

学校编码: 10384

分类号

密级

学号: 20120051302114

UDC

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

在皂甙和丙烯酰胺诱导下海兔脑神经节及神经
连索的差异蛋白质组研究

**Differential Proteome of Cerebral Ganglion Including
Neural Connective Induced with both Saponins and
Acrylamide in *Aplysia***

冯丽剑

指导教师姓名: 黄 河 清 教授

专 业 名 称: 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2008 年 4 月 24 日

论文答辩时间: 2008 年 6 月 4 日

学位授予日期: 2008 年 月 日

答辩委员会主席: 陈 清 西

评 阅 人:

2008 年 4 月

厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文而产生的权利和责任。

声明人(签名): 冯丽剑

2008年 6月 4日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版,有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅,有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索,有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后使用本规定。

本学位论文属于

- 1、保密(), 在 年解密后适用本授权书。
- 2、不保密()

(请在以上相应括号内打“√”)

作者签名: 冯丽剑

日期: 2008年6月4日

导师签名: 黄河清

日期: 2008年6月4日

中文摘要

海兔 (*Aplysia*) 归属于腹足纲软体动物, 它的中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 是开展分子神经生物学研究的经典模式之一。研究海兔 CNS 功能蛋白质和多肽结构与功能有助于科学地揭示人及高等动物神经系统的活动规律和调控机制, 例如: 记忆形成、神经性生理调控和神经系统疾病起因等。三七 (*Panax notoginseng*, PN) 是中国传统中草药之一, 其主要成分为皂甙, 具有促智、延缓衰老等保护神经系统功能。

采用薄层层析(TLC)、高效液相色谱(HPLC)和基质辅助激光解吸飞行时间质谱 (MALDI-TOF-MS) 分析三七提取液 (*Panax notoginseng* extract, PNE) 组成, 指出三七的主要成分为人参皂甙 Rb1、Rg1、Re 和三七皂甙 R1, 占总皂甙 80% 以上。

选用蓝斑背纲海兔 (*Notarcus leachii cirrosus* Stimpson, NLCS) 的 CNS 为实验材料, 采用蛋白质组技术, 初步鉴定了 NLCS 受 PNE 诱导后, 其神经连索表达差异蛋白有肌动蛋白、3-羟酯酰辅酶 A 脱氢酶、ABC 转运子、甲基转移酶等。经 R1 诱导后, 其神经连索表达的差异蛋白是凋亡抑制蛋白、26S 蛋白酶体、酰基辅酶 A 脱氢酶和甲基转移酶等。为了获得更详细的信息, 对这些差异蛋白进行了亚细胞定位, 通过比对分析后, 作者认为这些差异蛋白可能与学习记忆, 神经系统疾病有关。阐明 PNE 和 R1 的作用机制起着重要的作用, 其结果可为今后开展神经疾病预防和治疗提供科学依据和新颖途径。

丙烯酰胺 (Acrylamide, ACR) 是一种常见的神经毒剂, 它直接损伤神经系统。三七皂甙组成能起到减缓神经损伤的作用。选用杂斑海兔 (*Aplysia juliana*, AJ) 的 CNS 为实验材料, 筛选出 AJ 经 ACR 毒害后, PNE 对 AJ 大脑神经节产生恢复 (拮抗) 过程中的差异蛋白质。指出 AJ 的大脑神经节经 ACR 毒害后, 产生了 24 个差异蛋白, 但经 PNE 恢复处理后, 产生了拮抗效应, 消除了多数差异蛋白质的表达, 使其表达量接近对照组, PNE+ACR 和 ACR+PNE 的效果并不完全一样。经过数据库检索, 发现有 3 个蛋白质已经报道与神经系统损伤有关, 分别是热休克蛋白 20、磷酸丙糖异构酶和短链脱氢酶。此研究有助于阐明 ACR 在脑神经节代谢过程中所产生的毒性机理, 以及探讨 PNE 在保护 ACR 毒性效应的方式, 对实践应用具有指导意义。

关键词：海兔；蛋白质组；三七提取液；R1；丙烯酰胺

厦门大学博硕士学位论文摘要库

Abstract

Aplysia is a kind of mollusk animal belonging to gastropod class, its central nervous system (CNS) is one of the classical models for molecular neuroscience research. The research on function proteins and peptides in *Aplysia* CNS is helpful to elucidate the activity pattern and regulation mechanism of CNS in higher animals including human, such as formation of memory, neuronal modulation and the pathology of CNS disease etc.. *Panax notoginseng*(PN) is one of the traditional Chinese herbs, its main ingredients are saponins, which have protective effect on nervous system, such as nootropic and delay of senility.

TLC, HPLC, MALDI-TOF-MS were used to analyse the composition of Extract of *Panax notoginseng* (PNE). Ginsenoside Rb1, Rg1, Re and notoginsenoside R1 accounting for above 80% of total saponins were the main ingredients of *Panax notoginseng*.

The CNS in *Notarcus leachii cirrosus* Stimpson(NLCS) was chosen as the experiment material. Proteomic techniques were employed to preliminary identify the differentially expressed proteins such as Actin, 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase, ABC transporter and methyltransferase induced with PNE. After R1 inducement, apoptotic suppressor protein, acyl-CoA dehydrogenase, 26S proteasome and methyltransferase differentially expressed. These proteins were further subcellular located for the purpose of getting detail information. Through analogy analysis, we suggest that these differential proteins are connected with both learning, memory and neurodisease development. These work plays much important roles in revealing the action mechanism of PNE and R1, could provide a scientific basis and novel way for neurodisease prevention and therapy in future.

Acrylamide(ACR) is a common neurotoxic agent, it leads to nervous system injury directly. Saponins in *Panax notoginseng* have the function of alleviating nerve injury. The CNS in *Aplysia Juliana*(AJ) was used as research material. The experimental results showed that there were 24 differential proteins in cerebral ganglion(CG) of AJ treated with ACR. But after PNE recovery processing, most of

differential proteins were eliminated because of its antagonistic effect. So the expression level of these proteins was close to control group, while the effects of PNE+ACR and ACR+PNE were not totally the same. After database search, there were three proteins related to nervous system injury, such as heat shock protein 20, short chain dehydrogenase and Triose-phosphate isomerase. This work was helpful to elucidate the toxic mechanism of ACR during the metabolic process in CG, study the protective role of PNE against ACR-induced neurotoxicity. The results have guiding significance for practical application.

Keywords: Aplysia; proteomics; *Panax notoginseng* extract; R1; Acrylamide

目录

| | |
|----------------------------------|----|
| 第一章 前言 | 1 |
| 1. 三七的研究进展 | 1 |
| 1.1 三七对神经系统的保护功能 | 1 |
| 1.2 三七主要化学成分和分析技术 | 3 |
| 1.3 三七对神经元蛋白表达的影响 | 5 |
| 2. 海兔的研究进展 | 8 |
| 2.1 海兔的生活习性 | 8 |
| 2.2 海兔的中枢神经系统 | 9 |
| 2.3 海兔 CNS 功能蛋白的研究进展 | 9 |
| 3. 蛋白质组学分析技术及研究进展 | 13 |
| 3.1 蛋白样品的制备 | 14 |
| 3.2 蛋白质的分离 | 14 |
| 3.3 蛋白质的质谱鉴定 | 16 |
| 3.4 生物信息技术 | 17 |
| 3.5 不足与展望 | 17 |
| 4. 蛋白质组学在神经科学中的应用 | 18 |
| 4.1 在研究神经系统特定结构中的应用 | 19 |
| 4.2 亚细胞提取物的蛋白质组学分析 | 19 |
| 4.3 蛋白质组学在神经系统疾病中的应用 | 20 |
| 4.4 中枢神经系统神经毒性物质损伤和药物成瘾性疾病 | 21 |
| 4.5 在神经系统药物研制中的应用 | 21 |
| 5. 本论文研究的内容和意义 | 22 |
| 第二章 材料与方法 | 24 |
| 1. 材料 | 24 |
| 2. 主要仪器设备 | 24 |
| 3. 主要试剂 | 24 |
| 4. 试剂配制 | 25 |

| | |
|-------------------------------------|-----------|
| 4.1 样品裂解液..... | 25 |
| 4.2 凝胶电泳配方..... | 25 |
| 4.3 银染液配方..... | 26 |
| 4.4 胶内酶解试剂..... | 26 |
| 4.5 质谱基质..... | 27 |
| 4.6 皂甙的提取、分离相关溶液..... | 27 |
| 5. 实验方法..... | 27 |
| 5.1 蛋白质组的制备..... | 27 |
| 5.2 蛋白含量的测定..... | 28 |
| 5.3 三七的薄层层析分离..... | 28 |
| 5.4 三七的高效液相分离..... | 28 |
| 5.5 双向电泳..... | 28 |
| 5.6 银染色法..... | 29 |
| 5.7 银染后的肽质量指纹图谱分析..... | 29 |
| 5.8 肽质量指纹图谱的数据库检索..... | 30 |
| 第三章 结果与讨论..... | 32 |
| 1. PNE 主要成分的鉴定..... | 32 |
| 1.1 薄层层析法 (TLC) 分离鉴定 PNE 主要成分..... | 32 |
| 1.2 高效液相色谱法 (HPLC) 分析 PNE 主要成分..... | 33 |
| 1.3 MALDI-TOF 分析 PNE 主要成分..... | 34 |
| 2. PNE 诱导下, NLCS 神经连索差异蛋白质组..... | 35 |
| 3. 三七皂甙 R1 诱导下, 神经连索的差异蛋白质组..... | 42 |
| 4. PNE 拮抗丙烯酰胺诱导 AJ 脑神经节蛋白质组..... | 50 |
| 第四章 小结..... | 61 |
| 附件..... | 62 |
| 参考文献..... | 67 |
| 缩略语表..... | 78 |
| 发表论文一览表..... | 80 |

CONTENTS

| | |
|---|----|
| Chapter 1 Foreword | 1 |
| 1. Progress study on PN | 1 |
| 1.1 Protective role of PN for CNS | 1 |
| 1.2 Main chemical ingredients and analysis methods | 3 |
| 1.3 PN effect on neuron protein expression | 5 |
| 2. Progress study on Aplysia | 8 |
| 2.1 Life habit of Aplysia..... | 8 |
| 2.2 CNS of Aplysia..... | 9 |
| 2.3 Progress study on Aplysia CNS functional protein..... | 9 |
| 3. Progress study on proteomics | 13 |
| 3.1 Preparation for protein sample | 14 |
| 3.2 Separation of proteins..... | 14 |
| 3.3 Analysis of proteins by mass Spectrometry..... | 16 |
| 3.4 Biology information technology | 17 |
| 3.5 Deficiencies and expectations | 17 |
| 4. Proteomics in neuroscience | 18 |
| 4.1 Applied to study the specific structure in CNS..... | 19 |
| 4.2 Proteomics analysis on subcellular extract | 19 |
| 4.3 Used to study the nervous system diseases..... | 20 |
| 4.4 CNS neurotoxicity injury and drug addiction | 21 |
| 4.5 Research on nervous system drug..... | 21 |
| 5. Content and sense of this paper | 22 |
| Chapter 2 Materials and Methods | 24 |
| 1. Materials | 24 |
| 2. Main equipment | 24 |
| 3. main reagent | 24 |
| 4. Prescription of reagent | 25 |
| 4.1 Sample lysis..... | 25 |

| | |
|---|-----------|
| 4.2 Prescription of gel electrophoresis | 25 |
| 4.3 Reagents of silver stain | 26 |
| 4.4 Reagents of enzyme digestion in gel | 26 |
| 4.5 Matrix | 27 |
| 4.6 Reagents of saponins extraction and separation | 27 |
| 5. Methods | 27 |
| 5.1 Preparation of proteome sample | 27 |
| 5.2 Determination protein content | 28 |
| 5.3 PNE separated by TLC | 28 |
| 5.4 PNE separated by HPLC | 28 |
| 5.5 2DE | 28 |
| 5.6 Silver stain | 29 |
| 5.7 PMF analysis | 29 |
| 5.8 Database searching of PMF | 30 |
| Chapter 3 Results and Discussion | 32 |
| 1. Main ingredients of PNE | 32 |
| 1.1 Main ingredients of PNE identified by TLC | 32 |
| 1.2 Main ingredients of PNE identified by HPLC | 33 |
| 1.3 Main ingredients of PNE identified by MALDI-TOF-MS | 34 |
| 2. Differential proteome of NLCS neural connective induced with PNE | 35 |
| 3. Differential proteome of NLCS neural connective induced with R1 | 42 |
| 4. PNE antagonize Differential proteome of AJ cerebral ganglion induced with ACR | 50 |
| Chapter 4 Conclusion | 61 |
| Attachments | 62 |
| References | 67 |
| Table of brief words | 78 |
| Table of papers | 80 |

第一章 前言

1. 三七的研究进展

1.1 三七对神经系统的保护功能

三七为临床常用中药，来源于五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F.H.Chen 的根。始载于《本草纲目》，又名山漆、田七、金不换，性温，味甘、微苦，无毒。功能散瘀止血，消肿定痛。临床广泛用于各种出血瘀血之症以及跌打损伤，瘀滞肿痛，具有止血不留瘀的独特功效。三七总皂甙 (*Panax notoginseng* saponins, PNS) 是三七的主要药用活性成分，其主要成分为人参皂甙 Rb1、Rg1、Re 和三七皂甙 R1。现代药理研究认为，三七对心血管系统、血液系统、免疫系统及代谢均有不同的影响和药理作用。由于三七皂甙易于获得，所以现代药理研究大多以三七皂甙报道为多，近年来三七及其制剂在神经系统疾病方面的临床应用及药理学研究受到了越来越多的关注，已有许多报道称三七能在许多疾病模型中，改善学习和记忆功能^[1,2,3]，因此它可以作为许多神经退行性疾病相关的神经元死亡和记忆衰退的阻断剂。

三七具有抗氧化作用，可以清除体内氧自由基。超氧阴离子，羟基自由基，过氧化氢都是活性氧基团 (reactive oxygen species, ROS)。ROS 可以与碳水化合物，蛋白质，脂质和核酸等生物分子相互作用或发生氧化还原反应，相当多的证据显示生物体内 ROS 的积累可造成组织氧化损伤，影响细胞的完整性和正常功能。在神经系统，老年性痴呆症、震颤麻痹症、癫痫等疾病都有氧自由基的参与。氧自由基的过度活跃明显影响机体的衰老过程，三七通过抗氧化等清除，抑制自由基的活性，可明显延长机体的平均寿命。三七具有提高抗氧化酶活力来清除、抑制氧自由基的能力^[4,5]，例如在三七作用后，体内超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶和谷胱甘肽S转移酶含量上升^[6]，因此它在延缓衰老，促智，预防神经系统疾病有巨大应用价值。三七的抗氧化特性是其发挥药理作用的重要部分，但其机制还不是很清楚。

三七可以抑制细胞内 Ca^{2+} 超载。中枢神经系统细胞内谷氨酸盐积累可引起神经元死亡并伴随脑缺血、血糖过低症等。谷氨酸盐毒性归因于大量 Ca^{2+} 涌入细胞内，持续上升的 Ca^{2+} 浓度开启了兴奋毒性过程，最终会导致神经元死亡^[7,8,9]。其过程是一些 Ca^{2+} 依赖酶被活化了，如 NADPH 氧化酶、胞质磷脂酶 A2、黄嘌呤氧

化酶、神经元一氧化氮合成酶，这些酶产生了活性氧和活性氮，使得核酸、脂类、糖和蛋白被氧化修饰，使得细胞核和线粒体损伤，蛋白酶体抑制，内质网应激反应^[10]。Kim等报道PNS可以通过抑制N-甲基-D-天冬氨酸受体（N-methyl-D- aspartate receptors, NMDAR）来削弱Ca²⁺流入细胞^[11, 12]。PNS还可通过激活百日咳毒素敏感G蛋白来可逆地阻断Ca²⁺高阈值电流进入感觉神经元内^[13, 14]。由此可见，抑制细胞内Ca²⁺超载是三七发挥神经保护功能的机制之一。

三七可以增加乙酰胆碱（ACh）的合成和M型乙酰胆碱受体（mAChRs）。阿尔茨海默病（Alzheimer's Disease, AD）是一种神经退行性疾病，乙酰胆碱能神经元以及大脑皮层和海马区mAChRs的丢失与这种疾病的发生密切相关，目前治疗AD的药物研究主要是寻找mAChRs激动剂。现代医学目前对AD尚无有效的治疗方法，PNS治疗AD已引起重视和关注，但其作用机制仍不十分清楚。已有报道皂甙可以通过cAMP介导的基因激活途径使得mAChRs表达上调，从而达到治疗AD的作用^[15]。PNS对老年性痴呆大鼠动物模型大脑胆碱能神经元具有较强的保护作用，通过改善和修复受损神经元而提高细胞存活的数量和质量、提高胆碱乙酰转移酶的含量和活性，从而保护和改善中枢胆碱能系统的功能，发挥抗老化、抗痴呆的作用^[16]。

三七具有抑制神经细胞凋亡的功能。中枢神经系统（central nervous system, CNS）不同部位特殊类型神经元的逐渐丧失是各种神经退变性疾病的病理特点。在发育期间CNS是一个强烈的凋亡部位（估计50%~80%的CNS神经元在发育期间死亡），特别容易受凋亡途径紊乱的损害，特别是涉及钙和自由基生成的途径。凋亡细胞的死亡及其辅助分子介质可能在许多神经退变性疾病均有作用，例如早老性痴呆、帕金森病、脊柱肌肉萎缩和肌萎缩性侧索硬化。Chen等报道三七主要成分之一Rg1在PC12细胞中，可以通过减少MPP⁺诱导的凋亡梯带样DNA片段的形成来削弱细胞凋亡作用，并且对MPP⁺诱导的小鼠黑质神经元凋亡具有保护作用^[17]。皂甙抗细胞凋亡作用还在于它们能增强Bcl-2和Bcl-x1的表达，减少Bax和一氧化氮合成酶的表达，抑制caspase-3的活化^[18]。同时也有研究表明在Rb1和Rg1作用下，大鼠脑组织中神经生长因子（Nerve growth factor, NGF）mRNA表达上升^[19]，并且在细胞培养中，两种皂甙都能加强NGF诱导的神经突生长^[20]。三七主要成分的抗凋亡作用也许就是它们在神经退行性疾病中发挥保护功能的

重要机制。

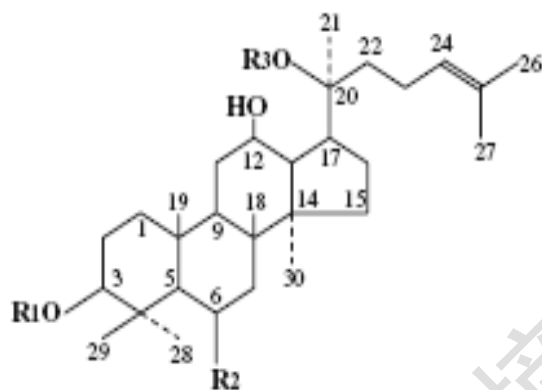
三七的另外一个功能是它能促进神经干细胞分化。在大多数中枢神经系统退行性疾病中，神经元和神经胶质细胞都丢失了。神经干细胞具有分化成神经元、星形胶质细胞的能力，成为非常有前景的治疗途径。神经干细胞的繁殖和分化是受神经生长因子的控制的，一些小分子可以模拟这些蛋白生长因子的生物学功能，对基础研究非常有用，而且具有潜在的临床应用价值。CNS再生的最终目的是形成功能神经元，它受许多因素影响，包括星状细胞的作用。PNS可以诱导神经干细胞向星状胶质细胞分化^[21]。近来研究发现，星状细胞不仅为神经元提供营养，还能与神经元建立神经信号^[22,23]。

1.2 三七主要化学成分和分析技术

三七中含有皂甙、黄酮甙、三七多糖等多种成份，而PNS为三七的主要药理活性成分。迄今为止，已从三七的不同部位分离得到二三十种单体皂甙成分，这些单体皂甙中有很多与人参和西洋参中所含皂甙成分相同，这些单体皂甙成分大多数为达玛烷型的20(S)-原人参二醇型[20(S)-protopanaxadiol]，如Rb1、Rb2、Rc、Rd等。20(S)-原人参三醇型[20(S)-peotopanaxatriol]，如Re、Rf、Rg1、Rg1、Rh1等，其中，尤以人参皂甙Rg1和Rb1含量最高。除此以外，也有一些是三七所独有的皂甙类成分，如三七皂甙(notoginsenoside)R1、R2、R4、R6、Fa、Fc、Fe等。但未发现含有齐墩果酸型皂甙，这与同属植物人参和西洋参有着显著区别。主要皂甙成分结构如图1.1所示。

提取是回收和纯化植物材料中的生物活性成分的重要步骤。三七中主要成分是人参皂甙，因此三七皂甙提取方法与人参皂甙的提取方法相类似。比较传统的方法就是先用乙醚脱脂，然后用甲醇或乙醇回流提取，水饱和正丁醇萃取，得到粗总皂甙。或先用甲醇或乙醇回流提取，浓缩所得浸膏加水溶解，用乙醚脱脂，水层用水饱和正丁醇萃取，得粗总皂甙。这两种方法结果都是一致的，但都很复杂，而且费时间，费溶剂。比较方便和低成本的方法是采用水和甲醇混合物联合超声技术，并在室温下振荡12小时。或者采用甲醇提取并进行加热回流方法或采用索氏提取器来提取的，但它们同时存在费时间、提取效率低，重复性差等缺点。近来一种新的提取方法—加速溶剂提取法，可以很好地克服传统方法的一些缺陷，已被广泛用于一些药用植物有效成分的提取，例如黄连素、皂甙等。还有微

波辅助萃取方法是对传统耗时的提取方法的替代, 15分钟的提取效果比传统方法10小时的提取效果更好。



| Ginsenoside | R.1 | R.2 | R.3 |
|-------------|------------------------|------------|-------------|
| | 20(S)-protopanaxadiol | | |
| Rb1 | glc-glc | H | glc-glc |
| Rb2 | glc-glc | H | glc-ara (p) |
| Rc | glc-glc | H | glc-ara (f) |
| Rd | glc-glc | H | glc |
| | 20(S)-protopanaxatriol | | |
| Re | H | -O-glc-rha | glc |
| Rf | H | -O-glc-rha | H |
| Rg1 | H | -O-glc | glc |
| Rg2 | H | -O-glc-rha | H |
| Rh1 | H | -O-glc | H |
| | Notoginsenoside | | |
| R.1 | H | -O-glc-xyl | -glc |

图1.1 三七主要皂甙成分的结构图 (glc: 葡萄糖, rha: 鼠李糖, ara 树胶醛糖, xyl: 木糖)

Fig 1.1 Structure of the major ginsenosides in *Panax notoginseng* (glc: glucose, rha: rhaminose, ara: arabinose, xyl: xylose)

在过去的20年里, 已经尝试了用很多方法来分离纯化三七的活性成分, 如柱层析法、毛细管超临界流体色谱法、薄层层析法、液滴逆流层析法、气相色谱、高效液相色谱等, 董阿玲等运用大孔吸附树脂S-038分离得到三七皂甙R₂, 操作方法简便, 成本低, 得率高^[24]。

GC分析的灵敏度和分辨率都很高, 但是样品需经过特别的处理如水解后三甲基硅烷化, 因此只能分析原人参二醇型和原人参三醇型皂甙^[25]。HPLC被广泛地用于分析皂甙, 由于皂甙的生色团较弱, 因此监测器波长为205nm, 一些成分会干扰目标产物的鉴定。蒸发光散射检测器, 离子色谱联合脉冲安培检测器的应

用大大提高了检测的灵敏性。LC/MS/MS在分析和定量皂甙提取液上有很大用途,检测极限可以达到2pg,它是目前为止最灵敏的方法^[26]。由于皂甙成分分子量主要集中在800—1200之间,因此可以采用MALDI-TOF的反射模式来分析皂甙成分,它的灵敏度也很高,同时比LC/MS/MS成本低,简单方便。

1.3 三七对神经元蛋白表达的影响

近几年来,随着PNS在神经方面药理研究的不断深入,发现其对神经元蛋白表达的影响越来越突出,主要集中在对神经元的保护作用和对记忆的改善作用方面。通过PNS对神经元蛋白表达的影响分析,作者认为PNS必将在神经性的疑难疾病特别是AD的治疗方面发挥更大的作用,具有广泛的开发应用前景。

促进神经营养因子相关基因的表达:通过免疫细胞化学反应,程龙等^[27]报道在离体神经干细胞或前体细胞,PNS给药组碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)和阳性细胞明显多于,反应也明显强于对照组。PNS可通过上调bFGF的表达促进脑出血后脑内神经元的存活及损伤修复^[28]。何炜^[29]等发现PNS对脊髓横断损伤有保护和治疗作用,免疫组织学揭示其作用机制可能与NGF和脑源性神经营养因子(BDNF)表达增强有关。Rb1可以促进基底前脑trkAmRNA和海马区NGFmRNA的表达^[19]。胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)是运动神经元和多巴胺能神经元中一种重要的神经生长因子,Rb1通过上调GDNF的表达发挥其抑制细胞凋亡作用^[30]。

抑制凋亡基因和蛋白的表达:近年来研究认为,神经元受损后,损伤与自主修复两种机制并存,受损神经元除进入死亡过程(包括坏死和凋亡)外,同时还存在神经元存活和修复过程。近年来研究发现神经退行性疾病(脊髓侧索硬化症、阿尔茨海默病、帕金森氏症等)和神经系统损伤(外伤、缺血、出血等)均存在caspase-3参与的细胞凋亡过程。李巾伟等^[31]在研究大鼠脑出血前脑内促凋亡基因caspase-3的表达,以及PNS对其表达的影响时,用原位杂交法观察胶原酶诱导的脑出血大鼠前脑内caspase-3 mRNA给药组和对照组的表达变化,发现给药组caspase-3阳性细胞数量显著减少,细胞着色变浅。这表明PNS不仅能降低凋亡关键性蛋白caspase-3 mRNA的转录,同时降低caspase-3的表达与活化。抑凋亡蛋白Bcl-2在神经系统发育及神经系统疾病过程中均具有重要作用,其作用与神经营养因子类似。大量研究表明,Bcl-2通过抑制caspase-3的裂解活化发挥抑凋

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库