

论著·临床研究

## 脑红蛋白在小儿脑挫裂伤病理过程中变化的初步研究

李臻琰<sup>1</sup> 邓征浩<sup>2</sup> 李春涛<sup>1</sup> 唐勇军<sup>3</sup> 钟广伟<sup>4</sup> 李炜<sup>4</sup> 刘运生<sup>1</sup> 刘景平<sup>1</sup>

(中南大学湘雅医院 1. 神经外科; 2. 病理科; 3. 儿科; 4. 中西医结合研究所, 湖南 长沙 410008)

**[摘要]** **目的** 初步探讨脑红蛋白(neuroglobin, Ngb)在小儿脑挫裂伤病理生理过程中的作用。**方法** 采用二维凝胶电泳技术分离3例行脑室肿瘤切除患儿的正常额叶皮层组织和8例脑挫裂伤患儿额叶皮层组织总蛋白质, PDquest 图像分析软件识别差异蛋白质点, 电喷雾串联质谱鉴定差异蛋白; 免疫组化检测差异蛋白 Ngb 在正常脑组织和脑挫裂伤患儿的脑组织中的表达。并采用酶联免疫法检测 10 例正常儿童和 15 例脑挫裂伤患儿血清中 Ngb 的表达变化。**结果** 建立了正常儿童和脑挫裂伤患儿脑组织的二维凝胶电泳图谱, 识别了 6 个差异蛋白质点, 并鉴定了 5 种差异蛋白。免疫组化结果显示, Ngb 在脑挫裂伤患儿额叶皮层组织中的表达水平高于正常对照组额叶皮层组织 ( $P < 0.05$ )。酶联免疫法检测结果表明, 脑挫裂伤后 6 h、12 h、18 h、24 h 及 48 h 血清 Ngb 表达高于正常对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。**结论** Ngb 可能在小儿脑挫裂伤病理生理过程中发挥了重要作用。

[中国当代儿科杂志, 2012, 14(9): 697-702]

**[关键词]** 脑挫裂伤; 脑红蛋白; 儿童

**[中图分类号]** R651.1<sup>+</sup>5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2012)09-0697-06

### Changes of neuroglobin in the pathologic process of contusion and laceration of brain in children

LI Zhen-Yan, DENG Zheng-Hao, LI Chun-Tao, TANG Yong-Jun, ZHONG Guang-Wei, LI Wei, LIU Yun-Sheng, LIU Jing-Ping. Department of Neurosurgery, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008, China (Liu Y-S, Email: xyliuys@163.com)

**Abstract: Objective** To study the role of neuroglobin (Ngb) in the pathologic process of contusion and laceration of brain in children. **Methods** The proteins in the brain tissue were extracted by two-dimensional gel electrophoresis in 3 children undergoing brain ventricular neoplasms resection (normal brain tissue) and in 8 children with contusion and laceration of brain. The image analysis was done using the PDquest 7.0 software. The differential protein spots were detected and analyzed with Applied Biosystems Voyager System 4307 MALDI-TOF Mass Spectrometer and bioinformatical skills. Ngb expression in the brain tissue was measured using immunohistochemistry. Ngb expression in plasma was measured using ELISA in 15 children with contusion and laceration of brain and 10 healthy children. **Results** Expression maps of the brain tissue were established by two-dimensional gel electrophoresis in children with contusion and laceration of brain and healthy children. Six differential protein spots were found and 5 of them were identified by mass spectrum. Immunohistochemistry assay showed that Ngb expression in the brain tissue in children with contusion and laceration of brain was significantly higher than in normal controls ( $P < 0.05$ ). ELISA results showed that Ngb expression in the plasma increased significantly 6, 12, 18, 24 and 48 hours after trauma in children with contusion and laceration of brain compared with healthy children ( $P < 0.01$ ). **Conclusions** Ngb may play an important role in the pathologic process of contusion and laceration of brain in children.

[Chin J Contemp Pediatr, 2012, 14(9): 697-702]

**Key words:** Contusion and laceration of brain; Neuroglobin; Child

脑挫裂伤是一种常见病,随着社会经济水平不断提高及交通工具的发展,脑挫裂伤的发病率持续升高。而小儿活泼好动,其独立和自身保护能力差,故

脑挫裂伤的发病率较成年人上升快。因此深入探讨小儿脑挫裂伤的病理生理变化有利于其诊断、治疗和疗效评估,是当前研究热点之一。

[收稿日期] 2012-06-07; [修回日期] 2012-08-24

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30472115, 30500644); 湖南省自然科学基金资助项目(07JJ5019)。

[作者简介] 李臻琰,男,博士,主治医师。

[通信作者] 刘运生,教授。

脑红蛋白(neuroglobin, Ngb)是继血红蛋白和肌红蛋白之后新发现的一种主要位于神经元内、能够可逆性结合氧的球蛋白。研究表明 Ngb 主要参与氧在中枢神经系统中的转运与贮存,在神经系统氧摄取、氧运输和氧利用等过程中起着极其重要的作用<sup>[1-2]</sup>,并作为一种内源性神经保护因子,在脑保护、改善神经功能和预后方面起着重要的作用。本课题组前期研究显示,脑外伤后脑组织中 Ngb mRNA 的表达明显升高<sup>[3]</sup>,但有关 Ngb 在小儿脑挫裂伤病理生理过程中的变化尚不明确。本研究以脑挫裂伤患儿的脑组织及血清为样本,采用二维凝胶电泳和质谱技术分离、鉴定差异表达蛋白质,并运用免疫组化和酶联免疫法鉴定并观察了差异蛋白 Ngb 在脑挫裂伤患儿脑组织及血清中表达水平的动态变化,以阐明 Ngb 在小儿脑挫裂伤病理生理过程中的变化。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

2011年8月~11月于中南大学湘雅医院就诊的脑挫裂伤患儿15例,其中男10例,女5例,年龄6~14岁,平均年龄 $9.0 \pm 1.8$ 岁,受伤部位均为额叶。

**1.1.1 脑组织来源及分组** 15例脑挫裂伤患儿中,取8例重型颅脑外伤后患儿脑组织,其中男6例,女2例,年龄为6~14岁,平均年龄 $9.0 \pm 1.6$ 岁,受伤部位均为右额叶。GCS评分为5~8分,血肿均由CT或MRI检查证实。另选取3例脑室肿瘤患儿为对照,在行肿瘤切除术过程中取得正常额叶皮层组织。部分标本在切除后立即置液氮中保存,供蛋白质检测;另一部分标本经4%多聚甲醛固定18h,常规脱水、石蜡包埋、4  $\mu\text{m}$ 连续切片,供免疫组化检测。

**1.1.2 血清来源及分组** 采集所有患儿手术前、仅经一般治疗后的血清(选取病例的伤后时间相对固定)用于ELISA分析。正常人血清由年龄和性别匹配的10例志愿者提供。标本的获取均经患儿家长同意并签署知情同意书。

### 1.2 试剂与仪器

Ngb 酶联免疫检测试剂盒(Sigma公司);大鼠抗 Ngb 多克隆抗体(美国 SantaCruz公司);生物素二抗(美国 SantaCruz公司);辣根过氧化物酶偶联的羊抗大鼠(美国 SantaCruz公司);正常封闭血清、DAB 显色试剂盒(北京中山生物技术有限公司);PVDF膜(Millipore公司);SP免疫组化试剂盒(迈新生物公司);磷酸、甘油、乙醇、EDTA二钠为国产分析纯。

IPGphor 等电聚焦仪、Ettan DALT II 垂直电泳槽及 ImageScanner 扫描仪均为美国 AmershamBio-sciences 公司产品;Micro Q-TOF 质谱仪为美国 Waters 公司产品;石蜡自动包埋脱水机及石蜡自动连续切片机为德国 Leica 公司产品;混匀仪为美国 Thermo 公司产品;Multiskan spectrum 型酶标仪为美国热电公司产品;Amersham EPS 301 型水平式电泳槽为美国 Pharmacia Biotech 公司产品;Alphamager 2200 型凝胶成像系统为美国 Alpha Innotech 公司产品。

### 1.3 方法

**1.3.1 脑组织总蛋白的提取** 参照 Araki 等<sup>[4]</sup>的方法将处理过的标本取出,置于研磨管中,加入0.2 mL 组织裂解液在冰上将组织磨碎,4℃下12000 r/min 离心60 min。取5  $\mu\text{L}$  上清液用于蛋白质浓度测定,剩余上清液冻存于-80℃备用。

**1.3.2 二维凝胶电泳** 操作步骤按照 IPGphor 等电聚焦系统使用指南进行。组织总蛋白提取物与水化液混合至总体积为450  $\mu\text{L}$  蛋白质样本,置于 IPGphor 等电聚焦仪上,按如下条件:30 V 水化14 h 后经500 V 1 h、1000 V 1 h、8000 V 10 h 进行等电聚焦。等电聚焦结束后,分别于10 mL 平衡 A 液和平衡 B 液中各平衡15 min,转移至12.5% SDS-PAGE 胶上端,在垂直电泳槽上进行第二向垂直电泳。电泳结束后,对2-DE 胶进行考马斯亮蓝染色。实验重复3次。

**1.3.3 凝胶图像分析** 应用 ImageScanner 扫描仪扫描考马斯亮蓝染胶,并运用 LabScan 扫描软件获取图像,PDQuest 2-DE 软件比较分析对照组儿童和脑挫裂伤患儿脑组织蛋白二维电泳图谱的差异,选取表达水平相差2倍以上的蛋白质点进行质谱分析。

**1.3.4 质谱分析** 参照李美香等<sup>[5]</sup>的方法,将萃取后冻干的样品用萃取工作液约4  $\mu\text{L}$  溶解,用 Tips 反复在样品液中吸进压出循环操作,充分混匀后取0.6  $\mu\text{L}$  点于点样板上,再加0.6  $\mu\text{L}$  CCA 基质工作液置空气中自然风干。肽段样品用 MALDI-TOF-MS 检测,质谱检测是在正离子反射模式中进行,N<sub>2</sub> 激光源,波长337 nm,飞行管长3 m,加速电压20 kV,反射电压23 kV。质谱使用基质峰和胰酶自动降解离子峰作为内部标准校正。

**1.3.5 免疫组织化学染色** 采用 SP 法,按照北京中杉金桥生物技术有限公司提供的 SP 试剂盒说明书进行。然后进行切片、脱蜡及水化、漂洗及蒸馏水洗涤、微波修复、加入一、二抗孵育、光镜下观察、苏木

素复染、树脂封片、光镜下观察切片染色情况并拍照。

染色结果判定:Ngb 蛋白的表达以细胞浆内出现明确的棕黄色颗粒为阳性细胞。采用双盲法,按以下标准进行半定量分析:每张切片至少观察5个高倍视野,不少于100个细胞,将各视野中阳性细胞的平均百分数作为该切片的阳性细胞百分比进行记分:0%~5%=0分,6%~25%=1分,26%~50%=2分,51%~75%=3分,>75%=4分。染色强度以多数阳性细胞呈现的染色特征为标准记分:细胞未着色为0分,染色呈淡黄色为1分、棕黄色为2分、棕褐色为3分。最后以阳性细胞的百分比和染色强度记分之之和进行结果判定,0~1分为阴性(-),2~3分为弱阳性(+),4~5分为中度阳性(2+),6~7分为强阳性(3+)。用PBS溶液代替Ngb抗体作阴性对照,用已知阳性表达的脑外伤组织作阳性对照。

1.3.6 血清样品的制备及Ngb浓度测定 采集健康儿童和脑挫裂伤患儿空腹静脉血5 mL,室温下凝固待血清析出,2000 r/min,4℃离心15 min,取上层血清,分装后-80℃冰箱保存。血清Ngb的检测严格参照试剂盒说明书进行,通过标准品浓度和其吸光度值绘制标准曲线,然后计算各样本的Ngb浓度。

### 1.4 统计学分析

应用SPSS 15.0统计软件包进行统计学分析。各组数据采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采取独立样本t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 脑组织双向凝胶电泳图谱

在同等条件下对同一标本的总蛋白质样品分别进行了3次双向凝胶电泳,其总蛋白质的分布模式非常相似,以pI 4~8和Mr 20~75 kD范围的蛋白质斑点分布最多。经过优化的2-DE条件获得了分辨率高、背景清晰的双向凝胶参考图谱。见图1。

### 2.2 脑组织双向凝胶电泳图像分析

PDQuest能够根据所选条件自动过滤背景,识别蛋白质斑点(图1)。在相同条件下对照组识别的蛋白质点个数为764±28个,脑挫裂伤组为753±19个。在图像分析时,选择利用软件自动匹配,并结合手工辅助匹配方法,即将对照组儿童脑组织的2-DE凝胶选为参考胶,手工设定一些明显相互匹配的蛋白质点作为参考斑点,即种子点,其他蛋白质斑点则自动依据种子点进行校正,从而完成整个匹配过程。对照组和脑挫裂伤组的平均匹配率分别为94%和91%。通过对两组比较分析匹配,筛选出两组差异表达的蛋白质

点(在本次试验中认为相应检测点灰度值的百分比增高或降低2倍及以上者为有意义的差异点,即对照组与脑挫裂伤组点的灰度比大于等于2或小于等于0.5者为有意义的差异点)。与对照组相比,脑挫裂伤组中蛋白质表达上调的点有15个,下调的点有16个,选取其中6个被认为有意义的点进行质谱分析,6个差异蛋白质点在对照组及脑挫裂伤组脑组织中的表达量见表1。

表1 两组脑组织差异蛋白质点表达结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

编号	对照组	脑挫裂伤组	比值
1	12282 ± 211	41582 ± 186	3.38
2	16551 ± 203	3032 ± 105	0.17
3	7384 ± 95	23680 ± 247	3.20
4	16452 ± 163	46553 ± 233	2.82
5	9584 ± 196	25342 ± 348	2.67
6	14682 ± 183	2108 ± 97	0.14

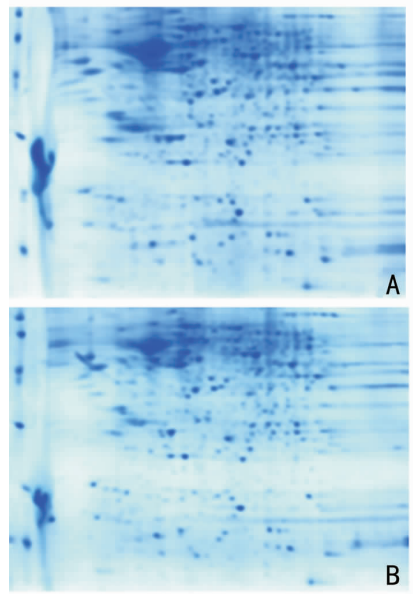


图1 脑组织双向凝胶电泳图谱 A:对照组,蛋白质上样量为1 mg,一向采用pH 3~10、长24 cm的线性固相IPG胶条,二向则应用12.5% SDS-PAGE; B:脑挫裂伤组,上样量及电泳条件与对照组完全相同。

### 2.3 质谱鉴定结果

选取上述具有显著差异的6个蛋白质点进行质谱分析和数据库查询,搜寻到5个有意义的蛋白质,它们分别为泛素羧基末端水解酶同工酶L1(ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme L1, UCH-L1)、微管蛋白α链(tubulin alpha chain-rat)、Ngb、二氢嘧啶酶相关蛋白2(dihydropyrimidinase-related protein 2)和硫氧还蛋白(thioredoxin, Trx)。见表2。

表2 两组儿童脑组织差异表达蛋白质点鉴定

蛋白质名称	数据库ID	肽段	分子量	等电点
泛素羧基末端水解酶同工酶L1(↓)	BAB28976	15	25165	5.14
微管蛋白α链(↑)	UBRTA	15	50788	4.94
脑红蛋白(↑)	BAB23751	16	46596	8.34
二氢嘧啶酶相关蛋白2(↓)	S49985	13	62638	5.95
硫氧还蛋白(↑)	BAB25256	11	12083	4.80

注: ↑表示在脑挫裂伤组中表达上升, ↓表示下降。

## 2.4 免疫组化检测 Ngb 的表达变化

免疫组化检测结果显示 Ngb 表达定位于胞浆内,胞浆内浅棕色物质即为 Ngb 检测阳性(图2)。在正常脑组织中 Ngb 呈弱阳性表达,脑挫裂伤脑组织则呈阳性表达;而挫裂伤灶周围水肿带脑组织的 Ngb 表达呈强阳性(表3),与正常脑组织比较差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

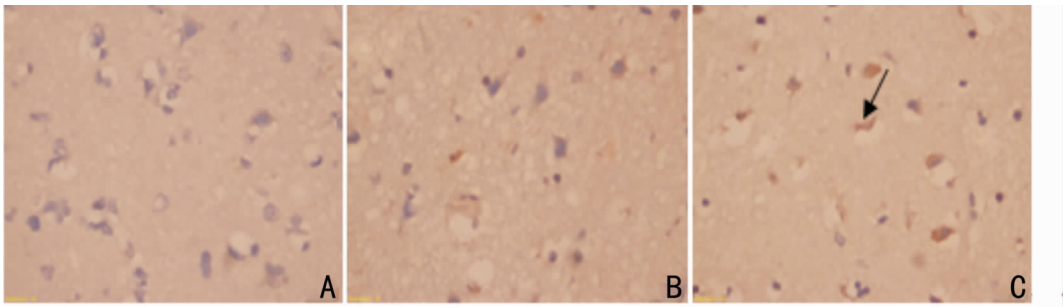


图2 脑组织中 Ngb 的表达变化 A:正常脑组织中 Ngb 的表达;B:脑挫裂伤脑组织中 Ngb 的表达;C:挫裂伤灶周围水肿带脑组织中 Ngb 的表达。箭头所指为强阳性。

表3 Ngb 在正常脑组织、挫裂伤脑组织和挫裂伤灶周围水肿带脑组织中的表达

组织	例数	Ngb 表达			
		-	+	2+	3+
正常脑组织	3	2	1	0	0
挫裂伤脑组织	8	0	2	4	2
挫裂伤灶周围水肿带脑组织	8	1	1	2	4

## 2.5 ELISA 检测血清中 Ngb 的含量

ELISA 结果显示,在正常儿童血清中 Ngb 呈低表达;脑挫裂伤后 3 h 血清中 Ngb 表达升高,在 12 h 后 Ngb 达到峰值,其后表达逐渐下降,72 h 后 Ngb 表达恢复至正常(图3)。其中脑挫裂伤后 6 h、12 h、18 h、24 h 及 48 h Ngb 表达与对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

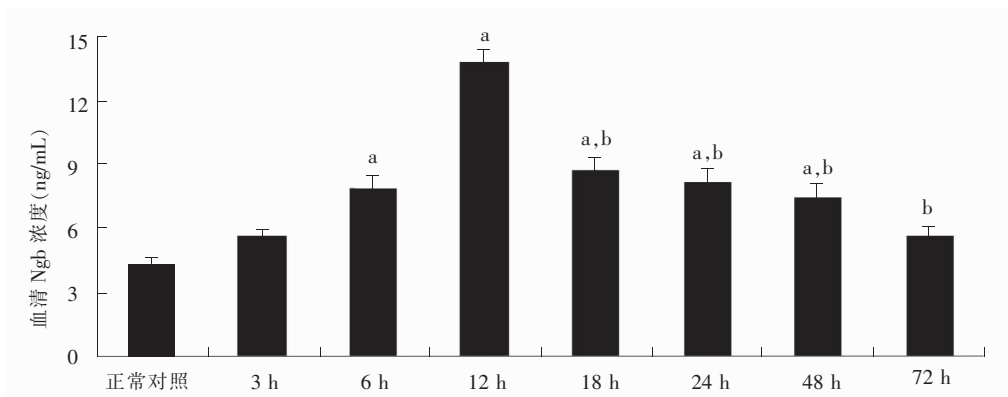


图3 血清中 Ngb 的表达水平 横轴 3 h、6 h、12 h、18 h、24 h、48 h 及 72 h 表示不同时间点脑挫裂伤组( $n = 15$ )。a:与正常对照组( $n = 10$ )相比, $P < 0.01$ ;b:与 12 h 脑挫裂伤组相比, $P < 0.01$ 。

## 3 讨论

小儿的解剖、生理、病理有自身特点,颅脑外伤发生后的临床表现异于成人,病情进展快,治疗棘

手<sup>[6-7]</sup>。儿童重型颅脑损伤较为常见,对儿童重型颅脑损伤的救治是当今神经外科领域的重点及难点,虽然与成人相比,存活率较高,但致残率也高<sup>[8-9]</sup>。尽管儿童颅脑外伤的研究不断取得进展<sup>[10-11]</sup>,但对于颅脑外伤的诊断及预后判断缺乏好的评判方法。

因此,深入探讨小儿脑挫裂伤的病理生理改变,以及加强对于儿童颅脑外伤的血清标志物的研究正成为目前医学工作的热点之一<sup>[12]</sup>。

为了探讨小儿脑挫裂伤后脑组织中蛋白质的变化,本研究通过双向凝胶电泳技术建立了对照组儿童和脑挫裂伤组患儿分辨率高、重复性好的脑组织蛋白质表达图谱,找到了差异表达的蛋白质点,并运用 PDquest 图像分析软件识别了差异蛋白质点,再用 MADLI-TOF 和生物信息学技术对其中部分蛋白质点进行了鉴定和分析。结果显示 5 个有意义的蛋白质分别为泛素羧基末端水解酶同工酶 L1、微管蛋白  $\alpha$  链、Ngb、二氢嘧啶酶相关蛋白 2 和硫氧还蛋白。其中 Ngb 主要存在于人类和脊椎动物脑内,是一个新的内源性神经保护因子。生理条件下 Ngb 呈亚铁脱氧六配位形态,具有较强的氧亲和能力。缺氧能够诱导 Ngb 的表达,而高表达的 Ngb 则能够保护神经元免受缺氧损伤,从而在神经系统缺氧、缺血损伤中具有重要的神经保护功能。鉴于 Ngb 作为神经系统特异携氧分子的重要地位,目前有关 Ngb 基因克隆及其表达特征、空间结构、携氧动力学特征,以及所具有的神经保护功能等已被国际广泛关注。因此,Ngb 与其他 4 个经质谱鉴定的蛋白质比较,更具有从实验及临床深入探讨的价值。故本研究选择 Ngb 作为重点研究对象。

免疫组化结果表明,Ngb 表达定位于胞浆内,胞浆内浅棕色物质即为 Ngb 检测阳性,这与众多学者的研究一致。在正常脑组织中 Ngb 呈弱阳性表达,脑挫裂伤脑组织中呈阳性表达;而挫裂伤灶周围水肿带脑组织中 Ngb 表达呈强阳性,与正常脑组织相比差异具有统计学意义。这很可能是神经元对脑挫裂伤应激的表现,在挫裂伤区域,由于神经细胞受到外力作用造成暴力损伤,从而导致原发性神经元死亡及多种原因造成的迟发性神经元死亡如细胞凋亡,使得损伤神经元 Ngb 的释放增加而部分健存神经元合成 Ngb 增加;而在挫裂伤灶周围水肿带脑组织(接近正常的脑组织)中,由于继发性脑缺血缺氧,导致 Ngb 在创伤早期就开始增加合成,从而促进氧向神经元内线粒体的扩散,以保持线粒体的正常功能并满足线粒体产能,从而在神经元的代偿保护中起到极其重要的作用,因此在这个时期可见 Ngb 表达明显增强。随着时间的推移,脑挫裂伤进入后期,脑组织的缺血缺氧及水肿逐渐减轻,Ngb 的表达也逐渐恢复直至正常。

Wang 等<sup>[2]</sup>的研究发现,即使是在血氧体积分数较低的环境下,与氧具有较高亲和力的 Ngb 也能

顺利地将氧跨越血脑脊液屏障向脑组织中转运,从而提高了脑组织氧的利用度<sup>[7]</sup>。本研究免疫组化结果显示,正常脑组织中 Ngb 呈弱阳性表达,而在脑挫裂伤灶及其周围接近正常的脑组织中分别呈阳性和强阳性表达,与林欣等<sup>[13]</sup>的动物实验结果一致。在血清中,正常儿童 Ngb 呈低表达;脑挫裂伤 3 h 后 Ngb 表达升高,在 12 h 后达到峰值,与吴巧灵<sup>[14]</sup>关于缺血缺氧性脑病所致脑损伤的研究结果类似。其可能原因是脑挫裂伤时部分脑血管扩张,血流量增加,血管压力增加,脑微血管内皮细胞胞饮作用增加;且脑挫裂伤可直接造成线粒体损害、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶失活,致使神经元处于氧化应激状态能量代谢障碍、膜稳定性破坏,进而诱导 Ngb 代偿性表达上调,以增加神经元的氧供、维持细胞膜稳定。然而,脑组织可产生大量一氧化氮和其他活性物质(如基质金属酶、缓激肽、花生四烯酸、血管生长因子等),导致血脑屏障(BBB)通透性增加<sup>[15]</sup>,导致许多有害物质透过 BBB 到达大脑实质中,加重细胞毒性水肿,不仅引起血管源性脑水肿和继发脑出血,而且进一步破坏脑细胞微环境稳态,加重脑损伤,致使 Ngb 的表达随着伤情的加重而发生变化,致伤后 12 ~ 72 h 逐渐下降,到 72 h 表达恢复至正常。

在正常情况下,Ngb 在血清和脑脊液中的含量很低,但当脑缺血<sup>[16]</sup>、缺氧、中毒<sup>[17]</sup>或创伤时,细胞的完整性受到破坏,血脑屏障的通透性增加,脑红蛋白可泄露并出现在血清或脑脊液中,使其含量增加。王航雁等<sup>[18]</sup>及王静等<sup>[19]</sup>对新生儿和早产儿动脉血清中 Ngb 表达的观察也证明了这一点。因此,检测 Ngb 的血清学变化可在一定程度上反映出神经细胞的损伤和修复情况,反映研究对象的缺氧或缺血程度及神经细胞的受损程度。血清中 Ngb 的变化可作为脑损伤的一种潜在生物标记物,为临床评估和监测缺氧缺血脑病的严重程度提供参考。

#### [参 考 文 献]

- [1] Greenberg DA, Jin K, Khan AA. Neuroglobin: an endogenous neuroprotctant[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2008, 8(1): 20-24.
- [2] Wang X, Liu J, Zhu H, Tejima E, Tsuji K, Murata Y, et al. Effects of neuroglobin overexpression on acute brain injury and long-term outcomes after focal cerebral ischemia[J]. *Stroke*, 2008, 39(6): 1869-1874.
- [3] 李臻琰,钟广伟,王君宇,刘运生,王素娥,李炜,等. 大鼠弥漫性轴索损伤后丘脑 Ngb mRNA 的表达[J]. *中国医师杂志*, 2009, 11(4): 7-10.
- [4] Araki N, Morimasa T, Sakai T, Tokuoh H, Yunoue S, Kamo M, et al. Comparative analysis of brain proteins from p53-deficient mice by two-dimensional electrophoresis[J]. *Electrophoresis*,

- 2000, 21(9): 1880-1889.
- [5] 李美香, 肖志强, 彭芳, 李国庆, 张鹏飞, 李茂玉, 等. LCM纯化的鼻咽癌间质和正常鼻咽间质的定量蛋白质组学研究[J]. 生物化学与生物物理进展, 2009, (09):1122-1133.
- [6] 王小东, 严拥军, 刘序斌, 聂永庚. 儿童颅脑外伤的特点及手术治疗[J]. 中国当代儿科杂志, 2007, 9(5): 489-490.
- [7] Cantore L, Norwood K, Patrick P. Medical aspects of pediatric rehabilitation after moderate to severe traumatic brain injury [J]. NeuroRehabilitation, 2012, 30(3): 225-234.
- [8] Brown FL, Whittingham K, Boyd R, Sofronoff K. J. A Systematic Review of Parenting Interventions for Traumatic Brain Injury: Child and Parent Outcomes [J]. Head Trauma Rehabil, 2012, [Epub ahead of print].
- [9] Sanchez JI, Paidas CN. Childhood trauma, now and in the new millennium [J]. Surg Clin North Am, 2004, 79(6): 1503-1508.
- [10] Appelboom G, Zoller SD, Piazza MA, Szpalski C, Bruce SS, McDowell MM, et al. Traumatic brain injury in pediatric patients: evidence for the effectiveness of decompressive surgery [J]. Neurosurg Focus, 2011, 31(5): E5.
- [11] Schober ME, Block B, Requena DF, Hale MA, Lane RH. Developmental traumatic brain injury decreased brain derived neurotrophic factor expression late after injury [J]. Metab Brain Dis, 2012, 27(2):167-173.
- [12] Xu JF, Liu WG, Dong XQ, Yang SB, Fan J. Change in plasma gelsolin level after traumatic brain injury [J]. J Trauma Acute Care Surg, 2012, 72(2): 491-496.
- [13] 林欣, 李敏, 胡亚卓, 韩志涛, 张红红, 尚爱加, 等. 颅脑创伤后大鼠脑组织脑红蛋白表达变化及其与神经元凋亡的关系研究[J]. 中国应用生理学杂志, 2010, 26(1): 39-44.
- [14] 吴巧灵. 缺氧缺血性脑病患儿血清 NGB 含量检测及临床意义. 山东大学, 硕士学位论文, 2010, 1-45.
- [15] 刘一沉, 王静, 高艳, 吴永红, 王航雁, 张成岗. 局灶性脑缺血再灌注损伤后大鼠血脑屏障通透性的研究 [J]. 中国儿童保健杂志, 2009, 17(3): 309-311.
- [16] 陈秀莲, 陈瑞, 高春锦, 徐世明, 张丽娟, 王宏娟. 短暂前脑缺血小鼠海马脑红蛋白表达的动态变化 [J]. 动物学杂志, 2008, 43(1): 131-133.
- [17] 刘超, 孙善全, 余剑波, 徐瑜, 陈海, 李京. 大鼠内毒素休克模型中脑红蛋白的表达变化及临床意义 [J]. 中国全科医学, 2009, 12(14):1282-1285.
- [18] 王航雁, 王静, 王萍, 李茜. 脑红蛋白在新生儿血清的表达及临床意义 [J]. 中华围产医学杂志, 2007, 10(2): 121-122.
- [19] 王静, 王航雁, 王萍, 李茜. 宫内窘迫新生儿血清脑红蛋白的变化 [J]. 实用儿科临床杂志, 2009, 24(2): 104-105.

(本文编辑:万静)

## · 消息 ·

# 儿童免疫性疾病研讨班及新技术新项目推广应用会议通知

2012年国家级继续教育项目《儿童风湿及免疫性疾病研讨班及新技术新项目推广应用会议》[2012-06-01-016(国)]将于2012年12月21~24日在广东省广州市珠江新城召开,主题是“儿童免疫相关性疾病的诊治”。内容包括儿童过敏性变态反应性疾病、自身免疫性疾病、免疫缺陷病、感染与免疫四个方面,包括幼年特发性关节炎及巨噬细胞活化综合征、系统性红斑狼疮、过敏性紫癜、川崎病、呼吸道过敏、消化道过敏、皮肤过敏、免疫缺陷病等疾病的诊疗新进展,过敏原检测及脱敏治疗的应用、生物制剂的临床应用及推广、儿童过敏免疫风湿性疾病的临床诊断图谱及实验室诊断技术等内容。国内十余名知名专家授课,与会代表获得继续教育I类学分。本研讨班紧密结合临床,兼顾科研,内容实用先进。

项目负责人:广州市妇女儿童医疗中心、广州市儿童医院过敏免疫风湿病科曾华松主任。

联系人:许洲斌医师。手机:15088056960 电子邮箱:19636920@qq.com。

广州市妇女儿童医疗中心