神经病学

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000784

吡咯烷二硫代氨基甲酸对大鼠脑缺血后神经功能的影响

杨瀚杰，李光勤，陈　帅，吴　远，沈　雪，刘蜀东，胡万群
（重庆医科大学附属第一医院神经内科，重庆　400016）

【摘　要】目的：观察核因子-κB p50（nuclear factor-κB subunit p50，NF-κB p50）特异性抑制剂吡咯烷二硫代氨基甲酸（pyrrolidine dithiocarbamate，PDTC）抑制 NF-κB p50 后，炎症因子 TNF-α 及相关康复蛋白 Reelin、突触素、Lingo-1 表达的变化，进一步观察大鼠神经功能评分、海马神经细胞形态的变化。**方法**：本实验的研究对象为雄性健康 SD 大鼠，随机分为 3 组：假手术组（S 组，n=6）、缺血组（I 组，n=18）、PDTC 干预组（P 组，n=18）。脑缺血模型采用永久性 MCAO 法。P 组的大鼠在造模后 30 min 进行腹腔注射 PDTC（100 mg/kg），每天 1 次。S 组大鼠于第 3 天处死，I 组和 P 组大鼠分别于 1、3、7 d 处死。用 Longa 评分对 3 组大鼠进行神经功能损害程度进行评估，用 Western blot 检测大鼠缺血海马 NF-κB p50、TNF-α、Reelin、突触素蛋白的表达，用 HE 染色方法观察 3 组大鼠海马神经元细胞的形态，用免疫组化法检测 Lingo-1 在脑组织内的表达情况。**结果**：①P 组及 I 组大鼠 Longa 评分较 S 组均有所升高，术后第 1 天和第 3 天 P 组较 I 组 Longa 评分降低，但无统计学意义（P>0.05）；在术后第 7 天，P 组较 I 组显著降低（P<0.05）。②I 组大鼠海马神经细胞出现异常，而 P 组大鼠中，海马神经元细胞的结构基本保持正常。③术后 1、3 天，I 组和 P 组大鼠缺血海马中 NF-κB p50 较 S 组升高（P<0.05），但 P 组 NF-κB p50 表达较 I 组降低（P<0.05）；术后 7 天，3 组变化无统计学意义。④术后 1、3、7 天，I 组和 P 组大鼠 TNF-α 表达较 S 组升高，但 P 组 TNF-α 较 I 组降低（P<0.05）；⑤术后第 1、3 天，P 组大鼠缺血海马中突触素和 Reelin 蛋白的表达明显高于 I 组（P<0.05），第 7 天两组差别无统计学意义（P>0.05）。S 组大鼠脑组织内可见少量 Lingo-1 阳性细胞表达，P 组大鼠脑组织内 Lingo-1 阳性细胞数在第 7 天时明显低于 I 组。**结论**：PDTC 可改善神经功能，维持海马神经元正常形态，这可能与其抑制 NF-κB p50 表达，减少 TNF-α 等相关炎症因子生成及调节 Reelin、突触素及 Lingo-1 表达有关。

【关键词】吡咯烷二硫代氨基甲酸；脑缺血；神经功能；核因子-κB p50；康复蛋白
【中图分类号】R743.3　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2015-05-30

作者介绍：杨瀚杰，Email：6522275@qq.com，
研究方向：脑血管疾病。
通信作者：李光勤，Email：liguangqin@tom.com。
基金项目：重庆市教委资助项目（编号：KJ130306）；重庆市渝中区科委资助项目（编号：20130140）；卫计委国家临床重点专科建设资金资助项目（卫办医政函【2012】649 号）。
优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20151015.2053.002.html（2015-10-15）

posure to benzo(a)pyrene[J].Neurotoxicology,2007,28(5):965-978.

[11] Sunde N,Laurberg S,Zimmer J,et al.Brain grafts can restore irradiation-damaged neuronal connections in newborn rats[J].Nature,1984,310(5972):51-53.

[12] Basarsky TA,Parpura V,Haydon PG.Hippocampal synaptogenesis in cell culture:developmental time course of synapse formation,calcium influx,and synaptic protein distribution[J]J Neurosci,1994,14(1):6402-6411.

[13] Abrahám H,Vincze A,Jewgenow I,et al.Myelination in the human hippocampal formation from midgestation to adulthood[J].Int J Dev Neurosci,2010,28(5):401-410.

[14] Huang TT.Redox balance- and radiation-mediated alteration in hippocampal neurogenesis[J].Free Radic Res,2012,46(8):951-958.

[15] Tarkowski E,Ringqvist A,Blennow K,et al.Intrathecal release of nitric oxide in Alzheimer's disease and vascular dementia[J].Dement Geriatr Cogn Disord,2000,11(6):322-326.

[16] Row BW,Liu R,Xu W,et al.Intermittent hypoxia is associated with oxidative stress and spatial learning deficits in the rat[J].Am J Respir Crit Care Med,2003,167(11):1548-1553.

[17] Crnkovic S,Riederer M,Lechleitner M,et al.Docosahexaenoic acid-induced unfolded protein response,cell cycle arrest,and apoptosis in vascular smooth muscle cells are triggered by Ca^{2+}-dependent induction of oxidative stress[J].Free Radic Bio Med,2012,52(9):1786-1795.

（责任编辑：关蕴良）

Effect of PDTC on nurologic fuction after cerebral ischemia in rat

Yang Hanjie, Li Guangqin, Chen Shuai, Wu Yuan, Shen Xue, Liu Shudong, Hu Wanqun

(Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】***Objective***: To observe the effects of the NF-κB subunit p50(NF-κB p50) specific inhibitor pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) on the expression of NF-κB p50, inflammatory factor TNF-α and related rehabilitation protein Reelin, synaptophysin and Lingo-1 and to further observe the changes of neurological function scores and the morphology of hippocampal neurons in rats. ***Methods***: Male Sprague-Dawley rats were randomly divided into three groups: sham-operated group(S group), ischemic control group (I group) and PDTC group(P group). Middle cerebral artery occlusion(MCAO) was used to create focal cerebral ischemic models. Rats in P group underwent PDTC(100 mg/kg, intraperitoneal injection) after MCAO. Rats were sacrificed on day 3 in S group and on day 1, 3 or 7 in I group and P group post-MCAO. Longa scores was used to evaluate the neurological function of rats in three groups. Western blot was used to detect the expression of NF-κB p50, TNF-α, synaptophysin and Reelin. HE staining was used to observe the morphology of hippocampal neurons of rats in three groups and immunohistochemistry was used to detect the number of and Lingo-1-positive cells in three groups. ***Results***: The Longa scores of P group and I group were lower than those of S group; the Longa scores of P group were lower than those of I group on day 1 and 3 post-MCAO without statistical differences($P>0.05$), but the Longa scores of P group were lower than those of I group on day 7 post-MCAO($P<0.05$). The hippocampal neurons in I group was abnormal, while the morphology of the hippocampal neurons in P group was generally normal. The expression of NF-κB p50 in ischemic hippocampus was higher in I group and P group than in S group($P<0.05$), but it was lower in P group than in I group. There was no statistical difference on day 7 post-MCAO in three groups. The expression of TNF-α in I group and P group was higher than that in S group on day1, 3 and 7 post-MCAO($P<0.05$), but it was lower in P group than that in I group($P<0.05$). The expression of synaptophysin and Reelin in P group was remarkably upregulated than that in I group on day 1 and 3 post-MCAO($P<0.05$), but without statistical differences on day 7 post-MCAO($P>0.05$). The expression of Lingo-1-positive cells was low in S group, and it was lower in P group than that in I group on day 7. ***Conclusion***: PDTC can improve neurological function, maintain the relatively normal morphology of the hippocampal neurons, which is possibly relative to inhibiting the expression of NF-κB p50, reducing the production of inflammatory factor TNF-α and regulating the expression of Reelin, synaptophysin and Lingo-1.

【Key words】pyrrolidine dithiocarbamate; cerebral ischemic; nerve function; nuclear factor-κB subunit p50(NF-κB p50); rehabilitat-ion protein

急性缺血性卒中是影响人类健康的主要疾病之一[1]，具有高发病率、高死亡率及高致残率的特点。参与脑缺血性损害的机制复杂，涉及多因素多环节，其中炎性反应是最关键的因素及环节之一[2]。因此抗炎性反应药物可能是治疗缺血性卒中后脑损害的有效的方法。有研究报道，在缺血模型试验中抑制中性粒细胞粘附和中性粒细胞功能，可以缩小缺血体积并改善神经功能。此外，基因敲出核转录因子-κB p50(nuclear factor-κB subunit p50, NF-κB p50)，环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)的大鼠，能减缓脑损害，并对脑缺血有更大的抵抗力[3-5]。近期有研究表明，在脑缺血模型中，使用 NF-κB p50 抑制剂干预后的动物表现出抗炎效果，炎症因子如白细胞介素(interleukin, IL)-1、IL-6、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)的表达减少，但相关证据较少。因此，本研究运用 NF-κB p50 抑制剂吡咯烷二硫代氨基甲酸(pyrrolidine dithiocarbamate, PDTC)，抑制脑缺血大鼠模型中脑组织NF-κB p50后，观察炎症因子 TNF-α 的变化，及相关康复蛋白Reelin, Lingo-1 及突触素(synaptophysin, SYN)的表达变化，以期探讨此过程发生的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物选择及分组

选用的研究对象是健康雄性 SD 大鼠，体质量在 250~320 g，将其随机分为 3 组：假手术组(S 组，n=6)、缺血组(I 组，n=18)及 PDTC 干预组(P 组，n=18)。其中缺血组又分为缺血 1 d 组(I1 组)、缺血 3 d 组(I3 组)、缺血 7 d 组(I7 组)；PDTC 干预组又分为 PDTC 干预 1 d 组(P1 组)、PDTC 干预 3 d 组(P3组)、PDTC 干预 7 d 组(P7 组)。

1.2 主要实验设备及试剂

Reelin 一抗(Abcam)突触素一抗(Abcam)NF-κB 一抗

(Abcam)TNF-α 一抗(Abcam)Lingo-1 一抗(北京博奥森)β-actin 抗体(Epitmics)羊抗兔 IgG 抗体(碧云天)免疫组化试剂盒(北京博奥森)DAB 显色剂(北京博奥森)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物脑缺血模型的制备 采用 MCAO 法制备大鼠脑缺血模型[6]。对苏醒后的大鼠进行行为学评定，选用 Longa 评分[6]1~3 分的大鼠作为研究对象。排除标准：Longa 评分<1 分或>3 分者；颅内出血；未达到观察时间点前死亡者。假手术组大鼠鱼线插入深度小于 10 mm，以达到不阻断大脑中动脉血流，其余均同另两组。

1.3.2 PDTC 干预大鼠 大鼠在 MCAO 术后 30 min 开始进行腹腔注射 PDTC(100 mg/kg，每天 1 次)。

1.3.3 神经功能评分 各组大鼠于术后 1、3、7 d 采用 Longa 评分[6]评估其神经功能恢复程度，具体评分如下：0 分：无神经功能缺损；1 分：神经功能轻度缺损，轻提鼠尾悬空时，瘫痪侧前肢屈曲，瘫痪侧前爪不能完全伸展；2 分：神经功能中度缺损，自由行走时向瘫痪侧转圈；3 分：神经功能重度缺损，向瘫痪侧倾倒；4 分：无自主活动且意识下降。

1.3.4 切片制备 最后 1 次 Longa 评分评估后(术后 1、3、7 d)，腹腔注射 10%水合氯醛深麻醉大鼠(各组 n=3)，开胸，头皮针小心穿入左心室，在右心耳处剪一小口，经左心室先灌注 200 ml PBS，然后再继续灌注 4%多聚甲醛 200 ml，断头取脑，置于 4%的多聚甲醛中(溶液完全浸没标本)，再将海马所在区域的脑组织冠状取材，再次 4 ℃固定 24 h。待其石蜡包埋，制成标准脑切片备用。

1.3.5 HE 染色 具体步骤如下：二甲苯(Ⅰ)及二甲苯(Ⅱ)各 20 min；各梯度酒精依次各脱水 5 min；苏木精染色 5~10 min；蒸馏水冲洗 3 min；1%盐酸酒精分化 7 s；1%伊红液复染 4 min；各梯度酒精依次脱水各 3 min；二甲苯(Ⅱ)，二甲苯(Ⅰ)各 10 min，然后封片待用。

1.3.6 免疫组织化学染色观察 二甲苯(Ⅰ)及二甲苯(Ⅱ)各 20 min；100%(Ⅰ)、100%(Ⅱ)酒精各 10 min，95%、80%、70%梯度酒精依次脱水各 5 min；3%H_2O_2 阻断内源性过氧化物酶 10 min；PBS 溶液充分冲洗(5 min×3 次)；抗原修复 15~25 min(枸橼酸钠溶液)后自然冷却 20 min 以上；PBS 溶液充分冲洗(5 min×3 次)；用正常山羊血清封闭，37 ℃孵育 10 min；滴加一抗 Lingo-1(1:50)，4 ℃过夜；PBS 溶液冲洗(5 min×3 次)；加入二抗，37 ℃孵育 30 min；PBS 溶液充分冲洗(5 min×3 次)；加入辣根过氧化物酶标记的链霉素卵白素工作液，37 ℃孵育 30 min；PBS 溶液充分冲洗(5 min×3 次)；DAB 显色；苏木精复染、脱水、透明、干燥等步骤，最后中性树胶封片。

1.3.7 Western blot 检测 最后 1 次 Longa 评分评估后(术后 1、3、7 d)，腹腔注射 10%水合氯醛深麻醉大鼠(各组 n=3)，迅速断头，取出完整脑组织。冰上暴露并分离缺血侧海马，放入-80 ℃冰箱储存。标本称重后，分别在各组样本中加入适当浓度的蛋白裂解液及蛋白酶抑制剂，冰上碾磨至组织完全分散。然后才用 BCA 法测定蛋白浓度，配平后加入上样缓冲液煮沸变性。配胶完成后，向加样孔中依次加入 5 μl 蛋白 Marker 及各组蛋白样品(各组均 25 μl)。设置电泳仪为 80 V 恒压，Marker 清晰分离出条带后换为 100 V 恒压，至溴酚兰迁移至分离胶底部时，停止电泳。以 Marker 的不同分子量区间为标准，切取需要的目的蛋白条带，剪切等大 PVDF 膜，经无水甲醇活化后，以 250 mA 恒流电泳，按 1 kD 分子量转膜 1 min 大致估算转膜时间。转膜后，将 PVDF 膜放入 5%脱脂奶粉封闭液中，37 ℃摇床封闭 2 h。孵育一抗(β-actin 1:500，Reelin 1:500，突触素 1:500，NF-κB p50 1:2 000，TNF-α 1:150)，4 ℃过夜。TBST 液摇洗(10 min×3 次)。37 ℃孵育二抗(浓度 1:1 000)1.5 h。TBST 液摇洗(10 min×3 次)。

1.4 图像分析

光镜下观察，胞浆或胞膜出现棕色颗粒，不论染色程度，均视为阳性细胞。从每组各标本的每张切片随机选取 5 张切片，每张切片在 10×20 放大倍数下选取缺血区及周围 5 个互不重叠的视野，每组各有 25 个视野，统计每个视野的单位面积细胞数，将所得均数作为各个阳性细胞数的统计学资料进行分析。

1.5 统计学分析

运用 SPSS 19.0 统计软件对本实验所获得的数据进行统计分析。计量资料采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示，不同时间点 Longa 评分总体采用重复测量方差分析，组间两两比较方差齐者用 LSD-t 检验；两样本均数比较用 t 检验，多组间差异采用单因素方差分析，检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 神经功能评分改变

I 组大鼠 Longa 评分较 S 组均有不同程度升高(P<0.01)。术后 1、3 d I 组和 P 组 2 组评分差异无统计学意义(P>0.05)。术后 7 d，P 组大鼠神经功能恢复较 I 组明显，差异有统计学意义(F=2.712，P=0.022)(表 1)。

表 1 MCAO 后 Longa 评分比较(单位：分，$\bar{x}\pm s$，n=6)

Tab.1 Comparison of Longa after MCAO($\bar{x}\pm s$，n=6)

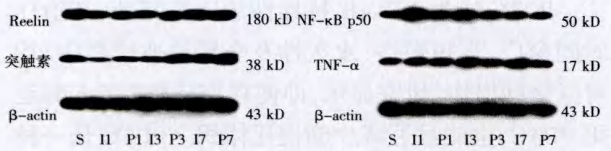
组别	MCAO后 1 d	MCAO后 3 d	MCAO后 7 d
S 组	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000
I 组	2.500±0.548[b]	2.167±0.753[b]	2.000±0.632[b]
P 组	2.333±0.817[b]	1.833±0.408[b]	1.167±0.408[a]

注：a 示与 I 组同期相比，P<0.05；b 示与 S 组同期相比，P<0.01

2.2 Reelin、突触素、NF-κB p50、TNF-α 蛋白表达

在 MCAO 术后第 1 天和第 3 天时，I 组较 S 组海马组织 Reelin、突触素蛋白明显降低(P<0.05)，P 组则较 I 组明显升高(P<0.05)。而在 MCAO 术后第 7 天时，大鼠海马突触素、Reelin 蛋白表达，I 组与 S 组相比无统计学差异(P>0.05)，P 组较 I 组升高，但无统计学意义(P>0.05)。MCAO 术后 1、3 d，I

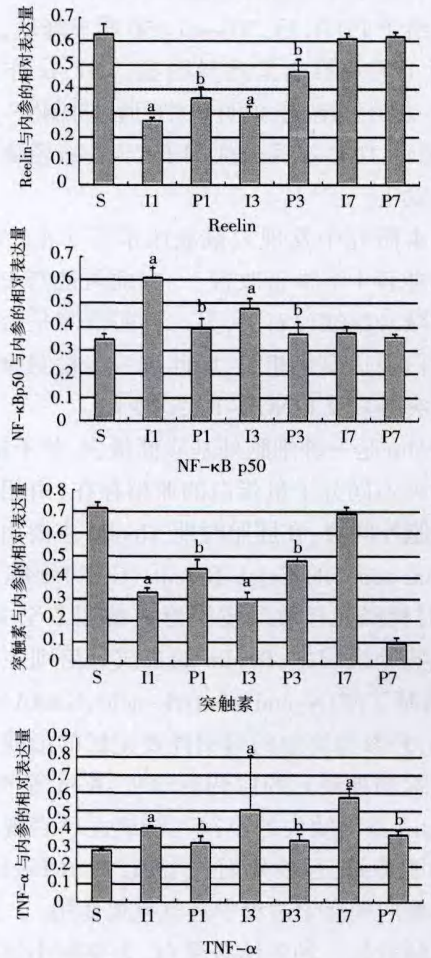
组和 P 组缺血海马中 NF-κB p50 较 S 组升高(P<0.05)，但 P 组 NF-κB p50 较 I 组降低(P<0.05)；术后 7 d，3 组变化无统计学意义。术后 1、3、7 d，I 组和 P 组 TNF-α 较 S 组升高，但 P 组 TNF-α 较 I 组降低(P<0.05)（图 1、2）。



注：S 代表假手术组，I1、I3、I7 分别代表组代表缺血 1、3、7 d 组，P1、P3、P7 分别代表 PDTC 干预 1、3、7 d 组

图 1 大鼠 Reelin、突触素、NF-κB p50、TNF-α 蛋白印迹结果(n=3)

Fig.1 Western blot of Reelin, synaptophysin, NF-κB p50 and TNF-α in different groups(n=3)



注：S 代表假手术组，I1、I3、I7 分别代表组代表缺血 1、3、7 d 组，P1、P3、P7 分别代表 PDTC 干预 1、3、7 d 组，n=3。a，与 S 组和 I 组相比，P<0.05；b，P 组与 I 组相比，P<0.05

图 2 Reelin、突触素、NF-κB p50、TNF-α 与内参相对表达（n=3）

Fig.2 Relative expression of Reelin, synaptophysin, NF-κB p50 and TNF-α in different groups（n=3）

2.3 HE 染色观察海马神经细胞

S 组：海马神经细胞排密集整齐，细胞完整，细胞核清晰，无固缩变性；I 组：海马神经细胞排列紊乱，细胞明显肿大；P 组：海马神经细胞结构和形态明显改善，少量核变性（图 3）。

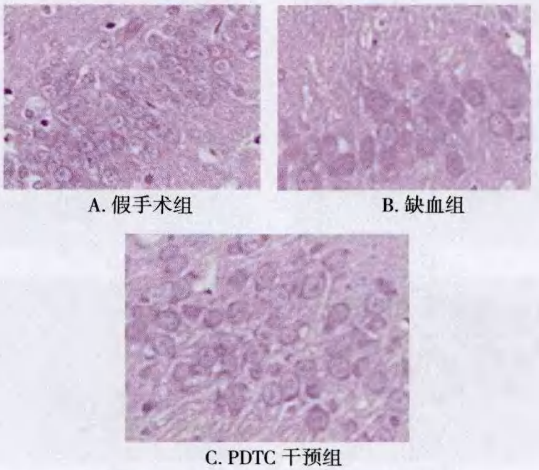
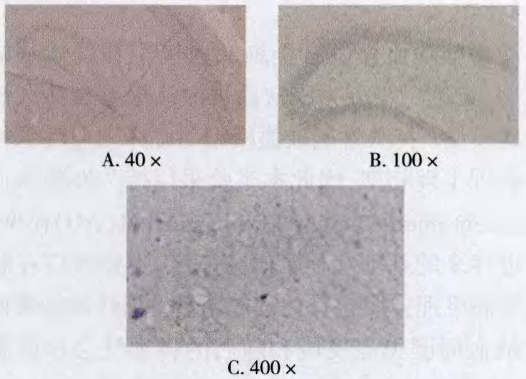


图 3 大鼠海马 HE 染色结果(400×)

Fig.3 HE staining of the hippocampus in different groups(400×)

2.4 Lingo-1 免疫组织化学结果

S 组可见少许 Lingo-1 阳性细胞表达（图 4），I 组较 S 组有所增加，差异有统计学意义(P<0.01)；MCAO 术后 7 d，Lingo-1 阳性细胞数，P 组明显低于 I 组(F=4.513，P=0.011)（表 2，图 5）。



假手术组大鼠 3d 海马 LINGO-1 阳性细胞表达情况

图 4 大鼠 Lingo-1 蛋白免疫组化结果（200×）

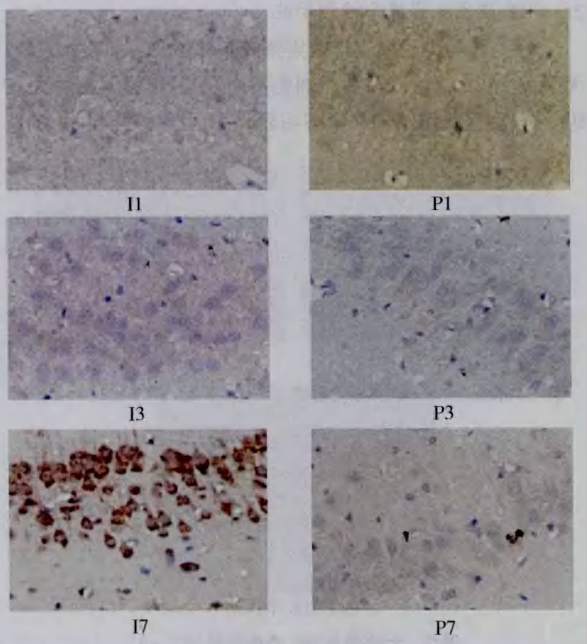
Fig.4 Immunohistochemistry of Lingo-1 in sham group（200×）

表 2 各组大鼠脑内 Lingo-1 阳性细胞数比较(个/HP，$\bar{x}\pm s$，n=3)

Tab.2 Number of Lingo-1-positive cells in different groups ($\bar{x}\pm s$，n=3)

组别	1 d	3 d	7 d
S 组	20.667 ± 3.215	16.174 ± 3.011	24.519 ± 3.52
I 组	36.333 ± 3.055[a]	47.333 ± 3.215[a]	50.000 ± 4.583[a]
P 组	33.333 ± 5.033	42.000 ± 4.359	31.333 ± 5.508[b]

注：a，与 S 组同期相比，P<0.01；b，与 I 组同期相比，P<0.05



注：S 代表假手术组，I1、I3、I7 分别代表组代表缺血 1、3、7 d 组，P1、P3、P7 分别代表 PDTC 干预 1、3、7 d 组

图 5　S、I、P 组大鼠海马 LINGO-1 阳性细胞表达情况（400×）

Fig.5　Expressions of LINGO-1 positive cells in S, I, P groups (400×)

3　讨　论

动物脑缺血模型有全脑缺血模型和局灶脑缺血模型，又进一步分为脑缺血再灌注模型及持久性脑缺血模型。持久性脑缺血模型与临床上急性脑梗死的病理生理相似，因此本实验采用持久性脑缺血（permanent middle cerebral occlusion，pMCAO）模型。

近年来的基础及临床研究显示，炎症反应在脑缺血发病机理方面起着关键作用[7-8]。局灶性脑缺血引发缺血周围炎症反应和随后的再灌注会加剧脑损害。众多的动物实验模型表明，炎性细胞因子（IL-6、IL-1、TNF-α、TGF-β）和趋化因子在脑缺血开始即产生，并成为不可逆性脑损害的原因[9-10]。其中NF-κB 对诱导炎症因子产生起着重要作用。

NF-κB 是 Rel 蛋白家族中的一组重要的核内转录因子，广泛存在于中枢神经系统。它主要以 Rel 家族蛋白亚基组成的同源或异源性二聚体的形式存在，目前研究与炎症反应密切相关的是 p50/p65 异源二聚体，本研究中主要观察 NF-κB p50 表达变化。NF-κB p50 在脑缺血后被激活[11-13]，并能与多种炎症介质发生相互作用，使脑缺血后的炎症反应呈现出级联放大效应，加重脑损伤的发生[14-15]。因此，抑制 NF-κB p50 表达继而减少炎症因子的产生可能对神经功能起着重要保护作用。

PDTC 作为 NF-κB 特异性活化抑制剂，其治疗时间窗广，在短暂性、永久性及全脑缺血模型中，均可减轻脑损伤。研究显示，即使在脑缺血后 6 h 时运用 PDTC，也能显著减少脑梗死体积。PDTC 是一种抗氧化剂，对泛素连接酶 E3 的活性有选择性抑制作用，阻断 IκBα 的降解，对 NF-κB p50 活化加以抑制，从而达到抑制炎症反应。本研究中观察到在 pMCAO 模型中，术后 1、3、7 d NF-κB p50 表达较假手术组明显增加，且相关炎症因子 TNF-α 亦表达增加。而给予 PDTC 后，NF-κB p50 明显降低，尤其在术后第 1 天及第 3 天差异明显，TNF-α 亦表达下降，神经功能评分改善，说明 PDTC 通过抑制NF-κB p50 活性，降低 TNF-α 等炎症因子产生，减轻缺血性脑损害的发生。

在本研究中发现大鼠缺血术后 7 d，P 组大鼠神经功能较 I 组显著改善，一方面可能与 PDTC 抑制炎症减轻脑缺血有关，另一方面推测是否与康复相关蛋白表达变化相关，因此进一步检测康复蛋白 Reelin、突触素及 LINGO-1 表达变化。

Reelin 是一种细胞外基质糖蛋白，分子量较大，并有多种不同分子量蛋白的亚型存在，由相关细胞分泌细胞外间隙。在胚胎时期，Reelin 主要由边缘带（marginal zone）的 Cajal-Retzius（C-R）细胞合成并分泌，对神经元迁移及皮层形成的调节至关重要；而在成熟脑组织中，Reelin 的合成分泌则主要依赖于 γ-氨基丁酸（γ-aminobutyric acid，GABA）能中间神经元，并参与突触的可塑性及记忆的形成[16-17]，从而参与端脑神经元的协调活动[8]。Won 等[18]研究指出，Reelin 基因缺失的小鼠在脑缺血后表现出神经再生功能障碍，且梗死面积增加，提示 Reelin 可能在脑缺血病理变化过程中具有重要作用。

突触素是一种钙结合蛋白，为突触小泡囊泡膜上的特异性蛋白，是突触末端的特异性标志物，与神经元突触联系的形成、神经元突起分化生长等有重要的联系。有研究表明，神经组织中有几种特异性蛋白，如突触素（sunaptophysin，SYN）和髓鞘碱性蛋白（myelin basic protein，MBP），对脑缺血后受损

神经元的代偿、修复及突触功能重建可能起重要作用[19-20]。

Lingo-1 蛋白(leucine-rich repeat and igdomain-containing, nogo receptor-interacting protein-1, Lingo-1)是与神经修复有关的富含亮氨酸重复序列和免疫球蛋白结构域的 Nogo 作用受体蛋白-1[21]。其家族中共有 4 种蛋白(Lingo1-4)，但在中枢神经系统只有 Lingo-1 特异性表达。脑缺血后，Lingo-1 蛋白的表达上调，并且成为脑缺血后神经功能恢复的障碍之一。Lingo-1 的发现，可能为脑缺血后神经元的修复和再生提供了解决途径。

本研究观察到 I 组中，术后 1、3、7 d NF-κB p50 表达较 S 组增加，大鼠缺血侧海马突触素及 Reelin 蛋白表达降低，Lingo-1 蛋白表达增高。而给予PDTC 后，NF-κB p50 显著降低，突触素及 Reelin 蛋白表达上调，LINGO-1 蛋白表达下调，海马组织神经细胞形态改善，神经功能评分改善。

综上所述，PDTC 通过抑制 NF-κB p50 活性，降低 TNF-α 等炎症因子产生，以及调节突触素、Reelin、LINGO-1 等相关康复蛋白的变化，从而减轻缺血性脑损害的发生，促进神经功能恢复，与本研究初步设想一致，相关机制有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] Meairs S, Wahlgren N, Dirnagl U, et al.Stroke research priorities for the next decade-a representative view of the European scientific communit[J].Cerebrovasc Dis, 2006, 22(2-3): 75-82.

[2] Steiner J, Rafols D, Park HK, et al.Attenuation of iNOS mRNA exacerbates hypoperfusion and upregulates endothelin-1 expression in hippocampus and cortex after brain trauma[J].Nitric Oxide, 2004, 10(3): 162-169.

[3] Iadecola C, Zhang F, Casey R, et al.Delayed reduction of ischemic braininjury and neurological deficits in mice lacking the inducible nitric oxide synthase gene[J].J Neurosci, 1997, 17(23): 9157-9164.

[4] Iadecola C, Niwa K, Nogawa S, et al.Reduced susceptibility to ischemic brain injury and Nmethyl-D-aspartate-mediated neurotoxicity in cyclooxygenase-2-deficient mice[J].Proc NatlAcad Sci USA, 2001, 98(3): 1294-1299.

[5] Scali C, Giovannini MG, Prosperi C, et al.The selective cyclooxygenase-2 inhibitor rofecoxib suppresses braininflammation and protects cholinergic neuronsfrom excitotoxic degeneration in vivo[J].Neuroscience, 2003, 117(4): 909-919.

[6] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al.Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J].Stroke, 1989, 20(1): 84-91.

[7] Bowen KK, Naylor M, Vemuganti R.Prevention of inflammation is a mechanismof preconditioning-induced neuroprotection against focal cerebral ischemia[J].Neurochem Int, 2006, 49(2): 127-135.

[8] Lin Z, Zhu D, Yan Y, et al.Herbal formula FBD extracts prevented brain injury and inflammation induced by cerebral ischemia-reperfusion[J].J Ethnopharmacol 2008, 118(1): 140-147.

[9] Huang J, Upadhyay UM, Tamargo RJ.Inflammation in stroke and focal cerebral ischemia[J].Surg Neurol, 2006, 66(3): 232-245.

[10] Adibhatla RM, Hatcher JF.Secretory phospholipase A2 IIA is upregulated by TNF-alpha and IL-1alpha/beta after transient focal cerebral ischemia in rat[J].Brain Res, 2007, 1134(1): 199-205.

[11] Clemens JA, Stephenson DT, Dixon EP, et al.Global cerebral ischemia activates nuclear factor-κB prior to evidence of DNA fragmentation[J].Molecular brain research, 1997, 48(2): 187-196.

[12] Gabriel C, Justicia C, Camins A, et al.Activation of nuclearfactor-kappa B in the rat brain after transient focal ischemia[J].MolBrain Res, 1999, 65(1): 61-69.

[13] Stephenson D, Yin T, Smalstig EB, et al.Transcription factor nuclear factor-kappa B is activated in neurons after focal cerebral ischemia[J].J Cereb Blood Flow Metab, 2000, 20(3): 592-603.

[14] Gong C, Qin Z, Betz AL, et al.Cellular localization of tumornecrosis factor alpha following focal cerebral ischemia in mice[J].Brain Res, 1988, 801(1-2): 1-8.

[15] Kellom M, Basselin M, Keleshian VL, et al.Dose-dependent changes in neuroinflammatory and arachidonic acid cascade markers with synaptic marker loss in rat lipopolysaccharide infusion model of neuroinflammation[J].BMC Neurosci, 2012, 13(1): 50.

[16] Fatemi SH.Reelin glycoprotein: structure, biology and roles in health and disease[J].Mol Psychiatry, 2005, 10(3): 251-257.

[17] Förster E, Bock HH, Herz J, et al.Emerging topics in Reelin function[J].Eur J Neurosci, 2010, 31(9): 1511-1518.

[18] Won SJ, Kim SH, Xie L, et al.Reelin-deficient mice show impaired Neurogenesis and increased stroke size[J].Exp Neurol, 2006, 198(1): 250-259.

[19] Chao X, Xiong C, Dong W.Activation of peroxisome proliferator-activated receptor β/δ attenuates acute ischemic stroke on middle cerebral ischemia occlusion in rats[J].J Stroke Cerebrovasc Dis, 2014, 23(6): 1396-1402.

[20] Ahmad M, Graham SH.Inflammation after stroke: mechanisms and therapeutic approaches[J].Transl Stroke Res, 2010, 1(2): 74-84.

[21] Yi JH, Park SW, Kapadia R, et al.Roleof transcription factors in mediating post-ischemic cerebral inflammation and brain damage[J].Neurochem Int, 2007, 50(7-8): 1014-1027.

（责任编辑：关蕴良）