## ·基础研究·

# [Gly14]-Humanin对大鼠局灶性脑缺血 再灌注损伤的影响及其机制研究<sup>\*</sup>

余 智 于 民 顾苏兵 宋长友 邵晓莉 张 腾 姜丽琴

#### 摘要

目的:通过观察[Gly14]-Humanin(HNG)预处理对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤后神经功能缺损评分、脑水肿、细胞 调亡及炎症反应等方面的影响,探讨其相关的神经功能保护机制。

方法:将96只健康雄性SD大鼠随机分为HNG组、生理盐水组、模型组及假手术组,每组24只。采用改良的Zea-longa线栓法建立大脑中动脉缺血再灌注损伤模型,生理盐水组与假手术组大鼠术前7天给予生理盐水(2ml/kg)连续尾 静脉注射,每日1次;HNG组给予HNG(2μl/kg),而模型组除正常饲养外术前不接受任何处理。各组大鼠在线栓法造 模成功后6h,再拔除线栓恢复血液灌注24h后进行神经功能缺损评分(NDS),开阔法观察SD大鼠脑缺血再灌注后行 为学改变;采用干湿质量法检测脑组织含水量、HE染色观察缺血区病理学改变,ELISA法测定大鼠脑组织核因子κB p65(NF-κB p65)及干扰素-γ(IFN-γ)水平,原位末端标记染色观察凋亡细胞数并进行统计学分析。

结果:①与假手术组相比,其余3组大鼠的NDS、脑组织含水量、NF-κB p65及IFN-γ水平及细胞凋亡数均升高,而行 为学指数降低,差异有显著性意义(P<0.01—0.05);②与生理盐水组及模型组相比,HNG组大鼠的NDS、脑组织含 水量、NF-κB p65和IFN-γ水平、细胞凋亡数降低,而行为学指数增高,差异有显著性意义(P<0.01—0.05);③HNG 组大鼠脑组织IFN-γ与NF-κB p65含量水平呈正相关(r=0.762,P<0.001)。

结论:HNG 预处理减轻脑缺血再灌注损伤过程中的脑水肿,下调脑组织中NF-κB p65的水平,减少促炎介质(IFN-γ)的释放,抵制神经细胞的凋亡,从而减轻临床神经功能的缺损。

关键词 脑缺血再灌注;[Gly14]-Humanin;脑水肿;干扰素-γ;核因子-κB p65;细胞凋亡;神经保护;神经细胞 中图分类号:R743.3, R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2019)-05-0515-06

Effects of [Gly14]-Humanin on focal cerebral ischemia reperfusion injury in rats and its mechanism/ YU Zhi, YU Min, GU Subing, et al.//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2019, 34(5): 515-520 Abstract

**Objective:** To study the effect of [Gly14]-Humanin (HNG) on focal cerebral ischemia reperfusion injury in rats and its mechanism.

**Method:** Ninety-six healthy male Sprague-Dawley rats were randomly divided into HNG group, normal saline group, model group and sham-operation group, with 24 rats in each group. A rat model of acute middle cerebral artery occlusion (MCAO) and reperfusion was established by suture embolism, relevant (normal saline in the rats of the sham-operation group and normal saline group, HNG in the rats of the HNG group) were given to rats 7 days before operation respectively (iv, seven times, qd). After 6h after cerebral ischemia and 24h after reperfusion, neurological deficit score (NDS) were performed for each group, the ethological index of rats was counted by the open field method; brain water content of the ischemic areal was performed for each group, ELISA was used to detect the levels of NF- $\kappa$ B p65 and IFN- $\gamma$  in cerebral tissue, HE staining is used

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2019.05.004

<sup>\*</sup>基金项目:浙江省医药卫生科技项目(201482575);杭州市科技发展计划项目(20140633B66)

<sup>1</sup> 浙江省淳安县第一人民医院康复医学科,杭州,311700; 2 浙江省人民医院神经内科; 3 浙江省淳安县第一人民医院神经内科 作者简介:余智,男,主治医师;收稿日期:2017-09-27

to observe morphologic changes of neuron cells in ischemia region and TUNEL staining was used to detect the number of neuron apoptosis. Then the linear correlation analysis was used to determine the association between the levels of IFN- $\gamma$  and NF- $\kappa$ B p65 in cerebral tissue with HNG group.

**Result:** ①Compared with sham-operation group, the NDS, the brain water content, the levels of NF- $\kappa$ B p65, IFN- $\gamma$  and the number of neurocytes apoptosis were significantly increased, but the behavioral mark was decreased in the other three groups (P<0.01-0.05); ②Compared with normal saline group and model group, the NDS, the brain water content, the levels of NF- $\kappa$ B p65, IFN- $\gamma$  and the number of neurocytes apoptosis were significantly decreased, but the behavioral mark was increased in HNG group (P<0.01-0.05); ③The levels of IFN- $\gamma$  and NF- $\kappa$ B p65 in HNG group showed perfect positive correlations(r=0.762, P<0.001).

**Conclusion:** [Gly14]-Humanin can mitigate the neurologic deficit. Its mechanism is probably to lighten the brain water content, down-regulate NF- $\kappa$ B p65 levels and then reduce the release of IFN- $\gamma$  in the process of the focal cerebral ischemia reperfusion, therefore to inhibit the apoptosis of neurons of ischemic area.

**Author's address** Dept. of Rehabilitation Medicine,The First People's Hospital of Chun'an,Hangzhou,311700 **Key word** cerebral ischemia/reperfusion; [Gly14]-Humanin; brain water content; nuclear transcription factor-κB p65; interferon-γ; cell apoptosis; neuroprotection; neurocyte

如何提高缺血性脑血管病患者的疗效及功能康 复是神经科临床实践中迫切需要解决的难题,而寻 找更好的神经细胞保护剂对防治再灌注损伤具有重 要的现实意义。近几年来,炎症反应在脑缺血再灌 注损伤机制中的地位越来越受到关注<sup>[1]</sup>,大多数学 者认为再灌注时受血流变学和缺血缺氧的改变引起 神经细胞释放大量的炎症信号,促进炎性细胞的聚 集和炎性因子的释放<sup>[2]</sup>,导致脑缺血损伤区炎性细 胞浸润,加速神经细胞的凋亡。本课题组前期的实 验研究也已证实,核转录因子的表达和炎性细胞的 浸润均参与了脑缺血再灌注损伤过程<sup>[3]</sup>。

最近研究表明,[Gly14]-Humanin(HNG)除能抑 制颅脑损伤诱导的自噬激活和凋亡之外,还可抵御 外伤诱导的神经细胞质膜完整性的破坏,减少脑缺 损体积,改善神经功能缺损<sup>[4]</sup>,但目前国内外尚缺乏 关于HNG对缺血性脑损伤炎性反应的干预研究报 道。本研究应用Humanin衍生物——HNG对脑缺 血再灌注大鼠进行预处理,观察其对缺血再灌注大 鼠脑组织的含水量、炎性因子及细胞凋亡的影响,进 一步在细胞凋亡和炎症反应层面探讨HNG在脑缺 血再灌注损伤的神经保护作用,为缺血性脑血管病 的防治研究提供理论依据。

#### 1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 大鼠与分组:成年健康雄性SD大鼠(浙江大

学医学院实验动物中心提供),SPF级,96只,体重 (285±15)g,按随机数字表法分为HNG组、生理盐水 组、模型组及假手术组,每组24只。在每天光照12h 环境中适应性饲养2w。

**1.1.2** 主要药物、试剂与仪器:[Gly14]-Humanin(美国 R&D Systems 公司,批号:061M8719);核因子-  $\kappa$ B p65(nuclear transcription factor  $\kappa$ B p65, NF-  $\kappa$ B p65)(美国 Promega 公司,批号:9034P501D)及 干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )ELISA 试剂盒(美国 Promega 公司,批号:DEC022005);电热恒温鼓风干 燥箱(上海跃进医疗器械厂,型号:GZX-DH202-2); 多功能酶标仪(美国 BioTek 公司,型号:Spectra MaxM2);原位末端标记(TUNEL)试剂盒(美国 Sigma 公司,批号:20141223);高速低温离心机(美国 BioTek 公司,型号:Labo fuge 400R),电子显微镜 (日本 OLYMPUS,型号:BX51)等。

#### 1.2 研究方法

1.2.1 大鼠预处理及模型的建立:经腹腔注射 0.3ml/100g水合氯醛(300mg/kg)麻醉成功,采用改 良的Zea-longa<sup>[5]</sup>法建立大鼠大脑中动脉阻塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)再灌注损伤 模型,缺血6h后直接外拉尼龙线抽出颈内动脉(internal carotid artery, ICA)约16mm即可完成再灌 注,实验过程中保持肛温(37±0.5)℃至再灌注后 2h。模型成功判断标准:大鼠苏醒后提尾悬拉后出 现右前肢蜷缩屈曲;左侧Horner征,爬行时向右侧 跌倒或转圈。剔除标准:并发蛛网膜下腔出血者;镜 下观察无缺血病理改变者;未到观察时间点死亡 者。造模过程中共有6只被剔除,均由备养的SD大 鼠补充。模型组除正常饲养外术前不接受任何处 理,而HNG组大鼠术前7天给予2µl/kg HNG<sup>[6]</sup>连续 尾静脉注射,每日1次;生理盐水组与假手术组均给 予生理盐水(2ml/kg),假手术组大鼠在术中不插入 尼龙线仅分离左侧颈总动脉(external carotid artery, CCA)、ICA及颈外动脉(external carotid artery, ECA)。

1.2.2 评估神经功能缺损(neural function deficient scale, NDS)及行为学改变:再灌注24h后,按 照Zea-Longa 5个评分等级对各组大鼠的神经功能 情况进行评价:①0分,无任何神经功能缺损症状; ②1分,不能完全伸展右前肢;③2分,爬行时向对侧 转圈,左侧Horner征;④3分,爬行时身体向右侧倾 倒;⑤4分,意识障碍或不能自发爬行。开阔法观察 大鼠脑缺血再灌注后行为学改变,所用的迷宫尺寸 为76cm×72cm×57cm,划分为25个方格。检查时将 大鼠放于正中格中,记数其10min内爬过的格子 数。每次检查时保持室内灯光强度一致和房间安 静。实验观察人员采用盲测,其中如果大鼠在一次 评测中出现恰当的行为,而其后却未出现,按前次记 分。爬行格子数越多表示大鼠神经功能状态越好。

1.2.3 测定脑组织含水量:再灌注24h后,各组随机 抽取8只大鼠再经腹腔注射0.3ml/100g水合氯醛 (300mg/kg)麻醉成功后,暴露心脏,显露升主动 脉。进行快速心脏灌洗,于冰上在左侧距额叶前端 4mm和8mm处进行冠状分离,取中间4mm厚的脑 组织块,然后沿矢状缝两侧约2mm处,从上至下切 去两侧半球的正中结构,将左侧脑块用滤纸擦去表 面残血,测大鼠脑组织含水量的标本称湿重,然后置 烤箱内烘干,24h后称干重。按以下公式计算脑组 织含水量:脑组织含水量(%)=(湿重-干重)/湿重× 100%,并将此作为脑含水量的指标。

1.2.4 测定脑组织匀浆液 NF-κB p65及 IFN-γ水 平:再灌注24h后,各组再随机抽取8只大鼠,于麻醉 成功后立即断头取脑,切除枕部和额部,于冰上距额 叶前端4mm和8mm处进行冠状分离,取中间4mm 厚的脑组织块,沿矢状缝两侧约2mm处,从上至下 切除两侧半球的正中结构,取左侧大脑半球用冰盐 水冲洗,拭干后称重,放入5ml烧杯中。按组织比生 理盐水1:9加人冰冷的生理盐水,用眼科剪将脑组 织剪成组织小块。将处理后的脑组织悬液倒入 20ml玻璃组织匀浆进行上下研磨,取匀浆液作为检 测标本。按NF-κB p65及IFN-γ ELISA试剂盒的 要求进行严格操作。

1.2.5 观察缺血区病理学改变及凋亡细胞:再灌注 24h后,各组分别取其余8只大鼠行常规麻醉成功 后,150ml温生理盐水快灌,然后续用预冷的4%多 聚甲醛400ml持续灌注、固定(先200ml快灌,后改 为慢灌)。断头取脑固定于10%的甲醛溶液中,常规 石蜡包埋,冷却后修正蜡块,取视交叉向后1.5cm的 脑组织石蜡切片机连续切片,厚度5µm,烤干制成石 蜡切片。将制备好的石蜡切片按常规步骤进行HE 染色;PBS洗涤、孵育,加50μl生物素标记液,37℃ 孵育 60min, 加 0.1-0.3ml 标记反应终止液, 再加 50山工作液孵育30min,再加DAB显色液,常规乙 醇脱水,二甲苯透明后封片,光学显微镜下观察凋亡 细胞(胞核出现棕黄染色颗粒),每张切片在脑缺血 再灌注皮层区各随机选取5个不重复高倍镜视野 (10×40)中的凋亡细胞数及细胞总数,计算平均每 个高倍视野下凋亡细胞的百分率(凋亡细胞数/细胞 总数×100%)。

#### 1.3 统计学分析

采用SPSS 19.0统计软件进行统计学处理。计 量资料用均数±标准差表示,两两比较采用LSD-t检 验,多组间均数比较采用单因素方差分析(ANO-VA);计数资料用中位数/四分位数法表示,两两比 较采用Nemenyi检验,多组间比较采用Kruskal-Wallis H检验;采用Pearson线性相关分析对IFN-γ与 NF-κB p65含量水平相关性进行分析。均以P<0.05 为差异具有显著性意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠NDS及行为学的比较

假手术组大鼠 NDS 计 0 分, 行为学指标计 (415±75)个;生理盐水组及模型组 NDS 及行为学指 标分别计为 3.0/1.0 分、3.0/0 分和(321±45)个、(334± 51)个; HNG 组 NDS 计为 2.0/1.0 分, 行为学指标计 (378±63)个;HNG组的NDS均低于模型组及生理 盐水组,而行为学指标均高于模型组及生理盐水组, 差异具有显著性意义(均P<0.05)。

2.2 各组大鼠脑组织含水量的比较

与假手术组相比,HNG组、生理盐水组及模型组 大鼠脑组织含水量不同程度升高,差异有显著性意 义(均P<0.01);与生理盐水组及模型组相比,HNG组 大鼠脑组织含水量较低,差异亦有显著性意义(均P< 0.01);但生理盐水组与模型组相比,大鼠脑组织含水 量的差异无显著性意义(P>0.05),见表1。

2.3 对大鼠脑组织NF-κB p65及IFN-γ水平的影响 与假手术组大鼠相比,HNG组、生理盐水组及 模型组脑组织NF-κB p65及IFN-γ水平含量高,差 异具有显著性意义(均P<0.05);HNG组NF-κB p65 及IFN-γ含量水平低于生理盐水组及模型组,差异 亦具有显著性意义(均P<0.05);而生理盐水组与模 型组NF-κB p65及IFN-γ含量水平差异无显著性意 义(P>0.05),见表1。

	表1	各组大鼠脑组织含水量	、NF-кВ p65及IFN-үл	k平及凋亡细胞率的比较	$(\bar{x}\pm s)$
组别	例数	脑组织含水量(%)	NF-κB p65(pg/mg)	IFN-γ(pg/mg)	凋亡细胞率(%)
HNG 组	8	83.09±0.87 <sup>102</sup>	13.35±0.79 <sup>©2</sup>	5.11±0.69 <sup>(D2)</sup>	48.15±7.52 <sup>02</sup>
生理盐水组	8	90.33±1.24 <sup>00</sup>	22.02±0.94 <sup>03</sup>	10.73±0.34 <sup>D3</sup>	71.31±8.13 <sup>03</sup>
模型组	8	92.14±1.52 <sup>①</sup>	22.16±0.71 <sup><sup>①</sup></sup>	$10.71{\pm}0.15^{\odot}$	69.04±6.31 <sup><sup>®</sup></sup>
假手术组	8	74.57±1.58	7.15±0.52	1.43±0.36	3.16±0.28
F		89.122	135.616	12.187	100.619
Р		< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01

与假手术组比较:①P<0.01;与生理盐水组及模型组比较:②P<0.05;与模型组比较:③P>0.05

**2.4** HNG组大鼠脑组织 NF-κB p65 与 IFN-γ 水平 的相关性

HNG组大鼠脑组织匀浆液 IFN-γ与NF-κB p65 含量水平呈正相关(r=0.762, P<0.001)。

2.5 各组大鼠脑组织病理改变

观察缺血灶中心区,假手术组大鼠神经细胞间 隙及形态均正常,胞核清晰,核大而圆,胞质色淡且 均匀(图1A);模型组及生理盐水组细胞正常组织结 构消失,多数细胞体积缩小,胞浆疏松且胞核固缩深 染,部分细胞呈空泡性坏死灶(图1B及图1D)。 NHG组缺血性损害改变较模型组及生理盐水组明 显减轻,细胞间质略水肿,细胞膜较完整,坏死区域 明显缩小(图1C)。

2.6 对大鼠脑组织凋亡细胞表达的影响 光镜下显示缺血灶中心区,假手术组大鼠脑组 织未见明显的凋亡细胞表达(图2A),生理盐水组及 模型组凋亡细胞较多表达,且体积形态不一,细胞核 固缩、凝集(图2B、图2C),而HNG组大鼠脑组织凋 亡细胞较生理盐水组及模型组有所减少(图1D)。 与假手术组相比,HNG组、生理盐水组及模型组凋 亡细胞数增多,差异具有显著性意义(均P<0.05); 而HNG组大鼠凋亡细胞数低于生理盐水组及模型 组,差异亦具有显著性意义(均P<0.05);生理盐水 组与模型组凋亡细胞数的差异无显著性意义(P> 0.05),见表1。

## 3 讨论

临床实践中发现,在急性脑缺血性脑卒中症状 发生后的6h内应用尿激酶静脉溶栓恢复血液灌流 时发生再灌注损伤而使神经功能缺损加重,其中炎

图1 各组大鼠脑组织病理改变

(HE染色,×400)



518 www.rehabi.com.cn

#### (TUNEL染色,×400)

## 图2 大鼠脑组织凋亡细胞表达



性细胞的激活及多种炎性因子的级联反应占有主导 地位,而炎性因子主要包括转录因子及炎症细胞 等<sup>[7]</sup>。NF-κB由NF-κBp65与NF-κBp50组成二聚 体,存在于神经细胞及血管内皮细胞等几乎所有细 胞。既往有文献报道,NF-κBp65中含有激活转录 的处理区并能促进其他细胞基因转录和表达,与免 疫反应、炎症反应以及细胞的分化、增殖和凋亡等密 切相关<sup>[8]</sup>。小胶质细胞被缺血激活后,转变为吞噬 细胞,释放毒性细胞因子(如IFN-γ、TNF-α、IL-1及 IL-6)介导周围组织一系列炎症反应,加重脑缺血再 灌注损伤而导致神经细胞的凋亡。

近期研究发现在阿尔茨海默病发病过程中,枕 叶脑组织的mRNA可能启动了新基因并表达一个 含有24个氨基酸残基的线性多肽,将其命名为Humanin(HN),使枕叶神经元免受致病因子的毒性作 用<sup>[9]</sup>。其中Pro3—Pro19为其功能核心区,核心区的 Pro3、Ser7、Cys8、Leu9、Leu12、Thr13、Ser14和Pro19 与Humanin的神经保护作用密切相关。更为重要的 是,第14位的Ser被Gly取代后形成的HN衍生物 [Gly14]-Humanin的神经保护作用是HN的1000倍, 其在纳摩尔水平就有神经保护作用。体内实验表 明,HNG不仅能改善AD转基因小鼠的学习记忆能 力,对东莨菪碱(scopolamine)<sup>[10]</sup>,二苯乙醇酸(3-quinuclidinyl benzilate)<sup>[11]</sup>及β-淀粉样肽相关因子诱导 的神经记忆功能的损害同样具有保护作用[12]。体外 实验也发现,HNG不仅能有效地抑制多种阿尔茨海 默病相关致病因子诱发的神经细胞和非神经细胞的 凋亡,还能保护脂多糖诱导的原代星形胶质细胞炎 症反应、缺血/再灌注(hypoxia/reperfusion, I/R)损伤 诱导的小鼠原代皮质神经细胞凋亡等[13]。此外,研 究还进一步证实HNG还能减少小鼠大脑中动脉闭 塞导致的急性脑卒中损伤侧大脑半球的梗死体积并



增强瘫痪肢体的运动功能[14]。

本研究发现在脑缺血6h再灌注24h后的大鼠经 HNG预处理时NDS明显低于模型组及生理盐水 组,而行为学指数显著增加,差异均具有显著性(均 P<0.05)。这表明HNG预处理对改善脑缺血再灌注 损伤后的神经功能缺损具有积极意义。脑组织含水 量是评价局部脑缺血及缺血性脑损害程度的重要指 标。本研究结果也发现在脑缺血6h再灌注24h后, 假手术组各大鼠脑组织含水量最低,与其余3组比 较差异有显著性意义(P<0.01);与HNG组比较,生 理盐水组及模型组大鼠脑组织含水量较高,差异有 显著性意义(P<0.01);而生理盐水组及模型组相比, 脑组织含水量差异无显著意义(P>0.05)。提示 HNG可显著减轻脑缺血再灌注损伤后脑水肿,从而 改善缺血及再灌注损伤所致的神经功能缺损。

既往研究报道<sup>[15]</sup>,NF-κB p65 通过释放促炎介 质IFN-γ,从而活化P38激酶,诱导细胞因子和II类组 织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)的表达,导致细胞的凋亡。本研究发 现,经HNG预处理的大鼠脑组织NF-κB p65及 IFN-γ水平明显低于生理盐水组及模型组(均*P*< 0.05),而模型组与生理盐水组NF-κB p65及IFN-γ 水平的差异无显著性(*P*>0.05);本研究行相关性分 析也发现,HNG组大鼠脑组织NF-κB p65与IFN-γ 水平呈正相关(*P*<0.001)。

同时,从本研究的病理形态学观察分析,模型组 缺血灶中心区大鼠神经细胞表现为细胞结构消失, 胞核固缩深染,胞浆疏松,部分细胞可见呈空泡性坏 死灶,这表明再灌注损伤时脑组织已发生不可逆的 缺血缺氧;经HNG预处理的大鼠则以神经细胞肿胀 为主,而给予生理盐水预处理的大鼠脑组织病理形 态学改变与模型组无明显差异,可见HNG在一定程 度上具有延缓或阻止再灌注损伤后神经细胞坏死的 作用。此外,从本研究TUNEL染色结果观察比较, 生理盐水组和模型组大鼠凋亡细胞较多表达,而经 HNG预处理的大鼠缺血半暗带中细胞凋亡数明显 减少(P<0.01—0.05)。我们认为,上述结果表明 HNG可降低诱发NF-κB p65的释放,减少促炎介质 (IFN-γ)的水平,具有延缓或阻止缺血再灌注损伤后 神经细胞凋亡的作用,这对脑缺血再灌注损伤的临 床防治具有重要的意义。

#### 参考文献

- Moraga A, Pradillo JM, García-Culebras A, et al. Aging increases microglial proliferation, delays cell migration, and decreases cortical neurogenesis after focal cerebral ischemia[J]. J Neuroinflammation, 2015, 12(1):87.
- [2] Deng J, Wu G, Yang C, et al. Rosuvastatin attenuates contrast-induced nephropathy through modulation of nitric oxide, inflammatory responses, oxidative stress and apoptosis in diabetic male rats[J]. J Transl Med, 2015, 13(1):53.
- [3] 余智,刘开祥,廖小明,等.吡格列酮对脑缺血再灌注损伤大鼠的 神经保护作用及其机制的研究[J].临床神经病学,2013,26(2): 44—46.
- [4] 靳辉,胡海涛,王唯析.[Gyl14]-Humanin对Aβ25-35诱导PC12细 胞凋亡的影响[J].细胞与分子免疫学杂志,2010,11(5):427-430.
- [5] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1):84–91.
- [6] Hashimoto Y, Niikura T, Tajima H, et al. A rescue factor

abolishing neuronal cell death by a wide spectrum of familial Alzheimer's disease genes and Abeta[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(11):6336-6341.

- [7] Wang Q, Tang XN, Yenari MA. The inflammatory response in stroke[J]. J Neuroimmunol, 2007, 184(1-2):53-68.
- [8] Ridder DA, Schwaninger M. NF-kappaB signaling in cerebral ischemia[J]. Neuroscience, 2009, 158(3):995–1006.
- [9] Zapała B, Kaczyński Ł, Kieć-Wilk B, et al. Humanins, the neuroprotective and cytoprotective peptides with antiapoptotic and anti-inflammatory properties[J]. Pharmacol Rep, 2010, 62(5):767-777.
- [10] Matsuoka M. Humanin signal for Alzheimer's disease[J]. J Alzheimers Dis, 2011, 24(Suppl 2):27-32.
- [11] Guo F, Jing W, Ma CG, et al. [Gly(14)]-humanin rescues long-term potentiation from amyloid beta protein-induced impairment in the rat hippocampal CA1 region in vivo[J]. Synapse, 2010, 64(1):83—91.
- [12] Miao J, Zhang W, Yin R, et al. S14G-Humanin ameliorates Abeta25-35- induced behavioral deficits by reducing neuroinflammatory responses and apoptosis in mice[J]. Neuropeptides, 2008, 42(5-6):557-567.
- [13] Tajima H, Kawasumi M, Chiba T, et al. A humanin derivative, S14G-HN, prevents amyloid-beta-induced memory impairment in mice[J]. J Neurosci Res, 2005, 79(5):714–723.
- [14] Jin H, Liu T, Wang WX, et al. Protective effects of [Gly14]-Humanin on beta-amyloid-induced PC12 cell death by preventing mitochondrial dysfunction[J]. Neurochem Int, 2010, 56(3):417-423.
- [15] Tham EL, Mescher MF. Signaling alterations in activationinduced nonresponsive CD8 T cells[J]. J Immunol, 2001, 167(4):2040-2048.

(上接第514页)

杂志,2015, 25(06): 335-341.

- [15] 邱静怡,万凌云,赵志河,等.内外源性应力对间质干细胞成软 骨分化的调控[J].国际口腔医学杂志,2016,43(04):449—455.
- [16] Choi BH, Choi MH, Kwak MG, et al. Mechanotransduction pathways of low-intensity ultrasound in C-28/I2 human chondrocyte cell line[J]. Proc Inst Mech Eng H, 2007, 221 (5): 527–535.
- [17] Lee HJ, Choi BH, Min BH,et al. Low-intensity ultrasound inhibits apoptosis and enhances viability of human mesenchymal stem cells in three-dimensional alginate culture during chondrogenic differentiation[J]. Tissue Eng,2007,13(5): 1049—1057.
- [18] Alves dSML, Martins A, Costa-Pinto AR, et al. Chondrogenic

differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells in chitosan-based scaffolds using a flow-perfusion bio-reactor[J].J Tissue Eng Regen Med,2011,5(9):722-732.

- [19] Lu J, Fan Y, Gong X, et al. The Lineage Specification of mesenchymal stem cells is directed by the rate of fluid shear stress[J]. J Cell Physiol,2016,231(8): 1752—1960.
- [20] Tien YC, Lin SD, Chen CH,et al. Effects of pulsed low-intensity ultrasound on human child chondrocytes[J]. Ultrasound Med Biol,2008,34(7): 1174–1181.
- [21] 虞冀哲,杨勇,刘朝旭,等.低频电磁场干预大鼠骨髓间充质 干细胞体外成软骨分化的研究[J].中华实验外科杂志,2014, 31(7):1410—1412.