DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.04.032

严重烧伤早期大鼠肾脏内皮素及受体、一氧化氮变化与肾功能关系的实验研究*

论文摘要

An experimental study of relationship between endothelin-1, endothelin receptors, nitric oxide in kidney and renal function postburn

吴雄飞 杨宗城 黎 鳌 (第三军医大学附属西南医院烧伤研究所) 重庆,630038

内皮素(ET)强大的缩血管作用和一氧化氮(NO)的舒血管作用构成肾脏血流动力学重要的平衡机制,并对肾功能进行精确的调节。严重烧伤后肾脏ET和NO的变化规律尚无文献报道。根据烧伤后肾脏病理生理学变化以及ET、NO生成分泌和作用特点,我们推测严重烧伤后将引起肾脏ET-1和NO含量、ET受体含量和分布的明显改变,这种改变直接参与烧伤后肾功能损害的发生发展和转归过程。本实验旨在烧伤大鼠模型上观察不同时相点肾脏各部位ET-1和NO含量变化,ET-1及受体亚型基因表达和定位变化;上述变化与肾血流和肾功能的关系;拮抗ET作用、增强NO生成对肾血流和肾功能的改善。

采用Wistar大鼠,凝固汽油烧伤背部制成30%TBSAⅡ度烧伤模型,分别观察烧后1、3、6、12、24 h肾静脉血浆ET-1、NO浓度;肾皮质、外髓、内髓ET-1、NO浓度;肾组织ET-1光镜和电镜免疫组织化学变化;肾组织ET-1、ETA受体、ETB受体mRNA斑点杂交和原位杂交变化。在相同模型上分别应用选择性ETA受体拮抗剂(PD147953)、非选择性ET受体拮抗剂(PD145065)、NO供体(SIN-1)、以及PD145065和SIN-1混合制剂,观察烧伤后1、3、6、12、24 h肾皮质血流量;24 h血浆肌酐(Pcr)、尿素氮(BUN)、内生肌酐清除率(Ccr)、滤过钠排泄分数(FEna)的变化;光镜和透射电镜下肾组织病理学改变。结果发现:大鼠严重烧伤早期,肾血流、肾功能明显下降;肾ET-1基因表达及分泌明显增强,主要分布在血管内皮细胞及平滑肌细胞,系膜细胞,肾小管上皮细胞;NO浓度明显下降,ET-1/NO比值显著升高;肾脏ETA、ETB受体基因表达明显增强,ETA受体主要分布在血管平滑肌细胞,系膜细胞;ETB受体主要分布在肾小管和集合管上皮细胞;烧伤后变性、坏死、脱落的肾小管上皮细胞有大量ET-1聚积,但无ET-1 mRNA分布,此现象未见文献报告,我们认为与ET-1过多聚积上皮细胞导致其变性坏死有关;ET-1亚细胞分布在内皮细胞和小管上皮细胞不同,前者以基底面为主,后者管腔面、基底面均有较多分布,此现象未见文报告,推测与不同类型细胞功能不同有关;ET-1在肾内是以自分泌/旁分泌方式发挥生物学效应;严重烧伤早期,异常增高的ET-1结合于增强表达的ETA受体导致肾小血管收缩肾缺血,结合于ETB受体导致水钠代谢失常,NO下降可加强这种作用;ET-1升高,NO下降均导致GFR下降、钠排泄增加;水排泄下降,因而ET-1/NO上升是烧伤后肾功能损害的重要原因之一;使用ET受体拮抗剂和NO供体可有效改善烧伤后肾缺血及肾功能,两种受体亚型同时阻滞较单独阻滞ETA受体效果好,配合使用NO供体较单独拮抗ET受体效果好。NO供体及配合ET拮抗剂改善肾功能尚未见报道。

关键词 灼伤;肾功能;内皮素;受体;一氧化氮;免疫组化;斑点杂交;原位杂交

中图法分类号 R644

(收稿:1995-07-20;修回:1995-07-27)

乳腺囊性增生病癌变过程和阻止乳腺癌发生的病理学研究

A pathological study on the process of carcinomatous transformation of the breast cystic hyperplastic disease and blocking the development of breast carcinogenesis

姜 军 陈意生 (第三军医大学基础部病理学教研室) 重庆,630038

乳腺癌是妇女最常见和主要引起死亡的恶性肿瘤,乳腺良性疾病癌变是乳腺癌发生的重要原因之一。研究乳腺良性疾病癌变过程中的各种变化及其规律,对于预防和早期发现乳腺癌具有重要意义。通过实验动物模拟人体乳腺癌发生、发展过程,研究预防乳腺癌发生的方法对临床乳腺癌的防治具有重要的理论和实际应用价值。本研究分两部分:(1)通过对乳腺癌囊性增生病癌变过程的研究,了解乳腺上皮细胞从一般性增生、不典型增生到乳腺癌不同阶段的变化及其规律,重点分析不典型增生的细胞生物学变化及其与乳腺癌发生的关系。(2)用二甲基苯蒽复制Wistar大鼠实验性乳腺癌及癌前病变模型,探讨在大鼠乳腺癌发生的启动期和促进期应用三苯氧胺和全反式维甲酸阻止实验性乳腺癌发生中的作用及其机制。主要结果如下:

* 国家自然科学基金资助项目,No. 39290700-03

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

(1)乳腺囊性增生病不典型增生细胞超微结构变化特征主要是细胞膜和细胞核发育不良和去分化现象,且这些变化随不典型增生程度加重更趋明显,在Ⅱ级不典型增生的部分细胞与癌细胞的某些超微结构变化已非常相似,提示乳腺囊性增生病不典型增生向乳腺癌的演变过程及其明显的内在联系。

(2)在不典型增生细胞中表皮生长因子受体(EGFR)和雌激素受体(ER)阳性率均增高,提示其功能及活性改变和有c-erb B_1 基因激活,EGFR和ER含量增加在促进乳腺上皮细胞的异常增生中具有重要作用。

(3)从正常乳腺上皮细胞、乳腺囊性增生病一般性增生细胞、不典型增生细胞到乳腺癌,细胞核仁组成区嗜银蛋白(AgNORs)数量、增殖细胞核抗原(PCNA)表达阳性率和细胞核DNA含量逐渐增加,且随着不典型增生程度加重其细胞增殖特点逐渐接近乳腺癌细胞,提示在乳腺上皮细胞癌变过程中不但有细胞结构和功能的明显变化而且可从多方面反映出其细胞增殖特性的明显异常。

(4)本组检测了ras、c-myc、c-erb B_2 癌基因蛋白和抗癌基因P53蛋白表达,在乳腺囊性增生病部分不典型增生细胞中均有不同程度的表达,提示有相应的癌基因改变。同时发现,在Ⅰ级不典型增生细胞中多为单一癌基因产物表达,Ⅱ级不典型增生中30%有2种癌基因产物表达,而大多数乳腺癌有2种或2种以上癌基因产物的过度表达。因此,推测乳腺囊性增生病不典型增生癌变可能至少需要2种以上癌基因改变,在这个过程中癌基因改变的积累可能是最终导致癌表型出现的原因。

(5)肿瘤相关抗原表达检测结果提示,在大部分乳腺癌和部分不典型增生细胞中有胚胎性肿瘤相关抗原y抗原和免疫抑制性酸性蛋白(IAP)的表达,且随着不典型增生程度的加重至乳腺癌这2种肿瘤相关抗原表达的阳性率逐渐增高,提示在乳腺的不典型增生细胞中,不但有某些癌基因改变及其产物的过度表达,同时还存在胚胎性基因的调控失常和其它异常基因产物的表达。在部分不典型增生细胞中的这些具有癌趋向的异常生物学行为变化与其随后可能发生的癌变均有重要联系。

(6)经本实验观察,二甲基苯蒽诱导Wistar大鼠乳腺癌发生的动态过程是:乳腺导管上皮细胞增生→不典型增生→乳腺。大鼠乳腺癌发生过程不同阶段的细胞超微结构变化特点、DNA含量和AgNORs数量等的变化规律与在人体乳腺囊性增生病癌变过程中观察到的变化相似。

(7)在二甲基苯蒽诱导Wistar大鼠乳腺癌发生的启动期和促进期应用三苯氧胺和/或全反式维甲酸可以明显地延迟和阻止乳腺癌发生,联合应用这两种药物效果更好,无论在二甲基苯蒽诱导大鼠乳腺癌发生的启动期和促进期联合用药均未见乳腺癌发生。

(8)经观察ER表达、细胞超微结构和细胞核DNA含量等变化,结果提示三苯氧胺阻止乳腺癌发生的作用是通过抑制上皮细胞增殖而实现的。应用全反式维甲酸阻止乳腺癌发生的作用机制之一可能是激活了细胞的程序死亡基因,通过诱导细胞向终阶段分化,促使已有异常增生的细胞凋落,从而阻断了乳腺上皮细胞癌变过程的发展。

(9)在二甲基苯蒽诱导大鼠乳腺癌发生的促进期联合应用三苯氧胺和维甲酸组,组织学检查未发现有不典型增生和乳腺癌,该组细胞超微结构、细胞核DNA含量和ER表达等均与对照组正常乳腺上皮细胞的检查结果相似,提示在DMBA诱导大鼠乳腺癌发生的促进期联合应用三苯氧胺和维甲酸可抑制乳腺癌前病变的发展、逆转乳腺癌前不典型增生病变,使其最终向正常细胞分化,预防乳腺癌的发生。

综上所述,乳腺上皮细胞癌变是一个复杂的、有多种因素参与的、逐渐演变的细胞生物学变化过程,其中的很多机制仍有待进一步研究阐明。本研究结果加深了对乳腺囊性增生病不典型增生细胞癌变过程的了解,对于临床病人的处理和监测乳腺癌发生具有一定意义。对乳腺癌前期病变联合应用三苯氧胺和维甲酸可能抑制癌变过程的进展、逆转上皮不典型增生,预防乳腺癌发生。

关键词 乳腺囊性增生病;不典型增生;乳腺肿瘤;癌发生;二甲基苯蒽;预防

中图法分类号 R655.8

(收稿:1995-06-25;修回:1995-07-15)

胶质瘤生物学特性和NDGA诱导分化治疗作用及其机理的研究*

The biological features of gliomas and the effects of NDGA on the growth and differentiation of gliomas and their mechanism

卞修武 史景泉 (第三军医大学基础部病理学教研室)重庆,630038

本研究以人脑胶质瘤外检标本(124例)、人恶性胶质瘤细胞系SHG-44及其异种移植瘤和实验性大鼠胶质瘤为材料,在研究胶质瘤增殖活性和一些癌基因和肿瘤抑制基因产物表达的基础上,重点观测去甲二氢愈创木酸(nordihydroguaiaretic acid,NDGA)对胶质瘤生长、分化的影响,探讨其体外和体内抗肿瘤作用及其机制。主要结果如下:

(1)核仁组成区嗜银蛋白(AgNORs)、增殖细胞核抗原(PCNA)、癌基因c-erbB-2和P^{21} ras、表皮生长因子(EGF)及其受体(EGFR)、P^{53}蛋白表达的组织化学和免疫组化研究显示,AgNORs颗粒图像分析和PCNA免疫组化反应强度能反映胶质瘤增殖活性,并与胶质瘤分化和恶性程度相关;它们对于了解胶质瘤的生物学特性、患者预后有较大的辅助作用。c-erbB-2、

(下转353页)

* 国家自然科学基金资助项目,No. 39170341

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