

# miR-210 对大鼠蛛网膜下腔出血后迟发型血管痉挛的防治作用

王新立<sup>1</sup>, 霍晓川<sup>1</sup>, 曹志韬<sup>2</sup>, 关 宁<sup>1</sup>, 郭闻师<sup>1\*</sup>

(1. 辽宁医学院附属第一医院, 辽宁 锦州 121002; 2. 辽宁医学院, 辽宁 锦州 121000)

**摘 要:**【目的】探讨 miR-210 对蛛网膜下腔出血后迟发性脑血管痉挛(DCVS)的防治作用及其相关机制。【方法】取 60 只清洁级的成年 SD 大鼠,雌雄不限,随机分 3 个实验组:SAH 组、对照组、miR-210 治疗组,各组的大鼠数量为 20 只。SAH 组:使用枕大池二次注血方案,制作动物模型;对照组:也采用枕大池注射方案,注射内容为生理性盐水;miR-210 治疗组:SAH 模型建立后,miR-210 枕大池注射。SAH 模型制备成功后第 7 天取材测量大鼠基底动脉的管径、壁厚,HE 染色观察大鼠基底动脉痉挛的情况及病理变化。应用 Western blot 技术检测基底动脉 TLR4 和 TNF- $\alpha$  的表达。【结果】①实验结果显示 SAH 组较对照组相比基底动脉管径明显减小,壁厚明显增大( $P < 0.01$ );②miR-210 治疗组与 SAH 组比较基底动脉管径增大、壁厚减小( $P < 0.01$ );③Western blot 检测的结果表明,同 SAH 组比较,TLR4、TNF- $\alpha$  的表达水平在 miR-210 治疗组中显著降低( $P < 0.01$ )。【结论】①miR-210 缓解 SAH 后 CVS 的作用,可能是通过降低 TLR-4、TNF- $\alpha$  在基底动脉中的表达而实现的。②蛛网膜下腔出血后迟发性脑血管痉挛的产生与 TLR4 信号传导通路有一定的关系。

**关键词:**蛛网膜下腔出血;迟发型脑血管痉挛;Toll 样受体 4;miR-210;TNF- $\alpha$

**中图分类号:**R 743.35 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-3554(2015)06-0846-06

## Experimental Study of miR-210 on Effect and Mechanism of Delayed Cerebral Vasospasm after Subarachnoid Hemorrhage of Rats

WANG Xin-li<sup>1</sup>, HUO Xiao-chuan<sup>1</sup>, CAO Zhi-tao<sup>2</sup>, GUAN Ning<sup>1</sup>, GUO Wen-shi<sup>1\*</sup>

(1.The First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, China; 2.Liaoning Medical University, Jinzhou 121000, China)

Corresponding to:GUO Wen-shi, E-mail:guows1972@126.com

**Abstract:**【Objective】To observe the changes of the diameter of the basilar artery, the thickness of arterial wall, expression of TLR4 and TNF- $\alpha$  after subarachnoid hemorrhage in the model of SAH of rats, and to explore the preventive treatment and related signaling pathways of miR-210 in vascular vasospasm after delayed subarachnoid hemorrhage.【Methods】Sixty adult healthy SD rats were randomized into 3 groups, ①SAH group ②control group ③miR-210 group. Each had 20 rats. For SAH group, we injected autologous blood into the rats' cisterna magna to establish model. For control group, we injected saline instead. For miR-210 group, we injected miR-210 after the establishment of SAH model. Seven days after injection, the basilar artery spasm was observed with HE staining and the basilar artery diameter, arterial wall thickness were examined. Western blot was used to examine basilar artery's expression of TLR4 and TNF- $\alpha$ .【Results】①The diameter of basilar artery were significantly smaller in the model group when compared with normal group and the thickness of arterial wall significantly increased ( $P < 0.01$ ). ②Compared with SAH group, the basilar artery diameter in miR-210 group increased and the thickness of arterial wall decreased ( $P < 0.01$ ). ③When compared with model group, both TLR4 and TNF- $\alpha$ 's expression were significantly decreased significantly in the miR-210 group( $P < 0.01$ ).【Conclusions】①miR-210 could reduce the expression of TLR-4, TNF- $\alpha$  in basilar artery, thus alleviating delayed cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage. ②The pathway of Toll-like receptor might be of relationship with delayed cerebral vasospasm (DCVS).

**Key words:** subarachnoid hemorrhage; cerebral vasospasm; toll-like receptor 4; miR-210; TNF- $\alpha$

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2015, 36(6):846-851]

收稿日期:2015-07-13

基金项目:辽宁省卫生厅医学高峰项目(09010530208);辽宁省自然科学基金(2013022016);辽宁省公益基金(GY2013-A-009);辽宁医学院校长基金(XZJJ20130211)

作者简介:王新立,硕士研究生,研究方向:脑血管介入治疗,E-mail:991819771@qq.com; \*郭闻师,通信作者,教授,硕士生导师,E-mail:guows1972@126.com

蛛网膜下腔出血 (subarachnoid hemorrhage, SAH) 是由多种病因导致颅内血管破裂后使血液进入颅内或椎管内的蛛网膜下腔所引起的综合征,具有高致残率、高致死率等特点<sup>[1]</sup>,其最常见的并发症之一是迟发性脑血管痉挛(delayed cerebra vasospasm, DCVS)<sup>[2]</sup>。DCVS 的发生机制一直未完全阐明,目前仍缺少有效的方法来控制,SAH 后脑血管痉挛的病因及病理机制仍然不清楚,有待进一步研究<sup>[3-4]</sup>。有关研究显示,炎症是介导 SAH 后脑血管痉挛发生的重要病理基础,其在动脉狭窄过程中发挥着举足轻重的作用<sup>[5]</sup>。TLR4 信号通路也被证明在脑组织损伤和蛛网膜下腔出血模型后脑动脉血管痉挛中被激活<sup>[6-7]</sup>,也有研究指出 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路与炎性信号因子 Toll 样受体 (TLR) 的表达密切相关<sup>[8]</sup>,相关研究表明 miR-210 可通过 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路影响 TLR4、TNF- $\alpha$  等炎性因子的表达<sup>[9-10]</sup>,但是国内对 SAH 后 DCVS 的防治作用还没有研究报道。本实验通过复制大鼠 SAH 模型,观察 miR-210 对大鼠 SAH 后脑血管痉挛的影响及检测 TLR4、TNF- $\alpha$  的表达情况,以探讨 miR-210 在 SAH 后脑血管痉挛防治中的作用,为 SAH 后脑血管痉挛治疗提供一个新途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

取采用清洁级成年 Sprague-Dawley (SD) 大鼠,由辽宁医学院实验动物中心提供,7~9 个月,雌雄不限,平均质量 250~300 g。随机分组方式,分为 3 组。对照组 20 只(以 0.5 mL/kg 枕大池内注入生理盐水);蛛网膜下腔出血(SAH)组 20 只;miR-210 治疗组 20 只。所有实验动物由辽宁医学院实验动物中心提供。

### 1.2 大鼠 SAH 后 CVS 模型的制作

采用枕大池二次注血法<sup>[11]</sup>复制大鼠 SAH 后的实验模型。取健康 SD 大鼠称取体质量后,采用腹腔内皮下注射 100 g/L 水合氯醛(350 mg/kg)麻醉大鼠,观察角膜反射的变化,剪去左侧腹股沟及后颈背部区的体毛;大鼠取仰卧位,左侧腹股沟区的皮肤用安碘尔严格消毒,然后改为俯卧位,保证大鼠的呼吸通畅,采用枕外隆凸以下大约 2.0 cm 正中位置为标记点切开皮肤,钝性分离枕部的肌

肉,依次暴露出枕骨、环椎和环枕膜,先用 1 mL 的注射器针头小心刺破环枕膜后,感觉有突破感后再慢慢推深入到枕大池内;有脑脊液少量流出后,用 1 mL 注射器缓慢抽出股动脉血大约 0.3 mL,在 2 min 之内注射入枕大池内完毕;注血成功后改为俯卧位于实验台头低位约 30°持续 30 min,以利于血液积聚在脑底基底池周围,同时用 9 g/L 氯化钠注射液和庆大霉素稀释后冲洗切口,之后给予加压包扎,以防切口发生感染。48 h 后再次重复上述实验操作步骤。mi-210 治疗组每次枕大池注血完毕后立即给予注射 micrON™ miRNA agom-210 1 次,剂量为 10 nmol/L<sup>[12]</sup>,对照组手术操作与模型组一样,以 0.5 mL/kg 注入生理盐水(9 g/L 氯化钠注射液)。

### 1.3 神经功能评分

对成功制备模型后 7 d 内的神经缺损症状后进行神经功能评分。按 Bederson 标准<sup>[13]</sup>将大鼠神经功能缺损症状分为 4 个评分:提起大鼠的尾部,根据双侧前肢的抵抗、弯曲以及是否转圈进行评分。分为以下几级评分:无神经功能缺损(0 分),轻度的神经功能缺损(1 分),中度的神经功能缺损(2 分),重度的神经功能缺损(3 分)。

### 1.4 标本采集及病理

造模成功后的第 7 天,采用腹腔内皮下注射 100 g/L 水合氯醛(350 mg/kg)麻醉各组实验大鼠,固定仰卧在实验台上;从剑突处向上剪开胸壁和心包,暴露出大鼠的主动脉和左心室并将其剪开,用 12 号平针头刺入主动脉大约 1 cm 处,针头固定后,给予灌注生理盐水,此时剪开右心耳,同时用血管钳夹闭腹主动脉;调整灌注高度约为 1.2 m,用生理盐水约 200~300 mL 快速灌注并冲洗血管内的血,待流出的液体变成基本无色后,改用 100 mL 的 4%多聚甲醛缓冲液灌注血管并固定;灌注完毕后开颅,留取包含基底动脉在内的脑干上半段做标本,置于 100 mL/L 甲醛溶液中进行固定。将石蜡包埋切片进行 HE 染色。

### 1.5 光学显微镜 Olympus 和图像分析

采用光学显微镜(Olympus)测量并记录基底动脉的内径和血管壁厚度,在测量基底动脉壁厚及内径时,可将此处血管四周四处壁厚值及四个角度直径求和后取平均值,此值可分别作为该处基底动脉的壁厚及内径。

### 1.6 Western blot 检测 TLR4 和 TNF- $\alpha$ 表达

制作基底动脉组织蛋白匀浆,用蛋白裂解液进行凝胶电泳,将其转膜到硝酸纤维素薄膜上,用 TBST 浸洗,加入封闭液体对其进行封闭,与一定比例稀释的一抗混合孵育。TBST 浸洗后与二抗室温混合孵育。TBST 再次浸洗后加入发光显色剂进行显色。GIS1000 软件分析胶片上每一个特异性条带灰度值并将其数字化。

### 1.7 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件处理实验数据,所有结果均使用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。使用单因素方差分析对数据进行比较,进一步两两比较采用 LSD 法,计量资料数据的组间的比较采用  $t$  检验,当  $P < 0.05$  时表示差异具有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 神经功能评分

对照组在术后无神经功能异常,神经功能评分为 0 分。SAH 组为  $(2.24 \pm 0.74)$  分,miR-210 治疗组为  $(1.37 \pm 0.21)$  分。miR-210 治疗组与 SAH 组相比差异有统计学意义 ( $P < 0.001$ )。

### 2.2 基底动脉直径

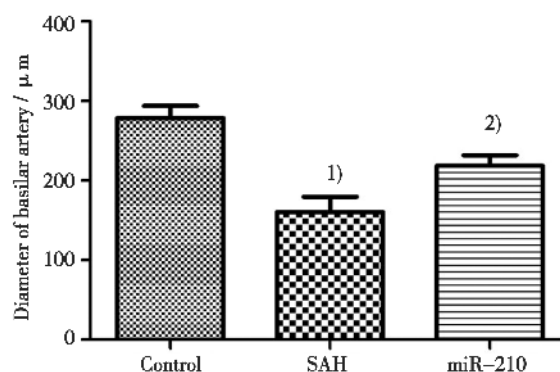
在造模 7 d 后,SAH 组和 miR-210 治疗组的基底动脉平均直径较对照组显著减小,SAH 组的直径较 miR-210 治疗组减小,具有统计学差异 ( $F = 268.30, P < 0.001$ )。SAH 组和 miR-210 治疗组的基底动脉的壁厚较对照组显著增大,SAH 组的壁厚较 miR-210 治疗组增大,差异具有统计学意义 ( $F = 421.98, P < 0.001$ ),结果表明 miR-210 显著抑制 SAH 后的血管痉挛(图 1、2)。

### 2.3 HE 染色

HE 染色可见 SAH 组基底动脉明显痉挛(箭头所示),管壁显著增厚,部分基底膜表现出局部断裂表现,内膜部分出现明显的褶皱,可见有少量浸润的炎性细胞,相比之下对照组与 miR-210 治疗组的血管痉挛和炎症反应相对较轻(图 3)。

### 2.4 Western Blot 检测

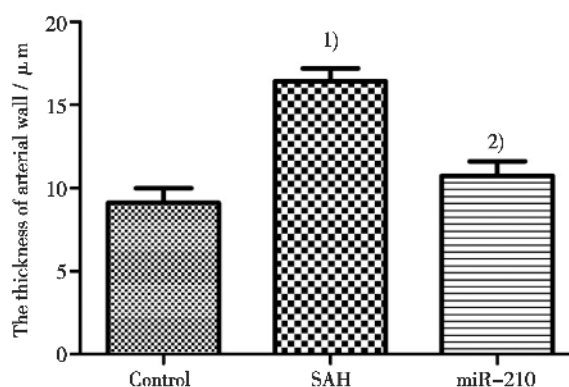
如图 4、5 所示,与 SAH 组比较对照组的 TLR4 表达水平显著降低,miR-210 治疗组基底动脉 TLR4 表达与 SAH 组相比减少,差异具有统计学意义 ( $F = 105.40, P < 0.001$ )。对照组的 TNF- $\alpha$  表达水平较 SAH 组显著降低,miR-210 治疗组的 TNF- $\alpha$  表达水平与 SAH 组相比减少,具有统计学



1)  $P < 0.001$  vs control group; 2)  $P < 0.001$  vs control group,  $P < 0.001$  vs SAH group

图 1 光学显微镜测量基底动脉的管径

Fig.1 Diameter of basilar artery by optical microscope



1)  $P < 0.001$  vs control group; 2)  $P < 0.001$  vs control group,  $P < 0.001$  vs SAH group

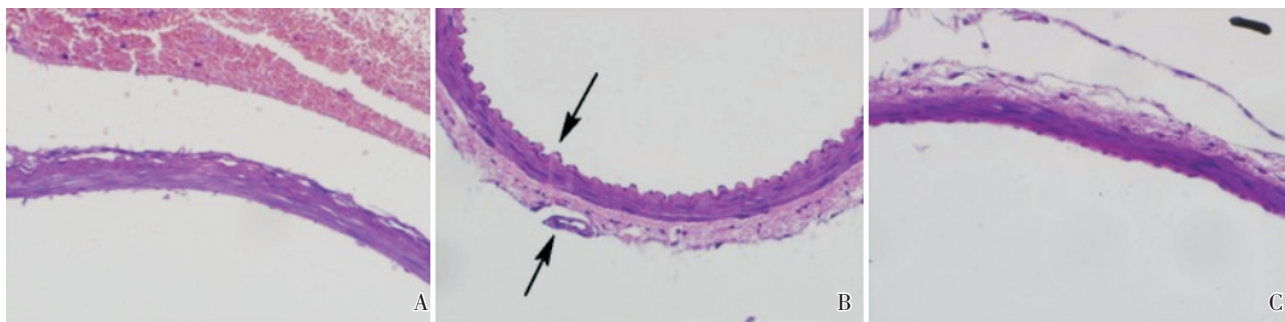
图 2 光学显微镜测量基底动脉的血管壁厚度

Fig.2 The thickness of arterial wall by optical microscope

差异 ( $F = 71.73, P < 0.001$ )。

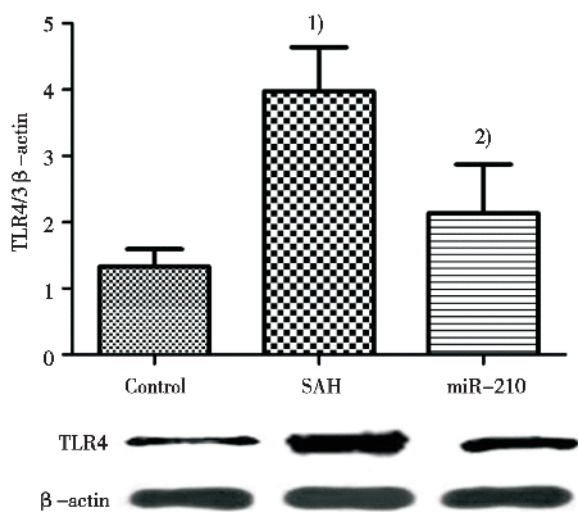
## 3 讨 论

蛛网膜下腔出血是临床上最常见的急性出血性脑血管病,脑血管痉挛是其最严重的并发症,多发于 SAH 后 1 ~ 3 d 和 7 ~ 10 d 为高峰期,2 ~ 4 周逐渐缓解,其具体的发病机制至今尚未完全阐明。DCVS 是 SAH 后最严重的并发症,是影响患者预后不良的主要因素。我们所采用枕大池两次注血制备 SAH 模型应用已有 10 余年,其制作方法



A: Control group; B: SAH group; C: miR-210 group; B showed that the basilar artery in SAH group was obviously spasm, the thickness of arterial wall was significantly thickened, some of the basement membrane showed a local fracture, and some of the intima showed obvious fold (arrow).  $\times 400$

图 3 HE 染色观察基底动脉血管痉挛改变  
Fig.3 The changes of the basilar artery vasospasm

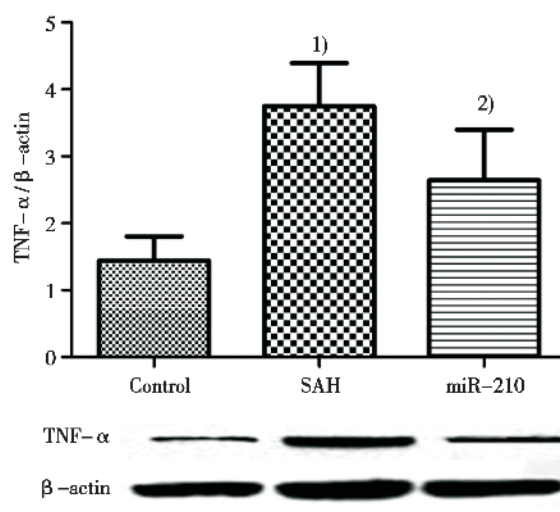


1)  $P < 0.001$  vs control group; 2)  $P < 0.001$  vs control group,  $P < 0.001$  vs SAH group

图 4 TLR4 的 Western blot 检测

Fig.4 Western blot for the TLR4 expression

简单, 效果明显, 且与人的形态学改变有较高的相似性。大鼠 Bederson 神经功能缺损评分结果表明, SAH 组中均出现了不同程度的神经功能缺损症状, 最高的神经功能缺损评分则出现在 SHA 后第 5~7 天, 与临床中 DCVS 出现时间极为相似, 说明我们建立的 SAH 后 DCVS 实验模型较为成功。在本次实验中, 大鼠在第一次注血成功 7 d 后被处死, SAH 组和 miR-210 治疗组的大鼠的基底动脉附近及基底池周围均可见少量的血凝块积聚。实验中发现 SAH 组的基底动脉直径较对照组大鼠



1)  $P < 0.001$  vs control group; 2)  $P < 0.001$  vs control group,  $P < 0.001$  vs SAH group

图 5 TNF-α 的 Western blot 检测

Fig.5 Western blot for the TNF-α expression

比较显著减小、血管壁的厚显著增加 ( $P < 0.001$ ), 证明制备的模型效果可靠。

SAH 后的 DCVS 是一个包括血管内皮功能障碍、血管平滑肌收缩及增殖、免疫炎症反应、基因调控等多因素环节共同参与的复杂病理过程<sup>[14]</sup>。研究表明: 免疫炎症反应是 SAH 后脑动脉病理学变化的一个重要特征, 且在 DCVS 发生机制中起重要作用<sup>[15]</sup>。作为典型的模式识别受体, Toll 样受体 ((Toll like receptors, TLR)) 在机体的炎症反应中以及固有免疫防御中发挥着至关重要的功能。不仅如此, TLR 还能够对损伤性分子模式受体进

行识别,并且在损伤过程参与主要炎症反应<sup>[16]</sup>。据有关报道,据相关报道,在大鼠颅内出血(ICH)实验模型中,脑出血后可产生少量纤维蛋白原和亚铁血红素等内在配体,这些配体可活化 TLR4,从而使其表达提高,导致不良的后果<sup>[17]</sup>。我们的研究表明,在于对照组比较下,TLR4 和 TNF- $\alpha$  在 SAH 组中的表达均显著提高 ( $P < 0.001$ )。这表明在 SAH 发生后,能够激活某些配体,从而参与炎症反应,TLR4 激活后可以通过依赖 MyD88 或不依赖 MyD88 两种信号通路进行信号转导,NF- $\kappa$ B 被激活得以表达,从而介导一些炎性反应因子如 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  的表达上调<sup>[18-19]</sup>,TNF- $\alpha$  可能参与脑血管痉挛的发生。NF- $\kappa$ B(nuclear factor kappa B,NF- $\kappa$ B)是炎症反应过程中的重要信号转导分子,NF- $\kappa$ B 的活化可使 TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 和 IL-1 等促炎性因子基因的表达。据我们研究结果推测 SAH 后 TLR4 受体被某种配体激活后可能通过 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路介导的炎症反应引起下游促炎因子 TNF- $\alpha$  的高表达。

微小 RNA(miRNA)是一类生物体内自然生成的非编码分子,在基因表达的调控中发挥着重要的作用<sup>[12]</sup>。有关研究表明 miR-210 可通过靶向于 NF- $\kappa$ B 抑制 LPS 诱导的炎症反应,进而抑制巨噬细胞促炎因子的产生<sup>[20]</sup>。miR-210 可通过作用于 p105/p50 的 3'-UTR 抑制内源性 NF- $\kappa$ B 的表达,NF- $\kappa$ B 调控炎症因子 TNF- $\alpha$  表达。在 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路中,NF- $\kappa$ B 起到重要的连接作用,抑制 NF- $\kappa$ B 的表达相应的引起 TLR4 的低表达。TNF- $\alpha$  是一种具有广泛生物学意义的细胞因子,在机体的炎症反应及免疫反应中起重要的作用。TNF- $\alpha$  的释放可激活巨噬细胞、内皮细胞产生大量的炎性代谢产物,其中包括 ICAM-1,ICAM-1 调节受损区组织中性粒细胞的黏附和穿透内皮的迁移,它是血管痉挛启动的重要步骤之一<sup>[21-22]</sup>,TNF- $\alpha$  还可以通过增加 I 型胶原蛋白的合成,提高血管壁的张力,导致痉挛血管管腔持续狭窄。因此我们在实验中观察到 miR-210 治疗组 TNF- $\alpha$ 、TLR4 的表达水平明显低于 SAH 组 ( $P < 0.001$ ),miR-210 治疗组与 SAH 组比较基底动脉管径增大、壁厚减小( $P < 0.001$ )。miR-210 减少 TLR4 表达,血管痉挛得以缓解可能与抑制 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路中 NF- $\kappa$ B 的激活,进而减少炎性细胞因子 TNF- $\alpha$  的表达有关。

综上所述,我们所采用的枕大池二次注血法能较成功模拟了 SAH 后 DCVS。本研究发现,miR-210 可能通过抑制 NF- $\kappa$ B 的激活减少 SAH 后基底动脉 TLR4 的表达而降低炎症反应,最终缓解血管痉挛。由此可见,miR-210 可作为未来预防脑血管痉挛的新型药物之一。但是对于 miR-210 预防 SHA 后的 DCVS 的具体机制仍然不十分清楚,亟待完善其相关机制。

#### 参考文献

- [1] Shimamura N, Ohkuma H, et al. Phenotypic transformation of smooth muscle in vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. *Transl Stroke Res*, 2014, 5(3): 357-364.
- [2] Ciurea AV, Palade C, Voinescu D, et al. Subarachnoid hemorrhage and cerebral vasospasm -literature review [J]. *J Med Life*, 2013, 6(2): 120-125.
- [3] Adamczyk P, He S, Amar AP, et al. Medical management of cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a review of current and emerging therapeutic interventions [J]. *Neurol Res Int*, 2013, 2013: 462491.
- [4] Dankbaar JW, Slooter AJ, Rinkel GJ, et al. Effect of different components of triple-H therapy on cerebral perfusion in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review [J]. *Critical Care*, 2010, 14(1): R23.
- [5] Provencio JJ. Inflammation in subarachnoid hemorrhage and delayed deterioration associated with vasospasm: a review [J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2013, 115: 233-238.
- [6] Zhang Y, Fei M, Xue G, et al. Elevated levels of hypoxia-inducible microRNA-210 in pre-eclampsia: new insights into molecular mechanisms for the disease [J]. *Cell Mol Med*, 2012, 16(12): 249-255.
- [7] Fang Q, Chen G, Zhu W, et al. Influence of melatonin on cerebrovascular proinflammatory mediators expression and oxidative stress following subarachnoid hemorrhage in rabbits [J]. *Mediators Inflamm*, 2009, 2009: 426346.
- [8] Bell MT, Puskas F, Agoston VA, et al. Toll-like receptor 4-dependent microglial activation mediates spinal cord ischemia-reperfusion injury [J]. *Circulation*, 2013, 128(26 Suppl 1): S152-156.
- [9] Qi JN, Qiao Y, Wang P, et al. MicroRNA-210 negatively regulates LPS-induced production of proinflammatory cytokines by targeting NF- $\kappa$ B in murine

- macrophages[J]. *Febs Letters*, 2012, 586(8): 1201–1207.
- [10] Hanafy KA. The role of microglia and the TLR4 pathway in neuronal apoptosis and vasospasm after subarachnoid hemorrhage[J]. *J Neuroinflamm*, 2013, 83(1): 301.
- [11] Vatter H, Weidauer S, Konczalla J, et al. Time course in the development of cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage: clinical and neuroradiological assessment of the rat double hemorrhage model[J]. *Neurosurgery*, 2006, 58(6): 1190–1197.
- [12] Hu JZ, Huang JH, Zeng L, et al. Anti-apoptotic effect of micro RNA-21 after contusion spinal cord injury in rats[J]. *J Neurotrauma*, 2013, 30(15): 1349–1360.
- [13] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination [J]. *Stroke*, 1986, 17(3): 472–476.
- [14] Yanamoto H, Kataoka H, Nakajo Y, et al. The role of the host defense system in the development of cerebral vasospasm: analogies between atherosclerosis and subarachnoid hemorrhage[J]. *Eur Neurol*, 2012, 8(6): 329–343.
- [15] Chaichana KL, Pradiua G, Huang J, et al. Role of inflammation (Leukocyte-endothelial cell interactions) in vasospasm after subarachnoid hemorrhage[J]. *World Neurosurg*, 2010, 73(1): 22–41.
- [16] Frantz S, Ertl G, Bauersachs J. Toll-like receptor signaling in the ischemic heart[J]. *Front Biosci*, 2008, 13(5): 5772–5779.
- [17] Shao Z, Li J, Zhao Z, et al. Effects of tetramethylpyrazine on nitric oxide/cGMP signaling after cerebral vasospasm in rabbits [J]. *Brain Res*, 2010, 1361(2): 67–75.
- [18] Janeway Jr, Medzhitov R. Innate immune recognition [J]. *Annu Rev Immunol*, 2002, 20: 197–216.
- [19] Hallenbeck JM. The many faces of TNF in stroke [J]. *Nat Med*, 2002, 8(12): 1363–1368.
- [20] Muhammad MA, Luke AO'Neill. MicroRNAs and the resolution phase of inflammation in macrophages [J]. *EurJImmunol*, 2011, 41(9): 2470–2525.
- [21] Polin RS, Bavbek M, Shaffrey ME, et al. Detection of soluble E-selectin, ICAM-1, VCAM-1, and L-selectin in the cerebrospinal fluid of patients after subarachnoid hemorrhage [J]. *J Neurosurg*, 1998, 89(4): 559–567.
- [22] Nakakuki T, Ito M, Iwasaki H, et al. RhoPRho-kinase pathway contributes to C-reactive protein-induced plasminogen activator inhibitor-1 expression in endothelial cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(10): 2088–2093.

(编辑 徐杰)