

慢性脑缺血后脑组织 AQP4 的表达变化

易耀兴, 张杲黎, 康丽丽, 罗培瑞, 王茂琪, 万珊珊, 杨 美

(重庆医科大学神经科学中心、重庆医科大学基础医学院解剖教研室, 重庆 400016)

【摘要】目的:探讨水通道蛋白-4(aquaporin-4, AQP4)在慢性脑缺血后的表达变化及其可能作用。**方法:**将 40 只 SD 大鼠随机分为对照组(N 组, 10 只)和实验组(30 只);实验组根据脑缺血时长,分为慢性脑缺血 2 周组(2W 组)、1 月龄组(1M 组)和 2 月龄组(2M 组),每组各 10 只。采用双侧颈总动脉永久结扎法(2-VO),构建大鼠慢性脑缺血模型。干湿重法检测大鼠脑含水量,苏木精-伊红染色法观察大鼠脑组织形态学的变化,尼氏染色法观察细胞凋亡情况。免疫荧光法检测 AQP4 的表达水平和分布情况,免疫印迹法测定 AQP4 蛋白的相对表达量。免疫荧光检测 AQP4 与小胶质细胞/巨噬细胞特异性蛋白抗体(ionized calcium binding adapter molecule 1, IBA1)(小胶质细胞的标志物)表达情况。**结果:**大鼠慢性脑缺血组脑含水量(77.778 ± 0.042 , 77.813 ± 0.142 , 77.805 ± 0.027)与对照组(77.786 ± 0.029)相比,无统计学差异($F=0.136$, $P=0.936$),且慢性脑缺血各组之间亦无统计学差异。苏木精-伊红染色和尼氏染色结果显示:与对照组相比,慢性脑缺血组脑组织细胞排列紊乱,部分细胞核固缩、消失,尼氏体数量减少。免疫荧光结果显示,慢性脑缺血组大鼠脑组织较对照组 AQP4 表达增强(前额叶: $F=1089.311$, $P=0.000$, N 组: 90.000 ± 1.000 , 2W 组: 166.722 ± 3.660 , 1M 组: 200.347 ± 0.284 , 2M 组: 229.333 ± 5.033 ;顶叶: $F=784.332$, $P=0.000$, N 组: 171.512 ± 1.340 , 2W 组: 215.107 ± 1.817 , 1M 组: 223.014 ± 2.080 , 2M 组: 232.654 ± 1.319),小胶质细胞活化增生,且部分 AQP4 与 IBA1 共标(前额叶: $F=182.218$, $P=0.000$, N 组: 0.718 ± 0.012 , 2W 组: 0.822 ± 0.000 , 1M 组: 0.907 ± 0.016 , 2M 组: 0.970 ± 0.020 ;顶叶: $F=785.416$, $P=0.000$, N 组: 0.861 ± 0.009 , 2W 组: 0.912 ± 0.005 , 1M 组: 0.966 ± 0.003 , 2M 组: 0.751 ± 0.003);免疫印迹法结果显示,慢性脑缺血组大鼠脑组织 AQP4 的表达水平上调,并且随缺血时间延长,其表达进一步增强(前额叶: $F=587.102$, $P=0.000$, N 组: 0.589 ± 0.026 , 2W 组: 0.938 ± 0.028 , 1M 组: 1.185 ± 0.011 , 2M 组: 1.515 ± 0.060 ;顶叶: $F=86.881$, $P=0.000$, N 组: 0.663 ± 0.073 , 2W 组: 0.865 ± 0.044 , 1M 组: 1.228 ± 0.082 , 2M 组: 1.282 ± 0.047)。**结论:**慢性脑缺血后,由于缺血缺氧导致神经元凋亡、小胶质细胞活化增生和 AQP4 表达上调,上调的 AQP4 可能参与了慢性脑缺血后的相关炎症过程。

【关键词】慢性脑缺血;水通道蛋白-4;脑**【中图分类号】**R322.81**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2018-04-13

Change in the expression of aquaporin-4 in brain tissue after chronic cerebral ischemia

Yi Yaoxing, Zhang Gaoli, Kang Lili, Luo Yurui, Wang Maoqi, Wan Shanshan, Yang Mei

(Institute of Neuroscience, Department of Anatomy, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the change in the expression of aquaporin-4 (AQP4) after chronic cerebral ischemia and the possible role of AQP4. **Methods:** A total of 40 Sprague-Dawley rats were randomly divided into control group (N group with 10 rats) and experimental group with 30 rats; according to the duration of cerebral ischemia, the experiment group was further divided into 2-week chronic cerebral ischemia group (2W group with 10 rats), 1-month-old group (1M group with 10 rats), and 2-month-old group (2M group with 10 rats). Ligation of both common carotid arteries was performed to establish a rat model of chronic cerebral ischemia. The wet-dry weight method was used to measure brain water content, hematoxylin and eosin staining was used to observe the histological changes of brain tissue, and Nissl staining was used to observe cell apoptosis. Immunofluorescence assay was used to measure the expression and distribution of AQP4, and Western blot was used to measure the relative expression level of AQP4 protein. Immunofluorescence assay was used to measure the expression of AQP4 and IBA1, a marker for microglial cells. **Results:** There

was no significant difference in brain water content between the 2W/1M/2M groups and the N ($77.778 \pm 0.042/77.813 \pm 0.142/77.805 \pm 0.027$ vs. 77.786 ± 0.029 , $F=0.136$, $P=0.936$), and there was no significant difference between the 2W, 1M, and 2M groups. Hematoxylin and eosin staining and Nissl staining showed that compared with the N group, the experimental group had disordered arrangement of brain cells, karyopyknosis or disappearance of nuclei in some cells, and a reduction in Nissl

作者介绍: 易耀兴, Email: 1119071145@qq.com,

研究方向: 水通道蛋白的相关研究。

通信作者: 杨 美, Email: yangmei19802002@126.com。**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目(编号: 81671312, 81000566);

重庆市委基础与前沿研究计划资助项目(编号: cstc2015jcyjA

10018); 重庆市研究生科研创新资助项目(编号: cys16118)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20190222.0909.026.html>

(2019-02-22)

bodies. Immunofluorescence assay showed that compared with the N group, the 2W, 1M, and 2M groups had significantly higher expression of AQP4 in the prefrontal lobe ($166.722 \pm 3.660/200.347 \pm 0.284/229.333 \pm 5.033$ vs. 90.000 ± 1.000 , $F=1\ 089.311$, $P=0.000$) and the parietal lobe ($215.107 \pm 1.817/223.014 \pm 2.080/232.654 \pm 1.319$ vs. 171.512 ± 1.340 , $F=784.332$, $P=0.000$), as well as activation and proliferation of microglial cells, and AQP4 was partially co-labeled with IBA1 (prefrontal lobe: $0.822 \pm 0.000/0.907 \pm 0.016/0.970 \pm 0.020$ vs. 0.718 ± 0.012 , $F=182.218$, $P=0.000$; parietal lobe: $0.912 \pm 0.005/0.966 \pm 0.003/0.751 \pm 0.003$ vs. 0.861 ± 0.009 , $F=785.416$, $P=0.000$). Western blotting showed that compared with the N group, the 2W, 1M, and 2M groups had a significant increase in the expression of AQP4 in brain tissue over the time of ischemia (prefrontal lobe: $0.938 \pm 0.028/1.185 \pm 0.011/1.515 \pm 0.060$ vs. 0.589 ± 0.026 , $F=587.102$, $P=0.000$; parietal lobe: $0.865 \pm 0.044/1.228 \pm 0.082/1.282 \pm 0.047$ vs. 0.663 ± 0.073 , $F=86.881$, $P=0.000$). **Conclusion:** After chronic cerebral ischemia, hypoxia and ischemia may cause neuronal apoptosis, activation and proliferation of microglial cells, and upregulation of AQP4 expression, suggesting that AQP4 may be involved in the inflammatory process after chronic cerebral ischemia.

【Key words】chronic cerebral ischemia; aquaporin-4; brain

2012 年在联合国世界卫生组织所开展的卫生健康调查,发现包括中国在内的多个国家,脑血管相关疾病位居死亡原因的前三位。目前在世界范围内,随着人口老龄化程度的加剧,缺血性脑血管疾病的发病率呈逐年升高趋势,成为威胁老年人健康的最主要疾病之一。慢性脑缺血是指各种原因引发的长期脑血流灌注不足,是血管性痴呆、Alzheimer 病和皮层下动脉硬化性脑病等相关疾病的共同致病因素之一,可表现为患者在学习、记忆与空间信息处理方面的能力下降,并最终造成认知功能障碍^[1]。这些症状将严重影响患者的生活质量,甚至威胁患者的生命,给患者家庭、社会造成巨大的经济负担,成为严重危害我国国民健康的社会公共问题。近年来研究表明,慢性脑缺血后,中枢神经系统水代谢失衡且引发一系列炎症反应^[2],因而研究慢性脑缺血后水的转运及相关炎症反应具有重要意义。据报道,缺血后脑水肿的形成与水通道蛋白(aquaporin, AQP)密切相关^[3]。在急性脑缺血和脑缺血再灌注模型中,伴随脑水肿的发生发展, AQP4 的表达增强,其表达上调可能参与了脑水肿的形成^[4]。另有研究发现, AQP4 可表达于活化的小胶质细胞中,进而参与炎症反应^[5-6]。然而,有关慢性脑缺血后 AQP4 的表达变化及其与炎症反应的关系,目前尚未见报道。据此,本研究拟采用双侧颈总动脉永久结扎法(2-VO)构建大鼠慢性脑缺血模型^[7],观察 AQP4 的表达变化及分布情况,为深入探讨慢性脑缺血的发病机制提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及其来源

大鼠,体质量 200~230 g,由重庆医科大学实验动物中心提供(合格证号:SYXK 渝 2107-0023)。

1.1.2 主要试剂 兔多克隆 AQP4、小鼠单克隆甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)、山羊抗兔 488 购自北京百奥森泰生物技术有限公司;4,6-二氨基-2-苯基吲哚(4,6-diamino-2-phenyl indole, DAPI)购自德国罗氏生物公司;十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)凝胶制备试剂盒购自金斯瑞生物科技有限公司;山羊抗兔 IgG 购自 Cell Signaling Technology 公司;山羊抗小鼠 IgG 购自 ABclonal 公司。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组及模型构建 将 40 只 SD 大鼠随机分为对照组(N 组,10 只)和实验组(30 只);实验组根据脑缺血时长^[8],分为慢性脑缺血 2 周组(2W 组)、1 月龄组(1M 组)和 2 月龄组(2M 组),每组各 10 只。实验组采用 2-VO,构建大鼠慢性脑缺血模型。

1.2.2 脑含水量检测 于相应时间点,腹腔注射麻醉各组大鼠,采用 4 ℃生理盐水进行灌注后,迅速断头取脑,将脑干、小脑及嗅球等去除,分离出所需脑组织并称量其湿重,并将脑组织置于 60 ℃恒温箱中,连续烘烤 48 h 至恒重(2 次干重之差小于 0.000 2 g),再称量其干重。按照公式,脑含水量=(湿重-干重)/湿重 $\times$ 100%,计算脑含水量。

1.2.3 苏木精-伊红染色 脑组织切片经含吐温-20 的磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBST)清洗,苏木精染色后流水清洗,1%盐酸乙醇分化,饱和碳酸锂复蓝后流水冲洗,伊红染色后流水冲洗,酒精梯度脱水,二甲苯(I)、二甲苯(II)依次透明,中性树胶封固,晾干。

1.2.4 尼氏染色 脑组织切片经 PBST 清洗,尼氏染色液染色后流水清洗,70%乙醇洗涤 2 次,95%乙醇(I)、95%乙醇(II)依次脱水,二甲苯(I)、二甲苯(II)依次透明,中性树胶封片,晾干。

1.2.5 免疫荧光染色 脑组织切片经 PBST 清洗 4 次,加入 5%牛血清白蛋白(bovine albumin, BSA)于 37 ℃水浴箱封闭 1 h,滴加一抗 AQP4(1:400)、IBA1(1:100),于 4 ℃孵育过夜,

取出后置于 37 ℃ 水浴箱复温 1 h; PBST 清洗 3 次, 滴加相应二抗兔 488 (1:400)、鼠 Cy3 (1:200), 并置于 37 ℃ 水浴箱中避光孵育 1 h; PBST 清洗 3 次, DAPI 染核 10 min; PBST 清洗 3 次, 抗荧光淬灭剂封片, 于荧光显微镜下观察脑组织 AQP4、IBA1 的表达并采集图片。

1.2.6 免疫印迹检测 将相应体积的裂解液置于装有组织标本的 EP 管中, 并用组织研磨杵充分研磨, 冰上裂解 30 min, 而后将 EP 管置于离心机中离心 (4 ℃, 12 000 r/min, 30 min), 取上清液, 采用 BCA 法测总蛋白浓度。SDS-PAGE 凝胶电泳, 冰浴下转膜, 用 5% 脱脂奶粉 37 ℃ 封闭 1 h。分别加入新鲜配制液, 其中一抗 GAPDH (1:5 000)、AQP4 (1:1 000), 于 4 ℃ 孵育过夜。采用 PBST 清洗 3 次, 加入二抗, 于 37 ℃ 下孵育 1 h, PBST 清洗 6 次, 并用 ECL 法显影。运用 Quantity One 软件测定各目的蛋白与内参蛋白的灰度值, 并对各蛋白的相对表达量进行计算。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 23.0 版统计学软件分析处理实验数据, 并以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用单因素方差分析进行多组之间均数的比较, 采用 LSD-*t* 检验进行组间两两比较, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 慢性脑缺血对大鼠脑含水量的影响

与对照组相比, 慢性脑缺血组的脑含水量并无统计学差异 ($F=0.136, P=0.936$), 结果见图 1, 表 1。

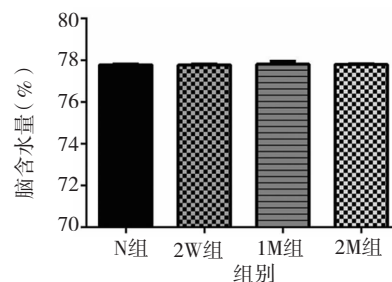


图 1 干湿重法检测大鼠脑含水量变化

表 1 对照组和慢性脑缺血组大鼠脑含水量比较

组别 (n=3)	脑含水量
N组	77.786 ± 0.029
2W组	77.778 ± 0.042
1M组	77.813 ± 0.142
2M组	77.805 ± 0.027
F 值	0.136
P 值	0.936

2.2 慢性脑缺血对大鼠脑组织形态的影响

2.2.1 苏木精-伊红染色 苏木精-伊红染色结果显示, 对照组细胞形态正常, 细胞核大, 呈圆形, 细胞核仁、边界均清晰可见; 而慢性脑缺血各组前额叶和顶叶皮质区细胞排列紊乱, 可见细胞核固缩, 部分区域细胞核消失 (图 2)。

2.2.2 尼氏染色 尼氏染色结果显示, 对照组神经元细胞形态正常, 尼氏体数量多, 分布均匀, 呈深蓝色; 而慢性脑缺血组神经元细胞形态不规则, 尼氏体数量减少, 着色较浅, 部分尼氏体分布不均 (图 3)。

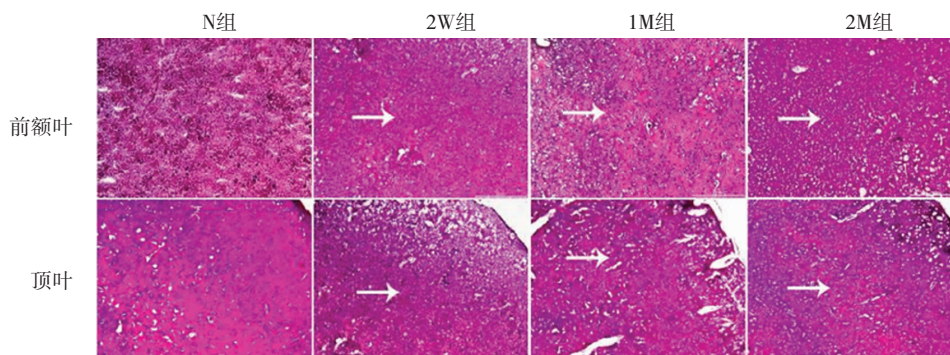


图 2 大鼠脑组织不同部位 HE 染色结果

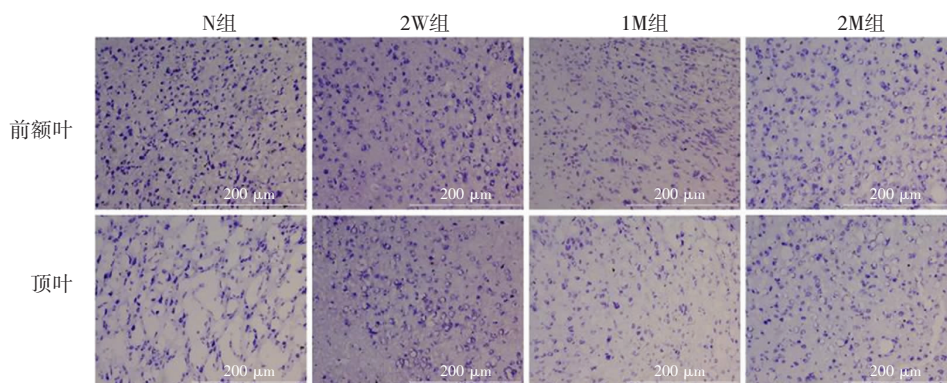
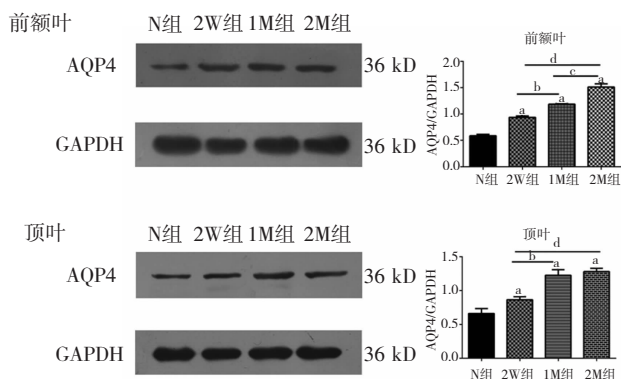


图 3 大鼠脑组织不同部位尼氏染色结果

2.3 免疫印迹法结果

免疫印迹法结果如图 4 所示,对照和慢性脑缺血各组中均可见 AQP4 表达。与对照组相比,慢性脑缺血组 AQP4 表达增强,且随缺血时间延长,AQP4 的表达进一步增强,其差异具有统计学意义(前额叶: $F=587.102, P=0.000$;1M 组与 2W 组比较, $LSD-t=19.903, P=0.000$;2M 组与 1M 组比较, $LSD-t=11.537, P=0.000$;顶叶: $F=86.881, P=0.000$;1M 组与 2W 组比较, $LSD-t=7.280, P=0.000$;2M 组与 1M 组比较, $LSD-t=1.143, P=0.297$),具体见图 4,表 2。



注:a,与对照组相比, $P=0.000$;b:1M 组与 2W 组相比, $P=0.000$;c:2M 组与 1M 组相比, $P=0.000$;d:2M 组与 2W 组相比, $P=0.000$

图 4 对照和慢性脑缺血组 AQP4 的表达

表 2 对照和慢性脑缺血组 AQP4 蛋白水平比较

组别 (n=3)	前额叶	顶叶
N组	0.589 ± 0.026	0.663 ± 0.073
2W组	0.938 ± 0.028 ^a	0.865 ± 0.044 ^a
1M组	1.185 ± 0.011 ^{ab}	1.228 ± 0.082 ^{ab}
2M组	1.515 ± 0.060 ^{ac}	1.282 ± 0.047 ^{ad}
F 值	587.102	86.881
P 值	0.000	0.000

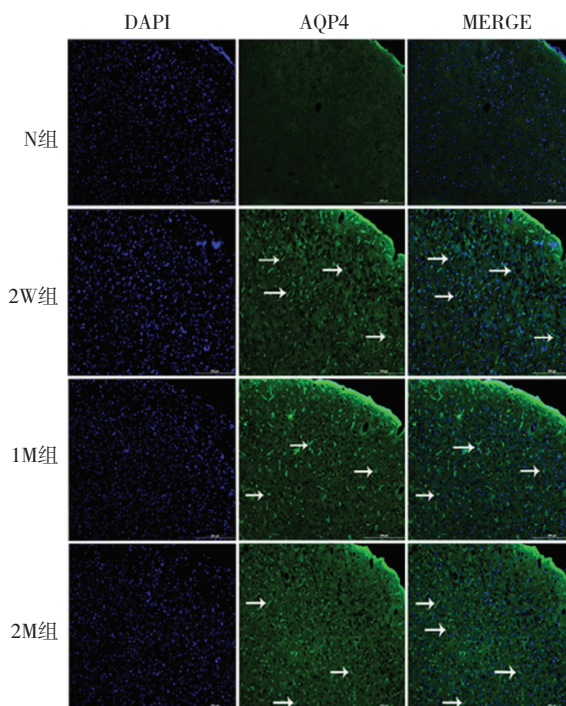
注:a,与对照组相比, $P=0.000$;b:1M 组与 2W 组相比, $P=0.000$;c:2M 组与 1M 组相比, $P=0.000$;d:2M 组与 2W 组相比, $P=0.000$

2.4 免疫荧光结果

2.4.1 AQP4 免疫荧光结果 免疫荧光结果如图 5、图 6、表 3 所示,对照和慢性脑缺血各组前额叶和顶叶皮质区, AQP4 均有表达。与对照组相比,慢性脑缺血组 AQP4 的表达增强,且随着慢性脑缺血时间的延长,AQP4 的表达亦进一步增强(前额叶: $F=1089.311, P=0.000$;1M 组与 2W 组比较, $LSD-t=15.864, P=0.000$;2M 组与 1M 组比较, $LSD-t=9.959, P=0.001$;顶叶: $F=784.332, P=0.000$;1M 组与 2W 组比较, $LSD-t=4.960, P=0.008$;2M 组与 1M 组比较, $LSD-t=6.780, P=0.002$)。

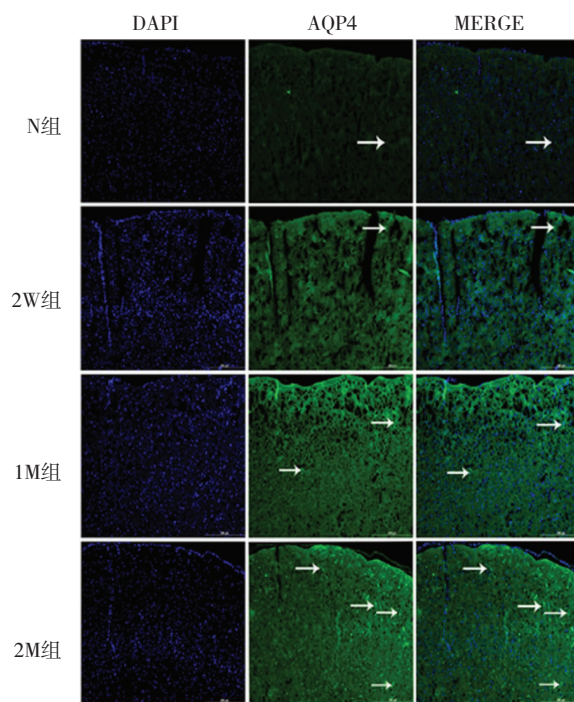
2.4.2 AQP4 与 IBA1 免疫荧光结果 免疫荧光结果如图 7、图 8、表 4 所示,与对照组相比,慢性脑缺血后,慢性脑缺血各组前额叶和顶叶皮质区 IBA1 表达上调,且部分与 AQP4 共

标(前额叶: $F=182.218, P=0.000$;1M 组与 2W 组比较, $LSD-t=9.322, P=0.001$;2M 组与 1M 组比较, $LSD-t=4.358, P=0.012$;顶叶: $F=785.416, P=0.000$;1M 组与 2W 组比较, $LSD-t=8.340, P=0.001$;2M 组与 1M 组比较, $LSD-t=15.795, P=0.000$)。



注:绿色,AQP4;标尺:200 μm

图 5 对照和慢性脑缺血组中前额叶皮质区 AQP4 的表达



注:绿色,AQP4;标尺:200 μm

图 6 对照和慢性脑缺血组中顶叶皮质区 AQP4 的表达

表 3 对照组和慢性脑缺血组前额叶皮质区和顶叶皮质区 AQP4 平均光密度值

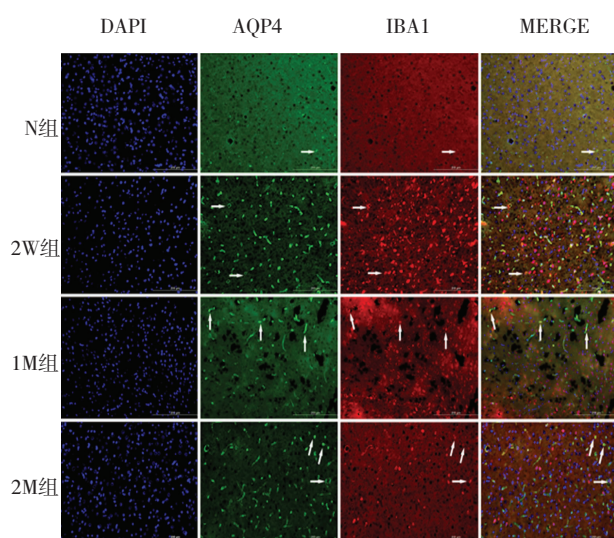
组别	前额叶	顶叶
N组 (n=3)	90.000 ± 1.000	171.512 ± 1.340
2W组 (n=3)	166.722 ± 3.660 ^a	215.107 ± 1.817 ^a
1M组 (n=3)	200.347 ± 0.284 ^{ab}	223.014 ± 2.080 ^{ad}
2M组 (n=3)	229.333 ± 5.033 ^{ac}	232.654 ± 1.319 ^{ac}
F 值	1 089.311	784.332
P 值	0.000	0.000

注:a,与对照组相比, $P=0.000$;b:1M组与2W组相比, $P=0.000$;c:2M组与1M组相比, $P=0.001$;d:2M组与1M组相比, $P=0.008$;e:2M组与1M组相比, $P=0.002$

表 4 对照组和慢性脑缺血组前额叶皮质区和顶叶皮质区 AQP4 和 IBA1 共标平均光密度值

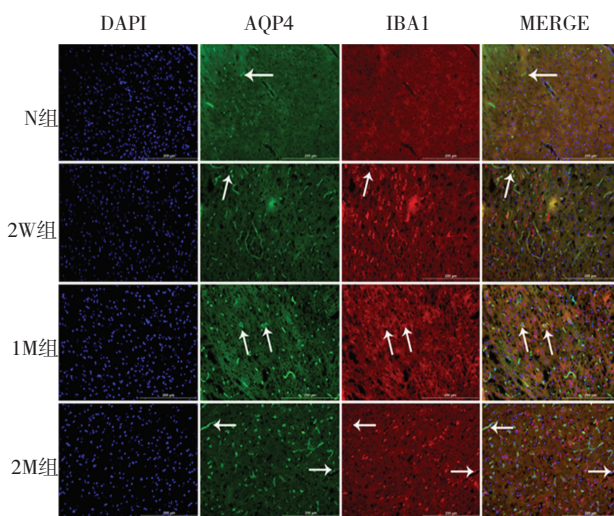
组别	例数	前额叶	顶叶
N组 (n=3)	3	0.718 ± 0.012	0.751 ± 0.003
2W组 (n=3)	3	0.822 ± 0.000 ^a	0.861 ± 0.009 ^a
1M组 (n=3)	3	0.907 ± 0.016 ^{ab}	0.912 ± 0.005 ^{ab}
2M组 (n=3)	3	0.970 ± 0.020 ^{ac}	0.966 ± 0.003 ^{ad}
F 值		182.218	785.416
P 值		0.000	0.000

注:a,与对照组相比, $P=0.000$;b:1M组与2W组相比, $P=0.001$;c:2M组与1M组相比, $P=0.012$;d:2M组与1M组相比, $P=0.000$



注:绿色,AQP4;红色,IBA1;标尺:200 μm

图 7 对照组和慢性脑缺血组中前额叶皮质区 AQP4 与 IBA1 的表达



注:绿色,AQP4;红色,IBA1;标尺:200 μm

图 8 对照组和慢性脑缺血组中顶叶皮质区 AQP4 与 IBA1 的表达

3 讨论

随着老龄人口加剧,缺血性脑血管疾病的发病率日益增加,该类疾病严重影响老年患者的生活质量。慢性脑缺血是引起中枢神经系统认知功能障碍的一类常见疾病。目前对慢性脑缺血的临床治疗尚无十分有效的干预手段,因此,深入研究该疾病的发病机制和病理生理过程,可为临床治疗提供有利的实验依据和理论基础。

脑组织长期处于慢性缺血状态,可导致白质疏松、神经胶质细胞增生等一系列病理改变。本实验 HE 染色结果显示,慢性脑缺血脑组织细胞排列,部分细胞核固缩甚至消失;尼氏染色结果显示,慢性脑缺血后,尼氏体数量减少,部分尼氏小体分布不均匀。上述结果表明慢性脑缺血可导致脑组织结构受损,神经元凋亡,进而造成空间学习记忆能力下降等相应的功能障碍^[9]。

脑水肿是脑缺血后常见的一种并发症。近年来,研究发现脑水肿的形成与 AQP4 密切相关^[3]。现已阐明 AQP4 是一类膜通道整合蛋白,在不同的组织器官中介导水分子的跨膜转运,维持组织器官内外的水平衡,在中枢神经系统中发挥重要病理生理作用^[10]。AQP4 家族中,AQP4 是调节脑组织水平衡最重要的水通道蛋白,在脑组织中分布广泛,含量丰富,主要表达于星形胶质细胞终足上^[10-11]。

近年来国内外诸多研究证实,AQP4 参与缺血、外伤、烧伤后脑水肿的发生发展过程^[12-13]。随着急性脑缺血时间的延长,脑含水量明显增多,此时 AQP4 的表达水平亦进一步升高,其表达水平与脑含水量呈正相关^[14]。另有研究指出,AQP4 的表达水平变化

与脑水肿的发生发展及消退基本一致^[15];AQP4 敲除后,大鼠急性脑缺血后脑水肿程度明显改善,同时大鼠神经功能缺损程度亦随之缓解^[15]。上述结果表明,AQP4 在急性脑缺血后脑水肿的形成中发挥了一定的作用。然而,值得注意的是,既往有关 AQP4 在缺血脑组织中的作用,侧重于研究其在急性脑缺血后对水的转运方面,而对 AQP4 在慢性脑缺血中的表达变化及其可能作用却未见报道。本实验结果表明,与对照组相比,慢性脑缺血组的脑含水量并无显著变化,且随着缺血时间的延长,慢性脑缺血各组之间的脑含水量亦无显著差异。然而本实验中的免疫印迹与免疫荧光法检测结果却显示,慢性脑缺血各组大鼠 AQP4 的表达水平较对照组明显升高,且具有时间依赖性,即随着慢性脑缺血时间的延长,其表达水平明显升高。上述实验结果与 AQP4 在急性脑缺血后的表达水平及其与脑组织含水量的关系并不完全相同。究其原因,本课题组推测慢性脑缺血后 AQP4 的表达上调可能与水的转运并不直接相关,其表达上调可能参与了其他病理过程。

既往研究提示,脑组织缺血后,由于缺血缺氧导致神经元死亡,小胶质细胞被激活,而激活的小胶质细胞可吞噬死亡的神经元,进而促进修复^[5,16]。此外,这些被激活的小胶质细胞还可释放一些相关炎症介质,从而引起一系列炎症反应。而有关 AQP4 在脑组织中的分布,研究发现其除分布于星形胶质细胞、室管膜细胞外,亦表达于活化的小胶质细胞,进而参与炎症反应^[5]。本实验免疫荧光结果显示,在慢性脑缺血后,脑组织中 IBA1 表达上调,且部分与 AQP4 共标。据此推测慢性脑缺血后,由于缺血缺氧导致神经元凋亡,小胶质细胞活化增生,上调的 AQP4 可能参与了相关的炎症过程。然而,上述推测还有待于进一步证实。

综上所述,慢性脑缺血引发的一系列临床表现可能与细胞凋亡和炎症反应有关。AQP4 作为脑内重要的水转运蛋白,在慢性脑缺血后表达上调,可能与水的转运并无直接相关性,其变化可能与慢性脑缺血后的炎症反应相关,但其具体作用机制尚需进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] Li Z. Observation on therapeutic effect of eye acupuncture on cognition disorders in patients of chronic cerebral circulation insufficiency [J]. Zhongguo Zhen Jiu, 2009, 29(10): 791-793.
- [2] Li J, Zhang H, Zhang C. Role of inflammation in the regulation of coronary blood flow in ischemia and reperfusion: mechanisms and therapeutic implications [J]. J Mol Cell Cardiol, 2012, 52(4): 865-872.
- [3] 龙春燕,周敬华. 水通道蛋白与脑水肿治疗研究进展 [J]. 医学综述, 2016, 22(9): 1704-1707.
- [4] 邱国平,孙善全,卓飞,等. 脑出血脑组织中水通道蛋白 4 的极性表达缺失 [J]. 重庆医科大学学报, 2015, 40(5): 666-670.
- [5] Yool AJ. Aquaporins: multiple roles in the central nervous system [J]. Neuroscientist, 2007, 13(5): 470-485.
- [6] Liu S, Mao J, Wang T, et al. Down regulation of aquaporin-4 protects brain against hypoxia ischemia via anti-inflammatory mechanism [J]. Mol Neurobiol, 2017, 54(8): 6426-6435.
- [7] Sun LH, Yun ML, Hu XL, et al. MicroRNA-9 induces defective trafficking of Nav1.1 and Nav1.2 by targeting Nav-beta2 protein coding region in rat with chronic brain hypoperfusion [J]. Mol Neurodegener, 2015, 10: 36.
- [8] 王丽晔,林参,赵海苹,等. 大鼠慢性脑缺血认知、情绪及小胶质细胞的变化 [J]. 首都医科大学学报, 2014, 35(6): 741-747.
- [9] 任旭霞,杨美,魏小于,等. 大鼠慢性脑缺血上调脑 AQP9 表达 [J]. 基础医学与临床, 2016, 36(6): 747-751.
- [10] Verkman AS, Anderson MO, Papadopoulos MC. Aquaporins: important but elusive drug targets [J]. Nat Rev Drug Discov, 2014, 13(4): 259-277.
- [11] Ishibashi K, Tanaka Y, Morishita Y. The role of mammalian superaquaporins inside the cell [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1840(5): 1507-1512.
- [12] Chu H, Tang Y, Dong Q. Protection of vascular endothelial growth factor to brain edema following intracerebral hemorrhage and its involved mechanisms: effect of aquaporin-4 [J]. PLoS One, 2013, 8(6): e66051.
- [13] Ding Z, Zhang J, Xu J, et al. Propofol administration modulates AQP-4 expression and brain edema after traumatic brain injury [J]. Cell Biochem Biophys, 2013, 67(2): 615-622.
- [14] Wang WW, Xie CL, Zhou LL, et al. The function of aquaporin4 in ischemic brain edema [J]. Clin Neurol Neurosurg, 2014, 127: 5-9.
- [15] Denes A, Thornton P, Rothwell NJ, et al. Inflammation and brain injury: acute cerebral ischaemia, peripheral and central inflammation [J]. Brain Behav Immun, 2010, 24(5): 708-723.
- [16] Faustino JV, Wang X, Johnson CE, et al. Microglial cells contribute to endogenous brain defenses after acute neonatal focal stroke [J]. J Neurosci, 2011, 31(36): 12992-13001.

(责任编辑:冉明会)