

• 论著 •

ERK 和 CREB 磷酸化在硫化氢对大鼠
脑缺血再灌注神经保护的机制探讨殷俊¹ 李艳冰² 沈琴¹ 杨晓苏¹

1. 中南大学湘雅医院神经内科 湖南省长沙市 410008

2. 中南大学湘雅医院检验科 湖南省长沙市 410008

摘要: 目的 探讨磷酸化细胞外调节蛋白激酶(p-ERK)和磷酸化cAMP反应元件结合蛋白(p-CREB)在外源性硫化氢(NaHS)干预下对大鼠脑缺血再灌注的神经保护作用及机制。方法 将180只雄性SD大鼠随机分为3组:假手术组、模型组和NaHS干预组(100 μmol/L),每组60只。线栓法制备大鼠大脑中动脉栓塞模型,2 h后再灌注,灌注前20 min给予生理盐水或NaHS腹腔注射,术后6 h、1 d、2 d、5 d、7 d后行TTC染色观察脑梗死体积,尼氏染色检测神经元表达,Western Blot检测海马p-ERK1/2、p-CREB表达,免疫组化检测Bcl-2表达。结果 干预组脑梗死体积和神经元凋亡相对于模型组显著减少($P < 0.05$)。与模型组相比,干预组各时间点p-ERK1/2、p-CREB蛋白表达均升高($P < 0.05$),两者之间呈正相关;干预组Bcl-2相对于模型组升高($P < 0.05$)。结论 大鼠脑缺血再灌注损伤后NaHS可能通过诱导ERK1/2和CREB蛋白磷酸化,激活下游Bcl-2蛋白表达,起到抗凋亡作用,减少脑梗死体积,发挥神经保护作用。

关键词: 脑; 缺血再灌注损伤; 硫化氢; 细胞外调节蛋白激酶; cAMP反应元件结合蛋白; B细胞淋巴瘤/白血病-2; 大鼠

Roles of ERK and CREB phosphorylation in sodium hydrosulfide-induced neuroprotection after cerebral ischemia-reperfusion in rats

YIN Jun, LI Yan-Bing, SHEN Qin, YANG Xiao-Su. Department of Neurology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China

Corresponding author: YANG Xiao-Su, E-mail: sjnk_xy@aliyun.com.cn

Abstract: **Objective** To investigate the roles and mechanisms of action phosphorylated extracellular signal-regulated kinase1/2 (p-ERK1/2) and phosphorylated cAMP response element binding protein (p-CREB) in exogenous sodium hydrosulfide (NaHS)-induced neuroprotection after cerebral ischemia-reperfusion (I/R) in rats. **Methods** A total of 180 male Sprague-Dawley rats were randomly and equally divided into sham-operation group, model group, and NaHS (100 μmol/L) intervention group. The rat model of middle cerebral artery occlusion was established by intraluminal suture technique. Reperfusion was performed after 2 hrs. Rats were given saline solution or NaHS by intraperitoneal injection 20 min before reperfusion. At 6 hrs, 1 day, 2 days, 5 days, and 7 days after surgery, triphenyltetrazolium chloride staining was used to observe volume of cerebral infarction; Nissl staining was used to evaluate apoptosis in neurons. Western blot was used to determine the expression of p-ERK1/2 and p-CREB in the hippocampus; immunohistochemical analysis was used to measure the expression of B cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2). **Results** Compared with the model group, the volume of cerebral infarction and apoptosis in neurons were significantly reduced in the NaHS intervention group ($P < 0.05$). At each time point, the protein expression of p-ERK1/2 and p-CREB was significantly higher in the NaHS intervention group than in the model group ($P < 0.05$). The expression of p-ERK1/2 was positively correlated with the expression of p-CREB. Moreover, the NaHS intervention group had significantly higher expression of Bcl-2 than the model group ($P < 0.05$). **Conclusions** After cerebral I/R injury in rats, NaHS may protect neurons against apoptosis and reduce volume of cerebral infarction by inducing phosphorylation of ERK1/2 and CREB and stimulating expression of downstream Bcl-2.

Key words: brain; ischemia-reperfusion injury; sodium hydrosulfide; extracellular signal-regulated kinase1/2; cAMP response element binding protein; B cell lymphoma/leukemia-2; rats

基金项目: 2015 年“步长杯”脑血管病科学研究基金项目(BC2015-02)

收稿日期: 2015-03-02; 修回日期: 2015-04-09

作者简介: 殷俊(1985-),男,助理研究员,博士,主要从事脑血管病的研究。

通讯作者: 杨晓苏,女,医学博士,主任医师,博士生导师,主要研究方向为头痛、睡眠障碍、神经遗传变性疾病及小儿神经疾病。E-mail: sjnk_xy@aliyun.com.cn.

硫化氢(hydrogen sulfide, H_2S)是继一氧化氮和一氧化碳之后发现的一种新的气体信号分子,在神经系统、心血管活动调节等方面发挥着重要作用^[1]。内源性 H_2S 可以直接对中枢神经系统发挥作用,也可通过调节脑血管壁平滑肌张力来调节大脑血供。生理浓度的 H_2S 对神经系统内的多种氧化性物质都有抑制及清除作用,从而减轻氧化应激,具有神经保护作用。硫氢化钠(sodium hydrosulfide, NaHS)是外源性 H_2S 的供体,吸收入血后能迅速转化成 H_2S 。研究证明NaHS在心肌、肾脏、肝脏、大肠缺血再灌注损伤中能减轻靶器官损害,发挥抗炎、抗凋亡、抗氧化应激的作用^[2-4]。近年来有研究发现NaHS对脑缺血损伤具有神经保护作用,但机制不明^[5-6]。磷酸化的环腺苷酸反应元件结合蛋白(cAMP response element binding protein, p-CREB)在脑损伤中对神经元有重要的保护作用^[7]。p-CREB的这种神经保护作用是通过激活相关基因如c-fos和B细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)的表达而完成,并通过抑制凋亡,促进修复、再生等使部分细胞在应激性损伤后仍得以存活。本研究拟通过建立局灶性脑缺血再灌注(ischemia-reperfusion, I/R)模型,用NaHS进行干预,动态观察大鼠局灶性脑缺血再灌注后海马磷酸化细胞外调节蛋白激酶(phosphorylated extracellular signal-regulated kinase1/2, p-ERK1/2)、p-CREB和Bcl-2蛋白的表达,探讨外源性 H_2S 神经保护作用的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组与模型制作

本实验选用Sprague-Dawley雄性大鼠,随机分为假手术组、模型组(I/R)、NaHS干预组,每组60只,各组按再灌注后处死的时间分为6 h,1 d,2 d,5 d,7 d五个亚组,每个亚组各12只。

模型组:采用右侧大脑中动脉栓塞2 h后再灌注,参照Longa^[8]线栓法制备,线栓采用0.26 mm单丝尼龙钓鱼线,保留2 h后拔出,形成再灌注。灌注前20 min腹腔注射生理盐水1 ml。

假手术组:进行各项手术操作,但线栓仅进入右侧大脑中动脉8~10 mm。

NaHS干预组:右侧大脑中动脉栓塞2 h后再灌注,灌注前20 min腹腔注射NaHS(100 μ mol/L)1 ml(购自Sigma公司)。

1.2 取材及分配

每亚组随机选取3只大鼠,动物处死后迅速取

脑,行TTC染色;每亚组随机选取6只老鼠取梗死侧海马,提取蛋白后-80℃保存,行Western Blot检测;每亚组随机选取3只老鼠灌注、固定、脱水后冰冻切片机切片(脑片厚20 μ m),贴片晾干后放入-80℃保存,行尼氏染色和免疫组化。

1.3 四氮唑红(TTC)染色

大鼠处死后迅速取脑,置-20℃冰箱中冷冻20 min,距额极2 mm开始切片,每片厚2 mm,放入2% TTC(购自Amresco公司)溶液中37℃水浴30 min后,转入4%多聚甲醛中6 h后观察。

1.4 尼氏(Nissl)染色

每亚组随机选取3只大鼠,每只8张玻片,按常规Nissl法进行染色。

1.5 Western Blot 检测

从各组蛋白样品中取25 μ g总蛋白量进行蛋白电泳(10% SDS-PAGE, 20~30 mA, 2 h)和转膜(PVDF膜, 200 mA, 2 h)。先后用p-ERK1/2(1:1000, 购自CST公司)、p-CREB(1:800, 购自CST公司)和内参照 β -actin(1:2000, 购自碧云天公司)一抗和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔/小鼠二抗(1:2000)进行Western blot,分别检测ERK1/2和CREB的磷酸化水平。

1.6 免疫组织化学染色

用SABC法进行Bcl-2免疫组织化学染色。具体步骤参照武汉博士德SABC法试剂盒说明进行。阴性对照采用PBS代替一抗,其余操作同前。

1.7 结果观察

用Quantity One软件(Bio-Rad)分析Western Blot图片,将各组的蛋白相对值除以 β -actin相对值,即各组的蛋白的相对表达量。免疫组化和尼氏染色采用HPIAS-1000高清晰彩色病理图像分析系统(武大影像工程公司)对切片进行图像分析。每个时间点每只大鼠每个指标随机选取4张切片,每张切片随机选取5个不重复视野,高倍镜下(10×40)观察计数每个视野中阳性细胞数,取均数作为各时间点该指标阳性细胞数。

1.8 统计学处理

应用SPSS 13.0统计软件包进行统计学处理。数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间差异比较用ANOVA及Newman-Student多重比较t检验分析,两指标间相关分析采用双尾Pearson's相关检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NaHS 对大鼠脑缺血再灌注后脑梗死体积的影响

假手术组大鼠脑组织呈一致红色,无梗死组织;I/R 组可见右侧脑组织大小不一致的苍白色梗死组织,以距离嗅球尖端 5 ~ 10 mm 区明显,左侧脑组织均呈红色,且缺血灶的范围随再灌注时间的延长而扩大到整个右侧大脑中动脉供血区。NaHS

干预组各时间点相对 I/R 组脑梗死体积减少,差异有统计学意义($P < 0.05$)。应用 Champion Image HPIAS-1000 高清晰度彩色病理图文报告分析系统测出各区脑梗死面积,根据公式 $V = t(A_1 + \dots + A_n) - (A_1 + A_n)t/2$ 算出梗死体积。其中 t 为切片厚度, A 为梗死面积。脑梗死比例为梗死体积/总体积。见图 1。

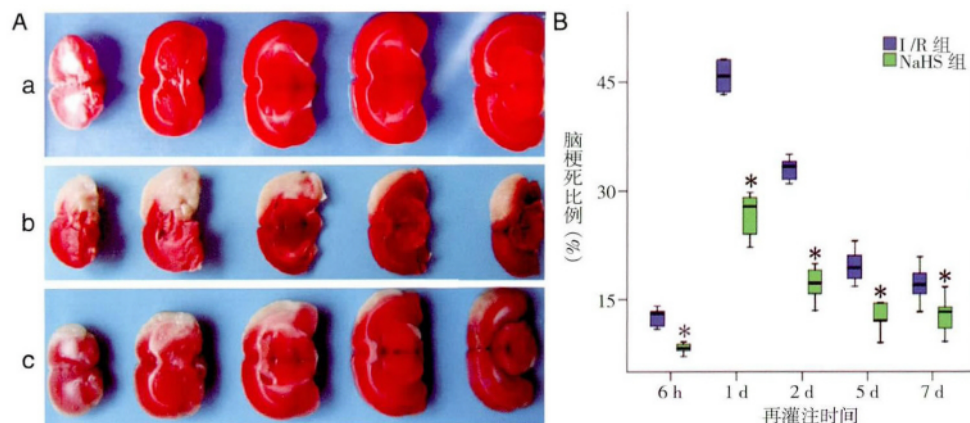


图 1 NaHS 对大鼠脑缺血再灌注后脑梗死体积的影响。A: 三组大鼠缺血再灌注 24 h TTC 染色比较。a: 假手术组; b: I/R 组; c: NaHS 干预组。B: I/R 组和 NaHS 干预组大鼠不同再灌注时刻点脑梗死比例比较。注: * 为与 I/R 组比较, $P < 0.05$ 。

2.2 尼氏染色结果

通过尼氏体可辨认或鉴定神经细胞的存在及其分布以及是否发生病理性改变。缺血再灌注 6 h, I/R 组梗死侧海马 CA1 区较正常侧深染的神经

元减少,有一部分神经元染色变淡,一些神经元轮廓不清楚,24 h 组深染的神经元明显减少。NaHS 干预组相对 I/R 组梗死侧神经元表达增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 2。

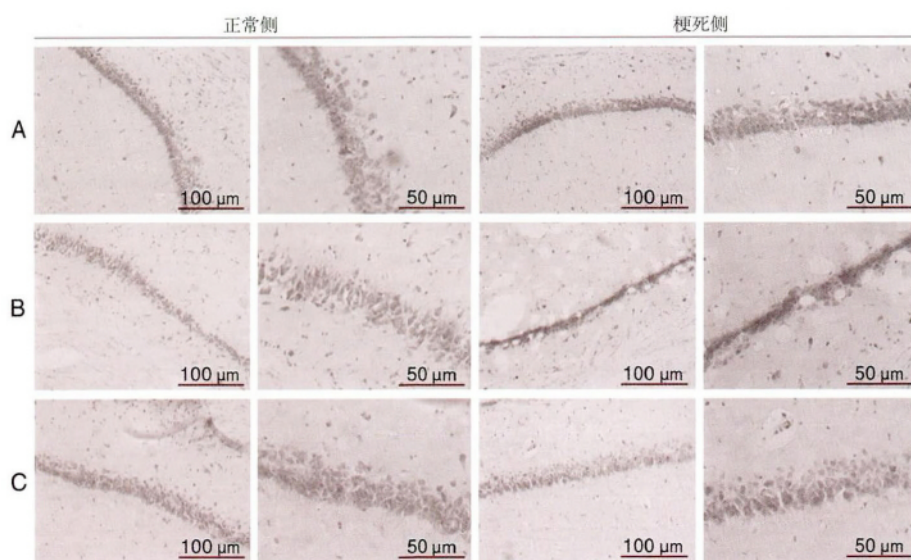


图 2 尼氏染色示大鼠缺血再灌注 24 h 后海马 CA1 区神经元表达情况。A: 假手术组; B: I/R 组; C: NaHS 干预组。

2.3 NaHS 对大鼠脑缺血再灌注后海马区 p-ERK1/2 和 p-CREB 蛋白表达的影响

I/R 组再灌注 6 h 时 p-ERK1/2 表达量稍增加,但其平均灰度值较假手术组无统计学意义 ($P > 0.05$); 6 h 后 p-ERK1/2 表达下降,再灌注 2 d 降低到最低谷后开始上升,7 d 组和假手术组无明显差别。NaHS 干预组 p-ERK1/2 再灌注后各时间点表达均明显增加,从 6 h 表达上调,1 d 上升到峰值,

组间平均灰度值比较差异明显,与 I/R 组相比差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。I/R 组再灌注 6 h 时 p-CREB 表达量稍增加,除 5 d 外其平均灰度值相对假手术组无统计学意义 ($P > 0.05$)。与 I/R 组相比,NaHS 干预组再灌注各时间点 p-CREB 表达均明显增加,从 6 h 表达上调,5 d 上升到高峰,组间平均灰度值比较差异明显,与 I/R 组相比差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见图 3。

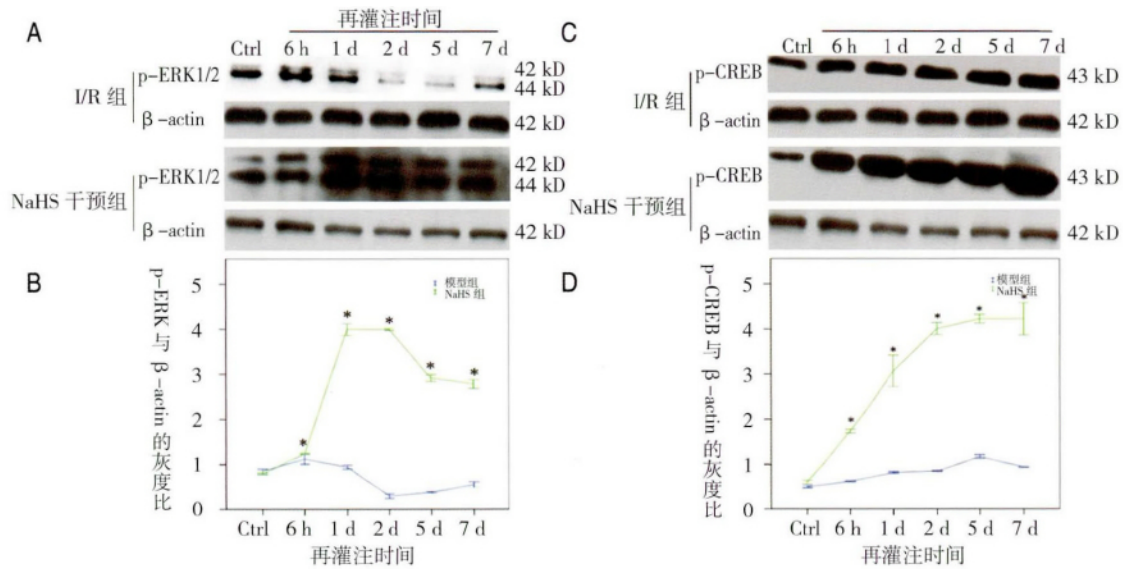


图3 NaHS 对缺血再灌注损伤大鼠海马 ERK 和 CREB 磷酸化的影响。A: I/R 组和 NaHS 干预组大鼠不同再灌注时刻点海马 p-ERK1/2 的 Western blot 图谱。B: I/R 组和 NaHS 干预组大鼠不同再灌注时刻点海马 p-ERK1/2 与 β -actin 灰度比趋势图。注: * 为与 I/R 组比较, $P < 0.05$ 。C: I/R 组和 NaHS 干预组大鼠不同再灌注时刻点海马 p-CREB 的 Western blot 图谱。D: I/R 组和 NaHS 干预组大鼠不同再灌注时刻点海马 p-CREB 与 β -actin 灰度比趋势图。注: * 为与 I/R 组比较, $P < 0.05$ 。

2.4 NaHS 对大鼠脑缺血再灌注后海马区 Bcl-2 表达的影响

I/R 组再灌注后 6 h 海马区神经元 Bcl-2 蛋白阳性表达增加,1 d 达到峰值,阳性细胞计数明显增高,2 d 组和 5 d 组表达有所下降,但仍高于假手术组。形态学上多数阳性细胞体积较大,细胞轮廓

清晰,胞浆可见明显阳性表达,呈棕黄色。与假手术组比,缺血各组再灌注后各时间点 Bcl-2 蛋白表达增加,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 I/R 组相比,NaHS 组再灌注各时间点阳性表达的细胞数量均明显增多,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1、图 4。

表1 各组大鼠缺血再灌注不同时刻点缺血侧海马区 Bcl-2 吸光度的比较 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

	6 h	1 d	2 d	5 d	7 d
假手术组	2.35 $\pm$ 0.37	2.40 $\pm$ 0.31	2.27 $\pm$ 0.33	2.45 $\pm$ 0.24	2.31 $\pm$ 0.54
I/R 组	7.40 $\pm$ 0.71*	15.81 $\pm$ 0.96*	9.32 $\pm$ 1.17*	8.4 $\pm$ 1.56*	7.70 $\pm$ 1.30*
NaHS 干预组	7.28 $\pm$ 0.92*	17.41 $\pm$ 1.1* #	11.70 $\pm$ 1.34* #	9.23 $\pm$ 1.10* #	8.34 $\pm$ 1.02*

注: * 为与假手术组相比较 $P < 0.05$; # 为与模型组比较 $P < 0.05$ 。

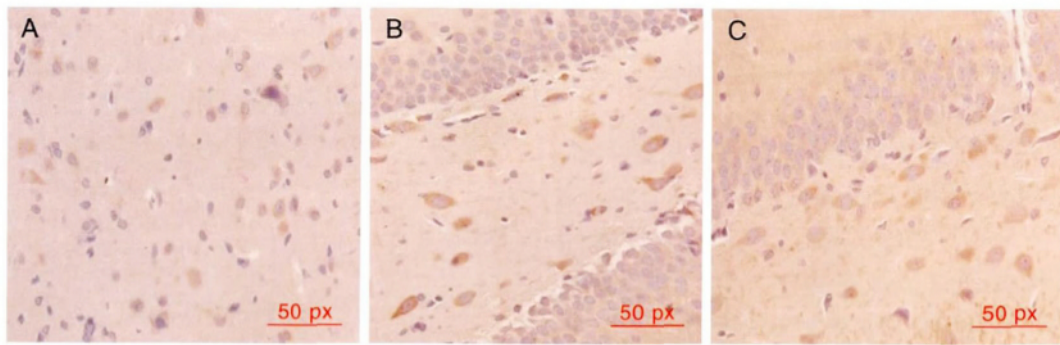


图 4 免疫组织化学示大鼠缺血再灌注 1 d 后缺血海马区神经元 Bcl-2 蛋白的表达 (10 × 40)。A: 假手术组; B: I/R 组; C: NaHS 干预组。

2.5 相关性分析

取 I/R 组, NaHS 干预组再灌后各时间点 p-ERK1/2 和 p-CREB 灰度比、Bcl-2 蛋白阳性细胞数分别进行双尾 Pearson's 相关检验, 其中 p-ERK1/2 和 p-CREB 灰度比之间的相关系数为 0.881 ($P <$

0.01), 两者呈高度正相关; p-ERK1/2 和 Bcl-2 蛋白表达之间的相关系数为 0.519 ($P < 0.01$), 两者中度正相关; Bcl-2 和 p-CREB 表达之间的相关系数为 0.408 ($P < 0.01$), 两者中度正相关。见图 5。

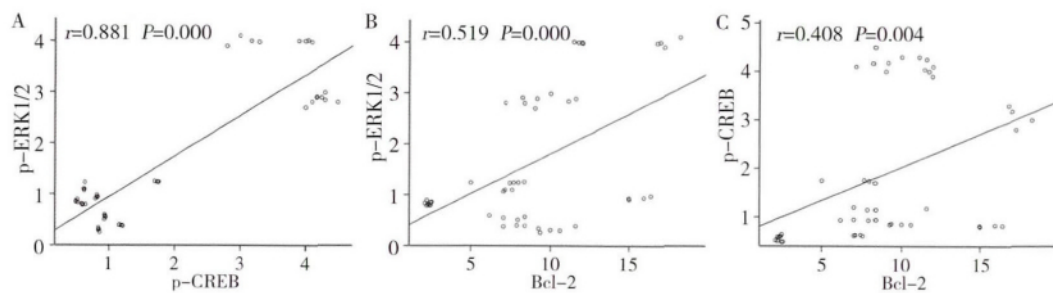


图 5 p-ERK1/2、p-CREB 和 Bcl-2 蛋白表达的直线相关分析。A: p-ERK1/2 和 p-CREB; B: p-ERK1/2 和 Bcl-2; C: p-CREB 和 Bcl-2。

3 讨论

大量临床和实验研究表明, 脑缺血再灌注可导致大脑缺血缺氧易感区海马发生迟发性神经元死亡, 其主要的原因是神经元凋亡^[9]。脑缺血再灌注后细胞凋亡呈动态改变, 本研究也显示再灌 6 h 海马区已出现凋亡细胞, 2 d 后海马 CA1 区发生了明显的神经元死亡。

ERK1/2 属于 MAPKs 家族的一员, ERK1/2 主要被丝裂原刺激物激活, 随后导致一系列转录因子的活化, 并最终调节细胞增殖和分化。一般情况下, ERK1/2 的磷酸化和一些保护机制有密切联系。ERK 通路是通过哪些基因来参与脑缺血再灌注损伤的保护, 它的上游调节机制有哪些, 目前所知甚少。研究表明^[10], 大鼠脑缺血后初期海马 CA1 区神经元细胞体内 ERK 表达增强, 可能通过

活化神经保护性的基因转录而起神经保护作用。用 Western blot 和激光共聚焦显微镜在大鼠脑缺血模型上观察 15 min 脑缺血后 MAPK 的活性变化, 发现缺血再灌注后 30 min 和 4 h 在耐受缺血的 CA3/DG 区细胞核有 p-ERK 表达, 在死亡的 CA1 区神经元无表达, 提示 ERK 参与缺血后的细胞保护^[11]。采用沙土鼠前脑缺血再灌注损伤模型的研究表明, 缺血预处理可能通过抑制 CA1 区 JNK 磷酸化、增强 CA3 区 ERK 活性而保护海马细胞^[12]。本研究显示大鼠中动脉缺血 2 h 再灌 6 h 海马 p-ERK1/2 表达略微升高后及开始降低, 2 d 降至低谷后缓慢上升, 14 d 基本恢复到正常水平。与 I/R 组相比, NaHS 干预组在再灌注后海马 p-ERK1/2 开始升高, 1 d 达到峰值, 2 d 后开始下降, 7 d 仍高于假手术组。NaHS 干预后能明显促进 ERK1/2 的

磷酸化,促进下游分子的表达。提示使梗死体积减小及神经元凋亡减少的 NaHS 可能通过促进 p-ERK 的表达而参与神经保护。

既往研究表明,CREB 是很多信号分子的目标蛋白,包括 ERK; CREB 的激活可能依赖于 ERK 通路^[13]。CREB 是所有细胞生长、增值、分化、存活所必须的,在所有器官中均有表达。在脑中,CREB 和 cAMP 反应元件(cAMP response element, CRE)介导的信号系统参与了记忆、学习、突触传递、神经元的存活分化和轴突生长等。在动物实验中,短暂性缺血损伤可以使神经元内的 CREB 发生磷酸化^[14],并使 CRE 启动转录基因表达。在海马区 CA1 锥神经元中,短暂性脑缺血引起的 CREB 磷酸化是短暂的,但在齿状回颗粒细胞中却有所延长^[11],当 CA1 锥神经元随着缺血损伤而出现明显的死亡时,齿状回颗粒细胞却大量的存活,即在齿状回中起神经保护作用的可能是 CREB。在全脑缺血模型中,梗死周围区 p-CREB 水平显著增高,而梗死中心区 p-CREB 阳性细胞数明显减少。我们的数据显示大鼠大脑中动脉缺血 2 h 后再灌注,I/R 组再灌注各时刻点海马 p-CREB 表达略微升高,推测是缺血缺氧后 CREB 发生磷酸化而发挥神经元自我保护所致。与 I/R 组相比,NaHS 干预组在再灌注后海马 p-CREB 开始升高,2 d 达到峰值并且稳定,一直持续至 7 d。支持 NaHS 的脑保护作用可能是通过促进 p-ERK 表达进而促进其目标蛋白 p-CREB 表达而实现的。

研究表明,CREB 的神经保护作用是在其激活后通过对早期基因产物 c-fos、Bcl-2 蛋白、神经营养因子等转录的调控,来抑制神经元的凋亡和促进细胞的修复,使部分细胞在应激性损伤后得以存活^[15]。有研究发现,在大鼠 MCAO 模型中,30 min 预适应处理后,Bcl-2 蛋白的表达增加抑制了神经元凋亡,有利于神经元生长存活,发挥神经保护作用。该机制中 Bcl-2 基因的转录依赖于 CREB 磷酸化水平,应用 CRE 诱饵寡核苷酸后 Bcl-2 的表达被阻断,无法发挥缺血预适应保护作用^[15]。本研究显示海马区 Bcl-2 阳性细胞于再灌 6 h 后开始出现,1 d 达高峰,随后呈下降趋势,提示 Bcl-2 蛋白可能在抑制细胞凋亡中发挥保护作用。NaHS 能显著增加 Bcl-2 蛋白表达,进一步发挥抗凋亡作用。通过对 p-ERK1/2、p-CREB 和 Bcl-2 蛋白两两进行双尾 Pearson's 相关检验发现三者均存在正相关关

系。且 p-ERK1/2、p-CREB 高度相关。综合文献与本实验的结果,我们认为 NaHS 可能通过增加海马神经元 ERK1/2 的磷酸化,致使 CREB 磷酸化而被激活,p-CREB 进而上调 Bcl-2 蛋白的表达,发挥其在脑缺血再灌注损伤时的神经元保护作用,减少脑梗死体积。

参 考 文 献

- [1] Chen WL, Niu YY, Jiang WZ, et al. Neuroprotective effects of hydrogen sulfide and the underlying signaling pathways. *Rev Neurosci*, 2015, 26(2): 129-142.
- [2] Qipshidze N, Metreveli N, Mishra PK, et al. Hydrogen sulfide mitigates cardiac remodeling during myocardial infarction via improvement of angiogenesis. *Int J Biol Sci*, 2012, 8(4): 430-441.
- [3] Biermann J, Lagrèze WA, Schallner N, et al. Inhalative preconditioning with hydrogen sulfide attenuated apoptosis after retinal ischemia/reperfusion injury. *Mol Vis*, 2011, 17: 1275-1286.
- [4] Yan H, Xin S, Wang H, et al. Baicalein inhibits MMP-2 expression in human ovarian cancer cells by suppressing the p38 MAPK-dependent NF- κ B signaling pathway. *Anticancer Drugs*, 2015. [Epub ahead of print].
- [5] Ma L, Liu J, Zhang X, et al. p38 MAPK-dependent Nrf2 induction enhances the resistance of glioma cells against TMZ. *Med Oncol*, 2015, 32(3): 69.
- [6] Lan A, Liao X, Mo L, et al. Hydrogen sulfide protects against chemical hypoxia-induced injury by inhibiting ROS-activated ERK1/2 and p38 MAPK signaling pathways in PC12 cells. *PLoS One*, 2011, 6(10): e25921.
- [7] 郑丽君,周芝文,杨杰. 二苯乙烯苷对脑缺血再灌注大鼠 TrkA 及 Bcl-2 表达的影响. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2013, 40(5): 412-417.
- [8] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [9] von Heesen M, Müller S, Keppler U, et al. Preconditioning by Cilostazol Protects against Cold Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury. *Ann Transplant*, 2015, 20: 160-168.
- [10] Lee KH, Ho WY, Wu SJ, et al. Modulation of cyclins, p53 and mitogen-activated protein kinases signaling in breast cancer cell lines by 4-(3,4,5-trimethoxyphenoxy) benzoic acid. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(1): 743-757.
- [11] Liu X, Nie S, Huang D, et al. Mitogen-activated protein kinase and Akt pathways are involved in 4-n-nonyphenol induced apoptosis in mouse Sertoli TM4 cells. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2015, 39(2): 815-824.
- [12] Mao XY, Cao YG, Ji Z, et al. Topiramate protects against

- glutamate excitotoxicity via activating BDNF/TrkB-dependent ERK pathway in rodent hippocampal neurons. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2015, 60: 11-17.
- [13] Zeng Z, Leng T, Feng X, et al. Silencing TRPM7 in Mouse Cortical Astrocytes Impairs Cell Proliferation and Migration via ERK and JNK Signaling Pathways. *PLoS One*, 2015, 10 (3): e0119912.
- [14] Tanaka K, Nogawa S, Nagata E, et al. Persistent CREB phosphorylation with protection of hippocampal CA1 pyramidal neurons following temporary occlusion of the middle cerebral artery in the rat. *Exp Neurol*, 2000, 161 (2): 462-471.
- [15] Kim SS, Jang SA, Seo SR. CREB-mediated Bcl-2 expression contributes to RCAN1 protection from hydrogen peroxide-induced neuronal death. *J Cell Biochem*, 2013, 114 (5): 1115-1123.

• 论著 •

PPAR γ 基因 C1431T 多态性及其与脑出血的关系

袁宁^{1,2}, 许宏伟¹, 刘学军²

1. 中南大学湘雅医院老年医学科, 湖南省长沙市 410008

2. 湖南省第二人民医院精神科, 湖南省长沙市 410007

摘要: 目的 探讨过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ) 基因 C1431T 多态性在人群中的分布及其与脑出血的关系。方法 用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性分析法检测 PPAR γ 基因 C1431T 多态性在脑出血组和正常对照组的分布情况。结果 PPAR γ C1431T 基因型 CC、CT + TT 在脑出血患者组的分布频率分别为 43.8%、56.2%, C 等位基因频率为 70.1%, T 等位基因频率为 29.9%。CC、CT + TT 基因型在正常对照组中的分布频率分别为 62.1%、37.9%, C 等位基因频率为 79.8%, T 等位基因频率为 20.2%。脑出血组 PPAR γ 基因 1431 T/X 基因型频率 ($P=0.000$) 和 T 等位基因频率 ($P=0.000$) 均显著高于对照组, 差异有统计学意义。结论 PPAR γ 基因 C1431T 多态性可能与脑出血存在关联, T 等位基因可能与脑出血发病率呈正相关。

关键词: 脑出血; 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ ; 基因; 多态性

Relationship between PPAR γ gene C1431T single nucleotide polymorphism and cerebral hemorrhage

YUAN Ning, XU Hong-Wei, LIU Xue-Jun. Department of Geriatric Medicine, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410016, China

Corresponding author: XU Hong-Wei, Email: xhw_xiangya@sina.com

Abstract: **Objective** To study the distribution of peroxisome proliferators-activated receptor gamma (PPAR γ) gene C1431T single nucleotide polymorphism (SNP) in a Chinese population and its relationship with cerebral hemorrhage (CH). **Methods** The distribution of PPAR γ gene SNP in the CH group and the control group was determined by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. **Results** In the CH group, the frequencies of PPAR γ gene C1431T genotypes, CC and CT + TT, were 43.8% and 56.2%, respectively, while the frequencies of the C allele and the T allele were 70.1% and 29.9%, respectively. In the control group, the frequencies of the genotypes, CC and CT + TT, were 62.1% and 37.9%, respectively, while the frequencies of the C allele and the T allele were 79.8% and 20.2%, respectively. Therefore, the frequencies of PPAR γ gene 1431 T/X genotype and the T allele were significantly higher in the CH group than in the control group ($P=0.000$; $P=0.000$). **Conclusions** The PPAR γ gene C1431T SNP may be associated with CH, and the C allele may be positively associated with the incidence of CH.

Key words: cerebral hemorrhage; peroxisome proliferators-activated receptor γ ; gene; polymorphism

收稿日期: 2015-04-27; 修回日期: 2015-06-23

作者简介: 袁宁 (1982-), 女, 在读博士研究生, 主治医师, 主要从事脑血管疾病及精神疾病遗传学的研究。

通讯作者: 许宏伟, 男, 博士, 教授, 主要从事脑血管病的研究。E-mail: xhw_xiangya@sina.com。