

引用:孔明,尚颖,李晓伟,赵晓宝,安辉.冬凌草甲素调节Hippo/YAP信号通路对氧糖剥夺复氧导致神经元损伤的影响[J].中医药导报,2025,31(7):40-45.

冬凌草甲素调节Hippo/YAP信号通路对氧糖剥夺复氧导致神经元损伤的影响*

孔明¹,尚颖¹,李晓伟²,赵晓宝²,安辉²

(1.保定市第二医院,河北保定 071200;2.保定市第一中心医院,河北保定 071200)

[摘要] 目的:探讨冬凌草甲素(Ori)调节Hippo/YAP信号通路对氧糖剥夺复氧(OGD/R)导致的神经元损伤的影响。方法:使用不同浓度的Ori处理OGD/R诱导的HT22细胞。实验分为对照组(Control组)、OGD/R组、Ori低浓度(2 μmol/L)组(Ori-L组)、Ori中浓度(4 μmol/L)组(Ori-M组)、Ori高浓度(8 μmol/L)组(Ori-H组)和Ori高浓度(8 μmol/L)+YAP激活剂PY-60(10 μmol/L)组(Ori-H+PY-60组)。显微镜下观察细胞形态变化;Edu检测细胞增殖水平;流式细胞术检测细胞凋亡情况;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒测定乳酸脱氢酶(LDH)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)水平;活性氧(ROS)检测试剂盒测定ROS水平;免疫印迹法测定B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2关联X蛋白(Bax)、Yes关联蛋白(YAP)、含PDZ结合基序的转录共激活因子(TAZ)蛋白表达。结果:与0 μmol/L Ori比较,2、4、8 μmol/L Ori处理后细胞活力显著增加($P<0.05$),选择2、4、8 μmol/L的Ori进行后续实验。与Control组比较,OGD/R组细胞分布稀疏,细胞损伤严重,细胞出现皱缩肿胀,可见大量细胞死亡,Edu阳性率、CAT和SOD水平及Bcl-2水平显著降低($P<0.05$),细胞凋亡率、LDH、ROS水平、Bax、YAP和TAZ水平显著增加($P<0.05$)。与OGD/R组比较,Ori-L组、Ori-M组、Ori-H组细胞表现出较为正常的状态、细胞体完整,细胞损伤及皱缩肿胀程度减轻,死亡数量减少,Edu阳性率、CAT和SOD水平及Bcl-2水平显著增加($P<0.05$),细胞凋亡率、LDH和ROS水平及Bax、YAP和TAZ水平显著降低($P<0.05$),且呈浓度依赖性。YAP激活剂PY-60逆转了Ori对OGD/R诱导的神经元损伤的保护作用。结论:Ori可能通过调节Hippo/YAP信号通路改善OGD/R导致的神经元损伤。

[关键词] 神经元损伤;氧糖剥夺复氧;冬凌草甲素;Hippo/YAP信号通路

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2025)07-0040-06

DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2025.07.006

Effect of Oridonin on Neuronal Damage Induced by Oxygen Glucose Deprivation and Reoxygenation by Regulating Hippo/YAP Signaling Pathway

KONG Ming¹, SHANG Ying¹, LI Xiaowei², ZHAO Xiaobao², AN Hui³

(1.The Second Hospital of Baoding, Baoding Hebei 071200, China;

2.The First Central Hospital of Baoding, Baoding Hebei 071200, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of Oridonin (Ori) on neuronal damage induced by oxygen glucose deprivation/reoxygenation (OGD/R) by regulating the Hippo/YAP signaling pathway. Methods: OGD/R induced HT22 cells were treated with different concentrations of Ori. The experiment was separated into control group, OGD/R group, low concentration (2 μmol/L) Ori group (Ori-L group), medium concentration (4 μmol/L) Ori group (Ori-M group), high concentration (8 μmol/L) Ori group (Ori-H group) and Ori-H (10 μmol/L)+PY-60 (10 μmol/L) group (Ori-H+PY-60 group). The morphological changes of cells was observed under microscope. Edu was applied to detect cell proliferation level. Flow cytometry was applied to detect cell apoptosis. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) were applied to measure lactate dehydrogenase (LDH), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) levels. Reactive oxygen (ROS) detection kit was applied to measure ROS level. Immunoblotting was applied to determine the expression of B cell lymphoma 2 (Bcl-2), Bcl-2 related X protein (Bax), Yes associated protein (YAP) and TAZ proteins. Results: Compared with 0 μmol/L Ori, the cell viability was significantly increased after treatment with 2, 4, and 8 μmol/L Ori ($P<0.05$), therefore, 2, 4, and 8 μmol/L Ori was selected for subsequent experiments. Compared with the control group, the OGD/R group showed sparse cell

通信作者:李晓伟,男,主治医师,研究方向为神经元脑损伤研究

distribution, severe cell damage, shrinkage and swelling of cells, and obvious cell death, and the positive rate of Edu, the levels of CAT and SOD, and the level of Bcl-2 were obviously reduced in OGD/R group ($P<0.05$). The apoptosis rate, the levels of LDH and ROS, and the levels of Bax, YAP and TAZ were significantly increased in OGD/R group ($P<0.05$). Compared with the OGD/R group, the cells in the Ori-L group, Ori-M group and Ori-H group showed more normal state, intact cell bodies, reduced degree of cell damage and swelling, and reduced number of deaths, and the positive rate of Edu, the levels of CAT and SOD, and the level of Bcl-2 were significantly increased in Ori-L group, Ori-M group and Ori-H group ($P<0.05$). The apoptosis rate, the levels of LDH and ROS, and the levels of Bax, YAP, and TAZ were obviously reduced in Ori-L group, Ori-M group and Ori-H group ($P<0.05$). It was concentration dependent. The YAP activator, PY-60, reversed the protective effect of Ori on OGD/R induced neuronal damage. Conclusion: Ori may improve neuronal damage caused by OGD/R by regulating the Hippo/YAP signaling pathway.

[Keywords] neuron damage; oxygen glucose deprivation and reoxygenation; Oridonin; hippo/YAP signaling pathway

神经元损伤和凋亡被认为是脑缺血/再灌注(I/R)损伤发病的第一步^[1]。脑缺血/再灌注可诱导大量氧自由基和急性炎症反应,导致细胞凋亡,从而加重缺血性脑组织损伤^[2]。因此,亟需研究有效的抗细胞凋亡和抗氧化应激药物,以抑制细胞凋亡和氧化应激,改善脑缺血/再灌注损伤。冬凌草甲素(oridonin, Ori)是从中草药冬凌草中提取的一种天然二萜化合物,具有抗炎、抗氧化应激和神经调节的作用^[3]。研究^[4]表明, Ori可通过特异性抑制胱天蛋白酶-9介导的神经元凋亡,以剂量依赖的方式挽救神经元丢失,从而对再灌注损伤小鼠发挥神经保护作用;在N2a细胞和原代神经元中, Ori对氧-葡萄糖剥夺和复氧(oxygen glucose deprivation and reoxygenation, OGD/R)诱导的损伤也有保护作用。Ori能够有效改善创伤性脑损伤小鼠的功能损伤和神经病理变化,并通过激活Nrf2通路,改善线粒体功能和抗氧化能力,抑制氧化应激引起的神经炎症,从而发挥神经保护作用^[5]。然而, Ori对脑缺血/再灌注损伤保护作用的潜在机制仍未能揭示。Hippo通路的核心是一个保守的抑制性激酶级联,可调节Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)的活性。YAP是该通路的最终转导子^[6]。Hippo信号通路及其关键成分共转录因子YAP可调节包括细胞增殖、分化和凋亡在内的多种生物过程,是发育、器官生长、体内平衡和癌症的重要调节因子^[7]。研究^[8]报道, YAP/TAZ对施旺细胞发育和外周神经再生至关重要。MINDOS T等^[9]研究表明, Merlin的缺失会导致PNS轴突再生和髓鞘再生的失败。这是由Merlin-null SC中YAP表达的激活介导的, YAP的缺失恢复了轴突的再生和功能修复。在胶质母细胞瘤中, Ori可通过Hippo/YAP信号通路抑制细胞增殖并促进凋亡^[10]。基于上述结果,本研究推测Ori可能通过调节Hippo/YAP信号通路对OGD/R导致的神经元损伤发挥作用。本研究通过OGD/R体外诱导神经元损伤,探究Ori对神经元损伤的影响及作用机制。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 细胞 小鼠海马神经元细胞系HT22(SNL-202)购自武汉尚恩生物技术有限公司。

1.1.2 试剂 Ori(MCE公司,批号:HY-N0004); YAP激活剂PY-60(MCE公司,批号:HY-11644); Edu检测试剂盒(苏州君

欣生物科技有限公司,批号:C1501); 活性氧(reactive oxygen species, ROS)检测试剂盒(上海速徠生物科技有限公司,批号:C1300-2); 乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(批号:A020-2-2)、过氧化氢酶(catalase, CAT)ELISA试剂盒(批号:A007-1-1)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)ELISA试剂盒(批号:A001-3-1)均购自南京建成生物工程研究所; B细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)一抗(批号:A19693)、Bcl-2关联X蛋白(Bcl-2-associated X protein, Bax)一抗(批号:A19684)、Yes关联蛋白(Yes-associated protein, YAP)一抗(批号:A21216)、含PDZ结合基序的转录共激活因子(transcriptional coactivator with PDZ-binding motif, TAZ)一抗(批号:A23034)、GAPDH(批号:A19056)和山羊抗兔IgG二抗(批号:AS063)均购自武汉爱博泰克(ABclonal)生物科技有限公司。

1.1.3 主要仪器 细胞培养箱(上海润度生物科技有限公司,型号:Herocell 240P); 酶标仪(南京德铁生物科技有限公司,型号:HBS-ScanY); IXplore IX85倒置显微镜、BX63荧光显微镜均购自日本Olympus公司; 流式细胞仪(贝克曼库尔特有限公司,型号:CytoFLEX); ChemiDoc™蛋白成像仪(美国Bio-Rad公司)。

1.2 方法

1.2.1 OGD/R诱导HT22细胞及活力检测 HT22细胞在DEME高糖培养基(10%胎牛血清)中培养(培养箱37℃、5%CO₂),待细胞长至80%以上时进行传代培养,选择对数生长期的细胞进行实验。根据参考文献[11],将正常培养后的HT22细胞于无糖培养基中移到的缺氧培养箱(37℃、含5%CO₂和95%N₂)中培养1.5 h,后转移至正常培养基中培养24 h(37℃、常氧)。另设置正常培养的HT22细胞作为空白对照(BC组)。

当OGD结束时,将细胞从脱氧状态中取出,在含0、1、2、4、8 μmol/L Ori的正常培养基中培养24 h,随后,分别加入10 μL CCK-8溶液,再培养2 h,在酶标仪上读取450 nm OD值,并计算细胞活力。

1.2.2 分组及处理 HT22细胞分为对照组(Control组)、OGD/R组、Ori低浓度组(Ori-L组)、Ori中浓度组(Ori-M组)、Ori高浓度组(Ori-H组)和Ori高浓度+YAP激活剂PY-60组(Ori-H+

PY-60组)。Ori-L组、Ori-M组、Ori-H组细胞在OGD结束时,将细胞从脱氧状态中取出,在含2、4、8 μmol/L Ori的正常培养基中培养24 h;Ori-H+PY-60组细胞在OGD结束时,将细胞从脱氧状态中取出,在含8 μmol/L Ori和10 μmol/L PY-60^[23]的正常培养基中培养24 h;OGD/R组细胞在OGD结束时,将细胞从脱氧状态中取出,在正常培养基中培养24 h;Control组细胞正常培养。

1.2.3 细胞形态观察 按照“1.2.2”中方法分组处理细胞,在倒置显微镜下拍照观察各组细胞形态变化情况。

1.2.4 细胞增殖检测 将按照“1.2.2”中方法分组处理的各组细胞(约1×10⁴个)放入96孔板中,在室温下用Edu试剂盒处理2 h。DAPI染色5 min。荧光显微镜下拍照观察,计算细胞Edu阳性率用以评估细胞增殖能力。

1.2.5 细胞凋亡检测 按照“1.2.2”中方法分组处理细胞后,收集重悬各组细胞,将5 μL FITC膜联蛋白V和5 μL PI溶液加入细胞悬浮液中孵育15 min(室温黑暗)。使用流式细胞仪来检测细胞凋亡情况。

1.2.6 氧化应激水平的测定 收集按照“1.2.2”中方法分组处理后的细胞培养液,离心取上清液,严格按照ELISA试剂盒说明测定CAT、SOD、LDH水平。

1.2.7 ROS水平测定 按照“1.2.2”分组处理各组细胞后,与DCFH-DA孵育20 min, PBS冲洗,酶标仪中检测各组细胞荧光强度。

1.2.8 凋亡及通路相关蛋白检测 按照“1.2.2”中方法分组处理细胞后,采用RIPA缓冲液裂解各组细胞提取总蛋白,BCA测定其浓度。通过10% SDS-PAGE分离蛋白,转至PVDF膜上,与一级抗体Bax、Bcl-2、YAP、TAZ和GADPH(各抗体稀释倍数为1:1 000)孵育过夜。后使用二抗山羊抗兔IgG抗体(稀释倍数为1:5 000)孵育1 h。ECL显影,Image J计算蛋白相对表达量。

1.2.9 统计学方法 使用SPSS 29.0软件进行数据分析,计量资料以“均数±标准差”(x̄±s)表示。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用SNK-q检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Ori对OGD/R诱导HT22细胞活力的影响 与BC组比较,0 μmol/L Ori组细胞活力显著降低(P<0.05);与0 μmol/L Ori组比较,2、4、8 μmol/L Ori处理后细胞活力显著增加(P<0.05)。因1 μmol/L的Ori作用效果不显著,故选择2、4、8 μmol/L的Ori进行后续实验。(见表1)

表1 Ori对OGD/R诱导HT22细胞活力的影响 (x̄±s, %)

组别	n	细胞活力
BC组	6	100.00±0.00
0 μmol/L Ori组	6	48.47±3.92 ^a
1 μmol/L Ori组	6	54.63±4.25
2 μmol/L Ori组	6	65.28±5.06 ^b
4 μmol/L Ori组	6	78.94±4.82 ^b
8 μmol/L Ori组	6	92.75±5.37 ^b
F		139.488
P		0.000

注:与BC组比较,^aP<0.05;与0 μmol/L Ori组比较,^bP<0.05。

2.2 Ori对OGD/R诱导HT22细胞形态的影响 与Control组比较,OGD/R组细胞分布稀疏,细胞损伤严重,细胞出现皱缩,可见大量细胞死亡。与OGD/R组比较,Ori-L组、Ori-M组、Ori-H组细胞表现出较为正常的状态,细胞体完整,细胞损伤及皱缩程度减轻,死亡数量减少。与Ori-H组比较,Ori-H+PY-60组细胞损伤、细胞皱缩程度加重,细胞死亡数量增多。(见图1)

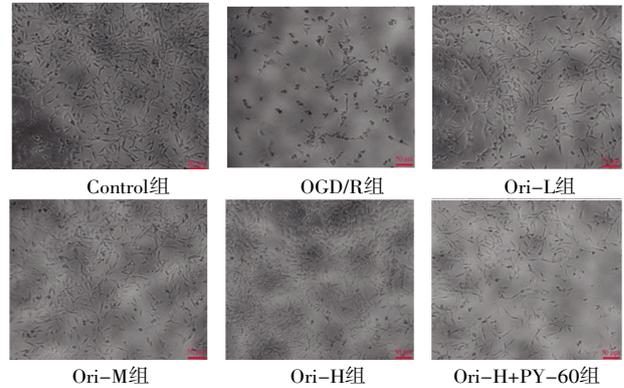


图1 倒置显微镜下观察各组细胞形态变化 (×200)

2.3 Ori对OGD/R诱导HT22细胞增殖的影响 与Control组比较,OGD/R组细胞Edu阳性率显著降低(P<0.05)。与OGD/R组比较,Ori-L组、Ori-M组、Ori-H组Edu阳性率逐渐升高(P<0.05)。与Ori-H组比较,Ori-H+PY-60组Edu阳性率显著降低(P<0.05)。(见图2、表2)

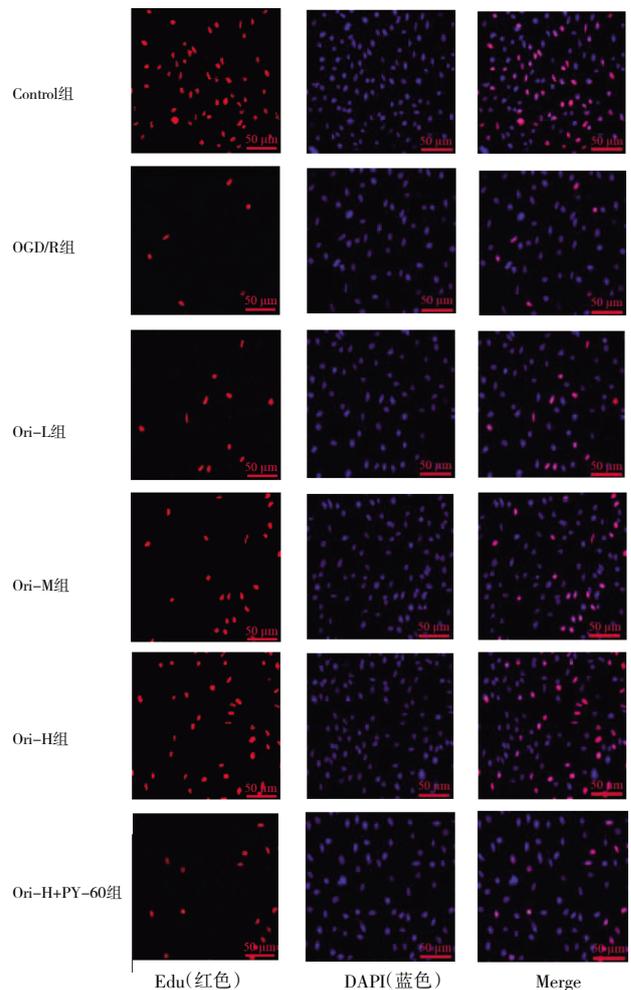


图2 Edu检测各组细胞增殖水平 (×200)

表2 Ori对OGD/R诱导HT22细胞增殖的影响 ($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	n	Edu阳性率
Control组	6	46.35±2.94
OGD/R组	6	7.82±1.13 ^a
Ori-L组	6	15.69±2.07 ^b
Ori-M组	6	23.74±3.15 ^{bc}
Ori-H组	6	39.51±3.08 ^{bcd}
Ori-H+PY-60组	6	20.48±3.76 ^c
F		161.042
P		0.000

注:与Control组比较,^a $P<0.05$;与OGD/R组比较,^b $P<0.05$;与Ori-L组比较,^c $P<0.05$;与Ori-M组比较,^d $P<0.05$;与Ori-H组比较,^e $P<0.05$ 。

2.4 Ori对OGD/R诱导的HT22细胞凋亡的影响 与Control组比较,OGD/R组细胞Bcl-2水平显著降低($P<0.05$),细胞凋亡率和Bax水平显著升高($P<0.05$)。与OGD/R组比较,Ori-L组、Ori-M组、Ori-H组Bcl-2水平显著升高($P<0.05$),细胞凋亡率和Bax水平显著降低($P<0.05$),且呈浓度依赖性。与Ori-H组比较,Ori-H+PY-60组Bcl-2水平显著降低($P<0.05$),细胞凋亡率和Bax水平显著升高($P<0.05$)。(见图3~4、表3)

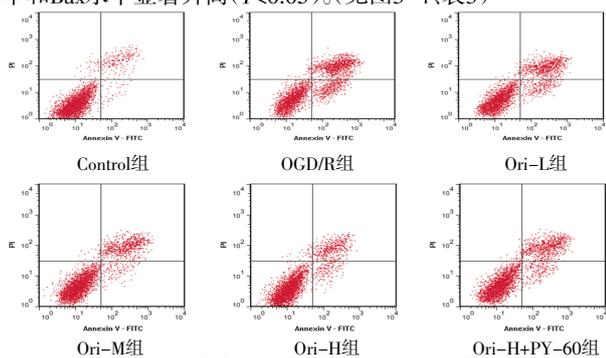
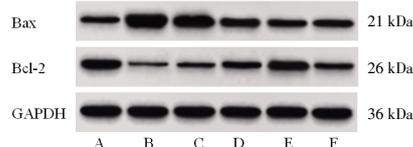


图3 流式细胞术检测各组细胞凋亡



注:A.Control组;B.OGD/R组;C.Ori-L组;D.Ori-M组;E.Ori-H组;F.Ori-H+PY-60组。

图4 Western blotting检测各组细胞凋亡相关蛋白表达

表3 Ori对OGD/R诱导的HT22细胞凋亡的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	细胞凋亡率/%	Bax	Bcl-2
Control组	6	3.53±0.92	0.42±0.05	1.06±0.08
OGD/R组	6	48.49±5.17 ^a	1.35±0.12 ^a	0.17±0.01 ^a
Ori-L组	6	37.25±2.16 ^b	1.12±0.09 ^b	0.31±0.03 ^b
Ori-M组	6	28.82±2.74 ^{bc}	0.83±0.06 ^{bc}	0.54±0.06 ^{bc}
Ori-H组	6	16.76±1.03 ^{bcd}	0.61±0.05 ^{bcd}	0.83±0.06 ^{bcd}
Ori-H+PY-60组	6	32.34±2.85 ^c	0.75±0.05 ^c	0.46±0.05 ^c
F		183.917	123.371	230.688
P		0.000	0.000	0.000

注:与Control组比较,^a $P<0.05$;与OGD/R组比较,^b $P<0.05$;与Ori-L组比较,^c $P<0.05$;与Ori-M组比较,^d $P<0.05$;与Ori-H组比较,^e $P<0.05$ 。

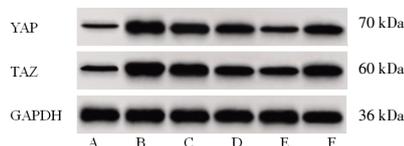
2.5 Ori对OGD/R诱导的HT22细胞氧化应激水平的影响 与Control组比较,OGD/R组CAT和SOD水平显著降低($P<0.05$),LDH和ROS水平显著增加($P<0.05$)。与OGD/R组比较,Ori-L组、Ori-M组、Ori-H组CAT和SOD水平显著增加($P<0.05$),LDH和ROS水平显著降低($P<0.05$),且呈浓度依赖性。与Ori-H组比较,Ori-H+PY-60组CAT和SOD水平显著降低($P<0.05$),LDH和ROS水平显著增加($P<0.05$)。(见表4)

表4 Ori对OGD/R诱导的HT22细胞氧化应激水平的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	LDH(U/L)	CAT(U/mL)	SOD(U/mL)	ROS荧光强度
Control组	6	46.53±2.97	6.02±0.36	7.11±0.54	12.03±0.20
OGD/R组	6	168.42±17.15 ^a	1.65±0.17 ^a	2.03±0.15 ^a	18.57±0.93 ^a
Ori-L组	6	132.58±12.46 ^b	2.42±0.13 ^b	3.27±0.31 ^b	17.12±0.65 ^b
Ori-M组	6	96.27±10.53 ^{bc}	3.58±0.26 ^{bc}	4.82±0.36 ^{bc}	15.36±0.42 ^{bc}
Ori-H组	6	67.39±4.28 ^{bcd}	5.07±0.34 ^{bcd}	6.39±0.72 ^{bcd}	13.91±0.26 ^{bcd}
Ori-H+PY-60组	6	104.65±8.72 ^c	3.64±0.21 ^c	4.74±0.25 ^c	15.84±0.37 ^c
F		108.825	234.448	114.677	112.738
P		0.000	0.000	0.000	0.000

注:与Control组比较,^a $P<0.05$;与OGD/R组比较,^b $P<0.05$;与Ori-L组比较,^c $P<0.05$;与Ori-M组比较,^d $P<0.05$;与Ori-H组比较,^e $P<0.05$ 。

2.6 Ori对通路相关蛋白表达的影响 与Control组比较,OGD/R组YAP和TAZ水平显著升高($P<0.05$)。与OGD/R组比较,Ori-L组、Ori-M组、Ori-H组YAP和TAZ水平逐渐降低($P<0.05$)。与Ori-H组比较,Ori-H+PY-60组YAP和TAZ水平显著升高($P<0.05$)。(见图5、表5)



注:A.Control组;B.OGD/R组;C.Ori-L组;D.Ori-M组;E.Ori-H组;F.Ori-H+PY-60组。

图5 Western blotting检测YAP、TAZ蛋白表达

表5 Ori对通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	YAP	TAZ
Control组	6	0.23±0.01 ^a	0.45±0.03
OGD/R组	6	1.06±0.09	1.28±0.11 ^a
Ori-L组	6	0.82±0.05 ^b	1.09±0.09 ^b
Ori-M组	6	0.65±0.07 ^{bc}	0.87±0.07 ^{bc}
Ori-H组	6	0.41±0.03 ^{bcd}	0.62±0.05 ^{bcd}
Ori-H+PY-60组	6	0.67±0.07 ^c	0.96±0.06 ^c
F		144.942	103.869
P		0.000	0.000

注:与Control组比较,^a $P<0.05$;与OGD/R组比较,^b $P<0.05$;与Ori-L组比较,^c $P<0.05$;与Ori-M组比较,^d $P<0.05$;与Ori-H组比较,^e $P<0.05$ 。

3 讨 论

神经元损伤是临床缺血性中风的常见事件,可导致不可逆的脑损伤。当发生脑缺血/再灌注发生时,大脑是人体最容

易受伤的器官^[13]。研究^[13-14]表明,体外OGD/R模型可以在细胞水平上很大程度上反映脑缺血/再灌注发生损伤。本研究使用缺氧培养箱(95%N₂/5%CO₂)使细胞缺氧,然后再充氧24 h,结果发现细胞分布稀疏,出现皱缩,并有大量细胞死亡,证实了OGD/R可对HT22细胞造成严重的损伤。

Ori是冬凌草中的一种二萜类化合物,具有保护大脑和神经系统的作用,可作为一种有效的神经保护剂^[15]。JIA Y J等^[16]研究表明,Ori显著减轻了脑缺血/再灌注小鼠的神经缺陷、神经元损伤和小胶质细胞活化,使Ori成为保护神经元功能的有吸引力的药物。本研究用Ori处理OGD/R诱导的HT22细胞,结果发现,Ori可显著增加OGD/R诱导的HT22细胞活力,减轻细胞形态损伤,并减少细胞死亡数量,表明Ori对OGD/R诱导的神经元损伤有改善作用。

氧化应激通常是ROS积累的结果,表现为自由基产生和消除之间的不平衡^[17]。细胞凋亡和氧化应激是脑缺血/再灌注损伤发病的重要因素。氧化应激是由ROS生成增加,SOD、CAT等清除酶活性水平降低引起的^[18]。在病理条件下(如脑缺血),ROS的异常产生可导致细胞成分氧化,导致细胞损伤^[19]。因此,研究Ori在脑缺血/再灌注损伤后ROS的产生中是否起作用是本研究的重点。本研究结果显示,Ori干预后细胞凋亡率、Bax、LDH和ROS水平降低,CAT和SOD水平增加,表明Ori能抑制HT22细胞凋亡,减轻氧化应激水平,增强抗氧化能力,改善OGD/R诱导的神经元损伤。这与Ori在创伤性脑损伤动物模型中^[15,20]的功能一致,均能抑制氧化应激和细胞凋亡,提示Ori在不同疾病中可能发挥相同或相似的作用。

Hippo/YAP通路是一种高度保守的通路,可通过调节细胞干性、增殖、存活和分化来调节器官大小、组织稳态和再生。该通路失调会导致各种疾病^[21-22]。YAP和TAZ是Hippo通路的下游效应物。作为转录共激活因子发挥作用,YAP和TAZ可促进细胞增殖、维持组织稳态和抑制凋亡^[23]。有研究^[24]报道,Hippo信号通路可负调控YAP和TAZ的表达。Hippo信号通路激活时,经过一系列的级联反应,最终导致YAP无法进行核易位而被阻滞在细胞质中,变得无转录活性,从而抑制促进细胞生长和抗凋亡基因的表达,导致细胞增殖受到抑制^[25]。张傲琪等^[26]研究表明,OGD/R诱导后的SK-N-SH细胞Lats2、YAP/TAZ和Smad3水平降低,缺乏Smad3可能会抑制细胞活力,表明Hippo信号通路中的Smad3、Lats2和YAP/TAZ可能共同调节细胞活力。研究^[27]发现,Hippo通路抑制剂XMU-MP-1可抑制Hippo/YAP信号通路,对OGD/R诱导的脑缺血/再灌注损伤具有神经保护作用。此外,PI3K/Akt级联抑制剂LY294002可阻断PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路,进而下调YAP/TAZ,导致神经功能障碍加重和脑缺血/再灌注损伤加重^[28]。因此,本研究推测Ori对脑缺血/再灌注损伤的神经保护作用是通过调节Hippo/YAP信号通路实现的。与上述研究一致,本研究也证实了Hippo/YAP通路的阻滞介导了Ori对OGD/R诱导的细胞损伤的保护作用。然而,值得注意的是,选择性YAP激活剂PY-60可通过提高YAP和TAZ蛋白水平来消除Ori的神经保护作用。

用。这些结果表明Ori可能通过抑制Hippo/YAP信号通路改善OGD/R诱导的神经元损伤。

综上所述,Ori能促进神经细胞增殖,增强其抗氧化能力,改善神经元损伤,其机制可能与抑制Hippo/YAP信号通路传导有关。这些发现表明,Ori的应用可能有助于保护神经元免受脑缺血/再灌注损伤。但本研究尚未在体内进行验证,今后仍需进一步研究。

参考文献

- [1] YU Q, DAI H F, JIANG Y N, et al. Sevoflurane alleviates oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced injury in HT22 cells through regulation of the PI3K/AKT/GSK3 β signaling pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21(4): 376.
- [2] XU L L, GAO Y R, HU M, et al. Edaravone dextrane protects cerebral ischemia reperfusion injury through activating Nrf2/HO-1 signaling pathway in mice[J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2022, 36(5): 790-800.
- [3] 孔睿,潘鹏宇,梁国标.冬凌草素药理作用及机制的研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(11): 70-72.
- [4] LI L, SONG J J, ZHANG M X, et al. Oridonin ameliorates caspase-9-mediated brain neuronal apoptosis in mouse with ischemic stroke by inhibiting RIPK3-mediated mitophagy[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2023, 44(4): 726-740.
- [5] ZHAO X J, ZHU H Y, WANG X L, et al. Oridonin ameliorates traumatic brain injury-induced neurological damage by improving mitochondrial function and antioxidant capacity and suppressing neuroinflammation through the Nrf2 pathway[J]. *J Neurotrauma*, 2022, 39(7-8): 530-543.
- [6] CHAQOUR B. CCN-Hippo YAP signaling in vision and its role in neuronal, glial and vascular cell function and behavior[J]. *J Cell Commun Signal*, 2023, 17(2): 255-262.
- [7] PASSARO F, DE MARTINO I, ZAMBELLI F, et al. YAP contributes to DNA methylation remodeling upon mouse embryonic stem cell differentiation [J]. *J Biol Chem*, 2021, 296: 100138.
- [8] ACHETA J, BHATIA U, HALEY J, et al. Piezo channels contribute to the regulation of myelination in Schwann cells[J]. *Glia*, 2022, 70(12): 2276-2289.
- [9] MINDOS T, DUN X P, NORTH K, et al. Merlin controls the repair capacity of Schwann cells after injury by regulating Hippo/YAP activity[J]. *J Cell Biol*, 2017, 216(2): 495-510.
- [10] WANG C, ZHANG Y H, JIANG Q S, et al. Oridonin suppresses the growth of glioblastoma cells via inhibiting Hippo/YAP axis[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2024, 751:

- 109845.
- [11] 王佳楠,黄春霞,胡宪文.七氟烷后处理对原代海马神经元氧糖剥夺/复氧损伤及自噬的影响[J].安徽医科大学学报,2022,57(5):673-678.
- [12] SHALHOUT S Z, YANG P Y, GRZELAK E M, et al. YAP-dependent proliferation by a small molecule targeting annexin A2[J]. *Nat Chem Biol*,2021,17(7):767-775.
- [13] PARK S Y, CHO M H, LI M, et al. Petatewalide B alleviates oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced neuronal injury via activation of the AMPK/Nrf2 signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*,2020,22(1):239-246.
- [14] LI Y H, ZHANG S, TANG L, et al. The role of LincRNA-EPS/Sirt1/autophagy pathway in the neuroprotection process by hydrogen against OGD/R-induced hippocampal HT22 cells injury[J]. *J Pers Med*,2023,13(4):631.
- [15] LIN K H, LI C Y, HSU Y M, et al. Oridonin, A natural diterpenoid, protected NGF-differentiated PC12 cells against MPP(+)- and kainic acid-induced injury[J]. *Food Chem Toxicol*,2019,133:110765.
- [16] JIA Y J, TONG Y, MIN L Q, et al. Protective effects of oridonin against cerebral ischemia/reperfusion injury by inhibiting the NLRP3 inflammasome activation [J]. *Tissue Cell*,2021,71:101514.
- [17] DONG R F, TAI L W, ZHANG B, et al. Neuroprotective effect of FMS-like tyrosine kinase-3 silence on cerebral ischemia/reperfusion injury in a SH-SY5Y cell line[J]. *Gene*,2019,697:152-158.
- [18] MENG S X, WANG B, LI W T. LncRNA MALAT1 improves cerebral ischemia-reperfusion injury and cognitive dysfunction by regulating miR-142-3p/SIRT1 axis[J]. *Int J Neurosci*,2023,133(7):740-753.
- [19] ZHANG Q Q, YAO M, QI J J, et al. Puerarin inhibited oxidative stress and alleviated cerebral ischemia-reperfusion injury through PI3K/Akt/Nrf2 signaling pathway[J]. *Front Pharmacol*,2023,14:1134380.
- [20] YAN C L, YAN H Y, MAO J N, et al. Neuroprotective effect of oridonin on traumatic brain injury via inhibiting NLRP3 inflammasome in experimental mice[J]. *Front Neurosci*, 2020,14:557170.
- [21] ZHAO X L, LE T P, ERHARDT S, et al. Hippo-Yap pathway orchestrates neural crest ontogenesis[J]. *Front Cell Dev Biol*,2021,9:706623.
- [22] OUYANG T H, MENG W, LI M H, et al. Recent advances of the hippo/YAP signaling pathway in brain development and glioma[J]. *Cell Mol Neurobiol*,2020,40(4):495-510.
- [23] 陈枫楠,郎廷元,吴常裕,等.尼可地尔对肺动脉平滑肌细胞增殖、迁移能力和Hippo/YAP信号通路的影响[J].*中国药房*,2020,31(22):2736-2740.
- [24] 陈林云,欧阳家和,段琼,等.YAP/TAZ的调控机制研究进展[J].*生命科学*,2020,32(12):1381-1390.
- [25] 金鑫,申杰,谭苗,等.重楼皂苷D激活Hippo通路抑制多形性胶质母细胞瘤细胞增殖与侵袭[J].*华中科技大学学报(医学版)*,2023,52(3):307-314.
- [26] 张傲琪,赵海乐,巴德仁贵,等.miR-32-3p通过靶向Smad3调节氧糖剥夺/再灌注损伤中的细胞活力[J].*中国细胞生物学学报*,2022,44(9):1704-1714.
- [27] LI L, WANG M, MA Y M, et al. Selenium inhibits ferroptosis in hyperglycemic cerebral ischemia/reperfusion injury by stimulating the Hippo pathway[J]. *PLoS One*,2023,18(9):e0291192.
- [28] GONG P, ZOU Y C, ZHANG W, et al. The neuroprotective effects of Insulin-Like Growth Factor 1 via the Hippo/YAP signaling pathway are mediated by the PI3K/AKT cascade following cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Brain Res Bull*,2021,177:373-387.

(收稿日期:2024-10-12 编辑:罗英姣)