

植物源养发精华液对小鼠毛发生长的促进功能及机制研究

王苏华, 邢光伟*, 李芳, 周结, 张宇, 张冉, 董丽华, 肖钊, 朱薛羽,
王强, 陆荣柱*

(江苏大学医学院预防医学与卫生检验系, 江苏镇江 212013)

摘要: **目的** 评价植物源养发精华液对脱毛小鼠毛发生长的促进功能, 并探讨其作用机制。**方法** 采用脱毛膏法建立脱毛小鼠模型, 将养发精华液涂抹于小鼠的脱毛处, 连续 21 d, 观察小鼠脱毛处皮肤颜色、毛发长度和质量的变化; 丙酸睾酮诱导建立雄激素性脱毛小鼠模型, 养发精华液连续处理 28 d, 观察小鼠脱毛处皮肤颜色、毛发长度和质量的变化, 检测小鼠血清、皮肤组织睾酮 (T)、5-二氢睾酮 (DHT)、雌二醇 (E_2)、肝细胞生长因子 (HGF) 水平, 并采用 Western blot 法检测 β -catenin 和 GSK-3 β 蛋白表达。**结果** 植物源养发精华液可促进脱毛膏脱毛小鼠和雄激素性脱毛小鼠新生毛发的生长, 增加毛发长度和质量 ($P < 0.05$); 同时, 养发精华液可降低雄激素性脱毛模型小鼠血清和皮肤组织 T、DHT 水平 ($P < 0.05$), 增加皮肤组织 β -catenin 蛋白表达 ($P < 0.05$), 降低 GSK-3 β 蛋白表达 ($P < 0.05$)。**结论** 植物源养发精华液对脱毛膏法脱毛小鼠和雄激素性脱发小鼠的毛发生长均具有促进作用, 其机制可能与降低体内雄激素水平, 激活 Wnt/ β -catenin 信号通路, 从而激活小鼠皮肤毛囊, 促进血液循环, 加快黑色素生成有关。

关键词: 养发精华液; 脱毛模型; 丙酸睾酮; 毛发生长; Wnt/ β -catenin 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)02-0601-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.02.041

脱发是一种头发自行脱落的现象, 但病理性的脱发则是指头发过度脱落或者异常脱落, 可表现为斑秃、雄激素性脱发、内分泌生理性脱发、内分泌异常脱发等多种类型。目前, 脱发已成为临床皮肤科高发疾病之一, 其中以雄激素性脱发患病率最高, 我国男性患病率约为 21.3%, 女性患病率约为 6.0%^[1-2]。雄激素性脱发严重影响患者的心理健康和生活质量, 需要尽早预防和诊治。用于预防或治疗毛发脱落和促进毛发生长的药物有米诺地尔、非那雄胺、度他雄胺等, 但均具有较多的不良反应和副作用^[3-4]。开发有效、安全的含中药成分的洗护发产品则备受市场重视^[5-6]。

诗碧曼养发精华液为一种外用生发剂, 由何首乌、当归、芦荟和人参等植物提取物制成, 其相关成分具有补肾益血、养发润发和改善毛囊生长微环境等多种功效, 现有研究还发现养发精华液具有抗氧化及抗衰老的能力^[7]。尽管中医药防治脱发的作用有所报道, 但防治脱发和促进毛发生长的机制仍未明了, 本实验采用脱毛膏法脱毛小鼠模型和丙酸睾酮法雄激素性脱毛小鼠模型^[8], 综合评价植物源养发精华液促进小鼠毛发生长的作用及其作用机制。

1 材料

1.1 试剂与药物 丙酸睾酮 (天津金耀药业有限公司, 批

号 1508221); 血清睾酮 (T)、5-二氢睾酮 (DHT)、雌二醇 (E_2) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号 20180302、20180302、20180302); β -catenin 兔抗鼠单克隆抗体、GSK-3 β 兔抗鼠单克隆抗体 (英国 Abcam 公司)。露兰姬娜脱毛膏 (广州市有喜化妆品有限公司, 批号 G20161229); 米诺地尔喷雾剂 (山东京卫制药有限公司, 批号 H20110149); 诗碧曼养发精华液 (以下简称养发精华液) (连云港诗碧曼生物科技有限公司, 批号 20191115Y)。

1.2 动物 115 只 SPF 级健康且毛发正常的 8~9 周龄 C57BL/6J 小鼠, 购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (苏) 2018-0008]。其中 8 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠 65 只, 用于建立对脱毛膏法脱毛小鼠模型及后续毛发生长的研究; 9 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠 50 只, 用于建立雄激素性脱毛小鼠模型及后续毛发生长的研究。所有实验均按照江苏大学伦理委员会批准的指导原则和有关规定在动物实验屏障系统中进行 (伦理号 UJS-IACUC-2020052101)。饲养环境温度 (23 ± 3) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 40%~70%, 12 h/12 h 光/暗循环, 小鼠可以自由活动、饮水和进食。

2 方法

2.1 养发精华液对脱毛膏法脱发小鼠毛发生长的影响 使

收稿日期: 2023-01-01

基金项目: 国家自然科学基金 (81302459); 江苏省科技副总项目 (FZ20200449)

作者简介: 王苏华 (1970—), 女, 副教授, 硕士, 从事生化和分子毒理学研究。E-mail: wsh_9321@163.com

共同第一作者: 邢光伟 (1970—), 男, 硕士, 高级实验师, 从事预防医学研究。E-mail: xgw_123@163.com

* 通信作者: 陆荣柱 (1967—), 男, 博士, 教授, 从事预防医学研究。E-mail: lurz@ujs.edu.cn

用电动理发器及脱毛膏除去小鼠后背约2 cm×3 cm的毛发，建立脱毛膏法脱毛小鼠模型。脱毛小鼠随机分为空白组（75%乙醇，200 μL）、养发精华液低、中、高剂量组（养发精华液，50、100、200 μL）和阳性对照组（5%米诺地尔，200 μL），每组12~14只。分别用上述溶液涂抹脱毛区，每天1次。每天观察并用数码相机拍摄每只小鼠表皮颜色变化；记录每组小鼠不同时间点进入毛发生长期的小鼠数目；记录干预14、21 d各组小鼠新生毛发的长度；同时记录干预21 d各组小鼠新生毛发的质量。

2.2 养发精华液对雄激素性脱发小鼠毛发生长的影响

2.2.1 雄激素性脱毛小鼠模型建立 将丙酸睾酮用橄榄油进行稀释，超声混匀后配成5 mg/mL的溶液，小鼠背部皮下注射（5 mg/kg），持续6周，建立脱毛模型^[9]。造模3周后，小鼠背部毛发开始失去光泽，随着注射时间的延长，小鼠背部毛发出现不同程度的脱落（图1）；造模6周后，小鼠背部毛发脱落加剧，部分融合成片，毛干从终毛的粗大深黑转换为细小无色素的毳毛，终毛的数量减少，毳毛的数量增多，符合雄激素性脱发的病理改变，提示造模成功^[10]。

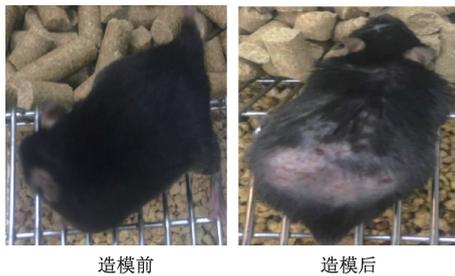


图1 经皮注射丙酸睾酮后小鼠毛发的变化

2.2.2 分组及给药 取造模成功的26只小鼠，随机分为模型组、养发精华液组，每组13只，另取13只未注射雄激素（丙酸睾酮）的健康小鼠作为空白组。养发精华液组小鼠在脱毛处涂抹养发精华液0.2 mL，每天1次，连续28 d，模型组和空白组以0.2 mL 75%乙醇代替养发精华液进行相同处理。给药最后一天，用直尺随机量取各组小鼠

表1 养发精华液处理不同时间对脱毛膏脱毛小鼠皮肤颜色变化的影响 (n=13)

组别	粉红变灰比率/%			灰色变黑色比率/%				
	第5天	第7天	第9天	第9天	第10天	第11天	第12天	第13天
空白组	30	70	100	0	30	80	90	100
精华液低剂量组	38	85	100	0	50	90	100	100
精华液中剂量组	46	85	100	30	70	80	100	100
精华液高剂量组	54	100	100	40	80	100	100	100
米诺地尔组	38	69	100	20	30	80	100	100

3.1.2 养发精华液对脱毛膏脱毛小鼠新生毛发的影响 由表2可知，空白组小鼠第5天开始出现新生毛发，至第7天有45%小鼠长出新生毛发；养发精华液高剂量组和米诺地尔组小鼠均在第3天出现新生毛发；但养发精华液各剂量组小鼠第7天新生毛发的比例分别为61%、69%和69%，高于阳性对照米诺地尔组。空白组在第12天出现长满毛的小鼠，第14天有40%小鼠长满毛；养发精华液各剂量组在

脱毛处新生毛发的长度；记录脱毛处相同面积内各组小鼠新生毛发的质量。

2.2.3 小鼠血清及皮肤组织T、DHT、E₂、HGF水平检测 给药结束后，小鼠禁食过夜，眼球取血，血液静置后3 500 r/min离心15 min，收集上层血清；去除小鼠背部毛后，取背部皮肤，称重并加入10倍量冷的生理盐水，制备匀浆，离心后取上清。按相应试剂盒说明书，采用ELISA法检测血清中T、DHT、E₂及皮肤组织匀浆中T、DHT、HGF水平。

2.2.4 Western blot法检测小鼠皮肤组织β-catenin和GSK-3β蛋白表达 取背部实验区皮肤组织，剪碎后加入组织裂解液，匀浆，离心后提取蛋白。按照BCA蛋白浓度测定试剂盒说明书对提取的蛋白进行定量。取40 μg蛋白经十二烷基硫酸钠-丙烯酰胺（SDS-PAGE）电泳，然后转印至聚偏二氟乙烯膜，5%脱脂牛奶室温封闭2 h，以β-actin为内参，分别加入待检测蛋白一抗4℃孵育过夜，TBST缓冲液洗膜3次，最后加入对应的二抗室温下孵育1 h，增强化学发光法显色，采用Image J软件分析蛋白条带灰度值，计算各蛋白相对表达量。

2.3 统计学分析 通过SPSS 16.0软件进行处理，毛发长满的程度采用Kaplan-Meier生存曲线表示，两两比较采用Log-rank检验；其他数据以(̄x±s)表示，组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用SNK法。P<0.05表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 养发精华液对脱毛膏脱毛小鼠毛发生长的影响

3.1.1 养发精华液对脱毛膏脱毛小鼠皮肤颜色的影响 由表1可知，第5、7天时，养发精华液组小鼠皮肤颜色由粉变灰比率高于阳性对照米诺地尔组；在第7天时，高剂量组小鼠皮肤颜色全部转灰，而空白组只有70%小鼠皮肤变为灰色。空白组小鼠皮肤在第10天开始由灰变黑，直至第13天所有小鼠皮肤均为黑色；养发精华液中、高剂量组小鼠第9天时有30%和40%的小鼠皮肤由灰变黑，高剂量组小鼠在第11天皮肤全部变为黑色。

第10天均出现长满毛的小鼠，第14天新生毛发小鼠数量呈剂量依赖性地增加，其比例分别为60%、80%和90%，且中、高剂量组长满毛的小鼠比率高于空白组(P<0.05)。

3.1.3 养发精华液对脱毛膏脱毛小鼠新生毛发质量和长度的影响 由表3可知，与空白组比较，养发精华液低、中剂量组和米诺地尔组毛发质量均增加(P<0.05)，但养发精华液高剂量组小鼠毛发质量却未见明显变化(P>0.05)。

表2 养发精华液处理不同时间对脱毛膏脱毛小鼠毛发生长的影响 (n=13)

组别	新生毛发出毛比率/%				长满毛比率/%				
	第3天	第5天	第6天	第7天	第10天	第11天	第12天	第13天	第14天
空白组	0	15	38	46	0	0	10	40	40
精华液低剂量组	0	23	30	61	30	30	30	50	60
精华液中剂量组	0	23	62	69	20	60	60	80	80*
精华液高剂量组	15	30	46	69	30	60	80	90	90*
米诺地尔组	23	30	38	54	20	50	70	80	80*

注：与空白组比较，*P<0.05。

第14天，与空白组比较，养发精华液低、中剂量组及米诺地尔组小鼠毛发长度无明显变化 (P>0.05)，而养发精华液高剂量组小鼠毛发长度变长 (P<0.05)；第21天，各组小鼠毛发生长均进入休止期，各组之间的毛发长度均无明显差异 (P>0.05)。

表3 养发精华液对脱毛膏脱毛小鼠毛发质量和长度的影响 (x̄±s, n=13)

组别	毛发质量/ (μg·cm ⁻²)	毛发长度/cm	
		第14天	第21天
空白组	26.52±4.02	0.41±0.06	0.77±0.12
精华液低剂量组	31.02±2.50*	0.37±0.10	0.73±0.10
精华液中剂量组	30.98±2.04*	0.38±0.08	0.74±0.07
精华液高剂量组	27.52±1.86	0.50±0.08*	0.75±0.10
米诺地尔组	32.96±5.01*	0.47±0.08	0.78±0.09

注：与空白组比较，*P<0.05。

3.2 养发精华液对雄激素性脱毛小鼠毛发生长的影响

3.2.1 养发精华液对雄激素性脱毛小鼠毛发生长状态的影响

如图2所示，空白组小鼠在整个实验周期内背部毛发均覆盖完整，毛色有光泽；模型组小鼠在整个干预周期内背部毛发脱落，部分脱毛区融合成片，毛发无光泽；给药2周后（第9周）养发精华液组小鼠背部毛发略薄，可见少许毛发散在脱落的点状区域；给药4周后（第11周）养发精华液组小鼠背部毛发比模型组增多，毛色更有光泽。

3.2.2 养发精华液对雄激素性脱毛小鼠毛发长度的影响

在干预28d后，养发精华液组小鼠毛发长度较空白组无明显变化，较模型组增长 (P<0.05)，见表4。

表4 养发精华液对雄激素性脱毛小鼠毛发长度的影响 (x̄±s, n=13)

组别	毛发长度/cm
空白组	0.71±0.09
模型组	0.60±0.08
养发精华组	0.77±0.07 [#]

注：与模型组比较，[#]P<0.05。

表5 养发精华液对雄激素性脱毛小鼠血清和皮肤组织 DHT、E₂、T 和 HGF 水平的影响 (x̄±s, n=13)

组别	血清			皮肤		
	DHT/(nmol·L ⁻¹)	T/(μg·L ⁻¹)	E ₂ /(ng·L ⁻¹)	DHT/(nmol·mg prot ⁻¹)	T/(μg·mg prot ⁻¹)	HGF/(ng·mg prot ⁻¹)
空白组	1.40±0.39	0.33±0.19	53.87±19.01	12.55±0.41	0.86±0.14	24.11±18.82
模型组	20.15±0.89*	20.49±1.30*	63.31±18.81	14.54±2.34	0.93±0.17	91.40±30.92*
养发精华组	18.32±0.55 [#]	19.22±2.10*	84.93±33.45	8.66±2.37 [#]	0.62±0.12 [#]	30.11±13.26 [#]

注：与空白组比较，*P<0.05；与模型组比较，[#]P<0.05。

模型组小鼠皮肤组织 GSK-3β 蛋白表达升高 (P<0.01)，β-catenin 蛋白表达降低 (P<0.05)；与模型组比较，养发精



图2 养发精华液处理后雄激素性脱毛小鼠毛发生长情况

3.2.3 养发精华液对雄激素性脱毛小鼠血清和皮肤组织激素、HGF 水平的影响

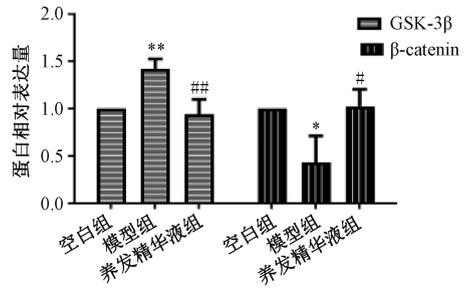
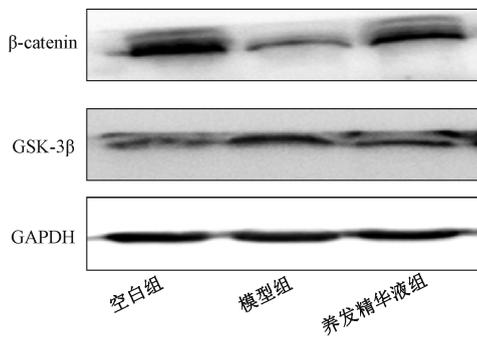
如表5所示，与空白组比较，模型组血清 T、DHT 和皮肤组织 HGF 水平升高 (P<0.05)，说明性激素平衡状态改变，模型建立成功；与模型组比较，养发精华液组小鼠皮肤组织 T 及血清、皮肤组织 DHT 水平降低 (P<0.05)，血清 E₂ 和 T 水平虽无明显变化 (P>0.05)，但血清 E₂ 水平增加了 34.15%，血清 T 水平降低了 6.20%。

与空白组比较，模型组 HGF 代偿性高表达 (P<0.05)；与模型组比较，养发精华液组皮肤组织 HGF 水平降低 (P<0.05)，接近空白组。

3.2.4 养发精华液对雄激素性脱毛小鼠皮肤组织 β-catenin 和 GSK-3β 蛋白表达的影响

如图3所示，与空白组比较，

华液组小鼠皮肤组织 GSK-3β 蛋白表达降低 (P<0.01)，β-catenin 蛋白表达升高 (P<0.05)。



注：与空白组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。

图3 养发精华液对雄激素性脱毛小鼠皮肤组织 GSK-3β 和 β-catenin 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 13$)

4 讨论

C57BL/6 小鼠是筛选毛发生长促进剂的常用动物^[11]，本研究建立脱毛膏法和丙酸睾酮法 2 种脱毛模型，用植物源养发精华液进行处理，通过对毛发生长周期的观察以及雄激素水平的检测，发现养发精华液组小鼠毛发长度和质量增加，血清和皮肤组织中 T 和 DHT 的水平下降，证明养发精华液在促进毛囊生长及向终毛转化的良好效果，对化学性试剂和雄激素性脱毛模型小鼠都有明显的促毛发生长作用。

T 是男性的主要雄激素，T 及其代谢产物 DHT 和 E_2 水平与雄激素脱发直接相关，T 在毛囊中 5α-还原酶的作用下，生成活性更高的 DHT，进而影响了真皮乳头与毛囊细胞的信号传导机制^[12]。DHT 是雄激素脱发的主要原因^[13]，治疗雄激素性脱发药物非那雄胺是一种特殊的 5α 受体阻滞剂，通过抑制 DHT 的生成降低循环中浓度从而促进头发生长；Murata 等^[14]研究揭示，红参提取物人参皂甙 Ro 可通过抑制 5α-还原酶的活性来增强雄激素性脱发小鼠毛发的再生。由性腺分泌的 E_2 可以起到一定促进毛囊生长的作用，在正常情况下，T 与 E_2 的水平固定且处于相对平衡状态。DHT 水平升高致使二者的平衡比例被打破，引发毛发脱落^[9]。

毛囊干细胞 (HFSCs) 是位于毛囊隆突部的一种成体干细胞，具有分化成毛囊、表皮、皮脂腺等多向潜能，HFSCs 的循环激活和抑制主导头发周期性变化^[15-16]，在已知的调节 HFSCs 分化的信号通路中，Wnt/β-catenin 信号通路是调控毛囊的形态发生和毛发周期的关键信号通路，在毛发形成和循环中起至关重要诱导作用^[17-18]。研究显示，β-catenin 表达增高是 Wnt/β-catenin 信号通路激活的标志，高水平的 Wnt/β-catenin 能促毛囊干细胞 (HFSCs) 向毛囊分化，低水平的 β-catenin 可导致 HFSCs 向表皮细胞或皮脂腺方向分化，DHT 可激活 Wnt 负调节因子 GSK-3β 并抑制 Wnt/β-catenin 信号传导^[12]。何首乌是用于治疗秃发和脱发的传统中药材，有研究证实何首乌提取物促 C57BL/6 小鼠毛发生长的分子机制与其诱导的 β-catenin 蛋白表达有关^[19]。本研究结果显示，模型组小鼠皮肤组织 GSK-3β 蛋白表达升高，β-catenin 蛋白表达降低，说明雄激素性脱毛

小鼠皮肤组织 Wnt/β-catenin 信号通路受到抑制，进而抑制了毛囊周期性的再生，抑制了毛发的生长；而涂抹养发精华液后小鼠皮肤组织 GSK-3β 蛋白表达降低，β-catenin 蛋白表达升高，说明 Wnt/β-catenin 信号通路被激活，激活了干细胞的增殖和毛囊的再生，启动毛发周期，促进毛发生长^[20]。本研究首次发现植物源诗碧曼养发精华液可以激活小鼠皮肤毛囊、促进血液循环、加快黑色素生成，为我国中草药养发的基础与应用研究提供了方向，但其临床疗效尚需进一步研究。

参考文献：

- [1] 胡志奇, 苗 勇. 中国人雄激素性脱发诊疗指南[J]. 中国美容整形外科杂志, 2019, 30(1): 8-12.
- [2] Xu F, Sheng Y Y, Mu Z L, et al. Prevalence and types of androgenetic alopecia in Shanghai, China: a community-based study[J]. *Br J Dermatol*, 2009, 160(3): 629-632.
- [3] 付国强. 治疗雄激素性脱发药物的研究进展[J]. 国外医学皮肤病学分册, 2000, 26(2): 68-72.
- [4] 张良芬. 促进毛发再生的药物[J]. 国外医学皮肤病学分册, 1999, 25(3): 132-135.
- [5] 李 岗, 丛 妍. 洗发护发产品中国市场基础配方调研与趋势研究[J]. 印染助剂, 2019, 36(4): 6-9.
- [6] 丛 妍, 姜春鹏. 防脱发日化原料研究进展[J]. 日用化学工业, 2020, 50(3): 188-193.
- [7] 丁 衍, 瞿 娇, 毕蓓蕾, 等. 诗碧曼激活 Nrf2/Keap1 信号通路改善 D-半乳糖诱导的氧化应激和衰老的研究[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(6): 1281-1286.
- [8] 景 林, 侯 丽, 彭春桥, 等. 生发小鼠模型建立常用脱毛方法的系统比较[J]. 中药药理与临床, 2017, 33(4): 205-209.
- [9] 景 林, 余志杰, 胡婷婷, 等. 补气活血生发酊对小鼠雄激素性脱发的影响[J]. 中成药, 2020, 42(3): 767-773.
- [10] 郑雨诗, 胡永轩, 刘康兴, 等. 凤仙花、散沫花及海娜花对小鼠雄激素性脱发的治疗作用及其机制[J]. 南方医科大学学报, 2019, 39(11): 1376-1380.
- [11] 杨淑霞, 马圣清, 钟志红, 等. C57BL6 小鼠毛发周期动物模型的建立[J]. 中华皮肤科杂志, 1999, 32(4): 34-35.
- [12] Chen X, Liu B, Li Y, et al. Dihydrotestosterone regulates hair

- growth through the Wnt/ β -catenin pathway in C57BL/6 mice and *in vitro* organ culture [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1528.
- [13] Prager N, Bickett K, French N, *et al.* A randomized, double-blind, placebo-controlled trial to determine the effectiveness of botanically derived inhibitors of 5 α -reductase in the treatment of androgenetic alopecia [J]. *J Altern Complement Med*, 2002, 8(2): 143-152.
- [14] Murata K, Takeshita F, Samukawa K, *et al.* Effects of ginseng rhizome and ginsenoside Ro on testosterone 5 α -reductase and hair re-growth in testosterone-treated mice [J]. *Phytother Res*, 2012, 26(1): 48-53.
- [15] 左婷婷, 闫美玲, 诸颖, 等. 毛发再生过程中诱导毛囊干细胞激活因素的研究进展 [J]. *上海中医药杂志*, 2022, 56(6): 100-105.
- [16] 朱培成, 侯志庄, 张娴, 等. 中药益发复方含药血清对毛囊干细胞增殖及 K19、 β 1 整合素 mRNA 表达的调控作用 [J]. *中国中西医结合皮肤性病学杂志*, 2013, 12(6): 356-358.
- [17] 吴晓玲, 刘诗迪, 杨盛波. Wnt 信号通路调控毛囊形成与周期循环的研究进展 [J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2020, 34(2): 214-219.
- [18] 伍津津. 毛囊干细胞与组织工程研究进展 [J]. *中国医学文摘(皮肤科学)*, 2016, 33(4): 415-423.
- [19] Park H J, Zhang N, Park D K. Topical application of *Polygonum multiflorum* extract induces hair growth of resting hair follicles through upregulating Shh and β catenin expression in C57BL/6 mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 135(2): 369-375.
- [20] 杨斌, 邓立欢, 李秉航, 等. 角质细胞生长因子及氯化锂诱导毛囊干细胞定向分化中的信号通路 [J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(19): 3060-3068.

补阳还五汤通过 Cav-1 抑制铁死亡对脑缺血小鼠的神经保护作用

刘英飞^{1,2}, 陈博威¹, 田丰铭¹, 欧阳银¹, 易健³, 刘柏炎^{1,4*}

(1. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410208; 2. 益阳医学高等专科学校附属医院, 湖南益阳 413046; 3. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南长沙 410021; 4. 湖南省中医药研究院, 湖南长沙 410013)

摘要: 目的 探讨补阳还五汤通过小窝蛋白-1 (Cav-1) 抑制铁死亡对脑缺血后小鼠的神经保护作用。方法 将雄性 Cav-1 敲除 (KO) 及同源野生型 (WT) 小鼠分别随机分为假手术组、模型组、补阳还五汤组 (18.5 g/kg), 采用大脑中动脉栓塞 (MCAO) 复制脑缺血模型, 给药干预 7 d 后, 对小鼠进行神经行为学评分以评估神经功能缺损情况, HE 及尼氏染色观察脑皮层形态结构, 透射电镜下观察线粒体结构, 采用生化试剂盒检测脑组织总铁、谷胱甘肽 (GSH)、丙二醛 (MDA) 水平和超氧化物歧化酶 (SOD) 活性, 免疫组化及 RT-qPCR 法检测铁死亡相关分子谷胱甘肽过氧化物酶 4 (GPX4) 的蛋白及 mRNA 表达。结果 WT 小鼠脑缺血后表现为神经功能缺损明显, 神经元及线粒体损伤严重, 伴随铁及 MDA 水平增加, 而 GSH 水平、SOD 活性及 GPX4 蛋白和 mRNA 表达降低; 补阳还五汤可促进神经功能恢复, 并且降低脑内总铁及 MDA 水平, 增加脑内 GSH 水平、SOD 活性及 GPX4 蛋白和 mRNA 表达。然而, 与 WT 模型组比较, Cav-1 KO 脑缺血小鼠表现出更严重的神经功能受损、神经元损伤及铁死亡程度, 并且 Cav-1 缺失在一定程度上逆转补阳还五汤对脑缺血的改善作用。结论 补阳还五汤可能通过 Cav-1 抑制神经元铁死亡, 减轻脑缺血诱导的铁死亡。

关键词: 补阳还五汤; 脑缺血; Cav-1; 铁死亡; GPX4

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)02-0605-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.02.042

脑缺血为一种常见的脑血管疾病, 是全球致死和成人致残的主要原因, 严重威胁人类的健康, 给患者及其家庭、

社会带来沉重的经济负担^[1], 但目前仍缺乏有效的治疗手段, 因此进一步阐明脑缺血后病理机制以及开发有效的神

收稿日期: 2023-10-27

基金项目: 国家自然科学基金 (82074251); 湖南省自然科学基金 (2022JJ30357); 湖南省卫健委课题 (B202303077879); 湖南省研究生创新课题 (CX20220815, CX20220805, CX20230808)

作者简介: 刘英飞 (1984—), 女, 博士生, 研究方向为中医药防治心脑血管疾病。Tel: (0731) 88536925, E-mail: liuyingfei0628@163.com

* 通信作者: 刘柏炎 (1970—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为中医药防治心脑血管疾病。Tel: (0731) 88536925, E-mail: liubaiyan@126.com