

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.13.004

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210210.1546.010.html\(2021-02-10\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210210.1546.010.html(2021-02-10))

芒果苷通过 PI3K/Akt/mTOR 通路对蛛网膜下腔出血后神经细胞的保护作用^{*}

姬康祁,周文科[△]

(新乡医学院第一附属医院神经外科/河南省神经修复重点实验室,河南新乡 453000)

[摘要] **目的** 探讨芒果苷(MF)在蛛网膜下腔出血(SAH)后早期阶段对神经细胞的保护作用及机制。**方法** 采用小鼠来源神经瘤母细胞(Neuro-2a 细胞)和氧合血红蛋白(OxyHb)建立体外 SAH 模型,分为对照组、蛛网膜下腔出血组(SAH)及芒果苷干预组(MF+SAH)3 组,利用免疫荧光检测受损线粒体与溶酶体的结合;利用 JC-1 和 DCFH-DA 分别检测线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)和活性氧(ROS);Western blot 分别检测细胞内磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)、蛋白激酶 B(Akt)和雷帕霉素靶蛋白(mTOR)的表达,胞浆、线粒体中凋亡相关蛋白淋巴瘤-2(Bcl-2)、Bcl2 关联 X 蛋白(Bax)、细胞色素 C(Cyt-C)和 Caspase-3 的表达。**结果** 与对照组相比,SAH 组线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)明显去极化($P<0.05$),细胞内 ROS 水平增多($P<0.01$),p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 的表达水平显著减少($P<0.05$),胞浆内 Cyt-C 表达水平显著增加($P<0.05$),线粒体内 Cyt-C 表达水平显著减少($P<0.05$),Bax 和 Caspase-3 表达水平显著增加($P<0.05$),Bcl-2 表达水平显著减少($P<0.05$);与 SAH 组相比较,MF+SAH 组 $\Delta\psi_m$ 和 ROS 明显恢复($P<0.05$),p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 的表达水平明显增加($P<0.05$),胞浆内 Cyt-C 表达水平显著下降($P<0.05$),线粒体内 Cyt-C 表达水平显著增加($P<0.05$),Bax 和 Caspase-3 表达显著减少($P<0.05$),Bcl-2 表达显著增加($P<0.05$)。**结论** 芒果苷可以通过稳定线粒体膜电位,减少 ROS 的产生,改善线粒体功能障碍,从而抑制 SAH 后早期阶段神经细胞的凋亡。

[关键词] 蛛网膜下腔出血;脑损伤;细胞凋亡;线粒体疾病;芒果苷

[中图分类号] R743.35 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)13-2176-06

Protective effect of mangiferin on nerve cells after subarachnoid hemorrhage via PI3K/Akt/mTOR pathway^{*}

Ji Kangqi, ZHOU Wenke[△]

(Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University/
Henan Provincial Key Laboratory of Neural Repair, Xinxiang, Henan 453000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the protective effect and mechanism of mangiferin (MF) on nerve cells in the early stage after subarachnoid hemorrhage (SAH). **Methods** The SAH model in vitro was established by using the Neuro-2a cells originated from the mouse neuroblastoma cells and OxyHb. The SAH models were divided into the control group (CON), SAH group and mangiferin intervention group (MF + SAH). The binding of damaged mitochondria to lysosome was detected by using the immunofluorescence; the mitochondrial membrane potential ($\Delta\psi_m$) and reactive oxygen species (ROS) were measured by JC-1 and DCFH-DA, respectively; the expressions of phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt), PKB/rapamycin target protein (mTOR) were detected by Western blot; the expressions of apoptosis related proteins lymphoma-2 (Bcl-2), BCL2 associated X protein (Bax), cytochrome C (Cyt-C) and cleaved-caspase-3 (Caspase-3) in cytoplasm and mitochondria were detected. **Results** Compared with the control group, the $\Delta\psi_m$ in the SAH group was significantly depolarized ($P<0.05$), the intracellular ROS content was increased, the expression levels of p-PI3K, p-Akt and p-mTOR were significantly decreased ($P<0.05$), the expression of Cyt-C in cytoplasm was significantly increased ($P<0.05$), the expression of Cyt-C in mitochondria was significantly decreased ($P<0.05$), the expression of Bax and Caspase-3 was significantly increased ($P<0.05$), and the expression of Bcl-2 was significantly decreased ($P<0.05$); compared with SAH group, $\Delta\psi_m$ and ROS in

^{*} **基金项目:**国家自然科学基金项目(81541030);河南省神经修复重点实验室开放课题项目(HNSJXF-2018-008);新乡医学院研究生科研创新支持计划项目(YJSCX201947Y)。 **作者简介:**姬康祁(1992—),住院医师,硕士,主要从事脑血管病的基础与临床研究。 [△] **通信作者,** E-mail:zhouwenke1999@163.com。

the MF + SAH group were significantly recovered compared with before ($P < 0.05$), the p-pi3k, p-Akt, p-mTOR expression levels were significantly increased ($P < 0.05$), Cyt-C expression in cytoplasm was significantly decreased ($P < 0.05$), Cyt-C expression in mitochondria was significantly increased ($P < 0.05$), the Bax and Caspase-3 expression levels were significantly decreased ($P < 0.05$), and the Bcl-2 expression level was significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Mangiferin can inhibit the nerve cells apoptosis in the early stage after SAH by stabilizing the mitochondrial membrane potential, reducing the ROS production and improving the mitochondrial dysfunction.

[Key words] subarachnoid hemorrhage; brain injuries; apoptosis; mitochondrial diseases; mangiferin

蛛网膜下腔出血(SAH)是脑卒中的严重亚型^[1]。研究人员认为 SAH 后 72 h 内发生的早期脑损伤(EBI)是 SAH 预后不良的主要原因^[2]。已有研究表明,SAH 后会导致严重的线粒体功能障碍^[3],进一步诱发细胞的氧化应激损伤和凋亡,从而导致神经细胞的损伤甚至死亡^[4],所以 SAH 的早期治疗成为关注的重点。

芒果苷(MF)是天然存在于许多植物中的植物多酚,具有多种药理作用,如抗氧化、抗炎、抗肿瘤和治疗糖尿病等^[5-6]。有研究表明,MF 可通过多种途径去预防或者修复包括脑缺血再灌注损伤、脑炎等疾病;并且 MF 会通过影响线粒体凋亡相关蛋白的表达改善鱼藤酮诱导的细胞凋亡^[7]。有研究表明,磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)通路可通过介导凋亡蛋白去抑制细胞凋亡^[8],而 MF 又具有广泛的生物活性。本实验旨在研究 MF 通过 PI3K/Akt/雷帕霉素靶蛋白(mTOR)途径改善蛛网膜下腔出血后早期阶段神经细胞线粒体功能,从而抑制神经细胞的凋亡。

1 材料与方法

1.1 细胞

Neuro-2a 细胞由中国科学院上海细胞库购买。

1.2 主要试剂与仪器

青链霉素、FBS、DMEM/HIGH GLUCOSE 培养基购于美国 Hyclone 公司,DMSO、高速低温离心机、多功能酶标仪均购于美国 Thermo Fisher Scientific 公司,氧合血红蛋白(OxyHb)购于上海源叶生物科技有限公司,MF 购于美国 MCE 公司,MTT、JC-1 荧光探针、DCFC-DA 荧光探针、线粒体绿色荧光探针、溶酶体红色荧光探针、细胞线粒体分离试剂盒、二喹啉甲酸(BCA)蛋白定量试剂盒均购于上海碧云天科技有限公司,凋亡相关蛋白淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2 关联 X 蛋白(Bax)、细胞色素 C(Cyt-C)、Caspase-3 抗体购于北京博奥森科技有限公司,PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR 抗体购自美国 CST 公司,37 ℃ 恒温培养箱购于德国 Heraeus 公司,荧光显微镜购于德国 Carl Zeiss 公司。

1.3 方法

1.3.1 Neuro-2a 细胞培养及分组

Neuro-2a 细胞的培养基为含 10% FBS 和 1% 青霉素/链霉素的 DMEM 培养基,置于 37 ℃,5% 的 CO₂ 培养箱中培养。根据文献[9]提出的培养方法制备 SAH 细胞模型,对照组:常规进行换液,不加任何药物处理;SAH 组:在细胞培养 24 h 后,加入 Oxy-Hb,使其终浓度为 10 μmol/L;MF+SAH 组:加入 250 μmol/L 的 MF,孵育 30 min,加入 OxyHb,使终浓度达到 10 μmol/L。

1.3.2 MTT 检测 Neuro-2a 细胞的活力

取对数生长期的 Neuro-2a 细胞按照每孔 1 × 10⁴/100 μL 接种到 96 孔板中,每组设 6 个复孔,于 37 ℃,5% 的 CO₂ 培养箱中培养,24 h 后,加入不同浓度的 MF 预处理 30 min,加入 OxyHb,培养箱中继续培养 24 h 后每孔加入 20 μL MTT(5 mg/mL),置于培养箱继续培养 4 h 后加入 100 μL 的二甲基亚砷,在室温中充分摇匀,用多功能酶标仪检测 490 nm 处的吸光度。

1.3.3 荧光显微镜观察 Neuro-2a 细胞线粒体膜电位(Δψm)和 ROS

在细胞完成贴壁后,加入 OxyHb 和 MF 处理继续培养 24 h,加入 JC-1 荧光探针染色 30 min,该探针可聚集在线粒体的基质中,形成聚合物,当 Δψm 较高时,激发光会激发红色荧光,当出现线粒体功能障碍时,Δψm 较低,线粒体会产生绿色荧光,可以用红绿荧光的相对比例去衡量 Δψm 的变化。细胞培养结束后,分别向各组加入 DCFC-DA 荧光探针(10 μmol/L)后孵育 30 min 后用孵育液洗涤,用荧光显微镜(Zeiss Axio A1)对上述实验细胞拍照记录。

1.3.4 多功能酶标线测定 Neuro-2a 细胞 Δψm 和 RQS

Neuro-2a 细胞按照 3 × 10⁵/孔接种到 6 孔板中。细胞造模并加药后继续培养 24 h 后收集细胞,用 PBS 洗 2 次,加入 500 μL JC-1 工作液,37 ℃ 孵育 30 min,利用多功能酶标仪测定,如果 JC-1 为单体进入线粒体内部,则以激发光 485 nm,发射光 535 nm 检测出绿光,如果 JC-1 为聚合体位于线粒体外膜,则以激发光 530 nm,发射光 600 nm 检测 JC-1 为红光。采用绿

红比(单体:聚合物)荧光强度法测定 $\Delta\phi_m$, 绿红比率低代表 $\Delta\phi_m$ 处于极化状态;反之, $\Delta\phi_m$ 处于去极化状态。

1.3.5 测定 Neuro-2a 细胞 ROS 量

按 1.3.4 方法对细胞造模并加药后继续培养 24 h,用 PBS 反复洗涤,加入 DCFC-DA 探针($10\ \mu\text{mol/L}$)在 $37\ ^\circ\text{C}$ 保温箱中避光孵育 30 min。应用多功能酶标仪,以激发光 $485\ \text{nm}$,发射光 $535\ \text{nm}$ 检测荧光强度。

1.3.6 荧光显微镜观察 Neuro-2a 细胞线粒体和溶酶体的共同定位

Neuro-2a 细胞按 1.3.1 方法在 6 孔板中培养 24 h,用 OxyHb 和 MF 处理继续孵育 24 h,在实验结束以后向 3 组培养基中分别加入线粒体荧光绿色探针和溶酶体红色探针, $37\ ^\circ\text{C}$ 孵育 30 min 后,吸去培养基,PBS 洗涤多次,置于荧光显微镜下拍照。

1.3.7 Western blot 检测 MF 对 Neuro-2a 细胞中 PI3K、Akt、mTOR、Bcl-2、Bax、CytC、Caspase-3 的表达

Neuro-2a 细胞通过线粒体分离试剂提取出线粒体蛋白和胞浆蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。加入蛋白上样缓冲液,沸水浴 10 min,行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),浓缩胶 $80\ \text{V}$ 、20 min,分离胶 $100\ \text{V}$ 、1 h,转膜($100\ \text{mA}$ 、150 min),用 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h,一抗包括:Caspase-3 1:1000; Bcl-2 1:500; Bax 1:500; CytC 1:500; PI3K 1:200; p-PI3K 1:200; Akt 1:200; p-Akt 1:200; mTOR 1:200; p-mTOR 1:200; GAPDH 1:2000; COXIV 1:2000; 兔抗 β -actin 抗体 1:2000,于 $4\ ^\circ\text{C}$ 摇床孵育过夜,室温孵育二抗山羊抗兔 IgG 抗体(1:1000)1 h,显影曝光。用 Image-J 图像分析系统对蛋白条带进行分析。

1.4 统计学处理

采用 SPSS20.0 软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MF 对 Neuro-2a 细胞的活力影响

MTT 实验的检测法显示。随着 MF 浓度增加,Neuro-2a 细胞活力均下降,并且与 MF 浓度增加呈正相关, 50 、 100 、 150 、 200 、 $250\ \mu\text{mol/L}$ 组 24 h 抑制率分别为 $(1.254 \pm 0.125)\%$ 、 $(4.369 \pm 0.256)\%$ 、 $(10.752 \pm 0.345)\%$ 、 $(20.235 \pm 0.798)\%$ 、 $(27.952 \pm 0.898)\%$,差异均有统计学意义($P < 0.05$),而 $250\ \mu\text{mol/L}$ 组最为显著,故采用 $250\ \mu\text{mol/L}$ 浓度进行实验。

2.2 MF 对 Neuro-2a 细胞 $\Delta\phi_m$ 的影响

与对照组中较多的红色信号相比,OxyHb 诱导了较多的绿色荧光信号,在线粒体外成员处积累了较多的单体。然而,MF 逆转了这一现象,检测到更多的红色荧光信号。对照组 $\Delta\phi_m$ 为 7.91 ± 0.21 ,SAH 组明显较对照组升高 9.38 ± 0.39 ($P < 0.05$),而应用 MF 之后 $\Delta\phi_m$ 恢复为 8.31 ± 0.25 ($P < 0.05$),见图 1。

2.3 MF 对 Neuro-2a 细胞内 ROS 的影响

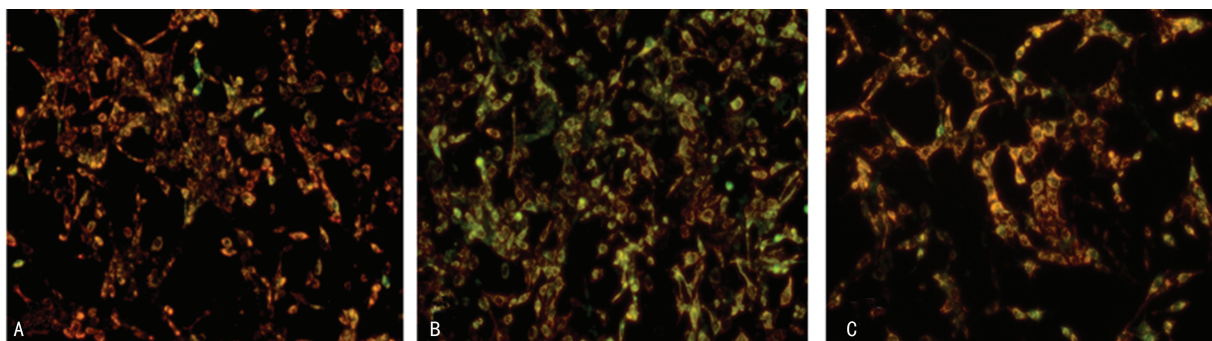
MF 治疗后则绿色荧光明显降低。定量分析显示 SAH 组 ROS 水平由对照组的 1.82 ± 0.02 显著升高至 2.61 ± 0.05 ($P < 0.01$),而 MF 治疗后则以剂量依赖方式减少 ROS 的生成,ROS 水平降低为 2.31 ± 0.03 ($P < 0.01$),见图 2。

2.4 MF 对 Neuro-2a 细胞的线粒体和溶酶体共同定位的影响

与对照组相比,SAH 组存在大量绿色荧光,大量线粒体因功能障碍集聚在细胞中无法被清除,在应用 MF 后溶酶体又重新吞噬受损线粒体,见图 3。

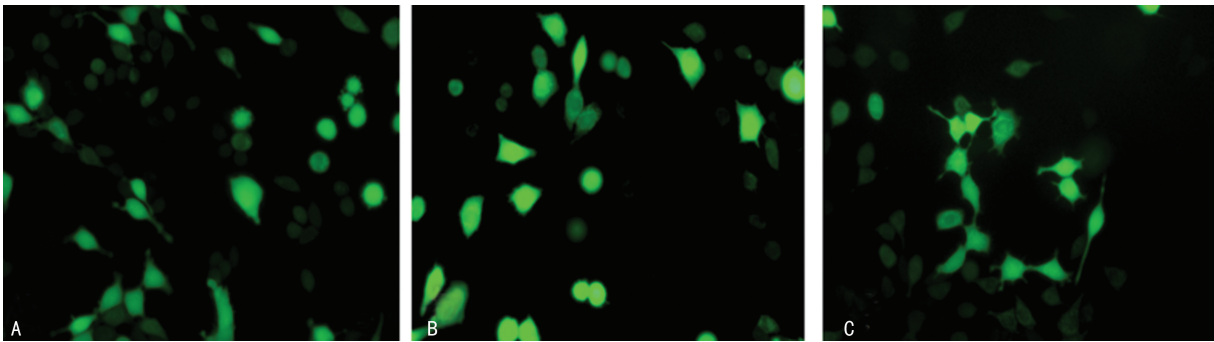
2.5 通过 Western blot 检测 MF 对 Neuro-2a 细胞内 PI3K、Akt、mTOR 表达的影响

与对照组相比,SAH 组中 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 的表达水平明显下调($P < 0.05$);与 SAH 组相比,MF+SAH 组中 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 的表达水平显著上调($P < 0.05$),见图 4、表 1。



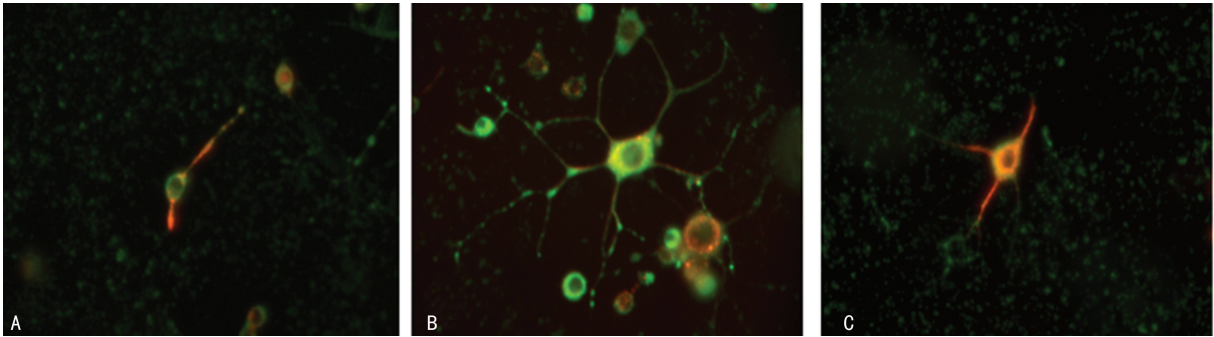
A: 对照组; B: SAH 组; C: SAH+MF 组。

图 1 免疫荧光显微镜观察细胞 $\Delta\phi_m$ 变化(JC-1 染色, $\times 200$)



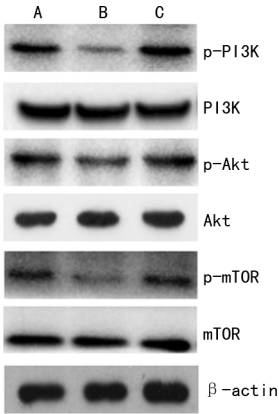
A:对照组;B:SAH 组;C:SAH+MF 组。

图 2 免疫荧光显微镜观察 ROS 的变化(×400)



A:对照组;B:SAH 组;C:SAH+MF 组。

图 3 免疫荧光观察线粒体和溶酶体共定位(×400)



A:对照组;B:SAH 组;C:SAH+MF 组。

图 4 Western blot 检测各组 Neuro-2a 细胞胞浆内 PI3K/Akt/mTOR 通路蛋白的表达

表 1 3 组 Neuro-2a 细胞胞浆内 PI3K/Akt/mTOR 通路蛋白的表达比较($\bar{x} \pm s$)

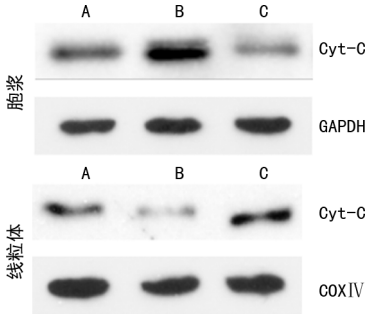
组别	p-PI3K	p-Akt	p-mTOR
对照组	0.547±0.041	0.693±0.038	0.404±0.052
SAH 组	0.276±0.029 ^a	0.471±0.047 ^a	0.203±0.047 ^a
SAH+MF 组	0.581±0.031 ^b	0.681±0.027 ^b	0.365±0.037 ^b

^a: $P<0.05$,与对照组比较;^b: $P<0.05$,与 SAH 组比较。

2.6 通过 Western blot 检测 MF 对 Neuro-2a 细胞胞浆内和线粒体内 Cyt-C 释放的影响

与对照组相比,SAH 组线粒体中 Cyt-C 明显下降($P<0.05$);与 SAH 组对比,MF+SAH 组细胞线

粒体中 Cyt-C 明显上升($P<0.05$)。与对照组相比,SAH 组细胞胞浆中 Cyt-C 明显上升($P<0.05$);与 SAH 组对比,MF+SAH 组细胞胞浆中 Cyt-C 明显下降($P<0.05$),见图 5、表 2。



A:对照组;B:SAH 组;C:SAH+MF 组。

图 5 Western blot 检测各组 Neuro-2a 细胞 Cyt-C 蛋白的表达

表 2 3 组 Neuro-2a 细胞胞浆和线粒体内 Cyt-C 的表达比较($\bar{x} \pm s$)

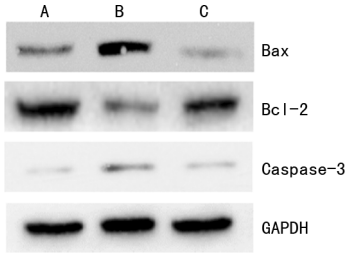
组别	胞浆	线粒体
对照组	0.674±0.014	0.971±0.089
SAH 组	1.015±0.045 ^a	0.473±0.048 ^a
SAH+MF 组	0.654±0.023 ^b	0.626±0.066 ^b

^a: $P<0.05$,与对照组比较;^b: $P<0.05$,与 SAH 组比较。

2.7 通过 Western blot 检测 MF 对 Neuro-2a 细胞中凋亡蛋白的表达

与对照组对比,SAH 组中蛋白 Bax 和 Caspase-3

表达均明显上升($P<0.05$);蛋白 Bcl-2 的表达明显下降($P<0.05$)。与 SAH 组对比,MF+SAH 干预组中蛋白 Bax 和 Caspase-3 表达均明显下降($P<0.05$);蛋白 Bcl-2 的表达明显上升($P<0.05$),图 6、表 3。



A:对照组;B:SAH 组;C:SAH+MF 组。

图 6 Western blot 检测各组 Neuro-2a 细胞内蛋白 Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 的表达量

表 3 3 组 Neuro-2a 细胞中 Bax、Bcl-2、Caspase-3 的表达比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	Bax	Bcl-2	Caspase-3
对照组	0.214±0.013	0.764±0.025	0.196±0.021
SAH 组	0.512±0.024 ^a	0.458±0.034 ^a	0.315±0.014 ^a
SAH+MF 组	0.492±0.011 ^b	0.526±0.021 ^b	0.184±0.019 ^b

^a: $P<0.05$,与对照组比较;^b: $P<0.05$,与 SAH 组比较。

3 讨 论

线粒体被认为是许多信号分子相互沟通、控制氧化应激、细胞钙缓冲、凋亡、自噬的信号平台^[10-11]。SAH 早期阶段由于脑组织的急性脑损伤造成神经细胞内线粒体功能障碍,进一步导致神经细胞的凋亡^[12];而 SAH 后的 OxyHb 刺激是诱导线粒体损伤的重要原因,损伤的线粒体释放大量 ROS 和细胞色素 C 到达胞质,最终造成神经细胞的凋亡^[13-14]。本实验中 SAH 细胞模型关于凋亡的实验结果也印证了这一点。所以推测线粒体在 SAH 早期阶段发挥着至关重要的作用,在本研究中以维持线粒体功能稳定为目标减缓神经细胞的凋亡。本研究结果证实,MF 可以通过改善线粒体功能障碍从而抑制神经细胞的凋亡,达到神经保护作用。

MF 是一种主要从龙胆科和漆树科植物中提取的氧杂蒽酮类化合物,也是中药知母的主要活性成分^[15],具有强大的抗氧化和清除氧自由基等特点,因此在治疗早期 SAH 中是一个非常有前景的药物,但 SAH 发病机制复杂,MF 在 SAH 中如何改善线粒体功能障碍,从而达到对神经细胞的保护作用成为关注的重点。

本课题组早期实验已证实 SAH 后氧合血红蛋白诱导 $[Ca^{2+}]_m$ 超载^[16],导致 $\Delta\psi_m$ 去极化,使线粒体释放过量的 ROS 造成神经细胞的氧化应激,从而造

成线粒体功能障碍,使 Cyt-C 从线粒体内逐渐转移到胞浆里,从而诱导 Caspase-3 的活化,Caspase-3 活化后进一步调控下游凋亡蛋白,从而引发凋亡级联反应,而线粒体内的 Cyt-C 则减少,反过来又诱发 ROS 的释放,进一步加剧线粒体的损伤。本研究发现,MF 治疗后, $\Delta\psi_m$ 恢复正常,且细胞内 ROS 水平下降到正常水平,缓解了 SAH 后神经细胞的氧化应激,表明 MF 具有抗氧化和清除氧自由基的特点。结果表明,SAH 组细胞胞浆内 Cyt-C 表达显著增加,线粒体内 Cyt-C 表达显著减少,Bax 和 Caspase-3 表达显著增加,Bcl-2 表达显著减少;应用 MF 后,胞浆内 Cyt-C 表达显著下降,线粒体内 Cyt-C 表达显著增加,Bax 和 Caspase-3 表达显著减少,Bcl-2 表达显著增加。以上结果表明 MF 可通过维持 $\Delta\psi_m$ 稳定,降低 ROS 产生的氧化应激,从而抑制细胞内凋亡的级联反应。

而 MF 如何在 SAH 后的神经细胞中发挥作用,去改善线粒体功能障碍和抑制神经细胞的凋亡成为关注的重点。PI3K/Akt/mTOR 信号通路在细胞生长、细胞周期、凋亡、自噬等方面有重要调节作用^[17]。有研究报道 PI3K/Akt 通路对于细胞的凋亡有抑制作用,而磷酸化的 Akt 可进一步激活 mTOR 信号通路,mTOR 信号通路作为该通路的重要下游效应蛋白,对细胞凋亡起着重要作用^[18]。本研究结果显示,SAH 组神经细胞内 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 的表达均降低,而细胞内 Bax、Caspase-3 和 Cyt-C 的表达升高,Bcl-2 的表达下降,表明 PI3K/Akt/mTOR 通路在 SAH 早期阶段可能受到了抑制,从而下游凋亡蛋白表达升高。而 MF+SAH 组,p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 的表达均增强,而相关凋亡蛋白表达受到抑制。说明 MF 通过 PI3K/Akt/mTOR 通路参与了对神经细胞内凋亡蛋白的调控。正常情况下,线粒体受损后溶酶体会被诱导清除受损线粒体,去维持线粒体的更新和功能。根据线粒体荧光和溶酶体荧光表明,在 SAH 组中更多的受损线粒体因为功能障碍而导致无法被溶酶体清除。而通过 MF 治疗过后,更多的线粒体被清除,预示着线粒体进入正常的清除途径,也可以从侧面反映出神经细胞线粒体功能障碍恢复正常。

综上所述,研究表明 MF 可以通过稳定 $\Delta\psi_m$,减少 ROS 的产生,改善线粒体功能障碍,从而抑制 SAH 早期阶段神经细胞的凋亡,而对于凋亡蛋白的调控与 PI3K/Akt/mTOR 通路有着密不可分的关系,MF 有望成为治疗早期 SAH 中潜在的治疗靶点。

参考文献

[1] WU P,LI Y,ZHU S,et al. Mdivi-1 alleviates

- early brain injury after experimental subarachnoid hemorrhage in rats, possibly via inhibition of Drp1-Activated mitochondrial fission and oxidative stress[J]. *Neurochem Res*, 2017, 42(5):1449-1458.
- [2] ZHAO H, LI Y, CHEN L, et al. HucMSCs-Derived miR-206-Knockdown exosomes contribute to neuroprotection in subarachnoid hemorrhage induced early brain injury by targeting BDNF[J]. *Neuroscience*, 2019, 417:11-23.
- [3] 俞越, 蔡菁. 金丝桃苷在大鼠蛛网膜下腔出血后早期脑损伤中的神经保护作用及机制研究[J]. *浙江医学*, 2020, 42(19):2030-2036.
- [4] 胡炜, 王沛, 王刚, 等. ω -3 多不饱和脂肪酸对大鼠蛛网膜下腔出血后神经元凋亡和自噬的影响[J]. *重庆医学*, 2020, 49(19):3195-3200.
- [5] 王豕辰, 徐珺, 董恒, 等. 芒果苷抑制金黄色葡萄球菌诱导的细胞凋亡[J]. *北京农学院学报*, 2020, 35(2):39-42.
- [6] DING L Z, TENG X, ZHANG Z B, et al. Mangiferin inhibits apoptosis and oxidative stress via BMP2/Smad-1 signaling in dexamethasone-induced MC3T3-E1 cells[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(5):2517-2526.
- [7] KAVITHA M, MANIVASAGAM T, ESSA M M, et al. Mangiferin antagonizes rotenone: induced apoptosis through attenuating mitochondrial dysfunction and oxidative stress in SK-N-SH neuroblastoma cells[J]. *Neurochem Res*, 2014, 39(4):668-676.
- [8] WANG X, PAN J, LIU D, et al. Nicorandil alleviates apoptosis in diabetic cardiomyopathy through PI3K/Akt pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(8):5349-5359.
- [9] HUANG L, HOU Y, WANG L, et al. p38 inhibitor protects mitochondrial dysfunction by induction of DJ-1 mitochondrial translocation after subarachnoid hemorrhage[J]. *J Mol Neurosci*, 2018, 66(2):163-171.
- [10] RANGARAJU V, LEWIS T J, HIRABAYASHI Y, et al. Pleiotropic mitochondria: the influence of mitochondria on neuronal development and disease[J]. *J Neurosci*, 2019, 39(42):8200-8208.
- [11] SHIN B, COWAN D B, EMANI S M, et al. Mitochondrial transplantation in myocardial ischemia and reperfusion injury[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 982:595-619.
- [12] LI Y, WU P, DAI J, et al. Inhibition of mTOR alleviates early brain injury after subarachnoid hemorrhage via relieving excessive mitochondrial fission[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2020, 40(4):629-642.
- [13] WANG Z, ZHOU F, DOU Y, et al. Melatonin alleviates intracerebral Hemorrhage-Induced secondary brain injury in rats via suppressing apoptosis, inflammation, oxidative stress, DNA damage, and mitochondria injury[J]. *Transl Stroke Res*, 2018, 9(1):74-91.
- [14] CHEN Y, HUANG L Y, ZHANG H Y, et al. EGCG protective mitochondrial dysfunction after subarachnoid hemorrhage via p38 α pathway[J]. *J Funct Food*, 2016, 23:115-123.
- [15] 吴庆, 程阔菊, 姚浩旗, 等. 芒果苷减轻低氧致原代大鼠心肌细胞的凋亡[J]. *基础医学与临床*, 2018, 38(2):169-173.
- [16] 黄立勇, 徐霞辉, 赵舒扬, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯对蛛网膜下腔出血后线粒体功能保护的机制研究[J/CD]. *中华脑科疾病与康复杂志(电子版)*, 2016, 6(3):152-157.
- [17] 赵光辉, 宋晓旭, 刘宁, 等. PI3K/AKT/MTOR 信号通路抑制剂在胃癌中的研究进展[J]. *癌症进展*, 2019, 17(9):1003-1007.
- [18] TONG X, ZHANG J, SHEN M, et al. Silencing of Tenascin-C inhibited inflammation and apoptosis via PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway in subarachnoid hemorrhage cell model[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2020, 29(1):104485.