

· 论 著 ·

银杏内酯注射液对脑缺血再灌注小鼠炎症水平的影响

金振东¹, 鄢云彪¹, 邵思宇², 兰新新³, 丁建花³, 刘凤新^{1*}

(1.成都百裕制药股份有限公司, 四川 成都 611130; 2.首都医科大学14级五年制临床医学, 北京 100069; 3.南京医科大学, 江苏 南京 211166)

【摘要】目的 应用小鼠大脑中动脉阻塞再灌注损伤模型(tMCAO)研究银杏内酯注射液对缺血性脑损伤的保护作用,并探索其发挥保护作用的机制。**方法** (1)制备C57BL/6小鼠tMCAO模型,缺血1 h再灌注1 h后给予银杏内酯注射液(3.5 mg/kg, i.p., bid),缺血再灌注后24 h对小鼠进行神经功能评分后, TTC法测定脑梗死体积,干湿重法测定脑组织含水量,以评价银杏内酯注射液对小鼠tMCAO模型所致神经损伤的保护作用;(2) C57BL/6小鼠tMCAO模型缺血再灌注1 h给予银杏内酯注射液(3.5 mg/kg, i.p., bid),24 h后取脑缺血半影区与对照组相应区域脑组织,提取RNA, Real-time PCR法检测IL-1 β 、TNF- α 、IL-18、IL-6、IL-12等炎症因子与NLRP1、NLRP2、NLRP3、AIM2等炎症小体的mRNA表达水平;提取组织蛋白, Western Blotting法检测NLRP3、NLRP2、AIM2、pro-IL-1 β 、IL-1 β 、pro-Caspase1、Caspase 1等炎症因子与炎症小体蛋白水平,评价银杏内酯注射液对tMCAO所致炎症因子与炎症小体的作用。**结果** (1)银杏内酯注射液能显著改善小鼠tMCAO模型急性期神经症状,减少脑梗死体积,改善脑水肿。(2)银杏内酯注射液能显著抑制小鼠tMCAO模型所致炎症因子IL-1 β 、TNF- α 、IL-18、IL-6、IL-12 mRNA水平的升高,抑制NLRP1、NLRP2、NLRP3、AIM2炎症小体mRNA水平的升高,同时能抑制炎症相关蛋白NLRP3、NLRP2的水平、pro-IL-1 β 转化为IL-1 β 以及pro-Caspase 1转化为Caspase 1。提示银杏内酯注射液显著抑制小鼠tMCAO模型所致炎症水平的升高。**结论** 银杏内酯注射液具有治疗缺血性脑卒中的作用,其可能的机理包括抑制炎症因子与炎症小体。

【关键词】 银杏内酯注射液; 脑卒中; 缺血再灌注脑损伤; 神经保护; 炎症因子; 炎症水平

【中图分类号】 R743.3

【文献标识码】 A

【文章编号】 ISSN.2095-8242.2018.76.1.05

Effect of Ginkgolides injection on the inflammation level of tMCAO mice

JIN Zhen-dong¹, YAN Yun-biao¹, SHAO Si-yu², LAN Xin-xin³,
DING Jian-hua³, LIU Feng-xin^{1*}

(1.Chengdu Baiyu Pharmaceutical Co.,Ltd.,Sichuan Chengdu 611130,China;2.Capital Medical University,Beijing 100069,China;3.Nanjing Medical University,Jiangsu Nanjing 211166,China)

【Abstract】Objective To study the protective effect of Ginkgolide injection on cerebral ischemia injury in tMCAO mice, and explore its protective mechanism. **Methods** (1) The tMCAO mice model was prepared with C57BL/6 mice. After ischemia for 1 h and reperfusion for 1 h, Ginkgolide injection (3.5 mg/kg, i.p., bid) was given. Neural function evaluation was done 24 h after ischemia-reperfusion. The volume of cerebral infarction was measured by TTC method and the moisture content of the brain tissue was measured by dry-wet weight method, so as to evaluate the protective effect of Ginkgolide injection on nerve injury in tMCAO mice. (2) 1 h after ischemia-reperfusion Ginkgolide injection (3.5 mg/kg, i.p., bid) was given to the tMCAO mice. 24 h after ischemia-reperfusion, the brain tissue of the cerebral ischemic penumbra region were taken, RNA and tissue protein were extracted. Real-time PCR method was used to detect the mRNA level of inflammatory factors such as IL-1 β , TNF- α , IL-18, IL-6, IL-12 and inflammatory corpuscles such as NLRP1, NLRP2, NLRP3, AIM2. Western Blotting method was used to detect the protein level of inflammatory factors and corpuscles such as NLRP3, NLRP2, AIM2, pro-IL-1 β , IL-1 β , pro-Caspase 1, Caspase 1. So as to evaluate the effect of Ginkgolide injection on inflammatory factors and corpuscles in tMCAO mice. **Results** (1) Ginkgolide injection can significantly improve the neurological symptoms, reduce the volume of cerebral infarction and improve brain edema in tMCAO mice. (2) Ginkgolide injection can significantly inhibit the increase of mRNA level of IL-1 β , TNF- α , IL-18, IL-6 and IL-12, the increase of inflammatory corpuscle mRNA level of NLRP1, NLRP2, NLRP3, AIM2, the level of inflammation related proteins, the conversion from pro-IL-1 β to IL-1 β and the conversion from pro-Caspase 1 to Caspase 1 in tMCAO mice. **Conclusion** Ginkgolide injection has the effect on the treatment of ischemic stroke and its possible mechanisms include inhibition of inflammatory cytokines and inflammatory corpuscles.

【Key Words】 Ginkgolide injection; Stroke; Cerebral ischemia reperfusion injury; Neuroprotection; Inflammatory factors; Inflammation level

DOI:10.16281/j.cnki.jocml.2018.76.001

银杏又名白果、公孙树, 银杏科银杏属植物, 为中生代子遗的稀有树种, 系我国特产, 其叶和果有重要的药用价值, 已有五千多年的药用历史。银杏叶提取物目前已成

为全球应用最广泛的植物药制剂品种之一, 在中枢神经系统相关疾病、心脑血管疾病的治疗等领域发挥着重要作用^[1-3]。银杏叶提取物成分复杂, 其主要有效成分为银杏

黄酮类和银杏内酯类化合物^[4-5]。药理研究表明银杏内酯类化合物具有神经保护、抗血小板聚集、抗炎以及抑制氧化应激损伤等作用^[6-10]。本实验应用小鼠大脑中动脉阻塞(MCAO)形成的局灶性脑缺血再灌注损伤模型,研究银杏内酯注射液对tMCAO模型鼠的神经保护作用,并通过考察其对炎症反应的影响来探索其发挥保护作用的可能的机制。

1 材料和方法

1.1 试验药物

银杏内酯注射液,成都百裕制药股份有限公司提供,每支2 ml含萜类内酯10 mg,批准文号:国药准字Z20110035,产品批号:20121201,阴凉避光保存,使用前用无菌生理盐水稀释。

1.2 动物

C57BL/6小鼠,雄性,清洁级,2~3月龄,25~30 g,购自扬州大学比较医学中心(动物生产许可证号:SCXR(苏)2012-0004)。常规饲养,室温22~24℃,日夜照明各12 h,适应饲养一周后用于实验。

1.3 试剂

主要抗体:羊抗NLRP3(Santa Cruz, SC-34410, USA)、兔抗NLRP2(Abcam, AB36850, USA)、AIM2(Santa Cruz, SC-137967, USA)、兔抗caspase-1(Santa Cruz, SC-514, USA)、IL-1 β (SIGMA, I3767, USA)、小鼠抗 β -actin(武汉博士德, BM0627)。

1.4 仪器

小鼠脑缺血尼龙栓线, 6023PK, 适用于25~30 g小鼠, Doccol Corporation, USA; 小动物恒温系统, ALC-HTP104, 上海奥尔特生物科技有限公司; 冰冻切片机, CM1950, Leica, Germany; 数码相机, Canon NO.7068001809 JAPAN; 电泳与电转系统, miniprotein-III wet transfer unit, Bio-Rad, Hercules, California, USA; 全自动化学发光成像系统, ImageQuant LAS4000mini, GE Healthcare, USA; 基因扩增仪, Veriti™ 96-Well Thermal Cycler, Applied Biosystems, USA; qPCR仪: Step one plus, Applied Biosystems, USA; 冷冻离心机, LABOFUGE 400R, Thermo HERAEUS, USA; 微量电动匀浆器, PELLET PESTLE MOTOR KONTES, SIGMA, USA。

1.5 方法

1.5.1 银杏内酯注射液对tMCAO小鼠神经保护作用的研究

1.5.1.1 小鼠暂时性大脑中动脉阻塞(tMCAO)模型的建立

参考Longa线栓法制备小鼠tMCAO模型^[11]。小鼠禁食6~8 h, 1%戊巴比妥钠溶液麻醉(0.45 ml/100g, i.p.), 仰卧位固定四肢及头部, 剪去颈前鼠毛, 碘伏消毒后作颈正中切口1 cm, 沿胸锁乳突肌内缘分离肌肉和筋膜, 分离右侧颈总动脉(CCA)、颈外动脉(ECA)和颈内动脉(ICA)。在ECA的近心端和远心端以及CCA处挂线备用。结扎ECA远心端和CCA处丝线, 并用电凝笔将ECA远心端凝断。轻轻提起ECA近心端丝线, 用眼科剪与ECA成45°角剪口, 用眼科镊将栓线从剪口处缓慢插入ICA, 直至有阻力出现后停止, 表明栓线已通过大脑中动脉(MCA)起始处, 到达大脑前动脉(ACA)。结扎ECA近心端丝

线固定插入的栓线, 将小鼠置于加热板上(温度控制在27~30℃)确保其肛温达37℃。缺血60 min后, 解开ECA处丝线, 轻轻拔出栓线, 再结扎ECA, 继而松开CCA处丝线恢复血流, 缝合切口, 再以碘伏消毒后置于笼中常规饲养。

1.5.1.2 分组给药

将模型建立成功的小鼠随机分入3组, 即模型对照组(给予生理盐水)、银杏内酯注射液组(3.5 mg/kg, i.p., bid)、依达拉奉组(4.25 mg/kg, i.p., bid)。缺血再灌注后1 h开始给药。

1.5.1.3 神经功能评分

脑缺血再灌注后24 h各组随机选取10只小鼠进行神经功能评分, 参照Longa及Bederson评分法^[12], 神经功能完全正常为0分; 提起鼠尾, 手术对侧前肢屈曲, 无法完全伸直为1分, 躯体向手术对侧扭转为2分; 将鼠置于地面, 行走时向手术对侧转圈为3分, 向手术对侧倾倒或无法自主行走, 意识障碍为4分; 死亡为5分。

1.5.1.4 脑梗死体积测定

脑缺血再灌注后72 h各组随机选取8只小鼠测定脑梗死体积。将小鼠断头取脑, 去掉嗅球、小脑和低位脑干, -20℃冰冻10 min, 冠状位以2 mm/片厚度将脑切成6片。脑片置于1%TTC染液中, 37℃染色, 每隔2~3分钟翻转一次, 使其均匀接触到染液, 待正常组织呈红色、梗死组织为白色时取出脑片, 用10%多聚甲醛溶液固定1 h以上, 微距拍照, 用Image-Pro Plus 5.0图像分析软件测量脑片梗死面积, 以每片脑片正反面梗死面积均数 $\times$ 片厚得出每片脑片梗死体积, 再以6片脑片梗死体积之和求出整个脑梗死体积。

1.5.1.5 脑组织含水量测定

脑缺血再灌注后72 h各组随机选取8只小鼠测定脑组织含水量。将小鼠断头取脑, 去掉嗅球、小脑和低位脑干, 称量脑湿重。将脑组织置于110℃烘箱烘烤24 h, 称量脑干重, 计算脑组织含水量=(1-脑组织干重/脑组织湿重) $\times$ 100%。

1.5.2 银杏内酯注射液对tMCAO模型所致小鼠脑组织炎症的影响

1.5.2.1 小鼠暂时性大脑中动脉阻塞(tMCAO)模型的建立

方法同1.5.1.1。

1.5.2.2 分组给药

将模型建立成功的小鼠随机分入2组, 即模型对照组(给予生理盐水)和模型+银杏内酯注射液组(3.5 mg/kg, i.p., bid)。另设假手术小鼠, 同法手术但不插入栓线, 亦随机分入2组, 即假手术对照组(给予生理盐水)和假手术+银杏内酯注射液组(3.5 mg/kg, i.p., bid)。缺血再灌注后1 h开始给药。

1.5.2.3 蛋白质免疫印迹(Western blotting)检测

脑缺血再灌注后72 h各组随机选取4只小鼠检测蛋白免疫印迹。将小鼠麻醉后迅速断头取脑, 分离损伤侧缺血半影区或对照组相应区域的脑组织, 称重, 按1:10(质量:体积)比例加入蛋白裂解液进行脑组织匀浆, 分别提取胞浆蛋白和胞核蛋白, BCA法测定总蛋白含量, 沸水煮5 min使蛋白预变性, 取40 μ g蛋白样品, 12%SDS-PAGE胶进行电泳分离蛋白, 利用电转系统转至PVDF膜(Millipore, USA)上, 10%脱脂奶粉-TBST(pH 7.5, 10mM Tris-HCl, 150mM NaCl, 0.1%Tween-20)室温封闭1h, 分别使用一

抗：羊抗NLRP3（1：200）、兔抗NLRP2（1:1000）、AIM2（1:800）、兔抗caspase-1（1:400）、羊抗IL-1β（1:500）、小鼠抗β-actin（1:1000），4℃孵育过夜，TBST漂洗3次后，加入二抗并在室温孵育1 h，ECL发光底物染1 min，全自动化学发光成像系统显影分析。

1.5.2.4 Real-time PCR检测

脑缺血再灌注后72 h各组随机选取6只小鼠进行Real-time PCR检测。取材方法同1.5.2.3。取脑组织10 mg加入500 μl Trizol（Invitrogen Life Technologies, USA）后用组织匀浆器将脑组织充分匀浆裂解后，加入100 μl氯仿，室温静置5 min后4℃12000 g离心15 min，转移上清，加入等体积异丙醇，轻柔混匀，室温静置10 min后4℃12000 g离心10 min，吸弃上清，加入预冷的DEPC水配制的75%乙醇，4℃7400 g离心5 min，吸弃上清，空气干燥5 min，沉淀以5 μl RNase Free ddH₂O溶解，取2ul用NanoVue（GE）紫外分光光度仪测mRNA浓度，定量至500 ng/μl。逆转录实验用TaKaRa Master Mix（大连宝生物工程）反转录试剂盒，反转录条件如下：37℃15 min（反转录反应），85℃5 s（反转录酶的失活反应）。SYBR GREEN PCR 反应条件为:95℃10 min，95℃15 s for 40 cycle，60℃60 s。

引物序列如下：GAPDH sense AACGACCCCTTCATTGAC
Antisense TCCACGACATACTCAGCAC
IL-1β sense TCATTGTGGCTGTGGAGAAG
Antisense AGGCCACAGGTATTTGTCTG
TNF-α sense CATCTTCTCAAATTCGAGTGACAA
Antisense TGGGAGTAGACAAGGTACAACCC
IL-18 sense ACTGTACAACCGCAGTAATAC
Antisense AGTGAACATTACAGATTTATCCC
IL-6 sense GCTACCAAACCTGGATATAATCAGGA
Antisense TTCTGGAGTACCATAGCTACCTGG
IL-12 sense GCCAGGTGTCTTAGCCAGTC
Antisense CAGATAGCCCATCACCCCTGT
NLRP1 sense ATTTTGTGGCCCTCCAAGA
Antisense CCATGTTGCCCACTTTCAA
NLRP2 sense AACACTGAGCCTGAAACACTTGGA
Antisense CAGTTCAGTGGAGTGATGGAGCA
NLRP3 sense TGCTCTTCACTGCTATCAAGCCCT
Antisense ACAAGCCTTTGCTCCAGACCCTAT
AIM2 sense CACCCTCATGGACCTACACTA
Antisense CGTTGTTAGTAAATCAGCAGTTCT
Real-time PCR反应条件如下：95℃ 10min；95℃ 15s，60℃ 60s，40 cycles。以Ct值进行结果分析，采用相对定量法与内参GAPDH比较（ΔΔCt法）。计算公式为： $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ， $\Delta\Delta Ct = Ct^{\text{gene}} - Ct^{\text{control}}$ 。

1.5.3 数据统计

数据均采用平均值±标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，采用One-way ANOVA分析各组间差异， $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 银杏内酯注射液对tMCAO小鼠神经保护作用的研究

2.1.1 银杏内酯注射液对tMCAO模型小鼠神经功能的影响

模型建立成功的小鼠存在体重明显减轻，活动减少，

左前肢内收、无法伸展，身体偏向左侧、偏侧行走转圈等症状。银杏内酯注射液组及依达拉奉注射液组小鼠一般状态与行为表现明显优于模型对照组小鼠，神经功能评分结果如表1所示，两组动物评分均显著低于模型对照组（ $P < 0.01$ ）。提示，银杏内酯注射液对tMCAO模型小鼠的神经功能具有保护作用。

表1 银杏内酯注射液对tMCAO模型小鼠神经功能的影响

组别	剂量（mg/kg）	动物数（只）	神经功能评分
模型对照	-	10	3.4±0.31
银杏内酯注射液	3.5	10	2.1±0.28**
依达拉奉	4.25	10	2.1±0.31**

注：与模型对照组相比，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

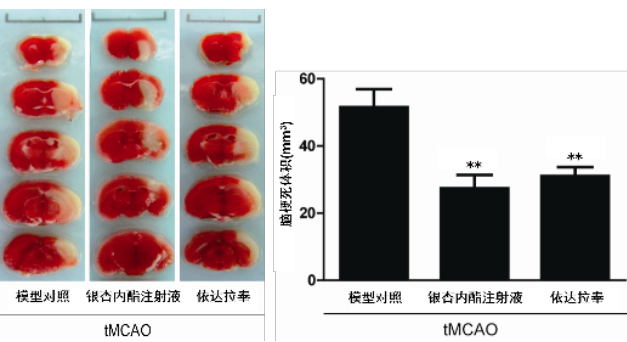
2.1.2 银杏内酯注射液对tMCAO模型小鼠脑梗死体积的影响

结果如表2和图1所示，脑缺血再灌注后24 h，银杏内酯注射液组小鼠脑梗死体积较生理盐水组梗死体积下降了46.8%（ $P < 0.01$ ），依达拉奉注射液组小鼠脑梗死体积较生理盐水组下降了39.8%（ $P < 0.01$ ）。提示，银杏内酯注射液能够降低tMCAO模型小鼠脑梗死体积。

表2 银杏内酯注射液对tMCAO模型小鼠脑梗死体积的影响

组别	剂量（mg/kg）	动物数（只）	脑梗死体积（mm ³ ）
模型对照	-	8	51.5±5.4
银杏内酯注射液	3.5	8	27.4±4.0**
依达拉奉	4.25	8	31.0±2.7**

注：与模型对照组相比，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$



注：与模型对照组相比，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

图1 银杏内酯注射液对tMCAO小鼠脑梗死体积的影响

2.1.3 银杏内酯注射液对tMCAO模型小鼠脑含水量的影响

结果如表3所示，脑缺血再灌注后24 h，生理盐水组脑组织含水量为（78.3±1.0）%，银杏内酯注射液组脑组织含水量为（75.6±0.6）%，较生理盐水组下降了3.5%（ $P < 0.05$ ）；依达拉奉注射液组脑组织含水量为（75.7±0.7）%，较生理盐水组下降了3.2%（ $P < 0.05$ ）。提示，银杏内酯注射液具有减轻tMCAO模型小鼠脑水肿的作用。

表3 银杏内酯注射液对tMCAO模型小鼠脑组织含水量的影响

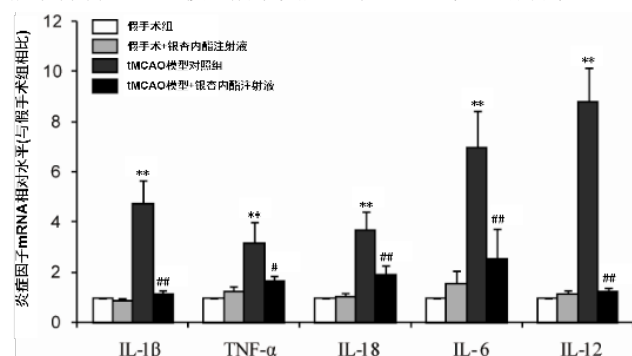
组别	剂量（mg/kg）	动物数（只）	脑含水量（%）
模型对照	-	8	78.3±1.0
银杏内酯注射液	3.5	8	75.6±0.6*
依达拉奉	4.25	8	75.7±0.7*

注：与模型对照组相比，* $P < 0.05$ 。

2.2 银杏内酯注射液对tMCAO模型所致小鼠脑组织炎症的影响

2.2.1 银杏内酯注射液对tMCAO小鼠缺血半影区脑组织炎症因子mRNA水平的影响

结果如图2所示,与假手术组相比,基础状态下,银杏内酯注射液对炎症因子IL-1 β 、TNF- α 、IL-18、IL-6、IL-12 mRNA水平无影响。建立tMCAO模型后,缺血半影区脑组织炎症因子IL-1 β 、TNF- α 、IL-18、IL-6、IL-12 mRNA水平较假手术组升高约4.7倍、3.2倍、3.7倍、7.0倍与8.8倍,给予银杏内酯注射液后上述指标较tMCAO组分别降低了75.5%、47.5%、48.0%、63.3%以及85.5%。提示,银杏内酯注射液能够抑制tMCAO模型所致炎症因子mRNA水平的升高。

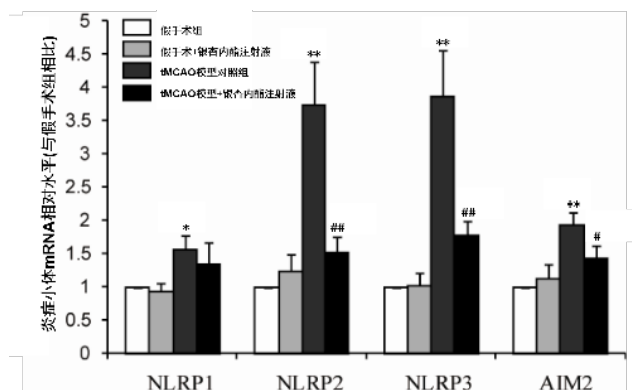


注:与假手术组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型对照组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

图2 银杏内酯注射液对tMCAO模型小鼠炎症因子mRNA水平的影响

2.2.2 银杏内酯注射液对tMCAO小鼠缺血半影区脑组织炎症小体mRNA水平的影响

结果如图3所示,与假手术组相比,基础状态下,银杏内酯注射液对脑内炎症小体NLRP1、NLRP2、NLRP3、AIM2 mRNA水平无影响。建立tMCAO模型后,半影区脑组织NLRP1、NLRP2、NLRP3、AIM2较假手术组分别升高约1.6倍、3.7倍、3.9倍和1.9倍。给予银杏内酯注射液后,各炎症小体水平均较tMCAO模型降低, NLRP1、NLRP2、NLRP3、AIM2分别降低了13.5%、59.3%、53.8%与25.8%。提示,银杏内酯注射液抑制tMCAO模型所致NLRP1、NLRP2、NLRP3炎症小体mRNA水平的升高,其中对NLRP2、NLRP3的抑制作用更为显著。



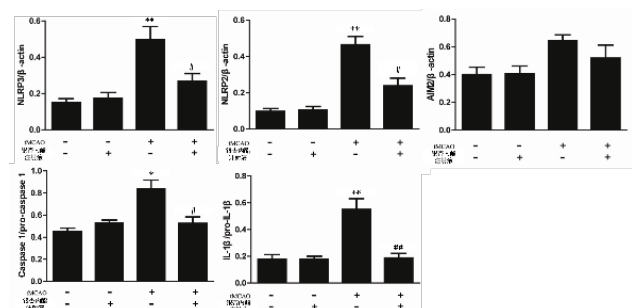
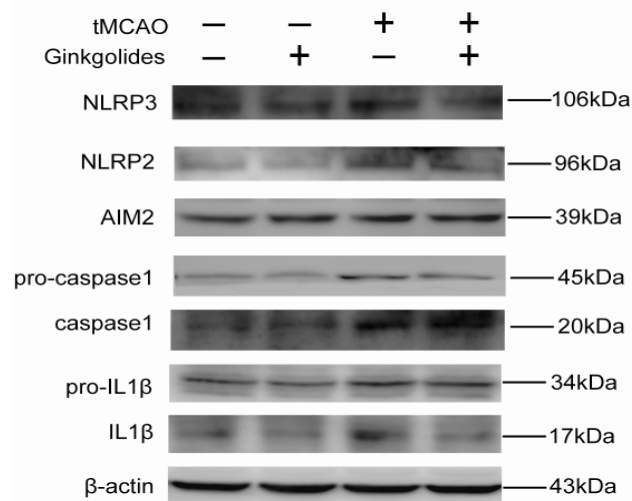
注:与假手术组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型对照组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

图3 银杏内酯注射液对tMCAO模型小鼠炎症小体mRNA水平的影响

2.2.3 银杏内酯注射液对tMCAO小鼠半影区脑组织炎症

指标蛋白水平的影响

如图4所示,较假手术组相比,基础状态下,银杏内酯注射液对小鼠脑内NLRP3、NLRP2、AIM2、pro-IL-1 β 和IL-1 β 、pro-Caspase 1和Caspase 1蛋白水平无影响;tMCAO模型后缺血半影区脑组织NLRP3、NLRP2、pro-IL-1 β 和IL-1 β 、pro-Caspase 1和Caspase 1蛋白表达显著升高, AIM2无明显变化,给予银杏内酯注射液能显著抑制NLRP3、NLRP2的水平及pro-IL-1 β 转化为IL-1 β , pro-Caspase 1转化为Caspase 1,对AIM2的蛋白水平无显著影响。



注:与假手术组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型对照组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

图4 银杏内酯注射液对tMCAO模型小鼠炎症指标蛋白水平的影响

3 讨论

缺血性脑损伤发病急,复发率和死亡率高,严重损害患者的身心健康。其损伤机制与缺血/再灌注后缺氧和能量代谢衰竭、离子平衡紊乱、自由基损伤、兴奋性氨基酸毒性、炎症损伤及凋亡等诸多因素相关^[13-17]。研究表明炎症级联反应在大脑缺血再灌注损伤的发生和发展过程中发挥重要作用,与内皮损伤、脑水肿、神经细胞的坏死凋亡等病理过程紧密相关^[18-20]。

本研究重点探讨银杏内酯注射液对tMCAO小鼠的神经保护作用以及炎症反应的影响。研究结果显示,银杏内酯注射液能显著改善小鼠tMCAO模型急性期神经症状,减少脑梗死体积,改善脑水肿,抑制炎症反应。本研究亦从多个层面分析了银杏内酯注射液对炎症反应抑制作用可能的机理。(1)在脑缺血/再灌注损伤发生、发展的过程中,炎症因子IL-1 β 、TNF- α 等作为炎症级联反应的关键因子,与神经细胞损伤、血脑屏障破坏、阻碍神经再生等病理过程

紧密相关。银杏内酯注射液能够显著抑制tMCAO模型小鼠炎症因子IL-1 β 、TNF- α 、IL-18、IL-6、IL-12 mRNA水平的升高。(2)炎症小体是一种蛋白质复合物,能够介导半胱氨酰天冬氨酸特异性蛋白酶1(caspase-1)的活化,后者可以促进IL-1 β 、IL-18等炎症因子的生成和释放,使炎症反应加剧^[21]。炎症小体也被认为是神经系统炎症反应的核心,与包括脑卒中在内的许多急、慢性神经变性疾病密切相关。银杏内酯注射液能够显著抑制tMCAO模型小鼠NLRP1、NLRP2、NLRP3、AIM2炎症小体mRNA水平的升高。(3)炎症相关蛋白NLRP3、NLRP2、效应蛋白pro-IL-1 β 、pro-caspase-1等为构成相关炎症小体的重要组成成分。银杏内酯注射液能显著抑制炎症相关蛋白NLRP3、NLRP2的表达水平,抑制pro-IL-1 β 转化为IL-1 β 以及pro-Caspase 1转化为Caspase 1。

本研究结果表明银杏内酯注射液对tMCAO模型小鼠脑缺血/再灌注损伤具有明显的神经保护作用,其对炎症因子和炎症小体的抑制作用可能是其抑制炎症水平以及进而发挥神经保护作用的主要机理。

参考文献

- [1] Chan PC,Xia Q,Fu PP.Ginkgo biloba leave extract:biological,medicinal,and toxicological effects.J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev,2007,25(3):211-44.
- [2] Montes P,Ruiz-Sanchez E,Rojas C,Rojas P.Ginkgo biloba Extract 761:A Review of Basic Studies and Potential Clinical Use in Psychiatric Disorders.CNS Neurol Disord Drug Targets,2015,14(1):132-49.
- [3] Nash KM,Shah ZA.Current Perspectives on the Beneficial Role of Ginkgo biloba in Neurological and Cerebrovascular Disorders. Integr Med Insights,2015,10:1-9.
- [4] Mahadevan S,Park Y.Multifaceted therapeutic benefits of Ginkgo biloba L.:chemistry,efficacy,safety,and uses.J Food Sci,2008,73(1):R14-9.
- [5] Singh B,Kaur P,Gopichand,Singh RD,Ahuja PS.Biology and chemistry of Ginkgo biloba.Fitoterapia,2008,79(6):401-18.
- [6] Cho HJ,Nam KS.Inhibitory effect of ginkgolide B on platelet aggregation in a cAMP- and cGMP-dependent manner by activated MMP-9.J Biochem Mol Biol,2007,40(5):678-83.
- [7] Cho HJ,Shon YH,Nam KS.Ginkgolide C inhibits platelet aggregation in cAMP- and cGMP-dependent manner by activating MMP-9.Biol Pharm Bull,2007,30(12):2340-4.
- [8] P Lv,W Fang,X Geng et al.Therapeutic neuroprotective effects of ginkgolide B on cortex and basal ganglia in a rat model of transient focal ischemia.Eur J Pharm Sci,2011,44(3):235-40.
- [9] Zhao Q,Gao C,Cui Z.Ginkgolide A reduces inflammatory response in high-glucose-stimulated human umbilical vein endothelial cells through STAT3-mediated pathway.Int Immunopharmacol,2015,25(2):242-8.
- [10] JH Gu,JB Ge,M Li et al.Inhibition of NF-kappaB activation is associated with anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of Ginkgolide B in a mouse model of cerebral ischemia/reperfusion injury.Eur J Pharm Sci,2012,47(4):652-60.
- [11] Longa EZ,Weinstein PR,Carlson S et al.Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke,1989,20(1):84~91.
- [12] Bederson JB,Pitts LH,Tsuiji M et al.Rat middle cerebral artery occlusion:evaluation of the model and development of a neurologic examination.Stroke,1986,17(3):472-6.
- [13] Kogure K,Busto R,Schwartzman RJ,Scheinberg P.The dissociation of cerebral blood flow,metabolism,and function in the early stages of developing cerebral infarction.Ann Neurol,1980,8(3):278-90.
- [14] Tano JY,Gollasch M.Hypoxia and ischemia-reperfusion:a BiK contribution? Am J Physiol Heart Circ Physiol,2014,307(6):H811-7.
- [15] Sanderson TH,Reynolds CA,Kumar R et al.Molecular mechanisms of ischemia-reperfusion injury in brain:pivotal role of the mitochondrial membrane potential in reactive oxygen species generation.Mol Neurobiol,2013,47(1):9-23.
- [16] Granger DN,Kvietys PR.Reperfusion injury and reactive oxygen species:The evolution of a concept.Redox Biol,2015,6:524-51.
- [17] Pan J,Konstas AA,Bateman B et al.Reperfusion injury following cerebral ischemia:pathophysiology,MR imaging,and potential therapies.Neuroradiology,2007,49(2):93-102.
- [18] Guo Z,Yu S,Chen X et al.NLRP3 Is Involved in Ischemia/Reperfusion Injury.CNS Neurol Disord Drug Targets,2016,15(6):699-712.
- [19] Carden DL,Granger DN.Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury.J Pathol,2000,190(3):255-66.
- [20] Wu MY,Yiang GT,Liao WT et al.Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury.Cell Physiol Biochem,2018,46(4):1650-67.
- [21] Lamkanfi M,Dixit VM.Mechanisms and functions of inflammasomes.Cell,2014,157(5):1013-22.

本文编辑: 吴 卫