

文章编号:1003-2754(2019)06-0541-05

# 罗格列酮保护氧糖剥夺复氧 PC12 细胞 通过减少 HMGB1 释放和上调 DUSP8

王莉<sup>1</sup>, 张美杰<sup>1</sup>, 李文静<sup>2</sup>, 毛森林<sup>3</sup>, 刘美玲<sup>1</sup>, 黄山<sup>3</sup>, 蔡灵钰<sup>4</sup>, 俞春江<sup>3</sup>

**摘要:** **目的** 探讨罗格列酮(rosiglitazone, RGZ)对氧葡萄糖剥夺/复氧处理后大鼠肾上腺髓质嗜铬细胞瘤(PC12)细胞的保护作用及机制。**方法** 建立氧葡萄糖剥夺/复氧细胞模型,给予不同浓度罗格列酮及 PPAR- $\gamma$  特异性抑制剂 GW9662, MTT 法检测细胞存活率; ELISA 法检测高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)浓度; Western blot 法检测双特异性蛋白磷酸酶 8(Dual-specificity Phosphatase, DUSP8)、Bcl-xl、PPAR $\gamma$  以及 RAGE 蛋白表达水平。**结果** OGD10h/R24 h 后, DUSP8、Bcl-xl 及 PPAR $\gamma$  蛋白水平明显降低, RAGE 和 HMGB1 水平明显增高( $P < 0.05$ ); 罗格列酮干预后, DUSP8、Bcl-xl 及 PPAR $\gamma$  蛋白水平明显增加, RAGE 和 HMGB1 水平下降( $P < 0.05$ )。罗格列酮上调 DUSP8、Bcl-xl 及下调 HMGB1、RAGE 的作用可被 GW9662 有效抑制。**结论** 罗格列酮通过上调 PC12 细胞 OGD/R 后的 PPAR $\gamma$  蛋白表达, 继而增加 DUSP8 和 Bcl-xl 抗凋亡蛋白的表达并减少晚期炎症介质 HMGB1 的分泌, 是 PPAR $\gamma$  激动剂保护氧糖剥夺复氧细胞的机制, PPAR $\gamma$  有望成为治疗脑缺血再灌注损伤的靶标。

**关键词:** 过氧化物酶体增殖激活受体  $\gamma$ ; 氧葡萄糖剥夺/复氧; 高迁移率族蛋白 B1; 双特异性蛋白磷酸酶 8

中图分类号: R961.1 文献标识码: A

**Rosiglitazone protect PC12 cells against oxygen-glucose deprivation/reoxygenation through HMGB1 reduction and DUSP8 upregulation** WANG Li, ZHANG Meijie, LI Wenjing, et al. (Geriatric Department of The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the mechanism of rosiglitazone protecting against oxygen glucose deprivation/reoxygenation (OGD/R) induced PC12 cells. **Methods** Establish the hypoxia-ischemia and reperfusion cell model. Different concentrations of rosiglitazone and PPAR- $\gamma$  inhibitor GW9662 were administrated to the OGD/R induced PC12 cells. Cell viability were assessed by MTT assay. HMGB1 level was assessed by ELISA. The protein expression of DUSP8、Bcl-xl、PPAR $\gamma$  and RAGE were examined by western blot. **Results** Western blot showed in OGD10 h/R24 h induced PC12 cell model, the levels of DUSP8、Bcl-xl and PPAR $\gamma$  were decreased, but the levels of RAGE protein were increased significantly. In addition, results from ELISA analysis indicated that after OGD10 h/R24 h, HMGB1 levels increased sharply. While after rosiglitazone treatment, the protein expression of DUSP8、Bcl-xl and PPAR $\gamma$  increased, RAGE and HMGB1 protein levels decreased significantly. In contrast, the upregulation of PPAR $\gamma$ 、Bcl-xl and DUSP8 protein as well as downregulation of RAGE protein and HMGB1 could be remarkably suppressed by specific antagonist GW9662. **Conclusion** This study suggested that rosiglitazone might increase the expression of DUSP8 and Bcl-xl as well as decrease HMGB1 secretion in OGD/R induced PC12 cells through upregulation of PPAR $\gamma$  protein, it might be due to the mechanism of rosiglitazone protection effect on OGD/R induced neuronal cells. Thus, PPAR $\gamma$  should be expected to be the molecular pharmacology targets against cerebral ischemia and reperfusion injury.

**Key words:** Peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ); Oxygen-glucose deprivation/reoxygenation (OGD/R); High mobility protein B1 (HMGB1); Dual specificity protein phosphatase 8 (DUSP8)

研究证实 PPAR $\gamma$  受体激动剂在脑缺血再灌注损伤、帕金森病和肌萎缩侧索硬化等模型中减少神经元凋亡<sup>[1-5]</sup>, 但 PPAR $\gamma$  在缺血性脑损伤的具体机制尚不明确。炎性细胞分泌 HMGB1, 在脑缺血再灌注损伤中具有启动与放大免疫反应的作用, PPAR $\gamma$  受体激动剂可减少 HMGB1 释放<sup>[6]</sup>。近年报道

收稿日期: 2019-04-09; 修订日期: 2019-06-02

基金项目: 黑龙江省教育厅科学技术研究面上项目 (No. 12531304)

作者单位: (1. 哈尔滨医科大学附属二院老年病科, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 哈尔滨医科大学附属二院全科, 黑龙江 哈尔滨 150086; 3. 哈尔滨医科大学附属二院神经内科, 黑龙江 哈尔滨 150086; 4. 解放军联勤保障部队第 903 医院神经内科, 浙江 杭州 310013)

通讯作者: 俞春江, E-mail: yuchunjiang123@126.com

PPAR $\gamma$  抗凋亡可能与双特异性蛋白磷酸酶有关<sup>[7]</sup>。研究表明 MAPK 信号通路参与脑缺血再灌注后细胞凋亡,双特异性蛋白磷酸酶使 MAPK 通路重要成员去磷酸化,发挥抗凋亡作用<sup>[7]</sup>。因此,我们推测 PPAR $\gamma$  受体激动剂可能减少 HMGB1 分泌,并上调双特异性蛋白磷酸酶 8,发挥神经保护作用。本研究采用氧葡萄糖剥夺/复氧 PC12 细胞模型,观察罗格列酮干预后的 PPAR $\gamma$ 、RAGE、HMGB1、DUSP8、Bcl-xl 等指标变化,探讨罗格列酮对缺血再灌注损伤神经细胞的保护作用及机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 细胞培养及分组

PC12 细胞接种在含 10% 胎牛血清的 1640 培养基中,置于 5% CO<sub>2</sub> 37 °C 温箱培养。培养液每 2 d 更换一次,待细胞覆盖培养瓶壁 70% ~ 80%,按照 1: 4 的比例传代。分组:(1)正常对照组:正常培养的 PC12 细胞;(2)溶剂对照组(vehicle 组):含 0.1% DMSO 的培养液处理的 PC12 细胞;(3)OGD10 h/R24 h 组:PC12 细胞氧葡萄糖剥夺 10 h/复氧 24 h;(4)OGD10 h/R24 h + RGZ 组:OGD10 h 后复氧时给予 RGZ 作用于 PC12 细胞 24 h;(5)OGD10 h/R24 h + RGZ + GW9662 组:OGD10 h 后复氧时给予 RGZ 和 GW9662 作用于 PC12 细胞 24 h。每组设 6 个复孔。

### 1.2 主要试剂和仪器

大鼠 HMGB1 ELISA 试剂盒(上海西唐生物科技有限公司);多克隆兔抗鼠 PPAR $\gamma$  抗体(Santa Cruz 公司),多克隆兔源抗 DUSP8 抗体(ORIGENE 公司,美国);辣根酶标记山羊抗兔二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司);PPAR $\gamma$  激动剂罗格列酮(rosiglitazone, RGZ);PPAR $\gamma$  拮抗剂 GW9662 均购自 Cayman Chemical 公司;全自动酶标仪(BIO-RAD 680,美国);倒置相差显微镜(Nikon TS100,日本)。

### 1.3 OGD/R 模型建立

将 PC12 细胞按照  $2 \times 10^4$ /ml 密度接种于 96 孔板,每孔加入培养液约 100  $\mu$ l,置 5% CO<sub>2</sub> 培养箱 24 h。待细胞贴壁后,将对对照组培养基更换为含糖 Earle's 平衡盐溶液继续培养;用无糖 Earle's 平衡盐溶液替换实验组的完全培养基,将实验组放入 37 °C,含 95% N<sub>2</sub>、5% CO<sub>2</sub> 混合气体的培养箱 10 h 后,将对对照组和实验组更换为完全培养基,再置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中分别培养 6 h、12 h、24 h 以及 48 h 模拟不同的再灌注时间。

### 1.4 细胞存活率检测

将 PC12 细胞接种在 96 孔板中,并通过四甲基偶氮唑蓝(MTT)测定细胞活力。PC12 细胞 OGD10 h 后分别复氧 6 h、12 h、24 h、48 h 后,在常规培养基中于 37 °C 与 MTT (100  $\mu$ g/ml)一起温育。4 h 后洗涤细胞,然后加入 100  $\mu$ l 二甲亚砜(DMSO)溶解。使用酶联免疫吸附测定仪,在 570 nm 监测产物形成。

### 1.5 Western blot 检测 PPAR $\gamma$ 、RAGE 和 DUSP8 及 Bcl-xl 蛋白表达水平

吸弃培养液,预冷 PBS 洗涤两次,将细胞移入 1 ml 离心管,4 °C 下 2000 rpm 离心 5 min,弃上清,在离心沉淀的细胞碎片内加入 150  $\mu$ l 细胞裂解液及 1.5  $\mu$ l 蛋白酶抑制剂(PMSF)混匀后于冰上裂解 30 min,4 °C 下 12000 rpm 离心 30 min,取上清液移至 EP 管 -80 °C 保存。以 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,半干电转移法转移至 PVDF 膜,室温下封闭 1 h,分别加入 1: 500 稀释的单克隆兔抗鼠 PPAR $\gamma$  一抗(美国 Santa Cruz, sc-73554);1: 500 稀释的多克隆兔抗鼠 DUSP8 一抗(ORIGENE 公司,美国,TA322744),4 °C 孵育过夜;分别加入 1: 3000 稀释的辣根酶标记山羊抗兔二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司,ZB2301),室温孵育 2 h。化学发光法显色,应用凝胶图像处理系统分析目标条带的分子量和净光密度值。

### 1.6 ELISA 法检测 HMGB1 水平

取各组细胞上清液 40  $\mu$ l,按照说明书步骤操作,在波长为 450 nm 下测量标准孔、样本孔的 OD 值,根据标准曲线计算 HMGB1 含量。

### 1.7 统计学处理

数值的表示形式为平均值  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )。应用 SPSS 13.0 软件进行统计学处理,多组间显著性检验采用单因素方差分析(one-way ANOVA),组间两两比较采用  $q$  检验, $P < 0.05$  被认为具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 建立 OGD/R 细胞损伤模型

PC12 细胞经缺氧低糖处理 10 h 后,经不同复氧时间 6 ~ 48 h 后,测定细胞存活率。PC12 细胞缺氧低糖处理 10 h 后,其存活率随再灌注时间延长而降低,细胞存活率依次为(82.63  $\pm$  2)%、(66.17  $\pm$  3.82)%、(25.04  $\pm$  3.48)%、(24.44  $\pm$  0.17)%,同对照组相比差异明显( $P < 0.01$ )。OGD10 h/R48 h 组同 OGD10 h/R24 h 组相比较,无显著差异( $P > 0.05$ ),故选择 OGD

10 h/R24 h 作为适宜的细胞损伤模型(见图 1A)。

## 2.2 罗格列酮和 GW9662 在 OGD/R 细胞模型中对细胞存活率影响

2.2.1 不同浓度罗格列酮对 OGD/R 处理后细胞存活率影响 PC12 细胞 OGD10 h 后,复氧时给予不同浓度罗格列酮(0 ~ 15  $\mu\text{mol}$ )作用 24 h,检测细胞存活率。结果显示 vehicle 组与罗格列酮 5  $\mu\text{mol}$ 组细胞生存率分别为(99.07  $\pm$  0.4)%、(101.07  $\pm$  4.55)%,同 RGZ 0  $\mu\text{mol}$ 组相比无显著性差异( $P > 0.05$ );罗格列酮 10  $\mu\text{mol}$ 和 15  $\mu\text{mol}$ 组,细胞存活率分别为(148.56  $\pm$  6.1)%、(135.35  $\pm$  2.46)%,两组相比无显著差异( $P > 0.05$ );罗格列酮 10  $\mu\text{mol}$ 和 15  $\mu\text{mol}$ 组,同 RGZ 0  $\mu\text{mol}$ 组相比,细胞存活率明显上升,差异均显著( $P < 0.01$ ) (见图 1B)。

2.2.2 不同浓度 GW9662 对罗格列酮作用的 OGD/R 处理后 PC12 细胞存活率的影响 PC12 细胞 OGD10 h 后,复氧时给予 10  $\mu\text{mol}$ 罗格列酮与不同浓度 GW9662(0 ~ 15  $\mu\text{mol}$ )作用 24 h,测定细胞存活率。结果显示 GW9662 浓度为 10  $\mu\text{mol}$ 、15  $\mu\text{mol}$ 时,细胞生存率下降至(42.36  $\pm$  1.43)%和(31.08  $\pm$  1.08)%,同 RGZ10  $\mu\text{mol}$ /GW9662 0  $\mu\text{mol}$ 组相比较,差异明显( $P < 0.01$ )。RGZ 10  $\mu\text{mol}$ /GW9662 15  $\mu\text{mol}$ 组与 RGZ 10  $\mu\text{mol}$ /GW9662 10  $\mu\text{mol}$ 组比较,无显著差异( $P > 0.05$ ) (见图 1C)。

2.3 罗格列酮在 OGD/R 细胞模型中对 PPAR $\gamma$  受体的影响 PC12 细胞 OGD10 h 后,复氧时给予 10  $\mu\text{mol}$ 罗格列酮与 15  $\mu\text{mol}$ GW9662 作用 24 h,观察其对 PPAR $\gamma$  蛋白的影响。结果显示,同对照组相比,PC12 细胞经过 OGD10 h/R24 h 处理后,PPAR $\gamma$  蛋白表达水平明显下降( $P < 0.01$ );同 OGD10 h/R24 h 组相比,罗格列酮治疗组 PPAR $\gamma$  蛋白表达水平上升( $P < 0.01$ );而 GW9662 能够下调罗格列酮引起的 PPAR $\gamma$  蛋白表达上升,且同罗格列酮治疗组相比较,GW9662 组蛋白表达明显下降( $P < 0.01$ ) (见图 2A)。

## 2.4 罗格列酮在 OGD/R 细胞模型中抗晚期炎症反应的作用

2.4.1 罗格列酮在 OGD/R 细胞模型中对 HMGB1 影响 PC12 细胞 OGD10 h 后,复氧时给予 10  $\mu\text{mol}$ 罗格列酮与 15  $\mu\text{mol}$ GW9662 作用 24 h 后,测定细胞 HMGB1 分泌量。结果显示,同对照组相

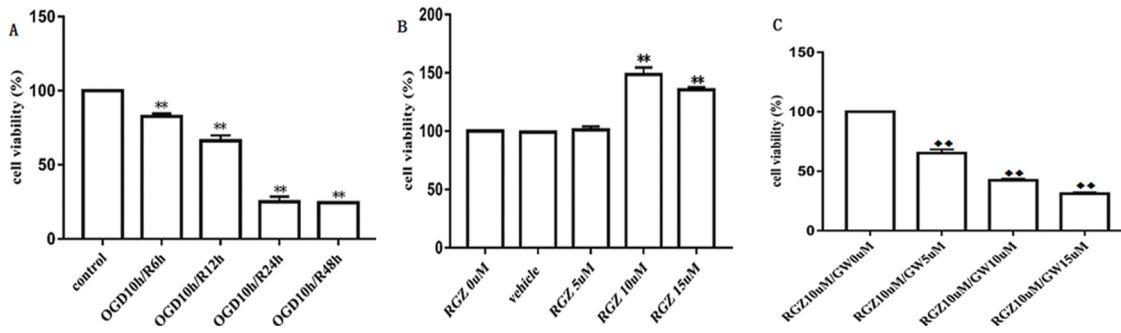
比,PC12 细胞经过 OGD10 h/R24 h 处理后,HMGB1 分泌量明显上升( $P < 0.01$ );罗格列酮组 HMGB1 分泌量下降 55.9%,差异显著( $P < 0.01$ ),提示罗格列酮可以通过减少 HMGB1 而发挥抗炎效应。而加入 GW9662 后,HMGB1 分泌量上升达 59.8%,差异显著( $P < 0.01$ ) (见图 2B)。罗格列酮减少 HMGB1 释放的效应,被 GW9662 所阻断,提示其作用机制经由 PPAR $\gamma$  受体介导。

2.4.2 罗格列酮在 OGD/R 细胞模型中对 RAGE 蛋白影响 PC12 细胞 OGD10 h 后,复氧时给予 10  $\mu\text{mol}$ 罗格列酮与 15  $\mu\text{mol}$ GW9662 作用 24 h 后,检测 RAGE 蛋白表达水平。结果显示,OGD 10 h/R24 h 后,RAGE 表达显著增加,而经过罗格列酮处理后,RAGE 表达明显下调,但罗格列酮这种作用可被 GW9662 所阻断,表现为 GW9662 处理组 RAGE 蛋白表达显著增加( $P < 0.01$ ) (见图 2C),提示其作用机制经由 PPAR $\gamma$  受体介导。

## 2.5 罗格列酮在 OGD/R 细胞模型中抗凋亡作用

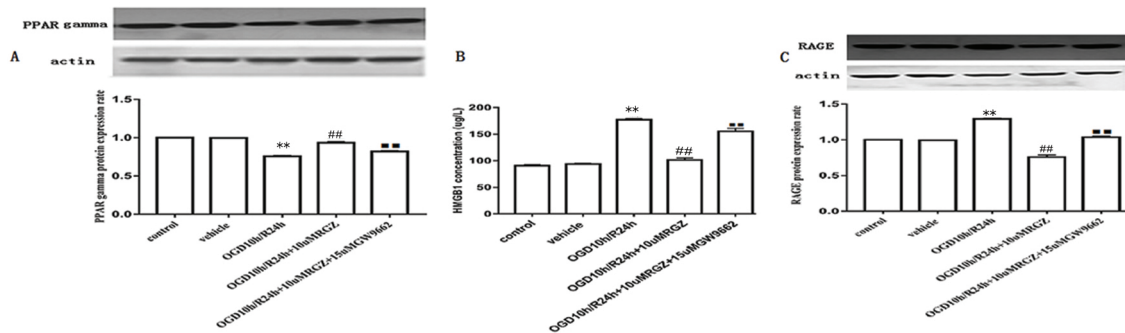
2.5.1 罗格列酮在 OGD/R 细胞模型中对 DUSP8 蛋白影响 PC12 细胞 OGD10 h 后,复氧时给予 10  $\mu\text{mol}$ 罗格列酮与 15  $\mu\text{mol}$ GW9662 作用 24 h 后,检测 DUSP8 表达情况。结果显示,同对照组相比,OGD10 h/R24 h 处理后,DUSP8 表达水平明显下降( $P < 0.01$ );罗格列酮干预后 DUSP8 表达水平明显上升( $P < 0.01$ );而 GW9662 能够下调 DUSP8 表达上升,表现为 GW9662 处理组 DUSP 蛋白表达显著降低( $P < 0.01$ ) (见图 3A),提示罗格列酮引起 DUSP8 蛋白上调是经由 PPAR $\gamma$  受体介导的。

2.5.2 罗格列酮在 OGD/R 细胞模型中对 Bcl-x1 蛋白影响 PC12 细胞 OGD10 h 后,复氧时给予 10  $\mu\text{mol}$ 罗格列酮与 15  $\mu\text{mol}$ GW9662 作用 24 h 后,检测细胞 Bcl-x1 表达情况。结果显示,同对照组比较,OGD10 h/R24 h 处理后,Bcl-x1 表达水平明显下降( $P < 0.01$ );罗格列酮组 Bcl-x1 表达水平显著上升( $P < 0.01$ );而 GW9662 能够下调罗格列酮引起的 Bcl-x1 表达上升,因此 GW9662 组的 Bcl-x1 表达明显下降( $P < 0.01$ ) (见图 3B)。说明罗格列酮引起的抗凋亡蛋白 Bcl-x1 上调是经由 PPAR $\gamma$  受体介导的。



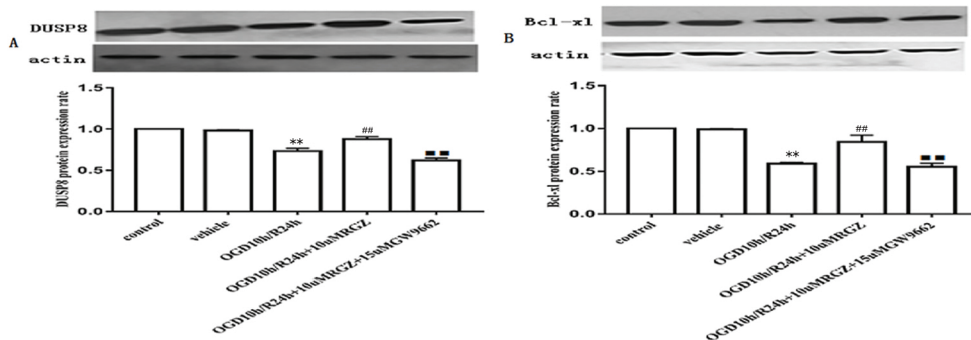
A:不同再灌注时间对 PC12 细胞存活率影响;B:不同浓度罗格列酮和 0.1% DMSO 对 OGD10 h/R24 h 的 PC12 细胞存活率影响;C:不同浓度 GW9662 对 10  $\mu\text{mol}$  罗格列酮作用后 OGD10 h/R24 h 的 PC12 细胞存活率影响。与 control 组相比 \*  $P < 0.01$ ;与 RGZ 0  $\mu\text{mol}$  组相比 \*  $P < 0.01$ ;与 RGZ10  $\mu\text{mol}$ /GW9662 0  $\mu\text{mol}$  组相比 ◆◆  $P < 0.01$

图1 不同再灌注时间以及不同浓度罗格列酮和 GW9662 对 PC12 细胞存活率影响



A: PPAR $\gamma$  蛋白表达;B: HMGB1 蛋白分泌情况;C: RAGE 蛋白表达。与对照组相比较###  $P < 0.01$ ;与 OGD10 h/R24 h 组相比较 \* \*  $P < 0.01$ ;与 OGD10 h/R24 h + 10  $\mu\text{mol}$  RGZ 组相比较 ◆◆  $P < 0.01$

图2 罗格列酮 10  $\mu\text{mol}$ 、GW9662 15  $\mu\text{mol}$  对 OGD10 h/R24 h 的 PC12 细胞的 PPAR $\gamma$ 、HMGB1 以及 RAGE 蛋白表达的影响



A:对 DUSP 蛋白表达影响;B:对 Bcl-x1 蛋白表达影响。与对照组相比较 \* \*  $P < 0.01$ ;与 OGD10 h/R24 h 组相比较###  $P < 0.01$ ;与 OGD 10 h/R24 h + 10  $\mu\text{mol}$  RGZ 组相比较 ◆◆  $P < 0.01$

图3 罗格列酮 10  $\mu\text{mol}$  与 GW9662 15  $\mu\text{mol}$  对 OGD10 h/R24 h 处理的 PC12 细胞的 DUSP8 和 Bcl-x1 蛋白表达影响

### 4 讨论

近年来对缺血性脑卒中研究热点集中于缺血再灌注损伤的具体机制,已证实 PPAR $\gamma$  激动剂能够减轻缺血再灌注损伤、帕金森病及肌萎缩侧索硬化等细胞模型的损伤,这为 PPAR $\gamma$  激动剂用于治疗脑组织缺血再灌注损伤提供了充分研究基础<sup>[8,9]</sup>。

有研究报道罗格列酮可以减轻缺血后的炎症反应,涉及 IL-1、IL-6、TNF 等炎性介质<sup>[10]</sup>,本研究进一步证实了罗格列酮可以通过减少 HMGB1 的释放,而发挥减轻脑缺血再灌注后晚期炎症反应的效果<sup>[11]</sup>。HMGB1 是一种重要的晚期炎症介质,可由细胞直接破坏释放,也可以由免疫细胞分泌。在细胞迁移和

炎性反应时, HMGB1 是 RAGE 的生理性配体<sup>[12]</sup>。HMGB1/RAGE 可通过激活核因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 促进炎性反应, 进而诱导神经元凋亡<sup>[13]</sup>。研究报道 PPAR $\gamma$  激活可以调节 HMGB1/RAGE 信号通路, 在急性肺损伤中发挥保护作用<sup>[14]</sup>。PPAR $\gamma$  是否可在神经细胞缺血再灌注损伤模型中, 通过调节 HMGB1/RAGE 信号通路发挥保护作用, 国内外缺乏相关报道。本研究发现罗格列酮使氧糖剥夺神经细胞 RAGE 表达下调, HMGB1 分泌显著下降, 而 PPAR $\gamma$  受体抑制剂 GW9662 可以逆转该作用, 提示罗格列酮通过 PPAR $\gamma$  激活调控 HMGB1 分泌而发挥抗炎效应, 并且可能通过调节 HMGB1/RAGE 信号通路发挥保护作用, 但其具体机制值得深入研究。

蛋白激酶是近期研究较多的靶点, 应激活活蛋白激酶 (SAPK) 包括 c-Jun N 末端蛋白激酶、p38 丝裂原活化蛋白激酶, 在脑缺血后被激活, 抑制 c-Jun N 末端蛋白激酶或者 p38 丝裂原活化蛋白激酶, 可以拮抗脑缺血后导致的细胞死亡<sup>[15-17]</sup>。近年来已有研究证实防止细胞凋亡是噻唑烷二酮类对于脑缺血损伤后神经保护的主要机制之一, 罗格列酮通过下调含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶而减少细胞凋亡, 其机制涉及 JNK 和 p38 激酶的磷酸化作用<sup>[7]</sup>。并且, 相关研究集中探讨蛋白质酪氨酸磷酸酶 (DUSPs) 对于蛋白激酶磷酸化作用的调控<sup>[7]</sup>。DUSP8 可以特定作用于 JNK 和 p38, 有研究报道罗格列酮对脑缺血动物模型神经细胞死亡的保护作用, 主要是通过促进 DUSP8 上调, 从而阻止 JNK 磷酸化激活作用实现的<sup>[7]</sup>。

在本研究中, 我们证实了使用罗格列酮作用于 OGD/R 神经细胞模型后, DUSP8 蛋白和 Bcl-xl 表达均增加, 而 PPAR $\gamma$  受体抑制剂 GW9662 可以逆转该作用。从而肯定了以罗格列酮为代表的 PPAR $\gamma$  受体激动剂通过上调 DUSP8 和 Bcl-xl, 对缺血和再灌注模型中神经细胞的死亡起到保护作用。

综上所述, 我们证实了以罗格列酮为代表的 PPAR $\gamma$  受体激动剂在神经细胞缺血和再灌注模型中可以通过减轻炎症反应和上调 DUSP8 发挥抗凋亡作用, 而罗格列酮保护神经元的作用可以被 PPAR $\gamma$  受体抑制剂逆转, 进一步证实其作用机制是通过 PPAR $\gamma$  受体激活实现的。但本研究尚缺乏对于 JNK 信号通道的检测, 若能证实 DUSP8 蛋白升高, 直接导致 JNK 磷酸化程度降低, 从而减少细胞凋亡, 则对于 PPAR $\gamma$  受体激动剂的神经元保护机制, 将提供更有有力证据支持。因此, 对于 PPAR $\gamma$  受体激动剂的神经元保护机制的具体步骤, 如对 JNK 信号通道的检测等, 尚待深入探讨。

## [参考文献]

- [1] Xia PP, Pan YD, Zhang F, et al. Pioglitazone confers neuroprotection against ischemia-induced pyroptosis due to its inhibitory effects on HMGB1/RAGE and Rac1/ROS pathway by activating PPAR- $\gamma$  [J]. Cellular Physiology and Biochemistry, 2018, 45:2351-2368.
- [2] Xu L, He D, Bai Y, et al. Microglia-Mediated Inflammation and neurodegenerative disease [J]. Mol Neurobiol, 2016, 53(10):6709-6715.
- [3] Hwang JS, Ham SA, Yoo T, et al. Upregulation of MKP-7 in response to rosiglitazone treatment ameliorates lipopolysaccharide-induced destabilization of SIRT1 by inactivating JNK [J]. Pharmacol Res, 2016, 114:47-55.
- [4] Joardar A, Menzl J, Podolsky TC, et al. PPAR gamma activation is neuroprotective in a Drosophila model of ALS based on TDP-43 [J]. Hum Mol Genet, 2015, 24(6):1741-1754.
- [5] Islam MT. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders [J]. Neurol Res, 2017, 39(1):73-82.
- [6] Shibo Ying, Xiang Xiao, Tianhui Chen, et al. PPAR ligands function as suppressors that target biological actions of HMGB1 [J]. PPAR Research, 2016, ID 2612743, 10.
- [7] Chistyakov DV, Azbukina NV, Lopachev AV, et al. Rosiglitazone as a modulator of TLR4 and TLR3 signaling pathways in rat primary neurons and astrocytes [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19:1.
- [8] Corona JC, Duchon MR. PPAR $\gamma$  as a therapeutic target to rescue mitochondrial function in neurological disease [J]. Free Radic Biol Med, 2016, 100:153-163.
- [9] Makela J, Tselykh TV, Kukkonen JP. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) agonist is neuroprotective and stimulates PGC-1 $\alpha$  expression and CREB phosphorylation in human dopaminergic neurons [J]. Neuropharmacology, 2016, 102:266-275.
- [10] Mateu A, Ramudo L, Manso MA. Cross-talk between TLR4 and PPAR $\gamma$  pathways in the arachidonic acid-induced inflammatory response in pancreatic acini [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2015, 69:132-141.
- [11] Hei Y, Chen R, Yi X, et al. HMGB1 Neutralization attenuates hippocampal neuronal death and cognitive impairment in rats with chronic cerebral hypoperfusion via suppressing inflammatory responses and oxidative stress [J]. Neuroscience, 2018, 383:150-159.
- [12] Dzyubenko E, Manrique-Castano D, Kleinschnitz C, et al. Role of immune responses for extracellular matrix remodeling in the ischemic brain [J]. The Adv Neurol Disord, 2018, 11:1756286418818092.
- [13] Tian X, Liu X, Shu Z, et al. Therapeutic targeting of HMGB1 in stroke [J]. Curr Drug Deliv, 2017, 14(6):785-790.
- [14] Ying S, Xiao X, Chen T, et al. PPAR ligands function as suppressors that target biological actions of HMGB1 [J]. PPAR Res, 2016, 2016:2612743.
- [15] Shvedova M, Anfinogenova Y, Atochina-Vasserman EN, et al. c-Jun N-terminal kinase (JNKs) in myocardial and cerebral Ischemia/reperfusion injury [J]. Front Pharmacol, 2018, 9:715.
- [16] 龚筱弦, 范佳, 付希佳, 等. G-CSF 对局灶脑缺血再灌注大鼠脂质过氧化及神经细胞凋亡的影响 [J]. 中馈与神经疾病杂志, 2015, 32(8):726-729.
- [17] Jiang H, Fang J, Xing J, et al. Tilianin mediates neuroprotection against ischemic injury by attenuating CaMKII-dependent mitochondrion-mediated apoptosis and MAPK/NF- $\kappa$ B signaling [J]. Life SCI, 2019, 216:233-245.