

泌尿生殖医学

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002746

白藜芦醇调节 Akt/mTOR 通路对大鼠多囊卵巢综合征颗粒细胞自噬的影响机制研究

马 智, 胡 俊, 邓 煜, 幸贵邦, 王炼炼

(重庆医科大学附属第一医院生殖医学中心, 重庆 400016)

【摘要】目的:探讨白藜芦醇对多囊卵巢综合征大鼠模型颗粒细胞自噬的影响,并探讨其机制。**方法:**40 只雌性 SD 大鼠幼鼠随机分为 2 组,即多囊卵巢综合征模型组($n=30$)和模型对照组($n=10$)。将经免疫细胞化学法鉴定证实的多囊卵巢综合征(polycystic ovarian syndrome, PCOS)颗粒细胞进行体外培养。用不同浓度的白藜芦醇处理, CCK-8 观察细胞的增殖率变化情况;电镜观察颗粒细胞内自噬水平的变化; Western blot 检测细胞内自噬相关蛋白轻链 3 I (light chain 3 I, LC3 I)、自噬相关蛋白轻链 3 II (light chain 3 II, LC3 II)、Beclin1 的表达,以及总(磷酸化)蛋白激酶 B [total(phosphorylated) protein kinase B, T(p)-Akt]、总(磷酸化)雷帕霉素靶蛋白 [total(phosphorylated) mammalian target of rapamycin, T(p)-mTOR] 的变化,并检测 Akt 抑制剂 LY294002 作用后,细胞内上述蛋白的表达情况。**结果:**免疫细胞化学结果显示,与模型对照组比较,模型组卵巢颗粒细胞中卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)表达明显增强。这提示模型构建成功且分离成功。CCK-8 结果表明,白藜芦醇能够提高颗粒细胞的增殖率,有浓度-时间依赖性;并降低细胞内的自噬水平;而 Western blot 结果显示,白藜芦醇可以减低细胞内 LC3 I、LC3 II 和 Beclin1 的表达,提高 p-Akt 和 p-mTOR 的蛋白表达;LY294002 作用后,细胞内的 LC3 I、LC3 II 和 Beclin1 表达明显增加,同时 p-Akt 和 p-mTOR 的表达则明显降低。**结论:**白藜芦醇能够明显降低多囊卵巢综合征卵巢颗粒细胞内自噬水平并影响细胞的增殖率,其机制可能与白藜芦醇上调 Akt/mTOR 通路密切相关。

【关键词】多囊卵巢综合征;颗粒细胞;自噬;Akt/mTOR 通路**【中图分类号】**R737.31**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2020-09-11

Effects of resveratrol on granulosa cell autophagy by regulating Akt/mTOR pathway in rats with polycystic ovarian syndrome

Ma Zhi, Hu Jun, Deng Yu, Xing Guibang, Wang Lianlian

(Center for Reproductive Medicine, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the effect of the plant extract resveratrol on autophagy of granulosa cells in the rats with polycystic ovarian syndrome (PCOS) and to explore its mechanism of action. **Methods:** Forty female SD (Sprague Dawley) rats were randomized into two groups: PCOS model group ($n=30$) and model control group ($n=10$). PCOS granulosa cells identified and confirmed by immunocytochemistry were cultured *in vitro*, and dealt with different concentrations of resveratrol, and the changes of cell proliferation rate were observed by CCK-8. Electron microscope was used for the changes of autophagy level in granular cells. Western blot was used to detect the expression of light chain 3 I (LC3 I), light chain 3 II (LC3 II), Beclin1, total (phosphorylated) protein kinase B [T(p)-Akt], and total (phosphorylated) mammalian target of rapamycin [T(p)-mTOR], and the expression of these proteins in cells after the action of Akt inhibitor LY294002 was detected. **Results:** Compared with the model control group, the immunocytochemical results showed that the expression of follicle-stimulating hormone (FSH) in ovarian granulosa cells in the model group was significantly enhanced, which indicated that the model was successfully constructed and isolated. The CCK-8 results showed that resveratrol could improve the proliferation rate of granulosa cells, with concentration-time dependence. The Western blot results

作者介绍: 马 智, Email: 994949622@qq.com,

研究方向: 多囊卵巢综合征发病机制及防治。

通信作者: 王炼炼, Email: 343650062@qq.com。

基金项目: 重庆市科委基础研究及前沿探索资助项目 (编号: csc2018 jcyjAX0216)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20210114.0919.002.html>
(2021-01-15)

showed that resveratrol could decrease the expression of LC3 I, LC3 II and Beclin1, but increase the protein expression of p-Akt and p-mTOR. After LY294002 treatment, the expression of LC3 I, LC3 II and Beclin1 increased significantly, while the expression of p-Akt and p-mTOR decreased significantly. **Conclusion:** Resveratrol can significantly reduce the autophagy level of

ovarian granulosa cells in PCOS and affect the cell proliferation rate, and its mechanism may be closely related to the upregulation of Akt/mTOR.

[Key words] polycystic ovarian syndrome; granulosa cell; autophagy; Akt/mTOR pathway

多囊卵巢综合征(polycystic ovarian syndrome, PCOS)是育龄期妇女最常见的内分泌代谢紊乱性疾病之一,其发病率可高达 21%,是导致育龄妇女不孕最为重要的原因之一^[1]。PCOS 主要的特征表现为排卵障碍、雄激素分泌过多、卵巢多囊形态,如卵巢皮质增厚、多发性小囊泡囊肿、黄体化内鞘、基质增生和多发性未成熟卵泡等^[2]。患者易出现代谢功能障碍,罹患心血管系统疾病、精神疾病、肿瘤等风险会明显增高,严重威胁女性的身心健康和生存质量。

PCOS 的病因和发病机制不清,主要涉及遗传、环境、激素分泌、社会心理和炎症等多方面因素^[3-4]。自噬作为一种新的程序性死亡方式,可通过自噬囊泡吞噬衰老的、受损的或不能修复的细胞器或蛋白质,然后与溶酶体融合,进而降解自身非必需成分来提供营养、能量,在维持真核细胞稳态、免疫防御、肿瘤抑制、寿命延长等过程中起关键作用。大量研究表明,在 PCOS 大鼠卵巢颗粒细胞中,与自噬相关的白轻链 3 II (light chain 3 II, LC3 II)表达增加,底物 SQSTM1/p62 水平则降低,这些都为自噬障碍在 PCOS 中的潜在作用提供了实验证据,也提示自噬可能是 PCOS 发病机制中的一个重要分子事件^[5]。因此,抑制卵巢颗粒细胞自噬的发生可能为防治 PCOS 提供新的治疗思路。

白藜芦醇(resveratrol, Res)是一类天然多酚类化合物,富含于虎杖、葡萄皮中,具有低毒性和多种生物学活性,如抗炎^[6]、抗氧化^[7]、抗肿瘤^[8]等。Kong XX 等^[9]研究发现 Res 能明显增加大鼠卵母细胞总数,减少闭锁卵泡,还可抑制不同年龄组大鼠的卵泡发育过程及凋亡。新的研究也发现联合二甲双胍和 Res 治疗 PCOS,两者可激活 sirt1 和 AMPK,进而激活多囊卵巢的抗氧化和抗炎系统,从而抑制体质量增加,改善激素水平和卵巢滤泡细胞结构^[10]。Res 是否能够通过卵巢颗粒细胞自噬水平的调节进而影响 PCOS 却不得而知。因此,本研究通过构建 PCOS 的 SD 大鼠模型,分离得到颗粒细胞,并给予 Res

处理,观察 Res 对颗粒细胞自噬的影响,并探讨其可能的机制,为治疗 PCOS 提供新的思路和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 雌性 21 日龄 SD 大鼠 40 只,体质量 45~50 g,购自重庆医科大学实验动物研究中心,合格证号:SCXK(渝)2016-0001。所有实验用 SD 大鼠均置于重庆医科大学动物实验中心 SPF 级代养室饲养,每笼 5 只,温度保持为(24±1)℃,12 h 光照昼夜循环,给予专用鼠粮和水,术前 12 h 禁食,可饮水。

1.1.2 主要试剂 高糖 F-12 培养液(dulbecco's modified eagle medium/F-12, DMEM/F12)和胎牛血清购自 Gibco 公司;青霉素/链霉素、白藜芦醇、Akt 抑制剂 LY294002 和二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)购自 Sigma 公司;CKK-8、BCA 蛋白浓度检测试剂盒和十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺(dodecyl sulfate, sodium salt-polyacrylamide gel, SDS-PAGE)电泳凝胶试剂盒均购自碧云天生物技术研究;所有的一抗(兔抗鼠)均购自 Abcam 公司,包括 PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR、LC3 I/II 和 Beclin1。内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体及辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗兔的二抗购自北京博赛森生物技术有限公司;聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜和电化学发光(electrochemi-luminescence, ECL)试剂盒购自美国 Bio-Rad 公司。

1.2 方法

1.2.1 Res 溶液和 LY294002 母液的配置 称取 100 mg Res,以 DMSO 溶解,并加入三蒸水使其浓度为 1.0 mmol/L,过滤后-20℃保存。另取 0.1 mL 浓度为 10 mg/mL 的 Akt 抑制剂 LY294002,以 DMSO 溶解,并加入三蒸水,将其浓度调整为 1.0 mmol/L。

1.2.2 动物模型的建立 PCOS 模型鼠的建立方法如下:大鼠麻醉后,于颈背部皮下注射脱氢表雄酮 6 mg/(100 g·d)+0.2 mL 芝麻油剂,然后在腹部皮下注射诺和灵 N 2 IU/d。模型对照组直接采取背部皮下注射注射用油剂 0.2 mL 芝麻油,均连续注射 35 d 后停药^[10]。

1.2.3 卵巢颗粒细胞的收集 模型成功建立后,处死所有大鼠,在超净工作台上无菌环境下取出卵巢,并用生理盐水和

PBS 分别冲洗 3 次,在体镜下小心剥离卵巢周围的脂肪组织,并在盛有 99% DF-12 和 1% 三抗的培养皿中剥离囊状卵泡,再次冲洗,刺破卵泡,释放卵巢颗粒细胞,用 200 目细胞筛将卵泡膜滤出,后 1 500 r/min 离心 5 min,弃上清。然后将颗粒细胞重悬,并再次离心 1 500 r/min $\times$ 5 min,取上层细胞即为颗粒细胞。

1.2.4 颗粒细胞的培养及白藜芦醇和 LY294002 处理 将收集的颗粒细胞接种于 25 cm² 培养瓶中,用含有 1% 青霉素/链霉素和 10% FBS 的 DMEM/F12 培养基进行培养,置 37 ℃、5% CO₂ 饱和湿度的培养箱中培养;待细胞完全贴壁后,除去非黏附细胞,每 2 d 更换 1 次培养基。药物处理时,将白藜芦醇和 LY294002 的母液分别加入 4 mL 培养液中,使得白藜芦醇的工作液浓度分别为 10、20、40、80 μ mol/L,而 LY294002 的浓度为 20 μ mol/L。

1.2.5 颗粒细胞的鉴定 采用免疫细胞化学法。将 8 cm $\times$ 8 cm 大小玻片放入 24 孔板中制作细胞爬片,24 h 后收集爬片,用 PBS 液洗涤 3 次,3 min/次;然后用 4% 多聚甲醛溶液固定细胞 10 min;再次用 PBS 溶液洗涤细胞,3 min/次 $\times$ 3 次;吸干 PBS 溶液,用 H₂O₂ 修复 15 min;PBS 洗涤后用正常山羊血清封闭 30 min;甩干封闭用山羊血清,滴加兔抗鼠卵泡刺激素 (follicle-stimulating hormone, FSH) (1:100),于湿盒中放置,4 ℃ 孵育过夜;PBS 洗涤后分别滴加生物素标记的山羊抗兔二抗工作液辣根过氧化物酶标记的三抗,室温下放置 20 min;最后吸干液体,滴加中性树胶,盖上盖玻片然后显微镜下观察。

1.2.6 CCK-8 法 将消化离心后的颗粒细胞按每孔 5 000 个细胞接种于 96 孔板中,并加入 200 μ L 培养液,置 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养,待细胞完全处于贴壁生长 24 h 后,用不同浓度 (10、20、40、80 μ mol/L) Res 处理该细胞,作用 24、48、72 h,并设空白对照组和溶剂对照组即 DMSO 组 (浓度为 0.1%),每组设 6 个复孔。每孔加入 20 μ L CCK-8 溶液,在培养箱内继续培养 1 h,用酶标仪上检测其 450 nm 处的光密度 (optical density, OD) 值,并按下列公式计算白藜芦醇对颗粒细胞的增殖率的影响:颗粒细胞增殖率 (%) = 试验组 OD₄₅₀ / 空白对照组 OD₄₅₀ $\times$ 100%。

1.2.7 透射电镜观察自噬 将收集的各组 (空白对照组、DMSO 组、10 μ mol/L Res 组和 40 μ mol/L Res 组) 卵巢颗粒细胞缓慢加入 4% 多聚甲醛固定液 (装满离心管),以防破坏细胞团块,固定后立即于透射电镜下观察细胞内自噬体 (自噬溶酶体) 情况。

1.2.8 Western blot 收集各组颗粒细胞 (分组同上),加入 1 mL 蛋白裂解液,充分裂解后于 4 ℃,13 000 r/min $\times$ 15 min 离心后,用 Bradford 法测定每组蛋白样品浓度并分装保存。配置 8%~10% 的 Page 胶,上样 40 μ g 经 SDS-PAGE 电泳,将蛋白电转至 PVDF 膜上,用 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h,然后置

入 TBST 稀释的抗体 Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR、LC3 I/II 和 Beclin1,4 ℃ 孵育过夜;充分洗涤后加入 1:5 000 的 HRP 标记的羊抗兔二抗,室温孵育 2 h,最后用 ECL 发光试剂盒进行曝光显影,经 Bio-Rad Chemical Dox XRS 凝胶成像系统进行条带的分析。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。所有计量资料均采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。多组间均数比较采用单因素或双因素方差分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 卵巢颗粒细胞的分离和鉴定

颗粒细胞分离后放入培养瓶中培养,随着颗粒细胞的贴壁生长,细胞逐渐出现纺锤体形态 (图 1A、B);FSH 是卵巢颗粒细胞分泌的一种特异性糖蛋白,是其典型的标记物。免疫细胞化学法检测结果显示,与模型对照组比较,PCOS 大鼠模型的卵巢颗粒细胞的 FSH 明显增强,有统计学意义 ($F=21.370, P=0.000$) (图 1C、D)。

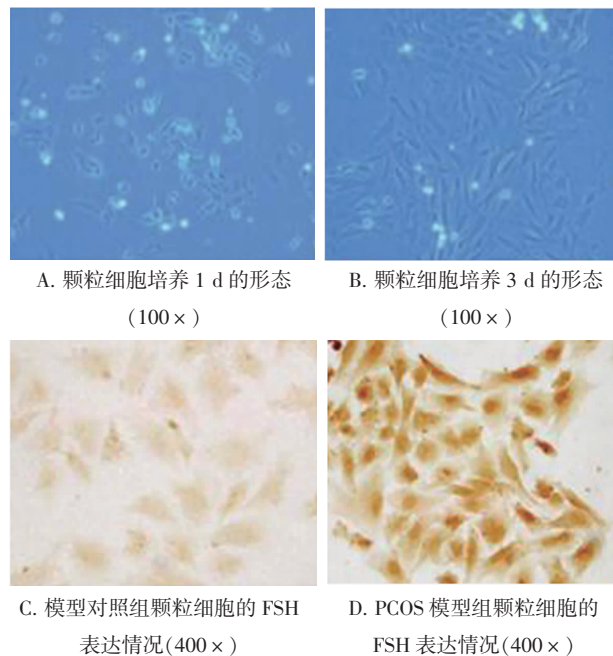
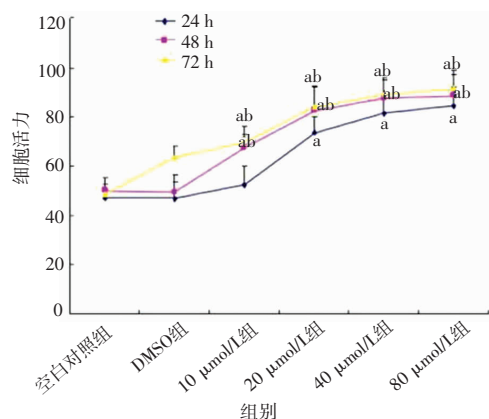


图 1 卵巢颗粒细胞的培养及鉴定

2.2 白藜芦醇促进卵巢颗粒细胞的增殖

与空白对照组比较,DMSO 组及 10 μ mol/L Res 组作用 24 h 后,卵巢颗粒细胞的增殖率无统计学差异 ($P>0.05$),Res 浓度为 20、40 和 80 μ mol/L 作用 24 h 时,颗粒细胞的增殖率都有明显提高,差异有统计学意义 ($P<0.01$),呈明显的剂量依赖性 ($P<0.01$) (图 2)。进一步发现,从 10 μ mol/L Res 开始,与作用 24 h 比较,作用颗粒细胞 48 h 和 72 h 时的细胞增殖率都有明显提高,呈时间依赖性 ($P<0.01$) (表 1)。



注:a,与空白对照组相比, $P<0.05$;b:与作用 24 h 相比, $P<0.01$

图 2 白藜芦醇促进卵巢颗粒细胞增殖

表 1 不同浓度 Res 对卵巢颗粒细胞增殖影响的统计学分析

变差来源	平方和	自由度	F 值	P 值
浓度	6 096.506	5	674.038	0.000
时间	580.576	1	145.170	0.000
浓度 × 时间	1 113.120	5	222.664	0.000

2.3 白藜芦醇抑制卵巢颗粒细胞的自噬

空白对照组及 DMSO 组卵巢颗粒细胞内存在大量自噬体,当白藜芦醇浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时,颗粒细胞内的自噬体数量没有明显改变,差异无统计学意义($F=1.937, P=0.077$);当浓度增至 40 $\mu\text{mol/L}$ 时,卵巢颗粒细胞内的自噬体已有明显降低,差异有统计学意义($F=17.865, P=0.000$)(图 3)。

2.4 白藜芦醇通过调节 Akt/mTOR 信号通路抑制卵巢颗粒细胞自噬

与空白对照组和 DMSO 组相比,10 $\mu\text{mol/L}$ 的 Res 处理卵巢颗粒细胞后,细胞内的 p-Akt、p-mTOR 蛋白水平没有明

显改变,自噬密切相关的标志性蛋白 LC3 和 Beclin1 也无明显改变($F_1=2.085, P_1=0.138; F_2=3.028, P_2=0.054$)(图 4)。当浓度增加至 40 $\mu\text{mol/L}$ 时,p-Akt、p-mTOR 蛋白水平明显提高($F_1=86.091, P_1=0.000; F_2=15.598, P_2=0.000$);而 LC3 II/LC3 I 表达相对比值和 Beclin1 的表达水平都明显下降($F_1=17.865, P_1=0.000; F_2=57.565, P_2=0.000$)。而 20 $\mu\text{mol/L}$ 的 LY294002 和白藜芦醇联合作用 24 h 后,卵巢颗粒细胞内的 p-Akt 和 p-mTOR 蛋白水平的表达都受到抑制,而自噬相关蛋白 LC3 II/LC3 I 的表达比值和 Beclin-1 的表达却明显增高($F_1=50.552, P_1=0.000; F_2=70.090, P_2=0.000$)(图 5)。

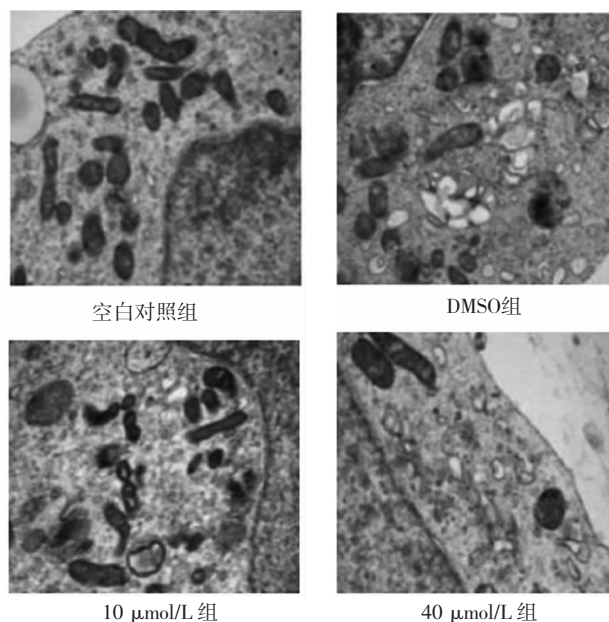
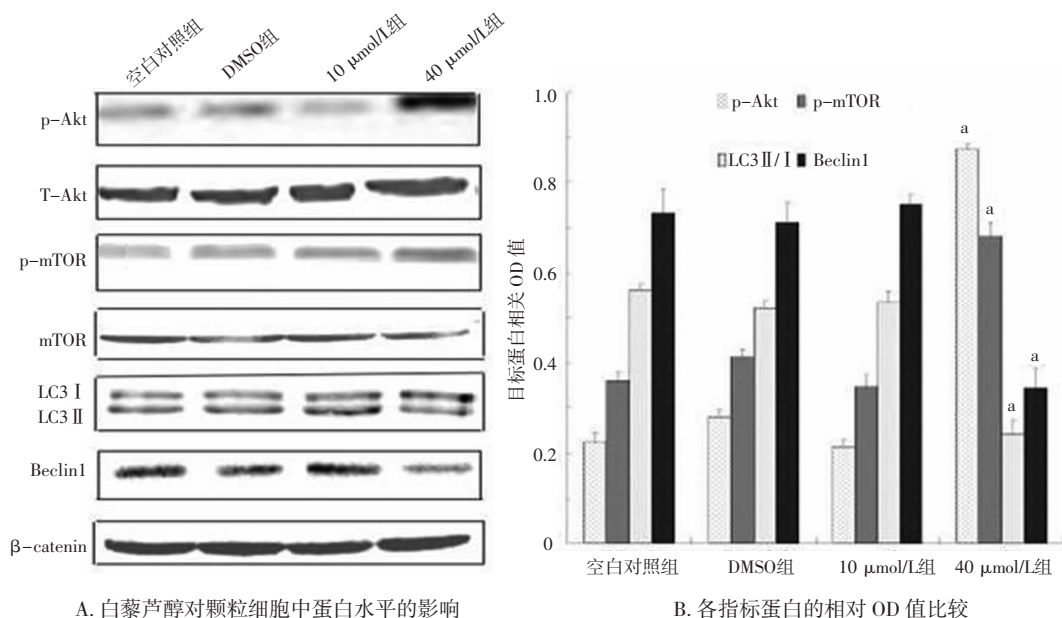


图 3 白藜芦醇抑制卵巢颗粒细胞自噬



A. 白藜芦醇对颗粒细胞中蛋白水平的影响

B. 各指标蛋白的相对 OD 值比较

注:a,与空白对照组或 DMSO 组相比, $P<0.01$

图 4 白藜芦醇通过调节 Akt/mTOR 信号通路抑制卵巢颗粒细胞自噬

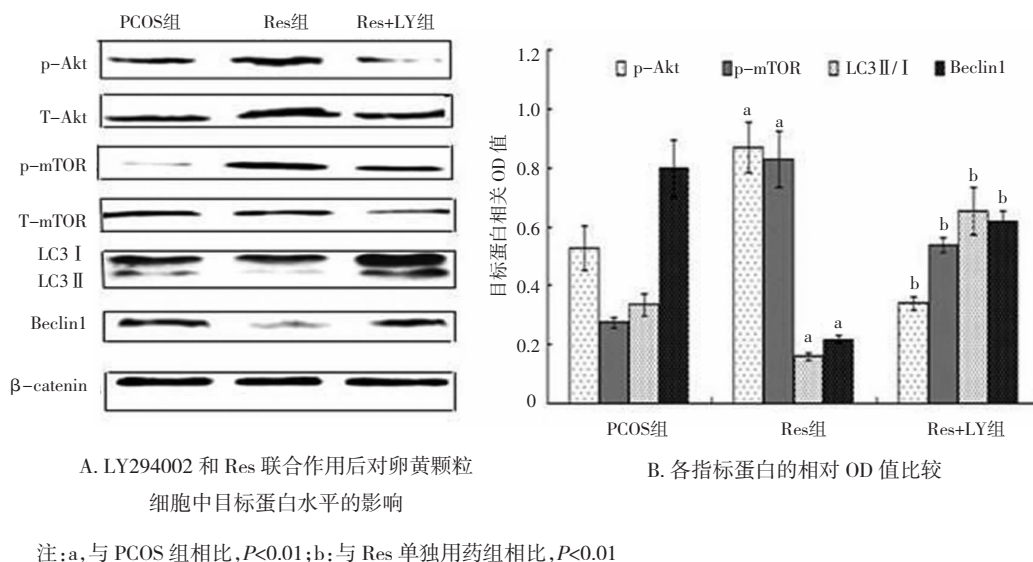


图 5 LY294002 拮抗白藜芦醇对卵巢颗粒细胞自噬的抑制作用

3 讨论

多囊卵巢综合征是育龄期妇女最为常见的内分泌紊乱性疾病之一,其诊断通常依照 2003 年鹿特丹标准:稀发排卵或无排卵、高雄激素的临床表现和(或)高雄激素血症以及 B 超显示的单侧或双侧卵巢多囊样改变。以上 3 个方面满足 2 个且排除其他引起排卵障碍或高雄激素生化/临床表现的疾病。PCOS 的发病机制未完全弄清,目前主要涉及遗传基因、环境因素、社会心理、炎症、胰岛素异常等多个方面。因此其临床以降低雄激素、调经促排卵、调节血糖和降低胰岛素抵抗及控制体质量等方面进行对症治疗,但效果也不尽如人意。

越来越多的研究表明,从一些植物中分离出来的化合物显示出对 PCOS 动物模型有治疗效果,且这些植物提取物往往具有多靶点、安全性高、毒副作用小等特点,因此受到临床医生的广泛关注^[11-12]。Res 是一类天然的多酚类植物提取物,具有多种生物学活性,其发挥药理作用的靶点众多,且机制复杂。研究表明,Res 对 PCOS 也有改善作用,其机制没有完全明了,可能通过抑制颗粒细胞的凋亡,促进卵母细胞的发育,减少闭锁的卵泡^[9];还可通过激活抗氧化和抗炎等系统,进而改善雌激素水平和卵巢的滤泡细胞结构^[10]等。

颗粒细胞在卵巢选择性闭锁过程中,是最早经历凋亡的细胞群,其增殖、分化对卵巢的发育成熟

过程起重要作用。而在 PCOS 患者中,卵泡发育障碍是其主要临床特征之一,因此,颗粒细胞的凋亡与否直接影响卵泡发育成熟,在 PCOS 的发生发展过程中起关键作用^[13]。自噬作为一种新的程序性死亡方式,与凋亡密切相关,甚至可能是凋亡的引导机制。研究证实,在 PCOS 的大鼠模型卵巢颗粒细胞中,不仅仅细胞凋亡明显增加,而且也存在过度自噬的现象^[14]。因此,观察 Res 是否可通过抑制卵巢颗粒细胞自噬的发生并探索其机制将为防治 PCOS 提供新的治疗思路和方法。

本研究结果显示,将分离鉴定后的 PCOS 卵巢颗粒细胞体外培养后,给予白藜芦醇处理,颗粒细胞的增殖率明显提升,且有浓度-时间依赖性,这表明白藜芦醇促进了颗粒细胞的生长。随后的电镜结果发现,白藜芦醇作用后,颗粒细胞内的自噬体形成数量明显减少。众所周知,在自噬体形成到成熟过程中,都受到不同基因的调控。Beclin 1 是第一种与自噬密切相关的特异性基因,在参与自噬体的形成及调节其他自噬相关蛋白的定位上发挥关键作用,是检测自噬最为常用的指标之一。而另一个自噬特异性基因 LC3 是酵母自噬基因 8 (Atg8) 的同源体。当自噬形成时,胞浆型 LC3 会酶解掉一小段多肽形成 LC3 I, LC3 I 跟磷脂酰乙醇胺结合转变为(自噬体)膜型(即 LC3 II),因此,LC3 II/LC3 I 比值的大小也可估计自噬水平的高低。本研究发现白藜芦醇作用卵巢颗粒细胞后,细胞内的 Beclin1 蛋白表达水平和细胞内 LC3 II/LC3 I 比值都明显降低,这说明

自噬受到白藜芦醇的抑制,也与电镜结果完全一致。以上这些结果提示白藜芦醇对颗粒细胞增殖率的提高是通过抑制细胞的自噬实现的。

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物(mammalian rapamycin target protein complex, mTOR)是一种非典型丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,处于生长调控中心,在抑制多种刺激引起的细胞凋亡,促进细胞增殖、肿瘤形成和血管生成等方面发挥重要作用。mTOR 主要受 PI3K/Akt 信号通路调节,在自噬水平的调节中起重要作用。mTOR 被激活后,可通过 Atg1/ULK1 负向调控自噬;而 mTOR 又可以被 p-Akt 间接激活: Akt 通过抑制结节性硬化症复合物 2(tuberous sclerosis complex 2, TSC2)的活性,阻断 TSC2 对 mTOR 的上游激活信号分子 RAS 蛋白脑组织同源类似物(ras homolog enriched in brain, Rheb)的抑制作用。研究发现,在脑缺血再灌注 SD 大鼠模型中,白藜芦醇可以抑制细胞凋亡,其机制与激活 PI3K/Akt/mTOR 通路有关^[15]。另有研究报道,白藜芦醇能抑制钙离子通道,触发内质网应激,进而抑制 Akt/mTOR 信号通路,进一步诱导前列腺癌细胞自噬性死亡^[16]。因此,白藜芦醇无论是抑制自噬还是激活自噬都跟调节 PI3K/Akt/mTOR 信号通路密切相关。本研究中,白藜芦醇抑制了 PCOS 颗粒细胞自噬是否也是通过激活 Akt/mTOR 信号通路实现的呢? 进一步实验结果显示,白藜芦醇作用颗粒细胞后,细胞内的 p-Akt 和 p-mTOR 蛋白水平都明显上调;而在 Akt 抑制剂 LY294002 作用后,细胞内的 p-Akt 和 p-mTOR 蛋白水平明显下调,而自噬的标记蛋白 Beclin-1 表达水平和 LC3 II/LC3 I 表达的比值却增加,这就说明白藜芦醇对颗粒细胞自噬作用的影响被 LY294002 部分抵消,提示白藜芦醇可能就是通过激活 Akt/mTOR 信号通路来抑制颗粒细胞的自噬。

总之,本文通过白藜芦醇作用于体外培养的 PCOS 卵巢颗粒细胞发现,白藜芦醇可以通过抑制细胞的自噬水平进而提高细胞的增殖,其机制可能与激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路有关。这也为白藜芦醇防治 PCOS 提供了新的思路和方法,但其机制仍需要进一步研究。

参 考 文 献

[1] Joham AE, Teede HJ, Ranasinha S, et al. Prevalence of infertility and use of fertility treatment in women with polycystic ovary syndrome: data from a large community-based cohort study[J]. J Womens Health

(Larchmt), 2015, 24(4): 299-307.

[2] Ghafurniyan H, Azarnia M, Nabiuni M, et al. The effect of green tea extract on reproductive improvement in estradiol valerate-induced polycystic ovarian syndrome in rat[J]. Iran J Pharm Res, 2015, 14(4): 1215-1233.

[3] Murri M, Luque-ramírez M, Insenser MM, et al. Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome(PCOS): a systematic review and meta-analysis[J]. Hum Reprod Update, 2013, 19(3): 268-288.

[4] Zhang J, Fan P, Liu H, et al. Apolipoprotein A-I and B levels, dyslipidemia and metabolic syndrome in south-west Chinese women with PCOS[J]. Hum Reprod, 2012, 27(8): 2484-2493.

[5] Li D, You Y, Bi FF, et al. Autophagy is activated in the ovarian tissue of polycystic ovary syndrome[J]. Reproduction, 2018, 155(1): 85-92.

[6] Yang L, Zhang Z, Zhuo Y, et al. Resveratrol alleviates sepsis-induced acute lung injury by suppressing inflammation and apoptosis of alveolar macrophage cells[J]. Am J Transl Res, 2018, 10(7): 1961-1975.

[7] Zhou Y, Jin Y, Yu H, et al. Resveratrol inhibits aflatoxin B1-induced oxidative stress and apoptosis in bovine mammary epithelial cells and is involved the Nrf2 signaling pathway[J]. Toxicon, 2019, 164: 10-15.

[8] Liu Z, Wu X, Lv J, et al. Resveratrol induces p53 in colorectal cancer through SET7/9[J]. Oncol Lett, 2019, 17(4): 3783-3789.

[9] Kong XX, Fu YC, Xu JJ, et al. Resveratrol, an effective regulator of ovarian development and oocyte apoptosis[J]. J Endocrinol Investig, 2011, 34(11): 374-381.

[10] Rencber SF, Ozbek SK, Eraldemir C, et al. Effect of resveratrol and metformin on ovarian reserve and ultrastructure in PCOS: an experimental study[J]. J Ovarian Res, 2018, 11(1): 55.

[11] Mohammadi S, Bardei LK, Hojati V, et al. Anti-inflammatory effects of curcumin on insulin resistance index, levels of interleukin-6, C-reactive protein, and liver histology in polycystic ovary syndrome-induced rats[J]. Cell J, 2017, 19(3): 425-433.

[12] Arentz S, Smith CA, Abbott J, et al. Nutritional supplements and herbal medicines for women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis[J]. BMC Complement Altern Med, 2017, 17(1): 500.

[13] Kong F, Du C, Wang Y. MicroRNA-9 affects isolated ovarian granulosa cells proliferation and apoptosis via targeting vitamin D receptor[J]. Mol Cell Endocrinol, 2019, 486: 18-24.

[14] Li X, Qi J, Zhu Q, et al. The role of androgen in autophagy of granulosa cells from PCOS[J]. Gynecol Endocrinol, 2019, 35(8): 669-672.

[15] Hou Y, Wang K, Wan W, et al. Resveratrol provides neuroprotection by regulating the JAK2/STAT3/PI3K/Akt/mTOR pathway after stroke in rats[J]. Genes Dis, 2018, 5(3): 245-255.

[16] Selvaraj S, Sun Y, Sukumaran P, et al. Resveratrol activates autophagic cell death in prostate cancer cells via downregulation of STIM1 and the mTOR pathway[J]. Mol Carcinog, 2016, 55(5): 818-831.

(责任编辑: 冉明会)