

epithelium; its association with diseases and regulation by phytochemicals[J]. *J Immunol Res*, 2018, 2018; 2645465.

[30] Henneken M, Dörner T, Burmester G R, *et al.* Differential expression of chemokine receptors on peripheral blood B cells from patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Res Ther*, 2005, 7 (5); R1001-R1013.

[31] Enghard P, Humrich J Y, Rudolph B, *et al.* CXCR3⁺CD4⁺T cells are enriched in inflamed kidneys and urine and provide a new biomarker for acute nephritis flares in systemic lupus erythematosus patients[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60 (1); 199-206.

基于 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路探讨芪龙胶囊对缺血性脑卒中大鼠脑内神经元焦亡的影响

徐敬娅, 李沂霖, 赵 曼, 余英杰, 赵炜明*
(黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: **目的** 探讨芪龙胶囊对缺血性脑卒中 (IS) 大鼠神经元焦亡的影响。**方法** 90 只 SPF 级雄性 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、阿司匹林 (27 mg/kg) 组和芪龙胶囊低、中、高剂量 (0.06、0.12、0.24 g/kg) 组, 采用线栓法建立右侧大脑中动脉阻塞 (MCAO) 模型, 假手术组仅分离神经动脉, 不插线栓。造模成功后, 给药干预 14 d。给药结束后, 测量各组神经功能评分、脑含水量以判断脑损伤程度; TTC 染色检测脑梗死面积; HE、尼氏染色观察脑组织病理学改变、神经元病变与恢复情况; 免疫组化法检测脑组织 NLRP3、cleaved Caspase-1 及 GSDMD-N 蛋白定位与表达; Western blot 法检测脑组织 NLRP3、Caspase-1、cleaved Caspase-1、GSDMD 及 GSDMD-N 蛋白表达; ELISA 法检测脑组织炎症因子 (IL-1β、IL-18、TNF-α) 水平。**结果** 与假手术组比较, 模型组大鼠神经功能损伤评分升高 ($P<0.01$), 脑梗死面积百分比和脑水肿率增大 ($P<0.01$), 神经元胞质内尼氏小体数量减少, 神经元受损数量减少 ($P<0.01$), 大脑皮层有大量炎性细胞浸润, 脑皮层组织 NLRP3、cleaved Caspase-1 及 GSDMD-N 蛋白表达升高 ($P<0.01$), IL-1β、IL-18、TNF-α 水平升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 芪龙胶囊中、高剂量组大鼠神经功能损伤评分降低 ($P<0.05$), 脑水肿率降低 ($P<0.05$); 芪龙胶囊各剂量组脑梗死面积百分比降低 ($P<0.01$), 神经元存活数量增加 ($P<0.01$), 大脑皮层炎症减轻, NLRP3、cleaved Caspase-1 及 GSDMD-N 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), IL-1β、IL-18、TNF-α 水平降低 ($P<0.01$)。**结论** 芪龙胶囊可通过下调 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路抑制神经细胞焦亡发生, 从而起到神经保护作用, 减轻 IS 大鼠脑损伤程度。

关键词: 芪龙胶囊; 缺血性脑卒中; 细胞焦亡; NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2026)07-2212-08

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.07.012

Effects of Qilong Capsule on neuronal pyroptosis in ischemic stroke rats based on the NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway

XU Jing-ya, LI Yi-lin, ZHAO Man, YU Ying-jie, ZHAO Wei-ming*
(Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

ABSTRACT: AIM To investigate the effects of Qilong Capsule on neuronal pyroptosis in rats with ischemic stroke (IS). **METHODS** Ninety SPF-grade male SD rats were randomly divided into a sham operation group, a model group, an aspirin group (27 mg/kg), and low-, medium-, and high-dose Qilong Capsule groups (0.06,

收稿日期: 2025-12-12

基金项目: 中央支持地方高校发展改革资金人才培养支持计划项目 (财函字〔2020〕2 号); 黑龙江中医药大学研究生创新科研项目 (2024yjscx109)

作者简介: 徐敬娅 (1994—), 女, 博士在读, 研究方向为中医药防治脑血管。E-mail: 931475589@qq.com

* 通信作者: 赵炜明 (1969—), 博士, 教授, 研究方向为中医药防治脑血管病及肿瘤。E-mail: zhaowm1969@126.com

0.12, and 0.24 g/kg). The middle cerebral artery occlusion (MCAO) model was established using the intraluminal suture method. The sham operation group underwent artery isolation without suture insertion. Following successful modeling, the rats received pharmacological intervention for 14 days. After the treatment period, neurological deficit scores and brain water content were measured to assess the degree of brain injury. TTC staining was used to detect cerebral infarct area. HE and Nissl staining were performed to observe pathological changes in brain tissue, as well as neuronal lesions and recovery. Immunohistochemistry was used to detect the localization and expressions of NLRP3, cleaved Caspase-1 and GSDMD-N proteins in brain tissue. Western blot was used to measure the protein expressions of NLRP3, Caspase-1, cleaved Caspase-1, GSDMD and GSDMD-N. ELISA was used to determine the levels of inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-18, and TNF- α) in brain tissue.

RESULTS Compared with the sham operation group, the model group showed increased neurological deficit scores ($P<0.01$), enlarged percentages of cerebral infarct area and brain edema rates ($P<0.01$), a reduced number of Nissl bodies in the neuronal cytoplasm, increased neuronal damage ($P<0.01$), massive infiltration of inflammatory cells in the cerebral cortex, and elevated expressions of NLRP3, cleaved Caspase-1 and GSDMD-N proteins in the cortical tissue ($P<0.01$), as well as increased levels of IL-1 β , IL-18 and TNF- α ($P<0.01$). Compared with the model group, the medium- and high-dose Qilong Capsule groups exhibited decreased neurological deficit scores ($P<0.05$) and reduced brain edema rates ($P<0.05$). All Qilong Capsule dose groups showed a reduced percentage of cerebral infarct area ($P<0.01$), an increased number of surviving neurons ($P<0.01$), alleviated inflammation in the cerebral cortex, and decreased expressions of NLRP3, cleaved Caspase-1 and GSDMD-N proteins ($P<0.05$, $P<0.01$), along with reduced levels of IL-1 β , IL-18, and TNF- α ($P<0.01$).

CONCLUSION Qilong Capsules can inhibit neuronal pyroptosis by downregulating the NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway, thereby exerting a neuroprotective effect and alleviating the degree of brain injury in IS rats.

KEY WORDS: Qilong Capsules; ischemic stroke; pyroptosis; NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway

脑卒中是一种急性局灶性神经功能缺损，其特征是由于脑灌注大幅减少或完全中断而突然出现神经功能缺损^[1]。在全球范围内，它是第二大常见的死亡原因^[2]，其中缺血性脑卒中（ischemic stroke, IS）占有脑卒中的 60%~70%^[3]。目前，IS 的临床治疗侧重于通过药物溶栓或机械清除血栓来恢复血流，然而由于治疗窗口窄且存在溶栓禁忌症，只有约 11% 的 IS 患者符合治疗条件^[4]。因此，IS 仍然需要一种新颖、安全、有效的治疗方案。

中医将 IS 归于“中风”，认为是由于脏腑阴阳失调导致气逆加邪蒙窍而发病^[5]。补阳还五汤是中医治疗 IS 的常用方剂^[6]，芪龙胶囊是根据补阳还五汤加减制成的中成药，用于治疗急性脑梗死恢复期，且效果良好^[7]，但具体机制需进一步探索。最新研究表明，脑缺血会导致脑内钙过载和各种脑细胞，特别是不可再生的神经元细胞死亡^[8]。缺血性中风的发病机制与多种细胞死亡途径有关^[9]。有研究发现，细胞焦亡参与 IS 的发病，抑制细胞焦亡可减轻缺血性脑损伤^[10]。本实验拟建立 IS 大鼠模型，探究芪龙胶囊对 IS 后脑损伤的改善作用

及其机制，重点关注 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3（NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3）/半胱天冬酶 1（cysteine-aspartic acid protease 1, Caspase-1）/焦毒素 D（gasdermin D, GSDMD）信号通路介导的细胞焦亡，以期为芪龙胶囊治疗 IS 提供新依据。

1 材料

1.1 动物 90 只 SPF 级 SD 雄性健康大鼠，体重（280±30）g，购自辽宁长生生物技术股份有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK（辽）2020-0001]，饲养于黑龙江中医药大学药物安全评价中心动物室，环境温度 22~25℃，相对湿度（50±3）%，12 h/12 h 光暗交替，自由摄食饮水。相关实验操作遵守国家卫生研究院实验动物福利实验指南，已通过黑龙江中医药大学动物实验伦理审查（伦理批准号 2025071101），适应性饲养 1 周后进行实验。

1.2 药物与试剂 舒泰 50（哈尔滨格润海特兽药经营有限公司）；盐酸赛拉嗪 [翌圣生物科技（上海）股份有限公司，货号 54167ES60]；阿司匹林肠溶片（25 mg/片，北京曙光药业有限责任公司，

国药准字 H11020827); 芪龙胶囊 (0.2 g/粒, 济宁华能制药厂有限公司, 国药准字 Z20000097)。2% TTC 染色液 (北京博奥拓达科技有限公司, 货号 Top0486); 苏木素-伊红 (HE) 染色试剂盒、尼氏染色试剂盒、高效 RIPA 裂解液 (组织/细胞)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、NLRP3 抗体、 β -actin 抗体 (北京索莱宝科技有限公司, 货号 G1120、G1432、R0010、PC0020、D1060、K012387RR、K101527P); Omni-Easy™ 一步法免染 PAGE 凝胶快速制备试剂盒、Omni-ECL™ 超灵敏化学发光检测试剂盒 (飞克级)、HRP 标记山羊抗兔 IgG 二抗 (上海雅酶生物医药科技有限公司, 货号 PG220/PG223、SQ201、LF102); GSDMD、cleaved Caspase-1、Caspase-1 抗体 (江苏亲科生物研究中心有限公司, 货号 AF4012、AF4005、AF5418); 大鼠白细胞介素 1 β (IL-1 β)、IL-18、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) ELISA 检测试剂盒 (江苏酶免实业有限公司, 货号 MM-0047R2、MM-0194R2、MM-0180R2)。

1.3 仪器 14-3015 型号线栓 (深圳华阳生物技术有限公司); HT-600D 电泳仪电源 (北京鸿涛基业科技发展有限公司); DZKW-4 电热恒温水浴锅 (北京中兴伟业世纪仪器有限公司); S/N 479617 倒置显微镜 (德国 Leica 公司); BSH-2 全自动研磨仪 (杭州遂真生物技术有限公司); 天能 5200 凝胶成像系统 (上海天能科技有限公司); ELx800 酶标仪 (美国 BioTek 公司); H1650R 台式高速冷冻离心机 (湘仪离心机仪器有限公司)。

2 方法

2.1 IS 模型制备 参照文献 [11] 报道的方法, 采用线栓法建立大鼠右侧大脑中动脉阻塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 模型。造模大鼠术前禁食不禁水 12 h, 称定体质量, 腹腔注射舒泰 50 (20 mg/kg) 及盐酸赛拉嗪 (5 mg/kg)。颈部中线切口后, 小心地暴露右颈总动脉 (common carotid artery, CCA)、颈外动脉 (external carotid artery, ECA) 和颈内动脉 (internal carotid artery, ICA)。将线栓引入 ECA 管腔, 并向前推进颈动脉分叉远端 18~20 mm, 以闭塞大脑中动脉起点。闭塞大脑中动脉 60 min 后, 再次麻醉大鼠, 拔出线栓进行缺血再灌注, 逐层缝合颈部伤口, 消毒。再灌注后及缝合结束后 2 h 进行 Zea Longa 神经功能缺损评分, 1~3 分为造模成功, 如大鼠死亡或造模失败则及时补充^[12]。整个实验过程用加热垫保

持大鼠麻醉后体温在 (37.0 $\pm$ 0.5)℃。

2.2 分组及给药 大鼠随机分为假手术组、模型组、阿司匹林组和芪龙胶囊低、中、高剂量组, 每组 15 只。除假手术组外, 其余各组大鼠按照“2.1”项下方法建立 IS 模型, 假手术组仅分离神经动脉, 不插线栓。造模成功后灌胃给药, 芪龙胶囊成人一日剂量为 1.2 g, 根据人与大鼠体表面积换算得大鼠芪龙胶囊低、中、高剂量为 0.06、0.12、0.24 g/kg; 阿司匹林给药剂量为 27 mg/kg, 假手术组和模型组给予生理盐水, 给药干预 14 d。在实验中, 如出现大鼠取材前死亡及取材时发现插栓操作或其他原因引发的脑内出血, 将该大鼠剔除, 并及时补充, 保证每组大鼠数量一致。

2.3 神经功能检测 在 MCAO 造模后第 1、3、14 天进行改良神经系统严重程度评分 (modified neurological severity score, mNSS)。采用以下评估标准: 平衡功能测试 (0~6 分), 包括平衡木行走实验; 运动功能测试 (0~6 分), 包括挂尾实验 (0~3 分) 和直线行走实验 (0~3 分); 感觉功能测试 (0~2 分), 包括触觉刺激反应和本体感觉实验; 反射测试 (0~4 分), 包括耳廓反射、角膜反射和惊吓反射^[13]。mNSS 总分范围从 0 分 (功能正常) 到 18 分 (严重神经功能缺损), 所有评估均由训练有素的研究人员进行, 对实验分组不知情, 以尽量减少偏差。

2.4 大鼠脑组织含水量检测 大鼠麻醉后处死, 取全脑立即称定质量, 为湿重; 全脑于烘箱中 95℃干燥 72 h 直至质量基本不变, 再次称定质量, 为干重。脑组织含水量百分比= [(湿重-干重)/湿重] $\times$ 100%。

2.5 TTC 染色检测脑梗死面积 大鼠断头开颅取脑, PBS 冲洗 2 次, 洗净残留的血水, 于-20℃冰箱冷冻 25 min。取出冰冻后的脑组织, 垂直切成 5 片, 厚度约 2 mm。将脑组织切片完全浸入 2% TTC 溶液中, 37℃避光染色 30 min, 每隔 10 min 翻面 1 次。染色完毕后用 4% 多聚甲醛固定液固定 30 min, 滤纸吸干组织表面残余液体, 拍照。正常脑组织被染成红色, 脑梗死区呈现苍白色。通过 Image J 软件测量图片中梗死区面积, 公式为脑梗死面积百分比= (未染色区域/脑组织总面积) $\times$ 100%, 1 个脑组织梗死面积应为 5 片脑组织的总和。

2.6 HE 和尼氏染色观察脑组织病理学 取大鼠脑组织 (新鲜分离后立即置于 4% 多聚甲醛中固定 24 h), 经梯度脱水 (30%、50%、70%、80%、

90%、95%乙醇各 1 h，100%乙醇 2 次各 30 min)、二甲苯透明(2 次各 20 min)后，石蜡包埋，制成 5 μm 矢状面切片，贴片于载玻片上，60 ℃烤箱烘烤 2 h 备用。脑组织切片依照常规方法脱蜡至水，分别进行 HE 染色和尼氏染色，无水乙醇脱水，二甲苯透明，最后封片。于光学显微镜下放大 200 倍观察，通过 Image J 软件分析并计算尼氏体平均吸光度值。

2.7 免疫组化法检测脑组织 NLRP3、cleaved Caspase-1 及 GSDMD-N 蛋白表达 取“2.6”项下脑组织，脱蜡后修复抗原，冷却后 PBS 洗涤，5% BSA 溶液封闭 1 h，滴加稀释后的 NLRP3、cleaved Caspase-1 及 GSDMD-N 蛋白一抗，4 ℃孵育过夜。次日用 PBS 洗涤，滴加 HRP 标记的二抗，孵育 1 h，PBS 洗涤后，滴加 DAB 显色液染色 5 min，蒸馏水洗后复染细胞核，脱水，透明，封片，于显微镜下观察并采集图像。

2.8 Western blot 法检测脑组织 NLRP3、Caspase-1、cleaved Caspase-1、GSDMD 及 GSDMD-N 蛋白表达 取大鼠脑组织，称取缺血侧脑皮层组织适量，加入裂解液于组织研磨仪中研磨，用 BCA 法测定蛋白浓度，并用裂解液稀释调整至每组蛋白浓度相同。加入适量 loading buffer 混匀，加热使其变性。配制凝胶，每组蛋白上样量为 50 μg，电泳分离蛋白，半干法将蛋白转移到无水甲醇激活的 PVDF 膜上，用快速封闭液封闭 20 min，加入稀释好的一抗抗体，4 ℃孵育过夜。次日用 TBST 洗膜，加入二抗孵育 1 h，TBST 洗膜后加入 ECL 显色液，于成像仪中拍照，通过 Image J 软件分析蛋白条带灰度值。

2.9 ELISA 法检测脑组织炎症因子水平 取适量大鼠脑皮层组织，PBS 洗净，参照文献 [14] 方法，每 200 mg 组织加 1 mL 4 ℃生理盐水，在玻璃匀浆器中手动研磨成脑组织悬浊液，4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min，取上清液，按照相应 ELISA 试剂盒说明书方法加样，在 450 nm 波长处测定各孔光密度 (OD) 值，计算脑组织中 IL-1β、IL-18、TNF-α 水平。

2.10 统计学分析 通过 SPSS 25.0 软件进行处理，计量资料以平均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，所有统计检验均采用双侧检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 芪龙胶囊对 IS 大鼠神经功能损伤评分的影响 mNSS评分结果显示，实验第 14 天，与模型组

比较，芪龙胶囊中、高剂量组和阿司匹林组大鼠 mNSS 评分降低 ($P<0.01$)，见表 1。

表 1 各组大鼠 mNSS 评分比较 (分, $\bar{x}\pm s$, $n=10$)
Tab. 1 Comparison of mNSS scores of rats in each group (score, $\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	第 1 天	第 3 天	第 14 天
假手术组	0	0	0
模型组	10.00±1.29**	8.33±0.94**	6.50±0.76**
芪龙胶囊低剂量组	10.50±0.76	8.00±0.82	5.50±1.12
芪龙胶囊中剂量组	10.67±1.25	8.17±1.34	5.17±0.69##
芪龙胶囊高剂量组	10.50±1.12	8.16±1.17	5.00±0.82##
阿司匹林组	10.00±1.00	7.50±1.38	5.17±0.68##

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

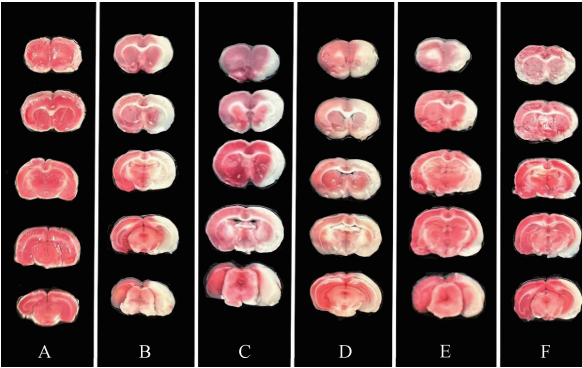
3.2 芪龙胶囊对 IS 大鼠脑含水量的影响 与假手术组比较，模型组大鼠脑含水量增加 ($P<0.01$)；与模型组比较，芪龙胶囊中、高剂量组和阿司匹林组大鼠脑含水量降低 ($P<0.01$)，见表 2。

表 2 各组大鼠脑含水量比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)
Tab. 2 Comparison of brain water content of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	脑含水量/%
假手术组	77.99±1.08
模型组	86.06±1.48**
芪龙胶囊低剂量组	82.32±0.40
芪龙胶囊中剂量组	80.22±0.68##
芪龙胶囊高剂量组	80.92±0.86##
阿司匹林组	80.12±1.10##

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

3.3 芪龙胶囊对 IS 大鼠脑梗死面积的影响 假手术组脑组织几乎全部区域被染成红色，无梗死；与假手术组比较，模型组大鼠脑组织可见未被染色的苍白区，脑梗死面积百分比增加；与模型组比较，芪龙胶囊各剂量组和阿司匹林组大鼠脑梗死面积百分比减小 ($P<0.01$)，见图 1、表 3。



注：A 为假手术组，B 为模型组，C~E 分别为芪龙胶囊高、中、低剂量组，F 为阿司匹林组。

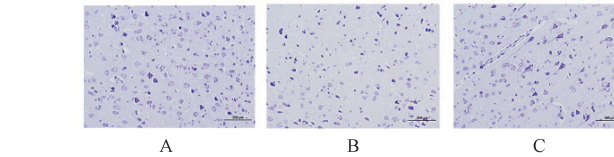
图 1 各组大鼠脑组织 TTC 染色
Fig. 1 TTC staining in brain tissue of rats in each group

表 3 各组大鼠脑梗死面积比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

Tab.3 Comparison of cerebral infarction area of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	脑梗死面积百分比/%
假手术组	0
模型组	0.38±0.05**
芪龙胶囊低剂量组	0.28±0.04##
芪龙胶囊中剂量组	0.25±0.04##
芪龙胶囊高剂量组	0.20±0.03##
阿司匹林组	0.17±0.05##

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



注：A 为假手术组，B 为模型组，C~E 分别为芪龙胶囊高、中、低剂量组，F 为阿司匹林组。

图 2 各组大鼠脑组织尼氏染色 (×200)

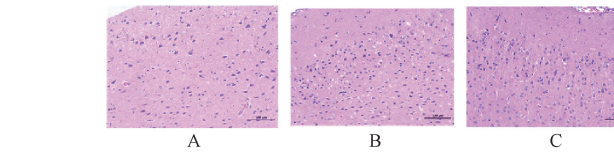
Fig.2 Nissl staining in brain tissue of rats in each group (×200)

表 4 各组大鼠大脑皮层神经元数量比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Tab.4 Comparison of the number of neurons in cerebral cortex of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	神经元数量/个
假手术组	95.00±1.63
模型组	59.33±1.25**
芪龙胶囊低剂量组	83.34±3.09##
芪龙胶囊中剂量组	78.00±1.65##
芪龙胶囊高剂量组	82.33±1.49##
阿司匹林组	80.37±2.05##

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



注：A 为假手术组，B 为模型组，C~E 分别为芪龙胶囊高、中、低剂量组，F 为阿司匹林组。

图 3 各组大鼠脑组织 HE 染色 (×200)

Fig.3 HE staining of brain tissue of rats in each group (×200)

3.6 芪龙胶囊对 IS 大鼠脑组织 NLRP3、cleaved Caspase-1 及 GSDMD-N 蛋白表达的影响 免疫组化结果显示，与假手术组比较，模型组大鼠大脑皮层部位 NLRP3、GSDMD-N 及 cleaved Caspase-1 蛋白阳性表达升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，芪龙胶囊各剂量组和阿司匹林组大鼠大脑皮层部位 NLRP3、GSDMD-N 及 cleaved Caspase-1 蛋白阳性表达均降低 ($P<0.01$)，见图 4、表 5。

3.7 芪龙胶囊对 IS 大鼠脑组织 NLRP3、Caspase-1、[] JPcleaved Caspase-1、GSDMD 及 GSDMD-N 蛋白表达的影响 与假手术组比较，模型组大鼠脑组织

3.4 芪龙胶囊对 IS 大鼠大脑皮质神经元的影响 假手术组大鼠脑皮层神经元形态完整、排列规则致密、核仁清晰，深蓝色部分为胞质内尼氏小体，数量丰富；与假手术组比较，模型组大鼠脑内神经元形态异常，部分神经细胞破裂，胞质内尼氏小体数量减少 ($P<0.01$)，提示神经元受损伤及缺失；与模型组比较，芪龙胶囊各剂量组和阿司匹林组大鼠神经元形态较规则，尼氏小体数量增多 ($P<0.01$)，见图 2、表 4。

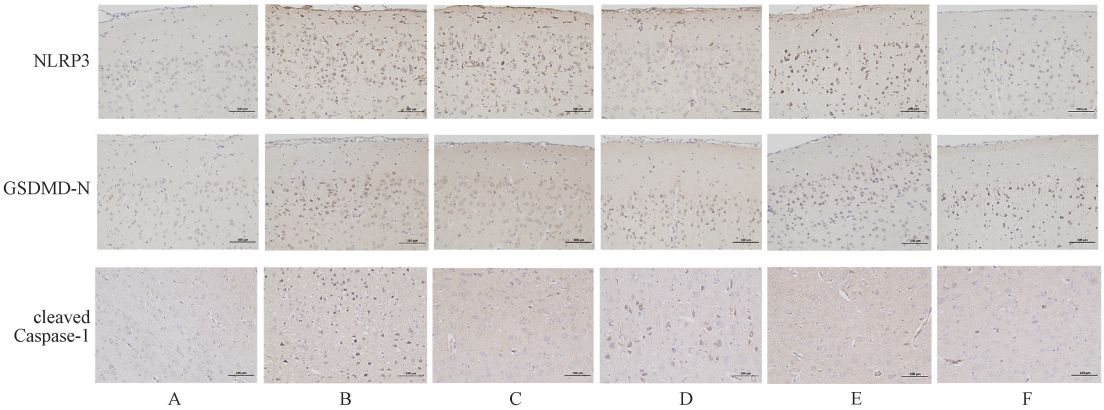
3.5 芪龙胶囊对 IS 大鼠脑组织病理形态的影响 假手术组大鼠脑部皮层神经元整齐有序，结构完整规则清晰，细胞数量多，无明显炎症浸润；模型组大鼠脑部皮层组织部分脱落缺失，神经元数量减少，有炎性细胞浸润，形态排列较为紊乱，空泡样变明显；芪龙胶囊各剂量组大鼠脑部皮层区域组织脱落缺失现象较轻，空泡数量较模型组减少，炎性浸润细胞较少，提示芪龙胶囊可以保护脑组织，减轻脑内炎症，见图 3。

表 5 各组大鼠脑部皮层区域 NLRP3、GSDMD-N 及 cleaved Caspase-1 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

Tab.5 Comparison of NLRP3, GSDMD-N and cleaved Caspase-1 protein expressions in cerebral cortex of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	NLRP3	GSDMD-N	cleaved Caspase-1
假手术组	6.17±0.28	4.47±0.24	5.75±0.28
模型组	14.79±1.19**	12.36±0.30**	10.90±0.62**
芪龙胶囊低剂量组	8.93±0.45##	8.82±0.74##	8.50±0.73##
芪龙胶囊中剂量组	7.29±0.93##	8.39±1.01##	9.26±0.85##
芪龙胶囊高剂量组	7.08±0.24##	7.81±0.29##	7.00±0.59##
阿司匹林组	8.03±1.20##	6.56±0.52##	7.33±1.02##

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



注：A 为假手术组，B 为模型组，C~E 分别为芪龙胶囊高、中、低剂量组，F 为阿司匹林组。

图 4 各组大鼠脑部皮层区域 NLRP3、GSDMD-N 及 cleaved Caspase-1 蛋白免疫组化染色 (×200)

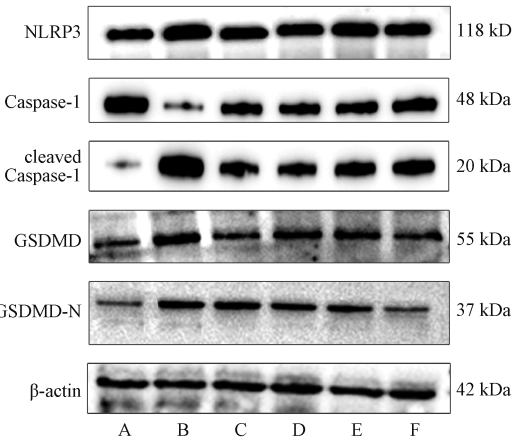
Fig. 4 Immunohistochemical staining of NLRP3, GSDMD-N and cleaved Caspase-1 proteins in cerebral cortex of rats in each group (×200)

NLRP3、cleaved Caspase-1/Caspase-1、GSDMD-N/GSDMD 蛋白表达均升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，芪龙胶囊各剂量组和阿司匹林组大鼠脑组织 NLRP3、cleaved Caspase-1/Caspase-1 蛋白表达均降低 ($P<0.01$)，芪龙胶囊中、高剂量组及阿司匹林组大鼠脑组织 GSDMD-N/GSDMD 蛋白表达降低 ($P<0.05$)，见图 5、表 6。

3.8 芪龙胶囊对 IS 大鼠脑组织 TNF-α、IL-1β、IL-18 水平的影响 与假手术组比较，模型组大鼠脑组织 TNF-α、IL-1β、IL-18 水平均升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，芪龙胶囊各剂量组和阿司匹林组大鼠脑组织 TNF-α、IL-1β、IL-18 水平均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，见表 7。

4 讨论

IS 属于传统中医“中风病”的范畴，中风病的变化机理归于人体阴阳失调，脏腑失常、经络失职、气血失和、津液失宜^[15]。治疗中风多采用活



注：A 为假手术组，B 为模型组，C~E 分别为芪龙胶囊高、中、低剂量组，F 为阿司匹林组。

图 5 各组大鼠脑组织 NLRP3、Caspase-1、cleaved Caspase-1、GSDMD 及 GSDMD-N 蛋白条带图

Fig. 5 Protein bands of NLRP3, Caspase-1, cleaved Caspase-1, GSDMD and GSDMD-N in brain tissue of rats in each group

表 6 各组大鼠脑组织 NLRP3、cleaved Caspase-1/Caspase-1 及 GSDMD-N/GSDMD 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)
Tab. 6 Comparison of protein expressions of NLRP3, cleaved Caspase-1/Caspase-1 and GSDMD-N/GSDMD in brain tissue of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	NLRP3/β-actin	cleaved Caspase-1/Caspase-1	GSDMD-N/GSDMD
假手术组	0.82±0.02	0.27±0.02	0.33±0.02
模型组	1.31±0.03**	3.14±0.03**	0.58±0.01**
芪龙胶囊低剂量组	1.12±0.02##	0.95±0.02##	0.61±0.04
芪龙胶囊中剂量组	0.99±0.01##	1.20±0.03##	0.42±0.01#
芪龙胶囊高剂量组	1.01±0.02##	1.15±0.04##	0.44±0.02#
阿司匹林组	1.00±0.01##	1.01±0.04##	0.40±0.02#

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

血化瘀法，兼顾养血和通络、补虚调节阴阳的治法^[16]。补阳还五汤为气虚血瘀中风病的代表方剂，原方由黄芪、当归、赤芍、地龙、川芎、桃仁、红

花这 7 味药组成，具补气活血通络功效。芪龙胶囊由补阳还五汤原方化裁而成，重用黄芪、地龙。现代药理学研究表明，黄芪中有效活性成分具有抗

表 7 各组大鼠脑组织 TNF-α、IL-18、IL-1β 水平比较 (pg/mL, $\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Tab. 7 Comparison of levels of TNF-α, IL-18 and IL-1β in brain tissue of rats in each group (pg/mL, $\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	TNF-α	IL-1β	IL-18
假手术组	23. 65±1. 71	230. 55±35. 04	64. 63±7. 85
模型组	79. 14±6. 59**	589. 26±28. 46**	142. 66±6. 79**
芪龙胶囊低剂量组	35. 23±2. 84##	510. 52±23. 99#	131. 96±6. 40##
芪龙胶囊中剂量组	37. 55±3. 40##	337. 07±31. 63##	116. 22±7. 86##
芪龙胶囊高剂量组	36. 02±3. 63##	460. 24±36. 22##	102. 50±5. 52##
阿司匹林组	34. 03±3. 83##	399. 14±34. 53##	85. 21±7. 35##

注：与假手术组比较，** $P<0. 01$ ；与模型组比较，# $P<0. 05$ ，## $P<0. 01$ 。

炎、促进神经元细胞修复作用^[17]；地龙中的蚓激酶可以溶解血栓并改善脑血流灌注状态^[18]。芪龙胶囊有着溶栓抗栓、抗脑缺血缺氧的功效，临床应用于 IS 的治疗^[19]。IS 的病理损伤主要是血管阻塞导致脑灌注不足引发，在缺血期间，脑内由于电功能丧失，钙依赖性兴奋性毒性引发一连串细胞损伤，脑组织供血不足会导致不可逆的神经元死亡^[20]。与此同时 IS 损伤并不局限于缺血期，再灌注是恢复血流和氧合的过程，可加剧组织损伤并显著影响神经元功能^[21]。缺血再灌注损伤的机制包括兴奋性毒性、线粒体功能障碍、神经炎症、血脑屏障破坏和广泛的神经元细胞死亡^[22]。因此，基础和临床研究工作都旨在减轻缺血再灌注损伤引起的神经元细胞死亡，并保留现有神经元细胞的功能。本研究发现，模型组 IS 大鼠出现神经功能损伤和脑水肿，脑内有梗死区域，脑皮层神经元数量减少，且有炎性浸润的病理改变；芪龙胶囊给药后，大鼠神经功能损伤评分降低，脑水肿程度减轻，脑梗死区域面积缩小，脑部皮层神经元丢失数量及炎症浸润情况减轻，提示芪龙胶囊可以改善 IS 后脑损伤及脑内炎症。

细胞死亡的模式包括程序性细胞死亡和非程序性细胞死亡，程序性细胞死亡是指细胞在接收到某种信号或受到某些因素刺激后，为了维持内部环境的稳定性而进行的死亡过程^[23]。细胞焦亡是一种由炎性小体介导的程序性细胞死亡形式^[24]。在氧化应激下，ROS 在体内积累，导致 NLRP3 炎性小体活性显著增加，Caspase-1 过度激活；同时，GSDMD 被有效裂解^[25]。研究发现，IS 后皮质神经元中 NLRP3、IL-1β 和 IL-18 等与细胞焦亡相关分子的表达显着升高^[26]。NLRP3 炎性小体的过度激活会引发炎症级联反应、细胞因子释放、细胞焦亡

和组织损伤，从而加剧缺血性中风情况下的 I/R 损伤^[27]。活化的 NLRP3 炎症小体促使 Caspase-1 发生剪切，生成具有生物活性的 cleaved Caspase-1，该酶进一步将 GSDMD 切割为 N 端片段（GSDMD-N），GSDMD-N 随后嵌入细胞质膜并形成跨膜孔道，破坏细胞内的离子稳态，最终引发细胞肿胀、质膜破裂及细胞焦亡^[28]。另外，cleaved Caspase-1 将 IL-18 和 IL-1β 的前体加工成其活性促炎形式，通过 GSDMD 孔释放，从而放大大局炎症^[29]。本研究发现，芪龙胶囊给药后，脑组织 NLRP3、cleaved Caspase-1、GSDMD-N 蛋白表达及炎症因子 IL-1β、IL-18、TNF-α 水平均降低，提示芪龙胶囊可能是作用于 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路，抑制 IS 大鼠脑内神经元细胞焦亡，减轻脑内炎症反应。

综上所述，芪龙胶囊能够减轻 IS 大鼠神经功能损伤和脑水肿，减少脑梗死面积、神经元丢失和脑内炎症，可能通过抑制 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 细胞焦亡通路发挥作用。

参考文献：

[1] Cheng F, Yan B, Liao P, *et al.* Ischemic stroke and the biological hallmarks of aging[J]. *Aging Dis*, 2024, 16(5): 2908-2936.

[2] Dammavalam V, Rupert D, Lanio M, *et al.* Dementia after ischemic stroke, from molecular biomarkers to therapeutic options[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(14): 7772.

[3] Hilkens N A, Casolla B, Leung T W, *et al.* Stroke[J]. *Lancet*, 2024, 403(10446): 2820-2836.

[4] Ma R, Sun X, Liu Z, *et al.* Ferroptosis in ischemic stroke and related traditional Chinese medicines[J]. *Molecules*, 2024, 29(18): 4359.

[5] 李 艳, 陈举海, 郑媛媛, 等. 补阳还五汤加味治疗缺血性脑卒中恢复期的疗效及对炎性因子的影响[J]. *实用中医内科杂志*, 2025, 39(10): 93-96.

[6] 黄小玲, 王敏纯, 莫静媛, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 联合细胞膜固相色谱法探讨补阳还五汤促进缺血性脑卒中后神经干细胞增殖、分化的药效物质基础及作用机制[J]. *中药新药与临床药理*, 2025, 36(10): 1700-1709.

[7] 季蓓佳, 纪玉霞, 吴珊珊. 芪龙胶囊在急性脑梗死恢复期患者中的应用效果研究[J]. *反射疗法与康复医学*, 2024, 5(8): 45-47.

[8] Wang Q, Liu N, Ni Y S, *et al.* TRPM2 in ischemic stroke: structure, molecular mechanisms, and drug intervention[J]. *Channels (Austin)*, 2021, 15(1): 136-154.

[9] Tuo Q Z, Zhang S T, Lei P. Mechanisms of neuronal cell death in ischemic stroke and their therapeutic implications[J]. *Med Res Rev*, 2022, 42(1): 259-305.

[10]

Ye A, Li W, Zhou L, *et al.* Targeting pyroptosis to regulate ischemic stroke injury: molecular mechanisms and preclinical evidences[J]. *Brain Res Bull*, 2020, 165: 146-160.

[11]

Habotta O, Abdeen A, Hendam B M, *et al.* Time-dependent expression of neural oxidative and inflammatory biomarkers in ischemic stroke using a transient MCAO rat model[J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 35055.

[12]

张楠, 高玉菊, 胡蝶, 等. 基于 PI3K/AKT 信号通路探讨三化汤抗大鼠脑缺血再灌注损伤的作用机制[J]. *现代中药研究与实践*, 2025, 39(4): 11-20.

[13]

Sun Y, Luo L, Li X, *et al.* Activation of the PERK/MANF/STAT3 pathway in astrocytes promotes synaptic remodeling and neurological recovery in the acute phase after stroke in mice[J]. *Neural Plast*, 2025, 2025: 6776608.

[14]

Lai N, Wu D, Liang T, *et al.* Systemic exosomal miR-193b-3p delivery attenuates neuroinflammation in early brain injury after subarachnoid hemorrhage in mice[J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 74.

[15]

韩振廷. 中风病辨证论治[M]. 北京: 中医古籍出版社, 2017: 44.

[16]

李广, 尹国有. 中风的辨证与经方治疗[M]. 北京: 学苑出版社, 2020: 104-107.

[17]

张倩, 王森, 吕月, 等. 芪龙胶囊联合依达拉奉右莰醇、丁苯酞对急性脑梗死患者血清 SAA、GFAP、UCH-L1 及神经功能的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2025, 43(10): 247-250.

[18]

赵天颐. 地龙提取物中成分分析及抗凝血溶栓功效研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2024.

[19]

王志飞, 谢颖桢, 谢雁鸣, 等. 芪龙胶囊临床应用专家共识[J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(24): 5287-5290.

[20]

Feske S K. Ischemic stroke[J]. *Am J Med*, 2021, 134(12): 1457-1464.

[21]

Lai W, Nie J, Hong A, *et al.* Neuroprotective effects of rosinavin via HIF-1 α signaling in a rat model of ischemic stroke[J]. *Phytomedicine*, 2025, 145: 157068.

[22]

Qin C, Yang S, Chu Y H, *et al.* Signaling pathways involved in ischemic stroke: molecular mechanisms and therapeutic interventions[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 215.

[23]

Abdulhussein D, Kanda M, Aamir A, *et al.* Apoptosis in health and diseases of the eye and brain[J]. *Adv Protein Chem Struct Biol*, 2021, 126: 279-306.

[24]

Zhang Q, Wang L, Wang S, *et al.* Signaling pathways and targeted therapy for myocardial infarction[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 78.

[25]

Ran Y, Su W, Gao F, *et al.* Curcumin ameliorates white matter injury after ischemic stroke by inhibiting microglia/macrophage pyroptosis through NF- κ B suppression and NLRP3 inflammasome inhibition[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 1552127.

[26]

Fann D Y, Lim Y A, Cheng Y L, *et al.* Evidence that NF- κ B and MAPK signaling promotes NLRP inflammasome activation in neurons following ischemic stroke[J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(2): 1082-1096.

[27]

Kumar R, Singh A, Tripathi S, *et al.* Targeting the NLRP3 inflammasome with natural products for ischemia-reperfusion injury across organs: mechanisms, structure-activity relationships, and delivery innovations[J]. *Inflammopharmacology*, 2025, 33(11): 6589-6634.

[28]

Lu J, Dai X, Xi S, *et al.* Piperine protects against cerebral ischemic injury by regulating the Caspase-1-mediated pyroptosis pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1601873.

[29]

Shi N, Wei L, Wang H, *et al.* Regulation of pyroptosis by natural products in atherosclerosis: mechanisms and therapeutic potential[J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1626566.