

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.06.003

DAPT 预处理对脑缺血/再灌注损伤小鼠的神经保护作用*

陈华轩, 罗波, 王林, 张渊, 刘毅, 范润金

(四川省南充市中心医院/川北医学院第二临床医学院神经外科, 四川南充 637000)

[摘要] **目的** 探讨 N-[N-(3,5-双氟酚内氨酰)]-S-苯氨基乙酸 t-丁基酯(DAPT)预处理对脑缺血/再灌注损伤小鼠的神经保护作用及其机制。**方法** 雄性 C57BL/6 小鼠随机分为假手术组、大脑中动脉缺血/再灌注组(模型组)、DAPT 预处理+大脑中动脉缺血/再灌注组(DAPT 预处理组)。DAPT 预处理组小鼠造模前连续 7 d 每天腹腔注射 1 次 DAPT, 而模型组和假手术组小鼠腹腔注射等量生理盐水。采用线栓法建立小鼠大脑中动脉缺血/再灌注模型, 在小鼠脑缺血 2 h 及再灌注 24 h 后采用 Longa 生物学评分对小鼠的神经功能缺损状况进行评估; 采用 TUNEL 染色评估小鼠神经元细胞凋亡情况及 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色观察小鼠脑梗死体积; Western blot 检测小鼠脑组织 Notch1、Hes1 及 Hes5 蛋白相对表达水平; 实时荧光定量 PCR(RT-PCR)分析小鼠脑组织的胶质纤维酸性蛋白(GFAP)和信号转导与转录激活因子 3(STAT3)的 mRNA 相对表达水平; ELISA 法对小鼠脑组织中 IL-1 β 和 TNF- α 的表达水平进行检测。**结果** 假手术组的神经元凋亡数、脑梗死体积、Longa 生物学评分分别为(4.00 \pm 1.58)个、0 mm³、0 分, 模型组分别为(75.00 \pm 2.74)个、(42.37 \pm 0.85)mm³、(2.12 \pm 0.39)分, DAPT 预处理组分别为(33.60 \pm 2.41)个、(19.87 \pm 1.18)mm³、(1.29 \pm 0.25)分, 以上指标 3 组组间比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。模型组的 IL-1 β 、TNF- α 表达水平, GFAP mRNA、STAT3 mRNA 相对表达水平显著高于假手术组($P < 0.05$), 而 DAPT 预处理组上述指标较模型组显著降低($P < 0.05$); 模型组 Hes1、Hes5 和 Notch1 蛋白相对表达水平较假手术组明显升高($P < 0.05$), 而 DAPT 预处理组上述指标较模型组明显降低($P < 0.05$)。**结论** DAPT 预处理能抑制 Notch 信号通路并下调 Hes1、Hes5 及 STAT3、GFAP 水平, 从而对脑缺血/再灌注损伤小鼠产生神经保护作用。

[关键词] Notch 信号通路; DAPT 预处理; 脑缺血再灌注损伤; 信号转导与转录激活因子 3; 胶质纤维酸性蛋白

[中图法分类号] R743.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2021)06-0911-06

Neuroprotective effect of DAPT preconditioning on cerebral ischemia-reperfusion injury in mice*

CHEN Huaxuan, LUO Bo, WANG Lin, ZHANG Yuan, LIU Yi, FAN Runjin

(Department of Neurosurgery, Nanchong Central Hospital of Sichuan Province/the

Second Clinical Medical College of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the neuroprotective effect of DAPT pretreatment on cerebral ischemia-reperfusion injury in mice and its mechanism. **Methods** Male C57BL/6 mice were randomly divided into the sham operation group (sham group), the DAPT pretreatment+middle cerebral artery ischemia-reperfusion group (DAPT pretreatment group), the middle cerebral artery ischemia-reperfusion model group (model group). The mice in the DAPT pretreatment group were intraperitoneally injected with DAPT once a day for 7 consecutive days before modeling, while the mice in the model group and the sham operation group were intraperitoneally injected with the same amount of normal saline. The middle cerebral artery ischemia-reperfusion model was established by the suture method. The Longa biological score was used to evaluate the neurological deficits symptoms of the mice at the time of 2 hours after cerebral ischemia and 24 hours after reperfusion. TUNEL staining was used to evaluate the apoptosis of neurons cell in mice and TTC staining was used to evaluate the cerebral infarction volume of mice. Western blot was used to detected the protein expression levels of Notch1, Hes1 and Hes5, and qRT-PCR was used to analyze the mRNA levels of GFAP and STAT3 in

mice brain tissues. The levels of IL-1 β and TNF- α in the brain of mice were determined by ELISA. **Results** The number of neuronal apoptosis, cerebral infarction volume, and Longa biological score were 4.00 ± 1.58 , 0 mm^3 , and 0 points in the sham group, and 75.00 ± 2.74 , $(42.37 \pm 0.85) \text{ mm}^3$ and (2.12 ± 0.39) points in the model group, 33.60 ± 2.41 , $(19.87 \pm 1.18) \text{ mm}^3$ and (1.29 ± 0.25) points in the DAPT pretreatment group, respectively; there were statistically significant differences in the above indicators among the three groups ($P < 0.05$). The expression levels of IL-1 β , TNF- α , and the relative expression levels of GFAP mRNA and STAT3 mRNA in the model group were significantly higher than those in the sham group ($P < 0.05$); however, the above indicators in the DAPT pretreatment group were significantly lower than those in the model group ($P < 0.05$). The relative expression levels of Hes1, Hes5 and Notch1 in the model group were significantly higher than those in the sham group ($P < 0.05$), while the above indexes in the DAPT pretreatment group were significantly lower than those in the model group ($P < 0.05$). **Conclusion** DAPT preconditioning can inhibit the Notch signaling pathway and down-regulate the levels of Hes1 and Hes5, STAT3 and GFAP, thereby plays a neuroprotective effects on mice with cerebral ischemia-reperfusion injury.

[Key words] Notch signaling pathway; DAPT preconditioning; cerebral ischemia-reperfusion injury; STAT3; GFAP

脑卒中是导致死亡的主要原因之一,其中缺血性脑卒中约占 80%^[1],它因发病率和致死率“双高”的特点而备受重视。缺血性脑卒中急性期患者主要通过组织纤溶酶原激活物静脉溶栓治疗,但血管再通可导致神经细胞延迟死亡,从而引起脑缺血/再灌注损伤^[2]。既往研究证实细胞凋亡、炎症反应、氧化应激、血脑屏障破坏等是缺血性脑卒中导致脑损伤的主要发病机制^[3],进一步研究发现 Notch 信号通路是一种调控脑缺血/再灌注损伤的重要途径^[4],但现阶段仍未明确脑缺血/再灌注损伤被 Notch 信号通路调控的具体机制。N-[N-(3,5-双氟酚内氨酰)]-S-苯氨基乙酸 t-丁基酯 {N-[N-(3,5-difluorohenacetyl-L-alanyl)]-S-phenyl glycine t-butyl ester, DAPT} 作为常见的 γ -分泌酶抑制剂,其通过阻断酶切过程来抑制 Notch 信号通路的信号传导,有助于减轻脑缺血/再灌注损伤。本研究通过 DAPT 预处理及建立局灶性小鼠脑缺血/再灌注模型,观察动物模型神经功能缺损、神经细胞凋亡、脑梗死体积、炎症指标、星形胶质细胞活化指标、Notch 信号通路激活指标的变化,旨在探讨 DAPT 预处理对脑缺血/再灌注损伤小鼠的神经保护作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 动物及实验材料

SPF 级 8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠 75 只,体质量 $(28 \pm 2) \text{ g}$,购自上海杰思捷实验动物有限公司,生产许可证号:SCXK(沪)2018-0004;TUNEL 试剂盒(瑞士 Roche 公司);2,3,5-氯化三苯基四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazolium, chloride, TTC)染液购于北京雷根生物技术有限公司;Hes1 和 Hes5 抗体购于美国 Abcam 公司;DAPT 和 Notch1 抗体购于美国 CST 公司;白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)

ELISA 试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司;逆转录试剂盒、实时荧光定量 PCR(RT-PCR)引物和 PCR 试剂盒、TRIzol 试剂购自北京赛因坦科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 分组与建模

小鼠分为假手术组、大脑中动脉缺血/再灌注组(模型组)、DAPT 预处理+大脑中动脉缺血/再灌注组(DAPT 预处理组),每组 25 只。DAPT 预处理组小鼠造模前连续 7 d 每天腹腔注射 1 次 DAPT(20 mg/kg),而模型组和假手术组小鼠腹腔注射等量生理盐水。DAPT 预处理组与模型组用线栓法闭塞右侧大脑中动脉缺血 2 h,再灌注 24 h,而假手术组仅采用相同的手术方法,没有插入线栓。采用线栓法闭塞右侧大脑中动脉,建立局灶性小鼠脑缺血/再灌注模型具体过程如下:通过腹腔内注射体积分数 10% 的水合氯醛麻醉小鼠(2.5 mL/kg),从颈部正中切开皮肤后将右侧颈总动脉、颈内动脉和颈外动脉仔细分离,然后在离颈总动脉分叉处 5 mm 处做一个小切口,将 0.3 mm 线栓从颈总动脉缓慢插入颈内动脉至大脑中动脉,缺血 2 h 后轻柔拉出线栓,使血流恢复正常。

1.2.2 Longa 生物学评分评价神经功能缺损

在小鼠脑缺血 2 h 及再灌注 24 h 后采用 Longa 生物学评分评估其神经功能缺损状况,具体评分细则如下。小鼠活动完全正常、没有任何神经功能缺损症状,记为 0 分;将小鼠提尾悬空后其出现左侧前肢屈曲、肘关节伸直、肩部内收为轻度神经功能缺损,记为 1 分;小鼠爬行时向左侧转圈并且侧推时左右推动的阻力不等为中度神经功能缺损,记为 2 分;左侧肢体肌力明显减退导致其不能承受体重而向左侧侧倒为重度神经功能缺损,记为 3 分;呈筒样滚动或无自主

活动,甚至意识障碍为严重神经功能缺损,记为 4 分。其中 1~3 分视为合格模型,排除 0 分及 4 分模型。

1.2.3 TUNEL 染色检测神经元细胞凋亡

采用 TUNEL 染色法对小鼠凋亡神经元细胞进行计数,遵照 TUNEL 试剂盒说明书的操作步骤检测各组小鼠缺血半侧区神经元细胞凋亡。正常神经元细胞显示为蓝色,而凋亡神经元细胞核在显微镜下则显示为不均一的紫色,即为 TUNEL 阳性。显微镜下计数视野内凋亡神经元细胞。

1.2.4 TTC 染色测定小鼠脑梗死体积

小鼠迅速断头并取出脑组织,于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内冷冻 20 min 后沿冠状位切成 2 mm 厚的薄片,然后在避光、室温下将脑薄片放于 2% TTC 溶液中浸泡 30 min,后于 4% 多聚甲酸溶液中固定 24 h,拍片后运用 Image-Pro Plus7.0 图像处理软件测定脑梗死体积。

1.2.5 RT-PCR 测定小鼠脑组织的胶质纤维酸性蛋白(GFAP)和信号转导与转录激活因子 3(STAT3) mRNA 相对表达水平

取小鼠缺血侧大脑组织,称量脑组织并加入 TRIzol 试剂后用匀浆器匀浆,完成低温离心、氯仿抽取、75%乙醇洗涤和焦碳酸二乙酯(DEPC)水溶解,然后进行总 RNA 浓度测量、RNA 定量、稀释、逆转录成 cDNA;加入 GFAP 引物(上游引物 5'-TGG AAA TGA CAG TGA AGC ACC TC-3',下游引物 5'-TCG TTC ATG CAC TCG CTG AAG-3'),STAT3 引物(上游引物 5'-CCA TTG GGC CAT CCT GTT TCT-3',下游引物 5'-AGA AAC AGG ATG GCC CAA TGG-3')后使用 CFX Connect Real Time PCR 仪进行 PCR 反应,检测各组 GFAP mRNA 和 STAT3 mRNA 的相对表达水平。

1.2.6 Western blot 检测小鼠脑组织 Notch1、Hes1、Hes5 蛋白的相对表达水平

将小鼠在冰上迅速断头后取出缺血侧大脑组织,称重后加入裂解液匀浆,取经离心处理的上清液备用;用 BCA 法测定蛋白质浓度,取等量蛋白行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳,电转至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上;用脱脂奶粉(50 g/L)在室温下封闭 2 h,然后分别加入 Hes1、Hes5、Notch1(1:1 000)及 β -actin(1:2 000)一抗,并在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温孵育过夜;加入二抗(1:2 000)后在室温下孵育 1 h,然后洗膜、避光条件下滴加 ECL 显影,使用化学发光成像系统分析。以标准参照条带为基准,采用 Syngene Bio Imaging 检测系统分析目的条带灰度值,计算各目的蛋白的相对表达水平。

1.2.7 ELISA 检测小鼠脑组织 IL-1 β 、TNF- α 的水平

取小鼠缺血侧脑组织加入裂解液后用匀浆器匀

浆,完成离心处理后取上清液备用,分别按照 IL-1 β 、TNF- α ELISA 试剂盒说明书方法,由有检测资质的实验员进行测定。

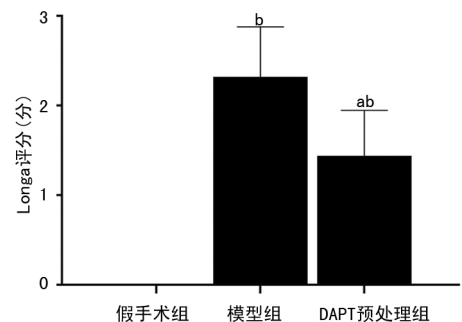
1.3 统计学处理

采用 SPSS22.0 软件及 Graph Pad Prism8.0 软件处理相关数据。计数资料采用 χ^2 检验,符合正态分布的计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,不符合正态分布的计量资料用中位数和四分位间距 [$M(P_{25}, P_{75})$] 表示,具有方差齐性的两个样本比较采用 LSD- t 检验,而多个样本比较采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠神经功能缺损情况

Longa 生物学评分结果显示,假手术组 Longa 生物学评分为 0 分(无神经功能缺损症状);模型组 Longa 生物学评分为 (2.12 ± 0.39) 分,神经功能缺损较对照组加重,而 DAPT 预处理组 Longa 生物学评分 [(1.29 ± 0.25) 分] 显著低于模型组,差异有统计学意义 ($P<0.01$),见图 1。



^a: $P<0.01$,与模型组比较;^b: $P<0.05$,与假手术组比较。

图 1 各组 Longa 生物学评分比较

2.2 小鼠神经元细胞凋亡及脑梗死体积比较

TUNEL 染色评估神经元细胞凋亡结果显示,DAPT 预处理组、模型组、假手术组的神经元细胞凋亡数分别为 (33.60 ± 2.41) 个、 (75.00 ± 2.74) 个、 (4.00 ± 1.58) 个,3 组组间比较差异有统计学意义 ($P<0.05$),见图 2。TTC 染色检测的结果显示 DAPT 预处理组、模型组、假手术组的脑梗死体积分别为 $(19.87\pm 1.18)\text{ mm}^3$ 、 $(42.37\pm 0.85)\text{ mm}^3$ 、 0 mm^3 ,3 组组间比较差异有统计学意义 ($P<0.05$),见图 3。

2.3 小鼠脑组织 GFAP 和 STAT3 mRNA 相对表达水平比较

qRT-PCR 检测结果显示,模型组 GFAP 和 STAT3 mRNA 相对表达水平较假手术组明显升高 ($P<0.05$),而 DAPT 预处理组 GFAP mRNA 和 STAT3 mRNA 相对表达水平较模型组显著降低 ($P<0.05$),但仍高于假手术组 ($P<0.05$),差异均有统计学意义,见图 4。

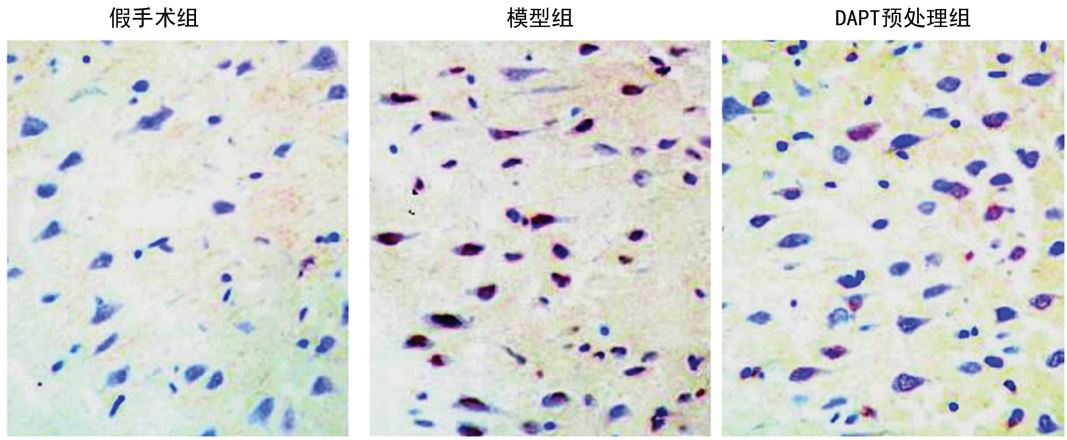


图 2 TUNEL 染色显示各组神经元凋亡情况(X400)

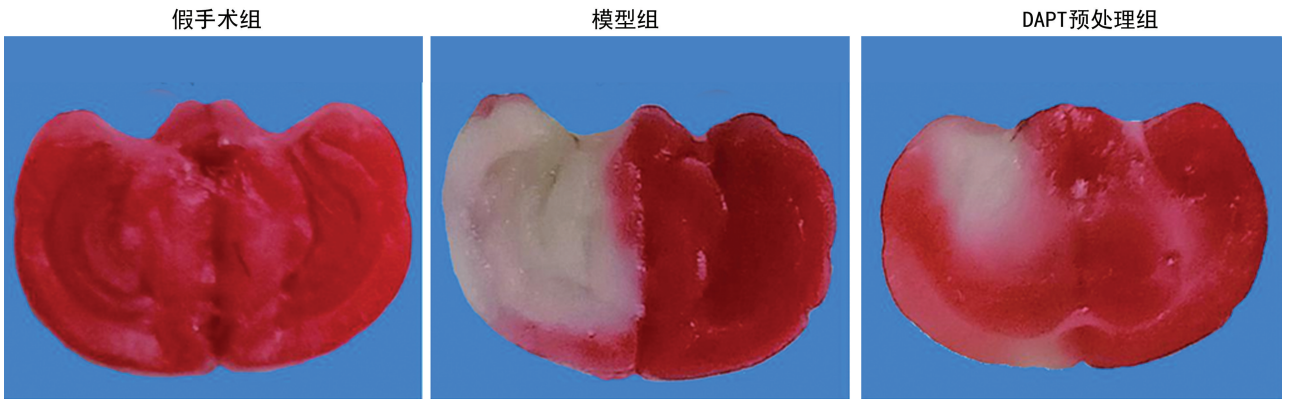
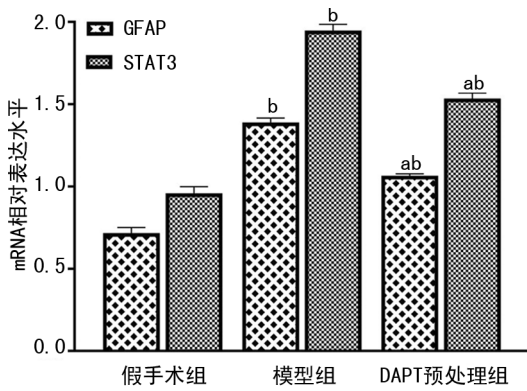


图 3 TTC 染色显示各组脑梗死情况



^a: $P < 0.01$, 与模型组比较; ^b: $P < 0.05$, 与假手术组比较。

图 4 各组 GFAP 和 STAT3 mRNA 相对表达水平比较

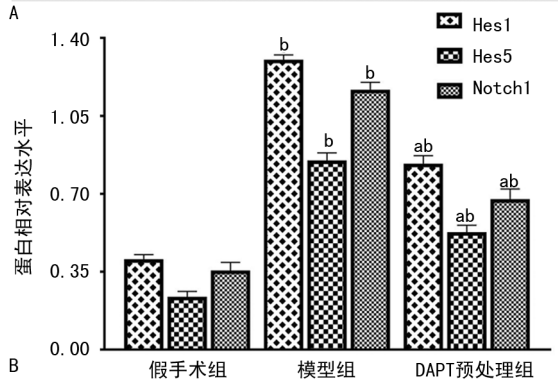
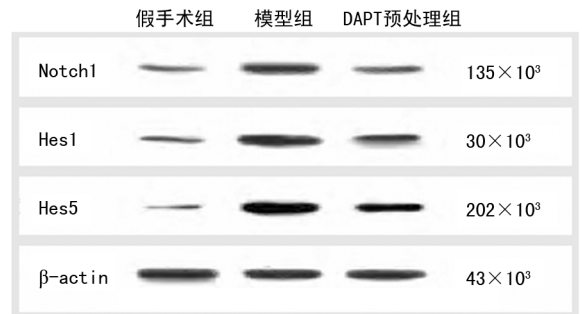
2.4 Hes1、Hes5 及 Notch1 蛋白相对表达水平比较

Western blot 检测结果显示,模型组 Hes1、Hes5 及 Notch1 蛋白相对表达水平明显高于假手术组 ($P < 0.05$),DAPT 预处理组 Hes1、Hes5 及 Notch1 蛋白相对表达水平较模型组显著降低 ($P < 0.05$),但仍高于假手术组 ($P < 0.05$),差异均有统计学意义,见图 5。

2.5 IL-1 β 、TNF- α 结果比较

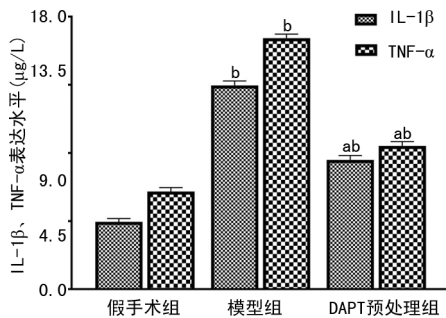
ELISA 检测结果显示,模型组 IL-1 β 、TNF- α 较假手术组明显升高 ($P < 0.05$),DAPT 预处理组 IL-1 β 、TNF- α 表达水平较模型组显著降低 ($P < 0.05$),

但仍高于假手术组 ($P < 0.05$),差异均有统计学意义,见图 6。



A: Western blot; B: Western blot 分析图。 ^a: $P < 0.01$, 与模型组比较; ^b: $P < 0.05$, 与假手术组比较。

图 5 各组 Hes1、Hes5、Notch1 蛋白相对表达水平比较



^a: $P < 0.01$, 与模型组比较; ^b: $P < 0.05$, 与假手术组比较。

图 6 各组 IL-1β、TNF-α 表达水平比较

3 讨 论

缺血性脑卒中导致的再灌注损伤危害极大,而 Notch 信号通路已被发现在脑缺血/再灌注损伤中起着重要的调节作用^[5]。神经祖细胞增殖、迁移、分化和凋亡被具有高度保守性的 Notch 信号通路精确调控,Notch 信号通路在细胞生长和生理功能等方面发挥着至关重要的作用^[6]。研究显示,邻近细胞的 Notch 受体与配体相互作用而产生 Notch 信号,通过 3 次裂解 Notch 受体蛋白形成胞内段, HES1、HES5 等下游靶基因被 CSL 结合蛋白与进入细胞核的胞内段结合形成的转录激活复合体激活,从而发挥生物学效应^[7]。

DAPT 是最常用的 γ -分泌酶抑制剂,它作用于 Notch 受体 S3 蛋白水解酶切割位点,阻止胞内段的形成,抑制 Notch 信号通路下游效应分子 HES1、HES5 表达,进而使神经祖细胞向神经元细胞分化^[8]。研究显示,脑缺血/再灌注损伤激活 Notch 信号通路会使神经元细胞凋亡加剧,而脑缺血/再灌注的细胞凋亡效应在使用 Notch 信号阻断剂后显著减轻^[9]。本研究通过 DAPT 预处理抑制脑缺血/再灌注小鼠的 Notch 信号通路,探讨其对脑缺血/再灌注损伤小鼠的作用。结果显示,模型组出现明显神经功能缺损, TUNEL 染色示大量凋亡神经元细胞, TTC 染色示右侧大脑半球大面积梗死,并且 Notch1、HES1 和 HES5 蛋白表达水平明显升高。然而 DAPT 预处理组神经功能缺损较模型组明显减轻,凋亡神经元细胞及脑梗死面积显著减少,而且 Notch1、HES1 及 HES5 蛋白表达水平显著降低,由此说明 Notch 信号通路被 DAPT 抑制, DAPT 预处理能减少脑缺血/再灌注损伤小鼠的神经元凋亡细胞与促进神经功能恢复,这与王晗等^[10]的研究结果一致。

STAT3 是一种具备信号转导和转录功能并广泛存在于中枢神经系统的 DNA 结合蛋白,对脑缺血/再灌注损伤导致的炎症反应有一定调控作用,激活的 STAT3 进入细胞核内启动其下游基因转录,进而促进炎症因子 IL-1β、TNF-α 等表达^[11]。WU 等^[12]报

道,抑制 STAT3 信号通路使炎症因子的表达水平降低,可减轻脑缺血/再灌注损伤的炎症反应。DING 等^[13]靶向抑制 STAT3 信号通路减轻了脑缺血/再灌注大鼠的神经炎症损伤。本研究结果显示,模型组 IL-1β、TNF-α 及 STAT3 mRNA 表达水平较假手术组显著增加,表明脑缺血/再灌注使抗炎能力减弱,神经损伤加重,但 DAPT 预处理组 IL-1β、TNF-α 及 STAT3 mRNA 表达水平较模型组明显降低。由此可见, DAPT 预处理抑制 Notch 信号通路可以通过降低 STAT3 的活化,提高脑缺血/再灌注损伤小鼠的抗炎能力,从而产生神经保护作用。

GFAP 是星形胶质细胞的标志物之一,它特异地存在于星形胶质细胞中并反映星形胶质细胞的活性。过度活化的星形胶质细胞会在病灶周围形成胶质瘢痕,同时分泌硫酸软骨素蛋白多糖,它们均会抑制轴突再生,阻碍神经功能恢复^[14]。WANG 等^[15]研究表明,抑制星形胶质细胞过度活化和胶质瘢痕形成可通过抑制 GFAP 基因表达来实现,从而改善脑缺血后神经功能。DZAMBA 等^[16]研究发现,使用反义 GFAP mRNA 技术抑制星形胶质细胞过度活化能减少星形胶质细胞肥大与促进神经元轴突生长。本研究结果显示,模型组的 GFAP mRNA 表达水平显著高于假手术组,然而, DAPT 预处理组 GFAP mRNA 表达水平较模型组明显降低,表明脑缺血/再灌注后星形胶质细胞过度活化被 DAPT 预处理抑制,提示抑制 Notch 信号通路可能通过抑制 GFAP 过度表达来发挥神经保护作用。

综上所述, DAPT 预处理能明显减轻脑缺血/再灌注小鼠的神经功能缺损,减少神经元凋亡、脑梗死体积及减轻炎症反应,对脑缺血/再灌注损伤有神经保护作用,其可能机制为 DAPT 预处理通过抑制 Notch 信号通路来减弱 STAT3 活化与抑制 GFAP 过度表达。

参考文献

- [1] ZHAO Z, LU Z, SUN X, et al. Global transcriptional profiling of cortex and striatum: cerebral injury after ischemia/reperfusion in a mouse model [J]. *Stroke Cerebrovasc Dis*, 2017, 26: 1622-1634.
- [2] GOYAL M, MENON B K, VAN ZWAM W H, et al. Endovascular thrombectomy after large-vessel ischaemic stroke: a meta-analysis of individual patient data from five randomised trials [J]. *Lancet*, 2016(387): 1723-1731.
- [3] HU B, TONG F, XU L, et al. Role of calcium

- sensing receptor in streptozotocin-induced diabetic rats exposed to renal ischemia reperfusion injury[J]. *Kidney Blood Press Res*, 2018, 43(1):276-286.
- [4] WANG J J, ZHU J D, ZHANG X H, et al. Neuroprotective effect of Notch pathway inhibitor DAPT against focal cerebral ischemia/reperfusion 3 hours before model establishment[J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14(3):452-461.
- [5] DUAN X, QIN G. Notch inhibitor mitigates renal ischemia-reperfusion injury in diabetic rats[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21(2):583-588.
- [6] 于洁, 张向东, 杨新丽, 等. 特异性抑制 JAK2/STAT 3 信号通路对大鼠急性脑缺血再灌注损伤后 COX-2 和 VEGF 表达水平的影响[J]. *卒中与神经疾病*, 2020, 27(5):567-571.
- [7] 顾良臻, 李树红, 王世军, 等. Notch 信号通路在脑缺血中作用的研究进展[J]. *神经解剖学杂志*, 2020, 36(4):450-454.
- [8] WANG J J, ZHU J D, ZHANG X H, et al. Neuroprotective effect of Notch pathway inhibitor DAPT against focal cerebral ischemia/reperfusion 3 hours before model establishment[J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14(3):452-461.
- [9] SUN J, LING Z, WANG F, et al. Clostridium butyricum pretreatment attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury in mice via anti-oxidation and anti-apoptosis[J]. *Neurosci Lett*, 2016, 613:30-35.
- [10] 王晗, 雷占翔, 郭虹敏. Exendin-4 对 MCAO 再灌注导致的脑缺血/再灌注损伤具有神经保护作用[J]. *卒中与神经疾病*, 2020, 27(5):576-579.
- [11] 魏小于, 郑威楠, 楚亚楠, 等. 白及多糖调节 JAK2/STAT3 通路对脑缺血再灌注大鼠脑损伤和炎症反应的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(13):1825-1829.
- [12] WU Y, XU J, XU J, et al. Study on the mechanism of JAK2/STAT3 signaling pathway-mediated inflammatory reaction after cerebral ischemia[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(4):5007-5012.
- [13] DING Y, QIAN J, LI H, et al. Effects of SC99 on cerebral ischemia-perfusion injury in rats: selective modulation of microglia polarization to M2 phenotype via inhibiting JAK2-STAT3 pathway[J]. *Neurosci Res*, 2019, 142:58-68.
- [14] NERI M, FRATI A, TURILLAZZI E, et al. Immunohistochemical evaluation of aquaporin-4 and its correlation with CD68, IBA-1, HIF-1 α , GFAP, and CD15 expressions in fatal traumatic brain injury[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11):3544.
- [15] WANG L, LI P. Expressions of nestin and glial fibrillary acidic protein in rat retina after optic nerve transection[J]. *Int J Ophthalmol*, 2017, 10(10):1510-1515.
- [16] DZAMBA D, HONSA P, VALNY M, et al. Quantitative analysis of glutamate receptors in glial cells from the cortex of GFAP/EGFP mice following ischemic injury: focus on NMDA receptors[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2015, 35(8):1187-1202.

(收稿日期:2020-11-14 修回日期:2021-01-13)

(上接第 910 页)

- [20] GARISTO J, BERTOLO R, DAGENAIS J, et al. Robotic versus open partial nephrectomy for highly complex renal masses: comparison of perioperative, functional, and oncological outcomes[J]. *Urol Oncol*, 2018, 36(10):471.
- [21] HUNG ANDREW J, JIE C, SIMMONS MATTHEW N, et al. "Trifecta" in partial nephrectomy[J]. *J Urol*, 2013, 189:36-42.
- [22] NAYAK J G, PATEL P, BJAZEVIC J, et al. Clinical outcomes following laparoscopic management of pT3 renal masses: a large, multi-institutional cohort[J]. *Can Urol Assoc J*, 2015, 9(11/12):397-402.
- [23] 胡燕, 王富兰. 达芬奇机器人辅助腹腔镜与传统腹腔镜宫颈癌根治术的早期临床分析[J]. *重庆医科大学学报*, 2020, 45(5):656-659.

(收稿日期:2020-10-18 修回日期:2020-12-28)