

· 论 著 ·

## 亚低温对大鼠颅脑损伤后不同时段线粒体 DNA 缺失和酶活性变化的影响\*

何建国<sup>1</sup>, 邓扬嘉<sup>2</sup>, 唐文渊<sup>3</sup>, 钱冠华<sup>4</sup>, 丁嵩涛<sup>5</sup>, 彭惠民<sup>5△</sup>

(1. 重庆市红十字会医院 400020; 2. 重庆市第一人民医院 ICU 400011; 3. 重庆医科大学附属第一医院神经外科 400016; 4. 重庆医科大学细胞生物学与遗传学教研室 400016; 5. 重庆医科大学基础医学实验教学中心 400016)

**摘要:**目的 研究亚低温对颅脑损伤后不同时间神经细胞线粒体 DNA(mtDNA)缺失及缺失 DNA 所编码的酶活性变化的影响,并探讨最佳治疗时程。方法 建立重型颅脑损伤及亚低温治疗重型颅脑损伤动物模型并进行区组随机化分组。分为正常组,损伤 6、12、24、48、72、96、120 h 组,降温 6、12、24、48、72、96、120 h 组,共 15 组,每组 15 只大鼠。检测 mtDNA 的缺失,线粒体 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶及细胞色素氧化酶的活性。结果 损伤及降温各组的缺失/总 mtDNA 的比值较正常组均明显升高( $P < 0.05$ )。损伤 6、12、24、48 h 组及降温 6、12、24、48 h 组的缺失/总 mtDNA 的比值均呈逐渐上升趋势。损伤及降温各組细胞色素氧化酶活性较正常组均明显下降( $P < 0.05$ )。损伤 6、12、24、48 h 组及降温 6、12、24、48 h 组的细胞色素氧化酶活性均呈逐渐下降趋势。损伤及降温各組 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性较正常组均明显下降( $P < 0.05$ )。损伤 6、12、24、48 h 组及降温 6、12、24、48 h 组的 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性均呈逐渐下降趋势。损伤 72、96、120 h 组及降温 72、96、120 h 组中缺失/总 mtDNA 的比值、细胞色素氧化酶活性和 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 亚低温治疗在一定的时间范围内对大鼠颅脑损伤后的脑线粒体能量代谢障碍和 mtDNA 缺失有保护作用。

**关键词:** 重型颅脑损伤;亚低温;DNA,线粒体;酶活性;治疗时程

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.19.005

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)19-1909-03

### The effects of mild hypothermia on rat brain neuron mitochondria DNA deletion and the changes of enzymatic activity in different times after severe head injury\*

He Jianguo<sup>1</sup>, Den Yangjia<sup>2</sup>, Tang Wenyuan<sup>3</sup>, Qian Guanhua<sup>4</sup>, Ding Songtao<sup>5</sup>, Peng Huimin<sup>5△</sup>

(1. Chongqing Red Cross Hospital, Chongqing 400020, China; 2. Department of ICU, First People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400011, China; 3. Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 4. Department of Cell Biology and Genetics, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 5. Basic Medical Experimental Teaching Centre, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the effects of mild hypothermia on rat brain neuron mitochondria DNA deletion and the changes of enzymatic activity in different times after severe head injury and to determine the best treating time. **Methods** Severe head injury treated with mild hypothermia model was set up. Rats were divided into normal group, trauma groups (6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 h) and cooling groups (6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 h) randomly. mtDNA deletion was measured by PCR. The activity of mitochondria Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase and cytochrome oxidase was measured. **Results** Deletion/total mtDNA in trauma and cooling groups were higher than that of normal group ( $P < 0.05$ ). Deletion/total mtDNA presented uptrend in trauma groups (6, 12, 24, 48 h) and cooling groups (6, 12, 24, 48 h). The activity of cytochrome oxidase in trauma and cooling groups was lower than that of normal group ( $P < 0.05$ ). The activity of cytochrome oxidase presented droptrend in trauma groups (6, 12, 24, 48h) and cooling groups (6, 12, 24, 48 h). The activity of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase in trauma and cooling group was lower than that of normal group ( $P < 0.05$ ). The activity of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase presented droptrend in trauma groups (6, 12, 24, 48 h) and cooling groups (6, 12, 24, 48 h). Deletion/total mtDNA, the activity of mitochondria Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase and cytochrome oxidase showed no differences in trauma groups(72, 96, 120 h) and cooling groups (72, 96, 120 h). **Conclusion** Hypothermia treatment played a therapeutic role in rat brain mtDNA deletion and the failure of neuron energy within 72 h after injury.

**Key words:** severe cranocerebral trauma; mild hypothermia; DNA, mitochondria; enzymatic activity, treating times

颅脑损伤后出现继发性缺血、缺氧、细胞因子释放等一系列病理过程,神经元能量衰竭,同时伴有细胞内各种生化变化。线粒体是细胞质中(细胞损伤)惟一含有 DNA 的细胞器,当处于缺血缺氧性颅脑损伤状态时,线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA)易发生突变,因而线粒体是颅脑损伤的亚细胞目标。目前,亚低温已较为广泛的应用于临床,被证实起到了

一定的脑保护作用,但其具体机制尚不清楚。本研究在亚低温治疗重型颅脑损伤动物模型上,探讨亚低温对颅脑损伤后不同时段神经细胞 mtDNA 缺失及缺失 DNA 所编码的酶活性变化的影响,探讨最佳治疗时机。

#### 1 材料与方 法

1.1 重型颅脑损伤及亚低温治疗重型颅脑损伤动物模型的建

立 重型颅脑损伤及亚低温治疗重型颅脑损伤动物模型的建立参照参考文献[1]。

**1.2 实验动物分组** 普通型 SD 大鼠 225 只,雌雄不限,体质量 300~350 g,由重庆医科大学实验动物中心提供。随机分为正常组,损伤后 6、12、24、48、72、96、120 h 组,降温 6、12、24、48、72、96、120 h 组,共 15 组,每组 15 只。

**1.3 脑细胞线粒体的制备**<sup>[2]</sup> 在无酶条件下称取大鼠脑组织 100 mg 在匀浆介质 IM<sub>1</sub> (0.25 mmol/L 蔗糖,1 mmol/L EDTA-Na<sub>2</sub>,50 mmol/L Tris-HCl, pH=7.5) 中匀浆,将匀浆以 1 000×g,4℃离心 10 min,取上清液以 15 000×g,4℃离心 15 min,沉淀即为线粒体,移入 IM<sub>2</sub> 中-30℃保存。提取的线粒体用电镜检查,证实为线粒体,其内包含少许膜小体,见图 1。

**1.4 PCR 检测 mtDNA 的缺失** 引物序列按照大鼠 mtDNA 全序列设计<sup>[3]</sup>,并由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。(1)下列引物位于 mtDNA 的无缺失区,扩增产物 657 bp,引物 1:L15758-15777,5'-ACA GGC ATC TGG TTC TTA CT -3';引物 2:H117-98,5'-CAT GTC TAA TCT TAC CTC CA-3'。(2)下列引物横跨 mtDNA 常见的缺失区,5 430 bp 扩增产物为正常 mtDNA,409 bp 扩增产物为缺失型 mtDNA,引物 3:L7687-7709,5'-GCT TAG AGC GTT AAC CTT TTA AG-3';引物 4:H13117-13099,5'-AAG CCT GCT AGG ATG CTT C-3'。提取大鼠脑神经细胞 mtDNA,按杭州维特洁生化技术有限公司提供的血细胞/培养细胞基因组 DNA 制备试剂盒的说明操作。扩增后均能見到 409 bp 及 5 430 bp 两条带,但为了去除 5 430 bp 带对 409 bp 带的影响,以 Taq I 酶切模板 mtDNA,酶切位点位于 TCGA(5'-T/CGA-3')。以经过上述酶切过程的模板 mtDNA 加入相同的扩增缺失 mtDNA 的反应体系中,反应条件同前,扩增 409 bp 产物。确认并分析 PCR 扩增产物。将琼脂糖凝胶电泳结果用 Microtec ScanMaker E6 系统扫描,输入 Image Master VDS Software 2.0 图像采集及分析系统软

件包进行分析,测定代表 mtDNA 缺失的条带(409 bp 处的扩增产物)和与之同一时段代表线粒体总 DNA 条带(657 bp 处的扩增产物)的绝对积分光密度(OD)值,结果以 409 bp 处的扩增产物的绝对积分 OD 值用与之配对的 657 bp 处的扩增产物绝对积分 OD 值的比值表示。将酶切后经 PCR 扩增的 409 bp 带处的琼脂糖凝胶切割、纯化、回收。

**1.5 神经细胞线粒体 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶、细胞色素氧化酶活性 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶测试盒**(南京建成生物工程研究所)测定大鼠脑神经细胞线粒体 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性。细胞色素 C 氧化酶活性测定试剂盒(Sigma 公司)测定大鼠脑神经细胞线粒体细胞色素氧化酶活性。操作方法参照试剂盒说明书进行。

**1.6 统计学处理** 采用 SPSS13.0 进行统计学处理,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间差异采用 *t* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 各组大鼠不同时间段脑神经细胞 mtDNA 的缺失** 损伤及降温各组的缺失/总 mtDNA 的比值较正常组均明显升高(*P*<0.05)。损伤 6、12、24、48 h 组及降温 6、12、24、48 h 组的缺失/总 mtDNA 的比值均呈逐渐上升趋势,但降温 6、12、24、48 h 组的该比值低于相应时间的损伤组(*P*<0.05);72 h 后该比值到达一平台期,且降温 72、96、120 h 组与相应时间的损伤组比较,差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 1,图 2。

**2.2 各组大鼠脑神经细胞线粒体细胞色素氧化酶活性的比较** 损伤及降温各组细胞色素氧化酶活性较正常组均明显下降(*P*<0.05)。损伤 6、12、24、48 h 组及降温 6、12、24、48 h 组的细胞色素氧化酶活性均呈逐渐下降趋势,但降温 6、12、24、48 h 组该酶活性高于相应时间的损伤组(*P*<0.05)。损伤 72、96、120 h 组及降温 72、96、120 h 组呈逐渐恢复回升趋势,但相同时间的损伤组和降温组该酶活性比较,差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 1。

表 1 各组大鼠脑神经细胞缺失/总 mtDNA 的比值、线粒体细胞色素氧化酶、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶的活性( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

组别	缺失/总 mtDNA 的比值	细胞色素氧化酶活性 (×10 <sup>-3</sup> U/mL)	Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> -ATP 酶的活性 [μmolPi/mg(prot)·h <sup>-1</sup> ]
正常组	0.27±0.02	6.32±0.04	36.15±2.47
损伤 6 h 组	0.59±0.05 <sup>☆</sup>	4.00±1.02 <sup>☆</sup>	31.32±2.05 <sup>☆</sup>
降温 6 h 组	0.41±0.04 <sup>☆△</sup>	5.20±0.04 <sup>☆△</sup>	34.91±3.00 <sup>☆△</sup>
损伤 12 h 组	0.68±0.01 <sup>☆</sup>	3.23±0.06 <sup>☆</sup>	26.59±1.36 <sup>☆</sup>
降温 12 h 组	0.50±0.03 <sup>☆△</sup>	5.00±0.04 <sup>☆△</sup>	27.25±1.01 <sup>☆△</sup>
损伤 24 h 组	0.79±0.05 <sup>☆</sup>	1.31±0.01 <sup>☆</sup>	25.41±1.01 <sup>☆</sup>
降温 24 h 组	0.65±0.01 <sup>☆△</sup>	3.42±0.01 <sup>☆△</sup>	28.62±2.14 <sup>☆△</sup>
损伤 48 h 组	0.85±0.07 <sup>☆</sup>	0.85±0.02 <sup>☆</sup>	20.67±2.54 <sup>☆</sup>
降温 48 h 组	0.70±0.06 <sup>☆△</sup>	2.51±0.03 <sup>☆△</sup>	24.87±2.01 <sup>☆△</sup>
损伤 72 h 组	0.89±0.04 <sup>☆</sup>	0.90±0.03 <sup>☆</sup>	15.18±1.05 <sup>☆</sup>
降温 72 h 组	0.83±0.01 <sup>☆</sup>	0.86±0.02 <sup>☆</sup>	18.35±3.01 <sup>☆</sup>
损伤 96 h 组	0.90±0.02 <sup>☆</sup>	1.88±0.41 <sup>☆</sup>	16.23±2.12 <sup>☆</sup>
降温 96 h 组	0.87±0.05 <sup>☆</sup>	1.72±0.15 <sup>☆</sup>	17.05±1.28 <sup>☆</sup>
损伤 120 h 组	0.85±0.03 <sup>☆</sup>	2.87±0.36 <sup>☆</sup>	17.20±1.59 <sup>☆</sup>
降温 120 h 组	0.92±0.06 <sup>☆</sup>	3.00±0.24 <sup>☆</sup>	15.74±2.04 <sup>☆</sup>

☆: *P*<0.05,与正常组比较;△: *P*<0.05,与相同时间的损伤组比较。

**2.3 各组大鼠脑神经细胞线粒体 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性的比较** 损伤及降温各组 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性较正常组均明显下降(P<0.05)。损伤 6、12、24、48 h 组及降温 6、12、24、48 h 组的 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性均呈逐渐下降趋势,但降温 6、12、24、48 h 组该酶活性高于相应时间的损伤组(P<0.05)。损伤 72、96、120 h 组及降温 72、96、120 h 组中该酶活性呈一平台期,但相同时间的损伤组和降温组该酶活性比较,差异无统计学意义(P>0.05)。见表 1。

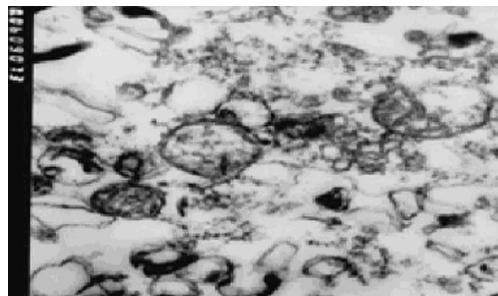
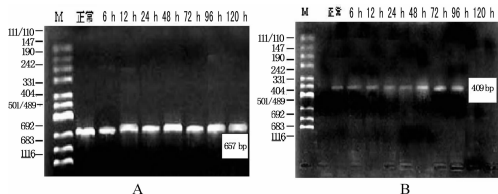


图 1 大鼠脑组织中提取的线粒体,内有少量膜小体(电镜×10 000)



A: 正常 mtDNA; B: 缺失 mtDNA; M: Marker。

图 2 降温各组酶切后的正常和缺失 mtDNA 琼脂糖电泳图

**3 讨 论**

线粒体是调控细胞凋亡的关键部位,缺血缺氧性颅脑损伤造成 mtDNA 缺失,对细胞生化功能影响非常大。而 mtDNA 的转录、翻译需要在核转录因子的调控下才能完成。在神经元发生缺血时,神经细胞核 DNA 的转录、翻译受到影响,因此其所编码的蛋白质和调控因子也会发生改变,进而影响了 mtDNA 的转录与翻译。有学者报道,在前脑缺血 3.5 min 后,海马 CA1 区神经元 mtDNA 的表达呈选择性和进行性降低<sup>[4]</sup>。脑组织急性缺血和缺血-再灌注均可引起 mtDNA 的缺失<sup>[5]</sup>。点突变和缺失突变是 mtDNA 突变的两种主要形式。mtDNA 缺失碱基片段通常在 1.3~7.6 kb,所谓“普通缺失”。此缺失在 8 482 位碱基至 13 459 位碱基之间,共缺失 4 977 碱基,包括编码部分 ATP 合酶亚单位 8、ATP 合酶亚单位 6 和细胞色素 C 氧化酶亚单位 III 以及 ND1~ND5 基因<sup>[6]</sup>。大鼠 mtDNA 与人类 mtDNA 相似,也存在类似的缺失,缺失片段为 4.8 kb<sup>[7]</sup>。脑组织缺血缺氧后,神经元将经过一个毒性级联反应,开始于能量障碍,mtDNA 可能受到多种因素的伤害。另外,在线粒体氧化磷酸化过程中,大约有 1%~4% 的摄入氧转化为氧自由基。氧自由基电子传递系统溢出,最易损伤 mtDNA,其易损伤程度高于核 DNA 的 16 倍以上,可引起 mtDNA 发生片段缺失。

脑组织高度依赖有氧代谢保持离子平衡、膜稳定性、神经功能和结构完整。mtDNA 缺失,将直接影响 ATP 酶和细胞色素 C 氧化酶的活性。而细胞色素 C 氧化酶是呼吸链的终端酶,为传递电子复合物 IV,在细胞的有氧代谢和氧化磷酸化耦联中起着重要作用,是神经细胞内源性代谢的标志。

另外,NO 及其衍生物抑制细胞线粒体呼吸链或竞争性地抑制细胞色素氧化酶<sup>[8-9]</sup>。而细胞色素氧化酶是神经细胞内源性代谢的标志。本实验观察到大鼠脑组织线粒体的细胞色素氧化酶活性在损伤 72 h 内呈下降趋势,可以推断脑组织的能量障碍已开始加重。脑组织 ATP 的形成主要依赖葡萄糖的有氧分解,而生物体 90% 分子氧的消耗过程都在细胞色素氧化酶处完成。当细胞色素氧化酶活性降低后,ATP 合成将减少,使原已存在的能量匮乏更加严重,导致 ATP 酶活性进一步下降。

近些年来,有关亚低温在颅脑损伤中的研究很多。已有一些研究证明其具有一定的临床疗效<sup>[10-14]</sup>。本实验观察到在损伤 72 h 内大鼠脑组织缺失/总 mtDNA 的比值明显升高、组细胞色素氧化酶活性和 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性明显降低。降温 6、12、24、48 h 组与损伤 6、12、24、48 h 组比较,缺失/总 mtDNA 的比值明显降低、细胞色素氧化酶活性和 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性明显升高。而损伤 72、96、120 h 组与降温 72、96、120 h 组比较差异无统计学意义(P>0.05)。说明亚低温治疗在 72 h 内,能够缓解 mtDNA 的缺失突变,由 mtDNA 参与编码的细胞色素氧化酶、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性在此阶段也有所上升。但 72 h 之后,mtDNA 的缺失已进入一平台期,亚低温治疗对其影响不大,Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性也无显著变化。从而证实了,亚低温治疗在一定的时间内(损伤 72 h 内)对大鼠颅脑损伤的脑线粒体能量代谢障碍和 mtDNA 缺失有保护作用。

**参考文献:**

- [1] 何建国,唐文渊.亚低温治疗重型颅脑损伤模型的建立与评估[J].中华损伤杂志,2005,21(4):244-246.
- [2] 马宇洁,杨兴易,林兆奋,等.心肺复苏后大鼠脑线粒体通透性转换孔变化在细胞能量代谢障碍中的作用及机制[J].医学研究杂志,2010,39(10):37-40.
- [3] Sasaki C,Kitagawa H,Zhang WR,et al. Temporal profile of cytochrome c and caspase-3 immunoreactivities and TUNEL staining after permanent middle cerebral artery occlusion in rats[J].Neurol Res,2000,22(2):223-228.
- [4] Lemasters JJ. Selective mitochondrial autophagy,or mitophagy,as a targeted defense against oxidative stress,mitochondrial dysfunction,and aging[J].Rejuv Res.2005,8(1):3-5.
- [5] 戢翰升,汪林涛,徐峰,等.重型颅脑损伤亚低温治疗的温度、时机和时程对疗效的影响[J].中国临床神经外科杂志,2005,10(1):45-46.
- [6] Calabrese V,Lodi R,Tonon C,et al. Oxidative stress,mitochondrial dysfunction and cellular stress response in Friedreich's ataxia[J].J Neurol Sci,2005,233(1-2):145-162.
- [7] 黎洁,杨丽彩,周彩凤,等.脑缺血预处理诱导海马 CA1 区神经元 Bad 磷酸化及其蛋白表达的变化[J].解剖学杂志,2010,33(4):484-487.
- [8] Brown GC,Borutaite VO. Cytochrome C and mitochondria[J].Biochem Soc Symp,1999,66(1):17-25.
- [9] Bolanos JP,Almeida A,Medina JM. Nitric oxide mediates brain mitochondrial damage during perinatal anoxia[J].Brain Res,1998,787(1):117-122.
- [10] 只达石,张赛,肖绪林,等.亚低温对急(下转第 1914 页)

生 IL-8 和 TNF- $\alpha$  诱导血管的生成<sup>[4]</sup>。同时血管内皮细胞的移行在很大程度上依赖于 CXCL12, 血管内皮细胞可沿着 CXCL12 迁移并以依赖 CXCL12 的方式诱导肿瘤血管的生成。CXCL12 还可通过诱导肿瘤细胞产生纤溶酶原激活物抑制剂-1(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)抑制纤溶酶原激活物(PA)来发挥其促进肿瘤增殖和血管发生的作用<sup>[5]</sup>。研究还显示,在 CXCL12 抗体存在的条件下非小细胞肺癌(NSCLC)的转移在很大程度上被抑制了<sup>[6]</sup>,并且在细胞表面阻断 CXCR4 的表达能极大降低肿瘤细胞向肝脏和肺脏的转移,在肿瘤经常转移的器官如淋巴结、肺脏、肝脏和骨髓等中发现表达有较高水平的 CXCL12<sup>[7]</sup>。肿瘤的散播可以被看为涉及细胞外基质降解的过程,金属蛋白酶(MMPs)能使周围正常组织的细胞外基质降解并能介导肿瘤的侵袭和转移。许多研究证实,在多种肿瘤细胞中 CXCL12 能诱导 MMPs 的合成和肿瘤细胞的粘附来促进肿瘤细胞的转移<sup>[8]</sup>。CXCL12 和 CXCR4 在一些肿瘤细胞中的高表达也许暗示着 CXCL12/CXCR4 信号通路在引导肿瘤细胞向特定器官的转移中方面发挥着关键性的作用。

目前通过阻断 CXCL12 和 CXCR4 的相互作用和抑制下游细胞内酶的活性, CXCL12/CXCR4 信号通路已成为相关疾病治疗的一个重要靶点。CXCR4 拮抗剂——AMD3100 的安全性、耐受性和有效性在临床实验中已经得到证实<sup>[9]</sup>。临床试验显示非霍奇金淋巴瘤和多发性骨髓瘤患者在应用 AMD3100 和 G-CSF 后与单独应用 G-CSF 相比,更多的患者收集到了最佳数量的干细胞用于自体移植<sup>[10]</sup>。CXCL12 拮抗剂类似物 CTCE-9908 在小鼠的乳腺癌模型中能降低肿瘤的转移和原发肿瘤的生长,并能小鼠的前列腺癌模型中减小肿瘤的体积<sup>[11]</sup>。

本研究认为在星形细胞瘤中存在 CXCL12 和 CXCR4 的高表达,其表达水平与病理级别密切联系,并且二者的表达呈现明显的正相关。检测 CXCL12 和 CXCR4 的表达水平可能对临床治疗和判断星形细胞瘤病理级别、分化程度及预后具有一定的指导意义。

#### 参考文献:

[1] 王忠诚,王忠诚神经外科学[M].武汉:湖北科学技术出版社,2005:541.  
[2] Barbero S, Bonavia R, Bajetto A, et al. Stromal cell-derived factor 1 stimulates human glioblastoma cell growth through the activation of both extracellular signal-regulated kinases 1/2 and Akt[J]. Cancer Res, 2003, 63(8):

1969-1974.

[3] Kryczek I, Lange A, Mottram P, et al. CXCL12 and vascular endothelial growth factor synergistically induce neoangiogenesis in human ovarian cancers [J]. Cancer Res, 2005, 65(2):465-472.  
[4] Curiel TJ, Cheng P, Mottram P, et al. Dendritic cell subsets differentially regulate angiogenesis in human ovarian cancer[J]. Cancer Res, 2004, 64(16):5535-5538.  
[5] Oh JW, Olman M, Benvenise EN. CXCL12-Mediated induction plasminogen activator inhibitor-1 expression in human CXCR4 positive astrogloma cells[J]. Biol Pharm Bull, 2009, 32(4):573-577.  
[6] Phillips RJ, Burdick MD, Lutz M, et al. The stromal derived factor-1/ CXCL12- CXC chemokine receptor 4 biological axis in non-small cell lung cancer metastases[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2003, 167(12):1676-1686.  
[7] Muller A, Homey B, Soto H, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis [J]. Nature, 2001, 410(6824):50-56.  
[8] Klier CM, Nelson EL, Cohen CD, et al. Chemokine-induced secretion of gelatinase B in primary human monocytes[J]. Biol Chem, 2001, 382(9):1405-1410.  
[9] DiPersio JF, Micallef IN, Stiff PJ, et al. Phase III prospective randomized double-blind placebo-controlled trial of plerixafor plus granulocyte colony-stimulating factor compared with placebo plus granulocyte colony-stimulating factor for autologous stem-cell mobilization and transplantation for patients with non-Hodgkins lymphoma [J]. J Clin Oncol, 2009, 27(28):4767-4773.  
[10] DiPersio JF, Stadtmauer EA, Nademanee A, et al. Plerixafor and G-CSF versus placebo and G-CSF to mobilize hematopoietic stem cells for autologous stem transplantation in patients with multiple myeloma[J]. Blood, 2009, 113(23):5720-5726.  
[11] Porvasnik S, Sakamoto N, Kusmartsev S, et al. Effects of CXCR4 antagonist CTCE-9908 on prostate tumor growth [J]. Prostate, 2009, 69(13):1460-1469.

(收稿日期:2011-12-01 修回日期:2012-01-06)

(上接第 1911 页)

性重型颅脑损伤患者治疗机理及临床疗效研究[J]. 中华神经外科杂志, 2001, 17(5):51-55.  
[11] 邹国英,蒋洪敏. 颅脑损伤患者外周血髓过氧化物酶的变化及临床意义[J]. 重庆医学, 2011, 40(29):2915-2917.  
[12] Curfman GD. Hypothermia to protect the brain[J]. N Engl J Med, 2002, 346(8):546-556.

[13] 王琴,黄慧玲,刘锐,等. 亚低温对急性颅脑损伤大鼠线粒体呼吸链酶活性的影响[J]. 天津医药, 2008, 36(7):524-526.  
[14] 班桂玲. 亚低温疗法治疗急性期脑出血 108 例疗效观察 [J]. 山东医药, 2009, 49(18):78-79.

(收稿日期:2011-10-09 修回日期:2012-03-22)