论著

文章编号:1000-5404(2005)02-0164-03

NF-κB在小鼠感染性早产发生中作用的研究

杨筱祎,李 力 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所妇产科,重庆 400042)

提 要:目的 通过研究NF-κB与感染性早产的关系,探索感染性早产的发病机制。**方法** 将45只孕15 d的小鼠分为LPS组、LPS+PDTC(pyrrolidine dithiocarbamate)组、生理盐水组3组,每组15只,分别注药后观察它们的分娩时间,另外同样分组孕鼠,每组5只,共15只,在给予上述同样药物16 h后处死,以免疫组化技术检测其胎盘TNF-α、IL-8水平。**结果** LPS+PDTC组孕鼠的妊娠时间较LPS组明显延长,另3组孕鼠检测TNF-α、IL-8水平,发现在LPS+PDTC组中,其表达较LPS组明显降低。**结论** NF-κB活化可能是通过调控某些细胞因子的表达,参与感染性早产的发生。

关键词: NF-κB;感染;内毒素(LPS);早产;PDTC

中图法分类号: R711.3; R714.259; R977.6 **文献标识码:** A

Roles of nuclear transcription factor κB in premature delivery associated with infection

YANG Xiao-yi, LI li (Department of Gynecology and Obstetrics, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between nuclear transcription factor-κB (NF-κB) and the preterm delivery (PRD) associated with intraamniotic infection (IAI) and the related mechanisms. **Methods** A total of 45 pregnant mice (gestation for 15 d) were divided into three groups (n = 15 in each group): lipopolysaccharide (LPS) group, pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) plus LPS group, and saline group. The delivery time of the mice administered intravenously with the above in each group was observed after intravenous administration. The other 15 pregnant mice were also divided into 3 groups (n = 5 in each group). At 16 h after administration, these mice were sacrificed for the detection of TNF-α and IL-8 levels in the plancenta by immunohistochemistry. **Results** The gestation time of group administered with LPS was longer than that of the group administered with LPS plus PDTC, but the expression levels of TNF-α and IL-8 were lower than those of the group administered with LPS plus PDTC. **Conclusion** NF-κB may participate in PRD associated with IAI through modulating the expressions of some cytokines.

Key words: nuclear transcription factor-κB; infection; lipopolysaccharide; preterm delivery; pyrrolidine dithiocarbamate

全国各地的早产发生率为5%~15%,是围产儿患病和死亡的重要原因,羊膜腔感染是早产的重要原因之一,与其相关的早产称感染性早产[1]。至今其具体机制不清,缺乏阻止产程进展的有效治疗。经过大量研究证实细胞因子在其中起重要作用,某些细胞因子可以作为预测感染性早产发生的指标。作者曾比较感染性早产患者与正常产妇胎盘组织中炎症调控因子核转录因子-κB (nuclear eranscription factor κB, NF-κB)的核转移量,存在显著性差异,说明NF-κB的活化与感染性早产的发生有关。本研究在此基础上进一步研究NF-κB在感染性早产中的作用,以探索感染性早产的发生机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选用健康成年杂交清洁雌性小鼠60只(体质量为40~45 g),均购自本院实验动物中心。

1.2 方法

1.2.1 小鼠的配种 雌性小鼠与雄性小鼠1:1比例交配,每天清晨检查雌性小鼠,如发现其阴道内有一乳白色栓子则记为妊娠第0天,另笼饲养。该种小鼠正常足月分娩时间为19~20 d[2]。

1.2.2 内毒素诱导模拟感染性早产模型建立及分组 实验组(LPS组):15只,将妊娠小鼠腹部消毒后,经腹腔注入

作者简介:杨筱祎(1977-),女,重庆市人,硕士,医师,主要从事围产医学方面的研究。电话:(020)84518222-81098

收稿日期:2004-09-02;修回日期:2004-12-10

0.1 mg/ml LPS 0.1 ml，3 h 后再注入 0.1 ml。

治疗组（PDTC + LPS 组）：15 只，腹腔内按 100 mg/kg 注射 PDTC，1 h 后经腹腔注射 0.1 ml LPS。间隔时间 3 h 再进行 1 次同样的操作。

对照组（生理盐水组）：15 只，间隔 3 h 经腹腔注射生理盐水，共给予 0.2 ml。

1.2.3　分娩时间的观察以及标本材料的采取　观察各组妊娠小鼠的分娩发动情况，并记录分娩发动时间。另取 15 只同样分组处理的孕鼠，即 LPS 组 5 只，PDTC + LPS 组 5 只，对照组 5 只，在处理 16 h 后同时断颈处死，立即取其胎盘，切边长 0.5 cm 大小的四边形组织块，充分生理盐水漂洗后，放入 4% 多聚甲醛液中固定 3 h，之后放入 30% 蔗糖溶液中脱水，4 ℃冰箱里过夜沉淀，冰冻切片片厚 6 μm。利用免疫组化检测胎盘组织 TNF-α、IL-8 的水平，TNF-α、IL-8 免疫组化试剂盒购自武汉博士德公司。具体操作方法参照试剂盒内说明书进行。

1.3　结果判定标准

用 Mig 2000 图像分析软件分析实验图像结果，每张切片在 40× 高倍镜下选取 5 个视野，测其细胞浆平均灰度 D 值，即阳性细胞胞浆单位面积相对含量，以反映染色程度，D 值越高，说明反应的程度越高。

1.4　统计学分析

率的比较采用 χ^2 检验，均数的比较用 t 检验。

2　结果

2.1　观察各组孕鼠的分娩时间

内毒素组诱导该组孕鼠全部在处理后 48 h 内发生分娩，本研究成功建立了模拟宫内感染早产模型[3]。各组具体分娩时间，见表 1。

表 1　注射内毒素后不同时间段妊娠小鼠分娩的数量

Tab 1　Number of mice that delivered at different time points after injection of LPS

Group	3 – 8 h	8 – 16 h	16 – 24 h	24 – 32 h	32 – 40 h	40 – 48 h	48 h –
Control	0	0	0	0	0	1	14
LPS	0	1	3	7	2	2	0
LPS + PDTC	0	0	0	1	2	2	10

LPS 组和 LPS + PDTC 组早产率相比较，用 χ^2 检验，$P < 0.01$，说明经过 PDTC 处理与未经过 PDTC 处理的感染性早产发生率具有非常显著性差异。

2.2　检测各组妊娠组织的 TNF-α、IL-8 的表达

LPS + PDTC 组中 TNF-α 与 IL-8 在孕鼠胎盘组织中的表达明显低于 LPS 组，两组具有非常显著性差异（$P < 0.01$），见表 2。

表 2　TNF-α、IL-8 在孕鼠胎盘组织中的表达情况（D 值）（$\bar{x} \pm s$）

Tab 2　Levels of TNF-α and IL-8 in the placenta issues of pregnant mice（D value）（$\bar{x} \pm s$）

	n	TNF-α	IL-8
Control	5	7.10 ± 1.50	12.5 ± 1.2
LPS	5	14.20 ± 0.80	24.1 ± 0.7
LPS + PDTC	5	8.80 ± 1.10	13.1 ± 1.2

*：$P < 0.01$，*vs* LPS

3　讨论

在过去的 30 年中，早产的发生率大大增加，其中妊娠晚期的生殖道感染即羊膜腔感染是早产发生的重要原因之一。早产临产产兆一旦出现，往往分娩不可避免，治疗效果不佳，究其原因主要是感染因子发动分娩的机制并不十分清楚，难以从根本上来对其进行治疗。

NF-κB 是一种重要的细胞因子上游的调控因子，是近年来研究比较活跃的、与 DNA 连接的蛋白。在各种的感染性疾病中，起着举足轻重的作用。其机制为在外来感染刺激下，NF-κB 发生核转移，与靶基因启动子或增强子上的 NF-κB 结合基序结合，诱导多种细胞因子转录合成，导致细胞因子网络的失衡[4]。如NF-κB 对于 TNF-α 的释放起一个时间、剂量依赖的模式，I-κB 在细胞浆中降解与其表达密切相关，即 NF-κB 的活化控制着 TNF-α 的表达，而 TNF-α 又反向影响 NF-κB 的活化。同样 NF-κB DNA 链的活化在 IL-8 的基因转录过程中是必须的，起一个启动活化的作用等等。有人认为[5,6]许多人类疾病与 NF-κB 信号通路的过度活化，导致各种细胞因子的表达过多有关，从而引起各种组织的病理生理的损伤，是多种疾病发生机制的关键所在。本研究制作内毒素诱导模拟宫内感染的早产小鼠模型，以 NF-κB 相对特异性阻断剂 PDTC 阻断 NF-κB 的活化通路，发现 LPS + PDTC 组的妊娠时间较 LPS 组的妊娠时间明显延长，其早产发生率存在显著性差异，说明阻断 NF-κB 活化可以阻止早产的发生。同时对各组进行免疫组化检测发现 LPS + PDTC 组中细胞因子 TNF-α 与 IL-8 的表达，较 LPS 组明显降低，存在显著性差异，证明阻断 NF-κB 通路可以减少某些细胞因子如 TNF-α、IL-8 的表达，而这些细胞因子经过大量的研究，被普遍的认为与感染性早产关系密切，其水平的升高可以作为早产发生的预测指标[7]。由此可以推断 NF-κB活化可能是感染性早产发生的关键物质，它通过调控某些细胞因子的表达，参与感染性早产的发生。

我们通过研究 NF-κB 的活化与感染性早产的关系，来探索感染性早产的发生机制，希望最终可以通过抑制这一条通路，或者把 NF-κB 作为一个治疗的靶点，开辟一条治疗感染性早产的新的治疗途径[8]。

参考文献：

[1] Eliyahu S, Weiner E, Nachum Z, *et al*. Epidemiologic risk factors for preterm delivery[J]. Isr Med Assoc J, 2002, 4(12): 1115 – 1117.

[2] Kaga N, Katsuki Y, Obata M, *et al*. Repeated administration of low-dose lipopolysaccharide induceds preterm delivery in mice: a model for human preterm parturition and for assessment of the therapeutic ability of drugs against preterm delivery[J]. Am J Obstet Gynecol, 1996, 174(2): 754 – 759.

[3] 魏 泓 主编. 医学实验动物学[M]. 成都：四川科学技术出版社，1998. 368－369.
[4] Lappas M, Permezel M, Georgiou H M, *et al*. Nuclear factor kappa B regulation of proinflammatory cytokines in human gestational tissues *in vitro* [J]. Biol Reprod, 2002, 67(2): 668－673.
[5] Haddad J J. Recombinant TNF-alpha mediated regulation of the I kappa B-alpha/NF-kappa B signaling pathway: evidence for the enhancement of pro- and anti-inflammatory cytokines in alveolar epithelia cells[J]. Cytokine, 2002, 17(6): 301－310.
[6] Yan X, Sun M, Gibb W. Localization of nuclear factor-kappa B (NF kappa B) and inhibitory factor-kappa B (I kappa B) in human fetal membranes and decidua at term and preterm delivery[J]. Placenta, 2002, 23(4): 288－293.
[7] Elliott C L, Allport V C, Loudon J A, *et al*. Nuclear factor-kappa B is essential for up-regulation of interleukin-8 expression in human amninn and cervical epithelial cells[J]. Mol Hum Reprod, 2001, 7(8): 787－790.
[8] Lee J I, Burckart G J. Nuclear factor kappa B: important transcription factor and therapeutic target[J]. J Clin Pharmacol, 1998, 38(11): 981－993.

（编辑 陈聪连）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2005)02-0166-01

高原康胶囊对大部队急进高原急性高原病预防作用的观察

Preventive effect of *Gaoyuankang* Capsule on acute high altitude diseases in mass troops landed at high altitude areas rapidly

郑必海，李素芝，周小波，李尚师，姚文新，陈 坤，王洪斌
（西藏军区总医院全军高山病防治研究中心，拉萨 850007）

急性高原病（acute high altitude disease，AHAD）是人们由平原进入高原（海拔3 000 m以上）或由高原进入更高海拔地区的常见病，是严重影响急进高原者劳动能力及部队战斗力的重要原因。高原康胶囊是我院研制的一种专用于防治AHAD的药物，为了探讨其在大部队急进高原后AHAD预防中的作用，我们通过试验对2 150名快速进入高原的新兵AHAD发病情况进行了对照研究，现报告如下。

1 对象与方法

1.1 试验对象

为平原入伍由成都（海拔400 m）乘飞机初次进入高原（海拔3 658 m）的新兵2 150人，男性。对照组1 000人（平均18.7岁），试验组1 150人（平均18.5岁）。一般资料经t检验无显著统计学差异（$P>0.05$）。

1.2 试验方法

进入高原前及进入高原后7 d内避免重体力训练，严防感冒，每人发Lake Louise急性高原病症状评分[1]表统计表，试验组临登机前开始服高原康胶囊（西藏军区总医院制剂中心研制，成联制字2001：FP21001），2粒/次，3次/d，连续服用3 d。对照组给予安慰剂（炒面胶囊），服用时间及服用方法同试验组。第7天回收症状评分表，统计发病情况，并从两组内各抽取100名，对其中的AHAD患者的症状及症状评分进行统计。

1.3 统计学处理

采用SPSS统计学软件包，数据用百分率和$\bar{x}\pm s$表示，并行χ^2和t检验。

2 结果

两组快速进入高原者的发病率及临床症状及症状评分见表1,2。

表1 两组快速进入高原者AHAD发病情况比较

组别	总例数（例）	AHAD（例）	AMAD（例）	HAPE（例）	HACE（例）	发病率（%）
对照组	1 000	284	271	13	0	28.4
试验组	1 150	97	93	4	0	8.4
P	－	<0.01	<0.01	0.003	－	<0.01

AHAD：急性高原病；AMAD：急性轻型高原病；HAPE：高原肺水肿；HACE：高原脑水肿。

表2 两组的临床症状及症状评分情况比较

	例数	头痛	头昏	恶心	呕吐	气短	呼吸>25次/min	头痛用甘洪息痛0.5 g干预解	颜面或四肢浮肿	肝脏大圆	肺部散在湿啰音	湿啰音明显者	临床症状评分
对照组	100	27	26	16	7	26	23	9	0	0	1	1	5.3±1.35
试验组	100	4	9	3	1	6	7	1	0	0	0	0	4.4±1.36
χ^2	－	10.21	9.96	9.83	4.69	14.88	10.04	6.74	－	－	1.005	1.005	－
t值	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	0.818
P值	－	0.001 4	0.001 6	0.001 7	0.03	0.000 1	0.001 5	0.009 4	－	－	0.316	0.316	0.041

作者简介：郑必海（1971－），男，四川省绵阳市人，医师，主要从事高原病方面的研究，发表论文20余篇。电话：08913655280
通讯作者：王洪斌，电话：08913623205
收稿日期：2003-12-29；修回日期：2004-03-15

（下转169页）