

caspase-dependent cell death in pancreatic cancer[J]. *Transl Oncol*, 2020, 13(11): 100834.

[19] Ramirez M U, Hernandez S R, Soto-Pantoja D R, *et al.* Endoplasmic reticulum stress pathway, the unfolded protein response, modulates immune function in the tumor microenvironment to impact tumor progression and therapeutic response[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 21(1): 169.

[20] Stone S, Lin W. The unfolded protein response in multiple sclerosis[J]. *Front Neurosci*, 2015, 9(2): 264.

[21] 王镜淇, 龚国清. 内质网应激与炎症反应的研究进展[J]. *药学研究*, 2017, 36(5): 279-282.

[22] Sprengle N T, Lahiri A, Simpkins J W, *et al.* Endoplasmic reticulum stress is transmissible *in vitro* between cells of the central nervous system[J]. *J Neurochem*, 2019, 148(4): 516-530.

[23] Kamarehei M, Kabudanian Ardestani S, Firouzi M, *et al.* Increased expression of endoplasmic reticulum stress-related caspase-12 and CHOP in the Hippocampus of EAE mice[J]. *Brain Res Bull*, 2019, 147(2): 174-182.

[24] Yao P P, Sheng M J, Weng W H, *et al.* High glucose causes apoptosis of rabbit corneal epithelial cells involving activation of PERK-eIF2 α -CHOP-caspase-12 signaling pathway[J]. *Int J Ophthalmol*, 2019, 12(12): 1815-1822.

[25] Andhavarapu S, Mubariz F, Arvas M, *et al.* Interplay between ER stress and autophagy: a possible mechanism in multiple sclerosis pathology[J]. *Exp Mol Pathol*, 2019, 108(3): 183-190.

[26] Pejman S, Kamarehei M, Riazi G, *et al.* Ac-SDKP ameliorates the progression of experimental autoimmune encephalomyelitis *via* inhibition of ER stress and oxidative stress in the hippocampus of C57BL/6 mice[J]. *Brain Res Bull*, 2020, 154(1): 21-31.

[27] Hussien Y, Podojil J R, Robinson A P, *et al.* ER Chaperone BiP/GRP78 is required for myelinating cell survival and provides protection during experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Neurosci*, 2015, 35(48): 15921-15933.

姜黄素对糖尿病肾病小鼠肾脏自噬及氧化应激的影响

韩晓瑜¹, 李嘉斌¹, 丁杰英¹, 温庆伟^{2*}
(1. 浙江大学医学院附属儿童医院, 浙江 杭州 310000; 2. 广西医科大学, 广西 南宁 530021)

摘要: **目的** 研究姜黄素对糖尿病肾病 (DN) 小鼠肾脏自噬及氧化应激的影响。**方法** 小鼠尾静脉多次注射链脲佐菌素及摘除右肾法诱导建立 DN 小鼠模型。以随机数字法将模型小鼠分为模型组、姜黄素高、低剂量组、缙沙坦组, 每组 10 只。另选取 10 只同龄小鼠为空白组。各组小鼠灌胃予相对应药物 90 d, 每日 1 次, 空白组与模型组予等容积生理盐水。给药结束后, 收集小鼠尿液计算其尿量, 自动生化分析仪检测小鼠 24 h 尿蛋白 (UP) 及血清中肌酐 (Scr)、尿素氮 (BUN) 水平。HE 染色后观察小鼠肾脏病理变化。试剂盒检测肾脏的羟自由基 (-OH)、活性氧 (ROS) 水平及线粒体呼吸链复合物 I、III (Complex I、III) 的活性。ELISA 法检测肾脏锰超氧化物歧化酶 (Mn-SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 的活性。Western blot 检测肾脏组织中线粒体自噬蛋白 p-mTOR、Beclin1、LC 3 的蛋白表达。**结果** 与模型组相比, 缙沙坦、姜黄素高、低剂量组的小鼠尿量、Scr、BUN、UP 水平降低 ($P<0.05$)。肾组织病理形态有所改善, CAT、Mn-SOD、Complex I、III 的活性提高, -OH、ROS 的水平降低 ($P<0.05$)。自噬蛋白 p-mTOR 表达减少, Beclin1、LC 3 表达增加 ($P<0.05$)。**结论** 姜黄素能改善肾功能及其病理状态, 这可能与改善肾脏的氧化应激和自噬有关。

关键词: 姜黄素; 糖尿病肾病; 自噬; 氧化应激

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)06-1598-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2021.06.040

糖尿病是人体代谢紊乱所造成的基础疾病且无法根治而伴随终身, 因此长期高血糖会导致多种的并发症所发

生^[1]。糖尿病肾病是因为肾脏的高糖环境使大量的活性氧 (ROS) 产生而造成肾脏微血管氧化应激损伤的常见糖尿病

收稿日期: 2020-06-27

基金项目: 国家自然科学基金 (81360129)

作者简介: 韩晓瑜 (1985—), 女, 药师, 从事糖尿病肾病研究。Tel: (0571) 86670408, E-mail: 6513339@zju.edu.cn

* 通信作者: 温庆伟 (1976—), 男, 博士, 教授, 高级工程师, 从事糖尿病肾病研究。Tel: (0771) 5358272, E-mail: 726452413@zju.edu.cn

并发症，其多出现于糖尿病后期病程上。对糖尿病肾病的治疗主要以药物调控血糖，同时联合血管紧张素转化酶抑制剂和钙拮抗剂药物进行治疗^[2-3]。但从治疗效果看，存在着个体差异大、治疗效果不佳等情况，所积极探索防治糖尿病肾病的药物具有十分重要的现实意义。

姜黄素是从传统中药材姜科姜黄属植物姜黄（*Curcuma longa* L.）的根茎中提取的一种多酚类物质，具有良好的降血糖、抗氧化、抗炎、抗肿瘤等生物活性，但是其对糖尿病肾病的机制尚不完全清楚^[4-5]。本研究采用多次注射低剂量链脉佐菌素及摘除右肾法诱导建立糖尿病肾病小鼠模型，探讨姜黄素对糖尿病肾病小鼠肾脏自噬及氧化应激的影响，为其在糖尿病肾病的防治中提供科学的药理学依据。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠，SPF 级，体质量 18~22 g，购自广西医科大学实验动物中心，实验动物生产许可证号 SCXK（桂）2017-0005。实验开始前小鼠进行适应性喂养 1 周。

1.2 药品与试剂 缬沙坦片，海南皇隆制药股份有限公司（批号 190114）；姜黄素，瑞士 Adamas 公司（纯度 98%，批号 190124B）；链脉佐菌素，美国 Sigma 公司（批号 S075）；线粒体呼吸链复合物 I、III 试剂盒，上海杰美基因医药科技有限公司（批号 S075）；羟自由基（-OH）、活性氧（ROS）试剂盒，南京建成生物工程研究所（批号 20190817、20190825）；锰超氧化物歧化酶（Mn-SOD）、过氧化氢酶（CAT）ELISA 试剂盒，晶美生物工程有限公司（批号 20190907、20190912、20190909）；尿蛋白（UP）、肌酐（Scr）、尿素氮（BUN）试剂盒，上海荣盛生物技术有限公司（批号 20190814、20190811、20190820）；Beclin1、LC 3、磷酸化-mTOR（p-mTOR）一抗，英国 Abcam 公司（批号 191017、191011、190927）。

1.3 仪器 血糖仪，瑞士罗氏公司 ACCU-CHEK Performa；7060C 型全自动生化分析仪，日本日立公司；9602A 酶标仪，北京艾普生设备有限公司；垂直电泳仪、转膜及显影设备、凝胶电泳成像分析系统，美国 Bio-Rad 公司。

2 方法

2.1 糖尿病肾病小鼠模型建立和给药 参考文献 [6]，

表 1 各组小鼠 24 h 尿量、UP 及血清中 Scr、BUN 水平 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	24 h 尿量/mL	UP/ (mg·24 h ⁻¹)	Scr/ (mg·dL ⁻¹)	BUN/ (mg·dL ⁻¹)
空白组	—	0.37±0.05 **	0.33±0.07 **	0.19±0.05 **	11.25±0.83 **
模型组	—	1.86±0.21	3.12±0.35	0.47±0.06	36.77±3.05
缬沙坦组	20	0.61±0.07 **	1.38±0.19 **	0.29±0.05 **	16.32±1.64 **
姜黄素高剂量组	400	0.74±0.08 **	1.25±0.15 **	0.24±0.07 **	15.18±1.39 **
姜黄素低剂量组	200	0.93±0.12 **	2.07±0.24 **	0.38±0.09 *	22.47±2.03 **

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

3.2 糖尿病肾病小鼠肾脏组织病理学 空白组小鼠肾小球饱满无空泡，无细胞坏死及炎性细胞浸润情况；模型组小鼠肾组织中存在大量的空泡，肾小球系膜基质增生，包曼氏囊腔皱缩且较多炎性细胞浸润；缬沙坦组组织空泡少见，包曼氏囊腔轮廓有所恢复，炎性细胞浸润减少（ $P<0.01$ ）；

50 只空腹昆明小鼠行右肾摘除手术，另取 10 只昆明小鼠为空白组行不摘除右肾的假手术。手术结束 1 周后，向行摘除右肾的小鼠尾静脉注射 40 mg/kg 链脉佐菌素（STZ），每天 1 次，连续 3 d。末次注射 3 d 后，检测小鼠空腹血糖（FBG），将 FBG ≥ 11.1 mmol/L 的小鼠随机分为模型组、缬沙坦组 20 mg/kg、姜黄素高剂量组 400 mg/kg、姜黄素低剂量组 200 mg/kg，每组 10 只，各组小鼠连续灌胃 90 d，每日 1 次；空白和模型对照组给予等量生理盐水。

2.2 肾脏组织形态学改变评分 根据文献[7]，随机取互不重叠的 10 个视野，对肾小球系膜基质增生、空泡样变性、组织炎症细胞浸润 3 项进行病变程度的半定量评分。计分为正常，0 分；轻度损害（病变范围 $<30\%$ ），1 分；中度损害（病变范围 30%~60%），2 分；重度损害（病变范围 $>60\%$ ），3 分。

2.3 观察指标 末次给药后，收集小鼠尿液计算尿量，并检测 24 h 尿蛋白（UP）含有量。血糖仪检查小鼠 FBG，测定血清中肌酐（Scr）、尿素氮（BUN）水平。HE 染色法观察糖尿病肾病小鼠肾脏的病理学变化。试剂盒检测法检测肾脏的羟自由基（-OH）、活性氧（ROS）水平及线粒体呼吸链复合物 I、III（Complex I、III）的活性。ELISA 法检测肾脏锰超氧化物歧化酶（Mn-SOD）、过氧化氢酶（CAT）的活性。Western blot 检测肾脏组织中线粒体自噬蛋白 p-mTOR、Beclin1、LC 3 的蛋白表达。

2.4 统计学分析 数据以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，采用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析。多组间比较采用单因素方差分析，若方差齐性，进一步采用 Bonferroni 法进行两两比较；若方差不齐，采用 Kruska-Wallis H 秩和检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 姜黄素对 DN 小鼠 24 h 尿量、UP 及血清中 Scr、BUN 水平的影响 与空白组相比，模型组小鼠 24 h 尿量增加，UP 及血清 Scr、BUN 水平升高（ $P<0.01$ ）；与模型组相比，缬沙坦组、姜黄素高、低剂量组小鼠的 24 h 尿量、UP 及血清 Scr、BUN 水平减少（ $P<0.05$ ）；姜黄素高剂量组小鼠 24 小时的尿量、UP 及血清 Scr、BUN 含量低于姜黄素低剂量组（ $P<0.05$ ）。见表 1。

姜黄素高剂量组肾小球结构较完整饱满，包曼氏囊腔有少量空泡，包曼氏囊腔轮廓皱缩程度减少，少量炎性细胞浸润（ $P<0.01$ ）；姜黄素低剂量组包曼氏囊腔空泡及炎性细胞浸润较多，但较模型组少（ $P<0.05$ ）。见图 1、表 2。

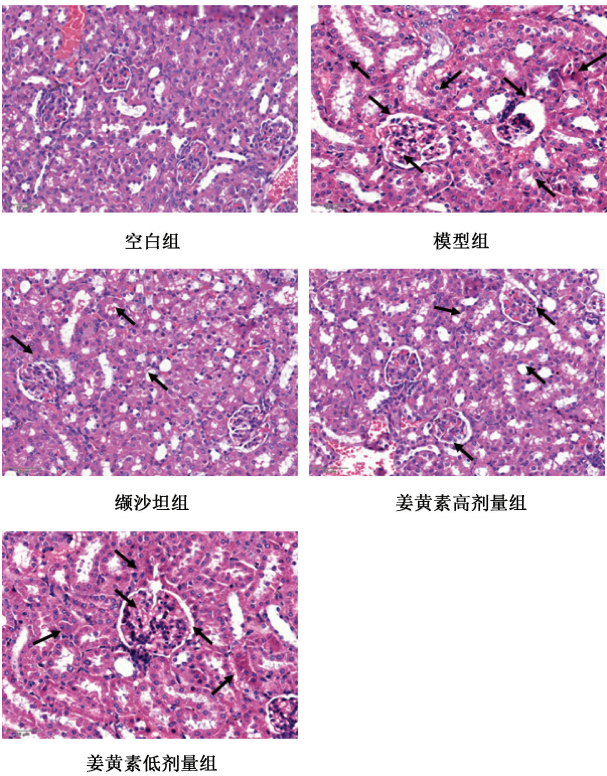


图 1 各组小鼠肾脏病理变化 (HE, ×400)

表 2 各组小鼠肾脏组织形态学改变评分 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	肾小球系膜基质增生/分	细胞空泡样变性/分	炎性细胞浸润/分
空白组	—	0	0	0
模型组	—	2.26±0.51	2.34±0.67	2.73±0.41
缬沙坦组	20	0.83±0.09**	1.27±0.52**	1.52±0.61**
姜黄素高剂量组	400	0.76±0.14**	1.39±0.45**	1.37±0.33**
姜黄素低剂量组	200	1.34±0.43**	1.68±0.68*	2.08±0.72*

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

表 3 各组糖尿病肾病小鼠肾脏中-OH、ROS、Mn-SOD、CAT 水平 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	-OH/(nmol·mg prot ⁻¹)	ROS/(nmol·mg prot ⁻¹)	Mn-SOD/(U·mg prot ⁻¹)	CAT/(U·mg prot ⁻¹)
空白组	—	0.28±0.08**	2.52±0.66**	50.73±4.92**	308.67±15.67**
模型组	—	0.83±0.19	7.38±2.02	24.16±3.51	187.96±18.52
缬沙坦组	20	0.42±0.11**	4.95±0.94**	40.05±3.87**	264.18±20.34**
姜黄素高剂量组	400	0.38±0.09**	4.29±1.03**	43.64±3.29**	251.68±24.73**
姜黄素低剂量组	200	0.57±0.12**	6.26±1.71	35.82±3.67**	224.15±20.54**

注:与模型组比较,** $P<0.01$ 。

表 4 各组糖尿病肾病小鼠肾脏中 Complex I、III 活性 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Complex I/(nmol·min ⁻¹ ·mg prot ⁻¹)	Complex III/(nmol·min ⁻¹ ·mg prot ⁻¹)
空白组	—	128.11±21.34**	60.28±5.17**
模型组	—	51.65±4.07	20.65±1.42
缬沙坦组	20	86.39±5.38**	51.59±4.63**
姜黄素高剂量组	400	91.94±7.57**	52.84±3.04**
姜黄素低剂量组	200	68.78±5.12**	36.78±2.17**

注:与模型组比较,** $P<0.01$ 。

3.3 姜黄素对糖尿病肾病小鼠肾脏中-OH、ROS 水平及 Mn-SOD、CAT 水平的影响 与空白组比较,模型组小鼠肾脏中-OH、ROS 水平增加,Mn-SOD、CAT 的活性下降 ($P<0.01$);与模型组相比,缬沙坦、姜黄素高、低剂量组小鼠的肾脏-OH、ROS 水平降低,Mn-SOD、CAT 水平增加 ($P<0.05$);姜黄素高剂量组小鼠肾脏-OH、ROS 水平较姜黄素低剂量组低,Mn-SOD、CAT 的活性较姜黄素低剂量组高 ($P<0.01$)。见表 3。

3.4 姜黄素对糖尿病肾病小鼠肾脏中 Complex I、III 活性的影响 与空白组相比,模型组小鼠肾脏 Complex I、III 活性降低 ($P<0.01$);与模型组相比,缬沙坦、姜黄素高、低剂量组小鼠肾脏中 Complex I、III 活性提高 ($P<0.01$);姜黄素高剂量组小鼠肾脏 Complex I、III 活性较姜黄素低剂量组高。见表 4。

3.5 姜黄素对糖尿病肾病小鼠肾脏中线粒体自噬蛋白 p-mTOR、Beclin1、LC3 II/LC3 I 的蛋白表达影响 与空白组比较,模型组小鼠肾脏中 p-mTOR 蛋白表达增加,Beclin1 表达及 LC3 II/LC3 I 比值减少 ($P<0.01$);与模型组相比,缬沙坦、姜黄素高、低剂量组小鼠的肾脏中 p-mTOR 蛋白减少,Beclin1 蛋白表达及 LC 3 II/LC 3 I 比值增加 ($P<0.01$)。见表 5、图 2。

表 5 各组糖尿病肾病小鼠肾脏中线粒体自噬蛋白 p-mTOR、Beclin1、LC3 II/LC3 I 表达 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	p-mTOR	Beclin1	LC 3 II/LC 3
空白组	—	0.35±0.07 **	0.98±0.25 **	1.13±0.24 **
模型组	—	0.81±0.18	0.26±0.04	0.38±0.09
缬沙坦组	20	0.58±0.15 **	0.73±0.16 **	0.67±0.12 **
姜黄素高剂量组	400	0.52±0.11 **	0.82±0.14 **	0.75±0.15 **
姜黄素低剂量组	200	0.69±0.14	0.63±0.19 **	0.54±0.11 **

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

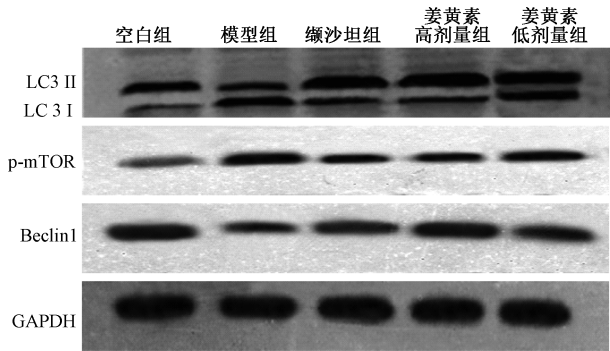


图 2 各组糖尿病肾病小鼠肾脏中线粒体自噬蛋白 p-mTOR、Beclin1、LC3 II/LC3 I 表达

4 讨论

自噬为真核细胞的一种高度保守的进化过程,是细胞内的自身修复、物质再利用、抵抗氧化应激和慢性炎症反应等损伤的主要途径,对维持细胞的稳定起重要的作用^[8]。自噬小体会包裹受损或老化的细胞质、细胞器、细胞内错误折叠蛋白质及大分子物质,通过溶酶体降解的方式,消除细胞毒性蛋白的聚集,使细胞内线粒体所产生的能力能被正常细胞所利用,维持细胞存活,而自噬异常则导致细胞功能障碍^[9]。在肾组织中,自噬是肾小球滤过屏障的重要保护机制,正常情况下在肾脏的近端小管、足细胞都表现出高活跃度的自噬^[10]。高糖的内环境下,会促进足细胞的自噬流,加速毛细血管扩张及肾小球硬化,诱导足细胞凋亡,致糖尿病肾病的发生发展。

肾脏内的高血糖内环境激活 DAGPKC-NADPH 氧化酶信号通路,上调 ROS 的生成,大量 ROS 的堆积及机体抗氧化酶水平相对不足,使体内氧化/抗氧化作用失衡,进一步损伤线粒体呼吸链酶中 Complex I、III 活性和线粒体内三羧酸循环,致线粒体功能障碍引起细胞凋亡^[11]。提高机体的抗氧化酶 Mn-SOD、CAT 的活性,增加对 ROS、-OH 的清除能了,减少体内的氧化应激的损伤,使线粒体呼吸链复合物活性提高,恢复线粒体功能,对治疗糖尿病肾病有着重要的治疗意义。但单纯的提高机体的抗氧化酶的活性并不能很好的恢复肾脏细胞及线粒体的功能,因为被氧化应激损伤的线粒体、凋亡的细胞需要通过机体内的自噬降解,以提高线粒体及细胞的质量,增强细胞活力。因此在提高机体抗氧化能力的同时,还需增加机体对受损及坏死组织的自噬清除能力,才能更好的使线粒体所产生的能力能被正常细胞所利用,增强细胞的活力。

mTOR 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,为自噬信号通路中一个十分关键的中心抑制剂^[12]。mTOR 是缺乏氨基酸、生长因子、氧或 ATP 等细胞应激源的自噬反应的汇集点,其通过负性调节的反馈机制,激活溶酶体重组多种因素诱导自噬的发生^[13-14]。自噬效应蛋白 Beclin1 和微管相关轻链蛋白 LC 3 均是重要的自噬标记蛋白。自噬早期的囊泡由自噬效应蛋白 Beclin1 与Ⅲ级 PI3K 所结合形成的复合物^[15]。正常情况下,LC 3 蛋白以 LC 3 I 存在于细胞核内。当自噬启动时,LC 3 I 会被 Atg 4 酶切转变成 LC 3 II 的自噬体膜型,并与自噬体膜相结合^[16]。故机体内 LC 3 II 与 LC 3 I 的比值及 Beclin1 蛋白的表达水平会作为衡量自噬水平高低的评判指标。

本研究结果表明,姜黄素能改善糖尿病肾病下小鼠尿量、Scr、BUN、UP 的肾功能指标及其病理状态,同时能提高肾脏中 CAT、Mn-SOD、Complex I、III 的活性及降低-OH、ROS 的含量。减少 p-mTOR 蛋白表达,增加 Beclin1 蛋白表达及 LC 3 II/LC 3 I 比值。提示,姜黄素对糖尿病肾病小鼠的作用机制为提高机体抗氧化能力的同时增加机体自噬活性,以达到对肾脏的治疗保护作用。

参考文献:

[1] 管 华. 糖尿病肾病的临床治疗研究进展[J]. 中国社区医师, 2020, 36(9): 7-9.

[2] 徐小惠, 郑 妮. 虎杖苷通过 TLR4/NF-κB 信号通路调控糖尿病肾病大鼠肾脏炎症作用的研究[J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(16): 1677-1680.

[3] 刘莉莉, 陈 飞, 谢 希. 糖尿病肾病诊断及治疗研究进展[J]. 医学综述, 2020, 26(6): 1188-1192.

[4] 董墨妍, 王 娜, 吕亚倩, 等. 姜黄素对糖尿病肾病 p38MAPK 信号通路的影响[J]. 解剖科学进展, 2020, 26(2): 209-212.

[5] 吴鹏波, 宋 琪, 俞媛洁, 等. 姜黄素激活自噬干预非酒精性脂肪肝病模型大鼠氧化应激及炎症反应[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(11): 1720-1725.

[6] 牛苗苗, 陈 华. 糖尿病肾病动物模型研究进展[J]. 实验动物科学, 2018, 35(3): 86-92.

[7] 杜义斌, 谢铭君, 段艳蕊, 等. 灯盏益肾颗粒对糖尿病肾病大鼠肾脏组织病理影响的研究[J]. 新中医, 2018, 50(11): 22-27.

[8] 朱亚莉, 李社莉. 细胞自噬与糖尿病关系的研究进展[J]. 广西医学, 2020, 42(1): 74-76.

[9] 易鑫尧, 郭婷莉, 张 萌, 等. 线粒体自噬紊乱在糖尿病肾

病发病机制中的作用研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(11): 994-999.

[10] 王 娜, 邹大威. 糖尿病肾病足细胞损伤机制的研究进展[J]. 医学综述, 2019, 25(20): 4087-4092.

[11] 杨祖飞, 沈 颖. 氧化应激、三七皂苷与糖尿病肾病的研究进展[J]. 中国医学工程, 2020, 28(1): 28-32.

[12] 安文蓉, 徐云生, 黄延芹. mTORC1 在糖尿病致病机理探析[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(1): 92-95.

[13] 于柏松, 刘 冰. mTOR 在糖尿病肾病中的研究进展[J]. 广东医学, 2020, 41(2): 204-207.

[14] 黎池健, 黄玉香, 许伟成, 等. mTOR 信号通路在糖尿病肾病发病机制中作用的研究进展[J]. 生命科学, 2019, 31(3): 284-288.

[15] 赵长英, 孙 楠, 杨洁珂, 等. 肾舒胶囊对糖尿病肾病大鼠肾脏 mTOR、beclin-1 自噬通路的表达及意义[J]. 广西中医药, 2019, 42(6): 55-58.

[16] 吴 冰, 刘 睿, 黄 慧, 等. 白藜芦醇通过 AMPK-P53 途径调节糖尿病心肌线粒体自噬的研究[J]. 兰州大学学报(医学版), 2020, 46(1): 67-71.

蒲金口服液对宫内感染/炎症致早产脑损伤大鼠脑组织 NgR、p75NTR 表达的影响

张 晰, 马丙祥*, 张建奎, 王怡珍, 陈恬恬, 李华伟, 党伟利, 周荣易
(河南中医药大学第一附属医院, 河南 郑州 450000)

摘要: **目的** 观察蒲金口服液对宫内感染/炎症致早产脑室旁白质软化大鼠脑组织 NgR、p75NTR 表达的影响。**方法** 制备宫内感染致脑损伤模型。30 只孕鼠于妊娠第 16、17 天连续 2 d 给予腹腔注射 LPS (350 μg/kg), 1 次/d, 设为 LPS 组; 6 只注射同等剂量的生理盐水设为对照组。造模成功后选取 LPS 组孕鼠所产脑损伤仔鼠 80 只随机分为蒲金口服液高、低剂量组 (24、12 g/kg)、银杏叶提取物组、模型组, 每组 20 只, 4 组各随机分为早期、晚期干预组各 10 只, 早期组于生后第 1 天给药, 晚期组于第 8 天给药, 连续 7 d, 每日 1 次。IHC、Western blot 检测 21 日龄 4 组早、晚期干预仔鼠脑组织 NgR、p75NTR 的表达。**结果** 与 0 日龄对照组仔鼠相比, LPS 可致仔鼠脑组织中 NgR、p75NTR 的表达升高 ($P<0.05$); 与 21 日龄模型组相比较, 高、低剂量蒲金口服液、银杏叶提取物均能抑制仔鼠脑组织中 NgR、p75NTR 表达 ($P<0.05$); 高剂量蒲金口服液下调 NgR、p75NTR 的表达作用优于蒲金口服液低剂量和银杏叶提取物 ($P<0.05$)。**结论** 蒲金口服液对早产 PVL 仔鼠受损神经有保护作用, 其机制可能是通过下调 NgR、p75NTR 的表达, 从而抑制髓鞘相关抑制因子与其受体结合形成受体复合体, 降低 NgR、p75NTR 介导的信号通路活性, 抑制生长锥的塌陷, 促进损伤神经修复。

关键词: 蒲金口服液; 宫内感染/炎症; 脑损伤; NgR; p75NTR

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)06-1602-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.06.041

随着现代医学技术的发展, 早产儿存活率较前有大幅提高^[1], 但早产儿脑损伤发生的风险并无下降, 一项 Meta 分析表明, 早产、低体质量、宫内感染、缺氧等因素均是我国早产儿脑损伤的危险因素^[2], 其中宫内感染显著提高了早产儿脑损伤发病率^[3-4], 是造成胎膜早破引发早产、低体重的主要原因之一^[5], 故早产儿脑损伤与宫内感染关系密切^[6]。早产儿神经系统发育不完善, 其主要损伤类型包括脑室周围白质软化 (periventricular leukomalacia, PVL)、脑室周围-脑室内出血、蛛网膜下腔出血、缺氧缺血性脑病等^[1,7], 遗留神经后遗症的风险较高, 这同时也增加了脑

性瘫痪 (cerebral palsy, CP) 发生的几率^[8]。CP 是早产儿脑损伤最常见的神经系统后遗症, 临床表现为姿势发育障碍、活动受限, 常伴有感知觉异常、认知障碍等多种问题^[9]。CP 的治疗并无特效药物, 需要多专业联合终身康复, 这给家庭及社会带来了沉重的负担^[10]。故探索宫内感染致早产脑损伤的早期干预药物, 尽可能在疾病早期减轻神经系统的损伤, 显得尤为重要。

蒲金口服液为河南中医药大学第一附属医院儿科马丙祥教授的经验方, 由石菖蒲、郁金、丹参、红花四味中药组成, 本方经过大量的临床应用, 临床验证有效。方中石

收稿日期: 2019-09-12
基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81473727)
作者简介: 张 晰 (1989—), 女, 硕士生, 研究方向为中医药防治小儿神经系统疾病。E-mail: 752401038@qq.com
* 通信作者: 马丙祥 (1963—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中医药防治小儿神经系统疾病研究。E-mail: mbx1963@126.com