

· 药理与临床 ·

## 肾衰养真胶囊对慢性肾衰竭营养不良大鼠下丘脑神经肽 Y mRNA 及原阿片黑皮素 mRNA 表达的影响

柳文晶<sup>1</sup>, 魏连波<sup>1\*</sup>, 邓 聪<sup>2</sup>, 李玉明<sup>1</sup>, 陈杰彬<sup>1</sup>

(1 南方医科大学珠江医院 中西医结合肾病中心, 广东 广州 510282;

2 广州市第一人民医院 广州市南沙中心医院, 广东 广州 510180)

**摘要:**目的 观察肾衰养真胶囊对慢性肾衰竭(CRF)营养不良大鼠下丘脑神经肽 Y(NPY) mRNA 及原阿片黑皮素(POMC) mRNA 的表达及其营养状态的影响。方法 采用含 0.5% 腺嘌呤及 4% 酪蛋白饲料联合喂养的方法制作 CRF 营养不良大鼠模型, 观察其营养不良发生时间, 符合 CRF 营养不良模型的随机分为模型组、肾衰养真胶囊组和开同组。治疗 4 周后, 检测下丘脑 NPY mRNA 和 POMC mRNA 表达水平。结果 肾衰养真胶囊组大鼠营养状况明显改善, 下丘脑的 NPY mRNA 表达上调及 POMC mRNA 表达下调。结论 肾衰养真胶囊可改善 CRF 营养不良大鼠的营养状况, 其机制可能是通过上调下丘脑 NPY mRNA 表达, 下调下丘脑 POMC mRNA 表达, 从而促进大鼠摄食。

**关键词:** 肾衰养真胶囊; 慢性肾衰竭; 营养不良; 神经肽 Y(NPY); 原阿片黑皮素(POMC)

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)03-0406-05

### Effects of Shenshuai Yangzhen Capsula on expression of neuropeptide Y mRNA and proopiomelanocortin mRNA in hypothalamus in malnutrition rats with chronic renal failure

LIU Wen-jing<sup>1</sup>, WEI Lian-bo<sup>1</sup>, DENG Cong<sup>2</sup>, LI Yu-ming<sup>1</sup>, CHEN Jie-bin<sup>1</sup>

(1. Department of Integrated Chinese and Western Medicine for Nephropathy, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, China; 2. Guangzhou First Municipal People's Hospital, Guangzhou Nansha Center Hospital, Guangzhou 510180, China)

**Abstract: Objective** To investigate the malnutrition situation in rats induced by adenine and effect of Shenshuai Yangzhen (SSYZ) Capsula, a preparation of Chinese materia medica, on expression of neuropeptide Y (NPY) mRNA and proopiomelanocortin (POMC) mRNA in the hypothalamus in malnutrition rats with chronic renal failure (CRF). **Methods** SD Rats were fed with 0.5% adenine and 4% casein to make malnutrition in CRF models. Those rats with malnutrition of CRF condition were randomly divided into CRF control group, Ketosteril group, and SSYZ Capsula group. After four weeks treatment, as indicated, the NPY mRNA and POMC mRNA expression level in the hypothalamus of rats were measured by RT-PCR. **Results** Malnutrition situation in CRF rats began changing at the end of eight week. Compared with those in the CRF group, the malnutrition situation of SSYZ Capsula group was significantly improved. The POMC mRNA expression in SSYZ Capsula group was significantly down-regulated, while the NPY mRNA expression was up-regulated. **Conclusion** SSYZ Capsula could improve the malnutrition in rats with renal insufficiency possibly by up-regulation of NPY mRNA expression and down-regulation of POMC mRNA expression in the hypothalamus, so as to make rats more food-intake.

**Key words:** Shenshuai Yangzhen (SSYZ) Capsula; chronic renal failure (CRF); malnutrition; neuropeptide Y (NPY); proopiomelanocortin (POMC)

据文献报道, 42%~77% 的终末期肾脏疾病患者发生营养不良<sup>[1]</sup>, 在维持血透患者中发生率高达

\* 收稿日期: 2008-08-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30672768); 广东省自然科学基金资助项目(06024428); 广州市科技基金资助项目(2006Z3-E5051-1); 南方医科大学开发基金资助项目(200601); 珠江医院院长基金资助项目(200302)

作者简介: 柳文晶(1974-), 女, 山西祁县人, 主治医师, 硕士, 研究方向为中医药治疗慢性肾脏疾病的机制研究。

Tel: 13247674186 E-mail: flwj@yahoo.cn

\* 通讯作者 魏连波 E-mail: weilianbo@163.com

70%<sup>[2]</sup>。目前临床治疗慢性肾衰竭 (chronic renal failure, CRF) 营养不良的药物主要是德国研制的开同, 但价格昂贵。国内尚无拥有自主知识产权治疗 CRF 营养不良的药物。肾衰养真胶囊是经魏连波教授多年临床经验研制的治疗 CRF 营养不良的协定方, 并已获得国家发明专利 (治疗慢性肾衰竭营养不良的中药及其制造工艺, 专利号: 02134502.3)。研究证明该药具有不同程度改善 CRF 营养不良的作用<sup>[3-9]</sup>。本实验采用含 0.5% 腺嘌呤及 4% 酪蛋白饲料联合喂养的方法制作 CRF 营养不良大鼠模型, 以开同为阳性对照, 研究肾衰养真胶囊对 CRF 营养不良大鼠下丘脑神经肽 Y (neuropeptide Y, NPY) mRNA 及原阿片黑皮素 (proopiomelanocortin, POMC) mRNA 表达的影响, 进一步探讨该方改善 CRF 营养不良的作用机制。

## 1 材料

1.1 实验动物: 两月龄雄性 SD 大鼠, 52 只, SPF 级, 体质量 180~220 g, 由南方医科大学实验动物中心提供, 合格证号: 粤检动字 2006B008。

1.2 受试药物: 肾衰养真胶囊由黄芪、当归、人参、大黄等药物组成, 由广东省药材公司提供, 经南方医科大学中药制剂室鉴定, 并由南方医科大学中药新药实验室按处方比例提取制成胶囊, 成药含生药 5.67 g/g, 成人用量 15 g/d, 配成 1.6 g/mL 质量浓度。开同由北京费森尤斯卡比医药有限公司提供, 批号 U1430, 规格 0.63 g/片, 成人用量 7.56~15.12 g/d, 配成 2.1 g/mL 质量浓度。

1.3 造模用试剂: 腺嘌呤购自上海东风技术生化有限公司, 批号 060708; 酪蛋白购自广东环凯微生物科技公司, 批号 200605471, 按 0.5% 腺嘌呤和 4% 酪蛋白比例配成饲料。

1.4 其他试剂: RNeasy Mini Kit 购自 Qiagen 公司; RNA PCR Kit (AMV) Ver3.0 购自 Takara 公司; 100 bp DNA Ladder Marker 购自 Tiangen 公司; DEPC 购自上海生工生物工程有限公司; RNAllocker 购自 Tiandz 公司。

## 2 方法

2.1 模型制作: 大鼠适应性饲养 1 周后, 按体质量随机选取 8 只为对照组, 其余给予含 0.5% 腺嘌呤及 4% 酪蛋白饲料喂养制作 CRF 营养不良动物模型。记录摄食量、体质量变化, 动态观察 CRF 大鼠营养不良情况。

2.2 分组和给药: 符合 CRF 营养不良模型条件<sup>[7]</sup>

的大鼠随机分为: 肾衰养真胶囊组, ig 给予肾衰养真胶囊生药 8 g/kg (在既往的实验中<sup>[8]</sup>, 该剂量为中等剂量, 结果表明为最佳有效剂量); 开同组, ig 给予开同 1 g/kg; 模型组, ig 给予蒸馏水。各组给药 4 周, 对照组不施加任何干预。

2.3 标本收集: 末次给药后禁食 12 h, 10% 水合氯醛 ip 麻醉后, 参照 Paxinos 和 Watson 的《大鼠神经解剖图谱》取下丘脑-矢状面第三脑室上缘 1 mm 和乳头体前上部的下丘脑组织, 置于经 DEPC 处理过的含 RNAllocker 液的 EP 管内, -70 °C 保存待测 NPY、POMC mRNA。

## 2.4 指标观察

2.4.1 CRF 营养不良模型: 主要观察成模的时间, 大鼠存活率, 精神状态、活动度、毛发光泽度等。

2.4.2 摄食量和体质量: 动态观察治疗前及治疗期间大鼠摄食量及体质量的变化, 由同一人同一测量工具操作。

2.4.3 下丘脑 NPY mRNA 和 POMC mRNA 水平测定: 取冻存下丘脑, 按试剂盒操作说明提取总 RNA, 用核酸蛋白定量分析仪测定其纯度和量。RT-PCR 采用两步法, 按试剂盒操作说明进行, 逆转录得到 cDNA, 再进行 PCR 扩增目的片段。根据文献及 Genbank 检索设计引物序列<sup>[7,9,10]</sup>, 内参 GAPDH, 由上海博亚生物技术有限公司合成, 见表 1。NPY 扩增条件: 94 °C、5 min, 94 °C、1 min, 60 °C、1 min, 72 °C、1 min, 35 个循环, 72 °C、5 min。POMC 扩增条件: 94 °C、5 min, 94 °C、1 min, 54 °C、1 min, 72 °C、1 min, 35 个循环, 72 °C、5 min。以上反应体系均为 50 μL。取扩增产物 6 μL 于 2% 琼脂糖凝胶电泳, 经紫外透射仪观察拍照, 在 Quantity One 凝胶成像分析软件分析各条带吸光度 (A) 值, 结果以 NPY、POMC 和 GAPDH 的比值表示。

表 1 NPY、POMC、GAPDH 的引物序列

Table 1 Primer sequence of NPY, POMC and GAPDH

名称	引物序列	片段长度/ bp
NPY	正向引物 5'-GCTAGG TAA CA AACGA ATGGGG-3'	288
	反向引物 5-CACAG TGT TAA GATGG TAAG-3'	
POMC	正向引物 5'-TAGGA TCCCGGA AGTA CGTCA TG-3'	452
	反向引物 5'-ATAAG CTG AAGAG CG TACCA GGG-3'	
GAPDH	正向引物 5'-TGCTTCTCTTG TGAACA AGTGG-3'	386
	反向引物 5'-CATTC CTG ACAA TCTTGAGG GAG-3'	

2.5 统计学处理: 采用 SPSS 11.5 统计软件进行统计分析, 实验资料结果用  $\bar{x} \pm s$  表示; 组间比较方差齐用 One-Way ANOVA, 方差不齐用 Kruskal-wallis; 两两比较方差齐用 LSD, 方差不齐用 Dun-

nett T3; 重复测量用重复测量方差分析; 治疗前后比较用配对 *t* 检验。

3 结果

3.1 CRF 营养不良模型: 造模 8 周末 32 只大鼠符合 CRF 营养不良模型<sup>[2,7]</sup>, 模型大鼠体质量(222.44±18.49)g, 与对照组(428.38±45.39)g 比较下降 20% 以上。与对照组大鼠比较, 模型组大鼠精神萎靡, 食欲减退, 体质量增加缓慢, 皮毛枯槁无光泽, 在造模第 6 周部分大鼠出现脱毛和感染, 造模期间死亡 12 只, 存活率 61.5%, 最后数据统计动物数分别为对照组 8 只, 模型组 6 只, 开同组 7 只, 肾衰养真胶囊组 7 只。

3.2 各组摄食量和体质量的变化: 治疗前模型组、开同组、肾衰养真胶囊组摄食量、体质量与对照组比较均显著降低( $P < 0.001$ )。经治疗后, 肾衰养真胶囊组大鼠体质量显著升高, 摄食量显著增加, 且随治疗时间延长呈逐步上升趋势, 并持续至治疗结束。肾衰养真胶囊组大鼠摄食量与模型组和开同组比较均显著增加( $P < 0.01, 0.001$ )。肾衰养真胶囊组大鼠体质量与治疗前比较显著升高( $P < 0.001$ ), 与模型组比较差异显著( $P < 0.01$ ), 与开同组比较差异显著( $P < 0.05$ )。开同组治疗后大鼠体质量有所升高( $P < 0.05$ ), 但摄食量无显著性变化, 与模型组比较无显著性差异( $P > 0.05$ )。结果见表 1 和图 1。

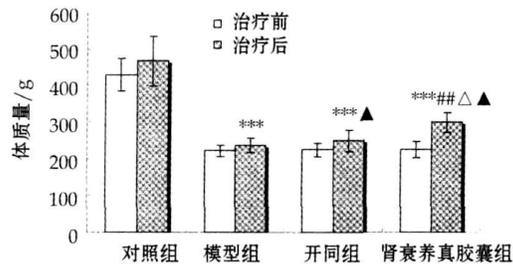
表 1 各组大鼠摄食量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of food intake of rats among various groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物/只	摄食量/(g·d <sup>-1</sup> ·只 <sup>-1</sup> )				
		治疗前	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
模型	6	15.50±1.05***	14.83±0.75***	14.67±1.03***	15.00±1.41***	15.50±0.55***
开同	7	15.57±0.98***	15.43±0.98***	15.71±0.76***	15.57±1.27***	16.00±1.16***
肾衰养真胶囊	7	15.71±1.11***	15.86±1.07***	16.29±1.11***	17.00±0.82***△△	17.57±0.98***△△△
对照	8	20.63±0.92	20.75±0.46	21.00±0.76	21.13±1.13	21.63±1.30

与对照组比较: \*\*\* $P < 0.001$ ; 与模型组比较: △△ $P < 0.01$  △△△ $P < 0.001$

\*\*\* $P < 0.001$  vs control group; △△ $P < 0.01$  △△△ $P < 0.001$  vs model group



与对照组比较: \*\*\* $P < 0.001$ ; 与模型组比较: ## $P < 0.01$ ; 与开同组比较: △ $P < 0.05$ ; 与本组治疗前比较: ▲ $P < 0.05$

\*\*\* $P < 0.001$  vs control group; ## $P < 0.01$  vs model group; △ $P < 0.05$  vs Ketosteril group; ▲ $P < 0.05$  vs pretreatment of same group

图 1 各组大鼠体质量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

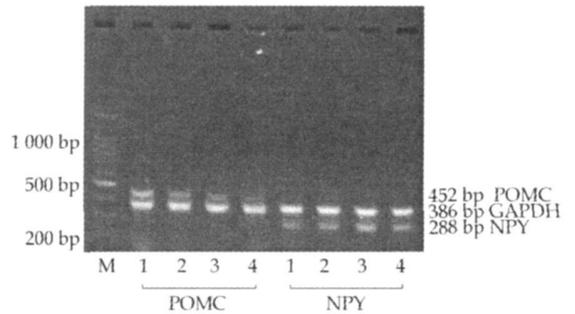
Fig. 1 Comparison of body weight of rats among various groups ( $\bar{x} \pm s$ )

3.3 各组大鼠下丘脑 NPY mRNA 的表达: 造模后, 各组大鼠下丘脑 NPY mRNA 相对表达量与对照组比较显著下降( $P < 0.01, 0.001$ )。肾衰养真胶囊组 NPY 条带明显比模型组和开同组明亮, NPY mRNA 相对表达量与模型组和开同组比较显著增强( $P < 0.001$ )。开同组与模型组比较无统计学意义( $P > 0.05$ )。见图 2 和 3。

3.4 各组大鼠下丘脑 POMC mRNA 的表达: 造模后, 造模大鼠 POMC mRNA 相对表达量显著高于对照组 ( $P < 0.05, 0.001$ )。肾衰养真胶囊组 POMC mRNA 相对表达量显著低于模型组 ( $P < 0.001$ ), 与开同组比较有显著性差异 ( $P < 0.01$ ), 电泳图见条带亮度降低。开同组与模型组比较无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 2 和 4。

4 讨论

CRF 营养不良是临床常见的重要并发症, 直接关系到 CRF 患者的生存率及死亡率<sup>[1]</sup>。引起



1-模型组 2-开同组 3-肾衰养真胶囊组

4-对照组 M-标准 (1 000 bp)

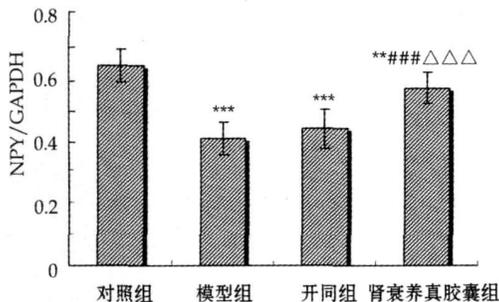
1-model group 2-Ketosteril group 3-SSYZ group

4-control group M-Marker (1 000 bp)

图 2 各组大鼠下丘脑 NPY mRNA、POMC mRNA 表达情况

Fig. 2 Expression of NPY mRNA and POMC mRNA in hypothalamus of rats in various groups

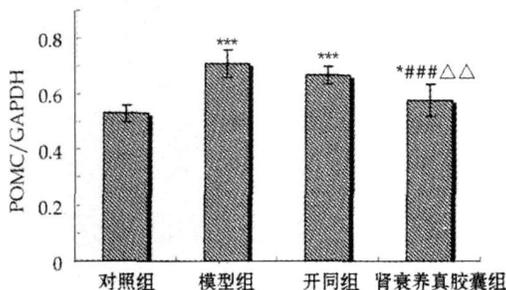
对照组 ( $P < 0.05, 0.001$ )。肾衰养真胶囊组 POMC mRNA 相对表达量显著低于模型组 ( $P < 0.001$ ), 与开同组比较有显著性差异 ( $P < 0.01$ ), 电泳图见条带亮度降低。开同组与模型组比较无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 2 和 4。



与对照组比较: \*\*  $P < 0.01$  \*\*\*  $P < 0.001$ ; 与模型组比较: ###  $P < 0.001$ ; 与开同组比较:  $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$   
 \*\*  $P < 0.01$  \*\*\*  $P < 0.001$  vs control group; ###  $P < 0.001$  vs model group;  $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$  vs Ketosteril group

图 3 各组大鼠下丘脑 NPY mRNA 相对表达量比较

Fig. 3 Comparison of relative expression of NPY mRNA and GAPDH mRNA in hypothalamus of rats among various groups



与对照组比较: \*  $P < 0.05$  \*\*\*  $P < 0.001$ ; 与模型组比较: ###  $P < 0.001$ ; 与开同组比较:  $\Delta\Delta P < 0.01$   
 \*  $P < 0.05$  \*\*\*  $P < 0.001$  vs control group; ###  $P < 0.001$  vs model group;  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs Ketosteril group

图 4 各组大鼠下丘脑 POMC mRNA 相对表达量比较

Fig. 4 Comparison of relative expression of POMC mRNA in hypothalamus of rats among various groups

CRF 营养不良的病因学复杂, 如尿毒素、炎症因子等在体内的积聚引起的恶心呕吐、食欲不振, 导致蛋白能量摄入不足; 能量营养物质的丢失; 能量消耗增加; 肝、肾代谢功能障碍; 激素紊乱等<sup>[12]</sup>。其中由厌食导致的摄食减少和能量消耗增加是其主要原因之一<sup>[13]</sup>。近年发现调节食欲的神经多肽激素的变化与 CRF 营养不良食欲减退之间可能有关。下丘脑是调节食欲的中枢, 内存着复杂的“食欲调节网络”(appetite regulation network, ARN)<sup>[14]</sup>。ARN 通过各种食欲调节因子(包括食欲促进因子和食欲抑制因子)的信号传递作用, 对食欲进行调节。NPY 是 ARN 中主要的食欲促进因子<sup>[15]</sup>, 可强烈刺激食欲, 迄今已鉴定 NPY 受体有 6 种类型, 其中 Y1、Y5 受体与 NPY 诱发摄食相关。NPY 广泛分布于中枢神经系统和外周组织, 在中枢神经系统的 NPY

是一个天然存在的食欲信息传递因子<sup>[16]</sup>, 具有明显的促进食欲作用。POMC 是一类神经肽的前体分子, 经转录后加工可形成促黑皮质素(melanocortins, MC), 其为一类激素的总称, 包括  $\alpha$ -促黑素细胞激素( $\alpha$ -melanocytostimulating hormone,  $\alpha$ -MSH)、 $\beta$ -内啡肽等。MC 参与摄食的调节, 目前已发现的 MC 受体(melanocortin receptor, MCR)有 5 种, 其中 MC4R 与调节食欲相关。 $\alpha$ -MSH 是 MC/MCR 系统中重要的代表性激素, 研究已证实  $\alpha$ -MSH 可通过激动 MC4R 强烈抑制食欲, 具有抑制摄食、增加能量的作用<sup>[14]</sup>, 是 ARN 中主要的食欲抑制因子。

本实验采用含 0.5% 腺嘌呤及 4% 酪蛋白饲料联合喂养的方法制作 CRF 营养不良大鼠模型, 动态观察摄食量及体质量的变化, 待造模组体质量与对照组比较下降 20% 时, 即作为 CRF 营养不良的动物模型, 十分切中临床。本实验结果显示, 治疗 4 周后, 肾衰养真胶囊组大鼠摄食量随治疗时间的延长逐渐增加, 体质量增加, 与模型组和开同组比较差异均有显著性。肾衰养真胶囊可上调 CRF 营养不良模型大鼠下丘脑 NPY mRNA 表达量; 下调 CRF 营养不良模型大鼠下丘脑 POMC mRNA 表达量。提示肾衰养真胶囊可能是通过上调下丘脑 NPY mRNA 表达和下调下丘脑 POMC mRNA 表达, 从而起到促进摄食, 增加能量物质的摄入, 改善 CRF 营养不良的作用。

CRF 营养不良属于中医的“关格”、“虚劳”等范畴。其病机为脾肾衰败, 气血亏虚, 湿浊中阻。关键在脾。脾主运化水谷精微、化生气血, 若脾气衰败, 运化无力, 不能化生气血, 则可导致气血虚损, 故有“脾为后天之本, 气血生化之源”之说。脾的运化也包括胃主受纳的功能, 脾胃亏虚, 则出现纳呆、食欲减退、恶心呕吐。虽然人体有病, 若能维持正常的饮食, 则可依靠人体的正气抗邪, 即所谓“有胃气则生, 无胃气则死”。这与 CRF 不能进食所需要的营养, 出现营养不良, 厌食、免疫功能低下、频发感染, 最后导致多脏器衰竭死亡是一致的。肾衰养真胶囊由黄芪、当归、大黄、人参等药物组成。方中黄芪、人参, 补肺脾之气以富元, 当归, 益血和营以生血, 三者共奏补气生血之效。大黄通腑降浊, 即防人参、当归壅滞, 又佐人参、当归之温。使该方攻补兼施, 标本同治, 共奏益气养血泻浊之功。

参考文献:

[1] Abraham G, Varsha P, Mathew M, et al. Malnutrition and

- nutritional therapy of chronic kidney disease in developing countries; the Asian perspective [J]. *Adv Ren Replace Ther*, 2003, 10(3): 213-221
- [2] Cooper B A, Aslani A, Ryan M, *et al*. Nutritional state correlates with renal function at the start of dialysis [J]. *Perit Dial Int*, 2003, 23(3): 291-299
- [3] 魏连波, 吕瑞和, 马志刚. 人参养荣汤对慢性肾功能衰竭营养不良鼠模型的治疗作用 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2000, 1(1): 18-20
- [4] 黄琳, 魏连波, 耿穗娜, 等. 肾衰养真胶囊对慢性肾衰竭大鼠蛋白质营养不良及 IGF-1 基因表达的影响 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2004, 5(6): 319-325
- [5] 袁钢, 魏连波, 李玉明, 等. 肾衰养真胶囊对肾衰贫血大鼠及 EPO 基因表达的影响 [J]. 中成药, 2005, 27(7): 836-838
- [6] 邓聪, 魏连波, 龚春水. 肾衰养真胶囊对腺嘌呤致 CRF 营养不良模型大鼠营养状态的影响 [J]. 中成药, 2008, 30(3): 333-336
- [7] 魏连波, 刘冠贤, 叶任高. 肾脏病临床备要 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997
- [8] 黄琳, 魏连波, 耿穗娜, 等. 肾衰养真胶囊治疗慢性肾衰竭大鼠低白蛋白血症 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2004, 14(11): 687-690
- [9] Liu M, Shen L, Doi D, *et al*. Neuropeptide Y and Lipid increase apolipoprotein AIV gene expression in rat hypothalamus [J]. *Brain Res*, 2003, 971(2): 232-238
- [10] Byronn L, Grauerholz, Jill D, *et al*. Detection of proopiomelanocortin mRNA in human and rat caudal medulla by RT-PCR [J]. *Peptides*, 1998, 19(5): 938-948
- [11] Djukanovic L, Lezaic V, Blagojevic R, *et al*. Co-morbidity and kidney graft failure-two main causes of malnutrition in kidney transplant patients [J]. *Nephro Dial Transplant*, 2003, 18: 68-70
- [12] 叶任高, 郑智华. 要重视腹膜透析患者的营养状态 [J]. 新医学, 2003, 34(10): 597-598
- [13] Cooper B A, Aslani A, Ryan M, *et al*. Nutritional state correlates with renal function at the start of dialysis [J]. *Perit Dial Int*, 2003, 23(3): 291
- [14] Kalra S P. Appetite and body weight regulation: is it all in the brain? [J]. *Neuron*, 1997, 19(2): 227-230
- [15] Kalra S P, Kalra P S. Is neuropeptide Y a naturally occurring appetite transducer? [J]. *Curr Opin Endocrinol Diab*, 1996, 3: 157
- [16] Pritchard L E, Oliver R L, Mcloughlin J D, *et al*. Proopiomelanocortin-derived peptides in rat cerebrospinal fluid and hypothalamic extract: evidence that secretion is regulated with respect to energy balance [J]. *Endocrinology*, 2003, 144: 760

## 中药复方金思维对 APPV717I 转基因小鼠海马神经损伤的保护作用

张雷明<sup>1,3</sup>, 田金洲<sup>1\*</sup>, 尹军祥<sup>1</sup>, 时晶<sup>1</sup>, 王蓬文<sup>1</sup>, 王蓉<sup>2</sup>, 胡泉<sup>1</sup>, 任映<sup>1</sup>

(1 北京中医药大学东直门医院老年医学研究所, 北京 100700; 2 首都医科大学宣武医院, 北京 100053; 3 烟台大学药学院, 山东烟台 264005)

**摘要:**目的 研究中药复方金思维对 APPV717I 转基因小鼠海马神经损伤的保护作用。方法 将 3 月龄的 APPV717I 转基因小鼠随机分为模型组、多奈哌齐治疗组 (0.92 mg/kg), 金思维小、中、大剂量 (0.075、0.15、0.3 g/kg) 治疗组, 并以同月龄遗传背景相同的 C57BL/6J 小鼠作为正常对照组, 每组 6 只, 每天 ig 给药 1 次。给药 8 个月后 (11 月龄) 用 Morris 水迷宫进行行为学测试, 用电镜观察海马 CA1 区超微结构变化, 同时用免疫组化方法观察海马 CA1 区 Shank1 蛋白的表达变化。结果 行为学检测显示, 金思维治疗组与模型组相比逃避潜伏期显著缩短 ( $P < 0.05$ ), 目标象限游泳时间明显延长 ( $P < 0.05, 0.01$ ), 并且与对照组比较无显著差异。海马超微结构显示, 模型组小鼠海马 CA1 神经元出现明显变性、坏死, 突触结构不完整, 数量明显减少。而金思维各剂量组与模型组相比, 剂量依赖性的减轻神经元变性、坏死, 增加突触的数目。突触相关蛋白 Shank1, 模型组小鼠海马 CA1 区 Shank1 阳性细胞总数、总面积以及阳性细胞积分吸光度与对照组相比明显减少 ( $P < 0.05, 0.01$ ), 而金思维治疗组与模型组相比能显著提高 Shank1 阳性细胞总数、总面积以及阳性细胞积分吸光度 ( $P < 0.05, 0.01$ )。结论 金思维能明显改善 APPV717I 转基因小鼠海马神经损伤, 增加突触相关蛋白 Shank1 的表达, 进而改善了 APPV717I 转基因小鼠的学习记忆能力。

**关键词:** 复方金思维; APPV717I 转基因小鼠; 突触; Shank1

**中图分类号:** R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2009)03-0410-06

\* 收稿日期: 2008-05-09  
基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30672693, 30772288); 北京市自然科学基金重点项目 (7071005); 国家重点基础研究发展计划 ("973" 计划) 项目 (2003CB517104); 教育部 111 工程 (B08006)

作者简介: 张雷明 (1976-), 男, 山东邹平县人, 北京中医药大学在读博士, 烟台大学药学院讲师, 主要研究方向为中药药理。

Tel: (0535) 6706030-8022 E-mail: zlm21st@yahoo.com.cn

\* 通讯作者 田金洲 Tel: (010) 84013380