

高压氧对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠的远期影响

刘美娜¹, 庄思齐¹, 车丽洪²

(中山大学 1. 第一附属医院儿科, 2. 病理学教研室, 广东 广州 510080)

摘要:【目的】探讨早期和延迟高压氧(HBO)治疗对缺氧缺血性脑损伤(HIBD)新生大鼠的远期影响。【方法】7日龄大鼠37只随机分为对照组($n=10$, 假手术处理)、HIBD组($n=9$)、EHBO组($n=9$, HIBD模型后0.5~1 h开始2个绝对大气压HBO治疗, 稳压30 min/次, 间隔24 h, 连续2次)和LHBO组($n=9$, HIBD模型后48~72 h开始2个绝对大气压HBO治疗, 稳压30 min/次, 间隔24 h, 连续5次), 以大鼠远期的学习记忆功能(Morris水迷宫实验)和海马形态组织学(海马锥体细胞层结构和CA1区存活神经元数)来判断干预效果。【结果】HIBD组大鼠的学习记忆功能严重不良伴海马结构严重受损, 与对照组相比, 水迷宫实验中平均逃逸潜伏期延长(56.35 s与23.07 s, $P<0.05$)、搜索时间和搜索路程缩短(分别为29.29 s与51.21 s, 548 cm与989 cm, 均 $P<0.05$)、海马存活神经元减少(100个/mm与183个/mm, $P<0.05$); 早期HBO治疗明显减轻HIBD大鼠的学习记忆功能障碍(潜伏期:39.17 s与56.35 s; 搜索时间:36.84 s与29.29 s; 搜索路程:686 cm与548 cm, $P<0.05$), 并使海马存活神经元增多(131个/mm与100个/mm, $P<0.05$), 延迟HBO治疗不能减轻HIBD大鼠的学习记忆功能障碍(潜伏期:56.25 s与56.35 s; 搜索时间:30.11 s与29.29 s; 搜索路程:572 cm与548 cm, $P>0.05$), 海马存活神经元无增多(95个/mm与100个/mm, $P>0.05$); 大鼠在水迷宫实验中的逃逸潜伏期与海马锥体细胞层存活神经元数呈直线负相关($r=-0.819$, $P<0.01$)。【结论】早期HBO治疗可减轻HIBD程度, 并可改善HIBD所引起的远期学习记忆功能缺陷, 延迟HBO治疗对HIBD无效。

关键词: 高压氧; 缺氧缺血性脑损伤; 大鼠

中图分类号: R722.12

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2005)06-0664-05

Long-term Effects of Hyperbaric Oxygen Therapy on Neonatal Rats with Hypoxic-ischemic Brain Injury

LIU Mei-na¹, ZHUANG Si-qi¹, CHE Li-hong²

(1. Department of Pediatrics, The First Affiliated Hospital, 2. Department of Pathology, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】 To evaluate the long-term effects of early and delayed hyperbaric oxygen (HBO) therapy on neonatal rats with hypoxic-ischemic brain injury (HIBD). 【Method】 Postnatal 7 days (PD7) pups ($n=37$) were randomly set into 4 groups: Control ($n=10$, pseudo operation), HIBD group ($n=9$, the left common carotid was dissected and ligated. After 1-2 h recovery, the pups were exposed to 8% oxygen-92% nitrogen gas mixture for 2 h), EHBO group ($n=9$, group of early HBO therapy, pups began to HBO treatment with 2 atmosphere absolutes, 2×30 min at a 24 h intervals just 0.5-1 h after the HIBD model), or LHBO group ($n=9$, group of delayed HBO therapy, pups began to HBO treatment with 2 atmosphere absolutes, 5×30 min at a 24 h intervals just 48-72 h after the HIBD model). For evaluating the HBO interference effect, we measured the spatial learning and memory ability in the Morris water maze, and survival neurons in CA1 region of hippocampus. 【Results】 Compared with control, the rats in HIBD group displayed significant morphologically and histological deficits, as well as severe learning and memory disability. In Morris water maze, mean escape latency in HIBD group were longer (56.35 s vs. 23.07s, $P<0.05$), probe time and probe length were shorter (29.29 s vs 51.21 s and 548 cm vs 989 cm respectively, $P<0.05$), and survival neurons in CA1 region were less (100/mm vs. 183/mm, $P<0.05$). Early HBO therapy resulted in protection against both HIBD-

收稿日期: 2005-06-04

基金项目: 广东省卫生厅科研基金资助(B2004032)

作者简介: 刘美娜(1970-), 女, 广东揭西人, 医学硕士, 主治医师. E-mail: Alicelmn@hotmail.com

induced brain tissue loss and spatial learning and memory disability (mean escape latency: 39.17 s vs 56.35 s, probe time: 36.84 s vs 29.29 s, probe length: 686 cm vs 548 cm, survival neurons: 131/mm vs 100/mm, $P < 0.05$). Delayed HBO therapy did not showed improvement of either spatial learning and memory or brain tissue loss (mean escape latency: 56.25 s vs 56.35 s, probe time: 30.11 s vs 29.29 s, probe length: 572 cm vs 548 cm, survival neurons: 95/mm vs 100/mm, $P > 0.05$). There was a close linear correlation between the CA1 survival neurons and the mean escape latency for block 9 acquisition trials ($r = -0.819$, $P < 0.01$). [Conclusion] Early HBO therapy decreased the degree of HIBD and improved the long-term deficiency of learning and memory function induced by HIBD, but delayed HBO therapy had no effect on treating HIBD.

Key words: hyperbaric oxygen; hypoxic-ischemic brain injury; rats

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2005, 26(6):664-668, 695]

围产期缺氧缺血性脑损伤 (hypoxic-ischemic brain injury, HIBD) 是儿童期智力、行为障碍的常见原因, 目前缺乏特效治疗。高压氧 (hyperbaric oxygen therapy, HBO) 因能明显提高血氧分压和迅速缓解组织的缺氧状态在国内被广泛应用于临床治疗有 HIBD 的新生儿。事实上, 在新生动物 HIBD 模型中, HBO 多于 HIBD 后数小时内开始使用, 而临床上, HBO 均于新生儿 HIBD 的恢复期开始使用, 此两者存在明显的不同。因此, 本研究在制备新生大鼠 HIBD 模型后于不同时间点开始 HBO 处理, 评价早期 HBO 治疗和延迟 HBO 治疗对 HIBD 新生大鼠远期学习记忆功能和脑海马结构的影响, 以期更好地指导临床。

1 材料与方 法

1.1 动物及模型制备

SD 清洁级大鼠, 7 日龄, 雌雄不限, 体质量 12~18 g, 共 37 只, 2003 年 9 月至 2004 年 6 月由中山大学医学动物实验中心提供; 参照文献 [1] 制备 HIBD 模型: 大鼠乙醚麻醉下, 游离左颈总动脉并永久结扎, 术后 1~2 h 置入 37℃ 容器, 输入含体积分数 8% 氧气的混合气体 2 h。

1.2 实验分组及 HBO 治疗方法

大鼠随机分成 4 组: ①对照组: 10 只, 假手术处理; ②HIBD 组: 9 只, 制备 HIBD 模型; ③EHBO 组: 9 只, 早期 HBO 治疗组, HIBD 模型后 0.5~1 h 开始 HBO 治疗; ④LHBO 组: 9 只, 延迟 HBO 治疗组, HIBD 模型后 48~72 h 开始 HBO 治疗。HBO 治疗方法: 采用 YLC0.5-1 婴儿氧舱 (中国船舶工业总公司生产), 2 个绝对大气压 (atmosphere absolutes, ATA), 稳压 30 min/次, 间隔 24 h, 连续 2 次 (EHBO 组) 或 5 次 (LHBO 组)。

1.3 学习记忆功能的测评—Morris 水迷宫实验

Morris 水迷宫由圆形水池、平台和记录装置组成; 水池直径 120 cm, 池壁标记 4 个人水点将水池均分为 4 个象限, 其一象限放置隐藏平台 (低于水面 1 cm), 即平台象限。实验前 1 d, 大鼠自由游泳 2 min 熟悉环境。测试包括: ①定位航行实验: 实验 1~5 d, 每天分上、下午 2 时段各测试 4 次, 分别记录大鼠从 4 个人水点入水后找到平台并四肢爬上平台的时间, 即逃逸潜伏期 (escape latency, EL)。②空间探索实验: 第 5 天下午, 撤离平台, 记录大鼠从同一水点入水后 120 s 内的游泳轨迹、原平台象限的搜索时间和搜索距离、总搜索距离。取 4 次实验的平均值作为每时段的平均 EL, 搜索速度 (cm/s) = 总搜索距离/120。大鼠于 37~41 d 龄时完成水迷宫实验。

1.4 脑组织病理学测评

大鼠 42 d 龄时取脑, 参照 Paxinos 图谱, 取前囟后 2.8~3.3 mm 海马块, 行 4 μm 连续冠状切片 + HE 染色, 10×40 光镜下观察海马锥体细胞层结构、计数 3.3 mm 海马平面 CA1 区每毫米长度锥体细胞层中的存活神经元数, 每一标本取 5 张切片的平均值纳入统计分析。

1.5 统计学分析

所有数据输入 SPSS 11.0 统计软件分析处理, 实验结果以均数±标准差表示, 水迷宫逃逸潜伏期的比较采用重复测量数据方差分析+Bonferroni 多重比较, 海马 CA1 区锥体细胞数与水迷宫实验第 9 时段 (block 9) 的平均 EL 作相关分析, 其余数据多组之间的比较采用单因素方差分析+SNK- q 检验, $\alpha=0.05$ 为显著性水准。

2 结 果

2.1 Morris 水迷宫实验

2.1.1 定位航行实验 该实验以 EL 判断学习能

力,EL 长,即找到平台的时间长,提示学习能力下降。各实验组动物每一时段平均 EL 均为对照组最短,HIBD 组和 LHBO 组最长,EHBO 组处于中间水平,5 d 平均 EL 在对照组、HIBD 组、EHBO 组和 LHBO 组分别为 (23±16)s、(56±22)s、(39±21)s 和 (56±23)s,方差分析+多重比较显示,EL 在不同实验组之间的差异有显著性 ($F=16.70, P<0.001$),为对照组<EHBO 组<HIBD 组和 LHBO 组 ($P<0.05$),而 HIBD 组和 LHBO 组之间无差异 ($P>0.05$) 见图 1 和表 1。

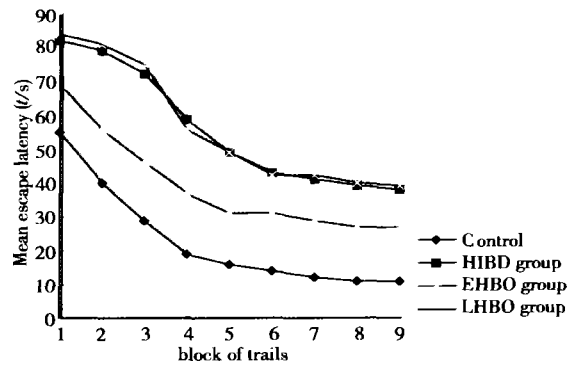


图 1 4 组平均逃逸潜伏期结果

Fig.1 Comparison of mean escape latency of the 4 groups

表 1 4 组平均逃逸潜伏期的比较

Table1 Comparison of mean escape latency in the 4 groups

($\bar{x}\pm s, t / s$)

Group	n	Block1	Block2	Block3	Block4	Block5	Block6	Block7	Block8	Block9
Control	10	55±11	40±10	29±9	17±7	16±6	14±6	12±5	11±5	11±7
HIBD	9	82±18	79±19	72±16	59±18	49±14	43±16	41±13	39±13	38±14
EHBO	9	69±12	56±17	46±19	37±19	31±21	31±17	29±16	27±14	28±13
LHBO	9	84±16	81±17	75±19	56±15	49±10	42±18	42±15	40±14	39±15

$F=16.70 P=0.01$

2.1.2 空间探索实验 该实验以平台象限搜索时间和搜索路程判断记忆能力,数值小,提示记忆能力下降。撤除平台后,对照组采取以平台为目标的搜索性游泳轨迹,HIBD 组和 LHBO 组采取随机性游泳轨迹,EHBO 组游泳轨迹趋向对照组,平台象

限搜索时间和搜索路程均为对照组>EHBO 组>HIBD 组和 LHBO 组($P<0.05$),而 HIBD 组与 LHBO 组之间无差异($P>0.05$);各组游泳速度无差异($P=0.371$),见图 2 和表 2。

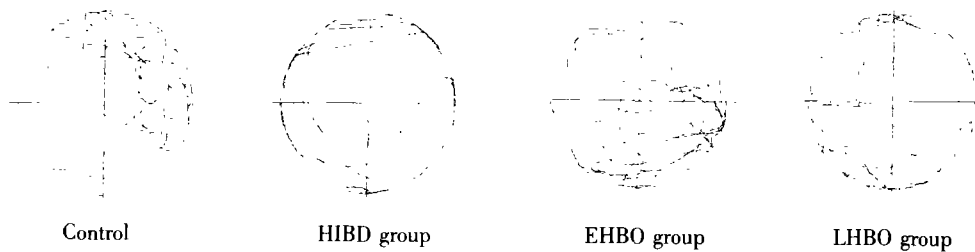


图 2 4 组空间搜索实验中的运动轨迹图

Fig.2 Representative swim paths of the 4 groups in probe test

表 2 4 组搜索时间、搜索路程及搜索速度的比较

Table 2 Comparison of probe time, probe length, and probe speed in the 4 groups

($\bar{x}\pm s$)

Group	n	Probe time (s)	Probe length (cm)	Probe speed(cm/s)
Control	10	51±5	989±101	23.3±3.6
HIBD	9	29±6	548±92	21.2±2.7
EHBO	9	37±4	686±76	22.0±4.2
LHBO	9	30±5	572±92	23.2±4.2
F		41	47.95	0.68
P		<0.05	<0.05	>0.05

2.2 海马锥体细胞层结构和 CA1 区存活神经元

显微镜下显示,对照组海马锥体神经元呈多层分布,细胞排列整齐,无神经元缺失区;HIBD 组和 LHBO 组锥体细胞层不同程度变薄、细胞层数减少,有明显的神经元缺失区,有些锥体细胞层见大量死亡神经元堆积,残存少许存活神经元;而 EHBO 组海马锥体细胞层表现为斑点状神经元缺失(图 3)。海马 CA1 区每毫米长度锥体细胞层内存活神经元定量计数显示,存活神经元数为对照组>

EHBO组>HIBD组和LHBO组($P < 0.05$),而HIBD组与LHBO组之间无差别($P > 0.05$),见表3。

表3 4组CA1区锥体细胞层存活神经元数的比较

Table 3 Comparison of survival neurons in CA1 region of the 4 groups ($\bar{x} \pm s, \text{mm}^{-1}$)

Group	n	Left	Right
Control	10	183±7	185±7
HIBD	9	100±26	162±10
EHBO	9	131±25	175±7
LHBO	9	95±25	160±12
F		32.78	15.60
P		< 0.05	< 0.05

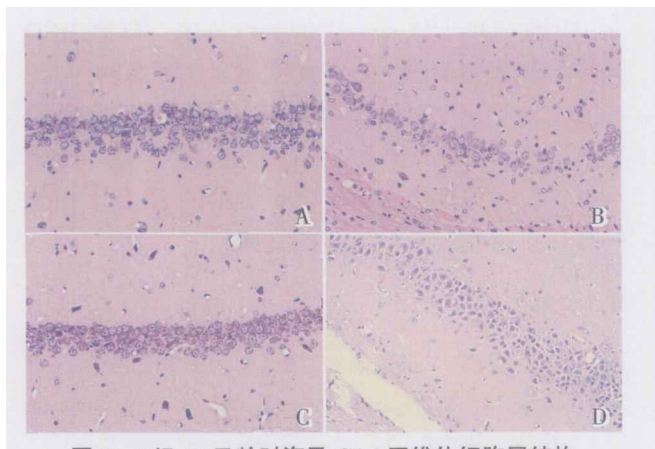


图3 4组42日龄时海马CA1区锥体细胞层结构

Fig. 3 Structure of pyramidal layer at PD42 in hippocampus of the 4 groups (HE, 400×)

A: showed the structure of pyramidal layer in Control; B: showed lessen and lose (arrow) of neurons in HIBD group and LHBO group; C: showed structure of pyramidal layer in EHBO group; D: showed dead neurons (arrow) in HIBD group and LHBO group

2.3 相关分析

各组动物的实验结果分析显示,海马CA1区每毫米长度锥体细胞层中的存活神经数与第9时段的平均EL存在直线负相关($r = -0.819, y = -2.15x + 187.5, P < 0.05$)。

3 讨论

HBO治疗指机体处在高于1ATA环境中呼吸与环境等压纯氧的一种治疗方法。HBO在HIBD中的应用及其疗效一直存在争议:动物实验报导缺氧缺血后24h内2ATA~3ATA,稳压30~90min/次,连续2~7次的HBO治疗可能通过改善脑血流、增

加缺血周围的脑组织氧供给、减少神经细胞的凋亡及防止脑细胞能量衰竭等机制起保护作用^[2-5],也可能通过增加氧自由基的产生和脑血管的强烈收缩而加重脑损伤^[6,7];临床上,HBO多作为综合治疗的一部分在新生儿缺氧缺血性脑损伤后的恢复期开始使用,其单独疗效很难评价。因此本研究在复制新生大鼠HIBD模型后于不同时间点采用2ATA,30min/次,间隔24h,连续2次或5次的HBO治疗,主要评价早期和延迟HBO治疗对HIBD新生大鼠的远期单独疗效以指导临床,现将结果讨论如下。

3.1 新生动物HIBD模型问题

新生动物HIBD-Rice模型,因其操作简便、能稳定复制与结扎颈总动脉同侧的半边脑损伤模型、动物能长期存活便于对远期效果进行观察等优点而被广泛采纳。该模型中,海马是HIBD的敏感区,可作为评价干预效果的窗口^[1]。本研究从该模型观察到新生大鼠HIBD后5周的海马区仍有明确的组织病理学改变,在Morris水迷宫试验中的学习记忆功能显著下降,与文献报导是一致的^[8],表明本模型的复制是成功的,可作为后续研究的基础。

3.2 海马与学习记忆功能及Morris水迷宫实验

大量临床资料显示海马结构损伤可导致记忆的缺失;而Morris水迷宫是检测大鼠空间学习记忆功能的经典行为学测试系统,是更适于建立以海马为实验对象的实验,该系统利用动物的本能—求生欲作为刺激,对动物所引起的反应要比其它检测空间学习记忆能力所用的电击刺激小得多,其检测结果能比较理想地反映大鼠的空间学习记忆能力^[9]。

3.3 早期HBO治疗对HIBD新生大鼠远期海马组织病理学和学习记忆功能的影响

HE染色后光学显微镜下显示,对照组海马锥体细胞层的结构完整,HIBD组海马损害严重,表现为锥体细胞层变薄,细胞层数减少及明显的神经元缺失,甚至整个锥体细胞层堆满了死亡神经元,CA1区存活神经元数显著低于对照组,而EHBO组大鼠的海马损害相对较轻,多为锥体细胞层轻度变薄和散在斑点状神经元缺失,CA1区存活神经元总数高于HIBD组,但仍低于对照组。这些结果提示HIBD通过不同的机制介导了大量神经元死亡,致存活神经元减少,早期HBO治疗在一定程度上减轻了神经元的死亡,最终减轻脑病理缺损。究竟早

期 HBO 治疗通过何种机制减少神经元的死亡,本实验未进行相关研究。文献报道在人类因窒息死亡或死产新生儿及多种新生动物 HIBD 模型中,坏死和凋亡是新生动物 HIBD 后神经细胞死亡的两种重要形式:HIBD 后 3~6 h,遭受缺氧缺血性损伤的脑组织即呈现以坏死为主、凋亡和坏死并存的细胞损伤;神经元坏死多见于梗塞灶的中心区域,是不可逆的,而凋亡是基因调控下的程序性细胞死亡,多见于梗塞灶的周边区域,是可逆的^[10];而 Calvert 等^[4]在制备新生大鼠 HIBD 模型后 1 h 开始予 3ATA HBO 治疗 1 h,发现 HBO 治疗组的脑组织于 HIBD 后 24 h、72 h 和 1 周均未能检测到 TUNEL 标记的凋亡细胞,这些研究提示早期 HBO 治疗很可能减少或阻止了 HIBD 所引发的早期神经细胞凋亡。

在定位航行实验中,各组动物的平均 EL 均随训练时段的增多而逐渐缩短,至第 7~9 时段时不再缩短,提示动物对水下平台的空间定位学习能力不断提高并趋稳定,但各组平均 EL 并不相同,HIBD 组的 EL 显著延长,表明其学习能力下降;在空间探索实验中,对照组经训练学习后的游泳轨迹是趋向平台的,因而能迅速找到平台,即使撤除平台后仍能凭借记忆在原平台周围搜索,而 HIBD 组的游泳轨迹却是随机的,因而不能迅速准确地定位平台,撤除平台后也不能凭借记忆在原平台周围搜索,因此,平台象限搜索时间和搜索路程远远不如对照组,表明 HIBD 组大鼠的记忆能力下降,而 EHBO 组在水迷宫实验中的相关检测结果比 HIBD 组有所改善,但不能达到对照组水平,表明早期 HBO 治疗在一定程度上可改善动物在水迷宫试验中因 HIBD 所引起的远期学习记忆功能的下降;而相关分析结果表明,早期 HBO 治疗对 HIBD 新生大鼠的脑保护作用在海马组织病理学与学习记忆功能的改善是平行的。

值得注意的是,所有缺氧缺血动物在水迷宫实验中的游泳速度与对照组比较均无差异,表明该 HIBD 模型对动物的远期运动能力的影响不足以妨碍其完成水迷宫试验,因此认为这些动物在水迷宫试验中的表现不良很可能就是由于海马结构受损和学习记忆能力下降所导致的。

3.3 延迟 HBO 治疗对 HIBD 新生大鼠远期海马组织病理学和学习记忆功能的影响

本实验显示,LHBO 组在脑海马锥体细胞层结

构、CA1 区存活神经元数和远期学习记忆功能的检测上与 HIBD 组比较均未呈现优势,有些结果甚至不如 HIBD 组,但统计学上无差异性。这些结果表明,晚期 HBO 治疗对新生大鼠 HIBD 无远期的脑保护作用,也未加重脑损伤,其是否与干预时间较晚而不能阻止 HIBD 所引起的早期神经细胞凋亡有关,值得进一步探讨研究。

综上所述,缺氧缺血后 0.5~1 h 开始 2 ATA,30 min/次,间隔 24 h×2 次的 HBO 治疗能改善 HIBD 新生大鼠的远期学习记忆能力和减轻海马组织病理学缺损;缺氧缺血后 48~72 h 开始 2 ATA,30 min/次,间隔 24 h×5 次的 HBO 治疗未出现远期的脑保护作用,也未加重脑损伤。提示早期 HBO 治疗对 HIBD 新生大鼠有一定的治疗价值,延迟 HBO 治疗不能改善 HIBD 新生大鼠的远期预后。因此,临床上对有缺氧缺血性脑损伤的新生儿于恢复期才开始使用 HBO 治疗是否有价值,值得进一步研究探讨,对这些患儿可否尝试尽早的 HBO 干预仍需要更多重复有效性实验的支持。

参考文献:

- [1] Rice JE 3rd, Vannucci RC, Brierley JB. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat [J]. *Ann Neurol*, 1981, 9(2): 131-41.
- [2] 蔺世龙,刘景昌,张振炜.不同高压氧暴露对沙鼠急性脑缺血脑膜微循环的作用[J].*微循环杂志*, 1996, 6(2): 7-9.
- [3] Sunami K, Takeda Y, Hashimoto M, et al. Hyperbaric oxygen reduces infarct volume in rats by increasing oxygen supply to the ischemic periphery [J]. *Crit Care Med*, 2000, 28(8): 2831-6.
- [4] Calvert JW, Yin W, Patel M, et al. Hyperbaric oxygenation prevented brain injury induced by hypoxia-ischemia in a neonatal rat model [J]. *Brain Res*, 2002, 951(1): 1-8.
- [5] Yufu K, Itoh T, Edamatsu R, et al. Effect of hyperbaric oxygenation on the Na⁺,K⁺-ATPase and membrane fluidity of cerebrocortical membranes after experimental subarachnoid hemorrhage[J]. *Neurochem Res*, 1993, 18(9): 1033-9.
- [6] Mink RB, Dutka AJ. Hyperbaric oxygen after global ischemia in rabbits does not promote brain lipid peroxidation[J]. *Crit Care Med*, 1995, 23(8): 1398-404.
- [7] Mink RB, Dutka AJ. Hyperbaric oxygen after global cerebral ischemia in rabbits reduces brain vascular

(下转第 695 页 to page 695)

的关键环节可能是在转录后水平进行。Seiki 等^[11]的研究发现 MT1-MMP 前蛋白肽的 C 末端具有一特定的氨基酸序列(RXKR),若该序列被相关蛋白酶切割,则能诱导 MT1-MMP 活化,提示 MT1-MMP 的调控可能是在转录后水平进行。我们的实验结果印证了上述结论。

综上所述,我们认为 MT1-MMP 蛋白表达增强是大肝癌生物学行为较小肝癌更为恶性的重要影响因素。如果在肝癌瘤体直径达到 3 cm 之前,在转录后水平对 MT1-MMP 进行干扰,阻滞肝癌病程的恶性进展,有可能对肝癌患者的治疗起到积极作用。

参考文献:

- [1] Lohi J, Lehti K, Valtanen H, *et al.* Structural analysis and promoter characterization of the human membrane-type matrix metalloproteinase-1 (MT1-MMP) gene[J]. *Gene*, 2000, 242(1-2):75-86.
- [2] Sato H, Okada Y, Seiki M. Membrane-type matrix metalloproteinases (MT-MMPs) in cell invasion [J]. *Thromb Haemost*, 1997, 78(1):497-500.
- [3] Theret N, Musso O, L'Helgoualc'A, *et al.* Differential expression and origin of membrane-type 1 and 2 matrix metalloproteinases (MT-MMPs) in association with MMP2 activation in injured human livers [J]. *Am J Pathol*, 1998, 153(3):945-54.
- [4] Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression [J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(3):161-74.
- [5] Kajita M, Itoh Y, Chiba T, *et al.* Membrane-type 1 matrix metalloproteinase cleaves CD44 and promotes cell migration [J]. *J Cell Biol*, 2001, 153(5): 893-904.
- [6] Sounni NE, Janssen M, Foidart JM, *et al.* Membrane type-1 matrix metalloproteinase and TIMP-2 in tumor angiogenesis [J]. *Matrix Biol*, 2003, 22(1):55-61.
- [7] Deryugina EI, Bourdon MA, Jungwirth K, *et al.* Functional activation of integrin alpha V beta 3 in tumor cells expressing membrane-type 1 matrix metalloproteinase [J]. *Int J Cancer*, 2000, 86(1):15-23.
- [8] Giannelli G, Bergamini C, Fransvea E, *et al.* Human hepatocellular carcinoma (HCC) cells require both [alpha]3 [beta]1 integrin and matrix metalloproteinases activity for migration and invasion [J]. *Lab Invest*, 2001, 81(4):613-27.
- [9] Murakami K, Sakukawa R, Ikeda T, *et al.* Invasiveness of hepatocellular carcinoma cell lines: contribution of membrane-type 1 matrix metalloproteinase [J]. *Neoplasia*, 1999, 1(5):424-30.
- [10] Ozaki I, Mizuta T, Zhao G, *et al.* Induction of multiple matrix metalloproteinase genes in human hepatocellular carcinoma by hepatocyte growth factor via a transcription factor Ets-1 [J]. *Hepatol Res*, 2003, 27(4):289-301.
- [11] Seiki M. Membrane-type 1 matrix metalloproteinase: a key enzyme for tumor invasion [J]. *Cancer Lett*, 2003, 194(1):1-11.

(编辑 黄小延)

(上接第 668 页 from page 668)

permeability and blood flow [J]. *Stroke*, 1995, 26(12): 2307-12.

- [8] Arteni NS, Salgueiro J, Torres I, *et al.* Neonatal cerebral hypoxia-ischemia causes lateralized memory impairments in the adult rat [J]. *Brain Res*, 2003, 973(2): 171-8.

- [9] 宿宝贵, 许鹿希. 用水迷宫检测大鼠空间辨别性学习记忆的探讨 [J]. *解剖学研究*, 1999, 21(1): 30-2.

- [10] Nakajima W, Ishida A, Lange MS, *et al.* Apoptosis has a prolonged role in the neurodegeneration after hypoxic ischemia in the newborn rat [J]. *J Neurosci*, 2000, 20(21): 7994-8004.

(编辑 张恩健)