

# 载脂蛋白 E 基因多态性在缺血性脑卒中中的研究进展

玉海涛 高洪梅 张天骄 陈岚 杨烁 纭玲 付源

【中图分类号】 R743.3 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2020)03-0395-05

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2020.03.028

缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)是遗传和环境因素相互作用导致脑组织血流异常所引起的兴奋性氨基酸毒性、线粒体功能障碍、细胞凋亡、炎症反应等病理过程,最终造成脑组织缺血坏死的疾病。已有多项研究表明载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE)通过其基因多态性和受体介导途径影响中枢神经系统(central nerve system, CNS)脂质代谢平衡、炎症反应、氧化应激、血脑屏障完整性、线粒体功能及细胞凋亡过程。靶向调节 ApoE 的脂质化程度和分泌的量、应用模拟肽干预 ApoE 结构域、特异性受体结合区的调控可以影响 IS 的发生、发展及预后。本研究旨在揭示 ApoE 在缺血性脑卒中发病机制中的最新研究进展,为缺血性脑卒中的预防和治疗提供理论依据。

IS 的病理过程极为复杂,是环境因素与多种遗传因素相互作用的结果<sup>[1]</sup>。脑缺血后会导致一系列缺血级联反应,主要表现为脑组织缺血缺氧、糖代谢障碍,引起离子泵失衡,膜电位去极化导致谷氨酸释放、过量钠钙内流进一步激活一氧化氮合酶导致氧化应激及自由基生成,此外谷氨酸摄取减少、释放增多及过量的钠钙内流都会引起兴奋性氨基酸毒性作用,进一步促进氧化应激和自由基生成,最终加重炎症反应和细胞凋亡<sup>[2]</sup>。ApoE 是中枢神经系统内重要的脂质蛋白,调节胆固醇向神经元和其他细胞的转运和再分配。ApoE 在正常和神经病理条件下对胆固醇稳态具有异构体特异性作用,其亚型多态性与中枢神经系统内多种特异性受体相互作用,影响 IS 发生和预后的各个环节,但其具体机制及亚型特异性尚有待进一步研究<sup>[3-4]</sup>。

## 1 载脂蛋白 E 基因多态性与缺血性脑卒中的关系

### 1.1 ApoE 基因多态性

ApoE 具有基因多态性,它是由 APOE3 等位基因单个碱基突变导致第 112 位和 158 位氨基酸不同引起, APOE2 在两位点均为半胱氨酸,而 APOE4 在两位点均为精氨酸,形成三种异构体: ApoE2(Cys112, Cys158), ApoE3(Cys112, Arg158), ApoE4(Arg112, Arg158), 六种基因型( $\epsilon 2/\epsilon 2$ ,  $\epsilon 2/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 2/\epsilon 4$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 4$ ,  $\epsilon 4/\epsilon 4$ )<sup>[5]</sup>。

基金项目:国家自然科学基金(81500917);黑龙江省留学归国科学基金(LC2016033);哈尔滨医科大学伍连德青年科学基金(WLD-QN1711);哈尔滨医科大学第四临床医学院杰出青年基金(HYDSYJQ201501)

作者单位:150001 哈尔滨医科大学附属第四医院神经内科[玉海涛 高洪梅 杨烁 纭玲 付源(通信作者)];吉林大学第一医院耳鼻咽喉头颈外科(张天骄);长春市中心医院检验科(陈岚)

大量研究证实不同 ApoE 亚型对神经元损伤后修复再生有重要作用。虽然缺血及创伤引起神经元死亡后不可再生,但其轴突受损后 ApoE 的不同亚型可以不同程度地影响其再生。如在大鼠皮质原代神经元培养中 ApoE4 的 C-末端截短片段显著降低了树突棘密度<sup>[12]</sup>。在 APOE 敲入和野生小鼠神经元机械损伤模型中加入人类重组 ApoE4 和 ApoE3,用 Fluo-3/AM 标记细胞内的钙离子,检测细胞内钙离子水平并评估神经细胞凋亡情况,结果提示与 ApoE3 治疗组和野生组小鼠比较, ApoE4 可能通过影响细胞内钙离子水平,影响神经元凋亡<sup>[13]</sup>。巨噬细胞分泌的 ApoE3 可以促进胆固醇酯化,为轴突膜的形成提供脂质并通过其抗氧化特性,抑制低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)的氧化,而 ApoE4 无此作用<sup>[14]</sup>。IS 模型实验后比较 APOE4 和 APOE3 的转基因小鼠脑梗死病灶面积发现 APOE4 转基因小鼠脑缺血面积更大<sup>[15]</sup>。利用 MRI 扫描脑卒中患者观察到携带 APOE $\epsilon 4$  基因的患者比携带  $\epsilon 3$  和  $\epsilon 2$  基因的患者脑损伤程度更重<sup>[16]</sup>。神经元特异性烯醇化酶 APOE3 (NSE-APOE3)和 NES-APOE4 转基因小鼠的大脑皮质原代神经元培养的线粒体呼吸复合物的检测水平结果显示,与 NSE-APOE3 小鼠比较, NSE-APOE4 小鼠的线粒体呼吸复合物水平显著降低,并且在神经母细胞瘤 2A 细胞中 ApoE4 的表达减少了线粒体呼吸复合物,引起线粒体功能障碍,而突变体 APOE4-THR-61 缺少结构域相互作用未诱导该细胞中线粒体功能障碍,提示 ApoE4 对线粒体呼吸作用的影响具有亚型依赖性,并由 ApoE4 域的相互作用引发神经特异性蛋白水解,产生一系列神经毒性片段,逃离分泌途径,刺激线粒体磷酸化和线粒体功能障碍<sup>[17]</sup>。与野生型小鼠和 APOE3-

### 1.2 ApoE 各亚型在 IS 病理过程中的作用

大量研究证实不同 ApoE 亚型对神经元损伤后修复再生有重要作用。虽然缺血及创伤引起神经元死亡后不可再生,但其轴突受损后 ApoE 的不同亚型可以不同程度地影响其再生。如在大鼠皮质原代神经元培养中 ApoE4 的 C-末端截短片段显著降低了树突棘密度<sup>[12]</sup>。在 APOE 敲入和野生小鼠神经元机械损伤模型中加入人类重组 ApoE4 和 ApoE3,用 Fluo-3/AM 标记细胞内的钙离子,检测细胞内钙离子水平并评估神经细胞凋亡情况,结果提示与 ApoE3 治疗组和野生组小鼠比较, ApoE4 可能通过影响细胞内钙离子水平,影响神经元凋亡<sup>[13]</sup>。巨噬细胞分泌的 ApoE3 可以促进胆固醇酯化,为轴突膜的形成提供脂质并通过其抗氧化特性,抑制低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)的氧化,而 ApoE4 无此作用<sup>[14]</sup>。IS 模型实验后比较 APOE4 和 APOE3 的转基因小鼠脑梗死病灶面积发现 APOE4 转基因小鼠脑缺血面积更大<sup>[15]</sup>。利用 MRI 扫描脑卒中患者观察到携带 APOE $\epsilon 4$  基因的患者比携带  $\epsilon 3$  和  $\epsilon 2$  基因的患者脑损伤程度更重<sup>[16]</sup>。神经元特异性烯醇化酶 APOE3 (NSE-APOE3)和 NES-APOE4 转基因小鼠的大脑皮质原代神经元培养的线粒体呼吸复合物的检测水平结果显示,与 NSE-APOE3 小鼠比较, NSE-APOE4 小鼠的线粒体呼吸复合物水平显著降低,并且在神经母细胞瘤 2A 细胞中 ApoE4 的表达减少了线粒体呼吸复合物,引起线粒体功能障碍,而突变体 APOE4-THR-61 缺少结构域相互作用未诱导该细胞中线粒体功能障碍,提示 ApoE4 对线粒体呼吸作用的影响具有亚型依赖性,并由 ApoE4 域的相互作用引发神经特异性蛋白水解,产生一系列神经毒性片段,逃离分泌途径,刺激线粒体磷酸化和线粒体功能障碍<sup>[17]</sup>。与野生型小鼠和 APOE3-

TR 小鼠比较, APOE4-TR 小鼠脑血流量明显减少, 而脑内低灌注会引起小鼠神经血管功能障碍, 其相关机制包括微血管密度和微血管周细胞覆盖率降低, 活性氧产生增加以及 ApoE4 改变了脑血流量调节的关键机制, 即 ApoE4 对内皮血管反应性的依赖性以及神经血管耦合的负性作用<sup>[18]</sup>。

综合以上研究结果可发现 ApoE 各亚型与 IS 的发生和预后有较强的关联性。ApoE 亚型中的 ApoE4 对神经修复、线粒体功能、神经元凋亡及预后具有负性作用, 这对 IS 的预后评估及以 ApoE 为靶点的神经药物研发具有重要意义。

## 2 载脂蛋白 E 受体参与影响缺血性脑卒中的机制

### 2.1 ApoE 结构及其受体

ApoE 是由 299 个氨基酸螺旋排列形成的糖蛋白, 其分子量为 34 kDa, 在 CNS 中主要于星形胶质细胞和血管小胶质细胞中高度表达, 壁细胞、脉络丛和神经元中仅在应激或损伤条件下少量表达, 对于胆固醇和其他脂质的转运也具有重要作用, 主要包括 LCAT、CETP、ABCA1、ABCG1、ABCG4<sup>[19]</sup>。细胞分泌的 ApoE 由三磷酸腺苷结合盒型转运蛋白 A1(ABCA1)和 ABCG1 脂化, 运输胆固醇和磷脂形成富含 ApoE 的脂蛋白颗粒<sup>[20]</sup>。ApoE 含 2 个主要功能区和 1 个铰链区, 位于 C 末端 244-272 区域中脂质结合区的氨基酸可以形成介导 ApoE 与脂蛋白结合的两性  $\alpha$  螺旋, 具有完整的脂质-脂蛋白结合活性, 而位于 N 末端 130-164 区域中的氨基酸的受体结合区可以直接或间接参与受体的结合<sup>[21]</sup>。ApoE 受体结合区与特定细胞表面的受体结合, 主要为低密度脂蛋白家族受体, 如低密度脂蛋白受体 (low density lipoprotein receptor, LDLR)、低密度脂蛋白受体相关蛋白 (low density lipoprotein receptor-related protein, LRP)、极低密度脂蛋白受体 (very low density lipoprotein receptor, VLDLR)、ApoE 受体 2(ApoER2)。此外, 还有硫酸乙酰肝素蛋白多糖 (Heparin sulfate proteoglycans, HSPGs) 以及肝 X 受体 (liver X receptor, LXR), 共同参与外周及 CNS 脂质代谢<sup>[22]</sup>。

### 2.2 ApoE 各亚型与其受体在缺血性脑卒中的作用

#### 2.2.1 ApoE 作为各脂蛋白受体的配体, 与受体结合影响脂质代谢

ApoE 各亚型与各种受体结合存在明显差异性, 这与其特有结构有关。与 ApoE3 或 ApoE2 比较, ApoE4 的含量较少, 对高密度脂蛋白样颗粒的亲合力较低, 转运胆固醇较少, ApoE4 独特的结构特征包括结构域相互作用 (精氨酸-61 和谷氨酸-255 之间的离子相互作用) 和构象不稳定性, 是造成这些影响的分子基础。在正常情况下域间相互作用会导致细胞内降解和脂质结合能力的改变, 加速星形胶质细胞的降解, 并且在受损的神经元中域相互作用与 ApoE4 的神经毒性片段引起的神经病理学有关<sup>[19]</sup>。ApoE4 中第 112 位的 Arg 和第 109 位的谷氨酸 (Glu) 之间形成盐桥, 且第 61 位的 Arg 侧链倾向于远离螺旋, 与 C 末端结构域脂质结合区内第 255 位的 Glu 侧链形成盐桥域相互作用, 导致其优先与 LDL、VLDL 结合, 而 ApoE3 中第 112 位的 Cys 与第 109 位的 Glu 和第 61 位的 Arg 距离很近, 可能使其优先结合高密

度脂蛋白<sup>[23-24]</sup>。这就使得 APOE $\epsilon$ 4 携带者体内 LDL、VLDL 代谢速率加快, VLDL 分解为 LDL 速率增加, LDLR 反馈性合成数量减少, 肝脏对 LDL 的内吞作用减弱, 进而血浆中总胆固醇和 LDL 水平增加<sup>[25]</sup>。因已明确二者为动脉粥样硬化的危险因素, 而动脉粥样硬化作为 IS 的重要病理基础之一, 故会引起 IS 的发生风险增加。另外, ApoE2 与 LDLR (ApoE3 的 1%~2%) 的结合能力较差, 使 ApoE2 纯合子个体患 III 型高脂血症的风险增加<sup>[26]</sup>。提示携带 APOE $\epsilon$ 4 及 APOE $\epsilon$ 2/ $\epsilon$ 2 的个体应适当减少脂质的摄入。LRP 是 LDL 受体家族的一种相关性受体, 它不仅本身具有抗动脉粥样硬化的作用<sup>[27]</sup>, 还可以与脂化的 ApoE 结合, 促进脂蛋白的转运和清除<sup>[28]</sup>。LRP1 可以单独或与 HSPG 形成复合物后与 ApoE 结合进行脂蛋白的转运, 这些 ApoE 的受体在细胞表面协同发挥作用, 调节脂质代谢<sup>[29]</sup>。虽然 ApoE 不与 LXR 直接结合, 但当 LXR 被激动, 会促进 ApoE、ABCA1、ABCG1 的转录, 间接促进 ApoE 的脂化和脂质转运过程<sup>[30]</sup>, 而 ApoE2 纯合子损伤残余脂蛋白与 LDLR、LRP1 以及硫酸肝素蛋白聚糖的受体结合也导致成年人 III 型高脂血症<sup>[31]</sup>。

#### 2.2.2 ApoE 与其受体结合影响细胞凋亡、血脑屏障完整性、炎症及氧化反应

胆固醇在星形胶质细胞中合成后被 ABCA1 和 ABCG1 装载在 ApoE 上, 此过程为 ApoE 的脂质化, 通过增加 ApoE 的稳定性间接增加脑内 ApoE 水平, 同时 LXR 激活在转录水平增加 ApoE、ABCA1 和 ABCG1 的表达, 这些脂蛋白通过 LDLR、LRP1 和 ApoER2 被神经元内化, 促进神经元的正常代谢和损伤后修复<sup>[30]</sup>。因 LXRs、ABCA1、ApoE 均在大脑神经元和胶质细胞中表达, 且 LXRs 对 ABCA1/ApoE 的表达具有调控作用<sup>[32-35]</sup>, 即 LXRs 与视黄醇 X 异二聚体激活, 在体内诱导 ABCA1 和 APOE 的转录<sup>[36]</sup>, 所以通过 LXR 激活上调 APOE 对于脑卒中后恢复具有重要作用<sup>[37]</sup>。许多研究对该通路进行了进一步的研究, 如向 ABCA1 特异性缺乏的脑组织缺血 (dMCAO) 模型小鼠脑内注射 ApoE2 后弱化了 ABCA1 缺乏诱导的脑卒中小鼠的脑损伤, 使得脑脊液中 ApoE/HDL 含量增加, 小鼠脑白质和灰质的密度增加, 神经功能障碍得到改善; 同时体外实验结果显示神经突和轴突生长增加, 少突胶质前体细胞的增殖与存活增加, 神经元摄取胆固醇增加, 而该作用至少部分是通过增加 ApoE/HDL/ApoER2 信号通路促进胆固醇转运/再分布和灰质/白质重塑得以实现<sup>[38]</sup>。通过脑内注射 LXR 激动剂, 如 ABCA1 特异性缺乏的脑组织缺血 (dMCAO) 模型小鼠给予 GM3965 灌胃, 可以上调 ABCA1/ApoE/HDL 水平, 诱导脑卒中后神经恢复<sup>[39]</sup>。但由于部分靶向 LXR 的药物, 如 LXR $\alpha$  激动剂 T0901317 可能诱导脂肪肝, 所以应用这些药物时不能忽视其存在的副作用<sup>[40-41]</sup>。LRP1 作为 LRP 是 LDL 受体家族的一种相关性受体, 通过与 ApoE 结合促进神经修复。人脑中的多不饱和脂肪酸 (PUFAs) 具有促进大脑的正常发育的作用, 分为 n-3 和 n-6 两族, 有研究表明胶质细胞分泌的脂质化 ApoE 中的磷脂与 n-3 族和 n-6 族 PUFAs 结合, 通过 LRP1 内吞作用途径进入神经元, 增加神经元分支的数量来刺激海马神经元神经突的生长<sup>[42]</sup>。周细胞介导 CNS 中的

重要功能包括神经胶质瘢痕形成、血管生成和血脑屏障的维持, CNS 损伤时可以产生大量 ApoE, 有研究表明 ApoE 在周细胞移动中具有潜在作用, ApoE 表达水平降低显著加速了周细胞迁移, 可能机制为 ApoE 表达水平降低后周细胞中活性 RhoA 的水平明显增加而促进周细胞迁移, 这种效应可被 RhoA 抑制剂抑制, 但这种效应具有特异性, 它可以通过外源性 ApoE3 特异性的改善, 而 ApoE4 不具有该作用。重要的是, ApoE 调节的周细胞迁移需要 LRP1 参与, 当周细胞 LRP1 敲除或应用 LRP1 拮抗剂后这种调控作用被阻断。这就提示脑卒中发生后周细胞分泌大量的 ApoE3 通过与 LRP1 结合抑制周细胞的迁移运动, 维持血脑屏障完整性, ApoE 对壁细胞迁移的调控作用被阻断, 说明 ApoE 保护脑损伤后血脑屏障完整的过程需要 LRP1 参与<sup>[43]</sup>。类似的与非 AD 小鼠比较, APOE4 和 APOE3 转基因小鼠中炎症因子环孢素 A 和基质金属蛋白酶-9 加速血脑屏障周细胞的降解 (ApoE4 > ApoE3), 同时 LRP1 水平也在降低, 说明 ApoE4 导致了周细胞和内皮细胞中 LRP1 依赖的环孢素 A-基质金属蛋白酶-血脑屏障通路的降解, 引起血脑屏障破坏 (ApoE4 > ApoE3)<sup>[44]</sup>。另有研究表明, 向 APOE 缺陷和野生型全脑缺血模型小鼠脑室内注入 ApoE, 与注射载体组比较, 2 组结果均提示缺血脑组织区域神经元凋亡减少, 并且注射 ApoE 的小鼠脂质过氧化反应的标记物 4-HNE 免疫活性显著降低, 提示 ApoE 可能通过抗氧化作用来保护缺血后的脑组织<sup>[45]</sup>。ApoE 还可与 ApoER2 结合影响血小板的聚集, 激活一氧化氮, 促进氧化应激、自由基生成来促进炎症反应<sup>[46-47]</sup>。

### 3 载脂蛋白 E 靶点性防治缺血性脑卒中的应用

目前针对 ApoE 的靶点性防治主要是通过调节 ApoE 的含量以及使用模拟肽干预 ApoE 结构域相互作用及其受体结合区作用, 以减少 ApoE 各亚型中的负性作用。如在局灶性脑组织缺血再灌注的小鼠模型中应用合成的 ApoE 模拟肽 COG1410 结合 ApoE 的受体结合区域, 既保留了天然蛋白质的抗炎和神经保护作用, 又能通过血脑屏障在脑缺血后 4 h 内给药, 促使局部脑缺血后水肿减少, 增加治疗时间窗<sup>[48-49]</sup>。增加 ApoE 的脂质化, 从而间接增加 ApoE 水平对脑卒中后的神经修复具有重要作用。ApoE 的脂质化程度受维 A 酸类受体 (retinoid X receptor, RXR)-肝脏 X 受体 (liver X receptor, LXR) 系统控制<sup>[50]</sup>。用 LXR 激动剂 GW3965 可以通过增加 ABCA1/ApoE 诱导神经修复<sup>[51]</sup>。用 RXR 激动剂贝沙罗汀逆转 APOE4 小鼠的脂化缺陷, 结果显示 ApoE4 诱导的认知功能缺陷和神经元损伤有所改善, 提示活化 RXR 和增加 ABCA1、ABCG1 的水平可能有助于 APOEε4 基因携带者认知功能和神经元损伤修复<sup>[52-53]</sup>。全反式维甲酸、9-顺式维甲酸和 13-顺式维甲酸也可以通过 RXR 和全反式视黄酸受体 (RAR) 及 LXR 的通路来增加 ApoE 的生成和脂质化, 促进 ApoE 在 IS 中的相关作用<sup>[54]</sup>。此外, 环孢素 A 能够靶向校正 ApoE4 诱导的血脑屏障分解, 对 ApoE4 介导的神经血管损伤和由此引起的神经元功能障碍及退化有重要作用<sup>[55]</sup>。目前靶向 ApoE 或 ApoE 受体的治疗可能会使更多 IS 患者受益, 但治疗的同时也可能产

生其他有害副作用, 如 RXR 激动剂贝沙罗汀会引起肝功能障碍。根据 ApoE 的结构特性提出的靶向 ApoE 的治疗方法, 如合成能模拟 ApoE 相关功能并穿过血脑屏障与其受体结合的 ApoE 肽; 阻断 ApoE4 的结构域相互作用; 调节 ApoE 表达量、增加 ApoE 的脂质化以及减少 ApoE 与其他基因的相互作用对减少 IS 的发生与发展有重要临床意义。

### 4 结束语

ApoE 在 IS 中的作用机制主要为与其受体结合影响 IS 的各个病理过程, 对 IS 的发生发展和预后产生重要作用。ApoE 基因多态性造成其蛋白质二级结构上存在差异, 使 ApoE 的亚型蛋白与各脂蛋白受体在缺血性脑卒中的各病理过程中具有亚型依赖性。目前大多数靶向 ApoE 的缺血性脑卒中的治疗药物仍处于实验性阶段, 在 ApoE 各亚型参与 IS 的作用机制进一步得到阐明后以 ApoE 为靶点的基因型检测和药物干预可能有助于新药研发以及脑血管病的预防和急性期的治疗。

### 参 考 文 献

- [1] Wei LK, Au A, Menon S, et al. Polymorphisms of MTHFR, eNOS, ACE, AGT, ApoE, PON1, PDE4D, and ischemic stroke: Meta-Analysis[J]. Journal of Stroke & Cerebrovascular Diseases, 2017, 26(11): 2482-2493.
- [2] Broun S, De Deyn PP. The complexity of neurobiological processes in acute ischemic stroke[J]. Clin Neurol Neurosurg. 2009, 111(6): 483-495.
- [3] Werden E, Khelif MS, Bird LJ, et al. APOE varepsilon4 Carriers Show Delayed Recovery of Verbal Memory and Smaller Entorhinal Volume in the First Year After Ischemic Stroke[Z]. J Alzheimers Dis, 2019, 71(1): 245-259.
- [4] Van Giau V. Role of apolipoprotein E in neurodegenerative diseases[J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2015, 11: 1723-1737.
- [5] Tai LM, Thomas R, Marottoli FM, et al. The role of APOE in cerebrovascular dysfunction[J]. Acta Neuropathol, 2016, 131(5): 709-723.
- [6] Satizabal CL, Samieri C, Davis-Plourde KL, et al. APOE and the association of fatty acids with the risk of stroke, coronary heart disease, and mortality[J]. Stroke, 2018, 49(12): 2822-2829.
- [7] Gu L, Su L, Chen Q, et al. Association between the apolipoprotein E gene polymorphism and ischemic stroke in Chinese populations: New data and meta-analysis[J]. Exp Ther Med, 2013, 5(3): 853-859.
- [8] Wang QY. Meta-analysis of APOE epsilon2/epsilon3/epsilon4 polymorphism and cerebral infarction[J]. J Neural Transm (Vienna), 2013, 120(10): 1479-1489.
- [9] 涂雪松. 缺血性脑卒中的流行病学研究[J]. 中国临床神经科学, 2016, 24(5): 594-599.
- [10] Zhong ZX, Wu HM, Ye M, et al. Association of APOE gene polymorphisms with cerebral infarction in the Chinese population[J]. Medical Science Monitor, 2018, 24: 1171-1177.
- [11] Gromadzka G. The APOE polymorphism and 1-year outcome in ischemic stroke: genotype-gender interaction[J]. Acta Neurol Scand, 2007, 116(6): 392-398.
- [12] Brodbeck J, Balestra ME, Saunders AM, et al. Rosiglitazone in-

- creases dendritic spine density and rescues spine loss caused by apolipoprotein E4 in primary cortical neurons[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(4): 1343-1346.
- [13] Jiang L, Zhong J, Dou X, et al. Effects of apoe on intracellular calcium levels and apoptosis of neurons after mechanical injury[J]. *Neuroscience*, 2015, 301: 375-383.
  - [14] Davignon J. Apolipoprotein E and atherosclerosis; beyond lipid effect[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(2): 267-269.
  - [15] Sheng H. Apolipoprotein E Isoform-Specific differences in outcome from focal ischemia in transgenic mice[J]. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 1998, 18(4): 361-366.
  - [16] Liu Y, Laakso MP, Karonen JO, et al. Apolipoprotein E polymorphism and acute ischemic stroke: a diffusion- and perfusion-weighted magnetic resonance imaging study[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2002, 22(11): 1336-1342.
  - [17] Chen HK, Ji ZS, Dodson SE, et al. Apolipoprotein E4 domain interaction mediates detrimental effects on mitochondria and is a potential therapeutic target for alzheimer disease[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(7): 5215-5221.
  - [18] Koizumi K, Hattori Y, Ahn SJ, et al. Apo epsilon 4 disrupts neurovascular regulation and undermines white matter integrity and cognitive function[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 3816.
  - [19] Mahley RW. Central nervous system lipoproteins ApoE and regulation of cholesterol metabolism[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36(7): 1305-1315.
  - [20] Wahrle SE, Jiang H, Parsadanian M, et al. ABCA1 is required for normal central nervous system ApoE levels and for lipidation of astrocyte-secreted apoE[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(39): 40987-40993.
  - [21] Chang S. Lipid- and receptor-binding regions of apolipoprotein E4 fragments act in concert to cause mitochondrial dysfunction and neurotoxicity[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(51): 18694-18699.
  - [22] Huang YD, Mahley RW. Apolipoprotein E: structure and function in lipid metabolism, neurobiology, and alzheimer's diseases[J]. *Neurobiol Dis*, 2014, 72(A, SI): 3-12.
  - [23] Mahley RW, Ji Z. Remnant lipoprotein metabolism: key pathways involving cell-surface heparan sulfate proteoglycans and apolipoprotein E[J]. *J Lipid Res*, 1999, 40(1): 1-16.
  - [24] Mahley RW, Huang Y, Rall SC, et al. Pathogenesis of type III hyperlipoproteinemia (dysbetalipoproteinemia): questions, quandaries, and paradoxes[J]. *J Lipid Res*, 1999, 40(11): 1933-1949.
  - [25] 周正艳, 符喜南, 苏庆杰, 等. 海南黎族 ApoE 基因多态性与脑梗死的关系[J]. *重庆医学*, 2009, 38(22): 2822-2824.
  - [26] Corsetti JP, Sparks CE, Bakker SJ, et al. Roles of high apolipoprotein E blood levels and HDL in development of familial dysbetalipoproteinemia in epsilon 2 epsilon 2 subjects[J]. *Clin Biochem*, 2018, 52: 67-72.
  - [27] Santo SE. Hepatic low-density lipoprotein receptor-related protein deficiency in mice increases atherosclerosis Independent of plasma cholesterol[J]. *Blood*, 2004, 103(10): 3777-3782.
  - [28] Linton MF. Hepatic apo E expression is required for remnant lipoprotein clearance in the absence of the low density lipoprotein receptor[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 1998, 101(8): 1726-1736.
  - [29] Ji Z. Role of heparan sulfate proteoglycans in the binding and uptake of apolipoprotein E-enriched remnant lipoproteins by cultured cells[J]. *J Biol Chem*, 1993, 268(14): 10160-10167.
  - [30] Malgrange B. Targeting cholesterol homeostasis to fight hearing loss; a new perspective[Z], 2015; 3.
  - [31] Marais A D. Apolipoprotein E in lipoprotein metabolism, health and cardiovascular disease[J]. *Pathology*, 2019, 51(2): 165-176.
  - [32] Ballerini P. Guanosine effect on cholesterol efflux and apolipoprotein E expression in astrocytes[J]. *Purinergic Signal*, 2006, 2(4): 637-649.
  - [33] Miao B. Raising HDL cholesterol without inducing hepatic steatosis and hypertriglyceridemia by a selective LXR modulator[J]. *J Lipid Res*, 2004, 45(8): 1410-1417.
  - [34] Brunham LR, Singaraja RR, Duong MN, et al. Tissue-Specific roles of ABCA1 influence susceptibility to atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(4): 548-554.
  - [35] Hayashi H, et al. Glial lipoproteins stimulate axon growth of central nervous system neurons in compartmented cultures[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(14): 14009-14015.
  - [36] Whitney K D. Regulation of cholesterol homeostasis by the liver X receptors in the central nervous system[J]. *Mol Endocrinol*, 2002, 16(6): 1378-1385.
  - [37] Kim E, Woo MS, Qin LY, et al. Daidzein augments cholesterol homeostasis via ApoE to promote functional recovery in chronic stroke[J]. *Journal of Neuroscience*, 2015, 35(45): 15113-15126.
  - [38] Wang XH, Li RW, Zacharek A, et al. Administration of downstream ApoE attenuates the adverse effect of brain ABCA1 deficiency on stroke[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): 3368.
  - [39] Cui X, Chopp M, Zhang ZG, et al. ABCA1/ApoE/HDL pathway mediates GW3965-Induced neurorestoration after stroke[J]. *Stroke*, 2017, 48(2): 459-467.
  - [40] Schultz JR, Tu H, Luk A, et al. Role of LXRs in control of lipogenesis[J]. *Genes Dev*, 2000, 14(22): 2831-2838.
  - [41] Grefhorst A. Stimulation of lipogenesis by pharmacological activation of the liver X receptor leads to production of large, triglyceride-rich very low density lipoprotein particles[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(37): 34182-34190.
  - [42] Nakato M, Matsuo M, Kono N, et al. Neurite outgrowth stimulation by n-3 and n-6 PUFAs of phospholipids in apoE-containing lipoproteins secreted from glial cells[J]. *J Lipid Res*, 2015, 56(10): 1880-1890.
  - [43] Casey CS. Apolipoprotein E inhibits cerebrovascular pericyte mobility through a RhoA protein-mediated pathway[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(22): 14208-14217.
  - [44] Halliday MR, Rege SV, Ma QY, et al. Accelerated pericyte degeneration and blood-brain barrier breakdown in apolipoprotein E4 carriers with Alzheimer's disease[J]. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2016, 36(1): 216-227.
  - [45] Nilsen KM. Intraventricular infusion of apolipoprotein E ameliorates acute neuronal damage after global cerebral ischemia in mice[J]. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2010, 3(20): 458-462.
  - [46] Riddell DR, Graham A, Owen JS. Apolipoprotein E inhibits platelet aggregation through the L-Arginine: nitric oxide pathway implications for vascular disease[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(1): 89-95.