

## 类叶升麻苷对 MPTP 诱导帕金森病模型小鼠的神经保护作用及其机制

田芳<sup>1</sup>,董欣宜<sup>2</sup>,杜冲<sup>3</sup>,高亚娟<sup>4,5</sup>,蒲小平<sup>6</sup>

(1 天津市第一中心医院药学部,天津 300192; 2 天津医科大学眼科医院药剂科,天津 300384; 3 西安交通大学第二附属医院肿瘤科,西安 710004; 4 北京大学第三医院放射科,北京 100191; 5 北京市国家药品监督管理局成像设备质量评价重点实验室,北京 100191; 6 北京大学药学院分子与细胞药理学系,北京 100191)

**[摘要]** **目的:**探究类叶升麻苷(ACT)对1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)诱导的帕金森病(PD)模型小鼠的神经保护作用及其机制。**方法:**采用腹腔注射MPTP构建PD模型小鼠,实验动物随机分为对照组、模型组和100 mg·kg<sup>-1</sup> ACT给药组,通过灌胃(ig)的方式连续给药14 d,给药完成后,行为学评价和生化学检测评价ACT对PD小鼠的神经保护作用。采用双向电泳技术、质谱分析技术和Western blot检测进一步对ACT抗PD机制进行探究。**结果:**ACT预防性给药后明显缩短MPTP诱导PD小鼠的爬杆时间,提高游泳测试评分,延长悬挂持续时间,并降低后肢张力测试评分和圆柱体实验评分。ACT可以有效改善MPTP诱导PD小鼠黑质纹状体组织中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性,并降低丙二醛(MDA)的含量。双向电泳和Western blot检测发现胆绿素还原酶B(biliverdin reductase B,BLVRB)在MPTP诱导PD小鼠的黑质纹状体中的表达升高,而ACT给药后显著降低此蛋白的表达。**结论:**ACT对MPTP诱导的PD小鼠具有神经保护作用,其潜在机制可能与ACT降低BLVRB的表达及抗氧化应激相关。

**[关键词]** 类叶升麻苷;帕金森病;神经保护作用;氧化应激;胆绿素还原酶B

**[中图分类号]** R965 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)06-0618-07

## Neuroprotective effect and mechanism of acteoside on mouse model of MPTP-induced Parkinson's disease

TIAN Fang<sup>1</sup>, DONG Xin-yi<sup>2</sup>, DU Chong<sup>3</sup>, GAO Ya-juan<sup>4,5</sup>, PU Xiao-ping<sup>6</sup>

(1 Department of Pharmacy, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192, China; 2 Department of Pharmacy, Tianjin Medical University Eye Hospital, Tianjin 300384, China; 3 Department of Oncology, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China; 4 Department of Radiology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China; 5 NMPA Key Laboratory for Evaluation of Medical Imaging Equipment and Technique, Beijing 100191, China; 6 Department of Molecular and Cellular Pharmacology, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the neuroprotective effect of acteoside (ACT) on mouse model of MPTP-induced Parkinson's disease (PD) and its mechanism. **Methods:** The PD mouse model was established by intraperitoneal injection of MPTP. The experimental mice were randomly divided into control group, model group and ACT group (100 mg·kg<sup>-1</sup>), which were administrated by gavage for 14 d. After administration, behavioral evaluation and biochemical detection were performed to evaluate the neuroprotective effect of ACT on PD mice. Two-dimensional electrophoresis, mass spectrometry and Western blot were used to further explore the anti-PD

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(U1603128)

**[作者简介]** 田芳,男,博士,主管药师,主要从事神经药理学研究。联系电话:(022)23626786,E-mail:tfang2013@126.com。

mechanism of ACT. **Results:** After prophylactic administration of ACT, the pole climbing time of MPTP-induced PD mice was significantly shortened, swimming test score was improved, suspension duration was prolonged, and hind limb tension test score and cylinder test score were decreased. ACT could effectively improve the activities of SOD, CAT, and GSH-Px in the substantia nigra and striatum of MPTP-induced PD mice and reduce the content of MDA. The results of two-dimensional electrophoresis and Western blot showed that the expression of biliverdin reductase B (BLVRB) increased in the substantia nigra and striatum of PD mice induced by MPTP, while the expression of BLVRB decreased significantly after the administration of ACT. **Conclusion:** ACT has neuroprotective effect on MPTP-induced PD mice, and its underlying mechanism may be related to the decrease of BLVRB expression and anti-oxidative stress of ACT.

[ **Key words** ] acteoside; Parkinson's disease; neuroprotective effect; oxidative stress; biliverdin reductase B

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是仅次于阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)的第二大常见神经退行性疾病,以静止震颤、肌强直、步态障碍为主要的临床表现,如果不及时救治最终会导致全身性活动困难、肢体功能残疾等不良后果,严重影响患者的生活质量<sup>[1-2]</sup>。据统计,全球有约400万~600万例PD患者,而我国的PD患者超过200万例<sup>[2-3]</sup>。目前针对PD的治疗主要是以减缓疾病的发展为主,然而并未取得理想的疗效<sup>[4]</sup>,因此寻找并发现一种针对PD疾病的有效药物或活性成分是目前PD研究的重点。

类叶升麻苷(acteoside, ACT)是一种广泛存在于多种药用植物中的苯乙醇苷类化合物,已有研究表明其具有抗炎、抗菌、抗氧化、免疫调节、神经保护等多种生物活性<sup>[5-7]</sup>。本实验室前期研究也验证了ACT具有较强的抗氧化作用,具有抗PD的潜在活性。基于此,本研究以ACT为研究对象,应用腹腔注射1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)构建PD模型小鼠,考察ACT对MPTP诱导的PD小鼠的神经保护作用,并采用双向电泳技术和质谱分析技术进一步从蛋白质水平上探究ACT可能的作用靶点,为揭示ACT抗PD的机制研究奠定理论基础和实验依据。

## 材料与方法

### 1 药品与试剂

ACT(德国Merck公司,货号:1711455);MPTP(美国Sigma公司,货号:23007);超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒

(上海生工生物科技有限公司,货号:D799593, D799598, D799613, D799761);兔抗胆绿素还原酶B(biliverdin reductase B, BLVRB)多克隆抗体(美国Protientech公司,货号:17727-1-AP);HRP-羊抗兔多克隆抗体(北京迈晨科技有限公司,货号:IS003);BCA™ Protein Assay Kit(德国Merck公司,货号:71285-M);2D Clean-up Kit(美国Amersham Biosciences公司,货号:80-6484-51)。

### 2 仪器

Protean® IEF System等电聚焦仪、Protean® II xicell垂直电泳系统、810型酶标仪、PDQuest图像分析软件(美国Bio-Rad公司);DUO SCAN T 1200扫描仪(德国AGFA公司);低温离心机(美国Sigma公司);AEL-40SM型电子天平(日本岛津公司);SHZ-22恒温振荡器(江苏太仓医疗器厂)。

### 3 实验动物

SPF级雄性C57BL/6小鼠(6~8周龄)购自北京华阜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。实验动物分笼饲养于SPF级动物饲养中心,室温和湿度分别维持在22℃~24℃和50%~60%,12h/12h昼夜交替光照,大鼠自由进食、饮水。本研究的动物实验部分均按照“Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioural Research”指南进行,并获得了北京大学生物医学伦理委员会的批准,批准文号:LA2017282。

### 4 MPTP诱导PD模型小鼠

将36只C57BL/6小鼠随机分为对照组、模型组和ACT给药组(100 mg·kg<sup>-1</sup>)<sup>[8]</sup>,每组12只。ACT组通过灌胃(ig)的方式连续给药14d,对照组和模型组按照体重给予等体积的生理盐水。d10开始,模型组和ACT组在灌胃前1h腹腔注射

30 mg·kg<sup>-1</sup>的MPTP,连续注射5 d<sup>[9-10]</sup>,对照组注射等体积的生理盐水。各实验组动物在最后一次给药结束24 h后进行行为学测定。

## 5 行为学评价

为了考察ACT对MPTP诱导的PD小鼠的行为学的影响,我们分别进行爬杆实验、游泳实验、后肢张力测试、悬挂实验和圆柱体实验5种行为测试:

① 爬杆实验:将一根长50 cm、周长1 cm的木杆垂直固定,上面放置一个直径2.5 cm的球。实验动物被放置在圆球上,数字计时器记录每只鼠从球顶下来所花费的时间<sup>[11]</sup>。② 游泳实验:将小鼠置于20 cm×30 cm×20 cm的水池中,温度为28℃~30℃,记录1 min内的游泳情况,按照如下标准进行评分<sup>[12]</sup>。3分,在水中正常游泳;2.5分,1 min内大部分时间在游泳;2.0分,游泳时间>30 s;1.5分,偶尔游泳;1.0分,几乎所有时间都在漂浮。③ 后肢张力测试:将小鼠尾部吊起,观察小鼠后肢的位置10 s,根据后肢的位置对其进行评分<sup>[13]</sup>。0分,双后肢完全脱离腹部;1分,单侧后肢紧贴腹部;2分,双后肢部分闭合于腹部;3分,双后肢与腹部完全闭合。④ 悬挂实验:将一根细绳固定在距地面约40 cm的位置,细绳正下方放置装有垫料的饲养笼,各组实验动物依次悬挂于细绳上,分别记录每只小鼠在细绳悬挂的时间<sup>[14]</sup>。⑤ 圆柱体实验:将小鼠置于直径20 cm高30 cm的透明有机玻璃圆柱体中45 min。摄像机安装在圆柱体的正上方,记录小鼠前爪在圆柱体壁上接触的数量和运动次数,通过测定前爪在圆柱体壁上接触的数量检测PD小鼠前爪不对称的程度<sup>[14-15]</sup>。根据公式<sup>[14-15]</sup>计算各组小鼠的圆柱体实验评分,评分接近0.5表示双前肢使用频率相同,而在0.5~1之间的分数表明对侧前肢运动障碍。

## 6 氧化应激实验

行为学实验结束后,腹腔注射麻醉小鼠,生理盐水快速灌流至肝脏暗红色退去,收集脑组织,分离黑质和纹状体2个脑区,用于生化学检测和后续实验。本研究采用商品化试剂盒分别测定SOD, CAT, GSH-Px的活性和MDA的浓度。黄嘌呤氧化法(羟胺法)测定SOD活性,可见分光光度法测定CAT和GSH-Px的活性,硫代巴比妥法测定MDA的含量,具体的实验方法按照试剂盒说明书进行<sup>[16-17]</sup>。

## 7 双向电泳实验

参照2D Clean-up Kit试剂盒说明书,将各实验

组小鼠的黑质和纹状体组织进行样品预处理,采用BCA™ Protein Assay Kit测定各样品的蛋白质浓度。双向电泳实验参考文献<sup>[18]</sup>所述方法进行。取含有100 μg蛋白质的样品,以体积比1:4加入水化上样缓冲液,混匀。混匀后将样品溶液加入聚焦盘中,按照正负极符号将IPG胶条放置于聚焦盘中的样品溶液上,设定等电聚焦的温度(20℃)和程序后开始等电聚焦。等电聚焦结束后,转入第二向垂直板SDS-PAGE。第二向垂直板SDS-PAGE使用12.5%凝胶,恒压电泳,开始设置电压为50 V,待样品完全走出IPG胶条,加大电压至100 V,至溴酚蓝指示剂前沿刚跑出凝胶停止。凝胶采用硝酸银染色法进行银染,获取凝胶图像,用PDQuest软件对图像进行分析。

## 8 Western blot 检测

将各组小鼠的黑质和纹状体组织加入匀浆液进行超声匀浆。匀浆后4℃放置1 h,15 000 r·min<sup>-1</sup>条件下离心(4℃)1 h,取组织匀浆上清液进行Western blot检测。采用BCA试剂盒检测蛋白浓度,配制SDS-PAGE凝胶(10%分离胶,5%浓缩胶),依次进行电泳、转膜和室温封闭(1 h,5%脱脂牛奶),封闭后分别加入BLVRB(兔源,用封闭液1:1 000稀释)和β-actin(兔源,用封闭液1:5 000稀释)一抗溶液,4℃条件下孵育过夜,洗涤后加入HRP-羊抗兔IgG二抗溶液(1:5 000稀释),37℃孵育2 h,漂洗后孵育ECL发光液,在凝胶成像仪上显影曝光,最终生成的图像使用Quantity One软件进行处理。

## 9 数据处理

所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,结果采用ANOVA进行统计学分析。当 $P < 0.05$ 时,则视为组间差异具有统计学意义。

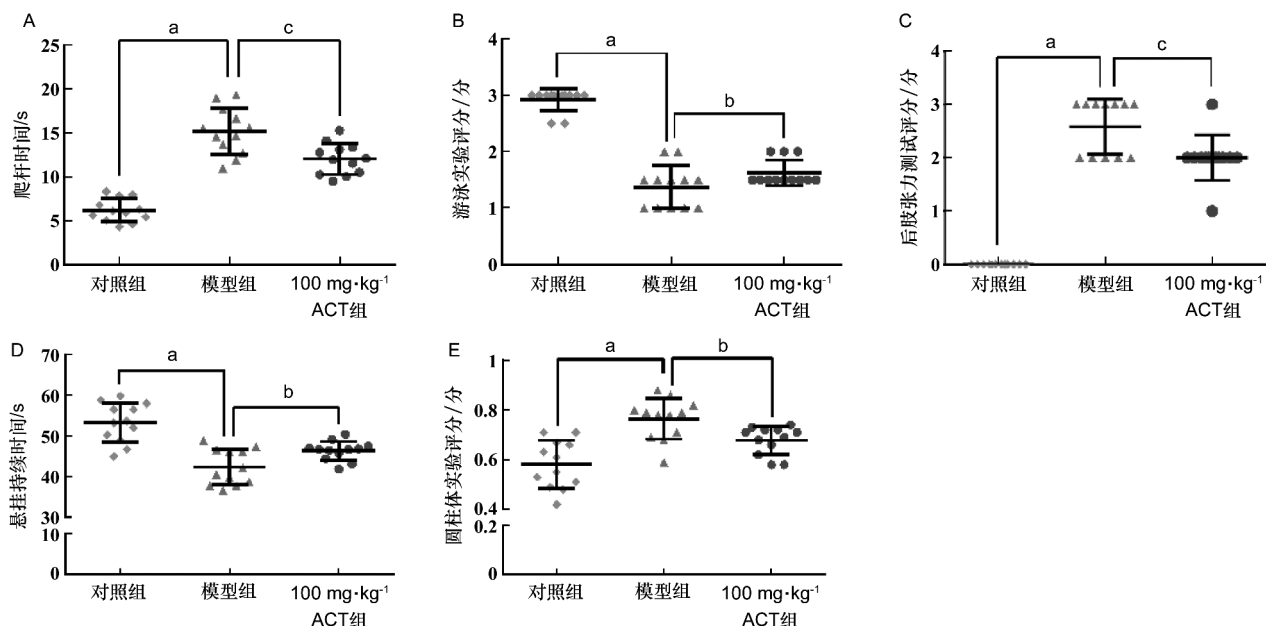
## 结 果

### 1 ACT改善MPTP诱导PD小鼠的行为学表现

本研究采用5种行为学实验,分别从小鼠的前肢功能、后肢张力、运动活性、运动协调性和平衡力等方面考察了ACT对MPTP诱导的PD小鼠的神经保护作用。如图1所示,和正常小鼠相比,PD小鼠的行为学发生了显著的变化,主要表现为爬杆运动缓慢、耗时延长(见图1A),水中游泳时间缩短、评分降低(见图1B),后肢张力实验评分升高(见图1C),前肢功能减弱、悬挂时间缩短(见图1D),前肢运动不对称、圆柱体实验评分升高(见图

1E)。和模型组相比,ACT 预防性给药可以不同程度的改善 PD 小鼠的异常行为学表现,使 PD 小鼠的爬杆时间缩短(见图 1A)、游泳测试评分升高

(见图 1B)、后肢张力评分降低(见图 1C)、悬挂持续时间延长(见图 1D)、圆柱体实验评分降低(见图 1E)。



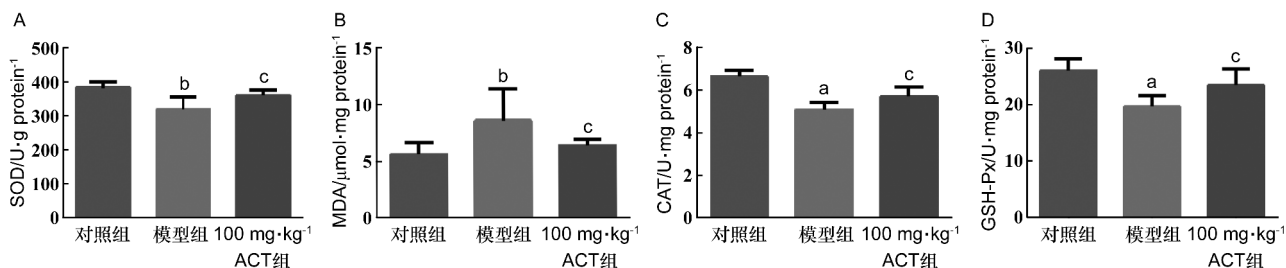
A:爬杆实验;B:游泳实验;C:后肢张力测试;D:悬挂实验;E:圆柱体实验;与对照组比较,a: $P < 0.001$ ;与模型组比较,b: $P < 0.05$ ,c: $P < 0.01$

图 1 小鼠行为学实验结果( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 12$ )

## 2 ACT 调节 MPTP 诱导 PD 小鼠黑质和纹状体组织的氧化应激状态

为了考察 ACT 对 MPTP 诱导后 PD 小鼠氧化应激的影响,本研究分别检测了 SOD,MDA,CAT,GSH-Px 等几种体内不同抗氧化酶的活性及相关氧化产物的浓度。和对照组小鼠相比,模型组小鼠的

SOD(见图 2A)、CAT(见图 2C)和 GSH-Px(见图 2D)这三种酶的活性显著降低,而 MDA 的浓度显著升高(见图 2B)。和模型组相比,ACT 给药组显著提高 SOD(见图 2A)、CAT(见图 2C)和 GSH-Px(见图 2D)的活性,并降低 MDA 的浓度(见图 2B)。



A:SOD;B:MDA;C:CAT;D:GSH-Px;与对照组比较,a: $P < 0.001$ ,b: $P < 0.01$ ;与模型组比较,c: $P < 0.05$

图 2 生化学检测结果( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

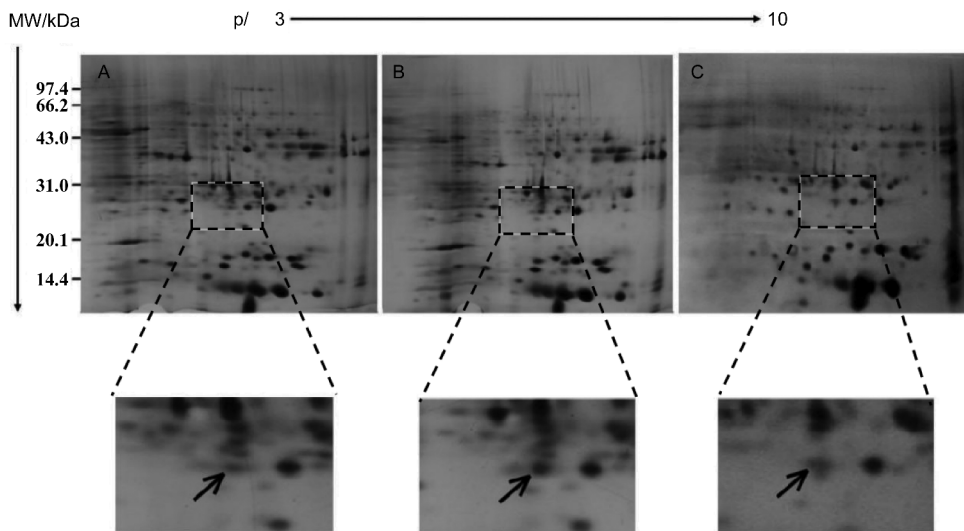
## 3 ACT 对 MPTP 诱导 PD 小鼠黑质和纹状体组织蛋白质表达的影响

对照组、模型组和 ACT 给药组小鼠的黑质纹状体组织蛋白的双向电泳图谱见图 3。采用 PDQuest

软件对 3 张 2-DE 图谱进行分析可知,三者的蛋白斑点数为对照组 282 个(见图 3A)、模型组 269 个(见图 3B)、ACT 给药组 236 个(见图 3C)。对照组与模型组的斑点匹配率为 71%,ACT 给药组与模型

组斑点的匹配率为 67%。3 张图谱蛋白斑点主要集中在 pI 5 ~ 9, MW 8 ~ 100 kDa 的区域。通过比较 3

组不同的蛋白双向电泳图谱,可以发现一个在多次重复实验中变化具有显著性差异的蛋白斑点。



A:对照组;B:模型组;C:100 mg·kg<sup>-1</sup> ACT 组;下图是对虚线方框内区域进行放大后所显示的图像,箭头所指是一个在多次重复实验中变化稳定且具有显著性差异的蛋白斑点,即 BLVRB

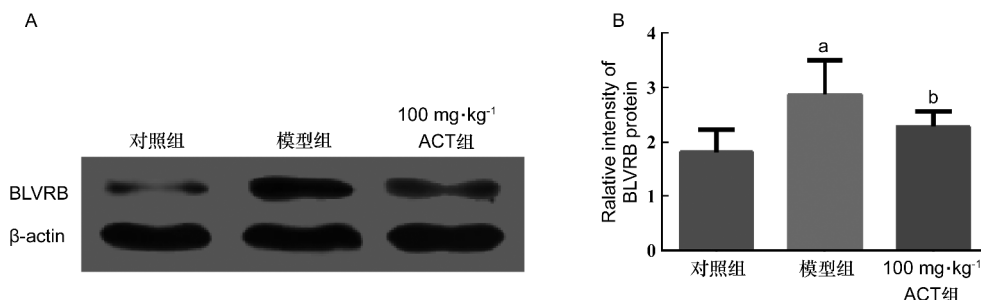
图 3 各组小鼠黑质和纹状体组织蛋白双向电泳的 2-DE 图谱

采用 Voyager Biospectrometer™ workStation 质谱仪对该蛋白点进行质谱分析,根据得到的质谱信息,在 NCBI nr 数据库寻找匹配的蛋白质,并查看其功能,最终确定该蛋白斑点是 BLVRB。由图 3 可见,在 2-DE 图谱中 BLVRB 在对照组和 ACT 给药组中的蛋白斑点较浅,而在模型组中颜色较深,这提示 BLVRB 在对照组和 ACT 组中的表达可能较模型组中的表达低。为了进一步定量分析 BLVRB 在各组中的相对表达的变化,进行了 Western blot 检测。

#### 4 ACT 减少 MPTP 诱导 PD 小鼠黑质和纹状体组织 BLVRB 的表达

通过 Western blot 考查了 BLVRB 在各组小鼠的

黑质和纹状体组织中的表达和相对含量的变化。在黑质和纹状体中 BLVRB 蛋白在约 25 kDa 处,呈单一条带状,内参蛋白选用  $\beta$ -actin (见图 4A)。对 BLVRB 和  $\beta$ -actin 条带灰度进行统计学处理,以 BLVRB/ $\beta$ -actin 的比值表示蛋白表达量的高低(见图 4B)。如图 4 所示,和正常小鼠相比,PD 小鼠黑质和纹状体组织中 BLVRB 的表达升高;和 PD 小鼠相比,ACT 给药后 PD 小鼠黑质和纹状体组织中 BLVRB 的表达显著降低。这一结果与上述蛋白质 2-DE 图谱的结果一致,也再次验证了蛋白质双向电泳的结果。



A:各组小鼠黑质和纹状体组织中 BLVRB 蛋白条带图像;B:以  $\beta$ -actin 作为内参,对 BLVRB 条带进行定量的统计分析结果图;与对照组比较,a: $P < 0.01$ ;与模型组比较,b: $P < 0.05$ 。

图 4 BLVRB 的 Western blot 实验结果( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

## 讨 论

PD 是影响人类健康的第二大神经退行性疾病,以静止性震颤、肌肉强直、运动迟缓和姿势平衡障碍为主要病理特征<sup>[19-20]</sup>。PD 的发病机制尚未完全明确,目前认为与遗传因素、氧化应激、线粒体功能障碍、兴奋性毒性等因素密切相关<sup>[21-22]</sup>。临床上对 PD 均采用对症治疗,包括左旋多巴替代治疗,以及以单胺氧化酶 B 抑制剂、多巴胺受体激动剂等为主的辅助治疗<sup>[23]</sup>。关于 PD 的治疗目前尚无有效的手段阻止或减缓疾病的发展。

天然药物是我国的宝贵资源,从中寻找并发现抗 PD 的有效成分将有助于 PD 疾病的治疗。ACT 又名麦角甾昔或毛蕊花糖苷,是从列当科植物肉苁蓉中提取出的一种苯乙醇苷类化合物。研究显示,ACT 具有多种生物学活性,在 PD、AD、脑卒中(stroke)等中枢神经系统疾病的防治方面具有极大的应用潜能。

本研究首先从行为学的角度考察了 ACT 对 MPTP 诱导的 PD 小鼠的神经保护作用。MPTP 是一种化学物质,本身无毒性,注射后易于透过血脑屏障进入脑内,在单胺氧化酶 B 的作用下转变成离子形式的 1-甲基-4-苯基-吡啶离子(1-methyl-4-phenyl pyridinium, MPP<sup>+</sup>),其可以选择性地损伤黑质和纹状体的多巴胺能神经元从而产生与 PD 患者相似的病理和生化改变<sup>[24-25]</sup>。本研究发现 MPTP 注射后 PD 小鼠出现竖毛、呼吸加快、肌张力减弱、对外界刺激敏感等异常的变化。此外,在运动行为学方面 PD 小鼠出现了移动缓慢、运动能力减弱,运动平衡力和协调性降低,前肢和后肢运动障碍等改变。相比模型组小鼠,ACT 预防性给药后显著提高 PD 小鼠的运动能力,改善前、后肢功能,延长 PD 小鼠的运动时长,提高运动的平衡能力和协调性。这说明 ACT 可以改善 MPTP 诱导后 PD 小鼠的行为学异常。

在行为学研究的基础上,本研究进一步从生物化学的角度考察了 ACT 对 MPTP 诱导后 PD 小鼠黑质和纹状体脑区中抗氧化酶活性及相关氧化产物的影响。SOD, CAT, GSH-Px 是体内抗氧化酶系统中重要的 3 种酶,在清除体内活性氧,防止脂质过氧化,保护细胞膜结构和功能的完整性方面具有重要作用<sup>[26]</sup>。MDA 是生物体内发生脂质过氧化反应后的终产物,其含量的高低可以间接反映体内膜脂过氧化的程度<sup>[27]</sup>。本研究显示,在 PD 小鼠的黑质和纹

状体中 SOD, CAT 和 GSH-Px 这 3 种酶的活性明显降低,而 MDA 的浓度明显升高。ACT 给药后可以改善 PD 小鼠相关脑区的氧化应激状态,提高 SOD, CAT 和 GSH-Px 这 3 种酶的活性,并降低氧化产物 MDA 的浓度。这一研究结果,一方面验证了 PD 的发病机制涉及氧化应激反应,与文献中报道的 PD 患者通过氧化应激激活凋亡相关蛋白 Bax 的表达,改变膜通透性,进而加重黑质神经元的损伤程度相吻合<sup>[28]</sup>。另一方面,表明 ACT 具有抗氧化活性,可以通过抗氧化作用发挥对 PD 小鼠的神经保护作用。

结合 ACT 的抗氧化作用和已有的文献报道,ACT 可能是通过降低细胞内活性氧水平,抑制半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cysteiny aspartate-specific proteinnase-3, Caspase-3) 的活性并维持线粒体膜电位的高能状态发挥其神经保护作用<sup>[29]</sup>。为了进一步探究 ACT 的神经保护作用,本研究采用蛋白质双向电泳技术和质谱分析技术,在蛋白质整体表达水平上寻找 ACT 的潜在作用靶点。通过比较模型组和 ACT 给药组的蛋白表达图谱,我们发现了一个在多次重复实验中变化稳定且具有显著性差异的蛋白斑点,通过质谱分析确定该蛋白点是 BLVRB。BLVRB 作为一种丝氨酸/苏氨酸激酶,可以利用烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 将亚铁血红蛋白在亚铁血红素加氧酶系统作用下的产物胆绿素还原为胆红素<sup>[30]</sup>。虽然目前有关 BLVRB 与 PD 关联性的研究还鲜有文献报道,但是有研究显示 BLVRB 的作用产物胆红素具有抗氧化性,其可作为抗氧化剂发挥作用<sup>[30-31]</sup>。

本研究结果显示,与对照组相比,BLVRB 在 PD 小鼠的黑质纹状体中表达上调;ACT 预防性给药后,BLVRB 在 PD 小鼠黑质和纹状体的表达显著下降。结合 BLVRB 的生理功能和作用,推断这可能与多巴胺能神经元损伤过程中氧化应激有关。在 MPTP 诱导的 PD 模型小鼠中,MPTP 注射后在体内转化成 MPP<sup>+</sup>,MPP<sup>+</sup> 可以通过线粒体或其他途径产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)介导毒性<sup>[32]</sup>,这可能会激发 BLVRB 的过量表达,使其具有抗氧化作用的产物胆红素表达增加,进而发挥抗氧化作用。ACT 具有较强的抗氧化活性,其预防性给药后通过介导黑质纹状体中的氧化应激水平,减少 BLVRB 的过量表达,从而保护多巴胺能神经元免受氧化应激损伤。

综上所述,本研究揭示了 ACT 对 MPTP 诱导的 PD 模型小鼠的神经保护作用,通过双向电泳、质谱分析和 Western blot 技术发现了模型组和 ACT 给药组差异表达的蛋白——BLVRB。ACT 抗 PD 的潜在机制可能与 ACT 的抗氧化作用有关,通过调节 PD 小鼠黑质和纹状体的氧化应激状态,防止脂质过氧化,减少多巴胺能神经元的损伤。

### [ 参 考 文 献 ]

- [1] REICH SG, SAVITT JM. Parkinson's disease[J]. *Med Clin N Am*, 2019, 103(2): 337-350.
- [2] BASTIAAN RB, MICHAEL SO, CHRISTINE K. Parkinson Disease[J]. *Lancet*, 2021, 397(10291): 2284-2303.
- [3] JANKOVIC J, TAN EK. Parkinson's disease; etiopathogenesis and treatment[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2020, 91(8): 795-808.
- [4] HAYES MT. Parkinson's disease and Parkinsonism[J]. *Am J Med*, 2019, 132(7): 802-807.
- [5] XIAO YS, REN Q, WU LH. The pharmacokinetic property and pharmacological activity of acteoside: a review[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 153: 113296.
- [6] QIAO ZG, TANG JX, WU W, et al. Acteoside inhibits inflammatory response via JAK/STAT signaling pathway in osteoarthritic rats[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2019, 19(1): 264.
- [7] ZHAO XB, CHENG Y, XU HL, et al. Design and preparation of molecularly imprinted membranes for selective separation of acteoside[J]. *Front Chem*, 2020, 8: 775.
- [8] GAO L, PENG XM, HUO SX, et al. Memory enhancement of acteoside (verbascoside) in a senescent mice model induced by a combination of D-gal and  $AlCl_3$  [J]. *Phytother Res*, 2015, 29(8): 1131-1136.
- [9] MUSTAPHA M, MAT TAIB CN. MPTP-induced mouse model of Parkinson's disease: a promising direction of therapeutic strategies[J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2021, 21(4): 422-433.
- [10] QUE RF, ZHENG JL, CHANG ZH, et al. DL-3-n-butylphthalide rescues dopaminergic neurons in parkinson's disease models by inhibiting the NLRP3 inflammasome and ameliorating mitochondrial impairment[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 794770.
- [11] ZHU ME, GONG DK. A mouse model of 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced parkinson disease shows that 2-aminoquinoline targets JNK phosphorylation [J]. *Med Sci Monit*, 2020, 26: e920989.
- [12] XIA L, GUO DX, CHEN B. Neuroprotective effects of astragaloside IV on Parkinson disease models of mice and primary astrocytes[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(6): 5569-5575.
- [13] LIU QQ, GUO XY, HUANG ZW, et al. Anti-neuroinflammatory effects of dimethylaminomylide (DMAMCL, i. e., ACT001) are associated with attenuating the NLRP3 inflammasome in MPTP-induced Parkinson disease in mice[J]. *Behav Brain Res*, 2020, 383: 112539.
- [14] HADI F, AKRAMI H, TOTONCHI M, et al.  $\alpha$ -synuclein abnormalities trigger focal tau pathology, spreading to various brain areas in Parkinson disease[J]. *J Neurochem*, 2021, 157(3): 727-751.
- [15] TAJIRI N, YASUHARA T, SHINGO T, et al. Exercise exerts neuroprotective effects on Parkinson's disease model of rats[J]. *Brain Res*, 2010, 1310: 200-207.
- [16] ZHANG L, CHEN XF, CHANG MX, et al. MiR-30c-5p/ATG5 axis regulates the progression of parkinson's disease[J]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15: 644507.
- [17] YUE PJ, GAO L, WANG XJ, et al. Pretreatment of glial cell-derived neurotrophic factor and geranylgeranylacetone ameliorates brain injury in Parkinson's disease by its anti-apoptotic and anti-oxidative property[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(7): 5491-5502.
- [18] MELEADY P. Two-dimensional gel electrophoresis and 2D-DIGE [J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1664: 3-14.
- [19] ELSWORTH JD. Parkinson's disease treatment: past, present, and future[J]. *J Neural Transm*, 2020, 127(5): 785-791.
- [20] RAZA C, ANJUM R, SHAKEEL NUA. Parkinson's disease: mechanisms, translational models and management strategies [J]. *Life Sci*, 2019, 226: 77-90.
- [21] CHEN ZC, LI GL, LIU J. Autonomic dysfunction in parkinson's disease: implications for pathophysiology, diagnosis, and treatment[J]. *Neurobiol Dis*, 2020, 134: 104700.
- [22] XU XJ, FU ZF, LE WD. Exercise and parkinson's disease[J]. *Int Rev Neurobiol*, 2019, 147: 45-74.
- [23] MALPARTIDA AB, WILLIAMSON M, NARENDRA DP, et al. Mitochondrial dysfunction and mitophagy in parkinson's disease: from mechanism to therapy[J]. *Trends Biochem Sci*, 2021, 46(4): 329-343.
- [24] WANG ZZ, YI C, CHEN KZ, et al. Enhancing monoamine oxidase B inhibitory activity via chiral fluorination: structure-activity relationship, biological evaluation, and molecular docking study [J]. *Eur J Med Chem*, 2022, 228: 114025.
- [25] SONG QX, PENG SX, ZHU XS. Baicalein protects against MPP<sup>+</sup>/MPTP-induced neurotoxicity by ameliorating oxidative stress in SH-SY5Y cells and mouse model of Parkinson's disease [J]. *Neuro Toxicol*, 2021, 87: 188-194.
- [26] MAPUSKAR KA, STEINBACH EJ, ZAHER A, et al. Mitochondrial superoxide dismutase in cisplatin-induced kidney injury [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(9): 1329.
- [27] MAS-BARGUES C, ESCRIVÁ C, DROMANT M, et al. Lipid peroxidation as measured by chromatographic determination of malondialdehyde. Human plasma reference values in health and disease[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2021, 709: 108941.
- [28] JOLANTA D, MARTA K, MICHAL P, et al. Oxidative stress factors in Parkinson's disease[J]. *Neural Regen Res*, 2021, 16(7): 1383-1391.
- [29] WU YY, ZENG MN, XU RQ, et al. Inhibitory activity of acteoside in melanoma via regulation of the ER $\beta$ -Ras/Raf1-STAT3 pathway[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2021, 710: 108978.
- [30] GAO ZH, NI XJ, ZHENG BH, et al. Biliverdin reductase B impairs cholangiocarcinoma cell motility by inhibiting the Notch/Snail signaling pathway[J]. *J Cancer*, 2022, 13(7): 2159-2170.
- [31] VÍTEK L. Bilirubin as a signaling molecule[J]. *Med Res Rev*, 2020, 40(4): 1335-1351.
- [32] LEE S, SUH YJ, LEE Y, et al. Anti-inflammatory effects of the novel barbiturate derivative MHY2699 in an MPTP-induced mouse model of parkinson's disease[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(11): 1855.

编辑:毕晓帆/接受日期:2023-01-18