

GIV 对脑缺血/再灌注损伤模型中神经炎症反应的影响

陈明^{1,2,3}, 石鹏^{1,2}, 夏明燕^{1,2,3}, 龙婷婷³, 禹文峰^{1,2,3}

摘要 目的 探讨包含 88A 的卷曲螺旋结构域蛋白 GIV 是否对脑缺血再灌注损伤模型中的神经炎症应答反应有影响。**方法** 构建 C57BL/6 小鼠的大脑中动脉栓塞再灌注模型(MACO/R)及 BV2 小胶质细胞的氧糖剥夺/复氧模型(OGD 6 h + R 24 h), TTC 染色检测小鼠的脑梗死面积; Longa 神经生物学评分评价小鼠的神经功能缺损程度; ELISA 检测小鼠外周血及细胞培养物上清液中白细胞介素(IL)-6 和肿瘤坏死因子(TNF)- α 的释放水平; Western blot 检测小鼠梗死灶周围皮质区组织中卷曲螺旋结构域蛋白(GIV)、TREM2 及 TLR4 的蛋白表达; 不同浓度(1、5、10 μ g/ml)的脂多糖(LPS), 刺激 BV2 细胞 24 h 建立神经炎症模型, qRT-PCR 检测 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 的 mRNA 水平; Western blot 检测 GIV 的表达; 运用 siRNA 干扰技术敲低 GIV 基因的表达后进行 OGD/R 培养处理; ELISA 检测细胞培养基上清液中 IL-6 和 TNF- α 的释放浓度; Western blot 检测 GIV 的敲低效率。**结果** 成功构建的 MCAO/R 及 OGD/R 模型均激活了神经炎症应答反应, 诱导了 GIV 的蛋白表达降低; MCAO/R 诱导了小鼠外周血中 IL-6 和 TNF- α 的释放浓度增加, 促进了 TREM2 及 TLR4 的蛋白表达; LPS 激活了 BV2 细胞 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 表达, 但不影响 GIV 的表达; siRNA 干扰 GIV 基因的表达后进一步增加炎症因子 IL-6 和 TNF- α 的表达。**结论** GIV 基因可能特异性地参与调控脑缺血再灌注损伤诱导的神经炎症应答反应, 其可能是脑缺血再灌注损伤的一个潜在治疗靶点。

关键词 GIV; 脑缺血/再灌注损伤; 脂多糖; 氧糖剥夺/复氧; BV2 细胞; 神经炎症

中图分类号 R 743.33

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)01-0054-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.01.010

脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia reperfu-

2022-08-27 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 82060232); 中央引导地方科技发展专项基金(编号: [2019]4008); 贵州省卫生健康委科学技术基金(编号: gzkj2019-1-039)

作者单位: 贵州医科大学¹ 地方病与少数民族性疾病教育部重点实验室、² 分子生物学重点实验室、³ 基础医学院, 贵阳 550004

作者简介: 陈明, 女, 硕士研究生;

禹文峰, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: wen-fengyu2013@126.com

sion injury, CIRI) 是缺血性卒中溶栓治疗后出现的继发性神经细胞损伤过程^[1]。CIR 后小胶质细胞受到刺激释放大量的促炎因子, 进一步加重损伤^[2]。包含 88A 的卷曲螺旋结构域蛋白(coiled-coil domain containing 88A, Ccdc88A 又名 GIV) 是一个鸟嘌呤核苷酸结合蛋白, 在中枢神经系统(central nervous system, CNS) 高度表达^[3], 提示其可能参与中枢神经系统内重要的生物学过程。Swanson et al^[4] 的研究发现巨噬细胞 TLR4 信号通路的激活被 GIV 抑制; Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4) 是 Toll 样受体家族(Toll-like receptor 4, TLRs) 重要成员之一, 研究^[5]发现 TLR4 可参与调控脑缺血再灌注激活的炎症损伤。2 型髓样细胞触发受体(triggering receptor expressed on myeloid cells 2, TREM2) 是小胶质细胞的膜受体, 与小胶质细胞活化密切相关, 在调控小胶质细胞介导的神经炎症反应中发挥重要作用^[6]。这些信号分子是调节小胶质细胞活化和神经炎症的关键节点。据此, 该实验拟在小鼠的大脑中动脉栓塞再灌注模型(MCAO/R)^[7] 及 BV-2 细胞的氧糖剥夺-复氧(OGD/R) 模型中探讨 GIV 是否对脑缺血再灌注损伤激活的神经炎症反应有调控作用。

1 材料与方法

1.1 试剂及药品 高糖 DMEM 培养基(C11995500BT)、胎牛血清(2418958P)、磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS), LipofectamineTM 3000 转染试剂(L3000001)、2,3,5-三苯基氯化四氮唑(TTC)购自武汉塞维尔公司; 脱脂奶粉、吐温 20、DEPC 水(DNase、RNase free)、尼龙膜 Hybond N + (0.45 μ m) 购自北京 Solarbio 有限公司; m6A 兔单克隆抗体和兔二抗购自美国 Cell Signaling Technology 公司; 1% 戊巴比妥钠溶液购自国药集团化学试剂有限公司; 线粒体购自广州佳灵生物科技有限公司; TRizol 购自爱必信(上海)生物科技有限公司; 异丙醇购自国药集团化学试剂有限公司; 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS, 美国 Sigma, 批号: L6529); RNA 逆转录试剂盒和 RT-qPCR 试剂盒购自南京诺唯赞生物科技有限公司, 引物由生工生物工程(上海)股

份有限公司设计并合成。

1.2 MCAO 模型的建立 实验中采用 6~7 周龄, 体质量 20~25 g 的雄性 C57BL/6J 小鼠。小鼠购自贵州医科大学动物实验中心, 项目中所有动物实验操作均获得贵州医科大学动物保护与使用委员会批准。所有小鼠术前一天进行适应性饲养。手术前所有小鼠禁食 24 h 后将小鼠随机分为假手术组 (Sham) 和模型组 (MCAO/R) ($n=6$)。模型组小鼠采用改良线栓法构建 MCAO/R 模型^[8]。小鼠术前采用 1% 戊巴比妥钠溶液通过腹腔注射进行麻醉 (50 mg/kg), 整个手术过程中采用 60 W 取暖灯保温, 保持体温在 36 ℃, 将 (0.2 ± 0.01) mm 的尼龙线栓插入右颈总动脉, 缺血 1 h 后拔出线栓行再灌注处理。再灌注 24 h 后麻醉处死取脑组织, 置于 -80 ℃ 中保存。Sham 组仅进行血管剥离操作, 不进行插线操作。

1.3 TTC 染色法计算小鼠脑梗死面积 所有小鼠再灌注 24 h 后, 经麻醉致死取脑组织, 置于 4 ℃ 预冷的生理盐水快速洗净脑组织表面的血渍, 置 -20 ℃ 冰箱冷冻 20 min 左右, 将脑置入专用的脑槽, 作 2 mm 厚度左右的切片, 每个脑 5~6 片, 将切片置于浓度为 1% 浓度的 TTC 溶液的 10 cm 小皿中, 在 37 ℃ 恒温箱中避光染色 30 min, 期间每 5 min 轻轻摇晃容器一次, 使其染色充分, 染色结束后用 PBS 溶液漂洗 3 次, 每次 5 min, 拍照分析脑梗死面积。正常脑组织染成红褐色, 梗死灶组织为灰白色, 利用 Image J 图像处理软件计算出梗死灶面积所占的梗死面积百分比。计算公式: 梗死脑组织百分比 (%) = (对侧脑组织体积 - 缺血侧正常脑组织体积) / 对侧大脑体积 × 100%。

1.4 Longa 生物学评分评价小鼠神经功能缺损

在小鼠脑缺血 1 h 后再灌注 24 h 后采用 Longa 生物学评分评估其神经功能缺损状况, 具体评分细则如下。0 分: 两前肢有力, 对称伸向地面; 双肩抵抗力一致; 行走正常; 1 分: 手术对侧内旋, 前肢内收; 双肩抵抗力一致; 行走正常; 2 分: 手术对侧内旋, 前肢内收, 推动双肩时, 手术对侧抵抗力下降; 行走正常; 3 分: 手术对侧内旋, 前肢内收, 推动双肩时, 手术对侧抵抗力下降; 行走绕圈; 4 分: 手术对侧肩内旋, 前肢内收; 无自发活动。

1.5 BV2 细胞培养及处理 BV2 细胞购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库 (上海), 由本实验室传代冻存。细胞复苏后用含 10% 胎牛血清 + 1% 双抗 DMEM 高糖培养基在 37 ℃、5% CO₂、饱和

湿度的培养箱中常规传代培养细胞, 细胞密度达到 80% 左右后按 1:4 的比例进行细胞传代培养。待细胞长至对数生长期后, 将细胞按 1 × 10⁵/孔的密度接种至 6 孔板中, 24 h 后, 细胞密度达到 70% 左右后进行氧糖剥夺 6 h 再复氧 24 h 建立体外缺血再灌注细胞模型 (oxygen-glucose deprivation/reoxygenation, OGD/R 组)^[9], 正常培养的 BV2 细胞作为正常组 (control, Ctrl); 运用不同浓度的 LPS (1、5、10 μg/ml) 刺激 BV2 细胞 24 h 建立神经炎症模型, 分为 Ctrl 组和 LPS 组。

1.6 siRNA 转染 BV2 细胞 设计合成干扰 GIV 基因的 3 条 siRNA 干扰序列, 序列为 si-1 sense: 5'-CCAGGUC AUGCUCCAAA UUAATT-3', si-1 antisense: 5'-UUAUUUGGAGCAUGACCUGGTT-3'; si-2 sense: 5'-GAGCAGUACUGGACUGUAAATT-3', si-2 antisense: 5'-UUUACAGUCCAGUAACUGCUCTT-3'; si-3 sense: 5'-GUGAGUUGCUCAGCCAACUUAATT-3', si-3 antisense: 5'-UAAGUUGGCUGAGCAACUCACTT-3'; 运用脂质体转染干扰 GIV 基因的相应序列 24 h 后进行氧糖剥夺 - 复氧处理, RT-PCR 和 Western blot 检测 GIV 的 mRNA 及蛋白表达变化。

1.7 qRT-PCR 检测相关基因的 mRNA 表达 运用 TRIzol 法提取组织和细胞的总 RNA, 运用 NanoDrop 核酸定量仪检测 RNA 的纯度和浓度, HiScript III 1st Strand cDNA Synthesis Kit (诺唯赞) 逆转录合成 cDNA 后, 运用 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix (诺唯赞) 进行 qRT-PCR 检测, 以 β-actin 为内参, 2^{-ΔΔCt} 法计算基因的相对表达量。引物见下表 1。

表 1 引物序列

基因	引物序列 (5'-3')
TNF-α	F: CCAGTGTGGGAAGCTGTCTT R: AAGCAAAAGAGGAGGCAACA
IL-6	F: TCCAGTTGCCTTCTTGGGAC R: GTGTAATTGCCTCCGACTTG
IL-1β	F: ACTGTTTCTAATGCCTTCCC R: TGGTTTCTTGACCTCTGA
β-actin	F: GTGCTATGTTGCTCTAGACTTCG R: ATGCCGCAGGATCCATACC

1.8 ELISA 检测相关炎症因子的 mRNA 表达

小鼠眼球眶静脉采集血液, 室温静置 10~20 min 自然凝固血液, 3 000 r/min 离心 20 min, 收集上清液转移至新的离心管中 -80 ℃ 冰箱保存。收集经过处理培养后的细胞上清液, 1 000 r/min 离心 10

min, 获得的上清液保存至 -80°C 冰箱备用。按照 ELISA 试剂和说明书操作检测相关炎症因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α), 白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6), IL-1 β 的表达变化。

1.9 Western blot 检测蛋白表达 运用 RIPA 裂解液提取小鼠脑组织及细胞的总蛋白, BCA 蛋白定量试剂盒定量后取 $40\ \mu\text{g}$ 总蛋白进行 SDS-PAGE 电泳分离, 转膜至 PVDF 后, 5% 脱脂奶粉室温封闭 1.5 h 后, 分别在 4°C 冰箱摇床孵育 GIV (1 : 1 000)、TREM2 (1 : 1 000)、TLR4 (1 : 1 000) 或 β -actin (1 : 5 000); PBST 室温洗 3 次/10 min 后, 室温摇床孵育二抗 1.5 h 后, PBST 洗膜 3 次/10 min 后凝胶成像系统曝光蛋白条带, ImageJ 统计分析相应的灰度值。

1.10 统计学处理 采用 GraphPad Prism 8.0 软件对数据进行统计学分析, 定量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间数据比较采用 t 检验; 三组及以上数据间比较用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 成功建立小鼠 MCAO/R 模型 在 C57BL/6

小鼠上成功建立 MCAO/R 模型, TTC 染色观察到 MCAO/R 组小鼠脑组织有明显的梗死灶。与 Sham 组比较, MCAO/R 组小鼠脑梗死灶面积为 $(25.60 \pm 2.015)\%$ 。Longa 生物学评分结果显示, Sham 组 Longa 生物学评分为 0 分 (无神经功能损伤症状); MCAO/R 组 Longa 生物学评分较高为 (2.80 ± 0.20) 分, 与 Sham 组比较, 神经功能损伤加重。见图 1。

2.2 MCAO/R 激活神经炎症反应并下调 GIV 表达 ELISA 检测小鼠外周血上清中的炎症因子, 如图 2A、B, 与 Sham 组比, MCAO/R 组的中促炎因子 TNF- α 和 IL-6 的表达量分别增加 ($t = 7.058, P < 0.01$; $t = 5.462, P < 0.01$); 此外, Western blot 检测小鼠皮质区组织, 如图 2C、D, 与 Sham 组比较, MCAO/R 组的 GIV 蛋白表达量下降 ($t = 8.424, P < 0.01$), 而 TLR4 和 TREM2 蛋白表达量均显著上调 ($t = 2.990, P < 0.05$; $t = 11.54, P < 0.01$)。

2.3 OGD/R 诱导神经炎症反应并下调 GIV 表达

如图 3A、B, ELISA 检测结果表明, 与 Ctrl 组比较, OGD/R 组的促炎因子 TNF- α 和 IL-6 的表达量均上调 ($t = 4.482, P < 0.01$; $t = 14.79, P < 0.01$); 如

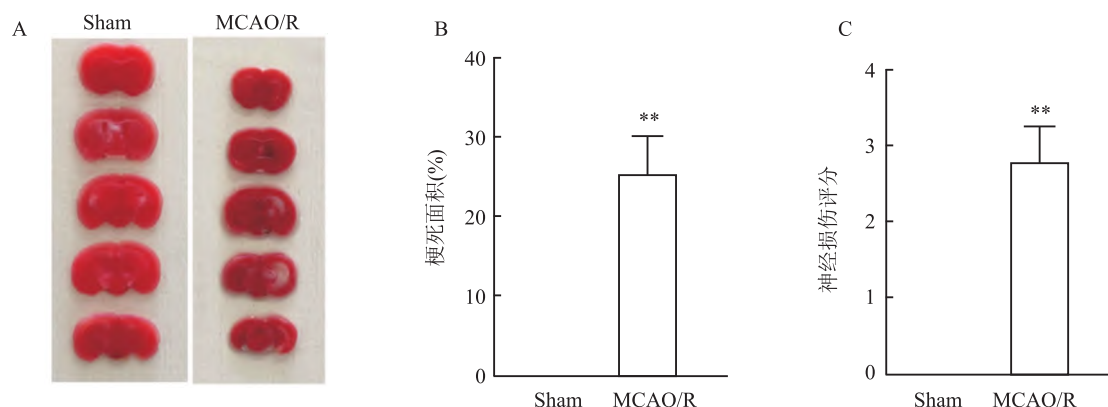


图1 TTC染色,梗死面积计算及神经功能评分评估小鼠MCAO/R模型建立成功

A: TTC染色结果; B: 梗死面积定量统计图; C: Longa生物学评分; 与Sham组比较: ** $P < 0.01$

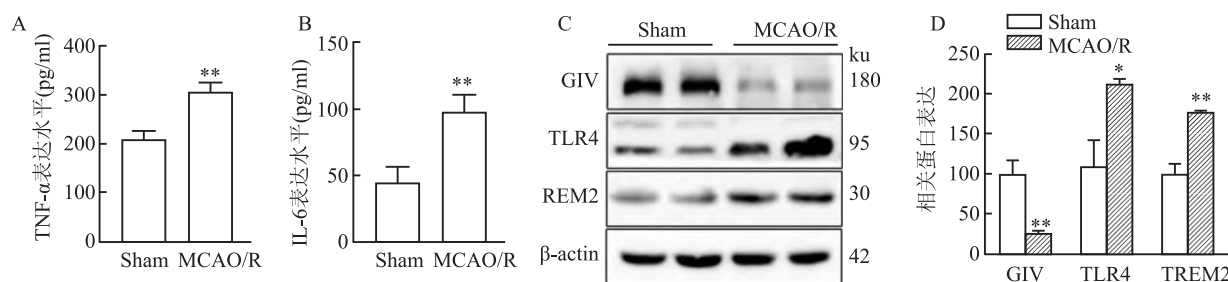


图2 缺血再灌注诱发神经炎症反应并下调GIV表达

A、B: ELISA检测TNF- α 和IL-6; C、D: Western blot检测GIV、TLR4、TREM2; 与Sham组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

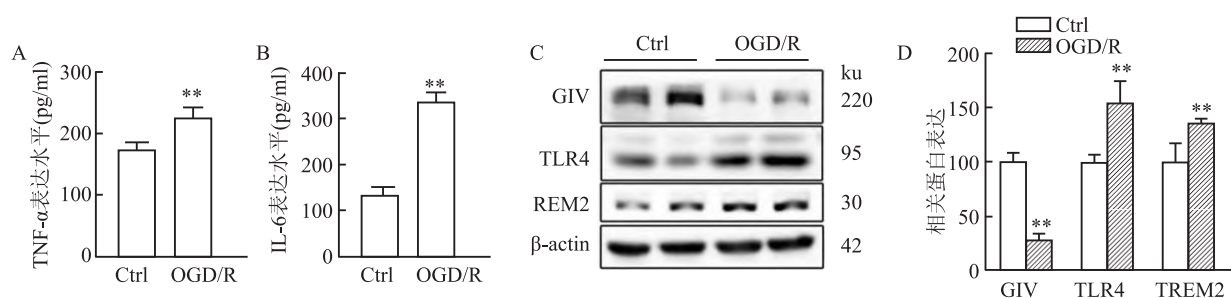


图3 OGD/R 激活神经炎症反应并下调 GIV 表达

A、B:ELISA 检测 TNF-α 和 IL-6;C、D:Western blot 检测 GIV、TLR4、TREM2;与 Ctrl 组比较:** $P < 0.01$

图 3C、D, Western blot 检测结果显示, OGD/R 组的 GIV 蛋白表达量下降 ($t = 11.35, P < 0.01$), 与 Ctrl 组比较, TLR4 和 TREM2 蛋白表达量均上调 ($t = 3.950, P < 0.05; t = 3.875, P < 0.05$)。

2.4 LPS 激活 BV-2 炎症因子释放, 但不影响 GIV 的表达 如图 4A、B、C, qRT-PCR 和 Western blot 检测结果表明, 与 Ctrl 组比较, LPS 组能显著诱导 BV2 细胞分泌 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 炎症细胞因子且 mRNA 的表达显著增加 ($F = 17.17, P < 0.01; F = 62.88, P < 0.01; F = 27.20, P < 0.01$); 但是 LPS 刺激并没有影响 GIV 蛋白水平的变化, 结果如图 4D、E 所示。

2.5 敲低 GIV 放大 OGD/R 诱导的神经炎症反应

Western blot 检测小干扰 RNA 的干扰效率。如图 5A 所示, 其中 si-3 干扰效率最为显著 ($F = 60.01, P$

< 0.01), 在后续的实验选取第三条干扰序列进行试验; 进一步通过 ELISA 检测, 如图 5B, 与 siNC + OGD/R 组比较, siGIV + OGD/R 组促炎因子 TNF-α 的表达量上调 ($t = 9.081, P < 0.01$); 如图 5C, 与 siNC 组比较, siGIV 组促炎因子 IL-6 表达上调 ($t = 4.959, P < 0.01$), 与 siNC + OGD/R 组比较, siGIV + OGD/R 组促炎因子 IL-6 显著上调 ($t = 15.31, P < 0.01$)。

3 讨论

本研究运用脑缺血再灌注的动物及细胞模型探讨分析了 GIV 对脑缺血再灌注激活的神经炎症反应中的作用。结果显示, 在成功建立 MCAO 模型的基础上, Longa 行为学评分显示 MCAO 组的神经功能损伤比假手术组严重且缺血再灌注的动物模型和

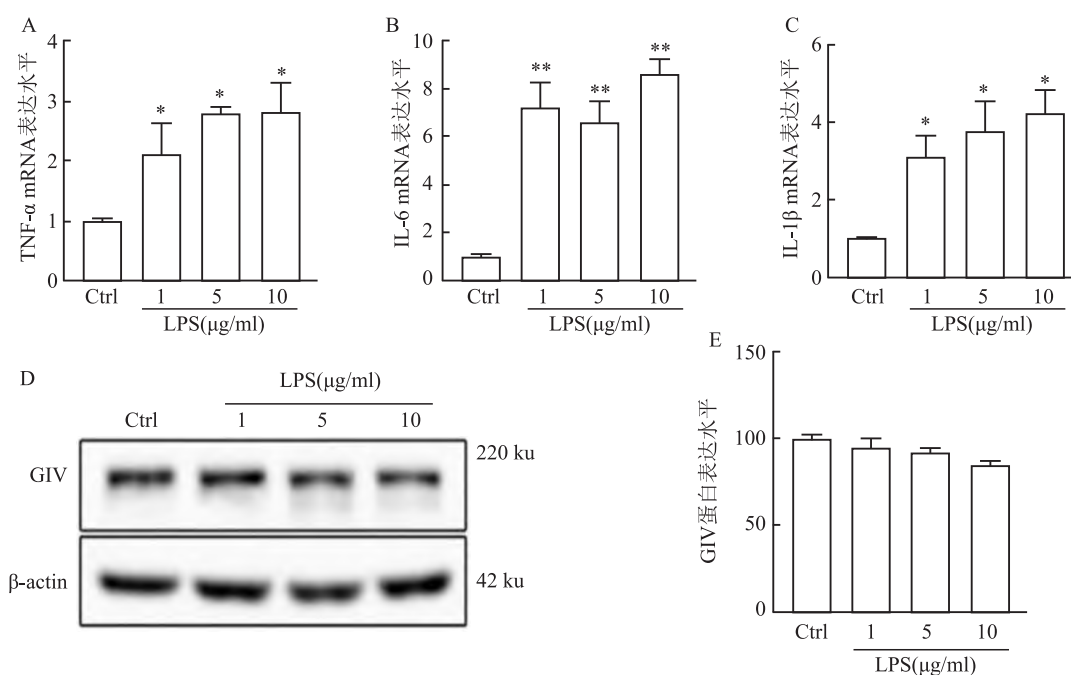


图4 LPS 激活神经炎症反应但不改变 GIV 的表达

A、B、C:qRT-PCR 检测 TNF-α、IL-6 和 IL-1β;D、E:Western blot 检测 GIV;与对照组比较:* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

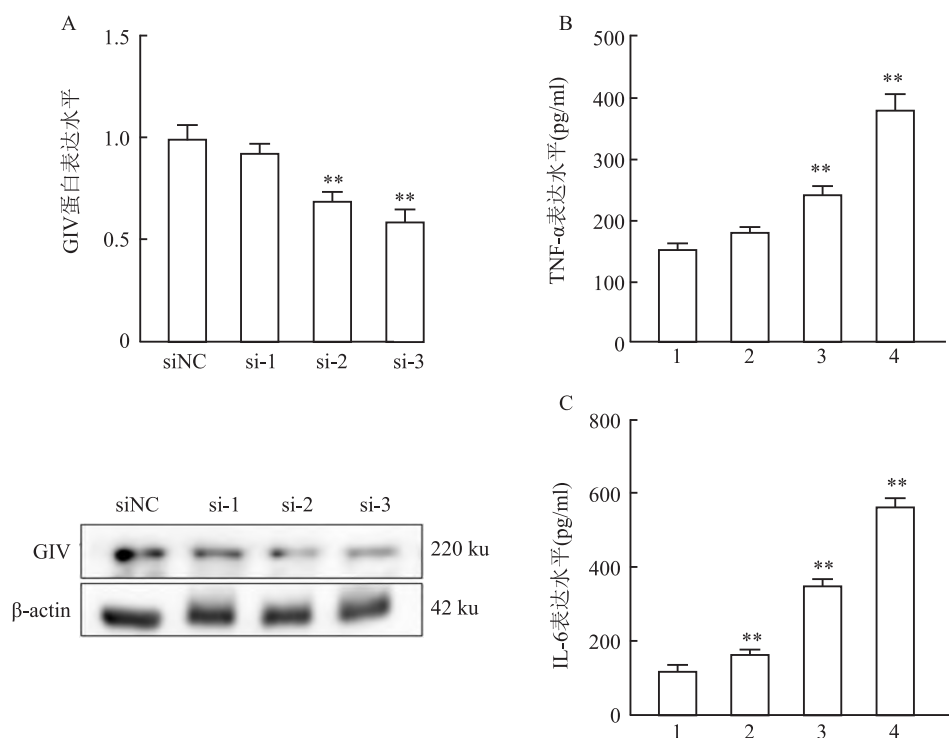


图5 GIV表达的降低加剧神经炎症反应

A: Western blot 检测 GIV 干扰效率; B、C: ELISA 检测 TNF- α 和 IL-6; 1: siNC 组; 2: siGIV 组; 3: siNC + OGD/R 组; 4: siGIV + OGD/R 组; 与对照组比较; ** $P < 0.01$

细胞模型都下调了 GIV 的蛋白表达,并伴随 TNF- α 、IL-6 等炎症因子的释放增加、TLR4 及 TREM2 等信号分子的激活;此外,在 LPS 刺激的 BV-2 细胞上未观察到 GIV 表达降低的现象。为进一步地明确 GIV 是否参与调控缺血再灌注激活的炎症反应,在干扰了 GIV 的正常培养细胞及氧糖剥夺-复氧糖的 BV-2 细胞中观察到 TNF- α 和 IL-6 的炎症因子的释放浓度增加。以上结果可能提示,GIV 负调控缺血再灌注激活的神经炎症反应,且这种调控作用可能是脑缺血再灌注特异性的。

LPS 是炎症刺激经典的免疫源性物质,在肺纤维化、急性肺损伤、老年痴呆等炎症应答反应模型中广泛运用^[10]。LPS 介导的炎症反应导致肠道屏障受损,而肠壁渗透使过多的致病菌及 LPS 循环入血,随着血液循环可通过受损的血脑屏障进入脑组织,加重脑组织的损伤^[11]。其中脑组织中 TLR4 受体与 LPS 结合,进一步激活细胞内相关激酶,是加重 CIRI 的重要环节;而 TREM2 作为小胶质细胞的激活受体,可被用于调控小胶质细胞状态,从而影响疾病进程^[12]。脑缺血再灌注激活的炎症反应是一个十分复杂的过程,参与并调控其过程的信号通路或分子众多^[13]。寻找重要的调控因子对认识脑卒

中或其导致的 CIRI 的病理变化意义深远。本研究在缺血再灌注的细胞及动物模型中找到了一个先前罕见报道分子 GIV,但是其介导的具体信号通路分子未进行深入地探讨分析,这一方面的证据有待进行后续的深入研究。

综上所述,GIV 在再灌注激活的神经炎症反应中具有负调控作用,但是其具体的机制有待深入探讨。为 GIV 在脑缺血再灌注激活的神经炎症应答反应方面积累了一定的实验证据,其可能提示以 GIV 为靶点对干预或治疗卒中引起的缺血再灌注损伤具有重要临床意义。

参考文献

- [1] Gong L, Tang Y, An R, et al. RTN1-C mediates cerebral ischemia/reperfusion injury via ER stress and mitochondria-associated apoptosis pathways [J]. Cell Death Dis, 2017, 8(10): e3080.
- [2] 程明星, 李晨辉, 孟卫, 等. 小胶质细胞在缺血性脑卒中中的双重作用及机制[J]. 生理学报, 2021, 73(6): 963-72.
- [3] Ear J, Abd El-hafeez A A, Roy S, et al. A long isoform of GIV/Girdin contains a PDZ-binding module that regulates localization and G-protein binding [J]. J Biol Chem, 2021, 296: 100493.
- [4] Swanson L, Katkar G D, Tam J, et al. TLR4 signaling and macrophage inflammatory responses are dampened by GIV/Girdin [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2020, 117(43): 26895-906.

- [5] Abdul Y, Abdelsaid M, Li W, et al. Inhibition of toll-like receptor-4 (TLR-4) improves neurobehavioral outcomes after acute ischemic stroke in diabetic rats; possible role of vascular endothelial TLR-4 [J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(3): 1607–17.
- [6] Yeh F L, Hansen D V, Sheng M. TREM2, microglia, and neurodegenerative diseases [J]. *Trends Mol Med*, 2017, 23(6): 512–33.
- [7] 花向阳, 卞尔保, 张正伟, 等. 局灶性脑缺血再灌注损伤对小鼠脑组织 SUV39H1、H3K9 及 GFAP 表达的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(2): 205–9, 214.
- [8] 甄毅岚, 王亚男, 李 晟, 等. 线栓法制备不同体重 KM 小鼠局灶性脑缺血/再灌注模型的建立及评价[J]. *中国实验动物学报*, 2013, 21(2): 39–44, 93.
- [9] Li J, He W, Wang Y, et al. miR-103a-3p alleviates oxidative stress, apoptosis, and immune disorder in oxygen-glucose deprivation-treated BV2 microglial cells and rats with cerebral ischemia-reperfusion injury by targeting high mobility group box 1 [J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(20): 1296.
- [10] Cao Y, Chen J, Ren G, et al. Punicalagin prevents inflammation in LPS-induced RAW264. 7 macrophages by inhibiting FoxO3a/Autophagy signaling pathway [J]. *Nutrients*, 2019, 11(11): 2794.
- [11] 霍瑞卿, 田军彪, 赵敏茜, 等. 化浊解毒活血通络方对脑缺血再灌注损伤大鼠 LPS 及 TLR4/NF- κ B 信号通路的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(11): 1317–23, 1332.
- [12] 陈 剑, 黄南渠, 巴智胜, 等. TREM2 与脑内小胶质细胞作用对中枢神经系统的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2021, 37(3): 551–7.
- [13] Chen X, Zhang S, Shi P, et al. MiR-485-5p promotes neuron survival through mediating Rac1/Notch2 signaling pathway after cerebral ischemia/reperfusion [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2020, 17(3): 259–66.

Effect of GIV on neuroinflammatory response in a model of cerebral ischemia/reperfusion injury

Chen Ming^{1,2,3}, Shi Peng^{1,2}, Xia Mingyan^{1,2,3}, Long Tingting³, Yu Wenfeng^{1,2,3}

(¹Key Laboratory of Ministry of Education for Endemic and Minority Disease,

²Key Laboratory of Molecular Biology, ³Basic Medical College, Guizhou Medical University, Guiyang 550004)

Abstract Objective To investigate whether GIV, a coiled helix structural domain protein containing 88A, has an effect on the neuroinflammatory response in a model of cerebral ischemia-reperfusion injury. **Methods** A middle cerebral artery embolization-reperfusion model (MACO/R) and an oxygen glucose deprivation/reoxygenation model (OGD 6 h + R 24 h) of BV2 microglia were constructed in C57BL/6 mice, and the area of cerebral infarction was detected by TTC staining; the Longa neurobiological score was used to evaluate the degree of neurological deficit in mice; ELISA was used to detect the release of IL-6 and TNF- α in the supernatant of peripheral blood and cell cultures, and Western blot was used to detect the protein expression of GIV, TREM2 and TLR4 in the cortical area around the infarct foci in mice; different concentrations of lipopolysaccharide (LPS, 1, 5, 10 μ g/ml) were used to stimulate BV2 cells for 24 h to establish a neuroinflammation model, qRT-PCR was performed to detect the mRNA levels of IL-6, TNF- α and IL-1 β , and Western blot was used to detect the expression of GIV; OGD/R culture treatment was performed after knocking down the expression of GIV gene using siRNA interference technique; ELISA was performed to detect the release concentration of IL-6 and TNF- α in cell culture medium supernatant; protein immunoblotting was performed to detect the knockdown efficiency of GIV. **Results** Both the successfully constructed MCAO/R and OGD/R models activated the neuroinflammatory response and induced a decrease in protein expression of GIV; MCAO/R induced increased concentrations of IL-6 and TNF- α release in peripheral blood of mice and promoted the protein expression of TREM2 and TLR4; LPS activated IL-6, IL-1 β and TNF- α expression in BV2 cells, but did not affect GIV expression; siRNA interference with GIV gene expression further increased the expression of inflammatory factors IL-6 and TNF- α . **Conclusion** The GIV gene may be characteristically involved in regulating the neuroinflammatory response induced by cerebral ischemia-reperfusion injury, and it may be a potential therapeutic target for cerebral ischemia-reperfusion injury.

Key words GIV; CIRI; lipopolysaccharide; OGD/R; BV2; neuroinflammation