

通塞脉方取舍怀牛膝对大鼠缺血性脑损伤的影响

李卓琼, 卞慧敏*, 张启春, 章嫡妮, 狄留庆, 胡小鹰

南京中医药大学 江苏省药效与安全性评价重点实验室, 江苏 南京 210046

摘要: **目的** 探讨通塞脉方取舍怀牛膝对缺血性脑损伤模型大鼠的影响。**方法** 雄性SD大鼠随机分为假手术组、模型组、尼莫地平(32.4 mg/kg)组、通塞脉全方(生药 31.74 g/kg)组、去牛膝通塞脉方(生药 27.77 g/kg)组。除假手术组与模型组外, 其他给药组大鼠连续ig给药3 d, 每天1次。给药后除假手术组外, 其他组大鼠制备缺血性脑卒中模型, 造模后24 h取血及大脑组织, 脑组织以TTC染色, 观察梗死率; HE染色观察病理学变化; 测定血清中高迁移率蛋白1(HMGB1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)的量; 免疫组化法观察缺血组织中核因子- κ B (NF- κ B)的表达。**结果** 模型组大鼠HMGB1、TNF- α 、IL-1 β 的量及NF- κ B的表达均明显升高($P < 0.05$), 通塞脉全方及通塞脉去牛膝方均可降低脑缺血大鼠HMGB1、TNF- α 、IL-1 β 的量, 抑制NF- κ B的表达($P < 0.05$), 其中去牛膝通塞脉方降低IL-1 β 的作用最强。**结论** 通塞脉全方及去牛膝通塞脉方均可通过抑制HMGB1相关的NF- κ B信号通路的激活, 发挥抑制炎症反应、减轻脑水肿、保护神经细胞的作用; 去除牛膝的通塞脉方不会降低对脑缺血疗效, 在抑制炎症因子IL-1 β 的分泌方面优于通塞脉方全方。

关键词: 通塞脉方; 去牛膝通塞脉方; 脑缺血; 炎症因子; NF- κ B信号通路

中图分类号: R285.5; R972 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)15-2130-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.15.019

Effects of Tongsaimai Prescription and Tongsaimai Prescription without *Achyranthis Bidentatae Radix* on ischemic brain injuries in rats

LI Zhuo-qiong, BIAN Hui-min, ZHANG Qi-chun, ZHANG Di-ni, DI Liu-qing, HU Xiao-ying

Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of Tongsaimai Prescription (TSMP) and TSMP without *Achyranthis Bidentatae Radix* (ABR) on ischemic brain injuries in rats. **Methods** The male SD rats were divided into Sham, model, Nimodipine (32.4 mg/kg), TSMP (crude drug 31.74 g/kg), and TSMP without ABR (crude drug 27.77 g/kg) groups. Except the Sham and model groups, the rats were ig administered once daily, for 3 d. After the treatment, except the Sham group, the cerebral ischemic stroke model was established. After 24 h, the blood and brain tissue were taken, the brain tissue was stained with TTC, and the cerebral infarction ratio was measured. The pathological changes were observed, and the contents of HMGB1, TNF- α , and IL-1 β in serum were detected. The expression of NF- κ B in ischemia tissue was observed by immunohistochemistry method. **Results** The expression of HMGB1, TNF- α , and IL-1 β increased obviously ($P < 0.05$). TSMP and TSMP without ABR could decrease the contents of HMGB1, TNF- α , and IL-1 β , inhibit the expression of NF- κ B ($P < 0.05$), and the effect of TSMP without ABR on decreasing IL-1 β was stronger. **Conclusion** Both TSMP and TSMP without ABR could inhibit the activation of HMGB1-related NF- κ B signal pathway with the function of anti-inflammation, alleviated encephaledema, and protecting nerve cells. TSMP without ABR has the similar effect on the ischemic brain injuries and the better effect on inhibiting the secretion of inflammatory factor IL-1 β .

Key words: Tongsaimai Prescription; Tongsaimai Prescription without *Achyranthis Bidentatae Radix*; brain ischemia; inflammatory factor; NF- κ B signal pathway

通塞脉方(Tongsaimai Prescription, TSMP)是 的验方, 由黄芪、党参、石斛、玄参、金银花、怀牛膝(*Achyranthis Bidentatae Radix*, ABR)、当归、以四顾汤为基础研制而成的治疗血栓闭塞性脉管炎

收稿日期: 2012-11-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81073071); 江苏省优势学科建设工程资助项目(2011ZYX3-0021)

作者简介: 李卓琼(1983—), 女, 硕士研究生, 研究方向为心脑血管药理学。Tel: 15996278602 E-mail: 229168757@qq.com

*通信作者 卞慧敏 Tel: 18061688026 E-mail: hmbian@sina.com

甘草 8 味中药组成, 具有培补气血、养阴清热、活血化瘀、通经活络等功效, 方中牛膝具有活血化瘀、通络止痛以及引药下行的作用, 为佐使药^[1]。基于中医“异病同治”的原理, 通塞脉片在临床上也常用于治疗缺血性脑卒中。汪海鸿等^[2]对通塞脉方进行了拆方研究, 认为牛膝作为引药下行的引经药, 在治疗心脑血管疾病时可以去除。为验证这一观点, 本实验采用大脑中动脉栓塞法(MCAO)制备大鼠缺血性脑卒中模型, 通过梗塞率及血清中相关炎症因子及其信号转导等指标, 观察通塞脉去牛膝方及通塞脉全方对缺血性脑卒中模型大鼠的保护作用, 为探讨牛膝在方中的作用以及去掉牛膝的通塞脉方药理作用的变化提供实验依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

通塞脉浸膏(356 g 相当于生药 1 kg)、去牛膝通塞脉方浸膏(339 g 相当于生药 1 kg), 均由南京中医药大学药剂教研室提供; 尼莫地平片, 拜耳医药保健公司, 批号 122296; 水合氯醛, 上海青析化工科技有限公司; 白细胞介素-1 β (IL-1 β) 放免试剂盒、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 放免试剂盒、高迁移率组蛋白 1 (HMGB1) 放免试剂盒、血浆血管紧张素 II 放免药盒, 均由北京华英生物研究所提供; 氯化三苯基四氮唑 (TTC), 中国医药上海化学试剂公司。

1.2 动物

SPF 级 SD 大鼠, 雄性, 体质量 280~350 g, 由上海斯莱克动物有限公司提供, 许可证号: SCXK (沪) 2007-0005。

1.3 仪器

BS 110 S 电子天平, 北京赛多利斯天平有限公司; LDZ5-2 离心机, 北京医用离心机厂; γ -911 全自动放免计数仪, 中国科技大学实业总公司; Leica DMI 3000M 倒置显微镜, 上海曼戈斐光学技术有限公司。

2 方法

2.1 分组与给药

依据药理实验中动物间、动物与人体间的等效剂量换算关系以及王爱云等^[3]的实验结果, 确定阳性对照药尼莫地平给药剂量为 32.40 mg/kg。依据胡晨等^[4]的实验结果, 确定通塞脉全方的给药剂量(最佳药效剂量)为生药 31.74 g/kg, 去牛膝通塞脉方组剂量为生药 27.77 g/kg (与通塞脉全方为等效剂

量)。SD 大鼠随机分为 5 组: 假手术组、模型组、尼莫地平(32.40 mg/kg)组、通塞脉全方(生药 31.74 g/kg)组和去牛膝通塞脉方(生药 27.77 g/kg)组, 每组 10 只。给药组大鼠均于造模前 3 d 开始 ig 给药 10 mL/kg (用纯化水稀释), 每天 1 次, 连续给药 3 d, 模型组及假手术组给予生理盐水, 第 4 天于造模后 6 h 再给药 1 次。

2.2 模型制备^[5]

将长 60 mm、直径 0.234 mm 的尼龙线一端用硅橡胶涂圆, 自然干燥, 栓头直径约 0.31 mm, 并在距球端 18.0 mm 处标记, 75%酒精消毒后备用。除假手术外, 其他组大鼠禁食 12 h 后以 10%水合氯醛(350 mg/kg) ip 麻醉, 仰位固定于手术台, 颈部正中切口, 分离出颈总动脉, 继续向下分离并结扎颈外动脉及颈外动脉各分支(枕动脉、甲状腺上动脉、舌动脉和面动脉), 轻轻剥离迷走神经, 分离出颈内动脉, 颈外动脉近心端备线, 用动脉夹夹闭颈内动脉和颈总动脉, 在颈外动脉距颈内动脉 2 mm 处剪一小口, 将一尼龙栓子插入颈外动脉并进入颈总动脉, 轻扎备线, 防止出血, 剪断颈外动脉, 松开颈内动脉的动脉夹, 轻轻回抽尼龙线, 使其进入颈内动脉, 继续向下推进(避免尼龙线进入翼腭动脉), 直至有轻微阻力。此时可见颈内动脉伸展, 尼龙线插入深度约为 18 mm, 表明尼龙线已经穿过大脑中动脉(MCA)起始段, 到达大脑前动脉近端, 阻断 MCA 所有血供来源, 包括来自颈内动脉和前动脉及大脑后动脉的血液供应。松开颈总动脉动脉夹, 扎紧备线, 外留 1 cm 长线头, 缝合皮肤, 回笼饲养。2 h 后, 将线栓栓头拔出至颈内动脉和颈外动脉的分叉处, 造成血流再灌注。假手术组手术方法同前, 分离出颈总动脉及颈内、外动脉, 但不结扎及插线。

2.3 指标检测

2.3.1 行为学 Bederson's 评分 大鼠于造模后 4、24 h, 提尾悬空离地面约 35 cm, 观察两前肢状况; 将大鼠置于水平地面, 推动其双肩, 观察两侧抵抗力的差异; 将大鼠置于地面, 观察其行走情况。行为完全正常, 0 分; 提尾悬空时, 大鼠手术对侧前肢表现腕肘屈曲、肩内旋、肘外展、紧贴胸壁, 记 1 分; 大鼠置于地面, 推手术侧肩相对侧移动时阻力降低记 2 分; 大鼠置于地面, 其围绕手术对侧转圈者, 记 3 分; 损伤极其严重, 已无法自主活动者, 记 4 分。分数越高, 说明其神经行为损伤越严重。

2.3.2 TTC 染色法观察大鼠脑梗死率 颈总动脉取血后,立即取脑,去除嗅球、小脑和低位脑干后称湿质量,置-20℃冰箱20 min,沿冠状切成5片。第1刀在脑前极与视交叉连线中间;第2刀在视交叉部;第3刀在漏斗柄部;第4刀在漏斗柄与后叶尾极之间。迅速将脑片置5 mL、含有1% TTC 的磷酸盐缓冲溶液(PBS)中避光温孵30 min,每隔7~8 min翻动1次。染色后,正常组织呈玫瑰红色,而缺血组织呈白色。温孵后拍照,用Image-Pro Plus软件对梗死区面积及梗死区和正常区总面积进行统计,求脑梗死率。

脑梗死率=梗死区总面积/全脑总面积

2.3.3 HE 染色法检测脑组织病理形态改变 缺血侧脑组织经10%福尔马林固定,常规石蜡包埋,切片(厚4~5 μm),HE染色,根据病变轻重程度,依次半定量为轻度“+”(计1分),中度“++”(计2分),重度“+++”(计3分),无病变组织标记为“-”(计0分)。内囊进行HE染色,光学显微镜下(200×)观察组织病理学变化,除尼莫地平组外,其他各组取6只大鼠、每只随即选取5个视野进行评分。

2.3.4 放免法检测血清中 HMGB1、TNF-α、IL-1β

水平 按照 HMGB1、TNF-α、IL-1β 各自试剂盒说明书进行操作。

2.3.5 免疫组化法检测缺血脑组织 NF-κB 的表达 按照试剂盒操作说明书进行操作。以胞浆中有棕黄色颗粒者为 NF-κB 阳性细胞。用 Image-Pro Plus 软件对大鼠脑组织海马区 NF-κB 阳性细胞积分光密度值进行统计。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 11.5 软件对数据进行统计学分析,组间比较采用单因素方差分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 对脑缺血大鼠行为学评分及脑血管梗死率的影响

脑缺血后4 h,与模型组相比,通塞脉全方及去牛膝通塞脉方组大鼠行为学评分均有所降低($P < 0.05$)。脑缺血后24 h,与模型组相比,尼莫地平组大鼠行为学评分显著下降($P < 0.05$),而通塞脉全方及去牛膝通塞脉方组大鼠行为学评分虽也有下降,但无显著差异。与模型组相比,各给药组大鼠的脑梗死率均显著下降($P < 0.01$);与通塞脉全方组大鼠相比,通塞脉去牛膝方组大鼠脑梗死率降低更明显,但无显著差异。结果见表1。

表1 通塞脉全方及去牛膝通塞脉方对脑缺血大鼠 Bederson's 评分及脑梗死率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of TSMP and TSMP without ABR on Bederson's scores and cerebral infarction ratio in rats with brain ischemia ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	Bederson's 评分		梗死率 / %
		4 h	24 h	
假手术	—	0	0	0
模型	—	2.90 ± 0.32 ^{▲▲}	2.60 ± 0.70 ^{▲▲}	24.12 ± 6.13 ^{▲▲}
通塞脉全方	31.74	2.30 ± 0.67 [*]	2.20 ± 0.79	7.90 ± 7.55 ^{**}
去牛膝通塞脉方	27.77	2.10 ± 0.99 [*]	1.70 ± 1.16	5.03 ± 2.97 ^{**}
尼莫地平	0.032 4	2.40 ± 0.97	1.50 ± 1.08 [*]	9.82 ± 7.68 ^{**}

与假手术组比较: ^{▲▲} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

^{▲▲} $P < 0.01$ vs Sham group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

3.2 对脑缺血大鼠脑组织病理形态的影响

假手术组大鼠大脑实质各层结构清晰,神经细胞未见肿胀、空泡变性、嗜酸性及脂褐素积聚,核正常,无偏位,无核固缩,未见尼氏体溶解,神经细胞未见坏死及嗜神经细胞现象,胶质细胞无增生、肥大,血管未见出血及淋巴细胞聚集现象。

模型组5只大鼠大脑皮层和海马内出现神经元坏死(+++),神经元数目明显减少(++),细

胞核固缩(+++),胞体缩小变形(+++),间质水肿(+++),血管周间隙增宽(+++);1只大鼠大脑皮层和海马内出现神经元坏死(++),神经元数目明显减少(++),胞体缩小变形(++),间质水肿(++),血管周间隙增宽(+++)。

通塞脉全方组3只大鼠大脑皮层和海马内出现神经元坏死(++),神经元数目明显减少(+),

细胞核固缩(++)，其中2只大鼠脑胞体缩小变形(++)，间质水肿(++)，血管周间隙增宽(++)，1只大鼠胞体缩小变形(+++)，间质水肿(+++)，血管周间隙增宽(+++)；其余3只大鼠大脑见尼氏小体减少(+)。

去牛膝通塞脉方组4只大鼠大脑皮层和海马内出现神经元坏死(++)，神经元数目明显减少(+)，细胞核固缩(++)，其中2只胞体缩小变形(++)，间质水肿(++)，血管周间隙增宽(++)，2只胞体缩小变形(+++)，间质水肿(+++)，血管周间隙增宽(+++)；其余2只大鼠大脑见尼氏小体减少(+)。结果见图1和表2。

3.3 对血清 HMGB1、TNF- α 、IL-1 β 水平的影响

与假手术组相比，模型组大鼠血清 HMGB1、TNF- α 、IL-1 β 的量明显升高 ($P<0.05$ 、 0.01)。与模型组相比，通塞脉全方组和去牛膝通塞脉方组显著降低脑缺血大鼠血清 HMGB1、TNF- α 、IL-1 β 的量 ($P<0.05$ 、 0.01)；尼莫地平组大鼠血清 TNF- α 的量稍有下降，但不显著。与通塞脉全方组相比，去牛膝通塞脉方组 IL-1 β 水平显著下降 ($P<0.01$)，作用更明显。结果见表3。

3.4 对脑缺血大鼠海马区 NF- κ B 表达的影响

假手术组大鼠脑组织 NF- κ B 表达较少，仅少数细胞内出现浅黄色颗粒。模型组大鼠脑组织可见大

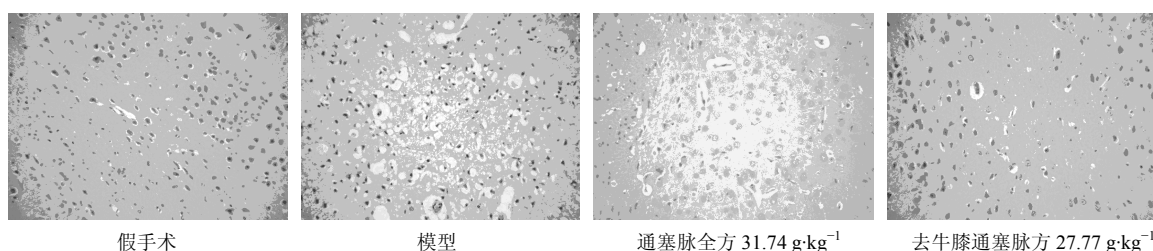


图1 各组大鼠脑皮层及海马区组织病理学观察

Fig. 1 Pathological observation of cerebral cortex and hippocampal region in rats of each group

表2 通塞脉全方和去牛膝通塞脉方对脑缺血大鼠脑组织病理形态学评分的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 2 Effect of TSMP and TSMP without ABR on pathomorphological scores of brain tissues in rats with brain ischemia ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	神经元坏死	神经元数目	细胞核固缩	胞体缩小变形	间质水肿	血管周间隙增宽	尼氏体减少	总评分
假手术	—	0	0	0	0	0	0	0	0
模型	—	2.83±0.41	2.00±0.00 ^{△△}	2.83±0.41 ^{△△}	2.83±0.41 ^{△△}	2.83±0.41 ^{△△}	2.83±0.41 ^{△△}	3.00±0.00 ^{△△}	19.17±2.04 ^{△△}
通塞脉全方	31.74	1.00±1.10 ^{**}	0.50±0.55 ^{**}	1.00±1.10 ^{**}	1.17±1.33 [*]	1.17±1.33 [*]	1.17±1.33 [*]	2.00±1.10 ^{△△}	8.00±7.75 ^{△*}
去牛膝通塞脉方	27.77	1.33±1.03 ^{*△}	0.67±0.52 ^{**△}	1.33±1.03 [△]	1.67±1.37 [△]	1.67±1.37 [△]	1.67±1.37 [△]	2.33±1.03 ^{△△}	10.67±7.61 ^{△*}

与假手术组比较: [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$

[△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$ vs Sham group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group

表3 通塞脉全方和去牛膝通塞脉方对脑缺血大鼠血清 HMGB1、TNF- α 、IL-1 β 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 Effects of TSMP and TSMP without ABR on levels of HMGB1, TNF- α , and IL-1 β in serum of rats with brain ischemia ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	HMGB1 / (ng·mL ⁻¹)	TNF- α / (ng·mL ⁻¹)	IL-1 β / (ng·mL ⁻¹)
假手术	—	3.53±0.79 ^{**}	1.30±0.24 [*]	0.19±0.04 ^{**}
模型	—	10.15±1.72 ^{△△}	1.55±0.20 [△]	0.31±0.03 ^{△△}
通塞脉全方	31.74	5.48±0.83 ^{**△△}	1.32±0.23 [*]	0.25±0.05 ^{*△}
去牛膝通塞脉方	27.77	5.52±0.96 ^{**△△}	1.31±0.25 ^{**}	0.19±0.04 ^{**##}
尼莫地平	0.032 4	7.11±1.27 ^{**}	1.53±0.18	0.21±0.06 ^{**}

与假手术组比较: [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$; 与通塞脉全方组比较: ^{##} $P<0.01$

[△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$ vs Sham group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group; ^{##} $P<0.01$ vs TSMP group

量棕黄色颗粒, NF- κ B 呈强阳性表达, 与假手术组相比差异显著 ($P < 0.01$)。去牛膝通塞脉方及通塞脉全方均能明显下调大鼠脑组织 NF- κ B 表达, 与模型组相比较差异显著 ($P < 0.01$), 而通塞脉全方的作用略强, 但与去牛膝通塞脉组相比无显著差异。结果见表 4 和图 2。

4 讨论

近年来研究表明, 脑缺血后 HMGB1 的高表达所致的炎症反应是引起脑缺血大脑病理变化的一个重要因素^[6]。HMGB1 是一个通过释放到细胞外发挥细胞因子作用的核内蛋白。在脑缺血后, 血清中 HMGB1 水平迅速上升, 通过激活多种受体 (主要

表 4 通塞脉全方和去牛膝通塞脉方对脑缺血大鼠海马区 NF- κ B 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Effects of TSMP and TSMP without ABR on expression of NF- κ B in hippocampal region of rats with brain ischemia ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组 别	剂量 / ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	积分光密度值
假手术	—	16 135.93 $\pm$ 8 395.00
模型	—	84 665.18 $\pm$ 14 623.95 ^{$\Delta\Delta$}
通塞脉全方	31.74	16 337.36 $\pm$ 4 462.40 ^{**}
去牛膝通塞脉方	27.77	20 856.35 $\pm$ 10 307.72 ^{**}

与假手术组比较: ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$

^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$ vs Sham group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group

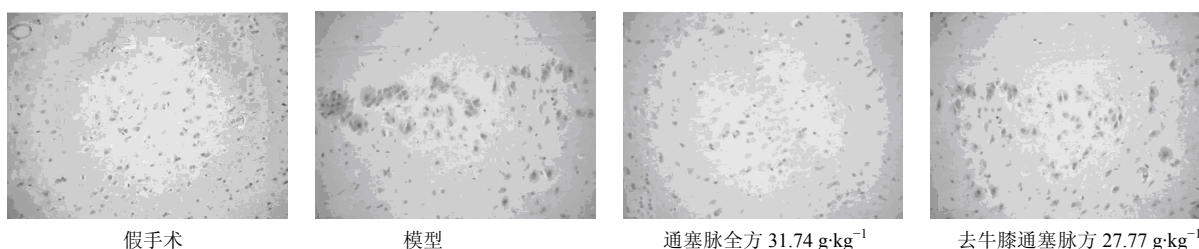


图 2 通塞脉全方和去牛膝通塞脉方对脑缺血大鼠海马区 NF- κ B 表达量的影响

Fig. 2 Effects of TSMP and TSMP without ABR on expression of NF- κ B in hippocampal region of rats with brain ischemia

受体有 Toll 样受体 4 (TLR4) 和高度聚糖化作用终产物受体 (RAGE) 而活化炎症通路^[7]。HMGB1 释放后激活 TLR4 和相关配体结合, 产生一系列的细胞效应, 最终导致 NF- κ B 的激活。NF- κ B 进入细胞核内, 促进相关基因的转录和表达, 产生一系列炎症因子, 如 TNF- α 、IL-1 β 等。Zhang 和 Liu 等^[8-9]观察 HMGB1 蛋白单克隆抗体对脑缺血大鼠血脑屏障的影响, 发现给予脑缺血再灌注大鼠 HMGB1 蛋白单克隆抗体, 有效地抑制蛋白的渗出、TNF- α 和 iNOS 的表达, 降低基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 的活性。HMGB1 蛋白单克隆抗体可保护血脑屏障免受破坏, 进而减轻脑损伤。本研究表明, 脑缺血模型大鼠血清中 HMGB1、TNF- α 、IL-1 β 水平上升, 脑组织海马区 NF- κ B 的表达均明显增加, 证实了脑缺血会诱发 HMGB1 的高表达, 进而引起一系列的炎症级联反应, 加剧缺血性脑损伤^[10]。去牛膝通塞脉方及通塞脉全方均能降低 MCAO 引起的大鼠血清 HMGB1、TNF- α 、IL-1 β 水平的升高及抑制脑组织海马区 NF- κ B 的高表达, 进而减轻脑缺血后的脑损伤, 且等剂量下去牛膝后抑制脑缺血模型大鼠 IL-1 β 水平升高的作用强于通塞脉全方, 表明

在治疗脑缺血时加用牛膝的通塞脉方, 并未提高疗效, 而去除牛膝后该方仍具有对脑缺血模型大鼠的保护作用。因此牛膝作为引药下行的引经药, 在脑缺血的治疗上并没有较大贡献。总之, 去牛膝通塞脉方通过对 HMGB1 相关的 NF- κ B 信号通路激活的调节, 抑制炎症反应, 减轻脑水肿, 发挥脑缺血保护作用。

参考文献

- [1] 殷书梅, 王丽英, 王金茹. 通塞脉片治疗缺血性中风的药效学研究 [J]. 新中医, 2007, 39(2): 104-107.
- [2] 汪海鸿, 狄留庆, 陆茵, 等. 通塞脉片治疗急性脑缺血的拆方研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2011, 27(1): 55-57.
- [3] 王爱云, 陆茵, 严令耕, 等. 通塞脉微丸改善缺血性中风大鼠血液流变状态的实验研究 [J]. 中国血液流变学杂志, 2007, 17(1): 52-54.
- [4] 胡晨, 卞慧敏, 仇锦春, 等. 通塞脉微丸对大鼠中动脉栓塞模型大鼠的保护作用 [J]. 中成药, 2009, 31(5): 685-688.
- [5] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.

- [6] Kim J B, Choi S J, Yu Y M, *et al.* HMGB1, a novel cytokine-like mediator linking acute neuronal death and delayed neuro-inflammation in the postischemic brain [J]. *J Neurosci*, 2006, 26(24): 6413-6421.
- [7] Yang Q W, Xiang J, Zhou Y, *et al.* Targeting HMGB1/TLR4 signaling as a novel approach to treatment of cerebral ischemia [J]. *Front Biosci: Schol Ed*, 2010, 1(2): 1081-1091.
- [8] Zhang J, Takahashi H K, Liu K, *et al.* Anti-high mobility group box-1 monoclonal antibody protects the blood-brain barrier from ischemia-induced disruption in rats [J]. *Stroke*, 2011, 42(5): 1420-1428.
- [9] Liu K, Mori S, Takahashi H K, *et al.* Anti-high mobility group box 1 monoclonal antibody ameliorates brain infarction induced by transient ischemia in rats [J]. *FASEB J*, 2007, 21(14): 3904-3916.
- [10] Thompson W L, Van Eldik L J. Inflammatory cytokines stimulate the chemokines CCL2/MCP-1 and CCL7/MCP-3 through NFkB and MAPK dependent pathways in rat astrocytes [J]. *Brain Res*, 2009, 1287: 47-57.