

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2025.02.004
文章编号: 1005-8982 (2025) 02-0019-07

实验研究·论著

虫草多糖通过IL-23/IL-17通路对缺血性 脑卒中大鼠的作用及其机制研究*

席赛文¹, 刘振权^{1,2}, 齐慧明³, 王慧章³, 孙树勇³, 汤轶波³

(1.北京中医药大学 中药学院, 北京 102488; 2.长春中医药大学 药学院,
吉林 长春 130117; 3.北京中医药大学 中医学院, 北京 102488)

摘要: **目的** 探讨虫草多糖(CSP)通过白细胞介素-23(IL-23)/IL-17通路对缺血性脑卒中(IS)大鼠模型的作用及其机制。**方法** 将大鼠分为假手术组、模型组、脑心通组、虫草多糖低剂量组、虫草多糖高剂量组,利用大脑中动脉栓塞(MCAO)复制大鼠IS模型,术后3 d用激光散斑检测脑血流变化;以Bederson评分、改良大鼠神经功能缺损评分对大鼠神经功能进行评估;利用苏木精-伊红、尼氏体染色法观察各组大鼠脑组织病理形态学变化;使用Western blotting检测脑组织中IL-23/IL-17通路中IL-23、IL-23R、IL-17、ACT、TRAF6蛋白表达。**结果** 各组大鼠模型复制后神经功能学评分较假手术组高($P < 0.05$);除假手术组外,各组间两两比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。脑心通组模型复制后3 d神经功能学评分较模型组低($P < 0.05$),虫草多糖低剂量组、虫草多糖高剂量组较模型组低($P < 0.05$)。与假手术组比较,模型复制后大鼠患侧大脑血流明显减弱,出现大片缺血区域,患侧血流值比健侧血流值比值降低($P < 0.05$);与模型组相比,脑心通组、虫草多糖低剂量组、虫草多糖高剂量组患侧血流加强,缺血区域减少,患侧血流值比健侧血流值比值增高($P < 0.05$)。HE染色结果显示,假手术组大鼠脑组织细胞排列有序,形态正常,细胞质结构正常,淡染,细胞核大且清晰,核仁完整;模型组缺血半暗带区细胞明显呈不规则分布,排列紊乱,细胞核皱缩甚至消失,出现大量细胞坏死,组织结构损伤严重。与模型组比较,脑心通组、虫草多糖低剂量组、虫草多糖高剂量组细胞损伤均有所减轻,坏死细胞数量减少,组织形态有所恢复。尼氏体染色结果显示,假手术组神经细胞和尼氏体数量丰富,形态正常,细胞排列整齐,未见坏死细胞;与假手术组比较,模型组神经细胞出现变形,细胞排列混乱,间质疏松,尼氏体数量减少,分布边缘化;与模型组比较,脑心通组、虫草多糖低剂量组、虫草多糖高剂量组细胞状态得到改善,尼氏体数量增多,细胞形态趋于规整、排列较为整齐。模型组IL-23、IL-23R、IL-17、ACT1、TRAF6蛋白相对表达量较假手术组高,虫草多糖低剂量组、虫草多糖高剂量组较模型组低($P < 0.05$)。**结论** 证实CSP对MCAO大鼠具有一定的保护作用,并可能通过调节IL-23/IL-17相关通路来实现。

关键词: 缺血性脑卒中; 虫草多糖; IL-23/IL-17轴

中图分类号: R743.3

文献标识码: A

Effects and mechanisms of cordyceps polysaccharides on ischemic stroke in rats via the IL-23/IL-17 pathway*

Xi Sai-wen¹, Liu Zhen-quan^{1,2}, Qi Hui-ming³, Wang Hui-zhang³, Sun Shu-yong³, Tang Yi-bo³

(1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China;
2. School of Pharmaceutical Sciences, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117,
China; 3. School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine,
Beijing 102488, China)

收稿日期: 2024-08-24

* 基金项目: 中央本级重大增减支项目(No: 2060302)

[通信作者] 汤轶波, E-mail: ybtang2007@163.com

Abstract: Objective To investigate the effects of cordyceps polysaccharides (CSP) on ischemic stroke (IS) in rat models via the interleukin (IL)-23/IL-17 pathway. **Methods** Rats were randomly assigned to the sham operation group, model group, NXTJN group, low-dose CSP group, and high-dose CSP group. The rat model of IS was established using the middle cerebral artery occlusion (MCAO) method, and the change in cerebral blood flow was monitored with the laser speckle imaging for three days after the operation. The Bederson scores and the modified neurological severity (mNSS) scores were employed to assess the neurological function of rats. The pathomorphological changes in the brain tissues of rats were observed by Hematoxylin-Eosin (HE) and Nissl staining. Western blotting was used to detect the proteins involved in the IL-23/IL-17 pathway in brain tissues, including IL-23, IL-23R, IL-17, ACT1, and TRAF6. **Results** The neurological function scores in all groups with rat models were significantly higher than those in the sham operation group ($P < 0.05$). However, there were no statistically significant differences among the groups with rat models ($P > 0.05$). The neurological function scores at 3 days post-modeling were significantly lower in the NXTJN group compared to the model group ($P < 0.05$). Similarly, the scores in the low-dose and high-dose CSP groups were significantly lower than those in the model group ($P < 0.05$). Compared with the sham operation group, rat models exhibited significantly reduced cerebral blood flow on the affected side, with large ischemic areas and a lower ratio of blood flow value on the affected side to that on the unaffected side ($P < 0.05$). In comparison to the model group, the NXTJN group, low-dose CSP group, and high-dose CSP group showed increased blood flow on the affected side, reduced ischemic areas, and a higher ratio of blood flow value on the affected side to that on the unaffected side ($P < 0.05$). The HE staining results showed that the brain tissues of the sham operation group exhibited orderly cell arrangement, normal morphology, intact cytoplasmic structure with light staining, large and clear nuclei, and complete nucleoli. In contrast, the ischemic penumbra region of the model group showed irregular cell distribution, disordered cell arrangement, cellular nuclear shrinkage or disappearance, extensive cell necrosis, and severe tissue structural damage. Compared with the model group, the NXTJN group, low-dose CSP group, and high-dose CSP group showed reduced cellular damage, fewer necrotic cells, and partial restoration of tissue morphology. The Nissl staining results showed that the sham operation group had abundant neurons and Nissl bodies with normal morphology, orderly cell arrangement, and no necrotic cells. Compared to the sham operation group, the model group exhibited deformed neurons, disorganized cell arrangement, loose stroma, a reduced number of Nissl bodies and marginalization of their distribution. In comparison to the model group, the NXTJN group, low-dose CSP group, and high-dose CSP group demonstrated improved cellular conditions, an increased number of Nissl bodies, more regular cell morphology, and relatively orderly cell arrangement. The relative expression levels of IL-23, IL-23R, IL-17, ACT1, and TRAF6 proteins were higher in the model group compared to the sham operation group. In contrast, these expression levels were lower in the low-dose and high-dose CSP groups compared to the model group ($P < 0.05$). **Conclusions** This experiment confirms that CSP has a certain protective effect on MCAO rats and may be achieved by regulating the IL-23/IL-17 pathway.

Keywords: ischemic stroke; cordyceps polysaccharides; IL-23/IL-17 axis

脑卒中是一种以脑组织血流量突然减少为特征的急性疾病,通常伴随着因脑组织供能被立即剥夺,从而导致的神经功能受损或丧失^[1]。临床上,脑卒中可分为缺血性和出血性两种,缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)占有脑卒中患者的80%^[2]。且其病理生理过程相当复杂,包括生物能量衰竭、酸中毒、兴奋性毒性、氧化应激和炎症等损伤级联反应。目前,rt-PA静脉溶栓是唯一被批准用于急性IS治疗的药物。然而,rt-PA治疗具有3 h治疗窗口期限制,其在临床实践中的应用仍然非常有限^[3]。另一种可能的治疗方案是神经保护,虽然在细胞以及动物水平发现神经保护剂分别降低了神经元细胞

死亡和脑梗死面积,但是在临床上由于有害的副作用以及疗效不理想,各种药物的研究都以失败告终^[4]。因此研究IS的发生、发展机制,积极探寻并拓展其治疗手段,具有重大意义。

冬虫夏草是传统的名贵中药,其药理作用广泛,在很多重大疾病的防治方面具有广阔的应用前景。本课题组前期研究发现,冬虫夏草能有效改善大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)大鼠的脑卒中结局,同时表现出强大的抗炎和抗氧化作用^[5]。虫草多糖(cordyceps polysaccharide, CSP)是冬虫夏草的重要有效成分,并且能够从人工虫草中提取。现代研究也证实,CSP具有双向调节

免疫、抗氧化、抗疲劳、抗炎、降血糖等作用^[6],因此CSP在干预IS方面具有非常大的潜力。白细胞介素-23(Interleukin-23, IL-23)/IL-17轴是近年来研究比较多的一条炎症通路,其广泛参与了包括脑卒中在内的多种中枢神经系统疾病^[7]。因此,本研究创新性地提出CSP是否可以通过调控IL-23/IL-17炎症轴来改善MCAO大鼠的脑卒中结局。现报道如下。

1 材料与材料

1.1 实验动物

雄性健康SPF级Sprague-Dawley(SD)大鼠,体重200g左右,购自北京斯贝福实验动物技术有限公司[实验动物生产许可证号:SCXK(京)2024-0001,实验动物使用许可证号:SYXK(京)2023-0011]。大鼠适应性饲养于北京中医药大学动物实验中心3d,饲养期间自由进水与摄食,温度维持在(20±2)℃,湿度保持在55%~60%,自然光照,定期更换饲料。本实验经北京中医药大学实验动物伦理委员会审查批准(No:BUCM-4-202207080203148)。

1.2 药物、试剂及耗材

虫草多糖(上海源叶生物科技有限公司,J24GS155880),脑心通胶囊(陕西步长制药有限公司,240141,国药准字Z20025001),MCAO线栓(北京西浓科技有限公司,A4-263450、A4-263650),可吸收外科手术缝合线(上海浦东金环医疗用品股份有限公司,F306),苏木精-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色液试剂盒、分化液试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,G1120、G1862),尼氏体染色液试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,G1436),BCA试剂盒(江苏康为世纪生物科技股份有限公司,CW0014S),山羊抗兔二抗、 β -actin抗体、羊抗鼠二抗、ECL发光液(北京兰博利德商贸有限公司,S0101、A0101、S0100、E1070),ACT1抗体(英国Abcam公司,ab137395),TRAF6抗体、IL-23R抗体(英国Abcam公司,ab137452、ab175072),IL-23抗体、IL-17抗体(美国Santa公司,sc-271279、sc-374218)。

1.3 仪器

手术显微镜(上海医光仪器有限公司,SXP-1C型),气体麻醉机(北京众实迪创科技发展有限公司,ZS-MV-1型),激光散斑血流成像仪(英国MOOR公司,FLPI-2型),石蜡包埋机、石蜡切片机、显微镜(德国徕卡仪器有限公司,14039357258、

RM2125 RTS、DM4M型),组织匀浆仪(上海净信实业发展有限公司,Tissuelyser-24型),金属浴[大龙创新实验仪器(北京)股份公司,HB120-S型],垂直电泳转印系统(美国伯乐公司,165-8001型),超灵敏多功能成像仪(美国Azure biosystems公司,C600型),酶标仪(美国伯腾仪器有限公司,800TS型)。

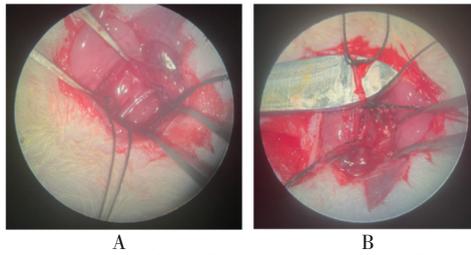
1.4 方法

1.4.1 分组和给药 脑心通胶囊粉末、虫草多糖粉末按照相应的给药剂量,称取适量粉末溶于蒸馏水中制成溶液,并于40℃超声提取30min,置于冰箱4℃密封保存待用。将71只SD大鼠随机分为假手术组、模型组、脑心通组、虫草多糖低剂量组、虫草多糖高剂量组,假手术组11只,其余4组每组15只,排除模型复制过程中死亡的大鼠,最终各组均为11只纳入研究。模型复制前预给药5d,每日同一时间点灌胃给药1次,脑心通组(阳性药组)给药剂量为500mg/kg,虫草多糖低剂量组、虫草多糖高剂量组给药剂量分别为500和1000mg/kg,假手术组、模型组分别给予等体积的生理盐水,在第6天模型复制前1h再给药1次。除假手术组外,其他组大鼠均进行MCAO处理。模型复制后3d,大鼠称重后经异氟烷麻醉,进行脑部激光散斑,然后取病变的大鼠脑组织进行检测。

1.4.2 模型复制 采用线栓法进行模型复制。将大鼠麻醉后仰卧位固定在鼠板上,颈部备皮消毒后,从颈正中线纵向切开皮肤,充分暴露出右侧颈总动脉(common carotid artery, CCA)、颈外动脉(external carotid artery, ECA)和颈内动脉。分别结扎CCA近心端和ECA(靠近CCA分叉处),在手术显微镜下用动脉剪在CCA结扎处的稍下端剪一小口,从开口处缓慢插入线栓阻断大脑中动脉血流并固定线栓,剪去多余结扎线和栓线。假手术组大鼠仅分离血管,不插入线栓。缝合颈部切口用生理盐水擦拭大鼠颈部血迹后,用碘伏消毒并涂抹青霉素钠。术后注意给大鼠保温。见图1。

1.4.3 神经功能学评分 待模型复制结束大鼠从麻醉中清醒后,使用Bederson评分、改良大鼠神经功能缺损评分(modified neurological severity scores, mNSS)对大鼠神经功能学进行评估^[8],判断MCAO模型是否复制成功。模型复制后3d,对大鼠再次进行评分,判断其神经功能损伤情况。

1.4.4 脑部激光散斑 模型复制后3d,大鼠麻醉



A: 分离血管后示意图; B: 插栓结束后示意图。

图1 大鼠MCAO模型手术示意图

后对头部进行备皮,也可以用刀片刮除毛发,仔细清理细碎毛发,用酒精棉球擦拭,充分暴露成像视野,碘伏消毒后用镊子提起颈部皮肤,用剪刀从大鼠颈后部沿中线剪开至两眼下方(约6 cm开口),用镊子拉扯开口两侧头皮,并使用四把止血钳夹住耳后、眼旁边的头皮往两侧牵拉充分暴露大鼠头骨。打开激光散斑血流成像仪拍摄血流图。然后打开moorFLPI-2 V4.0程序进入数据分析界面,按照操作流程得到双侧脑血流值结果。本研究使用大鼠患侧(右侧)大脑血流值与对侧相同位置的健侧(左侧)大脑血流值的比值进行统计分析。

1.4.5 HE、尼氏体染色 模型复制后3 d,各组取3只大鼠经心脏灌注后断头取出脑组织,4%多聚甲醛固定,经不同梯度乙醇脱水、二甲苯透明、浸蜡处理后石蜡包埋。石蜡切片在60℃烘2 h后,依次置于二甲苯和100%、95%、90%、80%、70%乙醇溶液中浸泡、脱蜡,然后严格按照HE染色试剂盒对蜡片进行染色,最后脱水、透明、封片,移至显微镜下观察缺血半暗带病理形态。尼氏体染色的组织包埋、石蜡切片、脱蜡步骤同上。使用尼氏体染色试剂盒对蜡片进行染色、脱水及透明,中性树胶封片,移至显微镜下观察。

1.4.6 Western blotting检测脑组织IL-23、IL-23R、IL-17、ACT1、TRAF6蛋白表达 模型复制后3 d,大鼠麻醉后断头,迅速置于冰盒上取脑组织,去掉嗅球、小脑和低位脑干。切取患侧半暗带合适大小的脑组织,加入组织裂解液进行匀浆并裂解,经BCA法测定浓度后,以测得最小浓度蛋白样本为标准,用裂解液混合物将所用样本蛋白调整为一致的浓度,按比例加入5×蛋白上样缓冲液(含SDS),随后在金属浴中100℃加热10 min使蛋白变性,置入-20℃冰箱保存备用。依次通过电泳、转膜、封闭(5%脱脂牛奶、5% BSA)、孵育(IL-23、IL-23R、IL-17、ACT1、TRAF6一抗比例均为1:1 000;二抗比例均为1:10 000)、洗膜等操作后,滴加发光液并置入Western blotting成像

系统中,进行扫描、成像、截图、分析。蛋白相对表达量=目标蛋白灰度值/ β -actin蛋白灰度值。

1.5 统计学方法

数据分析采用SPSS 21.0、Image J统计软件,用Graphpad Prism 9.5软件生成直方图。计量数据用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,若数据满足正态分布并符合方差齐性检验,则多组间比较用单因素方差分析,组间两两比较用LSD-*t*检验,若方差不齐则用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 虫草多糖对MCAO大鼠神经功能学评分的影响

各组大鼠模型复制后神经功能学评分、模型复制后3 d神经功能学评分比较,经单因素方差分析,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。各组大鼠模型复制后神经功能学评分较假手术组高($P < 0.05$);除假手术组外,各组间两两比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),说明大鼠模型复制成功而且损伤程度比较均一。脑心通组模型复制后3 d神经功能学评分较模型组低($P < 0.05$),虫草多糖低剂量组、虫草多糖高剂量组较模型组低($P < 0.05$)。见表1。

2.2 虫草多糖对MCAO大鼠脑血流的影响

各组取5只大鼠进行患侧血流值/健侧血流值分析。假手术组、模型组、脑心通组、虫草多糖低剂量组、虫草多糖高剂量组患侧血流值/健侧血流值分别为(0.91 \pm 0.02)、(0.72 \pm 0.02)、(0.84 \pm 0.04)、(0.82 \pm 0.02)、(0.84 \pm 0.03),经单因素方差分析,差异有统计学意义($F = 6.745, P = 0.001$)。与假手术组比较,模型复制后大鼠患侧大脑血流明显减弱,出现大片缺血区域,患侧血流值比健侧血流值比值降低($P < 0.05$);与模型组比较,脑心通组、虫草多糖低剂量组、虫草多糖高剂量组患侧血流加强,缺血区域减少,患侧血流值比健侧血流值比值增高($P < 0.05$)。见图2。

2.3 虫草多糖对MCAO大鼠脑组织病理形态的影响

HE染色结果显示,假手术组大鼠脑组织细胞排列有序,形态正常,细胞质结构正常,淡染,细胞核大且清晰,核仁完整;模型组缺血半暗带区细胞明显呈不规则分布,排列紊乱,细胞核皱缩甚至消失,出现大量细胞坏死,组织结构损伤严重。与模型组比较,脑心通组、虫草多糖低剂量组、虫草多糖高剂量组细胞损伤均有所减轻,坏死细胞数量减少,组

表 1 各组大鼠模型复制后、模型复制后 3 d 神经功能学评分比较 (n=11, $\bar{x} \pm s$)

组别	模型复制后神经功能学评分		模型复制后 3 d 神经功能学评分	
	Bederson 评分	mNSS 评分	Bederson 评分	mNSS 评分
假手术组	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
模型组	7.00 ± 0.45	9.18 ± 0.18	6.55 ± 0.39	7.64 ± 0.24
脑心通组	7.09 ± 0.34	8.91 ± 0.28	4.18 ± 0.23	4.55 ± 0.37
虫草多糖低剂量组	7.27 ± 0.43	9.18 ± 0.30	3.63 ± 0.31	4.09 ± 0.34
虫草多糖高剂量组	7.00 ± 0.38	9.09 ± 0.25	2.45 ± 0.16	3.27 ± 0.30
F 值	27.494	28.107	46.847	44.168
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

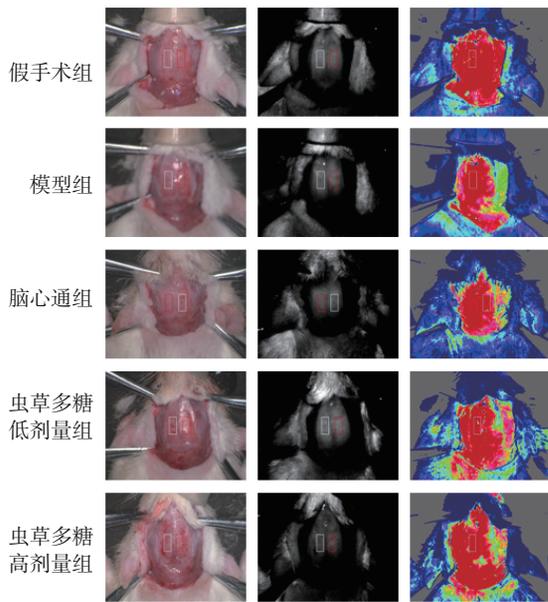
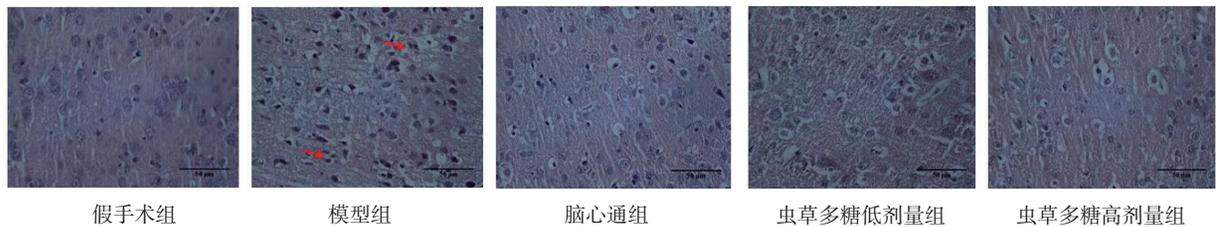


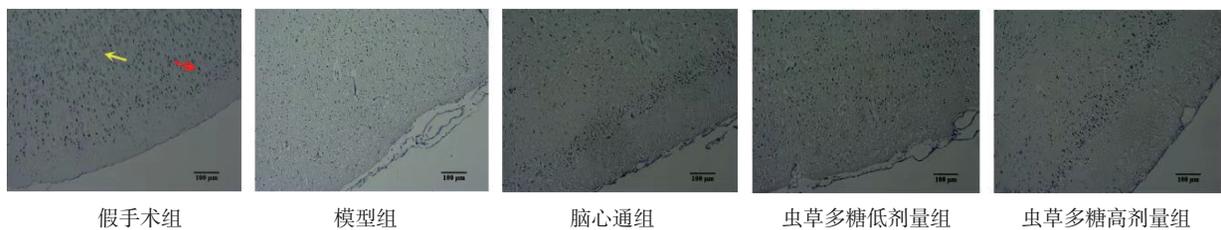
图 2 各组激光散斑 Colour/DC/Flux 示意图

织形态有所恢复。见图 3。



红色箭头示细胞核皱缩和细胞坏死。

图 3 各组大鼠右脑缺血半暗带皮质区形态 (HE 染色 × 400)



红色箭头示尼氏体, 呈深蓝色; 黄色箭头示细胞核, 呈浅蓝色。

图 4 各组大鼠右侧大脑外颗粒层尼氏体形态 (尼氏体染色 × 200)

尼氏体染色结果显示, 假手术组神经细胞和尼氏体数量丰富, 形态正常, 细胞排列整齐, 未见坏死细胞; 与假手术组相比, 模型组神经细胞出现变形, 细胞排列混乱, 间质疏松, 尼氏体数量减少, 分布边缘化; 与模型组比较, 脑心通组、虫草多糖低剂量组、虫草多糖高剂量组细胞状态得到改善, 尼氏体数量增多, 细胞形态趋于规整、排列较为整齐。见图 4。

2.4 虫草多糖对 MCAO 大鼠脑组织 IL-23、IL-23R、IL-17、ACT1、TRAF6 蛋白表达的影响

各组取 5 只大鼠检测蛋白表达。各组 IL-23、IL-23R、IL-17、ACT1、TRAF6 蛋白相对表达量比较, 经单因素方差分析, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 模型组 IL-23、IL-23R、IL-17、ACT1、TRAF6 蛋白相对表达量较假手术组高 ($P < 0.05$); 虫草多糖低、高剂量组 IL-23、IL-23R、IL-17、ACT1、TRAF6 蛋白相对表达量较模型组低 ($P < 0.05$)。见表 2 和图 5。

表 2 各组大鼠脑组织中 IL-23、IL-23R、IL-17、ACT1、TRAF6 蛋白相对表达量比较 ($n=5, \bar{x} \pm s$)

组别	IL-23 蛋白	IL-23R 蛋白	IL-17 蛋白	ACT1 蛋白	TRAF6 蛋白
假手术组	0.98 ± 0.06	1.00 ± 0.08	0.98 ± 0.11	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.09
模型组	1.61 ± 0.08	1.32 ± 0.07	1.41 ± 0.11	1.49 ± 0.05	1.63 ± 0.04
脑心通组	0.91 ± 0.11	0.94 ± 0.09	0.81 ± 0.19	1.29 ± 0.09	1.27 ± 0.10
虫草多糖低剂量组	0.57 ± 0.09	0.97 ± 0.09	0.77 ± 0.09	0.99 ± 0.07	1.20 ± 0.12
虫草多糖高剂量组	0.51 ± 0.12	0.72 ± 0.09	0.71 ± 0.08	0.87 ± 0.08	0.66 ± 0.12
F 值	21.248	6.618	5.497	13.643	12.579
P 值	0.000	0.001	0.004	0.000	0.000

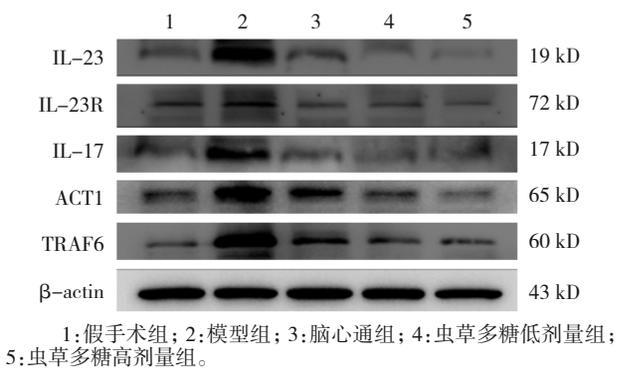


图 5 各组大鼠脑组织中 IL-23、IL-23R、IL-17、ACT1、TRAF6 蛋白条带图

3 讨论

神经功能缺损评分是评价模型动物神经功能缺损程度的重要指标,具有重要的参考意义。本研究采用的 Bederson、mNSS 评分被广泛用于评估整体神经功能损伤程度。本研究中,模型复制后 3 d 给药组大鼠神经功能损伤较模型组表现出不同程度的改善,尤其虫草多糖低、高剂量组损伤评分显著降低,说明 CSP 对大鼠有明显的保护作用。激光散斑成像是观察血管结构和血流速度的无创、非接触性、高时空分辨率的光学成像方法,能实时监测脑血流变化,获得大范围硬脑膜及皮层区域的血流动力学参数^[9]。脑血流是反映体内血流动力学和脑循环状态的重要生理指标。激光散斑结果显示模型复制后 3 d,各给药组大鼠梗死侧皮层与健侧皮层血流值比值较模型组均有一定程度升高;与模型组相比,成像区域红色加深、血流范围扩增,说明各给药组大鼠脑血流量增加,缺血区域缩减,脑神经损伤降低。这表明虫草多糖干预大鼠可能在一定程度上阻止缺血半暗带向梗死灶转变的恶化进程,甚至能够逆转这一趋势并恢复半暗带的血流,这可能与侧支循环的开放及新生血管的建立相关。研究表明,虫草多糖能够清除体内自由基,提高

抗氧化酶的活性,增强机体免疫及造血系统^[10],这在一定程度上解释了虫草多糖对脑缺血导致的神经损伤的保护作用。与上述结果趋势一致,HE、尼氏体染色结果也显示给予 CSP 预处理的 MCAO 大鼠脑组织细胞损伤减轻,细胞形态有所恢复。以上结果均证实 CSP 在干预大鼠 MCAO 模型中的确切作用。

目前有关虫草多糖治疗脑卒中的报道和文献很少,本研究发现 CSP 能抑制 MCAO 大鼠脑组织 IL-23/IL-17 通路相关蛋白表达从而影响卒中结局。IL-23/IL-17 轴是一条经典的促炎途径,其核心成员 IL-23、IL-17 均为促炎因子。IL-23 是一种异质二聚体细胞因子,由 P40、P19 组成,其由活化的树突状细胞及巨噬细胞分泌,对炎症反应可起到促进作用,其受体 IL-23R 在 T 细胞、巨噬细胞表面大量分布^[11]。IL-23R 是造血因子受体超家族中的成员,由 IL-12 受体 $\beta 1$ 亚基和 IL-23R 组成。IL-23 具有维持 17 型细胞分化及发挥生物学功能的作用^[12]。IL-23 与 Th17 细胞及 17 型细胞表面受体结合后,激活细胞特异性转录因子并促进其分泌 IL-17^[13]。IL-17 是由活化 T 细胞合成分泌的促炎因子,其表达增加能激活下游信号通路,进而促进下游炎症因子 IL-6、IL-8、TNF- α 和 IL-1 β 的表达,同时能促进中性粒细胞成熟、T 细胞活化,最终引发强烈的炎症反应。有研究也发现分泌 IL-17 的 T 细胞是自身免疫性疾病和脑缺血中组织损伤的关键效应者,抑制 IL-17 的表达可能对改善脑缺血的预后具有积极的作用^[14]。

本研究结果表明,与假手术组相比,模型组大鼠脑组织各蛋白表达明显增加,其中 ACT1、TRAF6 增加尤其明显。大鼠在缺血损伤后,由于血液供应不足,导致活性氧在组织中积累,从而引发了炎症反应^[15]。小胶质细胞作为中枢神经系统免疫的第一道防线,当脑卒中发生时,在损伤模式下活化的小胶质细胞中 IL-23 表达增加,并引发周围免疫细胞中的 IL-23/

IL-17 炎症轴。在细胞间相互作用下, 炎症逐步加剧并进一步扩大范围, 相关炎症因子表达也会相应增加, 上述结果也印证这一点。IL-17 具有强大的促炎作用, 其家族目前共有 6 名成员, 分别是 IL-17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E (也被称为 IL-25) 和 IL-17F。IL-17A 通常也被称为 IL-17。IL-17A 主要通过 IL-17RA 传递信号并介导下游的信号转导。IL-17 信号通路受胞内关键信号转导分子 ACT1 与 TRAF6 的调节^[16], 两者都是 IL-17 信号通路中最为关键的蛋白。TRAF6 是一个泛素连接酶, 当被激活的时候, 会在自身和其他蛋白上产生短小蛋白链。ACT1 充当一个信号适配器, 在其 c 端卷曲区域含有 1 个 SEFIR 结构域^[17], 其还含有 TRAF6 结合基序, 因此可以结合 TRAF6^[18]。IL-17 与 IL-17R 结合时, ACT1 被募集过来与 IL-17R 连接, TRAF6 也被募集形成复合体, 共同介导下游信号通路^[19]。本研究结果发现, 与模型组相比, 给予 CSP 干预后这些蛋白表达都显著降低。提示 CSP 可有效改善 MCAO 大鼠脑卒中结局, 这可能与下调 IL-23/IL-17 信号通路中 IL-23、IL-23R、IL-17、ACT1、TRAF6 蛋白表达有关, 减轻了炎症反应, 减缓细胞损伤, 加强了神经元保护作用。IL-17 已被证明可以激活许多常见的促炎信号通路, 包括 NF- κ B、MAPK、CCAAT/增强子结合蛋白、PI3K 和信号传导及转录激活蛋白。但是本研究中 CSP 具体是通过调节哪条通路发挥作用的还有待进一步探索。

综上所述, 本实验探讨 CSP 对 IS 大鼠模型的干预潜力并深入研究其干预机制, 结果表明 CSP 对 MCAO 大鼠有明显神经保护作用, 改善脑卒中结局, 其机制可能与下调 IL-23/IL-17 信号通路相关蛋白有关, 为防治 IS 提供新的潜在靶点。但是本文研究仅从 IL-23/IL-17 轴下游探讨 CSP 干预 IS 的作用机制, 而且使用的研究方法比较单一, CSP 防治 IS 的相关背景较少。因此, 本研究具有一定的局限性。接下来, 笔者将从上游进一步挖掘 CSP 干预 IS 神经炎症机制, 为防治 IS 后续研究开拓思路, 并为 IS 治疗药物开发提供科学依据。

参 考 文 献 :

- [1] AHMAD M, GRAHAM S H. Inflammation after stroke: mechanisms and therapeutic approaches[J]. *Transl Stroke Res*, 2010, 1(2): 74-84.
- [2] GILGUN-SHERKI Y, ROSENBAUM Z, MELAMED E, et al. Antioxidant therapy in acute central nervous system injury:

current state[J]. *Pharmacol Rev*, 2002, 54(2): 271-284.

- [3] FISHER M, SAVER J L. Future directions of acute ischaemic stroke therapy[J]. *Lancet Neurol*, 2015, 14(7): 758-767.
- [4] FANN D Y W, LEE S Y, MANZANERO S, et al. Pathogenesis of acute stroke and the role of inflammasomes[J]. *Ageing Res Rev*, 2013, 12(4): 941-966.
- [5] 江洋. 基于“肠-脑”IL-23/IL-17 轴探索虫草多糖干预缺血性脑卒中的机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2023.
- [6] 胡贤达, 周菲, 黄雪, 等. 冬虫夏草中虫草多糖的药理研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(6): 224-229.
- [7] MCGINLEY A M, SUTTON C E, EDWARDS S C, et al. Interleukin-17a serves a priming role in autoimmunity by recruiting IL-1 β -producing myeloid cells that promote pathogenic T cells[J]. *Immunity*, 2020, 52(2): 342-356.
- [8] 龙娟. 大鼠脑缺血后 miRNA-124 的表达及与 Caspase-3 关系的初步研究[D]. 昆明: 昆明医科大学, 2015.
- [9] 沈春发. 小鼠大脑中动脉栓塞再灌注不同时间窗脑血流变化的差异研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2022.
- [10] 杨建鑫. 虫草多糖对 X 射线辐射损伤小鼠的保护作用研究[D]. 西宁: 青海大学, 2020.
- [11] 丁华胜. 丹参酮 IIA 对大鼠心肌缺血再灌注损伤中 HMGB1、IL-23/IL-17 轴表达及髓过氧化物酶的影响[J]. *巴楚医学*, 2020, 3(3): 19-23.
- [12] 邹良, 何秋红, 陈秋杨, 等. IL-17/IL-23 炎症轴在新生儿缺氧缺血性脑病发病中的作用机制探究[J]. *河北医科大学学报*, 2023, 44(3): 305-309.
- [13] ZHU H, HU S P, LI Y T, et al. Interleukins and ischemic stroke[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 828447.
- [14] IADECOLA C, ANRATHER J. The immunology of stroke: from mechanisms to translation[J]. *Nat Med*, 2011, 17(7): 796-808.
- [15] BAI S, HU Z Y, YANG Y, et al. Anti-inflammatory and neuroprotective effects of triptolide via the NF- κ B signaling pathway in a rat MCAO model[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2016, 299(2): 256-266.
- [16] MIOSSEC P, KOLLS J K. Targeting IL-17 and TH17 cells in chronic inflammation[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2012, 11(10): 763-776.
- [17] GAFFEN S L. Structure and signalling in the IL-17 receptor family[J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(8): 556-567.
- [18] QIAN Y C, KANG Z Z, LIU C N, et al. IL-17 signaling in host defense and inflammatory diseases[J]. *Cell Mol Immunol*, 2010, 7(5): 328-333.
- [19] 史艳丽, 王云超, 杨震, 等. 宣肺止咳方对 COPD 模型大鼠 IL-17 信号通路的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(9): 28-39.

(李科 编辑)

本文引用格式: 席赛文, 刘振权, 齐慧明, 等. 虫草多糖通过 IL-23/IL-17 通路对缺血性脑卒中大鼠的作用及其机制研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2025, 35(2): 19-25.

Cite this article as: XI S W, LIU Z Q, QI H M, et al. Effects and mechanisms of cordyceps polysaccharides on ischemic stroke in rats via the IL-23/IL-17 pathway[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2025, 35(2): 19-25.