

基于 Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路探讨芒柄花素对 H₂O₂ 诱导的 HT22 细胞氧化应激损伤的影响

李佩如¹, 盛璇¹, 孙文秀¹, 李润物¹, 贡岳松^{1,2*}

(1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210046; 2. 江苏鹏鹞药业新药创新中心, 江苏 宜兴 214200)

摘要: 目的 探究芒柄花素对 H₂O₂ 诱导 HT22 细胞氧化应激损伤的改善作用。方法 选用小鼠海马神经元 HT22 细胞, 通过 MTT 法确定芒柄花素对 H₂O₂ 诱导 HT22 细胞氧化应激损伤的最佳保护浓度; 以乳酸脱氢酶 (LDH) 泄露率、过氧化物歧化酶 (SOD) 活性评价细胞损伤程度和氧化应激能力改变; HE 染色观察神经元细胞突触结构改变; 活性氧 (ROS) 试剂盒检测 ROS 水平; RT-qPCR 法检测 *Nrf2*、*Keap1*、*HO-1* mRNA 表达; Western blot 法检测 Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路蛋白 (Nrf2、Keap1、HO-1) 及神经元突触蛋白 (PSD95、NR2B、NR1、NR2A) 的表达。结果 与对照组比较, H₂O₂ 组 HT22 细胞活力、SOD 活性降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), LDH 泄露率及 ROS 水平升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 损伤突触结构, Nrf2、HO-1 mRNA 和蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), Keap1 mRNA 和蛋白表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), PSD95、NR2B、NR2A、NR1 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与 H₂O₂ 组比较, 10 μmol/L 为芒柄花素的最佳保护浓度, H₂O₂+芒柄花素组细胞突触结构改善, SOD 活性增加 ($P < 0.01$), LDH 泄露率及 ROS 水平降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), *Nrf2*、*HO-1* mRNA 表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), *Keap1* mRNA 表达降低 ($P < 0.01$), Nrf2、HO-1、PSD95、NR2B、NR2A、NR1 蛋白表达升高 ($P < 0.05$), Keap1 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)。结论 芒柄花素可以改善 H₂O₂ 诱导 HT22 细胞氧化应激损伤, 其机制可能与上调 Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路有关。

关键词: 芒柄花素; 氧化应激损伤; HT22 细胞; 阿尔兹海默病; H₂O₂; Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)02-0640-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.02.041

阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种常见的神经退行性疾病, 患病率随着年龄增长呈指数式上升, 主要病理特征包括淀粉样斑块沉积、神经纤维缠结形成、氧化应激^[1]、兴奋毒性和神经炎症^[2-3]。氧化应激在 AD 的发病过程中扮演着关键角色, 将 AD 的不同致病途径有机联系起来, 成为各机制间相互作用的重要枢纽^[4]。

由核因子 E2 相关因子 (nuclear factor erythroid 2 related factor, Nrf2) /Kelch 样相关蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1) -抗氧化应答元件 (antioxidant response element, ARE) 构成的信号转导途径, 在机体的氧化应激防御系统中发挥核心的调控作用。Nrf2 是一种关键转录因子, 具有保守碱性亮氨酸拉链结构域^[5]。

芒柄花素为黄芪的主要活性成分, 是异黄酮植物雌激素的一种, 具有抗氧化、抗肿瘤、抗感染等多种药理作用^[6]。已有研究表明, 芒柄花素可改善淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein,

APP) /早老蛋白-1 (presenilin-1, PS1) 小鼠的学习记忆能力, 通过依赖晚期糖基化终末产物受体的炎症信号传导, 从而抑制 APP 处理产生 Aβ^[7]。基于芒柄花素的抗炎作用有可能延缓 AD 的发作或疾病进程。然而, 芒柄花素能否通过调控 Nrf2/Keap1/HO-1 通路来改善 H₂O₂ 诱导的 HT22 细胞氧化应激损伤, 从而发挥对 AD 的保护作用尚未见报道。因此, 本研究采用 H₂O₂ 诱导 HT22 细胞氧化应激损伤, 建立体外模型, 探究芒柄花素对 H₂O₂ 诱导 HT22 细胞氧化应激损伤的改善作用。

1 材料

1.1 细胞 小鼠海马神经元 HT22 细胞株由南京中医药大学中药鉴定实验室馈赠。

1.2 试剂 芒柄花素 (批号 116794, 武汉科斯坦生物科技有限公司, 纯度 99.38%); 高糖 DMEM 培养基、0.25% 胰蛋白酶 (批号 G4510、G4004, 武汉赛维尔生物科技有限公司); 组织 & 细胞 RNA 快速提取试剂盒 (批号 CW0599S, 江苏康为世纪生物科

收稿日期: 2025-10-11

基金项目: 江苏省双创计划项目 (013033004004A); 南京中医药大学高级人才科研启动项目 (013074004016)

作者简介: 李佩如 (2001—), 女, 硕士在读, 研究方向为神经精神药理学。E-mail: 674556839@qq.com

* 通信作者: 贡岳松 (1964—), 男, 博士, 教授, 研究方向为神经精神药理学。E-mail: gyszy@126.com

技术有限公司); 活性氧 (ROS) 含量检测试剂盒 [批号 KTB1910, 亚科因 (武汉) 生物技术有限公司]; Nrf2 抗体 (批号 80593-1-RR, 武汉三鹰生物技术有限公司); Keap1、HO-1 抗体 (批号 HA721525、HA721854, 杭州华安生物技术有限公司); PSD95、NR2B (批号 36233S、5704S, 美国 Cell Signaling Technology 公司); NR2A、NR1 (批号 BS70491、BS80514, 南京巴傲得生物科技有限公司)。

1.3 仪器 酶标仪 (型号 Infinite 200PRO, 瑞士 Tecan 公司); 微量冷冻离心机 (型号 Microfuge 20R, 美国 Beckman Coulter 公司); 摇床 (型号 SK-0180-E, 美国赛洛捷克公司); 细胞培养箱 (型号 HERAcell150i, 美国 Thermo 公司); 制冰机 [型号 Scotsman AF103, 斯科茨曼制冰系统 (苏州) 有限公司]; 凝胶成像系统 (型号 Tanon 5200 Multi, 上海天能科技有限公司)。

2 方法

2.1 HT22 细胞培养 细胞加入含有 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基, 置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养, 取对数生长期的细胞, 0.25% 胰蛋白酶消化传代培养, 以进行后续研究。

2.2 MTT 法检测细胞活性 将处于对数生长期且生长状态良好的 HT22 细胞以 5×10³ 个/mL 的密度接种于 96 孔板中, 待细胞贴壁后加入不同浓度 H₂O₂ (0、200、400、600、800、1 000 μmol/L) 和 芒柄花素 (5、10、15、20、25、30、35、40 μmol/L), 孵育 24 h; 每孔加入 20 μL MTT 试剂, 继续孵育 4 h 后, 吸弃培养液, 每孔加入 150 μL DMSO, 用酶标仪检测 490 nm 波长处的吸光度。随后, 根据筛选得到的 H₂O₂ 诱导浓度构建 HT22 体外损伤模型, 选取无毒剂量的芒柄花素进行联合干预, 采用 MTT 法检测各组细胞存活率, 进一步筛选芒柄花素作用的最佳浓度。

2.3 细胞分组与给药 根据“2.2”项下结果筛选 H₂O₂ 和 芒柄花素作用的最佳浓度, 将 HT22 细胞分为对照组、H₂O₂ 组和 H₂O₂+芒柄花素组。其中, 空白组正常孵育 24 h, H₂O₂ 组加入 600 μmol/L H₂O₂, 孵育 24 h, 建立氧化应激损伤模型; H₂O₂+芒柄花素组加入 600 μmol/L H₂O₂ 和 2.5、5、10 μmol/L 芒柄花素, 共同孵育 24 h; 芒柄花素组加入最佳保护浓度芒柄花素, 预保护 4 h。检测芒柄花素对 H₂O₂ 损伤 HT22 细胞的保护作用。

2.4 氧化应激能力测定 按照 RIPA:PMSF:磷酸酶抑制剂=100:1:1 的比例配制蛋白裂解液。

取“2.3”项下处理后的细胞, 用预冷的 PBS 冲洗细胞 2 次, 每孔加入 100 μL 蛋白裂解液, 刮下细胞后放置 30 min, 待细胞裂解完全后, 13 000 r/min 离心 15 min, 吸取上清液, 采用 BCA 法测其蛋白浓度后, 按照试剂盒说明书检测过氧化物歧化酶 (SOD) 活性。

2.5 活性氧 (ROS) 水平测定 根据 ROS 试剂盒说明书, “2.3”项下 HT22 细胞加药培养 24 h 后, 使用无血清的培养基洗涤细胞 2 次, 加入经无血清培养基稀释好的 DCFH-DA 试剂于 37 °C 孵育 25 min, 无血清培养基洗涤细胞 3 次, 加入适量无血清培养基, 于荧光倒置显微镜观察并采集图像, 采用 Image J 软件分析平均荧光强度。

2.6 HE 染色观察细胞形态变化 将细胞爬片置于 24 孔板中, “2.3”项下 HT22 细胞以 5×10⁴ 个/mL 的密度接种于 24 孔板中, 每孔 1 mL, 在培养箱培养 24 h 后, 吸弃原培养液, PBS 洗涤 3 次, 4% 多聚甲醛中固定 10 min, PBS 洗涤 3 次, 加入苏木素染液, PBS 洗涤 3 次, 加入伊红染液, PBS 洗涤 3 次, 晾干, 中性树脂封片。

2.7 RT-qPCR 法检测 Nrf2/Keap1/HO-1 通路相关 mRNA 的表达 收集各组细胞, 使用组织 & 细胞 RNA 快速提取试剂盒提取总 RNA, 检测 RNA 浓度后使用试剂盒将总 RNA 逆转录为 cDNA, 再通过 RT-qPCR 进行扩增, 反应程序 42 °C 2 min, 50 °C 15 min, 85 °C 5 s, 4 °C 10 min, 1 个循环; 95 °C 预变性 30 s, 1 个循环; 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火延伸 30 s, 40 个循环。以 β-actin 为内参, 采用 2^{-ΔΔCT} 法计算目的基因相对表达量。特定引物购自通用生物 (安徽) 股份有限公司, 引物序列见表 1。

表 1 引物序列

名称	引物序列(5'-3')	长度/bp
Keap1	正向 GAAGAGCGCGCAGAAGAA	18
	反向 CAGGGCTATGACAGATGGG	19
Nrf2	正向 CCTAGTCTCCGCTGCTC	18
	反向 GGCAACTCCAAGTCCATC	18
HO-1	正向 GAAGAGCGCGCAGAAGAA	18
	反向 CAGGGCTATGACAGATGGG	19
NQO1	正向 AGGATGGGAGTACTCGAATC	21
	反向 TGCTAGAGATGACTCGGAAGG	21
β-actin	正向 GTGACGTTGACATCCGTAAGA	22
	反向 GCCGGACTCATCGTACTCC	19

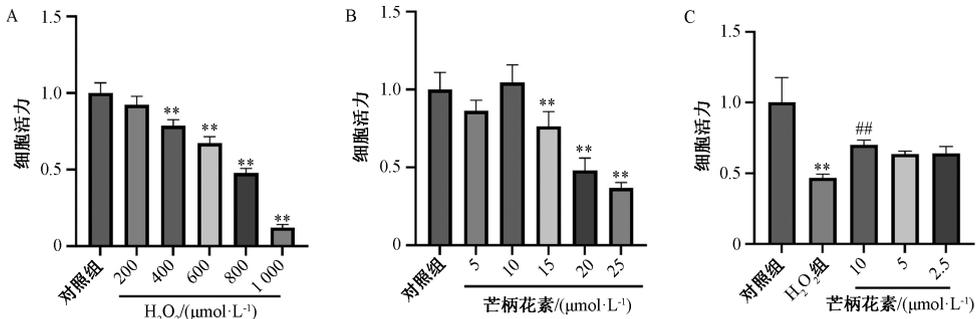
2.8 Western blot 法检测 Nrf2/Keap1/HO-1 通路和突触相关蛋白的表达 收集各组细胞, 于冰上提取蛋白, 提取方法与“2.4”项下一致; 蛋白定量后通过凝胶电泳分离、转膜、5% 脱脂牛奶封闭 1 h,

加入用脱脂牛奶稀释好的一抗，孵育过夜；次日加入二抗，室温孵育1 h，1×TBST洗膜，加入ECL发光液；采用凝胶成像仪检测条带，通过Image J软件分析条带灰度值。

2.9 统计学分析 通过GraphPad Prism 10软件进行处理，数据以($\bar{x}\pm s$)表示，组间比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

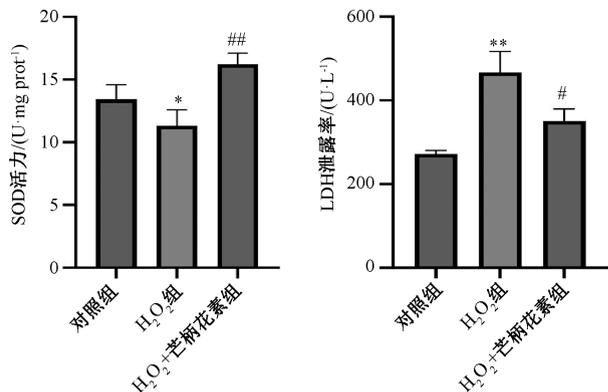
3.1 芒柄花素对H₂O₂诱导HT22细胞损伤的影响 由图1A可知，与对照组比较，400~1 000 μmol/L H₂O₂处理后，HT22细胞存活率显著降低



注：与对照组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。

图1 各组HT22细胞活力比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

3.2 芒柄花素对H₂O₂诱导损伤HT22细胞LDH泄露率和SOD活性的影响 由图2可知，与对照组比较，H₂O₂组HT22细胞SOD活性明显降低($P<0.05$)，LDH泄露率升高($P<0.01$)；与H₂O₂组比较，H₂O₂+芒柄花素组HT22细胞SOD活性增加($P<0.01$)，LDH泄露率降低($P<0.05$)，说明芒柄花素可以减轻H₂O₂诱导HT22细胞对细胞膜的损伤。

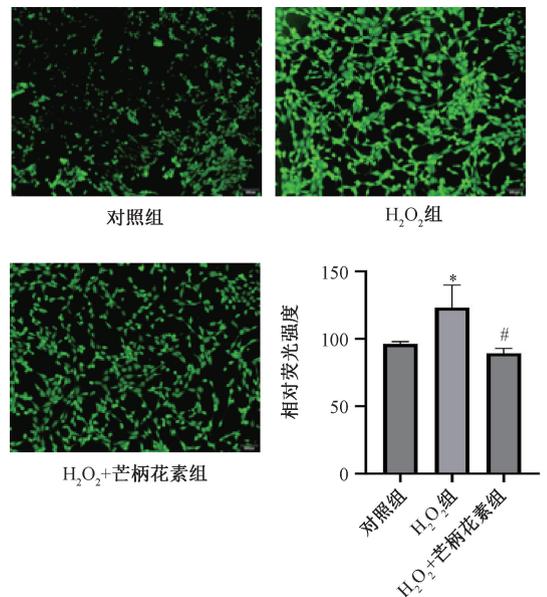


注：与对照组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与H₂O₂组比较，# $P<0.01$ ，## $P<0.01$ 。

图2 芒柄花素对H₂O₂诱导损伤HT22细胞SOD活力、LDH泄露率的影响($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

($P<0.01$)，且呈剂量依赖性，最终选择细胞存活率约为60%的H₂O₂浓度，即600 μmol/L为造模浓度。由图1B可知，低浓度的芒柄花素(0~10 μmol/L)对细胞活力没有明显影响，高浓度的芒柄花素(15~25 μmol/L)对HT22细胞有毒性($P<0.01$)，最终选用600 μmol/L H₂O₂处理HT22细胞24 h。取无毒剂量(2.5、5、10 μmol/L)的芒柄花素干预后，结果显示，10 μmol/L芒柄花素可升高HT22细胞活力($P<0.01$)，因此后续实验选择10 μmol/L芒柄花素作进一步研究，见图1C。

3.3 芒柄花素对H₂O₂诱导损伤HT22细胞ROS水平的影响 由图3可知，与对照组比较，H₂O₂组HT22细胞内ROS水平升高($P<0.05$)；与H₂O₂组比较，H₂O₂+芒柄花素组HT22细胞内ROS水平降低($P<0.05$)。



注：与对照组比较，* $P<0.05$ ；与H₂O₂组比较，# $P<0.05$ 。

图3 芒柄花素对H₂O₂诱导损伤HT22细胞ROS水平的影响($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

3.4 芒柄花素对 H_2O_2 诱导损伤 HT22 细胞形态的影响 由图 4 可知, 对照组细胞膜、突触结构完整, 核仁清晰; 与对照组比较, H_2O_2 组细胞及树突数量减少, 细胞出现核固缩, 多数细胞形态异常; 与 H_2O_2 组比较, H_2O_2 +芒柄花素组细胞数量较增加, 且多数细胞结构完整, 能形成正常的突触结构。

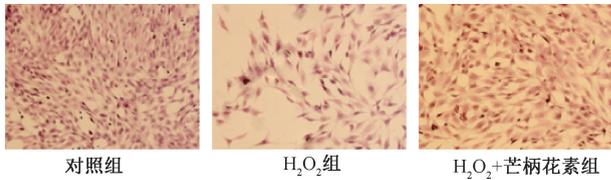
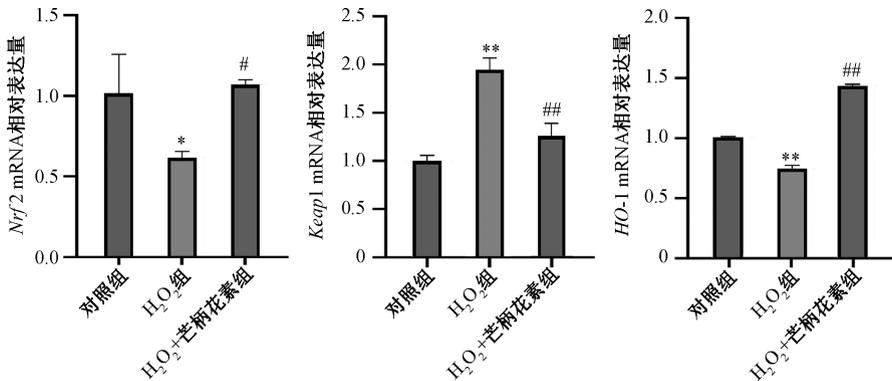
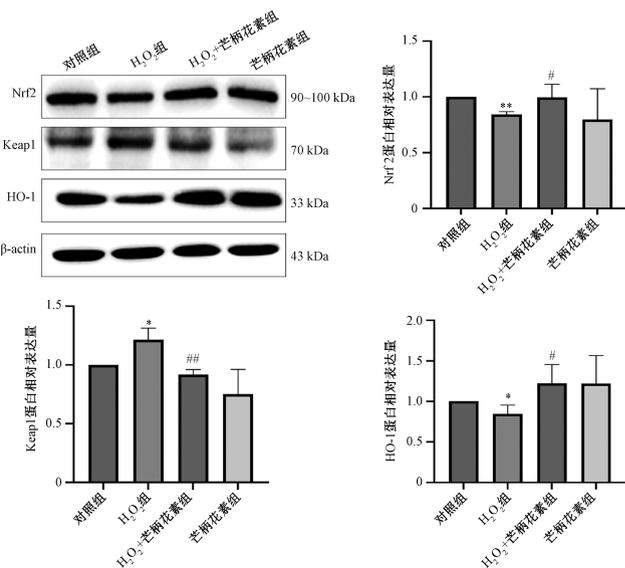


图 4 芒柄花素对 H_2O_2 诱导损伤 HT22 细胞形态的影响



注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 H_2O_2 组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 5 芒柄花素对 H_2O_2 诱导损伤 HT22 细胞 *Nrf2*、*Keap1*、*HO-1* mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)



注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 H_2O_2 组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 6 芒柄花素对 H_2O_2 诱导损伤 HT22 细胞 *Nrf2*/*Keap1*/*HO-1* 通路蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Nrf2、*HO-1*、*PSD95*、*NR2B*、*NR1*、*NR2A* 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), *Keap1* 蛋白表达升高 ($P < 0.05$); 与 H_2O_2 组比较, H_2O_2 +芒柄花素组

3.5 芒柄花素对 H_2O_2 诱导损伤 HT22 细胞 *Nrf2*、*Keap1*、*HO-1* mRNA 表达的影响 由图 5 可知, 与对照组比较, H_2O_2 组 HT22 细胞 *Nrf2*、*HO-1* mRNA 表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), *Keap1* mRNA 表达升高 ($P < 0.01$); 与 H_2O_2 组比较, H_2O_2 +芒柄花素组 HT22 细胞 *Nrf2*、*HO-1* mRNA 表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), *Keap1* mRNA 表达降低 ($P < 0.01$)。

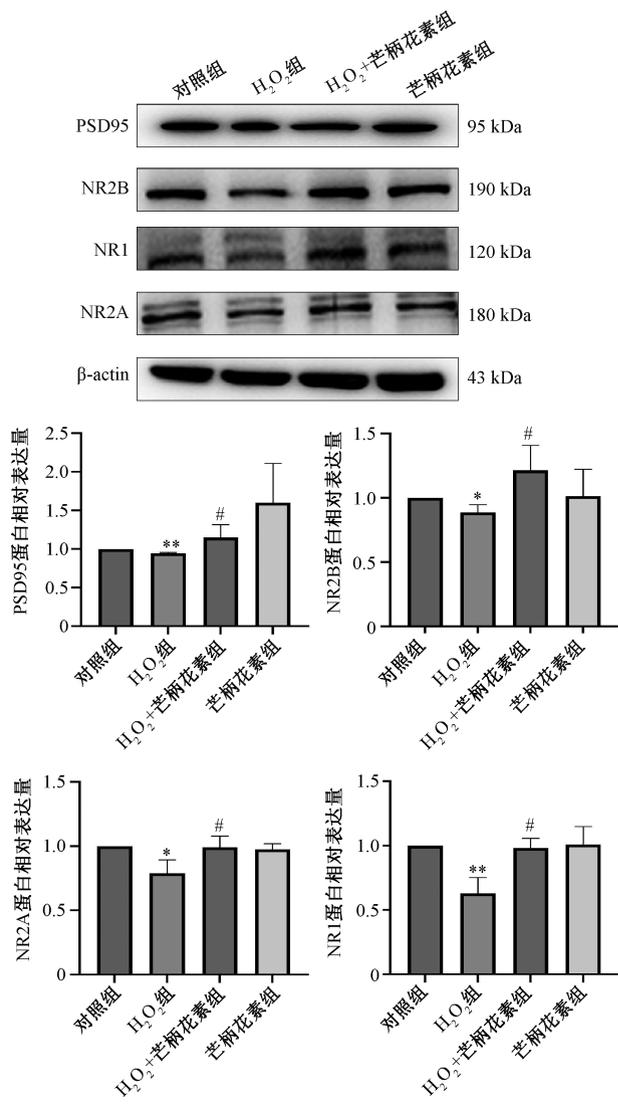
3.6 芒柄花素对 H_2O_2 诱导损伤 HT22 细胞 *Nrf2*/*Keap1*/*HO-1* 通路和突触相关蛋白表达的影响 由图 6~7 可知, 与对照组比较, H_2O_2 组 HT22 细胞

HT22 细胞 *Nrf2*、*HO-1*、*PSD95*、*NR2B*、*NR1*、*NR2A* 蛋白表达升高 ($P < 0.05$), *Keap1* 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)。

4 讨论

AD 是一种与衰老相关的神经退行性疾病, 其主要临床特征包括进行性记忆功能减退和认知能力下降。2019 年全美因该病导致死亡的病例达 121 499 例, 这使得 AD 被美国疾控中心列为第六位主要致死疾病^[8]。近年来发现, 许多中药及其复方对 AD 具有良好的治疗效果, 如白藜芦醇、姜黄素、山柰酚等^[9]。芒柄花素为黄酮类成分, 已被证实许多神经系统类疾病发挥作用, 如缺血性中风、脑缺血再灌注、阿尔兹海默病、神经肿瘤等^[10]。

本研究结果显示, $10 \mu\text{mol/L}$ 芒柄花素可提高细胞活力; 改善 H_2O_2 氧化应激引起的细胞数量减少、分支数量减少和细胞固缩, 说明芒柄花素具有一定的神经保护作用。作为神经退行性疾病中神经元损伤的关键因素, 氧化应激被认为是一系列疾病的常见影响因素^[11], 其发生时会导致抗氧化酶 SOD 活力下降、ROS 过量积聚, 从而使蛋白质、脂质和 DNA 受损, 导致不可逆的神经元死亡^[12]。



注：与对照组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与 H_2O_2 组比较，# $P < 0.05$ 。

图7 芒柄花素对 H_2O_2 诱导损伤 HT22 细胞突触相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

芒柄花素可以上调细胞抗氧化酶 SOD 活力、减少 ROS 的累积，表明芒柄花素可以降低 H_2O_2 诱导 HT22 细胞的氧化应激水平。

突触是神经元中结构特化的区域，突触传递的强度取决于神经元活动的变化，其中突触可塑性的动态性质，包括长时程增强和长时程下降，代表了学习和记忆的基本机制^[13-14]。越来越多证据表明，神经元突触丧失和功能障碍发生在 AD 发病的早期阶段，且与认知功能下降密切相关^[15]。PSD95 是突触后致密区的重要支架蛋白，锚定 NMDA 受体和 AMPA 受体，参与突触可塑性和信号转导^[16]；NR1 是谷氨酸受体的核心亚基^[17]；NR2B 介导慢突触电流，在突触发育中高表达^[18]；

NR2A 促进突触成熟^[19]。芒柄花素可以增加 PSD95、NR1、NR2B、NR2A 表达，表明芒柄花素可以改善突触功能，逆转突触丢失，增强突触可塑性。

Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路是机体氧化还原稳态调控的核心通路，在静息状态下，Nrf2 被持续泛素化，并通过蛋白酶体途径被快速降解，当氧化还原稳态被打破时，Nrf2 被转运入核，激活 HO-1 等一系列抗氧化反应元件的表达^[20]。在 AD 中，Keap1 高表达会抑制 Nrf2 入核，导致 HO-1 生成减少，进而加剧神经元氧化损伤和 $A\beta$ 毒性^[21]。本实验结果显示，芒柄花素可以升高 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达，降低 Keap1 蛋白表达，表明芒柄花素可以通过激活 Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路，激活细胞抗氧化防御系统，增加抗氧化蛋白的表达，改善 H_2O_2 诱导的 HT22 细胞氧化应激状态。

综上所述，芒柄花素可以通过激活 Nrf2/Keap1/HO-1 信号通路，增加抗氧化酶活力，提高细胞的抗氧化应激能力，改善突触功能障碍，从而发挥其对细胞的保护作用。

参考文献：

[1] Beura S K, Dhapola R, Panigrahi A R, *et al.* Antiplatelet drugs: potential therapeutic options for the management of neurodegenerative diseases[J]. *Med Res Rev*, 2023, 43 (6): 1835-1877.

[2] Dhapola R, Sarma P, Bikash M, *et al.* Recent advances in molecular pathways and therapeutic implications targeting mitochondrial dysfunction for Alzheimer's disease[J]. *Mol Neurobiol*, 2021, 59(1): 535-555.

[3] Dhapola R, Hota S S, Sarma P, *et al.* Recent advances in molecular pathways and therapeutic implications targeting neuroinflammation for Alzheimer's disease[J]. *Inflammopharmacology*, 2021, 29 (6): 1669-1681.

[4] Bai R R, Guo J A, Ye X Y, *et al.* Oxidative stress: The core pathogenesis and mechanism of Alzheimer's disease[J]. *Ageing Res Rev*, 2022, 77: 101619.

[5] Tonelli C, Chioi C, Tuveson D A. Transcriptional regulation by Nrf2[J]. *Antioxid Redox Sign*, 2018, 29(17): 1727-1745.

[6] Machado D J, Espitia P J P, Andrade B R. Formononetin: biological effects and uses-a review[J]. *Food Chem*, 2021, 359: 129975.

[7] Fei H X, Zhang Y B, Liu T, *et al.* Neuroprotective effect of formononetin in ameliorating learning and memory impairment in mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Biosci Biotechnol*,

- Biochem*, 2018, 82(1): 57-64.
- [8] Alzheimer's Association. 2020 Alzheimer's Disease Facts and Figures[J]. *Alzheimers Dement*, 2020, 16(3): 391-460.
- [9] Chen Z H, Wang X R, Du S M, et al. A review on traditional Chinese medicine natural products and acupuncture intervention for Alzheimer's disease based on the neuroinflammatory[J]. *Chin Med*, 2024, 19(1): 35.
- [10] Ma X Y, Wang J J. Formononetin: A pathway to protect neurons[J]. *Front Integ Neurosci*, 2022, 16: 908378.
- [11] Cieslak M, Wojtczak A. Role of purinergic receptors in the Alzheimer's disease[J]. *Purinergic Signal*, 2018, 14(4): 331-344.
- [12] Sbai O, Djelloul M, Auletta A, et al. AGE-TXNIP axis drives inflammation in Alzheimer's by targeting A β to mitochondria in microglia[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(4): 302.
- [13] Malenka R C, Bear M F. LTP and LTD: An embarrassing of riches[J]. *Neuron*, 2003, 44(1): 15-21.
- [14] Neves G, Cooke S F, Bliss T V. Synaptic plasticity, memory and hippocampus: A neural network approach to causality[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2008, 9(1): 65-75.
- [15] Querfurth H W, LaFerla F M. Alzheimer's disease[J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(4): 329-344.
- [16] Sheng M, Kim E. The postsynaptic organization of synapses[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2011, 3(12): a005678.
- [17] Paoletti P, Bellone C, Zhou Q. NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2013, 14(6): 383-400.
- [18] Hansen K B, Wollmuth L P, Bowie D, et al. Structure, function, and pharmacology of glutamate receptor ion channels[J]. *Pharmacol Rev*, 2021, 73(4): 298-487.
- [19] Gambrill A C, Storey G P, Barria A. Dynamic regulation of NMDA receptor transmission[J]. *J Neurophysiol*, 2011, 105(1): 162-171.
- [20] Jiao W Y, Wang Y C, Kong L H, et al. CART peptide activates the Nrf2/HO-1 antioxidant pathway and protects hippocampal neurons in a rat model of Alzheimer's disease[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 5(4): 1016-1022.
- [21] Rojo A I, Pajares M, Rada P, et al. Nrf2 deficiency replicates transcriptomic changes in Alzheimer's patients and worsens APP and TAU pathology[J]. *Redox Biol*, 2017, 13: 444-451.

基于 Notch 信号通路探讨缬草酸对肝细胞癌 MHCC97H 细胞上皮间质转化的影响

陈玉梅, 杨 静, 苏 森, 张 冰*
(衡水市人民医院消化内科, 河北 衡水 053000)

摘要: 目的 探究缬草酸对肝细胞癌 MHCC97H 细胞上皮间质转化 (EMT) 的影响。方法 肝细胞癌 MHCC97H 细胞随机分为空白组、DAPT 组 (5 $\mu\text{mol/L}$) 及缬草酸低、中、高剂量组 (1、5、10 $\mu\text{mol/L}$), 给药组给予相应剂量药物, 空白组不做处理。采用 CCK-8 法和细胞集落形成实验检测细胞的增殖能力, Transwell 实验检测细胞侵袭能力, 细胞划痕实验检测细胞迁移率, Western blot 法检测 N-cadherin、Vimentin、Notch1、HES1 和 HEY1 蛋白表达。结果 与空白组比较, 各给药组肝细胞癌 MHCC97H 细胞增殖、侵袭及迁移能力减弱 ($P < 0.05$), N-cadherin、Vimentin、Notch1、HES1、HEY1 蛋白表达降低 ($P < 0.05$)。结论 缬草酸能够抑制肝细胞癌 MHCC97H 细胞 EMT, 该作用与调控 Notch 信号通路密切相关。

关键词: 缬草酸; 肝细胞癌; MHCC97H 细胞; Notch 信号通路; 上皮间质转化; 增殖; 迁移; 侵袭

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2026)02-0645-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.02.042

收稿日期: 2025-08-26

基金项目: 河北省 2023 年度医学科学研究课题计划项目 (20232171)

作者简介: 陈玉梅 (1981—), 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向为内科胰腺、肝病、胃肠、消化内镜等。E-mail: cchenyumei@163.com

* 通信作者: 张 冰 (1982—), 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向为消化病。E-mail: zhb2011sy@126.com