

rotid injury. **Methods:** 75 SD rats were randomly divided into 5 groups: the control group, the model group, 150, 300 and 600 mg/kg Yulansan polysaccharides (YLSP) groups. Corresponding drugs or saline water were administered from one week before irradiation, for 80 days. Except for the control group, all rats were irradiated with 15 Gy/times γ -rays on parotid to establish the model. After the irradiation, the changes of general conditions such as body weight, dietary water intake were observed. Rats were sacrificed on the 10th, 40th, and 70th days after irradiation by taking blood from the abdominal aorta, then amylase (AMS) and reactive oxygen species (ROS) levels were detected. Parotid gland tissues were collected and weighed. Expressions of B-cell lymphoma-2, Bcl2-Associated X, proliferating cell nuclear antigen and Tumor necrosis factor- α in parotid gland were determined by HE staining, TUNEL staining and immunohistochemistry. **Results:** Compared with the control group, the serum AMS content in the model group was firstly increased but then decreased significantly, the serum level of ROS and apoptosis rate were increased. The expression of Bcl-2 was down regulated and expressions of Bax, PCNA and TNF- α protein were up regulated. Compared with the model group, YLSP improved the pathological changes of parotid gland after radiation and reduced the apoptosis rate of parotid cells, it decreased the positive expression rates of Bax, PCNA and TNF- α protein, and up regulated the positive expression rate of Bcl-2 protein, it also reduced the level of ROS, and significantly increased serum AMS content after decreased AMS firstly. **Conclusion:** YLSP can protect against radiation-induced parotid injury in rats. The mechanism may be related to inhibiting the apoptosis of parotid gland cells and reducing ROS.

Key words Yulansan polysaccharides (YLSP), radiation-induced parotid injury, apoptosis factor, ROS, TNF- α

甜叶菊糖苷的抗抑郁作用及其对小鼠脑和脾脏组织中 DBP、Gabbr2 和 SP 蛋白表达的影响*

胡雨 黄锋 詹合琴** 韩旭萌 焦明丽
(新乡医学院药学院 新乡 453003)

摘要 目的: 研究甜叶菊糖苷的抗抑郁作用及其对小鼠脑和脾脏组织中白蛋白 D 位点结合蛋白 (DBP)、 γ -氨基丁酸 B2 受体 (Gabbr2) 和 P 物质蛋白 (SP) 表达的影响。方法: 将 δ BALB/c 小鼠随机分为 5 组, 即正常组、模型组、阳性对照组 (氟西汀 30 mg/kg)、甜菊糖苷 6.25 mg/kg、12.5 mg/kg 组, 每组 12 只。正常组和模型组动物给予等体积的生理盐水, 其他组动物给予相应药物, 每天灌胃给药 1 次, 共治疗 7 天。采用糖水偏好、强迫游泳实验测定小鼠的行为学指标; 采用高效液相荧光法测定小鼠脑组织中谷氨酸 (Glu)、 γ -氨基丁酸 (GABA)、多巴胺 (DA) 和 5-羟色胺 (5-HT) 的含量; 采用 Western blot 法测定小鼠脑及脾脏组织中 DBP、Gabbr2 和 SP 蛋白的表达。结果: 与正常组比较, 模型组糖水偏好率、GABA、DA、5HT 含量明显降低, 游泳不动时间、Glu 含量增高, 脑组织中 DBP、Gabbr2、SP 及脾脏组织 DBP、SP 蛋白下调。与模型组比较, 甜叶菊糖苷能剂量依赖性增加抑郁小鼠的糖水偏好率, 减少强迫游泳的不动时间; 甜叶菊糖苷 6.25 mg/kg 组 Glu 的含量明显降低, GABA、DA 和 5-HT 的含量明显升高, 同时明显上调抑郁小鼠脑组织中 DBP、Gabbr2 和 SP 蛋白的表达及脾脏组织中 DBP 与 SP 蛋白的表达, 而 12.5 mg/kg 作用不明显。结论: 6.25 mg/kg 甜叶菊糖苷可有效改善抑郁症状, 其抗抑郁机制可能与调控脑和脾脏组织中的 DBP、Gabbr2 与 SP 蛋白的表达有关。

关键词 甜叶菊糖苷; 抑郁症; 神经递质; 白蛋白 D 位点结合蛋白; γ -氨基丁酸 B2 受体; P 物质

DOI:10.13412/j.cnki.zyyj.2019.04.016

抑郁症是一种以持续情绪低落和认知功能障碍为主要临床特征, 包括焦躁情绪、快感缺失、睡眠障碍和反复自杀念头等的精神性疾病。近年来抑郁症的发病率正逐年上升, 据世界卫生组织 (WHO) 预测, 到 2020 年, 抑郁症将成为仅次于缺血性心脏病的第 2 位致残疾病^[1]。抑郁症的主要靶器官是脑, 但在中国的传统医学中, "脾" 为气血生化之源, 而情志又以气血为基础, 因此 "脾" 也被众多中医学家认为与抑郁症密切相关^[2,3]。然而, 中医中所说的 "脾" 包括脾脏、胰腺和肠胃等一些器官组织, 现代意义上的 "脾" 只是中医 "脾" 的一个组成部分^[4]。目前, 抑郁症的临床治疗主要采用药物治疗, 同时也有电针和心理治疗等, 但因其发病机制目前尚不明确, 虽然在治疗方面各

有千秋, 但都难以治本。因此, 从脑和脾脏入手, 研发新的有效的抗抑郁症药物, 有较好的理论基础。

甜叶菊为菊科甜叶菊属 *Stevia rebaudiana* Hemsl. 多年生草本植物, 其叶中存在有重要的生物学活性物质甜叶菊糖苷。有研究表明, 甜叶菊糖苷具有抗高血糖、抗高血压、抗炎、抗肿瘤、免疫调节作用等作用^[5]。甜叶菊现已被世界各地用于各种目的, 如用于替代蔗糖, 用于治疗糖尿病、肥胖症、高血压和龋齿等。近年来, Mary LCP 等观察到甜叶菊粉末可能具有抗抑郁作用^[6]。然而, 目前国内外对甜叶菊提取物的抗抑郁作用, 尤其是作用机制研究甚少。甜叶菊糖苷为甜叶菊叶中的主要成分, 由甜菊苷、杜尔可 A 苷、甜菊醇双糖苷、莱鲍迪 A 苷、B 苷、C 苷、D

苷、E 苷等糖苷组成,目前常作为工厂食品中的添加剂,如:果汁、沙拉、面包、饼干等^[7,8]。

在前期的研究工作中,本课题组发现了甜叶菊浸膏可改善小鼠的抑郁行为,并从抑郁模型小鼠的脾脏组织中筛选出了 11 个与抑郁症有密切关系的差异表达基因^[9]。其中钟控节律基因白蛋白 D 位点结合蛋白(albumin D-site binding protein, DBP)、速激肽前体 1(Tachykinin Precursor 1, TAC1, 主要编码 P 物质, 又称 SP 蛋白)和 γ -氨基丁酸 B2 受体(γ -aminobutyric acid B2 receptor, Gabbr2)均表达下调。一些研究发现, Gabbr2 基因在重度抑郁症患者的侧小脑、前额叶皮层扣带回前部均表达减少^[10,11],而抗抑郁药物可通过增加动物大脑皮质中的 DBP 和 Gabbr2 蛋白的表达而改善抑郁^[12]。还有一些文献发现, SP 和抑郁症的发生发展关系密切,在大鼠海马注射 SP 可对抗抑郁症^[13]。目前已知,生物节律基因与抑郁症的发生、转归有重要关系^[14],而 DBP 是一个新发现的节律基因,其表达下调可能导致 Gabbr2 与 SP 表达的抑制,从而导致抑郁症。我们在前期的研究中还发现,甜叶菊浸膏的抗抑郁作用与改变脑和脾脏组织中 DBP 与 SP 的表达水平改变有关^[15]。然而,甜叶菊糖苷的抗抑郁作用及其机制还未有充分的研究。本文将以前脑和脾脏组织作为抑郁症的靶器官,进一步研究甜叶菊糖苷的抗抑郁作用及其对脑和脾组织中 DBP、SP 以及 Gabbr2 蛋白表达的影响。

1 材料与方法

1.1 试验药物 甜叶菊糖苷购买于西安冰禾生物科技有限公司,纯度大于 98% (批号: BH-2015022203, 高效液相检测, 见图 1)。盐酸氟西汀片,规格: 10 mg/片(常州四药制药有限公司,批号: 20160201)。

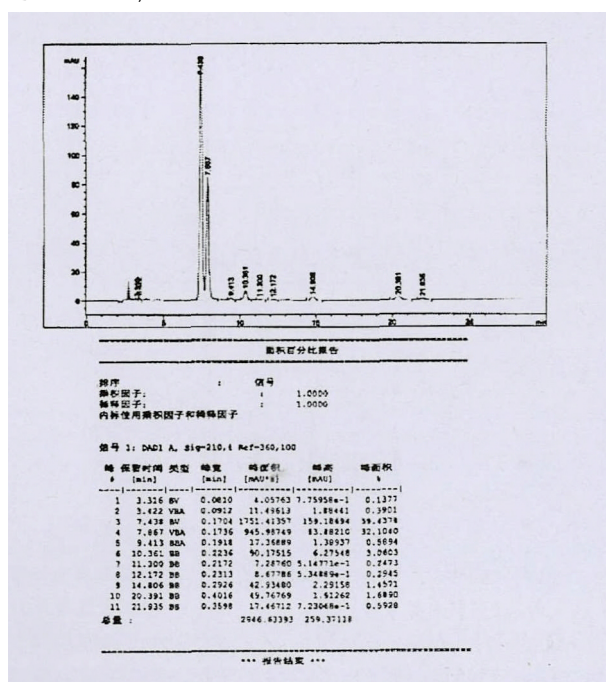


图 1 甜叶菊糖苷的高效液相图谱

甜叶菊糖苷溶液的制备: 称取甜叶菊糖苷粉末 50 mg, 加入 80 mL 蒸馏水使其完全溶解, 用于甜叶菊糖苷 12.5 mg/kg 组给药, 甜叶菊糖苷 6.25 mg/kg 组以高剂量对倍稀释。

1.2 动物 清洁级健康 δ BALB/c 小鼠, 体重 18 g ~ 22 g, 购于

河南省华兰生物工程技术有限公司实验动物中心, 生产合格证号: SCXK(豫) 2015-0001。

1.3 试剂 皮质酮购于湖北鑫鸣泰化学有限公司(批号: 200-019-6); Super-Bradford 蛋白浓度测定试剂盒(批号: 00031408)、SDS-PAGE 凝胶试剂盒(批号: 00111408)、SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(批号: 00111408)、高灵敏度化学发光检测试剂盒(批号: 00091408)、抗 β -actin 鼠单克隆抗体(批号: 01141)均购于康为世纪生物科技有限公司; Anti-D Box Binding Protein antibody(批号: GR109342-4)、Anti-GABA B Receptor 2 antibody(批号: GR149960-1)均购于 Abcam 公司; HRP 标记羊抗兔 IgG(H+L)购于北京中杉金桥生物技术有限公司(批号: ZB-2301); HRP 标记羊抗鼠 IgG(H+L)购于碧云天生物技术研究所(批号: A2016); Tachykinin(FL-129) rabbit polyclonal antibody 购于 Santa Cruz Biotechnology 公司(批号: L2627); 谷氨酸购于北京莱宝科技有限公司(批号: 514A024); γ -氨基丁酸(批号: YY10158)、高索丝氨酸(批号: YY10469)均购于上海源叶生物科技有限公司; 五羟色胺(批号: 097M5163V)、盐酸多巴胺(批号: BCBM2585)均购于 Sigma 公司; 色谱级甲醇(批号: 20160510)、色谱级乙腈(批号: 20160921)均购于科密欧化学试剂有限公司。

1.4 仪器 Mini-PROTEAN Tetra system 垂直电泳仪(美国 Bio-Rad); 高速冷冻离心机(美国 Thermo Fisher Scientific); 多功能酶标仪(美国 Molecular Devices); 凝胶电泳成像系统(美国 UVP); Chromatography Systems Walnut Creek(美国 Varian 公司); 郑州英诺生物 C18 柱(郑州英诺生物科技有限公司)。

1.5 方法

1.5.1 动物分组和抑郁小鼠模型的制备 动物适应性饲养 5 天。将动物随机分为 5 组, 即正常组、模型组、阳性对照组(氟西汀 30 mg/kg)、甜叶菊糖苷 6.25 mg/kg、12.5 mg/kg 组, 每组 12 只。小鼠抑郁模型参照 Yukio Ago 等人描述的方法进行复制^[13], 按 20 mg/kg(给药体积: 10 ml/kg)的剂量用皮质酮对动物连续进行腹腔注射 21 天, 每日腹腔注射 1 次。正常组动物给予同体积的生理盐水。经行为学检测, 将模型复制成功的动物再进一步分组。

1.5.2 动物给药 正常组和模型组动物给予同等体积的生理盐水, 其他组动物给予相应剂量(均按 20 ml/kg 体积给药)的药物。每日灌胃给药 1 次, 连续给药 7 天。所有入组的小鼠均需在设定的时间点检查其行为学变化, 每组动物中的 6 只用于高效液相检测, 其余动物用于 Western Blot 检测。

1.5.3 糖水偏好实验 在实验前, 先进行糖水偏好训练。前 24 h 让小鼠饮用两瓶均装有 1% 蔗糖水, 随后 24 h 饮用一瓶装有 1% 的蔗糖水, 一瓶纯净水。等小鼠适应糖水禁食禁水 24 h 后, 进行动物的基础糖水消耗实验。每只小鼠单独饲养同时给予两瓶液体: 一瓶 1% 蔗糖水, 一瓶纯水, 每瓶 50 mL, 瓶子位置每 4 h 变换一次。在实验前后, 分别称量两瓶液体的体积。糖水偏好指数按以下公式进行计算: 偏好指数 = 糖水消耗 / (糖水消耗 + 纯水消耗) \times 100%。

1.5.4 强迫游泳实验 将小鼠放入高 20 cm, 直径 14 cm 的圆柱形玻璃缸中, 每缸 1 只动物。水深 10 cm, 水温保持在 (25 \pm 1) $^{\circ}$ C。每只小鼠在实验前训练游泳 10 min, 24 h 后再行实验。实验时小鼠在缸中游泳 6 min, 记录后 5 min 内小鼠的累积不动时间。不动状态是指小鼠漂浮在水上, 没有挣扎或仅有轻微的肢体运动使头部浮在水面。

1.5.5 高效液相荧光法测定神经递质的含量

1.5.5.1 多巴胺和五羟色胺含量测定所用主要试剂的配制

标准品的制备: 将 DA 和 5-HT 用含有 0.004 mol/L 偏重亚硫酸钠的 0.1 mol/L 高氯酸溶液配置为浓度范围分别为 62.5 $\mu\text{g/ml}$ ~ 1000 $\mu\text{g/ml}$ 及 31.25 $\mu\text{g/ml}$ ~ 500 $\mu\text{g/ml}$ 的溶液。流动相的配制: 将含有 0.005 mol/L 的庚烷磺酸钠的 0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液(用磷酸调 pH 至 3.3)的 A 液, 甲醇与水 1: 1 混合的 B 液按照 64: 36 的比例混合, 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤并超声脱气 20 min。

1.5.5.2 样品中多巴胺和五羟色胺的含量测定 动物处死后, 冰浴下取出脑组织(去除小脑), 精确称重, 加入 4 倍脑重的含 0.004 mol/L 偏重亚硫酸钠的 0.1 mol/L 高氯酸溶液, 研磨匀浆, 提取液在 0 $^{\circ}\text{C}$, 10 000 r/min 的条件下, 离心 30 min。将进样针润洗后进样 20 μL , 按照激发波长 280 nm, 发射波长 360 nm, 流速 1.0 ml/min 的色谱条件进行检测。采用外标法以峰面积对浓度绘制标准曲线, 确定线性范围, 并由色谱图峰面积积分测定浓度。

1.5.5.3 谷氨酸和 γ -氨基丁酸含量测定所用主要试剂的配制

谷氨酸、 γ -氨基丁酸及内标高丝氨酸标准品的制备: 分别将谷氨酸、 γ -氨基丁酸及高丝氨酸溶于 50% 甲醇溶液制成 2 mmol/L 的标准品储备液, 并用 0.04 mol/L 高氯酸将其稀释为 3.125 $\mu\text{mol/L}$ ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ 含内标 100 $\mu\text{mol/L}$ 的标准品。流动相的配制: 将 1 mol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (用磷酸调 pH 至 6.78) 的 A 液, 甲醇与乙腈 3: 1 混合的 B 液按照 64: 36 的比例混合, 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤并超声脱气 20 min。衍生试剂的配制: 将 27 mg 邻苯二甲醛、40 μL β -巯基乙醇溶于 5 mL 甲醇中, 再加入 5 mL 0.1 mmol/L 四硼酸钠缓冲液(用氢氧化钠调 pH 至 9.6) 制得衍生试剂。

1.5.5.4 样品中谷氨酸与 γ -氨基丁酸的含量测定 动物处死后, 冰浴下取出脑组织(去除小脑), 精确称重后以 1: 10(W/V) 加入生理盐水, 用玻璃匀浆器匀浆, 提取液在 3 000 r/min 4 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下离心 15 min, 取上清液 300 μL , 加 0.04 mol/L 高氯酸(含内标液 100 $\mu\text{mol/L}$) 600 μL 混匀, 在 14 000 r/min 4 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下离心 30 min。取 40 μL 标准浓度氨基酸溶液加入衍生试剂 20 μL , 在恒温振荡器上混匀 30 s, 冰上准确反应 2 min, 进样 20 μL 。按照激发波长 355 nm, 发射波长 450 nm, 增益范围 $\times 5$, lower 灵敏度, 1.0 ml/min 流速, 38 $^{\circ}\text{C}$ 柱温的色谱条件进行检测。以各氨基酸同内标的峰面积比值及各自浓度作标准曲线, 测定含内标样品的待测氨基酸与内标峰面积比值, 求出样品中各氨基酸的浓度。

1.5.6 Western Blot 检测目的蛋白的表达 断头处死动物。冰上迅速剖出脑组织和脾脏组织, 剪碎, 冰上裂解 30 min 后在 13 000 r/min 下 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 15 min, 取上清, 采用 Bradford 法测定蛋白浓度, 配制 SDS-PAGE 胶后加入样品进行电泳; 恒流 200 mA 进行转膜, DBP 转膜 45 min, Gabbr2 转膜 120 min, SP 转膜 30 min, β -Actin 转膜 45 min; 5% 脱脂牛奶封闭 1.5 h; 加入经 TBST 稀释的一抗(抗体室温孵育 5 min ~ 10 min 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜; 用 TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min 后加入 TBST 稀释过的相应二抗(DBP, Gabbr2, SP 蛋白的二抗浓度均为 1: 2 000, β -actin 的二抗浓度为 1: 5 000) 室温孵育 1 h; 用 TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min; 将 eECL Western Blot Kit 中的增强型发光剂 A 和稳定剂 B 液按 1: 1 的比例配制混匀后滴加覆盖在印迹膜上, 室温孵育 5

min。通过 UVP 凝胶成像系统进行拍摄, 曝光时间根据荧光强度和抗体特性而定。

2 结果

2.1 甜叶菊提取物对抑郁小鼠行为学的影响 实验结果发现, 与模型组比较, 甜叶菊糖苷能剂量依赖性增加抑郁小鼠的糖水偏好率, 减少强迫游泳不动时间; 与氟西汀比较, 甜叶菊糖苷的 6.25 mg/kg 组与其作用相当, 其中 12.5 mg/kg 组优于氟西汀。见表 1 和图 2。

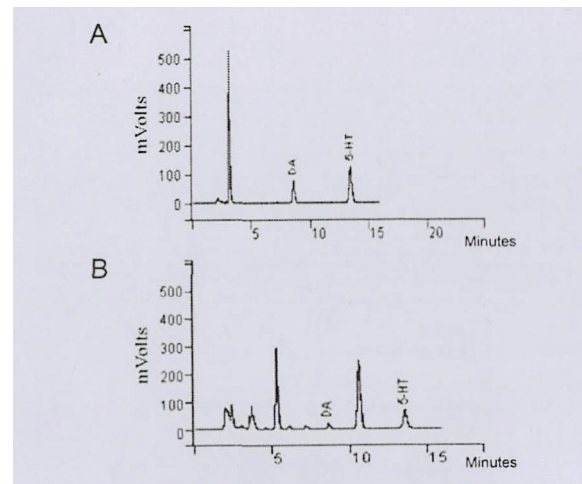
表 1 甜叶菊糖苷对抑郁小鼠糖水偏好率和游泳不动时间的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	剂量/(mg/kg)	糖水偏好率/(%)	游泳不动时间/(s)
正常对照	-	71 \pm 7 **	81 \pm 9 **
模型对照	20	55 \pm 9	108 \pm 13
氟西汀	30	61 \pm 6 **	78 \pm 9 **
甜叶菊糖苷	6.25	63 \pm 8 **	78 \pm 7 **
甜叶菊糖苷	12.5	74 \pm 9 ** $\Delta\Delta$	69 \pm 7 ** Δ

与模型对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与氟西汀组比较 $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ (下同)。

2.2 甜叶菊糖苷对小鼠大脑组织内 Glu、GABA、DA 和 5-HT 含量的影响

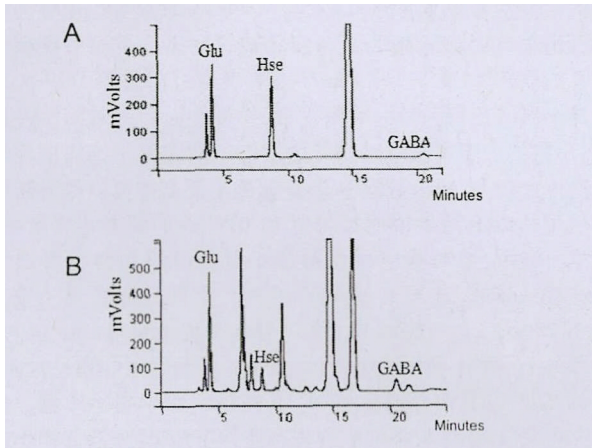
2.2.1 Glu、GABA、DA 和 5-HT 的标准色谱图 图 2、3 显示氨基酸类神经递质标准品溶液、单胺类神经递质标准品溶液和小鼠脑组织匀浆液的色谱图。从色谱图可以看出两种氨基酸类神经递质和两种单胺类神经递质和其他一些未知物质的峰能良好的分离。脑组织提取液中的其他杂峰亦可与待测物质完全分离。通过与已知的氨基酸和神经递质标准品的保留时间进行对比, 以判断样品中的出峰时间。Glu、GABA、DA 和 5-HT 的主峰的保留时间分别是: 4.06 min、20.39 min、8.53 min、13.39 min。



A: DA 和 5-HT 混合标准溶液色谱图; B: 脑组织提取液色谱图。

图 2 甜叶菊糖苷对抑郁小鼠脑内 DA 和 5-HT 含量的影响

2.2.2 Glu、GABA、DA 和 5-HT 的线性回归方程及其相关系数 Glu 与 GABA 按照六个等梯度浓度, 进样一系列标准溶液测定, 以此两种氨基酸神经递质的浓度作为横坐标, 标准峰面积同内标峰面积的比值为纵坐标, 进行回归, 可得 Glu 和 GABA 的标准方程 $y = ax + b$, 其中 y 为峰面积比值, a 为斜率, x 为浓度, b 为常数。



A: Glu 和 GABA 混合标准溶液色谱图; B: 脑组织提取液色谱图。
图3 甜叶菊糖苷对抑郁小鼠脑内 Glu 和 GABA 含量的影响

由表 2 可看出,在该数据范围内各峰面积比值与浓度间呈现良好的线性关系。DA 和 5-HT 按照五个等梯度浓度,进样一系列标准溶液,以此两种神经递质的浓度作为横坐标,相应的峰面积为纵坐标,进行回归,可得 DA 和 5-HT 的标准方程 $y = ax + b$,其中 y 为峰面积, a 为斜率, x 为浓度, b 为常数。由表 2 可看出,在该数据范围内各峰面积与浓度间呈现良好的线性关系。

表 2 Glu、GABA、DA 和 5-HT 的线性回归方程及其相关系数

神经递质	浓度范围/ ($\mu\text{mol/L}$)	标准方程	相关系数(R)
Glu	3.13 ~ 100	$y = 0.3962x + 0.0046$	0.9998
GABA	3.13 ~ 100	$y = 0.0352x + 0.0009$	0.9997
DA	62.50 ~ 1000	$y = 6589604.2985x - 69808.9104$	0.9996
5-HT	31.25 ~ 500	$y = 940188.9638x + 9085.1592$	0.9997

2.2.3 甜叶菊糖苷对小鼠大脑内 Glu、GABA、DA 和 5-HT 的含量的影响 结果发现,与对照组比较,抑郁模型小鼠脑组织内 GABA、DA 和 5-HT 的含量明显减少,而 Glu 含量明显升高,提

示制备抑郁小鼠模型成功;与模型组比较,甜叶菊糖苷 6.25 mg/kg 组明显降低了 Glu 的含量,明显升高了 GABA、DA 和 5-HT 的含量,甜叶菊糖苷 12.5 mg/kg 组未能有效改善 Glu、GABA、DA 和 5-HT 的含量;与氟西汀比较,甜叶菊糖苷 6.25 mg/kg 组对 5-HT 的影响作用较弱,而对 Glu、GABA 和 DA 的含量改善程度相当,甜叶菊糖苷 12.5 mg/kg 组对这四种神经递质的改善不如氟西汀。见表 3。

表 3 甜叶菊糖苷对抑郁小鼠大脑内 Glu、GABA、DA 和 5-HT 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

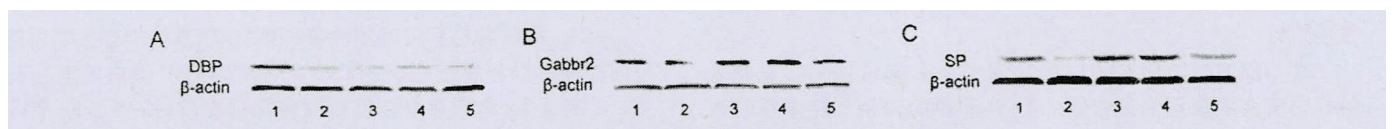
组别	剂量/ (mg/kg)	Glu/ ($\mu\text{g/g}$)	GABA/ ($\mu\text{g/g}$)	DA/ ($\mu\text{g/g}$)	5-HT/ ($\mu\text{g/g}$)
正常对照	-	$28.3 \pm 2.0^{**}$	$41.2 \pm 3.8^{**}$	$544 \pm 20^{**}$	$456 \pm 5^{**}$
模型对照	20	42.3 ± 2.3	18.3 ± 1.8	285 ± 5	271 ± 7
氟西汀	30	$29.2 \pm 1.8^{**}$	$34.5 \pm 2.1^*$	$511 \pm 12^{**}$	$487 \pm 23^{**}$
甜叶菊糖苷	6.25	$27.4 \pm 2.1^{**}$	$37.8 \pm 2.9^{**}$	$570 \pm 16^{**}$	$398 \pm 15^{**}$
甜叶菊糖苷	12.5	$36.7 \pm 2.7^{\Delta\Delta}$	$18.8 \pm 0.9^{\Delta}$	$313 \pm 22^{\Delta\Delta}$	$255 \pm 10^{\Delta\Delta}$

2.3 甜叶菊糖苷对抑郁小鼠脑组织和脾组织内 DBP、Gabbr2 和 SP 蛋白表达的影响

2.3.1 甜叶菊糖苷对抑郁小鼠脑组织内 DBP、Gabbr2 和 SP 蛋白表达的影响 皮质酮干预 21 天后,模型组小鼠脑组织内 DBP、Gabbr2 和 SP 蛋白表达降低;与模型组比较,6.25 mg/kg 甜叶菊糖苷明显上调了 DBP、Gabbr2 和 SP 蛋白的表达,与氟西汀比较,6.25 mg/kg 甜叶菊糖苷上调的作用与其相当,6.25 mg/kg 甜叶菊糖苷的作用优于氟西汀,而 12.5 mg/kg 甜叶菊糖苷几乎无作用。见表 4 和图 4。

表 4 甜叶菊糖苷对抑郁小鼠脑组织中 DBP、Gabbr2 和 SP 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (mg/kg)	DBP/ β -actin	Gabbr2/ β -actin	SP/ β -actin
正常对照	-	$0.62 \pm 0.02^{**}$	$0.72 \pm 0.02^{**}$	$0.66 \pm 0.04^{**}$
模型对照	20	0.39 ± 0.04	0.42 ± 0.04	0.45 ± 0.05
氟西汀	30	$0.24 \pm 0.02^{**}$	$0.75 \pm 0.05^{**}$	$0.73 \pm 0.08^{**}$
甜叶菊糖苷	6.25	$0.47 \pm 0.06^{*\Delta\Delta}$	$0.79 \pm 0.07^{**}$	$0.85 \pm 0.02^{**\Delta\Delta}$
甜叶菊糖苷	12.5	$0.13 \pm 0.03^{**\Delta\Delta}$	$0.46 \pm 0.02^{\Delta\Delta}$	$0.41 \pm 0.03^{\Delta\Delta}$



A: DBP 蛋白表达; B: Gabbr2 蛋白表达; C: SP 蛋白表达; 1: 正常对照; 2: 模型对照; 3: 氟西汀 30 mg/kg; 4: 甜叶菊糖苷 6.25 mg/kg; 5: 甜叶菊糖苷 12.50 mg/kg。

图 4 甜叶菊糖苷对抑郁小鼠脑组织中 DBP、Gabbr2 和 SP 蛋白表达的影响

2.3.2 甜叶菊糖苷对小鼠脾组织内 DBP 和 SP 蛋白表达的影响 小鼠脾脏内无 Gabbr2 蛋白的表达。用皮质酮干预 21 天后,与正常对照比较,模型组 DBP 和 SP 的蛋白表达明显下调;

表 5 甜叶菊糖苷对抑郁小鼠脾组织内 DBP 和 SP 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (mg/kg)	DBP/ β -actin	SP/ β -actin
正常对照	-	$0.43 \pm 0.04^{**}$	$0.47 \pm 0.04^*$
模型对照	20	0.15 ± 0.03	0.35 ± 0.03
氟西汀	30	$0.03 \pm 0.01^{**}$	$0.56 \pm 0.07^{**}$
甜叶菊糖苷	6.25	$1.03 \pm 0.09^{**\Delta\Delta}$	$0.46 \pm 0.09^{*\Delta}$
甜叶菊糖苷	12.5	$0.04 \pm 0.03^*$	$0.24 \pm 0.04^{*\Delta\Delta}$

与模型组比较,甜叶菊糖苷明显上调了 DBP 和 SP 的蛋白表达,12.5 mg/kg 甜叶菊糖苷未能有效改善 DBP 和 SP 的表达;与氟西汀比较,6.25 mg/kg 的甜叶菊糖苷在改善 DBP 表达上优于氟西汀,而在上调 SP 蛋白表达不如氟西汀。见表 5 和图 5。



A: DBP 蛋白表达; B: SP 蛋白表达; 1: 正常对照; 2: 模型对照; 3: 氟西汀 30 mg/kg; 4: 甜叶菊糖苷 6.25 mg/kg; 5: 甜叶菊糖苷 12.50 mg/kg。

图 5 甜叶菊糖苷对抑郁小鼠脾组织内 DBP 和 SP 蛋白表达的影响

3 讨论

动物实验发现, 应激可致下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴(HPA轴)功能亢进, 出现高糖皮质激素血症等异常变化, 影响糖代谢、增加兴奋性氨基酸的神经毒性、影响神经营养因子的表达等, 最终造成神经元损伤^[16]。不同应激方式致抑郁症可能与皮质酮的负反馈失调有关: 持续升高的皮质酮作用于海马II型-糖皮质类固醇受体(glucocorticoid receptor, GR), 影响外周组织的能量代谢, 使海马神经元摄取葡萄糖发生障碍, 神经元因缺乏能量来源而受到损伤; 糖皮质激素(glucocorticoid, GC)能够活化GR, 使Glu生成增多堆积在突触后膜, 通过Glu-NMDAR-NOS-ONOO-通路, 产生自由基损伤神经细胞线粒体; 蓄积的Glu堆积, 还可引起神经营养因子的下调。这些作用累加于海马神经元, 造成海马神经元衰老死亡, 继而促使海马对HPA轴的负反馈功能失调, HPA轴持续亢进, 进而导致小鼠产生抑郁症状^[17]。给小鼠连续21天注射皮质酮造成抑郁模型后, 小鼠的行为明显发生变化, 其糖水消耗量与正常对照组比较明显减少, 强迫游泳不动时间却明显增多。同时, 神经递质的含量也明显改变, 如Glu含量升高, GABA、DA和5-HT明显减少。

抑郁症的发病机制不明, 目前公认的假说为单胺类神经递质及其受体功能紊乱学说, 该假说认为抑郁症的发生与突触间隙中的中枢单胺类神经递质5-HT水平的降低有关^[18]。也有研究表明抑郁的发生也可能与DA含量的降低以及DA与5-HT之间的失衡有关^[19]。DA、5-HT均为单胺类神经递质, 其中缘叶DA系统主要调控情绪, 维持探索能力, 引起行为唤醒、感觉运动激活和增加食物摄入, 其降低可导致兴趣减退、嗜睡、人格解体、精神运动性阻滞、厌食以及抑郁发生率增加。而5-HT能系统有抑制自主活动的作用, 其作为自体活性物质, 主要分布于松果体和下丘脑, 发出的投射纤维广泛分布于脑的各部, 可能参与痛觉、睡眠和体温等生理功能的调节。在正常情况下, 中枢神经递质的分泌保持在一定水平, 并且它们相互之间的比例协调, 从而维持功能的稳定, 但是一旦脑内单胺类神经递质的代谢发生紊乱, 出现DA、5-HT含量的下降, 则会导致抑郁症的发生^[20]。

在目前的抑郁症发病机制学说中还有学说认为谷氨酸系统在抑郁症的病理生理过程中起着重要的作用。免疫系统激活能导致该系统的紊乱, 机体应激使脑内谷氨酸升高, 当浓度超出生理正常范围, 就会产生兴奋性神经毒性, 从而导致抑郁症的产生。有研究发现, 在抑郁小鼠体内, 无论是血浆中还是脑脊液中, 谷氨酸都有明显的升高^[21]。而重要的抑制性氨基酸GABA是哺乳动物中枢神经系统中重要的抑制性神经递质, 约50%的中枢神经突触部位以GABA为递质, 其在人体大脑皮质、海马、丘脑、基底神经节和小脑中起重要作用, 并对机体的多种功能具有调节作用^[22]。一些研究者已经证实GABA的减少与抑郁症是相关的, 并发现抑郁小鼠中的GABA相对于对照组明显降低^[23]。本研究结果中模型组GABA的含量同样明显降低, 表明本实验诱导的抑郁小鼠模型是成功的。且甜叶菊糖苷可有效改善小鼠的抑郁行为, 而6.25 g/kg甜叶菊糖苷能明显增加抑郁小鼠脑组织中GABA、DA和5-HT的含量, 降低Glu的含量, 与模型组比较存在显著性差异。这提示甜叶菊糖苷有潜在的抗抑郁作用。

抑郁症的临床症状包括生理节奏的紊乱, 而DBP是一个典

型的调节生理节奏的钟控基因。Niculescu A B等运用整合功能基因组学方法认定DBP是与双相情感障碍以及相关疾病紧密联系的候选基因^[24]。Ogden C A等又通过对去除DBP的纯合子的小鼠进行行为学的检测发现, 即使注射甲基苯丙胺进行刺激, 小鼠依然表现出快感缺乏的状态。故在第十二届世界精神病学大会提出敲除DBP基因的小鼠或许可以作为新的抑郁模型。以上结果说明抑郁症和DBP的下调表达高度相关。在本研究中, 与对照组相比抑郁小鼠脑组织和脾脏组织中的DBP表达降低, 这与Lenculescu H等^[25]的研究结果一致。然而6.25 g/kg甜叶菊糖苷上调了脑和脾脏组织中DBP的表达, 12.5 g/kg甜叶菊糖苷没有改善脑、脾组织中DBP的表达。Gabbr2是GABAB受体的亚基, 其在脑组织中表达丰富。已有研究表明Gabbr2与抑郁症的关系非常密切, 且在抑郁样小鼠脑组织中呈下降趋势^[26]。本研究结果与上述研究结果一致, 抑郁小鼠脑组织中Gabbr2的表达水平明显降低。可惜的是, 由于Gabbr2蛋白在脾脏组织中不表达, 所以未能检测到Gabbr2, 这与Bettler's的报道一致^[27]。统计结果显示, 12.5 g/kg甜叶菊糖苷没有上调脑组织中Gabbr2的表达, 但6.25 g/kg甜叶菊糖苷上调了Gabbr2的表达。SP是一个由TAC1基因编码的神经肽, 其在神经系统 and 外周组织中广泛表达, 被认为与抑郁症等情绪疾病的行为调控有关。有报道称慢性应激会增加健康受试者血液循环中的SP水平^[28]。Bondy B和Geraciotti Jr TD报道发现抑郁患者的血浆和脑脊液中SP水平同样也是升高的^[29, 30]。Sergeyev V通过临床前研究显示慢性温和性刺激可以提高内侧杏仁核和下丘脑中SP mRNA的表达^[31]。然而Mallesman O通过研究认为在Wistar Kyoto(WKY)大鼠血浆和下丘脑中SP含量是降低的^[32]。此外, Carvalho MC报道称在背部海马给予SP可起到保护作用以对抗应激^[32]。Brodin E也发现抑郁小鼠脑组织中SP的含量是下降的^[33]。本研究结果表明在抑郁小鼠脑组织和脾脏里的SP表达是下降的, 造成这种争议的原因可能是与研究的部位和模型不同有关。用药以后6.25 g/kg甜叶菊糖苷上调了脑组织和脾脏组织中SP的表达, 而12.5 g/kg甜叶菊糖苷没有改善任何组织中SP的表达。

综上, 甜叶菊糖苷可有效改善抑郁症状, 其抗抑郁机制可能与调控脑组织和脾脏组织中DBP、Gabbr2与SP蛋白的表达有关。6.25 g/kg甜叶菊糖苷可以改善抑郁症状, 12.5 g/kg甜叶菊糖苷未能改善抑郁小鼠的抑郁症状, 可能是由于甜叶菊糖苷是化学提取物, 纯度高, 容易产生细胞毒性, 甜叶菊糖苷用药剂量设计有待进一步探讨。另外, 甜叶菊中是否具有其他抗抑郁的成分需进一步进行研究。

参考文献

- [1] 瞿伟, 谷珊珊. 抑郁症治疗研究新进展. 第三军医大学学报, 2014, 36(11): 1113~1117.
- [2] 马妮, 陈林庆, 刘立, 等. 从脾论抑郁症与情志及心理应激的相关性. 世界中西医结合杂志, 2010, 5(1): 79~80.
- [3] 康晓妮, 张梅奎. 从心脾论治抑郁症. 吉林中医药, 2015, (6): 551~552.
- [4] 朱凌凌, 童瑶, 陈慧娟, 等. 脾的中西医结合比较研究. 浙江中医杂志, 2006, 41(1): 1~6.
- [5] Ruiz-Ruiz J C, Yolanda Beatriz Moguel-Ordoñez, Segura-Campos M R. Biological activity of Stevia rebaudiana Bertoni and their relationship to

- health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2017 57 (12): 11.
- [6] Pascua M L C ,Rubio R M T. The neuro-physiological effect of Stevia rebaudiana to Imprinted Control Mice (ICR) mice. *Current Science* 2014 2014 (13): 138 ~ 146.
- [7] Das A ,Paul D ,Golder A K ,et al. Separation of Rebaudioside-A from stevia extract: Membrane selection ,assessment of permeate quality and fouling behavior in laminar flow regime. *Separation and Purification Technology* , 2015 ,144: 8 ~ 15.
- [8] Momtazi-Borojeni Amir Abbas ,Esmaili Seyed-Alireza ,Abdollahi Elham , et al. A Review on the Pharmacology and Toxicology of Steviol Glycosides Extracted from Stevia rebaudiana. *Current Pharmaceutical Design* ,2017 ,23 (11): 1616 ~ 1622.
- [9] Zhan H ,Huang F ,Yan F ,et al. Alterations in splenic function and gene expression in mice with depressive-like behavior induced by exposure to corticosterone. *International Journal of Molecular Medicine* 2017 39 (2): 327 ~ 336.
- [10] Fatemi S H ,Folsom T D ,Thuras P D. Deficits in GABA(B) receptor system in schizophrenia and mood disorders: a postmortem study. *Schizophrenia Research* ,2011 ,128 (1): 37 ~ 43.
- [11] Abdallah Chadi G ,Jackowski Andrea ,Sato João R ,et al. Prefrontal cortical GABA abnormalities are associated with reduced hippocampal volume in major depressive disorder. *European neuropsychopharmacology* ,2015 ,25: 1082 ~ 1090.
- [12] 邵利伟 ,黄锋 ,詹合琴 ,等. 炒焦枣提取物的抗抑郁作用及其机制. *中成药* 2016 38 (4): 912 ~ 917.
- [13] Malkesman O ,Braw Y ,Weller A. Assessment of antidepressant and anxiolytic properties of NK1 antagonists and Substance P in Wistar Kyoto rats. *Physiology & Behavior* 2007 90 (4): 619 ~ 625.
- [14] Højgaard K ,Christiansen SL ,Bouzinova EV ,et al. Disturbances of diurnal phase markers ,behavior ,and clock genes in a rat model of depression; modulatory effects of agomelatine treatment. *Psychopharmacology (Berl)* , 2018 235 (3): 627 ~ 640.
- [15] 刘会茹 ,孙娟 ,邵利伟 ,等. 甜叶菊浸膏对抑郁小鼠脾脏组织中 DBP 和 SP 蛋白表达的影响. *华西药学杂志* 2017 32 (3): 251 ~ 253.
- [16] 马书娟 ,姚建平 ,樊蔚虹 ,等. 柴胡疏肝散对抑郁模型大鼠 HPA 轴功能的影响. *中国中医基础医学杂志* 2014 (9): 1210 + 1280.
- [17] 何海然 ,薛占霞. 抑郁症相关发病机制的研究进展. *神经药理学报* , 2016 6 (2): 20 ~ 25.
- [18] Hannerfors A K ,Hellgren C ,Schijven D ,et al. Treatment with serotonin reuptake inhibitors during pregnancy is associated with elevated corticotropin-releasing hormone levels. *Psychoneuroendocrinology* 2015 58: 104 ~ 113.
- [19] Tye K M ,Mirzabekov J J ,Warden M R ,et al. Dopamine neurons modulate neural encoding and expression of depression-related behaviour. *Nature* , 2013 493 (7433): 537.
- [20] 李建国 ,赵博. 中医药对抑郁症单胺类神经递质影响的研究进展. *贵阳中医学院学报* 2011 33 (4): 129 ~ 132.
- [21] Pehrson A L ,Connie S. Serotonergic modulation of glutamate neurotransmission as a strategy for treating depression and cognitive dysfunction. *CNS Spectrums* ,2014 ,19 (2): 121 ~ 133.
- [22] 李珍 ,安书成 ,李江娜. 抑郁症发生中 γ -氨基丁酸与其它相关递质的关系. *生理科学进展* 2014 (3): 190 ~ 194.
- [23] Gilabertjuan J ,Castillogomez E ,Guirado R ,et al. Chronic stress alters inhibitory networks in the medial prefrontal cortex of adult mice. *Brain Structure & Function* 2013 218 (6): 1591 ~ 1605.
- [24] Niculescu A B ,Segal D S ,Kuczenski R ,et al. Identifying a series of candidate genes for mania and psychosis: a convergent functional genomics approach. *Physiological genomics* 2000 4 (1): 83 ~ 91.
- [25] Leniculescu H ,Mcfarland M J ,Mamidipalli S ,et al. Convergent Functional Genomics of bipolar disorder: from animal model pharmacogenomics to human genetics and biomarkers. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* , 2007 31 (6): 897 ~ 903.
- [26] Fatemi S ,Folsom T ,Rooney R ,et al. Expression of GABAA α 2 , β 1-and ϵ -receptors are altered significantly in the lateral cerebellum of subjects with schizophrenia ,major depression and bipolar disorder. *Translational psychiatry* , 2013 3 (9): e303.
- [27] Bettler B ,Kaupmann K ,Mosbacher J ,et al. Molecular structure and physiological functions of GABAB receptors. *Physiological reviews* ,2004 ,84 (3): 835 ~ 867.
- [28] Weiss D W ,Hirt R ,Tarcic N ,et al. Studies in psychoneuroimmunology : psychological ,immunological ,and neuroendocrinological parameters in Israeli civilians during and after a period of Scud missile attacks. *Behavioral Medicine* ,1996 22 (1): 5 ~ 14.
- [29] Bondy B ,Baghai T C ,Minov C ,et al. Substance P serum levels are increased in major depression: preliminary results. *Biological Psychiatry* 2003 , 53 (6): 538 ~ 542.
- [30] Geraciotti J R M ,Thomas D ,Carpenter L L ,Owens M J ,et al. Elevated cerebrospinal fluid substance p concentrations in posttraumatic stress disorder and major depression. *American Journal of Psychiatry* 2006 ,163 (4): 637 ~ 643.
- [31] Sergeev V ,Fetisov S ,Math A A ,et al. Neuropeptide expression in rats exposed to chronic mild stresses. *Psychopharmacology* 2005 ,178 (2-3): 115 ~ 124.
- [32] Carvalho M ,Masson S ,Brandao M ,et al. Anxiolytic-like effects of substance P administration into the dorsal ,but not ventral ,hippocampus and its influence on serotonin. *Peptides* 2008 29 (7): 1191 ~ 1200.
- [33] Brodin E ,Ögren S ,Theodorsson-Norheim E. Effects of subchronic treatment with imipramine ,zimetidine and alaproclate on regional tissue levels of substance P-and neurokinin A/neurokinin B-like immunoreactivity in the brain and spinal cord of the rat. *Neuropharmacology* ,1987 ,26 (6): 581 ~ 590.

Antidepressant Effect of Stevioside and Its Effect on the Expression of DBP ,Gabbr2 and SP Proteins in the Mouse Brain and the Spleen*

Hu Yu ,Huang Feng ,Zhan Heqin** ,Han Xumeng ,Jiao Mingli
(School of Pharmacy ,Xinxiang Medical University ,Xinxiang 453003)

Objective: To study the antidepressant effect of stevioside and its effect on the expression of albumin D-site binding protein (DBP) , γ -aminobutyric acid B2 receptor (Gabbr2) and substance P (SP) in the mouse brain and the spleen. **Methods:** δ BALB/c mice were random-

ly divided into 5 groups: the control group, the model group, the positive control group (fluoxetine, 30 mg/kg) and stevioside groups (6.25 mg/kg and 12.5 mg/kg), 12 in each group. Animals in the control group and the model group were given normal saline, and other groups of animals were intragastrically administered with corresponding drugs, once a day for 7 consecutive days. Sucrose preference and forced swimming tests were used to determine behavioral indicators in mice. The contents of glutamic acid (Glu), γ -aminobutyric acid (GABA), dopamine (DA) and serotonin (5-HT) in brain tissues were determined by high performance liquid chromatography. The expression levels of DBP, Gabbr2 and SP protein in brains and spleens were determined by Western blot. **Results:** Compared with the control group, the sucrose preference rate, the contents of GABA, DA and 5-HT, swimming time and Glu level were increased, the levels of DBP, Gabbr2, SP in brains and DBP, SP in spleens were decreased. Compared with the model group, Stevioside significantly increased the sucrose preference rate and reduced the forced-swimming time in depressed mice, in a dose-dependent manner. In 6.25 mg/kg stevioside group, the level of Glu was decreased, the contents of GABA, DA and 5-HT were significantly increased. In addition, the expressions of DBP, Gabbr2 and SP proteins in brain tissues and the expression of DBP and SP proteins in spleen tissues were significantly up regulated. In 12.5 mg/kg stevioside group, no significant effect was observed. **Conclusion:** 6.25 mg/kg stevioside can effectively improve the depression symptoms, which may be related to regulating the expression of DBP, Gabbr2 and SP protein in brain and spleen tissues.

Key words Stevioside, depression, neurotransmitters, DBP, Gabbr2, SP

白及多糖对胃溃疡模型大鼠胃组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 JNK、p38 MAPK 基因蛋白表达水平的影响*

巩子汉¹, 王强¹, 段永强^{1,2**}, 付晓艳¹, 虎峻瑞¹, 成映霞^{1,2}, 杨晓轶¹, 马骏¹, 白敏¹, 牟德海¹
(¹甘肃中医药大学, 兰州 730000; ²甘肃省中医药方药挖掘与创新转化重点实验室, 兰州 730000)

摘要 目的: 探讨白及多糖对胃溃疡(GU)模型大鼠胃组织 JNK、p38 MAPK 基因、蛋白及其介导炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 表达水平的影响。方法: 将 60 只 SPF 级 Wistar 大鼠随机分为空白组和模型组, 模型组大鼠采用乙酸直接烧灼法复制 GU 模型, 将 GU 模型大鼠按随机数字表法分为模型组、盐酸雷尼替丁 0.3 g/kg 组和白及多糖 0.125、0.25、0.5 g/kg 组, 每组 10 只。各组灌胃相应药物或蒸馏水, 连续 15 日。采用 ELISA 法检测各组大鼠胃溃疡病灶组织炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 含量, RT-PCR 法检测胃溃疡病灶组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、JNK 及 p38 MAPK 基因表达水平, WB 法检测 JNK 及 p38 MAPK 蛋白表达水平。结果: 与空白组比较, GU 大鼠病理见胃底腺结构紊乱, 胃黏膜上皮细胞脱落等, 溃疡长度显著增加, 胃组织炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 含量升高, 基因表达显著上调, JNK 及 p38 MAPK 基因及蛋白表达水平显著上调; 与 GU 模型组比较, 白及多糖 0.5 g/kg 组大鼠病理见胃黏膜出现较多腺体, 炎症细胞浸润、坏死层明显减少, 组织病理学检查评分明显降低; 白及多糖各剂量组 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 含量明显降低, 基因表达均下调, JNK 及 p38 MAPK 基因及蛋白表达水平均下调, 以白及多糖 0.5 g/kg 组最显著。结论: 白及多糖可通过下调 JNK 及 P38 MAPK 基因和蛋白表达水平, 抑制炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 异常分泌而发挥保护胃黏膜的作用。

关键词 白及多糖; 胃溃疡; JNK; P38 MAPK; TNF- α ; IL-1 β ; IL-6

DOI:10.13412/j.cnki.zyyj.2019.04.017

胃溃疡(gastric ulcer, GU)作为一种常见多发的消化性溃疡疾病, 临床迁延难愈、易反复发作^[1]。研究表明^[2]物理刺激及化学反应等均可致使胃黏膜发生氧化应激损伤、促炎症细胞因子的大量释放, 是胃溃疡发病的主要因素。白及为兰科植物白及 *Bletilla striata*(Thunb.) Reichb. f. 的干燥块茎, 味苦性微寒, 有止血消肿、生肌敛疮之功, 常与黄连、贝母、轻粉等配伍可治疗疮痍已溃、久不收口者, 正如《神农本草经》所载: "白及味苦, 主疮痍、败疽、胃中邪气、恶疮不收"。白及的主要化学成分为白及多糖, 可促进大鼠胃溃疡创面的愈合, 机制可能与白及多糖可以提高创面羟脯氨酸的含量, 促进创面组织中纤维细胞、血管内皮细胞的增生, 提高创伤巨噬细胞的量有关^[3]。本研究

究白及多糖对 GU 模型大鼠一般生存状况及胃组织病理改变的影响, 胃组织 JNK、P38 MAPK 基因及蛋白的表达水平及下游炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 含量的干预效应, 进一步探讨白及多糖治疗 GU 的作用机制。

1 材料与方法

1.1 试验药物 白及多糖, 含量(HPLC): 99%, 西安泽郎生物科技有限公司, 批号: XAZL171026-4; 盐酸雷尼替丁, 湖南汉森制药有限公司, 批号: 1808202。分别将 0.5 g、0.25 g、0.125 g 白及多糖溶于 10 ml 双蒸水中, 制成 0.05 g/ml、0.025 g/ml、

* 基金项目: 甘肃省教育厅高等学校科研项目(2018A-044)。

** 通讯作者: 段永强, 博士, 教授, 博导, 主要从事中医老年病、脾胃病

和敦煌古医方的研究。E-mail: dyqgs2008@163.com。

作者简介: 巩子汉, 硕士, 研究方向: 敦煌医学文献及脾胃学术思想与临床应用研究。

E-mail: 1217253647@qq.com。