动白血病治疗研究进展。

参考文献：

[1] Jin H J, Chen J, Karageorgiou V, *et al*. Human bone marrow stromal cell responses on electrospun silk fibroin mats[J]. Biomaterials, 2004, 25(6): 1039-1047.

[2] Gibson L F. Survival of B lineage leukemic cells: signals from the bone marrow microenvironment[J]. Leuk Lymphoma, 2002, 43(1): 19-27.

[3] Granziero L, Circosta P, Scielzo C, *et al*. CD100/Plexin-B1 interactions sustain proliferation and survival of normal and leukemic CD5$^+$ B lymphocytes[J]. Blood, 2003, 101(5): 1962-1969.

[4] Matsunaga T, Takemoto N, Sato T, *et al*. Interaction between leukemic-cell VLA-4 and stromal fibronectin is a decisive factor for minimal residual disease of acute myelogenous leukemia[J]. Nat Med, 2003, 9(9): 1158-1165.

[5] Paraguassu Braga F H, Borojevic R, Bouzas L F, *et al*. Bone marrow stroma inhibits proliferation and apoptosis in leukemic cells through gap junction-mediated cell communication[J]. Cell Death Differ, 2003, 10(9): 1101-1108.

[6] Nefedova Y, Landowski T H, Dalton W S. Bone marrow stromal-derived soluble factors and direct cell contact contribute to de novo drug resistance of myeloma cells by distinct mechanisms[J]. Leukemia, 2003, 17(6): 1175-1182.

[7] Garrido S M, Appelbaum F R, Willman C L, *et al*. Acute myeloid leukemia cells are protected from spontaneous and drug-induced apoptosis by direct contact with a human bone marrow stromal cell line (HS-5)[J]. Exp Hematol, 2001, 29(2): 448-457.

[8] Koller M R, Oxender M, Jensen T C, *et al*. Direct contact between CD34$^+$lin$^-$ cells and stroma induces a soluble activity that specifically increases primitive hematopoietic cell production[J]. Exp Hematol, 1999, 27(2): 734-741.

[9] Fortney J E, Zhao W, Wenger S L, *et al*. Bone marrow stromal cells regulate caspase 3 activity in leukemic cells during chemotherapy[J]. Leuk Res, 2001, 25(10): 901-907.

[10] Hazlehurst L A, Damiano J S, Buyuksal I, *et al*. Adhesion to fibronectin *via* beta1 integrins regulates p27kip1 levels and contributes to cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR)[J]. Oncogene, 2000, 19(38): 4319-4327.

（编辑　陈聪连）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2005)21-2124-01

大鼠前庭内侧核γ-氨基丁酸受体mRNA的表达

Expression of gamma-aminobutyric acid receptor mRNA in rat medial vestibular nucleus by RT-PCR

汪绪武[1]，孔维佳[2]　（[1]解放军第456医院耳鼻咽喉科，济南 250031；[2]华中科技大学同济医学院附属协和医院耳鼻咽喉科，武汉 430022）

γ-氨基丁酸(gamma-aminobutyric acid, GABA)是前庭传入神经系统的抑制性神经递质，GABA的A受体或B受体的拮抗剂都能改变前庭神经元的放电[1]，提示前庭神经核内存在着GABA的两种受体。然而，前庭中枢究竟存在着哪些GABA受体的亚基/亚型，目前少见报道。本研究旨在探明前庭核内GABA的受体亚基/亚型，以进一步明确其神经化学基础。

1　材料与方法

1.1　总RNA的提取

正常雄性Wistar大12只鼠(第三军医大学野战外科研究所提供)，体质量200~250 g，每次实验取2只，重复6次实验。快速断头并分离出双侧前庭内侧核(medial vestibular nucleus, MVN)。异硫氰酸胍一步法提取总RNA，紫外分光光度仪测得$D(260)/D(280)$比值为1.8~2.0，表示RNA纯度满意。

1.2　PCR反应

按二步法逆转录将mRNA转变成cDNA，GABAA受体13种亚基的引物设计见文献[2]报道。GABAB受体的GABABR1a和GABABR1b的引物设计按Durgam等[3]设计的3条引物，其中引物A和B合成209 bp的PCR产物，引物A和C合成159 bp的PCR产物，若这3条引物在同一个反应体系中能扩增出上述两条PCR产物，说明组织中GABAB的两种受体。

PCR反应体系：cDNA终产物10 μl，5 U/μl *Taq*酶0.25 μl，2.5 mmol/L dNTP 4 μl，0.2 μmol/L的上游引物和下游引物各0.5 μl，25 mmol/L $MgCl_2$ 8 μl。反应条件为：95 ℃ 10 min，94 ℃ 1 min、58 ℃ 45 s、72 ℃ 1 min，共35个循环，72 ℃ 10 min。实验设阳性对照和阴性对照，阳性对照的RNA及其引物由试剂盒提供，阴性对照将上、下游引物换成等体积的双蒸水。常规琼脂糖凝胶电泳，电泳情况以凝胶扫描分析系统测定。

2　结果

GABAA和GABAB受体PCR产物的大小与所设计的相应

（下转2138页）

基金项目：国家杰出青年基金资助项目(39925035)，国家自然科学基金资助项目(30070809)
Supported by the National Science Fund for Young Distinguished Scholars (39925035) and the National Natural Science Foundation (30070809)

作者简介：汪绪武(1964-)，男，湖北省红安县人，博士，副主任医师，主要从事内耳的生理及病理方面的研究，发表论文10余篇。电话：(0531)86353542

收稿日期：2005-04-05；修回日期：2005-08-27

以上结果提示，在吗啡长时程作用的 SK-N-SH 细胞，CREB 的 DNA 结合活性增加可能介导了吗啡长时程作用诱导的 *fosB* 基因表达上调。这为进一步从基因调控水平探讨吗啡依赖的形成机制及进行基因治疗提供了实验依据。

参考文献：

[1] Nestler E J, Barrot M, Self D W. ΔfosB: a sustained molecular switch for addiction[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(20): 11042-11046.

[2] Chen J, Kelz M B, Hope B T, *et al*. Chronic Fos-related antigens: stable variants of ΔfosB induced in brain by chronic treatments[J]. J Neurosci, 1997, 17(13): 4933-4941.

[3] Andersson M, Konradi C, Cenci M A. cAMP response element-binding protein is required for dopamine-dependent gene expression in the intact but not the dopamine-denervated striatum[J]. J Neurosci, 2001, 21(24): 9930-9943.

[4] 从 斌，凌亦凌，谷振勇，等. 八肽胆囊收缩素对脂多糖诱导大鼠肺组织 NF-κB 活性增高的抑制作用[J]. 中国病理生理杂志，2002, 18(6): 615-618.

[5] Bernard K, Cambiaggi A, Guia S, *et al*. Engagement of natural cytotoxicity programs regulates AP-1 expression in the NKL human NK cell line[J]. J Immunol, 1999, 162(7): 4062-4068.

[6] Georgescu D, Zachariou V, Barrot M, *et al*. Involvement of the lateral hypothalamic peptide orexin in morphine dependence and withdrawal[J]. J Neurosci, 2003, 23(8): 3106-3111.

[7] 郭庆民，刘景生. Ca^{2+}/钙调蛋白依赖的蛋白激酶Ⅱ信息通路在DPDPE长时程作用的NG108-15细胞中的作用[J]. 中国药理学通报，2002, 18(1): 23-28.

[8] Barrot M, Olivier J D, Perrotti L I, *et al*. CREB activity in the nucleus accumbens shell controls gating of behavioral responses to emotional stimuli[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(17): 11435-11440.

[9] Walters C L, Blendy J A. Different requirements for cAMP response element binding protein in positive and negative reinforcing properties of drugs of abuse[J]. J Neurosci, 2001, 21(23): 9438-9444.

[10] Johnstone L E, Brown C H, Meeren H K, *et al*. Local morphine withdrawal increases *c-fos* gene, Fos protein, and oxytocin gene expression in hypothalamic magnocellular neurosecretory cells[J]. J Neurosci, 2000, 20(3): 1272-1280.

（编辑 栾 嘉）

（上接2124页）

cDNA 片段相同，表明扩增产物即为本实验的目的基因片段，阴性对照无表达，阳性对照产物符合试剂盒所提供的 462 bp 片段。

GABAA 受体的所有亚基均有表达，其中，α1、β1、γ2 这3种亚基的 mRNA 在前庭内侧核的表达相对较强，γ3、δ 这两种亚基的 mRNA 表达相对较弱。GABAB 的两种受体均有表达。

3 讨论

既往研究表明，前庭神经核内存在 GABA 的 A 受体和 B 受体，但对两种受体的亚基或亚型未作进一步的研究[4]。Hironaka 等[5]报道前庭核中含有 GABAA 受体的 α1 亚基，但对 GABAA 受体其他亚基和 GABAB 受体未作报道。Sur 等[6]在金鱼的前庭核内可见 γ2 亚基，也未涉及前庭核的其他亚基。本实验结果显示前庭内侧核中存在着丰富的 GABAA 受体亚基，α1-α6、β1-β3、γ1-γ3、δ 亚基的 mRNA 均有不同程度的表达；GABAB 受体也有表达。Rezaee 等[2]报道在大鼠前庭外周存在着 GABAA 受体的 α1-α6、β1-β3、γ1-γ3 亚基，但没有 δ 亚基，其结果与本实验在前庭核内观察到的结果极为相近，提示 GABAA 受体亚基在前庭外周和前庭中枢的表达具有一致性。

不同亚基组成的受体的药理学特性不一样，如含有 α1 亚基的受体能使唑吡旦（一种催眠药）与配体的亲和力增高，具有 α2、α3 和 α5 亚基的受体则使唑吡旦与配体的亲和力下降，含有 α4 和 α6 亚基的受体对安定不敏感[7]。前庭内侧核内 α1-α6 这6种亚基的基因均有表达，提示前庭内侧核存在着不同药理学特性的 GABAA 受体。GABAA 受体的 β 亚基具有高度的类同性，每个亚基都有一个便于磷酸化作用的序列，而磷酸化作用对受体活性调节有重要作用。

（致谢：本实验得到第三军医大学野战外科研究所第三研究室伍亚民、廖文红教授的大力支持，谨致谢意！）

关键词：RT-PCR；γ-氨基丁酸；前庭内侧核；受体

中图法分类号：R338.3 R339.17 R764.4 **文献标识码**：B

参考文献：

[1] de Waele C, Muhlethaler M, Vidal P P. Neurochemistry of the central vestibular pathways[J]. Brain Res Brain Res Rev, 1995, 20(1): 24-46.

[2] Rezaee A, Robinson A M, Pitovski D Z. Expression of gamma-aminobutyric acid(A) receptor subunits in the vestibular system[J]. Laryngoscope, 1999, 109(2 Pt 1): 329-333.

[3] Durgam V R, Vitela M, Mifflin S W. Enhanced gamma-aminobutyric acid-B receptor agonist responses and mRNA within the nucleus of the solitary tract in hypertension[J]. Hypertension, 1999, 33(1 Pt 2): 530-536.

[4] 贺付成，安玉会，尹惠卿，等. 酸性神经肽1对吗啡成瘾小鼠脑内GABA及环核苷酸含量的影响[J]. 郑州大学学报(医学版)，2005, 40(2): 262-264.

[5] Hironaka T, Morita Y, Hagihira S, *et al*. Localization of GABAA-receptor alpha 1 subunit mRNA-containing neurons in the lower brainstem of the rat[J]. Brain Res Mol Brain Res, 1990, 7(4): 335-345.

[6] Sur C, McKernan R, Triller A. GABAA receptor-like immunoreactivity in the goldfish brainstem with emphasis on the Mauthner cell[J]. Neuroscience, 1995, 66(3): 697-706.

[7] Smith T A. Type A gamma-aminobutyric acid (GABAA) receptor subunits and benzodiazepine binding: significance to clinical syndromes and their treatment[J]. Br J Biomed Sci, 2001, 58(2): 111-121.

（编辑 陈聪连）