

TGF-β1/Smad3 信号通路在阻塞性睡眠呼吸暂停综合征大鼠认知障碍中的作用

薛志远¹, 岳宇娇², 黄琴², 徐源², 周雪¹, 向桃¹, 程明¹, 徐平²

摘要 **目的:**探讨 TGF-β1/Smad3 信号通路在阻塞性睡眠呼吸暂停综合征(OSAS)所致认知功能障碍中的作用及 TGF-β1 的调控作用。**方法:**应用慢性间歇性缺氧方式(CIH)建造 OSAS 模型, TGF-β1 抑制剂选择 Disiterid(别名 P144)。成年雄性 SD 大鼠 42 只随机分为 7 组:正常对照组(N组)、CIH 1W 组、CIH 2W 组、CIH 3W 组、CIH 4W 组、CIH 4W+P144 组、CIH 4W+DMSO 组, 每组 6 只; 分别给予不同的缺氧时间, 其中 CIH 4W+P144 组和 CIH 4W+DMSO 组于造模前分别腹腔内注射 P144(70 μg/kg)和二甲亚砜(1 ml/kg), 隔日 1 次。造模后, 采用水迷宫实验检测大鼠学习及记忆能力, 尼氏染色法观察各组大鼠海马 CA1 及 CA3 区的病理学改变, 免疫印迹法对各组大鼠海马组织中 TGF-β1、tSmad3、pSmad3 蛋白定量检测。**结果:**OSAS 模型大鼠出现白天嗜睡、烦躁等表现, 缺氧期间相比复氧相间平均血氧饱和度下降>4%($P<0.05$), 造模成功。水迷宫实验中, 与 N 组相比, CIH 2W、3W、4W 时间点组大鼠逃避潜伏期延长, 穿越平台次数减少(均 $P<0.05$); 与 CIH 4W+DMSO 组相比, CIH 4W+P144 组大鼠逃避潜伏期缩短, 穿越平台次数增加(均 $P<0.05$)。尼氏染色光镜观察结果显示, OSAS 模型大鼠部分神经细胞结构破坏、尼氏小体数量减少溶解、胞浆着色浅、最终尼氏小体消失; CIH 4W+P144 组尼氏小体数量多, 且结构较完整, 细胞受损程度相对轻。与 N 组比较, TGF-β1、pSmad3 在 CIH 1W、2W、3W、4W 时间点的蛋白表达量递增(均 $P<0.05$); 与 CIH 4W+DMSO 组比较, CIH 4W+P144 组 TGF-β1、pSmad3 蛋白表达量表达下降(均 $P<0.05$)。**结论:**OSAS 大鼠存在认知功能障碍, TGF-β1/Smad3 信号通路被激活, 特异性抑制 TGF-β1 后 OSAS 认知障碍大鼠的空间学习能力及记忆能力一定程度上得到改善。

关键词 阻塞性睡眠呼吸暂停综合征; 认知功能障碍; TGF-β1; Smad3

中图分类号 R741; R741.02; R743 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20211050

本文引用格式:薛志远, 岳宇娇, 黄琴, 徐源, 周雪, 向桃, 程明, 徐平. TGF-β1/Smad3 信号通路在阻塞性睡眠呼吸暂停综合征大鼠认知障碍中的作用[J]. 神经损伤与功能重建, 2023, 18(2): 63-67.

Effect of TGF-β1/Smad3 Signaling Pathway on Cognitive Impairment in Obstructive Sleep Apnea Syndrome Rats XUE Zhi-yuan¹, YUE Yu-jiao², HUANG Qin², XU Yuan², ZHOU Xue¹, XIANG Tao¹, CHENG Ming¹, XU Ping². 1. Sichuan Provincial People's Hospital Jinniu Hospital, Chengdu 610032, China; 2. Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guizhou Zunyi, 563099, China

Abstract Objective: To investigate the effect of the TGF-β1/Smad3 signaling pathway on cognitive dysfunction from obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) and the regulation of TGF-β1. **Methods:** Chronic intermittent hypoxia (CIH) was used to construct the OSAS model. Disiterid (P144) was selected for TGF-β1 inhibition. Forty-two adult male SD rats were randomly divided into the following 7 groups with 6 rats in each: normal control (N) group, CIH 1 week (1W) group, CIH 2W group, CIH 3W group, CIH 4W group, CIH 4W+P144 group, and CIH 4W+DMSO group. Rats in each group were subjected to hypoxia for the corresponding duration of time. CIH 4W+P144 group rats and CIH 4W+DMSO group rats were intraperitoneally injected with P144 (70 μg/kg) and DMSO (1 mL/kg) respectively, once every other day, before modeling. After model establishment, the Morris water maze (MWM) was used to detect the learning and memory ability of the rats; Nissl staining was used to observe the hippocampal CA1 and CA3 neurons for pathological changes; and Western blotting was used to quantitatively detect TGF-β1, tSmad3, and pSmad3 proteins in the hippocampus of rats in each group. **Results:** OSAS model rats displayed daytime sleepiness and irritability and compared with in reoxygenation time, the mean oxygen saturation decreased by > 4% in hypoxia time ($P<0.05$), which indicating successful model establishment. For rats in the CIH 2W, 3W, and 4W groups compared to those in the N group, escape latency was prolonged, and the number of platform crossings was decreased (all $P<0.05$) in MWM. Compared to rats in the CIH 4W+DMSO group, rats in the 4W+P144 showed a decreased escape latency and increased platform crossings (all $P<0.05$). Nissl staining in OSAS model rats showed nerve cell structural damage, reduced numbers of Nissl bodies, lightly stained cytoplasm, and the eventual disappearance of Nissl bodies. The CIH 4W+P144 group showed a large number of Nissl bodies and relatively complete structure, with the degree of cell damage being relatively light. Compared to that in N group rats, the expression of TGF-β1 and pSmad3 in the CIH 1W, 2W, 3W, and 4W rats was increased (all $P<0.05$). The expression of TGF-β1 and

作者单位

1. 成都市金牛区人民医院

成都 610032

2. 遵义医科大学附属医院

贵州 遵义 563099

基金项目

国家自然科学基金(No. 82060218);

贵州省科技厅贵州省科技计划项目

(No. 黔科合支撑[2019]2796号);

遵义医学院神经病学研究生工作站

(No. GZZ2017004); 成都市卫健委科研课题(No. 2021304)

收稿日期

2021-12-26

通讯作者

徐平

xuping527@vip.

sina.com

pSmad3 protein decreased in the 4W+P144 group compared with the 4W+DMSO group (all $P<0.05$). **Conclusion:** The TGF- β 1/Smad3 signaling pathway is activated in cognitive dysfunction in OSAS rats. The spatial learning and memory ability of cognitively impaired OSAS rats is improved to some extent after specific inhibition of TGF- β 1.

Keywords obstructive sleep apnea syndrome; cognitive dysfunction; TGF- β 1; Smad3

阻塞性睡眠呼吸暂停综合征 (obstructive sleep apnea syndrome, OSAS) 是一种以全部或局部上呼吸道阻塞为特征的睡眠呼吸障碍性疾病^[1]。缺氧后复氧是 OSAS 最主要的病理生理过程, OSAS 可导致认知功能衰退, 表现为学习记忆力差、警惕性下降等^[2]。有影像学报道, OSAS 患者大脑左侧海马内侧皮质、左后顶叶皮质、右侧额上回的灰质体积减少, 这些脑区域结构变化诱发脑功能变化, 最终导致认知受损^[3]。转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)/Smad 信号转导途径参与神经发育及损伤修复, 在中枢神经系统疾病中高度活跃, 如脑肿瘤、脑积水等, 损害神经元, 使疾病恶化^[4,5]。我们提出科学假想, TGF- β 1/Smad3 信号转导途径是否参与 OSAS 大鼠认知功能障碍? 对认知功能到底起保护作用还是损害作用? 基于以上思考, 本实验拟经慢性间断性缺氧 (chronic intermittent hypoxia, CIH), 建造 OSAS 大鼠模型, 并采用 TGF- β 1 抑制剂选择 Disitertid (别名 P144) 进行阻断通路, 从行为学、病理学等角度出发, 探索 TGF- β 1/Smad3 信号转导途径与认知功能之间的关系。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与材料

1.1.1 实验动物 成年健康雄性 SD 大鼠 42 只, SPF 级, 体质量 170 ~ 200 g, 购于长沙市天勤生物技术有限公司[许可证号: SCXK(湘)2014-0011]。

1.1.2 主要试剂 TGF- β 1 抗体、Smad3 抗体、pSmad3 抗体、GAPDH 抗体购于 Abcom 公司; 尼氏染色试剂盒购于北京雷根生物技术有限公司; 兔抗二抗购于万类生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及处理 SD 大鼠适应性饲养 1 周后随机分为 7 组: 正常对照组 (N 组)、CIH 1W 组、CIH 2W 组、CIH 3W 组、CIH 4W 组、CIH 4W+P144 组、CIH 4W+DMSO 组, 每组 6 只。在借鉴 Fletcher、Li 等^[6]建模方法的基础上, 改进 CIH 并建造 OSAS 大鼠模型。将各 CIH 各组大鼠置于动物低氧舱内, 氧气浓度 (8.0 $\pm$ 0.5)%, 维持 90 s 后将大鼠从低氧舱内取出复氧, 90 s 后再次放入低氧舱中, 重复循环, 8 h/d, 持续 4 周, 记录

大鼠尾动脉血氧饱和度。其中 CIH 4W+P144 组、CIH 4W+DMSO 组大鼠于建模前 30 min 分别腹腔内注射 P144 (70 μ g/kg) 或 DMSO (1 mL/kg), 隔日 1 次。第 5 周行水迷宫实验, 检测大鼠的学习和记忆能力。水迷宫实验后灌注处死大鼠, 取出海马组织。

1.2.2 Morris 水迷宫行为学测试 适应性训练 1 d 避免大鼠应激。隐蔽平台实验 5 d, 统计 120 s 内大鼠找到水池内隐蔽平台的时间; 找不到平台的大鼠, 将其引领至平台停留 10 s, 找寻平台时间记做 120 s。空间探索实验: 第 7 天拆除水池内平台, 统计 120 s 内每只大鼠穿过平台位置的次数。

1.2.3 尼氏染色法 取大鼠海马组织后切片 (5 μ m)、脱蜡 (二甲苯溶液及梯度酒精各 3 min)、清洗、染色 (暗房, 亚甲蓝约 30 μ L, 56 $^{\circ}$ C 恒温箱 60 min)、清洗、分化 (暗房, 滴加 Nissl Differentiation 约 30 μ L)、清洗、脱水、干燥、中性树脂封片、光学显微镜下采图。

1.2.4 蛋白免疫印迹法 取大鼠海马组织后蛋白提取、定性及变性、电泳、电转、封闭及一、二抗孵育、曝光、图像结果分析, 其中一抗浓度 TGF- β 1 1:100、Smad3 1:100、pSmad3 1:500, 二抗 IgG 浓度 1:5000。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 18.0 软件处理数据。符合正态分布以及方差齐性的计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 采用配对 t 检验统计分析鼠尾动脉血氧饱和度值, 重复测量数据的方差分析水迷宫数据计, 单因素方差分析蛋白表达水平; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OSAS 大鼠模型的评定

CIH 各时间点组、CIH 4W+P144 组、CIH 4W+DMSO 组大鼠在低氧处理期间均有烦躁、白天嗜睡、憋醒等症状, 缺氧期间大鼠尾动脉血压饱和度为 (67.61 $\pm$ 7.03)%, 自然空气环境复氧期间 (95.44 $\pm$ 2.71)%, 缺氧相与复氧相间相比大鼠平均血氧饱和度下降 >4%, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$), 建模成功。

2.2 大鼠学习和记忆能力改变

水迷宫定位航行实验中, 各组大鼠逃避潜伏期见表 1; N 组、CIH 1W 组、CIH 2W 组、CIH 3W 组、CIH 4W

组、CIH 4W+DMSO组及CIH 4W+P144组空间探索时穿越平台次数分别为(4.10±0.85)次、(3.65±0.98)次、(2.70±1.08)次、(2.15±0.74)次、(1.00±0.72)次、(1.05±0.82)次及(3.05±0.68)次。分析显示,与N组相比,CIH 1W组大鼠的逃避潜伏期及穿越平台次数差异无统计学意义($P>0.05$),而2W、3W、4W时间点组大鼠逃避潜伏期延长,穿越平台次数减少(均 $P<0.05$);与CIH 4W+DMSO组相比,CIH 4W+P144组大鼠逃避潜伏期缩短,穿越平台次数增加(均 $P<0.05$)。

2.3 尼氏染色光镜观察结果

尼氏染色光镜观察结果显示,N组大鼠海马CA1和CA3区尼氏小体数量多,结构完好,胞浆颜色深,胞核居中;CIH 4W组及CIH 4W+DMSO组部分细胞结构被破坏、尼氏小体数量减少溶解、胞浆着色浅、细胞由多极形变为圆形、尼氏小体消失;CIH 4W+P144组尼氏小体数量多,细胞浆着色较深,且结构较完整,细胞受损程度相对轻,见图1、图2。

2.4 TGF-β1、tSmad3、pSmad3蛋白的表达变化

各组大鼠海马组织中均检测到TGF-β1、Smad3及pSmad3蛋白的表达,与N组比较,TGF-β1、pSmad3在CIH 1W、2W、3W、4W时间点的蛋白表达量递增(均 $P<0.05$);而Smad3无明显变化($P>0.05$);与CIH 4W+DMSO组比较,CIH 4W+P144组TGF-β1、pSmad3蛋白表达量表达下降(均 $P<0.05$),而Smad3无明显变化($P>0.05$),见表2、图3。

3 讨论

3.1 OSAS损害大鼠认知功能

OSAS常由夜间睡眠期间反复气道塌陷所引起,睡眠期间歇性缺氧是其最主要的病理生理特征,导致大脑区域中参与学习和记忆的细胞结构破坏,并降低海马CA1、CA3区神经元兴奋性及海马长时程增强,影响学习、记忆能力等^[7]。关于OSAS动物模型构建尚无统一标准,国外OSAS模型需满足以下3个条件之一:

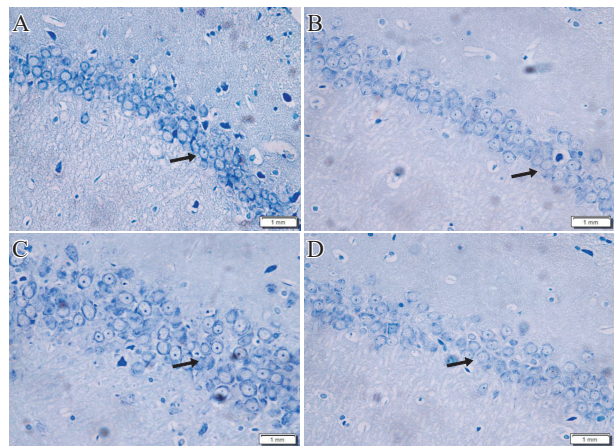
同质性(发病因素与人体相同)、同形性(临床症状与人体相似)、可预测(对治疗反应似与人体相似),而大多数OSAS模型只能部分同形;本研究采用的模型,是在睡眠期间发生阻塞性呼吸暂停,伴SpO₂下降至90%以下,伴上气道解剖结构异常,是最接近人类OSAS的动物模型^[8]。本次造模将各组大鼠置于舱内反复进行缺氧后再复氧,建模过程中各组大鼠烦躁、嗜睡等症状均表现于缺氧期间,鼠尾动脉血氧饱和度波动在(67.61±7.03)%,与OSAS患者临床症状相似,符合OSAS模型标准。与人类相似,OSAS大鼠白天嗜睡可能与低氧血症相关^[9]。最接近OSAS的试验模型是对大鼠进行气道阻塞并使用多导睡眠检测仪器进行呼吸暂停指数、微觉醒指数等检测,课题组既往曾使用透明质酸钠凝胶阻塞大鼠气道,虽能较好地阻塞气道,但大鼠死亡率高,故课题组参考国内外造模方法进行改造,该问题也是实验不足之处。

与身体其他部位相比,大脑需要更多的能量和氧气消耗,并且对缺氧更加敏感^[10],在慢性CIH条件下,OSAS大鼠海马CA1和CA3区细胞水肿、部分尼氏小体溶解,海马神经细胞结构的破坏渐进性地损害认知功能。水迷宫实验显示,CIH 1W大鼠学习、空间联想能力强,这可能因为CIH早期,大鼠海马功能处于代偿阶段,认知障碍发生的超早期。随CIH时间延长,海马功能结构及功能损害加重,由代偿期过度到失代偿期,损害学习、空间联想能力。已有研究发现CIH诱发神经系统炎症反应的证据:在CIH状态下,机体释放IL6、IL8、TNF-α等^[11]多种炎症因子进入血液,中断内皮细胞之间的紧密衔接,使炎症因子更容易穿过血脑屏障进入大脑,加速促炎细胞因子的趋化及释放,活化的小胶质细胞和星形胶质细胞放大炎症反应。在长期慢性炎症状态下,小胶质细胞介导的突触吞噬作用增强,Tau过度磷酸化,β-淀粉样蛋白集聚,触发神经细胞的凋亡及坏死^[12-15]。这一系列的调控可能发生在OSAS大鼠大脑内,造成大鼠海马细胞结构破坏,学习记忆及空间

表1 各组大鼠逃避潜伏期比较(s, $\bar{x}\pm s$)

组别	只数	第1天	第2天	第3天	第4天	第5天
N组	6	56.48±11.30	40.79±3.26	33.40±5.20	13.61±2.23	5.99±1.83
CIH 1W组	6	57.93±8.82	36.37±5.47	33.89±2.92	13.99±2.72	6.93±2.18
CIH 2W组	6	74.71±9.68 ^①	50.61±8.24 ^①	43.04±7.79 ^①	25.25±3.29 ^①	14.94±3.82 ^①
CIH 3W组	6	90.24±7.57 ^①	61.14±7.07 ^①	47.48±4.14 ^①	35.56±3.42 ^①	24.08±2.57 ^①
CIH 4W组	6	105.87±4.81 ^①	81.40±4.14 ^①	69.07±3.93 ^①	57.54±4.71 ^①	48.67±3.91 ^①
CIH 4W+DMSO组	6	107.93±6.36	79.55±4.23	68.12±3.24	54.72±3.84	46.86±5.06
CIH 4W+P144组	6	56.78±5.79 ^②	39.71±6.66 ^②	35.30±2.94 ^②	24.52±2.87 ^②	16.11±2.23 ^②

注:与N组比较,^① $P<0.05$;与CIH 4W+DMSO组比较,^② $P<0.05$



注：(A)N组；(B)CIH 4W组；(C)CIH 4W+P144组；(D)CIH 4W+DMSO组；各图箭头所指为CA1区尼氏小体形态变化

图1 大鼠海马组织CA1区尼氏染色图(40×,标尺=1 mm)

表2 各组大鼠海马TGF-β1、tSmad3、pSmad3蛋白IOD值比较($\bar{x}\pm s$)

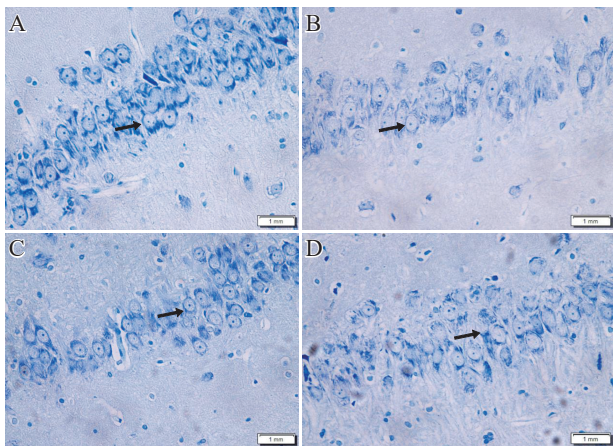
组别	只数	TGF-β1	tSmad3	pSmad3
N组	6	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
CIH 1W组	6	1.43±0.51 ^①	0.98±0.15	1.36±0.20 ^①
CIH 2W组	6	1.60±0.11 ^①	1.01±0.15	1.53±0.23 ^①
CIH 3W组	6	2.15±0.12 ^①	0.98±0.00	1.65±0.20 ^①
CIH 4W组	6	2.31±0.51 ^①	1.03±0.00	2.12±0.23 ^①
CIH 4W+DMSO组	6	2.32±0.35	0.98±0.00	2.09±0.55
CIH 4W+P144组	6	1.81±0.15 ^②	1.02±0.11	0.75±0.51 ^②

注：与N组比较，^① $P<0.05$ ；与CIH 4W+DMSO组比较，^② $P<0.05$

联想能力受损,最终导致认知功能障碍。

3.2 OSAS认知障碍大鼠激活TGF-β1/Smad3信号通路

TGF-β家族包含许多在胚胎发育和成体组织稳态期间具有不同功能的细胞因子,参与细胞增殖、分化及死亡,TGF-β1是TGF-β家族中的最重要成员之一。SMAD家族是目前已知的唯一TGF-β受体底物和信号转导媒介,是TGF-β家族发挥多种生物学效应的核心^[16]。据报道,TGF-β1/Smad信号转导途径参与神经系统多种难治性疾病,如:亨廷顿舞蹈症、肌萎缩性侧索硬化症等^[17,18]。本实验中,随缺氧时间延长,TGF-β1、pSmad3蛋白表达含量逐渐上调,OSAS认知障碍大鼠大脑内TGF-β1/Smad3信号通路处于开放状态,且伴有Smad3质核穿梭。TGF-β家族受体属于丝氨酸/苏氨酸激酶家族,其中Ⅱ型受体通过磷酸化Ⅰ型受体的GS区而激活Ⅰ型受体的激酶活性,TGF-β1/Smad3信号通路能够调控小胶质细胞影响丝氨酸激酶活性^[19]。同样,下游Smad蛋白的活性及蛋白稳定性受到多种激酶的



注：(A)N组；(B)CIH 4W组；(C)CIH 4W+P144组；(D)CIH 4W+DMSO组；各图箭头所指为CA3区尼氏小体形态变化

图2 大鼠海马组织CA3区尼氏染色图(40×,标尺=1 mm)

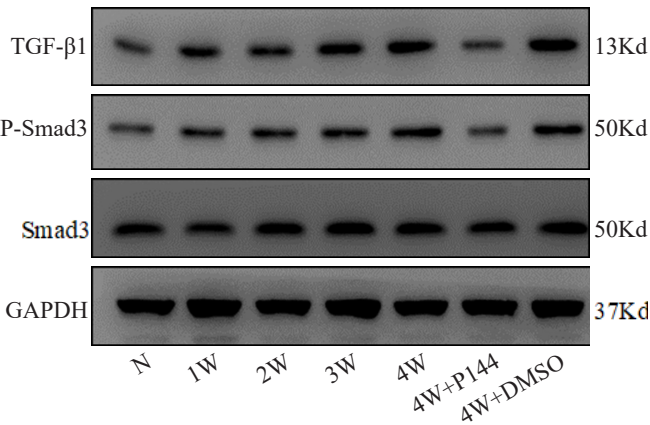


图3 大鼠海马区TGF-β1、tSmad3、pSmad3蛋白表水平(免疫印迹法)

调控,R-Smad的linker区富含丝氨酸与苏氨酸,其中很多位点都是脯氨酸导向激酶的靶点,Smad3在核孔蛋白和输入蛋白介导下结合输入蛋白β被转运至核内,承载生物学信息,调节受体的活性^[20,21]。本实验中OSAS大鼠体内炎症反应存在局部或全身,小胶质细胞作为免疫反应的第一道防线,成熟及分化受TGF-β1调控,活化状态下的小胶质细胞可能会通过影响丝氨酸激酶活性促使TGF-β1/Smad3信号通路异常开放,使TGF-β1蛋白表达上调,损害认知功能,小胶质细胞可能是缺氧、神经炎症、TGF-β1/Smad3信号转导途径异常激活的重要媒介^[22,23]。

3.3 抑制TGF-β1可改善OSAS大鼠认知功能障碍

P144是TGF-β1受体特异性抑制剂,能显著降低TGF-β1与其受体的结合率^[24]。本实验应用P144干预后,OSAS组大鼠海马CA1、CA3区细胞结构破坏减轻,尼氏小体数量相对较多,水迷宫行为学表现为空间学习能力及记忆能力改善,且免疫印迹检测可见TGF-β1、

pSmad3 蛋白表达水平下调。说明抑制 TGF- β 1 后 TGF- β 1/Smad3 信号通路活化受抑制, OSAS 大鼠的学习及记忆能力一定程度上得到改善。国外有类似的研究报道, 在阿尔茨海默病和血管性认知障碍中, TGF- β 1 可通过与血管紧张素 II (Ang II) 1 型受体(AT1R)信号传导途径的相互作用发挥损害作用^[25]; 在亨廷顿舞蹈病中, 海马区 TGF- β 1 水平升高会损害神经祖细胞增殖, 导致海马功能障碍, 最终导致学习及记忆能力下降^[17]。当然, 也有研究报道, TGF- β 1 通过调节突触重塑诱导海马长时程增强而改善认知功能^[26,27]。TGF- β 1 可能是导致认知障碍的原因之一, 但具体机制仍需更多的科学研究。

然而, 本实验亦有不足之处。首先, 模型建造没有在夜晚进行, 无法模拟人类的睡眠, 没有使用 TGF- β 1/Smad3 信号通路特异性激动剂, 无法研究该信号通路激活后大鼠认知功能及目的蛋白变化情况。其次, 水迷宫实验中没有对各组大鼠进行视力障碍及运动障碍的排查。最后, 没有行小胶质细胞、神经炎症因子的相关检测。在下一步实验中, 将课题组将完善本实验的不足, 深究 TGF- β 1/Smad3 信号通路导致 OSAS 大鼠认知障碍的机制。

参考文献

- [1] Chan MTV, Wang CY, Seet E, et al. Association of unrecognized obstructive sleep apnea with postoperative cardiovascular events in patients undergoing major noncardiac surgery[J]. *Jama*, 2019, 321: 1788-1798.
- [2] Wagner S, Quente J, Staedtler S, et al. A high risk of sleep apnea is associated with less postoperative cognitive dysfunction after intravenous anesthesia: results of an observational pilot study[J]. *BMC Anesthesiol*, 2018, 18: 139.
- [3] Canessa N, Castronovo V, Cappa S F, et al. Obstructive sleep apnea: brain structural changes and neurocognitive function before and after treatment[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 183: 1419.
- [4] Joseph JV, Balasubramanian V, Walenkamp A, et al. TGF- β as a therapeutic target in high grade gliomas-Promises and challenges[J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85: 478-485.
- [5] Yan H, Chen Y, Li L, et al. Decorin alleviated chronic hydrocephalus via inhibiting TGF- β 1/Smad/CTGF pathway after subarachnoid hemorrhage in rats[J]. *Brain Res*, 2016, 1630: 241-253.
- [6] Li C, Lu J, Zhang B. Development of a novel chronic intermittent hypoxia chamber[J]. *Sleep Breath*, 2012, 16: 177-179.
- [7] Rubin BR, Milner TA, Pickel VM, et al. Sex and age differentially affect GABAergic neurons in the mouse prefrontal cortex and hippocampus following chronic intermittent hypoxia[J]. *Exp Neurol*, 2020, 325: 113075.

- [8] Zhu X, Wang P, Liu H, et al. Changes and Significance of SYP and GAP-43 Expression in the Hippocampus of CIH Rats[J]. *Int J Med Sci*, 2019, 16: 394-402.
- [9] Vanek J, Prasko J, Genzor S, et al. Obstructive sleep apnea, depression and cognitive impairment[J]. *Sleep Med*, 2020, 72: 50-58.
- [10] Wang Z, Ying Z, Bosy-Westphal A, et al. Specific metabolic rates of major organs and tissues across adulthood: evaluation by mechanistic model of resting energy expenditure[J]. *Am J Clin Nutr*, 2010, 92: 1369-1377.
- [11] Chen HL, Lin HC, Lu CH, et al. Systemic inflammation and alterations to cerebral blood flow in obstructive sleep apnea[J]. *J Sleep Res*, 2017, 26: 789-798.
- [12] Liu X, Ma Y, Ouyang R, et al. The relationship between inflammation and neurocognitive dysfunction in obstructive sleep apnea syndrome[J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17: 229.
- [13] Noe CR, Noe-Letschnig M, Handschuh P, et al. Dysfunction of the Blood-Brain Barrier-A Key Step in Neurodegeneration and Dementia[J]. *Front Aging Neurosci*, 2020, 12: 185.
- [14] Walker KA, Ficek BN, Westbrook R. Understanding the Role of Systemic Inflammation in Alzheimer's Disease[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2019, 10: 3340-3342.
- [15] 胡曼, 赵虹, 陈准立, 等. 小胶质细胞在脑梗死治疗中的研究进展[J]. *神经损伤与功能重建*, 2022, 17: 31-34.
- [16] Massagué J. How cells read TGF-beta signals[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2000, 1: 169-178.
- [17] Naphade S, Embusch A, Madushani KL, et al. Altered Expression of Matrix Metalloproteinases and Their Endogenous Inhibitors in a Human Isogenic Stem Cell Model of Huntington's Disease[J]. *Front Neurosci*, 2018, 11: 736.
- [18] Grunseich C, Wang IX, Watts JA, et al. Senataxin Mutation Reveals How R-Loops Promote Transcription by Blocking DNA Methylation at Gene Promoters[J]. *Mol Cell*, 2018, 69: 426-437.
- [19] Dai F, Lin X, Chang C, et al. Nuclear export of Smad2 and Smad3 by RanBP3 facilitates termination of TGF-beta signaling[J]. *Dev Cell*, 2009, 16: 345-357.
- [20] Wrighton KH, Lin X, Feng XH. Phospho-control of TGF-beta superfamily signaling[J]. *Cell Res*, 2009, 19: 8-20.
- [21] Lin X, Duan X, Liang YY, et al. PPM1A functions as a Smad phosphatase to terminate TGFbeta signaling[J]. *Cell*, 2006, 125: 915-928.
- [22] Zöller T, Schneider A, Kleimeyer C, et al. Silencing of TGF β signalling in microglia results in impaired homeostasis[J]. *Nat Commun*, 2018, 9: 4011.
- [23] Hickman S, Izzy S, Sen P, et al. Microglia in neurodegeneration[J]. *Nat Neurosci*, 2018, 21: 1359-1369.
- [24] Ezquerro IJ, Lasarte JJ, Dotor J, et al. A synthetic peptide from transforming growth factor beta type III receptor inhibits liver fibrogenesis in rats with carbon tetrachloride liver injury[J]. *Cytokine*, 2003, 22: 12-20.
- [25] Ongali B, Nicolakakis N, Tong XK, et al. Transforming growth factor- β 1 induces cerebrovascular dysfunction and astrogliosis through angiotensin II type 1 receptor-mediated signaling pathways[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2018, 96: 527-534.
- [26] Nenov MN, Malkov AE, Konakov MV, et al. Interleukin-10 and transforming growth factor- β 1 facilitate long-term potentiation in CA1 region of hippocampus[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 518: 486-491.
- [27] Araujo AP, Diniz LP, Eller CM, et al. Effects of Transforming Growth Factor Beta 1 in Cerebellar Development: Role in Synapse Formation[J]. *Front Cell Neurosci*, 2016, 10: 104.

(本文编辑:唐颖馨)