

白细胞介素-11 保护肺损伤的分子机制

高新 翁毅敏 蔡育彬

(中山医科大学附属第三医院外科; 广州, 510630)

摘要 目的: 探讨白细胞介素-11(IL-11)保护肺损伤的分子机制。方法: 先用白细胞介素-11于小鼠腹腔内注射, 然后对其胸腔做致死剂量 X 线照射。照射后 20 d 内观察小鼠的存活率, 定期取肺组织提取总 RNA, 做 Northern 印迹法分析。结果: 白细胞介素-11 处理组的小鼠照射后存活率明显高于照射组的动物 ($P < 0.05$), 其锰超氧化物歧化酶(MnSOD)和 Bcl-2 mRNA 表达亦明显高于照射组。结论: 白细胞介素-11 保护肺损伤的分子机制之一可能是增强 MnSOD 和抑制细胞凋亡。

关键词 白细胞介素-11; 肺/病理学; 超氧化物歧化酶(锰); 细胞凋亡

中图分类号 R 329.24; 392.12

MOLECULAR MECHANISM OF IL-11 PROTECTION AGAINST RADIATION INDUCED THORACIC INJURY

Gao Xin Weng Yimin Cai Yubin

(Department of Surgery, Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510630)

Abstract Objective: Investigation of the effect of IL-11 on radiation induced thoracic injury. **Methods:** Mice were pretreated with IL-11 and then exposed to 25 Gy dose of X-ray on thoracic cavity. Among those irradiated animals, the survival was observed and Northern Blotting analysis was carried out. **Results:** The surviving rate was significantly higher in the animals pretreated with IL-11 than in those without IL-11 treatment; Meanwhile, MnSOD and Bcl-2 mRNA expression were also enhanced in IL-11 treated mice. **Conclusion:** IL-11 can increase the survival and MnSOD and Bcl-2 mRNA accumulation after radiation-induced thoracic injury.

Subject headings: interleukin-11; lung pathology; superoxide dismutase Mn; apoptosis

炎性细胞因子释放和细胞凋亡是多种因素导致肺损伤早期出现的病理过程。锰超氧化物歧化酶(MnSOD)对炎性细胞因子释放造成的肺损害有保护作用^[1]。细胞凋亡是调控基因控制的主动过程, 通过诱导 Bcl-2 基因表达, 能抑制细胞凋亡, 保护肺组织细胞不受损害^[2]。本实验对小鼠胸腔作致死剂量 X 线照射, 制造肺损伤模型, 观察白细胞介素 11(IL-11)对肺损伤的保护作用, 发现它能明显降低肺损伤后小鼠的死亡率, 其分子机制是增强 MnSOD 和 Bcl-2 mRNA 的表达。现报告如下。

1 材料与方方法

1.1 实验动物

84 只 Bal/c 小鼠分两批用于实验, 每批 42 只。第 1 批胸部照射后观察其存活率; 第 2 批同条件胸部照射, 分别在第 6、8、10 天处死动物, 取肺脏提取总 RNA。

1.2 人重组白细胞介素-11 来源及注射

人重组白细胞介素-11(IL-11)购自马萨诸州剑桥遗传研究所, 经 T1165 细胞增殖测定, IL-11 的活性是 1.8×10^6 U/L。用含 0.1% 白蛋白的生理盐水将 IL-11 稀释为 100

pg/L, 于照射前 1 d 按每天每公斤体重 400 μ g 做腹腔注射, 共 7 d。

1.3 胸部 X 线照射与实验分组

实验分组: 按实验条件不同, 依次分为对照组、IL-11 组、照射组和照射+IL-11 组。前两组每组动物 10 只, 胸腔不照射 X 线, 仅给予含 0.1% 白蛋白的生理盐水, 或 IL-11; 后两组每组动物 11 只, 胸腔给予 25 Gy X 线照射。

胸部 X 线照射: 动物麻醉后妥善固定, 用自制铅套罩住小鼠身体, 仅露胸部。用德国西门子公司造的 250 kV X 线机(15 mA, 2 mm Al 滤片, 每分钟发出 X 线剂量约 1.23 Gy)。

1.4 肺组织总 RNA 制备与 Northern 印迹法分析

动物处死后迅速取出肺, 电动匀浆器匀浆, 按异硫氰酸胍法^[3]提取总 RNA。用紫外线测定浓度和光密度(A 260/280 > 1.8 A 旧称吸光度 OD), 按每样 20 μ g 将各组样品并排在 1.2% 变性琼脂糖凝胶上电泳, 毛吸法转移到尼龙膜上, 置 80 $^{\circ}$ C 真空烘干。尼龙膜在 42 $^{\circ}$ C 预杂交 4 h 后, 用预杂交液加 50 pg/L 蛙鱼精子 DNA 和按随机标记法用³²P 标记的鼠 MnSOD 和 Bcl-2 cDNA 探针(5×10^5 CPM/mL) 42 $^{\circ}$ C 杂交 24 h。cDNA 探针购自美国 ATCC 公司。

1.5 统计分析

胸部照射的两组动物存活率用四格表的确切概率法统计分析。

2 结果

2.1 IL-11 对胸部照射后小鼠存活率的影响

未照射的两对照组动物, 实验期间无死亡。在照射组 11 只动物中, 照射后第 6 天开始有动物死亡, 至第 14 天共有 7 只动物死亡, 第 14 天后未见动物死亡。在 IL-11 处理的 11 只动物中, 仅在照射后第 10、11 天各有 1 只动物死亡, 死亡总数 2 只。照射两组间存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.2 IL-11 增强照射后肺组织 MnSOD mRNA 表达

两对照组可探测到 MnSOD mRNA 信号减弱; 与此相反, IL-11 组照射后各期肺组织 MnSOD mRNA 表达明显高于照射组, 并在第 8 天和第 10 天达高峰(图 1)。

2.3 IL-11 增强照射后肺组织 Bcl-2 mRNA 表达

未照射两对照组有 Bcl-2 mRNA 信号表达; 照射组在第 8 天探测到较弱的信号; IL-11 组照射后 Bcl-2 mRNA 表达在第 6 天和第 8 天明显高于照射组, 并在第 8 天信号最强(图 1)。

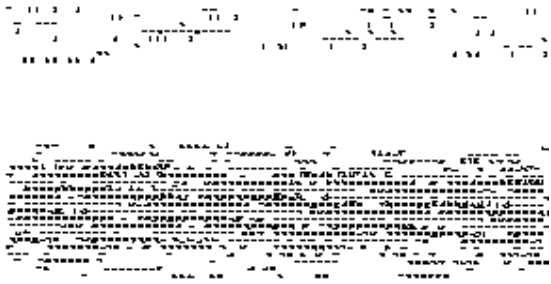


图 1 细胞素-11 对活体 MnSOD 和 Bcl-2 mRNA 积聚的影响

Fig. 1 Effect of IL-11 on MnSOD and Bcl-2 mRNA accumulation in vivo

Total organ RNA was extracted from the lungs of mice treated with rIL-11 or vehicle 6, 8, and 10 days following sham or 25 Gy thoracic irradiation. SOD, Bcl-2 and GAPDH mRNA level were quantitated as described above

3 讨论

正常生理状态下, 机体内能产生一定量 MnSOD, 清除氧自由基, 保护细胞不受损害。在肺损伤病理状态下, 炎性细胞因子释放引起局部炎症反应, 使氧自由基产生超过机体自身清除能力, 细胞出现损害^[4]。MnSOD 能清除这种损害。IL-11 不仅能抑制炎性细胞因子释放^[5], 还能增强 MnSOD mRNA 表达, 从而增强 MnSOD 酶活性^[1], 提高肺损伤后动物的存活率。

细胞凋亡是一种广泛存在于生理和病理状态下的细胞受某些基因控制的主动死亡过程。在这些基因中, Bcl-2 是最后通路。Bcl-2 基因表达增强, 细胞凋亡受到抑制^[2]。IL-11 能增强 Bcl-2 mRNA 表达, 抑制细胞凋亡, 减少肺细胞损害。此外, Bcl-2 和 MnSOD 一起有协同对抗损伤的能力^[6]。

本研究结果表明 IL-11 保护肺损伤的分子机制之一, 可能是增强 MnSOD 和抑制细胞凋亡。

参 考 文 献

- 1 Ho Y S. Antioxidant enzyme expression in rat lungs during hyperoxia. *Am J Physiol*, 1996, 270: 1810
- 2 Reed J C. Bcl-2 and regulation of programmed cell death. *J Cell Biol*, 1993, 75: 241
- 3 Chomczynski P. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate/phenol/chloroform extraction. *Anal Biochem*, 1987, 162: 156
- 4 宋 勇. 活性氧与细胞凋亡的研究进展. *国外医学呼吸系统分册*, 1997, 17: 30
- 5 Carrie A R, Xin G. IL-11 enhances survival and decreases TNF production after radiation-induced thoracic injury. *J Immunol*, 1996, 157: 1705
- 6 Grace H W. Protective roles of cytokines against radiation; induction of mitochondrial MnSOD. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1995, 1271: 205

(1997-12-18 收稿 1998-05-14 修回)