

· 药理 ·

黄芩素对帕金森病模型大鼠的神经功能保护作用及对 PERK/ATF4内质网应激通路的影响

张子琦, 欧阳竞锋*

(中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700)

[摘要] 目的:探讨黄芩素(BAI)通过调控内质网应激通路对帕金森病(PD)模型大鼠的神经保护机制。方法:72只SD大鼠随机分为正常组,模型组,BAI低、中、高剂量组(80、120、160 mg·kg⁻¹)及多巴丝肼组(51 mg·kg⁻¹),每组12只。除正常组外,其余各组大鼠颈背部皮下注射鱼藤酮溶液2 mg·kg⁻¹连续28 d制备PD大鼠模型。造模的同时各组大鼠给予相应药物进行灌胃28 d。给药结束后通过旷场实验、爬杆测试评估行为学改变;苏木素-伊红(HE)染色法与原位末端标记法(TUNEL)观察黑质神经元病理及凋亡;免疫组化法(IHC)检测 α -突触核蛋白(α -Syn)和酪氨酸羟化酶(TH)表达;酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测炎症因子[白细胞介素(IL)-6、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)];蛋白免疫印迹法(Western blot)检测蛋白激酶样内质网激酶(PERK)、激活转录因子4(ATF4)、C/EBP同源蛋白(CHOP)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)蛋白表达。结果:与正常组比较,模型组大鼠运动路程显著减少,爬杆评分显著升高($P<0.01$),神经元凋亡率显著升高($P<0.01$), α -Syn表达显著增加($P<0.01$),TH表达显著降低($P<0.01$),炎症因子释放明显增加($P<0.05$, $P<0.01$),PERK/ATF4信号通路蛋白及促凋亡因子Bax的蛋白表达均明显增加($P<0.05$, $P<0.01$);与模型组比较,BAI中、高剂量组和多巴丝肼组大鼠明显改善运动功能($P<0.05$, $P<0.01$),降低爬杆评分($P<0.05$),显著减少神经元凋亡率($P<0.01$),显著下调 α -Syn表达($P<0.01$)并明显上调TH表达($P<0.05$, $P<0.01$),抑制炎症因子释放($P<0.05$, $P<0.01$),同时明显下调PERK/ATF4信号通路蛋白及促凋亡因子Bax的蛋白表达($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:BAI能够减少PD模型大鼠的神经炎症因子释放和神经细胞凋亡,改善神经功能,其机制可能与调控PERK/ATF4信号通路减轻内质网应激及细胞凋亡有关。

[关键词] 黄芩素; 帕金森病; 内质网应激; 细胞凋亡; 神经保护作用

[中图分类号] R277;R285;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)08-0074-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20252237

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20251113.1652.007>

[网络出版日期] 2025-11-14 10:23:51



Neuroprotective Effect of Baicalein in Parkinson's Disease Model Rats and Its Impact on PERK/ATF4 Endoplasmic Reticulum Stress Pathway

ZHANG Ziqi, OUYANG Jingfeng*

(Experimental Research Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the neuroprotective mechanism of baicalein (BAI) on Parkinson's disease (PD) model rats by regulating endoplasmic reticulum stress pathway. **Methods:** Seventy-two Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into normal group, model group, BAI low-dose group (80 mg·kg⁻¹), medium-dose group (120 mg·kg⁻¹), high-dose group (160 mg·kg⁻¹), and levodopa-benserazide group (51 mg·kg⁻¹), with 12 rats per group. Except for the normal group, PD rat models were established by subcutaneous injection of rotenone solution (2 mg·kg⁻¹) into the neck back of rats in the rest of groups for consecutive 28 days. Concurrently, rats in all groups received corresponding drugs via gavage for 28 days. After treatment, behavioral changes were assessed by using the open field and pole climbing tests. Neuronal pathology and apoptosis in the substantia nigra were observed via hematoxylin-eosin (HE) staining and TdT-mediated dUTP nick-end labeling (TUNEL) assay.

[收稿日期] 2025-08-19

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81470171);中国中医科学院科技创新工程重大攻关项目(CI2021A00602)

[第一作者] 张子琦,在读硕士,从事中医药防治神经退行性疾病的研究,E-mail:13146275031@163.com

[通信作者] * 欧阳竞锋,博士,研究员,硕士生导师,从事中医药防治神经退行性疾病的研究,E-mail:springeltics@163.com

α -Synuclein and tyrosine hydroxylase (TH) expressions were detected by immunohistochemistry (IHC). Inflammatory factors such as interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). RNA-like endoplasmic reticulum kinase (PERK), activating transcription factor 4 (ATF4), C/EBP-homologous protein (CHOP), and Bcl-2-associated X protein (Bax) expressions were analyzed by Western blot. **Results:** Compared with the normal group, the model group exhibited significantly reduced locomotion distance ($P<0.01$) and elevated pole-climbing scores ($P<0.01$), with increased neuronal apoptosis rate ($P<0.01$), significantly enhanced α -Synuclein expression ($P<0.01$), decreased TH expression ($P<0.01$), upregulated release of inflammatory factors ($P<0.05, P<0.01$), and increased protein expressions of PERK/ATF4 pathway proteins and pro-apoptotic Bax ($P<0.05, P<0.01$). Compared with the model group, medium/high-dose BAI groups and levodopa-benserazide group showed obviously improved motor function ($P<0.05, P<0.01$), reduced pole-climbing scores ($P<0.05$), decreased neuronal apoptosis ($P<0.01$), downregulated α -Synuclein expression ($P<0.01$), upregulated TH expression ($P<0.05, P<0.01$), suppressed release of inflammatory factors ($P<0.05, P<0.01$), and decreased protein expressions of PERK/ATF4 pathway proteins and pro-apoptotic Bax ($P<0.05, P<0.01$). **Conclusion:** BAI reduces the release of neuroinflammatory factors and neuronal apoptosis to improve the neurological function of PD model rats, and its mechanism may be related to alleviating endoplasmic reticulum stress and apoptosis by regulating the PERK/ATF4 pathway.

[Keywords] baicalein; Parkinson's disease; endoplasmic reticulum stress; apoptosis; neuroprotective effect

帕金森病(PD)作为第二大神经退行性疾病,全球发病率呈显著上升趋势,65岁以上人群患病率达1%~2%^[1-3]。其核心病理特征包括黑质致密部多巴胺能神经元进行性丢失、 α -突触核蛋白(α -Syn)异常聚集及神经炎症级联反应^[4-5]。现有治疗如多巴胺替代疗法虽可缓解症状,但无法阻断疾病进展,且长期使用易引发剂末现象和异动症^[6]。因此,探索针对PD病理机制的多靶点治疗策略成为研究热点。

近年研究表明,内质网应激(ERS)及其介导的未折叠蛋白反应(UPR)在PD发病中起关键作用^[7-8]。当错误折叠蛋白(如 α -Syn)累积时,ERS通过激活蛋白激酶样内质网激酶(PERK)-激活转录因子4(ATF4)-C/EBP同源蛋白(CHOP)信号级联反应,促进凋亡因子表达,最终导致神经元死亡。研究发现,鱼藤酮、1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶等诱导的神经元损伤可能与PERK/ATF4信号通路相关^[9-10],提示该通路是PD干预的重要靶点。黄芩素(BAI)是从传统中药黄芩干燥根中提取的黄酮类单体化合物,具有抗氧化、抗炎及清除氧自由基等多重药理活性^[11-12]。在PD模型中,BAI被证实可通过抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路激活自噬,促进 α -Syn聚集体降解,并减轻线粒体损伤^[13-14]。分子机制研究表明,BAI能直接与 α -Syn寡聚体结合,将其转化为稳定的无毒结构,阻断其神经毒性播散^[15]。此外,在糖尿病肾病研究中,黄芪(含黄酮类成分)可抑制PERK/ATF4信号通路,减轻ERS介导的肾损伤^[16-17],提示黄酮类化合物可能具有调节PERK通路的潜力。然而,BAI是否通过调控PERK/ATF4信号通路减轻PD模型中的神经元损伤,尚未有系统研究。

本研究旨在明确BAI对PD模型大鼠的神经保

护作用,并探究其干预PERK/ATF4信号通路的机制。通过建立鱼藤酮诱导的PD大鼠模型,结合行为学评估、神经元病理分析及通路关键分子检测,为探索BAI的神经保护作用提供实验依据,也为拓展中药活性成分在神经退行性疾病治疗中的应用提供新思路。

1 材料

1.1 动物 72只SPF级雄性SD大鼠,体质量180~200g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号SCXK(京)2021-0011。饲养于中国中医科学院医学实验中心,大鼠在温度(25 \pm 1) $^{\circ}$ C,湿度(50 \pm 5)%条件下饲养,自由饮水饮食,自然光照,适应性喂养7d。

1.2 伦理 本实验经由中国中医科学院动物伦理委员会批准,伦理审查编号为ERCCACMS21-2410-06。

1.3 药品与试剂 BAI(陕西清雅生物科技有限公司,批号TK20241010);鱼藤酮(西格玛奥德里奇生化科技有限公司,批号R8875);多巴丝肼片(上海罗氏制药有限公司,批号YT1736);苏木素染液、伊红染液(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号分别为G1004、G1001);酪氨酸羟化酶(TH)抗体、 α -Syn抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号分别为25859-1-AP、66412-1-Ig); β -肌动蛋白(β -actin)抗体(上海碧云天生物科技股份有限公司,批号AF5003);PERK抗体、ATF4抗体、CHOP抗体、Bcl-2相关X蛋白(Bax)抗体(武汉爱博泰克生物科技有限公司,批号分别为A18196、A0201、A20987、A19684);大鼠白细胞介素(IL6)-酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒、大鼠IL-1 β ELISA试剂盒、大鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)ELISA试剂盒、原位末

端标记法(TUNEL)细胞凋亡检测试剂盒(大连美仑生物技术有限公司,批号分别为MA0847、MA0742、MA0747、MA0223)。

1.4 仪器 CS-Q2型旷场实验分析系统(日本Canon公司); Synergy H1型全自动酶标仪(美国BioTek公司); TGL-16G型高速离心机(上海安亭科学仪器厂); HM340E型石蜡切片机、GeminiAS型自动脱水染色机(美国Thermo公司); VS120-S6-W型数字切片扫描系统(日本Olympus公司); PowerPac Basic型电泳仪(美国Bio-Rad公司)。

2 方法

2.1 PD大鼠模型构建及分组 将72只大鼠随机分为正常组,模型组,BAI低、中、高剂量组及多巴丝肼组,每组12只。正常组大鼠颈背部皮下仅注射葵花油,其余各组大鼠颈背部皮下注射鱼藤酮葵花油溶液 $2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 备PD大鼠模型,共28 d。随着造模时间的增长,各组大鼠逐渐出现运动迟缓、步态不稳、姿势偏斜等异常行为证明造模成功^[18-19],本研究全部大鼠均造模成功。在大鼠造模的同时予以药物干预。用生理盐水溶解BAI及多巴丝肼片,BAI低、中、高剂量组大鼠分别按照80、120、160 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃,实验剂量主要依据参考了BAI在神经系统疾病模型中的有效剂量范围^[20],经实验表明剂量在100~200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,大鼠血药浓度达到高峰期^[21],并结合前期实验基础进行设定^[22],最终选取80、120、160 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 3个梯度剂量,以全面考察其量效关系;多巴丝肼组大鼠按照51 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃,给药剂量参考成人等效剂量系数折算法计算得出,正常组及模型组大鼠给予等体积生理盐水灌胃,共28 d。

2.2 行为学检测

2.2.1 旷场实验 最后一次给药次日对各组大鼠进行旷场实验。将大鼠轻柔放置于100 cm×100 cm×40 cm的黑色敞箱中央,允许其在箱内自由探索5 min。采用旷场实验分析系统自动追踪并记录大鼠5 min内的水平运动总路程及中央区域运动路程。每次实验结束后,用75%乙醇彻底清洁敞箱,以消除上一只大鼠遗留的气味干扰。

2.2.2 爬杆实验 以手持大鼠尾部,使其头部朝下,轻轻放置于一高度76 cm、直径1 cm的木杆顶端,让大鼠自然沿木杆爬下,对大鼠进行行为评分^[23-24]。评分标准如下:大鼠四肢并用一次性顺利从杆上爬下,为0分;大鼠一步一步向下螺旋爬行,兼有后肢滑行行为,为0.5分;大鼠在杆上有数次间歇停顿后爬下,但可抱紧木杆,为1分;大鼠滑行后

掉落并伴有轻微震颤,为1.5分;大鼠四肢僵直无法抓杆,甚至直接掉落,为2分;大鼠出现连续性震颤,四肢麻痹,无法活动甚至死亡,为2.5分。每只大鼠进行3次测试取平均值,每次测试间隔5 min。

2.3 苏木素-伊红(HE)染色法观察大鼠黑质部病理形态 取经4%多聚甲醛心脏灌注后的脑组织进行修块、脱水及石蜡包埋,切片至冠状位中脑黑质部后连续切取6 μm 厚度脑片,分别经二甲苯、梯度乙醇脱蜡至水,以苏木素、伊红染料进行染色,中性树脂封片后以光镜观察并进行拍照。

2.4 TUNEL染色观察大鼠黑质部神经元凋亡情况 取中脑黑质部石蜡切片,根据TUNEL细胞凋亡检测试剂盒说明书操作,脱蜡水化后,经PBS清洗,滴加 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 蛋白酶K覆盖组织,37℃通透25 min, PBS充分洗涤。按说明书比例配制TUNEL检测液,滴加50 μL 覆盖组织,37℃避光孵育60 min。PBS洗涤3次,用含DAPI抗淬灭封片剂封片,荧光显微镜下观察并拍照,每张切片的黑质部随机选取3个视野,计算神经细胞的凋亡指数。细胞凋亡指数=TUNEL阳性细胞数/总细胞数×100%。

2.5 免疫组化法(IHC)观察大鼠黑质部的 $\alpha\text{-Syn}$ 及TH表达 取中脑黑质部石蜡切片脱蜡至水,抗原修复,阻断内源性过氧化物酶,封闭后分别加入 $\alpha\text{-Syn}$ 、TH一抗(1:1 000),4℃孵育过夜。PBS清洗后,滴加辣根过氧化物酶(HRP)标记二抗,37℃孵育1 h, DAB显色,苏木素复染,脱水透明封片。显微镜下观察并拍照,每张切片黑质部随机选取3个视野,计算阳性区域面积和总面积,使用Image J软件分析阳性表达量。

2.6 ELISA检测大鼠脑黑质中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平 取各组大鼠中脑黑质部位组织,匀浆离心、取上清液,按照ELISA试剂盒说明书的步骤检测大鼠脑组织中的TNF- α 、IL-6、IL-1 β 含量。

2.7 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠纹状体PERK、ATF4、CHOP、Bax蛋白表达 取大鼠纹状体组织,加入RIPA裂解液冰上匀浆,4℃、12 000×g离心5 min(离心半径6 cm)取上清。BCA法测蛋白浓度,调整上样量至20 μg 。样品按4:1比例与上样缓冲液混合,金属浴加热变性5 min。经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离后,转PVDF膜。室温封闭60 min,加入一抗PERK(1:750)、ATF4(1:1 000)、CHOP(1:1 000)、Bax(1:1 000)、 $\beta\text{-actin}$ (1:5 000),4℃孵育过夜;TBST洗膜3次,加HRP标记羊抗兔二抗(1:5 000),室温

孵育 1 h。TBST 清洗后, ECL 化学发光显影, Image J 分析条带灰度值。

2.8 统计学方法 采用 GraphPad Prism 10.0 软件进行统计分析。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 先进行正态性和方差齐性检验, 若满足条件, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较用最小显著性差异法(LSD); 若不满足则采用 Kruskal-Wallis *H* 非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表1 BAI对PD大鼠行为学的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effect of BAI on ethology in PD rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

| 组别 | 剂量/mg·kg ⁻¹ | 水平运动总路程/cm | 中央区域运动路程/cm | 爬杆评分/分 |
|---------|------------------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------|
| 正常组 | | 3 387.91±501.44 | 389.09±31.54 | 0.00±0.00 |
| 模型组 | | 421.78±127.56 ²⁾ | 47.94±18.28 ²⁾ | 1.94±0.18 ²⁾ |
| BAI低剂量组 | 80 | 565.94±90.53 | 112.03±19.57 | 1.75±0.19 |
| BAI中剂量组 | 120 | 1 471.93±145.27 ⁴⁾ | 158.42±12.72 ³⁾ | 1.56±0.15 |
| BAI高剂量组 | 160 | 1 554.07±145.24 ⁴⁾ | 156.06±16.48 ³⁾ | 1.39±0.11 ³⁾ |
| 多巴丝肼组 | 51 | 2 009.62±210.85 ⁴⁾ | 197.22±30.27 ³⁾ | 0.80±0.19 ⁴⁾ |

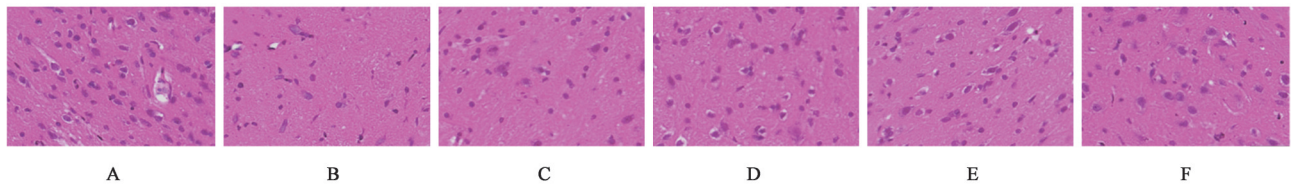
注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表2-表5同)

3.2 BAI对PD大鼠黑质部神经元病理形态的影响 正常组大鼠黑质部的神经元结构清晰,形态正常,数量较多,胞体大小正常且边界清楚;与正常组比较,模型组神经元严重丢失,排列无序,胞体皱缩,出现细胞空泡化,并可见少量炎性细胞浸润;与模型组比较,BAI各剂量组的神经元均有增多表现,

3 结果

3.1 BAI对PD大鼠行为学的影响 与正常组比较,模型组大鼠水平运动总路程和中央区域运动路程显著减少($P < 0.01$),爬杆评分显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,BAI中、高剂量组和多巴丝肼组的水平运动总路程和中央区域运动路程明显增加($P < 0.05, P < 0.01$),BAI高剂量组和多巴丝肼组的爬杆评分均明显下降($P < 0.05, P < 0.01$)。见表1。

排列趋于紧密有序,胞体有所增大,炎性细胞浸润现象有所减轻,其中BAI中剂量组与高剂量组神经元数量增多明显;多巴丝肼组与模型组比较,神经元数量增多,排列较为有序,形态有所改善,但与BAI中剂量组与高剂量组比较无明显差别。见图1。



注:A.正常组;B.模型组;C.BAI低剂量组;D.BAI中剂量组;E.BAI高剂量组;F.多巴丝肼组(图2-图4同)

图1 BAI对PD大鼠黑质部神经元病理形态的影响(HE, ×200)

Fig. 1 Effect of BAI on pathological morphology of neurons in substantia nigra of PD rats (HE, ×200)

3.3 BAI对PD大鼠黑质部神经元凋亡情况的影响 与正常组比较,模型组黑质部位的神经细胞凋亡指数显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,BAI低、中剂量组黑质部位的神经细胞凋亡指数有所降低,BAI高剂量组和多巴丝肼组黑质部位的神经细胞凋亡指数显著降低($P < 0.01$)。见图2、表2。

3.4 BAI对PD大鼠黑质部的 α -Syn及TH表达的影响 与正常组比较,模型组黑质部位的 α -Syn阳性表达显著增加($P < 0.01$),TH阳性表达显著减少($P < 0.01$);与模型组比较,BAI各剂量组和多巴丝肼组的 α -Syn阳性表达均有所减少,BAI中、高剂量组

和多巴丝肼组的 α -Syn阳性表达均显著减少($P < 0.01$);BAI各剂量组和多巴丝肼组的TH阳性表达均有所增加,BAI中剂量组的TH阳性表达明显增加($P < 0.05$),BAI高剂量组和多巴丝肼组的TH阳性表达均显著增加($P < 0.01$)。见表3、图3。

3.5 BAI对PD大鼠脑黑质中TNF- α , IL-6, IL-1 β 水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠脑组织中IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平均明显升高($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组比较,BAI中、高剂量组和多巴丝肼组的大鼠脑组织中IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平明显降低($P < 0.05, P < 0.01$)。见表4。

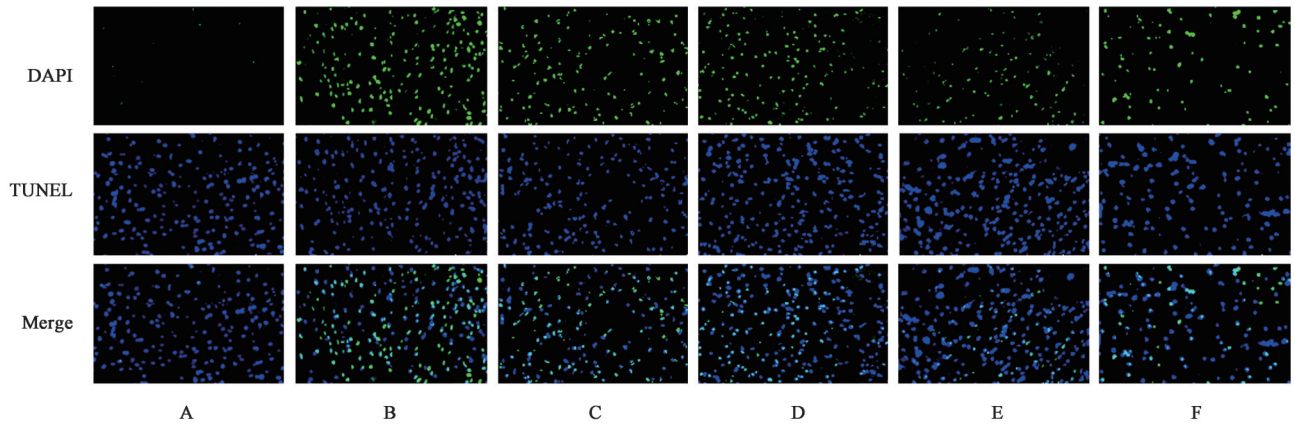


图2 BAI对PD大鼠黑质部神经元凋亡情况的影响(TUNEL, ×200)

Fig. 2 Effect of BAI on neuronal apoptosis in substantia nigra of PD rats (TUNEL, ×200)

表2 BAI对PD大鼠黑质部神经元凋亡情况的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Effect of BAI on neuronal apoptosis in substantia nigra of PD rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

| 组别 | 剂量/mg·kg ⁻¹ | 细胞凋亡指数/% |
|---------|------------------------|--------------------------|
| 正常组 | | 16.33±3.30 |
| 模型组 | | 87.00±2.94 ²⁾ |
| BAI低剂量组 | 80 | 79.67±2.87 |
| BAI中剂量组 | 120 | 77.33±3.09 |
| BAI高剂量组 | 160 | 68.00±3.74 ⁴⁾ |
| 多巴丝肼组 | 51 | 70.33±4.03 ⁴⁾ |

表3 BAI对PD大鼠黑质部的α-Syn及TH表达的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Effect of BAI on expression of α-Syn and TH in substantia nigra of PD rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

| 组别 | 剂量/mg·kg ⁻¹ | α-Syn | TH |
|---------|------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 正常组 | | 1.76±0.50 | 47.93±4.89 |
| 模型组 | | 20.98±1.90 ²⁾ | 27.80±3.62 ²⁾ |
| BAI低剂量组 | 80 | 19.77±3.70 | 29.70±3.85 |
| BAI中剂量组 | 120 | 12.46±2.30 ⁴⁾ | 34.95±2.79 ³⁾ |
| BAI高剂量组 | 160 | 11.43±2.28 ⁴⁾ | 40.84±2.58 ⁴⁾ |
| 多巴丝肼组 | 51 | 8.82±1.92 ⁴⁾ | 41.03±4.46 ⁴⁾ |

3.6 BAI对PD大鼠脑黑质中PERK、ATF4、CHOP、Bax蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组的PERK蛋白表达水平明显升高($P<0.05$),ATF4、CHOP、Bax蛋白表达显著升高($P<0.01$);与模型组比较,BAI低剂量组CHOP、Bax蛋白表达水平明显

降低($P<0.05$),BAI中剂量组ATF4蛋白表达水平明显降低($P<0.05$),CHOP、Bax蛋白表达水平显著降低($P<0.01$),BAI高剂量组和多巴丝肼组PERK蛋白表达水平明显降低($P<0.05$),ATF4、CHOP、Bax蛋白表达水平显著降低($P<0.01$)。见表5、图4。

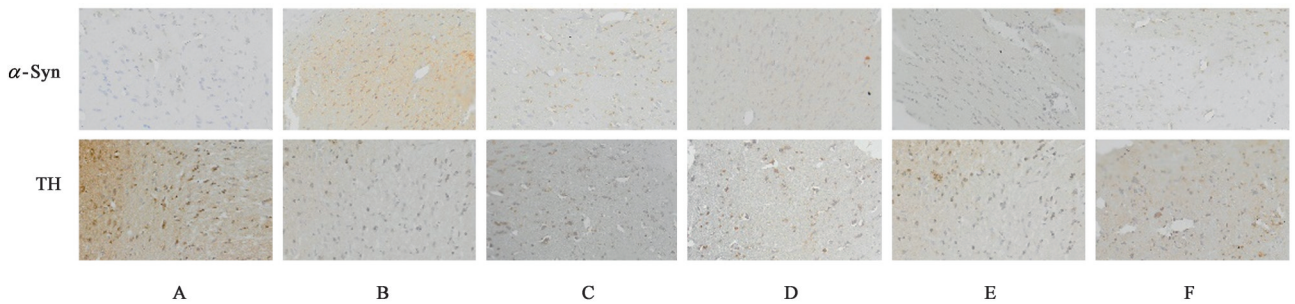


图3 BAI对PD大鼠黑质部的α-Syn及TH表达的影响(IHC, ×200)

Fig. 3 Effect of BAI on expression of α-Syn and TH in substantia nigra of PD rats (IHC, ×200)

4 讨论

PD在中医理论中可归为“颤证”范畴,《素问至真要大论》记载:“诸风掉眩,皆属于肝”,其发病与肝肾亏虚、气血不足、痰瘀阻络相关,病理本质为虚中夹实,风、痰、瘀、毒相互搏结,导致筋脉失养、神机失用^[25]。黄芩作为传统清热燥湿中药,其有效成分BAI具有清热泻火、凉血解毒之效,现代药理研

究证实其具有抗氧化、抗炎、神经保护等多重活性^[26]。已有研究表明,BAI能够减轻脂多糖(LPS)诱导的体外模型中炎症因子的表达,促进α-Syn聚集体降解,并减轻神经炎症损伤^[27],但其是否通过调控ERS信号通路发挥神经保护作用尚未明确。

α-Syn是PD研究中最关键的蛋白质之一,其异常聚集触发多巴胺能神经元死亡,是PD的关键病

表4 BAI对PD大鼠脑黑质中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

| 组别 | 剂量/mg·kg ⁻¹ | IL-6 | IL-1 β | TNF- α |
|---------|------------------------|--------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| 正常组 | | 2.72 \pm 0.44 | 363.90 \pm 36.99 | 5.47 \pm 1.59 |
| 模型组 | | 26.83 \pm 1.70 ¹⁾ | 692.14 \pm 61.19 ¹⁾ | 70.38 \pm 23.85 ²⁾ |
| BAI低剂量组 | 80 | 24.71 \pm 2.60 | 579.46 \pm 52.99 | 51.34 \pm 6.26 |
| BAI中剂量组 | 120 | 19.66 \pm 0.83 ⁴⁾ | 501.08 \pm 22.45 ⁴⁾ | 27.30 \pm 1.73 ⁴⁾ |
| BAI高剂量组 | 160 | 19.66 \pm 2.81 ³⁾ | 491.28 \pm 38.88 ⁴⁾ | 25.30 \pm 6.01 ⁴⁾ |
| 多巴丝肼组 | 51 | 8.60 \pm 0.83 ⁴⁾ | 432.49 \pm 14.70 ⁴⁾ | 18.29 \pm 4.59 ⁴⁾ |

表5 BAI对PD大鼠脑黑质中PERK、ATF4、CHOP、Bax蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

| 组别 | 剂量/mg·kg ⁻¹ | PERK/ β -actin | ATF4/ β -actin | CHOP/ β -actin | Bax/ β -actin |
|---------|------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 正常组 | | 0.40 \pm 0.08 | 0.25 \pm 0.04 | 0.22 \pm 0.03 | 0.22 \pm 0.04 |
| 模型组 | | 0.65 \pm 0.09 ¹⁾ | 0.84 \pm 0.10 ²⁾ | 0.95 \pm 0.13 ²⁾ | 0.96 \pm 0.08 ²⁾ |
| BAI低剂量组 | 80 | 0.63 \pm 0.07 | 0.65 \pm 0.09 | 0.66 \pm 0.05 ³⁾ | 0.69 \pm 0.09 ³⁾ |
| BAI中剂量组 | 120 | 0.60 \pm 0.07 | 0.55 \pm 0.10 ³⁾ | 0.37 \pm 0.06 ⁴⁾ | 0.53 \pm 0.11 ⁴⁾ |
| BAI高剂量组 | 160 | 0.40 \pm 0.08 ³⁾ | 0.47 \pm 0.09 ⁴⁾ | 0.30 \pm 0.04 ⁴⁾ | 0.39 \pm 0.08 ⁴⁾ |
| 多巴丝肼组 | 51 | 0.39 \pm 0.10 ³⁾ | 0.46 \pm 0.09 ⁴⁾ | 0.34 \pm 0.08 ⁴⁾ | 0.27 \pm 0.06 ⁴⁾ |

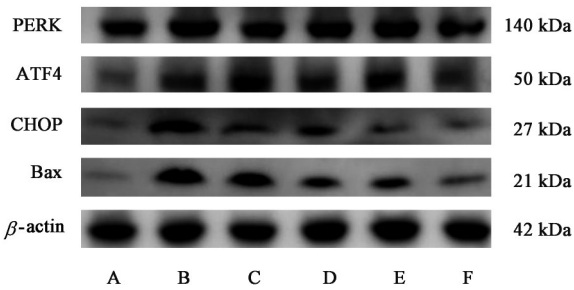


图4 PD大鼠脑黑质中PERK、ATF4、CHOP、Bax蛋白表达电泳
Fig. 4 Electrophoresis of PERK, ATF4, CHOP, and Bax protein expression in substantia nigra of PD rats

理机制。 α -Syn异常聚集时触发小胶质细胞释放促炎因子,形成持续的神经炎症,而促炎因子的释放会进一步破坏内质网的稳态,加剧 α -Syn等蛋白质的异常折叠、聚集^[8,28],在PD的发病机制中,神经炎症与ERS相互影响加重^[29]。中脑黑质部多巴胺能神经元因 α -Syn异常聚集、线粒体功能障碍等引发ERS,导致UPR激活,该反应持续过强时,将致使促凋亡通路被激活并诱导细胞凋亡。TH作为多巴胺合成的限速酶,其活性下降直接导致PD运动症状,黑质部TH阳性神经元进行性丢失是PD的核心病理标志。

PERK/ATF4是ERS的一条经典信号通路,PERK是内质网膜上的I型跨膜蛋白,被激活后磷酸化下游的真核起始因子2 α ,导致蛋白质合成减慢以减少内质网负荷,同时上调ATF4的表达,使其调

控下游靶基因CHOP的表达,引发促炎因子释放增加及神经元凋亡程序的启动,Bax蛋白作为一种关键的促凋亡蛋白,在细胞凋亡过程中发挥着核心作用^[30]。本研究中PD大鼠脑黑质中炎症因子表达明显增多,且PERK/ATF4信号通路相关蛋白表达明显升高,提示该模型大鼠中ERS通路被激活,而BAI各剂量组可不同程度下调该通路蛋白的表达。该通路的过度激活会引发UPR失衡,通过CHOP等分子介导神经细胞凋亡,这与本研究中CHOP与Bax表达变化趋势一致,TUNEL与Bax的表达趋势提示BAI可能通过抑制PERK/ATF4信号通路减轻ERS,从而减少神经细胞凋亡。

本研究通过建立鱼藤酮诱导的PD大鼠模型,系统探讨BAI的神经保护效应及机制。研究表明,鱼藤酮通过注射的方式能够通过血脑屏障并扩散到神经元的细胞膜上,能够使啮齿类动物的多巴胺能神经元选择性变性,并伴随着运动障碍和 α -Syn包涵体的形成^[31]。模型组大鼠在旷场实验中表现出运动路程明显减少,爬杆评分显著升高,HE染色结果提示模型组大鼠大脑黑质部出现神经元变性丢失,出现病理特征的改变,提示PD模型构建成功。行为学结果显示,BAI和多巴丝肼均可改善PD模型大鼠的行为学异常,且BAI呈一定剂量依赖性。HE染色结果表明,BAI能改善黑质神经元丢失、胞体皱缩等病理改变,中、高剂量组神经元数量

增多明显,排列趋于有序。在分子机制层面,本研究的PD模型组大鼠脑黑质部 α -Syn表达明显增多,TH阳性表达明显降低,这与其他研究结果一致^[23,32]。BAI各剂量组能不同程度下调黑质区 α -Syn的异常表达,并上调TH的表达,这提示BAI可能通过减少 α -Syn异常聚集、保护多巴胺能神经元来改善PD症状,与既往研究中BAI可直接结合 α -Syn寡聚体并阻断其神经毒性播散的机制相符^[27,33]。Western blot检测表明,BAI能够一定程度上抑制PERK蛋白表达从而抑制PERK/ATF4/CHOP蛋白级联激活,减轻ERS导致的细胞凋亡情况。

综上所述,本研究发现BAI可通过减少神经炎症因子释放、抑制神经细胞凋亡及改善多巴胺能神经元功能来发挥PD神经保护作用,其机制可能与调控PERK/ATF4的ERS信号通路有关。但本研究仍存在局限性,仅在动物层面验证了通路调控效应,尚未明确BAI是否直接结合PERK等通路分子,且未探讨BAI对其他ERS分支的影响。未来将通过细胞实验结合分子对接技术,明确BAI的直接作用靶点,并深入研究其对UPR网络的整体调控效应,为BAI在神经退行性疾病中的应用提供更充分的实验依据。另外,检测了炎症因子的释放,但未对神经炎症的关键执行者小胶质细胞和星形胶质细胞的活化状态进行直接观察,未来研究将通过免疫荧光等技术,直接观察BAI对胶质细胞活化的抑制作用,从而更完整地阐明其抗神经炎症的细胞机制。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] TOLOSA E, GARRIDO A, SCHOLZ S W, et al. Challenges in the diagnosis of Parkinson's disease [J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20(5):385-397.

[2] GBD 2016 NEUROLOGY COLLABORATORS. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990-2016: A systematic analysis for the Global Burden of disease study 2016 [J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(5):459-480.

[3] PRINGSHEIM T, JETTE N, FROLKIS A, et al. The prevalence of Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis [J]. *Mov Disord*, 2014, 29(13):1583-1590.

[4] CALABRESI P, MECHELLI A, NATALE G, et al. Alpha-Synuclein in Parkinson's disease and other synucleinopathies: From overt neurodegeneration back to early synaptic dysfunction [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(3):176.

[5] DORSEY E R, SHERER T, OKUN M S, et al. The emerging

evidence of the Parkinson pandemic [J]. *J Parkinsons Dis*, 2018, 8(s1):S3-S8.

[6] SAKO W, KOGO Y, KOEBIS M, et al. Comparative efficacy and safety of adjunctive drugs to levodopa for fluctuating Parkinson's disease-network meta-analysis [J]. *NPJ Parkinsons Dis*, 2023, 9(1):143.

[7] GHEMRRAWI R, KHAIR M. Endoplasmic reticulum stress and unfolded protein response in neurodegenerative diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(17):6127.

[8] MOU Z, YUAN Y H, ZHANG Z, et al. Endoplasmic reticulum stress, an important factor in the development of Parkinson's disease [J]. *Toxicol Lett*, 2020, 324:20-29.

[9] 朱宝平, 于丹丹, 曾聪慧, 等. 牡荆素调控PERK-CHOP内质网应激途径对帕金森病模型小鼠神经功能的改善作用研究 [J]. *国际检验医学杂志*, 2024, 45(9):1037-1043.

ZHU B P, YU D D, ZENG C H, et al. Research on the improvement effect of vitexin on neurological function in Parkinson's disease model mice by regulating PERK-CHOP endoplasmic reticulum stress pathway [J]. *Int J Lab Med*, 2024, 45(9):1037-1043.

[10] 于楠楠, 毕海洋, 匡禹霏, 等. 乌参醒脑汤对帕金森病大鼠行为学及内质网应激PERK/ATF4通路的影响 [J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(14):35-41.

YU N N, BI H Y, KUANG Y F, et al. Effect of Wushen Xingnao decoction on behavior and endoplasmic reticulum stress PERK/ATF4 pathway in Parkinson's disease rats [J]. *Chin J Mod Med*, 2022, 32(14):35-41.

[11] 朱亚南, 杨七妹, 张硕, 等. 黄芩苷与黄芩素药理作用及机制研究进展 [J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(4):921-925.

ZHU Y N, YANG Q M, ZHANG S, et al. Research progress on pharmacological effects and mechanisms of baicalin and baicalein [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2020, 31(4):921-925.

[12] 易美汝, 何庆, 李超凡, 等. 黄芩有效成分治疗帕金森病药理学作用机制研究进展 [J]. *江苏中医药*, 2024, 56(5):72-76.

YI M R, HE Q, LI C F, et al. Research progress on pharmacological mechanism of active ingredients of *Scutellaria baicalensis* in treating Parkinson's disease [J]. *Jiangsu J Tradit Chin Med*, 2024, 56(5):72-76.

[13] CHEN M, PENG L, GONG P, et al. Baicalein induces mitochondrial autophagy to prevent Parkinson's disease in rats via miR-30b and the SIRT1/AMPK/mTOR pathway [J]. *Front Neurol*, 2021, 12:646817.

[14] 谢利霞, 赵飞宇, 王冕, 等. 黄芩素通过抑制mTOR通路激活自噬促进神经细胞过量表达的 α -突触核蛋白清除 [J]. *河北医科大学学报*, 2017, 38(5):585-589.

XIE L X, ZHAO F Y, WANG M, et al. Baicalein promotes clearance of overexpressed α -Synuclein in nerve cells by activating autophagy via inhibiting mTOR pathway [J]. *J Hebei Med Univ*, 2017, 38(5):585-589.

[15] LI X, DENG Q, KUANG Y, et al. Identifying NFKB1, STAT3, and CDKN1A as Baicalein's potential hub targets in

- Parkinson's disease-related α -Synuclein-mediated pathways by integrated bioinformatics strategies[J]. *Curr Pharm Des*, 2023, 29(30):2426-2437.
- [16] 易婷婷, 栗萍, 张明慧, 等. 黄芪对糖尿病肾病小鼠内质网应激中蛋白激酶R样内质网激酶通路的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2019, 35(8):785-787.
- YI T T, LI P, ZHANG M H, et al. Effect of *Astragalus membranaceus* on protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase pathway in endoplasmic reticulum stress in diabetic nephropathy mice[J]. *Chin J Clin Pharmacol*, 2019, 35(8):785-787.
- [17] 高文, 王增四, 陈菁, 等. 黄芪通过阻断内质网应激改善糖尿病肾病大鼠蛋白尿的研究[J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(12):133-136, 289.
- GAO W, WANG Z S, CHEN J, et al. Study on *Astragalus membranaceus* improving proteinuria in diabetic nephropathy rats by blocking endoplasmic reticulum stress[J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2021, 39(12):133-136, 289.
- [18] MIYAZAKI I, ISOOKA N, IMAFUKU F, et al. Chronic systemic exposure to low-dose rotenone induced central and peripheral neuropathology and motor deficits in mice: Reproducible animal model of Parkinson's disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(9):3254.
- [19] TEZCAN YAVUZ B, KABARTAN COKELI E, HACIOGLU G, et al. Endoplasmic reticulum stress modulation by alpha-pinene in a rotenone-induced rat model of Parkinson's disease[J]. *Eur J Pharmacol*, 2025, 1005:178125.
- [20] HAN J, JI Y, YOUN K, et al. Baicalein as a potential Inhibitor against BACE1 and AChE: Mechanistic comprehension through *in vitro* and computational approaches[J]. *Nutrients*, 2019, 11(11):2694.
- [21] 车庆明, 杨琳, 陈颖, 等. 不同剂量黄芩素在大鼠体内的药理学差异[J]. *中国新药杂志*, 2007, 16(8):604-606.
- CHE Q M, YANG L, CHEN Y, et al. Pharmacokinetic differences of different doses of baicalein in rats[J]. *Chin J New Drugs*, 2007, 16(8):604-606.
- [22] 李琳, 周云鹏, 刘喜灿, 等. 基于Wnt/ β -catenin信号通路黄芩素对帕金森大鼠旋转行为及对脑黑质多巴胺能神经元凋亡的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(4):395-401.
- LI L, ZHOU Y P, LIU X C, et al. Effect of baicalein on rotational behavior and apoptosis of dopaminergic neurons in substantia nigra of Parkinson's rats based on Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Chin J Immunol*, 2022, 38(4):395-401.
- [23] 刘蔚, 曹俊岭, 荆志伟, 等. 柴胡加龙骨牡蛎汤对帕金森病伴发抑郁模型大鼠的神经保护作用及对AMPK/mTOR信号通路的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(8):21-29.
- LIU W, CAO J L, JING Z W, et al. Neuroprotective effect of Chaihu Jia Longgu Muli decoction on Parkinson's disease with depression model rats and its influence on AMPK/mTOR signaling pathway[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2022, 28(8):21-29.
- [24] 田新红, 徐玉英, 郝莉. 丹参酮II_A对帕金森病大鼠多巴胺能神经元的作用[J]. *解剖学杂志*, 2018, 41(3):303-306.
- TIAN X H, XU Y Y, HAO L. Effect of tanshinone II_A on dopaminergic neurons in Parkinson's disease rats[J]. *Chin J Anat*, 2018, 41(3):303-306.
- [25] 邹忆怀. 王永炎教授治疗颤振病(帕金森氏病)经验探讨[J]. *北京中医药大学学报*, 1996, 19(4):15-16.
- ZOU Y H. Discussion on Professor WANG Yongyan's experience in treating tremor disease (Parkinson's disease)[J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med*, 1996, 19(4):15-16.
- [26] 姚雪, 吴国真, 赵宏伟, 等. 黄芩中化学成分及药理作用研究进展[J]. *辽宁中医杂志*, 2020, 47(7):215-220.
- YAO X, WU G Z, ZHAO H W, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Scutellaria baicalensis*[J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2020, 47(7):215-220.
- [27] 尹梦霞, 欧阳竞锋, 崔拓拓, 等. 黄芩素抑制小胶质细胞活化及保护SH-SY5Y神经细胞的机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(10):93-101.
- YIN M X, OUYANG J F, CUI T T, et al. Mechanism of baicalein inhibiting microglia activation and protecting SH-SY5Y nerve cells[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2023, 29(10):93-101.
- [28] 全水悦, 鲍丽妮, 申东方, 等. α -突触核蛋白通过诱发内质网应激促进帕金森病的进展[J]. *生理科学进展*, 2023, 54(4):312-318.
- QUAN S Y, BAO L W, SHEN D F, et al. α -Synuclein promotes the progression of Parkinson's disease by inducing endoplasmic reticulum stress[J]. *Prog Physiol Sci*, 2023, 54(4):312-318.
- [29] COSTA C A DA, MANAA W E, DUPLAN E, et al. The endoplasmic reticulum stress/unfolded protein response and their contributions to Parkinson's disease physiopathology[J]. *Cells*, 2020, 9(11):2495.
- [30] SPITZ A Z, GAVATHIOTIS E. Physiological and pharmacological modulation of Bax[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43(3):206-220.
- [31] DOVONOU A, BOLDOC C, SOTO LINAN V, et al. Animal models of Parkinson's disease: Bridging the gap between disease hallmarks and research questions[J]. *Transl Neurodegener*, 2023, 12(1):36.
- [32] 李亚楠, 马骏, 余沛豪, 等. 鱼藤酮帕金森病模型的建立与评价[J]. *中华中医药学刊*, 2020, 38(3):175-179, 272-273.
- LI Y N, MA J, YU P H, et al. Establishment and evaluation of rotenone-induced Parkinson's disease model[J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2020, 38(3):175-179, 272-273.
- [33] 匡良洪. 黄芩素通过自噬保护帕金森病小鼠神经损伤作用机制研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2019.
- KUANG L H. Study on the mechanism of baicalein protecting against neuronal injury in Parkinson's disease mice through autophagy[D]. Wuhan: Wuhan University, 2019.

[责任编辑 孙丛丛]