

文章编号:1004 - 616X(2000)04 - 0193 - 03

·论著·

CYP1A1 mRNA 在大鼠脑内的分布以及溴氰菊酯对其影响的研究

刘烈刚¹, 严红², 石年², 刘毓谷²

(1. 同济医科大学营养与食品卫生学教研室; 2. 同济医科大学环境毒理教研室, 湖北 武汉 430030)

摘要:目的:研究 CYP1A1 mRNA 在大鼠脑内的分布以及溴氰菊酯对其影响。方法:采用 RT-PCR 及 cDNA dot blot 方法检测大鼠不同脑区 CYP1A1 mRNA 的表达。结果:大鼠脑区 CYP1A1 mRNA 分布不一致,在所检测的脑区中,下丘脑最丰富,其次是皮层、小脑;在溴氰菊酯 1/10 LD₅₀ (12.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹) 腹腔注射连续 5d 的作用下,溴氰菊酯对大鼠脑内 CYP1A1 mRNA 有明显的抑制作用,并以皮层和下丘脑为甚。结论:CYP1A1 mRNA 在大鼠脑内的分布不一致,溴氰菊酯抑制脑内 CYP1A1 mRNA 的表达。

关键词:溴氰菊酯; RT-PCR; CYP1A1 mRNA

中图分类号:R730 文献标识码:A

THE REGIONAL DISTRIBUTION OF CYP1A1 mRNA IN RAT BRAIN AND THE EFFECT OF DELTAMETHRIN ON THE EXPRESSION OF CYP1A1

LIU Lie-gang, YAN Hong, SHI Nian, LIU Yu-gu

(Department of Environmental of Toxicology, Tongji Medical University, Wuhan 430030, China)

Abstract: Purpose: The purpose of the present study was to investigate the regional distribution of CYP1A1 mRNA in rat brain and the effect of Deltamethrin on CYP1A1 gene expression. **Methods:** By the methods of RT-PCR and dot blot analysis. **Results:** By the methods of RT-PCR and dot blot, it was revealed that the regional distribution of CYP1A1 mRNA varied in different brain; Deltamethrin inhibited the expression of CYP1A1 mRNA, especially in cerebral cortex, under the treatment of Deltamethrin with the dose of 12.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹ ip. for five days. **Conclusion:** These results demonstrated that Deltamethrin markedly inhibited CYP1A1 gene expression.

Key words: Deltamethrin; CYP1A1 mRNA; RT-PCR

溴氰菊酯(Deltamethrin, DM)对哺乳动物的毒性主要表现在中枢神经系统,目前对其神经毒作用机理的研究多集中在对神经递质¹和离子通道²的影响等方面,而对神经系统代谢酶的影响研究较少。CYP1A1是脑组织中含量相对丰富,代谢活性较强的代谢酶³⁻⁵;研究 CYP1A1 基因在脑中的分布,以及

溴氰菊酯对 CYP1A1 基因表达的影响,对研究杀虫剂溴氰菊酯在脑内的代谢转归以及神经毒作用机理具有重要意义。

材料与amp;方法

1 主要试剂

收稿日期:1998-11-24;修订日期:1999-11-30

基金项目:国家自然科学基金重点资助项目(39430110)

作者简介:刘烈刚(1966-),男,湖北人,讲师,博士,研究方向:神经毒理。

CYP1A1 mRNA 分布不一致,以下丘脑部 CYP1A1 mRNA 最为丰富,小脑及大脑皮层次之,而在相同条件下,嗅球部未能检出。

2 DM 对 CYP1A1 mRNA 的影响

图 1A 6-9 行为 DM 处理组 CYP1A1 mRNA 表达,与正常组相比,DM 明显抑制 CYP1A1 mRNA 表达,皮层及下丘脑区 CYP1A1 mRNA 抑制最为明显,小脑次之。同样,嗅球部亦未检出 CYP1A1 mRNA 表达。

3 cDNA dot blot 分析

图 1B 结果显示,RT-PCR 扩增产物正好与预先设计的探针杂交,进一步证实了 RT-PCR 扩增产物的可靠性,且由图 1B 积分光密度扫描结果可知,与正常组相比,下丘脑、大脑皮层及小脑的抑制率分别是 58.6%、31.4%、20.1%。

讨论

在正常肝组织中,用 Northern blot 等法亦难以测到 CYP1A1 mRNA 的水平⁷,而脑中 CYP1A1 mRNA 更低,因此按常规方法难以检测。但有报道证实用 RT-PCR 技术分析评价脑中 CYP1A1 mRNA 表达水平的实用性⁸,RT-PCR 产物用于准确反应 mRNA 水平,其关键因素是扩增产物是否饱和,如通过控制循环次数,使得扩增产物达到检测水平而又不致达到饱和状态,则它能很好地反映出 mRNA 水平。本文采用 RT-PCR 技术,通过合成适宜的引物,选择合适的循环次数,并在扩增过程中选用严格的退火条件,成功地进行了脑中 CYP1A1 mRNA 在不同脑区的分布的实验,其扩增产物与预期大小一致(341bp),并且为 cDNA dot blot 分析结果所证实,这便克服了用免疫组化、Western blot 等法检测 CYP1A1 mRNA 表达的蛋白质时因交叉反应而引起错误分析的弊端⁹,因此用 RT-PCR 技术研究中枢神经系统内低水平表达的 CYP 系统是非常实用可靠的。

本实验结果清楚显示,各脑区中 CYP1A1 mRNA 分布不一致,在所检测的脑组织中,以下丘脑最高,其次是皮层、小脑,而在同样条件下,嗅球部未能检出,这与 Benoit¹⁰ 报道相符。

而在 DM 作用下,各脑区组织中 CYP1A1 mRNA 水平明显降低,并且抑制率不一致;DM 本身对脑组织有毒性作用,且它对脑组织中 CYP1A1 mRNA 的抑制作用,将进一步影响其蛋白产物的表达,即相应的代谢酶活性降低,使得 DM 或其他物质在脑组织的代谢减慢,增强 DM 的神经毒作用或与其他物质对脑的联合作用。因此溴氰菊酯对脑组织中 CYP1A1 mRNA 的影响,亦可能是其神经毒作用机理之一。

参考文献:

- 1 赵西龙,朱晓峰,刘毓谷. 溴氰菊酯对大鼠脑中谷氨酸递质释放的影响J. 中国环境科学,1996,16:258-260.
- 2 牛玉杰,石年,刘毓谷. 溴氰菊酯对大鼠中枢神经系统一氧化氮合成酶活性的影响J. 卫生毒理学杂志,1997,11:75-77.
- 3 Dennis CM, Adam PS, Paul ET, et al. Distribution and induction of cytochrome P450 1A1 and 1A2 in the brainJ. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1998,152:232-239.
- 4 Sewer MB, Koop DR, and Morgan ET. Endotoxemia in rats is associated with induction of the P450 4A subfamily and suppression of several other forms of cytochromesJ. *Drug Metab Dispos.* 1996, 24:401-407.
- 5 Castarett and Doull. The basic science of poisons(A). Klaasessu CD ed. *Toxicology*. 5th. 1997. 162-164.
- 6 Henry WS, Hideneri K, Geng J. Expression of multiple forms of brain cytochrome P450J. *Toxicology Letters*, 1995, 82:639-643.
- 7 Parkinson A, Clement RP, Casciano CN. Evaluation of coratadine as an inducer of liver microsomal cytochrome P450 in rats and mice J. *Biochem Pharmacol*, 1992,43:2169-2180.
- 8 Omiecinski CJ, Hassett C, Moomchhala SM. Protection and potentiation of MPTP induced toxicity by cytochrome P450 inhibition and inducer: *in vitro* studies with brain slicesJ. *Brain Res*, 1991, 555:239-244.
- 9 Geng J, Henry WS. Identification of cytochromes P4501A2, 2A1, 2C7, 2E in rat glioma C6 cell line by RT-PCR and specific restriction enzyme digestion J. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, 197:1170-1184.
- 10 Schilter B, Omiecinski CJ. Regional distribution and expression modulation of cytochrome P450 and epoxide hydrolase mRNAs in rat brainJ. *Mol Pharmacol*, 1993,44:990-996.