

局灶性脑缺血的实验研究进展

王国华 综述,姜正林* 审校

(南通大学航海医学研究所,南通 226001)

[摘要] 大脑中动脉阻断模型(MCAO)是标准的局灶性脑缺血模型。该模型的制作方式及方法不断改进,研究手段逐渐由过去简单的行为学评分、脑梗死体积测定、组织形态观察,发展到功能学、神经生化、分子生物学等领域。MCAO的研究为进一步研究人类脑缺血损伤的病变特点、发病机制及防治提供了实验依据。本文对近年来 MCAO 模型及脑缺血相关的实验研究进展作一综述。

[关键词] 脑缺血模型;脑功能;分子生物学;缺血再灌注损伤

[中图分类号] R 743 [文献标识码] A [文章编号] 0258-879X(2006)10-1145-05

Progress in research of focal cerebral ischemia

WANG Guo-hua, JIANG Zheng-lin* (Institute of Nautical Medicine, Nantong University, Nantong 226001, China)

[ABSTRACT] Middle cerebral artery occlusion(MCAO) can be used to establish the standard model of focal cerebral ischemia. The method for establishing focal cerebral ischemia model has been improved continuously, from simple behavior score, measurement of infarcted brain area, and morphological observation in the past to functional study, neurobiochemistry, molecular biology, etc. The research of MCAO provides a basis for further study of the pathological characteristics, mechanism and prevention of human cerebral ischemia. This article reviews the recent advancement in the study of MCAO model and cerebral ischemia.

[KEY WORDS] focal cerebral ischemia model; brain function; molecular biology; ischemic reperfusion injury

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(10): 1145-1149]

脑梗死是严重威胁现代人类健康的重大疾病,对其研究离不开动物模型。局灶性脑缺血模型是最常用的脑缺血实验动物模型,而大脑中动脉为临床上缺血性脑血管病的多发部位,故大脑中动脉阻断模型(middle cerebral artery occlusion, MCAO)已经被广泛应用于脑缺血梗死的研究,为标准的局灶性脑缺血模型^[1]。MCAO 模型适用于对神经元缺血敏感性、耐受性以及再灌注损伤和治疗时间窗的研究,是研究缺血性脑损伤和脑保护必不可少的工具^[2]。目前关于 MCAO 模型研究报道有很多,研究手段已经由过去简单的行为学评分、脑梗死体积测定、组织形态观察,发展到功能学、神经生化、分子生物学等。研究内容已由整体水平发展到细胞、分子水平;由细胞外、核外相关事件的研究深入到核内事件发生的本质性研究。本文综述了目前 MCAO 模型及脑缺血相关的实验研究进展。

1 模型制作

实验性 MCAO 模型制作有 60 多年历史,在动物选择及制作方式、方法上有着不断改进。在实验动物上,目前一致认为选用大鼠具有成本低、种系纯合性好、便于进行统计学对比分析,与人类有类似的脑血管解剖特点(具有完整的 Willis 环)等优点,因此是最常用的实验动物^[3]。此外,它的抗感染能力较强,生命力也强,实验中动物感染率较少,存活时间相对较长。

常用的方法除线栓法外,主要有经眼眶或经眶后入颅阻断 MCA、电凝法、光化学诱导 MCA 血栓形成等方法。20 世

纪 80 年代 Koizumi 和 Longa 创用了不开颅的大鼠 MCA 可逆性脑梗死模型,此后,应用插线法制备大鼠局灶性脑缺血再灌注模型的方法得到不断改进和完善,已渐趋成熟,目前该法已逐渐取代开颅法而成为最流行的方法^[3]。该模型先阻断颈外动脉(ECA)及其分支,且阻断翼腭动脉(PPA),以切断颅外来源的侧副循环血流。从 ECA 插入尼龙线,经颈内动脉(ICA)到大脑中动脉(ACA),机械性阻断大脑中动脉(MCA)发出处的血供来建立大脑中动脉缺血模型。此模型可在无麻醉状态下拔出尼龙线,恢复血流,实现再灌注。线栓法具有不开颅、效果肯定、可准确控制缺血及再灌注时间的优点,用于研究神经元对缺血的敏感性、耐受性,药物疗效观察以及再灌注损害和治疗时间窗较为理想,同时也具有对全身影响小、动物存活时间长等特点,适于慢性脑损伤的研究。但线栓法 MCAO 模型在实验技巧上要求较高,不同实验室应用该方法制备的模型在成功率、梗死体积、蛛网膜下腔出血(SAH)发生率及动物早期死亡等方面均有一定的差异^[4]。目前显微技术、多功能生理监测手段及神经影像学方法已经开始运用于线栓法模型制作,加上严格的筛选手段及

[基金项目] 江苏省 2005 年度研究生创新计划项目;南通市社会发展项目(S30018)。Supported by the Innovation Programme for post-graduate students of Jiangsu Province (2005); Social Development Programme of Nantong city(S30018)。

[作者简介] 王国华,硕士,助教。E-mail: wghnt@sina.com

* Corresponding author. jiangzl@ntu.edu.cn

熟练的手术操作,控制好易变因素,可避免实验结果的不稳定性。

2 研究手段

2.1 MRI 成像技术 脑梗死体积是评价局部脑缺血及缺血性脑损害程度最重要的客观指标之一^[5]。磁共振成像(MRI)具有高软组织对比度、可行任意角度成像、无创伤、无射线和成像参数多等特点,在所有医学影像学技术中显示脑脊髓解剖结构最清晰,其图像质量可与大体解剖的脑切片相媲美。弥散加权成像(diffusion-weighted imaging, DWI),反映的是水分子的微观运动状况,可以从细胞及分子水平来研究疾病状况。MRI弥散加权像在缺血损害的早期阶段,就能区分缺血组织与正常组织,结合图像分析系统可快速得到脑梗死体积,从而早期进行模型评价。并且利用MRI测得的脑梗死体积与组织学方法检测一致,两者呈正相关,加上MRI本身的无创性,可以动态观测大鼠脑缺血损害的时间变化趋势,动态观测梗死灶的大小。现国外诸多研究^[6-9]已应用MRI弥散加权像(diffusion-weighted images)和T₁、T₂加权像(T₁、T₂-weighted images)用于MCAO脑缺血模型研究。Schbitz等^[9]认为利用无创伤性的MRI检查手段,对研究任何缺血的治疗措施的起始、持续时间及疗效都是十分重要的。

功能磁共振成像现已广泛应用于脑梗死及缺血再灌注损伤模型的技术研究,除了上面提到的弥散加权成像可发现超急性脑梗死缺血区,MRI灌注加权像(PWI)可检测局部脑血容量(rCBV)、局部脑血流量(rCBF)等生理和血流动力学资料。Hughes等^[10]用PI像研究相对脑区的局部脑血流量变化,以了解脑血流灌注程度,发现微量注射ET-1至纹状体后,较对照相比1h时减少40%,3h减少20%,说明ET-1可引起大鼠中枢神经系统局灶性损害。

2.2 神经细胞凋亡 采用大脑中动脉阻断(MACO)模型,可在不同灌注时间点观察局灶性脑缺血神经元凋亡的动态变化过程。最常使用的是脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法(terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated nick end-labeling, TUNEL)。细胞凋亡中,染色体DNA双链断裂或单链断裂而产生大量的粘性3'-OH末端,可在脱氧核糖核苷酸末端转移酶(TdT)的作用下,将脱氧核糖核苷酸和荧光素、过氧化物酶、碱性磷酸酶或生物素形成的衍生物标记到DNA的3'-末端,从而可进行凋亡细胞的检测。由于正常的或正在增殖的细胞几乎没有DNA的断裂,因而没有3'-OH形成,很少能够被染色。TUNEL实际上是分子生物学与形态学相结合的研究方法,对完整的单个凋亡细胞核或凋亡小体进行原位染色,能准确地反映细胞凋亡典型的生物化学和形态特征,并可检测出极少量的凋亡细胞,因而在脑缺血损伤的细胞凋亡研究中被广泛采用。Li等^[11]对MCAO术后1h再灌注48h、厚10μm的大鼠脑冠状切片行TUNEL染色,发现合成纤维结合蛋白肽较对照组凋亡细胞明显减少,提示合成纤维结合蛋白肽能通过抑制凋亡而发挥神经保护作用。凋亡细胞分布在梗死边缘带的内侧皮质、纹状体、海马和嗅结节。结合免疫细胞化学方法(分别用

神经无特异性烯醇酶和胶原原纤维酸性蛋白特异性标记神经元和星形胶质细胞)证实凋亡的细胞大部分为神经元(占90%~95%)。部分为星形胶质细胞,少数为内皮细胞。

作为凋亡机制中重要的效应子成分,Caspase家族参与多种与凋亡有关的生理和病理过程^[12]。在诸如生长因子撤除、热休克、细胞因子和DNA损伤剂等刺激作用下,细胞内多种凋亡信号转导途径被活化,最终将会聚于Caspase家族蛋白酶这一共同的遗传保守机制。在神经元凋亡中Caspase也起着关键作用,参与了一些神经变性疾病的发生。Caspase-3是Caspase家族迄今为止研究比较透彻的一个,它又是该家族中主要的效应者分子。在蛋白酶级联切割过程中,Caspase-3处于核心位置,不同的蛋白酶分别切割Caspase-3酶原,从而激活Caspase-3,活化的Caspase-3又进一步切割不同的底物,导致蛋白酶级联切割放大,最终使细胞走向死亡,因此Caspase-3被称为死亡蛋白酶。Xia等^[13]研究表明七叶皂苷能明显抑制脑缺血-再灌注后Caspase-3的活力,减少细胞色素C的释放,增加Bcl-2的表达,从而推论七叶皂苷能通过抑制脑缺血损伤后的神经元凋亡。

2.3 脑功能

2.3.1 脑血流测定 大脑皮质局部脑血流量(rCBF)测定,采用氢清除法或激光多普勒血流仪测定大脑中动脉供血中心区缺血后各时间点大脑皮质rCBF变化。曹霞等^[14]研究表明脑血流量随缺血时间进行性降低,各时间点比较有显著性差异。随着缺血时间的延长,rCBF逐渐降低,回归分析示rCBF与时间呈显著负相关,符合线栓法脑血流阻断这一渐进过程。缺血12h后CBF不能测出,表明梗死中心区循环严重受损,此与梗死体积随时间变化的研究相一致。

2.3.2 脑电图 脑电图的测量采用脑电图仪或多道生理记录仪,在大鼠的颅顶右侧皮下安置银丝电极,记录并测量栓塞前、栓塞后和复灌后的脑电图的波幅。通常将脑电图变化依其幅度下降程度分为级。级:无改变,原水平的75%以上;级:轻度抑制,原水平的75%~50%;级:中度抑制,原水平的50%~25%;级:严重抑制,原水平的25%至等电位。Williams等^[15]脑电图观测GP15232对于缺血再灌注损伤的脑保护效果,测得在高频EEG(8~30Hz)中,GP15232治疗组能明显改善局灶性脑缺血所致的病理性脑电波形。

2.3.3 Ca²⁺的动态研究 Ca²⁺参与细胞膜生物电活动和胞内生化过程,对细胞的正常功能起着关键作用。正常神经元内的游离钙浓度很低,通常只有细胞外的千分之一,这需要细胞对钙的主动排出和细胞对钙的相对无通透性来维持。神经细胞钙超载是脑缺血损伤的一个重要机制,已证实各种因素诱导的细胞凋亡出现前,胞内游离Ca²⁺的浓度呈持续性升高,若抑制Ca²⁺浓度的升高,则可阻止细胞凋亡的发生。大脑中动脉区是脑梗死的好发部位,可利用激光扫描共聚焦显微镜(laser scanning confocal microscope, LCSM)无损伤断层光切扫描的技术特性及荧光探针激发/发射波长不同的特点,建立对活体脑片组织定位定量测定胞内Ca²⁺含量的方法,为研究脑缺血缺氧损伤提供了一个新的手段^[16]。

2.3.4 脑磁图 脑磁图(magnetoencephalography, MEG)通过无创伤性的方法探测大脑生物电流所产生的磁场变化,具有很高的时间分辨率及空间分辨率。大脑皮质内锥状细胞排列规则,由细胞体向皮质伸出的树突平行排列,当神经元同步活动时,形成集合电流,产生在颅外可以探测到的磁场,脑磁图即是记录神经元活动时所产生的磁场,脑磁场的探测装置主要为 SQUID,可以探测极微弱的磁场,SQUID主要由超导环组成,其原理是像脑内一样微弱的交变磁场即可在超导探测线圈上产生可检测的电流,由 SQUID 放大引出后进行数字采集。MEG可以在脑缺血早期发现明显的 ALFMA (abnormal low frequency magnetic activity),ALFMA 可以作为脑缺血的早期预警信号,脑梗死后期,在脑梗死的软化灶周围可以发现半影区内的 AIFMA,其范围随着半影区的变化而变化,从而证实 MEG 能对缺血性再灌注脑组织功能进行评估^[17]。

2.4 神经生化

2.4.1 一氧化氮及其合酶的研究 一氧化氮(nitrogen monoxide, NO)既可作为血管舒张因子,又可作为神经介质,在多种疾病中起着重要作用,在脑缺血-灌注损伤中具有双重作用,既有保护作用,又有毒性作用。NO 主要通过 sGC-cGMP(soluble guanylyl cyclase, sGC)途径舒张脑血管,影响脑微循环血流,间接影响神经细胞的功能^[18]。高浓度的自由基使 NO 失活和抑制 PGL₂ 产生, PGL₂/TXA₂ 和 NO 与自由基之间平衡的破坏将导致细胞黏附和血管收缩,引起脑缺血损伤。一氧化氮合酶(NOS)在中枢神经系统有广泛的分布,不需要利用 ATP 就能催化 NO 的生物合成。Luigi 等^[19]发现他汀类药物的抗脑缺血损伤作用与内皮 NOS(endothelial NOS, eNOS)表达增加密切相关,他汀类药物减少脑的梗死体积、提高神经功能、增加脑血流的效果,依赖于 eNOS 增加;而在 eNOS 缺陷的大鼠中却没有观察到。

2.4.2 细胞因子 在脑缺血再灌注时,受损伤的内皮细胞及激活的白细胞可以产生和释放大量的细胞因子,反过来,许多细胞因子又可作为启动因素,引起脑缺血后的炎症反应并加重损伤,这些细胞因子包括 IL-1、IL-8 和 TNF 等。细胞因子具有多源性及连锁性,形成一个相互作用的白细胞、内皮细胞和细胞因子的网络系统。同时又因它们具有多效性而使其作用十分广泛,如对中枢神经系统来说,既有神经毒性损伤,又有神经营养保护两方面的双重作用^[20]。

大量研究发现^[21~23]MCAO 15 min 后缺血区 IL-1 加重脑损伤可能通过刺激内皮细胞表达 ICAM-1,使白细胞聚集在缺血脑组织,或降低血管舒张因子释放和使 ET-1 分泌增加,加重脑缺血损伤。大鼠 MCAO 1 h 再灌注即刻脑室内注射重组人 IL-1 可引起皮质区和尾状核水肿,梗死体积增加,缺血区浸润的中性粒细胞和黏附于内皮细胞的白细胞数增加,给予 IL-1 抗体和 IL-1 阻滞剂可使上述损伤明显减轻。

IL-8 是一种对炎性细胞具有趋化作用的细胞因子,起着调节炎症反应作用。国外研究^[24]观察了 IL-8 和脑含水量及白细胞浸润三者的关系,发现大鼠 MCAO 1 h 再灌注 3 h,脑缺血区可测到 IL-8,随着血流恢复,IL-8 含量随之升高,在 12 h 达高峰,24~48 h 迅速下降,而脑含水量增加出现在再

灌注 6 h,24 h 最严重;再灌注 12 h 脑实质有白细胞浸润,24~48 h 明显增多。这一结果揭示 IL-8 的产生早于脑水肿形成和白细胞浸润。

TNF 是引发炎症放大效应的一个重要而又有广泛生物学活性的细胞因子。局灶性脑缺血后 1 h 可观察到皮质 TNF mRNA 表达,12 h 达高峰,持续 5 d。在 TNF 作用下,白细胞与内皮细胞相互作用会引起一系列变化,如组织因子与血小板活化因子的合成与表达,增加 IL-1 释放和黏附分子表达;促进白细胞向脑组织转移;激活白细胞磷脂酶 A₂,环氧合酶,导致磷脂分解,后者又激活细胞膜上的还原型辅酶 产生自由基^[25]。

2.5 分子生物学 脑缺血是一种强烈刺激基因表达的因素,一方面,可诱导凋亡基因或细胞应激基因而加速神经元的变性。另一方面,半暗带内某些基因的表达对其具有保护作用。分子生物学技术的进步不仅为研究缺血性脑损伤的发生机制及修复过程提供了新方法、丰富了实验研究的手段,也有助于从分子水平阐明内源性脑损伤因子或脑保护因子的表达调控和作用机制,继而为缺血性脑损伤的治疗开辟新途径^[26]。

原位杂交、基因、蛋白表达分析、反义技术也同样适用于 MCAO 模型。利用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)技术使单个神经细胞离子通道功能和蛋白表达体外扩增分析成为可能。如利用分子生物学研究热休克蛋白(HSP)70^[27,28],发现局灶性缺血导致梗死核心即将出现时,几乎所有神经元和胶质细胞 HSP70 基因的转录和翻译均被破坏,但梗死脑区血管内皮细胞的 HSP70 基因的转录和翻译仍能维持。原位杂交表明,大脑中动脉短期缺血既诱导神经元 HSP70,也诱导神经元 HSP70 mRNA。长期缺血导致梗死时,梗死区神经元则不诱导 HSP70 mRNA 或 HSP70,但梗死区血管内皮细胞仍可诱导 HSP70 mRNA 和 HSP70。在半影区的神经元和胶质细胞均可诱导 HSP70 mRNA 和 HSP70。

另外用 Northern 印迹法发现^[29],局灶性脑缺血引起 c-fos mRNA 剧烈而短暂的表达;用原位杂交法发现^[30],局灶性脑缺血引起 Zif/268 和 Nur-77 等其他 IEG 也发生类似的表达,但 c-myc 未出现可察觉的变化;转录测定发现,c-fos、JunB 和 c-jun 等 mRNA 水平的增高是由于这些基因转录的增加而不是转录后过程的增加;进一步发现,缺血 90 min 时 API 结合活性增高 4~6 倍,持续至少 24 h,并可被反义-Fos 和反义-JunB 抗体减低。另外有学者发现^[31],在短暂性脑缺血后,c-fos、c-jun 主要在可逆性损伤部位(即半暗带)有选择性地表达。c-fos、c-jun 基因的表达能诱导凋亡的发生,尤其对梗死区的神经细胞凋亡有重要意义。

3 应用

脑血管疾病是威胁人类生命安全的主要急症之一,是中老年的常见病,尤其以局灶性脑缺血-再灌注损伤较为多见。MCAO 的研究,可为临床脑缺血损伤的病变特点、发病机制及防治提供理论实验依据,另外开发脑保护剂等均要借助于 MCAO 模型的研究^[32,33]。

3.1 研究神经元缺血损伤的机制 缺血性神经元死亡的机

制一直是神经生物学的研究重点之一。脑缺血后神经元死亡是一个极其复杂的病理过程。许多 MCAO 研究结果表明,脑缺血后能量代谢障碍、细胞内 Ca^{2+} 超载及其所引发的谷氨酸毒性反应是神经元损伤的始动环节,由此产生一系列生化反应,即缺血级联反应,这是决定缺血后神经元命运的主要因素。缺血-再灌注神经细胞损伤是由多种因素共同作用的结果^[34~36]:缺血-再灌注损伤时生成增多的自由基及多种神经递质、兴奋性氨基酸(NMDA受体)共同作用,而使钙离子通道开放,细胞内钙超载,胞质内游离钙增加又加速自由基的产生,共同导致再灌注损伤。中性粒细胞作为再灌注时自由基、细胞黏附分子及其致炎因子的重要来源,在再灌注损伤的发生发展中亦起重要作用。此外,细胞代谢紊乱也参与再灌注损伤的发生。

缺血损伤后神经元死亡主要表现为坏死和凋亡两种形式,分别涉及主动和被动细胞死亡机制^[37]。在脑缺血急性期,神经元坏死与凋亡并存,细胞坏死位于缺血中心区,细胞凋亡主要出现在缺血半暗带;而在脑缺血的迟发性神经元死亡期,则以细胞凋亡为主,凋亡可能决定了最终梗死体积。

3.2 药物抗缺血损伤疗效的评价研究 MCAO局灶性脑缺血-再灌注模型的建立与研究使脑梗死的中心坏死区和缺血半暗带得到病理学证实,特别近年来半暗带病理生理、生化方面对细胞坏死、细胞凋亡和迟发性神经元坏死(DND)发病机制的确定,提出了“治疗时间窗”的概念,为临床脑梗死溶栓治疗提供了依据并已取得成功^[38,39]。针对谷氨酸毒性反应可能是神经元损伤的始动环节,已开发出 GABA受体激动剂、逆转兴奋性氨基酸/抑制性氨基酸比例失调。关于 ICAM-1 抗体及其神经保护作用的实验研究已取得较大进展,并开始用于急性脑梗死治疗,目前正进行临床验证研究。但针对缺血-再灌注神经细胞损伤的病理生理机制开发神经保护治疗方法,虽然采用了 GABA受体激动剂、抗氧化剂、钙离子拮抗剂及抗自由基等药物,但至今尚未发现肯定有效的神经保护药物供临床使用^[40]。

从上述研究进展和取得的成绩看,无论是神经细胞死亡(包括坏死、迟发性坏死和凋亡),还是缺血中心区、半暗带和治疗时间窗,或是各种神经递质和炎性细胞因子等研究所取得的进展,均为缺血性脑损伤防治展现出光明前景,但不可讳言在溶栓治疗、神经保护剂的应用等方面还存在许多问题,亟待深入研究解决,同时对 MCAO 脑缺血模型的研究亦会进一步深入下去。

[参考文献]

[1] Xi GM, Wang HQ, He GH, et al. Evaluation of murine models of permanent focal cerebral ischemia [J]. Chin Med J, 2004, 117:389-394.
 [2] Feuerstein GZ, Wang X. Animal models of stroke[J]. Mol Med Today, 2000, 6:133-135.
 [3] Aspey BS, Taylor FL, Terruli M, et al. Temporary middle cerebral artery occlusion in the rat: consistent protocol for a model of stroke and reperfusion [J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2000, 26:232-242.

[4] Gerriets T, Stolz E, Walberer M, et al. Complications and pitfalls in rat stroke models for middle cerebral artery occlusion [J]. Stroke, 2004, 35:2372-2377.
 [5] Tamura A, Nakayama H, Narita K, et al. Rat middle cerebral artery occlusion models[J]. CVD Grand Round Series, 2001, 4:75-90.
 [6] O'Donnell ME, Tran L, Lam TI, et al. Bumetanide inhibition of the blood-brain barrier Na⁺-K⁺-Cl cotransporter reduces edema formation in the rat middle cerebral artery occlusion model of stroke[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2004, 24:1046-1056.
 [7] Gerriets T, Stolz E, Walberer M, et al. Noninvasive quantification of brain edema and the space-occupying effect in rat stroke models using magnetic resonance imaging[J]. Stroke, 2004, 35:566-571.
 [8] Barber PA, Hoyte L, Kirk D, et al. Early T1- and T2-weighted MRI signatures of transient and permanent middle cerebral artery occlusion in a murine stroke model studied at 9.4 T[J]. Neurosci Lett, 2005, 388:54-59.
 [9] Schbitz WR, Schade H, Heiland S, et al. Neuroprotection by hyperbaric oxygenation after experimental focal cerebral ischemia monitored by MRI[J]. Stroke, 2004, 35:1175-1179.
 [10] Hughes PM, Anthony DC, Ruddin M, et al. Focal lesions in the rat central nervous system induced by endothelin-1[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2003, 62:1276-1286.
 [11] Zhao LR, Spellman S, Kim J, et al. Synthetic fibronectin peptide exerts neuroprotective effects on transient focal brain ischemia in rats[J]. Brain Res, 2005, 1054:1-8.
 [12] Philchenkov A. Caspases: potential targets for regulating cell death[J]. J Cell Mol Med, 2004, 8:432-444.
 [13] Hu XM, Zhang Y, Zeng FD. Effect of aescin on apoptosis induced by transient focal cerebral ischemia in rats [J]. Acta Pharmacol Sin, 2004, 25:1267-1275.
 [14] Cao X, Cao BZ, Chang GF. Correlation between ischemic time and infarcted volume of focal ischemia of middle cerebral artery in mice[J]. Chin J Clin Rehabil, 2004, 8:7838.
 [15] Williams AJ, Lu XM, Slusher N, et al. Electroencephalogram analysis and neuroprotective profile of the N-acetylated- α -linked acidic dipeptidase inhibitor, GPI5232, in normal and brain-injured rats[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2001, 299:48-57.
 [16] He QH, Xing H, Ding YN, et al. Changes of intracellular Ca^{2+} in living brain slices during focal cerebral ischemia/reperfusion [J]. Chin J Pathophysiol, 2002, 18:1357-1359.
 [17] Stippich C, Kassubek J, Kober H, et al. Time course of focal slow wave activity by magnetoencephalography [J]. Neuroreport, 2000, 11:3309-3313.
 [18] Veltkamp R, Rajapakse N, Robins G, et al. Transient focal ischemia increases endothelial nitric oxide synthase in cerebral blood vessels[J]. Stroke, 2002, 33:2704-2710.
 [19] Luigi S, Mauro C, Uliano G, et al. Treatment with statins after induction of focal ischemia in rats reduces the extent of brain damage[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23:322-377.
 [20] Kimura H, Gules I, Meguro T, et al. Cytotoxicity of cytokines in cerebral microvascular endothelial cell[J]. Brain Res, 2003, 990(1-2):148-156.



- [21] Gibson CL, Jones NC, Prior MJ, et al. G-CSF suppresses edema formation and reduces interleukin-1beta expression after cerebral ischemia in mice[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2005, 64: 763-769.
- [22] Wang ZQ, Chen XC, Yang GY, et al. U0126 prevents ERK pathway phosphorylation and interleukin-1beta mRNA production after cerebral ischemia[J]. *Chin Med Sci J*, 2004, 19: 270-275.
- [23] Wang ZQ, Wu DC, Huang FP, et al. Inhibition of MEK/ERK 1/2 pathway reduces pro-inflammatory cytokine interleukin-1 expression in focal cerebral ischemia[J]. *Brain Res*, 2004, 996: 55-66.
- [24] Garau A, Bertini R, Colotta F, et al. Neuroprotection with the CXCL8 inhibitor repertaxin in transient brain ischemia[J]. *Cytokine*, 2005, 30: 125-131.
- [25] Loos M, Dihne M, Block F, et al. Tumor necrosis factor-alpha expression in areas of remote degeneration following middle cerebral artery occlusion of the rat [J]. *Neuroscience*, 2003, 122: 373-380.
- [26] Turley KR, Toledo-Pereyra LH, Kothari RU. Molecular mechanisms in the pathogenesis and treatment of acute ischemic stroke[J]. *J Invest Surg*, 2005, 18: 207-218.
- [27] Carrie RW, Ellison JA, White RF. Benign focal ischemic preconditioning induces neuronal hsp70 and prolonged astrogliosis with expression of hsp27 [J]. *Brain Res*, 2000, 863 (1-2): 169-181.
- [28] Ren M, Leng Y, Jeong M, et al. Valproic acid reduces brain damage induced by transient focal cerebral ischemia in rats: potential roles of histone deacetylase inhibition and heat shock protein induction[J]. *J Neurochem*, 2004, 89: 1358-1367.
- [29] Rau SW, Dubal DB, Bottner M, et al. Estradiol differentially regulates c-Fos after focal cerebral ischemia [J]. *J Neurosci*, 2003, 23: 10487-10494.
- [30] Huang CY, Fujimura M, Noshita N, et al. SOD1 down-regulates NF-kappaB and c-Myc expression in mice after transient focal cerebral ischemia[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2001, 21: 163-173.
- [31] Kim Y, Truettner J, Zhao W, et al. The influence of delayed postischemic hyperthermia following transient focal ischemia: alterations of gene expression[J]. *J Neurol Sci*, 1998, 159: 1-10.
- [32] Craft TK, Gasper ER, McCullough L, et al. Social interaction improves experimental stroke outcome [J]. *Stroke*, 2005, 36: 2006-2011.
- [33] Prieto R, Carceller F, Roda JM, et al. The intraluminal thread model revisited: rat strain differences in local cerebral blood flow[J]. *Neurol Res*, 2005, 27: 47-52.
- [34] Schaller B, Graf R. Cerebral ischemia and reperfusion: the pathophysiologic concept as a basis for clinical therapy [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2004, 24: 351-371.
- [35] Xiong ZG, Zhu XM, Chu XP, et al. Neuroprotection in ischemia: blocking calcium-permeable acid-sensing ion channels [J]. *Cell*, 2004, 118: 687-698.
- [36] Borsello T, Clarke PG, Hirt L, et al. A peptide inhibitor of c-Jun N-terminal kinase protects against excitotoxicity and cerebral ischemia[J]. *Nat Med*, 2003, 9: 1180-1186.
- [37] Ferrer I, Planas AM. Signaling of cell death and cell survival following focal cerebral ischemia: life and death struggle in the penumbra[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2003, 62: 329-339.
- [38] 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: 2025-2030.
- [39] Wang W, Redecker C, Bidmon HJ, et al. Delayed neuronal death and damage of GDNF family receptors in CA1 following focal cerebral ischemia[J]. *Brain Res*, 2004, 1023: 92-101.
- [40] Gladstone DJ, Black SE, Hakim AM. Toward wisdom from failure: lessons from neuroprotective stroke trials and new therapeutic directions[J]. *Stroke*, 2002, 33: 2123-2136.
- [收稿日期] 2005-12-06 [修回日期] 2006-04-03
[本文编辑] 孙岩

《现代海洋药理学》已出版

由我校易杨华教授和焦炳华教授主编的《现代海洋药理学》已正式出版。《现代海洋药理学》是我国第一部全面系统地介绍海洋药物研究的大型专著。该书由国内20余所大学和科研院所的70余名长期从事海洋药物研究的专家和科技人员共同撰写完成,7名院士担任本书的主审及编写顾问。全书共分为12篇56章,约244万字,内容涉及天然药物化学、药理学、分子生物学、微生物学、基因工程、资源学、临床医学等众多学科技术领域。在书中对国内外的海洋药物研究成果及最新进展均进行详细阐述,对各种研究方法也进行了较全面的介绍,内容广泛,材料新颖翔实,具有相当的科学价值与实用性。

本书可供从事海洋药物研究的科研人员、制药生产企业的技术人员以及广大的医药高等院校的本科生和研究生学习和参考。

由科学出版社出版,ISBN 7-03-016243-9/R. 1731,定价398.00元。