

# PDTC 对癫痫大鼠脑组织 IL-6 及 TGF- $\beta$ 1 水平的影响<sup>①</sup>

刘国军, 黄建敏, 李雪斌, 蒙兰青, 黄瑞雅<sup>②</sup>

(右江民族医学院附属医院神经内科, 广西 百色 533000 E-mail: Liuguojun415@163.com)

**摘要:** **目的** 观察吡咯烷二硫代氨基甲酸盐(PDTC)的干预对慢性癫痫大鼠脑组织中白介素-6(IL-6)和转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)的影响。**方法** SD大鼠随机分为对照组 24 只、戊四氮(PTZ)模型组 24 只、PDTC 干预组 24 只, PTZ 模型组腹腔注射生理盐水稀释的 PTZ 35 mg/kg, 对照组腹腔注射等量生理盐水, PDTC 干预组腹腔注射 PTZ(35 mg/kg)和 PDTC(100 mg/kg)。分别于 14 d、21 d、28 d、35 d 采血, 用 ELISA 法测定大鼠血清 IL-6、TGF- $\beta$ 1 水平动态变化。**结果** 与对照组相比, PTZ 模型组 IL-6 含量 14 d、21 d、28 d、35 d 明显升高, TGF- $\beta$ 1 含量相应时段均明显升高( $P < 0.01$ ); 与 PTZ 模型组相比, 在各个时间段, PDTC 干预组 IL-6 显著降低, 而 TGF- $\beta$ 1 显著升高( $P < 0.01$ )。**结论** NF- $\kappa$ B 活化及细胞因子 IL-6、TGF- $\beta$ 1 的过度表达是参与慢性癫痫发病的重要机制; PDTC 通过抑制 NF- $\kappa$ B 活化过程进而影响 IL-6、TGF- $\beta$ 1 的表达, 以达到减轻慢性癫痫大鼠脑损伤的作用。

**关键词:** 癫痫; 吡咯烷二硫代氨基甲酸盐; 白介素-6; 转化生长因子- $\beta$ 1

**中图分类号:** R742.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2015)01-0031-02

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2015.01.011

癫痫是神经系统常见的疾病, 国内外学者从细胞和分子生物学水平对癫痫的发病机制进行了不少研究, 目前普遍认为神经免疫调节失衡是促进癫痫发生发展的重要原因之一<sup>[1]</sup>。在我们前期的研究中发现, NF- $\kappa$ B 信号通路激活及其控制的炎症因子参与癫痫的发生发展, 吡咯烷二硫代氨基甲酸盐(PDTC)抑制 NF- $\kappa$ B 通路后可通过减轻炎症反应而具有抗癫痫的效应<sup>[2-3]</sup>。具有抑制神经元凋亡转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)和具有神经保护作用的白介素-6(IL-6), 是否也参与戊四氮(PTZ)诱发的癫痫发作过程, 还需要进一步研究。

## 1 材料与方 法

**1.1 药品、试剂与实验动物** PTZ、PDTC 购自美国 sigma 公司; IL-6 和 TGF- $\beta$ 1 ELISA 试剂盒购自武汉博士得公司, 其它试剂均为国产。实验动物为雄性 SD 大鼠, 体重(200 $\pm$ 20) g, 由广西医科大学实验动物中心提供, 按常规实验动物要求进行饲养。

**1.2 实验动物分组及癫痫模型的建立** 72 只 SD 大鼠适应环境 1 周后, 随机分为三组, 每组 24 只。PTZ 模型组腹腔注射浓度为 1% 的 PTZ, 剂量为 35 mg/kg; PDTC 干预组腹腔注射 1% PDTC, 剂量为 100 mg/kg, 60 min 后注射与模型组同样要求的 PTZ; 生理盐水(NS)对照组腹腔注射体积的生理盐水。每日一次给药, 一直持续 35 d。每次给药后观察 40 min 大鼠的行为情况, 并按照 Racine 的评分标准, 记录大鼠癫痫发作的情况。模型组大鼠于 14 d 出现 1~2 级轻度癫痫发作的表现, 并随时间逐渐加重, 28 d 达到最严重阶段, 35 d 有所减轻; PDTC 组癫痫发作的情况在同时段比模型组减轻<sup>[3]</sup>。

**1.3 大鼠海马组织中 IL-6 和 TGF- $\beta$ 1 的含量测定** 于用药后 14 d、21 d、28 d 和 35 d 四个时间点, 每组麻醉 6 只进行脑组织取材, 快速剥离, 称取 0.1 g 海马组织置于 1 ml 生理盐水中, 快速粉碎匀浆, 12 000 r/min 冷冻离心 15 min 后, 取上清液用于 ELISA 检测。按照 IL-6 和 TGF- $\beta$ 1 试剂盒说明书检测大鼠海马组织中 IL-6 和 TGF- $\beta$ 1 的含量。

**1.4 统计学方法** 运用 SPSS 17.0 软件进行数据分析, 计量资料用( $\bar{x} \pm s$ )表示, 采用方差分析进行两两比较,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 各组大鼠海马组织 IL-6 含量的测定** 在相同的时间点, PTZ 模型组和 PDTC 干预组中 IL-6 的含量均高于 NS 对照组, PDTC 干预组中 IL-6 的含量低于 PTZ 模型组, 组间比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ ); 随着用药时间的延长, PTZ 模型组和 PDTC 干预组中 IL-6 的含量逐渐增加, 28 d 时达到最大值, 35 d 时有所下降, 见表 1。

**2.2 各组大鼠海马组织 TGF- $\beta$ 1 含量的测定** 14 d 时, PTZ 模型组与 NS 对照组的 TGF- $\beta$ 1 含量差异无统计学意义, PDTC 干预组和 PTZ 模型组的 TGF- $\beta$ 1 含量也差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 其余时间点, PTZ 模型组和 PDTC 干预组中 TGF- $\beta$ 1 的含量均高于 NS 对照组, PDTC 干预组中 TGF- $\beta$ 1 的含量也高于 PTZ 模型组, 组间比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ ); 随着用药时间的延长, PTZ 模型组和 PDTC 干预组中 TGF- $\beta$ 1 的含量逐渐增加, 28 d 时达到最大值, 35 d 时有所下降, 但依保存较高水平, 见表 2。

① 基金项目: 广西教育厅科研项目(桂教科研[2011]14 号, 201106LX459); 广西卫生厅科研项目(桂教科研[2012]12 号, Z2012725)

② 通讯作者

表 1 PDTC 对癫痫大鼠海马组织 IL-6 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, \text{pg/ml}, n = 6$ )

组别	14 d	21 d	28 d	35 d
NS 对照组	238.17 ± 11.03	236.33 ± 12.47	236.18 ± 10.89	238.49 ± 10.77
PTZ 模型组	449.17 ± 21.61 <sup>a</sup>	750.67 ± 26.75 <sup>a</sup>	997.33 ± 54.07 <sup>a</sup>	837.33 ± 40.72 <sup>a</sup>
PDTC 干预组	345.62 ± 15.11 <sup>ab</sup>	517.83 ± 15.42 <sup>ab</sup>	647.50 ± 21.81 <sup>ab</sup>	560.54 ± 27.39 <sup>ab</sup>

注:与 NS 对照组比较, a:  $P < 0.01$ ; 与 PTZ 模型组比较, b:  $P < 0.01$

表 2 PDTC 对癫痫大鼠海马组织 TGF- $\beta 1$  含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, \text{pg/ml}, n = 6$ )

组别	14 d	21 d	28 d	35 d
NS 对照组	59.83 ± 7.36	58.80 ± 7.56	58.28 ± 6.38	59.16 ± 6.52
PTZ 模型组	62.51 ± 7.71	76.29 ± 7.89 <sup>a</sup>	92.36 ± 8.11 <sup>a</sup>	82.47 ± 9.17 <sup>a</sup>
PDTC 干预组	69.88 ± 4.78 <sup>a</sup>	84.74 ± 6.43 <sup>ab</sup>	115.28 ± 9.63 <sup>ab</sup>	96.52 ± 9.25 <sup>ab</sup>

注:与 NS 对照组比较, a:  $P < 0.01$ ; 与 PTZ 模型组比较, b:  $P < 0.01$

### 3 讨论

IL-6 是由巨噬细胞或单核细胞产生的一类重要的多功能细胞因子,主要通过自分泌或旁分泌方式等,在免疫应答和急性期反应发挥重要作用。它可促进造血干细胞、破骨细胞、B 细胞等的分化和生长,还能影响外周和中枢神经系统神经元细胞的再生和分化。IL-6 广泛参与中枢神经系统的免疫反应,与多种免疫性疾病的发病机制有关。王哲等<sup>[4]</sup>学者用中药脑灵汤喂养阿尔茨海默病模型大鼠 28 d 后,能够降低海马组织 IL-6 蛋白水平,抑制 CA3 区胶质细胞活性,改善阿尔茨海默病模型大鼠的学习记忆能力。本实验研究结果显示,在大鼠癫痫发作过程中,海马组织中的 IL-6 含量随着时间表逐渐上升,28 d 时达到最高峰;PDTC 能显著降低海马组织中 IL-6 的含量,说明 PDTC 抑制 NF- $\kappa$ B 的活性,也能减轻胶质细胞的活化和神经元的凋亡。在儿童难治性癫痫发作过程中,血清和脑脊液中 IL-6 的含量均显著高于正常对照组,也就是说癫痫发作也诱发 IL-6 表达水平的上调<sup>[5]</sup>。

TGF- $\beta 1$  作为一类多功能的细胞因子,参与神经系统的诸多生理和病理过程,具有神经保护作用,细胞实验证实 TGF- $\beta 1$  有良好的神经营养作用,可以促进轴突生长和神经元存活;动物实验发现外源性 TGF- $\beta 1$  能减少脑缺血损伤范围和神经元变性坏死<sup>[6]</sup>。TGF- $\beta 1$  对海马神经元的保护机制包括:① TGF- $\beta 1$  可以上调抗凋亡蛋白 bcl-2 和抑制促凋亡蛋白 caspase-3 的表达,以抑制海马组织神经元的凋亡。② TGF- $\beta 1$  还能够起到维持神经元  $\text{Ca}^{2+}$  稳态的作用,神经元内  $\text{Ca}^{2+}$  超载会引起神经元过度兴奋,促发神经元细胞死亡。③ 在体外实验中, TGF- $\beta 1$  可下调 NM-DA 受体的过度活化,减轻谷氨酸盐的神经毒性作用。本实验结果显示 TGF- $\beta 1$  在 PTZ 致痫大鼠海马组织中显著升高,而 PDTC 预处理的大鼠不仅能够减轻癫痫发作症状,还能升高海马组织中 TGF- $\beta 1$  的含量,在不同时间点,与 PTZ 组比较差异均有统计学意义

( $P < 0.01$ )。这说明 PDTC 抑制 NF- $\kappa$ B 通路后,可减轻癫痫的发作症状和升高海马组织中 TGF- $\beta 1$  的含量。国内有文献报道<sup>[7]</sup>,经鼻给予 TGF- $\beta 1$  可有效降低匹罗卡品致痫大鼠慢性自发性癫痫的发作频率、程度和持续时间,降低海马区胶质纤维酸性蛋白(GFAP)和离子钙结合接头分子 1(Iba-1)表达,抑制胶质细胞的活化,显著降低海马 CA3 区神经元的死亡。

综上所述,本研究对于 PTZ 致癫痫过程中的 IL-6 和 TGF- $\beta 1$  进行了检测分析,证实 PDTC 抑制慢性癫痫大鼠海马组织中 NF- $\kappa$ B 的活化后,IL-6 和 TGF- $\beta 1$  的表达变化,起到减轻炎症和保护神经的作用,进而减轻癫痫的发作。

### 参考文献:

- [1] Vezzani A, Friedman A, Dingledine RJ, et al. The role of inflammation in epileptogenesis[J]. Neuropharmacology, 2013, 69: 16-24.
- [2] 刘国军,黄建敏,李雪斌,等. PDTC 对慢性致痫大鼠海马 NF- $\kappa$ B 及 IL-10 表达的影响[J]. 中风与神经疾病杂志, 2011, 28(10): 923-926.
- [3] 刘国军,黄建敏,李雪斌,等. 吡咯烷二硫代氨基甲酸盐对癫痫大鼠海马 NF- $\kappa$ B 及相关炎症因子表达的影响[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2011, 20(9): 784-786.
- [4] 王哲,伍明辉,钟炳武,等. 脑灵汤对阿尔茨海默病大鼠模型行为学及海马 CA3 区小胶质细胞和 IL-6 表达的影响[J]. 中南大学学报:医学版, 2013, 38(2): 113-119.
- [5] 尹清,树海峰,刘宏亮,等. 血清和脑脊液中 IL-6 含量变化在儿童难治性癫痫发作中的意义[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(12): 1234-1236.
- [6] 彭玲梅,姜晓丹,谭盛,等. 转化生长因子- $\beta 1$  与脑缺血关系的研究进展[J]. 中华神经医学杂志, 2013, 12(6): 642-645.
- [7] 韩远远,刘益民,王玉,等. 转化生长因子  $\beta 1$  降低大鼠自发性癫痫发作并抑制胶质细胞活化[J]. 中国病理生理杂志, 2012, 28(12): 2266-2269, 2282.

收稿日期: 2014-12-11