维普资讯 http://www.cqvip.com

·论 著·

异丙酚诱导大鼠中枢FOS核蛋白表达的研究

文欣荣[1]，陶国才[1]，范晓棠[2]，张金海[2]，崔 剑[1]，胡 荣[2]
（第三军医大学：1.附属西南医院麻醉科；2.神经生物学研究所，重庆 400038）

［摘 要］ **目的** 通过检测异丙酚静脉全麻诱导大鼠中枢FOS核蛋白的表达，明确静脉全身麻醉的中枢作用位点。**方法** 21只Wistar大鼠随机分成3组：对照组（C组）腹腔注入生理盐水2 ml，异丙酚组（P组）腹腔注入异丙酚100 mg/kg，异丙酚作用后断尾刺激组（S组）。1 h后应用FOS蛋白免疫组织化学法（ABC法），检测FOS免疫反应（FOS-IR，immunity reaction of FOS）阳性神经元在大脑的分布。**结果** C组可见部分散在FOS-IR阳性神经元分布，P组FOS-IR阳性神经元数比C组明显增多（$P<0.01$），并呈核特异性分布，S组在杏仁基底外侧核、丘脑室旁核、外侧缰核及海马回嗅觉小岛等核团发现FOS-IR阳性神经元较P组分布增多（$P<0.01$）。**结论** 异丙酚在大鼠中枢神经系统有与其静脉麻醉作用相关的神经核团。

［关键词］异丙酚；中枢神经系统；FOS蛋白
［中图分类号］R614.1 ［文献标识码］A ［文章编号］1672-5042(2004)04-0217-03

Expression and distribution of FOS within central nervous system of the rat following propofol anesthesia

WEN Xin-rong, TAO Guo-cai, FAN Xiao-tang, ZHANG Jin-hai, CUI Jian, HU Rong
(Department of Anesthesiology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To detect the distribution of FOS expression within central nervous system (CNS) following propofol anesthesia. **Methods** A total of 21 Wistar rats were randomized into 3 groups: control (C), propofol (P), and propofol following caudal section (S). Rats in groups C and P were peritoneally injected with 2 ml saline and propofol at the dose of 100 mg/kg, respectively. FOS immunohistochemical technique (ABC method) was employed for the detection of the distribution of neurons positive to immunity reaction of FOS (FOS-IR) in the rat brain. **Results** Scattered distribution of some FOS-IR neurons was found in rats in group C, but FOS-IR neurons in group P increased significantly ($P<0.01$). When the anesthetic dose of propofol was 100 mg/kg, FOS-IR neurons appeared in the CNS, including piriform cortex (Pir), accumbent nucleus (ACB), lateral septal nucleus (LS), paraventricular hypothalamic nucleus (Pe), ventral lateral geniculalaten nucleus (VLG), dorsal endapiriform nucleus (DEn), supraoptic nucleus (SO), suprachiasmatic nucleus (SCh), anteroventral preoptic nucleus (AVPO), nucleus of the solitary tract (Sol), and supramammillary nucleus (SuM), etc. **Conclusion** Propofol anesthesia has the determined sites of action in CNS.

Keywords: propofol; central nervous system; FOS protein

静脉全身麻醉在中枢神经系统（CNS）的作用部位至今仍不清楚[1]。研究即刻早期基因c-fos的诱导表达，可为中枢神经功能传导定位。本文应用FOS蛋白免疫组织化学法（ABC法），研究异丙酚静脉麻醉在大鼠中枢神经系统的作用部位，为进一步探讨静脉全身麻醉机制提供形态学定位依据。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

异丙酚为阿斯利康公司产品。一抗为兔抗FOS IgG，二抗为生物素化抗兔IgG（即用型），三抗为生物素-亲合素-辣根过氧化物酶复合物（即用型），DAB显色液，均为北京中山生物有限公司产品。Wistar大鼠由第三军医大学实验动物中心提供。

1.2 动物模型

Wistar大鼠21只，体重约200 g，雌雄不拘，随机分为空白对照组（C组）、异丙酚组（P组）、异丙酚作用后断尾刺激组（S组）。实验前将大鼠放置在室温为20 ℃的安静环境中饲养24 h以上，以消除强光、噪音等额外刺激。实验时C组动物腹腔注射生理盐水2 ml，P组腹腔注入异丙酚100 mg/kg，S组腹腔注入异丙酚100 mg/kg后进行断尾刺激。

1.3 免疫组织化学染色

各组动物分别于1 h后在1%戊巴比妥钠100 mg/kg腹腔注射麻醉下，立即用手术器械开胸，右心房开窗，经左室灌注生理盐水300 ml后，再灌注4%多聚甲醛（0.1 mol/L PB，pH7.4）300 ml，然后取全脑置于30%蔗糖（含4%多聚甲醛）液中后固定，4 ℃过夜。冰冻冠状连续切片，片厚35 μm，每隔5片取1片，用0.01 mol/L PBS漂洗3次，入含0.3% Triton的PBS液中30 min，

［作者简介］文欣荣（1973-），男，四川省广安市人，医师，硕士，主要从事麻醉方面的研究。电话：(023)68754000-73095
［收稿日期］2004-03-19 ［修回日期］2004-04-20

维普资讯 http://www.cqvip.com

采用ABC法，切片依次入一抗(1 500，37 ℃4 h后4 ℃过夜)，二抗(37 ℃4 h)和三抗(37 ℃1 h)，最后用DAB显色液作呈色反应，各步骤间均用0.01 mol/L PBS漂洗3次，裱片，晾干后经上行梯度酒精脱水，二甲苯透明后封片。

1.4 统计学处理

所有数据用 $x \pm s$ 表示，采用 t 检验。

2 结果

显微镜观察各组脑切片，发现FOS免疫反应(FOS-IR)阳性细胞为胞核型，阳性颗粒均匀分布于细胞核，FOS-IR弱阳性细胞核呈淡黄色，中等度阳性细胞核呈棕黄色，强阳性细胞核呈棕黑色，胞浆不着色，双侧对称性分布。大脑皮层内FOS-IR阳性神经元的数量以每单位视野(×100)内的数目来表示，神经核团的FOS-IR阳性神经元以每个核团内的数目来表示(见表1)。

表1 FOS-IR阳性神经元在大鼠CNS的表达($x \pm s$)

核团	C组	P组	S组
ACB	0	29.1±7.6*	27.8±11.6*
AVPO	0	24.6±6.2*	26.5±11.3*
DEn	0	46.9±8.4*	51.2±11.8*
BL	0	19.3±8.6*	68.6±15.7*#
Iej	0	12.5±7.3*	86.9±21.2*#
LHb	11.0±3.0	22.7±6.8*	75.1±18.4*#
LS	13.5±2.3	27.6±7.2*	25.8±12.5*
Pe	0	14.8±5.2*	52.8±19.1*#
Pir	12.4±2.8	31.5±7.1*	30.9±16.8*
PV	0	18.4±3.8*	31.4±17.4*
SO	6.3±1.2	26.5±5.6*	28.1±10.6*
SCh	0	23.5±8.3*	30.1±12.3*
Sol	0	23.6±7.5*	26.3±9.2*
SuM	0	39.8±7.2*	43.7±15.1*
VLG	0	38.5±9.9*	43.6±12.5*

注：与C组比较，* $P<0.01$；与P组比较，# $P<0.01$

2.1 对照组

在梨状皮层(Pir, piriform cortex)、视上核(SO, supraoptic nucleus)、外侧隔核(LS, lateral septal nucleus)和外侧缰核(LHb, lateral habenular nucleus)可见散在分布的FOS-IR弱阳性神经元。

2.2 异丙酚麻醉组

FOS-IR阳性神经元较对照组明显增多，且胞核呈棕黑色，主要分布在梨状皮层(Pir)、伏核(ACB, accumbent nucleus)、外侧隔核(LS)、下丘脑室旁核(Pe)、膝状体腹下核(VLG, ventral lateral geniculalaten nucleus)、背外侧膝状核(DEn, dorsal endapiriform nucleus)、视上核(SO)、视交叉上核(SCh, suprachiasmatic nucleus)、视前腹侧核(AVPO, anteroventral preoptic nucleus)、弧束核(Sol, nucleus of the solitary tract)和乳头状核(SuM, supramammillary nucleus)等核团(见图1)。

2.3 异丙酚作用后断尾刺激组

异丙酚麻醉组中FOS-IR阳性神经元分布的核团，在本组中其神经元仍呈FOS-IR强阳性。此外，杏仁基底外侧核(BL, basolateral amygdaloid nucleus)、丘脑室旁核(PV, paraventricular thalamic nucleus)、外侧缰核(LHb)及海马回嗅觉小岛(Iej, islands of calleja)等核团发现FOS-IR阳性神经元分布增多(见图2)。

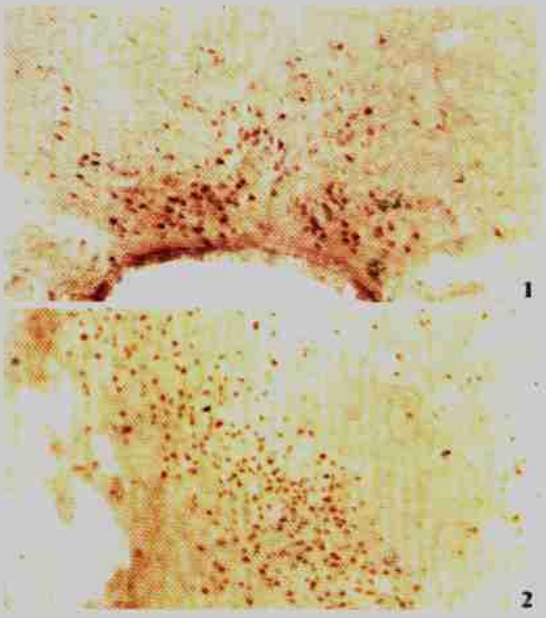


图1 P组FOS在下丘脑室旁核的表达 (ABC法 ×100)
图2 S组FOS在丘脑室旁核的表达 (ABC法×100)

3 讨论

近年来发现即刻早期基因c-fos在中枢神经网络中可因刺激等活动而立即进行转录，表达为FOS蛋白，返回核内调节其它靶基因，参与重要脑功能活动的信号转导和调控过程，是一种脑功能活动形态学定位标记物[2]。应用特异性抗体的原位免疫细胞化学方法探测FOS蛋白，已成为认识脑结构和功能的一个重要窗口。全身麻醉中枢作用部位的研究表明，突触有可能是神经组织结构上全麻作用的位点，但并非是大体解剖上的作用部位。国内有学者通过检测FOS蛋白的表达来研究静脉麻醉药物硫贲妥钠的中枢作用位点[4]，而异丙酚静脉麻醉时在中枢作用位点的研究，国内外尚未见报道。

FOS核蛋白作为即刻早期基因c-fos表达的产物，参与组成对其它靶基因转录调节的转录因子，被视为在外界刺激-转录偶联的信息传导过程中起着核内第三信使的作用，其表达可分为功能性刺激表达和伤害性刺激表达[5]。在功能性刺激表达中，FOS调控多细胞动物细胞间的公共关系，在长时程生理活动中发挥重要作用。本实验中P组的FOS可能为功能性表达，阳性核团为参与异丙酚麻醉功能的中枢神经核团。在伤害性刺激中FOS表达量与刺激强度、伤害程度、应

维普资讯 http://www.cqvip.com

激强弱等因素相关,其阳性核团可能为中枢参与应激反应主要作用位点。本实验S组所加伤害性刺激,诱导FOS阳性细胞的表达与P组比较在杏仁基底外侧核、丘脑室旁核、外侧缰核及海马回嗅觉小岛等核团有显著性差异。目前研究表明杏仁核、外侧隔核、海马回嗅觉小岛、丘脑室旁核等参与疼痛的传导、疼痛的情绪反应[6],进一步支持本实验P组阳性核团与异丙酚静脉全麻功能相关。有学者通过不同的药物浓度实验,发现大脑内某些神经核团的FOS表达程度与麻醉药物浓度正相关,也证实大脑内存在与麻醉作用相关的特异性神经核团[7]。

本实验应用大鼠中枢神经系统即刻早期c-fos基因对异丙酚静脉麻醉作用的反应,诱导中枢FOS免疫活性最强的神经元出现在脑内10余个神经核团。这些核团内FOS阳性神经元均呈强阳性表达,推测这些核团与异丙酚静脉麻醉作用相关,这与其他学者研究的全麻在中枢的作用位点基本一致。据此可以描绘出一个参与异丙酚麻醉信息传递的中枢通路,FOS阳性核团主要分布在端脑、间脑和脑干,推测异丙酚激动下行性痛调制系统,通过去极化引起突触前抑制,或阻断Ca^{2+}内流,阻止P物质释放,从而起镇静和镇痛作用。由于各功能核团之间的相互联系和调控方式非常复杂,对异丙酚静脉全麻作用的具体机制,尚待进一步研究。

在研究方法上,由于c-fos表达对于不同刺激选择性差,易受其它非实验因素的干扰,如光线、气味和应激的反应等,因此,除严格控制合适的实验条件外,对于如何排除无关因素的干扰以求得结果的正确性是至关重要的。本实验采取以下措施:①大鼠于实验前放置在安静、温暖和避强光的饲养环境内24 h以上;②在实验操作时力求轻柔,尽量保持基础状态的稳定;③设置严格的对照组,除麻醉因素外其它条件相同,并设置异丙酚作用后断尾刺激组,排除麻醉因素外的刺激对异丙酚静脉全麻中FOS表达的影响。

[参考文献]

[1] Ogli K, Tsukamoto I, Yokono S, et al. Anaesthetic mechanism from molecular to biological aspects[J]. Ann Acad Med Singapore, 1999,23(4):536-545.

[2] Martinez M, Calvo A, Herbert J. Mapping brain response to social stress in rodents with c-fos expression: a review[J]. Stress,2002,5(1):3-13.

[3] Forman SA, Miller KW, Yellen G. A discrete site for general anesthetics on a postsynaptic receptor[J]. Mol Phammacol, 1999,48(4):574-581.

[4] 徐礼鲜,傅荣国,张 惠,等. 硫贲妥钠诱导c-fos基因在中枢神经系统的表达[J]. 中国药理学通报,2000,16(3):271-273.

[5] Filipkowski RK. Inducing gene expression in barrel cortex-focus on *immediate early genes*[J]. Acta Neurobiol Exp (Warsz), 2000,60(3):411-418.

[6] Frese A, Evers S, May A. Autonomic activation in experimental trigeminal pain[J]. Cephalalgia, 2003,23(1):67-68.

[7] Broad KD, Hiton MR, Keverne EB, et al. Involvement of the medial prefrontal cortex in mediating behavioural responses to odour cues rather than olfactory recognition memory[J]. Neurosciense, 2002,114(3):715-729.

(编辑:余汇洋)

·个案与短篇·

附子汤治疗紫癜性肾炎1例

张林军[1],杨 森[2]
(1.河北体育学院医务室,河北 石家庄 050041;2.河北医科大学,河北 石家庄 050051)

[关键词] 紫癜性肾炎;中医药;附子汤
[中图分类号] R554.6;R282.7 [文献标识码]B [文章编号] 1672-5042(2004)04-0219-01

紫癜性肾炎为多种原因引起的一类变态反应性疾病,多发于儿童及青年,病理改变为肾脏弥漫性小血管无菌性炎症,中医辩证属血证范围。我科用附子汤加减治愈1例紫癜性肾炎,现报告如下。

[收稿日期]2004-05-15 [修回日期]2004-06-05

1 临床资料

患者,女性,15岁。于半年前感冒发热4 d后,四肢皮肤对称性出现针尖至绿豆大小出血点,以双下肢为主,高出皮肤,无瘙痒,未波及躯干皮肤,无腹痛、黑便等症。此次就诊患者面色

(下转222页)