

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.11.008

骨髓基质干细胞移植改善慢性酒精中毒大鼠脑损害的相关机制研究*

刘 蕾 胡 建 董 凤 徐 晔 夏 炎 吴 铮

(哈尔滨医科大学附属第一医院精神卫生中心 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:探讨骨髓基质干细胞(bone marrow stromal cells, BMSCs)静脉移植对慢性酒精中毒大鼠脑保护作用的相关机制。**方法:**体外分离、培养、扩增 SD 大鼠 BMSCs。成年雄性 SD 大鼠随机分为慢性酒精中毒组、BMSCs 回输组、磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)回输组和对照组,每组 7 只。前三组用酒精灌胃 8 周建立慢性酒精中毒动物模型,对照组不造模(给予蔗糖灌胃),BMSCs 回输组和 PBS 回输组于造模 7 周时一次性经尾静脉回输 BMSCs 或 PBS。免疫印迹法检测海马 Bcl-2、Bax、NGF、BDNF 以及信号转导分子 p-Akt 的表达;反转录 PCR 检测海马神经生长因子(nerve growth factor, NGF)和脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)。**结果:**BMSCs 回输组海马抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达高于其余三组($P<0.05$);促凋亡蛋白 Bax 表达低于慢性酒精中毒组($P<0.01$),与对照组无统计学差异($P=0.989$)。BMSCs 回输组鼠海马内 NGF 和 BDNF mRNA 和蛋白表达、p-Akt 蛋白表达均高于其余三组($P<0.05$)。**结论:**静脉移植 BMSCs 能够明显改善慢性酒精中毒大鼠海马的细胞凋亡;其可能与自或旁分泌 BDNF 和 NGF 营养因子有关,且可能部分是通过激活 PI3K/Akt 通路实现。

关键词:骨髓基质干细胞;慢性酒精中毒;凋亡;神经营养因子;PI3K/Akt 通路

中图分类号:R-33;Q593.2;R331.2;R741.02 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2019)11-2041-05

Effect and Mechanism of Intravenous Bone Marrow Stromal Cells Transplantation Against Chronic Ethanol-induced Brain Damage in Rats*

LIU Lei, HU Jian, DONG Feng, XU Ye, XIA Yan, WU Zheng

(Department of Psychiatry, The First Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect and mechanism of intravenous bone marrow stromal cells (BMSCs) transplantation against chronic ethanol-induced brain damage in rats. **Methods:** BMSCs from rats were isolated, cultured and identified in vitro. Male Sprague-Dawley rats ($n=28$) were randomly divided into four groups: chronic ethanol group, BMSCs group, PBS group and control group, BMSCs or PBS were intravenously injected to the rats of BMSCs or PBS group at the 7th week after ethanol gavage, respectively. The expression of Bcl-2, Bax, and phospho-Akt in hippocampus were evaluated by immunoblot. Nerve growth factor (NGF) and brain derived neurotrophic factor (BDNF) protein and mRNA expression in hippocampus were analysed by immunoblot and reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR), respectively. **Results:** We observed that transplanted BMSCs significantly reduced the Bax expression ($P<0.01$) and increased Bcl-2 expression ($P<0.05$) in hippocampus of ethanol-fed rats. We also found BMSCs transplantation was able to induce upregulation of NGF or BDNF in hippocampus of ethanol-fed rats at mRNA and protein levels ($P<0.05$). In addition, we discovered that the phospho-Akt expression was increased in hippocampus of BMSCs transplanted rats than that in other three groups ($P<0.01$). **Conclusion:** Intravenous BMSCs transplantation is able to shield rat cell apoptotic impairment from chronic alcoholism by autocrine/paracrine of neurotrophic factors, which is involved in PI3K/Akt activation, at least partially.

Key words: Bone marrow stromal cells; Chronic alcoholism; Apoptosis; Neurotrophic factors; PI3K/Akt pathways

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q593.2; R331.2; R741.02 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)11-2041-05

前言

长期大量饮酒可以导致大脑结构和功能发生改变,特别是认知功能相关的脑区,如海马等区域,而引起严重甚至不可逆的认知功能损害,但目前临床上尚缺乏有效的治疗办法^[1]。骨髓基质干细胞(bone marrow stromal cells, BMSCs)作为一种具备

很强的自我更新能力和分化潜能,且具有低免疫原性、可以来源于自体、易于扩增等优点的成体干细胞受到广泛关注^[2,3]。动物和临床报道 BMSCs 移植可以改善多种神经系统疾病的功能障碍,如帕金森病、脑缺血、阿尔茨海默病、脑外伤、肌萎缩侧索硬化、多发性硬化、脊髓损伤等^[4-11],证实了 BMSCs 在中枢神经系统疾病的应用潜力。但是,关于干细胞治疗在酒精中毒

* 基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究项目(面上项目)(12511291)

作者简介:刘蕾(1979-),女,副主任医师,医学博士,研究方向:酒精依赖的发病机制及诊疗的临床与基础研究,

电话:13946195055, E-mail: maggie.leilei@163.com

(收稿日期:2019-04-10 接受日期:2019-04-30)

方面的研究鲜有报道。本团队前期研究初步发现 BMSCs 能够改善慢性酒精中毒大鼠模型的认知功能,本研究将进一步探讨 BMSCs 治疗慢性酒精中毒所致脑损害的可能机制。

1 材料与方法

1.1 动物实验模型建立及处理

清洁级健康雄性 SD 大鼠(230-250 g)28 只(北京维通利华实验动物中心),随机分为慢性酒精中毒组、BMSCs 回输组、PBS 回输组、对照组 4 组,每组 7 只。BMSCs 回输组、PBS 回输组和慢性酒精中毒组大鼠建立慢性酒精中毒模型。用蒸馏水和无水乙醇配置成 50%(V/V)的乙醇溶液,由低剂量(4 g/(kg·d))到高剂量(8 g/(kg·d))逐渐加量每天灌胃 1 次,共 8 周。对照组每天给予与慢性酒精中毒组灌胃酒精热量相等的蔗糖水灌胃 8 周。BMSCs 回输组和 PBS 回输组,于酒精灌胃 7 周末分别一次性将 1×10^7 个 BMSCs/只或等量的磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)通过尾静脉回输体内,此后 1 周继续酒精灌胃。各组大鼠均于灌胃 8 周后处死,断头分别取左右侧海马组织, -80 °C 保存。

1.2 BMSCs 分离、培养、扩增

取 SD 幼鼠 1 只,10%水合氯醛过量麻醉,无菌条件下取双侧股骨和胫骨,暴露骨髓腔,吹打并收集骨髓。将收集的骨髓用骨髓基质干细胞培养液(美国 R&D)制成单细胞悬液接种于塑料培养瓶,置 CO₂ 培养箱中培养并传代扩增。传至 3~4 代后收集备用。

1.3 RT-PCR 检测 NGF 和 BDNF mRNA 表达

向左侧海马组织中加入 Trizol 裂解液(美国 Sigma)后匀浆,提取总 RNA,紫外分光光度计测定 RNA 的浓度。按反转录试剂盒(日本 Takara)说明书进行 cDNA 合成,以逆转录所得的 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。BDNF 上游引物 5'-TCCCTG-GCTGACACTTTTGAG-3', 下游引物 5'-ATTGGGTAGTTCG-GCATTGCG-3'; NGF 上游引物 5'-CTGGACTAACTTCAG-CATTC-3', 下游引物 5'-TGTTGTTAATGTTACCTCGC-3'; β -actin 上游引物 5'-ATGCCATCTGCGTCTGGACCTGGC-3', 下游引物 5'-AGCATTTCGCGTGCACGATGGAGGG-3' (引物均由上海宝生生物工程公司设计合成)。经琼脂糖凝胶电泳,成像结果用 Gel Image System 软件分析。

1.4 Western blotting 检测 Bcl、Bax、NGF、BDNF 和 p-Akt 蛋白表达

向右侧海马组织中加入含有蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液 200 μ L(上海碧云天公司),12000 r/min 离心 5 min。凝胶电泳分离后,转移至 PVDF 膜上,5%脱脂奶粉 37 °C 封闭 1 h,一抗(Bcl-2、Bax、BDNF、NGF、p-Akt、Akt、 β -actin 或 GAPDH,美国 SANTA-CRUZ Biotechnology Inc.),4 °C 孵育过夜。翌日二抗(北京中山金桥)室温杂交 1 h,用碱性磷酸酶显色,结果用 Band-scan5.0 软件分析。

1.5 统计学处理

用 SPSS17.0 进行统计分析。RT-PCR 和免疫印迹结果多组比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 法。检验水准 $\alpha=0.05$,双侧检验。

2 结果

2.1 骨髓基质干细胞培养

原代细胞贴壁生长,多为扁平多角形、三角形或梭形。传代后细胞增殖速度加快,2~3 d 即长满培养瓶底,代数增加,细胞形态多较均一,为长梭形,并呈漩涡或束状排列生长,见图 1。



图 1 P3 代骨髓基质干细胞(200×)

Fig.1 Normal P3 BMSCs (200 ×)

2.2 海马组织中凋亡相关蛋白(Bcl-2 和 Bax)表达

抗凋亡蛋白 Bcl-2 ($F=375.081, P<0.001$)和促凋亡蛋白 Bax ($F=73.003, P<0.01$)表达的组间差异有统计学意义。BMSCs 回输组与 PBS 回输组和慢性酒精中毒组相比较,海马内 Bcl-2 表达升高($P<0.01$),较对照组略有升高($P=0.03$);BMSCs 回输组海马内 Bax 的表达则低于慢性酒精中毒组和 PBS 回输组($P<0.01$),与对照组没有统计学差异($P=0.989$)。见图 2。

2.3 海马组织营养因子(NGF 和 BDNF)表达水平

RT-PCR 检测结果示,NGF ($F=108.985, P<0.01$)与 BDNF ($F=86.451, P<0.01$)表达的组间差异有统计学意义。BMSCs 回输组与 PBS 回输组和慢性酒精中毒组相比较,海马内 NGF 和 BDNF 表达均增高($P<0.01$),与对照组比较,NGF ($P<0.01$)和 BDNF ($P=0.025$)表达量也增加。见图 3A 与 B。Western blotting 检测结果示,NGF ($F=447.075, P<0.01$)与 BDNF ($F=51.011, P<0.01$)表达组间差异有统计学意义。BMSCs 回输组大鼠海马内 NGF 和 BDNF 表达较 PBS 回输组和慢性酒精中毒组均增加($P<0.01$),与对照组比较,NGF ($P<0.01$)和 BDNF ($P=0.043$)表达量也增加。见图 3C 与 D。

2.4 海马组织中 p-Akt 表达

p-Akt 表达各组间差异有统计学意义($F=52.631, P<0.01$)。与 BMSCs 回输组和对照组相比,PBS 回输组和慢性酒精中毒组 p-Akt 表达减少 ($P<0.01$),且 BMSCs 回输组高于对照组 ($P<0.01$)。见图 4。

3 讨论

长期大量饮酒可以导致明显的智力、记忆功能障碍,其症状与边缘系统的海马等部位密切相关^[1,12],研究报道对于酒精,海马部位神经元比其他部位更为敏感^[13]。本团队前期研究通过

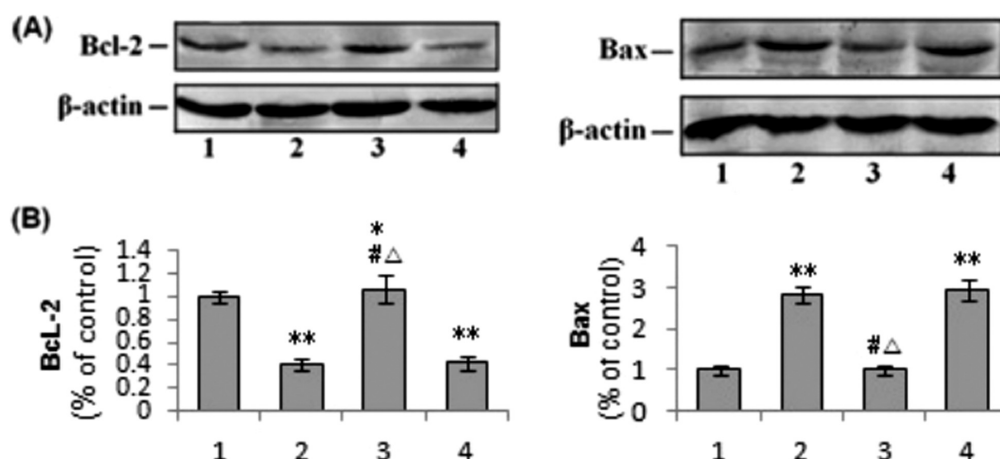


图2 各组大鼠海马 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达水平

注:A 为 Western blotting(Bcl-2 和 Bax)代表图谱;B 为 Western blotting 结果统计图。

1 为对照组;2 为慢性酒精中毒组;3 为 BMSCs 回输组;4 为 PBS 回输组。

与 PBS 回输组比较, $P<0.01$; Δ 与慢性酒精中毒组比较, $P<0.01$; ** 与对照组比较, $P<0.01$; * 与对照组比较, $P<0.05$ 。

Fig.2 Western blotting analysis of Bcl-2 and Bax in all groups

Note:A. Representative bands for Bcl-2 and Bax protein expression; B. Densitometry of the Western blotting analysis.

(1) Control group; (2) Ethanol group; (3) BMSCs group; (4) PBS group.

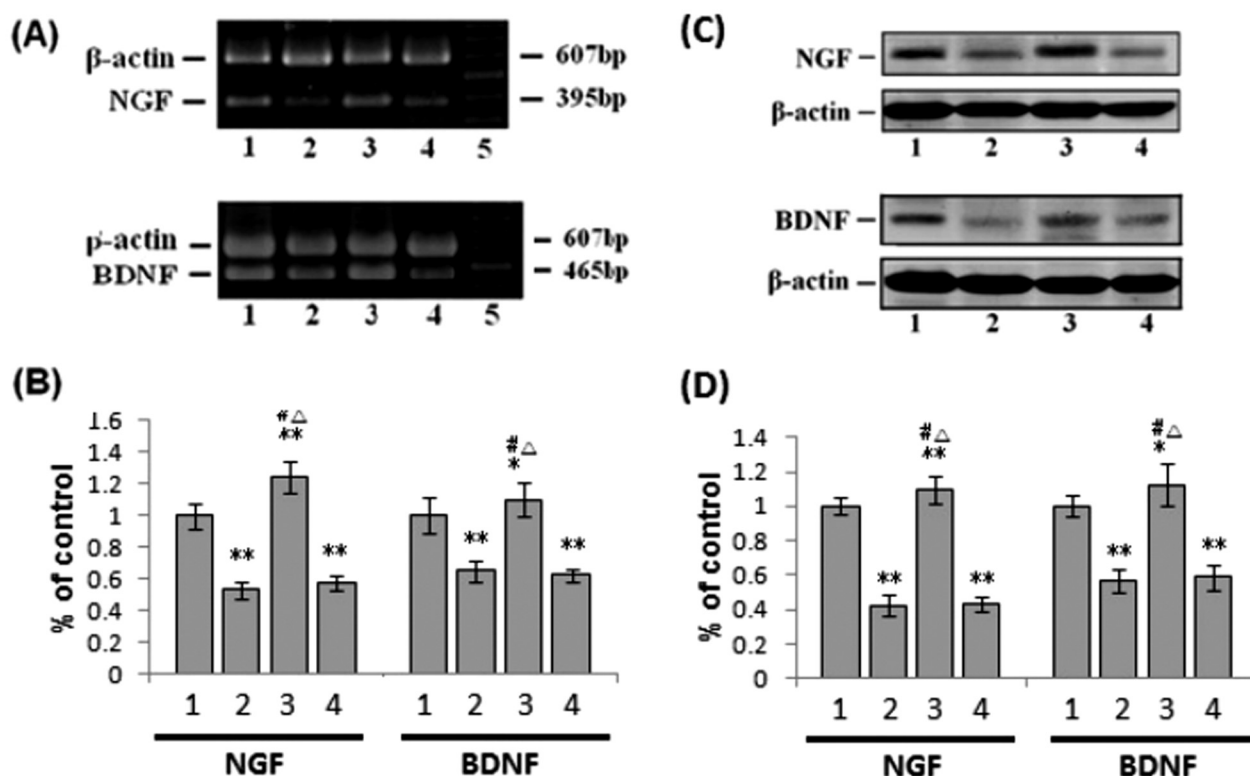
$P<0.01$ vs PBS group; Δ $P<0.01$ vs Ethanol group; ** $P<0.01$ vs Control group; * $P<0.05$ vs Control group.

图3 各组大鼠海马 NGF 和 BDNF mRNA 和蛋白表达水平

注:A 为 RT-PCR(NGF 和 BDNF)代表图谱;B 为 RT-PCR 结果统计图;C 为 Western blotting(NGF 和 BDNF)代表图谱;D 为 Western blotting 结果统计图。

1 为对照组;2 为慢性酒精中毒组;3 为 BMSCs 回输组;4 为 PBS 回输组;5 为 Maker。

与 PBS 回输组比较, $P<0.01$; Δ 与慢性酒精中毒组比较, $P<0.01$; ** 与对照组比较, $P<0.01$; * 与对照组比较, $P<0.05$ 。

Fig.3 RT-PCR and Western blotting analysis of NGF and BDNF in all groups

Note: A. Representative bands for NGF and BDNF mRNA expression; B. Densitometry of the RT-PCR analysis; C. Representative bands for NGF and BDNF protein expression; D. Densitometry of the Western blotting analysis.

(1) Control group; (2) Ethanol group; (3) BMSCs group; (4) PBS group; (5) Maker.

$P<0.01$ vs PBS group; Δ $P<0.01$ vs Ethanol group; ** $P<0.01$ vs Control group; * $P<0.05$ vs Control group.

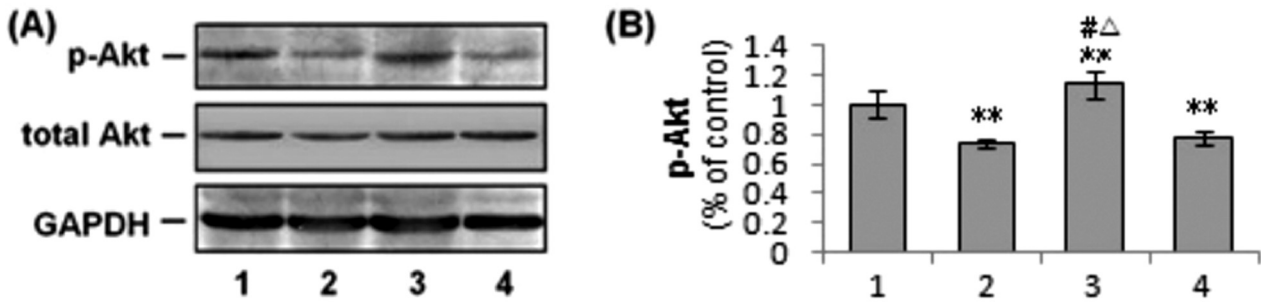


图4 各组大鼠海马磷酸化 Akt 和总 Akt 的蛋白表达水平

注: A 为 Western blotting (p-Akt 和总 Akt) 代表图谱; B 为 Western blotting 结果统计图。

1 为对照组; 2 为慢性酒精中毒组; 3 为 BMSCs 回输组; 4 为 PBS 回输组。

与 PBS 回输组比较, $P < 0.01$; Δ 与慢性酒精中毒组比较, $P < 0.01$; ** 与对照组比较, $P < 0.01$; * 与对照组比较, $P < 0.05$ 。

Fig.4 Western blotting analysis of p-Akt and total Akt in all groups

Note: A. Representative bands for p-Akt protein expression; B. Densitometry of the Western blotting analysis.

(1) Control group; (2) Ethanol group; (3) BMSCs group; (4) PBS group.

$P < 0.01$ vs PBS group; Δ $P < 0.01$ vs Ethanol group; ** $P < 0.01$ vs Control group; * $P < 0.05$ vs Control group.

行为学检测发现长期饮酒导致大鼠学习记忆功能减退,而静脉回输 BMSCs 则能明显缓解长期酒精暴露造成的认知功能缺陷,初步证明移植 BMSCs 治疗慢性酒精中毒性认知功能损害具有可行性。其他学者在 BMSCs 治疗酒精依赖方面也做了尝试,Israel 等近期研究发现给予自由摄入 10%乙醇 3 个月的大鼠脑室内单次注射 BMSCs 可以抑制维持条件下和复发性的酒精摄入,证实了 BMSCs 在酒精滥用障碍治疗中的可行性及未来的价值^[14]。但该研究采用的移植途径是脑室内注射,要通过有创手术进行移植,这很可能对器官造成二次损伤,且需要较高的操作技巧,而本研究经血管移植操作简单,更加适合未来临床的应用。

BMSCs 究竟在脑内是如何发挥作用的呢? Bcl-2 家族蛋白分子在细胞凋亡中起重要的调控作用,其成员可分为作用相反的两类蛋白,即抗凋亡蛋白(如 Bcl-2、Bcl-XL)和促凋亡蛋白(如 Bax、Bad 和 Bik 等)。有研究者发现长期酒精暴露可以使体外培养的海马神经元和神经细胞系(SY5Y)细胞内 Bcl-2 表达减少,Bax 表达增加^[15,16],Ergul 等发现慢性酒精中毒大鼠脑内 Bax 表达上调,Bcl-2 表达下调,从而介导细胞死亡^[17]。与之类似,本研究发现长期大量饮酒可导致大鼠海马 Bax 上调和 Bcl-2 下调,证明凋亡参与慢性酒精中毒引起的细胞死亡过程。更重要的是,本研究发现 BMSCs 可以明显逆转该现象,初步证实 BMSCs 对体内长期酒精暴露的神经细胞具有抗凋亡,促进存活的作用。

BMSCs 确切的治疗机制至今尚未阐明,越来越多证据表明,其机制与自分泌或旁分泌细胞因子或营养因子密切相关,如 BDNF、NGF、碱性成纤维细胞生长因子(Basic fibroblast growth factor, bFGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等,而这些因子在治疗方面能够发挥很多药理学作用^[18-20]。它们除了具有神经营养作用外,在损伤的环境下还具有神经保护作用,包括抗凋亡、抗氧化和抑制自噬等^[21-23]。在本研究中,BMSCs 回输组大鼠海马内 NGF 和 BDNF 的 mRNA 和蛋白水平均明显升高,提示 BMSCs 治疗可以促进大鼠脑内营养因子表达,与以往的一些研究结果一致^[18-20]。因此,推

测 BMSCs 可能通过自分泌或旁分泌一些营养因子使细胞内抗凋亡能力上调,改善长期饮酒导致的认知功能损害。但 BMSCs 促分泌功能并非仅限于本文中所提到的营养因子,还有很多具有抗凋亡作用的营养因子,甚至是细胞因子的存在,本研究只是试探性的筛选,而对于其他更多因子的发现还需要更加深入研究。

PI3K/Akt(phosphatidylinositol-3-kinase/Akt)信号通路具有调节细胞增殖、迁移、存活、分化、凋亡等多种生物学功能,是细胞存活相关通路之一。有研究报道,激活细胞内的 PI3K/Akt 通路能够明显减少异丙酚诱导的海马神经元凋亡^[24]。本研究发现长期酒精作用可导致神经细胞 p-Akt 表达明显减少,说明酒精可能通过灭活该存活通路而造成细胞损伤,这与 Yan 等研究结果一致^[25]。另有研究报道 BDNF 和 NGF 可通过与神经元表面特异性受体结合,进一步激活神经元内 PI3K/Akt 通路,阻止神经元凋亡^[26,27]。本研究发现 BMSCs 移植能明显逆转慢性酒精中毒导致的 p-Akt 减少,并能进一步促进 PI3K/Akt 通路激活。因此,可以推论 BMSCs 的抗凋亡作用可能部分是通过促进脑内神经营养因子分泌而激活 PI3K/Akt 存活通路完成的。

总之,本研究证实同种异体移植 BMSCs 可以改善慢性酒精中毒大鼠海马的凋亡性损伤,可能通过自分泌或旁分泌营养因子产生抗凋亡作用,而且还在分子水平上发现其保护作用可能与 PI3K/Akt 通路的激活有关。本研究结果不仅为慢性酒精中毒性脑损害乃至其他精神疾病的防治开辟了新的途径,还为未来临床治疗打下了良好的理论基础。然而,BMSCs 作为具有强大应用前景的治疗方法,在其作用机制研究还太少,不能排除其他分子或代偿机制或是多层次相互调节作用的参与,这些疑问则有待于进一步研究解决。

参考文献(References)

- [1] Harper C. The neuropathology of alcohol-related brain damage[J]. Alcohol, 2009, 44(2): 136-140
- [2] Polymeri A, Giannobile Wv, Kaigler D. Bone Marrow Stromal Stem Cells in Tissue Engineering and Regenerative Medicine [J]. Horm-Metab Res, 2016, 48(11): 700-713
- [3] Sherman LS, Romagano MP, Williams SF, et al. Mesenchymal stem

- cell therapies in brain disease [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2019, pii: S1084-9521(18): 30066-30071
- [4] Mendes Filho D, Ribeiro Pde, Oliveira Lf, et al. Therapy With Mesenchymal Stem Cells in Parkinson Disease: History and Perspectives [J]. *Neurologist*, 2018, 23(4): 141-147
- [5] Sarmah D, Agrawal V, Rane P, et al. Mesenchymal Stem Cell Therapy in Ischemic Stroke: A Meta-analysis of Preclinical Studies [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2018, 103(6): 990-998
- [6] Maria Ferri Al, Bersano A, Lisini D, et al. Mesenchymal Stem Cells for Ischemic Stroke: Progress and Possibilities [J]. *Curr Med Chem*, 2016, 23(16): 1598-1608
- [7] Duncan T, Valenzuela M. Alzheimer's disease, dementia, and stem cell therapy[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 111
- [8] Hasan A, Deeb G, Rahal R, et al. Mesenchymal Stem Cells in the Treatment of Traumatic Brain Injury[J]. *Front Neurol*, 2017, 8: 28
- [9] Ciervo Y, Ning K, Jun X, et al. Advances, challenges and future directions for stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Mol Neurodegener*, 2017, 12(1): 85
- [10] Dahbour S, Jamali F, Alhattab D, et al. Mesenchymal stem cells and conditioned media in the treatment of multiple sclerosis patients: Clinical, ophthalmological and radiological assessments of safety and efficacy[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2017, 23(11): 866-874
- [11] Shende P, Subedi M. Pathophysiology, mechanisms and applications of mesenchymal stem cells for the treatment of spinal cord injury[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 91: 693-706
- [12] Stragier E, Martin, Davenas E, et al. Brain plasticity and cognitive functions after ethanol consumption in C57BL/6J mice[J]. *Transl Psychiatry*, 2015, 5: e696
- [13] White Am, Matthews Db, Best Pj. Ethanol, memory, and hippocampal function: a review of recent findings [J]. *Hippocampus*, 2000, 10(1): 88-93
- [14] Israel Y, Ezquer F, Quintanilla ME, et al. Intracerebral Stem Cell Administration Inhibits Relapse-like Alcohol Drinking in Rats [J]. *Alcohol Alcohol*, 2017, 52(1): 1-4
- [15] Wang P, Luo Q, Qiao H, et al. The Neuroprotective Effects of Carvacrol on Ethanol-Induced Hippocampal Neurons Impairment via the Antioxidative and Antiapoptotic Pathways[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 4079425
- [16] Yan T, Zhao Y, Zhang X, et al. Astaxanthin Inhibits Acetaldehyde-Induced Cytotoxicity in SH-SY5Y Cells by Modulating Akt/CREB and p38MAPK/ERK Signaling Pathways[J]. *Mar Drugs*, 2016, 14(3): 56
- [17] Ergul Erkek O, Arihan O, Colcimen N, et al. Effects of Cichorium intybus on serum oxidative stress, liver and kidney volume, and cyclin B1 and Bcl-2 levels in the brains of rats with ethanol induced damage [J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2018, 64(7): 30-35
- [18] Doorn J, Moll G, Le Bk, et al. Therapeutic applications of mesenchymal stromal cells: paracrine effects and potential improvements [J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2012, 18(2): 101-115
- [19] Tran C, Damaser Ms. Stem cells as drug delivery methods: application of stem cell secretome for regeneration [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 82-83: 1-11
- [20] Liang X, Ding Y, Zhang Y, et al. Paracrine mechanisms of mesenchymal stem cell-based therapy: current status and perspectives [J]. *Cell Transplant*, 2014, 23(9): 1045-1059
- [21] Chen SD, Wu CL, Hwang WC, et al. More Insight into BDNF against Neurodegeneration: Anti-Apoptosis, Anti-Oxidation, and Suppression of Autophagy[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3): 545
- [22] Salgado AJ, Sousa JC, Costa BM, et al. Mesenchymal stem cells secretome as a modulator of the neurogenic niche: basic insights and therapeutic opportunities[J]. *Front Cell Neurosci*, 2015, 9: 249
- [23] Ceni C, Unsain N, Zeinieh MP, et al. Neurotrophins in the regulation of cellular survival and death [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2014, 220: 193-221
- [24] He W, Yuan QH, Zhou Q. Histamine H3 receptor antagonist Clobenpropit protects propofol-induced apoptosis of hippocampal neurons through PI3K/AKT pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(22): 8013-8020
- [25] Yan T, Zhao Y, Zhang X. Acetaldehyde Induces Cytotoxicity of SH-SY5Y Cells via Inhibition of Akt Activation and Induction of Oxidative Stress[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 4512309
- [26] Zhong Y, Zhu Y, He T, et al. Brain-derived neurotrophic factor inhibits hyperglycemia-induced apoptosis and downregulation of synaptic plasticity-related proteins in hippocampal neurons via the PI3K/Akt pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(1): 294-304
- [27] Li R, Wu Y, Zou S, et al. NGF Attenuates High Glucose-Induced ER Stress, Preventing Schwann Cell Apoptosis by Activating the PI3K/Akt/GSK3 β and ERK1/2 Pathways [J]. *Neurochem Res*, 2017, 42(11): 3005-3018

(上接第 2154 页)

- [27] Della Chiara G, Fortis C, Tambussi G, et al. The rise and fall of intermittent interleukin-2 therapy in HIV infection[J]. *Eur Cytokine Netw*, 2010, 21(3): 197-201
- [28] Tincati C, d'Arminio Monforte A, Marchetti G. Immunological mechanisms of interleukin-2(IL-2) treatment in HIV/AIDS disease[J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2009, 2(1): 40-45
- [29] Leone A, Picker LJ, Sadora DL. IL-2, IL-7 and IL-15 as immunomodulators during SIV/HIV vaccination and treatment [J]. *Curr HIV Res*, 2009, 7(1): 83-90
- [30] Sui GZ, Zhang HH, Zhang T. The effect of HAART to serum soluble interleukin-2 receptors in AIDS patients[J]. *Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi*, 2008, 22(3): 219-221
- [31] Li L, Gu X, Jing YJ, et al. Correlation analysis of CD4 $^{+}$ T lymphocyte levels with opportunistic infection and viral load in patients with HIV/AIDS type 1 [J]. *Chinese journal of modern medicine*, 2016, 26(02): 13-18