文章编号:1000-5404(2008)08-0709-05

论著

水通道蛋白 4 RNA 干扰对爆炸伤后脑水肿的影响

楚燕飞[1,2],李兵仓[1],陈　菁[1],王建民[1],高春芳[2],郑　鲁[2]　([1]第三军医大学大坪医院野战外科研究所第六研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400042;[2]解放军 150 医院神经外科,河南 洛阳 471031)

摘　要:目的　研究水通道蛋白 4 RNA 干扰(aquaporin4 RNA interference, AQP4 RNAi)对爆炸伤后脑水肿的影响。**方法**　Wistar 成年大鼠 150 只,按随机数字表法分为爆炸伤组、爆炸伤前 RNAi 组、爆炸伤后 RNAi 组、单纯 RNAi 组、假手术组($n=30$)。构建特异性抑制 AQP4 表达的短发夹环质粒载体 AQP4 RNAi pGenSil-2,分别在伤前 7 d 和伤后 1 h 采用右侧脑室给药的方法抑制 AQP4 的表达,右侧颞顶部开直径为 1 cm 的骨窗后用 80 mg TNT 当量电雷管在 5 cm 垂直距离爆炸,分别于伤后 4、12 h,1、2、5、7 d 对损伤区脑组织光、电镜病理形态、AQP4 mRNA 和蛋白表达水平以及脑含水量进行比较。**结果**　爆炸伤前 RNAi 组、爆炸伤后 RNAi 组大鼠星形胶质细胞和神经元水肿的范围和程度均低于爆炸伤组;在爆炸伤后 4 h,爆炸伤组、伤前 RNAi 组和伤后 RNAi 组相比,损伤区脑含水量差异不显著($P>0.05$);12 h 至 7 d,同一时间点爆炸伤前、后进行 AQP4 RNAi 组大鼠脑含水量均明显低于只行爆炸致伤而未进行 AQP4 RNAi 组大鼠($P<0.01$)。伤前 RNAi 组损伤区脑含水量在伤后 12 h 达高峰,伤后 RNAi 组损伤区脑含水量伤后 1 d 达高峰,爆炸伤组脑含水量于伤后 2 d 达高峰。伤前和伤后 RNAi 组最高脑含水量明显低于爆炸伤组最高脑含水量($P<0.01$)。伤前 RNAi 组最高脑含水量低于伤后 RNAi 组最高脑含水量($P<0.01$)。**结论**　采用 AQP4 RNAi 的方法可明显减轻爆炸伤后脑水肿。AQP4 可能对爆炸伤早期(4 h 内)脑水肿的形成过程影响较小,而后期的脑水肿加重过程可能和 AQP4 表达增高有关。

关键词:水通道蛋白 4;RNA 干扰;爆炸伤;脑水肿
中图法分类号:R341;R642;R742.702　　**文献标识码**:A

Effect of aquaporin4 RNAi on brain edema following brain explosive injury

CHU Yan-fei[1,2], LI Bing-cang[1], CHEN Jing[1], WANG Jian-min[1], GAO Chun-fang[2], ZHENG Lu[2] ([1]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Department 6, Institute of Surgery Research, Third Military Medical University, Chongqing 400042, [2]Department of Neurosurgery, No. 150 Hospital of PLA, Luoyang 471031, Henan, China)

Abstract: Objective　To investigate the effect of aquaporin4 (AQP4) RNAi on brain edema resulting from brain explosive injury. **Methods**　Totally 150 Wistar adult rats were randomly divided into explosive injury group, AQP4 RNAi group before explosive injury, AQP4 RNAi after explosive injury, AQP4 RNAi group and sham operation group ($n=30$ in each group). We reconstructed a short hairpin plasmid vector pGenSil that can specifically suppress AQP4 expression, then injected this plasmid into right lateral ventricle 7 days before explosive injury and 1 h after explosive injury. Detonators (80 mg) were exploded at 5-cm distance after skull about 1 cm in diameter was removed on right temporal bone and parietal bone. Expression of AQP4, water content and pathological changes of injured brain were observed on 4 h, 12 h, 1 d, 2 d, 5 d, and 7 d after injury. **Results**　Area and degree of brain edema in AQP4 RNAi group before explosive injury and AQP4 RNAi after explosive injury were less than those in explosive group. Water content of injuried brain showed no difference among AQP4 RNAi group before explosive injury, AQP4 RNAi after explosive injury and explosive injury group ($P>0.05$). Water content of AQP4 RNAi group was less than that of explosive group at the same time point during 12 h – 7 d after injury ($P<0.01$). Water content of injuried brain in AQP4 RNAi group before explosive injury reached its peak on 12 h after injury, that in AQP4 RNAi group after explosive injury on day 1 after injury, and that in explosive injury group on day 2 after injury. The peak value of water content of injuried

基金项目:全军医学科学技术研究"十五"计划指令性课题(01L060)
Supported by the Mandatory Scientific Research Project of the "Tenth Five-Year Plan" for Medical Science Development of PLA(01L060)
作者简介:楚燕飞,男,河南省睢县人,博士,主治医师,主要从事中枢及周围神经损伤与修复方面的研究。电话:(0379)64169320,E-mail:chu_yanfei@163.com
通信作者:李兵仓,电话:(023)68757436
收稿日期:2007-09-14;**修回日期**:2007-12-07

brain in AQP4 RNAi group was lower than that in explosive injury group, that in AQP4 RNAi group before explosive injury lower than that in AQP4 RNAi after explosive injury. **Conclusion** AQP4 RNAi reduces brain edema following brain explosive injury. AQP4 may have no influence on brain edema formation at early stage after brain explosive injury, but it possibly takes part in aggravation of brain edema at later stage.

Key words: aquaporin4; RNA interference; explosive injury; brain edema

有研究表明大鼠颅脑爆炸伤后损伤区 AQP4 蛋白及 mRNA 的表达明显升高,并且和脑水肿的严重程度明显相关,说明 AQP4 参与了爆炸伤后脑水肿的形成过程[1]。前期研究中我们运用 AQP4 RNAi pGenSil-2 质粒 A 转染体外培养的星形胶质细胞,使 AQP4 的表达减少了 80%[2],在预实验中采用右侧脑室给药途径使全脑 AQP4 的表达减少了 62%。对 AQP4 进行基因干扰是否能改变爆炸伤后脑水肿的发生、发展过程目前尚不清楚。因此本实验在前述实验的基础上,观察 AQP4 RNAi 对大鼠颅脑爆炸伤后脑水肿的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

80 mg TNT 当量电雷管(重庆长江电工厂),Lipofectamine™ 2000(Invitrogen, USA),兔抗 AQP4 多克隆抗体(CHEMICON, USA),SABC-Cy3 免疫组化试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司),AQP4 原位杂交试剂盒(武汉博士德)。

1.2 动物及实验分组

SPF 级 Wistar 大鼠 150 只,雌雄不限,体质量 220 ~ 250 g,由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供。用随机数字法随机分为爆炸伤组、爆炸伤前 RNAi 组、爆炸伤后 RNAi 组、单纯 RNAi 组、假手术组(n = 30)。以上各组又用随机数字表法分为 4、12 h、1、2、5、7 d 组(n = 5)。

1.3 模型制作

爆炸伤组大鼠于右侧额顶部开直径为 1 cm 的骨窗,打开硬脑膜,彻底止血后于 1 h 内放于自制爆炸架下,80 mg TNT 当量电雷管于 5 cm 的垂直距离爆炸,爆炸后 1 h 行清创缝合术。爆炸伤前 RNAi 组大鼠于伤前 7 d 于右侧额顶部开直径为 1 cm 的骨窗,微量加样器向右侧脑室额角注入 AQP4 RNAipGenSil-2 质粒 A 10 μg。右侧脑室穿刺点位于矢状缝旁 1 mm,冠状缝后 1.5 mm,进针深度 1.5 mm,缝合伤口。爆炸伤前再次麻醉后打开伤口,80 mg TNT 当量电雷管于 5 cm 的垂直距离爆炸,爆炸后 1 h 行清创缝合术。爆炸伤后 RNAi 组大鼠麻醉后于右侧额顶部开直径为 1 cm 的骨窗,打开硬脑膜,80 mg TNT 当量电雷管于 5 cm 的垂直距离爆炸,对伤口进行清创后用微量加样器向右侧脑室注入 AQP4 RNAipGenSil-2 质粒 A 10 μg,然后缝合伤口。假手术组大鼠在麻醉后于右侧额顶部开直径为 1 cm 的骨窗,打开硬脑膜,彻底止血,向右侧脑室注入等量的生理盐水,不行爆炸致伤。单纯 RNAi 组向右侧脑室注入 AQP4 RNAi pGenSil-2 质粒 A 10 μg。

1.4 AQP4 基因沉默质粒的构建及扩增

方法参见文献[2]。

1.5 脑含水量测定

于伤后 4、12 h,1、2、5、7 d 取损伤中心 0.5 cm 范围内脑组织 2 块,立即用电子天平称湿质量,然后放于 80 ℃烤箱内烘烤 24 ~ 48 h 至恒质量,脑水肿指数 = (湿质量 - 干质量)/湿质量 ×100%。

1.6 动物灌注及取材

操作步骤:脑含水量标本取完后,大鼠仰卧位,显露心脏、左心室插管后剪开右心耳,快速灌注生理盐水 200 ml,待流出液体清亮后,灌注 4% 多聚甲醛/0.1 mol/L PBS(pH 7.3)固定液 200 ml。结束后取全脑,根据不同需要分别进行处理。

1.7 HE 标本制作及观察

分别冠状切取损伤中心、前、后各 0.5 cm 脑组织,置于 4% 多聚甲醛内固定 4 h 后,常规石蜡包埋、切片、HE 染色,Olympus 显微镜下观察 。

1.8 透射电镜样品制备及超微结构检测

分别切取损伤中心、前、后各 0.5 cm 脑组织,再固定于 3% 戊二醛固定液中 6 h,1% 锇酸 4 ℃固定 2 h,漂洗后丙酮梯度脱水,醋酸铀 4 ℃染色 4 h,环氧树脂 618 包埋。行超薄切片,枸橼酸铅染色,JEM-2000EX 透射电镜观察。

1.9 冰冻切片标本制备及观察

灌注结束后,分别冠状切取损伤中心、前、后各 0.5 cm 脑组织,置于 4% 多聚甲醛固定 1 h,于 30% 蔗糖/0.1 mol/L PBS 液中过夜直至组织块沉底。然后行冠状冰冻切片,片厚 20 μm。

1.10 AQP4 蛋白免疫荧光组织化学观察

冰冻切片经预处理后滴加 1∶200 兔抗鼠 AQP4 多克隆抗体,对照组标本加入等量抗体稀释液,37 ℃反应 2 h,滴加 1∶100/PBS 生物素化抗体,37 ℃反应 30 min,1∶100/PBS SABC-Cy3,37 ℃反应 30 min。Olympus DP71 荧光显微数码照相系统下每个时相点和部位选择 10 个不同的视野进行照相;MIG2000 图像分析软件计算全脑单位面积的 AQP4 免疫阳性强度。

1.11 AQP4 mRNA 原位杂交观察

针对大鼠 AQP4 靶基因 mRNA 地高辛标记的多相寡核苷酸探针序列为:①5′-CATGGTGGCTTTCAAAGGCGTCTGGACTCA-3′;② 5′-CATGGAAACCTCACTGCTGGCCATGDDCTC-3′; ③5′- TGCATTTATCATGGGAAACTGGGAAAACAA-3′。AQP4 原位杂交试剂盒鉴定 AQP4 mRNA 的表达。DAB 显色,显微镜下观察,并通过 MIG2000 图像分析软件计算全脑单位面积 AQP4 mRNA 平均阳性强度。

1.12 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 10.0 统计分析软件对治疗组和

对照组数据进行方差分析。

2　结果

2.1　脑含水量变化

爆炸致伤各组与假手术组相比,脑含水量明显增加($P<0.01$);单纯 RNAi 组各时间点脑含水量比较差异不显著($P>0.05$);在爆炸伤 4 h,爆炸伤组、伤前 RNAi 组和伤后 RNAi 组相比,损伤区脑含水量无明显差异($P>0.05$);12 h 至 7 d,同一时间点爆炸伤前 RNAi 组、爆炸伤后 RNAi 组大鼠脑含水量均明显低于爆炸伤组大鼠($P<0.01$)。爆炸伤前 RNAi 组损伤区脑含水量在伤后 4 h 迅速增加,12 h 即达高峰,伤后 2 d 开始下降,到伤后 7 d 已恢复到正常水平;爆炸伤后 RNAi 组损伤区脑含水量亦在 4 h 迅速增加,但于伤后 1 d 达高峰,2 d 后开始下降,到伤后 7 d 恢复到正常水平。爆炸伤前和伤后 RNAi 组最高脑含水量明显低于爆炸伤组最高脑含水量($P<0.01$)。伤前 RNAi 组最高脑含水量低于伤后 RNAi 组最高脑含水量($P<0.01$)。结果见表 1。

2.2　病理学变化

2.2.1　光镜观察　　爆炸伤各组共同表现:伤后早期,脑组织病理改变是以脑血管扩张充血为主的脑肿胀,少部分动物在脑肿胀为主的情况下在灶周附近出现了轻度的脑水肿;随后脑水肿的范围逐渐扩大,并出现深层白质的水肿,血管扩张,胶质细胞和神经元肿胀,细胞质和细胞核染色变淡,细胞间隙增宽;伤后 48 h,损伤中心可见到明显的胶质细胞增生,神经元数目减少;伤后 5 ~7 d,脑水肿表现开始减轻,胶质细胞增生更加明显,神经元数目无明显恢复。

爆炸伤前 RNAi 组、爆炸伤后 RNAi 组大鼠星形胶质细胞和神经元水肿的范围和程度均低于爆炸伤组;假手术组胶质细胞和神经元未见明显的水肿。

2.2.2　电镜观察　　爆炸伤各组共同表现:电镜下在损伤中心可见毛细血管破裂,红细胞外漏,毛细血管内皮细胞肿胀,胞饮小泡增多,细胞间隙增宽,部分神经细胞和胶质细胞染色质弥散,细胞质水肿,高尔基体扁平囊扩张,粗面内质网脱颗粒,线粒体肿胀空化,溶酶体增多,细胞核、细胞质溶解,核仁消失。髓鞘扭曲、崩解,板层结构破坏,鞘壁皱缩,鞘内结构崩解,轴突肿胀、空化。损伤中心深部和损伤中心前后各 0.5 cm 距离的脑组织未见明显的毛细血管破裂和毛细血管紧密连接的开放。伤后第 2 天脑水肿表现尤为显著,神经细胞和胶质细胞,核质分布不均,核仁消失,核孔增多,并出现异染色质,细胞内外水肿明显,细胞器扩张,吞饮小泡增多,微血管内皮细胞增生明显,管腔被压缩,紧密连接损坏,管周终足水肿,血管外水肿明显。第 5 ~7 天胶质细胞增生明显,脑水肿表现逐渐减轻。

爆炸伤前 RNAi 组、爆炸伤后 RNAi 组大鼠星形胶质细胞和神经元水肿的范围和程度均低于爆炸伤组;假手术组胶质细胞和神经元未见明显的水肿。

2.3　AQP4 蛋白水平的变化

AQP4 蛋白在血管周围的星形胶质细胞膜、软脑膜和室管膜上表达。单纯 RNAi 组 AQP4 蛋白表达呈进行性降低。爆炸伤组 AQP4 蛋白在损伤区脑组织的表达明显升高,并于伤后2 d 出现峰值,之后有所下降,但直到伤后 7 d 其表达的量仍高于假手术组($P<0.05$)。RNAi 组 AQP4 的表达呈进行性降低。爆炸伤前 RNAi 组 AQP4 的表达明显低于假手术组,但是其在损伤区的表达并没有随着时间变化而发生变化($P>0.05$);爆炸伤后 RNAi 组在损伤中心 AQP4 的表达于伤后 4 h 出现明显升高,12 h 达高峰,24 h 开始下降,到伤后 7 d,AQP4 的表达明显低于假手术组,但与伤前 RNAi 组相比无明显差异。结果见图 1、表 2。

2.4　AQP4 mRNA 表达水平的变化

AQP4 mRNA 主要在星形胶质细胞细胞质内表达,细胞核上也有少量表达。AQP4 mRNA 的表达和 AQP4 蛋白的表达一致。单纯 RNAi 组 AQP4 mRNA 表达呈进行性降低。爆炸伤组 AQP4 mRNA 在损伤区脑组织的表达呈进行性升高,并于伤后 2 d 出现峰值,之后有所下降,但直到伤后 7 d 其表达的量仍高于假手术组($P<0.05$)。RNAi 组 AQP4 mRNA 的表达呈进行性降低。爆炸伤前 RNAi 组 AQP4 mRNA 的表达明显低于假手术组,但是随着伤后时间的延长,其在损伤区的表达并无明显变化($P>0.05$);爆炸伤后 RNAi 组在损伤中心 AQP4 mRNA 的表达于伤后 4 h 出现明显升高,伤后24 h 开始下降,到伤后7 d,AQP4 mRNA 的表达明显低于假手术组。结果见图 2、表 3。

表 1　RNAi 处理后各处理组损伤区脑含水量的变化[$n=5$, ($\bar{x}\pm s$)%]

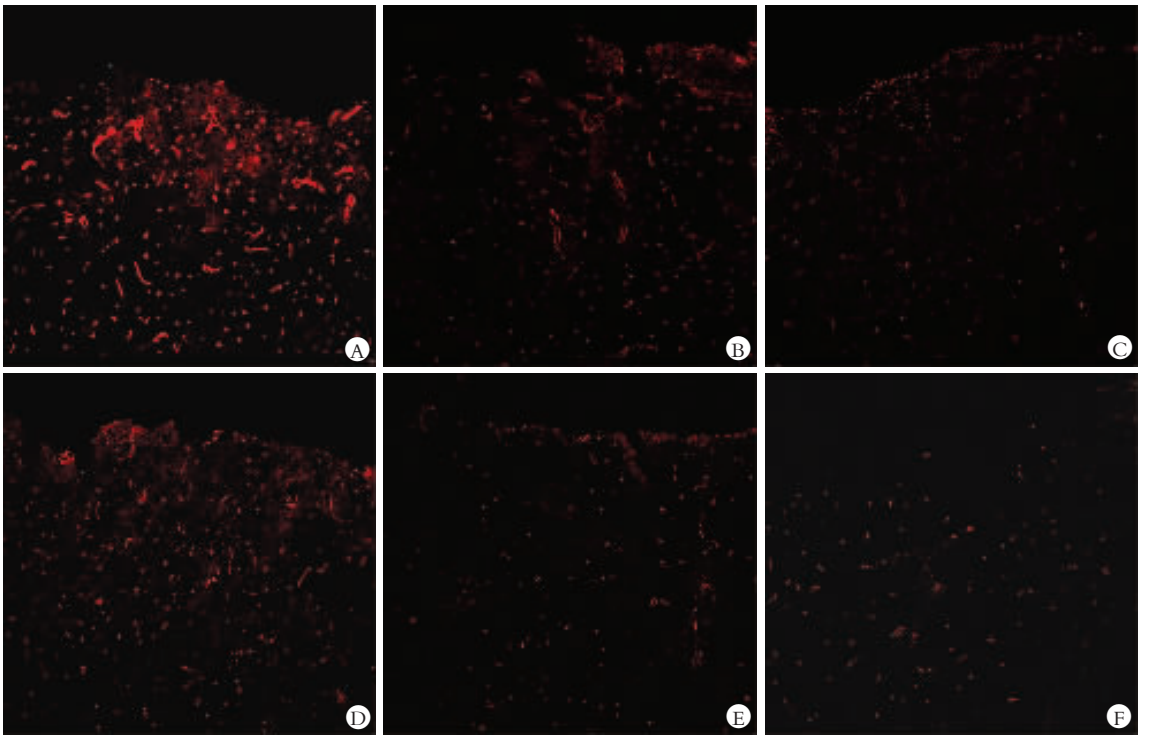
组别	4 h	12 h	1 d	2 d	5 d	7 d
假手术组	79.48 ±0.55	79.89 ±0.74	79.51 ±0.92	79.76 ±0.79	79.67 ±0.63	79.54 ±0.61
单纯 RNAi 组	78.98 ±0.58	79.14 ±0.54	80.15 ±0.25	78.89 ±0.58	79.86 ±0.21	79.87 ±0.74
爆炸伤组	81.91 ±1.27	83.03 ±0.77	84.02 ±1.54	85.28 ±0.14	82.86 ±0.62	81.21 ±1.11[a]
爆炸伤前 RNAi 组	81.49 ±0.80	82.72 ±0.66[b]	82.32 ±0.50[c]	82.23 ±0.56[c]	81.64 ±0.87	79.69 ±0.82
爆炸伤后 RNAi 组	81.62 ±0.98	82.88 ±0.78	83.26 ±0.49[b]	83.31 ±0.62	82.21 ±0.42	79.84 ±0.51

a:$P<0.05$,与假手术组比较;b:$P<0.01$,与爆炸伤组比较;c:$P<0.05$,与伤后 RNAi 组比较

表 2　AQP4 RNAi 处理后爆炸伤损伤区 AQP4 蛋白水平变化($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

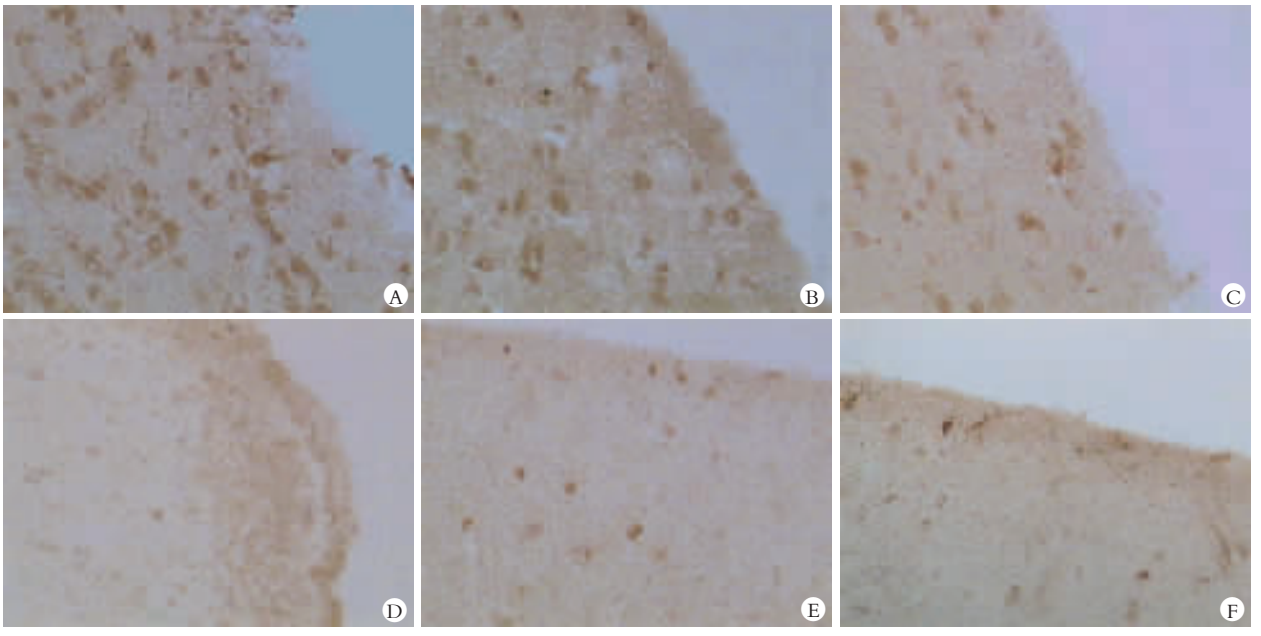
组别	4 h	12 h	1 d	2 d	5 d	7 d
假手术组	100.2 ±6.36	99.6 ±7.12	100.0 ±5.79	99.2 ±5.61	99.9 ±5.76	100.8 ±7.64
单纯 RNAi 组	100.3 ±1.50	92.5 ±2.84	82.1 ±2.26	65.5 ±4.23	57.3 ±5.19	37.3 ±3.61
爆炸伤组	107.3 ±7.60	156.6 ±10.94[a]	297.9 ±9.06	317.9 ±9.21[a]	245.1 ±7.65	147.0 ±8.81[b]
爆炸伤前 RNAi 组	43.9 ±5.19[c]	41.4 ±3.97	40.0 ±5.28	40.6 ±5.21	39.4 ±6.00	40.0 ±6.48
爆炸伤后 RNAi 组	106.2 ±7.65	116.9 ±6.66[d]	107.9 ±6.57[e]	93.7 ±4.83	68.6 ±6.29	43.5 ±4.84

a:$P<0.01$,与伤后 RNAi 组比较;b:$P<0.05$,c:$P<0.01$,与假手术组比较;d:$P<0.05$,与伤后 RNAi 组 4 h 比较;e:$P<0.05$,与伤后 RNAi 组 12 h 比较



A:爆炸伤组第 2 天; B:伤后 RNAi 组第 2 天; C:伤前 RNAi 组第 2 天; D:爆炸伤组第 7 天; E:伤后 RNAi 组第 7 天; F:伤前 RNAi 第 7 天

图 1 爆炸伤不同处理组损伤区 AQP4 蛋白的表达变化 (IMF × 100)



A:爆炸伤组第 2 天;B:爆炸伤组第 5 天;C:伤后 RNAi 组爆炸伤后第 2 天;D:伤后 RNAi 组爆炸伤后第 5 天;E:伤前 RNAi 组爆炸伤后第 2 天;F:伤前RNAi 组爆炸伤后第 5 天

图 2 爆炸伤不同处理组损伤区 AQP4 mRNA 的表达变化 (ISH × 200)

表 3 AQP4 RNAi 处理后爆炸伤损伤区 AQP4 mRNA 表达变化($n = 5$, $\bar{x} \pm s$)

组别	4 h	12 h	1 d	2 d	5 d	7 d
假手术组	123.5 ± 5.96	122.3 ± 5.25	121.9 ± 3.79	123.1 ± 6.68	121.7 ± 7.86	122.2 ± 3.25
RNAi 组	122.0 ± 2.53	109.5 ± 2.74	99.8 ± 2.92	94.8 ± 4.28	82.3 ± 4.29	46.8 ± 4.74
爆炸伤组	200.4 ± 7.14	249.3 ± 5.75[a]	219.3 ± 6.16	377.8 ± 7.41[a]	180.9 ± 6.88	141.0 ± 5.88[b]
伤前 RNAi 组	45.3 ± 6.71[c]	43.4 ± 6.02	44.3 ± 4.16	44.2 ± 3.44	45.3 ± 6.23	44.2 ± 3.08
伤后 RNAi 组	202.5 ± 6.39	217.0 ± 5.12[d]	201.2 ± 4.79[e]	150.3 ± 5.02	70.4 ± 5.1	44.1 ± 2.74

a:$P < 0.01$,与伤后 RNAi 组比较;b:$P < 0.05$, c:$P < 0.01$,与假手术组比较;d:$P < 0.05$,与伤后 RNAi 组 4 h 相比较;e:$P < 0.05$,与伤后 RNAi 组 12 h 比较

3　讨论

外伤后脑水肿是影响伤情预后的重要因素之一,然而目前仍然缺乏阻止创伤性脑水肿发生和发展的有效药物。目前临床仍以渗透性脱水剂(如甘露醇及其他高渗性脱水剂)和激素治疗为主,但是甘露醇对于血管源性脑水肿有进入血管外间隙加重脑水肿的可能,目前大多数人的观点主张在急性颅内压升高的情况下短期使用甘露醇治疗[3]。虽然类固醇激素治疗血管源性脑水肿是有效的[4],但是由于以前人们对脑水肿的认识偏差而忽略了细胞毒性脑水肿存在的重要性,因此类固醇激素治疗创伤性脑水肿并不能达到明显效果。AQPs 的发现为研究一种副作用小且适用于各种类型脑水肿的治疗药物提供了可能。因为它仅对水选择性通过,而尿素、甘油和其他中性小分子溶质不能通过。本实验采用 RNAi 的方法对 AQP4 的表达进行抑制,观察其对颅脑爆炸伤后脑水肿发生、发展的影响。结果提示爆炸伤前、后进行 AQP4 RNAi 可明显降低损伤区脑含水量,光、电镜检查亦发现星形胶质细胞和神经元水肿的程度和范围也低于爆炸伤组,说明进行 AQP4 RNAi 可明显减轻脑水肿的严重程度。

在大鼠颅脑爆炸伤前后分别进行脑内 AQP4 RNAi,脑水肿的发生也出现了其特有的规律。在爆炸伤早期(4 h 内),不管是爆炸伤组还是伤前和伤后 RANi 组、损伤区脑含水量并没有明显差异,说明 AQP4 对早期爆炸伤后脑水肿的形成过程影响较小。在伤前进行 AQP4 RNAi,爆炸伤时由于冲击波对血管调节系统的破坏,会发生脑血管充血和血 - 脑屏障的损害,血浆蛋白和渗透活性物质进入血管外间隙产生血管源性脑水肿[5],光、电镜病理表现也提示伤前进行 AQP4 RNAi 脑血管受破坏的程度与爆炸伤组相比无明显差异。同时由于 AQP4 的表达减少,水向细胞内转运减少,因此继发性细胞毒性脑水肿明显减轻。这也提示采用 RNAi 的方法抑制 AQP4 的表达可以减轻颅脑爆炸伤后细胞毒性脑水肿,但对血管源性脑水肿的影响程度较小。伤前进行 AQP4 表达的抑制,伤后 12 h 至 2 d 脑水肿稳定于一个较高水平,而此时 AQP4 表达并没有明显变化,这说明可能还存在其他因素参与爆炸伤后脑水肿的形成过程[6]。而伤后进行 AQP4 基因沉默组动物,由于爆炸伤后脑水肿迅速发生,而短发夹环质粒尚未发挥 AQP4 抑制作用,因此在伤后早期(4 ~ 12 h)与爆炸伤组相比脑含水量并无明显变化,但随着 AQP4 的表达减少,进入细胞内的水也相应减少,因此脑水肿的程度也明显减轻。

AQP4 的分子结构决定了其特异的水通透性和分类,它对水跨膜运输的方向性,最终是维持细胞内外水的平衡,而导致和改善上述情况的精确分子机制还不清楚。因此对 AQP4 及其家族成员的分布、表达和调控机制进行深入探讨,将会在阐明中枢神经系统许多疾病的发病机制和提供有效的治疗药物方面提供很大帮助。尽管本研究采用 RANi 的方法通过抑制 AQP4 的表达可明显减轻爆炸伤后脑水肿,但是以 AQP4 为靶点的脑水肿的治疗依旧有很长的路要走。首先是关于基因的安全性问题,短发夹环 pGenSil 质粒载体如果应用到人体,会不会改变人体脑内的基因结构;再者,众所周知脂质体会对细胞产生毒性,筛选毒性小、可应用到人体的转染载体对脑内 RNAi 技术推广具有难以估量的价值;第三是转染途径的选择,本实验采用侧脑室给药的方法,而在临床,除非一些特殊情况,如脑室内出血,很少采用侧脑室穿刺进行药物治疗,在临床上合理的给药途径应该是口服或者静脉注射,这就需要筛选在血液或者消化系统内不会降解且可有效到达靶器官转染载体。

参考文献:

[1] 楚燕飞, 李兵仓, 陈　菁, 等. 大鼠颅脑爆炸伤后水通道蛋白4 的表达变化[J]. 中华创伤杂志, 2006, 22(5): 377 - 381.

[2] 楚燕飞, 李兵仓, 陈　菁, 等. 水通道蛋白 4 基因沉默与体外培养星形胶质细胞的形态生长及其增殖效应[J]. 中国临床康复, 2006, 10(17): 88 - 91.

[3] Kozler P, Pokorny J. Effects of intracarotid injection of methylprednisolone on cellular oedema after osmotic opening of the blood-brain barrier in rats[J]. Prague Med Rep, 2004,105(3): 279 - 290.

[4] Andersen C, Jensen F T. Differences in blood-tumour-barrier leakage of human intracranial tumours: quantitative monitoring of vasogenic oedema and its response to glucocorticoid treatment[J]. Acta Neurochir (Wien), 1998,140(9): 919 - 924.

[5] Zarubina I V, Shabanov P D. The significance of individual resistance to hypoxia for correction of the consequences of craniocerebral trauma [J]. Neurosci Behav Physiol, 2005, 35(2): 215 - 219.

[6] Papadopoulos M C, Verkman A S. Aquaporin-4 gene disruption in mice reduces brain swelling and mortality in pneumococcal meningitis [J]. J Biol Chem, 2005, 280(14): 13906 - 13912.

(编辑　王小寒)