

# miR-339-5p 过表达对带状疱疹后遗神经痛大鼠疼痛缓解的机制

刘晋如<sup>1</sup> 王平生<sup>2</sup> 邱颀<sup>2</sup> 王伟<sup>3</sup> 王晓东<sup>2</sup>

(1 巴彦淖尔市医院疼痛科,内蒙古 巴彦淖尔 015000; 2 内蒙古医科大学第二附属医院麻醉科; 3 巴彦淖尔市医院麻醉科)

**〔摘要〕** 目的 探究 miR-339-5p 过表达对带状疱疹后遗神经痛大鼠的疼痛缓解机制。方法 选取 48 只健康 SPF 级 SD 大鼠,分别将 48 只大鼠分为空白组、模型组、过表达组、沉默组各 12 只。模型组、过表达组、沉默组构建带状疱疹后遗神经痛模型,做 miR-339-5p 慢病毒滴定,采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测 miR-339-5p 基因表达量,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测大鼠 5-羟色胺(5-HT)、神经生长因子(NGF)、白细胞介素(IL)-2、肿瘤坏死因子(TNF)-α,采用电子测痛仪进行测定机械痛阈,采用 Western 印迹检测大鼠源性磷酸张力蛋白诱导激酶 1/帕金森蛋白(PINK1/Parkin)信号通路基因表达量。结果 与模型组相比,过表达组 miR-339-5p 基因表达量、不同时间点痛阈、IL-2、TNF-α、5-HT、NGF、PINK1/Parkin 信号通路表达量明显升高( $P < 0.05$ )。与模型组相比,沉默组 miR-339-5p 基因表达量、PINK1/Parkin 信号通路表达量明显降低,不同时间点痛阈、IL-2、TNF-α、5-HT、NGF 明显升高( $P < 0.05$ )。与过表达组相比,沉默组 miR-339-5p 基因表达量、PINK1/Parkin 信号通路表达量明显降低,不同时间点痛阈、IL-2、TNF-α、5-HT、NGF 明显升高( $P < 0.05$ )。结论 miR-339-5p 过表达基因通过作用于 PINK1/Parkin 信号通路,调控 PINK1、Parkin 表达量,显著减轻了带状疱疹后遗神经痛大鼠的疼痛程度。

**〔关键词〕** miR-339-5p; 带状疱疹后遗神经痛; 疼痛; 源性磷酸张力蛋白诱导激酶 1/帕金森蛋白(PINK1/Parkin)信号通路

(中图分类号) R752.1 (文献标识码) A (文章编号) 1005-9202(2023)01-0140-05; doi: 10.3969/j.issn.1005-9202.2023.01.033

带状疱疹后遗神经痛是皮肤科常见的皮肤性神经疾病之一,由水痘-带状疱疹病毒引起。该疾病会造成患者出现泛红、发热等症状,严重可能会造成肺炎和脑炎的发生,危及患者生命<sup>[1]</sup>。对于引起带状疱疹的病毒称之为嗜神经性,病毒侵入感觉神经末梢后,可沿神经移动至脊髓后根神经节隐匿<sup>[2]</sup>。如果清除体内的病毒和感知周围神经,将不会出现后遗神经痛这一并发症的发生。带状疱疹后遗神经痛为带状疱疹较为常见的并发症,属于顽固性神经病理性疼痛疾病,主要症状多为自发痛、诱发痛、痛觉过敏等,此病程大多迁延反复,临床治疗难度较大<sup>[3]</sup>。所以,对于带状疱疹后遗神经痛的发生,需要尽快干预,来缓解疾病情况<sup>[4,5]</sup>。本研究探究 miR-339-5p 过表达对带状疱疹后遗神经痛缓解机制。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 研究动物:选取 48 只 SPF 级 SD 大鼠,雌雄各半(单位名称:山东大学,许可证号:SYXK

(鲁)2020 0022],月龄(4.75±0.95)个月,体重(268.38±35.62)g,温度 22~25℃、相对湿度 52%的清洁级环境中饲养 1 w,光照 12 h/d。环境安静,大鼠可自由饮水、饮食。

主要试剂:miR-339-5p(广州威佳科技有限公司),白细胞介素(IL)-2、肿瘤坏死因子(TNF)-α及 5-羟色胺(5-HT)相关的酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒均购自上海茁彩生物科技有限公司;神经生长因子(NGF)ELISA 试剂盒购自南京赛泓瑞生物科技有限公司;源性磷酸张力蛋白诱导激酶(PINK1)抗体(武益普生物科技有限公司,货号:ATA35522),帕金森蛋白(Parkin)抗体(武益普生物科技有限公司,ATA35114),电子测痛仪(上海玉研科学仪器有限公司,型号:2091)。

**1.2 分组及建模** 48 只大鼠随机分为空白组、过表达组、沉默组、模型组各 12 只。模型组、过表达组、沉默组。参照李晶晶等<sup>[6]</sup>研究实验带状疱疹后遗神经痛大鼠。构建方法:将 CV-1 细胞添加到杜尔贝克改良伊格尔培养基(DMEM)/F12 中,并培养制备细胞悬液,根据 $5.0 \times 10^4 / \text{cm}^2$ 接种于培养瓶,然后用 VZV 感染 CV-1 细胞,当 CV-1 细胞 80% 被感染,立刻收集并作细胞悬液接种带状疱疹病毒,将 SD 大鼠放入 SPF 实验环境为中等湿度、温度中,在造模前,用 4%水合氯醛麻醉 SD 大鼠,在 SD 大鼠右

基金项目:内蒙古自治区自然科学基金项目(2016MS08133)

通信作者:王伟(1985-),男,主治医师,主要从事疼痛缓解机制相关研究。

第一作者:刘晋如(1987-),女,主治医师,主要从事疼痛缓解机制相关研究。

脚底部皮下注射 50  $\mu\text{l}$  病毒接种溶液。感染 7 d 后如果大鼠出现机械痛敏阈值、热痛敏阈值降低,为造模成功。

**1.3 miR-339-5p 基因表达量** 收集入组所有大鼠的静脉血 3 ml,对其静脉血进行离心处理,2 000 r/min,离心半径 10 cm,离心 8 min。miRNA 采用 miRvana PARIS 试剂盒提取纯化。在室温下加入取出的 500  $\mu\text{l}$  血清样品等体积变性液,混合均匀,加入同样多的体积酸性酚氯仿,摇晃 30~60 s;室温下 14 000 r/min 离心 5 min。把上清液放到另一个管中,加入 1.25 倍无水乙醇充分混匀,然后加入柱中,12 000 r/min 离心 30 s,弃滤液;700  $\mu\text{l}$  加入柱中,清洗 1 次,12 000 r/min 离心 30 s,弃滤液;把 500  $\mu\text{l}$  加入柱中,清洗 2 次,12 000 r/min 离心 1 min;95 $^{\circ}\text{C}$  预热洗脱液 60  $\mu\text{l}$  加入柱子中,离心 1 min 12 000 r/min,收集 miRNA。miR-339-5p 序列由 miRBase 数据库查得,miR-339-5p 引物:5'-UC-CCUGUCCUCCAGGAGCUCACA-3'。RNU6B 上游引物:5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',下游:5'-AACGCTTCACGAATTTG-3'。qRT-PCR 提取 DNA 0.5 ml 血清加等量的裂解液于尖底离心管中,37 $^{\circ}\text{C}$  孵育 1 h,加入 0.1 ml 样品稀释液。PCR 扩增取上述 0.02 ml DNA 提取液加入分装好的反应液管中。

**1.4 病理观察** 采用猝死老鼠的方法,迅速分离出背部神经节组织,行病理切片,做常规脱蜡处理,苏木素-伊红(HE)染色,使用显微镜观察大鼠背部神经节组织病理变化情况。

**1.5 机械痛阈测定** 使用电子测痛仪进行测定,测定时间为早晨 8:00~12:00。将大鼠放在透明玻璃箱中,箱中底部有金属网,大鼠在玻璃箱中适应 20 min,等大鼠平静后开始。各组实验大鼠刺激部位一样,用电子测痛仪刺激探头尖端轻轻垂直的刺激大鼠后脚足底,刺激强度逐渐增加,表示电子测痛仪显示的强度值(单位:G)。如果大鼠出现舔足、缩足等,记录电子测痛仪显示的最大值(单位:g)。5 min/次,重复 3 次,机械缩足阈值(PMWT)是以 3 次健侧结果的平均值。

**1.6 IL-2、TNF- $\alpha$ 、5-HT、NGF 水平检测** 采用 ELISA 检测大鼠 IL-2、TNF- $\alpha$ 、5-HT、NGF,采集所有大鼠血样本,静置 1 h,3 000 r/min 离心 10 min,用移液枪吸取上清液,采用 ELISA 检测大鼠 IL-2、TNF- $\alpha$ 、5-HT、NGF,将 IL-2、TNF- $\alpha$ 、5-HT、NGF 放入微孔中,依次放入标准样品、标本和辣根过氧化物酶(HRP)标记的检测抗体中,温育后清洗干净。底物

是 TMB,TMB 在酸的作用下成黄色,过氧化物酶的催化下成蓝色。酶标仪测定在 450 nm 波长下测定吸光度(OD 值),计算样品浓度。

**1.7 Western 印迹检测 PINK1、Parkin 蛋白表达** 取相关脊髓组织,采用 RIPA 裂解液,从相关组织的匀浆内,提取蛋白,用二喹啉甲酸(BCA)法对蛋白浓度进行测定。通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离后,转至聚偏氟乙烯(PVDF)膜,并将其浸泡于脱脂牛奶内,室温下密封 4 h,加入稀释后的 PINK1、Parkin 兔单抗,孵育过夜(4 $^{\circ}\text{C}$ ),加二抗,室温下孵育 60 min。采用 ECL 定影,凝胶成像系统进行拍照。内参蛋白为  $\beta$ -actin,目标蛋白同内参蛋白的比值,作为蛋白的相对表达量。

**1.8 统计学方法** 采用 SPSS19.0 软件进行  $F$  检验、 $t$  检验。

## 2 结果

**2.1 病理观察** 空白组无单核细胞浸润现象,神经节细胞形态结构正常;模型组出现单核细胞浸润现象,神经节细胞变性;过表达组存在较轻的单核细胞浸润现象,神经节细胞形态结构基本恢复正常;沉默组出现大量单核细胞浸润现象,神经节细胞变性。见图 1。

**2.2 各组 miR-339-5p 基因表达量及不同时间点痛阈比较** 与空白组相比,模型组、过表达组、沉默组 miR-339-5p 表达均降低,模型组、过表达组、沉默组不同时间点痛阈明显升高( $P<0.05$ )。与模型组相比,过表达组 miR-339-5p 表达升高,不同时间点痛阈降低;沉默组 miR-339-5p 表达降低,不同时间点痛阈升高,具有统计学差异( $P<0.05$ )。与过表达组相比,沉默组不同时间点痛阈升高,具有统计学差异( $P<0.05$ )。见表 1。

**2.3 各组 SD 大鼠血清 IL-2、TNF- $\alpha$ 、5-HT、NGF、PINK1、Parkin 水平比较** 与空白组相比,模型组、过表达组、沉默组 IL-2、TNF- $\alpha$ 、5-HT、NGF 水平明显升高,PINK1、Parkin 表达明显降低(均  $P<0.05$ )。过表达组 IL-2、TNF- $\alpha$ 、5-HT、NGF 水平明显低于模型组,PINK1、Parkin 明显高于模型组(均  $P<0.05$ )。与模型组相比,沉默组 IL-2、TNF- $\alpha$ 、5-HT、NGF 水平明显升高,PINK1、Parkin 水平降低(均  $P<0.05$ )。与过表达组比较,沉默组 IL-2、TNF- $\alpha$ 、5-HT、NGF 水平明显升高,沉默组 PINK1、Parkin 表达明显降低(均  $P<0.05$ )。见表 2、图 2。

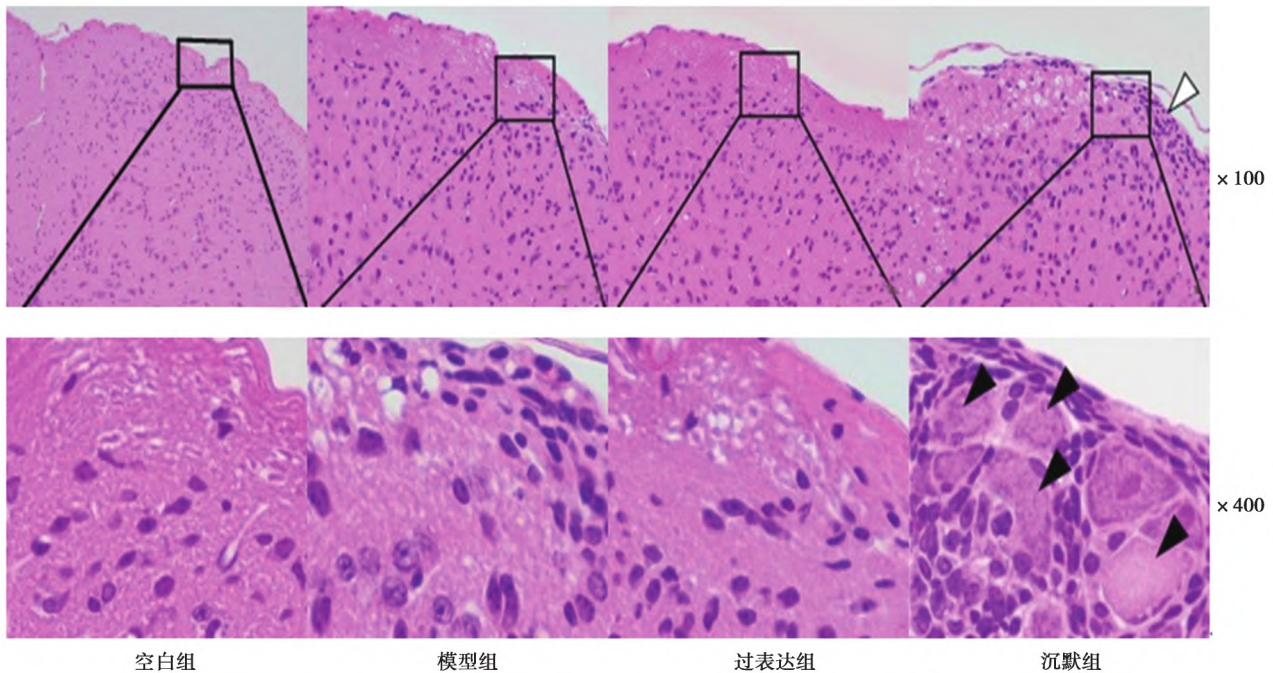


图 1 各组背部神经节组织 HE 染色

表 1 各组 miR-339-5p 基因、不同时间点痛阈值比较(  $\bar{x} \pm s$   $n = 12$  )

组别	miR-339-5p	痛阈值				
		造模前	造模后 1 d	造模后 4 d	造模后 7 d	造模后 14 d
空白组	2.63±2.69	7.36±2.25	7.15±2.58	7.26±2.42	7.53±2.42	7.29±2.40
模型组	1.36±0.36 <sup>1)</sup>	21.33±6.24 <sup>1)</sup>	23.62±7.95 <sup>1)</sup>	21.69±6.10 <sup>1)</sup>	24.95±7.85 <sup>1)</sup>	22.39±6.54 <sup>1)</sup>
过表达组	2.25±1.25 <sup>1)2)</sup>	18.30±6.06 <sup>1)2)</sup>	16.15±5.14 <sup>1)2)</sup>	15.39±4.95 <sup>1)2)</sup>	16.39±5.36 <sup>1)2)</sup>	13.69±4.12 <sup>1)2)</sup>
沉默组	0.36±0.11 <sup>1)2)3)</sup>	26.37±8.27 <sup>1)2)3)</sup>	25.26±7.62 <sup>1)2)3)</sup>	26.52±8.26 <sup>1)2)3)</sup>	26.84±8.46 <sup>1)2)3)</sup>	25.14±7.24 <sup>1)2)3)</sup>
F/P 值	2.921/0.008	7.684/0.001	7.798/0.001	7.751/0.001	7.602/0.001	8.107/0.001

与空白组比较: 1)  $P < 0.05$ ; 与模型组比较: 2)  $P < 0.05$ ; 与过表达组比较: 3)  $P < 0.05$ , 下表同

表 2 各组 SD 大鼠血清 IL-2、TNF- $\alpha$ 、疼痛 5-HT、NGF、PINK1/Parkin 信号通路基因水平比较(  $\bar{x} \pm s$   $\mu\text{g/ml}$   $n = 12$  )

组别	IL-2( $\mu\text{g/ml}$ )	TNF- $\alpha$ ( $\text{ng/ml}$ )	5-HT( $\text{ng/ml}$ )	NGF( $\mu\text{g/ml}$ )	PINK1	Parkin
空白组	1.36±0.36	1.52±0.67	2.64±0.51	0.45±0.12	1.64±0.56	1.34±0.36
模型组	2.69±0.65 <sup>1)</sup>	3.34±1.31 <sup>1)</sup>	13.34±4.11 <sup>1)</sup>	0.85±0.20 <sup>1)</sup>	0.67±0.24 <sup>1)</sup>	0.61±0.15 <sup>1)</sup>
过表达组	1.68±0.42 <sup>1)2)</sup>	1.85±0.75 <sup>1)2)</sup>	6.59±1.94 <sup>1)2)</sup>	0.59±0.18 <sup>1)2)</sup>	0.98±0.31 <sup>1)2)</sup>	0.82±0.26 <sup>1)2)</sup>
沉默组	3.12±1.03 <sup>1)2)3)</sup>	4.69±1.75 <sup>1)2)3)</sup>	18.39±5.94 <sup>1)2)3)</sup>	0.96±0.32 <sup>1)2)3)</sup>	0.33±0.11 <sup>1)2)3)</sup>	0.24±0.06 <sup>1)2)3)</sup>
F/P 值	5.588/0.001	5.860/0.001	9.151/0.001	5.676/0.001	7.952/0.001	10.440/0.001

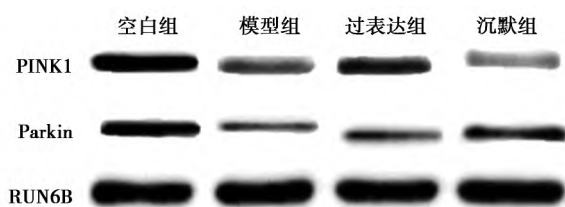


图 2 Western 印迹检测各组细胞 PINK1/Parkin 信号通路蛋白

中枢、外住神经敏化相关的神经疼痛,该疼痛呈现出阵发性电击样疼痛和针刺样持续烧灼痛<sup>(7)</sup>。疱疹治愈后,越有可能出现严重的神经疼痛,需要早期干预;注意休息,认真吃药和擦药,服药期间不要吃辛辣食物:如海鲜、鸡蛋、鱼、牛羊肉及油炸食品,以清淡为主,多吃蔬菜和水果,补充维生素<sup>(8,9)</sup>。老年患者和虚弱病的患者应该避免严重并发症的发生:大多数老年患者由于身体功能下降,免疫功能低下,在带状疱疹的相关原因的作用,疾病容易发生严重并发症后,对虚弱的人来说,特别是长期使用糖皮质激素的患者一样,所以预防严重并发症的发生是非常

### 3 讨论

带状疱疹后遗神经痛属于一种与脊髓、脊髓上

重要的<sup>(10,11)</sup>。本研究说明 miR-339-5p 能够抑制 5-HT、NGF 释放,明显减少疼痛时间。

miRNA 在神经系统中起到重要的作用,在机体内对脑内神经元的分化、神经元退行等过程进行参与,能够对机体神经元的正常运作产生作用。而 miRNA 的作用也与神经病毒的感染具有一定关联。如 HSV-1、HIV 等。在细胞凋亡、炎性的过程中,相关神经通过血液中的 miRNA 进行信号交换<sup>(12)</sup>。miR-339-5p 在机体内对于神经元轴突形成突触这一过程进行参与,并且与神经祖细胞及神经母细胞瘤细胞相比,miR-339-5p 自身的表达呈现下调状态,由此可得出,miR-339-5p 可能对于神经元分化成熟过程进行了参与。miR-339-5p 在不同神经病中的表达不同,miR-339-5p 表达上调是由于乙醇诱导的大脑炎症导致的,乙醇可以刺激鼠小胶质细胞和大脑组织中 miR-339-5p 及炎症因子的表达。miR-339-5p 在带状疱疹后遗神经痛表达下降,本研究结果表明 miR-339-5p 可能参与带状疱疹后遗神经痛的发展、发生。

5-HT 存在于血清中,而在动物中存在于动物相关组织内,自身也是属于一种抑制性神经递质<sup>(13,14)</sup>。NGF 是一种蛋白质,在动物中可以得出,能够对中枢神经元的生长情况进行调节,维持神经元的存活<sup>(15)</sup>。IL-2 是一种趋化因子家族的细胞因子,它是一种由多细胞来源,具有多向性作用<sup>(16)</sup>。在机体的免疫应答和抗病毒感染中起着重要的作用,对 T 细胞的增殖能够产生刺激作用,使其活化 T 细胞自身活性增强。并且还能够对 NK 细胞的增殖产生刺激作用,并对 LAK 细胞产生诱导作用<sup>(17,18)</sup>。TNF- $\alpha$  是由活化单核细胞、T 细胞、巨噬细胞、脂肪细胞、B 细胞、成纤维细胞等多种细胞分泌的多向促炎细胞因子<sup>(19)</sup>。本研究说明 5-HT、NGF 和带状疱疹疼痛调制相关性较好,有镇痛和镇痛双重作用。

PINK1 以蛋白酶形态存在,属于高保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,自身的存在是由 581 个氨基酸组成,广泛在哺乳动物各组织器官中表达,在心脏、骨骼肌、神经系统中含量最高。Parkin 是具有 465 个氨基酸的 E3 泛素连接酶,根据其氨基酸序列功能,可分为 RING0 结构域、RING1 结构域、N 端泛素样结构域、RING2 结构域、RING1 与 RING2 之间的 IBR 结构域 5 个区域<sup>(20)</sup>。N 端泛素样结构域的功能主要包括结合蛋白酶体、识别细胞基质、结合 SH3、Parkin 活性、调节泛素蛋白等。有研究表明 PINK1/Parkin 信号通路是调节线粒体自噬的主要途径之一。炎症、创伤等其他疾病引起神经损伤后,

会导致神经细胞的氧化应激反应,从而导致功能出现损伤和神经病理性疼痛的发生。靳晓飞等<sup>(21)</sup>研究认为在缺血性脑卒中的发生发展过程中 PINK1/Parkin 信号通路介导的线粒体自噬起到重要的作用,可能为预防和治疗缺血性脑卒中中找到新的治疗靶点和机制。本研究说明 PINK1/Parkin 信号通路在应激性疾病发病机制中起到重要作用,通过过表达 PINK1、Parkin 达到减少疼痛的效果,在应激状态下 PINK1/Parkin 信号通路受到抑制,PINK1/Parkin 水平明显上升。

综上,过表达 miR-339-5p 基因经作用于 PINK1/Parkin 信号通路后,有效缓解疼痛程度,miR-339-5p 可以成为对带状疱疹后遗神经痛诊断和病情判断的分子标志物。

#### 4 参考文献

- 1 Saguil A, Kane S, Lauters RET, et al. Herpes zoster and postherpetic neuralgia: prevention and management (J). *Am Fam Physician*, 2017; 96(10): 656-63.
- 2 Lin CS, Lin YC, Chen CC, et al. Interventional treatments for postherpetic neuralgia: a systematic review (J). *Pain Physician*, 2019; 22(3): 209-28.
- 3 Hüning S, von Dücker L, Nashan D, et al. Therapie des herpes zoster und der postherpetischen neuralgie therapy of herpes zoster and postherpetic neuralgia (J). *Hautarzt*, 2019; 70(8): 645-56.
- 4 蒋彦彦. 激励式心理干预联合中药塌渍对带状疱疹后遗神经病患者症状改善、睡眠质量及生活质量的影响 (J). *国际护理学杂志*, 2020; 39(21): 3932-5.
- 5 Avijgan M, Hajzargarbashi ST, Avijgan M, et al. Postherpetic neuralgia: practical experiences return to traditional Chinese medicine (J). *J Acupunct Meridian Stud*, 2017; 10(3): 157-64.
- 6 李晶晶, 周鹏, 曾婧纯, 等. 实时、同体监测岭南火针对带状疱疹后遗神经痛模型大鼠外周神经递质的影响及其时效性 (J). *暨南大学学报(自然科学与医学版)*, 2019; 40(1): 37-44.
- 7 康晓芳, 李琦. 带状疱疹后遗神经痛的介入治疗 (J). *山西医药杂志*, 2020; 49(12): 1504-8.
- 8 皇甫佳欣, 沈德新. 带状疱疹后遗神经痛的中西医治疗进展 (J). *中国医药导报*, 2020; 17(12): 65-8.
- 9 张丰川, 王京军, 孙占学, 等. 从“络”论治带状疱疹后遗神经痛的中药选择 (J). *中国医药导报*, 2020; 17(18): 159-62.
- 10 李育婷, 李业贤, 郭妹婧, 等. 带状疱疹后遗神经痛治疗研究进展 (J). *实用老年医学*, 2020; 34(1): 10-4.
- 11 孟丹, 林维茹, 刘国艳. 带状疱疹后遗神经痛相关危险因素分析 (J). *中国麻风皮肤病杂志*, 2020; 36(3): 147-50.
- 12 徐海峰, 齐瑞群, 高兴华. miRNA 与水痘-带状疱疹病毒感染的关系 (J). *中国皮肤性病学杂志*, 2018; 32(5): 575-9.
- 13 郭玉娜, 倪家骥, 武百山, 等. 带状疱疹急性期患者后遗神经痛的相关因素分析 (J). *贵州医科大学学报*, 2019; 44(3): 346-9, 355.
- 14 王世民, 刘孝兵. 带状疱疹伴发后遗神经痛患者外周血

- p38MAPK、ERK1/2、JNK 表达量与细胞因子、疼痛介质的相关性 (J).海南医学院学报, 2017; 23( 18) : 2510-3.
- 15 杨洁琼. 阿米替林联合甲钴胺片对带状疱疹后遗神经痛患者疼痛物质及血清细胞因子的影响 (J).医学临床研究, 2019; 36( 7) : 1379-80.
- 16 陈敬德, 王东雁, 王帆, 等. 活血止痛方与穴位注射治疗带状疱疹后遗神经痛的临床疗效观察 (J).中国中西医结合急救杂志, 2020; 27( 2) : 165-8.
- 17 叶晓红, 潘江, 余兆安. 超微针刀结合加巴喷丁治疗带状疱疹后遗神经痛临床研究 (J).针灸临床杂志, 2020; 36( 4) : 5-9.
- 18 邓文娅, 张怡, 徐爽, 等. 局部围刺联合加巴喷丁治疗带状疱疹后遗神经痛气滞血瘀证的临床疗效观察 (J).中国中西医结合皮  
肤性病杂志, 2020; 19( 3) : 252-4.
- 19 李玉秋, 王琛, 韦兰, 等. 带状疱疹急性期患者血清前炎性细胞因子、免疫球蛋白和 T 淋巴细胞亚群水平与后遗神经痛的相关性分析 (J).河北医药, 2020; 42( 6) : 805-9.
- 20 王峰, 蒋宗滨, 陈云婷, 等.PINK1/Parkin 通路在脊髓脉冲射频治疗大鼠带状疱疹后神经痛中的作用 (J).实用疼痛学杂志, 2019; 15( 1) : 9-14.
- 21 靳晓飞, 高维娟. PINK1/Parkin 介导线粒体自噬对缺血性脑卒中作用的研究进展 (J).中国老年学杂志, 2020; 40( 11) : 2447-51.
- (2021-11-17 修回)  
(编辑 杜娟)

## 牡丹籽油对去睾丸小鼠骨骼的影响

陈彩玲<sup>1,2</sup> 郑晓艳<sup>1</sup> 王可欣<sup>1</sup> 刘翠娟<sup>1</sup> 田佳<sup>1</sup> 钟燕婷<sup>1</sup> 林瑞<sup>1</sup> 吴铁<sup>1,2</sup> 许碧莲<sup>1</sup> 崔燎<sup>1,3</sup>

(1 广东医科大学药学院药理学教研室, 广东 湛江 524023; 2 广东医科大学·广东润和生物科技有限公司辅酶 Q10 联合研究中心; 3 广东天然药物研究与开发重点实验室)

**〔摘要〕** 目的 观察牡丹籽油(PSO)对去睾丸小鼠骨骼的影响。方法 40 只 SPF 级 6 周龄雄性 KM 小鼠,随机分为假手术(Sham)组、去睾丸(ORX)组、十一酸睾酮(TU)组、PSO 组,每组 10 只。Sham 组进行假手术,其余组小鼠均进行双侧睾丸摘除手术。术后第 2 天开始灌胃给药,Sham 组和 ORX 组给予溶剂对照,TU 组给予 TU 10.4 mg/kg,PSO 组给予 PSO 0.1 ml/10 g,每天给药 1 次,连续给药 8 w。实验结束时,取小鼠股骨用于 Micro-CT、骨生物力学检测,取血清进行生化指标检测。结果 与 Sham 组相比,ORX 组骨生物力学参数弹性载荷明显降低( $P < 0.05$ );Micro-CT 参数中股骨连接密度(Conn. D)、骨体积分数(BV/TV)和骨小梁数量(Tb. N)均明显下降( $P < 0.01$ ),而结构模型指数(SMI)和骨小梁分离度(Tb. Sp)明显上升( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。与 ORX 组相比,PSO 组骨生物力学参数最大载荷、弹性载荷和刚性系数均明显升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );Micro-CT 参数中 Conn. D、BV/TV、Tb. N 和骨小梁厚度(Tb. Th)均明显升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),而 SMI 和 Tb. Sp 均明显降低,血清中超氧化物歧化酶(SOD)含量明显增加(均  $P < 0.01$ ),丙二醛(MDA)、白细胞介素(IL)-6、超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)含量下降但无统计学差异( $P > 0.05$ )。与 TU 组相比,PSO 组弹性载荷明显升高( $P < 0.01$ )。结论 牡丹籽油能改善去睾丸小鼠的骨微观结构破坏,并增强骨生物力学性能。

**〔关键词〕** 骨质疏松;牡丹籽油;去睾丸;骨微结构;骨生物力学

**〔中图分类号〕** R965.1 **〔文献标识码〕** A **〔文章编号〕** 1005-9202(2023)01-0144-04; doi: 10.3969/j.issn.1005-9202.2023.01.034

根据世界卫生组织定义,骨质疏松(OP)是以单位骨量减少及骨组织显微结构破坏为特征,并导致骨生物力学性能下降,骨脆性增加、发生骨折及相关并发症的风险增加的一种全身性骨骼疾病<sup>〔1〕</sup>。随着年龄的增长,中老年男性的睾酮水平逐渐降低,发生睾酮缺乏<sup>〔2,3〕</sup>。传统观点认为老年男性 OP 主要与增龄性退化有关,近年来研究发现男性与女性相似,性激素水平在调节骨质量和骨代谢中起重要作用,睾酮缺乏是老年男性 OP 常见的继发因素之一,

睾酮激素水平与骨折风险呈负相关<sup>〔4〕</sup>。男性性腺功能低下,雄激素不敏感综合征和接受雄激素剥夺疗法的前列腺癌与骨质流失和骨折风险增加密切相关<sup>〔5〕</sup>。临床研究表明对雄激素缺乏的男性 OP 患者补充雄激素有缓解作用<sup>〔6〕</sup>,随着各种雄激素补充剂的出现,如睾酮类、睾酮酯、烷基化睾酮、新雄激素制剂的普遍运用<sup>〔7〕</sup>,副作用也越来越明显,包括前列腺增生和前列腺癌<sup>〔8〕</sup>。为减少不良反应,人们相继研究开发选择性雄激素受体调节剂,如 SARM, NEP28<sup>〔9〕</sup>,GTx-024<sup>〔10〕</sup>。

牡丹籽油(PSO)是从牡丹种子中提取的一种新型植物油,含有丰富的不饱和脂肪酸(n-3 PUFAs):硬脂酸、棕榈酸、亚油酸、油酸和  $\alpha$  硬亚麻酸,以  $\alpha$  硬亚麻酸为主<sup>〔11〕</sup>,具有较高营养价值和保健功效,

基金项目:广东省科技计划项目(No.2016B030309002)

通信作者:许碧莲(1970-),女,硕士,教授,硕士生导师,主要从事骨质疏松及骨关节炎的药物防治研究。

第一作者:陈彩玲(1995-),女,硕士,主要从事中药药理学研究。