

基础研究

鞘内注射右美托咪定对大鼠脊髓缺血再灌注损伤后 FGFR3 表达及血-脊髓屏障的影响

李晓倩, 张再莉, 马 虹

(中国医科大学附属第一医院麻醉科 110001 沈阳市)

【摘要】目的:观察鞘内注射右美托咪定(dexmedetomidine, Dex)对大鼠脊髓缺血再灌注损伤(spinal cord ischemia reperfusion injury, SCIRI)后细胞生长因子受体 3(FGFR3)表达、血-脊髓屏障(blood-spinal cord barrier, BSCB)结构及其相关结构蛋白 occludin 的影响。方法:120 只 SD 大鼠随机分为 4 组:假手术组(Sham 组)、缺血再灌注损伤组(IR 组)、Dex 预处理组(Dex 组)和 Dex+阿替美唑(ATIP)预处理组(Dex+ATIP 组), Sham 组和 IR 组分别于造模前 3d 开始鞘内生理盐水 30 μ l、Dex 组鞘内注射 10 μ g DEX(30 μ l); Dex+ATIP 组鞘内注射右美托咪定 10 μ g+阿替美唑 10 μ g(共 30 μ l), 1 次/d, 连续 3d。Sham 组仅暴露主动脉弓而不结扎, 其他 3 组开胸后用无创动脉夹夹闭主动脉弓 14min 后再开放, 建立 SCIRI 模型。分别于造模后 12h 和 48h 取 L4~L6 脊髓, 采用干湿法测定脊髓含水量;伊文思蓝(evans blue, EB)染色测定 BSCB 完整性;Weston blot 和 RT-PCR 测定脊髓组织中 FGFR3 和 occludin 含量。结果:造模后 12h 和 48h, 与 Sham 组比较, IR 组、Dex 组和 Dex+ATIP 组相应时间点脊髓组织中含水量、EB 含量、FGFR3 蛋白和基因表达均显著性增加, occludin 表达显著性下降($P<0.05$); Dex 组与相应时间点与 IR 组和 Dex+ATIP 组相比脊髓组织中含水量、EB 含量和 FGFR3 蛋白和基因表达均显著性降低, 而 occludin 表达增加 ($P<0.05$); Dex+ATIP 组与 IR 组相应时间点比较均无显著性差异。造模后 12h 和 48h, EB 染色荧光显微镜下观察 Sham 组脊髓实质内几乎未见红色荧光, Dex 组红色荧光有所增加, 而 IR 组和 Dex+ATIP 组红色荧光显著增加, 48h 变化较 12h 更为显著。结论:鞘内注射 Dex 可下调大鼠脊髓缺血再灌注损伤后脊髓组织中 FGFR3 蛋白表达, 维持 occludin 蛋白含量, 对血-脊髓屏障起到保护作用。

【关键词】脊髓损伤;缺血再灌注;血-脊髓屏障;细胞生长因子受体 3;紧密连接相关蛋白;右美托咪定;大鼠
doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2016.04.10

中图分类号:R364.1, R965.1 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2016)-04-0342-06

Intrathecal injection with dexmedetomidine maintained structure and function of blood-spinal cord barrier after ischemia reperfusion through down regulating FGFR3/LI Xiaoqian, ZHANG Zaili, MA Hong//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2016, 26(4): 342-347

【Abstract】Objectives: To observe the effects of intrathecal injection with dexmedetomidine(Dex) on expressions of FGFR3, structure of blood-spinal cord barrier(BSCB), and related protein occludin after spinal cord ischemia reperfusion injury(SCIRI) in rat model. Methods: One hundred and twenty rats were randomly divided into four groups: sham group, IR group, Dex group and Dex+ATIP group. Intrathecal injection of 30 μ l normal saline was performed in sham group and IR group, 10 μ g dexmedetomidine(30 μ l) in Dex group, and 10 μ g dexmedetomidine and 10 μ g ATIP(total in 30 μ l) in Dex+ATIP group. Intrathecal injection was done once a day and continuously for 3 days. Aortic arch was only exposed but not occluded in sham group. SCIRI model in the other three groups were established by aortic arch occlusion for 14min. At 12h and 48h after model-making, L4-L6 segments of spinal cord were extracted. Spinal water content was determined by wet and dry method. Evan's Blue(EB) extravasation was used to assess the structure of BSCB. Protein and mRNA expression of FGFR3 and occludin were assessed by Weston blot and PCR. Results: Compared with sham group, rats in IR group, Dex group and Dex+ATIP group had significantly higher spinal water content, EB extravasation, protein and mRNA levels of FGFR3, but lower protein and mRNA level of occludin at both

基金项目:辽宁省科学技术计划项目(编号:2012408002)

第一作者简介:女(1984-),医学博士,主治医师,研究方向:围术期神经系统保护

电话:(024)83283100 E-mail:shirley037305@hotmail.com

通讯作者:马虹 E-mail:mahong5466@yahoo.com

12h and 48h after model-making ($P<0.05$). Compared with IR group and Dex+ATIP group at the above time points, rats in Dex group had lower spinal water content, EB extravasation, protein and mRNA level of FGFR3, but higher level of occludin ($P<0.05$). There were no significant differences in the above indexes between IR group and Dex+ATIP group. At 12 and 48h after model-making, almost no red fluorescent stain was visualized in spinal cord parenchyma of sham group under microscopy, a little more fluorescent stain was observed in Dex group, but red fluorescent stain was observed markedly increase in IR group and Dex+ATIP group. The changes at 48h were more obviously than those at 12h. **Conclusions:** Intrathecal injection with Dex can maintain structure of BSCB and preserve expression of occludin by inhibiting spinal FGFR3 expression.

【Key words】 Spinal cord ischemia reperfusion injury; Blood-spinal cord barrier; Fibroblast growth factor receptor 3; Occludin; Dexmedetomidine; Rat

【Author's address】 Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang, 110001, China

脊髓缺血再灌注损伤 (spinal cord ischemia reperfusion injury, SCIRI) 多以损伤平面以下感觉和运动缺失为主, 严重时可导致患者死亡, 造成巨大的经济和社会负担, 是现代医学领域的难题和热点^[1-3]。脊髓存在天然的屏障系统, 即血-脊髓屏障 (blood-spinal cord barrier, BSCB), 可以有效调节脊髓液体微环境在较小的范围内波动, 维持其正常功能^[4]。寻找有效维持 BSCB 结构和功能的药物是修复 SCIRI 的重要机制。右美托咪定 (dexmedetomidine, Dex) 是一种新型高选择性 α_2 肾上腺素能受体激动剂, 具有良好的镇静、镇痛和抗焦虑等作用^[5]。越来越多的研究证实 Dex 可以通过调节免疫系统, 在缺血再灌注损伤中发挥抗炎、抗细胞凋亡的器官保护作用^[5-7]。成纤维细胞生长因子受体 3 (fibroblast growth factor receptor 3, FGFR3) 是一种具有自身磷酸化活性的跨膜酪氨酸激酶受体, 在神经系统系统中广泛表达, FGFR3 功能异常可导致组织和细胞发育异常^[8-9]。紧密连接相关蛋白 occludin 是组成 BSCB 结构的最重要细胞成分^[10]。但 FGFR3 的变化对 occludin 蛋白的影响尚未有研究证实。本研究旨在观察鞘内注射 Dex 对 SCIRI 后 BSCB 结构和组织中 FGFR3 与 occludin 的影响, 并探讨其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

120 只大鼠随机分为 4 组, 每组 30 只。假手术组 (Sham 组): 造模前 3d 鞘内注射生理盐水 30 μ l; 缺血再灌注损伤组 (IR 组): 造模前 3d 鞘内注射生理盐水 30 μ l; Dex 预处理组 (Dex 组): 造模

前 3d 鞘内注射 10 μ g Dex (30 μ l); Dex+阿替美唑 (ATIP) 预处理组 (Dex+ATIP 组): 造模前 3d 鞘内注射 Dex、ATIP 各 10 μ g (共 30 μ l)。1 次/d, 连续 3d。

1.2 动物模型的建立^[2,3]

水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠后, 常规消毒, 右侧卧位, 四肢固定于手术台上, 胸背部去毛, 消毒铺巾。沿肋缘切口逐层分离并暴露左肺上叶, 棉纱条保护肺部后由心包处开始分离主动脉, 至主动脉弓左锁骨上动脉发出处上, Sham 组不夹闭动脉, 其余 3 组用无创动脉夹夹闭主动脉弓 14min 后撤除动脉夹, 逐层缝合伤口。腹腔注射 0.3ml 氨苄青霉素 (100mg/ml)。术后单笼饲养。

1.3 脊髓含水量测定

采用干湿法^[5,6]测定脊髓含水量。造模后 12h 和 48h, 每组分别取 6 只大鼠 L4~L6 脊髓节段, 用滤纸吸除表面水分后, 置于电子天平称取湿重 (W), 再经 110 $^{\circ}$ C 恒温烤箱烘烤 24h 后称取干重 (D)。脊髓含水量 = $(W-D)/W \times 100\%$ 。

1.4 BSCB 完整性检测

造模后 12h 和 48h, 每组分别取 8 只大鼠, 经大鼠尾静脉缓慢匀速注射 EB (10ml/kg), 5min 内完成。1h 后取出 L4~L6 脊髓, 于 L5 水平将脊髓横切为两段, 取头端脊髓浸泡在 4ml 甲酰胺溶液中, 60 $^{\circ}$ C 避光水浴抽提 24h, 离心, 取上清液, 用酶标仪检测 ($\lambda=632\text{nm}$) OD 值, 每个样本重复检测 3 次。根据标准曲线计算出每克脊髓组织中 EB 含量 ($\mu\text{g/g}$)。尾端脊髓先后置入 4% 多聚甲醛, 15%、20% 和 30% 蔗糖溶液进行固定和沉糖, 冰冻切片机上于 -20 $^{\circ}$ C 连续切片 (10 μm), 每只动物随机选择头段、中段、尾段切片各 1 张, 在 Olympus BX-60 荧光显微镜绿色荧光激发模式下观察荧光渗

出情况。

1.5 脊髓组织中 FGFR3 和 occludin 的蛋白表达测定

造模后 12h 和 48h 每组分别处死 8 只大鼠,提取 L4~L6 脊髓组织蛋白质样品,使用 BCA (bicinchoninic acid)法蛋白浓度定量试剂盒进行蛋白测定。每孔 5 μ g 的总蛋白样品经浓度为 10% 十二烷基硫酸钠(SDS)-聚丙烯酰胺凝胶电泳后,移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,分别加入兔抗 FGFR3 多克隆抗体(1:500)、兔抗 occludin 多克隆抗体(1:400)4℃过夜,洗膜后再用 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 杂交,37℃、2h,ECL 试剂 X 线胶片显像,扫描。采用相对光密度法进行半定量分析,相对光密度表达为每条带的累积光密度比相应的 GAPDH,每组重复 3 次实验。

1.6 脊髓组织中 FGFR3 和 occludin 的 mRNA 表达测定

造模后 12h 和 48h 每组分别取 8 大鼠提取脊髓组织,并按试剂盒说明书操作,通过 1%琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度仪检测提取总 RNA 的质量和浓度。引物序列如下:FGFR3 (正向):5'-AGGCTTCAAGTGCTAAACGC-3', (反向):5'-TGAGGACGGAGCATCTGTAC'-3';occludin (正向):5'-GCTTCTGGATCTATGTATGGCTCAC-3', (反向):5'-TCATAGCGGTCCATCTTTCTTCGAG-3';GAPDH (正向)5'-TCGGCATTGTGGAGGGGCTC-3', (反向)5'-TCCCCTTCAGCTCGGGATG-3'。在 FTC2000 型荧光定量 PCR 仪上行 PCR。扩增条件如下:①94℃、1min, ②94℃、10s,

③55℃、30s, ④72℃、1min,45 个循环。退火期为 55℃、30s。结束后,系统根据各反应管的荧光强度增长指数(DRn)绘制扩增动力学曲线和确定至特定阈值时的扩增循环数(CT 值),采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法处理数据。目的基因为 FGFR3、occludin, GAPDH 基因为内参^[14],每组重复 3 次实验。

1.7 统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。数据处理采用 SPSS 17.0 统计学软件。组间比较采用单因素方差分析,组内因素两两比较采用 LSD 法, $P<0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 脊髓含水量

造模后 12h 和 48h 时 4 组大鼠脊髓组织中含水量见表 1。与 Sham 组比较,IR 组、Dex 组、Dex+ATIP 组造模后 12h 脊髓组织含水量均显著性增加($P<0.05$),造模后 48h 增加更明显($P<0.05$);与相同时间点 IR 组和 Dex+ATIP 组比较,Dex 组各时间点脊髓组织中的含水量显著性降低($P<0.05$),Dex+ATIP 组与 IR 组相同时间点比较无统计学差异($P>0.05$)。

2.2 BSCB 完整性

造模后 12h 和 48h 时 4 组大鼠脊髓组织中 EB 含量见表 2。与 Sham 组比较,IR 组、Dex 组、Dex+ATIP 组造模后 12h 脊髓组织中 EB 含量即有显著性增加($P<0.05$),造模后 48h 增加更明显($P<0.05$);与 IR 组和 Dex+ATIP 组比较,Dex 组各时间点脊髓组织中 EB 含量均显著性降低($P<$

表 1 四组大鼠造模后 12h 和 48h 脊髓含水量

($\bar{x}\pm s$, $n=6$, %)

Table 1 Spinal water content at 12 and 48h after model-making in 4 groups

	Sham组(Sham group)	IR组(IR group)	Dex组(Dex group)	Dex+ATIP 组(Dex+ATIP group)	P值(P value)
12h	59.01 $\pm$ 2.33	85.74 $\pm$ 5.66 ^①	67.02 $\pm$ 4.40 ^{①②}	84.92 $\pm$ 5.72 ^①	0.000
48h	60.01 $\pm$ 4.33	94.74 $\pm$ 8.62 ^①	75.02 $\pm$ 8.40 ^{①②}	91.92 $\pm$ 5.72 ^①	0.003

注:①与 Sham 组比较 $P<0.05$;②与 IR 组比较 $P<0.05$

Note: ①Compared with Sham group, $P<0.05$; ②Compared with IR group, $P<0.05$

表 2 四组大鼠造模后 12h 和 48h 脊髓 EB 含量

($\bar{x}\pm s$, $n=8$, μ g/g)

Table 2 EB content at 12 and 48h after model-making in 4 groups

	Sham组(Sham group)	IR组(IR group)	Dex组(Dex group)	Dex+ATIP 组(Dex+ATIP group)	P值(P value)
12h	4.53 $\pm$ 0.15	12.56 $\pm$ 0.42 ^①	8.21 $\pm$ 0.36 ^{①②}	11.77 $\pm$ 0.48 ^①	0.000
48h	5.64 $\pm$ 0.32	15.57 $\pm$ 0.82 ^①	9.21 $\pm$ 0.58 ^{①②}	15.13 $\pm$ 0.55 ^①	0.000

注:①与 Sham 组比较 $P<0.05$;②与 IR 组比较 $P<0.05$

Note: ①Compared with Sham group, $P<0.05$; ②Compared with IR group, $P<0.05$

0.05), Dex+ATIP 组与 IR 组相同时间点比较无统计学差异($P>0.05$)。造模后 12h 和 48h, 在荧光显微镜下, Sham 组脊髓实质内几乎均未见红色荧光; IR 组和 Dex+ATIP 组 12h 时脊髓组织中红色荧光明显增多, 48h 进一步增多。与 IR 组和 Dex+ATIP 组相比, Dex 组损伤后 12h 和 48h 红色荧光均明显减弱, 而 Dex+ATIP 组与 IR 组比较差异不明显(图 1)。

2.3 脊髓组织中 FGFR3 和 occludin 蛋白表达量

造模后 12h 和 48h 时 4 组大鼠脊髓组织中 FGFR3 和 occludin 蛋白表达量见图 2 和表 3。与 Sham 组比较, IR 组、Dex 组、Dex+ATIP 组造模后 12h 和 48h 脊髓组织中 FGFR3 蛋白表达显著性增加, 而 occludin 蛋白表达明显降低($P<0.05$); 与 IR 组和 Dex+ATIP 组比较, Dex 组各时间点脊髓组织中 FGFR3 蛋白表达显著性降低, 而 occludin 蛋白表达显著性增加($P<0.05$); Dex+ATIP 组与 IR 组相同时间点比较 FGFR3 和 occludin 蛋白表

达均无统计学差异($P>0.05$)。

2.4 脊髓组织中 FGFR3 和 occludin mRNA 的表达量

造模后 12h 和 48h 时 4 组大鼠脊髓组织中 FGFR3 和 occludin mRNA 的表达量见表 4。与 Sham 组相比, IR 组、Dex 组、Dex+ATIP 组造模后 12h 和 48h 脊髓组织中 FGFR3 mRNA 的表达显著性增加, 而 occludin mRNA 显著性降低($P<0.05$); 与 IR 组和 Dex+ATIP 组比较, Dex 组各时间点脊髓组织中 FGFR3 mRNA 的表达均显著性降低, 而 occludin mRNA 显著性增加($P<0.05$); Dex+ATIP 组与 IR 组相同时间点的 FGFR3 和 occludin mRNA 表达均无统计学差异($P>0.05$)。

3 讨论

Dex 是新一代高选择性 α_2 肾上腺素能受体激动剂, 通过激动脑干蓝斑, 发挥中枢性抗交感作用, 产生良好的镇静、镇痛和抗焦虑作用, 临床应

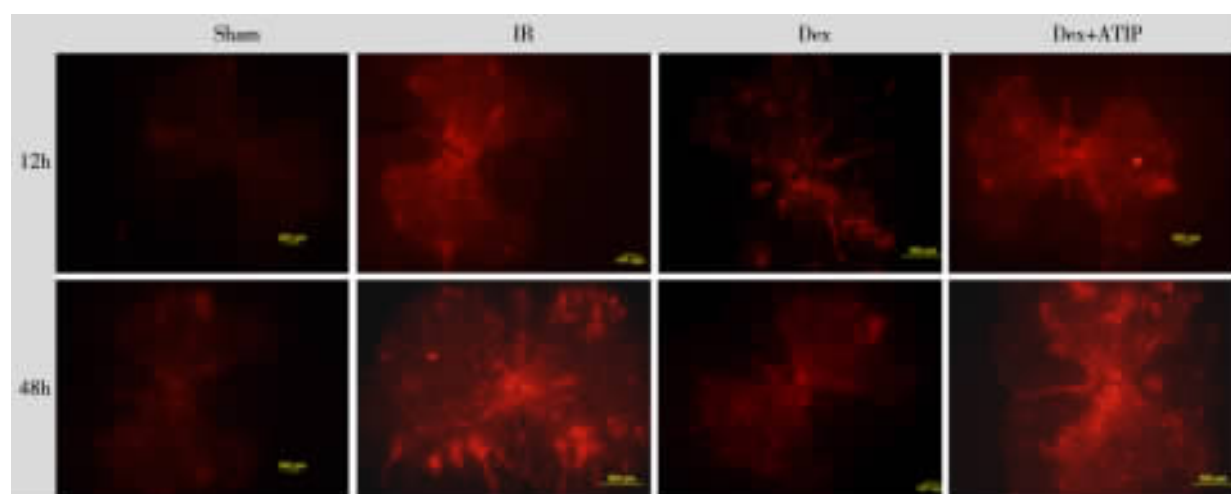


图 1 四组大鼠造模后不同时间点脊髓组织 EB 染色后荧光显微镜下结果

Figure 1 Blood-spinal cord barrier (BSCB) integrity at 12h and 48h after model-making in 4 groups measured by EB fluorescent staining($\times 100$)

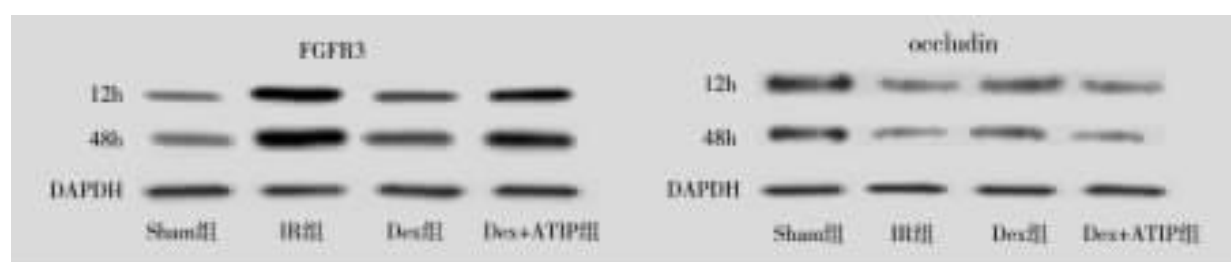


图 2 四组大鼠造模后不同时间点 Weston blot 测定脊髓组织中 FGFR3 和 occludin 的蛋白表达情况

Figure 2 Protein levels of FGFR and occludin in spinal cord at 12h and 48h after model-making measured by Weston blot

表 3 造模后 12h 和 48h 脊髓 FGFR3 和 occludin 蛋白表达的相对光密度值 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 3		Relative optical density of FGFR3 and occludin at 12 and 48h after model-making				
		Sham组(Sham group)	IR组(IR group)	Dex组(Dex group)	Dex+ATIP 组(Dex+ATIP group)	P值(P value)
FGFR3	12h	0.60±0.05	1.10±0.21 ^①	0.75±0.23 ^{①②}	1.14±0.22 ^①	0.017
	48h	0.63±0.12	1.35±0.18 ^①	0.78±0.16 ^{①②}	1.39±0.23 ^①	0.009
occludin	12h	0.75±0.16	0.52±0.10 ^①	0.69±0.18 ^{①②}	0.50±0.13 ^①	0.034
	48h	0.70±0.18	0.42±0.05 ^①	0.68±0.15 ^{①②}	0.42±0.07 ^①	0.036

注:①与 Sham 组比较 $P<0.05$;②与 IR 组比较 $P<0.05$

Note: ①Compared with Sham group, $P<0.05$; ②Compared with IR group, $P<0.05$

表 4 造模后 12h 和 48h 脊髓 FGFR3 和 occludin mRNA 的相对表达强度 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 4		Relative density of FGFR3 and occludin mRNA at 12 and 48h after model-making				
		Sham组(Sham group)	IR组(IR group)	Dex组(Dex group)	Dex+ATIP 组(Dex+ATIP group)	P值(P value)
FGFR3	12h	0.50±0.16	1.20±0.20 ^①	0.65±0.26 ^{①②}	1.15±0.33 ^①	0.018
	48h	0.65±0.50	1.40±0.18 ^①	0.73±0.22 ^{①②}	1.38±0.32 ^①	0.017
occludin	12h	0.81±0.10	0.56±0.08 ^①	0.75±0.07 ^{①②}	0.60±0.05 ^①	0.012
	48h	0.68±0.11	0.45±0.03 ^①	0.57±0.12 ^{①②}	0.44±0.08 ^①	0.038

注:①与 Sham 组比较 $P<0.05$;②与 IR 组比较 $P<0.05$

Note: ①Compared with Sham group, $P<0.05$; ②Compared with IR group, $P<0.05$

用广泛^[11,12]。越来越多的研究证实 Dex 可以通过抑制炎症信号和脊髓感受伤害性反应、阻断肥大细胞脱粒等途径,对心、脑和脊髓等器官具有保护作用^[6,7,12]。SCIRI 是指短暂缺血脊髓在恢复血液再灌注后,组织细胞功能代谢障碍及结构功能破坏反而加重的现象^[2]。中枢神经系统存在 BSCB,通过防止有害物质侵入,维持神经系统内环境相对稳定^[13]。脊髓作为联系外周神经和中枢神经的重要桥梁,也存在天然的屏障系统。普遍认为 BSCB 破坏是 SCIRI 中最直接的病理改变^[4,13,14]。因此早期发现和处理 BSCB 破坏可以限制脊髓损伤,优化脊髓保护策略。

BSCB 是由连续的血管内皮细胞、星形胶质细胞及其之间的紧密连接组成。完整的 BSCB 能够调节和限制血液内物质进入,减少脊髓微环境波动,维持神经系统稳态^[10,13]。炎症、缺血等病理状态下,BSCB 完整性破坏,血液中的各种分子、蛋白进入脊髓实质,造成脊髓组织水肿、缺血缺氧等,导致神经功能损伤^[5,10]。无创动脉夹夹闭主动脉弓模拟 SCIRI 是目前使用最广泛的 SCIRI 动物模型之一,具有高度的重复性^[2-4]。造模后 12h 和 48h 测定脊髓含水量明显增加,提示 SCIRI 可引起脊髓水肿。EB 注入血液后能与白蛋白稳定结合,形成 EB-白蛋白复合物。正常情况下该复合物不能通过 BSCB,只有在屏障结构破坏的情况

下发生渗漏,可间接反映 BSCB 的破坏程度和破坏部位^[5,10,13]。本研究观察到 IR 组大鼠造模后 12h 和 48h 脊髓组织中 EB 含量和 EB 荧光外渗程度均较 Sham 组明显增多,且 48h 较 12h 更为显著,证实 SCIRI 后 BSCB 在造模后 48h 破坏更为严重。鞘内注射 Dex 可明显降低 SCIRI 后脊髓含水量、EB 含量和 EB 荧光外渗程度,而给予 Dex 特异性阻滞剂 ATIP 后上述改变消失,提示 Dex 可以维持 SCIRI 后 BSCB 的结构。

FGFR3 是一种具有自身磷酸化活性的跨膜酪氨酸激酶受体,在神经系统中广泛表达,影响神经元和胶质细胞的分化及增值,FGFR3 功能异常也可导致组织和细胞的生长和发育异常^[8,9]。星形胶质细胞和紧密连接(tight junction,TJ)作为 BSCB 重要的结构基础^[10,13]。有研究表明,FGFR3 在调节新生血管形成过程中扮演着重要角色^[8,15]。Chen 等^[16]敲除大鼠 FGFR3 基因后发现前扣带皮质区星形胶质细胞的活化显著增高,提出 FGFR3 对星形胶质细胞和血管形成呈负性调控作用。同样,在本研究中,Western blot 和 PCR 检查结果显示,SCIRI 后,FGFR3 蛋白和 mRNA 的表达明显增加,且 48h 较 12h 更为显著,与上述研究结果一致。Occludin 作为 TJ 的主要结构蛋白,是第一个被分离出的完整膜蛋白,主要参与微血管内皮细胞间 TJ 的形成^[10]。有研究发现 Occludin 蛋白的表

达变化与 BSCB 破坏程度关系密切,可作为 BSCB 破坏的标志^[10,17]。本研究 Western blot 和 PCR 检查结果显示,SCIRI 后 Occludin 的蛋白和 mRNA 表达均明显降低,与 BSCB 破坏程度、脊髓含水量和 EB 外渗含量变化一致,而与 FGFR3 表达变化相反。与 IR 组相比,Dex 组造模后各观察时间点脊髓组织中 FGFR3 表达降低而 Occludin 表达增加,给予 ATIP 后,FGFR3 和 Occludin“表达翻转”的现象消失,提示 Dex 可以通过下调 FGFR3 表达维持 Occludin 蛋白含量。

本研究观察到鞘内注射 Dex 可以下调 FGFR3 表达、维持 Occludin 蛋白含量,减轻 SCIRI 后 BSCB 损伤。但 microRNA、水通道蛋白、金属机制蛋白酶等也对 SCIRI 后的 BSCB 有影响^[5,14,18],下调 FGFR3 表达、维持 Occludin 蛋白含量仅是 Dex 减轻 SCIRI 后 BSCB 损伤的机制之一,其更多的治疗机制和意义值得进一步研究和探讨。

4 参考文献

1. Svensson LG, Von Ritter CM, Groeneveld HT, et al. Cross-clamping of the thoracic aorta: influence of aortic shunts, laminectomy, papaverine, calcium channel blocker, allopurinol, and superoxide dismutase on spinal cord blood flow and paraplegia in baboons[J]. *Ann Surg*, 1986, 204(1): 38-47.
2. Lang-Lazdunski L, Matsushita K, Hirt L, et al. Spinal cord ischemia. Development of a model in the mouse [J]. *Stroke*, 2000, 31: 208-213.
3. Smith PD, Puskas F, Meng X, et al. The evolution of chemokine release supports a bimodal mechanism of spinal cord ischemia and reperfusion injury [J]. *Circulation*, 2012, 126(11 Suppl 1): S110-S117.
4. Fang B, Li XQ, Bi B, et al. Dexmedetomidine attenuates blood-spinal cord barrier disruption induced by spinal cord ischemia reperfusion injury in rats [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36(1): 373-383.
5. Dabrow Woods A, Giometti R, Weeks SM. The use of dexmedetomidine as an adjuvant to benzodiazepine-based therapy to decrease the severity of delirium in alcohol withdrawal in adult intensive care unit patients: a systematic review[J]. *JBIC Database System Rev Implement Rep*, 2015, 13(1): 224-252.
6. Ma J, Zhang XL, Wang CY, et al. Dexmedetomidine alleviates the spinal cord ischemia-reperfusion injury through blocking mast cell degranulation[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(9): 14741-14749.
7. Riquelme JA, Westermeier F, Hall AR, et al. Dexmedetomidine protects the heart against ischemia-reperfusion injury by an endothelial eNOS/NO dependent mechanism[J]. *Pharmacol Res*, 2015, 103: 318-327.
8. Luan Y, Zhang S, Zuo L, et al. Overexpression of miR-100 inhibits cell proliferation, migration, and chemosensitivity in human glioblastoma through FGFR3 [J]. *Onco Targets Ther*, 2015, 8: 3391-3400.
9. Wang X, Qi H, Wang Q, Zhu Y, et al. FGFR3/fibroblast growth factor receptor 3 inhibits autophagy through decreasing the ATG12-ATG5 conjugate, leading to the delay of cartilage development in achondroplasia[J]. *Autophagy*, 2015, 11(11): 1998-2013.
10. Fang B, Wang H, Sun XJ, et al. Intrathecal transplantation of bone marrow stromal cells attenuates blood-spinal cord barrier disruption induced by spinal cord ischemia-reperfusion injury in rabbits[J]. *J Vasc Surg*, 2013, 58(4): 1043-1052.
11. Jung SH, Lee SK, Lim KJ, et al. The effects of single-dose intravenous dexmedetomidine on hyperbaric bupivacaine spinal anesthesia[J]. *J Anesth*, 2013, 10: 10-16.
12. Honorato-Cia C, Martínez-Simón A, Alegre M, et al. Factors associated with tremor changes during sedation with dexmedetomidine in Parkinson's disease surgery[J]. *Stereotact Funct Neurosurg*, 2015, 93(6): 393-399.
13. Sharma HS. Pathophysiology of the blood-spinal cord barrier in traumatic injury. In: Sharma HS and Westman J Eds. *The Blood-Spinal Cord and Brain Barriers in Health and Disease*[M]. Elsevier Academic Press, San Diego: 2004. 437-518.
14. Li XQ, Lv HW, Tan WF, et al. Role of the TLR4 pathway in blood-spinal cord barrier dysfunction during the bimodal stage after ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *J Neuroinflammation* 2014, 11: 62.
15. Ren T, Qing Y, Dai N, et al. Apurinic/aprimidinic endonuclease 1 induced upregulation of fibroblast growth factor 2 and its receptor 3 induces angiogenesis in human osteosarcoma cells[J]. *Cancer Sci*, 2014, 105(2): 186-194.
16. Chen FL, Dong YL, Zhang ZJ, et al. Activation of astrocytes in the anterior cingulate cortex contributes to the affective component of pain in an inflammatory pain model[J]. *Brain Res Bull*, 2012, 87(1): 60-66.
17. Ren C, Li N, Wang B, et al. Limb ischemic preconditioning attenuates blood-brain barrier disruption by inhibiting activity of MMP-9 and occludin degradation after focal cerebral ischemia[J]. *Aging Dis*, 2015, 6(6): 406-417.
18. Li XQ, Fang B, Tan WF, et al. miR-320a affects spinal cord edema through negatively regulating aquaporin-1 of blood-spinal cord barrier during bimodal stage after ischemia reperfusion injury in rats[J]. *BMC Neurosci*, 2016, 17(1): 10.

(收稿日期:2016-01-21 修回日期:2016-03-01)

(英文编审 唐翔宇/贾丹彤)

(本文编辑 卢庆霞)