

补肾益髓方及其拆方对自身免疫性脑脊髓炎小鼠脑和脊髓中 BDNF/TrkB 的影响

师一民¹ 王永强¹ 安辰¹ 赵晖¹ 李君玲¹ 齐放¹

张秋霞¹ 陈振振¹ 樊永平² 李明¹ 王蕾¹

(1 首都医科大学中医药学院, 中医络病研究北京市重点实验室, 北京, 100069; 2 首都医科大学附属北京天坛医院, 北京, 100050)

摘要 目的: 观察补肾益髓(Bu Shen Yi Sui, BSYS)方及其拆方补肾(Bu Shen, BS)和化痰活血(Hua Tan Huo Xue, HTHX)方对实验性自身免疫性脑脊髓炎(Experimental Autoimmune Encephalomyelitis, EAE)小鼠脑和脊髓中脑源性神经营养因子(Brain-derived Neurotrophic Factor, BDNF)与受体 TrkB 的影响。方法: 将 EAE 造模小鼠于当天和第 7 天背部皮下注射髓鞘少突胶质细胞糖蛋白(Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein, MOG)₃₅₋₅₅ 抗原, 并在免疫当天和第 2 天后腹腔注射百日咳毒素(Pertussis toxin, PTX)。每日对小鼠进行不同药物的灌胃, 并于造模第 20 和 40 天分别取脑和脊髓, 采用实时荧光定量 RT-PCR (qRT-PCR) 与 Western Blot 法检测 BDNF 和 TrkB 的表达。结果: BSYS 及其拆方 BS 方与 HTHX 方均可明显上调 EAE 小鼠脑和脊髓 BDNF 和 TrkB mRNA 与蛋白的表达, 与模型组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。BSYS 方作用优于其 BS 与 HTHX 方, 但差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论: BSYS 及其拆方促进轴突修复的作用可能与增强 BDNF/TrkB 表达有关, BSYS 全方更有显著趋势。

关键词 补肾益髓方; 拆方; 多发性硬化; 实验性自身免疫性脑脊髓炎; 脑源性神经营养因子/TrkB

Effects of Bushenyisui Formula and Its Decomposed Formulas on Expressions of BDNF /TrkB in Brain and Spinal Cord of Mice with Experimental Autoimmune Encephalomyelitis

Shi Yimin¹, Wang Yongqiang¹, An Chen¹, Zhao Hui¹, Li Junling¹, Qi Fang¹, Zhang Qiuxia¹,
Chen Zhenzhen¹, Fan Yongping², Li Ming¹, Wang Lei¹

(1 Capital Medical University, Beijing 100069, China; 2 Beijing Tiantan Hospital Affiliated Capital Medical University, Beijing 100050, China)

Abstract Objective: To observe effects of Bushenyisui (BSYS) formula and its decomposed formulas, Bu Shen (BS) and Hua Tan Huo Xue (HTHX), on the expressions of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and TrkB in the brain and spinal cord of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). **Methods:** The EAE mice were injected subcutaneously with the myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG)₃₅₋₅₅ in the back on the 1st day and the 7th, and were injected intraperitoneally with pertussis toxin (PTX). All the mice were administered intragastrically with the different medicine or distilled water once a day. The brain and spinal cord of mice were removed for the examination on day 20th and 40th. The expressions of BDNF and TrkB mRNA and proteins were detected by real time fluorescent quantitative (qRT-PCR) and Western Blot analysis. **Results:** The expressions of BDNF and TrkB in the brain and spinal cord of EAE mice were significantly up-regulated by BSYS and its decomposed BS and HTHX, compared with the EAE mice ($P < 0.05$). The effective trend of BSYS on the above indexes was better than that of the decomposed BS and HTHX formulas, but there was no statistical significance ($P > 0.05$). **Conclusion:** The effect of BSYS and its decomposed formulas, BS and HTHX, on promoting axonal repair might be related to enhance the expression of BDNF/TrkB, and that of BSYS was more significant.

Key Words Bu Shen Yi Sui and its decomposed formulas; Multiple sclerosis; Experimental autoimmune encephalomyelitis; BDNF/TrkB

中图分类号: R228; R242 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2017.09.041

实验性自身免疫性脑脊髓炎(Experimental Autoimmune Encephalomyelitis, EAE)是一种 T 细胞介

基金项目: 国家自然科学基金项目(81273742, 81573898); 北京市教委重点项目(KZ201310025023); 北京市属高等学校高层次人才引进与培养计划-长城学者项目(CIT&TCD20140329)

作者简介: 师一民(1990.06—), 男, 在读硕士, 首都医科大学中医药学院, 主要从事中医药防治脑病的基础研究

通信作者: 李明(1963.11—), 女, 博士, 教授, 研究方向: 方剂配伍规律及功效机制研究, E-mail: 13611386113@163.com; 王蕾(1967.10—), 女, 博士, 教授, 研究方向: 中医药防治脑病的功效及机制研究, Tel: (010)83911626, E-mail: tmwangl@ccmu.edu.cn

导的中枢神经系统疾病,由于其临床表现和病理变化与人类多发性硬化症非常相似,因此,目前常常制备动物 EAE 作为研究 MS 的实验模型^[1]。前期研究发现,补肾益髓(Bu Shen Yi Sui, BSYS)方对 MS 患者及其 EAE 动物模型具有明显的神经保护作用^[2]。拆方研究发现,补肾益髓及其拆方补肾和化痰活血(HTHX)方均能降低 EAE 小鼠的神经功能评分,减轻其脑和脊髓的病理炎性反应损伤,减轻轴突损伤和促进其神经修复^[3-5]。但其促进损伤的轴突修复机制还不清楚。研究证实,神经营养因子能够促进神经细胞的存活、生长、分化。在众多的神经生长因子中,脑源性神经营养因子(Brain-derived Neurotrophic Factor, BDNF)是成年大鼠脑内分布最为广泛的神经生长因子,主要在皮质和海马中合成。BDNF 共有 2 个受体,一个是低亲和力的 P75 受体,另一个是高亲和力受体 TrkB, BDNF 与 TrkB 结合后激活 RAS/ERK 与 PI3K/AKT 信号通路,进而调节其下游分子来发挥其神经修复作用^[6-8]。TrkB 受体在此信号通路中起着至关重要的作用。其为了深入探讨补肾益髓及其拆方促进在轴突修复的作用机制,本实验主要采用实时荧光定量 RT-PCR (qRT-PCR) 与 Western Blot 法观察补肾益髓及其拆方补肾和化痰活血方对 EAE 小鼠脑与脊髓中 BDNF 和 TrkB 表达的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 70 只 SPF 级 C57BL/6 雌性小鼠(体重 15 ~ 17 g)购于北京维通利华实验动物技术有限公司[许可证号为 SCXK(京)2012-0001]。动物饲养于首都医科大学实验动物中心(许可证号 SYXK(京)2010-0020)的独立通气笼内,温度 18 ~ 22 ℃,相对湿度 40% ~ 60%,自由饮水和饮食。所有实验项目均通过首都医科大学伦理委员会批准。

1.1.2 实验药物补肾益髓及其拆方补肾和化痰活血方均有北京亚东生物制药有限公司制备。补肾益髓方由生地黄、熟地黄、浙贝母、水蛭、全蝎、益母草等组成;补肾方由生地黄、熟地黄等组成;化痰活血方由浙贝母、水蛭、全蝎、益母草等组成。醋酸泼尼松片(Prednisone Acetate, PA)由天津力生制药有限公司生产,梓醇(Catapol, CA)由杭州康木科技有限公司提供。

1.1.3 主要试剂髓鞘少突胶质细胞糖蛋白(Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein, MOG)₃₅₋₅₅由北京旭和源生物科技有限公司合成;灭活结核分支杆菌(Mycobacterium Tuberculosis, TB, 货号 231141)由美国 BD 公司提供。完全弗氏佐剂(Complete Freund's Adjuvant, CFA, 货号 F5881)、百日咳毒素(Pertussis Toxin, PTX, 货号 P7208)均由美国 Sigma 公司提供;PCR 引物由大连 TaKaRa 公司合成, RNA prep pure 动物组织总 RNA 提取试剂盒(离心柱型)(DP431), TIANScript cDNA 第一链合成试剂盒(KR104), RealMasterMix(SYBR Green)试剂盒(FP204), 2 × Taq PCR MasterMix(KT201-01), 50bp DNA Ladder(MD108), Mark III(MD103), GeneGreen 核酸染料(RT210), 均购自天根生化科技有限公司。

bacterium Tuberculosis, TB, 货号 231141)由美国 BD 公司提供。完全弗氏佐剂(Complete Freund's Adjuvant, CFA, 货号 F5881)、百日咳毒素(Pertussis Toxin, PTX, 货号 P7208)均由美国 Sigma 公司提供;PCR 引物由大连 TaKaRa 公司合成, RNA prep pure 动物组织总 RNA 提取试剂盒(离心柱型)(DP431), TIANScript cDNA 第一链合成试剂盒(KR104), RealMasterMix(SYBR Green)试剂盒(FP204), 2 × Taq PCR MasterMix(KT201-01), 50bp DNA Ladder(MD108), Mark III(MD103), GeneGreen 核酸染料(RT210), 均购自天根生化科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 将小鼠随机分为 7 组:正常(NC)、模型(MO)、PA 组、CA 组、BS 组、HTHX 组及 BSYS 组。每组 10 只。EAE 造模小鼠于造模当天与造模后第 7 天背部皮下注射 0.2 mL 抗原,包括 MOG₃₅₋₅₅(50 μg)、CFA(100 μL)和 TB(0.3 mg),当天和第 2 天后腹腔注射 500 ng 的 PTX。NC 小鼠注射相同剂量的生理盐水。

1.2.2 给药方法 BSYS 方组小鼠给予 BSYS 混悬液(3.02 g 生药/kg 体重)灌胃;BS 方组给予 BS 混悬液(1.44 g 生药/kg 体重);HTHX 方组给予 HTHX 混悬液(1.57 g 生药/kg 体重);PA 组小鼠给予 PA 混悬液(5 mg/kg 体重);CA 组给予 CA(40 mg/kg 体重);NC 和 MO 组均给予等体积的蒸馏水灌胃。1 次/d, 共计 40 d。

1.2.3 标本采集 于造模第 20 天(急性期)和第 40 天(缓解期),小鼠 10% 水合氯醛(190 mg/kg)腹腔注射麻醉后,取其脑及脊髓,快速放入液氮后移至 -80 ℃ 冷冻保存。

1.2.4 qRT-PCR 检测小鼠脑及脊髓中 BDNF、TrkB mRNA 的表达 按照动物组织总 RNA 提取试剂盒说明书提取小鼠脑组织与脊髓组织 RNA, 然后根据 RT-PCR kit 的说明反转录为 cDNA。引物序列见表 1。扩增条件为 95 ℃ 5 min 变性, 95 ℃ 10 s, 52 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s, 共 40 个循环。以基因 β-tubulin 为内参对照, 2^{-ΔΔCt}(Ct 代表循环阈值)表示 BDNF 和 TrkB mRNA 相对表达量。

1.2.5 Western Blot 检测小鼠脑及脊髓中 BDNF 和 TrkB 蛋白的表达 取小鼠脑与脊髓组织,按 1:7 的比例加入蛋白裂解液,匀浆后,置于冰上 30 min, 4 ℃ 离心 20 min 后,取上清液。建立标准曲线,每孔加上清液 100 μL, 将 96 孔板置于 37 ℃, 反应 120 min 后,严格按照试剂盒说明书步骤进行检测。

用酶标仪测定 450 nm 处吸光值,制作标准曲线,计算样本浓度,根据样本蛋白浓度,稀释使其终浓度为 3 μg/μL。取样本 7 μL(含 21 μg 蛋白)蛋白样品进行 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳,电转 50 min,5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h,分别加入 BDNF(1:10 000)/TrkB(1:20 000)/β-tubulin(1:100 000)的单克隆抗体,4℃ 过夜后, TBST 洗膜 4 次,每次 10 min,加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:20 000,抗兔/小鼠),室温孵育 1 h,洗膜 4 次,每次 5 min 后,于暗室进行胶片曝光、显影和定影。通过 Image J 图像分析系统测定各蛋白条带的灰度值,以目的蛋白条带的灰度值与内参 β-tubulin 条带灰度值的比值表示各蛋白的相对表达水平。

表 1 引物序列

基因	引物序列	扩增产物长度(bp)
BDNF	上游 5'TCAAGTTGGAAGCCTGAATGAATG3'	121
	下游 5'CTGATGCTCAGGAACCCAGGA3'	
TrkB	上游 5'CTAACAGCGTTGACCCGGAGA3'	139
	下游 5'ACAAACTTTAAGCCGGAATCCACA3'	

1.3 统计学方法 所有实验数据应用 SPSS 13.0 统计软件处理,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示。采用单因素方差分析,组间比较采用 LSD 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1.1 BSYS 及其拆方 BS 和 HTHX 方对 EAE 小鼠脑与脊髓中 BDNF mRNA 表达的影响 QRT-PCR 结果显示,在造模的第 20 天和第 40 天,MO 组小鼠脑和脊髓的 BDNF mRNA 表达较 NC 组明显下降($P < 0.01$)。与 MO 组比较,各观察组均能显著升高 BDNF mRNA 表达,尤其 PA 和 BSYS 方组差异更为明显($P < 0.01$),但治疗各组差异无统计学意义。见表 2。

表 2 7 组小鼠脑和脊髓中 BDNF mRNA 的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	脑		脊髓	
		第 20 天	第 40 天	第 20 天	第 40 天
NC	4	1.28 ± 0.18	1.31 ± 0.18	1.14 ± 0.13	1.16 ± 0.06
MO	4	0.76 ± 0.10**	0.85 ± 0.09**	0.62 ± 0.07**	0.72 ± 0.08**
PA	4	1.18 ± 0.08 ^{△△}	1.25 ± 0.04 ^{△△}	1.03 ± 0.08 ^{△△}	1.07 ± 0.11 ^{△△}
CA	4	0.92 ± 0.05 [△]	1.01 ± 0.05 [△]	0.86 ± 0.04 [△]	0.88 ± 0.07 [△]
BS	4	1.04 ± 0.09 [△]	1.06 ± 0.06 [△]	0.89 ± 0.04 [△]	0.92 ± 0.06 [△]
HTHX	4	0.90 ± 0.05 [△]	1.00 ± 0.10 [△]	0.85 ± 0.04 [△]	0.85 ± 0.07 [△]
BSYS	4	1.22 ± 0.08 ^{△△}	1.27 ± 0.04 ^{△△}	1.08 ± 0.08 ^{△△}	1.11 ± 0.01 ^{△△}

注:与 NC 组比较,** $P < 0.01$;与 MO 组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

2.1.2 BSYS 及其拆方 BS 和 HTHX 方对 EAE 小鼠脑与脊髓中 TrkB mRNA 表达的影响 qRT-PCR 结果显示,在造模第 20 天和第 40 天时,和 NC 组比较,

MO 组小鼠脑和脊髓的 TrkB mRNA 表达明显下降($P < 0.01$)。与 MO 组比较,各观察组均能显著升高 TrkB mRNA 表达,尤其 PA 和 BSYS 方组差异有统计学意义($P < 0.01$)。而治疗各组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 7 组小鼠脑和脊髓中 TrkB mRNA 的变化

组别	只数	脑		脊髓	
		第 20 天	第 40 天	第 20 天	第 40 天
NC	4	1.03 ± 0.20	1.05 ± 0.29	1.00 ± 0.10	1.05 ± 0.23
MO	4	0.27 ± 0.11**	0.38 ± 0.23**	0.33 ± 0.06**	0.45 ± 0.09**
PA	4	0.92 ± 0.13 ^{△△}	0.97 ± 0.14 ^{△△}	0.92 ± 0.16 ^{△△}	0.98 ± 0.07 ^{△△}
CA	4	0.76 ± 0.10 [△]	0.85 ± 0.10 [△]	0.75 ± 0.16 [△]	0.83 ± 0.06 [△]
BS	4	0.81 ± 0.11 [△]	0.89 ± 0.12 [△]	0.82 ± 0.15 [△]	0.91 ± 0.11 [△]
HTHX	4	0.71 ± 0.20 [△]	0.82 ± 0.08 [△]	0.72 ± 0.12 [△]	0.83 ± 0.07 [△]
BSYS	4	0.94 ± 0.14 ^{△△}	1.01 ± 0.16 ^{△△}	0.95 ± 0.05 ^{△△}	1.02 ± 0.07 ^{△△}

注:与 NC 组比较,** $P < 0.01$;与 MO 组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

2.1.3 BSYS 及其拆方 BS 和 HTHX 方对 EAE 小鼠脑与脊髓中 BDNF 蛋白表达的影响 WB 结果显示,第 20 天和第 40 天,MO 组小鼠脑和脊髓的 BDNF 蛋白表达较 NC 组明显下降($P < 0.01$)。与 MO 组比较,各观察组均能显著升高 BDNF 蛋白表达,尤其 PA 和 BSYS 方组更为明显($P < 0.01$),但治疗各组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 1-2,表 4。

表 4 7 组小鼠脑和脊髓中 BDNF 蛋白的变化

组别	只数	脑		脊髓	
		第 20 天	第 40 天	第 20 天	第 40 天
NC	4	1.94 ± 0.37	1.95 ± 0.56	1.91 ± 0.81	1.91 ± 0.57
MO	4	0.42 ± 0.11**	0.51 ± 0.21**	0.38 ± 0.13**	0.50 ± 0.19**
PA	4	1.72 ± 0.29 ^{△△}	1.80 ± 0.38 ^{△△}	1.68 ± 0.38 ^{△△}	1.81 ± 0.32 ^{△△}
CA	4	0.90 ± 0.06 [△]	1.00 ± 0.15 [△]	0.92 ± 0.17 [△]	0.98 ± 0.21 [△]
BS	4	1.34 ± 0.20 ^{△△}	1.51 ± 0.18 ^{△△}	1.33 ± 0.19 ^{△△}	1.53 ± 0.15 ^{△△}
HTHX	4	0.91 ± 0.61 [△]	1.01 ± 0.09 [△]	0.95 ± 0.11 [△]	1.09 ± 0.22 [△]
BSYS	4	1.78 ± 0.17 ^{△△}	1.84 ± 0.16 ^{△△}	1.72 ± 0.15 ^{△△}	1.83 ± 0.35 ^{△△}

注:与 NC 组比较,** $P < 0.01$;与 MO 组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

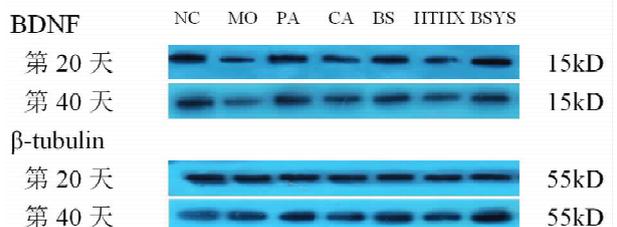


图 1 各组小鼠脑中 BDNF 蛋白的表达

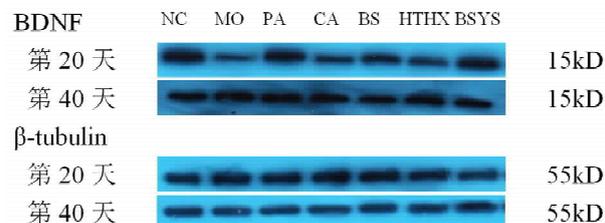


图 2 7 组小鼠脊髓中 BDNF 蛋白的表达

2.1.4 BSYS 及其拆方 BS 和 HTHX 方对 EAE 小鼠脑与脊髓中 TrkB 蛋白表达的影响 WB 结果显示,第 20 天和第 40 天,MO 组小鼠脑和脊髓的 TrkB 蛋白表达较 NC 组明显下降($P < 0.01$)。与 MO 组比较,各观察组均能显著升高 TrkB 蛋白表达,尤其 PA 和 BSYS 方组更为明显($P < 0.01$),但治疗各组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 3-4,表 5。

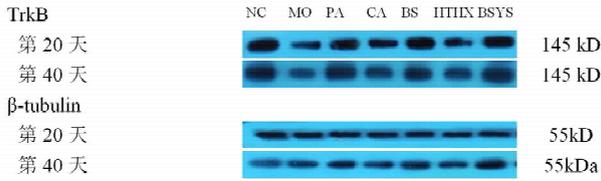


图 3 7 组小鼠脑中 TrkB 蛋白的表达变化

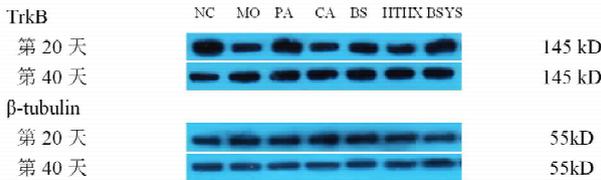


图 4 7 组小鼠脊髓中 TrkB 蛋白的表达

表 5 7 组小鼠脑和脊髓中 TrkB 蛋白的变化

组别	只数	脑		脊髓	
		第 20 天	第 40 天	第 20 天	第 40 天
NC	4	1.93 ± 0.72	1.99 ± 0.34	1.92 ± 0.29	1.97 ± 0.10
MO	4	0.40 ± 0.14**	0.56 ± 0.04**	0.42 ± 0.04**	0.57 ± 0.10**
PA	4	1.74 ± 0.30 ^{△△}	1.83 ± 0.21 ^{△△}	1.77 ± 0.12 ^{△△}	1.82 ± 0.08 ^{△△}
CA	4	0.90 ± 0.14 [△]	1.05 ± 0.07 [△]	0.90 ± 0.09 [△]	1.02 ± 0.11 [△]
BS	4	1.44 ± 0.16 ^{△△}	1.65 ± 0.21 ^{△△}	1.40 ± 0.25 ^{△△}	1.60 ± 0.12 ^{△△}
HTHX	4	0.92 ± 0.56 [△]	1.08 ± 0.06 [△]	0.91 ± 0.05 [△]	1.03 ± 0.09 [△]
BSYS	4	1.73 ± 0.33 ^{△△}	1.89 ± 0.23 ^{△△}	1.77 ± 0.24 ^{△△}	1.85 ± 0.20 ^{△△}

注:与 NC 组比较, ** $P < 0.01$; 与 MO 组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$

3 讨论

BDNF 是 1982 年由德国生物学家 Barde 及其同事首次从猪脑中纯化并发现具有防止神经元死亡功能的一种蛋白质,是目前研究最为广泛的神经营养因子之一。内嗅皮层是位于颞叶、邻近海马的区域,内嗅皮层和海马通过纤维投射和神经元换元,形成内嗅皮层-海马环路^[9-10]。内嗅皮层是 BDNF 产生的主要部位,并能够转运到海马^[11]。Marchetti 和 Marie^[12]认为 BDNF 和 TrkB 的减少会降低突触可塑性和损伤神经元,是皮层和海马损伤的主要原因。有研究结果显示 BDNF 与其受体 TrkB 共同作用可增加突触可塑性,促进轴突及树突生长,增加突触末端密度^[13-14],并激活下游的 PI3K/AKT 通路发挥神经保护作用^[15-16]。

本课题组的前期研究发现,EAE 小鼠存在轴突损伤状态,主要表现在神经细胞骨架蛋白 β -tubulin、NF200 及 MAP-2 显著下降,而 β -APP, P-Tau 及

CSPGs 则显著上升,说明神经轴突损伤后神经细胞内运输物质、塑性等方面发生障碍。经过 BSYS 及其拆方 BS 与 HTHX 方治疗后,上述指标得到了明显改善^[3-5],说明 BSYS 及其 BS 与 HTHX 方对 EAE 小鼠轴突损伤修复作用。但其作用机制不清楚。近年来研究发现,轴突修复再生过程中存在着多种影响因素,神经营养因子类物质的缺乏是导致再生困难的主要因素之一。BDNF 与其 TrkB 受体参与了神经保护作用^[8]。MS 和 EAE 小鼠脑 BDNF 表达显著降低,基因敲除 BDNF 缺失后制备 EAE 小鼠模型,其神经损伤症状加重^[17]。本实验也发现,EAE 小鼠的神经营养因子 BDNF 及其受体 TrkB 的基因和蛋白表达无论在急性期还是在缓解期均明显降低。但在 MS 患者脱髓鞘区域 BDNF 表达增高,推测是起到神经保护和自我修复作用^[18]。外源性 BDNF 可以延长其潜伏期,降低神经功能评分^[19]。而经过 BSYS 及其拆方 BS 与 HTHX 方治疗后,BDNF/TrkB 的表达明显增加。结合前期发现的 BSYS 及其拆方 BS 与 HTHX 方能够促进轴突再生修复的实验结果,推测 BSYS 及其拆方促进轴突修复的作用机制可能与增加神经营养因子及其受体的表达有关,并且 BSYS 全方较拆方的作用更有显著趋势。进一步的研究发现,BDNF-TrkB 活化后激活其下游信号的 PI3K/AKT 通路,并参与了轴突损伤后的神经修复。研究 MS 患者大脑白质的基因表达发现 PI3K/AKT 信号通路有助于脑内环境的稳定与神经保护作用^[20]。上述研究为 BSYS 方治疗 MS 的机制提供的部分客观依据,深入的作用机制还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 王维治. 神经系统脱髓鞘疾病[M]. 北京:人民卫生出版社,2011: 99-114.
- [2] 房玲,樊永平,赵晖,等. 补肾益髓方防治多发性硬化的研究进展[J]. 中医药导报,2013,19(12):108-110.
- [3] 安辰,王永强,师一民,等. 补肾益髓方及其拆方对实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠脑和脊髓中 β -APP 和 MAP-2 表达的影响[J]. 中国中医急症,2016,25(4):565-568,587.
- [4] 安辰,王永强,师一民,等. 补肾益髓方及其拆方对实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠的神经保护作用及 NF200 和 CSPGs 表达的影响[J]. 中华中医药杂志,2016,31(4):1215-1220.
- [5] 师一民,王永强,安辰,等. 补肾益髓方及其拆方对实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠脑和脊髓中 p-Tau 和 Beta-tubulin 表达的影响[J]. 世界中医药,2016,9(11):1825-1830.
- [6] Yoshii A, Constantine-Paton M. Postsynaptic BDNF-TrkB signaling in synapse maturation, plasticity, and disease[J]. Dev Neurobiol, 2010, 70(5):304-322.
- [7] Gonzalez A, Moya-Alvarado G, Gonzalez-Billaut C, et al. Cellular and

- molecular mechanisms regulating neuronal growth by brain-derived neurotrophic factor[J]. Cytoskeleton(Hoboken). 2016,73(10):612-628.
- [8] 师一民,李明,王蕾,等. 神经营养因子在多发性硬化神经再生修复中的作用研究进展[J]. 医学综述,2016,22(24):4785-4787.
- [9] Pilly PK, Grossberg S. How do spatial learning and memory occur in the brain; coordinated learning of entorhinal grid cells and hippocampal place cells[J]. J Cogn Neurosci, 2012, 24(5):1031-1054.
- [10] Buzsáki G, Moser EI. Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system[J]. Nat Neurosci, 2013, 16(2):130-138.
- [11] Lu B. BDNF and activity-dependent synaptic modulation[J]. Learn Mem, 2003, 10(2):86-98.
- [12] Marchetti C, Marie H. Hippocampal synaptic plasticity in Alzheimer's disease; what have we learned so far from transgenic models[J]. Rev Neurosci, 2011, 22(4):373-402.
- [13] Yang LC, Li J, Xu SF, et al. L-3-n-butylphthalide Promotes Neurogenesis and Neuroplasticity in Cerebral Ischemic Rats[J]. CNS Neurosci Ther. 2015, 21(9):733-741.
- [14] Zhao W, Luo C, Wang J, et al. 3-N-butylphthalide improves neuronal morphology after chronic cerebral ischemia[J]. Neural Regen Res, 2014, 9(7):719-726.
- [15] Xing M, Sun Q, Wang Y, et al. Hydroxysafflor yellow A increases BDNF and NMDARs in the hippocampus in a vascular dementia rat model[J]. Brain Res, 2016, 1642:419-425.
- [16] Fang M, Yuan Y, Lu J, et al. Scutellarin promotes microglia-mediated astrogliosis coupled with improved behavioral function in cerebral ischemia[J]. Neurochem Int, 2016, 97:154-171.
- [17] De Santi L, Annunziata P, Sessa E, et al. Brain-derived neurotrophic factor and TrkB receptor in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis[J]. J Neuro Sci, 2009, 287(1-2):17-26.
- [18] Lee DH, Geyer E, Flach AC, et al. Central nervous system rather than immune cell-derived BDNF mediates axonal protective effects early in autoimmune demyelination[J]. Acta Neuropathol, 2012, 123(2):247-258.
- [19] Makar, TK., Trisler, D, Sura, KT. et al. Brain derived neurotrophic factor treatment reduces inflammation and apoptosis in experimental allergic encephalomyelitis[J]. J Neuro Sci, 2008, 270(1-2):70-76.
- [20] Graumann U, Reynolds R, Steck AJ. Molecular changes in normal appearing white matter in multiple sclerosis are characteristic of neuroprotective mechanisms against hypoxic insult[J]. Brain Pathol, 2003, 13(4):554-573.
- (2016-11-10 收稿 责任编辑:杨觉雄)
-
- (上接第2154页)
- [20] Pariante CM, Miller AH. Glucocorticoid receptors in major depression; relevance to pathophysiology and treatment[J]. Biol Psychiatry, 2001, 49(5):391-404.
- [21] Müller M, Holsboer F, Keck ME. Genetic modification of corticosteroid receptor signalling; novel insights into pathophysiology and treatment strategies of human affective disorders[J]. Neuropeptides, 2002, 36(2-3):117-131.
- [22] Owens M, Herbert J, Jones PB, et al. Elevated morning cortisol is a stratified population-level biomarker for major depression in boys only with high depressive symptoms[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(9):3638-3643.
- [23] 刘晓萌,张荣,董世芬,等. 乌灵菌粉贯叶连翘复方制剂干预对慢性不可预知应激大鼠模型抗抑郁作用及机制的研究[J]. 中国比较医学杂志, 2016, 26(5):81-86.
- [24] 胡霖霖,张永华. 百合逍遥散对抑郁模型大鼠行为学及HPA-HPT-HPG轴的影响[J]. 中医杂志, 2014, 55(19):1676-1680.
- [25] Sengupta JN, Saha JK, Goyal RK. Stimulus response function studies of esophageal mechano sensitive nociceptors in sympathetic afferents of possum[J]. J Neurop hsiol, 1990, 64:796-810.
- [26] 孙燕,柳锋霖,宋耿青,等. 急性和慢性束缚应激对大鼠内脏敏感性和神经内分泌的影响[J]. 中华消化杂志, 2006, 26(1):38-41.
- [27] Romeo RD. Pubertal maturation and programming of Hypothalamic-pituitary-adrenal reactivity[J]. Front. Neuroendocrinol, 2010, 31:232-240.
- [28] 梁佳,卢峻,王俊仁,等. 不同针刺方法对慢性应激抑郁大鼠下丘脑CRH基因表达及血清ACTH、CORT的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2012, 35(4):265-268.
- [29] 贾宝辉,李志刚,时宇静,等. 电针对慢性应激模型大鼠行为学及HPA轴相关激素的影响[J]. 针刺研究, 2004, 29(4):252-256.
- [30] 游伟,时宇静,韩焱晶,等. 电针对慢性应激抑郁模型大鼠糖皮质激素及其受体基因表达的影响[J]. 针刺研究, 2010, 35(4):261-266.
- [31] Horowitz MA, Zunszain PA. Neuroimmune and neuroendocrine abnormalities in depression; two sides of the same coin[J]. Ann N Y Acad Sci, 2015, 1351(1):68-79.
- (2017-01-18 收稿 责任编辑:王明)