

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.01.008

阻断趋化因子 CXCL10 对脑缺血再灌注损伤及神经炎症的影响*

仇靖¹ 李岩松² 王敏² 姚奔驰² 郑军^{2Δ}

(1 中国人民解放军北部战区总医院 辽宁 沈阳 110000; 2 中国人民解放军北部战区空军医院 辽宁 沈阳 110000)

摘要 目的:探讨趋化因子 CXCL10 在脑缺血再灌注损伤中对神经炎症的影响。**方法:**(1)线栓法建立脑缺血再灌注损伤大鼠模型, TTC 染色检测梗死面积, Western blot 检测 CXCL10 的表达;(2)建立小鼠神经瘤母细胞 N2a 氧糖剥夺/复氧(oxygen-glucose deprivation/reoxygenation, OGD/R)模型, 通过 CXCR3 拮抗剂 -NBI 74330 阻断趋化因子 CXCL10 表达, Western blot 检测 CXCL10 和 CXCR3 蛋白的表达; Real-time PCR 检测 CXCL10、CXCR3 以及神经炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-2 mRNA 的表达。**结果:**(1)脑缺血再灌注(cerebral ischemia reperfusion injury, CIRI)模型大鼠脑梗死侧 CXCR10 的表达量显著高于其对侧和假手术组($P<0.05$);(2)阻断 CXCL10 使得小鼠神经瘤母细胞 N2a 中 CXCL10、CXCR3 以及炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-2 的表达量均显著降低($P<0.05$);(3)阻断 CXCL10 使得小鼠神经瘤母细胞细胞凋亡率降低($P<0.05$)。**结论:**抑制 CXCL10 降低了氧糖剥夺模型细胞炎症因子的表达, 表明阻断 CXCL10 可能通过减轻神经炎症在脑缺血再灌注损伤中发挥保护作用。

关键词:脑损伤; 氧糖剥夺/复氧; CXCL10; 神经炎症

中图分类号: R-33; R743 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2020)01-41-05

Influence of Blocking CXCL10 on Cerebral Ischemia-reperfusion Injury and Neuroinflammation*

QIU Jing¹, LI Yan-song², WANG Min², YAO Ben-chi², ZHENG Jun^{2Δ}

(1 General Hospital of the Northern War Zone of the Chinese People's Liberation Army, Shenyang, Liaoning, 110000, China;

2 People's Liberation Army North Theater Air Force Hospital, Shenyang, Liaoning, 110000, China)

ABSTRACT Objective: The aim of this study is to investigate the effect of blocking chemokine CXCL10 on cerebral ischemia reperfusion injury. **Methods:** (1) Rat model of cerebral ischemia reperfusion injury was established by line plugging method, and the area of the brain infarct was detected by TTC staining, and the expression of chemokine CXCL10 was detected by Western blotting; (2) The Oxygen-glucose deprivation/reoxygenation model of mouse neuroblastoma N2a was established, and chemokine CXCL10 was blocked by CXCR3 antagonist-NBI 74330, and the protein expression of the chemokine and its receptor CXCR3 was detected by Western blotting, and the mRNA expression of them was detected by Real-time PCR, and the mRNA expression of neuroinflammatory factor that refers to TNF- α , IL-1 β , IL-2 was detected in the same way as the former. **Results:** (1) The expression of CXCR10 in the infarcted side of cerebral ischemia reperfusion injury model was significantly higher than that in the contralateral or the sham-operated groups ($P<0.05$); (2) The mRNA expression levels of CXCL10, CXCR3 and inflammatory factors in N2a of mouse neuroblastoma cells were significantly decreased ($P<0.05$). (3) The apoptotic rate of mouse neuroblastoma cells was decreased ($P<0.05$) after chemokine CXCL10 was blocked by its antagonist. **Conclusion:** After inhibiting the expression of CXCL10, the expression of inflammatory cytokines in Oxygen-glucose deprivation/reoxygenation model cells reduced, it suggested that blocking CXCL10 may play a protective role in cerebral ischemia reperfusion injury by mitigating neuroinflammation.

Key words: Brain injury; OGD/R; CXCL10; Neuroinflammation

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R743 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)01-41-05

前言

缺血性脑血管病(ischemic cerebrovascular disease, ICVD)多发于中老年人群,通常患者脑缺血持续一段时间后,大脑恢复供血,但其功能并未恢复,因而会对脑组织造成二次损伤,加重

重脑组织的病理改变^[1,2]。有研究报道,脑缺血再灌注的机制较为复杂,炎症反应可能是脑缺血损伤的关键影响途径之一^[3],目前缺血性脑血管疾病的神经炎症反应以及神经组织再生仍是该类疾病预防方面有待解决的热点问题^[4,5]。

有研究表明, CXCL10 与其受体 CXCR3 的表达水平可能

* 基金项目: 辽宁省自然科学基金项目(2017010825)

作者简介: 仇靖(1980-), 男, 博士, 主要研究方向: 缺血性脑血管病, E-mail: Choujing1@foxmail.com

Δ 通讯作者: 郑军(1980-), 男, 博士, 主要研究方向: 脑血管病, E-mail: Zhengjun2015@163.net

(收稿日期: 2019-04-21 接受日期: 2019-05-15)

与炎症发生和组织损伤有关^[6]。为了明确 CXCL10 对脑缺血再灌注损伤及神经炎症的影响,本研究首先在大鼠 CIRI 模型中明确 CXCL10 的表达趋势;同时采用小鼠神经瘤母细胞 N2a 氧糖剥夺/复氧(oxygen-glucose deprivation/reoxygenation, OGD/R)模型探讨阻断趋化因子 CXCL10 对 N2a 细胞及炎症因子表达的影响,旨在为缺血性脑血管病的预防和治疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康雄性 Sprague-Dawley 大鼠,体重 240-260 g,购自辽宁长生生物技术股份有限公司。

1.1.2 仪器 NW10LVF 超纯水系统(香港 Heal Force 公司);DYCZ-24DN 双垂直蛋白电泳仪、WD-9413B 型凝胶成像系统(北京六一生物科技有限公司);H-2050R 超速冷冻离心机(湖南湘仪集团);ExicyclerTM 96 荧光定量仪(韩国 BIONEER 公司);NovoCyte 流式细胞仪(美国 Aceabio 公司)等。

1.1.3 细胞与试剂 小鼠神经瘤细胞 N2a(武汉普诺赛生命科技有限公司);2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)(生工生物科技有限公司);牛血清白蛋白抗体(BSA, Biosharp 公司);CXCL10 抗体(Basin 公司);CXCR3 抗体(proteintech 公司);抑制剂 NBI-74330(美国 MCE 公司);全蛋白提取试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、细胞凋亡检测试剂盒、羊抗兔 IgG-HRP 等均购自沈阳万类生物科技有限公司;CXCL10、CXCR3、TNF- α 、IL-1 β 、IL-2 以及 β -actin 等基因引物均由金斯瑞生物科技有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 模型建立 线栓法建立脑缺血再灌注模型。在大鼠颈部分离颈总动脉,近心端结扎,找到颈内外动脉分叉处用动脉夹夹闭血管,同时将颈外动脉夹闭,将线栓由颈总动脉插入颈内动脉后固定线栓后缝合伤口。缺血 2 h 后再灌注。假手术组仅分离颈总动脉后缝合^[9]。

1.2.2 神经功能评分 再灌注时长 24 h,待大鼠清醒后,参考 Bederson 评分制^[7]对 CIRI 成模大鼠进行评分。

1.2.3 大鼠脑梗死面积和梗死率 再灌注 24 h 后,麻醉并处死大鼠,取各组大鼠脑组织同一部位,TTC 染色后观察并拍照,ipwin32 软件计算大鼠脑部梗死面积和梗死率。

1.2.4 氧糖剥夺/复氧模型建立及处理 将小鼠神经瘤母细胞 N2a 接种于 6 孔板中,置于 37 °C、5 % CO₂ 无氧培养箱内培养。分组:A 正常细胞组;B OGD/R 处理组;C CXCR3 拮抗剂组;D OGD/R 处理 +CXCR3 拮抗剂组。24 h 后,将 B 组、D 组更换为无糖 DMEM 培养基,置于 37 °C、95 % N₂、5 % CO₂ 的培养箱内培养进行氧糖剥夺处理;3h 后,C 组、D 组加入 NBI-74330(1 μ M),与 B 组同时置于 37 °C、5 % CO₂ 的培养箱内复氧处理 24 h。

1.2.5 Western Blot 检测 CXCL10、CXCR3 蛋白的表达 分别于再灌注 6 h、12 h、24 h 时,取各组大鼠脑组织同一部位提取蛋白;小鼠神经瘤母细胞 N2a 经 OGD/R 处理后,收集并裂解细胞,提取总蛋白。以上蛋白经电泳并转膜后分别将 CXCL10 一抗(1:1000)、CXCR3 一抗(1:2000)和内参抗体 β -actin(1:

1000)4 °C 孵育过夜,然后用 HRP 标记的二抗 37 °C 孵育 45 min。ECL 显色观察大鼠脑组织 CXCL10 蛋白表达和小鼠神经瘤母细胞 N2a 中 CXCL10、CXCR3 蛋白表达。

1.2.6 Real-time PCR 检测抑制 CXCL10 后炎症因子的表达 OGD/R 处理后,收集细胞,Trizol 法提取 RNA,反转录为 cDNA,Real-time PCR 检测细胞中 CXCL10、CXCR3、TNF- α 、IL-1 β 、IL-2 mRNA 的表达,采用 2^{- Δ CT} 法计算 mRNA 相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer Sequence

Gene	Primer	Sequence(5'-3')
CXCL10	forward	GCTCAGGCTCGTCAGTTCTA
	reverse	CCTTGGGAAGATGGTGGTTA
CXCR3	forward	TTCATCTACCTATCAGCCAAC
	reverse	GCAGGAAACCAGCCACTA
IL-2	forward	ATGAACCTGGACCTCTGCG
	reverse	AGGGCTTGTTGAGATGATGC
IL-1 β	forward	CTCAACTGTGAAATGCCACC
	reverse	GAGTGATACTGCCTGCCTGA
TNF- α	forward	CAGGCGGTGCCTATGTCTCA
	reverse	GCTCCTCCACTTGGTGGTTT
β -actin	forward	TGGTGGAGCGATTGTCTGGTTA
	reverse	GCATCACAGACCTGTTATTGCTCAA

1.2.7 流式细胞术各组小鼠神经瘤母细胞凋亡 OGD/R 处理 24 h 后,收集细胞,漂洗并消化,置于 15 mL 试管,1500 rpm 离心 5 min。去上清,加入 500 μ L Binding buffer 重悬细胞,再加入 5 μ L Annexin V-FITC 混匀后,加入 10 μ L Propidium Iodide 混匀,室温避光反应 15 min 后进行流式检测。

1.3 数据统计

采用 Graphpad 软件进行数据分析,组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。结果中 $P < 0.05$ 表示差异性具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠脑梗死面积和梗死率

TTC 染色结果显示,假手术组大鼠脑组织未见梗死或肿胀,模型组梗死侧与其对侧相比肿胀现象明显,且脑部中动脉供血区的皮层、纹状体以及脑半球左侧区域呈白色,并可见淡红色组织交替出现。此外,ipwin32 软件统计结果表明:模型组缺血面积和梗死率与假手术组相比存在显著差异($P < 0.05$)。结果见图 1 与表 2。

2.2 各组大鼠脑组织 CXCL10 蛋白的表达比较

Western Blot 检测结果显示:与假手术组或模型组梗死侧对侧相比,各时间点模型组梗死侧 CXCL10 表达水平均显著升高($P < 0.05$);与假手术组相比,模型组梗死侧对侧 CXCL10 表达水平无明显差异($P > 0.05$)。此外,根据图 2-d,随着再灌注时

长增加,模型组梗死侧 CXCL10 表达水平逐渐升高。以上结果 见图 2。

表 2 大鼠脑梗死面积和梗死率比较

Table 2 Comparison of the area of cerebral infarct and infarction rate in rats

Groups	Total Area(cm ²)	Infarction area(cm ²)	Infarction rate	Score
Sham Operation Group	2.86	0	0.00%	0
Model group	3.62	1.47± 0.12**	48.17± 6.35%*	3

Note: compared with the sham operation group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

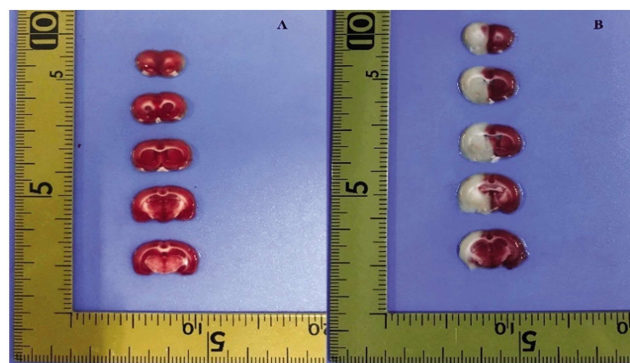


图 1 大鼠脑组织 TTC 染色情况(A:假手术组;B:模型组)

Fig.1 TTC staining of rat brain tissue

(A: sham operation group; B: model group)

2.3 抑制 CXCL10 对氧糖剥夺 / 复氧(OGD/R)CXCL10 和 CXCR3 表达的影响

Western Blot 结果显示:与对照组相比,OGD/R 处理组 CXCL10 和 CXCR3 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$);与 OGD/R 处理组相比,OGD/R 处理后 CXCR3 拮抗剂干预组 CXCL10 和 CXCR3 表达水平显著降低($P<0.05$)。见图 3。

Real-time PCR 结果显示:与对照组相比,OGD/R 处理组 CXCL10 和 CXCR3 mRNA 表达量明显升高 ($P<0.05$);而

OGD/R 处理组相比,OGD/R 处理后 CXCR3 拮抗剂干预组 CXCL10 和 CXCR3 mRNA 表达量显著降低($P<0.05$)。见图4。

2.4 抑制 CXCL10 对氧糖剥夺 / 复氧(OGD/R)对炎症因子表达的影响

Real-time PCR 结果显示:与正常细胞组相比,OGD/R 处理组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-2 表达量均明显升高($P<0.05$);与 OGD/R 处理组相比,OGD/R 处理后 CXCR3 拮抗剂干预组, TNF- α 、IL-1 β 、IL-2 表达量均显著降低($P<0.05$)。见图 5。

2.5 小鼠神经瘤母细胞凋亡情况比较

流式细胞术检测结果显示:与正常细胞组相比,OGD/R 处理组细胞凋亡率显著增加 ($P<0.05$);而与 OGD/R 处理组相比,OGD/R 处理后 CXCR3 拮抗剂干预组细胞凋亡率显著降低 ($P<0.05$)。见表 3。

3 讨论

缺血性脑血管病是中老年群体致死和致残率均较高的疾病,由于脑缺血再灌注损伤机制较为复杂,目前临床上仍未提出有效的预防及治疗方法,因此明确该疾病发病机制并研发其有效的治疗手段越来越受到重视,也是目前脑缺血疾病相关内容的研究重点^[8-10]。脑缺血再灌注损伤是复杂的病理或生理因素所造成的脑损伤,大量文献研究结果已证实:炎症反应是参

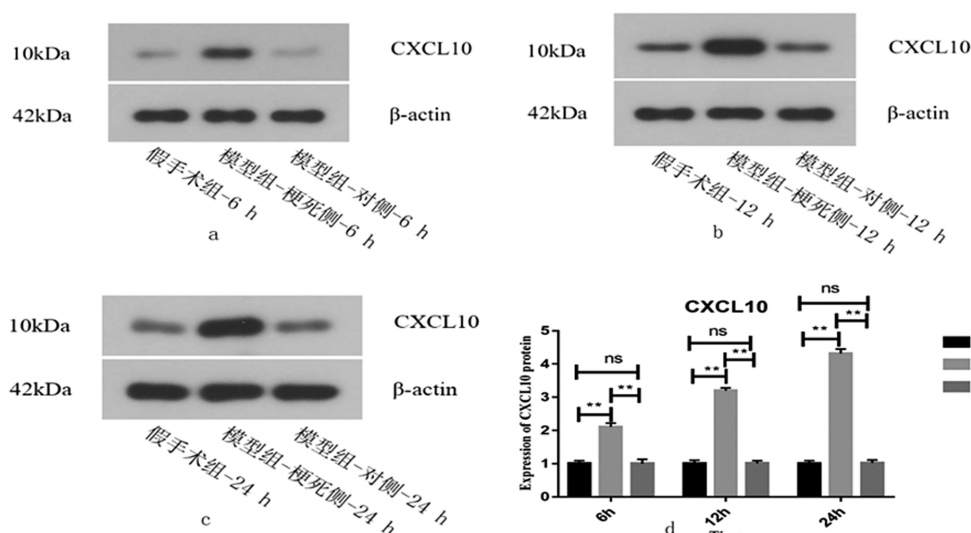


图 2 Western Blot 检测 CXCL10 蛋白的表达(a:再灌注 6 h CXCL10 蛋白的表达,b:再灌注 12 h CXCL10 蛋白的表达,c:再灌注 24 h CXCL10 蛋白的表达,d: Western Blot 检测 CXCL10 表达量的数据统计结果;A:假手术组,B:模型组 - 梗死组,C:模型组 - 对侧

Fig.2 The expression of CXCL10 protein was detected by Western Blot (a: Expression of CXCL10 at 6 h after reperfusion, b: Expression of CXCL10 at 12 h after reperfusion, c: Expression of CXCL10 protein at 24 h after reperfusion, d: Statistical results of Western Blot for expression of CXCL10;

A: sham operation group, B: model group - infarction group, C: model group - contralateral side.

Note: Compared with the sham-operated group or the model group, the infarct side of the model group was * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

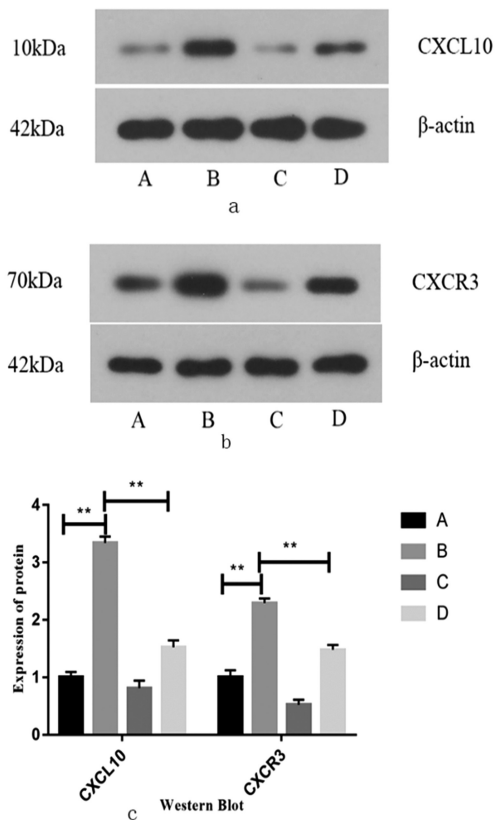


图3 Western Blot 检测小鼠神经母细胞瘤 N2a 中 CXCL10 和 CXCR3 蛋白表达(a: CXCL10 蛋白的表达, b: CXCR3 蛋白的表达, c: CXCL10 和 CXCR3 蛋白表达量的数据统计结果; A: 正常细胞组; B: OGD/R 处理组; C: CXCR3 拮抗剂组; D: OGD/R 处理 + CXCR3 拮抗剂组)

Fig.3 Western Blot result of the expression of CXCL10 and CXCR3 protein in mouse neuroblastoma N2a (a: Expression of CXCL10 protein, b: Expression of CXCR3 protein, c: Data of expression of CXCL10 and CXCR3 protein; A: Control group; B: OGD/R treatment group; C: CXCR3 antagonist group; D: OGD/R treatment + CXCR3 antagonist group. 注: 与正常对照组相比, OGD/R 处理组 $*P<0.05$, $**P<0.01$; 与 OGD/R 处理组相比, OGD/R 处理 + CXCR3 拮抗剂组 $*P<0.05$, $**P<0.01$ 。Note: Compared with the control group, OGD/R treatment group $*P<0.05$, $**P<0.01$; compared with OGD/R treatment group, OGD/R treatment + CXCR3 antagonist group $*P<0.05$, $**P<0.01$ 。

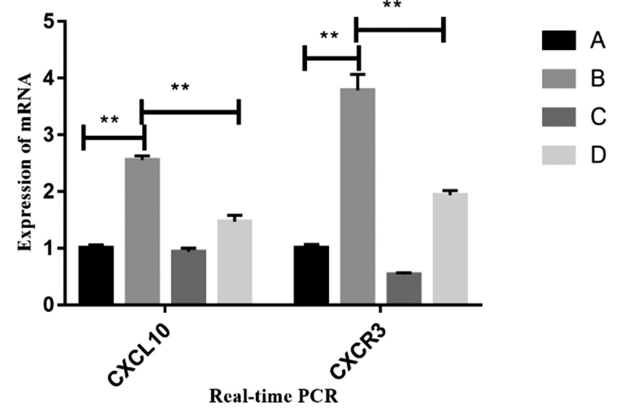


图4 Real-time PCR 检测 CXCL10 和 CXCR3 表达的数据统计结果(A: 正常细胞组; B: OGD/R 处理组; C: CXCR3 拮抗剂组; D: OGD/R 处理 + CXCR3 拮抗剂组。注: 同上)

Fig.4 Real-time PCR result of the expression of CXCL10 and CXCR3 in mouse neuroblastoma N2a (A: Control group; B: OGD/R treatment group; C: CXCR3 antagonist group; D: OGD/R treatment + CXCR3 antagonist group.) Note: Ditto

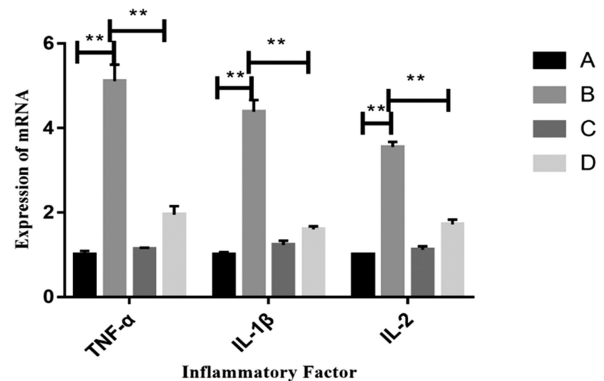


图5 小鼠神经母细胞瘤 TNF-α, IL-1β, IL-2 mRNA 相对表达量 (A: 正常细胞组; B: OGD/R 处理组; C: CXCR3 拮抗剂组; D: OGD/R 处理 + CXCR3 拮抗剂组。注: 同 2.3)

Fig.5 Expression of TNF-α, IL-1β, IL-2 mRNA in mouse neuroblastoma cells (A: Control group; B: OGD/R treatment group; C: CXCR3 antagonist group; D: OGD/R Treatment + CXCR3 antagonist group) Note: Same as 2.3.

表3 流式细胞术检测小鼠神经母细胞瘤凋亡结果

Table 3 Flow cytometry detection of mouse neuroblastoma apoptosis results

Groups	Apoptotic rate (%)
Control group	4.59± 0.59
OGD/R treatment group	18.38± 2.66**
CXCR3 antagonist group	5.42± 0.72
OGD/R Treatment + CXCR3 antagonist group	12.25± 1.90 [#]

Note: Compared with the control group, OGD/R treatment group $*P<0.05$, $**P<0.01$; compared with OGD/R treatment group, OGD/R treatment + CXCR3 antagonist group $^{\#}P<0.05$, $^{\#}P<0.01$ 。

与介导缺血性脑损伤的重要关键因素^[11-13]。通常介导 CIRI 损伤的炎症因子较多,其功能具有多样性:一方面可导致大脑内皮细胞破裂、坏死,破坏血脑屏障,另一方面通过阻塞脑血管、加重神经炎症反应,从而加重脑缺血再灌注损伤,而使得自身释放量增加,因此,阻断该循环过程可能是保护或修复脑缺血

再灌注损伤的有效手段之一^[14-16]。

相关研究结果表明:缺血再灌注脑损伤模型大鼠的氧化应激反应相关指标及炎症反应相关指标的表达水平均显著增加、缺氧诱导因子 HIF-1α 和血管内皮生长因子 VEGF 的表达均降低^[17,18];Crack P 等^[19]提出:发生缺血性脑损伤后,氧自由基的增

加引发了许多促炎基因的表达,可进一步加重炎症反应。而TNF- α 、IL-1 β 、IL-2、IL-6等常见炎症指标均被检测到在缺血再灌注损伤发生早期释放,这些炎症因子对组织或器官中的中性粒细胞具有激活和促进迁移的作用,从而进一步造成大脑组织或器官发生脑缺血再灌注损伤^[20,21]。以上研究结果表明:炎症反应可能是介导脑缺血再灌注损伤的重要因素之一。本研究结果中脑缺血再灌注模型大鼠脑梗死侧脑组织中CXCL10蛋白表达量显著高于假手术组和模型组对侧($P<0.05$),表明CXCL10的表达与脑缺血再灌注损伤程度密切相关。

目前相关研究^[10,22,23]通常采用动物细胞体外建立氧糖剥夺/复氧模型来模拟脑缺血再灌注损伤模型,以便对其进行细胞和分子水平上的研究,如小鼠神经小胶质细胞(BV2)、大鼠嗜铬细胞瘤细胞(PC12)等。目前建立氧糖剥夺/复氧模型相关报道中,越来越多的研究结果表明神经炎症是氧糖剥夺/复氧损伤发生过程中的重要生物学事件^[24],如:洪倩等^[10]结果表明,氧糖剥夺处理后,小鼠神经小胶质细胞(BV2)中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6以及IL-10等炎症因子的分泌水平均上升,表明氧糖剥夺中细胞炎症反应处于较高水平,抑制神经炎症将有利于氧糖剥夺/复氧损伤的恢复^[25]。在本研究中,小鼠神经瘤母细胞N2a经氧糖剥夺复氧(ODG/R)处理后,炎症相关指标表达量均显著增加,与前人相关研究结论一致。关于趋化因子CXCL10与炎症反应的关系,相关研究显示: CXCL10与T细胞的趋化、生物学功能关系较为密切,且在炎症反应部位高度表达,因此该趋化因子可介导炎症反应^[26-28]。另外, CXCL10可通过CXCR3募集T细胞到损伤部位,因此CXCL10的表达水平可作为反映机体损伤程度的重要指标^[19,20]。以上研究结果表明,趋化因子CXCL10的表达情况也与损伤机制中炎症反应密切相关。结合以上结论,本研究中趋化因子CXCL10在氧糖剥夺复氧模型中受到拮抗剂干预后,细胞中炎症反应相关指标与仅进行氧糖剥夺复氧处理的对照组相比,其表达水平均下降,因此CXCL10的阻断抑制了炎症反应,推测该趋化因子的存在可能在弱化细胞抗炎能力方面有一定影响。

结合前人对脑缺血再灌注损伤以及氧糖剥夺损伤的相关研究,可知损伤发生与炎症因子密不可分,通常前者伴随着后者分泌量的逐渐累积^[20-23]。而趋化因子CXCL10与其受体CXCR3通常在炎症部位高表达,被认为是介导炎症反应和损伤机制的重要指标^[30,28]。本研究中通过CXCL10唯一受体CXCR3的拮抗剂对小鼠神经瘤母细胞氧糖剥夺复氧模型进行干预,结果表明该趋化因子的阻断对ODG/R细胞的炎症反应和损伤程度均具有回补效果,推测阻断CXCL10可抑制神经炎症,从而有利于氧糖剥夺/复氧损伤的恢复,这与Wen Y^[25]等的研究结论相符。此外,细胞凋亡结果表明:阻断CXCL10使得氧糖剥夺/复氧模型(ODG/R)细胞的凋亡率降低。因此阻断CXCL10可能对氧糖剥夺模型细胞损伤修复和再生也具有重要作用。

综上所述,阻断CXCL10可能通过抑制ODG/R细胞神经炎症反应,进一步减轻了氧糖剥夺处理所造成的损伤,同时可能对细胞修复和再生也具有重要作用。因此,阻断CXCL10可能通过减轻神经炎症在脑缺血再灌注损伤中发挥保护作用。

参考文献(References)

- [1] Powers W J. Cerebral hemodynamics in ischemic cerebrovascular disease[J]. *Annals of Neurology*, 2010, 29(3): 231-240
- [2] Frijns C J, Kappelle L J. Inflammatory cell adhesion molecules in ischemic cerebrovascular disease [J]. *Stroke; a journal of cerebral circulation*, 2002, 33(8): 2115-2122
- [3] Chu K, Yin B, Wang J, et al. Inhibition of P2X7 receptor ameliorates transient global cerebral ischemia/reperfusion injury via modulating inflammatory responses in the rat hippocampus [J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2012, 9(1): 69
- [4] 杨杨. 针刺对脑缺血再灌注损伤大鼠行为学及神经血管再生机制的研究[D]. 2016
- [5] Das Gupta S, Lipponen A, Paldanius KMA. Dynamics of clusterin protein expression in the brain and plasma following experimental traumatic brain injury[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 20208
- [6] Lee E Y, Lee Z H, Song Y W, et al. CXCL10 and autoimmune diseases [J]. *Autoimmunity Reviews*, 2009, 8(5): 379-383
- [7] 脑缺血预处理对脑缺血再灌注损伤的保护作用及其机制[D]. 华中科技大学, 2007
- [8] Li W, Li L, Wang N, et al. Treatment with edaravone attenuates ischemic brain injury and inhibits neurogenesis in the subventricular zone of adult rats after focal cerebral ischemia and reperfusion injury [J]. *NEUROSCIENCE*, 2012, 201(1): 297-306
- [9] Cai F, Li CR, Wu JL, et al. Theaflavin Ameliorates Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury in Rats Through Its Anti-Inflammatory Effect and Modulation of STAT-1 [J]. *Mediators of Inflammation*, 2006, 1-9
- [10] 洪倩, 王实, 陈昌秀, 等. 血塞通注射液对体外ODG/R损伤的BV2细胞炎症反应的影响[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(01): 140-145
- [11] Charanjit K. Role of microglia in the process of inflammation in the hypoxic developing brain [J]. *Frontiers in Bioscience*, 2011, S3(3): 884-900
- [12] 涂献坤, 杨卫忠, 石松生. 炎症反应介导缺血性脑损伤的机制研究进展[J]. *中华神经医学杂志*, 2011, 10(3): 322-324
- [13] 洪荔枝, 赵晓媛, 张慧灵. p53介导缺血性脑损伤的神经死亡(英文)[J]. *Neuroscience Bulletin*, 2010, 26(3): 232-240
- [14] Desagher S, Martinou J C. Mitochondria as the central controlpoint of apoptosis[J]. *Trends Cell Biol*, 2000, 10(9): 369-377
- [15] 赵培, 朱金墙, 梁钰彬. 肿瘤坏死因子- α 在脑缺血再灌注炎症损伤中的作用[J]. *中国老年学杂志*, 2017(14)
- [16] 史怀璋, 李斗, 李慎茂, 等. 经DSA分析1000例缺血性脑血管病华人患者的病因特点[J]. *中国脑血管病杂志*, 2005, 2(10)
- [17] 王君, 曾文斌, 岳惠玉, 等. 氢饱和生理盐水治疗大鼠脑缺血再灌注损伤的效果研究[J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(3)
- [18] 朱莽, 谢江涛, 樊欣鑫, 等. 缺血预适应对小鼠脑缺血再灌注损伤模型血脑屏障的保护作用及机制[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(28): 5436-5439
- [19] Crack P, Wong C. Modulation of Neuro-Inflammation and Vascular Response by Oxidative Stress Following Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury [J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2008, 15(1): 1-14

- [18] Wang PF, Li CH, Zhang AQ, et al. A New Segmental Hepatectomy Approach Using Ultrasound-Guided Portal Branch Infusion of a Thermosensitive Gel in Pigs[J]. *J Invest Surg*, 2015, 28(5): 276-282
- [19] Yin DL, Jiang HC, Liang YJ, et al. Precise hepatectomy guided by minimally invasive surgery: a novel strategy for liver resection[J]. *Hepatogastroenterology*, 2012, 59(118): 1951-1959
- [20] 李幼安, 张起帆, 蔡庆, 等. 原发性肝癌精准肝切除与不规则性肝切除的对比研究[J]. *实用医学杂志*, 2017, 33(20): 3429-3433
- [21] Yigitbas H, Yazici P, Taskin HE, et al. New Technique of Radiofrequency-assisted Ultrasound-guided Needle-localized Laparoscopic Resection of Disappearing Colorectal Liver Metastases [J]. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*, 2017, 27(1): e1-e5
- [22] 刘浩, 徐琴, 孙晓凤, 等. 中晚期肝癌介入治疗患者的生存质量及预后影响因素分析[J]. *川北医学院学报*, 2016, 31(5): 693-695
- [23] 徐继威, 温苑章, 李嘉, 等. 腹腔镜精准肝切除临床应用价值分析[J]. *中国微创外科杂志*, 2016, 16(7): 590-593
- [24] Huang B, Yu Y, Zhao S, et al. Precise hepatectomy based on the optimized technique of hepatic blood flow occlusion combined with the curettage and cut technique by electrotome [J]. *Minerva Chir*, 2017, 72(1): 1-9
- [25] Wei W, Zhang T, Zafarnia S, et al. Establishment of a rat model: Associating liver partition with portal vein ligation for staged hepatectomy[J]. *Surgery*, 2016, 159(5): 1299-1307
- [26] Schiergens TS, Lindenthaler A, Thomas MN, et al. Time-dependent impact of age and comorbidities on long-term overall survival after liver resection[J]. *Liver Int*, 2016, 36(9): 1340-1350
- [27] Wen H, Dong JH, Zhang JH, et al. Ex Vivo Liver Resection and Autotransplantation for End-Stage Alveolar Echinococcosis: A Case Series[J]. *Am J Transplant*, 2016, 16(2): 615-624
- [28] Chen XP, Zhang WD, Wang D, et al. Limage classification of liver cancer surrounding right hepatic pedicle and its guide to precise liver resection[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(7): 11093-11100
- [29] Onoe S, Kaneoka Y, Maeda A, et al. Hepatectomy of segment 4b and 5 with extrahepatic bile duct resection for pT2 gallbladder carcinoma is valid: a single-institution result [J]. *Updates Surg*, 2015, 67(3): 265-271
- [30] Aoki T, Murakami M, Koizumi T, et al. Preoperative Tattooing for Precise and Expedient Localization of Landmark in Laparoscopic Liver Resection[J]. *J Am Coll Surg*, 2015, 221(5): e97-e101

(上接第 45 页)

- [20] Buchholz B M, Kaczorowski D J, Sugimoto R, et al. Hydrogen Inhalation Ameliorates Oxidative Stress in Transplantation Induced Intestinal Graft Injury[J]. *American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*, 2008, 8(10): 2015-2024
- [21] Cui Y, Zhang H, Ji M, et al. Hydrogen-rich saline attenuates neuronal ischemia-reperfusion injury by protecting mitochondrial function in rats[J]. *Journal of Surgical Research*, 2014, 192(2): 564-572
- [22] 张蕾, 李新, 贾济, 等. 氨磷汀对氧糖剥夺引起的 PC12 细胞缺血再灌注损伤的保护作用研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2011, 11(6): 1110-1113
- [23] Mo Z T, Fang Y Q, He Y P, et al. β -Asarone protects PC12 cells against OGD/R-induced injury via attenuating Beclin-1-dependent autophagy[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2012, 33(6): 737-742
- [24] Lakhan S E, Kirchgessner A, Hofer M. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: therapeutic approaches [J]. *Journal of Translational Medicine*, 2009, 7(1): 97
- [25] Wen Y, Yu Y, Fu X. LncRNA Gm4419 contributes to OGD/R injury of cerebral microglial cells via I κ B phosphorylation and NF- κ B activation[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, 487(4): 923
- [26] CXCL10/CXCR3 在感染 PRRSV 猪肺组织和巨噬细胞中的表达 [D]. 华中农业大学, 2016
- [27] Dufour J H, Dziejman M, Liu M T, et al. IFN- γ -inducible protein 10 (IP-10; CXCL10) -deficient mice reveal a role for IP-10 in effector T cell generation and trafficking[J]. *Immunol*, 2002, 168: 3195-3204
- [28] 段钟平, 白丽, 翟原, 等. 趋化因子 CXCL10 与肝病关系的研究进展[J]. *北京医学*, 2010, 32(3): 227-230
- [29] Piper K P, Horlock C, Curnow S J, et al. CXCL10-CXCR3 interactions play an important role in the pathogenesis of acute graft-versus-host disease in the skin following allogeneic stem-cell transplantation[J]. *Blood*, 2007, 110(12): 3827
- [30] 聂莉, 李婷, 刘淑华, 等. 慢性阻塞性肺疾病患者外周血单个核细胞 CXC 趋化因子受体 3 表达的意义 [J]. *临床内科杂志*, 2012, 29(3): 170-172