

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.17.006

文章编号: 1005-8982(2017)17-0029-06

## 雷公藤甲素对 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 诱导 PC12 细胞损伤的保护作用及其机制研究

刘帮慧, 张瑛

(湖北省荆州市中心医院 神经内科, 湖北 荆州 434020)

**摘要:目的** 探讨雷公藤甲素对  $\beta$ -淀粉样蛋白 25-35(A $\beta$ <sub>25-35</sub>)诱导 PC12 细胞损伤的保护作用及其机制。**方法** 通过噻唑蓝(MTT)法确立 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 诱导 PC12 细胞损伤模型的工作浓度;同时利用 MTT 法检测  $1 \times 10^{-11}$ 、 $1 \times 10^{-10}$  和  $1 \times 10^{-9}$  mol/L 雷公藤甲素对细胞活性的影响,以及雷公藤甲素和 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 同时处理细胞后对细胞活性的影响。PC12 细胞随机分为 3 组:对照组、A $\beta$ <sub>25-35</sub> 处理组、A $\beta$ <sub>25-35</sub> 和雷公藤甲素处理组。细胞处理 24 h 后,利用免疫荧光法检测细胞中活化 Caspase-3 的表达,同时采用逆转录聚合酶链反应检测凋亡相关基因 Bcl-2 和 Bax 的表达水平。**结果** A $\beta$ <sub>25-35</sub> 在  $10 \mu\text{mol/L}$  工作浓度下可诱导 PC12 细胞复制阿尔茨海默病体外细胞损伤模型,其细胞存活率为  $(58 \pm 6)\%$ ;单纯雷公藤甲素在  $1 \times 10^{-11}$ 、 $1 \times 10^{-10}$  和  $1 \times 10^{-9}$  mol/L 浓度下处理细胞对细胞活性无显著影响。A $\beta$ <sub>25-35</sub> 处理细胞后,细胞活性降低,活化 Caspase-3 在细胞中表达升高,同时 Bax mRNA 表达升高,而 Bcl-2 mRNA 的表达下降。然而,雷公藤甲素和 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 同时处理细胞时,前者能够降低 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 对 PC12 细胞的毒性损伤,且细胞活性随雷公藤甲素浓度的增加而升高;同时活化 Caspase-3 在细胞中的表达, Bcl-2 和 Bax mRNA 表达水平也受抑制。**结论** 雷公藤甲素可能通过调节 Caspase-3、Bax 及 Bcl-2 基因的表达以抑制细胞凋亡,从而对 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 诱导 PC12 细胞损伤发挥保护作用。

**关键词:** 雷公藤甲素;阿尔茨海默病; $\beta$ -淀粉样蛋白;细胞凋亡。

**中图分类号:** R285.5

**文献标识码:** A

## Triptolide inhibits cytotoxicity of PC12 cells induced by amyloid- $\beta$ <sub>25-35</sub> via apoptosis pathway

Bang-hui Liu, Ying Zhang

(Department of Neurology, Jingzhou Central Hospital, Jingzhou, Hubei 434020, China)

**Abstract: Objective** To investigate the protective effect of triptolide against amyloid  $\beta$ -peptide 25-35 (A $\beta$ <sub>25-35</sub>) induced injury of PC12 cells. **Methods** MTT assay was conducted to determine the optimal working concentration of A $\beta$ <sub>25-35</sub> for inducing PC12 cell injury model, and the potential protective effect of different concentrations of triptolide ( $1 \times 10^{-11}$ ,  $1 \times 10^{-10}$  and  $1 \times 10^{-9}$  mol/L) on the PC12 cells. PC12 cells were randomly divided into 3 groups: control group, A $\beta$ <sub>25-35</sub> treatment group, and A $\beta$ <sub>25-35</sub> and triptolide co-treatment group. After 24-h treatment, active caspase-3 expression was observed by cyto-immunofluorescence. Meanwhile, Bcl-2 and Bax mRNA expressions were measured by RT-PCR. **Results** The *in vitro* PC12 cell injury model of Alzheimer's disease could be established by A $\beta$ <sub>25-35</sub> at a concentration of  $10 \mu\text{mol/L}$  with a survival rate of  $(58 \pm 6)\%$ . Triptolide ( $1 \times 10^{-11}$ ,  $1 \times 10^{-10}$  and  $1 \times 10^{-9}$  mol/L) alone had no significant effect on cell viability. Following the A $\beta$ <sub>25-35</sub> exposure, cell viability was significantly decreased. Furthermore, active caspase-3 protein and Bax mRNA expressions obviously increased after A $\beta$ <sub>25-35</sub> treatment, while Bcl-2 mRNA expression decreased remarkably ( $P < 0.05$ ). Triptolide, however, could significantly increase cell viability in a dose-dependent manner when it was added together with A $\beta$ <sub>25-35</sub>. Moreover, triptolide could also significantly suppress the expressions of active caspase-3 protein, Bcl-2 and Bax mRNA induced by A $\beta$ <sub>25-35</sub> ( $P < 0.05$ ).

**Conclusions** Triptolide may inhibit cell apoptosis through modulation of expressions of active caspase-3, Bax and Bcl-2 to protect PC12 cells from A $\beta_{25-35}$ -induced cytotoxicity.

**Keywords:** triptolide; Alzheimer's disease; amyloid  $\beta$ -peptide; cell apoptosis

阿尔茨海默病(alzheimer's disease, AD)是多发于中老年的中枢神经系统退行性疾病,以渐进性记忆减退、认知障碍及人格改变为主要临床特征<sup>[1]</sup>。病理特征为全脑萎缩、脑细胞外出现大量淀粉样蛋白沉积而形成的老年斑、神经元纤维缠结、神经元颗粒空泡变形及丧失<sup>[2]</sup>。

雷公藤甲素是具有多种生物活性的天然产物,具有抗炎、抗氧化、抗类风湿及神经保护等功效<sup>[3-5]</sup>。本实验用 A $\beta_{25-35}$  复制 PC12 细胞损伤模型,研究雷公藤甲素对 A $\beta_{25-35}$  诱导 PC12 细胞损伤的保护作用及其机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

**1.1.1 细胞系** PC12 细胞系(大鼠肾上腺髓质嗜铬细胞瘤细胞系)购自上海细胞生物学研究所。

**1.1.2 试剂及器材** A $\beta_{25-35}$ 、雷公藤甲素、噻唑蓝[3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide, MTT]、0.25%胰蛋白酶、二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)、4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)均购自美国 Sigma 公司,无血清细胞冷冻保存培养基(roswell park memorial institute 1640, RPMI 1640)、磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、青霉素-链霉素等均购自美国 Gibco 公司,单克隆兔抗活化 Caspase-3 抗体购自英国 Abcam 公司,山羊抗兔荧光二抗购自美国 Life Technologies 公司,核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)提取试剂盒、逆转录聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)试剂盒均购自大连宝生生物技术有限公司, Bcl-2、Bax 及甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)基因引物均由北京奥科鼎盛生物公司合成,酶标仪购自美国 Bio-Rad 公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 PC12 细胞培养** PC12 细胞用含 10% FBS 和 1%青霉素-链霉素的 RPMI 1640 培养基培养,更换培养液 1 次/2 d,待细胞密度达 80%时,用 0.05%胰蛋白酶消化细胞,加含血清培养液终止反应并传代。

**1.2.2 MTT 法检测细胞活力** PC12 细胞接种于 96 孔板,24 h 后进行相应处理,处理完成后,移去培养液,加入 0.5 mg/ml MTT 37 $^{\circ}$ C 孵育 4 h。弃去 MTT 后加入 150  $\mu$ l DMSO,避光条件下培养板剧烈摇晃 10 min,并利用酶标仪测试 570 nm 处溶液的吸光值,每组实验重复  $\geq 3$  次并收集数据,取平均值为最终数值,设定对照组吸光值为 100%,其余组别以该组吸光值与对照组吸光值的百分比来表示,所有数据导入 Graphpad Prism 数据分析软件进行分析,记录统计结果。

**1.2.3 细胞免疫荧光检测** PC12 细胞接种于铺有盖玻片的 24 孔板中,培养 24 h 后,细胞随机分为 3 组:对照组、A $\beta_{25-35}$  处理组、A $\beta_{25-35}$  和雷公藤甲素处理组。继续培养 24 h 后,弃去培养液, PBS 漂洗 3 遍,加入 4%预冷多聚甲醛固定细胞 15 min, PBS 漂洗 3 遍,加入 0.1% Tition X-100 打孔 10 min, PBS 漂洗 3 遍,加入含 1%牛血清白蛋白的细胞封闭液封闭 1 h,加入含有活化 Caspase-3 单克隆抗体(1:200 稀释)的封闭液 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, PBS 漂洗 3 遍,加入山羊抗兔荧光二抗(1:100)室温避光孵育 1 h, PBS 漂洗 3 遍, DAPI 进行细胞核染色, PBS 漂洗 3 遍,细胞封片并在倒置荧光显微镜下观察细胞染色结果。

**1.2.4 RT-PCR 反应** PC12 细胞铺于 6 孔板中, 37 $^{\circ}$ C 培养箱中过夜培养,将细胞随机分成 3 组:对照组、A $\beta_{25-35}$  处理组、A $\beta_{25-35}$  及雷公藤甲素处理组。24 h 后,移去培养液,加入 Trizol 裂解液, 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 10 min。将上清移入 1.5 ml 离心管中,加入裂解液 0.2 倍的氯仿溶液,剧烈震荡 15 s,静置 3 min, 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 10 min,小心吸取上清至 1.5 ml 离心管中,加入等体积 70%乙醇,混匀,将其加入试剂盒套管中, 12 000 r/min 离心 1 min。弃掉离心后溶液,加入蛋白液 12 000 r/min 离心 1 min,漂洗 2 次。加入洗脱液洗脱 RNA; 使用逆转录试剂盒将 RNA 逆转录成 cDNA。将得到 cDNA 进行 RT-PCR 反应,分别以 Bcl-2 和 Bax 为引物,以大鼠 GAPDH 作为内参,反应体系为 20  $\mu$ l。见附表。

### 1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 18.0 统计软件和 Graphpad

Prism 分析软件,计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组比较用方差分析,两两比较用 Dunnett-*t* 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

附表 RT-PCR 引物序列

引物名称	引物序列
Bcl-2	正向:5'-GGGATGCCTTTGTGGA ACTA-3'
	反向:5'-CTCACTTGTGGCCAGGTAT-3'
Bax	正向:5'-TGTTTCTGATGGCAACTTC-3'
	反向:5'-GATCAGCTCGGGCACTTTAG-3'
GAPDH	正向:5'-GCTGGCATTGCTCTCAATGACA-3'
	反向:5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'

## 2 结果

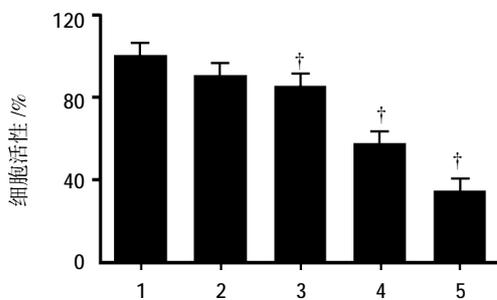
### 2.1 Aβ<sub>25-35</sub> 对 PC12 细胞活性的影响

PC12 细胞在 1、5、10 和 20 μmol/L Aβ<sub>25-35</sub> 处理下的细胞活性比较,经方差分析,差异有统计学意义 ( $F=56.440, P=0.000$ )。PC12 细胞在不同浓度 Aβ<sub>25-35</sub> 处理 24 h 后,其细胞活性随 Aβ<sub>25-35</sub> 浓度升高而下降。其中,细胞在 10 μmol/L Aβ<sub>25-35</sub> 处理 24 h 后细胞活性为 (58 ± 6)%,与对照组比较,经 Dunnett-*t* 检验,差异有统计学意义 ( $t=5.44, P=0.01$ ),该条件被应用于后续的实验。见图 1。

### 2.2 雷公藤甲素对 PC12 细胞活性的影响

PC12 细胞分别在  $1 \times 10^{-11}$ 、 $1 \times 10^{-10}$  和  $1 \times 10^{-9}$  mol/L 雷公藤甲素处理 24 h 后,MTT 检测结果显示,各组细胞活性比较,差异无统计学意义 ( $F=1.352, P=0.219$ ),说明雷公藤甲素在 3 种浓度下对 PC12 细胞没有毒性。见图 2A。

PC12 细胞在  $1 \times 10^{-11}$ 、 $1 \times 10^{-10}$  和  $1 \times 10^{-9}$  mol/L 雷公藤甲素和 10 μmol/L Aβ<sub>25-35</sub> 处理 24 h 后,利



1: 对照组; 2: 1 μmol/L Aβ<sub>25-35</sub> 处理组; 3: 5 μmol/L Aβ<sub>25-35</sub> 处理组; 4: 10 μmol/L Aβ<sub>25-35</sub> 处理组; 5: 20 μmol/L Aβ<sub>25-35</sub> 处理组。† 与对照组比较,  $P < 0.05$

图 1 不同浓度 Aβ<sub>25-35</sub> 处理 PC12 细胞 24 h 后的细胞活力比较

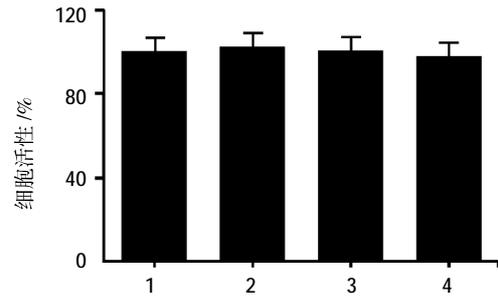
用 MTT 法检测细胞活性,各组细胞活性比较,差异有统计学意义 ( $F=37.017, P=0.000$ )。Aβ<sub>25-35</sub> 处理组的细胞活性 [(59.0 ± 5.6)%] 下降。而当细胞经雷公藤甲素和 Aβ<sub>25-35</sub> 同时处理时,其活性较 Aβ<sub>25-35</sub> 处理组升高。雷公藤甲素浓度为  $1 \times 10^{-10}$  mol/L 时,细胞活性达 (84.7 ± 6.8)%,与 Aβ<sub>25-35</sub> 处理组比较,经 Dunnett-*t* 检验,差异有统计学意义 ( $t=16.245, P=0.000$ )。将该浓度应用于后续实验。见图 2。

### 2.3 雷公藤甲素对活化 Caspase-3 表达的影响

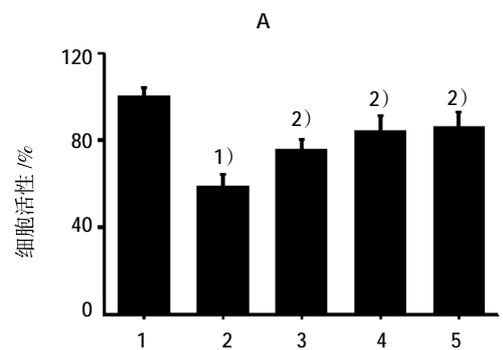
与对照组比较, Aβ<sub>25-35</sub> 处理细胞 24 h 后,活化 Caspase-3 在胞浆中表达升高。而在 Aβ<sub>25-35</sub> 和雷公藤甲素同时处理后,与 Aβ<sub>25-35</sub> 处理比较,活化 Caspase-3 在胞浆中表达较 Aβ<sub>25-35</sub> 处理组下降。见图 3。

### 2.4 雷公藤甲素对 Bcl-2 和 Bax mRNA 表达的影响

处理细胞 24 h 后,各组细胞 Bcl-2 和 Bax mRNA



1: 对照组; 2:  $1 \times 10^{-11}$  mol/L 雷公藤甲素处理组; 3:  $1 \times 10^{-10}$  mol/L 雷公藤甲素处理组; 4:  $1 \times 10^{-9}$  mol/L 雷公藤甲素处理组



1: 对照组; 2: 10 μmol/L Aβ<sub>25-35</sub> 处理组; 3:  $1 \times 10^{-11}$  mol/L 雷公藤甲素和 10 μmol/L Aβ<sub>25-35</sub> 处理组; 4:  $1 \times 10^{-10}$  mol/L 雷公藤甲素和 10 μmol/L Aβ<sub>25-35</sub> 处理组; 5:  $1 \times 10^{-9}$  mol/L 雷公藤甲素和 10 μmol/L Aβ<sub>25-35</sub> 处理组

A: 不同浓度雷公藤甲素处理 PC12 细胞后的细胞活力变化; B: 不同浓度雷公藤甲素对 Aβ<sub>25-35</sub> 诱导 PC12 细胞损伤模型的细胞活力影响。1) 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与 10 μmol/L Aβ<sub>25-35</sub> 处理组比较,  $P < 0.05$

图 2 雷公藤甲素对 PC12 细胞活性的影响

相对表达量比较,经方差分析,差异有统计学意义 ( $F=29.494, P=0.000$ )。A $\beta_{25-35}$  处理组 Bcl-2 和 Bax mRNA 水平与对照组比较,差异有统计学意义 ( $t=19.122$  和  $24.844$ , 均  $P=0.000$ ), A $\beta_{25-35}$  处理组的 Bcl-2 表达降低, Bax 表达升高。而在 A $\beta_{25-35}$  和雷公藤甲

素同时处理后, Bcl-2 mRNA 和 Bax mRNA 表达水平与 A $\beta_{25-35}$  处理组比较,差异有统计学意义 ( $t=22.327$  和  $29.842$ , 均  $P=0.000$ )。A $\beta_{25-35}$  和雷公藤甲素组的 Bcl-2 mRNA 表达升高, Bax mRNA 表达降低。见图 4。

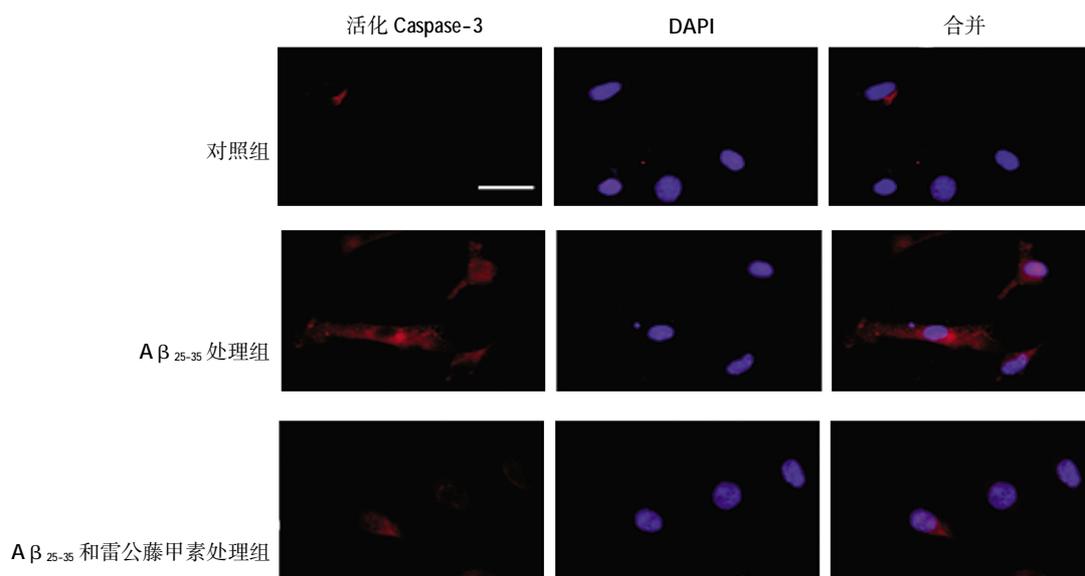
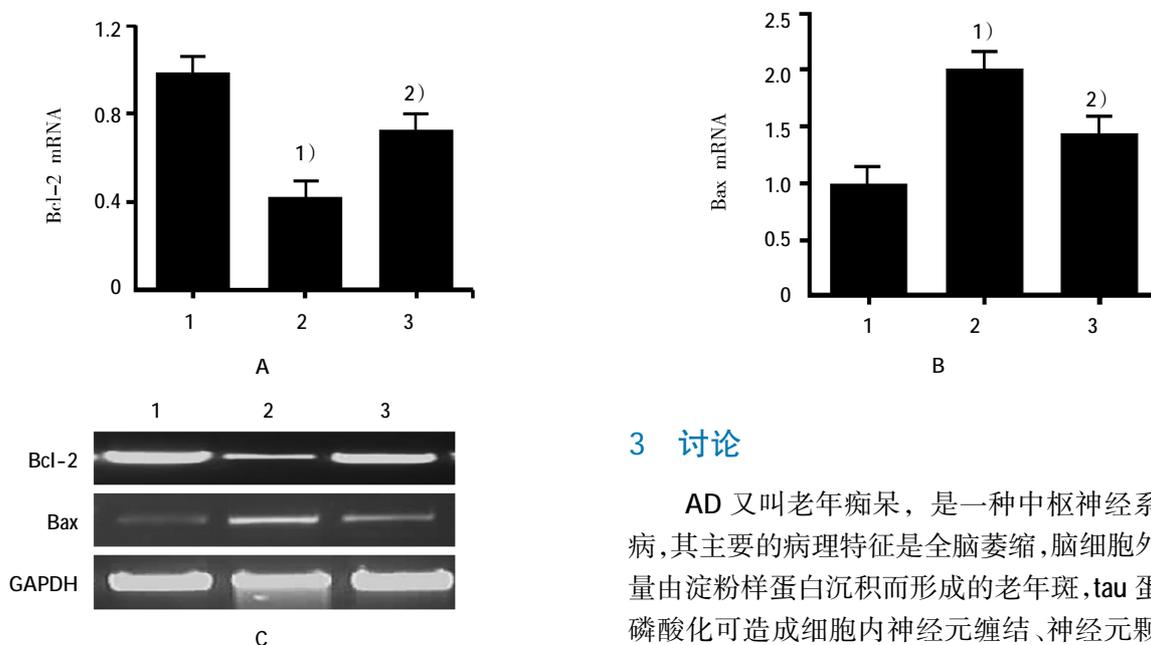


图 3 雷公藤甲素对活化 Caspase-3 表达水平的影响 (细胞免疫荧光, 标尺 10  $\mu$ m)



A: Bcl-2 mRNA 表达水平; B: Bax mRNA 表达水平; C: 代表性 mRNA 凝胶电泳图。1: 对照组; 2: A $\beta_{25-35}$  处理组; 3: A $\beta_{25-35}$  和雷公藤甲素处理组。1) 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与 A $\beta_{25-35}$  处理组比较,  $P < 0.05$

图 4 雷公藤甲素对 Bcl-2 和 Bax mRNA 表达水平的影响

### 3 讨论

AD 又叫老年痴呆, 是一种中枢神经系统变性病, 其主要的病理特征是全脑萎缩, 脑细胞外出现大量由淀粉样蛋白沉积而形成的老年斑, tau 蛋白过度磷酸化可造成细胞内神经元缠结、神经元颗粒空泡变形及其大量丧失等病理变化。近年来, 随着我国人口迅速老龄化, AD 困扰着越来越多的老年人, 给社会和家庭带来沉重的负担。然而, AD 的病因及发病机制尚不清楚。因此, 深入研究 AD 的发病机制和寻找有效的防治措施是基础医学和临床医学面临的

紧迫课题。其中,  $\beta$ -淀粉样蛋白(Amyloid- $\beta$ , A $\beta$ ) 在大脑组织中的异常沉积是导致 AD 发病的一个重要原因。因此,如何抑制 A $\beta$  引起的细胞凋亡也是目前的研究热点<sup>[6-8]</sup>。本实验利用 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 诱导 PC12 细胞复制 AD 体外细胞损伤模型,结果显示, A $\beta$ <sub>25-35</sub> 的处理降低神经元的活性并加快细胞凋亡。

雷公藤甲素,又叫雷公藤内酯醇,是一种具有多种生物活性的天然产物,来源于中药雷公藤的根。研究表明,其具有神经营养和神经保护等功效<sup>[9-12]</sup>。因此,笔者推测雷公藤甲素能够对在 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 诱导的 PC12 细胞损伤发挥保护作用。研究结果显示,与 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 处理组比较,雷公藤甲素提高 PC12 细胞活性。同时,考虑到药物安全在临床应用中的重要性,笔者也检测不同浓度( $1 \times 10^{-11}$ 、 $1 \times 10^{-10}$  和  $1 \times 10^{-9}$  mol/L)雷公藤甲素对 PC12 细胞活性的影响,结果显示,这 3 种浓度的雷公藤甲素对细胞活性的影响不明显,因此证明雷公藤甲素在该浓度下对 PC12 细胞的安全性。

AD 与凋亡有关,神经细胞的凋亡是 AD 发病的重要环节。在细胞凋亡过程中,Caspase-3 发挥重要作用,通常以无活性的前体形式存在,一经激活,将产生 Caspase 级联反应,最终导致细胞凋亡<sup>[13]</sup>。大量研究结果证明,Caspase-3 处于该级联反应的下游,通过降解细胞内相应底物使细胞死亡<sup>[15-18]</sup>。有研究表明,在脑卒中、帕金森病及 AD 中均可见 Caspase-3 的激活,说明 Caspase-3 在神经退行性疾病中有重要的作用<sup>[19]</sup>。本实验通过细胞免疫荧光检测活化 Caspase-3 在细胞中的表达,结果显示,与对照组比较, A $\beta$ <sub>25-35</sub> 能够增加活化 Caspase-3 的表达,而雷公藤甲素抑制 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 所诱导的活化 Caspase-3 表达水平的升高。

Bcl-2 基因在细胞凋亡过程中发挥十分重要的作用,在细胞受到外界刺激时能保护细胞免于凋亡,从而抑制细胞的凋亡。而与之相反,在脑缺血状态下,Bax 的表达可升高而促进细胞凋亡<sup>[6,19]</sup>。Bcl-2 家族分为两大类,一类是抗凋亡的,在细胞受到外界刺激时能保护细胞免于凋亡,从而抑制细胞的凋亡,Bcl-2 就属于这一类;另一类是促进细胞死亡,其中包括 Bax 基因<sup>[20-21]</sup>。RT-PCR 结果显示, A $\beta$ <sub>25-35</sub> 处理后 PC12 细胞 Bax mRNA 表达水平升高,而 Bcl-2 降低。雷公藤甲素抑制 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 所诱导的 Bax 和 Bcl-2 mRNA 表达。

综上所述,本研究通过 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 诱导 PC12 细胞制备 AD 体外细胞损伤模型,发现雷公藤甲素能够抑

制 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 诱导的细胞活性降低,活化 Caspase-3 表达水平升高,以及 Bax 和 Bcl-2 mRNA 表达升高。雷公藤甲素可能通过抑制细胞凋亡通路而对 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 诱导的 PC12 细胞损伤发挥保护作用,为针对细胞凋亡的阿尔茨海默病新药研究提供线索。

#### 参 考 文 献:

- [1] MAYEUX R, STERN Y. Epidemiology of alzheimer disease[J]. Nature Reviews Neurology, 2011, 2(8): 137-152.
- [2] MIELKE M M, VEMURI P, ROCCA W A. Clinical epidemiology of Alzheimer's disease: assessing sex and gender differences[J]. Clinical Epidemiology, 2014, 6(default): 37-48.
- [3] HARDY J, SELKOE D J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics[J]. Science, 2002, 297(5580): 353-356.
- [4] WEGENAST-BRAUN B M, MAISCH A F, EICKE D, et al. Independent effects of intra-and extracellular A $\beta$  on learning-related gene expression[J]. American Journal of Pathology, 2009, 175(1): 271-282.
- [5] HUANG H C, JIANG Z F. Accumulated amyloid-beta peptide and hyperphosphorylated tau protein: relationship and links in Alzheimer's disease[J]. Journal of Alzheimers Disease, 2009, 16(1): 15-27.
- [6] BATES K A, VERDILE G, LI Q X, et al. Clearance mechanisms of Alzheimer's amyloid-beta peptide: implications for therapeutic design and diagnostic tests[J]. Molecular Psychiatry, 2009, 14(12): 1144.
- [7] CASTELLO M A, JEPPSON J D, SORIANO S. Moving beyond anti-amyloid therapy for the prevention and treatment of Alzheimer's disease[J]. BMC Neurology, 2014, 14(1): 169.
- [8] 张庚, 吴金娟, 姜淼, 等. 中医药治疗阿尔兹海默病的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(6): 217-222.
- [9] ZHENG Y, ZHANG W J, WANG X M. Triptolide with potential medicinal value for diseases of the central nervous system[J]. CNS Neuroscience Therapeutics, 2013, 19(2): 76-82.
- [10] ZIAEI S, HALABY R. Immunosuppressive, anti-inflammatory and anti-cancer properties of triptolide: a mini review[J]. Avicenna Journal of Phytomedicine, 2015, 6(62): 149-164.
- [11] BRINKER A M, MA J, LIPSKY P E, et al. Medicinal chemistry and pharmacology of genus tripterygium (celastraceae)[J]. Phytochemistry, 2007, 68(6): 732-766.
- [12] ABBOTT N J, PATABENDIGE A A, DOLMAN D E, et al. Structure and function of the blood-brain barrier[J]. Neurobiology of Disease, 2010, 37(1):13.
- [13] 张燕, 陈洪, 于伟. 阿尔兹海默病的 A $\beta$  蛋白病理新探索[J]. 吉林医学, 2015(1): 115-116.
- [14] YU G, FANG M, JING W, et al. Triptolide down-regulates COX-2 expression and PGE2 release by suppressing the activity of NF- $\kappa$ B and MAP kinases in lipopolysaccharide-treated

- PC12 cells[J]. *Phytotherapy Research*, 2012, 26(3): 337-343.
- [15] XU P, LI Z, WANG H, et al. Triptolide inhibited cytotoxicity of differentiated pc12 cells induced by amyloid-beta25-35 via the autophagy pathway[J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): DOI: 10.1371/journal.pone.0142719.
- [16] KAIKKONEN M, SPANN N, HEINZ S, et al. Remodeling of the enhancer landscape during macrophage activation is coupled to enhancer transcription[J]. *Molecular Cell*, 2013, 51(3): 310.
- [17] LEE B S, OH J, KANG S K, et al. Insulin protects cardiac myocytes from doxorubicin toxicity by sp1-mediated transactivation of survivin[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): DOI: 10.1371/journal.pone.0135438.
- [18] ZHOU Z Y, GAO J P, XIANG J, et al. CX3CR1 mediates the neuroprotective effect of triptolide on 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced hemiparkinson rats[J]. *Chin J Pathophysiol*, 2015, 31(4): 659-663.
- [19] ADLARD P A, JAMES S A, BUSH A I, et al.  $\beta$ -Amyloid as a molecular therapeutic target in Alzheimer's disease[J]. *Drugs of Today*, 2009, 45(4): 293-304.
- [20] ANILKUMAR U, PREHN J H M. Anti-apoptotic BCL-2 family proteins in acute neural injury[J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2014, 8(10): 281.
- [21] WANG B, LIU J, GONG Z. Resveratrol induces apoptosis in K562 cells via the regulation of mitochondrial signaling pathways[J]. *International Journal of Clinical Experimental Medicine*, 2015, 8(9): 16926-16933.

(童颖丹 编辑)