

中风皂贝化痰胶囊抑制 Mincle/Syk 通路减轻缺血性脑损伤

关运祥^{1,2}, 钱仁义¹, 杨弋², 王宝亮^{1*}

(1. 河南中医药大学第一附属医院脑病科, 河南 郑州 450000; 2. 河南中医药大学第一临床医学院, 河南 郑州 450000)

摘要 目的:探讨中风皂贝化痰胶囊干预大鼠脑缺血-再灌注损伤(CIRI)的神经保护作用及分子机制。方法:将SD大鼠随机分为假手术组、模型组和中风皂贝化痰胶囊低(0.54 g/kg)、高(1.62 g/kg)剂量组,每组12只。除假手术组外,其余各组大鼠构建CIRI模型,假手术组大鼠只分离血管,不进行栓塞。中风皂贝化痰胶囊组大鼠于造模前第7天开始,中风皂贝化痰胶囊灌胃给药,每天1次,共干预7 d。假手术组和模型组大鼠灌胃相应体积生理盐水。末次给药24 h后行大脑中动脉栓塞术。神经功能评分、TTC染色和干湿比法评价神经功能缺损、脑梗死面积和脑含水量;HE染色和TUNEL染色评价脑组织病理学改变和细胞凋亡;ELISA检测大鼠血清和脑脊液中炎症因子TNF- α 、IL-1 β 、IL-6含量;免疫荧光染色分析p-Syk与Iba-1的共定位;qRT-PCR检测大鼠脑组织中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA表达;Western Blot检测脑组织中Mincle、Syk、p-Syk、NF- κ B p65、p-NF- κ B p65蛋白表达。结果:与模型组比较,中风皂贝化痰胶囊各剂量组神经功能评分、脑含水量显著降低,脑梗死面积显著缩小,脑细胞凋亡率显著降低,血清和脑脊液中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平显著降低,脑组织中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA和Mincle蛋白表达及Syk、NF- κ B p65蛋白磷酸化水平显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),脑组织病理学损伤减轻。结论:中风皂贝化痰胶囊可改善脑缺血-再灌注大鼠脑损伤,其机制可能为抑制Mincle/Syk信号通路介导的神经炎症。

关键词 中风皂贝化痰胶囊;脑缺血-再灌注损伤;Mincle/Syk信号通路;神经炎症

中图分类号:R285.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1001-4454(2026)02-0463-07

DOI:10.13863/j.issn1001-4454.2026.02.031

脑卒中是一种与中枢神经系统损伤相关的神经系统疾病,分为缺血性和出血性两种类型,大多数中风病例由缺血引起。缺血性中风后神经功能恶化主要归因于脑缺血-再灌注损伤(cerebral ischemia/reperfusion injury, CIRI),该过程受氧化应激、钙超载、线粒体功能障碍和神经炎症级联等多因素调控。神经炎症在CIRI中的作用日益受到关注^[1]。小胶质细胞作为中枢神经系统的主要免疫效应细胞,在缺血缺氧刺激下迅速活化,通过释放肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)等促炎因子,加剧血脑屏障破坏和神经元凋亡^[2]。因此,靶向调控小胶质细胞介导的神经炎症反应,已成为改善CIRI的重要策略。

模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)在启动神经炎症中发挥关键作用。其中巨噬细胞诱导性C型凝集素(macrophage-inducible C-type lectin, Mincle)作为损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs)和病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)的识别受体,可引起免疫效应,促进各组织和器官炎症。研究表明Mincle通过与脾酪氨酸激

酶(spleen tyrosine kinase, Syk)结合,激活下游核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路,驱动促炎因子转录^[3]。Mincle/Syk轴在CIRI小鼠中呈现时空特异性激活,其抑制剂可显著减少小胶质细胞极化并缩小梗死体积^[4]。然而,目前针对该通路的干预多局限于合成小分子化合物或抗体类药物,存在成本高昂、血脑屏障穿透率低等问题,亟须探索兼具多靶点调控优势和临床转化潜力的天然药物。

中药复方因其多成分、多途径协同作用的特点,在脑卒中治疗中展现出独特价值。中风皂贝化痰胶囊由牙皂、川贝、胆南星、白附子、天麻、苏合香、郁金、石菖蒲、水蛭、川芎、泽泻等中药组成,具有化痰通络、活血化瘀之效。临床研究显示,中风皂贝化痰胶囊与西药依达拉奉或曲克芦丁联合使用可显著改善急性脑梗死^[5]。中风皂贝化痰胶囊可显著改善急性缺血性中风患者的神经功能,并降低血清炎症因子水平,如TNF- α 、IL-1 β 等^[6]。动物实验进一步证实中风皂贝化痰胶囊对CIRI大鼠具有神经保护作用,但其调控神经炎症的具体分子机制尚未完全阐明^[7]。现有研究多聚焦于其对炎症因子的抑制作用,而对其是否靶向特定免疫细胞(如小胶质细胞)

收稿日期:2025-06-10

基金项目:河南省中医药传承与创新人才工程(仲景工程)中医学拔尖人才项目(豫卫中医函[2021]15号);河南省中医药拔尖人才培养项目专项课题(2022ZYBJ06)

作者简介:关运祥(1977-),男,硕士,主任医师,研究方向:中医药防治脑病;E-mail:gyx77325@126.com。

* 通讯作者:王宝亮, E-mail:Wang_baoliang@163.com。

胞活化)或信号通路(如 Mincle/Syk)的影响仍需深入探索。本研究采用大鼠大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型,系统解析该复方对小胶质细胞活化及神经炎症的抑制效应,为中风皂贝化痰胶囊对缺血性中风的临床应用提供实验依据。

1 材料与仪器

1.1 实验动物 SPF 级 8~10 周龄雄性 SD 大鼠, 体重 210~230 g, 购自河南省实验动物中心。在 SPF 环境中饲养, 温度 $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$, 湿度 50%~60%, 12 h/12 h 明暗周期, 给予自由饮食。动物实验经河南中医药大学第一附属医院伦理委员会批准(批号: YFYDW2023039)。适应性饲养 1 w 后用于实验。

1.2 药物与试剂 中风皂贝化痰胶囊由河南中医药大学第一附属医院制剂室提供, 临用前以生理盐水配制成 0.054 g/mL(低剂量)和 0.162 g/mL(高剂量)的药液备用。1% TTC 染色液, 上海康朗生物科技有限公司; 大鼠 TNF- α 、IL-6、IL-1 β ELISA 检测试剂盒, 武汉赛培生物科技有限公司; TRIzol 试剂, 美国 Invitrogen 公司; BeyoRTTM III cDNA 合成试剂盒、BeyoFastTM SYBR Green qPCR Mix 预混液、Beyo-ECL Plus 超敏 ECL 化学发光试剂盒、Western 封闭液, 上海碧云天生物技术有限公司; RIPA 裂解液、BCA 蛋白定量检测试剂盒、SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒和 PVDF 膜, 武汉赛维尔生物科技有限公司; Mincle 抗体, 美国 Santa Cruz Biotechnology 公司; Syk、p-Syk、NF- κ B p65、p-NF- κ B p65、GAPDH、Iba-1、HRP 标记的 IgG, 美国 Cell Signaling Technology 公司; 封闭用正常山羊血清, 北京博润莱特科技有限公司; Alexa Fluor 647 和 Alexa Fluor 488 标记的 IgG, 美国 Abcam 公司。

1.3 主要仪器 D3500 数码相机, 日本 Nikon 公司; CX23 光学显微镜, 日本 Olympus 公司; Axio Image 荧光显微镜, 德国 Zeiss 公司; Multiskan FC 酶标仪, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; LightCycler96 荧光定量 PCR 仪, 瑞士 Roche 公司; Tanon-4600 全自动化学发光图像分析系统, 上海天能科技有限公司; SM2000R 石蜡切片机, 德国 Leica 公司。

2 方法

2.1 动物分组、给药和造模 将 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组和中风皂贝化痰胶囊低(0.54 g/kg)、高(1.62 g/kg)剂量组, 每组 12 只。中风皂贝化痰胶囊组大鼠术前 7 d 灌胃相应剂量中风皂贝化痰胶囊, 每天 1 次, 连续 7 d。假手术组和模型组大

鼠灌胃相应体积生理盐水。末次给药 24 h 后, 模型组、中风皂贝化痰胶囊低剂量组和高剂量组大鼠行 MCAO 术制备 CIRI 模型。术前禁食 12 h, 不禁水。40 mg/kg 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后, 将大鼠固定在手术台上, 切开右侧颈部皮下组织, 钝性分离胸锁乳突肌与胸骨舌骨肌, 分离右侧颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉。结扎颈总动脉近心端和颈外动脉, 在颈总动脉远心端预置缝线备用, 动脉夹夹闭颈内动脉。在颈总动脉结扎处上方剪口, 将线栓从颈总动脉插入至颅内, 并向前推进 18~20 mm, 感觉到轻微阻力即停止, 然后缝合切口, 留置线头于体外。缺血 1.5 h 后, 轻抽提线栓到颈总动脉, 以恢复血流实现再灌注。然后缝合皮肤切口, 将大鼠放回笼中。整个手术过程动物体温维持在 37°C 。假手术组大鼠只进行血管分离, 不插入线栓。手术后, 神经功能缺损评分 1~3 分为造模成功。

2.2 神经功能评分 再灌注 24 h 后, 参照 Longa 5 分法, 评估神经功能缺损。0 分: 无神经功能损伤症状; 1 分: 对侧前肢不能完全伸直; 2 分: 行走时向对侧转; 3 分: 站立不稳, 并向对侧倾斜; 4 分: 不能自主行走, 丧失意识; 5 分: 死亡。

2.3 三苯基四唑氯(TTC)染色 将大脑在 -20°C 冷冻 20 min, 进行 2 mm 冠状切片。用 1% TTC 染色液在 37°C 避光孵育 30 min, 用 4% 中性多聚甲醛固定过夜。正常组织呈红色, 梗死区呈白色。拍照并用 Image J 软件对梗死面积进行定量分析。

2.4 脑含水量检测 采用干/湿比法测量脑含水量。大鼠处死后, 取出大脑并称量质量为湿质量, 然后置于烤箱(100°C)中至恒重, 即为干质量。计算脑含水量。

$$\text{脑含水量} = \frac{\text{湿质量} - \text{干质量}}{\text{湿质量}} \times 100\%$$

2.5 组织病理学检查 收集大鼠脑组织, 在 4% 多聚甲醛浸泡 24 h, 石蜡包埋, 5 μm 厚度切片。经二甲苯脱蜡和梯度乙醇复水后, 进行 HE 染色观察脑组织梗死区和 TUNEL 染色。Axio Image 荧光显微镜观察染色结果。

2.5.1 HE 染色: 将切片在二甲苯中脱蜡、浓度梯度乙醇中复水后, 进行苏木精染色 10 min, 1% 盐酸乙醇分化液中分化 30 s, 流动自来水缓慢冲洗 10 min, 0.5% 氨水中反蓝 5 min, 伊红染色 2 min。再依次浸入浓度梯度乙醇中脱水、二甲苯透明, 最后用中性树脂封片, 在显微镜下观察染色结果。

2.5.2 TUNEL 染色: 切片在柠檬酸钠修复液中修复 5 min, 滴加 50 μL 3% H_2O_2 室温孵育 15 min。加入

50 μL TUNEL 反应液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光反应 1 h, 加入 DAPI 染色细胞核 5 min。并用 Image J 软件统计 TUNEL 阳性细胞数。

2.6 ELISA 检测血清和脑脊液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平 大鼠深度麻醉后, 腹主动脉采血, 将采集的全血室温静置 2 h, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、3 000 r/min 离心 15 min, 小心吸取上层血清。枕大池穿刺收集脑脊液, 立即 4 $^{\circ}\text{C}$ 、14 000 r/min 离心 10 min 去除细胞碎片, 取上清。血清和脑脊液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 含量使用试剂盒检测, 按说明书进行操作, 在预包被了特异性抗体的 96 孔酶标板中加入 50 μL 血清或脑脊液, 每个样本设 6 个复孔, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 h, 弃去液体, 每孔加入 350 μL 1 $\times$ 洗涤缓冲液静置 30 s, 洗涤 3 次。除空白孔外, 每孔依次加入 100 μL 生物素化检测抗体工作液、100 μL 辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素工作液、100 μL 四甲基联苯胺显色底物, 分别于 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 60、30、20 min。孵育完成后, 每孔加入 50 μL 终止液。使用酶标仪在 450 nm 处测量光密度 $D(\lambda)$ 值。

2.7 免疫荧光染色 脑组织切片经脱蜡水化后, 使用 10% 正常山羊血清封闭 10 min。加入抗 p-Syk、Iba-1 的一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 然后加入 Alexa Fluor 647 和 Alexa Fluor 488 标记的 IgG 室温避光孵育 1 h。荧光显微镜下观察染色结果并用 Image J 软件统计 p-Syk、Iba-1 双阳性细胞数。

2.8 qRT-PCR 取大鼠脑组织, 使用 TRIzol 试剂提取脑组织总 RNA, 并用 iScript cDNA 合成试剂盒将 2 μg 总 RNA 逆转录为 cDNA。使用 BeyoFastTM SYBR Green qPCR Mix 预混液在 LightCycler96 荧光定量 PCR 仪上进行扩增。以 GAPDH 为内参, 使用 2^{- $\Delta\Delta\text{Ct}$} 法定量分析大鼠脑组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达。引物序列如下: TNF- α : F: 5'-GGTGCCTATGTCTCAGCCTCTT-3', R: 5'-GCCATAGAACTGATGAGAGGGAG-3'; IL-1 β : F: 5'-TGGACCTTCCAGATGAGGACA-3', R: 5'-GTTCATCTCGGAGCCTGTAGTG-3'; IL-6: F: 5'-TACCACTTCACAAGTCGGAGGC-3', R: 5'-CTGCAAGTGCATCATCGTTGTTC-3'; GAPDH: F: 5'-CATCACTGCCACCCAGAAGACTG-3', R: 5'-ATGCCAGTGAGCTTCCCGTTCAG-3'。

2.9 Western Blot 收集脑组织, RIPA 裂解液提取脑组织中总蛋白, BCA 法测定蛋白含量。等量蛋白用 SDS-PAGE 分离, 然后转移至 PVDF 膜上。使用 Western 封闭液封闭 1 h, 加入抗 Mincle、Syk、p-Syk、NF- κB p65、p-NF- κB p65、GAPDH 的一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 然后加入 HRP 标记 IgG 室温孵育 1 h。超敏

ECL 化学发光试剂盒检测免疫信号并使用 Tanon-4600 全自动化学发光图像分析系统显示免疫条带, Image J 软件对蛋白表达进行定量分析。

2.10 统计学处理 采用 SPSS 26.0 分析数据, 计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 Tukey's 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 中风皂贝化痰胶囊对 CIRI 大鼠神经功能评分、脑含水量的影响 结果如图 1 所示, 与假手术组比较, 模型组大鼠神经功能评分和脑含水量显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 中风皂贝化痰胶囊各组大鼠神经功能评分和脑含水量显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

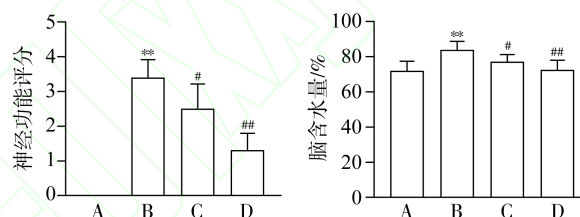


图 1 中风皂贝化痰胶囊对 CIRI 大鼠神经功能评分、脑含水量的影响

A. 假手术组 B. 模型组 C. 中风皂贝化痰胶囊低剂量组 D. 中风皂贝化痰胶囊高剂量组

注: 与假手术组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

3.2 中风皂贝化痰胶囊对 CIRI 大鼠脑梗死面积的影响 结果如图 2 所示, 与假手术组比较, 模型组大鼠脑梗死面积显著增大 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 中风皂贝化痰胶囊各组大鼠脑梗死面积显著减小 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3.3 中风皂贝化痰胶囊对 CIRI 大鼠脑组织病理学的影响 结果如图 3 所示, 假手术组大鼠脑组织无明显病理改变, 神经元排列整齐, 结构正常, 核仁清晰, 胞质丰富; 模型组大鼠表现出明显的神经元结构损坏, 细胞坏死、核固缩和胞质消失, 有明显的炎症细胞浸润; 与模型组比较, 中风皂贝化痰胶囊可剂量依赖性地减轻 CIRI 大鼠脑组织病理学损伤, 表现为神经元结构明显改善, 细胞坏死和炎症细胞浸润减少。

3.4 中风皂贝化痰胶囊对 CIRI 大鼠脑组织细胞凋亡的影响 结果如图 4 所示, 与假手术组比较, 模型组大鼠脑组织细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 中风皂贝化痰胶囊各组大鼠脑组织细胞凋亡率显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3.5 中风皂贝化痰胶囊对 CIRI 大鼠血清和脑脊液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平的影响 结果如图 5 所

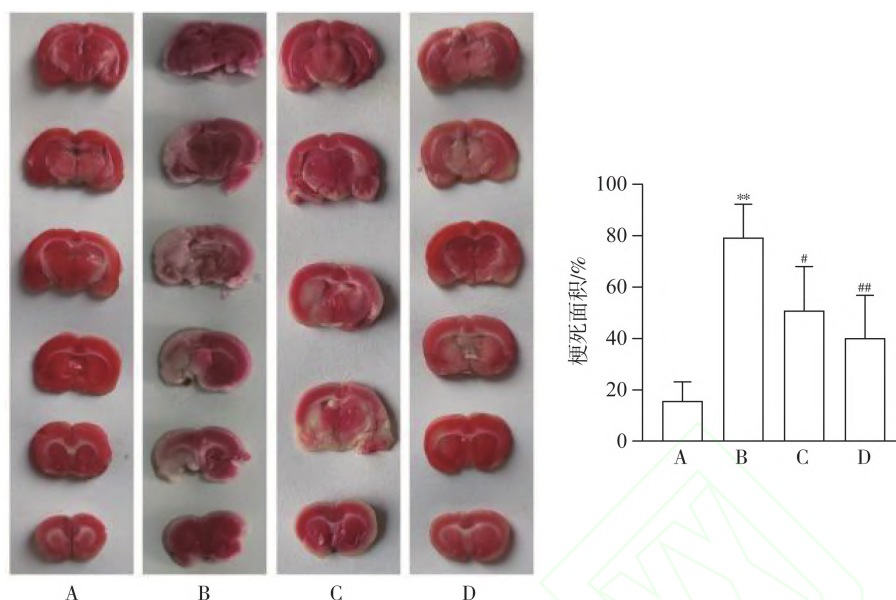


图 2 中风皂贝化痰胶囊对 CIRI 大鼠脑梗死面积的影响

A. 假手术组 B. 模型组 C. 中风皂贝化痰胶囊低剂量组 D. 中风皂贝化痰胶囊高剂量组

注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$

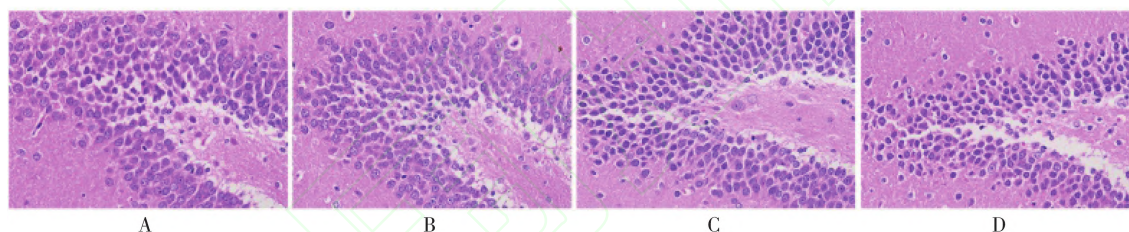


图 3 中风皂贝化痰胶囊对 CIRI 大鼠脑组织病理学的影响($\times 400$)

A. 假手术组 B. 模型组 C. 中风皂贝化痰胶囊低剂量组 D. 中风皂贝化痰胶囊高剂量组

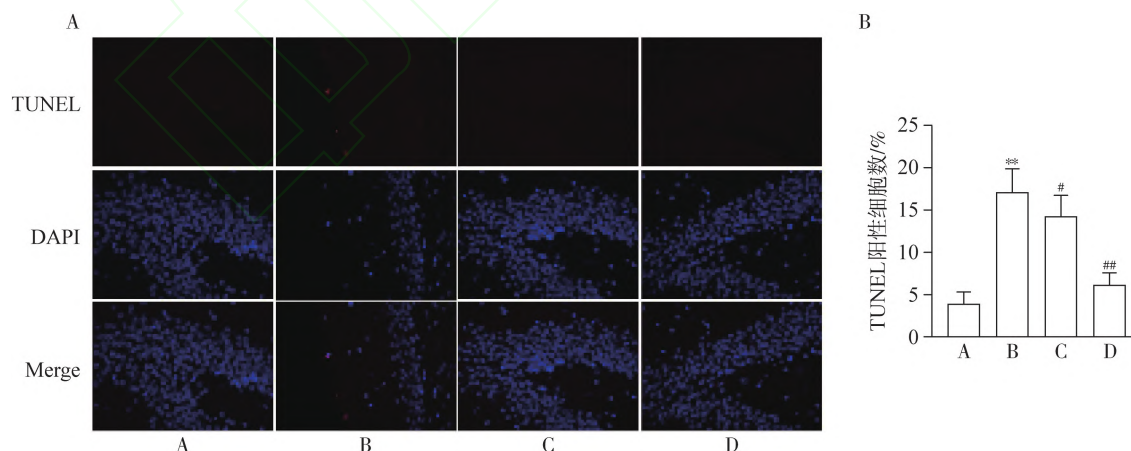


图 4 中风皂贝化痰胶囊对 CIRI 大鼠脑组织细胞凋亡的影响(TUNEL, $\times 400$)

A. 假手术组 B. 模型组 C. 中风皂贝化痰胶囊低剂量组 D. 中风皂贝化痰胶囊高剂量组

注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$

示,与假手术组比较,模型组大鼠血清和脑脊液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,中风皂贝化痰胶囊各组大鼠血清和脑脊液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

3.6 中风皂贝化痰胶囊对 CIRI 大鼠脑组织中 p-Syk、Iba-1 共定位表达的影响 结果如图 6 所示,与假手术组比较,模型组大鼠脑组织中 p-Syk、Iba-1 共定位表达显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,中风皂贝化痰胶囊各组大鼠脑组织中 p-Syk、Iba-1 共定位

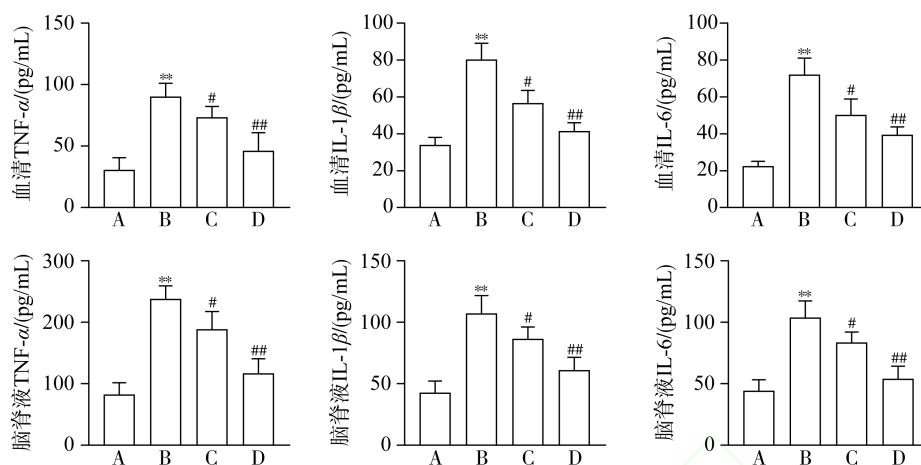


图 5 中风皂贝化痰胶囊对 CIRI 大鼠血清和脑脊液中 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平的影响

A. 假手术组 B. 模型组 C. 中风皂贝化痰胶囊低剂量组 D. 中风皂贝化痰胶囊高剂量组

注:与假手术组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

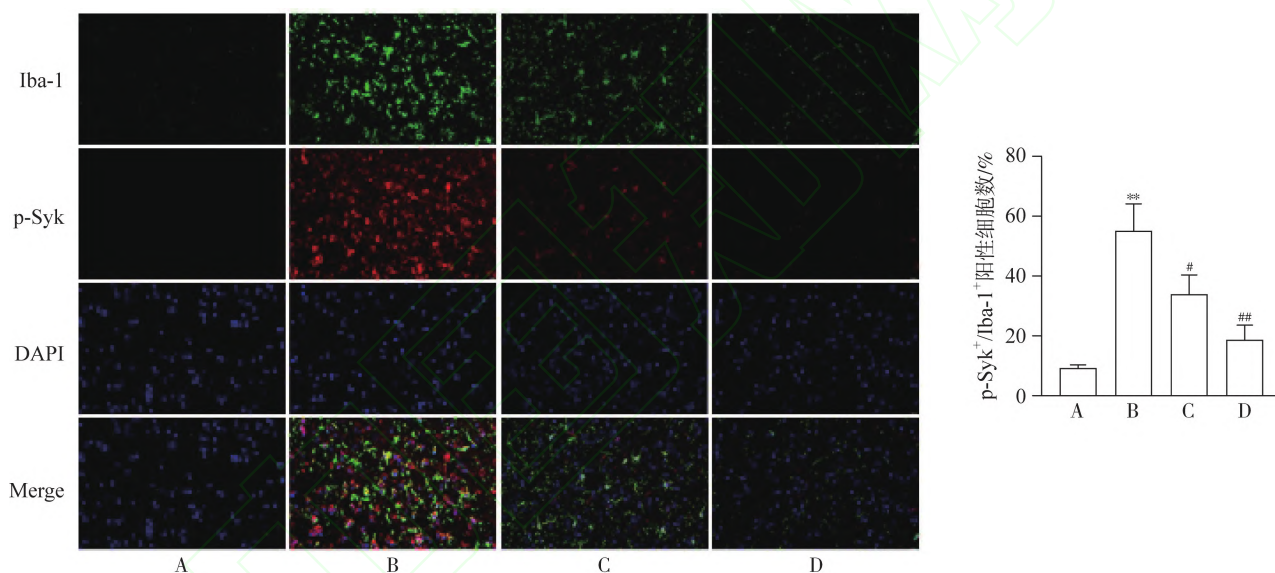


图 6 中风皂贝化痰胶囊对 CIRI 大鼠脑组织中 p-Syk、Iba-1 共定位表达的影响 (×400)

A. 假手术组 B. 模型组 C. 中风皂贝化痰胶囊低剂量组 D. 中风皂贝化痰胶囊高剂量组

注:与假手术组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

位表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3.7 中风皂贝化痰胶囊对 CIRI 大鼠脑组织 TNF-α、IL-1β、IL-6 mRNA 表达的影响 结果如图 7 所示,与假手术组比较,模型组大鼠脑组织 TNF-α、IL-1β、IL-6 mRNA 表达显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,中风皂贝化痰胶囊各组大鼠脑组织 TNF-α、IL-1β、IL-6 mRNA 表达显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3.8 中风皂贝化痰胶囊对 CIRI 大鼠脑组织 Mincle 蛋白表达和 Syk、NF-κB p65 蛋白磷酸化的影响 结果如图 8 所示,与假手术组比较,模型组大鼠脑组织 Mincle 蛋白表达和 Syk、NF-κB p65 蛋白磷酸化水平显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,中风皂贝化痰胶囊各组大鼠脑组织 Mincle 蛋白表达和 Syk、NF-κB

p65 蛋白磷酸化水平显著降低 ($P < 0.05$)。

4 讨论

缺血性脑卒中发病率、致残率和死亡率均较高,其治疗面临 CIRI 这一关键挑战,常引发再灌注后不良预后,目前针对 CIRI 的有效干预措施仍显匮乏。研究显示,多种中药复方和单体被用来治疗 CIRI^[8]。中医认为“痰瘀互结”是导致缺血性中风的核心病机之一^[9]。痰浊与瘀血作为病理产物,既可单独为患,又可相互胶结,阻滞经络,蒙蔽清窍,进而引发神昏、偏瘫、语言蹇涩等中风症状。历代医家指出痰瘀互结的形成与脏腑功能失调密切相关,尤其责之于脾失健运、肝失疏泄及肾气亏虚,致使津液停聚成痰,血行不畅成瘀,痰瘀搏结,上扰脑窍。现代研究亦证实痰瘀互结型中风患者多伴有血液流变学

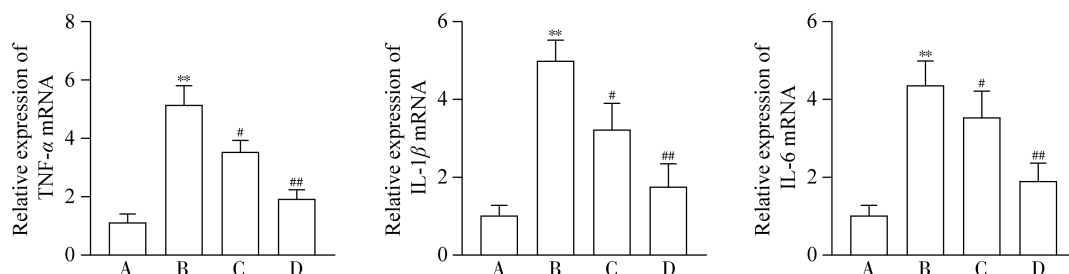


图 7 中风皂贝化痰胶囊对 CIRI 大鼠脑组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达的影响

A. 假手术组 B. 模型组 C. 中风皂贝化痰胶囊低剂量组 D. 中风皂贝化痰胶囊高剂量组

注:与假手术组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

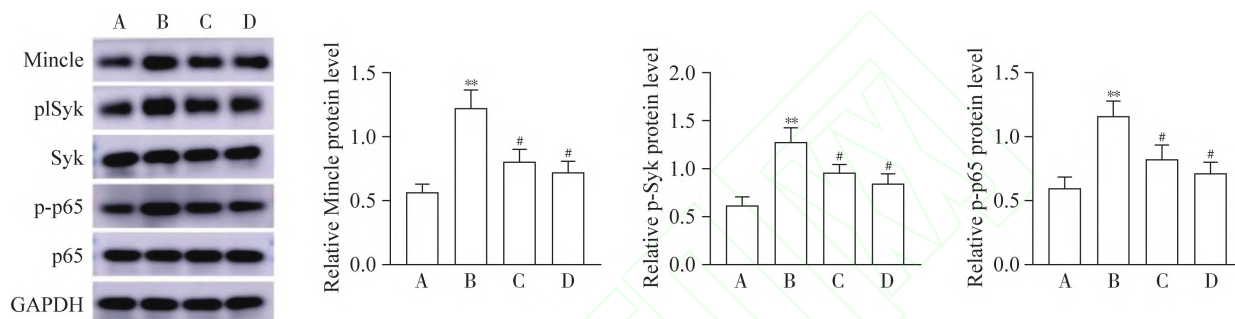


图 8 中风皂贝化痰胶囊对 CIRI 大鼠脑组织 Mincle 蛋白表达和 Syk、NF- κ B p65 蛋白磷酸化的影响

A. 假手术组 B. 模型组 C. 中风皂贝化痰胶囊低剂量组 D. 中风皂贝化痰胶囊高剂量组

注:与假手术组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$

异常、微循环障碍及炎症因子激活等病理变化,进一步揭示了痰瘀互结的生物学基础。针对此证型,中医多采用化痰通络、活血祛瘀之法,疗效显著。中风皂贝化痰胶囊组方含牙皂、川贝、胆南星、白附子、天麻、苏合香、郁金、石菖蒲、水蛭、川芎、泽泻。以消顽痰、开窍之牙皂为君药。川贝散结化痰解郁。胆南星祛风止痉、豁痰开窍。白附子祛风痰、升散。天麻熄风止痉、平肝,共为臣药。郁金、苏合香、石菖蒲助豁痰醒脑开窍;川芎、水蛭主活血化瘀;泽泻司利水渗湿,为佐药。全方融祛痰、化痰、熄风、开窍之功于一体,切中缺血性脑卒中之病机关键。临床和临床前研究显示,中风皂贝化痰胶囊在缺血性中风患者和 CIRI 大鼠中具有神经保护作用^[5-7]。本研究首次揭示中风皂贝化痰胶囊通过抑制 Mincle/Syk 信号通路,减轻小胶质细胞介导的神经炎症,从而改善大鼠 CIRI。

CIRI 的病理进程中,神经炎症是加剧继发性脑损伤的核心机制。小胶质细胞是大脑中常驻的免疫细胞,占胶质细胞的 5%~20%。在受伤或感染后,小胶质细胞可识别 DAMPs 和 PAMPs 并诱导 NF- κ B 信号通路激活,启动炎症级联反应。脑缺血后,缺血核心的受损神经元释放神经介质、DAMPs、活性氧等激活小胶质细胞并释放促炎细胞因子如 TNF- α 、IL-1 β 等,加剧炎症反应。小胶质细胞有两种不同的

表型:M1 型小胶质细胞促炎,M2 型小胶质细胞抗炎。在缺血性中风中,小胶质细胞从 M2 表型转换为 M1 表型,一旦被激活并极化为 M1 表型,小胶质细胞会释放 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及其他炎症细胞因子和趋化因子,这些细胞因子和趋化因子可招募白细胞到受损的神经元中,加剧神经元死亡,导致缺血组织的迟发性恶化^[10]。本研究结果显示与假手术组比较,CIRI 大鼠血清和脑脊液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 含量及脑组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达、TUNEL、Iba-1 阳性细胞数显著增加,经中风皂贝化痰胶囊治疗后,TUNEL 阳性细胞数明显减少,与血清和脑脊液 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平下降及脑组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达及 Iba-1 阳性细胞数减少同步。既往研究也观察到在 CIRI 大鼠中,中风皂贝化痰胶囊可抑制 Caspase-3 表达^[11]。提示中风皂贝化痰胶囊在 CIRI 中的抗凋亡作用可能部分源于其对神经炎症的抑制。

Mincle 主要在巨噬细胞中表达,可识别 DAMPs 和 PAMPs 并触发免疫反应。研究表明 Mincle 参与炎症的启动,并与纤维化的进展有关^[12]。Mincle 中的免疫受体酪氨酸基激活基序通过磷酸化激活 Syk,磷酸化的 Syk 可激活 NF- κ B 信号通路,启动炎症级联反应。此外,Mincle 可与 Toll 样受体协同作用,以激活 NF- κ B 通路并放大炎症反应。研究显示

Mincle 可影响巨噬细胞极化。比如:在肾衰老过程中,Mincle 通过调控 Syk/NF- κ B 信号通路维持 M1 型巨噬细胞极化^[13]。Mincle/Syk/NF- κ B 信号通路介导的炎症反应可加剧急性肾损伤,而抑制 Mincle/Syk 介导的巨噬细胞炎性活化可减轻急性肾损伤^[14]。Mincle/Syk 信号通路参与大鼠蛛网膜下腔出血后的神经炎症,激活 Mincle/Syk 信号通路可诱导小胶质细胞向 M1 型极化并加重蛛网膜下腔出血大鼠炎性损伤^[15]。Suzuki 等^[4]发现,Mincle 及其下游 p-Syk/Syk 在 CIRI 小鼠脑组织中表达上调,Syk 抑制剂 picetanol 可减少脑梗死体积并下调 p-Syk 的表达。本研究显示,模型组大鼠脑组织中 Mincle、p-Syk、p-NF- κ B 表达较假手术组显著上调,且 p-Syk 与 Iba-1(小胶质细胞标志物)的共定位表达显著增多,表明 Mincle/Syk 信号通路在 CIRI 大鼠中被激活,且小胶质细胞是 Mincle/Syk 通路的主要效应细胞。中风皂贝化痰胶囊显著减少 Mincle、p-Syk、p-NF- κ B 的表达及 p-Syk 与 Iba-1 共定位细胞数,表明中风皂贝化痰胶囊通过抑制 Mincle 表达及 Syk 磷酸化,阻断 NF- κ B 活化,从而减少炎症因子的释放,提示中风皂贝化痰胶囊可能通过抑制 Mincle/Syk 信号通路介导的神经炎症减轻 CIRI 大鼠脑损伤。

但本研究仍存在以下局限:未设置阳性药物对照组,如尼莫地平或依达拉奉,限制了中风皂贝化痰胶囊疗效的横向对比;未观察长期干预效果,中风皂贝化痰胶囊预处理 7 天的方案需进一步验证治疗时间窗;未检测其他类型 PRRs(如 TLR4),TLR4/NF- κ B 是 DAMPs 经典通路,与 Mincle 可能存在交叉对话。未来研究拟增设阳性药对照组,以保证研究的严谨性和结果的可靠性;进行长期干预实验,以探索中风皂贝化痰胶囊的最有效治疗时间窗;并结合临床卒中患者血清 DAMPs 谱分析,筛选中风皂贝化痰胶囊的敏感人群,推动个体化用药。

综上所述,中风皂贝化痰胶囊对 CIRI 大鼠具有脑保护作用,其机制可能与抑制 Mincle/Syk 通路活化、减少小胶质细胞介导的神经炎症有关。本研究为中风皂贝化痰胶囊用于治疗缺血性脑卒中的临床转化提供了实验依据。

参 考 文 献

[1] Jurcau A, Simion A. Neuroinflammation in cerebral ischemia and ischemia/reperfusion injuries: from pathophysiology to therapeutic strategies [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 23

(1):14.

- [2] Takeda H, Yamaguchi T, Yano H, *et al.* Microglial metabolic disturbances and neuroinflammation in cerebral infarction [J]. *J Pharmacol Sci*, 2021, 145(1):130-139.
- [3] Fischer S, Stegmann F, Gnanapragassam VS, *et al.* From structure to function-Ligand recognition by myeloid C-type lectin receptors [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2022, 20: 5790-5812.
- [4] Suzuki Y, Nakano Y, Mishiro K, *et al.* Involvement of Mincle and Syk in the changes to innate immunity after ischemic stroke [J]. *Sci Rep*, 2013, 3:3177.
- [5] 姜冰玉. 中风皂贝化痰胶囊结合曲克芦丁对急性脑梗死的疗效及血清指标水平的影响 [J]. *世界复合医学(中英文)*, 2024, 10(6):58-62.
- [6] 金大玉. 中风皂贝化痰胶囊对急性缺血性中风患者 TNF- α 、IL-1 β 影响的临床研究 [D]. 郑州:河南中医学院. 2009.
- [7] 王宝亮, 岳亚男, 郑晨星, 等. 中风皂贝化痰胶囊对大鼠脑缺血-再灌注损伤后的神经保护作用及碱性成纤维细胞生长因子表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(2):101-104.
- [8] Luo X, Niu JY, Chen HS. The potential value of traditional Chinese medicine monomers in cerebral ischemia-reperfusion injury: a network meta-analysis based on animal model [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2025, 25(1):163.
- [9] 李志更, 岳利峰, 马培, 等. 从“痰瘀互结”论治缺血性中风 [J]. *辽宁中医杂志*, 2023, 50(12):55-57.
- [10] Wang H, Li J, Zhang H, *et al.* Regulation of microglia polarization after cerebral ischemia [J]. *Front Cell Neurosci*, 2023, 17:1182621.
- [11] 王宝亮, 李许涛. 中风皂贝化痰胶囊对大鼠脑缺血-再灌注损伤后 Caspase-3 表达的影响 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2009, 4(12):862-864.
- [12] Zou Y, Li J, Su H, *et al.* Mincle as a potential intervention target for the prevention of inflammation and fibrosis (Review) [J]. *Mol Med Rep*, 2024, 29(6):103.
- [13] Sun L, Liu H, Shi K, *et al.* Mincle maintains M1 polarization of macrophages and contributes to renal aging through the Syk/NF- κ B pathway [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2024, 38(12):e70062.
- [14] 彭泽, 王洪连, 栗宏伟, 等. 汉防己甲素通过抑制 Mincle/Syk 信号介导的巨噬细胞炎性活化减轻小鼠缺血-再灌注诱导的急性肾损伤 [J]. *中国病理生理杂志*, 2024, 40(4):670-678.
- [15] 陈汉敏. Mincle/Syk 信号通路介导的小胶质细胞极性转化在蛛网膜下腔出血后炎性损伤中的作用及机制研究 [D]. 武汉:华中科技大学, 2021.