

橙皮素早期干预APPswe/PS1d E9小鼠对A β 转运蛋白的影响

孙莹¹, 闻豪¹, 王志成¹, 徐文芳², 王瑞婷^{3*}

(1.承德医学院中药研究所, 河北 承德 067000; 2.承德医学院基础医学院, 河北 承德 067000;

3.河北省中医药抗痴呆重点实验室/河北省神经损伤与修复重点实验室, 河北 承德 067000)

摘要: **目的** 研究不同剂量橙皮素早期干预APPswe/PS1d E9双转基因小鼠对 β -淀粉样蛋白(A β)相关转运蛋白的影响。**方法** 三月龄C57BL/6J野生型小鼠为对照组, 三月龄APPswe/PS1d E9双转基因小鼠随机分为模型组、橙皮素低、中、高剂量组(20、40、80 mg·kg⁻¹·d⁻¹), 每天灌胃1次, 连续6个月。免疫组织化学法测定脑组织中胰岛素降解酶(IDE)的表达, 蛋白印迹法检测转运A β 的相关蛋白晚期糖基化终产物(RAGE)、低密度脂蛋白受体相关蛋白1(LRP-1)、P-糖蛋白(P-gp)及血脑屏障(BBB)相关蛋白紧密连接蛋白-5(Claudin-5)、闭合蛋白(Occludin)、闭锁小带蛋白-1(ZO-1)的表达。**结果** 与模型组相比, 橙皮素三个剂量组IDE表达明显增强; 与对照组相比, 模型组P-gp和LRP-1表达减少, RAGE表达增加, Claudin-5、Occludin、ZO-1表达均减少; 与模型组相比, 橙皮素干预后P-gp和LRP-1表达增加, RAGE表达减少, Claudin-5、Occludin和ZO-1表达均增加($P<0.05$)。**结论** 橙皮素早期干预APPswe/PS1d E9小鼠可通过增强IDE活性、影响A β 转运蛋白表达及血脑屏障紧密性, 从而影响A β 代谢和转运。

关键词: 阿尔茨海默病; 橙皮素; 血脑屏障; 胰岛素降解酶; 晚期糖基化终产物; P-糖蛋白

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1004-6879(2025)06-0451-06

Effect of hesperetin in early intervention on A β transporter in APPswe / PS1d E9 mice

SUN Ying¹, WEN Hao¹, WANG Zhicheng¹, XU Wenfang², WANG Ruiting^{3*}

(1. Institute of Traditional Chinese Medicine, Department of Pharmacology, Chengde Medical University, Chengde, Hebei, 067000, China;

2. School of Basic Medical Sciences, Chengde Medical University, Chengde, Hebei, 067000, China;

3. Hebei Key Laboratory of TCM Anti-dementia / Hebei Key Laboratory of Nerve Injury and Repair, Chengde, Hebei, 067000, China)

Abstract: **Objective** To explore the effect of different doses of hesperetin early intervention on β -amyloid transporter in APPswe/PS1dE9 transgenic mice. **Methods** The 3-month-old C57BL/6J wild type mice were set up as the control group, the 3-month-old APPswe/PS1d E9 transgenic mice were randomly divided into the model group, hesperetin low-dose group, medium-dose group and high-dose groups (20, 40, 80 mg·kg⁻¹·d⁻¹), and gavaged once a day for 6 months. Immunohistochemistry was applied to test the expression of insulin-degrading enzyme (IDE) in brain tissue, Western blotting (WB) was applied to detect receptor of advanced glycation endproducts (RAGE), low density lipoprotein receptor-associated protein 1 (LRP-1), P-glycoprotein (P-gp) and the blood-brain barrier related proteins Claudin-5, Occludin and occlusive zonulin-1 (ZO-1). **Results** Compared with the model group, IDE expression was significantly enhanced in three hesperetin groups. Compared with the control group, the model group exhibited decreased expressions of P-gp and LRP-1, increased expression of RAGE, and decreased expressions of

资助项目: 河北省教育厅高等学校科学技术研究项目(ZD2017002); 河北省中医药重点学科建设项目(冀中医药函[2021]7号); 承德医学院神经生物学学科(071006)

*通信作者

Claudin-5, Occludin, and ZO-1. In contrast, compared with the model group, the hesperetin groups showed increased expressions of P-gp and LRP-1, decreased expression of RAGE, and increased expressions of Claudin-5, Occludin, and ZO-1 ($P < 0.05$).

Conclusion Early intervention of hesperetin in APPswe/PS1dE9 mice can affect A β metabolism and transport by enhancing IDE activity, regulating A β transporter and blood-brain barrier tightness.

Key words: Alzheimer's disease; hesperetin; blood-brain barrier; insulin-degrading enzyme; receptor of advanced glycation endproducts; P-glycoprotein

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种神经退行性疾病,其病理过程主要是 β -淀粉样蛋白(amyloid β protein, A β)在神经元外沉积^[1]。A β 寡聚体沉积可破坏细胞膜完整性而胰岛素降解酶(insulin degrading enzyme, IDE)可以降解A β ^[2]。血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)对A β 的高效转运性能主要与血管内皮细胞上的A β 转运相关蛋白有关,如受体晚期糖基化终产物(receptor of advanced glycation endproducts, RAGE)参与A β 自血管内向脑组织转运;低密度脂蛋白受体相关蛋白1(low density lipoprotein receptor-associated protein-1, LRP-1)、P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)参与A β 自脑组织向血管内转运,同时BBB的完整性也影响A β 的转运与清除,紧密连接蛋白-5(claudin-5)、闭合蛋白(occludin)、闭锁小带蛋白-1(zona occludens 1, ZO-1)是BBB紧密连接的重要组成成分和结构基础^[3-5]。

橙皮素有抗炎抑菌、抗氧化和抑制纤维化等作用^[6]。课题组前期研究发现橙皮素早期干预可降低APPswe/PS1dE9小鼠脑组织中A β ,升高血清A β 水平,本实验探讨橙皮素是否影响A β 代谢酶,是否促进A β 自脑组织向血管内转运^[7-8]。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 3月龄APPswe/PS1dE9雄性小鼠48只,3月龄雄性C57BL/6J野生型小鼠12只,均购买自北京华阜康生物科技股份有限公司[许可证号SCXK(京)2014-0004],饲养于承德医学院实验动物中心(SPF级),许可证编号SYXK(冀)2017-001。

1.1.2 主要试剂 橙皮素(货号:H107700-25g)、羧甲基纤维素钠(货号:J1713015)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;IDE(货号:ab133561)、P-gp(货号:ab170904)、LRP1(货号:ab92544)购自英国ABcom公司;RAGE(货号:A23423)、GAPDH(货号:A19056)、羊抗兔二抗(货号:

AS014)购自武汉爱博泰克公司;ZO-1(货号:bs-34023R)购自北京博奥森生物技术有限公司, Occludin(货号:27260-1-AP)、Claudin5(货号:29767-1-AP)购自武汉三鹰生物技术有限公司;特超敏ECL化学发光底物(货号:BL520A)购自白鲨生物;DAB显色试剂盒(货号:ZLI-9018)购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组 3月龄APPswe/PS1dE9小鼠48只随机分为模型组、橙皮素低、中、高剂量组(20、40、80 mg $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹),每组12只。另选取3月龄C57BL/6J野生型小鼠12只为对照组。所有小鼠每日灌胃1次,连续灌胃180 d。对模型组、对照组小鼠额外给予0.5%羧甲基纤维素钠。

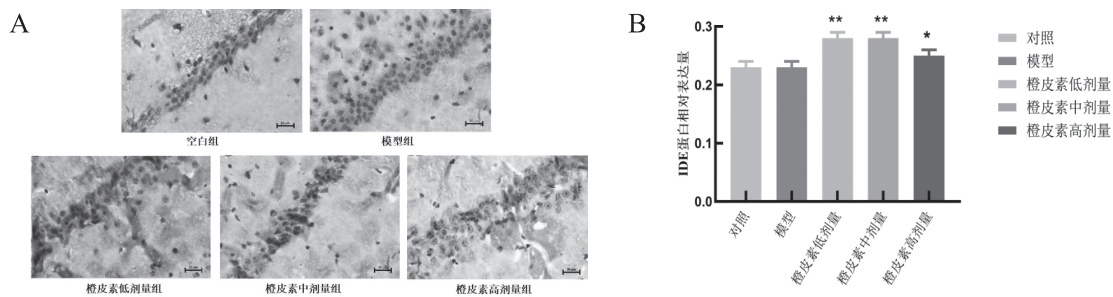
1.2.2 免疫组化 切片经二甲苯两次脱蜡15 min,乙醇梯度水化;取出反复水洗3次,每次3 min, PBS水洗5 min;用EDTA抗原修复;冷却后免疫组化笔圈出组织周围2~3 mm范围滴加3% H₂O₂, 37 $^{\circ}$ C孵育20 min, PBS清洗3次;滴加一抗IDE(1:100)放入湿盒,4 $^{\circ}$ C过夜;37 $^{\circ}$ C温箱复温, PBS水洗3次;二抗孵育1 h, PBS水洗3次;DAB试剂显色;苏木素染色5 min,分化,返蓝;乙醇梯度脱水,二甲苯透明,中性树脂封片;在显微镜下观察小鼠海马CA1区位置,细胞核被染成蓝紫色,棕黄色颗粒为IDE阳性表达,拍照并保存图像。使用Image J软件,以平均光密度值进行半定量分析。

1.2.3 蛋白印迹 取冻存的新鲜小鼠脑组织加入裂解液(含蛋白酶抑制剂)进行研磨匀浆,离心取上清,按BCA法定量检测蛋白浓度,按照分子量大小制备相应比例的凝胶,每孔30 μ g蛋白上样,电泳后,湿法转膜。5%脱脂奶粉封闭,加稀释过后的一抗Rage(1:1 000)、P-gp(1:2 000)、LRP1(1:3 000)、Occludin(1:1 000)、Claudin5(1:1 000)、ZO-1(1:1 000)、GAPDH(1:50 000),4 $^{\circ}$ C摇床过夜孵育。次日TBST洗膜3次,每次10 min,加入二抗(1:10 000),室温摇床孵育1 h, TBST洗膜3次,每次10 min,显影。使用Image J

软件分析蛋白表达水平。

1.3 统计学方法

采用SPSS 23.0统计软件进行数据分析。计量资料用单因素方差分析(One-way-ANOVA),进一步组间比较采用LSD分析。方差不齐采用非参数检验。所有数据以均值±标准差表示, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。



注:A.免疫组化IDE染色情况;B. IDE蛋白相对表达量;与模型组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$ 。

图1 免疫组化检测各组小鼠海马CA1区IDE表达($\times 400$)

2.2 橙皮素早期干预对A β 转运蛋白的影响

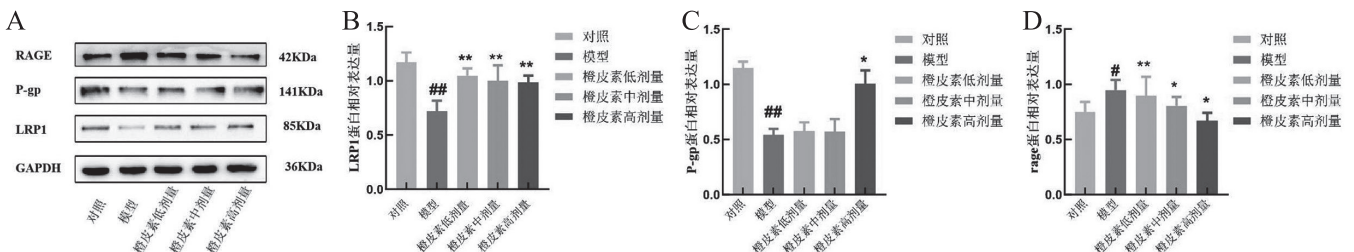
与对照组相比,模型组P-gp和LRP1蛋白表达明显下降($P<0.01$),RAGE表达升高($P<0.05$);与模型组相比,橙皮素高剂量组P-gp蛋白表达升高($P<0.05$),低、中、高剂

2 结果

2.1 橙皮素早期干预对IDE表达的影响

免疫组化染色细胞核为蓝紫色,棕黄色颗粒为IDE阳性表达,主要表达在细胞质。与对照组相比,模型组表达差异无统计学意义($P>0.05$);与模型组相比,橙皮素低、中、高剂量组脑组织中IDE表达增强($P<0.05$),见图1。

量组LRP1蛋白表达均显著升高($P<0.01$),橙皮素低、中、高剂量组RAGE蛋白表达明显下降($P<0.05$),见图2。



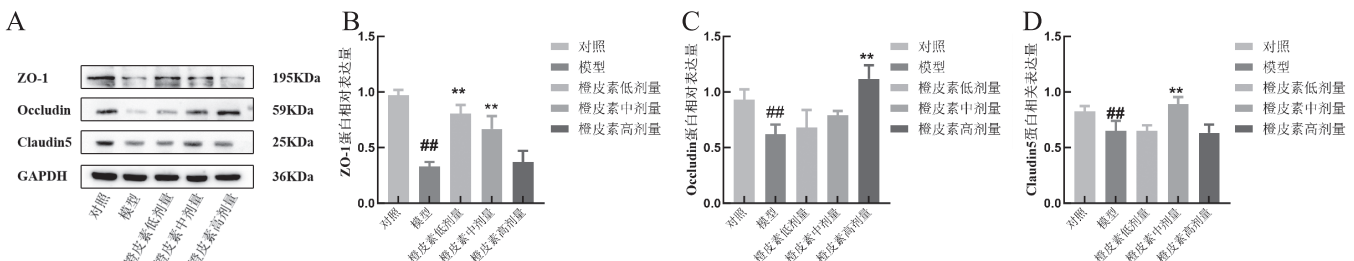
注:A.蛋白表达条带图;B-D.蛋白表达定量分析结果;与对照组比较,## $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

图2 WB检测RAGE、P-gp和LRP1在小鼠脑组织中的表达

2.3 橙皮素早期干预对BBB紧密性相关蛋白表达的影响

与对照组相比,模型组Claudin5、Occludin和ZO-1蛋白表达均显著下降($P<0.01$);与模型组相比,橙皮素低剂量组ZO-1蛋白表达显著升高($P<0.01$),橙皮素中剂量组

Claudin5和ZO-1蛋白表达显著升高($P<0.01$),橙皮素高剂量组Occludin蛋白表达显著升高($P<0.01$),见图3。



注:A.蛋白表达条带图;B-D蛋白表达定量分析结果;与对照组比较,## $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

图3 WB检测Claudin5、Occludin和ZO-1在小鼠脑组织中的表达

3 讨论

A β 沉积为AD最重要的病理标志之一,A β 的异常聚集主要通过各种酶降解^[9]。IDE在机体中广泛分布,脑组织中胶质细胞可将IDE分泌到细胞外液降解胞外积累的A β ^[10]。有研究发现^[11],在A β 荧光偏振实验中,抑制IDE能阻断人神经元对A β 的降解,IDE减少能够影响A β 的沉积。IDE的激活依赖多种生物活性肽,如神经肽B-9,B-13,A-17, β -内啡肽和缓激肽等^[12]。Gallagher等^[13]研究显示,9月龄雄性APP/PS1双转基因小鼠脑组织中IDE的mRNA表达水平未发生显著改变,而9月龄雌性APP/PS1双转基因小鼠海马IDE蛋白水平显著下降^[14]。本研究结果显示,对照组与模型组IDE表达无显著差异,推测9月龄雄性APP/PS1双转基因小鼠A β 积累可能未激发相关生物活性肽引起IDE变化,且橙皮素早期干预可增强IDE活性。刘晓琪等^[15]发现天然产物丹参酮II A能提高IDE的表达,降低A β 1-42诱导的HT22细胞系A β 1-42水平,可能是通过PERK/eIF2 α 和IRE1 α /XBP1途径起作用。

正常机体中,BBB可通过主动转运A β 对脑组织内A β 的平衡状态发挥维持作用。BBB上的LRP1、P-gp和RAGE是A β 转运的关键蛋白。A β 跨BBB的转运过程分为两个方向:从脑组织到血管管腔时,A β 首先与脑组织侧血管内皮细胞膜上的LRP1结合,再在管腔侧内皮细胞膜上P-gp的协同作用下进入管腔;从血管管腔到脑组织时,定位于管腔侧内皮细胞膜上的RAGE先与血管内游离A β 结合并共同进入内皮细胞,随后再将A β 转运至脑组织内^[16-18]。AD患者的神经影像显示,患者BBB受损,周细胞发生退化、内皮变性,前额叶、内嗅皮层和海马体毛细血管有蛋白渗漏,血管异常增生,并且BBB紧密性越低,转运蛋白对A β 的转运能力越低^[19-20]。Pyun等^[21]发现,复合物Cu-ATSM能增强人脑内皮细胞中P-gp的表达和功能,体外培养hCMEC/D3细胞给药后P-gp表达加强,P-gp变化可影响A β 的转运与清除。本课题组前期研究发现^[22],橙皮素早期干预可降低APPswe/PS1小鼠脑组织中A β 含量,而血清中A β 含量有所上升,由此引发关键问题:A β 积累是否会影响BBB对A β 的转运功能?橙皮素是否会影响BBB对A β 的转运功能?本研究发现,APPswe/PS1双转基因小鼠模型组P-gp、LRP1表达明显减少,RAGE表达增加,橙皮素提前干预6个月后,P-gp、LRP1表达含量明显增加,RAGE表达减少。

Xing等^[23]研究发现,A β 积累通过上调中性鞘磷脂酶1的表达和活性,改变鞘磷脂和神经酰胺的水平来影响P-gp的表达和功能,导致A β 清除能力下降,加重AD病理进程。有研究发现^[24],A β 增多可诱导RAGE表达增加,LRP1和P-gp表达下调,阻碍脑组织A β 清除。APP/PS1转基因AD模型小鼠脑组织A β 增多,推测模型组A β 增多可影响BBB上A β 转运蛋白表达,橙皮素早期干预通过降低A β 含量调节A β 转运相关蛋白表达。有研究发现^[25],RAGE基因缺陷小鼠脑中的A β 无法通过BBB转运出外周,A β 沉积区域RAGE表达显著上调。RAGE除参与A β 转运外,还可介导A β 诱导的氧化应激,由此引发线粒体功能障碍,增强 β 分泌酶的活性,诱导tau蛋白过度磷酸化,最终破坏神经元功能。更关键的是,RAGE表达增加会形成“恶性循环”——既提升A β 含量,又促进促炎因子释放,最终加剧神经元损伤和记忆受损^[26-27]。黄冬等^[28]发现,RAGE蛋白通过促进A β 沉积造成认知功能损害。课题组前期研究发现^[29],RAGE能够促进小胶质细胞增生活化,激活NF- κ B信号,进而介导炎症反应,释放炎症因子IL-1 β 和TNF- α 。

大量研究表明^[30-32],A β 沉积能够造成BBB损伤,轻度认知功能障碍患者ZO-1和claudin-5的表达量明显下降,内皮细胞基底膜降解,BBB转运功能受到影响。有研究发现^[18],内皮细胞中葡萄糖转运蛋白1表达的降低导致BBB的破坏和LRP1的转录抑制,从而加速A β 的积累。本研究发现,模型组BBB紧密连接的相关蛋白ZO-1、Occludin、Claudin5表达量明显减少,而橙皮素干预组表达量增加,提示模型组A β 沉积减少可引起BBB紧密性相关蛋白表达,造成BBB损伤,橙皮素早期干预能减轻A β 对BBB紧密连接的破坏。

黄酮类化合物广泛存在于自然界,且药用价值广泛。张泽等^[33]发现,荭草苷上调BDNF/TrkB表达,减少A β 含量,起到保护神经元的作用。李可等^[34]发现,黄芩苷通过提高Claudin-5以及Occludin蛋白相对表达量改善血脑屏障结构和功能的完整性,上调LRP-1、P-gp的表达,增强A β 转运蛋白的转运能力从而改善AD大鼠记忆功能。高欣等^[35]发现,橙皮素能抑制LPS诱导的小胶质细胞炎症,降低细胞NO水平以及ROS水平,并通过网络药理学分析其与AGE/RAGE通路有关,研究证明橙皮素能通过抑制炎

症介质发挥抗炎作用。

橙皮素早期干预能引起BBB上转运A β 的相关蛋白以及紧密连接蛋白变化,从而减轻A β 对BBB的损伤,但具体作用机制尚未明确。本研究中,橙皮素未呈现明显剂量依赖性,结合前期研究推测,橙皮素早期干预存在多种机制变化。橙皮素对BBB上A β 转运蛋白及紧密连接蛋白的调控作用,为后续深入探究其改善脑内A β 代谢紊乱的分子机制,以及开发基于调节BBB功能的相关干预策略,提供了关键实验依据与研究方向。

参考文献

- [1] Jha NK, Nelson VK, Nuli MV, et al. Unveiling the impact of aging on bbb and alzheimer's disease: Factors and therapeutic implications[J]. Ageing Res Rev, 2024, 98: 102224.
- [2] Tian Y, Jing G, Zhang M. Insulin-degrading enzyme: Roles and pathways in ameliorating cognitive impairment associated with alzheimer's disease and diabetes[J]. Ageing Res Rev, 2023, 90: 101999.
- [3] Chen J, Xiang P, Duro-Castano A, et al. Rapid amyloid- β clearance and cognitive recovery through multivalent modulation of blood-brain barrier transport[J]. Sig Transduct Target Ther, 2025, 10: 331.
- [4] 王志成,董一峰,张子龙,等. β 淀粉样蛋白的跨血脑屏障转运[J]. 承德医学院学报, 2022, 39(1): 54-57.
- [5] 苏嘉楠,安继仁,孙贵炎,等. 基于AMPK/mTOR信号通路探讨中药复方益糖康对db/db小鼠血脑屏障通透性及紧密连接蛋白的影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(7): 10-15.
- [6] 冯旭,曾鑫,梁希瑶,等. 橙皮素药理活性以及开发技术的研究进展[J]. 广东化工, 2023, 50(22): 74-75, 66.
- [7] 张子龙,王志成,董一峰,等. 橙皮素早期干预对APPswe/PS1dE9小鼠学习记忆能力及TLR2、NF- κ B表达水平的影响[J]. 承德医学院学报, 2020, 37(3): 188-191.
- [8] 王志成,李宝群,吴晓光,等. 橙皮素早期干预对APPswe/PS1dE9小鼠学习记忆能力和A β 42、NEP的影响[J]. 承德医学院学报, 2021, 38(6): 458-463.
- [9] 谢婷,徐采利,唐姣玲,等. 二甲双胍通过增强M146L细胞IDE表达促进胞内A β 降解[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2022, 43(4): 522-529.
- [10] 张爽曦,龙建纲,刘健康. 胰岛素降解酶与阿尔兹海默病的发生[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2018, 34(3): 249-254.
- [11] Rowland HA, Moxon SR, Corbett NJ, et al. Inhibition of insulin-degrading enzyme in human neurons promotes amyloid- β deposition[J]. Neuronal Signal, 2023, 7(4): Ns20230016.
- [12] Song ES, Juliano MA, Juliano L, et al. Substrate activation of insulin-degrading enzyme (insulysin). A potential target for drug development[J]. J Biol Chem, 2003, 278(50): 49789-49794.
- [13] Gallagher JJ, Minogue AM, Lynch MA. Impaired performance of female APP/PS1 mice in the morris water maze is coupled with increased A β accumulation and microglial activation[J]. Neurodegener Dis, 2013, 11(1): 33-41.
- [14] Peng Y, Hou C, Yang Z, et al. Hydroxytyrosol mildly improve cognitive function independent of app processing in APP/PS1 mice[J]. Mol Nutr Food Res, 2016, 60(11): 2331-2342.
- [15] 刘晓琪. 丹参酮 II A通过上调A β 降解酶改善阿尔茨海默病的机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2023.
- [16] Hartz AM, Miller DS, Bauer B. Restoring blood-brain barrier p-glycoprotein reduces brain amyloid-beta in a mouse model of alzheimer's disease[J]. Mol Pharmacol, 2010, 77(5): 715-723.
- [17] Petralla S, Panayotova M, Franchina E, et al. Low-density lipoprotein receptor-related protein 1 as a potential therapeutic target in alzheimer's disease[J]. Pharmaceutics, 2024, 16(7): 948.
- [18] Chen Y, He Y, Han J, et al. Blood-brain barrier dysfunction and alzheimer's disease: Associations, pathogenic mechanisms and therapeutic potential[J]. Front Aging Neurosci, 2023, 15: 1258640.
- [19] Miners JS, Schulz I, Love S. Differing associations between A β accumulation, hypoperfusion, blood-brain barrier dysfunction and loss of pdgfrb pericyte marker in the precuneus and parietal white matter in alzheimer's disease[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2018, 38(1): 103-115.
- [20] Petrushanko IY, Mitkevich VA, Makarov AA. Effect of β -amyloid on blood-brain barrier properties and function[J]. Biophys Rev, 2023, 15(2): 183-197.
- [21] Pyun J, Koay H, Runwal P, et al. Cu(ATSM) increases p-glycoprotein expression and function at the blood-brain barrier in C57BL/6J mice[J]. Pharmaceutics, 2023, 15(8): 15082084.
- [22] 董一峰. 橙皮素早期干预对APPswe/PS1dE9双转基因小鼠A β 生成的影响[D]. 承德: 承德医学院, 2019.
- [23] Xing ZK, Du LS, Fang X, et al. The relationship among amyloid- β deposition, sphingomyelin level, and the expression and function of P-glycoprotein in Alzheimer's disease pathological process[J]. Neural Regen Res, 2023, 18(6): 1300-1307.
- [24] Zhang YL, Wang J, Zhang ZN, et al. The relationship between amyloid-beta and brain capillary endothelial cells in Alzheimer's disease[J]. Neural Regen Res, 2022, 17(11): 2355-2363.
- [25] 万灿. 丹参酮 II A调控脑微血管内皮细胞SIRT1介导的内质网应激改善AD的作用与机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学

- 学,2022.
- [26] Deane R, Singh I, Sagare AP, et al. A multimodal rage-specific inhibitor reduces amyloid β -mediated brain disorder in a mouse model of alzheimer disease[J]. J Clin Invest, 2012, 122(4): 1377-1392.
- [27] Dobrucki IT, Miskalis A, Nelappana M, et al. Receptor for advanced glycation end-products: Biological significance and imaging applications[J]. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol, 2024, 16(1): 1935.
- [28] 黄冬,苗锐,李阳,等. 海马高级糖基化终末产物受体和 β -淀粉样前体蛋白裂解酶表达增加与自发性高血压大鼠认知功能损害相关性研究[J]. 陕西医学杂志,2022,51(1):20-24.
- [29] 董一峰,狄婷婷,徐树雷,等. 不同浓度A β 25-35对小胶质细胞上RAGE/NF- κ B信号通路的影响[J]. 中国老年学杂志, 2019,39(14):3501-3505.
- [30] Shi H, Koronyo Y, Fuchs DT, et al. Retinal arterial A β 40 deposition is linked with tight junction loss and cerebral amyloid angiopathy in mci and ad patients[J]. Alzheimers Dement, 2023, 19(11): 5185-5197.
- [31] 申杰,徐桂华. 阿尔茨海默病与血脑屏障的相关性研究进展[J]. 实用医学杂志,2024,40(11):1602-1606.
- [32] Deepika, Maurya PK. Health benefits of quercetin in age-related diseases[J]. Molecules, 2022, 27(8): 2498.
- [33] 张泽,韩锐,贾宁. 荜茇对APP/PS1转基因小鼠神经保护作用实验研究[J]. 陕西医学杂志,2020,49(5):534-537.
- [34] 李可,苗果,柳秋,等. 灯盏乙素通过细胞转运途径对阿尔茨海默病大鼠 β -淀粉样蛋白跨血脑屏障的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2024,22(10):1782-1786.
- [35] 高欣,刘俊君,荆尚文,等. 基于网络药理学和细胞实验探讨橙皮素对LPS诱导的小胶质细胞炎症模型的改善作用[J]. 中成药,2024,46(5):1707-1715.
- (收稿日期:2024-12-07)

丝胶靶向Akt调控PI3K/Akt/mTOR信号通路诱导三阴乳腺癌细胞自噬

李警耀,张睿,金美琪,陈志宏*

(承德医学院基础医学院,河北 承德 067000)

摘要: **目的** 探讨丝胶对PI3K/Akt/mTOR信号通路的调控及其对三阴性乳腺癌(TNBC)MDA-MB-468细胞自噬的诱导作用,并阐明作用靶点。**方法** 将MDA-MB-468细胞随机分为对照组(不含药物)、实验组(8 mg·mL⁻¹丝胶)、Akt激活剂组(8 mg·mL⁻¹丝胶+10 μ mol·L⁻¹ SC79),分别给予相应药物作用24 h后,采用RT-qPCR法检测各组细胞PI3K、Akt、mTOR、自噬效应蛋白(Beclin1)、自噬相关蛋白5(ATG5)、微管相关轻链蛋白3(LC3)、整合体1(P62)mRNA表达水平;Western blotting法检测各组细胞PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR、Beclin1、ATG5、LC3、P62蛋白表达水平;免疫荧光染色法检测各组细胞LC3、P62蛋白的定位及荧光强度。**结果** 与对照组相比,实验组MDA-MB-468细胞PI3K、Akt、mTOR、P62 mRNA及PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR、P62蛋白水平均显著降低($P<0.05$),Beclin1、ATG5、LC3 mRNA水平及Beclin1、ATG5、LC3 II/LC3 I 蛋白水平均显著升高($P<0.05$);与实验组相比,Akt激活剂组MDA-MB-468细胞PI3K、Akt、mTOR、P62 mRNA及PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR、P62蛋白水平均显著升高($P<0.05$),Beclin1、ATG5、LC3 mRNA水平及Beclin1、ATG5、LC3 II/LC3 I 蛋白水平均显著降低($P<0.05$)。**结论** 丝胶对MDA-MB-468细胞自噬的诱导作用可通过以Akt为靶点调控PI3K/Akt/mTOR信号通路的转导来实现。

关键词: 丝胶;三阴性乳腺癌;PI3K/Akt/mTOR信号通路;自噬;MDA-MB-468细胞

中图分类号: R587.1

文献标志码: A

文章编号: 1004-6879(2025)06-0456-07

资助项目:国家自然科学基金项目(81441133);2025年承德医学院硕士在读研究生创新能力培养资助项目(CYCXZZ202501)

*通信作者