doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.09.008

SOD2 在姜黄素减轻氧糖剥夺所致神经元损伤中的作用 *

黄 娟[1] 王育庆[2] 卜 眺[1] 杨瑞瑜[1] 王志刚[3△]

（1 中国人民解放军南部战区总医院麻醉科 广东 广州 510010；2 中国人民解放军南部战区总医院康复科 广东 广州 510010；
3 西安交通大学第一附属医院肾内科 陕西 西安 710061）

摘要 目的：探讨二型超氧化物歧化酶(Mn-SOD，SOD2)是否介导了姜黄素(Curcumin，Cur)对氧糖剥夺模型(Oxygen-Glucose Deprivation，OGD) 损伤神经元的保护作用。**方法：**本研究采用 HT22 神经元细胞暴露于 OGD 环境中 3 h 模拟神经元缺血缺氧损伤，SOD2-siRNA 抑制神经元 SOD2 蛋白表达后，通过噻唑蓝法(Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide，MTT)检测细胞活力，比色法测量培养基乳酸脱氢酶(Lactic Dehydrogenase LDH)水平，流式细胞仪计算细胞凋亡率，Western blot 测定凋亡蛋白 Cleaved Caspase-3 表达，并观察细胞形态和线粒体功能。**结果：**与正常培养的 Control 组相比，OGD 组细胞活力显著降低，LDH 释放明显增加，细胞凋亡率和 Cleaved Caspase-3 表达显著上升，细胞形态破坏并降低线粒体膜电位(MMP)和线粒体复合物 1(Mitochondrial Complex 1 Activity) 的活力 (P<0.05)，100 ng/ml 的 Cur 可显著减轻 OGD 诱导的神经元细胞的上述损伤性改变 (P<0.05)。而 SOD2-siRNA 显著逆转 Cur 对 OGD 诱导的神经元细胞损伤的保护作用 (P<0.05)，SC-siRNA 则未对 Cur 产生的神经保护作用造成显著干扰(P>0.05)。**结论：**Cur 可能通过上调 SOD2 的表达，减轻 OGD 对神经元细胞的损伤。

关键词：姜黄素；二型超氧化物歧化酶；脑缺血损伤；神经元；细胞培养

中图分类号：R-33；R338.1；R743 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273(2019)09-1638-06

SOD2 Mediates Curcumin-induced Protection in Neurons Exposed to Oxygen-glucose Deprivation*

HUANG Juan[1], WANG Yu-qing[2], BU Tiao[1], YANG Rui-yu[1], WANG Zhi-gang[3△]

(1 Department of Anesthesiology, General Hospital of Southern Theatre Command of PLA, Guangzhou, Guangdong, 510010, China;
2 Department of Rehabilitation,?General Hospital of Southern Theatre Command of PLA, Guangzhou, Guangdong, 510010, China;
3 Department of Nephrology, First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710061, China)

ABSTRACT Objective: To explore whether Mn-SOD (SOD2) mediates curcumin-induced neuroprotection against oxygen-glucose deprivation (OGD) in neurons. **Methods:** HT22 neurons were exposed to OGD for 3 h to mimic neuronal ischemic injury, after down-regulating SOD2 expression in neurons by using SOD2-siRNA, methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide (MTT) was used to assess cell viability, reagent kit was taken to evaluate lactic dehydrogenase (LDH) in the medium, flow cytometry was taken to calculate cell apoptosis rate, western blot was used to measure cleaved caspase-3 expression, neuronal morphology and mitochondrial function were also observed. **Results:** Compared with the cells in the control group, OGD reduced cell viability, increased LDH release, cell apoptosis rate and cleaved caspase-3 expression, damaged cell morphology, and inhibited mitochondrial membrane potential (MMP) and complex 1 activity (P<0.05), 100 ng/mL Cur obviously reduced the OGD-induced damage mentioned above, SOD2-siRNA significantly reversed the Cur-induced neuroprotective effects (P<0.05), but the scrambled siRNA (SC-siRNA) showed little influence on the Cur-induced neuroprotective effects (P>0.05). **Conclusion:** Cur can reduce OGD-induced injury in neurons by up-regulating SOD2 protein.

Key words: Curcumin; SOD2; Brain Ischemic Injury; Neuron; Cell Culture

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R338.1; R743 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2019)09-1638-06

引言

神经元的缺血缺氧损伤见于脑中风、呼吸心跳骤停和婴幼儿缺血缺氧性脑病等疾病[1-3]，神经元一旦受损，很难再生，因而受损的神经功能也很难恢复[4]。虽然近年有报道显示高压氧、神经营养因子和干细胞(Stem Cells)等方法可用于神经再生[5-7]，但其临床应用依然有限。

姜黄素 (Curcumin，Cur) 是一种存在于中药姜黄(Curcuma longa L.)和食品咖喱内的生物活性物质，外观为黄色粉末，多项研究显示 Cur 具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤和促进神经再生等作用[8-10]。然而，Cur 的神经保护机制目前尚未完全阐明。本研究以 HT22 神经元细胞暴露于氧糖剥夺 (Oxygen-Glucose Depriva-

* 基金项目：国家自然科学基金项目(81700644)

作者简介：黄娟(1979-)，女，本科，主要研究方向：围术期并发症，E-mail: hj15622397056@163.com

△ 通讯作者：王志刚(1983-)，男，医学博士，助理研究员，主要研究方向：细胞保护药物，E-mail: 38984804@qq.com

(收稿日期：2018-10-16 接受日期：2018-11-06)

tion,OGD)环境中模拟神经元缺血缺氧损伤,随后观察 Cur 对细胞损伤的影响,并探讨二型超氧化物歧化酶(Type 2 Superoxide Dismutase,SOD2)是否介导了 Cur 的神经保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

小鼠海马神经元 HT22 细胞系获赠于徐州医科大学,Cur、MTT、DMEM 培养基和胎牛血清购自美国 Sigma-Aldrich 公司;SOD2 一抗和 Cleaved Caspase-3 一抗购自英国 Abcam 公司;LDH 试剂盒购自南京建成生物工程研究所。青链霉素混合溶液购自中国北京索莱宝公司。

1.2 细胞培养及处理

正常培养:HT22 细胞培养基含 90 %的 DMEM 培养基和 10 %胎牛血清,每 100 mL 培养基加 1 mL 青链霉素混合溶液防止污染,培养箱温度为 37 ℃,含 95 %氧气和 5 %二氧化碳,湿度 100 %。OGD 模型:将细胞培养基更换为无糖型 DMEM 培养基,其它成分与正常培养相同,在含 95 %氮气和 5 %二氧化碳环境中,37 ℃孵育 3 h。

分组及处理,细胞分为 5 组,分别为 Control 组:在正常培养基中培养;OGD 组:无氧无糖环境培养 3 h,再更换正常培养基孵育 24 h;Cur+OGD 组:在 Cur 浓度为 100 ng/mL 的无氧无糖环境培养 3 h,再更换正常培养基孵育 24 h;SOD2-siRNA+Cur+OGD 组:使用 SOD2-siRNA 处理细胞 6 h 后,在 Cur 浓度为 100 ng/mL 的无氧无糖环境培养 3 h,再更换正常培养基孵育 24 h;SC-siRNA+ Cur+OGD 组:使用 SC-siRNA 处理细胞 6 h 后,在 Cur 浓度为 100 ng/ml 的无氧无糖环境培养 3 h,再更换正常培养基孵育 24 h,随后进行检测。

1.3 细胞活力(MTT)检测

将细胞接种于 96 孔细胞培养板,密度为 10^5 个 / 孔,细胞处理完毕后,每孔加入 20 μL 的 MTT 溶液(浓度为 5 mg/mL),37 ℃孵育 4 h,吸取并弃去上清液,每孔再加 150 mL 二甲基亚砜,震荡混匀后,使用分光光度计在 490 nm 波长测量各孔吸光度。

1.4 乳酸脱氢酶(LDH)检测

细胞接种于 24 孔培养板,密度为 5× 10^5 个 / 孔,处理完毕后,每孔取培养基上清液 50 μL 离心,随后,再取离心后培养基 20 μL,根据试剂盒说明书,进行检测。

1.5 Western blot 检测

将 HT22 细胞接种于 6 孔细胞培养板,细胞密度为 106 个 / 孔,细胞处理完毕后,每孔加 600 μL 细胞裂解液,将细胞培养板放于冰上裂解,5 min 后,使用细胞刮轻轻将细胞刮下,收集于离心管,在 4 ℃离心 5 min,随后,收集离心管内的上清蛋白溶液,进行蛋白定量检测,蛋白液采用聚丙烯酰氨凝胶电泳后,转移至聚偏氟乙烯膜上。再使用 5 %脱脂奶粉封闭非特异性抗原,4 ℃过夜。随后加入兔抗小鼠一抗 (抗 SOD2 和抗 cleaved caspase-3,1:500 稀释),在 37 ℃孵育 6 h 后,加入山羊抗兔二抗(1:500 稀释,北京世纪康为),随后,4 ℃孵育 12 h,用化学发光法显色,采用美国 Bio-Rad 凝胶成像系统量化图像,以 β- 肌动蛋白(β-actin)作为内参。

1.6 小 RNA 干扰

将 HT22 细胞接种于 6 孔细胞培养板,每孔 10^6 个细胞,接种 24 h 后,采用 SOD2-siRNA 干扰试剂盒 (TriFECTa Dicer-Substrate),给予 SOD2-siRNA 或乱序(SC)-siRNA 孵育 6 h 后,采用 western blot 检测 SOD2 蛋白表达水平,评价干扰效果。

1.7 细胞凋亡率检测

将细胞接种于 6 孔细胞培养板,细胞密度为 10^6 个 / 孔,处理完毕后,采用胰蛋白酶消化细胞,吹打成细胞悬液,将每组细胞悬液体积调整至 5 mL,随后,使用 Annexin V 标记细胞,按照操作说明,使用流式细胞仪(美国 BD 公司)检测各组细胞凋亡率。

1.8 细胞形态观察

将细胞接种于 24 孔培养板,密度为 5× 10^5 个 / 孔,处理完毕后,将培养板置于相差显微镜下(Olympus,日本),随机选取视野,并拍照。

1.9 线粒体功能检测

线粒体膜电位(MMP)检测:通过使用 JC-1 标记的线粒体检测细胞 MMP 值。首先将体积为 1 mL、浓度为 0.5 mg/mL 的线粒体样本与 19 ml 的 JC-1 染液按照试剂盒检测说明共同孵育,使用缬氨霉素(valinomycin)作为阴性对照,在 37 ℃使用荧光分光光度计对混合液吸光度进行检测。

线粒体复合物 1 活力检测:使用裂解液将细胞完全裂解,将裂解后的细胞溶液加入 0.5 mL、pH 值为 8.0 的检测液,检测液构成为:20 mM 的磷酸钾缓冲液、2 mM 的叠氮化钠(NaN_3)、0.15 mg/mL 的磷脂、0.1 mM 的辅酶 Q1 和 0.15 mM 的还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)。在 340 nm 波长,检测混合液抑制浓度为 40 mM 鱼藤酮(Rotenone)的能力,检测前后吸光度的差值即为线粒体复合物 1 的活力[11]。

1.10 统计学分析

实验数据采用 SPSS19.0 处理,所有数据以均数标准差(Means± SD) 表示,组间差异采用单因素方差分析(One-way ANOVA) 中的 Tukey's 多重比较进行分析,P<0.05 表明组间具有统计学差异。

2 结果

2.1 Cur 可减轻 OGD 诱导的神经元损伤

为观察 Cur 对暴露于氧糖剥夺条件(OGD)下神经元细胞的保护作用,我们将 HT22 神经元分为 5 组,分别为正常培养的对照组(Control)、氧糖剥夺模型组(OGD)、不同浓度的 Cur(10、100 和 500 ng/mL) 与 OGD 共同处理的 3 个组。培养 3 h 后,MTT 结果显示(图 1A):与 Control 组相比,OGD 组细胞活力显著降低 (P<0.05),而与 OGD 组相比,100 和 500 ng/mL 的 Cur 可显著升高细胞活力(P<0.05)。乳酸脱氢酶(LDH)释放量结果显示(图 1B):与 Control 组相比,OGD 组细胞培养基 LDH 含量显著上升 (P<0.05),而与 OGD 组相比,100 和 500 ng/mL 的 Cur 可明显降低培养基 LDH 的含量(P<0.05),10 ng/mL 的 Cur 未对细胞活力和 LDH 释放量产生明显影响(P>0.05)。因此,本研究选取 100 ng/mL 的 Cur 进行后续实验。

2.2 SOD2-siRNA 逆转了 Cur 对神经元细胞的保护作用

SOD2 是细胞线粒体内一种重要的抗氧化蛋白,其过度消耗提示细胞受到了氧化应激损伤。为探索 SOD2 分子在 Cur 产生神经保护中的作用,我们将细胞分为 3 组,分别为正常培养

的 Control 组、OGD 损伤组和 100 ng/ml 的 Cur 保护组(Cur+OGD),处理 3 h 后,western blot 结果显示(图 2A):与 Control 组相比,OGD 组 SOD2 蛋白表达水平显著降低(P<0.05),而 Cur 可显著增加 OGD 诱导的神经元细胞 SOD2 的蛋白表达(P<0.05)。

为进一步研究 SOD2 分子在 Cur 保护神经元中的作用,我们使用 SOD2-siRNA 干扰细胞 SOD2 表达。为观察 siRNA 干扰 SOD2 的效果,将细胞分为 3 组(图 2B),分别为 Control 组、SOD2-siRNA 处理组和乱序 siRNA(SC-siRNA)处理组,暴露 6 h 后,western blot 结果显示,SOD2-siRNA 可显著下调细胞 SOD2 蛋白表达水平(P<0.05),SC-siRNA 未对 SOD2 表达产生显著影响(P<0.05)。随后,我们将细胞分为 5 组,分别为 Control组、OGD 组、Cur+OGD 组、SOD2-siRNA+Cur+OGD 组和 SC-siRNA+Cur+OGD 组,MTT 和 LDH 检测结果显示 (图 2C-2D):与 Control 组相比,OGD 组细胞活力 (MTT) 显著降低、培养基 LDH 水平显著增加(P<0.05),而 100 ng/ml 的 Cur 可显著恢复细胞活力、并降低培养基 LDH 浓度(P<0.05),SOD2-siRNA 处理可显著消除 Cur 对 MTT 和 LDH 水平的影响 (P<0.05),而 SC-siRNA 则未对 Cur 的上述作用造成明显影响(P>0.05)。以上结果表明:SOD2 可能介导了 Cur 对 OGD 诱导的神经元损伤的保护作用。

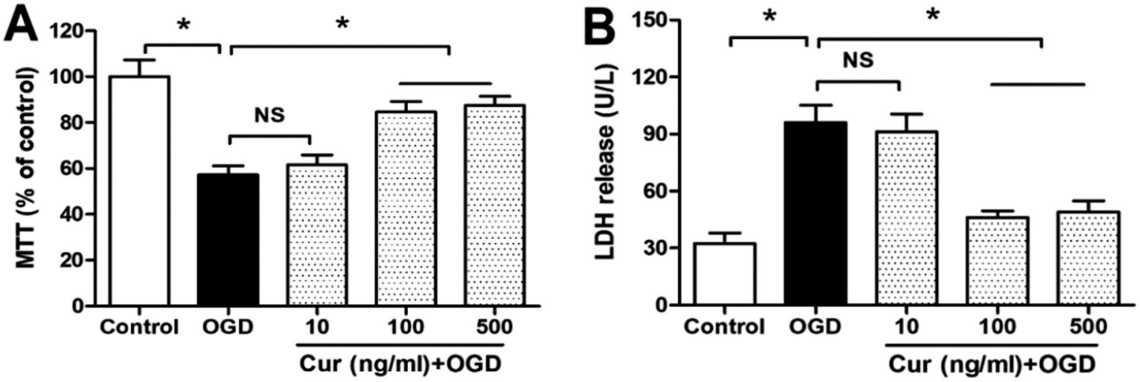

图 1 Cur 对 OGD 诱导的神经元细胞活力和 LDH 释放的影响

Fig.1 Effect of Curcumin on the cell viability and LDH release in neurons exposed to OGD

Note: A: Effect of curcumin on neuronal viability, n=8; B: Effect of curcumin on LDH release, n=8; Data are showed as means± SD. * P<0.05.

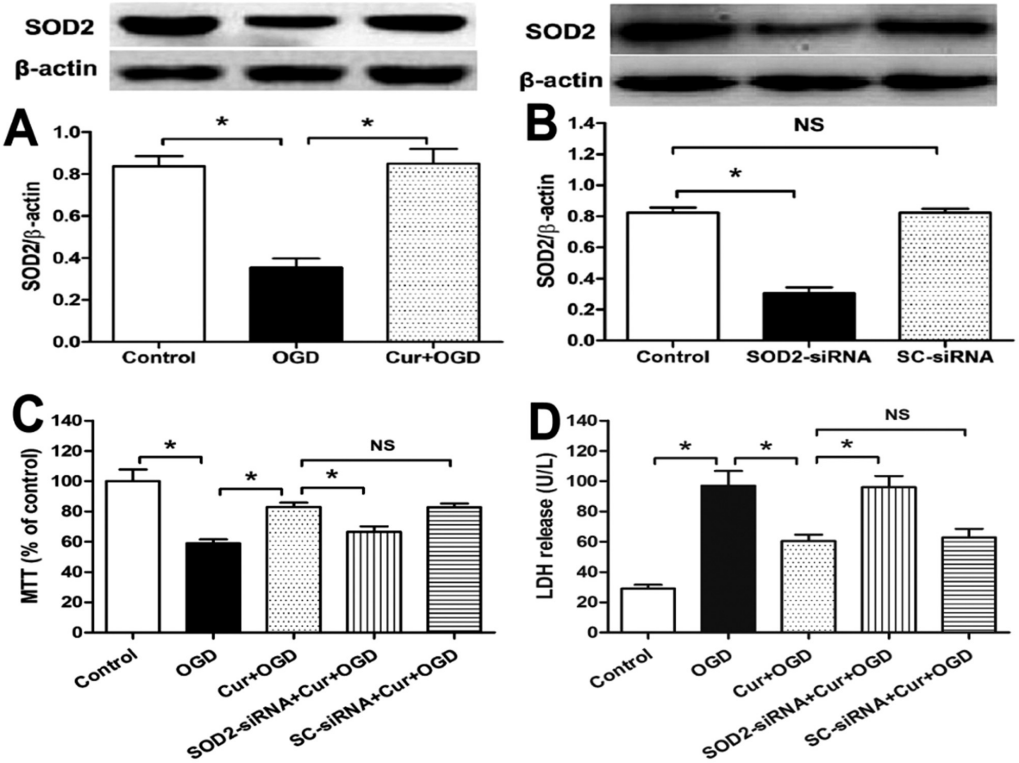

图 2 SOD2-siRNA 逆转了 Cur 对 OGD 诱导的神经元损伤的保护作用

Fig.2 SOD2-siRNA reversed curcumin-induced protective effects on neurons exposed to OGD

Note: A: Curcumin increased SOD2 exprsession in neurons exposed to OGD, n=4; B: SOD2-siRNA was effectve in inhibiting SOD2 expression in neurons, n=4; C: SOD2-siRNA reversed curcumin-induced effect on neuronal viability, n=8; D: SOD2-siRNA reversed curcumin-induced effect on LDH release, n=8; Data are showed as means± SD. * P<0.05; NS no significance.

2.3 SOD2-siRNA 逆转了 Cur 对神经元凋亡的影响

为进一步明确 SOD2 是否介导了 Cur 对 OGD 诱导的神经元凋亡的影响，我们将细胞分为 5 组，包括 Control 组、OGD组、Cur+OGD 组、SOD2-siRNA+Cur+OGD 组和 SC-siRNA+Cur+OGD 组，采用流式细胞仪检测细胞凋亡率、Western blot 观察凋亡相关蛋白 cleaved caspase-3 表达水平。结果显示(图 3)：与 Control 组相比，OGD 组细胞凋亡率和 cleaved caspase-3 表达水平显著上升(P<0.05)，100 ng/ml 的 Cur 可显著降低细胞凋亡率与 caspase-3 表达 (P<0.05)，SOD2-siRNA 显著逆转了 Cur 对细胞凋亡率和 caspase-3 表达的降低作用(P<0.05)，而 SC-siRNA 未对 Cur 产生的上述作用造成显著影响(P>0.05)。

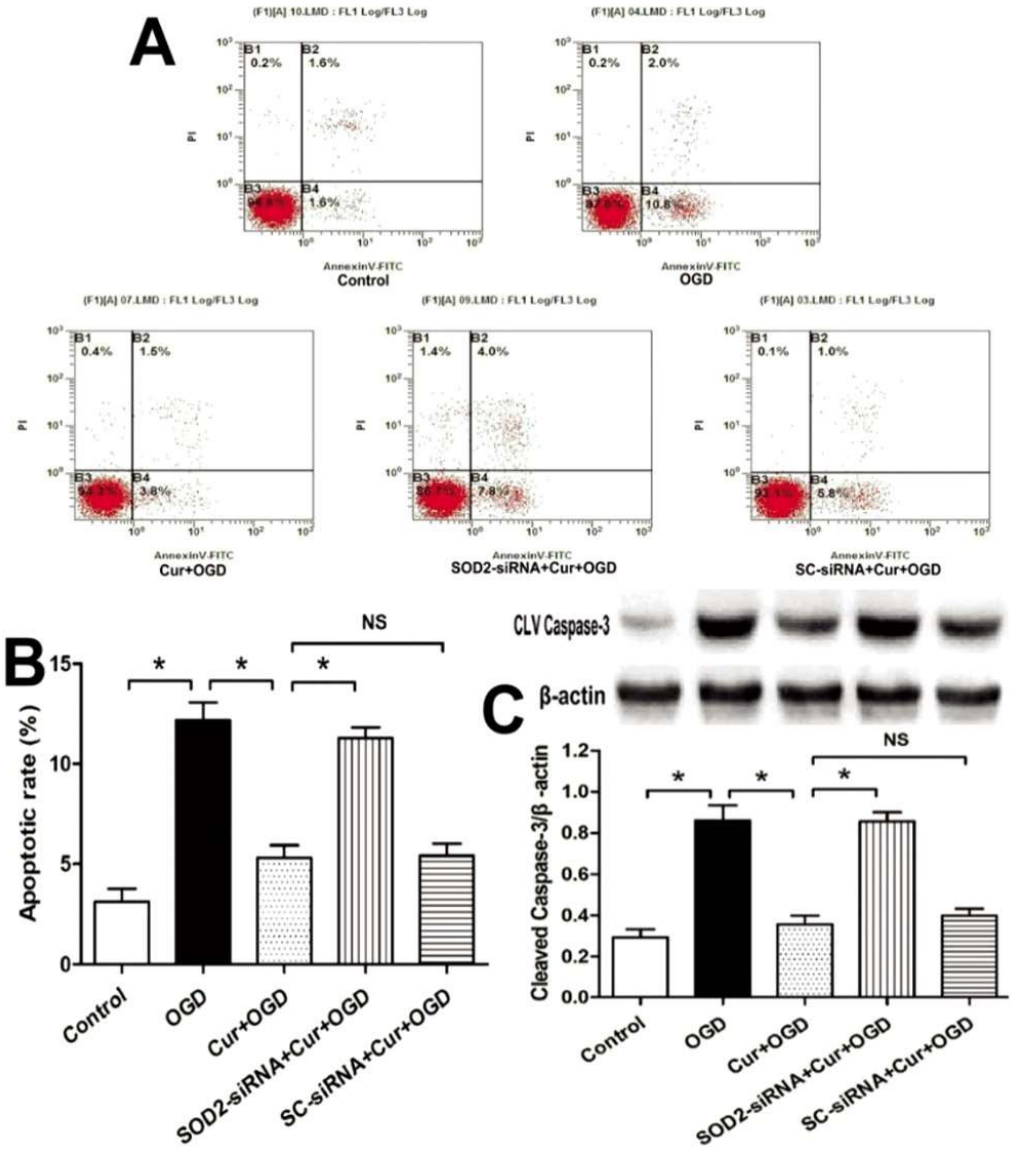

图 3 SOD2-siRNA 逆转了 Cur 对 OGD 损伤神经元的凋亡的影响

Fig.3 SOD2-siRNA reversed curcumin-induced effects on the apoptosis of neurons

Note: A: Apoptosis results of neurons exposed to OGD, n=6; B: Statistical results of apoptosis, n=6; C: SOD2-siRNA reversed curcumin-induced effect on cleaved caspase-3, n=4; Data are showed as means± SD.

*P<0.05; NS no significance.

2.4 SOD2-siRNA 逆转了 Cur 对 OGD 诱导的神经元细胞形态和线粒体功能的改善作用

为进一步观察 Cur 的保护效果和 SOD2 在其中的作用，我们将细胞分为 5 组，分组同前，采用相差显微镜观察细胞形态，并采用专用试剂盒检测细胞线粒体功能，包括线粒体膜电位(MMP)和线粒体复合物 1(Mitochondrial Complex 1 Activity)的活力。结果显示(图 4)：与 Control 组相比，OGD 可显著损害细胞形态、并降低 MMP 和线粒体复合物 1 活力(P<0.05)，而 100 ng/ml 的 Cur 可显著改善细胞形态，并部分恢复细胞线粒体 MMP 和复合物 1 的活力(P<0.05)，而 SOD2-siRNA 则可显著逆转 Cur 对神经元形态及线粒体功能的影响(P<0.05)，SC-siRNA 未对 Cur 的上述保护作用产生明显抑制(P>0.05)。

3 讨论

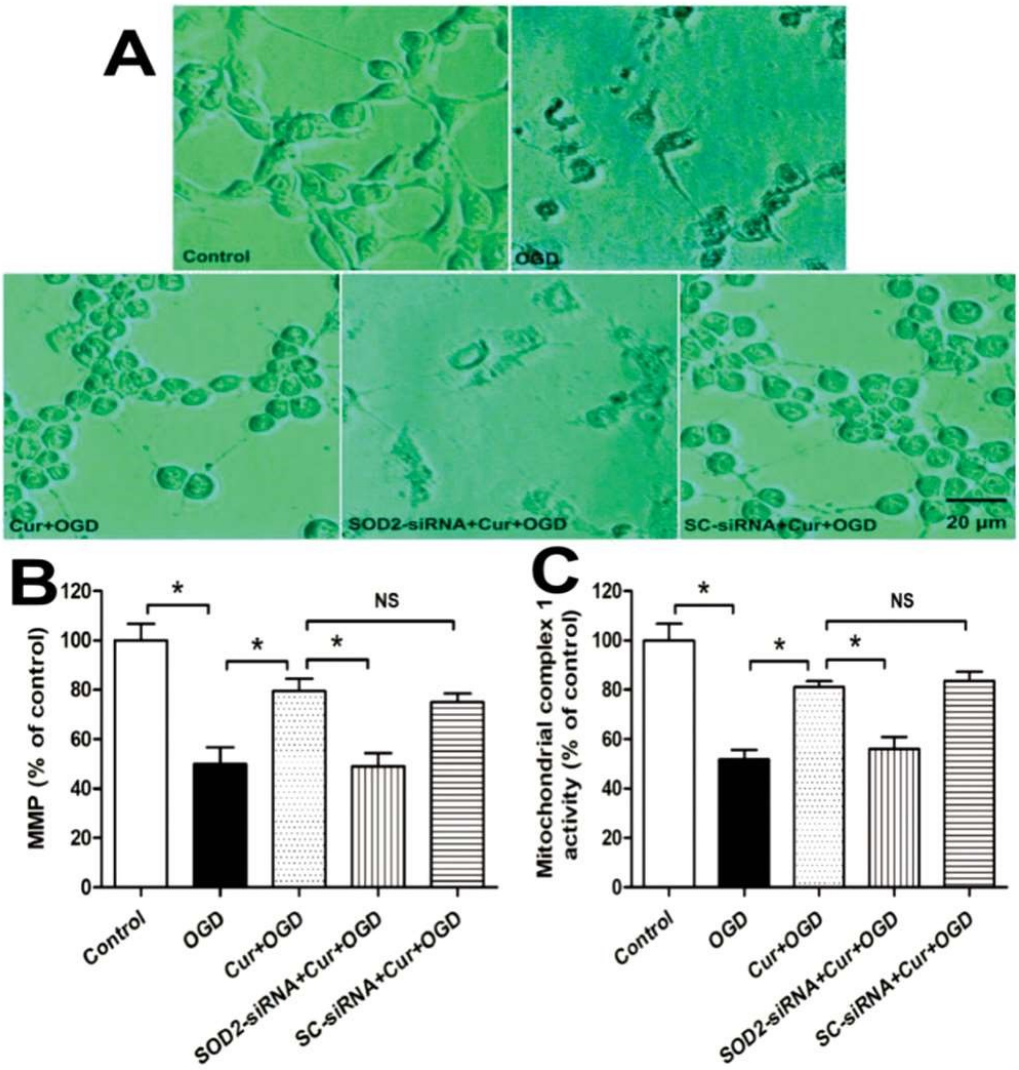

图 4 SOD2-siRNA 逆转了 Cur 对 OGD 损伤神经元形态和线粒体功能的影响

Fig.4 SOD2-siRNA reversed curcumin-induced effects on the neuronal morphology and mitochondrial function

Note: A: SOD2-siRNA reversed curcumin-induced effect on cell morphology; B: SOD2-siRNA reversed curcumin-induced effect on mitochondrial membrane potential (MMP), n=6; C: SOD2-siRNA reversed curcumin-induced effect on mitochondrial complex 1 activity, n=6; Data are showed as means± SD. * P<0.05; NS no significance.

脑缺血损伤(ischemic brain injury)常见于脑卒中、心跳骤停、低血压和低氧血症,脑缺血损伤一旦发生,治疗手段十分有限,这主要是由于神经元细胞再生困难。脑缺血损伤发生机制十分复杂,包括氧化应激损伤、炎性损伤、细胞凋亡和自噬等[12-14]。SOD2 是存在于细胞线粒体内的一种抗氧化酶,除 SOD2 外,细胞质中还存在 SOD1,细胞外间质中有 SOD3[15]。SOD2 主要对细胞线粒体产生保护作用,SOD2 可减轻氧化应激对线粒体造成的损伤[16]。在脑缺血发生过程中,缺血脑组织的血供可能会发生再通,继而可引起脑缺血再灌注性损伤。再灌注后,缺血脑组织会产生大量氧自由基 (Reactive Oxygen Species,ROS),ROS 可消耗细胞内的抗氧化物(包括 SOD2),最终引起神经细胞死亡和神经功能障碍[17]。

Cur 是中药姜黄中富含的一种生物活性物质,目前研究显示Cur 具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤和抗病毒等作用。在治疗中枢神经系统疾病方面,Cur 对阿尔兹海默症、抑郁症和脑缺血损伤都有治疗作用[18]。在本研究中,我们将神经元暴露于 OGD 环境中模拟神经元细胞的缺血缺氧损伤,结果显示 OGD 诱导的神经元细胞损伤加重、凋亡增加、形态破坏,细胞线粒体功能也显著下降,同时,细胞内的 SOD2 蛋白表达水平也显著下降,而 Cur 可明显减轻细胞的上述损伤、上调 SOD2 表达,并改善细胞线粒体功能,使用 siRNA 下调细胞 SOD2 蛋白表达后,Cur 产生的上述保护作用也随之消失,而 SC-siRNA 未对 Cur 的保护作用产生明显影响,提示 Cur 可能通过上调神经元细胞 SOD2 表达对缺血缺氧神经元发挥保护作用。

SOD2 蛋白表达于线粒体,大量研究显示线粒体 SOD2 过度消耗可引起线粒体损伤[19]。线粒体是细胞能量代谢的主要场所,为细胞的正常生理活动提供能量,线粒体受损后,细胞可发生能量代谢障碍,最终引起细胞死亡。在本研究中,我们发现 Cur 可上调线粒体 SOD2 表达,而 OGD 诱导可有效降低神经元细胞的线粒体膜电位(MMP)和线粒体复合物 1(Mitochondrial Complex 1)的活性,Cur 在增加 SOD2 表达的同时,还可恢复 MMP 和线粒体复合物 1 的水平,表明 Cur 可能通过增加神经

元 SOD2 含量,继而保护线粒体功能,最终产生保护神经元的作用。新近的一项研究表明 Cur 可通过抑制促凋亡蛋白 Bax 激活减轻大鼠局灶性脑缺血损伤,并恢复神经功能;在体外细胞培养中减轻 OGD 所致的神经元损伤[20]。

本实验采用 OGD 诱导神经元细胞损伤,随后给予复氧复糖(Reoxygenation)24 h,而复氧复糖模拟的是缺血再灌注损伤,再灌注过程会产生大量 ROS,继而损伤神经元细胞膜、线粒体和内质网,同时也会破坏血脑屏障,并激活小胶质细胞,继而诱发神经炎症,引起神经系统的继发性损伤。ROS 具有氧化性,会消耗细胞内的抗氧化物质,如 SOD、谷胱甘肽(GSH)和过氧化氢酶(Catalase,CAT)等,而抗氧化物过度消耗会引起细胞内环境紊乱,最终导致神经细胞死亡。在本研究中,SOD2-siRNA 可逆转 Cur 的保护作用,表明 Cur 可能通过神经元线粒体上的 SOD2 蛋白,抑制 ROS 对神经元的氧化损伤而发挥细胞保护作用。当然,这仍需要下一步研究加以证实。

综上所述,本研究结果表明 Cur 可能通过上调 SOD2 的表达,减轻 OGD 对神经元细胞的损伤。本研究为寻找新型神经保护药物提供了新证据,也为探索传统中药材姜黄的现代应用提供了新的作用靶点。

参 考 文 献(References)

[1] Liu X, Wu D, Wen S, et al. Mild therapeutic hypothermia protects against cerebral ischemia/reperfusion injury by inhibiting miR-15b expression in rats[J]. Brain Circ, 2017, 3(4): 219-226

[2] Zhang C, Brandon NR, Koper K, et al. Invasion of Peripheral Immune Cells into Brain Parenchyma after Cardiac Arrest and Resuscitation [J]. Aging Dis, 2018, 9(3): 412-425

[3] Tucker LD, Lu Y, Dong Y, et al. Photobiomodulation Therapy Attenuates Hypoxic-Ischemic Injury in a Neonatal Rat Model[J]. J Mol Neurosci, 2018, 65(4): 514-526

[4] Tonge DA, de Burgh HT, Docherty R, et al. Fibronectin supports neurite outgrowth and axonal regeneration of adult brain neurons in vitro [J]. Brain Res, 2012, 1453: 8-16

[5] Lavrnja I, Parabucki A, Brkic P, et al. Repetitive hyperbaric oxygenation attenuates reactive astrogliosis and suppresses expression of inflammatory mediators in the rat model of brain injury [J]. Mediators Inflamm, 2015, 2015: 498405

[6] Schulze J, Kaiser O, Paasche G, et al. Effect of hyperbaric oxygen on BDNF-release and neuroprotection: Investigations with human mesenchymal stem cells and genetically modified NIH3T3 fibroblasts as putative cell therapeutics[J]. PLoS One, 2017, 12(5): e0178182

[7] Kumamaru H, Lu P, Rosenzweig ES, et al. Activation of Intrinsic Growth State Enhances Host Axonal Regeneration into Neural Progenitor Cell Grafts[J]. Stem Cell Reports, 2018, 11(4): 861-868

[8] Fan C, Song Q, Wang P, et al. Curcumin Protects Against Chronic Stress-induced Dysregulation of Neuroplasticity and Depression-like Behaviors via Suppressing IL-1β Pathway in Rats [J]. Neuroscience, 2018, 392: 92-106

[9] Edrees NE, Galal AAA, Abdel Monaem AR, et al. Curcumin alleviates colistin-induced nephrotoxicity and neurotoxicity in rats via attenuation of oxidative stress, inflammation and apoptosis[J]. Chem Biol Interact, 2018, 294: 56-64

[10] Dai X, Zhang J, Guo G, et al. A mono-carbonyl analog of curcumin induces apoptosis in drug-resistant EGFR-mutant lung cancer through the generation of oxidative stress and mitochondrial dysfunction[J]. Cancer Manag Res, 2018, 10: 3069-3082

[11] Han Z, Chen YR, Jones CI, et al. Shear-induced reactive nitrogen species inhibit mitochondrial respiratory complex activities in cultured vascular endothelial cells [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2007, 292(3): C1103-1112

[12] Liu W, Guo Q, Zhao H. Oxidative stress-elicited YY1 potentiates antioxidative response via enhancement of NRF2-driven transcriptional activity: A potential neuronal defensive mechanism against ischemia/reperfusion cerebral injury [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 108: 698-706

[13] Zeng G, Ding W, Li Y, et al. Morroniside protects against cerebral ischemia/reperfusion injury by inhibiting neuron apoptosis and MMP2/9 expression[J]. Exp Ther Med, 2018, 16(3): 2229-2234

[14] Huang X,Ding J,Li Y,et al.Exosomes derived from PEDF modified adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorate cerebral ischemia-reperfusion injury by regulation of autophagy and apoptosis [J]. Exp Cell Res, 2018, 371(1): 269-277

[15] Levin ED. Extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) quenches free radicals and attenuates age-related cognitive decline: opportunities for novel drug development in aging [J]. Curr Alzheimer Res, 2005, 2(2): 191-196

[16] Koltai E, Bori Z, Osvath P, et al. Master athletes have higher miR-7, SIRT3 and SOD2 expression in skeletal muscle than age-matched sedentary controls[J]. Redox Biol, 2018, 19: 46-51

[17] Xu L, Emery JF, Ouyang YB, et al. Astrocyte targeted overexpression of Hsp72 or SOD2 reduces neuronal vulnerability to forebrain ischemia[J]. Glia, 2010, 58(9): 1042-1049

[18] Chen M, Du ZY, Zheng X, et al. Use of curcumin in diagnosis, prevention, and treatment of Alzheimer's disease [J]. Neural Regen Res, 2018, 13(4): 742-752

[19] Boland ML, Oldham S, Boland BB, et al. Nonalcoholic steatohepatitis severity is defined by a failure in compensatory antioxidant capacity in the setting of mitochondrial dysfunction[J]. World J Gastroenterol, 2018, 24(16): 1748-1765

[20] Xie CJ, Gu AP, Cai J, et al. Curcumin protects neural cells against ischemic injury in N2a cells and mouse brain with ischemic stroke[J]. Brain Behav, 2018, 8(2): e00921