

颈动脉低灌注大鼠模型海马区 IL-33 和 cleaved-caspase-3 的表达

孟德龙 贾柯娟 李艳 张彬

150001 哈尔滨医科大学附属第一医院神经内科

通信作者: 孟德龙, Email: 278882027@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2019.04.018

【摘要】目的 探讨 IL-33 在颈动脉低灌注导致的认知障碍中的可能作用。**方法** 36 只成年雄性 SD 大鼠随机分为 3 组: 假手术(S)组, 模型 2 周(L2w)组, 模型 4 周(L4w)组。Morris 水迷宫测试各组大鼠学习记忆能力; 免疫组化法检测海马区 cleaved-caspase-3 表达水平; Western-blot 法检测海马区 IL-33 表达水平。**结果** 水迷宫测试、cleaved-caspase-3 表达和 IL-33 表达, 3 组之间比较差异均有统计学意义($F=64.201, P < 0.05$; $F=233.558, P < 0.05$; $F=51.498, P < 0.05$)。与 S 组(20.32 ± 6.30)s 比较, L2w 组(46.67 ± 9.49)s 逃逸潜伏期显著延长($t=-4.902, P < 0.05$); L4w 组(81.51 ± 14.67)s 与 L2w 组比较, 逃逸潜伏期显著延长($t=-6.397, P < 0.05$)。与 S 组(1.31 ± 1.19)比较, L2w 组(6.56 ± 1.32)海马区 cleaved-caspase-3 表达显著增加($t=-6.328, P < 0.05$); 与 L2w 组比较, L4w 组(18.78 ± 5.83)海马区 cleaved-caspase-3 表达显著增加($t=-14.733, P < 0.05$)。与 S 组(0.26 ± 0.02)比较, L2w 组(0.3 ± 0.04)海马区 IL-33 表达有增加趋势, 但结果无统计学意义($t=-1.530, P=0.147$); 与 L2w 组比较, L4w 组(0.49 ± 0.06)海马区 IL-33 表达显著增加($t=-7.924, P < 0.05$)。**结论** IL-33 可能在脑组织低灌注导致的认知障碍中起作用。

【关键词】 血管性痴呆; 颈动脉低灌注; 白介素-33; cleaved-caspase-3

- [14] Kim CM, Eng JJ. The relationship of lower-extremity muscle torque to locomotor performance in people with stroke[J]. Phys Ther, 2003, 83(1): 49-57. DOI: 10.1093/ptj/83.1.49.
- [15] 朱童. 运用三维步态分析评价下肢康复机器人对偏瘫患者步行能力影响的研究[D]. 杭州: 浙江中医药大学, 2015.
- [16] 古泽正道, 曾根政富. 脳卒中後遺症患者の Bobath アプローチ - 臨床篇 [M]. 東京: 運動と医学出版社, 2016: 117-118.
- [17] Lunenburger L, Colombo G, Riener R, et al. Clinical assessments performed during robotic rehabilitation by the gait training robot Lokomat[C]. 9th International Conference on Rehabilitation Robotics, 2005: 345-346. DOI: 10.1109/ICORR.2005.1501116.
- [18] 朱琳, 宋为群, 刘霖, 等. 下肢康复机器人联合任务导向训练对卒中后步行能力的康复作用[J]. 中国脑血管病杂志, 2016, 13(5): 240-248. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5921.2016.05.004. Zhu L, Song WQ, Liu L, et al. Rehabilitation effect of lower limb rehabilitation training robot combined with task-oriented training on walking ability after stroke[J]. Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2016, 13(5): 240-248.
- [19] Barbeau H. Locomotor training in neurorehabilitation: emerging rehabilitation concepts[J]. Neurorehabil Neural Repair, 2003, 17(1): 3-11. DOI: 10.1177/0888439002250442.
- [20] 卢丽萍, 桑德春, 季淑凤. 下肢康复机器人训练对脑卒中偏瘫患者运动能力和日常生活活动能力的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2016, 22(10): 1200-1203. DOI: 10.3969/j.issn.1006-9771.2016.10.019. Lu LP, Sang DC, Ji SF, et al. Effect of Leg Rehabilitation Robot Training on Motor and Activities of Daily Living in Hemiplegic Patients after Stroke[J]. Chin J Rehabil Theory Pract, 2016, 22(10): 1200-1203.

(收稿日期: 2018-07-05)

(本文编辑: 戚红丹)

Expression of IL-33 and cleaved-caspase-3 in the hippocampus of rats with carotid artery hypoperfusion

Meng Delong, Jia Kejuan, Li Yan, Zhang Bin

Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China

Corresponding author: Meng Delong, Email: 278882027@qq.com

【Abstract】 Objectives To investigate the possible role of interleukin-33 (IL-33) in cognitive impairment caused by hypoperfusion of the carotid artery. **Methods** A total of 36 adult male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into 3 groups: sham operation (S) group, Lesion 2 weeks (L2w) group, and Lesion 4 weeks (L4w) group. The Morris water maze was used to test the learning and memory ability of each group. The expression of cleaved-caspase-3 in the hippocampus was tested by immunohistochemistry. The expression of IL-33 in the hippocampus was tested by Western-blot method. **Results** The differences in the water maze test performance and the expression of cleaved-caspase-3 and IL-33 were statistically significant between the three groups ($F=64.201, P < 0.05$; $F=233.558, P < 0.05$; $F=51.498, P < 0.05$). Compared with the S group (20.32 ± 6.30)s, the escape latency of the L2w group (46.67 ± 9.49) s was significantly prolonged ($t=-4.902, P < 0.05$); compared with the L2w group, the escape latency of the L4w group (81.51 ± 14.67)s was significantly prolonged ($t=-6.397, P < 0.05$). Compared with the S group (1.31 ± 1.19), the expression of cleaved-caspase-3 in the hippocampus in the L2w group (6.56 ± 1.32) was significantly increased ($t=-6.328, P < 0.05$); compared with the L2w group, the L4w group's (18.78 ± 5.83) expression of cleaved-caspase-3 in the hippocampus was significantly increased ($t=-14.733, P < 0.05$). Compared with the S group (0.26 ± 0.02), the expression of IL-33 in hippocampus in the L2w group (0.3 ± 0.04) increased, but the results were not statistically significant ($t=-1.530, P=0.147$); compared with the L2w group, the L4w group's expression of IL-33 in the hippocampus (0.49 ± 0.06) was significantly increased ($t=-7.924, P < 0.05$). **Conclusions** IL-33 may play a role in cognitive impairment caused by hypoperfusion of brain tissue.

【Key words】 Vascular dementia; Carotid artery hypoperfusion; Interleukin-33; Cleaved-caspase-3

血管性痴呆(vascular dementia, VD)是一组由缺血性或出血性脑血管病或心脏、循环障碍导致的低灌注引起的获得性高级认知功能障碍综合征。VD是仅次于阿尔茨海默病的第二大痴呆类型,占有痴呆的15%~20%。目前,VD的确切发病机制尚不完全清楚,因而没有有效的治疗策略。随着全球人口老龄化加剧,VD的研究已成为医学研究的热点。IL-33是IL-1细胞因子家族的一个新成员,2005年由Schmitz等^[1]发现并鉴定。虽然至今IL-33已在多种疾病中被广泛研究,但其在慢性低灌注脑组织中的变化和作用却鲜为人知。最新的研究表明IL-33和凋亡相关,半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(caspase)-3和caspase-7能够水解IL-33使其失活^[2]。通过双侧颈动脉结扎导致动物脑组织低灌注,能够模拟VD早期的行为学异常和病理生理变化。本研究通过观察颈动脉低灌注大鼠海马区CA1区凋亡相关的主要效应酶活化的caspase-3(cleaved-caspase-3)和IL-33的表达,初步探讨IL-33在脑组织低灌注导致的认知障碍中的病理生理作用,以期对VD的防治提供新的思路。

一、材料与方法

1. 实验动物: 成年雄性SD大鼠(体重250~300 g)共36只,购于北京维通利华实验动物技术有限公司。随机分成3组,每组12只:假手术(S)组,颈动

脉低灌注2周(L2w)组,颈动脉低灌注4周(L4w)组。

2. VD模型制备: 本研究采用两血管结扎(two vessel occlusion, 2VO)法制备颈动脉低灌注大鼠模型^[3]。10%水合氯醛3.5 ml/kg腹腔注射麻醉后将大鼠仰卧位固定于手术台上。采用颈正中切口,分离皮下组织及颈部肌肉,暴露双侧颈总动脉鞘,分离颈总动脉和迷走神经。双重结扎L2w组和L4w组大鼠的双侧颈总动脉,阻断血流。术毕逐层缝合肌肉、皮下组织和皮肤,伤口碘伏消毒。假手术组仅分离出双侧颈总动脉,但并不结扎。

3. 行为学测试-Morris水迷宫: L2w和L4w组大鼠分别于术后2周和4周进行Morris水迷宫行为学测试^[4]。水迷宫为一个充满水的黑色圆柱形水池,直径160 cm,高60 cm,水深45 cm。水迷宫平均划分为4个象限,内侧分别挂有4个不同颜色和形状的位置参照物,水迷宫上方的摄像机同步记录大鼠的游泳轨迹。(1)定向航行试验: 在测试中选取任一象限放入一个直径10 cm的透明可移动圆柱形平台—逃逸平台,其表面距水面2 cm。选择另外三个象限池壁圆弧中点作为入水点,将大鼠面朝池壁放入水中进行训练,每次寻找平台时间不超过120 s。每天每个象限至少训练一次,共训练4次。记录大鼠到达平台所用的平均时间为逃逸潜伏期,共训练5 d。(2)空间探索试验: 第6天撤去平台,大鼠在水

迷宫中自由游动 120 s, 记录大鼠首次到达平台位置所用的时间为逃逸潜伏期。

4. 免疫组化法检测海马区 cleaved-caspase-3 表达: Morris 水迷宫测试完成后, 动物左心室插管灌流 PBS 和 4% 多聚甲醛。开颅取脑, 视交叉前后 2 mm 冠状位切片, 4% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 5 μm 厚度切片。采用免疫组化链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连结法(SP法)检测切片中 cleaved-caspase-3 的表达。方法如下: 切片经脱蜡、梯度复水、抗原修复后加兔抗大鼠 cleaved-caspase-3 多克隆抗体(ab2303, 一抗, 美国 Abcam 公司), 4℃ 孵育 24 h 后加辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔 IgG 多克隆抗体(PV-6001, 二抗, 北京中杉金桥公司)室温下孵育 20 min, DAB 显色, 封片, 采用“双盲法”在光学显微镜下观察海马 CA1 区神经元 cleaved-caspase-3 的表达。结果判断方法^[5]: 放大 400 倍镜下, 每张切片随机选取 6 个视野, 胞核染成棕黄色或胞核和胞浆染成棕黄色为阳性。阳性细胞着色判断(A): < 5% (0分), 5% ~ 25% (1分), 26% ~ 50% (2分), > 50% (3分)。阳性强度(B): 无着色或与背景均匀一致的淡黄色(0分), 浅棕黄色(1分), 棕黄色(2分), 棕褐色(3分)。用 A × B 进行计分, 0 ~ 1 分为阴性(-), 2 ~ 3 分为弱阳性(+), 4 ~ 6 分为阳性(++), 7 ~ 9 分为强阳性(+++)。分别计算各组 cleaved-caspase-3 阳性和强阳性细胞平均数并进行比较。

5. Western blot 检测海马区 IL-33 表达: 取海马组织 -80℃ 保存, 冰冻组织匀浆, 使用全蛋白提取试剂盒(WLA019, 沈阳万类生物公司)提取总蛋白。用 10% 的 SDS-PAGE 胶, 电压 100 V, 恒压电泳 2.5 h 分离蛋白, 用恒压 80 V, 1.5 h 把蛋白转印到 PVDF 膜上, 用 TBST 缓冲液配制 5% (M/V) 脱脂奶粉封闭 1 h。加兔抗大鼠 IL-33 单克隆抗体(一抗, 1 : 1 000, ab207737, 美国 Abcam 公司)和内参 β-actin(1 : 5 000, WL01845, 沈阳万类生物公司)4℃ 孵育过夜, 第二天用 TBST 摇床摇动漂洗 5 min × 4 次, 使用辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 抗体(二抗, WLA023, 沈阳万类生物公司)室温孵育 1 h, TBST 漂洗 5 min × 6 次, ECL 显色。内参 β-actin 用同样方法检测。使用 Image Pro Plus 6.0 分析蛋白水平, IL-33/β-actin 的比值表示 IL-33 的相对表达水平。

6. 统计学方法: 采用 SPSS 18.0 软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间均数比较采用单因素方差分析(ANOVA), 所有统计资料进行方差齐性的检验,

方差齐时应用 LSD 法进行各组之间的两两比较, 方差不齐时应用 Dunnett's T3 法进行各组之间的两两比较, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

二、结果

1. 行为学测试结果: 见表 1、图 1。Morris 水迷宫测试定向航行实验中, 从第 1 天到第 5 天, 各组平均逃逸潜伏期均逐渐缩短。空间探索实验 3 组间逃逸潜伏期比较差异有统计学意义($F=64.201, P < 0.05$)。L2w 组与 S 组比较, 逃逸潜伏期显著延长($t=-4.902, P < 0.05$); L4w 组与 L2w 组比较, 逃逸潜伏期显著延长($t=-6.397, P < 0.05$)。

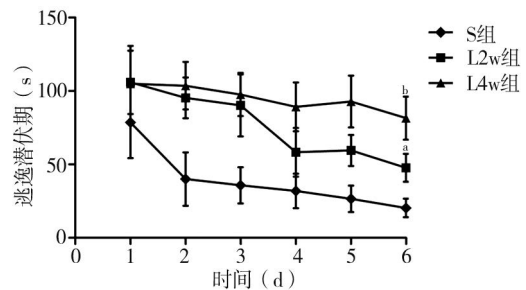
2. Cleaved-caspase-3 表达比较: 见表 1、图 2。3 组间 cleaved-caspase-3 表达阳性细胞数比较差异有统计学意义($F=233.558, P < 0.05$)。L2w 组较 S 组海马区阳性细胞数显著增加($t=-6.328, P < 0.05$); L4w 组较 L2w 组海马区阳性细胞数显著增加($t=-14.733, P < 0.05$)。

3. IL-33 表达比较: 见表 1、图 3。3 组间 IL-33 表达差异有统计学意义($F=51.498, P < 0.05$)。L2w 组较 S 组海马区 IL-33 表达有增加趋势, 但结果无统计学意义($t=-1.530, P=0.147$); L4w 组较 S 组和 L2w 组海马区 IL-33 表达均显著增加, 与 L2w 组比较差异有统计学意义($t=-7.924, P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠水迷宫逃逸潜伏期、cleaved-caspase-3 阳性细胞数及 IL-33 表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	逃逸潜伏期(s)	cleaved-caspase-3	IL-33
S组	20.32 ± 6.30	1.31 ± 1.19	0.26 ± 0.02
L2w组	46.67 ± 9.49 ^a	6.56 ± 1.32 ^a	0.30 ± 0.04
L4w组	81.51 ± 14.67 ^b	18.78 ± 5.83 ^b	0.49 ± 0.06 ^b
F 值	64.201	233.558	51.498
P 值	< 0.01	< 0.01	< 0.01

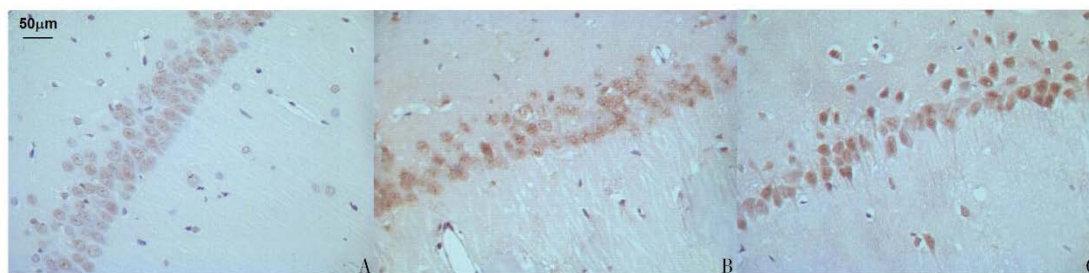
注: 与 S 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 L2w 组比较, ^b $P < 0.05$



注: 与 S 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 L2w 组比较, ^b $P < 0.05$

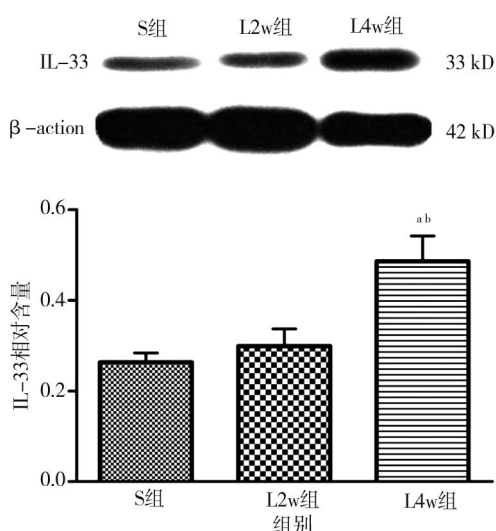
图 1 3 组大鼠不同时间点 Morris 水迷宫逃逸潜伏期

讨论 认知功能障碍是脑血管病最常见的并发症之一。2VO 法是一种经典的制备 VD 动物模型的



注: A S组; B L2w组; C L4w组

图2 3组大鼠海马cleaved-caspase-3表达(SP×400)



注: 与S组比较, ^a $P < 0.05$; 与L2w组比较, ^b $P < 0.05$

图3 3组大鼠IL-33蛋白表达水平比较

方法^[3],造成大鼠进行性认知功能损伤和学习记忆能力下降,能够较好地模拟VD早期的病理生理过程。本研究采用2VO法制备模型,分别于手术后2周和4周应用Morris水迷宫评估各组大鼠的认知功能。实验结果显示模型组较假手术组逃逸潜伏期明显延长,提示大鼠空间学习记忆能力显著下降。而且术后4周组较2周组逃逸潜伏期也显著延长,提示随着时间增加,大鼠认知功能持续下降。这些结果与既往的研究相一致^[6]。

海马是脑边缘系统中的重要结构,与学习、记忆和认知功能有关,尤其是空间记忆。在海马中首先发现的长时程增强(long-term potentiation, LTP)是突触传递的重要表现形式,是学习记忆的分子基础。海马(尤其是CA1区)是大脑中缺血最为敏感的区域之一,也是VD患者脑组织中最常见的受累部位。对VD患者尸检发现,海马CA1区可见大量锥体细胞脱落^[7]。对2VO动物模型的研究发现,在术后的第1周内神经元没有明显丢失,随着时间的增加,神经

损伤逐渐加剧。2周时,约1/4的动物在CA1区出现海马损伤;4周时,这一比例增加到55%,而8~13周后,67%的2VO模型大鼠出现海马的破坏^[3]。与上述神经元丢失相似,在2VO造模后2周,在海马CA1和CA3区域开始检测到TUNEL标记的凋亡细胞,随着时间的推移,2VO动物海马组织的凋亡反应越来越显著^[3]。本实验中2VO造模后大鼠海马CA1区凋亡相关的cleaved-caspase-3明显增加,而且随着时间的增加,2VO大鼠海马区cleaved-caspase-3表达持续增加,术后4周组较术后2周组cleaved-caspase-3表达显著增加。

在VD的发病机制中,细胞因子发挥着重要作用。越来越多的基础和临床实验研究发现IL-33、肿瘤坏死因子等多种炎性细胞因子参与VD的神经病理损伤过程^[8-9]。IL-33是新近发现的一种细胞因子,属于IL-1家族。它最初被认为是2型免疫应答诱导剂,激活Th2细胞和肥大细胞。至今,多种证据表明IL-33能够有效刺激多种免疫细胞,作用于多个细胞通路的关键因子,参与调控增殖、细胞存活、细胞因子的分泌(IL-4、IL-5、IL-13)以及AREG的表达,具有复杂的细胞和分子特性^[9]。以往的研究表明,IL-33在胃、肺、皮肤、淋巴结、脾脏、胰腺、肾脏、心脏和脑组织中均有表达^[10],其中IL-33在脊髓和大脑中表达水平最高^[11]。最近的研究发现,注射IL-33逆转了突触可塑性损伤和APP/PS1小鼠的认知缺陷^[12],然而,IL-33在缺血性脑损伤中的作用尚不清楚。因此,本实验希望通过观察IL-33在VD模型大鼠脑内的表达变化,初步探讨IL-33在慢性低灌注诱导的认知功能障碍中可能的作用,以期为今后研究提供思路和借鉴。既往的研究提示坏死与凋亡在2VO模型中共存,并且坏死可能先于凋亡出现^[3]。IL-33被认为是由坏死细胞释放,受凋亡过程的调节并反过来干预凋亡的一种具有双重功能的细胞因子。其同时作为细胞因子和调节基因转录的细胞内核因子发挥作用^[13]。

目前认为, IL-33在凋亡过程中被激活的 caspase-3和caspase-7处理。IL-33的 β 4- β 5环中, 有10个未在其他IL-1家族成员中发现的残基插入, 它包含一个由caspase-3和caspase-7裂解的共有位点, 产生两种活性较低的IL-33产物^[2]。由此可见, caspase依赖的IL-33蛋白水解显著减弱了IL-33的活性, 于此同时, 细胞凋亡中IL-33蛋白水解过程可能是减少细胞凋亡的一种手段^[2]。

凋亡是VD发生发展中重要的病理过程。Procaspase-3被上游的半胱天冬氨酸酶激活成为活化的caspase-3(cleaved-caspase-3), cleaved-caspase-3是中枢神经系统调控神经元凋亡的主要效应酶。与既往的研究相一致^[14-15], 本研究观察到VD模型大鼠海马组织cleaved-caspase-3表达显著增加, 于此同时, 本实验还观察到随着病理过程的发展IL-33表达也明显增加。综合以上研究结果, 推测在疾病状态下, 随着凋亡程序的启动caspase-3被激活, 激活的caspase-3通过水解作用降低IL-33的活性, 而在caspase-3水解IL-33过程中其本身的促凋亡作用也可能受到抑制。随着病理过程的进展, IL-33的表达不断增加, 但是由于凋亡相关半胱天冬氨酸酶的调控, IL-33的活性与数量不成正比。并且, 由于凋亡细胞通常在质膜完整性丧失前被吞噬细胞吞噬, 这进一步降低了从这些细胞释放具有生物活性的IL-33的可能性。上述这些过程均可能减弱IL-33对脑组织的保护作用。与我们的发现相似的, IL-33和caspase-3在糖尿病大鼠的卵巢组织和肾脏组织中明显增加^[16-17]。

综上, IL-33可能在脑组织低灌注导致的认知障碍中起重要作用。通过调节IL-33水平可能改善慢性低灌注脑组织损伤及损伤后的认知障碍。但这还需要进一步研究。

利益冲突 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

作者贡献声明 试验设计为孟德龙, 研究实施为孟德龙、贾柯娟、李艳, 绘制图表为张彬, 论文撰写为孟德龙、贾柯娟

参 考 文 献

- [1] Schmitz J, Owyang A, Oldham E, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines[J]. *Immunity*, 2005, 23(5): 479-490. DOI: 10.1016/j.immuni.2005.09.015.
- [2] Lüthi AU, Cullen SP, McNeela EA, et al. Suppression of interleukin33 bioactivity through proteolysis by apoptotic caspases[J]. *Immunity*, 2009, 31(1): 84-98. DOI: 10.1016/j.immuni.2009.05.007.
- [3] Farkas E, Luiten PG, Bari F. Permanent, bilateral common carotid artery occlusion in the rat: a model for chronic cerebral hypoperfusion-related neurodegenerative diseases[J]. *Brain Res Rev*, 2007, 54(1): 162-180. DOI: 10.1016/j.brainresrev.2007.01.003.
- [4] Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat[J]. *J Neurosci Methods*, 1984, 11(1): 47-60.
- [5] 尹宏, 永胜, 赵海龙, 等. 星形胶质瘤组织中NGF和TrkA表达及临床意义[J]. *山东医药*, 2013, 53(6): 15-17. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2013.06.005.
Yi H, Yong S, Zhao HL, et al. Expression and clinical significance of NGF and TrkA in astrocytoma tissue[J]. *Shandong Medical Journal*, 2013, 53(6): 15-17.
- [6] Shu Y, Zhang H, Kang T, et al. PI3K/Akt signal pathway involved in the cognitive impairment caused by chronic cerebral hypoperfusion in rats[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e81901. DOI: 10.1371/journal.pone.0081901.
- [7] Xu X, Zhang B, Lu K, et al. Prevention of Hippocampal Neuronal Damage and Cognitive Function Deficits in Vascular Dementia by Dextromethorphan[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(5): 3494-3502. DOI: 10.1007/s12035-016-9786-5.
- [8] Angelopoulos P, Agouridakis H, Vaiopoulos H, et al. Cytokines in Alzheimer's disease and vascular dementia[J]. *Int J Neurosci*, 2008, 118: 1659-1672. DOI: 10.1080/00207450701392068.
- [9] Kim JH, Ko PW, Lee HW, et al. Astrocyte-derived lipocalin-2 mediates hippocampal damage and cognitive deficits in experimental models of vascular dementia[J]. *Glia*, 2017, 65(9): 1471-1490. DOI: 10.1002/glia.23174.
- [10] Liew FY, Girard JP, Turnquist HR. Interleukin-33 in health and disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(11): 676-689. DOI: 10.1038/nri.2016.95.
- [11] Gadani SP, Walsh JT, Smirnov I, et al. The glia-derived alarmin IL-33 orchestrates the immune response and promotes recovery following CNS injury[J]. *Neuron*, 2015, 85(4): 703-709. DOI: 10.1016/j.neuron.2015.01.013.
- [12] Fu AK, Hung KW, Yuen MY, et al. IL-33 ameliorates Alzheimer's disease like pathology and cognitive decline[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: E2705-E2713. DOI: 10.1073/pnas.1604032113.
- [13] Haraldsen G, Balogh J, Pollheimer J. Interleukin-33-cytokine of dual function or novel alarming? [J]. *Trends Immunol*, 2009, 30: 227-233. DOI: 10.1016/j.it.2009.03.003.
- [14] Zhao T, Fu Y, Sun H, et al. Ligustrazine suppresses neuron apoptosis via the Bax/Bcl-2 and caspase-3 pathway in PC12 cells and in rats with vascular dementia[J]. *IUBMB Life*, 2018, 70(1): 60-70. DOI: 10.1016/j.it.2009.03.003.
- [15] Sun ZK, Ma XR, Jia YJ, et al. Effects of resveratrol on apoptosis in a rat model of vascular dementia[J]. *Exp Ther Med*, 2014, 7(4): 843-848. DOI: 10.3892/etm.2014.1542.
- [16] Nayki C, Nayki U, Kulhan M, et al. The effect of diabetes on ovaries in a rat model: the role of interleukin-33 and apoptosis[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2017, 33(9): 708-711. DOI: 10.1080/09513590.2017.1313971.
- [17] Demirtas L, Turkmen K, Kandemir FM, et al. The possible role of interleukin-33 as a new player in the pathogenesis of contrast-induced nephropathy in diabetic rats[J]. *Ren Fail*, 2016, 38(6): 952-960. DOI: 10.3109/0886022X.2016.1165034.

(收稿日期: 2019-02-23)

(本文编辑: 赵金鑫)