

ICA 伍用 PNS 对 AD 形成过程中淋巴细胞由于免疫衰老所致其数量减少的改善有重要意义。

本研究量效关系中呈现的免疫调节作用,在高剂量体现回落的趋势,该作用可能与两者伍用的多靶点多层次作用特点有关。

References:

[1] Zhao C A, Zhou G P, Li E, et al. Effect of formula for replenishing kidney and filling-up essence on learning-memory-behavior of rat models with Alzheimer's disease [J]. *Chin J Clin Rehabil* (中国临床康复), 2004, 8(19): 3911-3913.

[2] Cheng Y, Shen L H, Zhang J T. Anti-amnesic and anti-aging effects of ginsenoside Rg1 and Rb1 and its mechanism of action [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2005, 26(2): 143-149.

[3] Liang H R, Vuorela P, Hiltunen R. Isolation and immunomodulatory effect of flavonol glycosides from *Epimedium hunanense* [J]. *Planta Med*, 1997, 63(4): 316-319.

[4] Wang Y, Jiang Y. Effects of ginsenoside Rg1 and its metabolite Rb1 on the function of immunocyte in mice [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2002, 37(12): 927-929.

[5] Cummings J L. Alzheimer's disease [J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(1): 56-67.

[6] Wisniewski T, Frangione B. Immunological and anti-chaperone therapeutic approaches for Alzheimer's disease [J]. *Brain Pathol*, 2005, 15(1): 72-77.

[7] Mruthinti S, Buccafusco J J, Hill W D, et al. Autoimmunity in Alzheimer's disease; increased levels of circulating IgGs binding Abeta and RAGE peptides [J]. *Neurobiol Aging*, 2004, 25(8): 1023-1032.

[8] Ferrari E, Fioravanti M. Variability of interactions between neuroendocrine and immunological functions in physiological aging and dementia of the Alzheimer's Type [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2000, 917: 582-596.

[9] Xiao X F, Zheng M, Lou Y J, et al. Effects of icariin combined with the *Panax notoginseng* saponins on behavior and acetylcholinesterase activity induced by β -amyloid peptide₂₅₋₃₅ lateral ventricle injection in rats [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药理学), 2005, 22(3): 178-181.

[10] Liang C M, Wang X X, Dong Q, et al. A serum pharmacological study on the immunoregulatory effects of Yu Ping Feng Pulvis in mice [J]. *Shanghai J Immunol* (上海免疫学杂志), 2003, 23(6): 385-388.

[11] Shen Z Y, Chen Y. Comparative study of effect and kidney-tonifying recipe on regulatory effect of T lymphocytes apoptosis genes in corticosterone-treated rats [J]. *Chin J Immunol* (中国免疫学杂志), 2002, 18(3): 187-190.

[12] Cho J Y, Kim A R, Yoo E S, et al. Ginsenosides from *Panax ginseng* differentially regulate lymphocyte proliferation [J]. *Planta Med*, 2002, 68(6): 497-500.

川芎嗪对 rd 和 rds 小鼠视网膜光感受器细胞干预作用的光镜观察

邓新国¹, 胡世兴^{1,2}, 贾小芸¹, 张清炯¹, 罗琳¹

(1. 中山大学中山眼科中心 教育部重点实验室, 广东 广州 510060; 2. 中国中医科学院眼科医院, 北京 100040)

摘要:目的 通过 rd 和 rds 小鼠视网膜光感受器细胞的病理变化探讨盐酸川芎嗪对遗传性视网膜色素变性小鼠可能的治疗作用。方法 rd 和 rds 新生鼠各 84 只, 随机分为两组, 实验组和对照组, 每组 42 只小鼠。实验组小鼠从出生当天开始, ip 盐酸川芎嗪 80 mg/kg, 每日 2 次, 至出生后 35 d; 对照组 ip 等量生理盐水。分别于 0 d 和注射后 3、7、14、21、28、35 d 取眼球, 立即经 10% 中性甲醛固定, 光学显微镜下观察水平视网膜近赤道部位光感受器细胞的厚度。结果 病理结果显示, 经盐酸川芎嗪治疗后 14、21、28、35 d, 与未用药的对照组相比较, rd 和 rds 小鼠光感受器细胞层数明显增加 ($P < 0.01$)。结论 川芎嗪可延缓 rd 和 rds 小鼠视网膜光感受器细胞的破坏。

关键词: 川芎嗪; rd 小鼠; rds 小鼠; 光感受器细胞

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2006)06-0891-04

Interventional effect of tetramethylpyrazine on retinal photoreceptor cells of rd and rds mice by observation with light microscopy

DENG Xin-guo¹, HU Shi-xing^{1,2}, JIA Xiao-yun¹, ZHANG Qing-jiong¹, LUO Lin¹

(1. Key Laboratory of Ophthalmology, Ministry of Education, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China; 2. Eye Hospital, Chinese Academy of Chinese Medicine Sciences, Beijing 100040, China)

Abstract: Objective To determine whether tetramethylpyrazine hydrochloride has an efficacy on hereditary retinitis pigmentosa of rd and rds mice by the observation of the photoreceptor cells with light microscopy. **Methods** Eighty-four rd and rds mice were randomly divided into two groups, experimental group and control group. Each group had 42 mice. From postnatal day 0 to 35, animals in experimental

收稿日期: 2005-11-13

基金项目: 广东省中医药管理局基金资助项目 (1050178)

作者简介: 邓新国 (1961—), 男, 河南郑州市人, 副研究员、博士, 从事眼科学基础和临床研究 10 余年, 发表学术论文 40 余篇, 研究方向为视网膜变性的药物治疗研究和眼科药物的开发。Tel: (020) 87330289 E-mail: dengxg61@163.net

group received tetramethylpyrazine hydrochloride by ip 80 mg/kg twice a day, while in control group ip normal sodium in the same dose. At different time of postnatal day proper, postnatal 3, 7, 14, 21, 28, and 35 d, six mice were sacrificed with eyes being immediately enucleated and fixed in 10% formaldehyde in PBS. Routine pathologic process was done and sections were stained by hematoxylin and eosin (HE). The layer numbers of retinal photoreceptor cells at equator posterior center was counted under light microscopy. **Results** Result from light microscopy showed that the layer numbers of retinal photoreceptor cells in the tetramethylpyrazine treatment group were increased in 14, 21, 28, and 35 d in *rd* and *rd*s mice, compared with the control group ($P < 0.01$). **Conclusion** The results from light microscopy suggest that tetramethylpyrazine has a significant efficacy to the retinal photoreceptor cells of *rd* and *rd*s mice.

Key words: tetramethylpyrazine; *rd* mice; *rd*s mice; photoreceptor cell

视网膜色素变性 (retinitis pigmentosa, RP) 是一种常见的致盲性遗传视网膜疾病,以视网膜光感受器和色素上皮功能进行性受损为主要特征,至今未发现确切有效治疗 RP 的方法。目前从实验和临床上探索性治疗 RP 的方法主要有基因治疗、药物治疗、移植治疗和人工视网膜植入^[1~3]。实验和临床观察表明,我国传统和现代化中医药在该病的治疗方面显露曙光^[4,5]。本实验采用川芎嗪对遗传性 RP 动物模型 *rd* 和 *rd*s 小鼠进行药物干预研究。

1 材料与方

1.1 动物:*rd*、*rd*s 和 C3B 小鼠购自美国实验动物中心 (The Jackson Laboratory, 600 Main St., Bar Harbor, ME, USA), 在中山大学实验动物中心配种饲养,循环光照 (光照 12 h, 黑暗 12 h), 25 °C, 无菌环境下饲养。

1.2 动物分组及给药:遗传性视网膜色素变性 *rd*、*rd*s 新生小鼠和正常 C3B 新生小鼠各 84 只,随机分为 2 组,实验组和对照组,每组 42 只小鼠。从小鼠出生 0~35 d 每天称体重,实验组 ip 盐酸川芎嗪 (购自常州制药有限公司,批号为 0204002) 80 mg/kg^[5] (人用等效剂量的 2 倍),每天 2 次,9:00 和 17:00 给药。对照组 ip 等量生理盐水。分别于出生当天 (0 d) 和出生后 3、7、14、21、28、35 d 处死小鼠,摘除眼球,立即经 4% 中性福尔马林 PBS 溶液固定过夜,做病理检查 (每个时间点取 11 只眼)。

1.3 光镜观察:4% 中性福尔马林溶液固定 24 h 后,经角膜缘切开,取出晶状体,眼球放入 50% 乙醇中 1 h,常规脱水包埋 (包埋时眼球水平放置),切片、脱蜡、苏木素和伊红染色,中性树脂胶封片,光学显微镜下观察和计数近赤道中央后视网膜光感受器细胞的层数或密度,并照相。

1.4 统计学处理:采用 SPSS 统计软件, *t* 检验进行统计分析。

2 结果

2.1 对 *rd* 和 C3B 小鼠视网膜光感受器细胞层数的影响:*rd* 小鼠视网膜经 HE 染色显示,0、3 d 视网膜的外核层和内核层未分开 (约 21 层),厚度变化不大,7 d 的 *rd* 小鼠视网膜发育较为成熟,外核层和内核层已相互分离,外核层细胞层数为 (7.0 ± 0.77) 层,14 d 外核层减至 (2.14 ± 0.60) 层,21 d 外核层减至 (1.30 ± 0.37) 层,28 和 35 d 外核层减至不连续的单层,分别为 (0.77 ± 0.21) 和 (0.57 ± 0.25) 层。盐酸川芎嗪药物治疗组与对照组相比较,在 7 d,外核层的厚度无差异,14、21、28 和 36 d,外核层的厚度明显增加 ($P < 0.01$),见表 1 和图 1。C3B 小鼠外核层光感受器细胞层数于 14 d 发育成 10~11 层,盐酸川芎嗪药物治疗组与对照组相比较,各时间点外核层的厚度无明显增加 ($P > 0.05$)。结果表明,盐酸川芎嗪药物治疗可延缓 *rd* 小鼠视网膜光感受器细胞层数的减少。

2.2 对 *rd*s 小鼠视网膜光感受器细胞层数的影响:*rd*s 小鼠视网膜经 HE 染色显示,0、3 d 视网膜的外核层和内核层未分开 (约 22 层),厚度变化不大;7 d 的 *rd*s 小鼠视网膜仍在发育,但外核层和内核层已能区分,外核层光感受器细胞层数为 (9.55 ± 0.69) 层,14 d 外核层稍有增加为 (10.09 ± 0.70) 层,21 d 为 (9.00 ± 0.63) 层,28 d 为 (8.27 ± 0.65) 层和 35 d 外核层为 (7.91 ± 0.70) 层。盐酸川芎嗪

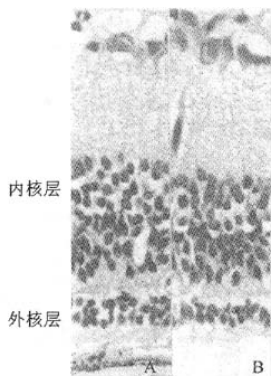
表 1 盐酸川芎嗪对 *rd* 小鼠视网膜外核层光感受器细胞层数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 11$)

Table 1 Effect of tetramethylpyrazine treatment in different times on layer numbers of retinal photoreceptor cells in *rd* mice ($\bar{x} \pm s, n = 11$)

组别	视网膜光感受器细胞层数				
	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d
川芎嗪	7.10 ± 0.83	3.59 ± 2.14*	1.64 ± 0.32*	1.07 ± 0.36*	0.84 ± 0.30**
对照	7.00 ± 0.77	2.14 ± 0.60	1.30 ± 0.37	0.77 ± 0.21	0.57 ± 0.25

与对照组比较: * $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group



A-川芎嗪组 B-对照组

A-tetramethylpyrazine group B-control group

图 1 *rd* 小鼠经盐酸川芎嗪治疗后第 14 天与对照组相比较的病理结果

Fig. 1 Comparison with pathologic result between tetramethylpyrazine treatment group and control group in *rd* mice

药物治疗组与对照组相比较,在第 7 天,外核层的光感受器细胞层数无明显变化,在 14、21、28 和 35 d,外核层光感受器细胞层数明显增加 ($P < 0.01$),见表 2 和图 2。结果显示,盐酸川芎嗪药物治疗对 *rds* 小鼠视网膜光感受器细胞层数的减少有明显的延缓作用。

表 2 盐酸川芎嗪对 *rds* 小鼠视网膜外核层光感受器细胞层数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=11$)

Table 2 Effect of tetramethylpyrazine treatment in different times on layer numbers of retinal photoreceptor cells in *rds* mice ($\bar{x} \pm s, n=11$)

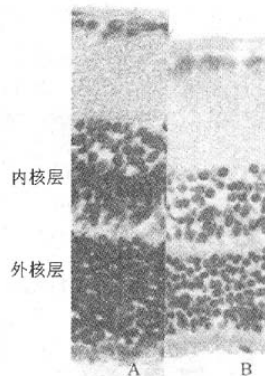
组别	视网膜光感受器细胞层数				
	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d
川芎嗪	9.91±0.54	12.00±1.00*	10.27±0.45**	9.91±0.91**	8.91±0.70**
对照	9.55±0.69	10.09±0.70	9.00±0.63	8.27±0.65	7.91±0.70

与对照组比较; ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

3 讨论

rd 和 *rds* 小鼠均是遗传性 RP 常用和经典的动物模型。*rd* 小鼠是由于 PDE6B 基因缺陷使磷酸二酯酶 (phosphodiesterase, PDE) 活性降低或完全丧失,导致光感受器外节环磷酸鸟苷 (cGMP) 的浓度持续增高,cGMP 的增高使 cGMP 门离子通道持续开放,钙离子内流增加,引起细胞内钙离子蓄积,最终导致光感受器细胞凋亡^[6]。*rds* 小鼠是由于 peripherin/RDS 基因的纯合突变,使正常的盘膜蛋白产生受限而影响外节盘膜的形成^[7]。RP 病人也存在相同的 PDE6B 和 peripherin/RDS 的基因突



A-川芎嗪组 B-对照组

A-tetramethylpyrazine group B-control group

图 2 *rds* 小鼠经盐酸川芎嗪治疗后第 35 天与对照组相比较的病理结果

Fig. 2 Comparison with pathologic result between tetramethylpyrazine treatment group and control group in *rds* mice

变^[8,9]。对 RP 动物模型的研究表明,RP 的最终共同的病理过程是视网膜光感受器细胞凋亡^[10]。

据报道,钙离子阻断剂具有抗凋亡作用,部分钙离子阻断剂可用于 RP 的治疗^[11~14]。川芎嗪 (tetramethylpyrazine) 是从伞科植物川芎中提取的一种生物碱有效成分,又名四甲基吡嗪。川芎嗪的药理作用广泛,主要作用有扩张血管、改善微循环、降低 cGMP 的量,抑制自由基的产生,提高抗氧化能力等。最近研究表明,川芎嗪具有钙离子阻断和抗凋亡作用^[15,16]等,李锦新等^[17]观察到川芎嗪可减少缺血后视网膜的细胞凋亡。前期研究结果表明,川芎嗪全身用药可有效穿过血-眼屏障,进入房水、玻璃体和视网膜组织^[18~20],这是川芎嗪发挥药理作用的重要基础。

本研究结果表明,经盐酸川芎嗪治疗后,14、21、28 和 35 d,*rd* 和 *rds* 小鼠视网膜光感受器细胞层数的减少明显延缓。这可能是川芎嗪抗凋亡作用的综合因素的结果,包括扩张血管、改善微循环、降低细胞内 cGMP 量、阻断钙离子通道等。关于川芎嗪的详细作用机制有待深入研究探讨。

References:

- [1] Kalloniatis M, Fletcher E L. Retinitis pigmentosa: understanding the clinical presentation, mechanisms and treatment options [J]. *Clin Exp Optom*. 2004, 87(2): 65-80.
- [2] Delyfer M N, Leveillard T, Mohand-Said S, et al. Inherited retinal degeneration: therapeutic prospects [J]. *Biol Cell*, 2004, 96: 261-269.
- [3] Chow A Y, Chow V Y, Packo K H, et al. The artificial silicon retina microchip for the treatment of vision loss from re-

- tinitis pigmentosa [J]. *Arch Ophthalmol*, 2004, 122(4): 460-469.
- [4] Xie L K, Li C K, Huang S K, *et al.* The study of retinitis pigmentosa and the approach of traditional Chinese medicine treatment [J]. *J Tradit Chin Ophthalmol* (中国中医眼科杂志), 1998, 8(3): 189-191.
- [5] Shi Y H, Zhou X E. Ligustrazine on rat retinal cell apoptosis and on the levels of SOD, MDA, and NO after retinal ischemia reperfusion injury [J]. *Chin J Pract Ophthalmol* (中国实用眼科杂志), 2002, 20(1): 25-27.
- [6] Bateman J B, Klisak I, Kojis T, *et al.* Assignment of the beta-subunit of rod photoreceptor cGMP phosphodiesterase gene PDEB (homolog of the mouse rd gene) to human chromosome 4p16 [J]. *Genomics*, 1992, 12: 601-603.
- [7] Ma J, Norton J C, Allen A C, *et al.* Retinal degeneration slow (rds) in mouse results from simple insertion of athaplo-type-specific element into protein-coding exon 11 [J]. *Genomics*, 1995, 28: 212-219.
- [8] Saga M, Mashima Y, Akeo K, *et al.* A novel homozygous Ile535Asn mutation in the rod cGMP phosphodiesterase beta-subunit gene in two brothers of a Japanese family with autosomal recessive retinitis pigmentosa [J]. *Curr Eye Res*, 1998, 17(3): 332-335.
- [9] Keen T J, Inglehearn C F. Mutations and polymorphisms in the human peripherin-RDS gene and their involvement in inherited retinal degeneration [J]. *Hum Mutat*, 1996, 8: 297-303.
- [10] Luthert P J, Chong N H. Photoreceptor rescue [J]. *Eye*, 1998, 12: 591-596.
- [11] Frasson M, Sahel J A, Fabre M, *et al.* Retinitis pigmentosa; rod photoreceptor rescue by a calcium-channel blocker in the rd mouse [J]. *Nat Med*, 1999, 5(10): 1183-1187.
- [12] Pasantes-Morales H, Quiroz H, Quesada O. Treatment with taurine, diltiazem, and vitamin E retards the progressive visual field reduction in retinitis pigmentosa: a 3-year follow-up study [J]. *Metab Brain Dis*, 2002, 17(3): 183-187.
- [13] Yamazaki H, Ohguro H, Maeda T, *et al.* Preservation of retinal morphology and functions in royal college surgeons rat by nilvadipine, a Ca(2+) antagonist [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002, 43(4): 919-926.
- [14] Takano Y, Ohguro H, Dezawa M, *et al.* Study of drug effects of calcium channel blockers on retinal degeneration of rd mouse [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 313(4): 1015-1022.
- [15] Guo J, Meng H, Wang L L, *et al.* Pharmacokinetic and pharmacodynamic study of Ligustrazine [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med; Nat Sci* (南京中医药大学学报:自然科学版), 2002, 18(5): 318-320.
- [16] Duan H, Li Y, Wang X P, *et al.* Effect of tetramethylpyrazine on apoptosis of myocardial cells in myocardial ischemic reperfusion in rats [J]. *Med J Chin PAPF* (武警医学), 2000, 11(2): 70-73.
- [17] Li J X, Ji Q M, Ma N F, *et al.* Effect of tetramethylpyrazine on apoptosis of retinal cells after retinal ischemia in rats [J]. *Acta Acad Med Guangzhou* (广州医学院学报), 2002, 30(1): 13-14.
- [18] Deng X G, Hu S M, Zhang Q J, *et al.* Pharmacokinetic study of tetramethylpyrazine hydrochloride in aqueous humor of rabbits following intraperitoneal injection [J]. *Chin Ophthalmol Res* (眼科研究), 2004, 22(3): 233-235.
- [19] Deng X G, Hu S M, Zhang Q J, *et al.* Pharmacokinetic of tetramethylpyrazine hydrochloride in vitreous of rabbits following intraperitoneal injection [J]. *Chin J Ophthalmol* (中华眼科杂志), 2004, 40(8): 563-564.
- [20] Deng X G, Hu S M, Zhang Q J, *et al.* A pharmacokinetic study of tetramethylpyrazine hydrochloride in retinal tissue of rabbits following intraperitoneal injection [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2004, 20(10): 1115-1118.

芦荟多糖对动物实验性胃溃疡的影响

傅继华¹, 温涛^{1*}, 徐琛², 王瑞瑞^{1*}, 孔树佳¹, 李谦¹, 谭仁祥²

(1. 中国药科大学生理教研室, 江苏南京 210009; 2. 南京大学生命科学学院, 江苏南京 210093)

摘要:目的 研究芦荟多糖对动物实验性胃溃疡的影响。方法 应用大鼠幽门结扎型胃溃疡模型、大鼠醋酸烧灼型胃溃疡模型、小鼠利血平致胃溃疡模型, 观察芦荟多糖 ig 给药对实验性胃溃疡的预防与治疗作用及对大鼠胃液、胃酸、胃黏液、胃蛋白酶分泌及活性的影响。结果 芦荟多糖对实验性胃溃疡具有明显的预防及治疗作用, 并能抑制胃液分泌、胃酸分泌及减少胃蛋白酶、胃黏液的分泌, 但对胃蛋白酶活性无明显影响。结论 芦荟多糖对动物实验性胃溃疡具有良好的预防及治疗作用, 并能抑制溃疡致病因子胃酸及胃蛋白酶的分泌。

关键词:芦荟多糖; 胃溃疡; 胃酸分泌

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)06-0894-04

收稿日期:2005-09-17

基金项目:江苏省创业基金项目(0204019)

作者简介:傅继华,男,中国药科大学副教授,硕士生导师。Tel: (025) 85339624 E-mail: fjhn@sohu.com

* 为中国药科大学 2003 届毕业实习生