

• 基础研究 •

水蛭素对脑出血大鼠蛋白酪氨酸激酶 2 / 信号转导和转录激活因子 3 信号通路的影响

李红 吴黎黎 高青 李海红

摘要: 目的 探讨水蛭素对脑出血大鼠脑组织蛋白酪氨酸激酶 2 / 信号转导和转录激活因子 3 (JAK2 / STAT3) 信号通路的影响。 方法 采用随机数字表法 , 将 216 只健康雄性 Wistar 大鼠分为假手术组、模型组和水蛭素组 , 每组 72 只。将大鼠自体动脉血注入尾状核建立脑出血模型 , 假手术组以等量等渗盐水代替自体动脉血。水蛭素组分别于模型建立后 6、24、72、120 h 注入水蛭素 , 假手术组和模型组则于同时点给予等量等渗盐水。对不同时点时 3 组脑出血大鼠神经行为学评分、脑含水量及脑系数进行比较 ; 采用膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素 / 碘化丙啶双染流式细胞仪检测脑细胞凋亡的变化 ; 蛋白质印迹法检测脑组织磷酸化 JAK2 (p-JAK2) 及磷酸化 STAT3 (p-STAT3) 的表达。 结果 (1) 与同时点假手术组比较 , 模型组大鼠神经行为学评分、脑含水量、脑系数、脑细胞凋亡率及 p-JAK2 和 p-STAT3 的表达均明显升高 , 组间差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$) ; 与同时点模型组比较 , 水蛭素组大鼠神经行为学评分、脑含水量、脑系数、脑细胞凋亡率均明显降低 , 组间差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$) 。 (2) 造模后 6、24、72、120 h , 模型组 p-JAK2 分别为 0.632 ± 0.036 、 0.783 ± 0.045 、 1.250 ± 0.071 、 1.006 ± 0.052 , p-STAT3 分别为 0.155 ± 0.005 、 0.193 ± 0.006 、 0.379 ± 0.012 、 0.317 ± 0.010 ; 水蛭素组 p-JAK2 分别为 0.267 ± 0.014 、 0.248 ± 0.013 、 0.329 ± 0.018 、 0.283 ± 0.016 , p-STAT3 分别为 0.139 ± 0.004 、 0.081 ± 0.001 、 0.283 ± 0.009 、 0.174 ± 0.005 。水蛭素组 p-JAK2 和 p-STAT3 的表达均低于模型组 , 组间差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$) 。 结论 水蛭素可降低脑出血大鼠脑细胞凋亡 , 其保护机制可能与抑制 JAK2 / STAT3 信号通路有关。

关键词: 水蛭素; 脑出血; 凋亡; JAK2 / STAT3 信号通路; 大鼠

doi: 10.3969/j.issn.1672-5921.2017.12.005

Effect of hirudin on janus kinase 2 / signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathway in rats with intracerebral hemorrhage Li Hong^{*}, Wu Lili, Gao Qing, Li Haihong.

^{*} Department of Clinical Skills Center, Mudanjiang Medical University, Heilongjiang province, Mudanjiang 157011, China

Corresponding author: Li Haihong, Email: soslihaihong@163.com

Abstract: **Objective** To investigate the effect of hirudin on janus kinase 2 / signal transducer and activator of transcription 3 (JAK2 / STAT3) signaling pathway in rats with intracerebral hemorrhage. **Methods** A total of 216 healthy male Wistar rats were divided into sham operation group, model group, and hirudin group ($n = 72$ in each group) using random digit table. The model of cerebral hemorrhage was induced by injecting autologous arterial blood into the caudate nucleus, and the equal volume isotonic saline was used instead of autologous arterial blood in the sham operation group. Hirudin were injected at 6, 24, 72 and 120 h, respectively in the hirudin group, while the sham operation group and the model group were injected with isotonic saline during same period. Neurobehavioral scores, brain water content and brain

基金项目: 牡丹江医学院科学技术研究项目(ZS201598)

作者单位: 157011 黑龙江省 牡丹江医学院临床技能中心(李红、高青); 北京同仁医院麻醉科(吴黎黎); 牡丹江医学院附属红旗医院重症医学科(李海红)

通信作者: 李海红, Email: soslihaihong@163.com

coefficients of the 3 groups at the different time points were compared. The changes of brain cell apoptosis were detected with annexin V-fluorescein isothiocyanate/propidium iodide double staining flow cytometry. The expression levels of phosphorylated JAK2 (p-JAK2) and phosphorylated STAT3 (p-STAT3) in brain tissue were detected with Western blot. **Results** (1) Compared with the sham operation group at same time period, neurobehavioral score, brain water content, brain coefficients, brain cell apoptosis rate and the expression levels of p-JAK2 and p-STAT3 were increased significantly in the rats of the model group. The differences between the two groups were statistically significant (all $P < 0.05$). Compared with the model group at same time period, neurobehavioral score, brain water content, brain coefficients, and brain cell apoptosis rate were decreased significantly in the rats of the hirudin group. The differences between the two groups were statistically significant (all $P < 0.05$). (2) At 6, 24, 72 and 120 h after modeling, the expression levels of p-JAK2 were 0.632 ± 0.036 , 0.783 ± 0.045 , 1.250 ± 0.071 and 1.006 ± 0.052 , respectively, and those of p-STAT3 were 0.155 ± 0.005 , 0.193 ± 0.006 , 0.379 ± 0.012 and 0.317 ± 0.010 , respectively in model group. The expression levels of p-JAK2 were 0.267 ± 0.014 , 0.248 ± 0.013 , 0.329 ± 0.018 and 0.283 ± 0.016 , respectively, and those of p-STAT3 were 0.139 ± 0.004 , 0.081 ± 0.001 , 0.283 ± 0.009 , and 0.174 ± 0.005 , respectively in the hirudin group. The expression levels of p-JAK2 and p-STAT3 in hirudin group were lower than those in the model group. There were significant differences between the two groups (all $P < 0.05$). **Conclusion** Hirudin can reduce apoptosis of brain cells after intracerebral hemorrhage in rats, its protective mechanism may be associated with the inhibition of JAK2/STAT3 signaling pathway.

Key words: Hirudin; Intracerebral hemorrhage; Apoptosis; JAK2/STAT3 signaling pathway; Rats

水蛭素是一种特异性凝血酶抑制剂,可抑制游离凝血酶的活性及其与纤维蛋白原的结合,具有抗凝血、抗血栓、抗急性心肌梗死、抗肿瘤及治疗脑梗死等作用^[1-3]。水蛭素可致微弱出血及变态反应,但少见报道^[4]。有临床研究结果显示,水蛭素在预防和治疗脑出血方面具有潜在的疗效^[5-6]。实验报道,水蛭素可减轻大鼠脑出血后细胞黏附分子 1 mRNA 的表达及血-脑屏障的通透性,从而减轻脑水肿程度^[7]。但有关水蛭素对脑出血组织的保护作用与蛋白酪氨酸激酶 2/信号转导和转录激活因子 3 (janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3, JAK2/STAT3) 信号通路关系的报道较少。本研究拟观察水蛭素对脑出血大鼠神经保护作用及 JAK2/STAT3 信号通路的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

216 只健康雄性 Wistar 大鼠, SPF 级,鼠龄 3 ~ 4 个月,平均 (3.3 ± 0.1) 个月;体重 $250 \sim 280$ g,平均 (265 ± 10) g,由哈尔滨医科大学动物实验中心提供,实验动物合格证号: SCXK(黑) 2015-001,实验动物使用许可证号: SYXK(黑) 2015-007。空调恒温,室内 22°C 相对湿度 50%,自由饮水进食。适应性饲养 1 周后,采用随机数字表法分为假手术组、模型

组和水蛭素组,每组 72 只。

1.2 主要试剂和仪器

水蛭素(Prospect 公司,以色列);水合氯醛(上海榕柏生物技术有限公司,中国);磷酸盐缓冲溶液[赫澎(上海)生物科技有限公司,中国];放射免疫沉淀测定裂解液和十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳凝胶配制试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,中国);二辛可宁酸蛋白定量试剂盒(北京鼎国昌盛生物技术有限公司,中国);聚偏二氟乙烯膜(GE 公司,美国);磷酸盐吐温缓冲液(上海士锋生物科技有限公司,中国);增强化学发光试剂盒(Amersham Bioscience 公司,美国);膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素/碘化丙啶双染凋亡检测试剂盒(上海 BestBio 贝博生物,中国);兔抗磷酸化 JAK2 (p-JAK2) 抗体和兔抗磷酸化 STAT3 (p-STAT3) 抗体(Bioworld 公司,美国);辣根过氧化物酶标记兔抗鼠 IgG 二抗(北京中杉金桥公司,中国)。动物立体定向仪(ALC-H,北京吉安得尔科技有限公司,中国);电子分析天平(AUY220,日本岛津电子天平,日本);电热干燥箱(101A-E,上海实验仪器厂,中国);电泳仪(PowerPac HV, BIO-RAD 公司,美国);转膜仪(VE-486,上海天能科技有限公司,中国);蛋白成像系统(ChemiDoc XRS, BIO-RAD 公司,美国)。

1.3 脑出血大鼠模型的建立及给药

大鼠术前 12 h 禁食 4 h 禁水,以 10% 水合氯醛 (300 mg/kg) 腹腔注射麻醉,仰卧位固定于手术台上,微量注射器抽取右侧股动脉 100 μ l 动脉血备用。采血后立即将大鼠俯卧位固定于立体定位仪上,正中切开头皮,剪开骨膜,使前囟暴露,钻一深达硬脑膜直径为 1.5 mm 的圆孔(前囟前 0.2 mm,中线右侧旁 3 mm 处),使用立体定位仪上的微量注射器沿孔进针约 6 mm(即尾状核位置),以 20 μ l/min 的速度注入大鼠自体动脉血 75 μ l,缓慢出针后再注入等渗盐水 3 μ l,术后用骨蜡封闭头部创口,缝合头皮^[8]。假手术组以等量等渗盐水代替自体动脉血,水蛭素组分别于模型建立后 6、24、72、120 h 在血肿内注入含水蛭素 15 U 的等渗盐水 3 μ l,假手术组和模型组在相应时间点给予等量等渗盐水。

1.4 神经行为学评分

3 组各取 18 只大鼠分别于模型建立后 6、24、72、120 h 进行神经行为学评分,按照 Longa 评分方法进行^[9]。轻提鼠尾,观察其行为,正常大鼠前爪伸直。0 分:无神经功能缺损;1 分:右侧前爪不能完全伸展;2 分:行走时,大鼠向左侧转圈;3 分:行走时,大鼠身体向左侧(健侧)倾倒;4 分:不能自行行走,丧失意识。1~3 分为模型建立成功。剔除模型失败或未达观察终点而死亡大鼠,评分为 1~3 分者纳入分组,使各组鼠数保持 6 只。

1.5 取材

3 组大鼠分别于建模后 6、24、72、120 h,以 10% 水合氯醛 (300 mg/kg) 腹腔注射麻醉,断头处死迅速取出全脑,用滤纸吸干脑表面液体和血迹。分为 3 份,每份 6 只,其中 1 份用于脑含水量和脑系数的测定,1 份用于流式细胞仪分析,1 份用于蛋白印迹法分析。

1.6 脑含水量和脑系数测定

3 组各 6 只大鼠分别于 4 个时间点称取整个脑组织样品湿重,于 105 $^{\circ}$ C 烤箱中烘干至恒重,再次称取样品干重,计算脑含水量。脑含水量(%) = [(湿重 - 干重) / 湿重] $\times$ 100%; 脑系数(%) = 全脑重 / 体质量 $\times$ 100%。

1.7 凋亡细胞检测

3 组各 6 只大鼠分别于 4 个时点取出血灶周围脑组织,加入磷酸盐缓冲溶液,以机械法和酶消法制成单细胞悬液,磷酸盐缓冲溶液 1 ml 冲洗 2 次,1 200 r/min(离心半径 14 cm)离心 10 min,取沉渣,过

滤。用细胞计数板计数,按流式细胞仪膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素/碘化丙啶双染凋亡检测试剂盒检测脑细胞凋亡变化。细胞凋亡率 = 右下象限的早期凋亡细胞百分率 + 右上象限的晚期凋亡细胞百分率。

1.8 p-JAK2 和 p-STAT3 的蛋白印迹分析

3 组 6 只大鼠分别于 4 个时点取出血灶周围脑组织匀浆,加入适量放射免疫沉淀测定裂解液,冰上溶胀 10 min,12 000 r/min(离心半径 9.5 cm) 4 $^{\circ}$ C 离心 15 min,收集上清液,二辛可宁酸法测定总蛋白浓度。取 30 μ g 蛋白上样后进行 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳,电转至 0.45 μ m 聚偏二氟乙烯膜上,5% 脱脂奶粉封闭 1 h。分别加入一抗(1:800 稀释)孵育过夜。磷酸盐吐温缓冲液洗涤后,加入辣根过氧化酶标记兔抗鼠 IgG(1:1 000 稀释)二抗孵育 1 h。以 β -actin 为内参,增强化学发光试剂显色,Bio-Rad 凝胶成像系统对各组条带灰度值进行分析。

1.9 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用两因素重复测量方差分析,并用 LSD 法进行组间两两比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脑出血大鼠神经行为学评分比较

假手术组大鼠神经功能未见明显受损,组内各时点神经行为学评分的差异无统计学意义($P > 0.05$);模型组大鼠造模后 6 h 神经功能评分增加,72 h 达最高值,120 h 有所减少,组内各时点神经行为学评分的差异有统计学意义($P < 0.01$);水蛭素组大鼠较模型组神经功能受损减轻,组内各时点神经行为学评分的差异有统计学意义($P < 0.05$)。相同时点下,模型组及水蛭素组大鼠神经行为学评分均高于假手术组,组间两两比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$);水蛭素组大鼠评分均明显低于模型组,组间差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。见表 1。

2.2 脑出血大鼠脑含水量比较

假手术组大鼠无脑水肿现象,组内各时点脑含水量的差异无统计学意义($P > 0.05$);模型组大鼠造模后 6 h 脑含水量开始升高,72 h 达最高值,120 h 有所降低,组内各时点脑含水量的差异有统计学意义($P < 0.05$);水蛭素组大鼠脑水肿现象则有所减轻,组内各时点脑含水量的差异无统计学意义($P >$

0.05)。相同时点下,模型组脑含水量均高于假手术组,组间差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$);水蛭素组脑含水量与假手术组比较,组间差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);水蛭素组脑含水量均明显低于模型组,组间差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 2。

2.3 脑出血大鼠脑系数比较

假手术组大鼠脑系数无明显变化,组内各时点脑系数的差异无统计学意义($P > 0.05$);模型组大鼠造模后 6 h 脑系数明显升高,72 h 达最高值,120 h 开始降低,组内各时点脑系数的差异有统计学意义($P < 0.05$);水蛭素组大鼠脑系数较模型组有所降低,组内各时点脑系数的差异无统计学意义($P > 0.05$)。相同时点下,模型组大鼠脑系数高于假手术组,组间差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$);水蛭素组脑系数与假手术组比较,组间差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);水蛭素组脑系数低于模型组,组间差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 3。

2.4 脑细胞凋亡率比较

假手术组大鼠脑细胞凋亡率较低,组内各时点凋亡率的差异无统计学意义($P > 0.05$);模型组大鼠造模后 6 h 凋亡率明显上升,72 h 达最高,120 h 有所下降,组内各时点凋亡率的差异有统计学意义($P < 0.01$);水蛭素组大鼠脑细胞凋亡率较模型组低,组内各时点凋亡率的差异无统计学意义($P > 0.05$)。相同时点下,模型组及水蛭素组大鼠脑细胞凋亡率均高于假手术组,组间两两比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$);水蛭素组大鼠脑细胞凋亡率明显低于模型组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。见表 4。

2.5 脑组织 p-JAK2 和 p-STAT3 表达的比较

假手术组内不同时点 p-JAK2 和 p-STAT3 表达的差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);模型组及水蛭素组内不同时点 p-JAK2 和 p-STAT3 表达的差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。与同时点假手术组

表 1 3 组脑出血大鼠不同时点神经行为学评分比较($\bar{x} \pm s$,分)

组别	鼠数(只)	6 h	24 h	72 h	120 h	F 值	P 值
假手术组	18	0.31 ± 0.01	0.34 ± 0.02	0.35 ± 0.02	0.34 ± 0.02	0.269	0.845
模型组	18	2.90 ± 0.16 ^a	3.81 ± 0.21 ^a	3.94 ± 0.10 ^a	3.08 ± 0.16 ^a	9.822	0.004
水蛭素组	18	1.74 ± 0.08 ^{ab}	1.76 ± 0.09 ^{ab}	1.97 ± 0.11 ^{ab}	1.82 ± 0.09 ^{ab}	8.130	0.041
F 值		155.719	142.438	424.987	156.698		
P 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01		

注:与假手术组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.01$

表 2 3 组脑出血大鼠不同时点脑含水量比较($\bar{x} \pm s$,%)

组别	鼠数(只)	6 h	24 h	72 h	120 h	F 值	P 值
假手术组	6	77.0 ± 0.8	77.1 ± 0.8	77.2 ± 0.8	77.2 ± 0.9	0.109	0.954
模型组	6	80.7 ± 0.9 ^a	81.9 ± 0.9 ^a	84.4 ± 0.9 ^a	82.1 ± 0.9 ^a	3.150	0.025
水蛭素组	6	78.2 ± 0.9 ^b	78.7 ± 0.9 ^b	79.0 ± 0.9 ^c	78.9 ± 0.9 ^b	0.147	0.931
F 值		4.437	6.051	12.710	10.231		
P 值		0.012	0.002	<0.01	<0.01		

注:与假手术组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.05$,^c $P < 0.01$

表 3 3 组脑出血大鼠不同时点脑系数比较($\bar{x} \pm s$,%)

组别	鼠数(只)	6 h	24 h	72 h	120 h	F 值	P 值
假手术组	6	0.761 ± 0.012	0.756 ± 0.011	0.751 ± 0.010	0.755 ± 0.013	0.106	0.956
模型组	6	0.823 ± 0.013 ^a	0.825 ± 0.014 ^a	0.877 ± 0.021 ^a	0.843 ± 0.014 ^a	3.716	0.013
水蛭素组	6	0.786 ± 0.120 ^b	0.787 ± 0.120 ^b	0.790 ± 0.013 ^c	0.787 ± 0.013 ^c	0.147	0.931
F 值		6.331	7.065	27.163	12.142		
P 值		0.002	0.001	<0.01	<0.01		

注:与假手术组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.05$,^c $P < 0.01$

比较 模型组大鼠脑组织 p-JAK2 和 p-STAT3 表达明显升高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$);与同时点假手术组比较,水蛭素组大鼠脑组织 p-JAK2 和 p-STAT3 未见明显变化,组间差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);与同时点模型组比较,水蛭素组大鼠脑组织 p-JAK2 和 p-STAT3 表达均明显降低,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 5。蛋白质印迹法电泳图显示,假手术组不同时点 p-JAK2 和 p-STAT3 表达变化不明显;模型组不同时点 p-JAK2 和 p-STAT3 表达较高;水蛭素组不同时点 p-JAK2 和 p-STAT3 表达较低。见图 1。

3 讨论

继发性脑出血后,血-脑屏障通透性显著增高,可致脑细胞内大量内容物外漏,脑含水量迅速增加,引起颅内压进行性增高及脑水肿形成,更为严重的可形成脑疝,是脑出血患者死亡原因之一^[10-11]。有效控制脑水肿是治疗脑出血的关键^[12],神经行为学评分能够从行为学的角度评价脑出血后神经功受损



图 1 3 组脑出血大鼠脑组织不同时点磷酸化蛋白酪氨酸激酶 2(p-JAK2)/磷酸化信号转导和转录激活因子 3(p-STAT3)表达(蛋白印迹法) 1a 为 p-JAK2, 1b 为 p-STAT3

表 4 3 组脑出血大鼠不同时点脑细胞凋亡率比较($\bar{x} \pm s$, %)

组别	鼠数(只)	6 h	24 h	72 h	120 h	F 值	P 值
假手术组	6	6.0 ± 0.5	6.5 ± 0.6	7.9 ± 0.6	6.5 ± 0.4	2.438	0.077
模型组	6	35.1 ± 2.5 ^a	38.8 ± 3.2 ^a	50.3 ± 3.6 ^a	43.8 ± 3.1 ^a	4.431	0.009
水蛭素组	6	23.7 ± 1.5 ^{ab}	24.5 ± 1.6 ^{ab}	26.1 ± 1.6 ^{ab}	24.1 ± 1.4 ^{ab}	0.488	0.692
F 值		71.673	60.967	84.442	87.093		
P 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01		

注:与假手术组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.01$

表 5 3 组脑出血大鼠脑组织不同时点 p-JAK2 和 p-STAT3 的表达($\bar{x} \pm s$, 蛋白灰度值/β-actin 灰度值)

组别	鼠数(只)	p-JAK2				F 值	P 值
		6 h	24 h	72 h	120 h		
假手术组	6	0.145 ± 0.006	0.197 ± 0.010	0.070 ± 0.003	0.203 ± 0.011	0.491	0.693
模型组	6	0.632 ± 0.036 ^a	0.783 ± 0.045 ^a	1.250 ± 0.071 ^a	1.006 ± 0.052 ^a	3.332	0.031
水蛭素组	6	0.267 ± 0.014 ^b	0.248 ± 0.013 ^b	0.329 ± 0.018 ^b	0.283 ± 0.016 ^b	4.073	0.046
F 值		122.576	132.797	213.361	186.984		
P 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01		

组别	鼠数(只)	p-STAT3				F 值	P 值
		6 h	24 h	72 h	120 h		
假手术组	6	0.092 ± 0.003	0.079 ± 0.001	0.199 ± 0.006	0.105 ± 0.003	0.045	0.987
模型组	6	0.155 ± 0.005 ^a	0.193 ± 0.006 ^a	0.379 ± 0.012 ^a	0.317 ± 0.010 ^a	2.791	0.044
水蛭素组	6	0.139 ± 0.004 ^c	0.081 ± 0.001 ^b	0.283 ± 0.009 ^b	0.174 ± 0.005 ^b	3.128	0.039
F 值		61.943	281.659	87.087	233.651		
P 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01		

注:p-JAK2 为磷酸化蛋白酪氨酸激酶 2, p-STAT3 为磷酸化信号转导和转录激活因子 3;与假手术组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.01$,^c $P < 0.05$

情况^[13]。本研究结果显示,水蛭素可有效降低脑出血大鼠脑含水量、脑系数、神经行为学评分及脑细胞凋亡,故水蛭素对脑出血大鼠具有一定的神经保护作用。

研究表明,脑细胞凋亡是脑出血继发性损伤的机制之一^[14-15]。为探讨水蛭素抑制脑出血大鼠脑细胞凋亡的可能机制,本研究从 JAK2/STAT3 信号通路角度进行了观察。JAK/STAT 是由细胞外到细胞内起作用的信号转导通路,在细胞的凋亡、分化、增殖以及各种中枢神经系统疾病中具有重要作用^[16],该通路包括 JAK 蛋白家族和 STAT 蛋白家族。JAK 蛋白家族包括 4 个成员,即 JAK1、JAK2、JAK3 和 Tyk2; STAT 蛋白家族是 JAK 的下游底物,包括 7 个成员,即 STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5b 和 STAT6^[17]。JAK2/STAT3 信号通路的信号传导是指信使物质遇到细胞外的刺激时,可识别并结合于胞膜的受体,并诱导其在胞质内形成 JAK2 结合位点,结合后使 JAK2 发生磷酸化并暴露 STAT3 的锚定点,STAT3 磷酸化后活化并移至胞核内,完成与目的基因的信号传导和表达调控^[18]。因此, JAK2 和 STAT3 发生磷酸化后激活 JAK2/STAT3 信号转导通路,而检测 p-JAK2 和 p-STAT3 蛋白的表达能够显示 JAK2/STAT3 信号通路的激活状况。有研究表明,脑出血后脑组织 JAK2/STAT3 信号通路可被激活,从而诱导脑细胞凋亡^[17]。本研究结果证实,模型组脑出血大鼠脑组织 p-JAK2 和 p-STAT3 表达显著增高,与文献报道一致。本研究结果显示,水蛭素可明显降低脑出血大鼠脑组织 p-JAK2 和 p-STAT3 的表达,提示水蛭素抑制脑出血大鼠脑细胞凋亡的机制可能与其抑制 JAK2/STAT3 信号通路有关。

综上所述,水蛭素可有效抑制脑出血大鼠神经功能受损、脑水肿和脑细胞凋亡,具有一定的神经保护作用,而水蛭素抑制脑出血大鼠脑细胞凋亡的机制可能与其抑制 JAK2/STAT3 信号通路有关。

参考文献

- [1] 郑巧燕. 水蛭素及重组水蛭素的研究概况[J]. 海峡药学 2013 25(8): 108-110.
- [2] 张和韩, 王丽萍. 水蛭素的研究进展[J]. 中国中西医结合肾病杂志 2013 14(1): 76-78.
- [3] 黄伟, 张碧华, 高素强. 脉血康胶囊治疗冠心病心绞痛临床疗效观察[J]. 中国医药 2013 8(8): 1051-1052.
- [4] 刘鑫洋, 白林涛, 姬菩宏, 等. 水蛭素研究进展[J]. 亚太传统医药 2017 13(16): 50-52.

- [5] 刘国庆, 袁建喜. 水蛭素治疗脑出血疗效观察[J]. 中外医学研究 2013 11(2): 138.
- [6] 刘亚丽. 脑出血患者使用水蛭素的临床效果评价[J]. 医药前沿 2014 8: 190-191.
- [7] 刘宏丽, 孙丽敏, 邵彩慧, 等. 水蛭素对大鼠脑出血后细胞黏附分子 1mRNA 表达及血脑屏障通透性的影响[J]. 临床荟萃 2012 27(20): 1781-1784.
- [8] Seghatoleslam M, Jalali M, Nikraveshe MR, et al. Therapeutic benefit of intravenous administration of human umbilical cord blood-mononuclear cells following intracerebral hemorrhage in rat[J]. Iran J Basic Med Sci 2012 15(3): 860-872.
- [9] 陈叶香, 李国春, 许立, 等. 凉血通瘀方治疗急性脑出血大鼠的疗效及机理研究[J]. 广州中医药大学学报, 2016 33(5): 683-687.
- [10] Kim JY, Bae HJ. Spontaneous intracerebral hemorrhage: management[J]. J Stroke 2017 19(1): 28-39.
- [11] Safarli DA, Günther A, Schlattmann P, et al. Predictors of 30-day mortality in patients with spontaneous primary intracerebral hemorrhage[J]. Surg Neurol Int 2016, 7(Suppl 18): S510-S517.
- [12] Krafft PR, McBride DW, Lekic T, et al. Correlation between subacute sensorimotor deficits and brain edema in two mouse models of intracerebral hemorrhage[J]. Behav Brain Res 2014 264: 151-160.
- [13] Hou J, Manaenko A, Hakon J, et al. Liraglutide, a long-acting GLP-1 mimetic, and its metabolite attenuate inflammation after intracerebral hemorrhage[J]. J Cereb Blood Flow Metab 2012 32(12): 2201-2210.
- [14] Liu X, Yuan D, Nie X, et al. BTEB2 prevents neuronal apoptosis via promoting bad phosphorylation in rat intracerebral hemorrhage model[J]. J Mol Neurosci 2015 55(1): 206-216.
- [15] Kim K, Park HW, Moon HE, et al. The effect of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in a collagenase-induced intracerebral hemorrhage rat model[J]. Exp Neurol 2015 24(2): 146-155.
- [16] 杨志宏, 胡亚, 孙晓波. JAK/STAT 信号转导通路及中药干预在缺血性脑卒中的研究进展[J]. 中国药理学通报 2016 32(7): 889-894.
- [17] 王绪常, 张振兴, 宋晓峰, 等. JAK2-STAT3 信号通路在大鼠脑出血模型中的作用[J]. 中国老年学杂志 2015, 35(20): 5708-5711.
- [18] 袁志俊, 李小刚, 何晓英, 等. JAK2/STAT3 通路介导热休克蛋白 70 对脑出血的神经保护作用[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志 2016 23(1): 14-18.

(收稿日期: 2017-08-25)

(本文编辑: 王燕华)