

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.22.005

ATP/P2X4/NLRP3 信号轴在脑出血炎症损伤中的作用机制研究*

张雪玲¹, 崔桂云², 鲍磊², 林晓光¹, 陈念东¹, 王黎明¹

(1. 徐州医科大学附属宿迁医院神经内科, 江苏宿迁 223800; 2. 徐州医科大学附属医院神经内科, 江苏徐州 221002)

[摘要] **目的** 探讨三磷酸腺苷(ATP)/腺嘌呤核苷酸受体 2X-4 受体(P2X4)/NOD 样受体蛋白-3(NLRP3)信号轴在脑出血炎症损伤中的作用机制,为寻找可能的干预措施提供实验依据。**方法** 选取 48 只 8 周龄,体重 18~22 g 的 C57BL/6 雄性小鼠,构建脑出血模型,分为模型组、5-BDBD 干预组、5'-CTP 组和假手术组、5-BDBD 干预组、5'-CTP 组分别给予腹腔注射 P2X4 受体阻断剂 5-BDBD 和激动剂 5'-CPT,模型组和假手术组给予等量生理盐水,每组 12 只。分别于建模成功后第 1、3、5、7 天应用小鼠神经功能缺损评分(NDS)评估神经功能,干湿重法测量脑含水量;蛋白免疫印迹(Western blot)和实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)测定 ATP、P2X4 和 NLRP3 的蛋白和 mRNA 表达水平,ELISA 测定各组脑组织中白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-8 的水平,应用反相高效液相色谱法检测 ATP 水平。**结果** 与假手术组比较,模型组第 1、3、5、7 天时的 NDS,病灶侧含水量,IL-1 β 、TNF- α 、IL-8、ATP 水平,P2X4 和 NLRP3 的蛋白及 mRNA 表达水平及建模后第 7 天均明显增加($P < 0.05$),而与模型组比较,5-BDBD 干预组小鼠的上述指标明显降低($P < 0.05$),5'-CTP 干预组则明显增加($P > 0.05$)。**结论** ATP/P2X4/NLRP3 信号轴参与脑出血炎症损伤过程,阻滞其通路激活可有效改善炎症反应。

[关键词] 脑出血;炎症损伤;ATP/P2X4/NLRP3 信号轴;神经功能

[中图分类号] R743.34

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2022)22-3803-05

Study on mechanism of ATP/P2X4/NLRP3 signal axis in inflammatory injury of cerebral hemorrhage*

ZHANG Xueling¹, CUI Guiyun², BAO Lei², LIN Xiaoguang¹, CHEN Niandong¹, WANG Liming¹

(1. Department of Neurology, Affiliated Suqian Hospital, Xuzhou Medical University, Suqian, Jiangsu 223800, China; 2. Department of Neurology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221002, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the mechanism of ATP/P2X4/NLRP3 signal axis in the inflammatory injury of cerebral hemorrhage, and to provide an experimental basis for looking for possible intervention measures. **Methods** Forty-eight C57BL/6 male mice, weighted 18–22 g, aged 8 weeks old were selected for constructing the cerebral hemorrhage model and divided into the model group, the 5-BDBD intervention group, the 5'-CTP group and the sham operation group. The 5-BDBD group and the 5'-CTP group were given the intraperitoneal injection of P2X4 receptor blocker 5-BDBD and agonist 5'-CTDS, respectively, and the sham group and model group were given the same amount of normal saline, 12 cases in each group. The neurological deficit score (NDS) was used to evaluate the neurological function of mice on 1, 3, 5 and 7 d after successfully constructing the model, the dry and wet weight method was used to measure the brain water content; Western blot and real time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR) were used to determine the protein and mRNA expression levels of ATP, P2X4 and NLRP3, and the ELISA was used to determine the levels of IL-1 β , TNF- α and IL-8 in the brain tissues of each group, and the ATP level was measured by reversed-phase high performance liquid chromatography. **Results** Compared with the sham operation group, the NDS at the time of 1st, 3rd, 5th, 7th day after modeling, brain water content on the lesion side, protein and mRNA expression levels of IL-1 β , TNF- α , IL-8 and ATP, P2X4 and NLRP3 protein and at the time of 7th day after modeling in the model

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81571210);宿迁市科技计划指令性项目(S201714)。 作者简介:张雪玲(1967—),副教授、主任医师,硕士,主要从事神经病学研究。

group were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the above indicators in the 5-BDBD intervention group were significantly reduced ($P < 0.05$), while which in the 5'-CTP group were significantly increased ($P > 0.05$). **Conclusion** The ATP/P2X4/NLRP3 signal axis is involved in the inflammatory lesion process of cerebral hemorrhage. Blocking the activation of its pathway can effectively improve inflammation.

[Key words] cerebral hemorrhage; inflammatory injury; ATP/P2X4/NLRP3 signal axis; neurological function

脑出血是常见的脑卒中类型, 发病率、致残率和死亡率均较高, 随着老年化速度加快, 脑出血的发病率在未来很长一段时间还会呈现继续攀升趋势, 给社会带来沉重负担^[1-2]。然而, 其确切机制至今仍未阐明, 因此, 目前治疗手段仍有限, 仅限于对症治疗减轻并发症, 死亡率并未大大降低^[3]。因此, 进一步深入研究脑出血致病机制对于寻找可能的治疗靶点具有重要意义。据现有研究显示炎症反应参与脑出血继发性脑损伤过程, 脑出血诱发的炎症级联反应加速形成水肿, 进一步损害脑组织^[4-5]。有研究显示, 三磷酸腺苷(ATP)/腺嘌呤核苷酸受体 2X-4 受体(P2X4)/NOD 样受体蛋白-3(NLRP3)信号轴在炎症反应中发挥重要作用, ATP 是机体重要的供能物质, 与 P2X4 结合后, 可通过激活 NLRP3 炎症小体, 促进白细胞介素-1 β (IL-1 β)成熟及分泌, 而诱发炎症^[6-7]。但此通路是否参与脑出血炎症损伤目前不得而知。据此, 本研究以脑出血作为疾病模型, 围绕继发性炎症损伤, 探讨 ATP/P2X4/NLRP3 信号轴在其中所起的作用, 以期提供新的研究思路和干预手段。

1 材料与方法

1.1 实验材料

8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠 48 只, 体重 18~22 g, 在适宜环境中进行饲养, 兔抗小鼠 ATP、P2X4、NLRP3、GAPDH 一抗和 P2X4 受体激动剂 5'-胞苷三磷酸二钠 (cytidine 5'-triphosphate disodium salt, 5'-CTP) 购自美国 Santa Cruz 公司, IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-8 ELISA 检测试剂盒购自美国 R&D 公司。辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔二抗、BCA 蛋白定量试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; Western blot 试剂盒购自北京康为世纪生物有限公司; 电化学发光(ECL)试剂购自美国 Bio-world Technology 公司; P2X4 受体抑制剂 5-BDBD (SML0450) 购自美国 Sigma 公司; TRIzol 试剂购自美国 Invitrogen 公司; 反转录试剂盒及 SYBR green PCR 试剂盒购自北京宝日生物公司; 引物由上海生物工程股份有限公司合成。ABI 7500 荧光定量 PCR 仪、凝胶成像仪购自美国 Bio-Rad 公司。

1.2 小鼠脑出血模型构建

小鼠 10% 水合氯醛 (40 mg/kg) 腹腔注射麻醉, 小鼠大脑固定在立体定位仪, 75% 乙醇消毒头皮, 暴露顶骨, 取尾动脉血 50 μ L, 随后用注射泵以 5 μ L/min 速度注射至左脑纹状体, 针头停留 10 min, 注

射孔用医用骨蜡封闭, 缝合头皮切口。

1.3 分组及干预方法

实验分组分为假手术组、模型组、5-BDBD 干预组、5'-CTP 干预组, 每组 12 例。假手术组注射 15 μ L 生理盐水, 模型组模型构建 30 min 后注射 15 μ L 生理盐水, 5-BDBD 干预组于模型构建 30 min 后给予腹腔注射 15 μ L 1 nmol/L 5-BDBD (DMSO 溶解), 5'-CTP 干预组于模型构建 30 min 后给予腹腔注射 15 μ L 5 nmol/L 5'-CTP (DMSO 溶解)。

1.4 小鼠脑出血神经功能缺损评分(NDS)

在脑出血模型建立后第 1、3、5、7 天进行 NDS 评分, 总分为 18 分: 1~6 分为轻度伤; 7~12 分为中度伤; 13~18 分为重度伤^[8]。

1.5 脑含水量测定

第 7 天测试脑含水量, 麻醉小鼠, 不用灌注, 直接取其头颅, 剥离出脑组织。后迅速将脑组织分为病灶侧、病灶对侧和小脑, 分析天平上称量, 得到湿重。随后 90 $^{\circ}$ C 干燥箱烘干 24 h, 再次称量, 得到干重。脑含水量 = (湿重 - 干重) / 湿重 \times 100%。

1.6 脑组织炎症因子水平测定

建模成功后第 1、3、5、7 天取各组小鼠腹主动脉血, 4 $^{\circ}$ C、2 000 r/min 离心 15 min, 取上清液。ELISA 法检测组织血清 IL-1 β 、TNF- α 、IL-8 水平, 严格按照试剂盒操作说明进行。

1.7 蛋白免疫印迹法(Western blot)测定 P2X4 和 NLRP3 表达水平

提取组织蛋白, BCA 法测定总蛋白含量, 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离蛋白并转移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜, 5% 脱脂牛奶封闭 2 h, 一抗 P2X4、NLRP3 (1 : 1 000) 于 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。HRP 标记山羊抗兔二抗 (1 : 4 000) 室温孵育 2 h, ECL 显影, 使用 ImageJ 软件分析蛋白表达水平。

1.8 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 测定 P2X4 和 NLRP3 mRNA 表达水平

TRIzol 法提取组织总 mRNA, 分光光度计测总 RNA 浓度, 分别测定 260 nm 与 280 nm 的吸光度 (A) 值, 计算浓度和纯度, 随后进行反转录反应, 取总 RNA 5 μ g, 引物 1 μ L, 加无 RNAase 水至 12 μ L, 混匀, 并依次加入 5 \times buffer 4 μ L、dNTP 2 μ L、RNAase 1 μ L、RNAase 抑制剂 1 μ L, 总体积 20 μ L。充分混匀, PCR 仪中 65 $^{\circ}$ C 孵育 5 min, 42 $^{\circ}$ C 孵育 60 min, 合成 cDNA。随后进行 qRT-PCR 检测, 反应体系: cD-

NA 2 μL、正反向引物各 1 μL、Master(ROX)(2×) 2 μL、FastStart Universal SYBR Green 10 μL、无 RNAase 水补足至 20 μL,引物序列见表 1,反应条件: 95 °C 5 min;95 °C 5 s,65 °C 30 s,72 °C 1 min,40 个循环。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算各基因表达水平。

表 1 引物序列

基因	方向	序列(5'-3')	产物大小 (bp)
P2X4	正向	CGTGAACCAGACGCAGGGTA	326
	反向	TTCACAGACGCGTTGAATGGA	
NLRP3	正向	CCAGACACTCATGTTGCCTGTTC	289
	反向	GAGGCTCCGGTTGGTGCTTA	
GAPDH	正向	AAATGGTGAAGGTCGGTGTGAAC	135
	反向	CAACAATCTCCACTTTGCCACTG	

1.9 ATP 水平测定

将脑组织按 5 μL/mg 加入冰预冷的 0.4 mol/L 高氯酸,超声匀浆;4 °C 12 000 r/min 离心 15 min,取上清液,加入 50% 上清液体积的 1 mol/L 碳酸钾-甲醇混合液(体积比 4:1),4 °C 12 000 r/min 离心 15

min,取上清液,用反相高效液相色谱法检测 ATP 水平。色谱柱: Liehrospher 100 RP-18; 流动相: 10 mmol/L KH₂PO₄, 缓冲液 (pH 7.4); 流速: 1.2 mL/min。检测波长: 254 nm; 检测时间 6 min。-20 °C 冷冻保存。

1.10 统计学处理

采用 SPSS22.0 软件分析所得数据,符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,重复测量设计资料比较采用重复测量设计的方差分析。多组间比较采用单因素方差分析,2 组间比较采用 LSD-t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组小鼠不同时间点的 NDS 比较

与假手术组比较,模型组、5-BDBD 干预组、5'-CTP 干预组建模后第 1、3、5、7 天时的 NDS 均明显增加($P < 0.05$);与模型组比较,5-BDBD 干预组各时间点 NDS 明显降低($P < 0.05$),5'-CTP 干预组各时间点 NDS 明显增加($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组小鼠不同时间点的 NDS 比较($\bar{x} \pm s$,分, $n=12$)

组别	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
假手术组	2.11 ± 0.29	2.43 ± 0.39	2.68 ± 0.49	3.11 ± 0.29
模型组	11.59 ± 0.67 ^a	10.21 ± 0.97 ^a	7.65 ± 0.65 ^a	5.21 ± 0.62 ^a
5-BDBD 干预组	10.12 ± 1.27 ^{ab}	8.65 ± 0.65 ^{ab}	5.79 ± 0.72 ^{ab}	3.54 ± 0.67 ^{ab}
5'-CTP 干预组	15.78 ± 1.16 ^{ab}	12.31 ± 1.30 ^{ab}	9.88 ± 0.94 ^{ab}	6.31 ± 0.78 ^{ab}

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

2.2 各组小鼠脑含水量比较

与假手术组比较,模型组、5'-CTP 干预组建模后第 7 天时的病灶侧脑含水量均明显增加($P < 0.05$);与模型组比较,5-BDBD 干预组建模后第 7 天时的病灶侧脑含水量明显降低($P < 0.05$),5'-CTP 干预组明显增加($P < 0.05$),各组小鼠病灶对侧和小脑含水量未见明显差异($P > 0.05$)。见表 3。

2.3 各组小鼠炎症因子水平比较

与假手术组比较,模型组、5-BDBD 干预组、5-BD-BD 干预组建模后第 1、3、5、7 天时的 IL-1β、TNF-α、IL-8 水平均明显增加($P < 0.05$);与模型组比较,5-

BDBD 干预组以上指标在各时间点明显降低($P < 0.05$),5'-CTP 干预组以上指标在各时间点明显增加($P < 0.05$)。见表 4~6。

表 3 各组小鼠建模后第 7 天脑含水量比较 ($\bar{x} \pm s$,%, $n=12$)

组别	病灶侧	病灶对侧	小脑
假手术组	59.66 ± 6.17	59.58 ± 6.02	60.23 ± 4.48
模型组	79.32 ± 4.89 ^a	61.39 ± 4.33	58.99 ± 4.64
5-BDBD 干预组	60.34 ± 4.56 ^b	60.12 ± 4.26	59.68 ± 4.85
5'-CTP 干预组	88.42 ± 7.56 ^{ab}	59.69 ± 4.45	60.39 ± 4.78

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

表 4 各组小鼠不同时间点的 IL-1β 水平比较($\bar{x} \pm s$,pg/mL, $n=12$)

组别	1 d	3 d	5 d	7 d
假手术组	10.34 ± 1.59	9.56 ± 0.90	10.01 ± 0.93	10.29 ± 0.34
模型组	35.14 ± 4.12 ^a	84.32 ± 7.58 ^a	59.12 ± 5.11 ^a	35.12 ± 2.68 ^a
5-BDBD 干预组	19.25 ± 1.76 ^{ab}	57.12 ± 5.30 ^{ab}	48.91 ± 2.38 ^{ab}	25.66 ± 1.35 ^{ab}
5'-CTP 干预组	45.61 ± 2.68 ^{ab}	93.41 ± 7.80 ^{ab}	66.11 ± 4.74 ^{ab}	46.41 ± 2.57 ^{ab}

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

2.4 各组小鼠 P2X4 和 NLRP3 表达水平

与假手术组比较,模型组、5-BDBD 干预组、5'-

CTP 干预组建模后第 7 天时 P2X4 和 NLRP3 的蛋白及 mRNA 表达水平均明显上调 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 5-BDBD 干预组以上指标在建模后第 7 天明

显下调 ($P < 0.05$), 5'-CTP 干预组明显上调 ($P < 0.05$)。见图 1、表 6、7。

表 5 各组小鼠 TNF- α 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL, $n=12$)

组别	1 d	3 d	5 d	7 d
假手术组	12.11 \pm 1.37	10.11 \pm 1.22	10.18 \pm 0.91	11.34 \pm 1.16
模型组	35.12 \pm 2.41 ^a	83.11 \pm 8.64 ^a	57.12 \pm 5.01 ^a	40.12 \pm 3.19 ^a
5-BDBD 干预组	20.12 \pm 1.56 ^{ab}	56.12 \pm 4.61 ^{ab}	49.12 \pm 3.59 ^{ab}	33.01 \pm 1.68 ^{ab}
5'-CTP 干预组	46.12 \pm 3.43 ^{ab}	89.12 \pm 5.14 ^{ab}	63.12 \pm 4.00 ^{ab}	46.11 \pm 2.45 ^{ab}

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

表 6 各组小鼠 IL-8 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL, $n=12$)

组别	1 d	3 d	5 d	7 d
假手术组	11.38 \pm 1.23	10.24 \pm 1.43	11.06 \pm 1.56	11.24 \pm 1.48
模型组	37.16 \pm 1.62 ^a	79.12 \pm 6.27 ^a	63.01 \pm 4.92 ^a	40.31 \pm 3.15 ^a
5-BDBD 干预组	21.01 \pm 1.52 ^{ab}	60.11 \pm 4.81 ^{ab}	40.31 \pm 3.16 ^{ab}	35.01 \pm 1.82 ^{ab}
5'-CTP 干预组	43.11 \pm 2.03 ^{ab}	87.12 \pm 4.85 ^{ab}	70.01 \pm 4.08 ^{ab}	45.01 \pm 2.37 ^{ab}

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

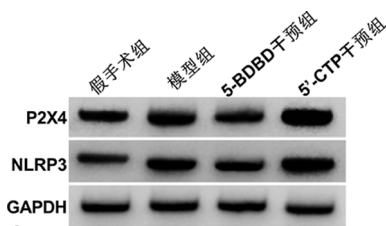


图 1 各组小鼠 P2X4 和 NLRP3 蛋白 Western blot

表 6 各组小鼠建模后第 7 天 P2X4 和 NLRP3 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL, $n=12$)

组别	P2X4	NLRP3
假手术组	1.00 \pm 0.13	1.00 \pm 0.14
模型组	1.78 \pm 0.15 ^a	1.62 \pm 0.13 ^a
5-BDBD 干预组	1.25 \pm 0.16 ^{ab}	1.15 \pm 0.14 ^{ab}
5'-CTP 干预组	2.34 \pm 0.24 ^{ab}	2.04 \pm 0.23 ^{ab}

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

表 7 各组小鼠建模后第 7 天 P2X4 和 NLRP3 mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	P2X4	NLRP3	脑组织 ATP 水平 (mmol/mg)
假手术组	1.00 \pm 0.10	1.00 \pm 0.10	2.01 \pm 0.13
模型组	1.61 \pm 0.14 ^a	1.78 \pm 0.13 ^a	7.13 \pm 0.55 ^a
5-BDBD 干预组	1.22 \pm 0.13 ^{ab}	1.13 \pm 0.07 ^{ab}	3.89 \pm 0.35 ^{ab}
5'-CTP 干预组	2.31 \pm 0.16 ^{ab}	2.29 \pm 0.09 ^{ab}	8.34 \pm 0.62 ^{ab}

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

2.5 各组小鼠脑组织 ATP 水平比较

与假手术组比较, 模型组、5-BDBD 干预组、5'-CTP 干预组建模后第 7 天时的 ATP 水平明显增加

($P < 0.05$); 与模型组比较, 5-BDBD 干预组建模后第 7 天时的 ATP 水平明显降低 ($P < 0.05$), 5'-CTP 干预组明显增加 ($P < 0.05$)。见表 7。

3 讨论

脑出血严重影响全球居民健康, 且目前仍缺乏有效的治疗手段, 现有研究显示脑出血后的继发性脑损伤过程中炎症反应起到助推器作用^[8-9]。基于炎症反应在脑出血中的重要作用机制, 目前已出现诸多针对炎症反应的新的潜在治疗方法, 需要进一步深入研究。

ATP 作为细胞能量代谢的主要来源, 可作为细胞行使神经递质激活嘌呤能 P2X 的受体, 在炎症和免疫过程起作用^[10-11]。本研究采用经典的注射自体血方法建立小鼠脑出血模型, 综合运用血清学及分子生物学实验方法探究 ATP/P2X4/NLRP3 信号轴在脑出血继发性炎症反应中的作用, 结果显示, 与假手术组比较, 模型组 NDS、病灶侧含水量明显增加, 表明小鼠在构建脑出血模型后脑组织出现明显水肿, 认知功能明显下降。本研究显示, 与假手术组比较, 模型组 ATP 水平、P2X4、NLRP3 的蛋白和 mRNA 表达水平均明显增加, 表明 P2X4、NLRP3 有可能参与了脑出血后神经功能缺陷。同时, 本研究发现, 与假手术组比较, 模型组 IL-1 β 、TNF- α 、IL-8 水平均明显增加。IL-1 β 、TNF- α 、IL-8 均为目前最常研究的促炎细胞因子, 可驱动炎症信号传递, 释放促炎和消炎因子, 与此前研究结果较为一致^[12-13], 表明脑出血后炎症反应明显增加, 可能通过促进炎症反应而加重脑组织损伤。本研究在给予 P2X4 抑制剂 5-BDBD 后, NDS 明显下降, 病灶侧含水量明显减少, 表明脑出血引起的

脑水肿和神经功能缺陷得到明显改善,可能与脑出血继发性炎症程度明显减轻有关;本研究同时发现 NLRP3 表达和炎症因子水平也明显降低,表明机体炎症水平得到明显控制,脑组织损伤程度得到明显改善。有研究显示,ATP/P2X4 通路可激活 NLRP3 炎症小体,促使半胱氨酸蛋白酶 1(Caspase-1)激活,进一步促进炎症因子 IL-1 β 释放,扩大炎症反应,使水肿进一步增大,进一步加剧炎症反应,而给予抑制剂后,其表达水平明显减轻,初步表明 ATP/P2X4/NLRP3 信号轴参与了脑出血后炎症反应调控过程,给予抑制剂可有效减轻炎症损伤^[14-15]。为了更进一步证明 ATP/P2X4/NLRP3 信号轴的炎症调控作用,本实验设计将 P2X4 受体激动剂 5'-CTP 加入干预方案,结果显示,在加入激动剂后神经认知功能缺损和炎症反应进一步加重,提示 P2X4 表达水平上调可促进炎症反应,进而进一步损伤脑组织,更加充分证实了 ATP/P2X4/NLRP3 信号轴参与脑出血炎症反应调节过程,并以 P2X4 作为治疗靶点可明显减轻脑出血后的炎症损伤,提示了其未来可成为治疗靶点的潜力。

综上所述,本研究发现 ATP/P2X4/NLRP3 信号轴参与脑出血炎症损伤过程,而且可通过阻滞其通路激活从而有效改善脑出血后炎症反应,减轻损伤,从而改善预后,本研究结果将为进一步理解脑出血继发性炎症损伤机制奠定实验基础,为系统性研究脑出血继发性炎症损伤的治疗手段提供了依据。

参考文献

- [1] 黎建乐,王莹,冯慧宇,等. 广东省脑卒中流行病学调查[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2020, 46(1):5-11.
- [2] 孙文慧,李建彬,冯石献,等. 2014—2017 年郑州市居民脑卒中流行病学特征分析[J]. 广东医学, 2019, 40(11):1584-1588.
- [3] 李萍,赵树明,胡亚男,等. 脑出血发病机制研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2015, 17(2):214-215.
- [4] WANG Z, ZHIOU F, DOU Y, et al. Melatonin alleviates intracerebral hemorrhage-induced secondary brain injury in rats via suppressing apoptosis, inflammation, oxidative stress, DNA damage, and mitochondria injury [J]. *Transl Stroke Res*, 2018, 9(1):74-91.
- [5] TSCHOE C, BUSHNELL C D, DUNCAN P W, et al. Neuroinflammation after intracerebral hemorrhage and potential therapeutic targets [J]. *J Stroke*, 2020, 22(1):29-46.
- [6] 付红光,白倩,刘逸翔,等. 脉冲射频对神经病理性痛大鼠脊髓 ATP/P2X4/NLRP3 信号通路的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2019, 39(1):67-70.
- [7] CHEN K, ZHANG J, ZHANG W, et al. ATP-P2X4 signaling mediates NLRP3 inflammasome activation; a novel pathway of diabetic nephropathy [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(5):932-943.
- [8] 王露,张莉,肖涵,等. PTPN22 在大鼠脑出血后炎症损伤中的作用研究[J]. 第三军医大学学报, 2019, 575(24):55-62.
- [9] HOSTETTLER I C, SEIFFGE D J, WERRING D J. Intracerebral hemorrhage: an update on diagnosis and treatment [J]. *Expert Rev Neurother*, 2019, 19(7):679-694.
- [10] DUNTON C L, PURVES J T, HUGHES FM J R, et al. Elevated hydrostatic pressure stimulates ATP release which mediates activation of the NLRP3 inflammasome via P2X 4 in rat urothelial cells [J]. *Int Urol Nephrol*, 2018, 50(9):1607-1617.
- [11] 陈客宏. ATP-P2X4 信号轴介导 NLRP3 炎症小体的活化:一种糖尿病肾病肾间质炎症发生的新途径[D]. 重庆:第三军医大学, 2013.
- [12] 刘宏丽,栗静媛. 脑出血后炎症反应的研究[J]. 脑与神经疾病杂志, 2019, 27(4):58-61.
- [13] LUO Y, REIS C, CHEN S. NLRP3 inflammasome in the pathophysiology of hemorrhagic stroke: a review [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2019, 17(7):582-589.
- [14] 王可,刘国荣,潘晓华,等. NLRP3 炎症小体与脑小血管病[J]. 卒中与神经疾病, 2020, 23(1):136-138.
- [15] 周琳,石磊,石焱. NLRP3 炎症小体在颅内出血神经炎症中的作用研究进展[J]. 人民军医, 2018, 702(5):83-85, 89.

(收稿日期:2022-06-23 修回日期:2022-08-19)