

基础研究

缺氧诱导因子-1 α 与基质金属蛋白酶-2在慢性压迫性颈脊髓损伤大鼠模型中的表达及意义程 星^{1,2}, 龙厚清^{1,2}, 徐晶辉^{1,2}, 王晓波^{1,2}, 黄阳亮^{1,2}, 李佛保^{1,2}

(1 中山大学附属第一医院脊柱外科 510080 广州市; 2 广东省骨科学重点实验室 510080 广州市)

【摘要】目的:探讨缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)和基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinases-2, MMP-2)在慢性压迫性颈脊髓损伤大鼠模型中的表达及意义。**方法:**将 80 只成年 SD 大鼠随机分为假手术组和慢性压迫性颈脊髓损伤组(脊髓压迫组), 每组 40 只。大鼠麻醉后充分显露 C5 和 C6 椎板, 切除 C5 左侧半椎板, 显露硬脊膜, 脊髓压迫组在 C6 椎板和硬脊膜之间置入吸水后可膨胀聚四氟乙烯薄板(1 $\times$ 3 $\times$ 1mm); 假手术组只显露硬脊膜不置入压迫物。两组分别通过 BBB(Basso Beattie Bresnahan)评分和体感诱发电位(somatosensory evoked potential, SEP)检测评估脊髓功能; 于造模后 7d、28d、42d 和 70d 时处死大鼠取颈脊髓组织进行 HIF-1 α 及 MMP-2 免疫组化染色, 检测其在各时间点的表达量(IOD 值), 采用独立样本 *t* 检验比较两组各时间点的差异, 分析 HIF-1 α 、MMP-2 与脊髓功能变化的相关性。**结果:**造模后 7d 时, 两组 BBB 评分无显著性差异; SEP 潜伏期显著性延长, 波幅显著性降低; HIF-1 α 显著性降低, MMP-2 显著性升高。28d 时脊髓压迫组 BBB 评分显著性低于假手术组, SEP 潜伏期与 7d 比较显著性延长 ($P<0.05$)、波幅显著性降低 ($P<0.05$), HIF-1 α 表达显著性增高 ($P<0.05$), 而 MMP-2 表达显著性降低 ($P<0.05$)。42d 时, 脊髓压迫组 BBB 评分、SEP 潜伏期和波幅与 28d 时比较无显著性差异, HIF-1 α 表达显著性增高 ($P<0.05$), 而 MMP-2 表达显著性降低 ($P<0.05$); 70d 时脊髓压迫组神经功能较 28d 时显著性改善, BBB 评分显著性增高 ($P<0.05$), SEP 潜伏期显著性缩短 ($P<0.05$)、波幅显著性升高 ($P<0.05$); HIF-1 α 表达较前显著性降低, 而 MMP-2 表达升高, 但与假手术组比较仍有显著性差异 ($P<0.05$)。HIF-1 α 表达量与 BBB 评分呈显著性负相关 ($r=-0.458, P<0.05$), MMP-2 表达量与 BBB 评分呈显著性正相关 ($r=0.903, P<0.05$)。**结论:**大鼠慢性压迫性脊髓损伤后具有一定程度的自我修复能力, HIF-1 α 、MMP-2 表达变化与慢性脊髓压迫性损伤后神经功能改善相关。

【关键词】 脊髓损伤; 慢性压迫; 缺氧诱导因子-1 α ; 基质金属蛋白酶-2; 大鼠

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2017.03.11

中图分类号: Q593, R683.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2017)-03-0258-07

The expression and significance of HIF-1 α and MMP-2 in chronic compressive spinal cord in rat models/CHENG Xing, LONG Houqing, XU Jinghui, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2017, 27(3): 258-264

【Abstract】Objectives: To investigate the expression and significance of hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) and matrix metalloproteinases-2(MMP-2) in rats of chronic compressive spinal cord. **Methods:** Eighty adult SD rats were randomly divided into sham surgery group($n=40$) and spinal cord compression group($n=40$). A C5 semi-laminectomy was performed in the sham group only, while a water-absorbable polyurethane polymer was implanted into C6 epidural space in the compression group. The Basso Beattie Bresnahan(BBB) score and somatosensory evoked potentials(SEP) were used to evaluate neurological function. The expressions of HIF-1 α and MMP-2 in the cervical spinal cords of the sham group and the compression group were detected by immunohistochemistry respectively on the 7th, 28th, 42nd and 70th day after chronic spinal cord compressive injury. The variation of the expression of HIF-1 α and MMP-2(IOD value) was analyzed by using the independent samples *t*-test. The correlation between HIF-1 α , MMP-2 and neurological function after spinal cord compression was analyzed by using correlation analysis of paired samples at different time points. **Results:** At

第一作者简介: 男(1991-), 住院医师, 硕士研究生, 研究方向: 脊柱脊髓基础和临床

电话: (020)82379597 E-mail: xingcheng910129@163.com

通讯作者: 龙厚清 E-mail: houqinglong@163.com

the 7th day, there was no difference of BBB score between the two groups($P>0.05$). The latency of SEP was prolonged and the amplitude decreased. Immunohistochemistry showed that HIF-1 α expression significantly decreased and MMP-2 expression was significantly increased($P<0.05$). BBB score in the compression group had a significant reduction at the 28th day. Compared with the 7th day, the significantly extended latency and decreased amplitude were found in SEP at the 28th day ($P<0.05$). However, the expression of HIF-1 α increased significantly and MMP-2 expression decreased at this time point($P<0.05$). At the 42th day, there was no differences in terms of BBB score and SEP between the two groups compared with the 28th day ($P>0.05$). HIF-1 α expression increased and MMP-2 expression decreased($P<0.05$). At the 70th day, neurological function in the compression group was significantly improved compared with that at the 28th day. BBB score increased, the latency of SEP was shorter and the amplitude of SEP increased ($P<0.05$). HIF-1 α expression decreased compared with before. The expression of MMP-2 increased, while there was still significantly difference compared with the sham group ($P<0.05$). The expression of HIF-1 α and neurologic function were negatively correlated($r=-0.458$, $P=0.02$); the expression of MMP-2 and neurologic function were positively correlated ($r=0.903$, $P<0.05$). **Conclusions:** There is a certain degree of self-repair in rat models of chronic compressive spinal cord injury. The expression of HIF-1 α and MMP-2 is correlated with neurological function change after chronic compressive spinal cord injury.

【Key words】 Spinal cord injury; Chronic compression; Hypoxia inducible factor-1 α ; Matrix metalloproteinases-2; Rat

【Author's address】 Department of Spinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University; Guangdong Provincial Key Laboratory of Orthopedics and Traumatology, Guangzhou, 510080, China

颈椎间盘突出、椎管狭窄、后纵韧带骨化等是导致颈脊髓慢性压迫性损伤的常见原因,可引起不同程度的神经功能障碍^[1-3]。慢性压迫性脊髓损伤(SCI)有别于急性 SCI,具有独特的病理生理和分子机制。因其慢性进展性特征可诱导髓内代偿修复和组织重塑,而微血管变化在 SCI 及其修复中的作用和机制成为近期研究的热点^[4-5]。我们之前的研究也发现了脊髓慢性压迫后新生血管化现象^[6,7]。SCI 后的新生血管不仅可有效改善损伤局部的微循环,还能通过增加营养运输、促进轴突再生,进而有助于神经功能恢复^[9]。缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)甲基化后能够改变视网膜及肿瘤的血管新生化,而基质金属蛋白酶-2(MMP-2)可通过磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/AKT)信号通路调控血管内皮细胞生长因子(VEGF)表达,从而影响肺肿瘤的新生血管化^[8,9]。表明 HIF-1 α 和 MMP-2 是与血管损伤、修复相关的因子。既往研究发现,脊髓慢性压迫后 HIF-1 α 和 MMP-2 的表达有变化^[10,11],但是这些研究没有观察压迫后不同脊髓功能时间窗表达变化的规律及二者的相关性。本研究应用慢性压迫性 SCI 大鼠模型^[12],检测脊髓慢性压迫后不同时间段 HIF-1 α 和 MMP-2 表达的变化,并比较造模后不同时间点 HIF-1 α 和 MMP-2 表达与神经功能变化的相关性。

1 材料与方法

1.1 动物及分组

选择体重 280~300g 的健康 Sprague-Dawley (SD)大鼠 80 只,雌雄不限,均由中山大学动物实验中心提供。随机分为假手术组(对照组)和脊髓压迫组(实验组),每组各 40 只。

1.2 动物模型制备

实验组采用本课题组建立的慢性颈脊髓压迫损伤大鼠模型^[12]:采用体积分数为 10%的水合氯醛腹腔注射麻醉(1ml/kg)后,充分暴露 C5 和 C6 椎板,切除 C5 左侧半椎板,仔细分离硬脊膜,避免造成脊髓损伤、脑脊液渗漏。在手术显微镜下将一块吸水后可膨胀聚氨酯薄板(1 $\times$ 3 $\times$ 1mm)置入 C6 椎板和硬脊膜之间。伤口逐层缝合、关闭切口。术后在加热床上恢复后分笼饲养,可自由活动、获取食物和水。对照组按照相同手术方式,仅切除椎板、显露硬脊膜,不置入聚氨酯薄板,术后生存环境条件一致。

1.3 大鼠脊髓功能评价

由两位研究人员通过双盲法,利用 Basso Beattie Bresnahan (BBB)评分和体感诱发电位(somatosensory evoked potential,SEP)评估造模后直至 70d 时大鼠脊髓神经功能。SEP 检查方法采用本实验室使用的方法^[13]。取造模后 7d、28d、42d

和 70d 的 BBB 评分及 SEP 检测结果并进行比较。

1.4 标本取材

两组分别于造模后 7d、28d、42d 和 70d 四个时间点分批取材,每组每个时间点 10 只。采用戊巴比妥钠(40mg/kg)过度麻醉处死,通过升主动脉灌注 50ml 肝素钠生理盐水(2ml:500ml),之后用 300ml 甲醛苦味酸溶液(4%甲醛,0.4%苦味酸于 0.16mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 值为 7.4)灌注。完整取出颈椎,将包容有脊髓的颈椎浸泡在 4%磷酸盐缓冲液甲醛溶液中。浸泡 72h 后,在手术显微镜下将脊髓从椎管中分离,保存在 4%磷酸盐缓冲液甲醛溶液中。常规制备石蜡包块。

1.5 免疫组化

取福尔马林固定石蜡包埋的组织,切片厚 3~4 μ m。使用 HIF-1 α 及 MMP-2 羊抗鼠单克隆抗体即用型(均为 Abcam)及 SP 免疫组化试剂盒(上海基因生物技术公司),严格按试剂盒说明方法操作,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。采用 SP 法半定量检测 HIF-1 α 及 MMP-2 表达量,由两位病理科医生在不知分组资料的情况下,独立完成阅片。利用 MIAS 医学图像分析管理系统对免疫组织化学染色结果进行定量分析,每只选取 3 张切片,每张切片在脊髓受压区域随机选取 3 个不同视野($\times 4$, $\times 20$, $\times 200$),阳性表达水平用积分光密度(integral optical density, IOD)值表示。

1.6 统计学分析

应用 SPSS 20.0 软件(SPSS 公司,美国)进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组相同时间点 BBB 评分、SEP 潜伏期和波幅、HIF-1 α 及 MMP-2 免疫组化半定量比较采用独立样本 t 检验,同一组不同时间点比较采用重复测量数据的方差分析,有差异时采用 LSD- t 检验进一步行两两比较。实验组 HIF-1 α 及 MMP-2 表达与 BBB 评分进行线性相关性分析。检验水准 α 值取双侧 0.05。

2 结果

2.1 动物行为学评价

对照组各时间点间 BBB 评分无显著性差异($P>0.05$);实验组造模后 7d 时大鼠 BBB 评分下降,28d 时 BBB 评分降至最低($P<0.05$),42d 时 BBB 评分改善,但较正常组仍明显降低($P<0.05$),70d 时大鼠 BBB 评分较 28d 时显著改善($P<$

0.05),仍未达到正常水平(图 1、表 1)。

2.2 电生理检查结果

两组造模前及造模后 7d、28d、42d 和 70d 均行 SEP 检查,结果见表 2,造模后 7d、28d 时实验组 SEP 的 P 和 N 峰潜伏期较对照组潜伏期显著性延长($P<0.05$);P-N 波幅较对照显著性降低($P<0.05$)。造模后 70d 时,实验组潜伏期及波幅较 28d 时有显著性改善($P<0.05$)。

2.3 HIF-1 α 及 MMP-2 免疫组化

HIF-1 α 及 MMP-2 免疫组化染色阳性表达呈淡黄色、棕黄色或棕褐色,对照组及其各时间点脊髓内 HIF-1 α 均仅有微弱表达,MMP-2 均为强表达,各时间点无显著性差异。实验组造模后 7d 时 HIF-1 α 呈弱表达,MMP-2 呈强表达;28d 时 HIF-1 α 在细胞胞质中及细胞外基质中均有强表达,相反,MMP-2 表达显著降低,与对照组比较有显著性差异;造模后 42d 时,HIF-1 α 在胞质及细

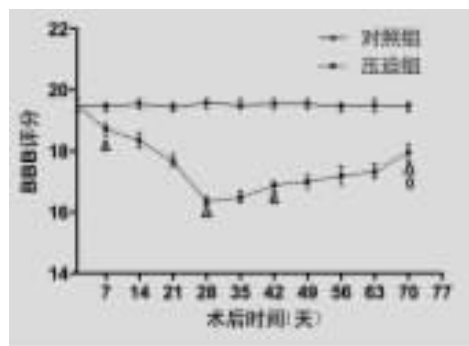


图 1 造模后至第 70 天两组大鼠 BBB 评分变化

Table 1 The changes of BBB scores in the rats of two groups until 70 days

表 1 对照组与实验组造模后各时间点 BBB 评分

($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Figure 1 BBB score of sham group and experimental group at each time point

时间点 Time point	对照组 Sham group	实验组 Experimental group
造模后 7d 7d after sugery	19.56±0.39	18.54±0.35 ^①
造模后 28d 28d after sugery	19.61±0.38	16.30±0.21 ^①
造模后 42d 42d after sugery	19.59±0.73	16.76±0.46 ^①
造模后 70d 70d after sugery	19.51±0.57	17.99±0.35 ^{①②}

注:①与对照组比较 $P<0.05$;②与同组 28d 时比较, $P<0.05$

Note: ①Compared with sham group, $P<0.05$; ②compared with the 28th day of the same group, $P<0.05$

胞外基质仍有较强表达,分布均匀,而 MMP-2 表达较前稍有增加;70d 时,HIF-1 α 表达较 28d 时显著减少,但仍较对照组大鼠 HIF-1 α 表达稍有增高,MMP-2 表达与对照组相比无统计学差异(表 3、图 2)。

2.4 HIF-1 α 及 MMP-2 表达与 BBB 评分相关性分析

实验组 HIF-1 α 及 MMP-2 表达与 BBB 评分呈显著相关性,HIF-1 α 表达与 BBB 评分呈显著性负相关($r=-0.458, P=0.02$);MMP-2 表达与 BBB 评分呈显著性正相关($r=0.903, P<0.05$)(图 3)。

表 2 两组大鼠不同时间点电生理 SEP 检测结果
($\bar{x}\pm s, n=10$)

Figure 2 The results of SEP at different time points

时间点 Time point	对照组 Sham group		实验组 Experimental group	
	潜伏期(ms) Latency	波幅(μV) Amplitude	潜伏期(ms) Latency	波幅(μV) Amplitude
造模前 Before surgery	4.25 $\pm$ 0.29	7.26 $\pm$ 0.12	4.25 $\pm$ 0.25	7.16 $\pm$ 0.12
造模后 7d 7d after surgery	4.25 $\pm$ 0.21	7.15 $\pm$ 0.12	5.12 $\pm$ 0.11 ^①	4.23 $\pm$ 0.10 ^①
造模后 28d 28d after surgery	4.24 $\pm$ 0.20	7.15 $\pm$ 0.14	8.51 $\pm$ 0.22 ^①	3.19 $\pm$ 0.17 ^①
造模后 42d 42d after surgery	4.25 $\pm$ 0.24	7.16 $\pm$ 0.12	8.24 $\pm$ 0.24 ^①	3.68 $\pm$ 0.13 ^①
造模后 70d 70d after surgery	4.23 $\pm$ 0.27	7.15 $\pm$ 0.14	6.86 $\pm$ 0.23 ^{①②}	5.33 $\pm$ 0.12 ^{①②}

注:①与对照组同时时间点比较 $P<0.05$;②与同组 28d 时比较 $P<0.05$

Note: ①Compared with sham group at the same time, $P<0.05$;
②compared with the 28th day of the same group, $P<0.05$

表 3 不同时间点 HIF-1 α 及 MMP-2 的 IOD 值

Figure 3 The IOD values of HIF-1 α and MMP-2 at different time point

	HIF-1 α	MMP-2
对照组 Sham group	2954.5 $\pm$ 155.53	2309.2 $\pm$ 161.22
实验组 Experimental group		
造模后 7d 7d after surgery	5354.6 $\pm$ 174.40 ^①	1750.7 $\pm$ 87.90 ^①
造模后 28d 28d after surgery	6539.2 $\pm$ 374.16 ^①	829.1 $\pm$ 76.11 ^①
造模后 42d 42d after surgery	3604.8 $\pm$ 198.49 ^①	972.5 $\pm$ 48.73 ^①
造模后 70d 70d after surgery	3350.0 $\pm$ 150.06 ^①	2200.2 $\pm$ 102.80

注:①与对照组比较 $P<0.05$

Note: ①Compared with sham group, $P<0.05$

3 讨论

HIF-1 α 的生物学效应包括血管生成、细胞凋亡、肿瘤转移、能量代谢等是通过激活其下游靶基因实现的。研究发现 MMP-2 可能是 HIF-1 α 下游靶基因的产物,并在肿瘤血管再生中起重要的调节作用^[14]。Rosenberg 等^[15]向大鼠脑内注射 MMP-2,发现其可降解细胞外基质,从而促使血脑屏障开放,参与缺血脑组织血脑屏障的破坏。Trivedi 等^[16]通过敲除 MMP-2 基因观察小鼠 SCI 后血管变化,发现 MMP-2 缺失小鼠中血管结构不稳定,不利于 SCI 后的血管再生和修复。这些研究提示 HIF-1 α 和 MMP-2 是中枢神经系统血管再生的重要调控因子,而在慢性压迫性致病条件下,脊髓缺血缺氧后 HIF-1 α 和 MMP-2 的表达规律及其作用尚不清楚。

本研究结果显示,脊髓慢性压迫性损伤后 28d 时 HIF-1 α 表达最为显著。Zhou 等^[17]通过研究高压氧对 SCI 后 HIF-1 α 的调控,也发现 SCI 后 HIF-1 α 表达增高,其表达在 SCI 后 2 周达到高峰。与本研究结果的差异可能与实验模型不同有关,Zhou 等通过 Allen 打击法制造急性 SCI 模型,本研究通过置入聚合物薄板吸水后慢慢膨胀,形成对脊髓慢性、渐进性、持续性压迫,较客观反映了慢性压迫性 SCI 后 HIF-1 α 的表达规律。急性与慢性 SCI 后 HIF-1 α 均呈高表达,这也说明 HIF-1 α 参与了 SCI 病理生理过程的多个环节。我们通过造模后长时间段观察发现,压迫 42d 时,HIF-1 α 表达逐渐减少,直至 70d 时 HIF-1 α 表达显著性降低,但仍较正常大鼠显著性增高。与 HIF-1 α 表达规律不同,MMP-2 在大鼠脊髓慢性受压 28d 时表达显著性降低,BBB 评分及 SEP 检测显示大鼠脊髓慢性压迫后 28d 时神经功能降至最低,潜伏期显著性延长、波幅显著性降低,结果与 Zuo 等^[18]和 Ogier 等^[19]的研究结论相似。Zuo 等通过体外实验证实 MMP-2 可以通过降解硫酸软骨素蛋白多糖、促进神经生长;而 Ogier 等在 SCI 小鼠模型中发现,敲除 MMP-2 基因可促进胶质瘢痕形成,不利于小鼠运动功能恢复。Hsu 等^[20]也报道 MMP-2 敲除的小鼠 SCI 后运动功能恢复明显慢于脊髓挫裂伤的野生型小鼠,进一步证实 MMP-2 可能对大鼠脊髓神经功能恢复有一定作用。另外,国内也有学者通过建立兔脊髓慢性渐进性损伤模型,发现随着脊髓压迫程度加重,MMP-

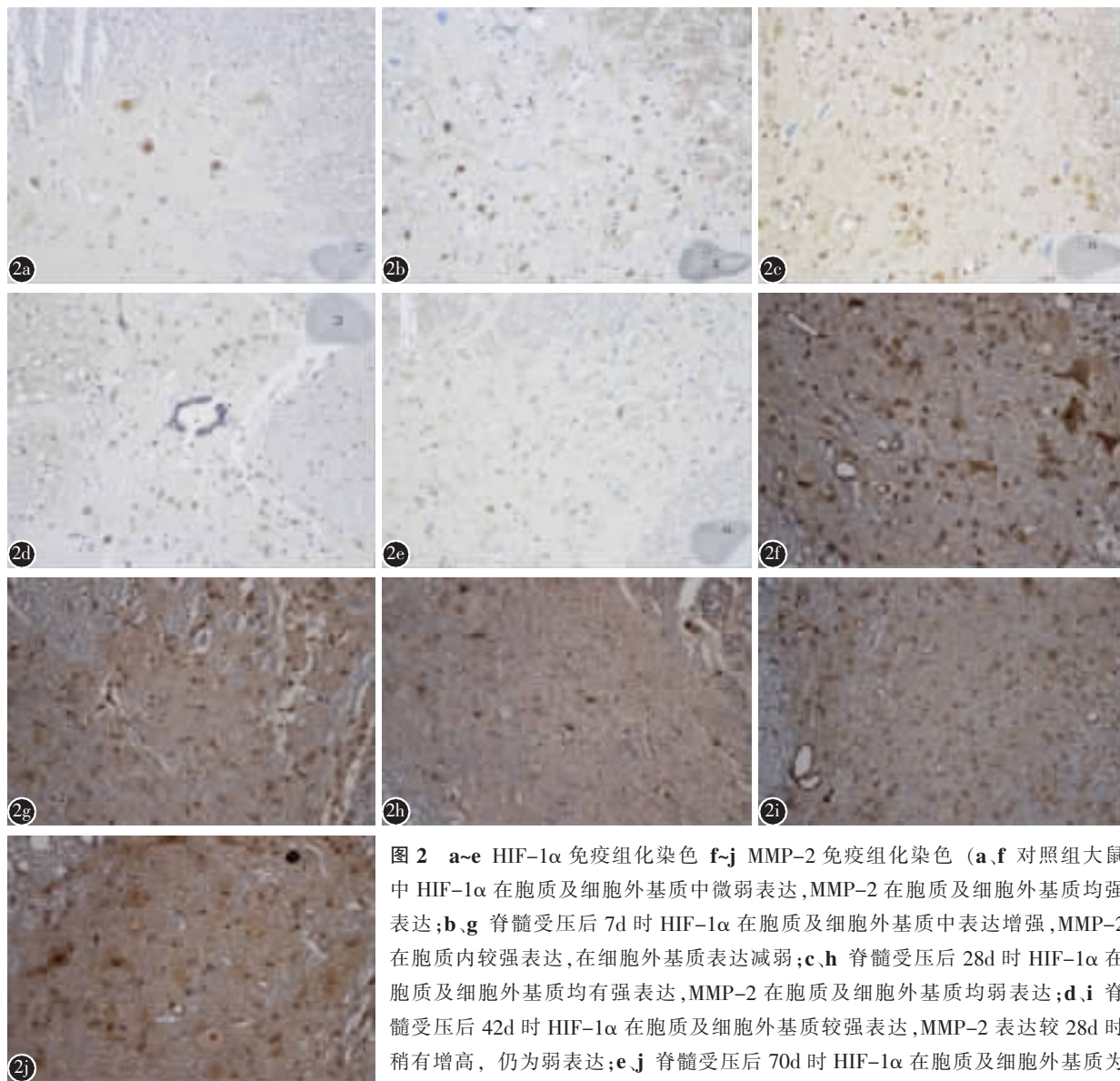


图 2 a~e HIF-1 α 免疫组化染色 f~j MMP-2 免疫组化染色 (a, f 对照组大鼠中 HIF-1 α 在胞质及细胞外基质中微弱表达, MMP-2 在胞质及细胞外基质均强表达; b, g 脊髓受压后 7d 时 HIF-1 α 在胞质及细胞外基质中表达增强, MMP-2 在胞质内较强表达, 在细胞外基质表达减弱; c, h 脊髓受压后 28d 时 HIF-1 α 在胞质及细胞外基质均有强表达, MMP-2 在胞质及细胞外基质均弱表达; d, i 脊髓受压后 42d 时 HIF-1 α 在胞质及细胞外基质较强表达, MMP-2 表达较 28d 时稍有增高, 仍为弱表达; e, j 脊髓受压后 70d 时 HIF-1 α 在胞质及细胞外基质为较强表达, MMP-2 强表达)($\times 200$)

Figure 2 a~e HIF-1 α immunohistochemical staining f~j MMP-2 immunohistochemical staining (a, f In control rats, HIF-1 α was weakly expressed in the cytoplasm and extracellular matrix, and MMP-2 was strongly expressed in cytoplasm and extracellular matrix; b, g The expression of HIF-1 α was increased both in the cytoplasm and extracellular matrix, and the expression of MMP-2 was stronger in the cytoplasm, while decreased in the extracellular matrix at the 7th day after spinal cord compression; c, h At the 28th day, HIF-1 α was strongly expressed in cytoplasm and extracellular matrix, but MMP-2 was weakly expressed in the cytoplasm and extracellular matrix; d, i At the 42nd day, the expression of HIF-1 α was stronger both in the cytoplasm and the extracellular matrix, the expression of MMP-2 was slightly higher than that of the 28th day; e, j The expression of HIF-1 α in cytoplasm and extracellular matrix was stronger at 70th day after spinal cord compression, MMP-2 was high expression)($\times 200$)

2表达也相应增高^[21],这可能与实验方法有关,由于螺钉拧入法在脊髓压迫的早期和晚期螺钉拧入的速度不一致。本研究免疫组化检测发现,造模后 70d 时实验组 MMP-2 表达与对照组已无统计学差异, BBB 评分及 SEP 检查却表明神经功能恢复

至平台期(但仍存在一定程度的脊髓功能障碍),这可能与 HIF-1 α 表达的时序性相关。既往文献也报道 HIF-1 α 表达升高是组织细胞对缺血、缺氧损害的一种适应性调节^[22]。压迫 28d 时脊髓可能因机械压迫导致缺血缺氧,使 HIF-1 α 高表达,

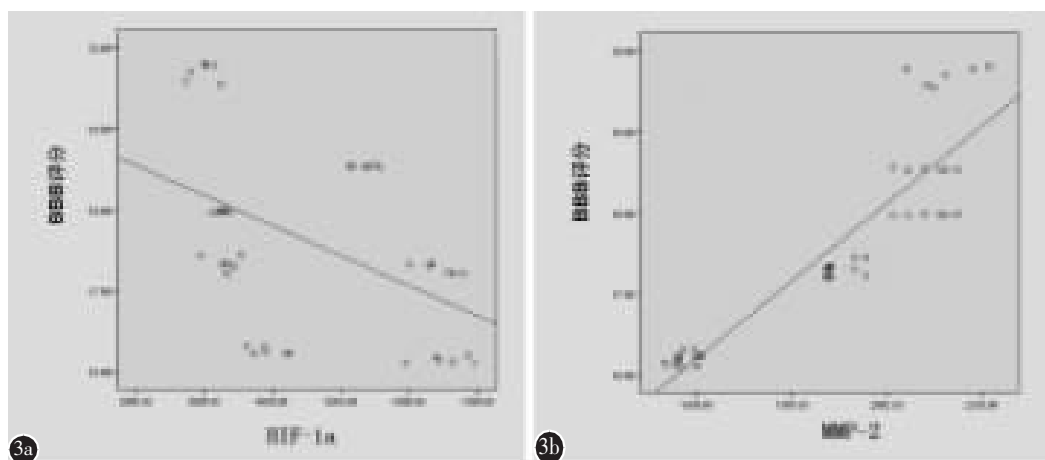


图3 HIF-1 α 及MMP-2表达与BBB评分相关性分析 a HIF-1 α 表达与BBB评分呈负相关(R^2 线性=0.210; Pearson 相关系数=-0.458, $P=0.02$) b MMP-2表达与BBB评分呈正相关(R^2 线性=0.815, Pearson 相关系数=0.903, $P<0.05$)

Figure 3 The correlation analysis of HIF-1 α and MMP-2 expression with BBB score **a** The expression of HIF-1 α and BBB scores was negatively correlated ($R^2=0.210$; $r=-0.458$, $P=0.02$) **b** The expression of MMP-2 and BBB scores was positively correlated ($R^2=0.815$; $r=0.903$, $P<0.05$)

此时通过 BBB 评分及 SEP 检查显示神经功能亦显著性降低;然而,大鼠脊髓受压后期 HIF-1 α 表达虽然有所降低,但与对照组大鼠比较表达仍明显升高,这说明缺血缺氧仍然存在,故脊髓功能无法完全改善至正常水平。薛文等^[23]采用平头塑料螺钉经后路压迫建立大鼠持续性脊髓压迫损伤的动物模型也发现 HIF-1 α 参与了持续性脊髓压迫损伤的发生与发展,与本实验结果一致。国外也有研究证实通过增加脊髓损伤区域血管再生,减轻脊髓缺血缺氧,可有效改善脊髓神经功能^[24]。

为了证实 HIF-1 α 及 MMP-2 表达与大鼠慢性压迫性脊髓损伤后神经功能变化的相关性,我们进一步对 HIF-1 α 及 MMP-2 表达情况和 BBB 评分进行了统计学相关性分析,发现 HIF-1 α 表达与 BBB 评分呈显著性负相关,而 MMP-2 表达与 BBB 评分呈显著性正相关,这也表明 HIF-1 α 及 MMP-2 可能影响慢性压迫性脊髓损伤后神经功能的变化。但是本研究未使用基因敲除大鼠和 HIF-1 α 及 MMP-2 激活剂与抑制剂等进行内、外源性干预性研究;对 HIF-1 α 及 MMP-2 表达之间的相互关系未进一步探讨。

4 参考文献

1. Fehlings MG, Jha NK, Hewson SM, et al. Is surgery for cervical spondylotic myelopathy cost-effective? a cost-utility analysis based on data from the AO Spine North America prospective CSM study [J]. J Neurosurg Spine, 2012, 17(1

Suppl): 89-93.

2. Toledano M, Bartleson JD. Cervical spondylotic myelopathy[J]. Neurol Clin, 2013 31(1): 287-305.
3. Karadimas SK, Gatzounis G, Fehlings MG. Pathobiology of cervical spondylotic myelopathy [J]. Eur Spine J, 2015, 24 (Suppl 2): 132-138.
4. Liu D, Huang Y, Jia C, et al. Administration of antagomir-223 inhibits apoptosis, promotes angiogenesis and functional recovery in rats with spinal cord injury[J]. Cell Mol Neurobiol, 2015, 35(4): 483-491.
5. Hu J, Ni S, Cao Y, et al. The angiogenic effect of microRNA-21 targeting TIMP3 through the regulation of MMP2 and MMP9[J]. PLoS One, 2016, 11(2): e0149537.
6. Cheng X, Long H, Chen W, et al. Three-dimensional alteration of cervical anterior spinal artery and anterior radicular artery in rat model of chronic spinal cord compression [J]. Neurosci Lett, 2015, 606: 106-112.
7. Long H, Xie WH, Chen WL, et al. Value of micro-CT for monitoring spinal microvascular changes after chronic spinal cord compression[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15 (7): 12061-12073.
8. Chetty C, Lakka SS, Bhoopathi P, et al. MMP-2 alters VEGF expression via α V β 3 integrin-mediated PI3K/AKT signaling in A549 lung cancer cells[J]. Int J Cancer, 2010, 127 (5): 1081-1095.
9. Kim Y, Nam HJ, Lee J, et al. Methylation-dependent regulation of HIF-1 α stability restricts retinal and tumour angiogenesis[J]. Nat Commun, 2016, 7: 10347.
10. 鞠延, 贺民, 毛伯镛, 等. 低氧诱导因子 HIF-1 α 在脊髓损伤后的时序性表达及其意义[J]. 华西医科大学报, 2002, 33(1): 43-45.

11. 程华, 刘曾旭. 基质金属蛋白酶-2、9 对脊髓损伤及修复作用的研究进展[J]. 南昌大学学报(医学版), 2012, 52(10): 90-92.
12. Long HQ, Li GS, Lin EJ, et al. Is the speed of chronic compression an important factor for chronic spinal cord injury rat model[J]. *Neurosci Lett*, 2013, 545: 75-80.
13. Long HQ, Xie WH, Chen WL, et al. Value of micro-CT for monitoring spinal microvascular changes after chronic spinal cord compression[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(7): 12061-12073.
14. Zheng HL, Yang J, Hou Y, et al. Oligomer procyanidins (F2) isolated from grape seeds inhibits tumor angiogenesis and cell invasion by targeting HIF-1 α in vitro[J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(2): 708-720.
15. Rosenberg GA, Dencoff JE, Correa N Jr, et al. Effect of steroids on CSF matrix metalloproteinases in multiple sclerosis: relation to blood-brain barrier injury[J]. *Neurology*, 1996, 46(6): 1626-1632.
16. Trivedi A, Zhang H, Ekeledo A, et al. Deficiency in matrix metalloproteinase-2 results in long-term vascular instability and regression in the injured mouse spinal cord [J]. *Exp Neurol*, 2016 284(Pt A): 50-62.
17. Zhou Y, Liu XH, Qu SD, et al. Hyperbaric oxygen intervention on expression of hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor in spinal cord injury models in rats[J]. *Chin Med J(Engl)*, 2013, 126(20): 3897-3903.
18. Zuo J, Ferguson TA, Hernandez YJ, et al. Neuronal matrix metalloproteinase-2 degrades and inactivates a neurite-inhibiting chondroitin sulfate proteoglycan[J]. *J Neurosci*, 1998, 18(14): 5203-5211.
19. Ogier C, Bernard A, Chollet AM, et al. Matrix metalloproteinase-2(MMP-2) regulates astrocyte motility in connection with the actin cytoskeleton and integrins[J]. *Glia*, 2006, 54(4): 272-284.
20. Hsu JY, McKeon R, Goussev S, et al. Matrix metalloproteinase-2 facilitates wound healing events that promote functional recovery after spinal cord injury[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(39): 9841-9850.
21. 王想福, 王兴盛, 赵道洲, 等. 红花注射液对兔脊髓慢性渐进性压迫后的治疗作用及其量效关系研究[J]. *中国骨与关节损伤杂志*, 2016, 31(5): 499-502.
22. Harten SK, Ashcroft M, Maxwell PH. Prolyl hydroxylase domain inhibitors: a route to HIF activation and neuroprotection[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2010, 12(4): 459-480.
23. 薛文, 孙正义, 王栓科, 等. 持续性脊髓压迫损伤中低氧诱导因子-1 α 表达的实验研究[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2004, 14(10): 613-616.
24. Yahata K, Kanno H, Ozawa H, et al. Low-energy extracorporeal shock wave therapy for promotion of vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis and improvement of locomotor and sensory functions after spinal cord injury[J]. *J Neurosurg Spine*, 2016, 25(6): 745-755.

(收稿日期:2016-12-09 末次修回日期:2017-01-18)

(英文编审 唐翔宇/贾丹彤)

(本文编辑 卢庆霞)