

· 论 著 ·

急性脑缺血小鼠脑组织中转化生长因子- β 1 的表达及意义

李府¹, 郑立波², 薛波²

(1. 山东大学齐鲁医院儿科低温医学研究室, 山东 济南 250012; 2. 胜利石油管理局胜利医院儿科, 山东 东营 257055)

【摘要】目的 转化生长因子- β 1(TGF- β 1)在脑损伤的发生、发展等过程中发挥着重要作用,实验性脑损伤动物可有 TGF- β 1 的高表达。本文探讨急性脑缺血小鼠脑组织中 TGF- β 1 的表达情况及其意义。**方法** 20 只小鼠随机分为正常对照组和脑缺血模型组。通过结扎小鼠左侧颈总动脉制备脑缺血模型。原位杂交方法检测脑组织中 TGF- β 1 mRNA 的表达。**结果** 模型组小鼠脑组织中 TGF- β 1 的表达程度较高,其中 8 例为Ⅲ级,2 例为Ⅱ级;而在正常对照组小鼠脑组织中基本不表达 TGF- β 1,仅 1 例表达为Ⅰ级。**结论** TGF- β 1 可能与动物缺血性脑损伤的发生有关。
[中国当代儿科杂志, 2003, 5(5): 429-430]

【关键词】 转化生长因子- β 1; 脑缺血; 小鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1008-8830(2003)05-0429-02

Expression of Transforming Growth Factor- β in Brain Tissue After Acute Cerebral Ischemia in Mice

Fu LI, Li-Bo ZHENG, Bo XUE. Department of Pediatrics, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, China (Email: lifu1970@sina.com)

Abstract: Objective In recent years there has been an increasing interest in the evaluation of the neuronal responses to ischemic insult. Some cytokines, including transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1), are overexpressed after experimental brain damage in animals. This study aimed at the expression of transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1) in brain tissue after acute cerebral ischemia in mice. **Methods** Twenty mice were randomly assigned into a normal control group and a cerebral ischemia model group (n = 10 for each). The models of cerebral ischemia were established through ligating the left common carotid artery. The level of TGF- β 1 mRNA expression was detected by in situ hybridization. **Results** In the model group, the brain tissue presented high levels of TGF- β 1 mRNA expression: Grade III in 8 cases and Grade II in 2 cases, whereas in the normal control group only one case presented Grade I of TGF- β 1 mRNA expression. **Conclusions** TGF- β 1 may participate in the pathogenesis of acute cerebral ischemia in mice.

[Chin J Contemp Pediatr, 2003, 5(5): 429-430]

Key words: Transforming growth factor-beta 1; Cerebral ischemia; Mouse

转化生长因子- β 1(transforming growth factor-beta 1, TGF- β 1)是近几年发现的存在于中枢神经系统、血液、骨骼等脏器中的多功能细胞因子,广泛参与神经元及胶质细胞的分化增殖,在脑损伤的发生、发展、抗损伤及软组织的修复中发挥着重要作用,已

逐渐引起临床重视。本文通过制备小鼠脑缺血模型,研究脑缺血后 TGF- β 1 mRNA 在脑组织中的表达,并探讨其意义。

[收稿日期] 2003-01-21; [修回日期] 2003-04-02

[作者简介] 李府(1970-),男,博士研究生,主治医师。主攻方向:小儿血液肿瘤。

[通讯作者] 李府,山东济南市文化西路山东大学齐鲁医院儿科低温医学研究室,邮编:250012。

表 1。

1 材料与方法

1.1 材料

健康昆明种小鼠,体重 18~22 g,雌雄各半,共 20 只,购自山东大学实验动物中心。TGF- β 1 原位杂交试剂盒购自武汉博士得生物试剂有限公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 动物随机分为正常对照组及模型组,每组各 10 只。

1.2.2 小鼠脑缺血模型的制作 3%戊巴比妥钠(0.45 mg/kg)腹腔注射,麻醉后颈部用 10% 盐酸脱毛,正中切口,分离并在左侧颈总动脉下穿线备用,等动物清醒后丝线结扎左侧颈总动脉,关闭颈部正中切口,缝合皮肤。

1.2.3 小鼠脑缺血损伤后的一般病理形态学观察 24 h 后处死小鼠,取左侧脑组织制备病理切片,显微镜下观察其病理改变。

1.2.4 TGF- β 1 原位杂交 按试剂盒说明进行。

1.3 TGF- β 1 原位杂交结果判定

0 级:神经元及胶质细胞胞浆内无棕黄色颗粒。

I 级:神经元及胶质细胞胞浆内可见棕黄色颗粒,但表达细胞数<20%,且表达数量较少。

II 级:神经元及胶质细胞胞浆内可见棕黄色颗粒,但表达细胞数<50%,且表达数量较多呈中等程度的表达。

III 级:神经元及胶质细胞胞浆内可见棕黄色颗粒,但表达细胞数>50%,且表达数量较多呈强阳性表达。

2 结果

2.1 小鼠脑缺血后脑组织的一般病理形态学改变

正常对照组的大脑皮层、海马等处神经元、胶质细胞均未见形态及数量的改变。

模型组神经元细胞体积明显变小,尼氏小体消失,核缩小、深染及胞浆嗜酸性变,胶质细胞也有轻度的肿胀,出现核周空晕等病理形态学改变。海马 CA1 区神经细胞层次明显减少,大部分神经细胞肿胀、呈嗜酸性变,部分区域可见点灶状坏死。

2.2 TGF- β 1 mRNA 在脑缺血损伤的小鼠脑组织的表达

TGF- β 1 mRNA 在正常对照组小鼠脑组织中基本不表达(图 1),仅 1 例为弱表达。而在模型组则 100% 的表达,且表达强度高,多为 III 级(图 2)。见

表 1 TGF- β 1 mRNA 在两组小鼠脑组织中的表达

Table 1 Expression of TGF- β 1 mRNA in the brain tissue of 2 groups

组别	n	TGF- β 1		TGF- β 1			
		+	-	0	I	II	III
对照组	10	1	9	9	1	0	0
模型组	10	10	0	0	0	2	8

3 讨论

TGF- β 1 是多功能的细胞转化生长因子,其生物学作用复杂,并依据细胞类型和环境而发生变化,有时可出现相反效应^[1]。TGF- β 1 可促进神经元存活分化,增加轴突数目,并具有加速组织修复及创伤愈合的作用^[2]。

早期的研究表明,TGF- β 在胚胎发育阶段即有表达,胎胚早期神经嵴只表达 TGF- β 1,在成熟期脑、脊髓中出现了 TGF- β 2 和 β 3。在中枢神经系统的大部分脑细胞中,如星型胶质细胞、小胶质细胞及少突胶质细胞等均可产生 TGF- β 1。胶质母细胞及星形细胞可表达 TGF- β 1, β 2, β 3 的 mRNA,在脉络丛、海马回及小脑等处的神经元细胞可表达 TGF- β 2 mRNA。TGF- β 2 和 β 3 多分布在神经元分化区,而在增生部位,以及有关接受、传递和调节感觉信息功能的部位,TGF- β 2 和 β 3 阳性神经元较少,在丘脑具有内分泌功能的部位,TGF- β 1 含量较丰富,其原因可能是分枝长的神经元为了维护其轴突的联系而贮存大量的 TGF- β 1。

TGF- β 1 与多种原因引起的脑损伤有关^[3,4],在缺血性脑损伤时,脑组织中 TGF- β 1 表达增加。TGF- β 1 可以作为脑损伤的标记^[5,6]。众多的动物实验及临床研究表明,在脑组织发生损伤后,出现规律性的 TGF- β 1 mRNA 表达过程。即脑损伤后,在短时间内(2 d 内)即有 TGF- β 1 的表达增加,并在数天(2~5 d)达到高峰,持续一段时间(7~14 d)后又下降,2~3 周后仍能检测到。在缺氧缺血性脑损伤中,其损伤的大小与缺氧缺血的时间有关。这些实验均证实,在脑损伤时 TGF- β 1 表达增加,且随损伤后时间的变化有一个从低到高转而又下降直到消失的过程。本研究通过结扎小鼠左侧颈总动脉制备脑缺血模型,并通过光镜观察确定脑损伤的存在。发

(下转第 434 页)

其它脏器损害有关^[10]。

综上所述,CSF中cAMP浓度变化与窒息后脑损伤程度密切相关:浓度越低,脑损伤程度越重,且其特异性优于血浆cAMP浓度。因此,我们认为,CSF中cAMP浓度可作为早期评估缺氧缺血性脑损伤严重程度和判断预后的客观指标之一。

[参 考 文 献]

- [1] 周丛乐. 新生儿缺氧缺血性脑病时脑细胞能量代谢过程的监测[J]. 中国实用儿科杂志, 2000, 15(6): 330-331.
- [2] Pourcyrous M, Bada HS, Yang WJ, Parfenova H, Wong SP, Korones SB. Prognostic significance of cerebrospinal fluid cyclic adenosine monophosphate in neonatal asphyxia [J]. J Pediatr, 1999, 134(1): 90-96.
- [3] 中华医学会儿科分会新生儿学组. 新生儿缺氧缺血性脑病诊断依据和临床分度[J]. 中华儿科杂志, 1997, 35(2): 99-100.
- [4] 韩玉昆, 付文芳, 许植之. 实用新生儿急救指南[M]. 沈阳: 沈

阳出版社, 1997, 8-15.

- [5] 张澍. 现代儿科学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1998, 76-80.
- [6] Zhang JH, Sato M, Duzic E, Kubalak SW, Lanier SM, Webb JG. Adenylyl cyclase isoforms and vasopressin enhancement of agonist-stimulated cAMP in vascular smooth muscle cells [J]. AM J Physiol, 1997, 273(Heart Circ Physiol. 42): H971-980.
- [7] Husson I, Mesplès B, Bac P, Vamecq J, Evrard P, Gressens P. Melatoninergic neuroprotection of the murine periventricular white matter against neonatal excitotoxic challenge [J]. Ann Neurol, 2002, 51(1): 82-92.
- [8] Parfenova H, Shibata M, Zuckerman S, Mirro R, Leffler CW. Cyclic nucleotides and cerebrovascular tone in newborn pigs [J]. AM J Physiol, 1993, 265(Heart Circ Physiol. 34): H1972-1982.
- [9] 兰晓莉, 兰继承, 周玲, 裴著果. 大鼠心肌缺血适应中cAMP含量变化观察[J]. 放射免疫学杂志, 2002, 15(2): 71-73.
- [10] 李善宗, 钱采韵. 缺血性脑卒中患者CSF cAMP、cGMP测定[J]. 中国神经精神疾病杂志, 1995, 21(4): 226-227.

(本文编辑: 俞燕)

(上接第430页)

现小鼠发生脑缺血损伤24h后脑组织中有TGF- β 1 mRNA表达, 且表达程度较高。证实TGF- β 1在动物缺血性脑损伤的发生、发展过程中起重要作用。有作者对人缺血性卒中脑组织的TGF- β 1 mRNA表达进行研究^[7], 在缺血性脑卒中病人死亡后24h内, 分别取大脑缺血区、半影区和病灶对侧的脑组织, 发现缺血梗塞区和半影区有高水平的TGF- β 1 mRNA表达, 以半影区最高, 而对侧正常脑组织中则很少。以上研究及本研究均证实TGF- β 1与脑损伤有关。但TGF- β 1参与脑损伤发生发展及抗损伤的具体作用及机制尚需进一步研究(图片见封II)。

[参 考 文 献]

- [1] Knuckey NW, Finch P, Palm DE, Primiano MJ, Johanson CE, Flanders KC, et al. Differential neuronal and astrocytic expression of transforming growth factor beta isoforms in rat hippocampus following transient forebrain ischemia [J]. Brain Res Mol Brain Res, 1996, 40(1): 1-14.
- [2] Krohn K, Rozovsky I, Wals P, Teter B, Anderson CP, Finch CE. Glial fibrillary acidic protein transcription responses to transforming growth factor-beta1 and interleukin-beta1 are mediated by

a nuclear factor-1-like site in the near upstream promoter [J]. J Neurochem, 1999, 72(4): 1353-1361.

- [3] Lehrmann E, Kiefer R, Finsen B, Diemer NH, Zimmer J, Hartung HP. Cytokines in cerebral ischemia: expression of transforming growth factor beta-1 (TGF-beta 1) mRNA in the postischemic adult rat hippocampus [J]. Exp Neurol, 1995, 131(1): 114-123.
- [4] Henrich-Noack P, Prehn JH, Kriegstein J. TGF-beta1 protects hippocampal neurons against degeneration caused by transient global ischemia. Dose-response relationship and potential neuroprotective mechanisms [J]. Stroke, 1996, 27(9): 1609-1615.
- [5] Ali C, Docagne F, Nicole O, Lesne S, Toutain J, Young A, et al. Increased expression of transforming growth factor-beta after cerebral ischemia in the baboon: an endogenous marker of neuronal stress? [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2001, 21(7): 820-827.
- [6] Martinez G, Carnazza ML, Giacomo CD, Sorrenti V, Vanella A. Expression of bone morphogenetic protein-6 and transforming growth factor-beta1 in the rat brain after a mild and reversible ischemic damage [J]. Brain Res, 2001, 894(1): 1-11.
- [7] Krupinski J, Kumar P, Kumar S, Kaluza J. Increased expression of TGF-beta1 in brain tissue after ischemic stroke in humans [J]. Stroke, 1996, 27(5): 852-857.

(本文编辑: 俞燕)

ICAM-1 单克隆抗体对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤作用的研究

(正文见第 425 页)

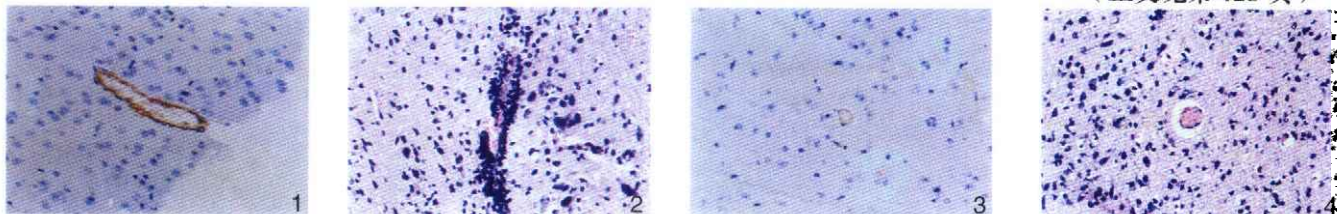


图 1 A 组再给氧 48 h 脑组织 ICAM-1 阳性表达 (× 400)

Figure 1 Positive expression of ICAM-1 in the brain of Group A 48 hs after the re-supply of oxygen

图 2 A 组再给氧 48 h 脑组织中中性粒细胞浸润及脑细胞损伤 (HE × 400)

Figure 2 Infiltration of neutrophil and damage of encephalic cells in the brain of Group A 48 hs after the re-supply of oxygen

图 3 B 组 ICAM-1 单抗治疗后 48 h 脑组织 ICAM-1 阳性表达 (× 400)

Figure 3 Positive expression of ICAM-1 decreased in the brain of Group B 48 hs after the re-supply of oxygen

图 4 B 组 ICAM-1 单抗治疗后 48 h 脑组织中中性粒细胞浸润及脑细胞损伤 (HE × 400)

Figure 4 Infiltration on neutrophil and damage of encephalic cells alleviated in the brain of Group B 48 hs after the re-supply of oxygen

急性脑缺血小鼠脑组织中转化生长 - β_1 的表达及意义

(正文见第 429 页)



图 1 原位杂交 TGF- β_1 在正常组小鼠脑组织无表达 (× 400)

Figure 1 No expression of TGF- β_1 mRNA in the brain of control group

图 2 原位杂交 TGF- β_1 在模型组小鼠脑组织中高表达 (× 400)

Figure 2 High expression of TGF- β_1 mRNA in the brain of model group

婴儿溃疡性结肠炎 1 例

(正文见第 486 页)

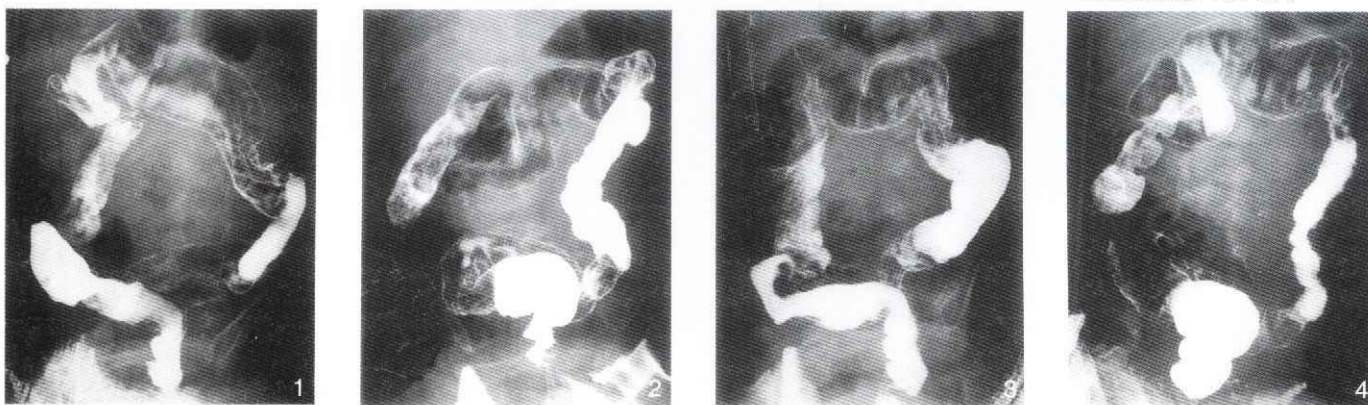


图 1~4 婴儿溃疡性结肠炎钡灌肠摄片

可见乙状结肠袋消失, 管腔变细, 肠管壁不规则呈锯齿样改变; 横结肠袋消失, 管腔扩张, 脾曲结肠壁呈鹅卵石样改变。

蓝色橡皮大疱痣综合征 1 例误诊分析

(正文见第 487 页)

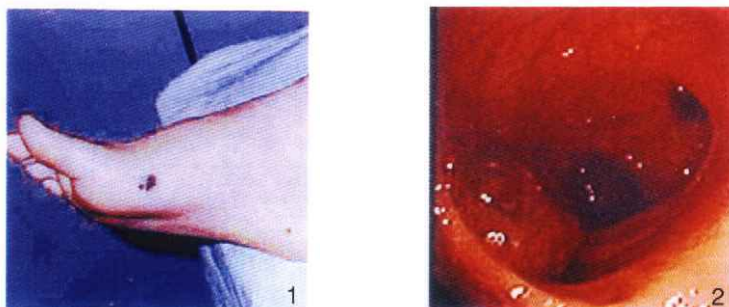


图 1 右足蓝黑色囊性血管瘤

图 2 胃镜示幽门旁囊性肿块