

·针灸推拿·

本文引用: 辜克雨, 刘波, 邢冠君, 何鑫, 丁小连. 基于cGAS/STING信号通路探讨针康法对HIBD新生大鼠神经炎症的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(8): 1453-1460.

基于cGAS/STING信号通路探讨针康法对HIBD 新生大鼠神经炎症的影响

辜克雨¹, 刘波^{2*}, 邢冠君¹, 何鑫², 丁小连¹

1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江中医药大学附属第二医院, 黑龙江 哈尔滨 150001

[摘要] **目的** 探讨针康法调节环鸟苷酸腺苷酸合成酶(cGAS)/干扰素基因刺激因子(STING)通路相关蛋白表达对缺血缺氧性脑损伤(HIBD)新生大鼠神经炎症的影响。**方法** 将Wistar大鼠随机分为假手术组、模型组、针刺组、康复组、针康组($n=30$)。采用改良Rice-Vannucci法构建HIBD新生大鼠模型,假手术组和模型组不予干预;针刺组进行头穴丛刺治疗,选取百会穴及双侧旁开2 mm处针刺,快速捻转1 min后留针2 h,1次/d;康复组进行转笼转棒训练,1次/d,10 min/次;针康组在头穴丛刺留针期间同步进行转笼转棒训练。干预结束7、14 d后,采用Longa评分法评估大鼠神经功能缺损情况;HE染色观察大鼠缺血侧大脑皮质组织病理学改变;TUNEL法观察神经细胞凋亡率;ELISA测定脑组织肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-6、IL-1 β 、IL-18水平;Western blot测定大鼠缺血侧大脑皮质中cGAS、STING、NOD样受体蛋白3(NLRP3)蛋白表达水平。**结果** 与假手术组比较,模型组7、14 d的Longa评分增加($P<0.01$),缺血侧大脑皮质组织细胞萎缩、排列松散、伴胞核模糊及水肿,神经细胞凋亡率升高($P<0.01$),脑组织TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-18含量和cGAS、STING、NLRP3蛋白相对表达水平升高($P<0.01$)。与模型组比较,各治疗组7、14 d的Longa评分降低($P<0.05$),大脑皮质病理损伤得到改善,神经细胞凋亡率降低($P<0.05$),脑组织TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-18含量和cGAS、STING、NLRP3蛋白相对表达水平降低($P<0.05$)。与针刺组、康复组比较,针康组7、14 d的Longa评分降低($P<0.05$),大脑皮质病理损伤改善更明显,神经细胞凋亡率降低($P<0.05$),脑组织TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-18含量和cGAS、STING、NLRP3蛋白相对表达水平降低($P<0.05$)。**结论** 针康法可能通过抑制cGAS/STING通路的异常激活,降低NLRP3炎症小体活性,进而改善HIBD新生大鼠神经炎症损伤情况,促进神经功能恢复。

[关键词] 缺血缺氧性脑损伤;针康法;神经炎症;环鸟苷酸腺苷酸合成酶;干扰素基因刺激因子;NLRP3炎症小体

[中图分类号]R285.5

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.08.008

Effects of acupuncture-rehabilitation therapy on neuroinflammation in neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage based on the cGAS/STING signaling pathway

GU Keyu¹, LIU Bo^{2*}, XING Guanjun¹, HE Xin², DING Xiaolian¹

1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang 150040, China;

2. The Second Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang 150001, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of acupuncture-rehabilitation therapy on neuroinflammation in neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage (HIBD) by regulating the cyclic GMP-AMP synthase (cGAS)/stimulator of interferon genes (STING) pathway-related protein expressions. **Methods** Wistar rats were randomly divided into sham-operated group, model

[收稿日期]2025-06-08

[基金项目]黑龙江省卫生健康委员会科研课题(20230303100276);黑龙江中医药大学附属第二医院孙申田青年人才基金项目(2020KY-14)。

[通信作者]* 刘波,女,主任医师,硕士研究生导师,E-mail:3321364399@qq.com。

group, acupuncture group, rehabilitation group, and acupuncture-rehabilitation group ($n=30$). The modified Rice-Vannucci method was applied to establish HIBD neonatal rat model. The sham-operated and model groups were given no intervention; the acupuncture group received cluster acupuncture at the scalp acupoints of Baihui (GV20) and two adjacent points located 2 mm lateral to it on both sides, with rapid needle twirling for 1 minute followed by 2-hour needle retention, once per day; the rehabilitation group received rotating cage and rod training, 10 minutes per session, once per day; and the acupuncture-rehabilitation group received simultaneous rotating cage and rod training during the needle retention period of scalp cluster acupuncture. On days 7 and 14 after intervention, the neurological deficits of rats were assessed by Longa score; HE staining was used to observe the histopathological changes in the ischemic cerebral cortex of rats; TUNEL assay was used to observe the apoptosis rate of neuronal cells; ELISA was employed to measure the levels of TNF- α , IL-6, IL-1 β , and IL-18 in the brain tissues; Western blot was conducted to check the protein expression levels of cGAS, STING, and NLRP3 in the ischemic cortex. **Results** Compared with the sham-operated group, the model group showed significantly increased Longa scores on days 7 and 14 ($P<0.01$), with neuronal atrophy, disorganized cellular arrangement, nuclear blurring, and edema in the ischemic cerebral cortex. The neuronal apoptosis rate increased ($P<0.01$). The levels of TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-18, and the relative protein expressions of cGAS, STING, and NLRP3 were all significantly elevated ($P<0.01$). Compared with the model group, all treatment groups showed reduced Longa scores on days 7 and 14 ($P<0.05$), improved pathological damage in the cerebral cortex, decreased neuronal apoptosis ($P<0.05$), and reduced content of TNF- α , IL-6, IL-1 β , and IL-18, as well as lower relative protein expression levels of cGAS, STING, NLRP3 in brain tissues ($P<0.05$). Compared with the acupuncture and rehabilitation groups, the acupuncture-rehabilitation group demonstrated greater reductions in Longa scores on days 7 and 14 ($P<0.05$), more pronounced improvement in pathological damage in the cerebral cortex, decreased neuronal apoptosis ($P<0.05$), and reduced content of TNF- α , IL-6, IL-1 β , and IL-18, as well as lower relative protein expression levels of cGAS, STING, and NLRP3 in brain tissues ($P<0.05$). **Conclusion** Acupuncture-rehabilitation therapy may alleviate neuroinflammatory damage and promote neurological recovery in neonatal rats with HIBD by inhibiting abnormal activation of the cGAS/STING pathway and suppressing NLRP3 inflammasome activity.

[**Keywords**] hypoxic-ischemic brain damage; acupuncture-rehabilitation therapy; neuroinflammation; cyclic GMP-AMP synthase; stimulator of interferon genes; NLRP3 inflammasome

新生儿缺血缺氧性脑损伤(hypoxic-ischemic brain damage, HIBD)是因围生期窒息和脑血流量减少引发脑组织缺血缺氧性损伤的严重疾病,是儿童脑瘫和神经功能障碍的主要病因^[1-2]。尽管亚低温是目前临床常用干预手段,但其有效率较低,且其治疗时间窗窄,多数患儿因无法及时接受治疗,导致常遗留认知障碍、癫痫及运动功能缺陷等后遗症,给家庭和社会带来沉重负担^[3]。研究表明,小胶质细胞介导的神经炎症是 HIBD 继发性脑损伤的核心病理机制^[4-5]。HIBD 发生后,小胶质细胞激活并引发级联炎症反应,释放肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 等趋化因子与促炎性细胞因子,加剧神经炎症反应,恶化脑损伤程度^[6]。因此,有效抑制神经炎症反应可能是预防和治疗 HIBD 遗留神经后遗症的重要手段之一。

环鸟苷酸腺苷酸合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)/干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)通路在先天性免疫调控中占重要地位,其信号传导的异常激活与多种疾病的

炎症病理进程密切相关,尤其在神经系统疾病中表现出显著的神经炎症调控作用^[7]。在缺血性卒中、创伤性脑损伤等急性脑损伤,以及阿尔茨海默病等神经退行性疾病中,细胞质内异常泄露的脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)可激活 cGAS/STING 通路,驱动小胶质细胞过度活化,产生持续性神经炎症级联反应^[8-10]。由 NOD 样受体蛋白 3(NOD-like receptor protein 3, NLRP3)、凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis associated with speck-like proteins, ASC)和胱天蛋白酶(cysteine aspartic acid specific protease, Caspase)-1 共同组成的 NLRP3 炎症小体,在活化后,借助 Caspase-1 切割 IL-1 β 和 IL-18 前体,释放大促炎因子,加剧神经炎症和神经元损伤^[11]。

针康法是一种将头穴丛刺的长留针技术与现代康复训练相结合的治疗方法^[12]。近年来,针康法在临床治疗缺血性脑损伤中疗效显著^[13-14],可通过减少细胞凋亡、缓解炎症、改善神经功能等机制减轻脑缺血损伤^[15]。前期研究发现,针康法可抑制 NLRP3 炎症小体,有效改善 HIBD 新生大鼠运动功能,并对细

胞焦亡产生拮抗作用^[6]。本研究构建 HIBD 新生大鼠模型,探讨针康法通过调节 cGAS/STING 信号通路相关蛋白表达改善 HIBD 新生大鼠神经炎症损伤的机制,旨在为 HIBD 神经炎症的治疗提供新的思路和实验依据。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

选取 180 只 7 日龄 SPF 级 Wistar 大鼠(雌雄不限),体质量 10~15 g,购自辽宁长生生物技术股份有限公司,动物许可证号:SCXK(辽)2020-0001。大鼠分笼饲养,温度(23±1)℃,相对湿度 50%±10%,12 h 光暗循环,自由进食和饮水。本实验经黑龙江中医药大学实验动物伦理委员会审批(批准号:2025030510)。

1.2 主要仪器与试剂

2135 型切片机(德国徕卡公司);352 型酶标仪(芬兰 Thermo Fisher Scientific 公司);AC8 型洗板机(芬兰热电 Thermo Fisher Scientific 公司);TG16W 型离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);GNP-9080 型隔水式恒温培养箱(上海精宏实验设备有限公司);Tanon EPS-300 型电泳仪(上海天能科技有限公司)。

8%O₂+92%N₂ 混合气体(哈尔滨黎明气体有限公司,批号:20250401);HE 染色试剂盒、TUNEL 染色试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号:CO105S、C1098);TNF-α、IL-6、IL-1β、IL-18 ELISA 试剂盒(江苏酶免实业有限公司,批号:240912080R、240912087R、240912074R、240912099R);兔抗 cGAS 抗体(北京索莱宝科技有限公司,批号:K011498P);兔抗 STING 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:19851-1-AP);兔抗 NLRP3 抗体(北京博奥森生物技术有限公司,批号:Bs-10021R);羊抗兔 IgG-HRP、GAPDH 兔单克隆抗体(沈阳万类生物科技有限公司,批号:WLA023、WL01845)。

1.3 模型制备与分组

从 180 只大鼠中随机选取 30 只作为假手术组,不结扎血管、不进行缺氧处理。剩余 150 只采用改良 Rice-Vannucci 法制备 HIBD 模型^[7]。大鼠进行异氟烷吸入麻醉,麻醉后将其仰卧位固定,消毒并取颈部正中偏左行纵向切口,逐层剥离皮下软组织,暴露左侧颈总动脉并分离,将 6-0 结扎线穿过左颈总动脉底部,进行永久双重结扎。于左颈总动脉中间处离断,待确定无活动性出血后,消毒并缝合切口,再

次消毒并解除固定。术后将新生大鼠放入 37℃ 恒温箱中休息 2 h,后置于含有 8% O₂ 和 92% N₂ 且气体流速保持在 1 L/min 的 37℃ 缺氧箱中,进行 2 h 缺氧处理。缺氧过程中,观察大鼠是否出现抽搐、震颤、夹尾尖叫等反应,并使用 Longa 评分法^[8]进行神经行为学评估,评分在 1~3 分且伴有上述症状的大鼠,视为造模成功,纳入实验,其他予以剔除(死亡 22 只,造模失败 8 只),造模成功率为 80%。取 120 只造模成功的大鼠随机分为模型组、针刺组、康复组和针康组,每组再分 7、14 d 两个时间亚组(n=15)。

1.4 干预方法

针刺组:术后采用头穴丛刺针法进行治疗,选取 0.25 mm×25 mm 一次性无菌针灸针,参照大鼠解剖图谱,于百会穴及其左右旁开 2 mm 处(顶区)进针,以 200 r/min 的速度快速捻转 1 min 后留针 2 h,1 次/d;康复组予以转笼(6 r/min,10 min/d)、转棒(20 r/min,10 min/d)训练;针康组:选用上述相同针刺方式,并在留针期间同步进行上述康复训练。假手术组和模型组大鼠正常饲养,仅做同等抓取固定,不予干预治疗。

1.5 组织取材

各组大鼠在各时间点进行神经功能缺损评分评估,行为学检测结束后异氟烷吸入麻醉,每组随机选取 3 只大鼠,麻醉后外死并取出新鲜大脑用于 ELISA 检测,6 只用于 HE 染色和 TUNEL 染色,6 只用于 Western blot 检测。

1.6 观察指标及检测方法

1.6.1 Longa 评分观察大鼠神经功能缺损情况 采用盲法进行大鼠神经功能评分。参照 Longa 评分法^[8],对各组大鼠 7、14 d 的神经功能缺损情况进行评估,共 0~4 分,得分越高提示神经功能缺损越严重。

1.6.2 HE 染色观察大鼠缺血侧大脑皮质病理学变化

将脑组织样本浸没于 4% 多聚甲醛溶液中固定 24 h,随后依次进行脱水、透明和包埋处理,制备常规切片(厚度 6 μm)。切片脱蜡至水后行 HE 染色,脱水透明后封片。在光学显微镜下观察脑组织病理学变化并拍照保存。

1.6.3 TUNEL 染色检测大鼠缺血侧大脑皮质神经细胞凋亡率

石蜡切片经脱蜡水化后,在表面均匀滴加胃蛋白酶 K 溶液,室温孵育 30 min,PBS 冲洗 2 次。在切片表面滴加 TUNEL 反应混合液孵育 60 min,PBS 冲洗 3 次。加入过氧化物酶转化剂,室温孵育 30 min,再次 PBS 冲洗。滴加显色剂二氨基联苯胺,10 min 后终止显色,苏木素复染,脱水透明后封片,

在显微镜下观察切片,拍照并保存。使用 ImageJ 图像分析软件计数凋亡细胞和总细胞,并计算脑组织细胞凋亡率。

1.6.4 ELISA 检测大鼠脑组织炎症因子含量 大鼠麻醉后断头取脑,将脑组织做成匀浆,离心取上清液备用,采用 ELISA 试剂盒检测 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-18 的含量,依次进行稀释、加样、温育、配液、洗涤、加酶、温育、洗涤、显色、终止、测定,计算脑组织 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和 IL-18 的含量。具体操作参照相应试剂盒说明书进行。

1.6.5 Western blot 检测大鼠缺血侧大脑皮质 cGAS/STING 通路相关蛋白的表达水平 取缺血侧脑组织样本裂解离心获取上清液,用 BCA 试剂盒定量分析蛋白浓度,经电泳、转膜,以 5%脱脂牛奶封闭 2 h,加入 cGAS(1:1 000)、STING(1:1 000)、NLRP3(1:1 000)及 GAPDH 一抗,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。次日用 TBST 漂洗,室温孵育 HRP 标记的二抗 1 h。TBST 漂洗 3 次后,加入 ECL 显影液,曝光得到蛋白条带。最后进行灰度分析,计算目标蛋白相对表达量。

1.7 统计学处理

采用 SPSS 27.0 统计软件进行数据分析,符合正态性和方差齐性的计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,组间差异分析采用单因素方差分析,两两比较用 *LSD-t* 检验。以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠神经功能缺损评分比较

与假手术组比较,模型组 7、14 d 的 Longa 评分升高($P<0.01$);与模型组比较,各治疗组 7、14 d 的 Longa 评分降低($P<0.05$);与针刺组、康复组比较,针康组 7、14 d 的 Longa 评分降低($P<0.05$)。详见图 1。

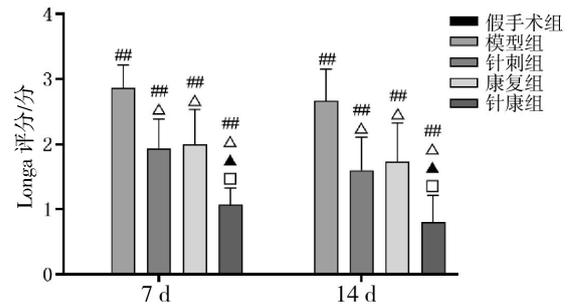


图 1 各组大鼠 Longa 评分比较 ($\bar{x}\pm s, n=15$)

Fig.1 Comparison of Longa scores among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=15$)

注:与假手术组比较,## $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta P<0.05$;与针刺组比较, $\blacktriangle P<0.05$;与康复组比较, $\square P<0.05$ 。

2.2 各组大鼠缺血侧大脑皮质病理学变化

假手术组 7、14 d 脑组织形态学表现正常,细胞结构完整、排列有序,细胞质与细胞核边界清晰,未出现明显水肿现象;与假手术组比较,模型组 7、14 d 脑组织细胞萎缩、排列松散,网格状结构明显,细胞质与细胞核界限模糊,部分细胞出现水肿性病理改变;与模型组比较,各治疗组 7、14 d 脑组织上述组织病理学损伤均有不同程度改善,且针康组改善更明显。详见图 2。

2.3 各组大鼠缺血侧大脑皮质神经细胞凋亡情况

与假手术组比较,模型组 7、14 d 神经细胞凋亡率升高($P<0.01$);与模型组比较,各治疗组 7、14 d 神经细胞凋亡率均降低($P<0.05$);与针刺组、康复组比较,针康组 7、14 d 神经细胞凋亡率降低($P<0.05$)。详见图 3—4。

2.4 各组大鼠脑组织炎症因子含量比较

与假手术组比较,模型组 7、14 d 的 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-18 含量升高($P<0.01$);与模型组比较,各治疗组 7、14 d 的 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-18

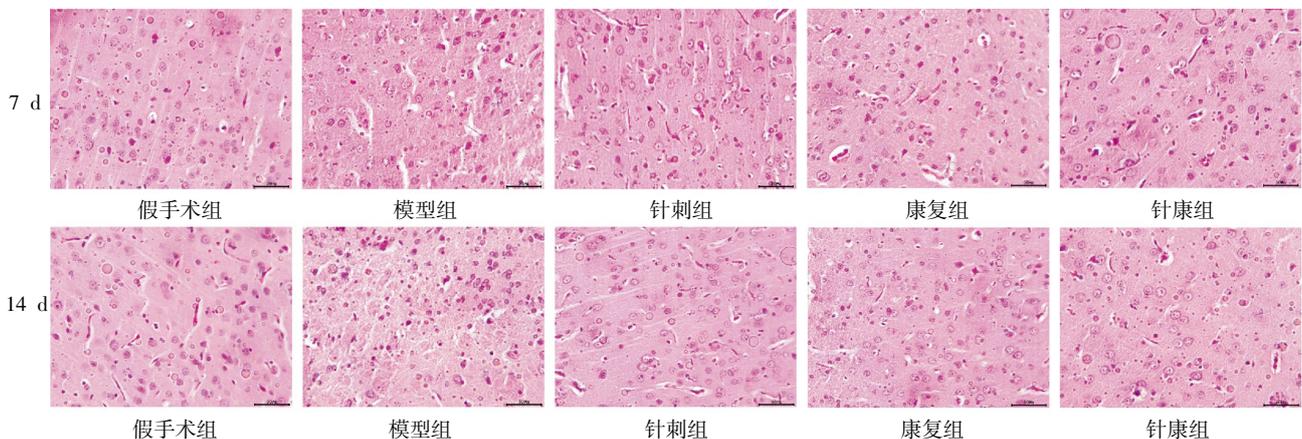


图 2 各组大鼠大脑皮质 HE 染色图 (比例尺=50 μ m, $\times 400$)

Fig.2 HE staining of the cerebral cortex in each group of rats (scale=50 μ m, $\times 400$)

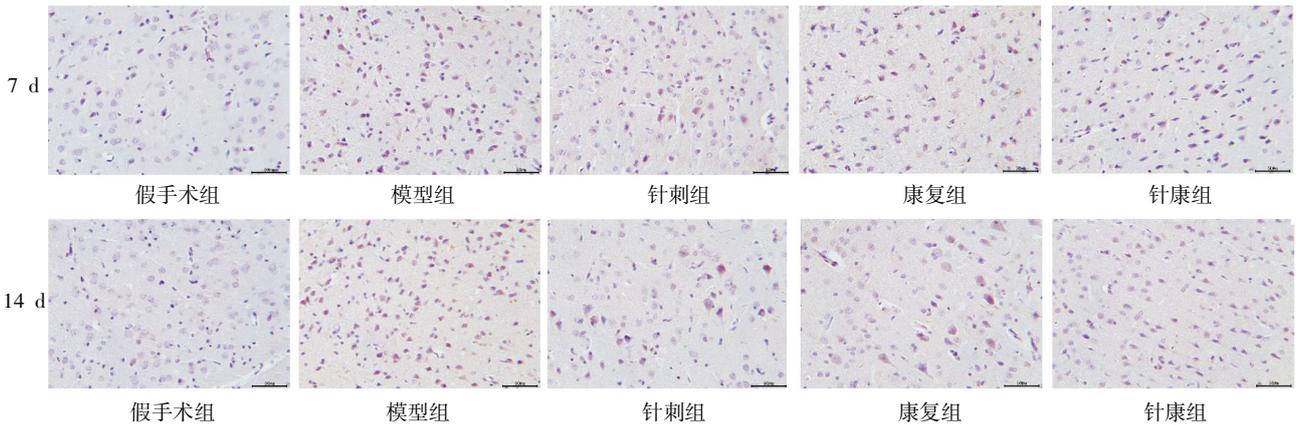


图 3 各组大鼠大脑皮质 TUNEL 染色图(比例尺=50 μm , $\times 400$)

Fig.3 TUNEL staining of the cerebral cortex in each group of rats (scale=50 μm , $\times 400$)

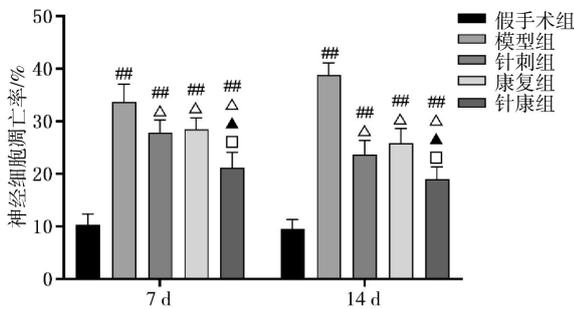


图 4 各组大鼠大脑皮质神经细胞凋亡率比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Fig.4 Comparison of neuronal apoptosis rates in the cerebral cortex among different groups of rats ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)
注:与假手术组比较, $^{##}P<0.01$;与模型组比较, $^{\Delta}P<0.05$;与针刺组比较, $^{\blacktriangle}P<0.05$;与康复组比较, $^{\square}P<0.05$ 。

含量降低($P<0.05$);与针刺组、康复组比较,针康组 7、14 d 的 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-18 含量降低($P<0.05$)。详见图 5—6。

2.5 各组大鼠缺血侧大脑皮质 cGAS/STING 通路相关蛋白表达水平比较

与假手术组比较,模型组 7、14 d 的 cGAS、STING、NLRP3 蛋白表达水平升高($P<0.01$);与模型组比较,各治疗组 7、14 d 的 cGAS、STING、NLRP3 蛋白表达水平降低($P<0.05$);与针刺组、康复组比较,针康

组 7、14 d 的 cGAS、STING 和 NLRP3 蛋白表达水平降低($P<0.05$)。详见图 7—8。

3 讨论

HIBD 至今仍是导致新生儿残疾与死亡的重要病因之一,其细胞病理过程可以分为急性能量衰竭阶段和慢性炎症阶段^[19]。HIBD 发生时,局部脑血流灌注减少导致神经元缺氧缺糖,ATP 合成受阻而消耗加剧,氧自由基和兴奋性毒性物质蓄积,进而激活小胶质细胞释放炎症介质,引发神经炎症反应,加速神经元凋亡和继发性组织损伤^[20-21]。中医学将 HIBD 归属于“惊风”“五迟”“五软”等范畴,认为其病位在脑,核心病机在于先天禀赋不足与后天濡养失宜,致使气血亏虚、髓海失充,临证施治应以补益气血、填精补髓为主^[22-23]。针康法是传统医学中头穴丛刺法和现代医学中康复技术的有机结合,其核心理念可概括为“针康同步,动态治疗,整体康复”^[12]。头穴丛刺治疗结合康复训练充分彰显中医整体康复与辨证论治特色,通过构建“中枢-外周-中枢”调节机制,可加强血液循环,改善脑供血状态,加速神经修复进程,激发大脑可塑性^[24]。

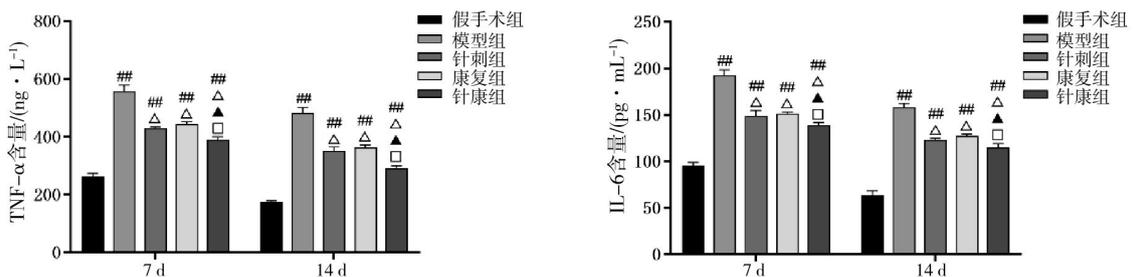


图 5 各组大鼠脑组织 TNF- α 、IL-6 含量比较($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Fig.5 Comparison of TNF- α and IL-6 content in brain tissues among different groups of rats ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

注:与假手术组比较, $^{##}P<0.01$;与模型组比较, $^{\Delta}P<0.05$;与针刺组比较, $^{\blacktriangle}P<0.05$;与康复组比较, $^{\square}P<0.05$ 。

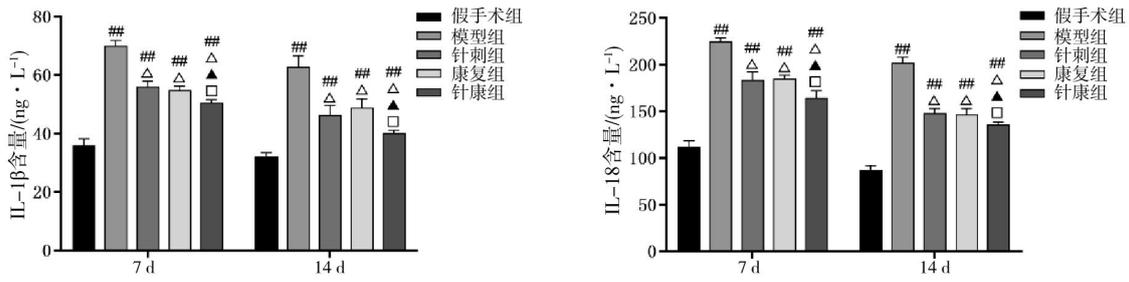


图 6 各组大鼠脑组织 IL-1 β 、IL-18 含量比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig.6 Comparison of IL-1 β and IL-18 content in brain tissues among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

注:与假手术组比较, $^{##}P<0.01$;与模型组比较, $^{\Delta}P<0.05$;与针刺组比较, $^{\blacktriangle}P<0.05$;与康复组比较, $^{\square}P<0.05$ 。

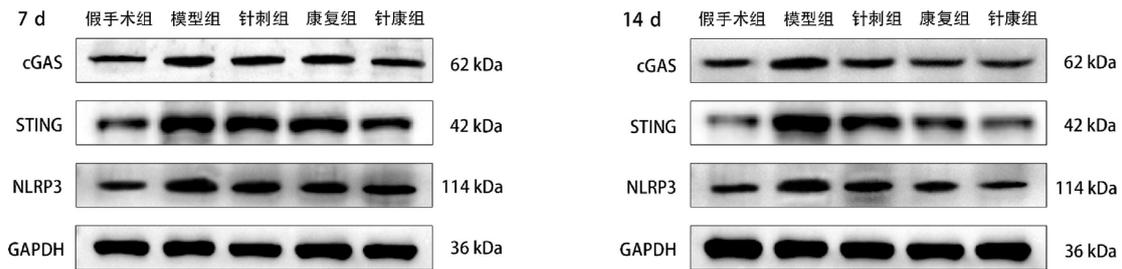


图 7 各组大鼠大脑皮质 cGAS、STING、NLRP3 蛋白表达条带图

Fig.7 Protein expression bands of cGAS, STING, and NLRP3 in the cerebral cortex in each group of rats

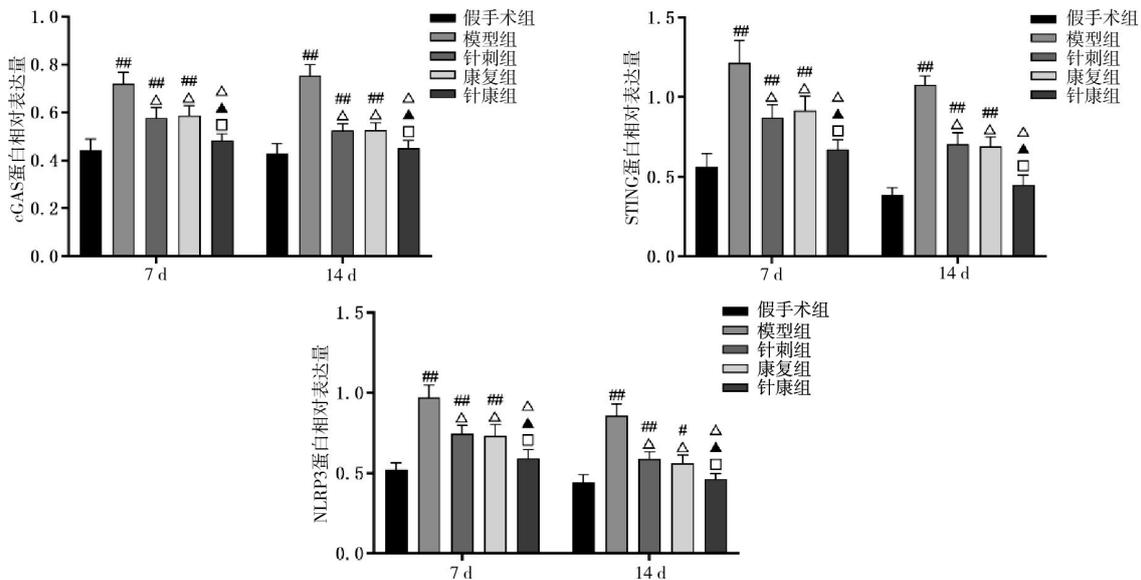


图 8 各组大鼠大脑皮质 cGAS、STING、NLRP3 蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig.8 Comparison of cGAS, STING, and NLRP3 protein expression levels in the cerebral cortex among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

注:与假手术组比较, $^{*}P<0.05$, $^{##}P<0.01$;与模型组比较, $^{\Delta}P<0.05$;与针刺组比较, $^{\blacktriangle}P<0.05$;与康复组比较, $^{\square}P<0.05$ 。

cGAS-STING 通路与免疫炎症密切相关, cGAS 作为双链 DNA(double strand DNA, dsDNA)的胞质感受器, 可特异性识别 dsDNA, 激活下游 STING, 诱导 I 型干扰素(interferon type I, IFN-I)和炎症因子的表达, 从而调控机体免疫反应^[25]。其中, STING 作为重要的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR), 广泛分布于哺乳动物免疫细胞, 能够

促进促炎微环境的形成^[26]。研究表明, 缺氧缺血导致的 ATP 耗竭及线粒体功能障碍, 可促使线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 泄漏至胞质, 同时, 乳酸堆积和氧自由基生成进一步破坏线粒体膜完整性, 导致大量 mtDNA 释放, 进而激活 cGAS/STING 信号通路^[27], 诱导下游 TANK 结合激酶 1(TANK-binding kinase 1, TBK1)-干扰素调节因子 3(inter-

feron regulatory factor 3, IRF3)和 κ B抑制因子激酶(inhibitor of κ B kinase, IKK)-核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)发挥效应,其中 IRF3 转位至核内促进 IFN- γ 表达,介导免疫细胞浸润^[28];NF- κ B则通过激活 NLRP3 炎症小体,促使 IL-1 β 、IL-18 等炎症因子释放,并协同 K⁺外流^[29]与去泛素化^[30]机制,加剧炎症级联反应,最终导致脑组织神经炎症加重和神经元死亡。段兆达等^[31]发现,灯盏乙素通过调节 cGAS/STING/NLRP3 通路抑制小胶质细胞过度活化,改善大脑中动脉栓塞模型大鼠的神经炎症反应;在创伤性脑损伤模型中^[32],STING 抑制剂 C-176 可通过阻断 STING 信号传导,抑制细胞焦亡,减轻继发性神经损伤;siRNA 靶向沉默 STING 基因表达,亦可缩小脑梗死面积^[33];体外研究进一步揭示,在氧-葡萄糖剥夺模型中敲低 cGAS 基因,能有效降低促炎因子水平和细胞凋亡率^[34]。综上,推测抑制 cGAS/STING/NLRP3 通路的异常激活可作为调控炎症的治疗途径。

既往研究证实,针康法可抑制 NLRP3、Caspase-1 蛋白表达,显著改善 HIBD 新生大鼠运动功能,疗效优于单纯针刺或康复训练^[16]。本研究在前期基础上创新性探索上游调控机制,构建 HIBD 新生大鼠模型后发现,造模大鼠出现神经功能缺损症状和异常病理变化,缺血侧皮质存在神经元凋亡灶,同时脑组织内炎症因子累积,而针康法干预不仅可以降低神经功能评分、改善异常病理变化,还可以调控神经细胞凋亡与神经炎症进程。进一步通过 Western blot 和 ELISA 检测发现,模型组 cGAS、STING 及 NLRP3 蛋白表达量呈显著上调趋势,伴随 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-18 等炎症因子水平升高。而针康法干预能抑制大鼠 cGAS/STING/NLRP3 信号通路活化,降低炎症因子释放水平,且效果优于单纯的头穴丛刺治疗和康复治疗。

综上所述,本研究首次发现针康法可能通过抑制 cGAS/STING 信号转导,调控 NLRP3 炎症小体活化,改善 HIBD 新生大鼠神经功能缺损症状和脑细胞损伤水肿等病理变化,减轻神经炎症,降低神经细胞凋亡率,从而产生神经保护效应。但本实验尚存在机制验证的局限性,亟待通过基因敲除或过表达技术靶向调控 cGAS 和 STING 基因表达,进一步明确针康法调控 HIBD 神经炎症的分子靶点。

参考文献

- [1] 李亚鹏,李琴,李莉,等.水苏碱调节 Hippo-YAP 信号通路对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤的神经保护作用[J].湖南中医药大学学报,2024,44(2):213-219.
- [2] LIU Z H, XIA Q, WANG C Y, et al. Biomimetic astrocyte cell membrane-fused nanovesicles for protecting neurovascular units in hypoxic ischemic encephalopathy[J]. Journal of Nanobiotechnology, 2024, 22(1): 766.
- [3] ARNAUTOVIC T, SINHA S, LAPTOOK A R. Neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy and hypothermia treatment[J]. Obstetrics and Gynecology, 2024, 143(1): 67-81.
- [4] ZEN R K, TSUJI S, MAEDA T, et al. Pro-inflammatory microglia-targeted peptide therapy ameliorates neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy in mice[J]. Molecular Therapy, 2025, 33(7): 3177-3194.
- [5] 左涵珺,李娟娟.小胶质细胞在缺氧缺血性脑损伤中的作用[J].神经解剖学杂志,2024,40(5):658-662.
- [6] DONG X J, LUO S Y, HU D J, et al. Gallic acid inhibits neuroinflammation and reduces neonatal hypoxic-ischemic brain damages[J]. Frontiers in Pediatrics, 2022, 10: 973256.
- [7] WANG H Q, FLEISHMAN J S, WU S, et al. cGAS-STING targeting offers novel therapeutic opportunities in neurological diseases[J]. Ageing Research Reviews, 2025, 105: 102691.
- [8] HU X L, ZHANG H J, ZHANG Q X, et al. Emerging role of STING signalling in CNS injury: Inflammation, autophagy, necroptosis, ferroptosis and pyroptosis[J]. Journal of Neuroinflammation, 2022, 19(1): 242.
- [9] WANG S Y, WANG L, QIN X, et al. ALDH2 contributes to melatonin-induced protection against APP/PS1 mutation-prompted cardiac anomalies through cGAS-STING-TBK1-mediated regulation of mitophagy[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2020, 5(1): 119.
- [10] 刘麒麟,邱百怡,靳晶,等.基于 cGAS-STING 信号通路探究针刺对帕金森病认知障碍大鼠神经炎症反应的影响[J].针刺研究,2025,50(2):159-166.
- [11] XU W, HUANG Y, ZHOU R B. NLRP3 inflammasome in neuroinflammation and central nervous system diseases[J]. Cellular & Molecular Immunology, 2025, 22(4): 341-355.
- [12] 唐强,朱路文.脑卒中康复新策略:针康法[J].中国康复医学杂志,2015,30(10):1071-1073.
- [13] 唐强,张世强,尹侠,等.针康法治疗中风的康复机制研究进展[J].中国医药导报,2022,19(28):37-40.
- [14] 李秀琼,唐强,赵婷婷,等.针康法调节细胞凋亡信号通路改善缺血性脑卒中研究进展[J].针灸临床杂志,2024,40(9):107-112.
- [15] 叶涛,朱路文,阮野,等.针康法对脑缺血大鼠神经功能

- 及缺血半暗区皮层细胞凋亡相关蛋白表达的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2018, 24(5): 502-508.
- [16] 刘波, 丁小连, 单昊宇, 等. 基于 NLRP3 炎症小体介导的细胞焦亡探讨针康法对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠的影响[J]. 针灸临床杂志, 2024, 40(1): 83-89.
- [17] VANNUCCI R C, CONNOR J R, MAUGER D T, et al. Rat model of perinatal hypoxic-ischemic brain damage[J]. *Journal of Neuroscience Research*, 1999, 55(2): 158-163.
- [18] 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.
- [19] ARTEAGA O, ÁLVAREZ A, REVUELTA M, et al. Role of antioxidants in neonatal hypoxic-ischemic brain injury: New therapeutic approaches[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(2): 265.
- [20] 胡兴, 鲁利群. 基于炎症的新生儿缺氧缺血性脑损伤治疗进展[J]. 成都医学院学报, 2019, 14(5): 683-686.
- [21] HOILAND R L, ROBBA C, MENON D K, et al. Clinical targeting of the cerebral oxygen cascade to improve brain oxygenation in patients with hypoxic-ischaemic brain injury after cardiac arrest[J]. *Intensive Care Medicine*, 2023, 49(9): 1062-1078.
- [22] 黄倩茹, 董亚琴, 潘晓华, 等. 电针长强穴对缺血缺氧脑损伤仔鼠学习记忆能力及海马 PI3K、Akt 蛋白表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(1): 416-419.
- [23] 单海军, 曹彩红, 张英英, 等. 补肾开窍祛痰方对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠海马神经元凋亡基因 Bcl-2、Bax 及 Bcl-2/Bax 比例变化的影响[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(6): 1336-1338.
- [24] 邢学良, 曲阳, 辛贵乐, 等. 以针康法为主的中医整合康复技术对脑卒中偏瘫肢体肌力、运动功能的干预效果分析[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(4): 69-73.
- [25] 杜小正, 丁少云, 刘倩茹, 等. cGAS-STING 信号通路在缺血性脑卒中作用机制的研究进展[J]. 神经解剖学杂志, 2024, 40(4): 520-524.
- [26] LIAO Y J, CHENG J B, KONG X X, et al. HDAC3 inhibition ameliorates ischemia/reperfusion-induced brain injury by regulating the microglial cGAS-STING pathway[J]. *Theranostics*, 2020, 10(21): 9644-9662.
- [27] KIM J, KIM H S, CHUNG J H. Molecular mechanisms of mitochondrial DNA release and activation of the cGAS-STING pathway[J]. *Experimental & Molecular Medicine*, 2023, 55(3): 510-519.
- [28] 娄方宁, 郑明月, 陈凯先, 等. cGAS-STING 信号通路调节剂在免疫治疗中的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2024, 55(1): 15-25.
- [29] GAIDT M M, EBERT T S, CHAUHAN D, et al. The DNA inflammasome in human myeloid cells is initiated by a STING-cell death program upstream of NLRP3[J]. *Cell*, 2017, 171(5): 1110-1124.
- [30] WANG W B, HU D W, WU C F, et al. STING promotes NLRP3 localization in ER and facilitates NLRP3 deubiquitination to activate the inflammasome upon HSV-1 infection[J]. *PLoS Pathogens*, 2020, 16(3): e1008335.
- [31] 段兆达, 徐冬垚, 杨毓甲, 等. 灯盏乙素对大鼠脑缺血后小胶质细胞 cGAS/STING/NLRP3 信号轴的调控[J]. 神经解剖学杂志, 2023, 39(5): 517-522.
- [32] ZHANG L M, XIN Y, WU Z Y, et al. STING mediates neuroinflammatory response by activating NLRP3-related pyroptosis in severe traumatic brain injury[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2022, 162(5): 444-462.
- [33] GAMDZYK M, DOYCHEVA D M, ARAUJO C, et al. cGAS/STING pathway activation contributes to delayed neurodegeneration in neonatal hypoxia-ischemia rat model: Possible involvement of LINE-1[J]. *Molecular Neurobiology*, 2020, 57(6): 2600-2619.
- [34] JIANG G L, YANG X L, ZHOU H J, et al. cGAS knockdown promotes microglial M2 polarization to alleviate neuroinflammation by inhibiting cGAS-STING signaling pathway in cerebral ischemic stroke[J]. *Brain Research Bulletin*, 2021, 171: 183-195.

(本文编辑 周旦)