

· 论 著 ·

束缚应激对卒中后大鼠的影响及帕罗西汀的干预作用*

倪贵华¹, 邵蓓^{2△}, 范红²

(1. 江苏省淮安市第一人民医院神经内科 223300; 2. 温州医学院附属第一医院神经内科 325000)

摘要:目的 探讨束缚应激对脑卒中后大鼠行为的影响及帕罗西汀的干预作用及其可能机制。方法 选择雄性 SD 大鼠, 将 openfield 评分相近的大鼠随机分为对照组、卒中组、束缚组、卒中后束缚(PSR)组和药物治疗组, 观察各组大鼠不同阶段的行为改变, 测定大鼠下丘脑 5-羟色胺(5-HT)、去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)神经递质含量和含量脑内 c-fos 表达。结果 与对照组比较, PSR 组大鼠下丘脑 5-HT 神经递质明显降低, 下丘脑室旁核 c-fos 蛋白的表达增加; 与卒中后束缚组大鼠比较, 药物干预组糖水消耗量增加、Open-Field 测定水平得分和直立得分增加, 脑内 5-HT 含量升高 ($P < 0.01$), 下丘脑室旁核 c-fos 蛋白的表达减少。结论 施加束缚应激后脑卒中大鼠出现了明显的抑郁行为, 大鼠脑内单胺递质含量降低, 下丘脑室旁核 c-fos 基因表达增加; 盐酸帕罗西汀可改善大鼠抑郁行为, 其抗抑郁作用可能与提高脑内 5-HT 含量和下调下丘脑室旁核 c-fos 基因表达有关。

关键词: 脑卒中; 束缚应激; 单胺递质; c-fos 蛋白; 盐酸帕罗西汀

中图分类号: R365.743

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)09-1033-03

Effect of restraint stress on poststroke rats and effect of paroxetine hydrochloride*

NI Gui-hua¹, SHAO Bei^{2△}, FANG Hong²

(1. Department of Neurology, First People's Hospital of Huaian, Huaian 223300, China;

2. Department of Neurology, First Hospital Affiliated to Wenzhou Medical Collegy, Wenzhou 325000, China)

Abstract: Objective To explore the effect of restraint stress on poststroke rats and the effect and mechanism of paroxetine hydrochloride. **Methods** 75 male Sprague Dawley rats were randomly divided into control group, stroke group, restraint group, poststroke restraint(PSR) group and drug treatment group after the measurement of Open-Field test. Rats in each group were processed according to molding. After that the behavioral evaluation was done with consumption of sucrose water, Open-Field test, and then these rats was sacrificed and the brain was taken. The contents of the monoamine neurotransmitter of 5-HT, NE, DA in the brain and expression of c-fos in the the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN), and the effects of paroxetine hydrochloride interference in the PSR model rats were observed. **Results** The consumption of sucrose water, according to the scores of Open-Field test upright and horizontal activities, the contents of the monoamine neurotransmitter, were lower than those in the control group. The expression of c-fos in PVN decreased, compared with the control group. The consumption of sucrose, the scores of horizontal and upright activity of Open-Field test, the 5-HT content were increased significantly in the drug treatment group. The expression of c-fos in PVN decreased, compared with the PSR group. **Conclusion** After restraint stress was performed, the poststroke rats developed significantly depressive behavior. The content of monoamine neurotransmitter was lower and the expression of c-fos in PVN was increased in the poststroke restraint stress model rats. The molecular mechanism of paroxetine relieving the symptoms of the poststroke restraint stress rats disorders may be related with the increase contents of the monoamine neurotransmitter in brain and the decrease expression of c-fos in PVN.

Key words: stroke; restraint stress; monoamine neurotransmitter; c-fos; paroxetine hydrochloride

脑血管疾病是严重危害人类健康的常见病、多发病, 具有发病率、死亡率、致残率高的特点。卒中后抑郁症(poststroke depression, PSD)是脑卒中后常见且严重的并发症。PSD 延缓卒中患者的康复, 加重患者家庭和社会的经济负担, 因此, 对 PSD 的早期、有效防治有着重要的现实意义。目前 PSD 的发病机制尚不明确, 因此, 对 PSD 的治疗采纳原发性抑郁症治疗原则和方法。为了探讨 PSD 的中枢调节机制, 本实验拟通过对脑卒中大鼠施加 2 周末束缚应激, 观察束缚应激对脑卒中大鼠行为及脑内单胺递质和 c-fos 蛋白表达的影响, 并初步探讨 PSD 可能的生物学机制, 以及盐酸帕罗西汀干预作用的可能机制。

1 材料与方**1.1 材料** SD 大鼠, 雄性, 鼠龄 6~7 周, 75 只, 体质量(210

±20)g, 由温州医学院实验动物中心提供并饲养, 饲养温度 25℃, 相对湿度 70%, 光照周期为 12 h(7:00~19:00 光照; 19:00~7:00 黑暗)。整个实验过程中动物自由摄食和饮水(仅术前禁食, 应激过程中禁食和禁水)。

1.2 仪器与试剂**1.2.1 盐酸帕罗西汀片**(Tianjin Smith Khne & French Laboratories Ltd, 生产批号: H10950043, 规格: 每片 20 mg); 按照成人常用量(40 mg·60 kg⁻¹·d⁻¹)的 7 倍计算大鼠用量(0.5 mg·60 kg⁻¹·d⁻¹), 给大鼠灌胃前溶于蒸馏水, 混匀, 浓度为 1 mg/mL。**1.2.2 去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)、高香草酸(HVA)、内标物 3,4-二羟苯胺(DHBA)**为 Sigma 公司产品; 二正丁胺为上海化学试剂采购站进口分装; B-8 离子

* 基金项目: 温州市科技局对外合作重大项目(H2005B031)。△ 通讯作者。

对试剂为天津化学试剂公司生产;束缚固定时大鼠笼(安徽淮北正华生物仪器有限责任公司),Open-Field 敞箱(自制),Waters 510 泵高效液相色谱系统;Waters464 电化学检测器(Waters 公司);Millennium 色谱工作站(Water 公司产品);玻璃匀浆器;色谱柱为大连伊利特 C18 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。

1.3 实验方法

1.3.1 各组大鼠模型制备 75 只 SD 大鼠经 Open-Field 行为评分,将评分相近实验大鼠随机分为 5 组(各 15 只):对照组、卒中组、束缚组、卒中后束缚(PSR)组、药物组。参照 Longa 等^[1]造模法制备线栓法致大脑中动脉闭塞脑梗死模型(术后线栓长期留置体内)。

对照组行假手术;卒中组行线栓法致大脑中动脉闭塞;束缚组行假手术,术后每笼 1 只单独饲养;PSR 组、药物组行线栓法致大脑中动脉闭塞,术后每笼 1 只单独饲养;待手术后 7 d 大鼠神经功能缺损症状恢复后,束缚组、PSR 组、药物组开始进行束缚应激,即将大鼠固定在特制的笼中每天 2 h,束缚时间不固定,以不影响大鼠正常昼夜节律为前提,药物组给予盐酸帕罗西汀灌胃每天 1 次,共 2 周,根据体重质量变化每天调整灌胃量,其他各组给予蒸馏水灌胃 2 周。

1.3.2 糖水消耗试验^[2] 在开始的 24 h 内用 1%蔗糖水代替自来水,然后给予 1%蔗糖水饮用并计算 24 h 的饮用量。计算蔗糖水饮用量=测定前的瓶重(g)-测定后的瓶重(g)。

1.3.3 敞箱试验(openfield 试验)^[3] 在大鼠手术前和造模成功后(术后 21 d)进行,敞箱为正方形,高为 40 cm,长宽均为 100 cm,周壁为黑色,底面分成面积相等的 25 块。以动物四肢穿越底面块数为水平活动得分,以直立次数为垂直活动得分,每只动物每次仅进行一次测定,每次测定时间为 3 min。测试时保持环境安静、避免光线直射敞箱并采用盲法进行。

1.3.4 神经功能缺损用 Bederson 评分^[4] 0 分:未见行为缺陷;1 分:前肢屈曲(提尾悬空试验阳性);2 分:侧推抵抗力下降(侧向推力试验阳性)伴前肢屈曲,无转圈行为;3 分:同 2 分行为伴自发性转圈行为。0 分不入组,且神经功能的评定采用盲法进行。

1.3.5 单胺类神经递质含量 每组大鼠任取 8 只,断头处死,按照 Glowinski 法^[5]分离下丘脑、精确称重后放入 Epp 管中用液氮快速冷冻后,放入 -80 °C 冰箱保存至测定。在冰浴下充分研磨使组织匀浆化后,置低温离心机内以(4 °C)12 000 r/min 离心 20 min,吸取上清液进样测定。

1.3.6 c-fos 免疫组织化学染色 各组大鼠常规麻醉,灌注固定,断头取出大鼠完整全脑,全脑取出置于冰盘上,以视交叉为上界,乳头体为下界留取组织块,经固定,脱水,浸蜡;石蜡包埋。组织块连续冠状切片,片厚 4 μm,贴片。经 c-fos 免疫组织化学染色作阳性细胞计数,取均数作为该核团的 c-fos 核蛋白阳性。

1.4 统计学方法 各组指标结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据资料用 SPSS13.0 统计软件包处理。组间数据比较:采用完全随机设计资料单因素方差(One-way ANOVA)分析,其中方差齐性者采用 LSD 法检验,方差不齐者采用 Dunnett'- t_3 法检验。

2 结果

2.1 蔗糖水消耗测定 实验开始时各组大鼠糖水消耗量差异无统计学意义($P > 0.1$),实验结束时与对照组比较:卒中组大鼠糖水消耗量降低,差别无统计学意义($P > 0.05$);束缚组和 PSR 组糖水消耗量明显降低,差异有统计学意义($P < 0.01$);

与 PSR 组相比,药物组的糖水消耗量明显增加,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2.2 Open-Field 测定结果 在实验开始时与对照组相比,各组大鼠水平活动、垂直活动得分差异无统计学意义($P > 0.1$);在实验结束时(即第 21 天)与对照组相比,PSR 组大鼠水平得分和垂直得分明显减少,差异有统计学意义($P < 0.01$);卒中组和束缚组大鼠水平活动和垂直活动得分也明显减少,但不如 PSR 组明显(表 1)。药物组与 PSR 组相比,水平活动、垂直活动得分都明显增加(表 1),差异有统计学意义($P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠 open-field 评分结果($\bar{x} \pm s$)

组别	敞箱水平活动得分		敞箱垂直活动得分	
	第 1 天	第 21 天	第 1 天	第 21 天
对照组	59.07±9.56	50.07±10.09	13.87±2.83	12.67±3.90
卒中组	60.73±12.91	27.07±9.99★▲	12.47±2.72	9.27±2.2▲
束缚组	54.13±6.52	20.67±8.73★▲	12.13±2.64	6.93±3.26★▲
PSR 组	64.53±12.1	6.60±3.70★	13.80±2.70	1.73±1.33★
药物组	59.11±10.77	23.27±5.69★▲	13.19±2.85	7.40±3.68▲

★:与对照组比较, $P < 0.01$;▲:与 PSR 组比较, $P < 0.01$ 。

2.3 下丘脑单胺类神经递质含量 与对照组相比,PSR 组大鼠 DA、NE、5-HT 神经递质均明显降低,差异有统计学意义($P < 0.01$);卒中组大鼠的单胺类递质也显示降低,其中 NE 和 5-HT 差异有统计学意义($P < 0.01$);束缚组大鼠单胺类递质也有明显降低($P < 0.05$);与 PSR 组大鼠相比,药物组单胺类递质有升高趋势,其中 5-HT 的改变差异有统计学意义($P < 0.01$) (表 2)。实验结束时(即第 21 天)析因设计的方差分析显示脑卒中和束缚应激对大鼠下丘脑单胺类递质无交互作用。

表 2 各实验组大鼠下丘脑单胺类神经递质的含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	DA (μg/g)	NE(μg/g)	5-HT (μg/g)
对照组	0.96±0.18	4.12±0.57	1.28±0.41
卒中组	0.77±0.24	3.22±0.68★★	0.85±0.22★★
束缚组	0.72±0.12★	3.40±0.75★	0.90±0.32★
PSR 组	0.63±0.15★★	2.82±0.46★★	0.68±0.22★★
药物组	0.81±0.20	3.36±0.29	1.13±0.29▲

与对照组比较,★: $P < 0.05$,★★: $P < 0.01$;与 PSR 组比较,▲: $P < 0.05$ 。

2.4 图像分析 免疫组化染色结果:各组脑切片用 Olympus 显微镜观察发现 DAB 显色的 Fos 免疫反应性终产物呈棕黄色颗粒状,位于神经细胞核内,胞浆不着色,脑内双侧对称性分布。空白对照切片未见免疫反应阳性细胞(封 2 图 1)。对照组大鼠下丘脑内几乎无 c-fos 阳性细胞表达(封 2 图 2),其余各组下丘脑内均有不同程度的 c-fos 表达,以室旁核最为密集。卒中组和束缚组大鼠下丘脑室旁核 c-fos 蛋白的表达较对照均有明显增加(封 2 图 3、4);PSR 组大鼠下丘脑室旁核 c-fos 蛋白的表达较对照组增加显著(封 2 图 5);与卒中组和束缚组相比亦有明显增加;药物组大鼠下丘脑室旁核 FLR 神经元数目较 PSR 组明显减少(封 2 图 6),差异有统计学意义($P < 0.01$)。下丘脑 c-fos 蛋白表达的析因设计的方差分析显示脑卒中和束缚组对大鼠下丘脑室旁核 c-fos 的表达有交互作用,

提示这两个因素对 c-fos 表达的诱导作用有协同效应。

3 讨 论

PSD 的发病机制目前尚未阐述清楚,主要有两种学说:(1)“原发性内源性机制”学说,Robinson^[6]通过观察大脑中动脉闭塞(MCAO)大鼠在梗死侧脑组织有 NE 下降,给予去甲丙米嗪可使其改善,于 1984 年提出 PSD 发病机制的“内源性学说”即卒中病灶破坏 NE 能神经元与 5-HT 能神经元及其传导通路,使这两种神经递质低下而致抑郁症。Vogel^[7]也指出 PSD 的发生与大脑损伤后的神经生物学改变有关,因为 NE 能和 5-HT 能神经元胞体多位于脑干,其轴突通过丘脑及基底节区到达前额叶皮质,当病灶累及以上部位时可影响区域内的 5-HT 能和 NE 能的神经通路,使 NE 和 5-HT 含量下降,从而影响脑功能的调节作用而致抑郁。(2)“反应性机制”学说,即脑卒中患者病后遗留语言、肢体功能障碍等残疾,由此带来的社会或家庭角色的改变,使其产生了无用感、绝望感和包袱感等,导致病后生理和心理平衡失调而引起反应性抑郁。流行病学资料表明 PSD 的发生率最高时并非在卒中的急性期^[8]。Shima^[9]在观察抗抑郁药物的疗效中发现,疗效与患者的年龄和家庭情况呈明显相关,提示 PSD 发生并不完全与神经递质关联。目前大多数学者认为 PSD 发病是生物、社会、心理等多因素共同作用的结果。本研究探讨的线栓法致大脑中动脉闭塞性脑梗死结合束缚应激刺激和孤养法的复合模型制备更符合临床 PSD 的发病机制,束缚应激结束后 PSR 组糖水摄入量减少,说明存在兴趣的降低,在旷场中活动减少,说明其存在精神运动迟滞。与对照组和卒中组比较,PSR 组大鼠行为学改变较好地模拟了 PSD 患者的核心和主要症状,证明本研究的 PSR 大鼠模型是用于 PSD 实验研究的较理想的动物模型。因此作者认为以复合造模思路复制的大鼠模型是一种可行、简便、理想的 PSD 动物实验模型。

下丘脑是神经内分泌的调节中枢,同时也接受不同神经递质的调节,从神经生化变化而言,脑内单胺递质系统在抑郁症发病中的作用一直是研究的重点。瞿融等^[10]研究发现抑郁模型大鼠下丘脑单胺神经递质下降。本研究显示 PSD 组模型大鼠的下丘脑 5-HT、NE、DA 较对照组显著降低,这与国内报道 PSD 患者血浆及脑脊液中的单胺神经递质含量明显低于非抑郁组和正常组的结果相一致^[11]。与对照组比较,卒中组下丘脑的递质水平有降低趋势,但仍明显高于 PSR 模型大鼠,可能与卒中手术后未经慢性应激刺激,不存在进一步的损伤因素,而且在脑组织自身修复等因素作用下,损伤神经元可能有一定恢复有关,这与 Henn 和 Vollmay^[12]研究结果相同。与对照组比较,束缚组大鼠下丘脑递质水平也降低,但没有 PSR 组明显。因此,认为 PSD 的发病机制是“原发性内源性机制”学说和“反应性机制”学说共同作用的结果。

早期即刻基因 c-fos 作为非特异的转录调控因子,近年来被应用到研究精神药物调节靶基因的作用机制之中。c-fos 和另一种即时反应基因 c-jun 蛋白可以形成同源或异源二聚体,从而改变自己与 DNA 的结合特异性,增加 AP-1 结合活性^[13-14],参与信号传递系统各效应酶的转录过程,调控其他多种基因表达的靶蛋白合成,因而可以通过 c-fos 和 c-jun 的示踪作用,来探索精神药物作用于哪些特定的脑区。本研究发现,缺血和束缚应激后,大鼠下丘脑室旁核(PVN)c-fos 表达水平增高,表明下丘脑室旁核参与了应激有关调控;卒中和束缚应激都可以诱导下丘脑室旁核 c-fos 的表达。但两者对 c-fos 表达诱导作用差异无统计学意义。PSR 组大鼠下丘脑室旁核 c-

fos 的表达明显增加,说明下丘脑在卒中后抑郁的发病机制中起作用。

盐酸帕罗西汀是选择性的 5-HT 再摄取抑制剂,主要抑制突触前膜对 5-HT 的再摄取,提高神经细胞突触间隙 5-HT 的浓度,目前作为临床抗抑郁药物。本研究在盐酸帕罗西汀干预后,实验大鼠下丘脑 5-HT 神经递质含量明显增高。本研究结果显示,PSD 的发病机制与抑郁症的发病机制相似,也是由于单胺神经递质下降,帕罗西汀抑制 5-HT 再摄取,提高神经细胞突触间隙 5-HT 的浓度,改善实验大鼠的抑郁行为,如帕罗西汀显著增加 PSD 大鼠的蔗糖水消耗量、增加 Open-Field 行为测定中的水平活动和直立活动,另外帕罗西汀可减弱下丘脑室旁核 c-fos 的表达,这与黄欢捷等^[15]的研究结果相同。说明抗抑郁药对 c-fos 的表达存在一定程度的下调作用,提示下丘脑室旁核可能是 PSD 在脑内作用靶点之一。

参考文献:

- [1] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84.
- [2] Willner P, Towell A, Sampson D, et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant [J]. *Psychopharmacology*, 1987, 93(3): 358.
- [3] Blokland A, Lieben C, Deutz NE. Anxiogenic and depressive-like effects, but no cognitive deficits, after repeated moderate tryptophan depletion in the rat [J]. *J Psychopharmacol*, 2002, 16(1): 39.
- [4] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination [J]. *Stroke*, 1986, 17(3): 472.
- [5] Glowinski J, Iversen L. Regional studies of catecholamines in the rat brain [J]. *Neurochemistry*, 1966, 13: 655.
- [6] Robinson RG. The neuropsychiatry of stroke. In: Miyoshi K, Shapiro CM, Gaviria Morita Y (editors). *Contemporary Neuropsychiatry* [M]. Tokyo: Springer-Verlag, 2001: 116.
- [7] Vogel CH. Assessment and approach to treatment in post-stroke depression [J]. *J Am Acad Nurse Pract*, 1995, 7(10): 493.
- [8] Gainotti G, Azzoni A, Razzano C, et al. The post-stroke depression rating scale: a test specifically devised to investigate affective disorders of stroke patients [J]. *J Clin Exp Neuropsychol*, 1997, 19(3): 340.
- [9] Shima S. The efficacy of antidepressant in post-stroke depression Keio [J]. *J Med*, 1997, 46(1): 25.
- [10] 瞿融, 孟海彬, 褚蔚, 等. 柴胡加龙骨牡蛎汤对抑郁模型大鼠脑内单胺递质的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2003, 19(6): 1.
- [11] 吕路线, 宋景贵, 卢红, 等. 卒中后抑郁状态患者的血浆、脑脊液单胺类神经递质测定 [J]. *中华精神科杂志*, 2000, 33(1): 29.
- [12] Henn FA, Vollmay RB. Stress models of depression: forming genetically vulnerable strains [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2005, 29(4-5): 799.
- [13] Cullinan WE, Herman JP, Battaglia DF. (下转第 1038 页)

属厌氧菌属,能靶向聚集至肿瘤乏氧区域^[11]。在安全性方面,双歧杆菌对人体来说是肠道益生菌,不会产生不良反应。Sasaki 等^[12]将转染前药转换酶基因的长双歧杆菌通过尾静脉注射到豚鼠体内,未见任何过敏反应出现,也未检测到由双歧杆菌介导产生的特殊抗体。因此本实验用双歧杆菌作为基因治疗运载体将 TK 自杀基因靶向运至肿瘤组织,文献报道双歧杆菌自身具有抗肿瘤作用^[13-14],康保国等^[15]研究表明 TK 基因可经放射诱导表达,可以与放疗产生协同作用,进一步提示其是一个很有前途的肿瘤基因治疗运输载体。但双歧杆菌是原核生物,因此必须要原核表达质粒才能在双歧杆菌体内表达。基于此,本实验选用了 pGEX-4T-2 原核表达质粒,因为该质粒带有非常强的 tac 启动子,融合蛋白表达系统可以克服转录与转录后水平对外源基因表达可能带来的不利影响,便于融合基因翻译起始,是一种高效的蛋白表达载体,且便于目的蛋白的进一步分离纯化。目前 TK 基因主要与腺病毒基因重组后,再结合前药更昔洛韦观察体外对肿瘤细胞的杀伤作用,尚无 TK 基因与 pGEX 系列载体重组的报道。安丽娜等^[16]研究表明,将胞嘧啶脱氨酶(CD)自杀基因与 pGEX 载体重组后再转入双歧杆菌,自杀基因能很好表达,对黑色素瘤细胞有较强的杀伤力。因此将构建好的 pGEX-4T-2-TK 原核表达质粒转入双歧杆菌后,可望克服病毒载体不能静脉给药的局限,实现载体安全性与靶向性的统一。

本实验构建的 pGEX-4T-2-TK 原核表达载体,经过双酶切、PCR 扩增、测序等鉴定表明重组质粒构建成功,并在大肠杆菌 BL21 内能稳定表达,为进一步研究转入双歧杆菌后能否靶向杀伤恶性肿瘤细胞打下了基础。

(志谢:感谢泸州医学院附属医院肿瘤科放射生物与生物治疗实验室杨玲麟博士及汪碧琼老师对本研究提供的技术性帮助。)

参考文献:

- [1] Weber W, Fussenegger M. Pharmacologic transgene control systems for gene therapy[J]. *J Gene Med*, 2006, 8(5):533.
- [2] Wang J, Lu XX, Chen DZ, et al. Herpes simplex virus thymidine kinase and ganciclovir suicide gene therapy for human pancreatic cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(3):400.
- [3] 卢圣栋. 现代分子生物学实验技术[M]. 2 版. 北京:中国协和医科大学出版社, 2001:292.
- [4] Inoue M, Mukai M, Hamanaka Y, et al. Targeting hypoxic cancer cells with a protein prodrug is effective in

experimental malignant ascites[J]. *Int J Oncol*, 2004, 25(3):713.

- [5] Mancheno-Corvo P, Martin-Duque P. Viral gene therapy [J]. *Clin Transl Oncol*, 2006, 8(12):858.
- [6] Liu XY. Targeting gene-virotherapy of cancer and its prosperity[J]. *Cell Res*, 2006, 16(11):879.
- [7] 王祎琴,洪苏玲. 重组腺病毒相关病毒载体基因治疗研究进展[J]. *重庆医学*, 2006, 35(2):179.
- [8] Hackett NR, Kaminsky SM, Sondhi D, et al. Antivector and antitransgene host responses in gene therapy[J]. *Curr Opin Mol Ther*, 2000, 2:376.
- [9] Wechuck JB, Ozuer A. Effect of temperature, medium composition, and cell passage on production of herpes-based viral vectors [J]. *Biotech and Bioengin*, 2002, 79(1):112.
- [10] Nuyts S, Van Mellaert L, Theys J, et al. Clostridium spores for tumor-specific drug delivery [J]. *Anticancer Drugs*, 2002, 13(2):115.
- [11] Li X, Fu GF, Fan YR, et al. Bifidobacterium adolescentis as a delivery system of endostatin for cancer gene therapy: selective inhibitor of angiogenesis and hypoxic tumor growth[J]. *Cancer Gene Ther*, 2003, 10(2):105.
- [12] Sasaki T, Fujimori M, Hamaji Y, et al. Genetically engineered Bifidobacterium longum for tumor-targeting enzyme-prodrug therapy of autochthonous mammary tumors in rats[J]. *Cancer Sci*, 2006, 97(7):649.
- [13] Abd el-Gawad IA, el-Sayed EM, Hafez SA, et al. Inhibitory effect of yoghurt and soya yoghurt containing bifidobacteria on the proliferation of Ehrlich ascites tumour cells in vitro and in vivo in a mouse tumour model [J]. *Br J Nutr*, 2004, 92(1):81.
- [14] Wang Y, Mai T, Liu MF, et al. Effect of lipoteichoic acid of Bifidobacterium on survivin and its regulatory genes [J]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 2007, 29(5):325.
- [15] 康保国,王卫东,陈正堂,等. 放射诱导 HSV-TK 基因在肺癌细胞中靶向、高效性表达的研究 [J]. *重庆医学*, 2007, 36(6):505.
- [16] 安丽娜,李著华,岳扬,等. 婴儿双歧杆菌介导的 CD 和 UPRT 联合 5-FC 基因疗法对黑色素瘤的体外治疗实验研究[J]. *四川大学学报:医学版*, 2007, 38(1):27.

(收稿日期:2009-08-30 修回日期:2009-09-28)

(上接第 1035 页)

et al. Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress[J]. *Neuroscienc*, 1995, 64(2):477.

- [14] Honkaniemi J, Kononen J, Kainu T, et al. Induction of multiple immediate early genes in rat hypothalamic paraventricular nucleus after stress[J]. *Brain Res Mol Brain*

Res, 1994, 25(3-4):234.

- [15] 黄欢捷,邵蓓,郑荣远,等. 帕罗西汀对心理应激大鼠下丘脑室旁核 c-fos 表达的影响[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2005, 10(3):286.

(收稿日期:2009-09-15 修回日期:2009-10-20)