

# MST1在帕金森细胞模型中的作用及其机制研究

张 君<sup>1</sup>, 李永乐<sup>1</sup>, 刘 洁<sup>2</sup>

1. 荆门市第二人民医院神经内科 (湖北荆门 448000)

2. 荆门市第二人民医院病理科 (湖北荆门 448000)

**【摘要】目的** 探讨沉默哺乳动物不育系 20 样激酶 1 (*MST1*) 基因对帕金森病中多巴胺能神经元细胞作用的影响。**方法** 培养 PC12 细胞并诱导分化为神经元, 将神经元分为对照组、1-甲基-4-苯基吡啶离子 (MPP+) 组、*MST1* SiRNA+MPP+ 组、*MST1* SiRNA 组, 转染后培养 48 h, 采用 Western blot 法检测神经元细胞 *MST1*、自噬启动蛋白 1 (ULK1)、核糖体蛋白 S6 激酶 1 (S6K1) 的蛋白表达; 采用噻唑蓝 (MTT) 法检测细胞增殖试剂盒检测细胞内丙二醛 (MDA)、还原性谷胱甘肽 (GSH) 含量以及超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 的活性。**结果** 转染后, *MST1* SiRNA 组神经元细胞中 *MST1* 蛋白表达明显减少 ( $P < 0.001$ )。与对照组相比, MPP+ 处理后能够明显抑制 PC12 细胞的增殖 ( $P < 0.01$ ), 增加 MDA 含量, 抑制 SOD、CAT 活性并降低 GSH 含量 ( $P < 0.01$ ), 增加 *MST1* 和 ULK1 蛋白表达, 抑制 p-S6K1 蛋白表达 ( $P < 0.01$ )。与 MPP+ 组相比, *MST1* SiRNA 转染后能够有效改善 MPP+ 对 PC12 细胞增殖的抑制作用 ( $P < 0.05$ ), 同时降低 MDA 的含量, 增加 GSH 含量和 SOD、GSH、CAT 的活性 ( $P < 0.01$ ), 降低 *MST1* 和 ULK1 的蛋白表达, 增加 p-S6K1 的蛋白表达 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。**结论** 沉默 *MST1* 基因能够抑制氧化应激、促进细胞增殖以及发挥神经元的保护作用。

**【关键词】** 哺乳动物不育系 20 样激酶 1; 自噬启动蛋白 1; 核糖体蛋白 S6 激酶 1; 多巴胺能神经元; 帕金森病

## The role and mechanism of *MST1* in Parkinson's cell model

Jun ZHANG<sup>1</sup>, Yong-Le LI<sup>1</sup>, Jie LIU<sup>2</sup>

1. Department of Neurology, The Second People's Hospital of Jingmen, Jingmen 448000, Hubei Province, China

2. Department of Pathology, The Second People's Hospital of Jingmen, Jingmen 448000, Hubei Province, China

Corresponding author: Jie LIU, Email: shaoshuai9011@163.com

**【Abstract】Objective** To investigate the effect of silencing *MST1* gene on dopaminergic neurons in Parkinson's disease. **Method** PC12 cells were cultured and induced to differentiate into neurons. The neurons were divided into control group, MPP+ group, *MST1* SiRNA+MPP+ group and *MST1* SiRNA group. After transfection for 48 h, Western blot was

DOI: 10.19960/j.issn.1005-0698.202306007

基金项目: 湖北省自然科学基金项目 (2018CKB915)

通信作者: 刘洁, 副主任医师, Email: shaoshuai9011@163.com

<https://ywlxhx.whuzhmedj.com/>

used to detect the influence of MST1, ULK1 and S6K1 protein expression. Cell proliferation was detected by thiazole blue assay (MTT). The contents of MDA, SOD, GSH and CAT in cells were detected by the kit. **Results** After transfection and cultivation for 48 hours, the expression of MST1 protein in neurons of the *MST1* SiRNA group was significantly reduced ( $P<0.001$ ). Compared with the control group, MPP+ treatment could significantly inhibit the proliferation of PC12 cells ( $P<0.01$ ), increase the activity of MDA, decrease the activity of SOD, GSH and CAT ( $P<0.01$ ), increase the expression of MST1 and ULK1 proteins and decrease the expression of p-S6K1 protein ( $P<0.01$ ). Compared with the MPP+ group, *MST1* SiRNA transfection could effectively improve the inhibitory effect of MPP+ on PC12 cell proliferation ( $P<0.05$ ), while decreasing the activity of MDA, increasing the activity of SOD, GSH and CAT ( $P<0.01$ ), decreasing the protein expression of MST1 and ULK1, and increasing the protein expression of p-S6K1 ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). **Conclusion** Silencing *MST1* gene can inhibit oxidative stress, promote cell proliferation and play a protective role in neurons.

**【Keywords】** MST1; ULK1; S6K1; Dopaminergic neurons; Parkinson's disease

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是常见第二大神经退行性变性疾病, PD 的发病率约为 0.3%, 60 岁以上人口发病率高达 1%, 且随年龄的增长而升高<sup>[1]</sup>。PD 患者的病理特征为黑质多巴胺能神经元变性丢失, 导致患者出现静止性震颤、运动迟缓、肌肉强直以及运动障碍等症状<sup>[2-3]</sup>, 其发病机制与  $\alpha$ -突触核蛋白、氧化应激、线粒体功能障碍以及富含亮氨酸的重复激酶 2 (LRRK2) 基因突变等因素有关<sup>[4]</sup>。目前, PD 的临床治疗只能改善临床症状, 但是不能逆转 PD 的病理进程。因此, 针对发病机制进行研究就显得尤其重要。

研究<sup>[5-6]</sup>发现哺乳动物不育系 20 样激酶 1 (*MST1*)-Hippo 信号通路在细胞凋亡及多种肿瘤发生发展中起重要作用, *MST1* 是 Hippo 通路的核心成员之一, 而 *MST1* 基因能被多种促凋亡刺激和细胞应激所激活, 继而引起细胞凋亡。氧化应激作为 PD 的主要发病机制之一, *MST1* 参与氧化应激引起的神经元凋亡<sup>[7-8]</sup>。研究<sup>[9]</sup>显示 *MST1* 与 p53 相互作用并通过 p53 的磷酸化促进神经元凋亡, 或者通过诱导促凋亡因子 Bim 基因表达导致神经元凋亡。*MST1* 与神经元的关系密切, 而 *MST1* 基因在 PD 的多巴胺能神经元的死亡中是否发挥作用尚不得知。因此, 本研究旨在探讨 *MST1* 基因沉默对 1-甲基-4-苯基吡啶离子 (MPP+) 所致 PC12 细胞损伤的保护作用及抗氧化机制, 揭示 *MST1* 基因发挥神经保护作用的相关机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

GGNOME-XRQ-NPC 型 Western-Blot 发光成像系统 (美国 Gene 公司); Thermo Multifuge X1 型低温高速离心机 (美国 Thermo 公司); Forma 3110 型 CO<sub>2</sub> 培养箱 (美国 Thermo 公司); Tecan M1000 PRO 型酶标仪 (瑞士 Tecan 公司); YC-280HC 型医用冷藏箱 (澳柯玛)。

胎牛血清 (批号: 10099141C) 和 DMEM 培养基 (批号: C11995500CP) 购自美国 Gibco 公司; MPP+ (批号: M0896-100MG) 和噻唑蓝比色法 (MTT, 批号: M2003-1G) 试剂购自美国 Sigma 公司; Trizol 试剂 (批号: 10296010)、PCR 逆转录试剂盒 (批号: AM1907) 和荧光定量 PCR (批号: 4316567) 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司; BCA 蛋白定量试剂盒 (批号: P0012) 购自广州市昊升生物科技有限公司; Lipofectamine 2000 (美国 Life Technologies 公司, 批号: 11668-019); 丙二醛 (MDA, 批号: A003-2-1)、超氧化物歧化酶 (SOD, 批号: A001-3-2)、还原性谷胱甘肽 (GSH, 批号: A006-2-1) 和过氧化氢酶 (CAT, 批号: A007-2-1) 检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所; MST1 (批号: 3682T)、自噬启动蛋白 1 (ULK1, 批号: 4773S) 抗体购自 CST 公司; 核糖体蛋白 S6 激酶 1 (S6K1, 批号: ab32529) 抗体 (Abcam 公司);  $\beta$ -actin (批号: BES-17751RB) 和 HRP-山羊抗兔 (批号:

BES2069TSA)购自上海博尔森生物科技有限公司。

## 1.2 细胞

PC12 细胞(广州市左克科技发展有限公司,批号:iCell-r024)。

## 1.3 方法

### 1.3.1 细胞培养

将 PC12 细胞培养在含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素的 DMEM 培养基中,培养条件设为体积分数 5% CO<sub>2</sub>、37℃,待细胞生长达到 70%~80% 融合时加入胰蛋白酶按 1:3 传代。

### 1.3.2 细胞转染

转染前 24 h 取对数生长期的细胞,消化传代,调整密度为 2 × 10<sup>5</sup> 个/mL,接种于 6 孔板中,每孔 2 mL。转染时换成新鲜培养液,脂质体 5 μL 加入 250 μL 培养液稀释, MST1 SiRNA (SiRNA 终浓度为 50 nmol · L<sup>-1</sup>) 加入 250 μL 培养液稀释,室温放置 5 min 后,将脂质体与 SiRNA 混合,室温放置 30 min 待其形成稳定的复合物,逐滴加入细胞,每孔终体积 2 mL。置于 5% CO<sub>2</sub>、37℃ 细胞培养箱中培养 24 h 后进行后续操作。

### 1.3.3 细胞分组

调整密度为 2 × 10<sup>5</sup> 个/mL,接种于 6 孔板中,细胞分为 4 组,每组设 3 个复孔:对照组(等量生理盐水处理 24 h)、MPP+ 组(添加 50 μmol · L<sup>-1</sup> 的 MPP+ 孵育 24 h)、MST1 SiRNA 组(Lipofectamine 2000 按 50 nmol · L<sup>-1</sup> 浓度进行 MST1 SiRNA 转染)、MST1 SiRNA+MPP+ 组(MST1 SiRNA 转染 24 h 后再添加 50 μmol · L<sup>-1</sup> 的 MPP+ 孵育 24 h)。

### 1.3.4 MTT检测细胞抑制率

将 PC12 细胞以 1 × 10<sup>4</sup>/100 μL 接种于 96 孔板中,按“1.3.3”项下方法进行分组,另设空白组(只加培养液)。培养 24 h 后去除旧的培养液,并加入 180 μL 新鲜培养液,再加入 20 μL MTT 溶液(5 μg · mL<sup>-1</sup>),培养 4 h 后加入 DMSO 150 μL 振荡至蓝紫色结晶溶解,最后于酶标仪 490 nm 处检测光密度(OD)值,并计算细胞抑制率(%):  
细胞抑制率 = [1 - (实验组平均 OD 值 - 空白组平均 OD 值) / (对照组平均 OD 值 - 空白组平均 OD 值)] × 100%。

### 1.3.5 Western blot检测MST1、ULK1、p-S6K1、S6K1蛋白表达

细胞按“1.3.3”项下方法进行分组,用胰蛋白酶消化收集细胞,PBS 洗涤后加入裂解液重悬

细胞,冰浴裂解 15 min,4℃ 条件下 3 000 × g 离心 10 min,收集上清液。采用 BCA 法检测蛋白浓度,调整各组细胞浓度,各组取 40 μg 蛋白样品于聚丙烯酰胺凝胶电泳,然后用 275 mA 电流 2 h 将蛋白转印至 PVDF 膜,用封闭液(50 g · L<sup>-1</sup> BSA、0.1% 聚山梨醇酯-20 TBS 缓冲液)封闭后,加入 β-actin、MST1、ULK1、p-S6K1、S6K1 抗体(1:1 000)4℃ 孵育过夜;第 2 天加入 HRP-山羊抗兔(1:1 000)体室温孵育 2 h,化学发光显影。

### 1.3.6 细胞MDA、GSH含量和SOD、CAT活性检测

收集各组 PC12 细胞接种至 24 孔板中,按“1.3.3”项下方法进行分组,然后收集 EP 管中离心后上清液。按照试剂盒说明书进行操作,检测 MDA、GSH 含量和 SOD、CAT 的活性。

## 1.4 统计学分析

采用 SPSS 24.0 软件进行统计学分析,实验均重复 3 次,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组比较采用独立样本 *t* 检验,数据经正态性和方差齐性检验,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD-*t* 法。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MST1 SiRNA对MST1蛋白表达影响

MST1 SiRNA 转染 48 h 后,与对照组相比,MST1 SiRNA 转染能够抑制蛋白表达(*P* < 0.001),说明转染效率明显。结果见图 1 和表 1。

### 2.2 MST1 SiRNA对PC12细胞增殖的影响

与对照组相比,MPP+ 处理后能够明显抑制 PC12 细胞的增殖(*P* < 0.01);与 MPP+ 组相比,MST1 SiRNA 转染后能够有效改善 MPP+ 对 PC12 细胞增殖的抑制作用(*P* < 0.05);单独 MST1 SiRNA 处理与 MST1 SiRNA+MPP+ 组相比差异无统计学意义(*P* > 0.05)。结果见表 2。

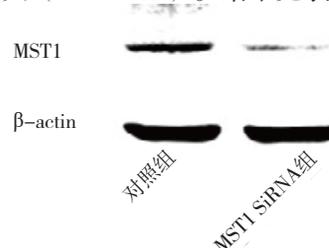


图1 MST1 SiRNA转染后的MST1蛋白条带图  
Figure 1. MST1 protein band diagram after transfection with MST1 SiRNA

表1 *MST1* SiRNA对MST1蛋白表达影响  
( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table1. Influence of *MST1* SiRNA on MST1 protein expression ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	MST1
对照组	1.00 ± 0.26
MST1 SiRNA组	0.33 ± 0.05
<i>t</i>	4.689
<i>P</i>	<0.001

### 2.3 *MST1* SiRNA对MDA、GSH含量和SOD、CAT活性的影响

与对照组相比, MPP+ 处理后能够明显增加MDA表达, 抑制SOD、CAT活性并降低GSH含量( $P < 0.01$ ); 与MPP+组相比, *MST1* SiRNA转染后能够有效改善MPP+对MDA含量的提高作用以及对SOD、GSH、CAT活性的抑制作用( $P < 0.01$ ); 单独*MST1* SiRNA处理与*MST1* SiRNA+MPP+组相比, MDA和GSH含量差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), SOD和CAT活性表达升高( $P < 0.01$ )。结果见表3。

### 2.4 *MST1* SiRNA对MST1、ULK1、p-S6K1、S6K1蛋白表达的影响

与对照组相比, MPP+ 处理后能够明显增加

表3 *MST1* SiRNA对MDA、GSH含量和SOD、CAT活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 3. Effects of *MST1* SiRNA on content of MDA, GSH and activity of SOD, CAT ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	MDA ( $\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$ )	SOD ( $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$ )	GSH ( $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$ )	CAT ( $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$ )
对照组	7.42 ± 0.31	33.54 ± 3.14	7.25 ± 0.85	33.28 ± 3.87
MPP+组	18.38 ± 3.67 <sup>a</sup>	17.34 ± 3.23 <sup>a</sup>	3.53 ± 0.98 <sup>a</sup>	20.65 ± 2.18 <sup>a</sup>
MST1 SiRNA+MPP+组	10.65 ± 1.05 <sup>b</sup>	25.62 ± 3.43 <sup>b</sup>	6.15 ± 1.22 <sup>b</sup>	28.34 ± 3.37 <sup>b</sup>
MST1 SiRNA组	6.53 ± 0.51	35.25 ± 3.54 <sup>c</sup>	7.57 ± 1.49	32.82 ± 1.28 <sup>c</sup>
<i>F</i>	51.883	42.824	36.089	67.396
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与对照组相比, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 与MPP+组相比, <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; 与*MST1* SiRNA+MPP+组相比, <sup>c</sup> $P < 0.01$

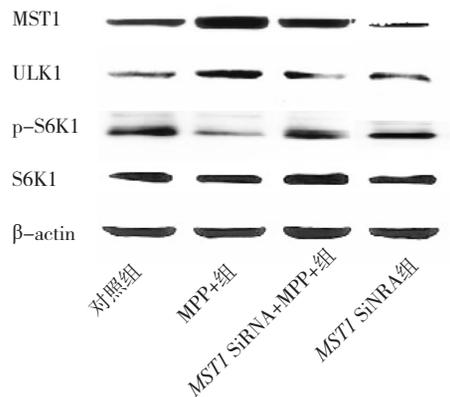


图2 MST1、ULK1、p-S6K1、S6K1蛋白条带图

Figure 2. Protein band diagrams of MST1, ULK1, p-S6K1 and S6K1

表2 *MST1* SiRNA对PC12细胞增殖的影响  
(%,  $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 2. Effects of *MST1* SiRNA on proliferation of PC12 cells (%,  $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	细胞存活率
对照组	1.00 ± 0.16
MPP+组	0.72 ± 0.04 <sup>a</sup>
MST1 SiRNA+MPP+组	0.92 ± 0.03 <sup>b</sup>
MST1 SiRNA组	1.00 ± 0.06
<i>F</i>	6.812
<i>P</i>	0.014

注: 与对照组相比, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 与MPP+组相比, <sup>b</sup> $P < 0.05$

MST1和ULK1蛋白表达, 抑制p-S6K1蛋白表达( $P < 0.01$ ), p-S6K1/S6K1比值也明显降低( $P < 0.01$ ); 与MPP+组相比, *MST1* SiRNA转染后能够有效改善MPP+对*MST1*和ULK1蛋白的促进作用以及对p-S6K1蛋白的抑制作用( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ), p-S6K1/S6K1比值也升高( $P < 0.01$ ); 单独*MST1* SiRNA处理与*MST1* SiRNA+MPP+组相比能够明显抑制MST1蛋白表达( $P < 0.01$ )。各组之间S6K1蛋白表达差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结果见图2和表4。

表4 *MST1* SiRNA对MST1、ULK1、p-S6K1、S6K1蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Table 4. Effects of *MST1* SiRNA on the expression of MST1, ULK1, p-S6K1 and S6K1 proteins ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

组别	MST1	ULK1	p-S6K1	S6K1	p-S6K1/S6K1
对照组	1.00 ± 0.08	1.00 ± 0.19	1.00 ± 0.15	1.00 ± 0.11	1.00 ± 0.14
MPP+组	3.12 ± 0.15 <sup>a</sup>	1.92 ± 0.14 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.04 ± 0.03	0.24 ± 0.05 <sup>a</sup>
MST1 SiRNA+MPP+组	2.11 ± 0.24 <sup>c</sup>	1.32 ± 0.12 <sup>b</sup>	0.70 ± 0.03 <sup>c</sup>	1.09 ± 0.04	0.68 ± 0.06 <sup>c</sup>
MST1 SiRNA组	0.30 ± 0.05 <sup>d</sup>	0.95 ± 0.05	1.03 ± 0.08	0.94 ± 0.05	1.05 ± 0.08
<i>F</i>	201.804	29.858	52.461	2.841	51.357
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	0.106	<0.001

注：与对照组相比，<sup>a</sup>*P*<0.01；与MPP+组相比，<sup>b</sup>*P*<0.05，<sup>c</sup>*P*<0.01；与MST1 SiRNA+MPP+组相比，<sup>d</sup>*P*<0.01

### 3 讨论

PD 是以运动功能障碍为主要症状的常见神经退行性变性疾病。我国 65 岁以上人群 PD 患病率为 1.7%，目前 PD 患者总数超过 200 万，每年新发近 10 万例<sup>[10]</sup>。PD 的病理基础是黑质多巴胺能神经元的变性死亡。近年来研究<sup>[11]</sup>发现，PD 中多巴胺能神经元变性死亡涉及细胞凋亡，并且氧化应激作为 PD 的主要发病机制之一，由于氧化应激引起的受损大分子积聚在线粒体中，细胞器的功能被破坏，导致线粒体释放细胞色素 c 并触发细胞凋亡，引起多巴胺能神经元死亡。*MST1* 在多种疾病中能够调节多条不同的凋亡通路引起细胞凋亡，*MST1* 也参与氧化应激引起的神经元凋亡<sup>[7-8]</sup>。因此，本研究以 PC12 细胞为模型，MPP+ 经多巴胺转运体能转移到多巴胺能神经元内，具有多巴胺能神经元毒性，PC12 细胞是大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞克隆的细胞株，能表达酪氨酸羟化酶并合成多巴胺，是研究多巴胺能神经元常用的细胞系。所以本研究通过 MPP+ 刺激 PC12 模拟 PD 细胞损伤模型，通过 *MST1* SiRNA 观察其对神经元发挥保护作用的机制。

本研究结果显示，通过 *MST1* SiRNA 转染 48 h 后能够明显抑制 MST1 蛋白表达，说明转染有效，细胞存活实验显示，*MST1* SiRNA 转染后能够明显改善 MPP+ 引起的神经元凋亡，发挥保护作用，说明 *MST1* SiRNA 能够抑制细胞凋亡，这与 Wang 等<sup>[12]</sup>研究 *MST1* 介导的神经元凋亡是阿尔茨海默症认知缺陷重要机制相一致。氧化应激是多巴胺能性神经退行性变性的主要因素之一，氧化应激通过产生过氧化物和自由基，损伤细胞内的所有组成部分，包括蛋白质、脂类和

DNA, 从而引发病理过程。MDA 为氧自由基与细胞膜内多价不饱和脂肪酸作用后所产生的一种代谢产物，常作为衡量氧化应激水平的指标，其在机体血液中的含量可准确反映组织损伤程度、机体脂质过氧化速率和强度以及组织过氧化损伤程度，该物质升高也会对细胞造成损伤<sup>[13]</sup>。本研究中 MPP+ 诱导的神经元损伤中 MDA 明显升高，而 *MST1* SiRNA 转染后能够明显降低 MDA 表达，抑制 MPP+ 诱导的氧化损伤。SOD 是反映人体内自由基代谢状态的重要指标之一，对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用，其水平的高低可间接反映机体清除自由基的能力。GSH 参与氧化还原反应，为脑内最重要的自由基清除系统。CAT 与 SOD 发挥协同作用形成抗氧化体系，可有效防止氧化而伤害机体<sup>[14]</sup>。散发性和家族性 PD 患者的脑组织中均检测到较高水平的氧化蛋白、脂质和 DNA。PD 患者中活性氧 (ROS) 和 MDA 水平升高，抗氧化剂如 GSH 含量、CAT 和 SOD 活性降低<sup>[15]</sup>。本研究中 *MST1* SiRNA 转染后能够促进抗氧化酶 SOD、GSH、CAT 的表达，发挥抗氧化作用，降低 MDA 含量，抑制 MPP+ 诱导的氧化损伤作用。

氧化应激产物和活性氮的积累与线粒体功能障碍有关，导致能量产生的缺陷、金属稳态的改变和有毒蛋白质聚集物的积累，这是 PD 的典型特征。最终通过细胞凋亡、坏死、铁脱落或自噬激活细胞死亡途径<sup>[12]</sup>。ULK1 作为自噬反应的重要部分，通过磷酸化 S317 和 S777 激活 ULK1 来促进自噬，ULK1 阻断 S6K1 在 T389 位点的磷酸化有助于神经退行性变，参与神经元细胞的凋亡。雷帕霉素复合物 1 (mTORC1) -ULK1 通路通过在 S757 位点磷酸化抑制 ULK1 酶活性介导自噬的

抑制途径<sup>[16]</sup>；mTORC1-S6K1 通路途径也与自噬相关，并且可以促进细胞的增殖，抑制细胞的凋亡<sup>[17-18]</sup>；本研究显示 MPP+ 诱导的神经元损伤中 ULK1 蛋白表达明显升高，p-S6K1 蛋白表达明显受抑制，p-S6K1/ S6K1 比值也明显降低，而 *MST1* SiRNA 转染后能够明显抑制 ULK1 蛋白表达，促进 p-S6K1 蛋白表达，升高 p-S6K1/ S6K1 比值，抑制细胞的凋亡和自噬，发挥神经保护作用。

综上所述，本研究发现 *MST1* SiRNA 在 MPP+ 诱导的神经元损伤模型中抑制氧化应激，发挥抗氧化以及抑制 ULK1 蛋白表达、促进 p-S6K1 蛋白表达作用，促进细胞的存活，其可能的机制有待深入研究。

### 参考文献

- 1 Simon DK, Tanner CM, Brundin P. Parkinson disease epidemiology, pathology, genetics, and pathophysiology[J]. *Clin Geriatr Med*, 2020, 36(1): 1-12. DOI: 10.1016/j.cger.2019.08.002.
- 2 Dirx MF, Bologna M. The pathophysiology of Parkinson's disease tremor[J]. *J Neurol Sci*, 2022, 435: 120196. DOI: 10.1016/j.jns.2022.120196.
- 3 李颖, 吴玉波. 多巴胺毒性代谢产物对前成骨细胞的增殖、分化、矿化及凋亡的影响 [J]. *中国药师*, 2021, 24(12): 2182-2187. [Li Y, Wu YB. Effects of dopamine toxic metabolites on the proliferation, differentiation, mineralization and apoptosis of pre-osteoblasts[J]. *China Pharmacist*, 2021, 24(12): 2182-2187.] DOI: 10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2021.12.008
- 4 肖琪, 樊慧杰, 李艳荣, 等. 帕金森病发病机制研究进展 [J/OL]. *解放军医学杂志*: 1-15. [2023-02-24]. [Xiao Q, Fan HJ, Li YR, et al. Advances in the pathogenesis of Parkinson's disease [J/OL]. *PLA Medical Journal*: 1-15. [2023-02-24.] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1056.R.20230223.0945.002.html>.
- 5 Song X, Yuan B, Zhao S, et al. Effect of taurine on the proliferation, apoptosis and MST1/Hippo signaling in prostate cancer cells[J]. *Transl Cancer Res*, 2022, 11(6): 1705-1712. DOI: 10.21037/tcr-22-1297.
- 6 Ouyang H, Zhou E, Wang H. Mst1-Hippo pathway triggers breast cancer apoptosis via inducing mitochondrial fragmentation in a manner dependent on JNK-Drp1 axis[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 1147-1159. DOI: 10.2147/OTT.S193787.
- 7 Song H, Wang M, Xin T. Mst1 contributes to nasal epithelium inflammation via augmenting oxidative stress and mitochondrial dysfunction in a manner dependent on Nrf2 inhibition[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(12): 23774-23784. DOI: 10.1002/jcp.28945.
- 8 Wang Y, Yang Q, Shen S, et al. Mst1 promotes mitochondrial dysfunction and apoptosis in oxidative stress-induced rheumatoid arthritis synoviocytes[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(16): 16211-16223. DOI: 10.18632/aging.103643.
- 9 Sanphui P, Biswas SC. FoxO3a is activated and executes neuron death via Bim in response to  $\beta$ -amyloid[J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4(5): e625. DOI: 10.1038/cddis.2013.148.
- 10 Pringsheim T, Jette N, Frolkis A, et al. The prevalence of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis[J]. *Mov Disord*, 2014, 29: 1583-1590. DOI: 10.1002/mds.25945.
- 11 Kung HC, Lin KJ, Kung CT, et al. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and neuroprotection of polyphenols with respect to resveratrol in parkinson's disease[J]. *Biomedicine*, 2021, 9(8): 918. DOI: 10.3390/biomedicine9080918.
- 12 Wang H, Shang Y, Wang E, et al. MST1 mediates neuronal loss and cognitive deficits: a novel therapeutic target for Alzheimer's disease[J]. *Prog Neurobiol*, 2022, 214: 102280. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2022.102280.
- 13 Aleksandrova K, Koelman L, Rodrigues CE. Dietary patterns and biomarkers of oxidative stress and inflammation: a systematic review of observational and intervention studies[J]. *Redox Biol*, 2021, 42: 101869. DOI: 10.1016/j.redox.2021.101869.
- 14 He B, Chen D, Zhang X, et al. Oxidative stress and ginsenosides: an update on the molecular mechanisms[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 9299574. DOI: 10.1155/2022/9299574.
- 15 Sheikhpour E, Mard SA, Farbood Y, et al. The effects of gallic acid and vagotomy on motor function, intestinal transit, brain electrophysiology and oxidative stress alterations in a rat model of Parkinson's disease induced by rotenone[J]. *Life Sci*, 2023, 315: 121356. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.121356.

- 16 谭琳娜, 谭玉勇, 鲁嘉熙, 等. ULK1 蛋白激酶通过自噬及非自噬途径介导的生理、病理和疾病研究进展 [J]. 生命科学研究, 2019, 23(3): 245–252. [Tan LN, Tan YY, Lu JX, et al. Advances of ULK1 functions in human physiological, pathological and disease processes via autophagy and non-autophagy pathways[J]. Life Science Research, 2019, 23(3): 245–252.] DOI: 10.16605/j.cnki.1007-7847.2019.03.011.
- 17 Qin Y, Huang J, Zhao X, et al. MiR-135a-5p and Mst1 regulate MPP + -1 induced apoptosis and autophagy in Parkinson's disease model in vitro[J]. Cell Signal, 2022, 94: 110328. DOI: 10.1016/j.cellsig.2022.110328.
- 18 Ahmed AR, Owens RJ, Stubbs CD, et al. Direct imaging of the recruitment and phosphorylation of S6K1 in the mTORC1 pathway in living cells[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 3408. DOI: 10.1038/s41598-019-39410-z.

收稿日期: 2023 年 01 月 16 日 修回日期: 2023 年 04 月 06 日  
本文编辑: 钟巧妮 杨 燕