



莫诺昔对缺血再灌注大鼠皮层 TIMP 表达的影响

向本旭,孙芳玲,刘婷婷,艾厚喜,郭德玉,王宇峰,田 欣,
祝自新,郑文荣,王 文

(首都医科大学宣武医院,北京 100053)

【摘要】目的 研究莫诺昔对缺血再灌注 7 d 大鼠皮层中金属基质蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)表达的影响。**方法** 25只雄性SD大鼠采用改良 Zealonga 线栓法制备大鼠大脑中动脉阻塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型,术后随机分为模型组、莫诺昔小剂量组、中剂量组、大剂量组,每组5只。造模3 h后按30,90,270 mg/kg 剂量每天一次灌胃莫诺昔。免疫印迹法(Western Blotting)和免疫荧光染色法(Immunofluorescent staining)分析莫诺昔对脑缺血再灌注 7 d 大鼠患侧皮层 TIMP 表达的影响。**结果** 脑缺血再灌注 7 d 后,与假手术组相比,模型组 TIMP 蛋白表达显著升高($P < 0.01$);同模型组相比,莫诺昔中剂量组(90 mg/kg)和大剂量组(270 mg/kg)TIMP 蛋白表达均明显升高($P < 0.05$; $P < 0.01$)。**结论** 莫诺昔可以上调 TIMP 在大脑皮层内的表达,有助于脑卒中后血脑屏障的保护及修复。

【关键词】 莫诺昔;脑缺血再灌注;TIMP;血脑屏障保护及修复

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016) 01-0001-06

doi: 10.3969. j. issn. 1671-7856. 2016. 001. 001

Effects of morroniside on the expression of the TIMP in peri-infarct cortex after cerebral ischemia-reperfusion in rats

XIANG Ben-xu, SUN Fang-ling, LIU Ting-ting, AI Hou-xi, GUO De-yu, WANG Yu-feng,
TIAN Xin, ZHU Zi-xin, ZHENG Wen-rong, WANG Wen
(Xuan Wu Hospital of Capital Medical University, Beijing 100053, China)

[Abstract] **Objective** To study the effects of morroniside on the expression of the tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) of the ischemic ipsilateral cortex 7 days after ischemia reperfusion. **Methods** 25 male Sprague-Dawley rats were subjected to middle cerebral artery occlusion (MCAO) model with modified Zea Longa's method, and then divided them into sham group ($n = 5$), ischemia group ($n = 5$), and morroniside groups (low, medium, and high dosage groups, $n = 5$) randomly. Morroniside were then administered intragastrically once a day at dose of 30 mg/kg, 90 mg/kg and 270 mg/kg 3 hours after operation. The expression of TIMP of the ischemic ipsilateral cortex on 7 days after ischemia-reperfusion were detected by western blotting and immunofluorescent staining analysis. **Results** Compared with the sham group, the expression of TIMP in ischemia group increased ($P < 0.05$) 7 days after MCAO. Compared with the ischemia group, after treatment with morroniside at doses of 90 mg/kg and 270 mg/kg, the expression of TIMP increased significantly ($P < 0.05$; $P < 0.01$). **Conclusions** Morroniside could increase the expression of TIMP in the ischemic ipsilateral cortex and may contribute to blood-brain barrier protection and restoration.

[基金项目]“重大新药创制”科技重大专项(2012ZX09102201-106);国家自然科学基金(81373994, 81503049, 81573633)。

[作者简介]向本旭(1990-),男,硕士生,研究方向:神经药理。E-mail: xiangbenxu@126.com。

[通讯作者]王文(1968-),男,博士生导师,研究方向:神经药理,中药药理。E-mail: lzwwang@163.com。

[Key words] Morroniside; Cerebral ischemia-reperfusion; TIMP; Blood-brain barrier protection and restoration

在全球范围内,脑卒中是继心脏病和癌症之后的第三大致死疾病;在我国,脑卒中是致死率最高的疾病,同时我国是脑卒中患者最多的国家。据统计我国拥有超过 700 万脑卒中患者,每年新增病例约 150 万,死亡率是欧美国家的 3~4 倍,约为日本的 3 倍^[1]。脑卒中后,由于血氧不足首先引起缺血局部的炎症反应,自由基增多^[2],再灌注后引发血脑屏障通透性增加^[3],同时神经元大量死亡,胶质细胞和微血管受损,血脑屏障逐步被破坏,最终导致缺血灶局部组织完全坏死^[4]。在脑卒中急性期调节血脑屏障通透性,阻止血脑屏障通透性进一步增加,保护血脑屏障完整性,从而保护神经血管单元的功能完整性,防止损伤的进一步增加,对脑卒中的治疗和康复有着重要作用。

TIMP 是体内金属基质蛋白酶 (metal matrix proteinases, MMPs) 的自然抑制剂,两者在体内的相对含量决定了细胞基质的降解速度。MMPs 是促进细胞外基质降解的主要蛋白酶,它们与血脑屏障的损伤密切相关。脑卒中发生后两者激活,直接参与到血脑屏障的降解,促使血脑屏障开放,引起屏障破坏、通透性增加及二次损伤等^[5]。TIMP 能有效抑制 MMPs 的激活,降低脑卒中后由 MMPs 引起的血脑屏障破坏,通透性增加及进一步损伤的发生,有助于脑卒中后血脑屏障的保护及修复,有助于神经功能康复^[6]。

莫诺昔是本课题组从山茱萸中提取的单体化合物,我们的前期研究已经证明莫诺昔有抗氧化和抗凋亡的作用^[7],动物实验证明莫诺昔能有效减小大脑梗死体积,有助于神经功能的恢复^[8]。通过伊文思蓝染色证明莫诺昔有助于脑缺血再灌注大鼠血脑屏障的保护^[9],另外我们还发现莫诺昔能有效降低脑卒中大鼠梗死周边皮层中 MMP-2 和 MMP-9 的含量^[10]。本研究中,我们对莫诺昔对脑卒中大鼠梗死周边皮层中 TIMP 表达进行研究,进一步探讨莫诺昔对血脑屏障的保护机制,为脑卒中治疗药物的研究提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物分组及给药

8 周龄雄性 SD 大鼠 50 只,体重 260~280 g,由斯贝福(北京)实验动物科技有限公司提供【SCXK(京)2011-0004】),动物饲养于宣武医院实验 SPF

级动物室【SYXK(京)2010-2013】),预适应环境 1 周后进行实验,环境温度温度 24 ± 2°C,湿度 55 ± 5%,术前 12 h 禁食不禁水。采用线栓法制备局灶性大鼠脑缺血再灌注模型后,随机分为假手术组、模型组、莫诺昔小(30 mg/kg)、中(90 mg/kg)、大(270 mg/kg)剂量组,共 5 组,每组 10 只。莫诺昔溶于蒸馏水,在 MCAO 造模 3 h 后,按照 30、90、270 mg/kg 剂量每天一次灌胃给药,连续给药 7 d,假手术组和模型组给予等体积的蒸馏水。

1.2 主要仪器和试剂

尼龙栓线,直径 0.26 mm(2636-100):北京沙东生物技术有限公司;尼康 eclipse 80i 正置荧光显微镜:日本 Niko 公司;高分辨率多模式分子成像系统:美国 Carestream Health 公司;全波长酶标仪:美国 Thermo Fisher 公司;超声波细胞破碎粉碎机:JY92-II 型,宁波市新芝科技研究所;电泳仪和小型垂直电泳槽:美国 Biorad 公司。

TIMP 抗体:美国 Abcam 公司;山羊抗兔 Alex Flour594 免疫荧光二抗;山羊血清原液;含 DAPI 封片剂:北京中杉金桥公司;生理盐水;4% 多聚甲醛灌注液;4% 多聚甲醛后固定液;β-actin 抗体:美国 Santa Cruz 公司。化合物莫诺昔,白色结晶,由宣武医院药物研究室自行从山茱萸中提取制备,高效液相色谱仪对组分进行分析(C18 柱,柱温 35°C,乙腈-水混合(15:85)洗脱糖苷类,流速 1.0 mL/min,检测波长 240 nm),莫诺昔的纯度为 98.5%。

1.3 MCAO 模型制备及行为学评分

模型的制备参照 Longa 法^[11],SD 雄性大鼠手术前禁食 12 h。称重后将体重在 260~280 g 之间的大鼠用 7% 水合氯醛 400 mg/kg 进行腹腔注射麻醉。将麻醉后的大鼠用橡皮筋仰卧固定于手术操作台上,用安尔碘对颈部进行消毒。在大鼠颈部正中偏右约 2~3 mm 处纵向切口约 1 cm 后,对肌肉及筋膜进行钝性分离,注意避开甲状腺及大血管。当气管右侧及胸骨舌骨肌和胸锁乳突肌之间的三角区暴露后,继续钝性分离出右侧颈总动脉(common carotid artery, CCA)、颈内动脉(internal carotid artery, ICA) 和 颈外动脉 (external carotid artery, ECA)。结扎 ECA 接近分叉处及 CCA 近心端,用动脉夹夹闭 ICA,在 CCA 用眼科剪剪一细小切口,将栓线小心插入,缓慢轻推栓线进入 ICA,从 ICA 与 ECA 分叉处插入 20 mm 深度为宜,则能通过

ICA 入颅进入了大脑中动脉 (middle cerebral artery, MCA), 到达了大脑前动脉 (anterior cerebral artery, ACA) 起始部, 阻断 MCA 的所有血供, 造成了大脑中动脉阻塞, 此时不再推入栓线, 以免扎破血管造成蛛网膜下腔出血。将栓线与 CCA 一并结扎, 松开动脉夹, 记录栓塞开始时间。缝合肌肉, 并在创口处涂少量青霉素, 以预防伤口感染。栓塞 30 min 后, 用眼科镊向外极缓慢拔出栓线, 实现再灌注。假手术组大鼠不插入栓线, 其余操作与 MCAO 手术组相同。

MCAO 手术以后注意保温, 大鼠麻醉未醒之前应置于温控毯上, 动物清醒后观察其行为。采用 Longa 5 分评分法进行术后行为学评分^[12]: 0 分, 正常, 无神经功能缺损; 1 分, 不能完全伸展对侧前爪; 2 分, 行走时, 向对侧(瘫痪侧)转大圈, 中度神经功能缺损; 3 分, 行走时, 向对侧(瘫痪侧)转小圈; 4 分, 行走时, 向对侧(瘫痪侧)倾斜, 重度神经功能缺损; 5 分, 不能自行行走, 有意识丧失。评分 1~4 分为造模成功, 0 分和 5 分淘汰。采用差额补充方法补足各组设计所需大鼠数量。以上动物实验操作均在首都医科大学宣武医院实验动物室进行, 并按实验动物 3R 原则给予人道的关怀。

1.4 免疫荧光染色分析 TIMP 蛋白在半暗带表达

于造模后 7 d 将大鼠用 10% 水合氯醛 400 mg/kg 腹腔注射麻醉后, 仰卧位固定于鼠板, 迅速剪开大鼠胸腔。将灌注用钝型针头从心尖插入左心室至主动脉弓, 迅速用止血钳夹住心脏与灌注针头, 然后依次缓慢推入 200 mL 生理盐水与多聚甲醛灌注液, 至大鼠四肢伸展僵硬。将灌注好的大鼠放置 1 h 后剥离大脑并放入后固定液中待用。

将多聚甲醛固定好的大脑进行冰冻切片, 切片厚度为 20 μm, 选取合适脑片进行免疫荧光染色。首先将脑片用 10% 山羊血清 (0.1% PBS 稀释) 封闭 1 h 以去除非特异性抗原, 然后用 0.1% PBS 洗液将脑片洗涤 3 次, 每次 10 min。吸出 PBS 洗液后, 加入 1:200 稀释的兔抗大鼠 TIMP 单克隆抗体于室温摇晃 2 h 后放于 4℃ 冰箱内至少 8 h。抗体孵育 8 h 后, 再次用 PBS 洗液对脑片洗涤 3 次, 每次 10 min。再避光加入 1:200 PBS 稀释的山羊抗兔 Alex Flour594 免疫荧光二抗, 室温孵育 2 h 后再用 PBS 洗涤 3 次, 每次 10 min。洗涤完成后, 将脑片贴于载玻片上, 避光风干后滴加封片液加盖玻片封片。

将封好的脑片用尼康 eclipse 80i 正置荧光显微

镜进行拍照, 将拍好的图片用光盘拷出待分析, 实验重复 3 次。

1.5 Western-blot 分析 TIMP 蛋白表达

于造模后 7 d 将大鼠用 10% 水合氯醛 400 mg/kg 腹腔注射麻醉, 迅速剥离大脑并将脑膜剥去, 取出患侧皮层包入锡箔纸中, 暂时放入液氮中冻存, 后置于 -80℃ 保存。取出患侧皮层于 5 mL EP 管中称重, 加入预冷的裂解液 7 μL/mg 新鲜组织、PMSF1 μL/100 μL RIPA, 冰浴粉碎机粉碎后超声粉碎。4℃ 静止 30 min, 4℃ 12000 r/min 离心 30 min, 取上清液。采用 BCA 法定量蛋白浓度, 并加入裂解液, 调节各组总蛋白浓度一致。总蛋白加入 5X 上样缓冲液 1:4 稀释, 95℃ 变性 10 min。

取大鼠患侧皮层脑组织裂解提取蛋白, 进行 SDS-PAGE 电泳, 每孔加入 10 μL 样品, 先恒压 60V 电泳 45 min; 然后恒压 90V 电泳至分离胶底部, 电转移到硝酸纤维素膜上, 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, 加入 1:1000 稀释的兔抗大鼠 TIMP 单克隆抗体于室温摇晃 2 h 后放于 4℃ 冰箱内至少 10 h。TIMP 抗体孵育 10 h 后, 用 TBST 对膜洗涤 3 次, 每次 10 min, 再加入 1:2000 稀释的羊抗兔 IgG-HRP, 室温摇床孵育 2 h, 然后用 TBST 洗涤 3 次, ECL 试剂显色、曝光并拍照, 以 β-actin 作为内参, 实验重复 3 次。

1.6 统计学处理

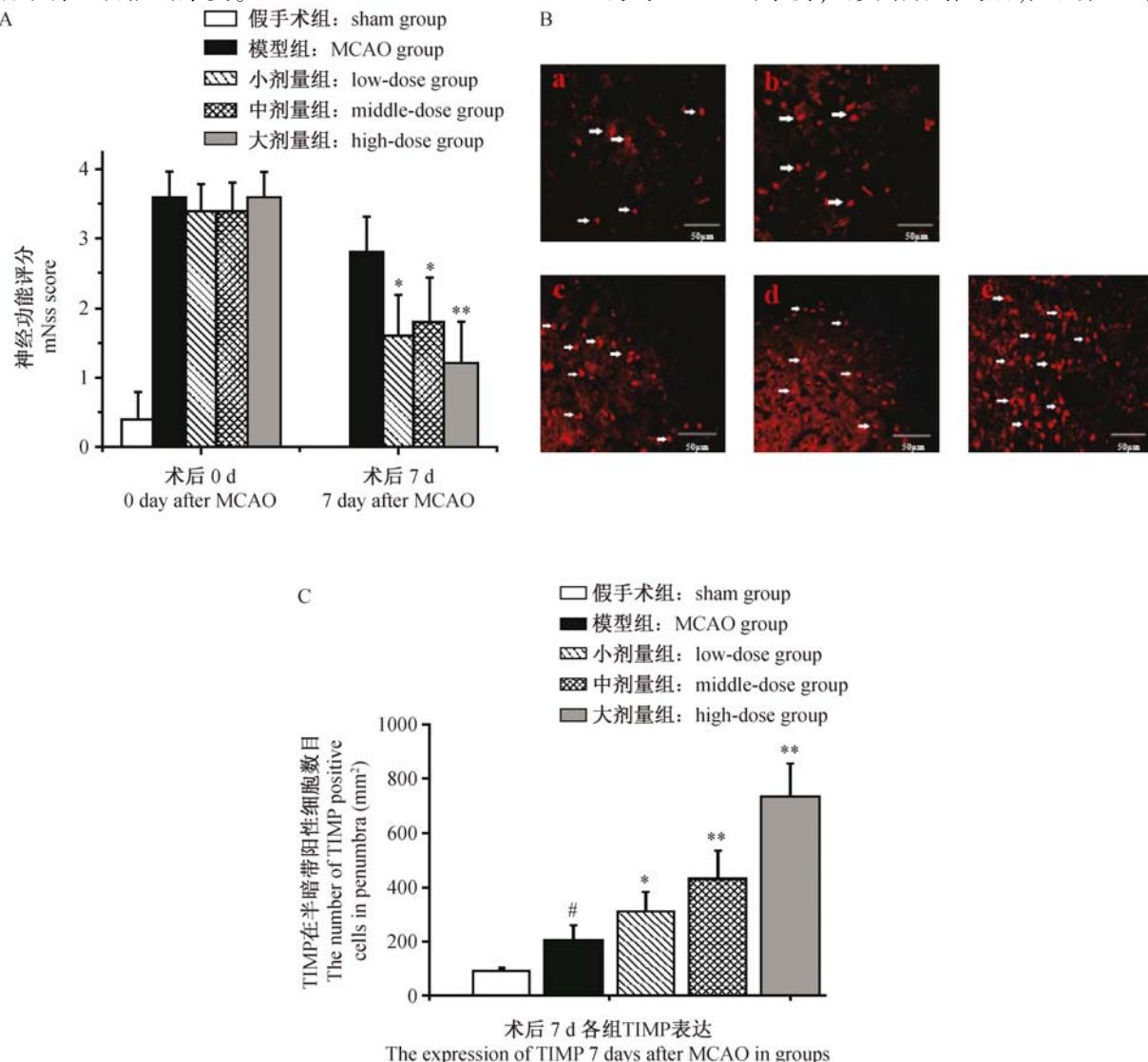
实验数据以均数 ± 标准误 ($\bar{x} \pm s\bar{x}$) 表示, 应用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 采用 Scheffe 法进行组间两两比较, 以 $P < 0.05$ 代表差异有统计学意义。采用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件计算 TIMP 阳性细胞数目, 采用 Quantity One 4.4.0 图像分析软件计算 TIMP Western Blotting 灰度值。

2 结果

2.1 行为学评分

大鼠在 MCAO 造模后, 参照 Longa 5 分法进行行为学评分, modified neurological severity score mNss 如图 1 (A) 所示: 假手术组大鼠术后几乎没有神经功能损伤, 模型组和给药组大鼠在造模后均有一定的神经功能损伤, 相互没有显著性差异, 证明大鼠 MCAO 模型制造成功且各组模型稳定性相当; 给药组大鼠在造模后 7 d 内灌胃给予不同剂量的莫诺昔后, 相对于给予等体积蒸馏水的模型组, 在术后

第7天其神经功能评分均有不同程度的降低。莫诺昔小剂量和中剂量组大鼠神经功能评分在术后第7天相对于术后7 d 的模型组有降低($P < 0.05$)；莫诺昔大剂量组相对于模型组则有显著性降低($P < 0.01$)。该结果证明，在缺血性脑卒中发生后，给予莫诺昔能有效缓解脑卒中所带来的神经功能损伤，有助于神经功能的康复。



注：(A) 大鼠在 MCAO 造模 0 d 和 7 d 各组神经功能评分结果：^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ 与术后 7 d 模型组相比($n=10$)；

(B) 免疫荧光检测梗死半暗带 TIMP 表达，a: 假手术；b: 模型组；c: 莫诺昔小剂量组；d: 莫诺昔中剂量组；e: 莫诺昔大剂量组；

(C) TIMP 在半暗带阳性细胞数目统计结果：[#] $P < 0.05$ 与假手术相比；^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ 与模型组相比($n=5$)。

图 1 A: 术后神经功能评分结果；B: TIMP 免疫荧光染色结果 (标尺 = 50 μm)；C: TIMP 阳性细胞数目统计结果

Note: (A) The modified neurological severity score (mNss) of rats on 0 day and 7 days after MCAO: ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ compared with MCAO group on 7 days after operation ($n=10$) ; (B) The expression of TIMP in ischemic penumbra detected by immunofluorescent staining, a: sham group; b: MCAO group; c: morroniside low-dose group; d: morroniside middle-dose group; e: morroniside high-dose group; (C) The statistic result of the number of positive TIMP cells in penumbra: [#] $P < 0.05$ compared with sham group; ^{*} $P < 0.05$ and ^{**} $P < 0.01$ compared with MCAO group ($n=5$).

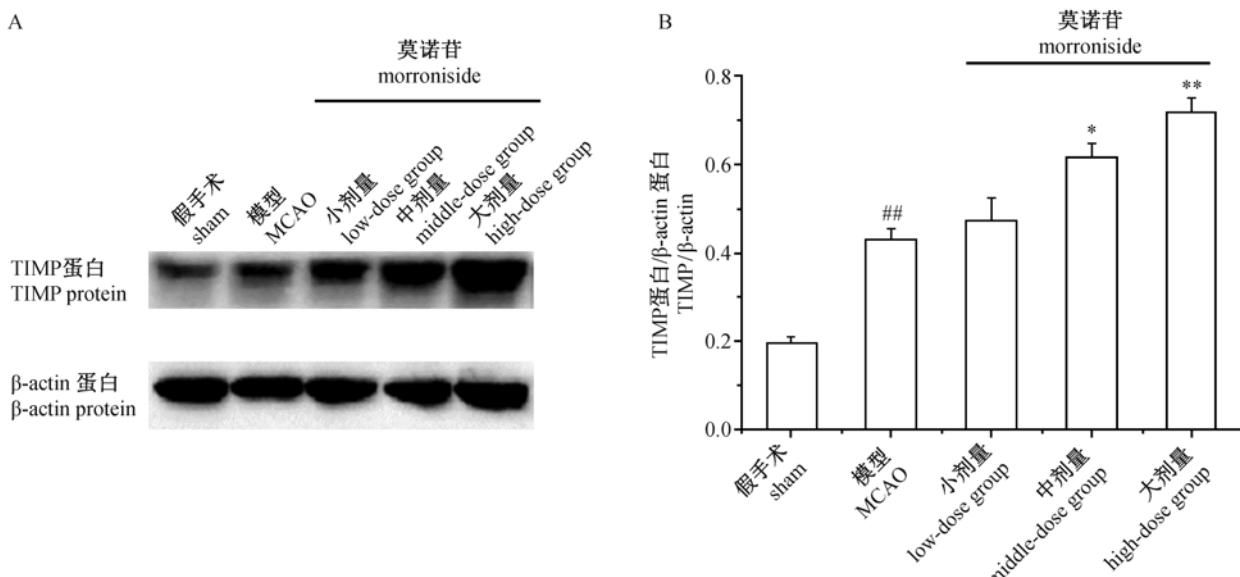
Fig. 1 A: mNss score of rats on 0 day and 7 days after MCAO;
B: Immunofluorescent staining of TIMP (Bar = 50 μm) ; C: The statistic result of positive TIMP cells.

带中 TIMP 表达相对于模型组也有增多,说明莫诺昔能促进半暗带中 TIMP 含量。对半暗带统计结果如图 1(C)所示:术后 7 d,模型组梗死半暗带中 TIMP 阳性细胞数目较假手术组有增多($P < 0.05$);莫诺昔给药后,小剂量组相对于模型组半暗带中 TIMP 阳性细胞数目增多($P < 0.05$);中剂量和大剂量则有显著增多($P < 0.01$)。

2.3 Western Blotting 对缺血皮层 TIMP 表达检测

Western Blotting 对各组大鼠缺血侧皮层中 TIMP 表达量进行检测,检测结果如图 2 中 A 图所

示。对各组大鼠缺血侧皮层中 TIMP 相对表达量进行统计,结果如图 2 中 B 图所示:模型组 TIMP 蛋白表达水平较假手术组有显著升高($P < 0.01$),这与免疫荧光染色的结果相一致;与模型组相比,中剂量组与大剂量较模型组有显著升高($P < 0.05$; $P < 0.01$),莫诺昔小剂量组表达水平与模型组相比有升高趋势,但无显著性差异。表明莫诺昔能有效促进缺血性脑损伤后 TIMP 升高,有利于血脑屏障的保护。



注:(A)各组大鼠缺血侧皮层 TIMP 表达水平;(B)各组大鼠缺血侧皮层 TIMP 相对表达定量结果。

与假手术相比, $^{**}P < 0.01$;与模型组相比, $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

图 2 TIMP 在各组表达水平

Note : (A) The expression level of TIMP in ischemic hemisphere of rats in all groups; (B) The relative expression quantitative level of TIMP in ischemic hemisphere of rats in all groups. Compared with sham group,
 $^{**}P < 0.01$; Compared with MCAO group, $^*P < 0.05$ and $^{**}P < 0.01$.

Fig.2 TIMP expression level of TIMP in groups

3 讨论

脑卒中发生后 2 h 内缺血灶可检测到 MMPs 表达增高^[13],我们前期研究发现大鼠脑缺血再灌注损伤后,其缺血侧皮层梗死周边区域 MMP-2 与 MMP-9 表达均上调^[14],这与大量研究证明的 MMP-2 在缺血再灌注早期引起血脑屏障开放^[15],MMP-9 与血脑屏障二次开放引发损伤有关^[16]相一致。TIMP 作为 MMPs 的自然抑制剂,通过与 MMPs 结合从而降低 MMPs 在体内活性来发挥作用。在脑卒中发生后,TIMP 能抑制 MMPs 的活性,在一定程度上阻止 MMPs 对基底膜的破坏和降解,从而保持血脑屏障

的完整性。

本研究显示,莫诺昔能有效降低脑缺血再灌注 7 d 后神经功能损伤,有助于中风大鼠神经功能康复,通过免疫荧光和免疫印迹的方法确定了脑缺血再灌注损伤 7 d 后,大鼠缺血侧皮层 TIMP 表达量上调,这与已有报道一致^[17],可能与 TIMP-MMPs 平衡的自我调节有关。结果显示,莫诺昔能进一步诱导梗死侧皮层中 TIMP 增多,前期研究已经证明莫诺昔能降低大鼠脑缺血再灌注损伤 7 d 后梗死周边 MMP-2 和 MMP-9 表达,减小了血脑屏障的破坏^[10],结合两实验结果证明在莫诺昔能通过增高脑缺血再灌注后 TIMP 表达且降低 MMPs 表达量,从而有

效降低 MMPs 诱导的血脑屏障破坏,有利于脑卒中的康复。

此外,临床针对脑卒中主要通过在治疗时间窗内进行 r-tPA 溶栓,时间窗外溶栓则有较高的再灌注损伤风险,现已有实验证明 TIMP 可降低时间窗外 r-tPA 溶栓造成的再灌注损伤^[18]。莫诺昔在脑缺血再灌注后能增加内源性 MMPs 自然抑制剂 TIMP 的表达,从而在避免了大脑在低氧、炎症等状态下由 MMPs 诱导的血脑屏障的破坏及其二次开放等损伤,这对脑卒中的治疗是有意义的。

参考文献:

- [1] 张皓. 脑卒中患者的康复治疗[J]. 中国全科医学:医生读者版,2010,4;59 - 60.
- [2] Lei Huang, Sunnie Wong, Evan Y Snyder, et al. Human neural stem cells rapidly ameliorate symptomatic inflammation in early-stage ischemic-reperfusion cerebral injury [J]. Stem Cell Res Ther,2014; 5(6) : 129.
- [3] Adam J. Wells, Robert Vink, Stephen C, et al. Elevated Intracranial Pressure and Cerebral Edema following Permanent MCA Occlusion in an Ovine Model [J]. Plos One, 2015, 10 (6) : e013051.
- [4] Birgit Obermeier, Richard Daneman, Richard M., et al. Development, maintenance and disruption of the blood-brain barrier [J]. Nat Med, 2013, 19(12) : 1584 - 1596.
- [5] Tasaki A, Shimizu F, Sano Y, et al. Autocrine MMP-2/9 secretion increases the BBB permeability in neuromyelitis optica [J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2014, 85(4) :419 - 430.
- [6] Reuter B, Rodemer C, Grudzenksi S, et al. Effect of simvastatin on MMPs and TIMPs in human brain endothelial cells and experimental stroke[J]. Transl Stroke Res, 2015, 6 (2) :156 - 159.
- [7] 孙芳玲,王文,安宜,等. 莫诺昔抑制过氧化氢诱导的 SH-SY5Y 神经细胞凋亡[J]. 中国康复理论与实践, 2009, 5: 428 - 430.
- [8] 刘秀平,许栋明,王文,等. 莫诺昔对大鼠局灶性脑缺血再灌注模型脑梗死体积的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2009, 10:913 - 915.
- [9] Sun FL, Wang W, Cheng H, et al. Morroniside improves microvascular functional integrity of the neurovascular unit after cerebral ischemia[J]. Plos One, 2014, 9 (6) :e101194.
- [10] 候虹丽,孙芳玲,艾厚喜,等. 莫诺昔对脑缺血再灌注大鼠皮层梗死周边去基质金属蛋白酶表达的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2015, 21(1) :5 - 8.
- [11] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1) :84 - 91.
- [12] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1) :84 - 91.
- [13] Nagel S, Su Y, Horstmann S, et al. Minocycline and hypothermia for reperfusion injury after focal cerebral ischemia in the rat: effects on BBB breakdown and MMP expression in the acute and subacute phase [J]. Brain Res, 2008, 1188: 198 - 206.
- [14] Suofu Y, Clark JF, Broderick JP, et al. Matrix metalloproteinase-2 or -9 deletions protect against hemorrhagic transformation during early stage of cerebral ischemia and reperfusion[J]. Neuroscience, 2012, 212:180 - 189.
- [15] Xu H, Zhang Y, Sun H, et al. Effects of acupuncture at GV20 and ST36 on the expression of matrix metalloproteinase 2, aquaporin 4, and aquaporin 9 in rats subjected to cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. PLoS One, 2014, 9(5) :e97488.
- [16] Cai H, Mu Z, Jiang Z, et al. Hypoxia-controlled matrix metalloproteinase-9 hyperexpression promotes behavioral recovery after ischemia[J]. Neurosci Bull, 2015, 31(5) :550 - 560.
- [17] Pfefferkorn T, Rosenberg GA. Closure of the blood-brain barrier by matrix metalloproteinase inhibition reduces rtPA-mediated mortality in cerebral ischemia with delayed reperfusion [J]. Stroke, 2003, 34(8) :2025 - 2030.

[修回日期]2015-12-25