DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.06.008

急性肺损伤大鼠下丘脑内 c-fos基因的表达

王兴友* 钱桂生 毛宝龄 (第三军医大学附属新桥医院呼吸内科研究所) 重庆,400037

提 要 目的:探讨急性肺损伤大鼠下丘脑内 c-fos基因的表达规律及其与肺损伤的关系,并观察氯丙嗪对该二者的影响。方法:用6%氯化铵腹腔注射(0.6 ml/100 g)复制大鼠急性肺损伤模型,用氯丙嗪(10 mg/kg)腹腔注射进行预防或治疗,然后用"SP"免疫组化法检测大鼠下丘脑内 c-fos基因的表达。结果:急性肺损伤大鼠下丘脑内有大量 c-fos基因的表达,且呈现一定的时空规律,氯丙嗪可选择性抑制 c-fos基因的表达并同时减轻肺损伤程度,预防作用明显优于治疗作用。结论:该模型急性肺损伤的发生与下丘脑内 c-fos基因表达增加有关,氯丙嗪对该模型肺损伤具有理想的预防作用和较好的治疗作用。其机理可能与抑制下丘脑内某些核团的 c-fos基因表达有关。提示神经因素与 ALI的关系应受重视。

关键词 急性肺损伤;下丘脑;c-fos基因
中图法分类号 R563

急性肺损伤(Acute lung injury, ALI)多继发于创伤、休克等应激情况下,揭示"应激性损伤"可能是各种因素诱发 ALI的一个"共同通路"[1],下丘脑等器官的功能状态与 ALI的发生发展密切相关。根据 c-fos基因的表达是神经元功能激活标志的观点[2-4],本研究利用免疫组化法检测 ALI大鼠下丘脑内 c-fos基因的表达,以探讨下丘脑在 ALI发生发展中的作用。

1 材料与方法

1.1 动物模型的复制与分组

选健康雄性 Wistar大鼠 38只(第三军医大学动物中心提供),体重 200~280 g,随机分为:① 致伤组(n = 14):腹腔注射6%氯化铵(0.6 ml/100 g)致伤[3],然后分5个时点处死动物取脑;② 对照组(n = 6),腹腔注射等量生理盐水 2 h后取脑;③ 治疗组(n = 14):致伤后 0.5 h给氯丙嗪腹腔注射(10 mg/kg),余同致伤组;④ 预防组(n = 4):伤前 0.5 h给氯丙嗪腹腔注射(10 mg/kg),伤后 2 h处死动物取脑。每组取 2~4只动物左肺行 HE染色观察肺损伤情况。

1.2 免疫组化[4]

鼠脑从前至后行冰冻冠状切片,片厚 40μm,切片依次置入正常兔血清(室温 20 min)、兔抗 FOS血清(Sata Oruz Biotechnology Inc产品)(4℃,48 h)、SP药盒 A液(二抗)和 B液(三抗)内(ZMED Laboratories Inc产品)(室温 1~4 h),最后用 GOD(葡萄糖氧化酶,Sigma产品)法呈色,常规脱水、透明和封片。

1.3 切片观察与统计学方法

切片用 Olympus光镜观察,Fos免疫阳性颗粒沉积于胞核,呈黑褐色,用 FLI(c-fos like immunoreactivity)细胞表示 c-fos表达阳性细胞,脑区或核团定位参照包新民和舒斯云编著的《大鼠脑立体定位图谱》进行。数据经微机用统计程序作单、双因素方差分析,用 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 肺脏病理变化

对照组大鼠肺基本正常,致伤组可见肺体积增大,肺表面有大块瘀斑和散在出血点。镜下可见局灶性肺气肿、肺不张、间质充血、肺泡水肿等不同程度病理变化,见图 1。预防组肺损伤较轻,无一例肺泡水肿出现,治疗组病变程度介于预防组与致伤组之间。

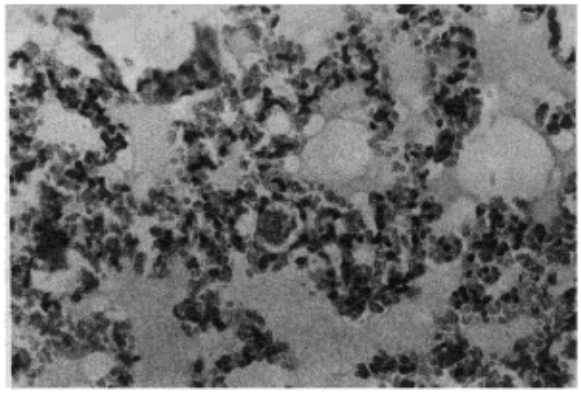


图 1 大鼠肺泡内广泛性肺水肿 (HE× 400)
Fig 1 Widespread pulmonary edema in alveoli of rats (HE× 400)

2.2 大鼠下丘脑内 c-fos的表达

对照组大鼠下丘脑内无 FLI细胞,其余各组下丘脑内均有 c-fos不同程度的表达,一般在伤后 0.5 h即可在下丘脑前区(AH)等部位见到 FLI细胞,在伤后 2 h达高峰。其中以室旁核(PAH)较高,以弓状核增加较快,见图 2、3、4,表 1 预防组动物

* 王兴友,男,36岁,主治医师,硕士,现在成都军区昆明总医院呼吸内科 昆明,650032

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

伤后 2 h下丘脑内 c- fos表达均有不同程度减少,其中以弓状核(ARC)和下丘脑后核(PH)减少更为显著($P < 0.001$),表明氯丙嗪对脑内 c-fos表达的影响存在核团差异,参见表 2

表 1 致伤组动物伤后不同时间下丘脑内 c-fos的表达($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Expression of c-fos gene in hypothalamus at different times after trauma ($\bar{x} \pm s$)

	FLI				
	30 min(n = 2)	1 h(n = 2)	2 h(n = 6)	4 h(n = 2)	8 h(n = 2)
AH	2.50± 1.60	6.25± 1.04	6.5± 1.72	5.38± 2.00	3.0± 1.31
ARC	1.63± 1.41	4.0± 1.60	7.58± 2.46	5.63± 2.39	4.0± 1.60
PAH	5.63± 1.41	7.75± 1.04	13.2± 2.51	6.38± 1.69	4.56± 1.51
PH	7.13± 1.25	8.38± 1.06	13.06± 2.60	10.2± 2.78	3.13± 1.13
SO	3.13± 1.13	4.63± 1.41	10.06± 3.00	10.8± 1.99	3.88± 1.46

表 2 各组动物伤后 2 h下丘脑内 c-fos表达的比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Comparison of expression of c-fos gene in hypothalamus 2h after trauma among different animal groups ($\bar{x} \pm s$)

	FLI		
	Injury(n = 6)	Prevention(n = 4)	Therapy(n = 6)
AH	6.5± 1.72	5.44± 1.75	6.25± 1.72
ARC	7.58± 2.46	4.19± 1.94**	7.07± 2.62
PAH	13.2± 2.51	9.0± 1.77*	11.89± 2.09
PH	13.06± 2.60	6.29± 1.86**	12.22± 2.99
SO	10.06± 3.00	8.0± 2.58	8.89± 2.47

*: $P < 0.05$,**: $P < 0.01$ *vs* injury group

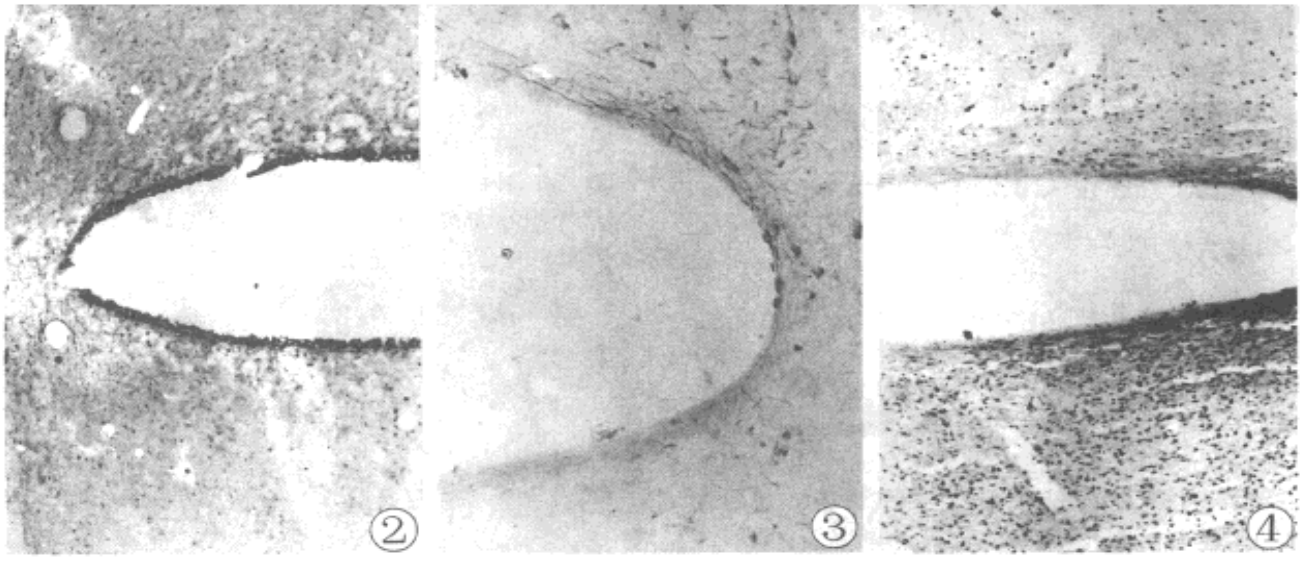


图 2 预防组动物伤后 2 h,下丘脑 FLI细胞减少 (LM× 100)

Fig 2 FLI cells of hypothalamus decrease in prevented animals 2 h after trauma (LM× 100)

图 3 对照组动物下丘脑内未见明显 FLI细胞 (LM× 400)

Fig 3 No FLI cell in hypothalamus of control animals (LM× 400)

图 4 致伤组动物伤后 2 h,下丘脑内有大量 FLI细胞 (LM× 100)

Fig 4 A large number of FLI cells in hypothalamus of traumatic animals 2 h after trauma (LM× 100)

3 讨论

c-fos基因是存在于正常细胞内的一种原癌基因,一般情况下不表达。在某些情况和胞外刺激下该种基因能迅速而短暂地表达,其表达产物 Fos蛋白能与 DNA结合,激活其它"目的基因"的表达,从而使细胞对原刺激作出应答反应,故 c-fos基因的表达被视为神经元功能激活的标志[2~4]。本实验发现 ALI大鼠下丘脑内有大量 FLI细胞出现,表明下丘脑参与了 ALI的调控,为研究下丘脑与 ALI发生发展的关系提供了相应的形态学基础。

在 ALI的发生机理的研究中,IL-1是近年来最受

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

关注的一个介质,在 ARDS患者及各种 ALI模型的血中,均发现 IL-1明显增高,静注 IL-1可复制出 ALI模型。但既往只注意到 IL-1对肺血管内皮的损伤等外周作用。近来有学者提出 IL-1可能进入脑内,通过影响 CNS内神经元的功能,进而反馈调节外周组织的损伤与修复[5]。不少学者给大鼠侧脑室注射 IL-1,发现下丘脑室旁核(PAH)和视上核(SO)等部位均有大量 FLI细胞出现,因此认为 IL-1对 CNS的反应主要是通过激活下丘脑而实现的。在本实验条件下,亦见到下丘脑室旁核和视上核有大量 FLI细胞,表明此二核亦参与了对 ALI的调控。但鉴于此二核可分泌 AVP、CRH及 OT等激素,仅依据本实验尚不能说明是哪一种激素抑或是某一种新物质参与了对 ALI的调节。而 IL-1是否为造成 c-fos表达增加的原因,亦不能确定。但下丘脑作为机体应激反应的整合中枢,在 ALI大鼠下丘脑内的大量 FLI细胞的出现,表明应激(反应)在急性肺损伤发生中具有重要意义,其详细机理值得进一步研究。氯丙嗪曾被证明具有抗应激作用和保护 ALI的作用,在该实验中,发现其能预防性减少下丘脑后核等核团的 c-fos表达,同时可减轻肺损伤。故在脑外伤、严重烧伤等重危情况下,适当应用氯丙嗪,将有益于控制机体过强的应激反应,避免 ALI的发生或加重。

参考文献

1 王兴友,钱桂生.神经因素在 ARDS发病过程中的作用.医学综述, 1996, 2(7): 332

2 王兴友,钱桂生. c-fos技术: 一种可用于 ALI研究的方法.医学综述, 1997, 3(2): 80

3 施新猷 编.医学动物实验方法.北京: 人民卫生出版社, 1983, 262

4 Labiner D M, Butler L S, Cao Z *et al*. Induction of c-fos mRNA by kindled seizures: complex relationship with neuronal burst firing. J Neurosci, 1993, 13: 744

5 Rothwell N J, Hopkins S J. Cytokines and the nervous system Ⅱ: actions and mechanisms of action. TINS, 1995, 15(3): 130

(收稿: 1997-01-14;修回: 1997-10-22)

(编辑　仇玉福)

Expression of c-fos proto-oncogene in the hypothalamus after acute lung injury in rats

Wang Xingyou, Qian Guisheng, Mao Baolin (Department of Respiratory Diseases, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037)

Abstract Objective: To explore the expression of c-fos proto-oncogene in the hypothalamus after acute lung injury (ALI) in rats and its relation to pathogenesis of ALI. Methods: After the model of ALI was established in rats with intraperitoneal injection of 6% ammonium chloride at a dosage of 0.6 ml/200g, the animals were prevented and treated with intraperitoneal injection of chlorpromazine (CPZ) at a dosage of 0.6 ml/100g. Then the expression of c-fos gene in the rat hypothalamus was determined with "SP" immunocytochemical assay. Results: Great degree of the expression of c-fos gene was found in the hypothalamus in rats with ALI and it exhibited some features in space and time. CPZ selectively inhibited the expression of c-fos gene and thus attenuated the severity of ALI. The preventive effects of CPZ were better than its therapeutic effects. Conclusion: The occurrence of ALI is associated with the increase of the expression of c-fos gene in the hypothalamus and CPZ can exert preventive and therapeutic effects on ALI. The mechanism of CPZ's effects might be inhibition of the expression of c-fos gene in some parts of the hypothalamus, which suggests that the relationship between neural factors and ALI must be paid close attention to.

Key words acute lung injury; hypothalamus; c-fos gene; rat

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