

· 药理 ·

化痰通络方对急性脑梗死大鼠 rt-PA 溶栓后 MMP-9 转录活化途径中 AP-1 与 NF- κ B 基因表达的影响

周震¹, 张玉莲^{1*}, 张琳琳¹, 韩文文¹, 宋宛珊², 王凯²

(1. 天津中医药大学第二附属医院, 天津 300150; 2. 天津中医药大学, 天津 300193)

[摘要] 目的: 观察化痰通络方对急性脑梗死大鼠重组组织纤溶酶原激活剂 (rt-PA) 溶栓后基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 及其基因转录活化途径中激活蛋白-1 (AP-1) 与核因子 κ B (NF- κ B) 基因表达的影响。方法: 选择 240 只健康 SD 大鼠, 随机分为假手术组、模型组、rt-PA 组、化痰通络方联合 rt-PA 组 (简称中药组, 中药组分低、中、高剂量组), 采用自身栓子法制备大鼠大脑中动脉栓塞模型 (MCAO), rt-PA 组与中药组分别给予尾静脉注入 rt-PA (5.67 mg·kg⁻¹) 及联合 3 种不同剂量化痰通络方中药 (3.6, 7.2, 14.4 g·kg⁻¹) 干预, 每日 2 次。于相应时间点采用 Western blot 检测各组大鼠大脑皮质梗死区组织中 MMP-9 蛋白的表达, 采用逆转录聚合酶链反应 (Real Time PCR) 方法检测 MMP-9 基因转录活化途径中 AP-1 与 NF- κ B 基因的表达。结果: Western blot 结果显示: 模型组内各个时相大鼠 MMP-9 含量较假手术组均显著增加 ($P < 0.05$); 加入中药干预后, MMP-9 蛋白表达明显减少, 其中以中、高剂量效果显著 ($P < 0.05$)。Real Time PCR 结果显示: 与假手术组比较, 模型组 AP-1 与 NF- κ B 基因相对表达量均明显增加 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 加入中药干预后, 2 种基因均有所降低, 以中药中、高剂量作用明显, 同一时相内与 rt-PA 组相比, 在 6 h 和 24 h 时, 中药高剂量作用优于 rt-PA, 在 72 h 和 7 d 时, 中药中剂量作用优于 rt-PA。结论: 化痰通络方可通过调控 MMP-9 上游基因转录途径中 AP-1 与 NF- κ B 基因的表达, 部分抑制其活化程度, 进而保护血脑屏障完整性, 从而更好的防治急性脑梗死溶栓后转化出血的发生与发展。

[关键词] 化痰通络方; 大鼠重组组织纤溶酶原激活剂; 溶栓; 急性脑梗死; 基质金属蛋白酶-9; 基因转录活化途径

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)15-0122-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014150122

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140609.1533.003.html>

[网络出版时间] 2014-06-09 15:33

Effect of Huatan Tongluo Formulae on Expression of AP-1 and NF- κ B on Gene Transcription Activation Pathway of MMP-9 in Rat Cortex Accepted Thrombolysis Therapy after Acute Cerebral Infarction

ZHOU Zhen¹, ZHANG Yu-lian^{1*}, ZHANG Lin-lin¹, HAN Wen-wen¹, SONG Wan-shan², WANG Kai²

(1. The Second Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Tianjin 300150, China; 2. Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Huatan Tongluo formulae on express of motrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and activator protein-1 (AP-1) and nuclear factor kappa B (NF- κ B) on gene

[收稿日期] 20131116(005)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81072796);天津市应用基础及前沿技术研究计划(12JZDJC25300);天津市教委“十二五”创新团队培养计划项目(TD12-5035)

[第一作者] 周震, 医学博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 从事中医药治疗脑血管病的临床及机制研究, Tel: 13110057681, E-mail: zhouzhen7681@126.com

[通讯作者] * 张玉莲, 医学博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 从事中西医结合防治脑病工作, Tel: 13110057681, E-mail: zhy1220@126.com

transcription activation pathway in rat cortex accepted thrombolysis therapy after the acute cerebral infarction. **Method:** Two hundred and forty healthy male SD rats were randomly divided into sham group, model group, recombinant tissue plasminogen activator (rt-PA) group, rt-PA-Huatan Tongluo group (Chinese medicine group for short), Chinese medicine group were divided high dose group, middle dose group and low dose group, drug respectively as: 3.6, 7.2, 14.4 g·kg⁻¹, each group was divided into four time phases: 6, 24, 72 h, 7 days. In the corresponding time points prepares the middle cerebral artery occlusion (MCAO) rat model, the rats in rt-PA group were injected rt-PA (5.67 mg·kg⁻¹), and those of Chinese medicine group were given rt-PA and three different doses of Huatan Tongluo formulae, 2 times a day. Then respectively observe the protein expression of MMP-9 by Western blot observe the gene expression of AP-1 and NF- κ B on gene transcription activation pathway by RT-PCR. **Result:** The result of Western blot showed: compared with sham group, the expression of MMP-9 increased significantly ($P < 0.05$), compared with model group in the same time phases, the expression of MMP-9 decreased in Chinese medicine group, especially in high dose group and middle dose group. RT-PCR showed that compared with sham group, the expression of AP-1 and NF- κ B increased significantly in model group ($P < 0.05$), the expression of two genes in Chinese medicine group, especially in high dose group and middle dose group. Compared with rt-PA group, the expression of AP-1 and NF- κ B decreased in high dose group at 6, 24 h and in middle dose group at 72 h and 3 d. **Conclusion:** Huatan Tongluo can inhibit the activation of MMP-9, protect the blood brain barrier by regulating AP-1 and NF- κ B on gene transcription activation pathway of MMP-9.

[Key words] Huatan Tongluo formulae; recombinant tissue plasminogen activator; thrombolysis; acute cerebral infarction; matrix metalloproteinase-9; gene transcription activation pathway

急性脑梗死因其高致残率与致死率的特点成为一种需要快速诊断和治疗的临床急症,超早期溶栓治疗是目前唯一具有循证医学证据的治疗方法^[1-2],可迅速恢复梗死区脑血流量,抢救缺血半暗带,使神经功能缺损症状和体征得到缓解。但溶栓治疗在溶解血栓的同时亦可引发多种严重并发症,如出血转化及在灌注损伤等,其中以脑内出血最为常见^[3],因此成为限制溶栓疗法广泛应用于临床的直接原因之一。研究显示,血脑屏障(BBB)完整性破坏是脑梗死溶栓后出血转化的病理生理学基础^[4]。而脑毛细血管壁基底膜对维持血脑屏障的完整性尤为重要,基底膜的主要成分是细胞外基质分子,基质金属蛋白酶(MMPs)是降解细胞外基质的最重要的蛋白酶,溶栓药可增加 MMPs 的表达,降解细胞外基质,从而引起出血转化,其中与 MMP-9 关系最为密切^[5]。

以往研究显示,溶栓后 MMP-9 活化调节一般通过 3 种途径,即酶原活化激活途径^[6],基质金属蛋白酶组织抑制剂 1 (TIMP-1) 负性调节途径以及基因转录途径^[7],其中与基因转录途径关系较为密切。

本研究前期结果表明,化痰通络方联合溶栓剂可通过保护溶栓后 BBB 完整性来减少溶栓后出血转化等并发症的发生^[8],但该作用是否与活化 MMP-9 蛋白相关以及如何活化未作进一步阐述。

因此本研究观察不同浓度化痰通络方对急性脑梗死大鼠大脑皮质梗死区 MMP-9 蛋白以及其上游基因转录活化途径中核因子 κ B (NF- κ B) 和激活蛋白 1 (AP-1) 基因表达的影响,以期探讨其保护血脑屏障完整性的可能作用机制。

1 材料

1.1 动物 健康 SD 大鼠 240 只购自北京大学医学部实验动物科学部,合格证号 SZXK (京) 2011-00120,清洁级,雌雄各半,体重为 200 ~ 250 g。

1.2 药物 化痰通络方组成:天麻 10 g,清半夏 10 g,丹参 30 g,胆南星 5 g,地龙 10 g,川芎 10 g,酒大黄 5 g。将上述药物 400 g 加入 10 倍水,共煎煮 3 次,每次 30 min,浓缩至 500 mL,生药质量浓度为 0.8 g·mL⁻¹,由天津中医药大学第二附属医院制剂室制备,药物于 4 °C 保存备用。注射用重组组织纤溶酶原激活剂(rt-PA,)购自德国勃林格殷格翰公司(批号 005765201304),血栓诱导剂购自长春国药药业有限公司(批号 20081218)。

1.3 试剂 Anti-MMP-9 antibody (Millipore 公司,批号 MAB3309)、辣根酶标记羊抗鼠 IgG (Millipore 公司,批号 AP136P)、 β -actin (Santacruz,批号 sc-47778)、Trizol 试剂盒(武汉博士德生物工程公司,批号 F0231A),SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(批号 P0012A)、BCA 蛋白浓度试剂盒(批号 P0009)均为

碧云天生物技术有限公司。

1.4 仪器 DYY-6C 型电泳仪(北京六一仪器厂),转膜仪(大连竞迈生物科技有限公司),Neofuge 13 型高速冷冻离心机(上海力申科学仪器有限公司),DW-86L628 型超低温保存箱(海尔公司)。

2 方法

2.1 模型制备 血栓制备参照李杰等^[9]方法,随后参照张新江、刘瑜等^[10-11]方法建立大鼠大脑中动脉栓塞模型(MCAO)。假手术组手术方法同模型制作,只在注射时以 0.9% 生理盐水 0.3 mL 代替栓子溶液。

2.2 动物分组及处理 采用随机数字表法将 240 只大鼠分为假手术组、模型组、rt-PA 组、化痰通络方联合 rt-PA 组(之后简称中药组,中药组分低、中、高剂量组),共 6 组,每组分为 6,24,72 h 与 7 d 4 个时相,每组每个时相选取 10 只大鼠。给药剂量参照文献^[8]中“人和动物间按体表面积折算的等效剂量比值表”计算,分别为 3.6,7.2,14.4 g·kg⁻¹。中药组与 rt-PA 组于血栓注入后 3 h 由尾静脉缓慢 1 次性注入 rt-PA(5.67 mg·kg⁻¹),中药组联合 3 种不同剂量化痰通络中药 ig 治疗,2 次/d,模型组与 rt-PA

组 ig 给予相同时间点等量生理盐水,于不同时相对大鼠进行 2% 戊巴比妥钠(40 mg·kg⁻¹) ip 麻醉,取缺血区脑组织以备检测。

2.3 观察指标

2.3.1 检测 MMP-9 蛋白的表达 取大鼠梗死区大脑皮质,提总蛋白质,测定蛋白质浓度。对蛋白样品进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,转膜,封闭,加入一抗孵育,4 ℃ 静置过夜。洗涤后加入二抗,孵育,充分洗涤,利用超敏 ECL 化学发光试剂盒,借助荧光成像仪观察相关蛋白的表达。得到图像结果后应用 Image J 软件计算各组相对灰度比。

$$\text{灰度比} = (\text{测得目的蛋白强度} \times \text{面积}) / (\text{内参蛋白} \beta\text{-actin 强度} \times \text{面积})$$

2.3.2 检测 MMP-9 上游激活物 AP-1, NF-κB 基因的表达 按照 Trizol 试剂盒提取总 RNA。校正每组总 RNA 质量浓度为 1 g·L⁻¹。在逆转录体系中按试剂盒说明书进行逆转录反应,观察荧光定量溶解度。计算方法采用 Ratio = 2^{-ΔΔct} 方法,Δct1 = 空白对照目的基因 ct 值 - 空白对照内参基因 ct 值,Δct2 = 实验组目的基因 ct 值 - 实验组内参基因 ct 值,ΔΔct = Δct2 - Δct1。见表 1。

表 1 引物序列

基因	上游引物	下游引物
β-actin	5'-GAGGCCAGCAAGAGAGCT-3'	5'-TTCACGGTTGGCCTTAGGCTT-3'
AP-1	5'-AAACGACCTTCTACGAGGATG-3'	5'-TCGGAGGTGCGGCTTCAGATT-3'
NF-κB	5'-AAATCCAACACAGGCATCACC-3'	5'-TTGCTTCGGTCTTGGTCTGG-3'

2.4 统计学方法 采用 SPSS 13.0 统计分析软件进行处理,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组数据间的比较采用 *t* 检验或单因素方差分析方法。*P* < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠大脑皮质梗死区 MMP-9 蛋白表达 Western blot 结果显示:与假手术组相比,模型组各个时相 MMP-9 含量均显著增加(*P* < 0.05)。同一时相与模型组相比,溶栓 24,72 h 和 7 d 后中药组内 MMP-9 表达含量均降低,其中溶栓 7 d 后 rt-PA 组 MMP-9 表达含量亦降低,而溶栓 6 h 后,仅有中药中、高剂量组中 MMP-9 表达量降低,与模型组差异显著(*P* < 0.05),并优于单纯 rt-PA 组(图 1,表 2)。

3.2 MMP-9 上游激活物 AP-1 与 NF-κB 基因的表达 RT-PCR 结果显示:与假手术组比较,模型组各个时相内 AP-1 与 NF-κB 基因相对表达量均明显增加(*P* < 0.05)。见表 3。

与模型组相比,溶栓 6 h 后,AP-1 与 NF-κB 在中药高剂量组中均降低(*P* < 0.05),而 NF-κB 基因在中剂量组中亦降低(*P* < 0.05);溶栓 24 h 后,rt-PA 组与中药组中 2 种基因表达量均降低(*P* < 0.05);溶栓后 72 h,2 种基因在中剂量组中均降低,此外 AP-1 基因在高剂量组中表达亦降低(*P* < 0.05);溶栓 7 d 后,中药中、高剂量组中 2 种基因相对表达量均降低,差异具有统计学意义(*P* < 0.05),并优于单纯 rt-PA 组(表 3~4)。

4 讨论

脑梗死属祖国医学“中风”范畴,其主要病机为痰瘀互结、酿生浊毒,阻闭脉络、蕴热扰神^[12]。关于中风病急性期中医证候学研究发现,风痰瘀阻证在缺血性中风急性期起病中占绝对多数^[13],因此在早期投用化痰泻浊、祛瘀通络方药切中病机。在先期进行的“化痰通络方联合小剂量尿激酶溶栓治疗急性脑梗死临床与实验研究”中,通过 200 例急性脑

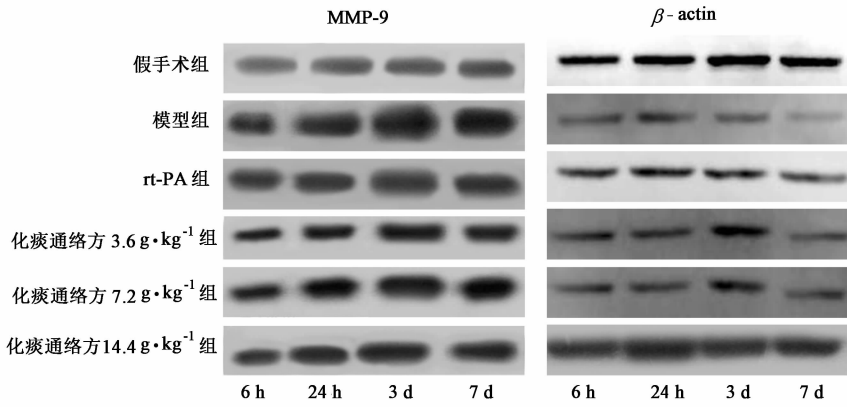


图 1 不同时相各组大鼠大脑皮质 MMP-9 蛋白条带

表 2 化痰通络方对急性脑梗死大鼠 rt-PA 溶栓后不同时相大脑皮质梗死区 MMP-9 蛋白表达的相对灰度比较 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	MMP-9 蛋白/β-actin			
		6 h	24 h	72 h	7 d
假手术	-	0.553 ± 0.176	0.548 ± 0.096	0.632 ± 0.112	0.674 ± 0.102
模型	-	1.266 ± 0.291 ¹⁾	1.369 ± 0.191 ¹⁾	1.917 ± 0.463 ¹⁾	1.565 ± 0.322 ¹⁾
rt-PA	5.67 × 10 ⁻³	0.908 ± 0.473	0.966 ± 0.311	1.433 ± 0.343	1.171 ± 0.057 ²⁾
化痰通络方	3.6	0.814 ± 0.367	0.853 ± 0.326 ²⁾	0.972 ± 0.282 ²⁾	0.928 ± 0.129 ²⁾
	7.2	0.620 ± 0.453 ²⁾	0.696 ± 0.093 ²⁾	0.751 ± 0.172 ^{2,3)}	0.712 ± 0.031 ^{2,3)}
	14.4	0.560 ± 0.222 ^{2,3)}	0.656 ± 0.089 ^{2,3)}	0.870 ± 0.334 ^{2,3)}	0.762 ± 0.085 ²⁾

注:与同一时相假手术组比较¹⁾ P < 0.05;与同一时相模型组比较²⁾ P < 0.05;与 rt-PA 组相比较³⁾ P < 0.05(表 2,3 同)。

表 3 化痰通络方对急性脑梗死大鼠 rt-PA 溶栓后不同时相皮质 AP-1 基因表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

2^{-ΔΔct}

组别	剂量/g·kg ⁻¹	AP-1 mRNA			
		6 h	24 h	72 h	7 d
假手术	-	1.432 ± 0.076	2.296 ± 0.078	1.732 ± 0.097	1.252 ± 0.077
模型	-	1.798 ± 0.066 ¹⁾	3.092 ± 0.113 ¹⁾	2.115 ± 0.084 ¹⁾	1.588 ± 0.103 ¹⁾
rt-PA	5.67 × 10 ⁻³	1.721 ± 0.150	2.856 ± 0.095 ²⁾	2.067 ± 0.122	1.524 ± 0.099
化痰通络方	3.6	1.617 ± 0.039	2.735 ± 0.225 ²⁾	1.958 ± 0.086	1.517 ± 0.137
	7.2	1.611 ± 0.056	2.531 ± 0.078 ²⁾	1.867 ± 0.177 ^{2,3)}	1.406 ± 0.069 ^{2,3)}
	14.4	1.590 ± 0.162 ^{2,3)}	2.386 ± 0.045 ^{2,3)}	1.896 ± 0.136 ²⁾	1.437 ± 0.067 ²⁾

表 4 化痰通络方对急性脑梗死大鼠 rt-PA 溶栓后不同时相皮质 NF-κB 基因相对表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

2^{-ΔΔct}

组别	剂量/g·kg ⁻¹	NF-κB			
		6 h	24 h	72 h	7 d
假手术	-	0.497 ± 0.044	0.889 ± 0.054	0.596 ± 0.072	0.469 ± 0.097
模型	-	0.630 ± 0.086 ¹⁾	1.217 ± 0.033 ¹⁾	0.849 ± 0.163 ¹⁾	0.757 ± 0.091 ¹⁾
rt-PA	5.67 × 10 ⁻³	0.578 ± 0.057	1.177 ± 0.073 ²⁾	0.840 ± 0.061	0.603 ± 0.122
化痰通络方	3.6	0.541 ± 0.049	1.122 ± 0.067 ²⁾	0.803 ± 0.059	0.569 ± 0.058 ²⁾
	7.2	0.524 ± 0.031 ²⁾	0.901 ± 0.053 ^{2,3)}	0.676 ± 0.072 ^{2,3)}	0.518 ± 0.024 ^{2,3)}
	14.4	0.511 ± 0.043 ^{2,3)}	0.903 ± 0.022 ^{2,3)}	0.720 ± 0.061	0.542 ± 0.125 ²⁾

梗死溶栓治疗回顾性研究与 60 例前瞻性研究发现,化痰通络方可改善脑梗死风痰瘀阻证患者的神经功能,改善其认知功能,同时可以明显的提高溶栓药物使用安全性、减少溶栓后出血转化等并发症的发生与发展^[14-15],随后相关动物实验研究显示该作用与保护血脑屏障(BBB)完整性相关。

BBB 主要由脑毛细血管内皮细胞、血管基底膜

及胶质细胞终足构成,血管基底膜与间质内的细胞外基质(ECM)是维持 BBB 完整的重要结构基础。ECM 的主要成分包括胶原、糖蛋白、脂蛋白等,这些均为金属蛋白酶(MMPs)作用的底物。正常情况下,MMP-9 在脑内表达水平较低,脑梗死可激活 MMPs 系统,致 MMP-9 表达上调。过度表达的 MMP-9 可破坏血管基底膜,使内皮细胞与 ECM 的

连接中断, 血脑屏障通透性增加, 引发脑梗死溶栓后出血转化^[16]。

本研究 Western blot 结果显示, 与假手术组相比, 模型组 MMP-9 蛋白含量显著增加, 采用 rt-PA 溶栓后, MMP-9 表达有降低趋势, 但不明显, 而联合不同浓度的化痰通络中药后, MMP-9 表达显著降低, 可见, 化痰通络方可明显抑制由于急性脑梗死导致的大鼠大脑皮质梗死区 MMP-9 蛋白表达升高, 并优于单纯 rt-PA 治疗。

以往研究显示在组织缺血缺氧、再灌注等诱导下, MMP-9 受到多种活化途径的调控, 其中包括基因转录途径, 在该途径中 AP-1 与 NF- κ B 基因的作用最为明显^[17]; MMP-9 的启动子区包含 AP-1 和 NF- κ B 转录因子结合位点, 静息状态下 NF- κ B 以无活性的形式存在于细胞浆内, 脑缺血后 NF- κ B 被激活, 进入核内启动 MMP-9 的 mRNA 转录^[18-19], 细胞因子通过丝裂原活化蛋白激酶、蛋白激酶 C、受体相关蛋白等信号转导途径最终作用于 AP-1 或 NF- κ B 而调节 MMP-9 的表达^[20]。

本实验 RT-PCR 结果显示 rt-PA 溶栓联合化痰通络中药能明显降低大鼠脑梗死区 AP-1 与 NF- κ B 基因的表达, 其中以中药中、高剂量效果明显。

由此可见, 化痰通络方联合 rt-PA 溶栓, 可通过下调 AP-1 与 NF- κ B 基因, 部分抑制 MMP-9 活化程度, 减轻其对细胞外基质降解和对脑血管外基膜的攻击, 进而保护血脑屏障完整性, 从而防治急性脑梗死溶栓后出血转化的发生与发展, 为该法联合 rt-PA 溶栓的临床应用提供依据。

[参考文献]

[1] 黄燕, 贾翔, 孙景波. 急性缺血性卒中溶栓后出血转化的中医药干预思路[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(7):1749.

[2] Molina C A. Reperfusion therapies for acute ischemic stroke: current pharmacological and mechanical approaches[J]. Stroke, 2011, 42(1 Suppl):S16.

[3] 李杰, 李光勤, 蒋国会. rt-PA 与尿激酶溶栓后对 MMP-9 及脑出血性转化的对比研究[J]. 重庆医科大学学报, 2009, 34(8):1000.

[4] Jiao H, Wang Z, Liu Y, et al. Specific role of tight junction proteins claudin-5, occludin, and ZO-1 of the blood-brain barrier in a focal cerebral ischemic insult [J]. J Mol Neurosci, 2011, 44(2):130.

[5] Li D D, Song J N, Huang H. The roles of MMP-9/TIMP-1 in cerebral edema following experimental acute cerebral infarction in rats [J]. Neurosci Lett, 2013, 29

(567):168.

[6] Pelz J, Härtig W, Weise C, et al. Endothelial barrier antigen-immunoreactivity is conversely associated with blood-brain barrier dysfunction after embolic stroke in rats[J]. Eur J Histochem, 2013, 57(4):255.

[7] Yang F, Wang Z, Wei X. NLRP3 deficiency ameliorates neurovascular damage in experimental ischemic stroke [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2014, 34(242):660.

[8] 张玉莲. 化痰通络法联合小剂量尿激酶治疗急性脑梗死溶栓的临床与实验研究[D]. 天津: 天津中医药大学, 2008.

[9] 李杰, 李光勤. 尿激酶溶栓对大鼠中动脉血栓栓塞模型大鼠 MMP-9、血脑屏障通透性和脑出血的影响 [J]. 国际脑血管病杂志, 2009, 17(9):668.

[10] 张新江, 常丽英, 张苏明, 等. 大鼠自体血栓大鼠中动脉闭塞模型的改良 [J]. 卒中与神经疾病, 2003, 10(1):12.

[11] 刘瑜, 胡文立, 宋爱利, 等. 大鼠脑血栓模型的实验研究[J]. 实用医学杂志, 2005, 21(8):1992.

[12] 周超杰. 益气活血通络汤治疗缺血性脑中风 64 例 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7):237.

[13] 黄宇虹. 中风病急性期证候学研究[D]. 天津: 天津中医学院, 2005:29.

[14] 周震, 张玉莲. 中药联合尿激酶溶栓治疗急性脑梗死 200 例回顾分析[J]. 天津中医药, 2009, 26(6):449.

[15] 张玉莲, 周震, 王立存, 等. 化痰通络法结合尿激酶溶栓治疗急性脑梗死临床研究[J]. 天津中医药, 2010, 27(1):12.

[16] Wang P J, Song R R, Zhang Z B. Changes in plasma content of matrix metallo proteinase-9 in acute cerebral infarction patients before and after thrombolytic therapy and its significance[J]. Stroke, 2010, 22(10):621.

[17] Ganguly K, Rejmak E, Mikosz M, et al. Matrix metalloproteinase (MMP) 9 transcription in mouse brain induced by fear learning [J]. J Biol Chem, 2013, 288(29):20978.

[18] Lin C C, Lee I T, Wu W B. Thrombin mediates migration of rat brain astrocytes via PLC, Ca²⁺, CaMKII, PKC α , and AP-1-dependent matrix metallo proteinase-9 expression [J]. Mol Neurobiol, 2013, 48(3):616.

[19] Jang J W, Lee J K, Lee M C. Melatonin reduced the elevated matrix metalloproteinase-9 level in a rat photothrombotic stroke model [J]. J Neurol Sci, 2012, 323(1/2):221.

[20] Khoi P N, Park J S, Kim J H, et al. Epigallocatechin-3-gallate blocks nicotine-induced matrix metalloproteinase-9 expression and invasiveness via suppression of NF- κ B and AP-1 in endothelial cells [J]. Int J Oncol, 2013, 43(3):868.

[责任编辑 聂淑琴]