

## 亚低温对脑缺血再灌注损伤的保护作用机制

牟善茂<sup>1</sup>, 隋晓琳<sup>1</sup>, 高磊<sup>1</sup>, 高楠<sup>2</sup>, 杨峰<sup>1</sup>, 张宪忠<sup>1</sup>, 黎杰<sup>3</sup>

(1. 日照市中医医院脑病一科, 2. 日照市中医医院, 山东省日照市 276800; 3. 中国人民解放军总医院第一医学中心神经内科, 北京市 100853)

[关键词] 亚低温; 缺血再灌注; 重组组织型纤溶酶原激活剂; 血脑屏障

[摘要] **目的** 探索亚低温对脑缺血再灌注(I/R)损伤的保护作用机制。**方法** 将36只雄性SD大鼠随机分为假手术组、重组组织型纤溶酶原激活剂(rt-PA)组、模型组、I/R+亚低温组、I/R+rt-PA组、I/R+亚低温+rt-PA组, 每组各6只。通过构建大鼠的缺血再灌注模型, 进行神经功能半定量缺损评分; 大鼠血脑屏障渗透实验, 比较各组血脑屏障保护作用的差异; 免疫组化检测大鼠脑组织中t-PA和组织型纤溶酶原激活剂抑制剂(PAI-1)的表达; Western blot检测p-MEK1/2和p-ERK1/2的表达。**结果** 两个亚低温处理大鼠模型组神经损伤情况均低于模型组( $P<0.05$ ); 亚低温治疗可以降低血脑屏障的通透性; rt-PA组和I/R+rt-PA组大鼠脑组织中t-PA和PAI-1的表达量明显增加, 其余各组表达量均较低; rt-PA组和I/R+rt-PA组的p-MEK1/2和p-ERK1/2表达量显著增加, 而亚低温处理后可明显降低p-MEK1/2和p-ERK1/2表达量。**结论** 亚低温对脑缺血再灌注损伤的保护作用与降低血脑屏障的通透性、降低大鼠脑组织缺血再灌注后t-PA和PAI-1的表达以及降低p-MEK1/2和p-ERK1/2含量有关。

[中图分类号] R743.33

[文献标识码] A

## Protective mechanism of mild hypothermia on cerebral ischemia-reperfusion injury

MOU Shanmao<sup>1</sup>, SUI Xiaolin<sup>1</sup>, GAO Lei<sup>1</sup>, GAO Nan<sup>2</sup>, YANG Feng<sup>1</sup>, ZHANG Xianzhong<sup>1</sup>, LI Jie<sup>3</sup>

(1. Department of Encephalopathy, Rizhao Hospital of Traditional Chinese Medicine; 2. Rizhao Hospital of Traditional Chinese Medicine, Rizhao, Shandong 276800, China; 3. Department of Neurology, First Medical Center, PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

[KEY WORDS] mild hypothermia; ischemic-reperfusion; recombinant tissue plasminogen activator; blood brain barrier

[ABSTRACT] **Aim** To study the protection mechanism of mild hypothermia on cerebral ischemia-reperfusion(I/R) injury. **Methods** 36 male SD rats were randomly divided into sham operation group, recombinant tissue plasminogen activator(rt-PA) group, model group, I/R+mild hypothermia group, I/R+ rt-PA group, and I/R+mild hypothermia+rt-PA group, with 6 rats in each group. By building the rat model of ischemia reperfusion, the semi quantitative neurological deficit score was made. By the experiment of blood brain barrier penetration, the difference of blood-brain barrier protection was compared among every groups. Immunohistochemistry was used to detect the expressive level of t-PA and PAI-1 in the tissues of rats; Western blot was used to test the expressive level of p-MEK1/2 and p-ERK1/2. **Results** Neural injury was lower in two groups of mild hypothermic rats than that in experimental control group( $P<0.05$ ). Mild hypothermic treatment can reduce the permeability of the blood-brain barrier. The expression of t-PA and PAI-1 in rat brain tissue significantly increased in rt-PA group and I/R+rt-PA group, while the expression of other groups was lower. The p-MEK1/2 and p-ERK1/2 expressions were significantly increased in the rt-PA group and the I/R+rt-PA group, which were significantly reduced after mild hypothermic treatment. **Conclusion** The protective effect of mild hypothermia on cerebral ischemia reperfusion injury is related to reducing the permeability of blood-brain barrier, reducing the expression of t-PA and PAI-1 after ischemia reperfusion in rat brain tissue, and reducing the expression of p-MEK1/2 and p-ERK1/2.

[收稿日期] 2019-05-27

[修回日期] 2019-07-30

[基金项目] 山东省中医药科技发展计划项目(2017-443)

[作者简介] 牟善茂, 硕士, 主治医师, 研究方向为缺血性脑血管病基础及临床研究, E-mail 为 wyysoft@126.com。通信作者 张宪忠, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为中医药防治心脑血管病, E-mail 为 rizhaozxx@163.com。

缺血性脑血管病(ischemic cerebrovascular disease, ICVD)是引起人类死亡的重要疾病之一,严重影响着人们的健康。世界上每年大约有 1 500 多万的病人遭受缺血性脑血管病的折磨,该疾病每年还在呈增多趋势发展。重组组织型纤溶酶原激活剂(recombinant tissue plasminogen activator, rt-PA)是 FDA 批准在缺血后 3~4.5 h 内用于治疗脑缺血病的唯一特定药物<sup>[1]</sup>。溶栓治疗的时间窗较窄<sup>[2]</sup>,并且伴有脑水肿、出血和神经毒性的风险<sup>[3]</sup>,而且 rt-PA 治疗后再进行溶栓治疗会导致恶性充血<sup>[4]</sup>。亚低温治疗技术可有效延长脑梗死的治疗时间窗,且在脑缺血再灌注过程中保护神经细胞。有研究者发现,亚低温辅助治疗可使大鼠神经细胞存活明显增多。然而,关于亚低温治疗的保护作用机制并没有被阐明,故本研究拟进一步探索亚低温对脑缺血再灌注损伤的保护作用机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物和分组

本研究所用大鼠均从北京维通利华实验动物技术有限公司购买。选择鼠龄均在 4 周龄的 SPF 级健康雄性 SD 大鼠 36 只,体质量为 95~110 g。随机分为假手术组、rt-PA 组、模型组、I/R+亚低温组、I/R+rt-PA 组、I/R+亚低温+rt-PA 组,每组各 6 只。各组处理方法如下:(1)假手术组:大鼠脑缺血再灌注损伤动物模型构建时不插入尼龙鱼线,其余手术步骤保持一致;(2)rt-PA 组:假手术处理后注射 rt-PA;(3)模型组:常温下构建脑缺血再灌注损伤动物模型;(4)I/R+亚低温组:构建脑缺血再灌注损伤动物模型后的大鼠进行亚低温处理;(5)I/R+rt-PA 组:构建脑缺血再灌注损伤动物模型后的大鼠注射 rt-PA;(6)I/R+亚低温+rt-PA 组:构建脑缺血再灌注损伤动物模型后的大鼠同时进行亚低温处理和注射 rt-PA 处理。

### 1.2 脑缺血再灌注损伤动物模型构建

利用线栓法制备 SD 大鼠大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion model, MCAO)模型。(1)首先把异氟烷和脂肪乳混合做成 8% 的乳化异氟烷对大鼠腹腔注射进行麻醉,半数有效量(ED<sub>50</sub>)相当于液态异氟烷 0.51~0.64 mL/kg。(2)观察大鼠麻醉状态良好后,剪去颈部鼠毛,利用碘伏进行消毒处理,沿正中线颈部切开后暴露右侧颈动脉,分离右侧颈外动脉后在远端对其分支进行结扎。(3)取一段 0.26 mm 单丝尼龙鱼线(250 g 以下的大鼠选 0.26 mm 鱼线,250~300 g 的大鼠选 0.26

~0.28 mm 鱼线),顶端缓慢加热成圆形,通过右侧颈外动脉根部内腔和颈内动脉进入右侧大脑前动脉,造成右侧中动脉起点阻塞。(4)再次利用碘伏对其伤口进行消毒处理,并小心缝合手术切口。(5)栓塞 2 h 后,去除鱼线,制备再灌注模型(其中,假手术组不插入尼龙鱼线,其余手术步骤保持一致)。

### 1.3 亚低温处理方法

将需要亚低温处理的大鼠放入装有冰袋的代谢笼中,前 30 min 内,大鼠的肛温应该降至(33±1)℃,具体测试方法为将大鼠肛温温度计插入大鼠肛门约 4 cm;鼓膜的温度应该降至(31±1)℃(用数位温度表测量),每隔 10 min 测量温度 1 次;温度控制稳定后,每 1 h 监测肛温与鼓膜温度 1 次,持续亚低温 72 h。以直肠温度代表身体深部体温,鼓膜温度代表脑组织温度。

### 1.4 SD 大鼠大脑神经功能缺损半定量评分

参照 Longa 的实验<sup>[5]</sup>方法,在构建大鼠的缺血再灌注模型后,麻醉清醒开始至 72 h,对每组大鼠的神经功能缺损进行半定量评分。评分的标准按照:0 分表示无神经功能损伤症状;1 分表示提尾时栓塞动脉对侧前肢不能伸直;2 分表示行走时向栓塞动脉对侧旋转;3 分表示行走时向栓塞动脉对侧倾倒;4 分表示不能自发行走,意识丧失。

### 1.5 血脑屏障渗透实验

动物处死前 1 h,对每组大鼠注射含 5% 牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)的伊文思蓝(Evans blue, EB)300 μL;腹腔注射乳化异氟烷(将 1.2 mL 的液态异氟烷和 21.3 mL 的 30% 脂肪乳加入密封性良好的玻璃容器内,在振荡器上以 2 000 r/min 的速度震荡 30 s,静置 30 s,然后再以 2 000 r/min 速度剧烈震荡 50 min,达到平衡后放置于 4℃ 冰箱保存备用)麻醉大鼠后,打开胸腔,心内灌注肝素生理盐水 200~300 mL(当右心房流出液体变清澈时即可停止灌注);4 h 后,将所有大鼠处死,处死后取出其完整脑组织,然后放入福尔马林中固定,低温切片后放入低温冰箱(-80℃)避光保存,然后在激光共聚焦显微镜下观察,并读取大鼠脑组织中的荧光值,比较各组间的差异。

### 1.6 免疫组化检测大鼠脑组织中 t-PA 和 PAI-1 的表达

对 rt-PA 组、I/R+rt-PA 组以及 I/R+亚低温+rt-PA 组三组大鼠按照 10 mg/kg 的剂量腹腔注射 rt-PA,其余三组注射相应剂量的生理盐水。然后将 I/R+亚低温组、I/R+亚低温+rt-PA 组大鼠放入装有冰袋的代谢笼培养,使其体温降至 33℃,其余四组大鼠均为室温下培养。72 h 后,处死大鼠并取其脑组织,利用免疫组化观察各组大鼠脑组织中 t-PA 和纤

溶酶原激活物抑制剂(plasminogen activation inhibitors, PAI-1)的表达情况。抗体购自生工生物工程(上海)股份有限公司。

### 1.7 p-MEK1/2 和 p-ERK1/2 含量的检测

采用免疫印迹试验(Western blot, WB)技术,进行磷酸化 MEK1 和磷酸化 MEK2 (p-MEK1/2) 以及磷酸化 ERK 1 和磷酸化 ERK 2 (p-ERK1/2) 表达的检测, WB 检测试剂购自美国 GE 公司。

### 1.8 统计学方法

应用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。实验所得半定量数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示,应用单因素方差分析并用 Bonferroni 法进行组间多重比较、双因素方差分析并用 Bonferroni 法进行组间多重比较, Kruskal-Wallis H 检验并采用 Dunn's 法进行组间多重比较。本实验结果均重复 3 次及 3 次以上。动物实验结果选取具有代表性的一次,以中位数表示平均水平。其余实验均取 3 次及 3 次以上实验结果的均值及标准差。

## 2 结果

### 2.1 神经功能缺损评分

根据神经功能缺损半定量评分结果(图 1)可以看出,假手术组和 rt-PA 组无神经系统损伤表现,其它组均表现出从提尾时栓塞动脉对侧前肢不能伸直行走时向栓塞动脉对侧倾倒程度不等的神经功能障碍。其中, I/R+亚低温组神经功能缺损情况显著低于模型组; I/R+亚低温+rt-PA 组神经功能缺损情况显著低于 I/R+rt-PA 组。此外, I/R+rt-PA 组与模型组相比在脑组织损伤情况上无明显差异,而行亚低温辅助治疗的两个处理组(I/R+亚低温组和

I/R+亚低温+rt-PA 组)中,脑组织损伤情况均低于模型组,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

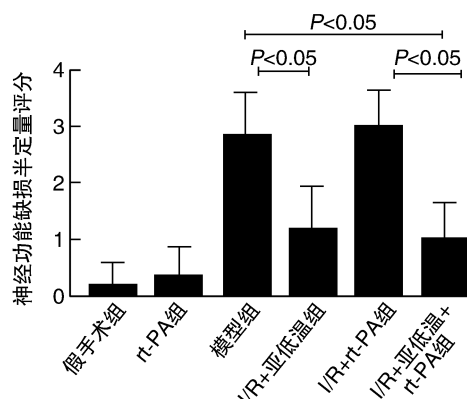


图 1. 神经功能缺损半定量评分

Figure 1. Semi quantitative scoring of neurological deficit

### 2.2 SD 大鼠血脑屏障渗透实验

血脑屏障渗透实验后,激光共聚焦显微镜下观察各组实验结果发现,在假手术组,大鼠血脑屏障正常,大分子 5% BSA 并不能通过血脑屏障,说明该组大鼠血脑屏障没有发生渗漏情况。假手术后注射 rt-PA 发现,rt-PA 能够引起血脑屏障渗透性增加,导致大分子 BSA 能够透过血脑屏障。在模型组中可以发现血脑屏障发生了渗透性的变化,一方面说明,线栓法构建的大鼠中动脉堵塞模型,其脑部血脑屏障会发生少量的渗透性变化;另一方面,证明模型构建的成功。在 I/R+亚低温组中,可以发现仍有少量荧光的产生;在 I/R+亚低温+rt-PA 组发现,与 rt-PA 组比较,其荧光值明显减少,说明亚低温治疗可以降低血脑屏障的通透性(图 2)。

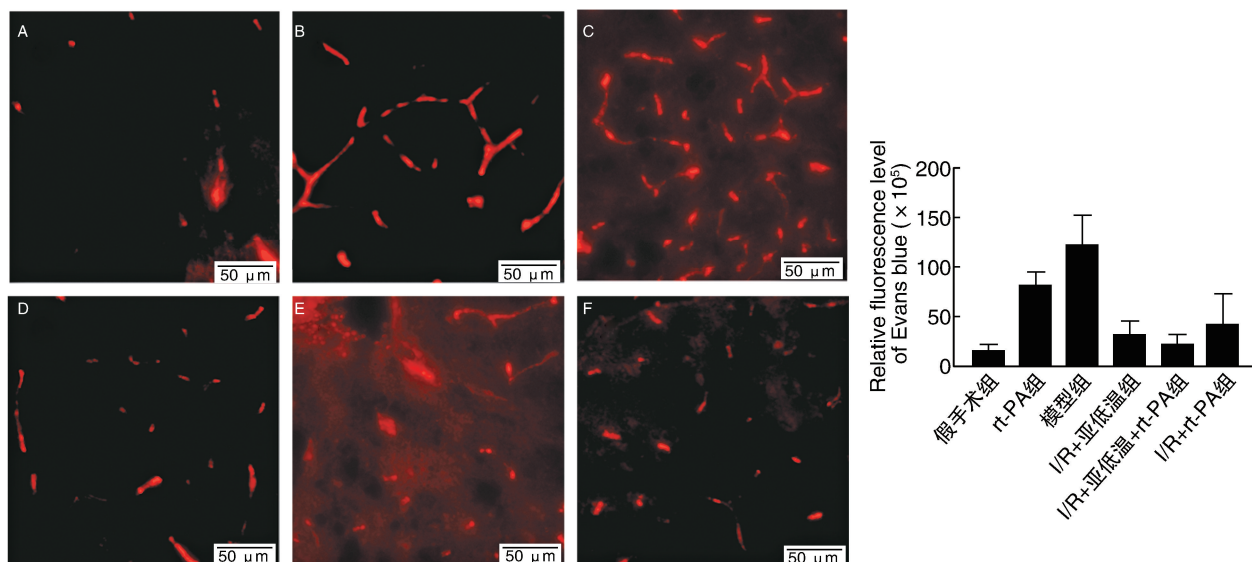


图 2. 血脑屏障实验检测亚低温对渗透性的影响

A 为假手术组, B 为 rt-PA 组, C 为模型组, D 为 I/R+亚低温组, E 为 I/R+rt-PA 组, F 为 I/R+亚低温+rt-PA 组。

Figure 2. Effect of mild hypothermia on permeability by blood-brain barrier test



2.3 免疫组化检测大鼠脑组织中 t-PA 与 PAI-1 的表达

免疫组化检测结果发现,t-PA 和 PAI-1 两种蛋白在各组中的表达情况较为一致,其中 I/R+rt-PA

组和 rt-PA 组大鼠脑组织中 t-PA 和 PAI-1 的表达量明显增加,其余各组表达量均较低,说明亚低温可降低大鼠脑组织缺血再灌注后 t-PA 和 PAI-1 的表达情况(图 3)。

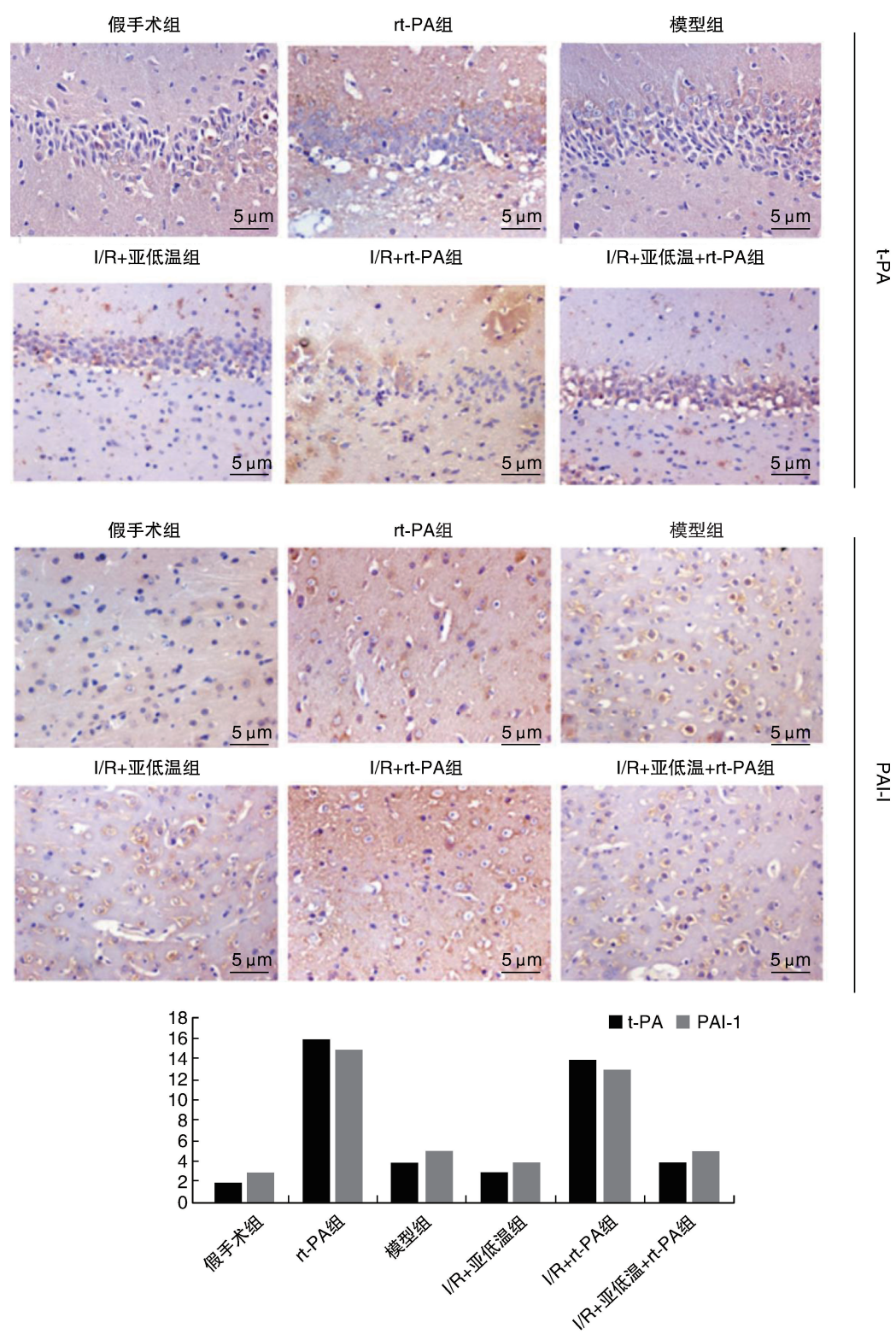


图 3. 免疫组化检测大鼠脑组织中 t-PA 和 PAI-1 的表达

Figure 3. The expression of t-PA and PAI-1 in brain tissue detected by immunohistochemistry



## 2.4 Western blot 检测 p-MEK1/2 和 p-ERK1/2 的含量

Western blot 检测各组 p-MEK1/2 和 p-ERK1/2 的含量发现, rt-PA 组和 I/R+rt-PA 组的 p-MEK1/2 和 p-ERK1/2 含量显著增加,而在亚低温处理后可明显降低 p-MEK1/2 和 p-ERK1/2 含量( $P<0.05$ )。此外,假手术组、模型组、I/R+亚低温组以及 I/R+亚低温+rt-PA 组在 p-MEK1/2 和 p-ERK1/2 的含量上差异无显著性( $P>0.05$ ,图4)。

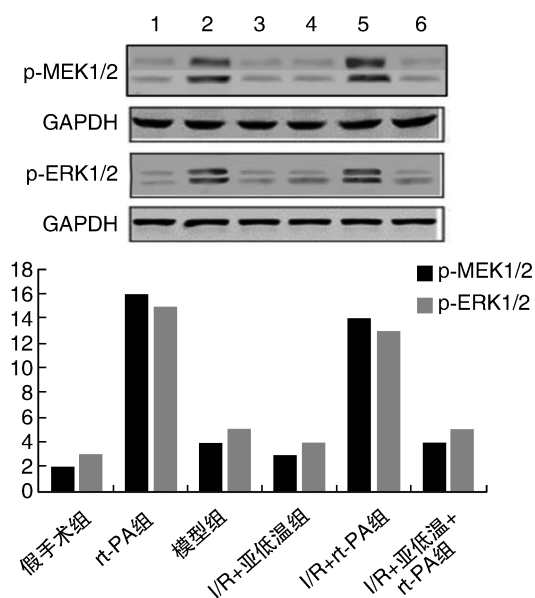


图4. Western blot 检测磷酸化 MEK1/2 和 ERK1/2 的含量 1 为假手术组,2 为 rt-PA 组,3 为模型组,4 为 I/R+亚低温组,5 为 I/R+rt-PA 组,6 为 I/R+亚低温+rt-PA 组。

Figure 4. The contents of p-MEK1/2 and p-ERK1/2 detected by Western blot

## 3 讨论

脑缺血再灌注损伤<sup>[6]</sup>是指当缺血部位发生在脑部,由于血液再灌注产生损伤加重的现象。亚低温治疗是目前临床上常用的防止脑细胞损伤、保护脑功能的重要手段。其作用原理是通过降低机体温度,减缓细胞基础代谢、降低氧代谢率、减少能量消耗和乳酸产生、减少中枢神经系统组织的损伤来达到最佳治疗目的。本研究通过半定量评分系统对神经功能的缺损进行评分比较发现,进行亚低温处理的两个处理组神经功能状况要显著好于常温处理组,该结果与以往文献报道情况基本一致<sup>[7]</sup>。

血脑屏障是指脑毛细血管壁与神经胶质细胞形成的血浆与脑细胞之间的屏障和由脉络丛形成

的血浆和脑脊液之间的屏障。这些屏障严格限制外周血液中的神经毒性物质、炎性因子、免疫细胞等进入中枢神经系统,并将大脑内的代谢产物和神经毒性物质排出脑组织外<sup>[8]</sup>。通过这种对大脑和外周血物质交换的精密控制,血脑屏障维持着中枢神经系统的水、离子平衡以及神经递质和激素水平,使得大脑微环境保持稳定。过去已有报道,脑缺血再灌注可能会有助于部分脑组织的恢复,但如果已经发生了不可逆的脑损伤,血流的再灌注有可能加重脑水肿,促进脑出血转化,从而导致进一步的脑损伤。在大脑缺血再灌注过程中,内皮细胞黏附分子、兴奋性氨基酸、前列腺素、各类细胞因子、自由基以及中性粒细胞等都在血脑屏障的破坏上扮演着不同程度的角色<sup>[9]</sup>。为了研究亚低温辅助治疗对血脑屏障的作用,我们通过 SD 大鼠血脑屏障渗透实验,比较了不同组别中大鼠的血脑屏障差异,观察亚低温处理对血脑屏障渗透性的影响,结果表明,亚低温辅助治疗可显著降低大鼠大脑缺血再灌注条件下血脑屏障的通透性,换言之,可以降低缺血再灌注对血脑屏障的破坏性效应。

在血液中,纤溶酶主要以无活性的纤溶酶原的形式存在,在被纤溶酶原激活物的活化下成为有活性的纤溶酶发挥作用。脑组织内的纤溶酶原激活物主要是 t-PA,由微血管内皮细胞、神经细胞和神经胶质细胞分泌<sup>[10]</sup>。纤溶酶原激活物抑制剂 (PAI) 也分为多型,其中 PAI-1 占有绝对主导的作用,主要由内皮细胞和肝细胞产生,在肝脏和脾脏中含量较高而脑组织和心肌中含量较少。在脑组织中,t-PA 与 PAI-1 相互制约维持着正常的纤溶活性,出现脑损伤时两者的表达量均显著增加。有研究<sup>[11]</sup>显示低温处理可以降低全身 t-PA 的表达。本研究结果发现,亚低温条件下可降低缺血再灌注对脑组织的损害效应,从而起到对脑组织的保护性作用。

Ras/Raf/MEK/ERK 丝裂原激活的蛋白激酶信号转导通路是生长因子和有丝分裂原调节基因表达和防止凋亡的重要途径,对调控细胞周期进程、细胞凋亡或分化具有不同的作用<sup>[12]</sup>。在本研究中,我们尝试性地在缺血再灌注条件下观察了亚低温处理对 Ras/Raf/MEK/ERK 丝裂原激活的蛋白激酶信号转导通路的影响,发现注射 rt-PA 可显著增强磷酸化 MEK1/2 和 ERK1/2 含量,而在亚低温处理后可明显降低 MEK1/2 和 ERK1/2 的活化水平,从而表现出拮抗 t-PA 效应的作用。

(下转第 146 页)

- [J]. 中华介入放射学电子杂志, 2016, 4(2): 109-114.
- [14] Willinsky RA, Taylor SM, TerBrugge K, et al. Neurologic complications of cerebral angiography: prospective analysis of 2, 899 procedures and review of the literature[J]. Radiology, 2003, 227(2): 522-528.
- [15] Lee YJ, Lim YS, Lim HW, et al. Evaluation of in-stent restenosis after stent implantation in the vertebral artery ostium by multislice computed tomography angiography: factors affecting accurate diagnosis[J]. Clin Neuroradiol, 2015, 25(4): 379-386.
- [16] 严民力, 戚观树, 代建峰, 等. 椎基底动脉支架成形术后支架内再狭窄的相关危险因素分析[J]. 心脑血管病防治, 2014, 14(1): 38-41.
- [17] 郭琳佳, 刘文宏. 后循环缺血的研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2015, 17(12): 1332-1336.
- [18] 邹昕颖, 龚浠平, 潘岳松, 等. 前、后循环系统脑梗死危险因素和预后的对比研究[J]. 中国卒中杂志, 2016, 11(9): 773-777.
- [19] 杨增焯. 椎动脉狭窄与后循环缺血的相关性研究[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2015, 18(11): 79-80.
- [20] 徐晓彤, 姜卫剑, 杜彬, 等. 颅内椎基底动脉狭窄支架成形术后的远期疗效[J]. 中国卒中杂志, 2008, 3(11): 798-802.
- [21] 曹建书, 李金霞, 褚秀华, 等. 后循环脑梗死患者血管病变分析[J]. 中国医药导报, 2015, 12(28): 98-102.
- [22] Lee M, Saver JL, Alger JR, et al. Blood-brain barrier permeability derangements in posterior circulation ischemic stroke: frequency and relation to hemorrhagic transformation[J]. J Neurol Sci, 2012, 313(1-2): 142-146.
- [23] Chow MM, Masaryk TJ, Woo HH, et al. Stent-assisted angioplasty of intracranial vertebrobasilar atherosclerosis: midterm analysis of clinical and radiologic predictors of neurological morbidity and mortality[J]. Am J Neuroradiol, 2005, 26(4): 869-874.
- (此文编辑 曾学清)

(上接第 122 页)

综上所述,亚低温对脑缺血再灌注损伤的保护作用与降低血脑屏障的通透性、降低大鼠脑组织缺血再灌注后 t-PA 和 PAI-1 的表达以及降低磷酸化 MEK1/2 和 ERK1/2 含量有关,具体的分子作用机制有待进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] Luo Y, Jin H, Guo ZN, et al. Effect of hyperhomocysteinemia on clinical outcome and hemorrhagic transformation after thrombolysis in ischemic stroke patients[J]. Front Neurol, 2019, 10: 592.
- [2] 姚志国, 陈会生. 急性缺血性卒中静脉溶栓治疗现状及展望[J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(8): 710-713.
- [3] Allahtavakoli M, Amin F, Esmaeeli-Nadimi A, et al. Ascorbic acid reduces the adverse effects of delayed administration of tissue plasminogen activator in a rat stroke model[J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2015, 117(5): 335-339.
- [4] Esmaeeli-Nadimi A, Kennedy D, Allahtavakoli M. Opening the window: Ischemic postconditioning reduces the hyperemic response of delayed tissue plasminogen activator and extends its therapeutic time window in an embolic stroke model[J]. Eur J Pharmacol, 2015, 764: 55-62.
- [5] 赵凯, 张国华, 贾宇臣, 等. 线栓法制备大鼠局灶性脑缺血/再灌注模型的改良及探讨[J]. 中国卒中杂志, 2012, (12): 916-921.
- [6] Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion: from mechanism to translation[J]. Nat Med, 2011, 17(11): 1391-1401.
- [7] 赵瑞波, 张玉华, 李宗敏, 等. 亚低温延长脑梗死治疗时间窗及其机制[J]. 中华神经科杂志, 2005, 38(6): 377-380.
- [8] 许兵, 张俞, 杜久林. 血脑屏障的研究进展[J]. 生理学杂志, 2016, 68(3): 306-322.
- [9] 耿武军, 陈成宇, 张民远, 等. Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路通过下调自噬改善大鼠脑缺血再灌注损伤[J]. 中国动脉硬化杂志, 2018, 26(3): 222-226.
- [10] 吴小慧, 刘菲, 段忠心. 生脉散对 2 型糖尿病大鼠炎症因子及胰岛素抵抗的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2018, 26(9): 895-899.
- [11] Van der Pals J, Göthberg MI, Göthberg M, et al. Hypothermia in cardiogenic shock reduces systemic t-PA release[J]. J Thromb Thrombolysis, 2011, 32(1): 72-81.
- [12] McCubrey JA, Steelman LS, Chappell WH, et al. Roles of the Raf/MEK/ERK pathway in cell growth, malignant transformation and drug resistance[J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 1773(8): 1263-1284.
- (此文编辑 许雪梅)