

• 综 述 •

水通道蛋白 4 在早期创伤性脑水肿组织中的表达研究进展*

雷小燕 综述, 鲁 宏[△] 审校

(中南大学湘雅医学院附属海口医院放射科/海口市人民医院放射科, 海南海口 570208)

关键词: 水通道蛋白 4; 脑水肿; 脑创伤

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.07.031

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)07-0871-03

创伤性脑水肿是颅脑损伤后常见的病理表现,是导致临床上高病死率、致残率的关键因素,在早期(创伤 24 h 以内)及时干预脑水肿是降低临床并发症的有效手段。水通道蛋白 4 是一种广泛分布于脑组织的特异调节水代谢的膜蛋白,研究表明水通道蛋白 4 与创伤性脑水肿的发生密切相关,随外伤时间的延长,脑水肿类型演变错综复杂,而水通道蛋白 4 表达也随之发生变化。

随着交通业和建筑业的迅猛发展,交通事故、高空坠落伤不断增加,脑创伤的概率不断增加(占意外伤的 50% 以上)^[1],随之产生的创伤性脑水肿不仅是导致脑细胞(神经元、胶质细胞)功能障碍的重要原因,也是造成颅内高压,形成脑疝的关键因素^[2],因此导致临床严重并发症。近年来国内外研究报道水通道蛋白 4 与创伤性脑水肿的发生有着密切关系。本文就水通道蛋白 4 与早期创伤性脑水肿的关系进行综述,以期对创伤性脑水肿的早期治疗提供有价值的参考信息。

1 水通道蛋白概述

水通道蛋白是一类广泛分布于细胞膜上对调节细胞水代谢起重要作用的一类蛋白家族。Preston 等^[3]最先在红细胞膜上发现了水通道蛋白,目前在哺乳动物中至少发现了 13 种水通道蛋白,它们广泛分布于体内各种组织^[4]。依据细胞膜内外溶质的浓度差,水分子可以通过水通道蛋白进行细胞内外水平衡调节,细胞膜上水通道蛋白分子的多少及分布决定了水分子的通过速率^[5]。水通道蛋白 1、2、4、5 和 8 只可以通过水分子,水通道蛋白 6 在一定条件下可以通过氯离子,水通道蛋白 10 可以通过甘油等小分子,水通道蛋白 0、11、12 的通透性目前仍不清楚^[6]。

目前已证脑内存在水通道蛋白 1、4 和 9,水通道蛋白 1 位于脑室系统内的脉络丛内,它在脑脊液的生成中起重要作用^[7]。水通道蛋白 9 位于神经胶质细胞和神经细胞亚群中且被认为参与了脑内能量代谢^[5]。目前脑内含量最丰富的水通道蛋白为水通道蛋白 4。水通道蛋白 4 是一种疏水性跨膜蛋白,由 4 个亚基单位的四聚体构成,每个亚基单位都有独立的水孔,其立体构型为胞膜外部分大而胞膜内部分窄小,形似“沙漏”状结构,每个亚单位均由 1 条疏水性 α 螺旋肽链 6 次跨膜构成,氨基和羧基均位于细胞内。这种跨膜形式在细胞膜上形成了 5 个环状结构 A、B、C、D、E,其中位于胞膜内的 B、E 是功能环,起转运水分子作用,而位于胞膜外的 A、C、D 主要起连接作用。水通道蛋白 4 广泛分布于星形胶质细胞膜、室管膜细胞及下丘脑渗透压感受区^[8]。当缺乏血管内皮细胞时,星形胶质

细胞膜上的水通道蛋白 4 重新分布,密度减少,表明血管内皮细胞决定了水通道蛋白 4 在星形胶质细胞膜上的高表达^[9]。除调节水平衡,水通道蛋白 4 还参与了胶质细胞内钾离子的跨膜转运、胶质细胞的迁移、胶质瘢痕的形成及胶质细胞之间的连接^[10]。还有报道水通道蛋白 4 参与了脑水肿的形成、癫痫发作、肝性脑病和脑肿瘤的形成^[11]。胶质细胞足突在缺乏水通道蛋白 4 时因为水分子进入细胞内减少,可能会减轻星形胶质细胞的病理性肿胀^[12-14]。

2 脑水肿分类

在病理上脑水肿分为 3 类:细胞毒性水肿、血管源性水肿及间质性水肿,细胞毒性及血管源性水肿发生较为常见,而在渐进性的慢性脑水肿过程中,可以同时存在多种类型水肿^[6]。细胞毒性水肿:又称细胞内水肿,当血脑屏障保持完整时,细胞内液体过多积聚,细胞外间隙缩小,导致细胞毒性水肿^[9]。血管源性水肿:血管源性水肿常继发于血脑屏障遭到破坏时^[15],液体和蛋白质从血管中渗出至细胞间隙从而导致脑细胞间隙增宽^[9]。间质性水肿:间质性水肿发生于脑脊液吸收障碍时,脑室内压升高引起脑室扩大,脑室壁室管膜破裂,脑脊液溢至至脑室周围白质内而致,常见于严重脑外伤后 3~6 周。

3 早期脑创伤的病理基础与水通道蛋白 4 的关系

创伤性脑水肿发病机制十分复杂,目前主要的观点有血脑屏障受损、钙离子超载、氧自由基毒性损害、脑微循环障碍、能量代谢障碍、神经递质毒性作用、细胞因子作用及自主神经功能异常等多种因素参与和相互作用促进了脑水肿的形成。从病理角度观察脑创伤早期首先出现的是以血脑屏障破坏为主的原发性血管源性水肿,水肿范围主要局限于损伤中心区,继之出现细胞毒性水肿,范围更广泛,且占主导地位^[16-17]。

研究表明,水通道蛋白 4 与创伤性脑水肿发生、发展及消退关系密切。脑创伤后以血脑屏障破坏为特征的血管源性水肿的发生可能与脑损伤后星形胶质细胞和小胶质细胞分泌趋化因子和细胞因子相关^[18-19]。有研究表明,水通道蛋白 4 对血管源性水肿起到保护性作用,水通道蛋白 4 基因敲除大鼠的血管源性脑水肿阶段脑水肿程度加重,注入液体的清除速度也明显低于野生型大鼠。表明水通道蛋白 4 对血管源性水肿所致的细胞外积聚的液体具有重要的清除作用^[20]。Papadopoulos 等^[20]对水通道蛋白 4 基因敲除大鼠进行持续性脑实质输液导致大鼠血管源性水肿,颅内压和脑组织水含量明显增高;同时对水通道蛋白 4 基因敲除大鼠进行脑冻伤所建立的血管源性水肿模型中,临床症状明显加重,颅内压和脑组织水含量明显

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81160181)。 作者简介:雷小燕,女,医师,主要从事中枢神经系统影像诊断工作。[△] 通讯作者, E-mail: cqluh@sohu.com。

高于对照组。表明水通道蛋白 4 对于血管源性水肿时液体的清除起着重要的作用。

另据报道,大鼠创伤后期细胞毒性水肿时水通道蛋白 4 表达上调,而水通道蛋白 4 的上调又将进一步使脑水肿情况加重;敲除水通道蛋白 4 基因后,细胞毒性水肿减轻,大鼠存活率明显升高^[21-22]。Yang 等^[23]采用转基因技术让小鼠脑内的水通道蛋白 4 高于正常 2~3 倍表达,再向腹腔内注水造成急性中毒模型中,水通道蛋白 4 过量表达组小鼠与正常对照组及水通道蛋白 4 基因敲除组小鼠比较,细胞毒性水肿进程明显加重加快,且脑疝和死亡发生率明显增高,进一步表明水通道蛋白 4 的表达与细胞毒性水肿的发生呈正相关。国内部分学者通过对在体、离体胶质细胞缺氧模型的研究,均发现水通道蛋白 4 表达上调与细胞毒性水肿密切相关,是导致细胞毒性水肿的关键因素,但在脑缺血中晚期所致的血管源性水肿时,水通道蛋白 4 的表达无明显变化^[24-27]。

陈通等^[28]在创伤性脑水肿模型中发现,脑创伤早期水通道蛋白 4 高表达,可能与脑创伤后的应激反应有关;脑创伤后期,水通道蛋白 4 表达呈下调趋势,其活性降低。Shenag 等^[29]研究发现在脑创伤后,水通道蛋白 4 的表达相较于未受损伤的对照组明显增高。Lo Pizzo 等^[30]发现在受到严重颅脑创伤患者的脑脊液中水通道蛋白 4 的表达明显增高。这些研究表明,水通道蛋白 4 参与了创伤性脑损伤后脑水肿的形成过程,其表达上调导致了脑水肿的形成。

然而也有实验得出相反的结论,在大鼠中度脑创伤模型中对水通道蛋白 4 进行定位分析,发现星形胶质细胞终足上水通道蛋白 4 的分布减少,这一变化在脑创伤后第 7 天达到高峰;而在损伤前后 7 天血脑屏障的渗透性、脑水肿程度及颅内压随着时间的延长而加重,这一研究结果表明中度创伤性脑水肿后水通道蛋白 4 表达和分布的变化不是促进脑水肿形成的原因,而是早期脑水肿时促进脑水肿消退的一种代偿性保护机制^[31]。外伤性脑损伤后,大鼠脑水肿呈进行性加重,至 24 h 时达到最严重,与此同时,双侧大脑半球水通道蛋白 4 表达均下降,以创伤侧降低更为明显,认为水通道蛋白 4 表达的下降是机体对脑损伤的一种保护性反应,在一定程度上缓解经被破坏的血脑屏障通过神经胶质细胞膜进入脑细胞的水分子量,从而缓解脑水肿的程度;而随着损伤的加重,脑组织内局部内环境的恶化,为了维持神经元的生存环境的相对稳定,水通道蛋白 4 表达的恢复是为了增加水分的进入,以缓冲局部离子浓度的变化。张曙光等^[32]研究重型颅脑交通伤患者损伤脑组织核心区、边缘区水通道蛋白 4 的表达水平,发现边缘区组织水通道蛋白 4 表达随时间增加而逐步升高,也明显高于核心区 and 正常脑组织的表达水平,且有明显的时间依赖性,而核心区组织中水通道蛋白 4 的表达低于正常脑组织。

总之,早期脑损伤的病理基础主要是以血脑屏障破坏为特征的血管源性水肿,在此期间水通道蛋白 4 表达水平结论不一致,有升高也有下调。其作用是有利于脑水肿减轻,还是加重脑水肿尚无定论。这可能与机体在生理和病理状态下的空间构象有关,也可能与脑损伤模型的制作、观测时间不同有关。有待进一步详细研究。

4 展 望

水通道蛋白 4 与创伤性脑水肿形成、发展及消退等密切相关,尤其在早期阶段的作用更具临床价值。目前国内外关于水

通道蛋白 4 作用于创伤性脑水肿的机制仍在探索中,但随着分子生物学的发展,水通道蛋白 4 在创伤性脑水肿发生发展中的作用将会得到更加详尽的研究,有望从分子水平上为临床上早期治疗脑水肿及新药开发提供全新的理论依据。

参考文献

- [1] Hergan K, Schaefer PW, Sorensen AG, et al. Diffusion-weighted MRI in diffuse axonal injury of the brain[J]. *Eur Radiol*, 2002, 12 (10): 2536-2541.
- [2] Suzuki R, Okuda M, Asai J, et al. Astrocytes co-express aquaporin-1, -4, and vascular endothelial growth factor in brain edema tissue associated with brain contusion[J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2006, 96(3): 398-401.
- [3] Preston GM, Agre P. Isolation of the cDNA for erythrocyte integral membrane protein of 28 kilodaltons; member of an ancient channel family[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991, 88(24): 11110-11114.
- [4] Griesdale DE, Honey CR. Aquaporins and brain edema[J]. *Surg Neurol*, 2004, 61(4): 418-421.
- [5] Zelenina M. Regulation of brain aquaporins[J]. *Neurochem Int*, 2010, 57(4): 468-488.
- [6] Papadopoulos MC, Verkman AS. Aquaporin-4 and brain edema[J]. *Pediatr Nephrol*, 2007, 22(7): 778-784.
- [7] MacAulay N, Zeuthen T. Water transport between CNS compartments: contributions of aquaporins and cotransporters[J]. *Neuroscience*, 2010, 168(8): 941-956.
- [8] Nielsen S, Nagelhus EA, Amiry-Moghaddam M, et al. Specialized membrane domains for water transport in glial cells; high-resolution immunogold cytochemistry of aquaporin-4 in rat brain[J]. *Neurosci*, 1997, 17(1): 171-180.
- [9] Tait MJ, Saadoun S, Bell BA, et al. Water movements in the brain; role of aquaporins[J]. *Trends Neurosci*, 2008, 31(1): 37-43.
- [10] Benfenati V, Ferroni S. Water transport between CNS compartments; functional and molecular interactions between aquaporins and ion channels[J]. *Neuroscience*, 2010, 168(4): 926-940.
- [11] Papadopoulos MC, Saadoun S, Binder DK, et al. Molecular mechanisms of brain tumor edema[J]. *Neuroscience*, 2004, 129(4): 1011-1020.
- [12] Saadoun S, Papadopoulos MC, Watanabe H, et al. Involvement of aquaporin-4 in astroglial cell migration and glial scar formation[J]. *Cell Sci*, 2005, 118(24): 5691-5698.
- [13] Auguste KI, Jin S, Uchida K, et al. Greatly impaired migration of implanted aquaporin-4-deficient astroglial cells in mouse brain toward a site of injury[J]. *FASEB*, 2007, 21(1): 108-116.
- [14] Iacovetta C, Rudloff E, Kirby R. The role of aquaporin 4 in the brain[J]. *Vet Clin Pathol*, 2012, 41(1): 32-44.
- [15] Unterberg AW, Stover J, Kress B, et al. Edema and brain trauma[J]. *Neuroscience*, 2004, 129(4): 1021-1029.
- [16] Barzó P, Marmarou A, Fatouros P, et al. Biphasic pathophysiological response of vasogenic and cellular edema in traumatic brain swelling[J]. *Acta Neurochir Suppl*, 1997, 70(1): 119-122.
- [17] Kawamata T, Katayama Y, Aoyama N, et al. Heterogeneous mechanisms of early edema formation in cerebral contusion; diffusion MRI and ADC mapping study[J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2000, 76(1): 9-12.

- [18] Tourdias T, Mori N, Dragonu I, et al. Differential aquaporin 4 expression during edema build-up and resolution phases of brain inflammation[J]. Neuroinflammation, 2011, 8(1): 143.
- [19] Fukuda AM, Pop V, Spagnoli D, et al. Delayed increase of astrocytic aquaporin 4 after juvenile traumatic brain injury: possible role in edema resolution? [J]. Neuroscience, 2012, 222(2): 366-378.
- [20] Papadopoulos MC, Manley GT, Krishna S, et al. Aquaporin-4 facilitates reabsorption of excess fluid in vasogenic brain edema[J]. FASEB J, 2004, 18(11): 1291-1293.
- [21] Sun MC, Honey CR, Berk C, et al. Regulation of aquaporin-4 in a traumatic brain injury model in rats[J]. Neurosurg, 2003, 98(3): 565-569.
- [22] 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.
- [23] Yang B, Zador Z, Verkman AS. Glial cell aquaporin-4 overexpression in transgenic mice accelerates cytotoxic brain swelling[J]. Biol Chem, 2008, 283(22): 15280-15286.
- [24] 鲁宏, 胡惠, 何占平. 氯化钴诱发缺氧对体外星形胶质细胞水通道蛋白 4 表达的影响[J]. 中华神经外科杂志, 2011, 44(2): 117-121.
- [25] 胡惠, 鲁宏, 何占平. 水通道蛋白 4 mRNA 沉默可抑制离体缺氧星形胶质细胞水通道蛋白 4 的表达[J]. 解剖学杂志, 2011, 34(1): 47-50.
- [26] Hu H, Lu H, He ZP. Gene interference regulates aquaporin-4 expression in swollen tissue of rats with cerebral ischemic edema correlation with variation in apparent diffusion coefficient [J]. Neural Regen Res, 2012, 7(14): 1659-1666.
- [27] Lu H, Hu H, He ZP. Reperfusion of the rat brain tissues following acute ischemia; the correlation among diffusion-weighted imaging, histopathology, and aquaporin-4 expression[J]. Clin Med J, 2011, 124: 3148-3153.
- [28] 陈通, 孙善全. 水通道蛋白-4 在大鼠创伤性脑水肿中的表达及其意义[J]. 重庆医学, 2012, 41(13): 1249-1251.
- [29] Shenaq M, Kassem H, Peng C, et al. Neuronal damage and functional deficits are ameliorated by inhibition of aquaporin and HIF1alpha after traumatic brain injury (TBI) [J]. Neurol Sci, 2012, 323(1/2): 134-140.
- [30] Lo Pizzo M, Schiera G, Di Liegro I, et al. Aquaporin-4 distribution in control and stressed astrocytes in culture and in the cerebrospinal fluid of patients with traumatic brain injuries[J]. Neurol Sci, 2013, 34(8): 1309-1314.
- [31] Kiening KL, van Landeghem FK, Schreiber S, et al. Decreased hemispheric Aquaporin-4 is linked to evolving brain edema following controlled cortical impact injury in rats[J]. Neurosci Lett, 2002, 324(2): 105-108.
- [32] 张曙光, 潘天鸿, 何放林, 等. 重型颅脑损伤患者脑挫伤组织水通道蛋白-4 的表达及意义[J]. 中华创伤杂志, 2010, 26(7): 589-591.

(收稿日期: 2013-11-08)

• 综 述 •

特异性免疫治疗的血清学标志物研究进展

李 晶 综述, 伦立民[△], 王 清 审校

(青岛大学医学院附属医院东区检验科, 山东青岛 266101)

关键词: 特异性免疫治疗; 变应性疾病; 血清学

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 07. 032

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)07-0873-04

特异性免疫治疗 (allergy specific immunotherapy, SIT) 也称变应原特异性免疫治疗、脱敏治疗, 通过给予特异性致敏的变应原, 持续并逐渐增量刺激机体, 最终使机体对变应原刺激适应或耐受, 减轻或消除变应原引起的临床症状。SIT 现已成为一种标准化治疗方法, 在 IgE 介导的变应性疾病中有效, 尤其适用于药物治疗无效的人群^[1]。常用皮下免疫治疗 (subcutaneous immunotherapy, SCIT) 和舌下免疫治疗 (sublingual immunotherapy, SLIT) 两种方法。使用草或树木花粉、屋尘螨、昆虫毒液和动物毛发等各种类型的变应原都可证实 SIT 有临床疗效。已证实 SIT 的临床疗效在停止治疗后仍将持续若干年, 这是 SIT 相对于抗 IgE 药和抗过敏药的明显优点^[1-2]。

1 SIT 机制

SIT 是针对 IgE 介导的变应性疾病的对因治疗方法, 可诱导产生长期的临床免疫耐受^[3]。近期研究表明 SCIT 和 SLIT 的机制基本相同^[3-4]。SIT 产生的长期耐受与 Th2/Th1 比值失衡的纠正有关。研究报告表明 SIT 治疗后, CD4⁺ CD25⁺

Foxp3⁺ 调节 T 细胞数量增加, 其产生的白细胞介素 10 (IL-10) 和转化生长因子 β 也明显增加, 且以依赖的方式抑制 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞反应和 Th2 型细胞因子释放^[5-6]。IL-10 在 SIT 中起到潜在的双重作用, 它既能抑制 CD4⁺ Th2 细胞的反应, 又可诱导抗体类型转换。这些抗体有抗炎活性, 能够抑制嗜碱性粒细胞释放组胺, 抑制 IgE 介导的 B 细胞抗原提呈及后续的变应原特异性 Th2 细胞活化^[7]。SIT 过程中观察到 IgE/IgG4 比值降低, 表明外周耐受已诱导形成, 这与调节性 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞活性增高及异常 Th2 细胞反应被抑制有关^[8]。

2 SIT 临床疗效潜在的替代性或预测性血清学标志物

研究外周或靶器官 T 或 B 细胞反应的异常改变及靶器官炎症反应是实验室评价 SIT 疗效的良好标志物, 可以预测治疗是否起作用, 指导是否需要停止治疗。然而, 这类研究非常复杂, 不同实验室间的多中心临床试验难以标准化。本文侧重于综述能稳定储存、不同实验室间能够标准化、多中心临床试验中经常使用到的血清学标志物。