

地黄饮子对大鼠脑缺血再灌注后炎症反应的抑制作用

李丽娅¹, 刘昊², 王超云¹, 潘钊海¹, 李晓莉¹, 刘凡¹, 叶蕾¹, 宫健伟¹(1. 滨州医学院, 山东 烟台 264003; 2. 山东中医药大学, 山东 济南 250000)

摘要: **目的** 探讨地黄饮子通过抑制脑缺血再灌注模型大鼠炎症反应发挥脑保护作用的机制。**方法** 采用两侧颈总动脉夹闭方法制备脑缺血再灌注模型大鼠, 模型复制成功后灌胃给药地黄饮子连续 7 d。末次给药后, 对大鼠进行神经行为学 Longa 评分和 Berderson 评分, 核磁共振血管成像检测观察大鼠颅内血管变化, HE 染色法观察大鼠脑组织病理改变, 酶联免疫吸附法检测大鼠大脑皮层组织、血清的促炎因子和抗炎因子的表达水平。**结果** 地黄饮子可降低脑缺血再灌注大鼠的神经行为学 Longa 评分和 Berderson 评分($P < 0.05$, $P < 0.01$); 增宽大鼠颅内血管直径($P < 0.05$, $P < 0.01$); 改善大鼠脑组织神经元形态; 降低大鼠大脑皮层以及血清中促炎因子白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 17(IL-17)含量($P < 0.05$, $P < 0.01$), 增加大脑皮层以及血清中抗炎因子白细胞介素 10(IL-10)、转化生长因子(TGF)- β 含量($P < 0.01$)。**结论** 地黄饮子可能通过纠正脑缺血后体内促炎因子和抗炎因子的失衡状态, 抑制炎症反应, 减轻脑组织损伤, 发挥脑保护作用。

关键词: 地黄饮子; 脑缺血再灌注; 炎症因子; 大鼠

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)01-0023-06

doi: 10.19378/j. issn. 1003-9783.2021.01.003

Inhibitory Effect of Dihuang Yinzi on Inflammatory Response after Cerebral Ischemia-Reperfusion in Rats

LI Liya¹, LIU Hao², WANG Chaoyun¹, PAN Zhaohai¹, LI Xiaoli¹, LIU Fan¹, YE Lei¹, GONG Jianwei¹
(1. Binzhou Medical University, Yantai 264003 Shandong, China; 2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250000 Shandong, China)

Abstract: Objective To explore the brain protection mechanism of *Dihuang Yinzi* by inhibiting the inflammatory response in rats with cerebral ischemia-reperfusion. **Methods** The cerebral ischemia-reperfusion model rats were made by occluding both common carotid arteries. After the model was successfully established, the rats were administered by gavage with *Dihuang Yinzi* for 7 days. After the last administration, the neurologic deficit of rats was evaluated by Longa score and Berderson score, MRI angiography was performed to observe intracranial blood vessel changes in rats, the pathological changes of brain tissue were observed by HE staining, and the expression levels of pro-inflammatory and anti-inflammatory factors in cerebral cortex and serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** *Dihuang Yinzi* decreased the neurologic deficit Longa score and Berderson score of cerebral ischemia-reperfusion rats ($P < 0.05$, $P < 0.01$), widened the diameter of intracranial blood vessels in rats ($P < 0.05$, $P < 0.01$), improved the morphology of neurons in rat brain tissue, decreased the contents of pro-inflammatory factors IL-6, TNF- α and IL-17 in cerebral cortex and serum, and increased the contents of anti-inflammatory factors TGF- β and IL-10 in cerebral cortex and serum ($P < 0.01$). **Conclusion** *Dihuang Yinzi* may correct the imbalance of pro-inflammatory and anti-inflammatory factors after cerebral ischemia, inhibit inflammatory reaction, reduce brain tissue injury and play a protective role in the brain.

Keywords: *Dihuang Yinzi*; cerebral ischemia-reperfusion; inflammatory factor; rats

收稿日期: 2020-03-16

作者简介: 李丽娅, 女, 硕士, 研究方向: 中药药理与临床应用。Email: 303116249@qq.com。通信作者: 叶蕾, 女, 副教授, 博士, 硕士研究生导师, 研究方向: 中药药理与临床应用。Email: bzmcyelei@163.com。宫健伟, 男, 副教授, 博士, 硕士研究生导师, 研究方向: 方剂的现代研究。Email: jwgongfzh@163.com。

基金项目: 山东省自然科学基金面上项目(ZR2019MH104); 山东省高等学校科技计划项目(J18KA264); 滨州医学院大学生创新创业训练计划省级立项项目(S201910440074)。

缺血性中风是中老年人群的多发疾病,其发病率、致残率及复发率高,严重影响到人类的身心健康和生活质量。中医学认为,阴阳失调、气血逆乱是中风的病机特点,与心肝肾三脏关系密切^[1]。祖国医学对中风病的治疗积累了丰富的经验。地黄饮子祖方为地黄饮,载于宋代《圣济总录》五十一卷肾脏门^[2],功用滋肾阴、补肾阳、开窍化痰,主治“喑痺病,舌强不能言,足废不能用”。临床和实验研究^[3]表明,地黄饮子在防治阿尔茨海默症、中风及后遗症、血管性痴呆等疾病方面有显著疗效。本课题组前期研究^[4]发现,地黄饮子在改善大鼠脑缺血再灌注损伤方面发挥着积极作用。目前脑缺血再灌注病理机制尚未明确,其损伤程度与氧化应激、Ca²⁺超载、NO合成过多、细胞凋亡、炎症反应等众多因素有密切关系。近年研究^[5]表明炎症反应在脑缺血再灌注损伤中扮演着重要角色,过度的炎症反应可加剧脑组织继发性损伤。因此,通过合理控制炎症反应,减轻组织损伤是治疗缺血性中风的重要策略之一。

本研究通过夹闭大鼠两侧颈总动脉的方法建立脑缺血再灌注大鼠模型,观察地黄饮子对模型大鼠神经行为学、颅内核磁共振血管成像、脑组织病理学改变以及大脑皮层组织、血清中促炎因子白细胞介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素17(IL-17)和抗炎因子转化生长因子(TGF)- β 、白细胞介素10(IL-10)含量的影响,探讨地黄饮子对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用及机制。

1 材料与方

1.1 动物 SD大鼠60只,雄性,SPF级,8周龄,体质量(250 \pm 50)g,济南朋悦实验动物繁育有限公司提供,动物许可证号:SCXK(鲁)20190003,动物质量合格证号:1107261911003054。

1.2 药物及试剂 地黄饮子按原方比例(熟地黄、山茱萸、巴戟天、肉苁蓉、炮附子、石斛、肉桂、五味子、茯苓各30g,麦冬、远志、石菖蒲各15g,生姜3片、大枣2枚)配伍,中药材均购自滨州医学院附属医院门诊部中药房;药物用10倍量和8倍量的水煎煮2次,每次1h,合并水煎液,用旋转蒸发器浓缩,制成1mL相当于0.8、1.6、3.2g生药的地黄饮子低、中、高剂量组,于4℃恒温冰箱保存。

尼莫地平片(规格:每片30mg,山东健康药业有限公司,批号:H37022778),药片研磨成粉,用生理盐水配置为1mg·mL⁻¹的药液备用;氯化钠(国

药集团化学试剂有限公司,批号:20190307),用超纯水配置为0.9%的生理盐水;水合三氯乙醛(北京百灵威科技有限公司,批号:963696),用生理盐水配置为10%水合氯醛;HEMATOXYLIN7211(批号:442571)、EOSIN-Y(批号:436085),美国Thermo SCIENTIFIC公司;IL-6(批号:E20191204-30219A)、TNF- α (批号:E20191201-31063A)、IL-17(批号:E20191202-30201A)、TGF- β (批号:E20191206-31072A)、IL-10(批号:E20191203-30194A)ELISA试剂盒,均购于上海酶联生物科技有限公司。

1.3 仪器 LHS-80电热恒温培养箱,武汉一恒苏净科学仪器有限公司;ZMX-988B型全自动洗板机,北京天石医疗用品制作所;RT-6100酶标仪,美国Rayto公司;AE1204型电子分析天平,上海良平仪器仪表有限公司;TGL16M台式高速冷冻离心机,上海卢湘仪离心机仪器有限公司;HT-111B型恒温摇床,上海赫田科学仪器有限公司;JY98-IIIN型细胞破碎仪,南京赛博生物科技有限公司;81-2恒温磁力搅拌器,上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司;Thermo组织脱水机、Thermo组织包埋机、HM 355S型轮转式切片机,赛默飞世尔上海仪器有限公司;Leica烤片机、Leica Microsystems CMS GmbH,徕卡显微系统(上海)有限公司;7.0T(BioSpec imaging spectrometer, 70/20USR; Bruker Biospin)核磁共振成像仪,美国Bruker公司。

1.4 分组、模型复制及给药方法 雄性SD大鼠60只,适应性喂养后根据体质量随机分为假手术组,模型组,地黄饮子低、中、高剂量(8、16、32g·kg⁻¹)组和尼莫地平阳性对照(1mg·kg⁻¹)组,每组10只。

除假手术组外,其余各组将大鼠用10%水合氯醛(4mL·kg⁻¹)腹腔注射麻醉后,仰卧固定,切开颈前皮肤,沿气管左右分离出两侧颈总动脉,用无创动脉夹夹闭两侧颈总动脉30min,造成大鼠急性脑缺血;30min后松开动脉夹再灌注30min;30min后再次用无创动脉夹夹闭两侧颈总动脉30min,松开后缝合结束模型复制。分离术后以及两侧颈总动脉夹闭、松开过程中,均用浸有温热生理盐水的纱布覆盖切口表面,保持组织湿润。假手术组操作方法与以上相同,但不夹闭两侧颈总动脉。模型复制方法在令狐艳等^[6]方法基础上调整动脉夹闭、再灌注时间为30min。各用药组从模型复制后第2天开始灌胃相应药物,假手术组和模型组灌胃等量的生理

盐水，灌胃体积均为 10 mL·kg⁻¹，每日 1 次，连续 7 d。排除模型复制过程中和麻醉意外大鼠死亡，结果每组有 8 只大鼠纳入实验。

1.5 大鼠神经行为学检测^[7]

1.5.1 Longa 评分 分五级，行为正常计 0 分；1 只前爪伸展障碍计 1 分；行走时向一侧转圈计 2 分；行走时向一侧倾倒计 3 分；不能行走或意识丧失计 4 分。末次给药后进行测定。

1.5.2 Berderson 评分 提起鼠尾悬空，观察大鼠前肢状态，分 4 级。前肢不完全伸展计 0 分；一侧前肢长时间屈曲计 1 分；大鼠放在垫子上拖拽尾巴滑动无抵抗，伴前肢屈曲，无转圈行为计 2 分；重度无抵抗伴自主转圈计 3 分。末次给药后进行测定。

1.6 大鼠颅内核磁共振血管成像扫描 应用 7.0T (BioSpec imaging spectrometer, 70/20USR; Bruker Biospin)核磁共振成像仪进行核磁共振血管成像 (magnetic resonance imaging, MRI)扫描，质子共振频率为 200 MHz，最大梯度强度为 100 mT·m⁻¹，重复时间 TR=2 500 ms，恢复时间 TE=33 ms，图像数据矩阵 256 × 256 × 96，扫描厚度 0.5 mm，视野范围为大鼠大脑。采用 RadiAnt-5.5.0 软件进行核磁图像分析。

1.7 HE 染色法观察脑组织病理形态 取大鼠左侧脑组织置入 4%多聚甲醛，固定 24 h，常规石蜡包埋，连续切片，厚度 4 μm，备用。常规 HE 染色，光镜下观察大脑组织形态学改变。

1.8 大鼠体内炎症因子含量检测 将大鼠用 10%水合氯醛腹腔注射麻醉(3 mL·kg⁻¹)，心脏取血，于 4 ℃、3 000 r·min⁻¹离心 15 min，取血清后放置于-80 ℃保存。冰上剥离大鼠右侧大脑皮层组织，匀浆后适当稀释。ELISA 法检测大鼠大脑皮层以及血清中促炎因子 IL-6、TNF-α、IL-17 和抗炎因子 TGF-β、IL-10 含量，按照试剂盒说明书进行操作。

1.9 统计学处理方法 采用 SPSS 23.0 统计软件，计量资料结果采用 *t* 检验，数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对大鼠神经行为学的影响 见表 1。假手术组 Longa 评分和 Berderson 评分均为 0 分，模型组 Longa 评分和 Berderson 评分均明显高于假手术组；与模型组比较，地黄饮子低、中剂量组 Longa 评分和 Berderson 评分降低(*P* < 0.05)，地黄饮子高剂量组和尼莫地平组 Longa 评分和 Berderson 评分明显降低(*P* < 0.01)。

表 1 大鼠 Longa 评分和 Berderson 评分比较($\bar{x} \pm s$, n=8)

Table 1 Comparison of Longa score and Berderson score of rats ($\bar{x} \pm s$, n=8)

组别	Longa 评分/分	Berderson 评分/分
假手术组	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
模型组	3.00 ± 0.76	2.25 ± 0.71
地黄饮子低剂量组	2.13 ± 0.64*	1.25 ± 1.04*
地黄饮子中剂量组	1.88 ± 0.83*	1.13 ± 0.99*
地黄饮子高剂量组	1.63 ± 0.92**	1.00 ± 0.76**
尼莫地平组	1.25 ± 0.89**	0.88 ± 0.64**

注：与模型组比较，**P* < 0.05，***P* < 0.01

2.2 对大鼠颅内核磁共振血管成像的影响 见图 1，取大鼠大脑两侧血管各 3 处同一位置进行直径测量。见图 2、表 2，与假手术组比较，模型组颅内血管直径减小(*P* < 0.01)；与模型组比较，地黄饮子低剂量组大鼠颅内血管直径增宽(*P* < 0.05)，各分支血管清晰度增强，地黄饮子中、高剂量组与尼莫地平组大鼠颅内血管直径明显增宽(*P* < 0.01)，各分支血管清晰度明显增强。

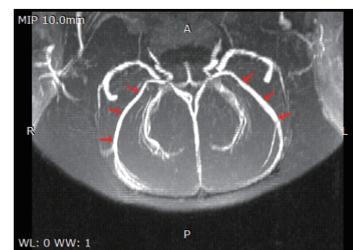


图 1 大鼠颅内血管直径测量选取位置

Figure 1 Selected location for intracranial blood vessel diameter measurement of rats

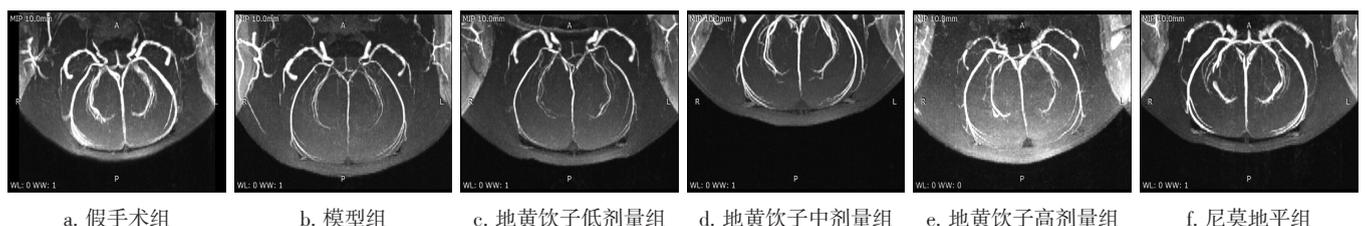


图 2 各组大鼠颅内核磁共振血管成像

Figure 2 MRI of the cranial nucleus of rats

表 2 各组大鼠脑血管直径比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Comparison of the diameter of cerebral blood vessels of rats($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	血管直径/mm
假手术组	0.44 ± 0.06
模型组	0.27 ± 0.02 ^{##}
地黄饮子低剂量组	0.30 ± 0.03 [*]
地黄饮子中剂量组	0.34 ± 0.04 ^{**}
地黄饮子高剂量组	0.36 ± 0.06 ^{**}
尼莫地平组	0.39 ± 0.03 ^{**}

注: 与假手术组比较, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$

2.3 对大鼠脑组织病变的影响 见图 3。假手术组大鼠脑组织神经元排列紧密, 结构完整, 未见神经元变性、坏死及炎细胞浸润。模型组的神经元排列紊乱, 细胞核固缩, 染色加深, 并可见少量神经元的细胞呈嗜酸性变性。地黄饮子低剂量组神经元的排列较规则, 嗜酸性变性神经元的细胞未见, 但神经元的细胞核固缩明显; 中剂量组和高剂量组的神经元形态的排列层次更整齐, 神经元的细胞核固缩不明显。尼莫地平组的神经元形态的排列层次整齐, 神经元的细胞核固缩不明显, 嗜酸性变性神经元的细胞未见。

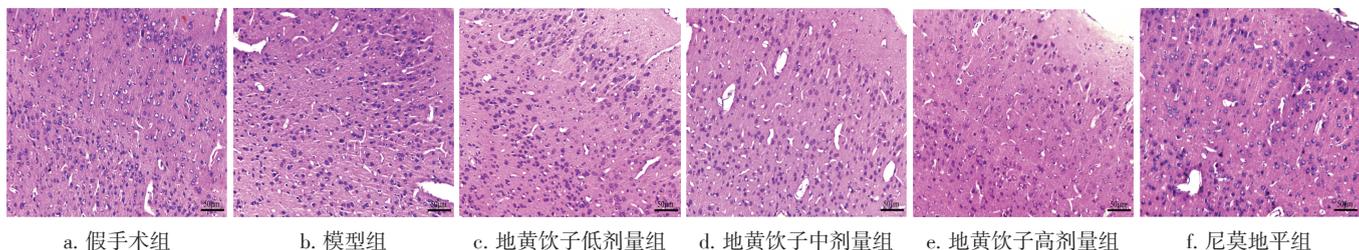


图 3 各组大鼠脑组织光镜图(HE 染色, ×200)

Figure 3 Light microscope image of rat brain tissue(HE, ×200)

2.4 对大鼠大脑皮层炎症因子含量的影响 见表 3。与假手术组比较, 模型组大鼠大脑皮层 IL-6、TNF- α 、IL-17 含量明显增加($P < 0.01$), TGF- β 、IL-10 含量明显降低($P < 0.01$); 与模型组比较, 地黄饮子各剂量组和尼莫地平组大鼠大脑皮层 TNF- α 、

IL-17 含量明显降低($P < 0.01$), TGF- β 、IL-10 含量明显增加($P < 0.01$)。地黄饮子低剂量组大鼠大脑皮层 IL-6 含量降低($P < 0.05$), 中、高剂量组和尼莫地平组大鼠大脑皮层 IL-6 含量明显降低($P < 0.01$)。

表 3 各组大鼠大脑皮层促炎因子 IL-6、TNF- α 、IL-17 以及抗炎因子 TGF- β 、IL-10 含量比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 3 Comparison of the contents of pro-inflammatory factors IL-6, TNF- α , IL-17 and anti-inflammatory factors TGF- β , IL-10 in the cerebral cortex of rats($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	IL-6/(pg·g ⁻¹)	TNF- α /(pg·g ⁻¹)	IL-17/(pg·g ⁻¹)	TGF- β /(pg·g ⁻¹)	IL-10/(pg·g ⁻¹)
假手术组	733.74 ± 9.26	1837.90 ± 21.00	93.57 ± 15.11	2637.56 ± 42.76	934.68 ± 24.68
模型组	1915.10 ± 41.80 ^{##}	3887.68 ± 61.57 ^{##}	527.04 ± 37.52 ^{##}	646.28 ± 30.35 ^{##}	543.32 ± 39.92 ^{##}
地黄饮子低剂量组	1713.59 ± 26.52 [*]	3242.96 ± 43.84 ^{**}	430.16 ± 21.67 ^{**}	1105.80 ± 24.74 ^{**}	629.47 ± 23.56 ^{**}
地黄饮子中剂量组	1396.17 ± 15.95 ^{**}	2749.47 ± 29.54 ^{**}	320.34 ± 13.35 ^{**}	1438.53 ± 37.76 ^{**}	677.57 ± 19.33 ^{**}
地黄饮子高剂量组	1187.95 ± 26.22 ^{**}	2347.12 ± 24.70 ^{**}	280.35 ± 11.54 ^{**}	1895.97 ± 43.35 ^{**}	769.12 ± 32.32 ^{**}
尼莫地平组	1035.42 ± 25.95 ^{**}	2118.79 ± 21.15 ^{**}	178.43 ± 19.39 ^{**}	2089.98 ± 13.63 ^{**}	824.73 ± 19.15 ^{**}

注: 与假手术组比较, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$

2.5 对大鼠血清炎症因子含量的影响 见表 4。与假手术组比较, 模型组大鼠血清 IL-6、TNF- α 、IL-17 含量明显增加($P < 0.01$), TGF- β 、IL-10 含量明显降低($P < 0.01$); 与模型组比较, 地黄饮子各剂量组和尼莫地平组大鼠血清 IL-6、TNF- α 、IL-17 含量明显降低($P < 0.01$), TGF- β 、IL-10 含量明显增加($P < 0.01$)。

3 讨论

肾藏精, 精生髓, 脑为髓会聚之处, 二者密切相关。缺血性中风好发于 50 岁以上的中老年人, 此时人体肾元亏损, 髓海空虚。有学者提出肾虚是缺血性中风的基本病机^[8], 肾虚导致脑髓失养是缺血性中风的病机关键^[9], 因此用补肾法治疗缺血性中风, 符合该病发病机制和中医辨证施治理论。地黄饮子是

表 4 各组大鼠血清促炎因子 IL-6、TNF-α、IL-17 以及抗炎因子 IL-10、TGF-β 含量比较($\bar{x} \pm s$, n=8)

Table 4 Comparison of the contents of serum pro-inflammatory factors IL-6, TNF-α, IL-17 and anti-inflammatory factors TGF-β, IL-10 of rats($\bar{x} \pm s$, n=8)

组别	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	TNF-α/(pg·mL ⁻¹)	IL-17/(pg·mL ⁻¹)	TGF-β/(pg·mL ⁻¹)	IL-10/(pg·mL ⁻¹)
假手术组	88.42 ± 2.22	153.33 ± 2.38	10.53 ± 0.64	282.32 ± 4.25	93.52 ± 1.81
模型组	221.05 ± 7.86 ^{##}	414.32 ± 10.91 ^{##}	58.57 ± 2.47 ^{##}	87.48 ± 2.29 ^{##}	52.19 ± 3.22 ^{##}
地黄饮子低剂量组	186.60 ± 4.23 ^{**}	351.01 ± 6.40 ^{**}	46.21 ± 2.56 ^{**}	120.34 ± 2.17 ^{**}	60.94 ± 2.69 ^{**}
地黄饮子中剂量组	171.70 ± 2.53 ^{**}	300.87 ± 8.09 ^{**}	36.55 ± 1.10 ^{**}	155.97 ± 7.42 ^{**}	73.80 ± 1.22 ^{**}
地黄饮子高剂量组	140.46 ± 2.85 ^{**}	262.73 ± 5.53 ^{**}	31.71 ± 1.91 ^{**}	194.43 ± 5.07 ^{**}	81.13 ± 3.26 ^{**}
尼莫地平组	114.95 ± 3.11 ^{**}	205.78 ± 6.44 ^{**}	21.17 ± 0.71 ^{**}	245.02 ± 2.65 ^{**}	89.13 ± 1.93 ^{**}

注：与假手术组比较，^{##}P<0.01；与模型组比较，^{**}P<0.01

临床上补肾法治疗缺血性中风的经典名方。本课题组前期研究^[10-11]发现，地黄饮子对脑缺血再灌注模型大鼠有良好的抗氧化损伤作用，能抑制模型大鼠神经细胞凋亡，促进脑梗死大鼠脑组织缺血区新血管形成。

目前，关于脑缺血再灌注损伤过程中的炎症反应机制，受到越来越多学者的关注。炎症反应是脑缺血病理生理过程中的关键环节^[12]，脑缺血后强烈的炎症反应可以导致脑组织继发性损伤。在此炎症反应过程中，炎症细胞因子作为炎症反应介质起着重要作用，促炎细胞因子和抗炎细胞因子同时存在，二者的消长变化决定着病情的发展和转归。

脑卒中缺血后，神经元、星形胶质细胞、小胶质细胞及内皮细胞激活，释放致炎细胞因子。IL-6 是由小胶质细胞和神经元生成的具有多种生物学活性的细胞因子，可促进多种炎症因子生成，在继发性脑损伤中发挥重要作用^[13]。IL-6 在正常或者低表达时对受损的脑组织起保护和修复作用，在高表达时加剧内皮细胞、胶质细胞以及神经元的损伤^[14]。TNF-α 是一种多效性细胞因子，对多种炎症细胞的活化具有诱导作用，可以启动炎性级联反应，导致病变区缺血与再灌注损伤加重，并可收缩血管对凝血产生影响，最终形成缺血-炎症-血栓与出血-再缺血的恶性循环^[15]，加重脑组织损伤。IL-17 是由 Th17 细胞分泌的一种炎性因子，可促进 TNF-α 的合成和释放^[16]。IL-17 含量升高会加重血脑屏障的损伤，对脑组织具有促进炎症反应及内皮细胞损伤的负性作用^[17]。

脑缺血时，脑组织损伤过程同时激活了机体抵制损伤的生理机制，抗炎细胞因子 TGF-β 和 IL-10 被发现可制约脑缺血炎症反应，促进脑损伤恢复^[18]。TGF-β 是一类广泛存在的经典抗炎因子，参与体内多种病理生理过程，在局灶性脑缺血中，TGF-β 可

以减轻缺血缺氧引起的细胞死亡，减少脑梗死面积，具有促进神经细胞再生和神经保护的功能^[19]。IL-10 是一种具有多种作用的抗炎细胞因子，主要由 T 细胞、B 细胞以及巨噬细胞等多种免疫细胞分泌，能抑制 TNF-α、IL-6 等炎症因子的合成和分泌，还能抑制多种黏附分子和趋化因子发生免疫放大功能，发挥炎症抑制作用，减轻炎症反应和组织损伤，对脑缺血再灌注模型小鼠具有保护作用^[20-21]。

本研究通过夹闭大鼠两侧颈总动脉成功建立脑缺血再灌注动物模型。地黄饮子灌胃治疗后，从大鼠神经行为学改变、颅内核磁共振血管成像、HE 染色结果可以发现该方对脑缺血模型大鼠具有较好的脑保护作用。研究发现，地黄饮子还可以明显降低模型大鼠大脑皮层和血清中促炎因子 IL-6、TNF-α、IL-17 含量，明显升高模型大鼠大脑皮层和血清中抗炎因子 TGF-β、IL-10 含量，可通过纠正脑缺血后体内促炎因子和抗炎因子的失衡状态，控制炎症反应，以减轻脑组织损伤，说明地黄饮子发挥脑保护作用可能与抑制体内炎症反应有关。

本研究从炎症因子层面对地黄饮子通过抑制炎症反应发挥脑保护作用机制进行了初步探讨，取得了较为满意的结果。今后我们将在此研究基础上，从炎症相关信号通路等更深层次方面开展研究，以期揭示地黄饮子通过抑制炎症反应治疗缺血性中风的深刻内涵，为临床上合理应用地黄饮子提供实验依据。

参考文献：

[1] 张海宇, 刘文科, 仝小林. 以“态靶因果”辨治脑卒中经验[J]. 安徽中医药大学学报, 2020, 39(5): 30-32.
 [2] 张秀芬, 王思梦, 白建英, 等. 经典名方地黄饮子的古代文献考究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(14): 59-64.
 [3] 谢宁, 刘艳丽, 宋琳, 等. 地黄饮子的实验研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(12): 2823-2825.

[4] 宫健伟, 叶蕾, 张秀丽, 等. 地黄饮子对脑缺血再灌注模型大鼠血清、脑组织SOD、MDA、CAT及GSH-PX含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(14): 247-249.

[5] CHEN Y, ZHANG L, NI J, et al. LLD1-8 protects against cerebral ischemia/reperfusion injury by suppressing post-stroke inflammation [J]. Pharmacol Sci, 2016, 131(2): 131-137.

[6] 令狐艳, 余资江, 肖朝伦, 等. 双侧颈总动脉夹闭法构建脑缺血再灌注损伤模型的经验总结[J]. 四川解剖学杂志, 2010, 18(4): 19-20.

[7] 李敏, 马静萍. 不同剂量重组人粒细胞集落刺激因子对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2016, 10(6): 813-818.

[8] 惠小珊, 袁书章, 张金生, 等. 基于量表等级化法对缺血性中风证候要素及治法的研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2020, 10(14): 1-5.

[9] 赵霞霞, 祝美珍. 肾脑同治防治缺血性中风的概述[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(12): 2988-2990.

[10] 宫健伟, 叶蕾, 樊巧玲. 地黄饮子对脑缺血再灌注模型大鼠 Bax, Bcl-2, Caspase-3 蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(5): 248-250.

[11] 叶蕾, 宫健伟, 王东, 等. 地黄饮子对脑缺血再灌注模型大鼠血管新生的影响[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(7): 1611-1614.

[12] 杨小钰, 黄海红, 湛泽芳, 等. 脑缺血再灌注后炎症反应研究进展及中西医结合防治思路[J]. 中国现代医药杂志, 2019, 21(12): 95-99.

[13] ARMSTEAD W P D, RILEY J, VAVILALA M S. Norepinephrine protects cerebral autoregulation and reduces hippocampal necrosis after traumatic brain injury via block of ERK MAPK and IL-6 in juvenile pigs[J]. J Neurotrauma, 2016, 33(19): 1761-1767.

[14] 吴亚琨, 王利宇, 孟庆刚. 急性脑梗死溶栓后出现脑缺血再灌注损伤与炎症反应糖化清蛋白水平之间的关系以及异丙酚的保护效果分析[J]. 山西医药杂志, 2019, 48(1): 7-11.

[15] 郝磊, 刘磊, 董岸莺, 等. 大鼠缺血再灌注损伤脑内骨髓间充质干细胞移植抑制TNF- α 表达的上调促进TGF β 1表达的上调[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2017, 26(4): 327-335.

[16] 李巧霞, 李清靖, 刘艳军, 等. Th17细胞及其相关细胞因子在胃癌中的表达及临床意义[J]. 肿瘤学杂志, 2015, 21(9): 708-713.

[17] 厉芳, 郑荣远, 翁建龙, 等. 咪唑克生对实验性自身免疫性脑脊髓炎大鼠小胶质细胞激活和白介素17、肿瘤坏死因子 α 表达的影响[J]. 中国临床神经科学, 2017, 25(3): 245-251.

[18] 张思然, 李成檀, 杨怡. 氧化应激、炎症和自噬在脑缺血损伤中作用机制及治疗策略[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2018, 32(8): 651-660.

[19] 周晶晶, 徐芳, 俞明明, 等. 人脐带血间充质干细胞改善大鼠脑梗死免疫炎症性反应的研究[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2016, 18(1): 81-84.

[20] WKE I, HOSHI N, SHOUVAL D S, et al. Anti-inflammatory effect of IL-10 mediated by metabolic reprogramming of macrophages [J]. Science, 2017, 356(6337): 513-519.

[21] 林文东, 李振喜, 施水液, 等. 阿托伐他汀对大鼠脑缺血再灌注后脑组织IL-17、IL-10、TNF- α 表达的影响[J]. 中风与神经疾病杂志, 2018, 35(6): 504-507.

(编辑: 修春)

《中药新药与临床药理》“临床研究”栏目2021年扩大征稿

为更全面地反映中医药学术研究成果, 打造高质量的中医药学术交流平台, 优化杂志学科内容结构及满足作者的需求, 本刊拟从2021年起加强对临床中药研究科研成果的报道。栏目论文基本要求:

1. 研究对象: 中药新药(各期临床研究)、新上市后的中药制剂、医院中药制剂及已有一定研究基础的中药汤剂等。
2. 研究类型: 临床随机对照试验。

投稿网站: www.zyxy.com.cn。本刊只接受稿件采编系统投稿, 不接收纸质和Email投稿, 系统投稿不收取审稿费。

入选核心期刊情况: 本刊为中国中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库来源期刊(CSCD)及RCCSE中国核心学术期刊。