

·论著·

新生鼠缺氧缺血性脑病蛋白激酶C与 三磷酸肌醇及c-fos表达关系探讨

王华, 韩玉昆, 吴保敏

(中国医科大学第二附属医院儿科, 辽宁 沈阳 110004)

[摘要] 目的 对新生大鼠缺氧缺血性脑病(HIE)第二信使蛋白激酶C(PKC)和1,4,5-三磷酸肌醇(IP₃)及c-fos基因蛋白表达的关系进行研究。方法 生后7 d龄Wistar大鼠采用结扎右侧颈总动脉后放入含5%氧气和95%氮气的密闭容器20 min的方法制作HIE模型,分别于造模后0,4,12,24,48,72 h及7,14,21 d留取标本。对照组只做假手术,时间点与HIE组一致。PKC蛋白定量采用Lowry法,活性测定采用 γ -³²P催化活性测定法。IP₃测定采用放射受体竞争结合法,c-fos基因蛋白表达采用免疫组织化学染色法。结果 与对照组比,HIE新生鼠脑皮质、海马神经细胞膜PKC活性降低($P < 0.05$ 或 0.01),脑皮质神经细胞胞浆PKC活性升高($P < 0.01$),海马神经细胞胞浆PKC活性变化不大;动态观察PKC活性显示上述改变在造模后72 h内明显,并持续到14 d,造模后21 d基本恢复正常。与此同时,脑皮质、海马神经细胞IP₃含量降低,丘脑IP₃含量升高,以上改变在14 d基本恢复正常。新生鼠HIE造模后即刻脑组织各部即有不同程度的c-fos表达,且于缺氧缺血后4 h达高峰,以后强度逐渐降低,并持续至72 h。脑皮质c-fos表达以Ⅰ层明显,海马以CA1和DG区明显,CA3区也有表达,丘脑c-fos表达稍有增加。结论 HIE诱导第二信使PKC及IP₃发生变化,缺氧缺血激活的PKC可调节c-fos基因表达,持续的PKC活性降低及c-fos基因蛋白表达参与神经细胞损伤过程。

[中国当代儿科杂志,2003,5(3):210-213]

[关键词] 脑缺血;脑缺氧;蛋白激酶C;三磷酸肌醇;c-fos

[中图分类号] R-332 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2003)03-0210-04

Relationship Among the Changes of Protein Kinase C, Inositol_{1,4,5}-Trisphosphate and c-fos Expression in Hypoxic-Ischemic Encephalopathy of Neonatal Rats

Hua WANG, Yu-Kun HAN, Bao-Min WU. Department of Pediatrics, Second Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, China (Email: wanghua62@hotmail.com)

Abstract: **Objective** To study the role of the changes of second messenger protein kinase C (PKC), inositol_{1,4,5}-trisphosphate (IP₃) and expression of immediately-early gene c-fos protein (c-fos) in the pathogenesis of hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) of neonatal rats. **Methods** Fifty-seven 7-day-old Wistar rats were put into an air-tight container with 5% O₂ and 95% nitrogen for 20 minutes after their right common carotid arteries were occluded, and then they were sacrificed at 0, 4, 12, 24, 48 and 72 h, and 7, 14 and 21 d after hypoxic-ischemic (HI) insult. The rats experienced only pseudo-operation were used as the controls. PKC activity was measured by the incorporation of [γ -³²P] into a specific substrate peptide in the cytosolic and particulate fraction respectively. IP₃ was determined by the radioreceptor binding assay. C-fos expression was detected by immunohistochemical method. **Results** Compared with the non-HI controls, PKC activities in particulate fractions in both cerebral cortex and hippocampus decreased, whereas increased in cytosol in cerebral cortex and remained within the normal range in cytosol in hippocampus at 0, 4, 12, 24, 48 and 72 h, and 7 d after HI. The changes of PKC activities were obvious within 72 hs and lasted to 14 d after HI. A decrease of the IP₃ level in cerebral cortex and hippocampus and an increase of the IP₃ level in thalamus were noted after HI. The changes of the IP₃ level restored to normal on 14 d after HI. The expression of c-fos was found in different parts

[收稿日期] 2002-08-28; [修回日期] 2003-01-04

[基金项目] 教育部留学归国人员科研启动基金(教外司留[2001]345号)

[作者简介] 王华(1962-),女,博士,副教授。主攻方向:小儿神经系统疾病。

[通讯作者] 王华,辽宁省沈阳市和平区三好街36号,邮编:110004。

of brain immediately after HI and peaked at 4 h, and thereafter, its density gradually decreased and lasted to 72 h. The expression of c-fos was obvious in layers of cortex, CA1 and DG of hippocampus respectively, and slightly increased in thalamus. **Conclusions** HI could induced the changes of the second messengers PKC and IP_3 . The continuous PKC down-regulation and c-fos gene expression may take part in neuron injuries during hypoxic-ischemic brain injury.

[Chin J Contemp Pediatr, 2003, 5(3): 210 - 213]

Key words: Cerebral hypoxia; Cerebral ischemia; Protein kinase C; Inositol_{1,4,5}-triphosphate; c-fos

许多研究表明钙超载是缺氧缺血性脑病(hypoxic-ischemic encephalopathy, HIE)时神经细胞死亡的最终途径。因此,围绕着以钙为中心的信息传递及基因调控的研究对于探索 HIE 的发病机制十分重要。本文对 HIE 脑第二信使蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)、1,4,5-三磷酸肌醇(inositol_{1,4,5}-triphosphate, IP_3)及早期-快反应基因(c-fos)的蛋白变化进行观察,旨在探讨三者 in HIE 发病中的作用。

1 材料与方法

1.1 动物模型建立

生后 7 d 龄 Wistar 大鼠 57 只,体重 9~19 g,雌雄不限。乙醚麻醉下无菌分离并结扎右侧颈总动脉(外科手术线 $D = 0.3$ mm),手术后实验鼠在温水(35 ± 2) $^{\circ}C$ 中孵育的容器内放置 1~2 h 后,放入含 5% O_2 , 95% N_2 的密闭容器中(500 mm^3),该容器配有进出气孔,进入气体的流速是 5 L/min。3 只鼠在实验中死亡,未记入实验,余鼠分别于 HIE 模型制成后 0, 4, 12, 24, 48, 72 h 及 7, 14, 21 d 迅速断头取脑(每组 6 只),然后小心分离双侧额叶脑皮质、海马及丘脑(冰面上, 5 min 内),立刻置液氮中冷冻, $-80^{\circ}C$ 保存待测。对照组为生后 7 d 龄 Wistar 大鼠 42 只,只做皮肤切口及动脉分离,分别于生后 7, 8, 9, 10, 14, 21, 28 d 断头取脑留取标本(每组 6 只)。以上各组整体脑剥离后用 4%多聚甲醛固定以备免疫组织化学染色使用。

1.2 PKC 测定

分别取各部位脑组织样品加入 1 ml 含有 20 mmol/L Tris-HCl, pH 7.5 2 mmol/L EDTA, 10 mmol/L EGTA, 0.25 mmol/L 蔗糖及其他蛋白酶抑制剂的缓冲液中,在 0~4 $^{\circ}C$ 下充分超声粉碎, 4 $^{\circ}C$ 下 330 000 r/min 离心 1 h 以分离出细胞浆和细胞膜,上清即为胞浆蛋白。将上述沉淀加入 1 ml 含有 1% Triton X-100, 5 mmol/L EGTA 和 2 mmol/L EDTA 的缓冲液中混匀, 4 $^{\circ}C$ 下 100 000 g/min 离心 1 h。取皮质、海马胞浆及 TritonX-100 处理的胞

膜蛋白样品各 20 μ l(相当于 0.5 mg 蛋白),分别加入含有 0.5 mol/L Tris-HCl, pH 7.5 的 25 mmol/L $MgCl_2$, 12.5 mmol/L $CaCl_2$, 0.1% PS, 2% DG, 0.25 mmol/L 冷 ATP, 0.5% Histone s, γ - ^{32}P -ATP 的 30 μ l 混合液中, 30~7 min 后,取反应液 25 μ l 点于 Whatman P₈₁ 强离子交换体上, Backman 液闪仪计数各样品的 cpm 值。PKC 活性测定所需的蛋白定量采用 Lowry 法。

1.3 IP_3 测定

冻存的脑组织 4 $^{\circ}C$ 下匀浆,然后加入 15%(v/v)三氯乙酸 2 ml 进一步超声粉碎后,冰水中孵育 5 min 后, 4 000 r/min, 4 $^{\circ}C$ 离心 40 min 以沉淀变性蛋白,上清用水饱和二乙醚 3 ml, 2 000 g/min, 4~10 min 重复离心洗涤 3 次后,弃上清,剩余部分-20 $^{\circ}C$ 冻存待测。取 500 μ l TCA 提取物用 50 μ l 2 mmol/L $NaHCO_3$ (pH 7.5) 进行中和, 0~4 $^{\circ}C$ 孵育 15 min 后 5 000 g/min, 4 $^{\circ}C$ 离心 10 min 以终止反应,弃上清,沉淀部分加水 200 μ l 混匀后,于含有 10 ml H_2O 液闪液的液闪杯中暗化过夜, Backman 液闪仪测放射性。在每一次测量中,均以 0.19~25 pmol/L 的未标记的 IP_3 替代待测物制作标准曲线。

1.4 c-fos 免疫组织化学染色

按免疫组织化学染色常规方法进行。c-fos 抗体(Santa Cruz 美国)1:100 稀释。c-fos 表达结果强度判定阴性(-):细胞内无着色;弱阳性(+):细胞内淡黄色颗粒;阳性(++):细胞内见黄色颗粒;中等阳性(+++):细胞内见较深棕黄色颗粒;强阳性(++++) :细胞内见大量深棕黄色颗粒。

1.5 HE 染色

制作 5 μ m 石蜡切片,经二甲苯脱蜡及梯度酒精水化后,苏木素染核,细胞质用伊红染色,梯度酒精脱水、二甲苯透明后树胶封片,显微镜下观察。大脑皮质从皮质表面向内分为 6 层,即:分子层;外颗粒层;锥体细胞层;内颗粒层;节细胞层;多形细胞层。

1.6 统计学分析

结果以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 t 检验行两样本均数比较。

2 结果

2.1 HIE 新生鼠脑皮质 PKC 活性变化

HIE 新生鼠脑皮质神经细胞胞膜 PKC 活性为 (284.01 ±46.12) mol/ mg, 低于对照组 [(628.22 ± 113.63) mol/ mg], 差异有显著性 ($P < 0.05$); 细胞胞浆 PKC 活性高于对照组 [(647.78 ±90.74) mol/ mg vs (248.67 ±14.66) mol/ mg], 差异有显著性 ($P < 0.01$); HIE 新生鼠神经细胞胞浆 PKC 活性高于胞膜 [(647.78 ±90.74) mol/ mg vs (284.01 ±46.12) mol/ mg] ($P < 0.01$)。动态观察 PKC 活性变化, 结果显示上述改变在造模后 72 h 内明显, 并持续至 14 d, 造模后 21 d PKC 活性恢复正常。见图 1。

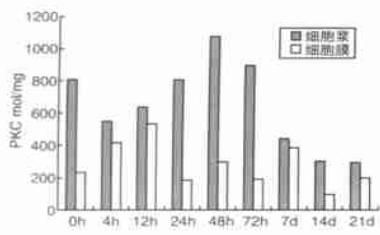


图 1 缺氧缺血新生鼠脑皮质细胞浆、细胞膜 PKC 活性变化
Figure 1 Changes of cytosolic and particulate PKC activity in cerebral cortex in neonatal rats after hypoxic-ischemia

2.2 HIE 新生鼠脑海马 PKC 活性变化

HIE 新生鼠海马神经细胞胞膜 PKC 活性为 (323.33 ±25.81) mol/ mg, 低于对照组 [(514.00 ± 56.84) mol/ mg] ($P < 0.01$); 细胞胞浆 PKC 活性与对照组差异无显著性 [(627.33 ±107.3) mol/ mg vs (622.67 ±124.84) mol/ mg] ($P > 0.05$); 神经细胞胞浆 PKC 活性高于胞膜, 差异有显著性 ($P < 0.01$)。这一变化在 HI 后 72 h 内显著。见图 2。

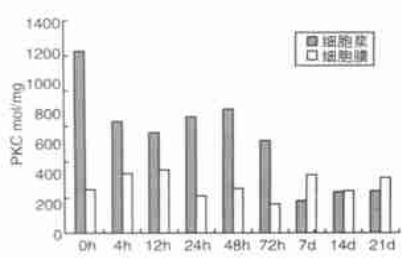


图 2 缺氧缺血新生鼠海马神经细胞胞浆、细胞膜 PKC 活性变化
Figure 2 Changes of cytosolic and particulate PKC activity in hippocampus in neonatal rats after hypoxic-ischemia

2.3 HIE 对 IP₃ 的影响

与对照组比较, HIE 造模后海马神经细胞 IP₃ 降低 ($P < 0.05$); 丘脑 IP₃ 升高 ($P < 0.01$); 脑皮质 IP₃ 也有降低, 但其变化无统计学意义。见表 1。动态观察造模后 IP₃ 含量变化, 结果显示: 脑皮质 IP₃ 在 4, 12, 72 h 明显降低, 余时间点同正常对照组比差异无显著性; 海马各时间点 IP₃ 稍降低, 但无统计学意义; 丘脑 IP₃ 除 0, 24 h 明显升高外, 其他各时间点持续在较高水平。

表 1 缺氧缺血性脑病时 IP₃ 的变化

Table 1 Changes of IP₃ during hypoxic - ischemic encephalopathy (n = 36, $\bar{x} \pm s$, pmol/ mg)

组别	皮质	海马	丘脑
对照组	132.53 ±40.1	87.59 ±18.36	246.48 ±37.27
HIE 组	79.44 ±45.11	61.60 ±11.55 ^a	447.82 ±58.63 ^b

注: a 与对照组比较 $P < 0.05$; b 与对照组比较 $P < 0.01$

2.4 HIE 时 c-fos 表达的改变

对照组生后第 7~9 天脑皮质各层 c-fos 微弱表达, 以锥体细胞层明显, 第 10 天鼠脑 c-fos 表达达高峰, 之后表达强度逐渐降低, 第 21~28 天 c-fos 表达几乎消失。7~10 d 海马 c-fos 表达主要见于 CA1 及 DG 区, 14 d 后无 c-fos 表达。丘脑各核团 c-fos 表达以生后第 9~10 天较强, 以后无明显表达。见表 2。

表 2 对照组不同日龄新生鼠脑 c-fos 表达

Table 2 Intensity and distribution of c-fos expression in the brain of control group of different age

		7 d	8 d	9 d	10 d	14 d	21 d	28 d
脑皮质		-	-	-	-	-	-	-
		+	+	+	+	-	-	-
		++	++	++	+++	+	±	±
		+	+	+	+	-	-	-
		+	+	+	+	-	-	-
海马	CA1	-	-	-	-	-	-	-
	CA2	+	+	+	+	-	-	-
	CA3	-	-	-	+	-	-	-
	CA4	-	-	-	±	-	-	-
	DG	+	+	+	+	-	-	-
丘脑		+	+	++	++	±	±	±

HIE 造模后即刻 c-fos 表达, 并于 4 h 达高峰, 以脑皮质 - 层及海马 CA1, DG 区表达明显, CA2 和 CA3 区也有表达。12 h 后脑皮质、海马 c-fos

表达逐渐减少,并持续至 72 h。7 d 时仅见 层脑皮质 c-fos 表达,海马各区无表达。14 d,21 d 脑皮质、海马 c-fos 表达消失。见表 3。(图 3,4 见封)。

表 3 HIE 后不同时间新生大鼠脑 c-fos 表达变化
Table 3 Expression of c-fos in brain of neonatal rats at different time after HIE

		0 h	4 h	12 h	24 h	48 h	72 h	7 d	14 d	21 d
脑皮质		-	-	-	-	-	-	-	-	-
		+	++	+	+	+	±	-	-	-
		++	++	++	++	++	+	+	±	-
		++	++	+	++	+	±	-	-	-
		+	++	±	+	±	-	-	-	-
海马	CA1	++	++	+	++	+	+	±	-	-
	CA2	+	+	±	+	-	-	-	-	-
	CA3	±	+	+	+	±	±	-	-	-
	CA4	±	+	±	+	-	-	-	-	-
	DG	++	++	±	++	+	±	-	-	-
丘脑		+	++	±	+	+	+	±	-	-

2.5 HIE 脑 HE 染色变化

造模后即刻神经细胞未见明显变化,4 h 神经元水肿,个别皮质、海马神经元嗜伊红增强,12 h 神经元水肿明显,72 h 皮质锥体细胞、海马 CA1 区神经元数量开始减少,7 d 时神经元大量丢失、死亡,神经胶质增生,个别部位可见软化灶及出血。(图 5 ~ 7,见封)。

3 讨论

正常情况下,PKC 以无活性状态存在于真核细胞浆中,当二酯酰甘油(diacylglycerol, DAG)及磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)与之结合后,其构象发生改变,转移至细胞膜上,成为有活性的 PKC。本实验对 HIE 脑 PKC 的研究结果表明:脑皮质和海马神经细胞膜 PKC 的活性明显降低,并持续至 HIE 造模后 14 d;脑皮质的神经细胞浆 PKC 活性升高,海马细胞浆中的 PKC 活性保持正常。Aronowski^[1]等观察到成年雄性大鼠脑缺血 20 min 后,海马和脑皮质中 PKC 的活性分别降低了 42 %和 26 %。当再灌注 2 h 和 24 h,PKC 活性仍持续较低水平,这与我们的实验结果相一致。PKC 活性降低的原因可能与 HIE 时激活或产生了 PKC 的抑制因子,广泛性磷酸化或自磷酸化使 PKC 发生降解及 PKC 发生蛋白溶解而使其活性下调有关。一些资料还显示,激活的 PKC 各亚型的再分布可能是其活性下调

的另一个原因^[2]。

HIE 可导致广泛性神经元死亡。本实验中观察到,PKC 活性的降低先于组织学检查中所见的神经元坏死,提示 PKC 参与导致 HIE 的早期过程,其作用机制可能与 Ca²⁺ 内环境稳定调节有关。虽然 PKC 在由磷脂酰二磷酸肌醇启动的一系列细胞内反应过程中被激活,而由 DAG 激活的 PKC 对磷脂酰肌醇水解有着负反馈作用,缺少这一抑制作用会导致 IP₃ 与其代谢产物的失衡。另一方面,PKC 可激活控制 Ca²⁺ 平衡具有重要作用的 Ca²⁺ - ATP 酶和 Na⁺ - Ca²⁺ 交换酶。PKC 活性受到抑制可导致细胞内 Ca²⁺ 含量升高^[3]。除此之外,HIE 初期由 NMDA 而引起的 Ca²⁺ 的细胞内移也可激活 PKC,并可进一步增加 Ca²⁺ 内流,加重神经元损害。

细胞内信号传递系统中 IP₃ 在缺血缺氧性脑损伤发病机制中的作用受到广泛的注意。本研究观察到 HIE 新生鼠脑皮质和海马中的 IP₃ 减少,而丘脑中的 IP₃ 明显增高,本结果与 Nagata^[4]的结果基本一致。缺血和/或缺氧能够导致选择性神经元缺失:海马对缺血和/或缺氧最敏感,其次是纹状体、大脑新皮质、丘脑等。本实验研究结果也显示海马广泛性 IP₃ 降低,脑皮质次之,丘脑升高。尽管这一现象的确切原因尚不清楚,推测可能与这些部位的神经解剖、局部血运供应及生理功能有关。

正常神经系统发育中,c-fos 基因表达参与细胞生长、分化、信息传递、学习和记忆等生理过程,还与多种疾病的发生、发展有关。本研究结果发现:新生鼠 HIE 后即刻脑组织各部即有 c-fos 表达,且不同部位 c-fos 表达不同。c-fos 表达于 HIE 后 4 h 达高峰,以后强度逐渐降低,并持续至 72 h。已知 HIE 后脑出现二次血流重新分布,第一次是供应非重要器官血流减少,以保证脑、心脏血液灌注量,第二次是脑内血流重新分配,产生选择性易损伤区。结合本文 HE 染色及 c-fos 表达研究,我们可以推测:早期、广泛、持续短暂的 c-fos 表达是机体第一次重新血流分配、神经元轻度损伤的反映,在此阶段因 c-fos 基因的激活,机体开始了对神经元结构与功能的抗 HIBI 损伤的修复过程。而明显、持续时间较长的 c-fos 表达与神经元选择性易损伤有关,是神经元将要死亡的标志^[5]。

近年来 PKC 及第二信使 Ca²⁺, IP₃ 对 c-fos 基因表达的调控作用引起了人们的注意。Tran 等^[6]发现细胞内游离钙为 c-fos 转录激活作用所必需,降低或增加钙内流可抑制或促进 c-fosmRNA 表达,

(下转第 218 页)

用,摸索合适的用药剂量和把握用药时机十分重要。

[参 考 文 献]

[1] Small DL, Morleg P, Buchan AM. Biology of ischemic cerebral cell death [M]. Progress in cardiovascular disease, 1999, 42(3): 185 - 207.

[2] 韩哲生,曹美鸿. 颅内压与颅内压增高 [M]. 兰州:甘肃科学技术出版社,1993, 310 - 311.

[3] 杨吉生,丁里,沈达炜,等. 与 SPECT 比较评价 TCD 对脑缺血的诊断意义 [J]. 中华核医学杂志,1998, 18(2): 106 - 107.

[4] Beckstead JE, Tweed WA, Lee J. Cerebral blood flow and metabolism in man following cardiac arrest [J]. Stroke, 1978, 9(6): 569 - 573.

[5] 刘峰,于有亮,孙淑娟,等. 尼卡地平与氯胺酮对大鼠脑缺血再

灌注损伤的影响 [J]. 中华麻醉学杂志,1999, 19(6): 379.

[6] 曹权. 尼莫地平对脑复苏影响的实验研究 [J]. 南京医科大学学报,1999, 19(2): 99 - 100.

[7] Vibulsresth S, Dietrich WD, Busto R, et al. Failure of nimodipine to prevent ischemic neuronal damage in rats [J]. Stroke, 1987, 18(1): 210 - 216.

[8] Devuyt G, Bogousslavsky. Clinical trial update: neuroprotection against acute ischemic stroke [J]. Current Opinion In Neurology, 1999, 12(1): 73 - 79.

[9] 周青山,黄海波,余金甫,等. 氯胺酮对不完全性脑缺血的保护作用 [J]. 中华麻醉学杂志,1997, 17(2): 106 - 108.

[10] Hoffman WE, Pelliqrino D, Werner C, et al. Ketamine decrease plasma catecholamines and improves outcome from incomplete cerebral ischemia in rats [J]. Anesthesiology, 1992, 76(5): 755 - 762.

(本文编辑:俞燕)

(上接第 213 页)

抑制 PKC 活性可减少 c-fos mRNA 水平。Soh 等^[7]采用基因突变功能分析的方法,对 PKC 家族成员对 c-fos 表达的作用进行了分析,结果发现:PKC α , PKC ϵ 对 c-fos 基因表达的信号传递起决定作用,而 PKC δ , PKC θ 则不参与此信号传递过程。本研究发现 HIE 时第二信使变化与 c-fos 表达基本一致,但 PKC 活性降低持续时间更长。表明 HIE 时谷氨酸 - MNDA 受体激活后,IP₃ 释放增加,钙通道开放,PKC 激活等第二信使改变可能是 c-fos 基因表达的前提条件。除此之外,持续长久的 PKC 激活状态所致的细胞能量储存耗竭、酶类磷酸化与非磷酸化失衡是导致细胞受损或死亡另一重要因素。

[参 考 文 献]

[1] Aronoski J, Waxham MN, Grotta JC, et al. Neuronal protection and preservation of calcium/calmodulin - dependent protein kinase II and PKC activity by dextrophan treatment in global ischemia [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1993, 13(2): 550 - 557.

[2] Katsura K, Kurihara J, Siesjo BK, et al. Acidosis enhance translocation of PKC but not Ca²⁺/calmodulin - dependent protein kinase II to cell membranes during complete cerebral ischemia [J]. Brain Res, 1999, 849(1 - 2): 119 - 127.

[3] Mork AC, Zhang GH, Martinez JR. Modulation of Ca²⁺ mobilization by PKC in rat submandibular acinar cells [J]. J Cell Biochem, 1999, 72(1): 47 - 55.

[4] Nagata E, Tanaka K, Suzuki S, et al. Selective inhibition of inositol_{1,4,5} - trisphosphate - induced Ca²⁺ release in the CA1 region of the hippocampus in the ischemic gerbil [J]. Neuroscience, 1999, 93(3): 995 - 1001.

[5] Oorschot DE, Black MJ, Rangi F, et al. Is fos protein expressed by dying striatal neurons after hypoxic - ischemic brain injury [J] Exp Neurol, 2000, 161(1): 227 - 233.

[6] Tron PO, Hinman LE, Unger GM, et al. A wound - induced [Ca²⁺]_i increase and its transcriptional activation of immediate early genes is important in the regulation of motility [J]. Exp cell Res, 1999, 246(2): 319 - 326.

[7] Soh JW, Lee EH, Prywes R, et al. Noval roles of specific isoforms of PKC in activation of the c-fos serum response element [J]. Mol Cell Biol, 1999, 19(2): 1313 - 1324.

(本文编辑:俞燕)

新生鼠缺氧缺血性脑病蛋白激酶 C 与 三磷酸肌醇及 c-fos 表达关系探讨

(正文见第 210 页)

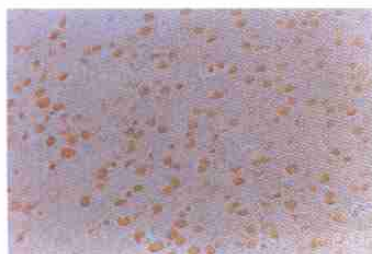


图 3 HIE 造模后 4 h 脑皮质 c-fos 明显表达 (SP 染色, × 400)
Figure 3 Obvious expression of c-fos in cerebral cortex in neonatal rat brain 4 h after HIE (SP × 400)

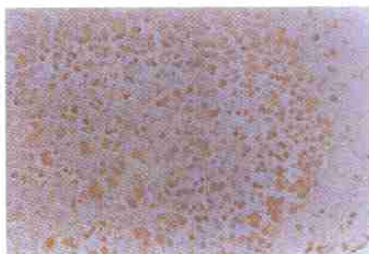


图 4 HIE 造模后 4 h 脑海马 c-fos 明显表达 (SP 染色, × 400)
Figure 4 Obvious expression of c-fos in hippocampus in neonatal rat brain 4 h after HIE (SP × 400)

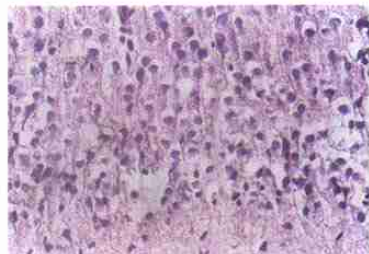


图 5 HIE 造模后 4 h 脑皮质神经元水肿 (HE 染色, × 400)
Figure 5 Neuronal edema in cerebral cortex in neonatal rat brain 4 h after HIE (SP × 400)

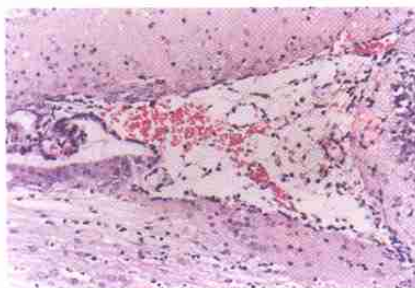


图 6 HIE 造模后 4 h 脑室内出血 (HE 染色, × 400)
Figure 6 Intraventricular hemorrhage in neonatal rat brain 4 h after HIE (HE × 400)

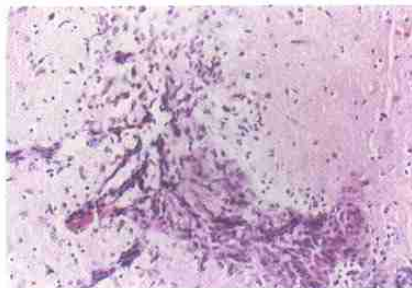


图 7 HIE 造模后 7 d 脑室旁软化灶伴机化 (HE 染色, × 400)
Figure 7 Organized focal periventricular necrosis in neonatal rat brain 7 d after HIE (HE × 400)

婴幼儿促纤维增生性星形细胞瘤的病理研究

(正文见第 269 页)

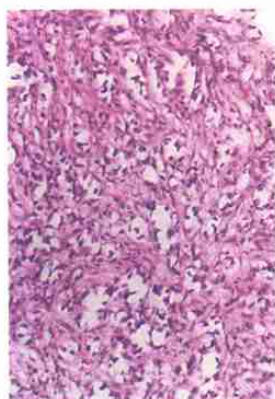


图 1 DIA 中瘤细胞排列成束状或车辐状 HE × 100

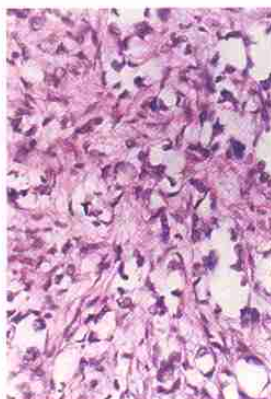


图 2 DIA 中纤维性基质间散在的或集团状分布的星形细胞样细胞 HE × 400

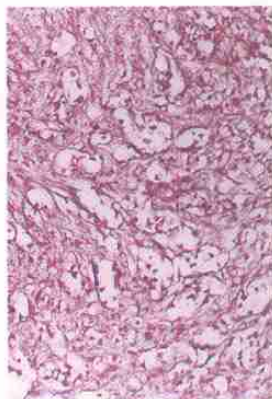


图 3 瘤组织部分区域嗜银纤维密集, 部分区域呈岛屿状的无嗜银纤维或嗜银纤维稀疏区 Gomori × 100

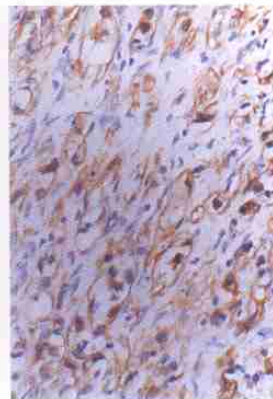


图 4 瘤细胞呈 GFAP 阳性 DAKO Envision × 400