DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.13.040
第26卷第13期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 13
2004年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2004

文章编号:1000-5404(2004)13-1229-01

个案与短篇

生长相关蛋白在大鼠自体移植脾组织中的表达

Expression of growth associated protein in splenic autotransplantation in rats

张天飞,郭光金,王 林,蒋登金,文 灿 (第三军医大学基础医学部外科应用解剖与手术学教研室,重庆 400038)

生长相关蛋白-43(growth associated protein, GAP-43)参与神经的发育和神经再生[1]。在神经系统的发育和损伤修复中,能监测到GAP-43在mRNA水平上的变化。本实验采用GAP-43作为自体脾组织移植后神经再生的研究指标,观察自体脾组织移植后神经再生,为脾脏外科临床和实验研究提供理论参考依据。

1 材料和方法

1.1 动物模型制作

采用健康Wistar大鼠132只(第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供),体质量100~120 g。分为实验组(RT-PCR组、IHC组各48只)和对照组36只。实验组大鼠将脾脏切下后取30%脾,切成1 mm×1 mm×1 mm均匀颗粒,大网膜内移植。

1.2 GAP-43 mRNA检测(RT-PCR)

于脾组织移植术后90 d取脾脏组织约50 mg,采用Tripure试剂按常规方法提取组织中总RNA。采用M-MLV逆转录试剂盒(Promega公司),按照产品介绍方法将总RNA逆转录cDNA。目的基因引物由上海生物工程技术有限公司合成,各组均以β-actin作为内参照。PCR反应条件:94 ℃ 10 min;94 ℃ 30 s,55 ℃ 30 s,72 ℃ 35个循环;72 ℃ 10 min,产物经2%琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下观测,目的片段为292 bp。目的基因引物由上海生物工程技术有限公司合成。

引物序列为:上游引物:5′-ACAAGGAAAAAGCTCAAAG-3′

下游引物:5′-GACGGGGAGTTATCA GTG G-3′

1.3 GAP-43+神经纤维的检测(IHC)

于脾组织移植术后90 d取移植脾组织,石蜡切片。行免疫组化ABC法抗GAP-43抗体染色,显示脾组织中GAP-43$^+$神经纤维,镜下观察。

2 结果

2.1 RT-PCR组

正常脾组织中含有GAP-43 mRNA,但表达量较低。自体脾移植术后再生脾组织中可见GAP-43 mRNA,强阳性表达。

2.2 IHC组

自体脾组织移植术后90 d,GAP-43$^+$神经纤维主要分布于移植脾组织新生血管周围,其次是红髓和边缘区,其分布特征类似正常脾组织。

3 讨论

GAP-43是突角触前膜磷蛋白,在中枢神经和快速生长的轴突高表达,正常周围神经表达量极低[1]。杨宏等[2,3]报道大鼠和小鼠的正常脾脏内有GAP-43$^+$神经纤维的支配,其数量在受到免疫刺激后明显增加,提示GAP-43$^+$神经与脾脏功能维持和神经可塑性密切相关。为此,本研究将GAP-43作为自体移植脾组织内神经再生的检测指标,评估移植脾组织内神经的再支配特点。

张坤等[4]报道自体脾组织移植术后30~60 d,移植脾组织内出现NPY$^+$神经纤维,术后90 d NPY$^+$神经纤维显著增多,180 d分布接近正常脾脏。因此,在本实验中选择术后90 d作为研究时相点。免疫组化染色显示移植脾组织内可见条索状GAP-43$^+$神经纤维,主要分布在新生血管周围,其次是红髓和边缘区,类似于正常脾组织的分布,与文献[3]报道基本一致,说明移植脾组织通过变性、坏死、再生以后又有了正常脾一样的神经支配,预示自体移植脾组织的功能可能受神经的调控。RT-PCR检测结果显示术后90 d,移植组织内mRNA强阳性表达,从基因转录水平揭示了自体脾移植组织内GAP-43$^+$神经纤维是通过再生生长形成的,其再生机制有待于进一步研究。

关键词:自体脾移植;神经生长相关蛋白;神经再生
中图法分类号:R322.21;R394.3 文献标识码:B

参考文献:

[1] Kato N, Nemoto K, Arino H, *et al*. Influence of peripheral inflammation on growth-associated phosphoprotein (GAP-43) expression in dorsal root ganglia and on nerve recovery after crush injury[J]. Neurosci Res, 2003, 45(3): 297-303.

[2] 杨 宏,邱建勇,鞠 躬. GAP-43神经纤维在小鼠脾脏的分布及其性质的研究[J]. 神经解剖学杂志, 1997, 13(1): 6-10.

[3] 杨 宏,王 凌,黄传书,等. 免疫应答中小鼠脾GAP-43神经纤维支配的可塑性-神经纤维数量和分布的变化[J]. 解剖学报, 1998, 29(4): 356-360.

[4] 张 坤,郭光金,高朋芬. 自体移植脾组织神经肽Y阳性神经纤维再生的实验研究[J]. 中国普通外科杂志, 2002, 11(10): 616-619.

(编辑 薛国文)

作者简介:张天飞(1964-),男,重庆市璧山县人,实验师,主要从事脾组织移植的实验方面的研究。电话:(023)68752251

收稿日期:2004-03-20;修回日期:2004-05-21

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net