

· 基础研究 ·

局部亚低温干预对大鼠脑缺血再灌注后
内皮-单核细胞激活多肽表达的影响

施倩 段淑荣 孙瑞红

【摘要】目的 通过观察局部亚低温干预对大鼠脑缺血再灌注后缺血半暗带区内皮-单核细胞激活多肽 II (EMAP II)、EMAP II 前蛋白 (proEMAP II) 表达的影响, 从而探讨局部亚低温干预的脑保护机制。**方法** 共选取雄性 Wistar 大鼠 44 只, 采用随机数字表法将其分为假手术组、常温组及亚低温组。采用改良 Longa 线栓法将常温组及亚低温组大鼠制成大脑中动脉缺血再灌注模型, 亚低温组于再灌注后立即给予亚低温干预 (持续治疗 6 h)。于脑缺血再灌注后 6 h、12 h、24 h、48 h 及 72 h 时处死大鼠并取脑, 采用 HE 染色观察各组大鼠神经细胞受损情况, 采用免疫组化染色法比较各组大鼠缺血脑组织 EMAP II、proEMAP II 阳性细胞表达情况。**结果** 常温组及亚低温组 EMAP II 阳性细胞均于缺血再灌注 6 h 时明显表达, 于再灌注 24 h 时达到峰值, 随后逐渐下降; 2 组大鼠 proEMAP II 阳性细胞均于缺血再灌注 6 h 时明显表达, 之后亚低温组逐渐下降, 常温组于再灌注 12 h 达到峰值后开始下降, 至再灌注 72 h 时 2 组大鼠 proEMAP II 阳性表达均已接近假手术组水平。亚低温组 EMAP II 阳性表达在脑缺血再灌注 6 h、12 h、24 h、48 h 及 72 h 时均较常温组显著减少 ($P < 0.05$)。常温组 proEMAP II 阳性细胞数量在脑缺血再灌注 6 h、12 h 及 24 h 时均较亚低温组明显增多。**结论** 局部亚低温干预能减弱大鼠缺血半暗带区 EMAP II、proEMAP II 阳性表达, 抑制缺血再灌注损伤导致的细胞凋亡及炎症反应, 从而发挥神经保护作用。

【关键词】 脑缺血再灌注; 亚低温; 内皮-单核细胞激活多肽 II; 大鼠

Effects of local mild hypothermia on the expression of EMAP-II and proEMAP-II after cerebral ischemia and reperfusion Shi Qian, Duan Shurong, Sun Ruihong. Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China

Corresponding author: Duan Shurong, Email: duanshurongsj@163.com

【Abstract】Objective To investigate the effects of local mild hypothermia on the expression of EMAP-II and proEMAP-II after cerebral ischemia and reperfusion in rats and to explore the possible neuroprotection mechanism of mild hypothermia. **Methods** Forty-four male Wistar rats were divided randomly into a sham-operation group (Sham), a normothermia group (NT) and a hypothermia group (HT). Middle cerebral artery occlusion was performed using Longa's method, and reperfusion was allowed after 2 hours of occlusion. Mild hypothermia (33.0 ± 0.5) °C for 6 hours was initiated at the start of reperfusion, followed by rewarming. Brains were harvested after 6, 12, 24, 48 and 72 hours of reperfusion and used for HE staining to evaluate cellular apoptosis and immunohistochemical staining for detecting the expression EMAP-II and proEMAP-II. **Results** The expression of EMAP-II and proEMAP-II in the ischemic penumbra was significant at 6 hours in the normothermia and hypothermia groups. It peaked at 12 hours in the normothermia group and 24 hours in the hypothermia group, and then decreased gradually. At 72 hours the expression of EMAP-II and proEMAP-II in the ischemic penumbra was very close to that in the sham group. EMAP-II-positive cells were significantly fewer in the hypothermia group than in the normothermia group at all time points. ProEMAP-II-positive cells were significantly more numerous in the normothermia group than in the hypothermia group at 6, 12 and 24 hours. **Conclusions** Mild hypothermia (33.0 ± 0.5) °C has a valid neuroprotective effect which involves reducing EMAP-II and proEMAP-II expression in the ischemic penumbra and inhibiting apoptosis and inflammatory reactions after cerebral ischemia and reperfusion, at least in rats.

【Key words】 Cerebral ischemia; Cerebral reperfusion; Hypothermia; EMAP-II; Apoptosis

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2014.02.002

基金项目: 黑龙江省自然科学基金 (D200938), 黑龙江省卫生厅科研课题资助项目 (2006-052)

作者单位: 150001 哈尔滨, 哈尔滨医科大学附属第一医院神经内科三病房

通信作者: 段淑荣, Email: duanshurongsj@163.com

临床上低温分为轻度低温($33.0 \sim 35.9^{\circ}\text{C}$)、中度低温($28.0 \sim 32.9^{\circ}\text{C}$)、深度低温($17.0 \sim 27.9^{\circ}\text{C}$)及超深度低温($<17.0^{\circ}\text{C}$),其中轻、中度低温统称为亚低温^[1]。目前大量动物及临床试验均发现亚低温干预具有明显神经保护作用,其副作用亦相对较小,且轻度低温干预较中度低温干预在治疗脑缺血方面疗效更佳^[2]。近年来关于亚低温干预对脑缺血组织的保护作用已得到证实,但其作用机制目前尚未明确。有大量文献报道,亚低温干预可抑制受损神经元凋亡,并通过减少能量消耗、调节脑血流量、抑制兴奋性氨基酸及炎性因子作用、减少钙离子内流、保护血脑屏障等多种途径发挥神经保护作用^[3-5]。目前有研究显示,脑缺血损伤可诱导内皮-单核细胞激活多肽 II (endothelial monocyte-activating polypeptide II, EMAP II) 在脑组织中表达^[6],提示由 EMAP II 介导的炎症反应、细胞凋亡途径可能参与脑缺血后神经元损伤病理过程。基于上述背景,本研究通过观察局部亚低温干预对大鼠脑缺血再灌注后缺血半暗带区 EMAP II 及其前体 proEMAP II (pro-endothelial monocyte-activating polypeptide, pro-EMAP II) 表达的影响,以进一步明确局部亚低温干预的脑保护作用机制。现报道如下。

材料与方法

一、主要实验仪器及试剂

主要实验仪器包括 RDZL-686A 型贴敷式局部亚低温脑保护仪(哈尔滨工业大学热工教研室研制)、光学显微镜(美国 Motic 公司)、SL-4 型温度传感仪(华中科技大学同济医学院研制,专利号:85106493.0)等;主要实验试剂包括 EMAP II 小鼠抗大鼠单克隆抗体(ab15693,英国 Abcam 公司)、proEMAP II 兔抗大鼠多克隆抗体(11091-1-AP,武汉三鹰生物技术有限公司)、辣根过氧化物酶标记的二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司)、PV-9000 二步法免疫组化检测试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)等。

二、实验动物及分组

共选取健康雄性 Wistar 大鼠 44 只,体重(300 ± 20)g,由哈尔滨医科大学附属第一医院实验动物中心提供。采用随机数字表法将上述大鼠分为 3 组,分别是假手术组(4 只)、常温组(20 只)及亚低温组(20 只)。

三、模型制作及处理

参照改良 Longa 线栓法^[7]将常温组及亚低温组大鼠制成左侧大脑中动脉缺血 2 h 再灌注动物模型。假手术组大鼠实验步骤同上,但线栓插入深度仅为 10 mm,未阻断大脑中动脉血流。制模后采用 Longa 评分法对实验大鼠进行评分,0 分表示大鼠正常,无神经

功能缺损;1 分表示轻度神经功能缺损,大鼠对侧前爪不能完全伸展;2 分表示中度神经功能缺损,大鼠爬行时向偏瘫侧转圈;3 分表示重度神经功能缺损,大鼠爬行时身体向偏瘫侧倾倒;4 分表示大鼠有意识丧失,不能自发移动^[7]。如实验大鼠 Longa 评分为 1~3 分表示制模成功,剔除实验过程中出血较多、呼吸困难或取脑时发现蛛网膜下腔出血或死亡的大鼠,并随即补充大鼠保持入选大鼠总数量不变。

亚低温组在拔除线栓时立即将大鼠梗死侧头部放置在亚低温治疗仪敷贴器上,采用 SL-4 型温度传感器检测大鼠鼻咽部及鼓膜温度,控制其温度保持在(33.6 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$,提示大鼠此时脑温已降至(33.0 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 水平^[8],维持亚低温治疗 6 h。常温组及亚低温组均监测大鼠直肠温度并保持在(37.0 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$,必要时用电热毯保持大鼠直肠温度处于正常水平。待亚低温治疗结束后将大鼠置于常温条件下自然复温。实验期间大鼠均饲养于哈尔滨医科大学附属第一医院实验动物中心标准饲养笼内,保持饲养室通风并维持 23 $^{\circ}\text{C}$ 恒温,给予自然节律光照,观察各组大鼠活动、饮水及进食情况。

四、标本取材

常温组、亚低温组分别于脑缺血再灌注 6 h、12 h、24 h、48 h 及 72 h 时各取 4 只大鼠按每千克体重给予 0.5 ml 水合氯醛(10%)过量麻醉,快速开胸暴露心脏,经 200 ml 生理盐水快速冲洗,同时剪开右心耳,用 200 ml 多聚甲醛磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)灌注固定,然后断头取脑并置入 4% 多聚甲醛 PBS 缓冲液中固定 24 h。自视交叉前后各取 2 mm 组织,经常规石蜡包埋后行冠状切片,取相邻部位切片分别进行苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色及免疫组化染色。假手术组分别于脑缺血再灌注 6 h、12 h、24 h 及 48 h 时各取 1 只大鼠处死,按上述步骤取材及染色。

四、免疫组化染色

本研究 EMAP II 及 proEMAP II 免疫组化染色步骤均严格按照试剂盒说明书进行,石蜡切片经常规脱蜡、去苯,采用 pH 值为 6.0 的柠檬酸盐缓冲液高压抗原修复,EMAP II 和 proEMAP II 一抗分别按 1:50 和 1:100 稀释后进行孵育(4 $^{\circ}\text{C}$ 环境下持续 18 h)。经二抗孵育后行二氨基联苯胺显色、苏木素复染,再经常规分化、返蓝、脱水透明、中性树胶封片后置于 Olympus 光学显微镜下观察,随机选取缺血坏死区与正常组织之间的缺血半暗带区共 5 个不重叠视野,以细胞内出现棕黄色颗粒为阳性细胞并计数阳性细胞数量。

五、统计学分析

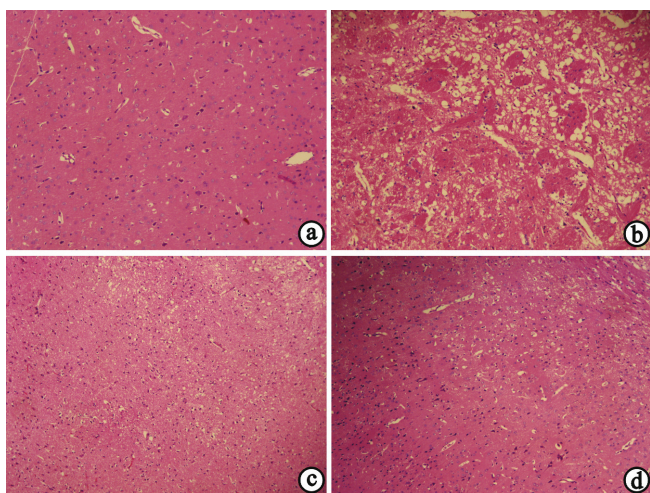
本研究所得计量数据以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS

17.0 版统计学软件包进行数据分析,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、各组大鼠脑组织 HE 染色比较

通过显微镜观察发现,假手术组大鼠脑组织皮质神经元呈三角形或多角形,细胞核染色均匀,核仁清晰,核膜完整,间质无水肿;胶质细胞形态结构完整呈圆形,细胞排列整齐、紧密,细胞质透明,可清晰看到核膜及核仁。常温组、亚低温组大鼠脑梗死区及缺血半暗带区均可见水肿带、充血或血管增生,神经元结构模糊,胞浆空泡化,胞核皱缩、浓染,周围散在分布中性粒细胞;其中亚低温组缺血半暗带面积较常温组减小,胞浆空泡化程度也不及常温组(图 1)。



注:a 为假手术组缺血再灌注 6 h 时脑组织 HE 染色;b 为常温组缺血再灌注 6 h 时中心坏死区,可见细胞排列紊乱,细胞核皱缩、浓染,胞浆空泡化现象显著;c 为常温组缺血再灌注 6 h 时缺血及缺血周边区;d 为亚低温组缺血再灌注 6 h 时缺血及缺血周边区,可见缺血半暗带面积较常温组减小,胞浆空泡化细胞较少

图 1 缺血再灌注 6 h 时各组大鼠脑组织 HE 染色结果比较 (HE 染色, $\times 100$)

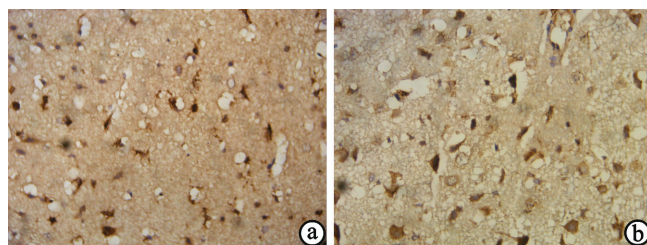
二、各组大鼠脑组织 EMAP II 表达情况比较

通过免疫组化染色发现,EMAP II 广泛分布于脑梗死核心区及缺血半暗带区,主要在圆形巨噬细胞及分枝状小胶质细胞中表达,阳性细胞胞浆呈棕黄色。假手术组未见 EMAP II 阳性细胞表达;常温组及亚低温组 EMAP II 阳性细胞均于脑缺血再灌注 6 h 时明显表达,于再灌注 24 h 时达到峰值,随后略有下降,再灌注 72 h 时仍有一定程度表达。进一步分析发现,常温组 EMAP II 阳性细胞表达在再灌注 6 h、12 h、24 h、48 h 及 72 h 时均显著高于亚低温组水平,组间差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。具体数据见表 1、图 2。

表 1 常温组与亚低温组 EMAP II、proEMAP II 阳性细胞表达情况比较(个/高倍镜视野, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	EMAP II 阳性表达	proEMAP II 阳性表达
假手术组	4	0	19.69 $\pm$ 6.56
常温组			
缺血再灌注 6 h	4	38.75 $\pm$ 4.45 ^b	49.45 $\pm$ 7.69 ^b
缺血再灌注 12 h	4	40.23 $\pm$ 7.19 ^b	58.53 $\pm$ 2.37 ^b
缺血再灌注 24 h	4	45.33 $\pm$ 5.02 ^b	50.00 $\pm$ 7.80 ^b
缺血再灌注 48 h	4	41.27 $\pm$ 3.52 ^b	28.93 $\pm$ 8.43
缺血再灌注 72 h	4	43.73 $\pm$ 7.00 ^b	22.53 $\pm$ 3.69
亚低温组			
缺血再灌注 6 h	4	29.10 $\pm$ 5.65 ^{ab}	39.70 $\pm$ 1.19 ^{ab}
缺血再灌注 12 h	4	25.00 $\pm$ 1.71 ^{ab}	35.20 $\pm$ 8.15 ^{ab}
缺血再灌注 24 h	4	36.50 $\pm$ 4.67 ^{ab}	29.87 $\pm$ 7.58 ^a
缺血再灌注 48 h	4	30.20 $\pm$ 4.33 ^{ab}	19.60 $\pm$ 5.39
缺血再灌注 72 h	4	23.93 $\pm$ 5.97 ^{ab}	20.33 $\pm$ 3.06

注:与常温组比较,^a $P < 0.05$;与假手术组比较,^b $P < 0.05$



注:a 为常温组;b 为亚低温组,可见亚低温组 EMAP II 阳性细胞数量较常温组减少

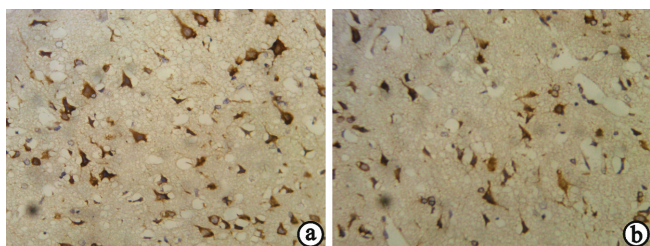
图 2 缺血再灌注 24 h 时常温组及亚低温组 EMAP II 阳性细胞比较(免疫组化染色, $\times 400$)

三、各组大鼠脑组织 proEMAP II 表达情况比较

通过免疫组化染色发现,proEMAP II 阳性细胞胞浆呈棕黄色,其阳性颗粒主要分布于梗死灶周边区三角形或多角形神经元内,在正常组织神经元及胶质细胞中也可见到。假手术组可见少量 proEMAP II 阳性细胞表达;常温组 proEMAP II 阳性细胞数量于缺血再灌注 6 h 后增加,于缺血再灌注 12 h 达到峰值后开始逐渐降低;亚低温组 proEMAP II 阳性细胞数量于缺血再灌注 6 h 达到峰值,之后逐渐下降。2 组大鼠 proEMAP II 阳性细胞在缺血再灌注 72 h 时仍有一定程度表达,但此时均已接近假手术组水平。常温组 proEMAP II 阳性表达在制模后各时间点均强于亚低温组水平,进一步比较发现,在缺血再灌注 6 h、12 h 及 24 h 时组间差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。具体情况见表 1、图 3。

讨 论

目前研究发现,EMAP II 由其前体 proEMAP II 的 C 末端(147~312 号碱基)在细胞应激条件下发生蛋白酶解反应而生成,可在多种细胞(包括内皮细胞、免疫



注:a 表示常温组;b 表示亚低温组,可见亚低温组 proEMAP II 阳性细胞数量较常温组减少

图 3 缺血再灌注 12 h 时常温组及亚低温组大鼠 proEMAP II 阳性细胞比较(免疫组化染色, ×400)

细胞、成纤维细胞、单核/巨噬细胞、肿瘤细胞等)中发挥广泛生物学效应。大量体外及在体实验均证实 EMAP II 具有以下功能:(1)调节细胞质内钙离子浓度引起巨噬细胞募集;(2)促进白细胞趋化;(3)诱导单核细胞分泌肿瘤坏死因子 α , 诱导多核白细胞分泌髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO);(4)刺激内皮细胞释放 P-选择素、E-选择素等因子,引起内皮细胞程序性死亡^[9-10]。许多动物及临床研究均发现,EMAP II 在转录、分泌功能旺盛的组织细胞内高度表达,并通过多种机制参与细胞凋亡过程^[11-12]。Schikorski 等^[13]研究证实,EMAP II 主要由小胶质细胞和巨噬细胞活化产生,具有促炎、抗血管生成等作用^[9];而脑缺血性梗死后单核/巨噬细胞早期募集正是造成再灌注损伤的重要因素之一^[14]。有文献报道称,EMAP II 是一种神经毒性损伤的敏感标志物,在多种中枢神经系统疾病中均有特异性改变,如自身免疫性脑脊髓炎、外伤性脑损伤、脊髓损伤、Borna 病毒感染性脑膜脑炎等^[12,15]。作为一种前炎性因子,EMAP II 在腹膜炎、血管损伤后炎症、急性肺感染^[16-18]等疾病中也有特异性表达,参与先天性免疫应答反应。Liao 等^[6]研究则显示,大鼠在脑梗死早期其小胶质细胞、巨噬细胞均大量表达 EMAP II,故考虑 EMAP II 参与了缺血再灌注损伤过程。上述研究结果表明,EMAP II 在多种炎症反应、细胞凋亡、急性损伤等病理过程中发挥重要作用,尤其在中枢神经系统损伤时表达活跃,其可能通过介导凋亡、诱导炎性细胞聚集、抗血管生成、调节血管内凝血等多种途径参与脑缺血后再灌注损伤。本实验结果显示,缺血再灌注大鼠经亚低温干预后,其脑组织中 EMAP II 表达较常温组明显下降,提示局部亚低温干预能通过下调 EMAP II 蛋白表达来抑制缺血再灌注损伤,从而发挥脑保护作用。

proEMAP II 是一种古老而保守的蛋白质,是氨基酸转运 RNA 合成酶(aminoacyl-tRNA synthetase, aaRS)复合物的辅助蛋白,在蛋白质合成中具有重要作用,并几乎在所有细胞中表达。proEMAP II 在细胞应激条件

下(如缺氧、凋亡或应用化疗药物时)发生蛋白酶解,并转化为 EMAP II^[10]。虽然 proEMAP II 是 EMAP II 的前体蛋白,但二者的生物学功能及表达部位并不完全相同。Knies 等^[10]指出,实验大鼠几乎其所有细胞均表达 proEMAP II,而 EMAP II 仅出现在凋亡细胞的上清液中,提示二者生物学效应具有一定差异。在细胞质中,proEMAP II 参与精氨酸 tRNA 合成酶的催化反应,并可通过介导巨噬细胞内白细胞介素 12(interleukine-12, IL-12)产生,参与 CD4⁺ T 细胞免疫应答^[19-20]。proEMAP II 在血管发生中亦具有重要作用,如低浓度 proEMAP II 能介导内皮细胞迁移,高浓度 proEMAP II 则抑制其增殖并诱发内皮细胞凋亡,发挥抗血管生成作用^[21]。Jackson 等^[22]也提出 proEMAP II 可通过与内皮细胞骨架成分相互作用,降低内皮细胞黏附力,进而降低其活性。Ko 等^[23]提出 proEMAP II 具有活化因子活性。Zhu 等^[24]研究证实,proEMAP II 在中枢神经系统中表达并与神经细丝相互作用,对维持神经轴突完整性具有重要作用。作为氨基酸 tRNA 合成酶复合物的一部分,proEMAP II 功能障碍本身即可引起广泛蛋白质合成异常,诱发脱髓鞘性脑病^[25-26]。简而言之,proEMAP II 在正常组织中即有广泛表达,可参与蛋白质合成、免疫应答、内皮细胞迁移及轴突构建等;高浓度 proEMAP II 则参与内皮细胞凋亡及炎性细胞聚集等病理过程。目前国内、外较少有研究涉及 proEMAP II 在缺血再灌注损伤中的表达变化,本实验通过免疫组化染色发现,正常神经元中可见 proEMAP II 少量表达;当发生缺血再灌注损伤后 proEMAP II 表达量显著升高,提示其可能通过释放 EMAP II、诱导炎性细胞聚集、促进内皮细胞凋亡等途径参与脑缺血再灌注损伤过程;而局部亚低温干预可下调 proEMAP II 蛋白表达,促其更早降至正常水平,从而抑制上述病理改变引起的缺血再灌注损伤并发挥脑保护作用。

目前临床上对于脑梗死后缺血半暗带区存在时间尚存在争议,多数学者认为缺血半暗带区持续 2 ~ 22 h^[27],部分研究则支持该区可存在 48 h 或数天^[28]。本实验观察了缺血再灌注 72 h 内缺血半暗带区 EMAP II 和 proEMAP II 的表达情况,结果提示两者均参与脑缺血再灌注后细胞凋亡及炎性反应过程,局部亚低温干预可下调缺血半暗带区 EMAP II、proEMAP II 表达,从而抑制缺血半暗带区细胞凋亡及炎性反应,进而减轻缺血再灌注损伤。至于亚低温是通过何种途径影响 EMAP II、proEMAP II 表达目前尚未明确,还需进一步深入探讨。

参 考 文 献

- [1] 周峰,郑丰任. 亚低温对颅脑损伤后脑细胞内钙离子浓度及脑水

- 肿影响的实验研究[J]. 创伤外科杂志, 2003, 5(3): 15-34.
- [2] Meloni BP, Mastaglia FL, Knuckey NW. Therapeutic applications of hypothermia in cerebral ischaemia[J]. Ther Adv Neurol Disord, 2008, 1(2): 125-35.
- [3] Erecinska M, Thoresen M, Silver IA. Effects of hypothermia on energy metabolism in mammalian central nervous system[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2003, 23(5): 513-530.
- [4] 江基尧, 朱诚, 罗其中. 现代颅脑损伤学[M]. 上海: 第二军医大学出版社, 2004: 619-621.
- [5] Xu L, Yenari MA, Steinberg GK. Mild hypothermia reduces apoptosis of mouse neurons in vitro early in the cascadecade[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2002, 22(1): 21-28.
- [6] Liao Y, Zhang Z, Liu J, et al. Lesional expression of EMAP II in macrophages/microglia following cerebral ischemia in rats[J]. Int J Neurosci, 2011, 121(2): 58-64.
- [7] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.
- [8] 陈群. 脑缺血再灌注期间脑温的变化和测定方法[J]. 国外医学麻醉学与复苏分册, 1988, 19(1): 30-32.
- [9] Berger AC, Tang G, Alexander HR, et al. Endothelial monocyte-activating polypeptide II, a tumor-derived cytokine that plays an important role in inflammation, apoptosis and angiogenesis[J]. J Immunother, 2000, 23(5): 519-527.
- [10] van Horssen R, RENS JA, Schipper D, et al. EMAP-II facilitates TNF-R1 apoptotic signalling in endothelial cells and induces TRADD mobilization[J]. Apoptosis, 2006, 11(12): 2137-2145.
- [11] Knise UE, Kröger S, Clauss M. Expression of EMAP II in the developing and adult mouse[J]. Apoptosis, 2000, 5(2): 141-151.
- [12] Murray JC, Barnett G, Tas M, et al. Immunohistochemical analysis of endothelial-monocyte-activating polypeptide-II expression in vivo[J]. Am J Pathol, 2000, 157(6): 2045-2053.
- [13] Schikorski D, Cuvillier-Hot V, Boidin-Wichlacz C, et al. Deciphering the immune function and regulation by a TLR of the cytokine EMAP II in the lesioned central nervous system using a leech model[J]. J Immunol, 2009, 183(11): 7119-7128.
- [14] Huang J, Upadhyay UM, Tamargo RJ. Inflammation in stroke and focal cerebral ischemia[J]. Surg Neurol, 2006, 66(3): 232-245.
- [15] Mueller CA, Richt JA, Meyermann R, et al. Accumulation of the proinflammatory cytokine endothelial-monocyte-activating polypeptide II in ramified microglial cells in brains of Borna virus infected Lewis rats[J]. Neurosci Lett, 2003, 339(3): 215-218.
- [16] Mishchuk VV, Pyptiuk OV. Diagnostic significance of some indices of systemic inflammation in peritonitis[J]. Klin Khir, 2010, 2010(1): 36-39.
- [17] Nührenberg TG, Langwieser N, Schwarz JB, et al. EMAP-II downregulation contributes to the beneficial effects of rapamycin after vascular injury[J]. Cardiovasc Res, 2008, 77(3): 580-589.
- [18] Journeay WS, Janardhan KS, Singh B. Expression and function of endothelial monocyte-activating polypeptide-II in acute lung inflammation[J]. Inflamm Res, 2007, 56(5): 175-181.
- [19] Kim E, Kim SH, Kim S, et al. AIMP1/p43 protein induces the maturation of bone marrow-derived dendritic cells with T helper type 1-polarizing ability[J]. J Immunol, 2008, 180(5): 2894-2902.
- [20] Kim E, Kim SH, Kim S, et al. The novel cytokine p43 induces IL-12 production in macrophages via NF-kappaB activation, leading to enhanced IFN-gamma production in CD4 + T cells[J]. J Immunol, 2006, 176(1): 256-264.
- [21] Lee SW, Cho BH, Park SG, et al. Aminoacyl-tRNA synthetase complexes: beyond translation[J]. J Cell Sci, 2004, 117(17): 3725-3734.
- [22] Jackson VC, Dewilde S, Albo AG, et al. The activity of aminoacyl-tRNA synthetase-interacting multi-functional protein 1 (AIMP1) on endothelial cells is mediated by the assembly of a cytoskeletal protein complex[J]. J Cell Biochem, 2011, 112(7): 1857-1868.
- [23] Ko YG, Park H, Kim T, et al. A cofactor of tRNA synthetase, p43, is secreted to up-regulate proinflammatory genes[J]. J Biol Chem, 2001, 276(25): 23028-23033.
- [24] Zhu X, Liu Y, Yin Y, et al. MSC p43 required for axonal development in motor neuro[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(31): 15944-15949.
- [25] Bernard G, Chouery E, Putorti ML. Mutations of POLR3A encoding a catalytic subunit of RNA polymerase Pol III cause a recessive hypomyelinating leukodystrophy[J]. Am J Hum Genet, 2011, 89(3): 415-423.
- [26] Feinstein M, Markus B, Noyman I, et al. Pelizaeus-Merzbacher-like disease caused by AIMP1/p43 homozygous mutation[J]. Am J Hum Genet, 2010, 87(6): 820-828.
- [27] 商晶, 郭玉璞, 谭静江, 等. 组织学方法界定脑梗死缺血半暗带的可行性探讨[J]. 中华神经科杂志, 2001, 34(2): 99-102.
- [28] 孙旭红, 李威. 急性脑卒中缺血半暗带及成像[J]. 临床神经病学杂志, 2008, 21(6): 469-470.

(修回日期: 2013-10-13)

(本文编辑: 易 浩)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对论文中实验动物描述的要求

根据国家科学技术部 1988 年颁布的《实验动物管理条例》和卫生部 1998 年颁布的《医学实验动物管理实施细则》,《中华物理医学与康复杂志》对论文中有关实验动物的描述,要求写清楚以下事项:①品种、品系及亚系的确切名称;②遗传背景或其来源;③微生物检测状况;④性别、年龄、体重;⑤质量等级及合格证书编号;⑥饲养环境和实验环境;⑦健康状况;⑧对实验动物的处理方式。

医学实验动物分为四级:一级为普通级;二级为清洁级;三级为无特定病原体(SPF)级;四级为无菌级。卫生部级课题及研究生毕业论文等科研实验必须应用二级以上的实验动物。