

• 实验研究 •

同仁牛黄清心丸通过 NLRP3/Caspase1/IL-1 β 信号通路对血管性认知障碍模型大鼠脑组织保护作用的影响

陈霞, 徐意, 张思玉, 刘丹, 朱晓光, 李晋生, 杜莹洁*

北京同仁堂股份有限公司科学研究所, 北京 100079

摘要: **目的** 探讨同仁牛黄清心丸对血管性认知障碍模型大鼠脑组织保护作用及对核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3)/半胱氨酸蛋白酶-1 (Caspase-1)/白细胞介素-1 β (IL-1 β) 信号通路调控的机制研究。**方法** 采用结扎双侧颈总动脉建立血管性认知障碍大鼠模型。大鼠随机分为假手术组、模型组、尼莫地平组、同仁牛黄清心丸 (0.6、1.2、2.4 g/kg) 组。苏木精-伊红 (HE) 染色检测模型大鼠大脑皮质及海马组织病理变化; 镀银染色检测模型大鼠脑组织中神经原纤维缠结病理改变; 免疫组化检测脑组织中 β -淀粉样蛋白 (A β) 表达水平; ELISA 检测脑组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的水平; Western blotting 检测大鼠脑组织中 NLRP3、Caspase1、IL-1 β 蛋白表达水平。**结果** 同仁牛黄清心丸能明显改善模型大鼠大脑皮质及海马神经元减少、神经元变性、坏死等病理损伤; 同仁牛黄清心丸能明显改善模型大鼠脑组织中神经元排列散乱、神经原纤维增粗、银染加深等病理改变。与模型组比较, 同仁牛黄清心丸各剂量组能明显降模型大鼠脑组织中 A β 、TNF- α 、NLRP3、IL-1 β 表达水平 ($P < 0.05$ 、 0.01); 同仁牛黄清心丸 0.6 g/kg 组能明显下调模型大鼠脑组织中 Caspase1 蛋白表达 ($P < 0.01$)。**结论** 同仁牛黄清心丸对血管性认知障碍造成的脑组织损伤具有较好的改善作用。其中抑制 NLRP3/Caspase1/IL-1 β 信号通路活化, 改善神经炎症反应可能是药物发挥治疗血管性认知障碍效应机制的关键环节。

关键词: 同仁牛黄清心丸; 血管性认知障碍; 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3; 半胱氨酸蛋白酶-1; 白细胞介素-1 β ; 肿瘤坏死因子- α

中图分类号: R285.5; R286.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2025)03-0537-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.03.001

Effect of Tongren Niu Huang Qingxin Pills on the brain tissue protective effect in vascular cognitive impairment model rats via the NLRP3/Caspase1/IL-1 β signal pathway

CHEN Xia, XU Yi, ZHANG Siyu, LIU Dan, ZHU Xiaoguang, LI Jinsheng, DU Yingjie

Science Research Institute of Beijing Tong Ren Tang Co. Ltd., Beijing 100079, China

Abstract: Objective To explore the protective effect of Tongren Niu Huang Qingxin Pills on brain tissue of vascular cognitive impairment model rats, and the mechanism of its effect on NLRP3/Caspase1/IL-1 β signaling pathway regulation. **Methods** Establishing a vascular cognitive impairment rat model by ligating bilateral common carotid arteries. The rats were randomly divided into sham operation group, model group, Tongren Niu Huang Qingxin Pills (0.6, 1.2, and 2.4 g/kg) groups. Pathological changes in the cerebral cortex and hippocampus of model rats were detected by HE staining detection, pathological changes of neurofibrillary tangles in the brain tissue of model rats were detected by silver staining. Immunohistochemical detection of A β expression levels in brain tissue, ELISA detection of TNF- α levels in brain tissue; Western blotting was used to detect the expression levels of NLRP3, Caspase1, and IL-1 β proteins in rat brain tissue. **Results** Tongren Niu Huang Qingxin Pills could significantly improve pathological damage such as neuronal reduction, degeneration, and necrosis in the cerebral cortex and hippocampus of model rats, Tongren Niu Huang Qingxin Pills could significantly improve the pathological changes in the brain tissue of model rats, such as disordered arrangement of

收稿日期: 2025-01-14

基金项目: 北京市中医药科技发展资金项目 (BJZYB-2023-51)

作者简介: 陈霞, 女, 研究员, 硕士, 研究方向为中药药理学研究。E-mail: jjumeionlyone@163.com

*通信作者: 杜莹洁, 女, 工程师, 本科, 研究方向为中药药理学研究。E-mail: foliumflos@vip.163.com

neurons, thickened nerve fibers, and deepened silver staining. Compared to the model group, Tongren Niu Huang Qingxin Pills (0.6, 1.2, and 2.4 g/kg) group could significantly reduce the expression level of A β , TNF- α , NLRP3, IL-1 β in the brain tissue ($P < 0.05$, 0.01). Tongren Niu Huang Qingxin Pills 0.6 g/kg group could significantly downregulate the expression of Caspase1 protein in the brain tissue ($P < 0.01$). **Conclusion** Tongren Niu Huang Qingxin Pills had a good effect on brain tissue injury caused by vascular cognitive impairment. Among them, inhibiting the activation of the NLRP3/Caspase1/IL-1 β signaling pathway to improve the neuroinflammatory response might be a key link in the drug's effect mechanism of treating vascular cognitive impairment.

Key words: Tongren Niu Huang Qingxin Pills; vascular cognitive impairment; NLRP3; Caspase1; IL-1 β ; TNF- α

血管性认知障碍是脑血管病变连同其危险因素(高血压、糖尿病等)致使的脑卒中而关联诸多认知域功能受损的临床综合征,涵盖了不同程度的认知损伤^[1]。由于脑血管病变通常涉及额、颞叶等边缘系统,患者常会出现记忆力衰退、执行能力减弱、反应迟钝等认知功能障碍。随着我国逐步步入老龄化,血管性认知障碍患病人数逐年增多^[2],早期不积极干预可进展为血管性痴呆。血管性认知障碍的发生发展是涉及多个病理环节的过程,越来越多的研究表明,神经炎症是血管性认知障碍的核心发病机制和主要病理特征之一,是疾病进展的主要驱动力^[3]。

核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3) 信号通路在中枢炎症发挥重要作用,与神经系统疾病的发生发展密切相关,可以加速认知功能下降的进程^[4-6]。NLRP3 的激活可促进下游半胱氨酸蛋白酶-1 (Caspase-1) 活化,进而释放炎症因子白细胞介素 (IL)-1 β , 加剧炎症反应和细胞焦亡。因此 NLRP3/Caspase1/IL-1 β 信号通路可作为血管性认知障碍的潜在治疗靶点。本项目组前期研究已经证实同仁牛黄清心丸能明显改善血管性认知障碍模型大鼠学习记忆能力,对血管性认知障碍有治疗作用^[7],但其对血管性认知障碍模型大鼠脑组织病理改变的影响和药物发挥治疗作用的机制尚不明确。因此本研究旨在观察同仁牛黄清心丸对血管性认知障碍模型动物脑组织病理改变的影响,并明确同仁牛黄清心丸是否通过调控 NLRP3/Caspase-1/IL-1 β 信号通路来发挥治疗血管性认知障碍的作用,为进一步完善同仁牛黄清心丸干预血管性认知障碍的作用特点和效应机制提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物

SD 大鼠, SPF 级, 雄性, 体质量 180~210 g, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 许可证编号 SYXK (京) 2024-0015。实验动物饲养于 SPF 级动物室内, 日光灯照明, 12 h 明暗周期, 自由饮水、饮食,

温度 20~26 °C, 相对湿度 40%~70%。本实验经北京中研同仁堂医药研发有限公司实验动物福利伦理委员会审批通过 (编号 YJY-2024-041801004)。

1.2 药物

同仁牛黄清心丸 (北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂, 规格 3 g/丸, 批号 23010805)。尼莫地平片 (亚宝药业集团股份有限公司, 规格 20 mg/片, 批号 231109)。

1.3 试剂和仪器

肿瘤坏死因子- α (TNF- α) ELISA 检测试剂盒 (武汉华美生物工程有限公司, 批号 O26103328); 神经丝蛋白 (ADTC-NTP) ELISA 检测试剂盒 (酶联生物科技有限公司, 批号 ml059112-2); 多聚甲醛固定液 (Biosharp, 批号 24101933); 甘氨酸银染液试剂盒 (武汉塞维尔生物科技有限公司, 批号 CR2311065)。BCA 蛋白质定量试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司, 批号 092822230414)。RIPA 组织/细胞裂解液 (北京普利莱基因技术有限公司, 批号 2024ZOFC1053)。抗 β -淀粉样蛋白 (A β) /APP 抗体 (武汉博士德生物工程有限公司, 批号 00132908)。NLRP3 抗体 (武汉博士德生物工程有限公司, 批号 BOS8040BP4594)。Caspase1 抗体 (武汉博士德生物工程有限公司, 批号 BST17294291)。IL-1 β 抗体 (武汉博士德生物工程有限公司, 批号 BOS703BP70)。 β -肌动蛋白 (β -actin) 抗体 (Cell Signaling Technology, 4970s)。IRDye 680RD 山羊抗小鼠二抗抗体 (LI-COR, D40227-05)。IRDye 680RD 山羊抗兔 IgG 二抗抗体 (LI-COR, D40109-05)。

Epoch2 酶标仪 (BioTek, USA)。Odyssey FC 近红外双色激光和化学发光双功能成像系统 (美国 LICOR 公司)。Bio-Rad 小型垂直电泳转印系统 (美国伯乐公司)。

2 方法

2.1 造模、分组与给药

实验动物适应性饲养后, 大鼠随机分为假手术

组和造模组。大鼠用 2%戊巴比妥钠 2 mL/kg ip 麻醉后，仰卧固定，消毒，颈正中切口，分离双侧颈总动脉，一缝合线将其结扎后缝合皮肤。假手术组仅暴露双侧颈总动脉而不结扎^[7]。大鼠在造模过程中出现死亡或活动异常影响实验者予以剔除并进行随机补充，以保证每组实验动物数。大鼠给药量按照人与动物给药剂量换算方法进行药物剂量换算，同仁牛黄清心丸说明书人服用剂量是每日 12 g，成人体质量按照 60 kg 计算，人与大鼠换算系数为 6^[8]，则折算大鼠的灌服剂量为 $12\text{ g}/60\text{ kg}\times 6=1.2\text{ g/kg}$ ，此临床等效剂量设为中剂量，以中剂量的 2 倍 2.4 g/kg 为高剂量，以中剂量的 1/2 倍 0.6 g/kg 为低剂量；尼莫地平片说明书人服用剂量是每日 120 mg，折算大鼠的灌服剂量为 $120\text{ mg}/60\text{ kg}\times 6=12\text{ mg/kg}$ 。称取同仁牛黄清心丸，按照 0.06、0.12、0.24 g/mL 的浓度混悬于纯化水中，制备成不同浓度的同仁牛黄清心丸混悬液，按照 10 mL/kg ig 给药。造模结束后随机分为模型组、尼莫地平（12 mg/kg）组、同仁牛黄清心丸（0.6、1.2、2.4 g/kg）组。各给药组每天 ig 给予相应剂量的药物，1 次/d，给药 4 周，假手术组和模型组大鼠 ig 给予等体积纯化水。

2.2 脑组织病理学检测

末次给药后，用异氟烷吸入麻醉大鼠，腹主动脉取血处死后，断头取大鼠大脑，用冰生理盐水冲洗表面血液。将右侧半脑冻存于 -80 °C 冰箱保存，用于检测其他指标，将左侧半脑放入 4%组织细胞固定液中，大鼠脑组织在 4%组织细胞固定液中固定后，逐级酒精脱水、二甲苯透明、浸蜡、石蜡包埋、切片（厚度 0.4 μm）。切片脱蜡、水化、苏木精-伊红（HE）染色，梯度酒精脱水，二甲苯透明，中性树胶封固，拍照采集图像，观察模型大鼠海马和皮层内病理组织学变化。大鼠脑组织常规切片脱蜡至水后进行抗原修复、用 BSA 封闭，加入 Aβ 抗体 4 °C 过夜孵育，加入辣根过氧化物酶标记的二抗 37 °C 孵育 30 min，进行 DAB 显色、苏木素复染、中性树胶封固，拍照采集图像，观察模型大鼠脑组织中 Aβ 表达水平情况。

大鼠脑组织常规切片脱蜡至水后甘氨酸银（镀银）染色、封片、拍照采集图像，观察模型大鼠脑组织中神经原纤维缠结的情况。

2.3 炎症因子测定

将大鼠脑组织称重后用冰生理盐水按照 1 : 9 比例低温匀浆，离心后，按照 ELISA 检测试剂盒说

明书测定上清液中 TNF-α 的表达水平。

2.4 Western blotting 法检测脑组织中 NLRP3、Caspase-1、IL-1β 蛋白表达水平

取一部分脑组织用 RIPA 组织/细胞裂解液提取总蛋白，BCA 试剂盒测定蛋白浓度，将各个样本蛋白浓度调整一致。10% SDS-PAGE 凝胶分离分离蛋白质的样品，然后转移到 NC 膜上。脱脂牛奶室温封闭，洗膜，随后加入 NLRP3、Caspase1、IL-1β、β-actin 一抗，4 °C 孵育，洗膜后加入带荧光的二抗室温孵育，洗膜，运用 Odyssey FC 近红外双色激光和化学发光双功能成像系统分析图像，检测时以 β-actin 为内参。

2.5 统计学方法

运用 SPSS 27.0 软件进行统计分析，实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。数据先进行方差齐性检验。方差齐选用 One-Way ANOVA 法进行各组间比较；方差不齐选用 Dunnett's T_3 检验进行组间比较。

3 结果

3.1 同仁牛黄清心丸对模型大鼠脑组织病理学改变的影响

HE 染色结果可知，模型组大脑皮质和海马组织神经元排列紊乱，神经元数目显著减少；部分神经元空泡样变性；白质疏松。同仁牛黄清心丸各剂量组可明显缓解模型大鼠大脑组织病理损伤，主要表现为大鼠大脑皮质及海马神经元减少情况较模型组明显改善；神经元变性、坏死减少程度及大脑皮层和海马组织结构与模型组相比均有改善。提示同仁牛黄清心丸对血管性认知障碍发生发展过程中的脑组织病理损伤具有一定的保护作用，见图 1。

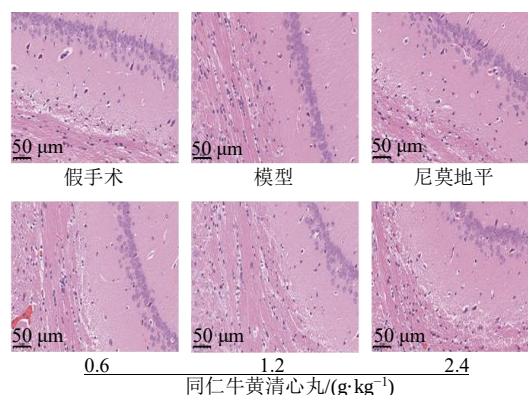


图 1 同仁牛黄清心丸对血管性认知障碍模型大鼠脑组织病理学改变的影响（海马体 CA1 区，HE）

Fig. 1 Effect of Tongren Niu Huang Qingxin Pills on the pathological changes of brain tissue in rats with vascular cognitive impairment model (CA1 region of hippocampus, HE)

镀银染色结果可知：假手术组大鼠海马神经元排列整齐、密集，神经原纤维排列有序；模型组大鼠神经元排列散乱，神经原纤维增粗，银染加深，但未见明显的神经原纤维缠结；同仁牛黄清心丸各剂量组神经原纤维排列较模型组明显整齐有序，染色程度明显减轻。提示同仁牛黄清心丸能抑制神经节缠结的发生和发展，见图 2。

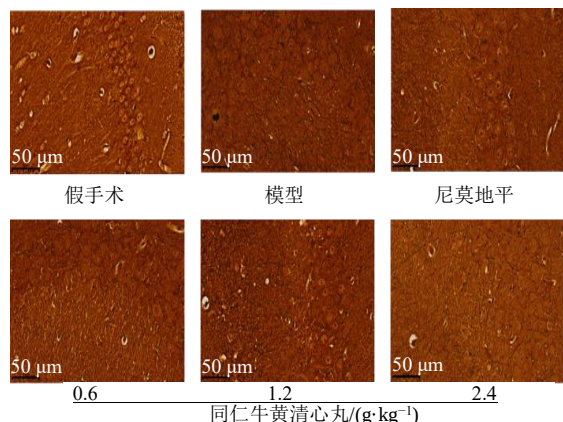


图 2 同仁牛黄清心丸对血管性认知障碍模型大鼠脑组织病理学改变的影响（镀银染）

Fig. 2 The effect of Tongren Niu Huang Qingxin Pills on the pathological changes of brain tissue in rats with vascular cognitive impairment model (silver staining)

3.2 同仁牛黄清心丸对模型大鼠脑组织中 A β 表达水平的影响

与假手术组比较，模型组大鼠海马组织内存在大量 A β 免疫染色阳性反应产物；A β 表达平均灰度值显著升高 ($P<0.01$)。与模型组比较，同仁牛黄清心丸各剂量组大鼠海马组织中 A β 免疫染色阳性染色强度明显降低；A β 表达平均灰度值显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01)。说明同仁牛黄清心丸能抑制脑组织内 A β 的生成，见图 3、表 1。

3.3 对模型大鼠脑组织中 TNF- α 表达水平的影响

与假手术组比较，模型组大鼠脑组织中 TNF- α 表达水平明显升高 ($P<0.01$)，说明模型大鼠脑缺血后引发了炎症反应，从而加重脑损伤；与模型组比较，同仁牛黄清心丸各剂量组脑组织中 TNF- α 表达水平明显减少 ($P<0.01$)。说明同仁牛黄清心丸具有明显的抗炎作用，能显著改善血管性认知障碍炎症反应，见表 2。

3.4 对模型大鼠脑组织中 NLRP3、Caspase1、IL-1 β 表达的影响

与假手术组比较，模型组大鼠脑组织中 NLRP3、

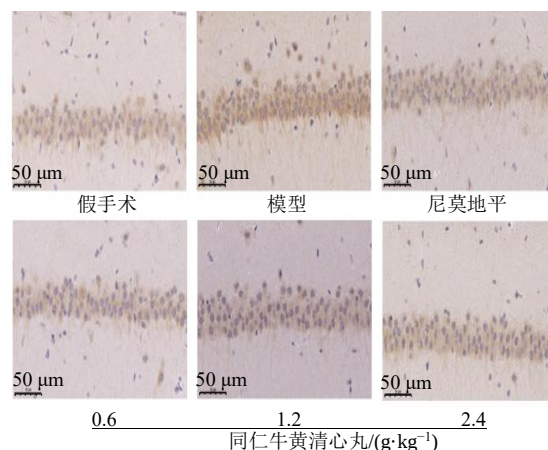


图 3 同仁牛黄清心丸对血管性认知障碍模型大鼠脑组织中 A β 表达水平的影响（免疫组化）

Fig. 3 Effect of Tongren Niu Huang Qingxin Pill on the expression level of A β in brain tissue of vascular cognitive impairment model rats (immunohistochemistry)

表 1 同仁牛黄清心丸对血管性认知功能障碍模型大鼠脑组织中 A β 表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of Tongren Niu Huang Qingxin Pills on the expression level of A β in brain tissue of vascular cognitive impairment model rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	剂量/(g·kg ⁻¹)	A β 表达平均灰度值
假手术	9	—	23.57 $\pm$ 7.05
模型	11	—	39.65 $\pm$ 8.48**
尼莫地平	11	0.012	29.18 $\pm$ 12.27 [#]
同仁牛黄清心丸	10	0.6	26.44 $\pm$ 9.78 ^{##}
	10	1.2	28.32 $\pm$ 15.41 [#]
	10	2.4	24.75 $\pm$ 4.81 ^{##}

与假手术组比较：** $P<0.01$ ；与模型组比较：[#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ 。

** $P<0.01$ vs sham operation group；[#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ vs model group.

表 2 同仁牛黄清心丸对血管性认知功能障碍模型大鼠脑组织中 TNF- α 表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of Tongren Niu Huang Qingxin Pills on the expression level of TNF- α in brain tissue of vascular cognitive impairment model rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	剂量/(g·kg ⁻¹)	TNF- α /(pg·mg ⁻¹)
假手术	9	—	59.96 $\pm$ 12.97
模型	11	—	89.35 $\pm$ 19.44**
尼莫地平	11	0.012	59.12 $\pm$ 14.53 ^{##}
同仁牛黄清心丸	10	0.6	54.16 $\pm$ 22.67 ^{##}
	10	1.2	61.75 $\pm$ 23.24 ^{##}
	10	2.4	51.93 $\pm$ 17.43 ^{##}

与假手术组比较：** $P<0.01$ ；与模型组比较：^{##} $P<0.01$ 。

** $P<0.01$ vs sham operation group；^{##} $P<0.01$ vs model group.

Caspase1、IL-1 β 蛋白表达水平明显升高 ($P<0.05$ 、 0.01)，说明模型大鼠脑组织中 NLRP3/Caspase-1/IL-1 β 信号通路被激活，促进炎症反应的发生。与模型

组比较，同仁牛黄清心丸各剂量组脑组织中 NLRP3、IL-1 β 蛋白表达明显降低 ($P<0.05$ 、 0.01)，同仁牛黄清心丸 0.6 g/kg 组脑组织中 Caspase1 表达明显降低 ($P<0.01$)。说明同仁牛黄清心丸可调节 NLRP3/Caspase1/IL-1 β 信号通路，抑制炎症反应而保护脑组织，见图 4、表 3。

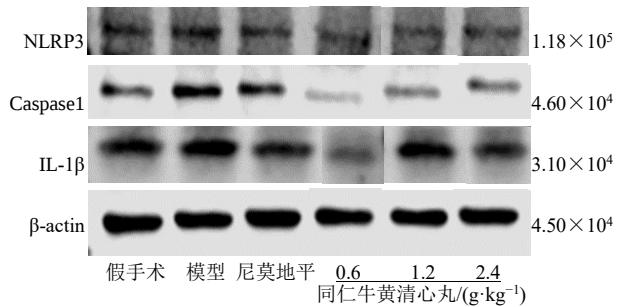


图 4 同仁牛黄清心丸对血管性认知障碍模型大鼠脑组织中 NLRP3、Caspase1、IL-1 β 表达的影响
Fig. 4 Effect of Tongren Niu Huang Qingxin Pills on the expression of NLRP3, Caspase1, and IL-1 β in brain tissue of vascular cognitive impairment model rats

表 3 同仁牛黄清心丸对血管性认知功能障碍模型大鼠脑组织中 NLRP3、Caspase1、IL-1 β 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Effect of Tongren Niu Huang Qingxin Pills on the expression of NLRP3, Caspase1, and IL-1 β in brain tissue of vascular cognitive impairment model rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	剂量/(g·kg ⁻¹)	蛋白相对表达量		
			NLRP3/ β -actin	Caspase1/ β -actin	IL-1 β / β -actin
假手术	6	—	0.039 $\pm$ 0.017	0.144 $\pm$ 0.037	0.161 $\pm$ 0.029
模型	6	—	0.090 $\pm$ 0.011**	0.198 $\pm$ 0.039*	0.250 $\pm$ 0.072**
尼莫地平	6	0.012	0.076 $\pm$ 0.017	0.153 $\pm$ 0.033	0.144 $\pm$ 0.028##
同仁牛黄清心丸	6	0.6	0.048 $\pm$ 0.014##	0.127 $\pm$ 0.033##	0.140 $\pm$ 0.046##
	6	1.2	0.065 $\pm$ 0.014##	0.158 $\pm$ 0.029	0.191 $\pm$ 0.065#
	6	2.4	0.055 $\pm$ 0.019##	0.168 $\pm$ 0.054	0.164 $\pm$ 0.031##

与假手术组比较：* $P<0.05$ ** $P<0.01$ ；与模型组比较：# $P<0.05$ ## $P<0.01$ 。
* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs sham operation group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group.

部分神经元空泡样变性；白质疏松等病理改变，同仁牛黄清心丸能明显缓解模型大鼠脑组织病理损伤，具有很好的脑保护作用。神经原纤维缠结是老年痴呆的一个典型病理改变，在血管性轻度认知障碍模型大鼠脑组织中未见典型神经节缠结，但是出现了神经元排列散乱、神经原纤维增粗、银染加深的病理改变，同仁牛黄清心丸能减轻模型大鼠神经原纤维排列紊乱，从而抑制神经节缠结的发生和发展，起到治疗血管性认知障的作用，预防血管性认知障向痴呆的转变。

脑内 A β 沉积是轻度认知障碍病理的始发因子和中心环节，在神经细胞内、外聚积均可引起毒性反应，导致神经元变性和死亡^[12]。对抗 A β 形成、

4 讨论

血管性认知障碍是由脑供血减少引起的。有研究表明脑血流量减少 40%~50%，脑细胞活动就会受到明显的抑制。在慢性缺血的条件下，广泛的脑血管病变会导致神经元细胞的不可逆性损伤、脑灰质减少、脑白质损伤、脑脂质稳定性异常、轴突和髓磷脂损伤，这些的病理变化会影响大脑的电生理活动，引起中枢神经系统对信息的摄取、传递、整合、处理能力衰退，最终影响认知功能造成认知功能障碍^[9]。

永久结扎大鼠双侧颈总动脉导致慢性脑低灌注模型是研究血管性认知障碍的经典动物模型，其能较好地模拟人慢性脑血流灌注不足造成的脑组织处于低灌注和低氧状态，从而引起海马、皮质等重要功能区域的损伤，使大鼠的学习能力及记忆力降低^[10-11]。本研究采用结扎双侧颈总动脉法建立血管性认知障碍动物模型，发现模型大鼠大脑皮质和海马组织神经元排列紊乱，神经元数目显著减少；

沉积及其毒性作用是治疗轻度认知障碍的根本策略。本研究发现同仁牛黄清心丸能显著减少模型大鼠脑内 A β 的生成和聚集，从而阻断 A β 沉积为始动因子的一系列级联病理效应，起到治疗血管性认知障的作用。

越来越多研究表明，神经炎症与神经退行性疾病关系密切，改善神经炎症水平可以延缓神经退行性疾病的发生发展^[13-14]。血管性认知障碍作为神经退行性疾病之一，其发生发展亦与神经炎症密切相关^[15]。神经炎症的主要效应细胞是神经胶质细胞（如小胶质细胞和星形胶质细胞）。小胶质细胞作为中枢炎症反应中免疫系统的第一道防线，被认为是大脑的“巨噬样细胞”，脑缺血性损伤后激活该细

胞,产生 TNF- α 等炎症因子,引发炎症级联反应,同时炎症反应也可促进 A β 的产生和聚集^[16],造成脑组织损伤、加快神经系统疾病的进展。同仁牛黄清心丸能明显降低模型大鼠脑组织中炎症因 TNF- α 的表达水平,具有明显的抗炎作用,从而减少神经炎症反应对脑的损伤。

近年研究发现,NLRP3 介导的小胶质细胞炎症在神经系统疾病具有关键作用,包括阿尔茨海默病、轻度认知障碍、精神障碍^[17-19]。NLRP3 被激活后,通过募集凋亡相关斑点样蛋白(ASC)和半胱氨酸天冬氨酸酶-1 前体(pro-Caspase-1)组成 NLRP3 炎症小体蛋白复合物^[20-21],将无活性的炎症细胞因子前体(pro-IL-1 β)切割成为成熟的炎症细胞因子(IL-1 β),从而引发下游炎症反应和神经元凋亡^[22]。同仁牛黄清心丸能明显下调模型大鼠脑组织中 NLRP3、Caspase1、IL-1 β 蛋白表达水平,通过调控 NLRP3/Caspase1/IL-1 β 信号通路,减轻炎症反应,改善模型大鼠的认知功能障碍。

综上所述,同仁牛黄清心丸对血管性认知障碍造成的脑组织损伤有很好的保护作用,其中抑制 NLRP3/Caspase1/IL-1 β 信号通路活化,改善神经炎症反应可能是药物发挥治疗血管性认知障碍效应机制的关键环节。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 宋颖,孙冬,章军建.《2019 年中国血管性认知障碍诊治指南》解读[J].中国临床医生杂志,2021,49(6):655-657.
- [2] 孟繁艳.艾地苯醌对血管性认知障碍患者认知功能的临床改善研究[J].中西医结合心脑血管病电子杂志,2021,9(3):50-52.
- [3] Heneka M T, Carson M J, El Khoury J, et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease[J].*Lancet Neurol*, 2015, 14: 388-405.
- [4] Piancone F, La Rosa F, Marventano I, et al. The role of the inflammasome in neurodegenerative diseases[J].*Molecules*, 2021, 26(4): 953.
- [5] Fu Q, Li J, Qiu L L, et al. Inhibiting NLRP3 inflammasome with MCC950 ameliorates perioperative neurocognitive disorders, suppressing neuroinflammation in the hippocampus in aged mice[J].*Int Immunopharmacol*, 2020, 82: 106317.
- [6] Holbrook J A, Jarosz-Griffiths H H, Caseley E, et al. Neurodegenerative disease and the NLRP3 inflammasome[J].*Front Pharmacol*, 2021, 12: 643254.
- [7] 陈霞,张思玉,刘丹,等.同仁牛黄清心丸对血管性认知障碍大鼠学习记忆能力的影响及机制[J].现代中

医结合杂志,2024,33(15):2078-2082.

- [8] 徐淑云,卞如濂,陈修.药理学实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,2005:203.
- [9] 侯外方,张茂森,张琳,等.血管性认知障碍动物模型的研究进展[J].中国实验动物学报,2021,29(4):542-552.
- [10] Xu X F, Zhang B, Lu K L, et al. Prevention of hippocampal neuronal damage and cognitive function deficits in vascular dementia by dextromethorphan[J].*Mol Neurobiol*, 2016, 53(5): 3494-3502.
- [11] 孙成成,刘剑刚,刘美霞,等.慢性脑低灌注致血管性痴呆的病理机制和模型建立[J].神经药理学报,2019,9(1):13-17.
- [12] 朱才丰,孙健健,韩为,等.通督调神灸法抗轻度认知功能障碍大鼠海马 β -淀粉样蛋白过度表达的机制研究[J].针刺研究,2016,41(2):131-137.
- [13] Chaney A M, Lopez-Picon F R, Serrière S, et al. Prodromal neuroinflammatory, cholinergic and metabolite dysfunction detected by PET and MRS in the TgF344-AD transgenic rat model of AD: A collaborative multi-modal study[J].*Theranostics*, 2021, 11(14): 6644-6667.
- [14] Lecca D, Jung Y J, Scerba M T, et al. Role of chronic neuroinflammation in neuroplasticity and cognitive function: A hypothesis[J].*Alzheimers Dement*, 2022, 18(11): 2327-2340.
- [15] Song T, Song X P, Zhu C Y W, et al. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, neuroinflammation, and metabolic alterations in the progression of Alzheimer's disease: A meta-analysis of in vivo magnetic resonance spectroscopy studies[J].*Ageing Res Rev*, 2021, 72: 101503.
- [16] 元坤,杜怡峰.炎症反应在阿尔茨海默病发病机制中作用的研究进展[J].中国神经免疫学和神经病学杂志,2013,20(4):278-280.
- [17] Haque M E, Akther M, Jakaria M, et al. Targeting the microglial NLRP3 inflammasome and its role in Parkinson's disease[J].*Mov Disord*, 2020, 35(1): 20-33.
- [18] Hung W L, Ho C T, Pan M H. Targeting the NLRP3 inflammasome in neuroinflammation: Health promoting effects of dietary phytochemicals in neurological disorders[J].*Mol Nutr Food Res*, 2020, 64(4): e1900550.
- [19] Schwartz M, Deczkowska A. Neurological disease as a failure of brain-immune crosstalk: The multiple faces of neuroinflammation[J].*Trends Immunol*, 2016, 37(10): 668-679.
- [20] Agostini L, Martinon F, Burns K, et al. NALP3 forms an IL-1 β -processing inflammasome with increased activity in Muckle-Wells autoinflammatory disorder[J].*Immunity*, 2004, 20(3): 319-325.
- [21] Swanson K V, Deng M, Ting J P. The NLRP3 inflammasome: Molecular activation and regulation to therapeutics[J].*Nat Rev Immunol*, 2019, 19(8): 477-489.
- [22] Paik S, Kim J K, Silwal P, et al. An update on the regulatory mechanisms of NLRP3 inflammasome activation[J].*Cell Mol Immunol*, 2021, 18(5): 1141-1160.

[责任编辑 高源]