文章编号:1000-5404(2005)19-2003-01

个案与短篇

N-乙酰-L-半胱氨酸对染矽尘大鼠肺间质成纤维细胞MMP-2表达的影响

Effects of N-acetyl-L-cysteine on expression of metalloproteinase-2 in lung fibroblasts of rat silicotic fibrosis model

王海涛[1],刘 昊[2],颜京霞[1],田艳霞[1],江小华[1] (华北煤炭医学院:[1]组织学与胚胎学教研室,[2]附属医院神经内科,唐山 063000)

本研究以N-乙酰-L-半胱氨酸(N-acetyl-L-cysteine, NAC)为抗氧化剂,应用免疫细胞化学和RT-PCR方法,探讨NAC阻断肺泡巨噬细胞(alveolar macrophage, AM)过氧化后肺间质成纤维细胞(lung fibroblast, LFb)基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)表达的影响。

1 材料与方法

1.1 方法

Wistar大鼠75只,随机分为模型组、干预组和对照组。采用经气管内注射SiO_2粉尘方法复制矽肺纤维化模型,对照组代以等剂量生理盐水。干预组在注入SiO_2粉尘前1 h腹腔注射NAC(Sigma, 400 mg/kg)。染尘后1、3、7、14、28 d分别处死3组大鼠各5只,分离培养LFb,取第4代用于实验。按照S-P试剂盒(北京中山生物技术有限公司产品)说明,作细胞爬片的免疫细胞化学染色,DAB显色;结果经Motic Med 6.0数码医学图像分析系统(北航)作图像分析,表达强度用积分光密度(IOD)表示。按照Trizol试剂盒(Gibco公司)说明提取细胞总RNA,逆转录反应和PCR扩增步骤参照试剂盒说明书进行。扩增产物行琼脂糖凝胶电泳。采用凝胶成像系统做积分吸光度(IOD值)测定。

1.2 统计学方法

各种数据以$\bar{x} \pm s$表示,采用SPSS 11.0软件分析行单因素方差分析和t检验。

2 结果

MMP-2蛋白和mRNA表达结果分别见表1和表2。

表1 肺间质成纤维细胞MMP-2表达的动态变化(IOD, $n=5$, $\bar{x} \pm s$)

组别	1 d	3 d	7 d	14 d	28 d
对照组	9.18±1.99	9.36±4.01	12.17±3.60	16.11±3.96	11.58±2.54
模型组	12.88±3.37	22.69±4.08[a]	57.54±2.10[b]	37.90±10.26[b]	16.12±3.96
干预组	10.33±2.02	13.22±1.77[d]	26.26±3.19[bd]	22.03±2.45[ad]	14.39±3.21

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, 与对照组比较; d: $P<0.01$, 与模型组比较

表2 肺间质成纤维细胞MMP-2 mRNA表达的动态变化(IOD, $n=5$, $\bar{x} \pm s$)

组别	1 d	3 d	7 d	14 d	28 d
对照组	0.31±0.09	0.28±0.07	0.33±0.05	0.32±0.09	0.39±0.02
模型组	0.50±0.11[a]	0.61±0.15[b]	0.54±0.13[b]	0.55±0.12[b]	0.54±0.18
干预组	0.32±0.14[c]	0.43±0.02[ad]	0.34±0.07[c]	0.39±0.01[c]	0.45±0.08

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, 与对照组比较; c: $P<0.05$, d: $P<0.01$, 与模型组比较

3 讨论

在MMPs家族中,MMP-2的特异性底物是构成肺泡壁基底膜重要成分的Ⅳ型胶原。肺泡基底膜的损伤是肺间质纤维化病理过程的关键事件[1]。在肺纤维化中有MMP-2的高表达[2]。NAC是一种抗氧化剂[3],在体内通过转化为谷胱甘肽GSH发挥抗氧化作用。矽尘诱发的AM过氧化是一种强烈的连锁反应,能够引起AM形态结构和功能的损伤。如果应用抗氧化剂阻断AM过氧化损伤,就可能引起AM源性细胞因子的改变,从而对LFb的结构和功能产生一定影响。本研究复制大鼠矽肺纤维化模型,以NAC阻断AM过氧化,观察LFb MMP-2表达的变化。结果显示,注入SiO2粉尘后,MMP-2蛋白和mRNA表达均较对照组明显增强。给予NAC后,MMP-2蛋白和mRNA表达显著降低,但仍高于对照组,提示NAC可以降低肺间质成纤维细胞MMP-2的表达。NAC可能通过该途径减轻SiO2粉尘对肺泡基底膜的损伤,从而起到保护作用。

关键词:基质金属蛋白酶;肺纤维化;N-乙酰-L-半胱氨酸
中图法分类号:R563.9 **文献标识码**:B

参考文献:

[1] 徐 军,钟南山. 基质金属蛋白酶与细胞因子的相互作用在肺间质纤维化发病中的地位[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2002, 25(9): 515-516.
[2] 章 巍,刘新民,李海潮,等. 博来霉素致大鼠肺纤维化模型肺组织MMP-2、MMP-9、MT1-MMP及TIMP-1、TIMP-2的表达[J]. 北京大学学报(医学版), 2002, 34(6): 716-721.
[3] De Flora S, Izzotti A, D'Agostini F, *et al*. Mechanisms of N-acetylcysteine in the prevention of DNA damage and cancer, with special reference to smoking-related end-points[J]. Carcinogenesis, 2001, 22(7): 999-1130.

(编辑 龙 亮)

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(301404)
Supported by the Natural Science Foundation of Hebei Province (301404)
作者简介:王海涛(1972-),男,山东省郓城县人,硕士,讲师,主要从事肺纤维化发病机制方面的研究。电话:(0315)3725754, E-mail: wht92725@yahoo.com.cn
收稿日期:2005-01-03;**修回日期**:2005-03-30