

GDF-15 沉默对脑梗死大鼠模型脑内神经元凋亡的影响及机制研究

王会林 刘德全 杨虹

【摘要】 目的 探讨生长分化因子-15(Growth differentiation factor-15, GDF-15)沉默对脑梗死大鼠模型脑内神经元凋亡的影响及作用机制。**方法** 取40只大鼠分为脑梗死组、假手术组、沉默组、空载组,每组10只;脑梗死组采用颈内动脉线栓法制备脑梗死大鼠模型,沉默组、空载组在建模后立即经尾静脉注射携带GDF-15反义寡核苷酸的GDF-15质粒、空载体质粒,假手术组大鼠暴露颈内动脉、颈外动脉后不插线阻断血流,直接缝合皮肤;评估大鼠造模3、7 d后的神经功能,流式细胞术检测脑皮质神经元凋亡情况,HE染色法观察各组大鼠脑组织病理改变,采用逆转录-聚合酶链反应(Real-time polymerase chain reaction, RT-PCR)测定脑组织中GDF-15,母亲抗十肽同系物2(Mothers against decapentaplegic homolog 2, Smad2), Smad4, p21 mRNA相对表达水平,采用Western blot法测定GDF-15, Smad2, Smad4, p21蛋白水平。**结果** 与假手术组比较,脑梗死组、沉默组、空载组造模3、7 d后神经功能评分均升高($P < 0.05$);与脑梗死组、空载组比较,沉默组造模7 d后神经功能评分降低($P < 0.05$);与造模3 d后比较,脑梗死组、沉默组、空载组造模7 d后的神经功能评分均下降($P < 0.05$)。HE染色发现,与假手术组比较,脑梗死组出现神经元变性、坏死、脱失,脑组织稀疏、胶质细胞大量增生等;与脑梗死组比较,沉默组造模7 d后的神经元坏死程度较低,且细胞间质水肿与胶质细胞增生程度较轻微;空载组神经元病理形态变化与脑梗死组相似。沉默组大鼠神经元凋亡率低于脑梗死组,但高于假手术组($P < 0.05$)。与脑梗死组、空载组比较,沉默组大鼠脑组织内GDF-15, Smad2, Smad4 mRNA和蛋白相对表达水平更低, p21 mRNA和蛋白相对表达水平更高($P < 0.05$)。**结论** GDF-15沉默可抑制脑梗死大鼠模型脑内神经元凋亡,保护神经功能,作用机制可能与Smad通路及p21有关。

【关键词】 脑梗死 生长分化因子-15 神经元 凋亡 机制研究

【中图分类号】 R743.33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2021)02-0144-06

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2021.02.002

The effect and mechanism of GDF-15 silencing on neuronal apoptosis in rat models with cerebral infarction

Wang Huilin, Liu Dequan, Yang Hong. Department of Neurology, Luoyang Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Luoyang Henan 471000

【Abstract】 Objective To investigate the effect and mechanism of growth differentiation factor 15 (GDF-15) silencing on neuronal apoptosis in rats with cerebral infarction. **Methods** 40 rats were divided into cerebral infarction group, sham operation group, silence group and empty load group, with 10 rats in each group. The neural function was evaluated after 3 and 7 days of modeling. The apoptosis of cerebral cortex neurons was detected by flow cytometry. The pathological changes of brain tissue were observed by HE staining. The GDF-15, Smad2, Smad4 and p21 mRNA levels in brain tissue were determined by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR), and the GDF-15, Smad2, Smad4 and p21 protein levels were detected by Western blot. **Results** Compared with the sham operation group, the neurological function scores of cerebral infarction group, silence group and no-load group increased after 3 and 7 days of modeling ($P < 0.05$), and the neurological function scores of cerebral infarction group, silence group and no-load group increased at each time point ($P < 0.05$). Compared with after 3 days of modeling, the neurological function scores of cerebral infarction group, silence group and no-load group were decreased after 7 days of modeling ($P < 0.05$). HE staining showed that compared with the sham operation group, neuron degeneration, necrosis, loss, sparse brain tissue and large number of glial cell proliferation appeared in the cerebral infarction group. Compared with the cere-

bral infarction group, the degree of neuronal necrosis in the silence group was lower, and the degree of interstitial edema and glial cell proliferation was slight. The pathological changes of neurons in the no-load group were the same as those in the cerebral infarction group. The apoptosis rate of neurons in silence group was lower than that in cerebral infarction group, and higher than that in sham operation group ($P < 0.05$). Compared with cerebral infarction group and empty load group, GDF-15, Smad2, Smad4 mRNA and protein levels in silent group were lower, and p21 mRNA and protein levels were higher ($P < 0.05$). **Conclusion** GDF-15 silencing could inhibit neuronal apoptosis and protect neural function in rat models with cerebral infarction. The mechanism might be related to Smad channel and its target gene p21.

【Key words】 Cerebral infarction Growth differentiation factor 15 Neurons Apoptosis Mechanism of action

脑梗死为临床常见脑血管疾病,是因脑供血动脉闭塞而引起的脑组织缺血性坏死性疾病,血管壁炎症反应在脑梗死发生的各个阶段均有重要作用,因而与之相关的炎症因子日益受到医学研究者的重视^[1-2]。生长分化因子-15 (Growth differentiation factor-15, GDF-15) 作为转化生长因子 β 超家族 (Transforming growth factor- β , TGF- β) 成员之一,是临床应用潜力较大的生物标志物^[3],有保护心脑血管、抗炎等作用,在心脑血管疾病发展过程中可调节细胞反应,从而影响中枢神经系统发育、生长、分化、损伤修复的调控作用,然而具体作用及其机制尚未清楚^[4]。故本研究通过建立脑梗死大鼠模型,以探讨 GDF-15 沉默对脑梗死大鼠模型脑内神经元凋亡的影响及其机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

健康成年雄性 SD 大鼠 40 只,8 周龄,体质量 (250 ± 25)g,购自河北省实验动物中心,合格证号为 SXYK(冀)2013-0026,饲养于正常昼夜环境,清洁通风,湿度 (50 ± 10)%,温度 (23 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,12 h 昼夜节律,自由饮水、摄食。

1.1.2 药物、主要试剂和仪器

空载质粒、携带 GDF-15 反义寡核苷酸的 GDF-15 质粒(上海吉玛公司),兔抗大鼠 GDF-15, Smad2, Smad4、p21、神经纤维网蛋白 1 (Neuropilin-1, NRP-1)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 单克隆抗体、辣根过氧化物酶 (Horseradish peroxidase, HRP) 标记(单抗)山羊抗兔 IgG(美国 Gibco 公司),苏木素与伊红等(国药集团化学试剂有限公司),聚氰基丙烯酸正丁酯 (Bicinchoninic acid, BCA) 试剂盒(美国 Gibco 公司),其他试剂均为国

产分析纯试剂。BD FACSCantoII 型流式细胞仪(美国 BD 设备公司),SIGMA 1-14/1-14K 型超速冷冻离心机(德国西格玛设备公司),Leica EM FC7 型恒低温冰冻切片机(德国 LEICA 公司),CXD5-WGP300 型电热恒温培育箱(北京中西远大科技有限公司),实时荧光定量聚合酶链反应(Polymerase chain reaction, PCR)仪、全段酶标仪(美国 Bio-Rad 公司,型号为 1681135),石蜡切片机(德国 SLEE 公司,型号为 6062)。

1.2 方法

1.2.1 脑梗死模型建立

参考文献^[5]应用颈内动脉线栓法制备脑梗死大鼠模型:将大鼠麻醉后仰卧位固定在动物手术台上,暴露颈部皮肤并消毒,剪开皮肤,分离颈总动脉、颈外动脉、颈内动脉,结扎左侧颈外动脉远心端,在颈总动脉近心端、颈内动脉远心端上置放动脉夹,剪断颈外动脉结扎处,置入栓线于颈内动脉处,打开颈内动脉夹并推进栓线,直至遭遇阻力;阻断大脑中动脉血流后固定栓线,并缝合皮肤,2 h 后拔出栓线,完成建模。大鼠建模后存在右侧转圈障碍以及右侧前爪无法伸展,证明脑梗死模型制备成功。

1.2.2 分组与干预

40 只大鼠均造模成功,适应性喂养 1 周后随机分为脑梗死组、假手术组、沉默组、空载组,每组各 10 只;脑梗死组、沉默组、空载组均按上述操作建立脑梗死模型,假手术组大鼠暴露颈内动脉、颈外动脉后不插线阻断血流,直接缝合皮肤。沉默组、空载组在建模后立即用药,分别以携带 GDF-15 反义寡核苷酸的 GDF-15 质粒、空载体质粒经尾静脉注射 2 mL/kg;假手术组和脑梗死组予以注射等量生理盐水。应用聚乙烯亚胺 (Polyethylenimine, PEI) 法转染,将携带 GDF-15 反义寡核苷酸的 GDF-15 质粒、空载体质溶于 200 μL 的磷酸缓冲盐溶液 (Phosphate buffer saline, PBS) 液内完成质粒处理,设置 4 个水平组,每个孔内

PEI 和质粒的质量比分别是 1:1、1.5:1、2:1、2.5:1, 室温孵育 10 min, 将 PEI 质粒复合物加入细胞培养孔, 转入培养箱内温育 4 h 后 PBS 洗涤 2 次, 加入含有抗生素和血清的培养液内继续培养; 转染 24 h 后在荧光显微镜下检测, 阳性细胞为明亮绿色荧光, 阴性细胞无, 每个孔选取 3 个区域 200 倍视野, 计算总细胞数 A、荧光阳性细胞数 a, 转染效率 = $a/A \times 100\%$, 空载与沉默转染效率高达 90%。

1.2.3 神经功能评分

参考 Longa 5 分法^[6]评估大鼠建模 3、7 d 后的神经功能, 分为 6 等级: 0 分为神经功能正常; 1 分为左侧前爪无法完全伸展, 存在轻度神经功能缺损; 2 分为大鼠行走时向右侧(瘫痪侧)转圈, 存在中度神经功能缺损; 3 分为行走时向右侧倾倒, 存在重度神经功能障碍; 4 分为无法自主行走, 丧失意识; 5 分为死亡。在造模完成 3、7 d 评分, 分值越高, 表示大鼠神经功能缺损越重。

1.2.4 HE 染色观察脑组织神经元形态

评估 40 只大鼠神经功能后麻醉并固定于手术台上, 断头取缺血侧大脑半球组织进行 HE 染色; 将大鼠脑组织以甲醛固定, 石蜡包埋, 4 μm 切片, 常规 HE 染色, 并在显微镜下观察大鼠脑组织的病理学表现。

1.2.5 流式细胞术检测神经元凋亡

断头取脑, 置入 0.01 mol/L 的 PBS 中洗涤 3 次后剥去缺血侧的大脑半球, 应用眼科剪进行机械剪切, 置入 3 mL 的 0.4% 胰蛋白酶, 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 0.5 h, 期间不时摇动, 水浴后将胰蛋白酶吸净, 应用 PBS 洗涤 1 次, 吸净 PBS, 再加入 3 mL PBS 反复吹打 1~2 min; 应用 400 目的金属网过滤, 取 0.01 mol/L 的 PBS 稀释为单细胞悬液, 收集至 EP 管内, 稀释至 10 mL, 反复吹打数次后静置 0.5 h; 取上清液 1 mL, 置入 0.01 mol/L 的 PBS, 800 r/min 离心 10 min, 离心半径为 13 cm, 洗涤 3 次; 以 70% 乙醇固定后在 4 $^{\circ}\text{C}$ 温度下过夜; 800 r/min 离心 10 min 后去除固定液, 再 0.01 mol/L PBS 洗涤、800 r/min 离心 10 min, 洗涤 3 次; 加入 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 二苯基氯化碘盐(Diphenyleneiodonium chloride, DPI)(Sigma)液(内含 RNA 酶 1 mg/mL) 0.4 mL, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下避光染色 0.5 h; 应用流式细胞仪(每样本测定计数是 10000 个细胞, 氩离子激发光波长 488 nm), 参考 Linik 法检测神经元凋亡率。

1.2.6 大鼠脑组织内 GDF-15, Smad2, Smad4, p21 mRNA 相对表达水平测定

将大鼠缺血侧大脑半球脑组织标本研磨为粉末, 加入 Trizol 研磨, 收集悬液, 获得脑组织总 RNA, 应用实时聚合酶链反应(Real-time polymerase chain reaction, RT-PCR)检验脑组织内 GDF-15, Smad2, Smad4, p21 mRNA 相对表达水平。PCR 反应条件是 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min、95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s、56 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 循环 42 次; 72 $^{\circ}\text{C}$ 5 min, 以 GAPDH 为内参对照基因, $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 为 GDF-15, Smad2, Smad4, p21 mRNA 相对表达水平。GDF-15, Smad2, Smad4, p21 mRNA 引物序列见表 1。

表 1 各基因引物序列

基因	引物序列
GDF-15	F: 5'-AGGTGTGTTGAGAGGATGAGAGATATTAG-3' R: 5'-AAAACAATCATCCTTATCCAAAACCT-3'
Smad2	F: 5'-CCATCCCCGACAAGACTAACTT-3' R: 5'-TGGTGGTCGATAGTTTGTCAT-3'
Smad4	F: 5'-AGCAACTTCCCTAACTTTCCT-3' R: 5'-ACTATGGCTCGGTGCGAGAA-3'
p21 mRNA	F: 5'-GAGAACTCGGACCGCTTTC-3' R: 5'-TCCTGAGCGTGTGTCGTC-3'
GAPDH	F: 5'-AGAAGGCTGGGGCTCATTG-3' R: 5'-AGGGGCCATCCACAGTCTTC-3'

1.2.7 大鼠脑组织内 GDF-15, Smad2, Smad4, p21 蛋白水平测定

将大鼠缺血侧大脑半球脑组织置入 EP 管内, 加蛋白裂解液后研磨均匀, 反应 0.5 h, 13000 r/min 离心, 37 $^{\circ}\text{C}$, 离心半径为 13 cm, 15 min 后获取上清液, 参考 BCA 试剂盒定量蛋白, 取 40 μg 蛋白样品展开蛋白聚丙烯酰胺凝胶电泳电泳, 电转膜 90 min 至硝基纤维素膜, 应用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 37 $^{\circ}\text{C}$, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育一抗过夜, 以免抗大鼠 GDF-15 单克隆抗体、Smad2 单克隆抗体、Smad4 单克隆抗体、p21 单克隆抗体为一抗, 均按 1:1000 稀释, 次日加入二抗, 以 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 单抗为二抗, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 2 h, 检验大鼠脑组织内的 GDF-15, Smad2, Smad4, p21 蛋白相对表达水平。以增强型化学法显影, 以 QUANTITATIVE ONE 软件分析蛋白灰度值。

1.2.8 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计软件, 计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 符合正态分布的计量资料多组间比较采用单因素方差分析, 两两样本比较行 LSD-*t* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠神经功能评分

各组大鼠建模完成 3、7 d 后神经功能评分比较

均有明显差异($P<0.001$);假手术组建模完成7 d后神经功能评分为0分,无神经功能缺损;与脑梗死组、空载组比较,沉默组造模7 d后神经功能评分降低($P<0.05$);与造模3 d后比较,脑梗死组、沉默组、空载组造模7 d后的神经功能评分均下降($P<0.05$)(表2)。

表2 各组大鼠造模3、7 d后神经功能评分比较($\bar{x}\pm s$,分)

组别	例数	神经功能评分	
		造模3 d后	造模7 d后
假手术组	10	0	0
脑梗死组	10	2.65±0.41*	2.01±0.22*
沉默组	10	2.05±0.23*△	1.85±0.19*△▲
空载组	10	2.61±0.39*#	2.00±0.23*#▲

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与脑梗死组比较,△ $P<0.05$;与沉默组比较,# $P<0.05$;与同组造模3 d后比较,▲ $P<0.05$

2.2 各组大鼠缺血侧大脑半球神经元病理表现

假手术组神经元无明显变性、胶质细胞增生等病理改变;脑梗死组出现神经元变性、坏死、脱失,脑组织稀疏、胶质细胞大量增生等;与脑梗死组比较,沉默组造模7 d后的神经元坏死程度较低,且细胞间质水肿与胶质细胞增生程度较轻微;空载组神经元病理形态变化与脑梗死组相似(图1)。

2.3 各组大鼠缺血侧大脑半球神经元凋亡率

假手术组、脑梗死组、沉默组、空载组大鼠神经元凋亡率依次为(3.61±0.22)、(23.64±0.36)、(12.05±0.41)、(23.61±0.49)%,各组大鼠的缺血侧大脑半球神经元凋亡率比较均有明显差异($F=484.687,P<0.05$);脑梗死组神经元凋亡率高于假手术组($t=150.131,P<0.05$);沉默组大鼠神经元凋亡率(12.05±0.41)%低于脑梗死组($t=67.173,P<0.05$);空载组大鼠神经元凋亡率与脑梗死组比较无明显差异($t=0.156,P>0.05$)。

2.4 各组大鼠脑组织内 GDF-15, Smad2, Smad4, p21 mRNA 相对表达水平

各组大鼠脑组织内 GDF-15, Smad2, Smad4, p21 mRNA 相对表达水平比较均有明显差异($P<0.001$);脑梗死组大鼠脑组织 GDF-15, Smad2,

Smad4 mRNA 相对表达水平高于假手术组($P<0.05$),p21 mRNA 相对表达水平低于假手术组($P<0.05$);沉默组大鼠脑组织 GDF-15, Smad2, Smad4 mRNA 相对表达水平低于脑梗死组($P<0.05$),p21 mRNA 相对表达水平高于脑梗死组($P<0.05$);空载组大鼠脑组织 GDF-15, Smad2, Smad4,p21 mRNA 相对表达水平与脑梗死组比较均无明显差异($P>0.05$)(表3)。

表3 大鼠脑组织内 GDF-15,Smad2, Smad4,p21 mRNA 相对表达水平

组别	例数	GDF-15	Smad2	Smad4	p21
假手术组	10	0.07±0.01	0.66±0.13	0.74±0.42	1.22±0.16
脑梗死组	10	0.73±0.09*	1.51±0.32*	1.43±0.38*	0.63±0.12*
沉默组	10	0.13±0.01*△	0.86±0.14*△	0.99±0.21*△	0.91±0.06*△
空载组	10	0.71±0.09*#	1.49±0.31*#	1.42±0.34*#	0.64±0.14*#

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与脑梗死组比较,△ $P<0.05$;与沉默组比较,# $P<0.05$

2.5 大鼠脑组织内 GDF-15,Smad2,Smad4,p21 蛋白水平

各组大鼠脑组织内 GDF-15, Smad2, Smad4, p21 蛋白水平比较均有明显差异($P<0.001$);脑梗死组大鼠脑组织 GDF-15, Smad2, Smad4 蛋白相对表达水平高于假手术组($P<0.05$),p21 蛋白相对表达水平低于假手术组($P<0.05$);沉默组大鼠脑组织 GDF-15, Smad2, Smad4 蛋白相对表达水平低于脑梗死组($P<0.05$),p21 蛋白相对表达水平高于脑梗死组($P<0.05$);空载组大鼠脑组织 GDF-15, Smad2, Smad4, p21 蛋白相对表达水平与脑梗死组比较均无明显差异($P>0.05$)(表4、图2)。

表4 各组大鼠脑组织内 GDF-15, Smad2,Smad4,p21 蛋白相对表达水平

组别	例数	GDF-15	Smad2	Smad4	p21
假手术组	10	0.08±0.01	0.24±0.03	0.32±0.12	0.56±0.15
脑梗死组	10	0.42±0.08*	0.50±0.12*	0.59±0.11*	0.21±0.05*
沉默组	10	0.14±0.03*△	0.41±0.19*△	0.42±0.16*△	0.45±0.07*△
空载组	10	0.40±0.09*#	0.49±0.11*#	0.56±0.13*#	0.23±0.04*#

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与脑梗死组比较,△ $P<0.05$;与沉默组比较,# $P<0.05$

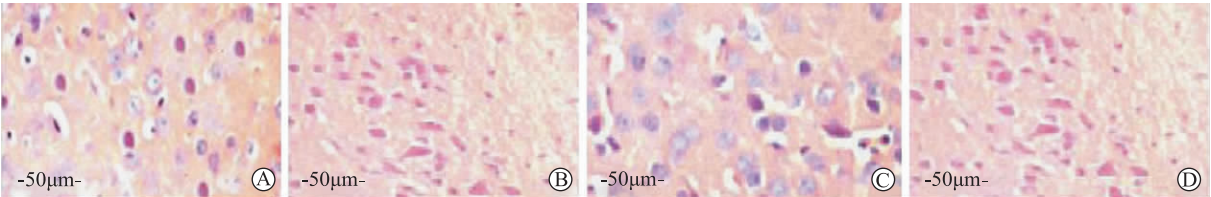


图1 各组大鼠缺血侧大脑半球神经元形态变化(HE×200倍) A为假手术组;B为脑梗死组;C为沉默组;D为空载组

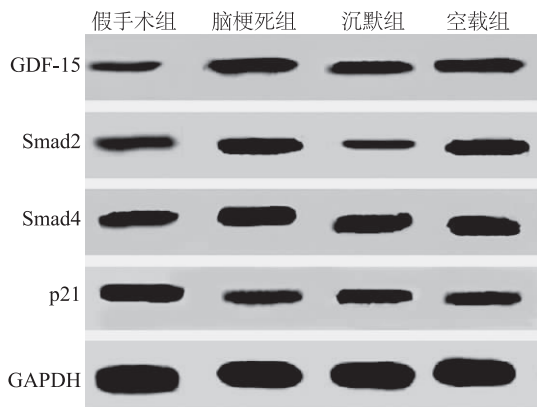


图2 Western blot 检测各组大鼠脑组织 GDF-15, Smad2, Smad4, p21 蛋白相对表达水平

3 讨论

脑梗死作为威胁人们生命安全的脑血管疾病之一,其治疗方法一直是医学界研究的热点之一^[7]。近年来,血清学研究日益深入,血液生化标志物作为临床评估脑梗死患者治疗效果以及预后的重要方法之一,有操作简单、快速得出结果等优势,逐渐引起了相关研究人员的重视^[8]。GDF-15 为 Bootcov 等^[9]在 1997 年首次发现的一种生长分化因子,在 1999 年正式命名为 GDF-15。有研究发现,GDF-15 在脑缺血再灌注损伤或者心肌缺血损伤时表达水平明显升高^[10-11]。国内相关报道表明,GDF-15 表达水平在患者发生急性脑梗死后急剧升高,且与脑梗死严重程度呈正相关,可通过检测 GDF-15 表达水平来预测脑梗死患者的预后^[12]。

GDF-15 基因的染色体位点为 19p12-13.1,具备典型转化生长因子 β 超家族 (Transforming growth factor- β , TGF- β) 结构特征,其前体蛋白为一种相对分子量 40 kD 的多肽,而经蛋白水解酶剪切后可转化为相对分子量是 28 kD 的一种成熟蛋白,再经二硫键链接成为同源二聚体,此时已具备生物活性。GDF-15 为存在于正常人体内的应激蛋白,在多种组织内呈高表达,若有病理或者应激如动脉粥样硬化性病变等刺激可经转录因子诱导而明显上调^[13],目前,关于 GDF-15 的心血管疾病方面的研究较多,如 GDF-15 过表达多为心力衰竭、稳定性冠心病等心血管事件发生的高危因素^[14],但其在脑血管疾病中的作用及其机制的研究不多,国外学者 Andersson 等^[15]发现 GDF-15 水平与脑卒中、脑损伤存在密切关系。故本研究建立了脑梗死大鼠模型,参考 Longa 5 分法比较脑梗

死组、沉默组、空载组与假手术组的神经功能评分,结果显示沉默组造模 7 d 后神经功能评分低于脑梗死组、空载组,提示 GDF-15 水平可能与脑梗死患者神经功能评分有关,表明脑梗死患者脑组织内 GDF-15 沉默后神经功能受损程度减轻。本研究经 HE 染色观察大鼠神经元病理变化发现,脑梗死组出现神经元变性、坏死、脱失,脑组织稀疏、胶质细胞大量增生等,沉默组造模 7 d 后神经元坏死程度较低,且细胞间质水肿与胶质细胞增生程度较轻微;同时,沉默组大鼠神经元凋亡率低于脑梗死组、空载组,以上结果均表明 GDF-15 沉默后有助于减轻脑梗死的神经元凋亡、延缓病理进展、减轻神经功能缺损。

Smad 蛋白家族在 TGF- β 超家族成员信号传导中发挥了直接参与作用,为细胞重要信号转导蛋白之一,参与了细胞分化、迁移、增殖、凋亡等细胞活动,可维持细胞内环境稳定,在机体受损时细胞会释放 TGF- β ,而 TGF- β 与细胞表面受体结合正反馈,可引起其他 TGF- β 受体磷酸化,从而激活 Smad 信号通道,促使细胞内 Smad2 磷酸化,与 Smad4 交联,形成了异三聚体复合物,在其进入细胞核后调控靶基因转录,促使氧化应激、炎症反应、细胞凋亡^[16]。p21 作为可受 Smad4 调控的一种靶基因,其水平下降可促使细胞凋亡。本研究分析了各组大鼠的 GDF-15, Smad2, Smad4, p21 mRNA 相对表达水平及其蛋白水平的差异,发现沉默组 GDF-15, Smad2, Smad4 mRNA 相对表达水平及其蛋白水平均低于脑梗死组,而 p21 mRNA 相对表达水平及其蛋白水平高于脑梗死组,以此可推测 GDF-15 可能与 Smad2, Smad4 mRNA 相对表达水平及其蛋白水平有关,也可能与 p21 mRNA 相对表达水平及其蛋白水平有关。本研究推测,GDF-15 沉默对于脑梗死的神经元凋亡有抑制作用,而这一机制可能与 Smad 通道及其靶基因 p21 有关。

综上所述,GDF-15 沉默可抑制脑梗死大鼠脑内神经元凋亡,其作用机制可能与 Smad 通道及基因 p21 可能有关,未来可以此作为研究点,为脑梗死基因治疗提供理论基础。

参 考 文 献

- [1] Zhang Y, Liu G, Wang Y, et al. Procalcitonin as a biomarker for malignant cerebral edema in massive cerebral infarction[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 993.