

DOI:10.16305/j.1007-1334.2025.z20240515005

神经复元方通过激活雄激素受体介导下游信号通路保护大鼠受损海马神经元的研究

廖婧彤¹, 李文涛², 潘公益³, 蔡丽²

1. 上海中医药大学市中医临床医学院(上海 200071); 2. 上海中医药大学附属市中医医院脑病科(上海 200071);
3. 上海市杨浦区江浦社区卫生服务中心中医科(上海 200082)

【摘要】 **目的** 探究神经复元方通过激活雄激素受体(AR)介导长链非编码 RNA 生长停滞特异性转录因子 5(LncRNA GAS5)调控轴影响下游相关信号通路,从而治疗卒中后抑郁(PSD)的可能机制。**方法** 取新生大鼠的海马组织,分离出原代大鼠海马神经元。对 SD 大鼠给予神经复元方灌胃处理,分离血清,获得空白血清和含药血清,检测确定空白血清和含药血清的最佳处理浓度。使用 100 $\mu\text{mol/L}$ 的过氧化氢(H_2O_2)对大鼠海马神经元细胞处理致损伤,得到损伤模型。分做 2 个子实验分析验证:①子实验 I 分为损伤模型+空白血清组、损伤模型+AR 激动剂组、损伤模型+含药血清组、损伤模型+含药血清+AR 抑制剂组 4 组,利用 Western blot 法检测各组磷酸化蛋白激酶 B(p-Akt)/蛋白激酶 B(Akt)、磷酸化磷脂酰肌醇 3-激酶(p-PI3K)/磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)、脑源性神经营养因子(BDNF)、酪氨酸激酶 B 受体(TrkB)的蛋白表达;②子实验 II 分为空白血清组、损伤模型+空白血清组、损伤模型+含药血清组 3 组,利用 RNA 免疫沉淀(RIP)法检测 AR 蛋白与 LncRNA GAS5 基因的互作关系。**结果** ①在 p-Akt/Akt、p-PI3K/PI3K、BDNF、TrkB 的蛋白表达方面,与损伤模型+空白血清组比较,损伤模型+AR 激动剂组和损伤模型+含药血清组上述蛋白显著上升($P<0.05$);与损伤模型+含药血清组比较,损伤模型+含药血清+AR 抑制剂组上述蛋白显著下降($P<0.05$)。②RIP 结果显示,AR 蛋白与 LncRNA GAS5 基因存在互作,LncRNA GAS5 基因在调节 AR 的表达及其信号通路中扮演着重要的负向调控作用。**结论** 神经复元方对 H_2O_2 诱导的 SD 大鼠海马神经元损伤有一定修复作用,其部分作用机制可能是神经复元方通过激活 AR 介导 GAS5 调控轴从而激活 BDNF/TrkB/PI3K/Akt 通路。

【关键词】 卒中后抑郁;神经复元方;海马神经元;雄激素受体;大鼠模型;中药研究

Study on neuroprotective effects of Shenjing Fuyuan Decoction through androgen receptor-mediated downstream signaling pathways in damaged hippocampal neurons in rats

LIAO Jingtong¹, LI Wentao², PAN Gongyi³, CAI Li²

1. Clinical Institute of Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China; 2. Department of Neurology, Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China; 3. Department of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Yangpu District Jiangpu Community Health Service Center, Shanghai 200082, China

Abstract: Objective To investigate the potential mechanism by which Shenjing Fuyuan Decoction activates androgen receptor (AR)-mediated regulation of long non-coding RNA growth arrest-specific transcript 5 (LncRNA GAS5) to influence the downstream signaling pathways in the treatment of post-stroke depression (PSD). **Methods** Primary hippocampal neurons were isolated from neonatal rat hippocampal tissue. SD rats were treated with intragastric administration of Shenjing Fuyuan Decoction, and serum was collected to obtain blank serum and drug-containing serum. The optimal treatment concentrations of both blank and drug-containing serum were determined. Hippocampal neuron cells in rats were injured using

100 $\mu\text{mol/L}$ hydrogen peroxide (H_2O_2) to establish an injury model. The experiment was divided into two sub-experiments. ① In sub-experiment I, the four groups were injury model + blank serum group, injury model + AR agonist group, injury model + drug-containing serum group, and injury model + drug-containing serum + AR inhibitor group. Protein expression levels of phosphorylated Akt (p-Akt)/protein kinase B (Akt), phosphorylated phosphoinositide 3-kinase (p-PI3K)/phosphoinositide 3-kinase (PI3K), brain-derived

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82104664);上海市临床重点专科项目(shslczdk04901)

[作者简介] 廖婧彤,女,硕士研究生,主要从事中医药防治脑血管疾病及情志疾病的研究

[通信作者] 蔡丽,副主任医师,硕士研究生导师;

E-mail:cailiy@163.com

neurotrophic factor (BDNF), and tropomyosin receptor kinase B (TrkB) were detected using Western blot. ②In sub-experiment II, the three groups were blank serum group, injury model + blank serum group, and injury model + drug-containing serum group. RNA immunoprecipitation (RIP) was used to detect the interaction between AR protein and *LncRNA GAS5* gene. **Results** ①The expressions of p-Akt/Akt, p-PI3K/PI3K, BDNF, and TrkB proteins were significantly higher in the injury model + AR agonist group and the injury model + drug-containing serum group than that in the injury model + blank serum group ($P < 0.05$), and significantly lower in the injury model + drug-containing serum + AR inhibitor group than that in the injury model + drug-containing serum group ($P < 0.05$). ②RIP results showed that AR protein interacted with the *LncRNA GAS5* gene, indicating that *LncRNA GAS5* plays an important negative regulatory role in the expression of AR and its signaling pathway. **Conclusion** Shenjing Fuyuan Decoction has a protective effect on H_2O_2 -induced hippocampal neuron injury in SD rats, with part of its mechanism of action likely involving the activation of the AR-mediated GAS5 regulatory axis, which in turn activates the BDNF/TrkB/PI3K/Akt signaling pathway.

Keywords: post-stroke depression; Shenjing Fuyuan Decoction; hippocampal neurons; androgen receptor; rat model; traditional Chinese herbal medicine research

卒中后抑郁(post-stroke depression, PSD)是脑血管意外后常见的一种并发症,以抑郁心境为主要临床表现,其发病率高,在我国约为 34.9%^[1],且男性 PSD 的患病率高于女性^[2]。PSD 对卒中患者的预后有着严重的影响,如降低患者独立生活能力,加重认知障碍,甚至可增加残疾和病死率^[3-4]。揭示 PSD 的发病机制对提前预防、减少患者临床并发症,以及缓解家庭与社会经济负担等方面具有至关重要的作用。对轻度应激型抑郁模型小鼠的研究^[5]发现,雄激素受体(AR)与模型小鼠的抑郁样行为存在关联。脑源性神经营养因子(BDNF)的表达则受 AR 的调节。前期研究^[6]发现,对过氧化氢(H_2O_2)诱导的 SD 大鼠海马神经元损伤,神经复元方可通过促进 AR 活化起到修复作用,同时亦证实 BDNF/酪氨酸激酶 B 受体(TrkB)是神经复元方治疗 PSD 大鼠主要信号通路之一^[7]。Han 等^[8]和陈祥等^[9]的研究也发现,BDNF 可作为预测 PSD 发生的标记物,调节 PSD 外周炎症因子失衡状态,提升 BDNF 水平,显著改善抑郁症状。另有研究^[10]发现,长链非编码 RNA 生长停滞特异性转录因子 5(*LncRNA GAS5*)可影响神经元的轴突发育和存活率。另外,磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)信号通路的激活可促进 BDNF 的转录和分泌,从而形成正反馈循环,进一步增强神经元功能^[11-12]。本研究拟在前期基础上,深入探讨神经复元方是否通过 AR 介导 GAS5 调控轴,激活 BDNF/TrkB/PI3K/Akt 通路,以治疗 PSD 的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 8 周龄的 SD 雄性大鼠,12 只,体质量(210 ± 30)g,SPF 级,饲养于苏州大学附属苏州九院温度 $20 \sim 26$ °C、湿度 40%~70%、光/暗周期为 12 h/12 h。刚出生不满 1 d 的 SD 新生鼠 8 只。动物生产许可证号:SCXK(京)2019-0010。动物使用许可证号:SYXK(赣)2020-0001。实验动物由斯贝福(北京)生物技术有限公

司提供。本实验获上海中医药大学附属市中医医院实验动物伦理委员会批准(伦理批准号:2021036)。

1.1.2 药物与试剂 神经复元方,由熟地黄 15 g、制黄精 15 g、丹参 9 g、石菖蒲 12 g、僵蚕 9 g、广郁金 9 g、全蝎 3 g 等组成,由江苏天江药业有限公司提供。

对照西药为氟西汀(批号:H20073985),山西仟源医药有限公司;AR 调节激动剂 11-酮二氢睾酮(11-KDHT,批号:HY-135794)、AR 调节抑制剂臭椿酮(Ailanthone,批号:HY-N1943),美国 MCE 公司; H_2O_2 (批号:H112519),上海阿拉丁生化科技有限公司;二辛可酸(BCA)蛋白定量试剂盒(批号:E-BC-K318-M),武汉伊莱瑞特生物科技有限公司;放射免疫沉淀法(RIPA)细胞裂解液(批号:C1053),北京普利莱基因技术公司;细胞计数试剂盒(CCK-8)(批号:XK6005S),上海恒科生物科技有限公司;聚偏二氟乙烯(PVDF)膜(批号:IPVH00010),美国 Millipore 公司;RNA 结合蛋白免疫沉淀(RIP)试剂盒(批号:P0102),广州吉赛生物科技有限公司;AR 抗体(批号:OM239401),上海普迈生物科技有限公司;兔免疫球蛋白 G(IgG)(批号:GB111738),武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.1.3 主要仪器 荧光显微镜(型号:CKX53),日本 Olympus 公司;荧光 PCR 仪(型号:CFX Connect™),伯乐生命医学产品(上海)有限公司;蛋白垂直电泳仪(型号:DYY-6C),北京市六一仪器厂;全自动化学发光图像分析系统(型号:Tanon-5200),上海天能科技有限公司;高速台式冷冻离心机(型号:H1750R),湖南湘仪实验室仪器开发有限公司。

1.2 细胞培养与含药血清制备

1.2.1 大鼠海马神经元取材及鉴定 培养板用多聚赖氨酸(0.1 g/L)包被后过夜,次日吸除多余的包被液,清洗、晾干,然后放进培养箱备用。取刚出生不满 1 d 的 SD 新生鼠,分离出海马组织,剪碎海马体离心取沉淀,加入胶原酶 I 消化,加入胰蛋白酶再次消化,纯化与培养,贴壁后再次纯化分离出大鼠海马神经元细胞^[6]。通

过免疫荧光法对大鼠海马神经元细胞作鉴定^[13]。

1.2.2 制备含药血清并测定最佳浓度 经过1周的适应性饲养,SPF级别的雄性SD大鼠随机分配到两个不同的血清组别:一个为未添加任何药物的空白血清组,另一个为含药血清组。后者按照人的用药剂量通过体表面积换算确定大鼠等效剂量,给予大鼠1.5 g/mL的神经复元方灌胃,每天1次,灌胃剂量按大鼠10 mL/kg的比例计算。对照组给予纯水,持续处理5 d。第5天给药1 h后,进行麻醉,然后采集腹主动脉血,分离得到空白血清和含药血清。采用CCK-8试剂盒检测后续实验用的最佳血清浓度^[6,14]。

1.3 分组与干预 整个实验分为两个子实验开展,见表1。①子实验 I:研究神经复元方是否通过AR对BDNF/TrkB通路产生影响,分为4组,分别是损伤模型+单纯血清组(H₂O₂+Blank serum)、损伤模型+AR激动剂组(H₂O₂+11-KDHT)、损伤模型+含药血清组(H₂O₂+Drug serum)、损伤模型+含药血清+AR抑制剂组(H₂O₂+Drug serum+Ailanthone),采用Western blot法检测各组细胞的BDNF、TrkB、p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt表达情况。②子实验 II:研究神经复元方对AR与LncRNA GAS5基因互作关系的影响,分为单纯血清组(Blank serum)、损伤模型+单纯血清组、损伤模型+含药血清组3组,利用RIP法检测。对上述分组的不同细胞进行处理,采用6孔培养板和6 cm培养皿,将有悬浮细胞的培养液稀释后均匀铺在上述器皿中,标记组别后放置在培养箱中,待细胞贴壁良好后进行下一步实验。单纯血清组细胞使用不加药物的血清孵育;含药血清组细胞使用含有中药的血清孵育;损伤模型+单纯血清组先使用100 μmol/L浓度的H₂O₂处理1 h后,再加入单纯的血清孵育;损伤模型+含药血清组细胞作同样预处理后加入含有中药的血清孵育;损伤模型+AR激动剂组作同样预处理后加入10 μm的AR调节激动剂11-KDHT孵育;损伤模型+含药血清+AR抑制剂组H₂O₂同样方法处理,再加入含有中药的血清和10 μm的Ailanthone,各组孵育时间均为48 h。

表1 子实验分组情况

组别	子实验 I	子实验 II
单纯血清组	-	+
损伤模型+单纯血清组	+	+
损伤模型+含药血清组	+	+
损伤模型+AR激动剂组	+	-
损伤模型+含药血清+AR抑制剂组	+	-

注:“+”表示实验包含该组;“-”表示实验不包含该组。

1.4 检测指标与方法

1.4.1 BDNF/TrkB/PI3K/Akt通路相关蛋白表达 采用Western blot法检测子实验 I 各组BDNF、PI3K、TrkB、

p-PI3K、p-Akt、Akt的表达情况。弃掉各组培养皿中的培养基,加入RIPA细胞裂解液,提取细胞总蛋白。将提取的总蛋白置入4℃条件下离心机中,12 000 r/min离心10 min,取上清液,用BCA试剂盒进行蛋白定量分析。变性处理蛋白样品后,电泳1 h,300 mA恒流转膜进行1~2 h。脱脂牛奶封闭液(体积分数3%)封闭PVDF 1 h,将PVDF膜4℃环境下孵育一抗β-肌动蛋白(β-actin)、BDNF、TrkB、Akt、PI3K、p-PI3K、p-Akt过夜。次日洗膜后,配置二抗稀释液,室温条件分别孵育二抗2 h。1×TBST缓冲液浸泡15 min后即弃掉,重复3次。PVDF膜采用发光液浸湿,置于图像分析系统中显影。

1.4.2 AR蛋白和LncRNA GAS5基因的互作效果 子实验 II 中各组细胞处理后,采用RIP检测各组AR蛋白和LncRNA GAS5基因的互作效果。收集细胞样本,部分做全细胞裂解液(input)检测AR蛋白的表达,其余样本进行免疫沉淀(IP)实验检测LncRNA GAS5的表达。方法为通过RIP试剂盒,使用AR的IP级抗体和二抗Rabbit IgG下拉复合物后,通过逆转录实时定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)检测复合物中LncRNA GAS5的表达。RT-qPCR方法参照试剂说明书操作,以TRIzol法提取大鼠海马神经元细胞总RNA,逆转录反应体系为20 μL,反应条件为25℃、5 min,50℃、15 min,85℃、5 s。扩增引物由通用生物系统(安徽)有限公司合成,引物序列见表2。PCR反应步骤:95℃预变性10 min,随后进行40个循环的变性(95℃、10 s)、退火(58℃、30 s)和延伸(72℃、30 s)。每个样品重复3次,扩增完成后,记录Ct值,各相关基因的相对表达量按2^{-ΔΔCt}法计算。

表2 引物序列

基因	引物序列	引物长度/bp
GAPDH	上游:5'-GACAACCTTTGGCATCGTGG-3'	133
	下游:5'-ATGCAGGGATGATGTTCTGG-3'	
LncRNA GAS5	上游:5'-CTGTGATGGACATCTGGTGG-3'	129
	下游:5'-TCCCATTTCCTGGCTCCCAT-3'	

注:GAPDH为甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因;LncRNA GAS5为长链非编码RNA生长停滞特异性转录因子5基因。

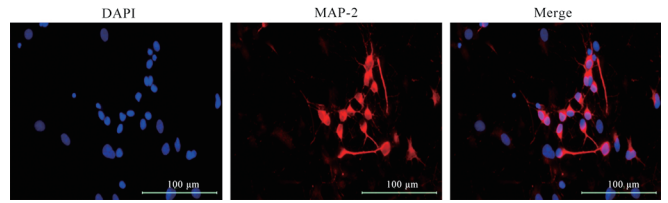
1.5 统计学方法 采用SPSS 20.0软件进行数据分析,实验均重复进行3遍。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。两个组别以上的定量结果用单因素方差分析,不满足正态分布选择秩和检验,不满足方差齐性选择校正F检验(welch检验),两组间比较采用S-N-K法。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 原代大鼠海马神经元细胞鉴定与最佳浓度测定 利用免疫荧光技术鉴别大鼠海马神经元细胞,见图1。4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染色使细胞核在紫

外激发下呈蓝色,微管相关蛋白-2(MAP-2)的荧光素标记则显示红色阳性表达,结果确认该细胞是大鼠的海马神经元细胞。CCK-8 检测结果提示空白的血清以及含中药的血清最佳容积占比为 20%,后续实验均选择 20% 容积比作为空白的血清和含中药血清的研究浓度^[6]。

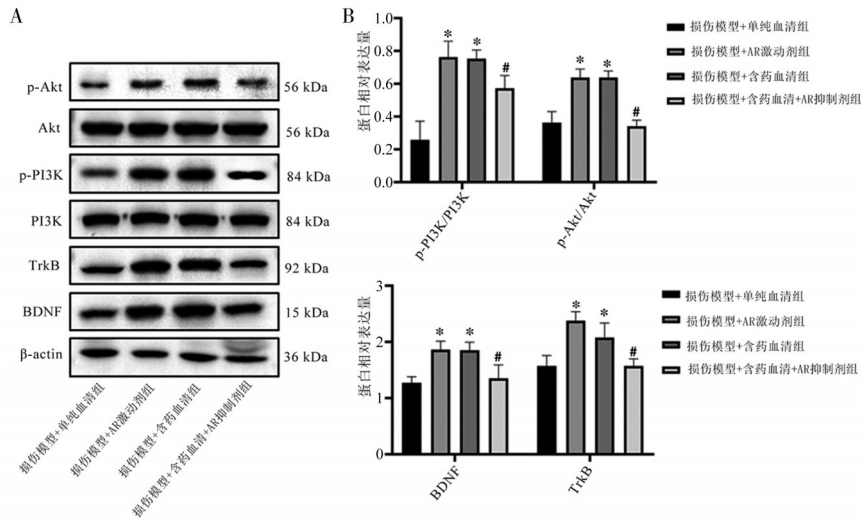
2.2 对 BDNF/TrkB/PI3K/Akt 通路相关蛋白的影响
子实验 I, Western blot 法检测各组 BDNF、TrkB、p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 蛋白表达情况,结果如图 2 所示。与损伤模型+单纯血清组比较,损伤模型+AR 激动剂组和损伤模型+含药血清组 BDNF、TrkB、p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 蛋白表达显著上升($P<0.05$);与损伤模型+含药血清组比较,损伤模型+含药血清+AR 抑制剂



注: DAPI 为 4', 6-二脒基-2-苯基吡啶, MAP-2 为微管相关蛋白-2, Merge 为两者融合。

图 1 大鼠海马神经元鉴定结果(免疫荧光, ×400)

组 BDNF、TrkB、p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 蛋白表达均显著下降($P<0.05$)。以上结果提示,神经复元方能够增加受损海马神经元的 BDNF/TrkB/PI3K/Akt 信号通路各蛋白表达,降低 AR 抑制情况下改善效果。



注:A 为各蛋白全细胞裂解液(input)结果,B 为 Western blot 结果。p-Akt 为磷酸化蛋白激酶 B, Akt 为蛋白激酶 B, p-PI3K 为磷酸化磷脂酰肌醇 3-激酶, PI3K 为磷脂酰肌醇 3-激酶, TrkB 为酪氨酸激酶 B 受体, BDNF 为脑源性神经生长因子, β-actin 为 β-肌动蛋白。与损伤模型+单纯血清组比较, * $P<0.05$; 与损伤模型+含药血清组比较, # $P<0.05$; $n=3, \bar{x} \pm s$ 。

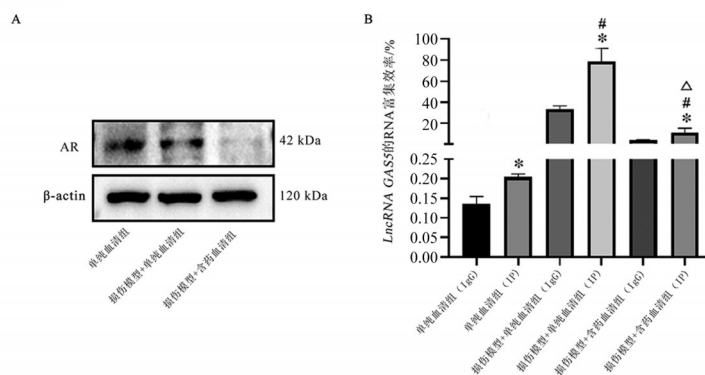
图 2 AR 激动剂和抑制剂对细胞模型的影响

2.3 对 AR 蛋白和 *LncRNA GAS5* 基因互作效果的影响
子实验 II, 采用 RIP 检测 AR 蛋白与 *LncRNA GAS5* 基因的互作关系。全细胞裂解液检测 3 组细胞样本, 均发现 AR 蛋白的存在, 明确样本可进行 RIP 检测(图 3A)。采用 RT-qPCR 检测复合物中 *LncRNA GAS5* 基因表达, 结果如图 3B 所示, 单纯血清组(IgG)、损伤模型+单纯血清组(IgG)、损伤模型+含药血清组(IgG)与相对应的 IP 组 *LncRNA GAS5* 基因表达均有明显差异, 各 IP 组中 *LncRNA GAS5* 基因显著上调, 说明 AR 抗体富集了大量的 *LncRNA GAS5* 基因, 证明 AR 蛋白与 *LncRNA GAS5* 基因存在互作。与单纯血清组(IP)比较, 损伤模型+单纯血清组(IP) *LncRNA GAS5* 基因表达显著上调($P<0.05$); 与损伤模型+单纯血清组(IP)比较, 损伤模型+含药血清组(IP) *LncRNA GAS5* 基因表达显著下调($P<0.05$)。上述说明 H_2O_2 会改变受损海马神经元内

LncRNA GAS5 基因的表达, 可能是通过增加 AR 蛋白与 *LncRNA GAS5* 基因的结合, 这证明 *LncRNA GAS5* 基因的表达与海马细胞的损伤呈正相关; 上述结果也表明神经复元方通过下调 *LncRNA GAS5* 基因的表达, 降低 *LncRNA GAS5* 基因与 AR 蛋白的结合, 保护海马神经元。

3 讨论

PSD 的发病机制尚未完全明确, 其西医常规治疗包括原发性疾病控制、药物治疗、心理辅导及物理康复等。虽然古代医学文献中没有关于 PSD 的相关记载, 但根据临床症状、病因和发病机制, 可以将其归类为中医中的“因病致郁”范畴。近年来, 随着对 PSD 研究的深入, 中医药在这一领域的应用显示出独特的优势, 其中中药、情志疗法、针灸、艾灸等多种治疗手段为患者提供了多样化的选择^[15]。前期研究^[16-17]证实神经复元方能显著减轻 PSD 患者的抑郁等症状, 该方对海马神



注:A为雄激素受体(AR)蛋白全细胞裂解液(input)结果;B为长链非编码RNA生长停滞特异性转录因子5(*LncRNA GAS5*)基因实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应(RT-qPCR)结果。 β -actin为 β -肌动蛋白。各免疫沉淀(IP)组与对应的免疫球蛋白G(IgG)组比较,* $P < 0.05$;与单纯血清组(IP)比较,# $P < 0.05$;与损伤模型+单纯血清组(IP)比较, $\Delta P < 0.05$; $n = 3, \bar{x} \pm s$ 。

图3 AR蛋白和*LncRNA GAS5*基因的互作结果

经元的损伤修复可能与激活BDNF/TrkB信号通路调节突触蛋白基因有关^[18-19]。BDNF通过与其高亲和性的受体TrkB结合,触发一系列信号转导过程,这一过程涉及多个信号分子,其中PI3K和Akt是核心组成部分。通过调节BDNF信号通路,PI3K/Akt可以影响神经元的存活和功能,进而影响PSD^[20-21]。因此,BDNF/TrkB/PI3K/Akt信号通路在损伤后的神经再生修复过程中扮演着至关重要的角色。

AR是核受体超家族中的类固醇受体成员,通过与雄激素结合激活受体复合物,并使其能够与细胞核的DNA受体位点结合,从而调控基因表达,影响细胞的增殖和代谢过程^[22]。苏巧荣等^[23]研究表明,AR的(CAG)_n [“CAG”代表3个核苷酸——胞嘧啶(C)、腺嘌呤(A)和鸟嘌呤(G)的连续排列,“n”代表这个“CAG”序列在DNA分子中重复的次数]微卫星多态可影响其他相关性激素受体的活性,与血清性激素水平高低存在一定关联,从而与抑郁的发病相关。研究^[24-25]还发现,AR可以调节神经元的凋亡过程,抑制凋亡相关基因的表达,从而增加神经元的存活率;AR还可以促进神经元的生长和分化,增强神经元的连接和功能。前期研究^[6]通过H₂O₂处理得到大鼠海马神经元损伤细胞模型,经过对比分析含神经复元方药剂的血清和空白血清处理损伤模型细胞后磷酸化及非磷酸化AR蛋白变化情况,发现含药血清组细胞中的AR、p-AR蛋白表达显著上升,证明了神经复元方能够活化AR,提示AR可能是神经复元方改善PSD的重要靶蛋白。*LncRNA GAS5*已在肿瘤中得到广泛研究,被认为可能起抗癌基因的作用^[26]。尽管关于GAS5在神经系统疾病中重要性的研究较少,但研究人员^[27-28]通过研究GAS5对神经功能的影响发现,*LncRNA GAS5*基因是与神经功能损伤密切相关的一类LncRNA,*LncRNA GAS5*基因的高表达可能是促进神经功能损伤的重要调控因子,抑制*LncRNA GAS5*基因

表达能够降低神经元凋亡率;另外*LncRNA GAS5*基因参与BDNF/TrkB通路的调控,是在PSD治疗中激活BDNF/TrkB通路的另一个重要因素。还有研究^[29-31]发现,*LncRNA GAS5*基因表达水平与AR的活性密切相关,*LncRNA GAS5*基因可以通过不同的机制来影响AR的功能:一方面可以下调AR的基因表达,从而抑制AR信号通路的活性;另一方面,*LncRNA GAS5*基因也可以与AR蛋白直接相互作用,并干扰其在细胞质或细胞核中的定位,影响AR对目标基因的调控作用。

本研究通过分组检测损伤模型海马神经元细胞中BDNF、p-Akt/Akt、p-PI3K/PI3K、TrkB的蛋白表达,发现与损伤模型+空白血清组比较,损伤模型+含药血清组和损伤模型+AR激动剂组的BDNF、TrkB、p-PI3K/PI3K和p-Akt/Akt蛋白表达显著上升;与损伤模型+含药血清组比较,损伤模型+含药血清+AR抑制剂组BDNF、p-Akt/Akt、p-PI3K/PI3K、TrkB的蛋白表达均有显著下降,表明神经复元方可以增强海马神经元BDNF/TrkB/PI3K/Akt的表达,其可能通过AR介导信号通路,AR抑制情况下改善的效果降低。通过运用RIP技术检测AR蛋白与*LncRNA GAS5*基因的互作关系,结果显示与IgG组相比,各IP组中*LncRNA GAS5*显著上调,表明两者之间存在互作。另外发现,与单纯血清组(IP)比较,损伤模型+单纯血清组(IP)*LncRNA GAS5*基因显著上调,说明H₂O₂会改变受损海马神经元内*LncRNA GAS5*基因的表达,证明*LncRNA GAS5*基因的表达与海马细胞的损伤呈正相关;与损伤模型+单纯血清组(IP)比较,损伤模型+含药血清组(IP)*LncRNA GAS5*基因表达显著下调,表明神经复元方可能通过下调*LncRNA GAS5*基因的表达,降低*LncRNA GAS5*基因与AR的结合,从而保护海马神经元。综上所述,神经复元方可能是通过激活AR介导*LncRNA GAS5*基因调控轴影响下游BDNF/TrkB/PI3K/Akt信号通路,从而对神经元损伤产生修复

作用, 这为 PSD 的治疗提供了一种新的机制。本研究未检测分析通过血脑屏障进入血液的药物相关成分, 对激活雄激素受体介导下游信号通路的分子调控机制还不甚明晰, 后续还需进一步深化研究。同时, 未来的研究应考虑多种疗法的联合效应, 并加强循证医学研究、开展多中心临床试验, 以进一步验证和优化传统中医药治疗 PSD 的有效性和安全性。通过结合现代医学与传统中医的优势, 有望为 PSD 患者提供更为全面和有效的治疗方案。

参考文献:

- [1] 李世明, 冯为, 崔凤伟, 等. 中国脑卒中后抑郁患病率 meta 分析[J]. 实用医学杂志, 2021, 37(16): 2058-2064.
- [2] 阮莎莎, 马涛, 戴文卓. 脑卒中后抑郁患病率的调查及其临床特征分析[J]. 中国医药科学, 2015, 5(24): 182-184.
- [3] 张晓春, 李佳良, 李婷. 脑卒中后抑郁的相关因素分析[J]. 延安大学学报(医学科学版), 2020, 18(1): 42-45.
- [4] 吕淑珍, 詹焱. 脑卒中后抑郁发病及相关影响因素分析[J]. 医药前沿, 2020, 10(3): 26-27.
- [5] HUNG Y Y, HUANG Y L, CHANG C, et al. Deficiency in androgen receptor aggravates the depressive-like behaviors in chronic mild stress model of depression[J]. Cells, 2019, 8(9): 1021-1037.
- [6] 蔡丽, 张凌凌, 赵艳青, 等. 神经复元方对 H₂O₂ 诱导的大鼠海马神经元损伤后雄激素受体活化的影响[J]. 天津中医药, 2024, 41(4): 490-494.
- [7] 蔡丽, 刘毅, 李文涛, 等. 神经复元方对卒中后抑郁大鼠 BDNF/TrkB 表达及海马神经元突触可塑性的影响[J]. 世界中医药, 2021, 16(4): 597-602.
- [8] HAN Z, QI L L, XU Q, et al. BDNF met allele is associated with lower cognitive function in poststroke rehabilitation[J]. Neurorehabilitation Neural Repair, 2020, 34(3): 247-259.
- [9] 陈祥, 杨凯琪, 侯臻臻, 等. 醒神解郁汤对卒中后抑郁大鼠模型 IL-33、IL-18、IL-1 β 影响的实验研究[J]. 上海中医药杂志, 2024, 58(5): 60-65.
- [10] 赵美英, 史文倩, 汪桂青. 长链非编码 RNA 生长抑制特异因子 5 调控微小 RNA-137 对 A β 诱导大鼠海马神经元损伤的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(9): 64-71.
- [11] LIU Q, YU W, ZHU S J, et al. Long noncoding RNA GAS5 regulates the proliferation, migration, and invasion of glioma cells by negatively regulating miR-18a-5p[J]. J Cell Physiol, 2018, 234(1): 757-768.
- [12] LI J, DING X, ZHANG R, et al. Harpagoside ameliorates the amyloid- β -induced cognitive impairment in rats via up-regulating BDNF expression and MAPK/PI3K pathways[J]. Neuroscience, 2015, 303: 103-114.
- [13] 岳宇娇, 徐平. 新生大鼠海马神经元原代细胞培养方法改良及鉴定[J]. 医学信息, 2023, 36(17): 111-114.
- [14] 韩宇博, 田苗, 刘紫君, 等. 黄连温胆汤含药血清干预 IR-3T3-L1 细胞的最佳浓度与时间筛选[J]. 中医学报, 2021, 49(7): 20-25.
- [15] 周琳, 刘征, 曹中伟. 脑卒中后患者康复研究现状与中医药康复治疗研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2023, 57(5): 96-100.
- [16] 蔡丽, 刘毅, 陆小青, 等. 神经复元方治疗缺血性卒中后抑郁临床研究[J]. 陕西中医, 2019, 40(11): 1523-1527.
- [17] 张凌凌, 金如锋, 英洪友, 等. 神经复元方治疗脑梗死恢复期病人 125 例临床疗效观察[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2018, 16(23): 3419-3421.
- [18] 蔡丽, 董耀荣, 李文涛, 等. 神经复元方对原代大鼠海马神经元 BDNF/TrkB 信号通路影响的研究[J]. 陕西中医, 2020, 41(6): 720-723, 727.
- [19] 何明, 马飞月. 卒中后抑郁影响因素及其与脑源性神经营养因子基因多态性的关系研究[J]. 实用心脑血管病杂志, 2019, 27(5): 29-35.
- [20] 李想, 李安特, 孙秋霞, 等. PI3K/Akt 信号通路神经损伤修复的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(1): 246-249.
- [21] 吕李飞, 朱婷婷, 陈琛, 等. 温胆宁心颗粒对心肌梗死合并抑郁大鼠 BDNF/TrkB/PI3K/Akt 信号通路的影响研究[J]. 海南医学院学报, 2024, 30(11): 824-832.
- [22] 黄宝锋, 刘智皓, 吴凤瑞, 等. 雄激素受体的结构和功能[J]. 四川动物, 2008, 27(2): 307-310.
- [23] 苏巧荣, 王长虹, 耿耀国, 等. 青少年抑郁症患者性激素受体基因微卫星多态性与功能失调性认知的关系[J]. 实用儿科临床杂志, 2006, 21(24): 1711-1712, 1726.
- [24] LA ROSA P, BARTOLI G, FARIOLI VECCHIOLI S, et al. Androgen receptor signaling promotes the neural progenitor cell pool in the developing cortex[J]. J Neurochem, 2021, 157(4): 1153-1166.
- [25] HAMMOND J, LE Q, GOODYER C, et al. Testosterone-mediated neuroprotection through the androgen receptor in human primary neurons[J]. J Neurochem, 2001, 77(5): 1319-1326.
- [26] NI W, YAO S, ZHOU Y, et al. Long noncoding RNA GAS5 inhibits progression of colorectal cancer by interacting with and triggering YAP phosphorylation and degradation and is negatively regulated by the m⁶A reader YTHDF3[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 143.
- [27] 陶钰婷, 吴敏佳. 盐酸多奈哌齐调控 lncRNA GAS5 对血管性痴呆小鼠认知功能障碍和炎症反应的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2024, 22(7): 1247-1251.
- [28] CAI L, LI W T, ZHANG L L, et al. Long noncoding RNA GAS5 enhanced by curcumin relieves poststroke depression by targeting miR-10b/BDNF in rats[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2020, 34(3): 815-823.
- [29] HU J, DENG J, CAO R, et al. LncRNA GAS5 participates in the regulation of dexamethasone on androgen receptor-negative and-positive prostate cancer cell proliferation[J]. Mol Cell Probes, 2020, 53: 101607.
- [30] MOURTADA-MAARABOUNI M, PICKARD M R, HEDGE V L, et al. GAS5, a non-protein-coding RNA, controls apoptosis and is downregulated in breast cancer[J]. Oncogene, 2009, 28(2): 195-208.
- [31] YU F, ZHENG J, MAO Y, et al. Long non-coding RNA growth arrest-specific transcript 5 (GAS5) inhibits liver fibrogenesis through a mechanism of competing endogenous RNA[J]. J Biol Chem, 2015, 290(47): 28286-28298.

编辑:季春来

收稿日期:2024-05-15