

IGF2/JAK2/STAT3 通路在麦芽酚铝致大鼠学习记忆损伤的作用

贾婧静¹, 胡倩¹, 贺婵婷^{1,2}, 牛侨¹

1. 山西医科大学公共卫生学院, 山西 太原 030001; 2. 山西医科大学基础医学院

摘要:目的 探讨 IGF2/JAK2/STAT3 通路在麦芽酚铝致大鼠学习记忆损害中的作用机制。方法 将 32 只 SD 大鼠随机分为生理盐水对照组和低、中、高麦芽酚铝染毒组(10、20 和 40 μmol/kg) 四组, 腹腔注射, 隔天染毒, 连续三个月。染毒结束后, 采用 Morris 水迷宫检测大鼠学习记忆能力, HE 染色检测大鼠海马神经元形态。采用实时荧光定量 PCR 检测海马组织中 IGF2 mRNA 水平, Western Blotting 检测海马组织中 Cleaved Caspase3、IGF2、p-JAK2(Tyr1007/1008)、p-STAT3(Ser727) 蛋白的相对表达水平。结果 随着染铝剂量的升高, 各组大鼠同一天逃避潜伏期逐渐延长, 目标象限停留时间和穿越平台次数都逐渐减少($F=7.900, P=0.001$; $F=6.693, P=0.002$)。HE 染色结果显示, 随着染铝剂量的升高海马组织 CA1 区神经元个数逐渐下降且排列明显松散($F=25.947, P<0.001$)。随着染铝剂量增高, 凋亡相关蛋白 Bcl-2 水平逐渐下降($F=83.235, P<0.001$), Bax($F=153.189, P<0.001$) 和 Cleaved Caspase3($F=11.636, P<0.01$) 蛋白的相对表达量逐渐增高, IGF2 mRNA 和 IGF2、p-JAK2(Tyr1007/1008)、p-STAT3(Ser727) 蛋白相对表达量均逐渐减少($F=18.423, P<0.001$; $F=11.072, P=0.001$; $F=55.161, P<0.001$; $F=10.481, P=0.001$)。结论 麦芽酚铝通过抑制 IGF2/JAK2/STAT3 通路引起细胞凋亡从而损伤大鼠的学习记忆能力。

关键词: 麦芽酚铝; 细胞凋亡; IGF2/JAK2/STAT3; 学习记忆能力

中图分类号: R114 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2024)10-1865-07

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202311463

Effects of IGF2/JAK2/STAT3 pathway on learning and memory impairment induced by aluminum maltol in rats

JIA Jing-jing*, HU Qian, HE Chan-ting, NIU Qiao

* School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China

Abstract: Objective To investigate the mechanism of IGF2/JAK2/STAT3 on learning and memory impairment induced by aluminum maltol in rats. **Methods** A total of 32 SD rats were divided into normal saline control group and low, medium and high maltol aluminum exposure groups (10, 20 and 40 μmol/kg) by random number table, respectively, and intraperitoneally injected every other day for three months. After exposure, Morris water maze was applied to examine the learning and memory ability of rats, and HE staining was used to check the arrangement of hippocampal neurons. Real-time fluorescence quantitative PCR was applied to detect the relative expression level of IGF2 mRNA in hippocampus of rats. Western Blotting was used for detecting the relative protein expression levels of Cleaved Caspase3, IGF2, p-JAK2(Tyr1007/1008), and p-STAT3(Ser727) in the hippocampus of rats. **Results** With the increase of aluminum dose, the escape latency of rats in the same day was prolonged, and the residence time in the target quadrant and the times of crossing the platform were gradually reduced ($F=7.900, P=0.001$; $F=6.693, P=0.002$). HE staining results showed that the number of neurons in CA1 region of hippocampus gradually decreased and the arrangement of neurons was obviously loose with the increase of aluminum dose ($F=25.947, P<0.001$). With increasing aluminum dose, apoptosis-associated protein Bcl-2 levels decreased gradually ($F=83.235, P<0.001$), Bax ($F=153.189, P<0.001$) and Cleaved Caspase3 ($F=11.636, P<0.01$) levels was gradually increased, and the relative expression levels of IGF2 mRNA and IGF2, p-JAK2(Tyr1007/1008), p-STAT3(Ser727) proteins decreased gradually with the increase of aluminum dose ($F=18.423, P<0.001$; $F=11.072, P=0.001$; $F=55.161, P<0.001$; $F=10.481, P=0.001$). **Conclusion** Aluminum maltol can induce cell apoptosis by inhibiting IGF2/JAK2/STAT3 pathway, which could damage the learning and memory ability of rats.

基金项目: 山西省基础研究计划(20210302124582); 国家自然科学基金面上项目(82204003, 82173492)

作者简介: 贾婧静(1998—), 女, 硕士在读, 研究方向: 铝的神经毒性

通信作者: 牛侨, E-mail: niuqiao55@163.com; 贺婵婷, E-mail: hechanting1201@163.com

Keywords: Aluminum maltol; Cell apoptosis; IGF2/JAK2/STAT3; Learning and memory ability

铝 (aluminum, Al) 是地壳中最主要的金属元素 (约占 8.8%), 人类通过生活和职业接触铝, 并储存在骨骼、肝脏、肺和神经系统中^[1-2]。近年研究报道, 铝通过诱导氧化应激损伤线粒体^[3]、增加 β 淀粉样蛋白 (A β) 的产生^[4] 和 tau 蛋白过度磷酸化^[5]、诱导神经元凋亡^[6]、降低突触结构和功能可塑性^[7] 等产生类似于阿尔茨海默病 (AD) 的神经退行性疾病的影响。一项包含 18 项研究的 meta 分析结果显示, 职业接触铝的工人在处理速度、工作记忆、注意力和反应时间方面的表现与对照组相比明显较差, 且血浆铝是唯一可以作为认知能力显著预测因子的生物标志物^[8]。胰岛素样生长因子 2 (IGF2) 是一种生长因子, 在胎儿发育、人体大脑发育、肌生成等过程中发挥促进作用^[9]。增加 IGF2 水平可增强健康动物的记忆力, 并逆转衰老、神经发育障碍和神经退行性疾病实验室模型中的许多症状^[10]。Janus 激酶/信号转导与转录激活子 (JAK/STAT) 通路是一种普遍表达的胞内信号转导通路, 参与各种疾病的发生、发展^[11]。本研究拟构建亚慢性铝暴露大鼠模型, 探讨 IGF2/JAK2/STAT3 通路在铝致大鼠学习记忆损害的作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物 实验用 32 只 8 周龄雄性 Sprague Dawley (SD) 大鼠, 购于北京华卓康生物科技股份有限公司, 实验动物生产许可证号: SCXK (京) 2019-0008。本研究经山西医科大学医学动物伦理委员会审查批准。

1.2 试剂及仪器 麦芽酚、三氯化铝 (默克); RNAiso Plus、TB Green[®] Premix Ex Taq[™] II、引物 (宝生物); 戊巴比妥钠 (天津凯通); 4% 多聚甲醛 (武汉博士德); SDS-PAGE 凝胶试剂盒、蛋白示踪上样缓冲液、山羊抗兔抗鼠二抗、ECL 化学发光液 (康为世纪); 蛋白示踪 marker、IGF2 一抗 (赛默飞); p-JAK2-Tyr1007/1008、p-STAT3-Ser727 一抗 (华安生物), 脱脂奶粉 (伊利集团), PVDF 膜 (密理博)。Morris 水迷宫及轨迹追踪系统 (深圳 RWD); 分光光度计、RT-PCR 仪 (赛默飞); 电泳仪、转膜仪 (北京六一); 化学发光成像系统 (美国伯乐)。

1.3 方法

1.3.1 麦芽酚铝 [Al (mal)₃] 染毒液配制 称取 AlCl₃·6H₂O 用生理盐水溶解分别配制成 20、40、80 mM 浓度的溶液, 称取麦芽酚用 PBS 溶解分别配制成 60、120、240 mM 浓度的溶液, 将两溶液分别等体积混合配制成 10、20、40 mM 的 Al (mal)₃, 现用现配, 用

NaOH 调节溶液 pH 至 7.4, 之后用 0.22 μ m 过滤器过滤后备用。

1.3.2 动物分组与铝暴露 适应性饲养 1 周后, 按体质量将大鼠随机分为 4 组: 生理盐水对照组、低、中、高 (分别为 10、20、40 μ mol/kg) 剂量组, 每组 8 只, 腹腔注射染毒, 每隔 1 天暴露一次, 持续 3 个月。染毒期内观察并记录各组大鼠的体重、饮水及饲料用量、精神运动及毛发等情况。

1.3.3 空间记忆能力测试 在亚慢性铝暴露大鼠模型构建完成后, 采用 Morris 水迷宫检测大鼠的短期学习记忆能力。在定位航行实验中, 每天将四组大鼠分别从水池的四个象限放入水中, 共训练 5 天, 每天下水象限顺序不同。观察并记录从大鼠放入水中到上平台所需的时间, 如果大鼠 120 秒内游上平台并停留 10 秒, 即为其逃避潜伏期; 如果大鼠 120 秒内未找到平台, 那么引导其游上平台并停留 10 秒, 则其逃避潜伏期为 120 秒。第 6 天时移除平台, 观察 120 秒内大鼠在目标象限游动时间及穿越平台次数。

1.3.4 HE 染色 在四组中各取 4 只大鼠全脑组织, 4% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 切片, 脱蜡, 梯度酒精复水, 然后以苏木素染核、伊红染胞质, 梯度脱水后用中性树胶封片, 置于倒置显微镜下观察。

1.3.5 RT-PCR 取大鼠海马组织制成匀浆, Trizol 法抽提总 RNA, 吸取 2 μ l RNA 溶液检测其浓度, OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值在 1.8-2.2 说明提取成功。接下来将 RNA 反转录成 cDNA, 最后上机进行 RT-PCR 检测。PCR 反应条件见表 1。

表 1 PCR 反应条件

Table 1 PCR reaction conditions

步骤	循环次数	条件
1 预变性	1	95 $^{\circ}$ C 30 s (预变性)
2 PCR 反应	43	95 $^{\circ}$ C 10 s (变性) 60 $^{\circ}$ C 20 s (退火) 72 $^{\circ}$ C 10 s (延伸)

以甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因 (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene, GAPDH) 作 mRNA 的内源性对照, 使用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算 IGF2 mRNA 相对表达水平。引物序列见表 2。

1.3.6 Western Blotting 称取 30 mg 海马组织, 提取组织蛋白, 用 BCA 蛋白检测试剂盒进行定量分析后, 采用凝胶电泳法分离蛋白, 然后将目标蛋白转移至 PVDF 膜, 接着用 5% 脱脂奶粉将带有目标蛋白的 PVDF 膜室温封闭 1.5 h, 封闭结束后加入一抗 (稀释比例: GAPDH 为 1:3 000; IGF2、p-JAK2、p-STAT3、

表 2 引物名称和序列

Table 2 Primer names and sequences

基因名称	引物序列(5'→3')
IGF2	F:GCCATTTGGAACATTGGACAGA
	R:TGTCAGTCAAATGGGGCAGGTA
GAPDH	F:CCATTCTCCACCTTTGATGCT
	R:TGTTGCTGTAGCCATATTCATTGT

Bcl-2、Bax、Cleaved Caspase3 均为 1:1 000), 4 °C 摇床孵育过夜。一抗孵育结束后,用 TBST 漂洗 3 次(10 min/次),然后分别加入山羊抗鼠、抗兔抗体(稀释比均为 1:3 000)在 37°C 孵育 2 h, TBST 5 min/次(3 次),完成后以化学发光法显色,分析蛋白条带灰度值。将目的蛋白与内参蛋白 GAPDH 的灰度值之比再标化对照组数据作为相应蛋白的相对表达水平。

1.3.7 统计学分析 采用 SPSS 26.0 统计软件对实验数据进行处理与分析,对于符合正态分布的计量资料,结果用($\bar{x} \pm s$)表示,四组的组间比较采用单因素方差分析:方差齐时两两比较采用 LSD 检验,方差不齐时,则采用 Dunnett 检验,当 $P < 0.05$ 时,判断结果

具有统计学差异。

2 结果

2.1 麦芽酚铝对 SD 大鼠学习记忆能力的影响 各组大鼠的游泳速度未有统计学差异($F = 0.505, P = 0.682$),表明暴露铝未影响大鼠运动能力。定位航行实验结果显示,随着训练时长的增多,各组大鼠寻找平台的时间缩短,第一天各组大鼠逃避潜伏期无差异($F = 0.188, P > 0.05$);第 2-4 天中,对照组与低剂量组间无差异,中、高剂量组分别相比于对照、低剂量组均有差异($P < 0.05$);第 5 天,除了对照组与低剂量组间无差异,其余各组间均有差异($P < 0.05$)。空间探索实验结果显示,相比于对照组,中、高剂量组的目标象限停留时间减少($t = 3.565, P < 0.01; t = 4.482, P < 0.001$)且穿越平台次数也减少($t = 3.076, P < 0.01; t = 4.102, P < 0.001$),此外高剂量组与低剂量组之间也有差异($t = 2.722, P < 0.05; t = 2.820, P < 0.01$)。详细结果见表 2。

表 2 不同染铝组大鼠逃避潜伏期、目标象限停留时间与穿越平台次数水平比较 [$n = 8, (\bar{x} \pm s)$]

Table 2 Comparison of escape latency, residence time in target quadrant and frequency of crossing platform of rats in different Al-stained groups [$n = 8, (\bar{x} \pm s)$]

组别	游泳速度 (cm/s)	逃避潜伏期($\bar{x} \pm s, s$)					目标象限停留时间(s)	穿越平台次数(次)
		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天		
对照组	29.13 ± 3.48	56.03 ± 8.66	29.40 ± 5.24	21.40 ± 5.17	14.95 ± 4.15	9.78 ± 2.56	39.29 ± 5.11	4.63 ± 1.30
低剂量组	31.00 ± 4.78	55.98 ± 7.78	32.62 ± 5.36	23.99 ± 4.20	17.33 ± 4.17	11.10 ± 2.45	35.17 ± 4.34	4.00 ± 0.76
中剂量组	30.25 ± 3.11	57.99 ± 7.03	40.90 ± 5.44 ^{ab}	30.68 ± 4.99 ^{ab}	22.34 ± 3.76 ^{ab}	16.62 ± 2.54 ^{ab}	30.94 ± 4.44 ^a	3.13 ± 0.83 ^a
高剂量组	31.25 ± 3.62	58.14 ± 7.53	45.75 ± 7.60 ^{ab}	34.74 ± 7.19 ^{ab}	26.50 ± 5.45 ^{ab}	19.75 ± 4.14 ^{abc}	28.79 ± 4.80 ^{ab}	2.63 ± 0.92 ^{ab}
F 值	0.505	0.188	12.521	9.881	10.901	19.438	7.900	6.693
P 值	0.682	0.904	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	0.002

注:与对照组相比,a $P < 0.05$;与低剂量组相比,b $P < 0.05$;与中剂量组相比,c $P < 0.05$ 。

2.2 各组大鼠海马组织 CA1 区 HE 染色结果 与对照组相比,低、中、高剂量组在 400 倍镜下每 100 μ m 长度神经元个数分别平均减少 1.71、5.14、7.62 个,差异具有统计学意义($F = 25.947, P < 0.0001$),除了对照组与低剂量组间无差异,其余各组间差异均有统计学意义($P < 0.05$),详细结果见表 3。HE 染色显示随着染铝剂量的增高,神经元个数逐渐下降,细胞间隙增大,排列逐渐松散,见表 3、图 1。

2.3 染铝对 SD 大鼠海马组织凋亡的影响 随着染铝剂量的升高,凋亡相关蛋白 Bcl-2 水平逐渐下降($F = 83.235, P < 0.001$), Bax ($F = 153.189, P < 0.001$)、Cleaved Caspase3 ($F = 11.636, P < 0.01$)表达上升。由 LSD 结果可知,Bcl-2 和 Bax 的表达量在各组间均有差异($P < 0.05$),中、高剂量组的 Cleaved Caspase3 表达量相比于对照组均有差异($t = 3.409, P < 0.05; t = 5.408, P < 0.01$)。详细结果见表 4,蛋白

条带见图 2。

表 3 各组大鼠海马组织 CA1 区神经元个数 [$n = 4, (\bar{x} \pm s)$]

Table 3 Number of neurons in CA1 region of hippocampus of rats in each group [$n = 4, (\bar{x} \pm s)$]

组别	CA1 区神经元个数(个/100 μ m)
对照组	21.05 ± 1.65
低剂量组	19.34 ± 1.27
中剂量组	15.91 ± 1.32 ^{ab}
高剂量组	13.43 ± 1.06 ^{abc}
F 值	25.947
P 值	<0.001

注:与对照组相比,a $P < 0.05$;与低剂量组相比,b $P < 0.05$;与中剂量组相比,c $P < 0.05$ 。

2.4 染铝对 SD 大鼠海马组织 IGF2/JAK2/STAT3 的影响 转录和翻译水平结果显示,随着染铝剂量的升高,IGF2 mRNA ($F = 18.423, P < 0.001$)及通路蛋白

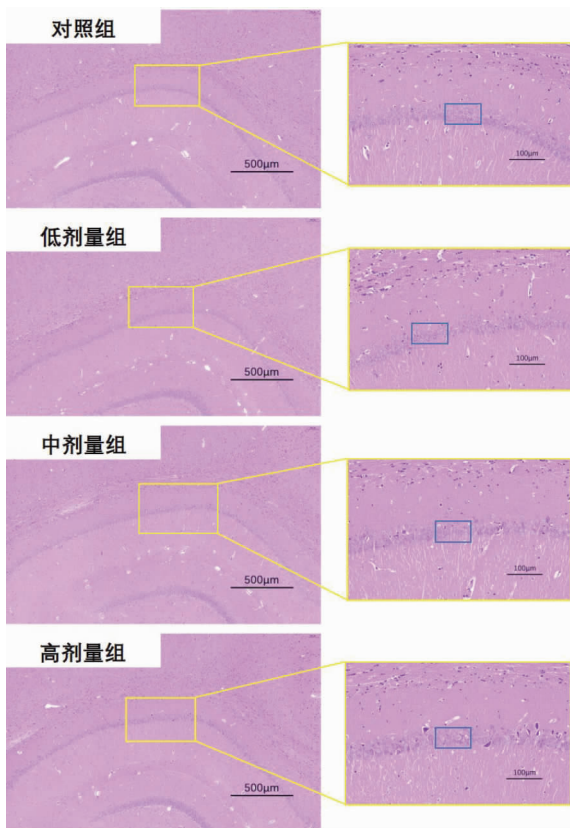


图 1 不同染毒组大鼠海马组织 CA1 区神经元

Fig. 1 Neurons in CA1 region of hippocampus of rats in different exposed groups

IGF2 ($F = 11.072, P < 0.01$), p-JAK2 ($F = 55.161, P < 0.001$), p-STAT3 ($F = 10.481, P < 0.01$) 水平均下降。大鼠海马组织中 IGF2 mRNA 和 IGF2 蛋白表达量除了在对照组和低剂量组间无差异外,其余各组

表 5 各组大鼠海马组织 mRNA、通路蛋白水平比较 ($n = 4, \bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of mRNA and pathway protein levels in hippocampus of rats in different groups ($n = 4, \bar{x} \pm s$)

组别	IGF2 mRNA	IGF2	p-JAK2 (Tyr1007/1008)	p-STAT3 (Ser727)
对照组	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
低剂量组	1.07 ± 0.19	0.98 ± 0.13	0.84 ± 0.02 ^a	0.91 ± 0.12
中剂量组	0.64 ± 0.17 ^{ab}	0.74 ± 0.13 ^{ab}	0.77 ± 0.06 ^a	0.73 ± 0.17 ^{ab}
高剂量组	0.32 ± 0.21 ^{abc}	0.52 ± 0.20 ^{abc}	0.62 ± 0.06 ^{ab}	0.61 ± 0.06 ^{ab}
F 值	18.423	11.072	55.161	10.481
P 值	<0.001	0.001	<0.001	0.001

注:与对照组相比, a $P < 0.05$; 与低剂量组相比, b $P < 0.05$; 与中剂量组相比, c $P < 0.05$ 。

3 讨论

铝具有重量轻和耐腐蚀的优良性能,因此应用极为广泛,航空、建筑、汽车等重大工业发展离不开铝,容易造成职业暴露。生活中,人类不可避免地要通过各种途径接触铝。在饮用水中,处理工艺的不足以及饮用水分配系统中残余铝的释放与沉积会对水质产生不利影响^[12]。在食品中,铝除了来源于铝制器具、

间均有差异 ($P < 0.05$); p-JAK2 的表达量显示,相比于对照组,低、中、高剂量组表达量均有差异 ($t = 13.643, P < 0.01$; $t = 8.077, P < 0.05$; $t = 13.256, P < 0.01$),高剂量组和低剂量组间也有差异 ($t = 7.178, P < 0.05$); p-STAT3 (Ser727) 在中、高剂量组的表达相比于对照、低剂量组均有差异 ($P < 0.05$)。详细结果见表 5,蛋白条带见图 3。

表 4 各组大鼠海马组织凋亡蛋白水平比较 ($n = 4, \bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of apoptosis related protein levels in hippocampus of rats in different groups ($n = 4, \bar{x} \pm s$)

组别	Bcl-2 蛋白表达量	Bax 蛋白表达量	Cleaved Caspase3 蛋白表达量
对照组	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
低剂量组	0.76 ± 0.09 ^a	1.43 ± 0.22 ^a	1.12 ± 0.17
中剂量组	0.56 ± 0.03 ^{ab}	3.06 ± 0.32 ^{ab}	1.36 ± 0.23 ^a
高剂量组	0.45 ± 0.05 ^{abc}	3.69 ± 0.15 ^{abc}	1.57 ± 0.08 ^a
F 值	83.235	153.189	11.636
P 值	<0.001	<0.001	0.001

注:与对照组相比, a $P < 0.05$; 与低剂量组相比, b $P < 0.05$; 与中剂量组相比, c $P < 0.05$ 。

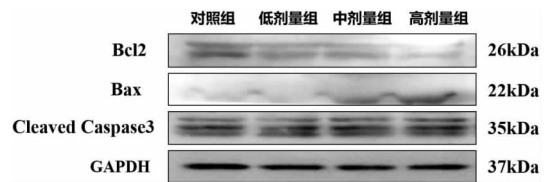


图 2 不同染铝组大鼠海马组织凋亡蛋白条带图

Fig. 2 Bands of apoptotic proteins in hippocampus of rats with different aluminum groups

铝箔包装食品外,还来源于食用菌、蔬菜和谷类^[13]。在疫苗佐剂中使用铝盐来增加疫苗有效性,目前疫苗使用的普遍性增大了铝的人群暴露水平^[14]。利用铝可以治疗多汗症的功能,铝基化妆品和护理产品的使用在一定程度上增大了皮肤暴露水平^[1]。根据文献报道,2012—2018 年吉林省市售食品中本地食品含铝添加剂检出率为 35.13%,超标率为 21.24%,提示含铝添加剂的使用存在一定的安全隐患^[15]。铝的暴露

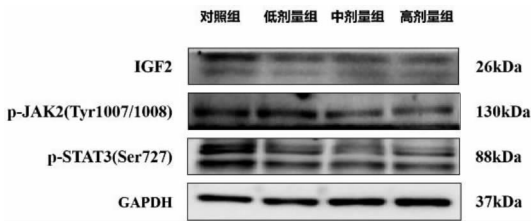


图 3 不同染铝组大鼠海马组织通路蛋白条带图

Fig. 3 Pathway protein banding map of hippocampus of rats with different aluminum groups

会对人体健康产生损害,职业性暴露铝更是一项值得关注的公共卫生问题,因此,研究其毒性机制必不可少。

铝暴露可蓄积于人体中,过量的铝对神经、生殖系统等等都会产生不利影响,其中神经系统损害表现为神经发育障碍和神经退行性病变^[16]。一项针对铝矿区老年人群的认知能力与其饮水中的铝含量关系的研究发现,高铝暴露与该区域内老年人认知能力降低有关,可能是人群罹患 AD 的危险环境因素之一^[17]。在一项铝作业工人的人群研究中发现,随着暴露水平的增高,作业工人的问卷耗时数及异常率升高,表明职业性铝接触可以损害铝暴露人群的执行功能^[18]。一项对 SD 大鼠进行亚慢性铝暴露的研究发现,随着染铝剂量增多,铝可能通过抑制 PI3K/AKT/mTOR 通路降低大鼠海马神经元的突触可塑性,进而其损害空间学习能力^[19]。根据 WHO 规定的铝每周可容许摄入量,按人和动物体重折算以及实验室前期实验结果^[20],确定本次实验低、中、高剂量分别为 10、20、40 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 。我们通过水迷宫对染铝大鼠的学习记忆能力进行检测,发现随着染铝剂量的升高,大鼠同一天逃避潜伏期时间逐渐增多,目标象限停留时间缩短,穿越平台次数降低,说明大鼠在亚慢性染铝后出现学习记忆能力受损的情况。之后我们进行 HE 染色观察海马组织 CA1 区神经元数量情况,发现随着染铝剂量的升高,神经元个数逐渐下降且排列逐渐松散,提示大鼠海马区神经元可能通过某种方式凋亡或死亡。

铝易蓄积于人体中枢神经系统,影响大脑正常生理功能,产生胞外 A β 沉积和胞内 Tau 蛋白过度磷酸化导致的神经元纤维缠结等 AD 样病变^[21]。学者们做了大量有关铝毒性的机制研究,诱导神经元凋亡是其中的一个重要机制^[6]。一项关于体外细胞暴露铝的研究表明,铝可以抑制 PKC - NMDAR 信号通路促进细胞凋亡,引起该种细胞功能障碍^[22]。一项关于斑马鱼暴露铝的研究表明,铝显著影响了斑马鱼的发育,诱导斑马鱼的形态改变和细胞死亡^[23]。课题

组前期的研究也发现,铝通过影响长链非编码 RNA LNC001209 调控 PI3K/AKT/mTOR 通路诱导细胞凋亡^[24]。我们的研究结果也发现,随着染铝剂量的增多,凋亡相关蛋白 Bcl - 2 表达降低, Bax、Cleaved Caspase3 含量逐渐增高,说明铝可能通过诱导细胞凋亡引起神经元的丢失,从而损害学习记忆能力。

IGF2 是一种生长因子,在胎儿生长发育阶段,以及人体大脑发育、肌生成、血管生成等过程中发挥促进作用,尤其在大脑海马组织中表达丰富,参与学习记忆过程^[9]。IGF2 的异常表达也发生在许多疾病中,比如神经退行性疾病^[10]、肺纤维化^[25]以及结肠直肠癌、乳腺癌、前列腺癌和肺癌等各种癌症^[26]。在 APP 过表达的阿尔茨海默病模型小鼠 (Tg2576 转基因小鼠) 中,给予外源性 IGF2 可增强记忆力并促进树突棘的形成,海马中淀粉样斑块减少,改善认知障碍^[27]。肌萎缩侧索硬化症 (ALS) 是一种运动神经元病,俗称“渐冻症”,有研究表明 IGF2 在 ALS 模型小鼠和终末期 ALS 患者的动眼肌运动神经元细胞体中主要且持续表达,保护这些运动神经元免受变性,给予 IGF2 可改善小鼠运动能力,促进运动神经元再生^[28]。前期未有文献报道 IGF2 在铝致学习记忆损害中是如何变化的,我们证实了在亚慢性染铝模型中,随着染铝剂量的增高,IGF2 的 mRNA 和蛋白水平显著下降,这一结果与前人的研究结果相符,说明铝可能通过影响 IGF2 的表达调控下游靶点从而损害学习记忆功能。

JAK2/STAT3 信号通路是一种普遍表达的胞内信号转导通路,目前对该通路的研究主要集中在炎症、肿瘤性疾病和自身免疫性疾病中^[29]。Xiao 等人在大鼠脊髓损伤模型中发现,山姜素通过靶向 JAK2/STAT3 信号通路从而抑制神经炎症反应和神经元凋亡,恢复大鼠运动能力^[30]。在 A β 诱导的 AD 小鼠模型中,给予药物羟基红花黄 A (HSYA) 后发现,HSYA 通过上调 JAK2/STAT3 通路并抑制 NF - κ B 的激活产生抗炎作用从而改善了小鼠记忆缺陷^[31]。关于 IGF2 调控 JAK2 仅有 Fan 等人的研究,他们发现网状蛋白 3 与富含 GC 的启动子结合蛋白 1 相互作用后,激活 IGF2/JAK2/STAT3 通路,从而促进慢性肾病和肾纤维化^[32]。我们发现随着染铝剂量增高,p - JAK2 (Tyr - 1007/1008) 和 p - STAT3 (Ser727) 的蛋白表达水平显著下降,从而引起细胞凋亡,损害学习记忆能力。

综上所述,本研究发现麦芽酚铝可以下调 IGF2/JAK2/STAT3 通路活性从而引起细胞凋亡,使得海马神经元减少,从而损伤学习记忆能力。本研究揭示了 IGF2/JAK2/STAT3 通路对麦芽酚铝致大鼠学习记忆损伤的作用,今后将进一步结合体内体外干预实验,

明确该条通路在铝致学习记忆损害的作用机制。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

参考文献

- [1] Sanajou S, Şahin G, Baydar T. Aluminium in cosmetics and personal care products[J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2021, 41(11): 1704–1718.
- [2] Riihimäki V, Aitio A. Occupational exposure to Aluminum and its biomonitoring in perspective[J]. *Critical Reviews in Toxicology*, 2012, 42(10): 827–853.
- [3] Zhou LF, He MJ, Li XL, et al. Molecular mechanism of Aluminum – Induced oxidative damage and apoptosis in rat cardiomyocytes[J]. *Biological Trace Element Research*, 2022, 200(1): 308–317.
- [4] Li H, Liu Q, Xue X, et al. miR – 29a/b1 regulates BACE1 in Aluminum – Induced A β deposition in vitro[J]. *ACS Chemical Neuroscience*, 2021, 12(17): 3250–3265.
- [5] Mold MJ. O' farrell a, morris B, et al. Aluminum and Tau in neurofibrillary tangles in familial alzheimer' s disease[J]. *Journal of Alzheimer' s Disease Reports*, 2021, 5(1): 283–294.
- [6] Savory J, Herman MM, Ghribi O. Intracellular mechanisms underlying aluminum – induced apoptosis in rabbit brain [J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2003, 97(1): 151–154.
- [7] Hosseini L, Farazi N, Erfani M, et al. Effect of transcranial near – infrared photobiomodulation on cognitive outcomes in D – galactose/A β 1C3 induced brain aging in BALB/c mice[J]. *Lasers in Medical Science*, 2022, 37(3): 1787–1798.
- [8] Vlasak T, Dujlovic T, Barth A. Aluminum exposure and cognitive performance: A meta – analysis [J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 906: 167453.
- [9] Sélénou C, Brioude F, Giabicani E, et al. IGF2: development, genetic and epigenetic abnormalities[J]. *Cells*, 2022, 11(12): 1886.
- [10] Alberini CM. IGF2 in memory, neurodevelopmental disorders, and neurodegenerative diseases [J]. *Trends in Neurosciences*, 2023, 46(6): 488–502.
- [11] Hu XY, Li J, Fu MR, et al. The JAK/STAT signaling pathway: from bench to clinic [J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2021, 6(1): 402.
- [12] He YT, Pan LL, Chen RY, et al. Field studies of Aluminum release and deposition in drinking water distribution systems[J]. *Chemosphere*, 2021, 275: 130067.
- [13] 李娟,王艳敏,熊丽. 江西居民膳食中铝的暴露风险评估[J]. *现代预防医学*, 2023, 50(9): 1594–1598.
Li J, Wang YM, Xiong L. Risk assessment on the dietary exposure of Aluminum in Jiangxi residents[J]. *Modern Preventive Medicine*, 2023, 50(9): 1594–1598.
- [14] Guimarães LE, Baker B, Perricone C, et al. Vaccines, adjuvants and autoimmunity [J]. *Pharmacological Research: the Official Journal of the Italian Pharmacological Society*, 2015, 100: 190–209.
- [15] 姜楠,刘思洁,王诗然,等. 2012–2018 年吉林省市售食品中含铝添加剂监测与分析[J]. *现代预防医学*, 2020, 47(11): 1964–1966, 1984.
Jiang N, Liu SJ, Wang SR, et al. Monitor and analysis on aluminum – containing additive of food, Jilin, 2012 – 2018 [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2020, 47(11): 1964–1966, 1984.
- [16] Nayak P. Aluminum: impacts and disease [J]. *Environmental Research*, 2002, 89(2): 101–115.
- [17] 凌雁武,张秀华,韦学玉,等. 广西铝矿区老年人群认知能力与头发及饮水中铝含量关系研究[J]. *神经解剖学杂志*, 2008, 24(5): 508–513.
Ling YW, Zhang XH, Wei XY, et al. Relationship between elderly residents' cognitive function and the aluminium contents of drinking water and hair in Guangxi bauxite district [J]. *Chinese Journal of Neuroanatomy*, 2008, 24(5): 508–513.
- [18] 韩笑,宦佳萍,高丹,等. 铝作业工人执行功能变化及其影响因素[J]. *中国职业医学*, 2022, 49(5): 537–541.
Han X, Huan JP, Gao D, et al. Evaluation of executive function of Aluminum workers and its risk factors [J]. *China Occupational Medicine*, 2022, 49(5): 537–541.
- [19] 薛星莉,李欢,李亚芹,等. 亚慢性铝暴露抑制大鼠海马区突触可塑性 PI3K/AKT/mTOR 信号通路机制 [J]. *中国职业医学*, 2020, 47(2): 141–146.
Xue XL, Li H, Li YQ, et al. Mechanism of subchronic Aluminum exposure inhibiting PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in hippocampal synaptic plasticity in rats [J]. *China Occupational Medicine*, 2020, 47(2): 141–146.
- [20] 徐旭,宋珊珊,肖雯洁,等. miR – 103a – 3p/RCAN1 通路在铝致大鼠学习记忆损害的作用 [J]. *现代预防医学*, 2023, 50(21): 3969–3973.
Xu X, Song SS, Xiao WJ, et al. Effect of miR – 103a – 3p/RCAN1 pathway on learning and memory impairment induced by Aluminum in rats [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2023, 50(21): 3969–3973.
- [21] Das N, Raymick J, Sarkar S. Role of metals in Alzheimer' s disease [J]. *Metabolic Brain Disease*, 2021, 36(7): 1627–1639.
- [22] 张露,陈媛,李俊良,等. 姜黄素对氯化铝染毒的 NG108 – 15 细胞凋亡及 PKC – NMDAR 通路表达的影响 [J]. *现代预防医学*, 2022, 49(16): 3019–3024.
Zhang L, Chen Y, Li JL, et al. Effect of curcumin on apoptosis and expression of PKC – NMDAR pathway of NG108 – 15 cells exposed to Aluminum chloride [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2022, 49(16): 3019–3024.
- [23] Capriello T, Monteiro SM, Félix LM, et al. Apoptosis, oxidative stress and genotoxicity in developing zebrafish after aluminium exposure [J]. *Aquatic Toxicology*, 2021, 236: 105872.
- [24] Li H, Zhang QL, Xue XL, et al. Lnc001209 participates in aluminium – induced apoptosis of PC12 cells by regulating PI3K – AKT – mTOR signalling pathway [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2023, 259: 115062.
- [25] Zhu YH, Chen L, Song BY, et al. Insulin – like Growth Factor – 2 (IGF – 2) in Fibrosis [J]. *Biomolecules*, 2022, 12(11): 1557.
- [26] Livingstone C. IGF2 and cancer [J]. *Endocrine – Related Cancer*, 2013, 20(6): R321–R339.
- [27] Pascual – Lucas M, Viana DSS, Di SM, et al. Insulin – like growth factor 2 reverses memory and synaptic deficits in APP transgenic mice [J]. *EMBO Molecular Medicine*, 2014, 6(10): 1246–1262.

- [28] Allodi I, Comley L, Nichterwitz S, et al. Differential neuronal vulnerability identifies IGF-2 as a protective factor in ALS[J]. Scientific Reports, 2016, 6(1): 25960.
- [29] Xin P, Xu XY, Deng CJ, et al. The role of JAK/STAT signaling pathway and its inhibitors in diseases [J]. International Immunopharmacology, 2020, 80: 106210.
- [30] Xiao SN, Zhang Y, Liu ZH, et al. Alpinetin inhibits neuroinflammation and neuronal apoptosis via targeting the JAK2/STAT3 signaling pathway in spinal cord injury [J]. CNS Neuroscience & Therapeutics, 2023, 29(4): 1094-1108.
- [31] Zhang ZH, Yu LJ, Hui XC, et al. Hydroxy-safflor yellow A attenuates AB_{1-42} -induced inflammation by modulating the JAK2/STAT3/NF- κ B pathway [J]. Brain Research, 2014, 1563: 72-80.
- [32] Fan LL, Du R, Liu JS, et al. Loss of RTN3 phenocopies chronic kidney disease and results in activation of the IGF2-JAK2 pathway in proximal tubular epithelial cells[J]. Experimental & Molecular Medicine, 2022, 54(5): 653-661.

收稿日期:2023-11-24

(上接第 1859 页)

- [16] Demyttenaere K, Heirman E. The blurred line between anxiety and depression: hesitations on comorbidity, thresholds and hierarchy [J]. International Review of Psychiatry, 2020, 32(5-6): 455-465.
- [17] Kouba BR, Camargo A, Gil-Mohapel J, et al. Molecular basis underlying the therapeutic potential of vitamin D for the treatment of depression and anxiety [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(13): 7077.
- [18] Pires GN, Bezerra AG, Tufik S, et al. Effects of experimental sleep deprivation on anxiety-like behavior in animal research: Systematic review and meta-analysis [J]. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 2016, 68: 575-589.
- [19] 张文平,王静,张楠,等. GSK-3 β / β -catenin 信号通路在慢性睡眠剥夺小鼠焦虑抑郁样行为中的作用[J]. 中华行为医学与脑科学杂志,2021,30(10):880-886.
- Zhang WP, Wang J, Zhang N, et al. Effects of GSK-3 β / β -catenin signaling pathway in chronic sleep deprivation-induced anxiety- and depression-like behavior of mice [J]. Chinese Journal of Behavioral Medicine and Brain Science, 2021, 30(10): 880-886.
- [20] Wang Z, Chen WH, Li SX, et al. Gut microbiota modulates the inflammatory response and cognitive impairment induced by sleep deprivation[J]. Molecular Psychiatry, 2021, 26(11): 6277-6292.
- [21] Wang HX, He Y, Sun ZL, et al. Microglia in depression: an overview of microglia in the pathogenesis and treatment of depression [J]. Journal of Neuroinflammation, 2022, 19(1): 132.
- [22] Redondo-Castro E, Faust D, Fox S, et al. Development of a characterised tool kit for the interrogation of NLRP3 inflammasome-dependent responses [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 5667.

收稿日期:2023-11-01

读者·作者·编者

本刊对统计学符号的要求

按照 GB/T 3358.1~3-2009 《统计学术语》的有关规定,统计学符号一律采用斜体排印。常用:(1)样本的算术平均数用英文小写 \bar{x} 或 mean (中位数英文叙述中用 M 或 median); (2) 标准差用英文小写 s 或大写 SD (限英文文献中); (3) 标准误用英文小写 $s_{\bar{x}}$ 或大写 SE (限英文文献中); (4) t 检验用英文小写 t ; (5) F 检验用英文大写 F ; (6) 卡方检验用希腊小写 χ^2 ; (7) 相关系数用英文小写 r ; (8) 自由度用希腊小写 ν 或 df (限英文文献中); (9) 概率用英文大写 P (P 值前应给出具体检验值,如 t 值、 χ^2 值、 q 值等)。