

# 低温通过冷诱导 RNA 结合蛋白/硫氧还蛋白 1 通路减轻心肺复苏后神经元氧化应激损伤

李娟 周洁洁 张洁 惠康丽 徐苗苗 段满林 徐建国

**【摘要】** 目的 探讨心跳骤停心肺复苏后脑损伤(BIC)模型中,治疗性低温(TH)对神经元氧化应激损伤的作用及相关机制。方法 雄性SD大鼠60只,7~10周,体重280~320g。采用随机数字表法分为五组:假手术组(S组)、BIC组、低温治疗组(TH组)、沉默冷诱导RNA结合蛋白(CIRP)后低温治疗组(THC组)和空载后低温治疗组(THN组),每组12只。采用经食管连续快速起搏诱发室颤,心跳骤停4min后,行心肺复苏术(CPR),建立BIC模型。于BIC模型制备后1d,采用免疫荧光法检测海马活性氧簇(ROS)荧光强度,Western blot法检测海马CIRP、硫氧还蛋白1(Trx1)、磷酸化凋亡信号调节激酶1(ASK1)蛋白含量及其下游p38和c-Jun N-末端激酶(JNK)磷酸化含量。于BIC模型制备后3d,采用原位末端标记(TUNEL)法检测海马神经元凋亡细胞百分比。结果 与S组比较,BIC模型制备后1d BIC组ROS荧光强度明显升高,CIRP含量明显降低,p-ASK1、p-p38含量明显升高;TH组和THN组ROS荧光强度均明显升高,CIRP含量明显升高,p-JNK含量明显降低;THC组ROS荧光强度明显升高,CIRP、Trx1含量明显降低,p-ASK1、p-p38含量明显升高( $P<0.05$ )。与BIC组比较,BIC模型制备后1d TH组和THN组ROS荧光强度明显降低,CIRP、Trx1含量明显升高,p-ASK1和p-JNK含量明显降低;TH组p-p38含量明显降低;THC组ROS荧光强度明显降低,p-ASK1和p-p38含量明显升高( $P<0.05$ )。与THC组比较,BIC模型制备后1d TH组和THN组ROS荧光强度明显降低,CIRP、Trx1含量明显升高,p-ASK1、p-p38和p-JNK含量明显降低( $P<0.05$ )。与S组比较,BIC模型制备后3d BIC组、TH组、THC组和THN组神经元凋亡细胞百分比明显升高( $P<0.05$ )。与BIC组比较,BIC模型制备后3d TH组、THC组和THN组凋亡细胞百分比明显降低( $P<0.05$ )。与THC组比较,BIC模型制备后3d TH组和THN组凋亡细胞百分比明显降低( $P<0.05$ )。结论 TH可以减轻BIC模型制备后神经元氧化应激反应以及减少神经元凋亡,沉默CIRP后该作用减弱,显示TH复苏神经元的机制可能与激活CIRP/Trx1/ASK1通路有关。

**【关键词】** 治疗性低温;冷诱导RNA结合蛋白;硫氧还蛋白1;凋亡信号调节激酶1;氧化应激;神经元凋亡

**Therapeutic hypothermia alleviates neuronal oxidative injury via cold-inducible RNA-binding protein/thioredoxin 1 pathway after cardiopulmonary resuscitation** LI Juan, ZHOU Jiejie, ZHANG Jie, HUI Kangli, XU Miaomiao, DUAN Manlin, XU Jianguo. Department of Anesthesiology, Jinling Hospital, School of Medicine, Nanjing University, Nanjing 210002, China  
Corresponding author: DUAN Manlin, Email: dml9001@163.com

**【Abstract】 Objective** To explore the effect of therapeutic hypothermia (TH) on neuronal oxidative injury, and its possible mechanism in a model of brain injury after cardiac arrest (BIC). **Methods** According to the random number table, 60 male Sprague-Dawley rats, aged 7–10 weeks, weighing 280–320 g, were divided into sham group (group S), group BIC, group TH, TH after cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) silent group (group THC), and TH after negative control group (group THN), 12 in each group. The BIC model was established by cardiopulmonary resuscitation after 4 minutes of cardiac arrest induced by transesophageal electrical stimulation. The reactive oxygen species (ROS) by immunofluorescence staining, the expression of CIRP, thioredoxin1 (Trx1), apoptosis-regulated kinase 1 (ASK1) and its downstream p38 and c-Jun N-terminal kinase (JNK) phosphorylation levels by Western blot of 5 groups were tested 1 day after BIC. The apoptosis rate of hippocampal neurons was observed by TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) staining 3 days after BIC. **Results** Compared with group S, ROS in group BIC in-

DOI:10.12089/jca.2021.01.015

基金项目:国家自然科学基金(81671884)

作者单位:210002 南京大学医学院附属金陵医院麻醉科

通信作者:段满林,Email: dml9001@163.com

creased, the expression of CIRP decreased, the expression of p-ASK1 and p-p38 increased; ROS in groups TH and THN increased, the expression of CIRP increased, the expression of p-JNK decreased; ROS of group THC increased, the expression of CIRP and Trx1 decreased, and the expression of p-ASK1 and p-p38 increased ( $P < 0.05$ ) 1 day after BIC. Compared with group BIC, ROS in groups TH and THN decreased, the expression of CIRP and Trx1 increased, the expression of p-ASK1 and p-JNK decreased; the expression of p-p38 in group TH decreased; ROS of group THC decreased, and the expression of p-ASK1 and p-p38 increased ( $P < 0.05$ ) 1 day after BIC. Compared with group THC, ROS in groups TH and THN decreased, the expression of CIRP and Trx1 increased, the expression of p-ASK1, p-p38 and p-JNK decreased ( $P < 0.05$ ) 1 day after BIC. Compared with group S, the apoptosis rate of neurons in groups BIC, TH, THC and THN increased ( $P < 0.05$ ) 3 days after BIC. Compared with group BIC, the apoptosis rate of neurons in groups TH, THC and THN decreased ( $P < 0.05$ ) 3 days after BIC. Compared with group THC, the apoptosis rate of neurons in groups TH and THN decreased ( $P < 0.05$ ) 3 days after BIC. **Conclusion** TH can alleviate neuronal oxidative injury and reduce neuronal apoptosis, while after silencing CIRP, the roles of TH are weakened. Therefore, the potential mechanism of TH resuscitating neurons may be related to the activation of CIRP/Trx1/ASK1 pathway.

**【Key words】** Therapeutic hypothermia; Cold-inducible RNA-binding protein; Thioredoxin1; Apoptosis signal-regulated kinase 1; Oxidative stress; Neuronal apoptosis

心跳骤停严重威胁着人类生命安全,尽管心肺复苏技术(cardiopulmonary resuscitation, CPR)不断提高与完善,自主循环恢复后仍有部分心跳骤停患者最终死于心跳骤停心肺复苏后脑损伤(brain injury after cardiac arrest, BIC)。治疗性低温(therapeutic hypothermia, TH, 32 °C ~ 34 °C)具有抑制兴奋性氨基酸释放,减轻氧化应激损伤,调节炎症反应等作用。尽早使用 TH 能有效改善心跳骤停后 CPR 患者神经功能的预后并提高生存率<sup>[1-2]</sup>。前期研究发现,TH 可高表达冷诱导 RNA 结合蛋白(cold-inducible RNA-binding protein, CIRP),减轻 BIC,抑制神经元凋亡的发生<sup>[3]</sup>。为进一步证实 CIRP 在低温脑复苏中的具体作用,本研究通过腺相关病毒转染以沉默 CIRP,观察 TH 对 CIRP 沉默后 BIC 复苏效果的影响,并探讨 TH 脑复苏时 CIRP 的相关作用机制。

## 材料与方法

**实验分组与方法** 健康雄性 SD 大鼠 60 只,7~10 周,体重 280~320 g,由南京大学医学院附属金陵医院动物实验中心提供[实验动物生产许可证号:SCXK(沪)2018-0006]。采用随机数字表法分为五组:假手术组(S组)、BIC组、TH组、沉默 CIRP 后低温治疗组(THC组)和空载后低温治疗组(THN组),每组 12 只。模型制备前 2 周,THC 组于海马 CA1 区注射沉默 CIRP 的腺相关病毒(AAV9-CIRBP-RNAi,病毒滴度  $1.25 \times 10^{12}$  GC/ $\mu$ l),空载组注射空载腺相关病毒,其余三组注射等体积生理盐水。

**BIC 模型制备** 参照 Wu 等<sup>[3]</sup>研究中的方法制

备模型。术前禁食 12 h,自由饮水。腹腔注射 2% 戊巴比妥钠 45 mg/kg 麻醉,采用 14 G 套管行气管插管。监测 ECG,分离左股动静脉,并于左股动静脉内置管监测动脉内压。S 组仅接受气管插管和动静脉置管术。BIC 组、TH 组、THC 组和 THN 组采用经食管连续快速起搏诱发室颤,心跳骤停 4 min 后开始 CPR 建立 BIC 模型。复苏成功后 TH 组、THC 组和 THN 组立刻使用冰袋及酒精快速降温,维持直肠温度 33 °C,持续 6 h 后缓慢复温;S、BIC 组不作降温处理。

**样本采集** 五组分别于 BIC 模型制备后 1 d,灌注 4 °C 生理盐水后,右侧脑组织 OCT 试剂包埋后液氮迅速冷冻保存,左侧脑组织取海马于液氮罐中速冻后放 -80 °C 冰箱保存。BIC 模型制备后 3 d,经左心室先后灌注 4 °C 生理盐水与 4% 多聚甲醛后取全脑,浸入 4% 多聚甲醛中继续固定。

**活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)检测** 液氮冷冻保存脑组织冠状面 4  $\mu$ m 厚度切片,按照 DHE-ROS 活性氧检测试剂说明进行操作,400 倍尼康荧光镜下观察海马 CA1 区并采集图片,细胞呈红色荧光点为 ROS 阳性细胞,采用 Image Pro Plus 6.0 软件进行免疫荧光强度分析,计算 5 个视野 ROS 荧光强度的平均值。

**免疫印迹(Western blot)** 取 -80 °C 冰箱保存的大鼠海马组织,裂解后提取总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。制作 8%~15% 浓缩分离胶,40  $\mu$ g 蛋白上样,电泳后转膜、封闭,加入一抗 Trx1 (2429S, 1:500)、p-p38 (9215S, 1:1 000)、p-JNK (9255S, 1:1 000)、p-ASK1 (sc-109911, 1:500)、CIRP (10209-2-AP, 1:1 000) 和  $\beta$ -actin (1:1 000) 后 4 °C 过夜,次日

二抗(1:5 000)室温孵育 2 h 后漂洗。使用 ECL 发光液曝光显影,采用 Quantity One 4.6.5 分析蛋白条带吸光度值,计算吸光度比值分析目的蛋白相对含量。

**细胞凋亡测定** 多聚甲醛固定脑组织冠状面切片,切片按照 TUNEL 试剂说明进行操作,400 倍尼康荧光镜下观察海马 CA1 区,细胞呈绿色荧光点为凋亡细胞,计算细胞凋亡指数=凋亡细胞计数÷总细胞计数×100%,取 5 个视野的平均值。

**统计分析** 采用 SPSS 21 统计学软件进行统计学分析,正态分布计量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 Tukey 法。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

### 结 果

**海马组织 ROS 荧光强度** 与 S 组比较,BIC 模型制备后 1 d BIC 组、TH 组、THC 组和 THN 组 ROS 荧光强度均明显升高( $P<0.05$ )。与 BIC 组比较,BIC 模型制备后 1 d TH 组、THC 组和 THN 组 ROS 荧光强度均明显降低( $P<0.05$ )。与 THC 组比较,BIC 模型制备后 1 d TH 组和 THN 组 ROS 荧光强度明显降低( $P<0.05$ ) (图 1—2)。

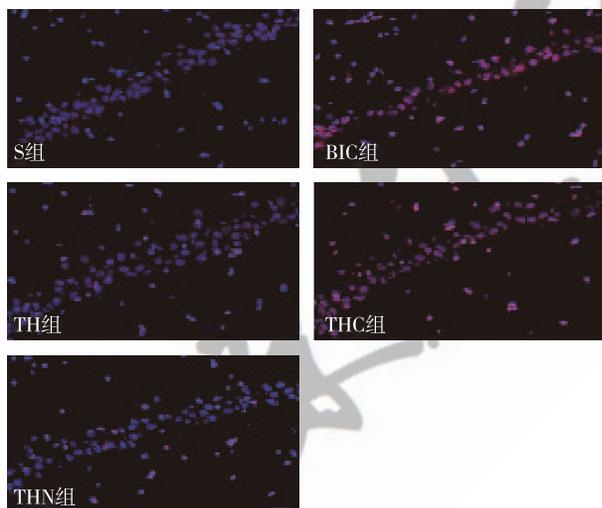
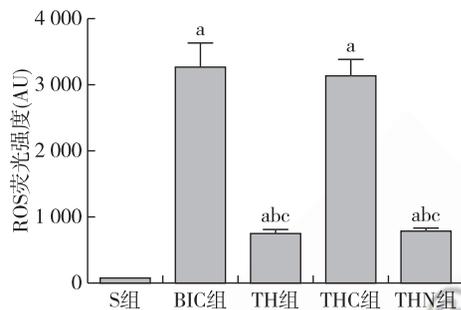


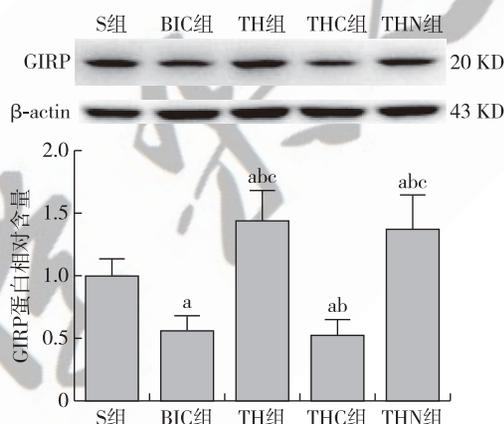
图 1 BIC 模型制备后 1 d 五组大鼠海马组织 ROS 荧光图 (×400)

**CIRP 蛋白相对含量** 与 S 组比较,BIC 模型制备后 1 d BIC 组和 THC 组 CIRP 相对含量明显降低,TH 组和 THN 组 CIRP 相对含量明显升高( $P<0.05$ )。与 BIC 组比较,BIC 模型制备后 1 d TH 组和 THN 组 CIRP 相对含量明显升高。与 THC 组比较,BIC 模型制备后 1 d TH 组和 THN 组 CIRP 相对含量明显升高



注:与 S 组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与 BIC 组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与 THC 组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$

图 2 BIC 模型制备后 1 d 五组大鼠海马组织 ROS 荧光强度的比较



注:与 S 组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与 BIC 组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与 THC 组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$

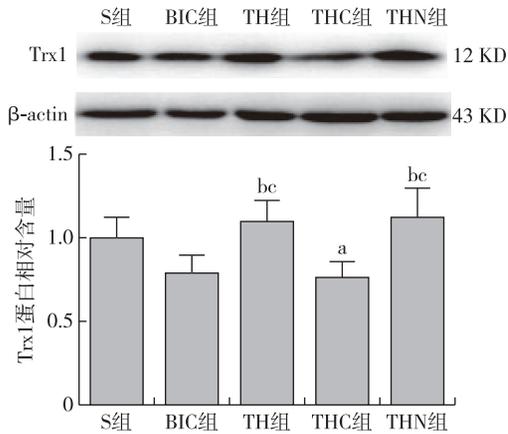
图 3 BIC 模型制备后 1 d 五组大鼠海马组织 CIRP 蛋白相对含量的比较

( $P<0.05$ ) (图 3)。

**Trx1 蛋白相对含量** 与 S 组比较,BIC 模型制备后 1 d THC 组 Trx1 相对含量明显降低( $P<0.05$ )。与 BIC 组比较,BIC 模型制备后 1 d TH 组和 THN 组 Trx1 相对含量明显升高( $P<0.05$ )。与 THC 组比较,BIC 模型制备后 1 d TH 组和 THN 组 Trx1 相对含量明显升高( $P<0.05$ )。S 组和 BIC 组间差异无统计学意义(图 4)。

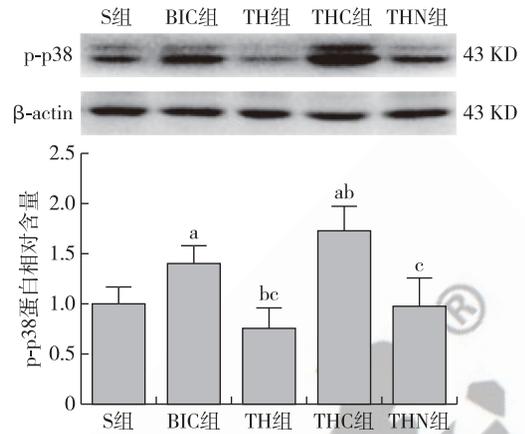
**p-ASK1 蛋白相对含量** 与 S 组比较,BIC 模型制备后 1 d BIC 组和 THC 组 p-ASK1 相对含量明显升高( $P<0.05$ )。与 BIC 组比较,BIC 模型制备后 1 d TH 组和 THN 组 p-ASK1 相对含量明显降低,THC 组 p-ASK1 相对含量明显升高( $P<0.05$ )。与 THC 组比较,BIC 模型制备后 1 d TH 组和 THN 组 p-ASK1 相对含量明显降低( $P<0.05$ ) (图 5)。

**p-p38 蛋白相对含量** 与 S 组比较,BIC 模型制备后 1 d BIC 组和 THC 组 p-p38 相对含量明显升高



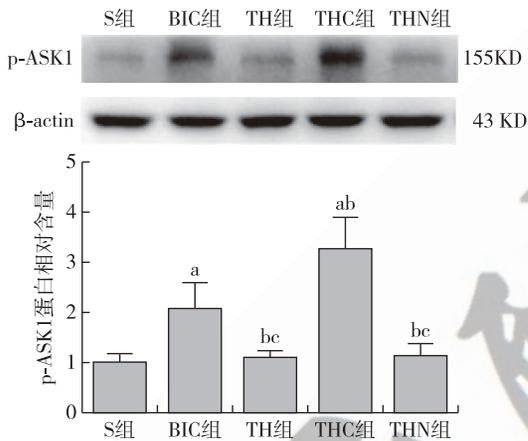
注:与 S 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 BIC 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 THC 组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

图 4 BIC 模型制备后 1 d 五组大鼠海马组织 Trx1 蛋白相对含量的比较



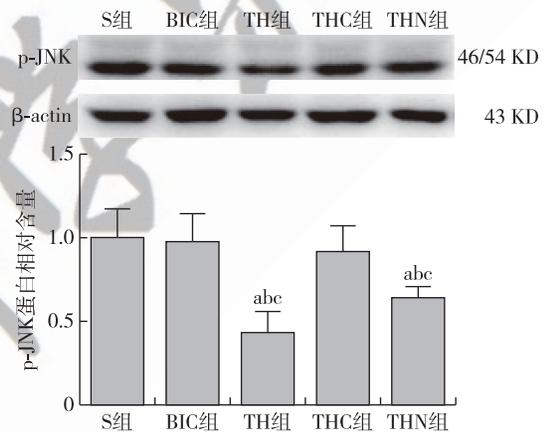
注:与 S 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 BIC 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 THC 组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

图 6 BIC 模型制备后 1 d 五组大鼠海马组织 p-p38 蛋白相对含量的比较



注:与 S 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 BIC 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 THC 组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

图 5 BIC 模型制备后 1 d 五组大鼠海马组织 p-ASK1 蛋白相对含量的比较



注:与 S 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 BIC 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 THC 组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

图 7 BIC 模型制备后 1 d 五组大鼠海马组织 p-JNK 蛋白相对含量的比较

( $P < 0.05$ )。与 BIC 组比较,BIC 模型制备后 1 d TH 组 p-p38 相对含量明显降低,THC 组 p-p38 相对含量明显升高( $P < 0.05$ )。与 THC 组比较,BIC 模型制备后 1 d TH 组和 THN 组 p-p38 相对含量明显降低( $P < 0.05$ )。TH 组和 THN 组差异无统计学意义(图 6)。

**p-JNK 蛋白相对含量** 与 S 组比较,BIC 模型制备后 1 d TH 组和 THN 组 p-JNK 相对含量明显降低( $P < 0.05$ )。与 BIC 组比较,BIC 模型制备后 1 d TH 组和 THN 组 p-JNK 相对含量明显降低( $P < 0.05$ )。与 THC 组比较,BIC 模型制备后 1 d TH 组和 THN 组 p-JNK 相对含量明显降低( $P < 0.05$ )。S 组、BIC 组和 THC 组间差异无统计学意义(图 7)。

**海马组织细胞凋亡** 与 S 组比较,BIC 模型制备后 3 d BIC 组、TH 组、THC 组和 THN 组神经元凋亡细胞百分比明显升高( $P < 0.05$ )。与 BIC 组比较,BIC 模型制备后 3 d TH 组、THC 组和 THN 组凋亡细胞百分比明显降低( $P < 0.05$ )。与 THC 组比较,BIC 模型制备后 3 d TH 组和 THN 组凋亡细胞百分比明显降低( $P < 0.05$ )(图 8—9)。

## 讨 论

TH 在 BIC 模型中具有复苏神经元的作用,但具体机制尚未明确。本研究采用经食管连续快速起搏诱发室颤,心跳骤停 4 min 后开始 CPR 建立 BIC 模型。本实研究结果显示,BIC 组 ROS 荧光强

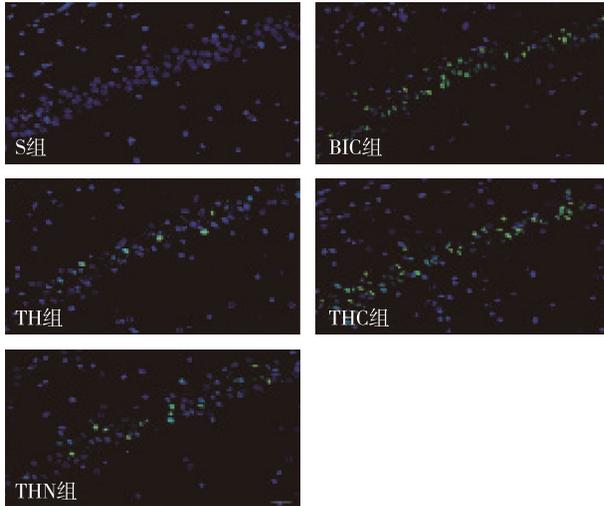
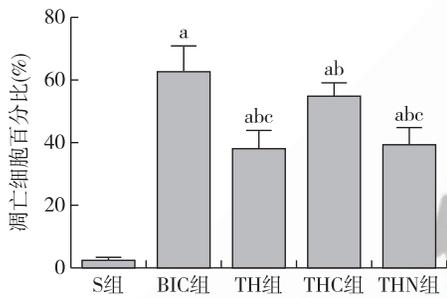


图 8 BIC 模型制备后 3 d 五组大鼠海马组织 TUNEL 荧光图 (×400)



注:与 S 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 BIC 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 THC 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

图 9 BIC 模型制备后 3 d 五组大鼠海马组织凋亡细胞百分比的比较

度和神经元凋亡细胞百分比明显升高,提示模型制备成功。TH 组、THC 组和 THN 组海马区 ROS 荧光强度和神经元凋亡细胞百分比明显降低,CIRP 表达量明显升高,而 THC 组沉默 CIRP 后 ROS 荧光强度和神经元凋亡细胞百分比明显升高,CIRP 表达量明显降低,TH 作用减弱,提示 TH 通过上调 CIRP 减轻氧化应激反应,发挥复苏神经元的作用。

大鼠海马 CA1 区对缺血缺氧性脑损伤反应最为敏感,且损伤后 24 h 为 Trx1 氧化还原活性增强点<sup>[4]</sup>,故本研究选择观察 BIC 模型制备后 1 d 海马 CA1 区的 ROS 荧光强度,及 Trx1 通路相关蛋白的表达。前期研究<sup>[3]</sup>表明,脑损伤后 3 d 为凋亡相关蛋白 Bax 和 Caspase3 的表达高峰,故本研究选择观察 BIC 模型制备后 3 d 神经元的凋亡状况。脑损伤发生时,由于脑组织的高氧耗、低储备,以及相对较

低的内源性抗氧化能力,大脑极易遭受氧化还原失衡导致的氧化应激损伤,可激活多种级联反应,最终导致神经元的凋亡和坏死<sup>[5]</sup>。本研究中 TH 明显上调了 BIC 模型制备后 1 d CIRP 和 Trx1 蛋白含量,使得 BIC 模型制备后 1 d ROS 荧光强度和 BIC 模型制备后 3 d 神经元凋亡细胞百分比明显降低。而沉默 CIRP 后,CIRP 和 Trx1 的含量降低,ROS 荧光强度和神经元凋亡细胞百分比均明显升高,提示 TH 减轻心跳骤停 CPR 后神经元氧化应激损伤、减少神经元凋亡的作用与 CIRP/Trx1 通路密切相关。

CIRP 作为应激反应蛋白和 RNA 分子伴侣,在低温低氧等应激条件下,CIRP 的含量增加,起到调节炎症反应和抗凋亡的作用<sup>[6]</sup>。伴随着神经细胞线粒体呼吸链中的电子泄漏,ROS 大量产生释放,氧化还原系统失衡,氧化应激反应会加剧细胞损伤<sup>[7]</sup>。Li 等<sup>[8]</sup>研究通过离体实验表明,低温可以上调 CIRP 的表达,抑制神经元细胞内丙二醛的生成,增强谷胱甘肽过氧化酶和超氧化物歧化酶的活性,并通过调节氧化还原系统提高细胞的存活率。脑损伤模型的在体实验表明,BIC 可影响线粒体凋亡相关蛋白 Bcl-2、Caspase3 的表达,TH 可明显增加 CIRP 含量、减轻心跳骤停 CPR 后神经元的线粒体损伤<sup>[3]</sup>。本研究中显示,TH 上调 CIRP 的表达,降低大鼠造模后海马区 ROS 荧光强度和神经元凋亡细胞百分比,提示 TH 复苏神经元的作用可能和 CIRP 与线粒体介导的氧化应激相关。

Trx1 是减轻细胞氧化损伤的硫氧还原蛋白系统主要成分。Yang 等<sup>[9]</sup>研究表明,CIRP 能与应激反应基因 Trx1 mRNA 的 3'-UTR 特异性结合,增加 Trx1 蛋白的合成,并从细胞核转移到细胞质,与 Trx1 转录子结合,进一步促进 Trx1 的表达。Wang 等<sup>[10]</sup>研究发现,低温暴露可明显上调 CIRP 和 Trx1 的表达,增强机体的冷适应能力。Trx1 通过 S 亚硝基化甘油醛-3-磷酸脱氢酶和反硝化 Caspase3 半胱氨酸抑制 Fas 诱导的细胞凋亡,保护神经元免受氧化应激诱导的神经元凋亡<sup>[11]</sup>。Trx1 还能通过促进线粒体产生的大量超氧化物和过氧化氢转化,增强 ROS 的清除能力,减轻应激反应导致的细胞损伤<sup>[7,11]</sup>。外源性静脉注射重组 Trx1 或转基因过表达 Trx1 均可减少神经元凋亡从而减轻脑损伤<sup>[12]</sup>。siRNA 干扰 Trx1 的表达可加重脑应激性损伤和神经细胞死亡,且机制与氧化应激密切相关<sup>[13,16]</sup>。这些研究提示 Trx1 的表达上调可增加 ROS 的清除,从而减轻氧化应激诱导的脑损伤。本研究显示,

BIC 组 Trx1 表达量较 THC 组差异无统计学意义,与 Takagi 等<sup>[4]</sup>在中脑动脉栓塞脑损伤模型的研究不同,这可能与不同的脑损伤模型建立相关;此外, BIC 模型建立前,脑区注射过程的早期应激反应,也可能间接影响了实验结果。与 BIC 组比较,TH 组明显上调了 C1RP 和 Trx1 的表达,降低了 ROS 荧光强度,使得 BIC 后 3 d 海马区神经元凋亡减少,而沉默 C1RP 后,Trx1 含量降低,ROS 荧光强度升高,TH 作用减弱,表明 TH 通过上调 C1RP 促进 Trx1 的表达升高,降低 ROS 荧光强度。

此外,低氧等应激反应产生的 ROS 等刺激物,氧化 Trx1 的 C32 和 C35 位半胱氨酸形成二硫键,使得 ASK1 磷酸化,促使其下游的 p38 和 JNK 磷酸化,最终导致细胞的凋亡和坏死<sup>[14]</sup>。Trx1 表达受到抑制时,ASK1 的磷酸化活化会相应增加,运用 ASK1 抑制剂抑制 ASK1 磷酸化时,神经元凋亡则减少<sup>[12,15]</sup>。因此,为验证 TH 减轻 CPR 后神经元氧化应激损伤的机制,本研究进一步检测了 CPR 后 p-ASK1、p-p38 和 p-JNK 的表达水平,结果显示,TH 上调 C1RP 的同时 Trx1 的表达升高,其下游的 p-ASK1、p-p38 和 p-JNK 的含量均明显降低。腺相关病毒转染沉默 C1RP 后,Trx1 的表达降低,其下游的 p-ASK1、p-p38 和 p-JNK 的含量则升高。TH 可以同时影响 Trx1 和 p-ASK1 的表达,提示 TH 可通过调节 C1RP/Trx1/ASK1 信号通路,减少 ROS 的产生,使得神经元凋亡细胞百分比降低,减轻 BIC。但是,为进一步证实 C1RP/Trx1/ASK1 通路在低温脑复苏中的作用,还需通过 C1RP、Trx1 和 ASK1 的基因敲除或过表达等干预手段再次验证。

综上所述,BIC 模型中,TH 可上调 C1RP 发挥脑复苏作用;腺相关病毒转染沉默 C1RP 可使神经元氧化应激反应增强、细胞凋亡数量增加、TH 作用减弱,显示 TH 可能通过激活 C1RP/Trx1/ASK1 通路,发挥复苏神经元的作用。

#### 参 考 文 献

- [1] 徐建国,李德馨,吴北京,等. 心搏停止超过 4MIN 患者的脑复苏治疗. 临床麻醉学杂志, 1997; 14-17.
- [2] Hypothermia after Cardiac Arrest Study Group. Mild therapeutic hypothermia to improve the neurological outcome after cardiac arrest. *N Engl J Med*, 2002, 346(8): 549-556.
- [3] Wu L, Sun HL, Gao Y, et al. Therapeutic hypothermia enhances cold-inducible RNA-binding protein expression and inhibits mitochondrial apoptosis in a rat model of cardiac arrest. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(4): 2697-2705.
- [4] Takagi Y, Tokime T, Nozaki K, et al. Redox control of neuronal damage during brain ischemia after middle cerebral artery occlusion in the rat: immunohistochemical and hybridization studies of thioredoxin. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1998, 18(2): 206-214.
- [5] 范婧婧,惠康丽,徐苗苗,等. 浅低温联合线粒体分裂抑制剂减轻全脑缺血-再灌注后线粒体损伤. 临床麻醉学杂志, 2017, 33(7): 697-700.
- [6] Liao Y, Tong L, Tang L, et al. The role of cold-inducible RNA binding protein in cell stress response. *Int J Cancer*, 2017, 141(11): 2164-2173.
- [7] Ren X, Zou L, Zhang X, et al. Redox signaling mediated by thioredoxin and glutathione systems in the central nervous system. *Antioxid Redox Signal*, 2017, 27(13): 989-1010.
- [8] Li JH, Zhang X, Meng Y, et al. Cold inducible RNA-binding protein inhibits hippocampal neuronal apoptosis under hypothermia by regulating redox system. *Sheng Li Xue Bao*, 2015, 67(4): 386-392.
- [9] Yang R, Weber DJ, Carrier F. Post-transcriptional regulation of thioredoxin by the stress inducible heterogenous ribonucleoprotein A18. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(4): 1224-1236.
- [10] Wang X, Che H, Zhang W, et al. Effects of mild chronic intermittent cold exposure on rat organs. *Int J Biol Sci*, 2015, 11(10): 1171-1180.
- [11] Wu C, Liu T, Chen W, et al. Redox regulatory mechanism of transnitrosylation by thioredoxin. *Mol Cell Proteomics*, 2010, 9(10): 2262-2275.
- [12] Zhou F, Gomi M, Fujimoto M, et al. Attenuation of neuronal degeneration in thioredoxin-1 overexpressing mice after mild focal ischemia. *Brain Res*, 2009, 1272: 62-70.
- [13] Wu X, Li L, Zhang L, et al. Inhibition of thioredoxin-1 with siRNA exacerbates apoptosis by activating the ASK1-JNK/p38 pathway in brain of a stroke model rats. *Brain Res*, 2015, 1599: 20-31.
- [14] Liu Y, Min W. Thioredoxin promotes ASK1 ubiquitination and degradation to inhibit ASK1-mediated apoptosis in a redox activity-independent manner. *Circ Res*, 2002, 90(12): 1259-1266.
- [15] Cheon SY, Cho KJ, Kim SY, et al. Blockade of apoptosis signal-regulating kinase 1 attenuates matrix metalloproteinase 9 activity in brain endothelial cells and the subsequent apoptosis in neurons after ischemic injury. *Front Cell Neurosci*, 2016, 10: 213.

(收稿日期:2020-03-30)