

· 研究论文 ·

银杏内酯 B 对星形胶质细胞释放 NO、IL-6 及趋化因子 RANTES 的影响

彭珊瑛¹, 廖文辉¹, 聂珍贵², 刘洋¹, 王霖¹, 王凤¹, 王文杰^{1*}

(1. 中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050; 2. 首都医科大学燕京医学院, 北京 101300)

摘要: 考察银杏内酯 B 对星形胶质细胞释放 NO、IL-6 及趋化因子 RANTES 的影响, 探讨在炎性刺激条件下, 银杏内酯 B 对星形胶质细胞的保护作用机制。采用 Griess 试剂检测培养上清液中 NO 的含量, ELISA 法测定 IL-6 及 RANTES 的含量, RT-PCR 法测定 IL-6 及 RANTES mRNA 的表达。结果显示, LPS 可显著刺激大鼠原代星形胶质细胞释放 NO, 银杏内酯 B 可显著抑制 LPS 刺激的 NO 释放; IL-1 β 可显著刺激 U251 星形胶质瘤细胞 IL-6 和 RANTES 的生成, 并增加其 mRNA 的表达, 银杏内酯 B 可明显抑制 IL-1 β 诱导的 IL-6 和 RANTES 的生成, 并可显著抑制 IL-1 β 和 RANTES mRNA 的表达。因此, 银杏内酯 B 可能是通过减少 NO 的生成, 降低星形胶质细胞炎症因子 IL-6 mRNA 和细胞趋化因子 RANTES mRNA 的表达, 从而减少 IL-6 及 RANTES 的产生, 减轻炎症反应的程度。结果表明, 银杏内酯 B 可能通过降低 AD 发病和进展过程中的与星形胶质细胞相关的慢性炎症反应, 从而缓解 AD 症状。

关键词: 银杏内酯 B; NO; IL-6; RANTES; 星形胶质细胞

中图分类号: R963

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 09-1103-06

Effect of ginkgolide B on the production of NO, IL-6 and RANTES from astrocytes

PENG Shan-ying¹, LIAO Wen-hui¹, NIE Zhen-gui², LIU Yang¹, WANG Lin¹,
WANG Feng¹, WANG Wen-jie^{1*}

(1. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China;
2. Yanjing Medical College, Capital Medical University, Beijing 101300, China)

Abstract: This study is to explore the effect of ginkgolide B (BN52021) on the production of nitric oxide (NO), interleukin (IL)-6 and regulated upon activation normal T cell expressed and secreted (RANTES) from astrocytes induced by stimulators. Primary cultured rat astrocytes were stimulated with lipopolysaccharides (LPS), the production of NO was assayed using Griess reaction; U251 cells were stimulated with IL-1 β , the contents of IL-6 and RANTES in the supernatant were measured using ELISA. The mRNA expressions of IL-6 and RANTES were detected using RT-PCR. LPS (10 ng·mL⁻¹ to 10 μ g·mL⁻¹) could stimulate rat astrocytes to produce NO in a dose-dependent manner. Ginkgolide B at the concentrations of 0.1–10 μ mol·L⁻¹ were shown to decrease NO production significantly. IL-1 β could induce the mRNA expression and protein secretion of IL-6 from U251 cells, as well as RANTES. Ginkgolide B at concentrations of 0.1–10 μ mol·L⁻¹ were shown to inhibit RANTES secretion, and to inhibit mRNA expression of IL-6 and RANTES at concentration of 10 μ mol·L⁻¹. Ginkgolide B has inhibitory effect on the production of NO, IL-6 and RANTES from astrocytes treated with inflammatory stimulators.

Key words: ginkgolide B; NO; IL-6; RANTES; astrocyte

收稿日期: 2010-03-17.

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 资助项目 (2002AA233081).

*通讯作者 Tel: 86-10-63165192, Fax: 86-10-63037757, E-mail: wwenj@imm.ac.cn

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种常见的老年神经变性疾病, 临床上表现为进行性认知功能障碍和精神异常。近年来的研究表明, 胶质细胞活化、外周炎性细胞浸润所导致的脑内慢性炎症反应在 AD 的发病和进展中起着重要的作用^[1]。脂多糖 (LPS) 直接作用于星形胶质细胞可显著引起 NO 和活性氧簇的过量生成, 产生炎症和氧化应激双重损伤^[2]。LPS 腹腔内注射可诱发小鼠海马和大脑皮质中 A β 的聚集^[3], A β 可以激活神经胶质细胞, 促进许多炎性细胞因子, 如 IL-1 β 、IL-6、TGF- β 等的生成。在这些与 AD 发生和发展密切相关的炎症因子中, IL-1 β 的多态性和表达水平与 AD 的发病和进展密切相关, 它不仅可以使 Tau 蛋白过度磷酸化促进神经原纤维缠结的形成^[4], 还可以激活 NF- κ B, 刺激星形胶质细胞释放 IL-6、RANTES 等炎性细胞因子和趋化因子^[5], 促进并扩大炎症反应的发生, 从而损伤神经细胞。

多项临床试验显示银杏叶提取物 (*Ginkgo biloba* extract, EGb) 对老年早期痴呆有很好的疗效, 可显著改善注意力和记忆能力^[6]。银杏内酯是银杏叶提取物中特有的一类结构复杂的化合物, 动物实验表明银杏内酯可通过减少神经细胞凋亡, 保护神经元, 从而提高拟老年痴呆大鼠的学习记忆能力^[7]。银杏内酯是公认的血小板活化因子拮抗剂, 其中银杏内酯 B (ginkgolide B, BN52021, 图 1) 的活性最强, 具有抗炎、抗过敏、神经保护等多种作用^[8, 9]。本研究以在 AD 的发生发展中起重要作用的星形胶质细胞为研究对象, 考察银杏内酯 B 对 LPS 诱发的星形胶质细胞的 NO 的生成以及对 IL-1 β 刺激的 IL-6 和趋化因子 RANTES 生成的影响; 研究银杏内酯 B 对炎性状态下的星形胶质细胞是否有保护作用, 为其用于 AD 的防治提供一定的实验依据。

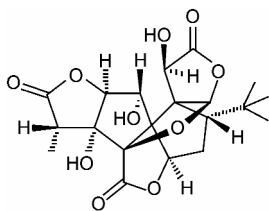


Figure 1 Molecular structure of ginkgolide B

材料与方法

实验动物及细胞株 新生 Wistar 大鼠 (雄性) 和

C57/BL6J 小鼠 (雄性, 16~18 g), 均由中国医学科学院实验动物中心提供 [许可证编号: SCXK (京) 2004-0001]。U251 星形胶质瘤细胞由中国医学科学院细胞中心提供。

药品和试剂 银杏内酯 B 由宁波立华制药有限公司提供 (纯度>95%, 相对分子质量为 424.40); 脂多糖 (LPS, from *E. Coli* 0111: B4) 购自 Sigma 公司; rhIL-1 β 购自 CytoLab/PreproTech Asia; Trizol 试剂购自 Gibco-BRL 公司; 随机引物和 M-MLV 逆转录酶购自 Promega 公司; β -肌动蛋白引物由鼎国生物技术有限公司合成; Taq DNA 聚合酶购自 Takara 公司; IL-6 和 RANTES ELISA 测定试剂盒购自 R&D 公司, 上海国雄分装; IL-6 和 RANTES 引物由北京赛百盛基因技术公司提供; DMEM 高糖培养基购自 Gibco-BRL 公司; 胎牛血清购自 Hyclone 公司。

实验仪器 Model 450 型酶标仪, Bio-Rad 公司; 紫外凝胶成像系统, Kodak 公司; XSZ-D2 倒置显微镜, 重庆光学仪器厂; CO₂ 细胞培养箱, Sanyo 公司; PE-2400 PCR 仪, PE 公司。

大鼠原代星形胶质细胞的培养^[10] 取新生的 Wistar 大鼠 (48 h 内), 经 75% 乙醇消毒后, 用手术剪将头部剪下, 置于无菌培养皿中。用 PBS 洗去残余血迹, 沿纵轴剪开皮肤和颅骨, 打开颅腔, 取出脑组织并移入另一含有预冷生理盐水的培养皿中, 仔细剥去残余脑膜及血管, 小心分离出两侧的大脑半球皮质。将组织切成约 2 mm \times 2 mm \times 2 mm 的碎块后, 加入 2.5% 胰蛋白酶 (pH 7.4), 使其终浓度为 0.125%, 然后置 37 $^{\circ}$ C 水浴振荡消化 15 min, 加入血清终止消化。用吸管柔和地吹打数下, 先后用 80 目和 200 目细胞筛过滤, 收集细胞悬液; 1 200 r \cdot min⁻¹ 离心 5 min; DMEM 洗涤, 用吸管柔和地吹打, 直至组织全部分散成单细胞悬液。将细胞用 DMEM 培养基 (含 10% FBS、2 mmol \cdot L⁻¹ 谷氨酰胺) 稀释成细胞数 1.5 \times 10⁶/mL, 种入预先用多聚-D-赖氨酸 (10 μ g \cdot mL⁻¹) 包被的培养瓶中。24 h 后洗去未贴壁的细胞及残余组织碎片。每 3 天换液一次, 至细胞长成致密单层后进行常规贴壁细胞传代培养。取第 4 代细胞进行胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 免疫化学染色, 阳性细胞占 95% 以上。

细胞一氧化氮 (NO) 释放量的测定 将原代星形胶质细胞以细胞数 2 \times 10⁵/mL (100 μ L/孔) 种入 96 孔培养板中, 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的培养箱中培养。

12 h 后, 换成不含血清的培养基, 预先加入相应的药物 (银杏内酯 B, $0.1 \sim 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 2 h 后加入刺激剂并继续孵育, 24 h 后收集细胞培养上清液, 采用 Griess 试剂检测细胞培养上清液中 NO_2^- 的含量。

ELISA 法测定 IL-6 和趋化因子 RANTES U251 细胞用含 10% FBS、 $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 谷氨酰胺的 DMEM 培养基, 于 37°C 、5% CO_2 的培养箱中培养。每 2~3 天换液一次, 长至融合时分瓶传代。细胞悬于含 10% FBS、 $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 谷氨酰胺的 DMEM 高糖培养基中, 以细胞数 $2 \times 10^5/\text{mL}$ 种入 48 孔板中, 于 37°C 、5% CO_2 的培养箱中培养。12 h 后, 培养基换成不含血清的培养基, 预先加入相应的药物 (银杏内酯 B, $0.1 \sim 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 2 h 后加入刺激剂并继续孵育, 24 h 后收集细胞培养上清液。分别按 ELISA 试剂盒说明书绘制标准曲线和测定培养上清液中的 IL-6 和 RANTES 含量。

RT-PCR 法检测 IL-6 和 RANTES mRNA 表达

① 总 RNA 的提取: U251 细胞悬于含 10% FBS、 $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 谷氨酰胺的 DMEM 高糖培养基中, 以细胞数 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 种入 60 mm 培养皿中, 于 37°C 、5% CO_2 的培养箱中培养。12 h 后, 培养基换成不含血清的培养基, 加入刺激剂, 或加入刺激剂前 2 h 加入相应的药物 (银杏内酯 B, $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 刺激 12 h 后, 按照 Trizol 试剂盒说明书提取细胞总 RNA。② RT-PCR 法扩增 IL-6 和 RANTES mRNA: 调整各管总 RNA 量一致, 采用随机引物, 参照逆转录酶 MMLV 说明书方法进行逆转录; 取逆转录产物进行 PCR。引物核苷酸序列分别为, β -actin sense: 5'-GTG GGG CGC CCC AGG CAC CA-3', β -actin antisense: 5'-CTT CCT TAA TGT CAC CCA CGA TTT C-3'; hIL-6 sense: 5'-GTC CAG TTG CCT TCT CCC-3', hIL-6 antisense: 5'-CCT CTT TGC TGC TTT CAC A-3'; β -actin 扩增条件为 94°C 5 min, 28 次循环 (94°C 0.45 min, 55.0°C 0.45 min, 72°C 1 min), 72°C 8 min, 4°C 保持; hIL-6 扩增条件为 94°C 5 min, 28 次循环 (94°C 0.45 min, 53.7°C 0.45 min, 72°C 1 min), 72°C 8 min, 4°C 保持; RANTES 扩增条件为 94°C 5 min, 28 次循环 (94°C 0.45 min, 56.1°C 0.45 min, 72°C 1 min), 72°C 8 min, 4°C 保持。将 PCR 产物电泳, 用紫外凝胶成像系统照相, 并用 Kodak Digital Science 1D 分析软件进行灰度扫描和分析。

统计学分析 实验结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 SPSS11.0 统计学软件, 选择单因素方差分析 (analysis

of variance, ANOVA) 进行统计学分析。

结果

1 LPS 对大鼠原代星形胶质细胞释放 NO 的作用

由图 2 可见, LPS 在 $0.01 \sim 10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内均可显著诱导原代培养的大鼠星形胶质细胞 NO 生成, 并且随着浓度的增加, 刺激效应逐渐增强。本研究选择 $1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ LPS 作为刺激 NO 生成的最佳浓度。

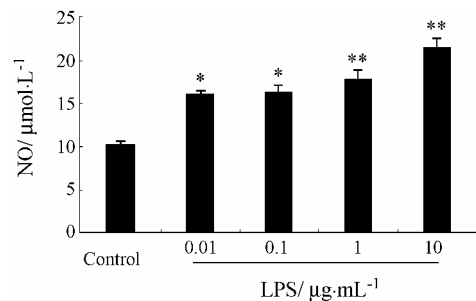


Figure 2 Concentration of NO in the supernatant of primary cultured rat astrocytes stimulated by various concentrations of LPS. Rat astrocytes were stimulated with different concentrations of LPS (0.01, 0.1, 1, and $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Culture media were collected at 24 h in order to measure NO concentration by Griess assay. $n = 8$, $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group

2 银杏内酯 B 对 LPS 刺激细胞释放 NO 的作用

经不同浓度的银杏内酯 B ($0.1 \sim 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 预处理, 加入 LPS 刺激细胞 24 h 以后, 用 Griess 检测分析结果。结果 (表 1) 显示, 银杏内酯 B 可呈剂量依赖性显著抑制由 $1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ LPS 引发的原代培养大鼠星形胶质细胞释放 NO。

Table 1 Inhibitory effect of ginkgolide B on NO released from primary cultured rat astrocytes stimulated by $1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ LPS. Rat astrocytes were pretreated with different concentrations of ginkgolide B at 37°C for 2 h, then $1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ LPS (final concentration) was added and the incubation continued for another 24 h. Then culture media were collected in order to measure NO concentration by Griess assay. $n = 4$, $\bar{x} \pm s$. ** $P < 0.01$ vs control group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs LPS group

Group	Concentration/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	NO content/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Inhibitory rate/%
Control	-	7.3 ± 1.0	
LPS	-	$10.9 \pm 1.0^{**}$	
Ginkgolide B	0.1	9.2 ± 0.6	48.7
	1	$8.4 \pm 0.7^{\Delta\Delta}$	69.6
	10	$8.0 \pm 0.8^{\Delta\Delta}$	81.0

3 IL-1β 对 U251 星形胶质瘤细胞分泌 IL-6 的作用

结果可见 (图 3), IL-1β (5~125 ng·mL⁻¹) 可剂量依赖性地显著刺激 U251 星形胶质瘤细胞 IL-6 的生成, 而这种刺激效应在 IL-1β 浓度处于 25~125 ng·mL⁻¹ 之间呈现出最大刺激效应, 故本研究选择 50 ng·mL⁻¹ 作为最佳刺激浓度。

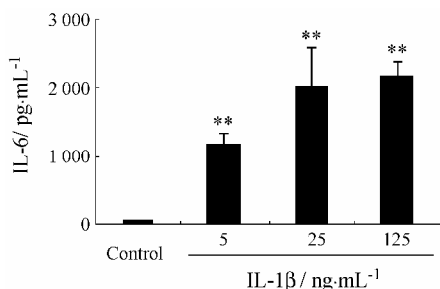


Figure 3 Secretion of IL-6 in culture supernatant stimulated by IL-1β. Human glioma U251 cells were stimulated with different concentrations of IL-1β (5, 25, and 125 ng·mL⁻¹). Culture media were collected at 24 h in order to measure IL-6 concentration by ELISA assay. *n* = 4, $\bar{x} \pm s$. ***P* < 0.01 vs control group

4 银杏内酯 B 对 U251 星形胶质瘤细胞 IL-6 mRNA 表达水平的影响

采用 RT-PCR 方法考察银杏内酯 B 对 IL-1β 刺激的 U251 星形胶质瘤细胞 IL-6 mRNA 表达水平的影响, 实验结果 (图 4) 表明, IL-1β (50 ng·mL⁻¹) 刺激 12 h, 可使 U251 星形胶质瘤细胞的 IL-6 mRNA 表达水平升高。银杏内酯 B (10 μmol·L⁻¹) 可抑制 IL-1β 诱导的 IL-6 mRNA 表达, Kodak ID 软件灰度扫描结果显示其抑制率可达 58.34% (以 β 肌动蛋白为参比)。

5 银杏内酯 B 对 U251 星形胶质瘤细胞分泌趋化因子 RANTES 的影响

IL-1β (50 ng·mL⁻¹) 可显著刺激 U251 星形胶质瘤细胞分泌 RANTES, 银杏内酯 B 可明显抑制 IL-1β 刺激的 RANTES 的分泌 (表 2)。

6 银杏内酯 B 对 U251 星形胶质瘤细胞 RANTES mRNA 表达水平的影响

实验结果 (图 5) 表明, IL-1β (50 ng·mL⁻¹) 刺激 12 h, 可使 U251 星形胶质瘤细胞的 RANTES mRNA 表达水平升高。银杏内酯 B (10 μmol·L⁻¹) 可明显抑制 IL-1β 诱导的 RANTES mRNA 表达, Kodak ID 软件灰度扫描结果显示抑制率为 38.04% (以 β 肌动蛋白为参比)。

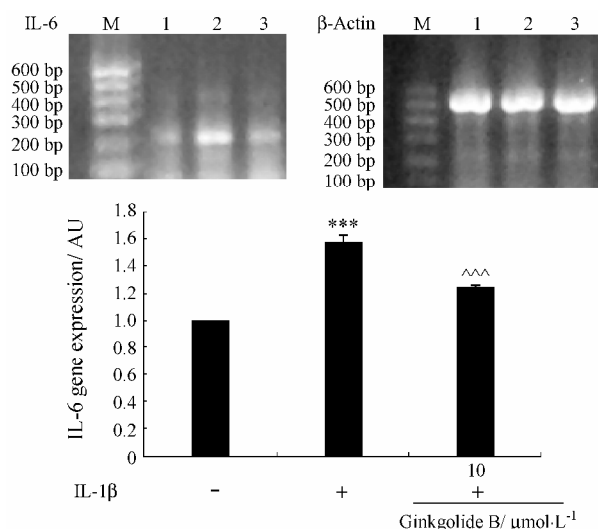


Figure 4 Effect of ginkgolide B on IL-6 mRNA expression of human glioma U251 cells stimulated by IL-1β. M: Marker; Lane 1: Blank; Lane 2: Control; Lane 3: Ginkgolide B (10 μmol·L⁻¹). Human glioma U251 cells were pretreated with 10 μmol·L⁻¹ ginkgolide B at 37 °C for 2 h, then 50 ng·mL⁻¹ IL-1β (final concentration) was added and the incubation continued for another 12 h. Total RNA was extracted and RT-PCR was performed using specific primers as described in methods, and then isolated by electrophoresis on 1.5% agarose gels, the typical result of which was shown on the upside of the figure. The figures showed a representative result of three independent experiments. β-Actin expression was used as an internal control for RT-PCR. The level of basal IL-6 mRNA was expressed as 100%. Quantified data are presented at the bottom of the figure using Kodak Digital Science 1D Analysis Software. AU: Arbitrary units. ****P* < 0.001 vs control group; ^{△△△}*P* < 0.001 vs IL-1β group

Table 2 Effect of ginkgolide B on RANTES secretion of U251 cells stimulated by IL-1β (50 ng·mL⁻¹). Human glioma U251 cells were pretreated with different concentrations of ginkgolide B at 37 °C for 2 h, then 50 ng·mL⁻¹ IL-1β (final concentration) was added and the incubation continued for another 12 h. Then culture media were collected in order to measure RANTES concentration by ELISA assay. *n* = 4, $\bar{x} \pm s$. ***P* < 0.01 vs control group; ^{△△}*P* < 0.01 vs IL-1β group

Group	Concentration / μmol·L ⁻¹	Content of RANTES / pg·mL ⁻¹	Inhibitory rate / %
Control	-	39.3 ± 0.6	
IL-1β	-	171.8 ± 3.7**	
Ginkgolide B	0.1	109.9 ± 20.0 ^{△△}	46.7
	1	102.5 ± 2.2 ^{△△}	52.3
	10	100.1 ± 0.7 ^{△△}	54.1

讨论

本研究结果表明, 星形胶质细胞在 LPS 的刺激下, NO 的生成明显增加。NO 具有神经保护和神经毒素双重作用。中枢神经系统在一氧化氮合酶 (NOS)

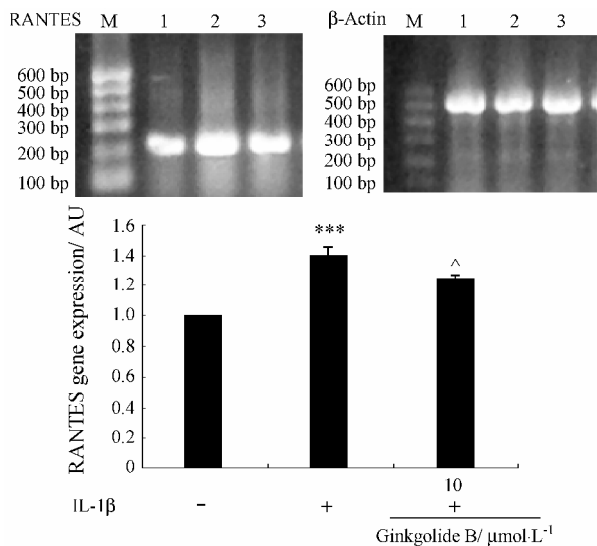


Figure 5 Effect of ginkgolide B on RANTES mRNA expression of U251 cells stimulated by IL-1 β . M: Marker; Lane 1: Blank; Lane 2: Control; Lane 3: Ginkgolide B (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). Human glioma U251 cells were pretreated with 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ginkgolide B at 37 $^{\circ}\text{C}$ for 2 h, then 50 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ IL-1 β (final concentration) was added and the incubation continued for another 12 h. Total RNA was extracted and RT-PCR was performed using specific primers as described in methods, and then isolated by electrophoresis on 1.5% agarose gels, the typical result of which was shown on the upside of the figure. The figures showed a representative result of three independent experiments. β -Actin expression was used as an internal control for RT-PCR. The level of basal IL-6 mRNA was expressed as 100%. Quantified data are presented at the bottom of the figure using Kodak Digital Science 1D Analysis Software. AU: Arbitrary units. *** $P < 0.001$ vs control group; $\Delta P < 0.05$ vs IL-1 β group

作用下通过左旋-精氨酸-NO 途径产生 NO。NOS 同工酶有 3 种亚型, 即神经型 (nNOS)、内皮型 (eNOS) 以及诱导型 (iNOS)。生理状态下, 由 eNOS 和 nNOS 产生的少量 NO 可灭活氧自由基毒性, 调节神经元上 NMDA 受体, 降低 Ca^{2+} 内流毒性, 显示其神经保护作用。多种炎症因子如 IFN- γ 、IL-1 β 等均可激活星形胶质细胞 iNOS, 释放大量的 NO, 导致神经元去极化和谷氨酸盐释放增加, 继而产生神经兴奋性中毒^[11]。因此, 抑制炎症状态下星形胶质细胞 NO 的过量生成, 将有助于降低其神经毒性。已有研究证实银杏内酯 B 具有神经保护作用^[12], 但其作用机制不详。本研究显示, 银杏内酯 B 可显著抑制 LPS 刺激的 NO 过量生成, 这可能是该药发挥神经保护作用的机制之一。

本研究的结果表明, IL-1 β 可强烈刺激 U251 星形胶质瘤细胞 IL-6 mRNA 的表达并引起培养上清液中

IL-6 的含量显著增加。在脑内, 神经元细胞和胶质细胞均表达 IL-6 及其受体。Kalman 等^[13]的研究表明 AD 时 IL-6 表达水平升高, 并且 IL-6 mRNA 表达水平升高在淀粉样蛋白沉积可检测出来之前即已发生, 提示 IL-6 mRNA 的诱导是 A β 所诱导级联免疫反应的早期事件, 可能参与淀粉样变性^[14]。同时 IL-6 水平的升高会使 LTP 受到抑制, 造成认知能力下降^[15]。本研究发现, 银杏内酯 B 可抑制 IL-1 β 刺激的星形胶质瘤细胞 IL-6 mRNA 及其蛋白的表达, 可能是该药有助于 AD 的预防和治疗的作用机制之一。

本研究还显示, IL-1 β 可显著刺激星形胶质瘤细胞 RANTES 的分泌及其 mRNA 的表达。RANTES (CCL5) 是一种具有多重功能的趋化因子, 在 HIV 感染、肿瘤及各种炎症中均具有重要作用。已有研究表明, IL-1 β 和 TNF- α 等炎症细胞因子可诱导星形胶质瘤细胞表达 RANTES 等趋化因子, 同时, RANTES 又可以进一步刺激星形胶质瘤细胞生成炎症细胞因子和其他趋化因子, 使炎症反应进一步恶化^[16]。本研究发现, 银杏内酯 B 可抑制 IL-1 β 刺激星形胶质瘤细胞的 RANTES mRNA 的表达以及减少培养上清液中的 RANTES 含量, 该药的这种作用可能也有益于对 AD 的预防和治疗。

References

- [1] Skaper SD. The brain as a target for inflammatory processes and neuroprotective strategies [J]. Ann N Y Acad Sci, 2007, 1122: 23–34.
- [2] Lee SY, Son DJ, Lee YK, et al. Inhibitory effect of sesaminol glucosides on lipopolysaccharide-induced NF-kappaB activation and target gene expression in cultured rat astrocytes [J]. Neurosci Res, 2006, 56: 204–212.
- [3] Lee JW, Lee YK, Yuk DY, et al. Neuro-inflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment through enhancement of beta-amyloid generation [J/OL]. J Neuroinflammation. 2008, 5: 37 [2008-8-29]. <http://www.jneuroinflammation.com/content/5/1/37>.
- [4] Sheng JG, Jones RA, Zhou XQ, et al. Interleukin-1 promotion of MAPK-p38 overexpression in experimental animals and in Alzheimer's disease: potential significance for tau protein phosphorylation [J]. Neurochem Int, 2001, 39: 341–348.
- [5] Sharma V, Mishra M, Ghosh S, et al. Modulation of interleukin-1beta mediated inflammatory response in human astrocytes by flavonoids: implications in neuroprotection [J].

- Brain Res Bull, 2007, 73: 55–63.
- [6] Ramassamy C, Longpre F, Christen Y. *Ginkgo biloba* extract (EGb 761) in Alzheimer's disease: is there any evidence? [J]. Curr Alzheimer Res, 2007, 4: 253–262.
- [7] Li QC, Diao HL, Jiang SJ, et al. Effect of ginkgolides on capabilities of learning and memory in Alzheimer's disease-like rat [J]. Chin J Anat (解剖学杂志), 2007, 30: 336–339.
- [8] Nie ZG, Peng SY, Wang WJ. Effects of ginkgolide B on lipopolysaccharide-induced TNF α production in mouse peritoneal macrophages and NF- κ B activation in rat pleural polymorphonuclear leukocytes [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2004, 39: 415–418.
- [9] Xia SH, Fang DC. Pharmacological action and mechanisms of ginkgolide B [J]. Chin Med J (Engl), 2007, 120: 922–928.
- [10] Zhang B, Wei XB, Liu HQ, et al. Protective effects of hydroxyethylpuerarin against brain astrocytes injury induced by hydrogen peroxide [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2006, 41: 171–174.
- [11] Brown GC. Mechanisms of inflammatory neurodegeneration: iNOS and NADPH oxidase [J]. Biochem Soc Trans, 2007, 35: 1119–1121.
- [12] MacLennan KM, Darlington CL, Smith PF. The CNS effects of *Ginkgo biloba* extracts and ginkgolide B [J]. Prog Neurobiol, 2002, 67: 235–257.
- [13] Kalman J, Juhasz A, Laird G, et al. Serum interleukin-6 levels correlate with the severity of dementia in Down syndrome and in Alzheimer's disease [J]. Acta Neurol Scand, 1997, 96: 236–240.
- [14] Tehranian R, Hasanvan H, Iverfeldt K, et al. Early induction of interleukin-6 mRNA in the hippocampus and cortex of APPsw transgenic mice Tg2576 [J]. Neurosci Lett, 2001, 301: 54–58.
- [15] Weaver JD, Huang MH, Albert M, et al. Interleukin-6 and risk of cognitive decline: MacArthur studies of successful aging [J]. Neurology, 2002, 59: 371–378.
- [16] Luo Y, Berman MA, Zhai Q, et al. RANTES stimulates inflammatory cascades and receptor modulation in murine astrocytes [J]. Glia, 2002, 39: 19–30.

《中草药》杂志 2011 年征订启事

《中草药》杂志是由中国药学会和天津药物研究院共同主办的国家级期刊，月刊，国内外公开发行人。本刊为中国中文核心期刊、中国科技核心期刊。多年来一直入选“CA 千刊表”，并被国际著名检索系统收录。详情请登录本刊网站 www.tiprpress.com 查询。

本刊主要报道中草药化学成分、药剂工艺、药理实验和临床观察等方面的研究论文，并辟有中药现代化论坛、综述、短文、新产品、企业介绍、学术动态和信息等栏目。

2011 年本刊由 A4 开本每期 168 页扩版为 208 页，定价 35.00 元。国内邮发代号：6-77，国外代号：M221。请到当地邮局订阅。欢迎广大作者踊跃投稿，欢迎广大读者订阅，欢迎与中外制药企业合作，宣传推广、刊登广告（包括处方药品广告）。

编辑部地址：天津市南开区鞍山西道 308 号

电话：(022) 27474913 23006821

电子信箱：zcy@tiprpress.com

邮编：300193

传真：(022) 23006821

网址：www.中草药杂志社.中国

www.tiprpress.com