

· 综述 ·

## PI3K/Akt 信号通路与血管性痴呆的关系及中药干预作用研究进展

朱金墙<sup>1</sup>, 宋宛珊<sup>2</sup>, 马妍<sup>2</sup>, 秦秀德<sup>1\*</sup>

(1. 天津中医药大学 中医药研究院 方剂学教育部重点实验室,  
天津市现代中药重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地, 天津 300193;  
2. 天津中医药大学 第二附属医院, 天津 300150)

**[摘要]** 血管性痴呆(vascular dementia, VaD)的临床表现主要包括脑血管病变和认知功能障碍,其发生、发展与脑血流量和神经元存活状态密切相关。研究表明,磷酸肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase, PKB/Akt)信号通路广泛存在各种细胞中,在脑微血管内皮细胞(brain microvascular endothelial cells, BMEC)中可以通过下游内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)/一氧化氮(nitric oxide, NO)途径调节血管舒缩功能及脑血流量;在神经元中可以对抗神经元凋亡,促进神经元存活,是 VaD 发生、发展过程的重要环节之一。到目前为止,一些研究发现部分中药、有效成分及复方可通过激活 PI3K/Akt 信号通路而发挥神经保护作用,有必要对该方面研究进展做一综述,以期今后深入研究提供参考。

**[关键词]** PI3K/Akt 信号通路; 血管性痴呆; 中药

**[中图分类号]** R285.5;G353.11 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)09-0223-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016090223

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160314.1551.006.html>

**[网络出版时间]** 2016-03-14 15:51

## Relationship Between PI3K/Akt Signaling Pathway and Vascular Dementia and Traditional Chinese Medicine Intervention

ZHU Jin-qiang<sup>1</sup>, SONG Wan-shan<sup>2</sup>, MA Yan<sup>2</sup>, QIN Xiu-de<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Traditional Chinese Medicine (TCM) in Tianjin University of TCM, Key Laboratory of Pharmacology of TCM Formulae, Ministry of Education, Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China;  
2. Second Affiliated Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin 300150, China)

**[Abstract]** The major clinical manifestations of vascular dementia (VaD) include cerebrovascular accidents and cognitive dysfunction, whole occurrence and development are closely related to the cerebral blood flow and neuron survival state. Studies have shown that the phosphoinositide 3-kinase (PI3K) /protein kinase B (PKB/Akt) signaling pathway widely exist in various cells. In brain microvascular endothelial cells (BMEC), it can regulate the vasomotor function and cerebral blood flow through downstream endothelial nitric oxide synthase (eNOS) /nitric oxide (NO) pathway; in neurons, it can promote neuronal survival against neuronal apoptosis, which is one of the important parts in the occurrence and development of VaD. So far, some studies have shown

**[收稿日期]** 20150130(001)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81503279,81202653)

**[第一作者]** 朱金墙,博士,助理研究员,从事中医药防治脑血管疾病研究,Tel:13389032772,E-mail:zhujinqiang1860@163.com

**[通讯作者]** \*秦秀德,博士,主治医师,从事中医药防治脑病的临床与基础研究,Tel:13530967138,E-mail:qinxuede@foxmail.com

that traditional Chinese medicine, active ingredients and compounds can play the neuroprotective effect through the activation of PI3K/Akt signaling pathway. In order to provide reference for further in-depth study in the future, it is necessary to make a review on the research progress in this filed.

[ **Key words** ] PI3K/Akt; vascular dementia; traditional Chinese medicine

血管性痴呆 (vascular dementia, VaD) 是指由各种脑血管疾病 (如缺血、出血及急性慢性缺氧性脑血管病) 损伤脑组织而引起的进行性智能障碍综合征。在欧美国家, VaD 占总痴呆的 15-20%, 仅次于阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD) 而排在第二位。但在亚洲及许多发展中国家, 其发病率高于 AD<sup>[1]</sup>。据报道, 在我国 65 岁以上的老年人痴呆发病率为 0.039%, 其中 VaD 占 68.5%, 居于首位<sup>[2]</sup>。近年来研究发现, 磷酸肌醇 3-激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase, PKB/Akt) 信号通路 with VaD 的发生、发展密切相关, 主要体现在以下 2 个方面: 一是 PI3K/Akt/内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS)/一氧化氮 (nitric oxide, NO) 途径调节脑血流量以改善脑循环; 二是通过脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF)/酪氨酸激酶受体 B (tyrosine kinase receptor B, TrkB)/PI3K/Akt 途径促进神经元存活而发挥神经保护作用。本文将近年来关于 PI3K/Akt 信号通路 with VaD 的关系及中药干预作用的研究进展做一综述, 以期对深入研究中医药治疗 VaD 的作用机制以及临床用药提供参考。

### 1 PI3K/Akt 信号通路的活化及其作用

PI3K/Akt 信号通路广泛存在于各种细胞中, 通过一系列反应参与并调节细胞生长、增殖、分化与迁移, 是一条经典的抗凋亡、促存活的信号转导通路。PI3K 由 p110 和 p85 2 个催化亚基构成, 相对分子质量分别为  $110 \times 10^3$  和  $85 \times 10^3$  Da。p110 亚基与蛋白激酶具有同源性, 同时具有 Ser/Thr 激酶和磷脂酰肌醇激酶的活性, 根据其结构特点和底物分子的不同, 可将其分为 I, II, III 3 个亚型<sup>[3]</sup>。其中 I 型 PI3K 又可分为 IA 和 IB 两个亚类, IA 亚类包括 p110 $\alpha$ , p110 $\beta$ , p110 $\delta$ , 其能与 p85 催化亚基形成二聚体; IB 亚类包括 p110 $\gamma$ , 它不能与 p85 结合, 但能与接头蛋白结合 (相对分子质量为  $101 \times 10^3$  Da), 该接头蛋白可介导 G 蛋白的  $\beta, \gamma$  亚基激活 p110<sup>[4]</sup>; II 型 PI3K 含有 C2 结构域; III 型 PI3K 是在哺乳动物细胞内发现的一种蛋白, 与酵母的 VPS34 分子结构具有同源性。p85 的氨基端含有 SH3 结构域和能与 SH3 结构域相结合的脯氨酸富集区, 其羧基端含有 2 个

SH2 结构域及一个与 p110 结合的区域<sup>[5-6]</sup>。

Akt (又称 PKB) 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶<sup>[7]</sup>, 其家族成员主要包括 Akt1/PKB $\alpha$ , Akt2/PKB $\beta$ , Akt3/PKB $\gamma$ 。Akt 的催化区与 PKA 和 PKC 分别有 65% 和 75% 的同源性, 区别在于 Akt 的氨基端含有一个特异性作用于底物中丝氨酸/苏氨酸残基, 并使其磷酸化的血小板-白细胞 C 激酶底物同源结构区域 (PH)。该区域在进化中高度保守, 可介导脂质-蛋白质和/或蛋白质-蛋白质之间的相互作用<sup>[8-9]</sup>。Akt 是 PI3K 信号传导途径中一个重要的下游靶激酶, 相对分子质量为 60 kDa, 其羧基端是疏水区, 富含脯氨酸。PI3K 可被 G 蛋白偶联受体和/或蛋白酪氨酸激酶受体以及 Ras 蛋白激活<sup>[5]</sup>。当细胞受到细胞外信号的刺激后, PI3K 磷脂酰肌醇环上的 3 位羟基发生磷酸化, 生成磷酸化的磷脂酰肌醇, 包括 3-磷酸磷脂酰肌醇 (PI3P), 3,4-二磷酸磷脂酰肌醇 (PI-3,4-P2) 和 3,4,5-三磷酸磷脂酰肌醇 (PI-3,4,5-P3)<sup>[10]</sup>。其中, PI3P 不能直接使 Akt 磷酸化, 能够使 Akt 磷酸化的是磷脂酰肌醇依赖性蛋白激酶-1 (phosphatidylinositol-dependent protein kinase-1, PDK-1)。PIP3 可促使 Akt 转位到细胞膜, 该过程不仅使 Akt 本身获得催化活性, 促进其自身的 Ser124 和 Thr450 位点磷酸化, 并且使 Akt 和 PDK-1 同时定位在细胞膜上, 诱导 Akt 的 Ser473 和 Thr308 位点磷酸化, 从而使 Akt 完全活化; PI-3,4-P2 及 PI-3,4,5-P3 可与 Akt 的 PH 区结合, 促使 Akt 从细胞质转位至细胞膜, 并使其构象发生改变, 诱导 Ser473 和 Thr308 位点发生磷酸化而被激活<sup>[11]</sup>。因此, Ser473 和/或 Thr308 位点磷酸化是 Akt 活化的必要条件。此外, PDK21 只能使 Thr308 位点磷酸化, 而对 Ser473 位点无直接作用, 但 Akt 的 PH 区可与脂质产物高亲和力结合, 形成 PDK-1/PDK-2 复合体, 从而具备促进 Ser473 位点发生磷酸化的能力, 使 Akt 被激活。活化的 Akt 可进一步激活其下游的因子, 如 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 家族, 糖原合成酶激酶-3 (glycogen synthase kinase-3, GSK3), 叉头转录因子 (forkhead-type transcription factors, FKHR) 和 S6 蛋白激酶等, 诱发信号传导通路的级联反应, 从而调节细胞周期、凋亡等生理病理

过程<sup>[3,12-13]</sup>。

PI3K/Akt 信号通路同样存在于各种神经细胞中,除了抗凋亡、调节细胞增殖、分化、代谢等作用外,还能通过下游的 eNOS/NO 途径调节血管舒缩功能,维持脑血流量,并调节学习记忆能力,在脑血管疾病、神经变性疾病等神经系统疾病的发生、发展过程发挥着重要作用<sup>[14]</sup>,可作为临床治疗此类疾病的重要靶点之一,也为 VaD 治疗用药的研发提供新的思路。

## 2 通过 PI3K/Akt/eNOS/NO 途径调节脑血流量

在脑内,基底动脉及其分支(大脑前动脉、中动脉、后动脉)几乎遍布整个脑组织,为脑组织提供代谢所需的氧气和营养物质,维持其正常生理功能<sup>[15]</sup>。脑微血管内皮细胞(brain microvascular endothelial cells, BMEC)不仅发挥屏障作用,还是人体最大的内分泌器官,可分泌多种活性物质,如舒血管因子 NO,前列环素(PGI<sub>2</sub>),缩血管因子内皮素-1(endothelin-1, ET-1)以及抗凝血因子等,从而调节血管功能<sup>[16]</sup>。正常生理状态下, BMEC 功能完整,大脑可通过自身的血管调节机制维持血流量的稳定,为大脑提供代谢所需的物质<sup>[17-19]</sup>;当脑缺血、缺氧时,脑血管内皮受损,发生血管内皮功能障碍,表现为舒血管因子释放量减少,而缩血管因子释放量增加,造成局部脑血管收缩、痉挛,并暴露内皮下层,使血小板黏附、聚集,导致血栓形成,脑血流量进一步降低,可引起学习与记忆障碍,认知功能减退,促进 VaD 的发生与发展<sup>[20-24]</sup>。NO 和 ET-1 是 BMEC 产生的最主要的舒缩血管物质,是衡量血管功能的重要指标之一。但 NO 半衰期极短(约 6~30 s),极不稳定,故血管内皮细胞中 NO 的产量主要取决于其合成关键酶 eNOS 的活性。eNOS 磷酸化水平是影响 eNOS 活性的重要因素之一。研究发现, eNOS 的丝氨酸、苏氨酸以及酪氨酸残基易发生磷酸化,其中,以 Thr495, Ser633 和 Ser1177 3 个位点磷酸化对 eNOS 酶活性的影响最为显著。Thr495 位点磷酸化可减少钙调蛋白(calmodulin, CaM)与 eNOS 结合,从而抑制 eNOS 活性<sup>[25]</sup>;而 Ser1177 位点磷酸化可抑制 CaM 与 eNOS 分离,并增强 eNOS 内部的电子转移率,从而增强 eNOS 的催化能力;Ser633 位点磷酸化亦可增强 eNOS 活性<sup>[26-28]</sup>。

Akt 的活性可决定 eNOS Ser1177 位点磷酸化水平,参与 eNOS 的基本活化和激动剂诱导的激活作用<sup>[29-30]</sup>。正常情况下, Akt 主要以非活性的形式存在于细胞质中,转位到细胞膜后,才使其本身激活

并促进 eNOS 磷酸化<sup>[31]</sup>。如前所述, PI3K 是一种胞内磷脂酰肌醇激酶,可特异性磷酸化肌醇环上的 3 位羟基,具有类脂激酶和蛋白激酶的双重活性。激活的 PI3K 在质膜上产生 PIP2 和 PIP3,与细胞内 Akt 的 PH 结构域结合,诱导 Akt 转移到细胞膜,使其发生磷酸化<sup>[32]</sup>。可见, PI3K/Akt 信号通路与 eNOS 磷酸化密切相关。当 BMEC 受到化学信号(如信号传递物质)、机械张力(如血流切变力)或外源性因素(如药物)等刺激时,可通过 PI3K/Akt 信号通路,诱导 eNOS 的 Ser1177 位点发生磷酸化,增强其活性,促进 NO 合成与释放。NO 迅速进入平滑肌细胞,通过一系列反应引起血管舒张,增加脑血流量,提供代谢所需物质,从而保护脑组织<sup>[33-37]</sup>。

## 3 通过 BDNF/TrkB/PI3K/Akt 途径保护神经元

BDNF 是神经营养因子(neurotrophic factor, NTF)家族的成员之一,广泛分布于大脑新皮质、黑质纹状体、屏状核、海马和小脑皮质等区域,尤其在海马内含量丰富<sup>[38]</sup>。近年来研究发现, BMEC 也能合成与释放 BDNF 等 NTF,可抵抗神经元损伤,促进神经元存活;亦可促进神经前体细胞增殖,并诱导其朝着神经元方向分化,在维持神经元细胞功能、促进神经修复与再生、防止神经元退行性变化等多方面发挥着重要作用<sup>[39-41]</sup>。TrkB 是 BDNF 的高亲和力受体。研究发现, TrkB 表达下调可引起认知功能损伤,记忆力下降<sup>[42]</sup>。BDNF 与 TrkB 结合后,受体发生聚合,形成二聚体的同时使 TrkB 发生磷酸化,从而将胞外信号传入胞内,促使 Akt 的 Ser473 位点磷酸化,激活 PI3K/Akt 信号通路,进一步激活下游信号,如 FKHR,哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)等,诱发级联反应,参与细胞的生长、发育、分化及细胞的存活,发挥神经保护作用<sup>[43-45]</sup>。Akt 磷酸化后促进细胞存活的机制主要包括<sup>[46]</sup>:(1)诱导 Bcl-2 蛋白家族成员 Bad 磷酸化,促使其与伴侣蛋白 14-3-3 结合,可解除对 Bcl-2 的抑制作用;同时,还可使 Bax 的 Ser184 残基磷酸化而失活,有效抑制细胞凋亡;(2)促进凋亡相关因子半胱氨酸天门冬酶前体-9(Caspase-9)磷酸化而失活,防止细胞凋亡;(3)激活核因子- $\kappa$ B(Nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B),使其发生核转移,进入细胞核,启动相关基因,促进细胞增殖;(4)抑制 GSK3 的活性,加速细胞凋亡;同时,加速糖酵解,增加三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)的产量,抑制细胞凋亡;(5)阻止线粒体释放细胞色素 C 及凋亡诱导因子,从而减少细胞凋亡。

此外,研究发现, Akt, 胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) 及其受体 IGF-1R 表达下调也参与了 VaD 的发生与发展<sup>[47]</sup>。PI3K/Akt 信号通路活化可增加易位到细胞膜上的葡萄糖转运体 4 的数量,促进葡萄糖转运;也可通过 IGF-1, 白细胞介素-3 等因子激活 TrkB, 影响葡萄糖代谢, 保护神经元<sup>[48]</sup>。Akt 的 Ser473 位点磷酸化后,还能调节突触可塑性<sup>[49]</sup>。此外, PI3K/Akt 途径活化后可促进 Caspase-9 等蛋白的磷酸化,抑制凋亡,从而促进神经干细胞(neural stem cells, NSC)存活<sup>[50]</sup>。但是,类脂磷酸酶 PTEN 基因具有磷脂酶活性,可使 PI3P 脱磷酸,从而抑制 PI3K/Akt 信号通路<sup>[51]</sup>。

#### 4 中药通过 PI3K/Akt 信号通路发挥神经保护作用的研究

目前,围绕 PI3K/Akt 信号通路研究中药治疗 VaD 的报道较少,但诸多研究表明,部分中药、有效成分及复方均能通过该通路发挥良好的神经保护作用。来源于合瓣花亚纲玄参科泡桐属及地黄属、马钱科醉鱼草属、车前科车前属等植物的中药单体化合物梓醇能促进脑皮层内源性神经营养因子及其受体的表达,进而激活 PI3K/Akt 信号通路,抑制神经细胞凋亡,改善能量代谢,促进神经功能的恢复,具有明显的脑保护作用<sup>[52]</sup>。王金宁等<sup>[53]</sup>体外培养皮层神经元,观察知母皂苷元对神经元突触形态的影响,发现它可以通过 PI3K/Akt/mTOR 信号转导通路促进体外培养皮层神经元树突的发育。葛科立等<sup>[54]</sup>体外常规培养 MES23.5 细胞,免疫印迹法观察人参皂苷 Rg1 预处理对 6-羟基多巴胺诱导的磷酸化 Akt 表达的影响,MTT 法观察细胞的存活率,发现人参皂苷 Rg1 预处理可明显增强细胞活力,并上调磷酸化 Akt 的表达,此作用可以被 PI3K 特异性抑制剂 LY294002 所阻断,表明该作用是通过激活 PI3K/Akt 信号通路实现的。张道来<sup>[55]</sup>研究发现,绞股蓝皂苷可通过激活 PI3K/Akt 信号转导通路拮抗谷氨酸诱导的胎鼠大脑皮层神经元氧化性损伤。刘玲等<sup>[56]</sup>研究结果显示,芍药苷可抑制  $\text{A}\beta_{25-35}$  诱导的 PC12 细胞毒性和凋亡,上调 Akt 磷酸化水平,增加 Bcl-2 蛋白表达、降低 Bax 蛋白表达、抑制 Caspase-3 的激活,该作用可被 LY294002 减弱,表明芍药苷可通过激活 PI3K/Akt 信号通路抵抗  $\text{A}\beta_{25-35}$  诱导的 PC12 细胞损伤。刘娜等<sup>[57]</sup>研究表明,银杏内酯 B 可激活 PI3K/Akt 信号通路而促进谷氨酸损伤 NSC 内低氧诱导因子-1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ) 蛋白的表达。此外,葛根素和黄

芪均可通过 PI3K/Akt 信号通路减少大鼠脑缺血再灌注后神经细胞凋亡<sup>[58-59]</sup>,发挥良好的神经保护作用。尹天雷等<sup>[60]</sup>研究发现,中药复方补阳还五汤可促进脑缺血后脑组织的神经生长因子(nerve growth factor, NGF)表达,并上调 Akt 蛋白表达,通过 PI3K/Akt 信号转导通路,调控脑缺血神经细胞的凋亡,从而对脑缺血模型大鼠脑组织产生保护作用。陈小睿等<sup>[61]</sup>考察了以活血化瘀为主要功效的中药创新复方制剂通脉醒脑滴丸防治脑缺血卒中的作用机理,发现通脉醒脑滴丸能上调脑组织中 PI3K, Akt, HIF-1 $\alpha$  以及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达,下调类脂磷酸酶 PTEN 的表达,激活 PI3K/Akt 信号通路而减轻脑缺血时的神经损伤,从而发挥脑保护作用。

#### 5 总结与展望

VaD 的发病机制极其复杂。中医理论认为 VaD 的发生机理为脏腑虚衰,气虚阴亏,痰饮内生,瘀血阻络,痰瘀互结,郁久化热,痰瘀火毒相互为患,形成恶性循环,败坏脑络,殃及脑髓,阻闭清窍,蒙蔽神明,从而导致痴呆的发生;现代医学认为,脑缺血、缺氧引起脑血流量降低,诱导血管内皮损伤,使 BMEC 功能发生障碍,脑血管舒缩异常,出现血管过度收缩、痉挛,并诱发血栓形成,进一步降低脑血流量;同时,脑损伤初始阶段细胞外谷氨酸大量增加,引起氧化应激损伤、炎症反应等,最终导致神经元凋亡,使认知功能明显下降,促进 VaD 的发生与发展。目前临床治疗 VaD 都是针对其某个病理环节进行干预,不能兼顾整个病程,难以取得令人满意的疗效<sup>[62]</sup>。在中医整体观和辨证论治思想指导下,运用具有多成分、多靶点、多途径等特点的中药防治 VaD 可能存在一定的优势。虽然广大医药工作者对中药防治 VaD 的作用机制进行了大量研究,但是,在体实验大多偏重于行为学及神经生化指标研究;体外实验大多以神经元为研究对象,注重考查其活性及凋亡情况,存在重复性高、不够深入、缺乏系统性等问题<sup>[63-64]</sup>。

脑组织作为一个由神经元、脑微血管、星形胶质细胞、小胶质细胞等组成的复杂结构体,应该从整体方面系统研究药物对其作用。Lo 等人<sup>[65]</sup>在上世纪九十年代提出了“神经血管单元(neurovascular unit, NVU)”的概念,为脑病研究提供了新的思路。PI3K/Akt 信号通路不仅参与脑血流量的调节,还与神经元存活状态密切相关,成为调节大脑认知功能的关键信号通路之一。药物的入血成分随着血液循

环进入脑血管,首先与 BMEC 接触,影响其功能,调节血管活性物质(如 NO,ET-1)以及 BDNF 等 NTF 的合成与释放,从而调节脑血管舒缩功能,调节脑血流量,并抑制神经元凋亡,促进神经元存活,改善认知功能。因此,BMEC 可能是药物改善认知功能的重要靶点之一。目前,围绕 PI3K/Akt 信号通路系统研究中药防治 VaD 的报道较为鲜见。结合 NVU 研究思路,围绕调节脑血流量和神经元存活共同途径——PI3K/Akt 信号通路,系统研究中药神经保护作用的靶点和途径,将有望更好地阐明中药治疗 VaD 的作用机制,为临床用药提供科学依据。

[参考文献]

[1] Martin P, Emiliano A, Maëlen G, et al. Dementia and risk reduction [M]. London: Alzheimer's Dis Inter, 2014;6-10.

[2] 黄玮. 血管性痴呆的发病机制研究进展[J]. 中国医药指南, 2012, 10(5):63-64.

[3] Engelman J A, Luo J, Cantley L C. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism [J]. Nat Rev Genet, 2006, 7(8):606-619.

[4] Voigt P, Brock C, Nürnberg B, et al. As signing functional domains within the p101 regulatory subunit of phosphoinositide 3-kinase [J]. J Biol Chem, 2005, 280(6):5121-5127.

[5] Shaw R J, Cantley L C. Ras, PI(3)K and mTOR signaling controls tumour cell growth [J]. Nature, 2006, 441(7092):424-430.

[6] Katso R, Okkenhaug K, Ahmadi K, et al. Cellular function of phosphoinositide 3-kinases: implications for development, homeostasis, and cancer [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2001, 17:615-675.

[7] Martelli A M, Faenza I, Billi A M, et al. Intranuclear 3'-phosphoinositide metabolism and Akt signaling: new mechanisms for tumorigenesis and protection against apoptosis? [J]. Cell Signal, 2006, 18(8):1101-1107.

[8] Dümmler B, Hemmings B A. Physiological roles of PKB/Akt isoforms in development and disease [J]. Biochem Soc Trans, 2007, 35(S2):231-235.

[9] Franke T F. Intracellular signaling by Akt: bound to be specific [J]. Sci Signal, 2008, 1(24):2140-2148.

[10] Zhao L, Vogt P K. Class I PI3K in oncogenic cellular transformation [J]. Oncogene, 2008, 27(41):5486-5496.

[11] Rommel C, Camps M, Ji H. PI3K delta and PI3K gamma: partners in crime in inflammation in rheumatoid arthritis and beyond? [J]. Nat Rev Immunol, 2007, 7

(3):191-201.

[12] Ward S G, Finan P. Isoform-specific phosphoinositide 3-kinase inhibitors as therapeutic agents [J]. Curr Opin Pharmacol, 2003, 3(4):426-434.

[13] Shi F, Wang C, Zhao Z, et al. Effects of simulated microgravity on human umbilical vein endothelial cell angiogenesis and role of the PI3K-Akt-eNOS signal pathway [J]. PLoS One, 2012, 7(7):e40365.

[14] 舒怡, 张洪, 章军建. PI3K/Akt 信号通路在神经系统疾病中的研究进展 [J]. 医学综述, 2011, 17(18):2732-2735.

[15] Harris J J, Attwell D. The energetics of CNS white matter [J]. J Neurosci, 2012, 32(1):356-371.

[16] Anggard E E. The endothelium—the body's largest endocrine gland [J]. J Endocrinol, 1990, 127(3):371-375.

[17] Drake C T, Iadecola C. The role of neuronal signaling in controlling cerebral blood flow [J]. Brain Lang, 2007, 102(2):141-152.

[18] Cauli B, Hamel E. Revisiting the role of neurons in neurovascular coupling [J]. Front Neuroenergetics, 2010, doi:10.3389/fnene.2010.00009.

[19] Kleinfeld D, Blinder P, Drew P J, et al. A guide to delineate the logic of neurovascular signaling in the brain [J]. Front Neuroenergetics, 2011, doi:10.3389/fnene.2011.00001.

[20] Jellinger K A. Pathology and pathogenesis of vascular cognitive impairment—a critical update [J]. Front Aging Neurosci, 2013, doi:10.3389/fnagi.2013.00017.

[21] Liu H, Zhang J. Cerebral hypoperfusion and cognitive impairment: The pathogenic role of vascular oxidative stress [J]. Int J Neurosci, 2012, 122(9):494-499.

[22] Zlokovic B V. Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders [J]. Nat Rev Neurosci, 2011, 12(12):723-738.

[23] Gao Y Z, Zhang J J, Liu H, et al. Regional cerebral blood flow and cerebrovascular reactivity in Alzheimer's disease and vascular dementia assessed by arterial spin-labeling magnetic resonance imaging [J]. Curr Neurovasc Res, 2013, 10(1):49-53.

[24] Sabayan B, Jansen S, Oleksik A M, et al. Cerebrovascular hemodynamics in Alzheimer's disease and vascular dementia: a meta-analysis of transcranial Doppler studies [J]. Ageing Res Rev, 2012, 11(2):271-277.

[25] Fleming I, Fisslthaler B, Dimmeler S, et al. Phosphorylation of Thr(495) regulates Ca(2+)

- calmodulin-dependent endothelial nitric oxide synthase activity [J]. *Circ Res*, 2001, 88(11):68-75.
- [26] Chen W, Xiao H, Rizzo A N, et al. Endothelial nitric oxide synthase dimerization is regulated by heat shock protein 90 rather than by phosphorylation [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8):e105479.
- [27] Shin E, Yeo E, Lim J, et al. Nitrooleate mediates nitric oxide synthase activation in endothelial cells [J]. *Lipids*, 2014, 49(5):457-466.
- [28] Zhang Y, Wang S J, Han Z H, et al. PI3K/AKT signaling pathway plays a role in enhancement of eNOS activity by recombinant human angiotensin converting enzyme 2 in human umbilical vein endothelial cells [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(11):8112-8117.
- [29] Bauer P M, Fulton D, Boo Y C, et al. Compensatory phosphorylation and protein-protein interactions revealed by loss of function and gain of function mutants of multiple serine phosphorylation sites in endothelial nitric oxide synthase [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(1):14841-14849.
- [30] Dimmeler S, Fleming I, Fisslthaler B, et al. Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation [J]. *Nature*, 1999, 399(6736):601-605.
- [31] Gonzalez E, Kou R, Lin A J, et al. Subcellular targeting and agonist-induced site-specific phosphorylation of endothelial nitric-oxide synthase [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(42):39554-39560.
- [32] Vanhaesebroeck B, Leever S J, Panayotou G, et al. Phosphoinositide 3-kinases; a conserved family of signal transducers [J]. *Trends Biochem Sci*, 1997, 22(7):267-272.
- [33] Andresen J, Shafi N I, Bryan R M. Endothelial influences on cerebrovascular tone [J]. *J Appl Physiol*, 2006, 100(1):318-327.
- [34] Ando J, Yamamoto K. Flow detection and calcium signalling in vascular endothelial cells [J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 99(2):260-268.
- [35] Peng B, Guo Q L, He Z J, et al. Remote ischemic postconditioning protects the brain from global cerebral ischemia/reperfusion injury by up-regulating endothelial nitric oxide synthase through the PI3K/Akt pathway [J]. *Brain Res*, 2012, 1445(2):92-102.
- [36] Yoshitomi H, Xu Q, Gao M, et al. Phosphorylated endothelial NOS Ser1177 via the PI3K/Akt pathway is depressed in the brain of stroke-prone spontaneously hypertensive rat [J]. *J Stroke Cerebrov Dis*, 2011, 20(5):406-412.
- [37] Liu H, Liu X, Wei X, et al. Losartan, an angiotensin II type 1 receptor blocker, ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury via PI3K/Akt-mediated eNOS phosphorylation [J]. *Brain Res Bull*, 2012, 89(1/2):65-70.
- [38] Adachi N, Numakawa T, Richards M, et al. New insight in expression, transport, and secretion of brain-derived neurotrophic factor; Implications in brain-related diseases [J]. *World J Biol Chem*, 2014, 5(4):409-428.
- [39] Guo S, Kim W J, Lok J, et al. Neuroprotection via matrix-trophic coupling between cerebral endothelial cells and neurons [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(21):7582-7587.
- [40] Criscuolo C, Fabiani C, Bonadonna C, et al. BDNF prevents amyloid-dependent impairment of LTP in the entorhinal cortex by attenuating p38 MAPK phosphorylation [J]. *Neurobiol Aging*, 2015, 36(3):1303-1309.
- [41] Shen Q, Goderie S K, Jin L, Karanth N, et al. Endothelial cells stimulate self-renewal and expand neurogenesis of neural stem cells [J]. *Science*, 2004, 304(5675):1338-1340.
- [42] Minichiello L, Korte M, Wolfer D, et al. Essential role for TrkB receptors in hippocampus-mediated learning [J]. *Neuron*, 1999, 24(2):401-414.
- [43] Banasiak K J, Xia Y, Haddad G G. Mechanisms underlying hypoxia-induced neuronal apoptosis [J]. *Prog Neurobiol*, 2000, 62(3):215-249.
- [44] Noshita N, Sugawara T, Lewén A, et al. Copper-zinc superoxide dismutase affects Akt activation after transient focal cerebral ischemia in mice [J]. *Stroke*, 2003, 34(6):1513-1518.
- [45] Horwood J M, Dufour F, Laroche S, et al. Signalling mechanisms mediated by the phosphoinositide 3-kinase/Akt cascade in synaptic plasticity and memory in the rat [J]. *Eur J Neurosci*, 2006, 23(12):3375-3384.
- [46] 王维, 张琨. PI3K/Akt 信号转导通路的研究进展 [J]. *现代医药卫生*, 2010, 26(7):1051-1052.
- [47] Gong X, Ma M, Fan X, et al. Down-regulation of IGF-1/IGF-1R in hippocampus of rats with vascular dementia [J]. *Neurosci Lett*, 2012, 513(1):20-24.
- [48] Arboleda G, Morales L C, Benítez B, et al. Regulation of ceramide-induced neuronal death; cell metabolism meets neurodegeneration [J]. *Brain Res Rev*, 2009, 59(2):333-346.
- [49] Horwood J M, Dufour F, Laroche S, et al. Signalling mechanisms mediated by the phosphoinositide 3-kinase/Akt cascade in synaptic plasticity and memory in the rat

- [J]. *Eur J Neurosci*, 2006, 23(12):3375-3384.
- [50] 王爽, 贾延劫, 谢鹏, 等. 磷脂酰肌醇-3 激酶/Akt 在体外神经干细胞存活和分化中作用的实验研究[J]. *重庆医科大学学报*, 2005, 30(4):489-492, 496.
- [51] van Diepen M T, Eickholt B J. Function of PTEN during the formation and maintenance of neuronal circuits in the brain [J]. *Dev Neurosci*, 2008, 30(1/3):59-64.
- [52] 刘明. 梓醇对脑缺血损伤大鼠恢复早期神经功能的影响及其机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2011.
- [53] 王金宁, 董燕, 隋海娟, 等. 知母皂苷元对体外培养皮层神经元树突发育的影响及信号转导机制[J]. *中国药理学通报*, 2011, 27(11):1565-1569.
- [54] 葛科立, 陈文芳. 人参皂苷 Rg1 激活 PI3K/Akt 信号通路对 6-OHDA 毒性作用的影响[J]. *青岛大学医学院学报*, 2009, 45(5):407-409.
- [55] 张道来. 绞股蓝皂苷抗谷氨酸氧化性神经损伤保护作用机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2009.
- [56] 刘玲, 王淑英, 王建刚. PI3K/Akt 通路在芍药苷抗  $A\beta_{25-35}$  诱导 PC12 细胞凋亡中的作用[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(20):4045-4049.
- [57] 刘娜, 孙康钦, 白莲琴, 等. 银杏内酯 B 对损伤神经干细胞内 HIF-1 $\alpha$  及 PI3K/Akt 信号通路的影响[J]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2014, 8(11):2059-2064.
- [58] 韩江全, 于奎营, 何敏, 等. 葛根素对大鼠脑缺血再灌注侧皮质区细胞凋亡及 p-Akt (Ser473) 表达的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2012, 32(8):1069-1072.
- [59] 赖真, 姚灿坤, 程少冰, 等. 黄芪对脑缺血再灌注后神经细胞凋亡的影响及机制研究[J]. *中国中医急症*, 2008, 17(11):1565-1566, 1569.
- [60] 尹天雷, 蔡光先, 李勇敏, 等. 补阳还五汤对脑缺血模型大鼠脑组织 NGF 及 PI3K/AKT 信号转导途径的影响[J]. *中国中医药科技*, 2008, 15(1):24-25.
- [61] 陈小睿, 唐光曦, 孟宪丽, 等. 基于 PI3K/Akt 信号转导通路的通脉醒脑滴丸治疗脑缺血的机制研究[J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(12):3143-3145.
- [62] Gorelick P B, Scuteri A, Black S E, et al. Vascular contributions to cognitive impairment and dementia; a statement for healthcare professionals from the american heart association/american stroke association [J]. *Stroke*, 2011, 42(9):2672-2713.
- [63] 李辉, 吴颢昕, 岳晓杰. 血管性痴呆的中药实验研究进展[J]. *中国中医急症*, 2010, 19(8):1386-1388.
- [64] Kwon K J, Kim M K, Lee E J, et al. Effects of donepezil, an acetylcholinesterase inhibitor, on neurogenesis in a rat model of vascular dementia [J]. *J Neurol Sci*, 2014, 347(1/2):66-77.
- [65] Lo E H, Broderick J P, Moskowitz M A. tPA and proteolysis in the neurovascular unit [J]. *Stroke*, 2004, 35(2):354-356.

[责任编辑 周冰冰]