

邱永升,魏巍,宗小川,等. α_2 肾上腺素能受体激动剂对缺血再灌注大鼠脑组织 NF- κ B 及炎症因子表达的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(7): 104-109.

Qiu YS, Wei W, Zong XC, et al. Activation of the α_2 adrenoceptor inhibits the expression of NF- κ B and inflammatory cytokines in the rat brain after ischemia-reperfusion [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(7): 104-109.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2020.07.015

α_2 肾上腺素能受体激动剂对缺血再灌注大鼠脑组织 NF- κ B 及炎症因子表达的影响

邱永升^{1#}, 魏巍^{1#}, 宗小川¹, 周锐¹, 陈夜茜¹, 王帅¹, 姚东东², 贾英萍^{1*}

(1. 郑州大学附属儿童医院 河南省儿童医院 郑州儿童医院麻醉科 河南省儿童神经发育工程研究中心, 郑州 450018; 2. 哈佛大学医学院附属布列根和妇女医院, 美国 马萨诸塞 波士顿 02101)

【摘要】 目的 评价 α_2 肾上腺素能受体激动剂右美托咪定对大鼠脑缺血再灌注核因子- κ B (NF- κ B)、脑组织肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 及白细胞介素-1 β (IL-1 β) 的影响。方法 90 只 SD 雄性大鼠, 采用数字表法随机分为 3 组, 每组 30 只, 分别为假手术组 (S 组)、缺血再灌注对照组 (C 组) 和 α_2 肾上腺素能受体激动剂干预组 (D 组), 每组再根据大鼠伤后的生存时间, 随机平均分为 5 个亚组, 每组均为 6 只, 即术后 2、6、12、24 和 48 h 5 个亚组。大鼠脑缺血再灌注模型参照改良 Longa 法制造。S 组仅做线栓, 不做其他处理。D 组栓塞成功后于缺血后 2 h 拔线, 至颈外动脉残端内再灌注, 在缺血前 30 min 经腹腔注射 α_2 -AR 激动剂右美托咪定 100 μ g/kg (4 μ g/mL)。C 组给予等体积的 0.9% 生理盐水。各组大鼠分别在伤后相应时间点断头取脑采用免疫印迹分析测定 NF- κ B, 酶联免疫法测定脑组织中 TNF- α 及 IL-1 β 水平。在模型制备以后 24 h、48 h 时, 分别取出 6 只大鼠, 将其随机放到一个象限之内, 测定逃避潜伏期, 即大鼠都面向池壁, 记录它们在 60 s 之内找到平台的时间, 如果 90 s 内大鼠未还未找到平台, 则认定逃避潜伏期为 90 s, 每只大鼠测定 5 次, 并取平均值; 在模型制备之后 24 h、48 h 时, 分别取 6 只大鼠, 测试警觉性、反应以及协调运动能力。结果 脑组织 NF- κ B、TNF- α 及 IL-1 β 含量 S 组在伤后 2、6、12、24、48 h 差异无统计学意义。各时间点组间比较, C 组以上指标比 S 组高 ($P < 0.05$), D 组比 S 组高 ($P < 0.05$), 比 C 组低 ($P < 0.05$)。模型制备后 24 h、48 h, C 组、D 组高于 S 组的神经功能缺陷评分 ($P < 0.05$), 逃避潜伏期延长 ($P < 0.05$), 且 D 组的评分高于 C 组 ($P < 0.05$)。结论 α_2 肾上腺素能受体激动剂能够抑制大鼠脑缺血再灌注时 NF- κ B、TNF- α 及 IL-1 β 的表达, 具有脑保护作用。

【关键词】 α_2 肾上腺素能受体激动剂; 脑缺血再灌注; 核因子- κ B; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-1 β

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2020) 07-0104-06

Activation of the α_2 adrenoceptor inhibits the expression of NF- κ B and inflammatory cytokines in the rat brain after ischemia-reperfusion

QIU Yongsheng^{1#}, WEI Wei^{1#}, ZONG Xiaochuan¹, ZHOU Rui¹, CHEN Yexi¹, WANG Shuai¹, Yao Dongdong², JIA Yingping^{1*}

(1. Department of Anesthesiology, the Children's Hospital of Zhengzhou University, Children's Hospital of

【基金项目】 河南省科技攻关计划项目 (182102310440); 河南省医学科技攻关计划项目 (2018020598); 河南省国际联合实验室基金项目 (201605-005)。

【作者简介】 邱永升 (1981—) 男, 主任医师, 专业: 麻醉学。E-mail: qysh66@126.com

魏巍 (1986—) 男, 主治医师, 专业: 麻醉学。E-mail: 271377694@qq.com [#]共同第一作者

【通信作者】 贾英萍 (1967—) 女, 主任医师, 专业: 麻醉学。E-mail: jiayingping@126.com

Henan Province, Zhengzhou Children's Hospital, Henan Engineering Research Center of Childhood Neurodevelopment, Zhengzhou 450018, China. 2. Dongdong Yao, Department of Anesthesiology, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston MA02101, USA)

[Abstract] Objective To investigate the neuroprotective effect of the α_2 adrenergic agonist dexmedetomidine in rat brain tissues after traumatic brain injury by assessing expression of nuclear factor kappa B, tumor necrosis factor α (TNF- α), and interleukin-1 β (IL-1 β). **Methods** Male Sprague-Dawley rats were randomly divided into one of three groups: the sham operation group (group S), the cerebral ischemia-reperfusion group (group C), and the dexmedetomidine group (group D). Each of these groups was then subdivided into subgroups of 6 rats each for time points 2, 6, 12, 24, and 48 h. Parietal brain contusions were induced according to a modified Longa method. The rats in group S then underwent a sham operation. For group D, 2 h after successful embolization a wire was pulled into the stump of the external carotid artery to simulate ischemia and reperfusion, and 30 min later the rats received an intraperitoneal injection of the α_2 adrenergic receptor (α_2 -AR) agonist dexmedetomidine at a dose of 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (4 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Group C underwent the same procedure as group S, but 0.9% NaCl was injected instead of dexmedetomidine. At each time point, nuclear factor kappa B expression was detected using western blotting, and TNF- α and IL-1 β expression were detected using ELISA. Six rats were selected for scoring of neurological deficits at 24 and 48 hours after model preparation, including test response, alertness, and coordination. Six rats were selected 24 and 48 hours after model preparation and randomly placed facing the wall in one quadrant of a cage with a central platform, and, the time it took to find the platform within 60 s was recorded. If the platform was not found within 90 s, the escape latency was recorded as 90 s. Five times were recorded and the average value was calculated. **Results** No significant differences in TNF- α and IL-1 β expression in the brain tissue at 6, 12, 24, and 48 h in group S were found. TNF- α and IL-1 β expression was higher in group C than in group S ($P < 0.05$), higher in group D than in group S ($P < 0.05$), but lower in group D than in group C ($P < 0.05$). At 24 and 48 hours after model preparation, compared with group S, neurological deficit scores were higher in groups C and D ($P < 0.05$), and escape latency was prolonged ($P < 0.05$). Neurological deficit scores were higher in group D than in group C ($P < 0.05$). **Conclusions** The α_2 adrenergic agonist dexmedetomidine protects brain tissue by inhibiting the inflammation induced by cerebral ischemia-reperfusion in rats.

[Keywords] α_2 adrenergic agonist; cerebral ischemia-reperfusion; NF- κB ; TNF- α ; IL-1 β

脑缺血再灌注引起一系列的病理生理变化导致继发性脑组织损伤,包括很多环节,如炎症反应兴奋性氨基酸的释放增加、能量障碍、自由基的生成、凋亡基因的激活、细胞内钙的失稳态等。这些环节互为因果,相互联系,形成恶性循环,从而导致细胞的凋亡或坏死^[1-4]。其中炎症反应的发生发展到重要作用,核因子- κB (nuclear factor kappa B, NF- κB) 在机体炎症反应中有着关键的作用,激活后会加重创伤性脑实质损害,与其密切相关的炎性介质主要有肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 以及白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 等^[5-8]。脑缺血再灌注可引起 NF- κB 的活化,从而可调控上述介质基因的诱导表达。 α_2 肾上腺素能受体 (α_2 adrenergic receptor, α_2 -AR) 激动剂右美托咪定对脑缺血损伤具有保护作用^[9-11]。本研究拟评价 α_2 -AR 激动剂在大鼠局灶性脑缺血再灌注过程中对 NF- κB 表达的影响,探讨 α_2 -AR 激动剂脑保护的机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康 7 周龄雄性 SPF 级 SD 大鼠 90 只,体重 (226 \pm 27) g,购于河南省实验动物中心 [SCXK (豫)2017-0001],所有动物在河南省实验动物中心实验室独立动物房饲养 [SYXK (豫)2011-0001],室温 (22 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$,12 h 光照/12 h 黑暗循环,自由获取食物和水。动物的使用及操作按照本院动物管理委员会 (IACUC2017002) 的规定执行,使用实验动物时严格按照,3R 原则给予人道关怀。

1.2 主要试剂与仪器

α_2 -AR 激动剂右美托咪定由江苏恒瑞医药股份有限公司提供;TNF- α 和 IL-1 β ELISA 检测试剂盒由美国 Sigma 公司生产;核蛋白提取试剂盒为美国 Active Motif 公司产品;电转印装置为 Pharmacia Nova Blot 产品。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组

90 只 SD 雄性大鼠,采用数字表法随机分为 3 组,分别为假手术组(S 组)、缺血再灌注对照组(C 组)和 α_2 -AR 激动剂右美托咪定干预组(D 组),每组 30 只,每个亚组为 6 只,即根据大鼠缺血再灌注的时间,随机平均分为 5 个亚组(术后 2、6、12、24、48 h)。

1.3.2 动物模型建立

采用改良 Longa 大鼠中动脉线栓法制造大鼠脑损伤模型^[7]。大鼠称重俯卧位固定腹腔注射 3%戊巴比妥钠 30 mg/kg,消毒后分离暴露左侧颈总及颈内、外动脉,采用长度为 40 mm、直径为 0.25~0.28 mm 的尼龙鱼线作栓线,从颈外动脉向颈内动脉方向插入大脑中动脉,如遇阻即停(进线长度为 18~20 mm),S 组线栓深度为 10 mm。大鼠栓塞成功后,在缺血后 2 h 将线拔到颈外动脉残端内,再进行灌注。D 组于缺血前 30 min 经腹腔注射 α_2 -AR 激动剂右美托咪定 100 μ g/kg(4 μ g/mL)。C 组给予等体积的 0.9%生理盐水。按照亚组分组再灌注的时间,断头取脑,将标本置于液氮保存备用。

1.3.3 检测指标

各组大鼠分别在伤后 2、6、12、24 及 48 h 5 个时相点断头取术侧脑组织加等渗盐水制备匀浆,离心之后,取上清液 1 mL, -80℃ 保存备用,酶联免疫法(enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA)测定 TNF- α 和 IL-1 β 的含量。简述如下:ELISA 微孔板中加入稀释的标准品以及待测样品每孔 100 μ L,设空白对照,37℃ 水浴 1 h, PBST(phosphate buffered solution tween, PBST)洗板 5 次,严格参照说明书操作知悉,酶标仪 450 nm 处测量吸光度 A 值,根据标准品绘制标准曲线,通过样品的 A 值计算对应 TNF- α 、IL-1 β 水平。

1.3.4 免疫印迹分析

各样本取 100 μ g 大鼠脑组织标本置于 12.5%聚丙烯酰胺凝胶进行电泳,分离的蛋白随后经电转印装置转印到聚偏二氟乙烯膜,于室温在封闭液中作用 3 h 加入 NF- κ B p65 抗体,置于 4℃ 孵育过夜,用 TTBS(tween tris base buffer solution, TTBS)缓冲液冲洗 4 次(15 分/次),再加入二抗羊抗兔 IgG,室

温摇动孵育 1 h,采用 TTBS 缓冲液冲洗后行增强化学发光反应,把聚偏二氟乙烯膜上显影的条带扫描入电脑中,经图像分析系统处理得出对应的灰度值,结果以目的蛋白与内参蛋白灰度值之比来表示。

1.3.5 水迷宫实验测定

在模型制备之后的 24 以及 48 h 时,分别取 6 只大鼠,将其随机放到一个象限内,测定大鼠的逃避潜伏期,即使大鼠都面向池壁,记录它们在 60 s 之内找到平台的时间,如果 90 s 内大鼠未还未找到平台,则认定该大鼠逃避潜伏期为 90 s,每只大鼠测定 5 次,并取平均值。

1.3.6 神经功能缺陷评分

在模型制备之后的 24 以及 48 h,将神经功能缺陷评分总分设定为 10 分,分别取 6 只实验大鼠行神经功能缺陷测试,包括反应、协调运动能力和警觉性。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件分析,正态分布的计量资料以平均数 \pm 标准差即($\bar{x} \pm s$)表示,多个样本均数的比较采用方差分析,进一步两两比较采用 LSD 法,前后时间点的比较采用配对 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 α_2 -AR 激动剂对大鼠脑组织 NF- κ B 表达的影响

S 组、C 组、D 组 NF- κ B 目的蛋白与内参蛋白灰度值之比分别为(0.17 \pm 0.012)、(0.54 \pm 0.015)、(0.34 \pm 0.017),C 组与 S 组比较表达高,差异有统计学意义($P < 0.05$);D 组目的蛋白与内参蛋白灰度值之比低于 C 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),详见图 1。

2.2 脑组织 TNF- α 含量

S 组 2、6、12、24 和 48 h 5 个时相点脑组织 TNF- α 含量分别为(2.03 \pm 0.06)pg/mg、(2.09 \pm 0.05)pg/mg、(2.10 \pm 0.02)pg/mg、(2.08 \pm 0.06)pg/mg、(2.07 \pm 0.03)pg/mg,差异无统计学意义;C 组脑组织 TNF- α 含量在伤后 2、6、12、24 及 48 h 含量分别为(6.01 \pm 0.25)pg/mg、(6.47 \pm 0.46)pg/mg、(6.72 \pm 0.37)pg/mg、(6.85 \pm 0.51)pg/mg、(6.99 \pm 0.32)pg/mg,比 S 组高($P < 0.05$);D 组脑组织 TNF- α 含量在伤后 2、

6、12、24、48 h 含量分别为 (4.17 ± 0.27) pg/mg、 (4.25 ± 0.23) pg/mg、 (4.11 ± 0.45) pg/mg、 (4.09 ± 0.53) pg/mg、 (3.87 ± 0.54) pg/mg, 比 S 组高 ($P < 0.05$), 比 C 组低 ($P < 0.05$), 见图 2。

2.3 脑组织 IL-1 β 含量

S 组 2、6、12、24、48 h 5 个时相点脑组织 IL-1 β 含量含量分别为 (4.12 ± 0.05) pg/mg、 (4.27 ± 0.07) pg/mg、 (4.61 ± 0.06) pg/mg、 (4.24 ± 0.05) pg/mg、 (4.38 ± 0.08) pg/mg, 差异无统计学意义; C 组脑组织 IL-1 β 水平在伤后 2、6、12、24、48 h 含量分别为 (8.35 ± 0.80) pg/mg、 (8.26 ± 0.71) pg/mg、 (8.53 ± 0.12) pg/mg、 (8.62 ± 0.24) pg/mg、 (8.79 ± 0.21) pg/mg, 比 S 组高 ($P < 0.05$); D 组脑组织 IL-1 β 水平在伤后 2、6、12、24、48 h 含量分别为 (5.67 ± 0.62) pg/mg、 (5.74 ± 0.90) pg/mg、 (5.82 ± 0.53) pg/mg、 (5.91 ± 0.19) pg/mg、 (5.56 ± 0.27) pg/mg, 比 S 组高 ($P < 0.05$), 比 C 组低 ($P < 0.05$)。见图 3。

2.4 神经功能缺陷评分和逃避潜伏期

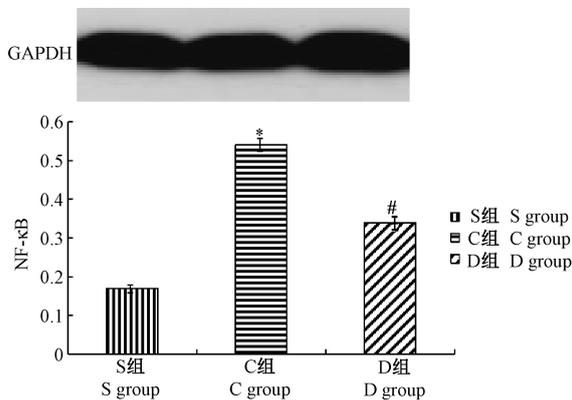
模型制备后 24 h S 组、C 组和 D 组神经功能缺陷评分分别为 (0.35 ± 0.05) 分、 (5.43 ± 0.29) 分、 (2.25 ± 0.25) 分, 模型制备后 48 h 神经功能缺陷评分分别为 (0.30 ± 0.06) 分、 (4.64 ± 0.60) 分、 (1.46 ± 0.31) 分, 与 S 组相比, C 组和 D 组神经功能缺陷评分高 ($P < 0.05$), 模型制备后 24 h S 组、C 组和 D 组逃避潜伏期分别为 (18.7 ± 4.4) s、 (60.2 ± 6.2) s、 (52.2 ± 3.5) s, 模型制备后 48 h 逃避潜伏期分别为 (16.4 ± 5.3) s、 (56.4 ± 4.3) s、 (44.5 ± 6.7) s, 与 S 组相比, C 组和 D 组逃避潜伏期延长 ($P < 0.05$), D 组高于 C 组 ($P < 0.05$)。见图 4、图 5。

3 讨论

本研究参照文献^[12]采用改良 Longa 大鼠中动脉线栓法制造大鼠脑损伤模型, 研究结果显示, 实验组和干预组在脑损伤后各时间点 2、6、12、24、48 h NF- κ B、TNF- α 和 IL-1 β 均较对照组显著升高 ($P < 0.05$), 说明大鼠脑损伤模型制备成功。NF- κ B 是一种可诱导的、具有基因转录调节作用的蛋白质因子, 能够启动编码 IL-1 β 、IL-6 以及 TNF- α 等全身性炎症反应综合症的细胞因子的基因转录, 而 NF- κ B 的过度活化, 能够引起多种炎症反应的相关基因表达上调, 从而导致产生大量细胞因子

和炎症递质^[13-14]。研究表明脑缺血再灌注损伤可激活 NF- κ B, 还可引起大鼠脑神经细胞凋亡, 使其与 I κ B 解体进入细胞核内, 在转录水平上调控着炎症的表达, 改变基因外炎性刺激的应答性和炎症细胞的反应性, 也是合成炎症介质、启动其瀑布式级联反应的传导通路中心环节。阻断 NF- κ B 的表达, 能够使缺血再灌注大鼠模型心脏的梗死灶有明显的缩小, 这也提示它能够控制缺血再灌注大鼠的细胞死亡, 通过激活 NF- κ B 从而引起大量炎症递质的释放, 因此对于缺血再灌注损伤所引起的脑血管事件来说, 可以通过阻断 NF- κ B 信号通路, 从而改善结局。研究发现 α_2 -AR 激动剂右美托咪定具有神经保护的作用^[15]。本研究结果显示在各时间点假手术组的各项检测指标均无明显的变化, 而脑外伤组在伤之后的 5 个时间点检测指标 NF- κ B、TNF- α 及 IL-1 β 均明显高于相对应时间点假手术组的数据 ($P < 0.05$), 并且呈现一个上升的趋势, 而在干预组, 检测指标 NF- κ B、TNF- α 及 IL-1 β 均比脑外伤组要低 ($P < 0.05$), 这也说明 α_2 -AR 激动剂能够降低脑损伤时 NF- κ B 的表达, 并且抑制了炎症因子 TNF- α 以及 IL-1 β 的释放, 从而减少了神经元的损伤, 也减轻了继发性的脑损伤的结局, 通过大鼠的逃避潜伏期及大鼠神经功能缺陷评分结果, 也可推测 α_2 -AR 激动剂具有脑保护的作用。有研究认为 α_2 -AR 激动剂右美托咪定主要通过结合 α_2 肾上腺素受体的亚型, 从而起到神经保护的作用^[16], 其机制可能与其具有抗炎作用有关, 即药物激动神经元突触前上的 α_2 肾上腺素能受体, 通过介导 G 蛋白, 从而抑制磷脂酶 C 的活性以及钙离子的内流, 以降低血浆儿茶酚胺的浓度, 增强了副交感神经效应, 抑制机体的炎症反应, 进而发挥其抗凋亡作用, 并改善血脑屏障的通透性, 减少细胞内 Ca^{2+} 内流, 从而抗缺血再灌注损伤。本研究中 α_2 肾上腺素受体激动剂调低了 NF- κ B 信号通路上的分子蛋白表达, 减少了炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 的释放, 抑制炎症反应, 减轻了神经功能的损伤状态, 起到了神经保护作用, 大鼠神经功能行为学结果也与之相吻合。

综上所述, α_2 -AR 激动剂能够调低大鼠缺血再灌注损伤之后 NF- κ B 的表达, 抑制了机体炎症因子释放, 具有脑保护作用。

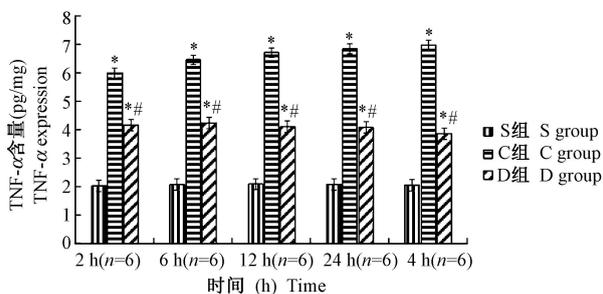


注:GAPDH;甘油醛-3-磷酸脱氢酶;S组:假手术组;C组:缺血再灌注对照组;D组:α₂肾上腺素能受体激动剂干预组。与S组比较,*P<0.05;与C组比较,#P<0.05。e与S组比较,*P<0.05;与C组比较,#P<0.05。

图1 大鼠脑组织NF-κB目的蛋白与内参蛋白灰度值之比的结果比较

Note. GAPDH, glyceraldehydes-phosphate dehydrogenase. Group S, Sham operation group. Group C, Ischemia-reperfusion control group. Group D, α₂ adrenergic receptor agonist intervention group. Compared with group S, * P<0.05. Compared with group C, # P<0.05.

Figure 1 Ratio of NF-κB expression to expression of an internal reference protein in rat brain tissue



注:S组:假手术组;C组:缺血再灌注对照组;D组:α₂肾上腺素能受体激动剂干预组。与S组比较,*P<0.05;与C组比较,#P<0.05。下同。

图2 3组大鼠各时点脑组织TNF-α含量的比较 (x̄ ± s)

Note. Group S, Sham operation group. Group C, Ischemia-reperfusion control group. Group D, α₂ adrenergic receptor agonist intervention group. Compared with group S, * P<0.05. Compared with group C, # P<0.05. The same as below.

Figure 2 Comparison of TNF-α in brain tissue at each time point among three groups

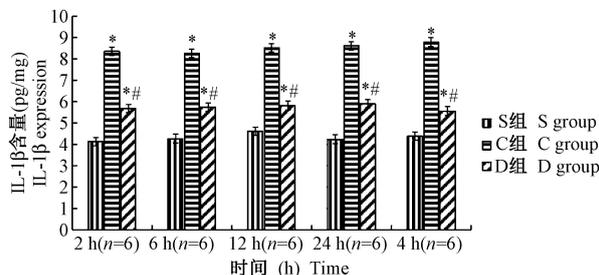


图3 3组大鼠各时点脑组织IL-1β含量的比较 (x̄ ± s ,pg/mg)

Figure 3 Comparison of IL-1β expression in brain tissue at each time point among the three groups

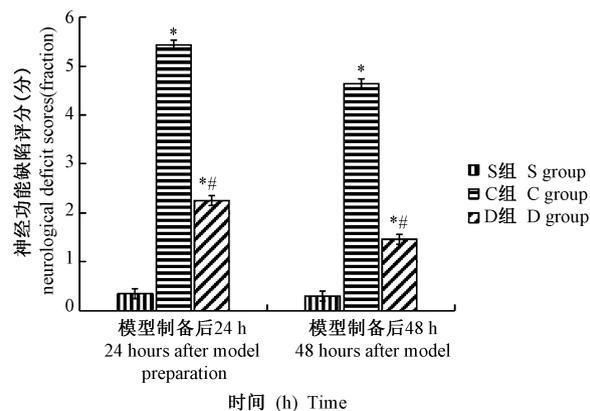


图4 3组大鼠模型神经功能缺陷评分比较(x̄ ± s ,n=6)

Figure 4 Comparison of neurological deficit scores among the three groups

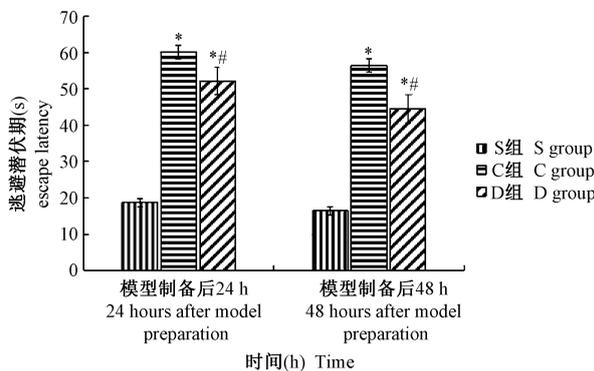


图5 3组大鼠模型逃避潜伏期比较(x̄ ± s ,n=6)

Figure 5 Comparison of escape latency among the three groups

参考文献:

- [1] Dziejcie T. Systemic inflammation as a therapeutic target in acute ischemic stroke [J]. *Expert Rev Neurother*, 2015, 15(5): 523-531.
- [2] Burrows F, Haley MJ, Scott E, et al. Systemic inflammation affects reperfusion following transient cerebral ischaemia [J]. *Exp Neurol*, 2016, 277: 252-260.
- [3] 宋加兴, 张清秀, 何磊, 等. 美金刚通过调节 ERK、CREB 信号通路及突触可塑性保护脑缺血再灌注小鼠的作用研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(6): 1-7.
- [4] 杨凌, 蔡哲, 周忠蜀, 等. 新生大鼠低氧缺血性脑损伤对脑组织病理形态和神经营养因子的影响 [J]. *中国实验动物学杂志*, 2012, 20(12): 47-50.
- [5] Zaremba J, Losy J. Cytokines in clinical and experimental ischemic stroke [J]. *Neurol Neurochir Pol*, 2004, 38(1): S57-S62.
- [6] Albanèse J, Leone M, Alliez JR, et al. Decompressive craniectomy for severe traumatic brain injury: Evaluation of the effects at one year [J]. *Crit Care Med*, 2003, 31(10): 2535-2538.
- [7] Bempohl D, You Z, Lo EH, et al. TNF α and Fas mediate tissue damage and functional outcome after traumatic brain injury in mice [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 27(11): 1806-1818.
- [8] 邱永升, 贾英萍, 张德甫. 右美托咪定对大鼠脑损伤后肿瘤坏死因子- α 和白细胞介素-6 的影响 [J]. *中华实验外科杂志*, 2015, 32(4): 929.
- [9] Engelhard K, Werner C, Eberspächer E, et al. The effect of the

- alpha 2-agonist dexmedetomidine and the N-methyl-D-aspartate antagonist S (+)-ketamine on the expression of apoptosis-regulating proteins after incomplete cerebral ischemia and reperfusion in rats [J]. *Anesth Analg*, 2003, 96(2): 524-531.
- [10] 邱永升, 贾英萍. 体外循环术中应用右美托咪定对简单先天性心脏病患儿的脑保护作用 [J]. *中华胸心血管外科杂志*, 2013, 29(10): 617-619.
- [11] 张涛, 曾凌竹. 右美托咪定通过调控 TLR4 表达对神经细胞氧糖剥夺损伤保护作用的机制研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(1): 69-75.
- [12] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [13] Chen SM, Cheng DS, Williams BJ, et al. The nuclear factor kappa-B pathway in airway epithelium regulates neutrophil recruitment and host defence following *Pseudomonas aeruginosa* infection [J]. *Clin Exp Immunol*, 2008, 153(3): 420-428.
- [14] Bi X, Yan B, Fang S, et al. Quetiapine regulates neurogenesis in ischemic mice by inhibiting NF-kappaB p65/p50 expression [J]. *Neurol Res*, 2009, 31(2): 159-166.
- [15] Chrysostomou C, Schmitt CG. Dexmedetomidine: sedation, analgesia and beyond [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2008, 4(5): 619-627.
- [16] Ma D, Hossain M, Rajakumaraswamy N, et al. Dexmedetomidine produces its neuroprotective effect via the alpha 2A-adrenoceptor subtype [J]. *Eur J Pharmacol*, 2004, 502(1-2): 87-97.

[收稿日期] 2019-12-25

(上接第 22 页)

- [11] Garver J, Weber L, Vela EM, et al. Ectromelia virus disease characterization in the BALB/c Mouse: A surrogate model for assessment of smallpox medical countermeasures [J]. *Viruses*, 2016, 8(7): 203.
- [12] Szulc L, Gieryńska M, Winnicka A, et al. T cell cytokine synthesis at the single-cell level in BALB/c and C57BL/6 mice infected with ectromelia virus [J]. *Postepy Hig Med Dosw*, 2012, 66: 222-230.
- [13] Fang M, Orr M T, Spee P, et al. CD94 is essential for NK cell-mediated resistance to a lethal viral disease [J]. *Immunity*, 2011, 34(4): 579-589.

- [14] 杜江涛, 戴方伟, 周莎桑, 等. 鼠痘病毒荧光定量 Taqman - PCR 检测方法的建立与应用 [J]. *中国比较医学杂志*, 2015, 25(6): 59-64.
- [15] Chuang TH, Ulevitch RJ. Cloning and characterization of a subfamily of human toll-like receptors: hTLR7, hTLR8 and hTLR9 [J]. *Eur Cytokine Netw*, 2000, 11(3): 372-378.
- [16] Rothenburg S, Schwartz T, Koch-Nolte F, et al. Complex regulation of the human gene for the Z-DNA binding protein DLM-1 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(4): 993-1000.

[收稿日期] 2019-12-05