

· 实验研究 Experiment research ·

重组葡激酶动脉内溶栓治疗犬急性脑梗死的量效研究

刘 圣, 施海彬, 张 鹏, 王成虎, 周春高, 李麟荪

【摘要】 目的 比较动脉内注射不同剂量重组葡激酶(r-Sak)溶栓治疗犬急性脑梗死的疗效和并发症,以探讨其相对合理的治疗剂量。方法 成年比格犬 24 条,用介入技术建立犬脑栓塞动物模型,随机分为对照组(生理盐水 10 ml)、小剂量组(r-Sak 5 000 u/kg)、中剂量组(r-Sak 10 000u/kg)和大剂量组(r-Sak 20 000 u/kg)。栓塞后 5 h 行脑血管造影观察所栓塞血管的通畅情况,插管至左颈内动脉分别在 30 min 内注入药物行溶栓治疗,在溶栓后 0.5、1 及 2 h 复查 DSA,观察栓塞血管的再通情况,并分别在溶栓前 0.5 h、溶栓后 0.5 h、1 h 及 2 h 抽取犬静脉血检测 PT、APTT 和 D-二聚体。24 h 后处死动物行病理检查。结果 溶栓后 2 h 内造影显示对照组、r-Sak 小剂量、中剂量和大剂量组的有效率分别为 10.0% (1/10)、40.0%(4/10)、90.9%(10/11)和 100%(9/9),各组间比较有显著性差异($P < 0.001$);完全通畅的比率分别为 0、10%(1/10)、36.4%(4/11)和 66.7%(6/9),也有统计学差异($P = 0.005$)。溶栓后 PT、APTT 在 r-Sak 各剂量组均显著延长($P < 0.001$);各组的 D-二聚体在溶栓前后没有明显变化(各组 $P > 0.05$)。溶栓后 r-Sak 大剂量组有 1 例死亡,病理检查在其顶叶脑实质见出血灶,其余动物均存活。结论 ① 在犬脑梗死的超急性期 r-Sak 动脉内溶栓治疗有效、可行,r-Sak 对含少量血小板的白色血栓有显著溶栓作用,剂量大或等于 10 000 u/kg 时血管再通率高,剂量再增加出血风险加大;② r-Sak 在有效剂量范围内不激活犬的系统纤溶,但对犬的凝血系统影响较大。

【关键词】 脑梗死;重组葡激酶;动脉溶栓;凝血;纤溶;犬;

中图分类号 R743.33 文献标识码 A 文章编号 :1008-794X(2007)03-0189-05

Dose-effective investigation of intraarterial r-Sak in canine model with acute cerebral infarctions LIU Sheng, SHI Hai-bin, ZHANG Peng, WANG Cheng-hu, ZHOU Chun-gao, LI Lin-sun. Radiologic Department, The 1st Affiliated Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

【Abstract】 Objective To compare the effect and complications of intraarterial thrombolysis with different doses of recombinant-staphylokinase (r-Sak) in canine model with acute cerebral infarction, and then to find out the most properly appropriate effective dose. **Methods** The model with left cerebral embolism was established with interventional technique in 24 beagle adult dogs. They were randomly divided into 4 groups including control group (saline, 10 ml), group of low dose (r-Sak, 5 000 u/kg), middle dose (r-Sak, 10 000 u/kg) and high dose (r-Sak, 20 000 u/kg). Angiography and intraarterial thrombolysis were performed within 30 minutes after the embolization. Microcatheter was superselectively inserted into left carotid artery. Five hours later with a repeated angiography at half, 1 and 2 hours after thrombolysis to observe the recanalization. Blood samples were collected at a series of time pre-and post-thrombolysis to test the plasma levels of PT, APTT and D-dimer. These canines were sacrificed, and their cerebri were taken out for pathologic study by the end of 24 hours. **Results** The rates of efficacy within 2 hours after thrombolysis were 10.0% (1/10) in control group, 40.0% (4/10) in low dose group, 90.9% (10/11) in middle dose group and 100% (9/9) in high dose group. The rates of complete recanalization were 0, 10% (1/10), 36.4% (4/11) and 66.7% (6/9), correspondingly and respectively. There were statistically obvious differences between the 3 groups ($P < 0.05$). PT and APTT prolonged markedly in all r-Sak groups ($P < 0.001$) after thrombolysis. There was no obvious change of D-dimer

基金项目:江苏省“135”医学重点人才项目(项目编号:135-55)

作者单位:210029 南京医科大学第一附属医院放射科

通讯作者:施海彬

after thrombolysis in all groups ($P > 0.05$). Death occurred in 1 canine (high dose group) within 24 hours after thrombolysis with hemorrhagic lesion in parietal lobe of brain. No other severe complications occurred.

Conclusions ① Intraarterial thrombolysis with r-Sak within 5 hours after onset of thrombosis is effective and feasible. Intraarterial r-Sak shows strong thrombolytic effect for white thrombus including a few platelets. There is relative high rate of recanalization with no less than 10 000U/kg of r-Sak but accompanied with high risk of hemorrhage following dose increase. ② The systemic fibrinolysis is not significantly affected by r-Sak with no more than effective dosage. But there is apparent effect on coagulation in dogs. (J Intervent Radiol, 2007, 16: 189-193)

【Key words】 Cerebral infarction Recombinant staphylokinase Intraarterial thrombolysis Coagulation; Fibrinolysis Dogs

重组葡激酶(recombinant Staphylokinase r-Sak)是一种新型的纤维蛋白选择性溶栓剂,初步研究表明其具有高度血栓选择性,血栓溶解能力强,在有效剂量范围内不激活系统纤溶,出血等并发症少,对急性心肌梗死、肺动脉栓塞等血栓性疾病有很好的溶栓作用^[1,2]。我们在介入技术建立比格犬急性脑梗塞动物模型的基础上^[3,4],用不同剂量 r-Sak 进行局部动脉内溶栓治疗,研究比较它们溶栓的疗效和并发症,并探讨其相对合理的治疗剂量,为脑梗死的临床溶栓研究提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 实验动物 成年比格犬 24 条(南京安立默实验动物繁殖中心),体重 12 ~ 15 kg,雌雄不论,随机分为对照组、r-Sak 小剂量组、中剂量组和大剂量组,每组 6 条。静脉 3%戊巴比妥钠 2 ~ 3 mg/kg 全麻后固定于自制操作台,给予吸氧(2 ml/min),37℃ 保温,密切观察其生命体征的变化。

1.1.2 主要试剂和仪器 注射用 r-Sak(由成都金鹏生物制品有限公司提供),规格 5 mg,比活性:50 000 u/mg;DSA 机(德国西门子公司,型号:polytron 1000);上海手术器械厂生产离心机,型号:0412-1;恒速微量注射泵(浙江大学仪器厂),型号:WZS-50 F;全自动凝血仪(法国 STAGO 公司生产),型号 STA

1.2 方 法

1.2.1 比格犬急性脑梗死动物模型的制作 抽取比格犬自体静脉血 5 ml,常温下离心(4 000 g,10 min),取上层血浆 1 ml,加入凝血酶 100 u 混匀后制成长 5 ~ 8 mm 的白色血栓条备用。两侧腹股沟区备皮、消毒铺巾,分别穿刺右侧股动脉和左侧股静脉置入 5 F 鞘。经动脉鞘插入 5 F 猎人头导管至左颈总动脉,在路途导引下将导管插至颈内动脉

(ICA)近端,正侧位 DSA 造影(欧乃派克 300,流量 0.5 ml/s,总量 2.0 ml)判断血管走行情况,手推对比剂确定无明显反流后,用 1 ml 注射器吸入 3 ~ 4 条血栓注入 ICA(因栓塞血管欠稳定,必要时可追加)至造影证实大脑中动脉(MCA)栓塞后撤出导管。

1.2.2 溶栓治疗及血管造影复查 在脑血管栓塞后 5 h 将导管插至左侧 ICA 近端,造影复查所栓塞血管的再通情况,经猎人头导管插入 3 F 微导管(TERUMO 公司生产 RF*SP26137M)至 ICA 上升段约 3 ~ 4 cm,缓慢向后略撤出外导管。用恒速微量注射泵经微导管在 30 min 内匀速输注治疗药物(对照组:生理盐水 10 ml;r-Sak 小剂量组:r-Sak 5 000 u/kg;中剂量组:10 000 u/kg;大剂量组:r-Sak 20 000 u/kg),溶栓过程中注意观察血管穿刺点等部位有无出血表现。

溶栓治疗后拔出微导管,分别于 30、60 和 120 min 用猎人头导管行脑血管造影复查。血管再通分为 3 种:1. 显效,完全再通;2. 改善,栓塞血管部分再通;3. 无效,栓塞血管不通或与溶栓前没有明显变化,其中 1、2 为有效^[5,6]。

1.2.3 血液标本采集及样本检测 各治疗组分别在溶栓前 30 min、溶栓后 30、60 及 120 min 抽取静脉血 2.7 ml 置于含 3.2%柠檬酸钠 0.3 ml 的抗凝管中,取离心后上层血浆,测定 PT、APTT,并同时检测 D 二聚体(ELISA 法)。

1.2.4 病理检查

栓塞后 24 h 观察动物行为学变化,颈动脉放血法处死动物,从延髓处完整地离断脑组织,置入 4% 甲醛液中固定,1 周后取脑组织切成 5 mm 厚冠状位切片行大体标本观察,取材经苏木精-伊红染色及石蜡包埋,行光镜下检查。

1.3 统计学处理

采用 SPSS11.5 软件,定量数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表

示,定性数据用率表示。多组均数间的比较用单因素方差分析(one-way ANOVA)及方差分析后的两两比较,各组间再通率的比较用 Chi-square test。

2 结果

2.1 血管造影表现

因白色血栓条随血流漂流,对照组 r-Sak 小、中、大剂量组分别栓塞 10 支、10 支、11 支和 9 支血管。实验技术成功率 100%。

栓塞后立即造影发现被栓血管呈截段状改变,栓塞后 5 h、溶栓后 30、60 和 120 min 分别造影复查(表 1):至溶栓后 120 min 内对照组、r-Sak 小剂量、中剂量和大剂量组的总有效率分别为 10.0% (1/10)、40.0%(4/10)、90.9%(10/11)和 100%(9/9),各组间比较及两两比较皆有显著性差异($P < 0.001$),血管再通率随用药时间和剂量而增高;完全通畅的比率分别为 0 (0/10)、10%(1/10)、36.4%(4/11)、66.7%(6/9),各组间比较也具有显著性差异($P = 0.005$),溶栓后血管完全再通的 DSA 表现与栓塞前基本相同(图 1)。

2.2 溶栓前后凝血、纤溶指标的变化

各组溶栓前比较 PT ($P = 0.958$),APTT ($P = 0.582$) 皆无统计学差异 r-Sak 小剂量组溶栓后 30 min 起 PT、APTT 即延长至溶栓前基数的数倍,尤其以 PT 延长明显,与溶栓前比较有显著的统计学差异(两组都为 $P < 0.001$) r-Sak 中和大剂量组溶栓后各时间段的 PT、APTT 进一步延长,均大于试剂检出范围。各组间 D-二聚体在溶栓前($P = 0.963$)和治疗后($P > 0.05$)比较差异无统计学意义(表 2)。

2.3 溶栓治疗的并发症及行为学变化

溶栓治疗过程中 r-Sak 大剂量组在动静脉穿刺点皆有出血现象,中剂量组有 2 例在动脉穿刺点出现渗血,小剂量组及对照组未出现。溶栓后 24 h 内 r-Sak 大剂量组 1 条犬死亡,其余存活。24 h 后动物行为学观察 r-Sak 大剂量组存活 5 条犬中 1 条轻偏瘫(能起立走动,但易倒向对侧),1 例表现为右侧肢体无力;中、小剂量组分别有 1、4 条轻偏瘫,对照组有 4 条轻偏瘫及 1 条严重瘫痪(不能起立走动)。

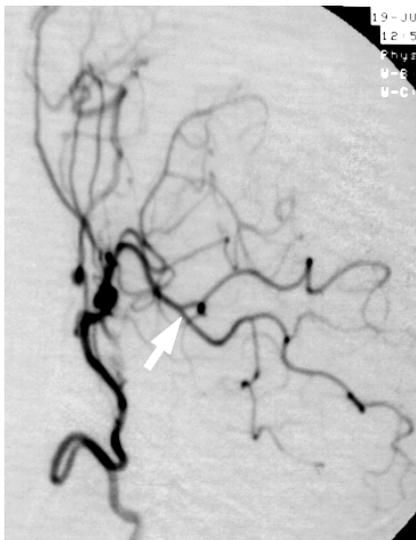
2.4 病理结果

2.4.1 对照组病理表现 肉眼下犬深部脑组织内见地图样不规则梗死区,大小为 0.5 ~ 2 cm,中央灰白色,边界清楚;光镜下可见梗死区神经细胞发生凝固性坏死,明显减少甚至消失,部分区域见中性粒细胞浸润,梗死灶和正常区之间有明显的分界(图 2)。

2.4.2 溶栓组异常病理表现 大体标本观察在 r-Sak 大剂量组 1 条死亡犬顶叶脑皮质表面有出血灶,小剂量组 2 条犬可见与对照组相似的梗死区;光镜下 r-Sak 大剂量组 2 条犬可见脑实质内点片状出血性改变(图 3)。

表 1 溶栓前后血管再通情况(支)

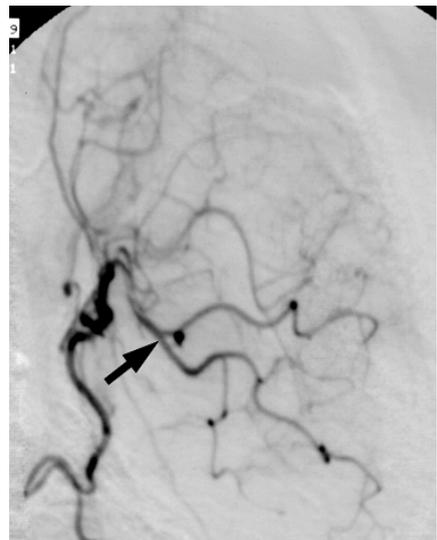
分组	溶栓前	溶后 30min		溶后 60min		溶后 120min		合计(120min) 有效率
		显效	改善	显效	改善	显效	改善	
对照组	10	0	0	0	0	0	1	1(10.0%)
r-Sak								
小剂量组	10	0	2	1	2	1	3	4(40.0%)
中剂量组	11	1	3	3	5	4	6	10(90.9%)
大剂量组	9	2	4	4	4	6	3	9(100%)



A 栓塞前血管造影显示 MCA(白箭头)



B 栓塞后显示左侧 MCA 缺如(黑箭头)



C 溶栓后 60 min 显示 MCA 基本恢复正常(黑箭头)

图 1 溶栓后与栓塞前比较图(完全再通,侧位)

表 2 溶栓前后血浆凝血、纤溶指标数值表

分组	时 间 (min)	PT(s)	APTT(s)	D-二聚体 (mg/L)
对照组	-30	7.65 ± 0.38	27.35 ± 5.89	0.31 ± 0.07
	30	7.77 ± 0.33	29.50 ± 6.64	0.30 ± 0.05
	60	8.07 ± 0.76	32.07 ± 6.47	0.28 ± 0.03
	120	7.83 ± 0.40	29.40 ± 4.13	0.29 ± 0.04
r-Sak				
小剂量组	-30	7.67 ± 0.37	30.75 ± 6.42	0.31 ± 0.07
	30	70.92 ± 10.68*	80.18 ± 7.03*	0.34 ± 0.07
	60	71.82 ± 13.65*	79.40 ± 9.23*	0.32 ± 0.08
	120	69.22 ± 17.15*	83.86 ± 16.67*	0.34 ± 0.07
中剂量组	-30	7.75 ± 0.29	31.83 ± 8.73	0.29 ± 0.07
	30	> 120	> 180	0.33 ± 0.09
	60	> 120	> 180	0.33 ± 0.06
	120	> 120	> 180	0.33 ± 0.06
大剂量组	-30	7.75 ± 0.56	27.92 ± 4.18	0.30 ± 0.06
	30	> 120	> 180	0.34 ± 0.09
	60	> 120	> 180	0.34 ± 0.08
	120	> 120	> 180	0.34 ± 0.05

注 1.r-Sak 中、大剂量组在溶栓后 30、60 及 120 min 的 PT、APTT 值均大于试剂检测范围,分别以 > 120、> 180 表示 2.与溶栓前基数比较,* : $P < 0.01$

3 讨论

脑梗死是临床上的常见病与多发病,由于尚缺乏较理想的治疗方法,致残率和致死率较高^[7]。急性栓塞后,缺血神经元的损伤有一个可逆向不可逆的转化过程,在发病早期使用溶栓药物可尽快恢复缺血半暗带区的供血及神经元功能,可有效保护脑组织,是最重要的治疗方法之一^[8]。有学者研究认为:使用血栓选择性高、出血等并发症少的新型溶栓剂,可能是延长治疗时间窗的有效方法,但目前临床使用的溶栓剂均存在一些不足,包括血栓溶解能力的限制、价格高、溶栓后血管再阻塞及出血并发症较高等^[9,10]。因此,研究安全、高效的溶栓剂成为提高临床疗效和预后的一条重要途径。

Sak 是由金黄色葡萄球菌分泌的一种含 136 个氨基酸残基的胞外蛋白质,在大肠埃希菌中通过基因表达形成 r-Sak。r-Sak 是一种间接型的纤溶酶原

激活物,它不能直接使纤溶酶原(plg)转变为纤溶酶(pli),而是先与纤溶酶原按 1:1 比例结合成无活性的复合物 plg-r-Sak,在机体产生的少量纤溶酶的启动下,纤溶酶原活性部位暴露,形成活性 pli-r-Sak 复合物,后者进一步激活纤溶酶原分子,反应速度呈指数增加,使之转变为纤溶酶,文献报道对陈旧性和富含血小板的动脉血栓溶栓能力较强^[11,12]。有学者对近 10 年来临床应用的各种溶栓剂进行了分析总结,认为 r-Sak 是最安全、有效的溶栓剂之一:它对纤维蛋白血栓具有高度选择性,快速再通冠状动脉的能力至少和 rt-PA 相当,而且价格便宜,有效剂量范围更大,在冠状动脉和外周血管栓塞性疾病的治疗中应用日趋广泛^[13]。但在急性脑梗死的治疗中目前尚处在动物实验或早期临床研究阶段^[14]。

我们在实验中用介入技术建立了犬急性脑梗死动物模型,并用不同剂量的 r-Sak 进行溶栓治疗。与以往常用的外科等造模技术相比较,用介入栓塞技术制作的模型具有动物创伤小,存活率高的优点,白色血栓不易自溶,能达到栓塞的目的,该模型可进一步推广应用于脑梗死的影像学诊断、病理生理变化及溶栓治疗等研究。实验也证实在脑梗死的超急性期插管至 ICA 内溶栓治疗是有效、可行的。但用大鼠等实验动物建立的急性脑栓塞动物模型,其脑血管较细,通过导管溶栓时会阻断正常血流,无疑会对治疗效果产生影响^[15],这也正是我们选择大型实验动物犬,作为实验对象的原因之一,我们在溶栓时撤出外导管(因为犬 ICA 的直径 1.5 ~ 1.8 mm,保留外导管几乎完全阻断血流),用 3 F 的微导管灌注溶栓剂,较好的反映了治疗的效果。实验中发现 r-Sak 对含少量血小板的白色血栓同样具有较强的溶栓作用,随着溶栓药物剂量的增大和观察时间的延长,血管再通率上升,再通时间缩短,与文献报道一致^[12,16,17],但剂量增加出血等并发症的风险也增加,大剂量组中 1 条犬死亡考虑为大量出血引起,说明只是在一定的剂量范围内是安全的,而 10 000 u/kg 是相对合理和安全的剂量。

实验中 r-Sak 各剂量组溶栓前后 D-二聚体的数值没有发生明显变化($P > 0.05$),即未激活系统纤溶,考虑与其独特的溶栓机制有关,即 r-Sak 的活性复合物仅在纤维蛋白血栓表面形成,并在局部发挥溶栓作用,而不激活系统纤溶^[2,11,18],但 r-Sak 溶栓后 PT、APTT 延长明显,中、大剂量组甚至超出了试剂的检测范围,说明 r-Sak 对犬的凝血系统影响较大。有学者认为 r-Sak 的溶栓效能存在种属差异:其在

人体具有高效的溶栓能力和血栓选择性,对犬虽然具有较强的溶栓作用,但血栓选择性差^[19],由此可能会对实验结果的判断产生一定的影响;另外,实验中为了单独观察 r-Sak 对凝血和纤溶系统的影响,没有使用抗凝及抗血小板等药物治疗。这些都是在今后的实验中值得进一步研究和仔细思考的问题。

文献报道 r-Sak 在临床应用不引起变态反应,但溶栓 2 周后机体会产生特异性的 r-Sak 抗体,可引起由 T 细胞介导的免疫反应,影响其重复使用^[20],这可能正是 r-Sak 不能够更广泛应用于临床的主要原因。近年来通过研究其抗原区域结构,采用定点诱变产生的突变体有望在不影响 r-Sak 活性的前提下同时减少其抗原性和免疫原性^[21],以保证 r-Sak 溶栓的安全性和有效性。

虽然新型溶栓剂是提高疗效的重要途径之一,但药物溶栓不能解决所有问题,对于发病率和病死率都较高的急性脑梗死的治疗,动静脉联合溶栓、使用神经保护剂、个体化治疗以及如何联合应用多种治疗手段等都将是今后研究的方向。

[参 考 文 献]

- [1] Vanderschueren S, Barrios L, Kerdsinchai P, et al. A randomized trial of recombinant staphylokinase versus alteplase for coronary artery patency in acute myocardial infarction [J] *Circulation*, 1995, 92 : 2044 - 2050.
- [2] LU JX, Shang XH, Fu JH, et al. Effects of recombinant staphylokinase on coronary thrombosis in Chinese experimental miniature swine [J] *Acta Pharmacol Sin*, 2002, 23 : 509 - 515.
- [3] 刘 圣,施海彬,季立标,等.介入技术建立犬急性脑梗塞动物模型的研究 [J] *南京医科大学学报*, 2005, 25 : 76 - 79.
- [4] 施海彬,刘 圣,黄 峻,等.介入犬急性脑梗塞模型的建立及 CT 灌注成像早期诊断的研究 [J] *介入放射学杂志*, 2005, 14 : 146 - 150.
- [5] 施海彬,徐大哲,胡卫星,等.动脉内尿激酶介入治疗急性脑梗死的评价 [J] *中华急症医学杂志*, 2002, 11 : 301 - 306.
- [6] Shi HB, Suh DC, Lim SM, et al. Outcome evaluation of intra-arterial infusion of urokinase for acute ischemic stroke [J] *J Kor Radiol Soc*, 2000, 42 : 897 - 904.
- [7] Higashida RT, Furlan AJ, Roberts H, et al. Trial design and reporting standards for intra-arterial cerebral thrombolysis for acute ischemic stroke [J] *Stroke*, 2003, 34 : 109 - 137.
- [8] Pettersen JA, Hudon ME, Hill MD. Intra-arterial thrombolysis in acute ischemic stroke : a review of pharmacologic approaches [J] *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2004, 2 : 285 - 299.
- [9] Donnan GA, Howells DW, Markus R, et al. Can the time window for administration of thrombolytics in stroke be increased [J] *CNS Drugs*, 2003, 17 : 995 - 1011.
- [10] Lian Q, Szarka SJ, Ng KK, et al. Engineering of a staphylokinase-based fibrinolytic agent with antithrombotic activity and targeting capability toward thrombin-rich fibrin and plasma clots [J] *J Biol Chem*, 2003, 278 : 26677 - 26678.
- [11] Collen D, Schlott B, Engelborghs Y, et al. On the mechanism of activator of human plasminogen by recombinant staphylokinase [J] *J Biol Chem*, 1993, 268 : 8284 - 8289.
- [12] Armstrong PW, Burton J, Pakola S, et al. CAPTORS II investigators. Collaborative angiography patency trial of recombinant staphylokinase (CAPTORS II) [J] *Am Heart J*, 2003, 146 : 484 - 488.
- [13] Moreadith RW, Collen D. Clinical development of PEGylated recombinant staphylokinase (PEG-Sak) for bolus thrombolytic treatment of patients with acute myocardial infarction [J] *Adv Drug Deliv Rev*, 2003, 55 : 1337 - 1345.
- [14] Bokarewa M, Tarkowski A. Human alpha-defensins neutralize fibrinolytic activity exerted by staphylokinase [J] *Thromb Haemost*, 2004, 91 : 991 - 999.
- [15] Combined intravenous and intra-arterial recanalization for acute ischemic stroke : the Interventional Management of Stroke Study [J] *Stroke*, 2004, 35 : 904 - 911.
- [16] 秦智勇,陈衍城,马 端,等.重组葡激酶治疗实验性幼猪急性脑梗塞的量效研究 [J] *中国临床神经科学*, 2002, 10 : 50 - 52.
- [17] Lu Q, Li Y, Wen L, et al. Safety evaluation of recombinant staphylokinase in rhesus monkey [J] *Toxicol Pathol*, 2003, 31 : 14 - 21.
- [18] Vanderschueren S, Dens J, Kerdsinchai P, et al. Randomized coronary patency trial of double-bolus recombinant staphylokinase versus frontloaded alteplase in acute myocardial infarction [J] *Am Heart J*, 1997, 134 : 213 - 219.
- [19] Collen D, Van Hoef B, Schlott B, et al. Mechanism of activator of mammalian plasma fibrinolytic systems with streptokinase and with recombinant staphylokinase [J] *Eur J Biochem*, 1993, 216 : 307 - 314.
- [20] Warmerdam PA, Vanderlick K, Vandervoort P, et al. Staphylokinase-specific cell-mediated immunity in humans [J] *J Immunol*, 2002, 168 : 155 - 161.
- [21] Wu SC, Castellino FJ, Wong SL. A fast-acting, modular-structured staphylokinase fusion with Kringle-1 from human plasminogen as the fibrin-targeting domain offers improved clot lysis efficacy [J] *J Biol Chem*, 2003, 278 : 18199 - 18206.

(收 稿 日 期 : 2006-06-06)