DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.01.004

ter spinal cord ischemia (SCI) in rats. **Methods:** After 30 min-occlusion and reperfusion of peritoneal aorta above renal artery, the qualitative and quantitative changes of tublinβ and its mRNA expression in injured neurons were determined with immunohistochemistry, in situ hybridization and image analysis. **Results:** Tublinβ and its mRNA expression became lower after SCI, reached the lowest level on the 3rd day and began to restore on the 7th day. On the 14th day after SCI, the mRNA expression returned to normal but tublinβ remained lower. **Conclusion:** Degradation of tublin might be associated with Ca^{2+}-activated neutral proteinase. The separation of tublinβ from its mRNA indicates that tubulinβ is reduced by increased degradation in addition to its transcription and translation.

Key words spinal cord injury; tubulinβ; tublinβ mRNA; rat

帕金森病基因治疗的实验研究*

An experimental study of Parkinson's disease by gene therapy

刘 俊** 蔡文琴*** 张可成 (第三军医大学附属新桥医院神经外科)重庆,400037

帕金森病(PD)是一种常见的中枢神经系统退化性疾病,其治疗方法很多,但都疗效短且存在副作用。因此,应寻找更为可靠有效的治疗方法。利用移植基因工程细胞成为目前寻找治疗 PD最有效方法的突破口。多巴胺(DA)合成的主要调节因素是酪氨酸羟化酶(TH),研究发现 PD病人的 THmRNA和 TH含量明显低于正常人。因此,提供 TH有助于增加 DA的合成而对 PD起治疗作用。目前,国内外均采用单基因(如 TH基因或神经营养因子等)进行 PD的基因治疗研究,取得了不同程度的效果。由于引起 PD的因素很多,单靠给予某一种基因或因子所起的效果有限,同时应用两种或两种以上的基因治疗 PD可能具有更好的疗效。生长相关蛋白质(GAP-43),是一种位于神经元突触前膜上的磷酸蛋白质,对神经纤维生长、发育、再生以及突触功能的维持和神经递质释放起着重要作用。目前国内外尚未见将 GAP-43用于 PD的治疗研究。据此,我们应用重组 DNA技术、细胞培养、脑移植技术等研究方法,将 TH及 GAP-43基因构建入逆转录病毒载体中,再将此重组 DNA转染培养的星形胶质细胞后移植入 PD大鼠脑内,以观察 GAP-43是否能对 PD起到一定的治疗作用,同时了解 GAP-43是否能够增强 TH对 PD的治疗作用。结果如下:① 利用重组 DNA技术,构建了 pN_2ATH-3及 pN_2AGAP-43两种重组逆转录病毒表达质粒。用电穿孔方法将 pN_2ATH-43及 pN_2AGAP-43重组质粒转染包装细胞 PA317,筛选 G418抗性细胞克隆,并用 NIH3T3细胞测定病毒滴度,病毒颗粒效价大约在 5.95×10^{4}~3.30×10^{5} cfu/ml;② 制备了培养的星形胶质细胞,将病毒上清成功地感染了星形胶质细胞,建立了能表达 TH-3蛋白、GAP-43蛋白的胶质细胞模型:胶质细胞/TH-3胶质细胞/GAP-43;③ 将胶质细胞/TH-3胶质细胞/GAP-43移植入 PD大鼠伤侧纹状体内,术后在不同时间内检测 PD大鼠旋转行为的变化。发现 TH胶质细胞移植组大鼠旋转行为改善明显,GAP-43胶质细胞移植组动物旋转行为无明显改善。但 TH/GAP-43胶质细胞联合移植组动物旋转行为改善较 TH胶质细胞移植组更为明显,提示 GAP-43具有促进 TH疗效的作用。④ 术后两个月检测移植区 DA及 DOPAC的含量有所增加,提示移植细胞在局部已分泌 DA,促进了 PD大鼠症状的改善。总之,本实验首先采用 GAP-43与 TH基因联合的双基因表达形式,采用培养的星形胶质细胞作为基因工程细胞,成功地进行了治疗 PD的实验研究,扩大了目的基因和工程细胞的来源,为 PD的治疗开辟了新的方法和途径。当然,进一步探讨其它的基因治疗 PD的方法,以期寻找更好、更有效的治疗途径是我们今后要做的工作。

关键词 基因治疗;帕金森病;GAP-43;TH-3;脑组织移植

中图法分类号 R745.7

(收稿:1997-12-03;修回:1998-01-06)

(编辑 冷怀明)

* 国家自然科学基金资助项目 No,39370686

** 刘 俊,男,31岁,主治医师,博士研究生 *** 基础医学部组织学与胚胎学教研室 重庆,400038

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