DOI:10.16016/j.1000-5404.1996.03.008

PD鼠纹状体内NMDA受体密度及黑质内NMDA受体mRNA含量的观察*

杨 辉 张可成 蔡文琴** (第三军医大学附属新桥医院脑外科) 重庆,630037

提 要 采用核酸斑点杂交定量法和放射配体饱和分析法,分别测定了6-羟基多巴胺(6-OHDA)损毁一侧黑质纹状体通路后同侧黑质内N-甲基-D-门冬氨酸(NMDA)受体mRNA含量及纹状体内NMDA的受体密度,研究发现该通路损毁两周后,NMDA受体密度减少,而NMDA受体mRNA含量无明显改变;损毁3个月后,两者均明显减少。研究结果提示NMDA受体密度于早期减少,反映了该通路多巴胺能神经纤维的降解,损毁后期两者减少,说明NMDA受体位于该通路神经纤维的突触前膜。

关键词 放射配体饱和分析;N-甲基-D-门冬氨酸受体;基因表达;实验性帕金森病

中图法分类号 R742.5-3

自黑质向纹状体发出的多巴胺能神经投射是调节锥体外系运动行为的重要神经纤维,帕金森病(Parkinson's disease,PD)的病因便是该神经通路受损,用6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine,6-OHDA)损毁一侧黑质-纹状体通路能够较好地模拟PD的病理生理状态;兴奋性氨基酸是黑质-纹状体多巴胺能神经通路中重要的神经递质,谷氨酸等兴奋性氨基酸可作用于几种不同亚型的受体而发挥其功能,其中以N-甲基-D-门冬氨酸(N-methyl-D-aspatrate,NMDA)受体尤为重要,但是,NMDA受体在该神经通路上是位于突触前膜,抑或是位于突触后膜,目前尚有争议[1,2]。为了明确NMDA受体的位点是否位于多巴胺能神经纤维末梢上,我们进行了下述内容的研究。

1 材料与方法

^{3}H-glutamate比放射活性为49 Ci/mmol(NEN,美国),6-OHDA(Sigma,美国),NMDA受体质粒(PN60)由日本Nakanishi,S.教授赠送,NMDAR1-PN60cDNA探针按Boehringer Mannheim公司提供方法进行标记。

健康Wistar大鼠25只,雌雄不拘,PD大鼠模型按文献[3]的方法制备,成功的PD模型随机分成两组,即黑质损毁2周组和黑质损毁3月组,并取6只健康同龄鼠作为正常组;放射配体饱和分析见文献[3],细胞总RNA抽提、核酸斑点杂交按文献[4]的方法进行。

数据采用本校编制统计程序进行双因素方差分析,以$\bar{x}\pm s$表示。

2 结果

2.1 黑质区NMDA受体mRNA含量

黑质损毁2周组两侧黑质内NMDA受体mRNA含量差异不显著($P>0.05$),与对照组相比,差异亦不显著($P>0.05$),黑质损毁3月组,损毁侧黑质内NMDA受体mRNA含量明显低于其它两组同侧的含量($P<0.05$),而健侧3组差异不显著($P>0.05$)。

表1 黑质中NMDA受体mRNA含量(ng/mg·湿组织)

Tab 1 The contents of NMDA receptor mRNA in substantia nigra (ng/mg·wet tissue)

Group	n	Intact side (Right)	Lesioned side (Left)
Normal	6	50.36±12.95	47.81±13.24
Lesioned 2 weeks	5	45.18± 9.42	49.26± 8.28
Lesioned 3 months	6	51.70±14.61	20.55± 4.37*

*: $P<0.05$ *vs* intact side and normal group

2.2 纹状体内NMDA受体密度及亲和力

黑质损毁2周组,黑质纹状体通路损毁侧NMDA受体密度较对侧以及对照组双侧的密度明显降低($P<0.05$),受体亲和力无明显改变。黑质损毁3月组,黑质纹状体通路损毁侧NMDA受体密度较对侧以及对照组、损毁2周组两侧的密度明显降低($P<0.05$),受体亲和力无明显改变。

* 国家自然科学基金资助项目,No. 39370248

** 基础部组织与胚胎学教研室 重庆,630038

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

表 2　纹状体内 NMDA 受体密度和亲和力

Tab 2　Density and affinity of NMDA receptors in striatum

Group	n	Intact side		Lesioned side	
		Density (Bmax, fmol/mg·prot)	Affinity (kd, nmol/L)	Density (Bmax, fmol/mg·prot)	Affinity (kd, nmol/L)
Normal	6	163.42±23.36	0.2802±0.007	159.78±20.62	0.2891±0.0053
Lesioned 2 weeks	5	170.85±20.68	0.2793±0.0085	93.45±17.24*	0.2878±0.0109
Lesioned 3 months	6	167.91±27.49	0.2822±0.0077	46.50±12.19**△	0.2911±0.0083

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$ *vs* intact side and normal group；△：$P<0.05$ *vs* lesioned 2 weeks group

3　讨论

众周所知，帕金森病是一种以中脑黑质多巴胺能神经元变性、坏死，基底节多巴胺递质缺乏为特征的慢性退变性疾病。然而，越来越多的证据表明兴奋性氨基酸-谷氨酸也参与了该病的病理生理机理，有研究资料表明黑质、纹状体都接收有谷氨酸能神经纤维，并且，一些谷氨酸能神经元有多巴胺能突触受体，这些受体都能够调节谷氨酸的释放[5,6]。但是，关于 NMDA 受体在黑质-纹状体通路上是位于突触前膜，还是位于突触后膜的研究资料尚不完全。

本研究观察到，在黑质-纹状体通路损毁两周后，同侧纹状体内 NMDA 受体密度减少，黑质内 NMDA 受体 mRNA 表达量没有明显减少，损毁 3 个月后，在上述脑区中两者的含量均显著下降，它表明黑质-纹状体通路损毁早期，纹状体内 NMDA 受体密度便开始减少，NMDA 受体与黑质-纹状体通路之间可能存在密切的关系，若 NMDA 受体位于多巴胺能神经纤维末梢的突触后膜，其密度则会因黑质-纹状体通路的破坏而代偿性地增加，反之，位于突触前膜则会随其破坏而减少；因此，黑质-纹状体通路（多巴胺神经末梢）上可能存在着 NMDA 受体，这与先前的研究结果相符合[7]。黑质内 NMDA 受体 mRNA 含量在黑质-纹状体通路损毁早期无变化，可能与部分健存多巴胺能神经元过度转录有关，但是，这些过度转录出的 NMDA 受体 mRNA 能否被高效翻译成 NMDA 受体，尚有待于更深入地研究。随着此传导通路损毁时间延长，黑质内 NMDA 受体 mRNA 含量和纹状体内 NMDA 受体密度进一步减少的事实，更加支持了 NMDA 受体位于该通路的突触前膜的可能性。这为 PD 的治疗提供了一定的理论依据。为了更深入地证明此研究结果，我们认为采用免疫细胞化学和核酸原位杂交双标技术从形态学上观察，将具有重要意义。

综上所述，NMDA 受体密度于早期出现减少，可能反映了黑质-纹状体通路多巴胺能神经纤维的降解（退变），而后，NMDA 受体密度、NMDA 受体 mRNA 进一步减少，说明 NMDA 受体位于多巴胺能神经纤维的突触前膜。

参考文献

1 Albin RL, Makowiec RL, Hollingsworth ZR *et al*. Excitatory amino acid binding sites in the basal ganglia of the rat: a quantitative autoradiographic study. Neuroscience, 1992; 45:35

2 Decse JM, Godeheu G, Galli T *et al*. L-Glutamate-evoked release of dopamine from synaptosomes of the rat striatum: involvement of AMPA and N-methyl-D-aspartate receptors. Neuroscience, 1992; 47:333

3 杨　辉，张可成，蔡文琴. AM 脑内移植后 PD 鼠纹状体内单胺类神经介质及 D_2 受体变化的研究. 中华实验外科杂志，1995; 12:225

4 杨　辉，蔡文琴，张可成. 胎脑黑质脑内移植矫正 PD 鼠纹状体内脑啡肽 mRNA 过度表达. 中国细胞化学与组织化学杂志，1995; 4:115

5 Ulas J, Weihmuller FB, Brunner LC *et al*. Selective increase of NMDA-sensitive glutamate binding in the striatum of Parkinson's disease, Alzheimer's disease and mixed Parkinson's disease/Alzheimer's disease patients: an autoradiographic study. J Neurosci, 1994; 14:6317

6 Klockgether T, Turske L. NMDA antagonists potentiate antiparkinsonian actions of L-dopa in monoamine-depleted rats. Ann Neurol, 1990; 28:539

7 Krebs MO, Trovero F, Desban M *et al*. Distinct Presynaptic regulation of dopamine release through NMDA receptors in striosome and matrix-enriched areas of the rat striatum. J Neurosci, 1991; 11:1256

（收稿：1995-09-29；修回：1996-05-07）

（编辑　冯崇英）

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

An observation of density of N-methyl-D-aspartate receptors in striatum and mRNA level of N-methyl-D-aspartate receptors in substantia nigra of rats with Parkinson's disease

Yang Hui, Zhang Kecheng, Cai Wenqin (Department of Neurosurgery, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630037)

Abstract After the unilateral striatum passway in substantia nigra was destroyed with 6-hydroxydopamine, the density of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors susceptible to glutaminic acid in striatum and the mRNA level of NMDA receptors in substantia nigra of rats were measured respectively with quantitative nucleic acid spot hybridization and radioligand binding assay. It was found that: (1) Two weeks after the destruction, the density of NMDA receptors in the ipsilateral striatum was decreased whereas the mRNA level of NMDA receptors in the ipsilateral substantia nigra remained the same. (2) Three months after the destruction, both of them were significantly decreased. The fact that the density of NMDA receptors in ipsilateral striatum began to decrease at the early stage after the destruction suggests that the dopaminergic fibers in the passway degenerated. While both were decreased at the late stage after destruction suggests that NMDA receptors are located on the synaptic anterior membrane of the neural fibers in the passway.

Key words radioligand binding assay; N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor; gene expression; experimental Parkinson's disease; rat

巨大胆囊结石致右膈下脓肿一例

A case report of subdiaphragmatic abscess caused by a giant cholelith

李智华 何振平 张海燕 杨占宇 (第三军医大学附属西南医院肝胆外科中心) 重庆,630038

胆囊内巨大结石穿破至右膈下形成脓肿、压迫右肝萎缩极为罕见。如胆囊穿孔导致膈下脓肿易误诊为肝脓肿而延误治疗。

患者,男性,48岁。1995年10月入院。1985年起常感右上腹部隐痛不适,1995年8月因进食高脂餐后症状加重,呈剧烈绞痛,向右侧腰背部放射,伴乏力、纳差、消瘦、发热(T 37.5～39℃),咳白色泡沫痰,夜间尤甚,不能平卧。

查体:巩膜无黄染,右肺呼吸音低,肝浊音界在第4肋间,腹软,右上腹轻压痛,无肌紧,未触及包块。肝、脾肋下未触及,肝区叩击痛(+)。B超检查:右肝顶部上方探及一约1.8 cm液性暗区,胆囊区有5.1 cm强光带伴声影。胸片示右膈抬高,胸膜炎。CT检查:右肝叶与膈肌间有低密度区约4 cm×6 cm,右肝叶萎缩,胆囊上移至右腰区,有5.5 cm×5 cm类圆形高密度影。肝功能:白蛋白29.66 g/L,球蛋白50.40 g/L,白蛋白与球蛋白比例倒置(A/G为0.5)。

手术所见:右上腹广泛粘连,右肝叶萎缩,左肝叶代偿增大,胆囊移位至右腰区,胆总管转位在肝动脉及门静脉后方,胆囊内有巨大结石7 cm×4 cm×4 cm,周围水肿,粘连明显。沿胆囊及肝脏表面分离粘连,显露膈下脓腔约10 cm×8 cm×6 cm,脓肿与胆囊底相连,从脓腔内吸出脓液约350 ml。切除胆囊,结石重约130 g,经胆囊管探查胆总管无结石及狭窄,膈下脓腔内置双套管引流,术后经冲洗引流20 d痊愈出院。

讨 论

因胆囊内结石、胆囊管梗阻、胆囊粘膜坏死、小动脉血栓形成等,常致胆囊坏疽、穿孔,形成胆囊周围脓肿[1]。半数局限于肝下间隙,1/3出现弥漫性腹膜炎。据文献[2]报道,35例穿孔性胆囊炎中,游离穿孔后的死亡率达30%,并发症超过70%,少数因肝右叶破裂出血和肺胆汁栓塞死亡。本例胆囊穿孔至右膈下并形成脓肿,导致长期发热、咳嗽、咳痰、夜间不能平卧,在院外治疗2月无好转。所以当胆囊结石出现剧烈绞痛并伴有长期发热、B超、CT检查发现膈下或肝顶部有液性暗区或低密度区时,应及时手术治疗,才能提高治愈率,降低病死率。

关键词 胆囊结石;右膈下脓肿

中图法分类号 R657.42

参考文献

1. Teefey SA, Baron RL, Radke HM. Gangrenous cholecystitis: new observations on sonography. J Ultrasound Med, 1991;10(11):603
2 傅诚强. 急性非结石性胆囊炎. 国外医学:外科学分册,1995;22(5):270

(收稿:1996-01-10;修回:1996-05-04)

(编辑 冯崇英)

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