

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2014.01.015

论著·实验研究

PirB 抑制缺氧缺血性脑损伤新生大鼠脑组织神经再生

王华 母得志

(四川大学华西第二医院新生儿科, 四川 成都 610041)

[摘要] **目的** 观察缺氧缺血性脑损伤(HIBD)后新生大鼠脑组织中髓鞘抑制因子配对免疫球蛋白B(PirB)的表达变化,以及抑制PirB对缺氧缺血性神经损伤的保护作用。**方法** 66只新生Sprague Dawley大鼠随机分为假手术组($n=30$)、HIBD组($n=30$)和抗PirB抗体组($n=6$),采用结扎右侧颈总动脉和低氧(8% O_2)处理3h造模,假手术组分离右侧颈总动脉但不予结扎及缺氧处理;HIBD组在完成结扎手术及缺氧处理后,两组分别在0h、6h、12h、24h和72h各处死6只大鼠;抗PirB抗体组在完成结扎手术及缺氧处理后即刻从脑室内注入PirB抗体,于72h后处死。采用免疫组化、Western blot和RT-PCR方法检测HIBD后各时间点新生鼠脑组织内PirB蛋白及mRNA含量的变化,同时免疫沉淀法测定Rho激酶(ROCK)活性在HIBD 72h后的变化以及抗PirB抗体对ROCK活性的影响。**结果** PirB mRNA和蛋白均在HIBD 72h后的新生鼠脑组织中表达升高,与HIBD后0h比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。HIBD后72h,新生鼠脑组织中ROCK蛋白活性高于假手术组和抗PirB抗体组(均 $P<0.05$)。**结论** 抑制PirB可能是促进HIBD后神经再生的一个新治疗方法,而该抑制作用可能是通过Rho-ROCK信号通路产生的。 [中国当代儿科杂志, 2014, 16(1): 67-72]

[关键词] 配对免疫球蛋白B; 神经再生; 脑组织; 缺氧缺血; 新生大鼠

Neuroregeneration of newborn rats with hypoxic-ischemic brain damage following antibody-mediated neutralization of paired-immunoglobulin-like receptor B

WANG Hua, MU De-Zhi. Department of Neonatology, West China Second Hospital Sichuan University, Chengdu 610041, China (Mu D-Z, Email: dezhimu@yahoo.com)

Abstract: Objective To study changes in paired-immunoglobulin-like receptor B (PirB) expression after hypoxic-ischemic brain damage (HIBD) as well as the role for targeted inhibition of PirB activity in nerve regeneration in rats. **Methods** Newborn Sprague-Dawley rats were divided into: a sham operation group ($n=30$), a HIBD group ($n=30$), and an anti PirB antibody treatment group ($n=6$). In the HIBD group, HIBD was induced by right carotid artery ligation and subsequent exposure to hypoxia (8% O_2) for 3 hours. In the sham operation group, right carotid artery was dissected as in the HIBD group but no ligation and hypoxic exposure was not applied. In the two groups, 6 animals were sacrificed at 0, 6, 12, 24 and 72 hours after the operation and hypoxic exposure. In the antibody treatment group, after carotid artery ligation and hypoxia exposure as in the HIBD group, an anti PirB antibody was injected intracerebrally and animals were sacrificed 72 hours after the injection. Immediately after sacrifice of the animals at designated time points, brain tissue specimens were collected. The presence and content of PirB protein were assessed by immunohistochemistry and Western blot analysis respectively, the abundance of PirB mRNA was determined by RT-PCR, and the Rho kinase (Rock) activity was determined by immunoprecipitation. **Results** At 72 hours after operation, PirB mRNA abundance and protein content in the brain were significantly increased as compared with the measurements at 0 hour after operation in the HIBD group ($P<0.05$); ROCK activity was significantly increased in the HIBD group as compared with the sham operation and anti PirB antibody groups ($P<0.05$). **Conclusions** PirB might be involved in HIBD through a Rho-ROCK-dependent mechanism and antibody-mediated neutralization of PirB in the brain may offer a novel therapeutic strategy for HIBD. [Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(1): 67-72]

Key words: Paired immunoglobulin-like receptor B; Neuron regeneration; Brain tissue; Hypoxia-ischemia; Newborn rats

[收稿日期] 2013-09-04; [接受日期] 2013-09-25

[基金项目] 国家自然科学基金(81070521, 81330016); 四川省科技厅科技支撑项目(2010SZ0111)。

[作者简介] 王华, 女, 博士, 副主任医师。

[通信作者] 母得志, 男, 教授。

缺氧缺血性脑病 (hypoxic ischemic encephalopathy, HIE) 是新生儿期十分常见的脑损伤, 但是至今为止, 对该疾病的治疗仍停留在对症处理及减轻脑损伤后遗症的一些方法上^[1], 还没有发现促进损伤神经再生的有效方法。因此, 目前急需进行对于缺氧缺血性脑损伤 (hypoxic ischemic brain damage, HIBD) 后促进神经再生的新方法的研究^[2]。中枢神经系统再生受抑制的一个主要原因在于损伤轴突所处的环境中有大量的髓鞘抑制因子, 最近的研究表明以 MAG、Nogo-A 和 Omgp 为主要的抑制因子^[3]。这3种髓鞘抑制因子在 HIBD 神经再生中是通过与受体 NgR 结合, 形成受体复合物后发挥抑制作用^[4-7]。已有一些文章表明抑制 NgR 可以促进损伤神经再生^[8], 但是也有一些文章表明髓鞘抑制因子在 NgR 敲除鼠和野生鼠中的抑制神经再生作用无差异^[9]。因此, 很有可能存在第二个受体介导髓鞘抑制因子的抑制作用。配对免疫球蛋白 B (paired Immunoglobulin-like receptor B, PirB) 首先被发现表达于免疫系统细胞上, 直到最近才发现也表达在神经细胞上^[10]。与 NgR 一样, PirB 可以与 MAG、Nogo-A 和 Omgp 结合并发挥神经再生抑制作用。同时阻止 NgR 和 PirB 可能可以完全阻止髓鞘抑制因子对损伤神经再生的抑制作用, 对敲除 NgR 的神经元用抗 PirB 抗体处理后能部分阻断通过 Nogo-66 而发生的抑制损伤神经再生作用^[11]。这些实验结果均表明联合阻止 NgR 和 PirB 可能会促进损伤神经的再生。

本研究假设抑制 PirB 可以通过阻止抑制因子传导通路从而刺激损伤神经再生, 另外, 由于 PirB 和 NgR 都是髓鞘抑制因子的受体, 而 NgR 是通过 Rho-ROCK 信号通路而发挥抑制作用的, 因此本研究假设 PirB 也是通过这一信号通路发挥作用。本实验将探讨 PirB 在 HIBD 新生大鼠脑组织中的含量及表达变化, 并测定 Rho 激酶 (ROCK) 的活性变化, 以便探讨 PirB 抑制 HIBD 神经再生可能的信号通路, 旨在为寻求促进损伤神经再生的新方法而奠定基础。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

一抗 PirB (C19, 美国 Santa Cruze 公司);

二抗生物素标记兔抗羊 IgG、SP 免疫组化 Kit 试剂盒、DAB 显色试剂盒 (北京中山公司); RIPA 裂解液 (上海申能博彩生物科技有限公司); 丽春红 S 染色试剂和考马斯亮蓝染色试剂 (美国 Sigma 公司); PVDF 膜 (德国罗氏公司); Western blot Kit (美国 KPL 公司); PirB、 β -actin 引物 (上海捷倍思基因技术有限公司); 总 RNA 提取试剂盒 (MBI 公司); First Strand CDNA synthesis Kit、dNTPmix、BCA 试剂盒 (深圳晶美生物有限工程公司); DEPC (成都云鸿科技公司)。

1.2 HIBD 新生大鼠模型建立

66 只清洁级健康 7 d 龄 Sprague-Dawley 新生大鼠 (购于华西实验动物中心), 随机选取 6 只为抗 PirB 抗体组, 余 60 只大鼠被随机分为假手术组及 HIBD 组, 每组 30 只。新生大鼠仰卧位固定, 乙醚吸入麻醉, 切开皮肤及皮下组织, 分离右侧颈总动脉, 并用 7-0 灭菌丝线结扎, 缝合皮下组织及皮肤, 并再次消毒皮肤。整个手术过程在 15 min 内完成。术后将大鼠置于常氧空气中 30 min 后, 将其放进 8% O₂、92% N₂ 混合气体的低氧舱处理 3 h, 流量为 2 L/min, 低氧处理结束后的新生鼠放回含常氧的母鼠笼中饲养。假手术组仅将丝线穿过右侧颈总动脉而不做结扎及缺氧处理, HIBD 组在完成结扎手术及缺氧处理后, 两组分别在 0 h、6 h、12 h、24 h 和 72 h 各处死 6 只大鼠。抗 PirB 抗体组在完成结扎手术及缺氧处理后即刻从脑室内注入 PirB 抗体, 于 72 h 后处死。

1.3 免疫组化检测 PirB 蛋白表达

1.3.1 标本处理 用 3% 戊巴比妥钠 15~20 mg/kg 对每个时间点动物作腹腔内麻醉, 打开腹腔麻醉后新生鼠的胸腔, 用 20 mL 注射器于左心室灌注生理盐水, 同时在右心房处剪一切口, 至流出液体变清为止。再灌注 4% 多聚甲醛、0.1 mol/L PBS 100 mL, 至肝脏明显变白及肺脏明显水肿后断头取全脑, 并立即将之保存于 4% 多聚甲醛、0.1 mol/L PBS 溶液中固定 72 h 以上。将固定的鼠脑从视交叉后 2~6 mm 处做脑组织冠状切面, 取视交叉之后的脑组织块经梯度酒精脱水、二甲苯透明后行石蜡包埋, 切片后裱于载玻片上备用。切片厚度为 5 μ m, 每 5 张切片取 1 张, 每个动物脑组织共取 3 张切片, 每张切片随机选 5 个视野观察。

1.3.2 PirB 免疫组化步骤 标本脱蜡置水,

3% H₂O₂ 浸泡消除内源性过氧化物酶, 蒸馏水洗 5 min, 两次, 柠檬酸修复液抗原修复, 3% 正常羊血清封闭, 滴加 PirB 一抗, 37℃ 孵育 0.5 h, 然后 4℃ 过夜, 滴加二抗, 37℃ 孵育 1 h, 滴加 SP, 再 37℃ 孵育 1 h, DAB 显色试剂盒显色, 苏木素复染, 脱水、透明、封片。

1.4 Western blot 检测 PirB 蛋白表达

提取脑组织蛋白质, 假手术组及 HIBD 组各时间点各 6 例标本, 冰浴中取脑组织 100 mg 加入 1 mL RIPA 和 10 μL PMSF, 用 1 mL TIP 管直接吸打, 冰里放置 30 min, 离心, 采用紫外可见分光光度计测定蛋白浓度, 各样本稀释为 5 μg/μL, -70℃ 冰箱保存; 配置好分离胶后, 取样本上样, 恒压 120 V 电泳 1 h, 凝胶转移至固相支持物, 膜封闭, 杂交显色 (一抗为 C19), 进行图像采集及统计学分析。

1.5 RT-PCR 检测 PirB mRNA 表达

分别取假手术组和 HIBD 组新生大鼠术后各时间点的右侧大脑皮层组织约 40 mg 置于 DEPC 处理过的 1.5 mL EP 管中, 加入 1 mL TRIzol 剧烈振荡, 离心后将上清液移至 DEPC 处理的 EP 管中, 行脑组织总 RNA 提取, 用紫外分光光度计测得总 RNA 提取物的 A260/280 值在 1.6~2.0 之间, 再将提取的总 RNA 行 1% 琼脂糖凝胶电泳, 将模板 RNA、Oligo (dT) 与 DEPC 处理水轻微混匀, 孵育后冰上冷却离心。根据 NCBI Genbank 中大鼠 PirB、β-actin 基因序列行引物设计, PirB 上游引物: 5'-TCGGGAAAATTCAGGAA-3', 下游引物: 5'-GAGA-AATCTCTAGCTTTATTT-3', 片段长度: 124 bp; β-actin 上游引物: 5'-CGTAAAGACCTCTATGCCAA-3', 下游引物: 5'-AGCCATGCCAAATGTGTCAT-3', 片段长度 387 bp。cDNA 的合成参照逆转录酶使用说明书进行。反应体系 (50 μL): 模板 cDNA 1 μL, 10× Buffer 5 μL, dNTP mix (2.5 mM) 1 μL, 上、下游引物 (10 μM) 各 1 μL, Taq 多聚酶 0.5 μL, ddH₂O 补足体积至 50 μL。反应条件: 94℃ 预变性 3 min; 94℃ 变性 30 s, 55℃ (PirB) /53℃ (β-actin) 退火 30 s, 72℃ 延伸 32 s (PirB) /40 s (β-actin), 32 (PirB) /28 (β-actin) 个循环; 最后 72℃ 延伸 8 min。PCR 扩增产物 0.5 μL 和上样缓冲液 0.3 μL 点样于 1% 琼脂糖凝胶上, 50 V 电泳 1 h 后照相。

用图像分析仪测照片上扩增产物的平均灰度, 计算出目的基因条带灰度值与内参 β-actin 条带灰度值的比值作为目的基因的相对表达量。

1.6 免疫沉淀法检测 ROCK 蛋白活性

标本匀浆后加 0.5 mL 预冷细胞裂解液, 4℃、12000 rpm 离心 10 min 后收集上清, BCA 法平衡每组蛋白总浓度, 准备 A 蛋白-Sepharose 珠及其 PirB 一抗复合物, 按每 50 μL A 蛋白-Sepharose 珠中加入 10 μL PirB 一抗 (C19), 4℃ 孵育 1 h, 8000 rpm 离心 5 min, PBS 洗涤 3 次, 加 50 μL PBS, 取 100 μg 总蛋白, 加入 A 蛋白-Sepharose 珠 PirB 一抗复合物后离心, 蛋白上清储于 -20℃ 冰箱备用; 制备电泳凝胶、进行 SDS-PAGE、转膜和免疫反应, 以 GAPDH 作为内参对照, 最后进行 ECL 曝光及条带半定量分析。

1.7 统计学分析

应用 SPSS 13.0 统计软件对数据进行统计学分析, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组均数的比较采用 *t* 检验; 多组间均数比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-*t* 检验, *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PirB 在 HIBD 新生大鼠脑组织中的表达变化

本实验首先采用免疫组化法测定了 HIBD 组新生大鼠在各时间点脑组织中 PirB 的表达, 结果表明 HIBD 组 72 h 时的 PirB 阳性表达 (黄褐色) 明显增加, 与 HIBD 后 0 h 及假手术组相比差异均有统计学意义 (均 *P*<0.05)。而假手术组各时间点 PirB 差异均无统计学意义 (均 *P*>0.05)。见图 1, 表 1。

Western blot 检测结果与免疫组化结果一致, PirB 蛋白表达在 HIBD 72 h 后的新生鼠脑组织中明显增加, 与其他时间点比较差异均有统计学意义 (均 *P*<0.05), 见图 2。

2.2 PirB mRNA 在 HIBD 新生大鼠脑组织中的变化

与免疫组化和 Western blot 结果一致, PirB mRNA 在 HIBD 72 h 后的新生鼠脑组织中明显增加。与其他时间点比较差异均有统计学意义 (均 *P*<0.05), 见图 3。

2.3 ROCK 蛋白活性在 HIBD 新生大鼠脑组织中的变化以及抗 PirB 抗体对其的影响

鉴于 HIBD 72 h 后脑组织中 PirB 蛋白及 mRNA 明显增加, 因此本实验主要观察 HIBD 72 h 组中 ROCK 蛋白活性的变化, 以及加入抗 PirB 抗体对 HIBD 大鼠 ROCK 蛋白活性的影响。结果表

明造模成功后 72 h, HIBD 组 ROCK 蛋白活性较假手术组增加 ($P < 0.05$), 抗 PirB 抗体组 ROCK 蛋白活性较 HIBD 组降低 ($P < 0.05$)。表明 ROCK 蛋白活性在 HIBD 新生鼠脑组织中增加, 而且这种酶活性的增加可以被抗 PirB 抗体所阻断。见图 4。

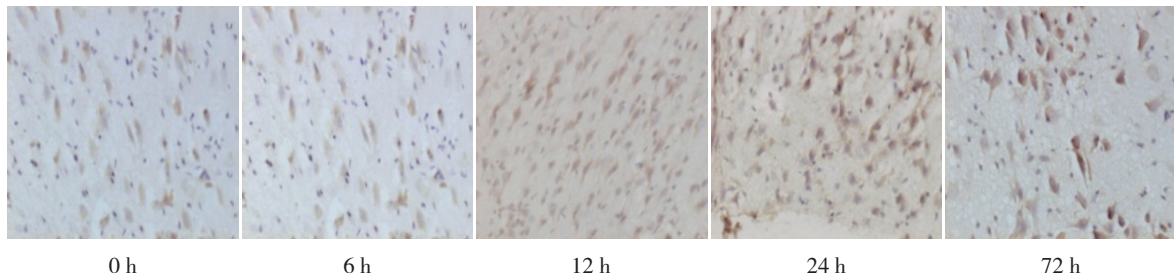


图 1 HIBD 新生大鼠脑组织各时间点免疫组化图像 (DAB 显色, $\times 200$) 黄褐色为 PirB 阳性表达。

表 1 假手术组与 HIBD 组 PirB 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	PirB 蛋白 IOD 值					F 值	P 值
		0 h	6 h	12 h	24 h	72 h		
假手术组	6	60.14 \pm 0.06	60.13 \pm 0.05	60.15 \pm 0.10	60.14 \pm 0.20	60.15 \pm 0.14	3.246	>0.05
HIBD 组	6	60.15 \pm 0.04	60.14 \pm 0.04	60.16 \pm 0.05	60.33 \pm 6.83	93.26 \pm 5.76 ^a	28.552	<0.01
t 值		0.143	0.213	0.148	1.679	20.474		
P 值		0.889	0.836	0.89	0.205	<0.001		

a: 与同组其他时间点比较, $P < 0.05$ 。

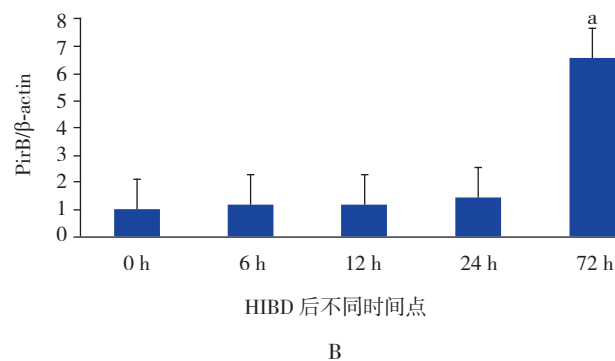
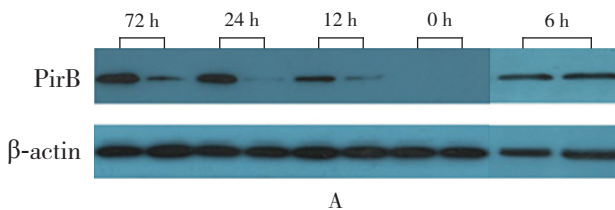


图 2 Western blot 检测 HIBD 组新生鼠各时间点脑组织 PirB 表达水平 ($n=6$) A: Western blot 条带图; B: Western blot 的半定量分析结果。a: 与 0 h、6 h、12 h 和 24 h 相比, $P < 0.05$ 。

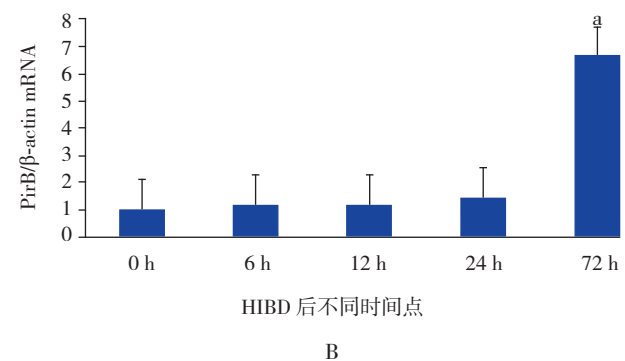
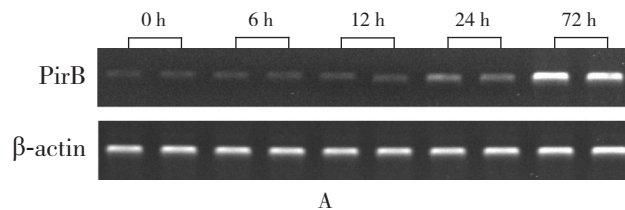


图 3 RT-PCR 检测 HIBD 组新生鼠各时间点脑组织 PirB mRNA 表达水平 ($n=6$) A: RT-PCR 电泳图; B: RT-PCR 的半定量分析结果。a: 与 0 h、6 h、12 h 和 24 h 相比, $P < 0.05$ 。

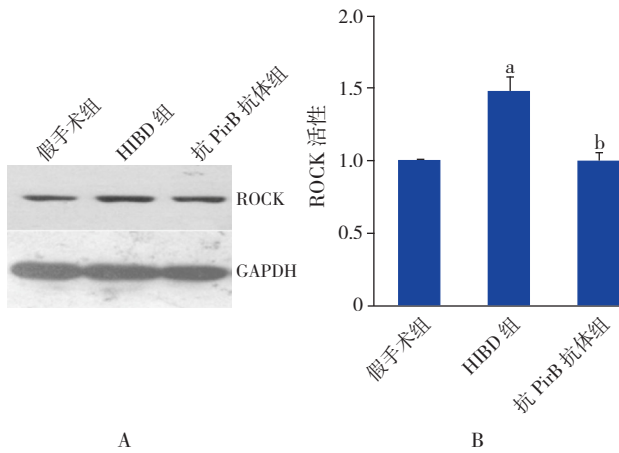


图4 HIBD 72 h 后 ROCK 蛋白活性在各组新生大鼠脑组织中的变化 (n=6) A: 免疫沉淀条带图; B: 免疫沉淀的半定量分析结果。a: 与假手术组相比, P<0.05; b: 与 HIBD 组相比, P<0.05。

3 讨论

HIBD 是围生期窒息幸存儿中最为常见的致残原因^[12]。虽然到目前为止研究了各种各样的神经保护措施,但是由于神经损伤的不可逆性,对于 HIE 的治疗手段仍然十分有限。研究表明 HIE 预后与神经损伤程度密切相关,本课题组以前的研究观察到新生鼠脑组织 HIBD 后神经坏死,那么 HI 损伤后成功的神经再生对 HIBD 的治疗十分重要。

ROCK 在髓鞘抑制因子与其受体 NgR 结合后发挥抑制神经再生作用的信号传递通路中发挥着重要的作用。因此,本实验探索 ROCK 在 PirB 抑制 HI 损伤神经再生中是否也发挥着同样重要的作用。鉴于有研究表明,在中枢神经系统髓鞘中有几种髓鞘抑制蛋白与抑制损伤神经再生相关,它们是 MAG、Nogo-A 和 Omgp,抑制蛋白要通过它们的受体 NgR 发挥作用,而 NgR 发挥抑制作用要通过 RhoA-ROCK 信号通路,因此本研究想通过实验表明 PirB 是否也与抑制损伤神经再生有一定作用,而这一作用是否也是通过 ROCK 信号通路介导。形态学研究发现, HIBD 新生大鼠脑组织中存在明显的神经元坏死表现^[13]。另外,本课题组前期的实验研究表明髓鞘抑制因子 Nogo-A 及其受体 NgR 在 HIBD 脑组织中含量升高^[14],2007 年有研究提出 Nogo-A 抗体可导致 HIBD 新生大鼠脑组织 Nogo-A 蛋白表达明显减少,对神经细胞再生的抑制作用减弱^[15]。2012 年的研究表明 PirB 抑制新生

大鼠 HI 损伤神经元细胞再生^[16-17],提示 Nogo-A、NgR 和 PirB 在阻止损伤神经再生方面起着一定作用。目前表明 Nogo-A、NgR 的抑制机制是 Nogo-A 通过与 NgR-P75NTR 受体复合物相结合,将抑制信号传递至 ROCK,再激活一系列瀑布反应,最终导致细胞骨架结构重建而抑制损伤神经元再生。由于 PirB 是新近发现的 Nogo-A 的另一种功能性受体,因此本研究推测抑制 PirB 可能也可以通过抑制 ROCK 的表达继而起到促进损伤神经元再生的目的。

为了表明 PirB 在 HIBD 新生鼠的脑组织中含量是否增加,本研究在免疫组化中用针对 PirB 胞内段的特异性抗体,对不同 HI 时间点脑组织中 PirB 的含量进行比较,发现 HIBD 后 72 h 新生鼠脑组织中 PirB 的分布及含量增加,主要分布于大脑皮层、海马及小脑神经元中。同时本研究采用 Western blot 和 RT-PCR 检测表明新生鼠 HIBD 后 72 h PirB 蛋白及 mRNA 的含量均增加。

PirB 作为髓鞘抑制因子的功能性受体,抑制损伤神经元轴突再生的机制是否也同 NogoA-NgR 类似,是通过 Rho-ROCK 信号通路改变细胞骨架结构而发挥抑制作用的呢?本课题组前期体内动物实验中观察到 HIBD 后 Rho 的含量及活性均增强,但加入抗 PirB 抗体后其活性下降^[15-16]。说明 HI 致髓鞘抑制因子增加,继而其受体含量也增加,由于 Rho-ROCK 信号通路已被证实在 Nogo 受体复合物抑制神经再生方面起着重要作用,因此本实验力图表明 PirB 这一髓鞘抑制因子的功能性受体也可能是通过这一条信号通路发挥着抑制神经再生的作用。因此,本研究通过脑室内注入抗 PirB 胞外段的特异性抗体,培养阻断 PirB 表达的 HIBD 后 72 h 的脑组织,结果表明 HIBD 后 72 h ROCK 活性增加,而抑制 PirB 后 ROCK 活性下降,表明 PirB 在 HIBD 后增加会抑制损伤神经元再生,其机理可能与 ROCK 的激活有一定关系,而抑制 PirB 可能是治疗 HIBD 的一个潜在靶点。

在接下来的实验中,本课题组将进一步进行去除 PirB 功能的转基因动物实验,从动物体内研究无 PirB 表达时 HIBD 后不同时间点神经元再生的情况及 Rho-ROCK 信号通路的变化,以期进一步证实 PirB 在 HIBD 后起着抑制神经元轴突再生的作用及其可能机制。

[参 考 文 献]

- [1] Roland EH, Hill A. Clinical aspects of perinatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. *Semin Pediatr Neurol*, 1995, 2(1): 57-71.
- [2] Lai MC, Yang SN. Perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *J Biomed Biotechnol*, 2011, 2011: 609813.
- [3] Schwab ME. Nogo and axon regeneration[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2004, 14(1): 118-124.
- [4] Fournier AE, Grandpre T, Strittmatter SM. Identification of a receptor mediating Nogo-66 inhibition of axonal regeneration[J]. *Nature*, 2001, 409(6818): 341-346.
- [5] Wang KC, Koprivica V, Kim JA, et al. Oligodendrocyte-myelin glycoprotein is a Nogo receptor ligand that inhibits neurite outgrowth[J]. *Nature*, 2002, 417(6892): 941-944.
- [6] Domeniconi M, Cao Z, Spencer T, et al. Myelin-associated glycoprotein interacts with the Nogo66 receptor to inhibit neurite outgrowth[J]. *Neuron*, 2002, 35(2): 283-290.
- [7] Shao Z, Browning JL, Lee X, et al. TAJ/TROY, an orphan TNF receptor family member, binds Nogo-66 receptor 1 and regulates axonal regeneration[J]. *Neuron*, 2005, 45(3): 353-359.
- [8] GrandPre T, Li S, Strittmatter SM. Nogo-66 receptor antagonist peptide promotes axonal regeneration[J]. *Nature*, 2002, 417(6888): 547-551.
- [9] Zheng B, Atwal J, Ho C, et al. Genetic deletion of the Nogo receptor does not reduce neurite inhibition in vitro or promote corticospinal tract regeneration in vivo[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(4): 1205-1210.
- [10] Syken J, Grandpre T, Kanold PO, et al. PirB restricts ocular-dominance plasticity in visual cortex[J]. *Science*, 2006, 313(5794): 1795-1800.
- [11] Atwal JK, Pinkston-Gosse J, Syken J, et al. PirB is a functional receptor for myelin inhibitors of axonal regeneration[J]. *Science*, 2008, 322(5903): 867-870.
- [12] Vasiljevic B, Maglajlic-Djukic S, Gojnic M, et al. New insights into the pathogenesis of perinatal hypoxic ischemic brain injury[J]. *Pediatr Int*, 2011, 53(4): 454-462.
- [13] Cohen-Cory S, Fraser SE. Effects of brain-derived neurotrophic factor on optic axon branching and remodelling in vivo[J]. *Nature*, 1995, 378(6553): 192-196.
- [14] Wang H, Yao Y, Jiang X, et al. Expression of Nogo-A and NgR in the developing rat brain after hypoxia-ischemia[J]. *Brain Res*, 2006, 1114(1): 212-220.
- [15] 周晓光, 刘仁红, 熊爱华. 脑室注射 Nogo-A 抗体对 HIBD 新生大鼠脑组织神经细胞再生的影响 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2007, 9(4): 301-304.
- [16] Wang H, Xiong Y, Mu D. PirB restricts neuronal regeneration in developing rat brain following hypoxia-ischemia[J]. *Mol Med Report*, 2012, 6(2): 339-344.
- [17] 王华, 熊英, 母得志. 配对免疫球蛋白抑制新生大鼠缺氧缺血损伤神经元细胞再生的研究 [J]. *中国新生儿科杂志*, 2012, 27(4): 269-273.

(本文编辑: 周勇)

· 消息 ·

关于与美国洛杉矶儿童医院联合举办 “中国小儿血液肿瘤专科医生高级培训班”的通知

美国洛杉矶儿童医院血液肿瘤科, 是全球一流的儿童血液肿瘤科。为拓展国际视野, 我院与洛杉矶儿童医院拟于2014年5月19日至23日在洛杉矶联合举办“中国小儿血液肿瘤专科医生高级培训班”。招生对象为高年资主治以上小儿血液肿瘤专科医生, 为保证效果, 学员限10人(分白血病和实体瘤二组, 每组5人)。培训方式: 上午参加美国医生查房和病例讨论, 下午由世界一流专家小班授课。费用: 学费 \$ 350, 洛杉矶当地住宿、交通费 \$ 1150。另开班前由美方组织(5月14至17日)赴芝加哥参加美国小儿血液肿瘤年会(自愿参加, 费用自理), 详情请与我院文医生联系, 电话: 18938690333, 邮箱: fwen62@126.com。

深圳市儿童医院
2014年1月7日