文章编号:1000-5404(2014)02-0135-05

论著

# COX-2在全脑缺血再灌注大鼠皮层时程表达变化

杨 彬,余丽娟,王 佳,赵 磊,胡馨月,纪超男,魏玉玲,阳群芳,蒋青松,杨俊卿 (400016 重庆,重庆医科大学药理学教研室,重庆市生物化学与分子药理学重点实验室)

[摘要] **目的** 观察COX-2 mRNA与蛋白在全脑缺血再灌注大鼠皮层的时程表达变化特征。**方法** 采用夹闭双侧颈总动脉合并低血压的方法建立大鼠全脑缺血再灌注脑损伤模型;水迷宫检测大鼠空间学习记忆能力;HE染色观察大鼠皮层神经元形态结构改变;黄嘌呤氧化酶法、TBA法分别测定大鼠皮层中SOD活性和MDA含量变化;RT-PCR及Western blot分别检测大鼠皮层COX-2 mRNA与蛋白表达情况。**结果** 与假手术组比较,缺血再灌注组大鼠寻台潜伏期显著增加,寻台次数显著减少($P<0.05$),通过目标象限百分比明显减少($P<0.01$);皮层神经元出现严重核固缩,细胞层次紊乱;SOD活性随再灌注时间延长而降低,在7 d时达最低($P<0.01$),MDA含量随再灌注时间延长而增加,在7 d时达峰值($P<0.01$);COX-2 mRNA及蛋白表达明显增加,mRNA再灌注后48 h达峰值($P<0.05$),蛋白再灌注后7 d达峰值($P<0.01$),15 d时均仍高于假手术组($P<0.05$)。**结论** 全脑缺血再灌注诱导大鼠皮层COX-2表达明显增加,并具有时间依赖性。

[关键词] 全脑缺血再灌注;环氧化酶2;皮层;氧化应激
[中图法分类号] R322.81;R363.21;R364.12 [文献标志码] A

# Time-dependent expression of COX-2 mRNA and protein in rat cortex after global cerebral ischemia reperfusion insult

Yang Bin, Yu Lijuan, Wang Jia, Zhao Lei, Hu Xinyue, Ji Chaonan, Wei Yuling, Yang Qunfang, Jiang Qingsong, Yang Junqing (Department of Pharmacology, Chongqing Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Pharmacology, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] **Objective** To study the time course of COX-2 mRNA and protein expression in rat cortex after global cerebral ischemia reperfusion insult. **Methods** The rat model of global cerebral ischemia reperfusion was established by bilateral common carotid arteries occlusion and systemic hypotension. Morris water maze was used to investigate spatial learning and memory function of the rats. Histological examination by HE staining was employed to examine the morphologic changes of rat cortex neurons. The SOD activity and MDA content in rat cortex were evaluated by xanthinoxidase assay and TBA assay respectively. Expression of COX-2 mRNA and protein in the cortex was examined by reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blotting, respectively. **Results** Compared with the sham group, all global cerebral ischemia rats showed significantly longer incubation period of seeking the platform, significantly less frequent cross-platform movement ($P<0.05$) and shorter dwelling times in the platform quadrant ($P<0.01$). Cortex neurons in the model group showed obvious karyopycnosis with remarkable cell loss and irregular cell contours. The SOD activity was obviously decreased and the MDA content was significantly increased in the global cerebral ischemia reperfusion group. The COX-2 mRNA and protein expression in rat cortex was remarkably increased in global cerebral ischemia reperfusion group. The COX-2 mRNA level reached the peak at 48 h ($P<0.05$) after reperfusion and the protein reached the peak at 7 d ($P<0.01$) after reperfusion. **Conclusion** Global cerebral

[基金项目] 国家自然科学基金(81100905)
[通信作者] 杨俊卿,E-mail:qqqjy@sohu.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20131107.1613.006.html(2013-11-07)

ischemia reperfusion insults significantly increase the expression of COX-2 in rat cortex in a time-dependent manner.

[**Key words**] global cerebral ischemia reperfusion; cyclooxygenase 2; cortex; oxidative stress

Supported by the National Natural Science Foundation of China(81100905). Corresponding author: Yang Junqing, E-mail: qqqjy@sohu.com

环氧酶是前列腺素合成过程中一个重要的限速酶,可将花生四烯酸(arachidonic acid, AA)代谢成各种前列腺素(prostaglandins,PGs)产物,参与机体的病理生理过程,其中诱导型亦称环氧化酶2(cyclooxygenase 2,COX-2),其表达与缺血性脑损伤有着密切的联系[1]。以COX-2为药物干预靶点,寻找有神经保护作用的选择性COX-2抑制剂成为神经科学研究的热点之一。

由于使用的动物模型不同,以及给药方式的不同,COX-2抑制剂在不同的缺血性脑损伤中意义也有很大的差异,如Institoris等[2]研究发现COX-2的选择性抑制剂NS-398在术后3 d给药能提高双侧颈总动脉永久结扎大鼠的生存率,改善大鼠学习记忆障碍,但不能减轻大鼠海马神经元的损伤。而罗维楠等[3]研究发现COX-2抑制剂美洛昔康手术前30 min给药对全脑缺血再灌注(global cerebral ischemia/reperfusion,GCI/R)大鼠学习记忆障碍,并且对海马神经元具有明显的保护作用。造成这些研究结果不一致的原因是什么?是否由于COX-2在不同的脑缺血损伤模型中表达的时程特征不同,而不同研究者的给药时间点不同而导致?因而有必要系统观察COX-2在不同的缺血性脑损伤模型时间依赖性表达变化特征,从而为确定COX-2抑制剂的临床用药时间窗提供实验理论依据。

缺血性脑损伤分为局部脑缺血与全脑缺血损伤。多数学者认为动物局部脑缺血可模拟临床上的中风。全脑缺血模型除了与局部脑缺血一样模拟临床神经元损伤外,更侧重于模拟临床上的窒息、休克、心脏骤停、严重心律失常以及低氧血症的脑损伤[4]。Yokota等[5]系统地研究了COX-2在局部脑缺血再灌注损伤大鼠中的时程表达变化,发现在缺血梗死区,COX-2 mRNA再灌注3~24 h显著升高,其蛋白表达在再灌注24 h时达峰值;在缺血中心区,COX-2 mRNA直到再灌注24 h都有显著表达,而蛋白在2 h时达峰值。

除海马外,皮层也参与了学习记忆过程,皮层感觉区既处理感觉信息,又储存感觉记忆,内侧前额叶皮质在快速学习和记忆巩固起重要作用[6]。目前,尽管COX-2在局部脑缺血损伤大鼠中的时程表达变化研究已有少量报道,但是关于COX-2在GCI/R大鼠皮层中的时程表达变化特征还不清楚。本研究拟通过建立大鼠GCI/R损伤模型,观察COX-2 mRNA和蛋白在GCI/R损伤大鼠皮层中的时程表达特征,拟为探讨COX-2的选择性抑制剂在临床全脑缺血再灌注脑损伤治疗时间窗的确定提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物及分组

选取64只雄性清洁级SD大鼠,体质量200~250 g,由重庆医科大学实验动物中心提供,合格证书编号SCXK(渝)2007-0001。饲养于SPF环境中,手术前12 h禁食,自由饮水。动物实验采用随机数字表法分为8组,即假手术组($n=8$),GCI/R 30 min组($n=8$),GCI/R 2 h组($n=8$),GCI/R 6 h组($n=8$),GCI/R 24 h组($n=8$),GCI/R 48 h组($n=8$),GCI/R 7 d组($n=8$),及GCI/R 15 d组($n=8$)。每组各取4只用于组织病理学检查,4只用于SOD活性、MDA含量测定和COX-2 mRNA、蛋白表达变化测定。考虑到动物手术后伤口对学习记忆测定的影响,故只对假手术组及缺血再灌注15 d组大鼠在术后第8~12天进行水迷宫测定。与动物相关的所有实验操作,均在重庆医科大学道德与伦理委员的许可和指导下进行。

### 1.2 主要试剂及仪器

DAB染色试剂盒、兔抗COX-2多克隆抗体(北京博奥森生物科技有限公司),FITC标记山羊抗兔IgG(碧云天生物技术有限公司),丙二醛试剂盒、超氧化物歧化酶试剂盒(南京建成试剂有限公司),Biozol总RNA提取试剂、Prime Script™ RTreagent Kit(TaKaRa公司)。Morris水迷宫(中国医学科学院药物研究所),凝胶成像图像分析系统(Bio-Rad公司)。

### 1.3 模型制作

参照Cheng等[7]的方法,大鼠用4%水合氯醛(1 mL/100 g)腹腔注射麻醉后,仰卧固定于鼠解剖版,颈正中剃毛,剪开颈部皮肤约2 cm,钝性分离组织与肌肉,暴露并分离出双侧颈总动脉与一侧颈总静脉,下穿丝线备用。结扎颈总静脉远心端,在近心侧剪一切口。将连接于注射器针头上的聚乙烯导管沿颈总静脉切口处向心脏方向插入,插管后输入2 mL肝素生理盐水(250 U/100 mL)。缓慢抽取大鼠总血量30%的血液。提起颈总动脉下丝线,夹闭双侧颈总动脉20 min。松开动脉夹,缓慢回输血液,拔出导管,结扎颈总静脉近心端,缝合伤口。假手术组仅进行麻醉和手术切开与缝合。手术过程中,大鼠体温用白炽灯照射保持在36.5~37.2 ℃。

### 1.4 水迷宫实验

参照Cheng等[7]的方法,假手术组大鼠及GCI/R 15 d组大

鼠,每组8只,从再灌注后第8~12天(d1~d5),进行水迷宫测定。测试分为2个阶段,第1阶段为训练阶段,每天晚上8:00-10:00训练,训练4 d,每天4次,将大鼠分别从Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ4个不同的象限背对平台入水,让其自由游泳找到隐蔽于水中的平台上,观察记录其寻台潜伏期,在180 s内未找到平台者,实验人员将其引导至平台并停留10 s,并将其寻台潜伏期记为180 s。第2阶段为测试阶段,即第5天,撤去平台,从Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ4个象限随机选定一个位置将大鼠放入迷宫中,观察并记录其寻台潜伏期、180 s内的寻台次数。

### 1.5 组织病理学检查

造模结束后,每组各取4只动物,用4%多聚甲醛的磷酸缓冲液200 mL进行在体灌注,断头取脑。4%多聚甲醛浸泡固定后,石蜡包埋,作5 μm冠状切片,HE染色,光镜下观察皮层神经元形态变化。

### 1.6 生化酶学法检测大鼠SOD活性和MDA含量

每组各取4只大鼠,断头取脑后,冰面分离皮层,用液氮速冻,存放于-80 ℃低温冰箱,用时将皮层组织取出,用生理盐水制成10 g/L的匀浆液。以黄嘌呤氧化酶法测定SOD活性,TBA法检测MDA含量,具体操作按说明书进行。

### 1.7 RT-PCR检测大鼠皮层COX-2 mRNA的表达变化

参照GenBank中大鼠COX-2 mRNA序列,由上海生物工程有限公司设计合成引物,COX-2引物上游序列5′-CACGGACTT-GCTCACTTTGT-3′;下游序列5′-GAACGCTTTGCGGTACTCAT-3′,PCR扩增片段长度为162 bp。内参β-actin引物上游序列5′-AGAGGGAAATCGTGCGTGAC-3′;下游序列5′-GTGCTAG-GAGCCAGGGCAGTA-3′,PCR扩增片段长度为358 bp。PCR扩增总反应体系为25 μL,循环参数为94 ℃ 4 min,94 ℃ 15 s,57.6 ℃ 15 s,72 ℃ 40 s,35个循环,72.0 ℃ 5 min。PCR扩增产物在80 V电压下经2%的琼脂糖凝胶电泳30 min,Bio-Rad成像,以COX-2与β-actin的光密度比值作为COX-2 mRNA的相对表达量。

### 1.8 Western blot测定大鼠皮层COX-2蛋白表达

用组织裂解液提取大鼠皮层组织蛋白。按4:1的比例加入上样缓冲液,并煮沸变性。进行SDS-PAGE电泳,转移至PVDF膜上,室温封闭1 h,PBST洗膜10 min×3次,加入COX-2一抗(1:100)或β-actin(1:1 000),4 ℃冰箱过夜,PBST洗膜10 min×3次,加辣根酶标记的二抗(1:2 000),室温孵育1 h,PBST洗膜10 min×3次,ECL化学发光。Bio-Rad成像,并以COX-2与β-actin的光密度比值作为COX-2蛋白的相对表达量。

### 1.9 统计学分析

数据以$\bar{x} \pm s$表示,采用SPSS 17.0统计软件,用单因素方差分析后,采用Dunnett's $t$检验进行组间比较。

## 2 结果

### 2.1 GCI/R对大鼠空间学习记忆能力的影响

如表1所示2组大鼠寻台潜伏期随着训练天数的增加而逐渐减少,与假手术组比较,GCI/R组大鼠寻台潜伏期显著延长($P<0.05$,$P<0.01$)。GCI/R组大鼠穿越平台次数明显减少($P<0.05$),在目标象限百分比也显著减少($P<0.01$),见表2。

**表1 GCI/R损伤对大鼠寻台潜伏期的影响**($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | d 1 | d 2 | d 3 | d 4 | d 5 |
|---|---|---|---|---|---|
| 假手术组 | 105.50±21.09 | 75.21±13.78 | 38.98±11.11 | 28.89±10.89 | 17.76±7.98 |
| GCI/R组 | 145.00±24.89[a] | 101.21±23.21[b] | 56.00±12.98[b] | 44.00±13.89[b] | 31.00±6.89[b] |

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, 与假手术组比较

**表2 GCI/R对大鼠第5天寻台次数及目标象限百分比的影响**($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 寻台次数 | 目标象限百分比(%) |
|---|---|---|
| 假手术组 | 5.34±1.28 | 71.23±13.19 |
| GCI/R组 | 1.78±0.56[a] | 44.54±10.12[b] |

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, 与假手术组比较

### 2.2 GCI/R对大鼠皮层SOD活性与MDA含量的影响

与假手术组比较,GCI/R组大鼠皮层SOD活性明显下降。再灌注30 min时开始显著低于假手术组($P<0.05$),7 d时降至最低($P<0.01$),15 d时SOD活性有所增加,但仍显著低于假手术组($P<0.01$)。见表3。

与假手术组比较,GCI/R组大鼠皮层MDA含量增加。再灌注30 min时开始增加($P<0.05$),随着再灌注时间延长,MDA含量逐渐增加,在7 d时达高峰($P<0.01$),15 d时MDA含量有所下降,但与假手术组比较,仍显著增加($P<0.01$)。见表3。

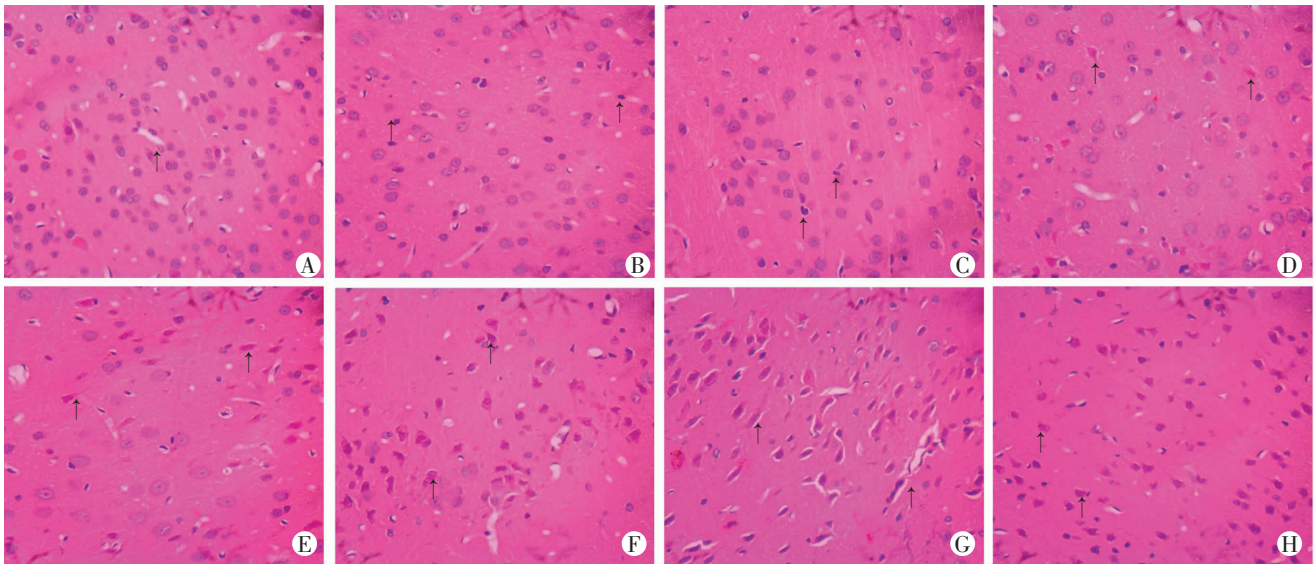
**表3 GCI/R对大鼠皮层SOD活性与MDA含量的影响**($n=4$, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | SOD活性(U/mg) | MDA含量(nmol/mg) |
|---|---|---|
| 假手术组 | 30.33±5.22 | 1.11±0.17 |
| GCI/R 30 min组 | 21.05±2.78[a] | 1.36±0.11[a] |
| GCI/R 2 h组 | 17.97±2.45[a] | 1.39±0.06[a] |
| GCI/R 6 h组 | 17.09±6.23[a] | 1.47±0.11[a] |
| GCI/R 24 h组 | 19.81±3.05[a] | 1.60±0.09[a] |
| GCI/R 48 h组 | 16.23±5.09[a] | 1.76±0.13[b] |
| GCI/R 7 d组 | 13.17±3.54[b] | 2.11±0.18[b] |
| GCI/R 15 d组 | 14.12±2.05[b] | 1.89±0.12[b] |

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, 与假手术组比较

### 2.3 GCI/R对大鼠皮层组织病理形态结构的影响

如图1所示,假手术组大鼠皮层神经元细胞形态正常,轮廓清晰。GCI/R组大鼠皮层神经元细胞排列较紊乱,胞核固缩深染,呈致密浓染块状或颗粒状,有的细胞界限不清,结构消失。

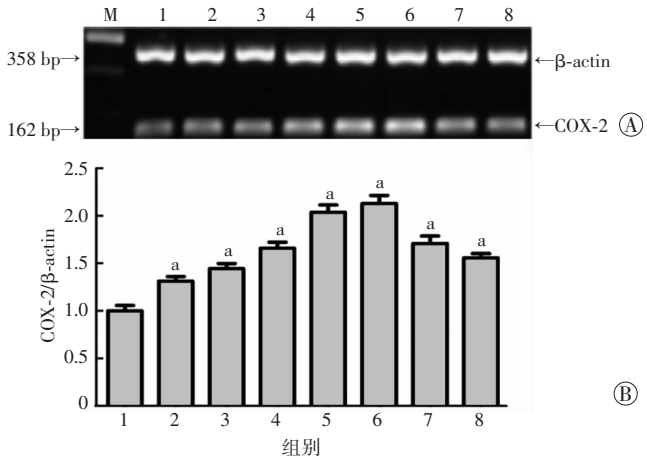



A:假手术组;B:GCI/R 30 min 组;C:GCI/R 2 h 组;D:GCI/R 6 h 组;E:GCI/R 24 h 组;F:GCI/R 48 h 组;G:GCI/R 7 d 组;H:GCI/R 15 d 组;↑示损伤神经细胞

**图1 GCI/R 对大鼠皮层组织病理学的影响**(HE×400)

### 2.4 GCI/R 对大鼠皮层 COX-2 mRNA 表达的影响

如图2所示,与假手术组比较,再灌注30 min时,GCI/R组大鼠皮层COX-2 mRNA表达水平开始显著升高($P<0.05$),于再灌注后48 h达峰值($P<0.05$),此后开始降低,但再灌注后15 d仍显著高于假手术组($P<0.05$)。



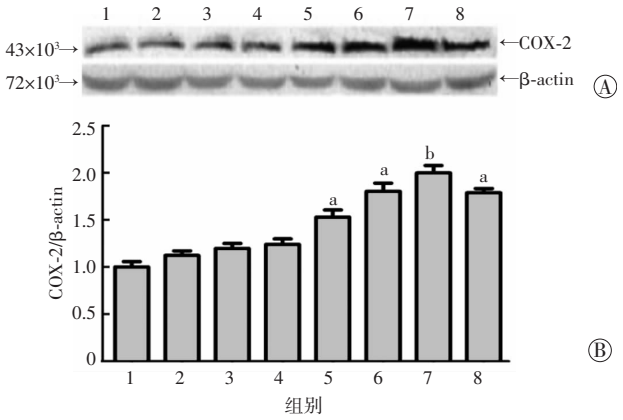

M:标准;1:假手术组;2:GCI/R 30 min 组;3:GCI/R 2 h 组;4:GCI/R 6 h 组;5:GCI/R 24 h 组;6:GCI/R 48 h 组;7:GCI/R 7 d 组;8:GCI/R 15 d 组

A:RT-PCR 结果;B:COX-2 mRNA 相对表达 a:$P<0.05$,与假手术组比较

**图2 大鼠皮层 COX-2 mRNA 在不同再灌注时间点的表达**

### 2.5 GCI/R 对大鼠皮层 COX-2 蛋白表达的影响

如图3所示,与假手术组比较,GCI/R组大鼠皮层COX-2蛋白再灌注后24 h开始显著增加($P<0.05$),7 d达峰值($P<0.01$),15 d时开始降低,但仍显著高于假手术组($P<0.05$)。




1:假手术组;2:GCI/R 30 min 组;3:GCI/R 2 h 组;4:GCI/R 6 h 组;5:GCI/R 24 h 组;6:GCI/R 48 h 组;7:GCI/R 7 d 组;8:GCI/R 15 d 组

A:Western blot 结果;B:COX-2 蛋白相对表达 a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与假手术组比较

**图3 大鼠皮层 COX-2 蛋白在不同再灌注时间点的表达**

## 3 讨论

炎症反应在缺血性脑损伤的病理生理过程中起着重要作用,脑缺血损伤初期,脑组织局部炎症细胞浸润并且产生大量的细胞毒性因子,继而诱发星形胶质细胞、小胶质细胞激活,并分泌大量的炎症因子如IL-6、TNF-α、IL-1β等,进而夸大缺血性脑损伤过程[8]。

COX-2为炎症因子相关的酶,研究显示COX-2在炎症相关性疾病中扮演了重要角色。然而COX-2抑制剂在不同的缺血性脑损伤中意义也有很大的差异,原因可能为在于不同的缺血性脑损伤模型中,其表达

特征也有所不同。研究[9]发现,在大鼠双侧颈总动脉永久结扎模型中,COX-2 在术后海马中 3 ~ 7 d 显著升高,而其表达在 2 周到 3 个月时,较假手术组却降低,大鼠局部脑缺血再灌注损伤后,COX-2 蛋白较假手术组升高,在缺血梗死区,蛋白再灌注 24 h 时达峰值;在缺血中心区,COX-2 蛋白在 2 h 时达峰值[5]。而我们的结果发现,在全脑缺血再灌注损伤大鼠皮层中,COX-2 mRNA 再灌注 30 min 时开始增加并于 48 h 达峰值,此后开始降低,但再灌注后 15 d 仍显著高于假手术组;COX-2 蛋白表达水平较假手术组升高,在再灌注后 24 h 开始有显著性,7 d 达峰值,15 d 开始降低,但仍明显高于假手术组。这些研究结果证明,在不同的缺血脑损伤模型中,COX-2 虽然都升高,但是其达峰时间,持续时程却是不同的,在此基础上,由于选用不同的缺血性脑损伤模型、COX-2 抑制剂的给药方式和给药时间点选择的不同,因而 COX-2 抑制剂对缺血性脑损伤神经元的保护效果不完全相同。

COX-2 加重脑损伤的机制包括其在催化花生四烯酸为前列腺素的过程中产生过多的自由基,从而加重氧化应激损伤[10]。本实验结果也发现,在 COX-2 表达增加的同时,SOD 活性随再灌注时间延长而降低,MDA 含量随再灌注时间延长而升高。说明 GCI/R 损伤后,炎症反应损伤伴随着氧化应激损伤,而氧化应激又会直接诱导神经元 COX-2 的转录增加[11],从而加重炎症反应,二者形成一个恶性循环。

我们的研究结果还发现,缺血性脑损伤大鼠皮层 COX-2 在再灌注后 24 h 开始有显著性,7 d 达峰值,15 d 开始降低,但仍明显高于假手术组,这些结果提示,COX-2 抑制剂在 15 d 内使用可能都是有效的,而最佳时间是再灌注后 2 h 至 7 d 内给药,但尚需进一步的实验研究加以证实。

另一方面,近期的药物流行病学调查[12]显示,长期服用 COX-2 抑制剂可增加患者致死性心脑血管事件等的风险,缺血性脑损伤发生时,诱导 COX-2 在大脑中高表达,活性上调的 COX-2 催化 AA 产生 PGs,PGs 包括 $TXA_2$、$PGI_2$、$PGF_{2\alpha}$、$PGD_2$ 及 $PGE_2$,各自通过不同的受体起到不同的作用,有些对缺血性脑损伤起到保护作用[13],而有些介导损伤效应[14]。持续抑制 COX-2 的表达,使下游损伤性 PGs 产生减少的同时,也使得保护性 PGs 产生受阻,导致损伤性与保护性前列腺素的平衡失调,从而进一步加剧脑损伤,这是否也是导致 COX-2 抑制剂神经元保护作用研究结果不一致的原因? 因此,能否找到一个平衡点,保留 COX-2 对脑损伤保护作用的同时,而最大限度地减少其不良反应。因此,有必要探明 COX-2 及其下游的保护性或损伤性 PGs 在缺血性脑损伤中的时程表达特征,根据不同物质的时程表达特征,对脑损伤采取多靶点干预,以期得到最优化的治疗效果,这些均有待更深一步的实验研究加以证明。

**参考文献:**

[1] Candelario-Jalil E, Fiebich B L. Cyclooxygenase inhibition in ischemic brain injury[J]. Curr Pharm Des, 2008, 14(14): 1401 - 1418.

[2] Institoris A, Farkas E, Berczi S, *et al*. Effects of cyclooxygenase (COX) inhibition on memory impairment and hippocampal damage in the early period of cerebral hypoperfusion in rats[J]. Eur J Pharmacol, 2007, 574(1): 29 - 38.

[3] 罗维楠, 杨俊卿, 姜蓉, 等. 美洛昔康对全脑缺血/再灌注大鼠脑损伤的作用观察[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(11): 1455 - 1459.

[4] Harukuni I, Bhardwaj A. Mechanisms of brain injury after global cerebral ischemia[J]. Neurol Clin, 2006, 24(1): 1 - 21.

[5] Yokota C, Kaji T, Kuge Y, *et al*. Temporal and topographic profiles of cyclooxygenase-2 expression during 24 h of focal brain ishemia in rats [J]. Neurosci Lett, 2004, 357(3): 219 - 222.

[6] Euston D R, Gruber A J, McNaughton B L. The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making[J]. Neuron, 2012, 76 (6): 1057 - 1070.

[7] Cheng O, Li Z, Han Y, *et al*. Baicalin improved the spatial learning ability of global ischemia/reperfusion rats by reducing hippocampal apoptosis[J]. Brain Res, 2012, 1470: 111 - 118.

[8] Lucas S M, Rothwell N J, Gibson R M. The role of inflammation in CNS injury and disease[J]. Br J Pharmacol, 2006, 147(Suppl 1): S232 - S240.

[9] Mracsko E, Hugyecz M, Institoris A, *et al*. Changes in pro-oxidant and antioxidant enzyme levels during cerebral hypoperfusion in rats [J]. Brain Res, 2010, 1321: 13 - 19.

[10] Im J Y, Kim D, Paik S G, *et al*. Cyclooxygenase-2-dependent neuronal death proceeds *via* superoxide anion generation[J]. Free Radic Biol Med, 2006, 41(6): 960 - 972.

[11] Lee J, Kosaras B, Aleyasin H, *et al*. Role of cyclooxygenase-2 induction by transcription factor Sp1 and Sp3 in neuronal oxidative and DNA damage response[J]. FASEB J, 2006, 20(13): 2375 - 2377.

[12] Khan M, Fraser A. Cox-2 inhibitors and the risk of cardiovascular thrombotic events[J]. Ir Med J, 2012, 105(4): 119 - 121.

[13] Akram A, Gibson C L, Grubb B D. Neuroprotection mediated by the $EP_4$ receptor avoids the detrimental side effects of COX-2 inhibitors following ischaemic injury[J]. Neuropharmacology, 2013, 65: 165 - 172.

[14] Saleem S, Ahmad A S, Maruyama T, *et al*. PGF(2alpha) FP receptor contributes to brain damage following transient focal brain ischemia [J]. Neurotox Res, 2009, 15(1): 62 - 70.

(**收稿**:2013-07-10;**修回**:2013-09-17)

(编辑 张 维)