



河南师范大学

NENAN NORMAL UNIVERSITY

# 读书报告

汇报人 于若梦

日期 2018.11.25



# Docosahexaenoic Acid (DHA) Induced Morphological Differentiation of Astrocytes Is Associated with Transcriptional Upregulation and Endocytosis of $\beta_2$ -AR

Moitreyi Das<sup>1</sup> · Sumantra Das<sup>1</sup> 

Received: 17 May 2018 / Accepted: 17 July 2018

© Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2018

IF:5.076

# 目录

## CONTENTS

**1** 研究背景

**2** 材料与方法

**3** 结果

**4** 讨论

## 研究背景-DHA

◆ **LC-PUFA**:碳链原子数  $\geq 20$ 、不饱和双键  $\geq 3$  的PUFA叫做长链多不饱和脂肪(Long-chain polyunsaturated fatty acids, LC-PUFA)  
例如: DHA (22:6n-3)、EPA (20:5n-3)。

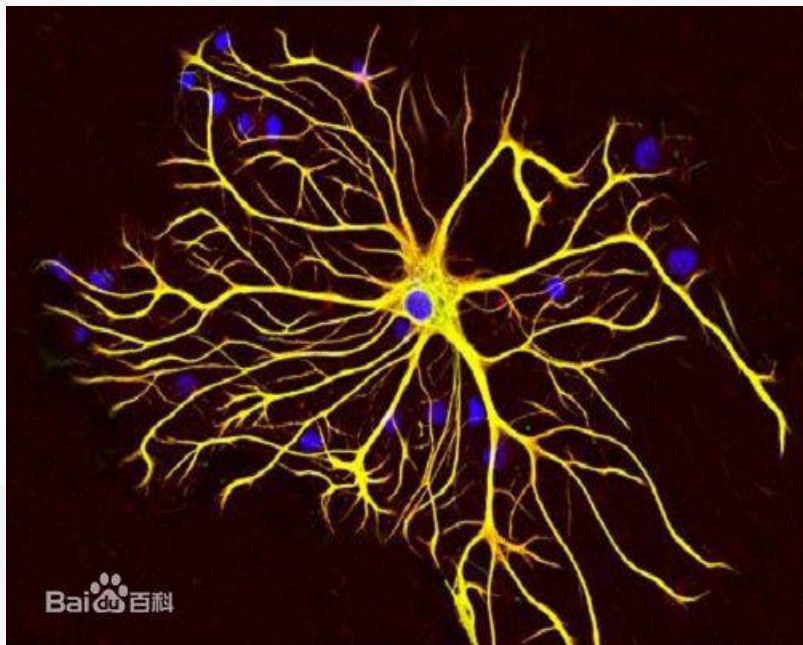
### ◆ LC-PUFA的主要功能

有促进视网膜、大脑和神经系统的发育,降低心血管疾病和炎症的发生,增强机体免疫力等多种生理作用。DHA对大脑的正常发育,尤其是对大脑皮层和视网膜的发育,具有重要意义。



## 研究背景-星形胶质细胞

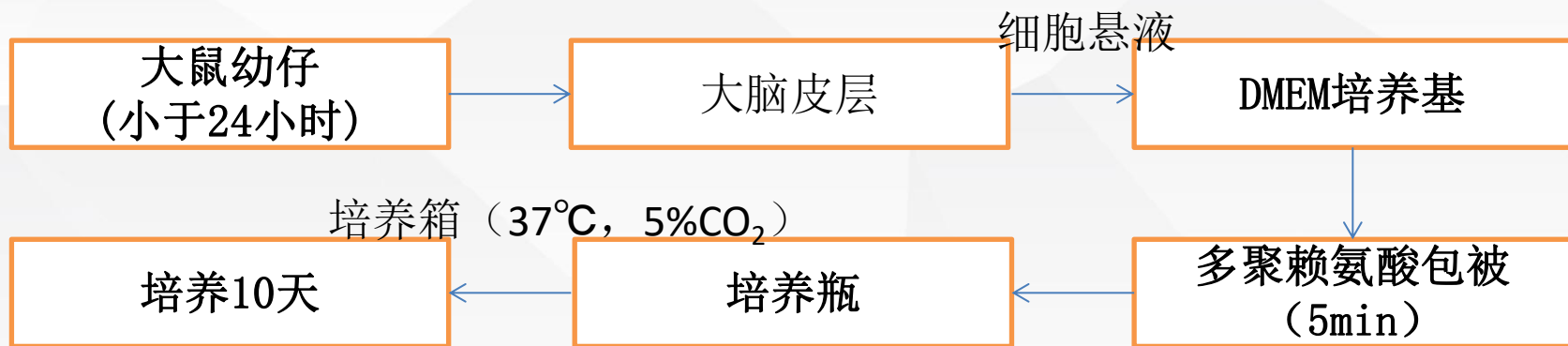
- ◆ **星形胶质细胞**，是哺乳动物脑内分布最广泛的一类细胞，也是胶质细胞中体积最大的一种。在各种脑细胞中，星形胶质细胞是大脑中唯一能够合成DHA的细胞。
- ◆ DHA对神经细胞发育、促进神经发生、神经形成、神经突生长(长度和分枝)以及新生儿突触形成具有巨大的作用。



## 材料与amp;方法

- ◆ 大鼠脑星形胶质细胞原代培养
- ◆ 药物疗法
- ◆ 样品制备和蛋白质提取
- ◆ Western Blot
- ◆ RNA的提取与cDNA的制备
- ◆ qPCR
- ◆ cAMP依赖性蛋白激酶或蛋白激酶A (PKA) 的测定
- ◆ 细胞免疫
- ◆ 形态学分析

## 材料与方法-大鼠脑星形胶质细胞原代培养的制备



注：DMEM培养基，添加 **10%胎牛血清(TH-depleted FBS)**，50 $\mu$ g/ml青霉素，50 $\mu$ g/ml链霉素，碳酸氢钠。

此前有报道称，正常胎牛血清中含有甲状腺激素（TH），可诱导星形细胞转化。因此，本实验中使用的血清去除TH，以排除任何激素的相互作用。

培养10天时，星形胶质细胞仍然是多边形的，未分化。

## 材料与方法-形态学分析

- 利用Image J软件对星形胶质细胞星形进行形态学分析。
- 细胞的横截面面积(单个细胞的基底面积)和周长(单个细胞轮廓的长度)的变化与间质细胞形状因子(intermsofcellshapefactor, CSF)相关。
- 选择单个细胞，用软件测量其基底面积。
- 细胞形状因子 (cell shape factor, CSF) =  $4\pi A/P^2$  (A-横截面面积, P-细胞的周长)
- 校正后的细胞总荧光 (CTCF) = 集成密度 - (选定细胞的面积\*背景荧光值)

$$CSF = 4\pi A/P^2.$$

A, cross-section area; P, perimeter of the cell.

The GFAP expression (corrected total cell fluorescence—CTCF) was quantified by measuring the green fluorescence with Image J and CTCF were calculated by the formula,

CTCF = integrated density

-(area of selected cell × mean fluorescence of background readings).



# 结果

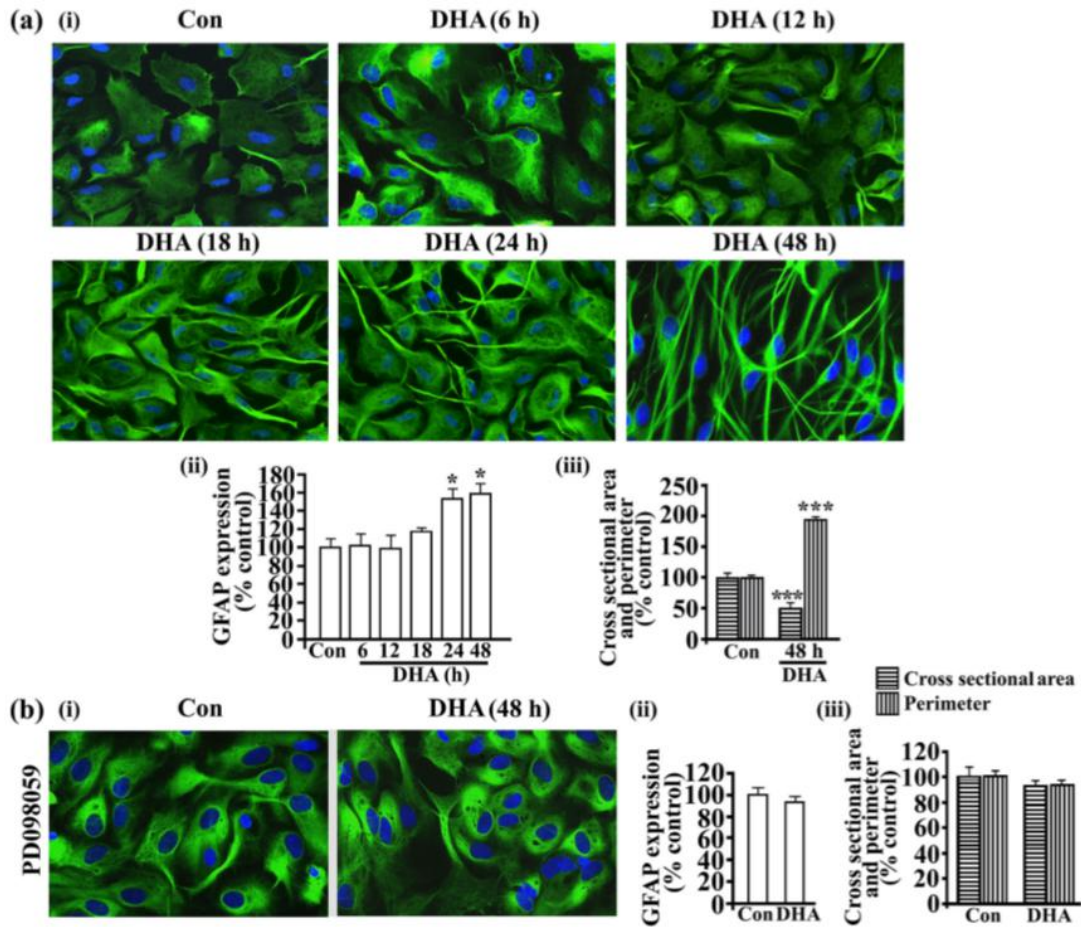


图1a: 图1 DHA对星形胶质细胞形态分化的影响

DHA可诱导细胞分化，而抑制剂PD098059可抑制DHA发生作用。

注: PD098059--ERK抑制剂

## 结果

表1: 不同条件下星形胶质细胞形态的形态学分析

**Table 2** Morphometric analysis of astrocyte shape at different condition

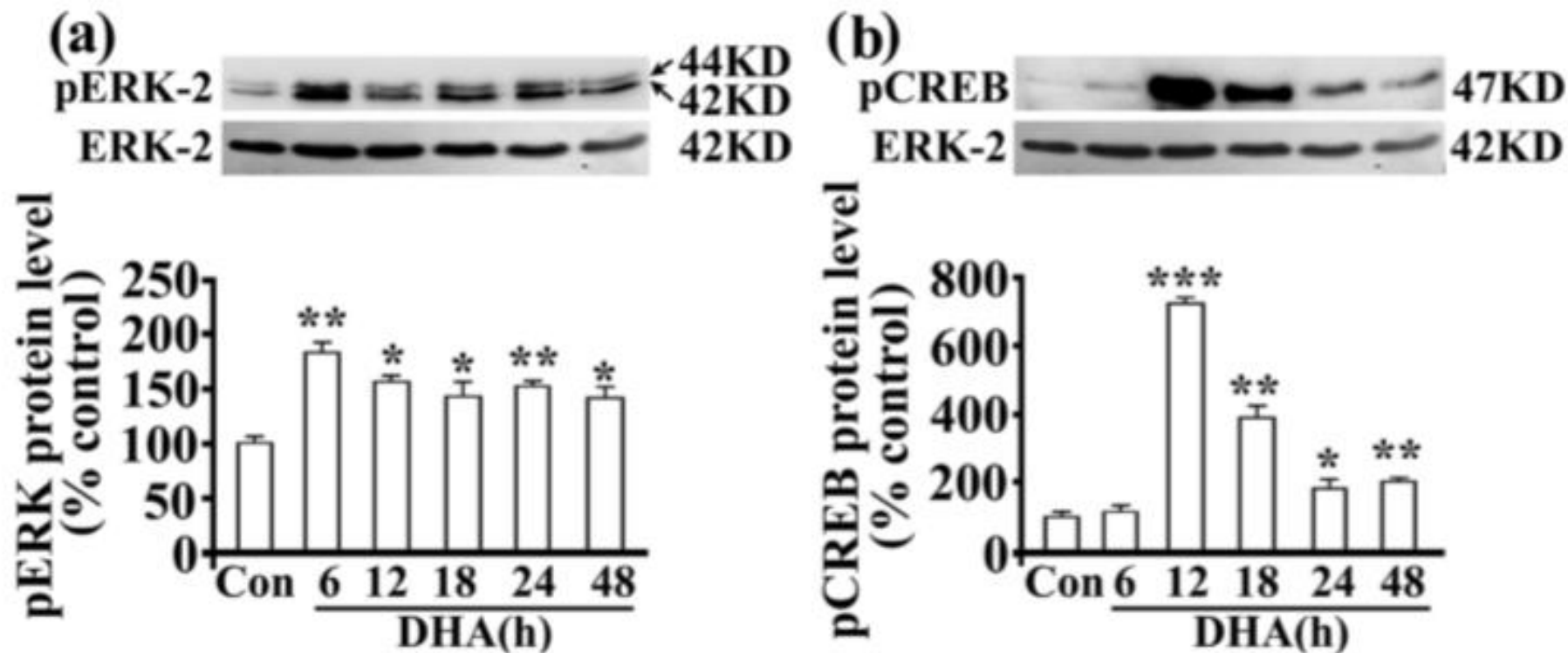
Serial no.	Treatment given	Condition	CSF	<i>n</i>
1		Control	0.67	12
		DHA treated	0.09	14
2	PD098059	Control	0.60	7
		DHA treated	0.66	12
3	Dynasore	Control	0.65	10
		DHA treated	0.62	10
4	Bafilomycin A1	Control	0.58	9
		DHA treated	0.63	12
5	Brefeldin A	Control	0.61	9
		DHA treated	0.60	11
6	Atenolol	Control	0.63	13

**Table 2** Morphometric analysis of astrocyte shape at different condition

Serial no.	Treatment given	Condition	CSF	<i>n</i>
7	ICI-118,551	Control	0.68	12
		DHA treated	0.69	14
8	Cycloheximide	Control	0.73	11
		DHA treated	0.72	11
9	H-89	Control	0.65	11
		DHA treated	0.67	11
10	AH 7614	Control	0.65	10
		DHA treated	0.68	13
11	DC 260126	Control	0.69	13
		DHA treated	0.09	12
12		Control	0.58	11
		DHA treated (for 6 h only)	0.1	11

## 结果

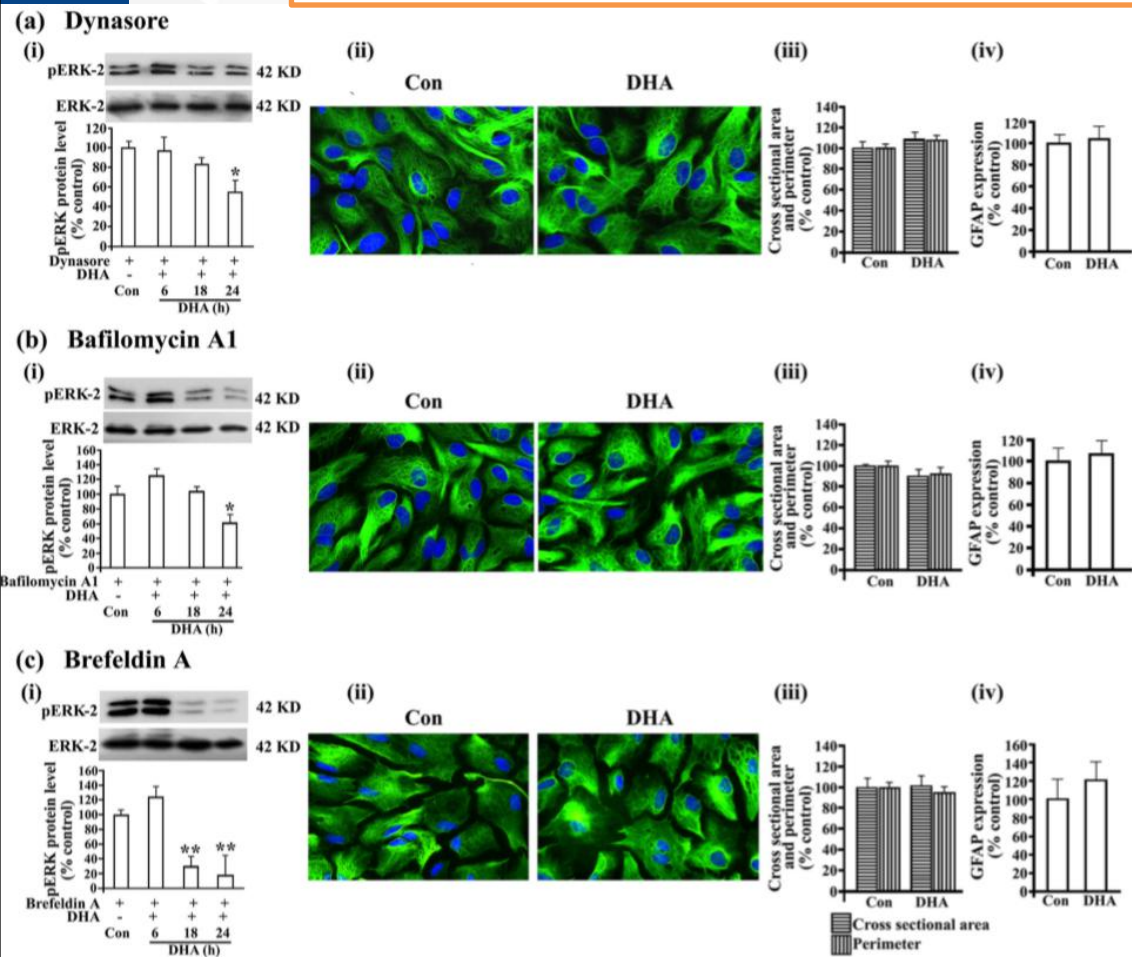
图2: DHA对pERK-2和pCREB水平的影响



DHA可激活ERK-2（细胞外调节蛋白激酶-2）及其下游CREB（环磷腺苷效应元件结合蛋白）信号通路，对诱导的细胞分化至关重要。

# 结果

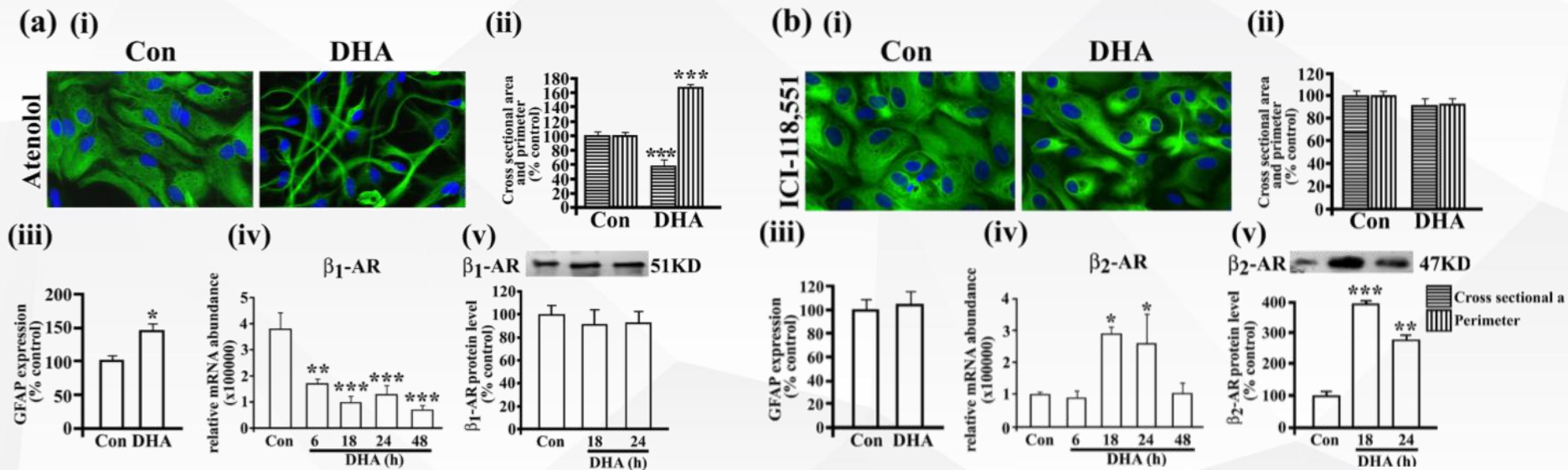
图3: 内吞途径抑制剂对星形胶质细胞ERK-2活化及DHA诱导的形态学分化的影响



在DHA诱导分化过程中，  
ERK-2持续激活。

# 结果

图4:  $\beta$ -AR系统DHA诱导星形胶质细胞分化



结果表明， $\beta_2$ -AR参与DHA-induced形态分化过程。

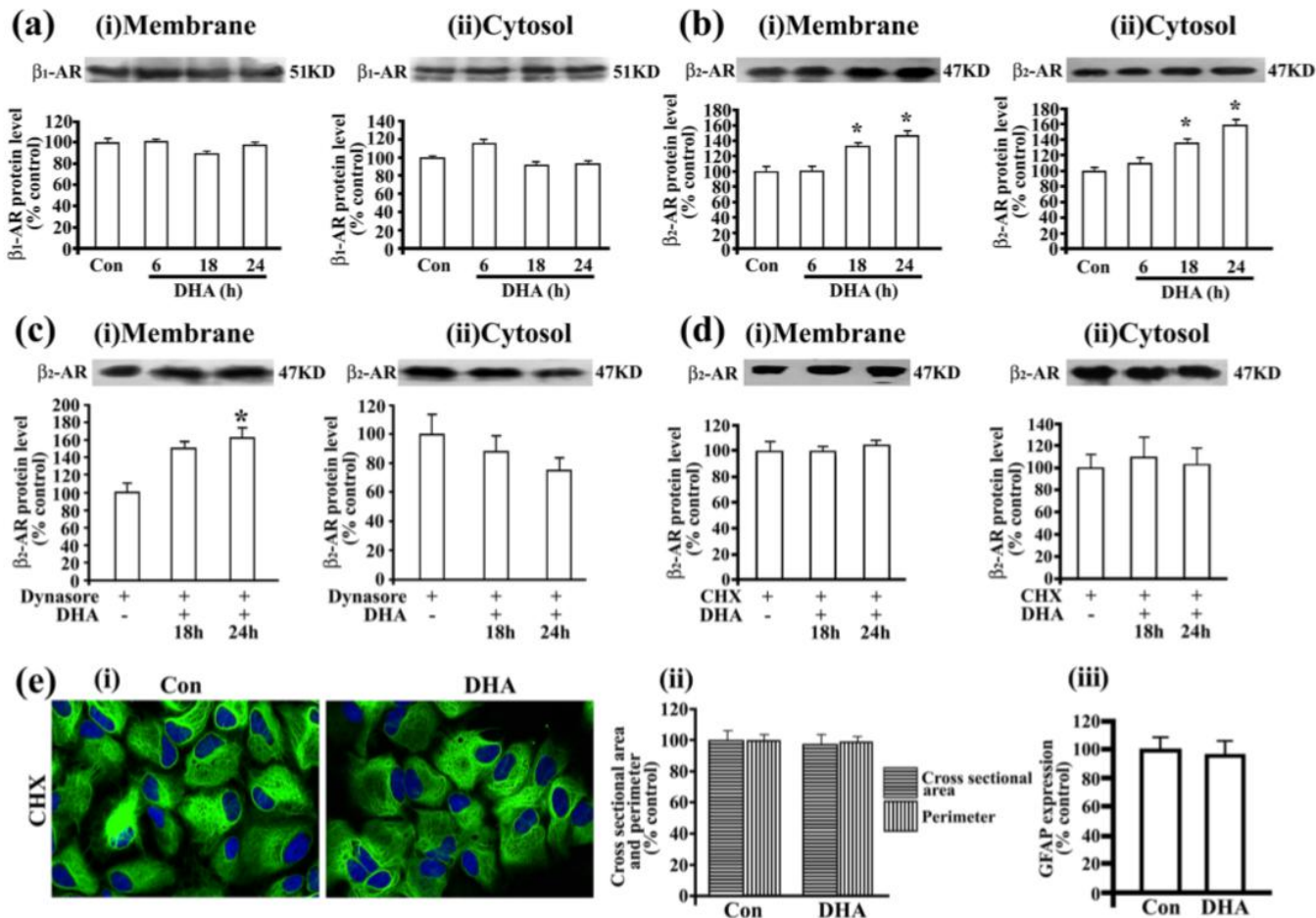
注： $\beta_1$ -AR拮抗剂 Atenolol； $\beta_2$ -AR拮抗剂，ici - 118551



# 结果

图5: DHA对 $\beta$ -AR亚型的细胞膜和胞质的影响

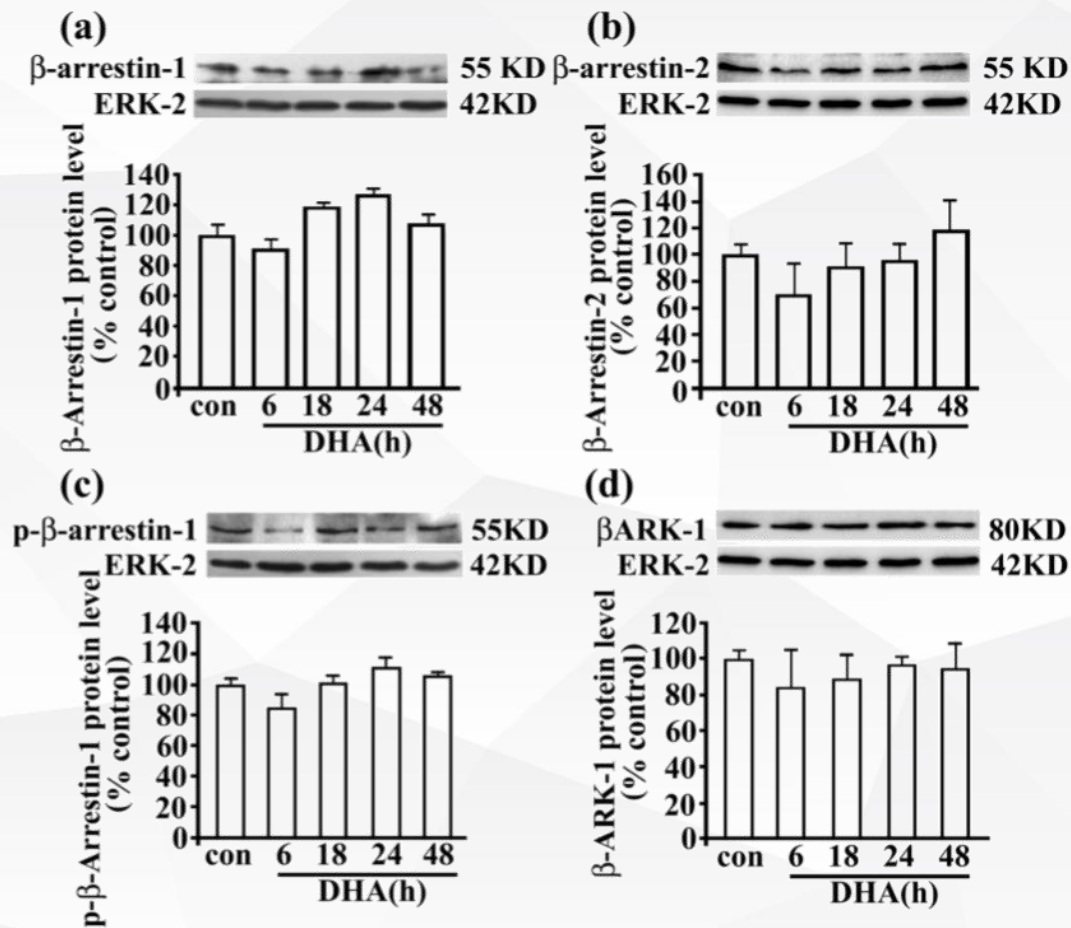
结果表明，DHA在受体的内吞的过程中可增加受体的合成，而内吞影响星形细胞的形态分化。



注: CHX (环己酰亚胺) --蛋白合成抑制剂

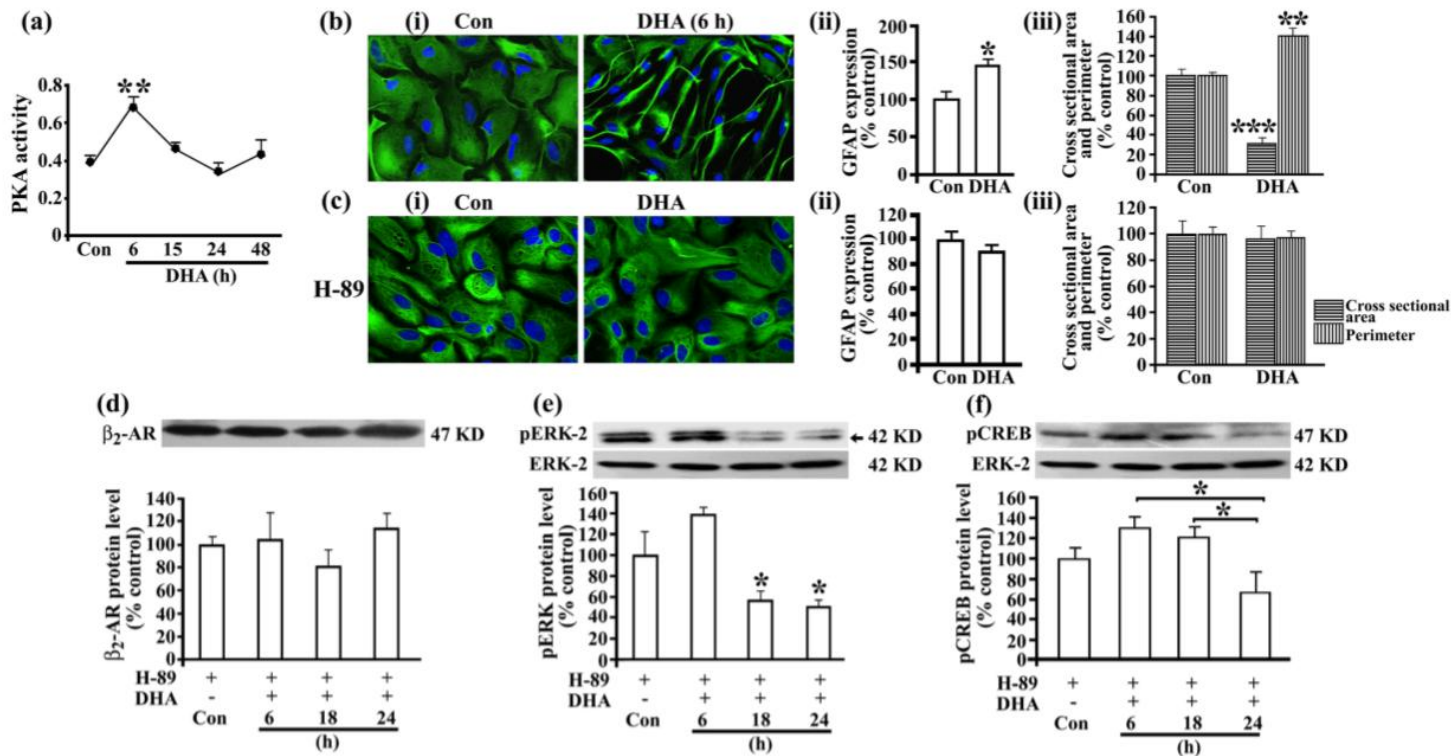
## 结果

图6: DHA对星形胶质细胞内各种内吞调节因子的影响



# 结果

## 图7: DHA对星形胶质细胞PKA活性的影响

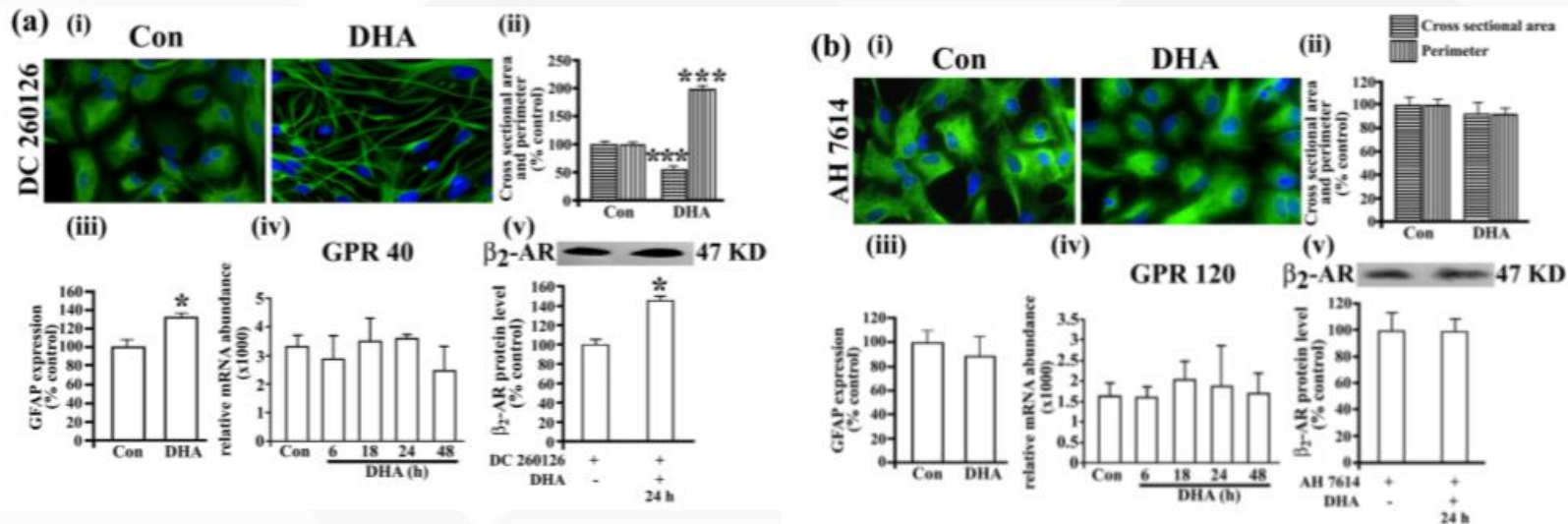


注: H-89 PKA抑制剂



# 结果

## 图8 DHA对GPR120和GPR40的影响

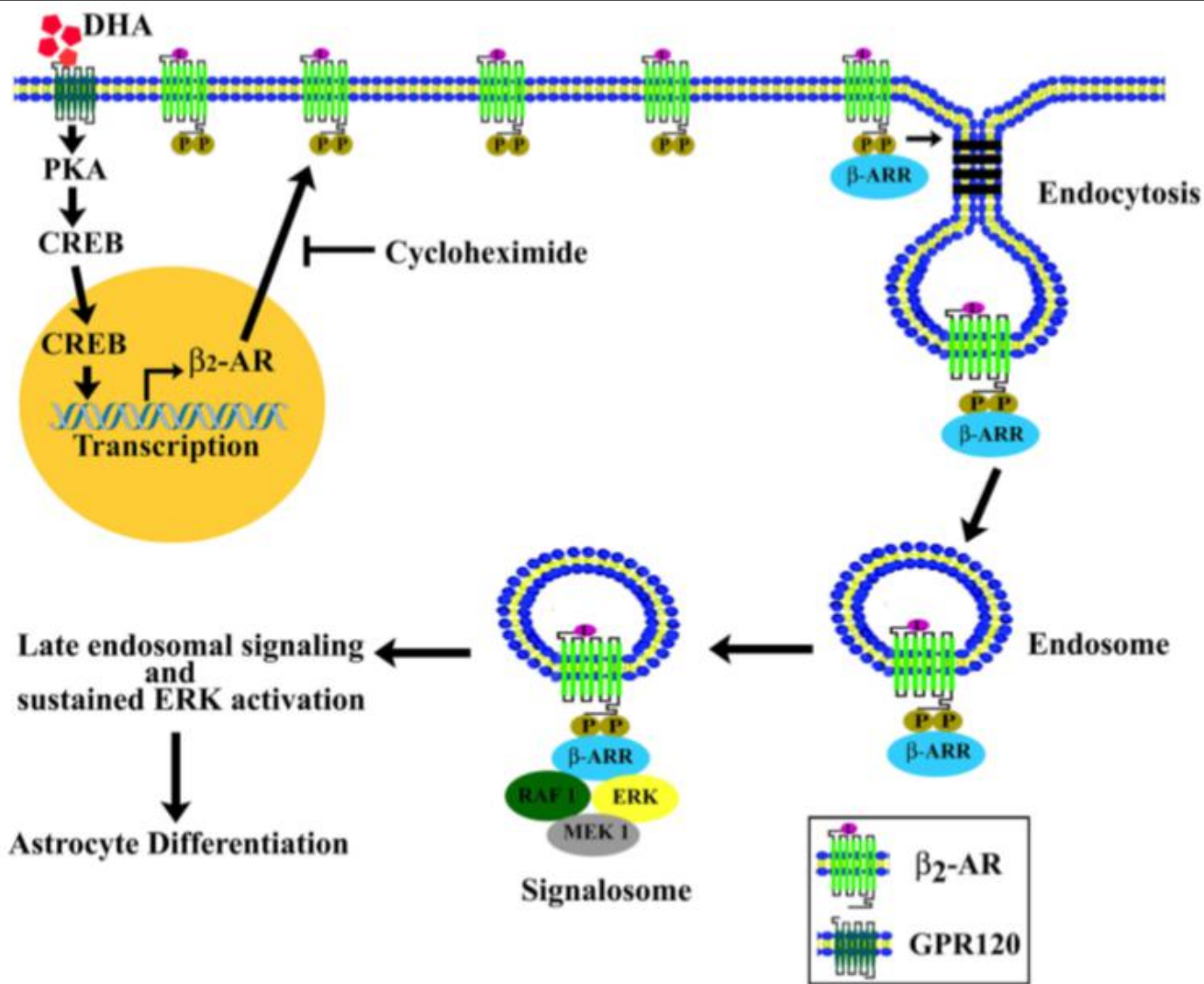


表明GPR120参与 $\beta_2$ -AR转录和星形胶质细胞分化。

注：DC 260126--GPR40的拮抗剂；AH 7614---GPR120的拮抗剂

# 讨论

图9: 细胞分化过程中DHA介导的信号转导模型





河南师范大学

NENAN NORMAL UNIVERSITY

# THANKS

---

敬请各位老师同学批评指正

---