Open Access
DOI:10.3724/zdxbyxb-2025-0706

阿尔茨海默病

·专题报道·

类端粒沉默干扰体1通过p38 MAPK/线粒体动力学稳态轴调控神经元淀粉样前体蛋白表达

张玉珉，朱飞宇，吴啸天，李占松，黄　鹏，高延盼，曾玲晖

浙大城市学院医学院 浙江省神经损伤修复新靶点与药物研究重点实验室，浙江 杭州 310015

［摘　要］ **目的**：明确表观遗传调节因子类端粒沉默干扰体1（DOT1L）及其介导的组蛋白H3第79位赖氨酸（H3K79）甲基化修饰对神经元淀粉样前体蛋白（APP）表达的调控作用，并阐明线粒体动力学稳态及其上游p38丝裂原激活的蛋白激酶（p38 MAPK）在该调控过程中的核心机制。**方法**：采用APP/早老蛋白1（PS1）双转基因小鼠模型及过表达人源瑞典突变型APP的神经母细胞瘤细胞（N2a-APPswe细胞）模拟AD。通过免疫荧光染色法检测小鼠脑组织中DOT1L的表达和定位。利用DOT1L特异性抑制剂EPZ5676处理N2a-APPswe细胞，分别设置空白对照组、溶剂对照组、DOT1L抑制剂组及DOT1L抑制剂+p38激动剂（绞股蓝提取物）组。采用蛋白质印迹法检测线粒体分裂关键蛋白质DRP1的Ser616和Ser637位点磷酸化水平、自噬相关蛋白质p62水平和LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ比值、信号分子p38磷酸化水平以及APP代谢相关蛋白质APP、BACE1和PS1的表达水平；采用逆转录定量聚合酶链反应检测APP、线粒体分裂及融合相关基因的表达；基于蛋白质组学数据，通过基因本体分析、WikiPathways富集分析及STRING蛋白质–蛋白质相互作用网络筛选关键信号通路；采用Mito-Tracker荧光染色法检测线粒体分支长度。**结果**：与野生型小鼠比较，APP/PS1小鼠神经元中DOT1L表达减少。抑制DOT1L后，H3K79二甲基化水平降低（$P<0.01$），APP表达水平升高但其mRNA表达水平下降（均$P<0.01$）。差异表达蛋白质高度富集于线粒体电子传递链。与溶剂对照组比较，DOT1L抑制剂组线粒体分裂受到抑制，表现为磷酸化DRP1（Ser616）水平下降、磷酸化DRP1（Ser637）水平升高、*MIEF1* mRNA表达水平下降、*MFN1* mRNA表达水平升高（均

收稿日期（Received）：2025-09-26　修改返回日期（Revised）：2025-12-23　接受日期（Accepted）：2026-04-15

基金项目（Funding）：浙江省自然科学基金（LTGD24H090003）；浙江省大学生创新训练项目（S202513021060）；浙大城市学院大学生创新训练项目（X202401137）

第一作者（First author）：张玉珉，大学生，主要从事认知障碍相关疾病的发病机制研究；E-mail：18363918879@163.com；ORCID：0009-0002-0225-4533. 朱飞宇，大学生，主要从事认知障碍相关疾病的发病机制研究；E-mail：zfy1391481156@163.com；ORCID：0009-0002-9715-3080

通信作者（Corresponding author）：曾玲晖，教授，博士生导师，主要从事神经药理学研究；E-mail：zenglh@hzcu.edu.cn；ORCID：0000-0002-5924-4419. 高延盼，讲师，硕士生导师，主要从事衰老相关骨质疏松和认知障碍的发病机制研究；E-mail：gaoyp@hzcu.edu.cn；ORCID：0000-0001-7354-0612

P<0.05),线粒体平均分支长度增加(P<0.05),并伴随p38 MAPK磷酸化水平下降(P<0.05)。与DOT1L抑制剂组比较,加用p38激动剂可显著逆转上述线粒体动力学异常(均P<0.05),并下调APP、BACE1和PS1的异常高表达(均P<0.05)。**结论**:DOT1L通过调控p38 MAPK介导的信号通路维持线粒体正常分裂及功能稳态,进而调控APP表达。

[**关键词**] 阿尔茨海默病;β淀粉样蛋白;淀粉样前体蛋白;表观遗传调控;类端粒沉默干扰体1;线粒体融合;线粒体分裂;p38丝裂原激活的蛋白激酶
[**中图分类号**] R741.02 [**文献标志码**] A

DOT1L controls neuronal amyloid precursor protein expression via the p38 MAPK-mediated mitochondrial dynamics homeostasis axis

ZHANG Yumin, ZHU Feiyu, WU Xiaotian, LI Zhansong, HUANG Peng, GAO Yanpan, ZENG Linghui (*School of Medicine, Hangzhou City University, Zhejiang Province Key Laboratory of Novel Target and Drug Study for Neural Repair, Hangzhou 310015, China*)
ZHANG Yumin and ZHU Feiyu contributed equally to this work.
Corresponding authors: ZENG Linghui, E-mail: zenglh@hzcu.edu.cn, ORCID: 0000-0002-5924-4419; GAO Yanpan, E-mail: gaoyp@hzcu.edu.cn, ORCID: 0000-0001-7354-0612

[**Abstract**] **Objective**: To investigate the regulatory role of epigenetic regulator disruptor of telomeric silencing 1-like (DOT1L) and its mediated histone H3 lysine 79 (H3K79) methylation in modulating neuronal amyloid precursor protein (APP) expression, and to elucidate the underlying mechanisms involving mitochondrial dynamics homeostasis and the upstream p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK). **Methods**: Alzheimer's disease (AD) models were established using APP/presenilin-1 (APP/PS1) double-transgenic mice and N2a cells overexpressing the human Swedish mutant APP (N2a-APPswe). Immunofluorescence staining was employed to assess DOT1L expression and localization in mouse brain tissues. N2a-APPswe cells were treated with the DOT1L-specific inhibitor EPZ5676 and divided into four groups: blank control, solvent control, DOT1L inhibitor, and DOT1L inhibitor plus p38 agonist (*Gynostemma pentaphyllum* extract). Western blotting was performed to measure the phosphorylation levels of DRP1 at Ser616 and Ser637, the levels of autophagy-related proteins p62 and the LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ ratio, the phosphorylation level of p38 MAPK, as well as the expression of APP and APP-processing proteins BACE1 and PS1. Reverse transcription quantitative polymerase chain reaction was used to detect mRNA levels of APP and genes involved in mitochondrial fission and fusion. Proteomics data were systematically analyzed through Gene Ontology analysis, WikiPathways enrichment analysis, and STRING protein-protein interaction network analysis to identify key signaling pathways. Mitochondrial network morphology was evaluated by Mito-Tracker fluorescence staining to measure average branch length. **Results**: DOT1L expression was significantly reduced in neurons of APP/PS1 mice compared to wild-type controls. DOT1L inhibition led to decreased H3K79 dimethylation levels (P<0.01), accompanied by a marked increase in APP protein

expression (P<0.01), although APP mRNA levels were reduced (P<0.01). Proteomics analysis revealed that differentially expressed proteins were highly enriched in the mitochondrial electron transport chain. Compared with the solvent control, the DOT1L inhibitor group showed inhibited mitochondrial fission, as evidenced by decreased p-DRP1 (Ser616), increased p-DRP1 (Ser637), downregulated *MIEF1* mRNA, upregulated *MFN1* mRNA (all P<0.05), and increased average mitochondrial branch length (P<0.05), along with reduced phosphorylation level of p38 MAPK (P<0.05). Co-administration of the p38 agonist significantly reversed these mitochondrial dynamics abnormalities (all P<0.05) and attenuated the abnormally elevated protein levels of APP, BACE1, and PS1 (all P<0.05) compared to the DOT1L inhibitor group. **Conclusion**: DOT1L maintains normal mitochondrial fission and functional homeostasis through regulation of the p38 MAPK mediated signaling pathway, thereby modulating APP expression.

[**Key words**] Alzheimer's disease; Amyloid β-protein; Amyloid precursor protein; Epigenetic regulation; Disruptor of telomeric silencing 1-like; Mitochondrial fusion; Mitochondrial fission; p38 mitogen-activated protein kinase

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2026, 55(5): 391-403.]

[**缩略语**] 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,AD);β淀粉样蛋白(amyloid β-protein,Aβ);淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein,APP);p38丝裂原激活的蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase,p38 MAPK);发动蛋白相关蛋白1(dynamin-related protein 1,DRP1);丝氨酸(Serine,Ser);类端粒沉默干扰体1(disruptor of telomeric silencing 1-like,DOT1L);组蛋白H3第79位赖氨酸(histone H3 lysine 79,H3K79);H3K79二甲基化修饰(dimethyl H3K79,H3K79me2);AMP活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase,AMPK);哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR);沉默信息调节因子3(silence information regulator 3,SIRT3);早老蛋白1(presenilin-1,PS1);杜氏改良Eagle培养基(Dulbecco's modified Eagle medium,DMEM);焦碳酸二乙酯(diethyl pyrocarbonate,DEPC);乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetra-acetic acid,EDTA);互补DNA(complementary DNA,cDNA);聚合酶链反应(polymerase chain reaction,PCR);定量聚合酶链反应(quantitative PCR,qPCR);4′,6-二脒基-2-苯基吲哚(4′,6-diamidino-2-phenylindole,DAPI);免疫球蛋白G(immunoglobulin G,IgG);苏氨酸(threonine,Thr);酪氨酸(tyrosine,Tyr);β位点APP切割酶1(beta-site APP cleaving enzyme 1,BACE1);微管相关蛋白轻链3(microtubule-associated protein light chain 3,LC3);磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline,PBS);二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide,DMSO);放射免疫沉淀法(radioimmunoprecipitation assay,RIPA);二喹啉甲酸法(bicinchoninic acid assay,BCA);十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate,SDS);聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis,PAGE);甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase,GAPDH);基因本体(Gene Ontology,GO);信使RNA(messenger RNA,mRNA);磷脂酰肌醇3激酶(phosphoinositide 3-kinase,PI3K);蛋白激酶B(protein kinase B,PKB,Akt)

AD病理机制复杂,涉及Aβ斑块沉积、τ蛋白过度磷酸化形成的神经原纤维缠结、神经炎症及突触功能障碍等多种病理过程[1-2]。AD的发病机制尚未完全阐明,Aβ假说是目前主流的假说之一,该假说认为Aβ生成和清除失衡是AD病理的始动环节。Aβ由APP经β-和γ-分泌酶依次切割产生,其中$Aβ_{42}$具有较强的神经毒性和聚集倾向,易形成细胞外斑块,引发神经元损伤[3-4]。目前,调控APP表达的上游信号机制尚未完全阐明,制约了AD发病机制研究及治疗靶点发现。

线粒体动力学异常,尤其是线粒体分裂–融合稳态失衡与AD病理过程密切相关[5-7]。在AD患者脑组织及AD动物模型中均观察到线粒体碎片化、膜电位丧失及呼吸功能损伤,这些异常不仅损害线粒体代谢功能,还会进一步促进Aβ生成和τ蛋白磷酸化,形成恶性循环[8-10]。其潜在机制涉及Aβ与线粒体功能障碍之间的双向作用:Aβ可直接作用于线粒体,干扰电子传递链复合物功能,增加活性氧产生,诱导线粒体膜电位崩溃和细胞凋亡[11-12];线粒体功能障碍也可通过氧化应激促进Aβ生成,例如,线粒体功能障碍引发的活性氧爆发可加剧氧化应激[13],启动脂质过氧化链式反应生成4-羟基壬烯醛[14],4-羟基壬烯醛通过修饰γ-分泌酶的呆蛋白以增强该酶活性,从而促进$Aβ_{42}$生成和分泌[15]。APP可定位在线粒体中,并在线粒体中切割生成Aβ。在调控线粒体动力学的多种信号通路中,p38 MAPK是关键的上游激酶,可磷酸化DRP1并诱导线粒体过度分裂。例如,在帕金森病研究中发现p38 MAPK可直接介导DRP1 Ser616位点磷酸化,促进线粒体分裂及功能失衡[16]。在AD中,p38 MAPK同样具有多重功能:一方面,活化的p38 MAPK和磷酸化τ蛋白在AD患者脑组织中共定位,提示p38 MAPK参与τ蛋白过度磷酸化及神经原纤维缠结形成[17-18];另一方面,在Aβ刺激下,p38α是刺激小胶质细胞产生促炎性细胞因子(如IL-1β、肿瘤坏死因子α)的关键激酶,抑制该酶能缓解神经炎症反应[19-20]。然而,p38 MAPK是否通过调控线粒体动力学稳态来介导Aβ病理与线粒体功能障碍之间的关联,目前尚不清楚。

表观遗传调控因子也参与维持线粒体稳态。DOT1L作为能催化H3K79甲基化的转移酶,参与多种与线粒体稳态相关的病理过程:在多巴胺能神经元中,DOT1L可能通过H3K79甲基化调控线粒体相关基因表达影响大脑衰老进程[21];在肾癌细胞中,抑制DOT1L介导的AMPK/mTOR信号通路可导致自噬增强和线粒体融合[22];在血管老化模型中,DOT1L通过H3K79甲基化修饰调控SIRT3表达,影响线粒体生物发生[23]。这些研究表明,DOT1L可能通过表观遗传机制广泛参与线粒体功能调控。然而,DOT1L介导的H3K79甲基化在AD中的作用尚未明确。p38 MAPK与表观遗传调控之间的交叉对话已在非小细胞癌、乳腺癌及特发性肺纤维化等多种疾病中报道[24-26],但DOT1L是否通过影响p38 MAPK活性进而调控线粒体动力学稳态尚未明确。本研究通过体外实验,采用DOT1L特异性抑制剂EPZ5676干预,以期阐明DOT1L通过p38 MAPK/线粒体动力学稳态轴在AD发生发展中的作用机制,为开发潜在治疗策略提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物、细胞、试剂和仪器

3月龄雄性C57BL/6J野生型小鼠和APP/PS1双转基因小鼠购自中国杭州子源实验动物科技有限公司。过表达人源瑞典突变型APP的神经母细胞瘤细胞(N2a-APPswe细胞)为中国医学科学院基础医学研究所馈赠。绞股蓝提取物为中国云南植药生物技术有限公司产品(赵婷婷博士馈赠)。DOT1L抑制剂EPZ5676(1380288-87-8)为中国上海楼岚生物科技有限公司产品。

DMEM高糖培养基(AQ11995-500 mL)、超敏增强化学发光试剂盒(AQ529)、优级胎牛血清(AQmv06600-500 mL)为中国北京翎擎生物科技有限公司产品;Mito-Tracker Red CMXRos线粒体红色荧光探针(C1049-50 μg)、免疫染色通透液(Triton X-100,P0096-100 mL)为中国上海碧云天生物技术有限公司产品;4%多聚甲醛通用型组织固定液(BL539A)为中国北京兰杰柯科技有限公司产品;牛血清白蛋白Ⅴ(A8020)为中国北京索莱宝科技有限公司的产品;TRI试剂(T9424)、DEPC水(693520)、尿素(U5128)、不含EDTA的cOmplete™ Mini蛋白酶抑制剂混合物(11836170001)、三氯乙酸(T6399)、丙酮(179124)、碳酸氢三乙铵缓冲液(T7408)、胰蛋白酶(11418025001)、*DL*-二硫苏糖醇(D0632)、碘乙酰胺(I1149)、甲酸(5.33002)和乙

腈（34851）为德国Merck公司产品；TransZol Up高性能RNA提取试剂盒（ET111-01-V2）、TransScript® All-in-One第一链cDNA合成试剂盒（AT341-02）、PerfectStart® Green qPCR SuperMix试剂盒（AQ601-02-V2）为中国北京全式金生物技术有限公司产品；荧光封片剂（含DAPI，ZLI-9557）、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠IgG（H+L）（ZB-2305，1∶7500）、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG（H+L）（亲和纯化）（ZB-5301，1∶7500）为中国中杉金桥公司产品；抗KMT4/DOT1L兔克隆抗体（ab239358）、山羊抗兔IgG H&L（Alexa Fluor® 488，ab150077）、山羊抗鼠IgG H&L（Alexa Fluor® 594，ab150116）和抗组蛋白H3抗体（ab1791）为英国Abcam公司产品；磷酸化DRP1（Ser616）兔克隆抗体（3455，1∶1000）、磷酸化DRP1（Ser637）兔克隆抗体（4867，1∶1000）、磷酸化p38 MAPK（Thr180/Tyr182，D3F9）兔克隆抗体（4511，1∶1000）、H3K79me2（D15E8）兔单克隆抗体（5427T）、BACE1（D10E5）兔克隆抗体（5606，1∶1000）、PS1兔克隆抗体（3622，1∶1000）、SQSTM1/p62兔克隆抗体（5114，1∶1000）、LC3A/B兔克隆抗体（4108，1∶1000）为美国Cell Signaling Technology公司产品；APP小鼠单克隆抗体（22C11，1∶1000）为美国Thermo Fisher Scientific公司产品；β-Actin小鼠单克隆抗体（66009-1-Ig，1∶1000）为美国Proteintech公司产品；定量逆转录PCR所使用的引物为中国生工生物工程（上海股份）有限公司产品。

nanoElute® 2纳升液相色谱系统和timsTOF Pro 2质谱仪为德国Bruker公司产品；Leica DMi8倒置显微镜为德国Leica公司产品；NanoDrop分光光度计为美国Thermo Fisher Scientific公司产品；LightCycler® 96实时荧光qPCR仪为瑞士Roche公司产品。

1.2 免疫荧光染色检测小鼠脑组织中DOT1L表达

所有小鼠在无特定病原体级动物房中饲养，饲养环境为12 h/12 h光暗循环，室温维持在（22±1）℃，自由摄取食物和水。C57BL/6J野生型小鼠为正常对照组，APP/PS1双转基因小鼠为AD模型组，每组5只。饲养一周后，小鼠经深度麻醉后使用生理盐水进行心脏灌注冲洗，随后用4%多聚甲醛磷酸缓冲液进行灌注固定，完整取出脑组织后，于4%多聚甲醛中固定24 h。然后，脑组织依次经20%和30%蔗糖溶液脱水至沉底。脱水后的脑组织用冰冻切片包埋剂包埋，于液氮中快速冷冻，并转移至－80 ℃冰箱保存。使用冰冻切片机将脑组织冠状切片，厚度为30 μm。切片进行免疫荧光染色：经PBS清洗、0.3% Triton X-100通透、5%牛血清白蛋白封闭后，与抗DOT1L抗体、抗Aβ抗体4 ℃孵育过夜；与荧光标记的二抗室温孵育1~2 h；用含DAPI的封片剂封片，于共聚焦显微镜下观察并采集图像。

1.3 细胞培养及分组处理

N2a-APPswe细胞培养基为添加10%胎牛血清的DMEM，在37 ℃、5%二氧化碳培养箱中培养。为保持细胞的良好状态，细胞生长至覆盖培养皿底面约80%时传代，1∶3传代，2~3 d传代一次。设置以下组别：①空白对照组：正常培养的N2a-APPswe细胞；②溶剂对照组：在2 mL培养基中加入2 μL含10% DMSO的PBS溶液，使DMSO终浓度为0.01%；③DOT1L抑制剂组：在2 mL培养基中加入2 μL 1 mmol/L EPZ5676（溶于含10% DMSO的PBS溶液），使EPZ5676终浓度为1 μmol/L；④DOT1L抑制剂+p38激动剂组：在2 mL培养基中加入2 μL 1 mmol/L EPZ5676（溶于含10% DMSO的PBS溶液），使EPZ5676终浓度为1 μmol/L，同时加入2 μL 0.1 mg/mL绞股蓝提取物的PBS溶液，使绞股蓝终浓度为0.1 μg/mL。各组经相应药物处理48 h后收集细胞分别进行蛋白质印迹法、逆转录qPCR及蛋白质组学检测。

1.4 蛋白质印迹法检测蛋白质表达

各组细胞使用RIPA裂解液裂解后，用BCA试剂盒测定蛋白质浓度。使用上样缓冲液调整各组蛋白质浓度，每孔上样等量总蛋白质。蛋白裂解液经SDS-PAGE电泳分离，浓缩胶电压90 V，分离胶电压120 V。随后采用恒流100 mA、120 min将蛋白质转印至聚偏二氟乙烯膜。用5%脱脂牛奶将带有蛋白质的膜室温封闭30 min，与一抗4 ℃孵育过夜，与二抗室温孵育1 h，最后通过增强化学发光法显影。使用ImageJ软件进行灰度值分析，各实验独立重复三次。

1.5 逆转录qPCR检测目的基因表达

按TransZol Up高性能RNA提取试剂盒说明书提取各组细胞总RNA。使用分光光度计测定总RNA浓度及纯度（A260/A280比值介于1.8~2.0）。

使用TransScript® All-in-One第一链cDNA合

成试剂盒将总RNA逆转录为cDNA。反应体系如下:总RNA 1 μg、5× All-in-One Reaction Mix 4 μL、All-in-One Enzyme Mix 1 μL,补加无核糖核酸酶的水至20 μL。轻轻混匀后,按以下程序进行逆转录:25 ℃孵育5 min(引物退火),42 ℃孵育15 min(cDNA合成),85 ℃加热5 s(酶失活)。反应结束后,cDNA置于−20 ℃保存备用。

使用PerfectStart® Green qPCR SuperMix试剂盒在96孔PCR板中进行qPCR扩增。反应体系如下:2× PerfectStart® Green qPCR SuperMix 10 μL、10 μmol/L上游引物0.4 μL、10 μmol/L下游引物0.4 μL、cDNA模板2 μL,补加无核糖核酸酶的水至20 μL。反应在LightCycler® 96实时荧光qPCR仪上进行,程序如下:94 ℃预变性30 s;40个循环的94 ℃变性5 s、60 ℃退火延伸30 s(采集荧光信号);95 ℃ 15 s、60 ℃ 1 min、95 ℃ 1 s(持续采集荧光信号),以验证扩增特异性。反应周期阈值由LightCycler 96软件自动测定。每组设置三个复孔,实验独立重复三次。以GAPDH为内参,采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算目的基因的相对表达量。引物序列如附表1所示。

1.6 液相色谱–质谱法鉴定差异表达蛋白质

为筛选DOT1L调控APP表达的关键通路,分别设置溶剂对照组和DOT1L抑制剂组进行蛋白质谱测定。蛋白质提取时,加入4倍体积裂解液(8 mol/L尿素,1%蛋白酶抑制剂),超声裂解后离心取上清液,BCA法测定蛋白质浓度。取等量蛋白质经20%三氯乙酸沉淀、丙酮洗涤后,重悬于200 mmol/L碳酸氢三乙铵,按胰蛋白酶与蛋白质质量比1∶50加入胰蛋白酶,酶解过夜;依次进行二硫苏糖醇还原和碘乙酰胺烷基化。肽段用液相色谱流动相A相溶解后使用纳升液相色谱进行分离。流动相A为含0.1%甲酸和2%乙腈的水溶液;流动相B为含0.1%甲酸和90%乙腈的水溶液,梯度洗脱:0~14 min,6%~24%B;14~16 min,24%~35%B;16~18 min,35%~80%B;18~20 min,80%B,流速维持在500 nL/min。肽段经纳升液相色谱分离后,再经毛细管离子源电离,然后导入质谱仪进行数据采集,对肽段母离子(电荷数1~5)及其二级碎片离子进行检测和分析,离子源电压设置为1.75 kV。数据采集模式使用数据非依赖平行累积串行碎裂(dia-PASEF)模式,一级质谱扫描范围设置为300~1500 m/z,每张一级质谱采集后进行20次PASEF模式采集,二级质谱扫描区间为400~850 m/z,并以7 m/z为窗口宽度。

1.7 生物信息学分析差异表达蛋白质

液相色谱–质谱分析获得的数据利用DIA-NN(v.1.8)进行搜库,参考数据库为Mus_musculus_10090_SP_20231220.fasta(含17 191个条目)与反向诱饵数据库的合并库。设定胰蛋白酶为切割酶,允许最多一个错切位点。固定修饰为氨基端甲硫氨酸的切除及半胱氨酸的氨基甲酰基甲基化。错误发现率设定为小于1%。两组间蛋白质表达的差异倍数进行$\log_2$转换,差异蛋白质定义为$\log_2$(差异倍数)≥1或≤−1。

差异蛋白质首先进行GO分析,从细胞组分和生物学过程两个维度对差异蛋白质进行功能分类和注释分析。然后,利用开放平台WikiPathways(https://www.wikipathways.org)对差异表达蛋白质进行通路富集分析,预测差异表达蛋白质可能参与的信号转导通路。最后,为揭示差异蛋白质间的潜在调控网络,使用STRING平台(https://cn.string-db.org)构建蛋白质–蛋白质相互作用网络,置信度阈值设为0.4。Wikipathways通路和蛋白质–蛋白质相互作用网络均使用Cytoscape 3.10软件进行可视化展示。

1.8 Mito-Tracker荧光染色法检测线粒体分支长度

N2a-APPswe细胞生长至覆盖培养皿底面约80%时,经胰蛋白酶裂解为单细胞悬液,接种于六孔板内培养1~2 d,六孔板内预先放置经组织培养处理的细胞圆形爬片。细胞生长至覆盖培养皿底面约60%时去除培养基,加入配制好的Mito-Tracker Red CMXRos工作液,37 ℃避光孵育15~30 min。使用镊子将爬片取出,覆盖在载玻片上(细胞面朝向载玻片),在Leica DMi8荧光显微镜下观察并采集图像,使用ImageJ软件测量线粒体分支长度,计算平均值,每组选取十个典型细胞,实验独立重复三次。

1.9 统计学方法

采用GraphPad Prism 10.0软件进行统计分析和图表绘制,符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较采用独立样本t检验,多组间比较采用单因素方差分析。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 DOT1L在AD模型鼠脑组织中表达下调

免疫荧光染色结果显示，DOT1L与神经元高度重合，提示DOT1L主要分布于脑组织神经元中，并且与正常对照组比较，AD模型组脑组织中DOT1L表达减少，见图1，提示DOT1L与AD有关。

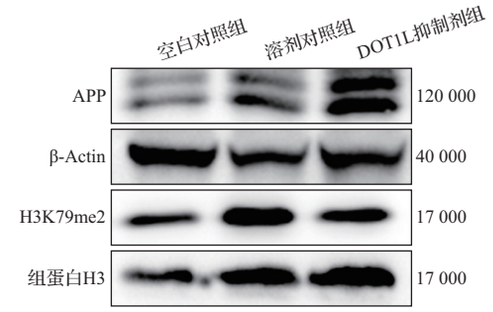
2.2 抑制DOT1L酶活性可上调AD模型细胞中APP表达

与溶剂对照组比较，DOT1L抑制剂组APP表达水平增加（分别为1.17±0.24和1.94±0.21，$P<0.01$），H3K79二甲基化水平降低（分别为1.01±0.11和0.50±0.16，$P<0.01$），见图2，提示DOT1L可能通过影响H3K79甲基化水平负向调控APP的表达。值得注意的是，DOT1L抑制剂组APP mRNA表达较溶剂对照组减少（分别为0.73±0.10和1.00±0.07，$P<0.01$），提示DOT1L可能不通过转录过程而是通过转录后机制调控APP表达。

2.3 抑制DOT1L后差异表达蛋白质高度富集于线粒体并引起线粒体电子传递链失衡

基于质谱的蛋白质组学分析共鉴定出6933种蛋白质。与溶剂对照组比较，DOT1L抑制剂组共筛选出366种差异表达蛋白质。GO分析结果显示这些差异表达蛋白质主要定位于线粒体相关细胞组分（线粒体、线粒体膜间隙、含线粒体蛋白的复合物等），并参与有氧呼吸等生物学过程（图3）。WikiPathways通路富集分析进一步表明，上述差异表达蛋白质在线粒体电子传递链通路富集（图3）。

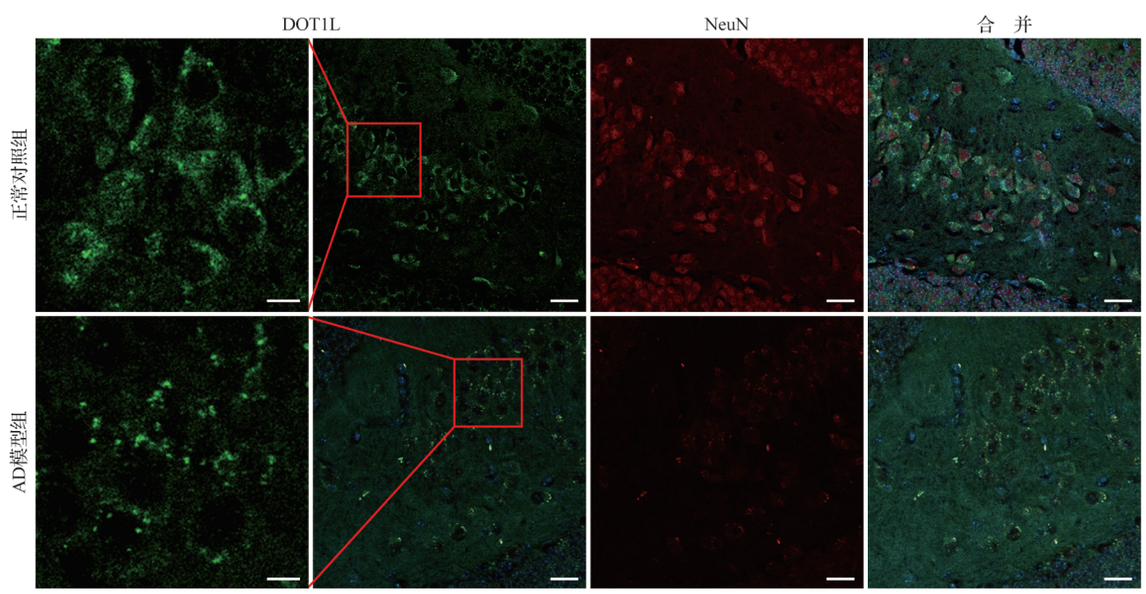
蛋白质–蛋白质相互作用网络分析结果显示，366种差异表达蛋白质中线粒体相关蛋白质之间存在密切的相互作用关系（图4）。WikiPathways通路分析进一步发现，EPZ5676抑制DOT1L酶活性后，表达上调的蛋白质与表达下调的蛋白质在



APP：淀粉样前体蛋白；H3K79me2：组蛋白H3第79位赖氨酸二甲基化修饰；DOT1L：类端粒沉默干扰体1；β-Actin：β-肌动蛋白.

图2 各组细胞内APP和H3K79me2水平电泳图

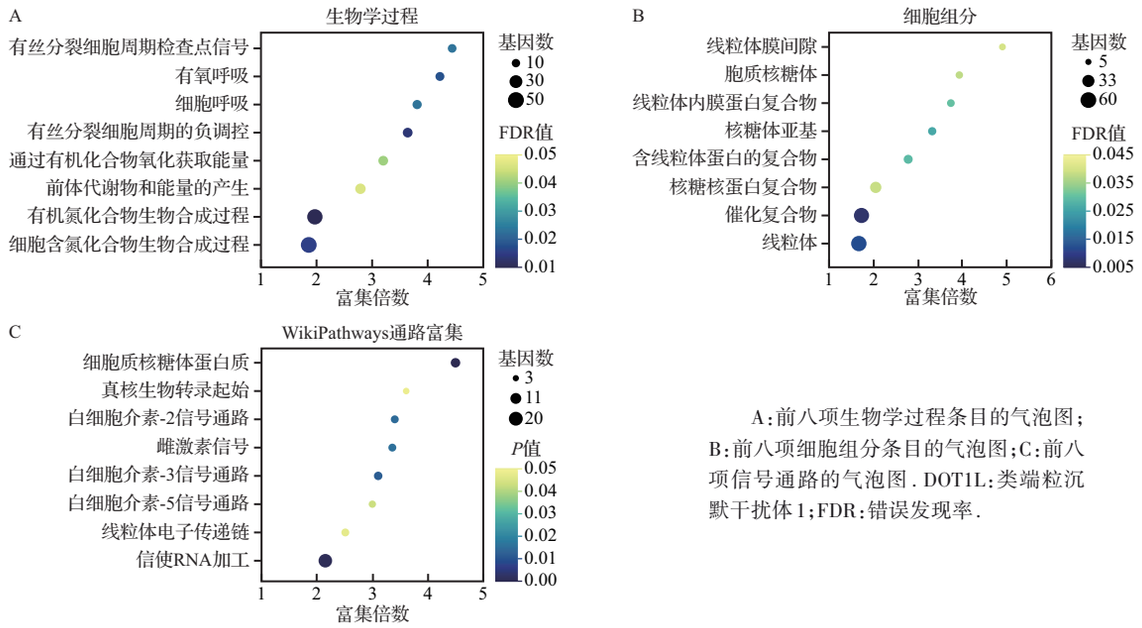
Figure 2 Electrophoretograms of APP protein expression and H3K79me2 levels in each group



绿色荧光代表DOT1L，红色荧光代表神经元标志物NeuN，图中可见绿色荧光与红色荧光共定位，表明DOT1L表达于神经元，且AD模型组绿色荧光强度较正常对照组减弱. DOT1L、NeuN和合并图中的标尺为20 μm；DOT1L放大图中的标尺为5 μm. DOT1L：类端粒沉默干扰体1；NeuN：神经元核蛋白.

图1 DOT1L在小鼠脑组织中的表达（免疫荧光染色法）

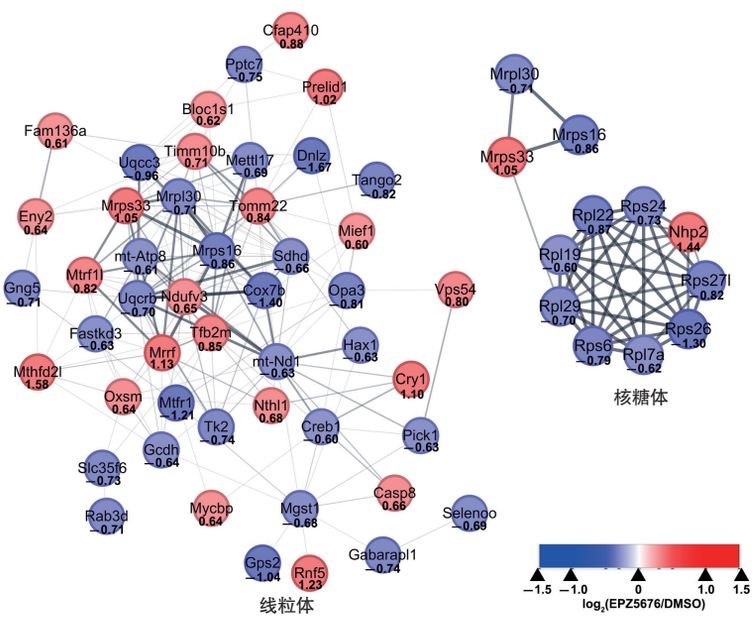
Figure 1 Expression of DOT1L in mouse brain tissues detected by immunofluorescence staining



A:前八项生物学过程条目的气泡图;B:前八项细胞组分条目的气泡图;C:前八项信号通路的气泡图. DOT1L:类端粒沉默干扰体1;FDR:错误发现率.

图3 抑制DOT1L后差异表达蛋白质的基因本体分析和WikiPathways通路富集分析结果

Figure 3 Gene Ontology analysis and WikiPathways enrichment analysis of differentially expressed proteins after DOT1L inhibition



线条粗细表示节点之间相互作用关系的程度. EPZ5676/DMSO表示DOT1L抑制剂EPZ5676与DMSO之间蛋白质表达水平的倍数变化比值. DOT1L:类端粒沉默干扰体1;DMSO:二甲基亚砜.

图4 抑制DOT1L后线粒体差异表达蛋白质的蛋白质–蛋白质相互作用网络

Figure 4 Protein-protein interaction network of differentially expressed mitochondrial proteins upon DOT1L inhibition

电子传递链各复合物中均有分布且比例相近(附图1),提示抑制DOT1L可能导致线粒体电子传递链功能紊乱。

2.4 抑制DOT1L后线粒体分裂减弱而融合增强

与溶剂对照组比较,DOT1L抑制剂组DRP1(Ser616)磷酸化水平下降(P<0.01),而DRP1(Ser637)磷酸化水平则明显升高(P<0.01),见表1和附图2,提示抑制DOT1L可干扰线粒体分裂。同时,DOT1L抑制剂组线粒体分裂相关基因*MIEF1*的mRNA表达水平较溶剂对照组下降(分别为0.41±0.08和1.00±0.03,P<0.05),而融合相关基因*MFN1*的mRNA表达水平升高(分别为1.276±0.034和1.000±0.015,P<0.01),进一步印证了抑制DOT1L可引起线粒体分裂减弱而融合增强。此外,Mito-Tracker荧光染色法检测显示,DOT1L抑制剂组线粒体平均分支长度较溶剂对照组显著增加[分别为(0.987±0.006)μm和(0.849±0.018)μm,P<0.05],见图5,表明线粒体呈现过度融合倾向。自噬相关蛋白质p62表达水平及LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ比

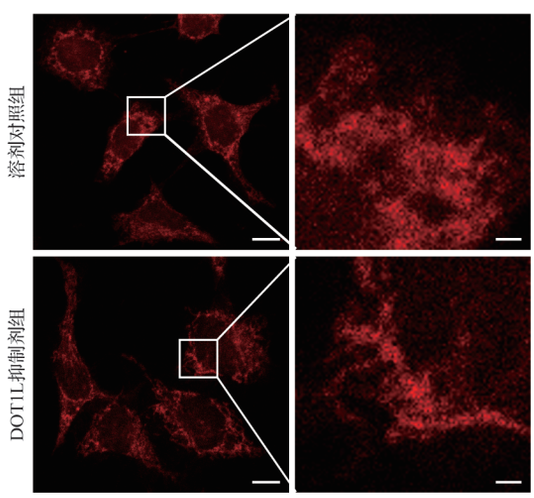
表1 各组细胞中线粒体稳态及线粒体自噬相关蛋白质表达比较

Table 1 Comparison of mitochondrial homeostasis- and mitophagy-related proteins expression in cells among groups

（$\bar{x}\pm s$，n=3）

组　别	磷酸化DRP1（Ser616）	磷酸化DRP1（Ser637）	p62	LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ
空白对照组	1.03±0.04	0.98±0.10	1.01±0.11	1.03±0.12
溶剂对照组	1.08±0.04	1.01±0.12	1.22±0.14	1.43±0.60
DOT1L抑制剂组	0.74±0.11**	1.36±0.16**	1.29±0.50	1.29±0.60

与溶剂对照组比较，**P<0.01. DOT1L：类端粒沉默干扰体1；DRP1：发动蛋白相关蛋白1；Ser：丝氨酸；LC3：微管相关蛋白轻链3.



与溶剂对照组比较，DOT1L抑制剂组细胞的线粒体（红色荧光）分支长度明显增加. 标尺=5 μm，放大图标尺=1 μm. APP：淀粉样前体蛋白；N2a-APPswe细胞：过表达人源瑞典突变型APP的神经母细胞瘤细胞；DOT1L：类端粒沉默干扰体1.

图5 DOT1L抑制剂作用前后N2a-APPswe细胞线粒体网络形态图（Mito-Tracker荧光染色法）

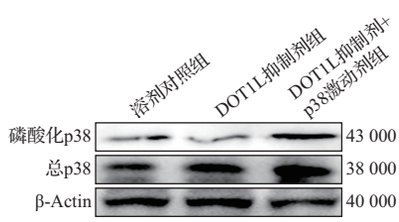
Figure 5 Mitochondrial network morphology in N2a-APPswe cells treated with DOT1L inhibitor or not (Mito-Tracker fluorescence staining)

值在各组间差异无统计学意义（均P>0.05），见表1和附图2，提示线粒体融合过度主要源于线粒体分裂受到抑制而非自噬调控。

2.5 DOT1L通过p38 MAPK调控线粒体动力学及APP表达

蛋白质印迹法检测结果显示（图6），DOT1L抑制剂组p38 MAPK磷酸化水平较溶剂对照组明显下降（两组磷酸化p38/总p38比值分别为0.89±0.12和1.00±0.03，P<0.05），而DOT1L抑制剂+p38激动剂组磷酸化p38/总p38比值为1.42±0.09，较DOT1L抑制剂组p38 MAPK磷酸化水平明显升高（P<0.01）。

qPCR结果显示，给予p38激动剂可显著逆转由DOT1L抑制所致的线粒体分裂相关基因（*FIS1*、*MIEF1*、*MFF*）的下调作用（均P<0.05）及融合相关基因*MFN1*的上调作用（P<0.01），见表2。Mito-Tracker荧光染色法结果显示，溶剂对照组线粒体平均分支长度为（0.863±0.049）μm，DOT1L抑制剂组显著增加至[（1.218±0.093）μm，P<0.01]，而DOT1L抑制剂+p38激动剂组线粒体平均分支长度显著缩短至[（0.807±0.051）μm，P<0.01]，见图7。上述结果表明，DOT1L通过调控p38 MAPK信号通路影响下游线粒体分裂及融合状态，从而维持线粒体动力学稳态。蛋白质印迹法结果显示，DOT1L抑制剂组APP、BACE1和PS1表达上调（均P<0.05）；而DOT1L抑制剂+p38激动剂组可显著逆转上述蛋白质异常表达（均P<0.05），见表3和附图3。综上，DOT1L可能通过p38 MAPK调控线粒体动力学稳态进而影响APP表达。



DOT1L：类端粒沉默干扰体1；β-Actin：β-肌动蛋白.

图6 各组细胞中p38 MAPK相关蛋白质表达电泳图

Figure 6 Electrophoretograms of p38 MAPK-related protein expression in cells in each group

3 讨　论

AD是最常见的认知功能障碍疾病，其神经病理学改变复杂多样，其中Aβ斑块沉积和τ蛋白过度磷酸化所致神经原纤维缠结是两大标志性病理特征[3]。Aβ斑块是由细胞外Aβ异常聚集形成，Aβ主要由神经元分泌产生[27]。APP是Aβ的前体蛋白，该蛋白经β-和γ-分泌酶依次水解，产生一系列长度为39~43个氨基酸的多肽[4]，即Aβ多肽。本文资料从调控APP的角度切入，结合表观遗传调控在AD病理学发展进程中可能扮演关键角色的假设[28-29]，探究表观遗传调节因子DOT1L介导的H3K79甲基化对APP表达的调控作用。

本文资料显示，DOT1L主要表达于神经元中，且在AD模型鼠脑组织中表达水平显著下降。在

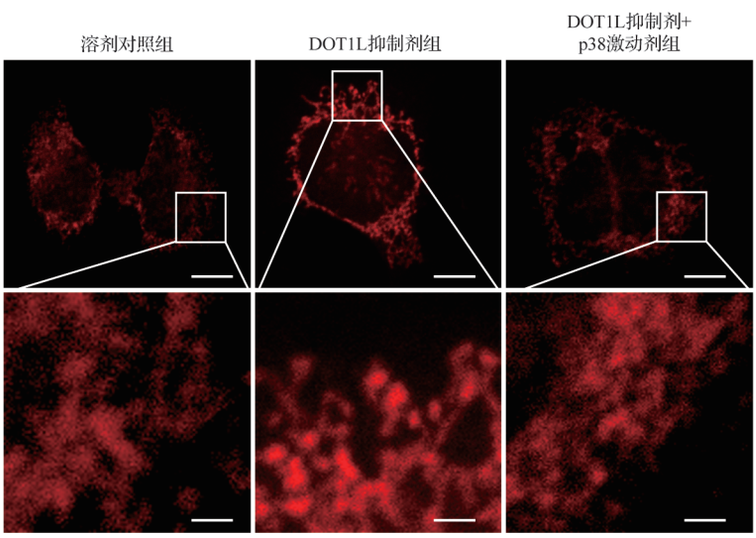
表2 各组细胞中线粒体分裂及融合相关基因表达比较

Table 2 Comparison of expression levels of mitochondrial fission- and fusion-related genes among groups

($\bar{x}\pm s$, n=3)

组 别	*FIS1*	*MFN1*	*MIEF1*	*MFF*
溶剂对照组	1.00±0.08	1.000±0.015	1.00±0.23	1.00±0.07
DOT1L抑制剂组	1.08±0.05	1.286±0.034**	0.43±0.08*	0.98±0.06
DOT1L抑制剂+p38激动剂组	1.55±0.08$^{\#\#}$	0.892±0.044$^{\#\#}$	1.57±0.15$^{\#\#}$	1.40±0.19$^{\#}$

与溶剂对照组比较，$^{*}P$<0.05，$^{**}P$<0.01；与DOT1L抑制剂组比较，$^{\#}P$<0.05，$^{\#\#}P$<0.01. DOT1L：类端粒沉默干扰体1；*FIS1*：线粒体分裂蛋白1；*MFN1*：线粒体融合蛋白1；*MIEF1*：线粒体延长因子1；*MFF*：线粒体分裂因子.



红色荧光代表线粒体，表示线粒体网络分支形态. 与溶剂对照组比较，DOT1L抑制剂组线粒体分支长度增加；而在DOT1L抑制剂组中加入p38激动剂后线粒体分支长度明显缩短，表明线粒体稳态得到部分恢复. 标尺=5 μm，放大图标尺=1 μm. APP：淀粉样前体蛋白；N2a-APPswe细胞：过表达人源瑞典突变型APP的神经母细胞瘤细胞；DOT1L：类端粒沉默干扰体1.

图7 p38激动剂作用前后N2a-APPswe细胞线粒体网络形态图(Mito-Tracker荧光染色法)

Figure 7 Mitochondrial network morphology in N2a-APPswe cells treated with DOT1L inhibitor alone or in combination with the p38 agonist (Mito-Tracker fluorescence staining)

表3 各组细胞中APP、BACE1和PS1表达水平比较

Table 3 Comparison of APP, BACE1 and PS1 expression levels in cells among groups

($\bar{x}\pm s$, n=3)

组 别	APP	BACE1	PS1
溶剂对照组	1.00±0.03	1.00±0.04	1.00±0.06
DOT1L抑制剂组	1.77±0.50*	1.76±0.13**	1.35±0.11**
DOT1L抑制剂+p38激动剂组	0.87±0.23$^{\#}$	1.06±0.09$^{\#\#}$	0.54±0.09$^{\#\#}$

与溶剂对照组比较，$^{*}P$<0.05，$^{**}P$<0.01；与DOT1L抑制剂组比较，$^{\#}P$<0.05，$^{\#\#}P$<0.01. APP：淀粉样前体蛋白；BACE1：β位点APP切割酶1；PS1：早老蛋白1；DOT1L：类端粒沉默干扰体1.

AD模型细胞中，抑制DOT1L酶活性可明显上调APP表达，而APP mRNA水平呈现下降趋势，提示DOT1L对APP的负向调控作用可能不通过转录过程而是通过转录后机制。

线粒体功能障碍是AD发生和发展过程中的早期事件[9]。本文资料显示抑制DOT1L主要影响线粒体相关信号通路，表现为线粒体电子传递链功能紊乱。电子传递链功能与线粒体分裂–融合稳态密切相关。分裂或融合蛋白缺失会破坏线粒体内膜嵴结构和超复合物的组装，导致电子传递链功能下降、腺苷三磷酸生成障碍以及活性氧水平升高[30-32]。线粒体分裂及融合还受到一系列基因的调控，包括促分裂因子*DRP1*、*MIEF1*以及促融合因子*MFN1*等[33-34]。此外，DRP1在Ser616位点磷酸化可促进线粒体分裂[35]，是判断线粒体分裂及融合的重要标志。本文资料进一步检测了DOT1L活性抑制后线粒体稳态的变化，结果显示，抑制DOT1L可影响线粒体相关信号通路，导致线粒体趋向融合，表现为促分裂因子(如*MIEF1*)表达水平下降、促融合因子*MFN1*表达水平升高，以及磷酸化DRP1(Ser616)水平明显降低和线粒体分支长度显著增加。上述结果提示DOT1L参与维持线粒体分裂及融合稳态。

多种信号通路、激酶及转录调控因子参与线粒体代谢过程，如PI3K/Akt、mTOR、AMPK、p38 MAPK、沉默信息调节因子等[36-37]。大量研究表明，p38 MAPK介导的线粒体稳态变化是年龄相关神经退行性疾病损伤的重要机制之一[38-40]。本文资料显示，抑制DOT1L后p38 MAPK磷酸化水平显著降低。绞股蓝是亚洲国家传统的药食同源植物，其主要成分绞股蓝皂苷具有抗炎、抗氧化等作用[41-42]，已有研究证实绞股蓝皂苷可提高p38 MAPK磷酸化水平[43]。基于此，本文资料选

用绞股蓝提取物作为p38激动剂。结果发现，给予绞股蓝提取物后，p38 MAPK活性部分恢复，线粒体分裂及融合相关基因异常表达及线粒体分支长度异常增加均逆转。而且，经绞股蓝提取物干预同样逆转了DOT1L抑制剂EPZ5676所致的APP表达上升。已有研究表明，绞股蓝皂苷可改善AD模型动物的认知功能，减少τ蛋白过表达并调控APP代谢[44]。本文资料中绞股蓝提取物调控线粒体动力学稳态轴及APP表达的作用，为其干预AD的作用机制提供了新的实验依据。

本文资料存在一定的局限性。首先，DOT1L是否直接影响Aβ分泌尚不明确，但BACE1和PS1表达水平的变化间接提示DOT1L可能调控Aβ生成。其次，本文资料主要基于N2a-APPswe细胞模型，其生理相关性仍需在更复杂体内模型中进行验证，如可通过脑立体定位注射技术向APP/PS1小鼠海马区给予DOT1L抑制剂EPZ5676，观察其对神经元细胞形态、突触可塑性以及学习记忆能力的影响，以明确DOT1L在AD发病中的作用。

综上所述，本文资料不仅揭示了DOT1L在APP表达调控中的潜在作用，还初步阐明了其可能通过p38 MAPK/线粒体动力学稳态轴参与AD病理过程。这些发现为理解表观遗传调控在神经退行性疾病中的作用提供了新的实验依据，并为靶向DOT1L的AD早期诊断和治疗提供了潜在靶点。

本文附加文件见电子版。

志谢 本研究得到浙江省自然科学基金（LTGD24H090003）、浙江省大学生创新训练项目（S202513021060）和浙大城市学院大学生创新训练项目（X202401137）支持。浙大城市学院医学院赵婷婷博士馈赠绞股蓝提取物并指导信号通路筛选

Acknowledgements This study was supported by Zhejiang Provincial Natural Science Foundation of China (LTGD24H090003), Zhejiang Province University Students' Innovation and Entrepreneurship Training Program (S202513021060), and Hangzhou City University Students' Innovation and Entrepreneurship Training Program (X202401137). Dr. ZHAO Tingting from the School of Medicine of Hangzhou City University supplied *Gynostemma pentaphyllum* extract and guided the signaling pathway screening

作者贡献 张玉珉、朱飞宇、吴啸天、李占松、黄鹏、高延盼和曾玲晖参与论文选题和设计或参与资料获取、分析或解释，起草研究论文或修改重要智力性内容。所有作者均已阅读并认可最终稿件，并对数据的完整性和安全性负责。具体见电子版

Author Contributions ZHANG Yumin, ZHU Feiyu, WU Xiaotian, LI Zhansong, HUANG Peng, GAO Yanpan and ZENG Linghui participated in brewing and designing experiments, or acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; drafting the work, or revising it critically for important intellectual content. All authors have read and approved the final manuscript, and take responsibility for the integrity and security of the data. See the electronic version for details

数据可用性 本研究的相关数据可根据合理请求从通信作者（E-mail：gaoyp@hzcu.edu.cn）处获得

Data Availability All relevant data supporting the findings of this study can be accessed upon reasonable request from the corresponding author at gaoyp@hzcu.edu.cn

医学伦理 本研究遵循国家和浙大城市学院有关实验动物管理和使用的规定，通过浙大城市学院实验动物福利伦理审查委员会审查（24046）

Ethical Approval All applicable national guidelines and Hangzhou City University regulations for the care and use of animals were followed, and the research protocol of animal experiments was approved by the Laboratory Animal Welfare Ethics Review Committee of Hangzhou City University (24046)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2026. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

参考文献（References）

[1] BONDI M W, EDMONDS E C, SALMON D P. Alzheimer's disease: past, present, and future[J]. **J Int Neuropsychol Soc**, 2017, 23(9-10): 818-831.

[2] BREIJYEH Z, KARAMAN R. Comprehensive review on Alzheimer's disease: causes and treatment[J]. **Molecules**, 2020, 25(24): 5789.

[3] SCHELTENS P, DE STROOPER B, KIVIPELTO M, et al. Alzheimer's disease[J]. **Lancet**, 2021, 397(10284): 1577-1590.

[4] LONG J M, HOLTZMAN D M. Alzheimer disease: an update on pathobiology and treatment strategies[J]. **Cell**,

2019, 179(2): 312-339.

[5] WANG X, SU B, LEE H G, et al. Impaired balance of mitochondrial fission and fusion in Alzheimer's disease [J]. **J Neurosci**, 2009, 29(28): 9090-9103.

[6] LIU X, LI T, TU X, et al. Mitochondrial fission and fusion in neurodegenerative diseases: Ca^{2+} signalling [J]. **Mol Cell Neurosci**, 2025, 132: 103992.

[7] SHEN Y, JIANG W L, LI X, et al. Mitochondrial dynamics in neurological diseases: a narrative review[J]. **Ann Transl Med**, 2023, 11(6): 264.

[8] MISRANI A, TABASSUM S, YANG L. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Alzheimer's disease [J]. **Front Aging Neurosci**, 2021, 13: 617588.

[9] HIRAI K, ALIEV G, NUNOMURA A, et al. Mitochondrial abnormalities in Alzheimer's disease[J]. **J Neurosci**, 2001, 21(9): 3017-3023.

[10] JOHRI A, BEAL M F. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases[J]. **J Pharmacol Exp Ther**, 2012, 342(3): 619-630.

[11] LEUNER K, SCHÜTT T, KURZ C, et al. Mitochondrion-derived reactive oxygen species lead to enhanced amyloid beta formation[J]. **Antioxid Redox Signal**, 2012, 16(12): 1421-1433.

[12] DEMERS-LAMARCHE J, GUILLEBAUD G, TLILI M, et al. Loss of mitochondrial function impairs lysosomes [J]. **J Biol Chem**, 2016, 291(19): 10263-10276.

[13] YU T, ROBOTHAM J L, YOON Y. Increased production of reactive oxygen species in hyperglycemic conditions requires dynamic change of mitochondrial morphology[J]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2006, 103(8): 2653-2658.

[14] PARK M W, CHA H W, KIM J, et al. NOX4 promotes ferroptosis of astrocytes by oxidative stress-induced lipid peroxidation via the impairment of mitochondrial metabolism in Alzheimer's diseases[J]. **Redox Biol**, 2021, 41: 101947.

[15] GWON A R, PARK J S, ARUMUGAM T V, et al. Oxidative lipid modification of nicastrin enhances amyloidogenic γ-secretase activity in Alzheimer's disease[J]. **Aging Cell**, 2012, 11(4): 559-568.

[16] GUI C, REN Y, CHEN J, et al. p38 MAPK-DRP1 signaling is involved in mitochondrial dysfunction and cell death in mutant A53T α-synuclein model of Parkinson's disease[J]. **Toxicol Appl Pharmacol**, 2020, 388: 114874.

[17] HENSLEY K, FLOYD R A, ZHENG N Y, et al. p38 kinase is activated in the Alzheimer's disease brain [J]. **J Neurochem**, 1999, 72(5): 2053-2058.

[18] SHENG J G, JONES R A, ZHOU X Q, et al. Interleukin-1 promotion of MAPK-p38 overexpression in experimental animals and in Alzheimer's disease: potential significance for tau protein phosphorylation[J]. **Neurochem Int**, 2001, 39(5-6): 341-348.

[19] BACHSTETTER A D, XING B, DE ALMEIDA L, et al. Microglial p38α MAPK is a key regulator of proinflammatory cytokine up-regulation induced by toll-like receptor (TLR) ligands or beta-amyloid (Aβ)[J]. **J Neuroinflammation**, 2011, 8: 79.

[20] LIN H, DIXON S G, HU W, et al. p38 MAPK is a major regulator of amyloid beta-induced IL-6 expression in human microglia[J]. **Mol Neurobiol**, 2022, 59(9): 5284-5298.

[21] VAN HEESBEEN H J, VON OERTHEL L, DE VRIES P M, et al. Neuronal Dot1l activity acts as a mitochondrial gene-repressor associated with human brain aging *via* H3K79 hypermethylation[J]. **Int J Mol Sci**, 2023, 24(2): 1387.

[22] HOU Y, LIU J, HUANG S, et al. DOT1L epigenetically regulates autophagy and mitochondria fusion in cell lines of renal cancer[J]. **Technol Cancer Res Treat**, 2023, 22: 15330338231167249.

[23] KARNEWAR S, NEELI P K, PANUGANTI D, et al. Metformin regulates mitochondrial biogenesis and senescence through AMPK mediated H3K79 methylation: relevance in age-associated vascular dysfunction[J]. **Biochim Biophys Acta BBA Mol Basis Dis**, 2018, 1864(4): 1115-1128.

[24] CHEN J, WANG T, ZHANG D, et al. KDM5D histone demethylase mediates p38α inactivation via its enzymatic activity to inhibit cancer progression[J/OL]. **Natl Acad Sci U S A**, 2024, 121(50): e2402022121.

[25] VASILAKI E, BAI Y, ALI M M, et al. ΔNp63 bookmarks and creates an accessible epigenetic environment for TGFβ-induced cancer cell stemness and invasiveness [J]. **Cell Commun Signal**, 2024, 22(1): 411.

[26] ZHU S, ZHOU J Q, WANG K, et al. P38 MAPK is involved in epigenetic regulation of fibrotic genes in replication induced senescence in lung fibroblasts[J]. **Aging (Albany NY)**, 2026, 18(1): 67-81.

[27] FUKUMOTO H, TOMITA T, MATSUNAGA H, et al. Primary cultures of neuronal and non-neuronal rat brain cells secrete similar proportions of amyloid beta peptides ending at A beta40 and A beta42[J]. **Neuroreport**, 1999, 10(14): 2965-2969.

[28] BASAVARAJAPPA B S, SUBBANNA S. Histone methylation regulation in neurodegenerative disorders[J]. **Int J Mol Sci**, 2021, 22(9): 4654.

[29] CHEN Z, WU M, LAI Q, et al. Epigenetic regulation of synaptic disorder in Alzheimer's disease[J]. **Front Neurosci**, 2022, 16: 888014.

[30] CHEN H, VERMULST M, WANG Y E, et al. Mitochondrial fusion is required for mtDNA stability in skeletal muscle and tolerance of mtDNA mutations[J]. **Cell**, 2010, 141(2): 280-289.

[31] DETMER S A, CHAN D C. Functions and dysfunctions of mitochondrial dynamics[J]. **Nat Rev Mol Cell Biol**, 2007, 8(11): 870-879.

[32] BUCK M D, O'SULLIVAN D, KLEIN GELTINK R I, et al. Mitochondrial dynamics controls T cell fate through metabolic programming[J]. **Cell**, 2016, 166(1):

63-76.
[33] ADEBAYO M, SINGH S, SINGH A P, et al. Mitochondrial fusion and fission: the fine-tune balance for cellular homeostasis[J/OL]. **FASEB J**, 2021, 35(6): e21620.
[34] WANG Q, WU S, ZHU H, et al. Deletion of *PRKAA* triggers mitochondrial fission by inhibiting the autophagy-dependent degradation of DNM1L[J]. **Autophagy**, 2017, 13(2): 404-422.
[35] TAGUCHI N, ISHIHARA N, JOFUKU A, et al. Mitotic phosphorylation of dynamin-related GTPase Drp1 participates in mitochondrial fission[J]. **J Biol Chem**, 2007, 282(15): 11521-11529.
[36] CHU Q, LIU F, HE Y, et al. mTORC2/RICTOR exerts differential levels of metabolic control in human embryonic, mesenchymal and neural stem cells[J]. **Protein Cell**, 2022, 13(9): 676-682.
[37] ZHU J, WANG K Z, CHU C T. After the banquet: mitochondrial biogenesis, mitophagy, and cell survival[J]. **Autophagy**, 2013, 9(11): 1663-1676.
[38] CHEN J, REN Y, GUI C, et al. Phosphorylation of Parkin at serine 131 by p38 MAPK promotes mitochondrial dysfunction and neuronal death in mutant A53T α-synuclein model of Parkinson's disease[J]. **Cell Death Dis**, 2018, 9(6): 700.
[39] ZHAO J, CHEN Y, ZHI L, et al. Loss of PINK1 causes age-dependent mitochondrial trafficking deficits in nigrostriatal dopaminergic neurons via aberrant p38 MAPK activation[J]. **NPJ Parkinsons Dis**, 2026. DOI: 10.1038/s41531-026-01443-3.
[40] HE J, ZHONG W, ZHANG M, et al. P38 mitogen-activated protein kinase and Parkinson's disease[J]. **Transl Neurosci**, 2018, 9(1): 147-153.
[41] ZHANG G, ZHAO Z, GAO L, et al. Gypenoside attenuates white matter lesions induced by chronic cerebral hypoperfusion in rats[J]. **Pharmacol Biochem Behav**, 2011, 99(1): 42-51.
[42] QIN R, ZHANG J, LI C, et al. Protective effects of gypenosides against fatty liver disease induced by high fat and cholesterol diet and alcohol in rats[J]. **Arch Pharmacal Res**, 2012, 35(7): 1241-1250.
[43] KIM Y H, JUNG J I, JEON Y E, et al. *Gynostemma pentaphyllum* extract and Gypenoside L enhance skeletal muscle differentiation and mitochondrial metabolism by activating the PGC-1α pathway in C2C12 myotubes[J]. **Nutr Res Pract**, 2022, 16(1): 14-32.
[44] MENG X, ZHANG Y, LI Z, et al. Increasing brain glucose uptake by Gypenoside LXXV ameliorates cognitive deficits in a mouse model of diabetic Alzheimer's disease[J]. **Phytother Res**, 2023, 37(2): 611-626.

［本文编辑　余　方　沈　洁］

· 学术动态 ·

CD22靶向免疫疗法为CD19靶向治疗进展后的B细胞急性淋巴细胞白血病患者提供新选择

2026年4月10日，浙江大学医学院附属第一医院骨髓移植中心魏国庆/胡永仙/黄河教授团队与河北燕达陆道培医院张弦教授合作在《npj精准肿瘤学》（*npj Precision Oncology*）发表在线论文“CD22-targeted immunotherapy for B-cell acute lymphoblastic leukemia progressing following CD19-targeted immunotherapy”（DOI：10.1038/s41698-026-01413-1）。文章系统评估了CD19靶向治疗后进展的复发/难治性B细胞急性淋巴细胞白血病（r/r B-ALL）患者的临床特征及CD22靶向免疫治疗后疗效及安全性，为此类患者的后续治疗策略提供了重要依据。

论文回顾性分析了浙江大学医学院附属第一医院和河北燕达陆道培医院收治的43例既往接受过CD19靶向治疗的r/r B-ALL患者。这些患者27.9%曾接受贝林妥欧单抗（Blinatumomab）治疗，58.1%接受过CD19 CAR-T细胞治疗，14%接受过以上两种治疗。在CD19靶向治疗后，34.9%的患者出现CD19阴性复发，其余患者仍维持CD19表达。后续挽救治疗包括CD22 CAR-T细胞（55.8%）和奥加伊妥珠单抗（Inotuzumab Ozogamicin，InO）（44.2%）。总体完全缓解（CR）率为51.1%，其中30.2%的患者达到了微量残留病（MRD）阴性。在达到CR的22例患者中，有13例（59.1%）经历了再次复发。中位无复发生存期（RFS）为236天（95%置信区间：132-未达到），中位总生存期尚未达到。多变量分析显示，CD22 CAR-T细胞与InO治疗的缓解率和生存期相似。此外，伴有髓外病变的患者缓解率较低，而既往对CD19靶向治疗耐药的患者其RFS更短。

浙江大学医学院附属第一医院宋凤美博士研究生和张明明副主任医师、河北燕达陆道培医院杨君芳教授为论文第一作者。研究得到国家自然科学基金资助。