

• 药理与临床 •

芹菜素对局灶性脑缺血再灌注大鼠脑内 caveolin 1 表达的影响

牛文泽, 李雪梅, 王 果, 汉 旭, 陈 翔*

(温州医学院附属第二医院暨育英儿童医院, 浙江 温州 325027)

摘要:目的 探讨芹菜素对局灶性脑缺血再灌注大鼠脑内 caveolin 1 表达的影响。方法 采用大脑中动脉栓塞法复制脑缺血再灌注模型, 将动物随机分为假手术组、模型组、地塞米松组、芹菜素组, 分别给予不同处理, 在 6 h、1 d、3 d、7 d 不同灌注时间点处死动物, 用 5 分法对大鼠神经行为学进行评定, 脑组织 TTC 染色以及采用免疫组织化学法观察 caveolin 1 的表达。结果 芹菜素能显著减轻神经功能缺损; 神经行为学评分显示, 芹菜素 3 d 组大鼠神经行为学评分明显低于模型组 ($P < 0.05$); TTC 染色示模型组出现白色梗死灶; 正常脑内有一定量的 caveolin 1 表达, 缺血后 caveolin 1 迅速增加, 分别于术后 1 d 或 3 d 达高峰, 芹菜素组显著提高 caveolin 1 的表达, 在各时间点芹菜素组与模型组差异显著 ($P < 0.01$)。结论 芹菜素可调节脑缺血再灌注后 caveolin 1 的表达, 对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤具有保护作用, 是促进其神经功能恢复的可能机制之一。

关键词: 芹菜素; 脑缺血再灌注; caveolin 1

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)10-1658-05

Effects of apigenin on caveolin 1 expression of focal cerebral ischemia reperfusion in rats

NIU Wenze, LI Xuemei, WANG Guo, HAN Xu, CHEN Xiang

(Yuying Children's Hospital and the Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College,

Wenzhou 325027, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of apigenin (APG) on expression of caveolin 1 of focal cerebral ischemia reperfusion in rats. **Methods** Cerebral ischemia was induced by middle cerebral artery occlusion. The rats were randomly divided into four groups including Sham-operated, model, Dexamethasone, and APG groups. All the rats were killed in 6 h and 1, 3 or 7 d after operation. Neurological behavior was assessed by five score methods. Brain slices were observed by TTC staining, and the expression of caveolin 1 was measured by immunohistochemistry. **Results** APG could obviously reduce the deficit of nervous functions; Neurological behavior scores of the rats in 3 d APG group was significantly lower than those in ischemia model group ($P < 0.05$). Typical cortical infarct lesions in model group were found by TTC staining. The expression of caveolin 1 positive cells existed in normal brain, and caveolin 1 was enhanced immediately after ischemia and reached to peak at 1 or 3 d after operation, respectively; APG could increase the expressions of caveolin 1 positive cells at every time point after ischemia and treatment ($P < 0.01$). **Conclusion** APG is capable of regulating the expression of caveolin 1 in ischemic brain and has the effects on prevention of focal cerebral ischemia reperfusion injury in rats which may be one of anti-ischemic mechanisms of APG.

Key words: apigenin (APG); cerebral ischemia reperfusion; caveolin 1

缺血性中风是严重危害人类健康的疾病之一, 对其防治与机制研究一直是当今医学界研究的热点之一^[1]。在缺血性中风情况下, 由缺血缺氧诱导的 caveolin 1 表达开始上调。虽然 caveolin 1 在缺血或其他中枢神经系统的损伤中对神经细胞的具体保护作用与机制还在继续研究, 但从不同的中枢神经

系统损伤的病理模型中发现, caveolin 1 表达的上调是神经细胞在缺血缺氧状态下一种适应性的自我保护机制。芹菜素是天然存在的一种黄酮类化合物, 具有抗炎、降血压、抗动脉粥样硬化和血栓、抗焦虑、抗菌、抗病毒、抗过敏、抗氧化、防护辐射损伤及调节分化等多方面的生物学活性^[2], 且其致畸变毒

①收稿日期: 2009-12-12

基金项目: 温州市科技局国际合作项目 (H20070034)

作者简介: 牛文泽 (1983—), 女, 辽宁省营口市人, 硕士研究生, 主要从事脑缺血损伤发病机制和药物防治的研究。

Tel: 13968864178 E-mail: sdyxynwz@sina.com

* 通讯作者 陈翔 E-mail: chenxiangnj2005@yahoo.com.cn

性与其他黄酮类化合物相比相对较低^[3]。前期实验研究中已证实芹菜素可通过抑制核因子- κ B (NF- κ B) 的活化、减少诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 的产生, 而抑制大鼠脑缺血再灌注继发的炎症反应^[4]; 亦可通过稳定神经细胞、减轻毛细血管通透性, 降低缺血后脑组织含水量和伊文思蓝的量^[5], 从而减轻脑水肿^[6]。在此基础上进一步探讨芹菜素对大鼠局灶性脑缺血再灌注时 caveolir 1 表达的调控作用, 为其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物: 154 只雄性 SPF 级 SD 大鼠, 体质量 230~270 g, 温州医学院实验动物中心提供, 合格证号: SYXK (浙) 2005-0061。

1.2 药物: 地塞米松磷酸钠注射液购自浙江仙琚制药股份有限公司 (批号 090105); 芹菜素购自陕西慧科植物开发有限公司 (批号 HK20081218, 质量分数 $\geq 99\%$), 使用时先用二甲基亚砷配成母液, 再用生理盐水配成浓度 11.6 mmol/L 溶液; 2, 3, 5-氯化三苯基四氮唑 (TTC) 购自国药集团化学试剂有限公司。

1.3 试剂: 兔抗大鼠 caveolir 1 多克隆抗体购自英国 Abcam 生物技术公司; SP、DAB 盒均购自 Zymed 公司 (北京中杉金桥生物技术有限公司代理); 苏木素体细胞快速染色剂购自福州迈新生物技术开发有限公司; 水合氯醛购自国药集团化学试剂有限公司。

1.4 仪器: 德国 LEICA 公司 CM1900 冰冻切片仪; 日本 Olympus 公司 BX41 光学显微镜; 美国 Media Cybernetics 公司 ImagePro Plus 6.0 (IPP 6.0) 彩色医学图像分析系统。

2 方法

2.1 动物分组与给药: 154 只大鼠随机分为假手术组 (10 只)、模型组、地塞米松组、芹菜素组, 造模动物术后分别存活 6 h、1 d、3 d、7 d, 每组每个时间点各 12 只。地塞米松组于造模再灌注同时及其后每隔 24 h ip 地塞米松溶液 5 mg/kg (0.8 mL/100 g), 芹菜素组于造模再灌注同时及其后每隔 24 h ip 芹菜素溶液 25 mg/kg (最佳剂量 11.6 mmol/L, 0.8 mL/100 g)^[7], 其他各组动物均 ip 给予等体积生理盐水。

2.2 动物造模: 参照 Belayev^[8] 报道的线栓法加以改良后建立左侧大脑中动脉栓塞缺血模型。大鼠 10% 水合氯醛 (400 mg/kg) ip 麻醉后, 分离左侧颈部血管, 将栓线插入颈内动脉约 (18 \pm 0.5) mm,

阻断大脑中动脉血流 2 h 再灌注。假手术组仅切开皮肤、分离左侧颈总动脉后即缝合。造模后将动物置于放有清洁垫料的鼠笼内, 自由饮水、进食。动物于麻醉清醒后及其后每 24 h 进行神经行为学评分。参照 Zea Longa^[9] 5 分制评分标准: 0 分为无神经缺损症状, 肢体活动正常; 1 分为不能完全伸展对侧 (右侧) 前肢 (较轻微的局灶性神经缺损症状); 2 分为行走时向偏瘫侧 (右侧) 转圈 (中等程度的局灶性神经缺损症状); 3 分为行走时向偏瘫侧 (右侧) 倾倒 (严重的神经缺损症状); 4 分为不能自发行走, 意识受到抑制; 5 分为死亡。累计 1 分及以上即为模型成功, 分值越高, 说明动物行为障碍越严重。但凡达到 5 分者、解剖发现蛛网膜下腔出血或无神经功能缺损症状体征 (0 分) 均为模型制作失败, 不计在内, 用来自同一批次的大鼠制成模型后补足数目。

2.3 脑组织切片 TTC 染色: 各组随机取 5 只观察至规定时间, 用 10% 水合氯醛麻醉后, 经左心室迅速灌注冰生理盐水 150 mL, 快速断头取脑, 以 2 mm 间距冠状切成 6 片, 浸在 2% TTC 缓冲液中, 置 37 $^{\circ}$ C 水浴箱中染色 30 min, 4% 多聚甲醛中固定过夜, 拍照观察。

2.4 标本处理: 大鼠以 10% 水合氯醛 (400 mg/kg) 麻醉后, 所有大鼠沿胸骨左侧剪开胸腔, 从左心室进针, 插入到主动脉, 固定针头, 剪开右心耳, 快速滴入预冷生理盐水 100 mL, 无血污后改滴入冷 4% 多聚甲醛 150 mL 后断头取脑, 取缺血侧或假手术侧大脑半球中 1/3, 置 4% 多聚甲醛固定 6 h, 再置 25% 蔗糖中 4 $^{\circ}$ C 直至组织沉底, OTC 包埋速冻后移入 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用, 冰冻切片仪冠状连续切片, 8 μ m 厚, 每隔 20 张取 5 张切片。

2.5 免疫组织化学检测: 切片放入 3% 过氧化氢甲醇溶液中浸 10 min 阻断内源性过氧化物酶; 0.01 mol/L PBS 洗 2 min \times 3 次; 切片浸入 0.01 mol/L 柠檬酸缓冲液, 微波加热至沸腾, 断电 7 min, 再次沸腾, 室温冷却 20 min; 0.01 mol/L PBS 洗 2 min \times 3 次; 滴加抗 caveolir 1 大鼠抗体 (1:800), 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜, 0.01 mol/L PBS 洗 2 min \times 3 次; 加入山羊抗兔 IgG 抗体-HRP 多聚体二抗, 室温孵育 30 min, 0.01 mol/L PBS 洗 2 min \times 3 次; 滴加 DAB 显色剂至显微镜下出现着色清晰、境界明确的棕黄色阳性产物, 约 1~2 min, 蒸馏水充分冲洗, 苏木素复染 1 min, 自来水中止反应; 1% HCl 酒精分化 20 s, 自来水洗 1 min; 氨水返蓝 30 s, 自来水洗 1 min; 梯度酒精脱水, 二甲苯透明、中性树脂封片。

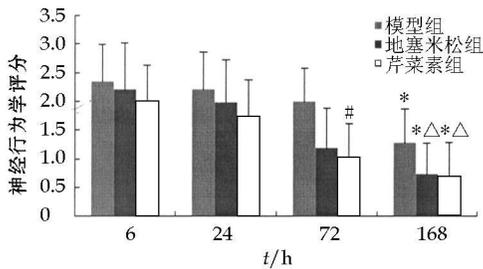
同时用 PBS 代替一抗作空白对照以检查免疫反应的特异性。

2.6 平均吸光度的测量: 每只动物随机取免疫组化切片 5 张, 置于高倍镜下 (× 400), 每张切片随机选取阳性表达区域 5 个非重叠视野, 用美国 IPP6.0 图像处理系统测量平均吸光度, 计算其平均值。

2.7 统计学分析: 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 并进行正态性检验, 应用 SPSS 16.0 统计软件包对数据进行统计分析, 多组间比较用单因素方差 (ANOVA) 分析, 组间比较用 *t* 检验, 两组数据相关性采用 Pearson 线性相关分析。

3 结果

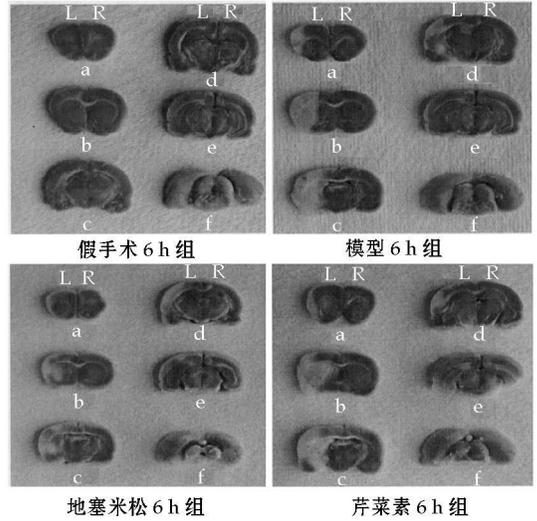
3.1 神经行为学评分: 根据评分标准, 缺血再灌注麻醉清醒后予以评分, 评分在 1~4 分的大鼠为纳入对象。结果表明假手术组大鼠均未出现明显的神经功能缺损症状, 神经行为学评分 0 分。其余各组均出现程度不同的神经功能缺损症状, 模型组在 7 d 神经行为学评分较 6 h 降低 ($P < 0.05$); 芹菜素组在 7 d 神经行为学评分较 6 h、1 d 降低 ($P < 0.05$), 在 3 d 神经行为学评分明显低于模型组 ($P < 0.05$); 地塞米松组在 7 d 神经行为学评分较 6 h、1 d 显著降低 ($P < 0.05$), 见图 1。



与模型组比较: # $P < 0.05$; 同组内与 6 h 组比较: * $P < 0.05$; 同组内与 1 d 组比较: Δ $P < 0.05$
$P < 0.05$ vs model group; * $P < 0.05$ vs 6 h group in same group; Δ $P < 0.05$ vs 1 d group in same group

图 1 芹菜素对局灶性脑缺血再灌注大鼠神经行为学评分的影响 ($\bar{x} \pm s$)
Fig. 1 Effect of apigenin on neurological behavior scores of focal cerebral ischemia reperfusion in rats ($\bar{x} \pm s$)

3.2 脑组织切片 TTC 染色: TTC 染色后, 正常脑组织染成红色; 缺血梗死区域脑组织呈苍白色。结果显示, 假手术组脑片均红染, 未见白色梗死灶形成; 模型 6 h 组可见较大的尾壳核和额颞顶叶皮层白色梗死灶的融合; 地塞米松 6 h 组及芹菜素 6 h 组的梗死灶较相应时间的模型组均有不同程度的减轻, 主要表现在皮层, 见图 2。



L、R 表示左、右侧大脑半球 a~f 表示脑片从额叶到枕叶的顺序
L and R represent left and right side cerebral hemisphere, respectively; a~f represent sequence from frontal to occipital lobe of brain slices

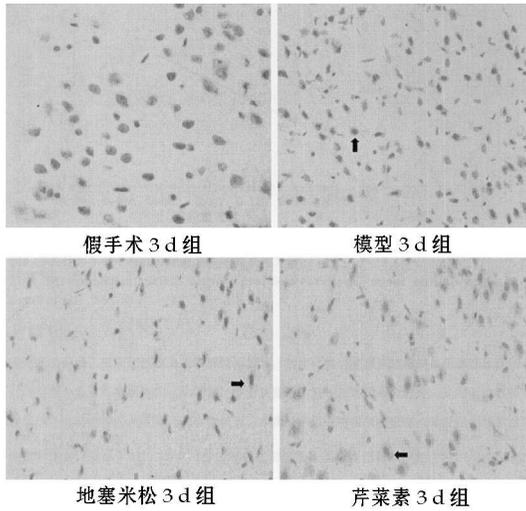
图 2 大鼠脑组织切片 TTC 染色图
Fig. 2 Brain slices of TTC staining

3.3 芹菜素对脑缺血再灌注后 caveolir 1 表达的影响: 在正常脑组织中 caveolir 1 有一定量表达, 阳性细胞见于大脑皮层和室旁区, 以管状、条索状形态为多见。脑缺血再灌注后 caveolir 1 表达迅速增加, 于缺血损伤后 1 d 达高峰, 随后逐渐下降, 阳性细胞主要见于缺血半球大脑皮层和室旁区, 缺血中心区有少量表达。细胞形态除管状、条索状外, 在皮层尚可见神经细胞样。模型组 caveolir 1 在各时间点表达的平均吸光度值均明显增加, 与假手术组比较差异显著 ($P < 0.01$); 芹菜素组 caveolir 1 表达的平均吸光度值, 与模型组有相似表达规律, 但于术后 3 d 达高峰, 且增幅明显提高, 在 1、3、7 d 时间点与假手术组比较差异显著 ($P < 0.01$), 在各时间点与模型组比较差异显著 ($P < 0.01$); 地塞米松组 caveolir 1 表达的平均吸光度值, 与芹菜素组亦有相似的表达规律, 在 1、3、7 d 时间点与假手术组比较差异显著 ($P < 0.01$), 在各时间点与模型组比较差异显著 ($P < 0.05, 0.01$), 但地塞米松组与芹菜素组差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 3, 表 1。

3.4 神经行为学评分与 caveolir 1 表达的关系: 模型组、地塞米松组、芹菜素组各组大鼠神经行为学评分与脑皮层 caveolir 1 表达的平均吸光度值呈显著负相关 ($r = -0.606, P < 0.05$)。见图 4。

4 讨论

本实验以大鼠局灶性脑缺血再灌注为模型, 初



箭头所示为 caveolin 1 阳性表达细胞
arrows represent the positive cells of caveolin 1
图 3 芹菜素对脑缺血再灌注大鼠脑皮层 caveolin 1 表达的影响

Fig. 3 Effect of apigenin on expression of caveolin 1 in cortex of cerebral ischemia reperfusion rats

表 1 脑缺血再灌注后不同时间点 caveolin 1 表达的平均吸光度 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Mean absorbance of caveolin 1 expression in different time points after cerebral ischemia reperfusion ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物/只	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	caveolin 1 表达			
			6 h	24 h	72 h	168 h
假手术	5	-	-	-	-	0.062 ± 0.004 ± 8
模型	7	-	0.086 0 ± 0.008 0 ^{△△}	0.114 9 ± 0.006 7 ^{** △△}	0.103 1 ± 0.002 2 ^{* △△}	0.098 2 ± 0.001 9 ^{* △△}
地塞米松	7	5	0.068 9 ± 0.009 7 [#]	0.090 9 ± 0.006 2 ^{* △△#}	0.134 6 ± 0.018 4 ^{** △△#}	0.107 7 ± 0.003 2 ^{* △△#}
芹菜素	7	25	0.067 5 ± 0.007 1 [#]	0.084 6 ± 0.007 9 ^{* △△#}	0.140 3 ± 0.017 9 ^{** △△#}	0.109 9 ± 0.004 9 ^{* △△#}

与本组前一时间点比较: * P < 0.05 ** P < 0.01; 与假手术组比较: △△ P < 0.01; 与模型组比较: # P < 0.05 ## P < 0.01

* P < 0.05 ** P < 0.01 vs previous time point in same group; △△ P < 0.01 vs Sham group; # P < 0.05 ## P < 0.01 vs model group

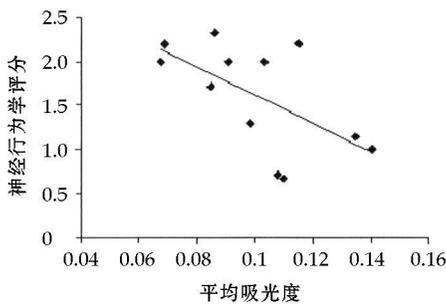


图 4 神经行为学评分与 caveolin 1 表达的相关性分析

Fig. 4 Correlation analysis between neurological behavior scores and expression of caveolin 1 in cortex of rats

察到的脑梗死灶呈苍白色, 与大脑中动脉支配的脑区域一致, 主要位于额顶颞叶皮层、尾壳核区等, 未缺血部分呈红色, 证实模型制作成功。

Caveolin 是小窝 (caveolae) 结构重要组成蛋白。Caveolae 是细胞膜上特定的直径约 50~100 nm 的微区域, 由胆固醇、鞘脂及蛋白质组成。caveolin

步研究了芹菜素抗脑缺血再灌注损伤的机制。其中神经行为学评分是通过观察动物的运动功能, 平衡功能以及意识状态等综合评分, 是判断栓线是否致大脑中动脉栓塞成功及动物神经功能障碍的客观依据。本实验结果表明, 模型组缺血大鼠受损的肢体运动功能也有很大程度的恢复, 缺血 7 d 后, 即有部分大鼠受累前肢的运动功能已基本恢复正常, 与 Napieralski 等^[10] 的报道一致。这一现象表明, 在神经功能恢复的过程中必定存在着其他神经元部分代替缺损丢失的神经元而改善神经功能缺损。本研究结果还显示, 芹菜素组、地塞米松组神经行为学与模型组比较虽各时间点均有下降的趋势, 但统计学分析除芹菜素 3 d 组外, 其余各时间点均无显著差异。

此外, 模型制作的成功还可以根据脑组织切片的 TTC 染色结果进一步明确梗死灶发生的部位和大小。由于 TTC 目前被认为是脑组织缺血性损伤的标记物^[11-12], 具有快速、灵敏、可靠、直观等优点。故本实验采用 TTC 作为梗死区域的检测标记, 观

作为 caveolae 的标记蛋白, 参与胞吞和胞内运输作用、胆固醇运输、信号传导、血管生成等过程^[13]。目前已确定的 caveolin 家族成员有 caveolin 1 (α 和 β 亚型)^[14]、caveolin 2 (α、β、γ 亚型)^[15] 和 caveolin 3^[16]。其中 caveolin 1 与胆固醇具有极强的亲和力, 因此其在维持脂类稳态中发挥重要作用。Caveolin 1 亦可能是血管生成促进剂和抑制剂作用的共同靶点, 有实验表明在缺血再灌注后, caveolin 1 基因剔除小鼠的血管功能不能恢复, 对血管内皮生长因子的刺激无反应; 在这种基因剔除小鼠中导入 caveolin 1, 上述过程可发生逆转。Jasmin 等^[17] 利用了 caveolin 基因敲除小鼠模型来评估 caveolin 在脑缺血损伤中的功能作用。结果显示, caveolin 1 基因敲除小鼠脑梗死容积比野生型和 caveolin 2 基因敲除小鼠明显增加, 从机制上来说, 基因敲除 caveolin 1 的小鼠缺血大脑表现出血管生成受损和凋亡性细胞死亡增加。这些研究都表

明 caveolir 1 在脑缺血的致病机制中发挥着重要的作用,参与了大脑缺血后病理生理机制的调节。

本实验结果显示,模型组、地塞米松组及芹菜素组 caveolir 1 表达的平均吸光度较假手术组均有所提高,模型组在各时间点与假手术组差别均有显著意义 ($P < 0.01$),而地塞米松组和芹菜素组仅在 1、3、7 d 与假手术组差别有显著意义 ($P < 0.01$),提示 caveolir 1 参与了大鼠脑缺血再灌注损伤的病理生理过程。神经细胞膜是富脂膜,当神经细胞损伤修复时,神经细胞膜经历重塑与补偿性出芽需要更多的胆固醇,而 caveolir 1 作为调节细胞内胆固醇转运和合成的主要蛋白,其表达是神经修复的重要因素,如 Gaudreault 等^[18]研究发现,轴突生长和突触形成活跃的海马在内嗅皮质损伤后,caveolin 与突触可塑性相关蛋白突触素和生长相关因子 43 的表达显著增加,提示其在突触重塑和修复中发挥了积极作用。芹菜素和地塞米松干预后,在缺血再灌注后 3、7 d 时间点 caveolir 1 表达的平均吸光度均高于同期模型组 ($P < 0.01, 0.05$)。表明芹菜素和地塞米松在脑缺血再灌注 3 和 7 d 均上调了 caveolir 1 的表达,提示芹菜素和地塞米松可能在一定程度及一定时相上通过促进 caveolir 1 表达上调达到神经损伤保护作用。但在缺血再灌注后的各时间点芹菜素组与地塞米松组的差别无显著意义 ($P > 0.05$)。

此外,神经行为学评分与 caveolir 1 表达的平均吸光度值呈显著负相关,表明了本实验动物神经行为学评分越低,其神经功能缺损症状可能越轻,与此同时相应的 caveolir 1 表达越多。从而进一步证实了 caveolir 1 参与了脑缺血再灌注后的神经损伤修复过程。

综上所述,本研究结果表明脑缺血再灌注后 caveolir 1 表达明显增强,芹菜素能显著增强脑内 caveolir 1 的表达,延长其高表达的时限,提示脑缺血再灌注后 caveolir 1 表达上调是机体对抗损伤的内源性途径,而调节 caveolir 1 是芹菜素抗脑缺血再灌注损伤的作用机制之一。

参考文献:

- [1] Zhu Q W, Kraemer A, Zhu X X. Bioactivities and pharmaceutical effects of β -aminocyclopropanecarboxylic acid [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(2): 81-105
- [2] 王海娣,刘艾林,杜冠华. 芹菜素药理作用的研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2008, 18(17): 1561-1565

- [3] 隋海霞,徐海滨,荫士安. 芹菜素的生物学作用 [J]. 国外医学:卫生学分册, 2008, 2(35): 103-107.
- [4] 涂丰霞,刘婵,陈翔,等. 芹菜素对大鼠脑缺血再灌注 NF- κ B iNOS 动态表达的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 11(26): 8342-8442
- [5] 刘婵,涂丰霞,陈翔. 芹菜素对急性局灶性大鼠脑缺血/再灌注损伤的神经保护作用 [J]. 中药材, 2008, 6(31): 870-873
- [6] 刘婵,涂丰霞,陈翔. 芹菜素对大鼠急性脑损伤的保护作用 [J]. 中草药, 2009, 40(10): 1598-1602
- [7] 王果,韩书珍,陈翔,等. 不同剂量芹菜素对急性局灶性大鼠脑缺血/再灌注损伤神经保护作用的影响 [J]. 实用医学杂志, 2010, 26(13): 2305-2307
- [8] Belayev L, Alonso O F, Busto R, et al. Middle cerebral artery occlusion in the rat by intraluminal suture: Neurological and pathological evaluation of an improved model [J]. *Stroke*, 1996, 27(9): 1616-1623
- [9] Zea Longa E L, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [10] Napieralski J A, Banks R J, Chesselet M F. Motor and somatosensory deficits following uni- and bilateral lesions of the cortex induced by aspiration or thermocoagulation in the adult rat [J]. *Exp Neurol*, 1998, 154(1): 80-88
- [11] Bederson J B, Pitts L H, Germano S M, et al. Evaluation of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a strain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats [J]. *Stroke*, 1986, 17(6): 1304-1308
- [12] Hatfield R H, Mendelow A D, Perry R H, et al. Triphenyltetrazolium chloride (TTC) as a marker for ischemic changes in rat brain following permanent middle cerebral artery occlusion [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 1991, 17: 61-67.
- [13] 江向红,许国强. Caveolin 的生物学功能及其在疾病中的作用 [J]. 国际内科学杂志, 2007, 34(3): 148-151.
- [14] Glenney J R Jr, Soppet D. Sequence and expression of caveolin, a protein component of caveolae plasma membrane domains phosphorylated on tyrosine in Rous sarcoma virus transformed fibroblasts [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 10517-10521.
- [15] Scherer P E. Identification, sequence and expression of caveolir 2 defines a caveolin gene family [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 131-135.
- [16] Tang Z, Scherer P E, Okamoto T, et al. Molecular cloning of caveolir 3, a novel member of the caveolin gene family expressed predominantly in muscle [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271: 2255-2261.
- [17] Jasmin J F, Malhotra S, Dhallu M S, et al. Caveolir 1 deficiency increases cerebral ischemic injury [J]. *Circul Res March*, 2007, 16: 720-729
- [18] Gaudreault S B, Blain J F, Gratton J P, et al. A role for caveolir 1 in post-injury reactive neuronal plasticity [J]. *Neurochem*, 2005, 92: 831-839