

肿瘤干细胞(CSCs)放疗抵抗机制的研究进展

燕 丽(综述) 乔田奎[△] 范 卫(审校)

(复旦大学附属金山医院肿瘤科 上海 200540)

【摘要】 近年来越来越多的研究表明肿瘤治疗后复发的根源在于肿瘤干细胞(cancer stem cells ,CSCs)的存在,它能抵抗各种治疗方法并最终导致治疗失败。CSCs 在放疗中的作用和意义也成为研究热点之一,其特殊的DNA 损伤修复机制、和周围小生境相互依存的特殊关系及 DNA 损伤后其损伤修复信号通路的开放等都是肿瘤放疗抵抗和复发的根源。探明 CSCs 产生放疗抵抗的机制将为肿瘤治疗带来新的希望。

【关键词】 肿瘤干细胞(CSCs); 放射治疗; 放疗抵抗

【中图分类号】 R 730.5 **【文献标志码】** B **doi:** 10.3969/j.issn.1672-8467.2013.01.025

The research progress of radiation resistance mechanisms of cancer stem cells (CSCs)

YAN Li, QIAO Tian-kui[△], FAN Wei

(Department of Oncology, Jinshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200540, China)

【Abstract】 In recent years a growing number of studies have shown that the root causes of recurrence after cancer treatment is the existence of cancer stem cells (CSCs), which can resist various treatments and ultimately lead to treatment failure. The role and significance of CSCs in the radiotherapy has also become one of the focus. The specific DNA damage repair mechanisms, special interdependence relationship between CSCs and its around niche and the open of DNA damage signaling pathway in the tumor all become the source of radiation resistance and relapse of tumor. Exploring the radiation resistance mechanisms of CSCs will bring new hope to tumor treatment.

【Key words】 cancer stem cell (CSCs); radiotherapy; radiation resistance

随着肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)这一概念的提出,越来越多的研究探讨 CSCs 在肿瘤治疗中作用,已有研究发现 CSCs 是肿瘤治疗后复发的根源,根治肿瘤首先应该根除 CSCs^[1]。手术是治疗肿瘤的最佳选择,但很大一部分患者前来就诊时已经失去了手术的最佳时机。放疗是肿瘤治疗中的主要手段之一,约 70% 的患者需要放疗的参与,但放疗后肿瘤往往还会复发,这多与肿瘤中存在的小

部分 CSCs 对放疗存在抵抗有关。本文就 CSCs 产生放疗抵抗的机制作一综述。

CSCs DNA 损伤修复能力与放疗抵抗 DNA 作为射线对细胞作用的关键靶点,其损伤后迅速修复是放疗耐受的关键原因^[2]。DNA 损伤后,首先损伤应答激酶细胞周期检测点激酶 ATM 和 ATR 接收 DNA 损伤的信号,发生磷酸化,随后激活一系列细胞周期检测点效应分子如激活效应酶 Chk2 和

[△]Corresponding author E-mail: Qiaotk@163.com

Chk1 等,最终引起细胞周期阻滞或直接进行 DNA 损伤后的修复^[3]。

细胞周期阻滞与 DNA 修复 许多研究发现^[4-6],不同损伤原引起 DNA 损伤后,机体启动 p53、ATM-Chk2、ATR-Chk1DNA 损伤应答通路,引起 G1、S 和 G2 期的阻滞,使受损细胞有足够的时间来自我修复从而产生放疗抵抗,同样射线引起 CSCs DNA 损伤后,其损伤的 DNA 也会通过细胞周期阻滞来进行修复。田允鸿等^[7]用无血清悬浮法富集 MCF-7 细胞系中 CSCs,探讨其细胞周期与射线照射后产生耐受之间的关系,流式细胞仪分析细胞照射前后其细胞周期变化,Western blot 法测定照射前后 G2 期相关蛋白 pCDC25C 含量,结果乳腺癌干细胞在经射线照射前后 G2 期细胞含量分别为 $22.03\% \pm 2.12\%$ 和 $45.83\% \pm 2.25\%$ ($P < 0.01$),pCDC25C 在照射后表达明显增高,而贴壁培养的乳腺癌细胞照射前后细胞周期及周期相关蛋白均无明显差异,可见乳腺癌干细胞经射线照射后出现的 G2 期阻滞可能与其放疗耐受特性相关。那么 G2 期相关蛋白 pCDC25C 是如何发挥作用的呢? 马晓洁^[3]曾提出细胞通过 G2/M 期阻滞进行自我修复涉及的路径为损伤信号→ATM/ATR 激活→Chk2/Chk1 激活→CDC25C Ser26 位点磷酸化;损伤信号→ATM/ATR 激活→P53 激活→14-3-3 σ 激活,14-3-3 σ 与磷酸化的 CDC25C 结合使 CDC25C 磷酸酶失去对细胞周期相关蛋白 CDC2-Tyr15 位点去磷酸化的功能→CDC2 活性抑制→CDC2/cyclinB 抑制→G2,可见 pCDC25C 作用至关重要。Furnari 等^[8]提出 DNA 损伤后产生磷酸化的 CDC25C 的细胞会同时产生胞质蛋白 14-3-3 δ 结合点,最终留在胞质不能进入细胞核,导致 G2/M 期阻滞。Lopez-Girona 等^[9]认为 DNA 损伤引起细胞周期检测点激活,而后在 Chk1 及 Rad24 的协助下将磷酸化的 CDC25C 从细胞核中排除,导致 G2/M 期阻滞。Hambardzumyan 等^[10]提出胶质瘤干细胞产生放疗抵抗与细胞周期调控蛋白 Chk1、Chk2 有关,用 Chk1、Chk2 蛋白抑制剂 DBH 将其阻断后,细胞周期调控阻断,经射线照射,胶质瘤细胞系 D456MG 中 CD133⁺ 细胞较 CD133⁻ 细胞对射线的敏感性明显增加。王彬^[11]通过 CD133 免疫磁珠分选恶性胶质瘤细胞株的 U251 中的 CD133⁺ 细胞,射线照射后,细胞周期分析发现 CD133⁺ 细胞大多数处于 G0~G1 期,占 88.21%,G0~G1 期阻止了细胞的增殖,从而对放疗产生耐

受。细胞周期阻滞会导致放疗耐受,但其背后的分子机制尚需进一步研究,深入了解相关肿瘤放疗后其特定的周期阻滞及引起该周期阻滞的信号转导机制,可以进行靶向阻断,解除细胞周期的阻滞并最终解除放疗耐受。

DNA 损伤修复基因表达与放疗耐受 Gaedcke 等^[12]曾指出细胞损伤后其死亡还是存活与相关基因的表达密切相关。那么 CSCs 放疗损伤后其基因表达情况又是如何呢? 陈宝敏等^[13]在人胶质瘤干细胞系中筛选出了与 DNA 损伤修复相关的 MGMT 基因,其在常规培养条件下的胶质瘤中不表达,但在干细胞培养条件下呈现轻度增高表达; Hegi 等^[14]提出该基因与 DNA 损伤修复相关。可以推测该基因在细胞损伤修复中起重要作用。李治等^[15]将人乳腺癌干细胞经过 8Gy 射线的照射后,发现其 ATM 和 Ku70/Ku80 的基因表达水平上调且表达量明显高于非乳腺癌干细胞。ATM 和 Ku70/Ku80 的基因产物能够在细胞 DNA 出现损伤时保护损伤的 DNA 不被降解,并加速损伤 DNA 的修复,从而通过细胞凋亡产生放疗耐受。Chang 等^[16]也指出敲除 *SirT1* 基因可明显增加胶质瘤干细胞的照射敏感性,其原因可能与该基因参加细胞周期调控及 DNA 损伤修复相关。

除了 CSCs,致瘤性间质干细胞与射线抵抗相关的基因表达也有报道。Horsman 等^[17]研究产生放疗耐受的人致瘤性间质干细胞 hMSC-TERT20-CE8 在不同剂量的放射线下其基因表达情况,结果发现 CE8 克隆系的细胞内发现了 15 种已经证实的基因过度表达,其中表达增长 5 倍以上的包括 *CTSC*、*GMFG*、*EFEMP1*、*NNMT*、*CXCL1*、*CASP1* 基因。通过信号转导的路径分析发现这些基因与肿瘤细胞致瘤性、细胞增生、细胞凋亡、DNA 复制、重组关联重大。其中基因 *NNMT* 的表达促进尼克酰胺的降解和排泄,而尼克酰胺可以阻挡断裂的单链 DNA 的修复,从而使损伤 DNA 的修复速率增加。这项研究也发现 *BAX*、*CDKN1A* 和 *MDM2* 基因明显增加,而这些基因表达的最终结果是促进细胞的凋亡并将细胞阻滞在 G1/S 期,从而抑制细胞的有丝分裂,即在肿瘤间质干细胞细胞受到损伤后,既有促进细胞凋亡的基因表达,又有促进细胞损伤修复的基因表达,因此可根据肿瘤细胞不同的基因表达水平预测其对射线的敏感性。从基因水平上探究 CSCs 与放射线之间的关系,有助于从基因水平上

阐明 CSCs 抵抗放射治疗的机制,提供增强肿瘤患者放射治疗敏感性的基因靶点。

DNA 损伤修复相关蛋白激活或聚集与放疗耐受 Marchetti 等^[18]提出 DNA 损伤后会有 173 种蛋白质表达水平的增加和磷酸位点的改变,其中任瑞平等^[19]总结过 DNA 损伤修复蛋白包括 H2AX (磷酸化组蛋白)、ATM(细胞周期蛋白)、CDKN1A (细胞周期相关酶抑制蛋白)、TP53(肿瘤抑制相关蛋白)等在 DNA 损伤修复中的作用。

Bao 等^[20]在脑胶质瘤中发现 CD133⁺的胶质瘤干细胞,其经过短期射线照射后体外培养的 CD133⁺细胞比未经照射的富集了 4 倍,体内生长的脑胶质瘤经过同样处理后 CD133⁺细胞比未处理的富集了 3~5 倍。通过单细胞凝胶电泳测定技术发现:无论是异体移植的胶质瘤还是人脑胶质瘤,在接受放疗后 CD133⁺细胞中的 DNA 周期检测点蛋白(ATM Rad17, Chk1 and Chk2)比 CD133⁻细胞中的检测点蛋白活性高出许多,且其存活率是 CD133⁻细胞的 4~9 倍,可见 DNA 损伤检测点蛋白的高活化状态导致癌症干细胞更有效地对损伤 DNA 进行修复,结果在接受放射性治疗后幸存。

DNA 的损伤包括单链和双链 DNA 损伤,其中 DNA 发生双链断裂后最早反应之一是位于断裂点附近的组蛋白 H2AX 的 c 末端丝氨酸残基发生磷酸化,形成 γ -H2AX^[21]。Wu 等^[22]提出磷酸化的 γ -H2AX 能快速转导 DNA 损伤信号,招募 DNA 损伤检测点蛋白 MDC1 和 DNA 修复蛋白复合物到 DNA 损伤点形成 DNA 修复焦点。并且 Rothkamm 等^[23]指出无论何种因素诱导的双链 DNA 的损伤都伴随有 H2AX 的磷酸化,而且都要经历聚焦后消失的过程,可见磷酸化 γ -H2AX 组蛋白对于 DNA 损伤修复起着至关重要的作用。Booher 等^[24]先前的研究也发现,在放射治疗的干预下 CSCs 的存活比例明显高于非 CSCs;并发现 CSCs 对射线的抵抗性增高也是通过激活细胞周期检测点蛋白实现的,在小鼠的乳腺癌干细胞中 γ -磷酸化 H2AX 组蛋白聚集后消融的速率明显高于非乳腺癌干细胞,可见乳腺癌干细胞 DNA 损伤后修复速率要快得多。Al-Assar 等^[25]根据 CSCs 特异性标记物的不同,用荧光激活细胞/磁珠法分选不同类型肿瘤细胞系中的 CSC,随后检测经射线照射后其 γ -磷酸化 H2AX 组蛋白消失速度,结果发现乳腺癌干细胞、胰腺癌干细胞 Panc-1 和 PSN-1 其 γ -

H2AX 的消失速度要快的多,提示其有耐受辐射作用。但事实上,只有乳腺癌干细胞产生了抵抗射线照射的结果。这说明并非所有 CSCs 都表现出辐射抵抗及 γ -H2AX 的快速消失,或者通过 CSC 表面标记物分选 CSCs 的方法在研究其特性的问题上尚存在质疑,用这种方法分选的 CSCs 并不能很好地表示 CSCs 的特性,这对以后我们分选及研究 CSCs 有较大的启示。我们可以利用 DNA 损伤修复蛋白抑制剂特异性地阻断 CSCs 的损伤后修复,进一步提高肿瘤患者的放疗敏感性。

CSCs 与其微环境的相互关系

CSCs 与周围血管 董雪涛等^[26]提出脑 CSCs 定居于血管周围小生境中,受小生境中细胞因子和信号通路分子的调节以维持其干细胞特性、保持自我更新和分化的平衡以及是否从小生境中迁出,同时脑 CSCs 也分泌一些细胞因子以维持小生境结构,破坏保护脑 CSCs 的小生境,可能使脑 CSCs 失去对不同剂量射线和化学药物的抵抗性。李明武等^[27]在脑胶质瘤组织中,发现血管内皮细胞可表达 CSCs 的标记物 CD133⁺ 和 Nestin⁺。由此认为,肿瘤内微血管可能来源于 CSCs 的分化,推测 CSCs 可能以促进血管再生及定居于血管周围的方式使肿瘤处于足氧状态从而产生辐射抵抗。

乏氧效应 肿瘤组织内乏氧细胞的存在是影响射线照射效应的重要因素。细胞含氧状态对射线辐射杀伤作用有很大影响:射线对乏氧细胞杀伤力减弱,对氧合细胞杀伤力明显增强。肿瘤组织常有供血不足及乏氧细胞比率高的问题,部分癌细胞可逃避放射损伤,这是放疗后肿瘤再生长及复发的常见原因之一。乏氧微环境下,乏氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)高表达,最新研究结果表明^[28],HIFs 可以诱导与 CSCs 自我更新和多能性相关的基因表达,包括 *Oct4* 和 *Notch1* 等,它们在乏氧微环境中经过一系列信号转导,最终使 CSCs 保持在未分化状态或者使 CSCs 的分化得到抑制。Platet 等^[29]将 3 种脑胶质瘤和 2 种少突胶质细胞瘤株分别在 20% 和 3% 氧环境下培养,结果发现在 3% 氧环境培养下各种细胞株的 CD133⁺ 细胞比例较 20% 氧环境培养时均明显上升,可见乏氧环境下增殖明显增加。Xing 等^[30]提出乏氧环境下乳腺癌细胞中 Notch 受体和 Notch 配体 Jagged2 的表达明显上调,而且 Jagged2 配体在骨髓基质细胞中也有发现,其通过激活 Notch 信号途径的转导促进

CSCs 的自我更新。Oliveira 等^[31]用免疫组化分选出 CD44⁺ 口腔癌干细胞,并发现在乏氧环境下其乏氧诱导因子 σ 和 CD44⁺ 同时表达时对口腔癌的治疗效果产生明显的影响。

其他 谷胱甘肽是修复受损 DNA 所必需的巯基化合物,与肿瘤放射敏感性之间呈负相关。Mitchell 等^[32]曾经指出高能辐射对 DNA 的损伤作用包括直接损伤和间接损伤,射线对 DNA 分子链的直接作用为单链断裂和双链断裂;间接作用是射线对水分子的电离,产生自由基,自由基再与生物大分子一起作用于 DNA 链,此时细胞内的谷胱甘肽作为一种自由基清除剂在亚致死肿瘤细胞的修复上起重要作用,谷胱甘肽在放疗后表达水平增高与放疗敏感性有很大关联。Croker 等^[33]在 ALDH^{hi} CD44⁺ 乳腺癌干细胞的研究中发现其明显的辐射抵抗与其细胞内高表达谷胱甘肽 S-转移酶、P 糖蛋白等有关。可见明确谷胱甘肽产生的来源并将其靶向阻断有利于肿瘤放射治疗的进展。

结语 随着 CSCs 在各类肿瘤中不断被分选出来,越来越多的研究说明 CSCs 在肿瘤放射治疗中起着重要的作用,CSCs 的消灭与否关联到肿瘤能否得到根治,而目前要想克服 CSCs 对各种射线的抵抗还面临着不少的挑战。首先,在现有的基础上进一步研究并证实 CSCs 辐射耐受的机制,包括射线照射后 CSCs 完整的 DNA 损伤后修复机制、基因调控、损伤修复的信号转导途径、CSCs 与小生态环境包括乏氧环境之间的相互作用机制等。其次,在明确 CSCs 辐射抵抗的机制后,寻求逆转该抵抗的分子靶向治疗,如以 CSCs DNA 损伤检测点为靶点阻断射线照射后 DNA 的修复;以细胞周期转换关键酶为靶点,阻断关键酶的作用,解除 CSCs 细胞周期的阻滞;了解射线照射后基因的转录表达后,靶向阻断抵抗射线的基因表达而提高射线增敏基因的表达;在明确乏氧环境对 CSCs 放射敏感性影响的前提下,探究是否可通过创造足氧环境提高肿瘤放射敏感性等,从而彻底消除 CSCs 对放射治疗的抵抗,达到根治肿瘤的目的。

由此可见,解决 CSCs 射线抵抗将为肿瘤的根治提供良好的应用前景。

参 考 文 献

[1] Ho A, Fussenig N. Cancer stem cells: a promising concept

and therapeutic challenge [J]. *Int J Cancer*, 2011, 129 (10): 2309.

- [2] 余子豪,谷铎之,殷蔚伯. 肿瘤放射治疗学[M]. 北京:中国协和医科大学出版社,2008:18,231-232.
- [3] 马晓洁,谭榜宪. 辐射损伤修复应答与放射增敏[J]. 肿瘤预防与治疗,2010,23(3):256-258.
- [4] Pellegata NS, Antoniono RJ, Redpath JL, et al. DNA damage and p53-mediated cell cycle arrest: a reevaluation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996, 93 (26): 15209-15214.
- [5] Shiotani B, Kobayashi M, Watanabe M, et al. Involvement of the ATR- and ATM-dependent checkpoint responses in cell cycle arrest evoked by pterisin-1 [J]. *Mol Cancer Res*, 2006, 4(2): 125-133.
- [6] Pichierri P, Rosselli F, Franchitto A. Werner's syndrome protein is phosphorylated in an ATR/ATM-dependent manner following replication arrest and DNA damage induced during the S phase of the cell cycle [J]. *Oncogene*, 2003, 22(10): 1491-1500.
- [7] 田允鸿,谢国柱,任陈,等. 悬浮培养乳腺癌干细胞放疗抵抗与 G2 期阻滞相关 [J]. 南方医科大学学报, 2011, 31 (1): 53-56.
- [8] Furnari B, Blasina A, Boddy MN, et al. Cdc25 inhibited in vivo and in vitro by checkpoint kinases Cds1 and Chk1 [J]. *Mol Biol Cell*, 1999, 10(4): 833-845.
- [9] Lopez-Girona A, Furnari B, Mondesert O, et al. Nuclear localization of Cdc25 is regulated by DNA damage and a 14-3-3 protein [J]. *Nature*, 1999, 397(6715): 172-175.
- [10] Hambardzumyan D, Squatrito M, Holland E C. Radiation resistance and stem-like cells in brain tumors [J]. *Cancer Cell*, 2006, 10(6): 454-456.
- [11] 王彬. 脑胶质瘤干细胞放射敏感性的离体研究[D]. 第三军医大学:第三军医大学外科学(神经外科),2008.
- [12] Gaedcke J, Grade M, Jung K, et al. KRAS and BRAF mutations in patients with rectal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy [J]. *Radiother Oncol*, 2010, 94(1): 76-81.
- [13] 陈宝敏,董军,沈云天,等. 人脑胶质瘤干/祖细胞系 SU-2 放射耐受及其相关机制的初步研究 [J]. 中国现代神经疾病杂志, 2008, 8(5): 453-459.
- [14] Hegi ME, Diserens AC, Godard S, et al. Clinical trial substantiates the predictive value of O-6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter methylation in glioblastoma patients treated with temozolomide [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(6): 1871-1874.
- [15] 李治,何文山,刘春萍,等. 乳腺癌干细胞放疗反应性和耐受机制的研究 [J]. 中华实验外科杂志, 2010, 27(6): 697-698.
- [16] Chang CJ, Hsu CC, Yung MC, et al. Enhanced radiosensitivity and radiation-induced apoptosis in glioma CD133-positive cells by knockdown of SirT1 expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 380 (2): 236-242.
- [17] Horsman MR, Siemann DW, Chaplin DJ, et al. Nicotinamide as a radiosensitizer in tumours and normal tissues: the importance of drug dose and timing [J].

- Radiother Oncol*, 1997, 45(2): 167 - 174.
- [18] Marchetti F, Coleman MA, Jones IM, *et al.* Candidate protein biosensors of human exposure to ionizing radiation[J]. *Int J Radiat Biol*, 2006, 82(9): 605 - 639.
- [19] 任瑞平, 何明远, 邵春林. DNA 损伤修复相关蛋白 H2AX, ATM, CDKN1A, TP53 辐射响应研究现状[J]. 辐射防护通讯, 2011, 31(1): 32 - 35.
- [20] Bao S, Wu Q, McLendon RE, *et al.* Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response[J]. *Nature*, 2006, 444(7120): 756 - 760.
- [21] 王会平, 周平坤. 组蛋白 H2AX 与 DNA 损伤的分子感应[J]. 癌变·畸变·突变, 2006, 18(4): 334 - 336.
- [22] Wu CY, Kang HY, Yang WL, *et al.* Critical role of monoubiquitination of histone H2AX protein in histone H2AX phosphorylation and DNA damage response[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(35): 30806 - 30815.
- [23] Rothkamm K, Lobrich M. Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(9): 5057 - 5062.
- [24] Booher RN, Alfa CE, Hyams JS, *et al.* The fission yeast cdc2/cdc13/suc1 protein kinase; regulation of catalytic activity and nuclear localization[J]. *Cell*, 1989, 58(3): 485 - 497.
- [25] Al-Assar O, Muschel RJ, Manton TS, *et al.* Radiation response of cancer stem-like cells from established human cell lines after sorting for surface markers[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2009, 75(4): 1216 - 1225.
- [26] 董雪涛. 脑肿瘤干细胞与小生境[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2010, 37(6): 565 - 569.
- [27] 李明武, 牛朝诗. 脑肿瘤干细胞的分布与肿瘤微血管的相关性[J]. 中华医学杂志, 2010, 90(5): 305 - 309.
- [28] Keith B, Simon MC. Hypoxia-inducible factors, stem cells, and cancer[J]. *Cell*, 2007, 129(3): 465 - 472.
- [29] Platet N, Liu SY, Atifi ME, *et al.* Influence of oxygen tension on CD133 phenotype in human glioma cell cultures[J]. *Cancer Lett*, 2007, 258(2): 286 - 290.
- [30] Xing F, Okuda H, Watabe M, *et al.* Hypoxia-induced Jagged2 promotes breast cancer metastasis and self-renewal of cancer stem-like cells[J]. *Oncogene*, 2011, 30(39): 4075 - 4086.
- [31] Oliveira LR, Oliveira-Costa JP, Soave DF, *et al.* Cancer stem cell immunophenotypes and hypoxia-inducible factor-1 α influences on oral squamous cell carcinoma[J]. *Oral Oncol*, 2011, 471: S131.
- [32] Mitchell JB, Russo A. The role of glutathione in radiation and drug induced cytotoxicity[J]. *Br J Cancer Suppl*, 1987, 8: 96 - 104.
- [33] Croker AK, Allan AL. Inhibition of aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity reduces chemotherapy and radiation resistance of stem-like ALDH (hi) CD44 (+) human breast cancer cells[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 133(1): 75 - 87.

(收稿日期: 2011-11-22; 编辑: 王蔚)

(上接第 115 页)

- [30] Hironobu H, Masahiko K, Yuri Y, *et al.* The application of tetanic stimulation of the unilateral tibial nerve before transcranial stimulation can augment the amplitudes of myogenic motor-evoked potentials from the muscles in the bilateral upper and lower limbs[J]. *Anesth Analg*, 2008, 107(1): 215 - 220.
- [31] Kakimoto M, Kawaguchi M, Yamamoto Y, *et al.* Tetanic stimulation of the peripheral nerve before transcranial electrical stimulation can enlarge amplitudes of myogenic motor evoked potentials during general anesthesia with neuromuscular blockade[J]. *Anesthesiology*, 2005, 102(4): 733 - 738.
- [32] Luft AR, Kaelin-Lang A, Hauser TK, *et al.* Modulation of rodent cortical motor excitability by somatosensory input[J]. *Exp Brain Res*, 2002, 142(4): 562 - 569.
- [33] Kaelin-Lang A, Luft AR, Sawaki L, *et al.* Modulation of human corticomotor excitability by somatosensory input[J]. *J Physiol*, 2002, 540(Pt 2): 623 - 633.
- [34] Hashimoto Y, Gotanda Y, Ito T, *et al.* Recovery from rocuronium by sugammadex does not affect motor evoked potentials[J]. *Masui*, 2011, 60(8): 968 - 971.

(收稿日期: 2011-10-30; 编辑: 张秀峰)