



电子、语音版

· 论 著 ·

G 蛋白偶联受体 30 在大鼠蛛网膜下腔出血后对神经炎症和血脑屏障破坏的影响

李智勇¹, 陈政纲², 彭俊³

1. 海南医学院第一附属医院医疗质量管理科, 海南海口 570102
2. 海南医学院第一附属医院神经外科, 海南海口 570102
3. 中南大学湘雅医学院附属海口医院神经外科, 海南海口 570208

摘要:目的 探讨 G 蛋白偶联受体 30(GPR30)在大鼠蛛网膜下腔出血(SAH)早期脑损伤(EBI)过程中对神经炎症和血脑屏障(BBB)破坏的影响。方法 36 只雄性大鼠随机分为 6 组($n = 6$ /组):假手术(Sham)组, SAH(3 h、6 h、12 h、24 h、72 h)组。此外, 72 只大鼠随机分为 4 组($n = 18$ /组):Sham 组、SAH 组、SAH 联合过表达 GPR30 慢病毒阴性载体(SAH+Lv-NC)组、SAH 联合过表达 GPR30 慢病毒载体(SAH+Lv-GPR30)组。通过血管内穿孔建立 SAH 模型, 于 SHA 大鼠脑室内注射 Lv-GPR30。通过神经学评分、脑组织含水量(BWC)检测、伊文思蓝(EBP)染色、苏木精和伊红(HE)染色来分析 GPR30 对 EBI 的影响;采用蛋白质印迹法(Western blotting)和实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)分析各种蛋白质和转录水平;通过酶联免疫吸附测定法(ELISA)分别测定肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 6(IL-6)、白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 10(IL-10)水平。结果 SAH 大鼠脑内注射 Lv-GPR30 后脑组织中 GPR30 的表达增加, 并改善了大鼠神经功能、神经炎症、BBB 破坏和脑水肿程度。过表达 GPR30 抑制 SAH 大鼠脑组织中基质金属蛋白酶 9(MMP-9)和基质金属蛋白酶 2(MMP-2)的表达, 以及炎症因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 表达水平, 同时提高 IL-10 的表达水平。结论 GPR30 能减轻 SAH 大鼠的神经炎症和 BBB 破坏。[国际神经病学神经外科学杂志, 2024, 51(2): 29–34]

关键词:蛛网膜下出血; G 蛋白偶联受体 30; 早期脑损伤; 血脑屏障; 神经炎症

中图分类号: R743

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2024.02.006

GPR30 attenuates neuroinflammation and blood-brain barrier disruption in rats with subarachnoid hemorrhage

LI Zhiyong¹, CHEN Zhenggang², PENG Jun³

1. Medical Quality Management Department, The First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou, Hainan 570102, China
2. Department of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou Hainan 570102, China
3. Department of Neurosurgery, Haikou Affiliated Hospital of Central South University Xiangya School of Medicine, Haikou, Hainan 570208, China

Corresponding author: PENG Jun, Email: pengj060@163.com

Abstract: **Objective** To investigate the effect of G protein-coupled receptor 30 (GPR30) on neuroinflammation and blood-brain barrier (BBB) disruption during early brain injury (EBI) in rats with subarachnoid hemorrhage (SAH). **Methods** Thirty-six male rats were randomly divided into six groups ($n = 6$ per group): sham operation (Sham) group and SAH (3 h, 6 h, 12 h, 24 h, 72 h) groups. In addition, 72 rats were randomly divided into four groups ($n = 18$ per group): Sham group, SAH group, SAH combined with overexpressed GPR30 lentivirus negative vector (SAH+Lv-NC)

基金项目:海南省自然科学基金青年项目(821QN422)。

收稿日期:2023-11-05;修回日期:2024-04-12

作者简介:李智勇,海南医学院第一附属医院医疗质量管理科,邮箱:lizy0060@163.com。

通信作者:彭俊,邮箱:pengj060@163.com。

group, SAH combined with overexpressed GPR30 lentivirus vector (SAH+Lv-GPR30) group. A Sprague-Dawley rat model of SAH was established by intravascular perforation. Intraventricular injection of Lv-GPR30 was performed in the rats with SHA. The effect of GPR30 on EBI was analyzed through neurological scoring, brain tissue water content measurement, Evans blue staining, and HE staining. The levels of proteins and their transcription levels were determined by Western blotting and real-time fluorescence quantitative PCR, respectively. ELISA was employed to measure the levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 beta (IL-1 β), and interleukin-10 (IL-10).

Results Intraventricular injection of Lv-GPR30 increased the expression of GPR30 in the brain tissue of rats with SAH and improved their neurological function, neuroinflammation, BBB disruption, and cerebral edema. Overexpression of GPR30 inhibited the expression of matrix metalloproteinase-9 and matrix metalloproteinase-2 as well as the inflammatory factors TNF- α , IL-6, and IL-1 β in the brain tissue of SAH rats but increased the IL-10 level. **Conclusions** GPR30 can alleviate neuroinflammation and BBB disruption in rats with SAH.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2024, 51(2): 29-34]

Keywords: subarachnoid hemorrhage; GPR30; early brain injury; blood-brain barrier; neuroinflammation

蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage, SAH)由出血性脑动脉瘤引起,占急诊科头痛的1%,死亡率约为44%^[1]。尽管目前针对SAH的发病机制与研究有所突破,但SAH导致的致死率和致残率却未得到明显改善^[2]。早期脑损伤(early brain injury, EBI),是指SAH后最初72 h内的全脑损伤,被认为是SAH患者死亡和不良结局的主要原因之一^[3]。EBI会涉及极其复杂的病理生理过程,如氧化应激、神经炎症、血脑屏障(blood brain barrier, BBB)破坏、细胞电生理紊乱和细胞凋亡等^[4]。其中神经炎症和BBB破坏被认为是SAH诱导的EBI中关键的破坏性病理生理过程^[5]。因此,寻找切实有效的治疗药物,减少神经炎症和维持BBB完整性将有益于改善SAH后的EBI,并降低SAH患者的死亡率和不良结局。

众所周知,BBB是一种最具限制性和复杂性的屏障,可保护大脑免受外周血液循环中有毒物质和病原体的影响,因此,维持BBB完整性对于中枢神经系统(central nervous system, CNS)稳态的调节至关重要^[6]。此外,过度的炎症反应会破坏BBB完整性,导致一些炎症性CNS疾病的BBB功能障碍,如阿尔茨海默病和SAH等^[7-9]。

近年来,研究表明G蛋白偶联受体30(G protein-coupled estrogen receptor, GPR30)激动剂G1对于脑损伤及神经炎症具有一定的改善作用^[10-11]。此外,另有研究表明GPR30激动剂G1抑制SAH大鼠脑组织中的神经元凋亡缓解EBI,部分是通过激活SRC/EGFR/STAT3信号通路来发挥作用^[12]。但GPR30对SAH大鼠的神经炎症及BBB通透性的影响暂未被研究。

本研究拟通过建立体内SAH大鼠模型,研究GPR30对SAH大鼠神经炎症、脑水肿和BBB通透性等方面的影响。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 材料 BCA试剂盒、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺

(SDS-PAGE)配制试剂盒、聚偏二氟乙烯膜(PVDF)和增强型化学发光液(ECL)购自美国Millipore公司,肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素6(Interleukin-6, IL-6)、白细胞介素1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素10(Interleukin-10, IL-10)ELISA检测试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司, Multiskan™ GO多功能酶标仪购自美国Thermo Fisher公司, Leica-DM2500显微镜购自德国莱卡公司, Trizol试剂购自美国Sigma-Aldrich公司,总RNA逆转录试剂盒购自日本TaKaRa生物公司。

1.1.2 实验动物 成年雄性Sprague Dawley(SD)大鼠(280~320 g)购自北京维通利华有限公司(中国北京)。将动物饲养在受控的温度[(22±1)°C]和湿度(40%~60%)条件下;12:12暗/亮循环(07:00亮起,21:00关闭),食物和水可随意获得。所有实验程序均由海南医学院第一附属医院医学伦理委员会批准,并按照美国国立卫生研究院关于动物护理和使用的指南进行。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 实验1:按随机表法将36只大鼠随机分为6组($n=6$ /组):假手术(Sham)组,SAH(3 h、6 h、12 h、24 h、72 h)组。Western blotting分析以评估同侧(左)半球大脑组织中GPR30的蛋白质水平。

实验2:将72只大鼠随机分为4组($n=18$ /组):Sham组、SAH组、SAH联合过表达GPR30慢病毒阴性载体(SAH+Lv-NC)组、SAH联合过表达GPR30慢病毒载体(SAH+Lv-GPR30)组。将5 μ L GPR30过表达慢病毒载体(Lv-GPR30-GFP; 1×10^9 TU/mL)或GPR30过表达慢病毒阴性载体(Lv-NC-GFP; 4×10^8 TU/mL)注入大鼠左侧脑室。72 h后取脑组织,使用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)法、Western blotting、ELISA等方法进行后续指标检测。

1.2.2 SAH模型制备及脑室注射慢病毒 通过腹腔注射1%戊巴比妥钠(45 mg/kg)麻醉大鼠,并将大鼠核心温度保持在37.5℃。将3-0单丝缝合线向心穿过左颈外动脉(external carotid artery, ECA)、颈总动脉和颈内动脉(internal carotid artery, ICA),以穿孔ICA的颅内分叉。在SAH后,将缝合线撤回到ECA中,然后恢复正常的血液灌注。假手术组大鼠经历了同样的程序,但撤线无动脉穿孔。在外科手术结束时,让老鼠在加热的毯子上恢复,然后返回单独的笼子,自由获得食物和水。

将大鼠麻醉并放置在立体定位框架上。使用钻孔将10 μL微量注射器插入左外侧脑室,以前卤门点为中心定好坐标,旁开1.5 mm,向后卤门方向1.0 mm,深3.2 mm钻孔。所有慢病毒载体均以0.2 μL/min的速度注射,注射5 min后缓慢取针。用骨蜡填满钻孔,轻轻缝合切口。假手术大鼠接受相同的手术,但不注射。所有注射均在SAH诱导前7 d进行。

1.2.3 神经系统评分评估 采用改良的Garcia评分进行神经功能缺陷评估^[13]。在Garcia测试中,评估了6项感觉运动测试,包括自发活动、四肢自发运动、前肢伸展、攀爬、躯干触摸和触须反应。每次测试的得分为0~3分,总分为0~18分不等。分数越高表示神经功能缺损越轻。

1.2.4 脑组织含水量(BWC)测定 每组随机取6只大鼠处死获得脑组织,立即称重获得湿重(wet weight, WW)。然后在105℃的烘箱中干燥72 h,得到干重(dry weight, DW)。BWC=[(WW-DW)/WW]×100%。

1.2.5 血脑屏障(BBB)通透性检测 每组随机取6只大鼠,采用伊文斯蓝渗透试验(Evans blue permeation, EBP)检测大鼠BBB的通透性。将2%伊文斯蓝(Evans blue, EB)染料(在SAH 72 h后静脉注射4 mL/kg)施用到左股静脉中2 min并循环2 h。在深度麻醉下,取出大鼠大脑并立即分离左右大脑半球。随后,称取脑样品,在50%三氯乙酸溶液(2 mL)中匀浆,并以1 000 r/min离心5 min。将上清液与乙醇(1:3)混合并在4℃下孵育过夜。离心(1 000 r/min; 5 min)后,分光光度法定量EB染料的荧光强度。用标准品绘制标准曲线,通过标准曲线计算每组样品中EB含量。

1.2.6 HE染色 在SAH 72 h后,麻醉大鼠并经心灌注250 mL PBS(0.1 mmol/L, pH 7.4)以及500 mL 4%多聚甲醛。随后取出大鼠大脑并在相同的固定剂中于4℃下固定24~48 h,然后包埋在石蜡中并切割成4 μm冠状切片。然后将切片脱蜡和再水化,并用苏木精染色5 min和伊红染色10 s。在Leica-DM2500显微镜上对切片进行可视化并捕获。

1.2.7 蛋白免疫印迹法(Western blotting)测量蛋白质

浓度 使用RIPA裂解缓冲液裂解脑组织,收集上清,BCA测定试剂盒测量总蛋白质浓度。通过SDS-PAGE分离蛋白质(50 μg),并将蛋白转移到PVDF膜中。然后使用封闭液室温封闭2 h,并将膜与一抗GPR30在4℃下孵育过夜,然后在含有0.1%吐温20的磷酸缓冲盐溶液(PBST)中洗涤3次,每次10 min。之后,将膜与二抗一起孵育,并使用ECL化学发光液显影。使用Image J软件分析印迹强度。以GAPDH作为对照。

1.2.8 qRT-PCR法行基因相对定量分析 使用Trizol试剂提取分离大鼠脑组织总RNA,使用RNA逆转录试剂盒逆转录为cDNA。采用7500实时荧光定量PCR热循环仪检测GPR30 mRNA,以GAPDH作为内参,按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 算法进行基因相对定量分析。本研究使用的引物序列为GPR30,正向:5'-ATGGATGCGACTACTCCAGC-3',反向:5'-AAGAGGGCAATCACGTACTGC-3'; GAPDH,正向:5'-GCAAGTTCAACGGCACAG-3',反向:5'-GCCAGTAGACTCCACGACAT-3'。

1.2.9 酶联免疫吸附测定(ELISA)检测IL-6、IL-1β、TNF-α和IL-10 获得大鼠脑组织匀浆并于4℃离心(50 000 r/min; 15 min)。收获上清液,根据制造商的说明,用ELISA试剂盒检测脑组织裂解物中的IL-6、IL-1β、TNF-α、IL-10水平。使用酶标仪检测样品,通过构建标准曲线测定细胞因子浓度。

1.3 统计学方法

使用Graphpad prism 9.0软件进行统计分析。在测试数据的正态性后,计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用t检验(两组)或方差分析(多组间比较), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠脑组织病理形态学观察

HE染色显示,Sham组大鼠脑组织结构清晰完整,神经元密集,排列整齐;与Sham组相比,SAH组大鼠脑组织结构紊乱,间质水肿,神经元变性坏死。

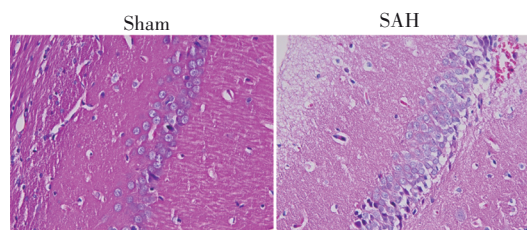


图1 大鼠脑组织染色(HE,×200)

2.2 大鼠SAH后不同时间点脑组织中GPR30蛋白的表达水平

Western blotting结果显示,各组大鼠脑组织中GPR30

蛋白的表达量比较,差异有统计学意义($F=57.535, P=0.000$)。GPR30蛋白表达水平在大鼠SAH后3 h开始升高,并在SAH后24 h达到峰值,随后GPR30的蛋白表达水平降低(见表1,图2)。

表1 各组大鼠脑组织中GPR30蛋白的表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	GPR30(蛋白)
Sham	0.072±0.042
SAH(3 h)	0.236±0.032 [*]
SAH(6 h)	0.403±0.086 [*]
SAH(12 h)	0.652±0.094 [*]
SAH(24 h)	0.743±0.132 [*]
SAH(72 h)	0.293±0.067 [*]
F值	57.535
P值	0.000

注: *与Sham组相比, $P<0.05$ 。

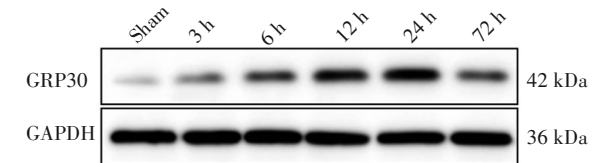


图2 大鼠SAH后不同时间点脑组织中GPR30蛋白的表达水平

2.3 各组大鼠脑组织中GPR30的表达水平

为了进一步研究GPR30在SAH大鼠EBI中的作用,我们在SAH诱导前7 d于SAH大鼠脑室内注射过表达GPR30慢病毒载体。qRT-PCR法及Western blotting结果显示,各组大鼠脑组织中GPR30的表达量(mRNA、蛋白)比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。与Sham组相比,SAH组大鼠脑组织中GPR30的表达水平上升($P<0.05$);与SAH+Lv-NC组相比,SAH+Lv-GPR30组大鼠脑组织中GPR30的表达水平上升($P<0.05$)。见表2,图3。

表2 各组大鼠脑组织中GPR30的表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	GPR30(mRNA)	GPR30(蛋白)
Sham	1.000±0.321	0.122±0.082
SAH	1.897±0.257 ^①	0.411±0.143 ^①
SAH+Lv-NC	2.043±0.312	0.402±0.121
SAH+Lv-GPR30	3.513±0.526 ^②	0.643±0.153 ^②
F值	48.243	16.753
P值	0.000	0.000

注: ①与Sham组相比, $P<0.05$; ②与SAH+Lv-NC组相比, $P<0.05$ 。

2.4 GPR30对SAH大鼠神经功能评分的影响

各组Garcia评分比较,差异有统计学意义($F=217.435, P=0.000$)。与Sham组相比,SAH组的Garcia评分降低($P<0.05$);与SAH+Lv-NC组相比,SAH+Lv-GPR30组的Garcia评分增加($P<0.05$)。见表3。

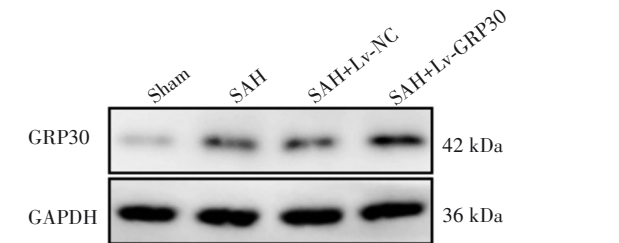


图3 各组大鼠脑组织中GPR30的表达水平

表3 各组大鼠的Garcia评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Garcia评分
Sham	17.32±0.69
SAH	10.38±0.42 ^①
SAH+Lv-NC	10.51±0.62
SAH+Lv-GPR30	14.71±0.48 ^②
F值	217.415
P值	0.000

注: ①与Sham组相比, $P<0.05$; ②与SAH+Lv-NC组相比, $P<0.05$ 。

2.5 GPR30对SAH大鼠BWC和BBB通透性的影响

各组BWC和BBB通透性比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。与Sham组相比,SAH组的BWC和BBB通透性增加($P<0.05$);与SAH+Lv-NC组相比,SAH+Lv-GPR30组的BWC和BBB通透性减少($P<0.05$)。见表4。

表4 各组大鼠BWC和BBB通透性的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	BWC(%)	EB含量(μg/g)
Sham	76.38±1.42	0.72±0.12
SAH	82.61±3.51 ^①	1.94±0.25 ^①
SAH+Lv-NC	83.14±3.14	1.89±0.32
SAH+Lv-GPR30	78.35±1.25 ^②	1.14±0.20 ^②
F值	10.084	38.668
P值	0.000	0.000

注: ①与Sham组相比, $P<0.05$; ②与SAH+Lv-NC组相比, $P<0.05$ 。

2.6 GPR30对SAH大鼠脑组织中MMP-2及MMP-9蛋白表达的影响

各组MMP-2及MMP-9蛋白表达水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。与Sham组相比,SAH组大鼠脑组织中MMP-2及MMP-9蛋白表达水平增加($P<0.05$);与SAH+Lv-NC组相比,SAH+Lv-GPR30组大鼠脑组织中MMP-2及MMP-9蛋白表达水平减少($P<0.05$)。见表5,图4。

表5 各组大鼠脑组织中MMP-9及MMP-2的表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	MMP-9(蛋白)	MMP-2(蛋白)
Sham	0.132±0.045	0.217±0.081
SAH	0.645±0.124 ^①	0.702±0.129 ^①
SAH+Lv-NC	0.687±0.113	0.683±0.136
SAH+Lv-GPR30	0.478±0.072 ^②	0.503±0.081 ^②
F值	43.237	25.144
P值	0.000	0.000

注: ①与Sham组相比, $P<0.05$; ②与SAH+Lv-NC组相比, $P<0.05$ 。

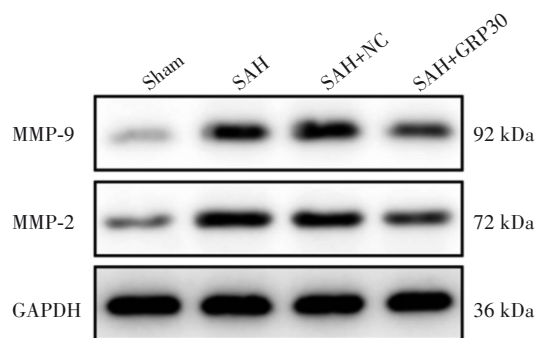


图4 各组大鼠脑组织中MMP-2及MMP-9的表达水平

表6 各组大鼠脑组织中IL-6、IL-1β、TNF-α、IL-10的水平比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	IL-6	IL-1β	TNF-α	IL-10
Sham	352.18±48.29	189.24±34.11	518.48±74.26	183.35±20.62
SAH	749.25±102.13 ^①	392.17±58.78 ^①	839.81±92.52 ^①	291.31±27.31 ^①
SAH+Lv-NC	715.38±94.25	373.47±47.25	879.40±82.19	305.59±32.16
SAH+Lv-GPR30	428.39±61.79 ^②	252.18±39.48 ^②	643.52±73.78 ^②	612.37±73.78 ^②
F值	37.857	27.054	26.273	106.457
P值	0.000	0.000	0.000	0.000

注:①与Sham组相比, $P<0.05$; ②与SAH+Lv-NC组相比, $P<0.05$ 。

3 讨论

炎症和BBB功能障碍是导致SAH后EBI的潜在机制^[14]。此外,GPR30是一种多通道膜蛋白,通过调节神经递质的释放参与多种脑部疾病的治疗和多种神经功能的调节^[15]。本实验室研究表明,在大鼠脑室内注射过表达GPR30慢病毒载体可改善神经行为缺陷、减轻脑组织含水量,缓解BBB破坏,并降低了大鼠脑组织中促炎细胞因子IL-1β、IL-6和TNF-α水平,增加了抗炎细胞因子IL-10水平。

GPR30作为一种新型雌激素受体,在大脑中高度表达。Zhang等^[16]研究认为激活小胶质细胞中的GPR30可调节TLR4的转录活性进而缓解炎症反应并减轻神经元损伤,且神经元中GPR30的激活可能对小胶质细胞的激活有间接影响。在本研究中,GPR30的表达在实验性SAH后3、6、12、24及72 h内上升,且在24 h时达到峰值,说明GPR30可能是SAH后EBI中的一个潜在的生物标志物和关键靶点。

神经炎症反应在SAH等炎症性CNS疾病中占有重要作用,神经炎症反应的特点是常驻的小胶质细胞和星形胶质细胞激活,同时外周白细胞浸润和促炎介质(IL-1β、IL-6和TNF-α等)会被释放,这会加剧BBB破坏,从而进一步放大炎症反应并加重神经损伤^[17]。Galea等^[18]进行临床试验发现SAH患者血浆中IL-6水平升高,而皮下注射细胞因子白细胞介素1(IL-1)受体拮抗剂会抑制炎症以及降低与SAH后不良结果相关的水肿标志物的含量。Xu等^[19]则认为在实验性SAH大鼠中,TAK1 siRNA处理

2.7 GPR30对SAH大鼠脑组织中炎症因子IL-6、IL-1β、TNF-α、IL-10表达水平的影响

与Sham组相比,SAH组大鼠脑组织中炎症因子IL-6、IL-1β、TNF-α、IL-10的表达水平增加($P<0.05$);与SAH+Lv-NC组相比,SAH+Lv-GPR30组大鼠脑组织中促炎因子IL-6、IL-1β、TNF-α的表达水平降低($P<0.05$)。见表6。

减轻了SAH诱导的大鼠神经行为缺陷,并通过抑制NF-κB p65的磷酸化和炎症介质缓解了SAH引发的神经炎症反应。本研究结果表明,SAH大鼠脑组织中IL-1β、IL-6、TNF-α和IL-10表达水平上升,经Lv-GPR30治疗后的SAH大鼠脑组织中的IL-1β、IL-6和TNF-α表达水平下降,而IL-10表达水平继续升高。同时SAH组大鼠Garcia评分减少,而经Lv-GPR30治疗后的SAH大鼠Garcia评分上升。以上提示GPR30的脑保护作用可能与抑制神经炎症相关。

BBB主要由内皮细胞、星形胶质细胞、基底膜等组成,是维持大脑正常功能的基本结构屏障^[20]。BBB损伤可导致全脑水肿和颅内压持续升高,从而导致死亡^[21]。在本实验中,SAH大鼠的BWC和BBB通透性增加,而Lv-GPR30治疗后的SAH大鼠的BWC和BBB通透性下降。基质金属蛋白肽酶(MMP)是一种基质金属蛋白酶,它会降解脑损伤中的血脑屏障紧密连接蛋白,MMP-2和MMP-9是BBB紊乱的主要两种MMP,它们分别介导早期可逆性和晚期不可逆性BBB功能障碍^[22]。笔者发现,SAH大鼠脑组织中MMP-2和MMP-9蛋白表达量明显升高,破坏BBB完整性导致血管源性脑水肿的发生。而过表达GPR30处理会抑制MMP-2和MMP-9蛋白表达量。提示降低MMP-2和MMP-9蛋白表达可能是GPR30减轻SAH大鼠脑水肿和BBB破坏的重要机制。

本研究具有一定局限性,未能进一步探讨GPR30对大鼠SAH后神经炎症和BBB通透性的改善作用的下游信号通路,但已初步证明GPR30在改善SAH后神经炎症和

BBB通透性方面具有重要作用,为未来研究GPR30在SAH中的作用机制提供了一定的参考。

参 考 文 献

- [1] FERNANDO SM, PERRY JJ. Subarachnoid hemorrhage[J]. CMAJ, 2017, 189(46): E1421.
- [2] 蔡昌呈, 雷超, 何豹, 等. 蛛网膜下腔出血后基底动脉和软脑膜动脉缝隙连接蛋白表达与血管痉挛的关系[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2020, 27(3): 195-200.
- [3] PENG JH, PANG JW, HUANG L, et al. LRP1 activation attenuates white matter injury by modulating microglial polarization through Shc1/PI3K/Akt pathway after subarachnoid hemorrhage in rats[J]. Redox Biol, 2019, 21: 101121.
- [4] FAN HY, DING R, LIU WC, et al. Heat shock protein 22 modulates NRF1/TFAM-dependent mitochondrial biogenesis and DRP1-sparked mitochondrial apoptosis through AMPK-PGC1 α signaling pathway to alleviate the early brain injury of subarachnoid hemorrhage in rats[J]. Redox Biol, 2021, 40: 101856.
- [5] HU X, YAN J, HUANG L, et al. INT-777 attenuates NLRP3-ASC inflammasome-mediated neuroinflammation via TGR5/cAMP/PKA signaling pathway after subarachnoid hemorrhage in rats[J]. Brain Behav Immun, 2021, 91: 587-600.
- [6] SWEENEY MD, ZHAO Z, MONTAGNE A, et al. Blood-Brain barrier: from physiology to disease and back[J]. Physiol Rev, 2019, 99(1): 21-78.
- [7] WANG DJ, DUAN HX, FENG J, et al. Soluble CD146, a cerebrospinal fluid marker for neuroinflammation, promotes blood-brain barrier dysfunction[J]. Theranostics, 2020, 10(1): 231-246.
- [8] 赵大鹏, 陆韵薇, 于顾然. 地黄对阿尔茨海默病小鼠行为学的影响及其对血脑屏障的保护作用[J]. 浙江大学学报(医学版), 2021, 50(5): 553-560.
- [9] 韩雨薇, 王晨辰, 梁国标, 等. 芦丁通过保护血脑屏障减轻大鼠蛛网膜下腔出血后早期脑损伤[J]. 国际脑血管病杂志, 2021, 29(12): 914-919.
- [10] WANG XS, YUE J, HU LN, et al. Activation of G protein-coupled receptor 30 protects neurons by regulating autophagy in astrocytes[J]. Glia, 2020, 68(1): 27-43.
- [11] WANG L, LIU JH, XU J, et al. Coupling of GPR30 mediated neurogenesis and protection with astroglial aromatase-STAT3 signaling in rat hippocampus after global cerebral ischemia[J]. Mol Cell Endocrinol, 2021, 535: 111394.
- [12] PENG J, ZUO YC, HUANG L, et al. Activation of GPR30 with G1 attenuates neuronal apoptosis via src/EGFR/stat3 signaling pathway after subarachnoid hemorrhage in male rats[J]. Exp Neurol, 2019, 320: 113008.
- [13] GARCIA JH, WAGNER S, LIU KF, et al. Neurological deficit and extent of neuronal necrosis attributable to middle cerebral artery occlusion in rats. Statistical validation[J]. Stroke, 1995, 26(4): 627-635.
- [14] XU WL, LI T, GAO LS, et al. Apelin-13/APJ system attenuates early brain injury via suppression of endoplasmic reticulum stress-associated TXNIP/NLRP3 inflammasome activation and oxidative stress in a AMPK-dependent manner after subarachnoid hemorrhage in rats[J]. J Neuroinflammation, 2019, 16(1): 247.
- [15] SHEN FM, WANG J, GAO F, et al. Ginsenoside Rg1 prevents cognitive impairment and hippocampal neuronal apoptosis in experimental vascular dementia mice by promoting GPR30 expression[J]. Neural Plast, 2021, 2021: 2412220.
- [16] ZHANG ZL, QIN P, DENG YL, et al. The novel estrogenic receptor GPR30 alleviates ischemic injury by inhibiting TLR4-mediated microglial inflammation[J]. J Neuroinflammation, 2018, 15(1): 206.
- [17] ARAGON MJ, TOPPER L, TYLER CR, et al. Serum-borne bioactivity caused by pulmonary multiwalled carbon nanotubes induces neuroinflammation via blood-brain barrier impairment [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2017, 114(10): E1968-E1976.
- [18] GALEA J, OGUNGBENRO K, HULME S, et al. Reduction of inflammation after administration of interleukin-1 receptor antagonist following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: results of the subcutaneous interleukin-1Ra in SAH (SCIL-SAH) study[J]. J Neurosurg, 2018, 128(2): 515-523.
- [19] XU PF, TAO CR, ZHU YY, et al. TAK1 mediates neuronal pyroptosis in early brain injury after subarachnoid hemorrhage [J]. J Neuroinflammation, 2021, 18(1): 188.
- [20] 肖刚, 罗超, 彭形, 等. 甘草甜素通过抑制炎症反应和氧化应激改善大鼠蛛网膜下腔出血后血脑屏障损伤[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(7): 811-818.
- [21] JHA RM, KOCHANKE PM, SIMARD JM. Pathophysiology and treatment of cerebral edema in traumatic brain injury[J]. Neuropharmacology, 2019, 145(Pt B): 230-246.
- [22] WEI PJ, WANG K, LUO C, et al. Cordycepin confers long-term neuroprotection via inhibiting neutrophil infiltration and neuroinflammation after traumatic brain injury[J]. J Neuroinflammation, 2021, 18(1): 137.

责任编辑:王荣兵