

- [J]. *Basic Res Cardiol*, 2019, 114(6): 41
- 11 Ciarka A, Doan V, Velez - Roa S, *et al.* Prognostic significance of sympathetic nervous system activation in pulmonary arterial hypertension[J]. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2010, 181(11): 1269 - 1275
 - 12 Zhang H, Zhang J, Chen M, *et al.* Pulmonary artery denervation significantly increases 6 - min walk distance for patients with combined pre - and post - capillary pulmonary hypertension associated with left heart failure: the PADN - 5study [J]. *JACC Cardiovasc Interv*, 2019, 12(3): 274 - 284
 - 13 Alabed S, Shahin Y, Garg P, *et al.* Cardiac - MRI predicts clinical worsening and mortality in pulmonary arterial hypertension: a systematic review and Meta - analysis[J]. *JACC*, 2021, 14(5): 931 - 942
 - 14 Thakur A, Alam MJ, Ajayakumar MR, *et al.* Norepinephrine - induced apoptotic and hypertrophic responses in H9c2 cardiac myoblasts are characterized by different repertoire of reactive oxygen species generation[J]. *Redox Biol*, 2015, 5: 243 - 252
 - 15 Wang P, Wang Z, Yan Y, *et al.* Psychological stress up - regulates CD147 expression through beta - arrestin1/ERK to promote proliferation and invasiveness of glioma cells[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 571181
 - 16 Radosinska J, Barancik M, Vrbjar N. Heart failure and role of circulating MMP - 2 and MMP - 9[J]. *Panminerva Med*, 2017, 59(3): 241 - 253
 - 17 Wang P, Hao X, Li X, *et al.* Curcumin inhibits adverse psychological stress - induced proliferation and invasion of glioma cells via down - regulating the ERK/MAPK pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(15): 7190 - 7203
 - 18 Vigil - Garcia M, Demkes CJ, Eding JEC, *et al.* Gene expression profiling of hypertrophic cardiomyocytes identifies new players in pathological remodelling[J]. *Cardiovascular Research*, 2021, 117(6): 1532 - 1545
 - 19 Ye X, Lin J, Lin Z, *et al.* Axin1 up - regulated 1 accelerates stress - induced cardiomyocytes apoptosis through activating Wnt/beta - catenin signaling[J]. *Exp Cell Res*, 2017, 359(2): 441 - 448
 - 20 陈洁, 胡志玲, 代地林, 等. 颈动脉窦电刺激对野百合碱诱导肺动脉高压大鼠的影响[J]. *医学研究杂志*, 2021, 50(12): 34 - 37

(收稿日期: 2022 - 03 - 10)

(修回日期: 2022 - 03 - 18)

亚砷酸钠对 NE - 4C 细胞 Nrf2 及 Hippo 信号通路的影响

熊昊杰 申晨晨 马 艳

摘要 **目的** 探讨亚砷酸钠对 NE - 4C 细胞的核因子 - 类胡萝卜素 2 相关因子 (nf - e2 - related factor 2, Nrf2) 通路及河马 (Hippo) 信号通路的影响。**方法** 以不同浓度亚砷酸钠干预细胞 48h, 采用 CCK - 8 法检测细胞活力; 分别采用 Western blot 法检测亚砷酸钠对 NE - 4C 细胞 Nrf2 通路相关蛋白的影响, qRT - PCR 检测亚砷酸钠对 NE - 4C 细胞 Hippo 信号通路相关分子 mRNA 表达的影响。**结果** 亚砷酸钠干预 NE - 4C 细胞 48h 后, 除 0.2、0.4 μmol/L 组外, 各干预组细胞活力随亚砷酸钠浓度的增加而降低; 亚砷酸钠干预后抗氧化蛋白指标 Nrf2、血红素加氧酶 1 (heme oxygenase - 1, HO - 1) 蛋白表达升高, Kelch 样 ECH 联合蛋白 1 (Kelch like ECH associated protein 1, Keap1) 蛋白表达降低, 呈剂量依赖性, 提示亚砷酸钠可诱导 NE - 4C 细胞产生氧化应激进而激活抗氧化系统; Hippo 信号通路核心分子哺乳动物 STE20 激酶 (mammalian STE20 - like protein kinase 1, MST1)、Salvador 同系物 1 (salvador homolog 1, SAV1)、Mps 结合激酶激活物 1 (Mps once binder kinase activator like 1, MOB1)、大肿瘤抑制基因 1 (large tumor suppressor homolog 1, LATS1)、Yes 相关蛋白 (Yes - associated protein, YAP) mRNA 的表达水平随亚砷酸钠浓度的增加而升高。**结论** 亚砷酸钠可抑制 NE - 4C 细胞增殖, 诱导细胞产生氧化应激并激活 Hippo 信号通路。

关键词 亚砷酸钠 神经干细胞 Hippo 通路 Nrf2 通路

中图分类号 R114 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.12.007

Effects of NaAsO₂ on Nrf2 and Hippo Signal Pathway in NE - 4C Cells. XIONG Haojie, SHEN Chenchen, MA Yan. School of Public Health, Xinjiang Medical University, Xinjiang 830011, China

Abstract Objective To investigate the effects of NaAsO₂ on nf - e2 - related factor 2 (Nrf2) pathway and hippo (Hippo) path-

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81760568)

作者单位: 830011 乌鲁木齐, 新疆医科大学公共卫生学院

通信作者: 马艳, 电子信箱: iris_511@163.com

way in NE-4C cells. **Methods** The cells were treated with different concentrations of NaAsO₂ for 48h, and the cell viability was detected by CCK-8 method. The effects of NaAsO₂ on Nrf2 pathway-related proteins in NE-4C cells were detected by Western blot, and the effects of NaAsO₂ on the expression of Hippo signal pathway-related molecules mRNA in NE-4C cells were detected by qRT-PCR. **Results** After NE-4C cells were treated with NaAsO₂ for 48h, except for 0.2 and 0.4 μmol/L group, the cell viability decreased with the increase of NaAsO₂ concentration, the expression of antioxidant protein indexes Nrf2 and HO-1 increased and the expression of Keap1 protein decreased in a dose-dependent manner, suggesting that NaAsO₂ can induce oxidation in NE-4C cells and activate antioxidant system. The expression of MST1, SAV1, MOB1, LATS1 and YAP mRNA, the core molecules of Hippo signaling pathway, increased with the increase of NaAsO₂ concentration. **Conclusion** NaAsO₂ can inhibit the proliferation of NE-4C cells, induce oxidative stress and activate Hippo signal pathway.

Key words NaAsO₂; Neural stem cell; Hippo pathway; Nrf2 pathway

砷是广泛分布于自然界的类金属元素,多数流行病学研究、体内及体外细胞实验表明,砷暴露具有神经毒性。大脑作为砷中毒的靶器官之一,砷可以透过血-脑脊液屏障或胎盘屏障在脑组织中蓄积,长期接触会导致慢性砷中毒进而增加神经系统紊乱的风险^[1-4]。由于神经细胞对有毒物质较为敏感且不容易再生,使得砷对神经系统的毒性研究显得尤为重要。目前砷致神经发育毒性的具体机制尚不明确,其多集中在凋亡、氧化应激、信号通路改变等方面,而信号通路的交叉融合对砷诱导的细胞凋亡及其之间的相互关系受到广泛关注^[5-8]。有研究表明,核因子-类胡萝卜素 2 相关因子(nf-e2-related factor 2, Nrf2)、河马(Hippo)信号通路的激活和调控是影响细胞凋亡的关键因素之一^[9,10]。而关于砷致神经干细胞凋亡的机制研究相对较少,因此,本研究主要研究亚砷酸钠对小鼠神经干细胞(NE-4C 细胞)增殖、Nrf2 及 Hippo 信号通路相关分子表达水平的影响,从分子水平上探究砷致神经干细胞损伤的可能机制。

材料与方 法

1. 细胞株:小鼠神经干细胞(NE-4C 细胞),购自广州吉妮欧公司。

2. 试剂与仪器:亚砷酸钠(NaAsO₂,分析纯)购自北京化学试剂三厂;胎牛血清购自美国 Sigma 公司;MEM 低糖培养基购自美国 HyClone 公司;0.25% 胰蛋白酶、青链霉素混合液、谷氨酰胺、PBS 缓冲液购自美国 HyClone 公司;RIPA 裂解液、细胞裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒购自北京索莱宝公司;兔抗小鼠 Nrf2 单克隆抗体购自中国万类生物公司、兔抗小鼠 HO-1 单克隆抗体购自英国 Abcam 公司、兔抗小鼠 Keap1 单克隆抗体购自中国万类生物公司;Anti-rabbit IgG-HRP 购自美国 CST 公司 Revert Aid First Strand cDNA Synthe-

sis Kit、QuantiNova SYBR Green PCR Kit 购自日本 TaKaRa 公司;高速离心机购自美国 Sigma 公司;电泳仪购自美国 Bio-Rad 公司;化学发光凝胶成像仪购自美国 Protein Simple 公司;三色预染 Marker、PCR 仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

3. 细胞培养及分组:NE-4C 细胞用含 10% 胎牛血清的 MEM(含 10% FBS、1% 青霉素-链霉素、1% 谷氨酰胺)于 37℃、5% CO₂ 条件下培养,隔天换液,用 0.5% 胰蛋白酶消化,传代培养。取对数生长期细胞开展后续实验。药物干预时间按照参考文献及预实验结果确定干预时长为 48h。实验分组按照亚砷酸钠干预细胞 48h 的 IC₅₀ = 1.608 μmol/L 分为 0(对照组)、0.4、0.8、1.6、2.4、3.2 μmol/L 组。

4. CCK-8 检测亚砷酸钠对 NE-4C 细胞活力的影响:从培养箱中取出处于对数生长期的细胞(NE-4C 细胞密度达到 80%~90%),胰酶消化、离心、吸弃上清后,加 1ml 完全培养基,吹打混匀制备成细胞悬液,根据细胞计数结果,吸取一定量的细胞悬液进行稀释并将悬液吸取 100 μl 接种至 96 孔板中,每孔个数为 3 × 10³,每组设置 3 个复孔,放入 37℃ 培养箱过夜,第 2 天早上吸弃上清,加入不同浓度的亚砷酸钠溶液,连续培养 48h 后,每孔加入 10 μl 的 CCK-8 试剂,37℃ 培养箱中培养 1~2h 后,酶标仪测定 450nm 吸光度值。

5. Western blot 法检测 Nrf2、Keap1、HO-1 蛋白表达:染毒结束后,收集细胞于冰上裂解 30min。4℃、12000r/min 离心 10min,取上清进行 BCA 蛋白定量。蛋白变性后取 20~30 μg 进行上样,电泳、转膜,5% 的脱脂奶粉封闭 2h,一抗 4℃ 孵育过夜,1 × TBST 洗膜 3 次,每次 10min,二抗室温孵育 1h,洗膜 3 次后进行显影,采用 Image J 进行灰度值分析。

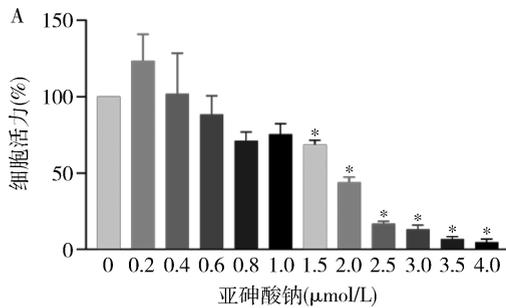
6. qRT-PCR 检测 Hippo 信号通路相关分子 mRNA 表达:染毒结束后,利用 Trizol 法提取细胞总

RNA,并测定样品的浓度和纯度。根据反转录试剂盒说明书以总 RNA 为模板反转录合成 cDNA,利用 Primer - Blast 软件设计针对 MST1、SAV1、MOB1、LATS1、YAP 的荧光定量 PCR 引物并合成(生工生物工程股份有限公司),引物序列详见表 1。根据荧光定量试剂盒说明书建立荧光定量 PCR 反应体系,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值表示 mRNA 的相对表达量。

表 1 实验中所使用 mRNA 引物序列

基因名称	引物序列(5'→3')
MST1	上游引物: CAGGTGAACAGTATCGTGGCTCAG
	下游引物: ATTGTGGCTTGTGCGGTGTCTC
SAV1	上游引物: FACCTGTTCAGGAGCCTAGCAGATG
	下游引物: AGAAGAAGTATCGGAGCCAGAGTC
MOB1	上游引物: GCCATATCTACCACCAGCAGCTTTG
	下游引物: TGCCAACTCACGCCATCAATCAG
LATS1	上游引物: TCACAGCGGATGTAGGAAGACC
	下游引物: CTCGGAGGTGGTGGAGGAGTAAC
YAP	上游引物: TGACAACCAATAGTCCGATCCCTTTC
	下游引物: CCACACTGTTGAGGAAGTCGTCTG
GAPDH	上游引物: GGTGTCTCCTGCGACTTCA
	下游引物: TGGTCCAGGTTTCTTACTCC

7. 统计学方法:应用 SPSS 25.0 统计学软件对数据进行统计分析,符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。多组独立样本的比较,当数据满足独立性、正态性、方差齐性时,采用单因素方差



分析,两两比较采用 LSD 法或 Dunnett's T3 法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 亚砷酸钠对 NE - 4C 细胞凋亡的影响:不同浓度亚砷酸钠干预 NE - 4C 细胞 48h 后,CCK - 8 结果显示,与对照组比较,0.2 和 0.4 μmol/L 组细胞活力高于对照组,但差异无统计学意义;0.6 ~ 1.0 μmol/L 亚砷酸钠染毒的细胞活力呈逐渐下降趋势,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$);1.5 ~ 4.0 μmol/L 亚砷酸钠染毒的细胞活力明显下降,差异有统计学意义 ($P < 0.05$,表 2,图 1)。

表 2 亚砷酸钠对 NE - 4C 细胞活力的影响 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

亚砷酸钠 (μmol/L)	细胞活力 (%)
0	100.00 ± 0.00
0.2	123.50 ± 17.40
0.4	101.90 ± 26.60
0.6	83.30 ± 12.40
0.8	71.00 ± 5.90
1.0	75.40 ± 7.00
1.5	68.60 ± 3.00*
2.0	44.00 ± 3.40*
2.5	16.70 ± 1.80*
3.0	13.10 ± 2.80*
3.5	6.70 ± 1.70*
4.0	4.90 ± 1.90*

与 0 μmol/L 比较, * $P < 0.05$

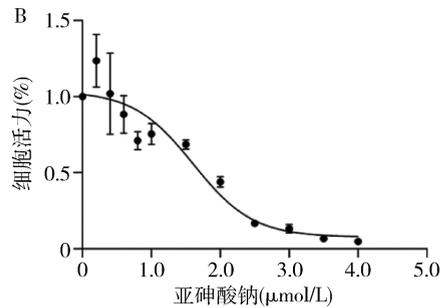


图 1 亚砷酸钠对 NE - 4C 细胞活力的影响

A. 细胞活力柱状图;B. 细胞活力曲线图。与 0 μmol/L 比较, * $P < 0.05$

2. 亚砷酸钠对 NE - 4C 细胞 Nrf2、Keap1、HO - 1 蛋白表达的影响:不同浓度亚砷酸钠干预 NE - 4C 细胞 48h 后,Western blot 法检测结果显示,与对照组比较,0.8、1.6、2.4、3.2 μmol/L 组 HO - 1 蛋白表达水平升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);与对照组比较,2.4、3.2 μmol/L 组 Nrf2 蛋白表达水平升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);与对照组比较,1.6、2.4、3.2 μmol/L 组 Keap1 蛋白表达水平下降,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结果详见表 3 和图 2。

表 3 亚砷酸钠对 NE - 4C 细胞氧化应激相关蛋白表达的影响 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

亚砷酸钠 (μmol/L)	HO - 1	Nrf2	Keap1
0	0.19 ± 0.09	0.83 ± 0.04	1.08 ± 0.14
0.4	0.28 ± 0.07	0.91 ± 0.11	0.98 ± 0.09
0.8	0.61 ± 0.04*	0.90 ± 0.21	0.85 ± 0.28
1.6	0.96 ± 0.11*	0.97 ± 0.07	0.71 ± 0.25*
2.4	1.15 ± 0.12*	1.09 ± 0.14*	0.54 ± 0.11*
3.2	1.21 ± 0.13*	1.11 ± 0.06*	0.64 ± 0.12*

与 0 μmol/L 比较, * $P < 0.05$

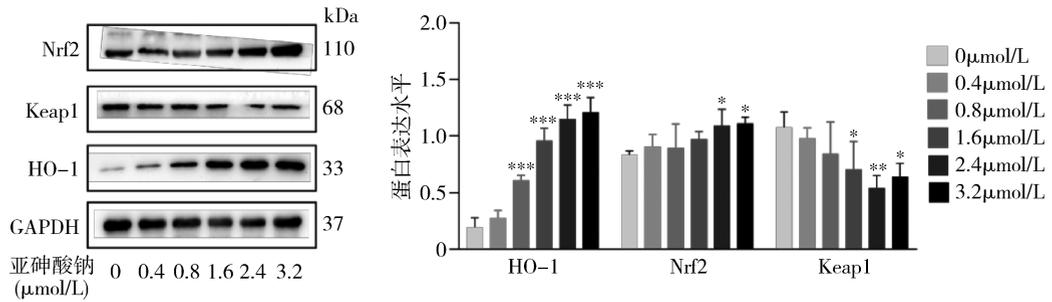


图2 亚砷酸钠对 NE-4C 细胞氧化应激相关蛋白表达的影响

A. 免疫蛋白印迹法结果; B. 蛋白表达水平柱状图。
与 0 μmol/L 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

3. 亚砷酸钠对 NE-4C 细胞 Hippo 信号通路核心分子 mRNA 表达的影响: 不同浓度亚砷酸钠干预 NE-4C 细胞 48h 后, RT-PCR 结果显示, 与对照组比较, 2.4、3.2 μmol/L 组 MST1 mRNA 表达水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与对照组比较, 1.6、2.4、3.2 μmol/L 组 MOB1 mRNA 表达水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与对照组比较, 1.6、2.4、

3.2 μmol/L 组 SAV1 mRNA 表达水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与对照组比较, 2.4、3.2 μmol/L 组 LATS1 mRNA 表达水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与对照组比较, 1.6、2.4、3.2 μmol/L 组 YAP mRNA 表达水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 4, 图 3)。

表 4 亚砷酸钠对 NE-4C 细胞 Hippo 信号通路核心分子 mRNA 表达的影响 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

亚砷酸钠 (μmol/L)	MST1	MOB1	SAV1	LATS1	YAP
0	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
0.4	1.11 ± 0.03	1.15 ± 0.05	1.24 ± 0.26	0.89 ± 0.02	1.14 ± 0.15
0.8	1.06 ± 0.25	1.45 ± 0.08	1.32 ± 0.31	0.61 ± 0.05	1.13 ± 0.07
1.6	1.46 ± 0.20	1.61 ± 0.08 *	1.74 ± 0.38 *	1.17 ± 0.10	1.60 ± 0.12 *
2.4	2.70 ± 0.21 *	2.41 ± 0.08 *	1.99 ± 0.62 *	2.87 ± 0.01 *	1.79 ± 0.41 *
3.2	4.14 ± 0.45 *	2.47 ± 0.18 *	2.18 ± 0.35 *	1.38 ± 0.05 *	2.03 ± 0.08 *

与 0 μmol/L 组比较, * $P < 0.05$

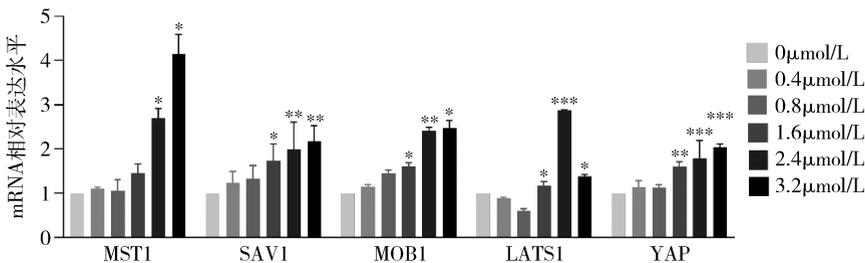


图3 亚砷酸钠对 NE-4C 细胞 Hippo 信号通路核心分子 mRNA 表达的影响

与 0 μmol/L 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

讨 论

砷及其化合物具有明显的神经发育毒性, 研究证明砷通过诱导凋亡、自噬、坏死等引发神经细胞死亡。有研究认为, 极低剂量砷对人体有益, 如刺激造血、促进细胞增殖等。本研究结果显示, 极低剂量 (0.2 μmol/L) 砷可促进细胞的增殖, 而随着亚砷酸钠

浓度的增加活力降低, 抑制了细胞增殖。长期接触砷对机体中枢及外周神经系统造成不同程度的损害, 进而影响机体某些神经行为功能、子代的神经发育和调节系统等^[4]。目前, 氧化应激被认为是砷致神经细胞毒性损伤的重要机制之一, 其受控于诸多因素调节, 如信号通路、酶活性等, 但具体机制尚不明确。正

常情况下,机体处于氧化-抗氧化的动态平衡状态,当遭受某种有害刺激时,细胞及机体内高活性分子如活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)和活性氮自由基(reactive nitrogen species, RNS)产生过多,氧化程度超出机体的清除能力,氧化系统和抗氧化系统的动态平衡被打破,从而导致细胞损伤^[11]。

本研究结果显示,亚砷酸钠干预染毒可以诱导 NE-4C 细胞内 ROS 产生,提示亚砷酸钠可引起细胞产生氧化应激,而氧化应激可激活细胞内抗氧化系统。抗氧化反应多表现为清除 ROS 和修复受损细胞的生物分子。Nrf2 作为细胞抗氧化系统中的核转录因子,被 Kelch 样 ECH 联合蛋白 1 (recombinant Kelch like ECH associated protein 1, Keap1) 锚定在细胞质而被蛋白酶体降解,Keap1 作为 Nrf2 活性的抑制剂,在 Nrf2 活性的调控中起着关键作用^[12,13]。此外,Keap1 也是氧化应激的“传感器”。在发生氧化应激后,Nrf2 与 Keap1 分离后进入细胞核,激活下游相关靶基因,如血红素加氧酶 1 (heme oxygenase-1, HO-1),同时与小 Maf (small Maf proteins, sMafs) 蛋白结合成异二聚体,然后结合抗氧化反应元件 (antioxidant response element, ARE),以此来激活下游相关分子的基因转录,增强细胞的解毒及抗氧化能力,维持细胞氧化还原态的动态平衡^[13]。

HO-1 蛋白作为热休克蛋白中的一种,在正常组织中几乎不表达,当细胞受到氧化应激时,HO-1 大量产生以提高机体的抗氧化水平,减少机体对氧化应激的敏感度,维持机体正常生存并减少细胞凋亡的发生^[14]。Abiko 等^[15]将肝癌细胞暴露于砷中,结果显示,HO-1 可被持续激活并伴随 Nrf2 激活时间延长,而 HO-1 基因敲除可降低 Nrf2 激活时间。同时使用 HO-1 抑制剂预处理可增强砷暴露诱导的细胞毒性作用,表明 HO-1 可能是 Nrf2 激活的正反馈调节因子。Reichard 等^[16]研究认为,砷不仅会引起 Nrf2 的激活而且也会引起 HO-1 转录抑制因子 Bach1 的失活,因此当细胞暴露于砷环境时,会出现 HO-1 的持续激活。本研究结果显示,不同浓度亚砷酸钠作用于 NE-4C 细胞后,Nrf2、HO-1 蛋白表达随亚砷酸钠浓度的增加而升高,Keap1 蛋白的表达随亚砷酸钠浓度的增加而降低,提示亚砷酸钠激活了 NE-4C 细胞抗氧化系统中 Nrf2 通路以抵抗氧化应激损伤。

细胞的增殖、凋亡并不是受单一信号通路调控。Hippo 通路中的相关分子或激酶也通过促进或抑制细胞内很多其他信号通路来发挥其相应的作用,共同

调节着机体正常的生命活动。哺乳动物 Hippo 信号通路的核心是一个激酶级联,其高度保守且通过调控细胞增殖或凋亡来决定器官大小,在生长发育和维持组织稳态等方面发挥关键作用^[17]。在此通路中,上游信号活化哺乳动物 STE20 激酶 (mammalian STE20-like protein kinase 1/2, MST1/2) 后,与 Salvador 同系物 1 (Salvador homolog 1, SAV1) 蛋白结合成复合物,继而磷酸化下游激酶肿瘤抑制基因 1/2 (large tumour suppressor 1/2, LATS1/2),活化的 LATS1/2 与 Mps 结合激酶激活物 1 (Mps once binder kinase activator-like 1, MOB1) 相结合磷酸化下游核心效应分子 Yes 相关蛋白 (Yes-associated protein, YAP) 及其旁系同源分子, YAP 无法与 DNA 直接结合,必须与 TEA 结构域家族转录因子 (transcriptional enhancer associate domain family members, TEAD) 等转录因子相互作用才能介导下游靶基因的表达调控。阻断 Hippo 信号通路或该通路核心成员缺失将导致 YAP 入核增加,与转录因子 TEAD 等结合并诱导与细胞增殖、存活和迁移有关的一系列基因的表达^[18,19]。

本研究结果显示,与对照组比较,不同浓度亚砷酸钠干预 NE-4C 细胞 48h 后,Hippo 信号通路关键分子 MST1、MOB1、SAV1、YAP mRNA 表达水平随亚砷酸钠浓度的增加而升高。LATS mRNA 表达水平随亚砷酸钠浓度的升高呈现先降低后升高的趋势。表明亚砷酸钠可激活 Hippo 信号通路。而经典的 Hippo 信号通路激活之后,YAP 入核减少从而降低其表达,与本研究结果显示 YAP mRNA 表达增加不一致。以上情况可能跟 NE-4C 细胞缺少 p53 基因有关。有研究发现,在 p53 缺失的小鼠自发性淋巴瘤中通常表现出 YAP 的上调,而 YAP 的变化与 MST1 的活性无关。这似乎证明 p53 的缺失和 YAP 的联合上调是通过一种未知的机制获得了一种选择性优势^[20]。Li 等^[21]研究发现,砷可诱导染砷小鼠皮肤 Hippo 信号通路核心分子蛋白表达增加,且砷可独立于 Hippo 信号通路来激活 YAP。这与本研究结果相一致,因此本研究认为,亚砷酸钠可以激活 Hippo 信号通路,同时也独立于 Hippo 信号通路激活 YAP,其具体激活机制还有待于深入研究。

综上所述,本研究发现亚砷酸钠可抑制 NE-4C 细胞增殖,诱导细胞抗氧化分子 Nrf2 通路激活以抵抗氧化应激;同时亚砷酸钠可诱导 Hippo 信号通路激活,且可独立于 Hippo 信号通路激活 YAP,但其具体激活机制尚需开展进一步研究予以证实。

参考文献

- Signes - Pastor AJ, Vioque J, Navarrete - Muñoz EM, *et al.* Inorganic arsenic exposure and neuropsychological development of children of 4 - 5 years of age living in Spain [J]. *Environ Res*, 2019, 174: 135 - 142
- 宋秋楠, 郑玉建, 马艳, 等. 亚慢性饮水砷暴露对发育期大鼠学习记忆与运动能力的影响[J]. *环境与健康杂志*, 2019, 36(6): 491 - 494, 565
- 王念, 潘际刚, 范海琼, 等. 亚砷酸钠对神经细胞活力及 3MST 蛋白表达的影响[J]. *现代预防医学*, 2017, 44(11): 2046 - 2049
- Medda N, Patra R, Ghosh TK, *et al.* Neurotoxic mechanism of arsenic: synergistic effect of mitochondrial instability, oxidative stress, and hormonal - neurotransmitter impairment [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2020, 198(1): 8 - 15
- 秦文娟, 管东方, 史红娟, 等. 砷中毒对大鼠纹状体神经细胞与肝组织的毒性和氧化应激作用[J]. *石河子大学学报: 自然科学版*, 2017, 35(3): 339 - 343
- Nurchi VM, Djordjevic AB, Crisponi G, *et al.* Arsenic toxicity: molecular targets and therapeutic agents [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(2): 235
- Lau A, Whitman SA, Jaramillo MC, *et al.* Arsenic - mediated activation of the Nrf2 - Keap1 antioxidant pathway [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2013, 27(2): 99 - 105
- Sun H, Yang Y, Gu M, *et al.* The role of Fas - FasL - FADD signaling pathway in arsenic - mediated neuronal apoptosis in vivo and in vitro [J]. *Toxicol Lett*, 2022, 356: 143 - 150
- Davis JR, Tapon N. Hippo signalling during development [J]. *Development*, 2019, 146(18): 1196
- Xu G, Gu Y, Yan N, *et al.* Curcumin functions as an anti - inflammatory and antioxidant agent on arsenic - induced hepatic and kidney injury by inhibiting MAPKs/NF - κ B and activating Nrf2 pathways [J]. *Environ Toxicol*, 2021, 36(11): 2161 - 2173
- Alkadi H. A review on free radicals and antioxidants [J]. *Infect Disord Drug Targets*, 2020, 20(1): 16 - 26
- Canning P, Sorrell FJ, Bullock AN. Structural basis of Keap1 interactions with Nrf2 [J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, 88(Pt B): 101 - 107
- 胡勇, 王蕾, 王胜利, 等. Nrf2 - Keap1 - ARE 信号通路在燃煤型砷中毒大鼠肝损伤中的作用 [J]. *环境与健康杂志*, 2020, 37(2): 100 - 105
- 王惠惠, 陈锋, 朱佳玉, 等. 亚砷酸钠对 SV - HUC - 1 细胞 NRF2 通路影响 [J]. *中国公共卫生*, 2017, 33(1): 95 - 97
- Abiko Y, Shinkai Y, Sumi D, *et al.* Reduction of arsenic - induced cytotoxicity through Nrf2/HO - 1 signaling in HepG2 cells [J]. *J Toxicol Sci*, 2010, 35(3): 419 - 423
- Reichard JF, Sartor MA, Puga A. BACH1 is a specific repressor of HMOX1 that is inactivated by arsenite [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(33): 22363 - 22370
- Furth N, Aylon Y, Oren M. p53 shades of Hippo [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(1): 81 - 92
- 包笑妹, 何晴, 王莹, 等. Hippo/YAP 信号通路在神经系统中的作用及机制研究进展 [J]. *遗传*, 2017, 39(7): 630 - 641
- 刘金武, 张慧, 马宁宁, 等. Hippo 信号通路及相关疾病的研究进展 [J]. *兰州大学学报: 医学版*, 2020, 46(1): 58 - 62
- Kim TS, Lee DH, Kim SK, *et al.* Mammalian sterile 20 - like kinase 1 suppresses lymphoma development by promoting faithful chromosome segregation [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(20): 5386 - 5395
- Li C, Srivastava RK, Elmetts CA, *et al.* Arsenic - induced cutaneous hyperplastic lesions are associated with the dysregulation of Yap, a Hippo signaling - related protein [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 438(4): 607 - 612

(收稿日期: 2022 - 03 - 02)

(修回日期: 2022 - 03 - 15)

不同应激时间对大鼠抑郁样行为及脑内神经炎症的动态变化

陈雅洁 李月峰

摘要 **目的** 研究不同应激时间后大鼠相关脑区内神经炎症及脑区代谢的动态变化以及两者的相关性。**方法** 将 20 只 SD 大鼠随机分成模型组 ($n = 10$) 和对照组 ($n = 10$)。模型组采取孤养与慢性不可预见性轻度应激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS) 相结合的方法建立应激模型, 持续 6 周。实验前及第 2、4、6 周末对大鼠测定体质量及行为学指标, 同时采用 ^{18}F 标记的吡啶并嘧啶类的 TSPO 配体 (^{18}F - translocator protein radioligand of pyrazolopyrimidines, ^{18}F - DPA - 714) 及 ^{18}F 标记的氟代脱氧葡萄糖 (^{18}F - fluorodeoxyglucose, ^{18}F - FDG) 扫描检测相关脑区内神经炎症及脑区代谢的动态变化。**结果** 在给予应激后, 第

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81301194)

作者单位: 212001 镇江, 江苏大学附属医院医学影像科

通信作者: 李月峰, 电子邮箱: lyf1232019@163.com