

DOI:10.13350/j.cjpb.231209

• 论著 •

MiR-132 调节 PTEN/Akt/Foxo3 信号通路对细菌性脑膜炎大鼠神经元凋亡的影响

赵孟, 姜艳*

(中国医科大学附属盛京医院急诊科,辽宁沈阳 110035)

【摘要】 目的 探究 miR-132 调节磷酸酯酶-张力蛋白同源基因(PTEN)/蛋白激酶 B(AKT)/叉头蛋白 3(Foxo3)信号通路对细菌性脑膜炎(BM)大鼠神经元凋亡的影响。方法 将 60 只 SD 大鼠随机分为对照组(Control 组)、模型组(Model 组)、激活剂阴性对照组(NC agomir 组)、miR-132 激活剂组(miR-132 agomir 组)和 miR-132 激活剂+AKT 抑制剂 MK-2206 组(miR-132 agomir+MK-2206 组),每组 12 只。经大鼠小脑延髓池注射 B 族溶血性链球菌(GBS)建立大鼠 BM 模型,采用 Loeffler 神经学评分评估大鼠神经功能损伤情况,采用 ELISA 检测大鼠脑脊液中白细胞介素(IL)-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平。将大鼠处死,取海马组织,苏木精-伊红(HE)染色观察病理损伤,TUNEL 染色观察神经元凋亡情况;提取大鼠海马组织核酸,采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 miR-132 水平;提取大鼠海马组织蛋白,采用 Western blot 检测 PTEN/AKT/FOXO3 信号通路和凋亡相关蛋白表达情况。结果 与 Control 组相比,Model 组大鼠神经功能评分、海马组织 miR-132 水平、Bcl-2 蛋白表达水平、AKT 及 FOXO3 磷酸化水平均显著降低(均 $P < 0.05$),脑脊液 IL-6 和 TNF- α 水平、海马组织神经元凋亡率、PTEN 和 Bax 蛋白水平均显著升高(均 $P < 0.05$)。HE 染色观察海马组织脑膜增厚,细胞排列疏松、紊乱,部分核固缩,组织受损严重。与 Model 组相比,miR-132 agomir 组大鼠相关指标变化与上述相反(均 $P < 0.05$);海马组织损伤减轻,神经元细胞排列较为整齐,细胞较为完整。TUNEL 染色检查大鼠海马组织神经元凋亡率,Model 组较 Control 组显著升高($P < 0.05$),miR-132 agomir 组较 Model 组和 NC agomir 组显著降低($P < 0.05$),miR-132 agomir+MK-2206 组较 miR-132 agomir 组显著升高($P < 0.05$)。结论 miR-132 可下调 PTEN 表达,从而促进 AKT 与 FOXO3 的磷酸化水平,抑制 BM 大鼠的神经元凋亡。

【关键词】 miR-132; 磷酸酯酶-张力蛋白同源基因/蛋白激酶 B/叉头蛋白 3 信号通路; 细菌性脑膜炎; 凋亡

【中图分类号】 R378

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)12-1411-05

[Journal of Pathogen Biology. 2023 Dec;18(12):1411-1415,1423.]

Effect of MiR-132 on neuronal apoptosis in bacterial meningitis rats by regulating the PTEN/Akt/Foxo3 signaling pathway

ZHAO Meng, JIANG Yan (Department of Emergency, Shengjing Hospital Affiliated to China Medical University, Shenyang 110035, China)*

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of miR-132 on neuronal apoptosis in bacterial meningitis (BM) rats by regulating the phosphatase tensin homologous gene (PTEN)/protein kinase B (AKT)/forkhead protein 3 (Foxo3) signaling pathway. **Methods** Sixty SD rats were randomly separated into Control group, Model group, activator negative control group (NC agomir group), miR-132 activator group (miR-132 agomir group), and miR-132 activator+AKT inhibitor MK-2206 group (miR-132 agomir+MK-2206 group), with 12 rats in each group. The injection of group B hemolytic streptococci (GBS) into the cerebellomedullary cistern of rats was used to establish a rat BM model. Loeffler neurological score was applied to evaluate the neurological impairment in rats. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was applied to detect levels of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in cerebrospinal fluid. Rats were euthanized and hippocampal tissue was taken. Hematoxylin-eosin (HE) staining was applied to observe pathological damage in hippocampal tissue. TUNEL staining was applied to observe neuronal apoptosis in hippocampal tissue. Extracted nucleic acid from rat hippocampal tissue and detected miR-132 levels using real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR). Extracted proteins from rat hippocampal tissue and used Western blot to detect the expression of PTEN/AKT/FOXO3 signaling pathway and apoptosis related proteins. **Results** Compared with the Control group, the neural function score, the level of miR-132, the expression of Bcl-2 protein, the phosphorylation levels of AKT and FOXO3 in hippocampal tissues in the Model group were obviously reduced ($P < 0.05$), the levels of IL-6 and

* 【通讯作者】 姜艳, E-mail:748237545@qq.com

【作者简介】 赵孟(1984-),女,辽宁辽中人,本科,护师,主要从事急诊临床护理方面的研究。E-mail:zhaomeng89600@163.com

TNF- α in cerebrospinal fluid, the rate of neuronal apoptosis, and the expression of PTEN and Bax proteins in hippocampal tissues were obviously increased ($P < 0.05$), the meninges of the hippocampus tissue thickened, the arrangement of cells was loose and disordered, some nuclei pyknosis, and the tissue was severely damaged. Compared with the Model group, the changes in relevant indicators in miR-132 agomir group were opposite to the above ($P < 0.05$), the damage to the hippocampal tissue was alleviated, and the arrangement of neuronal cells was relatively neat and the cells were relatively intact. AKT inhibitor MK-2206 was able to alleviate the inhibitory effect of miR-132 on neuronal apoptosis in BM rats.

Conclusion MiR-132 promotes phosphorylation levels of AKT and FOXO3, and inhibits neuronal apoptosis in BM rats by down-regulating PTEN expression.

【Key words】 MiR-132; phosphate and tension homology deleted on chromosome ten/protein kinase B/forkhead box O3 signaling pathway; Bacterial meningitis; Apoptosis

细菌性脑膜炎(bacterial meningitis, BM)是常见的一种中枢神经系统感染性和炎性疾病,主要由细菌或病毒的感染引起,多发于新生儿和儿童^[1]。BM 常见的致病菌有 B 族溶血性链球菌(group B streptococcus hemolytic, GBS)、肺炎球菌、流感嗜血杆菌等,其中 GBS 导致的 BM 可导致约 10% 的患儿死亡,25%~35% 的患儿留下严重的神经系统后遗症^[2-3]。BM 的疾病进展和不良预后与氧化应激、炎性因子释放所致的神经元损伤等过程密切相关,其中神经元凋亡是神经元损伤的类型之一^[4]。为了降低 BM 病死率和致残率,探究 BM 的致病机制和寻找科学的治疗方式至关重要。miRNA 是一类由 19~25 个核苷酸构成的内源性非编码 RNA 分子,能控制许多信号通路影响细胞活动和通信^[5]。miR-132 最初在小鼠神经组织中被发现,具有广泛的神经调节功能,能够影响神经元轴突生长、神经迁移和神经可塑性,其失调与多种神经系统疾病如神经退行性疾病、神经系统感染、脑中风、BM 等密切相关^[6-7]。研究发现,miR-132 可调控磷酸酯酶-张力蛋白同源基因(phosphate and tension homology deleted on chromosome ten, PTEN)/蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT)/叉头蛋白 3(forkhead box O3, Foxo3)信号通路,影响胰腺 β 细胞的增殖和存活,其中 PTEN 是 AKT/FOXO3 的负性调节基因^[8]。但关于 PTEN/AKT/FOXO3 信号通路在 BM 中的影响鲜有报道。本研究以 BM 大鼠为实验对象,探究 miR-132 对 BM 大鼠神经元的凋亡的影响及具体机制。

材料与方法

1 材料

1.1 实验动物 SPF 级雄性 SD 大鼠,6 周龄,体重 180~210 g,购自江苏集萃药康生物科技有限公司,许可证号:SCXK(苏)2023-0009。将大鼠饲养在温度 22~25 °C、相对湿度 40%~60%、12h/12h 明暗循环的通风实验室中,大鼠自由摄食、饮水,适应性饲养 7 d 后用于实验。

本实验经院动物伦理委员会批准。

1.2 主要试剂 GBS 购自西安天隆科技有限公司;NC agomir 和 miR-132 agomir 购自广州锐博生物公司;AKT 抑制剂 MK-2206 购自美国 Sigma 公司;苏木精-伊红(hematoxylin eosin, HE)染色试剂盒和 TUNEL 染色试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;BCA 蛋白测定试剂盒及白细胞介素(interleukin, IL)-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) ELISA 试剂盒购自南京建成生物工程研究所;Trizol 试剂和逆转录试剂盒购自美国 Invitrogen 公司;PTEN、p-AKT、AKT、p-FOXO3、FOXO3、Bax、Bcl-2、GAPDH 一抗和相应二抗购自美国 Abcam 公司。

2 方法

2.1 BM 大鼠模型的建立 采用大鼠小脑延髓池注射 GBS 构建大鼠 BM 模型^[9]。所有大鼠采用 1% 戊巴比妥钠腹腔注射进行麻醉,之后将大鼠固定在脑立体定位仪下。随机选取 48 只大鼠,从小脑延髓池抽取脑脊液 50 μ L 弃去,然后注入浓度为 1×10^8 CFU/L 的 GBS 菌液 50 μ L,24 h 后大鼠若出现动作迟缓、反应缓慢、活动性下降、嗜睡等现象,表明大鼠 BM 模型构建成功。

2.2 动物分组与处理 共有 48 只大鼠造模成功。将 48 只大鼠随机分为模型组(Model 组)、激活剂阴性对照组(NC agomir 组)、miR-132 激活剂组(miR-132 agomir 组)和 miR-132 激活剂 + AKT 抑制剂 MK-2206 组(miR-132 agomir + MK-2206 组)和对照组 Control 组,每组 12 只。各实验组大鼠于造模成功 24 h 后按相应药物剂量开始进行药物干预,其中 NC agomir、miR-132 agomir 组大鼠侧脑室微量注射相应药物 10 μ L,浓度均为 1.5 μ g/ μ L^[10],MK-2206 组侧脑室微量注射 MK-22065 μ L,浓度为 10 μ g/ μ L^[11],Control 组大鼠小脑延髓池注入等体积的生理盐水。

2.3 Loeffler 神经功能评分^[12] 大鼠给药结束 12 h 后进行 Loeffler 神经功能评分,评分标准:5 分:抓住大鼠背部时,大鼠正常活动,在 5 s 内翻身成功;4 分:大鼠自主活动减少,在 5 s 内能翻身;3 分:大鼠能进行

翻身,但时间超过5 s;2分:大鼠无法进行翻身;1分:大鼠无法运动;0分:死亡。评分越低,表明大鼠的神经功能损害越严重。

2.4 ELISA法检测 大鼠脑脊液中IL-6、TNF- α 水平大鼠经神经功能评分后采集脑脊液,采用ELISA法检测IL-6、TNF- α 水平,按试剂盒说明书操作。

2.5 HE染色观察 大鼠海马组织病理损伤每组随机选取6只大鼠,在大鼠左心室快速灌入生理盐水后断头取脑,解剖出海马组织,经多聚甲醛固定、酒精脱水、包埋和切片后按试剂盒说明书方法进行HE染色,在显微镜下观察病理损伤情况。

2.6 TUNEL染色观察 大鼠海马组织神经元凋亡情况取大鼠海马组织切片,脱蜡水化后按试剂盒说明书方法进行TUNEL染色,在显微镜下观察神经元的凋亡情况。凋亡细胞呈棕黄色,正常细胞呈蓝色,计算细胞凋亡率。

2.7 RT-qPCR检测 大鼠海马组织miR-132水平每组剩余大鼠断头取脑,剥离海马组织,用Trizol液提取组织总RNA,反转录为cDNA后进行RT-qPCR,按照试剂盒说明书操作。miR-132上游引物:5'-CCAGCATAACAGTCTACAGCCA-3';下游引物:5'-TATGGTTGTTCACGACTCCTTCAC-3'。U6上游引物:5'-ATTGGAACGATAACAGAGAAGATT-3';下游引物:5'-GGAACGCTTCACGAATTTG-3'。反应程序:95 °C预变性3 min;95 °C变性5 s,60 °C 15 s,共40个循环。以U6为内参,使用 $2^{\Delta\Delta CT}$ 计算miR-132的相对表达量。

2.8 Western blot检测 大鼠海马组织PTEN/AKT/FOXO3信号通路和凋亡相关蛋白表达情况取大鼠海马组织,加入RIPA裂解液提取组织总蛋白,BCA法蛋白定量后进行12%SDS-PAGE电泳,然后将蛋白转移到PVDF膜上,5%BSA封闭2 h;分别加入PTEN(1:1000)、p-AKT(1:1000)、AKT(1:1000)、p-FOXO3(1:1000)、FOXO3(1:1000)、Bax(1:1000)、Bcl-2(1:1000)一抗,4 °C孵育过夜,洗涤;加入相应二抗(1:5000),室温孵育2 h,洗涤后加入ECL发光液进行显色,以GAPDH为内参,使用凝胶图像处理系统分析目标蛋白的灰度值。

2.9 统计学分析 采用GraphPad Prism 7.0进行统计分析。实验数据以平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1 miR-132对大鼠神经功能的影响

大鼠神经功能评分:Control组 5.00 ± 0.00 ,

Model组 1.18 ± 0.15 ,NC agomir组 1.16 ± 0.14 ,miR-132 agomir组 4.03 ± 0.46 ,miR-132 agomir+MK-2206组 2.15 ± 0.23 。与Control组相比,Model组大鼠神经功能评分显著降低($P < 0.05$);与Model组和NC agomir组相比,miR-132 agomir组大鼠神经功能评分显著升高($P < 0.05$);与miR-132 agomir组相比,miR-132 agomir+MK-2206组大鼠神经功能评分显著降低($P < 0.05$)。

2 miR-132对大鼠脑脊液IL-6、TNF- α 水平的影响

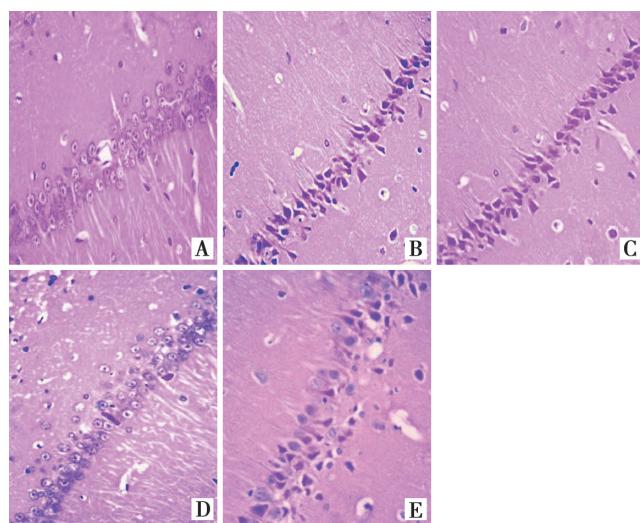
ELISA法检测大鼠脑脊液IL-6、TNF- α 水平分别为:Control组(1.13 ± 0.18) $\mu\text{g/L}$ 和(0.82 ± 0.12) $\mu\text{g/L}$,Model组(12.35 ± 1.42) $\mu\text{g/L}$ 和(7.85 ± 0.96) $\mu\text{g/L}$,NC agomir组(12.28 ± 1.33) $\mu\text{g/L}$ 和(7.98 ± 0.88) $\mu\text{g/L}$,miR-132 agomir组(5.21 ± 0.59) $\mu\text{g/L}$ 和(3.02 ± 0.34) $\mu\text{g/L}$,miR-132 agomir+MK-2206组(9.86 ± 0.13) $\mu\text{g/L}$ 和(7.22 ± 0.79) $\mu\text{g/L}$ 。与Control组相比,Model组大鼠脑脊液IL-6和TNF- α 水平均显著升高(均 $P < 0.05$);与Model组和NC agomir组相比,miR-132 agomir组大鼠脑脊液IL-6、TNF- α 水平均显著降低(均 $P < 0.05$);与miR-132 agomir组相比,miR-132 agomir+MK-2206组大鼠脑脊液IL-6和TNF- α 水平均显著升高(均 $P < 0.05$)。

3 miR-132对大鼠海马组织病理损伤的影响

HE染色检查大鼠海马组织病理损伤情况,结果如图1。Control组大鼠海马组织细胞排列整齐有序、结构完整,细胞核清晰,无明显病变;Model组大鼠海马组织神经细胞排列疏松紊乱,部分核固缩,组织受损严重;NC agomir组大鼠海马组织受损情况与Model组相似。与Model组、NC agomir组相比,miR-132 agomir组大鼠海马组织损伤减轻,神经元细胞排列较为整齐,细胞较为完整;与miR-132 agomir组相比,miR-132 agomir+MK-2206组大鼠海马组织损伤加重,神经元细胞排列紊乱、核固缩、核仁消失。

4 miR-132对大鼠海马组织神经元凋亡的影响

TUNEL染色检查大鼠海马组织神经元凋亡情况见图2。各组大鼠海马组织神经元凋亡率分别为:Control组(5.46 ± 0.76)%,Model组(38.65 ± 4.29)%,NC agomir组(37.94 ± 4.10)%,miR-132 agomir组(16.32 ± 1.89)%,miR-132 agomir+MK-2206组(32.18 ± 3.68)%。与Control组相比,Model组大鼠海马组织神经元凋亡率显著升高($P < 0.05$);与Model组和NC agomir组相比,miR-132 agomir组大鼠海马组织神经元凋亡率显著降低($P < 0.05$);与miR-132 agomir组相比,miR-132 agomir+MK-2206组大鼠海马组织神经元凋亡率显著升高($P < 0.05$)。

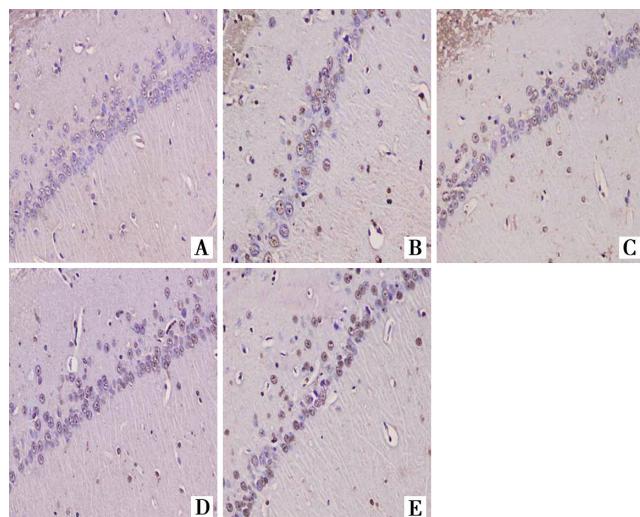


A Control组 B Model组 C NC agomir组 D miR-132 agomir组 E miR-132 agomir+MK-2206组

图1 大鼠海马组织病理损伤情况(HE染色,400×)

A Control group B Model group C NC agomir group D miR-132 agomir group E miR-132 agomir+MK-2206 group

Fig. 1 Pathological damage of rat hippocampal tissue
(HE staining, 400×)



A Control组 B Model组 C NC agomir组 D miR-132 agomir组 E miR-132 agomir+MK-2206组

图2 大鼠海马组织神经元凋亡情况(TUNEL染色,400×)

A Control group B Model group C NC agomir group D miR-132 agomir group E miR-132 agomir+MK-2206 group

Fig. 2 Neuron apoptosis in rat hippocampal tissue
(TUNEL staining, 400×)

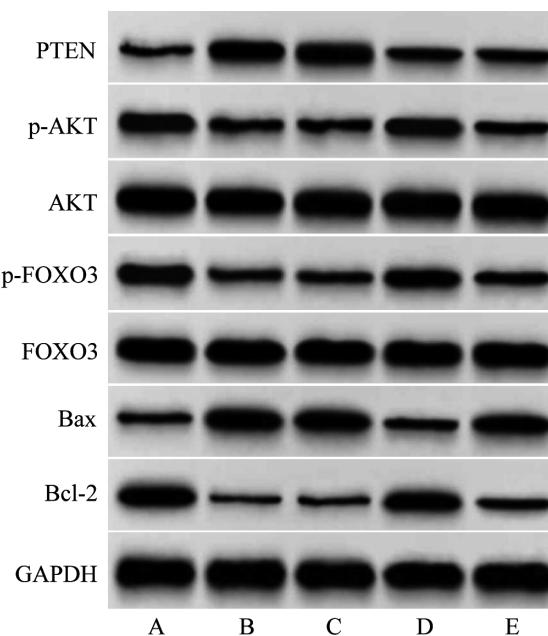
5 各组大鼠海马组织miR-132水平比较

RT-qPCR检测大鼠海马组织miR-132相对表达量分别为:Control组(1.00 ± 0.00)、Model组(0.32 ± 0.03)、NC agomir组(0.30 ± 0.03)、miR-132 agomir组(0.85 ± 0.09)、miR-132 agomir+MK-2206组(0.83 ± 0.08)。与Control组相比,Model组大鼠海马组织miR-132相对表达量显著降低($P < 0.05$);与Model组和NC agomir组相比,miR-132 agomir组大

鼠海马组织miR-132相对表达量显著升高($P < 0.05$);与miR-132 agomir组相比,miR-132 agomir+MK-2206组大鼠海马组织miR-132相对表达量无显著变化($P > 0.05$)。

6 miR-132对大鼠海马组织PTEN/AKT/FOXO3信号通路和凋亡相关蛋白表达的影响

采用Western blot检测大鼠海马组织PTEN/AKT/FOXO3信号通路和凋亡相关蛋白表达情况,结果如表1和图3。与Control组相比,Model组大鼠海马组织PTEN和Bax蛋白相对表达量均显著升高(均 $P < 0.05$),AKT、FOXO3磷酸化水平及Bcl-2蛋白相对表达量均显著降低(均 $P < 0.05$);与Model组和NC agomir组相比,miR-132 agomir组大鼠海马组织PTEN、Bax蛋白相对表达量均显著降低(均 $P < 0.05$),AKT、FOXO3磷酸化水平及Bcl-2蛋白相对表达量均显著升高(均 $P < 0.05$);与miR-132 agomir组相比,miR-132 agomir+MK-2206组大鼠海马组织PTEN蛋白相对表达量无显著变化($P > 0.05$),Bax蛋白相对表达量显著升高($P < 0.05$),AKT、FOXO3磷酸化水平及Bcl-2蛋白相对表达量均显著降低(均 $P < 0.05$)。



A Control组 B Model组 C NC agomir组 D miR-132 agomir组 E miR-132 agomir+MK-2206组

图3 Western blot检测大鼠海马组织PTEN/AKT/FOXO3信号通路和凋亡相关蛋白的表达

A Control group B Model group C NC agomir group D miR-132 agomir group E miR-132 agomir+MK-2206 group

Fig. 3 Western blot detection of PTEN/AKT/FOXO3 signaling pathway and expression of apoptosis related proteins in rat hippocampal tissue

讨 论

致病菌侵入脑脊液后因脑脊液免疫球蛋白和吞噬细胞较少所致的免疫力不足而大量繁殖,释放炎性因

子并进入神经系统,诱发一系列脑膜炎性病理反应,即BM^[12]。BM高发于新生儿或儿童,其中在新生儿中的发病率为0.2%~1.0%,早产儿发病率为3.0%^[13]。BM病死率和致残率高,且预后不佳,患儿出院后大概率存在着智力、学习和行为障碍等神经系统后遗症^[14]。本研究采用小脑延髓池注射GBS的方法构建了大鼠BM模型,观察发现与对照组相比,模型组大鼠的神经功能评分及海马组织Bcl-2蛋白表达水平平均显著降低,脑脊液IL-6和TNF-α水平、海马组织神经元凋亡率及Bax蛋白表达水平均显著升高,HE染色显示海马组织脑膜增厚,细胞排列疏松紊乱,部分核固缩,组织受损严重。这些现象提示BM大鼠存在着严重的炎性反应、神经功能损伤和神经元凋亡^[9]。

表1 各组大鼠海马组织PTEN/AKT/FOXO3信号通路和凋亡相关蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 1 Comparison of PTEN/AKT/FOXO3 signaling pathway and apoptosis related protein expression levels in the hippocampus of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=12$)

| 组别 Group | PTEN/ GAPDH | p-AKT/ AKT | p-FOXO3/ FOXO3 | Bax/ GAPDH | Bcl-2/ GAPDH |
|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Control组 | 0.24±0.02 | 0.83±0.08 | 0.86±0.09 | 0.28±0.03 | 0.73±0.07 |
| Model组 | 0.78±0.08 ^a | 0.36±0.04 ^a | 0.38±0.04 ^a | 0.84±0.08 ^a | 0.21±0.02 ^a |
| NC agomir组 | 0.76±0.08 | 0.34±0.03 | 0.37±0.04 | 0.82±0.08 | 0.22±0.02 |
| miR-132 agomir组 | 0.32±0.03 ^{b,c} | 0.71±0.07 ^{b,c} | 0.75±0.08 ^{b,c} | 0.37±0.04 ^{b,c} | 0.64±0.06 ^{b,c} |
| miR-132 agomir+MK-2206组 | 0.31±0.03 ^d | 0.40±0.04 ^d | 0.43±0.04 ^d | 0.69±0.07 ^d | 0.30±0.03 ^d |

注:a与Control组比较, $P<0.05$;b与Model组比较, $P<0.05$;c与NC agomir组比较, $P<0.05$;d与miR-132 agomir组相比, $P<0.05$ 。

miRNA能通过转录后调节mRNA水平,是基因表达的关键调节因子。MiR-132作为一种miRNA,在心脏、大脑、肝脏、肺等多种组织中表达,参与机体的脂质代谢、细胞增殖、神经系统调节等。Walgrave等^[15]报道miR-132在阿尔茨海默病中持续下调,提高miR-132的水平可改善阿尔茨海默病中成人海马神经发生记忆缺陷。张洋等^[16]报道miR-132在缺氧缺血性脑病新生大鼠的海马组织中下调,给予丹参酮ⅡA可上调其表达,改善新生大鼠的神经功能和海马组织病理学损伤,其机制可能与抑制海马神经元凋亡、增加海马神经递质水平等有关。本研究中BM大鼠海马组织miR-132水平显著下降,且miR-132 agomir组大鼠与模型组相比神经功能评分和海马组织Bcl-2蛋白表达水平均显著升高,脑脊液IL-6和TNF-α水平、海马组织神经元凋亡率及Bax蛋白表达水平均显著降低;HE染色显示海马组织损伤减轻,神经元细胞排列较为整齐,细胞较为完整。表明升高miR-132水平可改善BM大鼠的神经功能,抑制海马神经元凋亡。

PTEN在多种疾病的病理生理过程中发挥重要作用,如内分泌性疾病、神经系统疾病、免疫系统疾病、癌症等。其中,PTEN能够通过多条信号通路参与细胞

的生长、增殖、迁移、凋亡等过程,AKT/FOXO3即为其中一条信号通路^[17]。PTEN作为其负性调控因子,其水平降低能促进AKT与FOXO3的磷酸化^[18]。Zhao等^[19]报道褪黑素能够提高miR-132水平,并下调PTEN的表达,因此阻断淀粉样β诱导的阿尔茨海默病的神经毒性。Zhao等^[20]报道,下调PTEN的表达,调节AKT/FOXO3a信号通路,能够抑制自发性脑出血,减轻大鼠进行性海马损伤和认知缺陷。本研究结果显示,与对照组相比,模型组大鼠海马组织PTEN蛋白表达显著升高,AKT、FOXO3磷酸化水平显著降低;与模型组相比,miR-132 agomir组大鼠海马组织PTEN蛋白表达显著降低,AKT、FOXO3磷酸化水平显著升高。表明miR-132通过下调PTEN表达促进AKT与FOXO3的磷酸化水平,抑制BM大鼠的神经元凋亡。AKT抑制剂MK-2206能够减轻miR-132对BM大鼠神经元凋亡的抑制作用。

综上所述,miR-132可能通过下调PTEN表达促进AKT与FOXO3的磷酸化水平,抑制BM大鼠的神经元凋亡。关于miR-132在细胞水平上的作用,有待进一步研究。

【参考文献】

- [1] Hasbun R. Progress and challenges in bacterial meningitis: a review[J]. JAMA, 2022, 328(21): 2147-2154.
- [2] 景方坤,李鹤一. miR-124激动剂对细菌性脑膜炎大鼠小胶质细胞活化及MAPK通路的影响[J]. 武警后勤学院学报(医学版), 2021, 30(4): 12-16, 21.
- [3] Posadas E, Fisher J. Pediatric bacterial meningitis: an update on early identification and management[J]. Pediatr Emerg Med Pract, 2018, 15(11): 1-20.
- [4] Koper MJ, Van Schoor E, Ospitalieri S, et al. Necosome complex detected in granulovacuolar degeneration is associated with neuronal loss in Alzheimer's disease[J]. Acta Neuropathol, 2020, 139(3): 463-484.
- [5] Correia de Sousa M, Gjorgjeva M, Dolicka D, et al. Deciphering miRNAs' action through miRNA editing[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(24): 6249-6255.
- [6] 姜茗月,张瑶,王广友. miR-132在神经系统疾病中作用的研究进展[J]. 国际免疫学杂志, 2021, 44(1): 59-64.
- [7] Ma X, Wang Y, Shi Y, et al. Exosomal miR-132-3p from mesenchymal stromal cells improves synaptic dysfunction and cognitive decline in vascular dementia[J]. Stem Cell Res Ther, 2022, 13(1): 315-322.
- [8] Mzaut H, Henniger G, Ganss K, et al. MiR-132 controls pancreatic beta cell proliferation and survival through Pten/Akt/Foxo3 signaling[J]. Mol Metab, 2020, 31(1): 150-162.
- [9] 张路,王紫婷,刘熙鹏,等. 香叶木素对细菌性脑膜炎模型大鼠海马细胞铁死亡的影响及SIRT1-Nrf2信号通路机制[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2023, 32(7): 584-591.

(下转1423页)

- beta-carboline alkaloids harmane, harmine, and harmaline toward parasites of the species *Leishmania infantum*[J]. *Exp Parasitol*, 2004,106(3-4):67-74.
- [9] Lu S, Wen LM, Gong YH, et al. *In vitro* effects of harmine against *Echinococcus granulosus* protoscoleces by stimulating DNA damage[J]. *Exp Parasitol*, 2021, 226-227;108121.
- [10] Gong YH, Tian CY, Lu S, et al. Harmine combined with Rad54 knockdown inhibits the viability of *Echinococcus granulosus* by enhancing DNA damage[J]. *DNA Cell Biol*, 2021,40(1):1-9.
- [11] Gong YH, Lv SZ, Wang JH, et al. Effect of harmine and its derivatives against *Echinococcus granulosus* and comparison of DNA damage targets[J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2020, 16(6): 827-841.
- [12] Li YF, Wen LM, Zhao J, et al. *In vitro* and *In vivo* efficacy of DNA damage repair inhibitor veliparib in combination with artesunate against *Echinococcus granulosus*[J]. *Dis Markers*, 2020,2020;8259820.
- [13] Bhat KP, Cortez D. RPA and RAD51: fork reversal, fork protection, and genome stability[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2018, 25(6)25:446-453.
- [14] Feng Y, Wang D, Xiong L, et al. Predictive value of RAD51 on the survival and drug responsiveness of ovarian cancer [J]. *Cancer Cell Int*, 2021,21(1):249
- [15] Qiao Y, Yu X, Zhou B, et al. KIAA1529 regulates RAD51 expression to confer PARP inhibitors resistance in ovarian cancer [J]. *Transl Oncol*, 2022,24:101497
- [16] 肖静,曲晨,赵嘉庆.细粒棘球绦虫抗原Fis1的生物信息学分析[J].中国病原生物学杂志,2022,17(2):191-194.
- [17] 陈苗生,林翠红,黄凌艳,邱晓明. RAD51AP1在结直肠癌组织中的表达及意义[J].中国现代医生,2022,60(21):23-27.
- [18] Isabel EW, Fumiko E. RAD51: Beyond the break[J]. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 2020(prepubish).

【收稿日期】 2023-07-25 【修回日期】 2023-10-08

(上接 1415 页)

- [10] 陆飞宇,李剑侠,黄先锋,等. miR-132 靶向 FoxO3a 抑制细胞自噬在脑出血模型大鼠中的神经保护作用[J]. 脑与神经疾病杂志,2021,29(10):629-634.
- [11] 刘韵,肖丽,曹明艳,等. 蛋白激酶B抑制剂对糖尿病大鼠视网膜血管新生和炎症反应抑制作用的研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2020,28(2):127-132.
- [12] van de Beek D, Brouwer MC, Koedel U, et al. Community-acquired bacterial meningitis [J]. *Lancet*, 2021, 398 (10306): 1171-1183.
- [13] 高蒙,黄娟. 白藜芦醇通过调节 miR-223-3p/NLRP3 通路发挥对幼年大鼠脑膜炎模型皮质神经元的保护作用[J]. 中国病理生理杂志,2020,36(7):1161-1169.
- [14] Depoortere S, Toeback J, Lunskens S, et al. Delayed cerebral thrombosis complicating bacterial meningitis[J]. *Acta Clin Belg*, 2022,77(2):462-469.
- [15] Walgrave H, Balusu S, Snoeck S, et al. Restoring miR-132 expression rescues adult hippocampal neurogenesis and memory deficits in Alzheimer's disease[J]. *Cell Stem Cell*, 2021,28(10): 1805-1821.

- [16] 张洋,陈美月,崔莹,等. 丹参酮ⅡA 对缺氧缺血性脑病新生大鼠海马组织中 miR-132 表达的调节作用及其机制[J]. 吉林大学学报(医学版),2022,48(4):905-914.
- [17] McLoughlin NM, Mueller C, Grossmann TN. The Therapeutic Potential of PTEN Modulation: targeting strategies from gene to protein[J]. *Cell Chem Biol*, 2018,25(1):19-29.
- [18] Takeuchi A, Koga K, Satake E, et al. Endometriosis triggers excessive activation of primordial follicles via PI3K-PTEN-Akt-Foxo3 pathway[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2019, 104 (11): 5547-5554.
- [19] Zhao Y, Zhao R, Wu J, et al. Melatonin protects against $\text{A}\beta$ -induced neurotoxicity in primary neurons via miR-132/PTEN/AKT/FOXO3a pathway[J]. *Biofactors*, 2018,44(6):609-618.
- [20] Zhao M, Gao J, Cui C, et al. Inhibition of PTEN ameliorates secondary hippocampal injury and cognitive deficits after intracerebral hemorrhage; involvement of AKT/FoxO3a/ATG-mediated autophagy[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021(1): 547-553.

【收稿日期】 2023-08-12 【修回日期】 2023-10-25