

· 基础研究 ·

颈交感神经阻滞对烧伤大鼠蓝斑放电的影响*

郭晓姝¹, 巩继平², 高改萍¹, 张翠英¹

(1. 长治医学院生理教研室, 山西长治 046000; 2. 新乡市中心医院麻醉科, 河南新乡 453000)

摘要:目的 探讨颈交感神经阻滞(SB)对烧伤大鼠蓝斑神经元电生理变化的影响。方法 成年健康雄性 Wistar 大鼠 20 只, 随机分为 4 组, 对照组、对照 SB 组、烧伤组和烧伤 SB 组, 每组 5 只。总体表面积(total body surface area, TBSA) 20% III 度大鼠烧伤模型, 4 h 后观察蓝斑神经元放电, HE 染色组织学定位, 免疫组织化学方法验证。结果 在放电频率、放电脉冲间隔(ISI)、众数和不对称指数(AI), 对照组和对照 SB 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$); 烧伤组和烧伤 SB 组放电频率显著高于对照组和对照 SB 组($P < 0.01$), 而烧伤组又显著高于烧伤 SB 组($P < 0.01$); 烧伤组和烧伤 SB 组 ISI 和众数显著高于对照组和对照 SB 组($P < 0.01$), 而烧伤 SB 组又显著高于烧伤组($P < 0.01$); 烧伤组和烧伤 SB 组 AI 显著高于对照组和对照 SB 组($P < 0.01$), 而烧伤 SB 组和烧伤组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。免疫组织化学方法显示蓝斑神经元主要为多巴胺 β 羟化酶(DβH)神经元。结论 SB 对烧伤的治疗作用中枢机制之一可能是通过抑制蓝斑神经元放电活动来实现。

关键词: 烧伤; 自主神经传导阻滞; 蓝斑; 放电形式

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2013.14.013

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)14-1598-03

Effect of cervical sympathetic block on electric discharge of locus ceruleus neurons in burned rats*

Guo Xiaoshu¹, Gong Jiping², Shang Gaiping¹, Zhang Cuiying¹

(1. Department of Physiology, Changzhi Medical College, Changzhi, Shanxi 046000, China;

2. Department of Anesthesiology, Xinxiang Central Hospital, Xinxiang, Henan 453000 China)

Abstract: Objective To investigate the effect of cervical sympathetic block(SB) on the electrophysiology change of locus ceruleus neurons in burned rats. **Methods** 20 healthy, male adult Wistar rats were divided into 4 groups randomly and equally, control group, control+SB group, burned group and burned + SB group, 5 cases in each group, with burned injury of TBSA 20% III°. The discharge style of locus ceruleus neurons were observed after 4 h. The location of locus ceruleus was confirmed by HE staining and validated by immunohistochemical method. **Results** The mean discharge frequency, mean ISI, mean mode and asymmetry index of hypothalamus neurons had no statistical difference between the control group and the control+SB group($P > 0.05$); the mean discharge frequency of neurons in the burned group and the burned+SB group were significantly higher than that in the control group and the control+SB group($P < 0.01$), and burned group were significantly higher than the burned+SB group($P < 0.01$). The mean ISI and mean mode of neurons in the burned group and the burned+SB group were significantly higher than those in the control group and the control+SB group($P < 0.01$), and burned+SB group were significantly higher than burned group($P < 0.01$). The asymmetry index(AI) of neurons in the burned group and the burned+SB group were significantly higher than that in the control group and the control+SB group($P < 0.01$), and difference between the burned group and the burned + SB group had no statistical significance($P > 0.05$). The immunohistochemical method showed that locus ceruleus neurons were mainly DβH neurons. **Conclusion**

One of central mechanisms of therapeutical effect of SB to burned injury may be to inhibit the electric discharge activity of locus ceruleus neurons.

Key words: burns; autonomic nerve block; locus coeruleus; discharge style

烧伤迄今为止仍居创伤死亡率之首。烧伤引起下丘脑-垂体-肾上腺皮质系统(HPA轴)和交感-肾上腺素系统(SAM)强烈兴奋参与调控机体对刺激的急性反应, 但强烈的 HPA 轴和 SAM 系统的兴奋也可以引起炎症反应综合征(SIRS)、大量能量消耗和组织分解, 甚至导致血管痉挛, 某些部位组织缺血, 致死性心律失常等^[1]。蓝斑(locus coeruleus, LC)与机体应激反应密切相关。应激时蓝斑区及其投射区(下丘脑、杏仁体、海马)去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)神经元激活和反应性增高, NE 水平升高。同时, 蓝斑神经元与 HPA 轴反应启动关系密切^[2]。颈交感神经阻滞(cervical sympathetic block, SB)是将局部麻醉药注入颈交感神经及其附近组织, 以达到颈交感干、颈交感神经节与节前、节后神经及其支配范围的区域性阻滞^[3]。针对 SB, 国内外学者作了广泛的研究, 发现其对全身很

多系统功能活动有影响, 能明显地促进机体内稳态的恢复^[4]。有研究表明, SB 可明显降低烧伤复合伤小鼠的死亡率, 促进小鼠内分泌、免疫和造血等功能的恢复^[5]。SB 是否可以成为中枢性调控创伤应激, 有益于创伤救治的简单、可靠的手段, 及其机制如何? 本文进行了如下研究。

1 材料与方

1.1 材料 动物及分组: 本实验选用普通级 3 月龄雄性 Wistar 大鼠 20 只, 购自长治医学院动物中心, 体质量 250~300 g, 随机分为 4 组, 对照组、对照 SB 组、烧伤组及烧伤 SB 组, 每组 5 只。试剂: 0.894% 罗哌卡因, 购自扬子江药业集团有限公司; 多巴胺 β 羟化酶(DβH, 合成 NA 的一种标志性酶)一抗购自北京中杉金桥; SABC 免疫组织化学染色试剂盒、DAB 显色试剂盒等购自武汉博士德生物工程有限公司。仪器与设备: 脑

* 基金项目: 山西省高等学校科技研究开发自选项目(20091133)。研究。

作者简介: 郭晓姝(1973~), 讲师, 硕士研究生, 主要从事神经生理学

表 1 各组蓝斑核放电频率和放电参数的比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 神经元(n) | 放电频率(Hz) | ISI(ms) | 众数(ms) | AI |
|---------|--------|----------------|-------------------|-------------------|------------|
| 对照组 | 30 | 172.14±39.21 | 1 452.00±133.00 | 1 337.00±142.00 | 0.68±0.05 |
| 对照 SB 组 | 30 | 169.57±27.33 | 1 317.00±140.00 | 1 295.00±126.00 | 0.72±0.03 |
| 烧伤组 | 30 | 441.74±49.52* | 639.00±98.00* | 694.00±76.00* | 0.82±0.01* |
| 烧伤 SB 组 | 30 | 271.63±41.15*△ | 1 102.00±128.00*△ | 1 063.00±114.00*△ | 0.81±0.04* |

*: $P < 0.01$, 与对照组及对照 SB 组比较; △: $P < 0.01$, 与烧伤组比较。

立体定位仪购自国营西北光学仪器厂; 显微照相系统(OlympusBH-2)购自日本 Olympus 公司。

1.2 方法

1.2.1 动物模型制作 烧伤组和烧伤 SB 组采用总体表面积(total body surface area, TBSA) 20% III 度大鼠烧伤模型, 即燃烧法^[6]: 将凝固汽油涂布于动物拟烧伤区, 周围用耐火材料保护, 点燃, 8 s 后立即一次性扑灭火焰。烧伤面积(cm^2) = 体表面积(cm^2) × 拟烧伤面积百分比(%); 体表面积(cm^2) = $K \times$ 体质量(kg)^{2/3} $K \approx 0.1$ 。对照 SB 组和烧伤 SB 组, 在烧伤后即刻, 采用颈后穿刺法, 双侧注射 0.1% 罗哌卡因各 0.3 mL, 以其出现持续性的睑裂狭小等霍纳综合征表现为 SB 成功的标志, 对照组和烧伤组注射等量 0.9% NaCl。

1.2.2 蓝斑定位 4 h 后取雄性 Wistar 大鼠行 20% 乌拉坦(1.2 mL/kg)腹腔麻醉后, 将大鼠头部俯位固定于脑立体定位仪上, 行常规开颅术, 暴露颅骨。根据 Paxinos-Watson 大鼠脑定位图谱对蓝斑进行定位, 蓝斑矢状缝右侧的坐标位置, 高度从脑表计, 坐标为前凶后(AP)9.68 mm, 矢状缝右(LR)1.2 mm, 颅骨膜下(D)7.2 mm。

1.2.3 微电泳及细胞外记录 用微电极控制器自制多管玻璃微电极, 作为神经元放电活动引导和微电泳电极, 电极尖端电阻 10~30 mΩ, 灌注液为 0.5 mol/L 醋酸钠含 2% 滂胺天蓝。借助微电极推进器将微电极缓缓插入蓝斑。神经元单位放电经微电极放大器引导、滤波后显示于示波器, 并输入计算机 BL-420 生物信号处理系统进行处理, 储存和进行频率及放电形式的分析。采样时间 7~10 min。整个实验过程中监测大鼠心电图, 直肠温度维持在(37±0.5)℃。

1.2.4 组织学定位 实验结束后经中心管给予微量泵输注 0.9% NaCl 5 s, 将滂胺天蓝注射到记录部位。取脑固定于 4% 中性多聚甲醛溶液内, 30 d 后做常规石蜡切片, HE 染色, 进行组织学鉴定。

1.2.5 免疫组织化学检测 采用链霉亲和素-生物素-过氧化物复合物技术(streptavidin avidin biotin-peroxidase complex technique, SABC 技术), 每组挑选定位后切片作免疫组织化学检测。切片常规脱蜡后, 滴加 3% H_2O_2 于切片上, 避光, 室温 5~10 min 以灭活内源性酶, 蒸馏水洗涤 3 次; 将切片浸入装有 0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液的烧杯中, 放入烧杯内, 用电炉加热至沸腾后断电(5 min 后重复该过程), 自然冷却后用 PBS 洗涤 2 次; 滴加 5% 牛血清清蛋白(BSA)封闭液后放入湿盒, 室温 20 min, 甩去多余液体, 不洗; 滴加稀释 1:200 稀释的 DβH 一抗, 置于 4℃ 冰箱中过夜, PBS 洗涤 2 min 3 次; 滴加生物素化山羊抗大鼠 IgG, 室温(20~37℃)20 min, PBS 洗涤 2 min 3 次; 滴加试剂 SABC, 室温(20~37℃)20 min, PBS 洗涤 5 min 4 次。DAB 显色: 使用 DAB 显色试剂盒, 取 1 mL 蒸馏水, 加试剂盒中 A、B、C 试剂各一滴, 混匀加至切片, 室温显色, 镜下控制显色时间, 约 7~10 min, 然后用蒸馏水洗涤, 显微镜下观察。

1.3 统计学处理 采用 SSPS13.0 统计软件进行统计学分析。计量资料数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, 计数

资料采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 组织学定位 蓝斑中的神经元主要为中等大小的神经元。蓝斑是中枢神经系统对应激最敏感的脑区, 这些神经元有广泛的上、下纤维联系, 上行可投射至杏仁体、边缘皮质、新皮质, 下行则至脊髓侧角。神经元密集的区域即为蓝斑核, 见图 1。

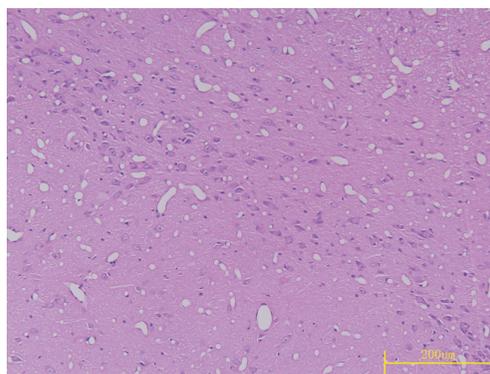


图 1 大鼠蓝斑的 HE 染色图(SP×100)

2.2 放电形式分析 每组计数 30 个蓝斑神经元的自发放电活动。基本放电形式有两种: (1) 不规则放电, 放电脉冲间隔(interspike interval, ISI)为随机分布; (2) 爆发式放电, ISIH 呈明显的逐渐衰减的正偏态分布。从 ISIH 中测量和计算众数(mode)、不对称指数(asymmetry index, AI), 以协助判断神经元放电形式的变化。放电频率、ISI、众数和 AI 组间两两比较, 对照组和对照 SB 组差异无统计学意义($P > 0.05$); 烧伤组和烧伤 SB 组放电频率显著高于对照组和对照 SB 组($P < 0.01$), 而烧伤组又显著高于烧伤 SB 组($P < 0.01$); 烧伤组和烧伤 SB 组 ISI 和众数显著高于对照组和对照 SB 组($P < 0.01$), 而烧伤 SB 组又显著高于烧伤组($P < 0.01$); 烧伤组和烧伤 SB 组 AI 显著高于对照组和对照 SB 组($P < 0.01$), 而烧伤 SB 组和烧伤组组间差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 1。放电形式在各组间差异无统计学意义($P > 0.05$); 但烧伤组和烧伤 SB 组的不规则放电例数多于对照组和对照 SB 组, 而烧伤 SB 组的不规则放电例数多于烧伤组, 见表 2。

表 2 各组蓝斑核放电形式的比较[n(%), n=30]

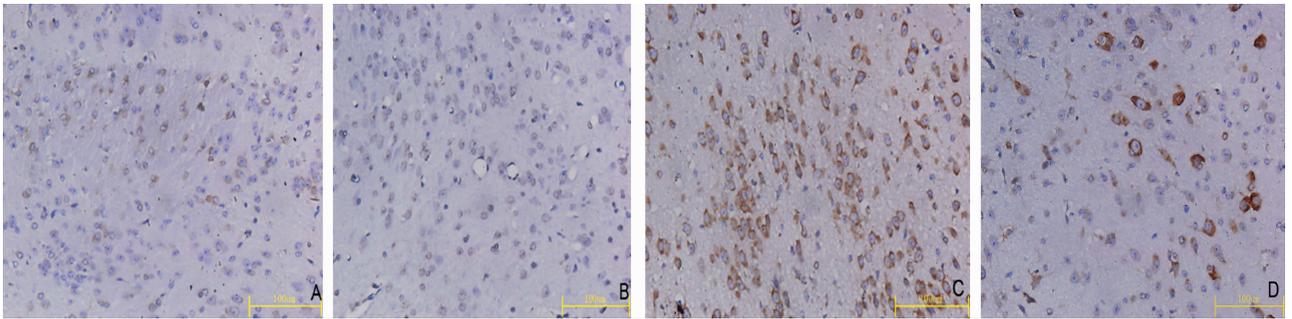
| 组别 | 不规则放电 | 爆发式放电 |
|---------|-------------|-----------|
| 对照组 | 17(56.67) | 13(43.33) |
| 对照 SB 组 | 16(53.33) | 14(46.67) |
| 烧伤组 | 12(40.00)* | 18(60.00) |
| 烧伤 SB 组 | 14(46.67)*△ | 16(53.33) |

*: $P < 0.01$, 与对照组及对照 SB 组比较; △: $P < 0.01$, 与烧伤组比较。

2.3 免疫组织化学检测结果 经过 DβH 一抗作用的免疫组织化学图片显示, DβH 呈黄色或棕黄色的颗粒, 着色于细胞质, 证明蓝斑神经元主要为去甲肾上腺素能神经元。去甲肾上腺

腺素能神经元以血液中的酪氨酸为原料,在细胞质内经酪氨酸羟化酶催化形成多巴,再经过多巴脱羧酶催化形成多巴胺(DA)。DA 进入囊泡后,经 D β H 催化而形成去甲肾上腺素。图中对照组细胞着色轻,对照 SB 组细胞着色与对照组无显著

区别,烧伤组细胞大面积广泛 D β H 阳性着色,与对照组及对照 SB 组形成显著差异,烧伤 SB 组细胞 D β H 阳性着色面积局限缩小,与烧伤组差异显著。见图 2。



A: 对照组; B: 对照 SB 组; C: 烧伤组; D: 烧伤 SB 组。

图 2 各组大鼠蓝斑 D β H 免疫组织化学图(SP \times 400)

3 讨 论

脑内核团中的细胞活动均可表现为细胞生物放电的变化,可以采用记录核团放电来反映其生物活跃程度。神经元放电由其本身和传入纤维的状态共同决定,在分析放电序列时,希望从中了解尽可能多的神经元的的信息,有两个很关键的问题是放电的频率和放电序列的细节(放电形式)。本研究中,研究对象是正常和烧伤大鼠蓝斑神经元放电。在放电分析中使用了放电频率、放电形式和几个与放电形式判别相关的参数,众数指最高频率的 ISI;不对称指数为众数与平均 ISI 的比值,反映 ISIH 的形状,该值小于 1 表示正偏态分布^[7]。鉴于烧伤后急性应激期电生理显著,实验取烧伤 4 h 观察神经放电。本研究首先观察对照组正常雄性 Wistar 大鼠蓝斑神经元放电频率、放电参数和放电形式,在烧伤后各项指标显著增高。证明烧伤应激使蓝斑-去甲肾上腺素轴兴奋,蓝斑神经元放电活跃,也反应烧伤使神经元自身代谢活动发生变化。在实验过程中发现,烧伤组大鼠蓝斑放电频率显著增加,以爆发式放电增加为主。免疫组织化学结果也证实,烧伤后 D β H 阳性染色神经元大面积增加,表明烧伤后大鼠蓝斑去甲肾上腺素能神经元群兴奋,冲动从脑桥、延髓经脊髓再经大内脏神经传向肾上腺髓质,使去甲肾上腺素、肾上腺素等儿茶酚胺分泌,引起全身脏器出现应激反应。对照 SB 组大鼠各项指标与对照组大鼠无显著差异。说明 SB 作为治疗手段对正常大鼠蓝斑神经元活动影响无显著差异。烧伤 SB 组大鼠各项指标较烧伤组大鼠显著降低。说明 SB 作为治疗手段可显著降低蓝斑应激电活动,免疫组织化学结果也证实,烧伤 SB 后 D β H 阳性染色神经元面积较烧伤组局限。

与应激最密切相关的中枢神经系统部位包括边缘系统的皮质、杏仁体、海马、下丘脑和脑桥的 LC 等结构。蓝斑位于三叉神经中脑核内侧、第四脑室底与侧壁交界处室底灰质的腹外侧区,整个核团从面神经核平面一直延伸至中脑下丘平面尾侧。聚集了脑内大多数去甲肾上腺素能神经元,是脑内去甲肾上腺素的主要来源^[2]。应激时蓝斑区及其投射区(下丘脑、杏仁体、海马)NE 神经元激活和反应性增高,NE 水平升高,机体出现紧张、焦虑、害怕或愤怒等情绪反应。蓝斑神经元与下丘脑室旁核中促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)神经元有直接的纤维联系,可能成为 HPA 反应启动的关键。蓝斑神经系统是应激时起监视作用的机构,负有 HPA 轴的控制开关功能,该系统的激活对应激性关联性疾病的发生发展具有重要的意义^[1]。

SB 对下丘脑-垂体促性腺功能的调节作用,主要有外周作用和中枢作用两方面,其外周作用是由于阻滞部位的节前和节后纤维的功能受到抑制,分布区内的交感神经纤维支配的心血管运动、腺体分泌、肌肉紧张、支气管收缩及痛觉传导受抑制等;中枢作用主要是调节神经-内分泌-免疫系统,维护内环境的稳定等^[4]。本课题前期研究了 SB 对烧伤后早期小鼠 IFIT1 表达的影响,结果发现,SB 可使 IFIT1 表达下调^[8],这一结果提示 SB 可能通过降低 IFIT1 表达而减少了 IFIT1 与糖皮质激素受体结合,可以促进严重创伤后巨噬细胞 GR 水平的恢复,从而改善严重创伤后组织细胞的 GR 功能。陆建华等^[9]发现,SB 治疗使放烧复合伤后小鼠死亡率显著降低;使伤后血白细胞、红细胞及血小板数显著增加,表明 SB 可以促进放烧复合伤后造血功能的恢复,是 SB 对放烧复合伤具有治疗作用的重要机制;使伤后的血清炎症细胞因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-1 β (IL-1 β),白细胞介素-6(IL-6)水平显著下降;提示 SB 可以抑制严重创伤后的过度炎症反应(SIRS)的发生,促进机体免疫功能稳态的恢复,是 SB 降低放烧复合伤动物死亡率的机制之一。

本研究显示,SB 对烧伤的治疗作用的中枢机制之一可能是通过抑制蓝斑神经元放电活动,从而抑制烧伤后过度应激引起的 SIRS 来实现的。SB 是有可能成为中枢性调控创伤应激的手段,有益于创伤救治的简单化。

参考文献:

- [1] 蒋春雷,陆长林. 应激医学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2006.
- [2] 李慢,韩芳,石玉秀. 创伤后应激障碍大鼠蓝斑核神经元细胞凋亡的实验研究[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,2010,19(1):15-19.
- [3] 吴可晚,陈琳,顾伟. 大鼠颈中交感神经节阻滞模型的建立[J]. 复旦学报:医学版,2010,37(6):662-665.
- [4] 陆建华,陶军,叶建宁,等. 颈交感神经阻滞对放烧复合伤小鼠 HPA 轴的调节及相关机制研究[J]. 第三军医大学学报,2006,28(21):2111-2114.
- [5] 陆建华,施冲,粟永萍,等. 颈交感神经阻滞对放烧复合伤小鼠死亡率的影响及其可能的作用途径[J]. 中国临床康复,2006,10(34):177-180.
- [6] 陈意生,史景泉,程天民,等. 现代烧伤病理学[M]. 北京:化学工业出版社医学出版分社,2008. (下转第 1603 页)

3 讨 论

DMBA 是多环芳烃类致癌物,可与组织 DNA 形成加合物,导致基因突变,引发细胞增殖和凋亡紊乱。既往实验表明,DMBA 可诱发多种动物组织器官发生癌变^[5-7]。本实验结果表明,随着实验的进展,涂药时间的延长,家兔颊黏膜不典型增生程度加重,不典型增生发生率逐步增高;DMBA 涂药、贴膜两种给药方法在导致癌前病变的效果上无明显差异,贴膜法略好于涂药法。DMBA 诱癌过程中,实验预处理即刷拭拟给药处黏膜,在诱癌过程中可能起一定作用,(1)黏膜刷拭可破坏黏膜屏障,致癌物容易进入细胞内;(2)黏膜刷拭可导致组织机械损伤,刺激细胞增生,而增生的细胞,特别是细胞周期 S 期前的细胞因其 DNA 处于复制前准备阶段,易受到致癌物的攻击,且 DNA 的改变常可经细胞分裂传给子代细胞而被固定,细胞表型发生改变,使诱癌成功。解京丰等^[8]用 0.5%DMBA 丙酮抹地鼠颊囊口中央,每周 3 次,共涂抹 6 周。随机活检,证实 50%的动物致癌剂涂抹部位镜下表现为上皮轻度异常增生,停止涂抹后,病变继续发展,约 3 个月后,100%的病变发生癌变,本组未能诱导出癌,可能与动物种类及作用部位差异较大有关。

以往肿瘤的研究多集中于上皮细胞的恶变及浸润转移,而对于间质细胞的研究较少,尤其是其在癌变的起始阶段的作用。HGF 主要由间质细胞表达,是一种具有多种功能的细胞因子,与特异性 c-met 受体结合后能激活多种细胞内信号通路,包括丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)和 Stat3 等通路,促进多种组织细胞增生分裂、促细胞运动和促血管生成等。HGF 受体 c-met 广泛存在于多种正常组织细胞和体内、外恶性肿瘤细胞内,多位学者利用组织原位杂交、southern 印迹、northern 印迹技术测定了 c-met mRNA 及其表达的定位、定量,发现肿瘤组织细胞内的表达量,明显高于正常组织细胞^[9-10],尤其在肿瘤侵袭的边缘,其表达更为明显。Ntoulia 等^[11]研究发现在上皮细胞中,HGF 显著增加它本身及其特异受体 c-met 的表达,体外实验表明,c-met 的配体-间质细胞产生的 HGF 可激活 c-met 蛋白的激酶活性,而且极微量的 HGF 可激活 c-met 蛋白酪氨酸激酶。由此可见,HGF 与 c-met 结合可形成 HGF-c-met 自分泌环信号通路。本实验发现,正常家兔颊黏膜组织基本不表达 HGF 及 c-met,而随着病变的进展,鳞状上皮由轻度不典型增生发展到中度不典型增生,直至重度不典型增生过程中,HGF 及 c-met 蛋白表达阳性率均逐渐升高,二者呈正相关,同时 HGF 在间质中的表达随病变进展,阳性率逐渐增高,染色强度加深,而 c-met 在上皮中的表达亦可见类似情形,本结果与庄小强等^[12]对胃组织的研究一致,浅表性胃炎中 c-met 基因表达率较低,随着从肠上皮化生-不典型增生-癌变的演变,阳性表达率逐步升高。本研究发现在癌前病变组织中 HGF 与 c-met 蛋白表达呈正相关,提示在癌前病变组织中,间质细胞分泌的细胞因子 HGF 与上皮

细胞 c-met 蛋白的高表达密切相关,促进了细胞的增殖及异型改变,HGF、c-met 蛋白通路在肿瘤的早期阶段即对上皮细胞的恶变起到了促进作用,而开发阻断 HGF 配体、c-met 受体的药物为预防及治疗口腔癌、食管癌等鳞状上皮细胞癌变提供了一新的思路。

参考文献:

- [1] 刘崇梅,于惠芝,林明晖,等. HGF/c-Met 系统在鼻咽癌中的表达及其与增殖细胞核抗原的关系[J]. 现代肿瘤医学,2009,17(11):2087-2090.
- [2] 秦艳茹,李永欣,王立东,等. 食管癌和淋巴结转移组织中 c-myc,hTERT 和 c-MET 蛋白的表达[J]. 郑州大学学报:医学版,2006,41(1):34-36.
- [3] 高进. 肿瘤学基础与研究方法[M]. 北京:人民卫生出版社,1999.
- [4] 尹芳,乔泰东,时永全,等. 紧密连接分子 Occludin mRNA 在胃癌中的表达和分布[J]. 中华肿瘤杂志,2002,24(6):41-44.
- [5] 沈忠飞,方马荣,张梅光,等. 二甲基苯并蒽诱发卵巢恶性肿瘤的动物实验[J]. 中华妇产科杂志,2006,41(8):572-573.
- [6] 李宁,陈晓欣,韩驰,等. DMBA 诱发的地鼠口腔癌发病机制研究[J]. 癌变. 畸变. 突变,2003,15(1):21-24,65.
- [7] 崔文明,张馨,刘立军,等. DMBA 诱发的地鼠口腔癌模型中生物标志物研究[J]. 北京口腔医学,2002,10(3):116-118.
- [8] 解京丰,章魁华. 实验性口腔黏膜癌前病变的裸鼠移植[J]. 中华口腔医学杂志,1989,24(3):149-151.
- [9] Tokunou M,Niki T,Eguchi K,et al. c-MET expression in myofibroblasts;role in autocrine activation and prognostic significance in lung adenocarcinoma[J]. Am J Pathol,2001,158(4):1451-1463.
- [10] 董彤,辛晓燕,马向东. 肝细胞生长因子及其受体 c-met 在卵巢癌细胞中的表达[J]. 肿瘤与临床,2006,18(8):541-543.
- [11] Ntoulia M,Stathopoulou A,Ignatiadis M,et al. Detection of mammaglobin A-mRNA-positive circulating tumor cells in peripheral blood of patients with operable breast Cancer with nested RT-PCR[J]. Clin Biochem,2006,39(9):879-887.
- [12] 庄小强,郑杰,林三仁,等. 胃癌及癌前黏膜病变与 c-met 原癌基因表达的关系及预后研究[J]. 中华普通外科杂志,2002,17(2):107-108.

(收稿日期:2012-09-08 修回日期:2013-01-22)

(上接第 1600 页)

- [7] Han LN,Liu J,Wang S,et al. The changes of neuronal activity of the zone incerta in a rodent model of Parkinson's disease[J]. Acad J Xi'an Jiaotong Univ:English edition,2008,20(2):71-75.
- [8] 郭晓妹,方海立,李军,等. 颈交感神经阻滞对烧伤早期小鼠肝脏干扰素诱导蛋白 IFIT1 表达的影响[J]. 第三军医

大学学报,2007,29(17):1647-1649.

- [9] 陆建华,粟永萍,陶军,等. 颈交感神经阻滞调节放烧复合伤小鼠巨噬细胞 GR 的表达及细胞因子分泌的影响[J]. 第三军医大学学报,2007,29(4):284-286.

(收稿日期:2012-09-18 修回日期:2013-01-26)