

- 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, 耿德娜, 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, 耿德娜, 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] Byrnonn L, Grauerhol Z, 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 APPV717 转基因小鼠海马神经损伤的保护作用

张雷明^{1,3}, 田金洲^{1*}, 尹军祥¹, 时晶¹, 王蓬文¹, 王蓉², 胡泉¹, 任映¹

(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 APPV717 转基因小鼠海马神经损伤的保护作用。方法 将 3 月龄的 APPV717 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 (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 APPV717 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 APPV717 转基因小鼠的学习记忆能力。

关键词: 复方金思维; APPV717 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

Protection of Compound JSW prescription on nerve injury in hippocampal area of APPV717 transgenic mice

ZHANG Lei-ming^{1,3}, TIAN Jin-zhou¹, YIN Jun-xiang¹, SHI Jing¹, WANG Peng-wen¹,
WANG Rong², HU Quan¹, REN Ying¹

(1. Institute of Geriatrics, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China;

2. Xuanwu Hospital, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100053, China;

3. School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264005, China)

Abstract : Objective To investigate the protection of Compound JSW prescription on nerve injury of in the hippocampal area the APPV717 transgenic mice. **Methods** Three-month-old APPV717 transgenic mice (30) were randomly divided into three groups by ig administration of Compound JSW prescription at doses of 0.075, 0.15, or 0.3 g/kg/d, a group by ig administration of Donepezil at dose of 0.92 mg/kg/d, an APPV717 transgenic model group, and a normal group by ig administration of distilled water. APPV717 transgenic mice were administered with Compound JSW prescription for eight months. The spatial memory ability was measured in Morris water maze. The nerve injury in the hippocampal CA1 region was observed by electronic microscopy. The number of Shank1 positive cells, total area covered by Shank1, and integral optical density in CA1 subfield within the hippocampus were determined using immunohistochemical stains and Image-Pro plus analysis. **Results** After eight-month treatment with Compound JSW prescription, the mean escape latency period was significantly shortened ($P < 0.05$), and the target quadrant swimming time was significantly lengthened ($P < 0.05$ and 0.01) compared to the APPV717 transgenic model mice. The ultrastructure of hippocampal CA1 region showed Compound JSW prescription ameliorated the denaturation and necrosis of neurons and increased the amount of nerve synapse with integral structure. Furthermore, the number of Shank1 positive cells, total area covered by Shank1 and their integral optical density in the hippocampal CA1 area of the APPV717 transgenic mice treated with Compound JSW prescription were significantly increased more than those of the APPV717 transgenic model mice ($P < 0.05$ and 0.01). **Conclusion** Compound JSW prescription could ameliorate the nerve injury and increase the expression of Shank1 in CA1 subfield within hippocampus, and this might lead to the development of novel treatment for the memory loss of APPV717 transgenic mice suffered from Alzheimer's disease.

Key words: Compound JSW prescription; APPV717 transgenic mice; synapse; Shank1

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种严重危害老年人身体健康的中枢神经系统退行性疾病,目前病因还不完全清楚,其中淀粉样蛋白 (β -amyloid protein, A β) 级联学说占主导地位。该学说认为 A β 在神经元周围沉积形成老年斑 (postsynaptic density, SP), 进而促发炎症级联反应,最终导致神经元与突触损伤,出现痴呆^[1]。越来越多的实验研究已证实了这一观点。

复方金思维 (JSW) 由人参茎叶皂苷、淫羊藿黄酮苷等中药提取物组合而成,具有补气益肾、化痰活血的功效。前期研究表明,金思维能够促进脑内注射 A β 模型大鼠海马 PSD95 或 Shank1 的表达^[2],提示可能对 A β 致神经损伤有保护作用,但是缺乏形态学的有力证据。因此本实验进一步采用了国际上公认 APP 转基因小鼠模型,通过电镜、免疫组化等方法观察 APPV717 转基因小鼠海马的神经损伤情况以及金思维的保护作用,从而为其治疗

AD 提供有力的证据。

1 材料与方法

1.1 实验动物:3 月龄 APPV717 转基因小鼠 30 只 (雌雄各半),购自中国医学科学院实验动物研究中心 [许可证编号:SCXK(京)2004-0001],同时购买同月龄同背景 C57BL/6J 小鼠 6 只 (雌雄各半) 作为正常对照。所有小鼠均饲养于北京中医药大学东直门医院药理实验中心屏障环境实验动物室 [许可证编号:SCXK(京)2004-0009]。

1.2 药品、试剂及主要仪器:金思维主要由人参茎叶皂苷 (35%)、淫羊藿黄酮苷 (35%) 等组成,河南宛西制药有限公司提供,使用时用双蒸水配制成质量浓度 7.5、15、30 mg/mL,备用。盐酸多奈哌齐购自卫材(中国)药业有限公司 (批号 060307A),使用时研磨粉碎,用双蒸水溶解配制成质量浓度 0.092 mg/mL。抗体:兔 Shank1 抗体、免疫组化用 VECTASTAIN^R ABC 检测试剂盒 (美国 VECTOR 公

司)均由北京中杉金桥生物技术有限公司提供。CM1900 冰冻切片机,LEICA 公司。EM208s 电镜, Philips 公司。

1.3 分组与给药:将 APPV717 转基因小鼠 30 只随机分为模型组、多奈哌齐组 (0.92 mg/kg)、金思维小、中、大剂量 (0.075、0.15、0.3 g/kg) 组,每组 6 只;同月龄遗传背景相同的 C57BL/6J 小鼠 6 只作为对照组。各组 ig 给药,每日 1 次。在给药 8 个月后进行行为学检测。

1.4 Morris 水迷宫实验

1.4.1 定位航行试验:每天训练 2 次,每次 120 s,共 5 d。从平台所在象限的相邻象限中选择一个入水点,将动物面向池壁放入水中,记录动物寻找并爬上平台所需时间即逃避潜伏期。如果动物在 120 s 内未找到平台,则由实验者将其引至平台停留 20 s,逃避潜伏期记为 120 s。

1.4.2 空间搜索试验:第 6 天撤除平台,任选一个入水点将动物放入水中,动物在水中游泳 120 s,测量 120 s 内动物在目标象限(原平台所在象限)游泳时间,并以目标象限游泳时间与总游泳时间的比值作为观测指标。

1.5 电镜观察:水迷宫实验结束后,每组小鼠各取 1 只,按 400 mg/kg 剂量 ip 10% 水合氯醛麻醉小鼠,仰卧固定,剪开胸腹充分暴露心脏和肝脏。剪开左侧心尖部,迅速插导管于左心室至升主动脉并固定,同时剪开右心耳,快速灌注生理盐水 100 mL 至肝脏完全变白,右心耳流出澄清液体后,换用 4% 多聚甲醛固定液灌注 100 mL 至小鼠肝脏变硬,肢体僵直。取海马 CA1 区脑组织,切成 1 mm³ 组织块投入电镜固定液内固定 2 h 后,磷酸缓冲液 (pH 7.2) 冲洗 3 次,1% 锇酸固定 2 h,双蒸水冲洗 3 次,梯度乙醇脱水,环氧丙烷置换 2 次,环氧树脂 Epon812 浸透包埋,修整后,半薄切片 (1 μm),天青美蓝染色,普通光镜下定位,超薄切片,在 Philips EM208s 透射电镜下观察海马 CA1 区超微结构变化并拍照。

1.6 免疫组化染色:水迷宫实验结束后,每组小鼠各取 5 只,按 1.5 项方法行 4% 多聚甲醛灌注固定,取出鼠脑投入 20% 蔗糖多聚甲醛固定液中固定,至脑下沉后进行冰冻切片。脑片厚度 40 μm,按照试剂盒说明书用漂浮法进行 Shank1 免疫组化染色。主要步骤包括:先用 PBST 洗涤 3 次,每次 5 min;吸干后加入 3% 过氧化氢处理 15 min,蒸馏水洗 3 次,PBST 洗 3 次,每次 5 min;吸干后加入 5%

山羊血清室温下封闭 30 min;吸干加入兔 Shank1 抗体 (1:4 000),孵育过夜 (4 h);PBST 漂洗后,加入生物素结合的羊抗兔 IgG 二抗 (1:200) 孵育 2 h,PBST 漂洗后加入卵白素-辣根过氧化酶复合物 (1:100) 孵育 2 h (室温)。PBST 漂洗后进行 DAB 显色,自来水终止,贴片晾干,二甲苯透明,中性树胶封片。

1.7 免疫组化定量分析:每只动物取相同位置脑片,在 10 倍物镜下观察 CA1 区内 Shank1 阳性表达情况。并以 Image-pro Plus 图像分析系统采集图像和分析,记录每组图像 Shank1 阳性细胞总数、总面积和积分吸光度。

1.8 统计学处理:所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用统计软件 SPSS 11.0 进行统计分析,组间数据比较用单因素方差分析 (One-Way ANOVA)。

2 结果

2.1 空间学习记忆能力

2.1.1 定位航行实验:各组小鼠的逃避潜伏期随训练次数增加均呈下降趋势。第 3 天模型组小鼠的逃避潜伏期与对照组相比明显延长 ($P < 0.05$);金思维大剂量组与模型组相比逃避潜伏期显著缩短 ($P < 0.05$),并且接近正常水平 ($P > 0.05$);而金思维小、中剂量组与模型组比较未见显著差异。第 4、5 天,模型组小鼠的逃避潜伏期与对照组相比进一步延长 ($P < 0.01$),金思维中、大剂量组以及多奈哌齐组与模型组相比逃避潜伏期显著缩短 ($P < 0.05$),并且接近正常水平 ($P > 0.05$)。金思维各剂量组之间以及与多奈哌齐组比较无显著差异 ($P > 0.05$),结果见表 1。

2.1.2 空间探索实验:第 6 天撤除平台后,模型组目标象限游泳时间占整个游泳时间的比值与对照组相比明显缩短 ($P < 0.05$)。金思维中、大剂量组以及多奈哌齐组与模型组相比目标象限游泳时间比值明显延长 ($P < 0.05, 0.01$),并且都接近正常水平 ($P > 0.05$);而金思维小剂量组与模型组比较未见显著差异。金思维各剂量组之间以及与多奈哌齐组比较无显著差异 ($P > 0.05$),结果见表 1。

2.2 超微结构的变化:以铜网为界,每个标本随机选取 5 个视野进行镜下观察,结果发现 神经元:对照组小鼠海马 CA1 神经元胞体大多边界清晰、完整,胞内细胞器基本正常。而模型组小鼠海马 CA1 神经元出现明显变性(细胞核肿胀、染色质浓缩边集、核仁皱缩变形)及坏死(细胞核固缩、碎裂、溶解,核仁消失);线粒体肿胀,体积增大,形状变圆,嵴

肿胀变短,数目减少,内部结构模糊不清;粗面内质网脱颗粒,内质网扁囊扩张变形,排列紊乱,核糖体颗粒显著减少。而金思维各剂量组与模型组相比,神经元变性明显减轻,坏死较少见;线粒体仅出现轻度肿胀现象,嵴清晰可见;内质网排列整齐,脱颗粒现象少见。而且金思维各剂量组呈现剂量依赖性改

善作用,即随着剂量增大,保护作用越显著。结果见图 1。突触:对照组小鼠海马 CA1 区神经毡中突触结构清晰,数目较多;而模型组小鼠突触结构不完整,数量明显减少;而金思维各剂量组剂量依赖性地对突触有显著保护作用,数目较模型组明显增多,结果见图 2。

表 1 复方金思维对 APPV717 转基因小鼠空间学习记忆能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effect of Compound JSW prescription on spatial learning ability of APPV717 transgenic mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	逃避潜伏期/s					游泳时间比值/%
		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	
对照	-	76.9 ± 29.7	65.8 ± 17.0	53.6 ± 15.6	44.1 ± 16.8	40.3 ± 13.8	33.6 ± 8.3
模型	-	98.4 ± 18.1	88.2 ± 28.7	82.5 ± 27.1	79.0 ± 19.6	76.5 ± 21.0	21.5 ± 7.7
多奈哌齐	0.92	74.8 ± 23.9	66.2 ± 30.4	57.2 ± 19.4	50.9 ± 18.4*	46.3 ± 17.8*	37.5 ± 10.7*
金思维	75	82.2 ± 22.8	76.2 ± 30.6	63.7 ± 20.0	57.3 ± 20.1	55.7 ± 25.8	31.8 ± 9.8
	150	78.3 ± 30.0	70.7 ± 17.6	56.3 ± 23.9	52.6 ± 20.5*	51.1 ± 13.9*	40.1 ± 13.3*
	300	80.9 ± 23.4	68.5 ± 26.0	49.3 ± 22.6*	49.0 ± 21.4*	43.4 ± 16.5*	41.5 ± 13.1**

与模型组比较: * P < 0.05 ** P < 0.01 与对照组比较: P < 0.05 P < 0.01

* P < 0.05 ** P < 0.01 vs model group; P < 0.05 P < 0.01 vs control group

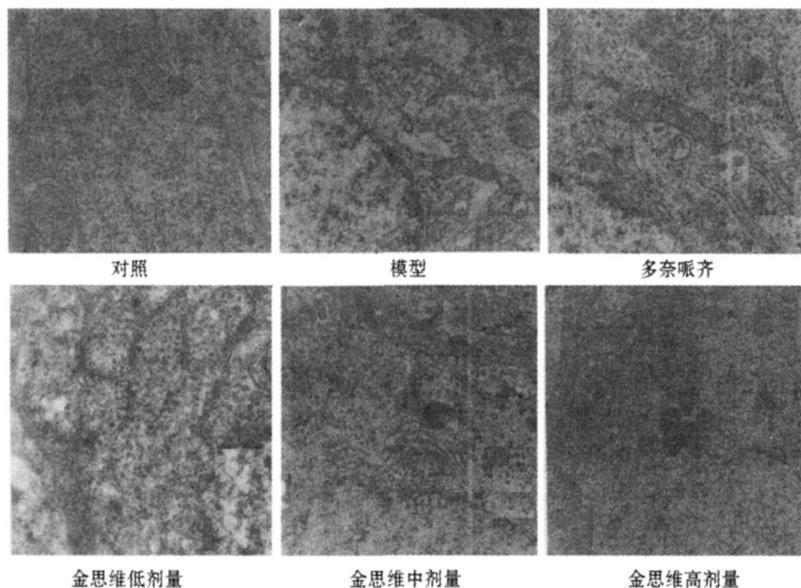


图 1 海马 CA1 区神经元超微结构

Fig. 1 Ultrastructure of neuron in CA1 subfield within hippocampus

2.3 Shank1 的表达:用 Shank1 抗体对 APP 转基因小鼠脑片进行免疫组化染色后,各组小鼠海马 CA1 区均可见阳性反应物。模型组 Shank1 阳性细胞总数较对照组显著减少 ($P < 0.01$),金思维中、大剂量组 Shank1 阳性细胞总数与模型组比较显著增加 ($P < 0.05$)。模型组 Shank1 阳性细胞总面积较对照组明显减少 ($P < 0.05$);金思维各剂量组 Shank1 阳性细胞总面积与模型组比较明显增加 ($P < 0.05, 0.01$),并且与对照组比较无显著差异 ($P > 0.05$)。模型组 Shank1 阳性细胞积分吸光度较对照组明显减小 ($P < 0.05$),金思维中、大剂量组 Shank1 阳性细胞积分吸光度与模型组比较明显增

加 ($P < 0.01$),金思维小剂量组与模型组比较未见显著差异 ($P > 0.05$)。结果见表 2。

3 讨论

AD 是一种以进行性认知功能障碍和记忆力损害为主的中枢神经系统变性疾病,其典型的神经病理改变为 SP、神经原纤维缠结 (neurofibril tangle, NFT)、神经元与突触的损伤。近年来,越来越多的研究证明,作为 SP 的核心成分,A 可以引起氧化应激、Ca²⁺ 内流,进而损伤线粒体,导致神经细胞产能障碍,激活凋亡相关蛋白和因子,最终启动细胞的凋亡过程^[3,4]。另外,A 还可以通过引起脑内炎症反应和 NFT 间接导致神经元凋亡,突触大量丢失,从

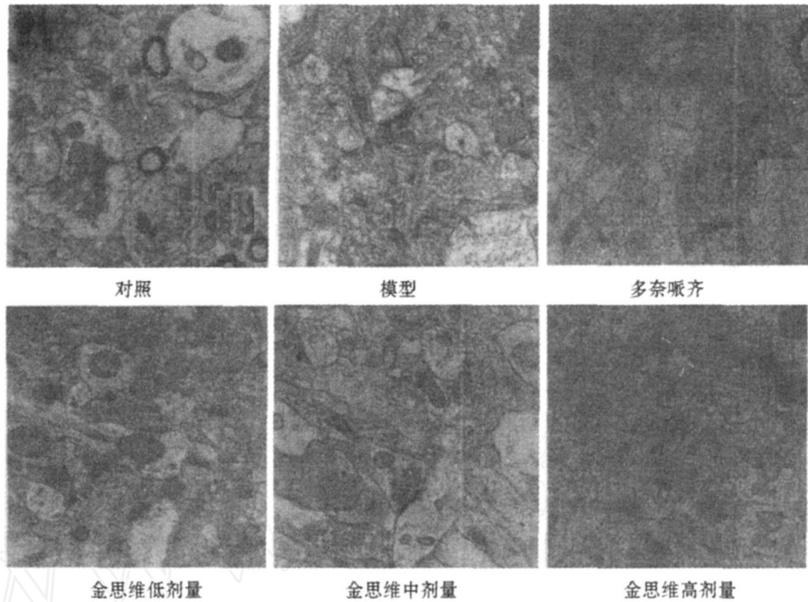


图 2 海马 CA1 区突触超微结构

Fig. 2 Ultrastructure of synapse in CA1 subfield within hippocampus

表 2 复方金思维对 APPV717 转基因小鼠海马 CA1 区 Shank1 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

Table 2 Effect of Compound JSW prescription on Shank1 expression in CA1 of APPV717 transgenic mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	阳性细胞数	阳性细胞总面积	积分吸光度
对照	-	19.0 ± 3.4	9023.2 ± 2133.3	211.2 ± 57.6
模型	-	10.6 ± 4.0	5522.6 ± 1519.6	120.8 ± 31.6
多奈哌齐	0.92	11.2 ± 3.6	5315.8 ± 1622.1	139.4 ± 41.5
金思维	75	14.8 ± 5.1	7885.0 ± 1276.1*	158.0 ± 43.2
	150	19.2 ± 6.06*	9221.6 ± 1497.7**	197.5 ± 35.5**
	300	20.6 ± 6.02*	9926.2 ± 1632.6**	217.3 ± 40.3**

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

与对照组比较: $P < 0.05$ $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

$P < 0.05$ $P < 0.01$ vs control group

而出现学习记忆障碍等痴呆的表现^[5,6]。

基于以上理论,目前许多新药的开发也倾向于神经保护方面。然而在筛选药物时选择一个合适的动物模型显得非常重要。APP 转基因小鼠模型为国际上研究 AD 发病机制以及药物开发的经典模型。本实验采用的中国医学科学院开发的 APPV717 转基因小鼠,一般在 4~6 月龄就出现空间学习记忆能力下降,10 月龄开始出现明显的淀粉样沉积以及神经损伤^[7-9]。因此本实验采用 3 月龄的 APPV717 转基因小鼠给药 8 个月后进行 AD 神经损伤的研究是合理的。

本实验结果显示,随着游泳训练次数的增加,金思维能明显缩短 APPV717 转基因小鼠的逃避潜

伏期以及延长在目标象限的游泳时间,并且接近正常水平。电镜超微结构发现,模型组小鼠海马 CA1 神经元出现明显变性及坏死,突触结构不完整,数量明显减小;而金思维各剂量组与模型组相比,神经元变性明显减轻,坏死较少见;线粒体仅出现轻度肿胀现象,嵴清晰可见;内质网排列整齐,脱颗粒现象少见;突触数目较模型组明显增多。而且金思维各剂量组呈现剂量依赖性改善作用,即随着剂量增大,保护作用越显著。

此外,本实验进一步对突触相关蛋白 Shank1 进行了研究。Shank 蛋白家族是一种在细胞信号传导中起重要作用的蛋白。主要有 3 个成员:Shank1、Shank2、Shank3。其中 Shank1 主要表达于脑组织。Shank 分子含有多个蛋白结合位点,如 ankyrin、SH3、PDZ 结构域、脯氨酸富集区和 SAM 结构域,它通过分子中 PDZ 结构域连接 PSD-95 相关蛋白 GKAP 的 C 末端,或将膜 NMDA 受体与细胞骨架联系,或通过细胞内 Homer 蛋白与 mGluR 发生作用^[10]。因此,Shank 蛋白是突触后蛋白网络的核心部份,在神经元突触发育、突触后膜受体锚定及细胞间信号传递中发挥关键作用。本实验研究发现,金思维中、大剂量组小鼠海马 CA1 区 Shank1 阳性细胞总数、阳性细胞总面积与阳性细胞积分吸光度和模型组比较均明显增加 ($P < 0.05, 0.01$),并且与对照组比较无显著差异。提示金思维对海马 CA1 区突触相关蛋白 Shank1 有保护作用。这也与前期的实验结果相一致^[2]。

综上所述,金思维能明显改善 APP 转基因小鼠海马 CA1 区神经元与突触的损伤,能提高突触相关蛋白 Shank1 的表达。为金思维开发成为治疗 AD 的新药提供了新的思路。然而金思维对神经损伤保护作用的深入机制还不清楚,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Hardy J A, Higgins G A. Alzheimer s disease: the amyloid cascade hypothesis [J]. *Science*, 1992, 256(5054): 184-185.
- [2] 徐 意,田金洲,盛树力,等. 金思维对老年性痴呆模型大鼠突触后致密区蛋白的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2006, 26(1): 54-57.
- [3] Nelson T J, Alkon D L. Oxidation of cholesterol by amyloid precursor protein and γ -amyloid peptide [J]. *Biol Chem*, 2005, 280(8): 7377-7387.
- [4] Hashimoto M, Rockenstein E, Crews L, et al. Role of protein aggregation in mitochondrial dysfunction and neurodegeneration in Alzheimer s and Parkinson s diseases [J]. *Neuromol Med*, 2003, 4(122): 21-36.
- [5] Giovannini M G, Scali C, Prosperi C, et al. Beta-amyloid induced inflammation and cholinergic hypofunction in the rat brain *in vivo*: involvement of the p38MAPK pathway [J]. *Neurobiol Dis*, 2002, 11(2): 257.
- [6] Lotz M, Ebert S, Esselmann H, et al. Amyloid beta peptide 1-40 enhances the action of Toll-like receptor-2 and -4 agonists but antagonizes Toll-like receptor-9-induced inflammation in primary mouse microglial cell cultures [J]. *Neurochemistry*, 2005, 94(2): 289-298.
- [7] 秦 川,朱 华,张兵林,等. 阿尔茨海默症转基因动物模型脑组织病理学及免疫组化研究 [J]. 中国实验动物学报, 2000, 8(4): 213-217.
- [8] 秦 川,朱 华,常 洋,等. 阿尔茨海默症转基因小鼠的初步行为学评价 [J]. 上海实验动物科学, 2000, 20(4): 210-212.
- [9] Moechars D, Dewachter I, Lorent K, et al. Early phenotypic changes in transgenic mice that overexpress different mutants of amyloid precursor protein in brain [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(10): 6483-6492.
- [10] Iki J, Inoue A, Bito H, et al. Bi-directional regulation of postsynaptic cortactin distribution by BDNF and NMDA receptor activity [J]. *Eur J Neurosci*, 2005, 22(12): 2985-2994.

灵芝孢子油对 N-甲基-N-亚硝脲诱导大鼠视网膜光感受器细胞损伤的影响

邓新国,林晓峰,高 杨,孙倩娜,钟志强*

(中山大学中山眼科中心 中山大学眼科学国家重点实验室,广东 广州 510060)

摘 要:目的 探讨灵芝孢子油对 N-甲基-N-亚硝脲(MNU)诱导的大鼠视网膜光感受器细胞变性动物模型的治疗作用,为防治视网膜变性提供一种有价值的现代化中药。方法 大鼠随机分为 5 组,对照组、灵芝孢子油治疗组、二十二碳六烯酸(DHA)治疗组、灵芝孢子油+DHA 治疗组和模型组,在造模前 2 d 用不同的药物 ig 给药,第 3 天采用 40 mg/kg MNU 单次剂量 ip 造模,造模后继续 ig 给药至第 10 天,造模后 1、3、5、7、10 d 进行视网膜电图(ERG)检查,并取眼球进行眼病理检查。结果 不同用药组各时间点的 b 波振幅明显高于模型组 ($P < 0.05$ 、 0.01);灵芝孢子油组的 a 波振幅明显高于模型组 ($P < 0.05$),但与 DHA 组和灵芝孢子油+DHA 组相比较,无明显差异 ($P > 0.05$)。眼病理结果,不同用药组在各个时间点与相应的模型组比较,MNU 诱导的大鼠视网膜光感受器损伤均明显减轻 ($P < 0.05$)。结论 灵芝孢子油和 DHA 可减轻 MNU 对大鼠视网膜光感受器细胞的损伤程度,促进 MNU 诱导的大鼠视网膜光感受器细胞损伤的功能恢复。

关键词:灵芝孢子油;光感受器细胞;视网膜色素变性

中图分类号:R285.5 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2009)03-0415-06

Effect of oil in *Ganoderma lucidum* spores on retina photoreceptor damage of rats induced by N-methyl-N-nitrosourea

DENG Xin-guo, LIN Xiao-feng, GAO Yang, SUN Qian-na, ZHONG Zhi-qiang

(State Key Laboratory of Ophthalmology, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China)

Abstract: Objective To approach the therapeutical effect of the oil in *Ganoderma lucidum* spores (OGLS) on the retina photoreceptor damage of rats induced by N-methyl-N-nitrosourea (MNU) and look

* 收稿日期:2008-07-08

基金项目:教育部博士点基金新教师项目(20070558281)

作者简介:邓新国(1961—),男,河南郑州人,副研究员,博士,硕士生导师,研究方向为视网膜变性和干眼病的基础和临床研究。

Tel: (020) 87330289 E-mail: dengxg61@163.net