

黄地吉仙汤对 2 型糖尿病大鼠胰岛 β 细胞凋亡的影响*

肖 燕¹, 罗志红², 宁亚功^{2△}

(1. 云南省中医医院急诊科, 云南 昆明 650021; 2. 成都军区昆明总医院附属中医院, 云南 昆明 650032)

摘要: 目的 观察中药复方制剂黄地吉仙汤对 2 型糖尿病大鼠胰岛 β 细胞凋亡的影响, 探讨具体机制。方法 采用小剂量链尿佐菌素腹腔注射法制备 2 型糖尿病大鼠。取 SD 大鼠随机分为正常组、蒸馏水组、二甲双胍组和不同剂量中药组。应用中药黄地吉仙汤、二甲双胍干预, 给药结束后, 监测各组血糖; 通过 HE 染色法观察大鼠胰岛形态学; 通过 TUNEL 法、SP 法测量各组胰岛细胞 Bcl-2、Bax 阳性细胞数和 Bcl-2/Bax 比率。结果 与蒸馏水组比较, 黄地吉仙汤组及二甲双胍组血糖均降低($P<0.05$); 黄地吉仙汤高、中剂量组及二甲双胍组 Bcl-2 阳性细胞数与蒸馏水组相比显著升高($P<0.05$); 蒸馏水组 Bax 阳性细胞数比较正常组明显偏高($P<0.05$); 二甲双胍组及黄地吉仙汤高、中剂量组与正常组 Bax 阳性细胞数显著低于蒸馏水组($P<0.05$); 黄地吉仙汤高、中剂量组、二甲双胍组(Bcl-2/Bax)比值比蒸馏水组明显偏高($P<0.05$)。结论 黄地吉仙汤可明显降低 2 型糖尿病大鼠血糖, 减少胰岛 β 细胞凋亡, 作用机理可能与其增强 Bcl-2 蛋白的表达, 抑制 Bax 蛋白的表达, 使 Bcl-2/Bax 比值提高有关, 这可能是黄地吉仙汤影响 2 型糖尿病大鼠胰岛 β 细胞凋亡的机制之一。

关键词: 黄地吉仙汤; 二甲双胍; 细胞凋亡; Bcl-2; Bax

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2016)04-0011-05

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.04.003

近年来,随着社会进步,生活水平的提高,全世界糖尿病人数大幅上升,与此同时,糖尿病的诊疗有了长足进展,西医有关糖尿病及其并发症的诊疗最新指南及专家共识不断更新。在此背景下,中医对于糖尿病的再认识及规范标准化治疗也应与时俱进。既往已有众多中医学者及临床工作者对此进行了很多积极的研究,如探索中药^[1]及针灸^[2]对于胰岛 β 细胞的凋亡影响等,宁亚功教授致力于 2 型糖尿病的中医治疗多年,积累了丰富的实践经验,创立的“补泻同施,调节平衡”法指导组方的黄地吉仙汤在多年治疗 2 型糖尿病过程中,取得了良好的临床疗效。本实验通过观察糖尿病大鼠实验,证实了中药复方制剂黄地吉仙汤治疗 2 型糖尿病具有确切疗效,并通过观察中药对于大鼠胰岛 β 细胞凋亡的影响,探讨其作用机制,为中医治疗糖尿病提供实验依据。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

昆明医科大学实验动物室提供的 5 周龄 SD 大鼠,均为雄性,体质量 140~190g。动物质量合格证号:SYXK(滇)2005-0008。实验动物使用许可证号:SYXK(滇)2008-0005。

1.1.2 主要试剂及仪器

稳豪微型血糖仪(美国强生公司)、血糖试纸(美国强生公司)、血糖试剂盒(北京中生生物工程高科技公司)、显微镜成像装置(日本 OLYMPUS)、光学显微镜(日本 OLYMPUS)、石蜡切片机(德国 Leica)、恒温水浴箱(北京西城区医疗器械厂)、YT-6C 生物组织摊烤片机(湖北孝感医用电子技术有限公司)、脱水机(美国 Thermo)、电子天平(美国 Sartorius Inc.)、体重秤 MP120-1 型(武汉自动化仪表

* 基金项目: 成都军区昆明总医院中医药科研专项课题资助(10zyz119)

收稿日期: 2016-04-28

作者简介: 肖燕(1974-),女,甘肃酒泉人,主治医师,研究方向:糖尿病的中医治疗。

△通信作者: 宁亚功, E-mail: kmnyg@163.com

厂)、手术器械(上海医疗器械厂)、电子 pH 计(瑞士 Mettler Toledo Inc.)、链尿佐菌素(STZ)(美国 sigma 公司)、SABC-POD 免疫组化染色试剂盒(北京中衫金桥生物公司)、Bax(BAO315 浓缩型)(北京中衫金桥生物公司)、Bcl-2 (BAO 浓缩型)(北京中衫金桥生物公司)、DAB 显色试剂盒(北京中生生物工程高科技公司)。

1.1.3 实验药物及配制方法

1.1.3.1 中药制备

成都军区昆明总医院附属中医院提供中药饮片。方剂组成:太子参、黄芪、石膏、玄参、知母、生地、肉桂、土鳖虫、菟丝子、川连、桑白皮、枣皮、仙鹤草、丹参、甘草等药。将上述中药用五倍量水浸泡 3h 后经 3 次煎煮,每次加五倍量水,煎煮时间为半小时,3 次煎液合并为中药原液。参照《实验药理学》进行换算,将中药原液浓缩至大鼠服用剂量的浓缩液,浓缩液浓度以原生药计,分别为 0.52, 5.2, 10.4 g/mL,上述浓缩液作为动物实验中药低、中、高剂量组药液。

中药剂量设定:中剂量组为 19g 生药/kg·d,是大鼠每日正常剂量;高剂量组为 38g 生药/kg·d,为大鼠每日正常剂量的 2 倍;低剂量组为 1.9g 生药/kg·d,即大鼠每日正常剂量的 10%。

1.1.3.2 西药组药液配备

二甲双胍片,批号 H11020541,250mg/片,北京双鹤药业公司产。蒸馏水配制为 0.25g/mL。大鼠给药量为 51.4~205.5mg/kg·d。通过前期预实验确定剂量为 200mg/kg·d。

1.2 实验方法

1.2.1 动物喂养

昆明医科大学实验动物中心提供实验大鼠普通饲料,高脂高糖饲料由成都军区昆明总医院中医科配制,配方:普通饲料 60%、动物脂肪 15%、蛋黄粉 5%、蔗糖 20%。

1.2.2 制备、筛选 2 型糖尿病大鼠模型方法

造模方法参考文献^[3-4]及本实验预实验经验。饲喂大鼠高脂高糖饲料 1 月后,一次性小剂量(30mg/kg)腹腔注射 STZ,3d 后测定血糖,空腹血糖 ≥ 16.7 mmol/L 的大鼠纳入实验^[5]。

1.2.3 动物分组及给药

造模成功的糖尿病 SD 大鼠 50 只,根据随机数

字表再次随机分组,分为蒸馏水组、二甲双胍组,黄地吉仙汤低、中、高剂量组,每组 10 只。并设一组正常对照组,为鼠龄、体质量相匹配的正常 SD 大鼠 10 只。蒸馏水组予灌服蒸馏水 5mL/kg·d;二甲双胍组予 0.2g/kg·d 二甲双胍灌胃;黄地吉仙汤低剂量组予 1.9g/kg·d 中药浓缩液灌胃;中剂量组予 19g/kg·d 中药浓缩液灌胃;高剂量组予 38g/kg·d 中药浓缩液灌胃;正常对照组予灌服蒸馏水 5mL/kg·d。

造模成功第 2 天开始给药,每日固定时间喂药 1 次,连续给药 8 周。

1.2.4 采集大鼠组织标本

大鼠给药 8 周后第 2 天,经心脏采血,将所有试验大鼠断颈法处死,取大鼠胰尾部的胰腺组织,将标本用中性福尔马林液固定 1d 后,石蜡包埋标本,以待切片。

1.3 观察指标

1.3.1 血糖

采血部位为大鼠尾静脉,血糖仪测微量血糖,时间为给药期间的第 1 周,第 2 周、第 4 周,第 8 周。测血糖前 8h 大鼠禁食不禁水。

1.3.2 检测 Bcl-2 及 Bax

细胞中存在抑制和促进凋亡的两种基因,Bcl-2 基因是广义的抗凋亡基因,Bax 为促凋亡基因。多项研究^[6-7]认为细胞内这两种对立蛋白间的比率关系是决定细胞存亡的关键。本实验采用免疫组化法检测实验动物胰岛细胞中 Bcl-2 及 Bax 的表达强度。

1.4 结果判定

成都军区昆明总医院病理科阅片,由两位病理科医生盲法阅片。在显微镜 200 倍镜下观察并拍照,每组标本最少随机选取 10 张切片,随机取每张切片 5 个完整的胰岛,在同一光强度下,显微镜高倍镜视野($\times 400$ 倍),统计各个胰岛阳性 Bcl-2 及 Bax 细胞数,计算阳性胰岛细胞平均个数,予数据分析处理。细胞浆内有棕黄色颗粒者为 Bcl-2、Bax 阳性细胞,细胞核或胞浆内未见棕黄色颗粒、细胞核染色呈蓝色为阴性对照。

1.5 统计学方法

使用 SPSS19.0 软件处理实验数据,均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示每组实验数据,采用单因素方差分析分析每组间数据,LSD 多重比较方法分析各组间差异, $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 实验结果

2.1 血糖

在给药期间,蒸馏水组、黄地吉仙汤各组和西药组各有死亡大鼠3只、2只、2只、2只、2只。STZ造模后,大鼠血糖显著升高,蒸馏水组、治疗组各组大鼠血糖较正常组有显著差异($P<0.05$)。给药2月后,中药高、中剂量组与二甲双胍组血糖均明显降低(与蒸馏水组比较 $P<0.05$)。见表1。

表1 黄地吉仙汤对大鼠空腹血糖的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	给药前空腹 血糖/(mmol·L ⁻¹)	给药8周后空腹 血糖/(mmol·L ⁻¹)
正常组	10	4.26±0.69 [#]	9.30±2.45 [#]
蒸馏水组	7	24.98±7.30	26.740±8.31 [△]
二甲双胍组	8	24.36±6.78	10.800±4.39 [#]
黄地吉仙汤低剂量组	8	24.69±3.91	18.460±15.33 [△]
黄地吉仙汤中剂量组	8	24.5±4.077	9.300±5.75 [#]
黄地吉仙汤高剂量组	8	24.7±5.225	9.900±9.52 ^{△#}

注:与正常组比,[△] $P<0.05$,与蒸馏水组比,[#] $P<0.05$

2.2 治疗后SP法检测比较各实验组动物胰岛 β 细胞Bcl-2与Bax蛋白表达

2.2.1 各组大鼠胰岛 β 细胞Bcl-2蛋白表达

正常组Bcl-2染色表现为整个胰岛细胞的胞浆弥漫遍布棕黄色颗粒,阳性表达广泛(见图1);蒸馏水组Bcl-2染色为少量散在分布棕黄色颗粒,阳性表达稀疏(见图2);经中西药治疗2月后,发现中药高、中剂量组与西药组棕黄色颗粒增加明显,较蒸馏水组Bcl-2表达增强(见图3,图4,图6);黄地吉仙汤低剂量组散在棕色颗粒少量,但数量较蒸馏水组改善(见图5,图2)。

2.2.2 各组胰岛 β 细胞Bax蛋白表达

正常组大鼠胰岛细胞中Bax染色表现为浅棕色颗粒状(见图7);蒸馏水组Bax染色表达广泛,胰岛细胞胞浆中可见大量颜色较正常组显著加深的棕黄色颗粒(见图8);在黄地吉仙汤高、中剂量组及二甲双胍组可见Bax表达受抑制,细胞胞浆中浅棕色颗粒的数量显著减少(见图9、10、12);黄地吉仙汤低剂量组Bax染色表现为深棕色颗粒较多,较蒸馏水组大鼠改善(见图11)。

2.2.3 给药2月后胰岛细胞中Bcl-2、Bax蛋白表达

比较胰岛细胞中Bax及Bcl-2阳性细胞的平均数量(附表2)。

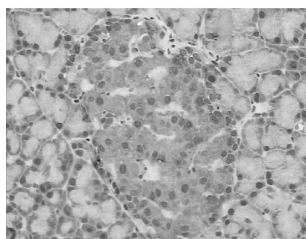


图1 正常组($\times 200$)

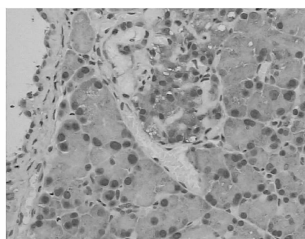


图2 蒸馏水组($\times 200$)

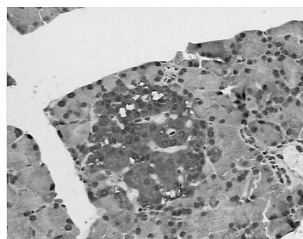


图3 中药高剂量组($\times 200$)

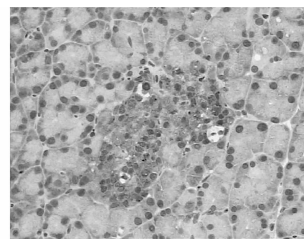


图4 中药中剂量组($\times 200$)

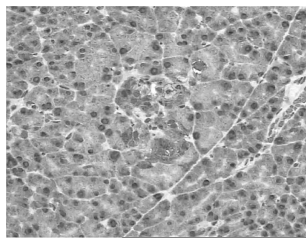


图5 中药低剂量组($\times 200$)

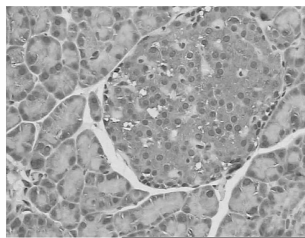


图6 二甲双胍组($\times 200$)

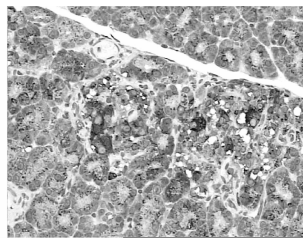


图7 正常组($\times 200$)

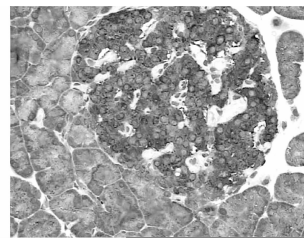


图8 蒸馏水组($\times 200$)

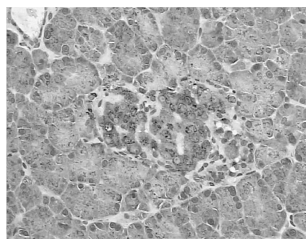


图9 中药高剂量组($\times 200$)

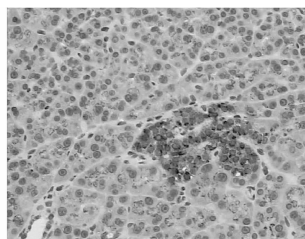


图10 中药中剂量组($\times 200$)

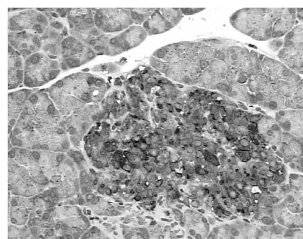


图11 中药低剂量组($\times 200$)

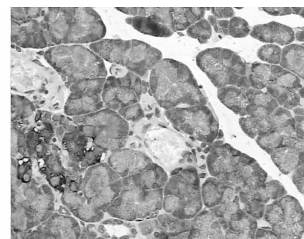


图12 二甲双胍组($\times 200$)

表 2 对大鼠 Bcl-2、Bax 平均阳性细胞数的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Bcl-2 阳性细胞 平均数	Bax 阳性细胞 平均数
正常组	10	71.1±9.06	41.2±5.09
蒸馏水组	7	31.6±6.99 [△]	55.9±7.63 [△]
西药组	8	41.7±2.28 ^{△#}	29.4±14.3 ^{△#}
中药低剂量组	8	29.2±2.94 [△]	49.8±7.36 ^{△#}
中药中剂量组	8	45±8.06 ^{△#}	32.5±9.37 ^{△#}
中药高剂量组	8	47.7±4.97 ^{△#}	34.2±12.6 ^{△#}

注:与正常组比,[△] $P<0.05$,与蒸馏水组比,[#] $P<0.05$

分析:通过各组大鼠 Bcl-2 阳性细胞平均数目的比较,能够说明,蒸馏水组与正常组 Bcl-2 阳性细胞数之间存在显著差异($P<0.05$);黄地吉仙汤低剂量组与蒸馏水组之间未发现显著差异($P>0.05$);黄地吉仙汤高、中剂量组、二甲双胍组 Bcl-2 阳性细胞数较蒸馏水组显著升高($P<0.05$)。同时各组大鼠 Bax 阳性细胞平均数目的比较说明,正常组较蒸馏水组的 Bax 阳性细胞数存在显著差异($P<0.05$);黄地吉仙汤各剂量组、二甲双胍组、正常组与蒸馏水组 Bax 阳性细胞数目存在显著差异($P<0.05$);黄地吉仙汤高、中剂量组的 Bax 阳性细胞数显著少于黄地吉仙汤低剂量组($P<0.05$)。说明中药高、中剂量组具有对抗 β 细胞凋亡的效果,中药低剂量组无此疗效。随着剂量增加,中药对抗 β 细胞凋亡的疗效随之增加。说明中药高中剂量组较低剂量组具有更好的对抗细胞凋亡的效果,从而说明中药剂量与抗细胞凋亡作用呈正相关。

2.2.4 比较各组 Bcl-2、Bax 比值

治疗结束,比较大鼠 β 细胞 Bcl-2 与 Bax 阳性细胞平均数值比值。见表 3。

表 3 对胰岛 β 细胞 Bcl-2/Bax 值的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	(Bcl-2/Bax) 比值
正常组	10	1.72±0.11
蒸馏水组	7	0.57±0.13 [△]
西药组	8	1.42±0.12 ^{△#}
中药低剂量组	8	0.59±0.17 [△]
中药中剂量组	8	1.38±0.30 ^{△#}
中药高剂量组	8	1.39±0.13 ^{△#}

注:与正常组比,[△] $P<0.05$,与蒸馏水组比,[#] $P<0.05$

分析:从上述比较中能够得知,蒸馏水组和正常组(Bcl-2/Bax)的比值存在显著差异($P<0.05$),说

明大鼠经高脂高糖喂养+小剂量(30mg/kg 体重)腹腔注射 STZ 造模方法成功。蒸馏水组与黄地吉仙汤低剂量组的(Bcl-2/Bax)比值比较无差异($P>0.05$);黄地吉仙汤高、中剂量组、二甲双胍组(Bcl-2/Bax)比值较蒸馏水组显著增高($P<0.05$);说明中药高、中剂量组和西药二甲双胍对抗 β 细胞凋亡的疗效接近,中药低剂量组无明显疗效。随着中药剂量的递增, β 细胞(Bcl-2/Bax)比值随之增加,说明中药抗 β 细胞凋亡的作用与药物剂量呈正相关。

3 讨论

糖尿病患者胰岛功能衰竭比以前人们估计得早得多,空腹血糖受损和葡萄糖耐量减退患者胰岛功能损伤已达 50%左右^[8]。糖尿病发病时,胰岛细胞凋亡增加^[9],凋亡是胰岛 β 细胞主要的死亡形式, β 细胞数量的减少可能是导致 2 型糖尿病 β 细胞功能障碍的主要原因^[10]。在 2 型糖尿病动物模型人胰岛淀粉样多肽转基因鼠及 Zucker 糖尿病肥胖(ZDF)鼠体内发现胰岛 β 细胞凋亡频率明显增高,而增生、复制功能正常^[11-12],说明 2 型糖尿病存在 β 细胞凋亡增加是其数量减少的根本原因,提示胰岛 β 细胞凋亡参与 2 型糖尿病的发病过程。

通过使用某些药物促进 β 细胞的再生及阻止过多凋亡的发生,可以使胰岛体积增大, β 细胞数量增多及功能增强,这对于糖尿病的治疗具有特别重要的意义。对糖尿病患者使用促进 β 细胞再生及防止过多凋亡的药物,将有可能真正逆转糖尿病^[13]。

Bcl-2 基因是广义的抗凋亡基因,Bcl-2 基因高表达可明显维持细胞的存活。Bax 基因是 Bcl-2 家族成员之一,Bcl-2 可以和 Bax 等结合形成异构二聚体抑制细胞凋亡,Bax 表达水平增加可拮抗 Bcl-2 的作用,并促进细胞凋亡^[14]。Bcl-2 与 Bax 的比值决定着细胞受凋亡刺激后的生存能力^[15]。

既往研究表明,二甲双胍可以抑制细胞凋亡的发生^[16]。本实验表明:中药复方黄地吉仙汤可改善 2 型糖尿病大鼠胰岛 β 细胞的功能,通过增加 Bcl-2 的表达,抑制 Bax 的表达,调控抗凋亡蛋白与促凋亡蛋白 Bcl-2/Bax 的比值,从而抑制 β 细胞凋亡。实验证实,在此方面,黄地吉仙汤和一线降糖药二甲双胍疗效接近。

2 型糖尿病在开始阶段是无症状的,往往是在起病数年后才得到诊断^[17]。糖尿病患者一旦确诊,已经处于亚健康状态相当长的阶段,患者的辨证不仅是阴虚,多见到阴虚夹痰湿、气虚、血虚、血瘀、阳虚

等,病情纷繁复杂。糖尿病发病机制复杂,病机寒热虚实错杂,病位涉及三焦各个脏腑,治疗不是简单的滋阴润肺养胃补肾等可以涵盖的。本实验说明:“补泻同施,调节平衡”这一治则,是成功治疗2型糖尿病的新思路,是对中医治疗糖尿病的理论在继承基础上的创新。

参考文献:

- [1] 康白,毛淑梅,李承德,等. 黄芪多糖对糖尿病大鼠早期多尿的保护作用研究[J]. 中国药理学通报,2009,25(11):1470-1472.
- [2] 孙志,韩海荣,马丽,等. 针灸对2型糖尿病胰岛 β 细胞凋亡的影响[J]. 中国老年学杂志,2011,31(6):966-967.
- [3] 燕娟,郭巍伟,梁执群,等. 2型糖尿病大鼠模型的建立及其验证[J]. 临床和实验医学杂志,2009,8(4):5-6.
- [4] 陈秋,夏永彭,邱宗荫. 2型糖尿病大鼠模型的建立与评价[J]. 天津医药,2006,34(1):33-35.
- [5] 刘学政,萧鸿. 链尿佐菌素致大鼠糖尿病模型的研究[J]. 锦州医学院学报,2001,22(4):11-14.
- [6] Walensky LD. Bcl-2 in the crosshairs: tipping the balance of life and death[J]. Cell Death Differ,2006,13(8):1339-1350.
- [7] 王彤,刘存志,刘玉珍,等. Bcl-2/Bax 基因调控机体细胞凋亡的机制研究进展[J]. 中国老年学杂志,2008,28(16):1658-1660.
- [8] 陈灏珠,林果为,王吉耀. 实用内科学[M]. 14版. 北京:人民卫生出版社,2013:979.
- [9] Skrha J. Pathogenesis of type 1 and type 2 diabetes in 2011 the unifying model of glucoregulation disorder[J]. Vnitr Lek, 2011,57(11):949-953.
- [10] Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, et al. Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes[J]. Diabetes, 2003,52(1):102-110.
- [11] Farilla L, Hui H, Perfetti R. GLP-1 promoter growth and inhibit apoptosis of beta-cell in Zucker diabetic rat[J]. Endocrinology, 2002,143:4397-4408.
- [12] Butler AE, Jang J, Gurlo T, et al. Diabetes due to a progressive defect in beta-cell mass in rats transgenic for human islet amyloid polypeptide (HIP Rat): a new model for type 2 diabetes[J]. Diabetes, 2004,53(6):1509-1516.
- [13] 田伯乐,郭志光,郝建强,等. 胰岛 β 细胞再生与糖尿病治疗的研究进展[J]. 胰腺病学,2007,7(3):206-208.
- [14] Brooks C, Dong Z. Regulation of mitochondrial morphological dynamics during apoptosis by Bcl-2 family proteins: a key in Bak[J]. Cell Cycle, 2007,6(24):3043-3047.
- [15] Xie Z, Koyama T, Suzuki J, et al. Coronary reperfusion following ischemia: different expression of bcl-2 and bax proteins, and cardiomyocyte apoptosis [J]. Jpn Heart J, 2001,42(6):759-770.
- [16] 王小芳,张金盈,赵晓燕,等. 二甲双胍对原代心肌细胞凋亡的影响[J]. 临床心血管病杂志,2013,29(4):306-308.
- [17] 许曼音. 糖尿病学[M]. 2版. 上海:上海科学技术出版社,2010:216.

(编辑:徐建平)

(原文见第1页)

Effects of Buyang Huanwu Decoction on Motor Functional Recovery after Spinal Cord Injury in Rats

ZOU Liliang¹, WANG Kui¹, MAN Xianan¹, LIU Xuehong², CHEN Jianer¹

(1. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou, 310053, China; 2. Shaoxing University, Shaoxing 312000, China)

ABSTRACT: **Objective** To study the effects and mechanism of Buyang Huangwu Decoction on rats with spinal cord injury by analyzing the changes of glial fibrillary acidic protein (GFAP) and Nestin expression. **Methods** SD rats were randomly divided into five groups: sham group, model group, low dose Buyang Huangwu Decoction group (L-BYHWD), medium dose Buyang Huangwu Decoction group (M-BYHWD) and high dose Buyang Huangwu Decoction group (H-BYHWD). Rats of Model group, L-BYHWD group, M-BYHWD group, H-BYHWD group underwent spinal cord hemisection injury; model group without drug intervention, Buyang Huanwu Decoction group were used with different doses of Buyang Huanwu Decoction orally. Immunohistochemistry was used to evaluate the expression level of GFAP and Nestin. BBB scales was used to evaluate the motor function of hind limbs in rats. **Results** The BBB scores of the rats after the intervention of BYHWD was higher than the same period of the model group ($P < 0.05$). The expression of GFAP in the rats spinal cord tissue was significantly increased after SCI, while down-regulation in the groups with the intervention of BYHWD. The expression of GFAP in the spinal cord tissue of rats of M-BYHWD and H-BYHWD was significantly lower than the same periods in the model group ($P < 0.05$); The expression of GFAP in the rats of H-BYHWD significantly lower than the same periods of M-BYHWD in 3-7 days after surgery ($P < 0.05$), while it does no significant difference in 28 days after surgery ($P > 0.05$). expression of Nestin in the spinal cord tissue with the intervention of BYHWD was higher than the same period model group ($P < 0.05$); Both the groups of M-BYHED and H-BYHWD, the expression level of Nestin were significantly higher than the model group in the same period ($P < 0.05$), while there was no significant difference of the Nestin expression between the M-BYHWD and the H-BYHWD. **Conclusion** BYHWD can promote the repair of injured spinal cord in rats and its mechanism may be related to reducing scarring by inhibiting the expression of GFAP and repairing nerve by increasing the expression of Nestin.

KEY WORDS: spinal cord injury; Buyang Huanwu decoction; dose; glial fibrillary acidic protein; Nestin