

通络醒脑泡腾片经 Nampt/SIRT1/FOXO3 途径改善 SAMP8 小鼠的学习记忆

魏江平^{1,2}, 付文君^{1,2}, 陈 欢^{1,2}, 郑 航^{1,2}, 徐世军^{1,2*}

(1. 四川省中药资源系统研究与开发利用国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137; 2. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137)

摘要: **目的** 考察通络醒脑泡腾片(川芎、当归和黄芩)对 SAMP8 小鼠学习记忆的影响,探究其改善认知功能作用机制。**方法** 将 SAMP8 小鼠药物干预 60 d,采用 Morris 水迷宫评价其认知变化,随后采用 ELISA 法和免疫组化法分别测定脑组织超氧化物歧化酶(SOD)、羰基化蛋白、NAD⁺/NADH 和海马尼克酰胺磷酸核糖转移酶(Nampt)、沉默调节蛋白 1(SIRT1)和叉头蛋白 3(FOXO3)的表达。**结果** 通络醒脑泡腾片能够缩短 SAMP8 小鼠在隐藏平台实验中第 5 天的逃避潜伏期和显著增加平台象限所占时间百分比,明显增加 SAMP8 小鼠在空间探索实验中进入目标象限次数;能够明显提升 SAMP8 小鼠脑组织 SOD 活力和 NAD⁺/NADH 比值及降低羰基化蛋白浓度;能够显著上调 SAMP8 小鼠海马 Nampt 和 SIRT1 的表达,下调 FOXO3 的蛋白表达。**结论** 通络醒脑泡腾片提高 SAMP8 小鼠认知功能与其调节海马 Nampt/SIRT1/FOXO3 途径有关。

关键词: 通络醒脑泡腾片; SAMP8 小鼠; Nampt; SIRT1; FOXO3

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2017)04-0684-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.04.004

Tongluo Xingnao Effervescent Tablets ameliorates cognitive function of SAMP8 mice via Nampt/SIRT1/FOXO3 pathway

WEI Jiang-ping^{1,2}, FU Wen-jun^{1,2}, CHEN Huan^{1,2}, ZHENG Hang^{1,2}, XU Shi-jun^{1,2*}

(1. Key Laboratory of Systematic Research and Exploitation of TCM Resources in Sichuan Province, Chengdu 611137, China; 2. College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the effects of Tongluo Xingnao Effervescent Tablets (*Chuanxiong Rhizoma*, *Angelicae sinensis Radix* and *Scutellariae Radix*) on the learning and memory function in SAMP8 mice, and improvements in cognitive function. **METHODS** Morris water maze was used to evaluate the change of cognitive function in SAMP8 mice after they were treated with Tongluo Xingnao Effervescent Tablets for 60 d, and the activity of superoxide dismutase (SOD), the concentration of protein carbonyls (PC), the ratio of NAD⁺/NADH in brain tissue were detected by ELISA, the expression of Nampt, SIRT1 and FOXO3 in hippocampus were measured with immunohistochemical methods. **RESULTS** Tongluo Xingnao Effervescent Tablets shortened escape latency and obviously increased percentage of time in target quadrant in hidden platform test and increased the times entering the target quadrant in spatial probe test in SAMP8 mice. It evidently enhanced the activity of SOD, the ratio of NAD⁺/NADH and distinctly decreased the protein carbonyls level. Moreover, Tongluo Xingnao Effervescent Tablets could markedly up-regulate the expression of Nampt and SIRT1, but evidently down-regulate FOXO3 protein expression. **CONCLUSION** The experimental data show that Tongluo Xingnao Effervescent Tablets can enhance

收稿日期: 2016-10-24

基金项目:“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09103002-008);四川省学术和技术带头人培养资金资助项目(2015058);中药药理四川省青年科技创新研究团队(2014TD0007)

作者简介: 魏江平(1988—),男,博士生,研究方向为中药神经与精神药理学。Tel: 18384119448, E-mail: sichuanwj@163.com

*** 通信作者:** 徐世军(1975—),男,博士,教授,研究方向为中药神经与精神药理学。Tel: (028) 61800231, E-mail: docxu@126.com

the cognitive function of SAMP8 through regulating Nampt/SIRT1/FOXO3 signal pathway.

KEY WORDS: Tongluo Xingnao Effervescent Tablets; SAMP8 mouse; Nampt; SIRT1; FOXO3

氧化应激可引起人体脑内蛋白、脂质和核酸的氧化并产生大量诸如羰基化蛋白(PC)、活性醛类、异前列腺素类和 8-羟基鸟苷等病理产物^[1], 加速诱导阿尔茨海默症(AD) 形成。SIRT1 在抗氧化应激过程扮演重要角色, 其过度表达可增强神经细胞对活性氧(ROS) 毒性耐受性^[2-3], 并能够对 P53 去乙酰化和诱导锰超氧化物歧化酶(MnSOD) 阻断 P53 诱导的细胞凋亡^[4-5], 还可调节叉头转录因子 3(FOXO3) 以及增加 SOD 活性^[6-7] 对抗氧化应激, 此外尼克酰胺磷酸核糖转移酶(Nampt) 是体内合成 SIRT1 激动剂 NAD⁺ 的关键酶^[8], 因此 Nampt/SIRT1/FOXO3 途径是对抗氧化应激的关键路径。课题组前期研究已表明通络醒脑泡腾片具抗痴呆作用^[9-11], 但尚未从氧化应激角度展开研究, 因此本课题拟以 SAMP8 小鼠为研究对象, 考察通络醒脑泡腾片对其认知功能的影响及其潜在作用机制。

1 实验材料

- 1.1 实验动物 SPF 级 SAMP8 和 SAMR1 小鼠, 雄性, 6 月龄, 北京大学医学部(实验动物科学部), 动物合格证号: SCXK(京) 2011-0012。
- 1.2 药物与试剂 通络醒脑泡腾片(川芎、当归和黄芩) 由四川同道堂药业集团股份有限公司提供, 4.5 g/片, 批号 20140815; 盐酸多奈哌齐(安理申, 卫材[中国] 制药有限公司, 批号 100319A); Protein Carbomyl Assay Kit、Superoxide Dismutase Assay Kit(Cayman, USA, 批号分别为 0463100、0461532); NAD⁺/NADH Quenfitation Colorimetric Kit(Biovision, USA, 批号 9G020337); Nampt 抗体、Sirt1 抗体、FOXO3 抗体(Abcam, Britain, 批号分别为 ab109210、ab12193、ab109629)。
- 1.3 实验仪器 Morris 水迷宫分析系统(荷兰 Noldus); TDZ5-WS 离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); WH-3 微型旋涡混合仪(上海泸西分析仪器厂有限公司); HH. W21-420S 恒温水浴箱(上海跃进医疗器械有限公司); 3001 酶标仪(Thermo electron corporation); BA200Digital 数码三目摄像显微摄像系统(麦克奥迪实业集团有限公司); Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统(Media Cybernetics, Inc.)。

2 实验方法

- 2.1 分组给药及行为学检测 将 45 只 SAMP8 小

鼠分成 5 个组, 即 SAMP8 组, 盐酸多奈哌齐组(1.632 mg/kg), 通络醒脑泡腾片高(8.1 g 生药/kg)、中(4.05 g 生药/kg)、低(2.025 g 生药/kg) 3 个剂量组, 另取同龄 SAMR1 作为对照组, 每组 9 只, 给药体积 10 mL/kg, 1 次/d, 连续灌胃给药 60 d, SAMP8 组和 SAMR1 组给予等体积蒸馏水。给药 54 d 时进行 Morris 水迷宫实验^[12], 记录隐藏平台实验第 5 天的逃避潜伏期和目標象限时间所占百分比, 空间探索实验(第 6 天) 中进入目標象限次数。

- 2.2 标本制备及指标检测 水迷宫实验结束 24 h 后, 将小鼠处死后分离海马, 左侧脑组织称重后加入各试剂盒特定提取液, 匀浆后分离上清保存备用, 严格按照各试剂盒操作测定 PC 浓度、SOD 活力和 NAD⁺/NADH 比值; 右侧海马用 10% 中性甲醛固定, 免疫组化 SP 法检测 Nampt、SIRT1 和 FOXO3 的蛋白表达, 常规制片、封片后每张切片先于 100 倍下观察全部组织, 再根据组织大小及表达情况分别选取 1 个区域 400 倍采集图像, 阳性表达颜色为浅黄色或棕黄色, 阴性表达为蓝色, 底色为白色, 之后再测定所采集全部图像的平均光密度, 若每张切片采集多张图像, 则取平均值。

- 2.3 数据处理与统计方法 所得实验数据均以“均值±标准差”表示, 符合正态分布数据采用单因素方差分析; 不符合正态分布的数据采用非参数两个独立样本 *t* 检验进行分析。

3 实验结果

- 3.1 通络醒脑泡腾片对 SAMP8 小鼠学习记忆功能的影响 由表 1 可以看出, 与 SAMR1 比较, SAMP8 组平台象限所占时间比和进入平台象限次数显著减少(*P* < 0.01), 而其逃避潜伏期则明显延长(*P* < 0.01); 隐藏平台实验(第 5 天) 中, 与 SAMP8 组比较, 通络醒脑泡腾片高、中剂量组在平台象限所占时间百分比明显增加(*P* < 0.05), 而其逃避潜伏期仅有缩短趋势, 无统计学差异(*P* > 0.05); 空间探索实验中, 通络醒脑泡腾片高、中剂量组进入平台象限次数明显增加(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。上述数据提示通络醒脑泡腾片能够提高 SAMP8 小鼠学习记忆及空间探索能力且中剂量效果最佳。

- 3.2 通络醒脑泡腾片对 SAMP8 小鼠脑组织

表 1 通络醒脑泡腾片对 SAMP8 小鼠学习记忆功能的影响

Tab. 1 Effects of Tongluo Xingnao Effervescent Tablets on the studying and learning function in SAMP8 mice					
组别	n	剂量/ (g·kg ⁻¹)	隐藏平台实验(第 5 天)		空间探索
			平台象限所占时间百分比/%	逃避潜伏期/s	进入平台象限次数/次
SAMR1 组	9	—	27.89 ± 8.60	12.91 ± 6.26	16.67 ± 2.07
SAMP8 组	9	—	15.43 ± 9.42 ^{##}	58.87 ± 2.78 ^{##}	7.17 ± 2.99 ^{##}
安理申组	9	1.632 mg	32.40 ± 12.28 ^{**}	28.86 ± 25.54 ^{**}	14.17 ± 3.25 ^{**}
通络醒脑泡腾片组	9	8.1	33.17 ± 7.34 ^{**}	50.84 ± 22.44 ^{##}	11.50 ± 1.97 [*]
通络醒脑泡腾片组	9	4.05	34.29 ± 14.12 ^{**}	44.47 ± 16.69 ^{##}	14.17 ± 5.04 ^{**}
通络醒脑泡腾片组	9	2.02	26.89 ± 9.21	50.48 ± 21.29 ^{##}	9.20 ± 3.27 ^{##}

注：与 SAMR1 组比较，^{##}*P* < 0.01；与 SAMP8 组比较，^{*}*P* < 0.05，^{**}*P* < 0.01

NAD⁺/NADH 比值和 SOD 活力、PC 浓度的影响

由表 2 可以看出，与 SAMP8 组比较，通络醒脑泡腾片各剂量组 PC 浓度显著降低 (*P* < 0.01)，而其 SOD 活力则明显增强 (*P* < 0.05，*P* < 0.01)，提示通络醒脑泡腾片能够提高 SAMP8 小鼠脑组织抗氧

表 2 通络醒脑泡腾片对 SAMP8 小鼠脑组织 PC 浓度、SOD 活力和 NAD⁺/NADH 比值的影响

Tab. 2 Effects of Tongluo Xingnao Effervescent Tablets on the concentration of PC, activity of SOD and the ratio of NAD ⁺ /NADH in SAMP8 brain tissue					
组别	n	剂量/(g·kg ⁻¹)	PC 浓度/(nmol·mL ⁻¹)	SOD 活力/(U·mL ⁻¹)	NAD ⁺ /NADH 比值/(×10 ⁻²)
SAMR1 组	9	—	3.96 ± 1.65	155.08 ± 6.67	19.81 ± 7.95
SAMP8 组	9	—	67.24 ± 6.43 ^{##}	124.53 ± 4.25 ^{##}	10.31 ± 1.88 ^{##}
安理申组	9	1.632 mg	6.58 ± 3.06 ^{**}	145.66 ± 8.25 ^{**}	17.62 ± 5.43 [*]
通络醒脑泡腾片组	9	8.1	5.33 ± 4.01 ^{**}	149.86 ± 18.43 ^{**}	19.51 ± 5.42 ^{**}
通络醒脑泡腾片组	9	4.05	17.73 ± 3.84 ^{**}	151.41 ± 12.44 ^{**}	19.11 ± 7.20 ^{**}
通络醒脑泡腾片组	9	2.02	6.46 ± 6.16 ^{**}	140.35 ± 8.51 ^{##}	16.08 ± 5.27

注：与 SAMR1 组比较，[#]*P* < 0.05，^{##}*P* < 0.01；与 SAMP8 组比较，^{*}*P* < 0.05，^{**}*P* < 0.01

3.3 通络醒脑泡腾片对 SAMP8 小鼠海马 Nampt 蛋白表达的影响

Nampt 多分布于细胞浆，阳性表达产物为棕黄色颗粒状，由图 1 可知 SAMP8 组小鼠海马阳性表达产物较少，着色较深，而通络醒脑泡腾片各剂量组 Nampt 阳性表达产物显著增多，着色较浅。由图 2 可知，与 SAMP8 组比较，通络醒脑泡腾片组高剂量组 Nampt 的平均光密度明显增加，具有统计学意义 (*P* < 0.01)，而中、低剂量组 Nampt 平均光密度无统计学差异 (*P* > 0.05)，仅有增加趋势。上述数据提示通络醒脑泡腾片能够上调 SAMP8 海马 Nampt 蛋白表达，且呈剂量依赖性。

3.4 通络醒脑泡腾片对 SAMP8 小鼠海马 SIRT1 蛋白表达的影响

SIRT1 主要表达在细胞核，由图 3 可知 SAMP8 组 SIRT1 阳性表达较少，着色较浅而通络醒脑泡腾片各剂量组 SIRT1 阳性表达增多，着色较深。由图 4 可知，与 SAMP8 组比较，通络醒脑泡腾片组高、中剂量组 SIRT1 的平均光密度明显增加，具有统计学意义 (*P* < 0.01)。以上数据提示通络醒脑泡腾片能够明显上调 SAMP8 小鼠海马

化能力及降低氧化产物作用；通络醒脑泡腾片高、中剂量组 NAD⁺/NADH 比值明显升高 (*P* < 0.01)，提示通络醒脑泡腾片能够提高 SAMP8 小鼠脑组织 NAD⁺ 含量。

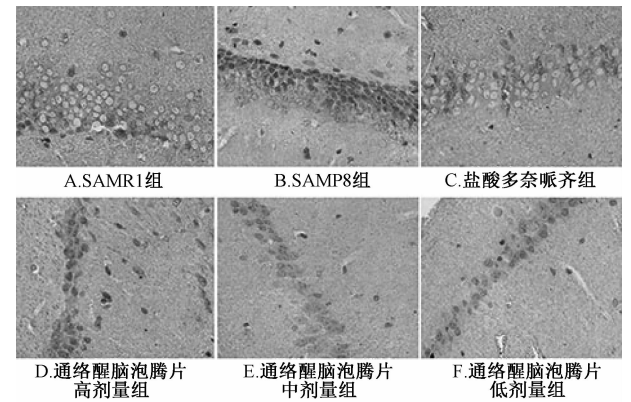


图 1 通络醒脑泡腾片对 SAMP8 小鼠海马 Nampt 蛋白表达的影响 (×400)

Fig. 1 Effects of Tongluo Xingnao Effervescent Tablets on the expression of Nampt in hippocampus of SAMP8 mice (×400)

SIRT1 的表达。

3.5 通络醒脑泡腾片对 SAMP8 小鼠海马 FOXO3 蛋白表达的影响

FOXO3 主要表达于细胞浆或细胞核，由图 5 可知 SAMP8 组小鼠海马的 FOXO3 阳

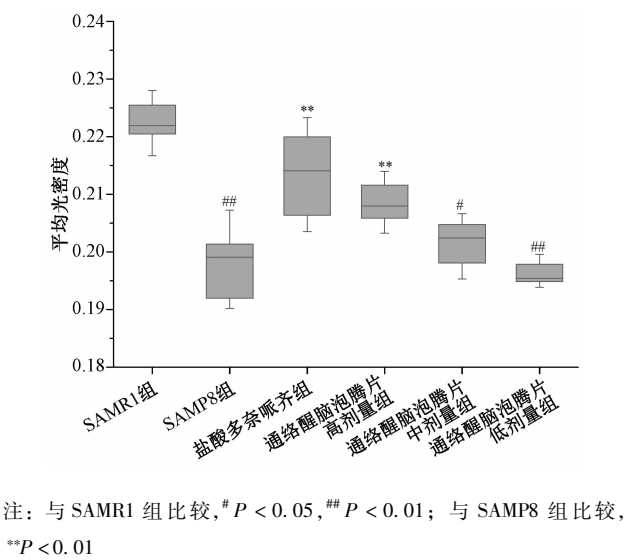


图 2 通络醒脑泡腾片对 SAMP8 小鼠海马 Nampt 平均光密度的影响

Fig. 2 Effects of Tongluo Xingnao Effervescent Tablets on average optical of Nampt in hippocampus of SAMP8 mice

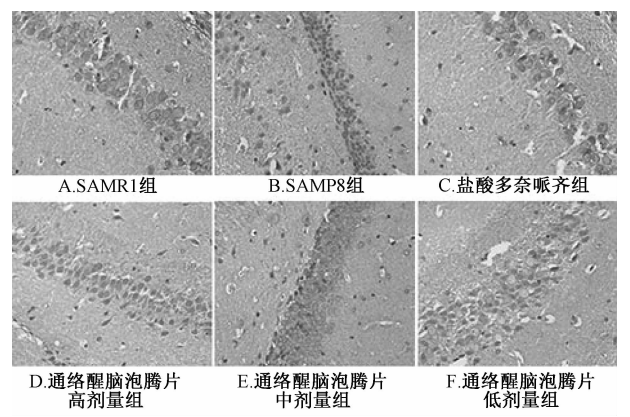


图 3 通络醒脑泡腾片对 SAMP8 小鼠海马 SIRT1 蛋白表达的影响 (×400)

Fig. 3 Effects of Tongluo Xingnao Effervescent Tablets on the expression of SIRT1 in hippocampus of SAMP8 mice (×400)

性表达产物较多，而通络醒脑泡腾片各剂量组小鼠海马 FOXO3 的阳性表达明显减少。由图 6 可知，与 SAMP8 组比较，通络醒脑泡腾片组 3 个剂量组 FOXO3 的平均光密度则明显减少，具有统计学意义 ($P < 0.05$)。以上数据提示通络醒脑泡腾片能够明显下调 SAMP8 小鼠海马 FOXO3 的表达。

4 讨论

在阿尔茨海默症早期阶段即轻度认知障碍 (MCI) 时期就可见明显的氧化失衡，却未见老年

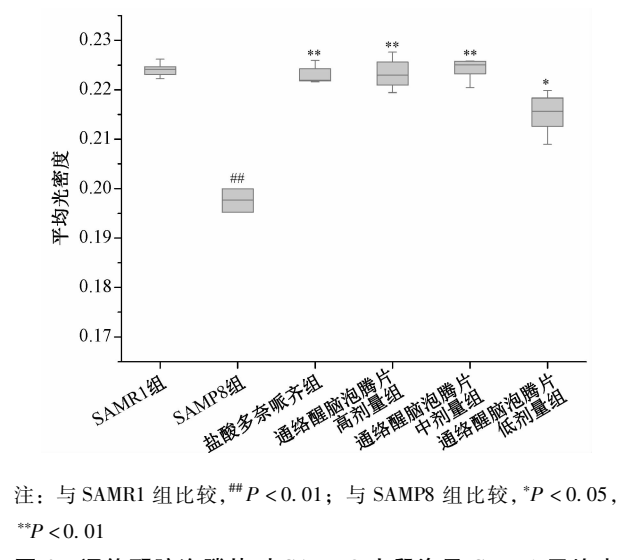


图 4 通络醒脑泡腾片对 SAMP8 小鼠海马 SIRT1 平均光密度的影响

Fig. 4 Effects of Tongluo Xingnao Effervescent Tablets on average optical of SIRT1 in hippocampus of SAMP8 mice

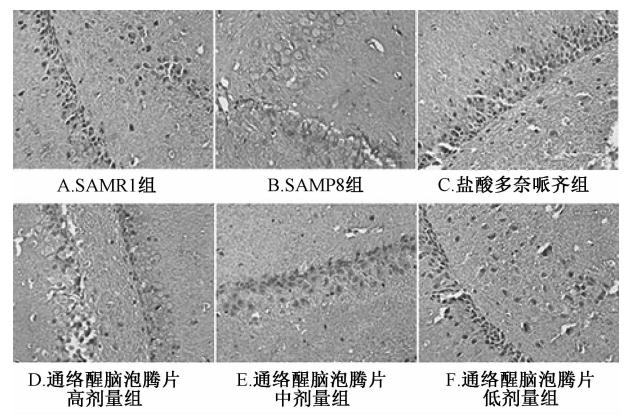
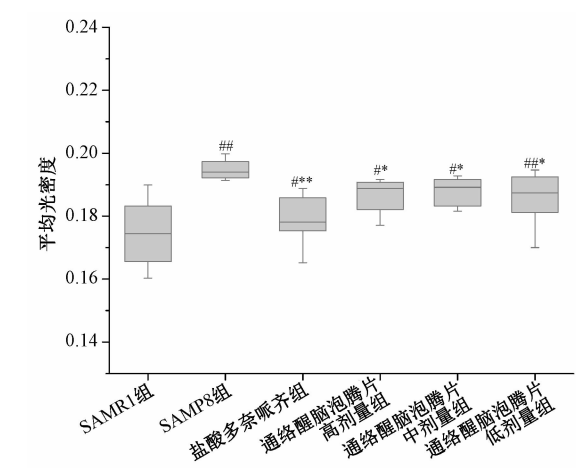


图 5 通络醒脑泡腾片对 SAMP8 小鼠海马 FOXO3 蛋白表达的影响 (×400)

Fig. 5 Effects of Tongluo Xingnao Effervescent Tablets on the expression of FOXO3 in hippocampus of SAMP8 mice (×400)

斑 (SP) 和神经纤维缠结 (NFTs) 的明显升高^[13]。其中 MCI 患者脑脊液中以前列烷 8, 12-iso-iPF2 α -VI 水平明显升高^[14]，在海马和颞上、中回可见蛋白过氧化物及修饰物增加^[15-16]。更重要的是，在 AD 患者脑内的颞叶皮层、杏仁核、海马及皮层等多个区域可见 PC、4-羟基壬烯醛、丙二醛和 F2-异前列腺素等多种蛋白、脂质氧化产物^[1]，与此同时 AD 患者脑内的抗氧化酶如 SOD、过氧化氢酶 (CAT) 等显著降低^[17]，因此氧化应激应激



注：与 SAMR1 组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ ；与 SAMP8 组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

图 6 通络醒脑泡腾片对 SAMP8 小鼠海马 FOXO3 平均光密度的影响

Fig. 6 Effects of Tongluo Xingnao Effervescent Tablets on average optical of FOXO3 in hippocampus of SAMP8 mice

是 AD 形成的重要影响因素，抗氧化应激也是改善 AD 病变的关键途径。

现代药理研究表明通络醒脑泡腾片组成药物川芎、当归和黄芩的药效成分具有明确的抗氧化作用，其中川芎嗪能够调节谷胱甘肽（GSH）活力且抑制缺血诱导因子 1α （HIF- 1α ）-NOX（NADPH 氧化酶）介导 ROS 的产生而降低神经毒性^[18]；阿魏酸能够提高细胞内 SOD、CAT 等抗氧化酶的活性清除过量的 ROS，改善氧化应激诱导的炎症反应^[19]，并能抑制 p38 蛋白激酶（p38MAPK）和环氧化酶（COX-2）通路增强神经元抗缺氧能力^[20]；黄芩苷能够上调核因子 E2 相关因子 2（Nrf2）表达促进 MnSOD 表达及增强其活性，清除线粒体 ROS^[21]；而当归多糖则主要通过对抗氧化低密度脂蛋白（oxLDL）诱导的内皮细胞衰老以此增强大脑皮层神经元抗氧化活性^[22]，由此可推测通络醒脑泡腾片可能具有抗氧化应激作用。

已知 Nampt/SIRT1/FOXO3 是抗氧化应激的重要途径，本研究主要观察通络醒脑泡腾片能否通过该途径发挥抗痴呆作用。研究结果表明通络醒脑泡腾片能够提高 SAMP8 小鼠学习记忆能力、SOD 活力和降低脑内 PC 浓度，表明通络醒脑泡腾片确实具有抗氧化应激作用。免疫组化结果显示通络醒脑泡腾片能够上调 SAMP8 小鼠海马 Nampt 和 SIRT1 的表达，且能够提高脑组织 $NAD^+ / NADH$ 比值，

说明通络醒脑泡腾片能够通过上调 Nampt 的表达而提高 NAD^+ 的比率进而促进 SIRT1 的表达。同时通络醒脑泡腾片能够明显下调 FOXO3 的表达和提高 SOD 活力，这两者关系与文献报道一致^[23]，可能是 SIRT1 的去乙酰化作用降低了 FOXO3 的磷酸化活性后从而上调了 SOD 的的转录，其细致环节还待进一步考察。综上，本次研究表明通络醒脑泡腾片能够改善 SAMP8 小鼠认知功能与 Nampt/SIRT1/FOXO3 抗氧化应激途径有关。

参考文献：

[1] Wang X, Wang W, Li L, *et al.* Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimer’s disease[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842(8): 1240-1247.

[2] Chong Z Z, Lin S H, Li F, *et al.* The sirtuin inhibitor nicotinamide enhances neuronal cell survival during acute anoxic injury through Akt, Bad, PARP, and mitochondrial associated “anti-apoptotic” pathways[J]. *Curr Neurovasc Res*, 2005, 2(4): 271-285.

[3] Chong Z Z, Maiese K. Enhanced tolerance against early and late apoptotic oxidative stress in mammalian neurons through nicotinamide and sirtuin mediated pathways[J]. *Curr Neurovasc Res*, 2008, 5(3): 159-170.

[4] Tanno M, Kuno A, Yano T, *et al.* Induction of manganese superoxide dismutase by nuclear translocation and activation of SIRT1 promotes cell survival in chronic heart failure[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(11): 8375-8382.

[5] Kume S, Haneda M, Kanasaki K, *et al.* Silent information regulator 2 (SIRT1) attenuates oxidative stress-induced mesangial cell apoptosis via p53 deacetylation[J]. *Free Radic Biol Med*, 2006, 40(12): 2175-2182.

[6] Maiese K, Chong Z Z, Shang Y C. OutFOXOing disease and disability: the therapeutic potential of targeting FoxO proteins [J]. *Trends Mol Med*, 2008, 14(5): 219-227.

[7] Maiese K, Chong Z Z, Shang Y C, *et al.* A “FOXO” in sight: targeting Foxo proteins from conception to cancer[J]. *Med Res Rev*, 2009, 29(3): 395-418.

[8] McCreanor G M, Bender D A. The metabolism of high intakes of tryptophan, nicotinamide and nicotinic acid in the rat [J]. *Br J Nutr*, 1986, 56(3): 577-586.

[9] 胡 勇, 巨少华, 张荫杰, 等. 通络醒脑泡腾片对大鼠慢性脑缺血致学习记忆功能损伤的影响[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(10): 1908-1912.

[10] 任香怡, 胡 勇, 魏江平, 等. 通络醒脑泡腾片对 VD 模型大鼠海马细胞色素 C 氧化酶表达的影响[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2015, 21(2): 159-161.

[11] 张荫杰, 巨少华, 胡 勇, 等. 通络醒脑泡腾片对拟痴呆小鼠中枢胆碱能神经功能的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2014, 25(3): 272-276.

[12] Qing H, He G, Ly P T, *et al.* Valproic acid inhibits Abeta

production, neuritic plaque formation, and behavioral deficits in Alzheimer's disease mouse models[J]. *J Exp Med*, 2008, 205(12): 2781-2789.

[13] Price J L, McKeel D W, Jr, Buckles V D, *et al.* Neuropathology of nondemented aging: presumptive evidence for preclinical Alzheimer disease[J]. *Neurobiol Aging*, 2009, 30(7): 1026-1036.

[14] Praticò D, Clark C M, Liun F, *et al.* Increase of brain oxidative stress in mild cognitive impairment: a possible predictor of Alzheimer disease [J]. *Arch Neurol*, 2002, 59 (6): 972-976.

[15] Butterfield D A, Poon H F, St Clair D, *et al.* Redox proteomics identification of oxidatively modified hippocampal proteins in mild cognitive impairment: insights into the development of Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Dis*, 2006, 22 (2): 223-232.

[16] Keller J N, Schmitt F A, Scheff S W, *et al.* Evidence of increased oxidative damage in subjects with mild cognitive impairment[J]. *Neurology*, 2005, 64(7): 1152-1156.

[17] Marcus D L, Thomas C, Rodriguez C, *et al.* Increased peroxidation and reduced antioxidant enzyme activity in Alzheimer's disease[J]. *Exp Neurol*, 1998, 150(1): 40-44.

[18] Guan D, Su Y, Li Y, *et al.* Tetramethylpyrazine inhibits CoCl₂-induced neuro-toxicity through enhancement of Nrf2/GCLc/GSH and suppression of HIF1 α /NOX2/ROS pathways [J]. *J Neurochem*, 2015, 134(3): 551-565.

[19] 何高燕, 谢 敏, 高 艳, *et al.* NALP3 及 NF- κ B 信号通路在氧化应激反应中的作用及阿魏酸钠的干预效应[J]. *四川大学学报: 医学版*, 2015, 46(3): 367-371.

[20] Lin W C, Peng Y F, Hou C W. Ferulic acid protects PC12 neurons against hypoxia by inhibiting the p-MAPKs and COX-2 pathways [J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2015, 18 (5): 478-484.

[21] Yeh C H, Ma K H, Liu P S, *et al.* Baicalein decreases hydrogen peroxide-induced damage to NG108-15 Cells via upregulation of Nrf2[J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(8): 1840-1851.

[22] Sun Y Y, Lin S H, Lin H C, *et al.* Cell type-specific dependency on the PI3K/Akt signaling pathway for the endogenous Epo and VEGF induction by baicalein in neurons versus astrocytes [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e69019.

[23] Li M, Chiu J F, Mossman B T, *et al.* Down-regulation of manganese-superoxide dismutase through phosphorylation of FOXO3a by Akt in explanted vascular smooth muscle cells from old rats[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(52): 40429-40439.

栀子水提物致大鼠肝脏毒性的时效与量效关系

王清然¹, 周 斌², 张泽安¹, 邓中平^{1*}

(1. 上海中医药大学药物安全评价研究中心, 上海 201203; 2. 上海美迪西生物医药股份有限公司, 上海 201299)

摘要: **目的** 探讨栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 水提物对大鼠的肝脏毒性作用及其特征。**方法** 给药组大鼠分为灌胃给予栀子水提物低、中、高 (3、10、30 g/kg) 剂量组, 同时设灌胃给予去离子水空白对照组。给药期间每天观察, 分别于给药 7、14、28 d 后采血, 测定大鼠血清丙氨酸转移酶 (ALT)、天冬氨酸转移酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP)、谷氨酸脱氢酶 (GLDH) 活性以及总胆汁酸 (TBA) 和总胆红素 (TBIL) 的含有量; 摘取肝脏称重并计算肝脏指数; 常规切片, HE 染色, 光镜下观察肝脏组织病理学改变。**结果** 给药 7 d 后, 栀子水提物高剂量组大鼠开始出现摄食量减少, 体质量增长缓慢, 血清 ALT、AST、ALP、TBA、TBIL、GLDH 较空白对照组显著升高, 中、高剂量组大鼠肝脏指数较空白对照组显著增大; 给药 14 d 后, 高剂量组大鼠血清 ALP、TBA 和 TBIL 较空白对照组显著升高, 中、高剂量组大鼠肝脏指数较空白对照组显著增大; 给药 28 d 后, 高剂量组大鼠 ALT 和 TBA、中剂量组 TBIL 和 GLDH 以及低剂量组 GLDH 较空白对照组显著升高, 所有给药组大鼠肝脏指数均显著升高。病理组织学检查发现, 给药 7、14、28 d 后, 中、高剂量组大鼠均出现肝细胞肥大, 小叶间胆管增生及炎症细胞浸润等不同程度病变。**结论** 大鼠重复灌胃给予栀子水提物引起肝脏的毒性随剂量增加而增加, 在高剂量时不随着时间增加而增加。

关键词: 栀子; 肝脏毒性; 时效关系; 量效关系

收稿日期: 2016-05-10
基金项目: 国家科技重大专项 (2012ZX09505001-002)
作者简介: 王清然 (1990—), 女, 硕士生, 从事中药肝脏毒性研究。Tel: (021) 51323053, E-mail: randy0927@163.com
* 通信作者: 邓中平 (1965—), 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事中药肝脏毒性与毒代动力学研究。Tel: (021) 51322401, E-mail: dzp@shutcm.edu.cn