

肿瘤的发生与细胞周期的紊乱密切相关。细胞周期紊乱可引起细胞生长失控、分化受阻、凋亡异常,导致细胞的无限增殖。细胞通过细胞周期的两个限制点 $G_1 \sim S$ 期和 $G_2 \sim M$ 期保证细胞复制。姜廷枢等^[5]的研究表明,青藤碱体外能有效抑制肺癌细胞生长,其机制与其阻滞细胞周期于 G_1 期、诱导细胞凋亡有关。龚立等^[6]的研究表明青藤碱对肝癌 HepG2 细胞的生长有明显抑制作用,并诱导肿瘤细胞发生凋亡,使细胞周期阻滞于 G_1 期和 G_2 期。目前尚无 SIN 对结肠癌作用的研究报道。本研究结果显示,低、中浓度的 SIN(4、8mmol/L)作用 SW480 细胞 48h 后,可引起人结肠癌 SW480 细胞 G_1 期百分比增加,而高浓度的 SIN(10、16mmol/L)作用 48h 后, G_1 期和 G_2 期细胞百分比均明显增加,说明 SIN 可诱导 SW480 细胞的 G_1 期阻滞,并呈浓度依赖性,在高浓度时还可诱导 SW480 细胞的 G_2 期阻滞。另外用 10mmol/L 的 SIN 干预 SW480 细胞 24、48、72h,随着干预时间的延长,同样观察到 SW480 细胞的 G_1 期百分比增加,再次说明 SIN 可诱导 SW480 细胞的 G_1 期阻滞,并呈时间依赖性。

综上所述,体外实验表明盐酸青藤碱对人结肠癌 SW480 细胞增殖具有抑制作用,其机制可能与其诱导的细胞周期 G_1 期和 G_2 期阻滞有关。本研究为盐酸青藤碱应用于临床治疗结肠癌提供了实验室依据,但尚需进一步研究其体内抗肿瘤作用及机制,评估其抗肿瘤效果。

参考文献

- 1 涂胜豪,胡永红,陆付耳,等. 青藤碱对人淋巴细胞产生 IL-2、IL-6 的影响[J]. 中国实验临床免疫学杂志,1998,10(5): 12-14
- 2 李晓娟,王培训,刘良,等. 青藤碱对 T 淋巴细胞活化及 TH1 类细胞内细胞因子表达的影响[J]. 中医中药与免疫,2004,20(4):249-252
- 3 张毅,徐小嫚,张雁,等. 青藤碱对人前列腺癌 DU145 细胞增殖凋亡的影响[J]. 中国医刊,2013,48(1):31-33
- 4 孙芳云,郭惠玲,李西宽,等. 青藤碱对实验性心律失常的作用[J]. 西安医科大学学报,1990,11(4):324-326
- 5 姜廷枢,李胜岐. 青藤碱对肺腺癌细胞系 A549 增殖和凋亡的影响[J]. 中国老年学杂志,2010,30(5):655-657
- 6 龚立,高永翔. 青藤碱诱导肝癌细胞凋亡的实验研究[J]. 成都中医药大学学报,2007,30(3):38-41

(收稿日期:2014-01-19)

(修回日期:2014-01-28)

丙型肝炎病毒 1b 基因型 C 区氨基酸 70 替代对干扰素刺激应答元件的影响

胡中杰 刘颖 仇丽霞 范作鹏 聂巍 梁珊 于红卫 金荣华

摘要 目的 探讨丙型肝炎病毒(hepatitis C Virus, HCV)1b 基因型(genotype 1b, GT-1b)C 区氨基酸(amino acid, aa)70 替代对干扰素刺激应答元件(interferon-stimulated response element, ISRE)的影响。**方法** 首先构建 HCV GT-1b C 区 aa70 野生型和变异型核心蛋白表达质粒,测序鉴定后瞬时转染肝癌细胞系 Huh7 细胞,Western blot 法鉴定 HCV 核心蛋白的成功表达;然后利用 ISRE 双荧光素酶报告基因实验检测核心蛋白表达对 ISRE 活化的影响,并以 SYBR Green real-time PCR 检测 3 种主要干扰素刺激基因(interferon stimulated genes, ISGs)的表达情况。**结果** 构建了 HCV aa70 野生型和变异型核心蛋白表达质粒,并在体外培养细胞中成功表达。但野生型和变异型核心蛋白表达对 ISRE 活化及 3 种主要 ISGs 表达的影响无明显差异。**结论** 单纯 R70Q/H 变异的核心蛋白似乎并不足以直接导致 IFN α 耐药。

关键词 丙型肝炎病毒 核心蛋白 干扰素刺激应答元件 干扰素刺激基因

[中图分类号] R5 [文献标识码] A

基金项目:北京市优秀人才培养基金资助项目(2010D003034000009);中国初级卫生保健基金会佑安肝病艾滋病基金资助项目(BJYAH-2011-073);首都医科大学基础-临床科研合作基金资助项目(1000172053-11JL61)

作者单位:100069 首都医科大学附属北京佑安医院丙肝与中毒性肝病科

通讯作者:胡中杰,电子信箱: yfcyt@139.com

Effects of the Amino Acid 70 Substitution in the Core Region of Hepatitis C Virus Genotype 1b on Interferon – stimulated Response Element.

Hu Zhongjie, Liu Ying, Qiu Lixia, et al. Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Abstract Objective To investigate the effects of the amino acid (aa) 70 substitution in the core region (CR) of hepatitis C virus (HCV) genotype 1b (GT – 1b) on interferon – stimulated response element (ISRE). **Methods** The expression plasmids of wild type and mutant aa70 core proteins were constructed and then transfected into human hepatoma cell line Huh7. Western blot was used to conform the expression of HCV core proteins. Next, dual luciferase reporter assays were performed to assess the effects of core proteins on ISRE. Furthermore, expressions of 2',5' – oligoadenylate synthetase 1 (OAS1), myxovirus resistance protein A (MxA) and protein kinase R (PKR) were tested by SYBR Green real – time PCR. **Results** The expression plasmids of wild type and mutant aa70 HCV core protein were constructed and expressed in Huh7 cells successfully. However, the effects of wild type and mutant aa70 core proteins on ISRE and 3 major ISGs were not different significantly. **Conclusion** Substitution of amino acid 70 in HCV GT – 1b core region alone is not sufficient for resistance to IFN α treatment.

Key words Hepatitis C virus; Core protein; Interferon – stimulated response element; Interferon stimulated genes

聚乙二醇化干扰素 α (pegylated interferon, PEG – IFN α) 联合利巴韦林 (ribavirin, RBV) 是目前慢性丙型肝炎 (chronic hepatitis C, CHC) 的标准治疗方案, 但丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 基因 1 型 (genotype – 1, GT – 1) 患者的持续病毒学应答 (sustained virologic response, SVR) 率仍较低, 仅为 40% ~ 50%。研究结果显示, HCV C 区 (C region, CR) 氨基酸 (amino acid, aa) 70 和 91 替代 (R70Q/H, L91M) 是影响 IFN α 抗 HCV 作用的重要的独立预测因素, 尤其是 CR R70Q/H^[1]。即使在 telaprevir/PEG – IFN α /RBV 三联治疗中, CR R70Q/H 仍是无病毒学应答 (non virological respons, NVR) 的独立相关因素^[2], 但 CR R70Q/H 影响 IFN α 疗效的具体机制尚不清楚。

笔者前期观察 aa70 野生株 (70R) 和变异株 (70Q/H) 在 PEG – IFN α /RBV 治疗过程中的动态变化也发现, 治疗前优势株类型与 SVR 和 NVR 相关, 但野生株和变异株在治疗过程中均呈同向变化, 变异株未显示出对 IFN α 的独立抵抗, 单纯 R70Q/H 变异的核心蛋白似乎不足以导致 IFN α 耐药。考虑到 HCV 核心蛋白可通过多种途径影响 IFN α 的信号转导和干扰素刺激基因 (IFN stimulated genes, ISGs) 的表达, 而干扰素刺激应答元件 (interferon – stimulated response element, ISRE) 在 ISGs 的表达中起关键作用, 笔者拟在本研究中分别构建 CR aa70 的野生型和变异型核心蛋白表达质粒进行体外细胞实验, 以了解它们对体外培养肝细胞 ISRE 的影响, 以及 2',5' – 寡腺苷酸合成酶 1 (2',5' – oligoadenylate synthetase 1, OAS1)、黏病毒抗性蛋白 A (myxovirus resistance protein A, MxA) 和蛋白激酶 R (protein kinase R, PKR) 3 种主要 ISGs 表达的影响, 从而阐明核心蛋白 aa70 替代能否通过影响 ISRE 及 ISGs 表达而导致 IFN α 耐

药^[3~5]。

材料与方法

1. HCV GT – 1b 密码子 70 野生型和变异型 C 区全序列的获得: 为构建 CR aa70 的野生型和变异型核心蛋白表达质粒, 首先要获得野生型和变异型 C 区全序列。采用 QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Shanghai, China) 从一例 HCV 1b 亚型感染者血清标本 (140 μ l) 中分离 HCV RNA, 然后采用 Taqman Reverse Transcription Reagents (Applied Biosystems 公司) 和随机引物反转录, 以制备的 cDNA 作为模板, 采用 AmpliTaq Gold[®] PCR Master Mix (Applied Biosystems 公司) 扩增 C 区全序列, 所用引物为 5' – AATGCCTGGAGATTTCGG – 3' 和 5' – TTGGAGCAGTCGTTCTCGTG – 3'。PCR 扩增产物经凝胶电泳鉴定后采用 QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen 公司) 纯化, 然后克隆入 pCR – TOPO2.1 载体 (Invitrogen 公司), 转化大肠杆菌感受态细胞 DH5 α (TaKaRa), 蓝白斑筛选后挑选白色克隆培养扩增, 然后外送测序 (北京奥科鼎盛生物科技有限公司), 鉴定密码子 70 的基因型为野生型 (CGG)。第二步, 采用定点突变技术构建携带变异型密码子 70 (CAG) 的质粒。定点突变采用 QuikChange II Site – Directed Mutagenesis Kit (Stratagene 公司), 按照产品说明书进行操作。设计一对互补的包含突变位点的引物: 正义引物 5' – CAAGGCTCGCCAGC – CCGAGGCCAGGGCCTG – 3'; 反义引物 5' – CAGGCCCTGC – CCTCGGGCTGGCGAGCCTTG – 3'。和模版质粒退火后用 Pfu 聚合酶“循环延伸”, 然后以 DpnI 酶切原来的模版质粒, 随后转化感受态细胞 DH5 α (TaKaRa 公司), 即可得到突变质粒的克隆, 最后经扩增、测序鉴定, 证实突变位点成功引入, 获得变异型 C 区全序列。

2. HCV GT – 1b CR aa70 野生型和变异型核心蛋白表达质粒的构建: 采用本实验室保存的 pCXN2 作为表达载体。以所获得的 C 区全序列作为模板, 利用包含 Xho I 酶切位点 (下划线) 的引物扩增: 正义引物 5' – CCGCTCGAGACCAT – GAGCACAAATCCTAAACCTCAA – 3', 反义引物 5' – CCG – CTCGAGTCAAGCGGAAGCTGGGATGGT – 3'。反应体系采用 PfuUltra II Fusion HS DNA Polymerase (Stratagene 公司) 和 10

× PfuUltra II Reaction Buffer (Stratagene 公司)。PCR 扩增产物经凝胶电泳鉴定后采用 QIAquick PCR Purification Kit (Qia-gen 公司) 纯化, 以限制性内切酶 Xho I (TaKaRa 公司) 37℃ 酶切 2h, 以碱性磷酸酶 (Roche 公司) 37℃ 去磷酸化 1h, EDTA 75℃ 终止反应 10min, 然后克隆进真核表达载体 pCXN2, 转化感受态细胞 DH5 (TaKaRa 公司), 蓝白斑筛选后挑选白色克隆培养扩增, 以 High Pure Plasmid Isolation Kit (Roche 公司) 纯化后外送测序鉴定 (北京奥科鼎盛生物科技有限公司)。鉴定后的表达质粒克隆大规模扩增, 以 HiSpeed Plasmid Maxi Kit (Qiagen 公司) 纯化后备用。

3. 细胞培养: 采用人肝癌细胞系 Huh7 细胞进行 HCV 核心蛋白的表达。Huh7 细胞以 DMEM 培养基 (Sigma - Aldrich 公司)、10% 的胎牛血清 (Sigma - Aldrich 公司) 以及 100U/ml 青霉素 (Sigma - Aldrich 公司) 和 0.1mg/ml 链霉素 (Sigma - Aldrich 公司) 于 37℃ 5% CO₂ 培养箱中培养。

4. Western blot 法鉴定 HCV 核心蛋白的表达: 在 6 孔板中每孔加入 4.0 × 10⁵ Huh7 细胞, 培养 24h 后, 以脂类转染剂 Effectene Transfection Reagent (Qiagen 公司) 分别将 0.9μg 野生型或变异型核心蛋白表达质粒瞬时转染入 Huh7 细胞, 空白载体 pCXN2 作为对照。使用 HCV 核心蛋白抗体 (Abcam 公司), 以 ECL Plus 蛋白质印迹检测系统 (Amersham ECL Plus Western blot detection reagents, GE Healthcare China) 显色, β-actin 作为内参照, 荧光及化学发光成像系统 (Fujifilm Las - 4000) 进行成像和分析。

5. ISRE 双荧光素酶报告基因检测: Huh7 细胞在 6 孔板中培养 24h 后, 将核心蛋白表达质粒 (野生型和变异型)、ISRE 荧光素酶报告基因载体 pISRE - luc (Beyotime 公司) 和海肾萤光素酶对照报告基因载体 pRL - TK (Promega 公司) 以 4: 8: 1 的比例混合后瞬时共转染细胞, 空白载体 pCXN2 作为对照。37℃ 5% CO₂ 培养 24h, 以 IFNα (终浓度 100U/ml) 处理, 每个样本设 3 个复孔。另外, 设置相同的样本但不用 IFNα 处理。继续培养 24h, 收集细胞, 采用 Dual - Luciferase® Reporter Assay System (Promega 公司) 进行荧光素酶报告基因检测, 以多功能酶标仪 (FLUOstar OPTIMA) 检测荧光, 计算萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶的相对活性。其中海肾荧光素酶活性用于标准化萤火虫荧光素酶活性, 以纠正不同样本间转染效率的偏差。

6. SYBR Green real - time PCR 检测 OAS1、MxA、PKR 的表达情况: Huh7 细胞在 6 孔板中培养 24h 后, 分别将野生型和变异型核心蛋白表达质粒瞬时转染细胞, 空白载体 pCXN2 作为对照。37℃ 5% CO₂ 培养 24h, 以 IFNα (终浓度 30U/ml) 处理, 每个样本设 3 个复孔。另外, 设置相同的样本但不用 IFNα 处理。继续培养 24h, 收集细胞, 采用 miRNeasy Mini Kit 纯化细胞总 RNA (Qiagen 公司), 利用随机引物和 High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems 公司) 进行反转录, 然后采用 LightCycler® 480 SYBR Green I Master (Roche Applied Science 公司) 进行相对定量检测, 以管家基因 GAPDH 作为内参照, 每个样本设 3 个复孔。所用引物见表 1。

表 1 SYBR Green real - time PCR 所用引物序列

目的基因	引物类型	序列 (5'→3')
OAS1	正义	AGAAGGCAGCTCAGAAAC
	反义	CCACCACCCAAGTTTCCTG
MxA	正义	GCCGGCTGTGGATATGCTA
	反义	TTTATCGAAACATCTGTGA
PKR	正义	TCTACGCTTTGGGGCTAAT
	反义	AGATGATGCCATCCCGTAG
GAPDH	正义	CAACTGGTCGTGGACAACCAT
	反义	GCACGGACACTCACAATGTTT

结 果

1. Western blot 法证实 HCV 核心蛋白的表达: Huh7 细胞瞬时转染 HCV aa70 野生型和变异型核心蛋白表达质粒后, 采用 Western blot 法检测核心蛋白表达情况, 结果显示野生型和变异型核心蛋白 (21kDa) 成功表达, 且表达水平相近, 而空白对照 (转染 pCXN2 载体) 显示为阴性结果 (图 1)。

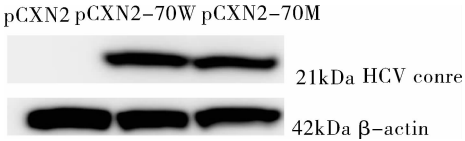


图 1 Huh7 细胞瞬时转染 HCV aa70 野生型和变异型核心蛋白表达质粒及空白载体, Western blot 法检测核心蛋白及 β-actin 表达情况

2. HCV aa70 野生型和变异型核心蛋白对 ISRE 的影响。双荧光素酶报告基因实验显示, 与空白对照相比, HCV aa70 野生型和变异型核心蛋白均可通过 ISRE 增强荧光素酶的表达, IFNα 处理后, 荧光素酶表达均进一步增强。但无论是否使用 IFNα 处理, 野生型和变异型核心蛋白对 ISRE 的影响无明显差异 (图 2)。

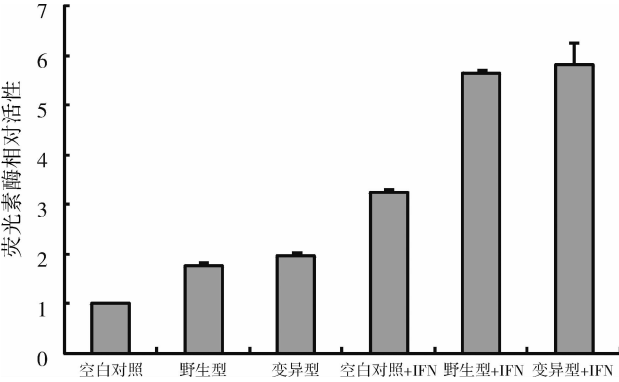


图 2 HCV aa70 野生型和变异型核心蛋白在有或无 IFNα 处理时对 ISRE 的影响
以海肾荧光素酶活性作为内对照, 对萤火虫荧光素酶活性进行标准化, 计算荧光素酶相对活性, pCXN2 载体转染作为空白对照

3. HCV aa70 野生型和变异型核心蛋白对 OAS1、MxA、PKR 表达的影响:采用 SYBR Green real-time PCR 对部分 ISGs (OAS1、MxA、PKR) mRNA 转录情况进行半定量检测,结果显示,与对照组相比,HCV

aa70 野生型和变异型核心蛋白均可促进 OAS1、MxA、PKR mRNA 的转录,IFN α 处理后作用更明显,但 HCV aa70 野生型和变异型核心蛋白的作用无显著差异(图 3)。

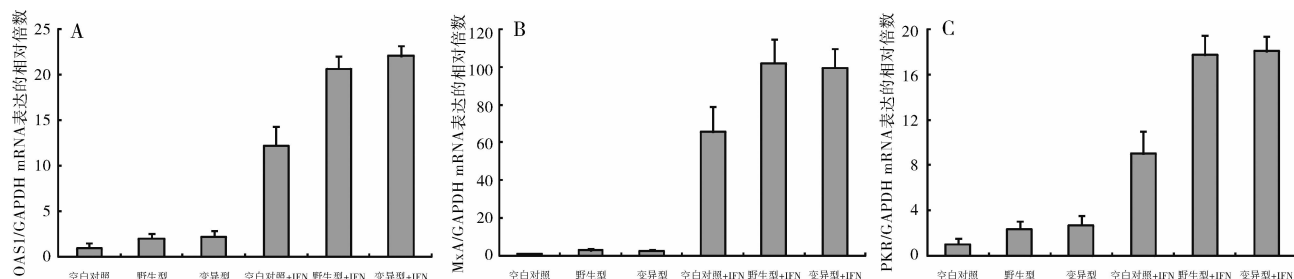


图 3 HCV aa70 野生型 (Wild) 和变异型 (Mutant) 核心蛋白在有或无 IFN α 处理时对 OAS1、MxA、PKR 表达的影响
以 GAPDH 作为内参照,计算相对倍数。pCXN2 载体转染作为对照,用或不用 IFN α 处理。A. OAS1; B. MxA; C. PKR

讨 论

HCV GT-1b CR R70Q/H 是 IFN α /RBV 抗病毒治疗 NVR 的独立相关因素,但具体机制尚不清楚^[6]。笔者前期利用 Taqman 实时荧光定量反转录聚合酶链反应建立了一种能分别检测 CR aa70 野生株和变异株的定量方法,可对它们在 IFN α 抗病毒治疗过程中的动态变化进行定量监测。结果发现大部分患者在治疗前便存在野生株和变异株的混合感染,且优势株的类型与 NVR 和 SVR 相关,与既往的报道相符。但无论优势株如何,在治疗过程中,野生株和变异株均呈同向变化,变异株未显示出对 IFN α 治疗的独立抵抗,也未发现变异株在 IFN α 治疗过程中的阳性选择现象。因此,尽管临床上 R70Q/H 变异可预测 IFN α 的治疗应答,但核心蛋白单纯 R70Q/H 变异似乎并不足以导致 IFN α 耐药。为进一步阐明此种现象的机制,有必要了解核心蛋白变异是否能影响 ISGs 的表达。

笔者认为,HCV 产生的一些蛋白(如 CORE、E2、NS3/4A、NS5A 蛋白)可抑制 IFN α 的信号转导,从而逃避或抵抗 IFN α 的抗病毒作用^[3]。但核心蛋白对 IFN α 信号转导、ISRE 的活化以及 ISGs 转录的影响尚有争议,有的报道显示 HCV 核心蛋白可阻断 IFN α 信号转导,减少 ISRE 的结合而抑制 ISGs 的转录^[5,7]。核心蛋白还能在转录水平抑制干扰素调节因子 1 (interferon regulatory factor 1, IRF1) 的表达,导致一些 ISGs 的表达(如 OAS、PKR)及白介素-15 (IL-15) 和 IL-12 的产生减少。但也有报道显示,核心蛋白能特异性激活 OAS1 基因启动子,促进 OAS1 基因的转录,IFN α 处理后作用进一步增强^[8]。核心蛋白能

活化所有包含 ISRE 的启动子,促进相关基因的转录^[9]。

笔者在研究中采用了 ISRE 双荧光素酶报告基因实验,ISRE 荧光素酶报告基因载体是以 pGL6-TA 质粒为模板,在其多克隆位点插入了多个 ISRE 序列,可以通过检测其下游荧光素酶的表达而高灵敏度地检测 ISRE 的激活情况。实验结果显示,对照组相比,HCV 核心蛋白能作用于 ISRE,促进下游基因的表达,IFN α 处理后作用更明显,但 HCV aa70 野生型和变异型核心蛋白的作用无显著差异,相应的检测 3 种主要的 ISGs (OAS1、MxA、PKR) 的转录也无显著差异。与我们的结果类似,Ikeda 等^[10] 和 Hiraga 等^[11] 的研究也表明 HCV 野生型和变异型核心蛋白对 IFN α 的应答无显著差异。

本研究的结果与笔者前期的临床研究结果相符,单纯 R70Q/H 变异的核心蛋白似乎并不足以直接导致 IFN α 耐药,临床观察到的变异型核心蛋白与更易发生 NVR 相关的机制尚待进一步的研究,可能存在其他的病毒清除因素参与其中,如细胞凋亡、机体免疫应答等。

参考文献

- Shirakawa H, Matsumoto A, Joshita S, *et al.* Pretreatment prediction of virological response to peginterferon plus ribavirin therapy in chronic hepatitis C patients using viral and host factors [J]. *Hepatology*, 2008, 48(6):1753-1760
- Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, *et al.* Amino acid substitution in hepatitis C virus core region and genetic variation near the interleukin 28B gene predict viral response to telaprevir with peginterferon and ribavirin [J]. *Hepatology*, 2010, 52(2):421-429
- Gale M Jr, Foy EM. Evasion of intracellular host defence by hepatitis C virus [J]. *Nature*, 2005, 436(7053):939-945

- 4 Lin W, Kim SS, Yeung E, *et al.* Hepatitis C virus core protein blocks interferon signaling by interaction with the STAT1 SH2 domain [J]. *J Virol*, 2006, 80(18):9226-9235
- 5 de Lucas S, Bartolome J, Carreno V. Hepatitis C virus core protein down-regulates transcription of interferon-induced antiviral genes [J]. *J Infect Dis*, 2005, 191(1):93-99
- 6 Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, *et al.* Amino acid substitution in hepatitis C virus core region and genetic variation near the interleukin 28B gene predict viral response to telaprevir with peginterferon and ribavirin [J]. *Hepatology*, 2010, 52(2):421-429
- 7 Dansako H, Naka K, Ikeda M, *et al.* Hepatitis C virus proteins exhibit conflicting effects on the interferon system in human hepatocyte cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 336(2):458-468
- 8 Naganuma A, Nozaki A, Tanaka T, *et al.* Activation of the interferon-inducible 2'-5'-oligoadenylate synthetase gene by hepatitis C virus core protein [J]. *J Virol*, 2000, 74(18):8744-8750
- 9 Dansako H, Naganuma A, Nakamura T, *et al.* Differential activation of interferon-inducible genes by hepatitis C virus core protein mediated by the interferon stimulated response element [J]. *Virus Res*, 2003, 97(1):17-30
- 10 Ikeda F, Dansako H, Nishimura G, *et al.* Amino acid substitutions of hepatitis C virus core protein are not associated with intracellular antiviral response to interferon- α in vitro [J]. *Liver Int*, 2010, 30(9):1324-1331
- 11 Hiraga N, Abe H, Imamura M, *et al.* Impact of viral amino acid substitutions and host interleukin-28b polymorphism on replication and susceptibility to interferon of hepatitis C virus [J]. *Hepatology*, 2011, 54(3):764-771

(收稿日期:2014-01-15)

(修回日期:2014-01-28)

慢性癫痫与抑郁共病大鼠脑白质中髓鞘碱性蛋白 MBP 的表达变化

齐振波 王修楠 王 斐 田衍平 刘淑丹 刘 志 李红丽

摘 要 **目的** 探讨脑白质髓鞘变化在慢性反复发作性癫痫(SRS)伴发抑郁共病发生中的作用。**方法** 本实验采用幼年期致癫痫发作后进入 SRS 的大鼠模型,运用行为学实验、髓鞘特异快蓝染色(LFB)和髓鞘碱性蛋白(MBP)免疫组化染色、分子生物学等技术,观察癫痫与抑郁共病的发生比率,以及共病鼠髓鞘发育变化的特征,明确二者间是否存在相关性。**结果** 进入 SRS 期大鼠中高架迷宫和强迫游泳两项行为学联合评估均表现出抑郁样行为特征的比率占 25%。癫痫伴抑郁共病鼠脑在胼胝体(cc)、扣带回(cg)等脑白质区域中 LFB 和 MBP 免疫阳性信号染色均显示染色强度较正常对照显著减弱($P < 0.01$),RT-PCR 检测显示共病组脑白质中 MBP mRNA 的表达明显降低($P < 0.01$)。**结论** SRS 伴抑郁共病大鼠脑白质中存在髓鞘脱失,可能与抑郁行为的发生密切相关。

关键词 癫痫 抑郁症 共病 髓鞘 行为学

[中图分类号] R742 [文献标识码] A

Expression of Myelin Basic Protein in Cerebral white Matter of Chronic Epilepsy and Depression Co-morbid Rats. Qi Zhenbo, Wang Xiunan, Wang Fei, *et al.* Student Brigade Team 5, College of Basic Medical Sciences Third Military Medical University, Chongqing 400038, China

Abstract Objective To investigate the expression changes of myelin basic protein (MBP) in cerebral white matter and its significance in the co-morbid rats of depression and chronic spontaneous recurrent epilepsy. **Methods** We established the spontaneous recurrent epileptic seizure (SRS) rats induced by youth status epilepticus as a model. Behavior evaluation, myelin specific fast blue (LFB) staining, immunohistochemical staining and molecular biology technology were used to observe the depression occurrence rate as well as analysis the relevance with the changes of MBP expression in SRS rats. **Results** The double positive rate of the depression-like behavioral index was about 25% in SRS rats after evaluation using elevated plus maze test and forced swimming test. The average optical density (OD) value of myelin specific fast blue staining and MBP positive signal was reduced significantly in the callosum corpus (cc) and cingu-

基金项目:国家大学生创新创业训练计划项目(201390035011);重庆市自然科学基金面上项目(CSTC,2010BB5031);第三军医大学回国人员启动基金资助项目(2011XH01);第三军医大学基础部本科生“创新杯”奇思妙想项目(jc2013018)

作者单位:400038 重庆,第三军医大学学员旅 5 队(齐振波、王修楠、王斐),组织学与胚胎学教研室、发育生物学教研室(田衍平、刘淑丹、刘志、李红丽)

通讯作者:李红丽,电子信箱:lihlimm@163.com