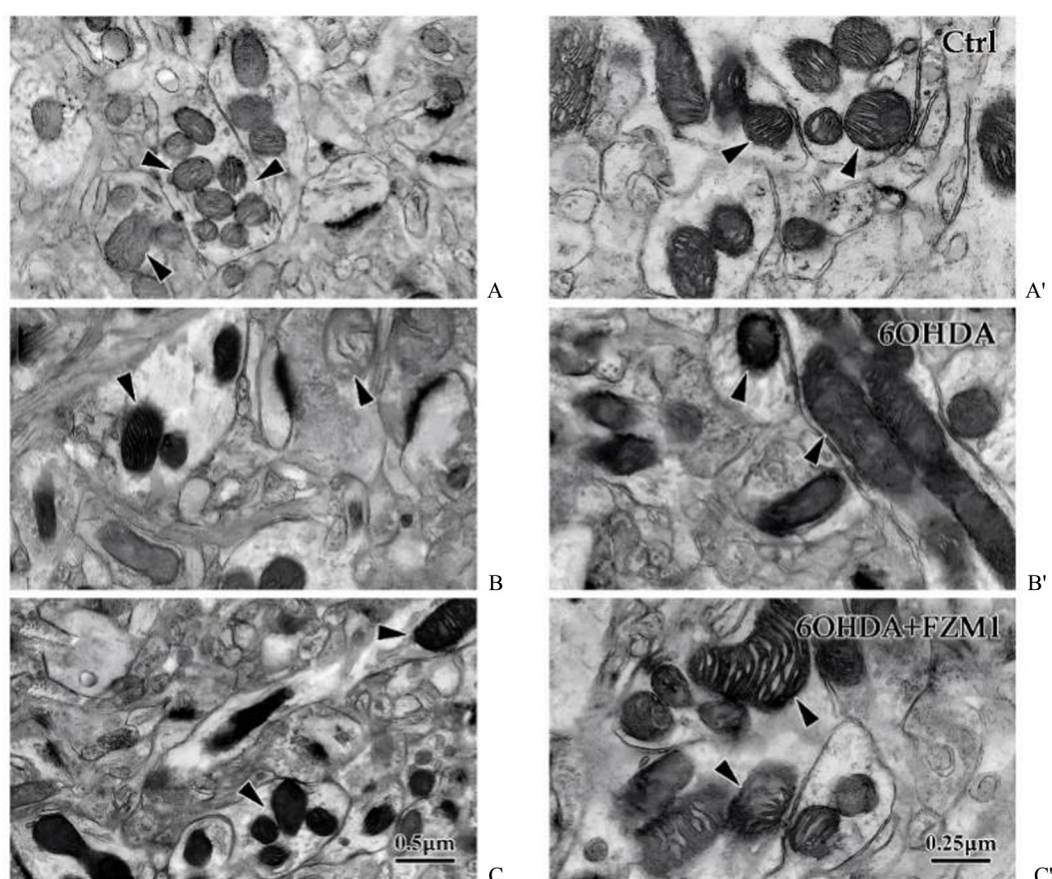
图2 纹状小体/基质 RAGE 通路 STAT3 分子对 DA 剥夺的反应

Fig. 2 Response of STAT3 in the RAGE pathway of striosome/matrix compartment to DA deprivation

3 讨论

PD 是以中脑黑质 DA 能神经元进行性变性死亡为主要病理特征的神经退行性疾病,纹状体 DA

含量的显著减少导致基底神经节环路功能紊乱,是 PD 运动和非运动症状的核心基础^[8,12-15]。纹状体并非均一的结构,而是由神经化学上截然不同的纹状小体和基质两个间隔组成,二者在解剖连接、神



A, A': Transmission electron micrographs of the striosome/matrix compartment in the control group. Mitochondria (arrowheads) display rod-shaped morphology with densely packed, well-defined cristae. B, B': Transmission electron micrographs of the 6-OHDA group. Mitochondria (arrowheads) appear swollen with disrupted cristae, reduced density, and outer membrane damage, which was reduced in the 6-OHDA+FZM1 group (C, C'). Scale bars: 0.5 μm (A, B, C), 0.25 μm (A', B', C').

图3 DA剥夺诱导纹状小体/基质组构线粒体超微结构改变

Fig. 3 Mitochondrial ultrastructural changes in the striosome/matrix compartment induced by DA deprivation

表1 DA剥夺诱导纹状小体/基质组构神经元的线粒体超微结构的分析和比较

Table 1 Statistical processing and comparisons of dopamine depletion-induced ultrastructural lesions in the striosome/matrix compartment neuron.

Test items	Ctrl	6-OHDA	6-OHDA+FZM1
Mitochondrial mean perimeter assessed by TEM/ μm	1.5 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.3 [*]	1.5 $\pm$ 0.3 [*]
Cross-sectional area of mitochondria in TEM images/ μm^2	0.16 $\pm$ 0.01	0.21 $\pm$ 0.04 [*]	0.16 $\pm$ 0.02 [*]
The average number of cristae per mitochondrion/ μm^2	10.5 $\pm$ 4.2	6.5 $\pm$ 2.8 [*]	9.4 $\pm$ 3.4 [*]

Values expressed as the group mean $\pm$ SD; Student's *t* test. **P*<0.05 vs. Ctrl, **P*<0.05 vs. 6-OHDA.

经化学特性和功能方面均有显著差异^[1-3]。纹状体参与躯体运动控制、情绪、动机和认知等高级功能调节。因此,研究纹状体在PD病理过程中神经微环路的变化,对于全面理解PD的发病机制具有重要意义。

本研究,探查了6-OHDA诱导的PD模型大鼠

纹状体中RAGE表达变化、线粒体超微结构损伤及RAGE-STAT3信号通路的参与机制。实验结果表明,DA递质剥夺后,纹状小体/基质组构内RAGE阳性结构的密度和蛋白水平均显著升高,这一结果与Gasparotto等^[12-13]研究一致,进一步证实RAGE是PD病理过程中重要的效应分子。RAGE作为免

疫球蛋白超家族的多配体跨膜受体蛋白,能与 HMGB1、S100B、晚期糖基化终末产物(advanced glycation end-products, AGEs)等多种配体结合,激活多条下游信号通路,介导氧化应激、炎症反应和细胞凋亡等病理过程^[14, 16-18]。在PD的背景下,DA的丢失可能引发氧化应激,导致RAGE配体的产生和积累增加,从而形成RAGE激活的正反馈回路,加剧神经元损伤。值得注意的是,RAGE在纹状小体/基质组构中的表达增加更为显著,这可能与纹状小体内神经元的独特易损性有关。

RAGE信号通路的下游关键转录因子STAT3在纹状体中参与了DA剥夺诱导的病理过程。免疫组化和荧光双标结果证实,STAT3广泛表达于纹状体神经元中,且在PD模型组中NeuN-STAT3双标记细胞显著增多。Western blot和qRT-PCR结果进一步证实,DA剥夺后STAT3的蛋白和mRNA水平均显著上调。分子生物学研究已经证实,RAGE为STAT3的上游调控蛋白,RAGE激活后可通过JAK/STAT信号级联反应上调STAT3的磷酸化和表达^[19]。STAT3作为转录因子,其异常激活可以调节多种与细胞存活、凋亡和炎症相关的靶基因表达,从而影响神经元的命运^[20-21]。我们的结果表明DA剥夺所诱导的STAT3蛋白高表达,提示STAT3的上调与RAGE信号通路的调控相关,RAGE-STAT3信号轴在纹状体神经元损伤中发挥作用。

线粒体功能障碍被认为是PD发病机制中的关键环节之一^[8]。本研究借助TEM在超微结构水平揭示了PD模型大鼠纹状体神经元线粒体的显著病理改变。线粒体密度的降低提示线粒体自噬可能被过度激活或线粒体生物发生受到抑制。线粒体肿胀(截面积增大)和嵴结构的破坏表明线粒体可能膜通透性增加,电子传递链功能受损,将直接影响ATP的合成和细胞的能量供应^[22-23]。线粒体嵴是线粒体进行氧化磷酸化的主要场所,嵴数量减少与结构紊乱会引发线粒体氧化磷酸化功能障碍,进而参与PD的发生发展过程^[24]。然而,本实验缺少线粒体功能指标的直接证据,我们将在后续的研究中进一步完善。因此,我们推测这些超微结构的改

变不仅直接影响神经元的能量代谢,可能间接导致线粒体呼吸功能的显著下降还可能通过细胞色素C的释放启动线粒体凋亡途径,最终导致神经元死亡。

综合以上结果,本研究提出RAGE-STAT3信号轴参与纹状小体/基质组构神经元线粒体损伤的可能机制:在PD病理状态下,DA递质的剥夺导致氧化应激增加和RAGE配体的产生,激活RAGE受体并上调其表达;RAGE的持续激活通过JAK/STAT信号转导通路上调STAT3的表达和活化;STAT3作为转录因子,可能通过调节线粒体相关基因的表达,导致线粒体结构和功能的损害^[25];线粒体功能障碍进一步加剧氧化应激和能量代谢异常,形成恶性循环,最终导致纹状小体/基质组构中神经元的进行性损伤。这一发现为理解PD纹状体神经元损伤的分子机制提供了新的视角,同时也提示RAGE-STAT3通路可能成为PD神经保护治疗的潜在靶点。本研究仍存在一些局限性。首先,本实验采用的是6-OHDA急性损伤模型,与PD的慢性进展过程存在差异,未来需要在更长时间的模型中验证这些发现。其次,本研究主要在形态学和分子表达水平上探查了RAGE-STAT3通路与线粒体损伤的关联性。然而,本实验缺少STAT3特异性敲低/过表达实验,无法直接证明STAT3是线粒体损伤的直接介导因子。因此,关于STAT3如何具体调控线粒体结构蛋白和功能分子的机制仍需进一步深入研究。此外,纹状小体和基质间隔中不同类型的中间神经元对RAGE-STAT3信号通路的反应差异也值得在后续研究中加以关注。总之,本研究以纹状小体/基质组构为整体研究单元,证实了PD模型大鼠纹状体中RAGE表达上调、线粒体超微结构损伤以及RAGE-STAT3信号通路的激活。这些结果表明,RAGE通路关键位点转录因子STAT3参与了纹状小体/基质组构神经元线粒体结构紊乱的病理机制,为PD的发病机制研究提供了新的实验依据,也为以RAGE-STAT3通路为靶点的神经保护策略提供了理论基础。

参考文献

- [1] Brimblecombe KR, Cragg SJ. The striosome and matrix compartments of the striatum: a path through the labyrinth from neurochemistry toward function[J]. ACS Chem Neurosci, 2017, 8(2): 235-242.
- [2] Fujiyama F, Unzai T, Karube F. Thalamostriatal projections and striosome-matrix compartments [J]. Neurochem Int, 2019, 125: 67-73.
- [3] Banghart MR, Neufeld SQ, Wong NC, et al. Enkephalin disinhibits mu opioid receptor-rich striatal patches via delta opioid receptors[J]. Neuron, 2015, 88(6): 1227-1239.
- [4] 詹玛琍, 李可一, 马静, 等. 大鼠纹状体Mor和Calb对祛多巴胺能神经支配反应的实验探查[J]. 解剖学研究, 2012, 34(2): 138-141.
- Zhan ML, Li KY, Ma J, et al. Experimental investigation of striosomal Mor and Calb responses to dopaminergic denervation in the rat striatum[J]. Anat Res, 2012, 34(2): 138-141.
- [5] Xiao X, Deng H, Furlan A, et al. A genetically defined compartmentalized striatal direct pathway for negative reinforcement[J]. Cell, 2020, 183(1): 211-227.
- [6] 欧阳丽斯, 穆淑花, 刘冰冰, 等. 大鼠纹状体中间神经元对兴奋毒性损伤特征性反应的形态学证实[J]. 解剖学研究, 2010, 32(6): 418-421.
- Ouyang LS, Mu SH, Liu BB, et al. Morphological evidence of characteristic responses of striatal interneurons to excitotoxic injury[J]. Anat Res, 2010, 32(6): 418-421.
- [7] Ma Y, Zhan M, Ouyang L, et al. The effects of unilateral 6-OHDA lesion in medial forebrain bundle on the motor, cognitive dysfunctions and vulnerability of different striatal interneuron types in rats[J]. Behav Brain Res, 2014, 266: 37-45.
- [8] Bloem BR, Okun MS, Klein C. Parkinson's disease [J]. Lancet, 2021, 397(10291): 2284-2303.
- [9] Deumens R, Blokland A, Prickaerts J. Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway [J]. Exp Neurol, 2002, 175 (2) : 303-317.
- [10] Mu S, Lin E, Liu B, et al. Melatonin reduces projection neuronal injury induced by 3-nitropropionic acid in the rat striatum[J]. Neurodegener Dis, 2014, 14: 139-150.
- [11] Deng YP, Wong T, Bricker-Anthony C, et al. Loss of corticostriatal and thalamostriatal synaptic terminals precedes striatal projection neuron pathology in heterozygous Q140 Huntington's disease mice [J]. Neurobiol Dis, 2013, 60: 89-107.
- [12] Gasparotto J, Somensi N, Girardi CS, et al. Is it all the RAGE? Defining the role of the receptor for advanced glycation end products in Parkinson's disease [J]. J Neurochem, 2024, 168(8): 1608-1624.
- [13] Gao J, Teng J, Liu H, et al. Association of RAGE gene polymorphisms with sporadic Parkinson's disease in Chinese Han population[J]. Neurosci Lett, 2014, 559: 158-162.
- [14] Raghavan CT. Advanced glycation end products in neurodegenerative diseases [J]. J Mol Neurosci, 2024, 74 (4): 114.
- [15] 王子瑜, 王晓慧. 帕金森病动物模型研究进展[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2025, 51(3): 186-192.
- Wang ZY, Wang XH. Research progress on animal models of Parkinson disease[J]. Chin J Nerv Ment Dis, 2025, 51(3): 186-192.
- [16] Juranek J, Ray R, Banach M, et al. Receptor for advanced glycation end-products in neurodegenerative diseases [J]. Rev Neurosci, 2015, 26(6): 691-698.
- [17] Koerich S, Parreira GM, de Almeida DL, et al. Receptors for advanced glycation end products (RAGE): promising targets aiming at the treatment of neurodegenerative conditions [J]. Curr Neuropharmacol, 2023, 21(2): 219-234.
- [18] 杨倩, 张艺婵, 王可雅, 等. AGE-RAGE轴在脂质代谢疾病中的调节作用及药物干预研究进展[J/OL]. 重庆医科大学学报, 1-10 [2026-04-08]. <https://doi.org/10.13406/j.cnki.cyx.004117>.
- Yang Q, Zhang YC, Wang KY, et al. Research advances in the regulatory role of the AGE-RAGE axis in lipid metabolism disorders and pharmacological interventions [J/OL]. J Chongqing Med Univ, 1-10 [2026-04-08]. <https://doi.org/10.13406/j.cnki.cyx.004117>.
- [19] Batkulwar KB, Bansode SB, Patil GV, et al. Investigation of phosphoproteome in RAGE signaling[J]. Proteomics, 2015, 15(2-3): 245-259.
- [20] Gasparotto J, Ribeiro CT, Bortolin RC, et al. Targeted inhibition of RAGE in substantia nigra of rats blocks 6-OHDA-induced dopaminergic denervation [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 8795.
- [21] Smit RD, Ghosh B, III Campion TJ, et al. STAT3 protects dopaminergic neurons against degeneration in animal model of Parkinson's disease[J]. Brain Res, 2024, 1824: 148691.
- [22] Kang R, Tang D, Lotze MT, et al. RAGE regulates autophagy and apoptosis following oxidative injury [J]. Autophagy, 2011, 7(4): 442-444.
- [23] Henrich MT, Oertel WH, Surmeier DJ, et al. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease—a key disease hallmark with therapeutic potential [J]. Mol Neurodegener, 2023, 18 (1): 83.
- [24] Yu J, Luo Y, Lin J, et al. Mitochondrial cristae remodeling: Mechanisms, functions, and pathology [J]. Cell Insight, 2025: 100285.
- [25] Chen C, McDonald D, Blain A, et al. Parkinson's disease neurons exhibit alterations in mitochondrial quality control protein[J]. Parkinson's Dis, 2023, 9: 120.