

• 基础医学 •

文章编号: 1002 - 0217(2015) 01 - 0001 - 06

## Nogo-66 受体与髓鞘相关抑制因子在 LPS 诱导宫内感染所致早产鼠脑白质损伤中的表达

童 玲 张士发 王清萍 孙 美 张开京

(皖南医学院附属弋矶山医院 儿科 安徽 芜湖 241001)

**【摘要】**目的: 探讨脂多糖(lipopolysaccharide, LPS) 诱导宫内感染后 Nogo-66 受体(Nogo-66 receptor, NgR)、髓鞘相关抑制因子(myelin associated inhibitory factors, MAIFs)——Nogo-A、MAG 和 OMgp mRNA 及活化 RhoA 蛋白在早产鼠脑白质组织中的变化。方法: 应用 LPS 和 RU486 诱导分别建立宫内感染所致早产鼠模型和单纯早产鼠模型, 各组随机选取 40 只, 雌雄不拘, 即 WMD 组和对照组。实时荧光定量 PCR 检测 P1(1 日龄)、P3、P5 和 P7 早产鼠脑白质 MAIFs(Nogo-A、MAG、OMgp) 和 NgR mRNA, Western Blot 检测脑组织活化 RhoA 蛋白, HE 染色观察脑组织病理学改变。结果: 与对照组相比, WMD 组 Nogo-A、MAG、OMgp 和 NgR mRNA 在 P1、P3、P5、P7 均明显增高( $P < 0.05$ ); 活化 RhoA 蛋白水平在相应的时间点也明显增高( $P < 0.05$ ), P5 增高更显著, 且与 NgR、Nogo-A、MAG 和 OMgp mRNA 的表达均呈正相关( $r = 0.8026、0.7584、0.6565、0.7778, P < 0.05$ )。结论: LPS 诱导宫内感染所致早产鼠脑 WMD, 可能通过上调 MAIFs 和共同受体 NgR 的表达, 激活相应靶细胞内 RhoA 信号通路参与 WMD 的发病机制。

**【关键词】**Nogo-66 受体; 髓鞘相关抑制因子; 宫内感染; 脑白质损伤

**【中图分类号】**R 722.1 **【文献标识码】**A

**【DOI】**10.3969/j.issn.1002-0217.2015.01.001

## Nogo-66 receptor and myelin associated inhibitor mRNA expression in the brain of premature rat with white matter damage from intrauterine infection induced by lipopolysaccharide

TONG Ling ZHANG Shifa WANG Qingping SUN Mei ZHANG Kaijing

Department of Pediatrics, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

**【Abstract】Objective:** To investigate the expression of Nogo-66 receptor (NgR), myelin associated inhibitory factors (MAIFs), including Nogo-A, MAG and OMgp mRNA and activated RhoA in the brain of premature rat with white matter damage (WMD) from intrauterine infection induced by lipopolysaccharide (LPS). **Methods:** White matter damage models (WMD group  $n = 40$ ) and simple premature rat models (control group  $n = 40$ ) were developed with LPS and RU486, respectively. Real-Time PCR was used to determine the expression of Nogo-A, MAG, OMgp and NgR mRNA in pregnant rats at day 1 (P1), 3 (P3), 5 (P5) and 7 (P7), respectively, and Western blotting to detect the activated RhoA level. HE staining was performed to examine the changes of cerebral white matter damage in the premature rats. **Results:** Compared to the controls, the expression of Nogo-A, MAG, OMgp and NgR mRNA as well as activated RhoA protein level at corresponding time point in WMD group was significantly increased at P1, P3, P5 and P7 ( $P < 0.05$ ). The increase at P5 was prominent and positively correlated with the expression of NgR, Nogo-A, MAG and OMgp mRNA ( $r = 0.8026, 0.7584, 0.6565, 0.7778; P < 0.05$ ). **Conclusion:** WMD in premature rats from intrauterine infection induced by LPS may be associated with up-regulated expression of MAIFs and NgR to activate RhoA signaling pathways.

**【Key words】**Nogo-66 receptor; myelin associated inhibitors; intrauterine infection; white matter damage

宫内感染所致早产儿脑白质损伤(white matter damage, WMD)主要是由于感染导致脑室周围白质的少突胶质前体细胞(oligodendrocyte progenitor

cells, OPC) 受损和死亡, 致使脑白质内髓鞘不能形成, 但因缺乏明确的损伤及损伤后修复机制, 往往导致生存的早产儿发生脑瘫和智能落后等远期神经后

基金项目: 安徽省高校省级自然科学研究重点项目(KJ2013A252)

收稿日期: 2014-05-18

作者简介: 童玲(1987-), 女, 2012 级硕士研究生, (电话) 18055162204, (电子信箱) 568005873@qq.com;

张士发, 男, 主任医师, 副教授, 硕士生导师, (电子信箱) wuhuzhangsf@163.com, 通讯作者。

遗症<sup>[1-3]</sup>。现阶段的研究表明<sup>[4]</sup>,髓磷脂相关抑制因子(myelin associated inhibitors factors, MAIFs)——勿动蛋白(Nogo-A)、髓鞘相关糖蛋白(myelin-associated glycoprotein, MAG)和少突胶质细胞髓鞘糖蛋白(oligodendrocyte myelin glycoprotein, OMgp)及他们共同 Nogo-66 受体(NgR)的表达与成熟中枢神经损伤及损伤后修复困难密切相关;但在啮齿动物中枢神经系统的发育过程中,NgR 在胚胎 13 d 开始表达,而 MAIFs 表达相对较迟。那么 MAIFs 和 NgR 是否参与宫内感染所致早产儿 WMD 的机制,目前尚不明确。本研究拟通过应用脂多糖诱导建立宫内感染致早产鼠 WMD 动物模型并检测脑白质 NgR、MAIFs 和活化 RhoA 蛋白的表达,同时观察脑组织病理学改变,探讨其在宫内感染所致早产鼠 WMD 中表达的规律及可能作用,从而为临床治疗宫内感染所致早产儿 WMD 探寻新的靶点。

## 1 材料与方法

1.1 材料 健康 5 个月龄 Wistar 孕鼠,SPF 级,体质量 380~420 g,由上海市西普尔-必凯实验动物有限公司提供(合格证号:2008001610481),动物自由进食水。实验试剂包括脂多糖(LPS, Sigma 公司),米菲司酮 RU486(北京紫竹药业有限公司),TRIZOL 试剂(Invitrogen 公司),M-MLV 逆转录酶(Fermentas 公司),Q-PCR 试剂盒(Takara 公司),活化 RhoA(GTP 结合 RhoA)分离提取试剂盒(Thermo&Scientific 公司),GAPDH 抗体(Cell Signaling Technology 公司),RhoA 多抗(Thermo Scientific Pierce)。

### 1.2 方法

1.2.1 宫内感染所致脑白质损伤(WMD)早产鼠和无宫内感染早产鼠模型制备和分组 参照文献报道<sup>[5]</sup>,孕 15 d 无菌级的 Wistar 大鼠 30 只,随机分为宫内感染组和无宫内感染组,各 15 只,宫内感染组孕鼠于腹中线处一次性腹腔内注射脂多糖(LPS)(Sigma 公司)0.5 mg/kg,待其自然分娩,随机获孕 22 d 前分娩的早产鼠 40 只,雌雄不拘,为 WMD 组;无宫内感染组孕鼠于颈部皮下一次性注射 RU486 150 μg/只,待其自然分娩,随机获得孕 22 d 前分娩的早产鼠 40 只,雌雄不拘,为对照组。各组早产鼠于生后 P1(1 日龄)、P3、P5、P7 分别随机选取 10 只处死,观测相应的实验指标。

1.2.2 标本制备 根据实验设计时间,各组早产鼠按时随机选取 8 只乙醚麻醉后断头处死,迅速取出脑组织,去除脑皮质后 -80 °C 冻存,用于 MAIFs

(Nogo-A、MAG、OMgp)、NgR mRNA 和活化 RhoA 蛋白的检测;各组剩余 2 只乙醚麻醉后断头处死,迅速取出脑组织,并用冰冷的生理盐水洗净,置于 10% 中性甲醛中固定后石蜡包埋,选取下丘脑部位冠状切面连续切片,切片厚度为 4 μm,标本脱蜡,二甲苯透明,苏木素-伊红染色(HE 染色),观察脑室周围白质组织病理变化特点。

1.2.3 Real-time PCR 检测脑白质 Nogo-A、MAG、OMgp 和 NgR mRNA 含量 Prime 5.0 软件设计引物,由上海生物工程有限公司合成。Nogo A 正义引物为 5'-AGGGAAGTAGGGATGTGC-3',反义引物为 5'-ATCCTCATTCTGCCTTC-3',扩增产物为 122 bp。MAG 正义引物为 5'-AAGTGGTGGCAGGAACG-GAAGT-3',反义引物为 5'-TGACCTCTACTTCCGT-TCCTG-3',扩增产物为 30 bp。OMgp 正义引物为 5'-ATGGCAAGGACCAAGACGC-3',反义引物为 5'-TTGCTCTGCGTCTTGGTC-3',扩增产物为 26 bp。NgR1 正义引物为 5'-CCGACAACACCTTC-CGAGAC-3',反义引物为 5'-TGCAAGAGGAGACGGTCAA-3',扩增产物为 121 bp。GAPDH 正义引物为 5'-GTGC-CGCCTGGAGAAACCT-3',反义引物为 5'-GTCCT-CAGTGTAGCCCAAG-3',扩增产物为 100 bp。引物设计后通 BLAST 分析(www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST)避免扩增的序列存在非特异性,用 oligo demo 软件测试序列无引物二聚体形成。①总 RNA 的提取:按总 RNA 提取试剂说明书操作,TRIZOL 提取总 RNA。②RNA 反转录反应的体系和程序如下:0.5~5 μg RNA + 1 μL 500 μg/mL Oligo-dT + ddH<sub>2</sub>O = 10 μL,70 °C 5 min,置于冰上,加入 4 μL 5 × RT Buffer + 5 μL 2.5 mmol/L dNTP,37 °C 5 min,置冰上,加入 1 μL 逆转录酶(Fermentas),42 °C 60 min,70 °C 5 min。③Real-time PCR 采用 SYBR® Premix Ex Taq™(Takara, Dalian, China)。反应体系:4.5 μL ddH<sub>2</sub>O + 0.1 μL 20 mmol/L 正义引物 + 0.1 μL 20 mmol/L 反义引物 + 0.1 μL cDNA + 0.2 μL Rox II + 5 μL SYBR Premix;反应程序:94 °C 10 s + (94 °C 10 s, 60 °C 30 s) × 40 循环 + 融解曲线程序。用 Real-time PCR 仪(ABI, PRISM7700, US)进行反应,获得目的基因和内参基因 Ct 值。④产物分析:根据  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  公式对目的基因进行相对定量。

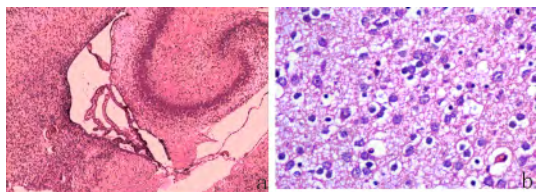
1.2.4 Western Blot 检测脑白质活化 RhoA 蛋白 活化 RhoA 提取:按活化 RhoA(GTP-RhoA)分离提取试剂盒说明书操作,提取脑组织活化 RhoA 蛋白,取上样蛋白 30 μg 在 1 × 电泳缓冲液中电泳,先以 80 V 恒压电泳 30 min,后以 120 V 恒压电泳 2~3 h。

将凝胶、PVDF 膜和滤纸按照一定顺序叠好,置于 1 × 转膜缓冲液中转膜,条件为 4 °C 300 mA 恒流 1.5 h,之后将 PVDF 膜置于 5% 脱脂奶粉中室温封闭 1 h,加入一抗 anti-GAPDH( Cell Signaling Technology), anti-RhoA( Thermo Scientific Pierce) 4 °C 孵育过夜。次日 TBST 室温清洗 PVDF 膜 10 min × 3 次,HRP 标记的二抗(1: 4 000) 室温孵育 1 h, TBST 室温清洗 PVDF 膜 10 min × 3 次,运用 ECL 将 PVDF 膜对 X 光片进行曝光。结果判断:以 GAPDH 为内参照,用数字凝胶成像分析系统,对结果进行灰度扫描分析,为排除实验误差,以活化 RhoA 蛋白的灰度值与内参照物灰度值的比值作为蛋白的相对表达含量。

1.3 统计学分析 所有实验除非另外注明,否则都进行三次独立实验。计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 *q* 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

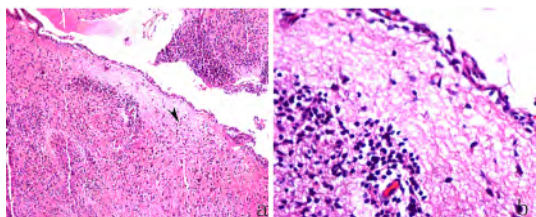
2.1 两组脑组织病理变化 无宫内感染组的早产鼠(对照组) 脑室周围白质区域层次清楚,神经元排列整齐;宫内感染诱导的早产鼠在生后 P1、P3 脑组织切片可见胼胝体及内囊部位组织疏松,细胞成分明显减少,神经细胞间隙增宽,神经毡疏松化;P5 脑室周围白质软化灶的形成;P7 脑组织内大量胶质细胞增生形成胶质结节,主要是大量胶质细胞增生和脂肪细胞的积聚。见图 1 ~ 5。



a. HE 100 × b. HE 400 ×

图 1 对照组脑组织病理图

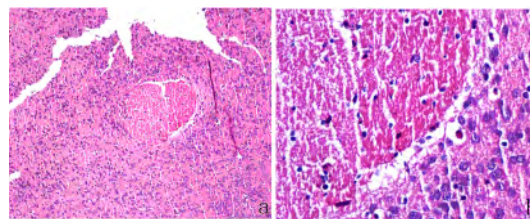
Fig 1 Histopathologic findings for the cerebral tissue from control group



a. HE 100 × b. HE 400 ×

图 2 脑白质损伤组 P1 病理图

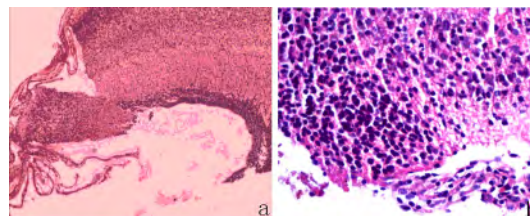
Fig 2 Damage to the cerebral white matter at P1



a. HE 100 × b. HE 400 ×

图 3 脑白质损伤组 P3 病理图

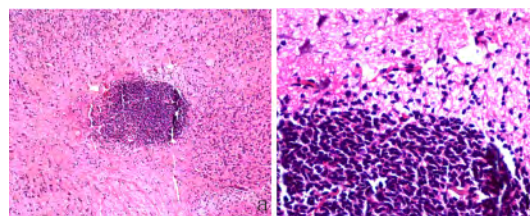
Fig 3 Damage to the cerebral white matter at P3



a. HE 100 × b. HE 400 ×

图 4 脑白质损伤组 P5 病理图

Fig 4 Damage to the cerebral white matter at P5



a. HE 100 × b. HE 400 ×

图 5 脑白质损伤组 P7 病理图

Fig 5 Damage to the cerebral white matter at P7

2.2 脑白质中髓鞘相关抑制因子(Nogo-A、MAG、OMgp)及其共同受体 NgR1 mRNA 的表达 LPS 诱导宫内感染所致早产鼠脑组织中 Nogo-A、MAG、OMgp 和 NgR mRNA 的表达在生后 P1 较对照组明显升高,有统计学意义( $P < 0.05$ ); Nogo-A 和 MAG 随着日龄的增加逐步升高;OMgp 在 P3 达到高峰,但在 P7 仍然高于对照组;NgR 在 P5 达到高峰,至 P7 明显高于对照组。见表 1 ~ 4。

2.3 脑白质中 RhoA 的活化 LPS 诱导宫内感染所致早产鼠脑白质中活化 RhoA 蛋白水平在各时间点均较对照组明显增高, P5 增高最明显( $P < 0.05$ )。见图 6、表 5。

2.4 活化 RhoA 蛋白量分别与 NgR、Nogo-A、MAG 和 OMgp mRNA 表达的相关性 活化 RhoA 蛋白量与 NgR、Nogo-A、MAG 和 OMgp mRNA 的表达均呈正相关( $r = 0.802 6, 0.758 4, 0.656 5, 0.777 8, P < 0.05$ )。

表1 Nogo-A mRNA 的相对表达量( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Tab 1 Relative expression level of Nogo-A mRNA( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	P1	P3	P5	P7	F	P
对照组	1.08 ± 0.31	1.07 ± 0.31	1.03 ± 0.10	1.12 ± 0.28	0.162	0.921
WMD 组	2.90 ± 0.52 <sup>a</sup>	4.62 ± 1.06 <sup>b</sup>	4.66 ± 1.07 <sup>b</sup>	6.88 ± 1.98 <sup>c</sup>	13.118	0.000

相同字母两组间比较  $P > 0.05$  不同字母两组间比较  $P < 0.05$

表2 MAG mRNA 的相对表达量( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Tab 2 Relative expression level of MAG mRNA( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	P1	P3	P5	P7	F	P
对照组	0.96 ± 0.30	1.04 ± 0.21	1.12 ± 0.22	1.17 ± 0.39	0.785	0.512
WMD 组	1.98 ± 0.81 <sup>a</sup>	2.52 ± 0.80 <sup>a</sup>	3.01 ± 0.43 <sup>ab</sup>	5.28 ± 1.21 <sup>c</sup>	22.986	0.000

相同字母两组间比较  $P > 0.05$  不同字母两组间比较  $P < 0.05$

表3 OMgp mRNA 的相对表达量( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Tab 3 Relative expression level of OMgp mRNA( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	P1	P3	P5	P7	F	P
对照组	1.10 ± 0.57	1.08 ± 0.33	1.18 ± 0.31	1.09 ± 0.24	0.106	0.956
WMD 组	3.02 ± 0.63 <sup>a</sup>	5.65 ± 1.47 <sup>b</sup>	4.02 ± 0.46 <sup>c</sup>	2.11 ± 0.32 <sup>d</sup>	25.456	0.000

相同字母两组间比较  $P > 0.05$  不同字母两组间比较  $P < 0.05$

表4 NgR mRNA 的相对表达量( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Tab 4 Relative expression level of NgR mRNA( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	P1	P3	P5	P7	F	P
对照组	1.15 ± 0.63	1.08 ± 0.33	1.09 ± 0.18	1.09 ± 0.34	0.079	0.971
WMD 组	2.95 ± 0.68 <sup>a</sup>	5.38 ± 1.04 <sup>b</sup>	6.92 ± 1.51 <sup>c</sup>	5.22 ± 1.38 <sup>b</sup>	15.505	0.000

相同字母两组间比较  $P > 0.05$  不同字母两组间比较  $P < 0.05$

表5 活化 RhoA 蛋白的相对定量( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Tab 5 Relative quantification of RhoA protein( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	P1	P3	P5	P7	F	P
对照组	1.05 ± 0.33	1.11 ± 0.30	1.10 ± 0.33	1.07 ± 0.36	0.076	0.927
WMD 组	2.40 ± 0.51 <sup>a</sup>	3.26 ± 0.64 <sup>b</sup>	4.26 ± 0.64 <sup>c</sup>	3.13 ± 0.73 <sup>b</sup>	11.540	0.000

相同字母两组间比较  $P > 0.05$  不同字母两组间比较  $P < 0.05$

### 3 讨论

在脑发育和成熟中枢神经系统(central nervous system, CNS)损伤后神经再生过程中,髓鞘相关抑制因子(Nogo-A、MAG 和 OMgp)及其共同受体 NgR(Nogo-66 受体)的表达是最重要的抑制因素<sup>[6-8]</sup>。但在正常的啮齿动物 CNS 发育过程中,NgR 在胚胎 13 d 开始表达,为了利于髓鞘的形成,MAIFs 的表达相对较迟<sup>[4]</sup>。那么在未成熟脑损伤中,MAIFs 的表达发生如何变化,目前尚不明确。

现阶段研究认为<sup>[9-10]</sup>,宫内感染时,LPS 与其特异性受体(Toll-like,TLRs)结合介导的胎儿中枢神经系统炎症反应是宫内感染所致早产儿脑 WMD 最

主要机制。本研究应用 LPS 诱导孕 15 d 无菌级(SPF)的 Wistar 大鼠发生宫内感染,建立宫内感染所致早产鼠 WMD 动物模型,并以 RU486 诱导孕 15 d SPF Wistar 大鼠早产,作为对照<sup>[5]</sup>。病理学发现,对照组早产鼠脑室周围白质区域层次清楚,神经元排列整齐;LPS 诱导后分娩的早产鼠在 P1、P3 脑组织切片可见胼胝体及内囊部位组织疏松,细胞成分明显减少,神经细胞间隙增宽,神经毡疏松化;P5 脑室周围白质软化灶的形成;P7 脑组织内大量胶质细胞增生形成胶质结节,主要是大量胶质细胞增生和脂肪细胞的积聚。提示应用 LPS 诱导能成功建立宫内感染所致早产鼠脑 WMD 模型。

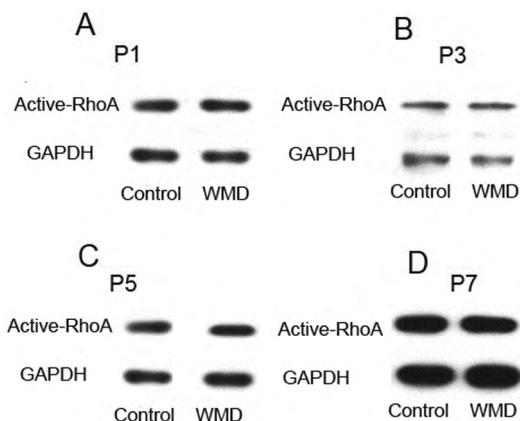


图6 Western Blot 检测脑白质活化 RhoA 蛋白(  $n = 8$  )  
Fig 6 Activated RhoA protein in cerebral white matter( Western blotting  $n = 8$  )

本研究通过检测 WMD 和对照组早产鼠脑白质 MAIFs 和 NgR mRNA 的表达 结果发现 与对照组相比 经 LPS 诱导宫内感染所致的早产鼠 脑白质中 Nogo-A、MAG 和 OMgp mRNA 表达量在 P1 显著增高 有统计学意义(  $P < 0.05$  ) 其中 Nogo-A 和 MAG 随着日龄的增加逐步升高 ,OMgp 在 P3 达到高峰 至 P7 仍然高于 P1 水平 差异显著(  $P < 0.05$  )。此外 , 脑白质中 NgR mRNA 表达量在 P1 明显增高 在 P5 达到高峰 至 P7 仍然高于 P1 水平 有统计学意义(  $P < 0.05$  )。提示 LPS 诱导宫内感染所致的早产鼠发生 WMD 时 脑白质中 Nogo-A、MAG 和 OMgp 及 NgR 的表达均被显著地上调 且呈现较持续性的高表达。

MAIFs 在脑发育和成熟 CNS 损伤后神经再生过程中抑制作用主要通过与其靶细胞膜上 NgR 结合 将信号转导细胞内 激活 RhoA<sup>[11-12]</sup>。本研究同时检测脑白质活化 RhoA 蛋白量 与对照组比较 结果发现 活化 RhoA 蛋白量在 P1 明显增高 在 P5 达到高峰 至 P7 仍然高于 P1 水平 有统计学意义(  $P < 0.05$  ) ; 且活化 RhoA 蛋白量与 NgR、Nogo-A、MAG 和 OMgp mRNA 的表达均呈正相关(  $r = 0.8026、0.7584、0.6565、0.7778$  ,  $P < 0.05$  )。提示在 LPS 诱导宫内感染所致的早产鼠 WMD 中 MAIFs 通过与靶细胞膜上 NgR 结合激活细胞内 RhoA。

在 CNS 中 ,NgR 主要表达神经元细胞 通过与 MAIFs 结合 激活神经元内 RhoA 调节肌动蛋白聚合 抑制轴突伸长<sup>[4]</sup>。其次 在 OPCs 表面表达 调控自身增殖<sup>[13]</sup> 通过与高表达 MAIFs 结合可能抑制 OPCs 向成熟少突胶质细胞( oligodendrocyte ,OL) 分化。此外 目前的研究已证实<sup>[14]</sup> ,CNS 中单核细胞和小胶质细胞( microglia ,MG) 所表达的 NgR 是单核

细胞和 MG 激活重要途径 通过与高表达 MAIFs 结合 激活细胞内 RhoA 促进单核细胞和 MG 释放大量炎性细胞因子( 如 NO、IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  等) , 损伤 OPCs<sup>[15-16]</sup>。因此 我们认为 在 LPS 诱导宫内感染所致早产鼠中 脑白质中持续高表达的 MAIFs 通过激活神经元、OPCs、MG 及单核细胞内 NgR/RhoA 信号 导致 OPCs 受损和死亡 白质内髓鞘不能形成 可能是 LPS 诱导宫内感染所致的早产鼠发生脑 WMD 的重要机制之一。通过对 MAIFs 及其受体 NgR 在 WMD 中的进一步研究 将可能为临床宫内感染和( 或) 炎症所致早产儿脑损伤治疗寻找有效靶点进行干预以促进神经功能康复提供理论依据并奠定基础。

【参考文献】

[1] Mwaniki MK ,Atieno M ,Lawn JE ,et al. Long-term neurodevelopmental outcomes after intrauterine and neonatal insults: a systematic review [J]. Lancet 2012 ,379( 9814) :445 - 452.  
[2] Agrawal V ,Hirsch E. Intrauterine infection and preterm labor [J]. Semin Fetal Neonatal Med 2012 ,17( 1) :12 - 19.  
[3] Brehner F ,Bendix I ,Prager S ,et al. Interaction of inflammation and hyperoxia in a rat model of neonatal white matter damage [J]. PLoS One 2012 ,7( 11) :e49023.  
[4] Borrie SC ,Baeumer BE ,Bandtlow CE. The Nogo-66 receptor family in the intact and diseased CNS [J]. Cell Tissue Res ,2012 ,349( 1) :105 - 117.  
[5] Burd I ,Balakrishnan B ,Kannan S. Models of fetal brain injury ,intrauterine inflammation and preterm birth [J]. Am J Reprod Immunol 2012 ,67( 4) :287 - 294.  
[6] Delekate A ,Zagrebelsky M ,Kramer S ,et al. NogoA restricts synaptic plasticity in the adult hippocampus on a fast time scale [J]. Proc Natl Acad Sci U S A 2011 ,108( 6) :2569 - 2574.  
[7] Mehta NR ,Nguyen T ,Bullen JW Jr ,et al. Myelin-associated glycoprotein ( MAG) protects neurons from acute toxicity using a ganglioside-dependent mechanism [J]. ACS Chem Neurosci ,2010 ,1( 3) :215 - 222.  
[8] Akbik F ,Cafferty WB ,Strittmatter SM. Myelin associated inhibitors: a link between injury-induced and experience-dependent plasticity [J]. Exp Neurol 2012 ,235( 1) :43 - 52.  
[9] YUAN Tianming ,SUN Yi ,ZHAN Canyang ,et al. Intrauterine infection/inflammation and perinatal brain damage: role of glial cells and Toll-like receptor signaling [J]. J Neuroimmunol ,2010 ,229( 1-2) :16 - 25.  
[10] Kapitanovic Vidak H ,Catela Ivkovic T ,Jokic M ,et al. The association between proinflammatory cytokine polymorphisms and cerebral palsy in very preterm infants [J]. Cytokine 2012 ,58( 1) :57 - 64.  
[11] TONG Jing ,LIU Weimin ,WANG Xiaowei ,et al. Inhibition of Nogo-66 receptor 1 enhances recovery of cognitive function after traumatic brain injury in mice [J]. J Neurotrauma 2013 ,30( 4) :247 - 258.

# 静脉注射内吗啡肽对麻醉大鼠左心室功能的影响

宗巧凤 张冠军 于 影 李正红

( 蚌埠医学院 生理学教研室 安徽 蚌埠 233000)

**【摘要】**目的: 观察静脉注射内吗啡肽-1 和 2( EM-1、EM-2) 对大鼠左心室功能的影响, 并初步探讨其作用机理。方法: 大鼠麻醉后, 经右颈总动脉左心室插管测左心室功能( LVSP、HR、± dp/dt 等)。颈外静脉注射给药。结果: 与对照组比较, 静脉注射 EM-1、EM-2 剂量依赖性地降低麻醉大鼠左心室功能。与 EM-1/EM-2 + NS 组比较, 除一氧化氮合成酶抑制剂 L-NNA ( 25 mg/kg i. v. ) 对 EM-1 降低心率的作用无明显影响外, 预先给予纳洛酮( 1 mg/kg i. v. ) 或阿托品( 50 μg/kg i. v. ) 或 L-NNA ( 25 mg/kg i. v. ) 或切断双侧迷走神经均显著减弱 EM-1、EM-2 降低心功能的作用(  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  )。结论: 静脉注射 EM-1、EM-2 可引起麻醉大鼠左心室功能下降, 此效应由阿片受体介导, 有胆碱能 M 受体参加, 有 NO 的参与, 与迷走神经兴奋有关。

**【关键词】**内吗啡肽; 阿片受体; 左心室功能

**【中图分类号】**R331; R961 **【文献标识码】**A

**【DOI】**10. 3969/j. issn. 1002-0217. 2015. 01. 002

## Effect of endomorphin-1 and endomorphin-2 on the left ventricular function in anesthetized rats

ZONG Qiaofeng, ZHANG Guanjun, YU Ying, LI Zhenghong

Department of Physiology, Bengbu Medical College, Bengbu 233000, China

**【Abstract】Objective:** To observe the effects of intravenous injection of endomorphin-1 ( EM-1) and endomorphin-2 ( EM-2) on the left ventricular function in anesthetized rats, and to primarily investigate its potential mechanism. **Methods:** The left ventricular function ( LVSP, HR, ± dp/dt) were measured by inserting a catheter from right carotid artery into left ventricle after intravenous injection of EM-1 and EM-2 in the anesthetized rats. **Results:** Compared with control group, EM-1 and EM-2 led to decreased dose-dependent for the left ventricular function. By comparison with EM + NS group, the decrease in left ventricular function was attenuated by pretreatment with intravenous injection of either naloxone ( 1 mg/kg i. v. ), atropine ( 50 μg/kg i. v. ), L-NNA ( 25 mg/kg i. v. ) or bilateral cervical vagotomy. **Conclusion:** Intravenous administration of EM-1 and EM-2 produced inhibition effect on the left ventricular function in anesthetized rats, and the potential mechanism is associated with mediation of opioid receptor, involvement of M-cholinoceptor and NO as well as vagus nerve excitation.

**【Key words】** endomorphin; opioid receptor; left ventricular function

基金项目: 安徽省高校省级自然科学研究重点项目( KJ2011A202); 蚌埠医学院研究生创新计划项目( BYYCX1307)

收稿日期: 2014-07-07

作者简介: 宗巧凤( 1987-), 女, 2012 级硕士研究生, ( 电话) 18355250756, ( 电子信箱) 987376537@qq.com;

李正红, 女, 教授, 博士, ( 电子信箱) lizhbmc@163.com, 通讯作者。

[12] Karlsson TE, Koczy J, BrenéS *et al.* Differential concerted activity induced regulation of Nogo receptors( 1-3), LOTUS and Nogo mRNA in mouse brain [J]. PLoS One 2013, 8( 4): e60892.

[13] Huang Jingya, Wang Yanxia, Gu Wenli *et al.* Expression and function of myelin-associated proteins and their common receptor NgR on oligodendrocyte progenitor cells [J]. Brain Res 2012, 1437: 1 - 15.

[14] YAN Jun, ZHOU Xiao, GUO Jingjing *et al.* Nogo-66 inhibits adhesion and migration of microglia via GTPase Rho pathway *in vitro*

[J]. J Neurochem 2012, 120( 5): 721 - 731.

[15] DING Jing, LI Qinying, WANG Xin *et al.* Fasudil protects hippocampal neurons against hypoxia-reoxygenation injury by suppressing microglial inflammatory responses in mice [J]. J Neurochem, 2010, 114( 6): 1619 - 1629.

[16] CHEN Qinzong, Gupta S, Pernis AB. Regulation of TLR4-mediated signaling by IBP/Def6, a novel activator of Rho GTPases [J]. Leukoc Biol 2009, 85( 3): 539 - 543.