

# 五味子乙素调节 MAPK/NF- $\kappa$ B/AP-1 信号通路对缺血性脑卒中大鼠神经元损伤的影响

宋秀威 杨月君 王伟

**【摘要】 目的** 探究五味子乙素(Schisandrin B, Sch B)调节丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinase, MAPK)/核转录因子- $\kappa$ B(Nuclear factor-kappa beta, NF- $\kappa$ B)/激活蛋白-1(Activator protein-1, AP-1)信号通路对缺血性脑卒中大鼠神经元损伤的影响。**方法** 选用 SD 大鼠 144 只,随机分为 6 组(24 只/组):Sham 组、Model 组、Sch B 低剂量组(10 mg/kg Sch B)、Sch B 中剂量组(20 mg/kg Sch B)、Sch B 高剂量组(40 mg/kg Sch B)、激活剂组[40 mg/kg Sch B+2 mg/kg 茴香霉素(Anisomycin)];采用改良线栓法致大鼠大脑中动脉闭塞(Middle cerebral artery occlusion, MCAO),建立缺血性脑卒中(Ischemic stroke, IS)模型;对各组大鼠进行 Loeffler 神经学评分以评估大鼠神经功能缺损程度;氯化三苯基四氮唑(2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride, TTC)染色测定大鼠脑梗死面积;称重法检测大鼠脑组织含水量;苏木精-伊红染色法(Hematoxylin-eosinstaining, HE)观察大鼠脑组织损伤;原位末端标记染色法(TdT-mediated dUTP Nick-End Labeling, TUNEL)观察大鼠神经细胞凋亡情况;二氯荧光素双醋酸盐(2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate, DCFH-DA)荧光探针法检测大鼠脑组织活性氧(Reactive oxygen species, ROS)水平;分别使用超氧化物歧化酶(Superoxidedismutase, SOD)、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)试剂盒检测脑组织 SOD 活性与 MDA 水平;western blot 检测脑组织中增殖细胞核抗原(Proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、凋亡相关蛋白[BCL-2 关联 X 蛋白(Bcl-2associated X protein, Bax)、半胱氨酸蛋白酶 3(Cysteine proteinase3, Caspase-3)]、自噬相关蛋白[微管相关蛋白 1 轻链 3 II(Microtubule-associated protein 1 light chain 3II, LC3 II)、卷曲螺旋肌球蛋白样 BCL2 结合蛋白(Coiled-coil myosin-like BCL2 interacting protein, Beclin-1)]和 MAPK/NF- $\kappa$ B/AP-1 通路蛋白的表达水平。**结果** 与 Sham 组比较,Model 组大鼠脑组织中 SOD 活性减弱、神经学评分、PCNA 蛋白表达水平降低,病理损伤加重、脑梗死面积百分比、脑组织含水量、神经细胞凋亡率、ROS,MDA 水平、Bax, Caspase-3,LC3 II/LC3 I, Beclin-1、磷酸化-P38 丝裂原活化蛋白激酶(p-p38 Mitogen-activated protein kinase, p-p38MAPK)/p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 Mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)、磷酸化-核转录因子- $\kappa$ B p65(p-Nuclear transcription factor kappa-B p65, p-NF- $\kappa$ B p65)/核转录因子- $\kappa$ B p65(Nuclear transcription factor kappa-B p65, NF- $\kappa$ B p65)、AP-1 蛋白表达水平升高( $P<0.05$ );与 Model 组比较,Sch B 低、中、高剂量组大鼠 SOD 活性增强、神经学评分、PCNA 蛋白表达水平升高,病理损伤减轻、脑梗死面积百分比、脑组织含水量、神经细胞凋亡率、ROS,MDA 水平、Bax, Caspase-3, LC3 II/LC3 I, Beclin-1, p-p38MAPK/p38MAPK, p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65, AP-1 蛋白表达水平降低( $P<0.05$ );与 Sch B 高剂量组比较,激活剂组大鼠脑组织中 SOD 活性减弱、神经学评分、PCNA 蛋白表达水平降低,病理损伤加重、脑梗死面积百分比、脑组织含水量、神经细胞凋亡率、ROS,MDA 水平、Bax, Caspase-3, LC3 II/LC3 I, Beclin-1, p-p38MAPK/p38MAPK, p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65, AP-1 蛋白表达水平升高( $P<0.05$ )。**结论** Sch B 通过抑制 MAPK/NF- $\kappa$ B/AP-1 信号通路,从而减轻缺血性脑卒中大鼠的神经元损伤。

**【关键词】** 五味子乙素 丝裂原活化蛋白激酶/核转录因子- $\kappa$ B/激活蛋白-1 缺血性脑卒中 大鼠 神经元损伤

**【中图分类号】** R743.3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2023)03-0242-07

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1007-0478.2023.03.002

Schisandrin B attenuates neuronal damage in rats with ischemic stroke by regulating MAPK/NF- $\kappa$ B/AP-1 signaling pathway Song Xiurwei\*, Yang Yuejun, Wang Wei. \* Department of Physical Examination, the NO.2 Hospital of Baoding, Baoding 071000

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of Schisandrin B (Sch B), which regulates the mitogen-activated protein kinase (MAPK)/nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)/activator protein-1 (AP-1) signaling pathway, on neuronal injury in rats with ischemic stroke. **Methods** A total of 144 SD rats were randomly divided into 6 groups (24 rats/group): Sham group, Model group, Sch B low-dose group (10 mg/kg Sch B), Sch B medium-dose group (20 mg/kg Sch B), Sch B high-dose group (40 mg/kg Sch B), and activator group (40 mg/kg Sch B + 2 mg/kg anisomycin). The ischemic stroke (IS) model was established by middle cerebral artery occlusion (MCAO) in rats using a modified suture method. Loeffler neurological scoring was performed in each group to assess the degree of neurological impairment in rats. TTC staining was used to determine the area of cerebral infarction. The water content of brain tissue was measured by weighing. HE staining was used to observe brain tissue damage. TUNEL staining was used to observe the apoptosis of neural cells. DCFH-DA was used as a fluorescent probe to detect reactive oxygen species (ROS) in brain tissue. The levels of reactive oxygen species (ROS) in rat brain tissues were measured by fluorescence probe. SOD activity and MDA levels were measured by superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) kits, respectively. Western blotting was applied to detect proliferating cell nuclear antigen (PCNA), apoptosis-related proteins (Bax, caspase-3), autophagy-related proteins (LC3II, Beclin-1), and the MAPK/NF- $\kappa$ B/AP-1 pathway in brain tissues. **Results** Compared with the Sham group, the Model group showed diminished SOD activity, reduced neurological score, PCNA level, increased pathological injury, percentage of cerebral infarct area, brain tissue water content, apoptosis rate of neural cells, ROS, MDA level, Bax, caspase-3, LC3II/LC3 I, Beclin-1, p-p38MAPK/p38MAPK, p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65 and AP-1 levels ( $P < 0.05$ ). Compared with the Model group, the rats in the Sch B low, medium, and high dose groups showed enhanced SOD activity, neurological scores, increased PCNA protein expression levels, reduced pathological injury, percentage of cerebral infarct area, brain tissue water content, neuronal apoptosis rate, ROS, amount of MDA levels, Bax, caspase-3, LC3II/LC3 I, Beclin-1, p-p38MAPK/p38MAPK, p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65, and AP-1 protein expression levels were reduced ( $P < 0.05$ ). Compared with the Sch B high-dose group, the activator group showed reduced SOD activity, neurological scores, PCNA protein expression levels in rat brain tissues, aggravated pathological injury, brain infarction percentage of area, brain tissue water content, neuroapoptosis rate, ROS, MDA level, Bax, caspase-3, LC3II/LC3 I, Beclin-1, p-p38MAPK/p38MAPK, p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65, and AP-1 protein expression levels were increased in the activator group compared with the Sch B high-dose group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Sch B attenuates neuronal injury in ischemic stroke rats by inhibiting the MAPK/NF- $\kappa$ B/AP-1 signaling pathway.

**【Key words】** Schisandrin B MAPK/NF- $\kappa$ B/AP-1 Ischemic stroke Rats Neuronal damage

脑卒中的病死率和致残率较高,脑卒中患者中缺血性脑卒中(Ischemic stroke, IS)居多,IS发病机制复杂,有氧化应激、能量代谢、炎症反应、细胞凋亡等多种因素参与,使得神经出现不可逆性损伤,虽然一些临床治疗方法对治疗 IS 有效,但是部分患者出现神经功能缺损症状,表现为认知、情感和感觉、运动障碍<sup>[1-3]</sup>。因此,积极开发新的安全有效的治疗 IS 药物有重要意义。五味子乙素(Schisandrin B, Sch B)是从中药五味子中分离出来的,具有抗氧化、抗炎、心脏保护和神经保护等多种生理活性<sup>[4]</sup>。Fan 等<sup>[5]</sup>发现, Sch B 通过抑制 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)/核转录因子- $\kappa$ B (Nuclear factor kappa beta, NF- $\kappa$ B)信号通路来改善大鼠脑缺血并减轻再灌注损伤。Ran 等<sup>[6]</sup>研究表明, Sch B

通过抑制 NF- $\kappa$ B 和丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路来改善软骨细胞炎症和骨关节炎。Jiang 等<sup>[7]</sup>研究发现,水晶兰苷可能通过调节 NF- $\kappa$ B/激活蛋白-1(Activator protein 1, AP-1)来改善 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的炎症和氧化应激。但 Sch B 通过调节 MAPK/NF- $\kappa$ B/AP-1 信号通路对缺血性脑卒中大鼠神经元损伤的影响尚不清楚。因此,本研究旨在探讨 Sch B 对缺血性脑卒中大鼠神经元损伤的影响及其可能的作用机制,以期临床治疗 IS 提供一定的参考价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

无特定病原体(Specific pathogen free, SPF)级

远交群(Sprague Dawley, SD)大鼠购自武汉云克隆动物有限公司,生产许可编号为 SCXK(鄂)2018-0021,5~6 周龄,体重 180~200 g,适应性喂养 1 周,设置饲养温度为 22℃,湿度为 55~60%,12 h 光暗循环,不禁水食。

## 1.2 主要试剂

Sch B 购于上海雅吉生物科技有限公司;p38 MAPK 特异性激活剂-茴香霉素(Anisomycin)购于深圳市健竹科技有限公司;TTC 与 HE 染色试剂盒、TUNEL 检测试剂盒购于北京索莱宝科技有限公司;兔抗 PCNA, Bax, Caspase-3, LC3 II, LC3 I, Beclin-1, p-p38MAPK, p38MAPK, p-NF-κB p65, NF-κB p65, AP-1, 3-磷酸甘油醛脱氢酶(Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体购于美国 Cell Signaling Technology 公司;活性氧荧光探针 DCFH-DA 购于上海恒雅生物科技有限公司;SOD, MDA 试剂盒购于北京普利莱基因技术有限公司。

## 1.3 方法

1.3.1 动物建模、分组和给药 选用 SD 大鼠 144 只,随机分为 6 组(24 只/组):Sham 组、Model 组、Sch B 低剂量组、Sch B 中剂量组、Sch B 高剂量组、激活剂组。腹腔注射 1%戊巴比妥钠麻醉大鼠,用线栓法致大脑中动脉闭塞(Middle cerebral artery occlusion, MCAO)构建 IS 大鼠模型。具体操作参考李亚琴等<sup>[8]</sup>使用方法;Sham 组仅分离血管不插线栓,其余各组照常进行造模;术后 24 h 若发现大鼠向左侧自主转圈,提尾时左前肢伸展不完全,不能走直线,即造模成功。补充术后死亡 3 只大鼠。造模成功后 Sch B 低、中、高剂量组分别灌胃 10、20、40 mg/kg Sch B<sup>[9]</sup>,激活剂组灌胃 40 mg/kg Sch B 并腹腔注射 2 mg/kg Anisomycin<sup>[10]</sup>,Sch B 低、中、高剂量组腹腔注射等量生理盐水,Sham 组和 Model 组灌胃并腹腔注射等量的生理盐水,1 次/d,持续 30 d。

1.3.2 Loeffler 神经学评分 各组 24 只大鼠在最后 1 次给药 12 h 后对其行为进行观察,根据 Loeffler 神经学评分<sup>[11]</sup>对各组大鼠进行神经功能评分;大鼠神经功能损害越严重,评分越低。

1.3.3 TTC 染色 每组麻醉 6 只大鼠并脱颈处死,取脑组织,脑组织经冷冻切片后经 TTC(2%)染液、多聚甲醛(4%)固定,ImageJ 软件分析计算脑梗死面积;梗死面积百分比=灰白色面积/总面积

积×100%;正常脑组织被染成红色,梗死区呈灰白色。

1.3.4 脑组织含水量的测定 每组处死 6 只大鼠,取脑组织并称其湿质量,干燥称其干质量;脑组织含水量=(湿质量-干质量)/湿质量×100%。

1.3.5 HE 染色 每组处死 6 只大鼠,分离出的脑组织经固定、脱水、包埋切片、脱蜡和水化后进行 HE 染色,最后在显微镜下观察脑组织损伤情况,剩余脑组织用作 TUNEL 染色。

1.3.6 TUNEL 染色 将大鼠脑组织切片脱蜡至水,根据 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒进行 TUNEL 染色,显微镜下观察阳性细胞呈棕色或褐色,计算细胞凋亡率。

1.3.7 大鼠脑组织中 SOD, ROS, MDA 水平测定 处死剩余 6 只大鼠,将大鼠脑组织制成匀浆后根据 SOD, MDA 试剂盒检测大鼠脑组织中 SOD 活性与 MDA 水平;DCFH-DA 荧光探针法检测大鼠脑组织 ROS 水平,剩余脑组织用作 Western blot。

1.3.8 Western blot 方法检测 PCNA, Bax, Caspase-3, LC3 II, LC3 I, Beclin-1 和 MAPK/NF-κB/AP-1 通路蛋白的表达水平 提取大鼠脑组织蛋白,定量后进行电泳,转膜后室温封闭 2 h,再分别加入 PCNA, Bax, Caspase-3, LC3 II, LC3 I, Beclin-1, p-p38MAPK, p38MAPK, p-NF-κB p65, NF-κB p65, AP-1, GAPDH 一抗 4℃孵育过夜,加入二抗室温孵育 90 min;分析蛋白条带灰度值,计算蛋白相对表达水平;GAPDH 作为内源性对照。

1.3.9 统计学处理 采用 Graphpad Prism 9.0 软件。实验数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步 2 组比较采用 SNK-*q* 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同剂量的 Sch B 对大鼠神经学评分影响

与 Sham 组比较,Model 组大鼠神经学评分显著降低( $P < 0.05$ );与 Model 组比较,Sch B 低、中、高剂量组大鼠神经学评分显著升高( $P < 0.05$ );与 Sch B 高剂量组比较,激活剂组大鼠神经学评分显著降低( $P < 0.05$ )(表 1)。

### 2.2 不同剂量的 Sch B 对大鼠脑梗死面积百分比和脑组织含水量的影响

与 Sham 组比较,Model 组大鼠脑梗死面积百

表 1 各组大鼠神经学评分比较( $\bar{x} \pm s, n = 24$ , 分)

组别	神经学评分
Sham 组	5.00 $\pm$ 0.00
Model 组	0.84 $\pm$ 0.07*
Sch B 低剂量组	2.53 $\pm$ 0.11 $\Delta$
Sch B 中剂量组	3.56 $\pm$ 0.16 $\Delta$ #
Sch B 高剂量组	4.31 $\pm$ 0.20 $\Delta$ #▲
激活剂组	2.58 $\pm$ 0.14 $\bigcirc$

注:与 Sham 组比较,\* $P < 0.05$ ;与 Model 组比较, $\Delta P < 0.05$ ;与 Sch B 低剂量组比较,# $P < 0.05$ ;与 Sch B 中剂量组比较,▲ $P < 0.05$ ;与 Sch B 高剂量组比较, $\bigcirc P < 0.05$

分比、脑组织含水量显著增加( $P < 0.05$ );与 Model 组比较,Sch B 低、中、高剂量组大鼠脑梗死面积百分比、脑组织含水量显著减少( $P < 0.05$ );与 Sch B 高剂量组比较,激活剂组大鼠脑梗死面积百分比、脑组织含水量显著增加( $P < 0.05$ )(图 1 和表 2)。

表 2 各组大鼠脑梗死面积百分比和脑组织含水量比较( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	脑梗死面积百分比(%)	脑组织含水量(%)
Sham 组	0.01 $\pm$ 0.00	43.29 $\pm$ 4.12
Model 组	38.65 $\pm$ 3.76*	79.86 $\pm$ 7.87*
Sch B 低剂量组	30.15 $\pm$ 3.18 $\Delta$	72.51 $\pm$ 6.85 $\Delta$
Sch B 中剂量组	21.43 $\pm$ 2.76 $\Delta$ #	64.42 $\pm$ 6.10 $\Delta$ #
Sch B 高剂量组	11.29 $\pm$ 2.15 $\Delta$ #▲	55.47 $\pm$ 5.23 $\Delta$ #▲
激活剂组	23.68 $\pm$ 2.46 $\bigcirc$	68.24 $\pm$ 6.46 $\bigcirc$

注:与 Sham 组比较,\* $P < 0.05$ ;与 Model 组比较, $\Delta P < 0.05$ ;与 Sch B 低剂量组比较,# $P < 0.05$ ;与 Sch B 中剂量组比较,▲ $P < 0.05$ ;与 Sch B 高剂量组比较, $\bigcirc P < 0.05$

2.3 不同剂量的 Sch B 对大鼠脑组织损伤的影响

Sham 组脑皮质结构完整,未见水肿及炎症细胞浸润,神经元排列紧密有序、核膜清晰;Model 组神经元排列疏松无序,神经元核仁固缩,水肿及炎症

细胞浸润明显;Sch B 低、中、高剂量组病理损伤逐渐减轻,神经元排列较紧密有序、核膜逐渐清晰、炎性细胞浸润逐渐减少;激活剂组病理损伤较 Sch B 高剂量组加重(图 2)。

2.4 不同剂量的 Sch B 对大鼠神经细胞凋亡率的影响

与 Sham 组比较,Model 组大鼠神经细胞凋亡率显著升高( $P < 0.05$ );与 Model 组比较,Sch B 低、中、高剂量组大鼠神经细胞凋亡率显著降低( $P < 0.05$ );与 Sch B 高剂量组比较,激活剂组大鼠神经细胞凋亡率显著升高( $P < 0.05$ )(图 3 和表 3)。

表 3 各组大鼠神经细胞凋亡率比较( $\bar{x} \pm s, n = 6$ , %)

组别	神经细胞凋亡率
Sham 组	8.67 $\pm$ 1.01
Model 组	39.51 $\pm$ 3.24*
Sch B 低剂量组	31.37 $\pm$ 2.65 $\Delta$
Sch B 中剂量组	22.83 $\pm$ 2.31 $\Delta$ #
Sch B 高剂量组	14.03 $\pm$ 1.33 $\Delta$ #▲
激活剂组	27.68 $\pm$ 2.63 $\bigcirc$

注:与 Sham 组比较,\* $P < 0.05$ ;与 Model 组比较, $\Delta P < 0.05$ ;与 Sch B 低剂量组比较,# $P < 0.05$ ;与 Sch B 中剂量组比较,▲ $P < 0.05$ ;与 Sch B 高剂量组比较, $\bigcirc P < 0.05$

2.5 不同剂量的 Sch B 对大鼠脑组织中 SOD, ROS,MDA 水平的影响

与 Sham 组比较,Model 组大鼠脑组织中 ROS, MDA 水平显著升高,SOD 活性显著减弱( $P < 0.05$ );与 Model 组比较,Sch B 低、中、高剂量组大鼠脑组织中 ROS,MDA 水平显著降低,SOD 活性显著增强( $P < 0.05$ );与 Sch B 高剂量组比较,激活剂组大鼠脑组织中 ROS,MDA 水平显著升高,SOD

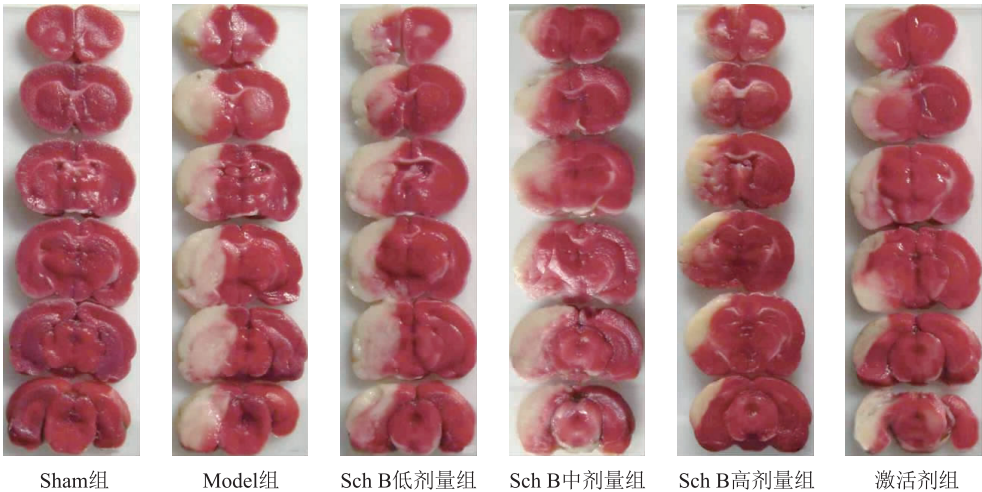


图 1 各组大鼠脑组织 TTC 染色

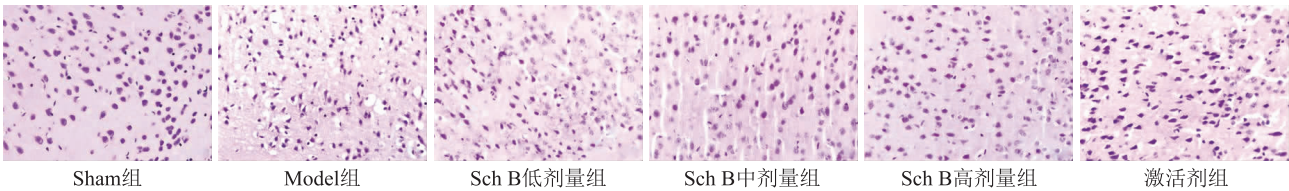


图2 各组大鼠脑组织 HE 染色(×400 倍)

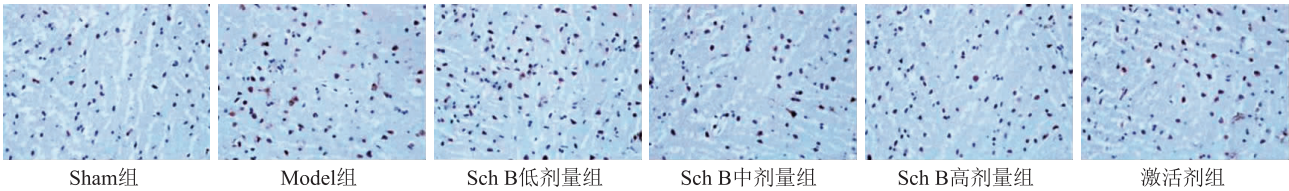


图3 各组大鼠脑组织 TUNEL 染色(×400 倍)

活性显著减弱( $P<0.05$ )(表4)。

表4 各组大鼠脑组织中 SOD,ROS,MDA 水平比较  
( $\bar{x}\pm s,n=6$ )

组别	SOD( $\mu\text{mg}$ )	ROS( $\mu\text{mol/mg}$ )	MDA( $\mu\text{mol/mg}$ )
Sham 组	7.38±0.62	103.72±9.85	1.03±0.12
Model 组	1.02±0.13*	272.49±17.42*	12.75±0.89*
Sch B 低剂量组	2.38±0.24△	235.83±16.24△	9.63±0.74△
Sch B 中剂量组	3.97±0.42△#	184.62±14.74△#	6.24±0.58△#
Sch B 高剂量组	6.21±0.57△#▲	130.87±10.67△#▲	3.35±0.37△#▲
激活剂组	2.69±3.08○	226.17±13.32○	8.87±0.62○

注:与 Sham 组比较,\* $P<0.05$ ;与 Model 组比较,△ $P<0.05$ ;与 Sch B 低剂量组比较,# $P<0.05$ ;与 Sch B 中剂量组比较,▲ $P<0.05$ ;与 Sch B 高剂量组比较,○ $P<0.05$

2.6 不同剂量的 Sch B 对大鼠脑组织中 PCNA, Bax,Caspase-3,LC3 II /LC3 I ,Beclin-1 蛋白表达水平的影响

与 Sham 组比较,Model 组大鼠脑组织中 PCNA 表达水平显著降低,Bax,Caspase-3,LC3 II /LC3 I ,Beclin-1 蛋白表达水平显著升高( $P<0.05$ );与 Model 组比较,Sch B 低、中、高剂量组大鼠脑组织中 PCNA 表达水平显著升高,Bax,Caspase-3,LC3 II /LC3 I ,Beclin-1 蛋白表达水平显著降低( $P<0.05$ );与 Sch B 高剂量组比较,激活剂

组大鼠脑组织中 PCNA 表达水平显著降低,Bax,Caspase-3,LC3 II /LC3 I ,Beclin-1 蛋白表达水平显著升高( $P<0.05$ )(图4和表5)。

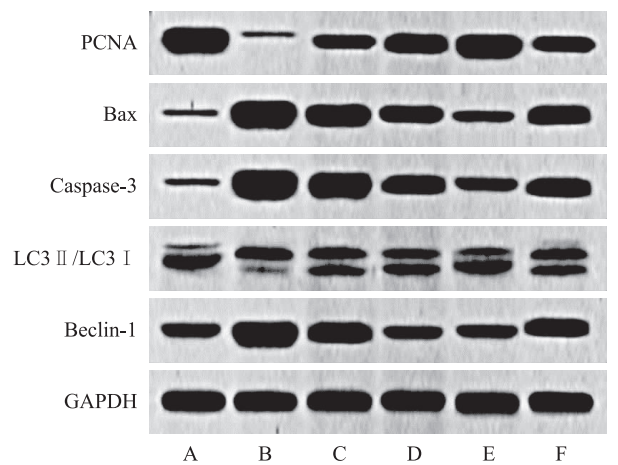


图4 各组大鼠脑组织中 PCNA,Bax,Caspase-3,LC3 II /LC3 I ,Beclin-1 蛋白表达水平 A 为 Sham 组;B 为 Model 组;C 为 Sch B 低剂量组;D 为 Sch B 中剂量组;E 为 Sch B 高剂量组;F 为激活剂组

2.7 不同剂量的 Sch B 对大鼠脑组织中 MAPK/ NF-κB/AP-1 信号通路蛋白表达水平的影响

与 Sham 组比较,Model 组大鼠脑组织中 p-

表5 各组大鼠脑组织中 PCNA,Bax,caspase-3,LC3 II /LC3 I ,Beclin-1 蛋白表达水平比较( $\bar{x}\pm s,n=6$ )

组别	PCNA/GAPDH	Bax/GAPDH	Caspase-3/GAPDH	LC3 II /LC3 I	Beclin-1/GAPDH
Sham 组	1.88±0.15	0.14±0.02	0.16±0.01	0.17±0.01	0.41±0.03
Model 组	0.10±0.01*	1.93±0.17*	2.14±0.21*	0.94±0.08*	1.63±0.12*
Sch B 低剂量组	0.57±0.07△	1.38±0.11△	1.67±0.14△	0.72±0.06△	1.15±0.09△
Sch B 中剂量组	1.12±0.09△#	0.89±0.08△#	1.04±0.06△#	0.51±0.04△#	0.46±0.05△#
Sch B 高剂量组	1.76±0.15△#▲	0.33±0.02△#▲	0.48±0.03△#▲	0.23±0.02△#▲	0.45±0.03△#▲
激活剂组	0.68±0.07○	0.96±0.09○	1.16±0.12○	0.68±0.07○	0.94±0.07○

注:与 Sham 组比较,\* $P<0.05$ ;与 Model 组比较,△ $P<0.05$ ;与 Sch B 低剂量组比较,# $P<0.05$ ;与 Sch B 中剂量组比较,▲ $P<0.05$ ;与 Sch B 高剂量组比较,○ $P<0.05$



p38MAPK/p38MAPK, p-NF-κB p65/NF-κB p65, AP-1 蛋白表达水平升高( $P<0.05$ );与 Model 组比较, Sch B 低、中、高剂量组大鼠脑组织中 p-p38MAPK/p38MAPK, p-NF-κB p65/NF-κB p65, AP-1 蛋白表达水平降低( $P<0.05$ );与 Sch B 高剂量组比较, 激活剂组 p-p38MAPK/p38MAPK, p-NF-κB p65/NF-κB p65, AP-1 蛋白表达水平升高( $P<0.05$ )(图 5 和表 6)。

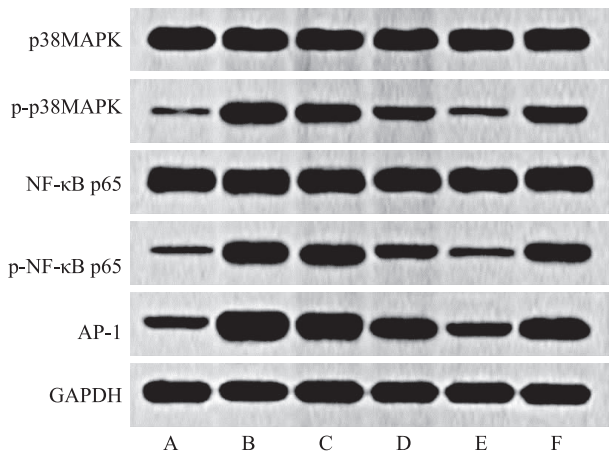


图 5 各组大鼠脑组织中 MAPK/NF-κB/AP-1 信号通路蛋白表达水平 A 为 Sham 组;B 为 Model 组;C 为 Sch B 低剂量组;D 为 Sch B 中剂量组;E 为 Sch B 高剂量组;F 为激活剂组

表 6 各组大鼠脑组织中 p-p38MAPK/p38MAPK, p-NF-κB p65/NF-κB p65, AP-1 蛋白表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	p-p38MAPK/ p38MAPK	p-NF-κB p65/ NF-κB p65	AP-1/GAPDH
Sham 组	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.31 ± 0.02
Model 组	0.86 ± 0.08 *	0.89 ± 0.08 *	1.88 ± 0.17 *
Sch B 低剂量组	0.65 ± 0.05 △	0.67 ± 0.06 △	1.45 ± 0.12 △
Sch B 中剂量组	0.34 ± 0.04 △#	0.36 ± 0.03 △#	0.97 ± 0.07 △#
Sch B 高剂量组	0.13 ± 0.02 △#▲	0.15 ± 0.01 △#▲	0.36 ± 0.03 △#▲
激活剂组	0.57 ± 0.06 ○	0.59 ± 0.05 ○	1.13 ± 0.10 ○

注:与 Sham 组比较, \*  $P<0.05$ ;与 Model 组比较, △  $P<0.05$ ;与 Sch B 低剂量组比较, #  $P<0.05$ ;与 Sch B 中剂量组比较, ▲  $P<0.05$ ;与 Sch B 高剂量组比较, ○  $P<0.05$

3 讨论

脑缺血是脑损伤的主要原因,其主要临床表现为短暂性或永久性 MCAO,所以常用 MCAO 进行 IS 实验模型动物研究<sup>[12]</sup>。对 IS 模型大鼠研究发现,其脑组织含水量和脑梗死面积增多,脑损伤严重,神经功能缺损及神经细胞凋亡增加,自噬相关蛋白(LC3II/LC3I, Beclin1)表达水平明显升高<sup>[13]</sup>。机体受到有害刺激时会发生氧化应激,引起脂质过氧

化,导致组织细胞损伤,表现为 ROS 产生过多、脂质过氧化产物 MDA 的积累。SOD 是细胞内的抗氧化酶,其水平越高机体抗氧化损伤的能力越强<sup>[14-15]</sup>。本研究用 MCAO 构建 IS 大鼠模型并对 IS 大鼠模型研究发现,Model 组大鼠脑组织中 SOD 活性减弱、神经学评分、PCNA 蛋白表达水平降低,病理损伤加重、脑梗死面积百分比、脑组织含水量、神经细胞凋亡率、ROS, MDA 水平、Bax, Caspase-3, LC3 II / LC3 I, Beclin-1 蛋白表达水平升高,这与人研究结果一致。

Sch B 在抗氧化、神经保护等方面发挥重要作用。Sch B 可提高细胞中 SOD 的水平,抑制脂质过氧化,并减少 MDA 释放;Sch B 还可防止氧自由基形成,从而发挥抗氧化作用<sup>[4]</sup>。有研究发现, Sch B 能抑制晚期糖基化终产物受体(Receptor for advanced glycation endproducts, RAGE)蛋白/NF-κB/MAPK、改善淀粉样 β 诱导的氧化应激和神经元功能障碍<sup>[16]</sup>。据报道, Sch B 通过抑制 ROS 和 MDA 来缓解神经退化,同时通过转录因子 E2 相关因子 2(Nuclear factor erythroid-2-related factor2, Nrf2)途径增高 SOD 水平<sup>[17]</sup>。槲皮素通过下调 NF-κB 和 AP-1 信号通路,抑制肿瘤坏死因子 α(Tumor necrosis factor-α, TNF-α)诱导的人脐静脉内皮细胞(Human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)凋亡和炎症<sup>[18]</sup>。乙酰牛磺酸镁预处理通过下调 NF-κB, p53 和 AP-1 介导的原癌基因 C-Jun(C-Jun oncogene)/原癌基因 c-Fos(c-Fos oncogene)转录活性来抑制 N-甲基-D-天冬氨酸诱导的神经元凋亡<sup>[19]</sup>。本研究用不同水平 Sch B 治疗 IS 大鼠模型后发现,大鼠脑组织中 SOD 活性增强、神经学评分、PCNA 蛋白表达水平升高,病理损伤减轻、脑梗死面积百分比、脑组织含水量、神经细胞凋亡率、ROS, MDA 水平、Bax, Caspase-3, LC3 II / LC3 I, Beclin-1, p-p38MAPK/p38MAPK, p-NF-κB p65/NF-κB p65, AP-1 蛋白表达水平降低。提示 Sch B 可能通过抑制 MAPK/NF-κB/AP-1 通路来抑制 IS 大鼠模型脑组织氧化应激和神经细胞凋亡与自噬,从而减轻 IS 大鼠模型神经元损伤。MAPK 通路激活剂-Anisomycin 能减弱 Sch B 对 IS 大鼠模型脑组织氧化应激和神经细胞凋亡与自噬的抑制,从而加重 IS 大鼠模型神经元损伤。这些说明 Sch B 能通过抑制 MAPK/NF-κB/AP-1 通路来减轻 IS 大鼠模型神经元损伤。

综上所述, Sch B 能通过抑制 MAPK/NF- $\kappa$ B/AP-1 通路来减轻 IS 大鼠模型神经元损伤; 本研究为开发新的治疗 IS 的药物提供了理论基础。然而, 本研究依然存在不足之处, 即未在细胞水平探讨 Sch B 的作用, 这也是后续研究的方向。

参 考 文 献

[1] Herpich F, Rincon F. Management of acute ischemic stroke [J]. Crit Care Med, 2020, 48(11): 1654-1663.

[2] 王玮, 李悦, 徐霁华, 等. 急性缺血性脑卒中患者静脉溶栓后早期神经功能恶化的危险因素分析[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2019, 21(6): 618-621.

[3] 张艾嘉, 王爽, 王萍, 等. 缺血性脑卒中的病理机制研究进展及中医药防治[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(5): 227-240.

[4] Nasser MI, Zhu S, Chen C, et al. A comprehensive review on schisandrin B and its biological properties[J]. Oxid Med Cell Longev, 2020 (1): 1-13.

[5] Fan X, Elkin K, Shi Y, et al. Schisandrin B improves cerebral ischemia and reduces reperfusion injury in rats through TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway inhibition[J]. Neurol Res, 2020, 42(8): 693-702.

[6] Ran J, Ma C, Xu K, et al. Schisandrin B ameliorated chondrocytes inflammation and osteoarthritis via suppression of NF- $\kappa$ B and MAPK signal pathways[J]. Drug Des Devel Ther, 2018, 12(1): 1195-1204.

[7] Jiang F, Xu XR, Li WM, et al. Monotropein alleviates H2O2-induced inflammation, oxidative stress and apoptosis via NF- $\kappa$ B/AP-1 signaling[J]. Mol Med Rep, 2020, 22(6): 4828-4836.

[8] 李亚琴, 任维, 罗钢, 等. 蛭龙活血通瘀胶囊对缺血性脑卒中模型大鼠的作用及对脑皮层神经元线粒体的影响[J]. 中药药理与临床, 2021, 37(5): 119-124.

[9] 程厚之, 张丽凤, 梁祚仁, 等. 五味子乙素对慢性铝中毒大鼠海马突触超微结构的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(7): 648-651.

[10] 曹定岩, 包红, 何涛, 等. 辣椒素通过 MAPK/COX-2 信号通路对局灶性脑缺血大鼠认知功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂

志, 2022, 28(24): 122-130.

[11] 高蒙, 黄娟. 白藜芦醇通过调节 miR-223-3p/NLRP3 通路发挥对幼年大鼠脑膜炎模型皮质神经元的保护作用[J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36(7): 1161-1169.

[12] Guo YN, Guo Q, Zhang Q, et al. Proangiogenic functions of osteopontin-derived synthetic peptide RSKSKKFRR endothelial cells and postischemic brain [J]. Neuroreport, 2021, 32(15): 1248-1254.

[13] 成家宏, 孟毅, 乔明亮, 等. 异钩藤碱对缺血性脑卒中模型大鼠脑损伤及神经元自噬的影响[J]. 中医药导报, 2022, 8(5): 13-17.

[14] Guan RJ, Yao HW, Li ZY, et al. Sodium tanshinone IIA sulfonate attenuates cigarette smoke extract-Induced mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and apoptosis in alveolar epithelial cells by enhancing SIRT1 pathway [J]. Toxicol Sci, 2021, 183(2): 352-362.

[15] Wang ZH, Gu DM, Sheng LZ, et al. Protective effect of anthocyanin on Paraquat-Induced apoptosis and Epithelial-Mesenchymal transition in alveolar type II cells [J]. Med Sci Monit, 2018, 24(7): 7980-7987.

[16] Giridharan VV, Thandavarayan RA, Arumugam S, et al. Schisandrin B ameliorates ICV-Infused amyloid  $\beta$  induced oxidative stress and neuronal dysfunction through inhibiting RAGE/NF- $\kappa$ B/MAPK and Up-Regulating HSP/beclin expression[J]. PLoS One, 2015, 10(11): 1-17.

[17] Wu Y, Li ZC, Yao LQ, et al. Schisandrin B alleviates acute oxidative stress via modulation of the Nrf2/Keap1-mediated antioxidant pathway[J]. Appl Physiol Nutr Metab, 2019, 44(1): 1-6.

[18] Chen T, Zhang X, Zhu G, et al. Quercetin inhibits TNF- $\alpha$  induced HUVECs apoptosis and inflammation via downregulating NF- $\kappa$ B and AP-1 signaling pathway in vitro [J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(38): 1-7.

[19] Lambuk L, Iezhitsa I, Agarwal R, et al. Magnesium acetyltaurate prevents retinal damage and visual impairment in rats through suppression of NMDA-induced upregulation of NF- $\kappa$ B, p53 and AP-1 (c-Jun/c-Fos) [J]. Neural Regen Res, 2021, 16(11): 2330-2344.

(2022-09-24 收稿)

• 消 息 •

2023 年《卒中与神经疾病》征订启事

《卒中与神经疾病》为中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊, 是全国各地广大医务工作者, 特别是从事神经内科临床和科学研究工作人员, 切磋技艺、交流学术经验和更新知识的园地。辟有论著与学术交流、短篇与病例报告、综述、述评、专题讲座、专刊评价、临床药物治疗、会议(座谈)纪要、临床病理(病例)讨论、技术信息、新药新仪器、新书介绍以及国内外学术动态报道等多个栏目, 欢迎您向当地邮局或本刊编辑部订阅(邮发代号: 38-305, 订价: 20 元/册, 年订价: 120 元)。地址: 430060 武汉市武昌区张之洞路 9 号《卒中与神经疾病》编辑部, 业务联系人: 吴国祥, 联系电话: (027)88328261, 帐号: 557379073786, 开户行: 中国银行紫阳路支行, 开户名: 卒中与神经疾病。