

JWH-015 预防给药对 APP/PS1 转基因小鼠学习记忆能力、神经源性炎症和神经可塑性的影响

李超 史敬璞 史媛媛 贾慧群 李锦¹ 王勃¹

(河北医科大学第四医院麻醉科,河北 石家庄 050017)

【摘要】目的 探讨大麻素 2 型受体(CB2R)激动剂 JWH-015 预防给药对阿尔茨海默病(AD)模型小鼠空间认知功能及对海马脑区神经源性炎症和神经可塑性的影响。方法 20 只 6 月龄健康 APP/PS1 转基因 AD 模型小鼠和 20 只同窝野生型(WT)小鼠随机分为溶剂对照组(WT+VEH)、AD 模型组(APP/PS1+VEH)、JWH-015 处理组(APP/PS1+JWH-015)和 JWH-015 单药组(WT+JWH-015),各组小鼠分别腹腔注射 8 w JWH-015 0.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹或等量溶剂。通过 Morris 水迷宫实验检测小鼠空间学习记忆能力;通过刚果红染色检测脑内 β 淀粉样蛋白(Aβ)斑块的沉积数量;采用免疫荧光组织化学方法观察海马脑区星形胶质细胞标志物胶质纤维酸性蛋白(GFAP)和小胶质细胞标志物离子型钙结合受体分子(Iba)1 的免疫荧光变强度及神经源性炎症变化;通过高尔基染色观察海马齿状回(DG)颗粒细胞树突棘密度检测神经可塑性变化。结果 与溶剂对照组相比,AD 模型组小鼠 Morris 水迷宫第 5 天潜伏期显著延长,第 6 天穿台次数显著减少($P<0.05$);同时,海马脑区内出现刚果红染色呈阳性的斑块,胶质细胞标志物 GFAP 和 Iba1 免疫荧光强度显著增加,DG 区颗粒细胞树突棘密度显著降低($P<0.05$)。与 AD 模型组相比,JWH-015 处理组小鼠第 5 天潜伏期显著降低($P<0.05$),而第 6 天穿台次数差异无统计学意义($P>0.05$);同时,海马脑区 Iba1 免疫荧光强度显著下降($P<0.05$),但海马脑区内 Aβ 斑块沉积数量、GFAP 免疫荧光强度及 DG 区颗粒细胞树突棘密度差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 AD 模型小鼠空间学习记忆能力损伤可能与海马脑区内 Aβ 斑块沉积导致的慢性神经源性炎症加重及神经可塑性下降有关;CB2R 激动剂预防给药明显改善 AD 模型小鼠脑内小胶质细胞介导的炎症反应,但对脑内 Aβ 斑块沉积数量和神经可塑性的下降无影响。

【关键词】 阿尔茨海默病;大麻素 2 型受体;认知能力;神经源性炎症;神经可塑性

【中图分类号】 R964 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9202(2018)09-2191-05;doi:10.3969/j.issn.1005-9202.2018.09.056

The effects of preventive administration of JWH-015 on learning-memory ability, neuroinflammation and neuroplasticity of APP/PS1 transgenic mice

LI Chao, SHI Jing-Pu, SHI Yuan-Yuan, et al.

Department of Anesthesiology, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, Hebei, China

【Abstract】 Objective To investigate the effects of cannabinoid 2 receptor (CB2R) agonist JWH-015 on spatial learning-memory ability, neuroinflammation and neuroplasticity in hippocampus of Alzheimer's disease (AD) mice. **Methods** Twenty 6-month aged APP/PS1 transgenic mice and wild type (WT) littermates were randomly divided into control (WT+VEH), AD model (APP/PS1+VEH), JWH-015 treatment (APP/PS1+JWH-015) and single JWH-015 drug (WT+JWH-015) groups. Then AD model and control mice were given selective CB2R agonist JWH-015 intraperitoneally at a dose of 0.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹ or vehicle for 8 weeks. Spatial learning and memory was measured by Morris water maze. Congo red staining was used to measure the plaque burden. Immunohistochemistry was conducted to measure astrocytic and microglial immunoreactivity by detection of GFAP and Iba1. The changes of neuroplasticity were observed by Golgi staining in brain. **Results** Compared with those of control group, AD model mice had a longer escape latency at Day5 ($P<0.05$) and the less crossing platform numbers at Day6 ($P<0.05$). There were extensive plaques accompanied by significantly enhanced GFAP and Iba1 immunofluorescence intensity in hippocampus of APP/PS1 mice. Compared with AD group, chronic JWH-015 treatment reversed escape latency but not the numbers of crossing platform ($P<0.05$). Moreover, the intensity of Iba1 immunofluorescence in hippocampus was significantly decreased ($P<0.05$); but the numbers of plaque burden, GFAP immunofluorescence and spine density in hippocampus were not affected by JWH-015 treatment, respectively. **Conclusions** The spatial cognitive impairment of AD mice is closely related to the chronic neuroinflammation induced by amyloid plaque as well as the significant weakness of neuroplasticity in hippocampus. Chronic activation of CB2R by JWH-015 treatment had significantly ameliorative influence on spatial cognitive dysfunction and microglia-related neuroinflammation, but it had little effects on plaque burden and neuroplasticity.

【Key words】 Alzheimer's disease; Cannabinoid receptor 2; Cognitive ability; Neuroinflammation; Neuroplasticity

基金项目:国家自然科学基金项目(81471233);北京市科委科技新星项目(Z121102002512046);河北省自然科学基金项目(H2014206282)

1 军事科学院军事医学研究院毒物药物研究所

通信作者:王勃(1977-),女,博士后,副研究员,硕士生导师,主要从事老年性痴呆、脑卒中分子机制研究。

第一作者:李超(1976-),男,硕士,副教授,硕士生导师,主要从事老年性痴呆、麻醉研究。

阿尔茨海默病(AD)俗称老年痴呆症,大量研究表明,β 淀粉样蛋白(Aβ)诱导产生的慢性神经源性炎症直接或间接影响神经再生能力、神经可塑性等学习记忆,与 AD 疾病发生及病程进展关系密切^[1,2]。大麻素 2 型受体(CB2R)属于 G 蛋白耦联受体超家族,主要分布于外周免疫细胞和中枢神经系统内的小胶质细

胞,在免疫炎症方面发挥重要调节作用。大量研究表明,在神经退行性疾病模型中,CB2R 激动剂具有减轻神经源性炎症反应,改善认知功能损伤等神经保护作用^[3-5]。但关于 CB2R 激动剂对 AD 疾病学习记忆密切相关的神经可塑性的影响研究较少。本研究通过观察长期选择性 CB2R 激动剂 JWH-015 预防给药对 APP/PS1 转基因小鼠空间认知功能、AD 疾病脑内海马脑区慢性神经性炎症和神经可塑性的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级 APP/PS1 转基因鼠,购于美国 JacksonLab 实验室,由军事科学院军事医学研究院毒物药物研究所新药评定实验室繁育饲养。实验小鼠分笼饲养于清洁级动物饲养房内,每笼 10 ~ 15 只,可自由摄食饮水,日光灯照明,每 12 h 进行明暗交替。

1.2 主要试剂及仪器 JWH-015 (批号 041M4613V, 美国 Sigma 公司); 刚果红染色试剂盒 (批号 SCBC2869, 美国 Sigma 公司); 兔源抗离子型钙结合受体分子 (Iba)1 多克隆抗体 (批号 WEE4506, 日本 Wako 公司); 鼠源抗胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 单克隆抗体 (批号 2898361, 美国 Millipore 公司); 高尔基染色试剂盒 (货号 PK401, 美国 FD 公司); OCT 组织包埋剂、荧光二抗 (北京中杉金桥生物有限公司)。Morris 水迷宫, 北京鼎大生物科技公司; 冰冻切片机 (英国 Leica 公司); 荧光正置显微镜 (日本 Nikon 公司); VS120 光学显微镜 (日本 Olympus 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组及给药 实验分别选取健康的 6 月龄 APP/PS1 小鼠和同龄野生型 (WT) 小鼠, 接受选择性 CB2R 激动剂 JWH-015 (CB1R 的 Ki 值为 383 nmol/L, CB2R 为 13.8 nmol/L) 或对照溶剂 (VEH) 的处理, 随机分为溶剂对照组 (WT+VEH)、AD 模型组 (APP/PS1 + VEH)、JWH-015 处理组 (APP/PS1+JWH-015) 和 JWH-015 单药组 (WT+JWH-015)。JWH-015 处理组和 JWH-015 单药组小鼠接受连续 8 w 腹腔注射 JWH-015 0.5 mg · kg⁻¹ · d⁻¹, 溶剂对照组和 AD 模型组腹腔注射等体积含有 1% 二甲基亚砜 (DMSO) 的生理盐水。

1.3.2 Morris 水迷宫实验检测小鼠定位航行能力 将小鼠分别从 I、II、III、IV 象限边缘中点, 面壁轻轻放入水中, 自由探索 60 s, 记录小鼠成功登上水下隐藏平台的时间, 即上台潜伏期。在 60 s 内登上隐藏平台并停留 10 s 者, 视为成功登上平台; 若未能成功登上平台的小鼠, 则人工将其引导至平台, 并停留 10 s, 其潜伏期记录为 60 s。每天每只小鼠训练 4 次, 训练的象限顺序随机且不同, 计算每天 4 个象限的平均潜伏期。

1.3.3 Morris 水迷宫实验检测小鼠空间探索实验

第 6 天时去除第 I 象限的水下平台, 从第 III 象限将小鼠放入水池内, 记录 60 s 内小鼠穿越原隐藏平台位置的次数。

1.3.4 免疫荧光实验检测神经源性炎症 采用 50 mg/kg 异戊巴比妥钠腹腔麻醉小鼠, 用生理盐水和 4% 多聚甲醛由心灌流固定。取出小鼠脑组织, 然后置入 4% 多聚甲醛液 4℃ 固定过夜, OCT 包裹后使用冰冻切片机, 作 20 μm 厚冠状切面切片。采用免疫荧光法检测 GFAP、Iba1 的免疫荧光强度。取脑组织切片于 pH6.0 柠檬酸盐缓冲中进行高温热修复, 磷酸盐缓冲液 (PBS) 清洗后滴加稀释的一抗, 4℃ 过夜; 次日 PBS 清洗, 滴加相应二抗, 室温孵育 1 h 后 PBS 清洗, 4'-6'-二脒基-2-苯基吡啶 (DAPI) 染核后 PBS 清洗, 滴加适量抗荧光猝灭封片剂, 加盖玻片封片保存。各组选取相同位置的 5 张切片进行组织荧光染色, 使用 Nikon 正置荧光显微镜于 10 倍物镜观察拍摄海马脑区图片, 使用 Image Pro Plus 7.0 用于分析免疫荧光强度。

1.3.5 高尔基染色检测神经可塑性 参照文献^[6], 深麻醉下直接断头取脑, 快速置于 5 ml 固定液中 (A、B 等体积混合液配制), 室温避光保存 2 w; 将脑组织转于 5 ml C 液处理, 室温避光保存 1 w; 使用干冰预冷的异戊烷将脑组织速冻, 切取厚约 100 μm 含海马脑区的冠状面切片; 将切片浸泡于染色液 (D 液 : E 液 : ddH₂O = 1 : 1 : 2, 现用现配) 中, 室温避光孵育 10 min; 常规梯度酒精、二甲苯脱水、透明, 中性树脂封片。使用 VS120 光学显微镜在 60 倍物镜下分别拍摄各组脑片。使用 image pro plus 7.0 医学图像分析系统测量海马齿状回 (DG) 区颗粒细胞单位树突长度内的棘突密度 (为减少误差, 统一选择选择第一分枝节点后树突分枝, 长度至少 50 μm)。每组小鼠从相同位置的脑区切片上选取 30 ~ 45 个神经元用于进行统计分析。

1.4 统计学处理 采用 Graphpad5.0 软件进行方差分析、t 检验。

2 结果

2.1 CB2R 激动剂 JWH-015 对各组小鼠空间学习记忆能力的影响 如表 1 所示, 随着训练天数的增加, 各组小鼠上台潜伏期不同程度的下降。AD 模型组第 5 天上台潜伏期和第 6 天穿台次数较溶剂对照组分别延长 36.4% 和减少 50.6%, 差异有统计学意义 (均 P < 0.05)。JWH-015 处理组小鼠第 5 天上台潜伏期较 AD 模型组缩短 25.5%, 差异有统计学意义 (P < 0.05); 图 1 为各组小鼠定位航行实验第 5 天的典型轨迹图。在第 6 天空间探索实验中, JWH-015 处理组小鼠的穿台次数较 AD 模型组有增加的趋势, 但差异无统计学意义 (P > 0.05)。各组小鼠每天的平均游泳速度差异无统计学意义 (P > 0.05), 见表 2。

表1 JWH-015 对各组小鼠 Morris 水迷宫实验潜伏期和穿台次数的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	潜伏期(s)					穿台次数(次)
	第1天	第2天	第3天	第4天	第5天	
溶剂对照组	50.4±9.98	48.13±12.31	44.95±13.27	39.17±14.10	34.60±12.32	1.58±0.29
JWH-015 单药组	51.76±9.37	42.22±12.59	43.25±10.40	33.20±11.98	28.31±9.89	1.28±0.13
AD 模型组	57.26±6.82	51.69±10.31	43.28±13.35	43.82±15.27	47.21±11.21 ¹⁾	0.78±0.17 ¹⁾
JWH-015 处理组	54.41±7.69	49.46±9.94	39.22±12.09	35.03±7.96	35.18±13.27 ²⁾	1.09±0.20

与溶剂对照组比较:1) $P<0.05$;与 AD 模型组比较:2) $P<0.05$

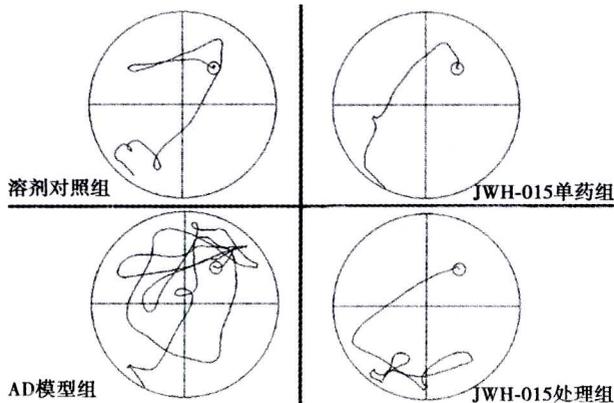


图1 定位航行实验第5天各组小鼠典型轨迹图

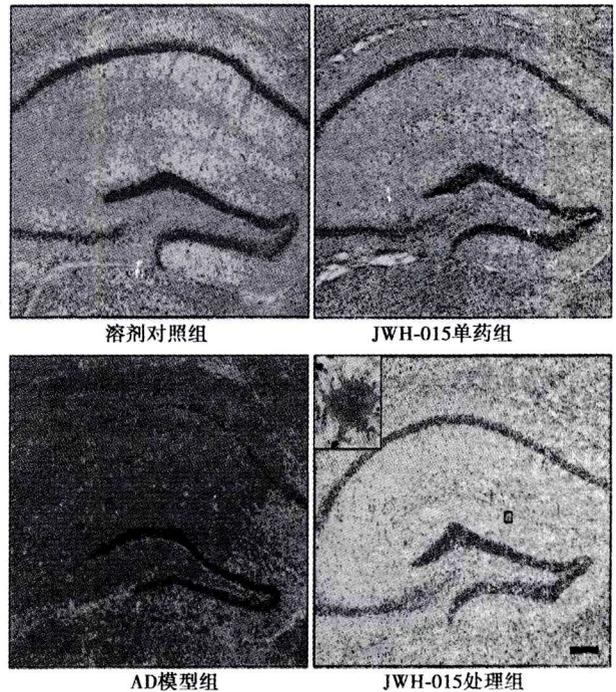


图2 各组小鼠海马老年斑沉积的典型刚果红染色图片 ($\times 40$)

2.2 CB2R 激动剂 JWH-015 对各组小鼠海马脑区 A β 斑块沉积数目的影响 刚果红染色结果显示, APP/PS1 小鼠海马脑区均出现明显的 A β 斑块, 呈浅红色点片状。而同龄 WT 小鼠海马脑区均未出现阳性染色斑块。见图 2。AD 模型组和 JWH-015 处理组小鼠海马脑区 A β 斑块数目分别为 (5.30 ± 0.69) 个和 (5.15 ± 0.80) 个, 两组差异无统计学意义 ($P>0.05$), 溶剂对照组与 JWH-015 单药组均无 A β 斑块。

表2 JWH-015 对各组小鼠 Morris 水迷宫实验游泳速度的影响 ($\text{mm/s}, \bar{x}\pm s, n=10$)

组别	第1天	第2天	第3天	第4天	第5天
溶剂对照组	136.9±17.74	112.9±7.95	100.4±20.10	87.88±15.86	82.02±19.01
JWH-015 单药组	147.5±19.29	114.0±23.21	110.4±21.75	92.3±21.55	87.73±22.93
AD 模型组	140.8±19.71	127.8±22.92	109.4±21.64	98.07±34.17	95.90±36.99
JWH-015 处理组	146.9±23.37	133.4±26.20	113.1±34.5	110.2±27.57	96.90±31.35

2.3 CB2R 激动剂 JWH-015 对各组小鼠海马脑区胶质细胞免疫反应性的影响 星形胶质细胞免疫荧光染色中, AD 模型组小鼠海马脑区 GFAP 免疫荧光强度与溶剂对照组、JWH-015 处理组差异无统计学意义 ($P>0.05$)。小胶质细胞免疫荧光染色中, AD 模型组小鼠海马脑区内 Iba1 免疫荧光强度与溶剂对照组、JWH-015 处理组差异有统计学意义 ($P<0.05$), 见表 3, 图 3。

2.4 CB2R 激动剂 JWH-015 对各组小鼠海马区神经可塑性的影响 溶剂对照组小鼠海马 DG 区锥体神经元棘突密度为 $[(10.29\pm 2.20)$ 个/ $10\ \mu\text{m}$], 而 AD 模型组为 $[(9.01\pm 2.30)$ 个/ $10\ \mu\text{m}$], 较溶剂对照组下降

12.4%, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 而 JWH-015 处理组为 $[(9.14\pm 2.07)$ 个/ $10\ \mu\text{m}$], 与 AD 模型组 $[(9.01\pm 2.30)$ 个/ $10\ \mu\text{m}$] 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 见图 4。

表3 JWH-015 对各组小鼠海马区 GFAP 及 Iba1 免疫荧光强度的影响 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	GFAP	Iba1
溶剂对照组	1.0±0.18	1.0±0.46 ¹⁾
JWH-015 单药组	0.73±0.13	1.09±0.29
AD 模型组	1.65±0.16	5.21±1.03
JWH-015 处理组	1.77±0.43	2.36±0.38 ¹⁾

与 AD 模型组比较:1) $P<0.05$

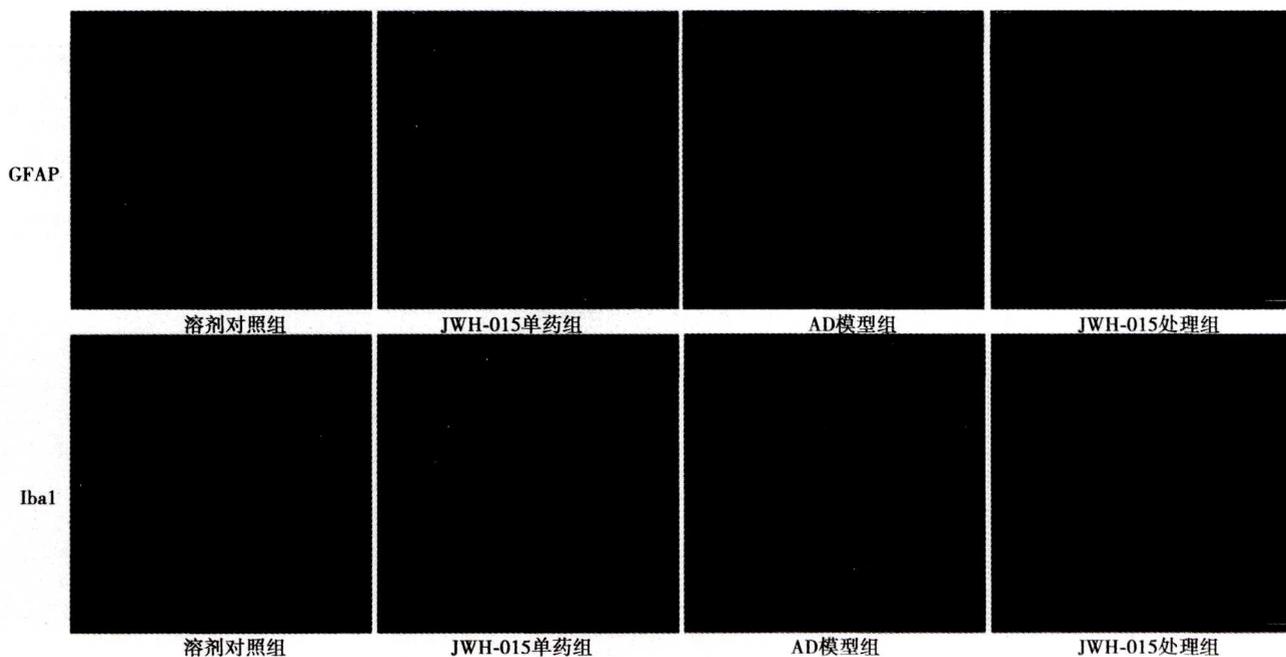
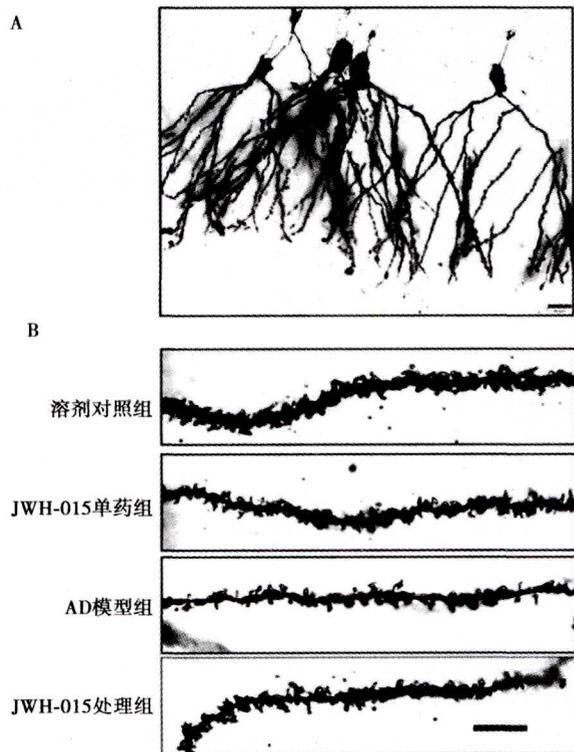


图 3 各组小鼠海马 GFAP、Iba1 免疫荧光示意图(×100)



A: 海马 DG 区神经元高尔基染色(×400), B: 各组小鼠海马 DG 区神经元棘突的高尔基染色(×600)

图 4 高尔基染色结果

3 讨论

CB2R 在脑内主要分布于激活的小胶质细胞,并高表达于 AD 患者脑内,提示其作为脑内生理抗感染调节靶点的可能性^[6]。本研究发现,8 月龄 APP/PS1 转基因 AD 小鼠较同龄 WT 小鼠出现典型的空间学习

记忆能力障碍。有文献报道,连续 4 个月 CB2R 激动剂 JWH-133 处理能够逆转老年 APP2576 转基因 AD 模型小鼠新奇物体识别能力的损伤^[7];另有报道,新型 CB2R 激动剂 MDA7 处理能够显著提高 Aβ_{1~40} 海马注射 AD 模型 Morris 水迷宫的潜伏期与穿台次数表现^[6];而本研究显示,JWH-015 预防性给药能够显著降低 APP/PS1 小鼠的潜伏期,但对穿台次数无显著性影响,与以往研究^[7]结论有所不同。造成这一差异的原因除与模型动物、给药种类及处理时程有关外,主要可能与不同药物激动 CB2R 对 AD 小鼠脑内 Aβ 斑块沉积及神经源性炎症反应的影响程度不同有关。

Aβ 斑块沉积和慢性神经源性炎症是 AD 的重要病理特点,也是 AD 学习记忆损伤与病情进展的重要原因。研究表明,CB2R 激动剂 JWH-133 及 MDA7 处理能够促进 AD 小鼠脑内 Aβ 的清除、降低 Aβ 的沉积并减轻炎性细胞的反应性^[7]。但本研究结果提示 JWH-015 预防给药改善 AD 模型小鼠空间学习记忆能力可能与调节海马脑区小胶质细胞免疫反应性有关。

神经可塑性是指感知各种内外源刺激后脑内神经元突触成分、轴突、棘突等发生结构功能调节的重要过程,是维持正常学习认知功能的重要方面。研究表明,Aβ 蛋白的神经毒性作用和慢性神经源性炎症可以引起突触、神经元结构和功能异常,并导致进行性的学习记忆能力下降^[8-10]。本研究结果提示神经可塑性降低可能是 Aβ 相关的神经源性炎症引发 AD 模型小鼠空间认知能力损伤的机制。尽管有文献报道,MDA7 显著改善 Aβ_{1~40} 海马注射 AD 模型小鼠海马 CA1 区长时程增强(LTP)^[6],但本研究中 JWH-015 预防性给药并未对 AD 模型小鼠海马 DG 区颗粒细胞棘突密

度产生显著性影响。原因可能与 CB2R 激动剂对 AD 模型小鼠海马脑区的神经源性炎症的调节程度有关;而这也可能是 JWH-015 预防性处理未能完全逆转的 AD 模型组 Morris 水迷宫学习记忆能力损伤的原因,但有待于进一步研究。

综上,CB2R 激动剂 JWH-015 对 AD 模型小鼠的空间学习记忆能力损伤有一定改善作用,其作用机制可能与海马区胶质细胞免疫反应性有关。

4 参考文献

- 1 Kohman RA, Rhodes JS. Neurogenesis, inflammation and behavior[J]. *Brain Behav Immun*,2013;27(1):22-32.
- 2 Chung WS, Welsh CA, Barres BA, et al. Do glia drive synaptic and cognitive impairment in disease[J]. *Nat Neurosci*,2015;18(11):1539-45.
- 3 Kruk-Slomka M, Dzik A, Budzyska B, et al. Endocannabinoid system: the direct and indirect involvement in the memory and learning processes—a short review[J]. *Mol Neurobiol*,2016;53(1):1-16.
- 4 Cassano T, Calcagnini S, Pace L, et al. Cannabinoid receptor 2 signaling in neurodegenerative disorders: from pathogenesis to a promising thera-

- peutic target[J]. *Front Neurosci*,2017;11:30.
- 5 Aso E, Ferrer I. CB2 cannabinoid receptor as potential target against alzheimer's disease[J]. *Front Neurosci*,2016;10(37):243.
- 6 Wu J, Bie B, Yang H, et al. Activation of the CB2 receptor system reverses amyloid-induced memory deficiency[J]. *Neurobiol Aging*,2013;34(3):791-804.
- 7 Martín-Moreno AM, Brera B, Spuch C, et al. Prolonged oral cannabinoid administration prevents neuroinflammation, lowers β -amyloid levels and improves cognitive performance in Tg APP 2576 mice[J]. *J Neuroinflammation*,2012;9(1):1-15.
- 8 Spires-Jones T, Knaf S. Spines, plasticity, and cognition in Alzheimer's model mice[J]. *Neural Plast*,2012;2012:319836.
- 9 Gengler S, Hamilton A, Hölscher C. Synaptic plasticity in the hippocampus of a APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease is impaired in old but not young mice[J]. *PLoS One*,2010;5(3):e9764.
- 10 Deng X, Li M, Ai W, et al. Lipopolysaccharide-induced neuroinflammation is associated with Alzheimer-like amyloidogenic axonal pathology and dendritic degeneration in rats[J]. *Adv Alzheimer Dis*,2014;3(2):78-93.

[2018-02-11 修回]
(编辑 滕欣航)

葛根素对糖尿病性白内障大鼠模型病情进展的影响

张 剑 韩方菊¹ (佳木斯大学附属第一医院眼科,黑龙江 佳木斯 154002)

[摘要] 目的 研究葛根素调控凋亡进而影响大鼠糖尿病性白内障进程及机制。方法 将 Wistar 雄性大鼠随机分为对照组、模型组和葛根素治疗组,其中模型组和葛根素治疗组应用链脲佐菌素(STZ)制备糖尿病性白内障大鼠模型。葛根素治疗组每日腹腔注射葛根素,对照组和模型组每日腹腔注射生理盐水。于实验后测量各组体重、血糖及应用 Western 印迹实验检测晶状体前囊膜中肿瘤蛋白 53(P53)水平。结果 实验后 4、8 和 12 w,与对照组比较,模型组和葛根素治疗组体重显著降低,血糖显著升高($P < 0.01$);实验后 8 和 12 w,与模型组比较,葛根素治疗组体重显著升高,血糖显著降低($P < 0.05$);实验后 12 w,对照组 P53 蛋白表达量显著低于模型组与葛根素治疗组($P < 0.01$),模型组 P53 表达显著高于葛根素治疗组($P < 0.01$)。结论 葛根素可经改善胰岛素抵抗状态、下调 P53 蛋白水平而对大鼠糖尿病性白内障发挥治疗作用。

[关键词] 葛根素;糖尿病性白内障;肿瘤蛋白 53(P53);细胞凋亡

[中图分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9202(2018)09-2195-02;doi:10.3969/j.issn.1005-9202.2018.09.057

糖尿病临床上以高血糖为主要指标,可导致多器官系统损害,尤其以眼、心脏、神经、血管、肾损伤最多见^[1]。糖尿病性眼病最常见类型是白内障,它可致患者视力减退,直至失明。目前糖尿病性白内障的治疗策略仍以手术为主,但对于不适于手术治疗的,给予相应药物以延缓糖尿病性白内障进程就显得格外重要。葛根素是从葛根中分离提取而成的一种中药成分,主要活性成分为葛根黄酮,具有广泛的生物活

性^[2]。本实验分析葛根素治疗对糖尿病性白内障大鼠体重、血糖及晶状体前囊膜肿瘤蛋白(P53)表达的影响及作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物、材料及试剂 清洁级 Wistar 雄性大鼠 30 只[体重(180±10)g,北京维通利华];链脲佐菌素(STZ),美国 Sigma;葛根素(浙江康恩贝制药);P53 抗体(美国 Santa Cruz 公司); β -actin 和辣根过氧化物酶标记二抗(北京中杉金桥)。

1.2 动物筛选 实验前 Wistar 雄性大鼠进行以下两项指标检测,达到者具备造模标准,不符合任一指标者弃用:①散瞳后裂隙灯检测确认晶状体透明度正常;②空腹采尾静脉血,测得血糖浓度<16.7 mmol/L。

1.3 模型制备与葛根素干预 将实验大鼠随机分成

基金项目:黑龙江省自然科学基金项目(No. D200966);佳木斯大学研究生科技创新项目(YM2016_006)

1 济南市第二人民医院

通信作者:韩方菊(1973-),女,医学硕士,副主任医师,主要从事白内障及视网膜疾病的诊治研究。

第一作者:张 剑(1977-),女,医学硕士,主治医师,主要从事白内障及视网膜疾病的诊治研究。