

## ·实验研究 Experimental research·

## 高密度脂蛋白抑制 NLRP3 对大鼠脑缺血-再灌注损伤的保护作用及其机制

张 言, 王黎洲, 杨登科, 安天志, 周 石, 李 兴

**【摘要】 目的** 研究高密度脂蛋白(HDL)对大鼠脑缺血-再灌注(I-R)损伤的保护作用及相关机制。**方法** 构建大鼠大脑中动脉闭塞(MCAO)模型。模型组大鼠分别在缺血后 1.5 h 和再灌注 12、24、72 h 处死,取脑损伤组织用 2%氯化三苯四氮唑(TTC)染色,检测再灌注损伤后不同时间点脑梗死体积;根据 Bederson 评分标准评价大鼠神经功能;实时定量聚合酶链反应(RT-qPCR)检测脑损伤后不同灌注时间炎症小体——核苷酸结合寡聚化结构域(NOD)样受体(NLR)家族 Pyrin 域蛋白(NLRP)3 mRNA 表达。选择脑损伤程度严重的 I-R 模型,缺血前 15 min 于尾静脉注射 10、25、50 mg/kg 不同剂量 HDL,缺血 1.5 h 和再灌注 72 h 后处死并取脑损伤组织作 TTC 染色,检测不同剂量 HDL 对脑梗死体积的改善作用。酶联免疫吸附试验(ELISA)和 qRT-PCR 检测大鼠缺血半暗带脑损伤组织中白细胞介素(IL)-18、IL-1 $\beta$  和 mRNA 表达。免疫印迹法检测 NLRP3、半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶(caspase)-1 表达。**结果** 随着 I-R 时间延长,大鼠脑梗死程度加重,神经功能损伤更严重,炎症小体 NLRP3 mRNA 表达显著上调。中、高剂量 HDL 治疗对 I-R 大鼠脑组织有保护作用,可显著降低 I-R 72 h 后神经功能评分,缩小脑梗死体积,下调脑 I-R 诱导的 IL-18、IL-1 $\beta$  和 mRNA 表达。**结论** HDL 可通过抑制 NLRP3 激活保护脑组织免受 I-R 损伤,可能为未来缺血性脑卒中治疗提供一新思路。

**【关键词】** 缺血-再灌注损伤;高密度脂蛋白;炎症小体;NOD 样受体家族 Pyrin 域蛋白 3;脑卒中  
中图分类号:R364 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2019)-08-0759-06

**The protective effect of HDL on cerebral ischemia-reperfusion injury through inhibiting the activation of NLRP3 and its mechanism** ZHANG Yan, WANG Lizhou, YANG Dengke, AN Tianzhi, ZHOU Shi, LI Xing. School of Medical Imaging, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou Province 550004, China

Corresponding author: LI Xing, E-mail: Lixing111@sina.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the protective effect of high density lipoprotein(HDL) on cerebral ischemia-reperfusion(I-R) injury in experimental rats, and to discuss its mechanism. **Methods** The middle cerebral artery occlusion(MCAO) model was established in the experimental rats. The rats in the model group were sacrificed at 1.5 hours after ischemia, and at 12 hours, 24 hours and 72 hours after reperfusion respectively. The injured brain tissues were collected and stained with 2% triphenyl tetrazole chloride(TTC). The cerebral infarction volume was measured at different point of time after reperfusion injury. According to Bederson scoring criteria, the neurological functions of rats were evaluated. Real-time quantitative polymerase chain reaction(RT-qPCR) was used to detect the expressions of NLRP3 mRNA in inflammatory corpuscles after brain injury at different perfusion times. I-R models with severe brain injury were selected. Fifteen minutes before ischemia, 10 mg/kg, 25 mg/kg and 50 mg/kg HDL were separately injected into the caudal vein. The rats were sacrificed after 1.5 h of ischemia and 72 h of reperfusion, the injured brain tissues were collected and stained with TTC to assess the effects of different HDL doses on the improvement of cerebral

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2019.08.012

基金项目:贵州省普通高等学校医学影像工程研究中心项目(黔教合 KY2016-012)、贵州医科大学医学影像工程研究中心项目(2016001)

作者单位:550004 贵阳 贵州医科大学影像学院

通信作者:李 兴 E-mail: lixing111@sina.com

infarction volume. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and qRT-PCR methods were used to detect the IL-18 IL-1 $\beta$  and mRNA expressions in ischemic penumbra of rats. The expression of NLRP3 and cysteine aspartate specific protease-1 (caspase-1) was detected by Western blotting. **Results** With the prolongation of I-R time, the degree of cerebral infarction in rats became aggravated, the neurological function was damaged more seriously, and the expression of NLRP3 mRNA in inflammatory corpuscles was significantly up-regulated. The use of medium and high doses of HDL showed protective effect on the I-R damaged rat brain, significantly decreased the neurological function score at 72 h after I-R, reduced the volume of cerebral infarction, and down-regulated the IL-18, IL-1 $\beta$  and mRNA expressions induced by I-R in brain. **Conclusion** HDL can protect the brain from ischemia-reperfusion injury by inhibiting the activation of inflammatory corpuscle NLRP3. It may provide a new way for the treatment of ischemic stroke in the future. (J Intervent Radiol, 2019, 28: 759-764)

**【Key words】** ischemia-reperfusion injury; high-density lipoprotein; inflammasome; NLRP3; stroke

脑卒中严重威胁人类健康和生命安全<sup>[1]</sup>。缺血性脑卒中患病率高于出血性脑卒中,脑缺血后发生复杂的病理变化决定了其治疗难度。药物作用于早期缺血级联反应不同环节的神经保护被认为是脑卒中治疗的重要方法<sup>[2]</sup>,因此需要开发潜在的神经保护或治疗策略,以有效改善脑卒中预后。炎性小体是免疫细胞激活后胞质中的一类介导半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶(caspase)-1 活化的大分子复合物,包括凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、受体蛋白和前体 caspase-1。其中受体蛋白主要有核苷酸结合寡聚化结构域(NOD)样受体(NLR)家族、黑色素瘤缺乏因子(AIM)2<sup>[3]</sup>。有研究证明 NLR 家族 Pyrin 域蛋白(NLRP)3 通过诱导神经元凋亡、促进炎性因子释放加重小鼠脑缺血-再灌注(ischemia-reperfusion, I-R)损伤,靶向 NLRP3 后神经损伤得到改善<sup>[4]</sup>。研究发现高密度脂蛋白(HDL)除可逆转胆固醇转运外,还具有抗炎、抗蛋白酶和抗血栓作用<sup>[5]</sup>,保护内皮细胞免受急性损伤;血浆 HDL 固醇水平与心血管疾病呈负相关,低水平 HDL 与脑血管事件发生率增加有关。本研究通过大鼠脑 I-R 损伤模型探讨 HDL 对脑损伤炎性反应的作用及对脑损伤的保护作用,为缺血性脑血管疾病治疗提供一种新策略。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物和试剂

取 8 周龄 250~300 g Wistar 雄性大鼠(贵州医科大学动物实验中心提供)42 只,饲养在环境温度 23~27℃、湿度 55%饲养房,保持通风良好,自由进食饮水,12 h 昼夜交替照明。实验开始前至少提前 1 周让动物适应实验环境。实验试剂:戊巴比妥钠(美国 Sigma 公司)、水合氯醛(天津索罗门生物科技公司)、TRIzol 试剂、逆转录试剂盒、SYBR 荧光染料

(日本 TaKaRa 公司)、2,3,5-三苯基四氮唑(北京索宝来科技公司)、HDL(美国 Promega 公司)、NLRP3 一抗(1:500)、caspase-1 一抗(1:1 000)、大鼠白细胞介素(IL)-18 一抗(1:500)、IL-1 $\beta$  一抗(1:500,美国 Invitrogen 公司)、微管蛋白(tubulin, 1:500,北京全式金生物技术公司)、辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗兔二抗(1:2 000,英国 Abcam 公司)、酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(美国 R&D 公司)、二辛可酸(BCA)蛋白定量试剂盒(上海碧云天生物科技公司)。

### 1.2 大鼠脑 I-R 模型构建与分组

大鼠术前禁食 8 h,腹腔注射 10%水合氯醛 300 mg/kg 麻醉,采用颈内动脉线栓法构建大鼠大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型,手术过程和术毕将大鼠置于 37℃恒温电热板上维持体温,直至从手术中苏醒。假手术组 6 只大鼠麻醉后不置入线栓,不阻塞大脑中动脉,其余手术步骤与模型组相同。模型组 18 只大鼠缺血后 1.5 h 和再灌注 12、24、72 h 各处死 6 只,分别为 MCAO 12 h 组、MCAO 24 h 组、MCAO 72 h 组;HDL 处理组:选择脑损伤程度严重模型,术中缺血前 15 min 尾静脉注射 10、25、50 mg/kg 不同剂量 HDL,缺血 1.5 h 和再灌注 72 h 后各处死 6 只,分别为 H 低/MCAO 组、H 中/MCAO 组、H 高/MCAO 组。

### 1.3 实时定量聚合酶链反应检测

从处死大鼠脑组织提取 RNA,加入 20~200  $\mu$ L 无 RNase 水使之溶解,分光光度计检测其浓度,分析光密度(OD)<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 比率和总 RNA 质量;琼脂糖凝胶电泳检测提取 RNA;RNA 逆转录为 cDNA(总体积 20  $\mu$ L,反应条件为 37℃ 15 min,85℃ 5 s,4℃);实时定量聚合酶链反应(RT-qPCR)检测 NLRP3 mRNA 表达(条件:95℃预变性 5 min,共 40 个循环变性为 95℃ 10 s,60℃退火 20 s,60℃退火 30 s)。产物经

1%琼脂糖凝胶电泳并用 Image-Pro Plus 图像分析系统计算 OD 值, 以与 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH) 相对值记录结果。2- $\Delta\Delta Ct$  法分析基因相对表达, 计算公式:  $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct(\text{模型组}) - \Delta Ct(\text{对照组})$ 。当实时荧光强度在反应过程中达到设定阈值,  $Ct$  参考扩增的循环数。引物序列(苏州金唯智生物科技公司合成): NLRP 上游引物 5'-TGCTGACCCTCTGTGAGGT-3', 下游引物 5'-TCTTCCTGGAGCGCTTCTAA-3', GAPDH 上游引物 5'-GGCAAGTTCAACGGCAG-3', 下游引物 5'-ACGCCAGTAGACTCCACGAC-3'。

#### 1.4 酶联免疫吸附试验检测

大鼠处死后迅速切取脑组织切片, 置于-80℃冰箱 15 min, 将缺血半暗带切片用于酶联免疫吸附试验(ELISA)检测, 450 nm 波长处测定 OD 值。

#### 1.5 免疫印迹检测

脑组织从-80℃冰箱中取出称重, 每 50~100 mg 加入 1 mL RIPA 缓冲液, 加入磁珠, 用高通量组织研磨器作匀浆处理, 12 000 g/min 离心 15~30 min, 收集上清液; Bradford 法检测相关蛋白浓度; 蛋白质经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离, 将蛋白质转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上; 将 PVDF 膜按蛋白印迹位置剪开, 加入 NLRP3 一抗(1:500)、caspase-1 一抗(1:1 000)、大鼠 IL-18 一抗(1:500)、IL-1 $\beta$  一抗(1:500)和 tubulin(1:500), 置于 4℃冰箱孵育过夜; 缓冲液中摇动漂洗 3 次, 置于含对应 HRP 标记羊抗兔二抗/鼠 IgG 抗体缓冲液中室温孵育 1 h, 洗涤, 置于 Super ECL Plus 超敏发光液中 2 min, 置于凝胶成像仪中成像; 采用 Image Lab 软件分析蛋白条带灰度值,  $\beta$ -tubulin 作为内参, 计算相应目的蛋白条带灰度值。

#### 1.6 脑梗死体积测定

I-R 后 12、24、72 h, 腹腔注射戊巴比妥钠麻醉并断头处死大鼠, 迅速取出完整脑组织, 置于玻璃器皿称重记录, -20℃冰箱内速冻 15 min; 切片刀自前极切取 6 片 1 mm 厚切片, 置于 2%氯化三苯四氮唑(TTC)溶液(确保切片完全接触染色液), 37℃恒温水浴锅中避光孵育 15 min 后取出切片, 4℃预冷 4%多聚甲醛溶液固定 24 h; 将固定好的脑组织切片置于载物台, 摄影切片, Image-Pro Plus 图像分析系统测量、统计脑梗死体积。脑梗死体积百分比=(手术对侧正常脑组织体积-手术侧正常脑组织体积)/手术对侧正常脑组织体积 $\times 100\%$ 。

#### 1.7 神经功能缺陷评分

I-R 后 12、24、72 h, 采用 Bederson 法<sup>[10]</sup>对大鼠

神经功能缺陷进行评分。

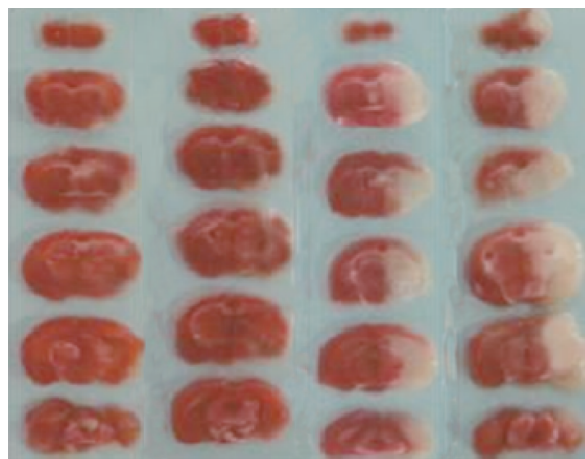
#### 1.8 数据分析

采用 Prism 6 统计学软件(美国 GraphPad 微软公司)计算和分析实验数据, 计量资料用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示。t 检验作组间比较,  $P<0.05$  为差异有统计学意义。柱状图通过 GraphPad Prism 6.0 软件制作。

## 2 结果

### 2.1 I-R 损伤大鼠模型脑梗死体积变化

假手术组大鼠 TTC 染色后脑组织呈红色, 未发生梗死病灶; MCAO 12 h、24 h、72 h 组脑组织缺血侧发白, 出现不同程度脑梗死(图 1), 脑梗死体积随 I-R 时间延长明显增大( $P<0.05$ )(表 1)。



假手术组 MCAO 12 h 组 MCAO 24 h 组 MCAO 72 h 组

图 1 大鼠脑梗死体积变化切片图

表 1 大鼠脑梗死体积对比  $\bar{x}\pm s, n=6$

组别	脑梗死体积/%
假手术组	0
MCAO 12 h 组	32.45 $\pm$ 3.14 <sup>a</sup>
MCAO 24 h 组	72.32 $\pm$ 4.34 <sup>b</sup>
MCAO 72 h 组	91.68 $\pm$ 2.87 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> 与假手术组相比,  $P<0.05$ ; <sup>b</sup> 与 MCAO 12 h 组相比,  $P<0.05$ ;

<sup>c</sup> 与 MCAO 24 h 组相比,  $P<0.05$

### 2.2 I-R 损伤大鼠模型神经功能缺陷评分

假手术组大鼠无神经功能障碍; MCAO 12 h 组大鼠左前肢不能完全伸展, 自由运动时向手术对侧转圈; MCAO 24 h 组大鼠自由运动时躯体向损伤侧倾倒, 意识变弱, 出现无法自由运动现象; MCAO 72 h 组大鼠基本失去活动能力。模型组神经功能缺陷评分均明显高于假手术组( $P<0.05$ ), 神经运动功能障碍随 I-R 时间延长越显著( $P<0.05$ )(表 2)。

### 2.3 I-R 损伤对 NLRP3 表达的影响

与假手术组相比, MCAO 12 h 组大鼠脑损伤组



表 2 大鼠神经功能缺陷评分  $\bar{x} \pm s, n=6$ 

组别	神经功能缺陷评分
假手术组	0
MCAO 12 h 组	2.15 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>
MCAO 24 h 组	3.77 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>
MCAO 72 h 组	4.38 $\pm$ 0.15 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> 与假手术组相比,  $P<0.05$ ; <sup>b</sup> 与 MCAO 12 h 组相比,  $P<0.05$ ;<sup>c</sup> 与 MCAO 24 h 组相比,  $P<0.05$ 

组织中 NLRP3 mRNA 表达显著上调( $P<0.05$ ), 随 I-R 时间延长 NLRP3 mRNA 表达显著升高 ( $P<0.05$ ) (图 2)。

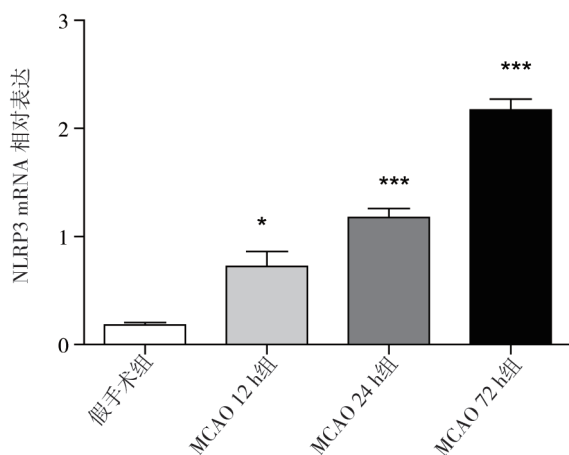
\* 与假手术组相比,  $P<0.05$ ; \*\*\* 与 MCAO 12 h 组相比,  $P<0.05$ 

图 2 大鼠脑组织 NLRP3 mRNA 表达水平

## 2.4 HDL 对 I-R 损伤大鼠模型脑梗死体积的影响

与模型组相比, 给予 10 mg/kg HDL 治疗后大鼠脑损伤组织无显著改善( $P>0.05$ ), 给予 25 mg/kg、50 mg/kg HDL 治疗后脑梗死体积明显缩小( $P<0.05$ ) (表 3、图 3)。

表 3 HDL 对大鼠脑梗死体积的影响  $\bar{x} \pm s, n=6$ 

组别	脑梗死体积/%
假手术组	0
模型组	90.21 $\pm$ 2.15
H 低/MCAO 组	89.92 $\pm$ 1.19 <sup>a</sup>
H 中/MCAO 组	60.68 $\pm$ 2.87 <sup>b</sup>
H 高/MCAO 组	31.32 $\pm$ 1.34 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> 与假手术组相比,  $P<0.05$ ; <sup>b</sup> 与模型组相比,  $P<0.05$ ;<sup>c</sup> 与 H 中/MCAO 组相比,  $P<0.01$ 

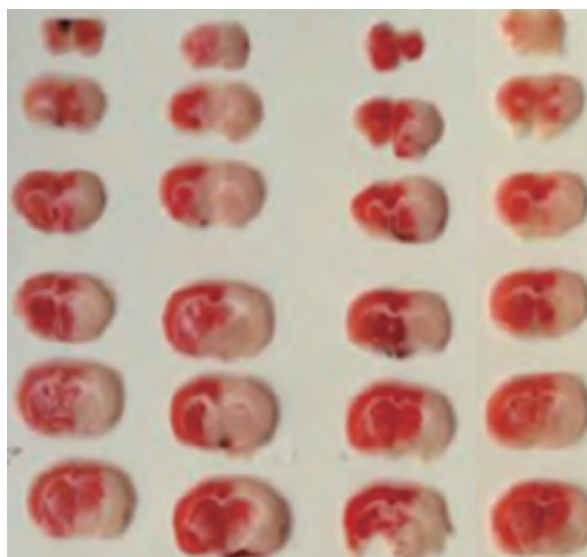
## 2.5 HDL 对大鼠 I-R 损伤神经功能的影响

与模型组相比, 低剂量 HDL 未显著改善大鼠神经功能损伤( $P>0.05$ ), 中剂量 HDL 治疗后神经功能缺陷评分显著降低( $P<0.05$ ), 高剂量 HDL 治疗后神经功能缺陷评分降低程度最显著( $P<0.01$ ) (表 4); 表明中、高剂量 HDL 对 I-R 引起的大鼠脑损伤有保护作用。

## 2.6 HDL 对脑缺血半暗带炎性因子表达的影响

与假手术组相比, 模型组大鼠 I-R 损伤脑缺血

半暗带组织中 IL-18、IL-1 $\beta$  表达显著升高, mRNA 显著上调。与模型组相比, 注射 10 mg/kg HDL 后大鼠脑缺血半暗带组织中 IL-18、IL-1 $\beta$  和 mRNA 表达均未发生明显变化( $P>0.05$ ), 注射 25 mg/kg 和 50 mg/kg HDL 后 IL-18、IL-1 $\beta$  和 mRNA 表达均有不同程度下降( $P<0.05$ ) (图 4); 表明 HDL 可下调脑 I-R 损伤中 IL-18、IL-1 $\beta$  和 mRNA 表达。



模型组 H 低/MCAO 组 H 中/MCAO 组 H 高/MCAO 组

图 3 HDL 对大鼠脑梗死体积的影响

表 4 HDL 对大鼠 I-R 损伤神经功能的影响  $\bar{x} \pm s, n=6$ 

组别	神经功能缺陷评分
假手术组	0
模型组	4.05 $\pm$ 0.24
H 低/MCAO 组	3.99 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>
H 中/MCAO 组	2.31 $\pm$ 0.26 <sup>b</sup>
H 高/MCAO 组	1.24 $\pm$ 0.31 <sup>c</sup>

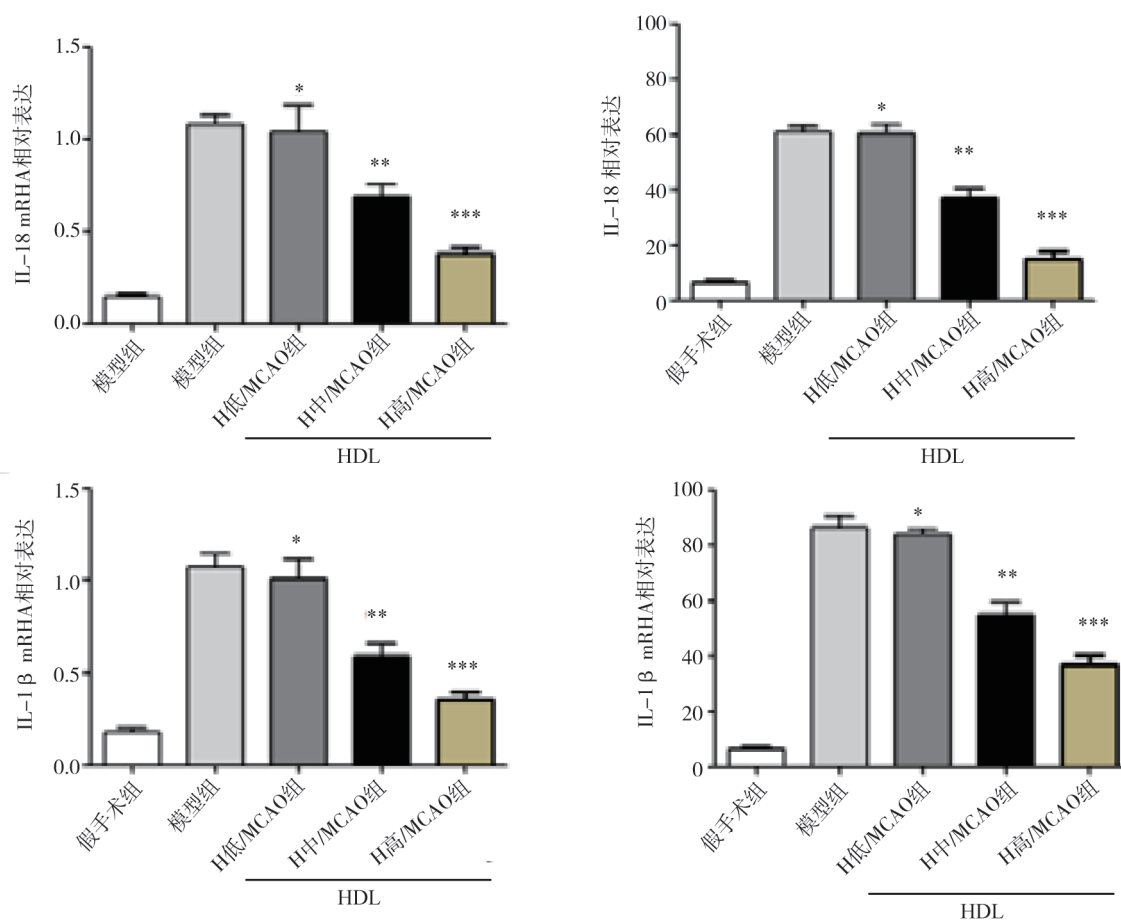
<sup>a</sup> 与模型组相比,  $P>0.05$ ; <sup>b</sup> 与 H 低/MCAO 组相比,  $P<0.05$ ;<sup>c</sup> 与 H 低/MCAO 组相比,  $P<0.01$ 

## 2.7 HDL 对脑缺血半暗带炎性小体激活的影响

免疫印迹检测显示, 与假手术组相比, 模型组后 I-R 72 h 大鼠脑缺血半暗带组织中 NLRP3、caspase-1 表达显著上调( $P<0.05$ ), 注射 10 mg/kg HDL 后 NLRP3、caspase-1 表达无显著变化, 注射 25 mg/kg、50 mg/kg HDL 后 NLRP3、caspase-1 表达显著下调( $P<0.05$ ) (图 5); 提示 HDL 通过抑制脑缺血半暗带组织中 NLRP3 表达水平对脑损伤起保护作用。

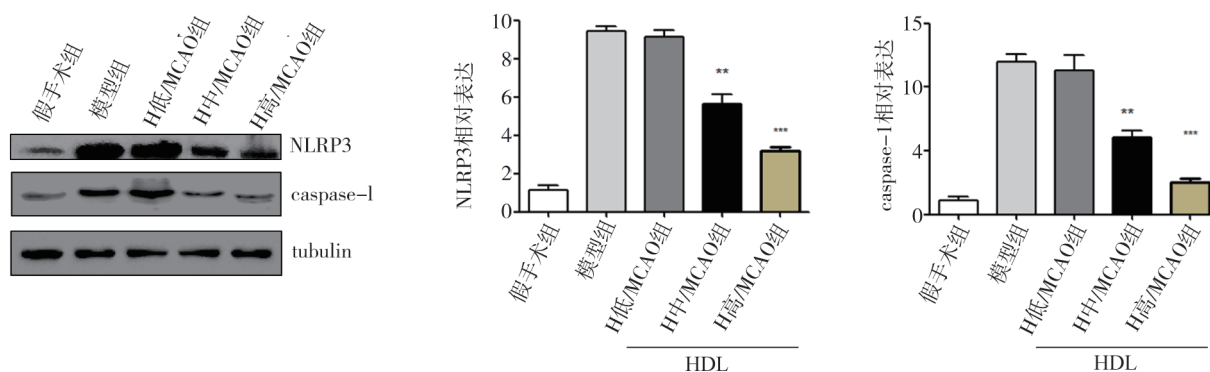
## 3 讨论

现阶段急性缺血性脑卒中治疗仍面临巨大挑战, 有效溶栓治疗时间窗在 3~4.5 h 内, 但仅有不到 5% 患者能接受治疗<sup>[6]</sup>。接受组织型纤溶酶原激活



\* 与模型组相比,  $P > 0.05$ ; \*\* 与 H 低/MCAO 组相比,  $P < 0.05$ ; \*\*\* 与 H 中/MCAO 组相比,  $P < 0.05$

图 4 大鼠脑 I-R 72 h 后脑组织 IL-18、IL-1β 和 mRNA 表达水平



\*\* 与模型组相比,  $P < 0.05$ ; \*\*\* 与 H 中/MCAO 组相比,  $P < 0.05$

图 5 大鼠脑 I-R 72 h 后脑组织 NLRP3、caspase-1 表达水平

剂(*t*-PA)治疗脑梗死患者中仅 30%有效<sup>[7]</sup>,而神经保护剂在大型Ⅱ/Ⅲ期随机对照试验研究中未显示出临床疗效<sup>[8]</sup>。因此,新的急性脑梗死治疗方法成为目前研究热点。本研究分别检测大鼠 I-R 12、24、72 h 后脑梗死体积和神经功能缺陷评分,结果显示 I-R 72 h 组脑梗死程度最大,梗死体积约 91.7%;模型组神经功能缺陷评分均明显高于假手术组,且随 I-R 时间延长,神经运动功能障碍越显著,72 h 脑损伤程度最为严重。

Martinon 等<sup>[9]</sup>2002 年首次发现并阐释炎性小体。脑部缺血引起一系列刺激反应可激活细胞中 NOD 样受体,激活的 NLRP 可进一步组装成为炎性小体,炎性小体激活并诱导一系列促炎性因子分泌,介导缺血后炎性应答。过度炎性应答会导致神经组织损伤加重<sup>[10]</sup>。炎性小体在诱导缺血后炎性应答中具有重要意义。本研究进一步探讨炎性小体 NLRP3 在大鼠脑 I-R 损伤后表达,分别检测分析 I-R 12、24、72 h 3 个时点 NLRP3 mRNA 表达,结果显示脑 I-R

后 12 h NLRP3 mRNA 开始上调,72 h 后达峰值。该结果与 Fann 等<sup>[11]</sup>在 C57BL/6L 小鼠模型中研究结果一致。

有研究表明,缺血性脑损伤发生后中枢神经系统天然免疫细胞被激活,释放炎症因子 IL-18、IL-1 $\beta$  等,参与调控中枢系统免疫应答,对中枢神经系统产生级联放大损伤作用<sup>[12]</sup>。IL-18、IL-1 $\beta$  是 I-R 损伤后表达水平出现明显变化的因子,在脑缺血后炎症反应中作为最主要的促炎因子发挥作用。本研究采用 ELISA 和 RT-qPCR 检测大鼠脑 I-R 72 h 缺血半暗带损伤组织中 IL-18、IL-1 $\beta$  和 mRNA 表达,结果显示模型组与假手术组相比 IL-18、IL-1 $\beta$  和 mRNA 均不同程度上调,给予 25 mg/kg 或 50 mg/kg HDL 治疗后均明显下调( $P<0.05$ , $P<0.01$ )。因此,HDL 可下调脑 I-R 引起的 IL-18、IL-1 $\beta$  和 mRNA 表达。

近期有研究发现脑缺血后小鼠每日空腹 6 h 持续 4 个月,可抑制 NLRP3 炎症小体活化,并降低 IL-1 $\beta$ 、IL-18 及 caspase-3 表达,减轻 I-R 损伤<sup>[13]</sup>。本研究结果表明基于 HDL 的治疗,作为脑卒中急性治疗中的神经和血管保护剂的潜力。提高 HDL 浓度的药物如烟酸,已证实对实验性脑卒中具有神经保护作用。基于 HDL 的治疗得到大量流行病学研究支持,均表明低 HDL-胆固醇水平与脑血管发生有关<sup>[14]</sup>。有研究报道 489 例患者中急性缺血性脑卒中发病后 3 h 内接受 t-PA 治疗,结果提示高 HDL-胆固醇水平与治疗 3 个月时良好预后显著相关<sup>[15]</sup>。这表明补充 HDL 对急性缺血性脑卒中有效。本研究显示 HDL 可显著改善大鼠模型脑 I-R 损伤程度,不仅缩小脑梗死体积,还能改善 I-R 后神经功能缺陷。该结果与既往研究结果<sup>[10-17]</sup>一致。本研究检测 I-R 大鼠脑组织中 NLRP3、caspase-1 表达,免疫印迹检测显示模型组 NLRP3、caspase-1 表达与假手术组相比显著上调,25 mg/kg 或 50 mg/kg HDL 治疗后脑缺血半暗带组织中 NLRP3、caspase-1 表达均显著下调( $P<0.05$ );表明 HDL 能通过抑制脑缺血半暗带组织中 NLRP3 表达对脑损伤起保护作用。

本研究结论认为,HDL 可通过抑制 NLRP3 激活保护脑组织免受 I-R 损伤,可能为未来缺血性脑卒中治疗提供一新思路。

#### [参考文献]

- [1] 陈立,邹伟婕,张宇,等. miR-29b 通过抑制 N2a 细胞 p53 凋亡通路减轻氧糖剥夺/再灌注损伤[J]. 介入放射学杂志, 2018, 27: 451-457.
- [2] 周腾飞,朱良付,李天晓. 影响急性缺血性脑卒中血管内治疗预后的相关因素分析[J]. 介入放射学杂志, 2017, 26: 99-104.
- [3] Rathinam VA, Fitzgerald KA. Inflammasome complexes: emerging mechanisms and effector functions[J]. Cell, 2016, 165: 792-800.
- [4] 易敏,高荔,庞博,等. NLRP3 炎症体加重小鼠脑缺血再灌注损伤的机制探讨[J]. 山东医药, 2014, 54: 7-9.
- [5] Mineo C, Deguchi H, Griffin JH, et al. Endothelial and antithrombotic actions of HDL[J]. Circ Res, 2006, 98: 1352-1364.
- [6] Fonarow GC, Smith EE, Saver JL, et al. Timeliness of tissue-type plasminogen activator therapy in acute ischemic stroke: patient characteristics, hospital factors, and outcomes associated with door-to-needle times within 60 minutes[J]. Circulation, 2011, 123: 750-758.
- [7] Del Zoppo GJ, Saver JL, Jauch EC, et al. Expansion of the time window for treatment of acute ischemic stroke with intravenous tissue plasminogen activator: a science advisory from the American Heart Association/American Stroke Association[J]. Stroke, 2009, 40: 2945-2948.
- [8] Dirnagl U, Endres M. Found in translation: preclinical stroke research predicts human pathophysiology, clinical phenotypes, and therapeutic outcomes[J]. Stroke, 2014, 45: 1510-1518.
- [9] Martinon F, Bruns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-1 $\beta$ [J]. Mol Cell, 2002, 10: 417-426.
- [10] Fann DY, Lee SY, Manzanero SA, et al. Pathogenesis of acute stroke and the role of inflammasomes[J]. Ageing Res Rev, 2013, 12: 941-966.
- [11] Fann DY, Lee SY, Manzanero S, et al. Intravenous immunoglobulin suppresses NLRP1 and NLRP3 inflammasome-mediated neuronal death in ischemic stroke[J]. Cell Death Dis, 2013, 4: e790.
- [12] Schmidt A, Minnerup J, Kleinschnitz C. Emerging neuroprotective drugs for the treatment of acute ischaemic stroke[J]. Expert Opin Emerg Drugs, 2013, 18: 109-120.
- [13] Fann DY, Santro T, Manzanero SA, et al. Intermittent fasting attenuates inflammasome activity in ischemic stroke[J]. Exp Neurol, 2014, 257: 114-119.
- [14] Amarenco P, Goldstein LB, Messig M, et al. Relative and cumulative effects of lipid and blood pressure control in the stroke prevention by aggressive reduction in cholesterol levels trial[J]. Stroke, 2009, 40: 2486-2492.
- [15] Makiyama N, Okada Y, Koga M, et al. Effect of serum lipid levels on stroke outcome after rt-PA therapy: SAMURAI rt-PA registry[J]. Cerebrovasc Dis, 2012, 33: 240-247.
- [16] Frias MA, Pedretti S, Hacking D, et al. HDL protects against ischemia reperfusion injury by preserving mitochondrial integrity[J]. Atherosclerosis, 2013, 228: 110-116.
- [17] Argraves KM, Gazzolo PJ, Groh EM, et al. High density lipoprotein-associated sphingosine 1-phosphate promotes endothelial barrier function[J]. J Biol Chem, 2008, 283: 25074-25081.

(收稿日期:2018-08-20)

(本文编辑:边伟)