

·针灸推拿·

本文引用: 李千隽, 魏璐琪, 刘晓月, 袁 嘉, 陈俐彤, 田浩梅, 陈楚淘. 针刺通过调控 Nrf2、GPX4 mRNA 表达抑制铁死亡减轻脑缺血再灌注损伤[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(6): 1129-1135.

针刺通过调控 Nrf2、GPX4 mRNA 表达抑制铁死亡 减轻脑缺血再灌注损伤

李千隽, 魏璐琪, 刘晓月, 袁 嘉, 陈俐彤, 田浩梅*, 陈楚淘*

湖南中医药大学针灸推拿与康复学院, 湖南 长沙 410208

〔摘要〕 **目的** 探讨针刺干预调控核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)、谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4) mRNA 表达对脑缺血再灌注损伤(CIRI)大鼠神经细胞铁死亡的影响,探究针刺治疗 CIRI 的可能作用机制。**方法** 采用随机数字表法将 60 只雄性 SD 大鼠分为假手术组(20 只)、造模组(40 只)。造模组通过构建大脑中动脉闭塞再灌注(MCAO/R)模型,模拟缺血再灌注损伤病理过程,造模成功后再随机分为模型组与针刺组,每组 20 只。针刺组捆绑并针刺大椎、百会、水沟穴,每次留针 30 min;假手术组与模型组只捆绑不针刺。以上各组每 12 h 干预 1 次,共干预 7 次。干预前后,采用改良 Garcia 评分对大鼠的神经功能受损状况进行评估;干预后,采用 TTC 染色法对脑组织梗死区域的体积占比进行测定,采用 RT-qPCR 法检测缺血半暗带区脑组织 Nrf2 与 GPX4 mRNA 表达水平,采用比色法、ELISA 法检测铁离子(Fe^{2+})、活性氧(ROS)含量变化,采用 TBA 法、微板法检测丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)含量变化。**结果** 干预后,与假手术组相比,模型组神经功能评分显著降低($P<0.01$),脑梗死体积比显著增大($P<0.01$),Nrf2 mRNA 表达显著上调、GPX4 mRNA 表达显著下调($P<0.01$), Fe^{2+} 、ROS、MDA 含量显著升高($P<0.01$),GSH 含量显著降低($P<0.01$)。干预后,与模型组相比,针刺组神经功能评分显著升高($P<0.01$),脑梗死体积比显著缩小($P<0.01$),Nrf2、GPX4 mRNA 表达显著上调($P<0.01$), Fe^{2+} 、ROS、MDA 含量下降($P<0.05$, $P<0.01$),GSH 含量升高($P<0.05$)。**结论** 针刺可通过上调 Nrf2 mRNA 表达,促进其下游靶基因 GPX4 mRNA 表达,改善 CIRI 大鼠神经功能缺损,缩小脑梗死体积,减少铁过载和 ROS 生成,抑制脂质过氧化,从而发挥脑保护作用。

〔关键词〕 脑缺血再灌注损伤;针刺;核因子 E2 相关因子 2;谷胱甘肽过氧化物酶 4;铁死亡;缺血半暗带;神经功能缺损

〔中图分类号〕 R245

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.06.005

Acupuncture alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting ferroptosis via regulating the mRNA expression of Nrf2 and GPX4

LI Qianjun, WEI Rongqi, LIU Xiaoyue, YUAN Jia, CHEN Litong, TIAN Haomei*, CHEN Chutao*

School of Acupuncture-moxibustion, Tuina and Rehabilitation, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

〔Abstract〕 **Objective** To investigate the effects of acupuncture intervention on neuronal ferroptosis in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury (CIRI) by regulating the mRNA expression of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) and glutathione peroxidase 4 (GPX4), and to explore the possible mechanism of action of acupuncture in treating CIRI. **Methods** A total of 60 male SD rats were randomly divided into sham-operated group ($n=20$) and modeling group ($n=40$) using random number table. The middle cerebral artery occlusion/reperfusion (MCAO/R) model was established in rats of the modeling group to mimic the pathological process of ischemia-reperfusion injury. After successful modeling, the modeling group was further randomly divided into

〔收稿日期〕 2026-03-19

〔基金项目〕 国家自然科学基金项目(82274662);湖南省研究生科研创新课题(2025CX066)。

〔通信作者〕 * 陈楚淘, 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: 314587702@qq.com; 田浩梅, 女, 博士, 教授, 硕士研究生导师, E-mail: 451358104@qq.com。

model group and acupuncture group with 20 rats in each group. Rats in the acupuncture group were immobilized and treated with acupuncture at Dazhui (GV14), Baihui (GV20), and Shuigou (GV26) with needles retained for 30 mins each time; rats in the sham-operated group and model group were only immobilized without acupuncture. All groups received intervention once every 12 hours for a total of 7 sessions. Before and after the intervention, neurological deficits were assessed using the modified Garcia score. After the intervention, the volume proportion of cerebral infarct area was measured by TTC staining. The mRNA expression levels of Nrf2 and GPX4 in brain tissues of the ischemic penumbra were tested by RT-qPCR. The levels of ferrous ion (Fe^{2+}) and reactive oxygen species (ROS) were determined by colorimetry and ELISA, while the content of malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) were checked by TBA method and the microplate method. **Results** After intervention, the model group showed a significant decrease in the neurological function score ($P<0.01$), a significant increase in the cerebral infarction volume ratio ($P<0.01$), significant up-regulation of the mRNA expression of Nrf2 and down-regulation of the mRNA expression of GPX4 ($P<0.01$), a significant increase in the content of Fe^{2+} , ROS and MDA ($P<0.01$) as well as a significant decrease in the content of GSH ($P<0.01$), compared with the sham-operated group. After intervention, the acupuncture group presented a significant increase in neurological function score ($P<0.01$), a significant decrease in cerebral infarction volume ratio ($P<0.01$), significant up-regulation of the mRNA expression of Nrf2 and GPX4 ($P<0.01$), as well as a decrease in the levels of Fe^{2+} , ROS and MDA ($P<0.05$, $P<0.01$), and an increase in the content of GSH ($P<0.05$), compared with the model group. **Conclusion** Acupuncture can exert a cerebral protective effect by up-regulating the mRNA expression of Nrf2, and subsequently promoting the mRNA expression of its downstream target gene GPX4, thereby ameliorating neurological deficits, reducing cerebral infarct volume, alleviating iron overload, suppressing ROS production, and inhibiting lipid peroxidation in rats with CIRI.

[**Keywords**] cerebral ischemia-reperfusion injury; acupuncture; Nrf2; GPX4; ferroptosis; ischemic penumbra; neurological deficit

缺血性脑卒中(cerebral ischemic stroke, CIS) 占有卒中病例的 80%以上^[1]。脑卒中属于高发病率、高致残率和高死亡率的急性脑血管疾病,现已成为全球范围内导致成年人长期残疾和死亡的主要原因之一,给社会与家庭带来沉重负担^[2]。尽早恢复缺血脑组织血流供应是治疗 CIS 的核心策略;然而,在血供恢复后引发的脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI)却成为加剧脑组织二次损伤的关键病理环节,这在很大程度上限制了临床疗效的进一步提升^[3]。

CIRI 的机制复杂,涉及一系列相互关联的损伤级联反应^[4]。再灌注过程可引发强烈的氧化应激反应,导致活性氧(reactive oxygen species, ROS)大量生成,进而参与调控细胞凋亡、坏死等多种程序性死亡^[5-6]。在 CIRI 状态下,细胞内游离铁的蓄积会通过芬顿反应催化生成大量 ROS,同时伴随抗氧化物质[如谷胱甘肽(glutathione, GSH)]的耗竭以及关键酶谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)表达下降,共同导致脂质过氧化物的累积,最终诱发铁死亡^[7]。近年来研究表明,这种铁依赖、脂质过氧化驱动的新型细胞死亡方式,与 CIRI 的病理进程密切相关^[8-11]。因此,靶向抑制铁死亡通路成为缓解 CIRI 的潜在策略。在众多内源性防御体系中,核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-

related factor 2, Nrf2)及其下游靶基因 GPX4 构成的抗氧化调控机制具有重要地位^[9,12-14]。Nrf2 在氧化应激下被激活并易位至细胞核,启动包括 GPX4 在内的多种抗氧化基因转录,从而增强细胞对脂质过氧化物的清除能力,抑制铁死亡进程,进而发挥神经保护作用^[15]。Nrf2 与 GPX4 协同表达能够显著增强细胞抗氧化能力,抑制铁死亡激活,从而在 CIRI 中发挥神经保护作用^[16]。

本课题组长期专注于缺血性脑血管病的实验探究,前期研究表明,针刺大椎、百会及水沟穴能够有效缓解 CIRI 大鼠脑组织损害,促进神经功能恢复^[17-20];近期研究进一步发现,针刺可通过调节铁代谢、减少脂质过氧化物生成,进而抑制缺血性脑卒中后铁死亡^[21]。但针刺大椎、百会和水沟穴能否通过调控 Nrf2/GPX4 表达,增强细胞抗氧化能力、抑制铁死亡并减轻 CIRI 后神经细胞损伤尚不明确,有待实验进一步验证。基于此,本实验选用 SD 大鼠建立大脑中动脉闭塞再灌注(middle cerebral artery occlusion/reperfusion, MCAO/R)模型,以针刺为干预手段,观测脑梗死体积、神经功能损伤情况及铁死亡相关因子表达变化,旨在明确针刺大椎、百会和水沟穴通过调控 Nrf2/GPX4 表达减轻 CIRI 的作用及机制,从而为临床及实验研究提供部分理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

本研究已通过湖南中医药大学实验伦理委员会审批(编号:HNUCM21-2310-25),所有操作均符合相关伦理规范。实验选用60只SPF级雄性SD大鼠,初始体质量250~280 g,由湖南中医药大学动物实验中心提供,生产许可证号:SCXK(湘)2019-004。大鼠饲养于湖南中医药大学动物实验中心SPF级屏障环境,温度25~26℃,相对湿度40%~60%,12 h/12 h明暗光照循环,自由摄食、饮水。

1.2 主要仪器及试剂

线栓(型号:2436-100,北京西浓科技发展有限公司);华佗牌针灸针(型号:210503,苏州医疗用品有限公司);恒温水浴锅(型号:HH-420,金坛区西城新瑞仪器厂);离心机(型号:HT165R,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);荧光定量PCR仪(型号:LightCycler 480,瑞士Roche公司);高速组织研磨仪(型号:KZ-II,武汉赛维尔生物科技有限公司);酶标检测仪(型号:SMR60047,武汉优尔生商贸有限公司)。

戊巴比妥钠(批号:P3761-5g,德国Merck KGaA公司);4%多聚甲醛固定液(批号:BL539A,北京白鲨易生物科技有限公司);TTC染色液(批号:DK0005-100,北京里根生物技术有限公司);GSH试剂盒、丙二醛(malondialdehyde, MDA)测试盒、组织铁试剂盒(批号:A006-2-1、A003-1、A039-2-1,南京建成生物工程研究所);ROS试剂盒(批号:FY3686-B,江苏酶免实业有限公司);荧光定量PCR试剂盒(批号:E099-01A,苏州近岸蛋白科技股份有限公司)。

1.3 动物分组

所有大鼠先进行7 d适应性喂养。饲养期满后,采用随机数字表法将60只大鼠分为假手术组20只与造模组40只。对造模组大鼠进行MCAO/R造模,待造模成功后再以随机数字表法将其分成模型组与针刺组,每组20只。研究进程中,若发生动物死亡或样本不符合既定纳入标准,将及时补充同等数量大鼠并重复相应造模步骤,确保各组样本量恒定。

1.4 动物模型制备

造模前,对大鼠禁食不禁水,持续时间24 h。采用改良Zea-Longa线栓法^[20]建立MCAO/R模型。具

体流程:将大鼠以2%戊巴比妥钠(0.3 mL/100 g)腹腔注射麻醉,取仰卧位固定;在颈部右侧作纵向切口,依次剥离颈总动脉、颈外动脉及颈内动脉;分别结扎颈总动脉与颈外动脉后,于颈总动脉上剪开一小口,由此置入线栓直至感到明显阻力,再行颈内动脉结扎以固定线栓;栓塞2 h后,将线栓向外缓慢抽出约10 mm,以此实现大脑中动脉血流再通。假手术组仅实施颈部血管分离操作,不置入线栓。手术结束后,所有大鼠均置于20℃恒温环境中单笼喂养。待大鼠苏醒后,按照Zea-Longa 5级评分法^[22]评估神经功能缺损,将评分1~3分者纳入后续实验。

1.5 干预方法

造模完成且大鼠生命体征平稳后,立即启动相应干预措施。针刺组大鼠束缚四肢、固定头部,参照《实验动物常用穴位名称与定位第2部分:大鼠》^[23]分别于百会、大椎和水沟穴施以针刺,操作手法:百会平刺2 mm,大椎直刺5 mm,水沟朝向鼻中隔方向斜刺2 mm;均匀捻转,频率控制在90次/min,留针30 min,期间每隔15 min行针1次;每12 h干预1次,共干预7次。假手术组与模型组大鼠仅接受相同束缚处理,但不给予针刺刺激。

1.6 改良 Garcia 评分法评估神经功能缺损情况

分别于干预前后,采用改良Garcia评分^[24]评估各组大鼠的神经功能,指标包括自主运动、体态对称性、前肢伸展运动、网屏试验(攀爬能力)、双侧躯体触觉反射、胡须触觉反射6个维度,单项评分0~3分,总分0~18分,分值越低,提示神经功能缺损情况越严重。

1.7 TTC 染色法检测脑梗死体积

干预后及神经功能评分结束后,再次腹腔注射2%戊巴比妥钠麻醉大鼠,随后迅速断头摘取全脑组织,置于-20℃冰箱中快速冷冻。将冷冻后的脑组织移至冰上操作,先剔除小脑、低位脑干及嗅球,再沿冠状面均匀切取5个脑片(每片厚度约2 mm)。将所得脑片轻柔移入烧杯,加入足量2% TTC染液完全浸没,37℃恒温水浴避光孵育10 min,期间将脑片翻动1次。染色结束后,使用含4%多聚甲醛的磷酸缓冲液固定24 h,拍照留存,采用ImageJ图像分析软件测算脑梗死体积占全脑体积百分比,即脑梗死体积比。

1.8 RT-qPCR 法检测 Nrf2、GPX4 mRNA 含量

每组随机选取 5 只大鼠,麻醉后迅速断头,于冰上分离缺血半暗带区脑组织,取 50~100 mg 用于 Nrf2 和 GPX4 mRNA 表达的检测。按照试剂盒说明书步骤,提取样本总 RNA 并合成 cDNA,随后进行 RT-qPCR 检测,根据 SYBR High-Sensitivity qPCR SuperMix 说明书进行循环扩增,反应条件为 95 ℃预变性 30 s、95 ℃变性 5 s、55 ℃退火 20 s、72 ℃延伸 30 s,共 30 个循环。熔解曲线分析验证产物特异性,以 β -actin 为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目标基因 mRNA 相对表达水平,每组样本重复检测 3 次。引物序列详见表 1。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

基因	引物序列(5'-3')	长度/bp
Nrf2	正向:5'-CCCATTGAGGGCTGTGAT-3'	247
	反向:5'-TTGGCTGTGCTTTAGGTC-3'	
GPX4	正向:5'-AATCCTGGCCTTCCCTTGCA-3'	172
	反向:5'-GCCCTTGGGCTGGACTTTCA-3'	
β -actin	正向:5'-CCCATCTATGAGGGTTACGC-3'	150
	反向:5'-TTTAATGTCACGCACGATTTC-3'	

1.9 ELISA 法检测 ROS 含量

每组随机选取 5 只大鼠缺血半暗带区脑组织样本,精密称定后,按照质量体积比 1:9 加入预冷生理盐水,通过组织捣碎与匀浆处理制成悬液,经离心操作后收集上清液备用。检测启动前,所有待测样本及试剂盒在室温条件下同步放置 60 min 以达到平衡。随后,参照试剂盒说明书配制标准品并布局反应板,设置标准品孔与待测样品孔,并向各孔精准加入对应校准液或样本上清液 50 μ L,37 ℃温育 30 min。弃孔内液体,洗涤液反复洗板;除空白孔外,每孔加入酶标结合物 50 μ L,37 ℃继续温育 30 min,再次洗板 3 次。随后每孔依次加入显色底物 A、B 液各 50 μ L,37 ℃避光反应 15 min,最后加入终止液 50 μ L 终止反应。采用全波长酶标仪于 450 nm 处测定吸光度值,依据标准曲线对各样本中 ROS 浓度进行定量计算。

1.10 比色法、TBA 法及微板法检测 Fe^{2+} 、MDA 含量及 GSH 含量

每组随机选取 5 只大鼠缺血半暗带区脑组织,精确称重后,按照质量体积比 1:9 加入预冷生理

盐水,于冰浴条件下充分匀浆,将离心后所得上清液作为待测样本备用。检测前将相应试剂盒内容物充分溶解,于室温平衡 30 min 以上。 Fe^{2+} 含量测定:依据比色法试剂盒流程,依次向反应管中加入工作液与样本上清液,涡旋振荡混合均匀,于 520 nm 波长处测定吸光度。MDA 含量测定:采用 TBA 法,将样本与 TBA 反应体系混合后,于 95 ℃水浴加热 40 min,流水冷却、离心,收集上清液在 532 nm 波长下比色。GSH 含量测定:采用微板法,样本与相应底物及显色剂在反应板中混匀,室温反应后,迅速于 405 nm 波长处测定吸光度。所有测定操作均在酶标仪上完成,每个样本平行设置 3 个复孔,最终依据各指标相应计算公式获得 Fe^{2+} 、MDA 及 GSH 的实际含量值。

1.11 统计学处理

采用 SPSS 26.0 统计软件处理实验数据,结果以“ $\bar{x} \pm s$ ”形式呈现,首先对所有变量实施正态性检验。多组间比较:若数据满足正态分布且方差齐者采用单因素方差分析,组间两两比较选用 LSD 法;方差不齐时采用 Games-Howell 检验。组内干预前后比较:若差值服从正态分布采用配对 t 检验,非正态分布则采用配对秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

实验全程实际使用 85 只大鼠。其中 3 只大鼠未达到纳入标准,予以剔除;实验过程中共有 22 只大鼠死亡,死亡率约 25.88%,其中假手术组无动物死亡、模型组死亡 12 只、针刺组死亡 10 只,死亡原因主要为麻药过量、术后肠梗阻、颅内出血及注射操作不当等。最终各组纳入 20 只大鼠,共 60 只大鼠纳入统计。

2.1 各组大鼠神经功能评分比较

干预前,与假手术组相比,模型组与针刺组大鼠神经功能评分显著降低($P < 0.01$)。干预后,与假手术组比较,模型组与针刺组神经功能评分显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,针刺组大鼠神经功能评分显著升高($P < 0.01$)。干预前后组内对比,模型组神经功能评分差异无统计学意义($P > 0.05$),针刺组神经功能评分较干预前显著升高($P < 0.01$)。详见图 1。

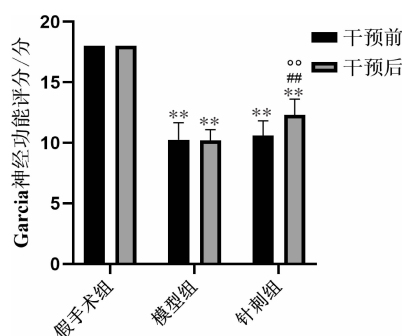


图1 各组大鼠 Garcia 神经功能评分比较 ($\bar{x} \pm s, n=20$)

Fig.1 Comparison of Garcia neurological function scores among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=20$)

注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$;与干预前比较,°° $P<0.01$ 。

2.2 各组大鼠缺血侧脑梗死体积比比较

与假手术组相比,模型组、针刺组脑梗死体积比显著增大($P<0.01$);与模型组比较,针刺组脑梗死体积比显著缩小($P<0.01$)。详见图 2—3。

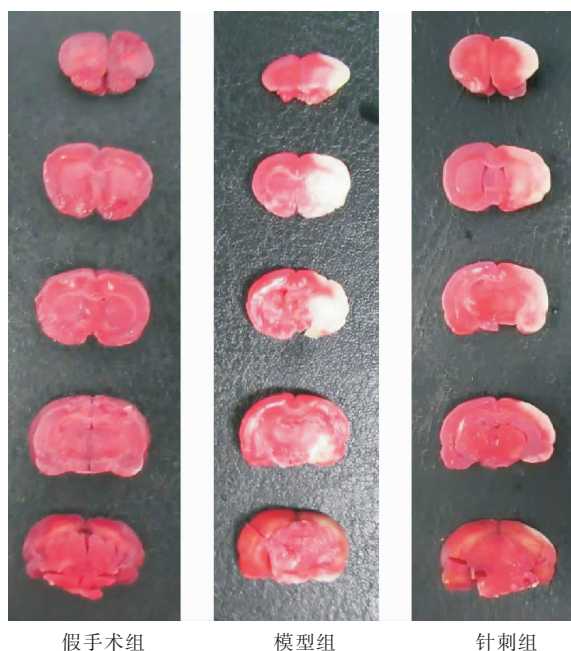


图2 各组大鼠缺血侧脑梗死 TTC 染色结果 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Fig.2 TTC staining results of cerebral infarction on the ischemic side among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=5$)

注:红色为正常脑组织,白色为缺血梗死区。

2.3 各组大鼠缺血半暗带 Nrf2、GPX4 mRNA 表达水平比较

与假手术组相比,模型组与针刺组 Nrf2 mRNA 表达水平显著上调、GPX4 mRNA 表达水平显著下调($P<0.01$);与模型组比较,针刺组 Nrf2、GPX4 mRNA 表达水平均显著上调($P<0.01$)。详见图 4。

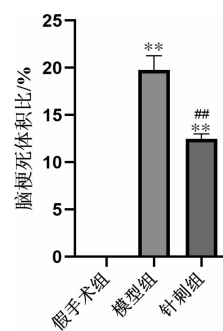


图3 各组大鼠缺血侧脑梗死体积比比较 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Fig.3 Comparison of cerebral infarction volume ratio on the ischemic side among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=5$)

注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

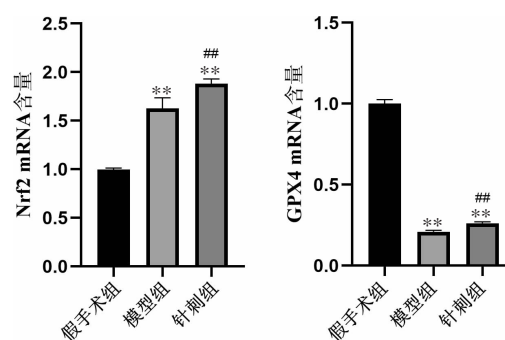


图4 各组大鼠缺血半暗带 Nrf2、GPX4 mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Fig.4 Comparison of mRNA expression levels of Nrf2 and GPX4 in the ischemic penumbra among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=5$)

注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

2.4 各组大鼠缺血半暗带 Fe^{2+} 、ROS 含量比较

与假手术组相比,模型组、针刺组 Fe^{2+} 、ROS 含量增高($P<0.05, P<0.01$);与模型组比较,针刺组 Fe^{2+} 、ROS 含量下降($P<0.05$)。详见图 5。

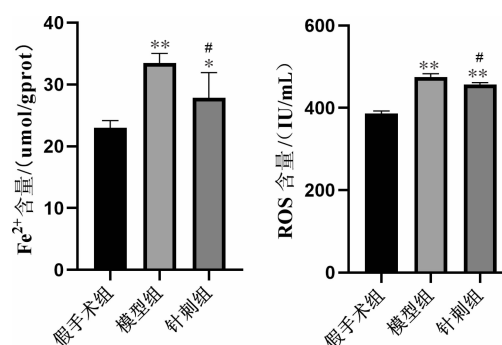


图5 各组大鼠缺血半暗带 Fe^{2+} 、ROS 含量比较 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Fig.5 Comparison of Fe^{2+} and ROS content in the ischemic penumbra among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=5$)

注:与假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$ 。

2.5 各组大鼠缺血半暗带 MDA、GSH 含量比较

与假手术组相比,模型组 MDA 含量显著升高

($P<0.01$), 针刺组 MDA 含量差异无统计学意义($P>0.05$), 模型组、针刺组 GSH 含量显著降低($P<0.01$)。与模型组比较, 针刺组 MDA 含量显著降低($P<0.01$)、GSH 含量升高($P<0.05$)。详见图 6。

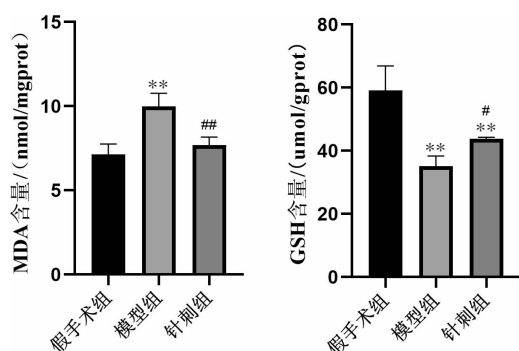


图 6 各组大鼠缺血半暗带 MDA、GSH 含量比较($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

Fig 6 Comparison of MDA and GSH content in the ischemic penumbra among different groups of rats ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

3 讨论

CIRI 是缺血性卒中后神经功能恶化的重要病理环节,机制复杂,涉及氧化应激、炎症反应及多种程序性细胞死亡等多条损伤级联通路^[25]。近年来,铁死亡作为一种以铁过载、ROS 爆发及脂质过氧化为特征的新型程序性细胞死亡形式,在 CIRI 中的作用备受关注^[26-27]。其核心机制在于细胞内抗氧化防御系统崩溃——尤其是 GSH 耗竭与 GPX4 活性下降,导致大量脂质过氧化物累积,最终引发细胞死亡^[28]。GPX4 是机体内一种独特的含硒抗氧化酶,通过催化脂质过氧化物的还原反应,在抑制铁死亡中发挥核心作用^[29]。GPX4 表达下调或活性降低将直接削弱细胞的抗氧化能力,从而诱导铁死亡发生^[30]。Nrf2 作为调控抗氧化反应的关键转录因子,可通过上调包括 GPX4 在内的多种细胞保护基因,成为拮抗铁死亡的关键调控因子^[31-32]。本研究旨在探讨针刺能否通过调控 Nrf2、GPX4 基因表达抑制铁死亡,从而减轻 CIRI 大鼠脑损伤。

本实验结果显示,针刺干预能显著改善 CIRI 大鼠神经功能缺损并缩小脑梗死体积比,表明针刺对 CIRI 具有明确的神经保护作用。在对铁死亡的关键生化指标进行检测后发现,针刺能有效降低脑组织内 Fe^{2+} 、ROS、MDA 含量,同时上调抗氧化物质 GSH 水平,提示针刺可通过减轻铁蓄积、抑制 ROS 爆发与脂质过氧化,阻断铁死亡的核心驱动环节。

为深入阐明针刺的作用靶点,本研究聚焦于 Nrf2 及 GPX4 两个关键抗氧化分子开展检测。结果显示,CIRI 后大鼠脑组织 Nrf2 mRNA 表达上调,但其下游关键效应分子 GPX4 mRNA 表达却显著下调,这可能是机体内源性抗氧化能力减弱、铁死亡发生的重要原因。经针刺干预后,大鼠脑组织 Nrf2 mRNA 表达进一步上调,同时 GPX4 mRNA 的下调趋势得到显著逆转。以上结果提示,针刺的保护作用不局限于上调 Nrf2 的一般性转录,更可恢复或增强 Nrf2 下游抗氧化因子 GPX4 的基因表达。GPX4 是编码催化 GSH 还原脂质过氧化物关键酶的基因,其表达恢复对于维持细胞抗氧化稳态至关重要^[33]。因此,可进一步说明针刺对 CIRI 大鼠的脑保护作用可能是通过调控 Nrf2、GPX4 基因表达来实现的。

综上所述,本研究证实针刺对 CIRI 大鼠具有脑保护作用,其机制可能与激活 Nrf2 mRNA 表达,进而特异性上调其下游靶基因 GPX4 mRNA 表达有关,从而增强细胞抗氧化能力、抑制铁死亡进程。本研究为针刺防治缺血性脑卒中提供了实验依据,即通过调控 Nrf2、GPX4 mRNA 表达以抑制铁死亡可能是一个潜在的作用途径。未来研究可利用基因敲除或特异性抑制剂等手段,在分子层面进一步明确针刺效应的调控机制。

参考文献

- [1] 湖北省脑卒中防治中心科普宣教专家组, 湖北省脑血管病防治学会. 脑卒中防治科普宣教专家共识[J]. 卒中与神经疾病, 2021, 28(6): 713-718.
- [2] 《中国脑卒中防治报告 2021》编写组. 《中国脑卒中防治报告 2021》概要[J]. 中国脑血管病杂志, 2023, 20(11): 783-792.
- [3] Wan J C M, White J R, Diaz L A. "Hey CIRI, what's my prognosis?"[J]. Cell, 2019, 178(3): 518-520.
- [4] Zhao J W, Zhang Y W, Lv S Q, et al. Mechanism of formononetin in improving energy metabolism and alleviating neuronal injury in CIRI based on nontargeted metabolomics research[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2025, 29(4): e70340.
- [5] Shi S Y, Zhang C Y, Liu J X. TIMP2 facilitates CIRI through activating NLRP3-mediated pyroptosis[J]. Aging, 2023, 15(9): 3635-3643.
- [6] Chen J, Yuan Y J, Tong L T, et al. A novel glycosylated ferulic acid conjugate: Synthesis, antioxidative neuroprotection activities in vitro, and alleviation of cerebral ischemia-reperfusion injury (CIRI) in vivo[J]. Antioxidants, 2025, 14(8): 953.

- [7] 蒋欢, 白文姬, 邵建林. 铁死亡在脑缺血再灌注损伤机制中的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(7): 101-109.
- [8] 施嘉华, 陈真珍, 黄龙坚, 等. 铁死亡在脑缺血再灌注中的作用研究进展[J]. 陕西医学杂志, 2024, 53(1): 132-135.
- [9] 袁先江, 王琴琴, 喻梦婷, 等. 中医药干预铁死亡防治脑缺血再灌注损伤研究进展[J]. 河南中医, 2025, 45(4): 623-632.
- [10] 曹亚荣, 马贤德, 樊程程, 等. 基于 System xc⁻-GSH-GPX4 抗氧化功能轴探讨眼针改善脑缺血再灌注损伤大鼠神经元铁死亡的作用机制[J]. 针刺研究, 2024, 49(12): 1239-1247.
- [11] 贾俊兴, 倪彩丽, 王永霞. 急性脑梗死后缺血再灌注的脑保护作用[J]. 脑与神经疾病杂志, 2024, 32(12): 785-788.
- [12] 罗佳, 吴宇, 刘京东, 等. 香叶醇通过调控 Nrf2/HO-1 途径调节氧化应激减轻大鼠脑缺血/再灌注损伤[J]. 中国药理学通报, 2024, 40(3): 431-439.
- [13] 王力波, 贝赞, 秦东旭, 等. 依达拉奉通过 Nrf2 信号分子调节氧化应激减轻脑缺血再灌注诱导的神经损伤[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2020, 36(3): 328-336.
- [14] 杜利鹏, 黄卫锋, 冯知涛, 等. Nrf2 在脑缺血再灌注损伤中的作用及机制研究进展[J]. 生理科学进展, 2019, 50(6): 418-422.
- [15] 高建红, 宋天英, 田朝禧, 等. 延龄草总皂苷通过抑制 Keap-1/Nrf2/HO-1、Nrf2/SLC7A11/GPX4 通路介导的铁死亡减轻脑缺血/再灌注损伤[J]. 中国药理学通报, 2024, 40(10): 1850-1857.
- [16] 李华妮, 刘长河, 郭晓燕, 等. 心脑舒通胶囊抑制铁死亡减轻大鼠脑缺血再灌注损伤的机制[J]. 中国药房, 2025, 36(3): 306-311.
- [17] 陈俐彤, 谢灿明, 王瑶, 等. 针刺对脑缺血再灌注损伤大鼠海马 circRNA_017109 和 miR-138-5p 表达的影响[J]. 神经解剖学杂志, 2025, 41(4): 445-451.
- [18] 袁嘉, 王瑶, 刘晓月, 等. 针刺通过调控 PPAR β / δ 抑制脑缺血再灌注损伤大鼠的海马炎症反应[J]. 神经解剖学杂志, 2025, 41(4): 486-492.
- [19] 刘晓月, 江姗姗, 王瑶, 等. 针刺调控脑缺血再灌注损伤大鼠海马组织 miR-301a-5p 的表达[J]. 神经解剖学杂志, 2024, 40(5): 613-618.
- [20] 袁嘉, 陈俐彤, 刘晓月, 等. 基于不同时间点观察针刺对脑缺血再灌注损伤大鼠缺血半暗带铁死亡相关因子表达的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(12): 2316-2324.
- [21] 汪红娟, 唐红, 江姗姗, 等. 针刺对脑缺血再灌注损伤大鼠海马组织铁死亡的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(10): 1683-1687.
- [22] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.
- [23] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位第 2 部分: 大鼠[J]. 针刺研究, 2021, 46(4): 351-352.
- [24] 张化彪, 何纲, 徐洪亮, 等. 自发性脑出血动物模型选择及临床前药物试验指南(2024 年版)[J]. 实验动物与比较医学, 2024, 44(1): 3-30.
- [25] Liu L L, Pang J J, Qin D D, et al. Deubiquitinase OTUD5 as a novel protector against 4-HNE-triggered ferroptosis in myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. Advanced Science, 2023, 10(28): 2301852.
- [26] 娄原. 通窍活血汤调控 System Xc: GPX4 通路对抗铁死亡治疗 CIRI 的作用机制研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2023.
- [27] 桂腾敏, 何影, 任欢欢, 等. 有氧运动调控铁死亡的相关机制及其与脑卒中关联的研究进展[J]. 中国康复医学杂志, 2025, 40(1): 153-159.
- [28] 范博宇, 赵哲, 肇玉明. 缺血性脑卒中与铁死亡的研究进展[J]. 脑与神经疾病杂志, 2025, 33(4): 256-260.
- [29] 刘汝雄, 杨万镇, 涂杰, 等. 铁死亡调控蛋白 GPX4 的小分子抑制剂研究进展[J]. 药学实践与服务, 2024, 42(9): 375-378.
- [30] Weiland A, Wang Y M, Wu W H, et al. Ferroptosis and its role in diverse brain diseases[J]. Molecular Neurobiology, 2019, 56(7): 4880-4893.
- [31] 谢吐秀, 吕菁君, 张新奇, 等. 铁死亡在脑缺血-再灌注损伤过程中的研究进展[J]. 中国急救医学, 2022, 42(4): 358-363.
- [32] 韩玉迪, 白波, 王美琴, 等. 核因子 E2 相关因子 2 在脑缺血再灌注损伤中的研究进展[J]. 中风与神经疾病杂志, 2021, 38(6): 560-562.
- [33] 王琪, 侯子文, 刘瑶瑶, 等. 基于 p53/SLC7A11/GPX4 信号通路探讨针刺干预脑缺血再灌注损伤大鼠的作用机制[J]. 中国针灸, 2025, 45(8): 1099-1110.

(本文编辑 匡静之)