

·方药研究·

## 健脾补土法组方含药血清对体外嗅鞘细胞低氧/复氧损伤模型 P65、P50 及磷酸化 I $\kappa$ B $\alpha$ 表达的影响

李路迢, 刘旺华\*, 李 花, 彭智远, 周翠玲, 付小金  
(湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208)

**[摘要]** 目的 探讨健脾补土法组方含药血清对体外嗅鞘细胞低氧/复氧损伤模型核因子 KB(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)的亚单位 P65、P50 及 NF- $\kappa$ B 抑制蛋白(P-I $\kappa$ B $\alpha$ )表达的影响。方法 将原代培养的嗅鞘细胞分为 5 组: 正常血清对照组、正常血清+低氧组、低氧+依达拉奉含药血清组、低氧+健脾补土法组方含药血清组、正常血清+低氧+NF- $\kappa$ B 抑制剂/抗氧化剂(PDTC, 50  $\mu$ mol/L)组, 采用微需氧袋低氧/复氧的方法诱导嗅鞘细胞形成脑缺血再灌注损伤模型, 用 Western blot 法检测嗅鞘细胞胞浆 P65、P50、P-I $\kappa$ B $\alpha$  和胞核 P65、P50 的含量。结果 与正常血清对照组比较, 正常血清+低氧组胞浆和胞核 P65、P50, 胞浆 P-I $\kappa$ B $\alpha$  表达均显著升高, 差异有统计学意义( $P<0.01$ ); 与正常血清+低氧组比较, 低氧+依达拉奉组、低氧+健脾补土组、正常血清+低氧+PDTC 组、低氧+健脾补土+PDTC 组胞浆和胞核 P65、P50, 胞浆 P-I $\kappa$ B $\alpha$  表达均降低, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 健脾补土法组方能通过抑制嗅鞘细胞缺氧/复氧损伤后 P65、P50、P-I $\kappa$ B $\alpha$  的过度表达, 对 NF- $\kappa$ B 通路的活化具有抑制作用。

**[关键词]** 健脾补土法; 嗅鞘细胞; 低氧/复氧损伤模型; P65; P50; P-I $\kappa$ B $\alpha$

**[中图分类号]** R285.5

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.08.005

### Effect of Spleen-Strengthening Therapy Contained Serum on P65, P50 and P-I $\kappa$ B $\alpha$ Expression in Olfactory Ensheathing Cells with Hypoxia / Reoxygenation Injury Models

LI Lutiao, LIU Wanghua\*, LI Hua, PENG Zhiyuan, ZHOU Cuiling, FU Xiaojin  
(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of spleen-strengthening therapy contained serum on subgene P65, P50 of nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) and P-I $\kappa$ B $\alpha$  expression in olfactory ensheathing cells with hypoxia/reoxygenation injury. **Methods** Primary cultured olfactory ensheathing cells were randomly divided into five groups: normal serum control group, normal serum+hypoxia group, hypoxia+edaravone contained serum group, hypoxia+spleen-strengthening therapy contained serum group, normal serum+hypoxia+NF- $\kappa$ B inhibitor/antioxidant (PDTC 50  $\mu$ mol/L) group. The cerebral ischemia-reperfusion injury model of olfactory ensheathing cells were induced by hypoxia/reoxygenation of micro-aerobic bags method. Then, the cytoplasm P65, P50, P-I $\kappa$ B $\alpha$  and nuclear P65, P50 content in olfactory ensheathing cells were detected by Western blot assay. **Results** Compared with normal serum control group, the cytoplasm and nucleus P65, P50, cytoplasm P-I $\kappa$ B $\alpha$  expression in normal serum+hypoxia group were significantly increased, the difference was statistically significant ( $P<0.01$ ). Compared with normal serum control group, the cytoplasm and nucleus P65, P50, cytoplasm P-I $\kappa$ B $\alpha$  expression were lower in hypoxia+edaravone group, hypoxia+Jianpi Butu group, normal serum+hypoxia+PDTC group, hypoxia+Jianpi Butu+PDTC group, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Spleen-strengthening therapy can prevent the activation of NF- $\kappa$ B signal path, which may be due to its inhibitory effect on P65/P50 and P-I $\kappa$ B $\alpha$  overexpression in olfactory ensheathing cells with hypoxia/reoxygenation injury.

**[Keywords]** spleen-strengthening therapy; olfactory ensheathing cells; hypoxia/reoxygenation injury model; P65; P50; P-I $\kappa$ B $\alpha$

**[收稿日期]** 2016-03-18

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81202632, 81473567), 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)。

**[作者简介]** 李路迢, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 中医心脑血管病证治研究。

**[通讯作者]** \*刘旺华, 男, 副教授, 硕士研究生导师, E-mail: 595413533@qq.com。

嗅球是哺乳类动物一生中能够支持神经再生的唯一中枢神经组织<sup>[1]</sup>。一旦出现神经细胞死亡,嗅上皮内不断增殖的干细胞会产生新的神经细胞。研究表明,嗅鞘细胞(olfactory ensheathing cells, OECs)能使实验室去髓鞘损伤的大鼠脊髓再形成髓鞘<sup>[2]</sup>,支持被切断的轴突再生<sup>[3]</sup>,OECs促进神经再生的作用成为神经保护的重要切入点。前期动物实验研究表明健脾补土法能抑制脑组织核因子 $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B,NF- $\kappa$ B)的表达,促进NF- $\kappa$ B抑制蛋白(inhibitor of NF- $\kappa$ B,I $\kappa$ B $\alpha$ )的表达,从而改善脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia reperfusion injure, CIRI)大鼠神经功能缺损,对CIRI起保护作用<sup>[4]</sup>。健脾补土法是否通过NF- $\kappa$ B通路保护OECs尚不清楚。本研究拟从NF- $\kappa$ B通路探讨健脾补土法组方含药血清对体外OECs低氧/复氧损伤模型的影响,进一步揭示健脾补土法组方对CIRI神经细胞保护作用及其机制。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 动物 SPF级雄性SD大鼠,220-250 g,用于含药血清的制备(湖南中医药大学动物实验中心提供);SPF级新生<1 d的SD大鼠,用于OECs的原代培养,由长沙市天勤生物技术有限公司提供,动物许可证号:SCXK(湘)2014-0011。

1.1.2 药物和试剂 健脾补土法组方由人参15 g,黄芪15 g,白术12 g,山药12 g,薏苡仁12 g,茯苓10 g,炙甘草6 g组成,从湖南中医药大学第一附属医院购进。饮片浸泡30 min,首煎加6倍水,沸后文火煎1 h;第二煎加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 g/mL,灭菌分装,4℃冰箱冷藏。依达拉奉注射液,15 mg:10 mL购自国药集团有限公司,批号H20080056。

DMEM-12培养液(Gibco公司,批号NAH1445、NAA1328);胎牛血清(四季清公司,批号NAG1425、N281079);2.5 g/L胰酶消化液(批号J130049)、多聚左旋赖氨酸(PLL)(批号SH30396)、神经生长因子(NGF)(批号5166141)、青霉素及链霉素溶液(批号J140055)(Sigma公司);阿糖胞苷(A-arc)(Fluka公司,批号SLBB7404V);PDTC(NF- $\kappa$ B抑制剂)(碧云天生物技术公司,批号S1809);4%多聚甲醛

(长沙市维尔生物技术有限公司,批号WB00018A);免疫印迹试剂盒(长沙市维尔生物技术有限公司,批号WB00036A)。

1.1.3 主要仪器 JY3002型电子天平(上海精密科学仪器有限公司);DD-5型低速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);XDY-1型荧光倒置生物显微镜、SZM45-B2型连续变倍体视显微镜(宁波舜宇光学科技有限公司);DD6M低速离心机(德国赫提驰Hettich公司);NU-437-400S型生物安全柜(美国Nuair公司);2406-2型CO<sub>2</sub>培养箱(美国Shal Lab公司);101-AB型电热鼓风干燥箱(天津泰斯特仪器有限公司)。

### 1.2 方 法

1.2.1 含药血清的制备 30只SD大鼠随机分为正常血清组(I组)、健脾补土法组方含药血清组(II组)、依达拉奉含药血清组(III组),每组10只。I组等体积的蒸馏水灌胃;II组灌胃健脾补土法组方药液14.8 g/kg,相当于临床等效剂量2倍;III组腹腔注射依达拉奉注射液3.2 mg/kg,相当于临床等效剂量。连续7 d,于末次给药后30 min经腹主动脉采血分离血清,56℃水浴灭活后过滤分装,-20℃保存备用。

1.2.2 嗅鞘细胞的分离、纯化和鉴定 参照文献[5-6],取出生<1 d的新生SD大鼠,浸入75%的乙醇中2 min消毒,断髓处死,无菌条件下取出嗅球,将嗅球剥除干净后用眼科剪剪碎。加入2.5 g/L胰蛋白酶,消化15 min后,1 000 r/min离心10 min,弃上清,重复离心1次。加入培养液,用巴氏吸管轻轻吹打成细胞悬液,过筛网计数后以4.0×10<sup>8</sup>/L的密度接种于未包被的培养瓶内。用差速贴壁+阿糖胞苷的方法对嗅鞘细胞进行纯化;纯化后换上条件培养液(1%胎牛血清+20 μg/L NGF+1%双抗+DMEM-R),之后2-3 d半量换液1次。在第11天按常规法行NGFRp75免疫细胞化学染色鉴定细胞。

1.2.3 含药血清的合理化浓度摸索 参照文献[7],取新鲜传代的嗅鞘细胞,调细胞浓度5×10<sup>7</sup>/L,接种于96孔板中用含10%胎牛血清血清培养24 h后,用无血清DMEM培养24 h,使细胞同步于G0/G1期。然后将细胞分成实验组,各实验组加入正常对照血清或含药血清(0%/5%/10%/15%/20%),以含10%胎牛血清的DMEM培养24 h后以MTT法测定A570 nm吸光度,求出不同含药血清浓度对应的

细胞增殖抑制率,摸索出含药血清的无毒性浓度。以对细胞生长无抑制作用(<20%)的浓度作为无细胞毒的浓度,最后以最大无毒性浓度(15%)作为细胞学实验工作浓度。

1.2.4 细胞分组及缺氧复氧损伤模型的建立 将 OECs 细胞随机分为 5 组:正常血清对照组(A 组);正常血清+低氧(10%O<sub>2</sub>)组(B 组);低氧+依达拉奉含药血清组(C 组);低氧+健脾补土法组方含药血清组(D 组);正常血清+低氧+PDTC(50 μmol/L)组(E 组)。将培养板放入置于 CO<sub>2</sub> 培养箱内的厌氧盒内,加入微需氧产气袋<sup>®</sup>和氧气指示剂,诱导 48 h 后,恢复正常条件培养 4 h。

1.2.5 台盼蓝染色法检测各组细胞活力 胰酶消化贴壁细胞,制备单细胞悬液,并作适当稀释;取少量细胞悬液与 0.4%台盼蓝溶液以 9:1 混合,轻轻吹打混匀,染色 2~3 min;显微镜下观察,死细胞着浅蓝色并膨大,无光泽;活细胞保持正常形态,无色透明有光泽。

1.2.6 用 Western blot 法(免疫印迹法)检测 各组嗅鞘细胞胞浆内 P65、P50、磷酸化 IκBα(P-IκBα)的含量和胞核内 P65、P50 的含量提取胞浆蛋白及胞核蛋白,行 SDS-PAGE 电泳,转膜 2 h,用 5%脱脂奶粉封闭 1 h。一抗为兔抗鼠 P65(1:200)、P50(1:200)、P-IκBα(1:200)及 PCNA(1:4 000)蛋白单克隆抗体,4 ℃孵育过夜;二抗为辣根过氧化物标记的山羊抗兔抗体(1:3 000),室温孵育 1 h,加 DAB 显色后用 Quantity One 专业灰度分析软件分析自身灰度值,以目的基因条带灰度与管家基因 β-actin 条带灰度的比值表示蛋白的表达水平。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件进行分析,计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”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 T2 法检测,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 造模后各组细胞存活率

与正常血清对照组比较,正常血清+低氧组活细胞存活率降低,差异有显著统计学意义( $P < 0.01$ );与正常血清+低氧组比较,低氧+依达拉奉组、低氧+健脾补土组、正常血清+低氧+PDTC 组细胞存活率升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 造模后各组 OECs 细胞存活率 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	细胞存活率(%)
正常血清对照组	90.95±10.31
正常血清+低氧组	48.87±13.49 <sup>##</sup>
低氧+依达拉奉组	80.00±11.60*
低氧+健脾补土组	77.74±14.04*
正常血清+低氧+PDTC 组	79.38±13.66*
F 值	3.59
P 值	<0.05

注:与正常血清对照组比较,## $P < 0.01$ ;与正常血清+低氧组比较,\* $P < 0.05$ 。

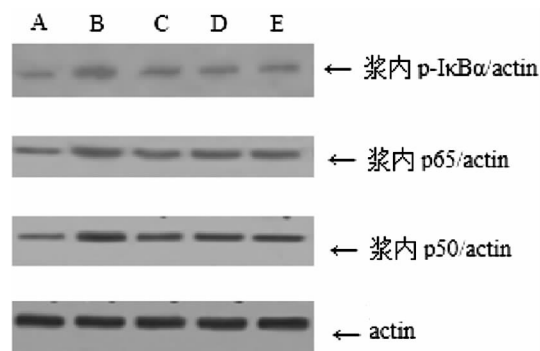
### 2.2 各组 OECs 缺氧/复氧损伤模型胞浆 P-IκBα、P65、P50 表达的比较

与正常血清对照组比较,正常血清+低氧组胞浆 P-IκBα、P65、P50 表达均显著升高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与正常血清+低氧组比较,低氧+依达拉奉组、低氧+健脾补土组、正常血清+低氧+PDTC 组胞浆 P-IκBα、P65、P50 表达均降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 2,图 1。

表 2 48 h 各组 OECs 胞浆 P-IκBα、P65、P50 表达 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	胞浆 P-IκBα	胞浆 P65	胞浆 P50
正常血清对照组	0.09±0.02	0.52±0.09	0.62±0.09
正常血清+低氧组	0.17±0.01 <sup>##</sup>	0.86±0.12 <sup>##</sup>	0.96±0.12 <sup>##</sup>
低氧+依达拉奉组	0.12±0.03*	0.65±0.13*	0.75±0.13*
低氧+健脾补土组	0.11±0.03*	0.65±0.12*	0.74±0.12*
正常血清+低氧+PDTC 组	0.12±0.02*	0.65±0.08*	0.75±0.08*
F 值	4.06	3.14	3.15
P 值	<0.05	<0.05	<0.05

注:与正常血清对照组比较,## $P < 0.01$ ;与正常血清+低氧组比较,\* $P < 0.05$ 。



注:A、B、C、D、E 分别代表正常血清对照组、正常血清+低氧组低氧+依达拉奉组、低氧+健脾补土组、正常血清+低氧+PDTC 组

图 1 各组胞浆 P-IκBα、P65、P50 蛋白含量 Western blot 检测电泳图

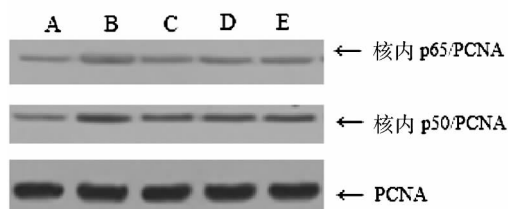
### 2.3 各组 OECs 缺氧/复氧损伤模型胞核 P65、P50 表达的比较

与正常血清对照组比较,正常血清+低氧组各时间点胞核 P65、P50 表达均显著升高,差异有统计学意义( $P<0.01$ );与正常血清+低氧组比较,低氧+依达拉奉组、低氧+健脾补土组、正常血清+低氧+PDTC 组各时间点胞核 P65、P50 表达均降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 3,图 2。

表 3 48 h 各组 OECs 胞核 P65、P50 表达 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	胞核 P65	胞核 P50
正常血清对照组	0.45±0.10	0.46±0.13
正常血清+低氧组	0.82±0.13 <sup>##</sup>	0.95±0.15 <sup>##</sup>
低氧+依达拉奉组	0.59±0.13*	0.50±0.14*
低氧+健脾补土组	0.58±0.12*	0.63±0.18*
正常血清+低氧+PDTC 组	0.59±0.09*	0.55±0.19*
F 值	3.19	3.60
P 值	<0.05	<0.05

注:与正常血清对照组比较,## $P<0.01$ ;与正常血清加低氧组比较,\* $P<0.05$ 。



注:A、B、C、D、E 分别代表正常血清对照组、正常血清+低氧组、低氧+依达拉奉组、低氧+健脾补土组、正常血清+低氧+PDTC 组

图 2 各组 OECs 胞核 P65、P50 蛋白含量 (Western blot 检测电泳图)

### 3 讨论

CIRI 属于中医学“中风”范畴,综观历代中医对本病的认识,其主要病因病机为风、火、痰、气、瘀、虚,早在《四圣心源》中就有记载:“中风者,脾虚阳衰,运化失常,水湿内生,脾主四肢,脾气亏虚,四肢失秉,而外感风邪者也,趁虚而入。实秉气于脾胃。”导师从细胞外基质(extracell matrix, ECM)与脾功能相似的角度出发,认为 ECM 的功能当归于中医“脾土”功能的范畴<sup>[9]</sup>,提出了以健脾补土法治疗中风后遗症的观点,并先后进行了大量的研究。近年来,临床研究表明使用该法有一定的脑保护作用,能改善智能减退者记忆力、计算能力、定向能力,有利于精神症状好转,提高日常生活自理能力<sup>[10]</sup>。同时课题组发现健脾补土法对 CIRI 大鼠神经功能评分有改善,能降低神经元凋亡指数,增加 ECM 成分层粘连蛋白的表达和减少 MMP-9 的表达<sup>[11]</sup>。近期动物实

验研究表明健脾补土法能抑制脑组织 NF- $\kappa$ B/P65 的表达,促进 I $\kappa$ B $\alpha$  的表达,从而改善 CIRI 大鼠神经功能缺损,对 CIRI 起保护作用,其脑保护机制可能与调节 NF- $\kappa$ B 信号通路有关<sup>[4]</sup>。

OECs 称嗅神经成鞘细胞,是存在于嗅球的一种神经细胞。嗅球是哺乳类动物一生中能够支持神经再生的唯一中枢神经组织<sup>[1]</sup>。在正常细胞更替过程中或损伤后,一旦出现神经细胞死亡,嗅上皮内不断增殖的干细胞会产生新的神经细胞。国外研究表明,OECs 能使实验室去髓鞘损伤的大鼠脊髓再形成髓鞘<sup>[2]</sup>和支持被切断的轴突再生<sup>[3]</sup>。在国内研究中,OEC 因其可再生的特性通常被用于治疗脊髓损伤,能促进轴突再生,改善患者肢体活动<sup>[12]</sup>。OECs 移植能减轻损伤脑组织病理变化,减少神经细胞变性及坏死数量,缓解脑损伤引起的间质水肿<sup>[13]</sup>和神经功能缺失<sup>[14]</sup>。因为 OECs 具有中枢神经系统星形胶质细胞和周围神经系统施万细胞的特性,能与中枢神经系统充分融合,在培养过程中能分泌神经生长因子、脑源性神经生长因子等多种营养物质并可能通过旁分泌或靶源性模式作用于神经干细胞,促进其增殖<sup>[15]</sup>。

NF- $\kappa$ B 信号通路存在于大部分细胞,不仅调节着大部分的免疫反应,而且也涉及细胞增殖、癌变和细胞凋亡等<sup>[16-17]</sup>。它是一种调节转录因子,是由 P65 和 P50 两个亚单位以不同形式组合成的同源或异源二聚体,而在体内发挥生理功能的主要是 P50-P65 二聚体。通常在静息状态下,NF- $\kappa$ B 抑制剂 I $\kappa$ B $\alpha$  与 NF- $\kappa$ B p65、p50 两个亚单位以失活状态存在于细胞质中。TAB2 和 TAB3 是 NF- $\kappa$ B 信号通路中关键的信号转导分子,其 C 端的锌指结构域可特异地识别并结合 NF- $\kappa$ B 通路上游激活所产生的泛素链,从而促进 TAK1 激酶的磷酸化<sup>[18]</sup>。当脑缺血损伤激活 NF- $\kappa$ B 抑制蛋白激酶(I $\kappa$ K)后,活化的 I $\kappa$ K 会泛素化、磷酸化并降解 I $\kappa$ B $\alpha$ ,使得 NF- $\kappa$ B 两个亚单位从失活状态活化,并从细胞质转移到细胞核内,与相应的炎症相关基因结合,启动炎症细胞因子转录,诱发炎症,参与脑缺血损伤。脑缺血后 NF- $\kappa$ B 持续增加,并且在垂死的神经元中持续活化,通过一些可能的途径来诱导细胞死亡,其中包括生成死亡蛋白和重新进入细胞周期失败。NF- $\kappa$ B 的激活能促进 Bax 及 Caspase3 的表达,降低 Bcl-2 的表达来促进炎症反应的进行及神经细胞的凋亡<sup>[9]</sup>,它可能通过

调节神经再生功能来影响脑外伤引起的神经功能损害<sup>[20]</sup>,所以有可能通过抑制脑缺血后 NF- $\kappa$ B 的过度表达,减少炎症因子生成,减轻脑缺血损伤<sup>[21]</sup>。本实验研究结果表明,与正常血清对照组比较,低氧损伤组细胞胞浆 p-I $\kappa$ B $\alpha$  增加,胞浆和胞核 P65、P50 显著增加,提示当细胞受到缺氧的刺激时,胞浆 NF- $\kappa$ B 抑制剂 I $\kappa$ B $\alpha$  被磷酸化降解,对 P65、P50 抑制作用减弱,P65、P50 从胞浆转入胞核增加,且表达增强。健脾补土组含药血清组胞浆 p-I $\kappa$ B $\alpha$  降低,胞浆和胞核 P65、P50 显著降低,提示其对 NF- $\kappa$ B 的活化具有抑制作用。

综上所述,健脾补土法组方可能通过抑制 OECs 缺氧/复氧损伤过程中 I $\kappa$ B $\alpha$  磷酸化,抑制 P65、P50 的过度表达,抑制 NF- $\kappa$ B 通路的活化,减少 OECs 的缺氧/复氧损伤,发挥对 CIRI 神经细胞损伤的保护作用。

#### 参考文献:

- [1] Moulton, David. G. Dynamics of cell populations in the olfactory epithelium. *Annals of the New York Academy of Sciences* [J]. 1974, 237(1):52-61.
- [2] Franklin, JM, Gilson JM, Franceschini IA, et al. Schwann cell-like myelination following transplantation of an olfactory-nerve-ensheathing-cell line into areas of demyelination in the adult CNS[J]. *Glia*, 1966, 17:217-224.
- [3] Li, Y. et al. Transplanted olfactory ensheathing cells promote regeneration of cut adult rat optic nerve axons [J]. *Neurosci*, 2003b, 23:783-788.
- [4] 付小金,刘旺华,李花,等.健脾补土方对脑缺血/再灌注损伤大鼠 NF- $\kappa$ B 和 I $\kappa$ B $\alpha$  蛋白表达水平的影响 [J]. *湖南中医药大学学报*,2015,35(3):5-8,73.
- [5] 杨博宇,王锋,王玮.以差速贴壁与化学药物并胰酶限时消化纯化新生大鼠嗅鞘细胞:优于单一差速贴壁和化学药物法吗? [J].*中国神经再生研究*,2009,13(49):9 761-9 764.
- [6] 刘晓阳,孙建民,崔新刚,等.阿糖胞苷结合神经生长因子体外纯化培养大鼠嗅鞘细胞[J]. *中国组织工程研究与临床康复*,2011,(19): 3 538-3 541.
- [7] 陈兵,尹延庆,柯俊龙,等.川芎嗪诱导大鼠骨髓间充质干细胞分化为神经元样细胞:最佳诱导剂量筛选[J]. *中国组织工程研究与临床康复*,2010,14(6):1 072-1 077.
- [8] 张俊文,王丕龙,杨致邦.运用产气袋法制造微缺氧培养人胃癌细胞株 SGC-7901[J]. *中国病理生理杂志*,2005, 25(8):1 623-1 624.
- [9] 刘旺华,李花,周小青.论神经细胞外基质与中医脾土相关及其对脑缺血保护的启示[J].*中国中医药信息杂志*, 2010, 17(3):5-6,56.
- [10] 李花,刘旺华,廖亮英,等.健脾补土方治疗缺血性脑卒中后遗症疗效观察[J].*中国中医药信息杂志*,2010,17(3):73-74.
- [11] 李花,刘旺华,廖亮英,等.健脾补土法对大鼠脑缺血再灌注后层粘连蛋白降解的影响[J].*中华老年心脑血管病杂志*,2010,12 (7):645-647.
- [12] 蔡中续,李玉华,祁磊,等.嗅粘膜源性嗅鞘细胞移植联合 NGF 对脊髓损伤的修复 [J]. *山东大学学报 (医学版)*,2007, 45(5): 470-473, 477.
- [13] 王广志,刘明娜.嗅鞘细胞移植治疗大鼠脑损伤:可行性分析及效果验证[J].*中国神经再生研究*,2010,14(10):1 799-1 802.
- [14] 韩玉河,吕然博,张万宏,等.脑内注射人胚鞘细胞对颅脑损伤大鼠神经及运动功能缺失的影响[J].*中国临床康复*,2005,9(5):229-231, 273.
- [15] 赵楠,冯忠堂,苏平,等.嗅鞘细胞促进神经干细胞增殖的实验研究[J].*解剖学报*,2008,39(1):40-44.
- [16] Hayden Matthew S, Ghosh Sankar. NF- $\kappa$  B in immunobiology [J]. *Cell research*, 2011,21(2):223-244.
- [17] Brigelius-Flohé R, Flohé L. Basic principles and emerging concepts in the redox control of transcription factors[J]. *Antioxidants & redox signaling*, 2011, 15(8): 2 335-2 381.
- [18] 张丽.半胱氨酸甲基化阻断 NF- $\kappa$ B 信号通路中对泛素链的识别[D].北京:北京协和医学院,2013.
- [19] 葛建彬.银杏内酯 B(Ginkgolide B)抑制小鼠脑缺血再灌注损伤炎症反应及细胞凋亡与 NF- $\kappa$ B 的关系 [D].苏州:苏州大学, 2012.
- [20] 刘冉.NF- $\kappa$ B 信号通路对脑外伤引起的神经细胞质膜完整性破坏及神经功能损害的影响[D].苏州:苏州大学, 2009.
- [21] 黄小平,卢金冬,丁煌,等.黄芪和三七的主要有效成分配伍对脑缺血/再灌注小鼠 NF- $\kappa$ B 信号通路及炎症因子表达的影响 [J]. *中国药理学通报*,2015,31(1):141-146.

(本文编辑 杨 瑛)