·综述·

多肽类药物在新生儿缺氧缺血性脑损伤中的研究进展

侯雪雯,邱　洁
(南京医科大学附属儿童医院新生儿医疗中心,南京 210008)

[摘要] 新生儿缺氧缺血性脑损伤是新生儿死亡和婴幼儿神经系统功能障碍的主要原因,目前唯一公认有效的治疗方法是亚低温治疗。近年来,随着新技术的发展,多肽类药物由于具有高选择性、高效性、耐受性好、制备简单、成本低等优点,得到了广泛关注。利用新生儿缺氧缺血性脑损伤模型的研究发现,多种多肽类药物可直接作用或通过与细胞穿膜肽结合进入神经细胞,通过抑制细胞凋亡、降低神经兴奋性毒性、改善线粒体通透性等机制发挥脑保护作用,作为一种新的新生儿缺氧缺血性脑损伤治疗途径有着巨大的潜力。本文就这些多肽类药物的最新研究进展做一综述,为新生儿缺氧缺血性脑损伤的治疗提供新思路。

[关键词] 新生儿缺氧缺血性脑损伤;多肽;细胞穿膜肽;脑保护
[中图分类号] R985　[文献标志码] A　[文章编号] 1003-3734(2021)02-0139-06

Research advances in peptide drugs in treatment of neonatal hypoxic ischemic brain injury

HOU Xue-wen, QIU Jie
(*Department of Newborn Infants, Children's Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing* 210008, *China*)

[**Abstract**] Neonatal hypoxic ischemic brain injury (HIBD) is the main cause of neonatal mortality and neurological dysfunction in infants. Until now, the hypothermia therapy is the only effective treatment of neonatal HIBD. In recent years, with the development of new technologies, peptide drugs have attracted extensive attention due to their advantages including high selectivity, high efficiency, excellent tolerability, simple preparation process and low cost. Using neonatal HIBD models, it was revealed that many kinds of peptide drugs could enter neurocytes directly or through combining with cell penetrating peptides and play roles of brain protection through inhibiting apoptosis, reducing excitotoxicity, improving mitochondrial permeability and so on. Peptide drugs may become new therapeutic approaches of neonatal HIBD. This article reviews the latest research advances in these peptide drugs and provides a new idea for the treatment of neonatal HIBD.

[**Key words**] neonatal hypoxic ischemic brain injury; peptides; cell penetrating peptides; brain protection

新生儿缺氧缺血性脑损伤(hypoxic ischemic brain damage,HIBD)是新生儿死亡和婴幼儿神经系统功能障碍的主要原因,25%的存活儿可呈现永久性脑损害如脑瘫、癫痫、智力低下等后遗症,严重影响我国儿童的生存质量,给家庭和社会带来沉重的负担。然而,尽管方法众多,目前新生儿HIBD仍缺乏特效的治疗方法,并不能完全阻止神经系统后遗症的发生[1]。除了业内公认的亚低温治疗外,新生儿学者们从未停止对新生儿HIBD治疗方法的探索,如高压氧[2]、促红细胞生成素[3]、干细胞移植[4]等。然而,这些探索离临床广泛推广仍有一定距离,因此,继续寻找新的安全有效的治疗方法迫在眉睫。

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81671500);江苏省临床医学科技专项(BL2012018);江苏省第十四批"六大人才高峰"高层次人才(WSN-157);江苏省第五期"333工程";"十三五"南京市卫生青年人才工程(QRX17076)
[作者简介] 侯雪雯,女,硕士研究生,研究方向:新生儿脑损伤。E-mail: houxuewen1123@163.com。
[通讯作者] 邱洁,女,副教授,硕士生导师,研究方向:新生儿脑损伤。E-mail: qiujie@njmu.edu.cn。

近年来,多肽类药物——一种介于小分子药物与蛋白质药物之间的新型药物得到了广泛关注,已运用在代谢性疾病、肿瘤、心血管系统疾病、神经系统疾病的治疗中[5]。与小分子药物相比,多肽类药物具有高选择性、高效性、耐受性好的优点,而相较于蛋白质药物,其生产更简单、成本更低。然而,天然的多肽具有化学和物理稳定性差、半衰期短、易被酶促降解等缺点,在某些情况下还能引起免疫原性反应。随着一系列新技术的发展,如通过替换特定氨基酸以减少多肽的降解、与白蛋白结合延长多肽的半衰期、通过化学修饰优化多肽的药代动力学等,可以克服天然多肽的内在缺陷,使得多肽类药物更易在临床中大范围推广。迄今,已有 60 多种多肽类药物投入市场用于患者,150 多种多肽处于临床研发阶段,多肽类药物作为一种新的治疗途径有着巨大的潜力[6-7]。

目前,新生儿 HIBD 领域已有多肽类药物的相关研究,本文就这些药物的最新研究进展进行综述。

1 细胞穿膜肽 TAT 介导的神经保护肽

细胞穿膜肽(cell penetrating peptides,CPPs)是一类可有效将蛋白质、核酸片段、药物小分子等导入细胞中的多肽,同其他运送载体相比,不仅操作简便,还兼有安全性能高和毒副作用小的特点[8-9]。TAT(YGRKKRRQRRR)是来源于人免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus-1,HIV-1)的转录活化因子,是目前研究最早、最为透彻的细胞穿膜肽,很早就证实能携带活性蛋白质穿透血脑屏障进入大脑,导致其在中枢神经系统疾病的治疗中大放异彩[10],在新生儿 HIBD 领域亦有多个 TAT 介导的神经保护肽引起关注。

1.1 TAT-NBD 核因子-κB(nuclear factor kappa B,NF-κB)作为一种经典的核转录因子,在炎症反应、免疫应答、细胞凋亡、增殖分化等过程中发挥重要作用[11]。NF-κB 必须调节蛋白(NF-κB essential modulator,NEMO)结合域(NEMO-binding domain,NBD)是一种可抑制 NF-κB 活性的小分子多肽,将 NBD 与 TAT 融合形成的 TAT-NBD 肽(YGRKKRRQRRR-TALDWSWLQTE)已被证实可透过血脑屏障进入中枢神经系统,特异性抑制缺氧缺血介导的 NF-κB 激活[12]。在新生大鼠 HIBD 模型中,HI 后早期腹腔注射 TAT-NBD 可很快进入脑实质,通过抑制 NF-κB 信号通路导致神经元和脑白质损伤减少 80% 以上[13]。另一项细菌内毒素脂多糖(lipopolysaccharide,LPS)致新生大鼠 HIBD 模型的研究表明,HI 后 10 min 鼻腔内给药,1 h 后 TAT-NBD 在皮层中的表达达到高峰,通过抑制 NF-κB 信号通路显著减少了少突胶质细胞的活化及 85% 的脑萎缩,为感染所致 HIBD 的治疗提供了新方法[14]。

1.2 TAT-BH4 Bcl-2 超家族成员含有 4 个同源结构域(Bcl-2 homology,BH),即 BH1 ~4,其中 BH4 对 Bcl-2 和 Bcl-xl 的抗凋亡作用是必不可少的[15]。将 BH4 与 TAT 融合形成的 TAT-BH4 肽(YGRKKRRQRRR-RTGYDNREIVMKYIHYKLSQRGYEW)体内外实验均证实具有抑制细胞凋亡的作用[16]。Donnini 等[17]利用新生大鼠 HIBD 模型,颈动脉结扎后 2.5 h、缺氧前 30 min 侧脑室注射给药,结果显示 TAT-BH4 肽可显著减少脑梗死面积,抑制海马及皮层区中 Caspase-3 激活及细胞凋亡,从而发挥对 HIBD 的脑保护作用。

1.3 P5-TAT 细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶-5(cyclin-dependent kinase-5,Cdk5)与其激活因子 p35,p39 结合,在神经系统中参与神经元的迁移、分化及突触的发生等[18]。脑缺血后,通过一种由 p35 转化而来、但具有更强活化作用的多肽——p25 的调节使 Cdk5 过度激活,通过使下游信号 Tau 蛋白和糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor,GR)过度磷酸化诱导神经细胞死亡。因此,抑制 p25/Cdk5 复合体成为脑缺血损伤一个潜在有效的干预策略[19]。P5 是从 p35 蛋白 C 末端截取的具有 24 个氨基酸残基的多肽,能特异性抑制 p25/Cdk5 活性,但不影响在神经元发育和功能维持中发挥重要作用的内源性 p35/Cdk5 复合体的活性[20]。Tan 等[21]利用新生大鼠 HIBD 模型,缺氧前 1 h 单次注射或 HI 后 24 h 起连续 7 d 腹腔注射 P5-TAT 融合肽(KEAFWDRCLS-VINLMSSKMLQINA-YGRKKRRQRRR),结果发现 P5-TAT 预处理能与 Cdk5 直接作用,显著降低 Tau 和 GR 的磷酸化水平,通过抑制 Cdk5 活性抑制 Caspase-3 的表达,减少细胞凋亡,显著降低脑梗死面积,而在脑损伤后持续给药亦能改善大鼠的肢体功能和学习能力,增加脑重,减轻脑萎缩的程度。

1.4 TAT-NR2B9c(NA-1) *N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体(*N*-methyl-*D*-aspartate receptor,NMDAR)亚基 NR2B 的羧基端与突触后致密蛋白-95(postsynaptic density-95,PSD-95)结合可产生神经毒性。急性脑缺血时,NMDAR 过度激活介导的 Ca^{2+} 内流可激活 Ca^{2+} 依赖的一氧化氮合酶(neuronal nitric oxide syn-

thase,nNOs),催化生成一氧化氮(nitric oxide,NO),最终产生大量自由基,是导致神经元损伤和死亡的主要原因[22]。NR2B9c 是由 NR2B 羧基端 9 个氨基酸组成的一种多肽,将其与 TAT 融合后形成的 TAT-NR2B9c 肽也称为 NA-1(YGRKKRRQRRR-KLSSIESDV),可干扰 NR2B 亚基与 PSD-95 结合,阻断引起神经毒性的下游信号,但可避免直接阻断 NMDAR 造成的不良反应[23-24]。近年来,NA-1 在体内外试验甚至灵长类动物模型中均被证实可治疗脑卒中,已进入Ⅲ期临床试验阶段[24-25]。有研究对 NA-1 在新生儿 HIBD 中的作用进行了探索,结果发现无论在缺血前还是缺血后腹膜内注射 NA-1 均能发挥脑保护作用,包括减少脑梗死面积、改善神经行为预后、抑制细胞凋亡等[26]。

1.5 c-Jun N 端蛋白激酶(c-Jun N-terminal kinase,JNK)的抑制肽 JNK 是丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)家族的一员,JNK 激活在脑缺血介导的神经元凋亡中发挥重要作用,因此 JNK 特异性抑制剂可用于脑缺血疾病的治疗[27-28]。JNK 抑制剂中有一类是基于一些支架蛋白的激酶相互作用基序(kinase interaction motif,KIM)的小肽,最经典的支架蛋白是 JNK 相互作用蛋白 1(JNK interacting protein-1,JIP-1),Nijboer 等[29]将来源于 JBD(JNK binding domain of JIP-1)中的 20 个氨基酸与 TAT 蛋白融合,这一融合肽 TAT-JBD 也称为 L-JNKI(YGRKKRRQRRR-PP-RPKRPTTLNLFPQVPRSQDT),在新生大鼠 HI 后腹腔内注射 TAT-JBD 能有效抑制 JNK 活性,通过减少线粒体释放 Smac/DIABLO 抑制 Caspase-3 的激活,不仅减少急性期脑损伤甚至在 HI 后 14 周减少 50% 的脑灰质及白质损伤,改善大鼠的感觉及认知功能。D-JNKI(DQSRPVQPFLNLTTPRKPR-PP-RRRQRRKKRG)是 TAT-JBD(L-JNKI)更加稳定的逆向异构体,有研究发现新生大鼠 HI 后立即腹腔注射 D-JNKI,HI 后 9 周减少 >85% 的脑梗死面积,改善认知及运动功能,其机制包括抑制线粒体中 JNK 的激活及其与下游酶作用底物包括 c-Jun 的相互作用、抑制促炎因子表达、降低 Cyt C 和 Caspase-3 活性、上调 Bcl-2 和 Bcl-xl 表达等[30]。

TAT 最大的缺陷是缺乏细胞特异性,通过与具有靶向性的载体连接可改善这一不足,但使载体有效穿透细胞膜所需连接的 TAT 剂量目前尚无定论,如何使 TAT 所携带的药物只进入靶细胞且在靶细胞中有效地释放药物发挥药效,仍需进一步研究[31]。

2 血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide,VIP)衍生肽

VIP 是一种由 28 个氨基酸残基组成的多肽,在下丘脑-垂体-肾上腺轴中起作用,是中枢和外周神经系统的重要递质[32]。然而,尽管 VIP 具有神经保护功能,但由于不稳定性和利用率低限制了其作为药物的应用[33]。研究表明,VIP 的神经保护作用是由 2 种神经胶质衍生蛋白介导的:活性依赖性神经营养因子(activity-dependent neurotrophic factor,ADNF)和活性依赖性神经保护蛋白(activity-dependent neuroprotective protein,ADNP),根据它们的活性位点合成的 2 条短肽 ADNF-9(SALLRSIPA)和 NAP(NAPVSIPQ)在体内外均证实有神经保护作用[33]。Kumral 等[34]利用新生大鼠 HIBD 模型,HI 后立即腹腔注射 ADNF-9 和/或 NAP,结果显示 ADNF-9 和 NAP 单独使用时,能显著减少神经细胞死亡、凋亡及 NO 的过度产生,但二者并无协同作用,故联合使用的效果较单独使用弱。研究表明,静脉或鼻内给药,NAP 均可达到大脑,其浓度即使高于生物活性剂量 500 倍也无明显的毒副作用。美国一项Ⅰa 期临床试验表明,单剂量鼻内给药 NAP 达到 15 mg 仍是安全有效的;利用健康成人及老年志愿者确认 NAP 静脉给药剂量的一项Ⅰ期临床试验已进入第 2 阶段[35]。因此,我们有理由相信,NAP 用于新生儿 HIBD 的治疗可能指日可待。

3 IDR-1018

自然界中广泛存在着一种天然的抗菌肽——宿主防御肽,然而大部分天然的宿主防御肽生物活性较弱,以其为模板合成的一类人工合成多肽被称为固有防御调节肽(innate defense regulator peptides,IDRs)。IDRs 通过促进免疫细胞向感染/炎症部位募集来调节炎症反应,同时抑制免疫细胞过度活化和促炎因子过度产生[36-37]。在迄今合成的 IDRs 中,IDR-1018(VRLIVAVRIWRR)因其出色的破坏生物被膜作用而备受关注。Bolouri 等[38]利用 LPS 建立的新生小鼠 HIBD 模型,HI 后 3 h 腹腔注射 IDR-1018,结果显示其迅速进入大脑并在注射后至少 4 h 仍在大脑中存在,IDR-1018 通过调节细胞凋亡因子(如 Fadd 和 Tnfsf9)和炎症信号通路(如 IL-1,TNF-α 和细胞黏附分子)在脑白质和灰质中均发挥显著的脑保护作用。有趣的是,在丘脑和纹状体中 IDR-

1018 的神经保护作用最为明显,而这两部分恰恰是围产期窒息影响最大的区域。因此,IDR-1018 是新生儿 HIBD 极有希望的神经保护剂。虽然 IDRs 的毒性低,但半衰期短、易被蛋白酶降解,导致其生物利用率低,有研究将非天然阳离子氨基酸连接至 IDR-1018 提高其蛋白水解稳定性,可改善这一局限性[39]。

4 BIP-V5

促凋亡蛋白 Bax 是 Bcl-2 家族的成员之一,在未成熟脑中高表达,HI 后 Bax 从细胞质转位到线粒体,使线粒体膜腔隙中的凋亡因子释放,最终导致细胞凋亡[40-41]。Sawada 等[42]研究发现来自于人克隆的 Ku70 蛋白通过抑制 Bax 向线粒体转位而抑制细胞凋亡,而 BIP-V5(VPMLK)是基于此蛋白人工合成的 Bax-抑制肽(Bax-inhibiting peptide,BIP),拥有良好的胞膜穿透能力并抑制 Bax 介导的细胞凋亡。Wang 等[43]利用新生小鼠 HIBD 模型,HI 前即刻侧脑室注射 BIP-V5,HI 后 d 5 BIP-V5 治疗组的脑灰质梗死面积比未治疗组减少 41.2%,脑白质损伤也减少;HI 后第 7 周 BIP-V5 治疗组小鼠的感觉运动和记忆功能明显改善,其神经保护作用与降低 Bax 蛋白活性、改善线粒体通透性、抑制细胞凋亡有关。Sun 等[44]发现新生大鼠 HI 后不同时间点侧脑室注射 BIP-V5 可通过明显减少皮层和海马区中 Caspase-3 和 Cyt C 的表达而减少细胞凋亡;HI 后 48 h 内是 BIP-V5 治疗 HIBD 的有效时间窗,且越早治疗效果越好[45]。单既利等[46]则是于新生大鼠 HI 后 0.5 h 内侧脑室注射 BIP-V5,结果显示 BIP-V5 能减轻大脑皮层中神经细胞的凋亡,而 HI 后 96 h BIP-V5 治疗组大鼠 NSE 阳性细胞减少、保护作用减弱,提示 BIP-V5 对神经细胞的保护作用具有时效性。BIP 的剂量要求高(>100 μmol·L^{-1})及预孵时间长(2~16 h)限制了其作为药物应用于临床治疗,但它的细胞保护作用及超低毒性使其更适用于作为药物的载体[47]。因此,BIP-V5 以何种方式应用于新生儿 HIBD 的治疗尚需进一步探索。

5 Hexarelin(HEX)

HEX 是一种人工合成的生长激素释放肽(growth hormone releasing peptides,GHRP),可促进生长激素的分泌,而生长激素在 HI 后具有神经保护作用[48]。为了证实 HEX 在新生儿 HIBD 中的作用,Brywe 等[49]利用新生大鼠 HIBD 模型,HI 后立即脑室内注射 HEX(HD2MEWAWfK),结果显示 HEX 治疗组的脑损伤较对照组减少了 39%,尤其在皮层、海马及丘脑部位,与 HEX 可激活 Akt、抑制 GSK3β 及 Caspase 依赖的细胞死亡有关。HEX 的给药方式以静脉和皮下注射为主,主要通过胆汁排泄,不易被蛋白水解酶降解,在体内蓄积少、毒性小[50-51],这些特点使其在新生儿 HIBD 的临床应用中潜力无限。

6 Apelin-36

Apelin 是一类由 *APELIN* 基因编码具有不同分子结构的内源性活性肽,是血管紧张素Ⅰ样受体(angiotensin-1-like receptor,APJ)的内源性天然配体,其前体蛋白可酶切水解成不同长度的活性肽片段,包括 Apelin-36,Apelin-17,Apelin-13 等多个亚型[52]。肽链越长,该亚型与受体的结合力越强,相应的作用时间也越长。其中一种由 36 个氨基酸残基组成的亚型称为 Apelin-36(LVQPRGSRNGPGPWQGGRRKFRRQRPRLSHKGPMPF),广泛分布于中枢神经系统和外周组织中。Gu 等[53]在新生大鼠 HIBD 模型中发现 Apelin-36 可显著减少脑梗死面积,通过激活 PI3K/Akt 信号通路显著降低 Caspase-3 及 Bax 的表达水平,从而减少细胞凋亡,并改善大鼠的运动及学习记忆能力。Apelin 半衰期短,但有研究表明将聚乙二醇(polyethylene glycol,PEG)与 Apelin-36 结合可显著延长其半衰期[54],有利于临床应用。

7 结语

总之,虽然在动物模型上多肽类药物已证实对新生儿 HIBD 确有脑保护作用,但目前尚无临床试验的结果,对这些多肽类药物的进一步研究有望为新生儿 HIBD 的治疗提供新的思路。

[参 考 文 献]

[1] YILDIZ EP, EKICI B, TATLI B. Neonatal hypoxic ischemic encephalopathy: an update on disease pathogenesis and treatment [J]. *Expert Rev Neurother*, 2017, 17(5):449-459.

[2] ZHU M, LU M, LI QJ, *et al*. Hyperbaric oxygen suppresses hypoxic-ischemic brain damage in newborn rats[J]. *J Child Neurol*, 2015, 30(1):75-82.

[3] WU YW, MATHUR AM, CHANG T, *et al*. High-dose erythropoietin and hypothermia for hypoxic-ischemic encephalopathy: a phase II Trial[J]. *Pediatrics*, 2016, 137(6): e20160191.

[4] DING H, ZHANG H, DING H, *et al*. Transplantation of placenta-derived mesenchymal stem cells reduces hypoxic-ischemic brain damage in rats by ameliorating the inflammatory response [J]. *Cell Mol Immunol*, 2017, 14(8):693-701.

[5] 王克全, 徐寒梅. 多肽类药物的研究进展[J]. 药学进展, 2015, 39(9):642-650.

[6] FOSGERAU K, HOFFMANN T. Peptide therapeutics: current status and future directions[J]. *Drug Discov Today*, 2018, 20(1):122-128.

[7] LAU JL, DUNN MK. Therapeutic peptides: historical perspectives, current development trends, and future directions[J]. *Bioorg Med Chem*, 2018, 26(10):2700 - 2707.

[8] RAMSEY JD, FLYNN NH. Cell-penetrating peptides transport therapeutics into cells[J]. *Pharmacol Ther*, 2015, 154:78 - 86.

[9] DERAKHSHANKHAH H, JAFARI S. Cell penetrating peptides: a concise review with emphasis on biomedical applications[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108:1090 - 1096.

[10] MELONI BP, MILANI D, EDWARDS AB, *et al*. Neuroprotective peptides fused to arginine-rich cell penetrating peptides: Neuroprotective mechanism likely mediated by peptide endocytic properties[J]. *Pharmacol Ther*, 2015, 153:36 - 54.

[11] ZHANG Q, LENARDO MJ, BALTIMORE D. 30 Years of NF-κB: a blossoming of relevance to human pathobiology[J]. *Cell*, 2017, 168(1 - 2):37 - 57.

[12] LI M, SONG S, LI S, *et al*. The blockade of NF-κB activation by a specific inhibitory peptide has a strong neuroprotective role in a Sprague-Dawley rat kernicterus model[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(50):30042 - 30052.

[13] NIJBOER CH, HEIJNEN CJ, GROENENDAAL F, *et al*. Strong neuroprotection by inhibition of NF-kappaB after neonatal hypoxia-ischemia involves apoptotic mechanisms but is independent of cytokines[J]. *Stroke*, 2008, 39(7):2129 - 2137.

[14] YANG D, SUN YY, LIN X, *et al*. Intranasal delivery of cell-penetrating anti-NF-κB peptides (Tat-NBD) alleviates infection-sensitized hypoxic-ischemic brain injury[J]. *Exp Neurol*, 2013, 247:447 - 455.

[15] LIU Z, WILD C, DING Y, *et al*. BH4 domain of Bcl-2 as a novel target for cancer therapy[J]. *Drug Discov Today*, 2016, 21(6):989 - 996.

[16] SUGIOKA R, SHIMIZU S, FUNATSU T, *et al*. BH4-domain peptide from Bcl-xL exerts anti-apoptotic activity *in vivo*[J]. *Oncogene*, 2003, 22(52):8432 - 8440.

[17] DONNINI S, SOLITO R, MONTI M, *et al*. Prevention of ischemic brain injury by treatment with the membrane penetrating apoptosis inhibitor, TAT-BH4[J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(8):1271 - 1278.

[18] LI W, ALLEN ME, RUI Y, *et al*. p39 is responsible for increasing Cdk5 activity during postnatal neuron differentiation and governs neuronal network formation and epileptic responses[J]. *J Neurosci*, 2016, 36(44):11283 - 11294.

[19] ZEB A, SON M, YOON S, *et al*. Computational simulations identified two candidate inhibitors of Cdk5/p25 to abrogate tau-associated neurological disorders[J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2019, 17:579 - 590.

[20] BINUKUMAR BK, PELECH SL, SUTTER C, *et al*. Profiling of p5, a 24 amino acid inhibitory peptide derived from the CDK5 activator, p35 CDKR1 against 70 protein kinases[J]. *J Alzheimers Dis*, 2016, 54(2):525 - 533.

[21] TAN X, CHEN Y, LI J, *et al*. The inhibition of Cdk5 activity after hypoxia/ischemia injury reduces infarct size and promotes functional recovery in neonatal rats[J]. *Neuroscience*, 2015, 290:552 - 560.

[22] WU QJ, TYMIANSKI M. Targeting NMDA receptors in stroke: new hope in neuroprotection[J]. *Mol Brain*, 2018, 11(1):15.

[23] CHEN Y, BRENNAN-MINNELLA AM, SHETH S, *et al*. Tat-NR2B9c prevents excitotoxic neuronal superoxide production[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, 35(5):739 - 742.

[24] BALLARIN B, TYMIANSKI M. Discovery and development of NA-1 for the treatment of acute ischemic stroke[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(5):661 - 668.

[25] 朱志颖, 秦亚娟, 厉廷有. PDZ 结构域有望成为新药靶点[J]. 中国新药杂志, 2019, 28(11):1325 - 1329.

[26] XU B, XIAO AJ, CHEN W, *et al*. Neuroprotective effects of a PSD-95 inhibitor in neonatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(9):5962 - 5970.

[27] ZHENG J, DAI Q, HAN K, *et al*. JNK-IN-8, a c-Jun N-terminal kinase inhibitor, improves functional recovery through suppressing neuroinflammation in ischemic stroke[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(3):2792 - 2799.

[28] SHVEDOVA M, ANFINOGENOVA Y, ATOCHINA-VASSERMAN EN, *et al*. c-Jun N-terminal kinases (JNKs) in nyocardial and cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9:715.

[29] NIJBOER CH, VAN DER KOOIJ MA, VAN BEL F, *et al*. Inhibition of the JNK/AP-1 pathway reduces neuronal death and improves behavioral outcome after neonatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. *Brain Behav Immun*, 2010, 24(5):812 - 821.

[30] NIJBOER CH, BONESTROO HJ, ZIJLSTRA J, *et al*. Mitochondrial JNK phosphorylation as a novel therapeutic target to inhibit neuroinflammation and apoptosis after neonatal ischemic brain damage[J]. *Neurobiol Dis*, 2013, 54:432 - 444.

[31] GRUNWALD J, REJTAR T, SAWANT R, *et al*. TAT peptide and its conjugates: proteolytic stability[J]. *Bioconjug Chem*, 2009, 20(8):1531 - 1537.

[32] MADUNA T, LELIEVRE V. Neuropeptides shaping the central nervous system development: Spatiotemporal actions of VIP and PACAP through complementary signaling pathways[J]. *J Neurosci Res*, 2016, 94(12):1472 - 1487.

[33] GOZES I, DIVINSKY I, PILZER I, *et al*. From vasoactive intestinal peptide (VIP) through activity-dependent neuroprotective protein (ADNP) to NAP: a view of neuroprotection and cell division[J]. *J Mol Neurosci*, 2003, 20(3):315 - 322.

[34] KUMRAL A, YESILIRMAK DC, SONMEZ U, *et al*. Neuroprotective effect of the peptides ADNF-9 and NAP on hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats[J]. *Brain Res*, 2006, 1115(1):169 - 178.

[35] GOZES I, MORIMOTO BH, TIONG J, *et al*. NAP: research and development of a peptide derived from activity-dependent neuroprotective protein (ADNP)[J]. *CNS Drug Rev*, 2005, 11(4):353 - 368.

[36] YANASHIMA K, CHIEOSILAPATHAM P, YOSHIMOTO E, *et al*. Innate defense regulator IDR-1018 activates human mast cells through G protein-, phospholipase C-, MAPK- and NF-κB-sensitive pathways[J]. *Immunol Res*, 2017, 65(4):920 - 931.

[37] WUERTH KC, FALSAFI R, HANCOCK REW. Synthetic host defense peptide IDR-1002 reduces inflammation in Pseudomonas aeruginosa lung infection[J]. *PLoS One*, 2017, 12(11):e0187565.

[38] BOLOURI H, SÄVMAN K, WANG W, *et al*. Innate defense regulator peptide 1018 protects against perinatal brain injury[J]. *Ann Neurol*, 2014, 75(3):395 - 410.

[39] HANEY EF, BARBOSA SC, BAQUIR B, *et al*. Influence of non-natural cationic amino acids on the biological activity profile of innate defense regulator peptides[J]. *J Med Chem*, 2019, 62(22):10294 - 10304.

[40] THORNTON C, HAGBERG H. Role of mitochondria in apoptotic and necroptotic cell death in the developing brain[J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 451(Pt A):35 - 38.

[41] THORNTON C, LEAW B, MALLARD C, *et al*. Cell death in the developing brain after hypoxia-ischemia[J]. *Front Cell Neurosci*, 2017, 11:248.

[42] SAWADA M, SUN W, HAYES P, *et al*. Ku70 suppresses the apoptotic translocation of Bax to mitochondria[J]. *Nat Cell Biol*, 2003, 5(4):320 - 329.

[43] WANG X, HAN W, DU X, *et al*. Neuroprotective effect of Bax-inhibiting peptide on neonatal brain injury[J]. *Stroke*, 2010, 41(9):2050 - 2055.

[44] SUN MY, CUI KJ, YU MM, *et al*. Bax inhibiting peptide reduces apoptosis in neonatal rat hypoxic-ischemic brain damage[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(11):14701 - 14708.

[45] 孙梦雅, 崔凯洁, 王雯雯, 等. Bax-抑制肽对新生鼠缺氧缺血性脑损伤神经细胞凋亡的抑制作用[J]. 中国新生儿科杂

志, 2015, 30(5):372 - 376.
[46] 单既利, 韩淑臻, 荆汝泉, 等. Bax 抑制肽对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤的保护作用[J]. 临床儿科杂志, 2014, 32(3): 254 - 257.
[47] JENSEN K, WUWONG DJ, WONG S, *et al*. Pharmacological inhibition of Bax-induced cell death: Bax-inhibiting peptides and small compounds inhibiting Bax[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2019, 244(8):621 - 629.
[48] MARTÍNEZ-MORENO CG, CALDERÓN-VALLEJO D, HARVEY S, *et al*. Growth hormone (GH) and gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in the central nervous system: a potential neurological combinatory therapy? [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(2): pii: E375.
[49] BRYWE KG, LEVERIN AL, GUSTAVSSON M, *et al*. Growth hormone-releasing peptide hexarelin reduces neonatal brain injury and alters Akt/glycogen synthase kinase-3beta phosphorylation [J]. *Endocrinology*, 2005, 146(11):4665 - 4672.
[50] GHIGO E, ARVAT E, GIANOTTI L, *et al*. Growth hormone-releasing activity of hexarelin, a new synthetic hexapeptide, after intravenous, subcutaneous, intranasal, and oral administration in man[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1994, 78(3):693 - 698.
[51] ROUMI M, MARLEAU S, DU SOUICH P, *et al*. Kinetics and disposition of hexarelin, a peptidic growth hormone secretagogue, in rats[J]. *Drug Metab Dispos*, 2000, 28(1):44 - 50.
[52] MUGHAL A, O'ROURKE ST. Vascular effects of apelin: mechanisms and therapeutic potential[J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 190:139 - 147.
[53] GU Q, ZHAI L, FENG X, *et al*. Apelin-36, a potent peptide, protects against ischemic brain injury by activating the PI3K/Akt pathway[J]. *Neurochem Int*, 2013, 63(6):535 - 540.
[54] JIA ZQ, HOU L, LEGER A, *et al*. Cardiovascular effects of a PEGylated apelin[J]. *Peptides*, 2012, 38(1):181 - 188.

编辑:杨青/接受日期:2020 - 04 - 20