

癫痫发作及电针时大鼠脑内 c-fos 蛋白的表达¹

R 245.97

王布尔, 程介士 (上海医科大学神经生物学教研室, 医学神经生物学国家重点实验室, 上海200032, 中国)

C-fos expression in rat brain during seizure and electroacupuncture

WANG Bu-Er, CHENG Jie-Shi

(Department of Neurobiology, Shanghai Medical University, National Laboratory of Medical Neurobiology, Shanghai 200032, China)

ABSTRACT C-fos proteins were visualized immunohistochemically in the brain of rats after seizures induced by injecting penicillin into hippocampus and by penicillin + electroacupuncture treatment. Three hours following seizures there was an evident expression of c-fos proteins in the hippocampus (CA₁ area), dentate gyrus, piriform cortex, dorsal part of entorhinal cortex, and amygdaloid nucleus, and there was a dramatic increase of c-fos proteins in CA₂ area and the areas mentioned above except the CA₁ area where c-fos proteins apparently decreased after electroacupuncture treatment. The results showed that seizures can induce c-fos proteins in some nuclei related with seizure and that electroacupuncture can also regulates the c-fos expression after seizure.

KEY WORDS proto-oncogene proteins c-fos; brain; immunohistochemistry; electroacupuncture; seizures

A

摘要 本实验在海马青霉素致痫模型上观察了致痫及致痫加电针后脑内 c-fos 蛋白的变化。结果表明致痫时海马 CA₁ 区、齿状回、梨状皮层、背侧内嗅皮层、杏仁核见到较多的 c-fos 表达；电针后 c-fos 在 CA₁ 区明显减少，在 CA₂ 区及上述各区则显著增加。提示：致痫能引起与癫痫发作有关的某些核团 c-fos 表达，电针抗痫作用可能和调节上述部位 c-fos 表达有关。

癫痫

关键词 原癌基因蛋白 c-fos; 脑; 免疫组织化学; 电针; 发作

Received 1992-06-30

Accepted 1993-04-09

¹ Project supported by National Natural Science Foundation of China. No 39170897.

真核基因 c-fos 的蛋白产物与细胞的生长、分化及功能的调节密切有关。细胞表面的刺激会引起 c-fos 的表达^[1]，而 c-fos 又能与 DNA 结合从而调节一些靶基因的转录。癫痫时脑内与癫痫相关的核团 c-fos 表达增加^[2-5]。有人推测致痫时 c-fos 的增加可能与脑内肽类物质含量变化密切相关。青霉素致痫时海马灌流液中强啡肽含量下降，电针能抑制癫痫并使海马中强啡肽释放增加^[6]。青霉素致痫及电针抗痫分别对 c-fos 表达有何影响？本实验用免疫组织化学方法观察了青霉素致痫及电针抗痫时脑内某些核团，尤其是海马内 c-fos 的变化。

MATERIALS AND METHODS

Wistar 大鼠 16 只，体重 220±18 g，♀♂不拘，分成 4 组：A 组是手术对照组 (n=3)；B 组是青霉素致痫组 (n=3)；C 组是单纯电针组 (n=4)；电针穴位分别在枕骨大孔及第九、十胸椎棘突间，电流强度 6 mA，持续 45 min，频率 100 Hz；D 组是青霉素致痫加电针组 (n=6)，其电针穴位、强度、持续时间及频率与 C 组同。

首先将 A、B、D 组大鼠在一侧海马埋入套管，按 George Paxinos 图谱，套管尖端定位在 P₁R₁H₁。外套管外径 0.75 mm，内套管外径 0.4 mm，内套管的下端较外套管的长 0.5 mm。术后 6-7 d，A 组大鼠套管内注入 2 μl 人工脑脊液；B、D 组套管内注入青霉素 2 μl (400 U)，注入均在 8 min 内完成，其中 D 组注入青霉素后 2-5 min 即予电针。此 3 组在注入后 3 h 用 4% 戊巴比妥钠 40 mg·kg⁻¹ ip 麻醉鼠，先后分别用 0.9% NaCl 及 4% 多聚甲醛主动脉灌流，灌流速度 2.5 ml·min⁻¹。取全脑，移入含 20% 蔗糖的 4% 多聚甲醛中固定 2 h，再移入 30% 蔗糖液中过夜，做冰冻冠状切片，片厚 35 μm。脑片用免疫组织化学 avidin-biotin peroxidase complex (ABC) method 进行 c-fos 的定位：用 10% 山羊血清 21 °C 温育 30 min；移入 c-fos 抗体 (1:

1000×300 μl 内，37℃温育6 h，再21℃温育36 h；生物素化第二抗体(1:100)，37℃温育1 h；ABC试剂(1:100)，37℃温育1 h；用50% 3,3'-二氨基联苯胺+3% H₂O₂染色15 min 左右。

c-fos 抗体及 ABC 药箱分别购自 Oncogene Science Inc 和 Vector Laboratories Inc.

RESULTS

行为及脑电 B 和 D 组鼠在注入青霉素5—10 min 后皮层感觉运动区出现高频、高幅的痫样放电，行为上出现翘尾、嘶叫、四肢强直及对侧肢体阵发抽搐。而 A 和 C 组脑电未见变化，行为上除电针时躯体有轻微颤动外无明显变化。D 组在加电针后3鼠痫波基本消失，另3鼠痫波频率、波幅均明显下降，行为也转为安静。

免疫组织化学 B 组在海马 CA₁ 区、齿状回、杏仁核、内嗅皮层(背侧部)、梨状皮层均出现较多、较深的圆形细胞核染色。腹海马较背海马染色的细胞核多且深，下托未见染色，CA₃ 区有一例仅见很淡的 c-fos 染色，其余二例未见染色。内嗅皮层也未见 c-fos 染色(Fig 1, Plate 2)。A 组(手术对照组)上述各脑区未见细胞核染色。C 组(单纯电针组)在海马 CA₁ 区偶见细胞核染色，且染色极淡，在弓状核见散在 c-fos 染色。D 组6鼠中4鼠在海马的 CA₁ 区及下托 CA₃ 区出现密集的 c-fos 染色，齿状回 c-fos 染色较 B 组更为密集，CA₁ 区细胞核染色数量较 B 组少(Fig 1, Plate 2)。6鼠中有2鼠海马结构中 CA₁、CA₃ 和齿状回均未见染色，而下托 CA₃ 区见到密集的染色。此外，杏仁核、梨状皮层的染色细胞核也见增加，内嗅皮层(背侧部)免疫反应与 B 组类似，内嗅皮层出现 c-fos 染色(Fig 1, Plate 2)，弓状核见散在 c-fos 染色。

DISCUSSION

一侧海马微量注入青霉素致痫3 h 后诱使

c-fos 在海马等核团大量表达。这个结果与 Morgan JI, Dragunow M 在戊四氮致痫、海人酸致痫、单次电惊厥模型、海马点燃模型上看到的 c-fos 变化^[2-5]相似。在海马局部注入青霉素致痫3 h 后 c-fos 的增加从分布上看都是一些与癫痫关系密切的核团：海马、杏仁核、内嗅皮层、梨状皮层，并且这些核团之间都有着纤维联系，其中内嗅皮层、梨状皮层、杏仁核都有纤维投射到海马，是海马传入纤维的主要来源，而海马也发出纤维到杏仁核、内嗅皮层，因此 c-fos 在这些核团中的增加是具有特异性的，与癫痫的发生密切相关。

电针能抑制癫痫，可能部分通过增加强啡肽释放，抑制脑啡肽释放而起到抑制癫痫的作用^[6-7]。本实验中致痫加电针组在海马 CA₁ 区、齿状回、梨状皮层、内嗅皮层 c-fos 表达较致痫时增加，在 CA₁ 区 c-fos 表达则较致痫时减少，而单纯电针组在上述核团中基本未见 c-fos 染色。提示：正常状态下电针不能引起上述核团的 c-fos 表达，致痫时电针能影响 c-fos 表达。c-fos 是一个联系细胞膜外刺激和基因转录的隅联因子，有人推测 c-fos 可能对肽类物质的合成起调节作用^[5]。在海马，CA₁ 区及齿状回是脑啡肽的主要分布区，强啡肽则主要分布于 CA₃ 区，本实验致痫及致痫加电针后这些区域 c-fos 表达的变化似乎与相应状态时海马内脑啡肽、强啡肽的变化相符合。提示：c-fos 在致痫及致痫加电针处理后海马中分布的差异可能与致痫及致痫加电针时海马内阿片肽的变化相关。

ACKNOWLEDGMENT 在切片观察中得到周敬修和李宽如教授的指导。

REFERENCES

- 1 Sonnenberg JL, Macgregor-Leon PF, Curran T, Morgan JI. Dynamic alterations occur in the levels and composition of transcription factor AP-1 complexes after seizure. Neuron 1989; 3: 359-65.

- 2 Dragunow M, Robertson HA. Kindling stimulation induces c-fos protein(s) in granule cells of the rat dentate gyrus. *Nature* 1987; **329**: 441-2.
- 3 Morgan JL, Cohen JR, Hempstead JL, Curran T. Mapping patterns of c-fos expression in the central nervous system after seizure. *Science* 1987; **237**: 192-7.
- 4 DiCosta A, Breese CR, Boyd RL, Booze RM, Sonnag WE. Attenuation of Fos-like immunoreactivity induced by a single electroconvulsive shock in brains of aging mice. *Brain Res* 1991; **567**: 204-11.
- 5 White JD, Gaff CM. Differential regulation of neuropeptide and proto-oncogene mRNA content in the hippocampus following recurrent seizures. *Mol Brain Res* 1987; **3**: 21-9.
- 6 Wang BE, Cheng JS. The effect of electroacupuncture on the content of Dynorphin-like immunoreactivity in hippocampus during penicillin-induced seizures. *Chin Sci Bull* 1992; **14**: 1321-3.
- 7 He XP, Chen BY, Zhu JM, Cao XD. Change of leu-enkephalin- and B-endorphin-like immunoreactivity in the hippocampus after electroconvulsive shock and electroacupuncture. *Acupunct Electrother Res Int J* 1989; **14**: 131-9.

75-78

13

BIBLIO; ISSN 0253-9756

Acta Pharmacologica Sinica 中国药理学报

1994 Jan; 15 (1): 75-78

兔侧脑室注入去甲肾上腺素和5-羟色胺对体感诱发电位的影响

董 燕¹, 董承统¹ (河北医学院基础医学研究所, 石家庄050017, 中国)

R 365. 2

Effect of intracerebroventricular injection of norepinephrine and serotonin on somatosensory evoked potentials in rabbits

DONG Yan¹, DONG Cheng-Tong
(Institute of Basic Medical Sciences, Hebei Medical College, Shijiazhuang 050017, China)

ABSTRACT The components of somatosensory evoked potentials (SEP), P₁, N₉, P₁₂, and N₁₅, were recorded from dura mater before and after intracerebroventricular injection (icv) of monoamines. The peak latencies of P₁₂ and N₁₅ were prolonged and the amplitudes of P₁₂ and N₁₅ were decreased following icv norepinephrine (NE) 1 μg·μl⁻¹ and serotonin (5-HT) 1 μg·μl⁻¹. Generally, P₁₂ and N₁₅ restored to normal 1-2 h after icv NE and 5-HT. Dopamine (DA) 1 μg·μl⁻¹, however, did not show any significant effect on SEP. Tolazoline (Tol) 2.5 μg·μl⁻¹ markedly potentiated the inhibitory effect of NE, but propranolol (Pro) 1 μg·μl⁻¹ weakened the effect of NE on SEP. These results indicated that icv NE and 5-HT exerted an inhibitory effect on the somatosensory afferent function from thalamus to cortex and/or intercorti-

cal areas and α-adrenoceptor had an influence on the inhibitory effect of NE.

KEY WORDS norepinephrine; serotonin; dopamine; tolazoline; propranolol; somatosensory evoked potentials; cerebral ventricles

摘要 兔硬脑膜外记录 icv 时, 单胺递质及 NE 受体阻断剂对清醒兔正中神经体感诱发电位(SEP)的影响。NE 和 5-HT 均可引起 P₁₂ 和 N₁₅ 峰潜伏期延长, 振幅降低。Tol 和 Pro 可分别增强和减弱 NE 的作用。单独 icv Tol 亦出现 P₁, N₉, P₁₂ 和 N₁₅ 峰潜伏期延长, 振幅降低。结果提示, NE 对 SEP 抑制效应主要由 α 受体介导。

关键词 去甲肾上腺素; 血清素; 多巴胺; 哌拉唑林; 普萘洛尔; 体感诱发电位; 脑室

去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)和5-羟色胺(serotonin, 5-HT)可抑制体感传入系统的功能^[1,2], 但也有相反的结果^[3,4]。本实验经侧脑室(icv)给药, 分别观察 NE、5-HT、多巴胺(dopamine, DA)以及阻断肾上腺素能受体后 NE 对清醒兔体感诱发电位(somatosensory

Received 1992-03-06

Accepted 1993-04-11

¹ Now in Department of Pathophysiology, Chengde Medical College, Chengde 067000, China.