

·方药研究·

丹龙醒脑方对脑缺血再灌注大鼠海马区 Notch 信号通路相关蛋白表达的影响

陈婷婷^{1,2}, 周小青^{1,3*}, 曹泽标^{1,2}, 陈昱文^{1,2}, 刘旺华^{1,3}, 李 花^{1,3}

(1.湖南中医药大学中医诊断学科,湖南 长沙 410208; 2.中医诊断学湖南省重点实验室,湖南 长沙 410007;

3.数字中医药协同创新中心 湖南 长沙,410208)

〔摘要〕 **目的** 探讨丹龙醒脑方对脑缺血再灌注模型大鼠海马区 Notch 信号通路相关蛋白 Notch1、Notch2 及 Hes1 表达的影响。**方法** 将 80 只雄性 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、丹龙醒脑方小剂量组(丹小组 7.4 g/kg)、大剂量组(丹大组 14.8 g/kg),线栓法建立局灶性脑缺血再灌注大鼠模型,再灌注 7 d 取缺血侧海马组织。采用免疫组织化学法、免疫印迹法检测大鼠海马区 Notch1、Notch2 及 Hes1 蛋白表达。**结果** 与假手术组比较,各组 Notch1、Notch2 及 Hes1 蛋白表达显著升高($P < 0.05$, $P < 0.01$);与模型组比较,丹小组、丹大组 Notch1、Notch2 及 Hes1 蛋白表达显著升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 丹龙醒脑方能通过上调海马区 Notch1、Notch2 及 Hes1 蛋白表达水平,调节 Notch 信号转导通路,这可能是其促进脑缺血损伤后神经功能修复的机制之一。

〔关键词〕 丹龙醒脑方;脑缺血;海马区; Notch 信号通路;Notch1;Notch2;Hes1;丹参;三七;地龙**〔中图分类号〕**R285.5;R256.4**〔文献标识码〕**A**〔文章编号〕**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.01.002

Effects of Danlong Xingnao Recipe on Protein Expressions Related to Notch Signaling Pathway in Hippocampus of Cerebral Ischemia Reperfusion Injury Model Rats

CHEN Pingting^{1,2}, ZHOU Xiaoqing^{1,3*}, CAO Zebiao^{1,2}, CHEN Yuwen^{1,2}, LIU Wanghua^{1,3}, LI Hua^{1,3}

(1. Institute of Diagnostics of Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China;

2. The Key Laboratory of Diagnostics of Chinese Medicine in Hunan Province, Changsha, Hunan 410007, China;

3. Collaborative Center for Research and Innovation of Digital Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

〔Abstract〕 **Objective** To investigate the effects of Danlong Xingnao recipe (DLXNR) on the expressions of Notch1, Notch2 and Hes1 protein related to the Notch signaling pathway in hippocampus of cerebral ischemia-reperfusion injury model rats. **Methods** 80 male SD rats were randomly divided into sham-operation group, model group, Danlong Xingnao recipe small-dose group (Dan-small group 7.4 g/kg) and Danlong Xingnao recipe high-dose group (Dan-high group 14.8 g/kg). The local cerebral ischemia /reperfusion rat model was established by intraluminal thread occlusion of the middle cerebral artery. After reperfusion for 7d, the ischemia hippocampus tissues were taken out. The Notch1, Notch2 and Hes1 protein expressions in hippocampal were determined respectively by immunohistochemistry and Western Blot method. **Results** Compared with the sham-operation group, the expression of Notch1, Notch2 and Hes1 protein in other groups were increased obviously ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, the expression of Notch1, Notch2 and Hes1 protein in Dan-small group and Dan-high group were increased obviously ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** Danlong Xingnao recipe can upregulate the expressions of Norch1, Notch2 and Hes1 protein, regulate the Notch signal transduction pathway. It may be one of the mechanisms to promote the repair of brain injury.

〔Keywords〕 Danlong Xingnao recipe; brain ischemia; hippocampus; Notch signaling pathway; Notch1; Notch2; Hes1; *Salvia miltiorrhiza*; *Panax notoginseng*; lumbricus

〔收稿日期〕2015-09-25

〔基金项目〕国家自然科学基金(81373702,81473567,81202632);教育部博士点基金(20124323120003);湖南省自然科学基金(13JJ3097);湖南省教育厅科研项目(14B134,15K092);湖南中医药大学研究生创新课题(2015CX15)。

〔作者简介〕陈婷婷,女,在读硕士研究生,主要从事中医药防治脑血管疾病研究。

〔通讯作者〕*周小青,男,教授,博士研究生导师,E-mail: zqx5381@sohu.com。

脑血管疾病是当前危害中老年人健康,降低其生活质量的常见病之一,其中缺血性脑血管病最多见。研究表明,发育成熟的哺乳动物神经系统中存在具有增殖与分化潜能的神经干细胞(neural stem cells, NSCs)。这一发现为中枢神经系统的损伤修复带来了希望,迅速成为脑缺血后神经再生研究的新热点。生理条件下, NSCs 处于静息的干细胞状态,而在脑缺血损伤等病理性刺激下,可促进其发生增殖、迁移和分化为成熟的神经细胞,参与脑组织功能的恢复^[1]。神经发生过程受多种细胞信号通路和因子的调控,其中 Notch 信号通路是目前中枢神经系统中 NSCs 增殖作用机制的研究热点^[2-3]。

丹龙醒脑方主要由丹参、三七、地龙、淫羊藿、菟丝子等药物组成,具有活血通络、化痰开窍、补肾生髓的功用,是周小青教授临床治疗缺血性脑血管病有效复方。以往研究已经证实本方能促进脑缺血后内源性 NSCs 增殖与分化,并且可能与激活 Wnt/ β -catenin 信号通路有关^[4]。而 Notch 信号通路作为同样重要的调控信号通路,丹龙醒脑方是否能通过调控该通路来促进 NSCs 增殖,值得进一步研究。本实验初步探讨丹龙醒脑方对成年大鼠海马区 Notch 信号通路相关蛋白 Notch1、Notch2 及 Hes1 (hairly enhancer of split1)表达的影响,进一步研究该方对脑缺血后促进内源性 NSCs 增殖的作用机制。

1 材料

1.1 动物与分组

SPF 级健康 SD 大鼠 80 只,雄性,体质量(280±20) g,湖南斯莱克景达动物实验公司提供,许可证号:SCXK(湘)2013-0005。苦味酸标记后,按随机数字表法随机分为 2 组,即假手术组 12 只、模型制备组 68 只。适应性喂养 7 d 后开始造模。造模后将模型制备成功大鼠分为 3 组,尽量保证每组均衡,分别是脑缺血模型组(模型组)、丹龙醒脑方小剂量组(丹小组)、丹龙醒脑方大剂量组(丹大组),每组 12 只。

1.2 药物、试剂与仪器

丹龙醒脑方处方为:丹参 15 g,三七 12 g,地龙 6 g,远志 15 g,石菖蒲 12 g,淫羊藿 10 g,菟丝子 12 g。饮片购自湖南中医药大学第一附属医院,浸泡 30 min,首煎加 6 倍水,水沸后文火煎 60 min;第二次煎加 3 倍水,水沸后文火煎 30 min,两次药汁混合。滤过,于水浴锅内蒸发浓缩为含生药 1.6 g/mL,

灭菌分装,4 °C 冰箱冷藏。

Notch1 兔源性多克隆抗体(20687-1-AP, PTG), Notch2 兔源性多克隆抗体(07-1234, Millipore), Hes1 兔源性多克隆抗体(2922-1, Epitomics); 山羊抗兔二抗(K5007, DAKO); HRP 标记山羊抗兔抗体(GB23303), β -actin 兔源性多克隆抗体(GB13001-1), BCA 蛋白定量检测试剂盒组化试剂盒(G2003), SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(G2003), 均购自武汉谷歌生物科技公司; TRIZOL 试剂盒(15596-026, Invitrogen Life Technologies)。脱水机、包埋机(武汉俊杰电子有限公司), 病理切片机(上海徠卡仪器有限公司), 显微镜(CIC, XSP-C204), 普通光学显微镜及成像系统(Nikon DS-U3, 日本), Image-Pro Plus6.0 图像分析处理软件(Media Cybernetics, 美国), AlphaEase FC 专业灰度分析软件(Alpha Innotech), 线身直径为 0.28 mm 成品 MCAO 线栓若干(北京西浓科技有限公司)。

2 方法

2.1 中脑动脉栓塞(MCAO)模型制备与评价

参考文献[5]再加以改进,以左侧大脑中动脉栓塞为例。大鼠术前禁食 12 h, 自由饮水。实验前,腹腔注射 10%水合氯醛(0.35 mL/100 g)予以麻醉,仰卧位固定。颈正中切口,分离暴露左侧颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉。结扎颈总动脉和颈外动脉,动脉夹夹闭颈内动脉,在颈总动脉分叉以下剪一小口,将已浸泡肝素的线栓从剪口处缓慢向颈内动脉入颅方向推入,以颈总动脉分叉处为标记,至有轻微阻力感停止(18.0±0.5) mm,扎紧并固定线栓,缝合皮下组织和皮肤。手术完毕后注意保温。造模过程中记录插线时间,阻断 2 h 后轻柔拔出线栓,进行再灌注。假手术组除不插线外,全过程同其它各组。待再灌注 24 h 动物完全清醒后,采用 Zea-Longa 等 5 分制法评分标准进行神经功能缺损评分并记录。分值越高,说明动物行为障碍越严重,评分为 1~3 者为成功模型。评分后按“1.1”所述进行分组。不成功者剔除,未活到 7 d 大鼠剔除,保证每组 12 只^[4]。

2.2 给药与取材

于再灌注 24 h 后开始给药,1 次/d,连续给药 7 d。丹龙组每日给药剂量根据 70 Kg 成人每日服用 82 g 生药剂量进行换算^[6],设定丹龙醒脑方小、大剂量组剂量分别为 7.4 g/kg (相当于临床等效剂

量)、14.8 g/kg(相当于临床等效剂量 2 倍)。假手术组和模型组予等体积蒸馏水灌胃。

第 7 天给药 2 h 后, 每组其中 6 只予以麻醉, 打开胸腔, 于右心耳部剪一小口, 从左心室插入导管至主动脉, 快速注入 0.9%生理盐水 200 mL, 至右心耳流出液清亮后, 换 4%多聚甲醛磷酸盐缓冲液 200 mL, 灌注固定至肝脏变硬后断头取脑, 去除小脑和脑干, 取大脑, 放入 4%多聚甲醛固定液中固定, 脱水、透明、浸蜡, 制作脑部冠状切片, 切片厚度为 5 μm , 用于海马区各指标的免疫组织化学法检测。每组其余大鼠于第 7 天给药 2 h 后麻醉, 颈动脉处死放干血液后迅速断头取脑, 冰上快速分离缺血侧海马区脑组织, -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用, 用于蛋白印迹法(Western Blot)检测。

2.3 检测海马区 Notch1、Notch2 及 Hes1 蛋白的表达

2.3.1 免疫组织化学法 每组其中 6 只大鼠缺血侧海马区脑组织切片用于免疫组织化学检测。脑切片常规脱蜡至水, 置于 EDTA 抗原修复液进行微波修复, 3%过氧化氢室温处理 25 min 以阻断内源性过氧化物酶, BSA 封闭, 每片滴加稀释到相应浓度的一抗, Notch1、Notch2 稀释比均为 1:1 000, Hes1 为 1:200, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 滴加二抗, 室温孵育 50 min, DAB 显色, 蒸馏水终止显色, Harris 苏木素复染细胞核, 再脱水, 二甲苯透明后, 中性树脂封片。阴性对照实验中采用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗, 其他步骤如上。每组内每张切片随机挑选 5 个 400 倍视野进行拍照。应用 Image-Pro Plus 6.0 软件选取相同的棕黄色作为判断所有照片阳性的统一标准^[7], 对每张照片进行分析, 得出每张照片阳性细胞的积分光密度值(integrated optical density, IOD)。

2.3.2 Western Blot 法 采取常规方法提取缺血侧

海马组织蛋白, 采用 BCA 法测蛋白浓度, 再行 SDS-PAGE 电泳分离蛋白, 转膜 2 h, 室温下用 5%脱脂奶粉封闭 1 h。稀释一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, Notch1、Notch2 及 Hes1 稀释比均为 1:1 000, β -actin 稀释比例为 1:3 000; 二抗 HRP 标记山羊抗兔抗体稀释比例为 1:3 000, 室温孵育 30 min, 加 ECL 化学发光法胶片曝光成像后, 经图片处理软件处理去色后, 观察 Notch1、Notch2 及 Hes1 蛋白表达的灰度值, 用 Alpha 专业灰度分析软件分析条带灰度, 以目的蛋白条带灰度与内参 β -actin 条带灰度的比值表示蛋白的表达水平。

2.4 统计学方法

采用 SPSS22.0 软件进行统计分析, 计量资料若符合正态分布, 以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 方差齐时选用 LSD 法, 方差不齐时采用 Tamhane's T_2 检验法, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠 Notch1、Notch2 及 Hes1 蛋白表达的比较

阴性对照组未见 Notch1、Notch2 及 Hes1 蛋白表达, 假手术组缺血侧海马区可见 Notch1、Notch2 及 Hes1 蛋白少许表达; 再灌注 7d, Notch1、Notch2 及 Hes1 蛋白表达明显增强, Notch1 主要表达于神经细胞胞浆, Notch2 主要表达细胞核与胞浆, Hes1 表达于胞浆。与假手术组比较, 各组 IOD 值显著升高($P<0.01$); 与模型组比较, 丹小组、丹大组 IOD 值显著升高($P<0.01$)。丹小组与丹大组比较, Notch1 蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$), 而 Notch2、Hes1 的 IOD 值表达, 丹大组较丹小组显著升高($P<0.01$)。见表 1, 图 1。

表 1 各组大鼠 Notch 通路组分蛋白表达的比较

($\bar{x}\pm s, n=6, \text{IOD}$)

组别	剂量(g/kg)	Notch1	Notch2	Hes1
假手术组	-	502.79 \pm 227.65	3357.28 \pm 636.65	837.38 \pm 145.39
模型组	-	1 907.20 \pm 738.13**	9 399.04 \pm 1567.05**	2 625.91 \pm 524.58**
丹小组	7.4	3 150.80 \pm 698.65*** $\Delta\Delta$	14 565.75 \pm 1847.50*** $\Delta\Delta$	4 628.90 \pm 921.27*** $\Delta\Delta$
丹大组	14.8	3 821.83 \pm 626.20*** $\Delta\Delta$	20 820.03 \pm 2486.22*** $\Delta\Delta\#$	7 101.67 \pm 1 248.18*** $\Delta\Delta\#$
F 值		95.61	28.85	142.13
P 值		0.00	0.00	0.00

注: 与假手术组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, $\Delta\Delta P<0.01$; 与丹小组比较, $\#P<0.01$ 。

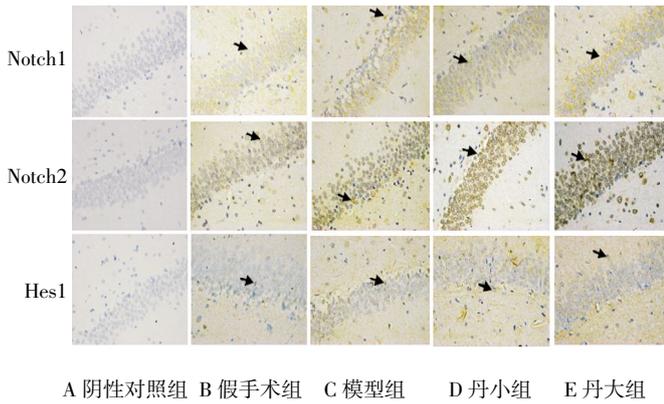


图 1 各组海马区 Notch1、Notch2 及 Hes1 蛋白的表达光镜图 (免疫组化染色×400)

3.2 各组大鼠 Notch1、Notch2 及 Hes1 蛋白表达的比较

Notch1、Notch2 及 Hes1 免疫印迹法检测的反应条带分别位于 120 kDa、72 kDa 及 30 kDa 处,内参 β -actin 反应条带位于 42 kDa,结果显示各组呈现强弱不等的阳性条带。与假手术组比较,模型组、丹小组和丹大组 Notch1、Notch2 及 Hes1 蛋白表达的相对灰度值明显升高($P<0.05$, $P<0.01$),表明脑缺血能激活 Notch 通路相关的蛋白表达。与模型组比较,丹小组 Notch1 表达差异无统计学意义 ($P>0.05$), Notch2 和 Hes1 蛋白表达有所升高 ($P<0.05$, $P<0.01$);丹大组 Notch1、Notch2 及 Hes1 蛋白表达明显升高($P<0.05$, $P<0.01$);丹龙大小剂量组间比较,丹大组 Notch1 表达升高差异有统计学意义($P<0.01$),而 Notch2 与 Hes1 比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 2、表 2。

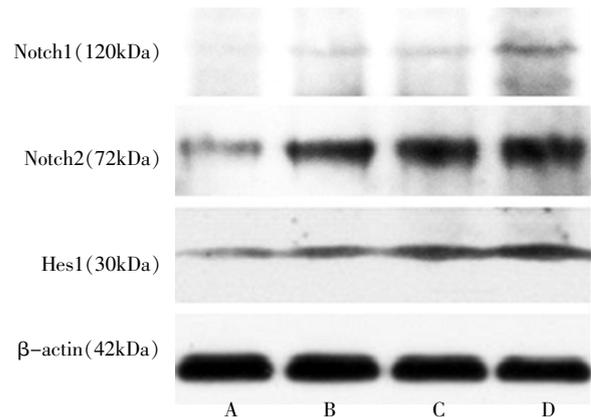
表 2 各组 Notch 通路相关蛋白条带灰度比值比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量(g/kg)	Notch1	Notch2	Hes1
假手术组	-	0.08±0.04	0.27±0.06	0.15±0.04
模型组	-	0.13±0.02*	0.49±0.07**	0.26±0.07*
丹小组	7.4	0.15±0.04**	0.61±0.08** Δ	0.40±0.06** $\Delta\Delta$
丹大组	14.8	0.26±0.05** $\Delta\Delta\Delta\#$	0.65±0.11** $\Delta\Delta$	0.45±0.10** $\Delta\Delta$
F 值		18.93	26.00	22.98
P 值		0.00	0.00	0.00

注:与假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较, Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$;与丹小组比较, $\#$ $P<0.01$ 。

4 讨论

NSCs 广泛存在于成年哺乳动物中枢神经系统,目前研究表明大脑存在两个聚集区,分别是海马齿状回的颗粒下层区和侧脑室室管膜下区。海马区



注:A 假手术组;B 模型组;C 丹小组;D 丹大组
图 2 Western blot 法检测各组海马区 Notch 通路相关蛋白表达的电泳图

是对缺血性损伤最敏感的脑区之一,缺血性损伤会造成大量神经元丢失导致脑功能缺失,然而该病理性损伤也能刺激脑内海马区 NSCs 发生增殖、迁移和分化,替代和修复损伤的内源性神经元,但其数量与能力有限。因此,海马区是观察脑缺血后损伤后修复效果及作用机制的关键部位。

国内外大量研究发现,缺血性卒后可激活 Notch 信号通路,同时该通路在脑缺血再灌注后存在动态变化^[7],有研究发现造模后 19 d 海马区 Notch 信号通路下游靶基因 Hes1、Hes5 蛋白及 mRNA 表达增多,而 28 d 后以上两个指标明显下降,低于 19 d 时的表达水平。这说明脑缺血后 NSCs 在早期促进增殖,后期可能以分化为主。Notch 信号通路主要由 Notch 受体、配体和细胞内信号分子等组成。目前共发现 Notch 蛋白的同源体有 4 种: Notch1、Notch2、Notch3 和 Notch4,对于这 4 个同源基因的配体包括 Jagged1、Jagged2、Delta1、Delta3、Delta4。当配体受体结合后,Notch 蛋白分别经过肿瘤坏死因子-转化酶(TACE)和-分泌酶,发生 2 次蛋白水解,形成水溶性的胞内域(Notch intracellular domain, NICD),并转移到胞核。NICD 与胞核上的 DNA 结合蛋白 CSL 结合,形成转录因子,刺激下游靶因子 Hes1、Hes3、Hes5 等转录。这类因子编码的核 bHLH 蛋白抑制其下游某些靶点,如 Mash-1、Shh 等,从而抑制 NSCs 向神经元方向分化,保持干细胞的增殖状态。国内报道大鼠局灶性脑缺血后 Notch1 和 Jagged1 蛋白的表达与假手术组比较明显增多^[8-9]。也有部分研究报道 Notch3 蛋白有增强表达^[10],而对 Notch2 的报道较少。Hes 属于碱性螺旋环-

螺旋转录因子家族,包括 Hes1-7 基因,是公认的 Notch 通路的靶基因^[1]。其中 Hes1 是 Notch 信号通路的重要效应分子,上调 Hes1 表达可抑制 NSCs 分化为神经元,促进保持增殖状态,若 Hes1 基因的缺失,可见神经元的分化明显增加^[2]。还有研究发现 Hes1 的表达可能是通过 Notch2 和 Shh 表达激活^[3]。

丹龙醒脑方以丹参为君,三七、远志、石菖蒲为臣,佐以地龙、淫羊藿、菟丝子。全方通补兼施,以通为主,具有活血通络、化痰开窍、补肾生髓之功。课题组十余年的研究表明,丹龙醒脑方不仅能多环节干预脑缺血后发生的级联反应,还能促进海马区 NSCs 增殖^[4],前期研究发现本方促进机制可能与激活 Wnt/ β -catenin 信号通路有关,可促进 Wnt3a、 β -catenin 的表达^[4]。本实验以 Notch 信号通路为切入点,探讨本方可能的生物学作用机制,采用线栓法成功建立脑缺血再灌注大鼠模型,运用免疫组织化学法和免疫印迹法观察再灌注 7 d 后丹龙醒脑方对大鼠海马区 Notch1、Notch2 及 Hes1 蛋白表达情况,探讨 Notch 信号通路的调控作用。研究结果显示,与假手术组比较,局灶性脑缺血再灌注 7 d 后大鼠海马区 Notch1、Notch2 及 Hes1 蛋白表达均有所增加,与国内外实验结果一致,验证了脑缺血再灌注后存在 Notch 信号通路的变化。与模型组比较,丹龙醒脑方大小剂量组的各指标均有显著表达,且差异有统计学意义。丹龙醒脑方大小剂量组间比较时,各指标存在不同水平的表达。Notch1 的免疫组化结果提示大小剂量之间不存在差异,而免疫印迹法检测蛋白表达时,该指标的表达与浓度有一定梯度关系;Notch2、Hes1 蛋白的表达采用两种检测方法的结果也存在不同,免疫组化法显示 Notch2、Hes1 蛋白表达与浓度呈一定梯度相关性,而免疫印迹法发现以上两个指标大小剂量之间无差异。对于这两种检测方法结果上的差异,可能是由于两种检测方法各自有其优缺点,免疫组织化学法检测结果是定位检测相关蛋白表达,可准确定位相关蛋白在海马区的表达;而蛋白免疫印迹法是海马组织蛋白的相对定量检测,所需样本组织量少,取材组织部位难以达到完全一致。另外,每组大鼠数量相对可能偏少,大小剂量组间设置浓度差异偏小等因素,都可能造成本次实验结果在剂量梯度上存在不同检测方法的差异。由于 Notch 通路阻滞剂(γ -分泌肽酶抑制剂 DAPT)有明显肠道毒性,且参与体内多个信号系统的调节,

其应用造成如痴呆样的副反应,可能严重干扰实验的观察。因此本研究未设置 Notch 通路抑制剂对照组,有待今后体外实验研究进一步验证。

总之,丹龙醒脑方能上调局灶性脑缺血再灌注后海马区 Notch1、Notch2 及 Hes1 的表达水平,其神经保护与再生机制可能与激活 Notch 信号通路有关。

参考文献:

- [1] 袁志俊,李小刚.干细胞治疗缺血性脑卒中的研究进展[J].中国组织工程研究,2013,17(45):7 954-7 960.
- [2] 王 珏,邓宇斌,万勇. Notch 信号通路对神经干细胞增殖分化的作用[J]. 中国细胞生物学学报, 2014:708-712.
- [3] 庄述娟,陈小玉,刘庆山.神经干细胞增殖的分子机制及中药干预研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(3):341-344.
- [4] 张利美,周小青,刘旺华,等. 丹龙醒脑方促进脑缺血再灌注损伤大鼠神经干细胞增殖与 β -catenin、Wnt-3a 表达及其机制的研究 [J]. 湖南中医药大学学报,2015,35(1):7-10.
- [5] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al.Reversible middle cerebral artery occlusion without craniotomy in rats [J]. Stroke, 1989, 20(1):84-91.
- [6] 翁维良.中药临床药理学[M].北京:人民卫生出版社,2002:40.
- [7] 李 涛,范 好,刘 芳. 免疫组织化学图像光密度分析的标准方法[J]. 解剖学杂志, 2008, 31(5):727-728.
- [8] 郭怡菁,张志珺,王少华,等. 局灶性缺血性脑卒中大鼠海马 Notch 信号通路的动态表达 [J]. 中华医学杂志, 2008,88(39):2 803-2 805.
- [9] 冯 珂,纪立金. 健脾益智胶囊对大鼠中动脉栓塞大鼠海马神经干细胞增殖及 Notch1、Jagged1 表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2013:921-924.
- [10] 胡建鹏,周 会,王 键,等. 益气活血方和补肾生髓方对局灶性脑缺血再灌注大鼠缺血半暗带 Notch-1 和 Jagged1 表达的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26(3):483-486.
- [11] 吕 磊,胡建鹏,王 键,等. 益气活血方和补肾生髓方对脑缺血再灌注大鼠 Notch3 和 Frizzled2 mRNA 及蛋白表达的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2013, 29(7):1 171-1 174.
- [12] Iso T, Kedes L, Hamamori Y. HES and HERP families: multiple effectors of the Notch signaling pathway [J]. J Cell Physiol. 2003;194(3):237-255.
- [13] Zhu S, Wildonger J, Barshov S, et al.The bHLH repressor Deadpan regulates the self-renewal and specification of Drosophila larval neural stem cells independently of Notch[J]. PLoS One,2012,7(10):e46724.
- [14] Solecki D, Liu X, Tomoda T, et al. Activated Notch2 signaling inhibits differentiation of cerebellar granule neuron precursors by maintaining proliferation.[J]. Neuron, 2001, 31(4):557 - 568.
- [15] 刘旺华,雷丽萍,李 花,等.丹龙醒脑方促进大鼠神经干细胞增殖及其机制的研究 [J]. 中华老年心脑血管病杂志,2014,16 (10):1 090-1 093.

(本文编辑 杨 瑛)