

## 表皮生长因子协同体对大鼠中动脉闭塞性脑梗死急性期的保护性作用研究

张芹, 奥婷, 肖淑英, 许娜, 渠静, 张君, 张瑞华

首都医科大学附属北京潞河医院老年医学科, 北京市 101149

**摘 要:**目的 研究表皮生长因子协同体(EGFC)对大鼠大脑中动脉闭塞(MCAO)急性期的作用,为其临床转化提供理论基础和实验依据。方法 选取 SD 大鼠随机分为 Sham 组、MCAO 组、低剂量 EGFC 组(2  $\mu\text{g}$ )、中剂量 EGFC 组(20  $\mu\text{g}$ )、高剂量 EGFC 组(200  $\mu\text{g}$ )。制备 MCAO 模型,缺血 2 h 后再灌注,3 h 后腹腔给药,24 h 后处死,采用 TTC 染色测定梗死体积;测定脑组织含水量,计算湿干比;ELISA 检测脑组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 等炎症因子的表达水平。结果 与 MCAO 组相比,不同剂量 EGFC 组梗死体积均减小,当给予 EGFC 200  $\mu\text{g}$  时,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。与 MCAO 组相比,不同剂量 EGFC 组脑组织含水量均降低,且差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。ELISA 检测炎症因子,与 Sham 组相比,MCAO 组和低剂量 EGFC 组中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 的含量明显升高,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ );与 MCAO 组相比,中、高剂量 EGFC 组 3 种炎症因子的含量均降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );与低剂量 EGFC 组相比,中、高剂量 EGFC 组 3 种炎症因子的含量均降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。结论 EGFC 对 MCAO 大鼠脑组织具有保护作用,且在一定范围内,随着给药剂量的增加,保护作用也增强。

**关键词:** 大脑中动脉闭塞;表皮生长因子协同体;梗死体积;脑组织含水量;炎症因子;大鼠

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2019.02.002

## Protective effect of epidermal growth factor coordination in the acute stage of middle cerebral artery occlusion

ZHANG Qin, AO Ting, XIAO Shu-Ying, XU Na, QU Jing, ZHANG Jun, ZHANG Rui-Hua. Department of Geriatric Medicine, Beijing Luhe Hospital, Capital Medical University, Beijing 101149, China

Corresponding author: ZHANG Rui-Hua, E-mail: 15910380817@163.com

**Abstract: Objective** To investigate the effect of epidermal growth factor coordination (EGFC) in the acute stage of middle cerebral artery occlusion (MCAO) in rats, and to provide a theoretical and experimental basis for bench to bedside translation. **Methods** Sprague-Dawley rats were randomly divided into sham group, MCAO group, low-dose (2  $\mu\text{g}$ ) EGFC group, medium-dose (20  $\mu\text{g}$ ) EGFC group, and high-dose (200  $\mu\text{g}$ ) EGFC group. A rat model of MCAO was established by 2 hours of ischemia followed by reperfusion. Rats received intraperitoneal administration of EGFC at 3 hours after model establishment and were sacrificed at 24 hours. TTC staining was used to measure infarct volume. The brain water content and wet/dry ratio were determined. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to evaluate the expression levels of inflammatory factors, i. e., tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), and interleukin 6 (IL-6). **Results** Compared with the MCAO group, all EGFC groups had reduced infarct volume, in which the high-dose EGFC group had significantly reduced infarct volume ( $P < 0.01$ ). All EGFC groups had significantly lower brain water content than the MCAO group ( $P < 0.05$ ). According to the ELISA results, the MCAO group and the low-dose EGFC group had significantly higher levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 than the sham group ( $P < 0.01$ ); the medium- and high-dose EGFC groups had significantly lower levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 than the MCAO group ( $P < 0.05$ ) and the low-dose EGFC group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ).

**Conclusions** EGFC has a protective effect on the brain of MCAO rats. Within a certain range, the EGFC dose is positively correlated

基金项目:北京市通州区科技计划项目(KJ2017CX036-15)

收稿日期:2018-11-05;修回日期:2019-01-12

作者简介:张芹(1985-),女,主治医师,神经病学专业硕士学位,主要从事脑血管病及睡眠障碍的研究。

通信作者:张瑞华(1971-),女,科主任,主任医师,博士学位,主要从事脑血管病及神经电生理的研究。E-mail:15910380817@163.com。

with the protective effect.

**Key words:** middle cerebral artery occlusion; epidermal growth factor coordination; infarct volume; brain water content; inflammatory factor; rat

脑梗死已成为人类主要死因之一,存活者75%遗留不同程度的残疾,造成沉重的社会经济负担<sup>[1,2]</sup>。其病理生理涉及氧自由基损伤<sup>[3]</sup>、炎症反应<sup>[4]</sup>、氧化应激<sup>[5]</sup>、细胞坏死和凋亡<sup>[6]</sup>等多个环节,直接或间接导致神经元坏死或凋亡。目前除4.5 h内 rt-PA 静脉溶栓外,临床尚缺乏有效的药物,探索有效的神经保护措施,改善病理损害和临床预后是亟待解决的问题。

近期研究发现表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)在多种组织愈合过程中发挥作用。目前认为在缺血性脑卒中中 EGF 是强效的有丝分裂原,具有保护缺血神经元,维持其生存的作用,与中枢神经系统细胞、组织的增殖、生长、分化及再生密切相关<sup>[7,8]</sup>。表皮生长因子协同体(epidermal growth factor-coordination, EGFC)是由毛叶绞股兰萃取物与 EGF 融合形成的一种能长期保持 EGF 活性的 EGF 协同共生体<sup>[9]</sup>。目前 EGFC 为应用于化妆品、保健品等的功能性生物原料,尚未有关于 EGFC 对脑卒中影响的相关研究。本研究通过建立大鼠大脑中动脉闭塞(acute middle cerebral artery occlusion, MCAO)/再灌注模型,观察各组动物脑梗死体积、脑组织含水量、脑组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 炎症因子含量的变化,探讨 EGFC 对大鼠大脑中动脉闭塞急性期的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

50 只清洁级雄性 SD 大鼠(8~10 周龄,体重 280~300 g),购自北京维通利华实验动物技术有限公司【SCXK(京)2016-0006】,所有动物均于动物房检疫合格。标准化饲养房饲养动物,室温 20~22℃,相对湿度 50%,每天交替进行 12 h 光照、12 h 黑暗处理,喂养 1 周后进行实验。50 只大鼠随机分为 5 组 Sham 组、MCAO 组、低剂量 EGFC 组(2  $\mu$ g)、中剂量 EGFC 组(20  $\mu$ g)、高剂量 EGFC 组(200  $\mu$ g),每组 10 只。各组大鼠周龄、体重比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。本实验大鼠处置方法经过本单位实验动物福利伦理委员会批准(编号:20170201)。

### 1.2 主要试剂

EGFC 由高美谷生物技术有限公司提供,用 0.9% 生理盐水稀释,配制成所需的 EGFC 溶液。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 动物模型制备** MCAO 模型制作方法:术前 12 h 禁食水,采用改良 Zea-Longa 法制备大鼠 MCAO 模型。手术过程如下:SD 大鼠经异氟烷诱导并维持麻醉,仰卧位固定,颈正中线切口,沿胸锁乳突肌内缘分离肌肉和筋膜,暴露右侧颈总动脉(common carotid artery, CCA)、颈外动脉(external carotid artery, ECA)和颈内动脉(internal carotid artery, ICA),在 CCA 远心端和近心端及 ECA 处挂线备用。用动脉夹暂时夹闭 ICA,然后近心端结扎 CCA、ECA。然后在距 CCA 分叉部 4 mm 处剪一小口,将线栓插入到 ICA,用绕在 CCA 远心端的细线轻轻系牢线栓,用眼科镊轻推线栓,从血管分叉处开始计算,当插入深度在 18 mm 时,系牢 CCA 远心端的细线,缝合伤口,单笼饲养观察。2 h 后拔出线栓实现缺血/再灌注。术中监测体温、血压等生命体征,应用激光多普勒(PERIMED, PF5001)监测大鼠大脑中动脉分布区的血流量以保证模型成功。

Sham 组模型制作同 MCAO 组,但分离血管后不进行线栓插入。

**1.3.2 EGFC 干预** 手术后 3 h,EGFC 组分别予腹腔注射 2  $\mu$ g、20  $\mu$ g、200  $\mu$ g 的 EGFC,每组 10 只大鼠。Sham 组(10 只)和 MCAO 组(10 只)则腹腔注射生理盐水。给药体积恒定,为 5 ml/kg。

**1.3.3 脑梗死体积计算** 手术后 24 h,麻醉动物,断头取出大鼠的脑组织,切成 2 mm 厚的冠状切片,行三苯基氯化四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC)染色。用 Image J1.42 加以分析(NIH 图像分析软件)。为尽可能减少脑水肿带来的误差,计算脑梗死体积上采用间接算法,即梗死体积占非脑梗死半球体积的百分比表达<sup>[10]</sup>。

**1.3.4 脑组织含水量的测定** 本实验采用干湿重法测定脑组织含水量。术后 24 h 将大鼠断头处死,迅速取脑,取额极后约 2 mm 厚的脑组织用于脑含水量测定。将脑组织分为病变侧及病变对侧两部分。①将脑组织放于事先称重(A)的锡纸中,立即称重(B),B-A 即得湿重;②用锡纸包裹脑组织,置入 100℃ 烤箱内烘干 24 h 后取出恢复到室温,称重(C),C-A 即得干重;③代入下列公式分别

计算两侧脑组织含水量: (湿重 - 干重) / 湿重 × 100%, 即 (B - C) / (B - A) × 100%。

1.3.5 ELISA 法检测脑组织中 TNF-α、IL-1β、IL-6 炎症因子 采用 ELISA 法检测脑组织中 TNF-α、IL-1β、IL-6 含量, 具体实验步骤按照试剂盒说明书操作进行。

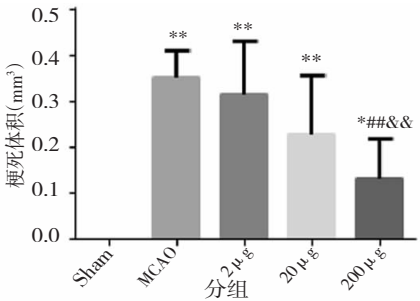
### 1.4 统计学分析

采用 GraphPad Prism 6 软件进行统计分析, 多组间均数比较采用 One-way ANOVA 分析, 组间两两比较采用 SNK 法。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠脑梗死体积

Sham 组右侧脑组织红染, 未见梗死灶, 梗死体积为零; MCAO 组及低剂量 EGFC 组 (2 μg)、中剂量 EGFC 组 (20 μg)、高剂量 EGFC 组 (200 μg) 大鼠可见苍白色梗死灶。与 MCAO 组相比, 低剂量 EGFC 组、中剂量 EGFC 组、高剂量 EGFC 组大鼠梗死体积均减小, 且随着给药剂量的增加, 大鼠脑梗死体积呈减小趋势, 当予 200 μg 时, 差异有统计学意义 (P < 0.01)。与低剂量 EGFC 组相比, 中剂量 EGFC 组、高剂量 EGFC 组大鼠脑梗死体积均呈减小趋势, 予 200 μg 时, 差异有统计学意义 (P < 0.01)。见图 1、图 2。



注: 与 Sham 组比较, \* P < 0.05, \*\* P < 0.01; 与 MCAO 组比较, ## P < 0.01; 与低剂量 EGFC 组比较, & P < 0.01。

图 1 各组大鼠脑组织梗死体积

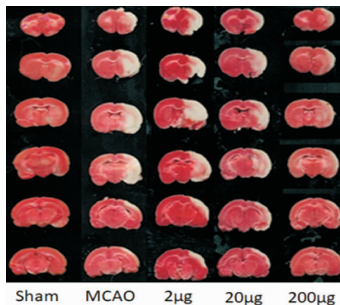
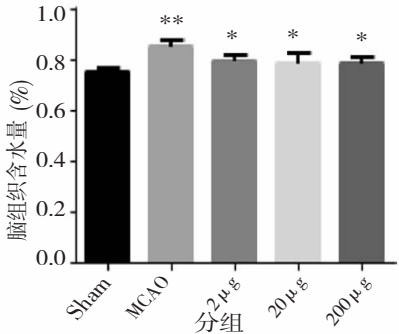


图 2 各组大鼠脑组织梗死体积 (实体)

### 2.2 各组大鼠脑组织含水量测定

Sham 组脑组织含水量正常, 与 Sham 组相比, MCAO 组脑组织含水量明显增加, 出现严重的水肿 (P < 0.01); 与 MCAO 组相比, 低剂量 EGFC 组 (2 μg)、中剂量 EGFC 组 (20 μg)、高剂量 EGFC 组 (200 μg) 脑组织含水量均降低, 差异有统计学意义 (P < 0.05), 而在三组间无差异。见图 3。

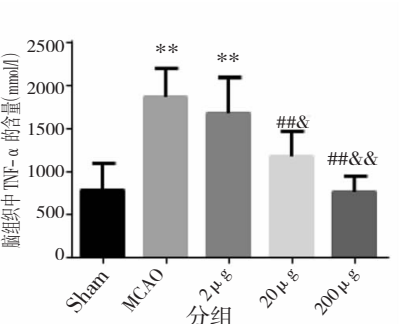


注: \* 为与 MCAO 组比较, P < 0.05; \*\* 为与 Sham 组比较, P < 0.01。

图 3 各组大鼠脑组织含水量测定

### 2.3 ELISA 法检测脑组织中 TNF-α、IL-1β、IL-6 的含量

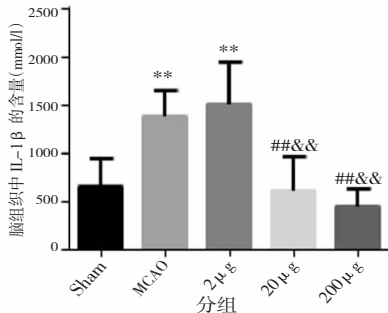
2.3.1 各组大鼠脑组织中 TNF-α 的含量 与 Sham 组相比, 在 MCAO 组和低剂量 EGFC 组中 TNF-α 的含量明显升高, 差异具有统计学意义 (P < 0.01)。MCAO 模型建立后, 与 MCAO 组相比, 给予不同剂量的 EGFC, 实验大鼠脑组织中 TNF-α 含量均降低, 给予中、高剂量 EGFC 时, 差异有统计学意义 (P < 0.01)。与低剂量 EGFC 组相比, 中剂量 EGFC 组、高剂量 EGFC 组 TNF-α 的含量均降低, 差异均具有统计学意义 (P < 0.05, P < 0.01), 而高剂量 EGFC 组降低更明显。见图 4。



注: 与 Sham 组比较, \*\* P < 0.01; 与 MCAO 组比较, ## P < 0.01; 与低剂量 EGFC 组比较, & P < 0.05, && P < 0.01。

图 4 各组大鼠脑组织中 TNF-α 的含量

2.3.2 各组大鼠脑组织中 IL-1 $\beta$  的含量 与 Sham 组相比,在 MCAO 组和低剂量 EGFC 组 IL-1 $\beta$  的含量明显升高,差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。MCAO 模型建立后,与 MCAO 组相比,中剂量 EGFC 组、高剂量 EGFC 组大鼠脑组织中 IL-1 $\beta$  含量均降低,差异均有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。与低剂量 EGFC 组相比,中剂量 EGFC 组、高剂量 EGFC 组 IL-1 $\beta$  的含量均降低,差异均具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ),而高剂量 EGFC 组降低更明显。见图 5。



注:与 Sham 组比较, \* \*  $P < 0.01$ ; 与 MCAO 组比较, ##  $P < 0.01$ ; 与低剂量 EGFC 组比较, &&  $P < 0.01$ 。

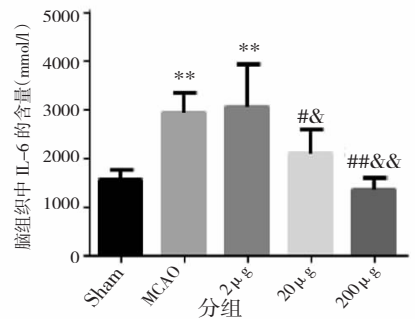
图 5 各组大鼠脑组织中 IL-1 $\beta$  的含量

2.3.3 各组大鼠脑组织中 IL-6 的含量 与 Sham 组相比,MCAO 组和低剂量 EGFC 组 IL-6 的含量明显升高,差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。MCAO 模型建立后,与 MCAO 组相比,中剂量 EGFC 组、高剂量 EGFC 组大鼠脑组织中 IL-6 含量均降低,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。与低剂量 EGFC 组相比,中剂量 EGFC 组、高剂量 EGFC 组 IL-6 含量均降低,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),而高剂量 EGFC 组降低更明显。见图 6。

### 3 讨论

EGF 是由 Cohen<sup>[11]</sup> 在 1986 年首次报道的一种体内广泛表达的多肽生长因子,具有促进细胞增殖、抑制细胞凋亡等生物学作用。EGF 是表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)/细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 信号转导通路的上游因子,与 EGFR 结合后,磷酸化激活 ERK,产生级联反应,启动信号转导途径,发挥其生物学效应。

近年来研究发现 EGF 在脑梗死后脑保护方面发挥积极作用。脑梗死后的缺血再灌注,启动了 ERK 信号转导通路,导致 N-甲基-D-天冬氨酸 (N-methyl-D-aspartic acid, NMDA) 受体活性降低,阻止



注:与 Sham 组比较, \* \*  $P < 0.01$ ; 与 MCAO 组比较, #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ ; 与低剂量 EGFC 组比较, &  $P < 0.05$ , &&  $P < 0.01$ 。

图 6 各组大鼠脑组织中 IL-6 的含量。

Ca<sup>2+</sup> 内流,在神经元功能保护中发挥了重要作用<sup>[12]</sup>。在脑缺血后 12 h,EGF 在缺血中心区及半暗带区的表达达高峰,在缺血 48 h 时仍可维持较高水平,且其在缺血半暗带区的表达量明显高于缺血中心区<sup>[13]</sup>。EGF 联合生长激素释放肽-6 可以显著改善急性脑梗死的病理改变和临床表现,促进神经功能的恢复<sup>[14]</sup>。对于亚急性期大脑中动脉梗死大鼠,EGF 亦可明显缩短其康复时间<sup>[15]</sup>。

笔者认为,作为 EGF 的协同体,EGFC 可能与 EGF 具有类似的生物学作用。本研究中,腹腔注射 EGFC 后,大鼠脑组织的梗死体积减小,且在 TTC 染色法中观察到给药剂量为 200  $\mu$ g 时,梗死体积减小最为显著,表明 EGFC 对大鼠大脑中动脉闭塞急性期的脑组织具有保护作用,且在一定范围内,随着给药剂量的增加,保护作用增强。EGFC 的脑保护作用与文献报道中 EGF 的作用相一致。笔者还发现,腹腔注射 EGFC 后,大鼠脑组织的含水量均较对照组降低,说明脑水肿程度均降低,但低剂量组、中剂量组、高剂量组之间差异无统计学意义,说明 EGFC 对脑缺血再灌注损伤组织具有保护作用。但本实验组间差异无统计学意义可能与观察时间较短(因仅观察了术后 24 h 脑组织水肿程度的变化),尚未达到脑梗死病理过程中脑组织水肿最严重的时期——坏死期 (24 ~ 48 h) 有关,这为后续实验提供了方向。

有研究表明,在机体组织受损、缺氧和氧化应激等情况下,EGF 表达水平显著升高。EGF 可以减轻肠道缺血再灌注损伤后的细菌移位和炎症因子的表达,可增加坏死性肠炎时肠道微血管血流量,改善失血性休克后肠道的微循环<sup>[16, 17]</sup>。在缺血性脑卒中中 EGF 可减少氧自由基的产生,保护缺血神经元。脑缺血再灌注损伤可以导致大量炎症因

子的释放,包括 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$  及活性氧等,它们在缺血再灌注损伤中发挥了重要作用<sup>[18,19]</sup>,抑制其表达可减轻缺血性脑损伤<sup>[20]</sup>。本研究中发现,腹腔注射 EGFC 后,采用 ELISA 法检测脑组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 的含量,与 MCAO 组相比,中剂量 EGFC 组、高剂量 EGFC 组大鼠脑组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 的含量均降低,且在一定范围内,高剂量 EGFC 组降低更明显,但中剂量组与高剂量组之间差异无统计学意义,推测,EGFC 可能通过抑制脑组织缺血再灌注损伤后的炎症反应来发挥其保护缺血神经元的作用,这与 EGF 相关的文献报道相符。本研究还发现,随着 EGFC 剂量的增加,脑组织中炎症因子的含量降低更显著,说明对缺血脑组织炎症反应的抑制作用越强,但中剂量组与高剂量组之间无统计学意义,笔者认为可能与样本量较少,EGFC 的给药剂量梯度较小有关,在今后的实验中,需增加实验样本量,增大 EGFC 的剂量梯度,这为团队今后的研究提供了方向。

综上所述,EGFC 对大鼠大脑中动脉闭塞急性期的脑组织具有一定的保护作用,在今后的研究中,可以从炎症反应、氧化应激等方面进一步探讨 EGFC 保护作用的产生机制,为其临床转化进一步提供理论依据。

#### 参 考 文 献

- [1] Minnerup J, Sutherland BA, Buchan AM, et al. Neuroprotection for stroke: current status and future perspectives[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(9): 11753-11772.
- [2] Neuhaus AA, Couch Y, Hadley G, et al. Neuroprotection in stroke: the importance of collaboration and reproducibility[J]. *Brain*, 2017, 140(8): 2079-2092.
- [3] Suzuki G, Okamoto K, Kusano T, et al. Evaluation of neuronal protective effects of xanthine oxidoreductase inhibitors on severe whole-brain ischemia in mouse model and analysis of xanthine oxidoreductase activity in the mouse brain[J]. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 2015, 55(1): 77-85.
- [4] Sodha NR, Sellke FW. Attenuation of inflammatory responses by hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) in ischemia/reperfusion injury[J]. *Methods Enzymol*, 2015, 555: 127-144.
- [5] Kalaivani P, Ganesh M, Sathiyar S, et al. Alteration in bioenergetic regulators, SirT1 and Parp1 expression precedes oxidative stress in rats subjected to transient cerebral focal ischemia: molecular and histopathologic evidences[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2014, 23(10): 2753-2766.
- [6] Liu B, Zhang Y H, Jiang Y, et al. Gadd45b is a novel mediator of neuronal apoptosis in ischemic stroke[J]. *Int J Biol Sci*, 2015, 11(3): 353-360.

- [7] Wang Y, Cooke M J, Lapitsky Y, et al. Transport of epidermal growth factor in the stroke-injured brain[J]. *J Control Release*, 2011, 149(3): 225-235.
- [8] Cooke MJ, Wang Y, Morshead CM, et al. Controlled epidermal delivery of epidermal growth factor for the stimulation of endogenous neural stem cell proliferation in stroke-injured brain[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(24): 5688-5697.
- [9] 冯耀宗. 能长期保持表皮细胞生长因子 EGF 活性的 EGF 协同共生体及其制备方法[P]. 中国, CN201310282841.1, 2013-09-25.
- [10] Geng X, Elmadhoun O, Peng C, et al. Ethanol and normobaric oxygen: novel approach in modulating pyruvate dehydrogenase complex after severe transient and permanent ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2015, 46(2): 492-499.
- [11] Cohen S. Nobel lecture. Epidermal growth factor[J]. *Biosci Rep*, 1986, 6(12): 1017-1028.
- [12] Yang SI, Yuan Y, Jiao S, et al. Calcitonin gene-related peptide protects rats from cerebral ischemia/reperfusion injury via a mechanism of action in the MAPK pathway[J]. *Biomol Rep*, 2016, 4(6): 699-703.
- [13] 沈顺姬, 杨净, 李婧, 等. 大鼠局灶性脑缺血损伤中表皮生长因子的表达变化的意义[J]. *中国临床康复*, 2003, 7(31): 4180-4181.
- [14] Garcia DBD, Martinez NS, Coro-Antich RM, et al. Epidermal growth factor and growth hormone-releasing peptide-6: combined therapeutic approach in experimental stroke[J]. *Restor Neurol Neurosci*, 2013, 31(2): 213-223.
- [15] Jeffers MS, Hoyles A, Morshead C, et al. Epidermal growth factor and erythropoietin infusion accelerate functional recovery in combination with rehabilitation[J]. *Stroke*, 2014, 45(6): 1856-1858.
- [16] Rocourt DV, Mehta VB, Besner GE. Heparin-binding EGF-like growth factor decreases inflammatory cytokine expression after intestinal ischemia/reperfusion injury[J]. *J Surg Res*, 2007, 139(2): 269-273.
- [17] Zhang HY, Radulescu A, Chen Y, et al. HB-EGF improves intestinal microcirculation after hemorrhagic shock[J]. *J Surg Res*, 2011, 171(1): 218-225.
- [18] Iadecola C, Alexander M. Cerebral ischemia and inflammation[J]. *Curr Opin Neurol*, 2001, 14(1): 89-94.
- [19] Stoll G, Jander S, Schroeter M. Detrimental and beneficial effects of injury-induced inflammation and cytokine expression in the nervous system[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2002, 513: 87-113.
- [20] Wang ZQ, Chen XC, Yang GY, et al. U0126 prevents ERK pathway phosphorylation and interleukin-1 $\beta$  mRNA production after cerebral ischemia[J]. *Chin Med Sci J*, 2004, 19(4): 270-275.