

杨鑫勇,王凯华,刘丹宁.小鼠脑缺血再灌注损伤与线粒体自噬的关系研究[J].中国比较医学杂志,2023,33(2):48-55.
Yang XY, Wang KK, Liu DN. Relationship between cerebral ischemia-reperfusion injury and mitochondrial autophagy in mice [J].
Chin J Comp Med, 2023, 33(2): 48-55.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.02.007

小鼠脑缺血再灌注损伤与线粒体自噬的关系研究

杨鑫勇^{1,2},王凯华^{2*},刘丹宁^{1,2}

(1.广西中医药大学研究生院,南宁 530000;2.广西中医药大学附属广西国际壮医医院,南宁 530000)

【摘要】 目的 观测脑缺血再灌注后神经细胞的线粒体自噬水平,探索小鼠脑缺血再灌注损伤与线粒体自噬的关系。**方法** 将 70 只 C57BL/6J 小鼠随机分为空白组及假手术、缺血再灌注组,记录每日体重及 Zea Longa 评分,到达 1、3、7 d 时点后进行 TTC 检测、HE 染色、TUNEL 染色、透射电镜、Western blot 以及 qPCR 检测。**结果** 造模后 Zea Longa 评分持续下降,脑梗死面积比例、脑缺血病理改变、神经细胞凋亡比例均在第 3 天时加重,在第 7 天时减轻。3 个时点电镜下均观测到线粒体结构改变以及自噬溶酶体的存在。P62 的蛋白表达持续下降 ($P<0.05$), LC3 II/LC3 I 持续上升 ($P<0.05$), Caspase3 和 CytC 蛋白表达升高 ($P<0.05$), 各因子的 mRNA 表达均升高 ($P<0.05$)。**结论** 缺血再灌注后线粒体自噬被持续激活,但直至第 3 天以后,再灌注损伤才得到相应缓解。

【关键词】 小鼠;缺血再灌注;线粒体自噬

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 02-0048-08

Relationship between cerebral ischemia-reperfusion injury and mitochondrial autophagy in mice

YANG Xinyong^{1,2}, WANG Kaihua^{2*}, LIU Danning^{1,2}

(1. Graduate School of Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530000, China.

2. Guangxi International Zhuang Medical Hospital Affiliated to Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530000)

【Abstract】 Objective To examine the level of mitochondrial autophagy in nerve cells after cerebral ischemia-reperfusion and to explore the relationship between cerebral ischemia-reperfusion injury and mitochondrial autophagy in mice. **Methods** Seventy C57BL/6J mice were divided randomly into a blank group, sham operation group, and ischemia-reperfusion group. Body weight and Zea Longa score were recorded daily. After rapid head decapitation, infarcted side brain tissue was taken for detection. 2, 3, 5-triphenyl-tetrazolium chloride detection, hematoxylin and eosin staining, terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling, transmission electron microscopy, Western blot and quantitative polymerase chain reaction detection at the 1st, 3rd, and 7th day. **Results** After modeling, the Zea Longa score decreased continuously, the relative cerebral infarction area increased, and the pathological changes of cerebral ischemia and the proportion of neuronal apoptosis were all aggravated on day 3 and alleviated on day 7. Structural changes in the mitochondria and the presence of autophagy lysosomes were observed by electron microscopy at all three time points.

【基金项目】2020 年广西中医药大学校级重点硕士研究生科研创新项目 (YCSZ202030);广西中医药大学广西一流学科建设开放课题 (2019XK039, 2019XK148);国家自然科学基金项目 (81960801);广西自然科学基金项目 (2018GXNSFAA294114, 2019GXNSFBA245044)。

【作者简介】杨鑫勇 (1995—),男,在读硕士研究生,研究方向:脑血管疾病的中西医结合防治。E-mail:1690506244@qq.com

【通信作者】王凯华 (1980—),男,博士,主任医师,研究方向:脑血管疾病的中西医结合防治。E-mail:Wangkaihua1119@163.com

Protein expression of P62 decreased continuously ($P < 0.05$), the LC3 II/LC3 I ratio increased continuously ($P < 0.05$), expression levels of Caspase3 and cytC protein increased ($P < 0.05$), and mRNA expression levels of all factors increased ($P < 0.05$). **Conclusions** Mitochondrial autophagy was continuously activated after ischemia-reperfusion, but reperfusion injury was not alleviated until 3 days after reperfusion.

【Keywords】 mouse; ischemia-reperfusion; mitochondrial autophagy

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

缺血性脑血管病是最常见的脑血管病,约占全部脑血管疾病的 75%,具有高发病率、高死亡率、高致残率、高复发率等特点^[1]。目前有效治疗方法包括溶栓治疗、血管内治疗等急性治疗措施,但受到时间窗和出血转化风险的限制,且有缺血再灌注损伤的风险。因此,寻找有效的缺血后脑神经细胞治疗靶点对恢复缺血后脑组织神经功能具有十分重要的意义。

线粒体是细胞的能量代谢中心,被称为细胞的“动力工厂”,参与细胞多种生命活动,发挥重要作用^[2]。线粒体自噬是指通过自噬途径清除受损线粒体,或为降低耗氧量选择性的清除部分线粒体,维持线粒体稳态的过程^[3]。在缺血性脑卒中过程中,细胞受缺血缺氧刺激,首先累及的亚细胞器就是线粒体,线粒体发生损伤,可通过诱发线粒体自噬以清除受损的线粒体,降低细胞需氧量,以保护神经细胞,避免神经细胞凋亡。因此,在细胞的缺血缺氧损伤仍然处于可承受的范围时,细胞可通过激活线粒体自噬途径完成细胞的自我修复及及时止损^[4],干预线粒体自噬可能是缺血性脑卒中的一种有效治疗策略^[5]。然而线粒体自噬也是一把双刃剑,在脑神经细胞缺血缺氧时,受损线粒体通过逆向运输到达胞体进行自噬降解,正常的线粒体通过正向运输到达所需部位进行能量代谢,只有当受损线粒体的清除与正常线粒体的分布达到动态平衡时,神经元的功能才能维持,从而对低氧环境产生适应^[6]。适度的线粒体自噬对缺氧的神经细胞具有保护作用,从而减轻脑缺血以及再灌注损伤,但自噬功能不足以将受损线粒体充分清除,或过度激活线粒体自噬将细胞内的线粒体过度清除,使线粒体稳态改变^[7],均会导致细胞的凋亡或坏死更加严重,从而加重脑缺血损伤或缺血再灌注损伤^[8]。

因此,本实验通过构造 C57BL/6J 小鼠大脑中动脉缺血再灌注模型,研究缺血再灌注后梗死侧神经细胞的线粒体自噬变化情况,探索脑缺血再灌注损伤与线粒体自噬的关系,以期能够为脑梗死的治疗提供新的途径。

1 材料和方法

1.1 实验动物

使用 SPF 级同遗传背景雄性 C57BL/6J 小鼠 89 只,6~7 周龄,体重 19.4~21.4 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司[SCXK(湘)2019-0004],所有实验动物均饲养于广西中医药大学科学实验中心 SPF 级动物房[SYXK(桂)2019-0001],饲养条件:同周龄 5 只 1 笼,温度 20~24℃,湿度 40%~70%,自由饮水、进食,有实验人员操作时开启日光灯,其余时间关闭日光灯,于 8:00~17:00 开启动物照明灯光。本实验经本校伦理委员会批准(DW20210410-074),符合 3R 原则。本实验共使用小鼠 89 只,死亡 19 只,实际纳入实验 70 只,死亡对象均为造模组小鼠。

1.2 主要试剂与仪器

兽用青霉素钠购自华北制药厂(190301);戊巴比妥钠购自 Sigma(11715);TTC 染液购自雷根科技(DK0005);Gluta 电镜固定液(P1126)、多聚甲醛组织固定液(P1110)、RIPA 强效裂解液(R0010)、PMSF 蛋白酶抑制剂(P0100)、电泳缓冲液(T1070)、转膜缓冲液(D1060)、TBST 缓冲液(T1082)、脱脂奶粉(D8340)等均购自索莱宝;快速制胶试剂盒(PG213)、三色预染蛋白 Marker(WJ103)、超灵敏化学发光液(SQ101)等均购自雅酶;Caspase3(19677-1-AP)、LC3(14600-1-AP)抗体购自 PTG;CytC(4280S)、 β -actin(3700S)抗体购自 CST;P62(A7758)抗体购自博士德;羊抗兔二抗(31234)购自 Thermo Scientific。

造模用线栓购自广州佳灵(L1800);透射电子显微镜(HT7700,日本 HITACHI 公司);化学发光成像仪(732BR2019,美国 Bio Rad 公司);PCR 仪(2809152,Biometer 公司);超薄切片机(UC7,德国 Leica 公司);超微量紫外分光光度计(58595,美国 Thermo Fisher Scientific 公司);qRT-PCR 仪(05815916001,瑞士 Roche 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 造模及给药方法

采用 Zea Longa^[9] 改良的线栓法对 C57BL/6J 小鼠进行大脑中动脉缺血再灌注的造模。在摇臂显微镜下操作,正中切口,小心暴露左侧颈总动脉(common carotid artery, CCA),沿 CCA 向上继续分离颈外动脉(external carotid artery, ECA)、颈内动脉(internal carotid artery, ICA),术中注意避免触及迷走神经。两次结扎 ECA 后在结扎处中间剪断,使用动脉夹夹闭 CCA 和 ICA,夹持住 ECA 残端,使用 0.5 mL 注射器楔形面紧贴血管,与 ECA 上滑刺一小缺口,将线栓送入缺口处后,稍用力向外(以颈部正中为内)牵拉 ECA 残端,即可避免线栓误入翼腭动脉(ptyergopalatine artery, PPA),松开 ICA 上的血管夹,将线栓缓缓向里推送,至线栓黑色标记处接近分岔处,稍微感受到阻力时,立即停止插入线栓,整理伤口,俯卧位置于恒温垫上。梗死 1 h 后,再次暴露 CCA,取出线栓,拉紧结扎线,确认无出血后缝合伤口。取出线栓极易造成出血,导致实验动物死亡,建议取出线栓后确认无出血再进行缝合操作。

缝合完毕后立即使用碘伏消毒伤口,立即给予生理盐水 0.5 mL 腹腔注射以补充手术过程中的体液流失,而后实验过程中每天碘伏消毒 1 次,并腹腔注射兽用青霉素钠 4 万单位每只,每天早上 10 点灌胃给予 10% 葡萄糖水 0.2 mL/10 g 以维持能量代谢需要。

1.3.2 检测内容

(1) 体重及行为学评分

每日给药前记录各实验对象体重情况,并参考 Zea Longa 评分法^[9] 进行造模后小鼠神经功能缺损情况的评分,3 人分别评分,取其均值作为最终分数。

(2) HE 染色

将左侧(梗死侧)脑组织用 4% 多聚甲醛固定后,按常规方式包埋、切片、脱蜡至水,然后用苏木精和伊红染色,通过光学显微镜观察染色结果。

(3) TTC 染色

心脏灌注冰生理盐水后,迅速断头取脑,去除嗅脑、小脑和低位脑干,置 -20℃ 冰箱中冷冻 20 min,从额极开始,每隔 2 mm 切 1 片。将切片置于 2% TTC (2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride) 染液中,用锡箔纸盖住后,放入 37℃ 温箱 30 min,每隔 10 min 翻面 1 次。染色结束后将切片放置于多聚甲醛

溶液中,固定 24 h 后白光下拍照。使用 Image-pro plus 6.0 计算脑梗死体积百分比。

(4) TUNEL 染色

采用罗氏的 TUNEL (11684817910) 试剂盒对梗死侧脑组织凋亡进行检测。修复后,从 TUNEL 试剂盒内取适量 TdT 和 dUTP 按 2:29 混合,加到组化笔画的圈内覆盖组织,湿盒内 37℃ 孵育 2 h。洗涤后去除 PBS,在圈内滴加 DAPI 染液,切片稍干后用抗荧光淬灭封片剂封片。于尼康倒置荧光显微镜下观察并采集图像。

(5) 透射电镜检测

取下 1 mm³ 小块梗死侧新鲜脑组织后,迅速投入电镜固定液,然后用 1% 的钨酸磷酸盐缓冲液室温固定。脱水、包埋后,使用超薄切片机切制 60~80 nm 超薄切片。铀铅双染色后,置于透射电子显微镜下观察。

(6) 免疫印迹 (Western blot)

提取梗死侧脑组织总蛋白后,使用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度,加入上样缓冲液变性后,每孔加入 30 μg 含量的样品,电泳结束后将蛋白转膜至 PVDF 膜,使用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h,一抗 4℃ 封闭过夜,二抗常温孵育 2 h,以 β-actin 为内参,检测每组样品中 P62、Caspase3、LC3 II/LC3 I、CytC 蛋白表达。

(7) qPCR 检测

使用 Promega 公司的总 RNA 提取试剂盒提取总 RNA 后,根据浓度配制 10 μL 体系变性,使用罗氏的逆转录试剂盒配制 20 μL 逆转录体系,稀释 10 倍后,使用 Promega 公司的 Go Tap qPCR Master Mix 配制上机体系后,在罗氏公司的 LC96 PCR 仪上使用两步法,以 β-actin 为内参检测 P62、Caspase3、BNIP3 的 mRNA 含量。各引物序列如表 1 所示。

1.4 统计学方法

以上实验结果用 SPSS 25.0 统计分析处理。所

表 1 RT-qPCR 检测引物序列
Table 1 RT-qPCR detection primer sequence

引物名称 Name	引物序列(5'→3') Primer sequence
P62	F:GAAGCTCGTATAAGTGCAGTGT R:AGAGAAGCTATCAGAGAGGTGG
Caspase3	F:CTGACTGGAAAGCCGAAACTC R:CGACCCGTCCTTTGAATTCT
BNIP3	F:CTGGGTAGAACTGCACCTTCAG R:GGAGCTACTTCGTCCAGATTCAT
β-actin	F:ATCATTGCTCCTCCTGAGCG R:CAGCTCAGTAACAGTCCGCC

有数据均以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析(One way ANOVA),两两比较采用Dunnett-*t*法或SNK法,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 再灌注后体重及行为学评分变化情况

再灌注造模后小鼠体重先呈持续下降趋势,至第3天时开始上升,直至第7天实验结束时仍未上升至超过禁食前水平,具体如图1A所示。平均Zea Longa评分情况空白组、假手术组均为0分,实验组自造模后即呈现下降趋势,与空白组形成显著差异($P < 0.01$)至第7天时降至1分以下,具体结果如图1B所示。

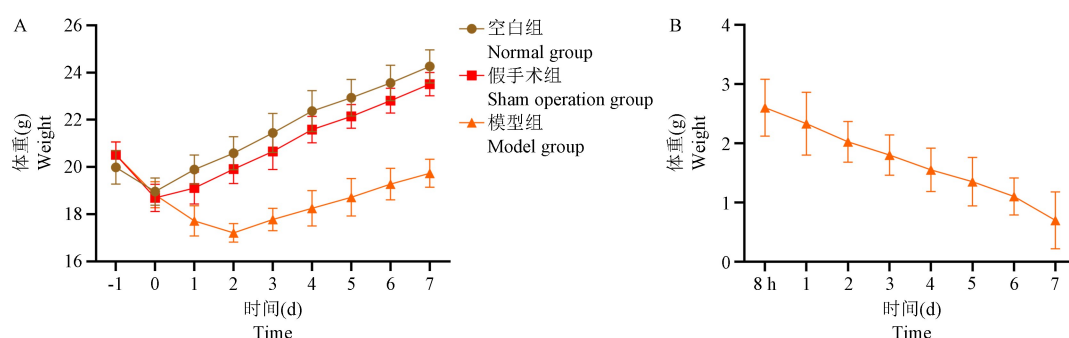
2.2 造模后的脑梗死比例、病理改变及细胞凋亡情况

空白组、假手术组均未观测到脑梗死情况,缺

血再灌注造模组可明显观测到白色的脑梗死区域,使用Image pro plus 进行分析可得梗死面积在第3天时最大,第7天时稍小于第1天。病理切片、TUNEL染色结果显示,造模组在第3天时的脑缺血病理改变情况最为严重,脑组织结构达到重度异常,组织水肿明显,可见较多空泡,神经细胞凋亡比例最高,第7天时情况均较第1天时稍有改善。如图2~图4所示。

2.3 电镜下线粒体超微结构

如图5所示,空白组、假手术组电镜下神经元细胞整体结构尚可,未见明显损伤,未见典型自噬小体及自噬溶酶体的形成。造模组在第1、3、7天时均可观测到线粒体(mitochondria, M)结构改变,自噬溶酶体(autolysosome, ASS)大量存在,表明细胞有内线粒体自噬的存在。第7天时细胞水肿症状及结构改变稍得到缓解。

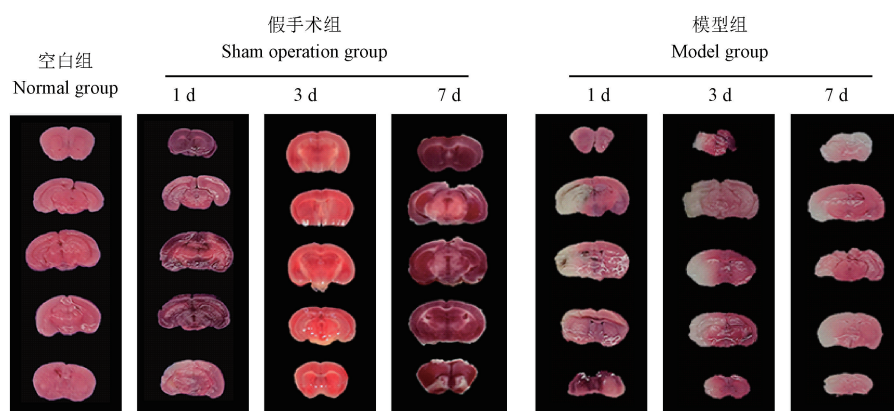


注:A:各组小鼠每日体重变化情况;-1:禁食前体重;0:禁食后体重;B:造模后 Zea Longa 评分变化情况,空白组、假手术组评分均为0。

图1 各组小鼠每日体重和造模后 Zea Longa 评分变化情况

Note. A, Changes of daily body weight of mice in each group. -1, Weight before fasting. 0, Weight after fasting. B, Changes of Zea Longa score after modeling. Scores of the normal group and the sham operation group were 0.

Figure 1 Changes of daily body weight and Zea Longa score after modeling of mice in each group



注:红色:正常脑组织;白色:梗死脑组织。

图2 各组脑梗死 TTC 染色结果

Note. Red, Normal brain tissue. White, Infarcted brain tissue.

Figure 2 TTC staining results of cerebral infarction in each group

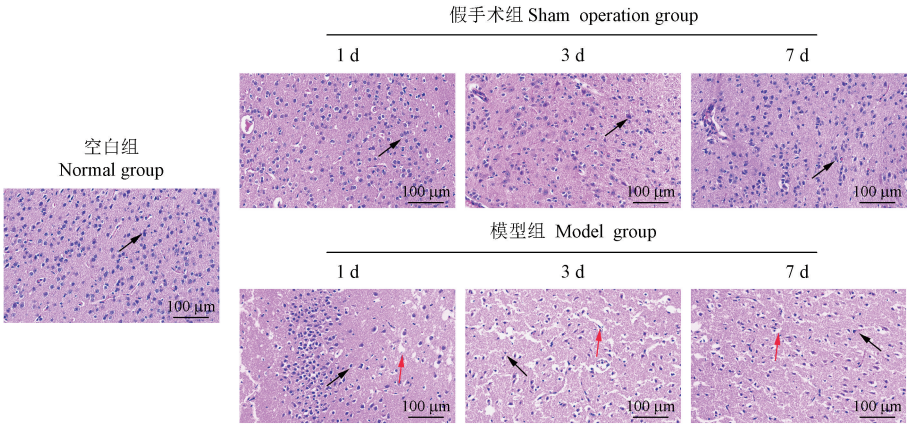
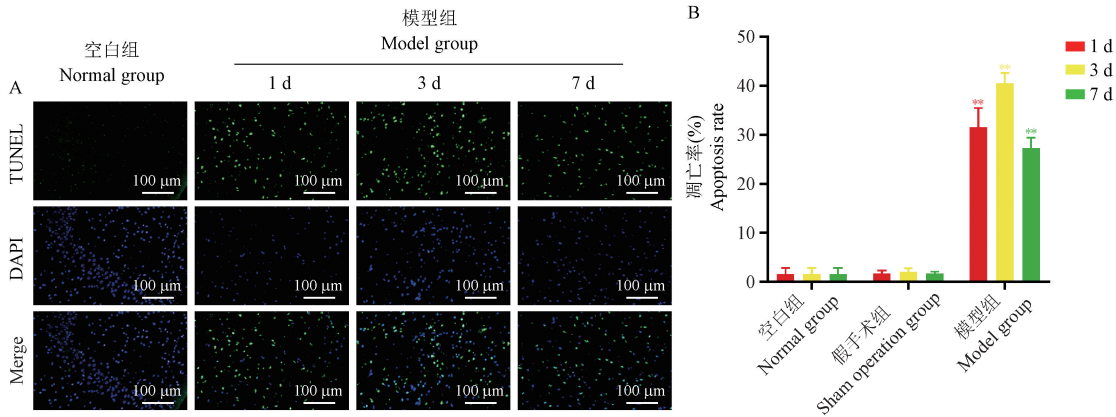


图 3 HE 病理染色结果

Note. Black arrow, Nucleus. Red arrow, Cell edema.

Figure 3 Results of hematoxylin-eosin pathological staining



注:A:TUNEL 染色结果。假手术组与空白组结果一致。B:神经细胞凋亡情况。与空白组比较, ** $P < 0.01$ 。

图 4 TUNEL 染色结果及各时点神经细胞凋亡情况

Note. A, Results of TUNEL staining. Results were consistent in the sham operation group versus the blank group. B, Apoptosis of nerve cells. Compared to the blank group, ** $P < 0.01$.

Figure 4 Results of TUNEL staining and apoptosis of nerve cells at different time points

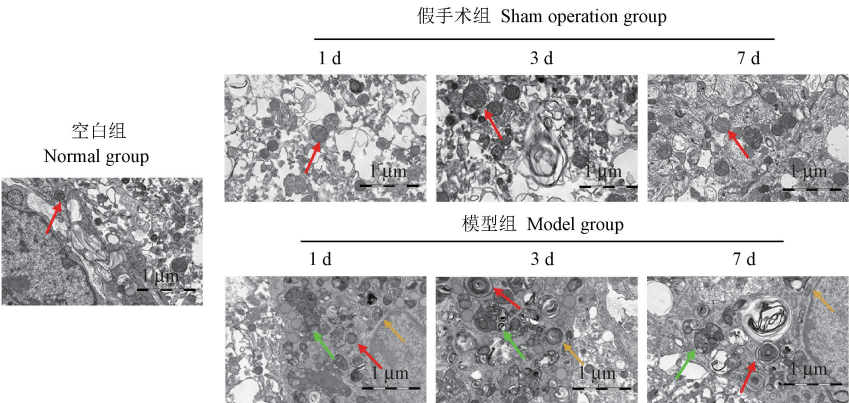


图 5 线粒体电镜超微结构

Note. Red arrow, Normal mitochondria. Yellow arrow, Damaged mitochondria. Green arrow, Autolysosome.

Figure 5 Ultrastructure of mitochondria under electron microscope

2.4 相关因子的蛋白及基因水平表达

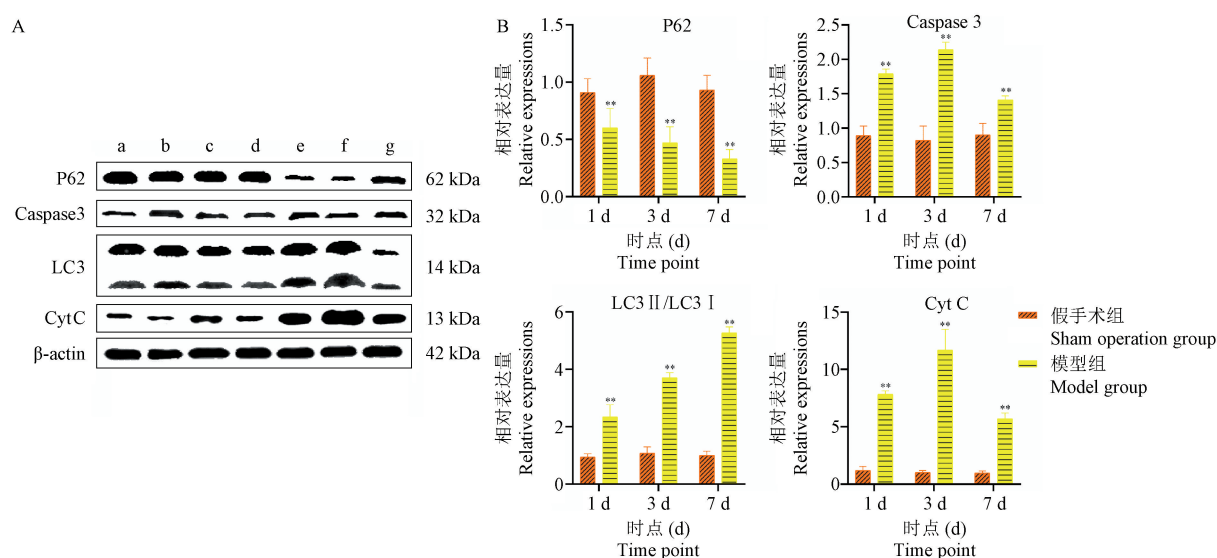
蛋白表达水平上,造模组随时间的推进,P62 蛋白表达明显降低($P<0.05$),LC3 II/LC3 I 水平明显升高($P<0.05$)。Caspase3、胞浆内 CytC 表达水平较空白组均明显升高($P<0.05$),两蛋白均在第 3 天时表达水平最高,第 7 天时表达水平低于第 1 天。基因水平的表达上,P62、BNIP3 的 mRNA 表达水平持续升高,Caspase3 的 mRNA 表达水平与蛋白表达水平一致。具体结果如图 6、图 7 所示。

3 讨论

近年来,越来越多的研究表明线粒体自噬在脑

梗死治疗,特别是保护神经元细胞上发挥了重要作用^[10-12],但线粒体自噬如何参与脑缺血再灌注的疾病过程仍不十分清楚。有研究认为,激活线粒体自噬能够减少缺血性脑损伤^[13],但也有研究发现,线粒体自噬是一种程序性细胞死亡过程,加重了神经损伤^[14]。基于此,我们进行了本实验,以期探索脑缺血再灌注损伤与线粒体自噬之间的联系。

C57BL/6J 小鼠缺血再灌注后,Zea Longa 行为学评分即开始随时间持续下降。但其体重持续下降至第 3 天时才开始转为上升趋势,脑梗死面积比、脑缺血病理改变情况,均在第 3 天时加重,凋亡是脑缺血再灌注损伤中神经细胞死亡的主要形式,第3

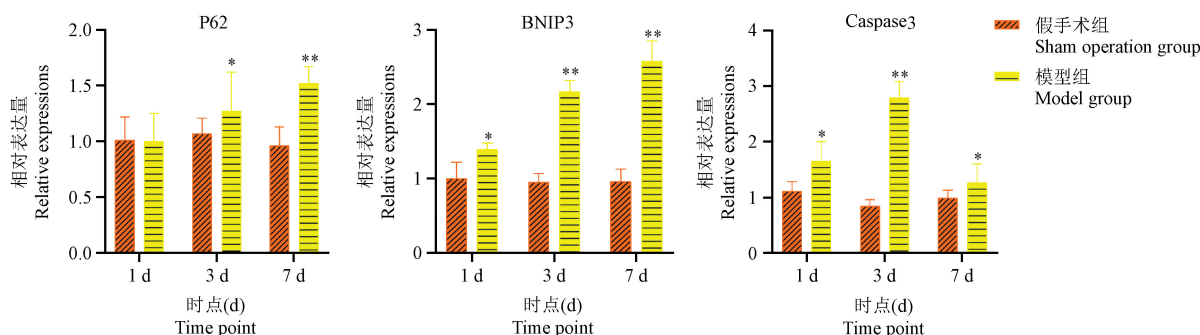


注:A:条带图片。以空白组表达量作为1,a:空白组;b、c、d:假手术第1、3、7天组;e、f、g:模型第1、3、7天组;B:4个蛋白的相对表达情况。与空白组比较,** $P<0.01$ 。

图6 相关蛋白表达情况

Note. A, Strip picture. Set the relative expression of blank group as 1. a, Blank group, b/c/d, Sham operation 1st, 3rd, 7th day group. e/f/g, Model 1st, 3rd, 7th day group. B, Relative expression bar chart of each protein. Compared to the blank group, ** $P<0.01$.

Figure 6 Expression of related proteins



注:以空白组的相对表达量为1。与空白组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

图7 相关基因 mRNA 表达相对情况

Note. Set the relative expression of blank group as 1. Compared to the blank group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

Figure 7 mRNA expression of related genes

天时的神经细胞凋亡比例明显高于第 1、7 天。此现象考虑与脑缺血后 3~5 d 为水肿高峰期的病理过程相符合。

再灌注后 3 个时点均观测到线粒体的结构改变,以及线粒体自噬溶酶体的存在,表明脑缺血再灌注后,线粒体被损伤,线粒体自噬途径被激活以清除受损的线粒体,但图片显示仍存在较多受损线粒体未得到清除。

Caspase3 是细胞凋亡过程中最主要的终末剪切酶,是关键的执行分子^[15]。细胞色素 C (cytochrome C, CytC) 是一种储存在线粒体内的促凋亡蛋白主要^[16],当线粒体损伤时,其从线粒体内部转移至胞质中,通过多种信号通路最终激活 Caspase3,从而诱导细胞的凋亡,引起细胞死亡^[17]。本实验中, Caspase3 的蛋白、mRNA 以及 CytC 的蛋白表达均高于空白组,且均在第 3 天时表达最高,在第 7 天时表达低于第 1 天,从分子生物学层面上验证了再灌注后梗死侧神经细胞在前 3 d 时处于凋亡加重状态,3 d 以后才得以缓解,且这种凋亡的加重与线粒体的受损释放 CytC 至细胞质有关。及时清除受损的线粒体应当能够挽救凋亡的神经细胞。

P62 蛋白 (sequestosome 1) 是一种重要的选择性自噬接头蛋白^[18],经 P62-LC3 途径进入自噬-溶酶体系统被降解,从而清除蛋白聚合物和受损的细胞器^[19]。BCL2 和腺病毒 E1B19KDa 相互作用蛋白 3 (BNIP3) 是一种促凋亡蛋白^[20],仅在脑组织与平滑肌中极低水平表达,当脑组织遭受缺血缺氧刺激时其表达量升高。其定位于线粒体外膜并能引起细胞凋亡,与诱导线粒体自噬关系密切^[21]。本研究中,P62 蛋白表达的持续降低以及 LC3 II/LC3 I 水平的持续升高,BNIP3 mRNA 表达水平的持续升高,提示着再灌注后梗死侧神经细胞的线粒体自噬被持续激活,自噬水平随时间逐步升高。由于 P62 蛋白的降低是因为自噬过程中被降解,而不是表达被抑制,因此其 mRNA 表达的升高进一步说明大量的 P62 被降解掉,线粒体自噬处于被激活状态。

综上所述,C57BL/6J 小鼠脑缺血再灌注后,梗死侧神经细胞线粒体自噬水平随时点持续升高,但梗死面积比例、脑缺血病理改变、细胞凋亡比例等均恶化至第 3 天后才有所缓解,这种恶化考虑由水肿的持续进展以及再灌注引起“瀑布”反应引起,可能线粒体的损伤有关。本课题组认为 3 d 前线粒体自噬的激活程度仍然不足以充分清除受损的线粒

体,以维持细胞内线粒体稳态,从而导致细胞能量代谢障碍,缺血缺氧的负面影响无法消除,致使细胞损伤进一步加重。线粒体自噬持续被激活至第 3 天以后,受损的线粒体得到充分清理,损伤的神经细胞能够存活,坏死的细胞也被吞噬清理,从而使再灌注损伤得到缓解。因此,针对脑缺血再灌注后的治疗,可以考虑进一步促进线粒体自噬以保护神经细胞。

参考文献:

- [1] 刘林娜,田寿春. 急性及进展性脑梗死急诊治疗现状与趋势 [J]. 医学理论与实践, 2020, 33(13): 2096-2097, 2078.
- [2] Pfanner N, Warscheid B, Wiedemann N. Author Correction: Mitochondrial proteins: from biogenesis to functional networks [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2021, 22(5): 367.
- [3] Yang JL, Mukda S, Chen SD. Diverse roles of mitochondria in ischemic stroke [J]. Redox Biol, 2018, 16: 263-275.
- [4] 张润芳,叶青青,冯硕,等. 线粒体自噬保护缺血性脑损伤的作用及相关中药研究现状 [J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(22): 3176-3179.
- [5] Anzell AR, Maizy R, Przyklenk K, et al. Mitochondrial quality control and disease: insights into ischemia-reperfusion injury [J]. Mol Neurobiol, 2018, 55(3): 2547-2564.
- [6] 张泰喆,薛冲,张文斌. 线粒体自噬在脑缺血再灌注损伤中的研究进展 [J]. 神经解剖学杂志, 2021, 37(4): 470-474.
- [7] Bakthavachalam P, Shanmugam PST. Mitochondrial dysfunction-Silent killer in cerebral ischemia [J]. J Neurol Sci, 2017, 375: 417-423.
- [8] De R, Mazumder S, Bandyopadhyay U. Mediators of mitophagy that regulate mitochondrial quality control play crucial role in diverse pathophysiology [J]. Cell Biol Toxicol, 2021, 37(3): 333-366.
- [9] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.
- [10] Pan Q, Liu Y, Wang G, et al. MTMR14 protects against cerebral stroke through suppressing PTEN-regulated autophagy [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 529(4): 1045-1052.
- [11] Wang XS, Yue J, Hu LN, et al. Activation of G protein-coupled receptor 30 protects neurons by regulating autophagy in astrocytes [J]. Glia, 2020, 68(1): 27-43.
- [12] Zhi SM, Fang GX, Xie XM, et al. Melatonin reduces OGD/R-induced neuron injury by regulating redox/inflammation/apoptosis signaling [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(3): 1524-1536.
- [13] Dong F, Yao R, Yu H, et al. Neuroprotection of Ro25-6981 against ischemia/reperfusion-induced brain injury via inhibition of autophagy [J]. Cell Mol Neurobiol, 2017, 37(4): 743-752.

- [14] Liu Y, Xue X, Zhang H, et al. Neuronal-targeted TFEB rescues dysfunction of the autophagy-lysosomal pathway and alleviates ischemic injury in permanent cerebral ischemia [J]. *Autophagy*, 2019, 15(3): 493–509.
- [15] Marques CMS, Pedron T, Batista BL, et al. Cellular prion protein activates Caspase 3 for apoptotic defense mechanism in astrocytes [J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(5): 2149–2158.
- [16] Macchioni L, Petricciolo M, Davidescu M, et al. Palmitate lipotoxicity in enteric glial cells: Lipid remodeling and mitochondrial ROS are responsible for cyt c release outside mitochondria [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2018, 1863(8): 895–908.
- [17] Yu ZJ, Du J, Zhang W, et al. Overexpression of Myocardin-related transcription factor- α attenuated middle cerebral artery occlusion/reperfusion-induced apoptosis via the Mcl-1/Cyt C/cleaved caspase 3 pathway [J]. *J Innov Opt Health Sci*, 2019, 12(6): 1–11.
- [18] Abudu YP, Shrestha BK, Zhang W, et al. SAMM50 acts with p62 in piecemeal basal- and OXPHOS-induced mitophagy of SAM and MICOS components [J]. *J Cell Biol*, 2021, 220(8): e202009092.
- [19] Elbially A. *In vivo* autophagy quantification: measuring LC3 and P62 puncta in 3D image system from zebrafish larvae [J]. *J Cell Biochem*, 2021, 122(10): 1435–1444.
- [20] Thayyullathil F, Cheratta AR, Pallichankandy S, et al. Par-4 regulates autophagic cell death in human cancer cells via upregulating p53 and BNIP₃ [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2020, 1867(7): 118692.
- [21] Gao A, Jiang J, Xie F, et al. Bnip3 in mitophagy: novel insights and potential therapeutic target for diseases of secondary mitochondrial dysfunction [J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 506: 72–83.
- [收稿日期] 2022-04-15

《中国实验动物学报》稿约

国内刊号 CN 11-2986/Q 国际刊号 ISSN 1005-4847 邮局代号 2-748

一、杂志介绍

本刊是由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊),以理论与实践、普及与提高相结合为宗旨,征稿的范围是与实验动物与动物实验相关的生命科学各分支学科,栏目设置包括研究报告、研究快报和进展与综述。要求来稿材料翔实、数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。本刊是中国科学引文数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)统计源期刊、《中国学术期刊文摘》来源期刊;被中国生物学文献数据库、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》等数据库收录。

二、投稿要求及注意事项

文稿内容要具有创新性、科学性和实用性,论点明确,资料可靠,文字通顺精练,标点符号准确,用词规范,图表清晰。文章字数在 6000 字之内。

投稿网址: <http://zgxydw.cnjournals.com/>

期待您的来稿!