

益气活血中药组分对慢性脑缺血模型小鼠认知功能的影响及机制^Δ

韩富华^{1,2*}, 刘剑刚^{3#a}, 孙林娟^{1#b}, 李南南¹, 官杰⁴, 詹敏^{1,5}, 陈文洁^{1,5} (1. 中国中医科学院西苑医院脑病科, 北京 100091; 2. 北京中医药大学临床医学院, 北京 100029; 3. 中国中医科学院西苑医院心血管病中心, 北京 100091; 4. 青岛市海慈医疗集团内分泌科, 山东青岛 266033; 5. 中国中医科学院研究生院, 北京 100700)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)20-2466-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.20.07



摘要 **目的** 研究益气活血中药组分(人参总皂苷、银杏总黄酮、西红花总苷)对慢性脑缺血(CCI)模型小鼠认知功能的影响及相关机制。**方法** 采用温控电流刺激C57BL/6J小鼠双侧颈总动脉制备CCI模型,随机将模型小鼠分为模型组、阿司匹林组(阳性对照,10 mg/kg)和中药组(益气活血中药组分,33 mg/kg),另设假手术组,每组16只。除模型组和假手术组小鼠灌胃水外,其余各组小鼠灌胃相应药液,每天1次,连续8周。检测各组小鼠跳台潜伏期、跳台错误次数,观察大脑皮层和海马组织中神经血管单元(NVU)超微形态结构,并检测脑组织中血管内皮生长因子(VEGF)、 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体($\alpha 7$ nAChRs)蛋白及mRNA的表达水平和VEGF、血管生成素1(Ang1)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的含量。**结果** 与模型组比较,中药组小鼠跳台潜伏期显著延长($P < 0.05$),跳台错误次数显著减少($P < 0.05$);大脑皮层和海马组织中NVU超微形态结构异常明显改善,脑组织中VEGF、 $\alpha 7$ nAChRs蛋白及mRNA的表达水平以及VEGF、Ang1、bFGF的含量均显著升高($P < 0.05$)。**结论** 益气活血中药组分能够改善CCI所致小鼠的认知功能障碍,其机制可能与保护脑内NVU,恢复受损NVU的超微形态结构,调控脑内与NVU及记忆功能密切相关蛋白的表达有关。

关键词 益气活血中药组分;人参总皂苷;银杏总黄酮;西红花总苷;慢性脑缺血;神经血管单元;血管性认知功能障碍;小鼠

Effects of the components of traditional Chinese medicine for invigorating qi and activating blood circulation on cognitive function of chronic cerebral ischemia model mice and its mechanism

HAN Fuhua^{1,2}, LIU Jiangang³, SUN Linjuan¹, LI Nannan¹, GUAN Jie⁴, ZHAN Min^{1,5}, CHEN Wenjie^{1,5} (1. Dept. of Encephalopathy, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China; 2. School of Clinical Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 3. Cardiovascular Disease Center, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China; 4. Dept. of Endocrinology, Qingdao Haici Medical Group, Shandong Qingdao 266033, China; 5. School of Graduate, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the effects of the components of traditional Chinese medicine (TCM) (total ginsenoside, total ketone ester of *Ginkgo biloba*, total glucoside of *Crocus sativus*) for invigorating qi and activating blood circulation on cognitive function of mice with chronic cerebral ischemia (CCI) and its related mechanisms. **METHODS** CCI model was established by stimulating bilateral common carotid arteries of C57BL/6J mice with temperature controlled current. Model mice were randomly divided into model group, aspirin group (positive control 10 mg/kg) and TCM group (the components of TCM for invigorating qi and activating blood circulation 33 mg/kg), sham operation group was set up additionally, with 16 mice in each group. Except that the mice in model group and sham operation group were given water intragastrically, the mice in the other groups were given corresponding medicine liquid intragastrically, once a day, for 8 weeks. The latency of step-down and the number of step-down errors of mice in each group were detected; the ultrastructure of neurovascular units (NVU) in cerebral cortex and hippocampus was observed; the protein and mRNA expressions of vascular endothelial growth factor (VEGF) and $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors ($\alpha 7$ nAChRs) in cerebral tissue were detected; the contents of VEGF, angiopoietin 1 (Ang1) and basic fibroblast growth

^Δ **基金项目** 国家自然科学基金资助项目(No.81873168, No. 81503450); 中国中医科学院科技创新工程重大攻关项目(No. CI2021A01302)

* **第一作者** 硕士研究生。研究方向:神经疾病的临床与基础。E-mail:hanfuhua321@163.com

#a **通信作者** 研究员,博士生导师。研究方向:药理学、心脑血管病基础。E-mail:liujiangang2002@sina.com

#b **通信作者** 主任医师,博士生导师。研究方向:神经疾病的临床与基础。E-mail:sunlinjuan888@163.com

factor (bFGF) were detected. **RESULTS** Compared with model group, the latency of step-down was significantly prolonged ($P < 0.05$), and the number of step-down errors was significantly reduced ($P < 0.05$) in TCM group. The ultrastructural abnormalities of NVU in cerebral cortex and hippocampus were significantly improved, and the protein and mRNA expressions of VEGF and $\alpha 7$ nAChRs and the contents of VEGF, Ang1 and bFGF in cerebral tissue were significantly increased ($P < 0.05$). **CONCLUSIONS** The components of TCM for invigorating qi and activating blood circulation can improve CCI-induced cognitive dysfunction in mice, the mechanism of which may be associated with protecting NVU, recovering ultrastructural abnormalities of injured NVU, and regulating the expression of proteins closely related to NVU and memory function.

KEYWORDS the components of traditional Chinese medicine for invigorating qi and activating blood circulation; total ginsenoside; total ketone ester of *Ginkgo biloba*; total glucoside of *Crocus sativus*; chronic cerebral ischemia; neurovascular unit; vascular cognitive impairment; mice

慢性脑缺血(chronic cerebral ischemia, CCI)又称慢性脑低灌注,是一种由多种原因导致脑血流长期灌注不足进而引发的慢性脑功能障碍综合征,早期表现为认知功能受损,随后可发展为持久性或进展性的认知及神经功能障碍^[1],是血管性认知功能障碍(vascular cognitive impairment, VCI)的重要危险因素^[2]。神经血管单元(neurovascular unit, NVU)是由神经元、血脑屏障、星形胶质细胞及细胞外基质组成的复合体,可发挥复杂的网络协同作用,共同维持神经元微环境的稳定^[3]。NVU理论将NVU作为神经系统结构和功能的基本单位进行整体研究,把以往对单一神经元的保护扩展为对NVU中各组成的全面保护^[4],这一研究策略与中药多靶点、多环节、多维度全面保护和整体调节的作用特点相吻合。探究CCI状态下脑内NVU的病变情况,并基于此调节和促进NVU功能与结构的恢复,对改善CCI导致的认知功能障碍具有重要意义。

既往研究表明,益气活血中药组分(人参总皂苷、银杏总黄酮、西红花总苷)能够透过血脑屏障,可改善VCI患者的认知功能、神经元活动和脑灌注损伤^[5];同时,又可调节多发梗死性痴呆大鼠脑内与学习记忆相关的神经递质水平,改善其认知功能^[6]。然而目前该中药组分对CCI所致认知功能障碍的作用及机制尚不清楚。本研究基于NVU理论,从动物学习记忆能力、NVU超微形态结构和相关蛋白[血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血管生成素1(angiotensin 1, Ang1)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体($\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor, $\alpha 7$ nAChRs)]表达等角度入手,探讨益气活血中药组分对CCI模型小鼠认知功能障碍的影响及作用机制,以期为临床防治VCI提供科学依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括BT87-3型体内血栓形成测定仪(包头市昆仑生物化学应用技术开发研究所)、1049002型跳台仪(北京众实迪创科技发展有限责任公

司)、H-7500型透射电镜(日本Hitachi公司)、Fresco17-1型低温冷冻离心机[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]、Tanon 1600型凝胶成像系统(上海天能科技有限公司)、ABI 7500型荧光定量聚合酶链反应(PCR)仪(美国ABI公司)、Multiskan MK3型全自动酶标仪(芬兰Thermo Labsystems公司)等。

1.2 主要药品与试剂

益气活血中药组分[人参总皂苷(纯度 $\geq 90\%$)、银杏总黄酮(纯度 $\geq 90\%$)、西红花总苷(纯度 $\geq 90\%$)混合物,质量比5:7:1,批号090914]由神威药业集团有限公司提供;阿司匹林肠溶片(批号018170704,规格100 mg/片)购自石药集团欧意药业有限公司;兔VEGF多克隆抗体(批号 GTX50153)购自美国GeneTex公司;兔 $\alpha 7$ nAChRs多克隆抗体(批号 ab216485)购自英国Abcam公司;ECL Western blot底物试剂盒(批号 WBKLS0500)购自美国Millipore公司;大鼠 β -肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体(批号 YM3028)购自美国Immunoway公司;辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G二抗(H+L)和辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠免疫球蛋白G二抗(H+L)(批号分别为S004、S001)均购自天德悦(北京)生物科技有限责任公司;TRNzol总RNA提取试剂(批号 DP405-02)购自天根生化科技(北京)有限公司;VEGF、Ang1、bFGF酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号分别为20180519A、20180620A、20180625A)均购自北京欣博盛生物科技有限公司;其余试剂均为分析纯或实验室常用规格,水为纯净水。

1.3 实验动物

SPF级雄性C57BL/6J健康小鼠64只,8周龄,体重为18~20 g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,动物生产许可证号为SCXK(京)2019-0008。所有小鼠均饲养于中国中医科学院西苑医院医学实验中心屏障级动物房(室温23~25℃,相对湿度50%~70%)内,并自由摄食和饮水。本实验方案遵循科技部《关于善待实验动物的指导性意见》的动物伦理要求,经中国中医科学院西苑医院医学伦理委员会审核批准(批准号2018XLC012-2)。

2 方法

2.1 CCI模型的建立

所有小鼠适应性饲养7 d后,随机分为假手术组($n=16$)和造模组($n=48$)。造模组小鼠术前禁食12 h,腹腔麻醉,仰卧固定后行颈部备皮消毒,剪开颈部皮肤,暴露双侧颈总动脉(长度约1 cm),并在血管下垫玻璃纸以保护周围组织。将体内血栓形成测定仪的刺激电极、温度感受器钩于血管和玻璃纸之间,采用80 μ A的温控电流刺激动脉血管7 min,若血管远端温度突然下降则表明血管内血栓形成,即CCI模型复制成功^[7]。然后缝合小鼠伤口,保温饲养,术后连续3 d肌内注射青霉素钠20万单位/d,以预防感染。取造模24 h后成功存活的小鼠(造模成功率100%)进行后续实验。假手术组小鼠按上述方法操作,但不通电。

2.2 分组与给药

将造模成功的CCI模型小鼠随机分为模型组、阿司匹林组(阳性对照,10 mg/kg)、中药组(益气活血中药组分,33 mg/kg),每组16只。除模型组和假手术组小鼠灌胃水外,其余各组小鼠灌胃相应药液,每天1次,连续8周。阿司匹林组和中药组的给药剂量均为临床等效剂量^[8-9],且前期实验已经证实该剂量是能引起(生物)等效反应的相对药物剂量。

2.3 小鼠学习记忆能力的检测

采用跳台实验检测各组小鼠的学习记忆能力。实验前,将小鼠放入实验箱内,适应环境5 min并进行学习测试;24 h后,进行记忆能力测试,将小鼠放于平台上,记录从放上平台至第1次跳下平台所需的时间(即跳台潜伏期)和5 min内跳下平台的次数(即跳台错误次数),以此作为学习记忆能力的评价指标。

2.4 小鼠脑组织样本的处理

跳台实验结束后,所有小鼠禁食12 h,于次日麻醉、处死后快速取出完整脑组织,用预冷的生理盐水冲洗干净。每组随机取5只小鼠的左侧脑组织,剥离大脑皮层和海马组织,分别置于4%中性多聚甲醛溶液中保存;剩余小鼠的脑组织以锡纸包裹并保存于液氮中,置于-80 $^{\circ}$ C冰箱中保存。

2.5 小鼠大脑皮层和海马组织中NVU超微形态结构的观察

取“2.4”项下小鼠的大脑皮层和海马组织,分别用0.1 mol/L磷酸盐缓冲液冲洗3次,加入1%锇酸溶液于4 $^{\circ}$ C下染色2 h,切块,脱水;然后放入100%树脂中,常规包埋,切片(50 nm),于透射电镜下观察各组小鼠大脑皮层和海马组织中NVU的超微形态结构,并随机选取10个视野拍照。

2.6 小鼠脑组织中VEGF和 $\alpha 7$ nAChRs蛋白表达的检测

采用Western blot法进行检测。每组随机选取“2.4”项下冻存的5只小鼠的脑组织,经裂解、匀浆、静置后,于

4 $^{\circ}$ C下以13 000 r/min离心20 min,取上清液,测定蛋白浓度并于100 $^{\circ}$ C下变性。取变性蛋白样品,进行电泳分离并转移至聚偏二氟乙烯膜上,封闭后,分别加入VEGF、 $\alpha 7$ nAChRs、 β -actin抗体(以含3%牛血清白蛋白的TBST缓冲液稀释,稀释比例分别为1:500、1:300、1:5 000),室温孵育10 min,4 $^{\circ}$ C过夜;加入相应二抗(稀释比例1:10 000),室温孵育1.5 h;用TBST缓冲液洗膜6次,每次3 min,随后加ECL试剂反应3~5 min,胶片曝光,显影2 min,定影。使用Total Lab Quant V11.5版图像软件计算灰度值,以目标蛋白与内参(β -actin)的灰度值比值为目标蛋白的表达水平。

2.7 小鼠脑组织中VEGF和 $\alpha 7$ nAChRs mRNA表达的检测

采用实时荧光定量PCR法进行检测。每组随机选取“2.4”项下冻存的5只小鼠的脑组织,采用TRNzol总RNA提取试剂提取样本脑组织的总RNA,测定RNA浓度和纯度后进行cDNA反转录。以所得cDNA为模板,进行PCR扩增。反应体系如下:cDNA模板适量(由1 μ g mRNA反转录所得), $2\times$ Master Mix 10 μ L,10 μ mol/L的上/下游引物各0.5 μ L,加水至总体积为18 μ L。PCR反应程序如下:95 $^{\circ}$ C预变性30 s;95 $^{\circ}$ C变性5 s,60 $^{\circ}$ C退火延伸40 s,共40个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法,以 β -actin为内参,计算目标基因的表达水平。各基因引物均由英杰生工生物技术(北京)有限公司设计、合成,引物序列和产物大小见表1。

表1 目标基因的引物序列和产物大小

目标基因	引物序列(5'→3')	产物大小/bp
VEGF	上游引物:ATCATGCGGATCAACCTCACC	101
	下游引物:GGCTTTGTCTGTCTTTCTTTGGTC	
$\alpha 7$ nAChRs	上游引物:CTGGCTTTGCTGGTAATCTTG	204
	下游引物:CACAATCACTGTGACGACCACT	
β -actin	上游引物:CGTTGACATCCGTAAGACCTC	159
	下游引物:ACAGAGTACTGCGCTCAGGAG	

2.8 小鼠脑组织中VEGF、Ang1、bFGF含量的检测

每组随机选取“2.4”项下冻存的5只小鼠的脑组织,严格按照ELISA试剂盒说明书操作,使用酶标仪于450 nm波长处检测脑组织中VEGF、Ang1、bFGF的含量。

2.9 统计学方法

采用SPSS 25.0软件进行统计分析。所有数据均用 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD- t 检验、Student-Newman-Keuls检验或Tamhane's T_2 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 益气活血中药组分对模型小鼠学习记忆能力的影响

与假手术组比较,模型组小鼠跳台错误次数显著增多($P<0.05$),跳台潜伏期显著缩短($P<0.05$)。与模型组比较,阿司匹林组和中药组小鼠跳台错误次数显著减少($P<0.05$),中药组小鼠跳台潜伏期显著延长($P<$

0.05)。结果见表2。

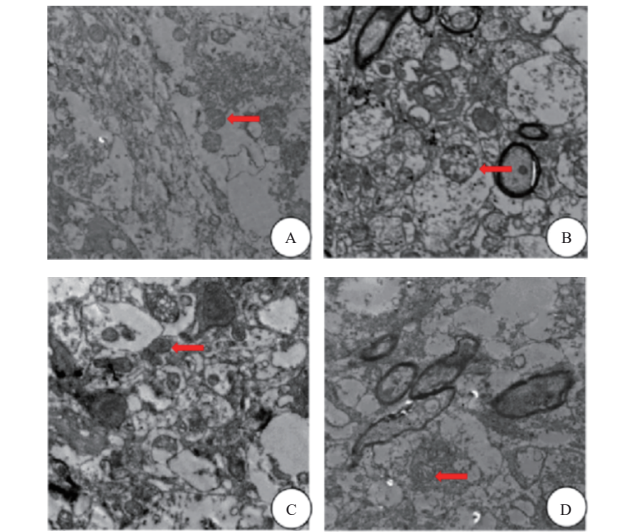
表2 益气活血中药组分对CCI模型小鼠学习记忆能力的影响($\bar{x} \pm s, n=16$)

组别	跳台错误次数	跳台潜伏期/s
假手术组	1.27±0.16	226.45±53.12
模型组	2.20±0.37 ^a	179.23±55.29 ^a
阿司匹林组	1.32±0.33 ^b	217.45±64.35
中药组	1.22±0.45 ^b	226.76±66.23 ^b

a:与假手术组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$

3.2 益气活血中药组分对模型小鼠大脑皮层及海马组织中NVU超微形态结构的影响

假手术组小鼠大脑皮层细胞膜完整,胞浆内线粒体、细胞核形态和分布基本正常。与假手术组比较,模型组小鼠大脑皮层内线粒体嵴断裂,微血管内皮细胞周围水肿,血管壁增生,血管内皮细胞和基底膜正常结构消失,内皮细胞、基底膜和胶质细胞之间的间隙增宽。与模型组比较,各给药组小鼠细胞内线粒体、内皮细胞和基底膜结构修复,血管内皮细胞周围水肿减轻。结果见图1。

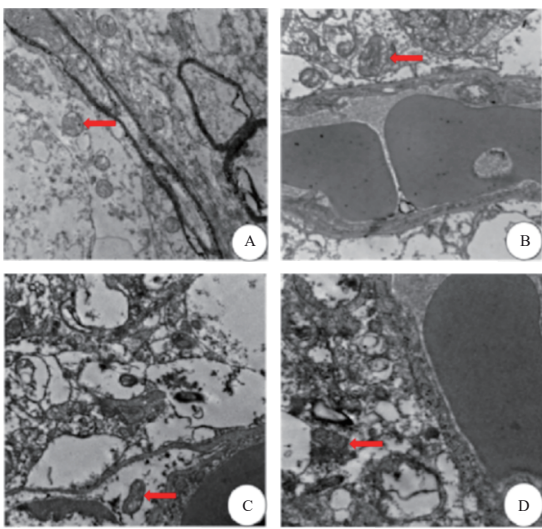


A:假手术组;B:模型组;C:阿司匹林组;D:中药组;→:线粒体
图1 益气活血中药组分对CCI模型小鼠大脑皮层中NVU超微形态结构影响的显微图($\times 20\,000$)

假手术组海马组织细胞膜完整,核仁形态正常,线粒体数量较多且结构基本正常,偶见内质网、高尔基体。与假手术组比较,模型组小鼠海马组织神经元内细胞器减少,胞质固缩,线粒体数量减少,部分线粒体膜破裂,线粒体嵴模糊并有断裂现象,基质颗粒减少。与模型组比较,各给药组小鼠海马组织神经元内细胞器数量增多,线粒体结构明显改善,线粒体膜总体清晰,线粒体嵴增多。结果见图2。

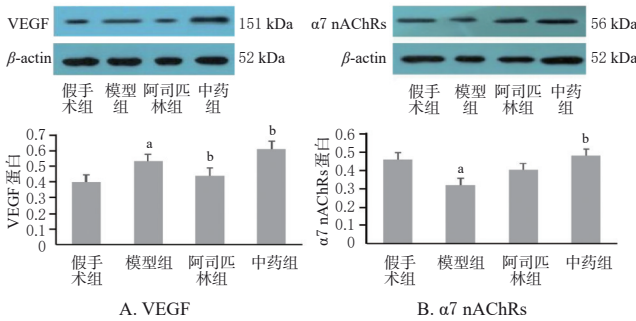
3.3 益气活血中药组分对小鼠脑组织中VEGF和 $\alpha 7$ nAChRs蛋白及mRNA表达的影响

与假手术组比较,模型组小鼠脑组织中VEGF蛋白及mRNA的表达水平均显著升高($P<0.05$), $\alpha 7$ nAChRs蛋白及mRNA的表达水平均显著降低($P<$

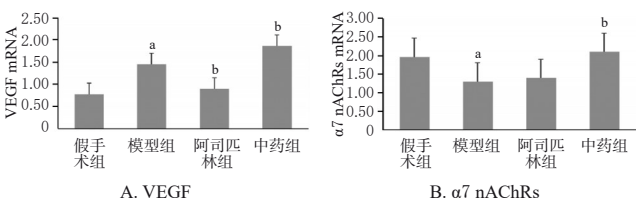


A:假手术组;B:模型组;C:阿司匹林组;D:中药组;→:线粒体
图2 益气活血中药组分对CCI模型小鼠海马组织中NVU超微形态结构影响的显微图($\times 20\,000$)

0.05)。与模型组比较,中药组小鼠脑组织中VEGF和 $\alpha 7$ nAChRs蛋白及mRNA的表达水平均显著升高($P<0.05$);阿司匹林组小鼠脑组织中VEGF蛋白及mRNA的表达水平均显著降低($P<0.05$)。结果见图3、图4。



A:与假手术组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$
图3 益气活血中药组分对CCI模型小鼠脑组织中VEGF、 $\alpha 7$ nAChRs蛋白表达影响的电泳图和柱状图($n=5$)



A:与假手术组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$
图4 益气活血中药组分对CCI模型小鼠脑组织中VEGF、 $\alpha 7$ nAChRs mRNA表达影响的柱状图($n=5$)

3.4 益气活血中药组分对小鼠脑组织中VEGF、Ang1和bFGF含量的影响

与假手术组比较,模型组小鼠脑组织中VEGF的含量显著升高($P<0.05$);bFGF、Ang1含量差异均无统计学意义($P>0.05$)。与模型组比较,阿司匹林组和中药

组小鼠脑组织中 Ang1、bFGF 的含量均显著升高 ($P < 0.05$), 中药组小鼠脑组织中 VEGF 的含量显著升高 ($P < 0.05$)。结果见表 3。

表3 益气活血中药组分对 CCI 模型小鼠脑组织中 VEGF、Ang1、bFGF 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5, \text{ng/mg}$)

组别	VEGF	Ang1	bFGF
假手术组	9.59±1.23	1.58±0.49	6.35±2.06
模型组	12.36±2.42 ^a	1.49±0.16	6.56±0.54
阿司匹林组	10.36±2.26	1.92±0.55 ^b	8.67±2.48 ^b
中药组	14.38±1.54 ^b	2.88±0.70 ^b	9.63±2.53 ^b

a: 与假手术组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$

4 讨论

CCI 作为一种脑整体水平血液供应减少的病理状态, 不仅是多种缺血性脑血管疾病的发病原因, 也是 VCI 的重要致病因素^[10]。本研究采用温控电流刺激小鼠双侧颈总动脉, 损伤血管内皮细胞, 促使血小板黏附聚集, 造成大脑低灌注, 可较好地模拟患者前循环(颈内动脉系统)缺血导致 CCI 的病理状态^[11]。因本研究所用 CCI 模型与血小板聚集致颈总动脉血栓栓塞有关, 结合《慢性脑缺血中西医结合诊疗专家共识》的推荐(对于血栓形成导致的 CCI, 临床应重视阿司匹林抗血小板聚集治疗)^[12], 本研究以阿司匹林作为阳性对照药物。本研究结果显示, 模型组小鼠学习记忆能力较假手术组明显减退, 与既往文献研究的发现一致^[13]。

NVU 理论既与中医“整体观”的思想一致, 又强调了血管在神经结构和功能保护中的重要地位。王大鹏等^[14]研究发现, CCI 发生时, NVU 的结构和功能发生了显著改变, 可见神经元凋亡、微血管完整性受损、血脑屏障功能失调等。本研究观察到的小鼠脑组织中 NVU 超微形态结构的异常改变与上述研究基本一致; 同时, 该病理变化伴有小鼠学习记忆能力减退。在给予益气活血中药组分干预后, 小鼠脑组织病理改变和学习记忆能力均有恢复。这提示 CCI 致 NVU 超微形态结构改变可能是 CCI 导致认知功能受损的病理基础, 且益气活血中药组分对这种改变有一定的改善作用。

VEGF 作为 NVU 的主要标志蛋白之一, 可促进 NVU 重塑, 对缺血大脑的 NVU 具有特殊的保护作用^[15]。Ang1 与 NVU 密切相关, 当脑缺血发生时, Ang1 能促进微血管生成, 维持血脑屏障的完整性, 抑制神经元凋亡, 促进神经功能的恢复^[16]。bFGF 广泛分布于中枢神经系统内, 不仅能营养和保护神经元, 还能促进微血管的再生, 诱导侧支循环的建立^[17]。 $\alpha 7$ nAChRs 与记忆能力密切相关, 激活后可减轻缺血脑组织的炎症反应, 抑制细胞凋亡, 发挥神经保护作用^[18]。本研究结果显示, 与假手术组比较, 模型组小鼠脑组织中 VEGF 蛋白和 mRNA 的表达均显著升高, $\alpha 7$ nAChRs 蛋白和 mRNA 的表达均显著降低, 表明 CCI 状态可影响脑内 VEGF 的表达, 调控

脑组织内血管内皮细胞增殖和微血管再生, 同时可影响脑内与记忆认知功能密切相关的 $\alpha 7$ nAChRs 的表达, 影响神经元兴奋性和神经递质的传递, 最终直接损伤小鼠认知功能。在给予益气活血中药组分干预后, 小鼠脑组织中 VEGF、 $\alpha 7$ nAChRs 蛋白和 mRNA 的表达以及 VEGF、Ang1、bFGF 的含量均显著升高, 提示该中药组分改善 CCI 所致认知功能障碍的机制可能与调控脑内与 NVU 及记忆功能密切相关蛋白的表达有关。

与急性脑血管疾病相比, CCI 的可干预时间窗更长, 早期诊治并有效逆转 CCI 进展对防治 VCI 具有重要意义^[19]。本研究采用益气活血中药组分以临床等效剂量干预 CCI 模型小鼠, 结果发现, 该中药组分能够显著改善 CCI 模型小鼠的学习记忆能力, 促使脑内与 NVU 及记忆功能密切相关的蛋白 VEGF、Ang1、bFGF、 $\alpha 7$ nAChRs 的含量或表达显著升高, 此举可促进脑组织中血管内皮细胞增殖和微血管再生, 有利于脑血管侧支循环的建立, 保护血脑屏障, 恢复受损的 NVU, 增强神经元兴奋性和神经递质的传递, 从而改善 CCI 导致的认知功能障碍。

综上所述, 益气活血中药组分能够改善 CCI 所致的小鼠认知功能障碍, 其机制可能是通过保护脑内 NVU, 恢复受损 NVU 的超微形态结构, 调控脑内与 NVU 及记忆功能密切相关蛋白(VEGF、Ang1、bFGF、 $\alpha 7$ nAChRs)的表达, 进而改善认知功能。

参考文献

[1] 穆浩月, 鞠奕, 赵性泉. 慢性脑缺血病理生理机制与临床表现的研究进展[J/OL]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2021, 13(4): 21-25[2022-07-23]. <http://qikan.cqvip.com/Qikan/Article/Detail?id=7104402317>. DOI: 10.12037/YXQY.2021.04-05.

[2] 赵博厚, 施丹莉, 王冰, 等. 慢性脑缺血导致认知功能障碍的研究进展[J]. 医学综述, 2020, 26(10): 1978-1983.

[3] SCHAEFFER S, IADECOLA C. Revisiting the neurovascular unit[J]. Nat Neurosci, 2021, 24(9): 1198-1209.

[4] 刘抒雯, 杨丽华, 马春, 等. 中医药保护脑缺血再灌注损伤后神经血管单元的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(23): 225-234.

[5] STEINER G Z, BENSOUSSAN A, LIU J X, et al. Study protocol for a randomised, double-blind, placebo-controlled 12-week pilot phase II trial of Sailuotong (SLT) for cognitive function in older adults with mild cognitive impairment[J]. Trials, 2018, 19(1): 522.

[6] 徐立, 林成仁, 刘建勋, 等. 塞络通胶囊对多发梗死性痴呆大鼠认知功能障碍的干预作用[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(19): 2943-2946.

[7] FARKAS E, LUITEN P G, BARI F. Permanent, bilateral common carotid artery occlusion in the rat: a model for chronic cerebral hypoperfusion-related neurodegenerative diseases[J]. Brain Res Rev, 2007, 54(1): 162-180.

(下转第 2476 页)