

神经疾病发病机制研究

DOI: 10.11699/cyxb20130613

诱发癫痫持续状态后基质金属蛋白酶-2
在小鼠海马与皮层中的表达

程 莉

(重庆医科大学附属儿童医院儿科研究所、儿童发育疾病研究教育部重点实验室、儿科学重庆市重点实验室、
重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地,重庆 400014)

【摘要】目的:观察氯化锂-匹罗卡品所致癫痫持续状态(status epilepticus, SE)小鼠皮层和海马基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinases-2, MMP-2)的表达变化,探讨 MMP-2 在癫痫发病机制中的作用。**方法:**选用成年雄性 C57/BL6 小鼠 48 只,并随机分成实验组和对照组。实验组小鼠腹腔注射氯化锂-匹罗卡品制备 SE 模型,在确定模型成功后 8 h 采取动物标本进行检测。使用 RT-PCR 测定 MMP-2 mRNA 含量变化,Western blot 检测 MMP-2 蛋白表达变化,免疫组化观察 MMP-2 分别在海马与皮层的分布规律与特点。**结果:**(1)海马组织中,对照组与实验组 MMP-2 mRNA 的表达分别为 $0.155\ 5 \pm 0.018\ 1$ 和 $0.743\ 1 \pm 0.014\ 4$,皮层组织中的表达分别为 $0.204\ 9 \pm 0.018\ 5$ 和 $0.871\ 6 \pm 0.037\ 0$,实验组 MMP-2 mRNA 的表达均比对照组高,差异有统计学意义($t=-45.60, P=0.000; t=-71.83, P=0.000$)。(2)MMP-2 蛋白水平的表达,在海马组织中分别为 $0.084\ 5 \pm 0.009\ 6$ 和 $0.728\ 4 \pm 0.245\ 1$,在皮层组织中对对照组与实验组分别为 $0.155\ 6 \pm 0.003\ 9$ 和 $0.912\ 5 \pm 0.027\ 7$,实验组 MMP-2 蛋白的表达均明显高于对照组,差异有统计学意义($t=-76.52, P=0.000; t=-6.99, P=0.000$)。(3)免疫组化结果显示,实验组 MMP-2 在皮层广泛表达,在海马的表达增加主要以 CA1、齿状回、CA3 区为主。**结论:**SE 后小鼠海马及皮层内 MMP-2 在 mRNA 和蛋白水平的表达均明显升高,表达增加的区域以海马 CA1、齿状回及 CA3 区为主,提示 MMP-2 与癫痫的发生、发展可能有着密切的关系。

【关键词】癫痫持续状态;基质金属蛋白酶-2;海马;皮层**【中国图书分类法分类号】**R742.1;R749**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2013-05-02

Expressions of matrix metalloproteinases-2 in the hippocampus and cortex of mouse following status epilepticus

CHENG Li

(Pediatric Research Institute, the Children's Hospital, Chongqing Medical University; Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders; Key Laboratory of Pediatrics in Chongqing; Chongqing International Science and Technology Cooperation Center for Child Development and Disorders)

【Abstract】Objective: To observe the expression of matrix metalloproteinases-2 (MMP-2) in the cortex and hippocampus of LiCl-pilocarpine induced mice status epilepticus (SE) and to explore the role of MMP-2 in the pathogenesis of epilepsy. **Methods:** Totally 48 adult male C57/BL6 mice were randomly divided into experimental group and control group. Intraperitoneal injection of the lithium chloride and pilocarpine was applied in experimental mice of epilepsy to induce seizures and animal specimens were made for testing at 8 h after SE. MMP-2 mRNA contents were determined by RT-PCR, MMP-2 protein expressions were detected by Western blot and distribution and characteristics of MMP-2 in hippocampus and cortex were detected by immunohistochemical method. **Results:** ① mRNA expressions of MMP-2 in control group and experimental group were $0.155\ 5 \pm 0.018\ 1$ and $0.743\ 1 \pm 0.014\ 4$ respectively in hippocampus and were $0.204\ 9 \pm 0.018\ 5$ and $0.871\ 6 \pm 0.037\ 0$ respectively in cortex. mRNA expressions of MMP-2 in the hippocampus and cortex of experimental mice were significantly higher compared with those in control group ($t=-45.60, P=0.000; t=-71.83, P=0.000$). ② Protein expressions of MMP-2 in control group and experimental group were $0.084\ 5 \pm 0.009\ 6$ and $0.728\ 4 \pm 0.245\ 1$ respectively in hippocampus and were $0.155\ 6 \pm 0.003\ 9$ and $0.912\ 5 \pm 0.027\ 7$ respectively in cortex. Protein expressions of MMP-2 in hippocampus and cortex of experimental mice were significantly higher compared with those in control group ($t=-76.52, P=0.000; t=-6.99, P=0.000$). ③ Immunohistochemical results showed that the MMP-2 was widely expressed in cortex in experimental

作者介绍:程 莉, Email: 278900142@qq.com,

研究方向:基础医学、生物化学与分子生物学。

group. MMP-2 expression was increased in hippocampus, mainly in the CA1, dentate gyrus and CA3 region. **Conclusions:** mRNA and protein expressions of MMP-2 in the hippocampus and cortex of mice are significantly increased after SE, mainly in CA1, dentate gyrus and CA3 region, which indicates that MMP-2 has close relationship with occurrence and process of epilepsy.

【Key words】status epilepticus; matrix metalloproteinases-2; hippocampus; cortex

癫痫是一种常见的神经系统疾病,在神经系统疾病中发病率仅次于脑血管病变,我国的发病率也很高^[1]。流行病学数据显示,20%~40%的新诊断癫痫患者将会发展成为抗药性癫痫^[2]。目前关于癫痫的发病机制尚不明确,研究癫痫的发病机制,找寻治疗癫痫的药物靶点,对于预防、诊断和治疗癫痫有着十分重要的意义。近年来多项研究提示细胞外基质(extracellular matrix, ECM)分子中的基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)在癫痫的发生、发展中起着重要的作用^[3]。有研究显示,基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinases-9, MMP-9)可以通过诱导脑源性神经营养因子的成熟来促进癫痫的发生^[4]。在海人酸诱导的癫痫中,基质金属蛋白酶-7(matrix metalloproteinases-7, MMP-7)控制proneurotrophin基因成长因子的分裂,发挥着神经保护的作用^[5]。还有研究表明基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinases-2, MMP-2)可通过降解基底膜,破坏血脑屏障,形成血管源性脑水肿,激活炎性细胞因子,介导炎性反应,引起炎性细胞浸润,直接导致持续性的神经细胞凋亡、损伤,提示与癫痫发病相关^[6]。然而,有关 MMP-2 在癫痫中的研究还很少且其在癫痫发病中的作用机制也不清楚。因此,本研究用氯化锂-匹罗卡品诱发癫痫持续状态(status epilepticus, SE),使用 Western blot、RT-PCR、免疫组化等方法检测 MMP-2 的表达情况,分析 MMP-2 在 SE 小鼠模型中的表达特点和分布规律,探讨 MMP-2 在癫痫发生中的可能作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

氯化锂、匹罗卡品、硫酸阿托品(SIGMA, USA),山羊抗小鼠 MMP-2 抗体(Abcam 公司), β -actin 抗体(Santa, USA)生物素化兔抗山羊二抗(博士德, 武汉),HRP 标记兔抗山羊二抗(中杉),RNA 提取、扩增试剂盒(宝生公司, 大连),蛋白质裂解试剂盒、BCA 蛋白浓度试剂盒、Western blot 试剂盒、ECL 显影试剂盒(碧云天, 江苏),免疫组化试剂盒(博士德,

武汉),Olympus 光学显微镜,荧光采集、图像处理与分析系统(Leicaqwin, 德国),其他试剂均为国产分析纯。

1.2 实验动物

取雄性 8 周龄 C57/BL6 小鼠(相当于人类成年期),购于第三军医大学大坪医院实验动物中心,体质量 22~24 g,置于清洁级动物实验室饲养,每笼 6 只,自由进食、饮水,室内温度 20℃~25℃,相对湿度 40%~70%,在光/暗周期为 12 h/12 h 的条件下饲养。

1.3 动物分组、模型制备

实验小鼠随机分为对照组 24 只和实验组 24 只,实验组小鼠以造模成功后 8 h 为取材标准,每组各取 8 只小鼠分别用于做免疫组化、RT-PCR 和 Western blot 实验。先予实验组小鼠氯化锂腹腔注射(180 mg/kg),20 h 后给予硫酸阿托品 1 mg/kg 腹腔注射,30 min 后再给予 20 mg/kg 匹罗卡品腹腔注射。发作级别按 Racine 分级,癫痫发作达到 IV 级或以上的小鼠视为合格实验模型。当小鼠癫痫发作达 IV 级或以上并持续发作 60 min 后,所有小鼠给予 10 mg/kg 安定腹腔注射终止发作。对照组小鼠注射等量 0.9%氯化钠。

1.4 动物取材

用于做石蜡切片进行免疫组化观察结果的小鼠,于发作后 8 h 给以 4%水合氯醛(4 mg/kg)过量麻醉后打开胸腔,由心尖经二尖瓣至主动脉,0.9%氯化钠 150 ml 快速灌注,然后 4%多聚甲醛 150 ml 先快后慢灌注 20 min,小心取脑,4%多聚甲醛后固定 2 h 后修复位置,然后继续以 4%多聚甲醛后固定 24 h 进行石蜡包埋。另外的实验小鼠则给以 4%水合氯醛(4 mg/kg)过量麻醉后,断头直接取脑组织,并剥离海马和皮层分别保存在液氮罐中,用于后期行 RT-PCR、Western blot 等分析。对照组按相同时间、相同步骤及方法取材。

1.5 RT-PCR 检测 MMP-2 mRNA 的表达

采用 RT-PCR 方法检测 MMP-2 mRNA 的表达。按照说明书 Trizol 法提取总 RNA。采用 TaKaRa(大连宝生)逆转录试剂盒合成 cDNA。取总 RNA 2 μ g,于 PCR 仪 42℃ 30 min (cDNA 合成),99℃ 5 min(逆转录酶失活),5℃ 5 min, -20℃ 保存备用。PCR 扩增引物:由上海生工技术有限公司合成。鼠 MMP-2,上游引物:5'-TTCTTCGACGGAATGAG-3',下游引物:5'-CTTCCAACTTCACGCTCT-3',退火温度为 57℃,扩增片段为 356 bp;鼠 β -actin 退火温度为 56℃,上游引物:5'-GAGGGAAATCGTGCCTGAC-3',下游引物:5'-AGAAG-GAA-GGCTGGAAAA-3',扩增片段为 185 bp。扩增条件为 95℃预变性 2 min;随后 95℃ 15 s,72℃延伸 40 s,共 35 个循环;最后 72℃延伸 6 min。应用 BIO-PROFIF 凝胶图像分

析系统对目的电泳条带进行分析,以相应的内参电泳条带作为参照,结果以两者之积分吸光度的比值表示。

1.6 Western blot 检测 MMP-2 蛋白的表达

取出先期冻存的标本,后在冰上采用玻璃研磨器研磨 (20 mg 加入 200 μ l 蛋白裂解液)。在冰上裂解 30 min 后,进行 4 $^{\circ}$ C 离心 12 000 r/min 15 min。收集上清液后采用蛋白定量试剂盒测量蛋白浓度。浓度测定后加入缓冲液 (1:4) 进行蛋白煮沸 5 min 变性,放入 -20 $^{\circ}$ C 保存待用。将各组裂解后的蛋白样品经过 8% 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 80 min,再以 100 mA 电流半干转膜 40 min,5% 牛血清白蛋白封闭 2 h 后加入 MMP-2 一抗 (Abcom, USA; 1:1 000 稀释),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。过夜后 TBST 缓冲液反复洗膜 6 min $\times$ 3 次,加入二抗 (1:1 000 稀释),37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h,缓冲液反复洗膜 6 min $\times$ 3 次。加入等比例化学发光试剂后,进行显影、采图和分析。

1.7 免疫组织化学染色

将切片脱蜡,0.01 mol/L 枸橼酸盐液微波热修复抗原,3% H_2O_2 封闭内源性过氧化酶 10 min,牛血清白蛋白 37 $^{\circ}$ C 温箱封闭 20 min,滴加 MMP-2 一抗 (Abcom, USA; 1:100 稀释) 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜,滴加二抗 37 $^{\circ}$ C 温箱 1 h, DAB 显色,镜下控制 2 min,脱水,透明,封片,显微镜下观察。用磷酸盐缓冲液代替一抗作为阴性对照。

1.8 数据统计

采用 SPSS 18.0 软件包进行统计分析,各实验组与对照组间所得数据采用独立样本 t 检验方法进行分析,所得结果采用均值 $\pm$ 标准差表示 ($\bar{x} \pm s$),以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物行为学观察

对照组小鼠无抽搐等异常表现。实验组小鼠注射匹罗卡品后 5~10 min 出现眨眼、节律性咀嚼动作,10 min 后出现节律性点头,约 40 min 后出现 IV 级或 IV 级以上发作。

2.2 MMP-2 mRNA 表达变化

RT-PCR 检测对照组与实验组 MMP-2 在 mRNA 水平的表达情况,结果显示:在对照组中,MMP-2 在海马与皮层的表达均较低;而实验组检测结果显示,SE 后 MMP-2 mRNA 在海马与皮层的表达均明显升高,差异具有统计学意义 ($t = -45.60, P = 0.000; t = -71.83, P = 0.000$),见表 1、图 1。

表 1 对照组和实验组 MMP-2 的 mRNA 表达 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Expressions of MMP-2 mRNA in control group and experimental group ($\bar{x} \pm s$)

分组 (n=8)	皮层	海马
对照组	0.204 9 $\pm$ 0.018 5	0.155 5 $\pm$ 0.018 1
实验组	0.871 6 $\pm$ 0.037 0	0.743 1 $\pm$ 0.014 4
t 值	-45.60	-71.83
P 值	0.000	0.000

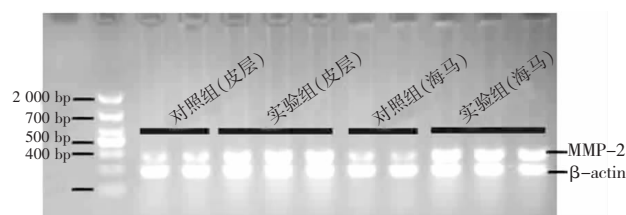


图 1 对照组和实验组 MMP-2 的 mRNA 表达

Fig.1 Expressions of MMP-2 mRNA in control group and experimental group

2.3 MMP-2 蛋白表达变化

Western blot 检测 MMP-2 蛋白水平在皮层与海马的表达情况。结果显示,在对照组中,MMP-2 蛋白在皮层与海马组织中的表达均较低。而实验组所测结果显示,SE 后 MMP-2 蛋白在皮层和海马组织的表达均明显升高,差异具有统计学意义 ($t = -76.52, P = 0.000; t = -6.99, P = 0.000$)。见表 2、图 2。

表 2 对照组和实验组 MMP-2 的蛋白表达 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Expressions of MMP-2 protein in control group and experimental group ($\bar{x} \pm s$)

分组 (n=8)	皮层	海马
对照组	0.155 6 $\pm$ 0.003 9	0.084 5 $\pm$ 0.009 6
实验组	0.912 5 $\pm$ 0.027 7	0.728 4 $\pm$ 0.245 1
t 值	-76.52	-6.99
P 值	0.000	0.000

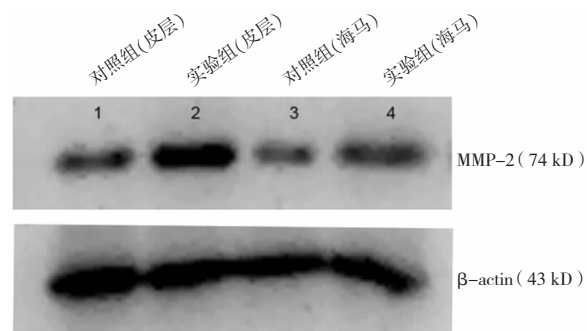


图 2 对照组和实验组 MMP-2 的蛋白表达

Fig.2 Expression of MMP-2 protein in normal control group and experimental group

2.4 MMP-2 在海马和皮层中的表达特点

免疫组织化学方法定位 MMP-2 在皮层与海马的表达特点。结果显示,MMP-2 在对照组小鼠皮层和海马各区的表达不明显。但 SE 后,MMP-2 阳性细胞明显高表达,自胞体向四周发出多个短而粗大的突起,胞浆着色均匀,突起也着色,胞核也呈现强烈着色表现,主要分布于神经元细胞质、轴突及胞核内;皮层各区广泛表达,海马组织各区反应强度不等,以齿状回和 CA1 区最明显,其次为 CA3 区也有少量表达,而门区基本没有阳性细胞表达 (图 3)。

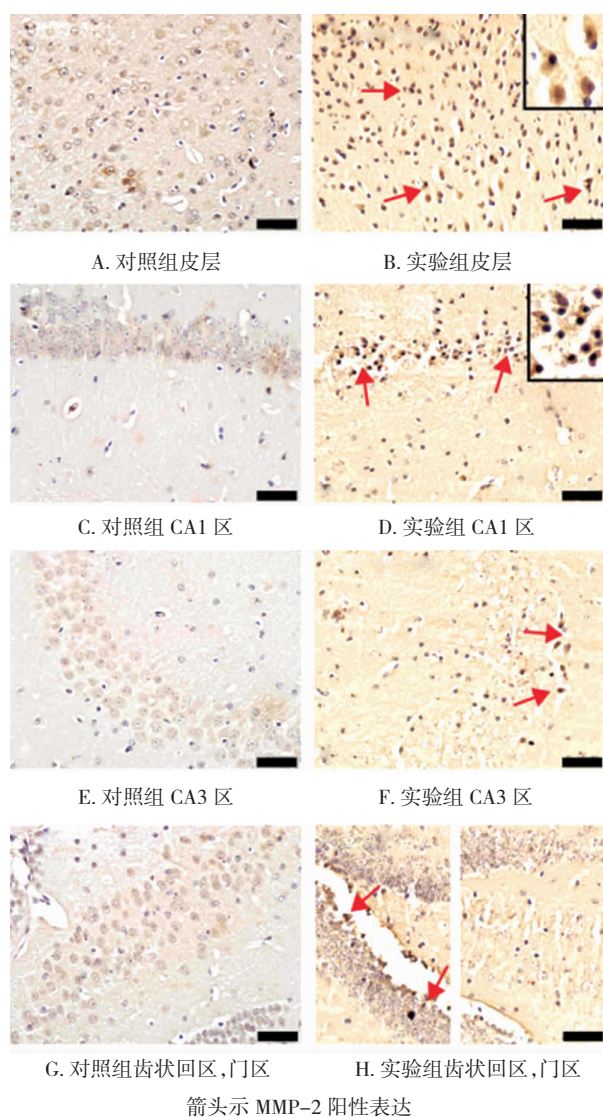


图 3 对照组和实验组 MMP-2 的免疫组织化学染色 (400 ×)

Fig.3 Immunohistochemistry staining of MMP-2 protein in control group and experimental (400 ×)

3 讨 论

大部分癫痫患者能够通过服用抗癫痫药物控制病情和得到恢复,但是有 1/4 以上的癫痫患者在多种药物治疗情况下,癫痫发作症状仍然不能得到有效的控制,发展为难治性癫痫^[7]。尽管有关癫痫的发病机制已有广泛的研究,但引起癫痫发生、发展的病理机制仍然不清楚^[8],目前普遍接受的学说是中枢神经系统兴奋性与抑制性的失衡,神经递质及其受体的异常、神经胶质细胞改变、免疫及内分泌改变等。癫痫的发生、发展过程中常伴随着显著的神经环路重构、突触重塑等病理改变,这些改变跟 ECM 变化密切相关。近年来,国内外的研究发现

ECM 分子在癫痫的发生、发展中起着重要的作用^[9]。

MMPs 是一类结构中含有 Zn 和 Ca 的肽链内切酶基因家族,其主要功能是降解 ECM,在细胞外周环境的重塑中发挥重要功效,在各种病理生理过程中也发挥着重要的作用^[10]。体内绝大多数细胞并不储备 MMPs,当需要 MMPs 的信号传到细胞后才临时合成,但一种激活的 MMPs 可激活另一种 MMPs,形成瀑布效应^[11]。这些 MMPs 分子主要通过降解 ECM 蛋白从而清除 ECM,同时还参与了许多非 ECM 受体和配体中的蛋白酶解过程^[12]。先前较多的研究表明 MMPs 与多种神经系统疾病相关,如脑血管病、脱髓鞘疾病、神经系统肿瘤等疾病都相关,而其与癫痫的关系在早期研究中也已经有较多论述。例如 Backstrom 等^[13]观察到 MMPs 的升高与 Alzheimer 病、肌萎缩性脊髓侧索硬化症和多发性硬化症等显著相关^[13]。郑乃智等^[14]发现,脑内 MMP-9 的表达通过影响免疫反应,引起海马区神经元反应性改变和突触重塑,调节神经细胞兴奋性,参与癫痫免疫学发病机制,与癫痫的发生、发展及预后相关。诸然论述都说明 MMPs 在癫痫发生、发展过程中起着重要的作用,然而其中一些重要的功能仍然不为人们所知。MMP-2 属于明胶酶类,其作用底物主要是 IV 型胶原,由于 IV 型胶原是 ECM 及基膜的主要构成成分,故 MMP-2 是 MMPs 家族的主要代表。研究表明,MMP-2 与多种恶性肿瘤的发展、侵袭、转移密切相关,同时还参与细胞转移、增殖、凋亡、血管生成等生理过程且在组织重塑、炎症反应、伤口愈合等过程中也有重要作用^[15]。但是有关 MMP-2 在癫痫发生中的研究,目前还较少。

本研究采用氯化锂-匹罗卡品制备模型,该模型具有与人类 SE 相似特征的发作期行为和病理生理改变,是最常用的癫痫模型之一^[16]。本研究结果显示,在正常情况下,小鼠海马与皮层 MMP-2 在 mRNA 和蛋白水平的表达都很低,但在 SE 后,小鼠 MMP-2 在海马与皮层的表达,无论是转录水平还是蛋白水平都显著升高且差异具有统计学意义,提示 MMP-2 表达上调可能与癫痫的发生相关。在张春雨和韩红梅^[17]的研究中也发现,癫痫患儿癫痫发作后血清 MMP-2 水平增高,与健康对照组差异显著,提示 MMP-2 可能参与癫痫发病机制,与癫痫的发生、发展和预后有关。

在进一步的形态学分布结果中本研究发现,MMP-2 的表达分布也有一些改变,SE 后除了皮层

表达明显增加之外,其主要分布于海马的 CA1 区和齿状回,CA3 区也有少量表达,门区基本无表达。由于 CA3 神经元与凋亡密切相关,而本研究发现,在 CA3 区并未见 MMP-2 明显增加,因此没有发现 MMP-2 与凋亡之间的相关性。从免疫组化结果进一步看出,MMP-2 主要以神经元强阳性表达为主,相对于胶质细胞形态学表达尚不明显。目前有研究采用活体共聚焦和双光子成像等多种技术,结果发现神经元电活动可以调控静息态小胶质细胞的运动,同时,小胶质细胞对神经元电活动的稳态调节也起着重要作用^[18]。结合本研究结果说明,MMP-2 主要来源于神经元,其可能主要通过神经元以影响到胶质细胞的活动,而胶质细胞再反过来影响到神经元之间的电生理活动,MMP-2 从而影响到癫痫病灶微环境中神经环路的兴奋性调节作用。

总之,本研究结果发现 MMP-2 异常高表达于诱发 SE 的小鼠海马与皮层中,提示 MMP-2 在癫痫的发生、发展过程中有着密切关系。但 MMP-2 的具体作用机制以及其可否成为癫痫的药物治疗靶点,仍有待进一步的研究揭示。

参 考 文 献

- [1] 魏 丽,陈英辉.癫痫发病机制研究进展[J].神经疾病与精神卫生,2012,12(3):313-315.
- [2] Wei L,Chen Y H.Progression of the pathogenesis of epilepsy[J].Journal of Neuroscience and Mental Health,2012,12(3):313-315.
- [3] Beleza P.Refractory epilepsy:a clinically oriented review[J].Eur Neurol,2009,62(2):65-71.
- [4] Yin P,Yang L,Zhou H Y,et al.Matrix metalloproteinase-9 may be a potential therapeutic target in epilepsy[J].Med Hypotheses,2011,76(2):184-186.
- [5] Mizoguchi H,Nakade J,Tachibana M,et al.Matrix metalloproteinase-9 contributes to kindled seizure development in pentylenetetrazole-treated mice by converting pro-BDNF to mature BDNF in the hippocampus[J].J Neurosci,2011,31(36):12963-12971.
- [6] Le A P,Friedman W J.Matrix metalloproteinase-7 regulates cleavage of pro-nerve growth factor and is neuroprotective following kainic acid-induced seizures[J].J Neurosci,2012,32(2):703-712.
- [7] 刘 丹,刘国荣.基质金属蛋白酶-2 与脑梗死[J].医学综述,2009,15(13):1941-1944.
- [8] Liu D,Liu G R.Matrix metalloproteinase-2 and cerebral infarction[J].Medical Recapitulate,2009,15(13):1941-1944.
- [9] Wieloch T,Nikolich K.Mechanisms of neural plasticity following brain injury[J].Curr Opin Neurobiol,2006,16(3):258-264.
- [10] Holtman L,van Vliet E A,Aronica E,et al.Blood plasma inflammation markers during epileptogenesis in post-status epilepticus rat model for temporal lobe epilepsy[J].Epilepsia,2013,54(4):589-595.
- [11] 李 松,余思逊,杨 辉,等.难治性颞叶癫痫患者颞叶皮层金属基质蛋白酶-9 的表达[J].第三军医大学学报,2012,34(6):492-495.
- [12] Li S,Yu S X,Yang H.Expression of matrix metalloproteinase-9 in the epileptic cortex from adult patients with intractable temporal lobe epilepsy[J].Journal of the Third Military Medical University,2012,34(6):492-495.
- [13] Werb Z.ECM and cell surface proteolysis:regulating cellular ecology[J].Cell,1997,91(4):439-442.
- [14] 李 杰,许庆文,陈金元.基质金属蛋白酶-2 与大肠癌关系的研究进展[J].现代肿瘤医学,2008,16(4):671-673.
- [15] Li J,Xu Q W,Chen J Y.Progress in researches on the relationship between matrix metalloproteinase-2 and carcinoma of large intestine[J].Journal of Modern Oncology,2008,16(4):671-673.
- [16] Szklarczyk A,Lapinska J,Rylski M,et al.Matrix metalloproteinase-9 undergoes expression and activation during dendritic remodeling in adult hippocampus[J].J Neurosci,2002,22(3):920-930.
- [17] Backstrom J R,Lim G P,Cullen M J,et al.Matrix metalloproteinase-9(MMP-9) is synthesized in neurons of the human hippocampus and is capable of degrading the amyloid-beta peptide(1-40)[J].J Neurosci,1996,16(24):7910-7919.
- [18] 郑乃智,张慧娟,王 敏.大鼠脑基质金属蛋白酶-9 表达与癫痫发病机制关系的研究[J].医学研究杂志,2008,37(4):70-73.
- [19] Zheng N Z,Zhang H J,Wang M.A Study on the relationship between the expression of metalloproteinase-9 in rat brain and the pathogenesis of epilepsy[J].Journal of Medical Research,2008,37(4):70-73.
- [20] Shirvalkar N,Marquez-Curtis L A,Janowska-Wleczonek A.Hematopoietic stem cell mobilization and homing after transplantation:the role of MMP-2,MMP-9,and MT1-MMP[J].Biochem Res Int,2012,61:1-11.
- [21] Kim G W,Kim H J,Cho K J,et al.The role of MMP-9 in integrin-mediated hippocampal cell death after pilocarpine-induced status epilepticus[J].Neurobiol Dis,2009,36(1):169-180.
- [22] 张春雨,韩红梅.癫痫患儿血清基质金属蛋白酶-2 水平动态变化及意义[J].中国社区医师:医学专业,2010,12(19):173-175.
- [23] Zhang C Y,Han H M.To detect the level of serum matrix metalloproteinase-2(MMP-2) after epilepsy in children[J].Chinese Community Doctors:Medical Specialties,2010,12(19):173-175.
- [24] Li Y,Du X F,Liu C S,et al.Reciprocal regulation between resting microglial dynamics and neuronal activity in vivo[J].Dev Cell,2012,23(6):1189-1202.

(责任编辑:关蕴良)