

姜黄素对细菌性脑膜炎新生大鼠神经损伤的影响及机制[△]

李月云*,王艳蕊,付 艳(新乡市中心医院儿科,河南新乡 453000)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)01-0017-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.01.04



摘要 目的 基于信号转导及转录活化因子1(STAT1)/核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3(NLRP3)信号通路,探讨姜黄素对细菌性脑膜炎新生大鼠神经损伤的影响及潜在机制。**方法** 将雌雄各半的新生SD大鼠随机分为对照组(control组)、模型组(model组)、姜黄素低剂量组(Cur-L组)、姜黄素中剂量组(Cur-M组)、姜黄素高剂量组(Cur-H组)和姜黄素高剂量+STAT1转录增强剂[2-(1,8-萘啶-2-基)苯酚]组(Cur-H+2-NP组),每组15只。除control组外,其余各组大鼠经小脑延髓池注射B族链球菌悬液(1×10^4 cfu/mL, 10 μL)构建细菌性脑膜炎模型。造模成功后,Cur-L、Cur-M、Cur-H组大鼠腹腔注射姜黄素1.25、2.5、5 mg/kg,Cur-H+2-NP组大鼠腹腔注射姜黄素5 mg/kg和2-NP 0.5 mg/kg,每天1次,连续3周。末次给药后,进行改良Loeffer评分,检测其脑脊液中白细胞(WBC)计数及炎症因子[肿瘤坏死因子α、白细胞介素6(IL-6)、IL-1β、IL-18]含量、脑含水量及血脑屏障通透性,观察其海马/皮质组织的病理改变,检测其海马/皮质组织凋亡细胞百分比、离子钙结合衔接分子1(Iba-1)阳性表达及Iba-1、NLRP3共定位情况以及STAT1/NLRP3信号通路相关蛋白(磷酸化STAT1、NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白、焦孔素D、胱天蛋白酶1、IL-1β、IL-18)的表达情况。**结果** 与control组比较,model组大鼠海马/皮质组织神经元形态明显异常,伴神经元水肿坏死、炎症细胞浸润等病理改变;其改良Loeffer评分、尼氏小体数均显著降低/减少,WBC计数和炎症因子含量、脑含水量、血脑屏障通透性、HE染色评分、退化神经元数、凋亡细胞百分比、Iba-1阳性表达、Iba-1和NLRP3共定位阳性细胞百分比、通路相关蛋白的表达均显著升高/增多/上调($P < 0.05$);与model组比较,姜黄素各剂量组大鼠海马/皮质组织病理改变均有所缓解,各定量指标均显著改善($P < 0.05$);而2-NP可显著逆转姜黄素对各定量指标的改善作用($P < 0.05$)。**结论** 姜黄素可改善细菌性脑膜炎新生大鼠脑水肿及血脑屏障损伤,减轻神经炎症,抑制细胞凋亡和焦亡,进而缓解神经损伤,其机制可能与抑制STAT1/NLRP3信号通路有关。

关键词 姜黄素;细菌性脑膜炎;神经炎症;细胞凋亡;细胞焦亡;STAT1/NLRP3信号通路;新生大鼠

Effects and mechanism of curcumin on neurological injury in neonatal rats with bacterial meningitis

LI Yueyun, WANG Yanrui, FU Yan (Dept. of Pediatrics, Xinxiang Central Hospital, Henan Xinxiang 453000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the effects and potential mechanism of curcumin on neurological injury in neonatal rats with bacterial meningitis based on the signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1)/ nucleotide-binding domain leucine-rich repeat and pyrin domain-containing receptor 3 (NLRP3) signaling pathway. **METHODS** Neonatal rats, with an equal number of males and females, were randomly divided into control group, model group, curcumin low-dose (Cur-L), medium-dose (Cur-M) and high-dose (Cur-H) groups, and Cur-H+STAT1 transcription enhancer [2-(1,8-naphthyridin-2-yl)phenol] group (Cur-H+2-NP group), with 15 rats in each group. Except for the control group, rats in other groups were injected with a suspension of group B *Streptococcus* (1×10^4 cfu/mL, 10 μL) into the cerebellomedullary cistern to establish a bacterial meningitis model. After successful model establishment, rats in Cur-L, Cur-M and Cur-H groups were intraperitoneally injected with 1.25, 2.5 and 5 mg/kg curcumin, respectively, and those in the Cur-H+2-NP group were intraperitoneally injected with 5 mg/kg curcumin and 0.5 mg/kg 2-NP, once a day, for 3 consecutive weeks. After the last administration, modified Loeffler score was conducted, white blood cells (WBC) count in cerebrospinal fluid as well as the contents of inflammatory factors [tumor necrosis factor-α, interleukin-6 (IL-6), IL-1β and IL-18], brain water content and blood-brain barrier permeability were detected; the histopathological changes of hippocampus and cortex tissues were observed. The percentage of apoptosis in hippocampal/cortical tissue cells, the positive expression of ionized calcium-binding adapter molecule-1 (Iba-1), the co-localization of Iba-1 and NLRP3, as well as the expressions of proteins related to the STAT1/NLRP3 signaling pathway (phosphorylated STAT1, NLRP3, apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, gasdermin D, caspase-1, IL-1β and IL-18) were examined. **RESULTS** Compared with the control group, the neurons in the hippocampal/cortical tissues of rats in the model group exhibited significant

△ 基金项目 河南省医学科技攻关计划联合共建项目(No. LHGJ20230892)

*第一作者 主治医师,硕士。研究方向:新生儿常见病、多发病的基础与临床研究。E-mail:liyueyun3317@163.com

morphological abnormalities, accompanied by neuronal edema and necrosis, as well as infiltration of inflammatory cells. The modified Loeffler score and the number of Nissl bodies were significantly decreased/reduced in the model group, while the WBC count, levels of inflammatory factors, brain water content, blood-brain barrier permeability, HE staining score, number of degenerated neurons, percentage of apoptotic cells, positive expression of Iba-1, percentage of Iba-1 and NLRP3 co-localization-positive cells, and expressions of pathway-related proteins were all significantly rose/increased/upregulated ($P<0.05$). Compared with the model group, the histopathological changes in the hippocampal/cortical tissues of rats in all curcumin dosage groups were alleviated to varying degrees, with significant improvements in all quantitative indicators ($P<0.05$) ; conversely, 2-NP significantly reversed the ameliorative effects of curcumin on these quantitative indicators ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Curcumin can alleviate cerebral edema and blood-brain barrier damage, reduce neuroinflammation, inhibit cell apoptosis and pyroptosis, and thereby alleviate neuronal injury in neonatal rats with bacterial meningitis. The underlying mechanism may be related to the inhibition of the STAT1/NLRP3 signaling pathway.

KEYWORDS curcumin; bacterial meningitis; neuroinflammation; cell apoptosis; cell pyroptosis; STAT1/NLRP3 signaling pathway; neonatal rats

细菌性脑膜炎是由病原微生物侵袭中枢神经系统所引发的危重感染性疾病^[1]。B族链球菌(group B *Streptococcus*, GBS)是引发新生儿细菌性脑膜炎的常见病原体,其感染具有高致死率和高后遗症发生率的特点^[2],加之现有治疗手段效果有限,故有必要开发更具突破性的治疗方案以改善患儿预后。

研究指出,当细菌性脑膜炎发生时,小胶质细胞和巨噬细胞被激活,从而引发炎症级联反应^[3]。此外,肺炎链球菌可激活小胶质细胞中核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3(nucleotide-binding domain leucine-rich repeat and pyrin domain-containing receptor 3, NLRP3)炎症小体[由NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)、胱天蛋白酶1(caspase-1)组成],活化的 caspase-1 可通过切割白细胞介素1 β 前体(precursor of interleukin-1 β , pro-IL-1 β)和 pro-IL-18、激活焦孔素D(gasdermin D, GSDMD)来触发细胞焦亡,继而引发强烈的炎症反应^[4]。信号转导及转录活化因子1(signal transducer and activator of transcription 1, STAT1)可促进NLRP3转录并参与小胶质细胞活化^[5];而抑制STAT1/NLRP3信号通路可减轻细菌性脑膜炎^[6]。可见,基于STAT1/NLRP3信号通路及其介导的细胞焦亡探讨药物对细菌性脑膜炎的改善作用具有重要的临床价值。

姜黄素是从姜科植物姜黄 *Curcuma longa* L. 中提取的多酚类化合物,具有抗炎、抗氧化、抗菌及保护神经的作用^[7]。李庆彬等^[8]研究证实,姜黄素可抑制细菌性脑膜炎新生大鼠神经元凋亡。既往研究表明,姜黄素可通过抑制Janus激酶1(Janus kinase 1, JAK1)/STAT1轴来减轻脑出血引起的神经元凋亡和神经炎症^[9];还可通过抑制NLRP3信号通路来减少炎症和细胞死亡,从而延缓缺血性脑损伤^[10]。基于此,本研究拟探讨姜黄素对新生大鼠细菌性脑膜炎神经损伤的影响,并分析其作用是否与调控STAT1/NLRP3信号通路有关,以期为细菌性脑膜炎靶向干预策略的开发提供实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括DB053型脑立体定位仪(北京智鼠多宝生物科技有限责任公司)、BC-2900型血细胞分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)、Multiskan FC型酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)、UV-1801型紫外-可见分光光度计[北京北分瑞利分析仪器(集团)有限责任公司]、Axio Imager型荧光显微镜(德国 ZEISS 公司)、BL-800型冷冻切片机(湖北伯纳医疗科技有限公司)、RM2235型常规切片机(德国 Leica 公司)、Amersham Imager 600RGB型化学发光成像仪(美国 GE Healthcare 公司)等。

1.2 主要药品、菌种与试剂

姜黄素对照品(批号 C110685, 纯度>98%)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;2-(1,8-萘啶-2-基)苯酚 [2-(1, 8-naphthyridin-2-yl) phenol, 2-NP] 对照品(STAT1 转录增强剂, 批号 HY-W013523, 纯度 99.55%)购自美国 MedChemExpress 公司;GBS、营养肉汤培养基(批号分别为 BNCC337481、BNCC369667)均购自河南省工业微生物菌种工程技术研究中心;大鼠肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素(interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、IL-18 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号分别为 ml002859、ml037361、ml064292、ml002816)均购自上海酶联生物科技有限公司;伊文思蓝(Evans blue, EB)染色液、苏木精-伊红(HE)染色试剂盒、尼氏染色液、5%牛血清白蛋白(BSA)溶液和4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染液(批号分别为 BP-DL502、BP-DL001、BP-DL302、BL-O81、BP-DL712)均购自南京森贝伽生物科技有限公司;FJC(fluoro-Jade C)退化神经元染色试剂盒(批号 TR-100-FJT)购自武汉艾美捷科技有限公司;TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(批号 KTA2010)购自亚科因(武汉)生物技术有限公司;兔抗离子钙结合衔接分子1(ionized calcium-binding adapter molecule-1, Iba-1)、NLRP3、

STAT1、磷酸化 STAT1 (phosphorylated STAT1, p-STAT1)、ASC、GSDMD、caspase-1 前体 (pro-caspase-1)、IL-1 β 、IL-18、 β -肌动蛋白 (β -actin) 抗体和山羊抗兔免疫球蛋白 G (IgG) H&L (Alexa Fluor[®] 647)、山羊抗兔 IgG H&L (Alexa Fluor[®] 488) 二抗 (批号分别为 ab178846、ab263899、ab230428、ab109461、ab307560、ab219800、ab179515、ab283818、ab191860、ab8227、ab150079、ab150077) 均购自英国 Abcam 公司；兔抗 caspase-1 抗体、山羊抗兔辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的 IgG 二抗 (批号分别为 83383、7074) 均购自美国 Cell Signaling Technology 公司；RIPA 裂解液、BCA 蛋白定量试剂盒、ECL 化学发光检测试剂盒 (批号分别为 abs9229、abs9232、abs920) 均购自爱必信 (上海) 生物科技有限公司。

1.3 实验动物

随母鼠的新生 SD 大鼠 90 只, 雌雄各半, 10 日龄, 体重 18~20 g, 购自北京希诺因生物科技有限公司, 动物生产许可证号为 SCXK(京)2022-0006。所有动物均饲养于 SPF 环境 (温度 22~24°C, 相对湿度 50%~60%, 每 12 h 明暗循环) 中, 自由摄食、饮水。本研究方案经新乡市中心医院伦理委员会批准 (意见号 2024-013)。

2 方法

2.1 造模、分组与给药

将新生 SD 大鼠随机分为对照组 (control 组)、模型组 (model 组)、姜黄素低剂量组 (Cur-L 组)、姜黄素中剂量组 (Cur-M 组)、姜黄素高剂量组 (Cur-H 组) 和姜黄素高剂量 + STAT1 转录增强剂组 (Cur-H+2-NP 组), 每组 15 只 (雌鼠 7 只、雄鼠 8 只, 或雌鼠 8 只、雄鼠 7 只)。除 control 组外, 其余各组大鼠根据相关文献^[11]建立细菌性脑膜炎模型: 大鼠经 1% 戊巴比妥钠 (20 mg/kg) 腹腔注射麻醉, 以俯卧位固定于脑立体定位仪上, 从小脑延髓池垂直进针, 抽弃脑脊液 (cerebrospinal fluid, CSF) 10 μ L, 再缓慢注入 GBS 菌悬液 (1×10^4 cfu/mL, 以生理盐水为溶剂) 10 μ L (于 5 min 内完成注射, 并留针 1 min); 若大鼠出现精神萎靡、毛发竖立、共济失调 (步态不稳)、震颤、抽搐等症状且改良 Loeffler 评分 ≤ 3 分, 即为模型构建成功^[12]。control 组大鼠同法抽弃 CSF 10 μ L, 再缓慢注入等体积生理盐水。

造模后, 参考既往研究^[8], Cur-L、Cur-M、Cur-H 组大鼠分别腹腔注射姜黄素 1.25、2.5、5 mg/kg, Cur-H+2-NP 组大鼠腹腔注射姜黄素 5 mg/kg 和 2-NP 0.5 mg/kg, control 组和 model 组大鼠腹腔注射等体积生理盐水, 每天 1 次, 连续 3 周。

2.2 神经功能评分

末次给药 24 h 后, 以改良的 Loeffler 评分法^[12]评估大鼠神经功能, 具体标准为: 可正常活动, 仰卧时可在 5 s 内翻身, 记 5 分; 自主活动减少, 但 5 s 内能翻身, 记 4 分; 翻身时间 > 5 s, 记 3 分; 不能翻身, 记 2 分; 不能活动, 记 1 分。

2.3 CSF 中白细胞计数及炎症因子含量测定

完成神经功能评分后, 将各组大鼠麻醉, 抽取其 CSF。一部分以血细胞分析仪进行白细胞 (white blood cell, WBC) 计数; 另一部分经离心后, 采用 ELISA 法检测 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-18 含量, 严格按照相应试剂盒说明书操作。

2.4 脑含水量检测

随后, 每组随机选择 5 只大鼠, 麻醉后处死, 分离其新鲜脑组织并称重, 即为湿重; 将脑组织于 100 °C 下干燥至恒重, 即为干重; 按下式计算脑含水量: 脑含水量 (%) = (脑组织湿重 - 脑组织干重) / 脑组织湿重 \times 100%。

2.5 血脑屏障通透性检测

每组随机另选 5 只大鼠, 尾静脉注射 0.5% EB 染色液 (4 mL/kg), 1 h 后将其处死, 收集脑组织, 匀浆后, 于 4 °C 下以 12 000 r/min 离心 20 min; 取上清液, 加入丙酮孵育 24 h (上清液与丙酮的体积比为 3:7), 于 4 °C 下以 12 000 r/min 离心 20 min; 收集上清液, 用紫外-可见分光光度计在 620 nm 波长下测定脑组织中 EB 含量, 以反映血脑屏障通透性 (二者成正比)。

2.6 海马及皮质组织染色观察

2.6.1 HE 染色

取每组剩余 5 只大鼠, 麻醉后处死, 收集其脑组织, 一部分迅速放入液氮中冻存, 另一部分以 4% 多聚甲醛溶液固定。取已固定的脑组织适量, 制备常规石蜡切片 (厚约 5 μ m)。取上述切片适量, 经二甲苯脱蜡、乙醇复水后, 依次用苏木精染色 10 min、盐酸乙醇分化液分化 30 s、伊红染色 2 min, 再经乙醇脱水、二甲苯透明后以中性树脂封片, 使用显微镜观察大鼠海马及皮质组织的病理变化, 并基于细胞形态结构及细胞周围条件对 HE 染色结果进行评分, 具体标准为: 正常, 记 0 分; 少量细胞损伤, 细胞周围无空泡, 记 1 分; 细胞损伤明显, 细胞周围有少量空泡, 记 2 分; 细胞损伤明显, 细胞周围有明显空泡, 记 3 分; 细胞大量受损, 细胞周围可见大量空泡, 记 4 分^[13]。

2.6.2 尼氏染色

取“2.6.1”项下各组大鼠脑组织切片适量, 经脱蜡、水化后, 依次用亚甲基蓝染色 10 min、酸性分化液分化 1 min、钼酸铵溶液处理 5 min, 再经乙醇脱水、二甲苯透明后封片, 使用显微镜观察染色结果并统计海马及皮质组织中的尼氏小体数。

2.6.3 FJC 染色

取“2.6.1”项下各组大鼠经冻存的脑组织适量, 用包埋剂包埋后, 制作冷冻切片 (厚约 20 μ m)。取上述切片, 经乙醇复水后浸入 0.06% 高锰酸钾溶液中振摇 10 min, 加入 FJC 工作液避光孵育 20 min, 以 DAPI 染液复染细胞核 10 min; 经乙醇脱水、二甲苯透明后, 以抗荧光淬灭封片剂封片, 使用荧光显微镜观察并记录海马及皮质组

织中的退化神经元数(以呈绿色荧光的FJC阳性细胞数表示)。

2.7 海马及皮质组织中细胞凋亡检测

采用TUNEL法进行检测。取“2.6.1”项下各组大鼠脑组织切片适量,经脱蜡、水化后,加入1×蛋白酶K工作液100 μL,于37 °C下反应20 min;加入TdT平衡缓冲液100 μL,于37 °C下平衡30 min;加入标记工作液50 μL,于37 °C下避光孵育1 h;加入DAPI染液适量,于室温下避光孵育5 min;以抗荧光淬灭封片剂封片后,使用荧光显微镜观察染色结果并定量分析凋亡细胞百分比(以绿色荧光TUNEL阳性细胞数占细胞总数的百分比表示)。

2.8 海马及皮质组织中Iba-1阳性表达和Iba-1、NLRP3共定位检测

采用免疫荧光法进行检测。取“2.6.1”项下各组大鼠脑组织切片适量,经脱蜡、水化后,以柠檬酸钠缓冲液进行抗原修复,再以5%BSA封闭1 h;加入Iba-1、NLRP3一抗(稀释比例分别为1:10、1:30),于4 °C下孵育过夜;加入Alexa Fluor® 647(用于检测Iba-1表达)和Alexa Fluor® 488(用于检测NLRP3表达)标记的荧光二抗(稀释比例均为1:50),于37 °C下避光孵育1 h;加入DAPI染液避光染色8 min,使用荧光显微镜观察并使用Image J软件计算Iba-1阳性表达(以红色阳性表达区域的平均荧光强度表示)和Iba-1、NLRP3共定位阳性细胞百分比[以Iba-1(红色)和NLRP3(绿色)双阳性细胞数占细胞总数的百分比表示]。

2.9 海马及皮质组织中通路相关蛋白表达检测

采用Western blot法进行检测。取“2.6.1”项下各组3只大鼠经冻存的脑组织适量,以RIPA裂解液提取总蛋白,经BCA法定量后作变性处理。取变性蛋白适量,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离并转移至聚偏二氟乙烯膜上,以快速封闭液封闭1 h;洗膜后,加入STAT1、p-STAT1、NLRP3、ASC、GSDMD、caspase-1、pro-caspase-1、IL-1β、IL-18、β-actin(内参)一抗(稀释比例分别为1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:500、1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:2 000),于4 °C下孵育过夜;洗膜后,加入HRP标记的二抗(稀释比例为1:2 000),于37 °C下孵育1 h;以ECL化学发光检测试剂盒显色后,再于化学发光成像仪下成像。使用Image J软件对蛋白条带灰度值进行分析,以p-STAT1与STAT1、NLRP3与β-actin、ASC与β-actin、GSDMD与β-actin、caspase-1与pro-caspase-1、IL-1β与β-actin、IL-18与β-actin的灰度值比值作为p-STAT1、NLRP3、ASC、GSDMD、caspase-1、IL-1β、IL-18的表达水平。

2.10 统计学方法

采用GraphPad Prism 9.5.0软件对数据进行统计分析。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 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Tukey's多重检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 姜黄素对模型大鼠神经功能和CSF中WBC计数、炎症因子含量的影响

与control组比较, model组大鼠改良Loeffler评分显著降低, CSF中WBC计数及TNF-α、IL-6、IL-1β、IL-18水平均显著升高($P<0.05$);与model组比较,姜黄素各剂量组大鼠改良Loeffler评分均显著升高, CSF中WBC计数及各炎症因子含量均显著降低($P<0.05$);与Cur-H组比较, Cur-H+2-NP组大鼠改良Loeffler评分显著降低, CSF中WBC计数及各炎症因子含量均显著升高($P<0.05$)。结果见表1。

表1 各组大鼠改良Loeffler评分和CSF中WBC计数、炎症因子含量比较($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	改良Loeffler评分分	WBC计数/($\times 10^3 \text{ L}^{-1}$)	TNF-α/(pg/mL)	IL-6/(pg/mL)	IL-1β/(pg/mL)	IL-18/(pg/mL)
control组	4.93±0.25	0.16±0.03	28.95±2.88	17.57±2.41	44.49±5.58	56.14±6.50
model组	1.20±0.40 ^a	1.68±0.16 ^a	144.52±15.67 ^a	150.55±16.53 ^a	176.44±16.40 ^a	195.31±12.99 ^a
Cur-L组	2.27±0.57 ^b	1.02±0.11 ^b	104.59±12.96 ^b	103.46±12.68 ^b	117.16±12.19 ^b	148.63±13.69 ^b
Cur-M组	3.00±0.52 ^b	0.48±0.08 ^b	85.76±9.70 ^b	81.17±6.05 ^b	83.91±7.36 ^b	117.61±9.41 ^b
Cur-H组	4.00±0.63 ^b	0.31±0.08 ^b	45.08±3.37 ^b	31.05±2.75 ^b	59.04±5.83 ^b	68.01±7.55 ^b
Cur-H+2-NP组	2.47±0.50 ^c	0.87±0.09 ^c	126.21±14.90 ^c	121.94±10.90 ^c	155.60±13.01 ^c	168.16±13.49 ^c

a:与control组比较, $P<0.05$;b:与model组比较, $P<0.05$;c:与Cur-H组比较, $P<0.05$ 。

3.2 姜黄素对模型大鼠脑含水量和血脑屏障通透性的影响

与control组比较, model组大鼠的脑含水量、EB含量均显著升高($P<0.05$);与model组比较,姜黄素各剂量组大鼠的脑含水量、EB含量均显著降低($P<0.05$);与Cur-H组比较, Cur-H+2-NP组大鼠的脑含水量、EB含量均显著升高($P<0.05$)。结果见表2。

表2 各组大鼠的脑含水量和EB含量比较($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	脑含水量%	EB含量/(μg/g)
control组	71.40±2.23	1.80±0.10
model组	88.88±2.29 ^a	6.19±0.41 ^a
Cur-L组	83.65±2.29 ^b	4.51±0.32 ^b
Cur-M组	78.71±2.79 ^b	3.26±0.28 ^b
Cur-H组	73.67±2.18 ^b	2.73±0.27 ^b
Cur-H+2-NP组	84.72±2.52 ^c	5.08±0.36 ^c

a:与control组比较, $P<0.05$;b:与model组比较, $P<0.05$;c:与Cur-H组比较, $P<0.05$ 。

3.3 姜黄素对模型大鼠海马及皮质组织病理学损伤的影响

control组大鼠海马及皮质组织神经元结构完整,细胞丰富、排列整齐有序、形态规则、染色均匀;神经元内含有丰富的尼氏小体,且未见退化神经元。与control组比较, model组大鼠海马及皮质组织神经元形态明显异常、呈不规则梭形,大量神经元水肿坏死,细胞核深染固缩、结构不清,并伴有明显的炎症细胞浸润;HE染色评分显著升高,尼氏小体数显著减少,退化神经元数显著增多($P<0.05$)。与model组比较,姜黄素各剂量组大鼠海马及皮质组织上述病理学损伤有不同程度改善,且

HE染色评分显著降低,尼氏小体数显著增多,退化神经元数显著减少($P<0.05$)。与Cur-H组比较,Cur-H+2-NP组大鼠海马及皮质组织上述病理学损伤明显加重,HE染色评分显著升高,尼氏小体数显著减少,退化神经元数显著增多($P<0.05$)。结果见图1(限于篇幅,皮质组织的相关显微图可扫描本文首页二维码查看“增强出版”板块中的附图1)、表3。

表3 各组大鼠HE染色评分、尼氏小体数和退化神经元数比较($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	HE染色评分/分		尼氏小体数		退化神经元数	
	海马组织	皮质组织	海马组织	皮质组织	海马组织	皮质组织
control组	0	0	125.00±12.08	257.60±21.35	7.00±1.41	14.20±2.86
model组	3.80±0.40 ^a	4.00±0.01 ^a	53.40±8.73 ^a	85.80±8.38 ^a	129.60±13.09 ^a	147.00±11.08 ^a
Cur-L组	2.80±0.40 ^a	2.40±0.49 ^a	82.20±7.96 ^a	126.80±13.96 ^a	89.40±9.22 ^b	101.80±10.40 ^b
Cur-M组	2.40±0.49 ^a	1.60±0.49 ^a	101.60±7.45 ^b	179.20±26.23 ^b	55.00±8.53 ^b	64.60±5.00 ^b
Cur-H组	1.40±0.49 ^a	0.80±0.40 ^a	113.20±9.22 ^b	215.80±22.09 ^b	35.00±4.98 ^b	39.00±5.83 ^b
Cur-H+2-NP组	3.20±0.40 ^a	2.40±0.49 ^a	77.80±8.98 ^a	101.20±10.23 ^a	104.00±8.12 ^c	119.60±10.05 ^c

a:与control组比较, $P<0.05$;b:与model组比较, $P<0.05$;c:与Cur-H组比较, $P<0.05$ 。

3.4 姜黄素对模型大鼠海马及皮质组织中细胞凋亡的影响

与control组比较,model组大鼠海马及皮质组织中凋亡细胞百分比均显著升高($P<0.05$);与model组比较,姜黄素各剂量组大鼠海马及皮质组织中凋亡细胞百分比均显著降低($P<0.05$);与Cur-H组比较,Cur-H+2-NP组大鼠海马及皮质组织中凋亡细胞百分比均显著升高($P<0.05$)。结果见表4(限于篇幅,海马及皮质组织的相关显微图可扫描本文首页二维码查看“增强出版”板块中的附图2)。

3.5 姜黄素对模型大鼠海马及皮质组织中Iba-1阳性表达和Iba-1、NLRP3共定位的影响

与control组比较,model组大鼠海马及皮质组织中

表4 各组大鼠海马及皮质组织中凋亡细胞百分比回比较($\bar{x} \pm s, n=5, \%$)

组别	海马组织	皮质组织
control组	5.10±0.53	10.44±1.46
model组	18.13±1.91 ^a	32.33±2.22 ^a
Cur-L组	14.04±1.08 ^b	23.19±1.98 ^b
Cur-M组	8.68±0.97 ^b	15.65±2.19 ^b
Cur-H组	6.28±0.68 ^b	12.09±1.00 ^b
Cur-H+2-NP组	12.47±1.61 ^c	24.79±2.71 ^c

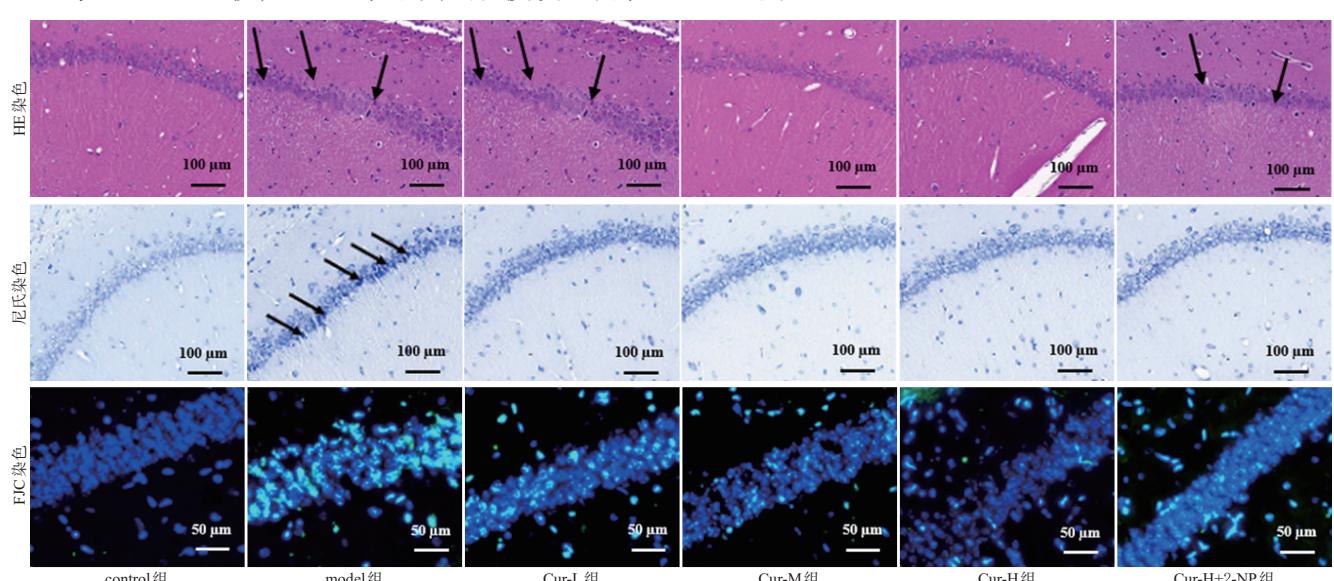
a:与control组比较, $P<0.05$;b:与model组比较, $P<0.05$;c:与Cur-H组比较, $P<0.05$ 。

Iba-1阳性表达和Iba-1、NLRP3共定位阳性细胞百分比均显著上调或升高($P<0.05$);与model组比较,姜黄素各剂量组大鼠海马及皮质组织中Iba-1阳性表达和Iba-1、NLRP3共定位阳性细胞百分比均显著下调或降低($P<0.05$);与Cur-H组比较,Cur-H+2-NP组大鼠海马及皮质组织中Iba-1阳性表达和Iba-1、NLRP3共定位阳性细胞百分比均显著上调或升高($P<0.05$)。结果见表5(限于篇幅,海马及皮质组织的相关显微图可扫描本文首页二维码查看“增强出版”板块中的附图3)。

表5 各组大鼠海马及皮质组织中Iba-1阳性表达和Iba-1、NLRP3共定位阳性细胞百分比回比较($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	Iba-1阳性表达		Iba-1、NLRP3共定位阳性细胞百分比/%	
	海马组织	皮质组织	海马组织	皮质组织
control组	22.41±1.69	48.81±4.83	2.55±0.23	2.64±0.22
model组	174.44±13.13 ^a	206.90±15.43 ^a	26.71±3.07 ^a	34.05±2.84 ^a
Cur-L组	111.94±15.10 ^b	104.38±14.09 ^b	16.00±1.96 ^b	19.68±2.36 ^b
Cur-M组	79.92±6.09 ^b	86.21±8.43 ^b	10.53±1.28 ^b	13.66±1.83 ^b
Cur-H组	49.60±5.99 ^b	62.11±4.72 ^b	5.59±0.85 ^b	6.73±1.29 ^b
Cur-H+2-NP组	121.15±10.66 ^c	130.11±10.10 ^c	20.67±2.32 ^c	21.05±2.02 ^c

a:与control组比较, $P<0.05$;b:与model组比较, $P<0.05$;c:与Cur-H组比较, $P<0.05$ 。



黑色箭头:受损细胞(HE染色)或退化神经元(尼氏染色)。

图1 姜黄素对模型大鼠海马组织病理学损伤影响的显微图

3.6 姜黄素对模型大鼠海马及皮质组织中通路相关蛋白表达的影响

与 control 组比较, model 组大鼠海马及皮质组织中 p-STAT1、NLRP3、ASC、GSDMD、caspase-1、IL-1 β 、IL-18 的表达均显著上调 ($P < 0.05$); 与 model 组比较, 姜黄素各剂量组大鼠海马及皮质组织中 p-STAT1、NLRP3、ASC、GSDMD、caspase-1、IL-1 β 、IL-18 的表达均显著下调 ($P < 0.05$); 与 Cur-H 组比较, Cur-H+2-NP 组大鼠海马及皮质组织中 p-STAT1、NLRP3、ASC、GSDMD、caspase-1、IL-1 β 、IL-18 的表达均显著上调 ($P < 0.05$)。结果见图 2、表 6。

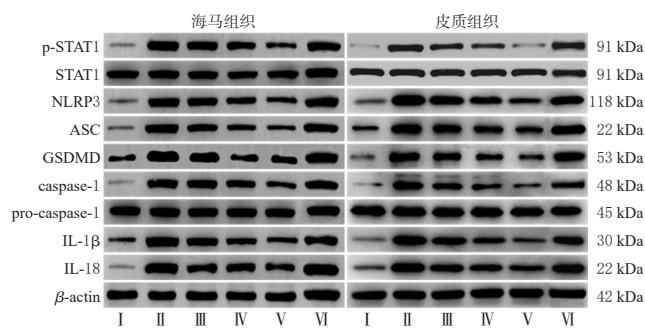


图 2 各组大鼠海马及皮质组织中通路相关蛋白表达的电泳图
I : control 组; II : model 组; III : Cur-L 组; IV : Cur-M 组; V : Cur-H 组; VI : Cur-H+2-NP 组。

图 2 各组大鼠海马及皮质组织中通路相关蛋白表达的电泳图

4 讨论

研究发现, 姜黄素可改善细菌性脑膜炎新生大鼠脑组织病理损伤, 抑制小胶质细胞和星形胶质细胞活化, 减少炎症因子和趋化因子分泌和海马神经元凋亡^[8]; 此外, 姜黄素还可保护血脑屏障完整性, 促进突触重塑, 抑制炎症反应, 从而改善缺血性脑损伤^[14]。本研究结果显示, 与 control 组比较, model 组大鼠的改良 Loeffler 评分显著降低, 脑含水量和 EB 含量均显著升高, 海马及皮质组织神经元形态异常且出现水肿坏死, 并伴有明显的炎症细胞浸润, HE 染色评分显著升高, 尼氏小体数显著减少, 退化神经元数显著增多, 表明 GBS 感染可引起新生大鼠脑水肿和血脑屏障损伤, 继而诱发神经损伤。经不同剂量姜黄素干预后, 各剂量组大鼠上述指标均得以改善, 提示姜黄素可增加神经功能评分, 降低脑含水量和 EB 含量, 改善海马及皮质组织神经元结构异常, 减少炎

症细胞浸润, 抑制神经元退化, 增加尼氏小体数, 从而减轻细菌性脑膜炎新生大鼠的神经损伤。

炎症反应在细菌性脑膜炎中扮演重要角色, 可加剧并发症和后遗症的发生。在中枢神经系统中, 病原体感染可特异性激活小胶质细胞、星形胶质细胞生成 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等炎症因子, 这些炎症因子会进一步刺激小胶质细胞和星形胶质细胞活化, 导致神经炎症持续放大, 最终诱导神经元凋亡^[15]。研究指出, 姜黄素可抑制小胶质细胞活化和炎症因子释放, 从而减轻神经炎症、抑制神经元凋亡^[16]。本研究结果显示, 与 control 组比较, model 组大鼠 CSF 中 WBC 计数和 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-18 含量, Iba-1 阳性表达, 以及凋亡细胞百分比均显著升高或上调; 而姜黄素可降低/下调大鼠的 WBC 计数, TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-18 含量, Iba-1 阳性表达以及凋亡细胞百分比, 表明该成分可能通过抑制神经炎症和细胞凋亡来改善细菌性脑膜炎新生大鼠的神经损伤。

炎症小体是一种多蛋白复合物, 其激活在先天免疫和炎症反应中具有核心作用。作为炎症触发信号的重要下游效应器, NLRP3 炎症小体在阿尔茨海默病、细菌性脑膜炎等疾病中起重要作用。GBS 感染可诱导 NLRP3 炎症小体活化^[17], 抑制 NLRP3 炎症小体及其介导的细胞焦亡可减轻肺炎链球菌性脑膜炎^[18]。作为 NLRP3 的转录激活因子, STAT1 在感染控制中具有重要作用^[19]。Gao 等^[6]证实, YL-0919 可通过 STAT1 信号通路抑制 NLRP3 活化, 阻断巨噬细胞/小胶质细胞焦亡, 下调促炎细胞因子水平, 减轻肺炎链球菌性脑膜炎。本研究结果显示, 与 control 组比较, model 组大鼠海马及皮质组织中 p-STAT1、NLRP3、ASC、GSDMD、caspase-1、IL-1 β 、IL-18 的表达均显著上调, Iba-1 和 NLRP3 共定位阳性细胞百分比显著升高; 经姜黄素干预后, p-STAT1、NLRP3、ASC、GSDMD、caspase-1、IL-1 β 、IL-18 的表达均较 model 组显著下调, Iba-1 和 NLRP3 共定位阳性细胞百分比显著降低, 提示姜黄素对细菌性脑膜炎新生大鼠的改善作用可能与其调节 STAT1/NLRP3 信号通路及该通路介导的细胞焦亡有关。为验证该假设, 本研究以 STAT1 转录增强剂 2-NP 和高剂量姜黄素联合干预后发现, 各定量指标均较 Cur-H 组显著逆转, 提示 2-NP 可逆转姜黄素对细菌性脑膜炎新生大鼠的神经保护作用, 表明姜黄素可能通过靶向 STAT1 抑制 STAT1/NLRP3 信号通路而

表 6 各组大鼠海马及皮质组织中通路相关蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	海马组织							皮质组织						
	p-STAT1	NLRP3	ASC	GSDMD	caspase-1	IL-1 β	IL-18	p-STAT1	NLRP3	ASC	GSDMD	caspase-1	IL-1 β	IL-18
control 组	0.14 \pm 0.03	0.18 \pm 0.02	0.16 \pm 0.01	0.42 \pm 0.06	0.13 \pm 0.04	0.31 \pm 0.07	0.11 \pm 0.03	0.08 \pm 0.02	0.17 \pm 0.05	0.25 \pm 0.04	0.19 \pm 0.05	0.14 \pm 0.04	0.15 \pm 0.03	0.22 \pm 0.04
model 组	1.26 \pm 0.11 ^a	1.16 \pm 0.06 ^a	1.22 \pm 0.08 ^a	1.30 \pm 0.09 ^a	1.14 \pm 0.08 ^a	1.25 \pm 0.08 ^a	1.29 \pm 0.08 ^a	1.07 \pm 0.07 ^a	1.31 \pm 0.09 ^a	1.20 \pm 0.10 ^a	1.23 \pm 0.07 ^a	1.09 \pm 0.09 ^a	1.15 \pm 0.07 ^a	1.12 \pm 0.06 ^a
Cur-L 组	0.95 \pm 0.10 ^b	0.95 \pm 0.06 ^b	0.84 \pm 0.09 ^b	0.99 \pm 0.07 ^b	0.92 \pm 0.07 ^b	0.95 \pm 0.06 ^b	0.93 \pm 0.06 ^b	0.84 \pm 0.07 ^b	1.03 \pm 0.07 ^b	0.94 \pm 0.06 ^b	0.91 \pm 0.09 ^b	0.82 \pm 0.08 ^b	0.88 \pm 0.06 ^b	0.89 \pm 0.06 ^b
Cur-M 组	0.75 \pm 0.06 ^b	0.64 \pm 0.04 ^b	0.69 \pm 0.05 ^b	0.52 \pm 0.07 ^b	0.78 \pm 0.06 ^b	0.69 \pm 0.06 ^b	0.87 \pm 0.05 ^b	0.52 \pm 0.06 ^b	0.75 \pm 0.06 ^b	0.71 \pm 0.07 ^b	0.71 \pm 0.07 ^b	0.62 \pm 0.07 ^b	0.66 \pm 0.04 ^b	0.79 \pm 0.07 ^b
Cur-H 组	0.52 \pm 0.05 ^b	0.53 \pm 0.04 ^b	0.49 \pm 0.06 ^b	0.49 \pm 0.05 ^b	0.59 \pm 0.05 ^b	0.52 \pm 0.07 ^b	0.61 \pm 0.06 ^b	0.16 \pm 0.05 ^b	0.51 \pm 0.08 ^b	0.46 \pm 0.04 ^b	0.43 \pm 0.05 ^b	0.34 \pm 0.05 ^b	0.41 \pm 0.04 ^b	0.56 \pm 0.04 ^b
Cur-H+2-NP 组	0.98 \pm 0.09 ^c	0.95 \pm 0.09 ^c	0.92 \pm 0.08 ^c	1.06 \pm 0.10 ^c	0.95 \pm 0.06 ^c	0.90 \pm 0.07 ^c	1.07 \pm 0.08 ^c	1.06 \pm 0.08 ^c	0.96 \pm 0.08 ^c	1.00 \pm 0.07 ^c	0.93 \pm 0.07 ^c	0.84 \pm 0.06 ^c	0.93 \pm 0.08 ^c	0.93 \pm 0.07 ^c

a: 与 control 组比较, $P < 0.05$; b: 与 model 组比较, $P < 0.05$; c: 与 Cur-H 组比较, $P < 0.05$ 。

减轻细菌性脑膜炎新生大鼠的神经损伤。但姜黄素与STAT1相互作用的精确分子模式(例如是直接结合还是通过某个中间蛋白结合)仍需进一步探索。

需要注意的是,姜黄素可同时减少细菌性脑膜炎新生大鼠海马及皮质组织中细胞凋亡(凋亡细胞百分比显著降低)和细胞焦亡(GSDMD表达显著下调)。凋亡和焦亡是两种不同的程序性细胞死亡类型,但二者存在复杂的交叉关系:一方面,GSDMD作为焦亡的执行者,其不完全切割的产物可能具有促凋亡活性;另一方面,这两种细胞死亡方式共享STAT1/NLRP3这一上游触发信号通路^[20]。本研究结果显示,姜黄素可有效抑制STAT1/NLRP3信号通路。NLRP3炎症小体的激活是诱导caspase-1依赖性GSDMD切割和焦亡的核心环节;同时,由该炎症小体介导的强烈炎症环境(如高水平IL-1β)亦是促进细胞凋亡的重要刺激因素之一。因此,本课题组推测,姜黄素通过靶向STAT1/NLRP3这一关键通路,从源头上平息了“神经炎症风暴”,从而协同阻断了由此引发的细胞凋亡和焦亡级联反应,这可能是该成分发挥神经保护作用的核心机制之一。

本研究尚有一些不足之处:首先,所用改良Loeffler评分法源于成年大鼠,尚缺乏适用于新生啮齿类动物的相关评分标准;其次,未能明确发生焦亡的具体细胞类型,后续将进一步予以完善。

综上所述,姜黄素可改善细菌性脑膜炎新生大鼠脑水肿及血脑屏障损伤,减轻神经炎症,抑制细胞凋亡和焦亡,进而缓解神经损伤,其机制可能与抑制STAT1/NLRP3信号通路有关。

参考文献

- [1] BULAEVA A, DERBER C. Bacterial meningitis[J]. Med Clin North Am, 2025, 109(3):587-599.
- [2] TAVARES T, PINHO L, BONIFÁCIO ANDRADE E. Group B streptococcal neonatal meningitis[J]. Clin Microbiol Rev, 2022, 35(2):e0007921.
- [3] GRES V, KOLTER J, ERNY D, et al. The role of CNS macrophages in streptococcal meningoencephalitis[J]. J Leukoc Biol, 2019, 106(1):209-218.
- [4] KIM J Y, PATON J C, BRILES D E, et al. *Streptococcus pneumoniae* induces pyroptosis through the regulation of autophagy in murine microglia[J]. Oncotarget, 2015, 6 (42):44161-44178.
- [5] HE H L, ZHANG X M, HE H, et al. Microglial priming by IFN-γ involves STAT1-mediated activation of the NLRP3 inflammasome[J]. CNS Neurosci Ther, 2024, 30 (10):e70061.
- [6] GAO Z F, XIE S, WANG L Y, et al. Hypidone hydrochloride (YL-0919) protects mice from meningitis via Sigma1R-STAT1-NLRP3-GSDMD pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 128:111524.
- [7] LIU S Y, LIU J, HE L, et al. A comprehensive review on the benefits and problems of curcumin with respect to human health[J]. Molecules, 2022, 27(14):4400.
- [8] 李庆彬,岳振东,赵博,等.姜黄素调节BDNF/TrkB信号通路对细菌性脑膜炎新生大鼠神经元凋亡的影响[J].现代生物医学进展,2024,24(8):1411-1417,1438.
- [9] WANG F, XIA J J, SHEN L J, et al. Curcumin attenuates intracerebral hemorrhage-induced neuronal apoptosis and neuroinflammation by suppressing JAK1/STAT1 pathway [J]. Biochem Cell Biol, 2022, 100(3):236-245.
- [10] DU X X, AMIN N, XU L H, et al. Pharmacological intervention of curcumin via the NLRP3 inflammasome in ischemic stroke[J]. Front Pharmacol, 2023, 14:1249644.
- [11] 赵玲玲,殷萍,邹华芳,等.新生SD大鼠细菌性脑膜炎动物模型的建立[J].中国现代医学杂志,2006,16(19):2891-2896.
- [12] LOEFFLER J M, RINGER R, HABLÜTZEL M, et al. The free radical scavenger alpha-phenyl-tert-butyl nitrone aggravates hippocampal apoptosis and learning deficits in experimental pneumococcal meningitis[J]. J Infect Dis, 2001, 183(2):247-252.
- [13] FANG X, WANG H L, ZHUO Z H, et al. miR-141-3p inhibits the activation of astrocytes and the release of inflammatory cytokines in bacterial meningitis through downregulating HMGB1[J]. Brain Res, 2021, 1770:147611.
- [14] WU S G, GUO T, QI W X, et al. Curcumin ameliorates ischemic stroke injury in rats by protecting the integrity of the blood-brain barrier[J]. Exp Ther Med, 2021, 22 (1):783.
- [15] LIU P, WANG X Y, YANG Q, et al. Collaborative action of microglia and astrocytes mediates neutrophil recruitment to the CNS to defend against *Escherichia coli* K1 infection[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(12):6540.
- [16] CIANCIULLI A, CALVELLO R, RUGGIERO M, et al. Inflammaging and brain: curcumin and its beneficial potential as regulator of microglia activation[J]. Molecules, 2022, 27(2):341.
- [17] COSTA A, GUPTA R, SIGNORINO G, et al. Activation of the NLRP3 inflammasome by group B streptococci[J]. J Immunol, 2012, 188(4):1953-1960.
- [18] WANG J Y, KANG L H, XU W L, et al. Progranulin plays a protective role in pneumococcal meningitis by inhibiting pyroptosis[J]. Immun Inflamm Dis, 2025, 13(2):e70140.
- [19] TOLOMEO M, CAVALLI A, CASCIO A. STAT1 and its crucial role in the control of viral infections[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(8):4095.
- [20] LI P P, GAO Y Y, TAO Z X, et al. PANoptosis: cross-talk among apoptosis, necroptosis, and pyroptosis in neurological disorders[J]. J Inflamm Res, 2025, 18:8131-8140.

(收稿日期:2025-07-16 修回日期:2025-11-07)

(编辑:张元媛)