

• 论 著 •

牡荆素调控 PERK-CHOP 内质网应激途径对帕金森病模型小鼠神经功能的改善作用研究^{*}

朱宝平, 于丹丹, 曾聪慧, 赵 波, 刘 俊[△]

喀什地区第一人民医院药学部, 新疆喀什 844099

摘要:目的 探讨牡荆素调控蛋白激酶 R 样内质网激酶(PERK)-C/EBP 同源蛋白(CHOP)内质网应激途径对帕金森病(PD)模型小鼠神经功能的改善作用。方法 选取 C57BL/6J 小鼠 60 只,通过腹腔注射 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)构建 PD 小鼠模型,将小鼠随机分为激活剂组(50 mg/kg 牡荆素+2 mg/kg 的 PERK 激活剂 CCT020312)、模型组、阳性对照组(20 mg/kg 左旋多巴)、高剂量牡荆素组(50 mg/kg)、低剂量牡荆素组(25 mg/kg),每组 12 只,再选 12 只正常 C57BL/6J 小鼠,灌胃等体积的生理盐水作为对照组,以牡荆素、左旋多巴、CCT020312 分组干预后,通过转棒实验、爬杆实验评估小鼠运动功能;HE 染色观察脑部黑质区病理形态;免疫组化法检测小鼠脑组织黑质区 TH 表达;TUNEL 染色检测小鼠海马区神经元凋亡情况;酶联免疫吸附试验(ELISA)检测小鼠脑组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-6、IL-1 β 水平;免疫印迹检测小鼠脑组织 PERK、CHOP、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)、半胱氨酸蛋白酶 3(Caspase-3)蛋白表达。结果 与对照组相比,模型组海马神经元凋亡率、小鼠爬杆时间、黑质区病理损伤、脑组织 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平、脑组织 CHOP、Bax、Caspase-3、PERK 蛋白表达显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$),下落潜伏期、TH 阳性细胞数目显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,低、高剂量牡荆素组和阳性对照组小鼠爬杆时间、黑质区病理损伤、海马神经元凋亡率、脑组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平、脑组织 Bax、Caspase-3、PERK、CHOP 蛋白表达显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$),下落潜伏期、TH 阳性细胞数目显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$);CCT020312 减弱了高剂量牡荆素对 PD 小鼠海马区神经元凋亡、黑质区病理损伤和炎症的抑制作用。结论 牡荆素可改善 PD 模型小鼠运动功能障碍,发挥神经保护作用,可能是通过抑制 PERK-CHOP 内质网应激途径实现。

关键词: 帕金森病; 牡荆素; PERK-CHOP; 内质网应激; 神经功能**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2024.09.003 **中图法分类号:**R742.5**文章编号:**1673-4130(2024)09-1037-07**文献标志码:**A

Improvement effect study of Vitexin on neurological function in Parkinson's disease model mice by regulating PERK-CHOP endoplasmic reticulum stress pathway^{*}

ZHU Baoping, YU Dandan, ZENG Conghui, ZHAO Bo, LIU Jun[△]

Department of Pharmacy, the First People's Hospital of Kashgar

Prefecture, Kashgar, Xinjiang 844099, China

Abstract: **Objective** To investigate the improvement effect of Vitexin on the neurological function in Parkinson's disease (PD) model mice by regulating protein kinase R-like ER kinase (PERK)-C/EBP homologous protein (CHOP) endoplasmic reticulum stress pathway. **Methods** A total of 60 C57BL/6J mice were selected, and PD mouse models were constructed by intraperitoneal injection of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). Mice were randomly grouped into activator group (50 mg/kg Vitexin+2 mg/kg PERK activator CCT020312), model group, positive control group (20 mg/kg Levodopa), high-dose Vitexin group (50 mg/kg), low-dose Vitexin group (25 mg/kg), with 12 animals in each group, another 12 normal C57BL/6J mice were selected, and were given an equal volume of physiological saline by gavage as the control group. After grouping and intervention with Vitexin, Levodopa and CCT020312, the motor function of mice was evaluated by rotarod test and climbing rod test. HE staining was used to observe the pathological morphology of

^{*} 基金项目:新疆维吾尔自治区科技支疆项目计划(指令性)项目(2021E03068)。

作者简介:朱宝平,男,副主任药师,主要从事药理学方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail:1498441359@qq.com。

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20240325.1405.004.html>(2024-03-28)

substantia nigra. The expression of TH in the substantia nigra of mouse brain was detected by immunohistochemistry. TUNEL staining was used to detect neuronal apoptosis in mouse hippocampus. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-6 and IL-1 β in mouse brain tissue. Western blot was used to detect the protein expression of PERK, CHOP, Bcl-2-associated X protein (Bax) and cysteine protease 3 (Caspase-3) in mouse brain tissue. **Results** Compared with the control group, the apoptosis rate of hippocampal neurons, climbing time of mice, pathological damage to the substantia nigra, levels of IL-6, IL-1 β and TNF- α in brain tissue, and protein expression of CHOP, Bax, Caspase-3, and PERK in brain tissue in the model group were significantly increased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$), and the fall latency and the number of TH-positive cells were obviously decreased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Compared with the model group, the climbing time of mice, pathological damage to the substantia nigra, apoptosis rate of hippocampal neurons, levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6 in brain tissues, the protein expressions of Bax, Caspase-3, PERK and CHOP in brain tissue were obviously decreased in the low and high dose Vitexin groups and the positive control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$), and the fall latency and the number of TH-positive cells were obviously increased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). CCT020312 attenuated the substantia nigra inhibitory effects of high-dose Vitexin on neuronal apoptosis, pathological damage to the substantia nigra and inflammation in the hippocampus of PD mice. **Conclusion** Vitexin could ameliorate motor dysfunction in PD model mice, and plays a neuroprotective role, which may be achieved by inhibiting the PERK-CHOP endoplasmic reticulum stress pathway.

Key words: Parkinson's disease; Vitexin; PERK-CHOP; endoplasmic reticulum stress; neurological function

帕金森病(PD)是一种神经退行性疾病,其主要病理特征为黑质多巴胺神经元的渐进性丧失以及路易体和路易神经突的形成,对患者的身心健康和生活质量造成了极大的威胁^[1-2]。PD 发病机制复杂,内质网应激被认为是其中的一个重要因素,因此,针对内质网应激的干预对 PD 治疗有着重要意义^[3]。蛋白激酶 R 样内质网激酶(PERK)-C/EBP 同源蛋白(CHOP)途径与内质网应激联系密切^[4],有研究指出^[5],姜黄素可通过抑制 PERK/CHOP 内质网应激通路降低 2 型糖尿病大鼠的血糖,提高脂联素水平。牡荆素是从牡荆叶和牡荆子中提取出的天然黄酮类化合物,除了抗癌、抗氧化、抗病毒作用,还具有包括抗记忆损伤、抗老年痴呆、抗抑郁、抗癫痫、镇痛等神经系统保护作用^[6-7],已有研究证实,牡荆素可以保护多巴胺能神经元^[8],但牡荆素能否通过调节 PERK-CHOP 内质网应激途径来改善 PD 小鼠神经功能尚不清楚,故本实验旨在探讨牡荆素调节 PERK-CHOP 内质网应激途径对 PD 小鼠神经功能的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 成年雄性 C57BL/6J 小鼠(购自新疆医科大学动物实验中心),SPF 级,体重 28~30 g,8~10 周龄,生产许可证号为 SCXK(新)2021-008。于维持屏障环境的动物房中饲养小鼠:光照明暗各 12 h、湿度 55%~65%、温度 20~23 ℃,适应饲养 7 d。

1.2 仪器与试剂 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶

(MPTP,纯度为 99%,货号:M0896)购自美国 Sigma 公司;左旋多巴(国药准字:H33021919)购自福安药物集团宁波天衡制药有限公司;CCT020312(规格:5 mg)购自深圳海思安生物技术有限公司;牡荆素(纯度:HPLC $\geq$ 98%)、通用 SP 免疫组织化学试剂盒、TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒、小鼠白细胞介素(IL)-6 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒、小鼠 IL-1 β 试剂盒、小鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)试剂盒购于北京索莱宝科技有限公司;兔源抗小鼠 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)一抗、兔源抗小鼠甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)一抗、兔源抗小鼠半胱氨酸蛋白酶 3(caspase-3)一抗、辣根过氧化物酶标记山羊抗鼠 IgG(H+L)、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 二抗购于上海碧云天生物技术有限公司;兔源抗小鼠 CHOP 一抗、兔源抗小鼠 PERK 一抗、兔源抗小鼠酪氨酸羟化酶(TH)一抗购于美国 Abcam 公司;XR-YLS-4C 型转棒式疲劳仪购自上海欣软信息科技有限公司;FlexA-200 型全波长酶标仪购自山东莱索科技有限公司;ML41 型双目倒置生物显微镜购自广州市明美光电技术有限公司等。

1.3 PD 小鼠模型的构建及分组给药 参照文献[9]采用腹腔注射 MPTP 的方法构建 PD 小鼠模型:腹腔注射 MPTP 30 mg/kg/d,连续注射 5 d,当注射完成后,观察小鼠的行为学变化,以小鼠出现呼吸急促、震颤、竖毛、步态不稳等反应表示建模成功。将造模成

功的 60 只 PD 小鼠分为高剂量牡荆素组、低剂量牡荆素组、模型组、激活剂组、阳性对照组, 每组 12 只, 另选 12 只正常的 C57BL/6J 小鼠作为对照组。用生理盐水溶解牡荆素、阳性药左旋多巴和 PERK 激活剂 CCT020312, 高剂量牡荆素组、低剂量牡荆素组、阳性对照组小鼠分别按照 50 mg/kg、25 mg/kg 的牡荆素和 20 mg/kg 的左旋多巴进行灌胃, 激活剂组小鼠按照 50 mg/kg 的牡荆素灌胃后还需灌胃 2 mg/kg 的 CCT020312, 对照组及模型组小鼠每天灌胃等体积的生理盐水 1 次, 时间持续 4 周。

1.4 检测小鼠运动功能 转棒实验: 将各组小鼠放在转棒仪上, 给予 30 s 的时间适应, 启动转棒仪, 转速在 30 s 内达到 26 r/min, 记录小鼠第 1 次从棒上跌落的时间; 爬杆实验: 取长 50 cm, 粗 1 cm 铁杆作为爬杆, 缠上医用胶带防止打滑, 各组小鼠在实验前 1 周每天依次训练, 于最后依次治疗后将小鼠放在爬杆上端, 以小鼠双前上肢接触杆底平台为爬完全程, 记录所需时间。

1.5 HE 染色检测脑部黑质区多巴胺能神经元形态变化 每组选取 6 只小鼠, 麻醉处死小鼠后迅速断头, 冰上取脑, 分离出黑质区和海马区, 采用 4% 多聚甲醛固定 24 h, 石蜡包埋后分别切成 6 μm 厚的切片, 将脑部黑质区切片用伊红或苏木精染色后进行组织病理学观察。

1.6 免疫组化法检测小鼠脑组织黑质区 TH 表达 取脑部黑质区切片, 脱蜡, 水化后进行抗原修复, 内源性过氧化物酶反应, 滴加一抗 TH 孵育过夜, 滴加二抗, DAB 显色, 苏木素复染, 在显微镜下观察并利用 Image J 软件分析统计阳性细胞数。

1.7 TUNEL 染色检测小鼠海马区神经元凋亡 取 1.5 中脑部海马区切片进行染色 (TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒)。其中, 总细胞核用 DAPI 染色, 凋亡细胞核为绿色荧光染色。在荧光显微镜下观察细胞凋亡情况, 海马区神经元凋亡率等于 TUNEL 阳性细胞/DAPI 染色细胞核×100%。

1.8 ELISA 检测试剂盒检测小鼠脑组织中 TNF-α、IL-6、IL-1β 水平 每组另外选取 6 只小鼠, 按照 1.5 的方法处死小鼠并收集脑组织, 匀浆、裂解、收集上清液, 按照 TNF-α、IL-6、IL-1β ELISA 试剂盒说明书检测小鼠脑组织中 TNF-α、IL-6、IL-1β 水平。

1.9 Western blot 检测蛋白表达 取 1.8 中的脑组织匀浆, 提取总蛋白 (采用 RIPA 裂解缓冲液), 将蛋白质进行定量、电泳、转膜、封闭, 然后将膜与一抗 PERK、CHOP、Bax、caspase-3、GAPDH 按照对应比例孵育过夜 (4 ℃ 下), 然后将膜暴露于 HRP 标记的二抗中 1 h。ECL 试剂检测蛋白质印迹, Image Lab™ 软件分析目标蛋白的灰度值。

1.10 统计学处理 采用 SPSS25.0 统计学软件进行数据分析。计量数据 (爬杆时间、IL-1β 等) 采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。单因素方差分析用于检验多组之间的差异, 两组间比较采用 Tukey 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组小鼠运动功能比较 与对照组比较, 模型组小鼠的下落潜伏期明显减少, 爬杆时间明显增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 低、高剂量牡荆素组和阳性对照组小鼠的下落潜伏期明显增加, 爬杆时间明显减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与高剂量牡荆素组比较, 激活剂组小鼠的下落潜伏期显著减少, 爬杆时间显著增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 各组小鼠运动功能比较 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)		
组别	下落潜伏期 (s)	爬杆时间 (min)
对照组	375.32 ± 18.45	8.02 ± 0.53
模型组	142.52 ± 8.76 [*]	25.85 ± 2.21 [*]
低剂量牡荆素组	201.85 ± 9.83 [#]	20.14 ± 1.65 [#]
高剂量牡荆素组	326.57 ± 17.12 ^{#&}	13.36 ± 1.13 ^{#&}
阳性对照组	332.64 ± 14.34 ^{#&}	12.06 ± 1.08 ^{#&}
激活剂组	218.78 ± 9.47 [@]	22.45 ± 1.56 [@]
F	544.200	266.400
P	<0.001	<0.001

注: 与对照组比较, ^{*} $P < 0.05$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$; 与低剂量牡荆素组比较, [&] $P < 0.05$; 与高剂量牡荆素组比较, [@] $P < 0.05$ 。

2.2 各组小鼠脑部黑质区病理形态比较 与对照组比较, 模型组小鼠脑内黑质区神经元数量明显减少, 核仁染色明显, 胞浆染色变深, 且可见较多空泡化变性神经元; 与模型组比较, 低、高剂量牡荆素组和阳性对照组小鼠的神经元数目增多, 空泡化变性减少; 与高剂量牡荆素组比较, 激活剂组小鼠的核仁和胞浆染色加深, 见图 1。

2.3 各组小鼠脑组织黑质区 TH 阳性细胞数目比较 与对照组比较, 低剂量牡荆素组、激活剂组、模型组小鼠 TH 阳性细胞数目显著减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 低、高剂量牡荆素组和阳性对照组小鼠 TH 阳性细胞数目明显增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与高剂量牡荆素组比较, 激活剂组小鼠 TH 阳性细胞数目减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 2 和表 2。

2.4 各组小鼠海马区神经元凋亡比较 小鼠海马区神经元凋亡率其他各组比对照组显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 低、高剂量牡荆素组和阳性对照组小鼠海马区神经元凋亡率比模型组明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与高剂量牡荆素组比较, 激活剂组小鼠海马区神经元凋亡率升高, 差异有统计学

意义($P<0.05$),见表 3 和图 3。

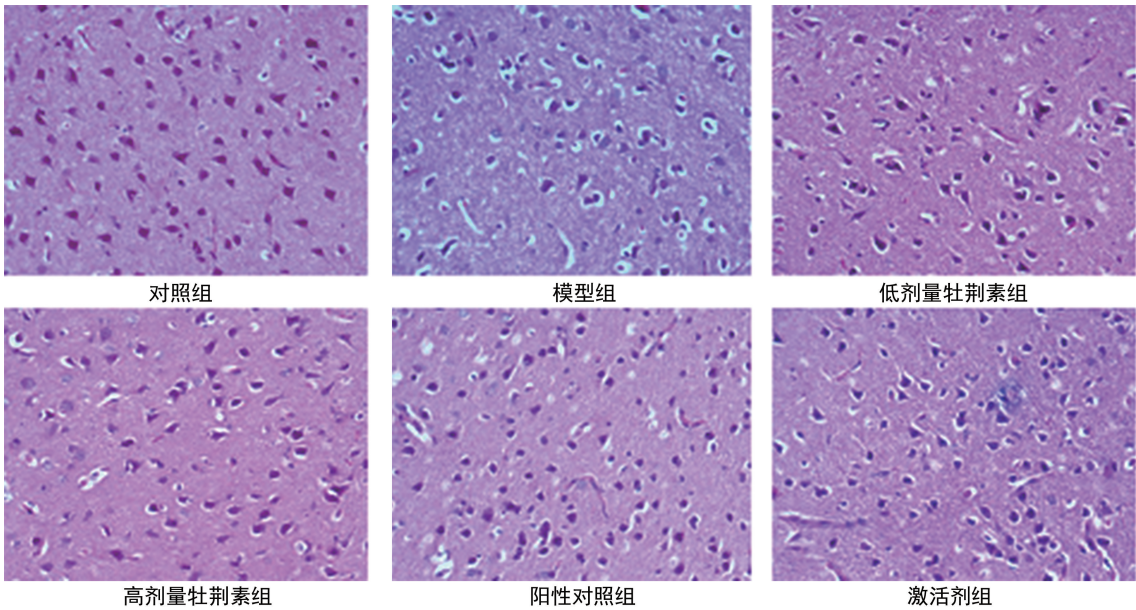


图 1 HE 染色检测各组小鼠脑部黑质区病理形态变化(×400)

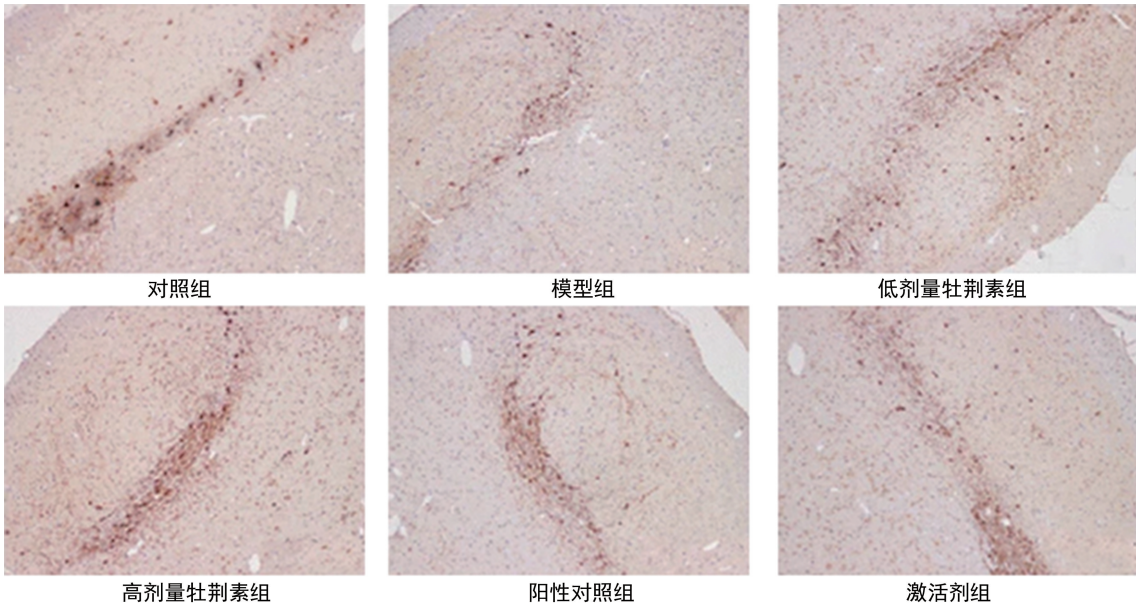


图 2 免疫组化法检测各组小鼠神经细胞中 TH 表达(×100)

表 2 各组小鼠神经细胞 TH 阳性细胞数目比较 ($\bar{x}\pm s,n=6$)	
组别	TH 阳性细胞数目(个)
对照组	105.32±3.94
模型组	67.35±3.57 *
低剂量牡荆素组	78.65±3.46 #
高剂量牡荆素组	96.71±3.52 #&
阳性对照组	99.46±3.38 #&
激活剂组	85.74±3.25 @
F	98.570
P	<0.001

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$;与低剂量牡荆素组比较,& $P<0.05$;与高剂量牡荆素组比较,@ $P<0.05$ 。

表 3 各组小鼠海马区神经元凋亡率比较($\bar{x}\pm s,n=6$)	
组别	神经元凋亡率(%)
对照组	5.64±0.25
模型组	35.56±2.04 *
低剂量牡荆素组	26.85±1.42 #
高剂量牡荆素组	12.74±1.16 #&
阳性对照组	11.05±1.13 #&
激活剂组	21.46±1.07 @
F	448.000
P	<0.001

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$;与低剂量牡荆素组比较,& $P<0.05$;与高剂量牡荆素组比较,@ $P<0.05$ 。

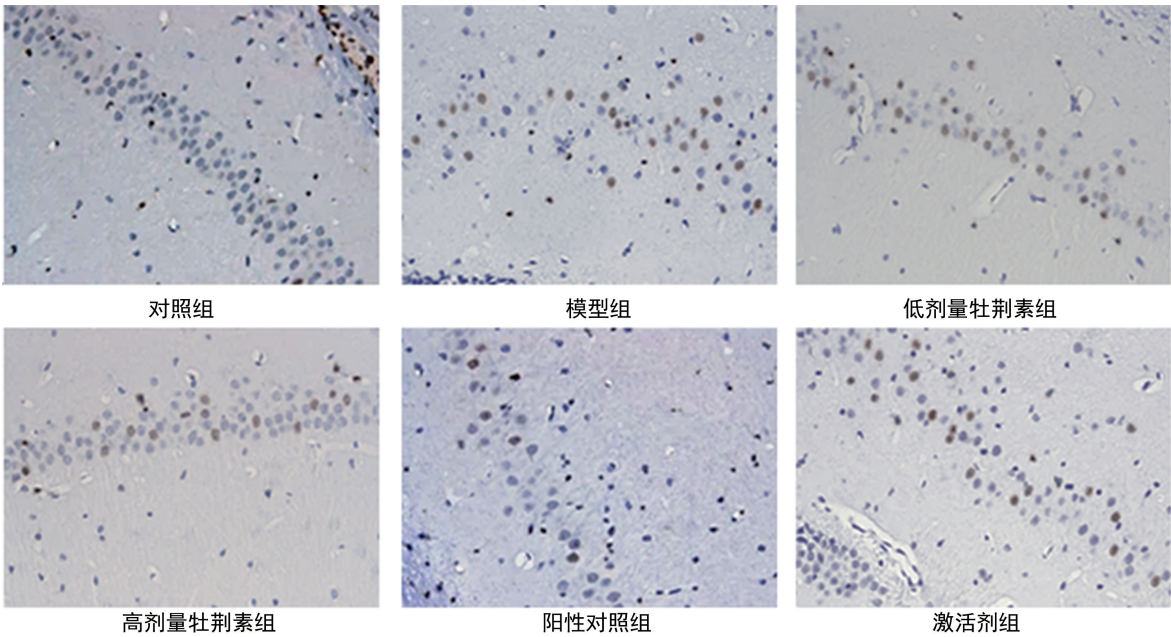


图 3 TUNEL 染色检测小鼠海马区神经元凋亡(×200)

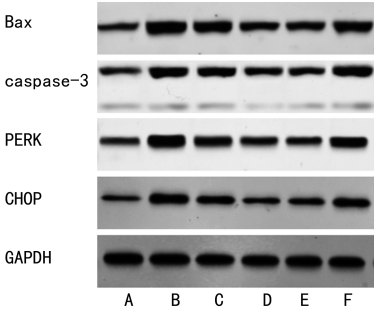
2.5 各组小鼠脑组织中 TNF-α、IL-6、IL-1β 水平比较 模型组、低剂量牡荆素组、激活剂组小鼠脑组织中 IL-6、TNF-α、IL-1β 水平比对照组显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$);低、高剂量牡荆素组和阳性对照组小鼠脑组织中 TNF-α、IL-6、IL-1β 水平比模型组显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$);与高剂量牡荆素组比较,激活剂组小鼠脑组织中 TNF-α、IL-6、IL-1β 水平上升,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

表 4 各组小鼠脑组织中 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平比较($\bar{x}\pm s, n=6, \text{ng/L}$)

组别	TNF-α	IL-6	IL-1β
对照组	90.68±5.49	13.87±3.04	23.74±4.52
模型组	123.74±7.23 [*]	34.21±4.36 [*]	58.67±4.13 [*]
低剂量牡荆素组	104.46±4.85 [#]	19.28±3.17 [#]	34.03±4.64 [#]
高剂量牡荆素组	96.05±5.93 ^{#&}	12.64±3.83 ^{#&}	22.11±4.34 ^{#&}
阳性对照组	95.82±5.22 ^{#&}	11.56±3.72 ^{#&}	20.30±4.81 ^{#&}
激活剂组	115.68±5.49 [@]	23.87±3.04 [@]	38.74±4.52 [@]
F	30.210	35.690	62.770
P	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与低剂量牡荆素组比较,[&] $P<0.05$;与高剂量牡荆素组比较,[@] $P<0.05$ 。

2.6 各组小鼠脑组织中 Bax、caspase-3、PERK、CHOP 蛋白水平比较 与对照组相比较,模型组小鼠脑组织中 Bax、caspase-3、PERK、CHOP 蛋白水平明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,低、高剂量牡荆素组和阳性对照组小鼠脑组织中 Bax、caspase-3、PERK、CHOP 蛋白水平显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$);与高剂量牡荆素组比较,激活剂组小鼠脑组织中 Bax、caspase-3、PERK、CHOP 蛋白水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 4、表 5。



注:A 为对照组;B 为模型组;C 为低剂量牡荆素组;D 为高剂量牡荆素组;E 为阳性对照组;F 为激活剂组。

图 4 各组小鼠脑组织中 Bax、caspase-3、PERK、CHOP 蛋白水平条带图

表 5 各组小鼠脑组织中 Bax、caspase-3、PERK、CHOP 蛋白水平比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	Bax/GAPDH	caspase-3/GAPDH	PERK/GAPDH	CHOP/GAPDH
对照组	0.42±0.13	0.33±0.02	0.51±0.06	0.26±0.04
模型组	1.32±0.11 [*]	1.18±0.10 [*]	1.38±0.12 [*]	0.98±0.11 [*]
低剂量牡荆素组	0.97±0.08 [#]	0.83±0.07 [#]	0.95±0.14 [#]	0.62±0.05 [#]
高剂量牡荆素组	0.65±0.14 ^{#&}	0.56±0.05 ^{#&}	0.64±0.06 ^{#&}	0.46±0.06 ^{#&}
阳性对照组	0.58±0.13 ^{#&}	0.51±0.03 ^{#&}	0.57±0.08 ^{#&}	0.44±0.08 ^{#&}

续表 5 各组小鼠脑组织中 Bax、caspase-3、PERK、CHOP 蛋白水平比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	Bax/GAPDH	caspase-3/GAPDH	PERK/GAPDH	CHOP/GAPDH
激活剂组	1.08±0.06 ^⑥	0.96±0.10 ^⑥	1.15±0.12 ^⑥	0.81±0.07 ^⑥
F	55.780	126.100	71.690	80.920
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：与对照组比较，* $P<0.05$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ；与低剂量牡荆素组比较，[△] $P<0.05$ ；与高剂量牡荆素组比较，^⑥ $P<0.05$ 。

3 讨 论

PD 是由多种因素介导的慢性神经退行性疾病，随着我国人口老龄化的加剧，其发病率升高，给我国的医疗系统带来沉重的压力^[10-12]。目前主要依赖左旋多巴、多巴胺受体激动剂等药物缓解 PD 患者症状，但中晚期患者存在疗效差，有不良反应等问题^[13-15]。因此，开发新的治疗药物对 PD 患者有重大意义。本文通过向 C57BL/6J 小鼠腹腔注射 MPTP 的方法构建 PD 模型，结果发现，造模小鼠脑组织炎症细胞因子水平升高，引发炎症，造成黑质区多巴胺能神经元缺失和海马区神经元凋亡，并导致小鼠转棒实验下落潜伏期降低，爬杆实验时间增加，表明造模小鼠出现运动障碍，揭示 PD 模型构建成功。

有研究显示，内质网应激和神经炎症是造成 PD 动物模型多巴胺能神经元丢失和神经细胞凋亡的主要病理因素，抑制内质网应激和神经炎症发生发展可有效改善 PD 症状^[16-17]。牡荆素又称牡荆苷，是一种具有显著抗炎、抑制应激作用和保护神经的天然化合物，可显著缓解丙烯酰胺神经毒素诱导的斑马鱼幼虫的组织学和行为学变化^[18-19]，还可以改善异氟醚诱导的神经元凋亡和记忆障碍^[20]，因此推测牡荆素可能具有抗 PD 作用。本文以不同剂量牡荆素处理 PD 小鼠，可降低小鼠爬杆时间、海马区神经元凋亡率、TNF-α、IL-6 及 IL-1β 水平，提高下落潜伏期、黑质区多巴胺能神经元数量，表明牡荆素可抑制炎症细胞因子表达，减少黑质区多巴胺能神经元损伤和海马区神经元凋亡，修复 PD 小鼠运动功能，明显改善其神经功能。

PERK-CHOP 作为内质网应激主要的调控信号，在神经保护方面具有重要作用^[21-22]。白藜芦醇可通过调控 PERK-ATF4-CHOP 信号通路抑制内质网应激，发挥脑神经细胞保护作用^[23]。有研究表明，GSK2606414 可抑制 PERK/p-eIF2α/ATF4/CHOP 轴并增强线粒体功能，减轻高糖诱导的神经母细胞瘤神经毒性^[24]。还有研究表示，黄芪甲苷-IV 可通过减少 CHOP 蛋白水平从而抑制神经元凋亡^[25]。因此推测抑制 PERK-CHOP 内质网应激途径可能是牡荆素改善神经功能的作用机制，本文结果显示，牡荆素可降低 PD 小鼠脑组织 PERK 及 CHOP 蛋白水平，表明牡荆素可通过调控 PERK/CHOP 信号改善 PD 小鼠神经功能，以牡荆素和 PERK 激活剂 CCT020312 同

时处理 PD 小鼠，相比牡荆素单独处理，可促使小鼠爬杆时间、海马区神经元凋亡率、TNF-α、IL-6 及 IL-1β 水平、脑组织 PERK、CHOP、Bax、caspase-3 蛋白水平升高，下落潜伏期、黑质区多巴胺能神经元数量降低，表明 CCT020312 可减弱牡荆素对 PERK-CHOP 内质网应激途径及炎症的抑制，且对于牡荆素对海马区神经元凋亡的缓解和黑质区多巴胺能神经元损伤起着拮抗作用，最终逆转牡荆素对 PD 小鼠神经、运动功能的改善作用，揭示牡荆素是通过抑制 PERK-CHOP 内质网应激途径从而改善 PD 模型小鼠神经功能。

综上所述，牡荆素可改善 PD 小鼠运动功能障碍，减轻炎症反应，发挥神经保护作用，这可能是通过抑制 PERK-CHOP 内质网应激途径实现。

参考文献

[1] HAYES M T. Parkinson's disease and parkinsonism[J]. Am J Med, 2019, 132(7): 802-807.

[2] 高岩, 赵亚明. 卡巴拉汀联合左旋多巴治疗帕金森病的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2018, 33(5): 1234-1238.

[3] MOU Z, YUAN Y H, ZHANG Z, et al. Endoplasmic reticulum stress, an important factor in the development of Parkinson's disease[J]. Toxicol Lett, 2020, 324(5): 20-29.

[4] 廖太阳, 杨楠, 张力, 等. 白杨素对离体培养致炎大鼠软骨细胞凋亡及内质网应激 GRP78/PERK/CHOP 通路的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2022, 38(12): 2197-2204.

[5] 谢希, 彭雪英, 王叙煌. 姜黄素对 2 型糖尿病模型大鼠胰腺内质网应激 PERK-CHOP 信号通路的影响[J]. 国际中医中药杂志, 2020, 42(9): 871-875.

[6] 毛丽娜, 朱清, 李俊旭. 牡荆素的神经保护作用及机制研究进展[J]. 中国药理学通报, 2016, 32(10): 1353-1356.

[7] 段鹏, 霍康, 王建懿, 等. 牡荆素对大鼠脑缺血再灌注损伤后的小胶质细胞/巨噬细胞 M2 极化的影响[J]. 现代生物医学进展, 2022, 22(19): 3618-3624.

[8] HU M, LI F M, WANG W D. Vitexin protects dopaminergic neurons in MPTP-induced Parkinson's disease through PI3K/Akt signaling pathway[J]. Drug Des Devel Ther, 2018, 12(3): 565-573.

[9] 赵晓阳, 王小玲, 梁文娜, 等. 丁苯酞对帕金森小鼠模型细胞凋亡和氧化应激的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(16): 2209-2212.

[10] 袁方玉, 盛娟娟, 鞠程, 等. GJ-4 对帕金森病模型小鼠的保护作用及其机制[J]. 医药导报, 2022, 41(11): 1582-

- 1588.
- [11] TANG B M, LI Z W, WANG Z Y. PERK activator CC T020312 prevents inflammation-mediated osteoporosis in the ovariectomized rats[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2021, 37(4):342-348.
- [12] 赵雪薇, 陈珮琪, 牛延翔, 等. 帕金森病的病因及发病机制研究进展[J]. *新乡医学院学报*, 2021, 38(4):378-381.
- [13] 王肖莹, 张颖颖, 高晴, 等. 帕金森病疼痛的神经机制和治疗进展[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2022, 24(1):105-107.
- [14] 李玉旺, 董萌, 陈学姣, 等. 帕金森病初始药物治疗对患者症状和生活质量的影响[J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2022, 22(4):278-282.
- [15] ARMSTRONG J M, OKUN M S. Diagnosis and treatment of parkinson disease a review[J]. *JAMA*, 2020, 323(6):548-560.
- [16] COSTA C A, MANAA W E, DUPLAN E, et al. The endoplasmic reticulum stress/unfolded protein response and their contributions to parkinson's disease physiopathology[J]. *Cells*, 2020, 9(11):2495.
- [17] 李莉莉, 利慧华, 贾亚楠, 等. 内质网应激在帕金森病发病机制中的研究进展[J]. *基因组学与应用生物学*, 2017, 36(2):523-530.
- [18] QI Y, CHEN L, SHAN S, et al. Vitexin improves neuron apoptosis and memory impairment induced by isoflurane via regulation of miR-409 expression[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2020, 29(1):135-145.
- [19] KRISHNAN M, KANG S C. Vitexin inhibits acrylamide-induced neuroinflammation and improves behavioral changes in zebrafish larvae [J]. *Neurotoxicol Teratol*, 2019, 74(8):106811.
- [20] QI Y, CHEN L, SHAN S, et al. Vitexin improves neuron apoptosis and memory impairment induced by isoflurane via regulation of miR-409 expression[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2020, 29(1):135-145.
- [21] ROZPEDEK-KAMIŃSKA W, SIWECKA N, WAWRZYNKIEWICZ A, et al. The PERK-dependent molecular mechanisms as a novel therapeutic target for neurodegenerative diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(6):2108.
- [22] XU W, LI T, GAO L, et al. Apelin-13/APJ system attenuates early brain injury via suppression of endoplasmic reticulum stress-associated TXNIP/NLRP3 inflammatory activation and oxidative stress in a AMPK-dependent manner after subarachnoid hemorrhage in rats[J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1):247.
- [23] 李彪, 台勇, 迟正锁, 等. 基于内质网应激 PERK-ATF4-CHOP 信号通路探讨白藜芦醇对 AD 大鼠脑神经细胞凋亡的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(20):2443-2446.
- [24] GUNDU C, ARRURI V K, SHERKHANE B, et al. GS K2606414 attenuates PERK/p-eIF2 α /ATF4/CHOP axis and augments mitochondrial function to mitigate high glucose induced neurotoxicity in N2A cells[J]. *Curr Res Pharmacol Drug Discov*, 2022, 24(7):100087.
- [25] GE B, LI S L, LI F R. Astragaloside-IV regulates endoplasmic reticulum stress-mediated neuronal apoptosis in a murine model of parkinson's disease via the lincRNA-p21/CHOP pathway[J]. *Exp Mol Pathol*, 2022, 115(9):104478.
- (收稿日期:2023-09-22 修回日期:2023-12-25)
-
- (上接第 1036 页)
- [8] LI Y, ZHANG T, ZHANG H, et al. Clinical Significance of P16 gene methylation in lung cancer[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1255:133-142.
- [9] 余双, 蔡芳, 冯云路, 等. 胰岛素瘤中 p16 基因甲基化和表达下降与临床病理特征的关系[J]. *中华医学杂志*, 2022, 102(14):1028-1033.
- [10] 杨燕, 张利绒. 肺鳞状细胞癌和肺腺癌差异表达基因[J]. *内蒙古大学学报(自然科学版)*, 2020, 51(4):392-401.
- [11] 白文文, 张若辉, 甄婵军, 等. 7 例肺腺癌转化小细胞癌患者的临床病理特征分析[J]. *中国肿瘤临床*, 2020, 47(15):776-779.
- [12] MA T, CHAI M, SHOU H, et al. Mesonephric-Like adenocarcinoma of uterine corpus: a clinicopathological and targeted genomic profiling study in a single institution [J]. *Front Oncol*, 2022, 12(1):911695.
- [13] 沐超, 胡新荣. Galectin-3 与宫颈组织癌变关系的 Meta 分析[J]. *海南医学*, 2021, 32(3):377-381.
- [14] 刘星, 霍占江. 甲状腺乳头状癌组织中 galectin-3 与 miR-375 水平表达意义及相关性研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2023, 38(1):49-52.
- [15] 杨柳, 戴明, 方杏华. 下调 Galectin-3 对肺癌 H460 细胞生长及 NF- κ B 信号通路和细胞免疫因子的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(8):960-964.
- [16] 肖正红, 谢广伦, 翟焕阁, 等. 沉默半乳糖凝集素-3 体外诱导卵巢癌细胞凋亡和内质网应激的实验研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2020, 28(10):1638-1642.
- [17] KUMAR R, MANDAL S, ARORA P, et al. The expression of p16 and galectin-3 in cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and squamous cell carcinoma (SCC) uterine cervix[J]. *J Obstet Gynaecol*, 2021, 41(5):785-790.
- [18] ŠVAJDLER M, MEZENCEV R, ŠAŠKOVÁ B, et al. Triple marker composed of p16, CD56, and TTF1 shows higher sensitivity than INSM1 for diagnosis of pulmonary small cell carcinoma: proposal for a rational immunohistochemical algorithm for diagnosis of small cell carcinoma in small biopsy and cytology specimens[J]. *Hum Pathol*, 2019, 85(1):58-64.
- (收稿日期:2023-09-16 修回日期:2023-12-25)