

巨虎,肖宗宇,张广华,等. *SOX6* 基因对 H_2O_2 诱导的星形胶质细胞损伤的机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(1): 88-93.
Ju H, Xiao ZY, Zhang GH, et al. Mechanism of action of *SOX6* gene on astrocyte injury induced by H_2O_2 [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(1): 88-93.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2020.01.014

SOX6 基因对 H_2O_2 诱导的星形胶质细胞损伤的机制

巨虎*,肖宗宇,张广华,许常林

(青海大学附属医院神经外科,西宁 810000)

【摘要】 目的 探讨干扰 *SOX6* 基因表达对 H_2O_2 诱导的星形胶质细胞 (AS) 凋亡、线粒体膜电位及 PI3K/AKT 信号通路影响。**方法** 从乳大鼠大脑皮质分离培养 AS 细胞,将细胞分为阴性对照组 (NC 组):AS 转染无干扰作用的 siRNA; H_2O_2 组:20 $\mu\text{mol/L}$ 的 H_2O_2 处理 AS 细胞 24 h; H_2O_2 +NC 组:无干扰作用的 siRNA 转染 AS 细胞 24 h 后,20 $\mu\text{mol/L}$ 的 H_2O_2 处理细胞 24 h; H_2O_2 +si-*SOX6* 组:*SOX6* 特异性 siRNA 转染 AS 细胞 24 h 后,20 $\mu\text{mol/L}$ 的 H_2O_2 处理细胞 24 h。通过 LDH 试剂盒、流式细胞术及 JC-1 探针分别检测细胞毒性、凋亡率及线粒体膜电位;Western blotting 检测 *SOX6*、Cyt.C、caspase3、caspase9、Bcl-2、Bax 和 p-AKT 蛋白表达。**结果** H_2O_2 可明显上调 AS 细胞 *SOX6*、Cyt.C、caspase3、caspase9 和 Bax 表达,下调 Bcl-2 和 p-AKT 表达,提高细胞毒性,诱导细胞凋亡,而干扰 *SOX6* 基因表达可明显减弱 H_2O_2 对细胞 *SOX6*、Cyt.C、caspase3、caspase9、Bcl-2、Bax 和 p-AKT 表达及细胞毒性和凋亡影响。**结论** 干扰 *SOX6* 基因表达可通过抗凋亡途径保护 H_2O_2 诱导的 AS 损伤,此保护作用与线粒体通路及 PI3K/AKT 信号通路激活有关。

【关键词】 星形胶质细胞;*SOX6* 基因; H_2O_2 诱导;凋亡;线粒体膜电位;大鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 01-0088-06

Mechanism of action of *SOX6* gene on astrocyte injury induced by H_2O_2

JU Hu*, XIAO Zongyu, ZHANG Guanghua, XU Changlin

(Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining 810000, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effects of *SOX6* gene interference on apoptosis, mitochondrial membrane potential, and the PI3K/AKT signaling pathway of astrocytes (AS) induced by H_2O_2 . **Methods** AS cells were isolated from the cerebral cortex of neonatal rats and divided into the following groups: negative control group (NC group): AS transfected with siRNA without interference; H_2O_2 group: AS cells treated with 20 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 for 24 h; H_2O_2 +NC group: non-interfering siRNA transfected into AS cells for 24 h, then treatment of cells with 20 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 for 24 h; and H_2O_2 +si-*SOX6* group: *SOX6*-specific siRNA transfected into AS cells for 24 h, followed by treatment of the cells with 20 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 for 24 h. The cytotoxicity, apoptosis rate, and mitochondrial membrane potential were determined by LDH kit, flow cytometry, and JC-1 probe. The expression of *SOX6*, Cyt.C, caspase 3, caspase9, Bcl-2, Bax, and p-AKT protein was determined by Western blotting. **Results** H_2O_2 significantly upregulated the expression of *SOX6*, Cyt.C, caspase3, caspase9, and Bax; downregulated the expression of Bcl-2 and p-AKT; increased cytotoxicity; and induced apoptosis. Interfering with *SOX6* gene expression significantly reduced the effects of H_2O_2 on *SOX6*, Cyt.C, caspase3, caspase9, Bcl-2, Bax, and p-AKT expression, cytotoxicity, and apoptosis. **Conclusions** Interference with *SOX6* gene expression can protect against AS injury induced by H_2O_2 through the anti-apoptotic pathway, which is related to the mitochondrial pathway and PI3K/AKT signaling activation.

[作者简介]巨虎(1986—),男,主治医师,本科,研究方向:脑外伤及脑肿瘤。E-mail: geassfancy@163.com

[Keywords] astrocyte; *SOX6* gene; H_2O_2 induction; apoptosis; mitochondrial membrane potential; rat

星形胶质细胞 (Astrocyte, AS) 是神经系统中数目众多的细胞之一,具有复杂多样的生物学特性,帕金森综合征、阿尔茨海默症等多种中枢神经系统疾病均与 AS 细胞活化及功能异常有关^[1-2]。过氧化氢 (H_2O_2) 是体内的主要活性氧簇 (ROS),有研究证实, H_2O_2 可诱导 AS 细胞凋亡,而降低 H_2O_2 诱导的氧化应激可减少 AS 凋亡^[3-4]。目前已有大量研究使用 H_2O_2 建立 AS 细胞的氧化损伤模型^[5]。*SOX6* 是 *SOX* 基因家族 D 亚家族成员之一,参与了早期胚胎发育及器官形成过程,是软骨、肌肉、中枢神经系统发育过程中一个重要的调控因子^[6]。有研究显示,向大鼠侧脑室注射 miR-219 激动剂可抑制少突胶质细胞中 *SOX6* 的表达,促进细胞成熟,从而改善由脂多糖导致的全身炎症所引起的新生鼠少突胶质细胞成熟障碍^[7]; miR-499 过表达可通过直接靶向 *SOX6* 抑制抗缺氧诱导的 PC12 细胞损伤,促进细胞增殖,降低 LDH 漏出量,抑制细胞凋亡^[8]。以上研究提示 *SOX6* 基因在中枢神经系统损伤中有重要作用。但 *SOX6* 对 H_2O_2 诱导的 AS 细胞损伤影响及机制尚未明确。因此,本研究通过 RNA 干扰技术沉默 AS 细胞 *SOX6* 表达,旨在探讨 *SOX6* 表达抑制对 AS 细胞凋亡的影响及机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

8 周龄的 SPF 级雄性 SD 大鼠 2 只,体重 (200 ± 20) g,购自上海市公共卫生临床中心 [SCXK (沪) 2015-0002], [SYXK (青) 2016-0001]。实验过程中严格遵守 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

DMEM 培养基 (货号: 12800-082)、FBS (货号: 100099141) 均购自美国 Gibco 公司; BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (货号: P0012) 购自上海碧云天生物技术有限公司; LDH 试剂盒 (货号: MAK066) 购自美国 Sigma 公司; Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒 (货号: KGA108-1) 购自江苏凯基生物科技股份有限公司; JC-1 探针 (货号: T3168) 购自美国 Molecular Probes; *SOX6* 抗体 (货号: ab64946) 购自英国 Abcam; Cyt. C (货号: 12963)、caspase3 (货号: 9662)、caspase9 (货号: 9502)、Bcl-2 (货号: 3498)、Bax (货号: 2772) 和 p-AKT 抗体 (货号: 4060) 均购自

美国 CST; Multiskan™ FC 酶标仪购自美国 Thermo; FACSCalibur 流式细胞仪购自美国 BD。

1.3 实验方法

1.3.1 大鼠 AS 取材及培养

参照 McCarthy 等^[9] 方法加以调整,建立 AS 体外纯化培养体系。无菌条件下取大鼠大脑, D-Hanks 缓冲液漂洗,眼科剪剥离血管和脑膜,剪碎大脑皮质,用胰酶进行细胞消化,然后加入 DMEM 完全培养基,离心,弃掉上清,用含 15% FBS 的完全培养基重悬细胞,以 200 目筛网过滤,接种细胞于培养瓶中,在 37℃、5% CO_2 培养箱孵育 1 h,取出未贴壁的细胞悬液,以 1.0×10^6 /mL 浓度接种于培养皿内,于培养箱内继续培养,2~3 d 更换一次培养液,8~9 d 细胞融合度达 90% 时,37℃ 震荡以去除小胶质细胞和少突胶质细胞, PBS 液洗涤,换液,继续培养 1 d 后,胰酶消化传代。取第 3 代细胞进行实验。

1.3.2 实验分组及处理

本实验共分为 4 组,即阴性对照组 (NC 组): AS 转染无干扰作用的 siRNA; H_2O_2 组: 20 μ mol/L 的 H_2O_2 处理 AS 细胞 24 h; H_2O_2 + NC 组: 无干扰作用的 siRNA 转染 AS 细胞 24 h 后, 20 μ mol/L 的 H_2O_2 处理细胞 24 h; H_2O_2 + si-*SOX6* 组: *SOX6* 特异性 siRNA 转染 AS 细胞 24 h 后, 20 μ mol/L 的 H_2O_2 处理细胞 24 h。其中 siRNA 转染参照 Lipofectamine™ 2000 转染说明 (美国 Invitrogen), 转染前 1 d, 以 2×10^5 个/孔接种第 3 代 AS 细胞于 6 孔板,于培养箱内常规培养,转染时细胞达 60%~70% 融合度,分别制备 NC 及 si-*SOX6* 与 Lipofectamine™ 2000 复合物,将复合物加入 6 孔板相应孔内,于培养箱内常规孵育 6 h,弃上清培养液,加入 DMEM 完全培养基,培养 48 h。

1.3.3 Western blotting

加入适量的 RIPA 裂解液提取总蛋白, BCA 法检测蛋白浓度,蛋白与适量 $5 \times$ 上样缓冲液混匀, 100℃, 5 min, 煮沸变性。上样,每孔道 40 μ g,经 SDS-PAGE 分离蛋白,转 PVDF 膜,室温摇床封闭 1 h,将膜加入已稀释的一抗中 (1:1000), 4℃ 孵育过夜,洗膜 3 次,加稀释好的 HRP 标记的羊抗鼠二抗 (1:3000),室温摇床轻微摇动孵育 1 h,洗膜,显影。Quantity One 软件目的蛋白相对表达量。实验重复 3 次。

1.3.4 LDH 试剂盒检测细胞毒性

收集按照 1.3.2 处理的各组细胞上清液,根据 LDH 试剂盒说明配制试剂盒并加样,在 37℃ 反应 30 min,酶标仪测定 492 nm 各孔吸光度值。

1.3.5 流式细胞术分析细胞凋亡率

根据试剂盒说明书进行操作检测细胞凋亡率。收集按照 1.3 处理的各组细胞,PBS 洗涤细胞,1×Annexin-binding buffer 200 μL 重悬细胞,分别加 Annexin V-FITC 和 PI 各 5 μL,避光室温反应 15 min,再加入 1×Annexin-binding buffer 400 μL,流式细胞仪上机检测(1 h 内)。实验重复 3 次。

1.3.6 线粒体膜电位检测

收集按照 1.3 处理的各组细胞,PBS 洗涤细胞,加入 10 μg/mL 的 JC-1,在 37℃ 孵箱中孵育 30 min,弃去细胞液体,PBS 洗涤细胞,以洗净 JC-1 残余,通过激光共聚焦显微镜观察荧光情况。实验重复 3 次。

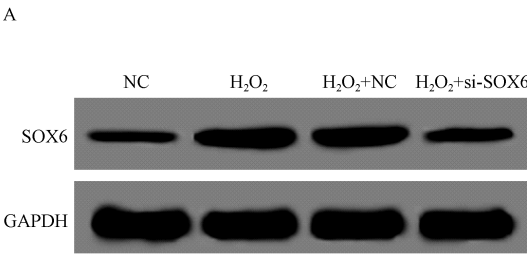
1.4 统计学方法

计量数据均用平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 21.0 软件进行数据分析,两组数据采用独立样本 *t* 检验,多组间数据比较采用单因素方差分析,两两比较采 SNK-*q* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 干扰 SOX6 表达效果

通过 Western blotting 检测 SOX6 特异性 siRNA 转染 AS 细胞效果,结果如图 1 所示,H₂O₂ 可明显上调 AS 细胞 SOX6 蛋白表达,而细胞转染 si-SOX6 后 SOX6 表达明显降低(*P*<0.05)。



2.2 干扰 SOX6 对 H₂O₂ 诱导的 AS 细胞毒性影响

如图 2 所示,H₂O₂ 处理 AS 细胞后,细胞毒性明显升高,而转染 si-SOX6 后细胞毒性明显降低(*P*<0.05)。

2.3 干扰 SOX6 可抑制 H₂O₂ 诱导的 AS 细胞凋亡

流式细胞术结果如图 3 所示,H₂O₂ 可明显促进 AS 细胞凋亡,而细胞转染 si-SOX6 可明显减弱 H₂O₂ 对细胞凋亡诱导作用(*P*<0.05)。

2.4 干扰 SOX6 可提高 H₂O₂ 诱导的 AS 细胞线粒体膜电位

运用 JC-1 探针,采用激光共聚焦检测细胞内线粒体膜电位变化,结果如图 4 所示,H₂O₂ 可明显降低 AS 细胞膜电位,干扰 SOX6 后细胞膜电位明显升高(*P*<0.05)。

2.5 干扰 SOX6 可抑制 H₂O₂ 诱导的 AS 细胞线粒体凋亡

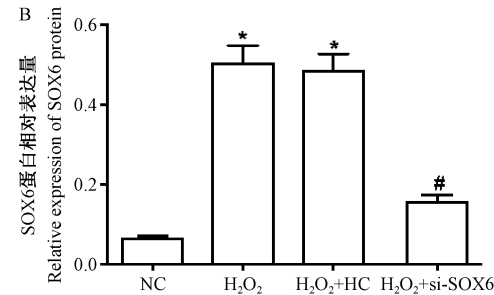
如图 5 所示,H₂O₂ 可明显上调 Cyt.C、caspase3 和 Bax 表达,下调 Bcl-2 表达,而干扰 SOX6 表达可减弱 H₂O₂ 对 Cyt.C、caspase3、caspase9 和 Bcl-2 表达下调及 Bax 表达上调作用(*P*<0.05)。

2.6 干扰 SOX6 对 H₂O₂ 诱导的 AS 细胞 PI3K/AKT 信号通路的影响

如图 6 所示,H₂O₂ 可明显下调 p-AKT 表达,而干扰 SOX6 表达后 p-AKT 表达明显升高(*P*<0.05)。

3 讨论

AS 细胞广泛分布于中枢神经系统各个区域,与多种神经系统疾病发生发展有关。目前认为这些神经系统疾病发病机制与氧化应激存在密切关系^[10]。AS 细胞是一类易受损敏感



注:A;Western blotting 检测各组细胞 SOX6 蛋白表达;B;各组细胞 SOX6 蛋白相对表达量。与 NC 组比较,**P*<0.05;与 H₂O₂+NC 组比较,#*P*<0.05。

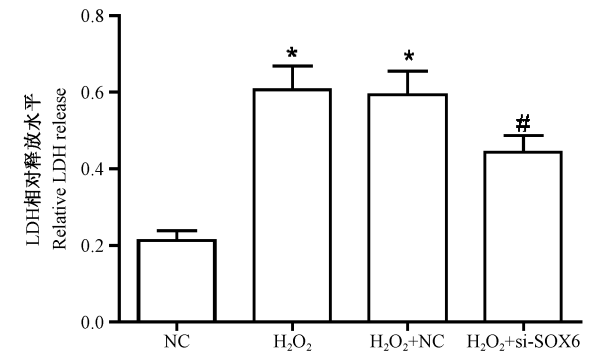
图 1 SOX6 特异性 siRNA 转染 AS 细胞效果(*n*=3)

Note. A, Western blotting was applied to measure the expression levels of SOX6 protein in cells of each group. B, Relative expression of SOX6 protein in cells of each group. Compared with the NC group, **P*<0.05. Compared with the H₂O₂+NC group, #*P*<0.05.

Figure 1 Effects of SOX6-specific siRNA transfection on AS cells

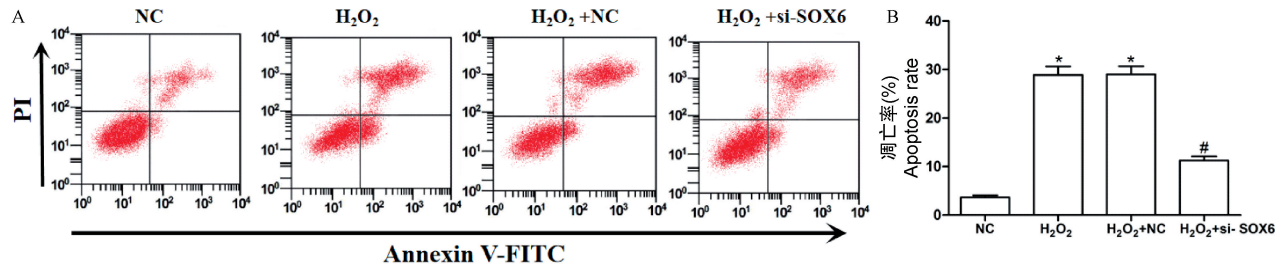
伤后可阻碍其保护功能,从而成为神经损伤发展过程中的促进因子^[11]。因此,保护 AS 细胞免受氧化应激损伤,对于中枢神经系统疾病损伤保护具有重要意义。

SOX6 是 *SOX* 基因家族 D 亚家族成员之一,是一个关键的器官发展及细胞分化调节器,参与神经分化和神经发育过程^[12]。*SOX6* 对 AS 细胞生长影响及机制尚未明确。已有研究表明,过表达 *miR-499* 可通过靶向 *SOX6* 抑制抗缺氧诱导的 PC12 细胞损伤,促进细胞增殖,抑制 LDH 漏出,并抑制细胞凋亡^[8]。鉴于此,本研究通过 RNA 干扰技术沉默 AS 细胞 *SOX6* 表达,研究抑制 *SOX6* 表达对 H_2O_2 诱导的 AS 细胞凋亡的影响。结果显示, H_2O_2 可明显上调 AS 细胞表达,而干扰 *SOX6* 表达后细胞 *SOX6* 表达明显降低。说明成功建立了抑制 *SOX6* 表达的



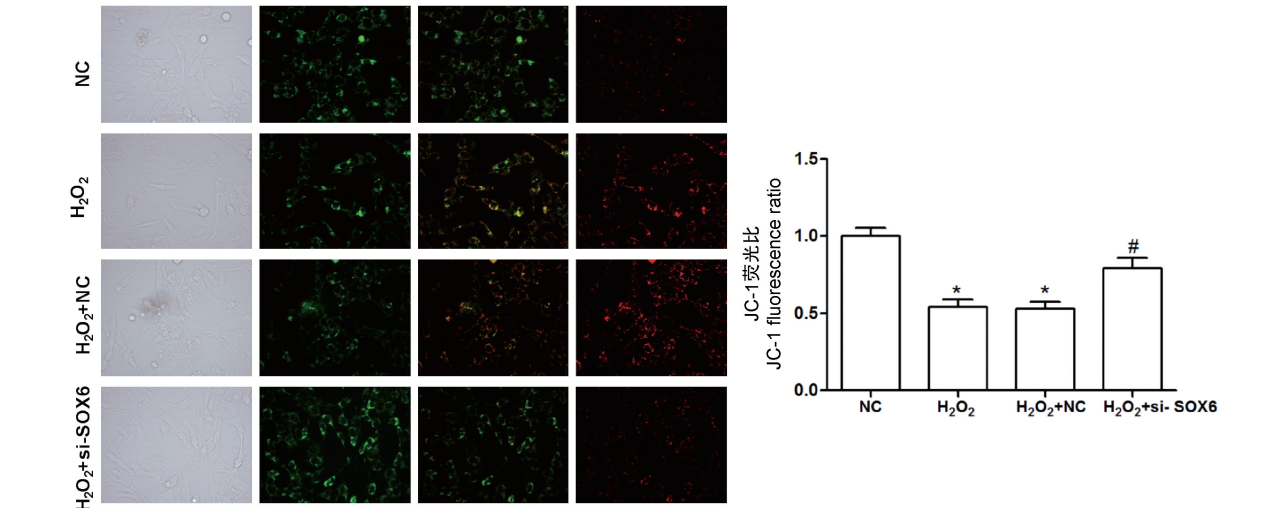
注:与 NC 组比较, * $P<0.05$;与 H_2O_2 +NC 组比较, # $P<0.05$ 。
图 2 干扰 *SOX6* 对 H_2O_2 诱导的 AS 细胞毒性影响($n=3$)
Note. Compared with the NC group, * $P<0.05$. Compared with the H_2O_2 +NC group, # $P<0.05$.

Figure 2 Effects of *SOX6* interference on toxicity of AS cells induced by H_2O_2



注:A:细胞凋亡图;B:各组细胞凋亡率。与 NC 组比较, * $P<0.05$;与 H_2O_2 +NC 组比较, # $P<0.05$ 。
图 3 干扰 *SOX6* 对 H_2O_2 诱导的 AS 细胞凋亡影响($n=3$)
Note. A, Apoptosis map. B, Apoptosis rate in each group. Compared with the NC group, * $P<0.05$. Compared with the H_2O_2 +NC group, # $P<0.05$.

Figure 3 Effects of *SOX6* interference on apoptosis of AS cells induced by H_2O_2



注:与 NC 组比较, * $P<0.05$;与 H_2O_2 +NC 组比较, # $P<0.05$ 。
图 4 干扰 *SOX6* 对 H_2O_2 诱导的 AS 细胞膜电位的影响($n=3$)
Note. Compared with the NC group, * $P<0.05$. Compared with the H_2O_2 +NC group, # $P<0.05$.

Figure 4 Effects of *SOX6* interference on membrane potential of AS cells induced by H_2O_2

AS 细胞,进一步研究发现,抑制 *SOX6* 表达可明显降低 H_2O_2 对 AS 细胞的凋亡促进作用,提示抑制 *SOX6* 表达可降低 AS 细胞损伤。

研究表明,细胞中线粒体膜电位降低,可促进细胞色素 C (Cyt.C) 释放至胞浆,最终激活 caspase 家族酶 caspase3,从而引发细胞凋亡^[13-15]。在细胞中,Bcl-2 和 Bax 分别通过调控下游基因发挥抗凋亡作用和促凋亡作用,Bcl-2 可通过阻碍线粒体破坏、Cyt.C 释放及 caspase 家族激活,从而抵抗神经细胞凋亡^[16-17]。有研究表明, H_2O_2 刺激可明显降低 AS 细胞线粒体膜电位^[18]。本研究结果显示,干扰 *SOX6* 表达可明显提高线粒体膜电位,下调 Cyt.C、

caspase3 和 Bax 表达,上调 Bcl-2 表达,提示干扰 *SOX6* 表达可通过线粒体通路抑制细胞凋亡,对 AS 细胞损伤起保护作用。

PI3K/AKT 信号通路通过多种途径调控神经细胞凋亡等过程,对神经细胞存活至关重要。有研究证实,PI3K/AKT 信号通路参与帕金森氏病、阿尔茨海默症等动物模型的发病过程^[19-20]。也有多项研究表明,激活 PI3K/AKT 信号通路对神经损伤有保护作用^[21-22]。AKT 是 PI3K/AKT 信号通路的中心环节,AKT 活化后可通过调节下游相关基因表达而影响细胞生物学过程。有研究表明,氧化应激可明显抑制 AS 细胞 PI3K/AKT 信号通路^[23-24]。本研究

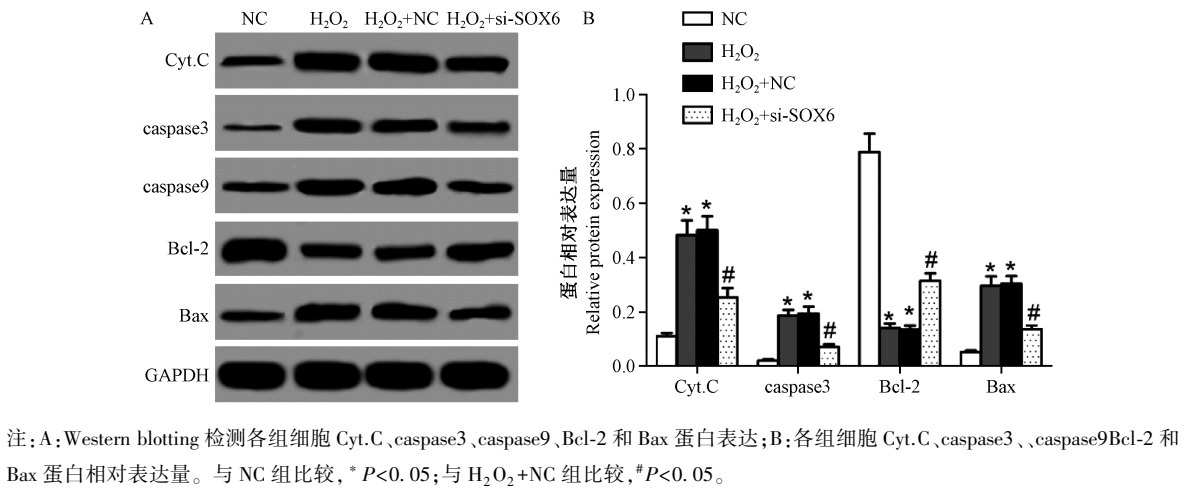


图 5 干扰 *SOX6* 对 H_2O_2 诱导的 AS 细胞线粒体凋亡相关蛋白表达影响 ($n = 3$)

Note. A, Western blotting was carried out to determine the expression of Cyt.C, caspase3, caspase9, Bcl-2, and Bax protein in cells of each group. B, Relative expression of Cyt.C, caspase3, caspase9, Bcl-2, and Bax protein in cells of each group. Compared with the NC group, * $P < 0.05$. Compared with the H_2O_2 +NC group, # $P < 0.05$.

Figure 5 Effect of *SOX6* interference on the expression of mitochondrial apoptosis pathway-related proteins in AS cells induced by H_2O_2

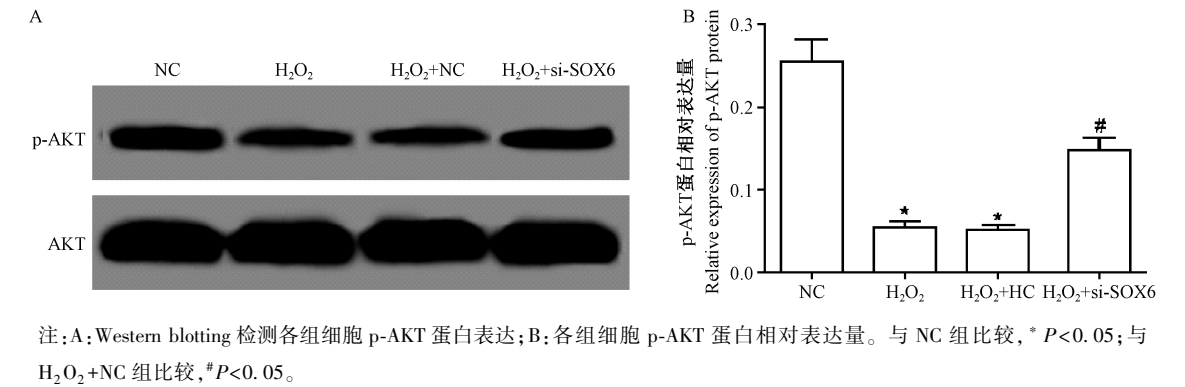


图 6 干扰 *SOX6* 对 H_2O_2 诱导的 AS 细胞 PI3K/AKT 信号通路的影响 ($n = 3$)

Note. A, Western blotting was applied to determine the expression of p-AKT protein in cells of each group. B, Relative expression of p-AKT protein in cells of each group. Compared with the NC group, * $P < 0.05$. Compared with the H_2O_2 +NC group, # $P < 0.05$.

Figure 6 Effect of *SOX6* interference on PI3K/AKT signaling pathway in AS cells induced by H_2O_2

结果显示,干扰 *SOX6* 表达可明显上调 H_2O_2 诱导的 AS 细胞中 p-AKT 表达。提示干扰 *SOX6* 表达对 H_2O_2 诱导 AS 细胞凋亡的影响与激活 PI3K/AKT 信号通路有关。

综上所述,本研究发现,在 AS 细胞中干扰 *SOX6* 基因表达可通过抗凋亡途径保护 H_2O_2 诱导的 AS 损伤,此保护作用与线粒体通路及 PI3K/AKT 信号通路激活有关。提示 *SOX6* 在神经系统损伤中的重要作用,值得进一步深入探究。

参考文献:

- [1] Xia L, Guo D, Chen B. Neuroprotective effects of astragaloside IV on Parkinson disease models of mice and primary astrocytes [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(6): 5569-5575.
- [2] Jay TR, Hirsch AM, Broihier ML, et al. Disease progression-dependent effects of TREM2 deficiency in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *J Neurosci*, 2017, 37(3): 637-647.
- [3] Douiri S, Bahdoudi S, Hamdi Y, et al. Involvement of endogenous antioxidant systems in the protective activity of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide against hydrogen peroxide-induced oxidative damages in cultured rat astrocytes [J]. *J Neurochem*, 2016, 137(6): 913-930.
- [4] Amri F, Ghouili I, Amri M, et al. Neuroglobin protects astroglial cells from hydrogen peroxide-induced oxidative stress and apoptotic cell death [J]. *J Neurochem*, 2017, 140(1): 151-169.
- [5] Jeong YH, Park JS, Kim DH, et al. Lonchocarpine increases Nrf2/ARE-mediated antioxidant enzyme expression by modulating AMPK and MAPK signaling in brain astrocytes [J]. *Biomol Ther (Seoul)*, 2016, 24(6): 581-588.
- [6] Jia Z, Wang J, Shi Q, et al. *SOX6* and *PDCD4* enhance cardiomyocyte apoptosis through LPS-induced miR-499 inhibition [J]. *Apoptosis*, 2016, 21(2): 174-183.
- [7] 廖芸茜, 张攀, 谭宇亭, 等. 侧脑室注射 miR-219 激动剂对脂多糖所致新生大鼠少突胶质细胞成熟障碍的影响 [J]. *第三军医大学学报*, 2018, 40(8): 693-698.
- [8] 孙小琴, 任玲, 孙阳阳, 等. microRNA-499 通过靶向调节 *SOX6* 抵抗缺氧诱导的神经细胞损伤 [J]. *神经解剖学杂志*, 2018, 34(1): 53-59.
- [9] McCarthy KD, de Vellis J. Preparation of separate astroglial and oligodendroglial cell cultures from rat cerebral tissue [J]. *J Cell Biol*, 1980, 85(3): 890-902.
- [10] Thorne N, Malik N, Shah S, et al. High-throughput phenotypic screening of human astrocytes to identify compounds that protect against oxidative stress [J]. *Stem cells Transl Med*, 2016, 5(5): 613-627.
- [11] García-Krauss A, Ferrada L, Astuya A, et al. Dehydroascorbic acid promotes cell death in neurons under oxidative stress: a protective role for astrocytes [J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(9): 5847-5863.
- [12] Baroti T, Zimmermann Y, Schillinger A, et al. Transcription factors Sox5 and Sox6 exert direct and indirect influences on oligodendroglial migration in spinal cord and forebrain [J]. *Glia*,

2016, 64(1): 122-138.

- [13] Chen P, Zhang JY, Sha BB, et al. Luteolin inhibits cell proliferation and induces cell apoptosis via down-regulation of mitochondrial membrane potential in esophageal carcinoma cells EC1 and KYSE450 [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(16): 27471-27480.
- [14] Kong GM, Tao WH, Diao YL, et al. Melittin induces human gastric cancer cell apoptosis via activation of mitochondrial pathway [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(11): 3186-3195.
- [15] 魏强, 程洁, 胡玉敬, 等. 甘草酸对癫痫大鼠海马神经元损伤的保护作用及其机制 [J]. *中国比较医学杂志*, 2018, 28(6): 53-58.
- [16] Wang Q, Zhang L, Yuan X, et al. The relationship between the Bcl-2/Bax proteins and the mitochondria-mediated apoptosis pathway in the differentiation of adipose-derived stromal cells into neurons [J]. *PloS one*, 2016, 11(10): e0163327.
- [17] Pan X, Yan D, Wang D, et al. Mitochondrion-mediated apoptosis induced by acrylamide is regulated by a balance between Nrf2 antioxidant and MAPK signaling pathways in PC12 cells [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(6): 4781-4794.
- [18] Zhou Y, Zhou Y, Yu S, et al. Sulfiredoxin-1 exerts anti-apoptotic and neuroprotective effects against oxidative stress-induced injury in rat cortical astrocytes following exposure to oxygen-glucose deprivation and hydrogen peroxide [J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36(1): 43-52.
- [19] Shao S, Wang GL, Raymond C, et al. Activation of Sonic hedgehog signal by Purmorphamine, in a mouse model of Parkinson's disease, protects dopaminergic neurons and attenuates inflammatory response by mediating PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(2): 1269-1277.
- [20] Guillot F, Kemppainen S, Lavasseur G, et al. Brain-specific basal and novelty-induced alternations in PI3K-Akt and MAPK/ERK signaling in a middle-aged AβPP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease [J]. *J Alzheimer's Dis*, 2016, 51(4): 1157-1173.
- [21] 李建立, 庞鑫鑫, 郭洪霞, 等. 17β-雌二醇通过 PI3K-Akt 信号通路抑制丙泊酚诱导皮层神经元凋亡 [J]. *中国病理生理杂志*, 2016, 32(1): 58-63.
- [22] Chamcheu JC, Adhami VM, Esnault S, et al. Dual inhibition of PI3K/AKT and mTOR by the dietary antioxidant, delphinidin, ameliorates psoriatic features *in vitro* and in an imiquimod-induced psoriasis-like disease in mice [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2017, 26(2): 49-69.
- [23] Jiang JH, Ge G, Gao K, et al. Calcium signaling involvement in cadmium-induced astrocyte cytotoxicity and cell death through activation of MAPK and PI3K/Akt signaling pathways [J]. *Neurochem Res*, 2015, 40(9): 1929-1944.
- [24] D'Antoni S, Ranno E, Spatuzza M, et al. Endothelin-1 induces degeneration of cultured motor neurons through a mechanism mediated by nitric oxide and PI3K/Akt pathway [J]. *Neurotox Res*, 2017, 32(1): 58-70.