

网络出版时间:2025-10-28 11:20:29 网络出版地址:<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20251027.1506.005>

***IQGAPI* 在氧糖剥夺/复氧诱导的小胶质细胞极化中的作用及其机制**

朝 博¹,任君浩¹,郭若宇¹,苏优勒¹,马 英²

(内蒙古医科大学附属医院¹ 神经外科、² 胸外科,呼和浩特 010050)

摘要 目的 探讨含 IQ 基元 GTP 酶激活蛋白 1 (*IQGAPI*) 在氧糖剥夺/复氧 (OGD/R) 诱导的 BV-2 小胶质细胞极化中的作用及其机制。**方法** 将 *IQGAPI* 过表达质粒 (*oe-IQGAPI*) 及其阴性对照质粒 (Vector) 转染至 BV-2 细胞中, 再采用 OGD/R 法诱导 BV-2 细胞极化, 并给予外源性干扰素-γ (*IFN-γ*) 重组蛋白进行干预。细胞计数试剂盒 (CCK-8) 法检测细胞增殖率; 试剂盒检测细胞上清液中乳酸脱氢酶 (LDH) 水平; 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应 (RT-qPCR) 检测细胞中 *IQGAPI*、*IFN-γ* 及小胶质细胞极化标志物诱导型一氧化氮合酶 (*iNOS*)、*CD86*、*CD206*、精氨酸酶 1 (*Arg1*) 等 mRNA 表达水平; 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 法检测细胞上清液中炎症因子 *IFN-γ*、肿瘤坏死因子-α (*TNF-α*)、白细胞介素 (IL)-1β、IL-4、IL-10 水平; Western blot 检测细胞中 *IQGAPI*、*IFN-γ* 蛋白表达水平。**结果** OGD/R 处理后, BV-2 细胞增殖率、上清液中 IL-4、IL-10 水平及 *CD206* 和 *Arg1* mRNA 表达水平降低 (均 $P < 0.05$), 上清液中 LDH、*TNF-α*、IL-1β 水平及细胞中 *iNOS* 和 *CD86* mRNA 表达水平升高 (均 $P < 0.05$), 同时, 细胞中 *IQGAPI* mRNA 和蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$)。*IQGAPI* 过表达处理后, OGD/R 暴露下 BV-2 细胞上清液中 IL-4、IL-10 水平及细胞中 *CD206* 和 *Arg1* mRNA 表达水平升高 (均 $P < 0.05$), 上清液中 *TNF-α*、IL-1β 水平和细胞中 *iNOS* 和 *CD86* mRNA 表达水平降低 (均 $P < 0.05$); 同时, 细胞中 *IFN-γ* 蛋白表达及分泌减少 (均 $P < 0.05$), *IFN-γ* mRNA 表达水平无显著变化。然而, 外源性 *IFN-γ* 重组蛋白联合干预明显逆转了 *IQGAPI* 过表达对 OGD/R 诱导的小胶质细胞 M1 型极化的抑制作用。**结论** *IQGAPI* 过表达可通过减少 *IFN-γ* 分泌和表达抑制 OGD/R 条件下小胶质细胞的 M1 型极化。

关键词 小胶质细胞; M1 型极化; 氧糖剥夺/复氧; 含 IQ 基元 GTP 酶激活蛋白 1; 干扰素-γ

中图分类号 R 364.04; R 743

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2025)11-2011-08

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.11.004

缺血性脑卒中是一种致死和致残率较高的常见疾病, 主要由血管阻塞引起, 需及时溶栓再通^[1]。然而, 再灌注过程会引发大量活性氧爆发, 破坏血管内皮和血脑屏障, 加剧脑损伤^[2]。小胶质细胞极化在脑损伤与修复中起关键作用, 即 M1 型促炎和 M2 型抗炎^[3]。研究^[4]表明, 诱导小胶质细胞 M2 极化有助于减轻脑缺血再灌注损伤并改善神经功能。进一步研究发现^[5], 阻断集落刺激因子 1 受体 (CSF1R) 信号传递可抑制小胶质细胞过度活化, 保护神经元并改善行为认知。这表明调控小胶质细胞功能表型可能成为脑缺血再灌注损伤的治疗新策略。含 IQ 基元 GTP 酶激活蛋白 1 (IQ motif contain-

ning GTPase activating protein 1, *IQGAPI*) 参与细胞骨架的调控, 在缺血再灌注中具有保护作用, 并可影响中性粒细胞及小胶质细胞功能^[6-7]。研究^[8]报道, *IQGAPI* 能抑制干扰素-γ (interferon-γ, *IFN-γ*) 的表达, 进而潜在调控小胶质细胞极化。因此, 该研究通过氧糖剥夺/复氧 (oxygen-glucose deprivation/reoxygenation, OGD/R) 模型探讨 *IQGAPI* 对小胶质细胞极化的影响及其机制, 为脑缺血再灌注损伤的临床治疗提供新靶点。

1 材料与方法

1.1 主要材料 小鼠小胶质细胞 BV-2 (货号: CL-0493) 购自武汉普诺赛生命科技有限公司; *IQGAPI* 过表达质粒 (*oe-IQGAPI*) 及其阴性对照质粒 (Vector) 购自武汉金开瑞生物工程有限公司; LipoFiter 转染试剂 (货号: HB-TRLF) 购自上海汉恒生物科技有限公司; 小鼠 *IFN-γ* 重组蛋白 (货号: HY-P7071) 购自美国 MCE 公司; *IQGAPI*、*IFN-γ*、GAPDH 抗体 (货号: 2293、98139、2118) 购自美国 CST 公司; 细胞计数试剂盒 (cell counting kit-8, CCK-8) 细胞活力检测

2025-09-24 接收

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金 (编号: 2023LHMS08029); 内蒙古自治区首府地区公立医院高水平临床专科建设科技项目 (编号: 2024SGGZ083)

作者简介: 朝 博,男,硕士研究生;
苏优勒,男,主任医师,硕士,通信作者, E-mail: youle-sumeng@163.com

试剂盒、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)试剂盒(货号:G021、A020)购自南京建成生物工程研究所;一步法实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, RT-qPCR)试剂盒(货号:AQ211)购自北京全式金生物技术股份有限公司;小鼠IFN- γ 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)、白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-4、IL-10酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(货号:M0048、M3063、M0037、M0043、M0046)购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司。

1.2 主要仪器 CO_2 培养箱(型号:D165H)购自深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司;生物显微镜(型号:CX33)购自日本奥林巴斯公司;多功能酶标仪、凝胶成像仪(型号:Varioskan LUX、iBright)购自美国赛默飞公司;实时荧光定量PCR仪(型号:LC96)购自瑞士罗氏公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养及造模 使用BV-2小胶质细胞完全培养液(DMEM培养基+10%优质胎牛血清+1%青链霉素),于5% CO_2 、37℃条件下培养细胞,每2d传代并换液1次,实验前24 h铺板。使用无糖DMEM培养基,于37℃、1% O_2 、5% CO_2 、94% N_2 的培养箱中培养BV-2细胞4 h,再更换成DMEM完全培养基,于37℃、5% CO_2 的培养箱中继续培养细胞12 h建立OGD/R细胞模型^[9]。

1.3.2 细胞转染及分组处理 使用LipoFiter转染试剂分别将oe-IQGAP1和Vector质粒转染至BV-2细胞中,设置为oe-IQGAP1组和Vector组。转染48 h后对细胞进行以下分组及处理。对照组(Control):正常培养细胞,不做干预;OGD/R组:按照上述造模方法处理细胞;OGD/R+Vector组:将Vector质粒转染至细胞中,再按照上述造模方法处理细胞;OGD/R+oe-IQGAP1组:将oe-IQGAP1质粒转染至细胞中,再按照上述造模方法处理细胞;OGD/R+IFN- γ 组:按照上述造模方法处理细胞,同时采用10 ng/mL^[10]的IFN- γ 重组蛋白干预细胞;OGD/R+oe-IQGAP1+IFN- γ 组:将oe-IQGAP1质粒转染至细胞中,然后在按照上述造模方法处理,同时采用10 ng/mL的IFN- γ 重组蛋白干预细胞。

1.3.3 CCK-8检测 取对数期生长的BV-2细胞接种于96孔板中,每孔 3×10^3 个,于培养箱中继续培养至细胞贴壁,按照上述方法处理细胞,每组3复孔。每孔加入10 μL CCK-8溶液培养4 h,于酶标仪

450 nm处测量吸光度(absorbance, A)值。细胞增殖率(%) = $(A_{\text{实验孔}} - A_{\text{空白孔}}) / (A_{\text{对照孔}} - A_{\text{空白孔}}) \times 100\%$ 。

1.3.4 试剂盒检测 取对数期生长的BV-2细胞,按照上述方法处理后,离心取上清液待测,按照试剂盒说明书操作,于酶标仪波长440 nm处测量A值。细胞上清液中LDH活性(U/L) = $(A_{\text{测定孔}} - A_{\text{对照孔}}) / (A_{\text{标准孔}} - A_{\text{空白孔}}) \times \text{标准液浓度}(\mu\text{mol}/\text{mL}) \times \text{稀释倍数} \times 100\%$ 。

1.3.5 RT-qPCR检测 使用TRIzol试剂从各组细胞中提取总RNA,使用一步法RT-qPCR试剂盒合成第一链cDNA,设计引物序列(表1),然后进行实时PCR反应,反应条件:95℃预变性5 min,95℃退火30 s,60℃延伸1 min,循环40次。得到阈值循环数(Ct),以GAPDH为内参, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算IQGAP1、IFN- γ 及iNOS、CD86、CD206、Arg1 mRNA相对表达水平。

表1 引物序列

Tab. 1 Primer sequences

Genes	Sequences (5'3')
<i>IQGAP1</i>	F: CACTGGCTAACAGCGGAAGTGTC R: TCCTGGCTGGAACCGGAT
<i>IFN-γ</i>	F: AGCGGCTGACTGAACAGATTGTAG R: GTCACAGTTTCAGCTGTATAGGG
<i>iNOS</i>	F: CTGCTGGTGGTACAAGCACATT R: ATGTCATGACCAAAGCGCAGAAC
<i>CD86</i>	F: ATTGAGGAAGGAACCTGGTAG R: CCTCTGTTCCCTGGCTATAAG
<i>CD206</i>	F: CAAGGAAGGTTGGCATTTGT R: CCTTCAGTCCTTGCAAGC
<i>Arg1</i>	F: GAATCCCACCTAGGAGACAAAG R: GTCTATACTCCCTGCAGTTCC
<i>GAPDH</i>	F: AATTCCATGGCACCCCTCAAG R: TGGACTCCACGACGTACTC

1.3.6 ELISA检测 收集各组细胞上清液,按照试剂盒说明书操作,终止反应待液体变为黄色后,于酶标仪波长450 nm处检测各孔A值,绘制标准曲线,计算各组细胞上清液中炎症细胞因子IFN- γ 、TNF- α 、IL-1 β 、IL-4和IL-10水平。

1.3.7 Western blot检测 收集各组细胞,裂解后测定总蛋白浓度,每组取40 μg 蛋白沸水浴变性,然后经电泳、转膜,5%脱脂奶粉中室温封闭1 h。洗膜后加入一抗稀释液(IQGAP1、IFN- γ 、GAPDH,1:1 000稀释)4℃过夜,洗膜3次,加入1:5 000稀释的HRP标记二抗,室温孵育1 h,洗膜3次,化学发

光后显影条带,以 GAPDH 为内参,分析计算目的蛋白灰度值与内参条带灰度值的比值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 24.0 和 GraphPad Prism 7 软件分析数据,所有实验均进行 3 次独立生物学重复,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间数据比较采用独立样本 *T* 检验;多组间数据整体差异比较采用单因素方差分析,通过 Bonferroni 法校正多重比较的族系误差率后,再采用事后 LSD-*t* 检验对组间差异进行两两比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OGD/R 诱导小胶质细胞损伤及 M1 型极化

如图 1A、B 所示,与 Control 组比较,OGD/R 组细胞增殖率降低,上清液中 LDH 水平升高(均 $P < 0.05$)。如图 1C、D 所示,与 Control 组比较,OGD/R 组细胞中 *iNOS*、*CD86* mRNA 表达水平升高,而 *CD206*、*Arg1* mRNA 表达水平降低(均 $P < 0.05$),上清液中 TNF- α 、IL-1 β 水平升高,而 IL-4、IL-10 水平降低(均 $P < 0.05$)。

2.2 *IQGAP1* 在 OGD/R 诱导的小胶质细胞中低

表达 与 Control 组比较,OGD/R 组细胞中 *IQGAP1* mRNA 和蛋白表达水平均降低($P < 0.05$)。见图 2。

2.3 *IQGAP1* 过表达抑制 OGD/R 诱导的小胶质细胞 M1 型极化 采用 RT-qPCR 和 Western blot 检测进行质粒转染效率验证,结果显示(图 3A),与 Control 组比较,oe-*IQGAP1* 组细胞中 *IQGAP1* mRNA 和蛋白表达水平升高($P < 0.05$),Vector 组无显著变化。如图 3B、C 所示,与 Control 组比较,OGD/R 组细胞中 *IQGAP1* 蛋白和 *CD206*、*Arg1* mRNA 表达水平降低,*iNOS*、*CD86* mRNA 表达水平升高(均 $P < 0.05$);与 OGD/R 组比较,OGD/R + oe-*IQGAP1* 组细胞中 *IQGAP1* 蛋白和 *CD206*、*Arg1* mRNA 表达水平升高,*iNOS*、*CD86* mRNA 表达水平降低(均 $P < 0.05$),而 OGD/R + Vector 组细胞以上指标与 OGD/R 组比较无显著变化。如图 3D 所示,与 Control 组比较,OGD/R 组细胞上清液中 TNF- α 、IL-1 β 水平升高,IL-4、IL-10 水平降低(均 $P < 0.05$);与 OGD/R 组比较,OGD/R + oe-*IQGAP1* 组细胞上清液中 TNF- α 、IL-1 β 水平降低,IL-4、IL-10 水平升高(均 $P < 0.05$),而 OGD/R + Vector 组细胞以上指标与 OGD/R

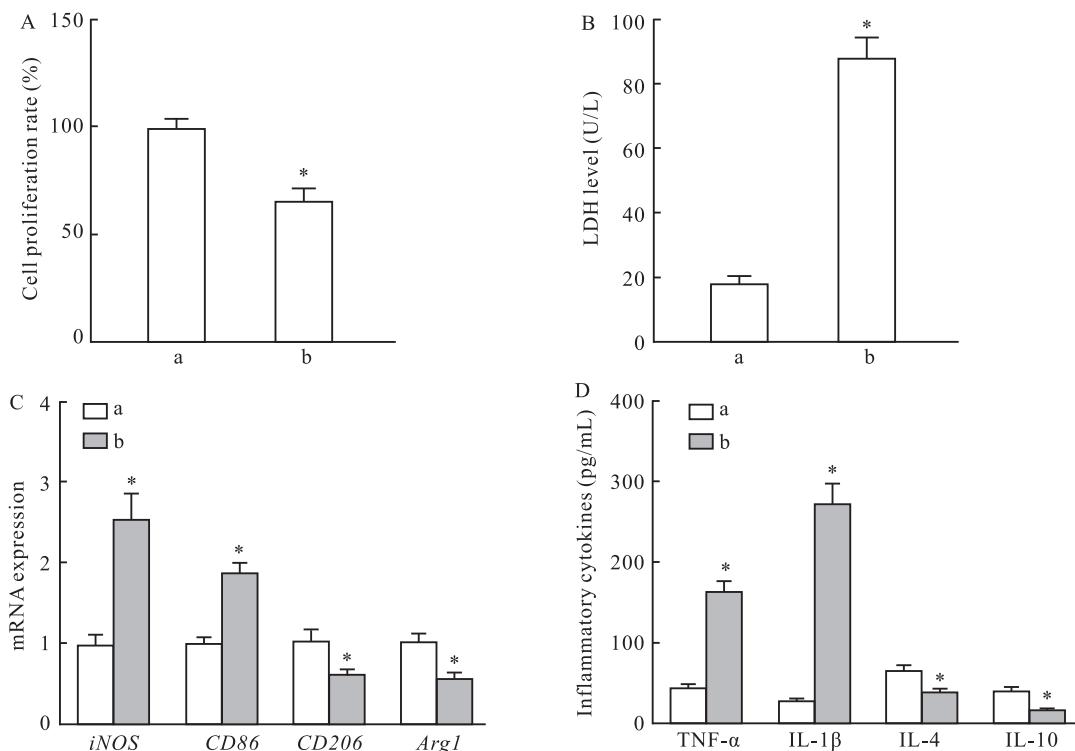
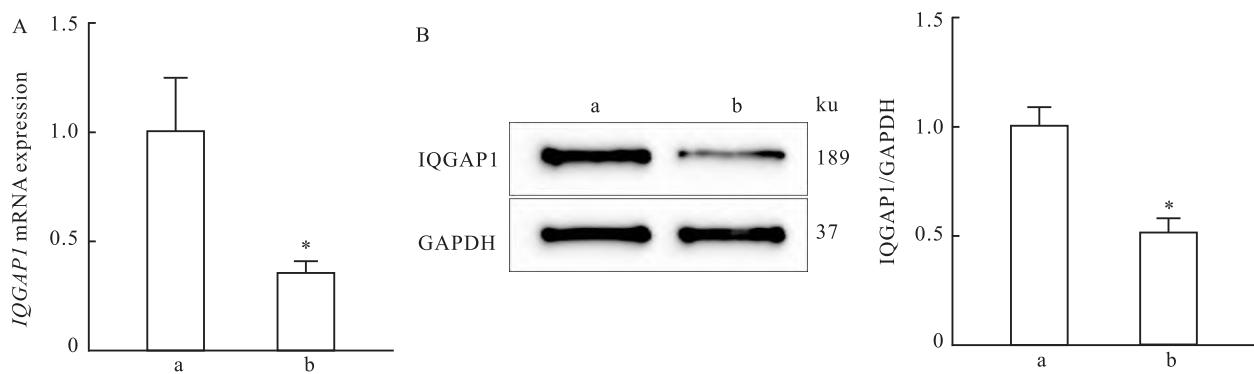


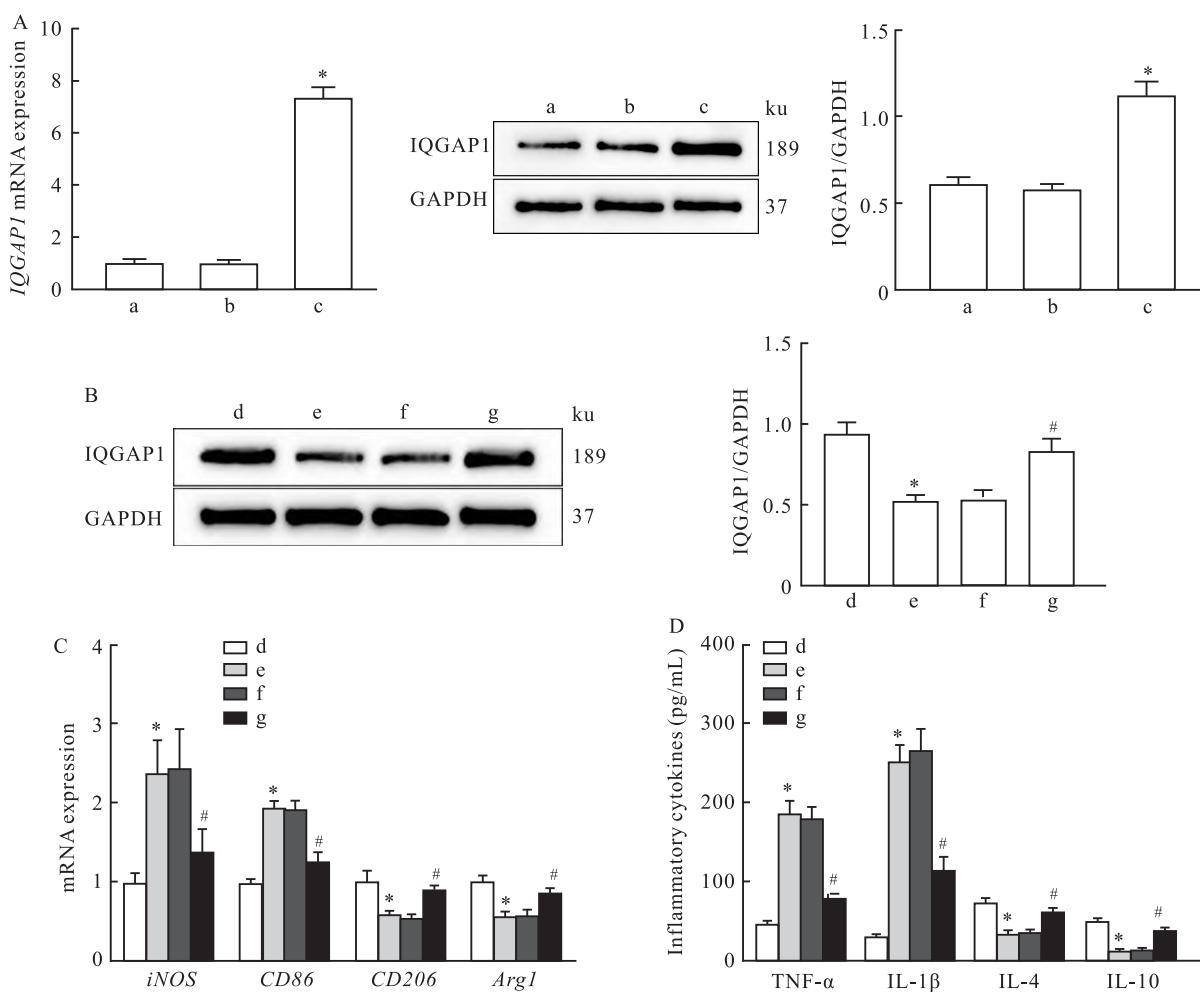
图 1 OGD/R 诱导小胶质细胞损伤及 M1 型极化

Fig. 1 OGD/R induced microglial injury and promoted M1 polarization

A: Cell proliferation rate; B: LDH levels in cell supernatant; C: mRNA levels of microglial polarization markers in cells; D: Inflammatory cytokine levels in cell supernatants; a: Control group; b: OGD/R group; * $P < 0.05$ vs Control group.

图2 $IQGAPI$ 在 OGD/R 诱导的小胶质细胞中低表达Fig. 2 $IQGAPI$ expression was downregulated in microglia subjected to OGD/R induction

A: $IQGAPI$ mRNA expression levels in cells; B: $IQGAPI$ protein expression levels in cells; a: Control group; b: OGD/R group; * $P < 0.05$ vs Control group.

图3 $IQGAPI$ 过表达抑制 OGD/R 诱导的小胶质细胞 M1 型极化Fig. 3 $IQGAPI$ overexpression suppressed OGD/R-induced M1 polarization of microglia

A: Validation of transfection efficiency; B: $IQGAPI$ protein expression levels in cells; C: mRNA levels of microglial polarization markers in cells; D: Inflammatory cytokine levels in cell supernatants; a: Control group; b: Vector group; c: oe-IQGAPI group; d: Control group; e: OGD/R group; f: OGD/R + Vector group; g: OGD/R + oe-IQGAPI group; * $P < 0.05$ vs Control group; # $P < 0.05$ vs OGD/R group.

组比较无显著变化。

2.4 IQGAPI 抑制 OGD/R 诱导的小胶质细胞中 IFN- γ 表达及分泌 如图 4 所示,与 Control 组比较,OGD/R 组细胞中 IFN- γ 蛋白表达及上清液中 IFN- γ 水平升高($P < 0.05$),*IFN- γ* mRNA 表达水平变化差异无统计学意义;与 OGD/R 组比较,OGD/R + oe-IQGAPI 组细胞中 IFN- γ 蛋白表达及上清液中 IFN- γ 水平降低($P < 0.05$),*IFN- γ* mRNA 表达水平变化差异无统计学意义,同时,OGD/R + Vector 组细胞以上指标与 OGD/R 组比较变化差异均无统计学意义。

2.5 IQGAPI 通过下调 IFN- γ 蛋白表达抑制 OGD/R 诱导的小胶质细胞 M1 型极化 如图 5 所示,与 OGD/R 组比较,OGD/R + oe-IQGAPI 组细胞中 *iNOS*、*CD86* mRNA 表达及上清液中 TNF- α 、IL-1 β 水平降低(均 $P < 0.05$),*CD206*、*Arg1* mRNA 表达及 IL-4、IL-10 水平升高(均 $P < 0.05$);OGD/R + IFN- γ

组细胞中 *iNOS*、*CD86* mRNA 表达及上清液中 TNF- α 、IL-1 β 水平升高(均 $P < 0.05$),*CD206*、*Arg1* mRNA 表达及 IL-4、IL-10 水平降低(均 $P < 0.05$)。与 OGD/R + oe-IQGAPI 组比较,OGD/R + oe-IQGAPI + IFN- γ 组细胞中 *iNOS*、*CD86* mRNA 表达及上清液中 TNF- α 、IL-1 β 水平升高(均 $P < 0.05$),*CD206*、*Arg1* mRNA 表达及 IL-4、IL-10 水平降低(均 $P < 0.05$)。

3 讨论

小胶质细胞是中枢神经系统的组织驻留巨噬细胞,在脑组织中含量丰富,主要存在于脑白质和灰质中,其分泌的促炎和抗炎介质几乎涉及所有脑部疾病,包括神经退行性疾病、创伤性脑损伤和精神疾病等^[11]。根据小胶质细胞的形态和功能可分为 M0、M1 和 M2 三类,M0 为“静息”小胶质细胞表型,通过与血管、神经元或其他神经胶质细胞等相互作用感

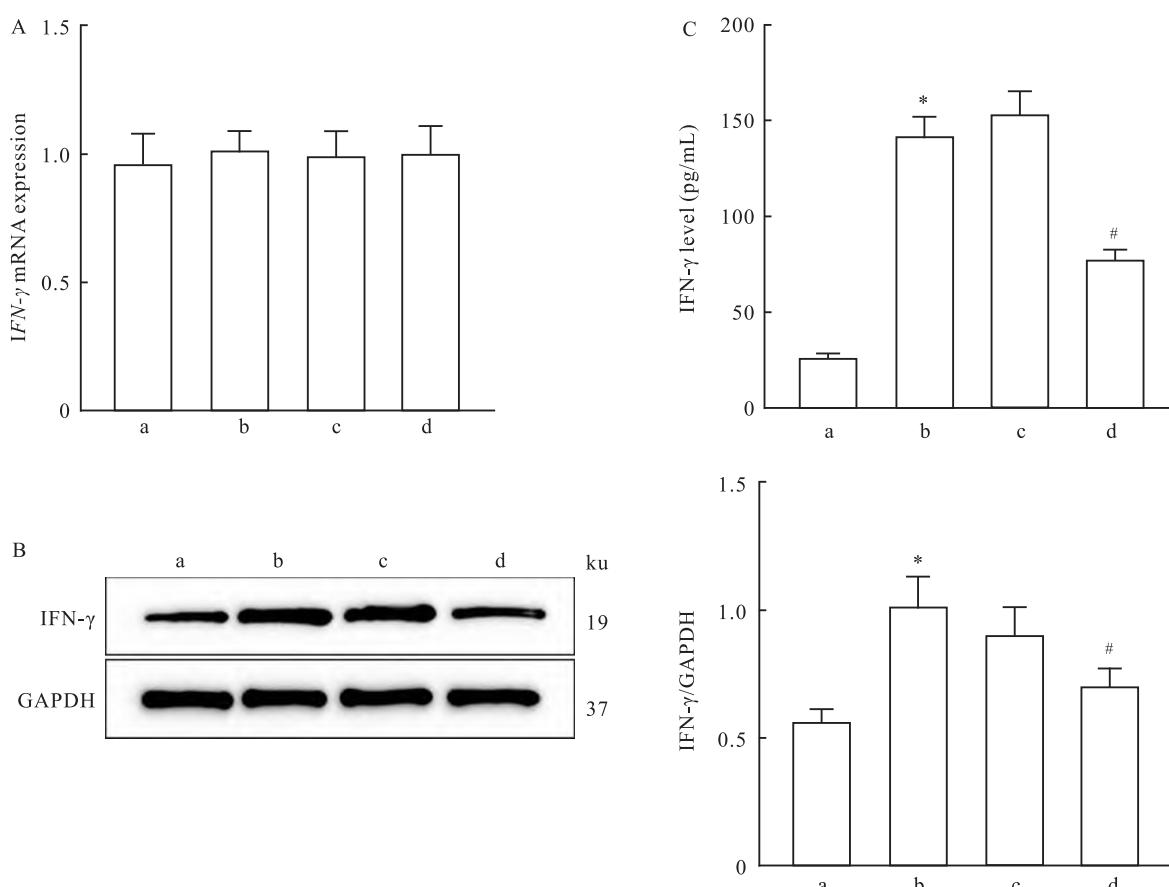


图 4 IQGAPI 抑制 OGD/R 诱导的小胶质细胞中 IFN- γ 表达及分泌

Fig. 4 IQGAPI suppressed OGD/R-induced IFN- γ expression and secretion in microglia

A: *IFN- γ* mRNA expression levels in cells; B: *IFN- γ* protein expression levels in cells; C: *IFN- γ* levels in cell supernatants; a: Control group; b: OGD/R group; c: OGD/R + Vector group; d: OGD/R + oe-IQGAPI group; * $P < 0.05$ vs Control group; # $P < 0.05$ vs OGD/R group.

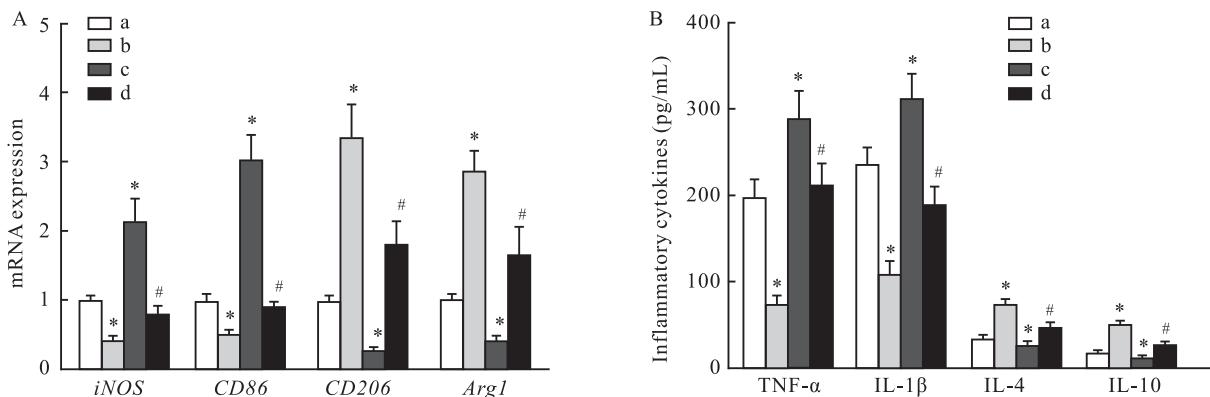


图 5 IQGAPI 通过下调 IFN-γ 蛋白表达抑制 OGD/R 诱导的小胶质细胞 M1 型极化

Fig. 5 IQGAPI inhibited OGD/R-induced M1 polarization of microglia by downregulating IFN-γ protein expression

A: mRNA levels of microglial polarization markers in cells; B: Inflammatory cytokine levels in cell supernatants; a: OGD/R group; b: OGD/R + oe-IQGAPI group; c: OGD/R + IFN-γ group; d: OGD/R + oe-IQGAPI + IFN-γ group; * $P < 0.05$ vs OGD/R group; # $P < 0.05$ vs OGD/R + oe-IQGAPI group.

知微环境,而 M1 表型和 M2 表型更多的参与心脑血管疾病过程,前者分泌 TNF-α、IL-1β、IL-6 等促炎细胞因子和活性氧介导急性免疫反应,后者分泌 IL-4、IL-10 等抗炎细胞因子促进组织修复和脑稳态恢复,M1 型极化状态的小胶质细胞会在一定程度上抑制 M2 型极化状态小胶质细胞的作用^[12-13]。研究表明^[14-15]表明,在脑缺血再灌注损伤初期,局部小胶质细胞和新募集的巨噬细胞启动内源性保护机制,在早期阶段呈现 M2 表型,随后逐渐转变为“病态”的 M1 表型,同时,在体外实验中,M1 极化小胶质细胞加剧了糖氧剥夺诱导的神经元细胞死亡。而本研究采用 OGD/R 法模拟体外脑缺血再灌注环境诱导 BV-2 小胶质细胞活化,结果显示,OGD/R 下的 BV-2 细胞增殖率显著降低,上清液中 LDH 水平升高,细胞中小胶质细胞 M1 极化标志物 iNOS、CD86 mRNA 水平及促炎细胞因子 TNF-α、IL-1β 水平显著升高,M2 极化标志物 CD206、Arg1 mRNA 水平及抗炎细胞因子 IL-4、IL-10 水平显著降低,说明低氧复氧环境中小胶质细胞逐渐活化为 M1 表型,提示促进小胶质细胞向 M2 极化转变,可能是抑制脑缺血再灌注损伤的有效途径。

IQGAPI 是一种支架蛋白,通过直接与肌动蛋白、活性 Rac1/Cdc42 等相互作用,在调节肌动蛋白细胞骨架和细胞迁移中扮演重要角色。众多研究表明 IQGAPI 具有调节免疫细胞功能的作用。如 Awasthi et al^[16] 研究显示, Rap1b 基因通过与 IQGAPI 共定位促进下游一系列蛋白连续磷酸化,帮助 IQGAPI 在细胞核周围形成一个大的信号体以促进

NK 细胞功能;Wen et al^[17] 研究显示,IQGAPI 过表达通过抑制 NF-κB p65 激活,促进感染过程中血管内皮生长因子的产生,进而抑制巨噬细胞以促进分歧杆菌存活,是治疗结核病的一个有效靶点。同时,Urao et al^[18] 研究表明,敲除 IQGAPI 使小鼠缺血肌肉中巨噬细胞浸润和 ROS 生成减少,导致肌肉再生受损,而骨髓移植实验也证明 IQGAPI 是缺血后新生血管形成的必要条件。然而,IQGAPI 在脑缺血再灌注损伤中作用如何,目前尚未见报道。本研究结果显示,IQGAPI 在 OGD/R 诱导的 BV-2 细胞中低表达,而 IQGAPI 过表达可显著抑制 OGD/R 诱导的小胶质细胞 M1 极化,表现为 iNOS、CD86 mRNA 水平和 TNF-α、IL-1β 水平的降低,以及 CD206、Arg1 mRNA 水平和 IL-4、IL-10 水平的升高。提示 IQGAPI 可能通过抑制小胶质细胞 M1 极化在脑缺血再灌注损伤中发挥作用,但其具体机制还需进一步探讨。

IFN-γ 是唯一的 II 型干扰素,也是 Th1 细胞、CD8⁺ T 细胞、NK 细胞和巨噬细胞产生的标志性细胞因子,具有抗肿瘤、抗病毒和免疫调控的作用,可刺激小胶质细胞生成 M1 表型以表达促炎细胞因子^[19]。研究^[20] 表明,缺乏 IQGAPI 的 CD8⁺ T 细胞以及敲除 IQGAPI 的 Jurkat T 细胞在 TCR 受体激活后表现出过度的反应,表现为 IL-2 和 IFN-γ 的产生增加,提示 IQGAPI 可能通过调控 IFN-γ 表达影响小胶质细胞极化。本研究结果显示,IQGAPI 过表达后,OGD/R 诱导的 BV-2 细胞中 IFN-γ 蛋白表达水平和上清液中 IFN-γ 水平均显著降低,而 IFN-γ

mRNA 水平无显著变化, 推测二者之间可能通过蛋白互作发挥作用。因此, 该研究采用外源性 IFN- γ 重组蛋白联合干预细胞, 结果显示, IFN- γ 蛋白干预明显逆转了 *IQGAP1* 过表达对 OGD/R 诱导 BV-2 细胞 M1 极化的抑制作用, 表现为 M1 极化标志物和促炎细胞因子水平的再次升高。说明 *IQGAP1* 是通过下调 IFN- γ 蛋白水平抑制小胶质细胞 M1 极化的。

综上所述, 该研究从体外水平初步证明了 *IQGAP1* 过表达可抑制 OGD/R 条件下小胶质细胞的 M1 极化, 并促使其向 M2 极化转变, 其作用机制可能与抑制 IFN- γ 分泌及表达有关。该研究为脑缺血再灌注损伤的临床治疗提供了新的靶点, 但 *IQGAP1* 与 IFN- γ 之间是否存在直接的蛋白互作关系, 该过程中是否还涉及特定的信号通路发挥协同作用, 都还有待进一步研究, 并在体内水平作进一步验证。

参考文献

- [1] 张艳, 周霞, 王幼萌, 等. 急性缺血性脑卒中机械取栓术后出血转化及其对预后的影响 [J]. 安徽医科大学学报, 2022, 57(6):987–90. doi:10.19405/j.cnki.issn1000–1492.2022.06.027.
- [1] Zhang Y, Zhou X, Wang Y M, et al. Hemorrhagic transformation after mechanical thrombectomy for acute ischemic stroke and its effect on prognosis [J]. Acta Univ Med Anhui, 2022, 57(6):987–90. doi:10.19405/j.cnki.issn1000–1492.2022.06.027.
- [2] Li M, Tang H, Li Z, et al. Emerging treatment strategies for cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. Neuroscience, 2022, 507: 112–24. doi:10.1016/j.neuroscience.2022.10.020.
- [3] Tao W, Zhang G, Liu C, et al. Low-dose LPS alleviates early brain injury after SAH by modulating microglial M1/M2 polarization via USP19/FOXO1/IL-10/IL-10R1 signaling [J]. Redox Biol, 2023, 66: 102863. doi:10.1016/j.redox.2023.102863.
- [4] Li R, Jia H, Si M, et al. Loureirin B protects against cerebral ischemia/reperfusion injury through modulating M1/M2 microglial polarization via STAT6/NF-kappaB signaling pathway [J]. Eur J Pharmacol, 2023, 953: 175860. doi:10.1016/j.ejphar.2023.175860.
- [5] 黄钰婷, 周升, 黄佳丽, 等. 小胶质细胞活化对脑缺血再灌注大鼠缺血区域神经元树突棘的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(20): 5005–9. doi: 10.3969/j.issn.1005–9202.2024.20.033.
- [5] Huang Y T, Zhou S, Huang J L, et al. Effect of microglia activation on dendritic spines of neurons in ischemic area of rats with cerebral ischemia-reperfusion [J]. Chin J Gerontol, 2024, 44(20): 5005–9. doi: 10.3969/j.issn.1005–9202.2024.20.033.
- [6] Emadali A, Muscatelli-Groux B, Delom F, et al. Proteomic analysis of ischemia-reperfusion injury upon human liver transplantation reveals the protective role of IQGAP1 [J]. Mol Cell Proteomics, 2006, 5(7): 1300–13. doi: 10.1074/mcp.M500393 – MCP200.
- [7] Hou L, Hsu A, Luo H, et al. IQGAP1 influences neutrophil maturation and its effector functions [J]. Eur J Immunol, 2025, 55(2): e202451349. doi:10.1002/eji.202451349.
- [8] Tocker A M, Durocher E, Jacob K D, et al. The scaffolding protein IQGAP1 interacts with NLRC3 and inhibits type I IFN production [J]. J Immunol, 2017, 199(8): 2896–909. doi:10.4049/jimmunol.1601370.
- [9] 李智勇, 陈政刚, 彭俊. 雌激素受体 GPR30 通过 TXNIP/NLRP3 信号通路减弱氧糖剥夺/复氧诱导的 BV-2 细胞氧化应激损伤和炎症反应 [J]. 重庆医科大学学报, 2023, 48(6): 636–40. doi:10.13406/j.cnki.cyxb.003254.
- [9] Li Z Y, Chen Z G, Peng J. Estrogen receptor GPR30 attenuates oxygen-glucose deprivation and reperfusion-induced oxidative stress injury and inflammation in BV-2 cells through TXNIP/NLRP3 signaling pathway [J]. J Chongqing Med Univ, 2023, 48(6): 636–40. doi:10.13406/j.cnki.cyxb.003254.
- [10] Pan M L, Ahmad Puzi N N, Ooi Y Y, et al. Response profiles of BV2 microglia to IFN- γ and LPS co-stimulation and priming [J]. Biomedicines, 2023, 11(10): 2648. doi: 10.3390/biomedicines11102648.
- [11] Andoh M, Koyama R. Microglia regulate synaptic development and plasticity [J]. Dev Neurobiol, 2021, 81(5):568–90. doi: 10.1002/dneu.22814..
- [12] Wang M, Pan W, Xu Y, et al. Microglia-mediated neuroinflammation: a potential target for the treatment of cardiovascular diseases [J]. J Inflamm Res, 2022, 15: 3083–94. doi:10.2147/JIR.S350109.
- [13] Zhang S. Microglial activation after ischaemic stroke [J]. Stroke Vasc Neurol, 2019, 4(2):71–4. doi: 10.1136/svn–2018–000196.
- [14] Hu X, Li P, Guo Y, et al. Microglia/macrophage polarization dynamics reveal novel mechanism of injury expansion after focal cerebral ischemia [J]. Stroke, 2012, 43(11): 3063–70. doi:10.1161/STROKEAHA.112.659656.
- [15] Liu X, Zhang M, Liu H, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes attenuate cerebral ischemia-reperfusion injury-induced neuroinflammation and pyroptosis by modulating microglia M1/M2 phenotypes [J]. Exp Neurol, 2021, 341: 113700. doi:10.1016/j.expneurol.2021.113700.
- [16] Awasthi A, Samarakoon A, Chu H, et al. Rap1b facilitates NK cell functions via IQGAP1-mediated signalosomes [J]. J Exp Med, 2010, 207(9): 1923–38. doi:10.1084/jem.20100040.
- [17] Wen X, Li D, Wang H, et al. IQGAP1 domesticates macrophages to favor mycobacteria survival via modulating NF- κ B signal and augmenting VEGF secretion [J]. Int Immunopharmacol, 2024, 138: 112549. doi:10.1016/j.intimp.2024.112549.
- [18] Urao N, Razvi M, Oshikawa J, et al. IQGAP1 is involved in post-ischemic neovascularization by regulating angiogenesis and macrophage infiltration [J]. PLoS One, 2010, 5(10): e13440. doi:

10. 1371/journal.pone.0013440.
- [19] Yang S, Yuan Z, Zhu Y, et al. Multi-omics analysis reveals GAPDH posttranscriptional regulation of IFN- γ and PHGDH as a metabolic checkpoint of microglia polarization [J]. *Brain Behav Immun*, 2024, 117: 155 – 66. doi:10.1016/j.bbi.2024.01.009.
- [20] Gorman J A, Babich A, Dick C J, et al. The cytoskeletal adaptor protein IQGAP1 regulates TCR-mediated signaling and filamentous actin dynamics [J]. *J Immunol*, 2012, 188 (12): 6135 – 44. doi:10.4049/jimmunol.1103487.

The role and mechanism of *IQGAP1* in oxygen-glucose deprivation/reoxygenation induced microglial polarization

Chao Bo¹, Ren Junhao¹, Guo Ruoyu¹, Su Youle¹, Ma Ying²

(¹*Dept of Neurosurgery*, ²*Thoracic surgery, Inner Mongolia Medical University Affiliated Hospital, Hohhot 010050*)

Abstract Objective To investigate the role and mechanism of IQ motif containing GTPase activating protein 1 (*IQGAP1*) in oxygen-glucose deprivation/reoxygenation (OGD/R)-induced polarization of BV-2 microglia cells.

Methods The *IQGAP1* overexpression plasmid (oe-*IQGAP1*) and its negative control plasmid (Vector) were transfected into BV-2 cells, and then the polarization of BV-2 cells was induced by OGD/R, and exogenous interferon- γ (IFN- γ) recombinant protein was used for intervention. Cell proliferation rate was detected by cell counting kit-8 (CCK-8) assay. The level of lactate dehydrogenase (LDH) in the supernatant was detected using a test kit. The mRNA expression levels of *IQGAP1*, IFN- γ and microglial polarization markers inducible nitric oxide synthase (*iNOS*), *CD86*, *CD206* and arginase1 (*Arg1*) were detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR). The levels of IFN- γ , tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-1 β , IL-4 and IL-10 in the cell supernatant were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The protein expression levels of IQGAP1 and IFN- γ were detected by Western blot. **Results** Following OGD/R treatment, the proliferation rate of BV-2 cells, the levels of IL-4 and IL-10 in the supernatant, and the mRNA expression levels of *CD206* and *Arg1* were significantly reduced (all $P < 0.05$). In contrast, the levels of LDH, TNF- α and IL-1 β in the supernatant, as well as the mRNA expression levels of *iNOS* and *CD86* in the cells significantly increased (all $P < 0.05$). Moreover, both the mRNA and protein expression levels of *IQGAP1* in the cells significantly decreased ($P < 0.05$). Following *IQGAP1* overexpression, the levels of IL-4 and IL-10 in the supernatant of BV-2 cells, along with the mRNA expression levels of *CD206* and *Arg1* in the cells, were significantly elevated under OGD/R conditions (all $P < 0.05$). Meanwhile, the levels of TNF- α and IL-1 β in the supernatant and the mRNA expression levels of *iNOS* and *CD86* in the cells significantly decreased (all $P < 0.05$). Additionally, both the intracellular expression and secretion of IFN- γ protein were reduced (all $P < 0.05$), whereas the mRNA expression of IFN- γ remained unchanged. However, combined intervention with exogenous IFN- γ recombinant protein obviously reversed the inhibitory effect of *IQGAP1* overexpression on OGD/R-induced M1 polarization of microglia. **Conclusion** *IQGAP1* overexpression inhibits M1 polarization of microglia under OGD/R conditions through the suppression of IFN- γ expression and secretion.

Key words microglia; M1 polarization; oxygen-glucose deprivation/reoxygenation; IQ motif containing GTPase activating protein 1; interferon- γ

Fund programs Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (No. 2023LHMS08029); High-Level Clinical Specialty Construction Science and Technology Project for Public Hospitals in Capital Region of Inner Mongolia Autonomous Region (No. 2024SGGZ083)

Corresponding author Su Youle, E-mail: youlesumeng@163.com