

新生儿肠闭锁 NGF 与 P75NGFR 表达的研究

张光磊 林晓明 曾洪彪

【摘要】 目的 研究 NGF 与 P75NGFR 在先天性肠闭锁(CIA)患儿肠壁内的表达情况,探讨其临床意义。方法 应用免疫组化技术检测 15 例先天性肠闭锁患儿肠壁内 NGF、P75NGFR 的表达情况,以死于与肠道发育异常无关的尸检新生儿小肠标本 6 例作为正常对照。结果 先天性肠闭锁组肌间神经丛 NGF 显色程度及表达量明显低于对照组, P75NGFR 在肠闭锁组肠壁肌间神经丛中存在高表达,而对照组为低表达。结论 NGF 与 P75NGFR 在先天性肠闭锁肠壁的异常表达可能与肠闭锁的发病机理有关。

【关键词】 肠闭锁 / 病理学;神经生长因子 / 生物合成;受体

Expression of nerve growth factor and nerve growth factor receptor P75 in congenital intestinal atresia of newborn. ZHANG Guang-lei, LIN Xiao-ming, ZEN Hong-biao. The department of surgery, Fujian children's hospital, Guangzhou, 362000, China

【Abstract】 Objective This study aims to evaluate the distribution of nerve growth factor (NGF) and nerve growth factor receptor P75 (P75NGFR) in congenital intestinal atresia and discuss the clinical significance. **Methods** Immunohistochemical analysis of small bowel from patients with congenital intestinal atresia ($n=15$) and normal intestine ($n=6$) was performed to explore the expressions of NGF and P75NGFR. **Results** A significantly higher proportion of NGF in myenteric plexuses was found in control group when compared with samples of small bowel atresia. The proportion of myenteric plexuses glial cells in the intestinal atresia expressed higher P75NGFR than control. **Conclusions** the expression of NGF and P75NGFR in congenital intestinal atresia might be related with the pathogenesis of atretic intestine.

【Key words】 Intestinal atresia/PA; Nerve Growth Factors/BI; Receptors, Nerve Growth Factors/BI

小肠闭锁是新生儿时期常见的一种先天性消化道畸形,因胚胎早期小肠发育停滞而引起的一处或多处小肠闭锁所致。目前,其病因尚不十分清楚,空化不全和血液循环障碍是两种主要的学说。自从 Louw 和 Barnard 于 1955 年关于肠闭锁病因学的实验工作建立以后,胚胎期血液循环障碍被普遍认为是造成肠闭锁的主要原因。最近有研究证实,肠闭锁患儿的肠神经系统 (enteric nervous system, ENS) 存在发育不良。神经生长因子(NGF)在神经存活与生长过程中发挥着重要的调节作用。本研究收集 2005 年至 2006 年本院临床诊断为先天性肠闭锁患儿的手术标本 15 例,以 7 例无肠道疾病的新生儿小肠标本作为对照组,利用免疫组化的方法研究 NGF 与 NGFR 在先天性肠闭锁患儿肠壁内的表达情况,并探讨其临床意义。

材料与方法

一、临床资料

15 例中,男 8 例,女 7 例,均经手术确诊。临床分型:II 型 2 例,III 型 13 例。术中选取距闭锁近端 3~5 cm 的全层肠壁组织,经 10%甲醛固定,常规石蜡包埋,备用。以与肠道发育异常无关的尸检新生儿小肠标本 7 例作为正常对照组。

二、实验方法

1. 试剂:NGF 工作液采用美国 CHEMICON 公司产品,NGFR 工作液采用 R&D Systems 公司产品,过氧化物酶 SP 试剂盒购自北京中山 HisLosLain 公司。

2. 方法:石蜡切片脱水和水化后,用 PBS(pH7.4)冲洗 3 次,每次 3 min;室温冷却后用自来水冲洗,再用 PBS(pH7.4)冲洗 3 次,每次 3 min;每张片子加 50 μ L 3%过氧化氢,室温下孵育 10 min,以阻断内

作者单位:福建省泉州市儿童医院外科(362000),E-mail: zgl505@yahoo.com,本研究为 2006 年福建省泉州市科研项目(编号 2006Z26)

源性过氧化物酶的活性, PBS 液冲洗 3 次, 每次 3 min, 除去 PBS 液; 每张片加 50 μ L 的第一抗体, 室温下孵育 60 min; PBS 液冲洗 3 次, 每次 3 ~ 5 min, 除去 PBS 液。 每 张 片 子 加 50 μ L 即 用 型 MaxvisionTM 试剂, 室温下孵育 15 min, PBS 液冲洗 3 次, 每次 3 min; 除去 PBS 液, 每张片子加入 100 μ L 新鲜配制的 DAB 溶液, 显微镜下观察 3 ~ 5 min; 自来水冲洗, 苏木素复染, PBS 液冲洗返蓝, 梯度酒精脱水干燥, 中性树胶封固。

3. 结果判定: NGF、NGFR 染色强度利用 LEICA Q500IW 图像获取及分析系统将图像录入计算机。 对所有组织化学切片在放大 400 倍的显微镜下观察, 选取 10 个有阳性颗粒出现的代表性视野, 以所测定的平均灰度值作为染色强度。 所有数据输入 Microsoft Excel 2003 软件处理。 各组间比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

正常组肠壁 NGF 阳性反应神经元较多, 弥散分布于结肠壁肌间及粘膜下, 肠闭锁组均存在神经节细胞减少, 肠壁肌间神经丛较细, NGF 阳性反应神经元细胞少于对照组, 经图像分析系统显示, 肠闭锁肠壁 NGF 的表达数明显低于对照组, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05); 而 P75NTR 在肠闭锁组神经元的阳性表达强度明显高于对照组 (*P* < 0.05)。 NGF、P75NTR 的平均灰度值比较见表 1。

表 1 两组 NGF、P75NTR 的平均灰度值(OD)比较

组别	例数	NGF	P75NGFR
肠闭锁组	15	67.51 \pm 10.58	126.54 \pm 22.67
对照组	6	96.12 \pm 12.80	80.72 \pm 12.01
<i>t</i> 值		5.0055	4.4662
<i>P</i> 值		< 0.01	< 0.01

讨 论

神经生长因子(nerve growth factor, NGF)为最早发现的神经营养因子家族成员, 是中枢胆碱能神经元和来源于神经嵴的感觉神经元存活所必需的因子, 也是胚胎期和生后早期交感神经元和背根神经节细胞存活和成熟所必需的因子。 NGF 能促进和诱导轴突生长, 促进髓鞘的形成, 加速轴突的成熟。 近年来研究发现, NGF 可通过促进血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达

而间接地促进血管形成, 甚至认为 NGF 具有直接促进血管形成的作用^[1]。

本组资料显示, NGF 在对照组肠壁肌间神经丛中存在高表达, 在小肠闭锁患儿中表达明显减低。 NGF 在肠神经系统的生长、发育中起着十分重要的作用, 而肠闭锁的肠神经系统发育存在明显异常^[2], 同时, NGF 能影响血管的生长, 胚胎期血液循环障碍已被普遍认为是造成肠闭锁的主要原因。 因此, 推测 NGF 的低表达在肠闭锁的形成发育过程中起着一定的作用。

NGF 需与位于细胞膜上的受体结合才能发挥作用。 神经生长因子受体(NGFR)分为高亲和力受体和低亲和力受体。 高亲和力受体为 trkA, 它是与细胞信号传递有关的原癌基因 TRK 编码的蛋白产物之一; 低亲和力受体是一种分子量为 75 kd 的蛋白质, 即 P75NTR, NGF/P75NTR 激活后能抑制 TrkA 介导的神经元增殖、分化和迁移^[3]。 P75 NTR 还能通过增加神经酰胺^[4]和生长调节蛋白 Rho^[5]来抑制神经元轴突的生长, P75NTR 缺陷的动物基底前脑胆碱能神经原出现肥大和纤维过度长入海马。 本实验中, 肠闭锁组患儿肠壁 P75NGFR 存在高表达, 可能是导致肠神经系统发育异常的原因之一。

本研究显示, 先天性肠闭锁患儿肠壁存在 NGF 与 P75NGFR 的异常表达, 但它们与肠闭锁的发生关系还有待更深入的研究。

参 考 文 献

- 1 Santos P, Winterowd J, Allen G, et al. Nerve growth factor: increased angiogenesis without improved regeneration [J]. Otolaryngol. Head Neck Surg, 1991, 105: 12-25.
- 2 Watanabe Y, Ando H, Seo T, et al. Two-dimensional alterations of myenteric plexus in jejunoileal atresia, [J]. J Pediatr Surg, 2001, 36: 474-478.
- 3 Kohn J, Aloyz R S, Toma J G, et al. Functionally antagonistic interactions between the TrkA and P75 neurotrophin receptors regulate sympathetic neuron growth and target innervation [J]. Neurosci, 1999, 19(13): 5393-5408.
- 4 Plo I, Bong F, Bezombes C, et al. Nerve growth factor-induced protein Kinase C activation contributes to TrkA-dependent inhibition of p75 neurotrophin receptor sphingolipid signaling [J]. J Neurosci Res, 2004, 77(4): 465-474.
- 5 Brann A B, Scott R, Neuberger Y, et al. Ceramide signaling downstream of the P75 neurotrophin receptor mediates the effects of nerve growth factor on outgrowth of cultured hippocampal neurons [J]. J Neurosci, 1999, 19(19): 8199-8206.

新生儿肠闭锁NGF与P75NGFR表达的研究

作者：[张光磊](#)，[林晓明](#)，[曾洪飏](#)，[ZHANG Guang-lei](#)，[LIN Xiao-ming](#)，[ZEN Hong-biao](#)
作者单位：[福建省泉州市儿童医院外科, 362000](#)
刊名：[临床小儿外科杂志](#)[ISTIC](#)
英文刊名：[JOURNAL OF CLINICAL PEDIATRIC SURGERY](#)
年，卷(期)：2008，7(6)
被引用次数：0次

参考文献(5条)

1.Brann A B;Seott R;Neuberger Y [Ceramide signaling downstream of the P75 neurotrophin receptor mediate the effects of nerve growth factor on outgrowth of cultured hippocampal neurons](#) 1999(19)
2.Plo I;Bong F;Bezombes C [Nerve growth factor-induced protein Kinase C atimuhrtion contributes to TrkA-dependent inhibition of p75 neurotrophin receptor sphingolipid signaling](#) 2004(04)
3.Kohn J;Aloyz R S;Toma J G [Functionally antagonistic interactions between the TrkA and P75 neurotrophin roceptors regulate sympathetic neuron growth and target innervation](#) 1999(13)
4.Watanabe Y;Ando H;Seo T [Two-dimensional alterations of myentem plexus in jejunoileal atresial](#) 2001
5.Santos P;Winterowd J;Allen G [Nerve growth factor:in creased angiogenesis without improved Megeneration](#) 1991

本文链接：http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_lcxewkzz200806009.aspx

授权使用：黔南民族师范学院(gnnzsfxy)，授权号：abadbefe-37ad-4202-91fd-9eda00b7bc70

下载时间：2011年5月5日