DOI:10.16016/j.1000-5404.202106021

鸢尾苷元调控 miR-103a-3p/SHC3 通路对帕金森病模型细胞损伤的影响

李 茜,付子娟,孙 鹏,曹亦宾 063000 河北 唐山,唐山市工人医院神经内科

[**摘要**] **目的** 探讨鸢尾苷元对帕金森病(Parkinson's disease,PD)模型细胞损伤的影响,分析其是否与调控 miR-103a-3p/含有 Src 同源结构域 2 的衔接蛋白 3(SHC adaptor protein 3, SHC3)通路有关。**方法** 用 250 mmol/L 的 1-甲基-4-苯基吡啶离子(MPP^+)诱导 PC12 建立 PD 细胞模型。PC12 细胞分为对照组、PD 组、PD+鸢尾苷元 50 μmol/L 组、PD+鸢尾苷元 100 μmol/L 组、PD+鸢尾苷元 200 μmol/L 组、PD+anti-miR-NC 组、PD+miR-103a-3p Inhibitor 组、PD+鸢尾苷元+miR-103a-3p mimic 组。CCK-8 法检测各组细胞活力,流式细胞术分析各组细胞凋亡率,试剂盒检测各组细胞超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性、丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平以及乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)释放量,RT-qPCR 检测 miR-103a-3p 表达,Werstern blot 检测 SHC3 蛋白水平。双荧光素酶报告实验分析 miR-103a-3p 和 SHC3 靶向关系。**结果** 与对照组比较,PD 组 PC12 细胞活力、SOD 活性、SHC3 蛋白表达显著降低($P<0.05$),凋亡率、MDA 水平、LDH 释放量、miR-103a-3p 表达显著升高($P<0.05$)。与 PD 组比较,PD+鸢尾苷元 50 μmol/L 组、PD+鸢尾苷元 100 μmol/L 组、PD+鸢尾苷元 200 μmol/L 组 PC12 细胞活力、SOD 活性、SHC3 蛋白表达显著升高($P<0.05$),凋亡率、MDA 水平、LDH 释放量、miR-103a-3p 表达显著降低($P<0.05$)。与 PD+anti-miR-NC 组比较,PD+miR-103a-3p Inhibitor 组 PC12 细胞活力、SOD 活性、SHC3 蛋白表达显著升高($P<0.05$),凋亡率、MDA 水平、LDH 释放量显著降低($P<0.05$)。与 PD+鸢尾苷元组比较,PD+鸢尾苷元+miR-103a-3p mimic 组 PC12 细胞活力、SOD 活性、SHC3 蛋白表达显著降低($P<0.05$),凋亡率、MDA 水平、LDH 释放量显著升高($P<0.05$)。miR-103a-3p 与 SHC3 直接结合。**结论** 鸢尾苷元可保护 PD 模型细胞凋亡和氧化损伤,其机制与抑制 miR-103a-3p/SHC3 通路有关。

[**关键词**] 鸢尾苷元;帕金森病;miR-103a-3p;Src 同源结构域 2 的衔接蛋白 3;细胞凋亡;氧化应激
[**中图法分类号**] R282.71; R285.5; R742.5 [**文献标志码**] A

Tectorigenin protects cell damage in Parkinson's disease model by regulating miR-103a-3p/SHC3 pathway

LI Qian, FU Zijuan, SUN Peng, CAO Yibin Department of Neurology, Tangshan Workers' Hospital, Tangshan, Hebei Province, 063000, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of tectorigenin on cell model of Parkinson's disease (PD), so as to further analyze whether its mechanism is related to the regulation of miR-103a-3p/SHC adaptor protein 3 (SHC3) pathway. **Methods** PC12 cells were treated with 250 mmol/L 1-methyl-4-phenylpyridine ion (MPP^+) to establish a PD cell model. Then, the cells were divided into control group and experimental groups as follows: PD group, PD+50 μmol/L tectorigenin, PD+100 μmol/L tectorigenin, PD+200 μmol/L tectorigenin, PD+anti-miR-NC, PD+miR-103a-3p inhibitor, and PD+tectorigenin+miR-103a-3p mimic. Cell viability and apoptotic rate of each group were evaluated using CCK-8 assay and flow cytometry respectively. The activity of superoxide dismutase (SOD), content of malondialdehyde (MDA) and release of lactate dehydrogenase (LDH) of cells in each group were subsequently detected. Moreover, RT-qPCR and Western blotting were performed to determine the mRNA expression of miR-103a-3p and protein level of

[**通信作者**] 曹亦宾,E-mail:yibincao2019@163.com

1000-5404/Copyright © 2021, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议( )

SHC3, respectively, and dual luciferase reporting assay was adopted to analyze the targeting relationship between miR-103a-3p and SHC3. **Results** As compared with the control group, the viability, SOD activity, and SHC3 expression of cells were notably reduced ($P<0.05$), while the apoptotic rate, MDA content, LDH release, and miR-103a-3p expression were significantly increased ($P<0.05$) in the PD group. When compared with the PD group, the viability, SOD activity, and SHC3 expression of cells in the PD+tectorigenin (50, 100 and 200 μmol/L) groups were all notably improved ($P<0.05$), while the apoptotic rate, MDA content, LDH release and miR-103a-3p level were greatly declined ($P<0.05$). In addition, the cell viability, SOD activity and SHC3 level were higher, whereas the apoptotic rate, MDA content and LDH release were lower in the PD+miR-103a-3p inhibitor group than in the PD+anti-miR-NC group ($P<0.05$). Finally, the cell viability, SOD activity and SHC3 expression in the PD+tectorigenin+miR-103a-3p mimic group were notably decreased ($P<0.05$), while the apoptotic rate, MDA content, and LDH release were increased ($P<0.05$), as compared with the PD+tectorigenin groups. Dual luciferase reporting assay showed that SHC3 was a direct target of miR-103a-3p. **Conclusion** Tectorigenin protects PD model cells against apoptosis and oxidative damage, which may be related to the inhibition of miR-103a-3p/SHC3 pathway.

[**Key words**] tectorigenin; Parkinson's disease; miR-103a-3p; SHC adaptor protein 3; apoptosis; oxidative stress

Corresponding author: CAO Yibin, E-mail: yibincao2019@163.com

帕金森病(Parkinson's disease,PD)是全球常见的年龄相关性神经退行性疾病。目前,临床主要通过药物治疗包括抗胆碱能药物、多巴胺替代治疗、多巴胺受体激动剂等来缓解 PD 患者运动症状,但并不能阻止疾病进展[1]。微小 RNA(miRNA)是重要的生物调节分子,其可结合靶 mRNA 抑制蛋白表达参与调控细胞过程,miRNA 的失调可能导致神经退行性疾病、癌症等多种疾病的发生和发展[2-3]。研究报道 PD 动物模型、细胞模型以及人脑中 miR-103a-3p 表达明显升高,抑制其表达可改善体内外线粒体吞噬发挥神经保护功能,调节 miR-103a-3p 水平可能是一种潜在 PD 治疗策略[4]。含有 Src 同源结构域 2 的衔接蛋白 3(SHC adaptor protein 3, SHC3)属于 Shc 家族适配器蛋白,SHC3 基因编码 p52Shc3 和 p64Shc3 两个亚型。SHC3 与细胞存活和分化有关,其下调可导致缺氧信号、细胞凋亡和炎症反应异常改变[5]。SHC3 沉默可加重 PD 大鼠黑质多巴胺神经元氧化应激损伤,导致运动发育迟缓[6]。靶基因预测显示 miR-103a-3p 与 SHC3-3'-非翻译区(UTR)存在结合位点,但 miR-103a-3p 靶向 SHC 参与 PD 进展未见报道。鸢尾苷元是鸢尾科植物射干的重要成分,研究报道鸢尾苷元通过抑制氧化损伤对急性心肌梗死小鼠心肌有明显的保护作用[7]。鸢尾苷元还可抑制促炎症因子产生,降低肝组织损伤和细胞凋亡,对小鼠爆发性肝衰竭具有治疗作用[8]。1-甲基-4-苯基吡啶离子(MPP^+)具有神经毒性,其诱导 PC12 细胞是最常见的 PD 细胞模型[9]。前期预实验显示鸢尾苷元处理显著降低 PD 模型细胞中 miR-103a-3p 表达水平,提高 SHC3 表达水平。因此,本研究旨在探讨鸢尾苷元对 PD 模型细胞损伤的保护作用,并以 miR-103a-3p/SHC3 为切入点分析其可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料

PC12 细胞购自中国科学院上海细胞库;1-甲基-4-苯基吡啶离子(MPP^+)购自美国 Sigma 公司;miR-103a-3p 抑制物(Inhibitor)及其阴性对照(anti-miR-NC)、miR-103a-3p 模拟物(mimic)、荧光素酶报告基因重组载体购自上海生工生物公司;鸢尾苷元(XY-BZP-2116,纯度 99%)购自上海烜雅生物公司;膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)凋亡检测试剂盒、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)检测试剂盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性检测试剂盒、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量检测试剂盒购自北京索莱宝生物公司;Taqman miRNA 逆转录试剂盒、TaqMan miRNA 定量试剂盒购自美国 ABI 公司;SHC3 兔多抗体(ab233477)、羊抗兔 IgG 二抗(ab205718)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)兔多抗(ab245355)购自上海艾博抗贸易公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养、PD 模型构建 PC12 在添加 10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素混合物的 DMEM 高糖培养基置于 37 ℃、含 5% CO_2、95%空气的饱和湿度培养箱中培养。细胞 80%融合时进行传代,每 3 d 传代培养 1 次。将对数期 PC12 细胞接种 96 孔板,每板 1×10^4

个细胞,用 Lipofectamine 2000 将 anti-miR-NC、miR-103a-3p Inhibitor、miR-103a-3p mimic 分别转染 50% 融合的 PC12 细胞。参照齐献忠等[9]实验方法用 250 mmol/L 的 MPP^+处理 PC12 细胞 24 h 建立 PD 细胞模型,记为 PD 组。

1.2.2 CCK-8 法检测细胞活力 将未转染细胞、转染 anti-miR-NC 细胞、转染 miR-103a-3p Inhibitor 细胞、转染 miR-103a-3p mimic 细胞均以 5×10^3 个/孔接种 96 孔板,置于培养基常规孵育 24 h。未转染的细胞分为对照组、PD 组、PD+鸢尾苷元 50 μmol/L 组、PD+鸢尾苷元 100 μmol/L 组、PD+鸢尾苷元 200 μmol/L 组。转染细胞根据转染序列不同分为 PD+anti-miR-NC 组、PD+miR-103a-3p Inhibitor 组、PD+鸢尾苷元+miR-103a-3p mimic 组。取出 96 孔板,对照组、PD 组、PD+anti-miR-NC 组、PD+miR-103a-3p Inhibitor 组更换为无血清培养,鸢尾苷元处理组分别加入上述浓度的含药培养基预处理 1 h。预处理 1 h 后,除对照组外,其与各组分别加入 250 mmol/L 的 MPP^+作用 24 h。按照 CCK-8 试剂盒步骤检测细胞活力,酶标仪检测 450 nm 处光密度值[$D(450)$]。

1.2.3 流式细胞术检测凋亡率 磷酸盐缓冲液洗涤各处理组细胞 2 次,将细胞重悬在 1×结合缓冲液中,调整细胞密度为 2×10^5 个/mL。将 500 μL 细胞悬液分别加入流式管,依次加入 5 μL 的 Annexin V-FITC 和 5 μL 的 PI,室温避光染色。流式细胞仪分析各组细胞凋亡情况。

1.2.4 试剂盒检测细胞内 SOD 活性、MDA 水平以及 LDH 释放量 收集各组细胞至离心管,3 000 r/min 离心 10 min 后分别收集细胞沉淀和上清液。按照 LDH 检测试剂盒分析细胞培养液中 LDH 活性以表示各组 PC12 细胞 LDH 释放量。同时向 5×10^6 个细胞中加入 1 mL 提取液,超声破碎后,8 000 r/min 离心 10 min,收集上清置于冰上。按照 SOD 活性检测试剂盒、MDA 含量检测试剂盒步骤分析各组 PC12 细胞内 SOD 活性、MDA 水平。

1.2.5 RT-qPCR 检测 miR-103a-3p 表达 TRIzol 试剂提取各组 PC12 细胞总 RNA,并测量 RNA 浓度和纯度。用 TaqMan miRNA 反转录试剂盒合成 miRNA 的 cDNA,用 TaqMan miRNA 定量试剂盒进行 RT-qPCR。$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析 miR-103a-3p 表达水平。miR-103a-3p(76 bp)上游 5′-AGCAGCATTGTACAGGG-3′,下游 5′-GTGCAGGGTCCGAGGT-3′;内参 U6(106 bp)上游 5′-TGCGGGTGCTCGCTTCGGCAGC-3′,下游 5′-GTGCAGGGTCCGAGGT-3′。

1.2.6 Western blot 检测 SHC3 蛋白 RIPA 法提取各组 PC12 细胞总蛋白。每泳道加入 40 μg 蛋白质样品用 SDS-PAGE 凝胶分离,并湿转到聚偏二氟乙烯膜(PVDF)上。室温下,将膜放入孵育盒用 5%脱脂牛奶封闭 2 h。用 1∶1 000 稀释的 SHC3 抗体、1∶3 000 稀释的 GAPDH 抗体 4 ℃孵育 10 h。再用 1∶3 000 稀释的二抗室温孵育 1 h。用增强化学发光试剂盒检测印迹,以 Image J 软件测得的 SHC3 和 GAPDH 灰度值比值表示 SHC3 蛋白表达水平。

1.2.7 双荧光素酶报告实验 将含有 miR-103a-3p 预测结合位点的野生型(WT)SHC3-3′-非翻译区(UTR)序列及其相应的突变型(MUT)序列分别克隆到荧光素酶报告载体 pmirGLO,将构建的重组载体命名为 WT-SHC3、MUT-SHC3。将 miR-103a-3p mimic、miR-NC 分别与上述重组载体共转染 PC12 细胞。转染 48 h 后,用双荧光素酶报告检测系统测定萤火虫和肾素酶活性,以二者的比值表示相对荧光素酶活性。

1.3 统计学分析

用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析,实验数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示。用独立样本 t 检验确定两组间数据差异;采用 One-way ANOVA 确定多组间差异,进一步两组比较采用 LSD-t 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 鸢尾苷元对 PD 模型损伤的影响

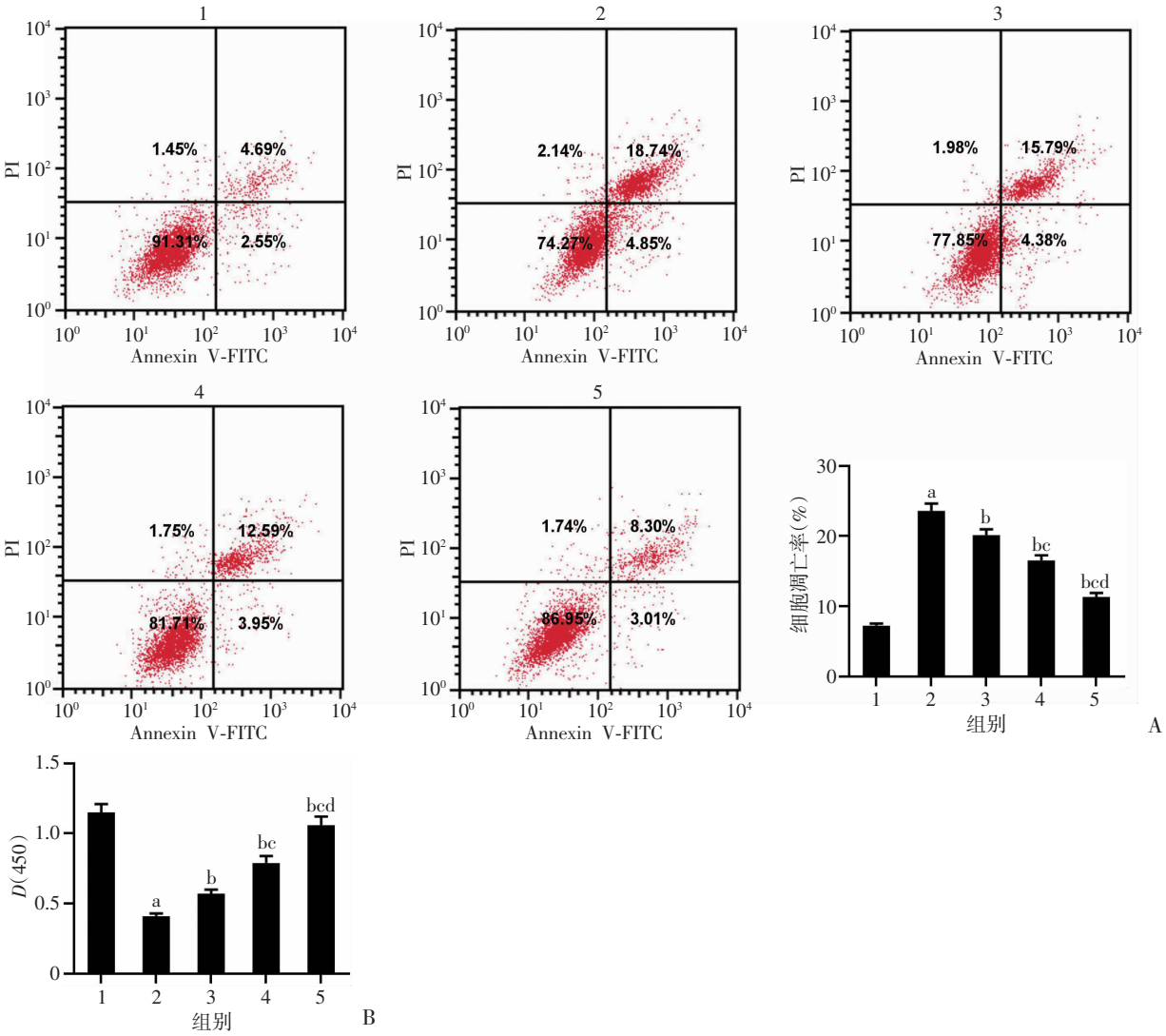
与 Con 组比较,PD 组 PC12 细胞光密度值显著降低($P<0.05$),凋亡率显著升高($P<0.05$);与 PD 组比较,PD+鸢尾苷元 50、100、200 μmol/L 组 PC12 细胞光密度值均显著升高($P<0.05$),凋亡率显著降低($P<0.05$),见图 1。结果表明鸢尾苷元可提高 PD 模型细胞活力,抑制细胞凋亡。

2.2 鸢尾苷元对 PD 模型中 SOD、MDA、LDH 的影响

与 Con 组比较,PD 组 PC12 细胞 SOD 活性显著降低($P<0.05$),MDA 水平、LDH 释放量显著升高($P<0.05$);与 PD 组比较,PD+鸢尾苷元 50、100、200 μmol/L 组 PC12 细胞 SOD 活性显著升高($P<0.05$),MDA 水平、LDH 释放量显著降低($P<0.05$),见图 2。结果表明鸢尾苷元可抑制 PD 模型细胞氧化应激损伤。

2.3 鸢尾苷元对 PD 模型中 miR-103a-3p 和 SHC3 表达的影响

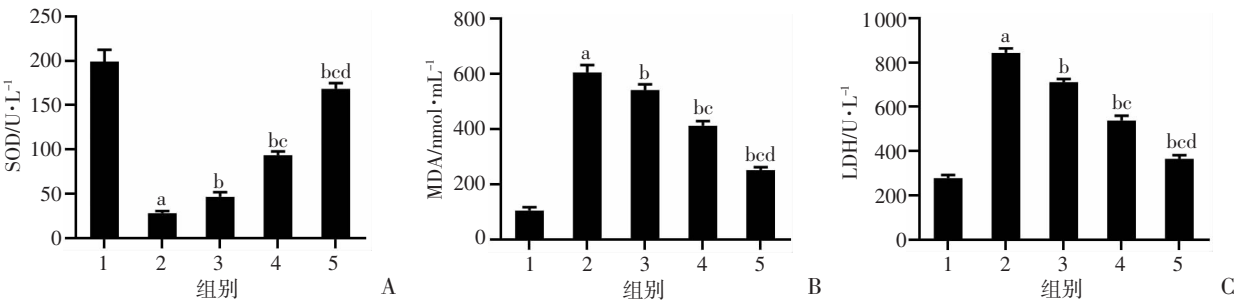
与 Con 组比较,PD 组 PC12 细胞 miR-103a-3p 表达显著升高($P<0.05$),SHC3 蛋白表达显著降低($P<0.05$);与 PD 组比较,PD+鸢尾苷元 50、100、200 μmol/L 组 PC12 细胞 miR-103a-3p 表达显著降低($P<0.05$),SHC3 蛋白表达显著升高($P<0.05$),见图 3。结果表明鸢尾苷元抑制 PD 模型细胞中 miR-103a-3p 表达,促进 SHC3 蛋白表达。



1:Con 组;2:PD 组;3:PD+鸢尾苷元 50 μmol/L 组;4:PD+鸢尾苷元 100 μmol/L 组;5:PD+鸢尾苷元 200 μmol/L 组;a:$P<0.05$,与 Con 组比较;b:$P<0.05$,与 PD 组比较;c:$P<0.05$,与 PD+鸢尾苷元 50 μmol/L 组比较;d:$P<0.05$,与 PD+鸢尾苷元 100 μmol/L 组比较

A:流式细胞术检测各组细胞凋亡;B:CCK-8 法检测各组细胞活性

图 1 鸢尾苷元对 MPP⁺诱导的 PD 模型细胞凋亡和活性的影响

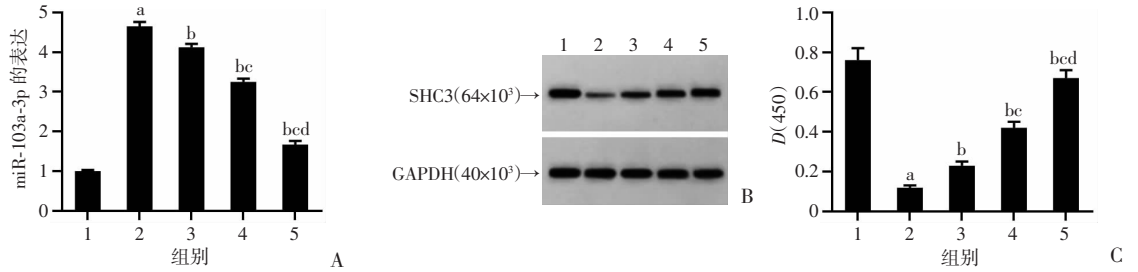


1:Con 组;2:PD 组;3:PD+鸢尾苷元 50 μmol/L 组;4:PD+鸢尾苷元 100 μmol/L 组;5:PD+鸢尾苷元 200 μmol/L 组;a:$P<0.05$,与 Con 组比较;b:$P<0.05$,与 PD 组比较;c:$P<0.05$,与 PD+鸢尾苷元 50 μmol/L 组比较;d:$P<0.05$,与 PD+鸢尾苷元 100 μmol/L 组比较

图 2 鸢尾苷元对 PD 模型中 SOD(A)、MDA(B)、LDH(C)的影响

2.4　抑制 miR-103a-3p 对 PD 模型损伤及 SOD、MDA、LDH 的影响

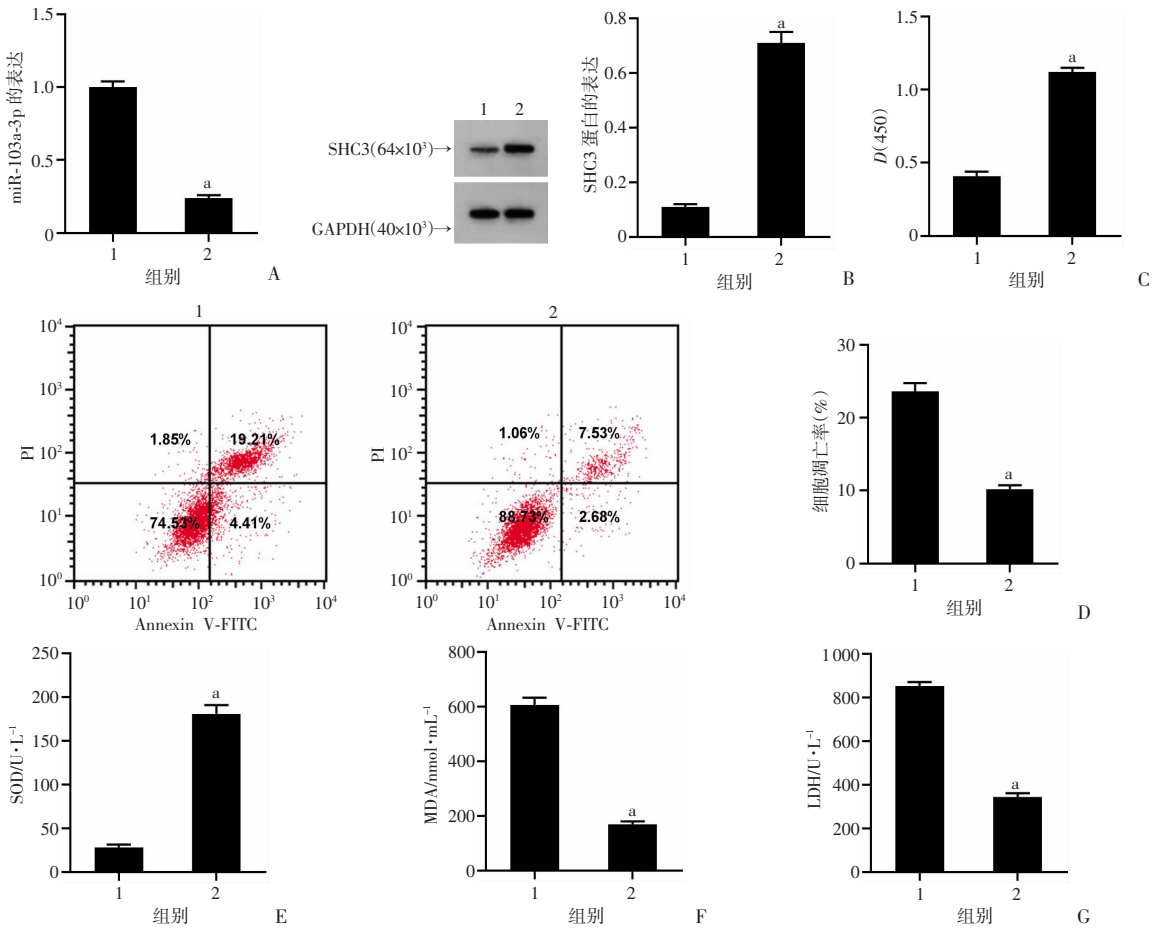
与 PD+anti-miR-NC 组比较,PD+miR-103a-3p Inhibitor 组 PC12 细胞 miR-103a-3p 表达、凋亡率、MDA 水平、LDH 释放量显著降低($P<0.05$),SHC3 蛋白表达、细胞活力、SOD 活性显著升高($P<0.05$),见图 4。结果表明抑制 miR-103a-3p 表达可抑制 PD 模型细胞凋亡,减轻氧化应激损伤。



1:Con 组;2:PD 组;3:PD+鸢尾苷元 50 μmol/L 组;4:PD+鸢尾苷元 100 μmol/L 组;5:PD+鸢尾苷元 200 μmol/L 组;a:$P<0.05$,与 Con 组比较;b:$P<0.05$,与 PD 组比较;c:$P<0.05$,与 PD+鸢尾苷元 50 μmol/L 组比较;d:$P<0.05$,与 PD+鸢尾苷元 100 μmol/L 组比较

A:鸢尾苷元抑制 MPP^+ 诱导的 PD 模型中 miR-103a-3p 表达;B、C:鸢尾苷元促进 MPP^+ 诱导的 PD 模型中 SHC3 蛋白的表达

图 3　鸢尾苷元对 MPP^+ 诱导的 PD 模型中 miR-103a-3p 和 SHC3 蛋白表达的影响



1:PD+anti-miR-NC 组;2:PD+miR-103a-3p Inhibitor 组; a:$P<0.05$,与 PD+anti-miR-NC 组比较

A:miR-103a-3p 表达;B:SHC3 蛋白表达;C:抑制 miR-103a-3p 促进 PD 模型细胞活力;D:抑制 miR-103a-3p 抑制 PD 模型细胞凋亡率;E:SOD 活性;F:MDA 水平;G:LDH 释放量

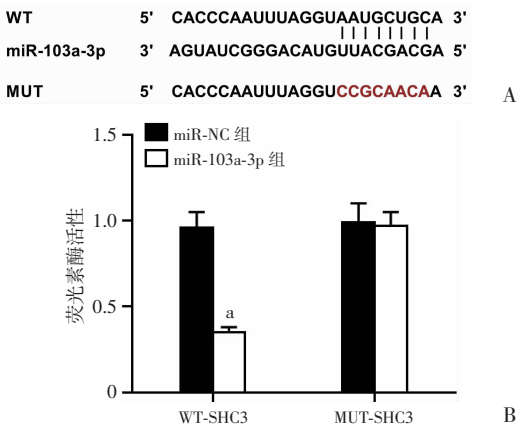
图 4　抑制 miR-103a-3p 对 PD 模型细胞活性和凋亡及 SOD、MDA、LDH 的作用

2.5　miR-103a-3p 和 SHC3 靶向关系

Targetscan 预测到 miR-103a-3p 和 SHC3 的 3'-UTR 区域存在互补序列,见图 5。与 miR-NC 和 WT-SHC3 共转染组比较,miR-103a-3p 和 WT-SHC3 共转染组 PC12 细胞相对荧光素酶活性显著下降($P<0.05$);与 miR-NC 和 MUT-SHC3 共转染组比较,miR-103a-3p 和 MUT-SHC3 共转染组 PC12 细胞相对荧光素酶活性差异无统计学意义。结果表明 SHC3 是 miR-103a-3p 的直接靶点。

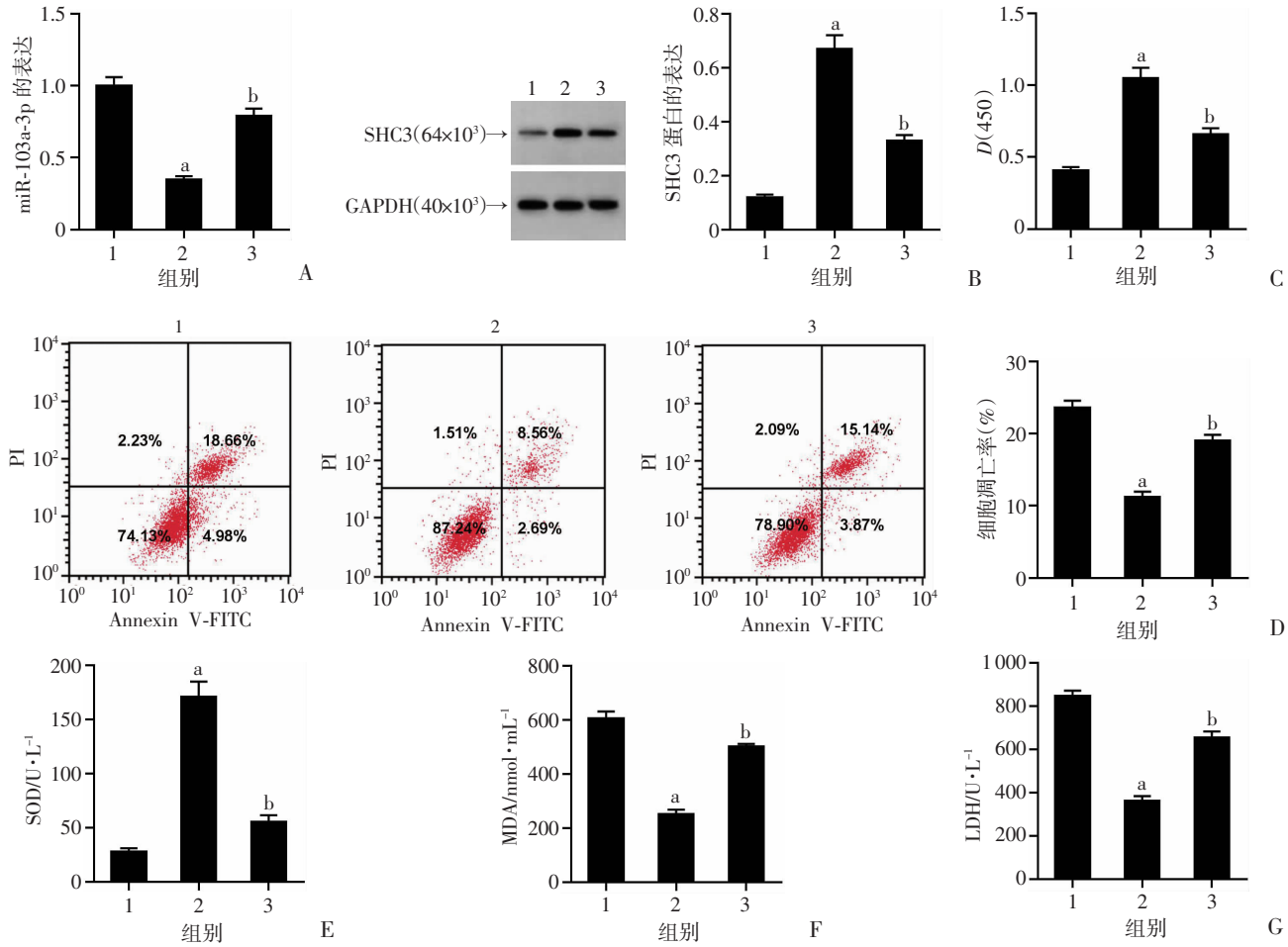
2.6　过表达 miR-103a-3p 对鸢尾苷元处理的 PD 模型损伤及 SOD、MDA、LDH 的影响

与 PD 组比较,PD+鸢尾苷元组 PC12 细胞 miR-103a-3p 表达、凋亡率、MDA 水平、LDH 释放量显著降低($P<0.05$),SHC3 蛋白表达、细胞活力、SOD 活性显著升高($P<0.05$);与 PD+鸢尾苷元组比较,PD+鸢尾苷元+miR-103a-3p mimic 组 PC12 细胞 miR-103a-3p 表达水平、凋亡率、MDA水平、LDH释放量显著升高($P<0.05$),SHC3 蛋白表达、细胞活力、SOD 活性显著降低($P<0.05$),见图 6。结果表明过表达 miR-103a-3p 可减轻鸢尾苷元对 PD 模型细胞损伤的保护作用。



a:$P<0.05$,与 miR-NC 组比较

图 5　miR-103a-3p 和 SHC3 互补序列(A)及荧光素酶活性检测(B)



1:PD 组;2:PD+鸢尾苷元组;3:PD+鸢尾苷元+miR-103a-3p mimic 组;a:$P<0.05$,与 PD 组比较;b:$P<0.05$,与 PD+鸢尾苷元组比较

A:miR-103a-3p 表达;B:SHC3 蛋白表达;C:细胞活力;D:细胞凋亡情况;E:SOD 活性;F:MDA 水平;G:LDH 释放量

图 6　过表达 miR-103a-3p 可逆转鸢尾苷元对 PD 模型细胞活性和凋亡及 SOD、MDA、LDH 的作用

3 讨论

研究者们尽管在PD动物和细胞模型上进行了大量临床前研究,但目前仍缺乏对PD有效的治疗药物。鸢尾苷元被认为是一种潜在的神经保护剂,其通过抗氧化应激来预防神经退行性变[10]。本研究证实鸢尾苷元减轻了MPP^+诱导的PC12细胞活力下降和凋亡增加,表明鸢尾苷元可抑制MPP^+诱导的细胞损伤。NOH等[11]证实鸢尾苷元预处理可明显减弱紫外线B诱导的细胞凋亡,对人角质形成细胞具有抗皮肤损伤作用。YAO等[12]的研究表明鸢尾苷元可显著提高糖氧剥夺/复氧诱导的HT-22细胞凋亡,促进细胞存活。SOD是重要的细胞内抗氧化酶,其可抵抗活性氧诱导的氧化应激,MDA作为氧化应激的标志物,在不饱和脂质氧化降解过程中SOD可抑制活性氧诱导的MDA产生,进而抑制神经毒性[13]。本研究发现MPP^+诱导可提高MDA水平,降低SOD活性,增加LDH释放量,但鸢尾苷元预处理可阻止上述反应,表明鸢尾苷元可抑制MPP^+诱导的氧化应激损伤。与本研究结果类似,鸢尾苷元通过提高SOD活性,降低LDH漏量、MDA水平,抑制H_2O_2诱导的人脐静脉细胞氧化损伤[14]。MA等[15]证实鸢尾苷元通过提高肺组织中抗氧化酶活性进而抑制脂多糖诱导的急性肺损伤。此外,本研究发现鸢尾苷元预处理能够下调MPP^+诱导的PC12细胞中miR-103a-3p表达水平,下调SHC3蛋白表达水平,这提示鸢尾苷元的保护作用可能与调控miR-103a-3p和SHC3表达有关。

目前,关于miR-103a-3p在细胞损伤模型中作用报道不一。LU等[16]发现循环miR-103a-3p通过蔗糖非酵解型蛋白激酶2(SNRK)/核因子κB(NF-κB)/p65调节轴参与血管紧张素Ⅱ诱导的肾脏炎症和纤维化。ZHOU等[17]证实脓毒症患者和小鼠血清中miR-103a-3p表达上调,干预miR-103a-3p表达可抑制细胞凋亡、炎症反应和氧化反应,改善脂多糖诱导的脓毒性肝损伤。然而,miR-103a-3p通过靶向高迁移率族蛋白1(HMGB1)则抑制脓毒症诱导的肝损伤和糖氧剥夺诱导的脑缺血再灌注损伤,这种差异可能与miR-103a-3p细胞特异表达模式有关[18-19]。本研究结果表明抑制miR-103a-3p表达可提高MPP^+诱导的PC12细胞活力和SOD活性,降低细胞凋亡率、LDH漏量和MDA水平,这与ZHOU等[4]报道抑制miR-103a-3p表达可抑制PD进展基本吻合。SHC3肝癌[20]、脑胶质瘤[21]中被证实异位过表达发挥促癌作用。本研究表明过表达SHC3可提高MPP^+诱导的PC12细胞活力和SOD活性,降低细胞凋亡率、LDH漏量和MDA水平,与齐献忠等[9]报道的PD保护作用一致。由于抑制miR-103a-3p表达、过表达SHC3与鸢尾苷元对PD模型细胞的保护作用一致,且miR-103a-3p靶向miR-103a-3p并负调控其表达,本研究推测鸢尾苷元可能通过调控miR-103a-3p/SHC3轴发挥功能。回复实验表明,过表达miR-103a-3p显著减弱鸢尾苷元对MPP^+诱导的PC12细胞活力下降、凋亡以及氧化应激损伤的保护作用,这间接证实鸢尾苷元通过下调miR-103a-3p/SHC3轴保护PD模型细胞损伤。

综上所述,本研究证实鸢尾苷元可保护PD模型细胞凋亡和氧化损伤,其机制与抑制miR-103a-3p/SHC3通路有关。这些结果为鸢尾苷元、miR-103a-3p/SHC3轴在PD中的作用提供了新的认识,为PD治疗提供了潜在途径。

参考文献:

[1] ELLIS J M, FELL M J. Current approaches to the treatment of Parkinson's disease[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2017, 27(18): 4247-4255. DOI:10.1016/j.bmcl.2017.07.075.

[2] FERRANTE M, CONTI G O. Environment and neurodegenerative diseases: an update on miRNA role[J]. Microrna, 2017, 6(3): 157-165. DOI:10.2174/2211536606666170811151503.

[3] RUPAIMOOLE R, SLACK F J. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases[J]. Nat Rev Drug Discov, 2017, 16(3): 203-222. DOI:10.1038/nrd.2016.246.

[4] ZHOU J J, ZHAO Y, LI Z L, *et al*. MiR-103a-3p regulates mitophagy in Parkinson's disease through Parkin/Ambra1 signaling[J]. Pharmacol Res, 2020, 160: 105197. DOI: 10.1016/j.phrs.2020.105197.

[5] ULIVIERI C, SAVINO M T, LUCCARINI I, *et al*. The adaptor protein rai/ShcC promotes astrocyte-dependent inflammation during experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. J Immunol, 2016, 197(2): 480-490. DOI:10.4049/jimmunol.1502063.

[6] GONG J, ZHANG L, ZHANG Q, *et al*. Lentiviral vector-mediated SHC_3 silencing exacerbates oxidative stress injury in nigral dopamine neurons by regulating the PI3K-AKT-FoxO signaling pathway in rats with Parkinson's disease[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 49(3): 971-984. DOI:10.1159/000493228.

[7] 王金凤, 薄华本, 孟祥颖, 等. 鸢尾苷元对急性心肌梗死

小鼠心肌的保护作用[J]. 中国新药与临床杂志, 2010, 29(2): 99-103.
WANG J F, BO H B, MENG X Y, *et al*. Cardioprotective function of tectorigenin in acute myocardial infarction in mice [J]. Chin J New Drugs Clin Remedies, 2010, 29(2): 99-103.

[8] ZHANG L, ZHAO Y, FAN L, *et al*. Tectorigenin protects against experimental fulminant hepatic failure by regulating the TLR4/mitogen-activated protein kinase and TLR4/nuclear factor-κB pathways and autophagy[J]. Phytother Res, 2019, 33(4): 1055-1064. DOI:10.1002/ptr.6299.

[9] 齐献忠, 邢英瀛, 秦慧兵. 过表达 SHC3 激活 AKT/Nrf2/GSH 通路保护帕金森病氧化应激损伤[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(17): 4333-4337.
QI X Z, XING Y Y, QIN H B. Overexpression of SHC3 activates AKT/Nrf2/GSH pathway to protect Parkinson's disease from oxidative stress injury[J]. Chin J Gerontol, 2019, 39(17): 4333-4337.

[10] PARK J S, JUNG J S, JEONG Y H, *et al*. Antioxidant mechanism of isoflavone metabolites in hydrogen peroxide-stimulated rat primary astrocytes: critical role of hemeoxygenase-1 and NQO1 expression[J]. J Neurochem, 2011, 119(5): 909-919. DOI:10.1111/j.1471-4159.2011.07395.x.

[11] NOH D, CHOI J G, HUH E, *et al*. Tectorigenin, a flavonoid-based compound of leopard lily rhizome, attenuates UV-B-induced apoptosis and collagen degradation by inhibiting oxidative stress in human keratinocytes[J]. Nutrients, 2018, 10(12): E1998. DOI:10.3390/nu10121998.

[12] YAO L, YANG M, ZHANG J, *et al*. Tectorigenin attenuates the OGD/R-induced HT-22 cell damage through regulation of the PI3K/AKT and the PPARγ/NF-κB pathways [J]. Hum Exp Toxicol, 2021, 40(8): 1320-1331. DOI: 10.1177/0960327121993213.

[13] YANG Y, KONG F C, DING Q Q, *et al*. Bruceine D elevates Nrf2 activation to restrain Parkinson's disease in mice through suppressing oxidative stress and inflammatory response[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 526(4): 1013-1020. DOI:10.1016/j.bbrc.2020.03.097.

[14] CHEN X, ZHANG W, SUN L, *et al*. Tectorigenin protect HUVECs from H_2O_2-induced oxidative stress injury by regulating PI3K/Akt pathway [J]. Tissue Cell, 2021, 68: 101475. DOI:10.1016/j.tice.2020.101475.

[15] MA C H, LIU J P, QU R, *et al*. Tectorigenin inhibits the inflammation of LPS-induced acute lung injury in mice[J]. Chin J Nat Med, 2014, 12(11): 841-846. DOI: 10.1016/s1875-5364(14)60126-6.

[16] LU Q L, MA Z J, DING Y, *et al*. Circulating miR-103a-3p contributes to angiotensin II-induced renal inflammation and fibrosis via a SNRK/NF-κB/p65 regulatory axis[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 2145. DOI: 10.1038/s41467-019-10116-0.

[17] ZHOU Y P, XIA Q. Inhibition of miR-103a-3p suppresses lipopolysaccharide-induced sepsis and liver injury by regulating FBXW7 expression[J]. Cell Biol Int, 2020, 44(9): 1798-1810. DOI:10.1002/cbin.11372.

[18] LI J S, HE W L, WANG Y, *et al*. MiR-103a-3p alleviates oxidative stress, apoptosis, and immune disorder in oxygen-glucose deprivation-treated BV_2 microglial cells and rats with cerebral ischemia-reperfusion injury by targeting high mobility group box 1[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(20): 1296. DOI:10.21037/atm-20-5856.

[19] CHEN L F, LU Q, DENG F M, *et al*. MiR-103a-3p could attenuate sepsis-induced liver injury by targeting HMGB1 [J]. Inflammation, 2020, 43(6): 2075-2086. DOI:10.1007/s10753-020-01275-0.

[20] LIU Y, ZHANG X R, YANG B C, *et al*. Demethylation-induced overexpression of Shc3 drives c-raf-independent activation of MEK/ERK in HCC[J]. Cancer Res, 2018, 78(9): 2219-2232. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-2432.

[21] AZZALIN A, MORETTI E, ARBUSTINI E, *et al*. Cell density modulates SHC_3 expression and survival of human glioblastoma cells through Fak activation[J]. J Neurooncol, 2014, 120(2): 245-256. DOI: 10.1007/s11060-014-1551-x.

(收稿:2021-06-03;修回:2021-08-19)
(编辑 吴培红)