

- homolog that binds Arp2/3 complex to stimulate filament de-branching and inhibit actin nucleation [J]. *Curr Biol*, 2010, 20 (9): 861-867.
- [4] Lippert D N. Glia maturation factor gamma regulates the migration and adherence of human T lymphocytes [J]. *Bmc Immunology*, 2012, 13 (10): 21.
- [5] Aerbajinai W, Liu L, Chin K, et al. Glia maturation factor- $\gamma$  mediates neutrophil chemotaxis [J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2011, 90 (3): 529-538.
- [6] Takeshi O, Yuki K, Yuichi A, et al. COXPRESdb v7: a gene coexpression database for 11 animal species supported by 23 coexpression platforms for technical evaluation and evolutionary inference [J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47 (D1): D55-D62.
- [7] Mahlamäki E H, Kauraniemi P, Monni O, et al. High-resolution genomic and expression profiling reveals 105 putative amplification target genes in pancreatic cancer [J]. *Neoplasia*, 2004, 6 (5): 432-439.
- [8] Riina K, Kimmo S, Azorsa D O, et al. Intersex-like (IXL) is a cell survival regulator in pancreatic cancer with 19q13 amplification [J]. *Cancer Research*, 2007, 67 (5): 1943-1949.
- [9] Li Y L, Ye F, Cheng X D, et al. Identification of glia maturation factor beta as an independent prognostic predictor for serous ovarian cancer [J]. *European Journal of Cancer*, 2010, 46 (11): 2104-2118.
- [10] Wang H, Chen Z, Chang H, et al. Expression of glia maturation factor  $\gamma$  is associated with colorectal cancer metastasis and its downregulation suppresses colorectal cancer cell migration and invasion in vitro [J]. *Oncology Reports*, 2017, 37 (2): 929-936.
- [11] Szczerba B M, Castro-Giner F, Vetter M, et al. Neutrophils escort circulating tumour cells to enable cell cycle progression [J]. *Nature*, 2019, 566 (7745): 553-557.

## • 基础研究 •

# HO-1 过表达抑制 NLRP1 通路活化在脊髓损伤中发挥保护作用的实验研究

福建医科大学附属第二医院急诊科 (泉州 362000) 陈炳基 蒋小燕 杨建胜<sup>1</sup>

**【摘要】** **目的** 探讨血红素加氧酶-1 (HO-1) 在脊髓损伤 (SCI) 中的保护作用及其机制。**方法** 采用压迫损伤法构建 SCI 模型, 将大鼠随机分为假手术组 (Sham 组)、单纯 SCI 组 (Vehicle 组)、腺相关病毒感染 SCI 大鼠组 (A-C 组) 和过表达 HO-1 的腺相关病毒感染 SCI 大鼠组 (A-HO-1 组)。Western blot 检测 HO-1、NLRP1、NLRP3、NLRC4 和 caspase-1 的表达, 免疫荧光检测 HO-1 和 MAP2 的表达定位, 原位缺口末端标记法 (TUNEL) 检测脊髓组织细胞凋亡, 后肢行为学 (Basso-Beattie-Bresnahan, BBB) 评分评估大鼠后肢运动功能。**结果** SCI 后 HO-1 表达增加, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与 A-C 组相比, A-HO-1 组中 HO-1 水平明显升高, NLRP1、pro-caspase-1、caspase-1 中 p20 表达水平和凋亡细胞数显著降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。损伤后 3、7、14、21 d, A-HO-1 组大鼠 BBB 评分较 Vehicle 组和 A-C 组显著升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。**结论** 过表达 HO-1 通过抑制 NLRP1 炎性复合物激活而减少 SCI 后细胞凋亡和改善大鼠后肢运动功能, 对 SCI 大鼠起保护作用。

**【关键词】** 脊髓损伤; 血红素加氧酶-1; 炎性小体; 基因治疗

**【中图分类号】** R68 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1002-2600(2020)02-0115-05

**Experimental study on the protective effect of HO-1 overexpression on NLRP1 pathway activation in spinal cord injury** CHEN Bingji, JIANG Xiaoyan, YANG Jiansheng. *Emergency Department, the Second Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Quanzhou, Fujian 362000, China*

**【Abstract】** **Objective** To investigate the protective effect of heme oxygenase-1 (HO-1) on spinal cord injury (SCI) and its mechanism. **Methods** SCI model was established by compression injury, and the rats were randomly divided into sham group, simple SCI group (Vehicle group), adeno-associated virus infected SCI group (A-C group) and adeno-associated virus overexpressing HO-1 infected SCI group (A-HO-1 group). The expression of HO-1, NLRP1, NLRP3, NLRC4 and caspase-1 was detected by Western blot, HO-1 and MAP2 expression were detected by immunofluorescence, cell apoptosis of spinal cord tissues was measured by TUNEL, and motor function of hind limbs was evaluated by Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) score. **Results** The expression of HO-1 was increased significantly after SCI ( $P < 0.05$ ). Compared with A-C group, the expression of HO-1 increased significantly, the expression of NLRP1, pro-caspase-1, caspase-1 p20 and the proportion of apoptotic cells de-

基金项目: 福建省卫生计生青年科研项目 (2017-1-59)

<sup>1</sup> 通信作者

creased significantly in A-HO-1 ( $P < 0.05$ ) group. The BBB score was significantly higher in the A-HO-1 group than that in the Vehicle and A-C groups at 3, 7, 14, and 21 days after SCI ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Overexpression of HO-1 can protect SCI rats by inhibiting the activation of NLRP1 inflammasome, reducing cell apoptosis and improving motor function of hind limbs.

**【Key words】** spinal cord injury; heme oxygenase-1; inflammasome; gene therapy

脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 是中枢神经系统的重大创伤性疾病, 风险高和治愈率低, 且发生率逐年增加, 给人类的健康带来极大的危害<sup>[1]</sup>。尽管到目前关于 SCI 的分子机制已有一定的研究进展, 但确切的机制仍然不尽清楚, 还需更多的研究探讨<sup>[2]</sup>。越来越多的研究发现, 各种病理条件能诱导血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 表达增加, 从而保护细胞在病理环境中发生损伤<sup>[3]</sup>。而在神经系统中的研究也表明, 脑损伤和 SCI 发生时, HO-1 表达增加, 进而发挥脑保护和神经元保护的作用<sup>[4]</sup>。但关于 HO-1 在 SCI 中发挥保护作用的具体分子机制, 目前研究还不多。同时, 炎症小体是固有免疫系统的一个重要组成部分, 主要由核苷酸结合寡聚化结构域样受体 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors, NLRs)、凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC) 和半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 (caspase-1) 3 部分组成, 其活化能促进白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-18 等促炎因子的成熟和分泌, 促进炎症反应而在多种病理环境中居于关键调控地位<sup>[5]</sup>。SCI 同样能引起炎症反应, 并且炎症反应能进一步扩大损伤的发生。因此, HO-1 是否能通过调控炎症小体而在 SCI 中发挥神经保护作用值得深入研究探讨, 从而为 SCI 的治疗提供有效的作用靶点。

## 1 材料与方法

**1.1 材料:** 健康 SD 雄性大鼠, 6 月龄, 体质量 280~320 g, 购自福建医科大学实验动物中心 [实验动物质量合格证号 2008001669158, 生产许可证号 SCXK (沪) 2017-0005]; 腺相关病毒载体 (上海纽恩公司); 抗 HO-1 抗体 (美国 CST 公司); 抗 NLRP1、抗 NLRP3、抗 NLRC4 和抗 pro-caspase-1 抗体 (Abcam 公司); 抗 caspase-1 抗体 (Santa Cruz 公司); 原位缺口末端标记法 (TUNEL) 试剂盒 (德国 Merck 公司); Western blot 抗体孵育盒 (上海 WHB 公司) 等。

## 1.2 方法:

**1.2.1 HO-1 重组腺相关病毒包装:** pAOV-CMV-EGFP 腺相关病毒载体进行双酶切, 克隆 HO-1 的编码区, 经测序验证。将克隆有 HO-1 的 pAOV-CMV-EGFP 质粒或空载体与辅助质粒 pHelper 和包装质粒 pAAV-RC 转染包装细胞, 获得 HO-1 和无外源基因表达的重组腺相关病毒。将所获得的病毒液稀释后, 利用斑点杂交法测定滴度, 其中经空载体包装成的病毒滴度为  $7.5 \times 10^{12}$  基因拷贝数/mL, HO-1 重组腺相关病毒滴度为  $5.5 \times 10^{12}$  基因拷贝数/mL。

**1.2.2 大鼠 SCI 模型的建立:** 所有大鼠应用完全随机法分为 4 组: 1) 假手术组 (Sham 组): 只进行椎板减压, 无

SCI 无治疗; 2) 单纯 SCI 组 (Vehicle 组): SCI 前 7 d 向脊髓内注射生理盐水, 进行椎板减压后, 采用压迫损伤法构建 SCI 模型, 以 2%~3% 异氟醚 (流速 1 L/min) 吸入麻醉, 将大鼠俯卧, 消毒、铺洞巾, 暴露 T12 脊髓组织后, 将 50 g 重物压迫 T12 脊髓后部中央区域 (面积 2 mm $\times$ 5 mm), 压迫时间 5 min, 然后逐层缝合; 3) 空载体组 (A-C 组): SCI 前 7 d 感染空载体包装的腺相关病毒, 进行椎板减压后, 采用压迫损伤法构建 SCI 模型; 4) HO-1 过表达腺相关病毒载体组 (A-HO-1 组): SCI 前 7 d 感染 HO-1 过表达的腺相关病毒, 进行椎板减压后, 采用压迫损伤法构建 SCI 模型。

**1.2.3 Western blot:** 取脊髓组织及脊髓神经元, 提取总蛋白, 检测蛋白浓度, 电泳分离蛋白后电转至聚偏氟乙烯膜上, 取膜后封闭, 先后加入一抗和二抗, 增强化学发光显色剂显色, 应用 Gel-Pro Analyzer 软件分析结果条带的积分吸光度值, 计算相对表达量。

**1.2.4 免疫荧光:** 取脊髓组织石蜡切片脱蜡, 抗原修复 30 min, 加入抗 HO-1 或抗 MAP2 一抗, 接着加入 Alexa Fluor 488 标记的驴抗兔 IgG 二抗和 Alexa Fluor 594 标记的鸡抗山羊 IgG 二抗, 封片后在 Leica DMIRE2 荧光显微镜下观察。

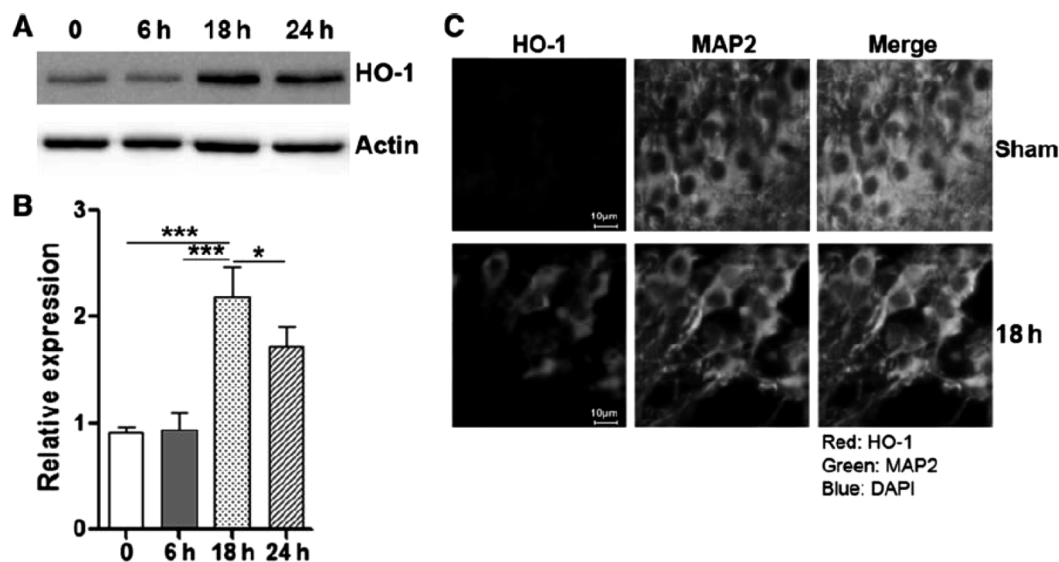
**1.2.5 TUNEL 法检测脊髓细胞凋亡:** 取脊髓组织石蜡切片处理, 消化、冲洗、固定、通透之后, TUNEL 反应液染色, 荧光倒置显微镜下观察。随机取 5 个视野, 计数呈现绿色荧光的凋亡细胞, 取平均值, 重复 3 次。

**1.2.6 后肢行为学评分:** 大鼠 SCI 前和 SCI 后 1、3、7、14、21 d 进行后肢行为学 (Basso-Beattie-Bresnahan, BBB) 评分, 评价大鼠后肢运动功能, 由 2 位熟练掌握该评分标准的人员, 采用双盲、双人独立观察记录, 最后取平均值。

**1.3 统计学分析:** 用 SPSS 19.0 统计软件进行分析。计数资料以均数 $\pm$ 标准差表示, 采用单因素方差分析来比较各组因子表达, 采用重复测量方差分析比较各组 BBB 运动功能评分。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

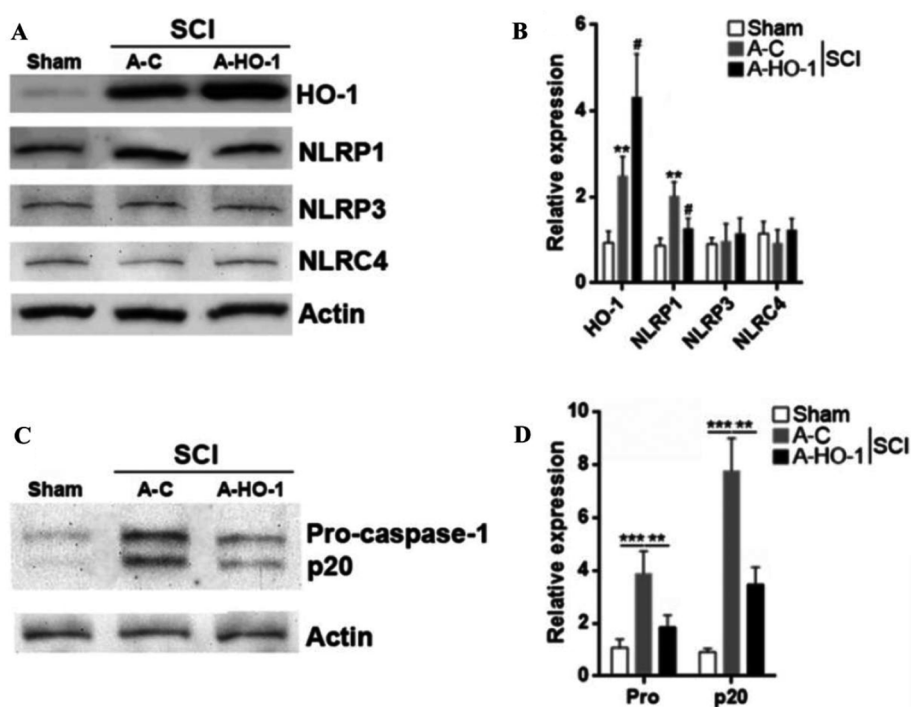
## 2 结果

**2.1 HO-1 在 SCI 大鼠中的表达:** 大鼠脊髓发生损伤后 6 h, HO-1 的表达差异不显著; 但损伤发生 18 h 时, HO-1 的表达显著增加, 表明 SCI 能诱导 HO-1 表达; 在损伤发生 24 h 时, HO-1 的表达仍然呈现比较高的水平, 与正常大鼠相比差异有统计学意义 (图 1A, B)。进一步用免疫荧光检测 HO-1 在 SCI 大鼠中的表达定位发现, HO-1 与微管相关蛋白 2 (microtubule-associated protein-2, MAP2) 共表达 (图 1C)。MAP2 是神经元特异表达的细胞骨架蛋白, 可作为神经细胞的表型标记物。因此, SCI 主要诱导神经元高表达 HO-1。



注：A，构建 SCI 大鼠模型，于损伤后 0、6、18 和 24 h 分别用 Western blot 检测 HO-1 在脊髓组织中的表达水平，Actin 为内参。B，定量分析 HO-1 的相对表达程度。与 0 h 组相比，\*  $P < 0.05$  和 \*\*\*  $P < 0.001$ ，差异有统计学意义。C，免疫荧光检测 HO-1 的表达定位。Sham：假手术组；18 h：SCI 发生后 18 h。

图 1 HO-1 在 SCI 大鼠中的表达



注：A，HO-1 过表达的重组腺相关病毒感染 SCI 大鼠后，Western blot 检测 HO-1、NLRP1、NLRP3 和 NLRC4 的表达。B，定量分析蛋白的相对表达程度。C，Western blot 检测 caspase-1 酶原（pro-caspase-1）和催化亚基 p20 的表达。D，定量分析蛋白的相对表达程度。Sham：假手术组；A-C：阴性重组腺相关病毒感染 SCI 大鼠；A-HO-1：HO-1 过表达的重组腺相关病毒感染 SCI 大鼠；Pro：pro-caspase-1。与 Sham 组相比，\*\*\*  $P < 0.001$  和 \*\*\*\*  $P < 0.0001$ ；与 A-C 组相比，#  $P < 0.05$ ，差异均有统计学意义。

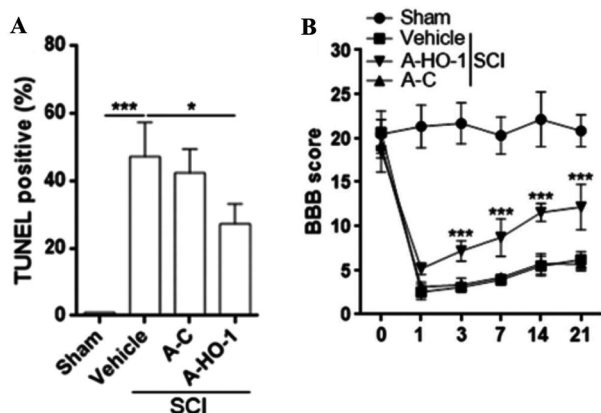
图 2 HO-1 与炎性小体在 SCI 大鼠中的关系

**2.2 HO-1 对 SCI 大鼠中炎性小体通路的调控：**脊髓损伤能上调 HO-1 的表达，HO-1 通常发挥保护作用，而炎性复合物具有促进损伤的功能<sup>[6-7]</sup>，因此研究进一步探讨 HO-1 在

SCI 中的升高与 NLRP1 炎性复合物的关系。构建 HO-1 过表达的重组腺相关病毒感染 SCI 大鼠，结果表明 HO-1 表达显著增加；与阴性对照组（A-C）相比，NLRP1 的表达显

著下调,说明 HO-1 表达增加能下调 NLRP1 的表达(图 2A, B)。不过 NLRP3 和 NLRC4 的表达不受影响,表明 HO-1 主要通过抑制 NLRP1 而发挥作用。同时对 Caspase-1 的无活性酶原(pro-caspase-1)和催化亚基 p20 进行检测,可见 HO-1 能显著下调两者的表达(图 2C, D),表明 HO-1 可以通过抑制 NLRP1/caspase-1 炎性复合物活化而减少炎症发生。

**2.3 HO-1 对 SCI 大鼠细胞凋亡和行为学的影响作用:**对 SCI 大鼠细胞凋亡情况进行检测,脊髓损伤(Vehicle 组)时细胞凋亡显著增多;用 HO-1 过表达的重组腺相关病毒感染 SCI 大鼠时,HO-1 过表达能显著减少 SCI 大鼠的细胞凋亡,而阴性重组腺相关病毒(A-C 组)感染对细胞凋亡的影响作用不明显,表明 HO-1 降低细胞凋亡的作用是其特异的(图 3A)。进一步用 BBB 评分评价大鼠的后肢运动功能,结果发现 Vehicle 组的 BBB 评分显著减少,而用 HO-1 过表达的重组腺相关病毒感染 SCI 大鼠时, BBB 评分显著回升(图 3B)。因此,在 SCI 大鼠中,HO-1 过表达能显著减少细胞凋亡和改善大鼠后肢运动功能。



注: HO-1 过表达的重组腺相关病毒感染 SCI 大鼠后, TUNEL 法检测脊髓的细胞凋亡(A), BBB 评分评价大鼠的后肢运动功能(B)。Sham: 假手术组; Vehicle 组: SCI 大鼠组; A-C: 阴性重组腺相关病毒感染 SCI 大鼠; A-HO-1: HO-1 过表达的重组腺相关病毒感染 SCI 大鼠。\* 为  $P < 0.05$  和 \*\* 为  $P < 0.001$  与 Sham 组相比, 差异均有统计学意义。

图 3 HO-1 对 SCI 大鼠细胞凋亡和行为学的调控

### 3 讨论

SCI 的疗效目前仍不理想, 因此探讨清楚 SCI 发生发展的分子机制, 从而寻找有效的治疗手段具有迫切的临床意义。

本研究发现, 在 SCI 的进展过程中, HO-1 的表达显著增加, 主要表达于神经元细胞中。HO-1 是一种诱导型的热休克蛋白, 多种病理条件能诱导 HO-1 的表达, 从而对损伤细胞起到保护作用<sup>[8]</sup>。Yamada 等<sup>[9]</sup>也发现, SCI 小鼠高表达 HO-1, 并且认为其表达增加具有维持脊髓功能和改善损伤的作用。又有研究表明, LXA4 通过激活 Akt/Nrf2/HO-1 信号通路而保护脊髓免受损伤<sup>[10]</sup>。SCI 大鼠腹腔内注射氯化锂后, 神经病变减少, 运动功能明显改善, 同时 HO-1 表

达增加, 表明氯化锂通过激活 HO-1 而发挥保护作用<sup>[11]</sup>。Li 等<sup>[12]</sup>在 SCI 小鼠模型的研究中发现, 抑制 TREM1 表达能上调 HO-1 表达, 从而减少炎症和氧化应激, 最终显著改善 SCI 的预后。G-Rb1 治疗能显著减少 SCI 大鼠的脊髓神经元变性/坏死和炎性细胞浸润, 并且上调 HO-1 表达, 因而认为 G-Rb1 通过激活 eNOS/Nrf2/HO-1 通路而减轻损伤脊髓的氧化应激<sup>[13]</sup>。上述研究均表明, HO-1 在 SCI 中具有重要的作用, 其表达上调具有明显改善损伤的作用。

本研究进一步包装过表达 HO-1 的腺相关病毒感染 SCI 大鼠, 结果发现 HO-1 表达上调能显著下调 NLRP1、pro-caspase-1 和 caspase-1 中 p20 的表达, 不过对 NLRP3 和 NLRC4 的表达影响不显著, 表明 HO-1 主要通过抑制 NLRP1/caspase-1 炎性复合物活化而减少炎症发生。研究同时还表明, HO-1 过表达能显著减少脊髓组织中的细胞凋亡, 改善大鼠后肢运动功能。因此, HO-1 能通过抑制 NLRP1 炎症小体活化而在 SCI 大鼠中发挥保护作用。林文平等<sup>[14]</sup>进行类似的研究也表明, HO-1 过表达能显著减少 SCI 大鼠的凋亡细胞数, bax 蛋白表达减少, 明显改善 SCI 后运动功能的恢复, 从而在 SCI 大鼠中发挥保护作用, 不过他们并没有深入探讨 HO-1 功能发挥的主要分子机制。Lee 等<sup>[15]</sup>用比格犬构建 SCI 模型, 然后将过表达 HO-1 的间充质干细胞移植进 SCI 比格犬中, 移植 7 周后 SCI 比格犬的功能恢复明显改善, 纤维化和小胶质细胞浸润明显减少, 神经元标记物的表达水平显著升高, 而肿瘤坏死因子  $\alpha$ 、白细胞介素-6 和环氧化酶 2 等炎症相关因子表达水平显著降低, 从而证明 HO-1 具有显著的促进脊髓损伤后功能恢复的作用。Khan 等<sup>[16]</sup>将过表达 HO-1 和 BDNF 的间充质干细胞注射进 SCI 比格犬中, 发现比格犬后肢功能明显改善, BBB 评分较高, 神经再生能力明显增强, 炎症标志物 IL-6 和 TNF- $\alpha$  表达降低, 而 IL-10 表达增加, 表明 HO-1 与 BDNF 间充质干细胞共移植后, HO-1 可减少炎症, 有利于犬脊髓损伤中 BDNF 诱导的神经再生, 从而能更有效地促进脊髓损伤的愈合。

炎症小体是介导炎症反应的关键调控因子, 能促进多种炎症因子的释放而促进病理损伤的进程<sup>[17]</sup>。Mousavi 等<sup>[18]</sup>的研究发现, 在 SCI 大鼠中, NLRP1、ASC、caspase-1、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-18 的表达显著增加。Mohamadi 等<sup>[19]</sup>将华顿氏胶间充质干细胞移植到 SCI 大鼠后发现, NLRP1、ASC、caspase-1、IL-1 $\beta$ 、IL-18 和 TNF- $\alpha$  的表达显著减少。吴立堂等<sup>[20]</sup>则表明, 丙磺舒治疗能显著减少 SCI 大鼠神经元变性坏死和脊髓损伤, 同时减少 caspase-1、XIAP 和 IL-1 $\beta$  的蛋白表达。因此, NLRP1 组成的炎症小体是 SCI 炎症反应的主要诱导者, 而 HO-1 抑制 NLRP1 炎症小体信号通路对减少 SCI 的发生具有良好的效果。

因此, SCI 进展过程中 HO-1 表达增加具有神经保护作用, 能抑制 NLRP1 炎症小体通路的活化, 减少炎症反应和细胞凋亡, 改善运动功能而利于损伤的恢复。对 HO-1 的更多深入研究将会为 SCI 的治疗提供一种更合适的手段。

### 参考文献

- [1] Kou Z, Sun D. New era of treatment and evaluation of traumatic brain injury and spinal cord injury [J]. Neural Regen



- Res, 2016, 11 (1): 6.
- [2] Kjell J, Olson L. Rat models of spinal cord injury: from pathology to potential therapies [J]. Dis Model Mech, 2016, 9 (10): 1125-1137.
- [3] 王甜甜, 陈淳媛, 杨雷, 等. Nrf2/HO-1 信号轴在氧化应激性疾病中的机制 [J]. 中南大学学报: 医学版, 2019, 44 (1): 74-80.
- [4] Liu Y, Tachibana T, Dai Y, et al. Heme oxygenase-1 expression after spinal cord injury: the induction in activated neutrophils [J]. J Neurotrauma, 2002, 19 (4): 479-490.
- [5] 李永华, 梁洪生, 张立阳, 等. 炎症体在中枢神经系统损伤的作用机制 [J]. 解剖科学进展, 2016, 22 (4): 459-462.
- [6] 王赛男, 胡建国, 吕合作. 炎症小体活化对脊髓损伤局部免疫微环境的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2018, 34 (5): 765-768, 773.
- [7] Kaushal V, Dye R, Pakavathkumar P, et al. Neuronal NLRP1 inflammasome activation of Caspase-1 coordinately regulates inflammatory interleukin-1-beta production and axonal degeneration-associated Caspase-6 activation [J]. Cell Death Differ, 2015, 22 (10): 1676-1686.
- [8] Agarwal A, Bolisetty S. Adaptive responses to tissue injury: role of heme oxygenase-1 [J]. Trans Am Clin Climatol Assoc, 2013, 124: 111-122.
- [9] Yamada K, Tanaka N, Nakanishi K, et al. Modulation of the secondary injury process after spinal cord injury in Bach1-deficient mice by heme oxygenase-1 [J]. J Neurosurg Spine, 2008, 9 (6): 611-620.
- [10] Lu T, Wu X, Wei N, et al. Lipoxin A4 protects against spinal cord injury via regulating Akt/nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2/heme oxygenase-1 signaling [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 97 (1): 905-910.
- [11] Kim Y, Kim J, Ahn M, et al. Lithium ameliorates rat spinal cord injury by suppressing glycogen synthase kinase-3 $\beta$  and activating heme oxygenase-1 [J]. Anat Cell Biol, 2017, 50 (3): 207-213.
- [12] Li Z, Wu F, Xu D, et al. Inhibition of TREM1 reduces inflammation and oxidative stress after spinal cord injury (SCI) associated with HO-1 expressions [J]. Biomed Pharmacother, 2019 (109): 2014-2021.
- [13] Liu X, Gu X, Yu M, et al. Effects of ginsenoside Rb1 on oxidative stress injury in rat spinal cords by regulating the eNOS/Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. Exp Ther Med, 2018, 16 (2): 1079-1086.
- [14] 林文平, 王思远, 郑煜晖, 等. 腺相关病毒介导血红素加氧酶-1 基因转移对大鼠脊髓损伤的保护作用 [J]. 中华实验外科杂志, 2018, 35 (1): 46-49.
- [15] Lee S H, Kim Y, Rhew D, et al. Effect of canine mesenchymal stromal cells overexpressing heme oxygenase-1 in spinal cord injury [J]. J Vet Sci, 2017, 18 (3): 377-386.
- [16] Khan I U, Yoon Y, Kim A, et al. Improved healing after the co-transplantation of HO-1 and BDNF overexpressed mesenchymal stem cells in the subacute spinal cord injury of dogs [J]. Cell Transplant, 2018, 27 (7): 1140-1153.
- [17] de Rivero Vaccari J P, Dietrich W D, Keane R W. Activation and regulation of cellular inflammasomes: gaps in our knowledge for central nervous system injury [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2014, 34 (3): 369-375.
- [18] Mousavi M, Hedayatpour A, Mortezaee K, et al. Schwann cell transplantation exerts neuroprotective roles in rat model of spinal cord injury by combating inflammasome activation and improving motor recovery and remyelination [J]. Metab Brain Dis, 2019, 34 (4): 1117-1130.
- [19] Mohamadi Y, Noori Moghahi S M H, Mousavi M, et al. Intrathecal transplantation of Wharton's jelly mesenchymal stem cells suppresses the NLRP1 inflammasome in the rat model of spinal cord injury [J]. J Chem Neuroanat, 2019 (97): 1-8.
- [20] 吴立莹, 周鑫, 谷艳婷, 等. 丙磺舒对大鼠急性脊髓损伤后 NLRP1 炎症小体活化的影响 [J]. 中国矫形外科杂志, 2019, 27 (6): 536-541.

## • 基础研究 •

# 基于核酸适配体的微流控芯片的构建及对循环肿瘤细胞筛选性能的测定

福建省福州市第二医院骨科 (福州 350007) 肖莉莉 刘 晖 贾春锋<sup>1</sup>

**【摘要】** 目的 构建一种具有骨肉瘤细胞靶向性的 GaN 微流控芯片, 考察其对循环肿瘤细胞的筛选能力。方法 利用细胞指数富集的配基系统进化 (Cell-SELEX) 技术对人骨肉瘤细胞 MG63 核酸适配体进行筛选和合成, 利用化学气相沉积法 (CVD), 在硅片上以 Au 为催化剂制备 GaN 纳米线形成 GaN 纳米结构基片, 利用软刻蚀方法制备聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 混沌混合芯片作为盖片, 并通过生物素-亲和素将核酸适配体与基片、盖片相结合来制备具有骨肉瘤细胞靶向性的 GaN 微流控芯片, 通过原子力显微镜对基片形貌进行表征, 并考察微流控芯片对循环肿瘤细胞的捕获能力及对细胞活力的影响。结果 成功构建了一种具有骨肉瘤细胞靶向性的 GaN 微流控芯片, 其平均高度、平均直径、粗糙度及表面积较原始

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目 (2017J01330)

<sup>1</sup> 通信作者, 福州市第二医院外科主任医师, Email: jiachunfeng\_fj@126.com