

0.2 (n=4), 而且肝脏摄取很低, 具有良好的应用前景^[5-6]。虽然 [18F] AIF-NOTA-G-TMTP1 有比较好的显像效果, 但是血液清除较快, 代谢过快, 对于诊断有一定的限制。本研究继续以 TMTP1 为靶向多肽, 通过 PEG2 对其进行修饰, 对其改性, 以增加其在肿瘤部位的摄取。本研究合成了 NOTA-PEG2-TMTP1, 并对其进行 68Ga 放射性标记, 通过体内显像实验, 研究其肿瘤靶向性和体内药动学性质。

本研究通过多肽固相合成技术, 合成了 NOTA-PEG2-TMTP1, 然后利用 68Ga 成功对其进行放射性标记, 标记步骤简单, 标记产率高。为了验证 68Ga [Ga]-NOTA-PEG2-TMTP1 的肿瘤靶向性和体内药动学性质, 我们进行了荷瘤裸鼠的显像实验, 结果显示, 在注射 40 min 后, 68Ga [Ga]-NOTA-PEG2-TMTP1 主要摄取部位是肾脏和膀胱, 说明探针是通过肾脏尿液排出体外, 除此以外, 肿瘤部位的摄取最高, 这证明 68Ga [Ga]-NOTA-PEG2-TMTP1 具有优良的肿瘤靶向性, 相比于我们早期合成的 PET 探针 [18F] AIF-NOTA-G-TMTP1, 68Ga [Ga]-NOTA-PEG2-TMTP1 具有更高的靶与非靶比值, 肿瘤肌肉比增加近 20%, 说明 PEG2 修饰后的探针具有更好的肿瘤靶向性和药动学性质。

我们成功合成 PET 探针 68Ga [Ga]-NOTA-PEG2-TMTP1, 在 SMCC-7721 肝癌荷瘤裸鼠模型中的 microPET/CT 显像证实, 68Ga [Ga]-NOTA-PEG2-TMTP1 具有更高的摄取和靶/非靶比, 有利于肿瘤的诊断, 具有临床转化的

应用前景。

参考文献

- [1] Diamantis I T, Fabio B, Kota S, et al. Prognosis After Resection of Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) Stage 0, A, and B Hepatocellular Carcinoma: A Comprehensive Assessment of the Current BCLC Classification [J]. Ann Surg Oncol, 2019, 26 (11): 3693-3700.
- [2] Marlène P, Régis V, Céline F, et al. Stability of peptides and therapeutic success in cancer [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2011, 7 (7): 793-802.
- [3] 陈小元. 18F-阿法肽的基础研发及临床转化历程 [J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2019, 39 (4): 193-195.
- [4] Fei L, Teng C, Qingjian D, et al. Evaluation of (99m) Tc-HYNIC-TMTP1 as a tumor-homing imaging agent targeting metastasis with SPECT [J]. Nucl Med Biol, 2015, 42 (3): 256-262.
- [5] Yesen L, Deliang Z, Ying S, et al. Syntheses and preliminary evaluation of [(18) F] AIF-NOTA-G-TMTP1 for PET imaging of high aggressive hepatocellular carcinoma [J]. Contrast Media Mol Imaging, 2016, 11 (4): 262-271.
- [6] 李业森, 张德良, 张现忠, 等. 18F-AIF-NOTA-G-TMTP1 的合成及对高转移潜能肝癌细胞荷瘤鼠的显像研究 [J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2015, 35 (5): 351-354.

• 基础研究 •

畅脉乐胶囊对 MCAO 大鼠脑组织保护作用研究及 mGluR1、GABA_B 蛋白表达的影响

福建中医药大学附属第二人民医院药学部 (福州 350001) 翁一玲 苏艺萍¹ 李 煌¹ 陈松旺²

【摘要】 目的 探讨畅脉乐胶囊对脑缺血再灌注损伤 (MCAO) 大鼠脑组织的保护机制。**方法** 采用线栓法制备 MCAO 大鼠模型, 随机分为 3 组, 畅脉乐组采用灌胃方式给药, 每日 1 次, 连续给药 7 天; 假手术组和模型组给予等剂量的生理盐水。采用 mNSS 法进行神经功能缺陷评分; TTC 染色计算梗死面积和 HE 染色观察脑损伤情况; 采用 Real-Time PCR 法和 Western blot 法检测 mGluR1 和 GABA_B mRNA 蛋白表达情况。**结果** 与模型组相比, 畅脉乐组神经功能缺损程度评分显著降低, 梗死面积显著减少 ($P < 0.05$)。畅脉乐组 mGluR1 mRNA 和蛋白表达水平明显降低, GABA_B mRNA 和蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.05$)。**结论** 畅脉乐胶囊可治疗大鼠脑缺血损伤并调节脑组织 mGluR1 和 GABA_B 蛋白水平。

【关键词】 畅脉乐胶囊; 脑缺血; mGluR1; GABA_B

【中图分类号】 R743.3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1002-2600(2022)05-0124-04

Study on the protective effect of Changmaile Capsule on MCAO rat brain tissue and the expression of mGluR1 and GABA_B WENG Yiling, SU Yiping, LI Huang, CHEN Songwang. Department of pharmacy, the second Affiliated People's Hospital of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350001, China

【Abstract】 Objective To investigate the protective mechanism of Changmaile capsule on middle cerebral artery occlusion (MCAO) rat brain tissue. **Method** The MCAO rat model was established by suture occlusion method. The rats were randomly

基金项目: 福建省自然科学基金面上项目 (2019J01482)

1 福建中医药大学药学院; 2 福建省药品审核查验中心; 通信作者, Email: 724405204@qq.com

divided into 3 groups. Changmaile group was given CMLC contents by intragastric administration, once a day, for consecutive 7 days. Sham operation group and model group were given equal volume of normal saline. MNss method was used to score neurological deficits. TTC staining was used to calculate infarct volume and HE staining was used to observe brain injury. The mRNA and protein expressions of mGluR1 and GABA_B were detected by real-time PCR and Western blot. **Results** Compared with model group, the score and infarct volume of Changmaile group were significantly decreased ($P < 0.05$). In addition, the mRNA and protein expression levels of mGluR1 in Changmaile Group were significantly decreased, while the mRNA and protein expression levels of GABA_B were significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Changmaile capsule can treat cerebral ischemia injury and regulate the levels of mGluR1 and GABA_B protein in the brain of rats.

【Key words】 Changmaile capsule; cerebral ischemia; mGluR1; GABA_B

脑卒中是常见的脑血管病类型,具有高发病率、致死率和死亡率,随着人口老龄化加剧其发病率逐年增加^[1]。脑卒中发生后会出现患者脑脊液中谷氨酸(Glu)水平升高和 γ -氨基丁酸(GABA)水平下降^[2],使两个递质的平衡被打破。Glu是非特异性兴奋氨基酸,Glu的异常兴奋是脑缺血的一个重要原因,mGluR1是谷氨酸代谢型受体之一,能增强神经系统细胞兴奋性;GABA是神经抑制性递质,有多个受体亚型,GABA_B是其中一个亚型。近年来中药可缓解脑卒中早期的脑组织损伤引起关注^[3-4],但目前尚未见关于畅脉乐胶囊抗缺血性脑卒中作用机制的研究报道。本研究旨在探讨畅脉乐胶囊对大鼠脑卒中缺血再灌注的脑组织作用及其对mGluR1和GABA_B的表达影响。

1 材料与方法

1.1 药物与试剂:畅脉乐胶囊(规格0.5 g/粒,批号20201024,由福建省第二人民医院制剂室提供)。Anti-GABA_B抗体、Anti-mGluR1抗体均购于南京巴傲得生物科技有限公司,批号分别为BS90551、BS90851;SDS-PAGE蛋白上样缓冲液、Western转膜液均购于碧云天生物技术有限公司。

1.2 实验动物:SPF级雄性SD大鼠45只[购自上海斯莱克实验动物有限公司,许可证号SCXK(沪)2017~0005,体质量200~220 g],随机分3组,每组15只;术前禁食12 h,自由饮水。实验操作全程符合动物实验伦理要求。

1.3 大鼠MCAO模型制备及给药:模型组和畅脉乐组参考文献[5]采用颈内动脉线栓法制备大鼠MCAO模型;假手术组15只仅切开颈部皮肤后缝合,未进行动脉闭塞手术。取胶囊内容物15 g,加适量水溶解后定容至250 mL,得到浓度0.06 g/mL的药液。给药组大鼠每天均以10 mL/kg剂量灌胃,连续7天;假手术组和模型组均以等剂量生理盐水灌胃。

1.4 大鼠mNSS评分:分别在第1、3、5、7 d采用mNSS法对各组大鼠神经功能缺损程度进行评分,评分项目包括运动实验、感觉实验、平衡木实验、反射丧失和不正常运动4项,评分从0~18分,0分为正常无缺陷,18分为最大缺陷^[6]。

1.5 采样与指标检测:末次给药后,每组大鼠随机取6只,腹腔注射2%戊巴比妥钠(60 mg/kg)深度麻醉,迅速断头取脑,弃去小脑、脑干和嗅球部分,分开左、右脑,做好标记后保存于液氮当中,至-80℃冰箱中备用。取出脑组织放于-20℃冰箱中冻存8 min左右,再置于大鼠脑模具中,固定脑组织两端,按照2 mm厚度进行冠状切片。将脑片平

摊在2% TTC染液中,于37℃恒温并避光浸泡约30 min,用棉签轻轻拭去表面的液体,对其进行拍照,用Image J图像软件统计分析脑梗死面积。

1.6 实时荧光(Real-Time)PCR检测:用Trizol法提取大鼠脑组织内总RNA,然后反转录合成cDNA,以cDNA进行Real-Time PCR检测并重复测试3次,用相对定量方法 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算mGluR1和GABA_B蛋白的表达量。

1.7 Western blot检测蛋白表达:取出大鼠左侧脑组织,在液氮条件下研磨成均匀无颗粒状粉末。精密称取100 mg粉末于EP管中,加入1 mL RIPA裂解液振荡混匀5 s,使用1 mL注射器反复抽打混悬液直至液体流畅、无阻塞感为止,冰浴中静置30 min,再次涡旋振荡30 s,在4℃14 000 r/min的条件下离心10 min,吸取上清液,即得提取的总蛋白,取上清液适量,采用BCA定量蛋白,稀释蛋白浓度为30 μ g/ μ L。取适量进行凝胶电泳,选用PVDF膜以恒定电流250 mA在冰浴中进行转膜,结束后加入mGluR1抗体和GABA_B抗体进行一抗孵育,加入抗mGluR1、GABA_B抗体进行二抗孵育。使用ECL试剂显色,用Bio-Pro凝胶成像分析仪成像,用Quantity-one软件进行灰度分析得出相应蛋白表达量。

1.8 统计学处理:各组数据采用SPSS 22.0软件进行正态性和方差齐性检验,符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用one-way ANOVA和Bonferroni's Multiple Comparison Test进行组间差异比较, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠mNSS评分结果:各组大鼠神经功能缺损评分如表1所示。假手术组正常,无神经功能损伤;模型组评分均显著高于假手术组,表现为显著的神经功能缺损($P < 0.05$);与模型组相比,畅脉乐组大鼠在第5天和第7天的神经功能损伤评分有显著性降低($P < 0.05$)。

表1 各组大鼠神经功能缺损评分情况($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (n)	mNSS			
		1 d	3 d	5 d	7 d
假手术组	15	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
模型组	15	10.08 \pm 2.35	10.13 \pm 2.41*	9.92 \pm 2.74*	9.71 \pm 2.97*
畅脉乐组	15	10.10 \pm 2.29	9.81 \pm 2.71	7.63 \pm 2.42#	7.08 \pm 2.66#

注:与假手术组相比,* $P < 0.05$;与模型组相比,# $P < 0.05$ 。

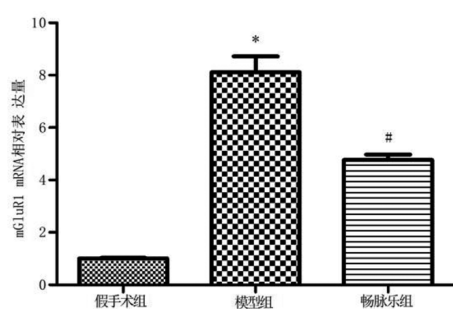
2.2 畅脉乐胶囊对MCAO大鼠脑梗死面积的影响:大鼠大

脑切片经 TTC 染色, 正常组织呈红色, 梗死部分呈现白色, 假手术组大鼠切片均呈红色, 而模型组出现明显白色梗死区域 ($P<0.05$), 见图 1 (封三); 在给药 7 d 后, 畅脉乐组大鼠脑梗死面积均有明显降低 ($P<0.05$), 见表 2。

表 2 各实验组对 MCAO 大鼠脑梗死面积的影响 ($\bar{x}\pm s$)

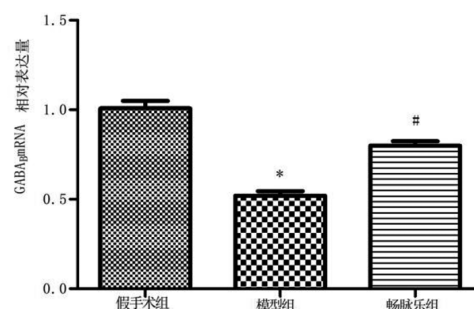
组别	动物只数	脑梗死面积 (%)
假手术组	6	0.00±0.00
模型组	6	39.19±3.51*
畅脉乐组	6	13.65±2.55#

注: 与假手术组相比, * $P<0.05$; 与模型组相比, # $P<0.05$ 。



注: 与假手术组相比, * $P<0.05$; 与模型组相比, # $P<0.05$ 。

图 3 大鼠脑组织中 mGluR1、GABA_B mRNA 表达水平



2.5 Western blot 检测 mGluR1、GABA_B 表达: 与假手术组相比, 模型组大鼠脑组织中 mGluR1 蛋白表达水平显著升高, GABA_B 蛋白明显降低 ($P<0.05$); 与模型组相比, 畅

脉乐组 mGluR1 蛋白表达水平显著降低, GABA_B 蛋白显著升高 ($P<0.05$)。如图 4、图 5 所示。

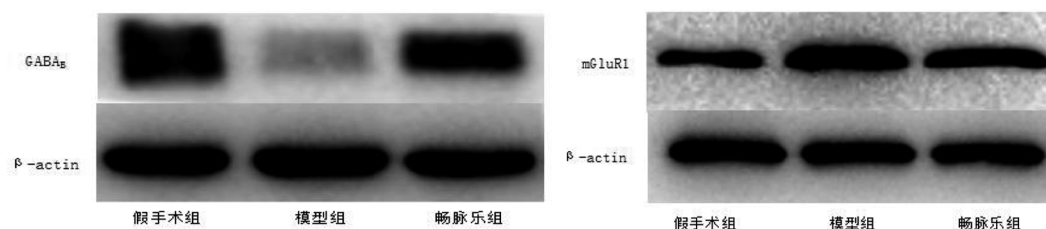
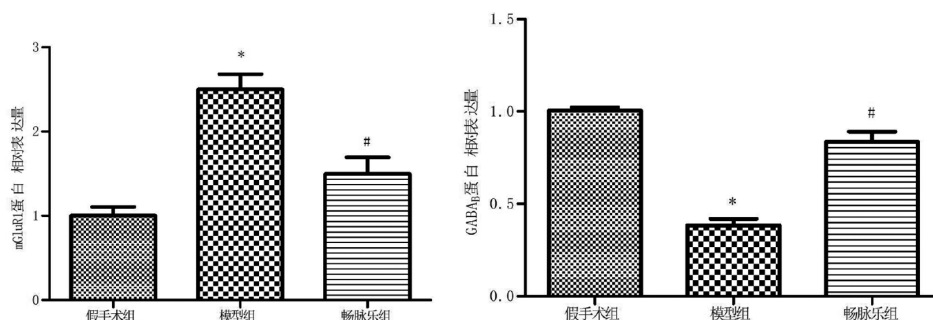


图 4 各组大鼠脑组织中 mGluR1、GABA_B 蛋白表达图



注: 与假手术组相比, * $P<0.05$; 与模型组相比, # $P<0.05$ 。

图 5 各组大鼠脑组织中 mGluR1、GABA_B 蛋白表达柱状图

3 讨论

畅脉乐胶囊是福建省第二人民医院的院内制剂（闽药制字 Z05104025），由黄芪、制首乌、天麻、丹参、郁金、赤芍、葛根等组方而成，全方兼备攻补，有活血益气之功效，在临床上常用于防治中老年血管硬化及中风后遗症，有显著疗效^[7-8]。

Glu 是体内重要的神经兴奋性氨基酸，通过与谷氨酸受体（GluR）结合产生效应。mGluR1 为 G 蛋白偶联受体，广泛存在于突触后，介导神经兴奋，被激活后会增加运动神经元的兴奋性。GABA 是神经抑制性递质，GABA_B 能使运动神经元的兴奋性降低，最终使肌张力降低。多项研究证实^[9-11]，脑卒中诱发的肢体痉挛、瘫痪可能与两者的失衡有关。

本研究结果显示，畅脉乐胶囊可以有效改善 MCAO 大鼠神经功能缺损，显著减少脑梗死面积，对脑组织有一定的保护作用；可降低 MCAO 大鼠脑内 mGluR1 表达水平，从而降低运动神经元的兴奋性；同时提升 GABA_B 蛋白水平，增强对运动神经元的调控，可改善抑制性神经递质与兴奋性神经递质的平衡。

参考文献

- [1] 《中国脑卒中防治报告 2019》编写组. 中国脑卒中防治报告 2019 概要 [J]. 中国脑血管病杂志, 2020, 17 (5): 272-281.
- [2] 贾雪梅, 周宇超, 黄亦璇. 针灸治疗卒中后痉挛性瘫痪状态的临床研究 [J]. 临床医学工程, 2011, 18 (5): 736-737.
- [3] 黄俊鑫, 王碧霞, 邹汉斌, 等. 基于网络药理学和分子对接探究防己茯苓汤治疗缺血再灌注急性肾损伤的作用机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28 (8): 175-182.
- [4] 王林琳, 康智能, 刘文鹏, 等. 三七总皂苷抑制铁死亡和炎症反应减轻大鼠脑缺血再灌注损伤 [J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38 (3): 296-300.
- [5] Han J, Xiao Q, Lin Y H, et al. Neuroprotective effects of salidroside on focal cerebral ischemia/reperfusion injury involve the nuclear erythroid 2-related factor 2 pathway [J]. Neural Regen Res, 2015, 10 (12): 1989-1996.
- [6] Shen L H, Li Y, Chen J, et al. Intracarotid transplantation of bone marrow stromal cells increases axon-myelin remodeling after stroke [J]. Neuroscience, 2006, 137 (2): 393-399.
- [7] 谢胜伟, 陈美华. 畅脉乐胶囊对颈动脉粥样硬化大鼠 Wnt 信号通路的影响 [J]. 新中医, 2020, 52 (21): 10-12.
- [8] 陈松旺, 吴婷, 李煌, 等. 畅脉乐胶囊的质量标准研究 [J]. 福建医药杂志, 2020, 42 (1): 127-132.
- [9] 刘佳雨, 严萍, 张瑜, 等. 代谢型谷氨酸受体在丰富环境改善卒中后认知功能障碍中的作用 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26 (23): 3676-3682.
- [10] 党连生, 徐燕, 王晓霞, 等. 谷氨酸与缺血性卒中早期进展关系的研究 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2013, 15 (1): 57-59.
- [11] Nicolo JohnPaul, Moffat Bradford, Wright David K, et al. 7T Magnetic Resonance Imaging Quantification of Brain Glutamate in Acute Ischaemic Stroke [J]. Journal of stroke, 2021, 23 (2): 281-284.

• 基础研究 •

小鼠急性放射性膀胱损伤模型建立的实验研究

福建中医药大学附属第二人民医院（福州 350003） 陈慧军 张伟平 翁剑飞¹ 陈丽玄 钟少艺 林生明 林 玮²

【摘要】 目的 探讨小鼠急性放射性膀胱损伤（ARC）模型的建立方法。**方法** 将 24 只雌性 ICR 小鼠分为 4 组各 6 只，采用 X 射线辐照仪单次盆腔局部照射，照射剂量分别为 0、10、20 和 30 Gy。照射后观察各组小鼠摄食、进水量、体质量和存活率，通过排尿行为模式研究检测小鼠膀胱功能；1 周后处死，光镜下观察膀胱组织病理学改变。**结果** 0 Gy 组小鼠进食、饮水量和自主活动均正常，体质量增加；1 周后所有小鼠均存活，膀胱未见明显新生血管，光镜下见膀胱黏膜细胞层次清晰，黏膜下无水肿，无出血。10 Gy 组小鼠进食、饮水量下降不明显，体质量无明显变化，排尿频率未见明显增加；1 周后所有小鼠均存活，膀胱未见明显新生血管，病理切片未见膀胱黏膜明显缺失，黏膜下层见轻度水肿。20 Gy 组照射后，小鼠摄食饮水量减少、体质量下降，排尿频率明显增加；1 周后仅有 5 只小鼠存活，膀胱可见少量新生血管，光镜下观察可见膀胱部分黏膜脱落，黏膜下层水肿明显，部分区域见少量散在出血点。30 Gy 组小鼠进食、饮水量明显下降，排尿频率明显增加；1 周后仅有 3 只小鼠存活，膀胱见较多新生血管，病理切片可见膀胱黏膜坏死脱落，黏膜下层水肿明显，并可见较多出血点。**结论** 采用 X 射线辐照仪单次盆腔局部照射 20 Gy 能成功诱导小鼠 ARC，该模型能较准确地反映放射性膀胱损伤的临床特征及病理特征，可用于后续相关的实验研究。

【关键词】 急性放射性膀胱损伤；小鼠；X 射线辐照仪；动物模型

【中图分类号】 R694.6 **【文献标志码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2022)05-0127-04

基金项目：福建省教育厅中青年教师教育科研项目（JAT190277）；福建省自然科学基金面上项目（2021J01879）

1 通信作者，Email: seywjf@163.com；2 福建中医药大学动物实验中心（福州 350122）

血管瘤样纤维组织细胞瘤 1 例临床病理学分析及文献复习

(详见正文第 116 页)

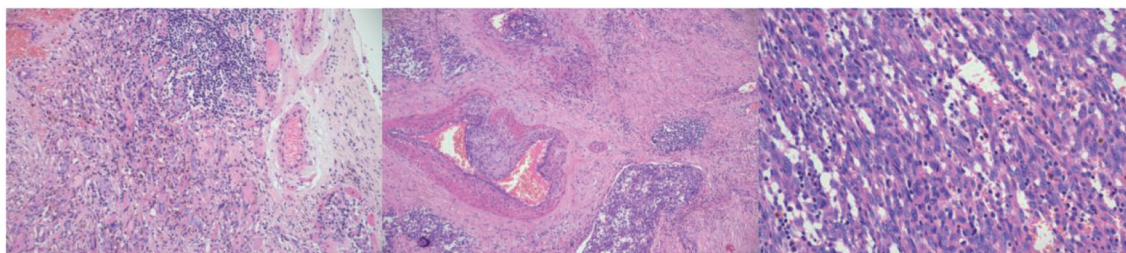


图 1 纤维性假包膜，周边淋巴细胞浸润 图 2 假血管瘤样腔隙 图 3 瘤细胞呈短梭形或卵圆形，核染色质细腻

畅脉乐胶囊对 MCAO 大鼠脑组织保护作用研究及 mGluR1、GABA_B 蛋白表达的影响

(见正文第 124 页)

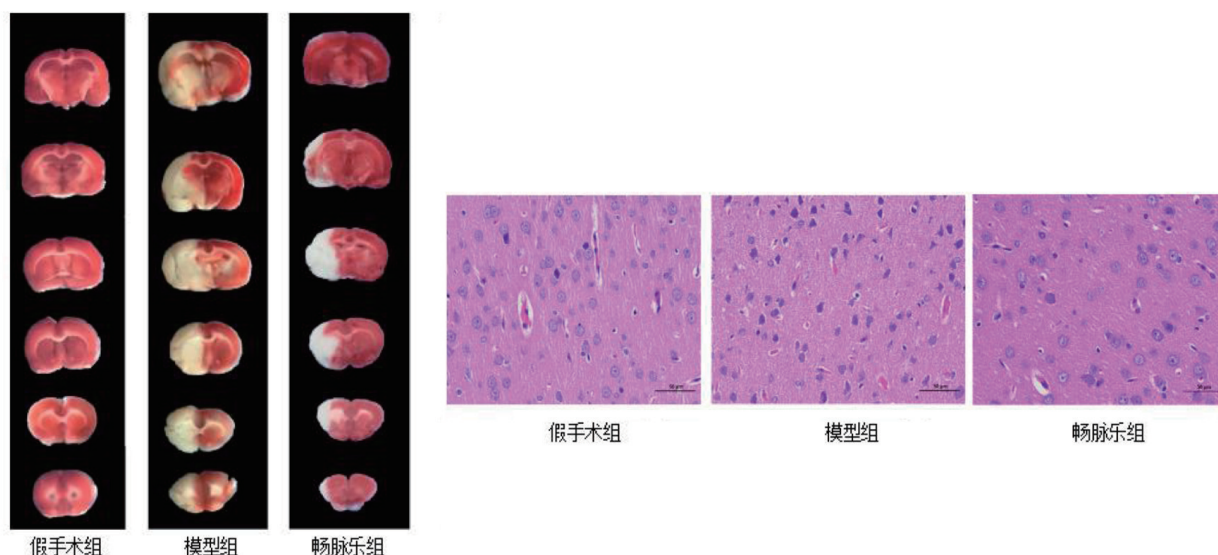


图 1 各组对 MCAO 大鼠脑梗死面积的影响

图 2 各实验组的 MCAO 大鼠大脑缺血侧皮层组织病理变化的影响
($\times 400$)