

# 刺五加苷 B 调控 IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B 信号通路对帕金森病模型小鼠的神经保护作用及机制<sup>A</sup>

王晓丽<sup>1\*</sup>, 荣 华<sup>2</sup>, 潘思文<sup>3</sup>, 于春磊<sup>2</sup>, 徐天娇<sup>2</sup>, 孙 宇<sup>2</sup>, 丛 欢<sup>1</sup>, 庞 雨<sup>4</sup>, 陈 刚<sup>5</sup>, 李晓明<sup>2#</sup>(1. 齐齐哈尔医学院药学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 齐齐哈尔医学院医药科学研究院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 3. 齐齐哈尔医学院病理学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 4. 齐齐哈尔医学院附属第二医院神经内四科, 黑龙江 齐齐哈尔 161000; 5. 齐齐哈尔医学院科研处, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

中图分类号 R743.3 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)08-0998-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.08.05



**摘要** **目的** 探讨刺五加苷 B(ELB)调控 I $\kappa$ B 激酶  $\beta$ (IKK $\beta$ )/核因子  $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)信号通路对帕金森病(PD)模型小鼠的神经保护作用及机制。**方法** 将 50 只小鼠随机分为正常对照组、模型组、阳性对照(盐酸司来吉兰, 10 mg/kg)组和 ELB 低、高剂量组(80、160 mg/kg), 每组 10 只。各组小鼠灌胃相应药物或生理盐水, 连续 14 d; 从第 10 天起, 模型组和各给药组小鼠腹腔注射 1-甲基-4-苯基-1, 2, 3, 6-四氢吡啶 30 mg/kg, 连续 5 d, 诱导慢性 PD 模型。末次给药 24 h 后, 每组随机选取 6 只小鼠, 测试行为能力(以转棒停留时间和攀爬评分); 检测脑组织中白细胞介素 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、IL-10、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平及其 mRNA 表达, 酪氨酸羟化酶(TH)阳性表达, TH、 $\alpha$ -突触核蛋白( $\alpha$ -syn)、离子钙结合衔接分子 1(Iba-1)蛋白表达和 IKK $\beta$ 、NF- $\kappa$ B p65 蛋白磷酸化水平; 观察脑黑质组织中神经元超微结构。**结果** 与模型组比较, 各给药组小鼠转棒停留时间和攀爬评分(ELB 低剂量组除外)均显著增加( $P < 0.05$ ); 脑组织中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平和其 mRNA 表达(ELB 低剂量组 TNF- $\alpha$  除外)以及  $\alpha$ -syn、Iba-1 蛋白表达和 IKK $\beta$ 、NF- $\kappa$ B p65 蛋白的磷酸化水平均显著降低/下调, IL-10 水平(ELB 低剂量组除外)及其 mRNA 表达、TH 阳性表达和蛋白表达均显著升高/上调( $P < 0.05$ ); 神经元核固缩、线粒体肿胀空泡、内质网扩张等典型神经退行性病变均有不同程度改善。**结论** ELB 可能通过抑制 IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B 信号通路激活, 减轻炎症反应、减少  $\alpha$ -syn 异常聚集及神经元丢失, 进而改善 PD 小鼠运动功能障碍, 发挥神经保护作用。

**关键词** 刺五加苷 B; 帕金森病; 行为能力; 神经炎症; 神经保护; IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B 信号通路

## Neuroprotective effect and mechanism of eleutheroside B on Parkinson's disease model mice by regulating the IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B signaling pathway

WANG Xiaoli<sup>1</sup>, RONG Hua<sup>2</sup>, PAN Siwen<sup>3</sup>, YU Chunlei<sup>2</sup>, XU Tianjiao<sup>2</sup>, SUN Yu<sup>2</sup>, CONG Huan<sup>1</sup>, PANG Yu<sup>4</sup>, CHEN Gang<sup>5</sup>, LI Xiaoming<sup>2</sup>(1. School of Pharmacy, Qiqihar Medical University, Heilongjiang Qiqihar 161006, China; 2. Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Qiqihar Medical University, Heilongjiang Qiqihar 161006, China; 3. College of Pathology, Qiqihar Medical University, Heilongjiang Qiqihar 161006, China; 4. Dept. of the 4th Neurology, the Second Affiliated Hospital of Qiqihar Medical University, Heilongjiang Qiqihar 161000, China; 5. Dept. of Scientific Research, Qiqihar Medical University, Heilongjiang Qiqihar 161006, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To investigate the neuroprotective effect and mechanism of eleutheroside B (ELB) on Parkinson's disease (PD) model mice by regulating the I $\kappa$ B kinase  $\beta$  (IKK $\beta$ )/nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) signaling pathway. **METHODS** Fifty mice were randomly divided into normal control group, model group, positive control group (selegiline hydrochloride, 10 mg/kg), and ELB low-dose and high-dose groups (80, 160 mg/kg), with 10 mice in each group. Each group was given relevant medicine or normal saline intragastrically for 14 consecutive days. Starting from the 10th day of administration, the model group and all administration groups were intraperitoneally injected with 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP) 30 mg/kg, for five consecutive days to establish the chronic PD model. After the last administration for 24 h, six mice were randomly selected from each group to test their

**△ 基金项目** 国家自然科学基金项目(No.82505000); 齐齐哈尔市科技计划联合引导项目(No.LSFGG-2025136); 齐齐哈尔医学院临床科研基金项目(No. QMSI2024L-01, No. QMSI2024L-09); 齐齐哈尔医学院重点学科建设项目(No.QYZDXK-007); 齐齐哈尔医学院面上项目(No.QMSI2024M-09)

\* 第一作者 副教授, 博士。研究方向: 中药的药理作用及其作用机制。E-mail: ccwxl@126.com

# 通信作者 副研究员, 硕士。研究方向: 中药药理学。E-mail: Liming992@126.com

and ELB low-dose and high-dose groups (80, 160 mg/kg), with 10 mice in each group. Each group was given relevant medicine or normal saline intragastrically for 14 consecutive days. Starting from the 10th day of administration, the model group and all administration groups were intraperitoneally injected with 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP) 30 mg/kg, for five consecutive days to establish the chronic PD model. After the last administration for 24 h, six mice were randomly selected from each group to test their

behavioral abilities; detect the levels of interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-10, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in brain tissue and their mRNA expressions were measured, and positive expression of tyrosine hydroxylase (TH), protein expressions of TH,  $\alpha$ -synuclein ( $\alpha$ -syn), ionized calcium-binding adaptor molecule 1 (Iba-1), as well as phosphorylation levels of IKK $\beta$  and NF- $\kappa$ B p65 proteins in the brain tissue were detected. The ultrastructure of neurons in substantia nigra was observed. **RESULTS** Compared with the model group, rotarod endurance time and climbing score of each administration group (except for the ELB low-dose group) were increased significantly ( $P < 0.05$ ), while the levels and mRNA expressions of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ,  $\alpha$ -syn, and Iba-1, as well as phosphorylation levels of IKK $\beta$  and NF- $\kappa$ B p65 proteins in brain tissue were decreased significantly (except for TNF- $\alpha$  in the ELB low-dose group). Conversely, the level and mRNA expression of IL-10 (except for the ELB low-dose group), TH positive expression and protein expressions were significantly increased ( $P < 0.05$ ). Typical neurodegenerative pathological changes, such as neuronal karyopyknosis, mitochondrial swelling and vacuolization, and endoplasmic reticulum dilation, all showed varying degrees of improvement. **CONCLUSIONS** ELB may exert neuroprotective effects by inhibiting the activation of the IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B signaling pathway, alleviating inflammatory responses, reducing abnormal  $\alpha$ -syn aggregation and neuronal loss, and further improving motor dysfunction in PD mice.

**KEYWORDS** eleutheroside B; Parkinson's disease; behavioral ability; neuroinflammation; neuroprotection; IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B signaling pathway

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种常见的与年龄相关的神经退行性疾病,以中脑黑质致密部多巴胺能神经元进行性大量丢失和神经元胞体内路易体的异常聚集为主要病理特征<sup>[1]</sup>,临床表现为运动迟缓、肌肉僵硬、静息性震颤和姿势不稳等神经退行性运动障碍,严重影响患者的工作和生活。目前PD发病机制尚未明确,也缺乏有效治疗手段。神经炎症是驱动神经退行性病变的关键因素之一,已有研究证实,其在PD病理生理过程中发挥重要作用<sup>[2]</sup>。

在PD病理微环境下, $\alpha$ -突触核蛋白( $\alpha$ -synuclein,  $\alpha$ -syn)异常聚集、氧化应激及炎症因子等刺激可显著激活I $\kappa$ B激酶 $\beta$ (I $\kappa$ B kinase  $\beta$ , IKK $\beta$ ),进而通过磷酸化降解I $\kappa$ B蛋白促使核因子 $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)解离并转入细胞核内,启动下游促炎基因转录,大量释放白细胞介素1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等炎症因子,引发过度神经炎症;而持续放大的炎症反应又会进一步加剧多巴胺能神经元损伤、促进 $\alpha$ -syn聚集与路易体生成,并形成恶性循环,推动神经退行性病变进展<sup>[3]</sup>。由此可见,IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B信号通路可能是干预PD的重要潜在靶点。

刺五加苷B(eleutheroside B, ELB)是刺五加的主要活性成分之一,具有抗炎、抗脑缺血、抗衰老等多种生物学功能<sup>[4]</sup>。现代研究表明,ELB可通过抑制脂多糖诱导的一氧化氮生成,降低炎症因子水平,发挥抗炎活性<sup>[5]</sup>。笔者前期研究发现,刺五加有效组分具有神经保护作用,故推测ELB可能通过抑制IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B信号通路发挥该作用。为验证此假说,本研究采用1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)诱导小鼠PD模型,探讨ELB对多巴胺能神经元的保护作用,并基于IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B信号通路阐明其通过抑制炎症反应改善小鼠运动能力的机制,旨在为PD的治疗提供参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括ELX800型全自动酶标仪(美国BioTek公司)、HT7700型透射电子显微镜(日本

HITACHI公司)、SA102型转棒疲劳仪(江苏赛昂斯生物科技有限公司)、Stratagene Mx3 005P型实时定量聚合酶链式反应(PCR)仪(美国Agilent公司)、CKX41型倒置显微镜(日本Olympus公司)、SmartChemi II一体式化学发光成像仪(北京赛智创业科技有限公司)。

### 1.2 主要药品与试剂

ELB对照品(纯度 $\geq 98\%$ ,批号S3293AB93)购于上海吉至生化科技有限公司;MPTP(批号M0896)购于美国Sigma公司;盐酸司来吉兰片(阳性对照药物,规格5 mg,批号2223732,国药准字HJ20160342)购于芬兰Orion Corporation公司;IL-10、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒和兔抗小鼠p-IKK $\beta$ 、IKK $\beta$ 多克隆抗体(批号分别为PI522、PI301、PT512、AF5839、AF7200)均购于北京碧云天生物技术有限公司;兔抗小鼠酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)多克隆抗体和兔抗小鼠核纤层蛋白B1(Lamin B1)单克隆抗体(批号分别为#58844、2118S、#13435)均购于美国Cell Signaling公司;兔抗小鼠 $\alpha$ -syn、离子钙结合衔接分子1(ionized calcium-binding adaptor molecule 1, Iba-1)多克隆抗体(批号分别为ab212184、ab16667)均购于英国Abcam公司;兔抗小鼠磷酸化NF- $\kappa$ B(phosphorylated-NF- $\kappa$ B, p-NF- $\kappa$ B p65)、NF- $\kappa$ B p65多克隆抗体(批号分别为sc-136548、sc-71677)均购于美国Santa Cruz公司;DAB免疫组化试剂盒、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(批号分别为00011404、CW0103S)均购于康为世纪生物科技有限公司;IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-10、GAPDH引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

### 1.3 实验动物

SPF级C57BL/6J雄性健康小鼠50只,7~8周龄,体重(25 $\pm$ 3)g,由哈尔滨医科大学实验动物学部提供,实验动物生产许可证号:SCXK(黑)2019-001。小鼠饲养于齐齐哈尔医学院实验动物中心恒温动物房内聚碳酸酯笼中,光照/黑暗每12 h交替1次,自由摄食、饮水。本文涉及的实验动物使用方案经齐齐哈尔医学院动物伦

理委员会批准,编号:(齐医)动审【2023】79号(QMU-AECC-2023-79)。

## 2 方法与结果

### 2.1 分组、造模与给药

将50只小鼠随机分为正常对照组、模型组、ELB低剂量组(80 mg/kg)、ELB高剂量组(160 mg/kg)和阳性对照组(盐酸司来吉兰片,10 mg/kg),每组10只,ELB给药剂量根据前期预实验结果设定,盐酸司来吉兰片剂量根据临床常用剂量换算。小鼠自由适应性喂养1周后开始实验,从实验第1天起,各给药组小鼠每天灌胃相应溶液,正常对照组和模型组小鼠灌胃生理盐水,给药体积为0.4 mL,连续14 d。从实验第10天起,模型组和各给药组小鼠腹腔注射MPTP 30 mg/kg,连续5 d,诱导慢性PD模型<sup>[9]</sup>;正常对照组小鼠腹腔注射生理盐水0.1 mL。

### 2.2 小鼠行为能力测试

#### 2.2.1 转棒实验

转棒实验根据相关报道<sup>[7]</sup>加以改进后开展。实验第12天每组随机选取6只小鼠进行行为学转棒训练。训练时,转棒疲劳仪的转速为15 r/min,每天训练120 s,连续训练3 d。末次给药24 h后进行正式测试,转棒疲劳仪的初始转速为4 r/min,最高转速为40 r/min,加速度为20 r/min,实验时间为5 min,记录从旋转开始到小鼠离开杆的时间,作为转棒停留时间。每只小鼠测试3次,两次测试间隔1 h,取均值,结果以正常对照组数值为标准进行归一化处理。

#### 2.2.2 爬杆实验

转棒实验结束后,选用长50 cm、直径1 cm的木杆子,进行爬杆实验。记录每组随机6只小鼠通过杆子爬到地板上的时间,并根据攀爬时间进行评分:>6 s为1分,3~6 s为2分,<3 s为3分<sup>[9]</sup>。小鼠从杆子上掉落视为无效。每只小鼠测完后,均用75%乙醇溶液清洁木杆子。每只小鼠测试3次,取均值,结果以正常对照组数值为标准进行归一化处理。实验数据的最终产出环节(即评分与分析阶段)严格采用“单盲”评估。

### 2.3 样本采集

小鼠行为能力测试完成后,用乙醚麻醉并脱颈处死,快速摘取脑组织,于冰上分离脑黑质,备用。

### 2.4 脑组织中炎症因子水平检测

取“2.3”项下每组随机6只小鼠脑组织,置于提前预冷的裂解液中冰浴30 min,以12 000 r/min离心5 min,取上清液,按照ELISA试剂盒说明书操作,于酶标仪中检测吸光度值,并计算IL-1 $\beta$ 、IL-10、TNF- $\alpha$ 水平,结果以正常对照组数值为标准进行归一化处理。

### 2.5 脑黑质组织超微结构观察

取“2.3”项下每组随机6只小鼠部分脑黑质组织,置于2.5%戊二醛溶液中,于4℃固定过夜;次日取出并迅速切至米粒大小,转移至EP管内,用0.1 mol/L磷酸盐缓冲液洗涤3次;随后于4℃下以1%锇酸固定2 h,经梯度乙醇逐级脱水后,置于环氧丙酮与环氧树脂(体积比为

1:1)混合液中浸透,以纯树脂包埋,制备超薄切片,贴附于铜网上;用醋酸铀染色20 min、枸橼酸铅染色15 min后,置于透射电子显微镜下观察超微结构。

### 2.6 脑组织中TH阳性表达检测

取“2.3”项下每组随机6只小鼠脑组织,用4%福尔马林溶液固定24 h,然后进行程序脱水、包埋、切片,按照DAB免疫组化试剂盒说明书操作,于倒置显微镜下观察并拍照,利用Image J软件分析棕黄色颗粒(TH阳性表达)的光密度(optical density, OD),结果以正常对照组数值为标准进行归一化处理。

### 2.7 脑组织中蛋白表达检测

从“2.3”项下每组随机6只小鼠脑组织中提取蛋白,测定浓度后,加热变性。取变性蛋白,电泳分离、转膜后,用5%脱脂牛奶封闭2 h,加入TH、 $\alpha$ -syn、Iba-1、p-IKK $\beta$ 、IKK $\beta$ 、p-NF- $\kappa$ B p65、Lamin B1和GAPDH一抗(稀释比例分别为1:1 000、1:1 000、1:2 000、1:2 000、1:2 000、1:2 000、1:2 000、1:2 000),于37℃下孵育4 h;TBST洗涤3次后,再与辣根过氧化物酶标记的二抗(稀释比例为1:2 000)在37℃下孵育2 h;TBST洗涤后,加入ECL荧光检测剂,曝光显影后于一体式化学发光成像仪内扫描分析条带灰度值。以p-IKK $\beta$ /IKK $\beta$ 和p-NF- $\kappa$ B p65/Lamin B1比值表示IKK $\beta$ 、NF- $\kappa$ B p65蛋白的磷酸化水平,其余以目的蛋白与内参蛋白(GAPDH)的灰度值比值表示目的蛋白的表达水平。

### 2.8 脑组织中IL-1 $\beta$ 、IL-10、TNF- $\alpha$ mRNA表达检测

从“2.3”项下每组随机6只小鼠脑组织中提取总RNA,逆转录成cDNA,并进行实时PCR扩增。PCR反应体系总体积为20  $\mu$ L,包括cDNA模板2  $\mu$ L,dNTP溶液1.6  $\mu$ L,正、反向引物各0.8  $\mu$ L,BeyoTaq Buffer溶液2  $\mu$ L,BeyoTaq DNA Polymerase溶液0.1  $\mu$ L,用双蒸水加至20  $\mu$ L。PCR扩增条件为95℃预变性30 s;95℃变性5 s、60℃退火延伸31 s,共40个循环。以GAPDH为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算脑组织中IL-1 $\beta$ 、IL-10、TNF- $\alpha$  mRNA的相对表达量,并以正常对照组数值为标准进行归一化处理。引物序列与扩增产物长度见表1。

表1 引物序列与扩增产物长度

基因	引物序列	扩增产物长度/bp
IL-1 $\beta$	正向:5'-TGGTGTGTGACGTTC3'	112
	反向:5'-TGCCATTGAGGTGAGAG-3'	
TNF- $\alpha$	正向:5'-GCAAAGGAGAGTGGTCA-3'	128
	反向:5'-CTGGCTCTGTGAGGAAGG-3'	
IL-10	正向:5'-TTCACAAGTCGGAGGCTTA-3'	107
	反向:5'-CAAGTGATCATCGTTGTTTC-3'	
GAPDH	正向:5'-CCTCGTCCCGTAGACAAAATG-3'	113
	反向:5'-TGAGGTCAATGAAGGGTCTG-3'	

### 2.9 统计学分析

采用SPSS 18.0软件对数据进行统计分析。采用Shapiro-Wilk检验进行正态性分析,呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用SNK检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

### 3 结果

#### 3.1 ELB对小鼠行为能力的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠转棒停留时间和攀爬评分均显著降低( $P<0.05$ )。与模型组比较,各给药组小鼠转棒停留时间和攀爬评分(ELB低剂量组除外)均显著升高( $P<0.05$ )。结果见表2。

表2 各组小鼠行为能力比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	转棒停留时间	攀爬评分
正常对照组	1.00±0.14	1.00±0.00
模型组	0.46±0.05 <sup>a</sup>	0.41±0.14 <sup>a</sup>
ELB低剂量组	0.53±0.07 <sup>b</sup>	0.52±0.17
ELB高剂量组	0.71±0.06 <sup>b</sup>	0.76±0.15 <sup>b</sup>
阳性对照组	0.62±0.08 <sup>b</sup>	0.61±0.17 <sup>b</sup>

a:与正常对照组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

#### 3.2 ELB对小鼠脑组织中炎症因子水平的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠脑组织中IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 水平均显著升高,IL-10水平显著降低( $P<0.05$ )。与模型组比较,各给药组小鼠脑组织中IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 水平均显著降低,IL-10(ELB低剂量组除外)水平均显著升高( $P<0.05$ )。结果见表3。

表3 各组小鼠脑组织中IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-10水平比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$	IL-10
正常对照组	1.00±0.14	1.00±0.09	1.00±0.11
模型组	2.84±0.31 <sup>a</sup>	2.94±0.32 <sup>a</sup>	0.28±0.02 <sup>a</sup>
ELB低剂量组	2.49±0.26 <sup>b</sup>	2.62±0.28 <sup>b</sup>	0.33±0.04
ELB高剂量组	1.86±0.19 <sup>b</sup>	1.96±0.20 <sup>b</sup>	0.57±0.07 <sup>b</sup>
阳性对照组	2.32±0.24 <sup>b</sup>	2.40±0.27 <sup>b</sup>	0.44±0.05 <sup>b</sup>

a:与正常对照组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

#### 3.3 ELB对小鼠脑黑质组织中神经元超微结构与脑组织中TH阳性表达的影响

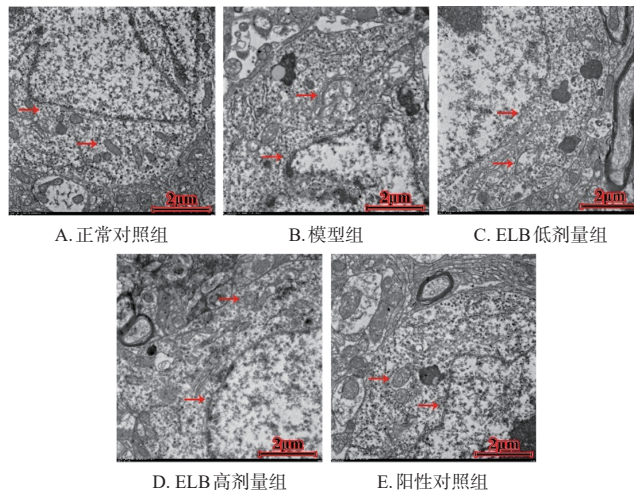
与正常对照组比较,模型组小鼠脑黑质组织中神经元出现核固缩、线粒体肿胀空泡、内质网扩张等典型神经退行性病变,TH阳性表达和蛋白表达均显著下调( $P<0.05$ )。与模型组比较,各给药组小鼠的神经退行性病变均有不同程度改善,TH阳性表达和蛋白表达均显著上调( $P<0.05$ )。结果见图1、图2和表4。

#### 3.4 ELB对小鼠脑组织中IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B信号通路相关蛋白表达的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠脑组织中 $\alpha$ -syn、Iba-1蛋白表达水平和IKK $\beta$ 、NF- $\kappa$ B p65蛋白的磷酸化水平均显著升高( $P<0.05$ )。与模型组比较,各给药组小鼠脑组织中 $\alpha$ -syn、Iba-1蛋白表达水平和IKK $\beta$ 、NF- $\kappa$ B p65蛋白的磷酸化水平均显著降低( $P<0.05$ )。结果见图2和表5。

#### 3.5 ELB对小鼠脑组织中IL-1 $\beta$ 、IL-10、TNF- $\alpha$ mRNA表达的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠脑组织中IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  mRNA表达均显著上调,IL-10 mRNA表达显著下调( $P<0.05$ )。与模型组比较,各给药组小鼠脑组织中IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ (ELB低剂量组除外)mRNA表达均显



注:红色箭头指示病变部位。

图1 各组小鼠脑黑质组织中神经元超微结构图

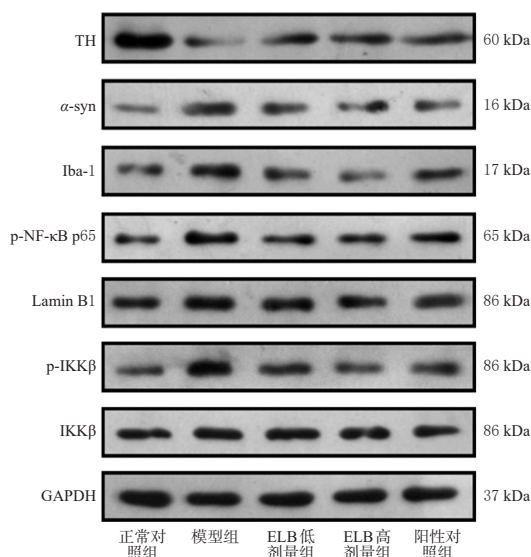


图2 各组小鼠脑组织中蛋白表达的电泳图

表4 各组小鼠脑组织中TH阳性表达和蛋白表达比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	TH阳性表达OD值	TH/GAPDH
正常对照组	1.00±0.13	196.54±17.94
模型组	0.28±0.03 <sup>a</sup>	43.95±5.26 <sup>a</sup>
ELB低剂量组	0.36±0.03 <sup>b</sup>	85.89±7.50 <sup>b</sup>
ELB高剂量组	0.61±0.07 <sup>b</sup>	125.88±15.95 <sup>b</sup>
阳性对照组	0.83±0.06 <sup>b</sup>	127.45±16.69 <sup>b</sup>

a:与正常对照组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

表5 各组小鼠脑组织中IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B信号通路相关蛋白的表达比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	$\alpha$ -syn/GAPDH	Iba-1/GAPDH	p-IKK $\beta$ /IKK $\beta$	p-NF- $\kappa$ B p65/Lamin B1
正常对照组	21.65±2.59	37.23±3.29	11.99±1.30	18.88±2.38
模型组	132.76±16.82 <sup>a</sup>	129.14±16.30 <sup>a</sup>	61.94±7.59 <sup>a</sup>	125.92±15.35 <sup>a</sup>
ELB低剂量组	95.53±10.81 <sup>b</sup>	106.74±11.85 <sup>b</sup>	51.89±6.37 <sup>b</sup>	110.01±13.02 <sup>b</sup>
ELB高剂量组	69.40±8.78 <sup>b</sup>	64.03±6.97 <sup>b</sup>	30.82±4.14 <sup>b</sup>	81.06±10.91 <sup>b</sup>
阳性对照组	76.60±9.23 <sup>b</sup>	95.29±8.45 <sup>b</sup>	41.17±4.84 <sup>b</sup>	103.18±12.87 <sup>b</sup>

a:与正常对照组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

著下调,IL-10 mRNA 表达均显著上调( $P<0.05$ )。结果见表6。

表6 各组小鼠脑组织中IL-1 $\beta$ 、IL-10、TNF- $\alpha$  mRNA 表达比较( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	IL-1 $\beta$	IL-10	TNF- $\alpha$
正常对照组	1.00 $\pm$ 0.06	1.00 $\pm$ 0.05	1.00 $\pm$ 0.05
模型组	3.09 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	0.28 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	2.86 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>
ELB低剂量组	2.84 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>	0.34 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	2.70 $\pm$ 0.15
ELB高剂量组	1.89 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	0.66 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	1.74 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>
阳性对照组	2.33 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>	0.48 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	2.33 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>

a:与正常对照组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

## 4 讨论

MPTP是一种在PD研究中广泛应用神经毒素,可选择性诱导黑质多巴胺能神经元丢失及路易体聚集,而使机体出现震颤、运动迟缓等典型PD样行为表现<sup>[9]</sup>。多巴胺能神经元的进行性丢失是PD发病的核心环节,且与运动症状的出现密切相关<sup>[9]</sup>。TH是多巴胺能神经元特异性标志酶,其表达水平可直接反映黑质多巴胺能神经元的数量与功能状态。本研究采用转棒实验与爬杆实验评价ELB对小鼠行为能力的影响,并通过检测TH表达及观察神经元超微结构评估神经元损伤情况。结果显示,与正常对照组比较,模型组小鼠行为能力显著下降,TH阳性表达显著降低,神经元超微结构出现神经退行性病变;经低、高剂量ELB干预后可显著逆转上述改变(ELB低剂量组攀爬评分除外),表明ELB对多巴胺能神经元具有明显神经保护作用,并能改善PD小鼠的运动功能障碍。

$\alpha$ -syn聚集与路易体形成是PD的关键病理特征。病理型 $\alpha$ -syn可通过结合小胶质细胞表面Toll样受体2/4等,经IKK复合物介导I $\kappa$ B $\alpha$ 磷酸化降解,释放NF- $\kappa$ B入核,进而促进NOD样受体蛋白炎症小体及炎症因子(IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ )的转录与释放,最终介导神经毒性损伤<sup>[10]</sup>。Iba-1为小胶质细胞活化标志物,TNF- $\alpha$ 是加剧PD神经退行性病变的关键因子。一方面,TNF- $\alpha$ 可诱导神经元凋亡;另一方面,TNF- $\alpha$ 可激活NF- $\kappa$ B通路,上调 $\alpha$ -syn表达并抑制自噬-溶酶体功能,形成病理恶性循环<sup>[11]</sup>。IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B信号通路是介导神经炎症反应的核心信号通路,活化的IKK $\beta$ 可磷酸化I $\kappa$ B $\alpha$ 并导致其降解,释放NF- $\kappa$ B入核,启动下游炎症因子转录,最终介导神经退行性损伤<sup>[12]</sup>。本研究结果显示,与正常对照组比较,模型组小鼠脑组织中 $\alpha$ -syn、Iba-1蛋白表达水平和IKK $\beta$ 、NF- $\kappa$ B p65蛋白的磷酸化水平均显著升高;经低、高剂量ELB干预后可显著逆转上述改变,表明ELB的神经保护作用可能与抑制IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B信号通路相关。

IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 为促炎因子,IL-10为抗炎因子。本研究结果显示,与正常对照组比较,模型组小鼠脑组织中IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 水平及mRNA表达均显著升高/上调,IL-10水平及mRNA均显著降低/下调;经高剂量ELB干预后可显著逆转上述改变,而低剂量ELB干预仅能显著逆转IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 的改变。可见针对PD小鼠,高剂量

ELB表现出更稳定的抗炎效果。

综上所述,ELB可能通过抑制IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B信号通路激活,减轻炎症反应、减少 $\alpha$ -syn异常聚集及神经元丢失,进而改善PD小鼠运动功能障碍,发挥神经保护作用。值得注意的是,本研究采用预防性给药(造模前即开始干预),与临床实际用药时机不符,可能高估ELB的疗效,后续还需进一步验证。

## 参考文献

- [1] BEN-SHLOMO Y, DARWEEESH S, LLIBRE-GUERRA J, et al. The epidemiology of Parkinson's disease[J]. Lancet, 2024, 403(10423):283-292.
- [2] MORRIS H R, SPILLANTINI M G, SUE C M, et al. The pathogenesis of Parkinson's disease[J]. Lancet, 2024, 403(10423):293-304.
- [3] ZHANG J, ZHANG R, LI W, et al. I $\kappa$ B kinase  $\beta$  (IKK $\beta$ ): structure, transduction mechanism, biological function, and discovery of its inhibitors[J]. Int J Biol Sci, 2023, 19(13):4181-4203.
- [4] ZHANG Z C, WU Y H, SHI D, et al. *Acanthopanax senticosus* improves cognitive impairment in Alzheimer's disease by promoting the phosphorylation of the MAPK signaling pathway[J]. Front Immunol, 2024, 15:1383464.
- [5] HE Y C, ZHANG H Y, ZHANG X, et al. Eleutheroside B alleviates oxidative stress and neuroinflammation by inhibiting the JAK2/STAT3 signaling pathway in a rat high altitude cerebral edema model[J]. Front Pharmacol, 2024, 15:1506483.
- [6] RONG H, LI X M, YU C L, et al. Targeting the Nrf2-dependent mechanism of b-ecdysterone in attenuating the motor dysfunction in the MPTP/pro-induced Parkinson's disease mice model[J]. Folia Neuropathol, 2024, 62(1):83-95.
- [7] 高钦,丁红光,孙福生,等.低分子量硫酸软骨素对MPTP致帕金森病模型小鼠多巴胺能神经元的保护作用[J].中国药房,2019,30(8):1025-1030.
- [8] DELIZ J R, TANNER C M, GONZALEZ-LATAPI P. Epidemiology of Parkinson's disease: an update[J]. Curr Neurol Neurosci Rep, 2024, 24(6):163-179.
- [9] CHU Y P, HIRST W D, FEDEROFF H J, et al. Nigrostriatal tau pathology in Parkinsonism and Parkinson's disease[J]. Brain, 2024, 147(2):444-457.
- [10] LIM S Y, KLEIN C. Parkinson's disease is predominantly a genetic disease[J]. J Parkinsons Dis, 2024, 14(3):467-482.
- [11] WANG L J, YI H Y, LIANG X J, et al. Plasma TNF- $\alpha$  and phosphorylated  $\alpha$ -syn are associated with fatigue in patients with Parkinson's disease[J]. J Neuroimmunol, 2023, 385:578222.
- [12] GUO Q, JIN Y Z, CHEN X Y, et al. NF- $\kappa$ B in biology and targeted therapy: new insights and translational implications[J]. Signal Transduct Target Ther, 2024, 9:53.

(收稿日期:2025-12-18 修回日期:2026-03-24)

(编辑:李 劲)