

网络出版时间:2024-10-21 12:04:32 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20241018.0939.016

远隔缺血预适应血浆外泌体增加血管内皮细胞低氧耐受

张 晰^{1,2}, 杨文杰², 邵 国^{2,3,4}(内蒙古科技大学包头医学院¹ 基础医学与法医学院、² 医学技术与麻醉学院, 包头 014060;³首都医科大学宣武医院低氧适应转化医学北京重点实验室, 北京 100069;⁴深圳市龙岗区第三人民医院转化医学中心, 深圳 518112)

摘要 目的 研究远隔缺血预适应(RIPC)治疗前后卒中患者及健康对照血浆外泌体对人微血管内皮细胞(HMEC-1)低氧耐受的影响。方法 HMEC-1分为空白对照组(C组)、氧-糖剥夺(OGD)处理组(OGD组),分别使用卒中患者RIPC前后(S-b组,S-a组)及健康成人RIPC前后(C-b组,C-a组)的血浆外泌体(35 μg/ml)孵育HMEC-1细胞24 h,随后各组均给予OGD处理6 h,再灌注处理24 h。水溶性四氮唑(WST-1)法检测内皮细胞活力,测定caspase-3酶活力,Western blot检测紧密连接蛋白ZO-1、claudin-5表达水平。结果 健康成人RIPC后血浆外泌体显著增加HMEC-1细胞活力,降低HMEC-1细胞caspase-3酶活性。结论 RIPC治疗后血浆外泌体减少内皮细胞凋亡,增加内皮细胞低氧耐受。

关键词 远隔缺血预适应; 外泌体; 内皮细胞; 低氧耐受; 紧密连接

中图分类号 R 34

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)10-1809-06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.10.016

远隔缺血预适应(remote ischemic preconditioning, RIPC)是指通过非侵入方式对非重要器官(如肢体)的反复缺血刺激使重要器官(如脑)产生对低氧/缺血的耐受,其通过神经、体液、免疫等途径激活机体的内源性保护机制^[1]。目前RIPC对低氧/缺血神经保护作用明确,但其分子机制尚不十分清楚。该课题组前期研究表明RIPC血浆外泌体可以增加神经细胞对低氧/缺血的耐受,提示血浆外泌体可能在神经系统低氧/缺血损伤保护方面发挥重要作用^[2]。血管内皮的完整性对于内皮-神经单位功能的维持至关重要,而外泌体是否能降低由于低氧/缺血造成的人微血管内皮细胞(human microvascular endothelial cell, HMEC-1)损伤,进而对神经系统产生保护作用尚不清楚。该研究利用体外培养的HMEC-1细胞,加入卒中患者及健康对照RIPC前后的血浆外泌体共孵育,后对其进行氧-糖剥夺(oxygen glucose deprivation, OGD)处理,观察OGD条件

下RIPC血浆外泌体对内皮细胞低氧耐受及紧密连接相关蛋白ZO-1、claudin-5表达的影响,来探讨RIPC发挥保护作用的可能细胞机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 HMEC-1(上海信裕生物科技有限公司);内皮细胞培养基(美国Science Cell公司);高糖培养基DMEM、胎牛血浆(美国Gibco公司);5×电泳液(合肥BioShard公司);10×转膜液(上海雅酶公司);PVDF膜(德国Merck公司);ZO-1抗体、claudin-5抗体(英国Abcam公司);β-actin抗体(美国Santa Cruz公司);羊抗兔二抗、羊抗鼠二抗(上海Beyotime公司);预染蛋白ladder、ThermoFisher总外泌体分离试剂盒(美国Thermo公司);WST-1检测试剂盒、caspase-3活性检测试剂盒(上海Beyotime公司);超声破碎仪(美国Fisher Scientific公司);超低温冰箱(合肥美菱公司);二氧化碳培养箱(新加坡ESCO生命科学集团);低温高速离心机(美国Eppendorf公司);化学发光成像仪(上海勤翔科学仪器有限公司);酶标仪(美国Thermo公司);微量移液器(美国Eppendorf公司);掌上离心机[大龙兴创实验仪器(北京)股份公司]。

1.2 血浆来源 该实验所用患者样品血浆来源于深圳前海蛇口自贸区医院,从收集样本中选取年龄介于40~55岁3例男性患者进行研究,患者病因皆

2024-07-04 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:82060337);深圳市龙岗区医疗卫生科技计划项目(编号:LGKCYLWS2021000033、LGKCYLWS2023025);深圳市科技计划项目(编号:JCYJ20220531092412028、JCYJ20230807121306012)

作者简介:张 晰,女,硕士研究生;

邵 国,男,教授,博士生导师,通信作者, E-mail: shao_guo_china@163.com

为2型糖尿病,颅内动脉狭窄造成的缺血性卒中。2例健康男性作为志愿者参与该研究。RIPC前抽取每例受试者静脉血20 ml作为对照组。RIPC操作即在受试者非优势臂上端周围放置一个12 cm宽的血压袖带充气诱导RIPC,持续5个循环。每个循环由前述的200 mmHg充气5 min,再灌注5 min的周期组成,在RIPC操作后立即使用相同方法抽取相同体积的静脉血。

1.3 血浆外泌体分离 该实验使用 ThermoFisher 总外泌体分离试剂盒分离血浆外泌体:① 冷冻血浆25℃水浴,完全融化后置于冰上,4℃,4 600 r/min离心30 min,去除细胞及碎片;② 将上清液转移至1.5 ml新离心管中,加入血浆体积20%试剂,枪头吹吸使血浆与试剂充分混合,4℃环境孵育30 min,室温10 200 r/min离心10 min,分离外泌体;③ 去除上清液,使用1×无菌PBS重悬外泌体沉淀,分别标记为S-b(卒中患者RIPC前血浆),S-a(卒中患者RIPC后血浆),C-b(健康成人RIPC前血浆),C-a(健康成人RIPC后血浆),-80℃储存。

1.4 构建 HMEC-1 细胞氧糖剥夺/再灌注模型 HMEC-1细胞正常培养于内皮细胞培养基(endothelial cell medium, ECM),构建OGD模型时培养于含有10% FBS和0.6%青-链霉素的DMEM完全培养基中,培养条件为37℃、21% O₂ + 5% CO₂ + 74% N₂。HMEC-1在卒中患者RIPC前血浆(S-b组)、卒中患者RIPC后血浆(S-a组)及健康成人RIPC前血浆(C-b组)、健康成人RIPC后血浆(C-a组)外泌体中各孵育24 h,细胞培养液换为DMEM无糖培养液,于37℃、5% CO₂ + 95% N₂的条件下氧糖剥夺6 h,更换DMEM + 10% FBS培养液,于37℃、21% O₂ + 5% CO₂ + 74% N₂培养条件下再灌注24 h,即HMEC-1细胞氧糖剥夺/再灌注模型构建成功。

1.5 WST-1 检测细胞活力 以3 000个/孔的密度将HMEC-1细胞种入96孔板中,待细胞贴壁后,按照上述分组构建模型,造模完成后每孔加入10 μl WST-1溶液,充分混匀后37℃孵育4 h,期间每30 min用酶标仪检测每孔在450 nm波长下的吸光度值,并计算细胞活力。细胞活力计算公式为:细胞活力 = [(处理组OD值 - 空白组OD值)/(对照组OD值 - 空白组OD值)] × 100%。

1.6 caspase-3 活性检测 收集氧糖剥夺6 h再灌注24 h后的C组、OGD组、S-b组、S-a组、C-b组、C-a组细胞,PBS洗涤1次,离心后吸尽上清液,按照

每200万细胞加入100 μl裂解液的比例加入裂解液,重悬沉淀,冰浴裂解15 min,13 800 r/min,4℃离心15 min;把上清液转移到预冷的离心管中,测定caspase-3活性。

1.7 Western blot 检测血管内皮紧密连接相关基因表达水平 收集氧糖剥夺6 h再灌注24 h后的C组、OGD组、S-b组、S-a组、C-b组、C-a组细胞,加入RIPA裂解液及蛋白酶抑制剂处理过夜,12 900 r/min,4℃离心提取细胞总蛋白,BCA法检测蛋白浓度。每组取15 μg蛋白上样液加到8%、12% SDS-PAGE凝胶点样孔中,电泳分离蛋白;将蛋白转印到PVDF膜上;5%脱脂牛奶室温封闭1 h;TBST洗膜3次,每次10 min;将洗好的膜在4℃条件下使用ZO-1一抗(1:2 000稀释)、claudin-5一抗(1:1 000稀释)、β-actin一抗(1:1 000稀释)孵育过夜;TBST洗膜3次,每次12 min;室温下用山羊抗兔和山羊抗小鼠抗体孵育1.5 h,TBST洗膜3次,每次15 min;ECL超敏发光液浸泡PVDF膜,化学发光仪扫描图像,分析蛋白表达。

1.8 统计学处理 使用 GraphPad Prism 9.0 统计软件进行数据处理。所有实验均重复3次及以上,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,实验数据采用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行统计学处理, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外泌体鉴定 为了验证从血浆中分离的小球是该实验所需要的外泌体,该实验使用电子显微镜及Western blot观察及检测了这些小球。电镜结果显示这些小球粒径在50~150 nm之间,多呈球状、椭圆状,与外泌体形状一致(图1A)。3种外泌体特异性蛋白标志物,CD63、HSP70、TSG101用Western blot分析,结果表明这些小球中包含CD63、HSP70、TSG101(图1B)。

2.2 健康成人 RIPC 后血浆外泌体对 HMEC-1 细胞低氧耐受的影响 以正常培养HMEC-1细胞活力设为1,则OGD组、S-b组、S-a组、C-b组、C-a组的细胞活力分别是 0.89 ± 0.035 、 0.86 ± 0.038 、 0.86 ± 0.032 、 0.92 ± 0.042 、 0.98 ± 0.024 (图2)。结果显示,与C组相比,OGD条件下对HMEC-1细胞活力显著降低,卒中患者RIPC前后血浆外泌体孵育对OGD条件下HMEC-1细胞活力的恢复差异无统计学意义,而健康成人RIPC前后血浆外泌体可以显著增加对OGD处理后的HMEC-1细胞活力。

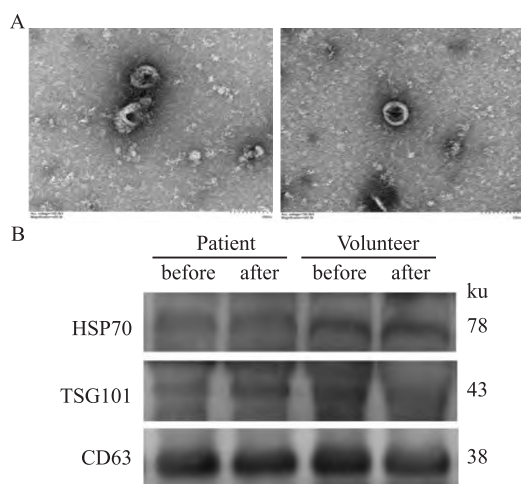


图1 血浆外泌体鉴定

Fig. 1 Identification of plasma exosome

A: Electron microscopy image of exosome $\times 20\ 000$; B: Western blot identification of exosome-specific protein markers HSP70, TSG101, CD63; after: after RIPC plasma exosome incubation group; before: before RIPC plasma exosome incubation group.

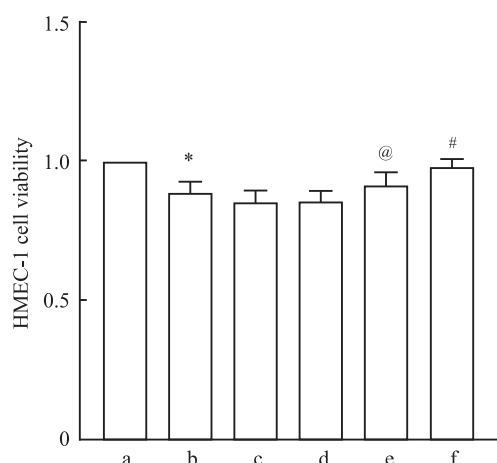


图2 WST-1 检测细胞活力

Fig. 2 Cell viability detected by WST-1

a: C group; b: OGD group; c: S-b group; d: S-a group; e: C-b group; f: C-a group; * $P < 0.05$ vs C group; # $P < 0.05$ vs OGD group; @ $P < 0.05$ vs C-a group.

2.3 健康成人 RIPC 后血浆外泌体对 HMEC-1 细胞 caspase-3 酶活性的影响 caspase-3 水平代表了细胞凋亡。利用 caspase-3 活性检测试剂盒检测 C 组、OGD 组、S-b 组、S-a 组、C-b 组、C-a 组细胞 caspase-3 酶活性, 分别是 27.94 ± 2.497 、 33.15 ± 3.380 、 36.06 ± 1.569 、 32.29 ± 1.531 、 32.40 ± 0.659 、 27.28 ± 1.370 。结果表明健康成人 RIPC 后血浆外泌体孵育能够显著降低 OGD 后 HMEC-1 细胞 caspase-3 酶活性(图 3)。

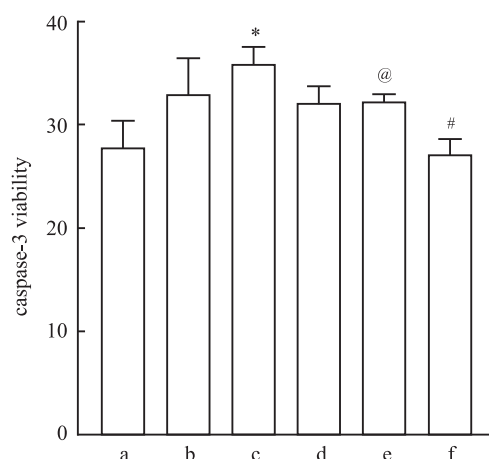


图3 caspase-3 酶活性

Fig. 3 caspase-3 enzyme activity

a: C group; b: OGD group; c: S-b group; d: S-a group; e: C-b group; f: C-a group; * $P < 0.05$ vs S-a group; # $P < 0.05$ vs OGD group; @ $P < 0.05$ vs C-a group.

2.4 RIPC 后血浆外泌体对血管内皮紧密连接相关蛋白表达的影响 血脑屏障紧密连接的形成涉及特定的跨膜蛋白(即 claudins), 这些跨膜蛋白通过与辅助蛋白(即 ZO 蛋白)相互作用与细胞骨架细丝相连。因此, 该研究使用 Western blot 检测 HMEC-1 细胞紧密连接相关基因 ZO-1、claudin-5 的表达(图 4)。OGD 后, HMEC-1 细胞紧密连接相关基因表达下降, RIPC 前血浆外泌体孵育内皮细胞, 可以缓解 OGD 诱导的紧密连接蛋白丢失, 差异无统计学意义。说明 RIPC 血浆外泌体孵育不足以恢复 OGD 后紧密连接相关基因水平。

3 讨论

脑卒中是全球第二大死亡原因和长期致残的主要原因, 年病死率约为 550 万, 缺血性卒中是由于脑血管的短暂性或永久性闭塞, 导致大脑中的细胞损伤和神经功能障碍^[3]。因此, 脑保护是各种相关临床治疗中的关键目标, RIPC 作为一种内源性保护机制, 可有效诱导脑缺血耐受, 从而减轻缺血损伤, 改善患者预后^[4], 越来越多的临床前研究^[5]支持 RIPC 在局灶性和整体性脑缺血再灌注损伤的神经保护方面的有效性, 然而, 这一过程的潜在机制尚不完全清楚。外泌体是释放到血液中的细胞外囊泡, 参与局部和远距离细胞之间的细胞间通讯, 它们包裹蛋白质、核酸、脂类等活性物质, 将其运送到邻近或远处的其他细胞, 来调节受体细胞的功能^[6]。该研究探

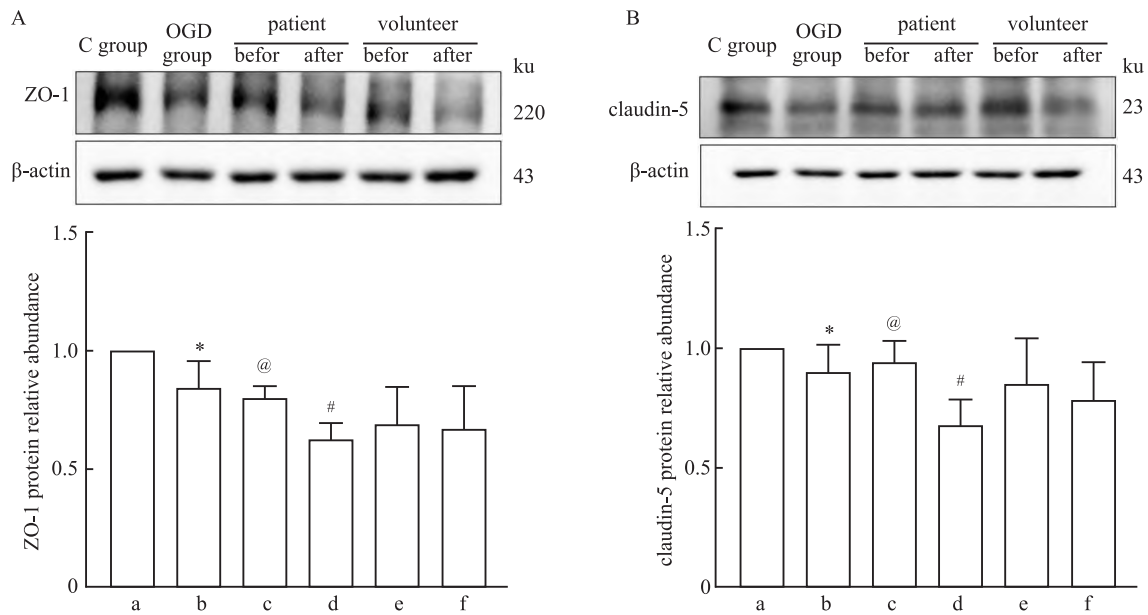


图4 Western blot 检测血管内皮紧密连接相关蛋白表达

Fig.4 Western blot detection of vascular endothelial tight junction associated protein expression

A: Representative result of Western blot showed expression level of ZO-1 and semiquantitative analysis indicated the protein changes in levels of ZO-1; B: Representative result of Western blot showed expression level of claudin-5 and semiquantitative analysis indicated the protein changes in levels of claudin-5; after: after RIPC plasma exosome incubation group; before: before RIPC plasma exosome incubation group; a: C group; b: OGD group; c: S-b group; d: S-a group; e: C-b group; f: C-a group; * $P < 0.05$ vs C group; # $P < 0.05$ vs OGD group; @ $P < 0.05$ vs S-a group.

讨论了RIPC血浆外泌体对OGD诱导的HMEC-1损伤的神经保护作用,利用体外培养的HMEC-1细胞,加入卒中患者及健康对照RIPC前后的血浆外泌体共孵育,后对其进行OGD处理,结果显示健康对照RIPC后血浆外泌体孵育可以增加OGD条件下内皮细胞HMEC-1的细胞活力并降低细胞凋亡分子caspase-3的水平。结果提示RIPC释放的外泌体作用内皮细胞,可以减少低氧诱导的损伤,增加细胞低氧耐受,这可能是RIPC神经保护的一种机制。

在脑缺血期间,组织适应无氧代谢,而血供的恢复导致氧供超过要求,从而导致超氧自由基的产生,引起氧化应激,参与再灌注损伤早期阶段的关键事件是巨噬细胞的激活,导致内皮损伤和促炎性细胞因子的进一步释放^[7]。血脑屏障(blood brain barrier, BBB)的破坏在缺血性脑卒中患者的炎症反应和加速脑损伤中起关键作用,缺血诱导的BBB破坏主要是由于脑内皮细胞(endothelial cells, ECs)紧密连接蛋白结构完整性的丧失^[8]。ECs调节血管张力,参与物质转运的通透性调节,维持内环境稳定,内皮功能障碍与多种脑血管疾病相关^[9],一些蛋白将相邻内皮紧密锚定,即紧密连接(tight junction, TJ)蛋白^[10],TJ蛋白由一些跨膜蛋白包括 claudins、occlu-

din、连接黏附蛋白JAMs和细胞质辅助蛋白例如ZOs组成。其中,claudin-5明确参与BBB渗透性调节^[11],ZOs是支持TJs的细胞质蛋白,两者的胞外环相互作用,在相邻的EC之间形成初级密封^[12]。TJ蛋白的各个组成部分发挥协同作用,TJ蛋白的改变或缺失可能导致BBB功能障碍^[13]。该研究还探讨了RIPC血浆外泌体对内皮细胞紧密连接相关基因(ZO-1、claudin-5)表达的影响,已有大量研究^[14]表明,OGD后TJ蛋白表达下降,细胞死亡增加,渗透性增加。该实验使用3例不同患者血浆外泌体孵育观察细胞活力、caspase-3活性及检测紧密连接蛋白表达水平即为了降低个体差异,探索普遍性规律。加入RIPC前血浆外泌体孵育可以改善OGD后的细胞活力及降低caspase-3活性,起到对损伤的内皮细胞的恢复作用,但这个恢复不足以弥补TJ蛋白的损失,后续该课题组会继续探讨增加外泌体孵育的浓度来观察紧密连接相关基因的表达情况。缺血性卒中的病理生理学非常复杂,包括细胞凋亡、神经血管修复和再生等早期和晚期过程^[15]。因此,该课题组还需要进一步的研究来阐明RIPC对内皮细胞低氧缺血保护的分子机制。

参考文献

- [1] Lee K E, Kim J, Park K H, et al. Remote ischemic pre-conditioning (RIPC) [J]. *Methods Mol Biol*, 2023, 2597: 11 – 8. doi:10.1007/978-1-0716-2835-5_2.
- [2] Cui J, Liu N, Chang Z, et al. Exosomal microRNA-126 from RIPC serum is involved in hypoxia tolerance in SH-SY5Y cells by downregulating DNMT3B [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 20: 649 – 60. doi:10.1016/j.omtn.2020.04.008.
- [3] Donkor E S. Stroke in the 21st century: a snapshot of the burden, epidemiology, and quality of life [J]. *Stroke Res Treat*, 2018, 2018: 3238165. doi:10.1155/2018/3238165.
- [4] Du Y, Qiu R, Chen L, et al. Identification of serum exosomal metabolomic and proteomic profiles for remote ischemic preconditioning [J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 241. doi:10.1186/s12967-023-04070-1.
- [5] Sharma D, Maslov L N, Singh N, et al. Remote ischemic preconditioning-induced neuroprotection in cerebral ischemia-reperfusion injury: preclinical evidence and mechanisms [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 883: 173380. doi:10.1016/j.ejphar.2020.173380.
- [6] Du Y, Tan W L, Chen L, et al. Exosome transplantation from patients with schizophrenia causes schizophrenia-relevant behaviors in mice: an integrative multi-omics data analysis [J]. *Schizophr Bull*, 2021, 47(5): 1288 – 99. doi:10.1093/schbul/sbab039.
- [7] Li J, Yang C, Wang Y. miR-126 overexpression attenuates oxygen-glucose deprivation/reperfusion injury by inhibiting oxidative stress and inflammatory response *via* the activation of SIRT1/Nrf2 signaling pathway in human umbilical vein endothelial cells [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 24(1): 519. doi:10.3892/mmr.2021.12158.
- [8] Kim Y, Lee S, Zhang H, et al. CLEC14A deficiency exacerbates neuronal loss by increasing blood-brain barrier permeability and inflammation [J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 48. doi:10.1186/s12974-020-1727-6.
- [9] Lee H W, Xu Y, He L, et al. Role of venous endothelial cells in developmental and pathologic angiogenesis [J]. *Circulation*, 2021, 144(16): 1308 – 22. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.121.054071.
- [10] Abdullahi W, Tripathi D, Ronaldson P T. Blood-brain barrier dysfunction in ischemic stroke: targeting tight junctions and transporters for vascular protection [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2018, 315(3): C343 – 56. doi:10.1152/ajpcell.00095.2018.
- [11] Li Y, Liu B, Zhao T, et al. Comparative study of extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells and brain endothelial cells attenuating blood-brain barrier permeability *via* regulating Caveolin-1-dependent ZO-1 and Claudin-5 endocytosis in acute ischemic stroke [J]. *J Nanobiotechnology*, 2023, 21(1): 70. doi:10.1186/s12951-023-01828-z.
- [12] Zhao Y, Gan L, Ren L, et al. Factors influencing the blood-brain barrier permeability [J]. *Brain Res*, 2022, 1788: 147937. doi:10.1016/j.brainres.2022.147937.
- [13] Kim K A, Shin D, Kim J H, et al. Role of autophagy in endothelial damage and blood-brain barrier disruption in ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2018, 49(6): 1571 – 9. doi:10.1161/STROKEAHA.117.017287.
- [14] Xue Y, Wang X, Wan B, et al. Caveolin-1 accelerates hypoxia-induced endothelial dysfunction in high-altitude cerebral edema [J]. *Cell Commun Signal*, 2022, 20(1): 160. doi:10.1186/s12964-022-00976-3.
- [15] Xiong Y, Fu Y, Li Z, et al. Laquinimod inhibits microglial activation, astrogliosis, BBB damage, and infarction and improves neurological damage after ischemic stroke [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2023, 14(11): 1992 – 2007. doi:10.1021/acchemneuro.2c00740.

Remote ischemic preconditioning with plasma exosomes increases vascular endothelial hypoxia tolerance

Zhang Xi^{1,2}, Yang Wenjie², Shao Guo^{2,3,4}

(¹College of Basic Medicine and Forensic Medicine, ²College of Medical Technology and Anesthesiology, Baotou Medical College of Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014060;

³Beijing Key Laboratory of Hypoxic Conditioning Translational Medicine, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069; ⁴Center for Translational Medicine and Department of Laboratory Medicine, The Third People's Hospital of Longgang District, Shenzhen, Shenzhen 518112)

Abstract Objective To study the effect of plasma exosomes on hypoxia tolerance of human microvascular endothelial cells (HMEC-1) in stroke patients and healthy controls before and after remote ischemic preconditioning (RIPC) treatment. **Methods** HMEC-1 cells were divided into a blank control group (Group C) and oxygen glucose deprivation (OGD) treatment group, using plasma exosomes from stroke patients before and after RIPC (S-b group, S-a group) and healthy adults before and after RIPC (C-b group, C-a group). HMEC-1 cells were incubated with a concentration of exosome (35 µg/ml) for 24 hours, followed by OGD treatment for 6 hours and reperfu-

网络出版时间:2024-10-21 12:05:15 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20241018.0939.017

下颌后缩对大鼠脑血流及脑卒中恢复的影响

付春风,刘小郁,韩全成,郑秀云,梅勤,程雨荷,吴婷婷

(安徽医科大学口腔医学院,安徽医科大学附属口腔医院,安徽省口腔疾病研究重点实验室,合肥 230032)

摘要 **目的** 探究下颌后缩对脑部血流的改变以及对脑卒中恢复产生的影响和潜在的机制。**方法** 6周龄的SD雄性大鼠选作实验对象。金属套管粘接于大鼠上颌切牙1周,迫使下颌后缩(MR)。通过激光散斑成像检测MR对脑部血流改变;莫里斯水迷宫检测MR对认知功能改变。而后通过大脑中动脉阻塞法(MCAO)对MR建造脑卒中模型(MCAO MR)观察1周。此外,将MCAO MR大鼠在制备MCAO当天去除金属套管,使其在自然状态下恢复下颌骨的位置,设为脑卒中+咬合恢复(MCAO RO)组并作为阳性对照。至此将大鼠分为Sham组、MCAO组、MCAO MR组、MCAO RO组。通过改良神经评分检测神经功能;2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色检测大鼠大脑缺血面积;苏木精-伊红(HE)染色观察神经细胞变化;免疫组化检测血管内皮生长因子(VEGF)蛋白表达水平;Western blot检测血小板-内皮细胞黏附分子(CD31)、沉默调节蛋白6(SIRT6)、硫氧还蛋白互作蛋白(TXNIP)的蛋白表达水平,qRT-PCR检测SIRT6、TXNIP、VEGF的mRNA表达水平;免疫荧光检测小胶质细胞活化标志物离子钙结合衔接分子1(IBA-1)。**结果** 激光散斑显示下颌后缩使脑部血流出现降低,水迷宫显示认知功能下降。MCAO MR相较于其他组,TTC染色显示的缺血面积更大,HE染色和神经评分显示神经系统功能恢复更差。Western blot和qRT-PCR显示MCAO MR组抑制SIRT6的mRNA和蛋白表达水平,上调了TXNIP的mRNA和蛋白表达水平,小胶质细胞活化增多。**结论** 下颌后缩降低脑部血流改变大鼠认知功能,并调控SIRT6/TXNIP轴抑制脑卒中大鼠血流和神经恢复。

关键词 下颌后缩;脑血流;脑卒中;康复;认知功能

中图分类号 R 783.9

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)10-1814-09

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.10.017

下颌后缩是常见的错颌畸形,中国青少年发病率约为10%~20%^[1],并对全身健康状况产生影

响。虽然下颌前伸对于脑血流的影响被证明^[2],但下颌后缩与脑血流关系的研究很少,可能是由于临床医生更关注下颌后缩对面部美观的影响,忽视了下颌后缩与脑部血流的关系。

同时下颌后缩会引起气道狭窄,血氧水平降低、血管变性等并发症,都是脑卒中的高危因素^[3]。并且脑卒中发病率逐年上升,已成为中国第一大残率疾病^[4],因此脑卒中患者的康复备受关注。脑卒中康复过程复杂,受到多种因素影响。研究^[5]指出脑

2024-06-27 接收

基金项目:安徽省高校科研计划项目(编号:2023AH050635);安徽医科大学口腔医学院(附属口腔医院)学科建设“峰原”合作项目(编号:2022xkfyts06、2022xkfyhz03)

作者简介:付春风,男,硕士研究生;

吴婷婷,女,副教授,硕士生导师,通信作者,E-mail:wutingting_focus@163.com

sion treatment for 24 hours in all groups. Water-soluble tetrazolium salt-1 (WST-1) method was used to detect endothelial cell viability, caspase-3 enzyme activity was measured, and Western blot was used to detect the expression levels of zone occluden-1 (ZO-1) and claudin-5. **Results** After RIPC in healthy adults, plasma exosomes significantly increased the cell activity of HMEC-1 cells and decreased the activity of caspase-3 enzyme in HMEC-1 cells. **Conclusion** After RIPC treatment, plasma exosomes reduced endothelial cell apoptosis and increased endothelial cell hypoxia tolerance.

Key words remote ischemic preconditioning; exosome; endothelial cell; hypoxia tolerance; tight junction

Fund programs National Natural Science Foundation of China(No. 82060337); Medical and Health Science and Technology Plan Project of Longgang District, Shenzhen(Nos. LGKCYLWS2021000033, LGKCYLWS2023025); Scientific and Technological Plan Project of Shenzhen(Nos. JCYJ20220531092412028, JCYJ20230807121306012)

Corresponding author Shao Guo, E-mail: shao_guo_china@163.com