

# 参芎化瘀胶囊对全脑缺血大鼠海马 CA1 区 GAP-43 和 P75NTR 表达的影响

黄海玲<sup>1</sup>, 李建民<sup>1\*</sup>, 赵雅宁<sup>2</sup>

(1. 河北联合大学, 河北 唐山 063000; 2. 河北联合大学护理与康复学院, 河北 唐山 063000)

**[摘要]** 目的:探讨参芎化瘀胶囊对全脑缺血大鼠海马 CA1 区生长相关蛋白-43(GAP-43)和神经营养因子低亲合力受体(P75NTR)表达的影响。方法:清洁级 SD 雄性大鼠 72 只,分正常对照组、全脑缺血模型组和参芎化瘀胶囊+全脑缺血组(灌胃剂量:480 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,每日 1 次,早上 8:00 给药),每组 24 只,取 3,7,14 d 3 个时间点。制备全脑缺血模型。水迷宫评价学习记忆能力,HE 染色观察组织病理学的变化,免疫组化法观察 GAP-43 表达,蛋白印迹分析检测 GAP-43 和 P75NTR 蛋白含量。结果:①行为学:和正常对照组比较,模型组大鼠各个时间点逃避潜伏期时间明显延长( $P < 0.05$ ),参芎化瘀胶囊组大鼠逃避潜伏期时间较模型组缩短( $P < 0.05$ );②HE 染色显示:与正常组比较,模型组大鼠海马 CA1 区神经元 3~14 d 进行性坏死,存活神经元减少,参芎化瘀胶囊组各个时间点正常神经元计数和模型组比较有差异( $P < 0.05$ );③GAP-43 免疫组化和蛋白印迹结果:和正常组比较,模型组 GAP-43 的表达 3 d 升高,7 d 最明显,14 d 下降;和模型组比较,参芎化瘀胶囊组 3,7,14 d 持续性升高,各个时间比较均有差异( $P < 0.05$ );④P75NTR 蛋白印迹结果分析:和正常组比较,模型组的表达 3 d 升高,7 d 最明显,14 d 下降;和模型组比较,参芎化瘀胶囊组 3,7,14 d 持续性升高,所有时间点比较均有差异( $P < 0.05$ )。结论:参芎化瘀胶囊增强全脑缺血大鼠海马 CA1 区 GAP-43 和 P75NTR 的表达。

**[关键词]** 全脑缺血; 参芎化瘀胶囊; 生长相关蛋白-43; 神经营养因子低亲合力受体

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)20-0203-06

**[doi]** 10.11653/syfy2013200203

## Influence on the Expression of GAP-43 and P75NTR after Global Cerebral Ischemia-reperfusion in Hippocampus by Shenxiong Huayu Capsules

HUANG Hai-ling<sup>1</sup>, LI Jian-min<sup>1\*</sup>, ZHAO Ya-ning<sup>2</sup>

(1. Hebei United University, Tangshan 063000, China;

2. Nursing and Rehabilitation Institute of Hebei United University, Tangshan 063000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect of Shenxiong Huayu capsules on growth associated protein 43 (GAP-43) and nerve growth factor receptor (P75NTR) expression after global cerebral ischemia-reperfusion in hippocampus. **Method:** Adult male SD rats ( $n = 72$ ) were randomly divided into 3 groups: sham group, model group (I/R) and Shenxiong Huayu capsule group, 24 rats in each group and was divided into 3 subgroups: 3, 7, 14 day. The model of global ischemia-reperfusion was formed by improved Pulsinelli's 4-vessel occlusion method. The behavior abilities of learning and memory were observed by using Morris water maze. Morphological changes were observed by HE staining in 3, 7, 14 day after injury. Immunohistochemistry method was applied to observe the expression of GAP-43. Western-blotting method was used to detect the protein content of GAP-43 and P75NTR. **Result:** Compared with normal control group, the learning and memory abilities of rats in model group were significantly declined ( $P < 0.05$ ). The ability of learning and memory of the rats were improved after treated by

**[收稿日期]** 20130103(005)

**[基金项目]** 河北省卫生厅课题(20110527);河北省教育厅重点课题(ZD2010106)

**[第一作者]** 黄海玲,硕士研究生,从事急危重症护理学

**[通讯作者]** \*李建民, Tel:0315-3725805, Email: hhl688@126.com

Shenxiang Huayu capsules ( $P < 0.05$ ). The time of escaping latency was shortened than model group. Compared with normal control group, model group's neuronal morphous was damaged. Survival cells were declined. Compared with model group, Shenxiang Huayu capsules group had more normal cells in hippocampus ( $P < 0.05$ ). In model group, the expression of GAP-43 was increased from the third day ( $P < 0.05$ ) and declined on the 14th day; compared with model group, the expression of GAP-43 was increased significantly in Shenxiang Huayu capsules group on every time point ( $P < 0.05$ ). In model group, the protein contain of P75NTR was increased from the third day ( $P < 0.05$ ) and declined on the 14th day. Compared with model group, the protein contain of P75NTR was increased significantly in Shenxiang Huayu capsules group on every time point ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Shenxiang Huayu capsules have heightened the expression of GAP-43 and P75NTR on global cerebral ischemia-reperfusion in hippocampus.

[**Key words**] global cerebral ischemia; Shenxiang Huayu capsule; GAP-43; P75NTR

脑缺血损伤已严重影响人类生活质量的杀手,死亡率高达 40%,存活者中 50%~70% 的患者留有严重残疾。近年来,传统中药在脑卒中方面的研究取得了意想不到的疗效,参芎、人参、三七、黄芪等许多单味中草药和中药制剂被证明对脑损伤修复治疗有显著效果<sup>[1]</sup>,或将为脑卒中治疗开辟新的途径。参芎化瘀胶囊(冀药制字 Z20051586)含多味中草药,具有养血益气、化瘀通络、疗伤定通的作用,既往的研究表明,该药有脑保护作用,现有的研究主要集中在局脑缺血后 P38, B 细胞淋巴瘤/白血病 2 (Bcl-2), Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax), 血管内皮细胞生长因子 (VEGF), 促细胞分裂剂原激活的蛋白激酶 (MAPK) 等因子,对于全脑缺血大鼠生长相关蛋白 43 (growth associated protein 43, GAP-43) 和神经营养因子低亲和力受体 p75 (nerve growth factor receptor, P75NTR) 表达的影响未见报道。研究表明,中枢神经系统损伤后具有再生功能。GAP-43 又称为“B-50, F1, 神经调素”,是一种生长相关的快速细胞膜转运磷脂蛋白,参与细胞骨架的重组、细胞分化迁移、生长锥的延伸等,在再生长的轴突末端的表达会迅速升高 20~200 倍,是目前国际公认的神经营养因子的低亲和力受体,和神经营养因子结合后促进细胞发芽和分化,阻断或延迟程序性细胞死亡<sup>[2]</sup>;也有研究认为 P75NTR 参与重组蛋白 A (Small GTP binding protein, RHOA) 通路调控生长锥崩溃<sup>[3]</sup>,也能激活 JNK-P53-BAX 信号通路,诱导细胞凋亡<sup>[4]</sup>,在神经再生、轴突重建中扮演着双重角色。本实验主要探讨参芎化瘀胶囊对全脑缺血再灌注损伤后 GAP-43 和 P75NTR 表达的影响。

## 1 材料

1.1 动物 清洁级成年雄性 SD 大鼠 72 只,体重

300~330 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司供给,合格证号为 20110013,喂养于河北联合大学动物实验室,室温 20~23 ℃,自然光照,自由进食。

1.2 药物与试剂 参芎化瘀胶囊(河北联合大学,冀药制字 Z20051586), Rabbit Anti-NGFR/P75NTR (北京博奥森生物制品研究所,产品编号 bs-016R), Rabbit Anti-GAP-43(北京博奥森生物制品研究所,产品编号 bs-0154R), BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天生物制剂研究所,产品编号 P0012)。

1.3 仪器 JGD-50 高频电刀(张家港市航天医疗电器有限公司),低温高速离心机(德国 Sigma 公司),气浴恒温摇床(江苏省金坛市荣华仪器公司),Morris 水迷宫(安徽淮北正华生物仪器设备有限公司),图像采集及图像分析系统(美国 Bio-Rad 公司)。

## 2 方法

2.1 动物分组与模型的制备 实验动物随机分为 3 组:正常对照组、全脑缺血模型组、参芎化瘀胶囊+全脑缺血组,每组每个时间点 8 只。每组每个时间点 4 只用于组化和 HE 染色,另外 4 只用于蛋白印迹分析,所有动物均进行行为学测试。采用改良的 Pulsinelli 4 血管闭塞法制作大鼠全脑缺血模型<sup>[6]</sup>:大鼠术前 12 h 禁食,4 h 禁水,用 10% 水合氯醛(300 mg·kg<sup>-1</sup>) ip 麻醉,保证有自主呼吸。大鼠俯卧固定在小动物立体定位仪上,双耳用耳柄固定,钝性分离椎旁肌,暴露第一颈椎翼状孔,电凝烧灼凝固双侧椎动脉。交流电压 220 V,强度 9 Ma,每次 4~5 s,反复 3~4 次,直到翼状孔周围骨组织发白;钝性分离筋膜和颈前部肌肉,分离双侧颈总动脉(CCA),拴 1 号线备用,避免过度牵拉血管和迷走神经,模型组及用药组在术后 24 h 用无创动脉夹闭双侧 CCA 10 min,清醒后放回笼中单独饲养。操作过

程中大鼠肛温保持在 36.5 ~ 37.5 °C,术后 3 d 肌肉注射庆大霉素,预防感染。正常对照组不作任何处理。

**2.2 造模成功标准**<sup>[5]</sup> 夹闭颈总后 30 ~ 60 s 内大鼠昏迷,翻正反射消失,瞳孔放大,眼睛颜色由红变白,呼吸急促,松开动脉夹后 20 ~ 30 s,眼睛颜色快速恢复,大鼠意识转清,并能活动。剔除夹闭后诱发癫痫者,术中颈总破裂大出血者,术后出现肢体瘫痪者,手术不成功者和死亡者,并予以补齐。

**2.3 给药** 给药剂量参照《实验动物学》剂量给药。将参芎化瘀胶囊溶于双蒸水,质量浓度 48 g · L<sup>-1</sup>,参芎化瘀胶囊 + 脑缺血组按体重 10 mL · kg<sup>-1</sup> 每日 1 次,剂量为 480 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup> 灌胃给药(每次给药前称体重),考虑中药起效慢,造模前 7 d 开始灌胃,正常组和模型组给予双蒸水(体重 10 mL · kg<sup>-1</sup>)。

**2.4 Morris 水迷宫行为学测试** 造模前连续训练 3 d,上、下午各 4 次,每次依次从四个象限放入,记录其 120 s 内寻找到并爬上平台的时间即逃避潜伏期。造模成功后 3,7,14 d 重复上述过程,记录 4 次的逃避潜伏期时间,取其平均值进行统计分析。

**2.5 HE 染色** 脑组织灌注后固定于 4% 多聚甲醛溶液中 24 h,常规脱水、浸蜡、包埋。石蜡切片机自视交叉后约 2 mm 处向后做冠状面连续切片,厚度约 4 μm。用经泡酸处理,涂 1:5 多聚赖氨酸的干燥载玻片捞片,60 °C 的烤箱中烘烤 24 h。二甲苯脱蜡。乙醇 100%,95%,80% 浓度脱水。明矾苏木素染色。1% 盐酸乙醇分化。水洗蓝化。0.5% 伊红溶

液复染。80%,95%,100% 乙醇脱水。二甲苯透明。中性树胶封片。每组每个时间点随机选取 4 只大鼠,每只大鼠选取 4 张切片,每张切片 400 倍镜下随机观察脑组织海马 CA1 区不重叠的 4 个视野,采用 Motic 6.0 数码医学图像分析系统测量海马 CA1 区正常细胞个数,取其平均值,进行统计分析。

**2.6 GAP-43 免疫组化检测** 切片常规脱蜡至水,参照免疫组化试剂盒说明进行染色,GAP-43 和 P75NTR 浓度分别为 1:300 和 1:200。阳性率的定量分析:每个标本取 4 张切片,每张切片在海马 CA1 随机选取 4 个视野,在 400 倍光镜下应用目镜网格测试系统,计数阳性细胞。

**2.7 蛋白印迹检测** 脱颈法处死大鼠,断头,分离海马,加入裂解液,考马斯亮蓝法蛋白质定量,样品制备,转膜,封闭,加入抗体(GAP-43 1:500;P75NTR 1:500;β-actin 1:1 000),4 °C 过夜,二抗(1:1 000)室温 2 h,ECL 显色。Bio-Rad 系统进行吸光度测定,以目的条带与内参照 β-actin 的平均吸光度的比值表示蛋白水平,进行半定量分析。

**2.8 统计学方法** 在 SPSS 13.0 统计软件中建立数据库并进行统计处理,实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。各组间比较使用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对行为学的影响** Morris 水迷宫成绩显示:与正常对照组比较,模型组大鼠逃避潜伏期时间明显延长( $P < 0.05$ ),和模型组比较,参芎化瘀胶囊组大鼠逃避潜伏期时间缩短( $P < 0.05$ ),但仍然低于正常对照组( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 参芎化瘀胶囊对全脑缺血大鼠逃避潜伏期的影响( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

组别	剂量/mg · kg <sup>-1</sup>	3 d	7 d	14 d
正常对照	-	20.3 ± 1.9	21.4 ± 1.5	20.0 ± 1.2
脑缺血再灌注	-	39.6 ± 2.6 <sup>1)</sup>	43.0 ± 3.1 <sup>1)</sup>	46.3 ± 3.5 <sup>1)</sup>
参芎化瘀胶囊	480	28.3 ± 2.5 <sup>1,2)</sup>	31.2 ± 2.9 <sup>1,2)</sup>	35.1 ± 8.9 <sup>1,2)</sup>

注:与正常对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ;与脑缺血再灌注组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ;参芎化瘀胶囊剂量 480 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>(表 2 ~ 5 同)。

**3.2 对大鼠海马 CA1 区神经元的影响** HE 染色显示:正常组大鼠海马 CA1 区神经元细胞 3 ~ 4 层,排列整齐、紧密,结构正常;模型组大鼠 3 d 海马 CA1 区的神经元排紊乱,出现细胞核固缩,大量变性坏死神经元,7 d 神经元进行性坏死,大量红色神经元,出现较明显的神经元缺失,残留空泡,神经元密度减小,14 d 大量坏死神经元溶解,可见神经元溶解后的空隙,残存神经元较少,神经元胞浆模糊。参芎化瘀胶囊组 3 d 大鼠神经元改变较模型组减

轻,可见少量红色神经元,7 d 红色神经元增多,14 d 部分神经元溶解,残存神经元数量较多,胞浆较清楚,周围可见许多的新生小细胞(图 1,表 2)。

表 2 参芎化瘀胶囊对全脑缺血大鼠海马

CA1 区神经元计数的比较( $\bar{x} \pm s, n = 4$ ) 个/视野

组别	剂量 /mg · kg <sup>-1</sup>	3 d	7 d	14 d
正常对照	-	56.1 ± 5.9	55.8 ± 6.0	56.4 ± 5.5
脑缺血再灌注	-	39.0 ± 3.1 <sup>1)</sup>	30.8 ± 3.4 <sup>1)</sup>	23.3 ± 4.2 <sup>1)</sup>
参芎化瘀胶囊	480	48.7 ± 4.1 <sup>1,2)</sup>	39.4 ± 5.7 <sup>1,2)</sup>	33.5 ± 6.7 <sup>1,2)</sup>

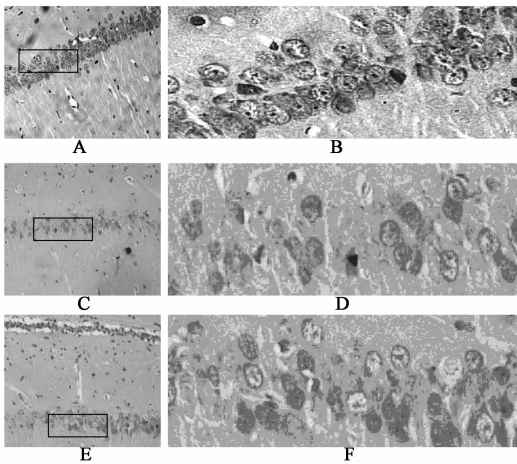


图 1 参芎化瘀胶囊对全脑缺血大鼠海马 CA1 区神经元的影响 (HE 染色; A, C, E.  $\times 200$ ; B, D, F.  $\times 400$ )

**3.3 对海马 CA1 区 GAP-43 阳性表达的影响** 海马 CA1 区 GAP-43 阳性染色显棕黄色, 阳性产物位于细胞浆和细胞膜。对照组未见阳性表达; 脑缺血再灌注组中阳性细胞在 3 d 即开始显著增多, 7 d 继续高峰, 14 d 阳性细胞数目减少; 参芎化瘀胶囊组阳性细胞在 3 d 即开始显著增多, 7 d 继续高峰, 14 d 阳性细胞数目未见明显减少, 可见胞浆内棕色物质沿着轴突高表达, 新生的小细胞填补细胞低密度区域, 但小细胞未见 GAP-43 阳性表达。见图 2, 表 3。

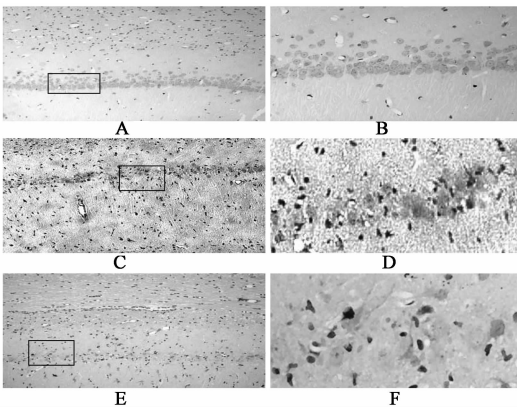


图 2 参芎化瘀胶囊对全脑缺血大鼠海马 CA1 区 GAP-43 阳性表达的影响 (免疫组化染色; A, C, E.  $\times 200$ ; B, D, F.  $\times 400$ )

表 3 参芎化瘀胶囊对全脑缺血大鼠 GAP-43 阳性细胞计数比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	个/视野		
		3 d	7 d	14 d
正常对照	-	0.20 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.20 ± 0.02
脑缺血再灌注	-	10.50 ± 5.42 <sup>1)</sup>	16.00 ± 8.05 <sup>1)</sup>	11.25 ± 4.23 <sup>1)</sup>
参芎化瘀胶囊	480	19.11 ± 9.62 <sup>1,2)</sup>	22.09 ± 7.16 <sup>1,2)</sup>	28.90 ± 14.07 <sup>1,2)</sup>

**3.4 对海马 CA1 区 GAP-43 蛋白质表达的影响** 蛋白印迹结果: GAP-43 正常组未见明显表达, 与正常组相比, 脑缺血再灌注组中 3 d 表达增加 ( $P < 0.05$ ), 7 d 达高峰 ( $P < 0.05$ ), 14 d 略有下降 ( $P < 0.05$ ); 参芎化瘀胶囊 + 脑缺血组较模型组升高更明显, 3 d 升高 ( $P < 0.05$ ), 7 d 继续升高 ( $P < 0.05$ ), 14 d 达高峰 ( $P < 0.05$ ) (图 3, 表 4)。

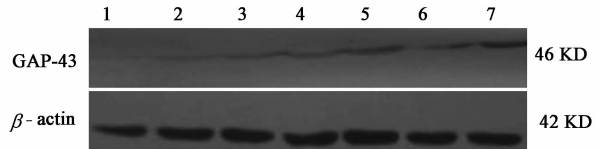


图 3 参芎化瘀胶囊对全脑缺血大鼠海马中 GAP-43 蛋白表达的影响 (上样量 30  $\mu$ g)

表 4 参芎化瘀胶囊对全脑缺血大鼠 GAP-43 蛋白相对表达强度的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	GAP-43/ $\beta$ -actin		
		3 d	7 d	14 d
正常对照	-	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
脑缺血再灌注	-	0.15 ± 0.04 <sup>1)</sup>	0.34 ± 0.02 <sup>1)</sup>	0.32 ± 0.02 <sup>1)</sup>
参芎化瘀胶囊	480	0.26 ± 0.01 <sup>1,2)</sup>	0.44 ± 0.03 <sup>1,2)</sup>	0.46 ± 0.03 <sup>1,2)</sup>

**3.5 对海马 CA1 区 P75NTR 蛋白质表达的影响** 蛋白质印迹结果: P75NTR 正常组表达量低, 脑缺血再灌注组中 3 d 表达增加 ( $P < 0.05$ ), 7 d 达高峰 ( $P < 0.05$ ), 14 d 下降至较低水平 ( $P < 0.05$ ); 与脑缺血再灌注组比较, 参芎化瘀胶囊 + 脑缺血 3 d 升高 ( $P < 0.05$ ), 7 d 继续升高 ( $P < 0.05$ ), 14 d 达高峰 ( $P < 0.05$ )。见图 4, 表 5。

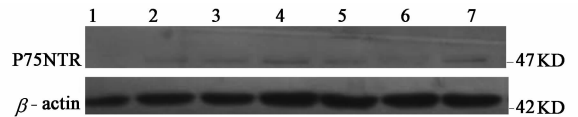


图 4 参芎化瘀胶囊对全脑缺血大鼠海马中 P75NTR 蛋白表达的影响 (上样量 30  $\mu$ g)

## 4 讨论

近年研究发现中枢神经系统损伤后具有再生修复功能。在神经系统损伤再修复的过程中, 不仅要保护受损的神经元, 还要促进结构功能的重建, 而后者主要依靠神经纤维的再生投射到靶组织来实现。本研究当中, 模型组逃离潜伏期时间延长, 说明造模后脑组织受损, 学习记忆下降, 组织病理学染色显示

表 5 参芎化癍胶囊对全脑缺血大鼠 P75NTR 蛋白相对表达强度的影响( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	P75NTR/ $\beta$ -actin		
		3 d	7 d	14 d
正常对照	-	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
脑缺血再灌注	-	0.11 ± 0.02 <sup>1)</sup>	0.20 ± 0.02 <sup>1)</sup>	0.13 ± 0.03 <sup>1)</sup>
参芎化癍胶囊	480	0.21 ± 0.04 <sup>1,2)</sup>	0.30 ± 0.03 <sup>1,2)</sup>	0.33 ± 0.04 <sup>1,2)</sup>

海马 CA1 区神经元进行性坏死,存活神经元减少;用参芎化癍胶囊干预后,逃避潜伏期时间明显缩短,海马 CA1 区存活神经元增多,说明参芎化癍胶囊具有脑保护作用。目前研究认为,GAP-43 是神经再生轴突重建的典型分子学标志物,由损伤细胞本身和周围组织产生并运至轴突再生处,在轴突末梢生长锥处富集<sup>[6]</sup>,能和 RHO 竞争 G 蛋白结合位点影响其活性,促进 F-肌动蛋白的聚集,使生长锥抵制回缩,帮助神经营养因子 NGF/BDNF,参与细胞微环境的改善和细胞骨架的重组<sup>[7]</sup>。当神经损伤发生时,受损的细胞和周围完好的细胞为受损区进行的修复随即开始,伴随着 GAP-43 mRNA 表达的上升<sup>[8]</sup>,在脑损伤模型中 1 d 升高,7 d 左右达高峰,14 d 左右下降至低水平,本实验中,模型组的表达和国内外之前的报道基本一致<sup>[9]</sup>,参芎化癍胶囊 + 缺血组 3 d 升高,14 d 仍处于高水平,在新生轴突中高表达,在新生的小细胞中未见表达,可能这些细胞的已生长成熟。这表明参芎化癍胶囊增强了 GAP-43 的表达强度,延长了表达的时间,有效促进了神经再生。神经生长因子的受体 P75 又被称作 P75NTR,是脑源性神经营养因子 BDNF 的低亲和力受体,对 BDNF 和 TrkB 起协调作用。脑缺血损伤后,内源性的神经营养因子及其受体 TrkB 和 P75NTR 的表达均会升高,营养因子和神经干细胞上的受体结合,激活细胞内信号系统,抑制神经磷脂酶活性,促进细胞分化和修复,部分替代坏死神经元和阻断或延迟程序性细胞坏死,从而在一定程度上促进机体功能康复<sup>[10]</sup>。Woo 等发现 P75NTR 能选择性的损伤 NMDA(离子型谷氨酸受体),但不影响突触可塑性的改变,这种作用取决于 TrkA 存在与否<sup>[11]</sup>。有研究认为 P75NTR 参与了脑损伤后海马 CA1 区颗粒细胞苔藓纤维的发芽,P75NTR 的高表达是神经轴索再生而非神经损伤的信号<sup>[12]</sup>,也有人认为,P75NTR 和 NgR 共同参与激活 RHO/ROCK 信号通路,在抑制轴突再生细胞骨架组件有特殊作用<sup>[13]</sup>,另外,P75NTR 也能激活 JKN-P53-BAX 信号通路,诱

导细胞凋亡,所以在缺血性脑损伤的康复过程中,应阻止它表达升高<sup>[14]</sup>。本实验当中,参芎化癍胶囊组神经元胞浆 P75NTR mRNA 3 d 表达升高,14 d 出现高峰,和 GAP-43 的表达趋势基本一致,笔者认为 P75NTR 和 GAP-43 共同参与了轴突的再生过程,参芎化癍胶囊的作用使得这种再生更加强烈,持续时间更长。药理学研究表明,参芎化癍胶囊含有川芎(活血行气)、人参(大补元气、生津安神、化癍通络、疗伤定痛)、全蝎(协同川芎活血行气)等多味中草药,共同发挥益气活血、涤痰开窍、调节机体免疫力以及神经保护等功效<sup>[2,15]</sup>,具体通过哪种成分调控 GAP-43 和 P75NTR 尚未明确。综上所述,参芎化癍胶囊能升高 GAP43 和 P75NTR 的表达促进轴突生长,具体调控机制尚需进一步研究。

[参考文献]

[ 1 ] 胡宝英,姜正林,李霞,等. 人参总皂甙对创伤性脑损伤大鼠大脑皮质神经再生相关因子表达的影响[J]. 中华神经外科杂志,2012,28(8):848.

[ 2 ] Nunsain, Nnunez, Aannastasia, et al. Status epilepticus induces a TrkB to P75NTR switch and increase brain derive neurotrophic factor interaction with P75NTR: an initial event in neuronal injury induction [J]. Neuroscience, 2008, 154:973.

[ 3 ] Rankin S L. Neurotrophin-induced up-regulation of P75NTR via a protein kinase C-dependent mechanism [J]. Brain Research, 2008, 3:76.

[ 4 ] 焦先婷. P75NTR 的研究进展[J]. 国际病例科学与临床杂志,2008,28(4):330.

[ 5 ] W A Pulsinelli, J B Brierley. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat [J]. J Stroke, 1979, 10(3):267.

[ 6 ] Mc ILvain V A, Robertson D R, Ma Mone M M, et al. Abnormal thalamocortical path finding and terminal arbor lead to enlarged barrels in neonatal GAP-43 heterozygous mice [J]. J Comp Neurol, 2003, 462(2):252.

[ 7 ] Chen B, Wang J F, Sun X, et al. Regulation of GAP-43 expression by chronic desipramine treatment in rat cultured hippocampus cells [J]. J Biol Psychiatry, 2003, 15(6):530.

[ 8 ] 上海第一医学院. 组织学[M]. 北京:人民卫生出版社,1981:326.

[ 9 ] 刘光义. 大鼠脑缺血损伤后 GAP-43 及 IFG-1 在神经系统中的表达[J]. 中华神经疾病研究杂志,2008,7(3):223.

# 四逆散对溃疡性结肠炎大鼠 ICAM-1 和 VCAM-1 的影响

卢健, 王凌志, 马骥, 范颖\*, 林庶茹  
(辽宁中医药大学方剂学科, 沈阳 110032)

**[摘要]** 目的:探讨四逆散对实验性溃疡性结肠炎(UC)大鼠细胞间黏附分子(ICAM)-1和血管内皮细胞黏附分子(VCAM)-1的影响,以及君臣配伍在组方中的作用。方法:SD大鼠50只,分为5组,即正常组、模型组、四逆散组、柴芍枳组和柴芍组;采用免疫法造模,用家兔新鲜结肠黏膜制备抗原乳化液,分别于造模第1,10,17,24天注射于大鼠的双侧足跖、腹股沟及背部皮内,造模第2天分组给药,正常组与模型组按照 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 蒸馏水ig;四逆散组按照 $1.75\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 四逆散溶液ig;柴芍枳组按照 $1.31\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ig;柴芍组按照 $0.88\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ig;第29天给药后,取材,处死大鼠;采用双抗体夹心ELISA法检测大鼠血清及结肠黏膜组织ICAM-1和VCAM-1水平。结果:模型组大鼠血清ICAM-1( $64.60\pm 4.81$ ) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 明显高于正常组( $42.35\pm 3.02$ ) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , $P<0.05$ ;VCAM-1( $0.29\pm 0.01$ ) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 显著高于正常组( $0.20\pm 0.02$ ) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , $P<0.05$ ;模型组大鼠结肠黏膜组织VCAM-1( $1.82\pm 0.19$ ) $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 显著高于正常组( $1.29\pm 0.10$ ) $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ , $P<0.05$ ;经灌服四逆散后,实验大鼠血清ICAM-1( $53.87\pm 2.60$ ) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、VCAM-1( $0.22\pm 0.01$ ) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,结肠黏膜组织VCAM-1( $1.41\pm 0.08$ ) $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 含量均较模型组显著降低, $P<0.05$ 。结论:四逆散能够抑制UC大鼠炎性细胞浸润,减轻炎症反应,其作用机制可能与抑制实验大鼠ICAM-1和VCAM-1的表达有关,方中发挥主要作用的药物可能为柴胡、枳实和芍药。

**[关键词]** 四逆散; 细胞间黏附分子-1; 血管内皮细胞黏附分子-1; 溃疡性结肠炎  
**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)20-0208-04  
**[doi]** 10.11653/syfy2013200208

## Influence of Sinisan on ICAM-1 and VCAM-1 in Experimental Ulcerative Colitis Rats

LU Jian, WANG Ling-zhi, MA Ji, FAN Ying\*, LIN Shu-ru

(Prescription Subject of Liaoning Traditional Chinese Medicine University, Shenyang 110032, China)

**[收稿日期]** 20130130(003)  
**[基金项目]** 辽宁省教育厅项目(2006T094)  
**[第一作者]** 卢健,博士,副教授,从事方剂效用机制研究,Tel:024-31207085,E-mail:juioo@sina.com  
**[通讯作者]** \*范颖,教授,博士生导师,从事方剂学研究,Tel:024-31207104

- [10] 李昕,宫泽辉,刘克良.酪氨酸蛋白激酶与突触可塑性及学习记忆的关系[J].中国药理学通报,2005,21(2):141.
- [11] Longo B M, Sanabria E R, Gabriel S, et al. Electrophysiological abnormalities of the hippocampus in the pilocarpine/cycloheximide model of chronic spontaneous seizures [J]. J Epilepsia, 2002, 43(5): 203.
- [12] Zhao Chun Mei, Deng Wei, Gage F H. Mechanisms and functional implications of adult neuro genesis [J]. J Cell, 2008, 132(4): 645.
- [13] Singh K K, Park K J, Hong E J. Developmental axon pruning mediated by BDNF-P75NTR-dependent axon degeneration [J]. J Nat Neurosci, 2008, 11(6): 649.
- [14] Griesmaier E, Schlager G, Wegleiter K. Role of P75NTR in NMDAR-mediated excitotoxic brain injury in neonatal mice [J]. J Brain Res, 2010, 8(1355): 31.
- [15] 马岱朝,陈卫银,李红刚,等.参芎滴丸对大鼠脑缺血再灌注损伤后神经可塑性的影响[J].中成药,2012,34(5):814.

[责任编辑 聂淑琴]