

桃红四物汤抗癫痫作用机制研究

徐龙进¹, 唐吉友², 周晓娟³, 李涛³, 李晓梅³

1. 山东省疾病预防控制中心, 山东 济南 250014

2. 山东省千佛山医院 神经内科, 山东 济南 250014

3. 潍坊中医院 脑病三科, 山东 潍坊 261041

摘要: **目的** 研究桃红四物汤的抗癫痫作用机制。**方法** 建立戊四氮(PTZ)点燃大鼠癫痫模型, 随机分为对照组、模型组和桃红四物汤低、中、高剂量组。桃红四物汤剂量分别为0.7、1.4、2.1 g/kg, 给药体积为10 mL/kg, 每日ig给药1次, 连续给药2周。给药第0、14天观察大鼠癫痫发作程度。给药结束处死大鼠, 伊文思蓝(EB)法测定血脑屏障通透性, Western blotting法和免疫荧光法测定脑组织及不同部位3种紧密连接蛋白: 闭锁连接蛋白-1(ZO-1)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、Occludin蛋白表达水平。**结果** 高、中、低剂量桃红四物汤可显著降低大鼠癫痫发作程度和血脑屏障通透性($P < 0.01$)。低剂量桃红四物汤可显著升高大鼠脑组织皮层、海马及纹状体的MMP-9表达水平($P < 0.05$); 中、高剂量桃红四物汤可显著升高大鼠脑组织ZO-1、MMP-9、Occludin表达水平($P < 0.05$ 、 0.01)。**结论** 桃红四物汤可显著减轻癫痫发作程度, 作用机制可能与降低血脑屏障通透性及升高脑组织紧密连接蛋白表达水平有关。

关键词: 桃红四物汤; 癫痫; 血脑屏障; 紧密连接蛋白; 闭锁连接蛋白-1; 基质金属蛋白酶-9; Occludin

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)15-3117-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.15.016

Study on anti-epileptic mechanism of Taohong Siwu Decoction

XU Long-jin¹, TANG Ji-you², ZHOU Xiao-juan³, LI Tao³, LI Xiao-mei³

1. Shandong Center for Disease Control and Prevention, Ji'nan 250014, China

2. Qianfoshan Hospital, Ji'nan 250014, China

3. The Third Encephalopathy Sector, Weifang Chinese Medicine Hospital, Weifang 261041, China

Abstract: **Objective** To investigate the anti-epileptic mechanism of Taohong Siwu Decoction (TSD) on the seizures degree and blood-brain-barrier (BBB) of epileptic animals. **Methods** A rat model of epilepsy was induced by pentamethylene. Rats were randomly divided into normal group, model group, and TSD groups. Rats in TD groups were respectively ig given 0.7, 1.4, and 2.1 g/kg TSD, once daily for successive 2 weeks. Epileptic seizures degree was observed on day 0 and 14. BBB permeability was evaluated by Evans blue method on day 14. Expression levels of zona occluden-1 (ZO-1), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), and Occludin in brain and different parts of brain were determined by Western blotting and immunofluorescence methods. **Results** All doses of TSD significantly reduced rats' epileptic seizures degree and BBB permeability ($P < 0.01$). TSD at a dose of 0.7 g/kg can significantly increase the expression of MMP-9 in cortex, hippocampus, and striatum of rats ($P < 0.05$). TSD at doses of 1.4 and 2.1 g/kg could significantly increase the expression of ZO-1, MMP-9, and Occludin in brain tissue of rats ($P < 0.05$, 0.01). **Conclusion** TSD can significantly reduce epileptic seizures degree, which may be related to its BBB protective effects and its potent to increased tightly bind protein in brain.

Key words: Taohong Siwu Decoction; epilepsy; blood-brain-barrier; tight junction protein; zona occluden-1; matrix metalloproteinase-9; Occludin

癫痫(epilepsy), 俗称“羊癫疯”, 是慢性反复发作性短暂脑功能失调综合征, 以脑神经元异常放电引起反复痫性发作为特征。桃红四物汤由四物汤加入桃仁、红花演变而来, 最初记载于《医宗金鉴》,

是养血活血的常用中药方剂之一。该药早期主要用于月经不调及痛经等妇科疾病。近年来研究表明, 其具有抗炎、神经保护等作用, 对偏头痛、癫痫等神经系统疾病也具有有良好的治疗作用^[1-3]。但目前国

收稿日期: 2017-03-03

基金项目: 山东省自然科学基金项目(Y2008C1610)

作者简介: 徐龙进, 副主任技师, 博士, 研究方向为实验动物管理、食品毒理与功能检测检验。Tel: 18615281973 E-mail: sdxulongjin@163.com

内外关于其抗癫痫作用机制的研究较少。本实验建立大鼠癫痫模型,考察桃红四物汤对模型大鼠癫痫发作强度、血脑屏障通透性及不同部位脑组织紧密连接蛋白表达的影响,探讨其抗癫痫机制。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 SD 大鼠,雄性,体质量 200~230 g,购自北京华阜生物科技有限公司提供,许可证号 SCXK(京)2009 0004。大鼠购入后检疫 7 d,饲养环境温度 24~25 °C,湿度 50%~60%,12 h/12 h 明暗循环。实验期间自由摄食饮水。实验方案及操作均符合实验动物伦理要求并经实验动物伦理委员会审查批准。

1.2 药品、试剂及仪器

桃红四物汤组方药材及饮片购自北京同仁堂潍坊药店,所购中药饮片经黑龙江中医药大学王振月教授鉴定分别为蔷薇科植物桃 *Prunus persica* (L.) Batsch 的干燥成熟种子、菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花、玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 块根的蒸制品、毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根、伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. 的干燥根、伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎,汤剂由潍坊中医院药房煎煮。组方配比及制备方法如下:称取桃仁、红花、熟地、白芍、当归、川芎(质量比为 1:0.5:1:1:1:0.5),加水没过药材,煎煮 2 次,合并煎液,药液浓缩至 3 个质量浓度,按生药材计算分别为 0.07、0.14、0.21 g/mL,浓缩后水煎液储存于 4 °C 冰箱中,使用前水浴温热。戊四氮(PTZ)购自东京化成工业株式会社,批号 AR01。RIPA 蛋白裂解液、SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(5×)、考马斯亮蓝蛋白浓度测定溶液、溴酚蓝上样缓冲液购自 Yeasen 公司;兔抗大鼠闭锁连接蛋白-1(ZO-1)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、Occludin 抗体、HRP 标记的山羊抗兔 IgG(Chemicon 公司);伊文思蓝(EB,批号 141219, Biosharp 公司)。蛋白质垂直电泳仪(Bio-rad 公司)、凝胶成像分析系统(Alpha Innotech 公司);荧光显微镜(Olympus 公司)。

2 方法

2.1 癫痫模型的制备

参考文献方法^[4-5]制备 PTZ 点燃大鼠癫痫模型,PTZ ip 剂量为 40 mg/kg,隔日给药,连续给药 28 d。依据 Fatholahi 标准判断大鼠癫痫发作程度。连续 5

次出现 2 级以上发作判定为慢性点燃成功。癫痫行为发作程度及分级标准如下:0 级为无反应;1 级为节律性嘴和面部抽动;2 级为躯体波动样游走性痉挛;3 级为全身肌阵挛、臀部上翘;4 级为躯体向一侧翻转;5 级为仰翻位,全身强直痉挛发作。

2.2 动物分组及给药方案

大鼠随机分为对照组、模型组和桃红四物汤低、中、高剂量组,每组 12 只,各组动物分笼饲养。对照组不造模,自由摄食饮水,给药期间 ig 给予生理盐水。模型组造模后 ig 给予生理盐水;桃红四物汤组造模后 ig 给予不同质量浓度的桃红四物汤水煎液。给药体积均为 10 mL/kg,低、中、高剂量分别为 0.7、1.4、2.1 g/kg^[6],各组均每日给药 1 次,连续给药 2 周。给药第 0、14 天,模型组及桃红四物汤低、中、高剂量组大鼠分别于给药后 30 min ip 给予 PTZ(40 mg/kg),并测定 PTZ 给药后 30 min 内癫痫发作强度。

2.3 血脑屏障通透性测定

给药结束当天每组随机取 6 只大鼠,参考文献方法^[7]略作改进,采用 EB 外渗法测定血脑屏障通透性。大鼠颈静脉 iv 2% EB 生理盐水溶液(4 mL/kg),循环 1 h 后主动脉灌注 PBS(pH 7.4),灌注体积均为 40 mL。灌注完毕后处死大鼠,取完整脑组织,称质量,加入 1.2 mL PBS 制备匀浆,4 °C 下 15 000 r/min 离心 30 min,取上清液加入等体积 50%三氯乙酸,4 °C 下过夜后 15 000 r/min 离心 30 min。取上清液紫外分光光度计 610 nm 处测定吸光度(A)值,建立标准曲线测定 EB 水平。

2.4 Western blotting 法测定脑组织 ZO-1、MMP-9、Occludin 蛋白表达水平

参考文献报道的方法^[8-9],采用 Western blotting 法测定脑组织中 ZO-1、MMP-9、Occludin 蛋白表达量。给药结束后 24 h 处死各组剩余大鼠,迅速取大鼠脑组织,分离左右脑,-80 °C 液氮冻存。取左脑加入含 150 mmol/L NaCl、1% NP-40、0.02%叠氮化钠、100 mg/mL PMSF 和 50 mmol/L Tris-HCl(pH 8.0)的 RIPA 蛋白裂解液,冰浴孵育 30 min,4 °C 下 12 000 r/min 离心 20 min。取上清液加入考马斯亮蓝蛋白浓度测定溶液(每毫升含考马斯蓝 G₂₅₀ 0.1 mg、95%乙醇 0.05 mL、磷酸 0.01 mL)测定蛋白总量。

蛋白样品中加入溴酚蓝上样缓冲液,100 °C 水浴 5 min 使蛋白变性,采用 10% SDS-PAGE 电泳,浓缩胶、分离胶电压分别为 60、200 V,采用 GAPDH

(1:2 000) 作为内参。然后转至 PVDF 膜, 以含 0.1% 聚山梨酯 20、5% 脱脂奶粉的 TBS 缓冲液 (pH 7.4) 作为膜封闭液室温下浸泡 30 min, 分别加入兔抗大鼠 ZO-1、MMP-9 和 Occludin 抗体 (1:200), 4 °C 下孵育过夜。以 PBST 溶液 (含 0.1 聚山梨酯 20 的 PBS 缓冲液) 洗膜 3 次, 每隔 5 分钟 1 次。加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 室温下孵育 1 h, PBST 洗膜 3 次, ECL 显色液孵育 5 min, 采用凝胶成像系统进行分析。蛋白表达水平以目标蛋白与内参的累积 *A* 比值表示。

2.5 免疫荧光法测定皮层、海马及纹状体 ZO-1、MMP-9、Occludin 蛋白表达水平

取“2.4”项下各组大鼠右脑, 冷冻切片 (厚度 10 μm), 每只大鼠隔 5 张取 1 张, 各取 3 张; -80 °C 取切片风干 15 min, 无水甲醇固定后 -20 °C 存放 10 min, 小牛血清封闭, 加入荧光标记抗体 (1:200) 避光孵育过夜, PBS 冲洗 3 次, 甘油封片, 400 倍荧光显微镜下观察。每张切片随机取不同视野拍照。以阳性像素面积与视野像素面积的比值表示相应切片的蛋白表达强度。

2.6 数据统计分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 15.0 进行分析。多组间比较采用单因素方差分析, 组间多重比较采用 Post-Hoc 检验。

3 结果

3.1 对大鼠癫痫发作强度和血脑屏障通透性的影响

整个实验过程中各组动物死亡率均为零。对照组未见癫痫发作症状。单因素方差分析比较模型组及桃红四物汤低、中、高剂量组癫痫发作强度, 第 0 天各组动物癫痫发作强度未见显著差异 ($P > 0.05$); 第 14 天, 存在显著差异 ($P < 0.01$), 其中给药组癫痫发作强度均显著低于模型组 ($P < 0.01$), 桃红四物汤高剂量组癫痫发作强度显著低于桃红四物汤低剂量组 ($P < 0.05$), 结果见表 1。

给药第 14 天, 处死大鼠, EB 染色法测定大鼠血脑屏障通透性, EB 灌注后各组大鼠脑组织中 EB 水平存在差异。给药组 EB 水平均显著低于模型组 ($P < 0.01$), 中、高剂量组 EB 水平显著低于低剂量组 ($P < 0.05$ 、0.01), 结果见表 1。

表 1 各组大鼠癫痫发作强度和血脑屏障通透性比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison on seizures degree of epilepsy and permeability of blood-brain-barrier of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	第 0 天		第 14 天		脑组织中 EB/(ng·g ⁻¹) (n = 6)
		发作强度 3 级及 3 级以上动物数	平均强度/级 (n = 12)	发作强度 3 级及 3 级以上动物数	平均强度/级 (n = 12)	
对照	—	0	0	0	0	5.4 ± 12.7
模型	—	6	4.9 ± 0.5	6	4.6 ± 0.5	972.6 ± 127.3
桃红四物汤	0.7	5	4.0 ± 1.2	3	3.2 ± 0.9**	609.8 ± 104.9**
	1.4	6	4.8 ± 1.5	1	2.8 ± 1.2**	495.7 ± 67.4***
	2.1	5	4.6 ± 2.1	1	1.4 ± 2.2***	213.6 ± 37.5***

与模型组比较: ** $P < 0.01$; 与桃红四物汤低剂量组比较: # $P < 0.05$ *** $P < 0.01$, 下同

** $P < 0.01$ vs model group; # $P < 0.05$ *** $P < 0.01$ vs low dose of Taohong Siwu Decoction, same as below

3.2 对大鼠脑组织 ZO-1、MMP-9、Occludin 蛋白表达的影响

3.2.1 Western blotting 法检测脑组织中 ZO-1、MMP-9、Occludin 蛋白表达结果 见图 1 和表 2。给药 14 d 后, 大鼠脑组织 ZO-1、MMP-9、Occludin 表达水平经组间多重比较显示, 桃红四物汤中、高剂量组脑组织 ZO-1 表达水平显著高于模型组和低剂量组 ($P < 0.01$); 桃红四物汤高、中剂量组脑组织 MMP-9 表达水平显著高于模型组 ($P < 0.05$ 、0.01), 其中高剂量组脑组织 MMP-9 表达水平显著高于低剂量组 ($P < 0.05$); 桃红四物汤中剂量组脑组织 Occludin 表达水平显著高于模型组 ($P < 0.05$),

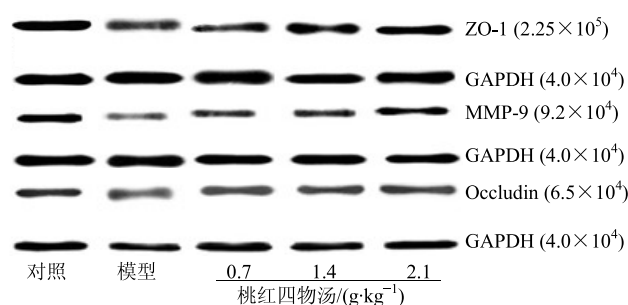


图 1 各组大鼠脑组织 ZO-1、MMP-9、Occludin 蛋白表达 Western blotting 图谱

Fig. 1 Western blotting results of ZO-1, MMP-9, and Occludin protein expression in brain tissue of rats in each group

表2 各组大鼠脑组织 ZO-1、MMP-9、Occludin 蛋白表达水平比较 (Western blotting, $\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 2 Comparison on ZO-1, MMP-9, and Occludin protein expression in brain tissue of rats in each group (Western blotting, $\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	蛋白相对表达量		
		ZO-1	MMP-9	Occludin
对照	—	0.92 ± 0.17**	0.72 ± 0.04**	0.59 ± 0.08**
模型	—	0.29 ± 0.11	0.21 ± 0.09	0.13 ± 0.03
桃红四物汤	0.7	0.35 ± 0.09	0.35 ± 0.13	0.15 ± 0.02
	1.4	0.51 ± 0.12**#	0.49 ± 0.10**	0.18 ± 0.04*
	2.1	0.68 ± 0.15***#	0.61 ± 0.19***#	0.28 ± 0.09***#

高剂量组脑组织 Occludin 表达水平均显著高于模型组和低剂量组 ($P < 0.01$)。

3.2.2 免疫荧光法检测脑组织不同部位中 ZO-1、MMP-9、Occludin 蛋白表达结果 见图2和表3。大鼠脑不同部位 ZO-1、MMP-9、Occludin 蛋白表达水平经组间多重比较显示, 桃红四物汤中剂量组海马、纹状体 ZO-1 表达水平显著高于模型组 ($P < 0.05$), 桃红四物汤高剂量组不同部位 ZO-1 表达水平均显著高于模型组和低剂量组 ($P < 0.05$ 、0.01); 桃红四物汤低剂量组海马、纹状体及皮层 MMP-9 表达水平显著高于模型组 ($P < 0.05$); 中剂量组不同部位 MMP-9 表达水平均显著高于模型组 ($P < 0.05$ 、0.01), 其中皮层 MMP-9 表达水平显著高于低剂量组 ($P < 0.05$), 高剂量组不同部位 MMP-9 表达水平均显著高于模型组和低剂量组 ($P < 0.05$ 、0.01); 桃红四物汤低剂量组海马、纹状体及皮层 Occludin 表达水平显著高于模型组 ($P < 0.05$); 中剂量组皮层、海马 Occludin 表达水平均显著高于模型组 ($P < 0.05$), 其中海马 Occludin 表达水平显著高于低剂量组 ($P < 0.05$); 高剂量组不同部位 Occludin 表达水平均显著高于模型组和低剂量组 ($P < 0.05$ 、0.01)。

4 讨论

虽然部分癫痫患者发病与脑外伤、脑肿瘤等存在关联, 但目前国内外对癫痫的确切病因及发病机制尚不完全清楚。因此, 关于癫痫药物的研究目前主要侧重考察药物对癫痫患者、动物模型行为学特征的改善效果。血脑屏障是存在于中枢神经系统内循环系统与脑组织细胞间的物理屏障, 能够阻止有害物质进入脑组织, 从而发挥保护作用。近年来临床及动物实验研究显示, 癫痫患者及动物模型均存在血脑屏障通透性升高的现象, 因此推测血脑屏障

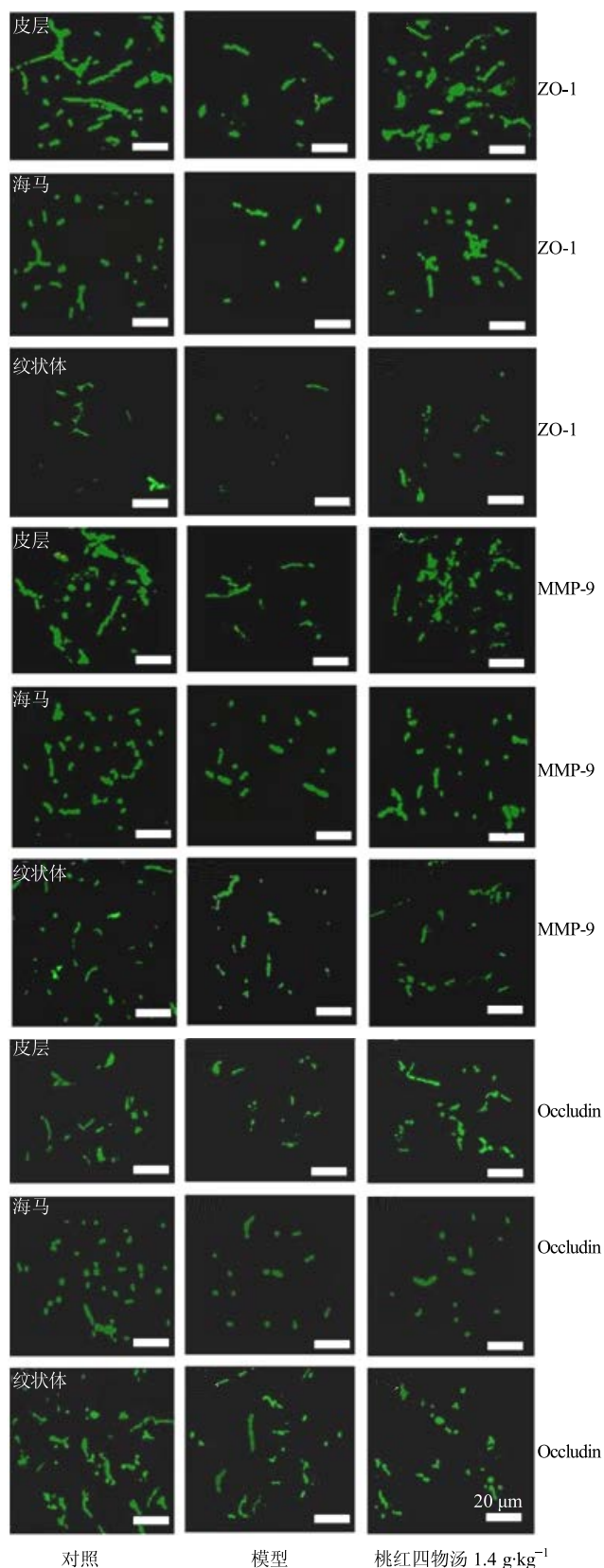


图2 各组大鼠脑皮层、海马和纹状体 ZO-1、MMP-9、Occludin 蛋白表达免疫荧光图谱

Fig. 2 Immunofluorescence of ZO-1, MMP-9, and Occludin protein expression in cortex, hippocampus, and striatum of rats in each group

表 3 各组大鼠脑皮层、海马、纹状体 ZO-1、MMP-9、Occludin 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 3 Comparison on ZO-1, MMP-9, and Occludin protein expression in cortex, hippocampus, and striatum of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	ZO-1/%			MMP-9/%			Occludin/%		
		皮层	海马	纹状体	皮层	海马	纹状体	皮层	海马	纹状体
对照	—	0.27±0.08**	0.14±0.05**	0.06±0.02**	0.39±0.09**	0.32±0.13**	0.26±0.09**	0.18±0.06**	0.46±0.19**	0.57±0.10**
模型	—	0.09±0.02	0.06±0.02	0.02±0.01	0.11±0.03	0.14±0.06	0.10±0.01	0.06±0.03	0.17±0.06	0.32±0.13
桃红四	0.7	0.13±0.04	0.06±0.01	0.03±0.01	0.18±0.07*	0.20±0.01*	0.14±0.03*	0.07±0.04*	0.19±0.04*	0.39±0.05*
物汤	1.4	0.14±0.07	0.09±0.02***	0.05±0.03*	0.29±0.06***	0.24±0.09*	0.16±0.05*	0.11±0.03*	0.25±0.03**	0.41±0.02
	2.1	0.22±0.08***	0.12±0.04***	0.07±0.02***	0.42±0.11***	0.28±0.07***	0.19±0.02***	0.13±0.05**	0.33±0.08***	0.48±0.07**

功能降低可能与癫痫发病相关^[10-11]。

本研究采用 PTZ 点燃大鼠癫痫模型研究了桃红四物汤对癫痫大鼠行为学及血脑屏障通透性的影响。结果显示,桃红四物汤低、中、高剂量均可显著改善大鼠癫痫发作程度 ($P < 0.01$),其中高剂量组癫痫发作程度显著低于低剂量组 ($P < 0.05$)。利用 EB 渗透法测定了各组动物血脑屏障通透性,结果显示低、中、高剂量桃红四物汤均可降低大鼠血脑屏障通透性,且存在剂量依赖性。上述结果表明,桃红四物汤的抗癫痫作用可能与血脑屏障保护作用有关。

现代研究表明,血脑屏障通透性受多种紧密蛋白调节,如 ZO-1、MMP-9、Occludin、Cluadin-1 等^[12]。分别采用 Western blotting 法和免疫荧光法测定了脑组织和不同部位的紧密连接蛋白 ZO-1、MMP-9 和 Occludin 的蛋白表达。预试验结果显示大鼠左右脑目标蛋白的表达无显著差异;但采用 Western blotting 法测定不同部位的紧密蛋白表达时,模型组部分目标蛋白条带不清晰或不出条带。推测可能是蛋白浓度较低所致,因此改用免疫荧光法测定脑组织不同部位目标蛋白的表达。2 种方法分别使用左右脑样本以减少实验动物用量,符合实验动物伦理学要求。紧密蛋白测定显示,高剂量桃红四物汤对脑组织及皮层、海马、纹状体部位 ZO-1、MMP-9、Occludin 蛋白表达均有显著的上调作用 ($P < 0.05$ 、0.01)。中剂量桃红四物汤对脑组织及海马、纹状体部位 ZO-1、MMP-9 蛋白表达均有显著的上调作用 ($P < 0.05$ 、0.01)。低剂量桃红四物汤对皮层、海马、纹状体部位 MMP-9 蛋白表达有显著的上调作用 ($P < 0.05$)。上述研究结果表明,桃红四物汤对血脑屏障的改善作用可能与其对紧密连接蛋白的上调作用有关。而桃红四物汤的抗癫痫

作用可能与其对血脑屏障的降低作用及其对脑组织紧密连接蛋白表达水平的上调作用有关。

由于桃红四物汤对抑郁、脑卒中等其他神经系统疾病均具有改善作用^[1-3],而文献报道显示,此类疾病与血脑屏障损伤也存在关联^[13-14],因此,笔者推测桃红四物汤对上述疾病的改善作用可能也与其血脑屏障保护作用有关,但仍需进一步研究证实。

参考文献

- [1] 丁艳杰,张前德.桃红四物汤临床与实验研究进展[J].江苏中医学,2010,42(1):77-78.
- [2] 展文国,齐雪婷,董 琴.裴正学教授治疗癫痫病的经验[J].云南中医药杂志,2013,34(1):8-9.
- [3] 陈园桃.桃红四物汤加味治疗癫痫 174 例[J].江苏中医学,200,24(12):25.
- [4] Mao K, You C, Lei D, et al. High dosage of cannabidiol (CBD) alleviates pentylenetetrazole-induced epilepsy in rats by exerting an anticonvulsive effect [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(6): 8820-8827.
- [5] 王 艺,李智平,施忆赞.戊四氮点燃大鼠癫痫模型的建立及评价[J].复旦学报:医学版,2006,33(2):206-208.
- [6] Wu C J, Chen J T, Yen T L, et al. Neuro protection by the traditional Chinese medicine, Tao-Hong-Si-Wu-Tang, against middle cerebral artery occlusion-induced cerebral ischemia in rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011, 2011: 1-9.
- [7] Manaenko A, Fathali N, Khatibi N H, et al. Arginine-vasopressin V1a receptor inhibition improves neurologic outcomes following an intracerebral hemorrhagic brain injury [J]. *Neurochem Int*, 2011, 58(4): 542-548.
- [8] Wen J F, Qian S K, Yang Q F, et al. Overexpression of netrin-1 increases the expression of tight junction-associated

(下转第 3126 页)

- [4] Olivares A M, Moreno-Ramos O A, Haider N B, *et al.* Role of nuclear receptors in central nervous system development and associated diseases [J]. *J Exp Neurosci*, 2015, 9(2): 93-121.
- [5] Blanquart C, Barbier O, Fruchart J C, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptors: regulation of transcriptional activities and roles in inflammation [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2003, 85(2/5): 267-273.
- [6] Li D, Zhang F, Namwanje M, *et al.* Distinct functions of PPAR γ isoforms in regulating adipocyte plasticity [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 481(1/2): 132-138.
- [7] 田蜜, 李菡清, 周岐新, 等. 人 PPAR γ_1 LBD 融合蛋白表达质粒的构建和诱导条件优化 [J]. 中国药理学通报, 2008, 24(9): 1254-1257.
- [8] 张均田. 现代药理实验方法 [M]. 北京: 北京医科大学, 中国协和医科大学联合出版社, 1997.
- [9] Laganà A S, Vitale S G, Nigro A, *et al.* Pleiotropic actions of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in dysregulated metabolic homeostasis, inflammation and cancer: current evidence and future perspectives [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, doi:10.3390/ijms17070999.
- [10] Yu F Q, Li P W, Zhang J J, *et al.* Association between peroxisome proliferator-activated receptor- α , δ , and γ polymorphisms and risk of coronary heart disease [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(32): e4299.
- [11] Grygiel-Górniak B. Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications-a review [J]. *Nutr J*, 2014, doi: 10.1186/1475-2891-13-17.
- [12] Alemán-González-Duhart D, Tamay-Cach F, Álvarez-Almazán S, *et al.* Current advances in the biochemical and physiological aspects of the treatment of type 2 diabetes mellitus with thiazolidinediones [J]. *PPAR Res*, 2016, doi: 10.1155/2016/7614270.
- [13] 刘兆金, 黄瑞林, 印遇龙, 等. 姜黄素营养生理作用综述 [J]. 安徽农业科学, 2006, 34(7): 1287-1288.
- [14] Chen R, Peng X, Du W, *et al.* Curcumin attenuates cardiomyocyte hypertrophy induced by high glucose and insulin via the PPAR γ /Akt/NO signaling pathway [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2015, 108(2): 235-242.
- [15] Wang H M, Zhao Y X, Zhang S, *et al.* PPAR gamma agonist curcumin reduces the amyloid-beta-stimulated inflammatory responses in primary astrocytes [J]. *J Alzheimers Dis*, 2010, 20(4): 1189-1199.
- [16] 刘尊敬, 鲍秀琪, 田朝晖, 等. PPAR γ 激动剂筛选细胞模型的构建及验证姜黄素为 PPAR γ 天然激动剂的研究 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2011, 28(10): 872-874.
- [17] de Jong L A, Uges D R, Franke J P, *et al.* Receptor-ligand binding assays: technologies and applications [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2005, 829(1/2): 1-25.
- [18] Lv F H, Yin H L, He Y Q, *et al.* Effects of curcumin on the apoptosis of cardiomyocytes and the expression of NF- κ B, PPAR- γ and Bcl-2 in rats with myocardial infarction injury [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(6): 3877-3884.
- [19] Bajare S, Anthony J, Nair A, *et al.* Synthesis of *N*-(5-chloro-6-(quinolin-3-yloxy) pyridin-3-yl) benzenesulfonamide derivatives as non-TZD peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) agonist [J]. *Eur J Med Chem*, 2012, 58: 355-360.
- (上接第 3121 页)
- proteins, claudin-5, occludin, and ZO-1, following traumatic brain injury in rats [J]. *Exp Ther Med*, 2014, 8(3): 881-886.
- [9] 周亚军, 赵玉武, 刘帮健, 等. 糖尿病大鼠血-脊髓屏障紧密连接蛋白 claudin-1、claudin-5、ZO-1 表达变化 [J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2010, 17(6): 439-442.
- [10] Heinemann U, Kaufer D, Friedman A. Blood-brain barrier dysfunction, TGF β signaling, and astrocyte dysfunction in epilepsy [J]. *Glia*, 2012, 60(8): 1251-1257.
- [11] Friedman A, Kaufer D, Heinemann U. Blood-brain barrier breakdown-inducing astrocytic transformation: novel targets for the prevention of epilepsy [J]. *Epilepsy Res*, 2009, 85(2/3): 142-149.
- [12] Shi L Z, Li G J, Wang S, *et al.* Use of Z310 cells as an *in vitro* blood-cerebrospinal fluid barrier model: tight junction proteins and transport properties [J]. *Toxicol In Vitro*, 2008, 22(1): 190-199.
- [13] Najjar S, Pearlman D M, Devinsky O, *et al.* Neurovascular unit dysfunction with blood-brain barrier hyperpermeability contributes to major depressive disorder: a review of clinical and experimental evidence [J]. *J Neuroinflamm*, 2013, 10(1): 142-146.
- [14] Patrick T, Ronaldson, Thomas P D. Blood-brain barrier integrity and glial support: Mechanisms that can be targeted for novel therapeutic approaches in stroke [J]. *Curr Pharm Des*, 2012, 18(25): 3624-3644.