七叶皂苷钠调控SIRT1/NF-κB信号通路对帕金森病大鼠的神经保护作用Δ

周慧敏*，陈　静，欧诒丹，王御林，钟纯正#（儋州市人民医院神经内科，海南 儋州　571700）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）06-0689-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.06.09

摘　要　目的　探究七叶皂苷钠通过调控沉默信息调节因子1（SIRT1）/核因子κB（NF-κB）信号通路发挥对帕金森病大鼠的神经保护作用。**方法**　采用6-羟基多巴胺注射法构建帕金森病大鼠模型，将建模成功的48只大鼠随机分为模型组、七叶皂苷钠低剂量组（1.8 mg/kg）、七叶皂苷钠高剂量组（3.6 mg/kg）、七叶皂苷钠+EX527组（七叶皂苷钠3.6 mg/kg+SIRT1抑制剂EX527 5 mg/kg），每组12只；另取12只健康大鼠作为假手术组。各药物组大鼠腹腔注射相应药液，每天1次，持续21 d。末次给药结束24 h后，检测大鼠运动及认知功能，观察其黑质区和海马组织CA1区神经元形态，检测其黑质纹状体中多巴胺（DA）含量和黑质区酪氨酸羟化酶（TH）、α突触核蛋白（α-Syn）表达水平，检测其血清中促炎因子[白细胞介素6（IL-6）、IL-18]、抗炎因子（IL-10）水平及黑质纹状体中SIRT1、磷酸化NF-κB p65（p-NF-κB p65）、NF-κB p65蛋白表达水平。**结果**　与假手术组比较，模型组大鼠黑质区和海马组织CA1区神经元损伤严重；其旋转圈数、逃避潜伏期、黑质区α-Syn蛋白表达水平、血清中促炎因子水平、黑质纹状体中p-NF-κB p65与NF-κB p65蛋白的相对表达量之比均显著升高或延长（$P<0.05$），目标象限停留时间、黑质纹状体中DA含量及黑质区TH蛋白表达水平、血清中抗炎因子水平、黑质纹状体中SIRT1蛋白表达水平均显著缩短或降低（$P<0.05$）。与模型组比较，七叶皂苷钠各剂量组大鼠神经元损伤程度减轻，各定量指标均显著改善，且高剂量组的改善更为明显（$P<0.05$），而EX527可逆转高剂量七叶皂苷钠的改善作用（$P<0.05$）。**结论**　七叶皂苷钠可通过上调SIRT1蛋白表达来抑制NF-κB信号激活，从而抑制帕金森病大鼠的神经炎症，改善其运动及认知功能障碍，最终起到神经保护作用。

关键词　七叶皂苷钠；帕金森病；沉默信息调节因子1/核因子κB信号通路；运动功能；认知功能；炎症反应；神经保护

Neuroprotective effect of sodium aescinate on rats with Parkinson's disease by regulating SIRT1/NF-κB signaling pathway

ZHOU Huimin, CHEN Jing, OU Yidan, WANG Yulin, ZHONG Chunzheng (Dept. of Neurology, Danzhou People's Hospital, Hainan Danzhou 571700, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To explore the neuroprotective effect of sodium aescinate on rats with Parkinson's disease by regulating the silent information regulator 1 (SIRT1)/nuclear factor-κB (NF-κB) signaling pathway. **METHODS** The Parkinson's disease rat model was constructed by using 6-hydroxydopamine injection method. Forty-eight rats successfully modeled were randomly divided into model group, sodium aescinate low-dose group (1.8 mg/kg), sodium aescinate high-dose group (3.6 mg/kg), sodium aescinate+EX527 (sodium aescinate 3.6 mg/kg+SIRT1 inhibitor EX527 5 mg/kg) group, with 12 rats in each group. Another 12 healthy rats were selected as the sham operation group. Each group was injected with the corresponding drug solution intraperitoneally, once a day, for 21 consecutive days. Twenty-four hours after the end of the last administration, the motor and cognitive functions of rats were detected, and the morphology of neurons in the substantia nigra and CA1 region of hippocampal tissue were observed. The content of dopamine (DA) in the nigrostriatal and the expression levels of tyrosine hydroxylase (TH) and α-synuclein (α-Syn) in the substantia nigra were detected. The serum levels of pro-inflammatory factor [interleukin-6 (IL-6), IL-18], anti-inflammatory factor (IL-10), and the expression levels of SIRT1, phosphorylated NF-κB p65 (p-NF-κB p65) and NF-κB p65 protein in nigrostriatal were detected. **RESULTS** Compared with sham operation group, the neurons in the substantia nigra and CA1 region of hippocampal tissue were seriously damaged in model group; the number of rotations, escape latency, the expression levels of α-Syn in substantia nigra, the levels of serum pro-inflammatory factors, the relative expression ratio of p-NF-κB p65 and NF-κB p65 protein in nigrostriatal were increased or prolonged significantly ($P<0.05$); the target quadrant residence time, the content of DA in nigrostriatal, the expression level of TH in substantia nigra, the serum level of anti-inflammatory factor, and the expression level of SIRT1 protein in substantia nigra striatum were significantly decreased or shortened ($P<0.05$). Compared with model group, the damage degrees of neuron in sodium aescinate groups were alleviated, and the quantitative indicators were significantly improved, which

Δ**基金项目** 海南省卫生健康行业科研项目（No.21A200535）

＊**第一作者** 主治医师，硕士。研究方向：中西医结合治疗神经疾病。E-mail：zhouhuimin563@163.com

＃**通信作者** 主任医师，硕士。研究方向：中西医结合治疗神经疾病。E-mail：zcz196565@163.com

were more significant in the high-dose group ($P<0.05$); EX527 could reverse the improvement effect of high-dose sodium aescinate ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Sodium aescinate can inhibit the activation of NF-κB signal by up-regulating the protein expression of SIRT1, thereby reducing the neuroinflammation of rats with Parkinson's disease, improving the motor and cognitive dysfunctions, and finally playing a neuroprotective role.

KEYWORDS sodium aescinate; Parkinson's disease; SIRT1/NF-κB signaling pathway; motor function; cognitive function; inflammatory response; neuroprotection

帕金森病是由黑质多巴胺神经元丢失引起的神经退行性疾病，其主要特征包括震颤麻痹、认知异常、学习记忆能力下降[1]。α突触核蛋白（α-synuclein，α-Syn）的积累和小胶质细胞的过度激活是帕金森病发生的重要病理因素，神经炎症反应是其关键环节[2]。沉默信息调节因子1（silent information regulator 1，SIRT1）在炎症、细胞代谢及凋亡等过程中发挥调节作用，并对减轻帕金森病病理改变具有积极作用[3]。SIRT1可减轻核因子κB（nuclear factor-κB，NF-κB）信号激活引发的神经元损伤及神经炎症，减少帕金森病模型动物多巴胺能神经元死亡[4—5]。由此本课题组推测，SIRT1/NF-κB信号通路可能是帕金森病治疗的潜在靶点。

七叶皂苷钠是一种脑血管扩张药，具有清除自由基、消炎去肿、改善微循环、保护血管壁等药理作用，可下调NF-κB蛋白及促炎因子的表达，减少脑缺血再灌注损伤大鼠的神经元凋亡[6]；临床上，其可联合氯吡格雷治疗急性缺血性脑卒中以改善患者的神经功能[7]。基于现有证据，本课题组推测七叶皂苷钠可能通过调控SIRT1/NF-κB信号通路发挥神经保护作用，故本研究以帕金森病大鼠为对象开展了相关实验，旨在为七叶皂苷钠的临床应用及帕金森病的药物治疗提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

DW-2000D型脑立体定位仪、NIB 400型显微镜、DRW-200Bc型酶标仪、GelView 1500型凝胶成像系统均购自济南庆元医疗器械有限公司。

1.2 主要药品与试剂

注射用七叶皂苷钠（批号20220117，规格5 mg）购自山东绿叶制药有限公司；EX527原料药（SIRT1抑制剂，纯度99.85%），多巴胺（dopamine，DA）、白细胞介素6（interleukin-6，IL-6）、IL-18、IL-10酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒和BCA试剂盒（批号分别为KM29401、KM25041、KM12095、KM49530、KM30632、KM59200）均购自西安凯萌生物技术有限公司；6-羟基多巴胺对照品（纯度≥98%）、阿扑吗啡原料药（纯度≥99.45%）、苏木精-伊红（HE）染色试剂盒、SP免疫组织化学试剂盒、蛋白裂解液、ECL试剂（批号分别为TM39171、TM20491、TM24905、TM25901、TM53950、TM43985）均购自云南淘谜生物科技有限公司；兔源酪氨酸羟化酶（tyrosine hydroxylase，TH）、α-Syn一抗，鼠源SIRT1、磷酸化NF-κB p65（phosphorylated NF-κB p65，p-NF-κB p65）、NF-κB p65、β-肌动蛋白（β-actin）一抗和辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠IgG二抗、羊抗兔IgG二抗（批号分别为DN59101、DN53902、DN42950、DN17593、DN54920、DN58191、DN27581、DN28159）均购自西安迪诺生物科技有限公司。

1.3 实验动物

SPF级雄性SD大鼠，10周龄，体重339～351 g，购自武汉市万千佳兴生物科技有限公司，动物生产许可证号为SCXK（鄂）2021-0011。所有大鼠均饲养于温度22～24 ℃、相对湿度50%～60%、光照周期12 h的环境中，自由取食和饮水。本研究经本院伦理委员会批准，批准编号为儋医2022LS038。

2 方法

2.1 造模、分组与给药

参考文献方法[8]建立帕金森病大鼠模型：大鼠腹腔注射2%戊巴比妥钠溶液（2 mL/kg）麻醉后，固定于脑立体定位仪上，剃毛消毒，暴露颅骨，并定位脑纹状体（前囟后1 mm，中线左3 mm，硬膜下5 mm），用微量注射器于脑纹状体内注入1 μg/μL的6-羟基多巴胺溶液（用生理盐水配制）8 μL，缝合。2周后，腹腔注射0.5 mg/mL的阿扑吗啡溶液（用生理盐水配制）5 mg/kg诱导旋转，若大鼠30 min内转圈超过210次则判定为帕金森病模型建立成功。将建模成功的48只帕金森病大鼠按照随机数表法分为模型组，七叶皂苷钠低、高剂量组，七叶皂苷钠+EX527组，每组12只。另取12只健康大鼠作为假手术组（手术过程同模型大鼠，用微量注射器于脑纹状体内注入等体积生理盐水）。

建模结束后，七叶皂苷钠低、高剂量组大鼠分别腹腔注射七叶皂苷钠1.8、3.6 mg/kg（将七叶皂苷钠用生理盐水溶解，分别得质量浓度为0.18、0.36 mg/mL的混悬液，注射体积为10 mL/kg[9]）；七叶皂苷钠+EX527组大鼠同时腹腔注射七叶皂苷钠3.6 mg/kg和EX527 5 mg/kg（将EX527用生理盐水溶解，得质量浓度为0.5 mg/mL的混悬液，两药的注射体积均为10 mL/kg[10]）；假手术组和模型组大鼠腹腔注射生理盐水10 mL/kg。各组大鼠每天注射1次，持续21 d。

2.2 大鼠运动功能检测

末次给药结束24 h后，各组大鼠腹腔注射阿扑吗啡5 mg/kg诱导旋转，并于10 min后记录其在30 min内的旋转圈数，用以评估大鼠的运动功能[11]。

2.3 大鼠认知功能检测

旋转实验结束后，采用Morris水迷宫实验检测各组大鼠的认知功能：往直径2 m的水池（平分4个象限）中注水，注水高度为30 cm。在第1象限放入平台并没入水面下2 cm。将各组大鼠自每个象限正中面壁放下，训练其找到平台；5 d后撤去平台，将各组大鼠再次自每个象限正中面壁放下，记录其找到平台所用时间（即逃避潜伏期）及在目标象限（即第1象限）停留时间。

2.4 样品采集及大鼠黑质区、海马组织CA1区神经元形态检测

认知功能检测实验结束后，各组大鼠吸入乙醚麻醉，于颈主动脉采血3 mL，以3 400 r/min离心14 min后，分离上层血清，于－80 ℃下保存，备用。将大鼠断头处死，分离每组6只大鼠的黑质纹状体适量并分成2份，其中一份剪碎后研磨，所得匀浆以6 000 r/min离心21 min后，吸取上清液，于－80 ℃下保存，备用；另一份经液氮速冻后，再于－80 ℃下保存，备用。

分离每组剩余6只大鼠的黑质区和海马组织CA1区，经清洗后进行常规固定、脱水、石蜡包埋、切片；每组随机选择黑质区和海马组织CA1区切片各3张，水化后，按HE染色试剂盒说明书步骤染色后，常规脱水、透明、封片，在显微镜下观察黑质区和海马组织CA1区的神经元形态。

2.5 大鼠黑质纹状体中DA含量及黑质区TH、α-Syn蛋白表达水平检测

取“2.4”项下各组大鼠的黑质纹状体匀浆上清液样品，解冻后，按ELISA试剂盒说明书方法操作，使用酶标仪检测其中DA含量；取“2.4”项下各组大鼠黑质区切片，水化后，加入TH、α-Syn一抗（稀释比例均为1∶150），按SP免疫组织化学试剂盒说明书方法进行免疫组织化学染色后，常规脱水、透明、封片，在显微镜下观察TH、α-Syn蛋白着色情况，以Image J软件分析两者阳性细胞（呈棕色或深棕色）的光密度，用以表示各组大鼠黑质区TH、α-Syn蛋白的表达水平，结果以假手术组为标准进行归一化处理。

2.6 大鼠血清中炎症因子水平检测

取“2.4”项下各组大鼠的血清样品，解冻后，按ELISA试剂盒说明书方法操作，以酶标仪检测血清中促炎因子IL-6、IL-18及抗炎因子IL-10水平。

2.7 大鼠黑质纹状体中SIRT1/NF-κB信号通路相关蛋白表达水平检测

取“2.4”项下各组大鼠冻存的黑质纹状体样品，研碎后，以蛋白裂解液裂解，采用BCA法测定其总蛋白浓度。取各组大鼠蛋白样品适量，经加热变性、电泳分离后转膜，以脱脂奶封闭1 h；洗膜后，加入SIRT1、p-NF-κB p65、NF-κB p65、β-actin一抗（稀释比例分别为1∶1 100、1∶1 200、1∶1 200、1∶1 500），4 ℃下孵育过夜；洗膜后，加入相应二抗（稀释比例均为1∶2 200），室温下孵育2 h；以ECL试剂显影后，于凝胶成像系统下成像。以β-actin为内参，采用Image J软件分析各组大鼠黑质纹状体中SIRT1、p-NF-κB p65、NF-κB p65蛋白的相对表达量，再以p-NF-κB p65、NF-κB p65蛋白的相对表达量之比（p-NF-κB p65/NF-κB p65）表示NF-κB p65蛋白磷酸化水平。

2.8 统计学方法

使用SPSS 26.0软件对数据进行统计分析。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SNK-q检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 大鼠运动和认知功能的检测结果

与假手术组比较，模型组大鼠旋转圈数、逃避潜伏期均显著增加或延长，目标象限停留时间显著缩短（$P<0.05$）；与模型组比较，七叶皂苷钠低、高剂量组大鼠旋转圈数、逃避潜伏期均显著减少或缩短，目标象限停留时间均显著延长，且高剂量组的变化较低剂量组明显（$P<0.05$）；与七叶皂苷钠高剂量组比较，七叶皂苷钠+EX527组大鼠旋转圈数、逃避潜伏期均显著增加或延长，目标象限停留时间显著缩短（$P<0.05$）。结果见表1。

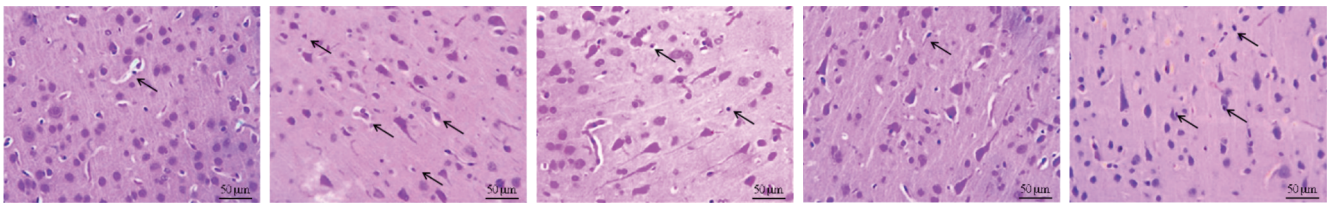
表1 各组大鼠旋转圈数、逃避潜伏期、目标象限停留时间的比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

组别	旋转圈数	逃避潜伏期/s	目标象限停留时间/s
假手术组	0	12.08±2.92	42.92±4.08
模型组	252.75±34.25[a]	57.67±6.33[a]	15.75±1.75[a]
七叶皂苷钠低剂量组	152.08±20.92[b]	42.58±5.42[b]	24.75±2.25[b]
七叶皂苷钠高剂量组	73.58±0.42[bc]	28.92±5.08[bc]	34.08±4.92[bc]
七叶皂苷钠+EX527组	248.83±32.17[d]	56.75±7.25[d]	16.07±1.83[d]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与七叶皂苷钠低剂量组比较，$P<0.05$；d：与七叶皂苷钠高剂量组比较，$P<0.05$。

3.2 大鼠黑质区和海马组织CA1区神经元形态的检测结果

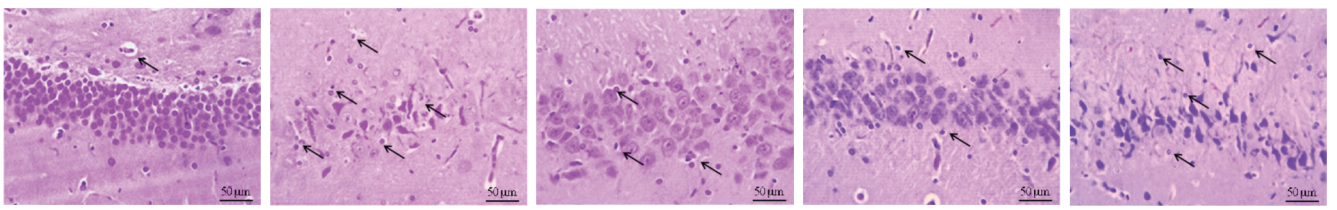
假手术组大鼠黑质区和海马组织CA1区神经元排列规整且形态结构完整；模型组大鼠黑质区和海马组织CA1区神经元损伤严重，细胞膜皱缩，细胞核发生不规则形变且染色质固缩，细胞排列散乱且体积明显缩小，神经元数量明显变少；相较于模型组，七叶皂苷钠低、高剂量组大鼠黑质区和海马组织CA1区神经元的损伤程度均减轻；相较于七叶皂苷钠高剂量组，七叶皂苷钠+EX527组大鼠黑质区和海马组织CA1区神经元损伤严重。结果见图1、图2。



A.假手术组　B.模型组　C.七叶皂苷钠低剂量组　D.七叶皂苷钠高剂量组　E.七叶皂苷钠+EX527组

黑色箭头：典型的损伤神经元。

图1　各组大鼠黑质区神经元形态的显微图（HE染色）



A.假手术组　B.模型组　C.七叶皂苷钠低剂量组　D.七叶皂苷钠高剂量组　E.七叶皂苷钠+EX527组

黑色箭头：典型的损伤神经元。

图2　各组大鼠海马组织CA1区神经元形态的显微图（HE染色）

3.3　大鼠黑质纹状体中DA含量及黑质区TH、α-Syn蛋白表达水平的检测结果

与假手术组比较，模型组大鼠黑质纹状体中DA含量及黑质区TH蛋白表达水平均显著降低，黑质区α-Syn蛋白表达水平显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，七叶皂苷钠低、高剂量组大鼠黑质纹状体中DA含量及黑质区TH蛋白表达水平均显著升高，黑质区α-Syn蛋白表达水平均显著降低，且高剂量组的变化较低剂量组明显（$P<0.05$）；与七叶皂苷钠高剂量组比较，七叶皂苷钠+EX527组大鼠黑质纹状体中DA含量及黑质区TH蛋白表达水平均显著降低，黑质区α-Syn蛋白表达水平显著升高（$P<0.05$）。结果见表2、图3、图4。

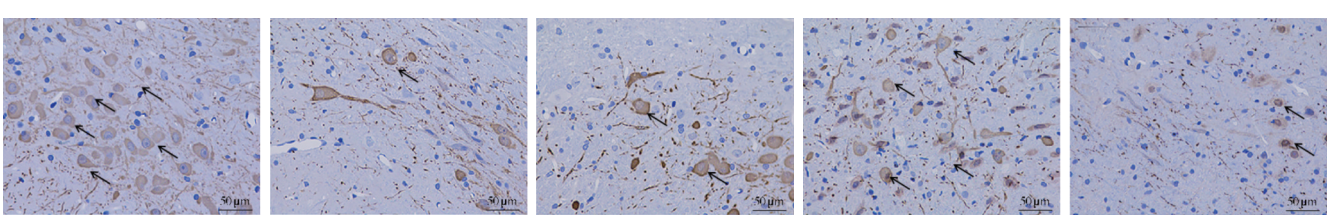
表2　各组大鼠黑质纹状体中DA含量及黑质区TH、α-Syn蛋白表达水平的比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	DA含量/（μg/g）	TH蛋白表达水平	α-Syn蛋白表达水平
假手术组	52.48±11.21	1	1
模型组	9.76±1.83[a]	0.44±0.04[a]	2.39±0.24[a]
七叶皂苷钠低剂量组	24.25±7.04[b]	0.65±0.06[b]	1.78±0.15[b]
七叶皂苷钠高剂量组	34.43±9.09[bc]	0.85±0.11[bc]	1.28±0.13[bc]
七叶皂苷钠+EX527组	10.07±1.95[d]	0.47±0.08[d]	2.41±0.22[d]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与七叶皂苷钠低剂量组比较，$P<0.05$；d：与七叶皂苷钠高剂量组比较，$P<0.05$。

3.4　大鼠血清中炎症因子水平的检测结果

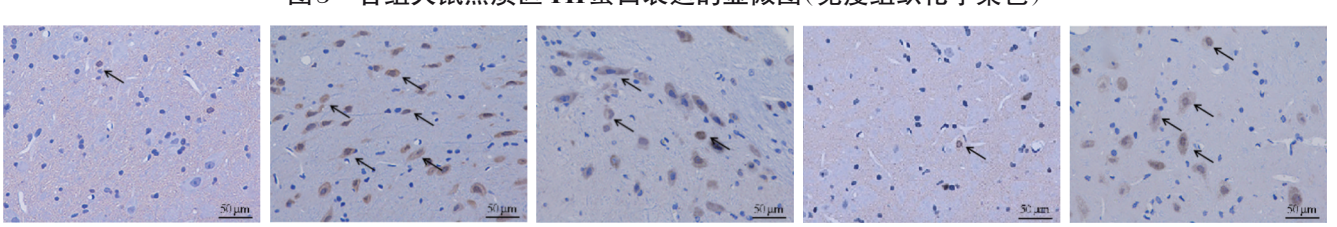
与假手术组比较，模型组大鼠血清中促炎因子IL-6、IL-18水平均显著升高，抗炎因子IL-10水平显著降低（$P<0.05$）；与模型组比较，七叶皂苷钠低、高剂量组大鼠血清中促炎因子IL-6、IL-18水平均显著降低，抗炎因子IL-10水平均显著升高，且高剂量组的变化较低剂量组明显（$P<0.05$）；与七叶皂苷钠高剂量组比较，七叶皂苷钠+EX527组大鼠血清中促炎因子IL-6、IL-18水平均显著升高，抗炎因子IL-10水平显著降低（$P<0.05$）。结果见表3。



A.假手术组　B.模型组　C.七叶皂苷钠低剂量组　D.七叶皂苷钠高剂量组　E.七叶皂苷钠+EX527组

黑色箭头：TH阳性细胞。

图3　各组大鼠黑质区TH蛋白表达的显微图（免疫组织化学染色）



A.假手术组　B.模型组　C.七叶皂苷钠低剂量组　D.七叶皂苷钠高剂量组　E.七叶皂苷钠+EX527组

黑色箭头：α-Syn阳性细胞。

图4　各组大鼠黑质区α-Syn蛋白表达的显微图（免疫组织化学染色）

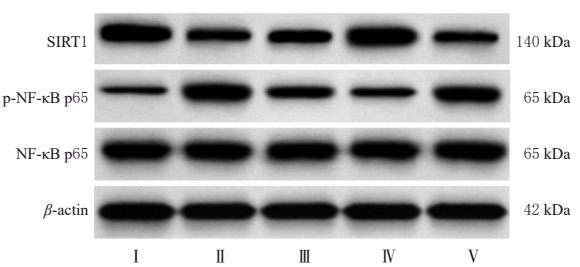
表3　各组大鼠血清中IL-6、IL-18、IL-10水平的比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$，pg/mL）

组别	IL-6	IL-18	IL-10
假手术组	21.98±6.43	15.62±4.14	77.86±14.74
模型组	48.41±10.75[a]	75.17±9.32[a]	40.74±12.25[a]
七叶皂苷钠低剂量组	37.89±8.74[b]	52.94±7.53[b]	52.95±12.51[b]
七叶皂苷钠高剂量组	28.23±7.81[bc]	31.85±4.97[bc]	65.83±14.93[bc]
七叶皂苷钠+EX527组	47.73±11.02[d]	72.73±10.28[d]	42.12±12.36[d]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与七叶皂苷钠低剂量组比较，$P<0.05$；d：与七叶皂苷钠高剂量组比较，$P<0.05$。

3.5　大鼠黑质纹状体中SIRT1/NF-κB信号通路相关蛋白表达水平的检测结果

与假手术组比较，模型组大鼠黑质纹状体中SIRT1蛋白表达水平显著降低，p-NF-κB p65/NF-κB p65显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，七叶皂苷钠低、高剂量组大鼠黑质纹状体中SIRT1蛋白表达水平均显著升高，p-NF-κB p65/NF-κB p65均显著降低，且高剂量组的变化较低剂量组明显（$P<0.05$）；与七叶皂苷钠高剂量组比较，七叶皂苷钠+EX527组大鼠黑质纹状体中SIRT1蛋白表达水平显著降低，p-NF-κB p65/NF-κB p65显著升高（$P<0.05$）。结果见图5、表4。



Ⅰ：假手术组；Ⅱ：模型组；Ⅲ：七叶皂苷钠低剂量组；Ⅳ：七叶皂苷钠高剂量组；Ⅴ：七叶皂苷钠+EX527组。

图5　各组大鼠黑质纹状体中SIRT1、p-NF-κB p65、NF-κB p65蛋白表达电泳图

表4　各组大鼠黑质纹状体中SIRT1/NF-κB信号通路相关蛋白表达水平的比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	SIRT1/β-actin	p-NF-κB p65/NF-κB p65
假手术组	1.27±0.24	0.19±0.04
模型组	0.42±0.08[a]	0.97±0.12[a]
七叶皂苷钠低剂量组	0.68±0.09[b]	0.44±0.07[b]
七叶皂苷钠高剂量组	1.12±0.21[bc]	0.27±0.05[bc]
七叶皂苷钠+EX527组	0.44±0.05[d]	0.95±0.17[d]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与七叶皂苷钠低剂量组比较，$P<0.05$；d：与七叶皂苷钠高剂量组比较，$P<0.05$。

4　讨论

帕金森病不仅极大影响了患者的身心健康，还给其家庭带来了沉重的负担，故探究帕金森病的发生机制，寻找有效的防治手段具有重要意义。研究发现，胶质细胞激活、免疫细胞浸润、α-Syn积累和神经炎症是帕金森病发生及患者病情进展的重要病理因素，抑制α-Syn积累、调控免疫反应、阻止炎症信号激活是防治帕金森病的潜在策略[12]。本研究采用6-羟基多巴胺注射法构建了帕金森病大鼠模型，结果显示，模型组大鼠黑质区和海马组织CA1区神经元损伤严重，细胞膜皱缩，细胞核发生不规则形变且染色质固缩，细胞排列散乱且体积明显缩小，神经元数量明显减少，黑质区α-Syn蛋白表达水平和血清中促炎因子IL-6、IL-18水平均显著升高，黑质纹状体中DA含量、黑质区TH蛋白表达水平和血清中抗炎因子IL-10水平均显著降低，提示模型组大鼠出现了神经炎症反应，可能与其黑质纹状体中DA含量及黑质区TH蛋白表达降低，进而促使α-Syn蛋白大量生成并在黑质区集聚，造成大脑黑质区及海马组织CA1区神经元大量丢失有关。运动及认知功能检测结果显示，模型组大鼠旋转圈数、逃避潜伏期均显著增加或延长，目标象限停留时间显著缩短，提示帕金森病大鼠运动及认知功能受损。

七叶皂苷钠是具有明显抗炎功效的天然皂苷类成分，可通过抑制神经元凋亡来减轻蛛网膜下腔出血小鼠的脑损伤[13]；可通过减少脑组织中促炎因子释放来减轻局灶性脑缺血再灌注大鼠的神经元凋亡，从而显著改善其神经功能缺损[14]。本研究以不同剂量七叶皂苷钠干预帕金森病大鼠，结果显示，七叶皂苷钠可显著降低帕金森病大鼠血清中促炎因子IL-6、IL-18水平，升高抗炎因子IL-10水平，表明该成分可减轻帕金森病大鼠神经炎症，且高剂量七叶皂苷钠的作用较低剂量更强。另外本研究结果还显示，七叶皂苷钠可减轻帕金森病大鼠黑质区和海马组织CA1区神经元的病理损伤，减少或缩短其旋转圈数、逃避潜伏期、黑质区α-Syn蛋白表达水平，显著延长或升高目标象限停留时间、黑质纹状体中DA含量、黑质区TH蛋白表达水平，表明该成分可改善帕金森病大鼠的运动及认知功能障碍，具有明显的神经保护作用，且高剂量七叶皂苷钠的作用更强，初步揭示了七叶皂苷钠在帕金森病临床治疗中的应用潜力。

SIRT1/NF-κB信号通路可通过调控神经炎症来介导脑出血、帕金森病的发生和进展，促进SIRT1蛋白表达可抑制NF-κB信号激活及其p65亚单位的磷酸化，阻碍促炎因子的释放，减轻神经炎症反应，从而缓解脑出血引发的脑损伤；同时，促进SIRT1蛋白表达还可促进黑质区TH蛋白的表达，维持多巴胺能神经元的完整性和功能的正常性，对帕金森病大鼠运动功能异常有改善作用[15]。本研究结果显示，七叶皂苷钠可使帕金森病大鼠黑质纹状体中p-NF-κB p65/NF-κB p65显著降低，SIRT1蛋白表达水平显著升高，且高剂量七叶皂苷钠的作用更强，提示七叶皂苷钠的神经保护作用可能与调控SIRT1/NF-κB信号通路有关。本研究在七叶皂苷钠高剂量的基础上，加用了SIRT1抑制剂EX527，结果显示，EX527可逆转高剂量七叶皂苷钠对帕金森病大鼠上述指标的改善作用，表明七叶皂苷钠可通过上调SIRT1蛋

白表达来抑制NF-κB信号激活，从而减轻帕金森病大鼠的神经炎症反应，最终发挥神经保护作用。

综上所述，七叶皂苷钠可通过上调SIRT1蛋白表达来抑制NF-κB信号激活，从而抑制帕金森病大鼠的神经炎症，改善其运动及认知功能，最终起到神经保护作用。本研究为帕金森病提供了新的潜在治疗药物，对其临床治疗方法的改善及发展具有一定的参考价值，但七叶皂苷钠能否通过其他信号通路发挥对帕金森病大鼠的神经保护作用，有待后续研究。

参考文献

[1] SCHRÖTER N，BORMANN T，RIJNTJES M，et al. Cognitive deficits in Parkinson's disease are associated with neuronal dysfunction and not white matter lesions[J]. Mov Disord Clin Pract，2023，10(7)：1066-1073.

[2] KARTIK S，PAL R，CHAUDHARY M J，et al. Neuroprotective role of chloroquine via modulation of autophagy and neuroinflammation in MPTP-induced Parkinson's disease[J]. Inflammopharmacology，2023，31(2)：927-941.

[3] BATIHA G E，AL-KURAISHY H M，AL-GAREEB A I，et al. SIRT1 pathway in Parkinson's disease：a faraway snapshot but so close[J]. Inflammopharmacology，2023，31(1)：37-56.

[4] HU C T，LI C，MA Q Y，et al. Inhibition of long noncoding RNA SNHG15 ameliorates hypoxia/ischemia-induced neuronal damage by regulating miR-302a-3p/STAT1/NF-κB axis[J]. Yonsei Med J，2021，62(4)：325-337.

[5] CHENG J J，ZHANG R，XU Z R，et al. Early glycolytic reprogramming controls microglial inflammatory activation[J]. J Neuroinflammation，2021，18(1)：129.

[6] 汪雷，胡火军，马金阳，等. 七叶皂苷钠对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国临床神经外科杂志，2021，26(8)：616-621.
WANG L，HU H J，MA J Y，et al. Protective effect of sodium aescinate on adult rats after cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. Chin J Clin Neurosurg，2021，26(8)：616-621.

[7] 张军，周佩洋. 七叶皂苷钠联合氯吡格雷治疗急性缺血性脑卒中的临床研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志，2020，18(17)：2898-2901.
ZHANG J，ZHOU P Y. Clinical study of sodium aescinate combined with clopidogrel in the treatment of acute ischemic stroke[J]. Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis，2020，18(17)：2898-2901.

[8] 余恒，宋光捷. 脑纹状体内植入CREB基因修饰的BMSCs对帕金森大鼠学习记忆能力影响的实验研究[J]. 中国免疫学杂志，2020，36(10)：1180-1184.
YU H，SONG G J. Intrastriatal implantation of CREB gene-modified BMSCs on learning-memory ability in rats of PD models[J]. Chin J Immunol，2020，36(10)：1180-1184.

[9] 汪先凯，周大臣，喻宗繁，等. 七叶皂苷钠通过降低4EBP1的磷酸化水平抑制梗阻性黄疸大鼠小胆管增生[J]. 安徽医科大学学报，2021，56(10)：1521-1526.
WANG X K，ZHOU D C，YU Z F，et al. Sodium aescinate inhibits the proliferation of small bile ducts in rats with obstructive jaundice by reducing the phosphorylation level of 4EBP1[J]. Acta Univ Med Anhui，2021，56(10)：1521-1526.

[10] 曹自为，张嵘，李蒙，等. 丹参多酚酸通过SIRT1/HMGB1路径改善大鼠脑缺血/再灌注损伤的机制研究[J]. 中风与神经疾病杂志，2021，38(1)：4-8.
CAO Z W，ZHANG R，LI M，et al. The mechanism of salvianolic acids (SA) on improving cerebral ischemic damage through silencing information regulator protein 1 (SIRT1)/high-mobility group box 1(HMGB1)signal pathway in rat[J]. J Apoplexy Nerv Dis，2021，38(1)：4-8.

[11] 丁旭，殷紫，邓祥敏，等. 银杏内酯B对帕金森病模型大鼠的保护作用[J]. 中国临床解剖学杂志，2022，40(4)：442-446，453.
DING X，YIN Z，DENG X M，et al. Protective effects of ginkgolide B on model rats with Parkinson's disease[J]. Chin J Clin Anat，2022，40(4)：442-446，453.

[12] LI K L，HUANG H Y，REN H，et al. Role of exosomes in the pathogenesis of inflammation in Parkinson's disease [J]. Neural Regen Res，2022，17(9)：1898-1906.

[13] 李侑埕，陈立刚，孔睿，等. 七叶皂苷钠通过调节Keap1/Nrf2/HO-1信号通路抑制神经元细胞凋亡改善蛛网膜下腔出血后的早期脑损伤[J]. 广州中医药大学学报，2021，38(4)：779-785.
LI Y C，CHEN L G，KONG R，et al. Sodium aescinate improves early brain injury after subarachnoid hemorrhage through regulating Keap1/Nrf2/HO-1 signaling pathway to inhibit neurons apoptosis[J]. China Ind Econ，2021，38(4)：779-785.

[14] 郭秦乐，霍康，宋银雪，等. β-七叶皂苷钠对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护机制研究[J]. 基因组学与应用生物学，2020，39(7)：3312-3317.
GUO Q L，HUO K，SONG Y X，et al. Protective mechanism of β-sodium aescin on focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats[J]. Genom Appl Biol，2020，39(7)：3312-3317.

[15] DENG H J，ZHOU C H，HUANG L T，et al. Activation of silent information regulator 1 exerts a neuroprotective effect after intracerebral hemorrhage by deacetylating NF-κB/p65[J]. J Neurochem，2021，157(3)：574-585.

（收稿日期：2023-08-11　修回日期：2024-01-25）
（编辑：张元媛）