

- 5 Pehrson JR, Changolkar LN, Costanzi C, *et al.* Mice without macroH2A histone variants[J]. *Mol Cell Biol*, 2014, 34(24): 4523 – 4533
- 6 Chen H, Ruiz PD, McKimpson WM *et al.* MacroH2A1 and ATM play opposing roles in paracrine senescence and the senescence – associated secretory phenotype[J]. *Mol Cell*, 2015, 59(5): 719 – 731
- 7 Hu WH, Miyai K, Sporn JC, *et al.* Loss of histone variant macroH2A2 expression associates with progression of anal neoplasm [J]. *J Clin Pathol*, 2016, 69(4): 279 – 291
- 8 Lei S, Long J, Li J. MacroH2A suppresses the proliferation of the B16 melanoma cell line[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(4): 1845 – 1850
- 9 Podrini C, Koffas A, Chokshi S, *et al.* MacroH2A1 isoforms are associated with epigenetic markers for activation of lipogenic genes in fat – induced steatosis[J]. *FASEB J*, 2015, 29(5): 1676 – 1687
- 10 Paziienza V, Borghesan M, Mazza T, *et al.* SIRT1 – metabolite binding histone macroH2A1.1 protects hepatocytes against lipid accumulation [J]. *Aging:Albany NY*, 2014, 6(1): 35 – 47
- 11 Chadwick BP, Valley CM, Willard HF. Histone variant macroH2A contains two distinct macrochromatin domains capable of directing macroH2A to the inactive X chromosome [J]. *Nucleic Acids Res*, 2001, 29(13): 2699 – 2705
- (收稿日期:2016 – 04 – 13)
(修回日期:2016 – 05 – 05)

两种脑出血动物模型的制备和比较研究

魏纯纯 王 培 缪朝玉

摘 要 目的 本研究制备两种脑出血动物模型:脑缺血后使用 tPA 诱导的出血转化模型(MCAO – HT)及胶原酶注射诱导的脑出血模型(cICH),并比较两种出血模型的异同及可能的优缺点。**方法** MCAO – HT 模型:栓线经颈内动脉入颅,堵塞大脑中动脉,构建线栓法大脑中动脉堵塞模型,堵塞后 5h 静脉注射组织型纤溶酶原激活剂(tPA,10mg/kg)制备脑缺血后出血转化模型;cICH 模型:利用脑立体定位技术,直接向纹状体注射 0.05U 胶原酶 IV,诱导脑出血模型。**结果** MCAO – HT 模型小鼠较 MCAO 模型小鼠,24h 患侧半脑血红蛋白含量显著升高,MCAO – HT 模型小鼠血 – 脑脊液屏障(BBB)通透性显著高于 MCAO 模型小鼠;cICH 模型小鼠,较假手术组小鼠,24h 神经功能损伤、脑水肿、出血量和炎性水平都有显著升高。**结论** MCAO – HT 模型引起的出血为 tPA 诱导 BBB 通透性增加,导致的“渗血”,可能更适用于对血 – 脑脊液屏障及血管通透性的研究。而 cICH 模型引起的出血为胶原酶直接破坏小血管壁导致的“漏血”,可能更适用于出血诱导的水肿、炎性反应、细胞死亡和氧化应激的研究。

关键词 脑缺血 出血转化 脑出血 动物模型

中图分类号 R96

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.11.011

Construction and Comparison of Two Animal Models of Cerebral Hemorrhage. Wei Chunchun, Wang Pei, Miao Chaoyu. *The Second Military Medical University, Shanghai 200433, China*

Abstract Objective To construct two animal models of cerebral hemorrhage: tPA – induced cerebral ischemia hemorrhagic transformation (MCAO – HT) model and collagenase – induced ICH (cICH) model, and compare the similarities and differences of these two intracerebral hemorrhage models. **Methods** MCAO – HT model: We built suture MCAO model by blocking of the middle cerebral artery with suture, after five hours, we injected tissue plasminogen activator (tPA, 10mg/kg) intravenously to induce hemorrhagic transformation. cICH model: intracerebral hemorrhage model was induced by stereotaxic of 0.05U collagenase IV into the striatum. **Results** In comparison with MCAO model mice, ipsilateral hemisphere hemoglobin and blood brain barrier (BBB) permeability in MCAO – HT model mice increased significantly at 24 hours after surgery. Compared with sham – operated mice, neurological damage, cerebral edema, hemorrhage inflammation levels had increased significantly in cICH model mice at 24 hours after surgery. **Conclusion** MCAO – HT model induced bleeding functioned by tPA – induced increasing of BBB permeability, which might be better for blood – brain barrier and vascular permeability study. Bleeding of cICH model caused by collagenase induced small blood vessels rupture, which suggested to be a better method to do the hemorrhage – induced edema, inflammation, cell death and oxidative stimulated research.

Key words Cerebral ischemia; Hemorrhagic transformation; Intracerebral hemorrhage; Animal model

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81373414, 81130061, 81422049, 81473208); 国家“863”青年科学家项目(2015AA020943)

作者单位:200433 上海,中国人民解放军第二军医大学药理学教研室

通讯作者:缪朝玉,教授,博士生导师,电子信箱: cymiao@smmu.edu.cn

脑卒中是脑血液循环障碍引起的急性脑血管病,因为循环障碍的原因不同主要分为缺血性脑卒中和出血性脑卒中,也分别称为脑缺血和脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)。

缺血性脑卒中约占全部卒中的 80%,是由各种原因引起的局部脑组织供血障碍,导致缺血缺氧性的脑组织病变坏死,进而造成一系列的神经功能损伤。在缺血性脑卒中的病理发展过程中,有一种状态兼具缺血性脑卒中和出血性脑卒中的特征,即脑缺血后出血转化(hemorrhagic transformation, HT),在脑缺血患者中,出血转化与病死率升高正相关^[1]。大脑中动脉阻塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型,主要包括线栓法、电凝法和血栓栓子阻塞法等,目前广泛应用于缺血性脑卒中临床前研究。但是,用于研究脑缺血后出血转化的模型只有零星报道。笔者比较了永久性大脑中动脉阻塞模型(pMCAO)和暂时性大脑中动脉阻塞模型(tMCAO),在脑缺血后出血转化模型中的应用,并用永久性大脑中动脉阻塞模型成功制备了脑缺血后出血转化模型。

脑出血是致命的卒中类型,有较高的发生率和病死率^[2, 3]。脑出血约占全部卒中的 10%~15%,其发生率与种族相关,例如在中国人中,脑出血约占全部卒中的 33%,而在白种人中仅为 12%^[4]。有报道指出,脑出血发病后 1 个月病死率约为 40%,过去 20 年医疗水平的提高并不能降低脑出血的病死率,而且幸存的患者也要忍受长期的身体和意识障碍^[5]。脑出血的高复发率和致死率是由于缺乏有效的治疗选择,因为现有的临床治疗方法还仅限于初级治疗,如控制颅内压、治疗水肿和维持血流动力学稳定^[2, 6]。脑出血后脑损伤和修复的机制尚不明确。近 20 年来,依赖于动物模型,脑出血临床前研究对脑出血病理过程有了初步认识。目前最常用的两种脑出血动物模型是全血模型(bICH)和胶原酶模型(cICH),其中胶原酶模型使用最为广泛。胶原酶模型最早由 Rosenberg 等^[7]发现和使用。笔者对传统的胶原酶脑出血模型进行了调整,提高了出血位点和出血量的一致性,减少了操作造成的脑损伤。本研究成功制备了脑缺血后使用 tPA 诱导的出血转化模型(MCAO-HT)及胶原酶注射诱导的脑出血模型(cICH),并比较两种脑出血动物模型的异同及优缺点。

材料与方法

1. 实验动物: C57BL/6 小鼠,体质量 25~30g,雄

性; ICR 小鼠,体质量 25~30g,雄性,均购自上海斯莱克实验动物中心,在清洁级动物房饲养。

2. 脑缺血后出血转化模型制备: (1) MCAO 模型的制备: 取体质量为 25~30g 时雄性 ICR 小鼠,腹腔注射水合氯醛(400mg/kg)麻醉小鼠,仰姿固定在鼠板上。沿颈正中线从胸骨上沿到下颌剪开约 1.5cm 长的切口,钝性分离颈总动脉,游离出一段包括颈外动脉和颈内动脉分叉的动脉。穿入 3 根提前用无菌水湿润的长约 4cm 的 3-0 结扎线。两根置于远心端,1 根置于近心端。结扎近心端结扎线,远心端 2 根结扎线,1 根用止血钳夹住两端,向远心端牵拉,起到阻断血流和固定血管的作用,另 1 根在颈总动脉距颈内外动脉交叉处 1mm 的位置预结扎。在靠近近心端结扎点的位置,斜 45 度剪开约血管 1/2 口径的缺口。取线身直径 0.126mm,头端直径 0.25mm(用硅胶包被)的栓线,从缺口处插入,头端到达颈内和颈外交叉处后轻轻结扎预留 3-0 结扎线。剪断用于牵拉血管的 3-0 结扎线,调整栓线尾部,向颈内动脉插入,进入颈内动脉 9~11mm 处。此时,轻微的阻力表明栓线的顶端已位于大脑前动脉的近端,阻塞了同侧大脑中动脉和后交通动脉的起源。扎死之前轻轻结扎的 3-0 结扎线,剪掉多余线头。缝合伤口,将小鼠放于 37℃ 恒温笼复苏。(2) tPA 诱导 MCAO 出血转化: 用 1ml 注射器推进柄头端橡皮塞和针头,制备简易静脉留置针,将充满生理盐水的注射器插入静脉留置针,轻轻推动使留置针内部充满生理盐水,用留置针头端插入尾静脉,推动注射器验证是否真的在尾静脉内,并拔出注射器,固定尾巴和静脉留置针。将 1ml 注射器去掉针头,并与一帶有针头的软管相连,并充满 tPA 生理盐水溶液。注射器安装到微量推注泵上,堵塞大脑中动脉 5h 后,将软管的针头插入静脉留置针,并推入 1mg/kg (0.001mg/ μ l) tPA 生理盐水溶液。调整泵的速度,使 9mg/kg tPA 在 30min 内推入小鼠静脉。注射结束后,拔掉留置针,止血后将小鼠放于 37℃ 恒温笼复苏。

3. 脑出血模型制备: 取体质量为 25~30g 的 C57BL/6 雄性小鼠,腹腔注射水合氯醛(400mg/kg)麻醉小鼠。划一个从两眼之间开始到 λ 区后的一个纵向的切口,暴露出头骨,用抹刀的圆端刮掉骨膜并用干棉球擦干头骨。把小鼠固定在脑立体定位仪上,调整头骨的上表面使它平行于立体定位装置的水平板。在头骨上标记进入点的坐标(中线侧向 2.3mm,前囟向前 0.2mm)。在标记的点刺出一个穿透头骨

的毛刺洞(直径 1mm)。调整坐标使微量注射器针头(针头外径 0.33mm,量程:5 μ l)穿过钻孔,缓慢推进(1mm/min)使它通过硬脑膜洞到达靶向位置(深度 3.5mm)。以 0.2 μ l/min 的速度缓慢推注胶原酶 IV (0.05U/ μ l),共注射 1 μ l (0.05U)。注射结束后,针头留在原处 5min。将针头缓慢移出(1mm/min)。将事先温热的骨蜡涂抹到钻孔上,缝合皮肤,将动物从脑立体定位仪上移开。腹腔注射 0.5ml 无菌生理盐水,将动物放置在 37℃ 恒温笼复苏。

4. 神经功能评分:小鼠放置在横木上(1.2m 长、1.5cm 宽、50cm 高)。神经功能评分:0 分:小鼠不能在横木上保持平衡(<5s);1 分:小鼠可以在横木上保持平衡(>5s),但是不能在横木上移动;2 分:小鼠可以在横木上移动,但是不能遍历横木;3 分:小鼠遍历横木时受影响肢体伸展且不接触横木表面,或者在横木中间掉头;4 分:小鼠遍历横木时脚底打滑频率 100%;5 分:小鼠遍历横木时脚底打滑频率 >50% 且 <100%;6 分:小鼠遍历横木时脚底打滑频率 <50%;7 分:小鼠遍历横木时脚底打滑次数 <2 次。最终结果用 3 次测试的平均分表示。利用此方法测神经功能,需要在造模前一天对小鼠进行独木桥行走训练。

5. tPA 脑室注射:脑室注射的操作同 cICH 模型制备方法,注射坐标为:中线侧向 1mm,前囟向后 0.2mm,深度为 3mm,tPA 注射剂量为 7.02 微克/只。

6. 脑水肿检测:cICH 造模后 24h,麻醉小鼠,取脑并分为小脑、患侧皮质、患侧基底核、对侧皮质、对侧基底核 5 个部分,并称量湿重。然后将组织 100℃,24h 烘干,称量干重。脑含水量(%)=[(湿重-干重)/湿重]×100%。

7. 出血量检测:cICH 造模后 24h,麻醉小鼠,取脑,弃去端脑和小脑。将大脑沿中线分为患侧半脑和对侧半脑。置于 300 μ l 无菌水中研磨,后 12000r/min,离心 30min。取上清用 QuantiChrom™ Hemoglobin Assay Kit (DIHB-250)(购自上海天承生物科技有限公司)测血红蛋白含量。

8. BBB 通透性检测:cICH 后 22h 尾静脉注射 4% 伊文思蓝(Evans blue)生理盐水溶液(10 μ l/g),24h 进行心脏灌流 15ml/min,6min。取材,分为患侧半脑和对侧半脑。置于 0.5ml 50% 三氯乙酸水溶液中,匀浆,室温静置 5min。15000r/min,离心 30min,取上清测 610nm 处吸光度。利用标准曲线算出样品伊文思蓝含量。

9. 血肿及周围组织总 RNA 提取和 RT-PCR:cICH 造模后 24h,麻醉小鼠,取脑血肿周围组织,置液氮中速冻后于 -80℃ 保存。用 TRIzol 提取总 RNA,用 Super-Script-III 反转录试剂盒、Oligo(dT)为引物合成 cDNA 链;用 SYBRgreen 和 β -actin、IL-1 β 和 TNF- α 引物进行扩增。由荧光曲线上读出 Ct 值, β -actin 为内参照,计算 IL-1 β 和 TNF- α 表达相对量。以 Sham 组患侧半脑组织 IL-1 β 和 TNF- α 为基数,计算 cICH 模型组 IL-1 β 和 TNF- α 表达水平的升高倍数。

10. 统计学方法:采用 GraphPad 软件进行统计学分析。Sham 组和模型组之间出血量、BBB、水肿等采用双样本等方差假设 *t* 检验分析;Sham 组和模型组之间神经功能评分数据采用两独立样本秩和检验分析,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. pMCAO-HT 较 tMCAO-HT 有较低的死亡率:笔者分别做了在给 tPA 时实施再灌注(tMCAO-HT,图 1A)和永久梗死(pMCAO-HT,图 1B),两种出血转化模型。发现前者 24h 后死亡率高达 55.3%,而后者 24h 死亡率为 6%,pMCAO-HT 模型死亡率显著低于 tMCAO-HT 模型(*P* = 0.000,图 1C)。

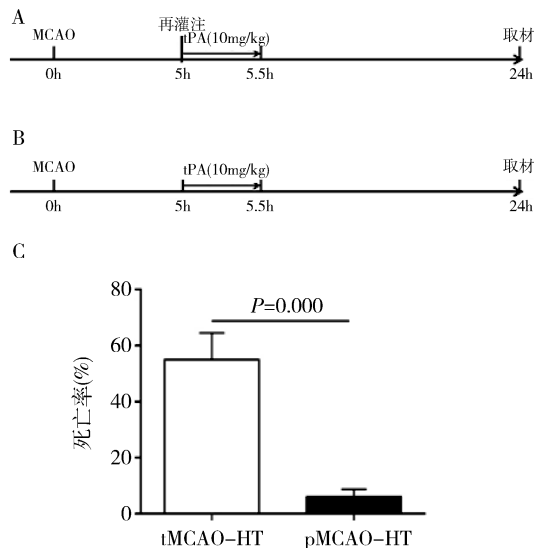


图 1 MCAO-HT 模型的制备

A. tMCAO-HT 模型示意图;B. pMCAO-HT 模型示意图;
C. 两种出血转化模型的死亡率

2. tPA 可诱导小鼠脑缺血后出血转化:永久性大脑中动脉阻塞模型,在阻塞后 5h 给 tPA 诱导,发现有明显出血(图 2A)。检测患侧半脑血红蛋白含量,发

现 MCAO - HT 组 ($n = 17$) 血红蛋白含量显著高于 MCAO 组 ($n = 7$) ($P < 0.05$, 图 2B)。

3. tPA 对小鼠 BBB 通透性的影响: 利用伊文思蓝静脉注射, 检测出血转化对小鼠 BBB 通透性的影响。从图 3A 可以看出, MCAO - HT 模型小鼠较 MCAO 模型小鼠进入脑组织的伊文思蓝明显增多。统计结果显示, MCAO - HT 模型小鼠 ($n = 5$) BBB 通透性显著高于 MCAO 模型小鼠 ($n = 5$) (图 3B)。在正常小鼠中, 脑室注射 tPA 溶液, 可显著升高小鼠 BBB 通透性 (图 3C)。

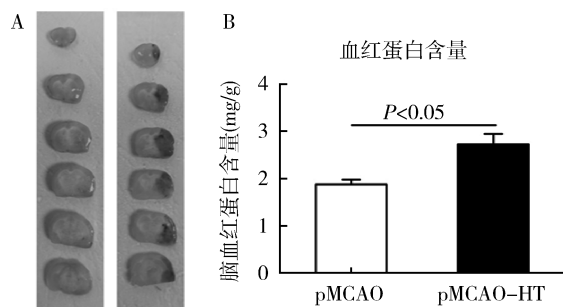


图 2 tPA 诱导脑缺血出血转化

A. pMCAO - HT 和 pMCAO 模型小鼠脑组织切片;

B. pMCAO - HT 和 pMCAO 模型小鼠患侧半脑血红蛋白含量

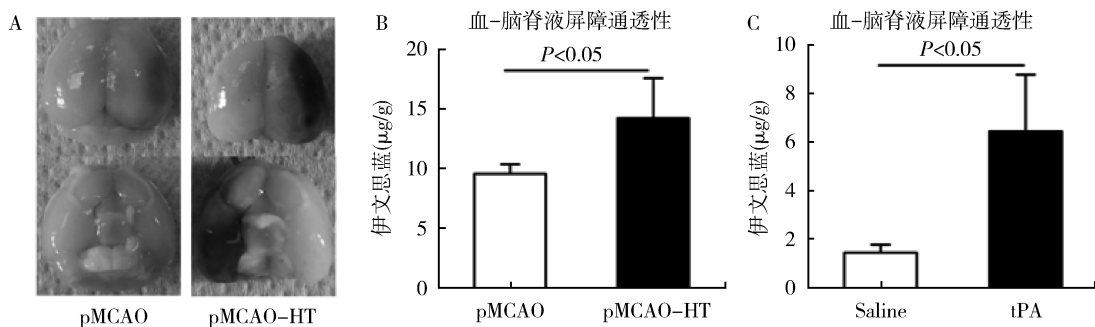


图 3 tPA 对 BBB 通透性的影响

A. 伊文思蓝渗入脑组织; B. pMCAO - HT 和 pMCAO 模型小鼠 BBB 通透性; C. 脑室注射 tPA 对 BBB 通透性的影响

4. 纹状体注射胶原酶成功诱导脑出血模型: 纹状体注射胶原酶后 24h, 取材, 发现模型组明显出血 (图 4A), 检测患侧半脑血红蛋白含量, 发现模型组 ($n = 6$) 较假手术组 ($n = 5$) 血红蛋白含量显著增加 ($P = 0.000$, 图 4B)。

5. cICH 模型小鼠神经功能和脑水含量的变化: 注射胶原酶后 12h、1 天和 3 天检测小鼠神经功能, 发现假手术组 ($n = 3$) 和模型组 ($n = 6$) 神经功能有显著差异 ($P = 0.000$, 图 5A)。注射胶原酶后 24h 检测脑水含量, 发现模型组 ($n = 4$) 患侧基底核水含量较假手术组 ($n = 4$) 显著升高 ($P < 0.01$, 图 5B)。

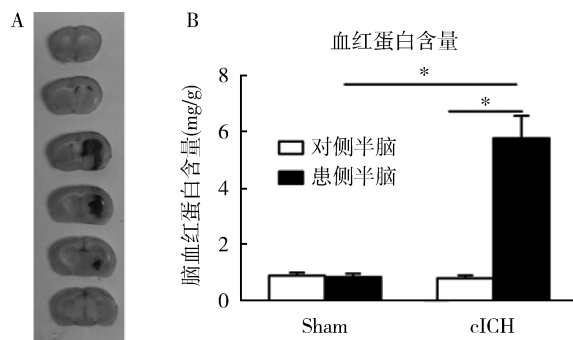


图 4 cICH 模型的制备

A. cICH 模型小鼠脑组织切片; B. cICH 模型和 Sham 组小鼠患侧半脑血红蛋白含量, * $P = 0.000$

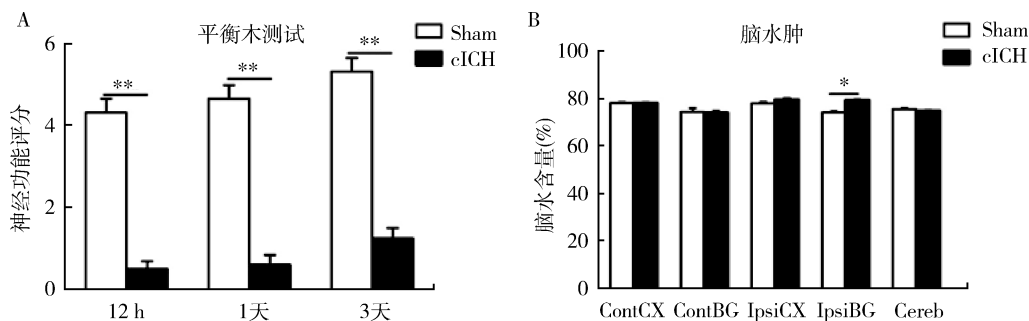
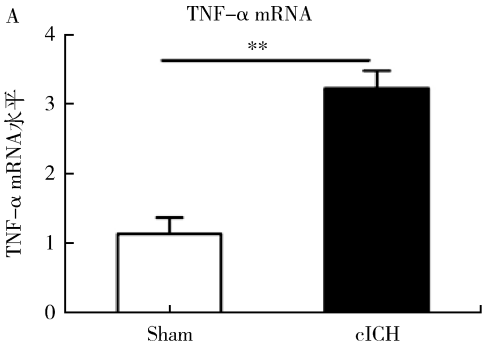


图 5 cICH 模型小鼠神经功能和脑水含量的变化

A. cICH 模型和 Sham 组小鼠神经功能评分; B. cICH 模型和 Sham 组小鼠脑水含量 * $P < 0.01$, ** $P = 0.000$

6. cICH 模型小鼠脑组织炎性水平的变化:cICH 造模后 24h,检测血肿周围组织炎性水平,发现 cICH



模型小鼠脑血肿周围组织 TNF - α(图 6A)和 IL - 1β (图 6B)mRNA 水平显著高于假手术组小鼠脑组织。

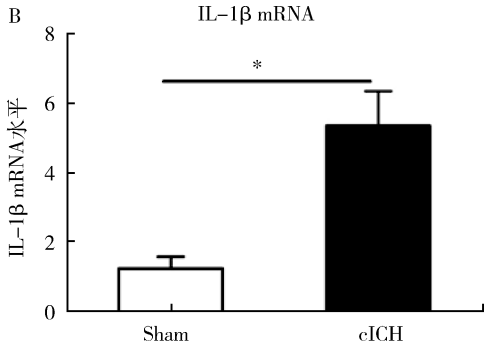


图 6 cICH 模型小鼠血肿及周围组织炎性因子水平
A. cICH 模型和 Sham 组小鼠血肿周围组织 TNF - α mRNA 水平;B. cICH 模型和 Sham 组小鼠血肿周围组织 IL - 1β mRNA 水平, * P < 0.01, ** P = 0.000

讨 论

1. 提高手术成功率的主要体会:在脑缺血后出血转化模型中,为了提高手术成功率,笔者的体会是:①固定小鼠时,小鼠四肢和牙齿均需固定,尽量使小鼠左右对称平躺于鼠板上;②分离血管时注意不要损伤动脉伴行神经,不要撕破肌肉,尽量将血管牵连经膜分离干净;③栓线在插入颈总动脉后,结扎要松紧适度,因为太紧会影响进线,太松会出血;④在进线过程中,为避免栓线进入颈外动脉或翼鄂动脉,要注意调整进线方向。此外在翼鄂动脉交叉和大脑中动脉交叉处,都可能出现插不动的情况,轻轻回拉栓线 1mm,再插入时调整线栓朝避免进入该血管的方向推进即可;⑤在静脉注射 tPA 时需要进行第 2 次麻醉,要注意控制剂量,防止小鼠因为麻醉过量死亡。

在胶原酶诱导的脑出血模型中,为提高手术成功率,笔者的体会是:①在寻找前囟位点时,要将头骨上骨膜刮掉,用干棉球擦拭,待头骨干燥后前囟的位置会清晰可见,定位时,前囟的坐标要定位准确;②在头骨上刺孔时,要把握好力度,尽量减少对脑组织的损伤;③进针速度、出针速度和进药速度要慢,且保持一致;④进药完成后,要停针 5min,以便胶原酶扩散,并防止其从针孔溢出。

2. 结果分析:在短暂性阻塞大脑中动脉模型中,较高的死亡率可能与以下几个原因有关:①在插线过程中因为操作原因使血管破裂,拔线后从破裂处出血,造成颅底出血;②在拔线过程中对血管的牵拉作用,造成了血管的损伤;③拔线造成的缺血再灌注,加重了脑损伤。如此高的死亡率导致 tMCAO 模型不适用于制备 MCAO - HT 模型。

有报道指出,tPA 引起的出血可能和血 - 脑脊液屏障通透性的升高有关^[8,9]。笔者的结果也支持这个观点,脑室注射 tPA 后 BBB 通透性的改变,则直接证明了 tPA 增加 BBB 通透性的作用。

胶原酶诱导的出血,是由于胶原酶可分解胞外基质,破坏血管壁,造成多个血管出血。胶原酶诱导出血后,血液进入脑组织,诱发凝血反应,凝血酶对包括脑血管内皮细胞在内的多种细胞类型起作用,导致脑水肿的形成^[10]。笔者注射的位点是纹状体,所以表现为患侧基底核水肿比较严重。随着凝血反应,炎症和血红蛋白毒性的作用,神经元和胶质细胞死亡,造成神经功能损伤。凝血酶对包括脑血管内皮细胞在内的多种细胞类型起作用,导致 BBB 破坏,脑水肿的形成^[11]。另外神经功能的损伤也和血肿造成的脑区挤压有关^[12]。

3. 两种模型的异同和优缺点:从制备的难易程度方面比较,cICH 模型步骤简单,只需注射微量胶原酶 IV 溶液即可,操作时间短,小鼠存活率高。而 MCAO - HT 模型步骤较多,操作时间长,操作难度大,小鼠存活率低。

从脑损伤机制方面比较,两种模型中都同时存在缺血性和出血性的脑损伤,但两种损伤的比重不同。在脑缺血后出血转化模型中,主要的损伤由缺血、缺氧引起,tPA 诱导的出血转化,使血液渗入脑组织,诱导出血性脑损伤。在脑出血模型中,血液进入脑组织,形成血肿,造成颅内压升高,升高的颅内压可压缩脑区,影响血流,导致脑疝。更重要的是,出血诱导了机体/组织的凝血反应、炎性反应和血红蛋白的毒性作用,这些都是出血性损伤。另外,由于出血造成的血流

中断,也会导致局部组织缺血、缺氧,诱发缺血性损伤。

从出血方式和出血量方面比较,MCAO - HT 模型引起的出血为 tPA 诱导 BBB 通透性增加,而导致的“渗血”,只有少量血液进入脑组织。而 cICH 模型引起的出血为胶原酶破坏小血管壁而导致的“漏血”,大量血液进入脑组织。

笔者认为,MCAO - HT 模型可能更适用于血 - 脑脊液屏障和血管通透性对出血及其诱导脑损伤影响的研究,尤其是脑缺血后使用 tPA 溶栓治疗的使用时间窗口、给药策略等相关的一些研究。而 cICH 模型,由于大量血液成分直接进入脑组织,会诱导强烈的凝血反应、炎性反应、细胞死亡和氧化应激,因此 cICH 模型可能更适宜于研究脑出血后初始脑损伤和一系列的继发脑损伤,筛选出血性脑卒中潜在的治疗药物。

参考文献

- 1 Candelise L, Ciccone A, Motto C. Extraparenchymal bleeding predicts an unfavorable outcome in patients with hemorrhagic transformation[J]. *Stroke*, 2000, 31(7):1785 - 1791
- 2 Keep RF, Hua Y, Xi G. Intracerebral haemorrhage: mechanisms of injury and therapeutic targets[J]. *Lancet Neurol*, 2012, 11(8):720 - 731
- 3 Qureshi AI, Mendelow AD, Hanley DF. Intracerebral haemorrhage[J]. *Lancet*, 2009, 373(9675):1632 - 1644
- 4 Tsai CF, Thomas B, Sudlow CL. Epidemiology of stroke and its sub-

types in Chinese vs white populations: a systematic review[J]. *Neurology*, 2013, 81(3):264 - 272

- 5 Provencio JJ, Da Silva IR, Manno EM. Intracerebral hemorrhage: new challenges and steps forward[J]. *Neurosurg Clin N Am*, 2013, 24(3):349 - 359
- 6 Flower O, Smith M. The acute management of intracerebral hemorrhage[J]. *Curr Opin Crit Care*, 2011, 17(2):106 - 114
- 7 Rosenberg GA, Mun - Bryce S, Wesley M, *et al.* Collagenase - induced intracerebral hemorrhage in rats[J]. *Stroke*, 1990, 21(5):801 - 807
- 8 Su EJ, Fredriksson L, Geyer M, *et al.* Activation of PDGF - CC by tissue plasminogen activator impairs blood - brain barrier integrity during ischemic stroke[J]. *Nat Med*, 2008, 14(7):731 - 737
- 9 Wang Y, Zhang Z, Chow N, *et al.* An activated protein C analog with reduced anticoagulant activity extends the therapeutic window of tissue plasminogen activator for ischemic stroke in rodents[J]. *Stroke*, 2012, 43(9):2444 - 2449
- 10 Liu DZ, Ander BP, Xu H, *et al.* Blood - brain barrier breakdown and repair by Src after thrombin - induced injury[J]. *Ann Neurol*, 2010, 67(4):526 - 533
- 11 Wagner KR, Sharp FR, Ardizzone TD, *et al.* Heme and iron metabolism: role in cerebral hemorrhage[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2003, 23(6):629 - 652
- 12 Zazulia AR, Diringer MN, Derdeyn CP, *et al.* Progression of mass effect after intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 1999, 30(6):1167 - 1173

(收稿日期:2016 - 05 - 19)

(修回日期:2016 - 05 - 26)

(上接第 168 页)

- 12 Subramaniam D, Natarajan G, Ramalingam S, *et al.* Translation inhibition during cell cycle arrest and apoptosis: Mcl - 1 is a novel target for RNA binding protein CUGBP2[J]. *Am J Physiol Gas - trointest Liver Physiol*, 2008, 294(4):1025 - 1032
- 13 Dzhagalov I, Dunkle A, He YW. The anti - apoptotic Bcl - 2 family member Mcl - 1 promotes T lymphocyte survival at multiple stages[J]. *J Immunol*, 2008, 181(1):521 - 528
- 14 Akgul C, Kgulc Moulding DA, White MR, *et al.* In vivo localization and stability of human Mcl - 1 using green fluorescent protein(GFP) fusion proteins[J]. *FEBS Lett*, 2000, 478(1 - 2):72 - 76
- 15 Willis SN, Chen L, Dewson G, *et al.* Proapoptotic Bak is sequestered by Mcl - 1 and Bcl - xL, but not Bcl - 2, until displaced by BH3 - only proteins[J]. *Genes Dev*, 2005, 19(11):1294 - 1305
- 16 Hernandez JM, Farma JM, Coppola D, *et al.* Expression of the anti-apoptotic protein survivin in colon cancer[J]. *Clin Colorectal Cancer*, 2011, 10(3):188 - 193
- 17 Wertz IE, Kusam S, Lam C, *et al.* Sensitivity to antitubulin chemo-

therapeutics is regulated by MCL1 and FBW7[J]. *Nature*, 2011, 471:110 - 114

- 18 Tárrega López PJ, Alberio JS, Rodríguez - Montes JA. Primary and secondary prevention of colorectal cancer[J]. *Clin Med Insights Gastroenterol*, 2014, 7:33 - 46
- 19 Townsend KJ, Trusty JL, Traupman MA, *et al.* Expression of the antiapoptotic MCL1 gene product is regulated by a mitogen activated protein kinase - mediated pathway triggered through microtubule disruption and protein kinase C[J]. *Oncogene*, 1998, 17:1223 - 1234
- 20 Eichhorn JM, Alford SE, Sakurikar N, *et al.* Molecular analysis of functional redundancy among anti - apoptotic Bcl - 2 proteins and its role in cancer cell survival[J]. *Exp Cell Res*, 2014, 322(2):415 - 424
- 21 Rhonda M, Perciavalle, Daniel P, *et al.* Anti - apoptotic MCL - 1 localizes to the mitochondrial matrix and couples mitochondrial fusion to respiration[J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(6):575 - 583

(收稿日期:2016 - 03 - 29)

(修回日期:2016 - 04 - 11)