

Ghrelin 对 6-OHDA 诱导 SH-SY5Y 细胞线粒体损伤和细胞凋亡的影响^{*}

高文明¹ 李嘉铨² 王慧青³ 董 康² 孟 尧² 程葆华^{1△}

(¹ 济宁医学院基础医学院; ² 济宁医学院临床医学院, 济宁 272000; ³ 山东大学齐鲁医学院, 济南, 250014)

摘 要 **目的** 观察 Ghrelin 能否保护人神经母细胞癌细胞(SH-SY5Y 细胞)抵抗 6-OHDA 所致的线粒体损伤和细胞凋亡。**方法** 培养 SH-SY5Y 细胞,随机分为对照组、Ghrelin 组、6-OHDA 组和 6-OHDA+Ghrelin 组。通过 6-OHDA 处理 SH-SY5Y 细胞构建帕金森病(Parkinson's Disease, PD)体外模型。Ghrelin 预处理后, CCK-8 法观测细胞活力, 乳酸脱氢酶(Lactate dehydrogenase, LDH)法观察细胞毒性, JC-1 染色观察线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$), BCL-2/Bax 比例检测观察细胞凋亡。**结果** 与对照组相比, 6-OHDA 组细胞活力下降, 细胞毒性增加, $\Delta\Psi_m$ 以及 BCL-2/Bax 比例下降(均 $P<0.05$); Ghrelin 预处理后, 与 6-OHDA 组相比, 6-OHDA+Ghrelin 组细胞活力上升, 细胞毒性降低, $\Delta\Psi_m$ 以及 Bcl-2/Bax 比例增高(均 $P<0.05$)。**结论** Ghrelin 预处理可以保护 SH-SY5Y 细胞抵抗 6-OHDA 所致细胞损伤, 具有线粒体保护功能, 减少细胞凋亡。

关键词 Ghrelin; 6-OHDA; 帕金森病; 线粒体损伤; 凋亡

中图分类号: R742.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2021)06-179-06

Effects of ghrelin on 6-OHDA-induced mitochondrial famage and apoptosis in SH-SY5Y cells

GAO Wenming¹, LI Jiazheng², WANG Huiqing³, DONG Kang², MENG Yao², CHENG Baohua^{1△}

(¹ College of Basic Medicine; ² Clinical Medical College, Jining Medical University, Jining 272000, China;

³ Cheeloo College of Medicine, Shandong University, Jinan 250014, China)

Abstract: Objective To observe whether Ghrelin can protect SH-SY5Y cells against mitochondrial damage and apoptosis caused by 6-OHDA. **Methods** SH-SY5Y cells were culutured and randomly divided into control group, Ghrelin group, 6-OHDA group and 6-OHDA+Ghrelin group. We utilized human neuroblastoma SH-SY5Y cells exposed to 6-OHDA as a PD model in vitro. After pretreatment with Ghrelin, cell viability was measured by CCK-8, cytotoxicity was observed by LDH, and mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi_m$) by JC-1 staining. Additionally, the ratio of Bcl-2/Bax reflected the cell apoptosis. **Results** Compared with the control group, cell viability, $\Delta\Psi_m$, and the ratio of Bcl-2/Bax were decreased while the cytotoxicity was increased in the 6-OHDA group. (all $P<0.05$). Compared with the 6-OHDA group, pretreatment with Ghrelin increased cell vitality, $\Delta\Psi_m$, and the ratio of Bcl-2/Bax but decreased the cytotoxicity (all $P<0.05$). **Conclusion** Pretreatment with Ghrelin protected SH-SY5Y cells against cell damage, ameliorated the mitochondrial dysfunction, and reduced cell apoptosis induced by 6-OHDA.

Keywords: Ghrelin; 6-OHDA; Parkinson's disease; Mitochondrial dysfunction; Apoptosis

* [基金项目] 济宁医学院大学生创新训练计划项目(S2019 10443006)

△[通信作者]程葆华, E-mail: chengbh1979@163.com

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是最常见的神经退行性运动障碍性疾病,以运动和非运动症状为主要临床表现^[1]。以中脑黑质致密部(substantia nigra pars compacta, SNpc)多巴胺能神经元进行性丢失,残存的多巴胺神经元内出现路易小体为主要病理学特征^[2]。PD 发病的确切机制尚不十分清楚,现有的证据表明线粒体功能损伤与 PD 的病理生理学有关^[3]。凋亡是最常见的程序性细胞死亡形式,与线粒体功能密切相关,原因是内在的凋亡途径与线粒体去极化有关^[4]。6-OHDA 是儿茶酚胺的羟基化衍生物,其结构与儿茶酚胺类似,是一种有效导致多巴胺神经元变性的神经毒剂,广泛用于选择性儿茶酚胺能神经毒剂作用的细胞或者动物 PD 模型^[5]。

Ghrelin 又名胃饥饿素,是生长激素促分泌素受体(growth hormone secretagogue receptor, GHS-R)的唯一内源性配体^[6]。Ghrelin 可促进生长激素释放,参与多种内分泌调节过程,具有抗凋亡、抗氧化作用,可以拮抗 1-甲基-4-苯基-1, 2, 3, 6-四氢吡喃(1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyran, MPTP)所致的神经毒性,发挥神经保护作用^[7-9]。Ghrelin 对于 6-OHDA 所致的线粒体损伤和细胞凋亡的作用还有待研究。本实验通过 6-OHDA 处理人神经母细胞癌细胞(SH-SY5Y 细胞),构建 PD 体外模型,观察 Ghrelin 对线粒体功能和细胞凋亡的影响,探究其神经保护作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 Ghrelin(美国 Phoenix Pharmaceuticals 公司);SH-SY5Y 细胞(美国菌种保藏中心);6-OHDA(美国 Sigma 公司);DMEM 培养液(美国 Hyclone 公司);CCK-8(日本 Dojindo 公司);LDH(中国南京建成生物有限公司);线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1)(中国江苏凯基有限公司);RIPA 裂解液(中国碧云天生物技术有限公司);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(中国天根生物有限公司);超敏 ECL 化学发光试剂盒、Bcl-2 抗体(中国万类生物科技有限公司);Bax 抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司); β -actin 抗体(北京中山金桥有限公司)。

1.1.2 仪器 CO₂ 培养箱(美国 Thermo 公司);超声波细胞粉碎仪(江苏波场智能科技股份有限公司);微量移液器(德国 Eppendorf 公司);台式低温高速离心机(美国 Beckman 公司);酶标仪、电泳仪、转膜仪(美国 Bio-Rad 公司);普通光学显微镜、倒置生物显微镜(日本 Olympus 公司);激光共聚焦扫描显微镜(SP8)(德国 Leica 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 SH-SY5Y 细胞培养在含有 10%胎牛血清、100U/mL 青霉素和 100U/mL 链霉素的 DMEM 培养基中,放置于 37℃ 含有 5% CO₂ 的细胞培养箱中培养,待生长到约 90%时进行相应传代或接种到 96、6 孔板中,行后续药物处理。

1.2.2 药物处理及分组 取对数生长期 SH-SY5Y 细胞,接种于 96 或 6 孔板中,随机分成 4 组:对照组、Ghrelin 组、6-OHDA 组、6-OHDA + Ghrelin 组,置于 37℃ 含有 5% CO₂ 的细胞培养箱中培养,待细胞长到合适密度, Ghrelin 组、6-OHDA + Ghrelin 组先给予 Ghrelin(1 μ M)预处理,其他两组给予相同剂量的磷酸盐缓冲液(PBS),6-OHDA 组、6-OHDA + Ghrelin 组 2h 后给予 6-OHDA(400 μ M)处理,其他两组给予相同剂量的磷酸盐缓冲液(PBS),放入培养箱培养 24h,后行后续实验操作。

1.2.3 细胞活力测定 将对数生长期细胞接种于 96 孔板内,置于细胞培养箱中,待细胞生长到合适密度,按上述方法进行药物处理。在细胞培养箱继续培养 22h 后,每孔加入 10 μ l CCK-8 溶液,用锡箔纸包好避光条件下,细胞培养箱孵育 2h,孵育结束后用酶标仪 450nm 处测定吸光度(A)。每组设 6 个复孔,实验平行重复 3 次,计算细胞活力。

1.2.4 LDH 释放量检测^[10] 取对数生长期细胞接种于 96 孔板内,置于细胞培养箱中,待细胞生长到合适密度,按上述方法进行药物处理。培养 24h 后,收集上清液并转移到新的 96 孔板中,按照 LDH 检测试剂盒步骤进行操作,反应结束后用酶标仪 450nm 处测定吸光度(A)。每组设 6 个复孔,并且设置只加入培养基的空白孔作为空白对照,实验平行重复 3 次,LDH 释放率=给药组 LDH 活力/空白组 LDH 活力。

1.2.5 线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$)检测^[11] JC-1 染色法来检测 $\Delta\Psi_m$ 在各处理组中的变化。取对数生

长期细胞接种于含有黏附载玻片的 12 孔板中,待细胞生长到合适密度后进行相应药物处理。24h 后,吸去培养基,用 PBS 洗 1 次,然后加入 JC-1 (1x) 染色液,避光条件下孵育 20min,孵育完成后吸去染色液,用洗涤液洗涤 2 次,最后放在 SP8 荧光显微镜下观察拍照,实验平行重复 3 次,用 Image J 分析荧光强度。

1.2.6 Bcl-2、Bax 蛋白表达检测^[12] 取对数生长期细胞接种于 6 孔板内,置于细胞培养箱中,待细胞生长到合适密度,按上述方法进行药物处理。培养 24h 后收集细胞,加入强裂解液和蛋白酶抑制剂,冰上裂解 30min,在 12000rpm 的 4℃ 离心机离心 30min,收集上清即为细胞总蛋白。取 10 μ l 用 BCA 法测定蛋白浓度,剩余蛋白按照 3:1 加入相应的 4 $\times$ SDS 后,在金属水浴锅煮蛋白 10min,室温冷却。随后进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,随后转移到 PVDF 膜上,脱脂奶粉封闭,孵育一抗稀释液,4℃ 过夜。次日 TBST 溶液洗膜,二抗稀释液室温孵育 1h。再次洗膜 3 次,加入 ECL 溶液,暗室内曝光显影。实验平行重复 3 次,用 Image J 分析条带灰度值。

1.3 统计学方法

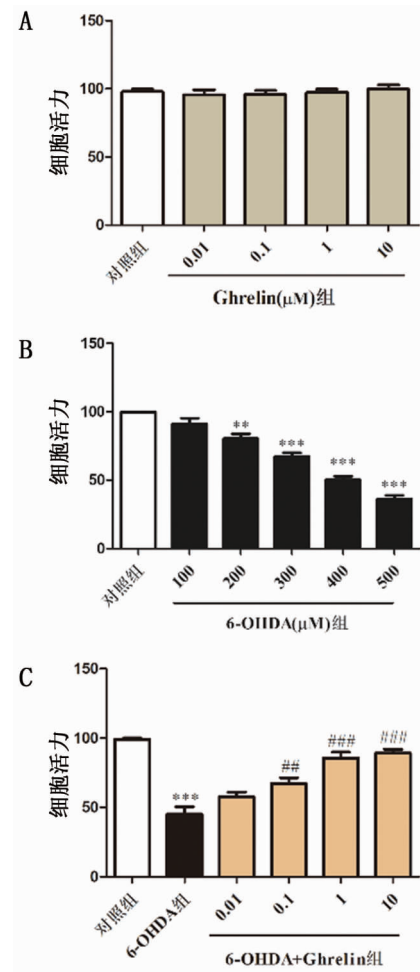
使用 GraphPad Prism 5.0 软件分析该实验中的所有数据,定量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间差异采用 one-way ANOVA,进一步两两比较采用 Tukey 方法, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Ghrelin 对 6-OHDA 处理的 SH-SY5Y 细胞活力的影响

为了初步探究 Ghrelin 对 6-OHDA 诱导 PD 体外模型的作用,运用 CCK-8 检测各组细胞经处理后的细胞活力变化。首先,为了验证单独给予 Ghrelin 是否会对细胞活力产生影响,分别给予 0.01、0.1、1、10 μ M Ghrelin 处理细胞,结果显示,不同浓度的 Ghrelin 对细胞活力没有影响,无毒副作用(图 1A)。随后我们研究 6-OHDA 单独对细胞的毒性作用,结果显示,6-OHDA 以剂量依赖性的方式降低了细胞活力(图 1B),我们采用 400 μ M 的 6-OHDA 用于后续实验。最后我们检测 Ghrelin 预处理对 6-OHDA 处理的细胞的影响,如图 1C 显示,0.1、

1、10 μ M Ghrelin 改善了 6-OHDA 介导的细胞活力的下降,我们选择 1 μ M Ghrelin 用于后续实验。以上结果表明,Ghrelin 对 6-OHDA 诱导损伤的 SH-SY5Y 细胞存活存在一定的保护作用。



注: Ghrelin 或等剂量 PBS 提前 2h 处理细胞,在有或没有 6-OHDA 的情况下培养 24h, CCK-8 实验检测细胞活力。(A) 单独给予 Ghrelin 对细胞活力的影响; (B) 单独给予 6-OHDA 对细胞活力的影响; (C) Ghrelin 对 6-OHDA 刺激的细胞活力的影响。* $P < 0.01$, ** $P < 0.001$ vs 对照组; ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ vs 6-OHDA 组

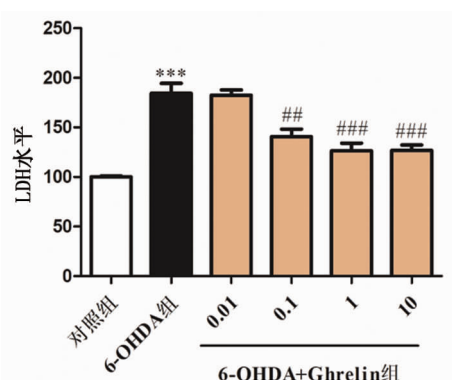
图 1 Ghrelin 对有无 6-OHDA 刺激的 SH-SY5Y 细胞活力的影响

2.2 Ghrelin 对 6-OHDA 诱导损伤的 SH-SY5Y 细胞 LDH 释放率的影响

与对照组相比,6-OHDA 导致 LDH 的大量释放,表明发生细胞死亡;而给予 Ghrelin 预处理后,与 6-OHDA 组相比,6-OHDA+Ghrelin 组 LDH 的释放率明显降低,说明 Ghrelin 降低了 6-OHDA 所致的细胞毒性作用。见图 2。

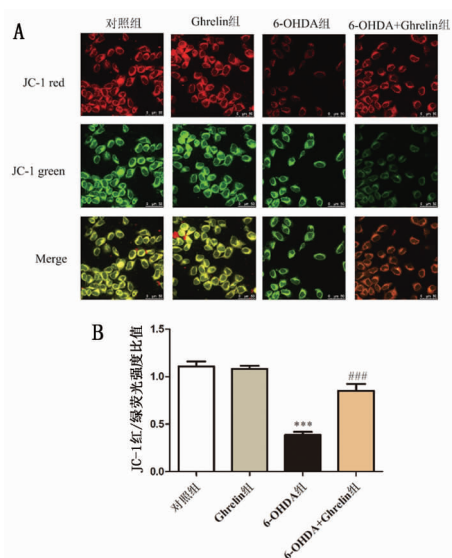
2.3 Ghrelin 对 6-OHDA 处理的 SH-SY5Y 细胞 $\Delta\Psi_m$ 的影响

与对照组相比,给与 6-OHDA 处理后,细胞红色荧光强度显著下降,表明 $\Delta\Psi_m$ 下降;而给予 Ghrelin 预处理后,6-OHDA+Ghrelin 组细胞红色荧光强度明显增加, $\Delta\Psi_m$ 显著上升。表明 Ghrelin 预处理能部分恢复 6-OHDA 所致的 $\Delta\Psi_m$ 的下降,具有线粒体保护功能。见图 3。



注:(A)按照上述方法处理细胞,LDH 试剂盒检测各组 LDH 释放量的变化,进一步反映细胞毒性作用。* * * $P < 0.001$ vs 对照组;## $P < 0.01$,### $P < 0.001$ vs 6-OHDA 组

图 2 Ghrelin 对 6-OHDA 诱导损伤的 SH-SY5Y 细胞 LDH 释放率的影响

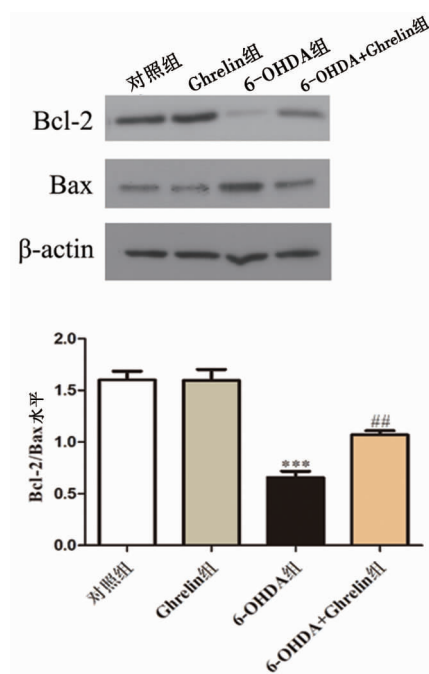


注:(A-B)按照上述方法处理细胞,JC-1 实验红、绿荧光强度比值反映 $\Delta\Psi_m$ 的变化。Scale bar = 50 μm 。* * * $P < 0.001$ vs 对照组;### $P < 0.001$ vs 6-OHDA 组

图 3 Ghrelin 对 6-OHDA 处理的 SH-SY5Y 细胞 $\Delta\Psi_m$ 的影响

2.4 Ghrelin 对 6-OHDA 诱导损伤的 SH-SY5Y 细胞 Bcl-2 和 Bax 表达的影响

与对照组相比,6-OHDA 组 Bcl-2/Bax 比值降低;而给与 Ghrelin 预处理后,与模型组相比,6-OHDA+Ghrelin 组 Bcl-2/Bax 的比值明显升高,表明 Ghrelin 降低了 6-OHDA 所致的细胞凋亡反应。见图 4。



注:(A-B)按照上述实验方法处理细胞,提取细胞总蛋白,运用 Western blotting 方法检测 Bcl-2 和 Bax 的表达,Bcl-2/Bax 的比值反映细胞内凋亡水平。* * * $P < 0.001$ vs 对照组;## $P < 0.01$ vs 6-OHDA 组

图 4 Ghrelin 对 6-OHDA 诱导损伤的 SH-SY5Y 细胞 Bcl-2 和 Bax 表达的影响

3 讨论

PD 是一种与年龄有关的中枢神经退行性疾病,威胁人类健康,据统计我国 PD 患者接近 300 万,预计 2030 年全世界将有 900 万 PD 患者^[13]。PD 神经元变性的确切机制尚不十分明确,目前 PD 的治疗主要以左旋多巴替代疗法为主,其可以缓解症状,但存在一定的不良反应,且无法阻止疾病的发展,而诸如干细胞治疗,神经核毁损术和脑深部电刺激术等替代策略均有严格的适应证^[14],药物治疗仍然是治疗 PD 的基石,因此开发一种能快速通过血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)的靶向药物对于 PD 的治疗是十分有益的。

Ghrelin 作为一个含 28 个氨基酸的脑肠肽,可

以通过 BBB 在神经系统疾病发挥保护作用。以往有研究报道, Ghrelin 通过与受体结合, 发挥抗凋亡、抑制胶质细胞激活, 在神经退行性疾病的体内外模型中发挥神经保护作用^[8,15-16]。本课题组前期研究结果已经证明 Ghrelin 可以通过促进自噬、抑制内质网应激、激活 ERK1/2 等信号转导途径对 PD 的体内外模型发挥神经保护作用^[9,17-18]。然而, Ghrelin 对 6-OHDA 诱导的细胞毒性作用及机制仍需要进一步研究。

PD 发病机制复杂, 既往研究表明, 线粒体功能障碍会加重神经元的退变^[3]。本文结果显示, Ghrelin 预处理增加了细胞活力, 降低了细胞毒性作用。6-OHDA 可以抑制线粒体复合体 I, 抑制 ATP 产生, 阻断细胞内 ATP 参与的过程, 产生大量自由基, 从而导致线粒体功能异常, 进一步引起细胞死亡^[19]。Ghrelin 显著提高了 $\Delta\Psi_m$ 水平, 增加了 Bcl-2/Bax 的比值, 表明 Ghrelin 降低了 6-OHDA 所致的线粒体功能损伤和细胞凋亡, 有利于线粒体稳态的维持。综上所述, Ghrelin 减轻了 6-OHDA 所致的 SH-SY5Y 细胞损伤。我们所有的工作旨在进一步探索 Ghrelin 的潜在分子机制, 同时为 Ghrelin 成为治疗 PD 的临床药物提供了新的证据。

利益冲突: 所有作者均申明不存在利益冲突。

参考文献:

- [1] Balestrino R, Schapira AHV. Parkinson disease[J]. Eur J Neurol, 2020, 27: 27-42. DOI: 10. 1111/ene. 14108; 10. 1111/ene. 14108.
- [2] Samii A, Nutt JG, Ransom BR. Parkinson's disease[J]. Lancet, 2004, 363: 1783-1793. DOI: 10. 1016/s0140-6736(04) 16305-8; 10. 1016/s01406736(04) 16305-8.
- [3] Bose A, Beal MF. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease[J]. J Neurochem, 2016, 139Suppl1: 216-231. DOI: 10. 1111/jnc. 13731; 10. 1111/jnc. 13731.
- [4] Perier C, Bové J, Vila M. Mitochondria and programmed cell death in Parkinson's disease: apoptosis and beyond[J]. Antioxid Redox Signal, 2012, 16: 883-895. DOI: 10. 1089/ars. 2011. 4074; 10. 1089/ars. 2011. 4074.
- [5] Martinez TN, Greenamyre JT. Toxin models of mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease[J]. Antioxid Redox Signal, 2012, 16: 920-934. DOI: 10. 1089/ars. 2011. 4033; 10. 1089/ars. 2011. 4033.
- [6] Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach[J]. Nature, 1999, 402: 656-660. DOI: 10. 1038/45230; 10. 1038/45230.
- [7] Jiang H, Li LJ, Wang J, et al. Ghrelin antagonizes MPTP-induced neurotoxicity to the dopaminergic neurons in mouse substantia nigra[J]. Exp Neurol, 2008, 212: 5327. DOI: 10. 1016/j. expneurol. 2008. 05. 006; 10. 1016/j. expneurol. 2008. 05. 006.
- [8] Andrews ZB, Erion D, Beiler R, et al. Ghrelin promotes and protects nigrostriatal dopamine function via a UCP2-dependent mitochondrial mechanism[J]. J Neurosci, 2009, 29: 14057-14065. DOI: 10. 1523/jneurosci. 3890-09. 2009; 10. 1523/jneurosci. 3890-09. 2009.
- [9] Wang H, Dou S, Zhu J, et al. Ghrelin protects dopaminergic neurons against MPTP neurotoxicity through promoting autophagy and inhibiting endoplasmic reticulum mediated apoptosis[J]. Brain Res, 2020, 1746: 147023. DOI: 10. 1016/j. brainres. 2020. 147023; 10. 1016/j. brainres. 2020. 147023.
- [10] Wang M, Sun H, Yao Y, et al. MicroRNA-217/138-5p downregulation inhibits inflammatory response, oxidative stress and the induction of neuronal apoptosis in MPP(+)-induced SH-SY5Y cells[J]. Am J Transl Res, 2019, 11: 6619-6631.
- [11] Blandini F, Armentero MT, Martignoni E. The 6-hydroxydopamine model: news from the past[J]. Parkinsonism Relat Disord, 2008, 14 Suppl 2: S124-129. DOI: 10. 1016/j. parkreldis. 2008. 04. 015; 10. 1016/j. parkreldis. 2008. 04. 015.
- [12] Chittenden T, Harrington EA, O'Connor R, et al. Induction of apoptosis by the Bcl-2 homologue Bak[J]. Nature, 1995, 374: 733-736. DOI: 10. 1038/374733a0; 10. 1038/374733a0.
- [13] Ascherio A, Schwarzschild MA. The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention[J]. Lancet Neurol, 2016, 15 (12): 1257-1272. DOI: 10. 1016/S1474-4422(16) 30230-7.
- [14] AlDakheel A, Kalia LV, Lang AE. Pathogenesis-targeted, disease-modifying therapies in Parkinson disease[J]. Neurotherapeutics, 2014, 11: 6-23. DOI: 10. 1007/s13311-013-0218-1; 10. 1007/s13311-013-0218-1. DOI: 10. 1007/S13311-013-0218-1.
- [15] Reich N, and Hölscher C. Acylated Ghrelin as a Multi-Targeted Therapy for Alzheimer's and Parkinson's Disease[J]. Front Neurosci, 2020, 14: 614828. DOI: 10. 3389/fnins. 2020. 614828; 10. 3389/fnins. 2020. 614828.

(下转第 188 页)

- ectal, and prostate cancer risk in the European Prospective investigation into cancer and Nutrition-Norfolk in relation to phytoestrogen intake derived from an improved database[J]. *Am J Clin Nutr*, 2010, 91 (2) : 440-448. DOI:10.3945/ajcn.2009.28.282.
- [6] 王爱岳,王良,李强,等.葛根素联合胞磷胆碱钠治疗脑梗塞的临床观察[J].*海南医学*,2005,16(4):63.
- [7] Li H, Zhang N, Lin HY, et al. Histological, cellular and behavioral assessments of stroke outcomes after photothrombosis-induced ischemia in adult mice [J]. *BMC Neurosci*, 2014, 15 (1) : 58-66. DOI: 10.1186/1471-2202-15-58.
- [8] Ning N, Hu JF, Sun JD, et al. Clausenamide facilitates synaptic transmission at hippocampal Schaffer collateral-CA1 synapses [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 682 (1) : 50-55. DOI:10.1016/j.ejphar.2012.02.004.
- [9] Caso V, Falorni A, Bushnell CD, et al. Pregnancy, Hormonal Treatments for Infertility, Contraception, and Menopause in women after ischemic stroke: a consensus document [J]. *Stroke*, 2017, 48 (2) : 501-506. DOI: 10.1161/STROKEAHA.116.013964.
- [10] Robinson RG, Jorge RE. Post-stroke depression: a review [J]. *Am J Psychiatry*, 2016, 173 (3) : 221-231.
- [11] Gao Q, Ji ZH, Yang Y, et al. Neuroprotective effect of Rhizoma Atractylodismacrocephalae against excitotoxicity-induced apoptosis in cultured cerebral cortical neurons [J]. *Phytother Res*, 2012, 26 (4) : 557-561. DOI: 10.1002/ptr.3595.
- [12] Liu C, Zhao H, Ji ZH, et al. Neuroprotection of atractylenolide III from Atractylodis macrocephalae against glutamate-induced neuronal apoptosis via inhibiting caspase signaling pathway [J]. *Neurochem Res*, 2014, 39 (9) : 1753-1758. DOI:10.1007/s11064-014-1370-7.
- [13] Zhang H, Lai Q, Li Y, et al. Learning and memory improvement and neuroprotection of Gardenia jasminoides (Fructus gardenia) extract on ischemic brain injury rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 196: 225-235. DOI: 10.1016/j.jep.2016.11.042.
- [14] Liu JM, Wu PF, Rao J, et al. ST09, a novel thioester derivative of tacrine, alleviates cognitive deficits and enhances glucose metabolism in vascular dementia rats [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2016, 22 (3) : 220-229. DOI: 10.1111/cns.12495.

(收稿日期 2020-12-16)

(本文编辑:石俊强)

(上接第 183 页)

- [16] Seminara RS, Jeet C, Biswas S, et al. The Neurocognitive Effects of Ghrelin-induced Signaling on the Hippocampus; A Promising Approach to Alzheimer's Disease [J]. *Cureus*, 2018, 10: e3285. DOI: 10.7759/cureus.3285; 10.7759/cureus.3285.
- [17] Wang H, Dou S, Zhu J, et al. Ghrelin mitigates MPP (+) -induced cytotoxicity: Involvement of ERK1/2-mediated Nrf2/HO-1 and endoplasmic reticulum stress PERK signaling pathway [J]. *Peptides*, 2020, 133: 170374. DOI: 10.1016/j.peptides.2020.170374; 10.1016/j.peptides.2020.170374.
- [18] Wang H, Dou S, Zhu J, et al. Ghrelin protects against rotenone-induced cytotoxicity: Involvement of mitophagy and the AMPK/SIRT1/PGC1 α pathway [J]. *Neuropeptides*, 2021, 87: 102134. DOI: 10.1016/j.npep.2021.102134; 10.1016/j.npep.2021.102134.
- [19] Park JS, Davis RL, Sue CM. Mitochondrial dysfunction in parkinson's disease: new mechanistic insights and therapeutic perspectives [J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2018, 18: 21. DOI: 10.1007/s1191001808293; 10.1007/s11910-018-0829-3.

(收稿日期 2021-03-29)

(本文编辑:石俊强)