

网络出版时间: 2020/5/29 13:02 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20200527.1642.005.html>

E2F1 siRNA 通过抑制血红素诱导的神经元凋亡发挥保护作用

赵丹^{1,2}, 李贤玉², 袁美春³, 吴艳¹, 石柳柳¹, 张志锋¹

摘要 目的 探讨 E2F 转录因子 1(E2F1) 在血红素诱导的大鼠原代皮层神经元损伤中的作用及机制。方法 体外培养大鼠原代皮层神经元并鉴定, 采用不同浓度血红素处理神经元 12 h 后 LDH 实验及 MTT 实验检测细胞损伤; 免疫荧光双染观察神经元 E2F1 定位; Western blot 检测神经元 E2F1 表达; 将神经元分为溶剂组(DMSO 组)、损伤组(Hemin 组)、阴性对照组(Hemin + Control siRNA 组)、治疗组(Hemin + E2F1 siRNA 组)进行 TUNEL 染色及 caspase 活性检测。结果 神经元培养至第 7 天, NeuN 染色阳性率达 95%; 血红素(50, 100, 200 μmol/L) 处理后神经元 LDH 释放率增加、细胞生存率降低、E2F1 表达上调($F = 22.9, P < 0.05$); 与阴性对照组相比, 治疗组神经元 LDH 释放率降低([$73.6 \pm 5.2\% vs (42 \pm 4.1)\%, F = 343.4, P < 0.05$]), 细胞生存率升高([$28.7 \pm 3.4\% vs (61 \pm 2.9)\%, F = 127.7, P < 0.05$]); TUNEL 结果显示血红素诱导神经元凋亡增加, 治疗组凋亡减少($F = 67.2, P < 0.05$); caspase 活性检测显示血红素损伤组神经元 caspase-3、caspase-8、caspase-9 活性升高($t = 15.7, t = 9.7, t = 7.8, P < 0.05$), 治疗组 caspase-3、caspase-8、caspase-9 活性降低($t = 8.6, t = 7.3, t = 5.7, P < 0.05$)。结论 E2F1 siRNA 可能通过抑制血红素诱导的神经元凋亡而发挥神经保护作用。

2019-11-05 收稿

基金项目: 湖北省教育厅科学研究计划指导性项目(编号: B2018105)

作者单位: ¹湖北医药学院生理教研室, 十堰 442000

²胚胎干细胞研究湖北省重点实验室, 十堰 442000

³武当特色中药研究湖北省重点实验室, 十堰 442000

作者简介: 赵丹, 女, 讲师;

张志锋, 男, 副教授, 责任作者, E-mail: 2015103010002@whu.edu.cn

关键词 脑出血; 血红素; 转录因子 E2F1; 细胞凋亡; 神经保护

中图分类号 R 743.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)06-0842-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.06.005

脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)是指非外伤性脑实质内血管破裂引起的出血, 占全部脑卒中的 20%~30%。具有高发病率、高死亡率、高致残率的特点。然而, 至今无有效治疗措施^[1-4]。脑血管破裂后, 血液破入脑实质, 红细胞中血红蛋白释放的血红素对细胞产生毒性作用, 加重 ICH 后脑损伤^[5]。E2F 转录因子 1(E2F transcription factor 1, E2F1)是调控细胞周期进程及细胞凋亡的核心参与者^[6-7]。研究^[8]提示 E2F1 促进缺血性脑损伤后神经元死亡、加重脑损伤。而 E2F1 在 ICH 中的作用尚不清楚。该实验用血红素处理大鼠原代皮层神经元, 模拟 ICH 中血红素对神经元的毒性作用, 探索 E2F1 在血红素诱导的神经元损伤中的作用及机制, 以期为临床治疗 ICH 提供干预靶标及实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 12 只 SD 妊娠大鼠(体质量 300~350 g)由湖北医药学院动物实验中心。兔抗大鼠 E2F1 单克隆抗体(ab179445)购自英国 Abcam 公司; 小鼠抗大鼠 NeuN 单克隆抗体购自美国 Millipore 公司; Alexa Fluor® 488 标记的驴抗鼠抗体及 Alexa Fluor® 546 标记的驴抗兔抗体购自美国 Santa Cruz

eration viability, the migration ability and the apoptosis of the three groups were detected. **Results** Immunofluorescence staining demonstrated that Nestin and CD133 were specifically expressed in cultured glioma stem cells. Positive expression of GFAP and Neun was observed in differentiation of tumor cells. Compared with the CON group, the proliferation and migration of vascular endothelial cells in the H/R group significantly decreased, and the apoptosis rate significantly increased ($P < 0.05$)。Compared with the H/R group, GSCs-Exo co-incubation with vascular endothelial cells could significantly increase the proliferation of endothelial cells, promote cell migration and inhibit vascular endothelial cell apoptosis ($P < 0.05$)。 **Conclusion** In the hypoxic/reoxygenation microenvironment of glioma, exosomes secreted by glioma stem cells can protect vascular endothelial cells.

Key words glioma stem cells; exosome; glioma hypoxia/reoxygenation microenvironment; vascular endothelial cells

公司; HRP 标记的山羊抗兔 IgG 购自武汉科瑞生物技术有限公司。血红素购自美国 Sigma-Aldrich 公司; MTT 细胞毒性检测试剂盒购自上海碧云天生物技术公司; LDH 细胞毒性检测试剂盒购自美国 Promega 公司; Neurobasal 及 B27 购自美国 GIBCO 公司; E2F1 siRNA 及 Control siRNA 购自美国 Santa Cruz 公司; Lipofectamine 2000 购自美国 Invitrogen 公司。TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒购自上海碧云天生物技术公司; caspase 活性检测试剂盒、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒、PVDF 膜和化学发光试剂购自美国 Millipore 公司; DMI3000B 型荧光显微镜购自德国 Leica 公司。

1.2 皮层神经元分离培养及鉴定 大鼠妊娠至 17 d, 4% 异氟烷麻醉, 颈脱臼处死。70% 乙醇喷雾腹部, 取出胚胎, 放入冰冷的分离液中。胚胎快速断头, 除去脑膜及血管, 将皮质置于冰冷的接种培养基(成份: Neurobasal, 2% B27 补充剂, 0.5% FBS, 0.5 mmol/L GlutaMAX-I 100X, 25 mmol/L 谷氨酸)。显微镜夹碎皮层组织, 约为 1 mm³ 大小, 尼龙滤网漏斗过滤后, 将皮质神经元悬浮在培养基中, 并铺在多聚赖氨酸包被的培养皿上或 6 孔板上。第 2 天用不含 FBS 的培养基半换液, 之后每隔 3 d 用不含 FBS 的维持培养基全部换液(Neurobasal, 2% B27 补充剂和 0.5 mmol/L L-谷氨酰胺)。7 d 后, 进行神经元标志蛋白 NeuN 荧光染色, NeuN 阳性率达 95% 的细胞用于后续实验。

1.3 血红素处理及细胞损伤检测 提前 1 d 将血红素用 DMSO 溶解, 配制浓度为 10 mmol/L 的储存液, 实验当天稀释成 1 mmol/L 的工作液。原代皮层神经元以 2.5×10^5 ml 的密度接种于 96 孔板培养至 12 d, 向培养液中加入不同浓度的血红素, 依据参考文献^[1], 使终浓度分别为 12.5、25、50、100、200 μmol/L, 放入细胞培养箱继续培养, 12 h 后进行 MTT 及 LDH 实验。分别于 490 nm 和 570 nm 处读取吸光度(optical density, OD)值。细胞活性计算公式: 细胞生存率 = (处理组值 - 调零孔值) / (对照孔值 - 调零孔值) × 100%。治疗组及阴性对照组则分别在神经元中加入 E2F1siRNA 及 Control siRNA 预处理 24 h, 再加入血红素处理, 12 h 后进行 MTT 及 LDH 实验。

1.4 凋亡检测 制备 TUNEL 反应混合液, 50 μl TdT 酶 + 450 μl FITC 荧光素标记液, 混匀后即为 TUNEL 反应混合液, 处理组滴加 50 μl TUNEL 反应混合液于样本上(阳性对照组先加入 100 μl DNase

I 在 15 ~ 25 ℃ 孵育 10 min, 吸水纸擦干玻片后加 50 μl TUNEL 反应混合液(阴性对照组仅加 50 μl 荧光素标记溶液), 37 ℃ 避光孵育 1 h, PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min, DAPI 复染核。吸水纸擦干切片上液体, 用含抗荧光淬灭剂的封片液封片, 荧光显微镜下观察采集图像, 凋亡细胞呈绿色荧光。

1.5 caspase 活性检测 血红素处理神经元 12 h 后进行 caspase 活性检测, 操作步骤按照试剂盒说明。裂解细胞后, 离心收集上清液, 将样品与底物 37 ℃ 孵育 2 h, 测定 A570 值, 根据对硝基苯胺标准曲线和样品 A 值, 计算出 caspase 酶活性。

1.6 免疫荧光双染 神经元培养至 12 d, 取出含有细胞爬片的 24 孔板, 吸出培养液, 4% PFA 固定 10 min, 0.3% Triton X-100 室温破膜 8 min; 无菌 PBS 洗 2 次, 每次 10 min; 加入 5% BSA 封闭液室温封闭 1 h; 加入 1% BSA 稀释的 E2F1 抗体(1:200), 4 ℃ 冰箱过夜; 次日室温复温 5 min, 吸出 E2F1 抗体孵育液, 无菌 PBS 洗 2 次, 每次 10 min; 加入 Alexa Fluor® 488 标记的驴抗鼠抗体(稀释比例为 1:10 000), 室温下避光孵育 2 h 或 37 ℃ 温箱避光孵育 1 h; 5/万 tween-20 洗 2 次, 每次 10 min; 0.3% Triton X-100 室温破膜 8 min; 5% BSA 封闭液室温封闭 30 min; 加入 1% BSA 稀释的 NeuN 抗体(1:200), 37 ℃ 温箱避光孵育 3 h, 无菌 PBS 洗 2 次, 每次 10 min; 加入 Alexa Fluor® 546 标记的驴抗兔抗体(1:10 000), 室温下避光孵育 2 h 或 37 ℃ 温箱避光孵育 1 h; 吸出二抗, 加入 5/万 tween-20 洗 2 次, 每次 10 min; 封片, 共聚焦显微镜下拍照, 处理分析照片。

1.7 Western blot 检测 收集培养至 12 d 的原代皮层神经元细胞, 用 RIPA 裂解液提取总蛋白, 蛋白变性后, 采用 SDS-PAGE 及 ECL 显色检测蛋白水平。

1.8 细胞 siRNA 转染 神经元培养至 12 d 时, 弃掉培养液, 加入无双抗的 DMEM(含 10% 血清)培养液; 将适量的 Lipofectamine 2000 和 E2F1siRNA 分别加到 DMEM 培养液中, 室温下静置 5 min; 将 Lipofectamine 2000 和 siRNA 合并混匀, 静置 20 min, 使 Lipofectamine 2000 和 siRNA 能够充分结合; 将 Lipofectamine 2000 和 siRNA 混合液以 8 字回旋法加入到培养孔中, 轻轻摇晃培养板, 放入 37 ℃ 培养箱; 转染 12 h 后, 细胞培养液换成新的含 10% 血清的 DMEM 培养液继续培养; 24 h 提取蛋白进行 Western blot 检测, 鉴别转染效果, 将转染效果最好的 E-

2F1 siRNA 用于后续实验。针对靶基因 E2F1 设计的 siRNA 候选序列为: siRNA-1: 5'-GCUAUGAGAC-CUCACUGAATT-3'; siRNA-2: 5'-GGACCUUCCGUAG-CAUUGCATT-3'; siRNA-3: 5'-CUCCCUAAAGAG-CAAACAATT-3'。

1.9 统计学处理 使用 SPSS16.0 统计软件进行分析, 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用方差分析(ANOVA), 两组之间比较采用 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠原代皮层神经元培养鉴定 镜下可见原代皮层神经元种植密度合适, 神经元形态良好, 至第 7 天见明显突起(图 1A)。NeuN 免疫荧光染色阳性率达 95% (图 1B)。

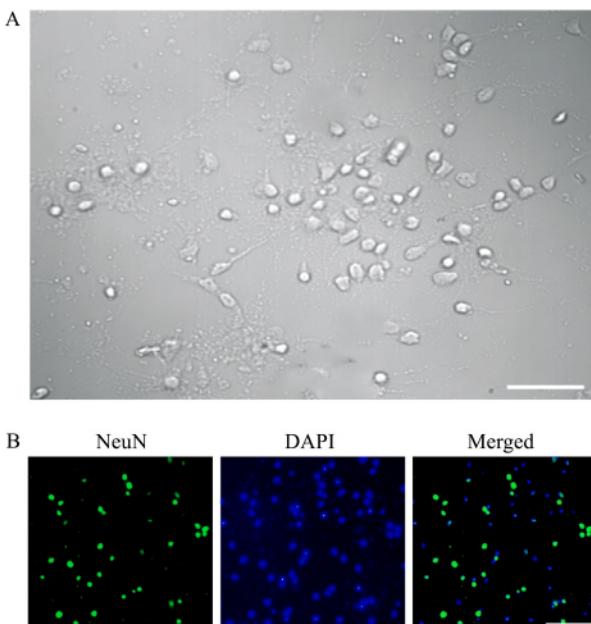


图 1 大鼠原代皮层神经元培养及鉴定 $\times 200$

A: 皮层神经元培养至第 7 天镜下观; B: 免疫荧光染色鉴定神经元

2.2 血红素诱导神经元损伤 为了排除溶剂 DM-SO 的影响, 不同的血红素浓度组均设置了溶剂组。结果显示, 神经元暴露于血红素 6 h 后, 与溶剂组相比, 损伤组 LDH 释放率升高, 细胞存活率降低(图 2), 提示血红素诱导大鼠皮层神经元损伤。根据实验结果, 后续实验选择 100 $\mu\text{mol/L}$ 作为最佳损伤浓度。

2.3 血红素诱导神经元 E2F1 表达上调 为了判断 E2F1 是否参与血红素诱导的神经元损伤, 首先检测了 E2F1 蛋白表达。免疫荧光双染显示 E2F1

定位于神经元细胞核(图 3A)。Western blot 检测结

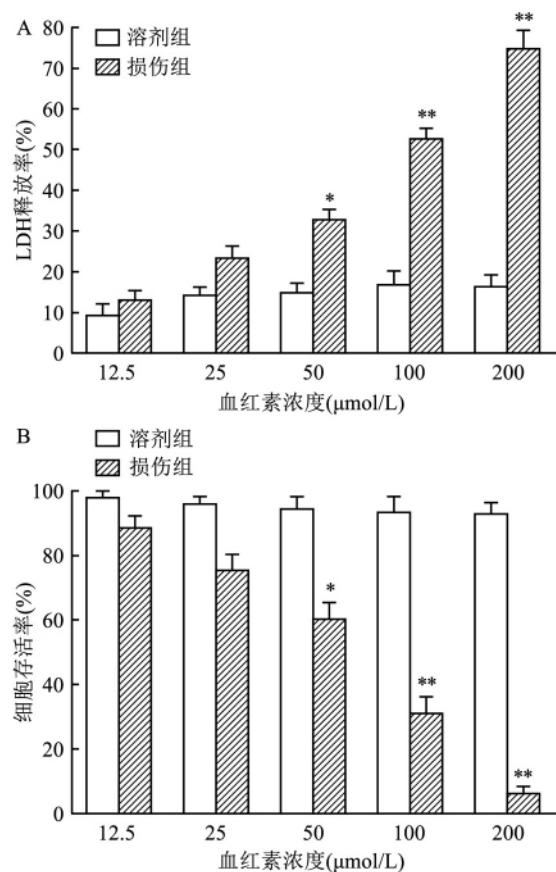


图 2 血红素诱导提高皮层神经元 LDH 释放率和降低细胞存活率变化

与溶剂组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

果显示血红素处理后神经元 E2F1 表达上调($F = 22.9, P < 0.05$) (图 3B)。

2.4 E2F1 siRNA 减轻血红素诱导的神经元损伤 为了探寻 E2F1 在此损伤过程的作用, 将 E2F1 siRNA 转入神经元中, 降低 E2F1 蛋白表达(图 4A)。结果显示, 与阴性对照组相比, 治疗组 LDH 释放率降低($F = 343.4, P < 0.05$), 细胞存活率升高($F = 127.7, P < 0.05$) (图 4B)。结果提示 E2F1 siRNA 减轻了血红素诱导的神经元损伤。

2.5 E2F1 siRNA 抑制血红素诱导的神经元凋亡 为了探寻 E2F1 siRNA 减轻血红素诱导的神经元损伤机制, 进行 TUNEL 检测及 caspase 活性检测。TUNEL 检测结果显示, 血红素诱导神经元凋亡增加(损伤组 vs 溶剂组, $F = 67.2, P < 0.05$), 而 E2F1 siRNA 处理后血红素诱导的神经元凋亡减少(治疗组 vs 阴性对照组, $F = 67.2, P < 0.05$) (图 5A)。caspase 活性检测结果显示血红素处理组 caspase-3 ($t = 15.7, P < 0.05$)、caspase-8 ($t = 9.7, P < 0.05$)、

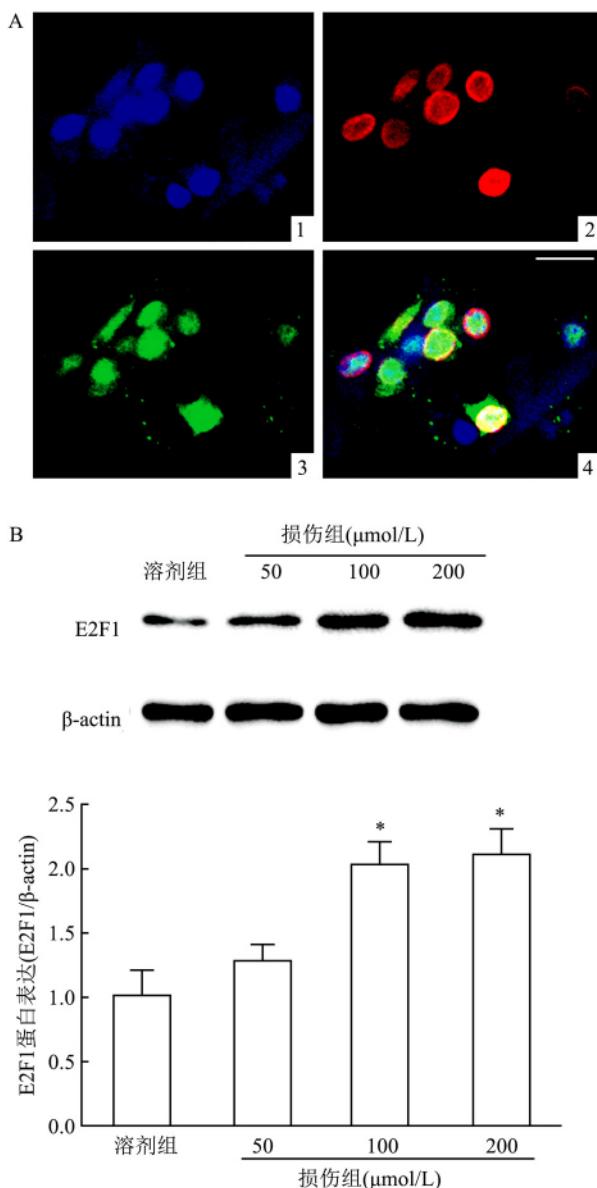


图 3 血红素处理后神经元 E2F1 表达上调

A: 免疫荧光双染检测 E2F1 在神经元中定位 $\times 400$; 1: DAPI; 2: E2F1; 3: NeuN; 4: Merged; B: Western blot 检测血红素处理后 E2F1 蛋白表达; 与溶剂组比较: * $P < 0.05$

caspase-9($t = 7.8, P < 0.05$) 活性较溶剂组均升高(损伤组 vs 溶剂组),而 E2F1siRNA 处理后 caspase-3($t = 8.6, P < 0.05$)、caspase-8($t = 7.3, P < 0.05$)、caspase-9($t = 5.7, P < 0.05$) 活性降低(治疗组 vs 阴性对照组)(图 5B)。结果提示,E2F1siRNA 可能通过抑制血红素诱导的神经元凋亡而发挥保护作用。

3 讨论

ICH 后继发性脑损伤是导致患者高死亡率和高致残率的重要原因。ICH 后,红细胞裂解产生游离血红素,导致一系列氧化损伤和炎症反应,是造成

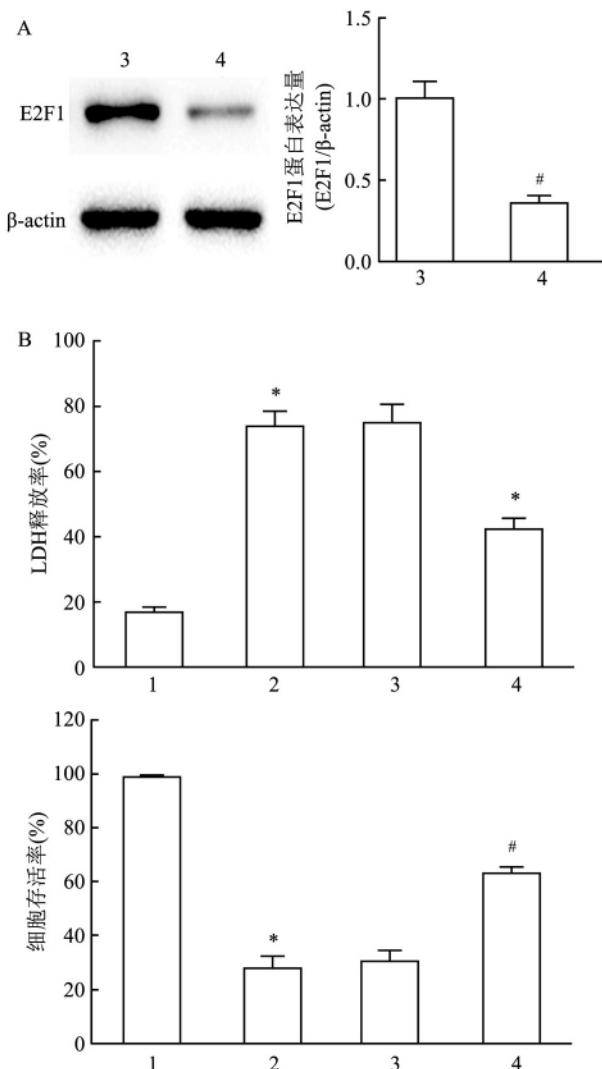


图 4 E2F1siRNA 降低皮层神经元 LDH 释放率和提高细胞生存率

A: E2F1siRNA 转入神经元后,Western blot 检测 E2F1 蛋白表达; B: LDH 释放率及细胞生存率检测细胞损伤程度; 1: 溶剂组; 2: 损伤组; 3: 阴性对照组; 4: 治疗组; 与阴性对照组比较: # $P < 0.05$; 与溶剂组比较: * $P < 0.05$

ICH 后继发性脑损伤的重要因素之一^[1]。国际脑出血外科手术试验研究对 1 033 例 ICH 患者进行统计分析结果显示,与内科保守治疗相比,发病后 72 h 内实行外科血肿清除术的患者其预后无明显改善^[9]。ICH 损伤机制复杂,目前除支持疗法外,缺乏行之有效的治疗方法,因此未来的研究应侧重于多种可能的干预靶标。

据研究报道^[1]ICH 后红细胞释放的氧化形式的血红素、氧化还原活性铁、细胞 NADPH 和谷胱甘肽的消耗对细胞和组织带来直接的细胞毒性作用,进而引发一系列损伤反应,对神经元及神经胶质细胞造成损伤。研究^[10-11]报道,血红素通过特定的信号

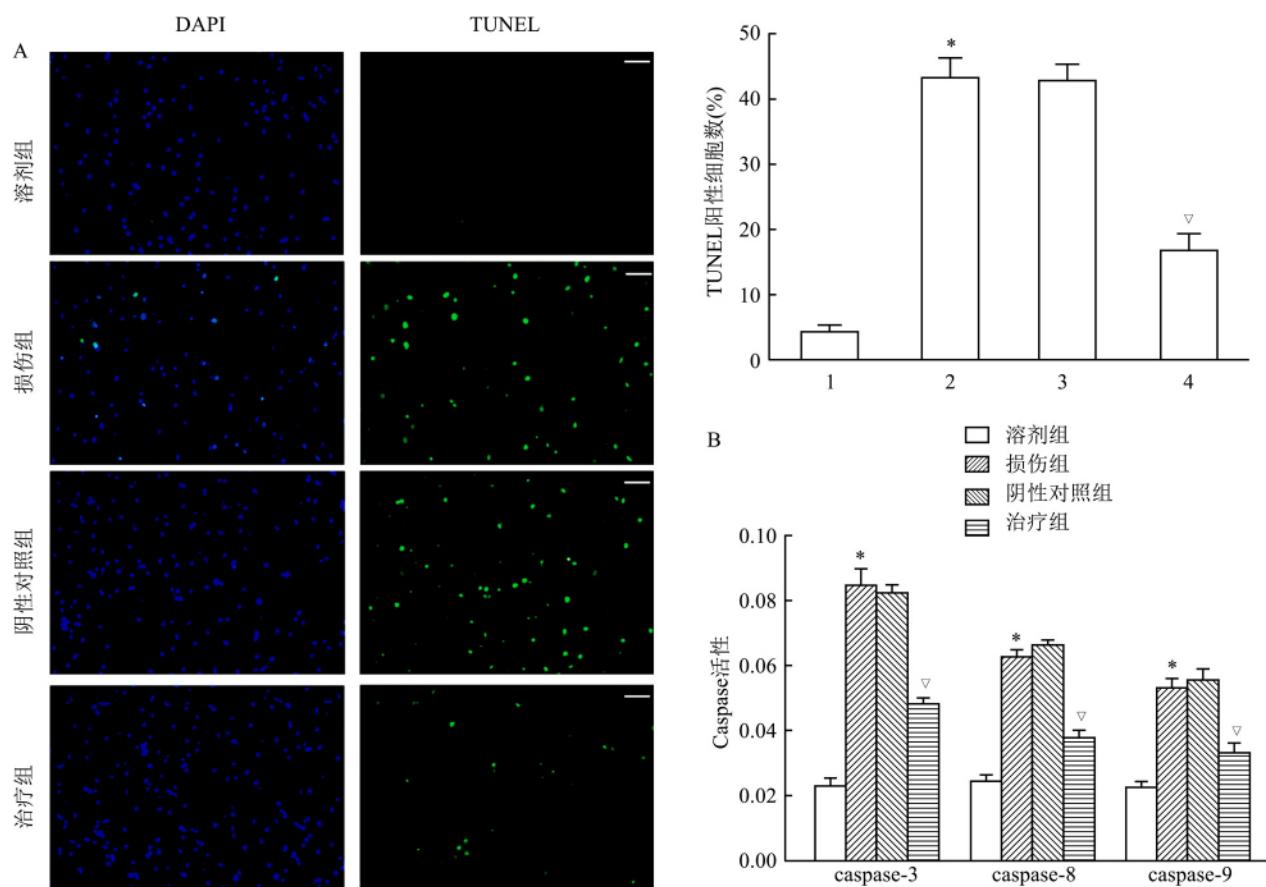


图 5 E2F1 siRNA 抑制血红素诱导的神经元凋亡

A: TUNEL 法检测细胞凋亡数量 $\times 100$; B: caspase 活性检测; 1: 溶剂组; 2: 损伤组; 3: 阴性对照组; 4: 治疗组; 与溶剂组比较: * $P < 0.05$; 与阴性对照组比较: ▽ $P < 0.05$

传导通路诱导 ROS 的产生 ,或者通过诱导自由基的生成而引发进一步的脂质过氧化 ,或者通过其内的铁原子直接参与脂质过氧化 ,从而增加细胞对氧化损伤的敏感性。血红素亦可以通过激活 TLR4 通路 ,促使小胶质细胞分泌 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 等炎症因子 ,从而引起神经炎症 对神经系统造成损伤^[12]。

E2F1 作为细胞命运的主要调节因子 ,其复杂作用被广泛研究 ,结果表明 E2F1 是神经系统疾病中重要的调节因子 ,在诱导细胞凋亡中的作用越来越受到重视^[6-8]。本研究首先检测 E2F1 在大鼠皮层神经元的表达 结果表明 E2F1 与神经元标志物 NeuN 具有高度重叠性 ,说明 E2F1 表达于神经元细胞核中 提示 E2F1 极有可能参与神经元的功能调节。而对大鼠原代皮层神经元进行血红素处理后 ,神经元中 E2F1 表达升高 ,与最近的缺血性脑中风研究结果相一致^[13]。细胞毒性实验结果显示 ,血红素处理组与对照组相比 ,LDH 释放率增加、细胞生存率降低。同时 ,细胞凋亡实验结果显示 ,血红素诱导皮

层神经元凋亡 ,caspase-3、caspase-8 及 caspase-9 活性较对照组均升高。以上结果提示血红素诱导神经元凋亡及细胞毒性 ,对神经元造成损伤。为了检测 E2F1 在血红素诱导的神经元凋亡及损伤中的作用 ,进一步用 E2F1 siRNA 敲低神经元 E2F1 表达 ,结果显示 E2F1 siRNA 削弱了血红素诱导的 LDH 释放率增加及细胞生存率降低 ,同时减少了血红素诱导的神经元凋亡。结果提示 E2F1 siRNA 减轻血红素诱导的神经元凋亡及神经元损伤。综上所述 ,E2F1 参与血红素诱导的神经元凋亡及神经元毒性损伤。本研究为揭示 E2F1 在 ICH 后脑损伤中的作用及发现治疗 ICH 的新靶点提供了实验依据。

参考文献

- Chu X, Wu X, Feng H, et al. Coupling between Interleukin-4 R1 and necrosome complex involves in hemin-induced neuronal necroptosis after intracranial hemorrhage [J]. Stroke 2018, 49(10): 2473-82.
- Ma L, Manaenko A, Ou Y B, et al. Bosutinib attenuates inflam-

- mation via inhibiting salt-inducible kinases in experimental model of intracerebral hemorrhage on Mice [J]. *Stroke*, 2017, 48(11): 3108–16.
- [3] Ren H, Kong Y, Liu Z, et al. Selective NLRP3 (pyrin domain-containing protein 3) inflammasome inhibitor reduces brain injury after intracerebral hemorrhage [J]. *Stroke*, 2018, 49(1): 184–92.
- [4] 陈东辉 程宏伟. 高血压脑出血术后再出血的多因素分析 [J]. 安徽医科大学学报 2015, 50(6): 873–6.
- [5] Tao X, Xie L, Duan C, et al. Up-regulation of interferon regulatory factor 3 involves in neuronal apoptosis after intracerebral hemorrhage in adult rats [J]. *Neurochem Res* 2016, 41(11): 2937–47.
- [6] Poppy Roworth A, Ghari F, La Thangue N B. To live or let die – complexity within the E2F1 pathway [J]. *Mol Cell Oncol*, 2015, 2(1): e970480.
- [7] Shats I, Deng M, Davidovich A, et al. Expression level is a key determinant of E2F1-mediated cell fate [J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(4): 626–37.
- [8] Wang K, An T, Zhou L Y, et al. E2F1-regulated miR-30b suppresses cyclophilin D and protects shear from ischemia/reperfusion injury and necrotic cell death [J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22(5): 743–54.
- [9] Ganesh Kumar N, Zuckerman S L, Khan I S, et al. Treatment of intracerebral hemorrhage: a selective review and future directions [J]. *J Neurosurg Sci* 2017, 61(5): 523–35.
- [10] Barcellos-de-Souza P, Moraes J A, de-Freitas-Junior J C, et al. Heme modulates intestinal epithelial cell activation: involvement of NADPHox-derived ROS signaling [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2013, 304(2): C170–9.
- [11] Dutra F F, Bozza M T. Heme on innate immunity and inflammation [J]. *Front Pharmacol* 2014, 5: 115.
- [12] 江珊, 俞晓飞. 脑出血后炎症损伤相关信号通路的研究进展 [J]. 中风与神经疾病杂志 2018, 35(9): 845–8.
- [13] Uzdensky A B. Apoptosis regulation in the penumbra after ischemic stroke: expression of pro- and antiapoptotic proteins [J]. *Apoptosis* 2019, 24(9–10): 687–702.

E2F1 siRNA attenuates hemin-induced primary cortical neuronal injuries

Zhao Dan^{1,2}, Li Xianyu², Yuan Meichun³, et al

(¹*Dept of Physiology, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000;*

²*Hubei Key Laboratory of Embryonic Stem Cell Research, Shiyan 442000;*

³*Hubei Key Laboratory of Wudang Local Chinese Medicine Research, Shiyan 442000)*

Abstract Objective To investigate the role of E2F transcription factor 1 (E2F1) in hemin-induced primary cortical neuron injuries and the possible mechanisms in rats. **Methods** Rat primary cortical neurons were cultured, identified and treated with different concentrations of hemin *in vitro*. LDH and MTT assays were performed to detect cell damage when neurons were treated for 12 h. The location and the expression of E2F1 in neurons were detected by immunofluorescence double staining and Western blot respectively. Rats were divided into vehicle group (DM-SO), injury group (Hemin), negative control group (Hemin + Control siRNA) and treatment group (Hemin + E2F1 siRNA). TUNEL staining and caspase activity were performed in four groups. **Results** The positive rate of NeuN staining was 95% on the 7 d. With the treatment of hemin (50, 100, 200 μmol/L), the LDH release of neurons increased, cell viability decreased and E2F1 expression was up-regulated ($F = 22.9, P < 0.05$). Compared with the negative control group, LDH release decreased [$(73.6 \pm 5.2)\% vs (42 \pm 4.1)\%, F = 343.4, P < 0.05$] and the cell viability increased [$(28.7 \pm 3.4)\% vs (61 \pm 2.9)\%, F = 127.7, P < 0.05$] in the E2F1 siRNA-treated group. The TUNEL results showed that hemin treatments increased neuronal apoptosis, and E2F1 siRNA treatments reduced the apoptosis ($F = 67.2, P < 0.05$). The caspase activity assay showed that the activities of caspase-3, caspase-8 and caspase-9 in the hemin group increased ($t = 15.7, t = 9.7, t = 7.8, P < 0.05$), but E2F1 siRNA treatment decreased the activities of caspase-3, caspase-8 and caspase-9 ($t = 8.6, t = 7.3, t = 5.7, P < 0.05$). **Conclusion** E2F1 siRNA may play a neuroprotective role by inhibiting hemin-induced neuronal apoptosis.

Key words intracerebral hemorrhage; hemin; transcription factor E2F1; apoptosis; neuron protection