

柴胡皂苷 a 对大鼠急性脊髓损伤的神经保护作用与机制研究



朱双龙^{1,2,3}, 段会全^{1,2}, 刘英富⁴, 李光宗⁵, 刘迎节^{1,2}, 黄梦强^{1,2}, 陈旭义³, 徐云强^{1,2}

1. 天津医科大学研究生院(天津 300070)
2. 天津医科大学总医院骨科(天津 300052)
3. 武警后勤学院附属医院脑科中心(天津 300162)
4. 武警后勤学院细胞生物学教研室(天津 300309)
5. 武警后勤学院附属医院救援研究所(天津 300162)

【摘要】 目的 探讨柴胡皂苷 a (saikosaponin a, SSa) 对大鼠急性脊髓损伤早期机体免疫炎症水平的影响, 并研究其可能存在的影响机制。方法 取健康成年雌性 SD 大鼠 72 只, 体质量 220 ~ 250 g, 随机分为假手术组 (A 组)、脊髓损伤组 (B 组)、SSa 处理组 (C 组), 每组 24 只。A 组仅咬除棘突和椎板暴露脊髓; B、C 组利用改良 Allen 重物打击法制作急性脊髓损伤模型, 造模后即刻 C 组给予大鼠腹腔注射 10 mg/kg SSa, B 组注入等量生理盐水。术后 24 h 每组处死 18 只大鼠并取出脊髓组织, 采用 ELISA 法检测 TNF- α 和 IL-6 浓度, Western blot 检测 NF- κ B P65、NF- κ B P-P65 和水通道蛋白 4 (aquaporin 4, AQP4) 蛋白表达水平, HE 染色观察脊髓组织形态; 每组其余 6 只大鼠分别于术后 1、3、7、14、21、28 d 采用 BBB 评分和斜板实验评价大鼠双下肢运动恢复情况。结果 术后各时间点 A 组 BBB 评分和斜板实验最大角度均显著高于 B、C 组 ($P < 0.05$), 术后 14、21、28 d C 组上述指标显著高于 B 组 ($P < 0.05$)。ELISA 检测示, A 组 TNF- α 、IL-6 浓度显著低于 B、C 组, C 组显著低于 B 组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。Western blot 检测示, A 组 NF- κ B P65、NF- κ B P-P65 和 AQP4 蛋白表达水平显著低于 B、C 组, C 组显著低于 B 组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。HE 染色示, A 组脊髓中神经细胞正常, 无明显病变; B 组脊髓中损伤部位可见神经元细胞, 损伤处有出血、中性粒细胞浸润、神经细胞水肿; C 组脊髓中可见神经元细胞, 小胶质细胞轻度增生, 病变较 B 组好转。结论 SSa 通过抑制 NF- κ B 信号通路和 AQP4 蛋白的表达, 减轻急性脊髓损伤后机体炎症反应和组织水肿, 从而具有一定保护神经的功能。

【关键词】 柴胡皂苷 a; 脊髓损伤; 炎症反应; 水通道蛋白 4; 神经保护; 大鼠

Neuroprotective effects and mechanism of saikosaponin A on acute spinal cord injury in rats

ZHU Shuanglong^{1,2,3}, DUAN Huiquan^{1,2}, LIU Yingfu⁴, LI Guangzong⁵, LIU Yingjie^{1,2}, HUANG Mengqiang^{1,2}, CHEN Xuyi³, XU Yunqiang^{1,2}

1. Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin, 300070, P.R.China
2. Department of Orthopedics, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin, 300052, P.R.China
3. Department of Brain, Affiliated Hospital, Logistics University of People's Armed Police Force, Tianjin, 300162, P.R.China
4. Department of Cell Biology, Logistics University of People's Armed Police Force, Tianjin, 300309, P.R.China
5. Rescue Institute, Affiliated Hospital, Logistics University of People's Armed Police Force, Tianjin, 300162, P.R.China

Corresponding authors: CHEN Xuyi, Email: chenxuyi1979@126.com; XU Yunqiang, Email: docxu@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of saikosaponin a (SSa) on the levels of immune inflammation in rats with acute spinal cord injury and its possible mechanism. **Methods** Seventy-two Sprague Dawley rats (weighing, 220-250 g) were randomly divided into sham operation group (group A), spinal cord injury group (group B), and SSa treatment group (group C) respectively, 24 rats in each group. The spinal cord injury model was induced by using the Allen's method in groups B and C; the spinous process and vertebral plate at both sides were cut off by lamina excision

DOI: 10.7507/1002-1892.201702106

基金项目: 国家科技重点研发计划资助项目 (2016YFC1101500); 国家自然科学基金面上项目 (11672332); 国家自然科学基金青年项目 (81101362)

通信作者: 陈旭义, Email: chenxuyi1979@126.com; 徐云强, Email: docxu@sina.com

to expose the spinal cord in group A. The rats were given intraperitoneal injection of 10 mg/kg SSa in group C and equal volume of normal saline in group B at immediate after injury. The spinal cord tissue was harvested from 18 rats of each group at 24 hours after operation to measure the levels of tumor necrosis factor α (TNF- α) and interleukin 6 (IL-6) by ELISA, to detect the expressions of nuclear factor κ B (NF- κ B) P65, NF- κ B P-P65, and aquaporin 4 (AQP4) by Western blot and to observe the morphology of spinal cord by HE staining. The motor function of the lower limbs was evaluated by BBB score and tiltboard experiment in 6 rats at 1, 3, 7, 14, 21, and 28 days after injury. **Results** The BBB score and tiltboard experiment maximum angle were significantly higher in group A than groups B and C at each time point ($P < 0.05$) and in group C than group B at 14, 21, and 28 days after operation ($P < 0.05$). ELISA test showed that the concentrations of TNF- α and IL-6 were significantly lower in group A than groups B and C, and in group C than group B ($P < 0.05$). Western blot results showed that the protein expression levels of NF- κ B P65, NF- κ B P-P65, and AQP4 were significantly lower in group A than groups B and C, and in group C than group B ($P < 0.05$). HE staining demonstrated normal neurons of the spinal cord and no obvious lesion in group A; neuronal cells were observed in the injured area of group B, with hemorrhage, neutrophil infiltration, and nerve cell edema in the injured area; the neuronal cells were visible in the spinal cord of group C, with microglia mild hyperplasia, and the pathological changes were improved when compared with group B. **Conclusion** SSa has neuroprotective effects on acute spinal cord injury in rats by inhibiting NF- κ B signaling pathway and AQP4 protein expression and reducing inflammation response and edema.

【Key words】 Saikosaponin a; spinal cord injury; inflammation response; aquaporin-4; neuroprotection; rat

Foundation items: National Key Research and Development Plan of China (2016YFC1101500); National Natural Science Foundation for General Program of China (11672332); National Natural Science Foundation for Youths of China (81101362)

近年来,脊髓损伤发病率不断增加,临床上对脊髓损伤病理机制的理解和早期治疗等方面取得了一些进展,但成果均不理想^[1]。目前观点认为,脊髓损伤后引起的继发性损伤导致的组织出血、水肿、细胞凋亡、免疫炎症等级联反应对脊髓神经组织的破坏具有重要作用并影响预后,其中炎性反应在脊髓继发性损伤中扮演了重要角色^[2]。脊髓损伤后组织水肿、血管-脊髓屏障损伤和神经元坏死与炎性反应密切相关,神经再生被抑制^[3]。炎性反应刺激以及微血管破坏激发了水通道蛋白4(aquaporin 4, AQP4)高表达,加重了神经细胞水肿,加速细胞凋亡^[4]。

随着我国传统中医学的发展,中医药对脊髓损伤治疗的作用越来越被重视^[5-7]。柴胡皂苷a(saikosaponin a, SSa)是源自柴胡的主要活性成分,分子式为 $C_{42}H_{68}O_{13}$,相对分子质量为780.98,其药理学作用广泛,具有抗炎、免疫调节及抗菌等作用^[8]。近年研究发现,SSa在颅脑创伤后能显著降低脑组织水肿蛋白AQP4表达,具有抗氧化应激反应和抗炎性反应,从而促进神经功能恢复,但相关作用机制仍未明确^[9]。

本实验通过建立大鼠脊髓损伤模型,腹腔注射SSa,观察比较损伤脊髓组织形态结构变化以及水肿蛋白AQP4、蛋白NF- κ B P65、蛋白NF- κ B P-P65、炎性因子表达情况,探讨SSa对大鼠脊髓损伤后的

保护作用机制,为预防和治疗脊髓损伤提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物及主要试剂、仪器

健康成年雌性SD大鼠72只,体质量220~250g,由中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所提供。

一抗大鼠NF- κ B P65、NF- κ B P-P65、AQP4抗体(Abcam公司,美国);SSa(上海源叶生物科技有限公司);TNF- α ELISA、IL-6 ELISA抗体和相关试剂盒(武汉六合生物技术有限公司)。4℃低温离心机(Eppendorf公司,德国);酶标仪(Thermo Fisher Scientific公司,芬兰);CO₂细胞培养箱(Forma Scientifis公司,美国);高压灭菌箱(山东新华医疗器械有限公司);快速组织细胞破碎仪(上海净信科技有限公司);倒置相差显微镜(Nikon公司,日本)。

1.2 实验分组及方法

将SD大鼠随机分为3组:假手术组(A组)、脊髓损伤组(B组)和SSa处理组(C组),每组24只。A组大鼠以5%水合氯醛(0.6 mL/100 g)腹腔注射麻醉后,仅切除T₉~T₁₁椎板,不作其他处理。B、C组参考文献[2, 6]方法,利用改良Allen重物打击法制作大鼠脊髓损伤模型:同上法麻醉大

鼠后,沿肩胛骨向下逐个计数直至定位 T_{10} ;以 T_{10} 为中心逐层分离,暴露 $T_9 \sim T_{11}$ 节段,使用微型咬骨钳咬除 $1/2(T_9 \sim T_{11})$ 棘突及其两侧椎板暴露脊髓。将重 10 g、直径 2.5 mm 打击锤定位打击位置于 T_{10} 节段,高度调整为 5 cm 后打击;打击后见大鼠双后肢抽动、甩尾,随后完全松弛,提示造模成功。C 组于造模后即刻用 5 mL 无菌注射器经腹部表皮斜刺进针,之后垂直入针,回抽判断是否回血,无回血则给予大鼠腹腔注射 SSa (10 mg/kg) 1 次(根据文献[9],本实验选择 5、10、20 mg/kg 药物浓度进行比较,确定 10 mg/kg 为最优药物浓度选择);BBB 评分和斜板实验大鼠每天腹腔注射 1 次,连续 1 周。B 组注入等量生理盐水。术后大鼠单笼饲养,防止感染。术后 24 h 各组分别取 18 只大鼠同上法麻醉后,取损伤节段脊髓组织保存待测;每组其余 6 只大鼠采用 BBB 评分和斜板实验评价双下肢运动恢复情况。

1.3 观测指标

1.3.1 BBB 评分 术后 1、3、7、14、21、28 d 采用 BBB 评分评价各组大鼠后肢运动功能,取每只大鼠左右侧肢体评分均值作为最终评分。

1.3.2 斜板实验 术后 1、3、7、14、21、28 d 进行斜板实验,在斜板上将鼠头朝向上、下、左、右,记录其保持 5 s 的最大角度。

1.3.3 ELISA 检测 取出保存的各组脊髓组织,加入 PBS 溶液后,在组织细胞破碎仪中以 $900 \times g$ 匀浆 6 min,低温条件下 (4°C) 以 $450 \times g$ 离心 20 min;取上清液,按照 TNF- α 、IL-6 ELISA 试剂盒说明书进行操作,加终止液后混匀,酶标仪进行检测,测量脊髓组织中炎症因子 TNF- α 、IL-6 表达浓度。

1.3.4 Western blot 检测 取出保存的各组脊髓组织,称重后加入一定量蛋白裂解液,放置于组织细胞破碎仪中研磨,充分裂解;以 $12\ 000 \times g$ 离心 15 min,取出上清,BCA 法测定总蛋白浓度。经过加样、电泳、转膜、封闭、一抗 $1:5\ 000$ 孵育过夜,二抗 $1:10\ 000$ 孵育 1 h,加入显色剂显色,以 GAPDH 作为内参。显影仪显影,Image J 软件测算蛋白灰度值,计算目的蛋白 NF- κB P65、NF- κB P-P65 和 AQP4 蛋白与 GAPDH 灰度值的比值,作为其相对表达量。

1.3.5 HE 染色观察 术后 24 h 采用多聚甲醛灌注,取出各实验组脊髓组织,置于 4% 多聚甲醛固定 48 h,石蜡包埋,从损伤脊髓中心部位连续切片,片厚 $5\ \mu\text{m}$,行 HE 染色,倒置相差显微镜下观察脊髓损伤处灰质区的形态学改变。

1.4 统计学方法

采用 SPSS22.0 统计软件进行分析。数据以均值 \pm 标准差表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 检验;检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 BBB 评分和斜板实验

术后各组大鼠均顺利存活至实验完成,切口无红肿等感染表现。术后各时间点 A 组 BBB 评分和斜板实验最大角度均显著高于 B、C 组,差异有统计学意义 ($P<0.05$);术后 14、21、28 d C 组上述指标显著高于 B 组,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见图 1、2。

2.2 ELISA 检测

A、B、C 组 TNF- α 浓度分别为 (124.90 ± 16.16)、(622.30 ± 21.61)、(384.50 ± 16.22) pg/mL,IL-6 浓度分别为 (77.30 ± 16.41)、(197.50 ± 4.59)、(127.10 ± 10.69) pg/mL。A 组 TNF- α 、IL-6 浓度显著低于 B、

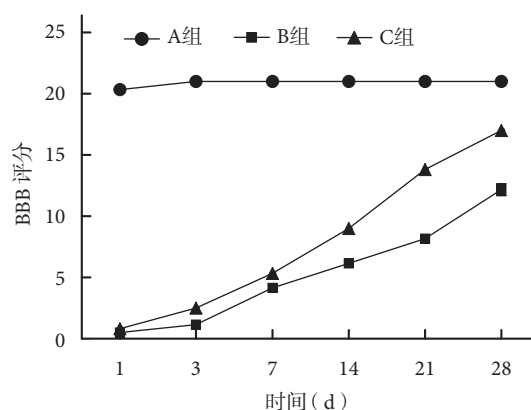


图 1 术后各时间点各组大鼠后肢运动功能 BBB 评分
Fig.1 BBB scores of rats hindlimb motor function at each time point after operation in each group

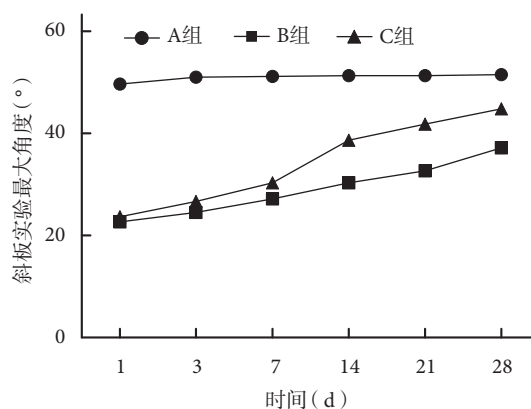


图 2 术后各时间点各组大鼠斜板实验最大角度
Fig.2 The maximum angle of tiltboard experiment in rats of each group at each time point after operation

C 组, C 组显著低于 B 组, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。

2.3 Western blot 检测

A 组 NF- κ B P65、NF- κ B P-P65 和 AQP4 蛋白相对表达量均显著低于 B、C 组, C 组均显著低于 B 组, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。见图 3、表 1。

2.4 HE 染色观察

A 组脊髓中神经细胞正常, 无明显病变; B 组脊髓中损伤部位可见神经元细胞, 损伤处有出血、中性粒细胞浸润、神经细胞水肿; C 组脊髓中可见神经元细胞, 小胶质细胞轻度增生, 病变较 B 组好转。见图 4。

3 讨论

脊髓受损后一定程度的炎性反应对机体可起到一定的防御保护作用^[10]。然而, 包括脊髓在内的中枢神经系统轴突再生及受损神经元的补充能力有限; 因此脊髓损伤后炎症所产生的不利影响比其他组织更明显^[11]。有研究指出, TNF- α 和 IL-6 是

表 1 术后 24 h 各组 NF- κ B P65、NF- κ B P-P65 和 AQP4 蛋白相对表达量比较 ($n=3, \bar{x}\pm s$)

Tab.1 The relative expressions of NF- κ B P65, NF- κ B P-P65, and AQP4 proteins in each group at 24 hours after operation ($n=3, \bar{x}\pm s$)

组别 Group	NF- κ B P65	NF- κ B P-P65	AQP4
A	0.17 \pm 0.01 ^{*#}	0.24 \pm 0.01 ^{*#}	0.15 \pm 0.04 ^{*#}
B	1.67 \pm 0.06 [*]	1.19 \pm 0.05 [*]	1.18 \pm 0.04 [*]
C	0.84 \pm 0.06 [#]	0.88 \pm 0.04 [#]	0.63 \pm 0.06 [#]
统计值 Statistic	$F=104.17$ $P= 0.00$	$F=160.34$ $P= 0.00$	$F=140.58$ $P= 0.00$

^{*}与 B 组比较 $P<0.05$, [#]与 C 组比较 $P<0.05$
^{*}Compared with group B, $P<0.05$; [#]compared with group C, $P<0.05$

重要的促炎因子, 其中 TNF- α 是一个关键性因子, 介导上游下游多种炎症信号通路^[12-13]。徐玉生等^[14]研究表明, 脊髓损伤后 1 h, TNF- α 表达显著增强, 损伤后 12 h 表达最高。TNF- α 、IL-6 等炎性因子大量表达后, 进一步加重局部炎性反应, 导致细胞凋亡^[2, 15]。本研究发现, 与 A 组相比较, B 组 TNF- α 、IL-6 表达水平明显升高 ($P<0.05$), 说明脊髓损伤后发生炎性反应。进行 SSa 治疗后, C 组 TNF- α 、IL-6 表达水平较 B 组降低 ($P<0.05$), 说明 SSa 可抑制脊髓损伤后炎性反应, 从而改善机体炎性反应, 发挥神经保护作用。

由同源和异源二聚体组成的 NF- κ B 是一种参与调节炎症和细胞存活反应相关基因表达的转录因子^[16]。正常情况下, NF- κ B 普遍存在于真核细胞, 经一定刺激后可迅速对有害细胞作出反应, 参与炎性反应, 上调包括 TNF- α 、IL-1、IL-6、IL-8 及氧自由基等一系列炎性介质^[15, 17]。有文献报道, 在脊髓损伤中 NF- κ B 信号通路是调控炎性反应的主要影响信号途径, 从而影响炎性反应的进程^[2]。Bethea 等^[18]发现在脊髓损伤后 30 min NF- κ B 开始异常活化, 24 h 达高峰, 并且在神经元中发现了 NF-

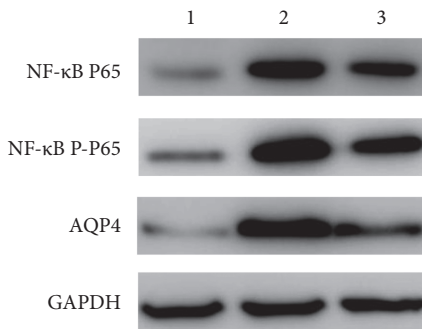


图 3 Western blot 检测术后 24 h 各组各蛋白表达 1: A 组 2: B 组 3: C 组

Fig.3 The expressions of proteins at 24 hours after operation in each group by Western blot 1: Group A 2: Group B 3: Group C

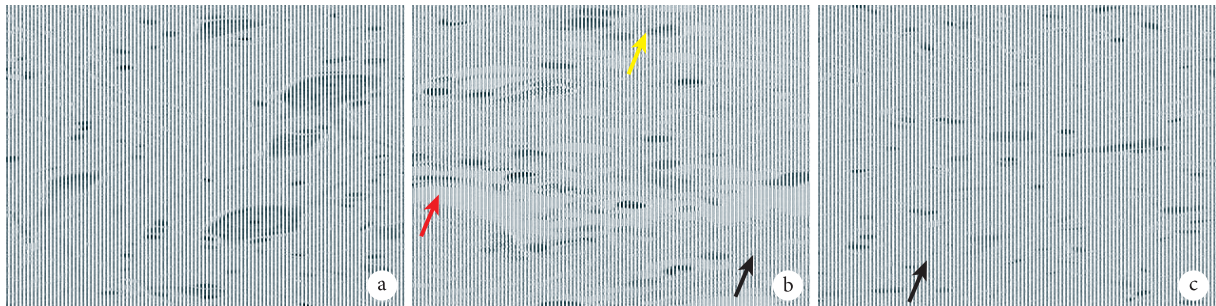


图 4 术后 24 h 各组 HE 染色观察 (倒置相差显微镜 $\times 200$) 红箭头示出血, 黑箭头示中性粒细胞浸润, 黄箭头示神经细胞水肿 a. A 组; b. B 组; c. C 组

Fig.4 HE staining observation at 24 hours after operation in each group (Inverted phase contrast microscope $\times 200$) Red arrow for hemorrhage, black arrow for neutrophil infiltration, and yellow arrow for nerve cell edema a. Group A; b. Group B; c. Group C

κB 和其目标基因产物诱导型 NO 合成酶的共定位染色。因此,抑制 NF- κB 信号通路蛋白基因表达可减轻脊髓损伤后炎症反应,从而改善脊髓损伤后的功能恢复^[19]。本实验研究发现, B 组 NF- κB 信号通路蛋白 P65 和 P-P65 表达水平较 A 组明显提高 ($P < 0.05$); 对 C 组进行 SSa 治疗后, NF- κB 信号通路蛋白 P65 和 P-P65 表达水平较 B 组降低 ($P < 0.05$)。综上,实验结果提示 SSa 可通过抑制 NF- κB 炎性信号通路减轻脊髓损伤后炎症反应,从而发挥保护神经作用。

AQP4 是中枢神经系统调节水通透性的主要分子途径,主要分布于星形胶质细胞的终足和血管内皮细胞,目前已成为脊髓损伤的研究热点^[20]。无论是脑还是脊髓损伤后, AQP4 的表达都会发生明显变化,从而影响组织中的血管源性水肿和细胞毒性水肿的发生、发展^[21]。Ito 等^[22]等研究表明, NF- κB 作为重要的核转录因子,阻断其信号通路能明显抑制 IL-1 β 诱导的脑 AQP4 蛋白及其 mRNA 的表达,说明 NF- κB 活性的改变参与了 AQP4 的表达调控。此外,李野^[23]在大鼠脊髓损伤实验研究中证明, NF- κB 信号通路参与了脊髓损伤后 AQP4 的表达调节以及脊髓水肿的形成。本实验 AQP4 的表达结果与上述文献一致,与 A 组正常脊髓组织比较,脊髓损伤后 B 组 AQP4 表达水平明显提高 ($P < 0.05$); 给予 SSa 治疗后, C 组 AQP4 表达水平较 B 组下降 ($P < 0.05$),说明该药物可减轻脊髓损伤后组织水肿,从而发挥神经保护作用。

综上所述,本研究发现 SSa 对脊髓损伤后的脊髓具有一定神经保护作用。其可能作用机制是通过抑制 NF- κB 信号通路和 AQP4 蛋白的表达,降低脊髓损伤后早期机体炎性因子的水平,从而减轻机体炎症反应和组织水肿。本研究结果能够对脊髓损伤的治疗提供一定思路和依据。

参考文献

- Kong X, Gao J. Macrophage polarization: a key event in the secondary phase of acute spinal cord injury. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(5): 941-954.
- 徐立, 梁军, 金涛, 等. 芒果苷对大鼠急性脊髓损伤的保护作用及相关机制研究. *中国修复重建外科杂志*, 2016, 30(8): 1019-1925.
- Guo L, Quan ZX, Zhao ZH, *et al.* Effects of musk ketone on nerve recovery after spinal cord injury. *Genet Mol Res*, 2015, 14(2): 2958-2963.
- 万峪岑, 孙师, 赵利娜, 等. 小剂量超短波治疗对大鼠脊髓损伤后炎症反应及水肿的影响. *中国康复理论与实践*, 2016, 22(2): 150-155.
- Zhang C, Ma J, Fan LH, *et al.* Neuroprotective effects of safranal in a rat model of traumatic injury to the spinal cord by anti-apoptotic, anti-inflammatory and edema-attenuating. *Tissue Cell*, 2015, 47(3): 291-300.
- Liu CJ, Shi ZB, Fan LH, *et al.* Resveratrol improves neuron protection and functional recovery in rat model of spinal cord injury. *Brain Res*, 2011, 1374: 100-109.
- Khanna S, Park H, Sen C *et al.* Neuroprotective and antiinflammatory properties of a novel demethylated curcuminoid. *Antioxid Redox Signal*, 2009, 11(3): 449-468.
- Xie W, Yu YH, Du YP, *et al.* Saikosaponin a Enhances Transient Inactivating Potassium Current in Rat Hippocampal CA1 Neurons. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 413092.
- Mao X, Miao GZ, Tao XG, *et al.* Saikosaponin a protects TBI rats after controlled cortical impact and the underlying mechanism. *Am J Transl Res*, 2016, 8(1): 133-141.
- Hohlfeld R, Kerschensteiner M, Meinel E. Dual role of inflammation in CNS disease. *Neurology*, 2007, 68(Suppl 3): S58-S63.
- 王涛丽, 顾兵, 李华南, 等. 急性脊髓损伤后的炎症反应及其抗炎治疗. *中国药理学通报*, 2015, 31(4): 452-457.
- 赵梦滢, 朱钰文, 黄立丹, 等. 肿瘤坏死因子- α 与脊髓损伤的研究进展. *神经损伤与功能重建*, 2016, 11(2): 155-157.
- Zhang X, Shi LL, Gao X, *et al.* Lentivirus-mediated inhibition of tumour necrosis factor- α improves motor function associated with PRDX6 in spinal cord contusion rats. *Sci Rep*, 2015, 5: 8486.
- 徐玉生, 张松, 金伟林, 等. 褪黑素对大鼠脊髓损伤后肿瘤坏死因子- α 表达的影响. *郑州大学学报(医学版)*, 2014, 49(1): 41-44.
- Pishva1 AA, Akbari M, Farahabadi A, *et al.* Effect of estrogen therapy on TNF- α and iNOS gene expression in spinal cord injury model. *Acta Med Iran*, 2016, 54(5): 296-301.
- Liu XH, Bauman WA, Cardozo C, ANKRD1 modulates inflammatory responses in C2C12 myoblasts through feedback inhibition of NF- κB signaling activity. ANKRD1 modulates inflammatory responses in C2C12 myoblasts through feedback inhibition of NF- κB signaling activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 464(1): 208-213.
- Yarar-Fisher C, Bickl CS, Kelly NA, *et al.* Heightened TWEAK-NF- κB signaling and inflammation-associated fibrosis in paralyzed muscles of men with chronic spinal cord injury. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2016, 310(9): E754-761.
- Bethea JR, Castro M, Keane RW, *et al.* Traumatic spinal cord injury induces nuclear factor- κB activation. *J Neurosci*, 1998, 18(9): 3251-3260.
- Brambilla R, Bracchi-Ricard V, Hu WH, *et al.* Inhibition of astroglial nuclear factor κB reduces inflammation and improves functional recovery after spinal cord injury. *J Exp Med*, 2005, 202(1): 145-156.
- Okłinski MK, Skowronska M, Skowronska AT, *et al.* Aquaporins in the Spinal Cord. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(12): pii: E2050.
- Liu X, Wang Y, Yang J, *et al.* Anti-edema effect of melatonin on spinal cord injury in rats. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2015, 159(2): 220-226.
- Ito H, Yamamoto N, Arima H, *et al.* Interleukin-1 β induces the expression of aquaporin-4 through a nuclear factor- κB pathway in rat astrocytes. *J Neurochem*, 2006, 99(1): 107-118.
- 李野. AQP4 和 Kir4.1 在急性脊髓损伤后脊髓水肿中的作用机制研究. 吉林: 吉林大学, 2015.