

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2026.05.007
文章编号: 1005-8982 (2026) 05-0039-10

实验研究·论著

失巢凋亡相关基因在脑梗死中的表达 及电针治疗的可能机制研究*

张云云, 刘瞳, 廖军

(新疆医科大学附属中医医院, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要: **目的** 探讨失巢凋亡相关基因和 microRNA (miRNA) 在脑梗死中的作用, 并探索电针治疗的潜在机制。**方法** 从 GSE16561 和 GSE22255 数据集中收集脑梗死患者和对照组的 mRNA 表达数据, 通过基因集变异分析 (GSVA) 和基因集富集分析 (GSEA) 评估失巢凋亡的活化状态, 并利用差异表达分析鉴定差异表达 mRNAs (DEmRs)。结合 Lasso 回归、随机森林和 XGBoost 模型筛选与脑梗死诊断相关的关键基因, 并绘制受试者工作特征 (ROC) 曲线评估其诊断效能。同时, 从 GSE110993 数据集中获取 microRNAs 表达数据, 鉴定 DEmiRs, 并通过 ENCOR1 和 miRtarbase 数据库预测调控关键基因的候选 miRNAs, 与 DEmiRs 进行交集分析。此外, 复制大鼠大脑中动脉栓塞模型并收集脑组织样本, 分为对照组、模型组和模型+电针治疗组, 通过 TTC 染色、酶联免疫吸附试验、实时荧光定量聚合酶链反应和 Western blotting 检测脑损伤程度、炎症因子水平、失巢凋亡相关基因及蛋白的表达变化。**结果** GSVA 和 GSEA 表明失巢凋亡在脑梗死中活化。共鉴定出 27 个失巢凋亡相关 DEmRs, 并通过多模型分析筛选出踝蛋白 1 (TLN1)、丙酮酸脱氢酶激酶 4 (PDK4)、p21 活化激酶 2 (PAK2) 和肉碱棕榈酰转移酶 1A (CPT1A) 对脑梗死具有诊断价值, 其曲线下面积均较高。在 miRNA 层面, 预测了 hsa-miR-369-3p 调控 TLN1、PDK4 和 PAK2, hsa-miR-26b-5p 调控 PAK2, hsa-miR-20a-5p 和 hsa-miR-17-5p 调控 PDK4。与对照组比较, 模型组大鼠脑损伤和炎症因子水平升高, hsa-miR-369-3p、hsa-miR-26b-5p、hsa-miR-20a-5p 和 hsa-miR-17-5p 的表达降低, 而 TLN1、PDK4、PAK2 及失巢凋亡相关蛋白水平升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 模型+电针治疗组显著缓解了脑缺血损伤, 上述 miRNAs 表达升高, 而 TLN1、PDK4、PAK2 及相关蛋白的表达降低 ($P < 0.05$)。**结论** 失巢凋亡在脑梗死病理过程中发挥重要作用, 电针治疗可能通过调控失巢凋亡相关 miRNAs 及靶基因表达改善脑缺血损伤, 为脑梗死的治疗提供了新思路。

关键词: 脑梗死; 电针治疗; 失巢凋亡; microRNA; 脑损伤

中图分类号: R743.33

文献标识码: A

The potential therapeutic mechanism of electroacupuncture treatment in ischemic stroke by improving anoikis*

Zhang Yun-yun, Liu Tong, Liao Jun

(The Affiliated Hospital of Xinjiang University of Traditional Chinese Medicine,
Urumqi, Xinjiang 830000, China)

Abstract: Objective To investigate the role of anoikis-related genes and microRNAs (miRNAs) in cerebral infarction and explore the potential mechanism of electroacupuncture therapy. **Methods** mRNA expression data from patients with cerebral infarction and control subjects were collected from the GSE16561 and GSE22255 datasets. The activation status of anoikis was evaluated using Gene Set Variation Analysis (GSVA) and Gene Set

收稿日期: 2025-08-02

* 基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金 (No: 2023D01C244)

[通信作者] 廖军, E-mail: liaojunkf@163.com

Enrichment Analysis (GSEA), and differentially expressed mRNAs (DEmRs) were identified through differential expression analysis. Key genes related to the diagnosis of cerebral infarction were screened by combining Lasso regression, random forest, and XGBoost models, and receiver operating characteristic (ROC) curves were plotted to assess their diagnostic efficacy. Meanwhile, miRNA expression data were obtained from the GSE110993 dataset to identify differentially expressed miRNAs (DEmiRs). Candidate miRNAs regulating the key genes were predicted using the ENCORI and miRtarbase databases, and intersection analysis was performed with DEmiRs. In addition, a rat middle cerebral artery occlusion (MCAO) model was established, and brain tissue samples were collected. The rats were divided into a control group, a model group, and a model + electroacupuncture treatment group. The degree of brain injury, levels of inflammatory factors, and expression changes of anoikis-related genes and proteins were detected using 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blotting. **Results** GSEA and GSEA analyses showed that anoikis was activated in cerebral infarction. A total of 27 anoikis-related DEmRs were identified, and through multi-model analysis, TLN1, PDK4, PAK2, and CPT1A were screened out as having diagnostic value for cerebral infarction, with high area under the curve values. At the miRNA level, hsa-miR-369-3p was predicted to regulate TLN1, PDK4, and PAK2; hsa-miR-26b-5p to regulate PAK2; and hsa-miR-20a-5p and hsa-miR-17-5p to regulate PDK4. Compared with the control group, the MCAO model group showed increased brain injury and levels of inflammatory factors, decreased expression of hsa-miR-369-3p, hsa-miR-26b-5p, hsa-miR-20a-5p, and hsa-miR-17-5p, and increased levels of TLN1, PDK4, PAK2, and anoikis-related proteins ($P < 0.05$). Compared with the model group, the model + electroacupuncture treatment group showed alleviated cerebral ischemic injury, increased expression of the aforementioned miRNAs, and decreased expression of TLN1, PDK4, PAK2, and related proteins ($P < 0.05$). **Conclusion** Anoikis plays an important role in the pathological process of cerebral infarction. Electroacupuncture therapy may improve cerebral ischemic injury by regulating the expression of anoikis-related miRNAs and their target genes, providing a new idea for the treatment of cerebral infarction.

Keywords: cerebral infarction; electroacupuncture treatment; anoikis; microRNA; brain injury

脑梗死是神经系统的常见病,由于其高致残率与高病死率,已成为全球范围内人类三大致死疾病之一^[1]。尽管现代医学在脑梗死的诊疗方面已经取得了一定程度的进步,但目前的治疗手段仍面临诸多挑战,尤其是在改善患者预后、降低致残率方面仍存在巨大的提升空间^[2]。深入探究脑梗死的发病机制,寻找新的机制与治疗靶点对于改善脑梗死患者的临床结局具有重要意义。失巢凋亡作为一种特殊的程序性细胞死亡形式,在维持组织稳态和应对病理变化中发挥关键作用^[3]。正常情况下,细胞与细胞外基质及相邻细胞间的相互作用对细胞生存和功能至关重要,一旦这种联系被破坏,如在脑梗死导致的局部组织缺血缺氧、炎症反应等病理环境下,细胞脱离原有微环境,失巢凋亡机制可能被触发。虽然失巢凋亡在肿瘤转移、心血管疾病等领域已有较多研究^[4-6],但在脑梗死相关研究中,失巢凋亡的研究仍处于相对初期阶段,其在脑梗死中的具体作用机制、与其他病理过程的相互关系,以及如何参与脑梗死的发生、发展等问题,都有待进一步深入探究。

电针治疗作为传统中医手段,在治疗脑梗死康复中展现出一定潜力,临床观察和部分研究显示其对改善脑梗死患者神经功能缺损和肢体运动功能有积极作用^[7]。从现代医学角度推测,电针可能通过调节神经内分泌系统、改善局部脑血流、抑制炎症反应等途径发挥功效^[8]。而这些作用途径可能与失巢凋亡及 microRNA(miRNA)调控存在联系,如通过 miRNA 的调控网络影响失巢凋亡相关基因表达,进而影响炎症反应^[9-10]。然而,这种潜在联系及电针治疗的深层分子调控机制仍不清楚。基于此,本研究拟整合生物信息学分析与动物实验,探究失巢凋亡相关基因和 miRNA 在脑梗死中的作用机制,分析电针治疗对脑梗死潜在的分子治疗机制,为脑梗死的诊断和治疗提供理论依据与治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选取 30 只 8~9 周龄的健康雄性 SD 大鼠,体重 200~220 g,购自新疆医科大学实验动物中心[实验动物生产许可证号:SCXK(新)2023-0001,实验动物

使用许可证号SYXK(新)2023-0004]。在恒定温度(22 ± 2)℃、湿度(50%~60%)和12 h光照/12 h黑暗循环的环境下饲养。实验过程中提供标准实验室饮食和自由饮水。实验开始前,大鼠适应环境1周,适应期结束后随机分组。实验操作均符合动物实验伦理规定,并经新疆医科大学实验动物伦理委员会批准(No:IACUC20230526-1)。

1.2 试剂与仪器

TRIzol试剂[赛默飞世尔科技(中国)有限公司],逆转录试剂盒、SYBR Green qPCR试剂盒(宝生物工程(大连)有限公司),酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司),BCA蛋白质定量试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司),p21活化激酶2(p21-activated kinase 2, PAK2)、脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、丙酮酸脱氢酶激酶4(pyruvate dehydrogenase kinase 4, PDK4)、踝蛋白1(Talin 1, TLN1)、神经营养因子受体酪氨酸激酶2(基因名为Ntrk2,蛋白名为Trk)、Fas受体(Fas cell surface death receptor, Fas)、网状蛋白4受体(基因名为Rtn4r,蛋白名为NgR1)、胱天蛋白酶8(Caspase-8)、 β -actin抗体和二抗均购自爱博泰克生物科技有限公司。微量移液器、台式离心机、低温离心机[艾本德(上海)国际贸易有限公司],低温冷冻离心机[赛默飞世尔科技(中国)有限公司],微量核酸蛋白检测仪[美林恒通(北京)仪器有限公司],小型垂直电泳仪、转膜仪(美国Bio-Rad公司),微量分光光度计[美林恒通(北京)仪器有限公司],化学发光成像系统(广州光仪生物科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 数据收集 从美国国立生物技术信息中心旗下的基因表达综合数据库(gene expression omnibus, GEO)中收集3组数据集:GSE16561数据集包含39例脑梗死和24例健康对照人群的外周血样本的mRNA表达谱数据;GSE22255数据集包含20例脑梗死和20例健康对照人群的外周血样本的mRNA表达谱数据;GSE110993数据集包含20例脑梗死和20例健康对照人群的外周血样本的miRNA表达谱数据。利用Limma包进行差异表达分析,阈值设定为 $\log_2FCI > 1$ 和 $P < 0.05$,筛选显著差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)。

1.3.2 生物信息学分析 运用基因集变异分析(gene set variation analysis, GSVA)和基因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)分析程序性细胞死亡在脑梗死中的富集情况。采用ENCORI和miRtarbase数据库预测调控筛选出的关键基因的候选miRNAs,将预测结果与鉴定出的差异表达miRNAs(differentially expressed miRNAs, DEmiRs)进行交集分析。在此基础上,结合Lasso回归、随机森林和XGBoost模型筛选与脑梗死诊断相关的关键基因,并采用clusterProfiler包对DEGs进行京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析。

1.3.3 分组及大鼠中动脉栓塞模型复制 将30只SD大鼠适应性喂养1周后,随机分为对照组、模型组和模型+电针治疗组,每组10只。参照文献[11]方案进行大鼠大脑中动脉栓塞模型的复制。大鼠全身麻醉,颈部备皮消毒后,切开颈部正中,钝性分离出右侧颈总、颈外、颈内动脉,结扎颈外动脉近心端并在远心端剪口,采用线栓法将预先制备好的栓线从剪口处沿特定路径插入至大脑中动脉起始部以阻断血流,然后松开结扎线进行再灌注。对照组仅进行颈部手术操作但不阻断血流。24 h后进行神经行为评分以判断模型情况:行为正常且无神经功能障碍的大鼠0分;大鼠左爪不能完全伸展,轻度神经功能障碍1分;大鼠瘫痪侧转圈,中度神经功能障碍2分;大鼠行走时倒在瘫痪一侧,中度神经功能障碍3分;大鼠不能自主行走、意识丧失、严重神经功能障碍4分。模型+电针治疗组在模型复制成功后给予电针治疗^[12],对照组和模型组不给予电针治疗,但给予相同的饲养环境和操作处理,以消除组间操作误差。模型组模型复制24 h并经过神经行为评分后、模型+电针治疗组治疗24 h后,经大鼠腹主动脉采集血液样本,对照组采血时间同模型组。血液样本于室温静置45 min后,在4℃下以1 500 r/min离心10 min,取上清液,分装后于-80℃保存待测。

1.3.4 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色法评估脑组织损伤程度 对照组、模型组于模型复制完成后24 h处死,模型+电针治疗组于治疗结束后继续饲养24 h处死。取大鼠脑组织置于预冷的生理盐水(4℃)中漂洗2次,用滤纸吸干表面水分后,将其完全浸没在TTC染液中,在37℃避光环境下孵育1 h,直接观察和拍照。

1.3.5 ELISA 检测炎症因子白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 及肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 的表达 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的标准品按试剂盒说明书逐孔加入预包被的 ELISA 酶标板中, 每种样本均设 3 个复孔以提高数据的可靠性。加入检测抗体孵育后, 使用洗板液反复洗板以去除未结合物, 随后加入 HRP 标记的二抗及显色底物进行反应, 并在 450 nm 波长下读取光密度值。

1.3.6 实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 检测失巢凋亡相关 DEmRs 和相关信号通路蛋白的 mRNA 表达

每组选取 3 只大鼠进行实验。使用 TRIzol 试剂提取组织和细胞的总 RNA。失巢凋亡相关 DEmRs 逆转录采用 miRNA 特异性茎环引物, 以总 RNA 为模板, 合成 miRNA 对应的 cDNA, 相关信号通路蛋白 mRNA 逆转录采用 oligo (dT) 引物, 以总 RNA 为模板, 合成 mRNA 对应的 cDNA。逆转录产物 cDNA 经 10 倍稀释后, 作为 qRT-PCR 扩增模板, 使用 SYBR Green qPCR 试剂盒在实时荧光定量 PCR 仪上进行扩增。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s; 95 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 58 $^{\circ}$ C 退火 34 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 共 40 个循环; 72 $^{\circ}$ C 继续延伸 10 min。采用 β -actin 作为内参基因, 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因相对表达量。所用引物序列使用 Primer 5.0 软件设计, 并由上海生工生物工程股份有限公司合成。所有引物的扩增产物均经测序验证特异性, 具体序列见表 1。

1.3.7 Western blotting 检测相关信号通路蛋白表达

每组选取 3 只大鼠进行实验。使用 RIPA 裂解液从大鼠脑组织样本中提取总蛋白, 运用 BCA 蛋白定量试剂盒精确测定蛋白浓度。每组准确量取 20 μ g 蛋白样品, 添加 5 \times SDS 加载缓冲液, 95 $^{\circ}$ C 煮沸 10 min 后进行 SDS-PAGE 电泳, 再将蛋白转移至 Millipore PVDF 膜。转膜后用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 分别加入 TLN1、PDK4、PAK2、Fas、BDNF、NGR1、Trk、Caspase-8 及内参 β -actin 的一抗在 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 随后用 HRP 标记的二抗室温孵育 1 h。使用 ECL 发光液显色, 借助光仪化学发光成像系统记录蛋白条带, 并利用 Image J 软件对灰度值进行定量分析。

1.4 统计学方法

数据分析采用 R 4.4.1 和 SPSS 25.0 统计软件。计量资料以均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较采用单

表 1 引物序列

基因	引物序列 (5'-3')	长度/bp
BDNF	正向: ATAATGTCTGACCCCACTGCC	188
	反向: AACCCGGTCTCATCAAAGCC	
PDK4	正向: ACAATTCACGGAATGCCCT	70
	反向: TACTTGGCGTAGAGACGGGA	
PAK2	正向: GCGCCAAGCCGATGACTAA	75
	反向: AGTGGCTGGGTAGAAACAC	
TLN1	正向: CCCCTCAGCGTCCAACATAA	91
	反向: ACACAAGCCACTTCCGAGTT	
Ntrk2	正向: GTCAGCCCTCAGCTCACTTC	190
	反向: CAACTGCGGTAGCAGGACA	
Fas	正向: AGAGAGCCTGCCACCTATGA	83
	反向: TGGCAAAAAGAACACGCCAG	
Rtn4r	正向: AGAAAGAACCAGCCCGTAG	150
	反向: GAGCAGCGTCCAAAGTACCA	
Caspase-8	正向: CCCTCTGACCTCCGGTGTTF	197
	反向: GGGCTAGGAGAGCTGTAACC	
β -actin	正向: CTTCGCGGGCGACGAT	104
	反向: CCACATAGGAATCCTTCTGACC	

因素方差分析, 进一步两两比较采用 LSD- t 检验; 绘制受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

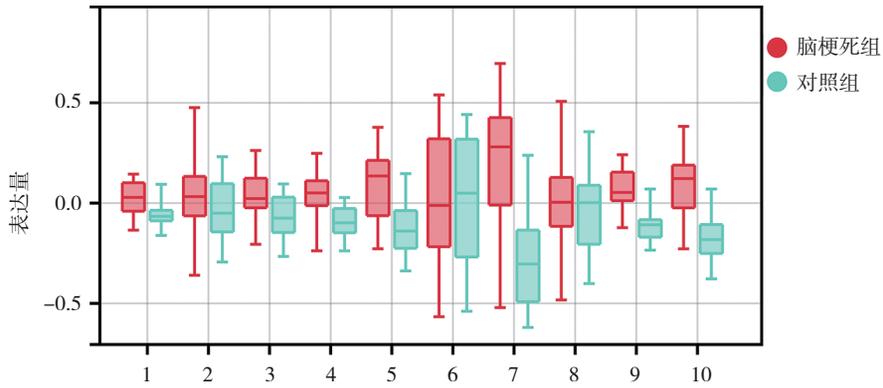
2.1 脑梗死对程序性细胞死亡过程的影响

为探究程序性细胞死亡在脑梗死中的角色, 采用 GSVA 和 GSEA 对失巢凋亡基因集进行了富集分析, 结果显示, 脑梗死患者样本的失巢凋亡通路活性高于健康对照人群 GSVA [IS = 0.053 1 (0.012 1, 0.154 3), $P < 0.05$]; GSEA 分析进一步证实, 失巢凋亡相关基因在脑梗死患者中呈整体上调富集, GSEA (NES = 1.641 1, $P < 0.05$)。两项独立分析共同表明, 失巢凋亡信号通路在脑梗死外周血中显著激活。见图 1、2。

2.2 差异表达基因筛选与交集基因分析

在 GSE16561 数据集中, 通过差异表达分析共鉴定出 6 811 个 DEmRs; 在 GSE22255 数据集中鉴定出 3 851 个 DEmRs。见图 3。

对差异表达基因和失巢凋亡相关基因进行交集分析, 发现共有 27 个交集基因。见图 4。



1:细胞凋亡; 2:细胞焦亡; 3:铁死亡; 4:自噬; 5:坏死性凋亡; 6:铜死亡; 7:侵入性细胞死亡; 8:双硫死亡; 9:失巢凋亡; 10:溶酶体依赖性细胞死亡。

图 1 脑梗死患者与健康对照人群程序性细胞死亡的GSVA图

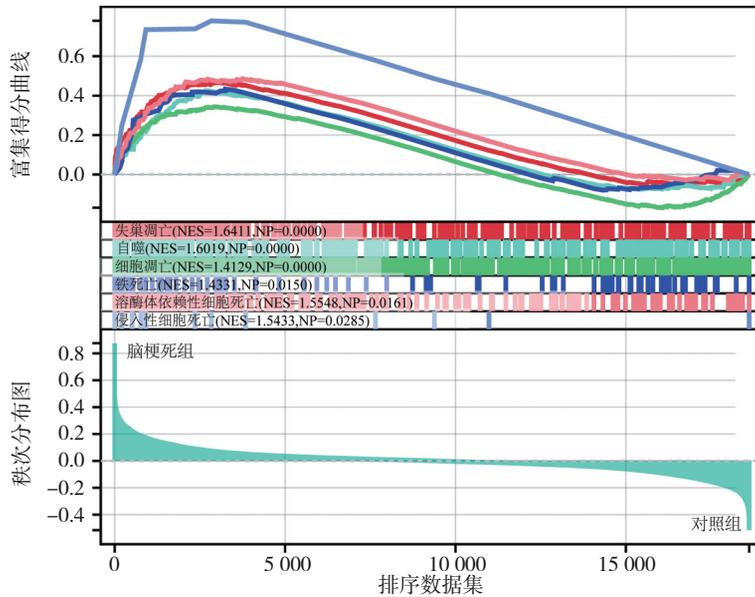
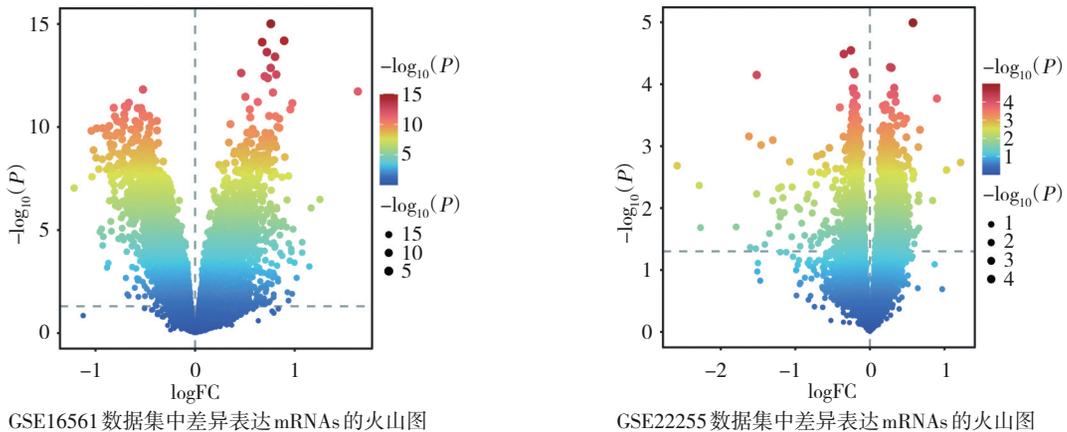


图 2 脑梗死患者与健康对照人群程序性细胞死亡的GSEA图



GSE16561 数据集中差异表达mRNAs的火山图

GSE22255 数据集中差异表达mRNAs的火山图

图 3 差异表达基因筛选

2.3 关键基因的筛选与诊断价值评估

结合 Lasso 回归、随机森林和 XGBoost 模型筛选

出 TLN1、PDK4、PAK2 和肉碱棕榈酰转移酶 1A (carnitine palmitoyltransferase 1A, CPT1A) 这 4 个失巢

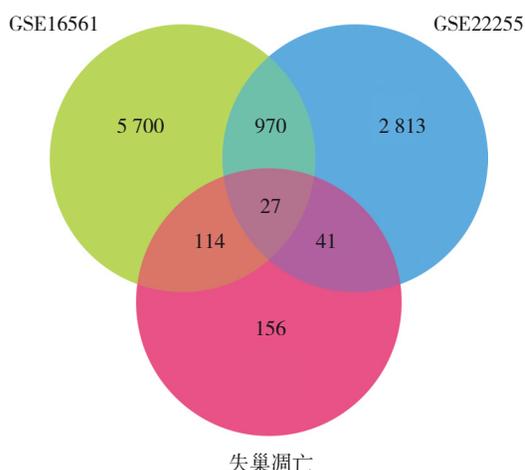


图 4 数据交集基因图

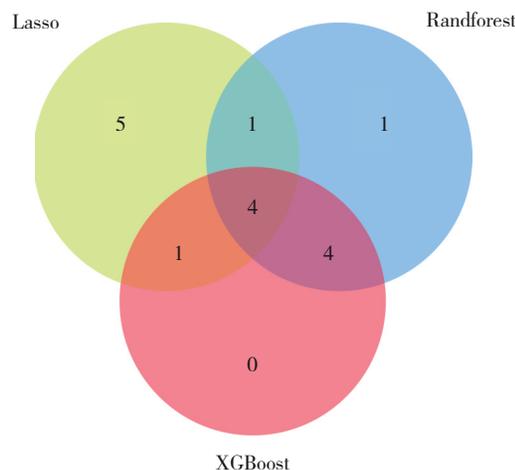


图 5 基于多模型的脑梗死诊断关键基因筛选图

凋亡相关 DEmRs 对脑梗死具有诊断价值 (见图 5)。ROC 曲线分析结果显示, PDK4 的曲线下面积为 0.912, 诊断准确性最高; PAK2 和 TLN1 诊断准确性较高, 曲线下面积分别为 0.899 和 0.867; CPT1A 准确性相对稍低, 曲线下面积为 0.751, 见图 6。

2.4 miRNAs 在脑梗死中的差异表达及调控情况

从 GSE110993 数据集中获取 miRNAs 表达数据来鉴定差异表达 DEmiRs, 见图 7A。并通过 ENCORI 和 miRtarbase 数据库预测调控失巢凋亡相关 DEmRs 的候选 miRNAs, 与 DEmiRs 进行交集分析发现 4 个 DEmiRs, 见图 7B。在 miRNA 层面, hsa-miR-369-3p 调控 TLN1、PDK4 和 PAK2, hsa-miR-26b-5p 调控 PAK2, hsa-miR-20a-5p 和 hsa-miR-17-5p 调控 DK4,

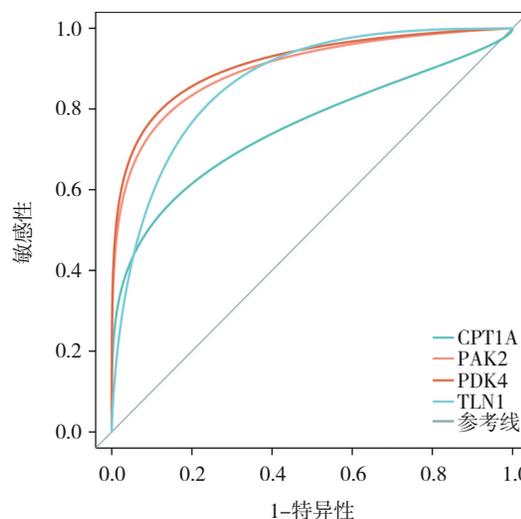
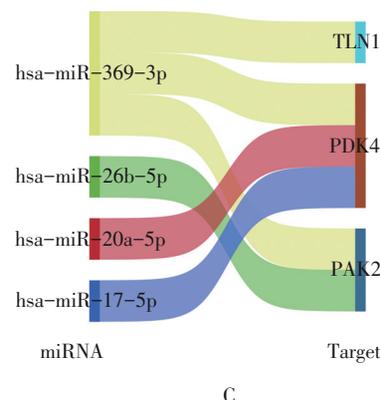
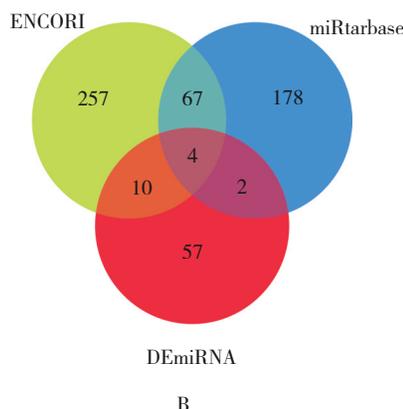
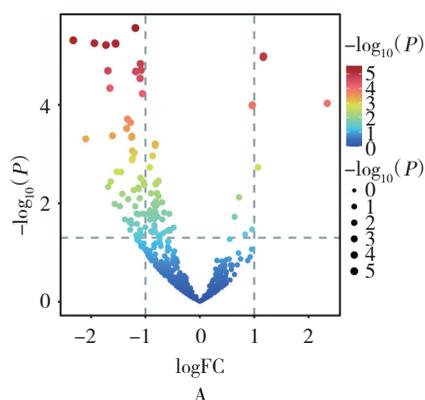


图 6 脑梗死关键基因的 ROC 曲线

见图 7C。



A: GSE110993 数据集中差异表达 mRNAs 的火山图; B: DEmiRs 交集分析图; C: miRNA 与靶标基因的调控关系图。

图 7 miRNAs 在脑梗死中的差异表达及调控情况

2.5 TTC 染色下各组大鼠脑组织损伤程度结果

TCC 染色结果显示, 对照组脑组织样本均呈红

色, 无梗死体积; 与对照组相比, 模型组部分脑组织样本有白色区域出现, 存在一定程度的脑梗死; 与

模型组相比, 模型+电针治疗组红色区域较多, 脑梗死体积减少。见图 8。

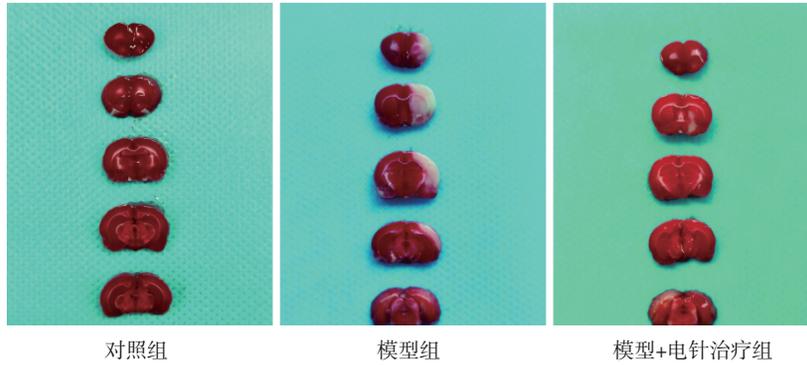


图 8 各组大鼠脑组织损伤程度 (TTC 染色)

2.6 各组大鼠血清炎症因子 IL-1 β 、IL-6 与 TNF- α 表达比较

对照组、模型组和模型+电针治疗组大鼠血清 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平比较, 经方差分析, 差异

均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与对照组相比, 模型组的 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平均升高 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 模型+电针治疗组的 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平均下降 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠血清 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平的比较 ($n=10$, pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	IL-1 β	IL-6	TNF- α
对照组	314.000 \pm 10.476	26.750 \pm 0.178	28.440 \pm 0.350
模型组	381.100 \pm 2.420 ^①	38.020 \pm 2.276 ^①	36.910 \pm 1.080 ^①
模型+电针治疗组	318.300 \pm 8.110 ^②	27.800 \pm 0.701 ^②	29.920 \pm 0.724 ^②
F 值	209.700	203.500	334.600
P 值	0.000	0.000	0.000

注: ①与对照组比较, $P < 0.05$; ②与模型组比较, $P < 0.05$ 。

2.7 各组大鼠失巢凋亡相关 DEmRs 和蛋白表达比较

qRT-PCR 结果显示, 对照组、模型组和模型+电针治疗组大鼠的 hsa-miR-369-3p、hsa-miR-26b-5p、hsa-miR-20a-5p、hsa-miR-17-5p、TLN1、PDK4、PAK2、Fas、BDNF、Rtn4r、Ntrk2 及 Caspase-8 mRNA 相对表达量比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与对照组相比, 模型组的 hsa-miR-369-3p、hsa-miR-26b-5p、hsa-miR-20a-5p、hsa-miR-17-5p 的 mRNA 相对表达量降低, 而 TLN1、PDK4、PAK2、Fas、BDNF、

Rtn4r、Ntrk2 及 Caspase-8 mRNA 相对表达量升高 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 模型+电针治疗组 hsa-miR-369-3p、hsa-miR-26b-5p、hsa-miR-20a-5p、hsa-miR-17-5p mRNA 相对表达量升高, 而 TLN1、PDK4、PAK2、Fas、BDNF、Rtn4r、Ntrk2 及 Caspase-8 mRNA 相对表达量降低 ($P < 0.05$)。见表 3。

Western blotting 结果显示, 对照组、模型组和模型+电针治疗组大鼠的 TLN1、PDK4、PAK2、Fas、BDNF、NgR1、Trk 及 Caspase-8 蛋白相对表达量比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与对照组相比,

表 3 各组大鼠失巢凋亡相关基因的 mRNA 相对表达量比较 ($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

组别	hsa-miR-369-3p	hsa-miR-26b-5p	hsa-miR-20a-5p	hsa-miR-17-5p	TLN1	PDK4
对照组	0.995 \pm 0.004	1.018 \pm 0.054	1.003 \pm 0.016	1.009 \pm 0.013	1.027 \pm 0.046	1.002 \pm 0.028
模型组	0.526 \pm 0.071 ^①	0.533 \pm 0.075 ^①	0.503 \pm 0.033 ^①	0.797 \pm 0.048 ^①	1.493 \pm 0.054 ^①	1.685 \pm 0.065 ^①
模型+电针治疗组	1.033 \pm 0.031 ^②	0.994 \pm 0.064 ^②	0.978 \pm 0.037 ^②	1.020 \pm 0.079 ^②	1.055 \pm 0.107 ^②	1.142 \pm 0.110 ^②
F 值	120.000	52.670	340.300	16.380	37.430	68.900
P 值	0.000	0.000	0.000	0.004	0.000	0.000

续表 3

组别	PAK2	Fas	BDNF	Rtn4r	Ntrk2	Caspase-8
对照组	0.994 ± 0.018	1.002 ± 0.013	0.984 ± 0.023	1.019 ± 0.017	1.023 ± 0.020	1.022 ± 0.038
模型组	1.930 ± 0.038 ^①	1.534 ± 0.099 ^①	1.589 ± 0.074 ^①	1.570 ± 0.059 ^①	1.583 ± 0.093 ^①	1.592 ± 0.153 ^①
模型+电针治疗组	1.117 ± 0.050 ^②	1.038 ± 0.051 ^②	1.008 ± 0.032 ^②	1.118 ± 0.048 ^②	1.130 ± 0.040 ^②	0.903 ± 0.169 ^②
F 值	552.400	62.800	149.100	127.000	74.370	22.870
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002

注：①与对照组比较, $P < 0.05$; ②与模型组比较, $P < 0.05$ 。

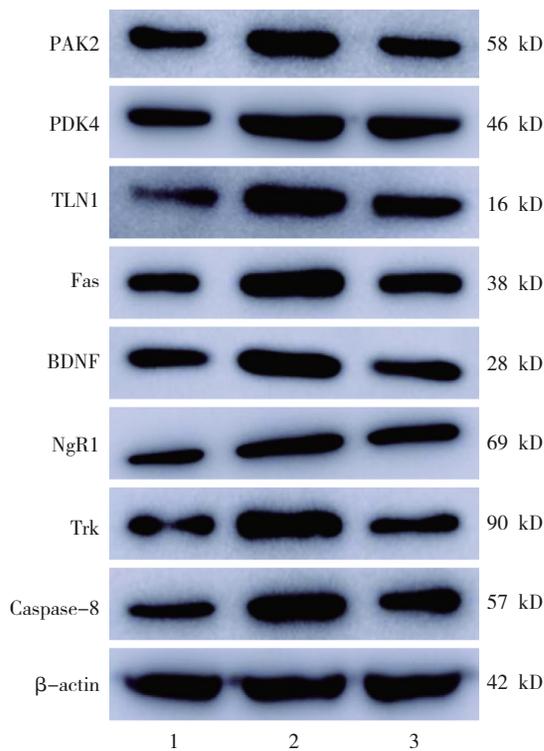
模型组的 PDK4、PAK2、TLN1、Fas、BDNF、NgR1、Trk 及 Caspase-8 蛋白相对表达量升高 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 模型+电针治疗组的 PDK4、PAK2、TLN1、

Fas、BDNF、NgR1、Trk 及 Caspase-8 蛋白相对表达量降低 ($P < 0.05$)。见表 4 和图 9。

表 4 各组大鼠失巢凋亡相关基因的蛋白表达比较 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	TLN1	PDK4	PAK2	Fas	BDNF	NgR1	Trk	Caspase-8
对照组	1.000 ± 0.027	1.000 ± 0.109	1.000 ± 0.039	1.000 ± 0.065	1.000 ± 0.051	1.000 ± 0.029	1.000 ± 0.068	1.000 ± 0.048
模型组	1.451 ± 0.038 ^①	1.667 ± 0.149 ^①	1.712 ± 0.036 ^①	1.663 ± 0.217 ^①	1.486 ± 0.046 ^①	1.589 ± 0.076 ^①	1.591 ± 0.018 ^①	1.343 ± 0.065 ^①
模型+电针治疗组	1.108 ± 0.048 ^②	1.200 ± 0.049 ^②	1.060 ± 0.032 ^②	1.176 ± 0.053 ^②	1.129 ± 0.020 ^②	1.152 ± 0.039 ^②	1.162 ± 0.038 ^②	1.079 ± 0.026 ^②
F 值	112.300	32.130	362.800	19.600	111.200	102.100	130.700	40.390
P 值	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000

注：①与对照组比较, $P < 0.05$; ②与模型组比较, $P < 0.05$ 。



1: 对照组; 2: 模型组; 3: 模型组+电针治疗组。

图 9 各组大鼠失巢凋亡相关基因的蛋白表达

3 讨论

脑梗死是全球范围内死亡与获得性残疾的主要病因之一^[13], 其复杂的发病机制涉及多种细胞和分子水平的病理生理过程, 在严重威胁人类健康的同时给社会和家庭带来了沉重负担^[14]。目前关于脑梗死的多学科综合治疗手段众多, 但预后差且存在高复发的可能性^[15-16], 因此迫切需求可靠的治疗方案来提高脑梗死的治疗率。本研究利用多模型结合策略, 筛选出与脑梗死诊断密切联系的关键基因, 通过生物信息学分析与体外实验进一步探究电针治疗改善失巢凋亡在脑梗死的潜在治疗机制。

与血液生化指标或影像学检查等脑梗死诊断标志物相比, 基于基因层面筛选出的关键基因能够从分子水平揭示脑梗死发生、发展过程中的内在机制。本研究通过模型最终确定了失巢凋亡相关 TLN1、PDK4、PAK2 和 CPT1A 为脑梗死的诊断的关键基因, 其 ROC 曲线显示出了良好的诊断效能。此外, 失巢凋亡相关基因在脑梗死中的显著活化表明其可能是脑梗死病理过程中的关键环节。失巢凋亡参与了多种疾病的进展, 如肝细胞癌、慢性阻塞

性肺疾病等^[17-18],但在脑梗死中的研究相对较少。而 miRNAs 能够通过靶基因表达的调控,对细胞各类生物学过程产生影响^[19]。在脑梗死这一疾病中,miRNAs 很可能通过对失巢凋亡相关基因进行调节,从而参与疾病的发生、发展^[20]。

已有研究表明,将传统针灸与现代电疗相结合的电针治疗在脑缺血/再灌注损伤中有一定效果^[21]。LIU 等^[22]研究构建了大脑中动脉闭塞大鼠模型,并通过电针治疗抑制 KAT3B 诱导的 ACSL4 稳定以抑制铁死亡,从而在脑缺血/再灌注损伤中发挥治疗作用。本研究亦通过构建大脑中动脉闭塞大鼠模型来探究电针治疗改善失巢凋亡在脑梗死治疗中的机制。TTC 染色结果清晰显示出模型组的脑梗死情况及模型+电针治疗组的改善效果,这提示电针治疗在失巢凋亡相关基因调控改善方面具有一定成效,电针可能通过调节脑部血流、减轻缺血缺氧损伤、抑制相关病理过程等,缩小了脑梗死的范围,从而在一定程度上保护了脑组织^[23]。另通过 ELISA 检测进一步证实了炎症因子在脑梗死中的重要作用及电针治疗对炎症反应的抑制作用,这与众多研究强调炎症在脑梗死病理过程中的核心地位一致^[24-26],为进一步探究电针治疗改善失巢凋亡相关机制提供更直观的证据。

此外,在脑梗死发生过程中,模型组相较于对照组的 hsa-miR-369-3p、hsa-miR-26b-5p、hsa-miR-20a-5p 和 hsa-miR-17-5p 表达显著降低,这些 miRNAs 的下调可能在脑梗死的病理发展中起到了关键作用^[27]。从生物学功能角度,原本具有抑制某些促凋亡或促损伤的相关基因表达作用降低后,失去了对靶基因的抑制,从而间接导致后续一系列病理变化。如 miRNAs 的下调所调控的细胞存活、抗凋亡相关信号通路^[28],使得细胞更容易发生失巢凋亡等死亡形式,进而促进了脑梗死的发展。而由于 miRNAs 的表达下降,解除了对 TLN1、PDK4、PAK2 等靶基因的抑制,相关基因与失巢凋亡相关蛋白水平表达升高,表明在脑梗死状态下,失巢凋亡过程被显著激活。例如,TLN1 可能参与细胞与细胞外基质的相互作用,其表达改变影响细胞在缺血缺氧环境下的黏附与存活状态^[29];PDK4 和 PAK2 可能在细胞内信号转导通路中发挥作用,调节细胞的代谢、应激反应及凋亡进程^[30],其高表达促使细胞走向失

巢凋亡途径,加剧脑梗死的病理损伤。与其他脑梗死治疗研究相比,电针治疗从调节 miRNAs 和失巢凋亡相关基因及蛋白表达这一角度提供了新的治疗思路,以电针治疗来对 miRNAs 的下调进行干预,抑制 TLN1、PDK4、PAK2 等基因的过度表达,从而达到降低失巢凋亡相关蛋白水平,减缓或抑制脑梗死进展的目的。

综上所述,本研究运用生物信息学与动物实验,从失巢凋亡和 miRNA 调控的角度研究脑梗死的分子途径,并探讨了电针治疗的潜在治疗机制。但研究也存在一定局限性,如研究中的生物信息学分析基于已有的数据集,可能存在一定的偏差;动物实验仅观察了短期的治疗效果,长期影响尚未明确等。未来研究将进一步扩大样本量,深入研究 miRNAs 与关键基因的调控细节,以及探索电针治疗的长期疗效和潜在的不良反应等,为脑梗死的治疗提供了新的思路与潜在治疗靶点。

参 考 文 献 :

- [1] AVAN A, FEIGIN V L, BENNETT D A, et al. The burden of neurological conditions in North Africa and the Middle East, 1990-2019: a systematic analysis of the global burden of disease study 2019[J]. *Lancet Glob Health*, 2024, 12(6): e960-e982.
- [2] 农景堂, 杨成敏, 莫圣龙, 等. 脑梗死预后相关生物标志物的研究新进展: 机制与临床应用[J]. *中国全科医学*, 2025, 28(29): 3711-3720.
- [3] 刘祎, 刘旺华, 李花, 等. 基于神经细胞外基质探讨健脾补土方抗大鼠脑缺血再灌注神经细胞失巢凋亡机制[J]. *中医药信息*, 2022, 39(11): 14-20.
- [4] XIE T L, PENG S, LIU S J, et al. Multi-cohort validation of Ascore: an anoikis-based prognostic signature for predicting disease progression and immunotherapy response in bladder cancer[J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 30.
- [5] PRIMEAUX M, LIU X D, GOWRIKUMAR S, et al. Claudin-1 interacts with EPHA2 to promote cancer stemness and chemoresistance in colorectal cancer[J]. *Cancer Lett*, 2023, 579: 216479.
- [6] SONG P W, YAKUFUJIANG Y S, ZHOU J H, et al. Identification of important genes related to anoikis in acute myocardial infarction[J]. *J Cell Mol Med*, 2024, 28(8): e18264.
- [7] 张曼, 徐枝芳, 赵美丹, 等. 神经-动脉刺激点电针治疗脑梗死后肩手综合征: 随机对照试验[J]. *中国针灸*, 2025, 45(9): 1241-1247.
- [8] 杨虎, 符兆英, 张正祥, 等. 神经内分泌和穴位刺激调节免疫及炎症机制研究进展[J]. *陕西中医*, 2022, 43(7): 982-985.
- [9] SINGH V, SINGH R, MAHDI A A, et al. The bioengineered HALOA complex induces anoikis in chronic myeloid leukemia

- cells by targeting the BCR-ABL/Notch/Ikaros/Redox/Inflammation axis[J]. *J Med Life*, 2022, 15(5): 606-616.
- [10] NALLA L V, KHAIRNAR A. Empagliflozin drives ferroptosis in anoikis-resistant cells by activating miR-128-3p dependent pathway and inhibiting CD98hc in breast cancer[J]. *Free Radic Biol Med*, 2024, 220: 288-300.
- [11] ZHAO Y L, SHI X H, WANG J Q, et al. Betulinic acid ameliorates cerebral injury in middle cerebral artery occlusion rats through regulating autophagy[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2021, 12(15): 2829-2837.
- [12] PAN J, SHEN H W, YANG K L, et al. Transcriptomic profiling of electroacupuncture regulating the molecular network in hippocampus of rats with cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 6053106.
- [13] OU Z J, WANG Y, YAO J X, et al. Astragaloside IV promotes angiogenesis by targeting SIRT7/VEGFA signaling pathway to improve brain injury after cerebral infarction in rats[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 168: 115598.
- [14] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 脑血管病防治指南 (2024年版)[J]. *磁共振成像*, 2025, 16(1): 1-8.
- [15] 李雪, 薛素芳, 尹春琳. 脑梗死诊疗及研究进展[J]. *中国循环杂志*, 2023, 38(10): 1098-1102.
- [16] 郝显华, 刘永华, 黄伟鹏, 等. 高分辨率磁共振血管壁成像对大动脉粥样硬化型脑梗死患者预后的预测价值[J]. *中国现代医学杂志*, 2025, 35(14): 6-11.
- [17] ZHANG Z W, CHEN X N, LI Y P, et al. The resistance to anoikis, mediated by Spp1, and the evasion of immune surveillance facilitate the invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. *Apoptosis*, 2024, 29(9): 1564-1583.
- [18] CHEN D, YI R B, HONG W F, et al. Anoikis resistance of small airway epithelium is involved in the progression of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1155478.
- [19] 钱旭东, 李国芸, 卜一, 等. lncRNA SNHG14通过 miR-181c-5p/SOX6 信号轴调控缺血性脑卒中神经元细胞凋亡[J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(12): 41-48.
- [20] YANG K L, ZENG L T, GE A Q, et al. A systematic review of the research progress of non-coding RNA in neuroinflammation and immune regulation in cerebral infarction/ischemia-reperfusion injury[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 930171.
- [21] CHEN S Q, HUANG J H, TANG X, et al. Effects of transient electrical acupuncture stimulation combined with rehabilitation training on hemorheology, neurological function and BDNF in patients with cerebral infarction[J]. *Front Surg*, 2022, 9: 839523.
- [22] LIU F, CHEN Y, HUANG K B. Electro-acupuncture suppresses ferroptosis to alleviate cerebral ischemia-reperfusion injury through KAT3B-mediated succinylation of ACSL4[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2025, 197(2): 989-1001.
- [23] TANG B, LI Y, XU X F, et al. Electroacupuncture ameliorates neuronal injury by NLRP3/ASC/caspase-1 mediated pyroptosis in cerebral ischemia-reperfusion[J]. *Mol Neurobiol*, 2024, 61(4): 2357-2366.
- [24] ZENG X, ZHANG Y D, MA R Y, et al. Activated Drp1 regulates p62-mediated autophagic flux and aggravates inflammation in cerebral ischemia-reperfusion via the ROS-RIP1/RIP3-exosome axis[J]. *Mil Med Res*, 2022, 9(1): 25.
- [25] FRANKE M, BIEBER M, KRAFT P, et al. The NLRP3 inflammasome drives inflammation in ischemia/reperfusion injury after transient middle cerebral artery occlusion in mice[J]. *Brain Behav Immun*, 2021, 92: 223-233.
- [26] AL MAMUN A, CHAUHAN A, QI S H, et al. Microglial IRF5-IRF4 regulatory axis regulates neuroinflammation after cerebral ischemia and impacts stroke outcomes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(3): 1742-1752.
- [27] TAN X D, GUO W J, PENG Z, et al. LncRNA-Malat1 down-regulates miR-211-5p expression to promote neuronal damage from cerebral ischemia reperfusion injury[J]. *Biochem Pharmacol*, 2021, 192: 114694.
- [28] JIANG Z Y, SHI L H, HUANG H, et al. Downregulated FTO promotes MicroRNA-155-mediated inflammatory response in cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Neuroscience*, 2023, 526: 305-313.
- [29] MANOUSOPOULOU A, YUEN H M, SHARP M M, et al. Quantitative proteomic profiling of white matter in cases of cerebral amyloid angiopathy reveals upregulation of extracellular matrix proteins and clusterin[J]. *Free Neuropathol*, 2020, 1: 28.
- [30] YANG X F, MU Y T, FENG Y F, et al. Physical exercise-induced circAnks1b upregulation promotes protective endoplasmic reticulum stress and suppresses apoptosis via miR-130b-5p/Pak2 signaling in an ischemic stroke model[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2024, 30(9): e70055.

(张蕾 编辑)

本文引用格式: 张云云, 刘瞳, 廖军. 失巢凋亡相关基因在脑梗死中的表达及电针治疗的可能机制研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2026, 36(5): 39-48.

Cite this article as: ZHANG Y Y, LIU T, LIAO J. The potential therapeutic mechanism of electroacupuncture treatment in ischemic stroke by improving anoikis[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2026, 36(5): 39-48.