

小檗碱抑制 H_2O_2 诱导的大鼠髓核细胞凋亡及 ECM 降解

郭亚萍¹, 王秀菊¹, 胡亚平¹, 张金¹, 李勇莉²

摘要 目的 探究小檗碱(BBR)介导 Notch 信号通路抑制 H_2O_2 诱导的大鼠髓核细胞(NPCs)凋亡及细胞外基质(ECM)的降解。方法 采用序贯酶消化分离 SD 雄性大鼠 NPCs 细胞,分为 Control 组(不进行干预)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)组、 H_2O_2 组、BBR25 组、BBR50 组、BBR100 组。采用 CCK8 法检测各组细胞孵育不同时间的增殖率,流式细胞术检测细胞凋亡,Western blot 检测蛋白表达,RT-PCR 检测 mRNA 表达。结果 细胞孵育 48 h 后,bFGF 组、BBR25 组、BBR50 组及 BBR100 组细胞增殖率高于 H_2O_2 组(P 均 < 0.05)。于 Control 组相比, H_2O_2 组 COL2A1 mRNA 和蛋白表达水平降低,MMP-13、ACAN mRNA 和蛋白表达水平平均升高;与 H_2O_2 组相比,bFGF 组、BBR25 组、BBR50 组及 BBR100 组 COL2A1 mRNA 和蛋白表达水平升高,MMP-13、ACAN mRNA 和蛋白表达水平平均降低(P 均 < 0.05)。结论

小檗碱可抑制 H_2O_2 诱导的大鼠 NPCs 凋亡及 ECM 的降解,其作用机制可能与激活 Notch 信号通路有关。

关键词 小檗碱; Notch 信号通路; 髓核细胞; 细胞外基质

中图分类号 R 329.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2020)12-1910-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.12.018

腰椎退行性病变常见于临床,是引起下腰痛的重要因素之一^[1]。目前,腰椎退行性病变的发病机制尚不明确,但多数学者认为髓核细胞(nucleus pulposus cells, NPCs)病理学改变是主要原因^[2]。NPCs 的减少引起细胞外基质(extracellular matrix, ECM)降解是椎间盘退行性改变的病理基础,而 NPCs 大量凋亡是导致椎间盘细胞减少的直接原因^[3]。因此寻找能抑制 NPCs 凋亡及 ECM 降解的药物对于防治椎间盘退行性病变意义重大。小檗碱(berberine, BBR)为季胺类化合物,具有抗感染、改善糖脂代谢及预防退行性改变等作用^[4]。但是,目前鲜见有关 BBR 用于治疗腰椎退行性病变的研究。

该研究探究 BBR 对 NPCs 凋亡及 ECM 降解的影响及其作用机制,为开发对 NPCs 具有保护作用的治疗药物以及 BBR 的临床应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物 5 只 SDF 级 SD 雄性大鼠,体质量 160 ~ 180 g,4 周龄,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物许可证号 SCXK(京)2017-0022。

1.2 主要试剂及仪器 BBR(云南明镜亨利制药有限公司),bFGF(珠海亿胜生物制药有限公司),DEME 细胞培养基(美国 Life Technology 公司),胰酶(美国 ScienCell 公司),胎牛血清(美国 ScienCell 公司),TRIzol 试剂盒(美国 Invitrogen 公司),恒温细胞培养箱(美国 Thermo 公司),酶标仪(上海赛默飞世尔公司),离心机(意大利 A. L. C 公司),流式细胞仪(美国 FCMXBD 公司),光学显微镜(日本 Olympus 公司),冰冻切片机(美国 Sigma 公司),电泳仪及电泳槽(北京六一仪器厂),PCR 扩增仪(美国 Eppendorf 公司),光学显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 NPCs 细胞分离与培养 断颈处死大鼠后,依据文献^[5]所述方式采用序贯酶消化分离 NPCs,接种于含有 10% 胎牛血清的细胞培养基中,经反复吹打后制成细胞悬浮液,置于恒温细胞培养箱(37°C 、5% CO_2)中进行传代培养,取第 4 代细胞进行后续细胞实验。

1.3.2 细胞分组及干预方式 取对数期生长的 NPCs,经胰酶消化后制成细胞悬浮液,接种于 96 孔板,200 μl /孔, 2×10^5 个/孔,随机分为 6 组。对照组(Control 组):实验中不加任何物质干预; H_2O_2 组:向培养基中加入 H_2O_2 至终浓度为 600 $\mu\text{mol/L}$; bFGF 组:向培养基中加入碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)至终浓度为 10 ng/ml; BBR25 组:向培养基中加入 BBR 至终浓度为 25 $\mu\text{mol/L}$; BBR50 组:向培养基中加入 BBR 至终浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$; BBR100 组:向培养基中加入 BBR 至终浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 。

2020-07-14 接收

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目(编号: 19A310021)

作者单位: 新乡医学院三全学院¹ 化学教研室、² 组织胚胎学教研室, 新乡 453003

作者简介: 郭亚萍,女,硕士研究生;

李勇莉,女,教授,硕士研究生,责任作者, E-mail: liyonglix

@126.com

1.4 检测指标

1.4.1 CCK8 法检测细胞增殖 取对数期生长 NPCs, 接种于 96 孔板, 按照分组方式进行相应处理后置于恒温细胞培养箱中 (37 °C、5% CO₂), 分别在孵育 0、24、48 h 后向各组细胞中加入 CCK8 溶液, 10 μl/孔, 置于细胞培养箱中继续孵育 2 h 后采用酶标仪检测各孔在 450 nm 处的吸光度, 每组细胞共包含 3 个复孔, 计算不同时间点各组细胞增殖率。细胞增殖率 = $(A_{\text{实验孔}} - A_{\text{空白孔}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白孔}})$ 。

1.4.2 流式细胞术检测凋亡率 取对数期生长 NPCs, 按照 1×10^6 个/孔的密度接种于 6 孔板中, 按照分组方式进行相应处理后置于恒温细胞培养箱中 (37 °C、5% CO₂), 每组细胞含 3 个复孔, 孵育 24 h, 经胰酶消化后收集各组细胞, PBS 清洗 3 次, 然后按照试剂盒说明书操作: 用缓冲液重悬细胞, 加入 5 μl Annexin V-FITC 染色, 并于暗处室温孵育 15 min, 再加入 5 μl PI 染色, 静置 5 min 后用流式细胞仪检测其凋亡情况。

1.4.3 Western blot 检测蛋白表达 取对数期生长 NPCs, 按照 1×10^6 个/孔的密度接种于 6 孔板中, 按照分组方式进行相应处理后置于恒温细胞培养箱中 (37 °C、5% CO₂), 每组细胞含 3 个复孔, 孵育 24 h 后收集细胞。用 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳提取总蛋白, 半干法将蛋白转移到 PVDF 膜, 置于 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h 后加入 Bcl-2、Bax、Caspase-3、Notch1、Hes1、Hes5、MMP-13、COL2A1 及 ACAN 蛋白一抗, 在 4 °C 摇床中孵育 24 h 后再次用 TBST 缓冲液洗涤 3 次, 并于相应二抗中在室温下孵育 1 h, 以 β-actin 为内参蛋白。随后, 再次采用 TBST 缓冲液洗涤 3 次, 滴加 ECL 显影剂显影。采用 Image J 软件进行灰度分析, 计算各组细胞 Bcl-2、Bax、Caspase-3、Notch1、Hes1、Hes5、MMP-13、COL2A1 及 ACAN 蛋白相对表达量。

1.4.4 RT-PCR 检测 mRNA 表达 取对数期生长 NPCs, 按照 1×10^6 个/孔的密度接种于 6 孔板中, 按照分组方式进行相应处理后置于恒温细胞培养箱中 (37 °C、5% CO₂), 每组细胞含 3 个复孔, 孵育 24 h 后收集细胞。采用 TRIzol 试剂提取总 RNA, 然后用两步法 RNA 提取试剂盒将 RNA 转录成 cDNA。选择 MMP-13、COL2A1 及 ACAN 基因的合适上下游引物, 以 cDNA 为模板, 采用 PCR 方法扩增待检测基因。基因产物通过 2% 琼脂糖凝胶检测, 应用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分析数据, 以其中 β-actin 为内参照。MMP-13、COL2A1 及 ACAN mRNA 的相对含量为同

一泳道目的片段积分吸光度值/内参积分吸光度值。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 首先进行正态性检验, 如果各组均满足正态性且两组间方差齐, 采用 *t* 检验进行组间比较; 若以上条件不满足则考虑非参数 Mann-Whitney U 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义, 所有检验均为双侧检验。

2 结果

2.1 BBR 对 H₂O₂ 诱导的大鼠髓核细胞增殖的影响 细胞孵育 24 h 及 48 h 后, H₂O₂ 组细胞增殖率低于 Control 组 (*t* = 6.682、3.056, *P* < 0.05)。细胞孵育 48 h 后, bFGF 组、BBR25 组、BBR50 组及 BBR100 组细胞增殖率高于 H₂O₂ 组 (*t* = 21.251、6.792、9.181、18.417, *P* < 0.05)。见图 1。

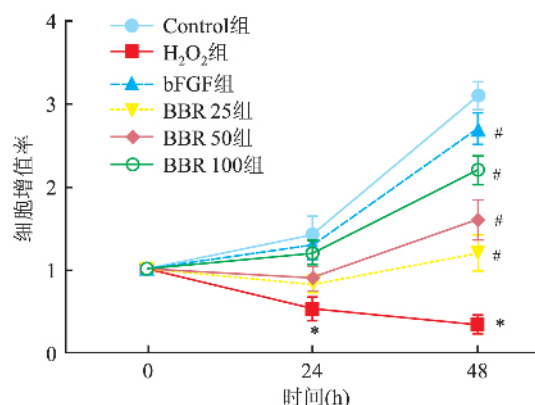


图1 不同时间点各组细胞增殖情况比较
与 Control 组比较: * *P* < 0.05; 与 H₂O₂ 组比较: # *P* < 0.05

2.2 BBR 对 H₂O₂ 诱导的大鼠髓核细胞凋亡的影响 相较于 Control 组, H₂O₂ 组细胞凋亡率增加 (*t* = 6.681, *P* < 0.05); 相较于 H₂O₂ 组, bFGF 组、BBR25 组、BBR50 组及 BBR100 组细胞凋亡率降低 (*t* = 8.859、4.124、5.354、8.174, *P* < 0.05)。见图 2。

2.3 BBR 对 H₂O₂ 诱导的大鼠髓核细胞凋亡相关蛋白表达的影响 相较于 Control 组, H₂O₂ 组细胞 Bcl-2 蛋白相对表达量降低, 而 Bax 及 Caspase-3 蛋白相对表达量升高 (*t* = 11.390、3.525、10.613, *P* 均 < 0.05)。相较于 H₂O₂ 组, bFGF 组、BBR25 组、BBR50 组及 BBR100 组细胞 Bcl-2 蛋白相对表达量升高, 而 Bax 及 Caspase-3 蛋白相对表达量降低 (*P* 均 < 0.05)。见图 3。

2.4 BBR 对 H₂O₂ 诱导的大鼠髓核细胞 MMP-13、COL2A1 及 ACAN mRNA 和蛋白表达水平的影响 与 Control 组相比, H₂O₂ 组细胞 MMP-13、

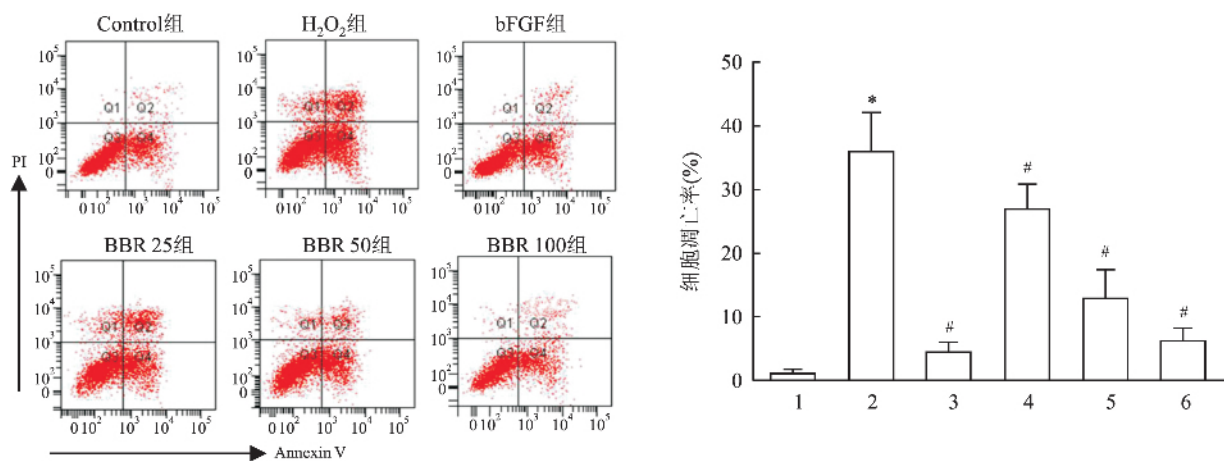


图2 各组细胞凋亡情况比较

1: Control 组; 2: H₂O₂ 组; 3: bFGF 组; 4: BBR25 组; 5: BBR50 组; 6: BBR100 组; 与 Control 组比较: * $P < 0.05$; 与 H₂O₂ 组比较: # $P < 0.05$

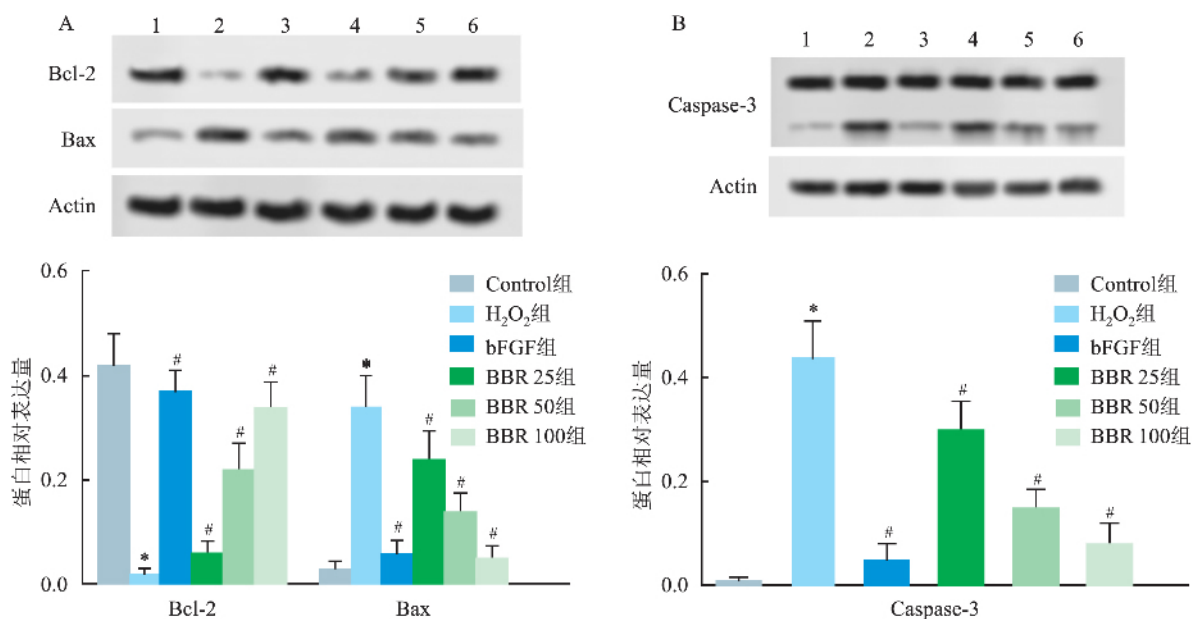


图3 各组细胞 Bcl-2、Bax、Caspase-3 蛋白表达水平比较

A: 各组细胞 Bcl-2、Bax 蛋白表达水平; B: 各组细胞 Caspase-3 蛋白表达水平; 1: Control 组; 2: H₂O₂ 组; 3: bFGF 组; 4: BBR25 组; 5: BBR50 组; 6: BBR100 组; 与 Control 组比较: * $P < 0.05$; 与 H₂O₂ 组比较: # $P < 0.05$

ACAN mRNA 和蛋白表达水平均升高,而 COL2A1 mRNA 和蛋白表达水平降低 ($t = 10.392、6.543、14.626, P$ 均 < 0.05)。与 H₂O₂ 组相比, bFGF 组、BBR25 组、BBR50 组及 BBR100 组细胞 MMP-13、ACAN mRNA 和蛋白表达水平均降低,而 COL2A1 mRNA 和蛋白表达水平升高 (P 均 < 0.05)。见图 4。

2.5 BBR 对 H₂O₂ 诱导的大鼠髓核细胞 Notch1、Hes1、Hes5 蛋白表达水平的影响 相较于 Control 组, H₂O₂ 组细胞 Notch1、Hes1、Hes5 蛋白表达水平均升高 ($t = 7.645、10.036、7.746, P$ 均 < 0.05)。相

较于 H₂O₂ 组, bFGF 组、BBR25 组、BBR50 组及 BBR100 组细胞 Notch1、Hes1、Hes5 蛋白表达水平均降低 (P 均 < 0.05)。见图 5。

3 讨论

腰椎间盘的退变始于中央的 NPCs, 伴随着 NPCs 的减少、表型的缺失, 进而引起外层纤维环的破裂^[7]。过度的细胞凋亡引起的 NPCs 减少是引发椎间盘退变的关键因素。而线粒体信号通路在细胞凋亡中发挥着至关重要的作用, H₂O₂ 激活的氧化应激可导致 NPCs 凋亡, 从而诱导椎间盘退行性改变

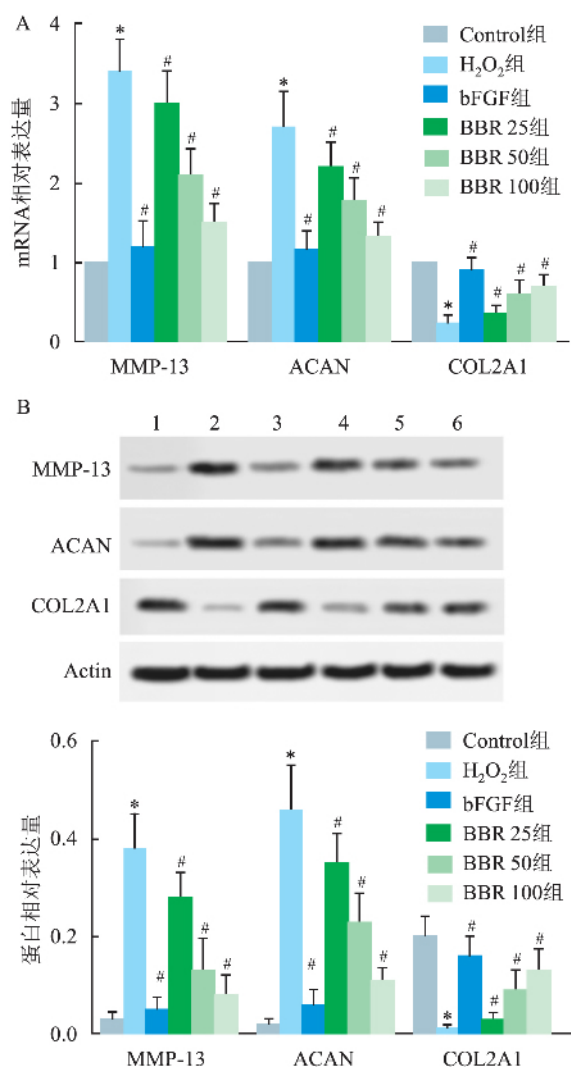


图4 各组细胞 MMP-13、COL2A1 及 ACAN mRNA 和蛋白表达水平比较

A: 各组细胞 MMP-13、COL2A1 及 ACAN mRNA 表达水平; B: 各组细胞 MMP-13、COL2A1 及 ACAN 蛋白表达水平; 1: Control 组; 2: H₂O₂ 组; 3: bFGF 组; 4: BBR25 组; 5: BBR50 组; 6: BBR100 组; 与 Control 组比较: * $P < 0.05$; 与 H₂O₂ 组比较: # $P < 0.05$

的发生。Leila et al^[8] 研究显示, H₂O₂ 介导的线粒体膜电位下降参与氧化应激诱导的 NPCs 凋亡, 进而导致椎间盘退行性改变的发生。本研究采用 H₂O₂ 处理 NPCs, 相较于 Control 组, 其凋亡率得到显著提升, 认为凋亡模型建立成功。

bFGF 是一种肝素结合多肽, 在椎间盘退行性病变中也起着重要的作用, 能发挥分解代谢功能, 而且能抑制髓核细胞凋亡。近年来随着中医的不断发展, 中药治疗得到广泛应用, 疗效佳且不良反应少。BBR 亦称黄连素, 具有很好的抗氧化活性, 清除超氧阴离子及羟基自由基是其发挥抗氧化作用的主要机制。对于有氧化应激途径参与介导的 NPCs 凋

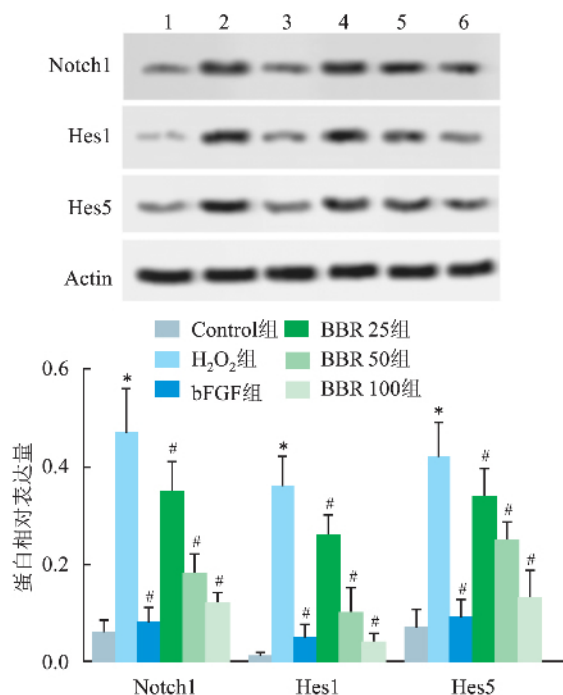


图5 各组细胞 Notch1、Hes1、Hes5 蛋白表达水平比较

1: Control 组; 2: H₂O₂ 组; 3: bFGF 组; 4: BBR25 组; 5: BBR50 组; 6: BBR100 组; 与 Control 组比较: * $P < 0.05$; 与 H₂O₂ 组比较: # $P < 0.05$

亡, 抗氧化干预十分重要。本研究中 BBR 干预可提升细胞增殖率并降低凋亡率, 且随着 BBR 浓度升高这一作用更为明显, 提示 BBR 可促进 NPCs 细胞增殖并抑制其发生凋亡。Chen et al^[9] 研究显示, 对于 H₂O₂ 诱导的大鼠 NPCs, BBR 干预可促进细胞增殖, 并显著抑制细胞凋亡的发生, 本研究结果与之相符。机体内的促凋亡基因和抑凋亡基因共同参与细胞凋亡的调控过程。Bcl-2 是一种癌基因, 能增强细胞对大多数 DNA 损伤因子的抵抗性, 可抑制细胞凋亡; Bax 基因是人体最主要的凋亡基因, 可诱导细胞凋亡发生^[10]。Caspase-3 是特异的凋亡信号转导分子, 激活后的 Caspase-3 是凋亡的 executor^[11]。本研究中经 BBR 干预后, 大鼠 NPCs Bcl-2 蛋白表达量得到提升, 而 Bax 及 Caspase-3 蛋白表达受到抑制, 提示 BBR 是通过提升抑凋亡蛋白表达及抑制促凋亡蛋白表达发挥对 NPCs 的保护作用, 与 bFGF 疗效相当。

除了 NPCs 的过度凋亡外, NPCs 中 ECM 降解亦是椎间盘退变的重要诱发因素^[12]。髓核组织中 ECM 主要是由 COL2A1 及 ACAN 组成, 其降解主要是由基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 及带有血小板凝血酶敏感蛋白样模体的解整链蛋白酶家族参与完成, 其中 MMP-13 对 ECM 降解发挥着至关重要的作用^[13]。本研究结果显示, BBR

处理不仅可显著抑制 MMP-13、ACAN 蛋白表达水平,而且能提升 COL2A1 mRNA 和蛋白表达水平,提示 BBR 可通过调节 COL2A1、ACAN 蛋白的表达,并抑制 ECM 降解中间蛋白 MMP-13 的表达,实现对髓核细胞 ECM 降解的抑制作用。

Notch 信号通路是一条相邻细胞间相互作用调控的高度保守的信号转导途径,其被证实在骨骼发育活动中起着至关重要的作用,并参与调节多种骨性疾病的发生及发展过程^[4]。Notch 信号通路由 Notch 受体(Notch1、Notch2、Notch3、Notch4)、Notch 配体(DSL 蛋白)和 CSL DNA 结合蛋白组成。在椎间盘退行性病变中,Notch 受体蛋白的表达量增加,随即抑制其下游靶向基因 Hes1 及 Hes5 的活性,导致 NPCs 发生凋亡及 ECM 降解。本研究结果显示,H₂O₂ 可提升 Notch1 蛋白表达量,并抑制 Hes1 及 Hes5 蛋白表达,进一步证实 Notch 信号通路介导 NPCs 凋亡及 ECM 降解过程。在予以 NPCs 不同浓度 BBR 干预后,其 Notch1 蛋白表达受到抑制,而 Hes1 及 Hes5 蛋白表达提升,提示 BBR 可通过抑制 Notch 信号通路抑制 NPCs 发生凋亡及 ECM 降解,发挥对 NPCs 的保护作用,而这一结果在刘刚等^[5]研究中也得到证实。

综上所述,BBR 可抑制 H₂O₂ 诱导的大鼠 NPCs 凋亡及细胞外基质的降解,其作用机制可能与激活 Notch 信号通路有关。

参考文献

- [1] 付抚东,喻国华. 杜仲强腰汤治疗肾虚血瘀型腰椎间盘突出 40 例[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(2): 89-91.
- [2] Lin Y, Jiao Y, Yuan Y, et al. Propionibacterium acnes induces intervertebral disc degeneration by promoting nucleus pulposus cell apoptosis via the TLR2/JNK/mitochondrial-mediated pathway[J]. Emerg Microbes Infect, 2018, 7(1): 1-8.
- [3] Cheng X, Zhang G, Zhang L, et al. Mesenchymal stem cells deliver exogenous miR-21 via exosomes to inhibit nucleus pulposus

- cell apoptosis and reduce intervertebral disc degeneration[J]. J Cell Mol Med, 2017, 22(1): 261-76.
- [4] 李 翀, 胡 锐, 宋 斐, 等. 黄连解毒汤有效活性成分靶向调控 TLR4/NF-κB 信号通路的作用机理研究[J]. 中药药理与临床, 2017, 33(6): 2-6.
- [5] 江立波, 王会仁, 张其琛, 等. 酸环境对大鼠髓核细胞自噬及功能的影响[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2019, 12(7): 641-9.
- [6] Deng X, Chen S, Zheng D, et al. Icaritin prevents H₂O₂-induced apoptosis via the PI3K/AKT pathway in rat nucleus pulposus intervertebral disc cells[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2017, 17(3): 2694261.
- [7] 鲁 花, 于 露, 甄欢欢, 等. 人参皂苷 Rg1 通过抑制 WNT/β-catenin 通路促进退变人腰椎间盘髓核细胞的生长及胞外基质合成[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(4): 705-10.
- [8] Leila H, Alireza M, Farahnaz A, et al. The protective effect of different extracts of three artemisia species against H₂O₂-induced oxidative stress and apoptosis in PC12 neuronal cells[J]. Pharmacognosy Res, 2018, 10(1): 64-71.
- [9] Chen Y, Zheng Z, Wang J, et al. Berberine suppresses apoptosis and extracellular matrix (ECM) degradation in nucleus pulposus cells and ameliorates disc degeneration in a rodent model[J]. Int J Biol Sci, 2018, 14(6): 682-92.
- [10] Venkatesan R S, Sadiq A M. Effect of morin-5'-sulfonic acid sodium salt on the expression of apoptosis related proteins caspase 3, Bax and Bcl 2 due to the mercury induced oxidative stress in albino rats[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 85(3): 202-8.
- [11] Pu X, Storr S J, Zhang Y, et al. Caspase-3 and caspase-8 expression in breast cancer: caspase-3 is associated with survival[J]. Apoptosis, 2017, 22(3): 1-12.
- [12] 黄黎珊, 黄萍萍, 童秀冰, 等. 捏脊对颈椎病大鼠椎间盘细胞外基质及代谢酶的影响[J]. 针刺研究, 2017, 42(4): 321-6.
- [13] 刘宗超, 蒋 燕, 黄陈翼, 等. 独活寄生汤延缓人椎间盘髓核细胞退变机制的研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(13): 2764-9.
- [14] Fu W, Sui D, Yu X, et al. Protective effects of ginsenoside Rg2 against H₂O₂-induced injury and apoptosis in H9c2 cells[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(11): 19938-47.
- [15] 刘 刚, 张 磊, 扶世杰. Notch 信号通路在软骨细胞分化过程中的作用[J]. 医学研究生学报, 2016, 29(10): 1111-5.

Berberine inhibites apoptosis of nucleus pulposus cells and ECM degradation in rats induced by H₂O₂

Guo Yaping, Wang Xiuju, Hu Yaping, et al

(Dept of Chemistry, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003)

Abstract Objective To explore berberine (BBR) inhibiting apoptosis of nucleus pulposus cells (NPCs) and degradation of extracellular matrix (ECM) in rats induced by H₂O₂ by mediating Notch signaling pathway. **Methods** NPCs of SD male rats were isolated by sequential enzyme digestion. They were divided into Control group (no

网络出版时间: 2020-12-2 9:30 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20201201.1526.019.html>

微小 RNA-34a 抑制 SIRT1 对滋养细胞增殖和凋亡的影响

李红¹, 王萍², 黄晨曦², 刘灵¹, 李根霞¹

摘要 目的 研究微小 RNA-34a (miR-34a)、沉默信息调节因子 1 (SIRT1) 在子痫前期 (PE) 孕妇胎盘组织的表达及 miR-34a 通过调节 SIRT1 对绒毛外滋养细胞增殖和凋亡的影响。方法 收集 PE 孕妇 (PE 组) 和健康孕妇 (对照组) 的胎盘组织各 30 例; 设计合成 miR-34a 模拟物、miR-34a 抑制物和 SIRT1 siRNA 并转染 HTR-8/SVeno 细胞; qRT-PCR 技术、Western blot 法检测胎盘组织和 HTR-8/SVeno 细胞 miR-34a 和 SIRT1 mRNA、蛋白的表达水平; MTS 法检测各组细胞的相对增殖率; 流式细胞仪检测细胞的凋亡水平。结果 PE 组胎盘组织中 miR-34a 表达升高 ($P < 0.05$), SIRT1 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$)。转染 miR-34a 模拟物, SIRT1 的表达下降, HTR-8/SVeno 细胞增殖能力下降, 凋亡水平升高。转染 miR-34a 抑制物, SIRT1 表达升高, 细胞增殖能力增加, 凋亡水平下降。敲除 SIRT1 后, 细胞表现出增殖能力下降, 凋亡水平升高。结论 miR-34a 可能通过下调 SIRT1 的表达, 抑制滋养细胞增殖, 促进滋养细胞凋亡, 参与子痫前期的发生发展。

关键词 子痫前期; miR-34a; SIRT1; 增殖; 凋亡

中图分类号 R 714.244

2020-07-20 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81702967)

作者单位: 郑州大学第三附属医院¹ 妇产科、² 临床检验科, 郑州 450002

作者简介: 李红, 女, 副主任医师;

李根霞, 女, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: Li-genxia@163.com

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)12-1915-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.12.019

子痫前期 (preeclampsia, PE) 是妊娠 20 周后出现的特发性高血压综合征^[1]。PE 的病因和发病机制尚未完全阐明, 研究^[2]发现胎盘滋养细胞凋亡过多可引起胎盘浅着床, 螺旋动脉重铸失败, 进而导致 PE 等妊娠疾病的发生。微小 RNAs (miRNAs) 是一类内源性非编码单链小分子 RNA, 可通过对 mRNA 的转录后调控影响细胞增殖、分化、凋亡等多种生物学功能^[3-4]。沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, SIRT1) 是 III 类组蛋白去乙酰化酶, 具有抗氧化应激、抗凋亡和延长寿命等作用^[5]。研究^[6]发现 SIRT1 与滋养细胞分化以及胎盘形成相关。在肿瘤细胞中 miR-34a 可靶向调控 SIRT1 影响肿瘤细胞的增殖和凋亡^[7]。然而 miR-34a 通过调节 SIRT1 影响滋养层细胞增殖和凋亡尚未见报道。该研究旨在通过探讨 miR-34a 对 SIRT1 表达的调控作用及对 HTR-8/SVneo 细胞增殖和凋亡的影响, 为 PE 发病机制的研究和治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 组织收集 收集 2018 年 5 月—2019 年 6 月于郑州大学第三附属医院行剖宫产手术的 30 例

intervention), basic fibroblast growth factor (bFGF) group, H₂O₂ group, BBR25 group, BBR50 group and BBR100 group. The proliferation rates in each group were detected by CCK8 method at different time points of incubation. Apoptosis was detected by flow cytometry. The expression of proteins was detected by Western blot. The expression of mRNA was detected by real-time quantitative PCR (RT-PCR). **Results** After 48h of cell incubation, cell proliferation rate in bFGF group, BBR25 group, BBR50 group and BBR100 group was higher than that in H₂O₂ group ($P < 0.05$). Compared with the control group, the expression levels of COL2A1 mRNA and proteins in H₂O₂ group decreased, while the expression levels of MMP-13 and ACAN mRNA and protein increased. Compared with H₂O₂ group, the expression levels of COL2A1 mRNA and proteins increased in bFGF group, BBR25 group, BBR50 group and BBR100 group, while the expression levels of MMP-13 and ACAN mRNA and protein decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** BBR can inhibit NPCs apoptosis and ECM degradation in rats induced by H₂O₂. The action mechanism may be related to activation of Notch signaling pathway.

Key words berberine; Notch signaling pathway; nucleus pulposus cell; extracellular matrix