

# 生脉注射液对小鼠局灶性脑缺血再灌注损伤后组织因子表达及相关信号通路的影响

杨浩鹏, 李龙, 柴程芝, 寇俊萍\*, 余伯阳, 严永清  
(中国药科大学中药复方研究室, 南京 211198)

**[摘要]** 目的:观察生脉注射液对小鼠局灶性脑缺血再灌注损伤后的神经保护作用及组织因子(TF)表达及相关信号通路的影响。方法:C57BL/6J 小鼠随机分成假手术组、缺血再灌注组、生脉注射液高、中、低剂量组(5.68, 2.84, 1.42 g·kg<sup>-1</sup>)。采用线栓法复制小鼠大脑中动脉栓塞模型,缺血 1 h 后 ip 不同剂量生脉注射液,再灌注 24 h 后观察小鼠脑梗死面积、神经行为学评分等指标。同时采用蛋白印迹技术测定缺血 1 h,再灌注 1 h 后脑组织中 TF,核转录因子  $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B/p65),蛋白激酶 B(Akt)等蛋白的表达与磷酸化情况。结果:与模型组相比,高、中剂量生脉注射液可显著降低脑缺血再灌注小鼠的脑梗死率,提高神经行为学评分,并呈现一定的剂量依赖性。生脉注射液可显著下调缺血再灌注 1 h 诱导的模型小鼠脑组织 TF 的表达,同时抑制 NF- $\kappa$ B 的激活与 Akt 的磷酸化。结论:生脉注射液在一定剂量范围内,可显著改善小鼠脑缺血再灌注损伤,其作用机制可能与抑制 TF 的异常表达及相关的 NF- $\kappa$ B 和 Akt 通路活化有关。

**[关键词]** 生脉注射液; 脑缺血再灌注; 组织因子; 核转录因子  $\kappa$ B; 蛋白激酶 B

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0194-06

**[doi]** 10.11653/syjf2013140194

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130514.0959.003.html>

**[网络出版时间]** 2013-05-14 09:59

## Neuroprotective Effect of Shengmai Injection on Expression of Tissue Factor and Related Signal Pathways in Mice with Cerebral Ischemia-reperfusion Injury

YANG Hao-peng, LI Long, CHAI Cheng-zhi, KOU Jun-ping\*, YU Bo-yang, YAN Yong-qing  
(Department of Complex Prescription of Traditional Chinese Medicine,  
China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the neuroprotective effect of Shengmai injection (SMI) on the expression of tissue factor (TF) and related signal pathways in mice with cerebral ischemia-reperfusion injury. **Method:** Mice were randomly divided into 5 groups as following: sham operation group, ischemia-reperfusion (I/R) group, SMI groups at three doses (5.68, 2.84, 1.42 g·kg<sup>-1</sup>). Right middle cerebral artery was occluded by inserting a thread through internal carotid artery for 1 h. The infarct volume and neurological scores were evaluated after 24 h reperfusion. Western blotting was used to determine the expression of tissue factor (TF), nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B) subunit p65, Akt, and their phosphorylation after 1 h reperfusion. **Result:** Compared with I/R group, SMI could significantly reduce the infarct volume and improve the neurological deficits in a dose-dependent manner. SMI also remarkably down-regulated the expression of TF, inhibited the activation of NF- $\kappa$ B induced by ischemia-reperfusion and the phosphorylation of Akt in mice. **Conclusion:** Shengmai injection,

**[收稿日期]** 20130303(009)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81274004);天然药物活性组分与药效国家重点实验室自主科研重点项目(JKGZ201107);2011 江苏高等学校优秀科技创新团队项目;江苏省优势学科建设项目;江苏省研究生创新计划(CXZZ11-0797)

**[第一作者]** 杨浩鹏,硕士研究生,从事中药作用机制研究, Tel:15951808087, E-mail:yhpapu@126.com

**[通讯作者]** \*寇俊萍,博士,教授,从事中药复方作用机制研究, Tel: 025-86185158; E-mail:junpingkou@163.com

at certain dosage range, elicits potent protection against cerebral ischemia/reperfusion injury, which may partly be due to inhibiting TF expression and its related pathways.

**[Key words]** Shengmai injection; cerebral ischemia/reperfusion; tissue factor; nuclear factor- $\kappa$ B; Akt

缺血性脑卒中是严重危害人类健康和生命安全的常见的难治性疾病,尽管对其机制的研究越来越深入,但仍然缺乏有效的治疗手段<sup>[1]</sup>。生脉注射液是在经典名方“生脉散”(含人参、麦冬、五味子)基础上用现代科学技术研制而成的中药制剂,具有益气复脉、养阴生津、敛肺止汗等功效,近年来广泛应用于缺血性脑卒中的防治,疗效确切<sup>[2-4]</sup>,但其相关作用机制则鲜见报道。已有研究显示,脑缺血再灌注与血栓、炎症密切相关,而组织因子(tissue factor, TF)作为止血平衡和病理状态下凝血级联反应的最初启动因子,也是联系炎症与血栓的重要因子<sup>[5]</sup>,其表达受磷酸肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B(phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B, PI3K-Akt)、核转录因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)等多条信号通路的调节<sup>[6]</sup>,参与脑中风的病理过程<sup>[7]</sup>。本研究采用小鼠局灶性脑缺血再灌注模型观察生脉注射液的神经保护活性,并探讨其对 TF 表达及相关信号通路的影响,为其临床应用提供药理学参考依据。

## 1 材料

**1.1 动物** 雄性清洁级 C57BL/6J 小鼠 45 只,体重 18~22 g,由扬州大学比较医学中心提供提供,许可证号 SCXK(苏)2007-0001。

**1.2 药物** 生脉注射液(江苏苏中药业集团股份有限公司)批号 10112406,由红参、麦冬、五味子 3 味中药按 1:3.12:1.56 的比例配伍,经过粉碎、提取等工艺制成,为黄褐色液体,每毫升含生药量为 0.568 g。生脉注射液临床上多采用静脉滴注,一次 20~60 mL,用 5% 葡萄糖注射液 250~500 mL 稀释后使用。本实验小鼠高剂量参照临床人用高剂量根据体表面积折算,使用前将其用注射用生理盐水(山东鲁抗辰欣药业有限股份公司,批号 A09060801)稀释,生脉注射液含生药量分别为 0.568,0.284,0.142 g·mL<sup>-1</sup>,小鼠 ip 体积 0.01 mL·g<sup>-1</sup>,高、中、低剂量分别为 5.68, 2.84,1.42 g·kg<sup>-1</sup>。

**1.3 试剂** 水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司,批号 20090724);红四氮唑(上海灵锦精细化工有限公司,批号 20091009);Western 与 IP 细胞裂解液(碧云天生物技术研究);牛血清白蛋白(碧云

天生物技术研究);GAPDH 抗体(博士德生物工程有限公司);TF 抗体(R&D 公司);p-p65 抗体(Cell Signaling Technology 公司);p65(巴傲得生物科技有限公司);p-Akt 抗体(Cell Signaling Technology 公司);Akt 抗体(巴傲得生物科技有限公司);GAPDH 抗体(康成生物有限公司);Ecl 标记山羊抗兔 IgG(巴傲得生物科技有限公司);Ecl 标记山羊抗小鼠 IgG(巴傲得生物科技有限公司);Super ECL Plus 超敏发光液(碧云天生物技术研究)。

**1.4 仪器** BioRad 电泳仪, Mettler-Toledo 电子天平, HermLe 高速冷冻离心机, UVP 凝胶成像系统, Millipore 超纯水仪。

## 2 方法

**2.1 动物分组及给药** 小鼠 45 只按体重随机分为假手术组、模型组以及生脉注射液(按生药量计)低剂量组(1.42 g·kg<sup>-1</sup>)、中剂量组(2.84 g·kg<sup>-1</sup>)和高剂量组(5.68 g·kg<sup>-1</sup>),每组 9 只(其中神经功能评分与梗死体积测定每组 6 只,蛋白表达检测每组 3 只)。小鼠于开始再灌注之前给药,给药体积为 10 mL·kg<sup>-1</sup>。假手术组和模型对照组均给以等体积的生理盐水。

### 2.2 模型建立及评估

**2.2.1 小鼠局灶性脑缺血再灌注模型制备** 参照文献[8]采用大脑中动脉线栓法(MCAO)制备小鼠右侧大脑中动脉缺血 1 h 再灌注 24 h 模型。主要步骤:小鼠麻醉后,分离并暴露右侧的颈总动脉(CCA)、颈外动脉(ECA)及颈内动脉(ICA),结扎近心端颈总动脉及远端颈外动脉,于颈外动脉远心端用显微剪刀剪一小口,插入制备好的线栓(6-0 尼龙单丝线,长约 20 mm,前 3 mm 均匀包被一层硅胶,最终直径约 0.2 mm 左右,且尖端要圆钝)。通过颈总动脉分叉,进入颈内动脉,深度以过颈总动脉分叉 8~9 mm 为宜。MCAO 1 h 后,暴露颈外动脉,松开固定线,拔除线段,电凝颈外动脉,并松开颈总动脉结扎线。直视下见颈总动脉和颈内动脉搏动良好,即可实现再灌注。假手术组仅分离颈总动脉,其余操作均同手术组。

**2.2.2 神经功能评分** 神经行为学评分<sup>[9]</sup>按表 1 所示 18 分标准进行,小鼠于再灌注后 24 h 进行评分。评分为各动物 6 项测试之和。最低神经行为学

评分为 3,最大值为 18。

表 1 小鼠 MCAO 模型神经行为学评分

观察项目	评分
自发活动	3 四肢均对称伸展
观察正常的环境中(笼)的动物 5 min。对其接触笼四壁的活动进行评估	2 左侧肢体伸展比右侧少或慢 1 左侧肢体运动极少 0 左侧前肢完全没有运动
四肢运动对称性	3 所有四肢对称伸展
提尾至空中,观察四肢运动的对称性	2 左侧肢体伸展比右侧少或慢 1 左侧肢体运动极少 0 左侧前肢完全没有运动
前肢伸展	3 两前肢均外伸,走动对称
动物放至到桌边,提尾,使之前肢走动。当前肢接触到桌面而后肢悬空时,观察前肢伸展	2 左侧比右侧外伸少,前肢运动受损 1 左前肢运动极微 0 左前肢没有移动
攀爬	3 轻松爬上,紧握铁丝
将动物放在铁丝笼内。一般情况下,小鼠使用所有四肢爬上墙。当提尾将小鼠从铁丝笼上移开时,记录其附着强度	2 左侧受损,攀爬或抓握不及右侧有力 1 没有攀爬,或表现为打转
本体感觉	3 刺激后转头,对于来自两面的惊吓程度相等
用一根钝棒触动小鼠身体两侧,并对刺激的反应进行观察	2 对于左侧刺激的反应慢 1 对来自左侧的刺激没有反应
触须反应	3 刺激后转头,对于来自两侧的惊吓程度相等
用钝棒触碰两侧触须,木棒从动物背部向触须移动,以避免进入其视野	2 对于左侧刺激的反应慢 1 对来自左侧的刺激没有反应

**2.2.3 梗死体积测定** 小鼠于再灌注 24 h 后迅速断头、取脑, -20 ℃ 冷冻约 15 min 后进行厚度为 1.5 mm 的冠状切片,将脑片迅速置于 1% 的 TTC 磷酸缓盐冲液中,37 ℃ 避光孵育约 15 min,正常脑组织染为深红色,脑梗死区不着色(灰白色)。脑片置于 10% 中性甲醛中固定,扫描录入电脑后,应用图像分析系统测量脑梗死面积。根据公式  $V = t \times (A_1 + A_2 + \dots + A_n)$  算出梗死体积。其中  $t$  为切片厚度,  $A$  为每个切片单侧梗死面积,  $n$  为单个鼠脑的切片数。本实验中  $t = 2 \text{ mm}$ ,  $n = 5$ 。

### 2.3 蛋白表达的检测

**2.3.1 蛋白提取及定量** 小鼠于再灌注 1 h 后迅速断头处死,取缺血侧皮层固体组织 0.1 g 加入 1 mL 裂解液置于冰上重复匀浆几次使组织尽量碾碎,4 ℃,12 000  $r \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min,取 0.3 mL 上清加入还原型 5 × SDS 上样缓冲液于沸水中煮 5 min

进行变性处理后保存备用,上清剩余部分采用 Bradford 法按试剂盒说明检测蛋白质含量。

**2.3.2 脑组织中 TF, NF- $\kappa$ B/p65, Akt 等蛋白表达及磷酸化情况的检测** 按 50  $\mu\text{g}$  蛋白的溶液体积上样进行电泳,浓缩胶层用 80 V 电压开始电泳,样品进入分离胶后,改用 120 V 电压。待溴酚蓝到达凝胶底部时即可停止电泳。湿法转膜,200 mA 恒定电流下转膜 1 h。放入 5% BSA-TBST 封闭液中封闭 1.5 h 后加入一抗(TF 1:500;p-p65 1:500;p65 1:1 000;p-Akt 1:500;Akt 1:1 000;GAPDH 1:5 000),4 ℃ 孵育过夜。而后加入二抗(均为 1:10 000)室温下孵育 1 h,两次抗体孵育后均用 TBST 洗 3 次,每次 10 min。最后进行化学发光反应,用凝胶图象处理系统分析目标条带并进行净吸光度值处理,以假手术组目的蛋白与内参蛋白的比值为 1。

**2.4 统计方法** 实验数据采用 SPSS 13.0 统计软件进行处理,数据用  $\bar{x} \pm s$  表示。2 组间进行组间  $t$  检验比较,3 组及 3 组以上采用单因素方差分析法。 $P < 0.05$  为有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 生脉注射液对小鼠脑缺血再灌注损伤后梗死体积及神经行为学评分的影响** TTC 染色结果如图 1 所示,缺血梗死区域呈苍白色,红色区域为正常非缺血区域。生脉注射液高、中、低剂量组均可明显减少缺血梗死区域。通过统计梗死面积,计算各组小鼠缺血后的梗死百分率,与模型组相比,生脉注射液各剂量组均可降低脑梗死率,其中,高、中剂量组与模型组相比有极显著差异( $P < 0.01$ ),低剂量可显著降低梗死体积( $P < 0.05$ ,表 2)。

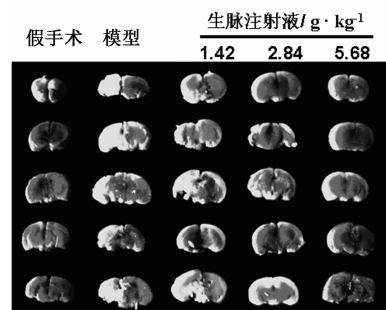


图 1 各组小鼠脑缺血再灌注损伤后梗死面积示意

神经行为学评分结果显示:与假手术组相比,模型组小鼠脑缺血后神经行为学评分显著下降( $P < 0.01$ ),生脉注射液可改善神经行为学评分,与模型组相比,中剂量组具有显著差异( $P < 0.05$ ),高剂量组具有极显著差异( $P < 0.01$ )。低剂量可一定程度改善神经行为学评分,但无统计学差异(表 2)。

表2 生脉注射液对脑缺血再灌注损伤小鼠脑梗死体积及神经行为学评分的影响( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	梗死体积/%	神经行为学评分/分
假手术	-	4.66 ± 0.64	17.8 ± 0.4
模型	-	40.81 ± 4.68 <sup>1)</sup>	12.2 ± 0.8 <sup>1)</sup>
生脉注射液	1.42	26.99 ± 6.53 <sup>2)</sup>	12.0 ± 1.2
	2.84	15.39 ± 3.79 <sup>3)</sup>	14.2 ± 1.3 <sup>2)</sup>
	5.68	14.41 ± 4.62 <sup>3)</sup>	15.0 ± 1.0 <sup>3)</sup>

注:与假手术组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>3)</sup>  $P < 0.01$ (表3同)。

3.2 生脉注射液对小鼠脑缺血再灌注损伤后 TF 表达的影响 Western blotting 结果显示,小鼠脑缺血再灌注 1 h 后,与假手术组相比,模型组脑组织 TF 表达显著升高 ( $P < 0.05$ )。生脉注射液高、中剂量可显著抑制脑缺血诱导的 TF 表达上调 ( $P < 0.05$ ),低剂量对脑缺血诱导的 TF 表达无明显改善作用(图2,表3)。

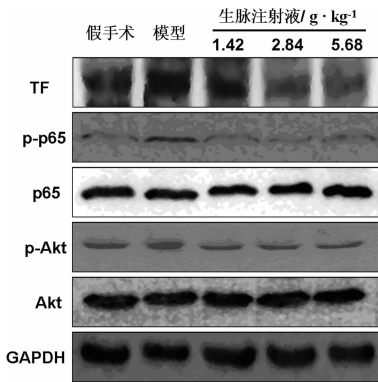


图2 生脉注射液对小鼠脑缺血再灌注损伤后 TF, NF-κB/p65, Akt 等蛋白表达及磷酸化的影响

表3 生脉注射液对小鼠脑缺血再灌注损伤后 TF, NF-κB/p65, Akt 等蛋白表达及磷酸化情况的影响( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	TF	p-p65	p-Akt
		/GAPDH	/p65	/Akt
假手术	-	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.04
模型	-	1.62 ± 0.18 <sup>1)</sup>	1.66 ± 0.11 <sup>1)</sup>	1.29 ± 0.08 <sup>4)</sup>
生脉注射液	1.42	1.59 ± 0.28	1.16 ± 0.15 <sup>3)</sup>	1.24 ± 0.04
	2.84	1.10 ± 0.08 <sup>2)</sup>	1.14 ± 0.18 <sup>3)</sup>	1.06 ± 0.04 <sup>2)</sup>
	5.68	0.88 ± 0.23 <sup>2)</sup>	1.03 ± 0.05 <sup>3)</sup>	1.08 ± 0.05 <sup>2)</sup>

注:与假手术组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ 。

3.3 生脉注射液对小鼠脑缺血再灌注损伤后 NF-κB/p65、Akt 表达和活化的影响 小鼠脑缺血再灌注 1 h 后,与假手术组相比,模型组脑组织 p65 表达无明显变化,而磷酸化 p65 (p-p65) 非常显著升高

( $P < 0.01$ );生脉注射液高、中、低剂量均可显著抑制脑缺血诱导的磷酸化 p65 表达上调 ( $P < 0.01$ ) (图2,表3)。同时,模型组小鼠脑组织 Akt 表达与假手术组相比无显著差异,而磷酸化 Akt 表达显著升高 ( $P < 0.05$ );生脉注射液高、中剂量可显著抑制脑缺血诱导的磷酸化 Akt 表达上调 ( $P < 0.05$ ),低剂量对磷酸化 Akt 表达有一定程度的抑制作用,但无统计学差异(图2,表3)。

#### 4 讨论

中成药大多来源于传统中药经典方剂、著名中医的经验方,其组方原则和临床应用构建在中医药基础理论之上,是一类具有中医药特色的重要上市药品,但因物质基础复杂,作用机制不明确充分,质量控制标准不完善等问题,一定程度限制其应用。综合应用现代多学科技术,针对现代疾病的有效性和作用特点研究,从基因水平、功能蛋白及相关信号转导通路角度,阐释复方中成药多靶点、多途径的整合作用机制,有利于诠释中成药的治疗特色与优势,更充分发挥中成药在现代医疗保健体系中的作用。

生脉注射液为临床用于防治心脑血管性疾病常用中成药之一,应用广泛,疗效确切<sup>[2-4]</sup>,但对缺血性脑卒中的药理活性及机制尚未有效阐明。因大脑中动脉为临床上缺血性脑血管病的多发部位,线栓法诱导 MCAO 模型已被广泛应用于脑缺血梗死的研究。本研究采用小鼠局灶性脑缺血再灌注模型,评价其神经保护活性,结果显示,生脉注射液 3 个剂量于再灌注前注射给药 1 次,可明显减少梗死体积,提高神经行为学评分,证实其对小鼠脑缺血再灌注损伤具有明显改善作用,为该方临床用于缺血性脑卒中的防治提供实验依据。生脉注射液中含多种人参皂苷、麦冬皂苷和五味子木脂素等成分,相关神经保护活性及机制也多有报道,如研究表明:人参皂苷 Re 可保护血清剥夺损伤的神经细胞,提高神经细胞成活率,抑制损伤、凋亡<sup>[10]</sup>;人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 可通过作用于缺氧诱导因子 1,修复由缺血缺氧引起的脑损伤<sup>[11]</sup>;人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 可通过抑制局部炎症的发生改善大鼠脑缺血损伤<sup>[12]</sup>;人参皂苷 Rd 可减轻由线粒体损伤引起的细胞凋亡,进而发挥神经保护作用<sup>[13]</sup>;麦冬皂苷活性中心母核鲁斯可皂苷元可改善小鼠脑缺血缺氧损伤,减轻缺血再灌注导致的脑水肿、氧化损伤和能量代谢障碍<sup>[14]</sup>;五味子素可抑制由谷氨酸造成的大鼠原代神经元细胞兴奋性神经毒性等<sup>[15]</sup>。上述成分或组合对生脉注射液改善局灶性脑缺血的整体活性的贡献度,值得进一步关注。

研究显示,缺血性脑卒中发病机制复杂,涉及一系列复杂的病理过程相互交叉的级联反应,供应脑部血液的动脉出现粥样硬化和血栓形成,使管腔狭窄甚至闭塞,导致局灶性急性脑供血不足是主要病因之一<sup>[16-17]</sup>。TF 是动脉粥样硬化斑块形成血栓的关键因素,在心脑血管疾病中扮演着重要的角色<sup>[18]</sup>,TF 介导的微血管血栓也是造成大鼠局灶性脑缺血的重要因素之一,而 TF 途径的抑制剂则可以相对减轻脑损伤,提示干预 TF 表达有利于中风的防治<sup>[7]</sup>。本研究结果证实,小鼠脑缺血 1 h 再灌注 1 h 后,脑组织 TF 表达明显升高,生脉注射液具有显著抑制作用,提示 TF 是生脉注射液发挥神经保护的作用环节之一,为从功能蛋白角度阐释生脉注射液防治脑中风的机制提供实验数据。鉴于 TF 还参与血管新生、肿瘤迁移、脓毒血症等病理过程<sup>[5,19-20]</sup>,本研究结果为生脉注射液防治上述相关疾病提供可能的线索。

另一方面,NF- $\kappa$ B 是多种类型细胞中所表达的一种转录因子,最常见的形式是 p50/p65 异源二聚体,它可引起基因转录激活,是调节免疫和炎症应答系统的关键转录因子<sup>[21]</sup>,参与调控 TF 与肿瘤坏死因子等炎症因子的表达,在缺血性脑中风病理过程中起重要作用<sup>[22-23]</sup>。PI3K-Akt 信号通路是细胞内另一条重要的信号通路,参与很多生物学过程的调控,不仅在 NF- $\kappa$ B 活化中是必须的,也是调节 TF 的另一信号途径<sup>[24]</sup>。Akt、NF- $\kappa$ B/p65 等信号分子在缺血再灌注前期被激活,干预上述信号分子的激活可有效防治脑缺血再灌注造成的损伤<sup>[25]</sup>。本研究结果证实,小鼠脑缺血 1 h 再灌注 1 h 后,脑组织 NF- $\kappa$ B/p65 活化, Akt 磷酸化增加,与文献报道一致<sup>[25]</sup>;而生脉注射液具有显著抑制作用,提示生脉注射液的神经保护作用机制可能与抑制 PI3K-Akt 通路和 NF- $\kappa$ B 通路的活化及其下游靶蛋白 TF 的异常表达有关,其作用环节与分子机制及效应成分的靶点通路,均值得进一步深入探讨。

#### [参考文献]

[1] 安泳潼,夏玉叶,闵旸. 缺血性脑卒中的发病机制及其治疗 [J]. 世界临床药物,2010,31(1):35.  
[2] 孙梁,孙晨,张根明. 生脉注射液治疗缺血性中风的临床疗效评价——12 个相关研究的 Meta 分析 [J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(24):5.  
[3] 张滨斌,李燕,于维霞,等. 生脉注射液联合灯盏花素注射液治疗椎基底动脉供血不足 [J]. 中国实验方

剂学杂志,2011,17(19):285.  
[4] 易玉新,杨宇,屈晓冰,等. 生脉注射液治疗老年脑梗死临床疗效及作用机制探讨 [J]. 中国中西医结合杂志,2003,23(1):10.  
[5] Chu A J. Role of tissue factor in thrombosis. Coagulation-inflammation-thrombosis circuit [J]. Front Biosci, 2006, 11(1):256.  
[6] van Hinsbergh V W. Endothelium--role in regulation of coagulation and inflammation [J]. Semin Immunopathol, 2012, 34(1):93.  
[7] Niuro M, Nagayama T, Yunoue S, et al. Changes in tissue factor and the effects of tissue factor pathway inhibitor on transient focal cerebral ischemia in rats [J]. Thromb Res, 2008, 122(2):247.  
[8] 王宝亮,岳亚男,郑晨星,等. 中风皂贝化痰胶囊对大鼠脑缺血再灌注损伤后的神经保护作用及碱性成纤维细胞生长因子表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(2):101.  
[9] Garcia J H, Wagner S, Liu K, et al. Neurological deficit and extent of neuronal necrosis attributable to middle cerebral artery occlusion in rats [J]. Stroke, 1995, 26(4):627.  
[10] 宋志斌,朱成琳,师方园,等. 人参皂昔 Re 体外抗氧化能力及其对血清剥夺神经细胞作用的研究 [J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(7):225.  
[11] Tang B, Qu Y, Wang D, et al. Targeting hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ : a novel mechanism of ginsenoside Rg1 for brain repair after hypoxia/ischemia brain damage [J]. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2011, 10(2):235.  
[12] Zhu J, Jiang Y, Wu L, et al. Suppression of local inflammation contributes to the neuroprotective effect of ginsenoside Rb1 in rats with cerebral ischemia [J]. Neuroscience, 2012, 202(27):342.  
[13] Ye R, Zhang X, Kong X, et al. Ginsenoside Rd attenuates mitochondrial dysfunction and sequential apoptosis after transient focal ischemia [J]. Neuroscience, 2011, 178(31):169.  
[14] 颜景峰,李金平,寇俊萍,等. 鲁斯可皂昔元对小鼠脑缺血缺氧的保护作用 [J]. 中药新药与临床药理, 2010,21(4):331.  
[15] Cheng H Y, Hsieh M T, Wu C R, et al. Schizandrin protects primary cultures of rat cortical cells from glutamate-induced excitotoxicity [J]. J Pharmacol Sci, 2008, 107(1):21.  
[16] 史亚军,施俊辉,陈世彬,等. 黄芩苷治疗缺血性脑损伤研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(7):218.

## 消癌舒抗炎镇痛作用及机制研究

金凤<sup>1\*</sup>, 金海<sup>2</sup>, 雷恋<sup>3</sup>, 熊慧江<sup>4,5</sup>, 吴芹<sup>1</sup>, 杨丹莉<sup>1</sup>, 王井洪<sup>5</sup>

(1. 遵义医学院药理学教研室暨贵州省基础药理重点实验室, 贵州 遵义 563000;

2. 遵义医学院附属医院消化病研究所, 贵州 遵义 563000; 3. 遵义医学院药学院, 贵州 遵义 563000;

4. 六枝特区人民医院中药房, 贵州 六枝 553400;

5. 贵州景红生物科技有限责任公司, 贵州 六枝 553400)

**[摘要]** 目的: 观察消癌舒(XAS)的抗炎镇痛作用并分析其作用机制。方法: 昆明种小鼠随机分为模型组, 阿司匹林组(0.2 g·kg<sup>-1</sup>), XAS 低、中、高剂量组(0.375, 0.75, 1.5 g·kg<sup>-1</sup>), 连续灌胃给药 7 d。采用二甲苯致小鼠耳廓肿胀及角叉菜胶致小鼠足肿胀实验评价 XAS 的抗炎作用; 采用冰醋酸致痛法及热板致痛法评价 XAS 的镇痛作用; 采用 Real time RT-PCR 法测定炎症组织中肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) 及白介素  $1\beta$ (IL- $1\beta$ ) mRNA 的表达。结果: XAS 能明显抑制小鼠耳廓肿胀及足肿胀程度( $P < 0.05$ ); 对抗热板及醋酸刺激所致的小鼠疼痛反应( $P < 0.05$ ); 降低炎症组织中 TNF- $\alpha$  及 IL- $1\beta$ mRNA 的表达( $P < 0.05$ )。结论: XAS 具有显著的抗炎、镇痛作用, 其作用机制与抑制炎症组织中 TNF- $\alpha$ , IL- $1\beta$ mRNA 的表达有关。

**[关键词]** XAS; 抗炎; 镇痛; 细胞因子

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0199-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013140199

## Research of Anti-inflammatory and Analgesic Effects of Xiaoaishu

JIN Feng<sup>1\*</sup>, JIN Hai<sup>2</sup>, LEI Lian<sup>3</sup>, XIONG Hui-jiang<sup>4,5</sup>, WU Qin<sup>1</sup>, YANG Dan-li<sup>1</sup>, WANG Jing-hong<sup>5</sup>

(1. Department of Pharmacology and the Key Laboratory of Basic Pharmacology of Guizhou Province,

**[收稿日期]** 20130302(001)

**[基金项目]** 贵州省科技厅中药现代化专项(黔科合中药字 20115008 号); 贵州省教育厅自然科学类科研项目(黔教科 2011056 号); 贵州省科技厅自然科学基金(黔科合 J 字 20092147 号); 贵州省中医药管理局项目(QZYY2010-59)

**[通讯作者]** \* 金凤, 硕士, 副教授, 从事神经药理学研究及新药研发, Tel: 0852-8609623, E-mail: jinfeng1115@yahoo.com.cn

- [17] 于淼, 孙晓江. 急性缺血性脑卒中颅内、外动脉粥样硬化狭窄的相关因素 [J]. 上海医学, 2009, 32(4):304.
- [18] Holy E W, Tanner F C. Tissue factor in cardiovascular disease pathophysiology and pharmacological intervention [J]. Adv Pharmacol, 2010, 59:259.
- [19] Cole M, Bromberg M. Tissue factor as a novel target for treatment of breast cancer [J]. Oncologist, 2013, 18(1):14.
- [20] de Waard V, Hansen H R, Spronk H H, et al. Differential expression of tissue factor mRNA and protein expression in murine sepsis. The role of the granulocyte revisited [J]. Thromb Haemost, 2006, 95(2):348
- [21] Ghosh S, Hayden M S. New regulators of NF-kappa B in inflammation [J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(11): 837.
- [22] Ridder D A, Schwaninger M. NF- $\kappa$ B signaling in cerebral ischemia [J]. Neuroscience, 2009, 158(3):995
- [23] Chen Z B, Huang D Q, Niu F N, et al. Human urinary kallidinogenase suppresses cerebral inflammation in experimental stroke and downregulates nuclear factor-kappaB [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2010, 30(7):1356.
- [24] Arderiu G, Peña E, Aledo R, et al. Tissue factor-Akt signaling triggers microvessel formation [J]. J Thromb Haemost, 2012, 10(9):1895.
- [25] Song Y S, Narasimhan P, Kim G S, et al. The role of Akt signaling in oxidative stress mediates NF-kappaB activation in mild transient focal cerebral ischemia [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2008, 28(12):1917.

[责任编辑 聂淑琴]