DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.05.043

经验与短篇

文章编号:1000-5404(2000)05-0506-01

Gqα在哮喘豚鼠肺组织中的表达变化及胸腺素对其影响

Expression of Gqα in the lung tissue of guinea-pig with asthma and the effect of thymosin on it

刘 苇,熊仁平,曹国强,周元国 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所分子生物学中心,重庆 400042)

哮喘的发病机制复杂,已知有众多细胞因子、血活性物质参与,但始终未能找到关键的致病因子或物质。G蛋白是联接多种细胞膜受体与选择性效应器之间信号转导的重要蛋白质,它的水平及活性变化调节着体内绝大多数生理、生化、免疫反应和与其相关的基因表达[1]。本试验通过观察哮喘豚鼠肺组织鸟嘌呤核苷酸结合蛋白qα亚基(G protein qα subunit, Gqα)含量的变化,旨在深入了解哮喘发病的分子机制,进而从分子水平探讨胸腺素治疗哮喘的理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物模型

雄性豚鼠15只(本校实验动物中心提供),体重300~450 g,随机分为正常对照组(NS),哮喘组(AS),胸腺素组(TH)。AS组和TH组分别用100 mg卵蛋白皮下及腹腔内注射致敏豚鼠;AS组动物致敏后,分别于第9,10,13,14及15 d重复激发;TH组于同一时相点按0.3 mg/kg肌注胸腺素;NS组用生理盐水致敏且激发。戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔注射麻醉。动物诱发哮喘后即刻活杀,取心肺组织干冰速冻后-70℃冰箱备用。

1.2 Western Blot杂交分析

参考文献[2]提取膜蛋白并定量。简要过程如下:将冷冻肺置于4℃预冷的含0.4 mmol/L甲苯黄酰氟(PMSF, Sigma公司),1 mmol/L 1,10-菲咯啉(1,10-phenanthroline, Sigma公司),1 mmol/L碘乙酰胺(瑞士Fluka公司)和1 μmol/L抑胃肽A(pepstatin A, Sigma公司)的磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.4)中,匀浆制备膜蛋白,置-70℃储存备用。电泳用11%SDS-PAGE,按每一样品25~50 μg分别上2块胶,1块用于染色确定上样量的一致性,另1块分别用电转移的方式转至醋酸纤维素膜上。将膜用5%的脱脂奶粉封闭后,分别与抗Gqα(按滴度1∶1 200稀释)抗体(美国NEN公司产品)反应1 h,PBS充分洗涤后,用增强型化学发光(ECL)显影药盒(英国Amersham公司)显影,X线片记录影像。DUMAS图象分析系统对X线胶片进行定量分析,结果用测得目标带的吸光度×面积表示,然后按占对照组的百分比进行统计。

1.3 统计学处理

试验结果用$\bar{x}\pm s$表示。

2 结果

对照组,哮喘组,胸腺素组肺膜组织Gqα均为单一带(42×10^3),说明检测的指标可靠。哮喘组肺膜组织Gqα含量显著增加,为对照组的(122±18)%($P<0.05$),胸腺素组肺膜组织Gqα含量显著减少,为对照组的(98±11)%($P<0.05$)。

3 讨论

哮喘的发病机制复杂,至今尚未阐述清楚。G蛋白在细胞内外信息传导中有着极其重要的作用[3],但在哮喘发病中的作用国外研究少见报道,国内更无报道。本研究观察到Gqα为单一带(42×10^3),与文献报道类似[4,5],说明检测的指标可靠。而结果显示Gqα在哮喘豚鼠肺膜组织中的含量显著增加,与国外文献[3]报道一致。具有创新意义的是,我们观察了胸腺素治疗哮喘豚鼠的肺膜组织,其Gqα含量显著减少。

研究证实,Gqα亚基藕联TXA_2, PAF, ET,缓激肽,组织胺等众多炎症介质的受体[3],这些炎症介质的表达变化在哮喘的发生发展中有着重要作用。而Gqα的表达增加可以改变它与受体和效应器的藕联效率,进而改变气道对上述介质的反应能力。因为我们认为Gqα的高表达在哮喘发病中,可能占有重要地位。胸腺素的运用可能抑制或降低以传递有害信号为主的Gqα在哮喘豚鼠肺组织中的表达,从而减轻有害物质的损伤,达到治疗或缓解哮喘的目的。

关键词:G蛋白;哮喘;肺组织;胸腺素
中图法分类号:R562.25 文献标识码:B

参考文献:

[1] Raymond J R. Multiple mechanisms of receptors-G protein signaling [editorial] [J]. Am J Physiol, 1995, 269(2 pt 2): F141-158
[2] 熊仁平,周元国.蛋白免疫印迹法在G蛋白检测中的运用[J].第三军医大学学报,1998,20(2):145-147.
[3] 周元国,王正国.G蛋白及其研究进展[J].生理科学进展,1996,27(3):187-190.
[4] Lee J Y, Uchida Y, Sakamoto T, *et al*. Alternation of G protein levels in antigen-challenged guinea pigs[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1994, 271(3): 1 713-1 720.
[5] Emala C W, Yang J, Hirshean C A, *et al*. G protein Subunits in lung cells[J]. Life Sci, 1994, 55(8): 593-602.

作者简介:刘 苇(1971-),女,云南省玉溪县人,助理实验师,主要从事分子生物学方面的研究。电话:(023)68757731

收稿日期:1999-05-24;修回日期:1999-09-28 (编辑 谢义霞)

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