

癫痫清颗粒对阿尔茨海默病模型小鼠血脑屏障的影响

李 莹¹, 杨彩瑜¹, 贾 冬², 明彩荣¹, 齐 越^{2*}

(1. 辽宁中医药大学研究生学院, 辽宁 沈阳 110847; 2. 辽宁中医药大学附属第二医院, 辽宁 沈阳 110034)

摘要: **目的** 研究癫痫清颗粒对阿尔茨海默病模型小鼠血脑屏障通透性和学习记忆能力的影响。**方法** ICR 小鼠随机分为假手术组、模型组、癫痫清颗粒组、盐酸多奈哌齐组、BD1047 组和癫痫清+BD1047 组, 侧脑室注射 $A\beta_{25-35}$, 制作小鼠 AD 模型, 连续给药 21 d, 每日 1 次。第 15 天进行 Y 迷宫实验, 第 16~21 天进行水迷宫实验。末次给药结束 1 h 后进行伊文斯蓝渗漏实验。表达采用免疫组化检测 VEGF 和 GFAP, RT-PCR 测定皮层中 *Cx43* 和 *occludin* mRNA 表达。**结果** 与假手术组比较, 模型组小鼠自发交替反应率降低 ($P<0.05$); 潜伏期和伊文斯蓝渗漏量增加 ($P<0.01$); GFAP 和 VEGF 表达降低 ($P<0.01$); 皮质中的 *Cx43* 和 *occludin* mRNA 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较, 癫痫清颗粒组的自发交替反应率提高 ($P<0.05$); 潜伏期缩短 ($P<0.01$); 伊文斯蓝渗漏量和海马中 GFAP 的表达降低 ($P<0.01$); 皮质中 VEGF 及 *Cx43*、*occludin* mRNA 的表达升高 ($P<0.01$)。癫痫清+BD1047 组的自发交替反应率、潜伏期、伊文斯蓝渗漏量、*Cx43*mRNA、GFAP 和 VEGF 表达与模型组比较差异无统计学意义, 但 *occludin* mRNA 表达增加 ($P<0.05$)。**结论** 癫痫清颗粒可通过影响 Sigma 1 受体, 抑制星形胶质细胞过度活化, 增加 VEGF 和 *Cx43*、*occludin* mRNA 表达, 降低血脑屏障通透性, 进而改善 AD 模型小鼠的学习记忆能力。

关键词: 癫痫清颗粒 (AD); 阿尔茨海默病; 血脑屏障; Sigma 1 受体

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2021)02-0497-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2021.02.040

阿尔茨海默病 (Alzheimer disease, AD) 是一种以 β -淀粉样蛋白 ($A\beta$) 异常沉积、tau 蛋白过度磷酸化和神经纤维缠结为主要病理特征的中枢神经退行性疾病, 主要表现为学习记忆能力减退和认知功能障碍。血脑屏障由脑微血管内皮细胞、内皮细胞间的紧密连接、星形胶质细胞终足和周细胞组成。研究表明, AD 患者存在血脑屏障损伤^[1]。 $A\beta$ 作为一种公认的与 AD 病理相关的小分子肽, 体外研究显示 $A\beta_{25-35}$ 能够破坏血脑屏障紧密连接结构, 引起血脑屏障渗漏^[2]。当血脑屏障结构和功能的完整性出现缺失时, 会引起中枢与外周分子交换异常、神经元与神经胶质细胞受损、血管氧化应激^[3]、脑微血管 $A\beta$ 沉积增加等^[4], 可能会进一步加剧认知功能障碍。

Sigma-1 受体 ($\sigma 1R$) 广泛存在于中枢神经系统的神经元、神经胶质细胞和相关的免疫和内分泌组织中。多种研究表明, $\sigma 1R$ 在改善 AD 模型动物学习记忆能力方面表现出积极的作用。癫痫清颗粒是临床经验处方, 具有豁痰息风、活血化瘀、开窍益智的功效。本研究利用 $A\beta_{25-35}$ 致 AD 小鼠模型, 并给予癫痫清颗粒和 $\sigma 1R$ 拮抗剂, 观察癫痫清颗粒对于 AD 模型小鼠血脑屏障功能的影响及其相关机制, 旨在为 AD 防治提供更广泛的理论基础。

1 材料

1.1 动物 96 只 SPF 级 ICR 雄性小鼠, 体质量为 20~24 g, 购于辽宁长生生物技术股份有限公司, 许可证号 SYXK (辽) 2013-0009。

1.2 药物与试剂 癫痫清颗粒 (辽宁中医药大学附属第二医院, 批号 20140110, 生药含量为 5.31 g/g); 盐酸多奈哌齐片 [卫材 (中国) 药业有限公司, 5 mg/片, 批号 140606 A]; $A\beta_{25-35}$ (美国 Sigma 公司, 货号 A4559, 批号 038M4822 V); BD1047 (TOCRIS 公司, 货号 138356-21-5, 批号 4A/219731); EB (伊文斯蓝, 上海瑞永生物科技有限公司, 货号 RS1049-5 g, 批号 RS18B1116); 鼠抗胶质纤维酸性蛋白 (GFAP, 北京博奥森生物技术有限公司, 货号 bsm-33065 M, 批号 AH03099387); 兔抗血管内皮生长因子 (VEGF, 北京博奥森生物技术有限公司, 货号 bs-1313R, 批号 AB9071709); TRIzol (武汉谷歌生物科技有限公司, 批号 171025); 逆转录试剂盒 (悠扬生物科技有限公司, 货号 RT-01001, 批号 095634); *Cx43*、*occludin* 引物由华大基因生物科技有限公司提供; 实时定量 PCR 扩增预混合液 [2×SYBR qPCR Master Mix (Universal)] (悠扬生物科技有限公司, 货号 R-01001, 批号 190601)。

1.3 仪器 DW-200 型脑立体定位仪 (成都泰盟科技公司); 微量进样器 (上海安亭微量进样器厂, 规格 10 μ L);

收稿日期: 2020-03-05

基金项目: 辽宁省教育厅课题 (201709-202009); 沈阳市科技局项目 (19-112-4-072)

作者简介: 李 莹 (1996—), 女, 硕士生, 从事神经药理学研究。E-mail: living_anan@163.com

* 通信作者: 齐 越 (1977—), 女, 博士, 教授, 从事神经药理学研究。E-mail: lnzyxyqy2003@163.com

Y 迷宫 (辽宁中医康复中心); MT-200 型 Morris 水迷宫 (成都泰盟科技公司)。

2 方法

2.1 分组 96 只雄性小鼠适应性饲养 1 周, 按体质量随机分为假手术组、模型组、癫痫清颗粒组、盐酸多奈哌齐组、BD1047 组和癫痫清+BD1047 组, 每组 16 只。

2.2 造模 350 mg/kg 水合氯醛麻醉小鼠后, 固定, 剪毛, 碘伏、酒精消毒头部皮肤。切开小鼠头部皮肤约 2 cm, 找到囟门位置, 以囟门为原点, 向右移动 1 mm, 向后移动 0.5 mm, 深度为 3 mm, 微量进样器缓慢注射 3 μ L 老化的 A β_{25-35} , 弥散 5 min。消毒后伤口处涂抹适量青霉素钠粉末, 缝合伤口, 涂抹火棉胶。置于鼠笼中饲养, 注意术后保暖。假手术组注射等体积无菌生理盐水。

2.3 给药 造模第 2 天开始灌胃给药癫痫清颗粒 (12.48 g/kg, 按生药量计, 每克含有 5.31 g 生药) 和盐酸多奈哌齐 (1.3 mg/kg), 给药量为 20 mL/kg, 拮抗剂 BD1047 (1 mg/kg), 为腹腔注射给药, 每日 1 次, 连续给药 21 d, 各组动物无死亡, 小鼠状态良好。假手术组和模型组小鼠灌胃等体积蒸馏水并腹腔注射等体积无菌生理盐水。

2.4 Y 迷宫实验 Y 迷宫可用于评估小鼠的短期记忆能力^[5], 第 15 天给药结束后 1 h 对所有实验动物进行 Y 迷宫实验。Y 迷宫装置由长 40 cm、宽 15 cm、上口 9 cm、下底 5 cm 的 3 个互为 120° 夹角的木质支臂组成, 依次标为 A、B、C。将小鼠放在 Y 迷宫交叉点, 任其自由探索 8 min, 记录小鼠进入 3 个臂的总次数 (N) 和进臂顺序。以连续进入 3 个不同支臂为 1 次正确交替反应, 记录正确交替反应次数。用自发交替反应率反映实验动物的空间工作记忆能力。自发交替反应率 = 正确交替反应次数 / (N - 2) \times 100%^[6]。

2.5 水迷宫定位航行实验 对所有动物进行水迷宫实验。Morris 水迷宫定位航行实验考察动物空间学习的记忆能力。Morris 水迷宫为直径 80 cm、高 33 cm 的白色圆桶状装置。将水迷宫装置分为 4 个等面积的扇形区域, 分别记为第一至四象限。平台为俯视圆形, 侧视工形的白色金属装置。平台位于第一象限扇形区域中间位置。桶内装水, 水中混匀可食用白色素掩盖平台位置, 保持水面高于平台 1 cm。第 16 天给药结束后 1 h 所有实验小鼠进行 Morris 水迷宫定位航行实验。将小鼠面壁腹部朝内放入水中, 1 min 内小鼠从入水到登上平台的时间为潜伏期。若小鼠在 1 min 内未能成功登台, 则潜伏期为 60 s。每天游泳 2 次, 间隔 4 h, 连续游泳 5 d。

2.6 伊文斯蓝渗漏实验 空间探索实验结束后, 在每组动物中随机选取 6 只小鼠, 尾静脉注射 2% 的伊文斯蓝溶液 (4 mL/kg), 全身循环 3 h 后, 用 350 mg/kg 水合氯醛麻醉, 心脏灌流生理盐水至流出液体透明为止, 断头取脑, 称量大脑湿重。将大脑置于有锡纸包裹的离心管中, 每例样本加入 3 mL 甲酰胺, 剪碎大脑, 45 $^{\circ}$ C 水浴孵育 72 h 后离心取上清。酶标仪 (632 nm) 测定吸光度值。

将伊文斯蓝溶解于甲酰胺中, 终质量浓度分别为 8、4、2、1、0.5、0.25、0.125 μ g/mL, 45 $^{\circ}$ C 避光水浴 72 h。空白孔为等体积甲酰胺溶液, 酶标仪 (632 nm) 测定吸光度, 制作标准曲线。根据标准曲线计算每克脑组织含伊文斯蓝的质量 (μ g/g)。

2.7 免疫组化染色检测 VEGF、GFAP 表达 空间探索实验结束后, 在每组动物中随机选取 6 只小鼠制备常规石蜡切片, 切片经过脱蜡水化、内源性过氧化氢酶灭活后, 进行抗原修复、封闭、4 $^{\circ}$ C 孵育一抗过夜。次日 PBS 冲洗、孵育生物素化二抗, DAB 染色, 苏木素复染。中性树胶封片。显微镜下观察目标抗原表达。每只小鼠各取 10 张冠状切片, 每张切片随机选取 5 个不同的视野。阳性结果为细胞内表达棕黄色颗粒。用 JEOA 801D 形态学图像分析系统, 计算各组阳性细胞平均光密度值。

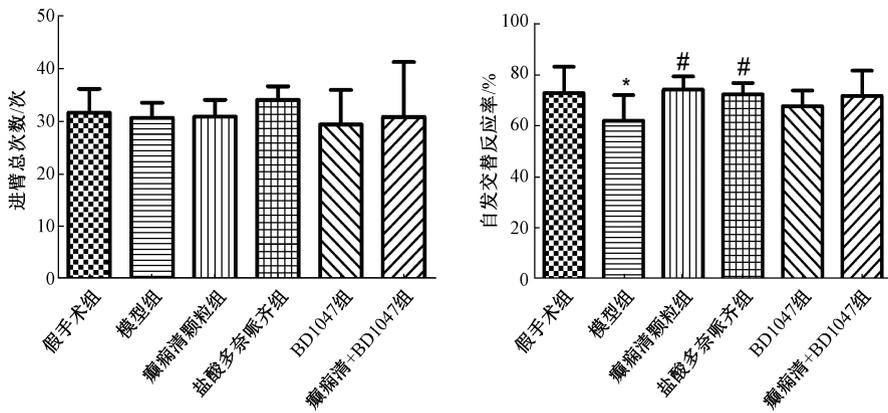
2.8 Cx43、occludin mRNA 检测 每组动物随机选取 4 只小鼠, 用 TRIzol 法提取皮层组织总 RNA, 使用紫外吸收测定法、变性琼脂糖凝胶电泳法测定总 RNA 浓度和纯度。浓度和纯度测定结束后, 进行逆转录反应, 反应 1, 5 \times gDNase Mix 2.0 μ L, Template (RNA) 5 μ L, RNase-Free ddH₂O 3 μ L, 42 $^{\circ}$ C 2 min, 4 $^{\circ}$ C + ∞ ; 反应 2, 反应液 1 取 10 μ L, 5 \times RO-Easy Mix 4 μ L, RNaseFree ddH₂O 6 μ L, 37 $^{\circ}$ C 15 min, 85 $^{\circ}$ C 5s, 4 $^{\circ}$ C + ∞ ; 将 cDNA 配置于 Real-time quantitative PCR 反应体系中。cDNA 0.4 μ L, 正向引物 (10 μ mol/L) 0.4 μ L, 反向引物 (10 μ mol/L) 0.4 μ L, 2 \times SYBR Green Fast qPCR Mix with Low Rox 10 μ L, ddH₂O 8.8 μ L, 95 $^{\circ}$ C 2 min; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 40 cycles; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 15 s。得到 C_t 值, 以 β -actin 作为内参基因进行校准, 以 2^{- $\Delta\Delta$ C_t} 进行分析。引物序列, Cx43 正向 (5' to 3') CTAGGTGTG-GATGGACCTTATG, 反向 (5' to 3') ATCATTGTTGGT-GAGGGTGAGG; occludin 正向 (5' to 3') GCCCTCAGGT-GACTGTTATTTA, 反向 (5' to 3') CTGCCTTAGTTTCA GTTTG; β -actin-正向 (5' to 3') GTCCTCACCCCTCCAAAAG, 反向 (5' to 3') GCTGCCTCAACACCTCAACCC。

2.9 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件进行数据分析, 实验结果以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较单因素方差分析或双因素方差分析, 以 P < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 Y 迷宫实验 Y 迷宫用于评估空间识别记忆能力, 各组小鼠进入支臂总次数无差异, 说明癫痫清颗粒对小鼠自发活动没有明显影响。与假手术组比较, 模型组自发交替反应率下降 (P < 0.05); 与模型组比较, 癫痫清颗粒组和盐酸多奈哌齐组自发交替反应率增加 (P < 0.05), BD1047 组和癫痫清+BD1047 组自发交替反应无差异。见图 1。

3.2 水迷宫定位航行实验 水迷宫前 3 天各组小鼠游泳潜伏期无差异; 第 4 天, 与假手术组比较, 模型组小鼠游泳潜伏期增加 (P < 0.01); 与模型组比较, 癫痫清颗粒组和盐酸多奈哌齐组小鼠游泳潜伏期缩短 (P < 0.01, P < 0.05),

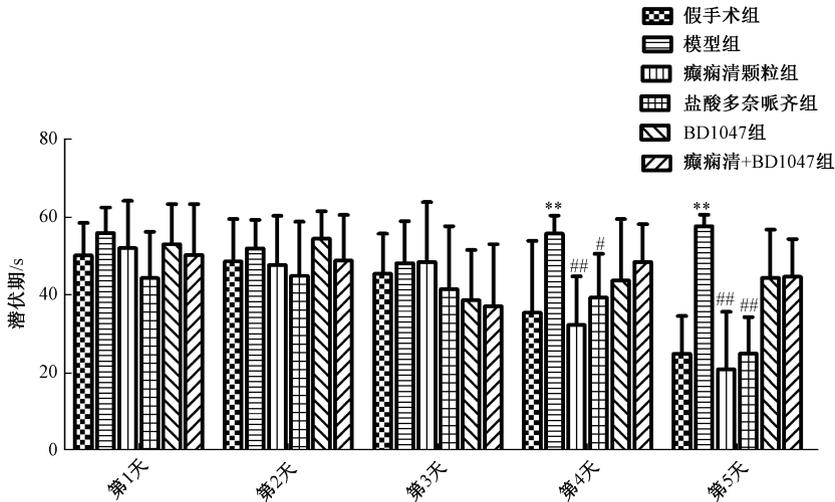


注：与假手术组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ 。

图1 癫痫清颗粒对AD小鼠Y迷宫实验的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 16$)

BD1047组和癫痫清+BD1047组潜伏期比较模型组虽有降低，但差异无统计学意义；第5天，与假手术组比较，模型组游泳潜伏期增加 ($P < 0.01$)；与模型组比较，癫痫清

颗粒组和盐酸多奈哌齐组潜伏期缩短 ($P < 0.01$)，BD1047组和癫痫清+BD1047组潜伏期相比模型组虽有降低，但差异无统计学意义。见图2。



注：与假手术组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ，### $P < 0.01$ 。

图2 癫痫清颗粒对AD小鼠潜伏期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 16$)

3.3 伊文斯蓝渗漏实验 与假手术组比较，模型组伊文斯蓝的含量增加 ($P < 0.01$)；与模型组比较，癫痫清颗粒组和盐酸多奈哌齐组的伊文斯蓝渗漏量减少 ($P < 0.01$)，BD1047组和癫痫清+BD1047组的伊文斯蓝渗漏量与模型组比较差异无统计学意义。见表1。

表1 各组AD小鼠脑组织伊文斯蓝含量 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	伊文斯蓝含量/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)
假手术组	1.23 ± 0.18
模型组	3.49 ± 0.68**
癫痫清颗粒组	1.84 ± 0.21**
盐酸多奈哌齐组	1.05 ± 0.58##
BD1047组	4.08 ± 0.94
癫痫清+BD1047组	3.22 ± 0.53

注：与假手术组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，## $P < 0.01$ 。

3.4 GFAP和VEGF免疫组化染色 与假手术组比较，模型组小鼠海马区域GFAP表达增多 ($P < 0.01$)，VEGF表达

减少 ($P < 0.01$)；与模型组比较，癫痫清颗粒组和盐酸多奈哌齐组海马区域GFAP阳性表达降低 ($P < 0.01$)，VEGF阳性表达增加 ($P < 0.01, P < 0.05$)；BD1047组和癫痫清+BD1047组的GFAP和VEGF表达与模型组比较差异无统计学意义。见图3~4、表2。

表2 各组小鼠海马组织中GFAP和皮质中VEGF的表达 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	GFAP	VEGF
假手术组	0.153 ± 0.012	0.235 ± 0.028
模型组	0.190 ± 0.013**	0.168 ± 0.016**
癫痫清颗粒组	0.156 ± 0.021##	0.212 ± 0.017##
盐酸多奈哌齐组	0.157 ± 0.021##	0.206 ± 0.019#
BD1047组	0.193 ± 0.039	0.179 ± 0.017
癫痫清+BD1047组	0.173 ± 0.015	0.195 ± 0.036

注：与假手术组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。

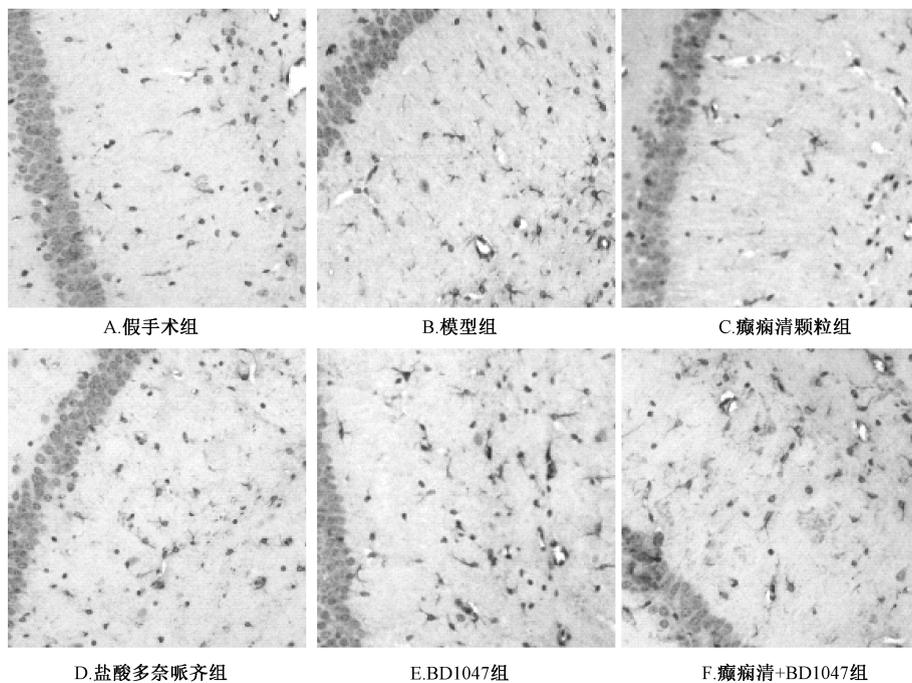


图 3 各组小鼠海马组织 GFAP 表达 (ICH, ×400)

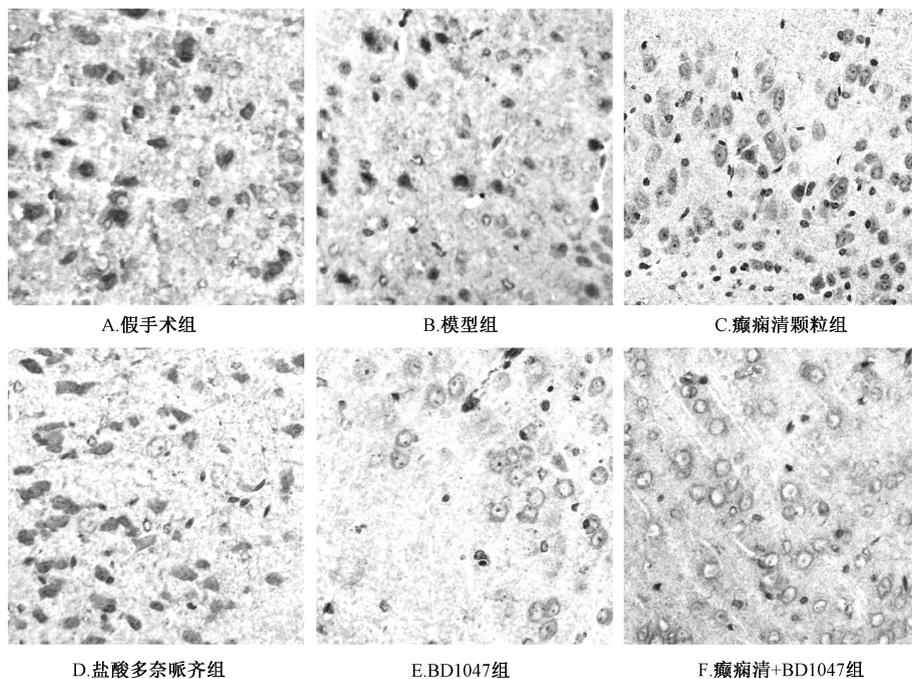


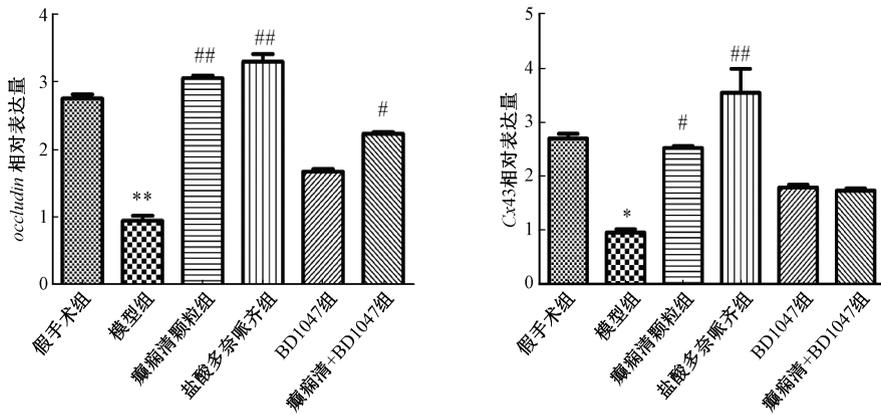
图 4 各组小鼠皮质部位 VEGF 表达 (ICH, ×400)

3.5 癫痫清颗粒对 AD 小鼠皮层 *Cx43*、*occludin* mRNA 的影响 与假手术组比较,模型组小鼠皮层 *Cx43*、*occludin* mRNA 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较,癫痫清颗粒组 *Cx43*、*occludin* mRNA 的表达升高 ($P<0.01$),BD1047 组 *Cx43*、*occludin* mRNA 表达虽有增加,但差异无统计学意义;癫痫清颗粒+BD1047 组 *Cx43* mRNA 表达,与模型组比较,差异无统计学意义,但 *occludin* mRNA 表达增

加 ($P<0.05$)。见图 5。

4 讨论

Zlokovic 等^[7]首次提出了 AD 的神经血管假说,该假说认为 $A\beta$ 在血脑屏障清除的障碍,异常血管生成和脑血管系统的老化可能会引发神经血管退化、脑灌注不足和神经血管炎症,最终导致血脑屏障损伤、内环境失衡以及突触和神经元功能损伤和丧失。保护血脑屏障结构与功能的完整



注：与假手术组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。

图5 癫痫清颗粒对AD小鼠皮层Cx43、occludin mRNA的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

性是改善AD病理的可能途径之一。

脑微血管内皮细胞通过紧密连接结构相互联系是构成血脑屏障的基础。紧密连接结构包括 occludin、连接黏附分子 (Junction adhesion molecule, JAM)、claudins 和胞质附着蛋白 (ZO-1、ZO-2 和 ZO-3)，其中 occludin 是紧密连接结构的主要组成部分^[8]。星形胶质细胞作为血脑屏障的重要组成部分，对于调节突触功能、参与脑能量代谢^[9]和维持神经元生长等具有重要意义。缝隙连接蛋白 43 (Cx43) 作为星形胶质细胞之间的主要连接蛋白，与血脑屏障通透性密切相关^[10]。AD 发生时常伴随着 occludin 及 Cx43 等多种连接蛋白的丢失和分布异常，星形胶质细胞的过度活化，神经元损伤加重以及血脑屏障的通透性增加^[11]。GFAP 是星形胶质细胞的特异性标志物，且在星形胶质细胞活化状态下表达增加。VEGF 主要由星形胶质细胞产生，可特异性的促进血管内皮细胞有丝分裂，参与血管形成^[12]。研究表明，AD 中 VEGF 含量显著降低^[13]；增加 VEGF 可降低血脑屏障通透性^[14]，较高的 VEGF 水平与记忆改善相关^[15]。

癫痫清颗粒处方由石菖蒲 (*Acorus tatarinowii* Schott.)、胆南星 (*Arisaema cum Bi*)、红花 (*Carthamus tinctorius* L.) 等 11 味中药组成。前期研究结果显示，癫痫清颗粒可通过减少 BACE1、PS1 的蛋白表达，抑制 A β 的生成^[16]，保护海马神经元^[17]，进而改善 AD 模型动物的学习记忆障碍。在本研究中，AD 模型小鼠 VEGF、Cx43 和 occludin mRNA 表达显著降低，GFAP 水平显著升高，伊文斯蓝渗漏增加，提示血脑屏障受损。癫痫清颗粒给药干预后，小鼠 VEGF、occludin 和 Cx43 mRNA 表达显著升高，GFAP 水平显著降低，伊文斯蓝向脑实质渗漏减少，说明癫痫清颗粒可能通过调节脑内 VEGF 水平；增加血脑屏障中连接蛋白的表达；抑制星形胶质细胞过度活化，维护血脑屏障功能，进而发挥抗 AD 的作用。

σ 1R 主要定位于内质网和线粒体相关的内质网膜 (MAM)，激活时，可通过调节离子通道、蛋白激酶和 G 蛋白偶联受体发挥作用^[18]。在本研究中，课题组给予 AD 模型小鼠 σ 1R 拮抗剂 BD1047 后发现，BD1047 组连接蛋白表

达降低，胶质细胞活性增强，说明 σ 1R 与 AD 模型血脑屏障功能障碍功能有关联。癫痫清颗粒和 BD1047 联合用药后，与模型组比较，星形胶质细胞活性、血脑屏障通透性及连接蛋白表达，差异无统计学意义，说明癫痫清颗粒可通过 σ 1R 降低 AD 模型小鼠的血脑屏障通透性，改善其学习记忆能力，发挥抗 AD 的作用。

参考文献:

- [1] Lin M Q, Zhu L, Wang J R, et al. miR-424-5p maybe regulate blood-brain barrier permeability in a model *in vitro* with A β incubated endothelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 517(3): 525-531.
- [2] Cuevas E, Rosas-Hernandez H, Burks S M, et al. Amyloid β_{25-35} induces blood-brain barrier disruption *in vitro*[J]. *Metab Brain Dis*, 2019, 34(5): 1365-1374.
- [3] Pan Y, Nicolazzo J A. Impact of aging, Alzheimer's disease and Parkinson's disease on the blood-brain barrier transport of therapeutics[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018, 135: 62-74.
- [4] Zenaro E, Piacentino G, Constantin G. The blood brain barrier in Alzheimer's disease[J]. *Neurobiol Dis*, 2017, 89: 12-18.
- [5] Kraeuter A K, Guest P C, Sarnyai Z. The Y-Maze for Assessment of spatial working and reference memory in mice[J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1916: 105-111.
- [6] 殷紫, 张二飞, 齐越, 等. 虎杖乙醇提取物对阿尔茨海默病小鼠学习记忆能力及磷酸化 tau 蛋白的影响[J]. *中成药*, 2018, 40(10): 2289-2292.
- [7] Zlokovic B V, Berislav V. Neurovascular mechanisms of Alzheimer's neurodegeneration[J]. *Trends Neurosci*, 2005, 28(4): 202-208.
- [8] Wu Z Y, Liang Y D, Yu S Z. Downregulation of microRNA-103a reduces microvascular endothelial cell injury in a rat model of cerebral ischemia by targeting AXIN2[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(5): 4720-4733.
- [9] Zielke H R, Zielke C L, Baab P J. Direct measurement of oxidative metabolism in the living brain by microdialysis: a review[J]. *J Neurochem*, 2009, 109(s1): 24-29.

- [10] 王经纬. Cx43 及其半通道与缺氧缺血性大鼠脑损伤的相关性研究[D]. 济南: 山东大学, 2017.
- [11] 李国前, 王杰华, 苏钦坡, 等. 氟伐他汀对脑缺血再灌注大鼠 claudin-5 和 occludin 的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(3): 264-266.
- [12] 王桥生. 高渗盐水抑制小胶质细胞 NLRP3/IL-1 β 轴下调 VEGF 表达改善缺血再灌注脑损伤血脑屏障通透性[D]. 广州: 南方医科大学, 2019.
- [13] Mateo I, Llorca J, Infante J, et al. Low serum VEGF levels are associated with Alzheimer's disease[J]. *Acta Neurol Scand*, 2010, 116(1): 56-58.
- [14] Wang W, Dentler W L, Borchardt R T. VEGF increases BMEC monolayer permeability by affecting occludin expression and tight junction assembly[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000, 280(1): H434-H440.
- [15] Anton A X, Irene A, Manuel A, et al. Severity-related increase and cognitive correlates of serum VEGF levels in Alzheimer's Disease ApoE4 carriers[J]. *J Alzheimers Dis*, 2018, 63(3): 1-11.
- [16] 康凯. 癫痫清颗粒对阿尔茨海默病模型小鼠 Tau 蛋白磷酸化及 A β 产生的影响[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2017.
- [17] 黄寓, 康凯, 齐越, 等. 癫痫清颗粒对 A β (25-35) 所致阿尔茨海默病小鼠模型学习记忆的影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, 18(7): 29-32.
- [18] Nguyen L, Lucke-Wold B P, Mookerjee S A, et al. Role of sigma-1 receptors in neurodegenerative diseases[J]. *J Pharmacol Sci*, 2015, 127(1): 17-29.

敦煌平胃丸缓解顺铂诱发的小鼠肠道黏膜炎

李亚玲^{1,2,3}, 李俊杰¹, 董娟娟¹, 李高勤¹, 展文华¹, 舍雅莉^{1,2,3}, 刘永琦^{1,2*}

(1. 甘肃中医药大学, 甘肃省高校重大疾病分子医学与中医药防治研究省级重点实验室, 甘肃兰州 730000; 2. 敦煌医学与转化省部共建教育部重点实验室, 甘肃兰州 730000; 3. 甘肃中医药大学, 基础医学院, 甘肃兰州 730000)

摘要: 目的 探讨敦煌平胃丸改善顺铂诱发 C57BL/6 小鼠肠道黏膜炎的疗效及机制。方法 用顺铂经小鼠腹腔注射制备肠道黏膜炎模型, 实验分为对照组、平胃丸组、顺铂组、顺铂联合平胃丸组, 每组 6 只, 中药连续干预 10 d, 顺铂于实验 3、6、9 天分别腹腔注射 1 次。检测小鼠体指数、腹泻评分、小肠形态学、肠屏障因子 Occludin 和 ZO-1、肠炎症因子 IL-6 和 TNF- α 、肠免疫因子 sIgA。结果 与对照组比较, 顺铂组小鼠体指数下降, 腹泻严重, 小肠形态结构破坏, Occludin、ZO-1 和 sIgA 表达下降, IL-6 和 TNF- α 表达升高 ($P < 0.05$); 与顺铂组比较, 平胃丸联合顺铂改善上述状态 ($P < 0.05$)。结论 敦煌平胃丸可通过改善小肠机械和免疫屏障及肠炎症因子缓解顺铂诱发小鼠肠道黏膜炎。

关键词: 敦煌平胃丸; 顺铂; 消化道黏膜炎; 肠屏障; 炎症因子

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2021)02-0502-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.02.041

化疗诱发的消化道黏膜炎是接受化疗的患者中最常见的并发症^[1], 可导致溃疡、疼痛、胃肠道出血等, 是癌症患者治疗延迟、住院时间延长、治疗费用和死亡率增加的主要原因之一^[2]。消化道黏膜炎的确切机制尚不清楚, 可能与氧化应激、炎症因子释放、肠道免疫和肠道微生态等多种原因有关。目前对黏膜炎的治疗以对症治疗为主, 包括黏膜保护剂、抗生素、止痛、局部抗菌药物和冷冻疗法等^[3], 但临床效果不容乐观。近年来中医

药在缓解化疗引起的胃肠副作用方面展现出较好的疗效。敦煌平胃丸(平胃丸)出自敦煌古书《不知名氏辨脉法》, 甘肃省名中医王道坤教授将此方进行加减研发的萎胃灵胶囊在治疗慢性萎缩性胃炎及防癌变方面取得显著临床效果, 在胃癌患者术后恢复中也可减轻放/化疗引起的消化道反应^[4-5]。采用敦煌平胃丸干预顺铂诱导肠道黏膜炎小鼠, 观察疗效并从肠屏障和炎症因子角度初步探讨机制。

收稿日期: 2020-03-12

基金项目: 敦煌医学与转化省部共建教育部重点实验室开放基金资助项目 (DHYX20-07, DHYX14-010); 甘肃中医药大学中青年科研基金项目 (ZQ2017-2)

作者简介: 李亚玲 (1987—), 女, 硕士, 讲师, 从事中西医结合防治肿瘤研究。Tel: (0931) 5161250, E-mail: liyaling_09@sina.com

* **通信作者:** 刘永琦 (1973—), 男, 博士, 教授, 从事中西医结合防治肿瘤研究。Tel: (0931) 5161248, E-mail: liuyongqi73@163.com