doi:10.11659/jjssx.10E021064

·基础研究·

贝沙罗汀对氧糖剥夺/再灌注诱导 HT22 损伤的神经保护作用及机制研究

张雪林[1],王 松[1],田晓翠[2],董 志[2],刘海林[1] (1.重庆两江新区第一人民医院药剂科,重庆 401121;2.重庆医科大学药学院生物化学与分子药理学重点实验室,重庆 400016)

[摘 要] **目的** 探究贝沙罗汀对氧糖剥夺/再灌注(OGD/R)诱导的海马神经元细胞系 HT22 损伤的保护作用及其机制。**方法** 在体外培养 HT22,并将细胞随机分为对照组(Control 组)、模型组(OGD/R 组)、药物干预组(OGD/R + Bex 组)、JNK 特异性抑制剂(SP)组(OGD/R + SP 组)及药物干预合并 SP 组(OGD/R + Bex + SP 组),使用不同浓度贝沙罗汀(0.1 ~ 9 μmol·L^{-1})或 SP 干预细胞,MTT 检测 HT22 的生存率,流式细胞仪检测细胞凋亡水平,显微镜下观察各组细胞形态,Western blot 检测各组细胞 JNK 信号通路相关蛋白的表达。**结果** 在体外模拟的 HT22 损伤的 OGD/R 模型中,与 OGD/R 组相比,9 μmol·L^{-1}贝沙罗汀能显著提高 OGD/R 状态下 HT22 生存率($P<0.05$),减少 HT22 凋亡($P<0.05$)。与 OGD/R 组相比,9 μmol·L^{-1}贝沙罗汀能显著降低凋亡相关蛋白 P-JNK、P-C-Jun、Bax、Cleaved-Caspase-3 表达水平($P<0.05$),减轻 HT22 损伤。**结论** 贝沙罗汀在体外对 OGD/R 引起的 HT22 损伤具有保护作用,其作用机制可能与抑制 JNK/Caspase-3 信号通路的激活有关。

[关键词] 贝沙罗汀;氧糖剥夺/再灌注;HT22;细胞凋亡;JNK/Caspase-3

[中图分类号] R917 [文献标识码] A [收稿日期] 2021-10-14

Neuroprotective effect and mechanism of bexarotene on oxygen glucose deprivation/reperfusion-induced HT22 injury

ZHANG Xue-lin[1], WANG Song[1], TIAN Xiao-cui[2], DONG Zhi[2], LIU Hai-lin[1] (1. Department of Pharmacy, First People's Hospital of Liangjiang New District of Chongqing, Chongqing 401121, China; 2. Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Pharmacology, School of Pharmacy, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To investigate the protective effect and mechanism of bexarotene on oxygen glucose deprivation/reperfusion (OGD/R)-induced hippocampal neuronal cell line HT22 injury. **Methods** HT22 were cultured in vitro and randomly divided into the Control group, the model group (the OGD/R group), the drug intervention group (the OGD/R + Bex group), the JNK specific inhibitor (SP) group (the OGD/R + SP group) and the drug intervention combined with SP group (the OGD/R + Bex + SP group). The cells were intervened with different concentrations of bexarotene (0.1 to 9 μmol·L^{-1}) or SP. MTT was used to detect the survival rate of cells. Flow cytometry was used to detect the level of cell apoptosis. The morphology of cells in each group was observed under a microscope, and the expression of JNK signaling pathway-related proteins in each group was detected by Western blot. **Results** In the OGD/R model of HT22 injury simulated in vitro, compared with the OGD/R group, 9 μmol·L^{-1} of bexarotene could significantly improve the survival rate of HT22 in the OGD/R

[基金项目] 重庆市科技局创新与应用发展专项(CSTC2019jscx-msxmX0096)

[通信作者] 刘海林,E-mail:719204899@qq.com

[10] Wang W, Wang C, Xu H, et al. Aldehyde dehydrogenase, liver disease and cancer[J]. Int J Biol Sci, 2020, 16(6): 921 - 934. doi: 10.7150/ijbs.42300.

[11] Shin H, Cha HJ, Lee MJ, et al. Identification of ALDH6A1 as a potential molecular signature in hepatocellular carcinoma via quantitative profiling of the mitochondrial proteome[J]. J Proteome Res, 2020, 19(4): 1684 - 1695. doi: 10.1021/acs.jproteome.9b00846.

[12] Lu J, Chen Z, Zhao H, et al. ABAT and ALDH6A1, regulated by transcription factor HNF4A, suppress tumorigenic capability in clear cell renal cell carcinoma[J]. J Transl Med, 2020, 18(1): 101. doi: 10.1186/s12967 - 020 - 02268 - 1.

[13] Puisieux A, Pommier RM, Morel AP, et al. Cellular Pliancy and the Multistep Process of Tumorigenesis[J]. Cancer Cell, 2018, 33(2): 164 - 172. doi: 10.1016/j.ccell.2018.01.007.

[14] Singh S, Brocker C, Koppaka V, et al. Aldehyde dehydrogenases in cellular responses to oxidative/electrophilic stress[J]. Free Radic Biol Med, 2013, 56: 89 - 101. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.11.010.

[15] Hou DW, Dong HG, Wang Q. AURKA contributes to the progression of oral squamous cell carcinoma (OSCC) through modulating epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) and apoptosis via the regulation of ROS[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 507(4): 83 - 90. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.10.170.

[16] Chen Q, Song S, Wang Z, et al. Isorhamnetin induces the paraptotic cell death through ROS and the ERK/MAPK pathway in OSCC cells[J]. Oral Diseases, 2021, 27(2): 240 - 250. doi: 10.1111/odi.13548.

(编辑:贺绍梅)

state ($P<0.05$), and reduce the apoptosis of HT22 ($P<0.05$). Compared with the OGD/R group, 9 μmol·L^{-1} of bexarotene could significantly reduce the expression levels of apoptosis-related proteins P-JNK, P-C-Jun, Bax, and Cleaved-Caspase-3 ($P<0.05$), and alleviate HT22 injury. **Conclusion** Bexarotene has a protective effect on the OGD/R-induced HT22 injury in vitro, and its mechanism may be related to the inhibition of the activation of the JNK/Caspase-3 signaling pathway.

Keywords: bexarotene; oxygen glucose deprivation/reperfusion; HT22; apoptosis; JNK/Caspase-3

脑卒中是导致人类残疾和死亡的主要原因之一，急性缺血性脑卒中(acute ischemic stroke, AIS)约占脑卒中的80%[1]。AIS是一种常见且严重的神经损伤性疾病，一旦发生缺血、缺氧可导致神经元损伤，血流再灌注后，可进一步加剧损伤，严重影响患者的生活质量及寿命[2]。尽管国内外学者们针对AIS进行了大量的基础、临床研究，但是目前仍无能够显著改善该疾病不良预后的神经保护药物。因此，寻找新的、安全有效的治疗该疾病的药物非常有必要。

细胞凋亡作为细胞程序性死亡的一种，与氧糖剥夺/再灌注(oxygen glucose deprivation/reperfusion, OGD/R)损伤密切相关。有研究表明，OGD/R后兴奋性氨基酸释放、内质网应激、炎症、钙超载等均可通过激活线粒体途径、死亡受体途径及内质网途径促进下游细胞凋亡的关键执行蛋白Caspase-3表达，进而导致神经元的凋亡[3]。C-Jun N末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)是丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated proteinkinase, MAPK)家族中的重要成员之一，其较广泛地参与神经系统性疾病的发生、发展，在神经元的凋亡、坏死、炎症等相关信号通路中有着非常重要的作用[4]。有研究表明，在全脑缺血再灌注损伤模型中，磷酸化JNK的表达和细胞凋亡的水平明显增加，而使用JNK的特异性抑制剂能明显降低病灶部位细胞凋亡水平[5-6]。这些研究提示，JNK相关信号通路激活可能与OGD/R诱发的凋亡密切相关。被激活的JNK可磷酸化C-Jun等多种底物[7]，通过调节促凋亡因子BCL及凋亡执行关键蛋白半胱氨酸蛋白酶Caspase-3的表达，最终导致神经元凋亡。

贝沙罗汀是一种被美国FDA批准用于治疗皮肤淋巴瘤的新型化学药物，具有分子量较小、脂溶性较高、易透过血脑屏障等优点。贝沙罗汀可能在中枢神经系统疾病中发挥重要作用。研究显示，贝沙罗汀有利于阿尔兹海默病模型小鼠神经功能障碍的恢复[8]，可促进创伤性脑损伤模型小鼠神经功能恢复[9]。但目前关于贝沙罗汀对OGD/R体外模型神经元保护作用的研究较为缺乏。本研究使用小鼠海马神经元细胞系HT22构建OGD/R模型，观察贝沙罗汀对HT22的保护作用，同时观察贝沙罗汀对凋亡关键蛋白P-JNK、P-C-Jun、Bax、BCL-2及Cleaved-Caspase-3的影响，以探索贝沙罗汀对OGD/R损伤保护作用的新靶点、新机制，为寻找新的、安全有效的治疗AIS的药物提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

HT22由重庆医科大学药学院生物化学与分子药理学重点实验室提供。DMEM高糖培养基、DMEM无糖培养基、opti-MEM Ⅰ培养基及胰酶均购自美国Gibco公司，Triton X-100购自北京索莱宝科技有限公司，β-actin兔多克隆抗体购自武汉三鹰生物技术公司。JNK、P-JNK、P-C-Jun、Cleaved-Caspase-3兔来源单克隆抗体均购自美国CST公司，BCA蛋白定量试剂盒、JNK特异性抑制剂(SP600125)购自北京碧云天科技公司。光学显微镜购自日本Olympus公司，恒温电热水浴锅购自上海医疗器械七厂，超净工作台SW-CJ-ID型购自苏州净化公司，倒置显微镜DMI3000B型购自德国Leica公司，多功能成像系统购自法国Vilber公司。

1.2 细胞培养

将HT22培养于37 ℃、5% CO_2、75% N_2、含1%双抗和10%胎牛血清的培养基中。取对数生长期的HT22，使用0.25%胰酶消化，按照5×10^3个/孔的密度接种于96孔板，用于后续研究。

1.3 OGD/R模型的建立及分组

取对数生长期的HT22，待贴壁生长后继续培养24 h，弃原培养液，使用PBS洗涤细胞3次后更换为DMEM无糖培养基培养，将细胞置于预先设置好的厌氧培养箱中继续培养，待氧浓度降至1%开始计时，2 h后将DMEM无糖培养基更换为完全培养基，并重新置于常氧恒温培养箱中复氧再灌注24 h。将细胞随机分成对照组(Control组)、模型组(OGD/R组)、药物干预组(OGD/R + Bex组)、SP组(OGD/R + SP组)及药物干预合并SP组(OGD/R + Bex + SP组)。对照组不做任何处理，药物干预组在OGD/R前后给与9 μmol·L^{-1}的贝沙罗汀干预，SP组在OGD/R前后给与SP600125(25 μmol·L^{-1})干预，药物干预合并SP组在OGD/R前后同时给与贝沙罗汀及SP600125干预。

1.4 HT22 活性测定

将对数生长期的 HT22 以 5×10^4 个/孔的密度接种于 96 孔板。根据实验设计,加或不加不同浓度(0.1~81 μmol·L^{-1})的贝沙罗汀干预,每孔加入预先配制好的 MTT(5 mg·mL^{-1})溶液 20 μL,在正常或 OGD/R 环境中处理,倒掉含 MTT 溶液的培养基,加入 100 μL DMSO 溶液,水平摇床放置 10 min,充分溶解已形成的结晶。用酶标仪在 570 nm 波长处测定吸光度值,计算细胞生存率。

1.5 流式细胞仪检测细胞凋亡水平

OGD/R 后,用 0.25% 胰酶消化细胞,以 1 000 r/min 室温离心 5 min,弃去上清,收集离心管底部的细胞沉淀。加入 PBS,轻轻吹打使其均匀分散,以 1 000 r/min 室温离心 5 min,重复上述步骤 2 次,将细胞清洗干净。弃去离心后的上清液,再次加入适量 PBS 吹散细胞进行重悬,转移至新的 EP 管送流式细胞仪中检测,定量分析细胞凋亡水平。

1.6 HT22 形态学观察

取出铺于 6 孔板中的各组细胞,弃去培养基,PBS 洗涤 3 次,于光学显微镜下观察各组细胞形态。

1.7 Western blot 测定相关蛋白表达水平

取出铺于 6 孔板中的各组细胞,弃去培养基,用预冷的 PBS 清洗,使用含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解缓冲液进行裂解(每孔 200 μL),置于冰面 20 min,小心收集于 2 mL 离心管中并置于冷冻离心机中,12 000 r/min 4 ℃离心 15 min,将上清液小心移至新的 EP 管中,提取总蛋白,总蛋白浓度采用 BCA 法测定。每孔上样 30 μg后接通电源,浓缩胶恒压 90 V、30 min,分离胶恒压 120 V 电泳,当溴酚蓝染料接近分离胶底部时终止电泳。按照目标蛋白分子量切胶,将转膜夹黑面置平,在上面依次垫海绵垫、滤纸、胶、甲醇活化的 PVDF 膜、滤纸、海绵垫,夹紧后放入含有转膜液的转膜槽中,接通电源,冰浴下恒流 210 mA 转膜 40 min,5% 胎牛血清室温封闭 2 h,弃去封闭液,用 TBST 洗涤 5 min,重复 3 次,加入稀释好的一抗:P-JNK(1∶1 000)、P-C-Jun(1∶1 000)、BCL-2(1∶1 000)、Bax(1∶1 000)、Cleaved-Caspase-3(1∶1 000)、β-actin(1∶3 000),置于 4 ℃冰箱中孵育过夜。回收一抗,TBST 洗涤 3 次,每次5 min,加入抗兔二抗室温孵育 1 h,TBST 洗涤 3 次,每次 5 min。滤纸吸去 PVDF 膜上的 TBST,滴加适量的 ECL 工作液,置于 Bio-Rad 成像分析仪内曝光显影,用 Image Lab 软件分析条带灰度值。

1.8 统计学处理

所有数据以均数 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析,各组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 贝沙罗汀对 HT22 生存率的影响

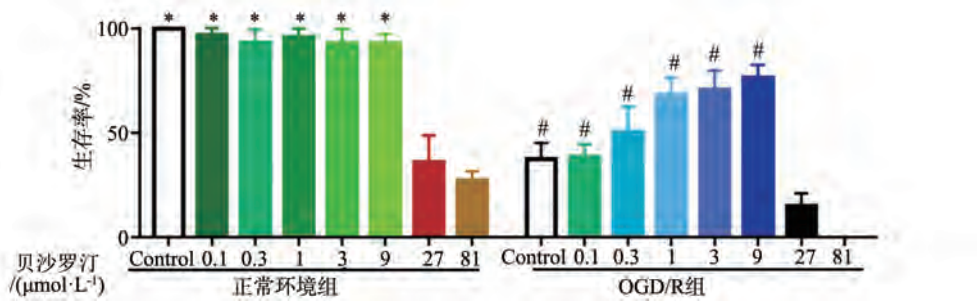
在正常环境中,不同浓度(0.1~9 μmol·L^{-1})的贝沙罗汀对 HT22 的生长不会产生抑制作用;当浓度为 27~81 μmol·L^{-1} 时,HT22 的生存率显著降低($P<0.05$)。在 OGD/R 环境下,HT22 的生存率较正常环境低:给与不同浓度(0.1~9 μmol·L^{-1})的贝沙罗汀干预后,HT22 的生存率呈浓度依赖性上升趋势;当贝沙罗汀浓度为 27~81 μmol·L^{-1} 时,细胞生存率显著降低($P<0.05$),见图 1。因此,本研究选择 9 μmol·L^{-1} 贝沙罗汀用于后续实验研究。

2.2 OGD/R 损伤促进 HT22 凋亡

Control 组的 HT22 凋亡较少;与 Control 组相比,OGD/R 组的 HT22 凋亡率显著升高,差异具有统计学意义($P<0.05$);与 OGD/R 组相比,OGD/R + Bex 组、OGD/R + Bex + SP 组、OGD/R + SP 组的细胞凋亡率降低,差异均具有统计学意义($P<0.05$),见图 2。

2.3 贝沙罗汀对 OGD/R 后 HT22 形态的影响

Control 组 HT22 贴壁牢固,胞体完整,细胞紧密连接成网络;而 HT22 经 OGD/R 处理后,可见细胞数量明显减少,胞体皱缩,细胞之间连接稀疏。贝沙罗汀干预后,OGD/R 导致的 HT22 损伤明显改善(图 3)。

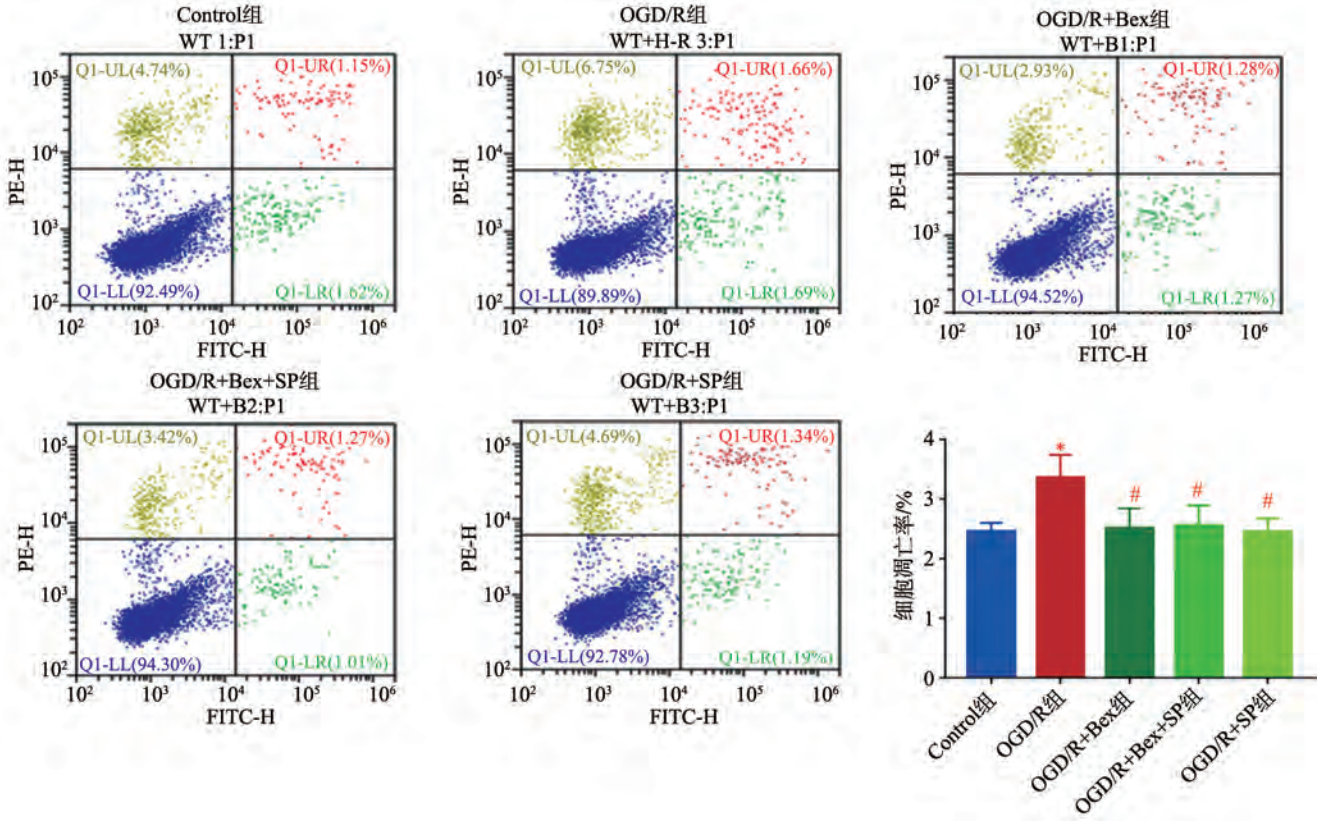


*:与正常环境组 27 μmol·L^{-1} 相比,$P<0.05$;#:与 OGD/R 环境组 27 μmol·L^{-1} 相比,$P<0.05$

图 1 贝沙罗汀对 HT22 生存率的影响

2.4 贝沙罗汀对 OGD/R 后 HT22 中 P-JNK、P-C-Jun 蛋白表达的影响

与 Control 组相比,OGD/R 组 P-JNK、P-C-Jun 蛋白表达水平明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 OGD/R 组相比,OGD/R + Bex 组、OGD/R + Bex + SP 组、OGD/R + SP 组 P-JNK、P-C-Jun 蛋白表达水平显著下降,差异均具有统计学意义($P<0.05$),见图 4。



*:与 Control 组相比,$P<0.05$;#:与 OGD/R 组相比,$P<0.05$

图 2 贝沙罗汀对 HT22 凋亡的影响

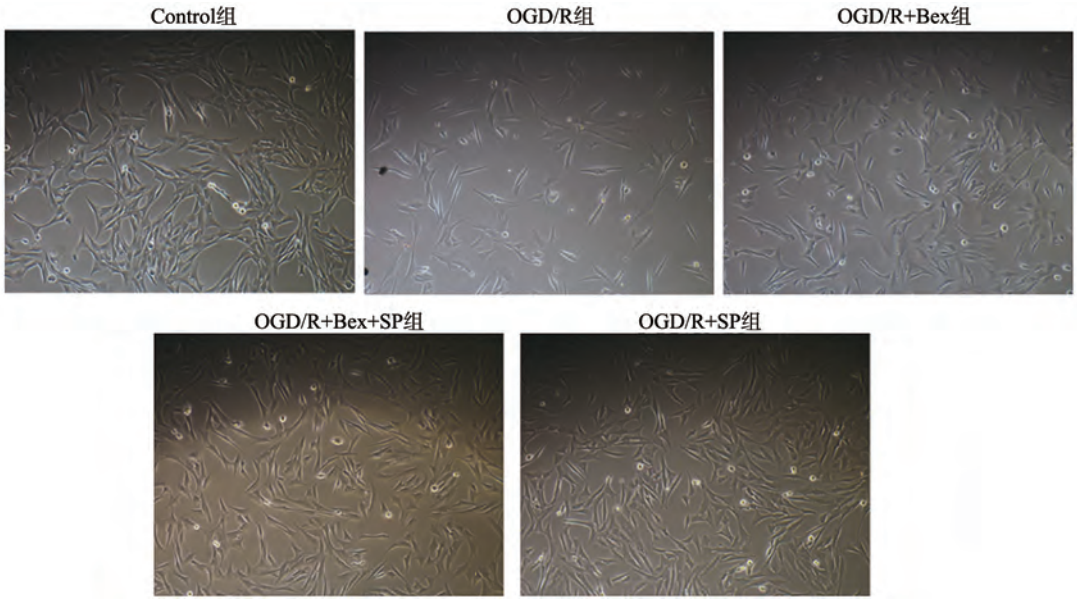
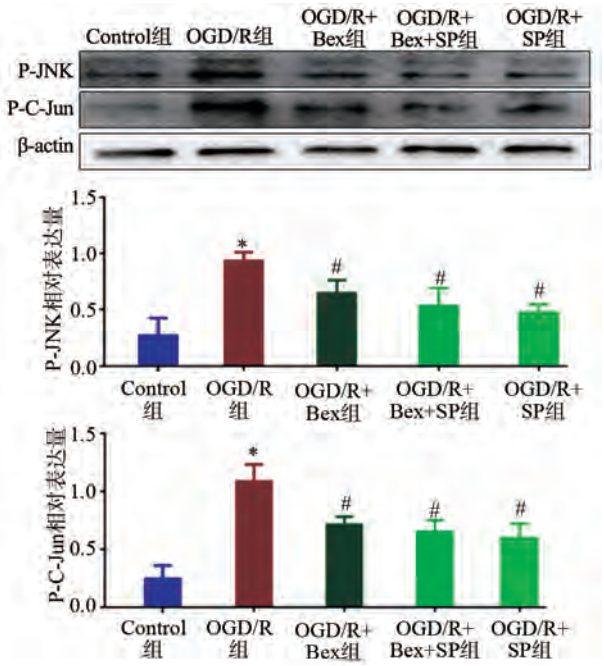


图 3 贝沙罗汀对 OGD/R 后 HT22 形态的影响(×200)



*:与 Control 组相比,$P<0.05$;#:与 OGD/R 组相比,$P<0.05$

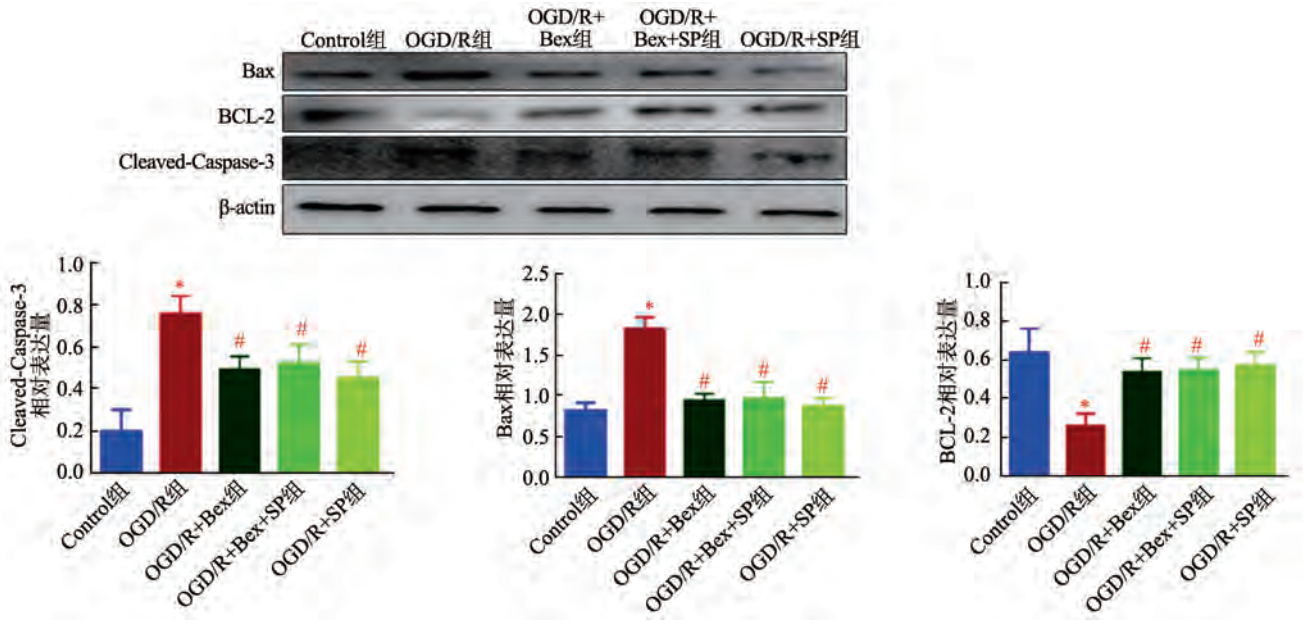
图 4 Western blot 检测 HT22 中 P-JNK、P-C-Jun 蛋白表达

2.5 贝沙罗汀对 OGD/R 后 HT22 中 Bax、BCL-2 及 Cleaved-Caspase-3 蛋白表达的影响

与 Control 组相比,OGD/R 组促凋亡蛋白 Bax 及凋亡关键执行蛋白 Cleaved-Caspase-3 表达水平明显升高($P<0.05$),抑制凋亡蛋白 BCL-2 表达水平显著降低($P<0.05$)。与 OGD/R 组相比,OGD/R + Bex 组、OGD/R + Bex + SP 组、OGD/R + SP 组 Bax 及 Cleaved-Caspase-3 表达水平明显降低($P<0.05$),BCL-2 表达水平显著升高($P<0.05$),见图 5。

3 讨论

AIS 是一种发病率高、致残率高、病死率高、复发率高以及并发症较多的疾病,目前最有效的治疗方法是治疗窗内给予血管再通治疗[10]。但血液复流后,缺血部会发生再灌注损伤,不仅不能使组织、器官功能恢复,反而会加重组织、器官的功能障碍,该损伤涉及细胞凋亡、炎症、氧化应激等多种病理生理过程,目前临床上尚无确切的药物能有效逆转上述损伤[11-12]。



*:与 Control 组相比,$P<0.05$;#:与 OGD/R 组相比,$P<0.05$

图 5 Western blot 检测 HT22 中 Bax、BCL-2 及 Cleaved-Caspase-3 蛋白表达

贝沙罗汀是一种新型的合成维甲酸类似物,其可以选择性地与维甲酸类 X 受体(RXR)亚单位(RXRa、RXRb、RXRg)结合从而发挥多种生理功能:如诱导一些恶性肿瘤细胞系的程序化死亡;抑制人鳞细胞肿瘤的异种移植等,已被美国 FDA 批准用于治疗皮肤T-细胞淋巴瘤。贝沙罗汀对于 HT22 OGD/R 损伤的保护作用的研究较少,我们前期的研究表明,贝沙罗汀对小鼠脑缺血再灌注损伤神经元具有保护作用,但缺乏体外的机制研究[13]。因此,我们建立了 OGD/R 模型,研究贝沙罗汀对 HT22 的保护作用,并探索贝沙罗汀对 OGD/R 损伤保护作用的新靶点、新机制,为寻找安全有效的治疗 AIS 的药物提供重要理论依据。

细胞凋亡时细胞变圆,与周围细胞分离,细胞质皱缩,包膜内陷使细胞分裂成凋亡小体。为了证实贝沙罗汀可有效减少或逆转 AIS 引起的病灶部位细胞凋亡,本研究建立了 OGD/R 模型,结果表明,OGD/R 组的 HT22 生存率较正常环境组明显降低,说明氧糖剥夺 2 h 再灌注 24 h 形成的 OGD/R 模型是成功的;而

经过贝沙罗汀治疗后,HT22 的生存率均有不同程度的升高,且呈剂量依赖性趋势;在光学显微镜下可见细胞损伤程度也有所降低,表明贝沙罗汀对 OGD/R 引起的 HT22 损伤具有一定的保护作用。因此,深入探讨贝沙罗汀对神经元的损伤机制对于治疗 AIS 等神经系统疾病有重要意义。

JNK 又被称为应激活化蛋白激酶,是 MAPK 信号通路的一个重要分子,在细胞周期、增殖、细胞凋亡和细胞应激等多种生理和病理过程中起重要作用[14-15]。本研究结果表明,在 OGD/R 模型中,使用贝沙罗汀干预可明显抑制 HT22 中 JNK 信号通路激活,减少 HT22 凋亡。BCL-2 家族是重要的凋亡调控因子,AIS 后由于缺血等刺激使 Bax 易位至线粒体并增强线粒体膜通透性,从而释放细胞色素 C 和凋亡诱导因子,引发细胞凋亡,而 BCL-2 则通过稳定线粒体膜电位和阻止细胞色素 C 释放抑制细胞凋亡。抗凋亡蛋白 BCL-2 和促凋亡蛋白 Bax 之间的平衡决定细胞的存活或死亡。本研究结果显示,OGD/R 后 Bax 表达水平显著升高,BCL-2 表达水平下降,说明 OGD/R 后细胞凋亡显著增加;贝沙罗汀治疗后,Bax 表达水平降低,BCL-2 表达水平升高,说明贝沙罗汀可通过增加 BCL-2/Bax 比值,减少 HT22 凋亡。Caspase 家族对凋亡有重要的调控作用,脑出血再灌注后经线粒体通路激活 Caspase-9,经死亡受体通路激活 Caspase-8,Caspase-8 和 Caspase-9 均可诱导 pro-Caspase-3 裂解,产生具有活性的凋亡终末剪切酶 Cleaved-Caspase-3,最终导致细胞凋亡的发生。本研究结果显示,OGD/R 后 Cleaved-Caspase-3 表达水平显著上升,而贝沙罗汀可通过降低该酶表达减少 HT22 凋亡。

本研究在体外观察到贝沙罗汀能显著提升 OGD/R 后 HT22 的生存率,降低 HT22 的凋亡水平,减轻 HT22 的损伤,其机制可能是通过抑制 JNK/Caspase-3 相关信号通路激活,发挥神经保护作用。但本研究为体外研究,具体机制有待进一步研究。

[参考文献]

[1] Phipps MS,Cronin CA. Management of acute ischemic stroke[J]. BMJ,2020,368:l6983. doi:10.1136/bmj.l6983.

[2] Rabinstein AA. Update on treatment of acute ischemic stroke[J]. Continuum (Minneap Minn),2020,26(2):268 - 286. doi:10.1212/CON.0000000000000840.

[3] Fan W,Dai Y,Xu H,et al. Caspase-3 modulates regenerative response after stroke[J]. Stem Cells,2014,32(2):473 - 486. doi:10.1002/stem.1503.

[4] Zeng Z,Zhang Y,Liang X,et al. Qingnao dripping pills mediate immune-inflammatory response and MAPK signaling pathway after acute ischemic stroke in rats[J]. J Pharmacol Sci,2019,139(3):143 - 150. doi:10.1016/j.jphs.2018.12.009.

[5] Zhu J,Zang S,Chen X,et al. Involvement of the delayed rectifier outward potassium channel Kv2.1 in methamphetamine-induced neuronal apoptosis via the p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway[J]. J Appl Toxicol,2018,38(5):696 - 704. doi:10.1002/jat.3576.

[6] Xiao J,Yao R,Xu B,et al. Inhibition of PDE4 attenuates TNF-α-triggered cell death through suppressing NF-κB and JNK activation in HT22 neuronal cells[J]. Cell Mol Neurobiol,2020,40(3):421 - 435. doi:10.1007/s10571 - 019 - 00745 - w.

[7] Guan QH,Pei DS,Zhang QG,et al. The neuroprotective action of SP600125,a new inhibitor of JNK,on transient brain ischemia/reperfusion-induced neuronal death in rat hippocampal CA1 via nuclear and non-nuclear pathways[J]. Brain Res,2005,1035(1):51 - 59. doi:10.1016/j.brainres.2004.11.050.

[8] Muñoz-Cabrera JM,Sandoval-Hernández AG,Niño A,et al. Bexarotene therapy ameliorates behavioral deficits and induces functional and molecular changes in very-old triple transgenic mice model of Alzheimer's disease[J]. PLoS One,2019,14(10):e0223578. doi:10.1371/journal.pone.0223578.

[9] Zhong J,Cheng C,Liu H,et al. Bexarotene protects against traumatic brain injury in mice partially through apolipoprotein E[J]. Neuroscience,2017,343:434 - 448. doi:10.1016/j.neuroscience.2016.05.033.

[10] Powers WJ. Acute ischemic stroke[J]. N Engl J Med,2020,383(3):252 - 260. doi:10.1056/NEJMcp1917030.

[11] 彭 斌. 急性缺血性脑卒中的诊治[J]. 中华神经科杂志,2020,53(2):122 - 126. doi:10.3760/cma.j.issn.1006 - 7876.2020.02.009.

[12] Henderson SJ,Weitz JI,Kim PY. Fibrinolysis:strategies to enhance the treatment of acute ischemic stroke[J]. J Thromb Haemost,2018,16(10):1932 - 1940. doi:10.1111/jth.14215.

[13] 刘海林,李明航,饶江艳,等. 贝沙罗汀对小鼠脑缺血再灌注损伤神经元的保护作用及机制[J]. 局解手术学杂志,2020,29(8):610 - 615. doi:10.11659/jjssx.03E02071.

[14] Choi TG,Lee J,Ha J,et al. Apoptosis signal-regulating kinase 1 is an intracellular inducer of p38 MAPK-mediated myogenic signalling in cardiac myoblasts[J]. Biochim Biophys Acta,2011,1813(8):1412 - 1421. doi:10.1016/j.bbamcr.2011.04.001.

[15] Ozawa H,Shioda S,Dohi K,et al. Delayed neuronal cell death in the rat hippocampus is mediated by the mitogen-activated protein kinase signal transduction pathway[J]. Neurosci Lett,1999,262(1):57 - 60. doi:10.1016/s0304 - 3940(99)00034 - 8.

(编辑:贺绍梅)