

精骨补肾颗粒对地塞米松诱导骨质疏松症大鼠的保护作用

邢亚群¹, 王迪生^{1*}, 王 群¹, 魏 令², 耿春辉¹, 祝子明³, 徐玉禄¹
(1. 蚌埠医学院第二附属医院, 安徽 蚌埠 233040; 2. 蚌埠市第三医院骨科, 安徽 蚌埠 233000; 3. 宣城市人民医院, 安徽 宣城 242000)

摘要: **目的** 观察精骨补肾颗粒(黄精、骨碎补、桑葚等)对糖皮质激素性骨质疏松症(glucocorticoid induced osteoporosis, GIOP)大鼠的骨密度(BMD)、抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)、碱性磷酸酶(ALP)、肌钙蛋白(Tn)、血清降钙素(CT)、雌二醇(E₂)的影响及可能的作用机制。**方法** 将72只雌性大鼠随机分为正常对照组,模型对照组,阳性对照组(仙灵骨葆胶囊),精骨补肾颗粒低、中、高剂量组。除正常对照组外,其余各组大鼠每周2次肌肉注射地塞米松2.5 mg/kg,同时每日灌胃给药连续9周。实验结束后眼球取血,用酶联免疫法测定大鼠Tn、TRAP、ALP、CT、E₂指标,用双能X线骨密度仪对大鼠离体股骨上1/3 BMD进行检测。**结果** GIOP大鼠对照组的TRAP、ALP明显升高,BMD、Tn、CT、E₂明显降低,与正常对照组比较,有显著性差异($P<0.01$);精骨补肾颗粒低、中、高剂量组可显著降低GIOP大鼠TRAP、ALP含量,显著升高BMD、Tn、CT、E₂值,且存在一定的剂量依赖关系,与模型对照组比较有显著性差异($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。**结论** 精骨补肾颗粒对骨质疏松症大鼠具有一定的治疗作用。
关键词: 精骨补肾颗粒;糖皮质激素性骨质疏松(glucocorticoid induced osteoporosis, GIOP);骨密度(BMD);抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP);碱性磷酸酶(ALP);肌钙蛋白(Tn);降钙素(CT);雌二醇(E₂)
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2016)06-1221-05
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.06.004

Protective effects of Jinggu Bushen Granules on dexamethasone-induced osteoporosis rats

XING Ya-qun¹, WANG Di-sheng^{1*}, WANG Qun¹, WEI Ling², GENG Chun-hui¹, ZHU Zi-ming³, XU Yu-lu¹
(1. The Second Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233040, China; 2. The Third People's Hospital of Bengbu, Bengbu 233000, China; 3. The People's Hospital of Xuancheng City, Xuancheng 242000, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the effects of Jinggu Bushen Granules (*Polygonati Rhizoma*, *Drynariae Rhizoma*, *Mori Fructu*, etc.) on glucocorticoid induced osteoporosis (GIOP) in rat bone mineral density (BMD), tartrate resistant acid phosphatase (TRAP), alkaline phosphatase (ALP), troponin (Tn), calcitonin (CT), estradiol (E₂), and to explore the mechanism of it preventing and treating osteoporosis to serve an experimental basis for clinical applications. **METHODS** Seventy-two Wistar-Kyoto strain rats were randomly divided into six groups: normal group, control group, positive group with Xianling Gubao Capsules, experimental groups with Jinggu Bushen Granules low-, medium- and high-dose. Except for the normal group, all of the groups were injected with dexamethasone for two weeks and fed respectively with corresponding medicines for nine weeks. After the last administration, rats' eyeballs were picked up to obtain blood. The assay of Tn, TRAP, ALP, CT and E₂ in serum were measured by ELISA; *in vitro* the BMD proximal one third of the femur was determined by dual-energy X-ray absorp-

收稿日期: 2016-01-30
基金项目: 安徽省卫生厅中医药管理局科研计划 (2014XY39)
作者简介: 邢亚群 (1975—), 女, 硕士, 副主任药师, 研究方向为药物代谢动力学。Tel: (0552) 3111625, E-mail: 17072530@qq.com
* 通信作者: 王迪生 (1956—), 男, 硕士, 主任药师, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药新药研究与开发。Tel: (0552) 3111625, E-mail: Wangdisheng2168@aliyun.com

tiometry. **RESULTS** In GIOP model group, the contents of TRAP, ALP increased and BMD, Tn, CT, E₂ reduced with significant differences compared to those of the normal group ($P < 0.01$). In three experimental groups, the contents of TRAP, ALP reduced and the BMD, Tn, CT, E₂ increased. There were significant differences compared to the model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **CONCLUSIONS** The experimental results have suggested that Jinggu Bushen Granules have certain protective effects against GIOP rats.

KEY WORDS: Jinggu Bushen Granules; GIOP (glucocorticoid induced osteoporosis); BMD (bone mineral density); TRAP (tartrate resistant acid phosphatase); ALP (alkaline phosphatase); Tn (troponin); CT (calci-tonin); E₂ (estradiol)

骨质疏松 (osteoporosis, OP) 是常见的一种全身性骨代谢疾病, 其显著特征是骨量减少、骨的微观结构退化、骨的脆性增加以及易于发生骨折^[1]。糖皮质激素所致的骨质疏松称为糖皮质激素性骨质疏松 (glucocorticoid induced osteoporosis, GIOP)。在继发性骨质疏松症中, GIOP 其发病率仅次于绝经后和老年性骨质疏松症而居第3位, 因此越来越受到重视。本研究以糖皮质激素 (GC) 致大鼠骨质疏松模型为研究对象, 以 BMD、Tn、TRAP、ALP、CT、E₂ 为主要指标, 考察精骨补肾颗粒对 GIOP 模型大鼠的保护作用, 探讨其作用机制。

1 实验材料

1.1 实验药物 受试药物: 精骨补肾颗粒 (Jing-gu Bushen Granules), 由黄精 15 g (批号 1503028)、骨碎补 10 g (批号 1502018)、桑葚 15 g (批号 1503119)、附子 10 g (批号 1502118)、淫羊藿 15 g (批号 1504047)、黄芪 10 g (批号 1502050)、川芎 5 g (批号 1503125)、地鳖虫 5 g (批号 1504031)、决明子 10 g (批号 1502059)、茯苓 10 g (批号 1503152) 组成, 采用江阴天江药业有限公司提供的单位浓缩颗粒均匀混合而成。阳性对照药: 仙灵骨葆胶囊, 由贵州同济堂制药有限公司生产, 批号 140911。上述药物临用时, 用蒸馏水配成适当剂量使用。

1.2 实验试剂 地塞米松磷酸钠注射液 (天津药业集团新郑股份有限公司, 批号 1101264); 酸性磷酸酶 (批号 20141107)、碱性磷酸酶 (批号 20141026)、肌钙蛋白 (批号 20141025)、降钙素 (批号 20141106)、雌二醇酶联免疫试剂盒 (批号 20141228), 均购于上海源叶生物科技有限公司。

1.3 实验仪器 XR-2626 型双能 X 线骨密度仪 (美国, NORLAND); MK3 全自动酶标分析仪 (上海弘联公司); -80℃ 超低温冰箱 (美国 Advantage); LDZ4 型微量离心机 (北京医用离心机厂);

电子天平 (美国 METTLER TOLEDO); 微量移液器 (德国 Eppendorf)。

1.4 实验动物 16 周龄 SPF 级 Wistar 大鼠 72 只, 雌性 (雌性未孕), 购于南京医科大学动物中心, 合格证号: SCXK (苏) 2008-0004。低钙饲料及全价饲料均购于安徽长临河医药科技有限公司, 合格证号 SCXK (皖) 2007-001。

2 实验方法

2.1 动物分组 取 Wistar 大鼠 72 只, 雌性 (未孕), 体质量 200 ~ 250 g, 实验室适应性饲养 7 d 后, 随机均分为 6 组, 每组 12 只, 即正常对照组, 模型对照组, 阳性对照组 (仙灵骨葆胶囊, 0.27 g/kg), 精骨补肾颗粒低、中、高 (2.93、5.86、11.72 g/kg) 剂量组。

2.2 造模方法 除正常对照组外, 其余各组大鼠于左后肢臀部肌肉注射地塞米松 2.5 mg/kg 体质量, 每周 2 次, 并给予低钙饲料 (配方: 玉米面 45%, 白面 30%, 豆饼 15%, 麸子 7.5%, 鸡蛋 1%, 豆油 1% 及酵母 0.5%) 喂养, 连续 9 周。正常对照组大鼠给予全价饲料 (配方: 玉米面 40%, 豆饼 10%, 白面 26%, 麸子 10%, 鱼粉 10%, 骨粉 2%, 复合维生素 1% 及盐 1%) 喂养。

2.3 给药方法 各组大鼠适应饲养 1 周后按“2.2”项方法造模, 同时阳性对照组和药物组按照剂量 1 mL/100 g 体质量灌胃给予相应药物, 每天 1 次, 连续 9 周; 正常对照组和模型对照组大鼠灌胃等容量蒸馏水。

2.4 指标检测方法 末次给药后, 各组大鼠禁食 (不禁水) 24 h, 用 10% 水合氯醛以 0.3 mL/100 g 体质量腹腔注射麻醉, 进行以下指标检测。

2.4.1 骨密度测定 组织取材: 先用生理盐水冲洗大鼠全股骨, 将医用纱布用生理盐水浸渍后, 对全股骨进行包裹, 再用预先准备的锡纸包裹。大鼠离体股骨上 1/3 骨密度应用双能 X 线骨密度仪进行检测。实验数据应用 “The Small Subject Scout

can” 小动物软件进行分析。

测定方法：参数设置，扫描速度为 60 mm/s，扫描宽度为 10 cm，长度可任意调节，分辨率为 1.0 mm × 1.0 mm，组内 CV（变异系数）在 0.82% ~ 1.24% 之间。实验结果骨密度采用单位面积内的骨矿物质含有量表示（g/cm²）。

2.4.2 肌钙蛋白测定 取出大鼠右后肢腓肠肌的白肌部分，用人黑色素细胞刺激素（MSH）缓冲液清洗、擦干、称重后，用剪刀剪碎放入匀浆瓶中，将 0.2 g/mL 组织加入匀浆液中，并加入蛋白酶抑制剂 5 μL/mg，以 500 r/min 匀浆充分，将匀浆后的组织以 2 000 r/min，离心 10 min，除去脂肪层和上清，再以 5 000 r/min，离心 15 min，除上清，提取线粒体放入 1 mL EP 管中。具体检测步骤按试剂盒说明书进行。

2.4.3 血清磷酸酶、降钙素、雌二醇测定 腹主动脉取血 8 mL，静置，3 000 r/min 离心 10 min，

取血清进行上述指标检测。具体检测步骤按试剂盒说明书进行。

2.5 数据统计方法 试验数据以 SPSS 13.0 for windows 软件包处理，结果以均数 ± 标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，多组间比较采用单因素方差分析，两组间比较采用 *t* 检验，以 *P* < 0.05 为有显著性差异，*P* < 0.01 为有高度显著性差异。

3 实验结果

3.1 精骨补肾颗粒对 GIOP 大鼠 BMD 和 Tn 的影响 实验结果显示：GIOP 模型对照组大鼠 BMD 明显降低，Tn 含有量明显减少，与正常对照组比较，有显著性差异（*P* < 0.01）；精骨补肾颗粒低、中、高剂量组可显著增加 GIOP 大鼠 BMD 值，提高 Tn 含有量，且存在一定的剂量依赖关系，与模型对照组比较有显著性差异（*P* < 0.05 或 *P* < 0.01）。详见表 1。

表 1 精骨补肾颗粒对 GIOP 大鼠 BMD 和 Tn 的影响（ $\bar{x} \pm s$ ）

Tab. 1 Effects of Jinggu Bushen Granules on the content of BMD in serum of osteoporosis rats（ $\bar{x} \pm s$ ）

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	动物数/只	BMD/[g·(cm ²) ⁻¹]	Tn/(mg·L ⁻¹)
正常对照组	—	12	0.170 ± 0.015	35.761 2 ± 2.661 3
模型对照组	—	12	0.136 ± 0.014 [#]	13.818 1 ± 1.259 1 [#]
阳性对照组	0.27	12	0.149 ± 0.011 [*]	23.575 8 ± 2.046 1 ^{**}
精骨补肾颗粒低量组	2.93	12	0.147 ± 0.007 [*]	22.195 8 ± 1.951 2 ^{**}
精骨补肾颗粒中量组	5.86	12	0.154 ± 0.008 ^{**}	24.186 0 ± 1.570 3 ^{**}
精骨补肾颗粒高量组	11.72	12	0.159 ± 0.008 ^{**}	25.506 6 ± 1.214 3 ^{**}

注：与正常对照组比较，[#]*P* < 0.01；与模型对照组比较，^{*}*P* < 0.05，^{**}*P* < 0.01

3.2 精骨补肾颗粒对 GIOP 大鼠 TRAP、ALP、CT、E₂ 的影响 实验结果显示：GIOP 模型对照组大鼠 TRAP、ALP 明显升高，CT、E₂ 明显降低，与正常对照组比较，有显著性差异（*P* < 0.01）；

精骨补肾颗粒低、中、高剂量组可显著降低 GIOP 大鼠 TRAP、ALP 含有量，增加 CT、E₂ 含有量，且存在一定的剂量依赖关系，与模型对照组比较有显著性差异（*P* < 0.05 或 *P* < 0.01）。详见表 2。

表 2 精骨补肾颗粒对骨质疏松模型大鼠血清 TRAP、ALP、CT、E₂ 的影响（ $\bar{x} \pm s$ ，*n* = 12）

Tab. 2 Effects of Jinggu Bushen Granules on the content of TRAP, ALP, CT, E₂ in serum of osteoporosis rats（ $\bar{x} \pm s$ ，*n* = 12）

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	TRAP/(U·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)	CT/(μg·mL ⁻¹)	E ₂ /(pg·mL ⁻¹)
正常对照组	—	13.82 ± 1.33	61.65 ± 2.48	55.37 ± 3.63	141.971 ± 7.641
模型对照组	—	18.52 ± 1.34 [#]	87.17 ± 4.11 [#]	44.87 ± 2.14 [#]	100.126 ± 4.86 [#]
阳性对照组	0.27	14.68 ± 1.55 ^{**}	71.93 ± 3.94 ^{**}	50.14 ± 3.14 ^{**}	127.392 ± 5.951 ^{**}
精骨补肾颗粒低量组	2.93	17.36 ± 1.24 [*]	74.31 ± 6.35 ^{**}	49.74 ± 1.96 ^{**}	130.750 ± 3.266 ^{**}
精骨补肾颗粒中量组	5.86	15.98 ± 1.51 ^{**}	72.83 ± 5.39 ^{**}	51.79 ± 2.29 ^{**}	133.702 ± 1.696 ^{**}
精骨补肾颗粒高量组	11.72	14.90 ± 1.23 ^{**}	72.52 ± 6.86 ^{**}	52.77 ± 2.52 ^{**}	135.959 ± 2.877 ^{**}

注：与正常对照组比较，[#]*P* < 0.01；与模型对照组比较，^{*}*P* < 0.05，^{**}*P* < 0.01

4 讨论

现代医学认为骨质疏松症是一种以全身骨量减少（即骨基质和骨矿物质等比例减少）为主要特征的全身性骨代谢疾病，分为原发性、继发性和特发性 3 类。在继发性骨质疏松中，糖皮质激素

（GC）在临床的广泛使用是其主要诱因，因其促进肾脏对钙的排除、抑制小肠对钙的吸收等作用，故长期使用易引起低血钙症，导致骨质疏松。应用外源性 GC 后一年的病人，GIOP 的发生率可达 0.6% ~ 6%^[2]。因此，尽管采用去势法切除双侧

卵巢可成功复制大鼠骨质疏松证模型^[3-4]，但本实验采糖皮质激素配合低钙饲料复制的 GIOP 大鼠模型更符合临床实际。

中国传统医学认为骨质疏松症属于骨枯、骨痿、骨蚀、骨痹、骨极等范畴，在历代中医文献均有记载。《素问·痿论》云：“肾主身之骨髓……肾气热，则腰脊不举，骨枯而髓减，发为骨痿”。《景岳全书·痿论》云：“肾者，水脏也，今水不胜火，则骨枯而髓虚，故足不能任身，发为骨痿”。因此，中医学认为肾虚是骨质疏松症的根本病机，因肾精乏源、骨骼失养、骨骼脆弱无力可致骨质疏松症。从中医理论认识 GC，它应属于“纯阳”之品，长久使用，势必耗损阴精与气血，中医阴精是与机体有关的活性物质，构成骨质的活性物质属于阴精范畴，因此，“纯阳”之品过量必将导致骨质疏松证。此外，“久病及肾”，肾中精气亏虚，阴阳失衡进一步加重肾虚，“主骨生髓”失职，骨髓生化无源，诱发骨质疏松症是必然的。对此，中医治疗该证多从补肾调肾论治^[5-7]。因此，中医对 GIOP 大鼠模型的认识与现代医学的研究是一致的，GIOP 大鼠模型与中医肾虚性骨质疏松模型比较接近，可以作为研究治疗补肾治疗骨质疏松症的实验模型^[8-9]。

骨密度全称是骨骼矿物质密度，是骨骼强度及骨质量的一个重要指标，可以反映骨质疏松程度，是预测骨折危险性的的重要依据^[10]对早期诊断、预防骨质疏松及评估干预措施效果等方面有重要意义。肌钙蛋白存在于骨骼肌和心肌中，调节肌肉的收缩和舒张状态，肌钙蛋白 C 亚型可与 Ca^{2+} 结合活化 ATP 酶，从而引起肌肉肌球蛋白收缩，调节收缩过程；肌钙蛋白 T 亚型将肌钙蛋白复合体连接到原肌球蛋白和肌动蛋白分子上，调控肌原纤维的收缩；肌钙蛋白 I 亚型抑制肌动蛋白-肌凝蛋白互动的 ATP 酶活性，从而抑制肌球蛋白与肌动蛋白结合，阻止肌肉收缩^[11]。因此肌钙蛋白在临床中多用为骨骼肌损伤和骨质疏松的特异性标志物。本实验结果显示，精骨补肾颗粒可以显著增加 GIOP 大鼠 BMD 值，提高肌钙蛋白含量，提高肌肉组织能力代谢有效保护骨组织^[12]。

现代医学对于骨质疏松的治疗原则^[13]，主要为抑制骨吸收，促进骨形成。抗酒石酸酸性磷酸酶 (TRAP) 是由破骨细胞分泌，是破骨细胞功能的标志，骨吸收时，TRAP 参与骨基质中固体钙磷矿化物的降解。而碱性磷酸酶 (ALP) 则是由成骨细

胞生成，ALP 含有量的变化可以预示骨细胞增殖的程度，是骨重建活跃性和成骨细胞活动性增加的特异性指征^[14]。降钙素 (CT) 是一种破骨细胞的抑制剂，CT 可通过受体 CTR 介导作用于破骨细胞，减少其活性和数量，对调节成骨细胞的活性、促进骨生成具有重要意义^[15]。雌激素 (E_2) 在维持骨量平衡、稳定中具有重要作用。研究表明骨组织形成和溶解都受到雌激素的调节，成骨细胞与破骨细胞上都存在雌激素受体。当雌激素与成骨细胞上的受体相结合，可介导成骨细胞胶原蛋白合成、钙盐的沉积和类骨质的形成，从而形成骨组织^[16]；而当雌激素与破骨细胞上的受体相结合时，则可抑制破骨细胞的溶骨功能。

精骨补肾颗粒在医院多年使用的验方的基础上加味所得，以温补肝肾精阴的黄精、骨碎补、桑葚等为主药，填精补髓，治病求本；采取“阳中求阴”治法，选用附子、淫羊藿补肾阳，阴阳双补，相得益彰，本实验结果显示，精骨补肾颗粒能提高大鼠骨密度、肌钙蛋白含量，降低碱性磷酸酶和酸性磷酸酶含量，提高血清降钙素水平及恢复雌激素的平衡，对骨质疏松模型大鼠具有一定的治疗作用，为中医“肾主骨”中医理论防治骨质疏松提供了实验依据。

参考文献：

- [1] 肖建德. 实用骨质疏松学[M]. 北京：科学出版社，2004：31.
- [2] 刘媛，王永福，刘忠厚. 糖皮质激素和骨质疏松关系的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志，2010，16(9)：713-718.
- [3] 郑洪新，燕燕，王思程，等. “肾藏精生髓主骨”藏象理论研究—“肾虚骨质疏松症大鼠转化生长因子相关基因及蛋白表达的异常[J]. 世界科学技术：中医药现代化，2010，12(1)：57-64.
- [4] 黄彤，金邦荃，孙桂菊，等. 葛根素对去卵巢大鼠骨密度和骨强度的改善[J]. 现代预防医学，2010，37(20)：3894-3896.
- [5] 朱辉，郑洪新. 骨质疏松症“从肾论治”古今研究[J]. 中华中医药学刊，2011，29(8)：1741-1742.
- [6] 王小敏，赵雨坤，刘新霞，等. 枸杞多糖对糖皮质激素性骨质疏松大鼠钙吸收及生化指标的影响[J]. 中国预防医学杂志，2011，12(12)：1004-1007.
- [7] 胡志俊，王世伟，刘文波，等. 骨质疏松的中医辨证分型研究[J]. 中国中医骨伤科杂志，2012，20(1)：23-25.
- [8] 苏俊声. 从肾防治糖皮质激素性骨质疏松症的理论与临床研究[D]. 广州：广州中医药大学，2013.
- [9] 王剑，郑洪新，刘瑞辉，等. 补肾中药复方对糖皮质激

素性骨质疏松症大鼠骨和肾组织 Dlx5 mRNA 及蛋白表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(4): 951-953.

[10] 何渝熙, 魏庆中, 熊启良, 等. 骨质疏松性骨折与骨密度关系的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(2): 219-224.

[11] 王洪恩, 张慧敏. 运动性骨骼肌和心肌损伤与肌钙蛋白的关系[J]. 中国临床康复, 2005, 32(9): 201-203.

[12] 杨芳, 郑洪新, 朱辉, 等. 补肾、健脾、活血法对糖皮质激素诱导骨质疏松症大鼠骨密度、骨骼肌肌钙蛋白影响的比较研究[J]. 辽宁中医杂志, 2011, 38(5): 871-873.

[13] 邓阿黎, 周忠明, 姜惠中, 等. 滋补肝肾中药方对去卵巢骨质疏松模型大鼠骨组织影响的实验研究[J]. 中国药师, 2011, 14(2): 154-157.

[14] 涂国卿, 邹来勇. 热敏灸对骨质疏松大鼠 ALP 表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(9): 2134-2135.

[15] 李环, 韩丽萍, 梁芳. 仙鹿壮骨方对去卵巢大鼠骨质疏松症骨密度和血清降钙素的影响[J]. 甘肃中医学院学报, 2010, 27(6): 4-6.

[16] 黄海玲, 李海, 王金花, 等. 雌激素与不同剂量的葛根素联合对去卵巢大鼠骨质疏松的影响[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(33): 5228-5231.

松果菊苷通过调控 GFRα1/AKT 信号通路抑制 MPP⁺ 诱导的多巴胺能细胞 SH-SY5Y 凋亡

赵卿¹, 张鹏², 白宇¹, 张利军¹, 侯郁青¹, 蔡定芳^{3,4}
(1. 上海中医药大学附属普陀医院神经内科, 上海 200062; 2. 上海中医药大学附属普陀医院中心实验室, 上海 200062; 3. 复旦大学附属中山医院中西医结合科, 上海 200032; 4. 复旦大学中西医结合研究所, 上海 200032)

摘要: **目的** 研究肉苁蓉提取物松果菊苷 (echinacoside) 对 1-甲基-4-苯基吡啶 (MPP⁺) 诱导帕金森病模型 SH-SY5Y 细胞的保护机制。**方法** SH-SY5Y 细胞分别接受磷酸缓冲溶液 (PBS)、MPP⁺ 和/或松果菊苷处理后, 分析细胞生长情况, 采用 Western blot 结合免疫荧光法分析各处理组细胞内胶质细胞源性神经营养因子家族受体 α1 (GFRα1) 及其下游抗凋亡 AKT (蛋白激酶 B) 磷酸化及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3) 水平变化, 并观察 AKT 抑制剂 LY249002 对松果菊苷对 SH-SY5Y 的保护功能的影响。**结果** 松果菊苷可以显著缓解 MPP⁺ 诱导的 SH-SY5Y 细胞的凋亡 [MPP⁺ vs MPP⁺/松果菊苷, (25.12 ± 4.33)% vs (5.13 ± 1.51)%, *P* < 0.01]。松果菊苷可以抑制 MPP⁺ 下调 SH-SY5Y 细胞内 GFRα1 表达和 AKT 磷酸化。进一步的研究表明特异性阻断 AKT 信号通路可以取消松果菊苷促进 SH-SY5Y 在 MPP⁺ 诱导损伤下生存的功能, 但不影响松果菊苷提高 GFRα1 的表达。对 SH-SY5Y 细胞内 Caspase-3 活性分析的结果显示, 松果菊苷可以抑制 MPP⁺ 诱导 Caspase-3 的活化 [MPP⁺ vs MPP⁺/松果菊苷, (7.22 ± 1.51) vs (1.81 ± 0.42), *P* < 0.01], 但是这一作用可以被 AKT 抑制剂阻断。**结论** 松果菊苷通过上调 GFRα1/AKT 通路抑制 MPP⁺ 诱导的 SH-SY5Y 细胞凋亡, 发挥保护神经细胞存活的功能。

关键词: 松果菊苷; SH-SY5Y 细胞; 1-甲基-4-苯基吡啶 (MPP⁺); 胶质细胞源性神经营养因子受体 α1 (GFRα1); GFRα1/AKT 信号通路; 凋亡

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2016)06-1225-07
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.06.005

Echinacoside inhibits apoptosis of SH-SY5Y cell through GFRα1/AKT pathway

ZHAO Qing¹, ZHANG Peng², BAI Yu¹, ZHANG Li-jun¹, HOU Yu-qing¹, CAI Ding-fang^{3,4}
(1. Department of Neurology, Putuo Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China; 2. Central Laboratory, Putuo Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China; 3. Department of Integrative Medicine, Zhong-

收稿日期: 2015-12-04
基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (81202814); 上海市卫生和计划生育委员会青年课题 (20124y116)
作者简介: 赵卿 (1978—), 博士, 主治医师, 主要从事神经内科相关疾病的临床和基础研究。Tel: (021) 22233222-58082, E-mail: qingzhao2010@hotmail.com