

【基础研究】

作者简介:姬亚杰(1987-),女,河南洛阳人,硕士,主治医师,研究方向:神经病学。

by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction. Western blot was used to detect the expression of IGF-1, Akt, phosphorylated Akt (p-Akt), FoxO3a and phosphorylated FoxO3a (p-FoxO3a) protein in striatum of rats. **Results** After one week of intervention, the feed, drank and movement of the rats in sham operation group were all normal; the rats in the NC group had less food and water intake, less activity, slow movement or abnormal posture, and some of them had irritable, manic and self mutilation behaviors; compared with NC group, the above symptoms of the rats in the intervention group were relieved. The AIM score and neuron apoptosis rate of the rats in the NC group and the intervention group were significantly higher than those in the sham operation group ($P < 0.001$), the AIM score and neuron apoptosis rate of the rats in the intervention group were significantly lower than those in the NC group ($P < 0.001$). The relative expressions of miR-205 mRNA in striatum of rats in the NC group and the intervention group were significantly higher than that in the sham operation group ($P < 0.001$), the relative expressions of miR-205 mRNA in striatum of rats in the intervention group was significantly lower than that in the NC group ($P < 0.001$); the relative expressions of IGF-1 mRNA in striatum of rats in the NC group and intervention group were significantly lower than that in the sham operation group ($P < 0.001$), and the relative expression of IGF-1 mRNA in striatum of rats in the intervention group was significantly higher than that in the NC group ($P < 0.001$); there was no difference in Akt and FoxO3a mRNA among the three groups ($P > 0.05$). The relative expression of IGF-1, p-Akt/Akt and p-FoxO3a/FoxO3a protein in striatum of rats in the NC group and intervention group were significantly lower than those in the sham operation group ($P < 0.001$), and the relative expression of IGF-1, p-Akt/Akt and p-FoxO3a/FoxO3a protein in striatum of rats in the intervention group were higher than those in the NC group ($P < 0.001$). **Conclusion** Inhibition of miR-205 expression in striatum of frontal cortex of rats can improve PD symptoms through inhibiting apoptosis of dopaminergic neurons, and the mechanism may be related to up-regulate the IGF-1 expression and p-Akt and p-FoxO3a.

Key words: Parkinson's disease; striatum; microRNA-205; insulin-like growth factor-1; protein kinase B; forkhead box protein O3a; dopaminergic neurons

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种老年人常见的神经退行性疾病,以运动缓慢、静止性震颤、肌肉强直及姿势步态障碍为主要临床表现,随着病程进展可出现高级神经功能障碍,最终发展为痴呆,其发病率随年龄的增加而增加,对中老年人健康及生活质量造成严重影响^[1-2]。纹状体-黑质多巴胺能神经元退行性变性及凋亡是 PD 的重要病理变化,因此,抑制多巴胺能神经元凋亡是 PD 防治的重要措施^[3]。目前,临床治疗 PD 主要以多巴胺替代疗法或手术治疗为主,但仅可暂时缓解早期的运动障碍,因此,寻找更有效的治疗方法成为临床研究重点。微 RNA-205 (microRNA-205, miR-205) 属于微 RNA (microRNA, miRNA) 家族,其可参与调节神经系统的发育过程及神经细胞生长、凋亡等^[4]。研究表明,大脑皮层 miR-205 表达异常与皮质神经元缺血缺氧损伤有关^[5]。目前,虽然有关于 miR-205 在神经退行性病变中的相关研究,但其在 PD 纹状体中的表达以及对神经元凋亡的影响和机制尚未明确。本研究采用脑立体定位仪注射 6-羟多巴胺建立 PD 大鼠模型,探讨 miR-205 在脑额叶皮层纹状体中的表达及其对多巴胺能神经元凋亡的调控作用,旨在为 PD 的基因靶向治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物 无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级雄性 Sprague Dawley (SD) 大鼠 30 只,6 周龄,体质量 200 ~ 220 g,购自北京维通利华实验动

物技术有限公司,许可证号 SCXK (京) 2017-0001。本研究符合实验动物伦理,遵循使用动物“3R”原则。

1.2 主要药物、试剂和仪器 6-羟多巴胺购自美国 Amresco 公司,阿扑吗啡购自东北制药集团沈阳第一制药有限公司 (国药准字 H21022435, 1 mL : 5 mg); miR-205 双链寡核苷酸抑制剂 (miR-205-inhibitor) 及其阴性对照试剂 (miR-205-inhibitor-NC) 购自美国 Invitrogen 公司,水合氯醛购自美国 Santa cruz 公司,TRIzol 试剂盒、二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 蛋白定量分析试剂盒购自上海远慕生物科技有限公司,电化学发光 (electrochemiluminescence, ECL) 显影液购自美国 Thermo 公司,磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffer saline, PBS) 购自上海研拓生物科技有限公司,兔抗鼠胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1)、蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、叉头框蛋白 O3a (forkhead box protein O3a, FOXO3a) 抗体、 β -actin 抗体、羊抗兔免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) 抗体购自美国 Zymed 公司,脱氧核糖核苷末端转移酶介导的缺口末端标记法 (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end labeling assay, TUNEL) 细胞凋亡原位检测试剂盒购自北京博奥森生物工程有限公司;脑立体微量注射泵购自美国 KD Scientific 公司,脑立体定位仪购自美国 Stoelting 公司, Mx 3005P 实时荧光定量聚合酶链式反应 (real time fluorescent quantitative-polymerase chain reaction,

qRT-PCR) 仪购自美国 Agilent 公司, CX31 倒置光学显微镜购自日本 Olympus 公司, 凝胶成像系统购自美国 UVP 公司, Tecan-5082 Sunrise 全自动酶标仪购自瑞士 Tecan 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组及干预措施 将 30 只 SD 大鼠随机分为干预组、阴性对照 (negative control, NC) 组和假手术组, 每组 10 只。干预组和 NC 组大鼠参照文献[6]方法制备 PD 模型, 具体方法: 应用 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉大鼠, 头部固定于立体定位仪, 术区皮肤消毒后, 沿头部矢状线剪开头皮和骨膜, 充分暴露前囟。干预组、NC 组大鼠颅内注射 6-羟多巴胺 1 次, 具体方法: 于前囟右侧 3.5 mm、前囟后 3.7 mm、硬膜下 4.5 mm (纹状体区) 及矢状缝向右侧 1.7 mm、硬膜下 7.8 mm (右侧前脑内侧束区) 双点注射 $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-羟多巴胺 $6 \mu\text{L}$ (溶于 5 mL 含 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 抗坏血酸的生理盐水中), 注射速度为 $1 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$, 留针 10 min 后以 $1 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ 速度缓慢拔针, 然后逐层缝合; 肌肉注射青霉素, 每次 8 万 U, 每日 1 次, 连续 7 d。假手术组大鼠同法注射等量含 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 抗坏血酸的生理盐水, 共 1 次。干预 10 d 后, 干预组和 NC 组大鼠以阿扑吗啡 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射诱发旋转试验, 诱导大鼠向对侧旋转, 观察 30 min, 以平均旋转次数 $> 7 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 为建模成功, 干预组和 NC 组大鼠均建模成功。干预组和 NC 组大鼠分别在建模成功后 24 h 于右侧纹状体内立体定位注射 $2 \mu\text{L}$ miR-205-inhibitor、 $2 \mu\text{L}$ miR-205-inhibitor-NC (应用无菌 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS 配置, 最终质量浓度为 $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)。注射位点: 前囟 1.0 mm、中线旁开 3.0 mm、硬膜下 4.5 mm, 注射速度为 $1.0 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$, 留针 10 min 后以 $1.0 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ 速度缓慢拔针, 假手术组大鼠注射相同体积的 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS。

1.3.2 一般情况观察及异常不自主动作 (abnormal involuntary movement, AIM) 评分 给药 1 周期间观察大鼠进食、饮水、活动等一般情况。给药 1 周后评价 AIM, 包括肢体运动障碍、轴性运动、咀嚼行为和对侧旋转, 根据症状的有无及严重程度分为 5 个等级 (0 ~ 4 分)^[8]: 无为 0 分; 偶尔出现为 1 分; 经常出现为 2 分; 持续性存在, 刺激可使之停止为 3 分; 持续存在, 刺激仍无法停止为 4 分。每次评定持续 140 min, 每次间隔 35 min, 共评定 4 次, 4 次评分之和为最终得分, 得分越高表明症状越严重。

1.3.3 组织取材及保存 末次 AIM 评定后以断头法处死大鼠, 迅速取出完整脑组织, 于冰上分离摘取

右侧纹状体, 一半组织保存于 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用, 另一半组织置于 $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 中性甲醛溶液中固定备用。

1.3.4 TUNEL 法检测大鼠纹状体神经元凋亡 取于 $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 中性甲醛溶液中固定 24 h 的大鼠纹状体组织, 梯度乙醇脱水, 常规石蜡包埋, 连续冠状切片, 厚度 $4 \mu\text{m}$, 采用 TUNEL 细胞凋亡原位检测试剂盒进行染色, 严格按照试剂盒说明书操作, 封片后于显微镜下观察。每张切片随机取 5 个高倍镜视野, 应用 Image Pro-plus 软件计数视野内的阳性细胞数及细胞总数, 以细胞核显棕色或棕黑色为阳性细胞, 取平均值, 以阳性细胞占细胞总数的比率表示凋亡率。

1.3.5 qRT-PCR 检测大鼠纹状体中 miR-205 及 IGF-1、Akt、FOXO3a mRNA 表达情况 取冷冻保存的大鼠纹状体组织, TRIzol 法提取总 RNA, 经反转录试剂盒反转录成 cDNA, qRT-PCR 检测目的基因的表达。按照试剂盒说明书设定反应体系, miR-205 上游引物序列为 5'-ATAAGCTGCTAGCTATAGACGTA-3', 下游引物序列为 5'-TAGCTCATGATCGTATCAGTCAG-3'; IGF-1 上游引物序列为 5'-TAAGTCGTAGAAGTACTGACTAGAT-3', 下游引物序列为 5'-ATAGCAGATGTGATCCATGGAG-3'; Akt 上游引物序列为 5'-TGATAGCTAGATGTGCATGTA-3', 下游引物序列为 5'-CGTCCTAGTGCAGATCCAGTA-3'; FoxO3a 上游引物序列为 5'-TACGACGTTGAGCTATAGCTGTCGC-3', 下游引物序列为 5'-AGCATTTCATAGCGCTATGTATGCCA-3'; U6 上游引物序列为 5'-AGGTATACGAGCTAAGATCA-3', 下游引物序列为 5'-GCTATACGTAGGTCAGTAGC-3'; β -actin 上游引物序列为 5'-TAGCCTTAGCGGTAGCCTAGTAGC-3', 下游引物序列为 5'-TAGCGTGAAGCCGTAGTAGGT-3'。反应条件: $94 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 35 s, $56 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 35 s, $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 进行 30 个循环; 再次 $72 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。以 U6 为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 miR-205 mRNA 的相对表达量; 以 β -actin 为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 IGF-1、Akt、FoxO3a mRNA 相对表达量。

1.3.6 Western blot 法检测大鼠纹状体中 IGF-1、Akt、磷酸化 Akt (phosphorylated Akt, p-Akt)、FoxO3a、磷酸化 FoxO3a (phosphorylated FoxO3a, p-FoxO3a) 蛋白表达情况 取冷冻的大鼠纹状体组织, 液氮中研磨后置于离心管, 加入细胞裂解液, 置于冰上裂解, BCA 法进行蛋白定量, 取待检测蛋白, 应用质量分数 10% 的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺

凝胶(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)电泳分离,常规转膜,加入 $50\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 脱脂牛奶室温封闭1 h, PBS 洗涤后加入兔抗鼠 IGF-1 (1 : 500)、Akt (1 : 800)、FoxO3a (1 : 300)、 β -actin(1 : 2 000)稀释液,4℃摇床过夜,加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 二抗稀释液(1 : 5 000),常温孵育 30 min, ECL 试剂盒暗室中曝光、显影、定影, Image J 凝胶成像系统分析各条带灰度值,以 IGF-1、Akt、p-Akt、FoxO3a、p-FoxO3a 与内参 β -actin 灰度值的比值表示蛋白相对表达量,并计算 p-Akt/Akt、p-FoxO3a/FoxO3a 比值。

1.4 统计学处理 应用 SPSS20.0 软件进行数据统计与分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用最小显著性差异法 t 检验; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

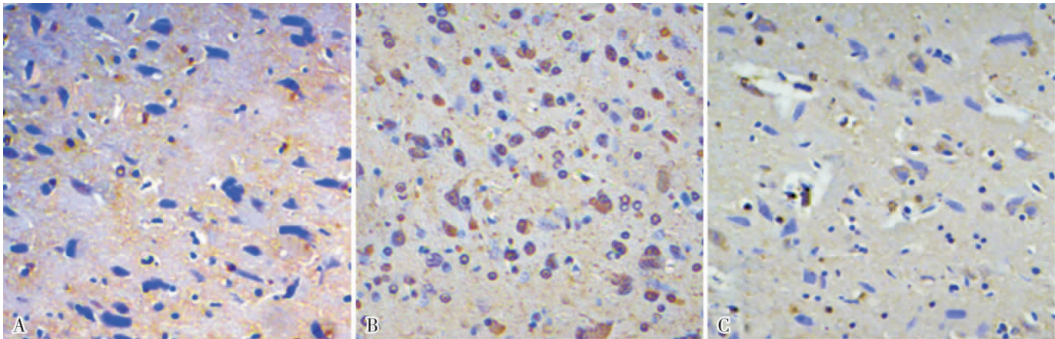
2 结果

2.1 3 组大鼠一般情况 给药 1 周后,假手术组大鼠进食、进水、活动正常;NC 组大鼠进食、进水减少,活动减少,常出现蜷缩或长时间姿势单一不变,活动

时动作缓慢或姿势异常,腹部贴地或不停嗅地,部分可见易激惹或狂躁,甚至有自残行为;干预组大鼠上述表现较 NC 组轻。

2.2 3 组大鼠 AIM 评分比较 假手术组、NC 组、干预组大鼠 AIM 评分分别为(0.00 ± 0.00)、(35.36 ± 5.36)、(24.32 ± 4.30)分,3 组大鼠 AIM 评分比较差异有统计学意义($F=12.189,P<0.001$)。干预组和 NC 组大鼠 AIM 评分显著高于假手术组,差异有统计学意义($t=20.862、17.885,P<0.001$),干预组大鼠 AIM 评分显著低于 NC 组,差异有统计学意义($t=5.081,P<0.001$)。

2.3 3 组大鼠纹状体神经元凋亡率比较 结果见图 1。假手术组、NC 组、干预组大鼠纹状体神经元凋亡率分别为(4.32 ± 1.02)%、(30.02 ± 5.56)%、(18.52 ± 3.58)%,3 组大鼠纹状体神经元凋亡率比较差异有统计学意义($F=111.053,P<0.001$);干预组和 NC 组大鼠纹状体神经元凋亡率显著高于假手术组,差异有统计学意义($t=14.377、12.063,P<0.001$);干预组大鼠纹状体神经元凋亡率显著低于 NC 组,差异有统计学意义($t=5.499,P<0.001$)。



A:假手术组;B:NC 组;C:干预组。

图 1 3 组大鼠纹状体神经元 TUNEL 染色($\times 200$)

Fig.1 TUNEL staining of striatal neurons of rat's in the three groups ($\times 200$)

2.4 3 组大鼠纹状体中 miR-205 及 IGF-1、Akt、FoxO3a mRNA 相对表达量比较 结果见表 1。3 组大鼠纹状体中 miR-205 和 IGF-1 mRNA 相对表达量比较差异均有统计学意义($P<0.001$); NC 组和干预组大鼠纹状体中 miR-205 mRNA 相对表达量显著高于假手术组,差异均有统计学意义($t=9.979、4.319,P<0.001$); NC 组和干预组大鼠纹状体中 IGF-1 mRNA 相对表达量显著低于假手术组,差异均有统计学意义($t=15.556、9.383,P<0.001$);干预组大鼠纹状体中 miR-205 mRNA 相对表达量显著低于 NC 组, IGF-1 mRNA 相对表达量高于 NC 组,差异均有统计学意义($t=6.159、5.698,P<0.001$)。

3 组大鼠纹状体中 Akt、FoxO3a mRNA 相对表达量比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

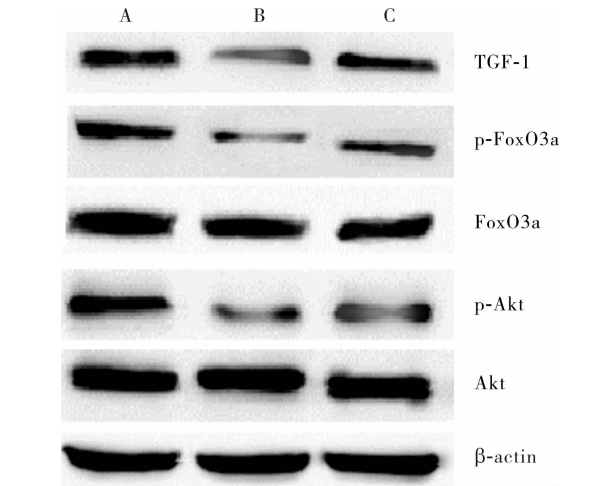
表 1 3 组大鼠 miR-205 及 IGF-1、Akt、FoxO3a mRNA 相对表达量比较

Tab.1 Comparison of relative expression of miR-205, IGF-1, Akt and FoxO3a mRNA among the three groups

($\bar{x}\pm s$)					
组别	n	miR-205	IGF-1	Akt	FoxO3a
假手术组	10	0.93±0.15	0.80±0.10	0.58±0.07	0.62±0.07
NC 组	10	1.85±0.25 ^a	0.25±0.05 ^a	0.60±0.06	0.65±0.08
干预组	10	1.25±0.18 ^{ab}	0.42±0.08 ^{ab}	0.55±0.05	0.63±0.06
F		55.741	125.873	1.727	0.470
P		<0.001	<0.001	0.197	0.631

注:与假手术组比较^a $P<0.001$;与 NC 组比较^b $P<0.001$ 。

2.5 3 组大鼠纹状体中 IGF-1 蛋白相对表达量及 p-Akt/Akt、p-FoxO3a/FoxO3a 比较 结果见图 2 和表 2。3 组大鼠纹状体中 IGF-1 蛋白相对表达量及 p-Akt/Akt、p-FoxO3a/FoxO3a 比较差异有统计学意义($P < 0.001$)；NC 组和干预组大鼠纹状体中 IGF-1 蛋白相对表达量及 p-Akt/Akt、p-FoxO3a/FoxO3a 显著低于假手术组,差异有统计学意义($t = 17.766, 12.017, 14.142, 5.668, 15.363, 10.190; P < 0.001$)；干预组大鼠纹状体中 IGF-1 蛋白相对表达量及 p-Akt/Akt、p-FoxO3a/FoxO3a 显著高于 NC 组,差异有统计学意义($t = 6.073, 8.677, 6.508, P < 0.001$)。



A:假手术组;B:NC 组;C:干预组

图 2 3 组大鼠纹状体中 IGF-1、p-Akt、Akt、p-FoxO3a、FoxO3a 蛋白相对表达量

Fig.2 Relative expression of IGF-1, p-Akt, Akt, p-FoxO3a, FoxO3a protein in rat's striatum in the three groups

表 2 3 组大鼠纹状体中 IGF-1 蛋白相对表达量及 p-Akt/Akt、p-FoxO3a/FoxO3a 比较

Tab.2 Comparison of the relative expression of IGF-1 protein and p-Akt/Akt, p-FoxO3a/FoxO3a among the three groups

组别	n	IGF-1	p-Akt/Akt	p-FoxO3a/FoxO3a
假手术组	10	0.78 ± 0.08	0.52 ± 0.06	0.55 ± 0.07
NC 组	10	0.25 ± 0.05 ^a	0.22 ± 0.03 ^a	0.18 ± 0.03 ^a
干预组	10	0.40 ± 0.06 ^{ab}	0.38 ± 0.05 ^{ab}	0.30 ± 0.05 ^{ab}
F		179.120	96.571	128.795
P		<0.001	<0.001	<0.001

注:与假手术组比较^a $P < 0.001$;与 NC 组比较^b $P < 0.001$ 。

3 讨论

PD 病因迄今未明,目前认为其与神经退行性变、遗传、感染、药物、氧化应激、自身免疫、细胞凋亡

等因素密切相关^[9]。随着我国人口老龄化加剧,PD 发病率逐渐升高,不仅影响患者的生活质量,也造成了一定的社会负担。研究发现,PD 的主要病理变化为纹状体、黑质致密部、蓝斑等部位多巴胺能神经元缺失,多巴胺能递质生成障碍^[10]。目前,PD 的治疗方法以补充纹状体多巴胺为主,虽然可在一定程度上缓解症状,但是无明显的神经保护作用。因此,了解 PD 进展过程中神经元的凋亡机制及关键基因的表达,对于 PD 的防治具有重要意义。

miRNAs 是长约 22 个核苷酸的非编码 RNA,可与靶基因 mRNA 的 3' 末端非翻译区部分或全部结合,导致靶 mRNA 降解或翻译抑制,调控人体超过 30% 的基因表达,参与细胞增殖、分化、侵袭、凋亡,癌症的发生、发展,以及神经系统发育等多种生物学活动^[11-12]。杨恩慧^[13]研究发现,miR-205 与神经系统中髓鞘的形成密切相关,在 C1 型尼曼-匹克病小鼠海马中 miR-205 表达上调可导致髓鞘标志物相关蛋白表达下降。PATIL 等^[14]认为,miR-205 异常表达与 PD 的发生有关,参与代谢、神经营养素信号调节等生物学过程。本研究结果显示,给药 1 周后,与假手术组比较,NC 组和干预组大鼠进食、进水减少,活动减少,有易激惹、狂躁、自残行为,干预组大鼠上述症状较 NC 组轻;干预组和 NC 组大鼠 AIM 评分、纹状体神经元凋亡率及 miR-205 相对表达量显著高于假手术组,而干预组大鼠上述指标均显著低于 NC 组,提示通过抑制脑额叶皮层纹状体中 miR-205 的表达,可抑制神经元凋亡,进而改善 PD 症状。

神经元凋亡受信号转导、基因调控和凋亡程序的执行 3 个过程的调节,其中信号转导过程的激活是启动细胞凋亡的前提。IGF-1/Akt/FoxO3a 通路是介导神经元凋亡的重要信号通路。IGF-1 属于多肽类神经营养因子,其结构和功能与胰岛素类似,是海马组织、大脑皮层等神经系统结构中的营养因子,参与神经功能的维持和调节,可抑制神经元凋亡,促进神经元的存活、分化和成熟^[15]。此外,IGF-1 还是介导细胞存活通路磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/Akt 信号转导通路的激活剂。IGF-1 与其受体结合后,可激活 PI3K/Akt 通路,活化的 PI3K 通过 3-磷酸化磷酸肌醇脂和磷酸肌醇脂依赖性激酶激活 Akt,活化的 Akt 能进一步激动促活因子的转录,发挥抗凋亡作用^[16-17]。FoxO3a 是 Akt 的下游靶基因,受 PI3K/Akt 信号通

路的调控,在转录调控细胞生长发育、代谢、周期阻滞、凋亡诱导等方面有重要作用^[18]。研究表明,活化的 Akt 可直接使 FoxO3a 磷酸化激活,使 FoxO3a 与细胞核内结构蛋白特异性结合,并运转至细胞质,抑制凋亡过程^[19]。郑世茹等^[20]研究发现,上调 IGF-1 和活化 Akt/FoxO3a 通路相关蛋白可抑制多巴胺能神经元的凋亡或坏死。本研究结果显示,NC 组和干预组大鼠纹状体中 IGF-1 mRNA、蛋白相对表达量及 p-Akt/Akt、p-FoxO3a/FoxO3a 均显著低于假手术组,而干预组 IGF-1 mRNA、蛋白对表达量及 p-Akt/Akt、p-FoxO3a/FoxO3a 均显著高于 NC 组,提示 miR-205 通过抑制 IGF-1/Akt/FoxO3a 信号通路而抑制 PD 大鼠脑额叶皮质神经元凋亡,从而改善 PD 症状。

综上所述,下调大鼠脑额叶皮层纹状体中 miR-205 的表达可抑制纹状体神经元凋亡,从而改善 PD 症状,其机制可能与 IGF-1/Akt/FoxO3a 信号通路的激活有关,可考虑将 miR-205 作为 PD 靶向治疗的基因,但多巴胺能神经元凋亡受多基因调控,且发生机制较为复杂,今后应进一步研究其他基因及信号通路对多巴胺能神经元凋亡的调控作用。

参考文献:

[1] DUDA J, PÖTSCHKE C, LISS B. Converging roles of ion channels, calcium, metabolic stress, and activity pattern of substantia nigra dopaminergic neurons in health and parkinson's disease [J]. *J Neurochem*, 2016, 139 (Suppl 1): 156-178.

[2] 石亮亮, 刘亚丹, 王博, 等. 光遗传技术对帕金森病大鼠治疗效果研究[J]. 新乡医学院学报, 2019, 36 (12): 1121-1124, 1129.

[3] FOFFANI G, OBESO J A. A cortical pathogenic theory of parkinson's disease [J]. *Neuron*, 2018, 99 (6): 1116-1128.

[4] MARQUES T M, KUIPERIJ H B, BRUINSMA I B, et al. Micro-RNAs in cerebrospinal fluid as potential biomarkers for Parkinson's disease and multiple system atrophy [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54 (10): 7736-7745.

[5] 阎雯, 蔡玉香. 下调 miR-205 抑制皮质神经元的缺血性损伤 [J]. 神经解剖学杂志, 2018, 34 (1): 60-66.

[6] 哈力达·巴合提汗, 姚亚妮, 韩雪洁, 等. 黄芩苷对帕金森病模型鼠大脑皮质及纹状体区缝隙连接蛋白 36 表达的影响 [J]. 中华医学杂志, 2019, 99 (3): 218-222.

[7] PAXINOS G. 大鼠脑立体定位图谱 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 42-43.

[8] 梁建庆, 何建成. 复方地黄颗粒对阴虚动风证帕金森病异动症模型大鼠神经行为学的影响 [J]. 解放军医学杂志, 2018, 43 (8): 652-656.

[9] DORSEY E R, SHERER T, OKUN M S, et al. The emerging evidence of the parkinson pandemic [J]. *J Parkinsons Dis*, 2018, 8 (s1): S3-S8.

[10] MATHEOUD D, CANNON T, VOISIN A, et al. Intestinal infection triggers Parkinson's disease-like symptoms in Pink1^{-/-} mice [J]. *Nature*, 2019, 571 (7766): 565-569.

[11] CORTEZ M A, ANFOSSI S, RAMAPRIYAN R, et al. Role of miRNAs in immune responses and immunotherapy in cancer [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2019, 58 (4): 244-253.

[12] 谢琼琨, 蔡成, 龚小慧. 高体积分数氧暴露下新生早产大鼠肺组织长链非编码 RNA 转移相关肺腺癌转录本 1 和核转录相关因子-2 表达变化的意义 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2018, 33 (21): 1640-1644.

[13] 杨恩慧. C1 型尼曼—匹克病小鼠神经系统中髓鞘形成障碍及 microRNA 差异性表达研究 [D]. 新乡: 新乡医学院, 2017.

[14] PATIL K S, BASAK I, PAL R, et al. A proteomics approach to investigate miR-153-3p and miR-205-5p targets in neuroblastoma cells [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (12): e0143969.

[15] SANEYASU T, TSUCHIHASHI T, KITASHIRO A, et al. The IGF-1/Akt/S6 pathway and expressions of glycolytic myosin heavy chain isoforms are upregulated in chicken skeletal muscle during the first week after hatching [J]. *Anim Sci J*, 2017, 88 (11): 1779-1787.

[16] WANG Y, JIA L, WANG B, et al. MiR-495/IGF-1/AKT signaling as a novel axis is involved in the epithelial-to-mesenchymal transition of oral squamous cell carcinoma [J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2019, 77 (5): 1009-1021.

[17] MA X, XU W, ZHANG Z, et al. Salvianolic acid B ameliorates cognitive deficits through IGF-1/Akt pathway in rats with vascular dementia [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43 (4): 1381-1391.

[18] BEYFUSS K, HOOD D A. A systematic review of p53 regulation of oxidative stress in skeletal muscle [J]. *Redox Rep*, 2018, 23 (1): 100-117.

[19] KUANG W H, DONG Z Q, TIAN L T, et al. IGF-1 defends against chronic-stress induced depression in rat models of chronic unpredictable mild stress through the PI3K/Akt/FoxO3a pathway [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2018, 34 (7): 370-376.

[20] 郑世茹, 白宏英, 程宝仓. 姜黄素通过 IGF-1/Akt/FoxO3a 通路保护多巴胺能神经元细胞 [J]. 中风与神经疾病, 2016, 33 (4): 299-302.

(本文编辑:周二强)