

基础研究

论著

山姜素对脊髓损伤大鼠神经功能恢复的影响及其机制

黄振峰, 陈梦妮, 刘军, 叶志伟*

武汉市第四医院手外科, 湖北武汉 430034

[中图分类号] R744.9 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.2026.0303

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 黄振峰, 陈梦妮, 刘军, 等. 山姜素对脊髓损伤大鼠神经功能恢复的影响及其机制[J]. 解放军医学杂志, 2026, 51(5): 758-766.

[收稿日期] 2025-08-04 [录用日期] 2025-11-19 [上线日期] 2026-03-03

[摘要] 目的 探讨山姜素对脊髓损伤(SCI)大鼠神经功能恢复的影响及其机制。方法 采用改良Allen's打击法构建SCI大鼠模型, 将造模成功的60只大鼠随机分为SCI组、bpV[磷酸酶和张力蛋白同源物(PTEN)抑制剂]组、山姜素-L组、山姜素-H组、山姜素-H+LY294002[磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)抑制剂]组($n=12$), 另取12只健康正常SD大鼠作为对照组; 给药结束进行巴索-比蒂-布雷斯纳汉(BBB)评分、Reuter评分、斜板角度、皮层体感诱发电位(CSEP)潜伏期检测; 采用ELISA法检测白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子(TNF)- α 水平; HE染色观察脊髓组织病理变化; Nissl染色观察脊髓组织前角运动神经元形态和数量; TUNEL染色观察神经元凋亡情况; 免疫组化检测自噬相关蛋白的表达; Western blotting检测凋亡及PTEN/PI3K/蛋白激酶B(Akt)信号通路相关蛋白的表达。结果 与对照组比较, SCI组脊髓组织结构严重破坏, 坏死组织及片状出血的空腔明显, 大量炎症细胞浸润, 神经细胞核固缩、坏死明显, 致使其排列稀疏紊乱, 尼氏体染色浅, 神经元数量减少, BBB评分、斜板角度及p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt比值降低, CSEP潜伏期延长, Reuter评分, IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平, 细胞凋亡率, 胱天蛋白酶(caspase)-3、C-caspase-3、自噬相关蛋白Beclin1、自噬相关蛋白5(Atg5)表达水平, 以及p-PTEN/PTEN比值增高($P<0.05$); bpV组、山姜素-L组、山姜素-H组较SCI组脊髓组织病理损伤明显改善, 结构相对规整, 空腔逐渐减少, 炎症细胞浸润减轻, 尼氏体染色变深, 神经元数量增多, BBB评分、斜板角度及p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt比值增高, CSEP潜伏期缩短, Reuter评分, IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平, 细胞凋亡率, caspase-3、C-caspase-3、Beclin1、Atg5表达水平, 以及p-PTEN/PTEN比值降低($P<0.05$); 山姜素-H+LY294002组较山姜素-H组脊髓组织病理损伤加重, BBB评分、斜板角度及p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt比值降低, CSEP潜伏期延长, Reuter评分, IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平, 细胞凋亡率, caspase-3、C-caspase-3、Beclin1、Atg5表达水平, 以及p-PTEN/PTEN比值增高($P<0.05$)。结论 山姜素可促进SCI大鼠神经功能恢复, 且可能与抑制PTEN/PI3K/Akt信号通路有关。®

[关键词] 山姜素; PTEN/PI3K/Akt信号通路; 脊髓损伤; 神经功能恢复**Effect of Alpinetin on neurological function recovery in rats with spinal cord injury and its underlying mechanism**

Huang Zhen-Feng, Chen Meng-Ni, Liu Jun, Ye Zhi-Wei*

Department of Hand Surgery, Wuhan Fourth Hospital, Wuhan, Hubei 430034, China

*Corresponding author, E-mail: wyx7td@163.com

This work was supported by the Health Commission of Wuhan City Research Project (WZ24A28)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of Alpinetin on neurological function recovery in rats with spinal cord injury (SCI) and its underlying mechanism. **Methods** A modified Allen's striking method was used to establish an SCI rat model. The successfully modeled rats were randomly divided into SCI group, bpV [phosphatase and tensin homolog (PTEN) inhibitor] group, Alpinetin low-dose (Alpinetin-L) group, Alpinetin high-dose (Alpinetin-H) group, and Alpinetin-H+LY294002 [phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) inhibitor] group, with 12 rats in each group. Additionally, 12 healthy Sprague-Dawley (SD) rats were selected as control group. After the end of administration, the Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) score, Reuter score, inclined plate

[基金项目] 武汉市卫健委科研项目(WZ24A28)

[作者简介] 黄振峰, 硕士研究生, 主治医师, 主要从事中医药新型交叉前沿技术方面的研究

[通信作者] 叶志伟, E-mail: wyx7td@163.com

angle and latency of cortical somatosensory evoked potential (CSEP) were detected. ELISA was performed to detect the levels of interleukin (IL)-1 β , IL-6 and tumor necrosis factor (TNF)- α . HE staining was performed to observe the pathological changes in spinal cord tissue. Nissl staining was performed to examine the morphology and quantity of anterior horn motor neurons in spinal cord tissue. TUNEL staining was applied to detect neuronal apoptosis. Immunohistochemistry was applied to measure the expression of autophagy-related proteins. Western blotting was used to detect the expression of apoptosis-related proteins and proteins associated with the PTEN/PI3K/protein kinase B (Akt) signaling pathway. **Results** Compared with control group, SCI group exhibited severe destruction of spinal cord tissue structure, obvious cavities with necrotic tissue and focal hemorrhage, massive inflammatory cell infiltration, and significant pyknosis and necrosis of nerve cell nuclei, leading to sparse and disordered arrangement of neurons, shallow Nissl body staining, and reduced number of neurons. The BBB score, inclined plate angle, and the ratios of p-PI3K/PI3K and p-Akt/Akt were decreased, while the CSEP latency was prolonged, and the Reuter score, levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α , neuronal apoptosis rate, expression levels of caspase-3, cleaved-caspase-3 (C-caspase-3), Beclin1, and autophagy-related protein 5 (Atg5) and the ratios of p-PTEN/PTEN were increased ($P<0.05$). Compared with SCI group, bpV group, Alpinetin-L group, and Alpinetin-H group showed significant improvement in pathological damage of spinal cord tissue, relatively regular tissue structure, gradually reduced cavities, alleviated inflammatory cell infiltration, deeper Nissl body staining and increased number of neurons. The BBB score, inclined plate angle, and the ratios of p-PI3K/PI3K and p-Akt/Akt were increased, while the CSEP latency was shortened, and the Reuter score, levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α , neuronal apoptosis rate, expression levels of caspase-3, C-caspase-3, Beclin1 and Atg5, and the ratios of p-PTEN/PTEN were decreased ($P<0.05$). Compared with Alpinetin-H group, Alpinetin-H+LY294002 group presented aggravated pathological damage of spinal cord tissue, with decreased BBB score, inclined plate angle, and the ratios of p-PI3K/PI3K and p-Akt/Akt, prolonged CSEP latency, as well as increased Reuter score, levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α , neuronal apoptosis rate, expression levels of caspase-3, C-caspase-3, Beclin1 and Atg5, and the ratios of p-PTEN/PTEN ($P<0.05$). **Conclusion** Alpinetin can promote neurological function recovery in SCI rats, which may be associated with the inhibition of the PTEN/PI3K/Akt signaling pathway.

[Key words] alpinetin; PTEN/PI3K/Akt signaling pathway; spinal cord injury (SCI); neurological function recovery

脊髓损伤(SCI)是临床上常见的发病率与致残率均较高的中枢神经系统疾病,主要表现为反射性痉挛、瘫痪、性功能下降、呼吸和心血管衰竭等,加之治疗带来的沉重经济负担,对患者的生理与心理均造成了毁灭性影响^[1]。随着交通、职业事故的频发及老龄化等因素的影响,SCI发病率持续增高,且在老年人群中呈现较高的死亡率^[2]。随着医疗技术的快速发展,目前通过针灸、理疗、电刺激等康复治疗,服用血管活性药物前列地尔、营养神经药物甲钴胺等药物治疗,手术、干细胞、生物材料移植等多种方法进行的综合治疗,SCI患者的病情虽得到一定缓解,但仍未达到理想状态^[3-5]。寻求新的治疗药物与策略仍是当前的研究重点^[6]。山姜素(Alpinetin)是从多味中草药中分离出来的一种天然黄酮类化合物,具有多种生物活性,包括抗炎、心血管、神经及多种器官保护作用,且因其低毒性常被应用于多种中成药^[7]。研究发现,山姜素可抑制小胶质细胞介导的炎症反应和神经元凋亡,改善轴突再生和运动功能的恢复,进而减轻SCI^[8]。磷酸酶和张力蛋白同源物(PTEN)/磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路参与SCI炎症、凋亡、自噬等多个生物学途径,其中抑制PTEN可激活PI3K/Akt通路而抑制神经细胞的凋亡,进而减轻SCI^[9]。本研究探究山姜素对SCI大鼠神经功能恢复及

PTEN/PI3K/Akt信号通路的影响,以期丰富山姜素对SCI的作用机制,从而寻求新的治疗策略。

1 材料与方法

1.1 实验动物及主要材料 80只7~8周龄SPF级SD雄性大鼠[体重(200 $\pm$ 20)g]购自武汉万千佳兴生物科技有限公司[生产许可证号:SCXK(鄂)2021-0011]。山姜素(纯度 $\geq$ 98%, A423623)、bpV(PTEN抑制剂;纯度 $\geq$ 95%, B334661)(上海阿拉丁生化科技股份有限公司); LY294002(PI3K抑制剂;纯度 $\geq$ 98%, S43088, 上海源叶生物科技有限公司); 白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子(TNF)- α ELISA试剂盒(ER008-16、ER003-48、ER006, 上海吉泰依科赛生物科技有限公司); HE染色试剂盒(R32695, 上海源叶生物科技有限公司); TUNEL染色试剂盒(SC-L382, 深圳顺辰生物科技有限公司); 胱天蛋白酶(caspase)-3、PTEN、p-PI3K、Akt、p-Akt抗体(BES-20054Ab、BES-R92-33、BES-20929Ab、BES-20042Ab、BES-20044Ab, 上海博尔森生物科技有限公司); C-caspase-3、自噬相关蛋白5(Atg5)抗体(WL01992、WL02411, 沈阳万类生物科技有限公司); Beclin1抗体(200212, 上海雅吉生物科技有限公司); p-PTEN抗体(IC162105, 上海钰博生物科技有限公司); PI3K抗体(sc-365404, 美国Santa Cruz Biotechnology公司); HRP标记二抗

(LF102, 上海雅酶生物医药科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 SCI大鼠模型构建及分组 大鼠麻醉后俯卧位固定,在 T_{10} 处进行剃毛备皮消毒切口,暴露 T_{10} 对应的脊髓及 $T_{9,11}$ 棘突;在3 cm高度使用20 g击打棍自由落体撞击 T_{10} 对应的脊髓。若撞击脊髓处水肿、出血,硬脊膜完整呈紫红色;同时大鼠出现痉挛,双下肢迅速回缩摆动,表示造模成功^[10]。对照大鼠仅暴露脊髓却不进行 T_{10} 段对应脊髓的打击处理。本研究获武汉市万千佳兴生物科技有限公司动物伦理委员会审批(202408276),实验过程符合国家和单位有关实验动物的管理和使用规定。

80只SD大鼠中68只用以构建SCI模型,12只作为对照组。在SCI造模组中,8只在造模过程中发生感染或死亡;60只造模成功,将其随机分为SCI组、bpV组、山姜素-L组、山姜素-H组和山姜素-H+LY294002组($n=12$)。bpV组^[11]大鼠造模成功后于腹腔注射0.2 ml 200 μ l/kg PTEN抑制剂bpV;根据山姜素给药剂量不同分别设置山姜素低剂量组(山姜素-L组)和高剂量组(山姜素-H组)^[8],即于大鼠造模成功后分别经腹腔注射15、30 mg/kg山姜素;山姜素-H+LY294002组^[12]大鼠造模成功后经腹腔注射30 mg/kg山姜素及尾静脉注射1.5 mg/kg PI3K抑制剂LY294002;SCI组与对照组大鼠腹腔注射及尾静脉注射等量生理盐水;1次/d,连续4周。

1.2.2 巴索-比蒂-布雷斯纳汉(BBB)评分及Reuter评分检测 在给药后第7、18、28天,对各组大鼠的行走、步态、肢体协调性、稳定性及脚掌位置进行BBB评分,评分0~21分,其中0分定义为后肢全瘫,21分为表现正常。随后,对各组大鼠的肌肉张力、后腿运动、感觉功能及脊髓反射功能进行Reuter评分,评分范围0~11分,0分为正常,11分为神经损伤严重。

1.2.3 斜板实验检测 于给药第7、18、28天评分结束后,将大鼠头朝左水平横放在Rivlin斜板上,慢慢倾斜,测量大鼠停留5 s不掉落时的斜板角度,重复3次,取均值。

1.2.4 皮层体感诱发电位(CSEP)潜伏期检测 于给药第7、18、28天斜板实验结束后麻醉大鼠,在大鼠腓肠肌中部紧贴皮层置入刺激电极,并给予电刺激(刺激强度1.5~4.0 mA、刺激频率1.9 Hz),在头顶部中线与冠状缝交接处头皮下置入记录电极,并在其后方0.5 cm处置入参考电极,用0.9%氯化钠浸湿大鼠尾部并连接地线,利用肌电图诱发电位仪检测大鼠的感觉诱发电位,观察CSEP潜伏期变化。

1.2.5 ELISA法检测脊髓组织中炎症因子水平 在最后一次斜板实验结束后,各组大鼠麻醉处死,取

脊髓组织,各组任选6只大鼠的脊髓组织制成匀浆,离心取上清,采用ELISA法检测脊髓组织中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平。

1.2.6 脊髓组织病理观察 HE染色:各组任选6只大鼠的脊髓组织进行甲醛固定,选择SCI上下5 mm节段的脊髓组织再次甲醛固定24 h,浸蜡包埋制作4 μ m石蜡切片,常规HE染色,并于显微镜下观察脊髓组织病理变化。Nissl染色:取脊髓组织石蜡切片,依次进行常规脱蜡水化、甲苯胺蓝染色、水洗后干燥透明密封,于显微镜下观察。

1.2.7 TUNEL染色观察神经细胞凋亡情况 取脊髓组织石蜡切片,脱蜡水化透明后参照试剂盒说明书进行TUNEL染色,4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)染核,然后干燥透明封片,荧光显微镜下观察切片阳性细胞,即凋亡细胞,计算细胞凋亡率。

1.2.8 免疫组化检测自噬相关蛋白的表达 取脊髓组织石蜡切片,脱蜡水化后山羊血清封闭,然后加入自噬相关蛋白Beclin1(Beclin1, 1:100)、Atg5(1:100)一抗4 $^{\circ}$ C孵育及HRP标记二抗(1:2000)37 $^{\circ}$ C孵育,随后DAB显色、苏木精复染,干燥封片后采集图像并用ImageJ软件分析。

1.2.9 Western blotting检测凋亡及PTEN/PI3K/Akt信号通路相关蛋白的表达 蛋白裂解液充分裂解后,提取脊髓组织匀浆蛋白并定量,待蛋白沸水浴变性后进行SDS-PAGE电泳分离,将蛋白转移至PVDF膜后封闭,在4 $^{\circ}$ C下与一抗caspase-3、C-caspase-3、p-PTEN、PTEN、p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt(稀释比分别为1:1000、1:1000、1:1000、1:1000、1:500、1:1000、1:1000、1:1000)反应,置于37 $^{\circ}$ C下与HRP标记二抗(1:2000)反应,最后与ECL反应后采集图像,并用ImageJ软件分析各蛋白相对表达量。

1.3 统计学处理 采用SPSS 25.0软件进行统计分析。计量资料均符合正态分布,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用SNK-q检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 山姜素对SCI大鼠BBB评分、Reuter评分、斜板角度及CSEP潜伏期的影响 给药第7、18、28天,SCI组较对照组BBB评分降低,Reuter评分升高,斜板角度降低,CSEP潜伏期延长($P<0.05$);bpV组、山姜素-L组、山姜素-H组较SCI组BBB评分升高,Reuter评分降低,斜板角度升高,CSEP潜伏期缩短($P<0.05$)。给药第18、28天,山姜素-H+LY294002组较山姜素-H组BBB评分降低,Reuter评分升高,斜板角度降低,CSEP潜伏期延长($P<0.05$) (图1)。

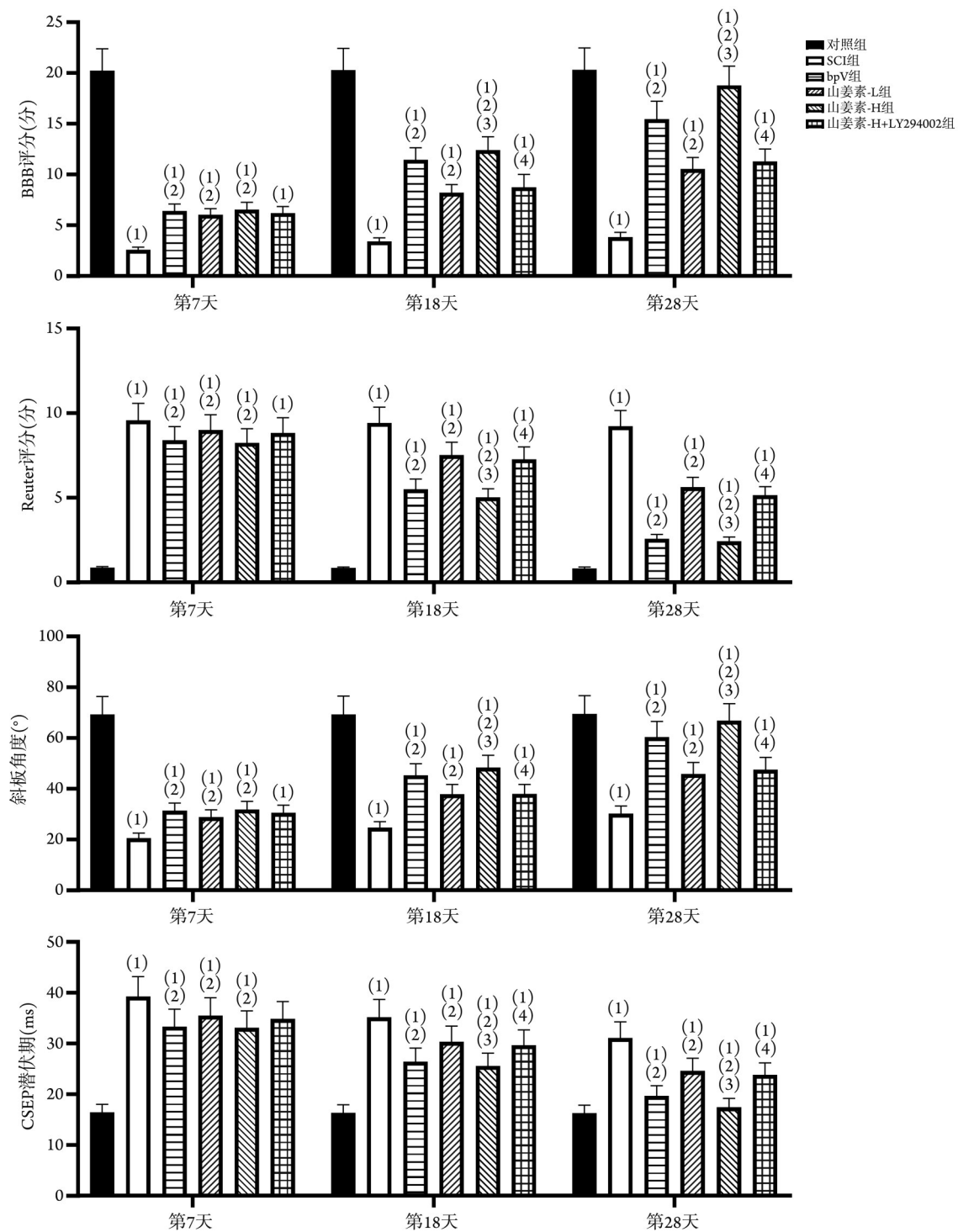


图1 各组大鼠BBB评分、Reuter评分、斜板角度及CSEP潜伏期比较

Fig.1 Comparison of BBB score, Reuter score, inclined plate angle and CSEP latency among all groups of rats

与对照组比较, (1) $P<0.001$; 与SCI组比较, (2) $P<0.05$; 与山姜素-L组比较, (3) $P<0.05$; 与山姜素-H组比较, (4) $P<0.05$ 。CSEP. 皮层体感诱发电位; SCI. 脊髓损伤; bpV. PTEN抑制剂; LY294002. PI3K抑制剂

2.2 山姜素对SCI大鼠脊髓组织中炎症因子水平的影响 SCI组较对照组IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平升高($P<0.05$); bpV组、山姜素-L组、山姜素-H组较SCI组IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平降低($P<0.05$); 山姜素-H+LY294002组较山姜素-H组IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平升高($P<0.05$) (表1)。

2.3 山姜素对SCI大鼠脊髓组织病理变化的影响 HE、Nissl染色结果显示, 对照组脊髓组织及细胞结构正常, 排列规则有序, 尼氏体深蓝染色, 无明显病理损伤; SCI组较对照组脊髓组织结构严重破坏, 坏死组织及片状出血的空腔明显, 大量炎症细胞浸润, 神经细胞核固缩、坏死明显, 致使其排列稀疏

表1 各组大鼠脊髓组织中炎症因子水平比较(pg/mg, $\bar{x}\pm s$, n=6)

Tab.1 Comparison of inflammatory factor levels in the spinal cord tissues of each group of rats (pg/mg, $\bar{x}\pm s$, n=6)

组别	IL-1 β	IL-6	TNF- α
对照组	36.72 $\pm$ 3.86	52.17 $\pm$ 5.42	29.54 $\pm$ 3.16
SCI组	152.41 $\pm$ 16.54 ⁽¹⁾	249.65 $\pm$ 25.98 ⁽¹⁾	186.72 $\pm$ 19.73 ⁽¹⁾
bpV组	69.53 $\pm$ 7.18 ⁽¹⁾⁽²⁾	112.36 $\pm$ 12.06 ⁽¹⁾⁽²⁾	93.28 $\pm$ 10.02 ⁽¹⁾⁽²⁾
山姜素-L组	112.68 $\pm$ 12.05 ⁽¹⁾⁽²⁾	184.23 $\pm$ 19.37 ⁽¹⁾⁽²⁾	133.85 $\pm$ 14.21 ⁽¹⁾⁽²⁾
山姜素-H组	53.44 $\pm$ 5.64 ⁽²⁾⁽³⁾	100.57 $\pm$ 10.84 ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾	72.46 $\pm$ 7.85 ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾
山姜素-H+LY294002组	103.19 $\pm$ 11.23 ⁽¹⁾⁽⁴⁾	170.34 $\pm$ 18.22 ⁽¹⁾⁽⁴⁾	121.67 $\pm$ 13.56 ⁽¹⁾⁽⁴⁾

与对照组比较, (1) $P<0.001$; 与SCI组比较, (2) $P<0.05$; 与山姜素-L组比较, (3) $P<0.05$; 与山姜素-H组比较, (4) $P<0.05$ 。SCI 脊髓损伤; bpV. PTEN抑制剂; LY294002. PI3K抑制剂; IL. 白细胞介素; TNF- α . 肿瘤坏死因子- α

紊乱, 尼氏体染色浅, 神经元数量减少; bpV组、山姜素-L组、山姜素-H组较SCI组脊髓组织病理损伤明显改善, 结构相对规整, 空腔逐渐减少, 炎症

细胞浸润减轻, 尼氏体染色变深, 神经元数量增多; 山姜素-H+LY294002组脊髓组织病理损伤较山姜素-H组加重(图2)。

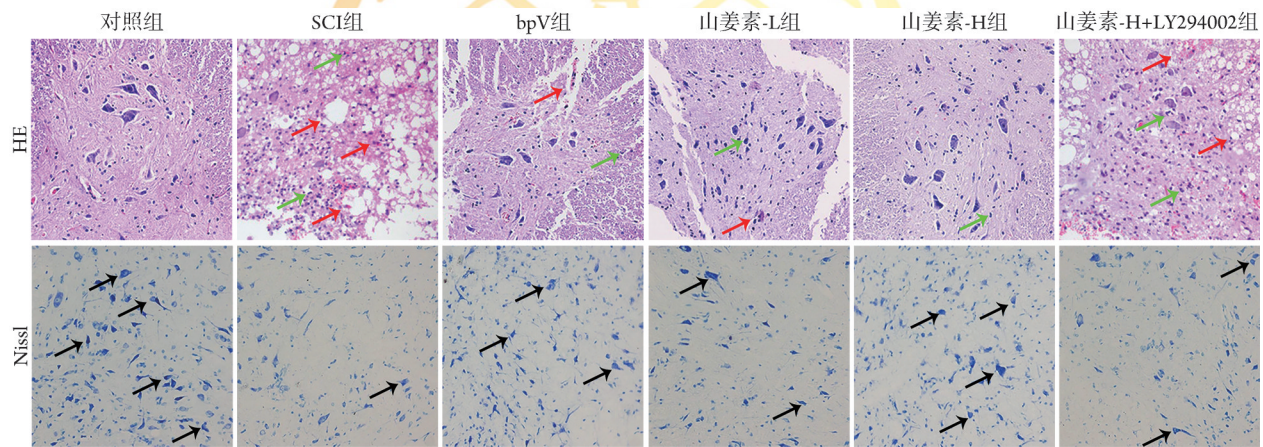


图2 HE及Nissl染色观察各组大鼠脊髓组织病理变化($\times 200$)

Fig.2 HE and Nissl staining were used to observe the pathological changes of the spinal cord tissues in each group of rats ($\times 200$)

红色箭头示损伤区域; 绿色箭头示炎症细胞; 黑色箭头示尼氏体; SCI. 脊髓损伤; bpV. PTEN抑制剂; LY294002. PI3K抑制剂

2.4 山姜素对SCI大鼠脊髓组织神经细胞凋亡及凋亡相关蛋白表达的影响 SCI组较对照组细胞凋亡率增高, caspase-3、C-caspase-3表达水平升高($P<0.05$); bpV组、山姜素-L组、山姜素-H组较SCI组细胞凋亡率降低, caspase-3、C-caspase-3表达水平降低($P<0.05$); 山姜素-H+LY294002组较山姜素-H组细胞凋亡率增高, caspase-3、C-caspase-3表达水平升高($P<0.05$) (图3)。

2.5 山姜素对SCI大鼠脊髓组织自噬相关蛋白表达的影响 SCI组较对照组 Beclin1、Atg5表达水平升高($P<0.05$); bpV组、山姜素-L组、山姜素-H组较SCI组 Beclin1、Atg5表达降低($P<0.05$); 山姜素-H+LY294002组较山姜素-H组 Beclin1、Atg5表达升高($P<0.05$) (图4)。

2.6 山姜素对SCI大鼠PTEN/PI3K/Akt信号通路的影响 SCI组较对照组 p-PTEN/PTEN比值升高, p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt比值降低($P<0.05$); bpV组、

山姜素-L组、山姜素-H组较SCI组 p-PTEN/PTEN比值降低, p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt比值升高($P<0.05$); 山姜素-H+LY294002组较山姜素-H组 p-PTEN/PTEN比值升高, p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt比值降低($P<0.05$) (图5)。

3 讨论

SCI是一种具有破坏性, 且可导致运动、感觉和自主神经功能障碍的中枢神经系统疾病, 主要是受机械外力等创伤造成的局部组织缺血、水肿、髓鞘和轴突破坏、血管痉挛等原发性损伤, 经过数分钟或数天进一步引发炎症、氧化损伤、兴奋性递质与电解质失衡等继发性损伤, 加剧SCI, 进一步促进神经元凋亡, 引发神经功能障碍^[13]。因此, 抑制神经变性, 减少继发性神经元损伤, 促进神经元恢复与再生, 是当前的主要研究方向。

本研究通过改良Allen's打击法建立SCI大鼠模

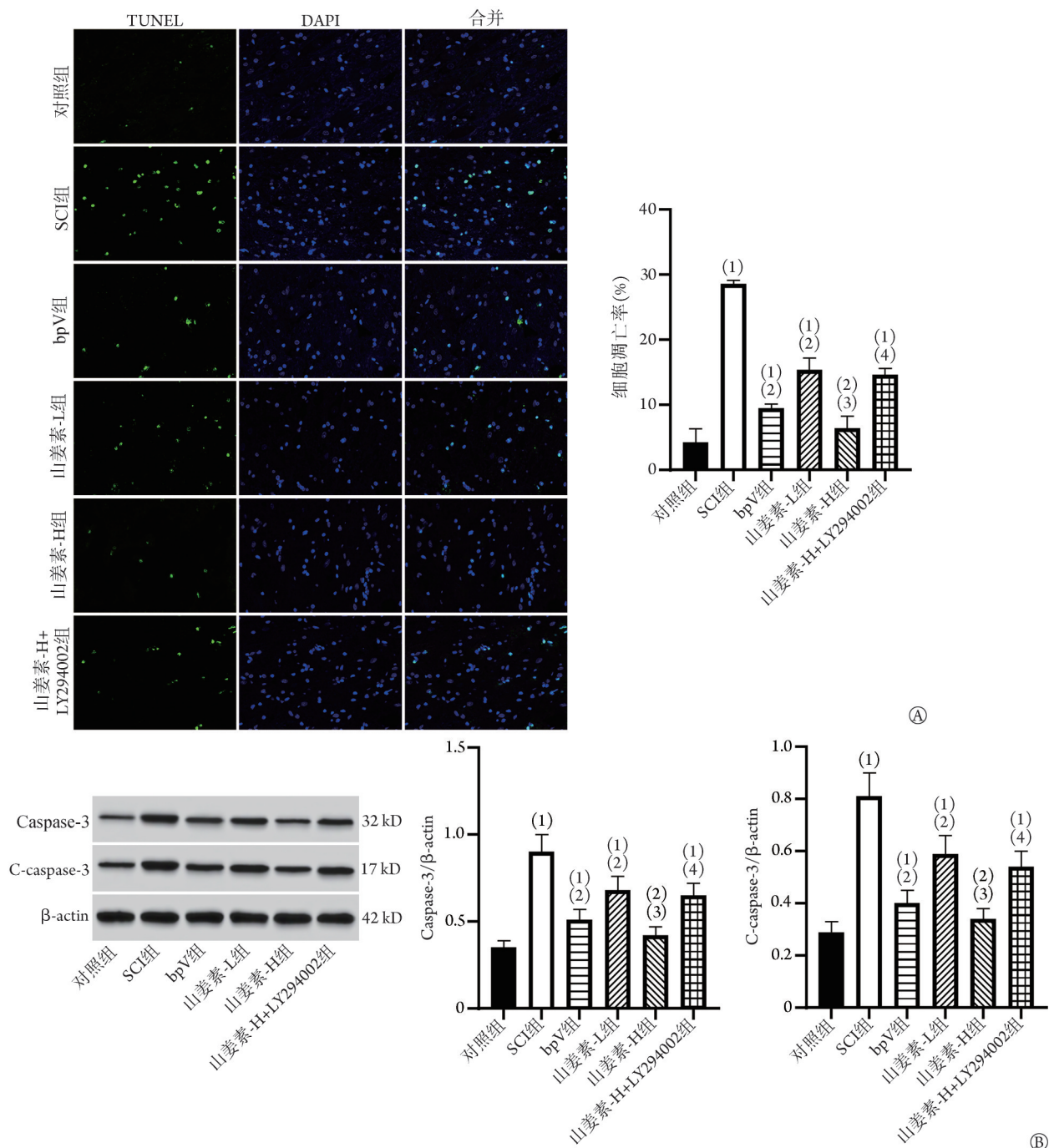


图3 各组大鼠脊髓组织神经细胞凋亡情况检测

Fig.3 Detection of apoptosis of nerve cells in spinal cord tissues of each group of rats

A. TUNEL 染色检测脊髓组织神经细胞凋亡情况($\times 200$); B. Western blotting 检测凋亡相关蛋白胱天蛋白酶(caspase)-3、C-caspase-3 的表达。与对照组比较, (1) $P < 0.001$; 与SCI组比较, (2) $P < 0.05$; 与山姜素-L组比较, (3) $P < 0.05$; 与山姜素-H组比较, (4) $P < 0.05$ 。SCI. 脊髓损伤; bpV. PTEN抑制剂; LY294002. PI3K抑制剂

型,发现造模大鼠撞击脊髓处水肿、出血,硬脊膜完整呈紫红色,同时大鼠出现痉挛,双下肢迅速回缩摆动, BBB 评分、斜板角度降低, Reuter 评分增高, CSEP 潜伏期延长,表明 SCI 大鼠模型构建成功。已知过度炎症、凋亡与自噬是影响 SCI 后神经功能恢复的主要障碍,当脊髓受到创伤时可激活炎症细胞释放大炎症因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等,扩大

炎症反应,进而促使神经细胞发生炎性损伤,激活 caspase-3 凋亡途径而加剧细胞凋亡,同时细胞发生过度自噬,加重 SCI 引发的神经功能障碍^[14-15]。本研究发现,SCI 大鼠体内 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平及 caspase-3、C-caspase-3、Beclin1、Atg5 表达明显上调。而降低炎症细胞因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平和凋亡蛋白 C-caspase-3 的表达可减少神经元凋亡,促使

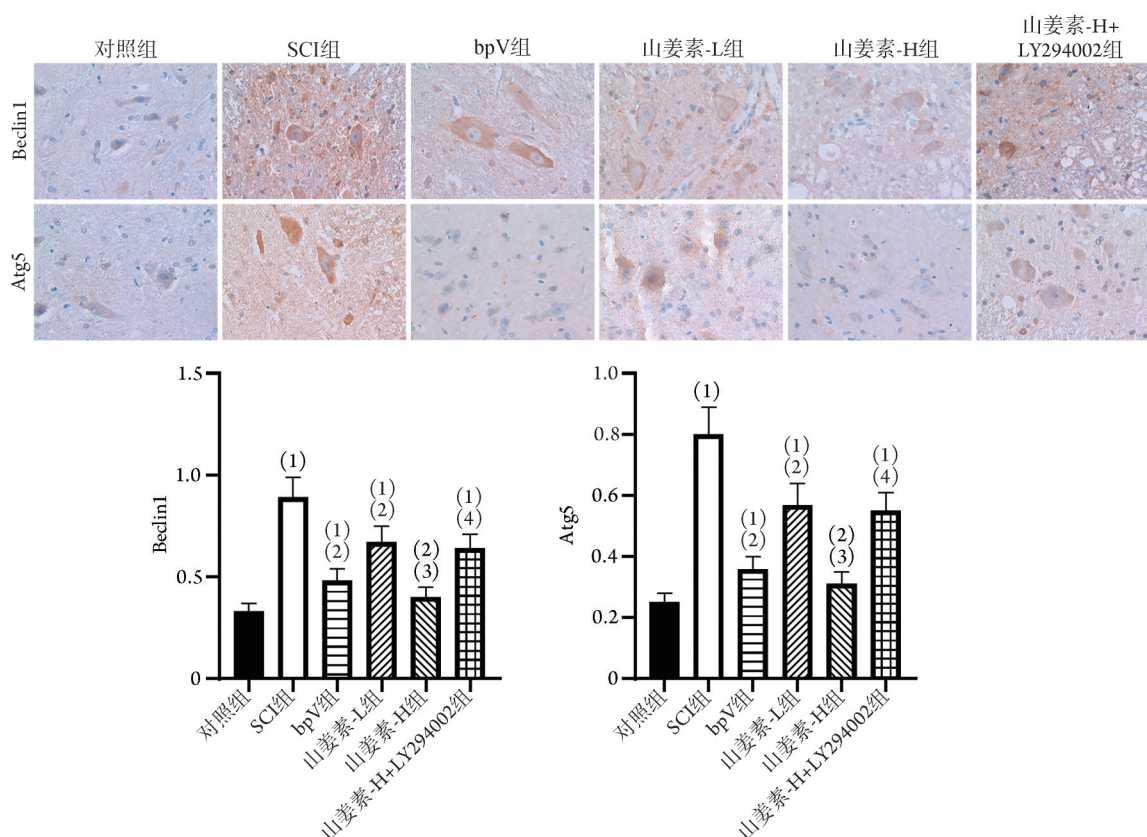


图4 免疫组化检测各组大鼠脊髓组织中自噬效应蛋白 Beclin1 和 Atg5 蛋白的表达($\times 400$)

Fig.4 Immunohistochemical detection of Beclin1 and Atg5 expression in spinal cord tissues of each group of rats ($\times 400$)

与对照组比较, (1) $P < 0.001$; 与SCI组比较, (2) $P < 0.05$; 与山姜素-L组比较, (3) $P < 0.05$; 与山姜素-H组比较, (4) $P < 0.05$ 。SCI. 脊髓损伤; bpV. PTEN抑制剂; LY294002. PI3K抑制剂; Atg5. 自噬相关蛋白5

轴突再生增多, 进而加快运动功能的恢复^[16-17]。自噬与凋亡相辅相成, 自噬相关蛋白 Beclin1、Atg5 是影响细胞自噬水平的关键蛋白, 抑制 Beclin1、Atg5 的表达可抑制脊髓组织中的自噬, 减轻大/小鼠脊髓损伤, 促进运动功能恢复^[18-19], 提示抑制神经炎症、神经元凋亡及自噬可为促进SCI后神经功能恢复提供新的治疗方向。

山姜素作为具有多种药理活性的天然黄酮类化合物, 可对多种疾病发挥治疗作用。研究显示, 山姜素可减轻IL-1 β 诱导的髓核细胞炎症、氧化应激反应, 抑制细胞凋亡及细胞外基质变性, 进而缓解椎间盘退变^[20]; 还可通过促进骨髓间充质干细胞成骨分化, 缓解地塞米松诱导的小鼠骨质疏松^[21]; 另外, 其还可抑制IL-1 β 、TNF- α 水平, 抑制破骨细胞的分化和吸收功能, 减轻脂多糖(LPS)诱导的小鼠骨溶解^[22]。本研究中, 山姜素处理明显下调了IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平及caspase-3、C-caspase-3、Beclin1、Atg5的表达, 提示山姜素可通过抑制炎症、凋亡与自噬, 对SCI大鼠神经功能恢复发挥促进作用。

此外, 在SCI的发展进程中, PTEN/PI3K/Akt信号通路发挥重要作用, 其中PI3K/Akt信号通路参与

SCI后细胞的增殖、凋亡、自噬等多种反应进程, 激活该通路可延缓炎症反应, 减少细胞凋亡, 防止胶质瘢痕形成, 促进SCI后神经功能恢复^[23]。PTEN是PI3K/Akt通路的负调控因子, 其可抑制PI3K的磷酸化和活化进而抑制Akt的磷酸化和活化, 从而促进下游炎症、凋亡、过度自噬等的发生, 加剧SCI。而抑制PTEN可促进轴突生长, 增强皮质脊髓轴突向尾侧脊髓的再生, 对半切SCI小鼠发挥治疗作用^[24]。本研究发现, SCI大鼠体内p-PTEN/PTEN比值升高, p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt比值降低, PTEN抑制剂bpV及山姜素处理可降低p-PTEN/PTEN比值, 升高p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt比值, 而PI3K抑制剂可升高p-PTEN/PTEN比值, 降低p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt比值。另有研究发现, 上调PTEN可使PI3K/Akt通路失活, 促进SCI^[25]; 还可抑制Akt磷酸化, 促进SCI诱导的神经细胞凋亡^[26]。表明山姜素可通过抑制PTEN/PI3K/Akt信号通路, 促进SCI大鼠神经功能恢复。

综上所述, 山姜素可促进SCI大鼠神经功能恢复, 且可能与抑制PTEN/PI3K/Akt信号通路有关。鉴于SCI发病机制较复杂, 且山姜素的药理作用具

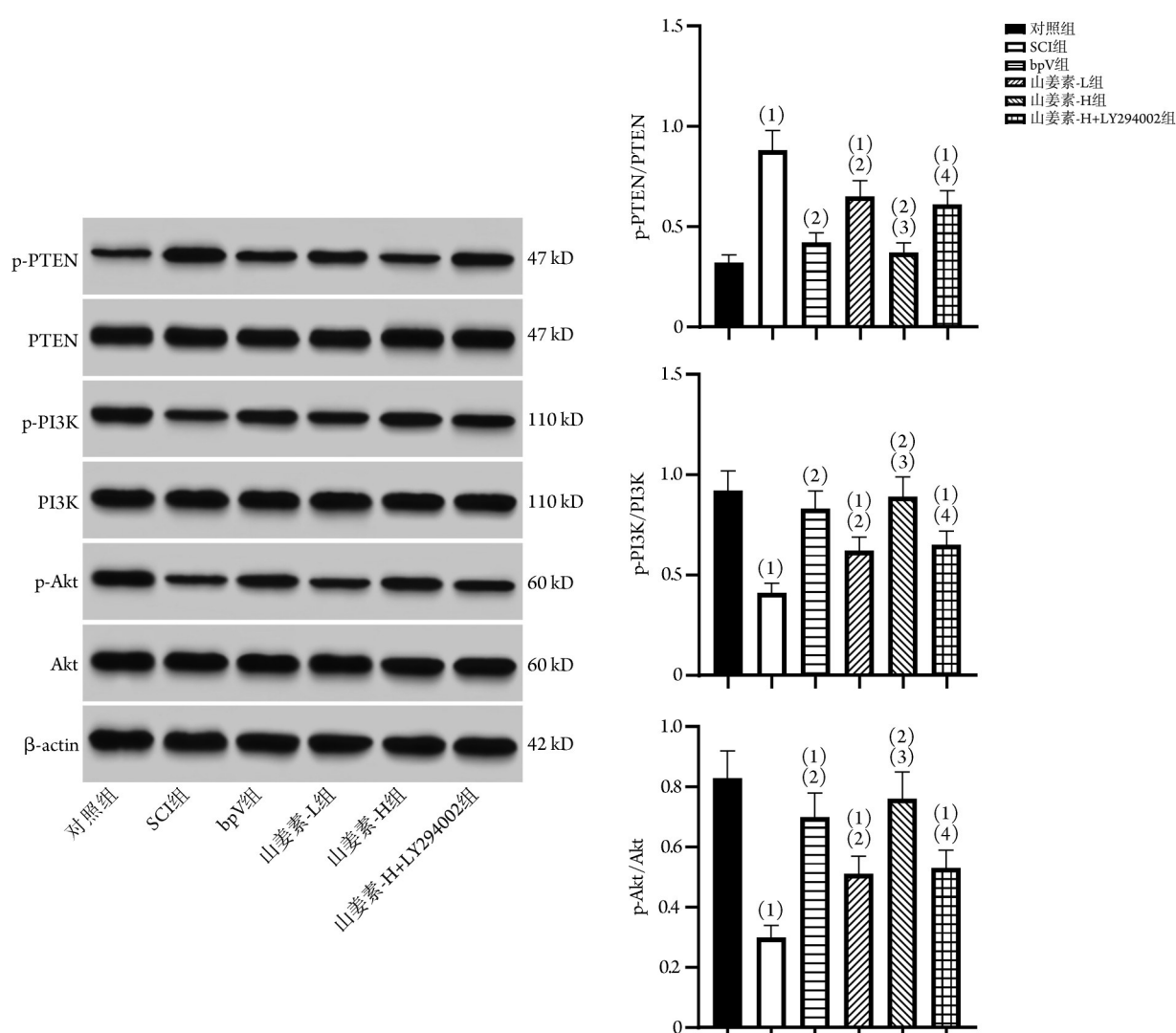


图5 Western blotting检测大鼠脊髓组织p-PTEN、PTEN、p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt的表达

Fig.5 Western blotting was used to detect the expressions of p-PTEN, PTEN, p-PI3K, PI3K, p-Akt and Akt in the spinal cord tissues of rats with SCI. Compared with the control group, (1) $P<0.001$; compared with the SCI group, (2) $P<0.05$; compared with the Zingerone-L group, (3) $P<0.05$; compared with the Zingerone-H group, (4) $P<0.05$. SCI: spinal cord injury; bpV: PTEN inhibitor; LY294002: PI3K inhibitor; PTEN: phosphatase and tensin homolog; PI3K: phosphatidylinositol 3-kinase; Akt: protein kinase B.

有多多样性,本研究仅从炎症、凋亡、自噬及单一信号通路入手,对机制的论证较为浅薄。后续研究拟从细胞层面进一步丰富机制研究,从而为更全面且深入地探讨山姜素对SCI的治疗作用及其内在机制提供依据。

【参考文献】

- [1] Haddad AF, Burke JF, Dhall SS. The natural history of spinal cord injury[J]. *Neurosurg Clin N Am*, 2021, 32(3): 315-321.
- [2] Barbiellini Amidei C, Salmaso L, Bellio S, et al. Epidemiology of traumatic spinal cord injury: a large population-based study[J]. *Spinal Cord*, 2022, 60(9): 812-819.
- [3] 施玉博,余铃,郭卫春.急性脊髓损伤的治疗进展[J]. *中国医药导报*, 2021, 18(1): 36-39.
- [4] 黄靖,任亚锋,尚文雅,等.脊髓损伤后微循环的调控机制及治疗策略[J]. *解放军医学杂志*, 2025, 50(3): 358-365.
- [5] Hu X, Xu W, Ren Y, et al. Spinal cord injury: molecular mechanisms and therapeutic interventions[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 245-272.
- [6] 张芝兰,黄晓萌,尚文雅,等.AMPK信号通路在脊髓损伤调控及治疗中的作用研究进展[J]. *解放军医学杂志*, 2025, 50(4): 495-503.
- [7] Zhao G, Tong Y, Luan F, et al. Alpinetin: a review of its pharmacology and pharmacokinetics[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13(1): 814370-814392.
- [8] Xiao S, Zhang Y, Liu Z, et al. Alpinetin inhibits neuroinflammation and neuronal apoptosis via targeting the JAK2/STAT3 signaling pathway in spinal cord injury[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2023, 29(4): 1094-1108.
- [9] Huang J, Wu C, Xu G, et al. The decreased expression of miR-429 in plasma exosomes after spinal cord injury inhibits neuronal apoptosis by mediating the PTEN/PI3K/Akt pathway[J]. *Ann Transl Med*, 2022, 10(1): 6-16.
- [10] 赵曼云,郭蔚虹,张霞.益母草碱通过调节cAMP/PKA信号通路抑制脊髓损伤大鼠神经细胞凋亡[J]. *中成药*, 2022, 44(7): 1094-1108.

- 2315-2319.
- [11] 尹洪娜, 仲思潼, 李竹馨, 等. 基于 PTEN/mTOR/STAT3 通路探讨夹脊电针对脊髓损伤大鼠自噬的影响[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(11): 1-7.
- [12] 陈鹤, 王永乐. 基于 PI3K-Akt-eNOS 通路探讨松果菊苷对脊髓损伤大鼠的神经保护作用[J]. 中国中医急症, 2019, 28(10): 1721-1725, 1729.
- [13] Anjum A, Yazid MD, Fauzi Daud M, *et al.* Spinal cord injury: pathophysiology, multimolecular interactions, and underlying recovery mechanisms[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20): 7533-7567.
- [14] Li D, Zhao S, Zhu B, *et al.* Cinepazide maleate promotes recovery from spinal cord injury by inhibiting inflammation and prolonging neuronal survival[J]. *Drug Dev Res*, 2023, 84(4): 736-746.
- [15] Li Z, Rong Y, Zhang Y. MiR-335 improves functional recovery in rats after spinal cord injury and protects PC12 cells against injury via the SPI-Bax/Caspase-3 axis[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2024, 49(8): 583-593.
- [16] Kitade K, Kobayakawa K, Saiwai H, *et al.* Reduced neuroinflammation via astrocytes and neutrophils promotes regeneration after spinal cord injury in neonatal mice[J]. *J Neurotrauma*, 2023, 40(23-24): 2566-2579.
- [17] Su X, Jing X, Jiang W, *et al.* Curcumin-containing polyphosphazene nanodrug for anti-inflammation and nerve regeneration to improve functional recovery after spinal cord injury[J]. *Int J Pharm*, 2023, 642(1): 123197-123208.
- [18] Xu Z, Li Z. Experimental study on the role of Apelin-13 in alleviating spinal cord ischemia reperfusion injury through suppressing autophagy[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14(1): 1571-1581.
- [19] Zhang R, Xie L, Wu F, *et al.* ALG-bFGF hydrogel inhibiting autophagy contributes to protection of blood-spinal cord barrier integrity via PI3K/Akt/FOXO1/KLF4 pathway after SCI[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13(1): 828896-828910.
- [20] Xia J, Jia D, Wu J. Protective effects of alpinetin against interleukin-1 β -exposed nucleus pulposus cells: Involvement of the TLR4/MyD88 pathway in a cellular model of intervertebral disc degeneration[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2024, 492(1): 117110-117120.
- [21] Zeng C, Wang S, Chen F, *et al.* Alpinetin alleviates osteoporosis by promoting osteogenic differentiation in BMSCs by triggering autophagy via PKA/mTOR/ULK1 signaling[J]. *Phytother Res*, 2023, 37(1): 252-270.
- [22] Wei L, Chen W, Huang L, *et al.* Alpinetin ameliorates bone loss in LPS-induced inflammation osteolysis via ROS mediated P38/PI3K signaling pathway[J]. *Pharmacol Res*, 2022, 184(1): 106400-106410.
- [23] Xiao CL, Yin WC, Zhong YC, *et al.* The role of PI3K/Akt signalling pathway in spinal cord injury[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 156(1): 113881-113891.
- [24] Bhowmick S, Abdul-Muneer PM. PTEN blocking stimulates corticospinal and raphespinal axonal regeneration and promotes functional recovery after spinal cord injury[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2021, 80(2): 169-181.
- [25] Chen Y, Wei Z, Liu J, *et al.* Long noncoding RNA ZFAS1 aggravates spinal cord injury by binding with miR-1953 and regulating the PTEN/PI3K/Akt pathway[J]. *Neurochem Int*, 2021, 147(1): 104977-104986.
- [26] 刘涛, 支中正, 王英杰, 等. LncRNA GASS 通过 miR-21 调控脊髓损伤后神经细胞凋亡的机制研究[J]. 骨科, 2024, 15(2): 145-154.

(责任编辑: 纪方方)



解放军医学杂志®