

青黛对脑缺血再灌注损伤小鼠的保护作用研究

郭羽晨, 李骏驰, 杨国苓, 章越凡, 李铁军, 孙莉莉

Protective effect of *Indigo Naturalis* on cerebral ischemia-reperfusion injury in mice

GUO Yuchen, LI Junchi, YANG Guoling, ZHANG Yuefan, LI Tiejun, SUN Lili

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202510044>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

菸花苷长期给药对脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能的影响

Effects of long-term administration of nicotiflorin on neurological function in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury

药学实践与服务. 2025, 43(5): 228-234 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202407038

雷公藤甲素对大鼠脑缺血再灌注损伤的影响及机制研究

Effects and mechanism of triptolide on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats

药学实践与服务. 2025, 43(7): 339-343, 361 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202311021

一种中药组合物对ANIT诱导的小鼠胆汁淤积肝损伤的保护作用研究

The protective effect of a traditional chinese medicine composition on ANIT induced liver injury in mice with cholestasis

药学实践与服务. 2024, 42(12): 508-511, 519 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202305008

金线莲苷对小鼠酒精性肝损伤的作用机制研究

Mechanism of *Kinsenoside* in alcoholic liver injury in mice

药学实践与服务. 2026, 44(1): 12-19 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202309030

咪达唑仑调节PINK1/PARKIN信号通路对缺血性脑卒中大鼠神经元损伤的影响

Effect of midazolam on neuronal damage in ischemic stroke rats by regulating the PINK1/PARKIN signaling pathway

药学实践与服务. 2025, 43(6): 288-292, 312 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202405024

基于NLRP1炎症小体探讨百合知母汤抗抑郁的作用机制

Exploration of the antidepressant mechanism of Baihe Zhimu decoction based on NLRP1 inflammasome

药学实践与服务. 2024, 42(8): 325-333 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202401033



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

青黛对脑缺血再灌注损伤小鼠的保护作用研究

郭羽晨¹, 李骏驰¹, 杨国苓², 章越凡², 李铁军¹, 孙莉莉¹ (1. 上海市浦东新区浦南医院, 上海 200125; 2. 上海大学, 上海 200444)

【摘要】 **目的** 研究青黛对脑缺血再灌注损伤小鼠的保护作用。**方法** 采用线栓法建立小鼠脑缺血再灌注(MCAO/R)的动物模型, 并将小鼠随机划分为 5 个小组: 假手术组、模型组、阳性药组、青黛低剂量组及青黛高剂量组。给药 7 d 后进行相关实验, 通过行为学评分、平衡木实验、前肢抓地力牵引实验和提尾实验评估小鼠神经功能; 使用 2,3,5-三苯基四氮唑氯化物(TTC)染色定量分析小鼠的脑梗死体积; 结合苏木精-伊红染色(HE)、尼氏染色和原位末端标记(TUNEL)染色, 系统分析脑组织的病理变化及神经元凋亡情况; 最后, 利用聚合酶链式反应(PCR)检测小鼠大脑皮层中炎症因子细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)和小胶质细胞活化标志物(CD32、CD206)信使核糖核酸(mRNA)的表达。**结果** 与模型组相比, 青黛高剂量组小鼠神经功能评分显著改善, 各给药组运动能力恢复明显($P<0.05$, $P<0.01$); 青黛高剂量组小鼠的脑梗死体积显著缩小($P<0.05$)。组织学结果显示青黛可减轻脑组织病理损伤, 减少神经元凋亡($P<0.01$); PCR 结果显示, 经过青黛治疗后, 炎症因子及 CD32 表达明显下调($P<0.05$, $P<0.01$), CD206 表达明显上调($P<0.05$)。**结论** 青黛可改善脑缺血再灌注损伤小鼠运动功能, 其作用可能与调节炎症反应, 减轻神经元损伤有关。

【关键词】 青黛; 脑缺血再灌注损伤; 神经功能评分; 炎症反应

【文章编号】 2097-2024(2026)00-0001-08

【DOI】 [10.12206/j.issn.2097-2024.202510044](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202510044)

Protective effect of *Indigo Naturalis* on cerebral ischemia-reperfusion injury in mice

GUO Yuchen¹, LI Junchi¹, YANG Guoling², ZHANG Yuefan², LI Tiejun¹, SUN Lili¹ (1. Shanghai Punan Hospital of Pudong New District, Shanghai 200125, China; 2. Shanghai University, Shanghai 200444, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the protective effect of *Indigo Naturalis* on cerebral ischemia-reperfusion injury in mice. **Methods** The mouse model of middle cerebral artery occlusion/reperfusion was established using the filament ligation method. Mice were randomly divided into five groups: sham surgery, model, positive drug control, low-dose *Indigo Naturalis*, and high-dose *Indigo Naturalis*. After 7 days of drug administration, the relevant experiments were performed. Neurological function was assessed via behavioral scoring, balance beam test, forelimb grip strength, and tail lift test. Brain infarct volume was quantified using 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride (TTC) staining. Histopathological changes and neuronal apoptosis were systematically analyzed through hematoxylin-eosin (HE) staining, Nissl staining, and TUNEL staining. Finally, polymerase chain reaction (PCR) was employed to detect mRNA expression levels of inflammatory cytokines interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), and microglial polarization markers (CD32, CD206) in the mouse cerebral cortex. **Results** Compared with the model group, the neurological function scores of mice in the high-dose *Indigo Naturalis* group showed significant improvement, and the motor ability recovery in each drug-administration group was remarkable ($P<0.05$, $P<0.01$). The cerebral infarct volume in the high-dose *Indigo Naturalis* group was significantly reduced ($P<0.05$). Histological results revealed that *Indigo Naturalis* could alleviate pathological damage in brain tissue and reduce neuronal apoptosis ($P<0.01$). PCR results demonstrated that after treatment with *Indigo Naturalis*, the expression of inflammatory factors and CD32 was significantly downregulated ($P<0.05$, $P<0.01$), while the expression of CD206 was significantly upregulated ($P<0.05$). **Conclusion** *Indigo Naturalis* can improve motor function in mice with cerebral ischemia-reperfusion injury, and its effects may be related to regulating inflammatory responses and reducing neuronal damage.

【Key words】 *Indigo Naturalis*; Cerebral ischemia-reperfusion injury; Neurological function scores; Inflammatory response

【基金项目】 上海市浦东新区卫生系统重点专科项目(PWZk2022-08); 上海市浦东新区浦南医院卫生科技项目(PN2021b2)

【作者简介】 郭羽晨, 硕士研究生, 研究方向: 中药药理学, Email: guoyuchen0623@163.com

【通信作者】 孙莉莉, 本科, 副主任药师, 临床药师, Email: sunlili3033@sina.cn

脑缺血是临床上常见的一种疾病,属于急危重症范畴。该疾病不仅发病率居高不下,与之相关的神经功能缺损也导致其致残与致死风险均处于较高水平^[1]。当前阶段,临床广泛治疗手段为组织型纤溶酶原激活剂静脉溶栓疗法与机械取栓疗法。然而,临床治疗中仍存在重要挑战:部分患者虽成功恢复脑血流灌注,但其神经功能并未随之改善,反而因脑水肿加剧、炎症反应加重等继发性损伤,导致神经功能进一步恶化^[2]。这一病理过程被称为脑缺血再灌注损伤,其本质是再灌注激活了氧化应激、钙超载及炎症反应等机制^[3-5],形成了恶性循环。这些机制相互作用,最终通过血脑屏障破坏、神经元凋亡/自噬失衡等途径引发大量神经元死亡。

炎症反应在脑缺血再灌注损伤的发展过程中扮演着重要角色^[6]。小胶质细胞作为中枢神经系统的主要免疫细胞,脑缺血后迅速向缺血区域迁移聚集,激活并分化为促炎 M1 型和抗炎 M2 型两种类型^[7]。M1 型加剧神经毒性及神经元焦亡,而 M2 型则通过分泌白介素-10、转化生长因子- β 及神经营养因子促进组织修复。基于上述特性,若能在恢复期调控小胶质细胞的分化方向,不仅可减轻炎症反应,更能为脑缺血后的神经功能恢复提供有利条件。

青黛是临床中常见中药材,呈干燥粉末状。它主要由爵床科植物马蓝(*Baphicacanthus cusia* (Nees) Bremek)制成,也可由蓼科植物蓼蓝(*Polygonum tinctorium* Ait.)等加工而成。中医认为其具有清热解毒、凉血消斑等功效^[8]。现代药理学研究揭示,青黛及其活性成分靛玉红具备抗炎、抗氧化、免疫调节等多种药理活性^[9-12]。在脑缺血再灌注损伤的发展中,炎症反应至关重要,是影响临床疗效和患者预后的关键因素。据此,我们推测,青黛的神经保护作用可能与其抗炎机制有关。为验证上述推测,本研究旨在通过建立小鼠脑缺血再灌注模型,探究青黛对脑缺血再灌注损伤神经功能的影响。

1 材料与方法

1.1 动物

本研究使用的 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠(体重 20~25 g),由江苏华创信诺医药科技有限公司提供[生产许可证号:SCXK(苏)2020-0002],质量符合 SPF 级实验动物标准。

实验前 7 d,将小鼠置于上海大学医学院动物房适应性饲养,环境条件控制为温度 22~25℃、相对湿度约 70%,小鼠可自由摄食标准饲料并饮用清水,饲养周期采用 12 h 光暗交替模式。本研究

中的所有动物实验操作均已获得上海大学医学院伦理委员会的审查批准(伦理审批号:ECSHU 2023-008),实验过程严格遵守动物研究的伦理规范。

1.2 药物及试剂

青黛颗粒(上海万仕诚国药制品有限公司,货号:20241207-1)由上海市浦东新区浦南医院提供;丁苯酞软胶囊(石药集团恩必普药业有限公司,货号:1182411209,规格:0.1 g×24 粒);橄榄油(上海源叶生物科技有限公司,货号:S30503);2% TTC 染液(北京索莱宝科技有限公司,货号:G3005);HE 染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号:G1120);尼氏染液(北京索莱宝科技有限公司,货号:G3245);TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(碧云天生物技术公司,货号:C1086);超快速组织总 RNA 提取试剂盒(赛默飞世尔科技公司,货号:12183016);一步法 RT-PCR 预混液(赛默飞世尔科技公司,货号:4384724);戊巴比妥钠(美国 Sigma 公司,货号:P11011)。

1.3 仪器与设备

组织脱水机(武汉俊杰电子有限公司,型号:JT-12S);包埋机(武汉俊杰电子有限公司,型号:JB-P5);倒置生物显微镜(日本尼康公司,型号:Eclipse Ti-E);病理切片机(上海徕卡仪器有限公司,型号:RM2016);实时荧光定量 PCR 仪(上海伯乐生命医学产品有限公司,型号:CFX Connect);小鼠线栓(北京西浓科技有限公司,规格:A5-122005)。

2 方法

2.1 模型制备及分组与给药

实验启动前,所有小鼠均经 7 d 适应性喂养以适应环境。随后,依据体重分层匹配原则,将动物均分为 5 组,每组 12 只,具体分组如下:假手术组、模型组、阳性药物组(丁苯酞,120 mg/kg)、青黛低剂量组(200 mg/kg)与青黛高剂量组(400 mg/kg)。参照文献^[12]中的线栓法构建脑缺血再灌注模型:首先通过腹腔注射 2% 戊巴比妥钠对小鼠实施麻醉处理,随后对其颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉的钝性分离。在颈外动脉结扎完成后,在结扎部位前方剪开一个微小伤口,将栓线插入颈内动脉并固定;脑缺血持续 2 h 后,缓慢抽出栓线,完成再灌注模型的建立。假手术组仅进行血管分离操作,不实施栓线插入步骤。

假手术组与模型组灌胃给予 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液,作为空白对照;阳性药组将丁苯酞软胶囊内容物溶于橄榄油中,配制成浓度为 12 mg/ml

的溶液,按 120 mg/kg 剂量灌胃;青黛低剂量组与高剂量组则将青黛粉末分别溶于 5% 羧甲基纤维素钠溶液中,制备成相应浓度的混悬液,灌胃给药剂量依次为 200 mg/kg 和 400 mg/kg。再灌注操作完成后即刻进行首次给药,之后每日给药 1 次,连续给药 7 d。给药结束后进行相关实验。

2.2 行为学评分

采用 Longa 评分法对各组小鼠的神经功能缺损程度进行系统评估^[13],具体评分细则为:0 分,无任何神经功能缺损表现;1 分:提起小鼠尾部时,损伤对侧前肢出现弯曲并伴随屈收反应;2 分:小鼠自由爬行过程中,身体持续向损伤对侧划圈运动;3 分:小鼠站立时即刻向对侧倾倒,无法自由直线行走;4 分:小鼠右侧肢体发生偏瘫,丧失自发行走能力。评分越高,提示小鼠的神经损伤程度越严重。

2.3 提尾实验

通过悬吊动物尾部使其垂直倒置,定量分析其头部及躯干偏转行为,以评估中枢神经功能损伤导致的运动不对称性。具体操作如下:将小鼠尾巴抬高至桌面上方 5 cm 处,同步记录其身体摆动的方向。正常小鼠表现为随机双向偏转并尝试攀爬,而单侧脑缺血损伤小鼠因对侧肢体肌力减退,健侧偏转频率显著升高。每轮实验重复 10 次,计算左右摆动的比率。向右摆动(%)=(身体向右摆动的次数/10)×100%。

2.4 平衡木实验

平衡木实验^[14]通过量化动物穿越高架狭窄横梁的运动表现,评估脑缺血再灌注损伤导致的运动协调障碍、肢体肌力减退及平衡功能障碍。实验采用长 1 m、宽 2.5 cm 的防滑横梁,架设于距地面 50 cm 高处,末端放置含同笼垫料的黑暗避难箱以诱导小鼠探索。正式实验前,小鼠需接受 3 天适应性训练,以确保掌握基础穿越能力。每只小鼠重复 3 次实验。评分标准见表 1。分数越高表示神经损伤越严重。

表 1 平衡木实验的评分标准

评分/分	标准
0	小鼠成功穿越平衡木,没有任何滑动
1	小鼠成功穿过平衡木,但一只前肢在受伤一侧滑动一次
2	小鼠成功穿过平衡木,能够抓住平衡木,但是一只爪子打滑
3	小鼠成功穿过平衡木,能够抓住平衡木,但是两只爪子在平衡木上滑动或旋转超过 60 s
4	小鼠试图穿过平衡木但失败
5	小鼠可以在平衡木上保持平衡而不动
6	小鼠无法停留在平衡木上

2.5 前肢抓地力牵引实验

前肢抓地力牵引实验通过量化小鼠悬挂于水

平绳索的最大时长,评估其前肢肌力、神经肌肉协调性及运动耐力。实验采用直径 0.2 cm 尼龙线,水平固定于距泡沫缓冲垫 30 cm 高度;下方铺设 5 cm 厚高密度泡沫垫以缓冲坠落损伤。每只小鼠单独进行 3 次悬挂实验,记录其悬挂时长,单次时长设定为 10 s。小鼠从悬挂状态掉落至地面的时间,即为其抓握绳索的持续时间。

2.6 TTC 染色

行为学实验结束以后,取出小鼠脑组织并用预冷 PBS 冲洗,置于-20℃ 冷冻处理 20 min 以硬化脑组织。将脑组织沿冠状面均匀切割为 5 片,随后浸没于 2% TTC 染液中,置于 37℃ 条件下避光孵育 30 min。染色结束后,立即使用预冷的磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗以终止反应,接着将脑片转移至 4% 多聚甲醛溶液中固定 6 h。使用 ImageJ 软件分析,设定阈值区分红色正常组织与苍白色梗死区域,按公式计算梗死体积百分比:梗死体积百分比=梗死体积/总体积×100 %。

2.7 苏木素-伊红(HE)染色

小鼠经心脏灌注固定后,脑组织样本在 4 % 多聚甲醛中于 4℃ 条件下后固定 24 h。随后,组织依次经梯度乙醇脱水、二甲苯透明、浸蜡包埋。使用石蜡切片机连续切取 5 μm 冠状面切片。切片经脱蜡、水化后,进行苏木精和伊红染色。染色结果在光学显微镜下观察并拍照,系统评估脑组织的形态及病理变化。

2.8 尼氏染色

小鼠脑组织石蜡切片经二甲苯脱蜡、梯度乙醇复水后,采用尼氏染色液染色 30 min,经梯度乙醇脱水、二甲苯透明,中性树胶封片。封片后在光学显微镜下观察,重点评估神经元胞体形态、尼氏体分布及组织结构完整性,并采集代表性图像用于后续分析。

2.9 TUNEL 染色

小鼠脑组织切片脱蜡至水洗,用蛋白酶 K 在 37℃ 下孵育 30 min。随后,与末端脱氧核苷酸转移酶标记反应缓冲液在 37℃ 共同孵育 60 min,再用 4',6-二氨基-2-苯基吡啶(DAPI)复染细胞核 5 min。荧光显微镜下观察,DAPI 在紫外激发下显示蓝色荧光信号,TUNEL 阳性细胞核呈现绿色荧光。双盲法评估凋亡细胞的分布特征,并采用 ImageJ 软件定量分析阳性区域占比。

2.10 实时荧光定量聚合酶链反应

按照 RNA 提取试剂盒说明书中的步骤操作,取小鼠缺血侧大脑皮层组织,加入 TRIzol 匀浆处理以提取总核糖核酸(RNA),再采用逆转录试剂盒将所提取的 RNA 逆转录成互补脱氧核糖核酸

(cDNA)。逆转录反应完成后,利用 SYBR 实时荧光定量 PCR 试剂盒进行扩增反应,将配制好的反应混合物加入 PCR 仪中,通过分析实时荧光信号数据,计算样品中靶 RNA 的相对丰度。最终采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、CD32 和 CD206 mRNA 表达,内参基因为 β -肌动蛋白(β -actin)。引物序列见表 2。

表 2 引物序列

基因		引物序列
TNF- α	上游下游	CCA CTC TGA CCC CTT TAC TC GCC ATA ATC CCC TTT CTA AGT
IL-1 β	上游	AAC AAC AGT GGT CAG GAC ATA
	下游	GGG AAG GCA TTA GAA ACA G
IL-6	上游	CGG AGA GGA GAC TTC ACA GAG
	下游	ATT TCC ACG ATT TCC CAG AG
CD32	上游	GCT GGA GGA ACA AAC TAC TGA
	下游	TTG GAC AGT GAT GGT GAC A
CD206	上游	ACC CTG TAT GCC TGT GAT T
	下游	TAT AAC TCT GTG CCC TTG ATT C
β -actin	上游	CCT CTA TGC CAA CAC AGT
	下游	AGC CAC CAA TCC ACA CAG

2.11 统计分析

所有数据分析均使用 GraphPad Prism 8.2.4 软件完成。实验数据以均值 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)形式呈现,用于描述连续变量的分布特征。组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行统计检验。若检验结果显示 $P<0.05$,表明组间差异具有统计学意义; $P<0.01$ 则提示组间存在极显著性差异。

3 结果

3.1 青黛对脑缺血再灌注损伤小鼠脑梗死体积的影响

对各组小鼠脑组织进行 TTC 染色处理,正常脑组织呈玫瑰红色,而缺血形成的梗死灶则显现为白色。假手术组小鼠的大脑经染色后均呈玫瑰红色,未观察到脑梗死现象。模型组小鼠缺血侧半脑出现较明显的白色梗死区域,其脑梗死体积较假手术组显著增加($P<0.01$)。经过阳性药和青黛高剂量干预后,与模型组相比,小鼠脑梗死体积都出现显著缩小($P<0.05$)。

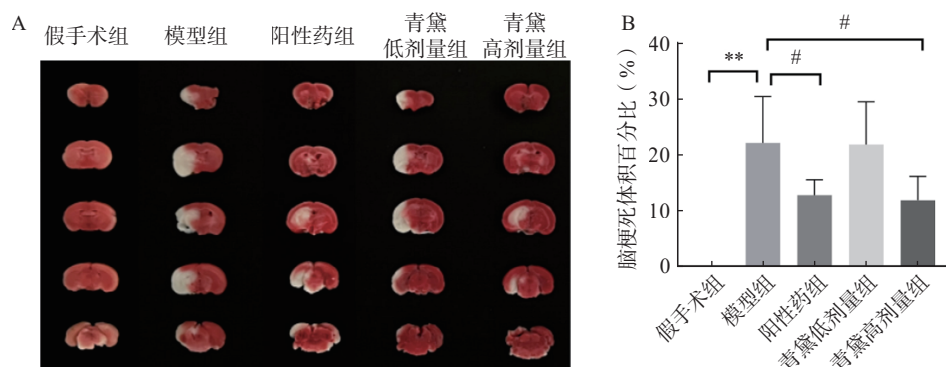


图 1 青黛对脑缺血再灌注小鼠脑梗死体积的影响 ($n=6$, $\bar{x}\pm s$)

A.TTC 染色;B.小鼠脑梗死体积

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

3.2 青黛对脑缺血再灌注损伤小鼠神经运动功能的影响

各组小鼠的 Longa 评分结果如图 2A 所示,模型组小鼠神经功能评分较假手术组显著升高($P<0.01$),提示造模成功并伴随明显神经功能障碍。与模型组相比,阳性药组($P<0.01$)及青黛高剂量组($P<0.05$)神经功能评分均显著降低,表明药物干预可有效改善神经功能缺损。在提尾实验中(图 2B),阳性药组和青黛高剂量组小鼠向右摆动的比例均明显高于模型组($P<0.05$ 、 $P<0.01$)。前肢抓地力牵引实验结果显示(图 2C),阳性药组、青黛低剂量组及青黛高剂量组小鼠的落地时间较模型组均显著延长($P<0.05$ 、 $P<0.01$)。平衡木实验结果

(图 2D)显示,与模型组比,阳性药组、青黛低剂量组及青黛高剂量组小鼠的打滑次数减少,评分显著降低($P<0.01$)。上述结果表明,青黛能有效改善脑缺血再灌注模型小鼠恢复期神经运动功能。

3.3 青黛对脑缺血再灌注损伤小鼠的脑组织形态学的影响

HE 染色结果显示(图 3),假手术组小鼠脑组织形态结构正常,细胞排列紧密且规则,细胞核仁清晰可见,间质无炎性细胞浸润。相比之下,模型组小鼠海马区域部位出现明显的液化性坏死及空洞形成,神经细胞结构遭到破坏。对照组和青黛高剂量组小鼠脑组织结构较为完整,细胞形态相对规则完整,损伤程度较模型组明显减轻。

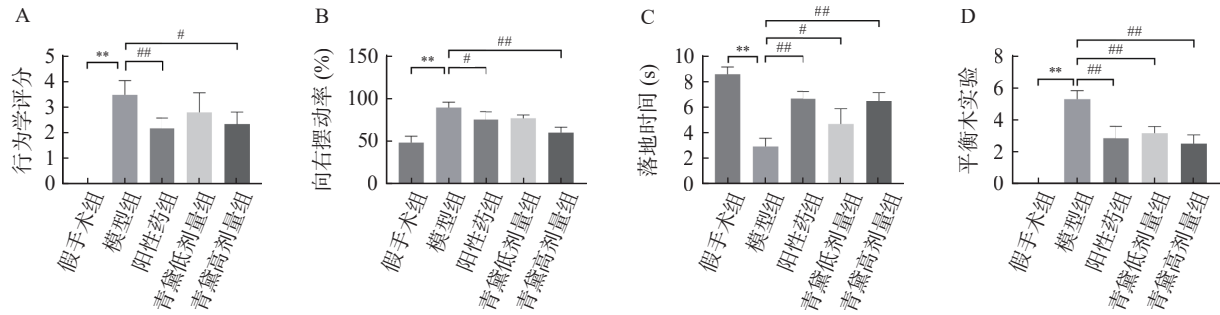


图 2 青黛对脑缺血再灌注损伤小鼠神经功能评分和运动功能的影响 ($n=6$, $\bar{x}\pm s$)

A. 行为学评分; B. 提尾实验向右摆动率; C. 前肢抓地力牵引实验落地时间; D. 平衡木实验评分

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

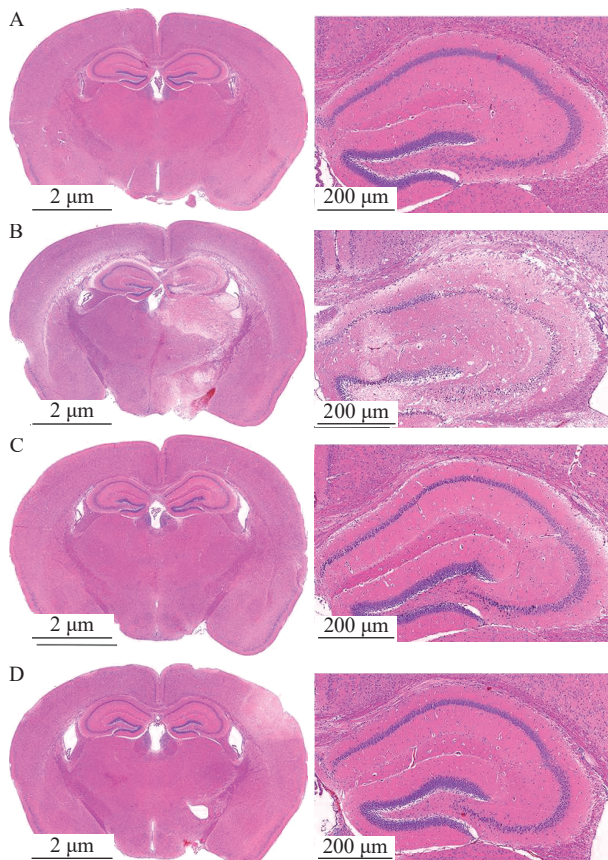


图 3 各组小鼠缺血区域海马组织病理变化

A. 假手术组; B. 模型组; C. 阳性药组; D. 青黛高剂量组

尼氏染色结果显示(图 4), 假手术组小鼠海马区域神经元分布密集, 排列有序, 尼氏小体清晰饱满, 呈现正常脑组织结构以及神经系统的完整性。模型组小鼠海马区域神经元密度减少, 尼氏小体数量少, 且分布较为稀疏; 部分神经元的细胞体发生皱缩, 轮廓模糊难以辨认。而阳性药组和青黛高剂量组小鼠海马区域结构组织结构得到一定程度的修复, 轮廓逐渐恢复清晰; 尼氏小体的数量有所增加, 且染色后颜色清晰可辨, 提示神经元的功能可能得到一定程度的恢复。

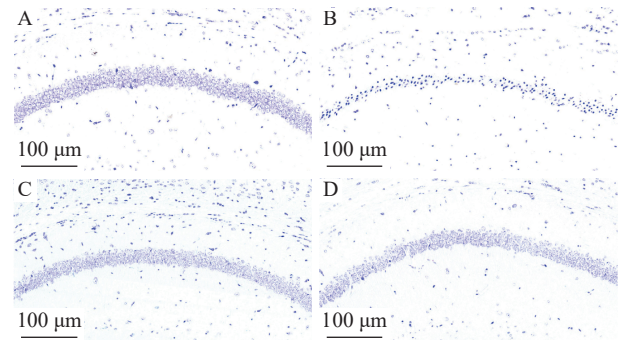


图 4 尼氏染色观察小鼠海马神经元改变

A. 假手术组; B. 模型组; C. 阳性药组; D. 青黛高剂量组

3.4 青黛对脑缺血再灌注损伤小鼠脑梗死侧细胞凋亡的影响

TUNEL 染色结果如图 5 所示, 假手术组小鼠脑组织中仅见少量 TUNEL 阳性细胞, 胞核形态完整, 染色均匀。与假手术组相比, 模型组小鼠的 TUNEL 阳性细胞数量显著增加($P<0.01$), 显示脑组织存在大量神经元凋亡。经过丁苯酞和青黛高剂量治疗后, TUNEL 阳性细胞数量显著减少($P<0.01$), 神经元损伤得到改善。

3.5 青黛对脑缺血再灌注损伤小鼠大脑皮层炎症因子 mRNA 表达的影响

PCR 检测脑缺血再灌注损伤小鼠大脑皮层中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的基因表达。结果如图 6 所示。与假手术组相比, 模型组脑组织中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的 mRNA 表达水平显著升高($P<0.01$, $P<0.05$), 这一结果与脑缺血后炎症级联反应激活的病理特征一致。与模型组相比, 青黛高剂量组小鼠脑组织中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的 mRNA 表达水平显著降低($P<0.01$, $P<0.05$)。

3.6 青黛对脑缺血再灌注损伤小鼠大脑皮层中 CD32 和 CD206 mRNA 表达的影响

PCR 检测脑缺血再灌注损伤小鼠大脑皮层中 CD32 和 CD206 mRNA 的表达。结果如下图 7 所

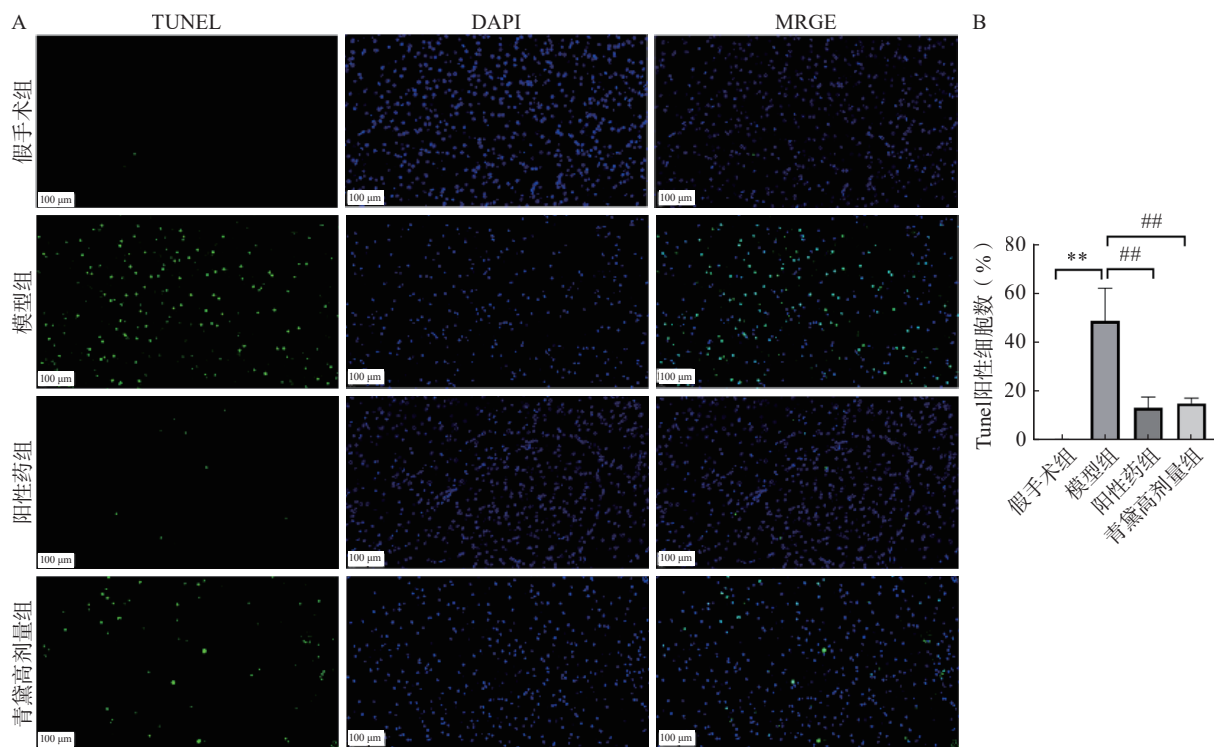


图 5 TUNEL 染色观察小鼠脑组织细胞的凋亡 ($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

A. TUNEL 染色图; B. TUNEL 阳性细胞统计

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

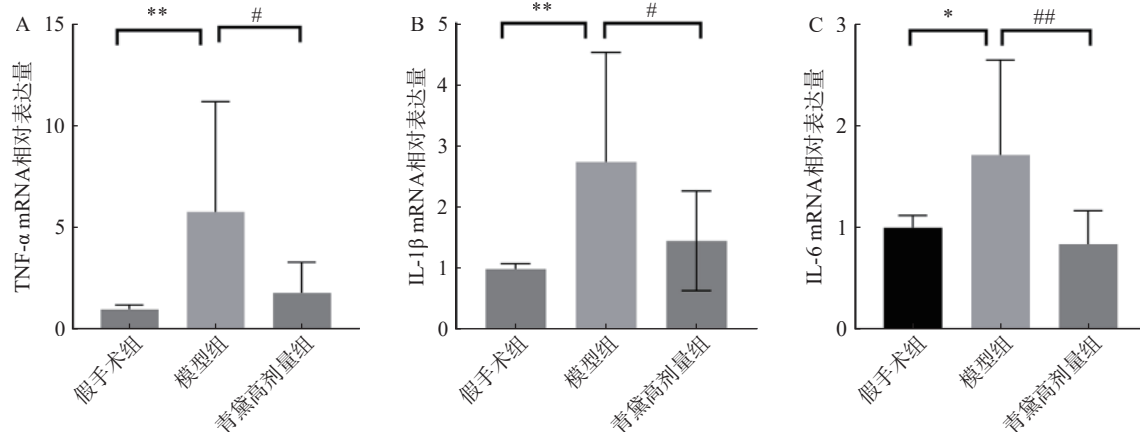


图 6 青黛对脑缺血再灌注损伤小鼠脑组织中炎症因子 mRNA 的影响 ($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

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

示,与假手术组相比,模型组小胶质细胞 M1 型标志物 CD32 的 mRNA 水平明显升高($P<0.01$),而 M2 型标志物 CD206 的 mRNA 水平无明显改变;与模型组相比,青黛高剂量组小胶质细胞 M1 型标志物 CD32 的 mRNA 水平明显下降($P<0.05$),而 M2 型标志物 CD206 的 mRNA 水平明显升高($P<0.05$)。

4 讨论

脑缺血再灌注损伤是导致神经功能障碍的

重要病理过程^[15],其核心病理环节涉及海马 CA1 区神经元凋亡与小胶质细胞介导的神经炎症反应^[16-17]。脑缺血再灌注后,触发小胶质细胞激活,释放大促炎因子激活核因子 κB (NF- κB)等信号通路,诱发局部炎症反应,进而招募外周免疫细胞向关键脑区浸润,同时持续的炎症信号触发线粒体介导的凋亡通路,导致锥体束神经元、多巴胺能神经元等进行性丢失,最终表现为肢体瘫痪和协调障碍。因此,调节小胶质细胞极化状态、抑制过度炎症和神经元凋亡,是减轻脑缺血再灌注损伤并促进

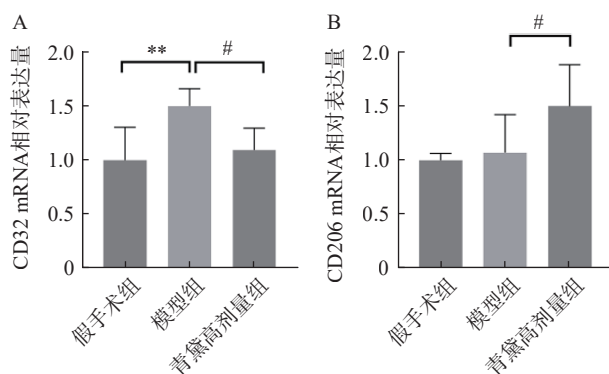


图 7 青黛对脑缺血小鼠脑组织中 CD32 和 CD206 mRNA 表达水平的影响 ($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

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

神经功能恢复的重要策略^[18]。

已有研究表明多种中药活性成分对脑缺血再灌注损伤具有保护作用^[19-20]。青黛作为一种传统中药,因其显著的抗炎特性而受到关注。已有文献报道,青黛在溃疡性结肠炎模型中展现出显著的抗炎功效^[21]。青黛及其活性成分靛玉红可通过靶向抑制 NF- κ B 通路^[22],显著下调 TNF- α 、IL-1 β 等促炎细胞因子的过度表达^[23],同时上调 Occludin 等肠道紧密连接蛋白的表达水平,从而增强肠上皮屏障的完整性,减少炎症反应。目前尚无证据直接表明青黛对脑缺血再灌注损伤具有保护作用,但脑缺血再灌注和溃疡性结肠炎在病理机制上存在相似性,均涉及 NF- κ B 介导的炎症级联反应及屏障功能破坏(血脑屏障与肠黏膜屏障),这为探索青黛在治疗脑缺血再灌注损伤中的作用提供了理论依据。

本研究建立了小鼠 MCAO/R 模型,探讨青黛对小鼠神经功能的改善效果。Longa 评分、提尾实验、平衡木实验和前肢抓握力实验的结果均显示小鼠运动功能得到恢复。TTC 染色进一步直观显示青黛高剂量组小鼠脑梗死体积明显缩小,提示青黛具有显著的神经保护作用。HE 染色结果显示,模型组小鼠脑组织存在液化性坏死及结构紊乱,而青黛高剂量组脑组织形态较为完整,细胞排列规则。尼氏染色结果显示,青黛可改善小鼠海马 CA1 区神经元形态,增加尼氏小体数量,提示神经元功能部分恢复。TUNEL 染色显示青黛显著减少凋亡细胞数量,说明青黛可能通过抑制神经元凋亡减轻缺血再灌注引发的损伤。

小胶质细胞作为缺血后脑组织炎症反应的核心免疫细胞,其 M1/M2 型极化状态及相关细胞因子表达对卒中预后具有关键影响^[24]。M1 型通过释放 TNF- α 、IL-1 β 、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)等

促炎因子加剧神经损伤和血脑屏障破坏^[25];而 M2 型主要通过分泌转化生长因子- β (TGF- β)、IL-10、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)等因子促进抗炎反应、吞噬清除及神经修复^[26]。实验结果表明,与模型组相比,青黛高剂量组小鼠脑组织中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的 mRNA 表达水平均显著降低,青黛高剂量组 M1 型标志物 CD32 的 mRNA 水平显著下降,同时 M2 型标志物 CD206 的 mRNA 水平明显升高,表明青黛能调节小胶质细胞极化,促进其向神经保护的 M2 型转化。

综上所述,青黛可改善脑缺血再灌注小鼠脑组织损伤及运动功能,这可能是通过抑制炎症反应和调控小胶质细胞极化平衡来实现的。然而,本研究只是对治疗机制进行了初步探索,具体作用机制还需要进一步探究。

【参考文献】

- [1] NILUPUL PERERA M, MA H K, ARAKAWA S, et al. Inflammation following stroke[J]. *J Clin Neurosci*, 2006, 13(1): 1-8.
- [2] LIU W Y, SHAO C H, ZANG C S, et al. Protective effects of dexmedetomidine on cerebral ischemia/reperfusion injury via the microRNA-214/ROCK1/NF- κ B axis[J]. *BMC Anesthesiol*, 2021, 21(1): 203.
- [3] ZHOU H Y, YANG J, SRINATH C, et al. Improved cardiac function in postischemic rats using an optimized cardiac reprogramming cocktail delivered in a single novel adeno-associated virus[J]. *Circulation*, 2023, 148(14): 1099-1112.
- [4] LI Z X, WANG H Y, XIAO G X, et al. Recovery of post-stroke cognitive and motor deficiencies by Shuxuening injection via regulating hippocampal BDNF-mediated Neurotrophin/Trk Signaling[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 141: 111828.
- [5] BOGUSZEWSKA-CZUBARA A, BUDZYNSKA B, SKALICKA-WOZNIAK K, et al. Perspectives and new aspects of metalloproteinases' inhibitors in the therapy of CNS disorders: from chemistry to medicine[J]. *Curr Med Chem*, 2019, 26(18): 3208-3224.
- [6] 任靛明, 田红旗. 炎症因子及其抑制剂对脑缺血再灌注损伤作用的研究进展 [J]. *中国医药导报*, 2021, 18(12): 61-64.
- [7] LIN X, ZHAN J, JIANG J, et al. Upregulation of neuronal cyclindromatosis expression is essential for electroacupuncture-mediated alleviation of neuroinflammatory injury by regulating microglial polarization in rats subjected to focal cerebral ischemia/reperfusion[J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 2061-2078.
- [8] 谢静. 青黛药理研究近况 [J]. *内蒙古中医药*, 2012, 31(15): 100.
- [9] 高凤洋, 张大方, 李超英. 中药青黛炮制及药理作用的研究进展 [J]. *长春中医药大学学报*, 2020, 36(1): 180-183, 188.
- [10] 李敏, 刘毅, 唐海燕. 青黛的药理作用及在皮肤科的临床应用研究进展 [C]//2011 全国中西医结合皮肤性病学术会议论文集. 昆明, 2011: 244.
- [11] Liu S, et al. Indirubin ameliorates imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis by reducing inflammatory cytokines production[J]. *Journal of Dermatological Science*, 2022,

- 105(1): 12-19.
- [12] BONNET C, BRAHMBHATT A, DENG S X, et al. Wnt signaling activation: targets and therapeutic opportunities for stem cell therapy and regenerative medicine[J]. *RSC Chem Biol*, 2021, 2(4): 1144-1157.
- [13] LONGA E Z, WEINSTEIN P R, CARLSON S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [14] ZENG L, HU S Q, ZENG L C, et al. Animal models of ischemic stroke with different forms of middle cerebral artery occlusion[J]. *Brain Sci*, 2023, 13(7): 1007-1008.
- [15] GAO W, LV X, LI H, et al. Dexmedetomidine pretreatment alleviates brain injury in middle cerebral artery occlusion (MCAO) model rats by activating PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway[J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2025, 88(13): 546-556.
- [16] YUAN Y J, LIU L J, DU Y, et al. P-hydroxy benzaldehyde revitalizes the microenvironment of peri-infarct cortex in rats after cerebral ischemia-reperfusion[J]. *Phytomedicine*, 2022, 105: 154379.
- [17] RAVINDRAN S, KURIAN G A. Eventual analysis of global cerebral ischemia-reperfusion injury in rat brain: a paradigm of a shift in stress and its influence on cognitive functions[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2019, 24(3): 581-594.
- [18] CAO Y Y, YUE X Y, JIA M, et al. Neuroinflammation and anti-inflammatory therapy for ischemic stroke[J]. *Heliyon*, 2023, 9(7): e17986.
- [19] 竺东杰, 贺新征, 邹杰, 等. 雷公藤甲素对大鼠脑缺血再灌注损伤的影响及机制研究 [J]. *药学实践与服务*, 2025, 43(7): 339-343,361.
- [20] 冯一帆, 严啸东, 张文彬, 等. 菸花苷长期给药对脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能的影响 [J]. *药学实践与服务*, 2025, 43(5): 228-234.
- [21] 张曦, 徐小婷, MOHAMMED Ismail, 等. 青黛及其有效成分抗溃疡性结肠炎药理作用及机制的研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2022, 45(5): 997-1002.
- [22] 张尔馨, 郝微微, 王珠环, 等. 青黛及其有效成分靛玉红通过 NF- κ B 信号传导调控溃疡性结肠炎小鼠细胞焦亡的作用机制 [J]. *中华中医药杂志*, 2023, 38(10): 4704-4710.
- [23] WANG Y L, LIU L J, GUO Y, et al. Effects of indigo naturalis on colonic mucosal injuries and inflammation in rats with dextran sodium sulphate-induced ulcerative colitis[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(2): 1327-1336.
- [24] XIONG X Y, LIU L, YANG Q W. Functions and mechanisms of microglia/macrophages in neuroinflammation and neurogenesis after stroke[J]. *Prog Neurobiol*, 2016, 142: 23-44.
- [25] YANG S L, WANG H G, YANG Y L, et al. Baicalein administered in the subacute phase ameliorates ischemia-reperfusion-induced brain injury by reducing neuroinflammation and neuronal damage[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 117: 109102.
- [26] SHU Z M, SHU X D, LI H Q, et al. Ginkgolide B protects against ischemic stroke *via* modulating microglia polarization in mice[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2016, 22(9): 729-739.
- [收稿日期] 2025-10-28 [修回日期] 2026-04-03
[本文编辑] 费永和