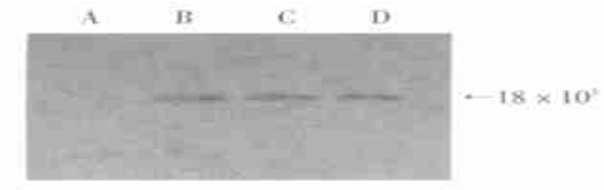
DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.08.010

培养，取第1、4、7代细胞，提取细胞总蛋白，进行常规SDS-PAGE后做Western blotting检测。并以pLXSN感染组作阴性对照。结果表明，在感染1、4、7代均有bFGF蛋白表达，且无明显差异，而对照组无bFGF蛋白表达。表明转移至哺乳动物细胞的bFGF cDNA能在较长一段时间内稳定表达，见图4。



A: COS-7/pLXSN; B: Passage 1; C: Passage 4; D: Passage 7

图4 Western blotting检测感染bFGF cDNA重组逆转录病毒的COS-7细胞不同时相bFGF蛋白的表达

Fig 4 Western blot of bFGF in COS-7 cells at different passages after recombinant retrovirus transfection

3 讨论

逆转录病毒是目前基因转移中应用最为广泛的一类载体，它能将外源基因有效的整合到宿主细胞基因组中，并随细胞分裂而传给后代。PLXSN是美国FDA批准许可进行临床实验的新一代逆转录病毒载体。外源基因由内部启动子LTR启动。此载体将逆转录病毒基因组中编码自身结构蛋白的基因gag、pol、env缺失掉，由外源基因取代这一空白区，故为缺陷型病毒，不能包装成子代病毒颗粒。包装细胞系可为逆转录病毒载体提供结构蛋白组分，二者相互补偿，就能包装成子代病毒颗粒。因此重组逆转录病毒仅能在包装细胞系中扩增，感染靶细胞后不能扩增，具有很高的安全性[6,7]。

bFGF是一种多功能细胞生长因子，对外胚层、中胚层和内胚层多种来源细胞，均有促丝裂原作用和趋化作用。最近研究表明bFGF也是一种神经营养因子，具有保护中枢神经系统和神经源及促进神经细胞生长和神经组织再生的作用，并已逐渐应用于临床。实验表明，bFGF能延缓PD及AD等神经系统退行性疾病的进程，对中枢和周围神经损伤也有其特殊应用价值先前的研究多为局部或全身直接应用bFGF[8]，但全身用药时，难以达到有效药物浓度，局部用药也存在药效难以持久、靶点难以到达等困难，其应用受到了极大限制。本研究应用基因重组技术构建了bFGF逆转录病毒重组体，该重组逆转录病毒成功地感染了靶细胞，并介导了bFGF cDNA的转移，实现了bFGF在哺乳动物细胞内的稳定表达，为脑内移植基因治疗奠定了基础。目前正将bFGF基因修饰的神经前体细胞或非神经细胞移植于脑内，对PD等中枢神经系统退行性疾病进行实验治疗。

参考文献：

[1] Himmelseher S, Pfenninger E, Georgieff M. Basic fibroblast growth factor reduces lactic acid-induced neuronal injury in rat hippocampal neurons[J]. Crit Care Med, 1998, 26(12): 2 029—2 036.

[2] Wagner J P, Black I B, DiCicco-Bloom E. Stimulation of neonatal and adult brain neurogenesis by subcutaneous injection of basic fibroblast growth factor[J]. J Neurosci, 1999, 19(14): 6 006—6 016.

[3] Mann R, Mulligan R C, Baltimore D. Construction of a retrovirus packaging mutant and its use to produce helper-free defective retrovirus[J]. Cell, 1983, 33(1): 153—159.

[4] Miller A D, Buttimore C. Redesign of retrovirus packaging cell lines to avoid recombination leading to helper virus production[J]. Mol Cell Biol, 1986, 6(8): 2 895—2 902.

[5] J. 萨姆布鲁克, E F. 费里齐, T. 曼尼阿蒂斯. 分子克隆实验指南[M]. 第2版. 北京: 科学出版社, 1992. 468—469.

[6] Miller A D, Rosman G J. Improved Retroviral vectors for gene transfer and expression[J]. Biotechniques, 1989, 7(9): 980—986.

[7] Franceschini I A, Feigenbaum-Lacombe V, Casanova P, *et al*. Efficient gene transfer in mouse neural precursors with a bicistronic retroviral vector[J]. J Neurosci Res, 2001, 65(3): 208—219.

[8] Abe K, Saito H. Effects of basic fibroblast growth factor on central nervous system functions[J]. Pharmacol Res, 2001, 43(4): 307—312.

（编辑 汪勤俭）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2002)08-0900-01

异体肾移植手术麻醉中颅内出血1例

A case report of intracranial hemorrhage during anaesthesia for allogenic renal transplantation

赵宝生，鲁开智，陶国才 （第三军医大学附属西南医院麻醉科，重庆 400038）

患者，男，28岁，因慢性肾衰、终末期尿毒症、双肾多发性囊肿，拟在全麻下行异体肾脏移植术。既往有高血压病史，术前Hb 7.2g、血小板(PLT)47×10/L，2 d前曾解黑大便2次，大便隐血(+)，提示有出血倾向，否认颅脑外伤史。入手术室时神志清楚，测Bp 24.1/17.0 kPa(181/127 mmHg)、HR 126次/mim，以氟哌利多、芬太尼、维库溴铵、异丙酚、佩尔地平诱导插管，N_2O、芬太尼、维库溴铵维持麻醉。开放肾血管前Bp 23.0/14.0 kPa、HR 71次/min；

（下转903页）

作者简介：赵宝生(1962—)，男，陕西省武功县人，主管技师，主要从事静脉麻醉新药的临床应用方面的研究，发表论文7篇。电话：(023)68754000—73095

收稿日期：2001-08-15；修回日期：2002-02-05

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

在延髓的舌下神经核与楔束核、丘脑的腹内侧核与背内侧核及下丘脑的室旁核表达最强、脑桥的面深神经核与三叉神经运动核下丘脑的视上核、室周区呈中等强度的表达, 而在皮层和海马呈弱阳性表达。这些结果表明, noggin 对生后大鼠神经系统的分化与进一步的功能活动有重要作用。

Noggin 作为胚胎发育的重要基因, Harland 和 William Smit 于 1992 年首先证实其在爪蟾胚胎的表达。爪蟾胚胎的背侧中胚层为最早检测到 noggin 表达的部位, 随后在原肠胚期的胚孔背唇中表达水平达到高峰, 并可模拟其背侧信号。在神经胚 noggin 主要在脊索和前弦中胚层进行转录。并进一步证实 noggin 在发育中有重要功能, 可使部分细胞发育为脑和神经系统的组织, 并在没有背侧中胚层的条件下, 可直接诱导神经组织, 因而在发育的一定阶段 noggin 可能是内源性诱导信号。随后在鸡胚和斑马鱼胚胎的胚孔均检测到 noggin 的表达, 并有相似的诱导活性。对小鼠的研究表明 noggin 基因表达于小鼠的脊索、节点和背侧体节, 并对神经管的生长与模式有重要在用[4]。此外, noggin 与另一重要胚胎蛋白 chordin 共同调控小鼠前脑的发育, 并在 noggin 与 chordin 的双纯合变异体中观察到前脑发育的明显障碍, 因而 noggin 被认为是体内较有前途的神经诱导剂[5]。我们的实验与 Valenzuela-DM 等的研究均表明 noggin 基因亦表达于生后及成年哺乳动物的中枢神经系统。同样 Scott-IC 的研究亦证实 chordin 在神经管关闭后的胚胎期、生后及成年的中枢神经系统均有 chordin 的广泛分布[6]。以上事实表明这些对胚胎期神经系统发育起重要作用的蛋白对生后中枢神经系统的发育及分化亦有重要作用。

Noggin 基因的神经诱导功能与拮抗 BMP-4 和 BMP-2 的作用相关, 在有活性的外胚层中, noggin 通过拮抗 BMP-4 可以诱导形成前部特征的脑组织, 介导前脑的背侧-腹侧发育模式。体外对新皮层神经元的分化研究表明: Noggin 通过拮抗 BMP-2/4 抑制新皮层神经元的分化, 并使微管相关蛋白(MAP-2)阳性细胞的突起减少[7]。另有文献显示 noggin 与 BMP-4 调控胚胎干细胞向神经元的分化[8]。对 BMP 及其受体的研究发现 BMP 及其受体在成年中枢神经神经系统均有表达, 并且其在脑内的分布部位与 noggin 及 chordin 有部分交叉分布[9]。Alvarez 的研究进一步证实, noggin 与 BMP-4 还可调控成年室下区神经干细胞的分化。在室下区细胞主要表达 BMP 及其相应受体, 而相邻的室管膜细胞则主要表达 noggin。BMP 通过促进胶质细胞的分化而抑制神经发生, 外源性 noggin 蛋白促进神经发生[10]。由此看来, noggin 作为在胚胎发育期的重要分子与 BMP-4、chordin 等组成复杂的信号网络, 持续表达于生后乃至成年, 可能对生后中枢神经系统的发育、分化及可塑性亦有重要调控作用; 而其作用的分子机制还需进一步研究。

(感谢湖南医科大学病理生理学教研室刘卫东博士提供的 noggin 质粒。)

参考文献:

[1] Smith W C, Harland R M. Expression cloning of noggin, a new dorsalizing factor localized to the Spemann organizer in Xenopus embryos[J]. Cell, 1992, 70(5): 829—840.

[2] Valenzuela D M, Economides A N, Rojas E, *et al*. Identification of mammalian noggin and its expression in the adult nervous system[J]. J Neurosci, 1995, 15(9): 6 077—6 084.

[3] Lallier T E, DeSimone D W. Separation of neural induction and neurulation in Xenopus[J]. Dev Biol, 2000, 225(1): 135—150.

[4] McMahon J A, Takada S, Zimmerman L B, *et al*. Noggin-mediated antagonism of BMP signaling is required for growth and patterning of the neural tube and somite[J]. Genes Dev, 1998, 12(10): 1 438—1 452.

[5] Bachiller D, Klingensmith J, Kemp C, *et al*. The organizer factors Chordin and Noggin are required for mouse forebrain development[J]. Nature, 2000, 403(6 770): 658—661.

[6] Scott I C, Steiglitz B M, Clark T G, *et al*. Spatiotemporal expression patterns of mammalian chordin during postgastrulation embryogenesis and in postnatal brain[J]. Dev-Dyn, 2002, 217(40): 449—456.

[7] Li W, LoTurco J J. Noggin is a negative regulator of neuronal differentiation in developing neocortex[J]. Dev Neurosci, 2000, 22(1—2): 68—73.

[8] Finley M F, Devata S, Huettner J E. BMP-4 inhibits neural differentiation of murine embryonic stem cells[J]. J Neurobiol, 1999, 40(3): 271—287.

[9] Soderstrom S, Ebendal T. Localized expression of BMP and GDF mRNA in the rodent brain[J]. J Neurosci Res, 1999, 56(5): 482—492.

[10] Daniel A. Lim, Anthony D. Tramontin, Jose M. *et al*. Noggin antagonizes BMP signaling to create a niche for adult neurogenesis[J]. Neuron, 2000, 28(3): 713—726.

(编辑　陈聪连)

(上接 900 页)

开放后 Bp 有所下降, 给予 0.04%多巴胺静滴, 血压维持在 20.0~24.0/12.0~14.0 kPa 之间完成手术, 手术历时 6.8 h。

术毕停药后 5 min 患者自主呼吸恢复, 但神志迟迟不能恢傅, 神经刺激器强刺激仅有皱眉反应, 查动脉血气正常, 瞳孔检查发现双侧散大、约 0.5 cm, 光反射迟钝, 快速静滴甘露醇 250 ml, 并请神经外科会诊, 急诊 CT 显示: 左颞顶蛛网膜下腔及硬膜下血肿约 50~100 ml, 急行颅内血肿清除术。

讨论

麻醉中发生颅内出血并不多见, 该患者有高血压病史, 术前血压高达 24.1/17.0 kPa, 为重度高血压[1,2], 麻醉中因循环波动可能会出现脑血管破裂出血。

该病人有多发性肾囊肿, 且为双侧, 经查阅有关文献发现, 多囊肾患者颅内动脉瘤发生率为 10%~40%, 有 9%病人死于颅内动脉瘤破裂[3], 麻醉中及有可能发生颅内动脉瘤破裂出血。

患者术前有消化道出血倾向, 高血压、出凝血障碍、可疑动脉瘤使手术麻醉中发生颅内出血的可能性进一步增加。因此, 术前应纠正出凝血障碍, 并有效地控制高血压在轻度(21.2/13.2 kPa)[1]范围内, 术中密切观察血压和瞳孔的变化, 如怀疑颅内出血, 应尽早手术, 不宜在术前使用甘露醇脱水。对多囊肾患者, 最好在手术前常规行磁共振扫描, 如有颅内动脉瘤应做动脉造影, 先处理颅内动脉瘤, 再做其它手术。

关键词: 肾移植; 麻醉; 脑出血; 多囊肾
中图法分类号: R619; R651.15　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 刘俊杰, 赵　俊, 主编. 现代麻醉学[M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 861—866.

[2] 赵　俊 主编. 新编麻醉学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2000. 853—858.

[3] 王海燕 主编. 肾脏病学[M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社. 1996. 1 256—1 258.

(编辑　薛国文)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net