

脑苷肌肽对缺氧缺血性脑病新生大鼠 cGAS/STING 通路及海马神经元凋亡的影响

申明琪¹, 张丁宁²

1. 天津医科大学总医院 儿科, 天津 300050

2. 天津市中心妇产科医院 新生儿科, 天津 300050

摘要: **目的** 分析脑苷肌肽对缺氧缺血性脑病 (HIE) 新生大鼠环磷酸鸟苷-腺苷合成酶 (cGAS)/膜蛋白干扰素基因刺激因子 (STING) 通路及海马神经元凋亡的影响。**方法** 75 只大鼠根据随机数字法分为假手术组、模型组、阳性药物对照组 (尼莫地平, 8.0 mg/kg)、脑苷肌肽低剂量组 (1.34 mg/kg)、脑苷肌肽高剂量组 (2.68 mg/kg)。除假手术组外, 其余各组大鼠建立缺氧缺血性脑损伤 (HIBD) 模型, 分组给予相应药物处理后, 进行 Morris 水迷宫实验, 检测大鼠空间学习记忆能力; 苏木精-伊红染色 (HE) 及原位细胞凋亡检测 (TUNEL) 法染色观察各组大鼠海马组织形态变化及神经元细胞凋亡情况; 生化检测法测定大鼠海马组织中超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 水平; Western blotting 测定海马组织 cGAS/STING 通路蛋白表达水平。**结果** 与假手术组比较, 模型组大鼠海马神经元细胞受损严重, 大量神经元细胞发生凋亡, 逃避潜伏期明显延长 ($P < 0.05$), 穿越平台次数及 SOD 水平明显降低 ($P < 0.05$), MDA 水平及 cGAS、STING 蛋白表达水平显著增加 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 阳性药尼莫地平组及脑苷肌肽低、高剂量组大鼠逃避潜伏期明显缩短 ($P < 0.05$), 穿越平台次数明显增加 ($P < 0.05$), 组织损伤程度降低, 神经元凋亡数目明显减少, SOD 水平显著升高 ($P < 0.05$), MDA 水平、cGAS、STING 蛋白表达量显著降低 ($P < 0.05$)。**结论** 脑苷肌肽可能通过抑制 cGAS/STING 信号通路, 抑制氧化应激反应和海马区神经元细胞凋亡, 减轻 HIBD 造成的大脑损伤, 为临床上利用脑苷肌肽治疗 HIE 提供依据。

关键词: 脑苷肌肽; 缺氧缺血性脑病; 环鸟苷酸-腺苷酸合成酶; 干扰素基因刺激蛋白; 神经凋亡

中图分类号: R286.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2020)10 - 1943 - 07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2020.10.002

Effects of cerebroside carnosine on cGAS/STING pathway and apoptosis of hippocampal neurons in neonatal rats with hypoxic-ischemic encephalopathy

SHEN Ming-qi¹, ZHANG Ding-ning²

1. Department of Pediatrics, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300050, China

2. Department of Neonatology, Tianjin Central obstetrics and Gynecology Hospital, Tianjin 300050, China

Abstract: Objective To analyze the effects of cerebroside carnosine on cGAS/STING pathway and apoptosis of hippocampal neurons in neonatal rats with hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE). **Methods** 75 rats were randomly divided into Sham operation group, model group, positive drug control group (nimodipine 8.0 mg/kg), cerebroside carnosine low-dose group (1.34 mg/kg) and cerebroside carnosine high-dose group (2.68 mg/kg). Except the Sham operation group, the rats in other groups were established hypoxic ischemic brain damage (HIBD) model, after treatment with corresponding drugs, Morris water maze test was carried out to test the spatial learning and memory ability of rats; Hematoxylin eosin staining (HE) and TdT-mediated dUTP nick-end labeling (TUNEL) staining were used to observe the morphological changes of hippocampus and neuronal apoptosis; the levels of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in hippocampus of rats were measured by biochemical method; the expression of cGAS/STING pathway protein in hippocampus was determined by Western blotting. **Results** Compared with the Sham operation group, the hippocampal neurons of rats in the model group were seriously damaged, a large number of neurons were apoptotic, and the escape latency was significantly prolonged ($P < 0.05$), the number of crossing platform and SOD content were significantly decreased ($P < 0.05$), MDA content and cGAS, STING protein expression levels were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the model

收稿日期: 2020-08-07

作者简介: 申明琪 (1979—) 女, 硕士, 主治医师, 主要从事新生儿重症方面研究。E-mail: smq88880@163.com

group, the escape latency of positive drug group, low-dose group and high-dose group was significantly shorter ($P < 0.05$), the number of crossing platform was significantly increased ($P < 0.05$), the degree of tissue damage was reduced, the number of neuronal apoptosis was significantly reduced, SOD content was significantly increased ($P < 0.05$), MDA content and cGAS, STING content were significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Cerebroside carnosine may inhibit oxidative stress and apoptosis of hippocampal neurons by inhibiting cGAS/STING signaling pathway, and alleviate brain injury induced by HIE, and it has a more in-depth understanding of clinical application of cerebroside carnosine in the treatment of HIE.

Key words: cerebroside carnosine; hypoxic-ischemic encephalopathy; cyclic adenosine-adenosine synthase; stimulator of interferon genes; neuronal apoptosis

缺氧缺血性脑病(hypoxic-ischemic encephalopathy, HIE)是神经系统性疾病^[1],由于各种围生期窒息导致的部分或完全缺氧、脑血流量减少或暂停所致的脑损伤,临床表现主要为脑水肿、脑组织坏死,以至于脑组织发生不可逆受损,甚至造成永久性神经功能障碍,或死亡^[2-3]。HIE是新生儿常见的危及生命的疾病,幸存者常伴有发育迟缓、认知及运动障碍、脑瘫、残疾、癫痫、自闭症等后遗症^[4-6]。研究发现,神经元凋亡在HIE发病过程中发挥着重要作用^[7],但其发病机制尚不清楚。环磷酸鸟苷-腺苷合成酶(cyclic adenosine-adenosine synthase, cGAS)能催化合成环化二核苷酸(cyclic AMP-GMP, cGAMP),激活内质网上的膜蛋白干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)进而调节免疫,且cGAS/STING通路参与机体抗病毒、肿瘤、炎症反应及调节神经性疾病等病理过程已得到证实,特异性干扰和激活cGAS/STING通路可能对肿瘤^[8-9]、感染^[10]、免疫^[11]疾病的治疗发挥积极作用。脑苷肌肽作为生物细胞膜中的糖脂物质,具有营养和供能、神经再生和修复、神经保护等功能^[12]。目前,关于脑苷肌肽对HIE治疗的临床应用研究较多^[13-14],但其作用靶点尚未明确。因此本研究通过建立缺氧缺血性脑损伤(hypoxic ischemic brain damage, HIBD)模型探究脑苷肌肽对HIE新生大鼠cGAS/STING通路及海马神经元凋亡的影响。

1 材料

1.1 动物

实验所用大鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司,75只7日龄SD新生大鼠,SPF级,体重(15.36±2.42)g,许可证号:SCXK(京)2016-0011,所有大鼠均在动物房中饲养,保持动物房环境及鼠笼清洁、透气,温度24~26℃,相对湿度55%~60%,自由饮食、饮水,光昼交替12h。

1.2 主要试剂及仪器

脑苷肌肽注射液(6.4 mg/2 mL/支,批号:

H22025046,吉林四环制药有限公司);尼莫地平注射液(山东健康药业有限公司,批号:H20057745);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号:S8946);TUNEL试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技有限公司,批号:E-CK-A331);超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)ELISA试剂盒(R&D Systems,批号:ml077397、ml077384);cGAS、STING抗体(美国Abcam公司,货号:ab224144、ab144865)。蛋白提取试剂盒、BCA试剂盒(上海碧云天公司,货号P0027、P0011); β -actin兔抗大鼠IgG溶液(美国Sigma公司,货号:C1843);二抗稀释液(1:1000 碱磷酶标记山羊抗兔IgG溶液,美国Sigma公司,货号:ab150077)。

042BR11787 电泳仪,美国Bio-Rad公司;GEL-DOC-2000 紫外凝胶成像系统;CX31 高倍显微镜,日本Olympus公司;GUIGO-99-IIID 超声波组织粉碎仪,上海桂戈科学仪器有限公司;Morris水迷宫购自广州飞迪生物科技有限公司。

2 方法

2.1 动物分组与模型制备

实验动物随机分为5组:假手术组、模型组、尼莫地平阳性药组及脑苷肌肽低、高剂量(1.34、2.68 mg/kg)组,每组15只。参考文献方法^[15]制备新生大鼠HIBD模型,具体方法:用4%水合氯醛6 mL/kg ip麻醉新生大鼠,在中位颈部切口,游离左侧颈总动脉,远、近心端双结扎并剪断左侧颈总动脉,确保左侧颈动脉无血流,术后立刻缝合伤口,恢复2h;置于8%氧浓度密闭缺氧箱缺氧1h,假手术组仅游离左侧颈总动脉,不做结扎及缺氧处理。术后1d,各组大鼠进行神经功能评估,采用Longa等^[16]的评分标准,0分:无神经功能缺损症状;1分:不能伸展对侧前爪;2分:爬行时向偏瘫侧旋转;3分:大鼠行走时会向对侧倾倒;4分:不能自发行走,无自主活动伴意识障碍;5分:死亡。剔除0分和5分的大鼠,评估结果1~3分的纳入实验。最

后, 假手术组纳入实验的大鼠有 15 只, 模型组 13 只, 阳性药组 15 只, 脑苷肌肽低剂量组 14 只, 脑苷肌肽高剂量组 15 只。

2.2 给药处理

给药剂量参照人体表法计算, 成年人标准体重 60 kg, 对应给药剂量为成人的 6.25 倍, 成人脑苷肌肽每日注射量为 4~8 mL, 则大鼠每日注射量为 0.42~0.84 mL/kg, 因此设置低、高剂量分别为 0.42、0.84 mL/(kg·d), 即 1.34、2.68 mg/(kg·d)。造模完成 24 h 后, 按照各组给药剂量进行 ip 给药, 阳性药组给予尼莫地平 8.0 mg/(kg·d), 假手术、模型组每天 ip 等量生理盐水, 持续给药 2 周。

2.3 水迷宫实验

给药结束后, 进行水迷宫实验评价大鼠学习记忆能力。先对大鼠进行 5 d 的训练, 第 6 天测试实验开始到寻找到平台的时间。水池直径 1.6 m、深 0.4 m, 圆形。设立的目标象限中央放置隐藏平台, 直径 10 cm, 低于水面 1 cm, 水温大约 25℃。训练规则: 水池分为 4 个象限, 训练时将大鼠依次由 4 个象限放入水池, 找到平台后, 于平台上休息 30 s, 移出水池。若大鼠未能在 120 s 内找到平台, 则对其进行引导。训练开始的第 6 天, 将大鼠轻轻放入水中, 记录大鼠从入水到爬上隐藏平台的时间, 为逃避潜伏期。若未能在 120 s 内找到平台, 则主动结束实验, 并记录时间为 120 s。训练开始后第 7 天, 撤去平台, 记录大鼠从同一象限出发, 60 s 内穿越平台区的次数。

2.4 大鼠海马组织标本采集

水迷宫实验结束后, 各组大鼠麻醉后迅速断头取脑, 在冰上分离出海马组织, 部分用 10% 多聚甲醛在室温下固定 24 h, 石蜡包埋, 进行相关检测; 剩余海马组织切碎后置于 -80℃ 冷冻保存。

2.5 HE 及 TUNEL 试剂盒染色

将石蜡包埋的大鼠海马组织利用酒精梯度脱水, 二甲苯透明, 浸蜡包埋, 切片, 脱蜡后清水冲洗, 分别采用 HE 试剂盒及 TUNEL 试剂盒进行染色, 具体操作步骤参照各自说明书进行, 经再次脱水、透明后封片, 使用光学显微镜观察海马组织形态, 拍照留存。

2.6 大鼠海马组织中 SOD、MDA 水平变化

取冷存大鼠海马组织制作匀浆, 严格按照 SOD、MDA ELISA 试剂盒说明书操作, 利用黄嘌呤氧化法检测 SOD 活性, 硫代巴比妥酸显色法测

定 MDA 水平。

2.7 Western blotting 法检测 cGAS/STING 通路蛋白表达

取冷存大鼠海马组织, 充分打碎, 使用裂解液裂解并离心, 取上清液, 于 -80℃ 保存。BCA 法进行蛋白定量, 调节蛋白质量浓度, 加热使蛋白变性, 以 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 将不同相对分子质量蛋白分离, 转到硝酸纤维素膜上; 将膜洗涤后在 5% 牛血清蛋白溶液中室温封闭 1 h; 洗涤后将膜置于 1:500 的 cGAS、STING、 β -actin 兔抗大鼠一抗稀释液中, 4℃ 孵育过夜; 第 2 天将膜快速清洗后, 转移到二抗稀释液中, 在室温下孵育 2 h; 清洗后用新配制的显色液进行显色, 采用增强化学发光法显色, 以凝胶成像仪观察条带并拍照, 并以 Image-J 软件分析各组蛋白相对表达量。

2.8 统计学分析

以 SPSS 23.0 软件对实验数据进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较进行单因素方差分析, 进一步两组间比较行 SNK-*q* 检验。

3 结果

3.1 脑苷肌肽对 HIE 新生大鼠学习记忆能力的影响

与假手术组比较, 模型组大鼠逃避潜伏期明显延长 ($P < 0.05$), 穿越平台次数明显降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 尼莫地平组和脑苷肌肽低、高剂量组大鼠逃避潜伏期明显缩短 ($P < 0.05$), 穿越平台次数显著增加 ($P < 0.05$); 与尼莫地平组比较, 脑苷肌肽低剂量组大鼠逃避潜伏期较长 ($P < 0.05$), 穿越平台次数较少 ($P < 0.05$), 脑苷肌肽高剂量组大鼠逃避潜伏期、穿越平台次数差异无统计学意义。见表 1。

表 1 各组大鼠空间学习记忆能力比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of spatial learning and memory ability of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	n/只	逃避 潜伏期/s	穿越 平台次数
假手术	—	15	25.42±5.64	6.25±1.45
模型	—	13	66.18±10.26*	1.28±1.04*
尼莫地平	8.0	15	33.86±5.41*#	4.76±1.22*#
脑苷肌肽	1.34	14	58.34±5.58*#▲	3.24±1.16*#▲
	2.68	15	27.52±4.96#	5.48±1.43#

与假手术组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与尼莫地平组比较: ▲ $P < 0.05$;

* $P < 0.05$ vs Sham group; # $P < 0.05$ vs model group; ▲ $P < 0.05$ vs nimodipine group

3.2 脑苷肌肽对 HIE 新生大鼠脑海马组织形态的影响

HE 染色显示, 假手术组大鼠海马区神经元细胞轮廓清晰、正常, 细胞核居中, 尼氏小体均匀分布于细胞核周围; 模型组神经元细胞萎缩苍白, 皮质较薄, 出现了水肿、坏死的现象形成少量空洞; 尼莫地平组大鼠神经细胞轮廓不清晰, 水肿、坏死、变性现象不明显, 且神经细胞轮廓和核仁清晰可见; 脑苷肌肽低剂量组大鼠的神经元细胞改变与模型组变化相似, 神经元细胞发生改变, 出现水肿、坏死

现象; 脑苷肌肽高剂量组大鼠的神经元细胞结构改变和损伤明显改善。见图 1。

3.3 脑苷肌肽对 HIE 新生大鼠脑海马神经元凋亡的影响

TUNEL 染色显示, 假手术组大鼠基本无海马区神经元细胞凋亡; 模型组大鼠海马区可见大量神经元凋亡细胞, 胞体缩小变形、破裂; 与模型组、脑苷肌肽低剂量组比较, 尼莫地平组和脑苷肌肽高剂量组大鼠海马区神经元凋亡细胞数显著减少。见图 2。

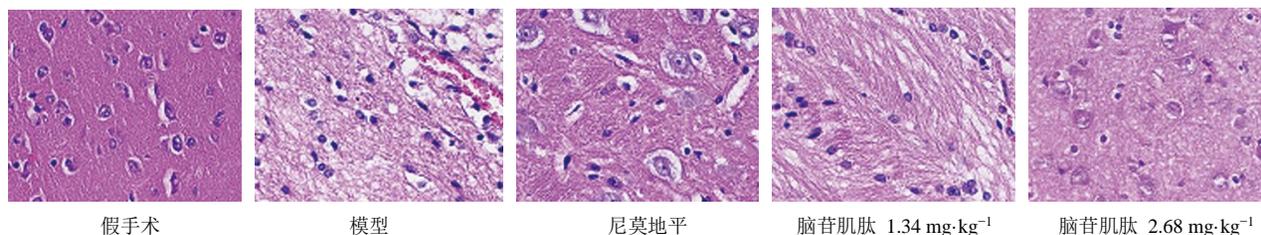


图 1 HE 染色检测大鼠海马区组织病理损伤 (×200)

Fig. 1 Pathological damage in hippocampus detected by HE staining (× 200)

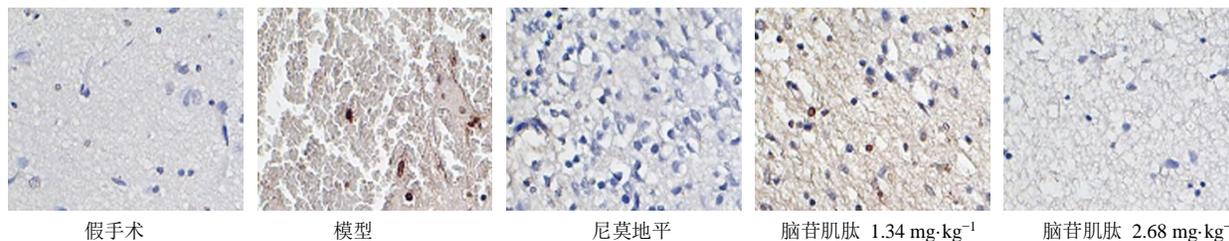


图 2 TUNEL 染色检测大鼠海马区神经元细胞凋亡情况 (×200)

Fig. 2 Neuronal apoptosis in hippocampus detected by TUNEL staining (× 200)

3.4 脑苷肌肽对 HIE 新生大鼠海马组织 SOD、MDA 水平的影响

与假手术组比较, 模型组大鼠海马组织中 SOD 水平显著降低 ($P < 0.05$), MDA 水平显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 尼莫地平组及脑苷肌肽低、高剂量组大鼠海马组织中 SOD 水平显著升高 ($P < 0.05$), MDA 水平显著降低 ($P < 0.05$); 与尼莫地平组比较, 脑苷肌肽低剂量组大鼠海马组织中 SOD 水平较低 ($P < 0.05$), MDA 水平较高 ($P < 0.05$), 脑苷肌肽高剂量组大鼠海马组织中 SOD、MDA 水平差异无统计学意义。见表 2。

3.5 脑苷肌肽对 HIE 新生大鼠 cGAS/STING 通路蛋白表达的影响

与假手术组比较, 模型组大鼠海马组织 cGAS、STING 蛋白表达显著增加 ($P < 0.05$); 与模型组比

表 2 脑苷肌肽对 HIE 新生大鼠海马组织 SOD、MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of cerebroside and carnosine on SOD and MDA contents in hippocampus of neonatal rats with HIE ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	n/只	SOD/(kU·g ⁻¹)	MDA/(mol·mg ⁻¹)
假手术	—	15	33.54 ± 4.12	1.04 ± 0.22
模型	—	13	12.08 ± 2.92*	3.28 ± 0.45*
尼莫地平	8.0	15	28.86 ± 3.14*#	1.56 ± 0.36*#
脑苷肌肽	1.34	14	22.74 ± 2.58*#▲	2.59 ± 0.52*#▲
	2.68	15	30.45 ± 5.32#	1.34 ± 0.31#

与假手术组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与尼莫地平组比较: ▲ $P < 0.05$;

* $P < 0.05$ vs Sham group; # $P < 0.05$ vs model group; ▲ $P < 0.05$ vs nimodipine group

较, 尼莫地平组及脑苷肌肽低剂量组、高剂量组大鼠海马组织 cGAS、STING 蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$); 与尼莫地平组比较, 脑苷肌肽低剂量组大鼠海马组织 cGAS、STING 蛋白表达较高 ($P < 0.05$), 脑苷肌肽高剂量组 cGAS、STING 蛋白表达较低 ($P < 0.05$)。见图 3 和表 3。

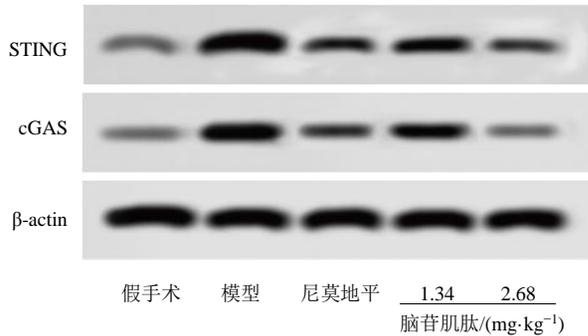


图 3 各组大鼠海马组织中 cGAS、STING 蛋白表达
Fig. 3 Protein expression of cGAS and STING in hippocampus of rats in each group

表 3 各组大鼠海马组织中 cGAS、STING 蛋白表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Expression levels of cGAS and STING protein in hippocampus of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	n/只	蛋白相对表达量	
			cGAS	STING
假手术	—	15	0.22±0.05	0.31±0.08
模型	—	13	1.08±0.11*	1.26±0.14*
尼莫地平	8.0	15	0.56±0.08*#	0.64±0.07*#
脑苷肌肽	1.34	14	0.86±0.09*#▲	0.89±0.12*#▲
	2.68	15	0.32±0.06*#▲	0.44±0.05*#▲

与假手术组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与尼莫地平组比较: ▲ $P < 0.05$;

* $P < 0.05$ vs Sham group; # $P < 0.05$ vs model group; ▲ $P < 0.05$ vs nimodipine group

4 讨论

新生儿 HIE 是与神经元凋亡相关的神经障碍疾病, 脑缺氧缺血所致的病理损害由复杂的综合因素引起, 发病时伴随凋亡、炎症反应、氧化应激等一系列病理生理过程, 对发育中的大脑产生不良影响。目前对于 HIE 发病机制和治疗方法的研究多采用 HIE 动物模型研究, 而新生一周大鼠与新生儿出生时脑发育处于相同阶段, 因此本研究利用新生大鼠建立 HIBD 模型, 通过实验发现, 模型组大鼠较假手术组神经元细胞萎缩苍白、水肿、坏死、凋亡,

逃避潜伏期明显延长, 穿越平台次数明显降低, 说明大鼠脑缺血缺氧造成严重的海马组织损伤, 伴随神经元细胞凋亡, 学习记忆能力下降, 与张英英等^[17]利用 HIBD 模型得到的结果相一致, 说明利用新生大鼠造模成功。临床上常用脑苷肌肽治疗脑卒中^[18]、脑梗死^[19]、新生儿 HIE^[14]、颅脑损伤^[20]及其他原因引起的中枢神经损伤。本研究给予脑苷肌肽治疗后, 低、高剂量组较模型组大鼠海马组织损伤减轻, 细胞凋亡数目依次减少, 逃避潜伏期依次缩短, 穿越平台次数依次增加, 高剂量组较尼莫地平组逃避潜伏期短, 穿越平台次数较多, 但差异无统计学意义, 说明高剂量脑苷肌肽可明显改善海马组织神经元凋亡等损伤, 提高大鼠的学习记忆能力, 效果与阳性药相当。提示缺氧缺血后会对新生大鼠海马组织造成损伤, 影响大鼠的行为能力, 而脑苷肌肽可减轻 HIE 造成的损伤, 与葛根素的作用效果相一致^[21]。

机体发生有害刺激时会产生超出自身氧化清除能力高活性物质, 如活性氧自由基 (MDA), 机体内部氧化和抗氧化系统平衡被打破, 导致机体损伤。MDA 是脂质代谢产物, 其含量是脂质过氧化反应指标^[22], 超氧化物歧化酶 (SOD) 又叫肝蛋白, 是一种源于生命体含有金属元素的活性蛋白酶, 生物体内清除自由基的首要物质, 可对抗与阻断氧自由基对细胞造成的损害, 及时修复受损细胞。研究表明, 脑组织缺血缺氧时, 氧气和营养物质供应不足, 会产生一些列氧化应激反应产物, 抗氧化剂缺乏, 新生儿大脑极易受到氧化应激造成的损伤^[23]。雷敏等^[24]研究发现芒果苷能够通过降低 MDA 水平, 升高 SOD 水平, 降低缺氧缺血性脑损伤大鼠氧化应激反应。本研究中模型组较假手术组 HIE 新生大鼠海马组织中 SOD 水平显著降低, MDA 水平显著升高, 说明 HIE 新生大鼠脑组织中发生氧化应激反应; 给予治疗后, 脑苷肌肽低剂量组、阳性药组、脑苷肌肽高剂量组较模型组 SOD 水平依次升高, MDA 水平依次降低, 脑苷肌肽高剂量组较阳性药组 SOD 水平高, MDA 水平低, 但差异不显著, 说明脑苷肌肽在 HIE 后能够刺激 SOD 的产生, 抑制 MDA 合成, 且脑苷肌肽效果与阳性药相当。提示脑苷肌肽可能通过调节氧化应激反应, 降低 HIE 造成的脑组织损伤。

研究表明, cGAS 是核苷酸转移酶家族的成员, 一种广泛表达的胞质 DNA 感受器, 脑缺氧缺血后

死亡细胞堆积, 内源性 DNA 代谢受损, DNA 渗入胞浆^[25], 激活 cGAS 识别胞内 dsDNA 或 ssDNA, 并催化并合成第二信使 cGAMP^[26], 其激活干扰素基因刺激因子 STING^[27], 导致炎性细胞因子和趋化因子的产生, 促进细胞凋亡。Gamczyk 等^[28]证明 cGAS/STING 通路是抑制缺氧缺血后迟发性神经元死亡的潜在治疗靶点。本研究中模型组较假手术组大鼠海马组织 cGAS、STING 蛋白表达量显著增加, 给予治疗后, 阳性药组及脑苷肌肽低剂量组、高剂量组较模型组 cGAS、STING 蛋白表达量显著降低, 且高剂量组 cGAS、STING 蛋白表达量显著低于阳性药组, 说明 HIE 后脑组织内源 DNA 代谢受损, cGAS/STING 通路激活, cGAS、STING 蛋白表达上调, 而脑苷肌肽可有效抑制 cGAS/STING 通路, 抑制细胞凋亡, 减轻 HIE 造成的脑组织损伤, 提示脑苷肌肽可通过调节 cGAS/STING 通路, 改善 HIE 造成的机体损伤。

综上所述, 脑苷肌肽可能通过抑制 cGAS/STING 信号通路, 抑制氧化应激反应和海马神经元凋亡, 减轻 HIE 造成的大脑损伤, 但脑苷肌肽通过抑制 cGAS/STING 信号通路具体机制仍需进一步探究。

参考文献

- [1] 罗洁, 曹洪, 石小桥. 右美托咪定通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路减轻新生大鼠缺氧缺血性脑损伤的研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(3): 267-270.
- [2] 江进平, 袁天明, 莫蔚农. 单唾液酸四己糖神经节苷脂钠注射液联合胞二磷胆碱治疗新生儿缺氧缺血性脑病的临床研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(18): 1992-1995.
- [3] 曾晓艳, 张晨美, 杨子浩. 磷酸肌酸钠联合亚低温对新生儿缺氧缺血性脑病的血清炎症因子的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(21): 2507-2509.
- [4] 徐瑄培, 黄凌依, 赵凤艳, 等. 鸢尾素对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤的作用及机制 [J]. 中国当代儿科杂志, 2020, 22(1): 58-64.
- [5] Ding H F, Zhang H, Ding H F, et al. Therapeutic effect of placenta-derived mesenchymal stem cells on hypoxic-ischemic brain damage in rats [J]. *World J Pediatr*, 2015, 11(1): 74-82.
- [6] Yıldız E P, Ekici B, Tatlı B. Neonatal hypoxic ischemic encephalopathy: An update on disease pathogenesis and treatment [J]. *Expert Rev Neurother*, 2017, 17(5): 449-459.
- [7] 阎雯, 齐薛浩. 白藜芦醇对新生大鼠神经元缺血缺氧时 SDF-1/CXCR4 通路抗凋亡作用的调控机制 [J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(7): 1177-1182.
- [8] Bakhom S F, Ngo B, Laughney A M, et al. Chromosomal instability drives metastasis through a cytosolic DNA response [J]. *Nature*, 2018, 553(7689): 467-472.
- [9] Chen Q, Boire A, Jin X, et al. Carcinoma-astrocyte gap junctions promote brain metastasis by cGAMP transfer [J]. *Nature*, 2016, 533(7604): 493-498.
- [10] Reinert L S, Lopušná K, Winther H, et al. Sensing of HSV-1 by the cGAS-STING pathway in microglia orchestrates antiviral defence in the CNS [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13348.
- [11] Lemos H, Huang L, Chandler P R, et al. Activation of the STING adaptor attenuates experimental autoimmune encephalitis [J]. *J Immunol*, 2014, 192(12): 5571-5578.
- [12] 张克飞, 王兵. 红花黄色素联合脑苷肌肽治疗对缺血性卒中患者神经功能的影响及机制研究 [J]. 海南医学院学报, 2019, 25(7): 534-537, 542.
- [13] 赵丹, 胡东懿, 岑敏, 等. 脑苷肌肽注射液与复方脑肽节苷脂注射液治疗新生儿缺氧缺血性脑病的临床疗效比较和成本分析 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2018, 26(2): 68-71.
- [14] 蒋昌科, 赖卓莉, 龚放. 脑苷肌肽注射液联合左卡尼汀注射液治疗新生儿缺氧缺血性脑病的临床研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(17): 2066-2069.
- [15] 单海军, 曹彩红, 张英英, 等. 补肾开窍祛痰方对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠海马神经元凋亡基因 Bcl-2、Bax 及 Bcl-2/Bax 比例变化的影响 [J]. 时珍国医国药, 2018, 29(6): 1336-1338.
- [16] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [17] 张英英, 单海军, 郭鑫. 针刺对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠的神经保护作用及对小胶质细胞和炎症反应的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(2): 169-173.
- [18] 张歆, 罗勇. 注射用血栓通配合脑苷肌肽治疗急性缺血性脑卒中的疗效及对神经功能、认知功能及日常生活活动能力的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(12): 2983-2986.
- [19] 范长燕, 贺春晖, 李超生, 等. 银杏达莫联合脑苷肌肽治疗对脑梗死患者的疗效观察 [J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(13): 1375-1378, 1389.
- [20] 方理超, 安堃, 华燕琴, 等. 依达拉奉辅助脑苷肌肽对重症颅脑损伤患者的保护作用 [J]. 中华急诊医学杂志, 2019, 28(3): 319-323.
- [21] 范少平, 丁文学, 梁碧先. 葛根素对 HIE 新生大鼠神经

- 及 PI3KAkt 信号通路的作用机制研究 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2017, 15(6): 680-685.
- [22] 王 英, 连亚军, 谢南昌, 等. 体外癫痫模型海马神经元中线粒体衔接蛋白 Miro1 表达的改变及其意义 [J]. 临床神经病学杂志, 2018, 31(2): 130-133.
- [23] Dai C F, Liu Y N, Dong Z F. Tanshinone I alleviates motor and cognitive impairments via suppressing oxidative stress in the neonatal rats after hypoxic-ischemic brain damage [J]. *Mol Brain*, 2017, 10(1): 1-11.
- [24] 雷 敏, 吴丽荣, 刘 英. 芒果苷对缺氧缺血性脑损伤大鼠氧化应激反应及神经细胞凋亡的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2019, 27(12): 1037-1044.
- [25] Thornton C, Leaw B, Mallard C, *et al.* Cell death in the developing brain after hypoxia-ischemia [J]. *Front Cell Neurosci*, 2017, 11: 248.
- [26] Wu J, Sun L, Chen X, *et al.* Cyclic GMP-AMP is an endogenous second messenger in innate immune signaling by cytosolic DNA [J]. *Science*, 2013, 339(6121): 826-830.
- [27] Barber G N. STING: infection, inflammation and cancer [J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(12): 760-770.
- [28] Gamczyk M, Doycheva D M, Araujo C, *et al.* cGAS/STING pathway activation contributes to delayed neurodegeneration in neonatal hypoxia-ischemia rat model: Possible involvement of LINE-1 [J]. *Mol Neurobiol*, 2020, 57(6): 2600-2619.