

·论著摘要·

基质金属蛋白酶及其抑制因子在脑外伤大鼠脑水肿区表达的研究

卢进发 古彩詒 曹雪滨 李培建 王爱民

1 目的

脑外伤后继发脑水肿是血管源性脑水肿,血管基底膜损坏可能在血管源性脑水肿中起重要作用。明胶酶 A(gelatinase A, 又称 MMP-2)和明胶酶 B(celatinase B, 又称 MMP-9)可降解血管基底膜的主要成分——IV型胶原。我们用逆转录定量 PCR 方法研究大鼠脑外伤后水肿区脑组织基质金属蛋白酶(tissue matrix metalloproteinases, MMPs)及其抑制因子(tissue inhibitor of matrix metalloproteinases, TIMPs)基因表达情况,探讨其与脑水肿发生机制的关系。

2 方法

Wistar 大鼠 40 只,雌雄各半,体重(410±50)g,由河北医科大学实验动物中心提供。参照 Feeney 自由落体撞击法,大鼠称重后,用 3%戊巴比妥钠 30 mg/kg 腹腔注射麻醉,俯卧位固定,消毒后于矢状正中线切开头皮、骨膜、分离骨膜,于左侧顶部,前囟后 2 mm,中线旁 2 mm,作一直径约 4 mm² 骨窗,保持硬膜完整,将其置于自由落体底部,28 g 重砝码于 36 cm 高处落下,撞击于左顶骨窗硬膜圆柱体上,下陷深度 2 mm,对照组只开颅手术,未打击。大鼠随机分成正常对照组及模型组,正常对照组 10 只,模型组 30 只,在造模后 12, 24, 48 h 三个不同时间点各处死 10 只,每组均于挫伤灶外 0.5 cm 取脑组织一块,迅速投入液氮保存。RNA 的提取、cDNA 的合成、共扩增定量 PCR 及扩增产物定量分析参照王爱民等的方法(中华实验外科杂志,1998,14:352)进行。

2 结果

数据采用单因素方差分析进行处理。结果见表 1。

3 讨论

MMPs 是降解细胞外基质的主要蛋白酶,其中 IV 型胶原酶包括 MMP-2 和 MMP-9,可降解血管基底膜主要成分 IV 型胶原,IV 型胶原酶对 IV 胶原的过度降解是血管壁病损的重要原因之一。TIMPs 是 MMPs 的特异性抑制因子,能调节 MMPs 的活性。MMPs 主要由血管内皮细胞及平滑肌细胞分泌,到细胞外基质发挥作用,小神经胶质细胞也可产生,在炎症刺激下局部浸润的嗜中性粒细胞及巨噬细胞也能产生。国外学者研究发现大鼠脑中动脉闭塞后 1 h, MMP-2 表达显著增加,缺血后 3~5 h MMP-9 表达开始增高,24 h 达高峰,持续 3~5 d,且与神经元损伤的范围和数目显著相关。MMPs 与脑外伤后病理变化关系密切, MMP-2、MMP-9 在挫伤区脑组织表达增高,有开放血脑屏障,促进神经细胞死亡的作用。国内学者研究发现, MMPs 在脑出血大鼠易出血区血管的表达增强。以上研究提示 MMPs 的过度表达在脑卒中血脑屏障破坏引起血管源性脑水肿及继发性脑损伤中发挥关键性作用。我们的研究结果表明,脑损伤水肿区脑组织 MMP-2、MMP-9 基因表达水平明显高于正常对照脑组织,随时间延长 MMP-2 表达水平亦逐渐增强。同时发现 TIMP-1 表达与 MMP-9 的表达平行,提示 TIMP-1 可能有抑制或减弱 MMP-9 的作用,结果提示脑外伤脑水肿区 MMP-2、MMP-9 基因表达水平增强,可能与脑外伤后血管源性脑水肿及继发性脑损伤有关,应用 MMPs 相应的阻滞剂有可能减轻脑水肿及继发性脑损害。脑损伤后脑水肿区脑组织基质金属蛋白酶基因表达水平升高的机制尚有待深入研究。

表 1 脑外伤水肿区脑组织 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 的基因表达

造模后时间(h)	例数	MMP-2		MMP-9		TIMP-1	
		正常组	模型组	正常组	模型组	正常组	模型组
12	10	0.23±0.06	0.50±0.13*	0.66±0.14	2.63±0.14*	0.36±0.07	1.83±0.17*
24	10	0.23±0.06	0.67±0.20*	0.66±0.14	1.71±0.30*	0.36±0.07	1.59±0.26*
48	10	0.23±0.06	0.93±0.32*	0.66±0.14	1.30±0.26*	0.36±0.07	1.31±0.20*

注: * $P < 0.01$, 模型组水肿区脑组织与正常大鼠脑组织比较有显著差异

收稿日期:2002-12-20

作者单位:071000 保定市,河北保定解放军第 252 医院

作者简介:卢进发,男,1965 年 3 月生,河北省无极县人,医学学士,主治医师

通讯作者:曹雪滨, Tel:0312-2210891