

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.19.017

miRNA-125a 在脑卒中的作用及其机制研究*

陈志强 陈永杰 段兴邦 邵 帅 李 利[△]

(哈尔滨医科大学附属第四医院神经外科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:探究 miR-125a 在脑卒中的作用及其分子机制,为 miR-125a 在脑缺血治疗中的应用提供理论基础。**方法:**收集正常和脑卒中患者的血浆,Realtime PCR 检测 miR-125a 的表达水平,ROC 曲线分析敏感性和特异性。Person 相关性分析 miR-125a 表达水平与患者 NIHSS 评分和脑梗死体积的相关性。Realtime PCR 检测 MCAO 模型大鼠脑皮质和血浆中 miR-125a 表达水平,并进行相关性分析。9.4T 磁共振测量 MCAO 模型大鼠脑梗死体积。Realtime PCR 和 Western Blot 法检测 AQP4 mRNA 和蛋白的表达水平。**结果:**研究一共收集到 70 例正常和 50 例缺血性脑卒中患者的血浆样本,两组在性别($\chi^2 = 1.469, P = 0.225$)和年龄($Z = -0.208, P = 0.835$)上无差异。缺血性脑卒中患者血浆中 miR-125a 表达水平高于正常组($Z = -7.01, P = 0.000$)。预后良好患者血浆中 miR-125a 表达水平低于预后不良患者($Z = -2.183, P = 0.029$)。血浆中 miR-125a 表达水平在区分正常者和缺血性脑卒中患者的敏感性和特异性较好($ROC = 0.876, P = 0.000$)。血浆中 miR-125a 表达水平与患者 NIHSS 评分正相关($r = 0.303, P = 0.032$),和脑梗死体积正相关性($r = 0.399, P = 0.004$)。MCAO 大鼠脑皮质中 miR-125a 表达水平升高($t = 8.918, P = 0.000$),血浆中 miR-125a 表达水平升高($t = 4.928, P = 0.000$),脑皮质与血浆中 miR-125a 表达水平呈正相关($r = 0.823, P = 0.044$)。第 3 天时,sh-miR-125a 组脑梗死体积小于 NC 组。sh-miR-125a 组 AQP4 mRNA 和蛋白表达水平小于 NC 组。**结论:**血浆中 miR-125a 表达水平在区分正常和脑卒中患者具有较好的敏感性和特异性,抑制 miR-125a 表达会通过降低 AQP4 的表达,减少脑梗死体积,为 miR-125a 在诊断和治疗脑缺血中的应用提供了理论基础。

关键词:缺血性卒中;miR-125a;水通道蛋白 4

中图分类号:R-33;R743 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2021)19-3685-05

The Role and Mechanism of miRNA-125a in Stroke*

CHEN Zhi-qiang, CHEN Yong-jie, DUAN Xing-bang, SHAO Shuai, LI Li[△]

(The Fourth Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To explore the role and mechanism of miR-125a in stroke, and provide a theoretical basis for the application of miR-125a in the treatment of cerebral ischemia. **Methods:** Collected the plasma of normal and stroke patients, detected the expression of miR-125a by Realtime PCR, and analyze the sensitivity and specificity of ROC curve. Person correlation analyze the correlation between the miR-125a level and patient's NIHSS score, and cerebral infarction volume. Realtime PCR detected the expression of miR-125a in the cerebral cortex and plasma of MCAO model rats, and analyze the correlation. 9.4T magnetic resonance measurement of cerebral infarction volume in MCAO model rats. Realtime PCR and Western Blot methods were used to detect the expression of AQP4 mRNA and protein. **Results:** 70 normal and 50 ischemic stroke patients' plasma samples were collected in this study. There was no difference in gender ($\chi^2 = 1.469, P = 0.225$) and age ($Z = -0.208, P = 0.835$) in the two groups. The expression of miR-125a in the plasma of ischemic stroke patients was higher than that in the normal group ($Z = -7.01, P = 0.000$). The expression of miR-125a in the plasma of patients with good prognosis was lower than that of patients with poor prognosis ($Z = -2.183, P = 0.029$). The expression of miR-125a in plasma has good sensitivity and specificity in distinguishing normal patients from ischemic stroke patients ($ROC = 0.876, P = 0.000$). The expression of miR-125a in plasma was positively correlated with the patient's NIHSS score ($r = 0.303, P = 0.032$), and positively correlated with cerebral infarction volume ($r = 0.399, P = 0.004$). The expression of miR-125a in the cerebral cortex of MCAO rats increased ($t = 8.918, P = 0.000$), the expression level of miR-125a in the plasma increased ($t = 4.928, P = 0.000$), and the level of miR-125a in the cerebral cortex and plasma was increased and they were positively correlated ($r = 0.823, P = 0.044$). On the 3rd day, the cerebral infarction volume of the miR-125a knockdown group was smaller than the blank control group. The mRNA and protein expression of AQP4 in the miR-125a knockdown group were lower than the blank control group. **Conclusion:** The expression of miR-125a in plasma has good sensitivity and specificity in distinguishing between normal and stroke patients. Inhibition of miR-125a expression will reduce the expression of AQP4 and the volume of cerebral infarction, which provides a theoretical basis for miR-125a in diagnosis and treatment of cerebral ischemia.

* 基金项目:哈尔滨市科技创新人才项目(2017RAQXJ173)

作者简介:陈志强(1983-),男,博士,主治医师,研究方向:脑肿瘤小 RNA 干预,电话:15046686150, E-mail:chenzhiqiangtop@sina.com

△ 通讯作者:李利(1979-),男,博士,副主任医师,研究方向:缺血性脑血管病,电话:13804568134, E-mail:rical2000@163.com

(收稿日期:2021-03-27 接受日期:2021-04-23)

Key words: Stroke; miR-125a; Aquaporin 4

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R743 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)19-3685-05

前言

MicroRNA(miRNA)是长度约 22 个核苷酸的单链非编码 RNA 分子,miRNA 可以与 mRNA 通过碱基配对方式形成不稳定的复合体,抑制 mRNA 的功能,从而调节蛋白表达^[1,2]。研究表明,脑梗死患者中 miRNA 表达往往发生异常改变,miRNA 不但在预防脑缺血中起着重要作用,同时也影响脑缺血的预后,部分 miRNA 已经被证实可以作为指示血管病变的标志物^[3,4]。研究发现,心脏栓塞患者血清中 miR-125a 表达水平高于正常的对照受试者,并且在中风后,心脏栓塞患者血清中 miR-125a 表达水平高于中风前^[5]。脑缺血时血脑屏障通透性的增加往往会引起水通道蛋白 4(aquaporin-4,AQP4)表达异常,从而影响下游细胞信号通路^[6,7]。目前尚未有人研究 miR-125a 在调控脑缺血中的作用,以及其对 AQP4 表达的影响。

1 材料与方法

1.1 患者收集标准

收集 2018 年 6 月以来在哈尔滨医科大学附属第四医院进行就医的急性缺血性卒中患者血浆样本,同时收集正常受试者的血浆样本作为对照。急性缺血性卒中是由神经学家根据检查和放射诊断做出的确诊。排除标准包括:复发性中风、颅内肿瘤、多发性创伤、血浆系统疾病、肾或肝功能衰竭,急性感染和其他影响血象的疾病。神经科医生根据美国国立卫生研究院的中风尺度评分和改良 Rankin 分数评估卒中发作后 3 个月的严重程度和预后。Rankin 分数 <2 分评定为预后好,Rankin 分数 ≥ 2 分评定为预后差^[8]。实验中收集的所有样本,患者本人均知情,并签署了患者知情同意书,本实验也得到了医学伦理委员会的批准。

1.2 血浆 RNA 提取

收集卒中后 72 小时内的患者血液样本 4 mL,装入含有乙二胺四乙酸(EDTA)的试管中,在 4℃ 下离心 10 min(1500 rpm),收集到的血浆用于 RNA 提取。总 RNA 提取使用 Trizol 试剂(Invitrogen),之后使用 Nanodrop 测量 RNA 的纯度和浓度,cDNA 合成试剂盒(Roche)把 RNA 逆转录成 cDNA,所有的步骤均按照说明书进行。最后用 SYBR Green 染料进行相对定量检测,反应使用两步法进行:50℃ 2 min,95℃ 10 min;95℃ 10 s,60℃ 15 s,72℃ 10 s,重复 45 个循环。以 U6 的表达作为内参,2^{-ΔΔCt} 法计算相对表达水平。引物序列如下:

miR-125a-5p 逆转录引物:GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACTCACAG;

miR-125a-5p 上游引物:CGCCGTCCCTGAGACCCCTT-TAAC;

miR-125a-5p 下游引物:ATCCAGTGCAGGGTCCGAGG;

U6 上游引物:CTCGCTTCGGCAGCAC;

U6 下游引物:AACGCTTCACGAATTTGCGT。

1.3 动物建模

选择清洁级月龄 3-4 个月健康雄性 Wistar 大鼠 24 只,体重 250 g - 300 g,由上海西普尔必凯实验动物有限公司提供,许可证号:SCXK(沪)2008-0016。大鼠的饲养环境为湿度 45-65%,温度 22-25℃,经 1 周适应性饲养后开始实验。随机数字法把大鼠分为注射干扰 miR-125a 表达慢病毒组(sh-miR-125a 组)12 只,注射空载体慢病毒组(NC 组)12 只。注射慢病毒后 14 天制作大鼠中动脉闭塞(MCAO)模型,MCAO 大鼠模型制备参照 Zea Longa 方法进行^[9]。

1.4 动物血浆和脑样本 RNA 提取

在建模后的第 1 天和第 3 天分别对实验大鼠进行安乐死,取大鼠脑皮质组织和血浆,用 Trizol 试剂提取 RNA。把大鼠脑皮质组织剪碎成尽量小的组织块,之后加入适量 Trizol 试剂用组织研磨机充分的研碎,按照说明书步骤提取 RNA。动物血浆 RNA 提取参照人血浆样本 RNA 提取步骤。SYBR Green 染料进行相对定量分析,以 GAPDH 的表达作为内参。引物序列如下:AQP4 上游引物:GCCAGCTGTGATTCCAAACG;AQP4 下游引物:ACTGCAGGTCCAAAGGATCG;GAPDH 上游引物:AAGAAGGTGGTGAAGCAGGC;GAPDH 下游引物:TCCAC-CACCCAGTTGCTGTA。

1.5 AQP4 蛋白表达检测

采用 Western Blot 法检测大鼠脑皮质中 AQP4 的表达。按照 100 mg 脑皮质组织加入 1 mL RIPA 细胞裂解液的比例加入 RIPA,用组织研磨机充分的把组织研碎,12,000 rpm 离心 15 min 后提取总蛋白,SDS-PAGE 凝胶进行电泳,湿转法将蛋白转印至硝酸纤维素膜上,5%脱脂奶粉室温封闭 2 h 后,使用 TBS-T 洗膜,抗 AQP4(Cell Signaling,1:1000)和 GAPDH(Cell Signaling,1:5000)蛋白抗体 4℃ 孵育过夜。使用 TBS-T 洗膜,最后加入辣根过氧化物酶标记的二抗(中杉金桥,1:5000)室温孵育 2 h。TBS-T 洗膜后,用 ECL 化学发光试剂显影,Image Lab 软件(Bio-Rad)拍摄图片。

1.6 脑梗死体积测定

MRI 数据是在垂直的 9.4T 磁共振(布鲁克)上获取的。使用优化的参数获取三维梯度回波,二维多层自旋回波和 T2 序列,以实现解剖学细节以及高 T1 和 T2/T2* 对比度。成像参数根据 Stuart 等研究设置^[10]。之后使用 MRI 断面的 T1 图,并将 T2* 图像与同一坐标系配准用于感兴趣区域分析,分别于不同层面圈脑梗死的区域,之后由软件计算出脑梗死的体积。

1.7 统计学分析

采用 SPSS24.0 软件进行统计分析。对于符合正态分布的计量数据采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,使用 t 检验进行统计分析;对于不符合正态分布的计量数据采用中位数(四分位间距)表示,使用 Mann-Whitney 检验进行统计分析;对于重复测量的样本,采用重复测量方差分析。计数资料使用 χ^2 检验行统计分析。ROC 曲线分析指标的灵敏度和特异度,Pearson 相关性分析进行两两指标的相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 患者一般特征

本研究一共收集到 70 例正常和 50 例缺血性脑卒中患者的血浆样本。正常组的年龄为 49(39.75-56)岁,脑卒中患者的平均年龄为 50(37.75-61)岁,经秩和检验, $Z = -0.208, P = 0.835$ 。正常组中男/女比为 46/24,脑卒中患者中男/女比为 38/12,经卡方检验, $\chi^2 = 1.469, P = 0.225$ 。经 Rankin 分数评估,50 例脑卒中患者中预后良好的有 22 例,预后不良的有 28 例。

2.2 miR-125a 在缺血性脑卒中患者中的表达及相关性分析

缺血性脑卒中患者血浆中 miR-125a 表达水平高于正常者(1.85(1.4-2.5) VS 0.85(0.4-1.3)),经秩和检验, $Z = -7.01, P = 0.000$,差异具有统计学意义(图 1A)。预后良好患者血浆中 miR-125a 表达水平低于预后不良患者(1.6(1.275-2) VS 2.3(1.45-2.6)),经秩和检验, $Z = -2.183, P = 0.029$,差异具有统计学意义(图 1B)。血浆中 miR-125a 表达水平在区分正常者和缺血性脑卒中患者的敏感性和特异性较好,经 ROC 曲线分析,ROC = 0.876, $P = 0.000$ (图 1C)。血浆中 miR-125a 表达水平与患者 NIHSS 评分正相关,经 Pearson 相关性分析, $r = 0.303, P = 0.032$ (图 1D),血浆中 miR-125a 表达水平和脑梗死体积正相关,经 Pearson 相关性分析, $r = 0.399, P = 0.004$ (图 1E)。

2.3 MCAO 模型大鼠脑皮质和血浆中 miR-125a 的表达

与正常组相比,MCAO 大鼠脑皮质中 miR-125a 表达水平升高(4.6 ± 1.03 VS 0.97 ± 0.13),经 t 检验分析, $t = 8.918, P = 0.000$,差异具有统计学意义(图 2A),血浆中 miR-125a 表达水平升高(2.1 ± 0.52 VS 0.99 ± 0.17),经 t 检验分析, $t = 4.928, P = 0.000$,差异具有统计学意义(图 2B)。脑皮质中 miR-125a 表达水平与血浆中 miR-125a 表达水平呈正相关,经 Pearson 相关性分析, $r = 0.823, P = 0.044$ (图 2C)。

2.4 敲减 miR-125a 减少了 MCAO 大鼠脑梗死体积

与 NC 组相比,sh-miR-125a 组脑皮质中 miR-125a 表达水平降低(0.51 ± 0.17 VS 1.06 ± 0.27),经 t 检验分析, $t = 3.013, P = 0.039$,差异具有统计学意义(图 3A)。MR 检查结果进行比较,采用重复测量数据的方差分析,sh-miR-125a 组和 NC 组的脑梗死体积有差别($F = 15.71, P = 0.000$),第 3 天时,sh-miR-125a 组脑梗死体积小于 NC 组(图 3B,C)。

2.5 敲减 miR-125a 抑制 AQP4 表达

NC 组与 sh-miR-125a 组脑梗死后第 1 天和第 3 天 AQP4

mRNA 表达水平比较,采用重复测量数据的方差分析。不同时间点间的 AQP4 mRNA 表达有差别($F = 8.258, P = 0.009$)。sh-miR-125a 组和 NC 组的 AQP4 mRNA 表达有差别($F = 5.959, P = 0.024$),第 3 天时,sh-miR-125a 组 AQP4 mRNA 表达水平小于 NC 组。NC 组与 sh-miR-125a 组脑梗死后第 1 天和第 3 天 AQP4 蛋白表达水平比较,采用重复测量数据的方差分析。不同时间点间的 AQP4 蛋白表达有差别($F = 16.69, P = 0.000$)。sh-miR-125a 组和 NC 组的 AQP4 蛋白表达有差别($F = 5.004, P = 0.037$)(图 4B,C)。

3 讨论

脑梗死是严重威胁人类健康的疾病之一,血管内溶栓是目前治疗脑梗死重要的手段,但如果不能在缺血后 6h 内及时治

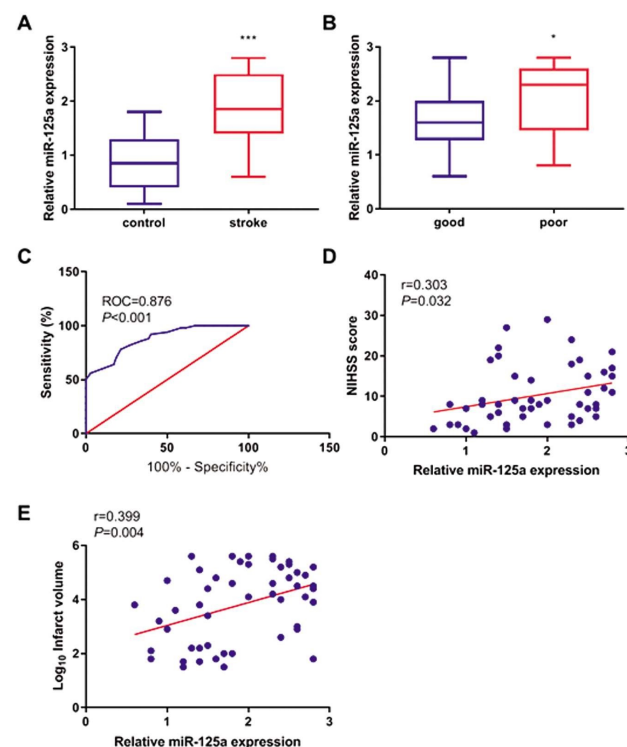


图 1 人血浆中 miR-125a 表达水平和相关性分析

Fig. 1 The expression and correlation analysis of miR-125a in human blood

Note: * $P < 0.05$, compared with good group, *** $P < 0.001$, compared with control group.

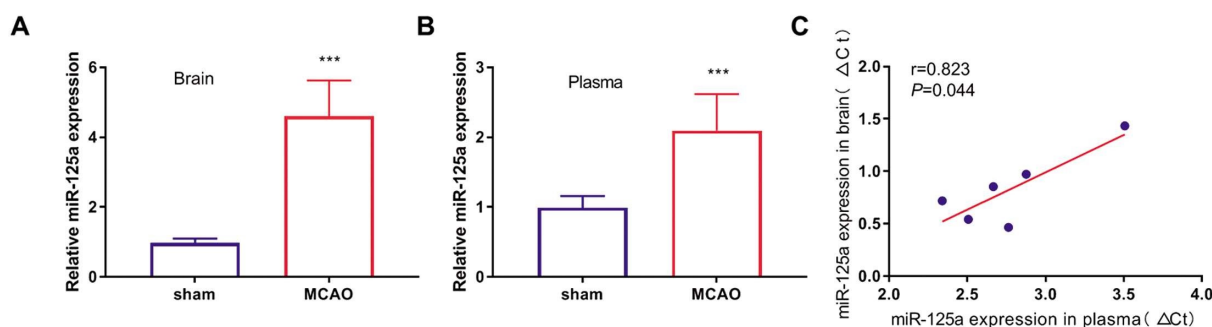


图 2 MCAO 大鼠脑皮质和血浆中 miR-125a 表达水平和相关性分析

Fig. 2 The expression and correlation analysis of miR-125a in MCAO rats brain tissue and blood

Note: *** $P < 0.001$ compared with sham group.

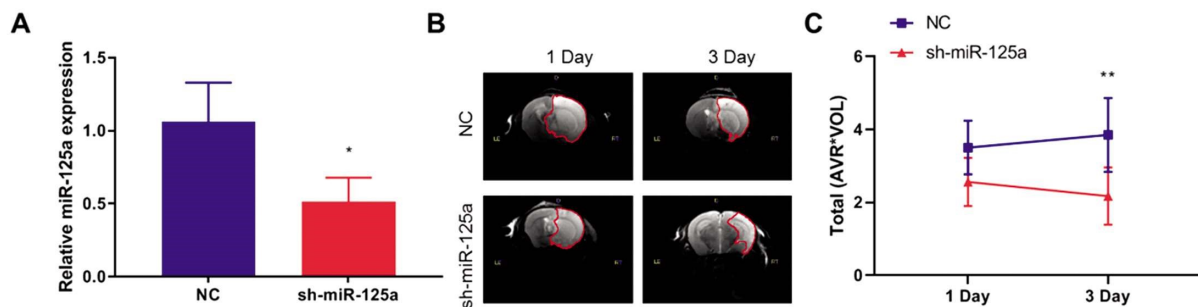


图 3 MCAO 大鼠脑梗死体积测定

Fig. 3 Determination of infarct volume in MCAO rats

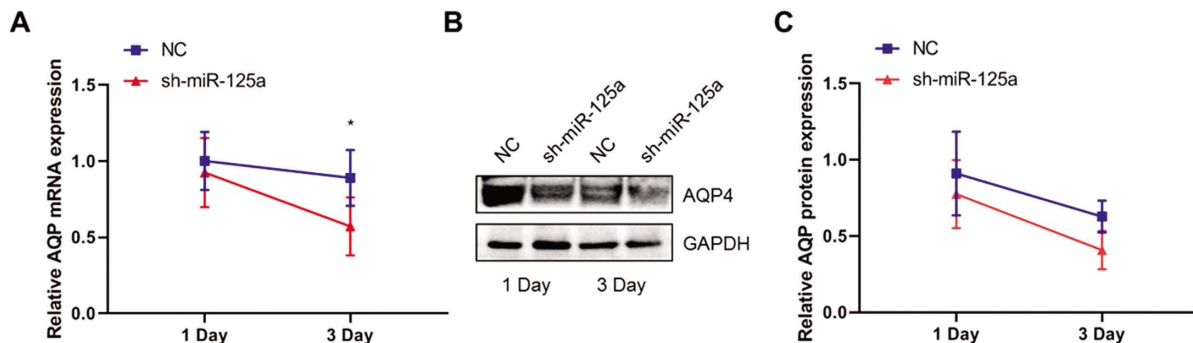
Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with NC group.

图 4 AQP4 表达水平检测

Fig. 4 The expression of AQP4 in MCAO rats

Note: * $P < 0.05$, compared with NC group.

疗, 溶栓则会因再灌注损伤导致脑出血以及致命性的脑水肿^[11,12]。miRNA 在脑和脊髓的发育形成过程中起着重要的作用^[13]。多种 miRNA 与脑缺血的前期病变密切相关^[13,14]。miRNA 不但在预防脑缺血中起着重要作用, 同时也影响脑缺血的预后。一项 RNA 测序研究显示, miR-125a-5p 与急性缺血性卒中相关^[15]。我们研究发现, 脑卒中患者中 miR-125a 表达水平高于正常的对照组, 进一步的明确 miR-125a 在急性缺血性卒中患者血浆中的表达情况。

由于后循环梗死, 在中枢性眩晕患者的血清中 miR-125a-5p 表达水平明显高于周围性眩晕, 在后循环梗死患者中, 第 90 天时血清 miR-125a-5p 的水平显著降低^[16]。这些研究表明, miR-125a-5p 的升高均发生在缺血性卒中的急性期, 这与我们的研究结果一致。我们还发现预后良好患者血浆中 miR-125a 表达水平低于预后不良的患者, 血浆中 miR-125a 表达水平在区分正常和急性脑卒中患者具有较好的敏感性和特异性。

在急性缺血性卒中患者中 miR-125b-5p 表达水平高于健康对照。MCAO 大鼠皮质组织样品中 miR-125a 表达水平高于对照组大鼠, 与 MCAO 大鼠表现出明显的行为缺陷有关^[17]。MCAO 模型大鼠神经功能学评分高于正常对照^[17,18], 我们研究发现, 脑卒中患者血浆中 miR-125a 表达水平与患者 NIHSS 评分和脑梗死体积呈正相关。但一些研究发现, miR-125a-5p 的表达水平与梗死体积和中风发病机制无关^[16], 可能是由于我们实验的样本量较小造成了结果的偏差。

一般认为, 血脑屏障破坏导致血管通透性增加是导致脑水肿的重要原因之一^[19,20]。在细胞因子的介导下, 血脑屏障的完整

性和通透性会持续被破坏, 加重脑水肿^[21]。体内实验表明, miR-125a-5p 可以调节血脑屏障功能^[22]。水通道蛋白 4 表达的改变与脑缺血时血脑屏障通透性的增加有关^[19]。AQP4 过表达可能加剧星形胶质细胞缺血 / 再灌注损伤^[23]。抑制 AQP4 的表达可以保护小鼠脑卒中模型所引起的脑水肿^[12,24], 减少缺血后的脑水肿和梗死体积^[24,25]。在急性缺血性脑水肿模型中, AQP4 表达水平迅速增加, 并在 6 小时后达到峰值。在细胞内水肿和坏死阶段起重要作用, 但与血管性水肿无关^[26]。我们研究发现, 抑制 miR-125a 表达后会减小脑梗死的体积, 减少脑皮质中 AQP4 mRNA 和蛋白的表达水平。

综上, 血浆中 miR-125a 表达水平在区分正常和脑卒中患者具有较好的敏感性和特异性, 抑制 miR-125a 表达会通过降低 AQP4 表达, 减少脑梗死体积, 减轻脑水肿, 减弱血脑屏障。为 miR-125a 在诊断和治疗脑缺血中的应用提供了理论基础。

参考文献 (References)

- [1] Fabian MR, Sonenberg N, Filipowicz W. Regulation of mrna translation and stability by micrornas [J]. Annu Rev Biochem, 2010, 79: 351-379
- [2] Contiliani DF, Ribeiro YA, de Moraes VN, et al. Micrornas in prion diseases-from molecular mechanisms to insights in trans lational medicine[J]. Cells, 2021, 10(7): 1620
- [3] Liang Z, Chi YJ, Lin GQ, et al. Mirna-26a promotes angiogenesis in a rat model of cerebral infarction via pi3k/akt and mapk/erk pathway [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(11): 3485-3492
- [4] Li Y, Bi W, Han B, et al. Mir-203 targets to the 3'-utr of slug to suppress cerebral infarction-induced endothelial cell growth and motility [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021:

5597567

- [5] Gui Y, Xu Z, Jin T, et al. Using extracellular circulating micrnas to classify the etiological subtypes of ischemic stroke [J]. *Transl Stroke Res*, 2019, 10(4): 352-361
- [6] Cheng ZJ, Dai TM, Shen YY, et al. Atorvastatin pretreatment attenuates ischemic brain edema by suppressing aquaporin 4 [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2018, 27(11): 3247-3255
- [7] Morita K, Matsumoto N, Saito K, et al. Bmp signaling alters aquaporin-4 expression in the mouse cerebral cortex [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 10540
- [8] Wang Y, Huang J, Ma Y, et al. Microrna-29b is a therapeutic target in cerebral ischemia associated with aquaporin 4[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, 35(12): 1977-1984
- [9] Pereira BM, Weinstein PR, Zea-Longa E, et al. Effect of blood flow rate and donor vessel diameter on the patency of carotid venous bypass grafts in dogs[J]. *Surg Neurol*, 1989, 31(3): 195-199
- [10] Grieve SM, Mazhar J, Callaghan F, et al. Automated quantification of myocardial salvage in a rat model of ischemia-reperfusion injury using 3d high-resolution magnetic resonance imaging (mri)[J]. *J Am Heart Assoc*, 2014, 3(4): e000956
- [11] Manley GT, Fujimura M, Ma T, et al. Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke[J]. *Nat Med*, 2000, 6(2): 159-163
- [12] Cai L, Zhou Y, Wang Z, et al. Neuroserpin extends the time window of tpa thrombolysis in a rat model of middle cerebral artery occlusion [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2020, 34(11): e22570
- [13] Suster I, Feng Y. Multifaceted regulation of microrna biogenesis: Essential roles and functional integration in neuronal and glial development[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(13): 6765
- [14] Tu Y, Hu Y. Mirna-34c-5p protects against cerebral ischemia/reperfusion injury: Involvement of anti-apoptotic and anti-inflammatory activities[J]. *Metab Brain Dis*, 2021
- [15] Tiedt S, Prestel M, Malik R, et al. Rna-seq identifies circulating mir-125a-5p, mir-125b-5p, and mir-143-3p as potential biomarkers for acute ischemic stroke[J]. *Circ Res*, 2017, 121(8): 970-980
- [16] Kijpaisalratana N, Nimsamer P, Khamwut A, et al. Serum mirna125a-5p, mir-125b-5p, and mir-433-5p as biomarkers to differentiate between posterior circulation stroke and peripheral vertigo[J]. *BMC Neurol*, 2020, 20(1): 372
- [17] Liu Y, Li Y, Ren Z, et al. Microrna-125a-3p is involved in early behavioral disorders in stroke-afflicted rats through the regulation of cadm2[J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(6): 1851-1859
- [18] Hou X, Xu H, Chen W, et al. Neuroprotective effect of dimethyl fumarate on cognitive impairment induced by ischemic stroke [J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(6): 375
- [19] Fu X, Li Q, Feng Z, et al. The roles of aquaporin-4 in brain edema following neonatal hypoxia ischemia and reoxygenation in a cultured rat astrocyte model[J]. *Glia*, 2007, 55(9): 935-941
- [20] Yang Q, Yu J, Qin H, et al. Irbesartan suppresses lipopolysaccharide (lps)-induced blood-brain barrier (bbb) dysfunction by inhibiting the activation of mlck/mlc[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 98: 107834
- [21] 董静, 褚鹤龄, 高子丹, 等. 水通道蛋白 4 与脑血管病[J]. *国际脑血管病杂志*, 2016, 24(11): 1050-1054
- [22] Reijerkerk A, Lopez-Ramirez MA, van Het Hof B, et al. Micrnas regulate human brain endothelial cell-barrier function in inflammation: Implications for multiple sclerosis [J]. *J Neurosci*, 2013, 33(16): 6857-6863
- [23] Zheng Y, Pan C, Chen M, et al. Mir-29a ameliorates ischemic injury of astrocytes in vitro by targeting the water channel protein aquaporin 4[J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(3): 1707-1717
- [24] Wang H, Zheng X, Jin J, et al. Lncrna malat1 silencing protects against cerebral ischemia-reperfusion injury through mir-145 to regulate aqp4[J]. *J Biomed Sci*, 2020, 27(1): 40
- [25] Yao X, Derugin N, Manley GT, et al. Reduced brain edema and infarct volume in aquaporin-4 deficient mice after transient focal cerebral ischemia[J]. *Neurosci Lett*, 2015, 584: 368-372
- [26] Lu H, Sun SQ. A correlative study between aqp4 expression and the manifestation of dwi after the acute ischemic brain edema in rats[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2003, 116(7): 1063-1069

(上接第 3653 页)

- [23] Wang X, Zhou J, Yang J, et al. Role of TLR4/MyD88/NF- κ B signaling in the contrast-induced injury of renal tubular epithelial cells[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(5): 115
- [24] Sun XJ, Li XQ, Wang XL, et al. Sevoflurane inhibits nuclear factor- κ B activation in lipopolysaccharide-induced acute inflammatory lung injury via toll-like receptor 4 signaling [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0122752
- [25] Liu M, Xie J, Sun Y. TLR4/MyD88/NF- κ B-Mediated Inflammation Contributes to Cardiac Dysfunction in Rats of PTSD [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2020, 40(6): 1029-1035
- [26] Li Z, Zou Y, Fan D, et al. The mechanism of medial collateral ligament repair in knee osteoarthritis based on the TLR4/MyD88/NF- κ B inflammatory signaling pathway[J]. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2020, 20(3): 398-403
- [27] 余永林, 吴家顺, 热合米丁·艾买提, 等. 淫羊藿苷干预脂肪间充质干细胞修复膝骨性关节炎的作用及相关机制研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2021, 37(3): 301-306
- [28] 陈俊, 林洁, 赵忠胜, 等. 乌头汤对膝关节炎模型大鼠滑膜组织 TLR4/NF- κ B 信号通路的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(27): 4381-4386
- [29] Zhang Y, Zeng Y. Curcumin reduces inflammation in knee osteoarthritis rats through blocking TLR4 /MyD88/NF- κ B signal pathway[J]. *Drug Dev Res*, 2019, 80(3): 353-359