

孕小鼠注射海洛因对仔鼠体重、行为及肺中相关活性物质表达的影响

冯红丽 李重阳 俞诗源* 王悦 王昱 贾艳芳
邓海平 郭婷婷 牛宪峰

(西北师范大学生命科学院 兰州 730070; 甘肃政法学院 兰州 730070)

摘要:为了探讨海洛因对仔鼠行为、体重及肺发育中 KGF、c-Fos 蛋白和 Bax 蛋白表达的影响,对 4 组共 48 例受孕小鼠 (*Mus musculus*) 从第 8 d 开始,每天早晚分别注射 0.2 ml 浓度为 1.0 g/L、1.5 g/L 和 2.0 g/L 的海洛因溶液和等量的生理盐水直到小鼠分娩,观察测量仔鼠行为及体重变化,采用免疫组织化学染色和体视学半定量方法检测 15 d 胚胎、出生后 1 d、7 d、15 d 仔鼠的肺中 KGF、c-Fos 蛋白和 Bax 蛋白表达情况。结果表明,海洛因影响仔鼠的行为活动,实验组各发育期仔鼠的体重明显低于对照组,海洛因组各发育期仔鼠肺中 KGF、c-Fos 蛋白和 Bax 蛋白的表达强度与对照组相比显著增强 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),且随海洛因浓度的增大表达越强,但随着发育的进行,海洛因组仔鼠肺中 KGF、c-Fos 蛋白和 Bax 蛋白的阳性表达减弱。海洛因影响仔鼠的行为与体重,海洛因对各发育期仔鼠肺的损伤可能与肺组织中 KGF、c-Fos 蛋白和 Bax 蛋白表达的增强有关。

关键词: 海洛因;小鼠;体重;行为变化;KGF;c-Fos 蛋白;Bax 蛋白

中图分类号: Q954.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2009)06-23-08

Behavior, Weight and Expression of KGF, c-Fos and Bax in the Lungs of Filial Mice after Injecting Pregnant Mice with Heroin

FENG Hong-Li LI Chong-Yang YU Shi-Yuan* WANG Yue WANG Yu
JIA Yan-Fang DENG Hai-Ping GUO Ting-Ting NIU Xian-Feng

(College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070;
Gansu Political Science and Law Institute, Lanzhou 730070, China)

Abstract: To study the effects of heroin on changes of weight, behavior and expression of KGF, c-Fos and Bax in the lungs of developing filial mice, 48 mice at the eighth day of pregnancy were divided into 4 groups and injected with different concentrations (0, 1.0, 1.5 and 2.0 g/L) of heroin in 0.2 ml saline in the morning and afternoon until the birth of filial mice. Changes of weight and behaviour were observed and expression of KGF, c-Fos and Bax was detected by immunohistochemistry combined with stereological semi-quantitative methods in the lungs of 15-day embryos, and filial mice 1 d, 7 d and 15 d after birth. Results showed that heroin influenced behaviour of the developing mice. The weight of filial mice of the experimental groups was lower than that of the control group at different developmental

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 30370163), 甘肃省自然科学基金项目 (No. ZS031-A25-005-Z), 甘肃省创新人才基金项目;

*通讯作者, E-mail: syyu006@nwnu.edu.cn;

第一作者介绍 冯红丽,女,硕士研究生;研究方向:细胞生物学;E-mail: fenghl2009@126.com.

收稿日期: 2009-06-10, **修回日期:** 2009-09-11

stages, and the expression intensity of KGF, c-Fos and Bax in the lungs of filial mice significantly increased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). However, the expression of KGF, c-Fos and Bax decreased gradually in the lungs of filial mice with the development. Thus, heroin significantly affects the weight and behavior, and damages the lungs in filial mice, the latter might be correlated with the increased expression of KGF, c-Fos and Bax.

Key words: Heroin; Mouse; Weight; Behaviour change; KGF; c-Fos protein; Bax protein

海洛因又称二乙酰吗啡(3,6-diamorphine), 是吗啡的半合成品, 长期应用海洛因可致其在体内蓄积而形成慢性海洛因中毒。目前, 海洛因依赖已成为全世界范围内非常严重的社会问题, 研究表明慢性海洛因中毒可引起肺水肿^[1], 海洛因对肺组织有明显的病理损害^[2]。海洛因成瘾大鼠(*Rattus norvegicus*)生长发育迟缓, 体重增长速度减慢, 行为出现异常^[3]。研究亦表明角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)、c-Fos 蛋白(proto-oncogene *c-fos*, c-Fos)和 Bax 蛋白(bcl-2 associated X protein, Bax)参与了兽类正常肺细胞的生长、分化、增殖与凋亡, 在正常成年大鼠肺中已检测到 KGF 和角质细胞生长因子受体(keratinocyte growth factor receptor, KGFR)mRNA 的表达, KGF 能诱导正常成年大鼠肺泡型上皮细胞的增殖和分化^[4], c-Fos 蛋白参与大鼠胎肺组织细胞的正常生长和分化^[5], Bax 蛋白介导了大鼠胎肺发育过程中的细胞凋亡^[6]。但母鼠吸食海洛因对仔鼠行为、体重及肺组织发育过程中 KGF、c-Fos 蛋白和 Bax 蛋白的表达是否有影响, 还未见报道。本研究给孕小鼠(*Mus musculus*)连续注射海洛因, 观察其仔鼠行为、体重的变化, 并运用免疫组织化学方法检测海洛因对各发育期仔鼠肺组织相关活性物质表达的影响, 以探讨海洛因对生长发育期小鼠的毒性及其可能的机制, 为临床海洛因中毒的防治提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 主要试剂 盐酸海洛因(甘肃省公安厅提供), 根据半数致死剂量和成瘾剂量用蒸馏水配制成 1.0 g/L、1.5 g/L 和 2.0 g/L 3 个浓度梯度的水溶液, 4~6℃下保存备用, 兔(*Oryctolagus cuniculus*)抗 KGF、兔抗 c-Fos 蛋白、兔抗 Bax 蛋

白免疫组织化学试剂盒和 DAB 显色剂均购于武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 实验动物与给药 选昆明小鼠 96 只(购于兰州大学实验动物中心), 雌雄各半, 体重 25~35 g, 实验前适应性饲养一周, 然后雌雄小鼠按 1:1 合笼交配, 于合笼次日 7:00 时做雌鼠阴道检查, 出现阴栓或精子涂片在镜下可观察到精子即记为妊娠第 1 d。48 例受孕小鼠随机分为 4 组(3 个实验组和 1 个对照组), 每组 12 只。实验组孕小鼠从受孕第 8 d 开始腹腔注射给药^[7,8], 每次分别注射 0.2 ml 浓度为 1.0 g/L、1.5 g/L、2.0 g/L 的海洛因溶液, 每天分别在 9:00 和 16:00 时 2 次注射, 对照组孕小鼠每天注射等量的生理盐水, 直到孕小鼠分娩后停止注射^[9]。

1.3 体重测量和行为观察 用电子天平对 15 d 胚胎及出生后 1 d、7 d、15 d 的仔鼠称重, 在仔鼠出生后每天定时观察记录仔鼠饮奶、尖叫、扭体等行为变化, 并与对照组比较。

1.4 免疫组织化学染色 分别取 15 d 胚胎、出生后 1 d、7 d、15 d 的仔鼠肺组织, 入 10% 福尔马林溶液固定 2 d, 常规石蜡包埋、切片(厚 6 μm), 脱蜡至水, 微波处理进行抗原修复, 3% H₂O₂ 孵育消除内源性过氧化酶活性, 正常山羊(*Capra hircus*)血清室温孵育, 以封闭非特异性反应位点, 一抗用兔抗 KGF(工作浓度为 1:300)、兔抗 c-Fos 蛋白、兔抗 Bax 蛋白(工作浓度为 1:200)。一抗置 4℃冰箱孵育过夜, 滴加生物素标记的二抗(羊抗兔 IgG 抗血清), 室温孵育 30 min, 滴加链霉素抗生素蛋白-过氧化物酶复合物工作液, 室温孵育 30 min, 空白对照用 PBS 代替一抗, DAB 显色, 苏木精复染; 常规脱水、透明、封片, 光镜观察并拍照。具体操作步骤按试剂盒说明进行。

1.5 体视学测量 随机取每种蛋白照片 5 张 ($\times 400$), 采用方格测试系统交点计数法分别测算肺组织中细胞阳性表达的面密度值 (S_v), 公式为 $S_v = 2 I_x / L_c$, $L_c = P_c \cdot a$, 式中, I_x 为阳性表达的细胞与测试方格的交点数, P_c 为测试系统落在参照系的点数, a 为方格的两点间距离^[8]。

1.6 数据处理 实验数据用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析处理, 结果以 Mean \pm SD 表示, 各发育期中实验组与对照组两组间均数比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示有显著差异, $P < 0.01$ 差异极显著。

2 结果

2.1 孕小鼠注射海洛因后对仔鼠行为的影响

海洛因直接影响仔鼠的行为活动, 且有剂量效应关系 (表 1), 从仔鼠的行为变化定时观察统计发现, 与对照组相比 2.0 g/L 和 1.5 g/L 海洛因组的仔鼠饮奶次数明显减少 ($P < 0.01$), 尖叫次数则极显著增加 ($P < 0.01$), 1.0 g/L 海洛因组仔鼠饮奶次数和尖叫次数无明显变化

($P > 0.05$), 各实验组仔鼠的扭体次数极显著增加 ($P < 0.01$)。

表 1 孕小鼠注射海洛因后仔鼠的行为变化

Table 1 Changes in behaviour of filial mice after injecting pregnant mice with heroin

组别 Group (g/L)	仔鼠 Filial mice		
	饮奶次数 Milking times	尖叫次数 Screaming number	扭体次数 Writhing number
对照组 Control groups	3.75 \pm 0.96	0.95 \pm 0.58	0
1.0	3.24 \pm 0.58	1.75 \pm 0.96	1.50 \pm 0.58**
1.5	2.25 \pm 0.57**	4.00 \pm 0.82**	3.75 \pm 0.96**
2.0	1.75 \pm 0.50**	6.75 \pm 1.71**	7.00 \pm 1.83**

**与对照组比较 Compared with control group, $P < 0.01$.

2.2 孕小鼠注射海洛因后对仔鼠体重的影响

海洛因影响仔鼠体重 (表 2), 实验组各发育期仔鼠体重明显低于对照组。1.0 g/L 组出生后 7 d、15 d 仔鼠的体重低于对照组 ($P < 0.05$), 而 15 d 胚胎及出生后 1 d 仔鼠的体重则显著低于对照组 ($P < 0.01$); 其他各实验组的仔鼠体重显著低于对照组 ($P < 0.01$)。

表 2 孕小鼠注射海洛因后不同发育时期仔鼠体重的变化

Table 2 Changes in weight of the developing filial mice after injecting pregnant mice with heroin

组别 Group (g/L)	体重 Weight (g)			
	15 d 胚胎 Embryo 15 d	出生 1 d After birth 1 d	出生 7 d After birth 7 d	出生 15 d After birth 15 d
对照组 Control groups	0.31 \pm 0.01	1.971 \pm 0.05	3.03 \pm 0.03	7.98 \pm 0.11
1.0	0.28 \pm 0.03**	1.503 \pm 0.08**	2.64 \pm 0.04*	7.57 \pm 0.15*
1.5	0.25 \pm 0.02**	1.284 \pm 0.06**	2.13 \pm 0.07**	7.13 \pm 0.19**
2.0	0.21 \pm 0.02**	0.928 \pm 0.04**	1.80 \pm 0.09**	6.70 \pm 0.16**

与对照组比较 Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

2.3 孕小鼠注射海洛因后对仔鼠肺中 KGF 表达的影响 免疫组织化学显示, 阳性表达部位被染成棕色或棕黄色。各发育期仔鼠肺间质细胞、细支气管平滑肌和肺泡隔间质细胞 (以成纤维细胞为主) 中呈 KGF 免疫反应阳性 (图版 : 1~6)。海洛因组各发育期仔鼠肺中 KGF 阳性表达显著增强, 且存在剂量效应关系, 2.0 g/L 海洛因组的 15 d 胚胎、出生后 1 d 仔鼠肺中 KGF 表达的面密度值与对照组相比差异极显著

($P < 0.01$), 出生后 7 d、15 d 仔鼠肺中 KGF 表达的面密度值差异显著 ($P < 0.05$); 1.5 g/L 海洛因组的 15 d 胚胎及各发育期仔鼠肺中 KGF 表达的面密度值与对照组相比有显著差异 ($P < 0.05$); 1.0 g/L 海洛因组的 15 d 胚胎及仔鼠在各发育期肺中 KGF 表达的面密度值与对照组相比差异不显著 ($P > 0.05$) (表 3)。

2.4 孕小鼠注射海洛因后对仔鼠肺中 c-Fos 表达的影响 c-Fos 在各发育期仔鼠肺间质细

胞、细支气管平滑肌和肺泡上皮细胞中呈免疫反应阳性,海洛因组 c-Fos 阳性表达的面密度值较对照组强,且存在剂量效应关系(图版 :7~12)。2.0 g/L 海洛因组的 15 d 胚胎、出生后 1 d 仔鼠肺中 c-Fos 表达的面密度值与对照组相比差异极显著 ($P < 0.01$),出生后 7 d、15 d 仔鼠肺中 c-Fos 表达的面密度值差异显著 ($P <$

0.05);1.5 g/L 海洛因组的 15 d 胚胎、出生后 1 d 及 7 d 仔鼠肺中 c-Fos 表达的面密度值与对照组相比有显著差异 ($P < 0.05$),出生后 15 d 仔鼠肺中 c-Fos 表达的面密度值差异不显著 ($P > 0.05$);1.0 g/L 海洛因组的仔鼠在各发育期肺中 c-Fos 表达的面密度值与对照组相比差异不显著 ($P > 0.05$) (表 4)。

表 3 孕小鼠注射海洛因后不同发育时期仔鼠肺中 KGF 表达的面密度变化

Table 3 Surface area density changes of KGF in the lungs of developing filial mice after injecting pregnant mice with heroin

组别 Group (g/L)	面密度值 Surface area density			
	15 d 胚胎 Embryo 15 d	出生 1 d After birth 1 d	出生 7 d After birth 7 d	出生 15 d After birth 15 d
对照组 Control groups	0.031 2 ±0.003 5	0.029 2 ±0.001 7	0.027 3 ±0.001 5	0.031 4 ±0.002 1
1.0	0.039 2 ±0.003 3	0.038 3 ±0.003 3	0.036 8 ±0.002 6	0.039 5 ±0.002 5
1.5	0.044 1 ±0.003 0 *	0.048 2 ±0.003 1 *	0.047 7 ±0.002 2 *	0.046 1 ±0.001 9 *
2.0	0.053 0 ±0.002 8 **	0.061 5 ±0.002 5 **	0.051 2 ±0.001 6 *	0.050 9 ±0.002 6 *

与对照组比较 Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 4 孕小鼠注射海洛因后不同发育时期仔鼠肺中 c-Fos 表达的面密度变化

Table 4 Surface area density changes of c-Fos in the lungs of developing filial mice after injecting pregnant mice with heroin

组别 Group (g/L)	面密度值 Surface area density			
	15 d 胚胎 Embryo 15 d	出生 1 d After birth 1 d	出生 7 d After birth 7 d	出生 15 d After birth 15 d
对照组 Control groups	0.028 8 ±0.003 5	0.029 6 ±0.002 9	0.029 2 ±0.002 6	0.028 7 ±0.002 5
1.0	0.033 6 ±0.003 8	0.041 1 ±0.003 5	0.038 6 ±0.001 9	0.035 2 ±0.002 2
1.5	0.041 2 ±0.002 3 *	0.047 6 ±0.002 1 *	0.043 6 ±0.002 1 *	0.040 1 ±0.001 6
2.0	0.049 0 ±0.002 7 **	0.051 7 ±0.003 3 **	0.048 3 ±0.002 8 *	0.042 1 ±0.003 1 *

与对照组比较 Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

2.5 孕小鼠注射海洛因后对仔鼠肺中 Bax 表达的影响 Bax 在各发育期仔鼠肺间质细胞、细支气管平滑肌、肺泡上皮细胞和部分肺泡隔间质细胞中呈免疫反应阳性(图版 :13~18),且随着海洛因浓度的增大 Bax 阳性表达增强。2.0 g/L 海洛因组在 15 d 胚胎、出生后 1 d 仔鼠肺中 Bax 表达的面密度值与对照组相比差异极显著 ($P < 0.01$),出生后 7 d、15 d 仔鼠肺中 Bax

表达的面密度值差异显著 ($P < 0.05$);1.5 g/L 海洛因组的 15 d 胚胎及出生后 1 d、7 d 仔鼠肺中 Bax 表达的面密度值与对照组相比有显著差异 ($P < 0.05$),出生后 15 d 仔鼠肺中 Bax 表达的面密度值差异不显著 ($P > 0.05$);1.0 g/L 海洛因组的仔鼠在各发育期肺中 Bax 表达的面密度值与对照组相比差异不显著 ($P > 0.05$) (表 5)。

表 5 孕小鼠注射海洛因后不同发育时期仔鼠肺中 Bax 表达的面密度变化

Table 5 Surface area density changes of Bax in the lungs of developing filial mice after injecting pregnant mice with heroin

组别 Group (g/L)	面密度值 Surface area density			
	15 d 胚胎 Embryo 15 d	出生 1 d After birth 1 d	出生 7 d After birth 7 d	出生 15 d After birth 15 d
对照组 Control groups	0.034 3 ±0.003 5	0.053 3 ±0.002 1	0.038 2 ±0.001 7	0.042 1 ±0.003 2
1.0	0.038 6 ±0.002 8	0.058 6 ±0.003 3	0.047 2 ±0.002 6	0.046 1 ±0.002 3
1.5	0.042 4 ±0.003 2 *	0.060 9 ±0.003 5 *	0.052 3 ±0.002 2 *	0.049 9 ±0.002 0
2.0	0.052 4 ±0.003 1 **	0.072 6 ±0.002 7 **	0.056 1 ±0.001 9 *	0.053 2 ±0.003 6 *

与对照组比较 Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

3 讨 论

3.1 海洛因对发育期仔鼠行为、体重的影响

海洛因是造成机体依赖性的阿片类药物,它作用于阿片受体形成复合物或通过释放内源性阿片样物质,影响中枢神经系统释放多种递质,导致中缝核的兴奋,产生吸毒后的欣快感,使成瘾者产生依赖症状^[10]。本实验中注射海洛因孕小鼠组的仔鼠出现了饮奶次数减少、尖叫和扭体次数增多等症状,与小鼠兴奋剂成瘾戒断时的症状^[11]表现相似,这可能是海洛因穿透胎盘屏障对胎鼠发挥毒性作用,使胎鼠产生对海洛因的依赖,出生后仔鼠由于脱离母体产生戒断症状。同时,海洛因可能影响受孕小鼠的食欲,使孕鼠的摄食量减少,导致子宫中发育的胎鼠所需的营养减少或不足,引起胎鼠体重下降,而且海洛因还可通过胎盘影响仔鼠胃肠功能和肺功能^[8],使发育中的仔鼠饮食减少,代谢机能下降,导致仔鼠身体发育不良,体重降低。

3.2 海洛因对仔鼠肺中相关活性物质表达的影响

角质细胞生长因子是 1989 年由 Rubin 等^[13]首先从人胚胎肺成纤维细胞的生长培养液中分离出来的,它属于成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)超家族成员,对上皮细胞的生长、分化、迁移等都起重要作用,具有促进肺上皮细胞增殖和稳定细胞骨架结构的作用,除在人胚胎肺成纤维细胞中表达之外, KGF 还在成年人的肺、皮肤、乳腺、胃、膀胱和前列腺中表达。KGF 是多功能的生长因子,它

通过旁分泌途径影响组织、器官的发育^[14,15],在肺的发育和损伤修复过程中, KGF 也起重要作用。Borok 等^[16]研究发现 KGF 可通过提高肺上皮细胞 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}1$ 亚单位 mRNA 的表达,增加 Na 泵的数量,提高肺上皮细胞离子主动运输能力,这有利于肺损伤后肺积水的排出,因此检测 KGF 的表达可判断发育中肺组织的受损程度。本研究表明,孕鼠注射不同浓度的海洛因溶液后,发育期仔鼠肺中 KGF 表达增强,且海洛因浓度越大表达越强,说明海洛因的浓度越大对肺的损伤也越严重, KGF 的强诱导表达以修复海洛因对仔鼠肺组织的损伤,随着仔鼠的出生,停止注射海洛因后, KGF 表达强度又开始慢慢减弱,表明海洛因对肺组织的长时间损伤在逐渐减轻,但直到生后 15 d, KGF 在仔鼠肺组织中的表达仍强于对照组,表明海洛因的毒性对机体造成了程度不同的不可逆伤害。

c-fos 基因是原癌基因的一种,属于即刻早期基因(immediate-early gene, IEG)之一,正常情况下参与细胞生长、分化、信息传递和记忆等生理过程,在大多数正常细胞中表达水平较低,但炎症介质、炎症细胞、细胞因子等多种刺激均可引起 *c-fos* 基因的快速表达,其表达产物 *c-Fos* 蛋白可作为转录因子参与对目的基因表达的调控,发挥第三信使作用,把外界信号和基因型改变耦联起来^[17]。罗自强等^[18]研究发现, *c-fos* 基因在内皮素-1 促肺泡型细胞表面活性物质合成中起着重要作用,朱凤磊等^[19]研究发现, 喘安对哮喘大鼠肺组织原癌基因 *c-fos* 表达

有一定的影响,进一步说明了喘安对哮喘大鼠的治疗作用可能是通过降低肺组织中 *c-fos* 阳性细胞表达的数量而起作用。苏晓丽等^[20]也发现,在正常人肺组织中有恒定的 *c-Fos* 蛋白表达。本研究显示孕小鼠注射海洛因后,各发育期仔鼠肺中 *c-Fos* 蛋白的表达呈现不同程度的增强趋势,表明海洛因浓度越大 *c-Fos* 蛋白的表达也就越强,海洛因对肺细胞造成的损伤可能与 *c-Fos* 蛋白的强表达有关。

细胞凋亡,也称为程序性细胞死亡,是多细胞有机体为调控机体发育,维持内环境稳定,由基因控制的细胞主动的、受到严密调控的死亡过程。*Bax* 基因是近年来新发现的一种凋亡促进基因,属 *Bcl-2* 同一家族基因,其表达产物为 *Bax* 蛋白。*Bax* 蛋白不但具有拮抗 *Bcl-2* 蛋白抑制细胞凋亡的作用,而且有直接促进细胞凋亡的功能。*Bax* 蛋白过量表达则细胞死亡^[21],*Bax* 作为细胞死亡基因代表,对生物体的正常生长、发育具有重要意义,对肺组织的发育也起着重要的调节作用。丁续红等^[22]研究发现,肺癌组织中 *Bax* 过量表达,王樯等^[23]发现 *Bax* 是小鼠肺发育中细胞凋亡的相关调控基因之一。白巨利等^[24]研究发现吸入 SO_2 的大鼠肺中 *Bax* 蛋白大量表达,说明 SO_2 具有促进细胞凋亡的作用,李彩霞等^[25]进一步研究发现,人胎肺发育过程中 *Bax* 蛋白通过调控凋亡的方式参与胎肺发育与成熟。本实验显示海洛因组各发育期仔鼠肺组织中 *Bax* 蛋白表达强度均高于对照组,且随着海洛因浓度的增大 *Bax* 蛋白表达强度亦增强,表明海洛因引起肺组织细胞凋亡加剧,造成肺组织的损伤,且海洛因浓度越大对肺组织的损伤也越严重。

本研究中各实验组发育期仔鼠肺组织中 *KGF*、*c-Fos* 蛋白和 *Bax* 蛋白的表达均有不同程度的增强,表明海洛因对发育期仔鼠肺组织的损伤可能与包括 *KGF*、*c-Fos* 蛋白和 *Bax* 蛋白在内的多种活性物质的协调作用有关。

参 考 文 献

- [1] 白明,周琼.海洛因滥用与海洛因型肺水肿.国际呼吸杂志,2002,22(4):211~214.
- [2] 朱辉,沙丽君,查云等.海洛因成瘾者的肺功能——附100例分析.中国药物依赖性杂志,1993,2(2):134.
- [3] 徐国强,潘贵书,孙善发等.对海洛因成瘾大鼠体重及痛阈变化的研究.贵州畜牧兽医,1998,23(2):7~8.
- [4] Ulich T R, Yi E S, Longmuir K, et al. Keratinocyte growth factor is a growth factor for type II pneumocytes in vivo. *J Clin Invest*, 1994, 93:1 298~1 306.
- [5] 余鸿,刘敦玉,吴雨岭等.*c-Fos* 和巢蛋白在鼠胚肺内的表达及缺氧对其影响.中国现代医学杂志,2006,16(16):2 457~2 460.
- [6] John J E, Kunal K. The *ex vivo* differential expression of apoptosis signaling cofactors in the developing perinatal lung: essential role of oxygenation during the transition from placental to pulmonary-based respiration. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2001, 281(2): 311~316.
- [7] Suzuki K, Minei L J, Johnson E E. Effect of nicotine upon uterine blood flow in the pregnant rhesus monkey. *Am J Obstet Gynecol*, 1980, 136:1 009~1 013.
- [8] 谭星宇,何权瀛.母体妊娠期营养不良对SD仔鼠肺功能的影响.中国比较医学杂志,2006,16(7):398~401.
- [9] 宋精玲,徐贵丽,刘爱武等.大鼠海洛因依赖模型垂体、肾上腺、性腺的超微结构改变的研究.云南大学学报(自然科学版),1999,21(1):1~4.
- [10] 李晓明,藏东钰,郭敏.小鼠出生后肾脏发育过程中的细胞增殖与凋亡.解剖学杂志,2006,29(4):446~449.
- [11] 扬良.海洛因的毒性及危害.北京:中国医药科技出版社,1998,89~92.
- [12] Radwan F F Y, Roman L G, Baksi K, et al. Toxicity and mAChRs binding activity of *Cassiopea xamachana* venom from Puerto Rican coasts. *Toxicon*, 2005, 45(1):107~112.
- [13] Rubin J S, Osada H, Finch P W, et al. Purification and characterization of a newly indentified growth factor specific for epithelial cells. *PNAS*, 1989, 86(3): 802~806.
- [14] 王小华,余争平,程天民.角质细胞生长因子.国外医学临床生物化学与检测学分册,2000,21(4):213~214.
- [15] Ware L B, Matthay M A. Keratinocyte and hepatocyte growth factors in the lung: roles in lung development, inflammation and repair. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2002, 282(5):L924~L940.
- [16] Borok Z, Danto S I, Dimen L, et al. Na^+ - K^+ -ATPase expression in alveolar epithelial cells: upregulation of active ion transport by *KGF*. *Am J Physiol*, 1998, 274(1):149~158.
- [17] Morgan J I, Curran T. Immediate-early genes: ten years on. *TINS*, 1995, 18:66~67.
- [18] 罗自强,孙秀泓,秦晓群.*c-fos* 基因在内皮素-1促肺泡

- 型细胞表面活性物质合成中的作用. 生理学报, 1999, 51(3): 241 ~ 245.
- [19] 朱凤磊, 石富娟, 胡俊玲. 喘安对哮喘大鼠肺组织原癌基因 *c-fos* 表达的影响. 绍兴文理学院学报, 2004, 24(9): 70 ~ 72.
- [20] 苏晓丽, 吴鄂生, 海镇环. 肺癌与非恶性疾病患者的肺组织 *c-fos*、*c-jun* 基因表达研究. 中国现代医学杂志, 2000, 10(9): 49 ~ 50.
- [21] Bernecker O Y, Huq F, Heist E K, et al. Apoptosis in heart failure and the senescent heart. *Cardiovasc Toxicol*, 2003, 3(3): 183 ~ 190.
- [22] 丁续红, 吴小军, 李清泉等. 肺癌组织中 *bcl-2* 和 *Bax* 的表达. 肿瘤研究与临床, 1999, 11(6): 374 ~ 376.
- [23] 王樯, 黄中新, 夏潮涌. 小鼠肺发育中细胞增殖与凋亡及相关调控基因的表达. 解剖学报, 2000, 31(4): 372 ~ 375.
- [24] 白巨利, 孟紫强. SO_2 吸入对大鼠肺 P53、*bax*、*bcl-2* mRNA 和蛋白表达的影响. 环境与职业医学, 2006, 23(2): 100 ~ 104.
- [25] 李彩霞, 卢晓晔, 黄中新等. 人胎肺发育过程中 P53 和 *Bax* 的表达及意义. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2006, 15(5): 487 ~ 490.

图 版 说 明

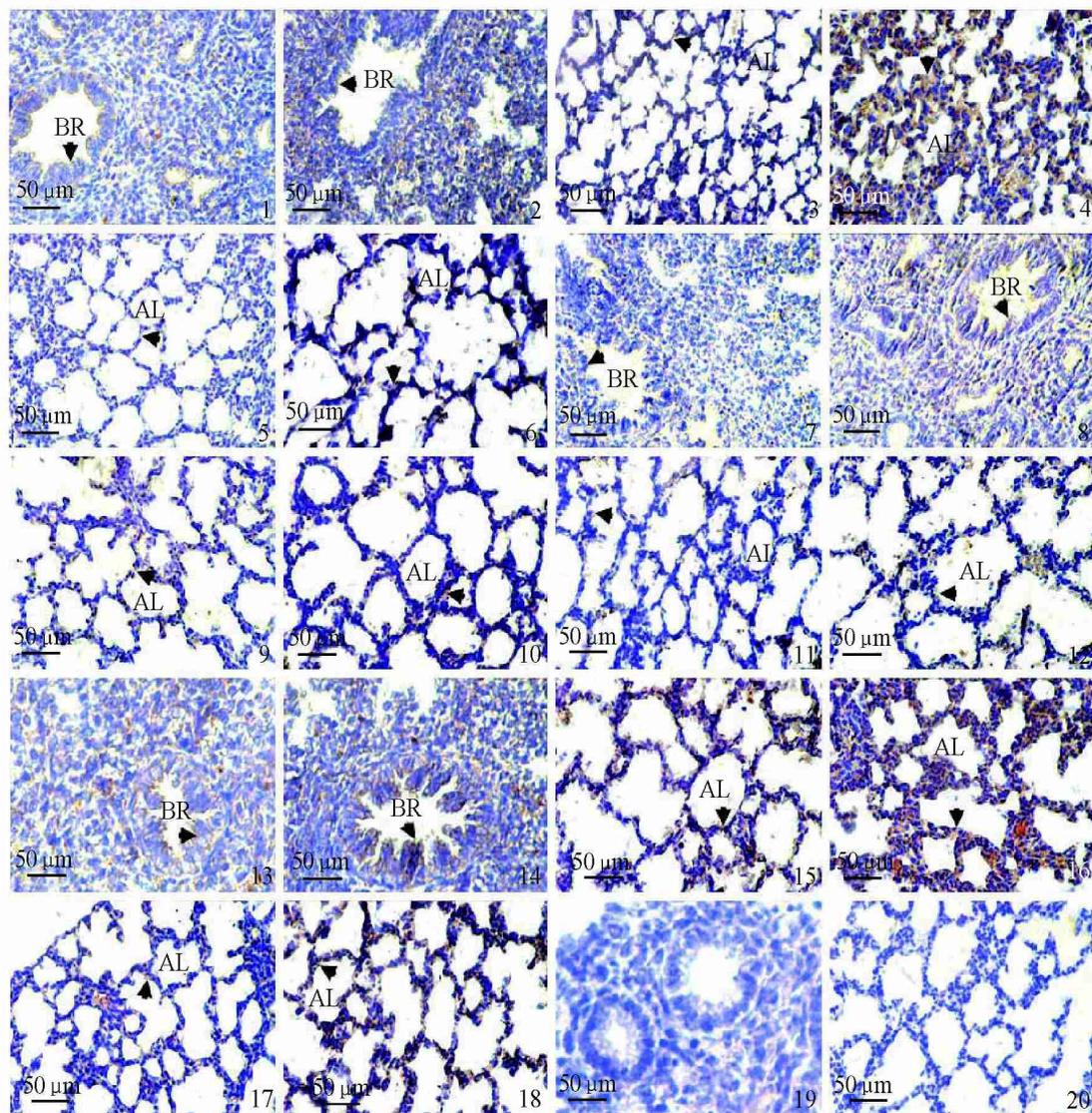
1. 示对照组 15 d 胚胎肺中 KGF 的表达() ; 2. 示 2.0 g/L 海洛因组 15 d 胚胎肺中 KGF 的表达() ; 3. 示对照组出生 1 d 仔鼠肺中 KGF 的表达() ; 4. 示 2.0 g/L 海洛因组出生 1 d 仔鼠肺中 KGF 的表达() ; 5. 示对照组出生 7 d 仔鼠肺中 KGF 的表达() ; 6. 示 2.0 g/L 海洛因组出生 7 d 仔鼠肺中 KGF 的表达() ; 7. 示对照组 15 d 胚胎肺中 *c-Fos* 的表达() ; 8. 示 2.0 g/L 海洛因组 15 d 胚胎肺中 *c-Fos* 的表达() ; 9. 示对照组出生 1 d 仔鼠肺中 *c-Fos* 的表达() ; 10. 示 2.0 g/L 海洛因组出生 1 d 仔鼠肺中 *c-Fos* 的表达() ; 11. 示对照组出生 7 d 仔鼠肺中 *c-Fos* 的表达() ; 12. 示 2.0 g/L 海洛因组出生 7 d 仔鼠肺中 *c-Fos* 的表达() ; 13. 示对照组 15 d 胚胎肺中 *Bax* 的表达() ; 14. 示 2.0 g/L 海洛因组 15 d 胚胎肺中 *Bax* 的表达() ; 15. 示对照组出生 1 d 仔鼠肺中 *Bax* 的表达() ; 16. 示 2.0 g/L 海洛因组出生 1 d 仔鼠肺中 *Bax* 的表达() ; 17. 示对照组出生 7 d 仔鼠肺中 *Bax* 的表达() ; 18. 示 2.0 g/L 海洛因组出生 7 d 仔鼠肺中 *Bax* 的表达() ; 19、20. 阴性对照. 标尺 = 50 μ m

Explanation of Plate

1. Arrow showing expression of KGF in the lung of 15-day embryo in control group () ; 2. Arrow showing expression of KGF in the lung of 15-day embryo after injecting pregnant mice with 2.0 g/L heroin () ; 3. Arrow showing expression of KGF in the lung of 1-day postnatal mice in control group () ; 4. Arrow showing expression of KGF in the lung of 1-day postnatal filial mice after injecting pregnant mice with 2.0 g/L heroin () ; 5. Arrow showing expression of KGF in the lung of 7-day postnatal mice in control group () ; 6. Arrow showing expression of KGF in the lung of 7-day postnatal filial mice after injecting pregnant mice with 2.0 g/L heroin () ; 7. Arrow showing expression of *c-Fos* in the lung of 15-day embryo in control group () ; 8. Arrow showing expression of *c-Fos* in the lung of 15-day embryo after injecting pregnant mice with 2.0 g/L heroin () ; 9. Arrow showing expression of *c-Fos* in the lung of 1-day postnatal mice in control group () ; 10. Arrow showing expression of *c-Fos* in the lung of 1-day postnatal filial mice after injecting pregnant mice with 2.0 g/L heroin () ; 11. Arrow showing expression of *c-Fos* in the lung of 7-day postnatal mice in control group () ; 12. Arrow showing expression of *c-Fos* in the lung of 7-day postnatal filial mice after injecting pregnant mice with 2.0 g/L heroin () ; 13. Arrow showing expression of *Bax* in the lung of 15-day embryo in control group () ; 14. Arrow showing expression of *Bax* in the lung of 15-day embryo after injecting pregnant mice with 2.0 g/L heroin () ; 15. Arrow showing expression of *Bax* in the lung of 1-day postnatal mice in control group () ; 16. Arrow showing expression of *Bax* the lung of 1-day postnatal filial mice after injecting pregnant mice with 2.0 g/L heroin () ; 17. Arrow showing expression of *Bax* in the lung of 7-day postnatal mice in control group () ; 18. Arrow showing expression of *Bax* in the lung of 7-day postnatal filial mice after injecting pregnant mice with 2.0 g/L heroin () ; 19, 20. Negative control. Bar = 50 μ m

BR. 细支气管; AL. 肺泡. BR. Bronchiole; AL. Alveolus.

冯红丽等:孕小鼠注射海洛因对仔鼠体重、行为及肺中相关活性物质表达的影响 图版
FENG Hong-Li *et al.*: Behavior, Weight and Expression of KGF, c-Fos and Bax in the Lungs
of Filial Mice after Injecting Pregnant Mice with Heroin Plate



图版说明见文后