

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.28.003

MIS 后病灶区灌注 RSG 对家兔 ICH 模型血肿周围继发性脑损伤的作用*

任思颖¹, 杨 勤², 伍国锋^{1△}, 张 艳¹, 李 军¹

(1. 贵州医科大学附属医院急诊医学科, 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学病理生理学教研室, 贵阳 550000)

[摘要] **目的** 探讨立体定向微创颅内血肿清除术(MIS)后病灶区灌注罗格列酮(RSG)对家兔脑出血(ICH)模型血肿周围继发性脑损伤的作用。**方法** 60 只家兔分为 4 组, 分别为模型对照组(MC 组)、罗格列酮组(RSG 组)、微创手术组(MIS 组)和微创手术+罗格列酮组(MIS+RSG 组)。各组家兔均制作 ICH 模型, MC 组及 RSG 组在模型制作成功后 6 h 模拟手术过程进行假性血肿清除, RSG 组病灶区灌注 RSG, MIS 组及 MIS+RSG 组进行微创血肿清除, MIS+RSG 组随后病灶区灌注 RSG, 于实施相关处理后第 7 天对各组家兔进行神经功能缺损(Purdy)评分并处死, 取血肿周围脑组织检测过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ) 水平及血脑屏障(BBB)通透性。**结果** MC 组 Purdy 评分、BBB 通透性明显高于其他组, 提示颅内血肿损害神经功能并破坏 BBB 通透性; 与 MC 组相比, RSG 组及 MIS+RSG 组的 PPAR γ 表达显著增加, 而 MIS 组 PPAR γ 表达减少, 提示 RSG 能明显增加 PPAR γ 的表达, 而微创清除颅内血肿后则可减少 PPAR γ 的产生; 与 MC 组比较, RSG 组及 MIS 组血肿周围伊文思蓝(EB)水平显著降低, 提示 RSG 治疗及 MIS 均可降低 BBB 通透性, MIS+RSG 组 EB 含量降低更为明显, 提示 MIS 后病灶区灌注 RSG 降低 BBB 通透性的效果更加明显。**结论** MIS 后病灶区灌注 PPAR γ 激动剂 RSG 能有效减少家兔 ICH 模型继发性脑组织损伤, 改善神经功能。

[关键词] 脑出血; 罗格列酮; 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ ; 血性, 硬膜外, 颅内; 血脑屏障; 继发性脑损伤

[中图分类号] R743.34 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2016)28-3896-04

Effects of rosiglitazone infusion therapy following minimal invasive surgery for intracerebral hemorrhage evacuation on perihematomal secondary brain injury in rabbits*

Ren Siying¹, Yang Qin², Wu Guofeng^{1△}, Zhang Yan¹, Li Jun¹

(1. Department of Emergency, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China;

2. Department of Pathophysiology, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550000, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effects of rosiglitazone(RSG)infusion therapy following minimal invasive surgery (MIS)for intracerebral hemorrhage(ICH)evacuation on perihematomal secondary brain injury in rabbits. **Methods** A total of 60 rabbits were randomly assigned to a model control group(MC group), a RSG medication group(RSG group), a minimally invasive surgery group(MIS group)and a MIS combined with RSG group(MIS+RSG group). An ICH was induced in all rabbits. The MC group and the RSG group just received a sham minimally invasive procedures at 6 h after the ICH model was prepared successfully. The RSG group perfused RSG to the perihematomal brain tissues. A MIS was performed in the MIS group and the MIS+RSG group. RSG infusion therapy following MIS in the MIS+RSG group. All rabbits were killed on the 7th d after the relative processes were performed successfully. Neurological deficit scores were determined, and the perihematomal brain tissues were obtained to determine the PPAR γ and the blood-brain barrier(BBB)permeability. **Results** The neurological deficit scores, the BBB permeability were increased in the MC group when compared to the other groups, these results showed that the ICH disrupted BBB and damaged neurological function. The PPAR γ were all significantly increased in the RSG group and the MIS+RSG group, but decreased in the MIS group compared with the MC group, these results showed that RSG could increased in the expression of the PPAR γ levels but decreased after MIS for ICH. The Evan's Blue(EB)were decreased in the RSG group and the MIS group compared with the MC group which means RSG medication and the MIS could decreased the BBB permeability. The MIS+RSG group had a remarkable results. The MIS+RSG group displayed a great decrease in BBB permeability. **Conclusion** Performing the MIS followed by PPAR γ agonist RSG might be more efficacious for reducing secondary brain injury and improving the neurological function for ICH model in rabbits.

[Key words] intracerebral hemorrhage; rosiglitazone; peroxisome proliferator-activated receptor γ ; hematoma, epidural, cranial; blood-brain barrier; secondary brain injury

脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)引起的脑损伤分为两个阶段。第一阶段为 0~4 h 内, 主要为血肿引起的机械

性损伤, 血肿挤压周围神经元和胶质细胞导致细胞死亡。第二阶段为 4 h 至 7 d, 主要为血肿引起的继发性脑损伤, 红细胞

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81460185/H09106)。 作者简介: 任思颖(1965—), 副主任医师, 硕士, 主要从事脑血管疾病研究。 △ 通讯作者, Tel: 13809431723; E-mail: wuguofeng3013@sina.com。

(RBC) 渗入脑组织, 裂解释放细胞毒性物质引起炎症反应和氧化应激损伤^[1-2]。微创血肿清除术 (minimal invasive surgery, MIS) 能有效清除血肿, 降低血肿机械性压迫引起的脑损伤^[3-5], 但很难清除渗入血肿周围脑组织的 RBC 及其裂解产生的细胞毒性物质, 治疗 ICH 引起的继发性脑损伤程度有限。据此推论, MIS 后血肿区灌注能增强小胶质细胞/吞噬细胞吞噬能力的药物有可能是一种值得探讨的治疗方案^[1,6]。Wu 等^[4]的研究表明, 实施 MIS 的最佳时间窗是 ICH 后 6 h 左右。这正是血肿引起继发性脑损伤的开始阶段。清除血肿及渗入血肿周围脑组织的 RBC 及其裂解产生的细胞毒性物质能有效减少炎症反应及继发性脑损伤^[1]。

在激活小胶质细胞/巨噬细胞和降低氧化应激方面, 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ) 通过转录水平的调控上调细胞表面清道夫受体 CD36, 从而帮助小胶质细胞/巨噬细胞通过吞噬或内吞来清除坏死或凋亡细胞残骸^[6-7]。

罗格列酮 (RSG) 是 PPAR γ 的高亲和性激动剂^[8], Zhao 等^[7]报道 RSG 促进大鼠 ICH 血肿分解, 减少神经细胞损害, 促进神经功能恢复, 提出 RSG 通过 PPAR γ 激活小胶质细胞/巨噬细胞可作为治疗 ICH 的一个靶点。Wu 等^[5]报道 ICH 后金属基质蛋白酶-9 (MMP-9) 表达增加, 在血脑屏障 (BBB) 损害中起重要作用, MIS 可以减少 MMP-9 的表达, 降低 BBB 通透性, RSG 则通过 PPAR γ 下调 MMP-9 的表达^[9], 减少 BBB 通透性, 均有助于减少 ICH 后继发性脑损伤。

本研究以家兔神经功能评分、血肿周围脑组织 PPAR γ 水平及 BBB 通透性为指标, 观察 MIS 后病灶区灌注 RSG 对家兔 ICH 模型血肿周围继发性脑损伤的作用。

1 材料与与方法

1.1 主要试剂 Trizol 试剂、Tris-HCl、乙二胺四乙酸四钠 (EDTA)、荧光 PCR 试剂盒 (上海 Sangong 生物技术有限公司); 甲酰胺 (重庆化学试剂厂); 伊文思蓝 (EB, 北京恒业中原化工公司); 4% 多聚甲醛 (武汉博士德生物科技公司); 尿激酶 (广东 Livzon 制药有限公司)。

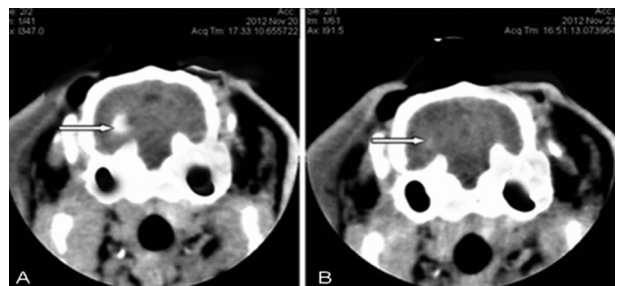
1.2 主要仪器 ZH-蓝星 B 型兔脑立体定位仪 (淮北正华生物仪器设备有限公司); 电子天平 (德国 Satourious); 彩虹-722 型光栅分光光度计 (山东高密彩虹分析仪器); 5415 R 高速离心机 (贺利氏公司); DK 系列数显恒温水浴锅 (金坛市科析仪器有限公司); MDF-382E 型 -80 °C 超低温冰箱 (美国佛罗里达州 Harris 公司); Step One 型荧光定量 PCR 仪 (美国加州 ABI 公司)。

1.3 实验动物分组 本研究得到贵州医科大学实验动物伦理委员会的批准。健康雄性家兔 60 只 (体质量 2.8~3.4 kg), 由贵州医科大学实验动物中心提供。分为模型对照组 (MC 组, $n=15$)、罗格列酮组 (RSG 组, $n=15$)、微创手术组 (MIS 组, $n=15$) 和微创手术+罗格列酮组 (MIS+RSG 组, $n=15$)。

1.4 家兔脑出血模型的建立 家兔 ICH 模型的制作参照文献^[3-5]。耳缘静脉注射 20% 氨基乙酸乙酯 (1 mL/kg) 麻醉家兔后固定于兔脑定位仪上, 颅顶脱毛并用碘伏消毒手术区域。切开皮肤分离至骨膜, 暴露前囟和人字形骨缝, 于 AP: 1 mm, L: 6 mm 处钻孔。从耳中动脉取自体血 (不抗凝), 用 7 号针头缓慢注射 0.3 mL 血液到家兔脑基底节区 (12 mm 深处)。注血时间持续 3 min, 针头置于原位 8 min 以防止血液回流, 缓慢拔出针头。肌内注射青霉素 (40 万 U) 防止感染。3 h 后进行

兔脑 CT 扫描, 如基底节区出现高密度影而侧脑室无高密度影则表明 ICH 模型制作成功 (图 1A)。排除标准为血液沿针道反流、血液进入侧脑室及家兔死亡。

1.5 MIS 清除血肿 模型制作成功后 6 h 再次麻醉家兔, 固定在兔脑立体定位仪上, 7 号针头沿制模时的针道插入血肿位置, 通过负压轻吸出部分血肿, 再在血肿位置注入 5 000 U 尿激酶 (溶于 0.1 mL 生理盐水中), 针头置于原位 1 h 后缓慢抽吸。MC 组及 RSG 组模拟 MIS 过程, 但不清除血肿也不注入尿激酶。MC 组注入 0.1 mL 生理盐水; RSG 组血肿区灌注 RSG 0.5 mg (溶于 0.1 mL 生理盐水中); MIS 组 MIS 后血肿区灌注等量生理盐水; MIS+RSG 组在 MIS 后血肿区灌注 RSG 0.5 mg (溶于 0.1 mL 生理盐水中)。针头均保持原位 15 min 后缓慢拔出。所有家兔均肌肉注射青霉素 (40 万 U) 预防感染。



A: 箭头所示高密度影为颅内血肿; B: 箭头所示血肿已基本清除。

图 1 头颅 CT 显示 MIS 前后颅内血肿变化情况

1.6 脑组织标本的制备 各组家兔在实施相关处理后第 7 天处死。处死前 2 h 耳缘静脉注射 2% EB (2 mL/kg), 2 h 后麻醉家兔, 迅速开胸暴露心脏, 从左心室插管至主动脉根部, 在右心耳上剪一小口作出口, 快速灌注生理盐水 2 000 mL 直至流出液变清亮, 再换 4% 的多聚甲醛 1 000 mL 快速灌注, 该过程约需 30 min。迅速断头取脑, 置于冰盘, 以针道为中心, 切取血肿周围约 0.5 cm 范围内脑组织, 置于 -80 °C 冰箱中备用。

1.7 观察指标

1.7.1 血肿体积评估 家兔处死前 2 h 再次行头颅 CT 扫描评估 MIS 效果。血肿量用 Tada 公式计算: $[\pi/6 \times \text{血肿长度} (\text{mm}) \times \text{血肿宽度} (\text{mm}) \times \text{血肿高度} (\text{mm})]$ 。

1.7.2 神经功能缺损 (Purdy) 评分^[10] 第 7 天对各组家兔神经功能缺损情况进行评分, 用 Purdy 评分的方法对家兔进行意识、行为、转头、转圈、偏盲等情况进行评分。最高分为 2 分, 为完全正常; 最低分为 11 分, 为动物死亡或意识完全丧失。运动功能 1~4 分, 意识清醒 1~4 分, 转头 0~1 分, 转圈 0~1 分, 偏盲 0~1 分。

1.7.3 实时荧光定量 PCR (real time-PCR) 检测 PPAR γ mRNA 在家兔脑组织中的表达 采用 Trizol 试剂一步法提取脑组织总 RNA, 然后利用 Superscript II 反转录试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA。引物用 Primer5 程序设计, 序列如下: PPAR γ 引物正向 5'-TTG TGA GCC TTG ACT TGA ACG ACC-3', 反向 5'-CAT GAA GCC TTG TCC CTC CGA TA-3'。Tm (°C) 75.29 °C, 扩增长度 128 bp, β -actin 引物正向 5'-AGA TCG TGC GGG ACA TCA AG-3', 反向 5'-CAG GAA GGA GGG CTG GAA GA-3'。Tm (°C) 84.42 °C, 扩增长度 181 bp。根据公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算出 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值, 用于检测 PPAR γ mRNA

表 1 各组家兔 ICH 模型 MIS 及 RSG 治疗后 PPAR γ mRNA、BBB 通透性及 Purdy 评分的变化 ($\bar{x}\pm s$)

组别	PPAR γ mRNA($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	EB($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Purdy 评分(分)
MC 组	3.105 \pm 0.059	51.64 \pm 0.836	8.13 \pm 0.058
RSG 组	3.842 \pm 0.032	28.25 \pm 0.280	7.67 \pm 0.080
MIS 组	2.183 \pm 0.066	36.36 \pm 0.071	6.82 \pm 0.147
MIS+RSG 组	4.054 \pm 0.118	15.01 \pm 0.104	4.00 \pm 0.004
P	0.000	0.000	0.000

相对表达量, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值反映了样本 mRNA 与内参基因 β -actin mRNA 的差异。

1.7.4 BBB 通透性 BBB 通透性通过 EB 作为追踪剂来评价。各组家兔于处死前 2 h 经耳缘静脉将 2% EB 溶液 (2 mL/kg) 注入家兔血液中, 2 h 后按照脑组织标本制备方法快速断头取脑, 取血肿周边组织并称质量 (精确到 0.1 mg), 置于盛 3 mL 甲酰胺的测试管中, 使用甲酰胺方法测量脑组织 EB 含量来衡量 BBB 破坏的严重程度。公式如下: 脑组织 EB 水平 ($\mu\text{g}/\text{g}$, 湿质量) = B \times 甲酰胺 (mL)/湿质量 (g), B 指根据标准曲线的线性回归方程得出的样本 EB 水平 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)。

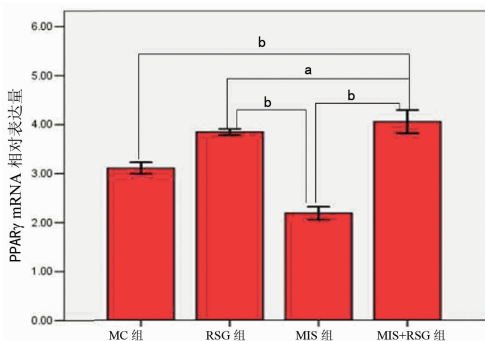
1.8 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件作数据处理分析。所有资料均符合正态分布, 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 多组间比较采用方差分析 (ANOVA), ANOVA 发现总差异后用 STD 法对任意两组间进行比较, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 血肿体积评估 MIS 术前各组家兔颅内血肿量无显著差异, 术后 3 d 复查头颅 CT 提示 MIS 后家兔颅内血肿量明显减少, MIS 组及 MIS+RSG 组与 MC 组及 RSG 组比较差异有统计学意义 (图 1B), 血肿量变化与笔者先前发表的论文类似^[4]。

2.2 Purdy 评分 MC 组神经功能缺损明显, MIS 组及 MIS+RSG 组与 MC 组相比, Purdy 评分显著减少, 见表 1, 表明 MIS 后神经功能有所改善, 而 MIS+RSG 组改善更加明显。

2.3 家兔血肿周围脑组织 PPAR γ mRNA 表达 与 MC 组相比, RSG 组及 MIS+RSG 组的 PPAR γ mRNA 显著增加, 而 MIS 组 PPAR γ 表达减少, 提示 RSG 能明显增加 PPAR γ 的表达, 而 MIS 后则可减少 PPAR γ 的产生; MIS+RSG 组 PPAR γ 表达高于 MC 组、RSG 组及 MIS 组, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$), 见表 1、图 2。

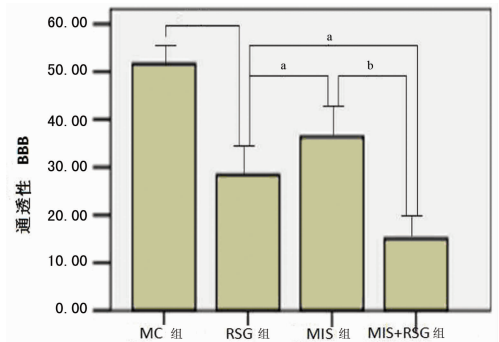


$a: P<0.05, b: P<0.01$ 。

图 2 MIS 及 RSG 治疗对各组家兔血肿周围脑组织 PPAR γ 表达的影响

2.4 BBB 通透性的变化 与 MC 组比较, RSG 组及 MIS 组血肿周围 EB 水平显著降低, 提示 RSG 治疗及 MIS 均可降低

BBB 通透性。MIS+RSG 组 EB 水平降低更为明显, 提示 MIS 后病灶区灌注 RSG 降低 BBB 通透性效果更加显著, 见表 1、图 3。



$a: P<0.05, b: P<0.01$ 。

图 3 MIS 及 RSG 治疗对各组家兔脑组织 BBB 通透性的影响

3 讨 论

ICH 是全球重大公共健康问题, 占卒中类型的 10%~15%, 发病率及病死率均高, 幸存者常常遗留神经功能残疾, 目前仍然没有行之有效的治疗方法^[1-2]。近年来, MIS 因其提高患者生存率, 减少并发症而成为除了开颅手术之外的另一种选择^[4]。虽然 MIS 能有效清除颅内血肿, 解除血肿对脑组织的机械压迫, 但是不能清除渗入到血肿周围脑组织的 RBC 及其裂解产生的细胞毒性物质, 因而对继发性脑损伤的作用有限。越来越多的证据表明炎症反应是 ICH 后导致继发性脑损伤的关键因素。RBC 裂解释放的血红蛋白、亚铁血红素、亚铁离子等细胞毒性物质需要及时清除以消除其细胞毒性作用^[2]。因此, 笔者推测 MIS 清除血肿后病灶区灌注能增强小胶质细胞/巨噬细胞吞噬功能的药物是治疗 ICH 的潜在靶点^[6]。

研究证明 MIS 清除血肿后能减轻 BBB 通透性, 但术后的继发性脑损伤仍然很严重^[5,11]。近期研究显示了 PPAR γ 在 ICH 中的作用。PPAR γ 是一种核激素受体, 与其配体结合后通过抑制 NF- κ B 来降低炎症反应; 还可启动核内靶基因的转录来调节脂类和糖代谢及细胞的抗氧化机能^[12]。小胶质细胞/巨噬细胞通过细胞表面清道夫受体 CD36 介导的 RBC 内吞作用是清除颅内血肿后渗入血肿周围脑组织的 RBC 的主要途径^[2,13]。激活 PPAR γ 可通过转录水平的调控上调 CD36, 从而帮助小胶质细胞/巨噬细胞通过吞噬或内吞作用来清除 RBC^[6-7]。

RSG 临床用于治疗 2 型糖尿病, 其作用机制是激活 PPAR γ 受体, 上调某些基因的表达从而增加外周组织对胰岛素的敏感性, 因此, RSG 是高效的 PPAR γ 激动剂^[14]。在治疗 ICH 方面, RSG 通过上调 PPAR γ 的表达, 下调 MMP-9 水

平^[9],减少 BBB 通透性,减轻脑水肿。

在 MC 组,血肿存在占位效应,RBC 裂解产生的细胞毒性物质渗入血肿周围脑组织,导致脑组织损伤,表现为严重的 BBB 通透性增加。血肿刺激脑组织产生更多的 PPAR γ 预防或限制脑组织损伤,因此,与 MIS 组比较,PPAR γ 显著增加。

在 MIS 组,血肿占位效应被解除,细胞毒性物质如 MMP-9 减少,血肿周围炎性反应过程被抑制,脑组织无需产生更多的 PPAR γ 来减少 ICH 后炎性损害。因此,MIS 组 PPAR γ 水平与 MC 组比较显著减少。

在 MIS+RSG 组,PPAR γ 水平增加,EB 水平显著下降,表明 MIS 后病灶区灌注 RSG 能更有效地减轻继发性脑损害。笔者先前发表的文献表明 MIS 能减少 MMP-9 水平,减轻继发性脑损伤^[9]。Zhao 等^[7]报道 PPAR γ 在促进血肿吸收和保护脑细胞免受血肿损害方面扮演了重要的角色。本研究中,MIS 后病灶区灌注 PPAR γ 激动剂 RSG 得到了肯定的结果。这种治疗措施是否比目前临床上治疗 ICH 的方法对患者有益,是转化医学研究所面临的课题。

综上所述,MIS 后病灶区灌注 PPAR γ 激动剂 RSG 使 PPAR γ 水平增加,BBB 通透性减少,能有效减少继发性脑组织损伤,改善神经功能。

参考文献

- [1] Zhou Y, Wang Y, Wang J, et al. Inflammation in intracerebral hemorrhage: from mechanisms to clinical translation [J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 115(1): 25-44.
- [2] Aronowski J, Zhao X. Molecular pathophysiology of cerebral hemorrhage: secondary brain injury [J]. *Stroke*, 2011, 42(6): 1781-1786.
- [3] Wu G, Li C, Wang L, et al. Minimally invasive procedures for evacuation of intracerebral hemorrhage reduces perihematomal glutamate content, blood-brain barrier permeability and brain edema in rabbits [J]. *Neurocrit Care*, 2011, 14(1): 118-126.
- [4] Wu G, Sheng F, Wang L, et al. The pathophysiological time window study of performing minimally invasive procedures for the intracerebral hematoma evacuation in rabbit [J]. *Brain Res*, 2012, 1465(1): 57-65.
- [5] Wu G, Wang L, Hong Z, et al. Effects of minimally invasive procedures for removal of intracranial hematoma on matrix metalloproteinase expression and blood-brain bar-

rier permeability in perihematomal brain tissues [J]. *Neurol Res*, 2011, 33(3): 300-306.

- [6] Zhao X, Grotta J, Gonzales N, et al. Hematoma resolution as a therapeutic target; the role of microglia/macrophages [J]. *Stroke*, 2009, 40(3 Suppl): S92-94.
- [7] Zhao X, Sun G, Zhang J, et al. Hematoma resolution as a target for intracerebral hemorrhage treatment; role for peroxisome proliferator-activated receptor gamma in microglia/macrophages [J]. *Ann Neurol*, 2007, 61(4): 352-362.
- [8] Allahtavakoli M, Moloudi R, Arababadi MK, et al. Delayed post ischemic treatment with Rosiglitazone attenuates infarct volume, neurological deficits and neutrophilia after embolic stroke in rat [J]. *Brain Res*, 2009, 1271(2): 121-127.
- [9] Wu G, Wu J, Jiao Y, et al. Rosiglitazone infusion therapy following minimally invasive surgery for intracerebral hemorrhage evacuation decreases matrix metalloproteinase-9 and blood-brain barrier disruption in rabbits [J]. *BMC Neurology*, 2015, 15(37): 1471-2337.
- [10] Purdy PD, Devous MD, Batjer HH, et al. Microfibrillar collagen model of canine cerebral infarction [J]. *Stroke*, 1989, 20(10): 1361-1367.
- [11] Wu G, Sun S, Long X, et al. Early stage minimally invasive procedures reduce perihematomal MMP-9 and blood-brain barrier disruption in a rabbit model of intracerebral hemorrhage [J]. *Neurol Res*, 2013, 35(6): 649-658.
- [12] Marion-Letellier R, Savoye G, Ghosh S. Fatty acids, eicosanoids and PPAR gamma [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015(15): 30342-30343.
- [13] Keep RF, Hua Y, Xi GH. Intracerebral haemorrhage: mechanisms of injury and therapeutic targets [J]. *Lancet Neurol*, 2012, 11(8): 720-731.
- [14] Villegas R, Williams SM, Gao YT, et al. Genetic variation in the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) and peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator 1 (PGC1) gene families and type 2 diabetes [J]. *Ann Hum Genet*, 2014, 78(1): 23-32.

(收稿日期:2016-06-13 修回日期:2016-07-21)

(上接第 3895 页)

- [J]. *Pain*, 1995, 61(2): 277-284.
- [8] 刘宝瑞,钱晓萍. 临床肿瘤学—基本理论与诊疗途径 [M]. 北京:科学出版社,2007:116.
- [9] 姜文奇,张晓实. 肿瘤生物治疗学 [M]. 广州:广东科技出版社,2005:843-847.
- [10] Caraceni A, Weinstein SM. Classification of cancer pain syndromes [J]. *Oncology*, 2001, 15(12): 1627-1640.
- [11] Hewitt DJ. The management of pain in the oncology patient [J]. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 2001, 28(4):

819-846.

- [12] Portenoy RK. Cancer pain: epidemiology and syndromes [J]. *Cancer*, 1989, 63(suppl): 2298-2307.
- [13] 田晓彩. 癌症疼痛治疗新进展 [J]. *医学临床研究*, 2007, 24(1): 149.
- [14] 杨忠明,丁显平. 帕米麟酸二钠联合化疗治疗多器官恶性肿瘤骨转移疼痛的临床研究 [J]. *现代预防医学*, 2012, 39(24): 6503-6505.

(收稿日期:2016-06-09 修回日期:2016-07-29)