参芎化瘀胶囊对大鼠全脑缺血再灌注损伤及其海马 CA1 区生长相关蛋白 43 表达的影响

黄海玲[1] 李建民[1] 赵亚宁[2]

摘要 **目的** 探讨参芎化瘀胶囊对大鼠全脑缺血再灌注损伤及海马 CA1 区生长相关蛋白 43(growth associated protein 43, GAP43)表达的影响。**方法** 100 只成年 SD 雄性大鼠随机分为对照组、模型组和参芎化瘀胶囊每日 1 次组(中药 A 组),每日 2 次组(中药 B 组),每日 3 次组(中药 C 组), 每组 20 只。采用改良的 Pulsinelli 四血管闭塞法制备全脑缺血再灌注动物模型。在 1、3、7、14 天 4 个时间点通过 HE 染色观察海马 CA1 区组织学改变,免疫组织化学法检测海马 CA1 区 GAP43 蛋白的表达同时测定行为学评分,第 14 天通过 Western blot 法检测海马 CA1 区 GAP43 蛋白质含量。**结果** 与对照组比较,模型组各时间点 GAP43 蛋白表达增高($P<0.05$),行为学评分升高($P<0.05$),变性神经元增加,存活神经元减少($P<0.05$)。与模型组比较,参芎化瘀胶囊各组 GAP43 蛋白表达均升高($P<0.05$),其中中药 C 组最明显($P<0.01$);行为学评分显著降低($P<0.05$);变性神经元数量减少,存活神经元数量增加($P<0.05$);14 天存活神经元数明显增多,其中以中药 C 组存活神经元数量最多、GAP43 蛋白质含量最高,与中药 A、B 两组比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。**结论** 参芎化瘀胶囊对大鼠全脑缺血再灌注损伤具有保护作用,其机制可能与升高 GAP43 的表达有关。

关键词 缺血再灌注损伤;海马 CA1 区; 参芎化瘀胶囊;生长相关蛋白 43

Effect of Shenxiong Huayu Capsule on Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury and the Expression of GAP43 in Hippocampal CA1 of Rats

HUANG Hai-ling[1], LI Jian-min[1], and ZHAO Ya-ning[2] *1 Hebei United University, Tangshan (063000), China; 2 Nursing and Rehabilitation Institute of Hebei United University, Tangshan (063000), China*

ABSTRACT Objective To explore the effect of Shenxiong Huayu Capsule (SHC) on the cerebral ischemia-reperfusion (IR) injury and the expression of growth associated protein 43 (GAP43) after total cerebral IR in the hippocampal CA1 region of rats. Methods Totally 100 male adult SD rats were randomly divided into five groups, i.e., the control group, the model group, the group A (by taking SHC once daily), the group B (by taking SHC twice daily), and the group C (by taking SHC thrice daily), 20 in each group. The total IR model was prepared by improved Pulsinelli's 4-vessel occlusion method. Morphological changes of the hippocampal CA1 region were observed by HE staining at day 1, 3, 7, and 14. The expression of GAP43 in the hippocampal CA1 region was detected using immunohistochemical assay at day 1, 3, 7, and 14. Meanwhile, the behavioral score was determined. The expression of GAP43 in the hippocampal CA1 region was detected using Western blot at day 14. Results Compared with the control group, the expression of GAP43 increased in the model group, the behavioral score was elevated, degenerated neurons increased, and survival neurons decreased in the model group (all $P<0.05$). Compared with the model group, the expression of GAP-43 increased (with the most significant difference seen in the group C, $P<0.01$), the behavioral score significantly decreased, degenerated neurons decreased, and survival neurons increased in each HSC group (all $P<0.05$). Survival neurons obviously increased at day 14, of which, most number of survival neurons and highest contents of GAP43 protein

基金项目:河北省自然科学基金项目(No.h2012401007);河北省科学技术研究与发展计划项目(No. 10276112D)

作者单位:1.河北联合大学附属医院护理部(河北唐山 063000);2.河北联合大学护理与康复学院(河北唐山 063000)
通讯作者:李建民,Tel: 0315-3725385,E-mail: zyning789@126.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.02.0185

could be seen in the group C, showing statistical difference when compared with those of the group A and the group B ($P<0.01$). Conclusion　SHC had protective effect on total cerebral IR in the hippocampal CA1, which might be associated with increased expression of GAP43.

KEYWORDS　ischemia-reperfusion injury; the hippocampal CA1 region; Shenxiong Huayu Capsule; growth associated protein 43

脑缺血再灌注损伤,是指各种原因导致的脑血流减少,脏器遭受短暂缺血缺氧后,出现炎症、钙离子超载、氧自由基损害、能量缺乏等引发的细胞死亡、轴突断裂、联系中断、出现行为功能障碍等一系列病理生理变化,促进突触新生和重建的药物的研究和开发对人类社会具有重要意义[1]。生长相关蛋白 43(growth associated protein 43, GAP43)是一种神经生长相关蛋白,在中枢神经系统特异性表达,位于新生和损伤后再生神经元的胞浆和轴突,在发育中的神经元中沿整个轴突表达[2],GAP43 mRNA 在受损神经元中可迅速升高 20 ~ 100 倍[3],国内外研究表明 GAP43 对细胞有丝分裂有积极意义,是目前国际公认的神经元再生突触重塑的首选分子学标志[4,5]。参芎化瘀胶囊是河北联合大学附院药剂科自制的中药制剂,既往的研究表明该药对局脑损伤有保护作用[6],但对于全脑缺血再灌注损伤大鼠海马 CA1 区 GAP43 表达的影响未见报道。本实验通过构建全脑缺血再灌注损伤模型,观察海马区 GAP43 蛋白表达、神经细胞形态、大鼠行为学改变等变化,探讨参芎化瘀胶囊的脑保护作用及其与 GAP43 的关系。

材料与方法

1　动物　清洁级雄性健康 SD 大鼠 100 只,体重 250 ~ 320 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号:SCXK(京)2010 - 0013;饲养于河北联合大学动物实验室,室温 20 ~ 23 ℃,自然光照,自由进食。

2　实验药物　参芎化瘀胶囊(河北联合大学附属医院药剂科自制,冀药制字 Z20051586)处方:人参 105 g　䗪虫 147 g　川芎 210 g　制乳香 42 g　制没药 42 g　全蝎 84 g　紫河车 168 g　龙血竭 63 g　五味子 140 g　石菖蒲 140 g　郁金 140 g　桑葚子 105 g　鸡内金 210 g;每粒 0.4 g。

3　试剂与仪器　PV-6001 兔免疫球蛋白(北京中杉金桥生物技术有限公司)和 GAP43 兔抗鼠单克隆抗体(北京博奥森公司, 批号: bs0154R);HE 试剂(本校基础实验室提供);DAB 试剂盒(中山金桥)。Motic 6.0 图像采集及图像分析系统(麦克奥迪医学图像分析系统);JGD-50 高频电刀(张家港市航天医疗电器有限公司);低温高速离心机(美国 Sigma 公司);气浴恒温摇床(江苏省金坛市荣华仪器公司),图像采集及图像分析系统(美国 Bio-Rad 公司)。

4　模型制备　采用改良的 Pulsinelli 四血管闭塞法[7]制作大鼠全脑缺血模型(电凝双侧椎动脉,分离双侧颈总动脉,24 h 后夹闭双侧颈总动脉 15 min 后再通)。造模成功标准:夹闭颈总后 30 ~ 60 s 内大鼠昏迷,翻正反射消失,瞳孔放大,眼睛颜色由红变白,呼吸急促,松开动脉夹后 20 ~ 30 s,眼睛颜色快速恢复红色,大鼠意识转清,并能活动。剔除夹闭后诱发癫痫者、术中颈总破裂大出血者、术后出现肢体瘫痪者、术后意识障碍者、手术不成功者和死亡者,并予以补齐。

5　动物分组及处理方法　100 只成年 SD 雄性大鼠按体重随机分为 5 组,分对照组、模型组(等量生理盐水灌胃)和参芎化瘀胶囊每天 1 次组(中药 A 组)、每天 2 次组(中药 B 组)、参芎化瘀胶囊每天 3 次组(中药 C 组),每组 20 只。实验时将参芎化瘀胶囊溶于双蒸水,浓度 48 g/L,参芎化瘀胶囊组按体重给药,剂量为 48 g/kg,灌胃给药(每次给药前称体重),考虑中药起效慢,造模前 15 天开始灌胃,对照组和模型组给予双蒸水灌胃,灌胃至相应时间的术日晨。分别于造模后 1、3、7、14 天观察 GAP43 免疫组化表达、行为学改变及神经细胞形态改变情况,每时间点每组 4 只;另外,在 14 天时间点检测各组 GAP43 蛋白表达,每组 4 只。

6　观察指标与检测方法

6.1　行为学测试　于大鼠术后 1、3、7、14 天进行改良的行为学评分[8],包括运动、感觉、反射以及平衡试验,最低 0 分,最高 18 分,1 ~ 6 分为轻度损害,7 ~ 12分为中度损害,13 ~ 18 分为重度损害。评分标准:(1)提尾:前/后肢屈曲各 1 分,30 s 内头部垂直运动 >10°计 1 分。(2)行走:正常计 0 分,不能走直线计 1 分,偏向瘫痪侧计 2 分,倒向瘫痪侧计 3 分。(3)感觉:视觉触觉正常计 0 分,减弱计 1 分,本体感觉消失计 2 分。(4)平衡木:姿态稳定计 0 分,抓住边缘计 1 分,抱住木棍一侧肢体掉下计 2 分,抱住木棍一侧两侧肢体掉下或转动 >60 s 计 3 分,试图平衡但掉下或转动 >40 s 计 4 分,试图平衡但掉下或转动 >20 s 计 5

分,掉下、不想在平衡木上呆或吊在平衡木上计6 分;(5)反射:羽翼反射消失计 1 分,角膜反射消失计1 分,惊恐反射消失计 1 分,出现抽搐肌痉挛计 1 分。

6.2 神经细胞形态及数目观察 分别在相应时间点,对各组大鼠用 10%水合氯醛(300 ~350 mg/kg)腹腔注射麻醉;先灌注生理盐水约 350 mL 至肝脏发白,再灌注 4 ℃4% 的多聚甲醛,灌注速度先快后慢(150 mL +150 mL),-4 ℃冰上剥离脑组织;脑组织灌注后固定于 4% 多聚甲醛溶液中 24 h,常规脱水、浸蜡、包埋。石蜡切片机自视交叉后约 2 mm 处向后做冠状面连续切片,厚度约 4 μm。HE 染色,200 倍光镜下随机观察脑组织海马 CA1 区不重叠的 6 个视野,采用 Motic 6.0 数码医学图像分析系统测量海马 CA1 区存活神经元个数,取其平均值进行统计分析。

6.3 免疫组织化学法检测 GAP43 表达 在规定时间点常规麻醉动物,灌注取材后切片,按试剂盒说明进行免疫组化染色(GAP43 抗体浓度为 1∶300),辣根过氧化酶(HRP)显色。

6.4 Western blot 检测 GAP43 蛋白表达 不灌注,脱颈法处死大鼠,断头,用钳子依次分离皮层、肌层和骨组织,取出脑组织,用干净刀片沿冠状缝切开脑组织,取出双侧海马,用干净滤纸吸取血液,充分剥离海马组织外侧的白色组织,放入标识好的 EP 管(上述所有步骤均在 -20 ℃冰盘上操作)。加入裂解液,考马斯亮蓝法蛋白质定量,样品制备,转膜,封闭,加入抗体(GAP43 1∶500,β-actin,1∶1 000),4 ℃过夜,二抗(1∶1 000)室温 2 h,ECL 显色。Bio-Rad 系统进行吸光度测定,以目的条带与内参照 β-actin 的平均吸光度的比值表示蛋白水平,进行半定量分析。

7 统计学方法 应用 SPSS 13.0 进行实验数据的统计处理,计量资料以$\bar{x} \pm s$表示,组间比较采用单因素方差分析,$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组行为学评分比较(表 1) 与对照组比较,模型组所有时间点行为学评分升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较,中药 A、B、C 各组各时间点行为学评分降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与中药 A 组比较,中药 B 组 1、3 天行为学评分降低不明显,7、14 天降低明显,差异有统计学意义($P < 0.01$);中药 C 组 3、7、14 天均降低明显,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与中药 B 组比较,中药 C 组 1、3 天评分降低不明显,7、14 天明显降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2 各组 CA1 区神经细胞形态及数目比较(图 1,表 2) 对照组大鼠海马 CA1 区神经元细胞排列整齐、紧密,结构清晰,染色均匀,核大而圆,细胞间分界清楚。与对照组比较,模型组大量神经元进行性坏死:1 天出现大量红色神经元,核染色质深染,部分神经元出现水肿,3 天水肿加重,排列松散,细胞轮廓不清,细胞核模糊,7 天核皱缩明显,部分细胞溶解碎裂,14 天大量坏死神经元溶解,余红色残碎部分,仅少数细胞形态可辨,细胞分布松散不均,神经元数量明显减少($P < 0.05$)。与模型组比较,中药 A、B、C 组神经元病变均减轻,1 天可见许多红色神经元,但明显减少,正常神经元数目增多,差异有统计学意义($P < 0.05$);3、7 天部分细胞形态清楚,14 天存活细胞数量多,排列规整,差异有统计学意义($P < 0.05$);其中以中药 C 组存活神经元数量最多,与中药 A、B 两组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$),与中药 A 组比较,中药 B 组各时间点神经细胞数量均增多,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

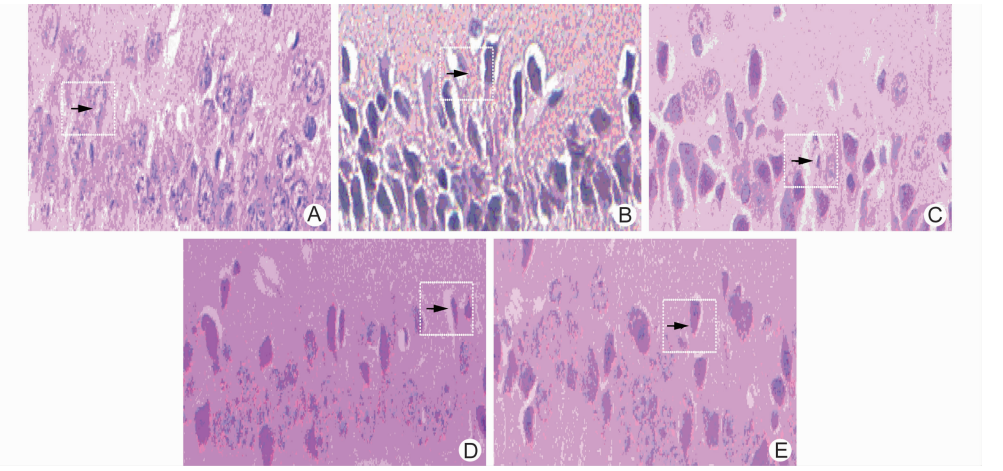
3 各组 CA1 区 GAP43 免疫组织化学结果比较(图 2,表 3) GAP43 阳性染色显棕/黄色,阳性产物位于细胞胞浆及轴突。神经胶质细胞和神经纤维网、血管内皮也可见较多阳性颗粒物沉着。对照组各时间点均未见明显阳性表达细胞。模型组 1 天即开始出现阳性表达,较对照组阳性细胞数量增多,差异有统计学意义($P < 0.05$);3 天升高,14 天达高峰,阳性细胞数明显增多,差异均有统计学意义($P < 0.05$),棕黄色的

表 1 各组行为学评分比较 (分,$\bar{x} \pm s$)

组别	n	1 天	3 天	7 天	14 天
对照	4	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00
模型	4	8.67 ±1.01 *	6.00 ±1.51 *	5.33 ±1.00 *	3.90 ±0.93 *
中药 A	4	7.46 ±1.58 △	5.27 ±1.39 △	4.70 ±1.68 △	3.70 ±0.68 △
中药 B	4	7.34 ±1.32 △	4.90 ±1.47 △	3.98 ±1.67 △▲	3.01 ±0.59 △▲
中药 C	4	7.11 ±1.36 △	4.78 ±1.09 △▲	2.67 ±0.71 △▲○	2.00 ±0.63 △▲○

注:与对照组同期比较,*$P < 0.05$;与模型组同期比较,△$P < 0.05$;与中药 A 组同期比较,▲$P < 0.01$;与中药 B 组同期比较,○$P < 0.01$;下表同。

中国中西医结合杂志

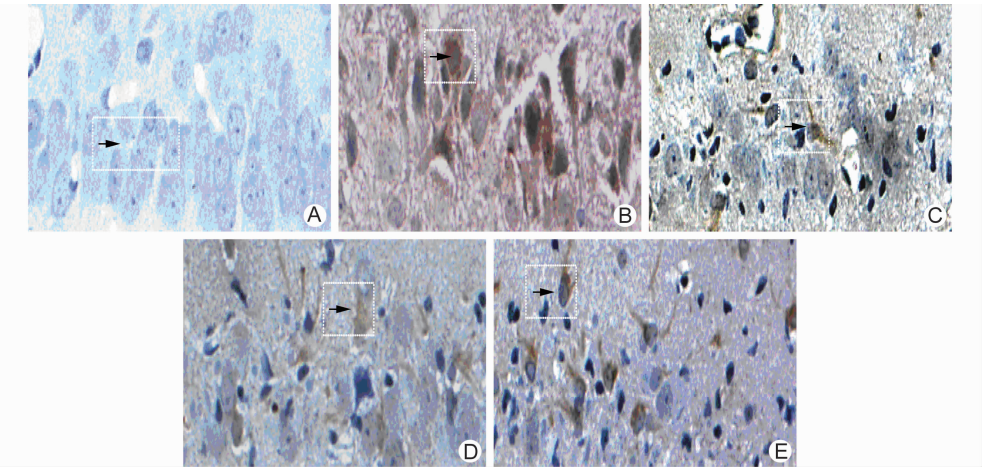


注：A 为对照组；B 为模型组；C 为中药 A 组；D 为中药 B 组；E 为中药 C 组；箭头所指为阳性区域

图 1　各组造模后 7 天 CA1 区神经细胞形态比较　（HE 染色，×400）

表 2　各组 CA1 区神经细胞数量比较　（个/视野，$\bar{x} \pm s$）

组别	*n*	神经细胞数量			
		1 天	3 天	7 天	14 天
对照	4	189.50 ± 1.37	189.50 ± 1.37	189.50 ± 1.37	189.50 ± 1.37
模型	4	23.33 ± 4.31*	15.60 ± 1.14*	15.20 ± 1.92*	18.60 ± 1.95*
中药 A	4	34.44 ± 2.97$^{\triangle}$	29.62 ± 3.39$^{\triangle}$	39.00 ± 5.39$^{\triangle}$	46.80 ± 2.17$^{*\triangle}$
中药 B	4	45.80 ± 6.06$^{\triangle\blacktriangle}$	37.00 ± 8.37$^{\triangle\blacktriangle}$	44.80 ± 3.37$^{\triangle\blacktriangle}$	52.40 ± 4.39$^{\triangle\blacktriangle}$
中药 C	4	55.80 ± 1.30$^{\triangle\blacktriangle\bigcirc}$	42.80 ± 2.59$^{\triangle\blacktriangle\bigcirc}$	52.20 ± 5.21$^{\triangle\blacktriangle\bigcirc}$	66.40 ± 9.40$^{\triangle\blacktriangle\bigcirc}$



注：A 为对照组；B 为模型组；C 为中药 A 组；D 为中药 B 组；E 为中药 C 组；箭头所指为阳性区域

图 2　各组 14 天 CA1 区 GAP43 免疫组织化学结果比较　（×400）

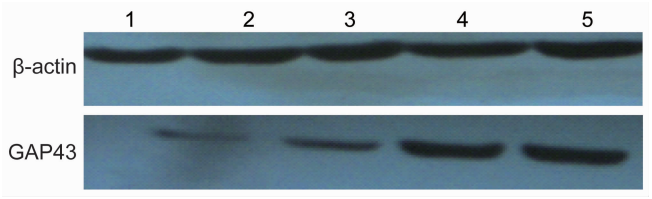
表 3　各组免疫组织化学染色海马 GAP43 阳性细胞数比较　（个/视野，$\bar{x} \pm s$）

组别	*n*	GAP43 阳性细胞数			
		1 天	3 天	7 天	14 天
对照	4	0.25 ± 0.42	0.25 ± 0.42	0.25 ± 0.42	0.25 ± 0.42
模型	4	2.60 ± 0.33*	10.50 ± 5.42*	11.00 ± 5.96*	16.25 ± 8.24*
中药 A	4	2.44 ± 0.24$^{\triangle}$	15.37 ± 4.63$^{\triangle}$	18.00 ± 4.27$^{\triangle}$	21.90 ± 13.28$^{\triangle}$
中药 B	4	2.46 ± 0.46$^{\triangle}$	17.51 ± 6.35$^{\triangle\blacktriangle}$	20.09 ± 6.16$^{\triangle\blacktriangle}$	30.47 ± 12.45$^{\triangle\blacktriangle}$
中药 C	4	2.44 ± 1.24$^{\triangle}$	19.11 ± 9.63$^{\triangle\blacktriangle\bigcirc}$	22.49 ± 7.39$^{\triangle\blacktriangle\bigcirc}$	38.90 ± 14.08$^{\triangle\blacktriangle\bigcirc}$

中国中西医结合杂志

沉积物增加,但未见明显突起伸出。参芎化瘀胶囊各组 1 天出现明显阳性表达,7 天较 3 天显著升高,阳性细胞呈现出芽状,差异有统计学意义($P<0.05$);14 天达高峰,可看到 GAP43 沿新生突起高表达,与模型组比较,参芎化瘀胶囊各组阳性细胞均显著增加($P<0.05$)。与中药 A 组比较,中药 B 组和中药 C 组阳性细胞数 3、7、14 天明显增多,差异有统计学意义($P<0.01$)。与中药 B 组比较,中药 C 组 3、7、14 天显著增多,14 天表达量最高,伸出的突起又多又长,差异有统计学意义($P<0.01$)。

4 各组大鼠 14 天 CA1 区 GAP43 蛋白含量表达比较(图 3,表 4) 对照组未见明显 GAP43 蛋白表达;与对照组比较,模型组 GAP43 蛋白表达升高($P<0.05$);与模型组比较,中药 A、B、C 组 GAP43 蛋白表达均升高($P<0.05$),其中中药 C 组与中药 A、B 组比较亦升高,差异有统计学意义($P<0.01$)。与中药 A 组比较,中药 B 组 GAP43 蛋白表达升高,差异有统计学意义($P<0.01$)。



注:1 为对照组;2 为模型组;3 为中药 A 组;4 为中药 B 组;5 为中药 C 组

图 3 各组大鼠 14 天 CA1 区 GAP43 蛋白含量比较 (上样量 30 μg)

表 4 各组大鼠 14 天 CA1 区 GAP43 蛋白含量表达比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	GAP43
对照	4	0.04 ± 0.02
模型	4	0.29 ± 0.09 *
中药 A	4	0.46 ± 0.17 △
中药 B	4	0.69 ± 0.25 △▲
中药 C	4	0.90 ± 0.37 △▲○

讨 论

目前神经元再生的机制尚不清楚,国内外研究认为主要有三大影响因素:生存微环境、自身促进再生和抑制再生的因子[9]。有研究表明,GAP43 在引导轴突生长和调节轴突形成新的联系上起关键作用,是神经元再生和重塑的分子标志[10],它对神经元细胞骨架的重新装配、蛋白激酶 C 活性、钙调蛋白的结合能力、小 G 蛋白对生长锥的抑制、F-肌动蛋白的聚集、神经系统上下通路的整合、运动感觉以及反射功能等均有影响[11-13]。

本实验发现,中药 A、B、C 组大鼠椎体神经元病变较模型组均减轻,CA1 区存活神经元数量最多,说明参芎化瘀胶囊对全脑缺血再灌注损伤有脑保护作用,能减少神经元的死亡。对大鼠进行行为学评分发现,各用药组得分低于模型组,说明模型组较用药组损伤严重,参芎化瘀胶囊可以有效减轻脑损伤,促进运动整合协调功能重塑和肌力的恢复。而组织病理学的转归是行为康复的前提,挽救残存神经元促进再生是研究的重点,提示参芎化瘀胶囊能够促进神经元再生和突触重建。

本实验中,各用药组 GAP43 表达呈现逐步增强趋势,14 天达高峰。GAP43 沿新生突起高表达,残存神经元伸出多个突起向四周伸展,突起的长度和数目均以中药 C 组为最多,伴随着运动功能的恢复,说明参芎化瘀胶囊通过升高 GAP43 表达引导突起延长、促进功能重建。局灶性脑缺血模型研究发现随着 GAP43 表达增高,缺血周围区神经元结构重塑,树突棘突数量增加,7 天达高峰,伴随着行为学的转归[14,15];江爱娟等[16]发现局灶性脑缺血后 GAP43 上调和功能重建,2 周达高峰,3 周仍有微弱表达,本实验结果和他们研究报道基本相符。近年来,国内外的研究发现许多中药都有促进神经再生突触重塑的功能,如中风醒脑液、丹参注射液、藻酸双酯钠、参芎滴丸等[17],多为局灶模型和体外培养,对全脑缺血再灌注损伤 GAP43 表达变化研究较少。参芎化瘀胶囊中川芎功效行气活血;人参调节免疫、益气养血、定痛疗伤等;全蝎和川芎合用通络活血;石菖蒲涤痰开窍;此外郁金香、桑葚、乳香、紫河车、䗪虫、没药等 9 味中草药辅助增加活血益气、调节免疫之功效。研究表明,川芎能明显降低脑梗死患者全血黏度及红细胞聚集指数,能扩张脑血管,解除痉挛,增加营养供给,促进 VEGF 和神经生长因子(nerve growth factor, NGF)的表达,使海马区神经细胞增殖[18],人参皂甙作用于胶质细胞源性神经再生相关因子(glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)等,改善神经再生和修复[19],丹参、黄芪、川芎等提取物能促进 GAP43、突触素(SYN)的表达。具体到底是有何种成分促进了 GAP43 的表达尚需进一步研究。此外,本实验室以往单/双次给药的基础上增加了每日 3 次的给药方法,并将观察时间由原来的 7 天延长至 14 天,同时选取免疫组化染色最明显的时间点 14 天,进一步比较 3 个用药组间 GAP43 蛋白含量,发现每日 3 次组含量最

高,说明参芎化瘀胶囊对神经功能重塑和用药频次间有一定关系,希望能为临床用药提供参考。

综上所述,参芎化瘀胶囊能减少全脑缺血再灌注大鼠脑细胞损伤、降低行为学评分、促进 GAP43 表达,对脑缺血再灌注损伤的修复有积极意义。

参 考 文 献

[1] Miyake K, Yamamoto W, Tadokoro M, et al. Alterations in hippocampal GAP-43, BDNF, and L1 following sustained cerebral ischemia[J]. Brain Res, 2002, 935 (1-2): 24-31.

[2] 刘光久,李振强, 殷玉芹.神经相关蛋白与神经发育、突触可塑性和再生的关系[J]. 中国局解手术学杂志, 2001, 10(3): 312-315.

[3] Stromer RP, Kent TA, Hulsebosch CE. Neocortical neural spouting synaptogenesis and behavioral recovery after neocortical in rats[J]. J Stroke, 1995, 26(11): 2135.

[4] Schmidt-Kastner R, Bedard A, Hakin A. Transient expression of Gap-43 within the hippocampus after global brain ischemia in rats[J]. J Cell Tissue Res, 1997, 288(2): 225-238.

[5] Qin H, Dent EW, Meiri KF. Modulation of actin filament behavior by GAP243 (neuromodulin) is dependent on the phosphorylation status of Ser41, the protein kinase C site[J]. J Neurosci, 1997, 17(10): 3515-3524.

[6] 刘斌,王新宇, 孙晓雪, 等.参芎化瘀胶囊对大鼠脑缺血再灌注损伤后血管内皮生长因子表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(9): 284-287.

[7] Lyden PD, Lonzo L. Combination therapy protects ischemia brain in rats: a glutamate antagonist plus a GABA agonist [J]. J Stroke, 1994, 25(1): 189-195.

[8] Rosenberg GA, Mun-Bryce S, Wesley M, et al. Collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats[J]. Stroke, 1990, 21(5): 801-807.

[9] Johansson BB. Regeneration and plasticity in the brain and the spinal cord[J]. J Cerebr Blood Flow Metab, 2007, 27(8): 1417-1430.

[10] Takei H, Buckleair LW, Rivera A, et al. Brain tissue microarrays in neurodegenerative disease: validation of methodology and immunohistochemical study of growth-associated protein-43 and calretinin[J]. J Pathol, 2007, 57(12): 775-783.

[11] Lee TH, Kato H, Chen ST, et al. Expression of nerve growth factor transient focal cerebral ischemia in rats[J]. J Stroke, 1998, 29(8): 1687-1688.

[12] 杜秀民,张笛, 刘广义.局灶性脑缺血再灌注损伤后存活素与生长相关蛋白 43 表达抑制神经细胞凋亡的实验[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(25): 4929-4930.

[13] 王锡波,刘广义, 董争鸣.大鼠脑缺血再灌注损伤后神经再生与 Nogo-A 蛋白、GAP43 基因表达的关系[J]. 中国康复, 2010, 25(4): 246-249.

[14] 吗登俊, 杨万同, 田峻, 等.中药三七对脑缺血再灌注损伤后神经可塑性的影响[J]. 中国康复, 2003, 18(3): 132-134.

[15] 朱宁,马钧, 曾少菊, 等.GAP43, Netrin-1, Collapsin-1 和 Neurollipin-1 在出生后小鼠小脑中的表达[J]. 生物化学与生物物理进展, 2009, 36(6): 750-760.

[16] 江爱娟,胡建鹏, 王键, 等.益气活血方和补肾生髓方对大鼠脑缺血恢复期 GAP43 和 SYP 表达的影响[J]. 中国中医药科技, 2008, 15(6): 418-419.

[17] 马岱朝.参芎滴丸对大鼠脑缺血再灌注后神经可塑性影响的机制研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2012.

[18] Faison Mo, Perozzi EF, Caran N, et al. Axonal localization of delta Ca^{2+}/calmodulin-dependent protion kinase Ⅱ in developing p19 neurons[J]. Int J Dev Neurosci, 2002, 20(8): 585-592.

[19] 王义舟,寇爽, 刘妍, 等.中药促进神经再生的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12): 197-201.

(收稿:2013-03-08　修回:2013-11-12)

中国中西医结合杂志