DOI:10.16016/j.1000-5404.201508073

载脂蛋白 E 短肽 COG1410 对蛛网膜下腔出血后早期脑水肿的影响

贺 杰[1],庞金伟[1],吴 越[2],彭建华[1],曹 芳[2],秦兴虎[1],邹 莉[1],陈礼刚[1],孙晓川[2],江 涌[1] (646000 四川泸州,泸州医学院附属医院神经外科[1];400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院神经外科[2])

[摘要] **目的** 探讨载脂蛋白 E 短肽 COG1410 对蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage,SAH)后早期脑损伤(early brain injury,EBI)中脑水肿、小鼠运动功能和水通道蛋白 4(aquaproins-4,AQP-4)的影响。**方法** 108 只 C57BL/6J 小鼠分成假手术对照组(sham)、生理盐水组(SAH + 生理盐水)、治疗组(SAH + COG1410),采用血管内穿刺法建立 SAH 模型。观察小鼠运动功能变化,用干湿质量法测定脑含水量的变化,免疫组化法测定表达 AQP-4 阳性细胞数,酶联免疫吸附法(ELISA)测定 AQP-4 蛋白含量及实时定量 PCR 测定 AQP-4 mRNA 的变化。**结果** SAH 后生理盐水组和治疗组神经功能评分均明显高于假手术对照组($P<0.05$),且生理盐水组和治疗组之间差异有统计学意义($P<0.05$)。SAH 后各时间点生理盐水组脑含水量、AQP4 蛋白含量和 AQP4 mRNA 表达的变化与假手术对照组对比显著升高($P<0.05$)。生理盐水组和治疗组脑含水量、AQP4 蛋白含量和 AQP4 mRNA 表达均在 SAH 后 1 d 明显增加,2 d 达到高峰,之后逐渐下降,2 组间差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 载脂蛋白 E 短肽 COG1410 可能通过抑制 AQP-4 的过表达缓解 EBI 中的脑水肿。

[关键词] 蛛网膜下腔出血;载脂蛋白 E 短肽;水通道蛋白 4;脑水肿;早期脑损伤
[中图法分类号] R341;R742.7;R743.35 [文献标志码] A

Effect of apolipoprotein E mimetic peptide on cerebral edema in mice at early stage after subarachnoid hemorrhage

He Jie[1], Pang Jinwei[1], Wu Yue[2], Peng Jianhua[1], Cao Fang[2], Qin Xinghu[1], Kuai Li[1], Chen Ligang[1], Sun Xiaochuan[2], Jiang Yong[1] ([1]Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan Province, 646000; [2]Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of apolipoprotein E mimetic peptide COG1410 on the early cerebral edema, aquaproin-4 (AQP-4) expression and movement function in mice with early brain injury (EBI) after subarachnoid hemorrhage (SAH). **Methods** SAH model was established by endovascular perforation. A total of 108 male C57BL/6J mice were randomly divided into sham group, SAH + saline group and SAH + COG1410 group. The expression of AQP-4 in the brain of mice was measured by RT-PCR, immunohistochemistry and ELISA. The water content of the cerebral tissues was determined by the dry-wet weight method. **Results** After SAH, the nerve function scores of the SAH + saline group and SAH + COG1410 group were significantly higher than those of the sham group ($P<0.05$), and there was statistically significant difference between the SAH + saline group and the SAH + COG1410 group ($P<0.05$). Compared with the sham group, the brain water content and the AQP-4 protein and mRNA expression levels in the SAH + saline group and SAH + COG1410 group were increased at each time point after SAH ($P<0.05$). The brain water content and the AQP-4 protein and mRNA expression levels in the SAH + saline group and SAH + COG1410 group were significantly increased in 1 d after SAH, reached the peak on 2 d, and then gradually declined ($P<0.05$). **Conclusion** Administration of COG1410 significantly inhibits the cerebral edema *via* inhibition of AQP-4 expression.

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81371319);新世纪优秀人才支持计划(NCET-12-1057);四川省科技厅杰出青年项目(2014JQ0022)
[通信作者] 江 涌,E-mail:jiangy0122@qq.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20151203.1512.025.html(2015-12-03)

[**Key words**] subarachnoid hemorrhage; apoE mimetic peptide; aquaporin-4; cerebral edema; early brain injury

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81371319), the Supporting Program for New Century Excellent Talents (NCET-12-1057) and the Project for Outstanding Young Scholars of Sichuan Provincial Department of Science and Technology (2014JQ0022). Corresponding author: Jiang Yong, E-mail: jiangy0122@qq.com

蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage, SAH)是神经外科的一种常见病、多发病,临床上常称的SAH一般指自发性SAH,颅内动脉瘤破裂是其主要原因[1]。SAH后72 h内继发的早期脑损伤(early brain injury, EBI)已经成为其主要的致死或致残因素,在很大程度上决定了病情转归及预后[2-3]。在后续EBI病理机制研究中发现,血脑屏障破坏和脑水肿发挥着重要作用[4]。载脂蛋白E(APOE代表编码载脂蛋白E的基因,apoE代表载脂蛋白E全蛋白)是脑组织中最重要的载脂蛋白,负责胆固醇、磷脂的转运,在神经组织细胞再生,细胞膜、轴突及突触修复或重建等方面起着重要作用[5]。我们的近期研究发现,apoE短肽COG1410能有效降低创伤性脑损伤后血脑屏障(blood brain barrier, BBB)通透性,减轻创伤后脑水肿,并通过抑制水通道蛋白4(aquaproins-4, AQP-4)的过表达减轻脑水肿[6-8]。但COG1410对SAH后脑水肿的作用少有文献报道。因此我们推测,COG1410是否也可通过抑制AQP-4的过度表达从而减轻SAH后EBI中脑水肿。本研究通过构建小鼠SAH模型,探讨apoE短肽COG1410对SAH后脑组织AQP-4表达和早期脑水肿的影响,明确其神经保护机制,为将来临床转化提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 试剂

COG1410由美国杜克大学Vitek教授惠赠,纯度>95%。AQP-4抗体购自武汉博士德生物工程有限公司。AQP-4 ELISA检测试剂盒购自武汉优尔生商贸有限公司。建模使用体视学显微镜购自江西凤凰光学仪器公司。

1.2 实验动物与分组

健康雄性C57BL/6J小鼠[重庆医科大学实验动物中心提供,实验动物生产许可证号:SCXK(渝)2012-0001;实验动物使用许可证号:SYXK(渝)2012-0001]108只,8~10周龄,SPF级,体质量22~25 g。将108只C57BL/6J小鼠分成假手术对照组(sham)36只、生理盐水组(SAH+生理盐水)36只和治疗组(SAH+COG1410)36只。各个组分为SAH 1、2 d和3 d 3个时相点。COG1410以无菌生理盐水予以溶解后,经尾静脉注射,剂量为1 mg/kg,术后30 min内开始第1次注射,以后每24小时注射1次。

1.3 动物模型的制备

参考Bederson等[9]和Veelken等[10]研究,本实验采用改进颅内血管内穿刺法构建模型。用4%水合氯醛麻醉后,将小鼠固定于手术台上,常规消毒铺巾,于颈部正中切口。然后在体视学显微镜下,在小鼠右侧颈部钝性分离出颈总动脉(common carotid artery, CCA)、颈外动脉(external carotid artery, ECA)和颈内动脉(internal carotid artery, ICA)。将小鼠颈外动脉远心端和近心端各用丝线结扎,在2个结扎之间将颈外动脉剪断。然后用动脉夹将CCA和ICA夹住,在ECA近心端用显微剪剪1个小孔,将1根5-0 Prolene穿刺线从ECA经ICA导入至ACA和MCA交叉处,刺破动脉壁,总进入长度为(10.0±0.5)mm。假手术对照组仅将穿刺线送至ACA和MCA分叉处,稍感阻力即停止继续插入,并迅速退出穿刺线,结扎颈外动脉断端,缝合消毒皮肤,单笼饲养。经预实验证实模型成功的判断标准为:对全部动物进行脑组织剥离,肉眼可见蛛网膜下腔有血液或陈旧性血凝块包绕在脑底血管周围,同时脑实质未受损伤。

1.4 神经损伤严重性评分(NSS)

严格按照Chen等[11]使用的方法于SAH后1、2、3 d对小鼠的运动障碍进行评分,评分标准包括:①运动测试(6分);②感觉测试(2分);③平衡测试(6分);④反射和异常活动(4分)。低分代表神经状态接近正常,高分代表存在着严重的神经功能障碍,满分18分。

1.5 脑含水量测定

在各时间点断头取脑组织,用滤纸将脑底表面的血迹擦干,快速用电子分析天平称重(精确到0.000 1 g),即湿质量;然后置于100 ℃恒温箱里,24 h后取出,用电子分析天平称重,即干质量。用公式:(湿质量-干质量)/湿质量×100%计算脑含水量[12]。

1.6 脑组织AQP-4蛋白免疫组化测定

在SAH后各时间点将小鼠以磷酸缓冲液(PBS, pH=7.4)快速冲洗,然后4%多聚甲醛(4 ℃,pH值7.4)灌注100 mL。灌注完毕后断头取脑,将脑组织放入4%多聚甲醛,固定24 h,然后将出血周围脑组织进行包埋、切片,挑片,进行AQP-4免疫组织化学染色。石蜡切片经4% H_2O_2处理10 min后,用10%正常羊血

清封闭30 min,4 ℃孵育一抗(兔抗鼠AQP-4多克隆抗体,博士德,1∶600)过夜,SABC试剂盒按说明书进行操作。苏木精复染,常规脱水,透明,干燥,封片。DAB显色后400倍光镜下观察,随机选取6个高倍镜视野记录阳性细胞数,取其平均值。

1.7 ELISA定量检测脑组织AQP-4蛋白

SAH后各时间点取小鼠右侧半脑出血周围皮质,在冰上快速将蛋白质匀浆裂解,离心(5 000 ×g,离心5 min),提取上清液。按照AQP-4 ELISA试剂盒说明书步骤进行操作,然后立即在酶标仪450 nm波长下测量各孔的光密度值[D(450)],进行定量分析。

1.8 脑组织AQP-4 mRNA表达测定

取上述已取右侧半脑出血周围皮质置于1 mL玻璃匀浆器中,加入1 mL TRIzol,冰上研磨成组织悬液,悬液转入1.5 mL离心管中,室温下静置5 min。高速冷冻离心机12 000 r/min离心5 min,上清液倒入另一离心管中。按照RNA扩增试剂盒说明书进行反转录和PCR扩增。反转录反应条件为:42 ℃,30 min;90 ℃,5 min;5 ℃,5 min。采用β-actin为内参照,AQP-4引物序列:5′-ACGCAGAACCAGGGCATAGA-3′,β-actin引物序列:5′-ACCCCGTGCTGACCGAG-3′。PCR扩增条件:94 ℃,2 min;94 ℃,30 s;52 ℃,30 s;72 ℃,2.5 min,共30个循环。72 ℃ 5 min末段延伸,最后采用AQP4基因相对β-actin基因的转录量,反应结束后读取数据并做数据分析。

1.9 统计学分析

应用SPSS 17.0软件进行统计学分析,上述每组实验均重复4次。计量资料用$\bar{x} \pm s$表示,多个组别间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用TUKEY法,时间点之间两组资料的比较采用两独立样本t检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

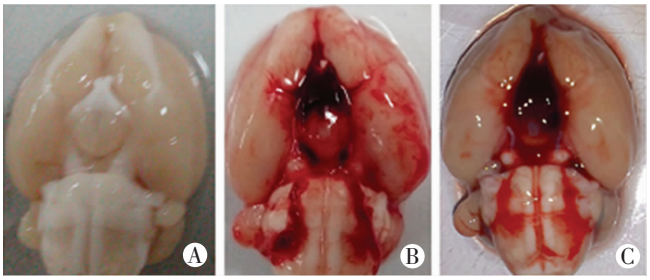
2 结果

2.1 动物模型的评价及神经损伤严重性评分

假手术对照组术前术后小鼠饮水、摄食无明显差别。生理盐水组术后小鼠的饮水、摄食明显下降,取出脑组织可见枕大池及基底池大量血凝块聚集。治疗组术后饮水、摄食均优于生理盐水组,同样可见枕大池及基底池大量血凝块聚集。SAH后生理盐水组和治疗组神经功能评分均明显高于假手术对照组($P<0.05$)。且生理盐水组和治疗组之间差异有统计学意义($P<0.05$,图1、2)。

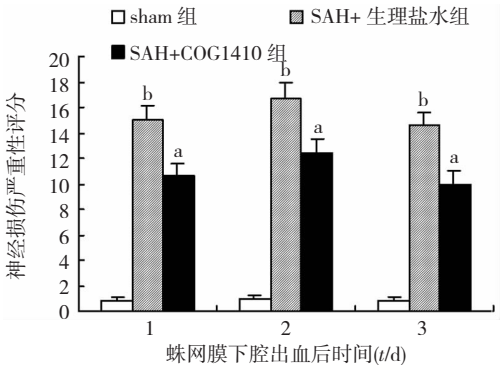
2.2 COG1410对蛛网膜下腔出血后早期不同时间点脑组织含水量的影响

SAH后各时间点生理盐水组脑含水量的变化与假手术对照组对比,显著升高($P<0.05$)。生理盐水组和治疗组脑含水量均在SAH后1 d明显增加,2 d达到高峰,之后逐渐下降,两组间差异均有统计学意义($P<0.05$,图3)。



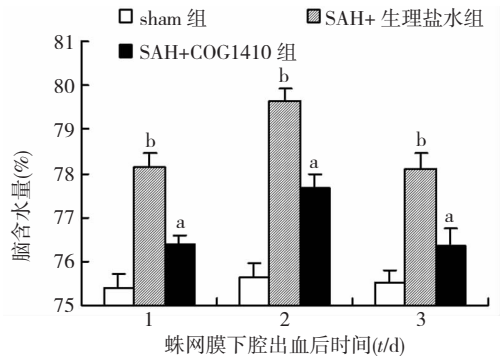
A:假手术组;B:生理盐水组;C:治疗组

图1 蛛网膜下腔出血模型的构建



a:$P<0.05$,与SAH+生理盐水组比较;b:$P<0.05$,与sham组比较

图2 各时间点神经损伤严重性评分

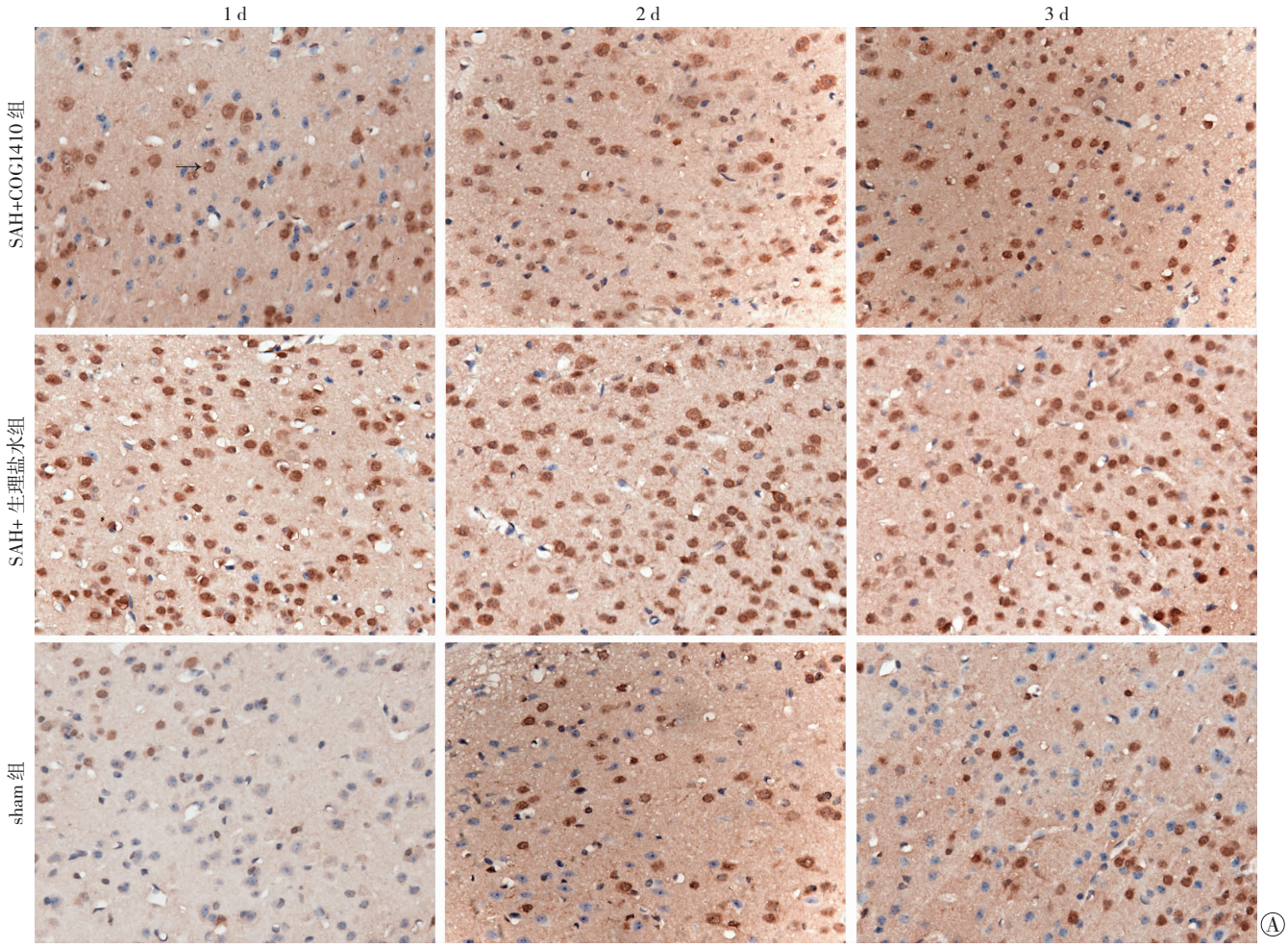


a:$P<0.05$,与SAH+生理盐水组比较;b:$P<0.05$,与sham组比较

图3 各时间点脑组织含水量的变化

2.3 COG1410对蛛网膜下腔出血后早期不同时间点AQP-4表达的影响

免疫组化检测结果显示,AQP-4为膜蛋白,细胞质和细胞核未见染色。SAH后各时间点生理盐水组AQP-4阳性细胞数与假手术对照组对比显著升高($P<0.05$)。生理盐水组和治疗组可见皮质区AQP-4阳性细胞均在SAH后1 d明显增加,2 d达到高峰,之后逐渐下降,两组间差异均有统计学意义($P<0.05$,图4)。

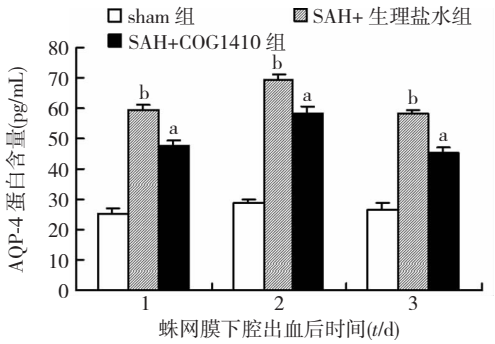


A:蛛网膜下腔出血后不同时间点的免疫组化结果(×400)↑:示 AQP-4 阳性细胞;B:蛛网膜下腔出血后不同时间点免疫组化 AQP-4 阳性细胞计数结果　a:$P<0.05$,与 SAH+生理盐水组比较;b:$P<0.05$,与 sham 组比较

图 4　各时间点脑组织 AQP-4 阳性细胞的表达差异

2.4　COG1410 对蛛网膜下腔出血后早期不同时间点小鼠脑组织 AQP-4 蛋白含量的影响

ELISA 检测结果显示,SAH 后各时间点生理盐水组蛋白含量与假手术对照组对比显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。生理盐水组和治疗组 AQP-4 蛋白含量均在 SAH 后 1 d 明显增加,2 d 达到高峰,之后逐渐下降,两组间差异均有统计学意义($P<0.05$,图 5)。

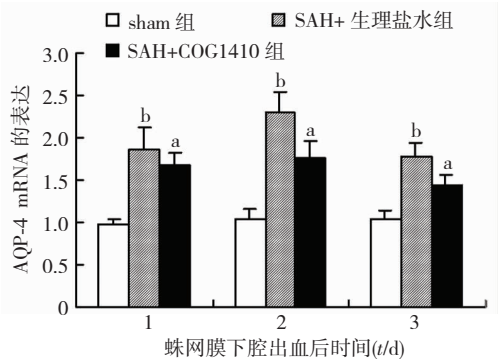


a:$P<0.05$,与 SAH+生理盐水组比较;b:$P<0.05$,与 sham 组比较

图 5　各时间点脑组织 AQP-4 蛋白含量的变化

2.5 COG1410 对蛛网膜下腔出血后早期不同时间点 AQP-4 mRNA 的影响

SAH 后各时间点生理盐水组 AQP-4 mRNA 表达与假手术对照组对比显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。生理盐水组和治疗组 AQP-4 mRNA 表达均在 SAH 后 1 d 明显增加,2 d 达到高峰,之后逐渐下降,两组间差异均有统计学意义($P<0.05$,图 6)。



a:$P<0.05$,与 SAH + 生理盐水组比较;b:$P<0.05$,与 sham 组比较

图 6 各时间点脑组织 AQP-4 mRNA 表达的变化

3 讨论

SAH 是神经外科常见的危急重症之一,SAH 后脑水肿可加重 EBI,进而影响患者的预后[13]。本研究选用 C57BL/6J 野生型小鼠采用线穿法构建 SAH 模型来探讨外源性载脂蛋白 E 短肽 COG1410 对 SAH 后急性期小鼠运动功能、脑水肿、AQP-4 mRNA 及 AQP-4 表达量的影响。结果表明,在 SAH 后 1 d,脑组织含水量、AQP-4 mRNA 及 AQP-4 表达量即开始显著增加,2 d 达到高峰,之后逐渐下降,且小鼠的运动功能出现明显障碍;给予 COG1410 能有效减少脑组织含水量、AQP-4 mRNA 及 AQP-4 的表达,促进小鼠运动功能的恢复。

水通道蛋白家族(aquaporins, AQPs)在脑水肿形成及消退过程中起到非常重要的作用,由此水通道蛋白也成为抑制脑水肿的治疗靶点[14-15]。AQP-4 是细胞膜上一种比较保守的水通道蛋白,它介导水的双向跨膜转运,在脑组织中含量最丰富,主要存在于微血管周围星形胶质细胞血管终足靠近血管腔的胞膜上,与脑水肿关系密切[16]。研究表明,TBI 后伤灶周围脑组织中 AQP-4 蛋白含量显著增加,促进脑水肿的发生、发展[17]。那么在 SAH 后 EBI 中是否存在这样的病理生理过程,因此我们选择 SAH 后前 3 d 作为此次研究的时相点,探讨 COG1410 对 AQP-4 表达和 SAH 后 EBI 中脑水肿的影响。

近年来研究表明,AQP-4 的表达与血脑屏障的功能密切相关,起着保护血脑屏障功能的作用,且与血脑屏障的通透性呈正相关[18],与脑水肿程度呈正相关[19]。但是当 AQP-4 蛋白过度表达则会破坏血脑屏障的功能,导致脑水肿加重[20]。敲除 AQP-4 基因可减轻脑损伤后的细胞毒性脑水肿[21]。Ito 等[22]发现,激活鼠星形胶质细胞的 NF-κB,可诱导 AQP-4 的表达,继而引起脑水肿。而抑制 P38 的激活可降低星形胶质细胞 AQP-4 的表达及细胞水肿[23]。Ding 等[24]研究也证实,通过抑制 IL-1β、TNF-α 的表达可抑制 p38MAPK 和 NF-κB 两条信号通路,进而抑制 AQP-4 的过表达,减轻脑水肿程度。我们前期研究已发现[25],NF-κB 的表达与 APOE 多态性密切相关,APOEε4 转基因小鼠 NF-κB 表达量明显高于 APOEε2 和 APOEε3 转基因小鼠,其脑水肿程度明显较 APOEε2 和 APOEε3 转基因小鼠严重。同时,p38MAPK 的表达也与 APOE 多态性密切相关,APOEε4 转基因小鼠 p38MAPK 表达量明显高于 APOEε2 和 APOEε3 转基因小鼠[26]。由于 COG1410 是来源于 APOE 受体结合区的短肽,因此理论上它可通过抑制 p38MAPK 和/或 NF-κB 信号通路的激活降低 AQP-4 的过表达从而减轻脑水肿。

文献[27]证实,COG1410 能明显改善小鼠颅脑损伤后神经功能,其相关机制是抑制颅脑损伤后神经元凋亡、小胶质细胞活化、氧化应激,减轻创伤后轴突损伤等主要的病理生理变化。值得关注的是,Gao 等[28]在 SAH 研究中发现,APOEε4 转基因鼠较 APOEε3 转基因鼠更易于 SAH 后早期(<72 h)出现高死亡率、神经功能缺失及脑血管痉挛等,而 COG1410 可缓解脑血管痉挛,并降低病死率及改善神经功能缺失。本研究则从 SAH 后早期脑损伤中的脑水肿角度证实了 COG1410 可通过抑制 AQP-4 明显减轻 SAH 后脑水肿及改善运动功能缺失。这一系列研究结果对于将来其临床转化有着重要价值。

本研究也存在不足,首先,仅限于野生型小鼠,而 SAH 后 APOE 亚型对 AQP-4 的影响有待进一步研究;其次,主要针对 SAH 后 EBI 中脑水肿与 AQP-4 的关系及 COG1410 在 SAH 后 EBI 中脑水肿中的作用进行研究,但 EBI 的病理生理发展过程还包括颅内压升高、脑血流量减少、血脑屏障破坏、脑内炎症反应、神经元细胞死亡等,如需全面评估 COG1410 的神经保护作用及机制尚有待于进一步的研究。

参考文献:

[1] Mak C H, Lu Y Y, Wong G K. Review and recommendations on management of refractory raised intracranial pressure in aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. Vasc Health Risk Manag, 2013, 9: 353-359. DOI:10.2147/VHRM.S34046

[2] Cahill J, Calvert J W, Zhang J H. Mechanisms of early brain injury after subarachnoid hemorrhage[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2006, 26(11): 1341-1353. DOI: 10.1038/sj.

jcbfm.9600283
[3] Chen S, Feng H, Sherchan P, *et al*. Controversies and evolving new mechanisms in subarachnoid hemorrhage[J]. Prog Neurobiol, 2014, 115: 64 - 91. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2013.09.002
[4] Cahill J, Zhang J H. Subarachnoid hemorrhage is it time for a new direction[J]. Stroke, 2009, 40(3 Suppl): S86 - S87. DOI:10.1161/STROKEAHA.108.533315
[5] Aono M, Bennett E R, Kim K S, *et al*. Protective effect of apolipoprotein E-mimetic peptides on N-methyl-D-aspartate excitotoxicity in primary rat neuronal-glial cell cultures[J]. Neuroscience, 2003, 116(2): 437 - 445.
[6] 唐爽, 江涌, 周帅, 等. 载脂蛋白E基因多态性对脑损伤后血脑屏障修复的影响[J]. 中华创伤杂志, 2014, 30(10): 1040 - 1045. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-8050.2014.10.017
[7] 刘杰什, 秦兴虎, 曹芳, 等. APOE基因亚型对创伤性脑损伤后COG1410早期神经保护作用的影响[J]. 第三军医大学学报, 2015, 37(10): 990 - 995. DOI:10.16016/j.1000-5404.201502003
[8] 钟建军, 周昌龙, 黄志坚, 等. 短肽cog1410对小鼠创伤性脑损伤灶周围脑水肿的影响[J]. 中华创伤杂志, 2015, 31(3): 259 - 263. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-8050.2015.03.019
[9] Bederson J B, Germano I M, Guarino L. Cortical blood flow and cerebral perfusion pressue in a new noncraniotomy model of subarachnoid hemorrhage in the rat[J]. Stroke, 1995, 26(6): 1086 - 1091.
[10] Veelken J A, Laing R J, Jakubowski J. The Sheffield model of subarachnoid hemorrhage in rats[J]. Stroke, 1995, 26(7): 1279 - 1283.
[11] Chen J, Sanberg P R, Li Y, *et al*. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats[J]. Stroke, 2001, 32(11): 2682 - 2688.
[12] Xi G, Hua Y, Keep R F, *et al*. Systemic complement depletion diminishes perihematomal brain edema in rats[J]. Stroke, 2001, 32(1): 162 - 167.
[13] Claassen J, Carhuapoma J R, Kreiter K T, *et al*. Global cerebral edema after subarachnoid hemorrhage: frequency, predictors, and impact on outcome[J]. Stroke, 2002, 33(5): 1225 - 1232.
[14] Papadopoulos M C, Verkman A S. Potential utility of aquaporin modulators for therapy of brain disorders[J]. Prog Brain Res, 2008, 170: 589 - 601. DOI:10.1016/S0079-6123(08)00446-9
[15] Taya K, Gulsen S, Okuno K, *et al*. Modulation of AQP4 expression by the selective V1a receptor antagonist, SR49059, decreases trauma-induced brain edema[J]. Acta Neurochir Suppl, 2008, 102: 425 - 429.
[16] Fukuda A M, Badaut J. Aquaporin 4: a player in cerebral edema and neuroinflammation[J]. J Neuroinflammation, 2012, 9:279. DOI:10.1186/1742-2094-9-279
[17] Katada R, Nishitani Y, Honmou O, *et al*. Expression of aquaporin-4 augments cytotoxic brain edema after traumatic brain injury during acute ethanol exposure[J]. Am J Pathol, 2012, 180(1): 17 - 23. DOI:10.1016/j.ajpath.2011.09.011
[18] 崔向宁, 尹岭, 王玉来. 水通道蛋白4在大鼠创伤性脑水肿中的作用机制[J]. 中国康复理论与实践, 2005, 11(9): 719 - 721.
[19] Ke C, Poon W S, Ng H K, *et al*. Heterogeneous responses of aquaporin-4 in oedema formation in a replicated severe traumatic brain injury model in rat[J]. Neurosci Lett, 2001, 301(1): 21 - 24.
[20] Vizuete M L, Venero J L, Vargas C, *et al*. Differential upregulation of aquaporin-4 mRNA expression in reactive astrocytes after brain injury: potential role in brain edema[J]. Neumbiol Dis, 1999, 6(4): 245 - 258. DOI:10.1006/nbdi.1999.0246
[21] Badaut J, Copin J C, Fukuda A M, *et al*. Increase of arginase activity in old apolioprotein-E deficient mice under Western diet associated with changes in neurovascular unit[J]. J Neuroinflammation, 2012, 9: 132. DOI:10.1186/1742-2094-9-132
[22] Ito H, Yamamoto N, Arima H, *et al*. Interleukin-1beta induces the expression of aquaporin-4 through a nuclear factor-kappaB pathway in rat astrocytes[J]. J Neurochem, 2006, 99(1): 107 - 118. DOI:10.1111/j.1471-4159.2006.04036.x
[23] Rao K V, Reddy P V, Curtis K M, *et al*. Aquaporin-4 expression in cultured astrocytes after fluid percussion injury[J]. J Neurotrauma, 2011, 28(3): 371 - 381. DOI:10.1089/neu.2010.1705
[24] 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. DOI:10.1007/s12013-013-9549-0
[25] 吴海涛, 江涌, 张晓冬, 等. 载脂蛋白E基因多态性影响星形胶质细胞损伤后早期NF-κB表达的实验研究[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(2): 103 - 106.
[26] Maezawa I, Nivison M, Montine K S, *et al*. Neurotoxicity from innate immune response is greatest with targeted replacement of E4 allele of apolipoprotein E gene and is mediated by microglial p38MAPK[J]. FASEB J, 2006, 20(6): 797 - 799. DOI:10.1096/fj.05-5423fje
[27] Kaufman N A, Beare J E, Tan A A, *et al*. COG1410, an apolipoprotein E-based peptide, improves cognitive performance and reduces cortical loss following moderate fluid percussion injury in the rat[J]. Behav Brain Res, 2010, 214(2): 395 - 401. DOI:10.1016/j.bbr.2010.06.017
[28] Gao J, Wang H, Sheng H, *et al*. A novel apoE-derived therapeutic reduces vasospasm and improves outcome in a murine model of subarachnoid hemorrhage[J]. Neurocrit Care, 2006, 4(1): 25 - 31. DOI:10.1385/NCC:4:1:025

(**收稿**:2015-08-17;**修回**:2015-10-08)
(编辑 王小寒)