

# 脓毒症大鼠心脏组织基因表达变化的研究

刘勇 林建东 肖雄箭 张贝蕾 林辉

**【摘要】** 目的 应用基因芯片技术初步分析脓毒症大鼠心脏组织细胞基因表达谱的变化。方法 雄性 Wistar 大鼠 30 只被随机分为脓毒症组和对照组, 每组 15 只。采用盲肠结扎穿孔术 (CLP) 制备大鼠脓毒症模型, 以透射电镜下心脏组织检查鉴定模型。应用含有 22 523 个大鼠基因 cDNA 克隆的表达谱基因芯片进行检测, 以 Cy3 和 Cy5 两种荧光信号强度结果比值  $>2.0$  或  $<0.5$  的基因为脓毒症表达差异基因, 用计算机软件筛选并分析脓毒症大鼠心脏组织术后 24 h 的基因表达变化, 并初步分析表达差异基因与脓毒症之间的关系。结果 与对照组比较, 脓毒症组大鼠心脏组织共筛选出 418 个出现差异表达的基因, 占基因芯片总点数的 1.86%, 其中表达上调者 200 个, 表达下调者 218 个。在已知功能基因中表达上调者 84 个, 下调者 74 个, 与应激反应、细胞信号转导、糖皮质激素受体、免疫反应、胰岛素样生长因子、细胞物质能量代谢等方面的相关基因功能有关。结论 脓毒症大鼠心脏组织出现一系列基因表达异常, 用基因芯片检测技术可快速分析。

**【关键词】** 基因芯片; 脓毒症; 心; 基因表达

An investigation of changes in gene expression profile of heart tissue in a rat sepsis model LIU Yong\*, LIN Jian-dong, XIAO Xiong-jian, ZHANG Bei-lei, LIN Hui. \* Intensive Care Unit, Zhangzhou Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Zhangzhou 363000, Fujian, China  
Corresponding author: LIN Jian-dong, Email: linjd@tom.com

**【Abstract】** Objective To investigate the changes in gene expression spectrum of heart tissue in septic rats by DNA microarrays. Methods Thirty male Wistar rats were randomly divided into sepsis group and control group with 15 rats in each group. Cecal ligation and puncture (CLP) was used to reproduce rat sepsis model, and the success of reproduction was confirmed by examining the heart tissue with transmission electron microscope. Gene expression spectrum was studied with oligonucleotide gene expression profile microarray that contained 22 523 rat cDNA clones to detect the changes in gene expression pattern of rat heart tissue 24 hours after CLP. Genes with fluorescent signal of Cy3/Cy5 of ratio average (RA)  $>2.0$  or  $RA < 0.5$  were identified as differential genes, then those that high correlated to sepsis were screened by means of related computer software, and their relationship was analyzed. Results Electron microscopic examination of heart tissue demonstrated that the sepsis model was successfully reproduced. Compared to the controls, gene expression of 418 genes of heart tissue of septic rat were changed 24 hours after CLP, accounting for 1.86%, and among them 200 genes showed up-regulation, 218 genes with down-regulation. Among known functional genes, 84 genes up-regulated and 74 genes down-regulated. They were related with a range of genetic functions, such as acute stress reaction, signal transduction, immune response, energy metabolism related genes etc. Conclusion There are a series of changes in gene expression in heart tissue apparently induced by sepsis rat. DNA microarray technology provides a new tool for rapidly analyzing them.

**【Key words】** DNA microarray; sepsis; heart; gene expression

目前,由脓毒症(sepsis)所引发的全身多器官功能障碍综合征(MODS)已成为危重病患者最主要的死亡原因之一。尽管新的抗生素不断推出,器官功能支持、血液净化、免疫调理等新技术、新疗法也越来越多地应用于临床,但脓毒症的治疗仍未能取得预期的效果<sup>[1]</sup>。究其原因,主要在于人们对脓毒症复杂的发生发展机制尚缺乏全面、深入的了解。基因芯片技术是 20 世纪末期发展起来的一项新的规模化生物基因信息分析技术,可以高效、快速地分析规模巨大的基因表达状况。本研究中采用基因芯片技术检

测分析脓毒症大鼠心脏组织基因表达的变化情况,力图在基因水平上对脓毒症造成心脏组织病理生理改变的发生机制做一些初步探讨。

## 1 材料与方 法

**1.1 动物模型制备与分组:**健康雄性 Wistar 大鼠 30 只,体重 180~220 g,购自上海斯莱克实验动物有限公司按随机数字表法分成两组,每组 15 只。脓毒症组按文献[2]方法采用盲肠结扎穿孔术 (CLP) 复制大鼠肠源性脓毒症模型;对照组只开腹、关腹与复苏,不进行 CLP。

## 1.2 实验方 法

**1.2.1 心脏组织标本的采集:**于术后 24 h 在氯胺酮腹腔麻醉下迅速开胸、开腹,摘取心脏,立即置入

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.03.008  
作者单位:363000 福建医科大学附属漳州市医院 ICU(刘勇);  
350000 福州,福建医科大学附属第一医院 ICU(林建东、肖雄箭、张贝蕾、林辉)

通信作者:林建东,Email:linjd@tom.com

液氮中, -70 ℃ 保存。

**1.2.2 组织病理观察:**切取厚度约 1.5 mm 的大鼠心脏组织,用戊二醛溶液和四氧化锇溶液双固定,经乙醇梯度脱水、树脂包埋,制成超薄切片,透射电镜下观察。

**1.2.3 基因芯片检测杂交**

**1.2.3.1 基因芯片选择:**RatRef-12 大鼠表达谱基因芯片由联合基因技术有限公司制作,每个芯片含有 22 523 个大鼠基因 cDNA 克隆。

**1.2.3.2 探针准备:**以 TRIzol 试剂采用一步法抽提心脏组织总 RNA。以 Qiagen RNeasy Mini 试剂盒(美国 Qiagen 公司)进行 mRNA 分离纯化,在 50 μl 反转录反应体系中加入 3 μg mRNA,反转录合成并纯化 cDNA 探针。脓毒症组组织制备的 cDNA 探针以脱氧三磷酸尿苷(Cy5-dUTP)标记;对照组组织制备的 cDNA 探针以 Cy3-dUTP 标记。

**1.2.3.3 探针与芯片的杂交:**将基因芯片与杂交探针分别于 95 ℃ 水中变性 5 min,置于杂交仓中,于 60 ℃ 杂交 16 h,用氧化钠-柠檬酸钠缓冲液(SSC)、十二烷基硫酸钠(SDS)反复洗涤、晾干后扫描。

**1.2.3.4 芯片扫描与信号分析处理:**用激光共聚焦扫描仪以两种不同波长扫描芯片,图像处理软件分析 Cy3 和 Cy5 两种荧光信号的强度和比值,以两次芯片两种荧光信号强度结果比值(Ratio 值)均 > 2.0 或均 < 0.5 的基因为差异表达基因,前者显示脓毒症组基因表达显著上调,后者显示脓毒症组基因表达显著下调。通过美国国立生物技术信息中心(NCBI)数据库查询基因功能并加以分类。

**2 结果**

**2.1 各组大鼠心脏组织电镜检查结果:**对照组大鼠心肌细胞正常,肌原纤维是胞质的主要成分,粗、细肌丝排列整齐,M 线、Z 线、H 带清晰可见,线粒体结构正常(彩色插页图 1)。脓毒症组大鼠心肌细胞膜消失,粗、细肌丝结构不清晰,不见 Z 线、M 线、H 带,线粒体排列紊乱,嵴稀疏、断裂,甚至空泡化(彩色插页图 2)。提示制模成功。

**2.2 差异基因表达:**与对照组比较,脓毒症组大鼠心脏组织有 418 个基因出现差异表达,占基因芯片总点数的 1.86%;其中表达上调者 200 个,表达下调者 218 个。

**2.2.1 上调基因:**在已知功能基因中,表达上调者共 84 个,其中应激反应相关基因 25 个,细胞信号转导相关基因 10 个,转录因子相关基因 4 个,免疫反应相关基因 6 个,离子通道相关基因 4 个,细胞物质

能量代谢相关基因 7 个,DNA 复制相关基因 2 个,生长因子相关基因 2 个,癌基因 2 个,炎症反应相关基因 2 个,血管紧张素原、血管紧张素 I 转换酶基因各 1 个,其余 18 个;其基因功能分类、基因代码、Genbank 登陆号、基因名称、Ratio 值见表 1。

**2.2.2 下调基因:**在已知功能基因中,表达下调者共 74 个,其中细胞物质能量代谢相关基因 16 个,信号转导相关基因 10 个,炎症反应相关基因 6 个,抗氧化反应相关基因 3 个,骨架蛋白相关基因 5 个,应激反应相关基因 4 个,免疫反应相关基因 6 个,生长因子相关基因 5 个(包括胰岛素样生长因子相关基因 2 个),转录因子相关基因 2 个,离子通道相关基因 1 个,DNA 修复相关基因 1 个,其余 15 个。其基因功能分类、基因代码、Genbank 登陆号、基因名称、Ratio 值见表 2。

**3 讨论**

脓毒症的发生发展涉及众多细胞因子和免疫、炎症相关因子,在机体内既存在着促炎反应,又存在着抗炎反应,影响两者平衡的因素错综复杂,与基因多态性及基因表达调控密切相关<sup>[3]</sup>。目前已有国内外学者利用小鼠经 CLP 或腹腔注射脂多糖(LPS)制备脓毒症动物模型,采用基因芯片技术对其肺、肝、脾、血白细胞等组织的基因表达进行了研究,其结果初步显示了这些组织中部分基因表达的特异性改变,主要包括:①在脓毒症小鼠肺组织中,免疫及抗感染反应、促炎与抗炎反应和急性时相反应相关基因的表达均明显上调,对细胞损伤有重要保护作用的细胞热休克反应基因、抗氧化反应基因的表达在脓毒症晚期明显下调<sup>[4]</sup>。②在脓毒症小鼠的肝组织中,各种基本生化物质代谢酶类基因和能量代谢相关基因 116 个,其中 92 个基因表达下调,只有 24 个基因表达上调,说明机体处于一种低物质代谢和能量代谢的衰竭状态。免疫相关基因中,免疫球蛋白重链等的表达量均下调,但是 TNF-α 转换酶等炎症介质的表达量均上调,显示出机体出现免疫系统功能紊乱<sup>[5]</sup>。③CLP 24 h 后可诱导基因的协同表达,改变脾组织细胞的信号转导和存活路径,同时,促炎因子与抗炎因子的基因也都有不同程度的表达<sup>[6-7]</sup>。④脓毒症小鼠血白细胞转录因子 Krüppe 样转录因子 5(Klf5)基因、C/EBPβ 上调最为显著,提示脓毒症小鼠基因变化的机制模式可能为:炎症信号激活酪氨酸蛋白激酶(TPK)信号通路及 G 蛋白介导的信号转导途径,进一步活化 Klf5、C/EBPβ 等转录因子,从而促发相关基因表达<sup>[8]</sup>。

表 1 脓毒症组大鼠心脏组织已知表达上调的 84 条功能基因

基因功能	基因代码	登陆号	基因名称	Ratio 值
DNA 复制	Cirbp	NM_031147.2	寒冷可诱导 RNA 结合蛋白	2.282 379
	RGD131014343	NM_001010951.1	似 RIKEN cDNA D030028016	2.087 773
癌基因	Junb	NM_021836.2	jun B 原癌基因	3.589 446
	Myc	NM_012603.2	髓细胞组织增生病毒癌基因同源物(鸟类)	4.355 708
蛋白结合	PVR	NM_017076.1	脊髓灰质炎病毒受体	2.715 057
	Pdlim3	NM_053650.1	PDZ 和 LIM 域 3	2.228 331
辅肌动蛋白	S100a8	NM_053822.1	S100 钙结合蛋白 A8/钙粒蛋白 A	6.633 842
钙结合蛋白	Mt1a	NM_138826.2	金属硫蛋白 1a	2.565 862
金属硫蛋白	Kenk1	NM_021688.2	钾通道亚家族 K1	4.271 046
离子通道	Kenmb4	NM_023960.2	鼠抗人大电导钙激活钾通道家族 Mβ4	3.283 708
	Scn3b	NM_139097.3	钠通道电压门控 β	2.615 068
免疫反应	Senn1a	NM_031548.2	上皮钠通道基因 1a	3.584 007
	Fcgr2b	NM_175756.1	低亲和力 Fc 受体 IgG II b	4.650 815
黏附分子	Hamp	NM_053469.1	hepcidin 抗菌肽	2.278 678
	Il1b	NM_031512.1	白细胞介素-1β	2.309 475
凝血	Il1r2	NM_053953.1	白细胞介素 1 受体 I 型	12.481 050
	Il2ra	NM_013163.1	白细胞介素 2 受体 α 链	3.400 656
生长因子	Il6r	NM_017020.1	白细胞介素 6 受体	2.142 929
	Icam1	NM_012967.1	细胞间黏附分子-1	2.522 741
糖结合蛋白	Selp	NM_013114.1	选择蛋白 P	9.971 591
	Fgf1	NM_012846.1	纤维细胞生长因子 1	2.363 972
透明质酸酶	Pgf	NM_053595.2	血小板生长因子 1	2.452 812
	Reg1	NM_012641.1	再生胰岛衍生 1	4.774 733
细胞物质能量代谢	Reg3a	NM_172077.1	再生胰岛衍生 3a	14.511 080
	Hyal2	NM_172040.1	透明质酸酶 2	2.115 974
酯酶 2	Cyp1a1	NM_012540.2	细胞色素 P450 1a1	15.264 120
	Es2	NM_017004.1	酯酶 2	10.556 740
脂类	Lcn7	NM_053582.1	脂质运载蛋白-7	3.521 661
	Pdk4	NM_053551.1	丙酮酸脱氢酶酯酶同工酶 4	8.735 677
磷酸酯酶	Pla2g4a	NM_133551.1	磷脂酶 A2NA 族	2.142 509
	Psp1a1	NM_138882.1	磷脂酰丝氨酸特异性磷脂酶 A1	2.253 601
细胞因子	Spin2c	NM_031531.1	丝氨酸蛋白酶抑制剂	12.650 530
	Socs3	NM_053565.1	细胞因子信号转导抑制因子 3	9.940 635
细胞信号转导	Admr	NM_053302.1	肾上腺髓质素受体	3.594 786
	Aurkb	NM_053749.1	抗人极光激酶	3.491 248
连接蛋白	Bear1	NM_012931.1	乳腺癌抗雌激素 1	2.376 284
	Cbib	NM_133601.1	泛素连接酶	2.451 180
周期蛋白	Cdkn1a	NM_080782.2	周期蛋白依赖激酶抑制因子 1A	2.862 583
	Gpr88	NM_031696.1	G 蛋白耦联受体 88	22.090 100
激酶	Jak2	NM_031514.1	蛋白酪氨酸激酶 2	3.246 088
	Limk1	NM_031727.1	含 LIM 基元蛋白激酶 1	2.093 150
信号转导	Snf1lk	NM_021693.1	SNF1 样激酶	2.608 266
	Stat3	NM_012747.2	信号转导和转录激活因子 3	2.230 700
嗅觉受体	Olr1569_predicted	NM_001000042.1	嗅觉受体 1569	4.729 769
血管紧张素 1 转换酶	Ace	NM_012544.1	血管紧张素 1 转换酶	3.148 872
	Agt	NM_134432.2	血管紧张素原	3.618 833
炎症反应	Cxcl1	NM_030845.1	趋化因子(C-X-C 基元)配体 1	11.349 250
	Cxcl2	NM_053647.1	趋化因子(C-X-C 基元)配体 2	50.299 990
氧化酶	Qscn6	NM_053431.1	停顿蛋白 Q6	2.040 238
	Idi1	NM_053539.1	异戊烯二磷酸 δ 异构酶 1	2.067 944
抑制因子	Timp1	NM_053819.1	基质金属蛋白酶组织抑制剂-1	3.543 513
	Adamts1	NM_024400.1	金属蛋白酶含血小板反应蛋白基元 1	2.258 038
应激反应	Arl4	NM_019186.1	ADP 核糖基化样因子 4	2.225 872
	Cdo1	NM_052809.1	半胱氨酸双加氧酶 1	2.654 821
酶	Dmp1	NM_203493.2	牙本质基质蛋白 1	2.592 363
	Eif1	NM_001008344.1	真核翻译终止因子 1	2.058 279
细胞外	Expi	NM_133537.1	细胞外肽酶抗化剂	18.636 940
	Fmo2	NM_144737.1	含黄素单氧化酶 2	2.349 065
促生长	Gal	NM_033237.1	促生长激素神经肽	5.689 677
	Gch	NM_024356.1	GTP 环水解酶 1	2.515 022
谷氨酰胺	Glrx1	NM_022278.1	谷氨酰胺蛋白 1	2.336 239
	Has1	NM_172323.1	透明质酸合酶 1	8.802 329
合成酶	Hmgcs2	NM_173094.1	3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 合成酶 2	3.167 810
	Hmox1	NM_012580.1	血红素加氧酶(解环)1	3.391 527
结合蛋白	Hp	NM_012582.1	结合珠蛋白	43.515 230
	Hrmt1l3	NM_053557.1	核内不均一性核糖核蛋白甲基转移酶样 3	2.141 782
脂类	Lcn2	NM_130741.1	脂质运载蛋白-2	35.214 060
	Mmp8	NM_022221.1	基质金属蛋白酶-8	4.066 821
糖样	Myd88	NM_198130.1	糖样分化因子初次应答基因 88	2.249 037
	Pap	NM_053289.1	胰腺炎相关蛋白	6.832 860
肽类	Penk-rs	NM_017139.1	前脑啡肽原相关序列	2.420 607
	Plscr1	NM_057194.1	磷脂酰酶 1	2.668 162
前列腺	Ptgs2	NM_017232.2	前列腺素内过氧化物酶 2	3.262 328
	Slc7a5	NM_017353.1	肿瘤相关蛋白 1	9.962 918
鞘氨醇	Sphk1	NM_133386.2	鞘氨醇激酶 1	2.631 588
	Trh	NM_013046.2	促甲状腺激素释放激素	7.556 546
肿瘤受体	Osmr	NM_001005384.1	肿瘤抑制素 M 受体	3.414 266
	Tgm1	NM_031659.1	转谷氨酰胺酶 1	7.301 786
转谷氨酰胺酶	Cebpb	NM_024125.3	CCAAT/增强子结合蛋白 β(C/EBPβ)	2.537 968
	Crem	NM_017334.1	环腺苷酸反应成分调节蛋白	2.930 680
转录因子	Runx1	NM_017325.1	矮小相关转录因子 1	2.248 410
	Trpv4	NM_023970.1	海马瞬时感受电位香草酸家族 4	2.597 252
转运蛋白	Slc1a1	NM_013032.2	溶质载体家族 1(神经元/表皮高亲和性谷氨酸转运蛋白, 系统 Xag), 成员 1	3.000 581
	Slc1a5	NM_175758.3	溶质载体家族 1(中性氨基酸转运蛋白), 成员 5	2.072 721

表 2 脓毒症组大鼠心脏组织已知功能下调的 74 条功能基因

基因功能	基因代码	登陆号	基因名称	Ratio 值
DNA 修复	Dnase1l3	NM_053907.1	DNA 酶 I 样 3	0.042 892
胺氧化酶	Aoc3	NM_031582.1	胺氧化酶, 含铜 3	0.389 232
蛋白合成	Rasd2	NM_133568.1	RASD 家族, 成员 2	0.282 639
蛋白结合	Plekhl1	NM_172033.1	Q9WU68-Pleckstrin 同源结构域含 B 家族, 成员 1	0.200 083
	Ren3_predicted	NM_001008694.1	网钙蛋白 3, EF 手性钙结合域(预测)	0.496 433
对氧磷酶	Pon3	NM_001004086.1	旁羧化酶 3	0.289 648
发动蛋白	Dnm1	NM_080689.2	发动蛋白 1	0.388 431
钙结合蛋白	Fbln5	NM_019153.2	肺骨蛋白 5	0.481 141
骨架蛋白	Col3a1	NM_032085.1	Ⅲ型胶原蛋白基因 α1	0.163 126
	Col5a1	NM_134452.1	V型胶原蛋白基因 α1	0.424 431
	Eln	NM_012722.1	弹性蛋白	0.426 375
	Krt1-19	NM_199498.1	酸性角蛋白复合体 1 基因 19	0.244 391
	Omd	NM_031817.1	骨调蛋白	0.216 654
抗氧化反应	Akr1c18	NM_138510.1	醇醛酶还原酶家族 1, 成员 C18	0.182 783
	Cry11	NM_175757.2	晶状体蛋白 λ1	0.482 411
	Scd2	NM_031841.1	酰基辅酶 A 脱氢酶 2	0.493 499
离子通道	Kcnk2	NM_172042.1	钾通道家族 K, 成员 2	0.423 272
免疫反应	Cd3d	NM_013169.1	CD3 抗原 δ 肽	0.272 318
	Cd8a	NM_031538.2	CD8 抗原 α 链	0.364 054
	Fcer2a	NM_133550.1	Fc 受体 IgE 抗体低亲和力和 I α 肽	0.093 361
	Ltc4s	NM_053639.2	白细胞三烯 C4 合成酶	0.010 987
	Mal	NM_012798.1	髓鞘和淋巴细胞蛋白	0.367 908
	Ncf1	NM_053734.2	中性粒细胞胞质因子 1	0.401 019
黏附分子	Itgb4	NM_013180.1	整合素 β4	0.489 756
生长因子	Fgf16	NM_021867.2	成纤维细胞生长因子 16	0.382 041
	Gap43	NM_017195.1	生长相关蛋白-43	0.307 961
	Nrpl	NM_145098.2	神经纤毛蛋白-1	0.489 789
细胞物质能量代谢	Aldh3a1	NM_031972.1	醛脱氢酶家族 3, 成员 A1	0.393 998
	Ca3	NM_019292.3	碳酸酐酶 3	0.384 492
	Ctse	NM_012938.1	组织蛋白酶 E	0.325 144
	Cyp2j9	NM_175766.2	细胞色素 P450 家族 2 亚科 j 多肽 9	0.442 492
	Dpep1	NM_053591.1	二肽酶 1(肾)	0.298 057
	Fads1	NM_053445.1	脂肪酸脱饱和酶 1	0.470 026
	Hk2	NM_012735.1	己糖激酶 2	0.407 558
	Maob	NM_013198.1	单胺氧化酶 B	0.259 628
	Pdp2	NM_145091.3	丙酮酸脱氢酶磷酸酶同工酶 2	0.393 060
	Pdzk1	NM_031712.1	PDZ 域 1	0.260 841
	Slc25a29	NM_001010958.1	溶质携带物家族 25, 成员 29	0.359 340
	Slc26a3	NM_053755.1	溶质携带物家族 26, 成员 3	0.362 085
	Slc29a1	NM_031684.2	溶质携带物家族 29, 成员 1	0.499 268
	Slco2b1	NM_080786.1	溶质载体有机阴离子转运蛋白家族, 成员 2b1	0.454 817
	Synj2	NM_032071.1	突触伸蛋白 2	0.440 607
细胞分裂	Tdo2	NM_022403.1	色氨酸-2,3-加双氧酶	27.664 500
	Cend1	NM_171992.2	周期素 D1	0.321 672
	Gzmc	NM_134332.1	颗粒酶 C	0.173 058
	Map2k6	NM_053703.2	丝裂素活化蛋白激酶激酶 6	0.271 443
细胞因子	Xcl1	NM_134361.1	小分子可诱导细胞因子亚科 C, 成员 1	0.144 086
腺苷酸环化酶	Adcy2	NM_031007.1	腺苷酸环化酶 2	0.488 274
信号转导	Edg8	NM_021775.2	内皮分化鞘脂 G 蛋白耦联受体	0.272 528
	Fez1	NM_031066.1	成束和延伸蛋白 zeta1	0.437 381
	Gng11	NM_022396.1	鸟嘌呤核苷酸结合蛋白(G 蛋白)γ11	0.499 283
	Lgr7	NM_201417.1	富亮氨酸重复相容 G 蛋白耦联受体 7	0.273 985
	P2y12	NM_022800.1	P2Y 嘌呤受体 G 蛋白耦联 12 基因	0.180 194
	Prkcb1	NM_012713.1	蛋白激酶 Cβ1	0.262 981
	Ptpro	NM_017336.1	蛋白酪氨酸磷酸酶受体型	0.474 712
	Rgs4	NM_017214.1	G 蛋白信号转导调控因子 4	0.466 671
	Rgs7	NM_019343.1	G 蛋白信号转导调控因子 7	0.218 641
	Sh3bp5	NM_054011.1	SH3 域结合蛋白 5	0.426 982
炎症反应	Cxcl12	NM_022177.2	趋化因子(趋序)配体 12	0.311 129
	Cxcl9	NM_145672.3	趋化因子(趋序)配体 9	0.436 797
	Nr1d1	NM_145775.1	核受体亚科 1D 组, 成员 1	0.385 269
	Ptgsd2	NM_031644.2	前列腺素 D2 合成酶 2	0.294 386
	Tnfsf10	NM_145681.1	肿瘤坏死因子(配体)超家族, 成员 10	0.427 815
	Tnfsf13	NM_001009623.1	肿瘤坏死因子(配体)超家族, 成员 13	0.467 929
胰岛素样生长因子	Esm1	NM_022604.2	内皮细胞特异性分子 1	0.118 486
	Igf1bp6	NM_013104.2	胰岛素样生长因子结合蛋白 6	0.401 611
应激反应	Adralb	NM_016991.2	肾上腺素受体 α1b	0.407 019
	Agtrl1	NM_031349.2	血管紧张素样受体 1	0.107 034
	Epb4.113	NM_053927.1	红细胞蛋白带 4.1 样 3	0.499 140
	Opml	NM_053848.1	阿片类药物结合蛋白/细胞黏附分子样基因	0.286 376
转录因子	Lzts1	NM_153470.1	肿瘤抑制亮氨酸拉链蛋白 1	0.469 055
	Myocd	NM_182667.1	myocardin 相关转录因子	0.311 203
转移酶	Galnt13	NM_199106.1	UDP-N-乙酰-α-D-半乳糖胺 N-乙酰半乳糖胺基转移酶 13	0.387 699
	Qprt	NM_001009646.1	喹啉酸磷酸核糖基转移酶	0.327 268



本实验中采用含有 22 523 个大鼠 cDNA 克隆的基因芯片检测 CLP 混合感染性脓毒症模型大鼠晚期(24 h)心脏组织中的差异表达基因,并对这些基因按其所编码的蛋白质功能予以聚类分析,初步显示了脓毒症时心脏组织中部分基因表达的特征性改变:①血管紧张素原主要产生于肝脏,血管紧张素转换酶主要来源于肺脏,但心脏也存在着独立的肾素-血管紧张素系统(RAS),脓毒症时的细菌毒素及众多炎症介质可激活心脏 RAS。本实验显示心脏 Agt 基因及 Ace 基因表达均上调,可能造成血管紧张素 I (Ang I) 的进一步升高。而已有的研究证明 Ang I 可对心脏产生直接损伤作用,并诱发和加重心肌缺血/再灌注损伤<sup>[9-11]</sup>。王国兴等<sup>[12]</sup>报道血管紧张素转换酶抑制剂可明显改善脓毒症时的心肌损伤。②与 G 蛋白介导的信号转导途径相关的基因(Gpr88, Ratio 值达 22.090 100)表达明显上调,提示 G 蛋白介导的信号转导途径可能与经典的 TPK 信号转导途径共同参与了脓毒症时的心脏组织信号转导;转录因子基因 Cebpb 表达上调,提示 C/EBP $\beta$  可能对诱发脓毒症起重要作用。此两点与李磊等<sup>[8]</sup>的研究结果相似。③细胞因子信号转导抑制因子 3 可通过改变白细胞介素-6 的效应而发挥抗炎作用<sup>[13]</sup>。本组脓毒症大鼠 Socs3 基因表达亦明显上调,显示脓毒症晚期虽仍存在全身炎症反应综合征(SIRS),但代偿性抗炎反应综合征(CARS)也在增强,其最终平衡结果尚不清楚。④胞内型糖皮质激素受体基因 Nr1d1 表达下调,其原因可能为炎症细胞因子(如基因 Il1b、Osmr 等)诱导核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B, 转录因子相关基因)的过度表达所致。Nr1d1 表达下调使糖皮质激素受体的功能改变、数目减少,产生脓毒症时的内源性糖皮质激素抵抗现象。此外,多种炎症细胞因子还可通过激活 I 型 11 $\beta$  羟基甾醇脱氢酶将皮质醇转化为无活性的皮质酮,使炎症局部皮质醇浓度调节异常,由此也参与介导局部细胞的激素抵抗<sup>[14]</sup>。⑤Fcgr2b、Il1b、Il1r2、Il2ra、Il6r 等非特异性免疫反应相关基因表达上调,而 Cd3d、Cd8a、Mal、Ncf1 等特异性免疫反应相关基因表达下调,显示脓毒症大鼠的心脏组织处于免疫功能紊乱状态,可进一步加剧 SIRS 的发展。⑥胰岛素样生长因子相关基因(Esm1、Igfbp6 等)的表达均下调,可造成应激状态机体内源性胰岛素样生长因子的不足。由于胰岛素样生长因子在结构及功能上与胰岛素作用相似,可以抑制机体过度分泌胰岛素、胰高血糖素及肾上腺素,下调自主神经的活性,对高

度应激下的组织器官起到一定的保护作用,因此,在脓毒症时适量补充外源性胰岛素样生长因子可能有益。⑦各种参与基本物质、能量代谢的已知功能基因表达上调者 7 个,表达下调者 16 个,表明随着脓毒症的发展,大鼠的心脏组织已处于低能量代谢水平,可能已进入多器官功能衰竭阶段。同时,心脏组织中的抗氧化反应、蛋白合成、骨架蛋白、DNA 修复等相关基因表达均下调,这也是脓毒症导致全身多器官损伤的原因。

#### 参考文献

- [1] 林洪远. 脓毒症——挑战与对策. 中国危重病急救医学, 2004, 16(6):325-327.
- [2] Otero-Antón E, González-Quintela A, López-Soto A, et al. Cecal ligation and puncture as a model of sepsis in the rat; influence of the puncture size on mortality, bacteremia, endotoxemia and tumor necrosis factor alpha levels. Eur Surg Res. 2001, 33 (2):77-79.
- [3] Kollef MH, Micek ST. Strategies to prevent antimicrobial resistance in the intensive care unit. Crit Care Med. 2005, 33 (8):1845-1853.
- [4] 李明强, 曾邦雄. 基因表达谱芯片用于检测脓毒症小鼠肺组织基因表达的改变. 中华麻醉学杂志, 2003, 23(9):667-670.
- [5] 李志军, 李银平, 盖慧荣, 等. 脓毒症大鼠肝组织基因表达的研究. 中国危重病急救医学, 2007, 19(3):156-159.
- [6] Cobb JP, Laramie JM, Stormo GD, et al. Sepsis gene expression profiling: murine splenic compared with hepatic responses determined by using complementary DNA microarrays. Crit Care Med. 2002, 30(12):2711-2721.
- [7] Chinnaiyan AM, Huber-Lang M, Kumar-Sinha C, et al. Molecular signatures of sepsis: multiorgan gene expression profiles of systemic inflammation. Am J Pathol. 2001, 159(4): 1199-1209.
- [8] 李磊, 王兴鹏, 吴恺. 实验性脓毒症小鼠白细胞基因表达谱的变化. 中华急诊医学杂志, 2005, 14(2):122-126.
- [9] Kabour A, Henegar JR, Janicki JS. Angiotensin I (A I)-induced myocyte necrosis: role of the A I receptor. J Cardiovasc Pharmacol. 1994, 23(4):547-553.
- [10] Yoshiyama M, Kim S, Yamagishi H, et al. The deleterious effects of exogenous angiotensin I and angiotensin I on myocardial ischemia-reperfusion injury. Jpn Circ J. 1994, 58 (5):362-368.
- [11] 杨建民, 杨宗城, 陈发明, 等. 大鼠烧伤后心肌局部肾素-血管紧张素系统的改变. 中华整形烧伤外科杂志, 1999, 15(2):102-104.
- [12] 王国兴, 沈漪华, 谢尚荣, 等. 脓毒症时大鼠心脏的变化及血管紧张素转化酶抑制剂的保护作用. 中华急诊医学杂志, 2007, 16(2):138-142.
- [13] 赵锋, 潘雯, 梁艳冰, 等. 细胞因子信号转导抑制因子-1 在脓毒症小鼠肝脏和脾脏中表达的研究. 中国危重病急救医学, 2007, 19(10):606-609.
- [14] Rook G, Baker R, Walker B, et al. Local regulation of glucocorticoid activity in sites of inflammation, insights from the study of tuberculosis. Ann NY Acad Sci. 2000, 917:913-922.

(收稿日期:2008-07-17)

(本文编辑:李银平)