

FAK-PI3K/AKT 信号通路在新生大鼠颅盖骨生长发育过程中作用机制的研究

张司玺^{1*}, 张晓璐^{2*}, 王雷², 马玉博³, 邵国⁴, 张春阳²

摘要 目的 通过对不同时期的 SD 大鼠颅盖骨进行检测,探究大鼠颅盖骨的生长特点。**方法** 选取同窝 1、4、7、10、12 周 SD 大鼠颅盖骨(每周 3 只),使用 Real-time PCR 和 Western blot 技术检测颅盖骨中局部粘着斑激酶(FAK)-磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/AKT)信号通路的表达情况,并通过相关性分析 FAK-PI3K/AKT 在颅盖骨生长发育过程中的作用情况。**结果** 大鼠脑容积的增长与颅盖骨厚度的变化是同步增长;FAK 的表达变化与大鼠各径线的变化呈正相关;FAK 的表达变化与 PI3K/AKT 的表达变化呈正相关。**结论** FAK 的表达变化与大鼠头颅的生长发育规律具有相关性,FAK 通过激活 PI3K/AKT 信号通路在颅盖骨中发挥作用,FAK 可能作为颅骨快速生长发育期的标志物,为临床上的颅骨缺损修复治疗中时机的选择提供基础理论依据。**关键词** 颅盖骨;FAK;PI3K/AKT;生长发育

中图分类号 R 319

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)01-0109-07
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.01.018

儿科病例中,存在因外伤导致颅脑损伤而实施去骨瓣减压术,术后实施颅骨成形术进行修补。对较大面积的小儿颅骨缺损进行修补时,则需考虑修补材料与快速发育颅骨间因对抗产生的损伤,需慎重选择修补时机。小儿颅骨缺损修复对临床医生是一项复杂的挑战,不同时期修补材料的选择也是一项难题^[1]。早期颅骨与大脑的生长发育是一个相对动态的过程,修补材料选择不当,可能会导致硬脑膜甚至脑组织出现损伤^[2]。因此对颅骨快速发育

期的动态监测,可有效避免修补材料与颅骨间冲突。

局部黏着斑激酶(focal adhesion kinase,FAK)在骨细胞中的作用已得到验证^[3]。PI3K/AKT 信号通路在细胞的存活、生长、增殖和分化中起重要作用,抑制 PI3K/AKT 信号通路可导致成骨细胞损伤^[4]。FAK 可调控 PI3K/AKT 信号通路^[5],但 FAK-PI3K/AKT 通路在颅骨生长发育过程中的调控机制尚未报道。

1 材料与方法

1.1 实验动物 实验所需 6 对 SD 大鼠购自斯贝福北京生物技术有限公司,饲养于内蒙古科技大学包头医学院实验动物中心。保持饲养环境温度 20~25℃;相对湿度 50%~65%;并提供 12 h 的光循环(早 7 时-晚 19 时)。待新生 SD 大鼠出生后记录出生时期,并在相同条件下饲养。SD 大鼠在基因组和生理上与人类相似,是研究人类发育或疾病的理想模型^[6]。对生长发育期的 SD 大鼠头围、颅骨厚度及脑容量进行检测,直至 12 周体成熟^[7],在第 1、4、7、10、12 周末各取 3 只大鼠进行安乐死,并剥离颅盖骨保存于 -80℃。

1.2 主要试剂及仪器 RIPA 蛋白裂解液(北京索莱宝公司);BCA 蛋白定量试剂盒(美国 Thermo 公司);Running Buffer(美国 Invitrogen 公司);PVDF 膜(美国 Sigma-Aldrich 公司);FAK 抗体、PI3K 抗体、AKT 抗体、p-AKT 抗体和 β -Tubulin 抗体(美国 CST 公司);ECL 超敏发光液(北京普利莱公司);Goat Anti-Rabbit IgG H&L/HRP antibody(北京 Bioass 公司);NoN-Fat Powdered Milk(美国 BBI 公司);DEPC 水(美国 Sigma 公司);TRIzol(美国 Invitrogen 公司);cDNA 反转录试剂盒(美国 Thermo 公司);引物合成(上海生工公司);SYBR Green PCR Master Mix(北京康为世纪公司);天能凝胶成像仪(上海天能公司)。

1.3 物理测量

1.3.1 颅骨各径线测量 主要测量大鼠头颅固定部位之间的距离,分为 A、B、C、D 4 条线,4 条线依

2022-08-28 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:82160250、81960238);内蒙古自然科学基金(编号:2019BS08007、2021SHZR1205)

作者单位:¹ 内蒙古科技大学包头医学院,包头 014010

² 内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院神经外科,包头 014010

³ 秦皇岛市第三医院内分泌科,秦皇岛 066000

⁴ 龙岗区第三人民医院转化医学中心,深圳 518100

作者简介:张司玺,男,硕士研究生;

张春阳,男,教授,硕士生导师,责任作者,E-mail: zhangchunyang_1964@aliyun.com

* 对本文具有同等贡献

据儿童头围测量标准^[8],取其同等位置进行测量。见图1。

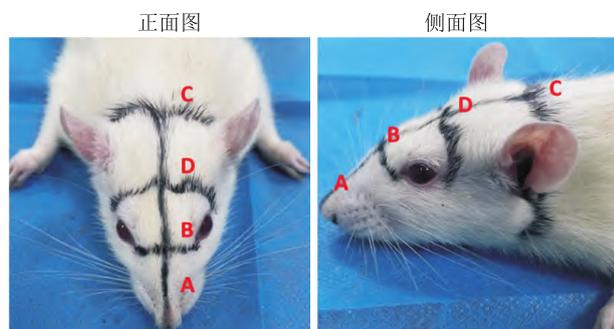


图1 大鼠头围的测量示意图

A:鼻尖至枕后粗隆之间连线;B:两眼内测缘垂直于A线的连线;C:两下颌角的连线;D:两眼外缘的连线

1.3.2 脑容积测量 将大鼠安乐死后取出完整脑组织,采用容积为10 ml的量筒称量脑组织容积。向量筒加入5 ml蒸馏水,再将脑组织放入量筒,通过液面差计算出脑组织容积。

1.3.3 颅盖骨厚度测量 将大鼠颅盖骨^[9-10](大鼠颅盖骨包括:额骨、颞骨、顶骨、枕骨)完整的剥离下来,剔除表面筋膜,使用游标卡尺测量大鼠颅盖骨指定位置颅骨厚度,再计算其平均值。如图2所示。a1点位于额骨鼻侧边缘矢状缝的左侧,距矢状缝2 mm;a2点位于额骨鼻侧边缘矢状缝的右侧,距矢状缝2 mm;b1点位于顶骨左耳侧边缘,垂直矢状缝,与d1、d2点平行;b2点位于顶骨右耳侧边缘,垂直矢状缝,与d1、d2点平行;c1点位于枕骨尾侧边缘矢状缝延长线的左侧,距矢状缝延长线2 mm;c2点位于枕骨尾侧边缘矢状缝延长线的右侧,距矢状缝延长线2 mm;d1点位于a1和c1点连线的中点处,矢状缝左侧,距矢状缝2 mm;d2点位于a1和c1点连线的中点处,矢状缝右侧,距矢状缝2 mm。

1.4 Western blot 检测 取RIPA裂解液加入到骨组织中裂解蛋白,同时按1:100比例加入蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂;超声破碎后取蛋白液用BCA试剂盒测蛋白浓度。加入抗氧化剂(10×)和上样缓冲液(4×)制样后用8%的SDS-PAGE凝胶系统分离各样本蛋白,通过电转仪将蛋白转移到PVDF膜上。5%的脱脂牛奶封闭90 min,TBST清洗后在4℃温度下过夜孵育一抗。第二天,TBST洗去未结合上的一抗后与1:3 000 TBST配置的二抗结合,最后在凝胶成像仪中曝光。

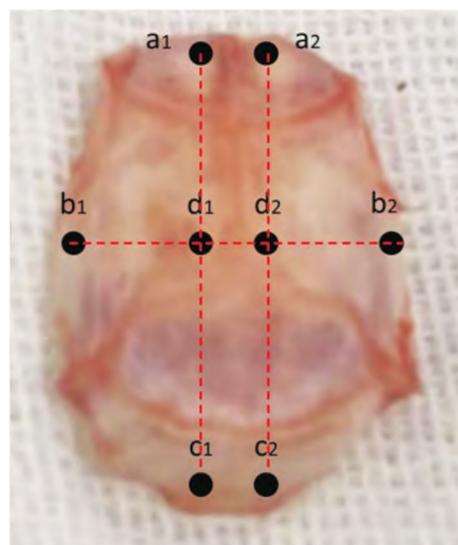


图2 颅盖骨厚度测量方法示意图

1.5 Real-time PCR 检测 使用TRIzol法提取颅盖骨组织中总RNA,随后使用Nanodrop测量总RNA浓度,同时辨别RNA是否有蛋白或有机物污染。用反转录试剂盒将其反转录为cDNA,置于-20℃保存。从GenBank上查得大鼠FAK、PI3K、AKT及内参 β -actin的基因序列,采用primer 5.0软件进行PCR引物设计,序列见表1。

表1 引物序列

基因	引物序列5'-3'
FAK	F:TGGACAGTCACAAAGTAAAGCAGC R:TGGGTGGGCGAGTTCCTATT
PI3K	F:AATGGCGACGATTTGCCG R:CAGCCATAGGGGAGCATTCC
AKT	F:CAGACCCAGCAGCCGCTC R:GACACAATCTCCGACCGTAG
β -actin	F:TGACAGGATGCAGAAGGAGA R:TAGAGCCACCAATCCACACA

Real-time PCR试剂盒进行相对PCR分析,在Real-time PCR反应仪上进行反应:第一步95℃预变性5 min;第二步95℃、30 s,FAK:58℃、30 s(PI3K:57℃,AKT:62℃),72℃、30 s,40个循环;第三步72℃退火2 min。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各基因的相对表达量,与 β -actin表达量进行归一化,并显示为相对于对照的倍数变化。

1.6 统计学处理 实验数据结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。使用Graphpad prism 8软件评估统计学差异。统计分析使用两样本t检验的方法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 颅骨各径线测量结果 1、4、7、10、12周大鼠颅骨各径线测量结果比较,A、B、C、D 4条线均明显增加。4条线均在1、4、7周时增长明显,与前1次的测量相比,四条线的增长差异都有统计学意义($P < 0.05$),7周之前A线增长了41.88%,B线增长了43.35%,C线增长了39.02%,D线增长了34.39%。7周后4条线的增长均趋于平缓。4条线在1~12周里分别增长了46.11%、46.78%、44.2%、38.42%。见表2~5,图3。

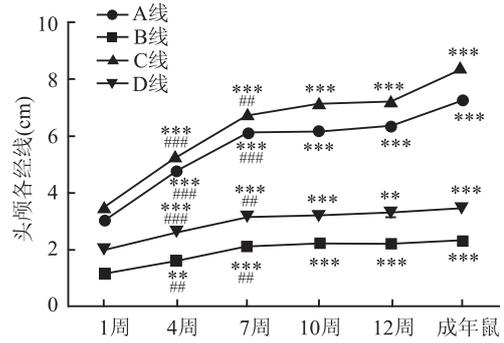


图3 大鼠颅骨各径线测量结果折线图

与本组第1周比较: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$;与本组前1周比较: ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$

表2 大鼠头颅A线测量结果($\bar{x} \pm s$)

周数	A线($n=3, \text{cm}$)	与上1周相比P值	与第1周相比P值	百分比(%)
1	2.99 ± 0.176	-	1	41.36
4	4.74 ± 0.049	<0.001	<0.001	65.61
7	6.11 ± 0.090	<0.001	<0.001	84.46
10	6.18 ± 0.033	0.360	<0.001	85.43
12	6.34 ± 0.097	0.091	<0.001	87.64
成年鼠	7.23 ± 0.047	<0.001	<0.001	100.00

表3 大鼠头颅B线测量结果($\bar{x} \pm s$)

周数	B线($n=3, \text{cm}$)	与上1周相比P值	与第1周相比P值	百分比(%)
1	1.15 ± 0.041	-	1	49.36
4	1.58 ± 0.062	0.001	0.001	67.95
7	2.10 ± 0.082	0.002	<0.001	90.13
10	2.18 ± 0.131	0.488	<0.001	93.71
12	2.22 ± 0.165	0.834	<0.001	95.14
成年鼠	2.33 ± 0.125	0.470	<0.001	100.00

表4 大鼠头颅C线测量结果($\bar{x} \pm s$)

周数	C线($n=3, \text{cm}$)	与上1周相比P值	与第1周相比P值	百分比(%)
1	3.49 ± 0.098	-	1	41.59
4	5.24 ± 0.177	<0.001	<0.001	62.38
7	6.77 ± 0.197	0.001	<0.001	80.63
10	7.18 ± 0.085	0.054	<0.001	85.52
12	7.22 ± 0.165	0.812	<0.001	85.91
成年鼠	8.40 ± 0.141	0.002	<0.001	100.00

表5 大鼠头颅D线测量结果($\bar{x} \pm s$)

周数	D线($n=3, \text{cm}$)	与上1周相比P值	与第1周相比P值	百分比(%)
1	2.01 ± 0.090	-	1	57.83
4	2.59 ± 0.029	<0.001	<0.001	74.64
7	3.17 ± 0.125	0.003	<0.001	91.26
10	3.22 ± 0.158	0.711	<0.001	92.89
12	3.30 ± 0.216	0.706	0.001	95.10
成年鼠	3.47 ± 0.047	0.346	<0.001	99.90

2.2 颅骨厚度测量结果 大鼠颅盖骨厚度测量结果比较。与第1周相比,大鼠颅盖骨的厚度明显增加($P < 0.001$),1~12周的大鼠颅盖骨的厚度增长71.35%。见图4。

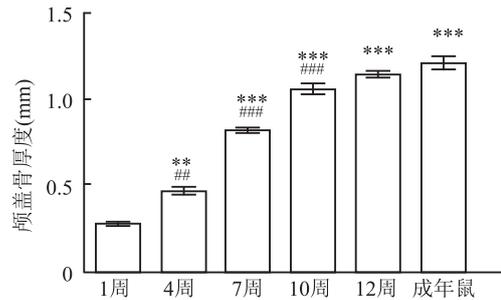


图4 大鼠颅盖骨厚度测量结果

与第1周比较: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$;与前1周比较: ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$

2.3 脑容积测量结果 大鼠脑容积测量结果比较。与第1周相比,大鼠的脑容积均明显增加($P < 0.001$),1~12周的大鼠脑容积增长69.30%。见图5。

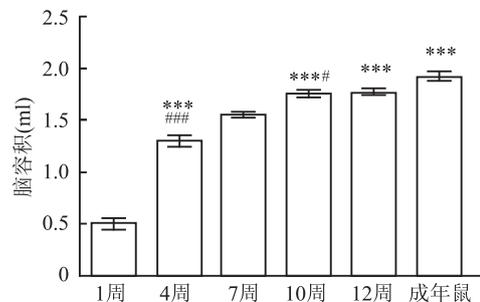


图5 大鼠脑容积结果

与第1周比较: *** $P < 0.001$;与前1周比较: # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$

2.4 Real-time PCR 结果 通过实时荧光定量

PCR 检测 1、4、7、10、12 周大鼠颅盖骨组织中 FAK mRNA 表达情况结果显示,在大鼠颅盖骨发育过程中 FAK mRNA 的表达量逐渐升高,直至第 10 周时达到最高值,随后趋于平稳。PI3K/AKT 信号通路中 PI3K 和 AKT 的表达随着颅盖骨的发育过程逐渐降低,同样随着 FAK 的增加 PI3K 和 AKT 逐渐降低。见图 6。

2.5 Western blot 结果 1、4、7、10、12 周大鼠颅盖骨组织中 FAK 蛋白表达情况比较。Western blot 检测显示,FAK 在大鼠颅盖骨发育过程中蛋白的表达量是逐渐升高的,并在第 10 周时达到最高值,随后趋于平稳,与 mRNA 的表达趋势相一致。第 4 周至第 12 周大鼠颅骨组织中 FAK 蛋白的表达情况,较第 1 周相比均有明显的增加 ($P < 0.05$)。PI3K/AKT 信号通路中,PI3K 的蛋白表达情况呈逐渐降低的趋势,与 PCR 结果相同。p-AKT/AKT 的表达呈

逐渐升高的趋势,与 FAK 的表达情况相一致。见图 7。

2.6 相关性分析 对大鼠脑容积与颅盖骨厚度相关性分析结果比较显示:脑容积的增长与颅盖骨的增厚呈正相关。相关系数为 $R^2 = 0.8401$, $R = 0.9166$, $P < 0.001$,差异有统计学意义。结果显示大鼠脑容积与颅盖骨变厚是同步增长的。

随后,对大鼠颅盖骨 FAK 蛋白相对表达量与头颅 A、B、C、D 4 条径线长度进行相关性分析。FAK 的表达与大鼠头颅的生长呈正相关。相关系数分别为 A 线: $R^2 = 0.8927$, $R = 0.9448$, $P < 0.001$; B 线: $R^2 = 0.9146$, $R = 0.9563$, $P = 0.01$; C 线: $R^2 = 0.9322$, $R = 0.9655$, $P < 0.001$; D 线: $R^2 = 0.9074$, $R = 0.9526$, $P < 0.001$ 差异有统计学意义。这些结果说明 FAK 可能在大鼠的头颅生长发育过程中具有重要作用。

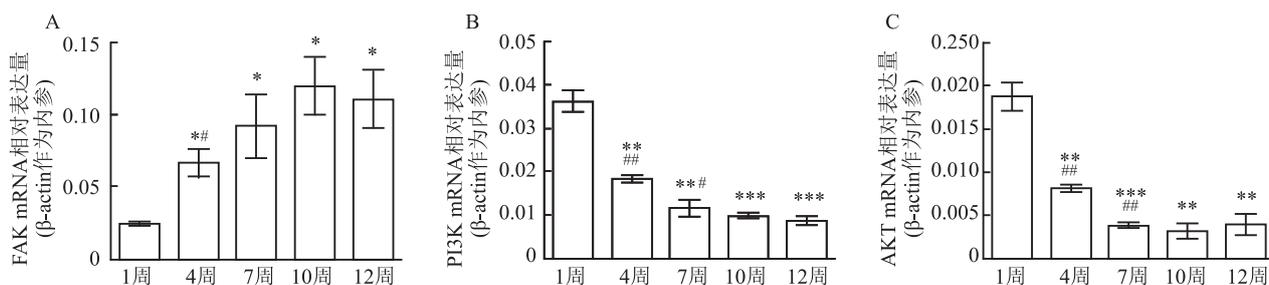


图 6 大鼠颅骨组织中 FAK (A)、PI3K (B)、AKT (C) mRNA 表达情况
与第 1 周比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与前 1 周比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

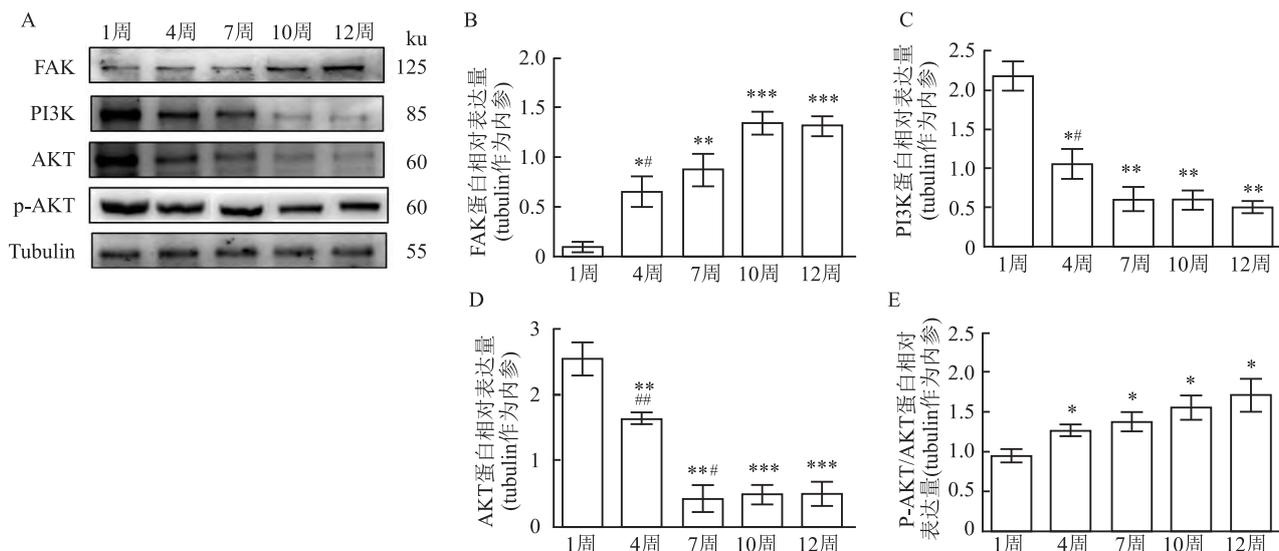


图 7 大鼠颅骨组织中 FAK、PI3K、AKT、p-AKT 蛋白检测

A: 大鼠颅骨组织中 FAK、PI3K、AKT、p-AKT 蛋白条带图; B: 大鼠颅骨组织中 FAK 蛋白表达情况统计图; C: 大鼠颅骨组织中 PI3K 蛋白表达情况统计图; D: 大鼠颅骨组织中 AKT 蛋白表达情况统计图; E: 大鼠颅骨组织中 p-AKT/AKT 蛋白表达情况统计图; 与第 1 周比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与前 1 周比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

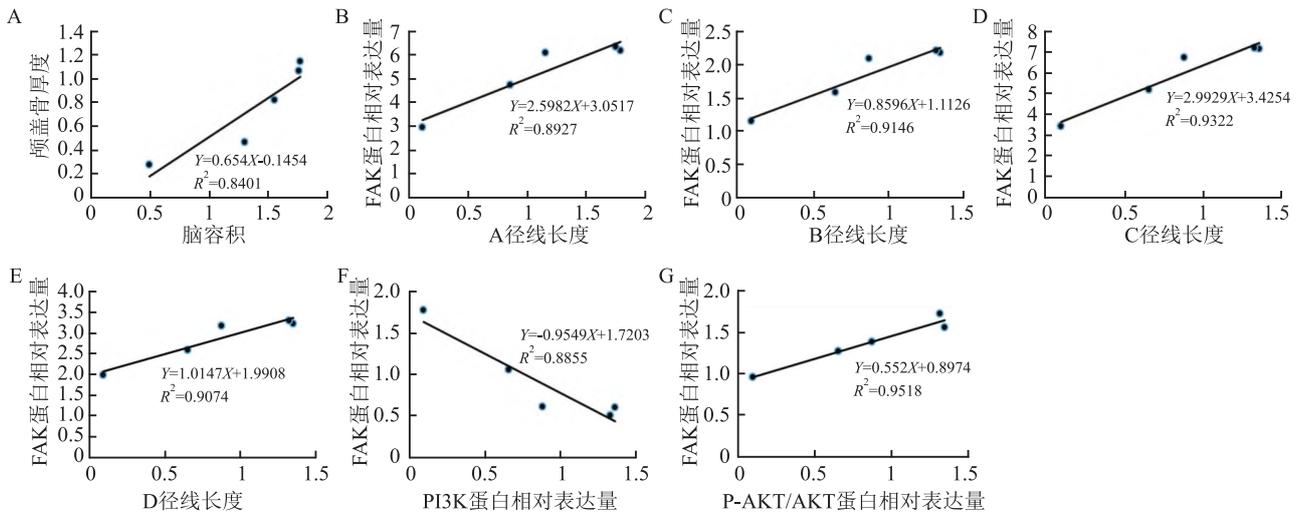


图8 大鼠颅盖骨生长发育过程中各数据的相关性分析

A:大鼠脑容积与颅盖骨厚度相关性分析;B:FAK 蛋白与 A 径线长度相关性分析;C:FAK 蛋白与 B 径线长度相关性分析;D:FAK 蛋白与 C 径线长度相关性分析;E:FAK 蛋白与 D 径线长度相关性分析;F:FAK 蛋白与 PI3K 蛋白相关性分析;G:FAK 蛋白与 p-AKT/AKT 蛋白相关性分析

对 FAK 与 PI3K 的蛋白表达水平进行相关性分析,结果显示 FAK 与 PI3K 之间呈负相关(相关系数为 $R^2 = 0.8855$, $R = 0.9410$, $P = 0.55$, 差异无统计学意义),FAK 与激活后的 PI3K/AKT (即 p-AKT/AKT)^[11]之间呈正相关(相关系数为 $R^2 = 0.9518$, $R = 0.9756$, $P = 0.0029$, 差异有统计学意义)。因此,FAK 通过激活 PI3K/AKT 信号通路影响大鼠头颅的生长发育情况。见图 8。

3 讨论

骨骼在结缔组织愈合方面是独一无二的,它完全通过细胞再生和矿物质基质的产生来愈合,因此许多儿童和婴幼儿较小的颅骨缺损最终会自动愈合,特别是存在正常硬脑膜的情况下,但仍有相当数量的颅骨缺损需要手术修复^[12]。颅顶骨来源于神经嵴起源的胚胎干细胞,有一种普遍的观点认为,取自胚胎来源相似的颅骨移植比从胚胎来源不同的长骨中获取的骨移植效果更好^[13]。在儿童颅骨缺损的治疗中,最好使用患者自己的骨材料,而不是人工材料^[14]。然而,在较大面积的缺损情况下,自体骨移植修补可能是不现实的。在这种情况下,为了不影响患儿的正常生理发育及身心健康,尽量采用合适的修补材料在恰当的时机进行手术。目前材料的选择标准已趋于成熟,但时机的判断依旧是临床医生面临的一大难题。

在课题组先前的研究^[7]中,通过对整个生长发

育期 1 周直到 12 周的 SD 大鼠,每隔一周进行一次进行测量,发现在出生后的 12 周内,大鼠颅盖骨基本完成了生长发育,在整个生长发育过程中,1~4 周时大鼠颅骨的生长速率较快,4 周后生长速度减缓。同时有研究表明 7 周左右大鼠性成熟,12 周左右大鼠体成熟期基本完成生长^[7]。因此课题组选取了第 1、4、7、10、12 周的大鼠颅盖骨,通过 real-time-PCR 和 Western blot 等分子生物学的手段进行更进一步的研究。

本研究结果显示,随着大鼠颅盖骨的生长发育,大鼠头颅各径线、脑容积以及颅盖骨的厚度均有不同程度的明显增长。对大鼠脑容积与颅盖骨厚度相关性分析发现,脑容积的增长与颅盖骨的增厚呈正相关($P < 0.001$),并且脑容积与颅盖骨变厚是同步增长。随后在对大鼠颅盖骨中 FAK 的蛋白相对表达量与头颅各径线的增长变化进行相关性分析,FAK 的表达与大鼠头颅的生长呈正相关。这些结果说明 FAK 可能在大鼠的头颅生长发育过程中具有重要作用。

接下来在对 FAK 与 PI3K/AKT 信号通路研究显示,FAK 与 PI3K/AKT 信号通路之间具有相互作用,并且 FAK 与激活后的 PI3K/AKT 信号通路之间具有相关性且呈正相关。由此可以看出,在大鼠颅骨生长发育的过程中涉及到能量的代谢,FAK 主要通过激活 PI3K/AKT 影响大鼠头颅的生长发育情况。

骨组织通过骨细胞的协同作用不断重塑,包括破骨细胞的骨吸收和成骨细胞的骨形成^[15]。骨细胞是存在于矿化骨基质中的细胞,是主要的骨骼机械传感器。骨细胞通过其树突状突起上流体剪切力(fluid shear stress, FFSS)的变化来感知机械信号,而FAK则是骨细胞中将这类机械信号转化为生化信号传入细胞中的重要因子^[16]。同时有研究^[11]表明PI3K/AKT信号通路可以促进骨细胞的分化和成熟,对骨损伤的修复起着至关重要的作用。本研究表明,FAK的表达变化规律与大鼠头颅的生长发育规律具有相关性,FAK可能通过调控PI3K/AKT信号通路在颅盖骨发育中发挥作用,FAK有作为颅骨快速生长发育期的标志物潜力,并为临床上的颅骨缺损修复治疗中时机的选择提供基础理论依据。

参考文献

- [1] Hersh D S, Anderson H J, Woodworth G F, et al. Bone flap resorption in pediatric patients following autologous cranioplasty[J]. *Oper Neurosurg (Hagerstown)*, 2021, 20(5): 436–43.
- [2] Elbanoby T, Aly G M, Abdelfattah U, et al. Bone transport distraction osteogenesis in the reconstruction of pediatric posttraumatic calvarial defects[J]. *Plast Reconstr Surg Glob Open*, 2019, 7(5): e2201.
- [3] 杨扬, 张司玺, 冯士军, 等. 局部黏着斑激酶在骨细胞中的作用[J]. *中国临床医生杂志*, 2020, 48(12): 1404–6.
- [4] Zhang Z, Zhang X, Zhao D, et al. TGF- β 1 promotes the osteoinduction of human osteoblasts *via* the PI3K/AKT/mTOR/S6K1 signalling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(5): 3505–18.
- [5] Wang R, Liu W, Wang Q, et al. Anti-osteosarcoma effect of hydroxyapatite nanoparticles both *in vitro* and *in vivo* by downregulating the FAK/PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Biomater Sci*, 2020, 8(16): 4426–37.
- [6] Rydell – Törmänen K, Johnson J R. The applicability of mouse models to the study of human disease[J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1940: 3–22.
- [7] Matrov D, Kõiv K, Kanarik M, et al. Middle-range exploratory activity in adult rats suggests higher resilience to chronic social defeat[J]. *Acta Neuropsychiatr*, 2016, 28(3): 125–40.
- [8] 张晓璐, 杨扬, 文平, 等. 钛网修补材料对幼羊颅骨生长发育的影响研究[J]. *中华神经外科杂志*, 2020, 36(12): 1273–9.
- [9] Catala M, Khonsari R H, Paternoster G, et al. Développement et croissance de la voûte du crâne[J]. *Neurochirurgie*, 2019, 65(5): 210–5.
- [10] Otto G, Franklin C L, Clifford C B, et al. Biology and diseases of rats[M]. *Laboratory Animal Medicine*, 2015: 151–207.
- [11] Zhang J, Liu X, Li H, et al. Exosomes/tricalcium phosphate combination scaffolds can enhance bone regeneration by activating the PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7(1): 136.
- [12] 刘岩, 邵国, 张春阳. 幼羊颅骨缺损修复中 LncRNA 的差异性表达及作用[J]. *安徽医科大学学报*, 2021, 56(1): 82–6.
- [13] Harper N S, Eddleman S, Shukla K, et al. Radiologic assessment of skull fracture healing in young children[J]. *Pediatr Emerg Care*, 2021, 37(4): 213–7.
- [14] Hitoshi Y, Yamashiro S, Yoshida A, et al. Cranial reconstruction with titanium mesh for open depressed skull fracture in children: reports of two cases with long-term observation[J]. *Kurume Med J*, 2020, 66(1): 77–80.
- [15] Halloran D R, Heubel B, MacMurray C, et al. Differentiation of cells isolated from human femoral heads into functional osteoclasts[J]. *J Dev Biol*, 2022, 10(1): 6.
- [16] Sato T, Verma S, Andrade C D C, et al. A FAK/HDAC5 signaling axis controls osteocyte mechanotransduction[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3282.

Study on the mechanism of FAK-PI3K/AKT signal pathway in the growth and development of neonatal rat cranial bone

Zhang Sixi¹, Zhang Xiaolu², Wang Lei², Ma Yubo³, Shao Guo⁴, Zhang Chunyang²

¹Baotou Medical College of Inner Mongolia University of Science and Technology Baotou 014010; ²Dept of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital of Baotou Medical College of Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014010; ³Dept of Endocrinology, The Third Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao 066000; ⁴Translational Medicine Center, Third People's Hospital of Longgang District, Shenzhen 518100

Abstract Objective To explore the growth characteristics of rat calvaria by detecting the calvaria of SD rats in different periods. **Methods** The calvaria of SD rats at 1, 4, 7, 10, and 12 weeks from the same littermate were selected (3 rats per week). Real-time PCR and Western blot techniques were used to detect the expression of focal adhesion kinase (FAK)-phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B (PI3K/AKT) signal pathway in the calvaria, and the role of FAK-PI3K/AKT in the growth and development of the calvaria was analyzed by correlation.

网络出版时间:2022-12-26 17:02:18 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail//34.1065.R.20221226.1545.030.html

VGLL4 基因多态性与幽门螺杆菌感染的关系

杨霞¹,董文杰¹,武金宝²,马立聪²,孟宪梅²,高芳³,贾彦彬^{1,2,4}

摘要 目的 探讨残留样蛋白质家族成员4(VGLL4)基因单核苷酸多态性(SNP)与幽门螺杆菌(*H. pylori*)感染的关系。**方法** 选取450例体检者的血液样本,采用ELISA法将样本分为幽门螺杆菌阴性组($n=220$)和幽门螺杆菌阳性组($n=230$)。采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)技术对VGLL4 SNP rs1803489、rs7617620、rs13078528位点进行基因分型。**结果** 内蒙古包头地区汉族人群中VGLL4基因SNP rs1803489、rs7617620、rs13078528与幽门螺杆菌感染没有关联。**结论** 在内蒙古包头地区的汉族人群中VGLL4基因SNP rs1803489、rs7617620、rs13078528在幽门螺杆菌感染中不起主要作用。

关键词 残留样蛋白质家族成员4;单核苷酸多态性;幽门螺杆菌;遗传易感性

中图分类号 R 394.5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)01-0115-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.01.019

国际癌症研究机构(IARC)研究显示,78%的胃癌病例归因于幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的感染,其中非贲门胃癌的*H. pylori*感染率为94.6%。因此*H. pylori*被认为是胃癌的主要致癌原,是非贲门胃癌发生的必要原因^[1]。*H. pylori*感

染者大多数无明显症状,因此不易受到关注,往往感染可潜伏数年之久直到发展为慢性萎缩性胃炎及胃溃疡等癌前病变,甚至发展为胃癌^[2]。*H. pylori*的感染及临床转归受环境和遗传等因素的共同作用,最终仅有不到3%的*H. pylori*感染者发展成为胃癌,提示宿主的遗传因素在*H. pylori*的感染及临床转归中发挥了重要作用^[3]。研究^[4]显示,一些基因的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)与*H. pylori*感染的遗传易感性相关联。一些SNPs可以作为*H. pylori*感染的重要遗传标志物,用于筛查*H. pylori*感染的高危人群和防治*H. pylori*感染相关疾病的重要靶点。前期课题组研究了残留样蛋白质家族成员4(Vestigial like family member 4, VGLL4)基因的3个SNP rs1803489、rs7617620和rs13078528,发现在包头汉族人群中SNP rs1803489与非贲门胃癌的发病风险相关联^[5]。由于同一SNP在疾病的不同阶段可能起的作用不相同,目前关于VGLL4基因多态性与胃癌发病的始动因子*H. pylori*感染的关系还未见有报道,因此,该研究检测了VGLL4基因多态性与*H. pylori*感染之间的关系,探讨VGLL4 SNPs增加胃癌发病风险是否是通过增加*H. pylori*感染风险介导的,为以VGLL4为基础的抗*H. pylori*感染相关疾病的治疗和胃癌的早期预防提供理论基础和实验依据。

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集450例正常体检者,其中男性336例,女性114例。所有研究对象的纳入标准为:①在包头地区生活5年以上互无血缘关系的汉族人群;②三代之内未有与其他民族通婚史。排除

2022-08-31 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81650017);内蒙古自然科学基金项目(编号:2020LH08004)

作者单位:包头医学院¹基础医学与法医学院、³医学技术与麻醉学院、⁴护理学院,包头 014060

²包头医学院第二附属医院内蒙古消化病研究所,包头 014030

作者简介:杨霞,女,硕士研究生;

贾彦彬,女,教授,硕士生导师,责任作者, E-mail: jyb690318@hotmail.com;

高芳,女,副教授,责任作者, E-mail:34646929@qq.com

Results The increase of brain volume and the thickness of calvaria increased synchronously, the expression of FAK was positively correlated with the changes of meridians, and the expression of FAK was positively correlated with the expression of PI3K/AKT. **Conclusion** The expression of FAK is related to the growth and development of rat skull. FAK plays a role in calvaria by activating PI3K/AKT signal pathway. FAK may be used as a marker of rapid skull growth and development, which provides a basic theoretical basis for the timing of clinical skull defect repair and treatment.

Key words cranial bone; FAK; PI3K/AKT; growth and development