DOI:10.16016/j.2097-0927.202502005

自噬诱导剂亚精胺改善脑出血后脑损伤

祁凌霄[1,2],闫改丽[1,2],薛孟周[1,2] 郑州大学:[1]第二附属医院脑血管病科,[2]医学科学院,河南郑州

［**摘要**］ **目的** 探讨亚精胺(spermidine, SPD)在脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)中的作用及其潜在机制。**方法** 选用8~10周龄的雄性C57BL/6小鼠构建胶原酶诱导的ICH模型。将108只小鼠随机分为3组,即假手术组、ICH组和亚精胺治疗组,每组36只。亚精胺治疗组小鼠在术后接受连续3 d的15 mg/kg亚精胺腹腔注射。在ICH后第3天,通过神经行为学测试(改良Garcia神经功能评分、前肢放置试验)评估小鼠神经功能缺损、HE染色观察脑组织病理损伤、免疫荧光染色检测小胶质细胞/巨噬细胞与星形胶质细胞活化,以及通过Western blot分析自噬标志物Beclin-1、P62及炎症因子MMP-9、NLRP3、COX-2的表达。以血红素刺激HT-22细胞模拟体外ICH,3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine,3-MA)作为自噬抑制剂。将细胞随机分为4组(n=7):对照组、血红素组、血红素+亚精胺组和血红素+亚精胺+3-MA组。在血红素处理24 h后,通过CCK-8法检测各组细胞存活率、Western blot检测自噬相关蛋白LC3-II、P62的表达,通过测定超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)活性与丙二醛(malondialdehyde,MDA)含量以评估氧化应激水平。**结果** 在ICH造模后第3天,与ICH组相比,亚精胺显著减少脑损伤面积(P<0.05),促进神经功能恢复(P<0.05),激活自噬Beclin-1表达升高,P62表达降低(P<0.05),抑制小胶质细胞/巨噬细胞和星形胶质细胞活化(P<0.01),降低MMP-9、NLRP3及COX-2表达,同时提高SOD活性并减少MDA含量(P<0.05)。在细胞实验中,亚精胺提高HT-22细胞存活率(P<0.05)、增强SOD活性并降低MDA水平(P<0.01),而自噬抑制剂3-MA有效抑制了自噬,使LC3-II表达降低、P62表达升高(P<0.05),并完全逆转了上述保护效应(P<0.05)。**结论** 亚精胺在ICH后激活自噬并通过抑制神经炎症和氧化应激改善ICH后脑损伤。

［**关键词**］ 脑出血;亚精胺;自噬;神经炎症;氧化应激

［**中图法分类号**］ R743.34;R914.4;R963 ［**文献标志码**］ A

Autophagy inducer spermidine improves brain injury after intracerebral hemorrhage

QI Lingxiao[1,2], YAN Gaili[1,2], XUE Mengzhou[1,2] [1]Department of Cerebrovascular Diseases, Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, [2]Academy of Medical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China

［**Abstract**］ **Objective** To investigate the role and underlying mechanism of spermidine (SPD) in intracerebral hemorrhage (ICH). **Methods** Male C57BL/6 mice were subjected to establish a collagenase-induced ICH model. The 108 mice were randomly divided into Sham group, ICH group and ICH+SPD group (intraperitoneal injection of 15 mg/kg SPD for 3 consecutive days after modeling), with 36 mice in each group. On the 3rd day after ICH, neurological deficits were evaluated using modified Garcia scoring and forelimb placing test; brain pathological damage was assessed with HE staining; activation of microglia/macrophages

［**基金项目**］ 国家自然科学基金面上项目(82071331);国家重点研发计划(2018YFC1312200)

［**通信作者**］ 薛孟周,E-mail:xuemengzhou@zzu.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2025, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议 (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

引用格式:祁凌霄,闫改丽,薛孟周. 自噬诱导剂亚精胺改善脑出血后脑损伤[J]. 陆军军医大学学报,2025,47(07):639-648. DOI:10.16016/j.2097-0927.202502005.

Citation:QI L X, YAN G L, XUE M Z. Autophagy inducer spermidine improves brain injury after intracerebral hemorrhage[J]. J Army Med Univ, 2025, 47(07):639-648. DOI:10.16016/j.2097-0927.202502005.

(Iba-1) and astrocytes (GFAP) was detected by immunofluorescence assay; expression of autophagy markers (Beclin-1, P62) and inflammatory factors (MMP-9, NLRP3, COX-2) was measured with Western blotting. In *in vitro* experiments, hemin was used to stimulate HT-22 cells to mimic ICH. The HT-22 cells were randomly divided into Control group, Hemin group, Hemin+SPD group, and Hemin+SPD+3-methyladenine (3-MA, an autophagy inhibitor) group (n=7). After 24 h of hemin treatment, cell viability was detected with CCK-8 assay, the expression of autophagy-related proteins (LC3-II and P62) were detected with Western blotting, and oxidative stress was determined by measuring superoxide dismutase (SOD) activity and malondialdehyde (MDA) content. **Results** On day 3 post-ICH, SPD significantly reduced the area of brain damage (P<0.05), improved neurological recovery (P<0.05), activated autophagy with up-regulation of Beclin-1 while down-regulation of P62 (P<0.05), suppressed the activation of microglia/macrophage and astrocytes (P<0.01), reduced the expression of MMP-9, NLRP3 and COX-2, and enhanced SOD activity and decreased MDA content (P<0.05) when compared with the ICH group. SPD increased the viability of HT-22 cells (P<0.05), improved SOD activity and reduced MDA content (P<0.01). Autophagy inhibitor 3-MA effectively blocked the down-regulation of LC3-II and up-regulation of P62, and completely reversed above protective effects caused by SPD (P<0.05). **Conclusion** SPD activates autophagy after ICH and improves post-ICH brain injury by suppressing neuroinflammation and oxidative stress.

[**Key words**] intracerebral hemorrhage; spermidine; autophagy; neuroinflammation; oxidative stress

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (82071331) and the National Key Research and Development Program of China (2018YFC1312200). Corresponding author: XUE Mengzhou, E-mail: xuemengzhou@zzu.edu.cn

脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)作为第二大卒中类型,每年约在全球造成280万人死亡[1]。其病理进程可分为2阶段:原发性损伤和继发性损伤。原发性损伤源于血肿占位效应引发的机械性破坏,而继发性损伤则由血肿周围神经炎症与氧化应激主导[2]。尽管微创血肿清除术已广泛应用于临床,但它对ICH患者神经功能预后的改善效果有限,亟须探索新的神经保护策略[3]。

亚精胺(spermidine, SPD)是一种内源性自噬诱导剂,广泛存在于小麦胚芽、发酵乳制品及豆类等天然食物中[4]。多胺类化合物(腐胺、SPD和精胺)是人体内广泛存在的多阳离子,参与多种细胞过程,比如细胞增殖、分化和凋亡[5]。作为一种低分子量的天然多胺,亚精胺参与了多项关键的细胞功能,包括促进细胞生长、稳定DNA以及诱导自噬[6]。在中枢神经系统中,亚精胺从外部获取并优先储存在神经胶质细胞中,发挥抗炎、抗氧化及抗凋亡等多重神经保护效应[6-7]。然而,亚精胺在ICH模型中能否缓解脑损伤及其具体机制尚未明确。本研究旨在探索亚精胺对ICH后神经损伤的保护作用及其潜在机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

108只雄性C57BL/6小鼠(8~10周龄,体质量20~22 g)购自北京华阜康实验动物中心。所有小鼠饲养于SPF级屏障设施内,环境参数恒定为温度(25±1)℃、相对湿度50%±10%、12 h/12 h明暗循环。本研究经郑州大学第二附属医院实验动物伦理审查委员会批准(KY2024247),动物处置过程符合伦理要求。在实验中,为减少小鼠疼痛与折磨,手术前腹腔注射40 mg/kg戊巴比妥钠,并由专业的实验人员操作来缩短手术时长。术后给予适量的镇痛药,精心护理创口并提供舒适环境。预期不良事件有麻醉风险、手术创伤及术后感染等,已准备急救药物和应对方法。意外不良事件如过敏、意外死亡等,一旦发生会立即抢救并分析原因。人道终点设定为体质量下降超20%、严重感染、无法自主吃喝、行为严重异常等情况。每天至少2次观察小鼠状态,每周测1次体质量,术后每天检查头皮切口,有异常随时增加监测次数。

1.2 小鼠ICH模型建立

ICH模型的建立参考先前的研究[8]。将小鼠固定于脑立体定位仪(RWD,中国深圳),备皮后以碘伏消毒手术区域,再沿颅骨中线切开头皮约1 cm,暴露前囟。用微型颅钻(直径0.5 mm)钻孔(坐标:前囟前方1.0 mm,中线外侧2.0 mm),制备注射骨窗。接着缓慢进针,深度为颅骨向下5 mm,向孔内注入0.075 U胶原酶Ⅶ(Sigma-Aldrich,美国),注射速率0.1 μL/min。注射完成后留针5 min以防止药液反流。最后以无菌骨蜡封闭骨窗,缝合头皮切口并消毒。Sham组小鼠给予0.75 μL生理盐水,其余操作一致。整个手术过程于超净台内进行,严格遵循无菌操作规范。

1.3 实验分组和用药

将小鼠随机分为3组:假手术组(Sham组)、ICH组(ICH+Vehicle组)、亚精胺治疗组(ICH+SPD组),每组36只。实验所用的亚精胺(S0266),购自美国Sigma-Aldrich公司,溶解于无菌生理盐水中。在ICH模型建立成功后,ICH组和亚精胺治疗组小鼠需接受连续3 d的腹腔注射。参照之前文献中的方法,向亚精胺治疗组小鼠腹腔注射亚精胺,剂量为15 mg/kg,每日1次,连续注射3 d[9]。而ICH组小鼠则按照体质量腹腔注射对应体积的无菌生理盐水,注射时间与亚精胺治疗组保持一致。

1.4 脑组织HE染色

ICH后第3天对小鼠进行心脏灌注,取出脑组织并固定于4%多聚甲醛。对脑组织样本进行石蜡包埋并将其切成厚度为5 μm的石蜡切片。使用HE染色试剂盒(Solarbio,中国北京)切片进行染色,观察脑组织的病理变化。使用Image J软件手动勾选血肿区域并计算脑损伤面积。

1.5 行为学测试

在造模前、造模后24 h以及造模后72 h,通过改良的Garcia评分测试和前肢放置试验对小鼠的神经功能进行评估。改良的Garcia评分测试:该评分系统通过综合观察与分析动物的自发活动、肢体运动对称性、前肢伸展程度、本体感觉、攀爬能力以及触须感觉功能来进行量化评分;在实验中,得分越低意味着小鼠ICH后的神经功能损伤越严重。前肢放置试验:当小鼠的触须与桌面发生接触时,正常生理状态的小鼠会迅速且自然地将同侧前肢放置于桌面上;在实验过程中,成功做出此类反应的次数占总测试次数的百分比能够有效反映出神经功能缺损状况。

1.6 Western blot检测

在小鼠ICH后第3天,提取血肿周围1.0~1.5 mm的脑组织。按照组织质量加入RIPA裂解缓冲液(碧云天,中国),将混合物置于4 ℃研磨仪中匀浆,随后以12 000×*g*离心10 min。收集上清液,采用BCA蛋白定量法测定蛋白浓度。取等量蛋白样品进行电泳,将蛋白转至PVDF膜,用5%脱脂牛奶封闭1 h。随后加入以下一抗:微管相关蛋白1轻链3(Microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3)、P62、Beclin-1、GAPDH、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinases-9, MMP-9)、环氧化酶-2(Cyclooxygenase-2, COX-2)、NOD样受体蛋白3(NOD-like receptor protein 3, NLRP3),4 ℃孵育过夜。次日,洗膜后加入相应的辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase,HRP)标记的二抗,室温孵育1 h。向膜上滴加增强化学发光底物(ECL,碧云天),使用Bio-Rad ChemiDoc™ MP凝胶成像系统采集化学发光信号,并用Image J软件分析蛋白条带灰度值。

1.7 免疫荧光染色

首先用二甲苯将石蜡切片脱蜡,再用乙醇水化。随后进行抗原修复,将切片置于10 mmol/L柠檬酸钠溶液中,100 ℃孵育3 min,再于40 ℃孵育15 min。室温冷却后,用5%胎牛血清白蛋白封闭切片30 min。封闭完成后,将石蜡切片与一抗于4 ℃孵育过夜。所用一抗如下:兔抗Iba-1抗体、小鼠抗GFAP抗体。次日,切片用PBS(pH=7.4)清洗3次,之后与相应的二抗在室温下避光孵育1 h。最后,所有切片封片后,使用荧光显微镜(Olympus Co.,日本)在统一拍摄条件下采集图像,并通过Image J软件计数阳性细胞数量。

1.8 细胞模型及处理

HT-22小鼠海马神经元细胞系及其专用培养基均购自普诺赛公司(Procell,中国)。细胞培养于37 ℃、5%CO_2的细胞培养箱中。自噬抑制剂3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine,3-MA)购自美国Sigma-Aldrich公司,血红素购自美国MedChemExpress公司。实验分为4组:对照组(Control组)、血红素组(Hemin组)、血红素+亚精胺组(Hemin+SPD组)及血红素+亚精胺+3-MA组(Hemin+SPD+3-MA组)。将HT-22细胞暴露于血红素溶液中培养24 h以模拟体外ICH。亚精胺预处理1 h后加入血红素。为抑制自噬,3-MA(10 μmol/L)于亚精胺处理前1 h加入[10]。

1.9 细胞活力测定

采用CCK-8试剂盒(Glpbio,GK10001,美国)评估经Hemin、亚精胺和3-MA处理的HT-22细胞的活力。该实验严格按照试剂盒制造商的说明书进行操作。使用Tecan Infinite M200酶标仪在450 nm波长处测定吸光度。

1.10 超氧化物歧化酶和丙二醛水平的测定

使用南京建成的超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)检测试剂盒(A001-3-2)和碧云天的丙二醛(malondialdehyde,MDA)检测试剂盒(S0131S)测定脑组织以及HT-22细胞中的氧化应激水平,所有操作均按照制造商的说明进行。

1.11 统计学方法

所有数据均以$\bar{x}\pm s$表示。多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),随后进行Tukey多重检验。$P<0.05$时被认为差异具有统计学意义。

2 结果

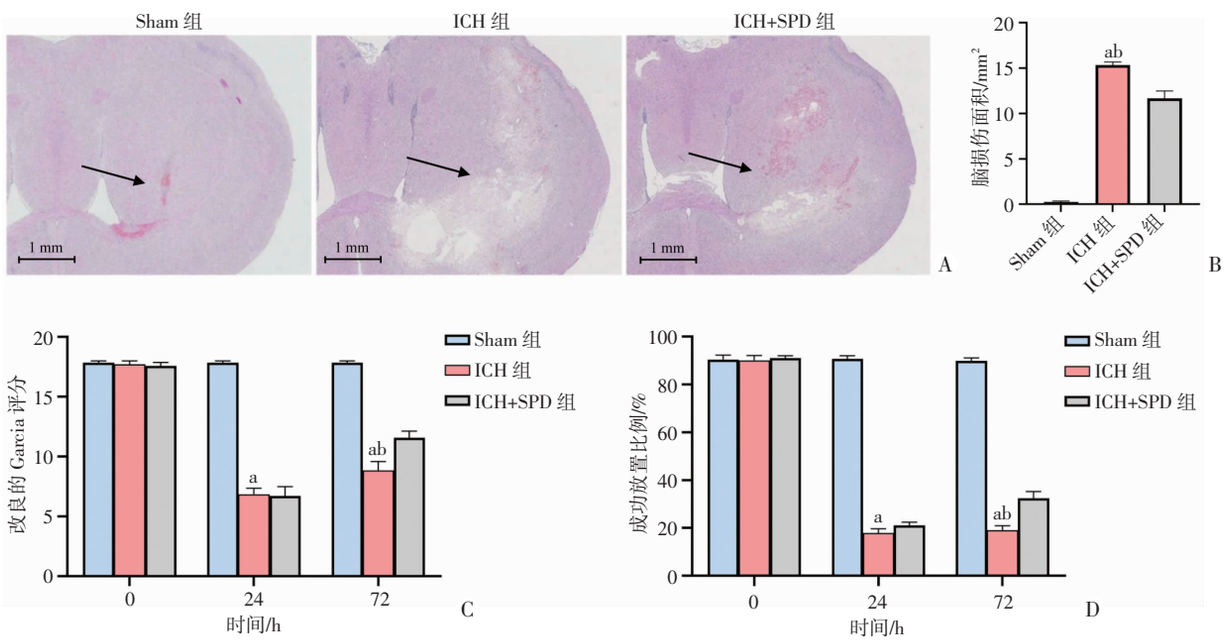
2.1 亚精胺改善ICH后脑损伤及神经功能缺损

与Sham组相比,ICH组小鼠脑损伤面积显著增加($P<0.001$),而亚精胺组小鼠脑损伤面积较ICH组明显缩小($P<0.05$,图1A、B)。行为学测试的结果(图1C、D)

显示，在ICH后24 h及72 h，ICH组改良Garcia评分及前肢放置试验得分均较Sham组显著降低（$P<0.001$）；而亚精胺治疗组在ICH后72 h的神经功能评分较ICH组升高（$P<0.05$）。上述结果表明，亚精胺在ICH后72 h可显著减轻ICH后脑损伤面积并促进神经功能恢复。

2.2　亚精胺进一步加强ICH后的自噬激活

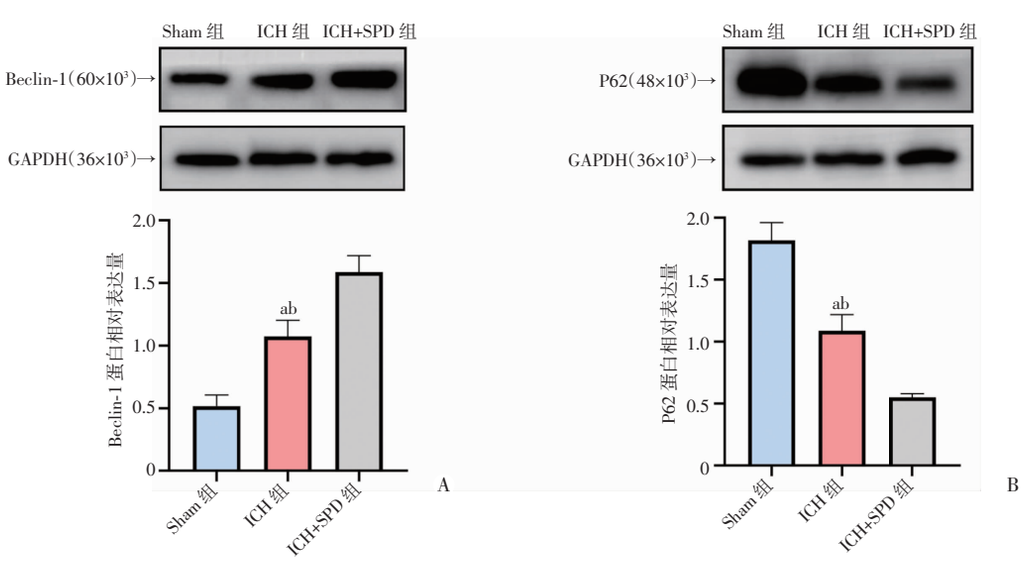
亚精胺是一种天然无毒的自噬诱导剂。Beclin-1和P62都是自噬标志蛋白。为探究ICH后自噬的变化及亚精胺对自噬的调控作用，通过Western blot检测血肿周围脑组织中自噬相关蛋白表达。结果显示，与Sham组相比，ICH组Beclin-1表达显著升高，P62表达显著降低（$P<0.05$），提示ICH后自噬被激活。亚精胺干预后，Beclin-1表达进一步升高，P62表达进一步降低（$P<0.05$），表明亚精胺进一步提高了ICH后的自噬通量。



a：$P<0.001$，与Sham组比较；b：$P<0.05$，与ICH+SPD组比较

A：HE染色代表性图像　↘：示血肿区域；B：脑损伤面积定量分析；C、D：造模前以及ICH后24、72 h改良Garcia神经功能评分和前肢放置试验定量分析

图1　亚精胺减少ICH后脑损伤面积并改善神经功能



a：$P<0.05$，与Sham组比较；b：$P<0.05$，与ICH+SPD组比较

A：Western blot检测各组Beclin-1蛋白表达；B：Western blot检测各组P62蛋白表达

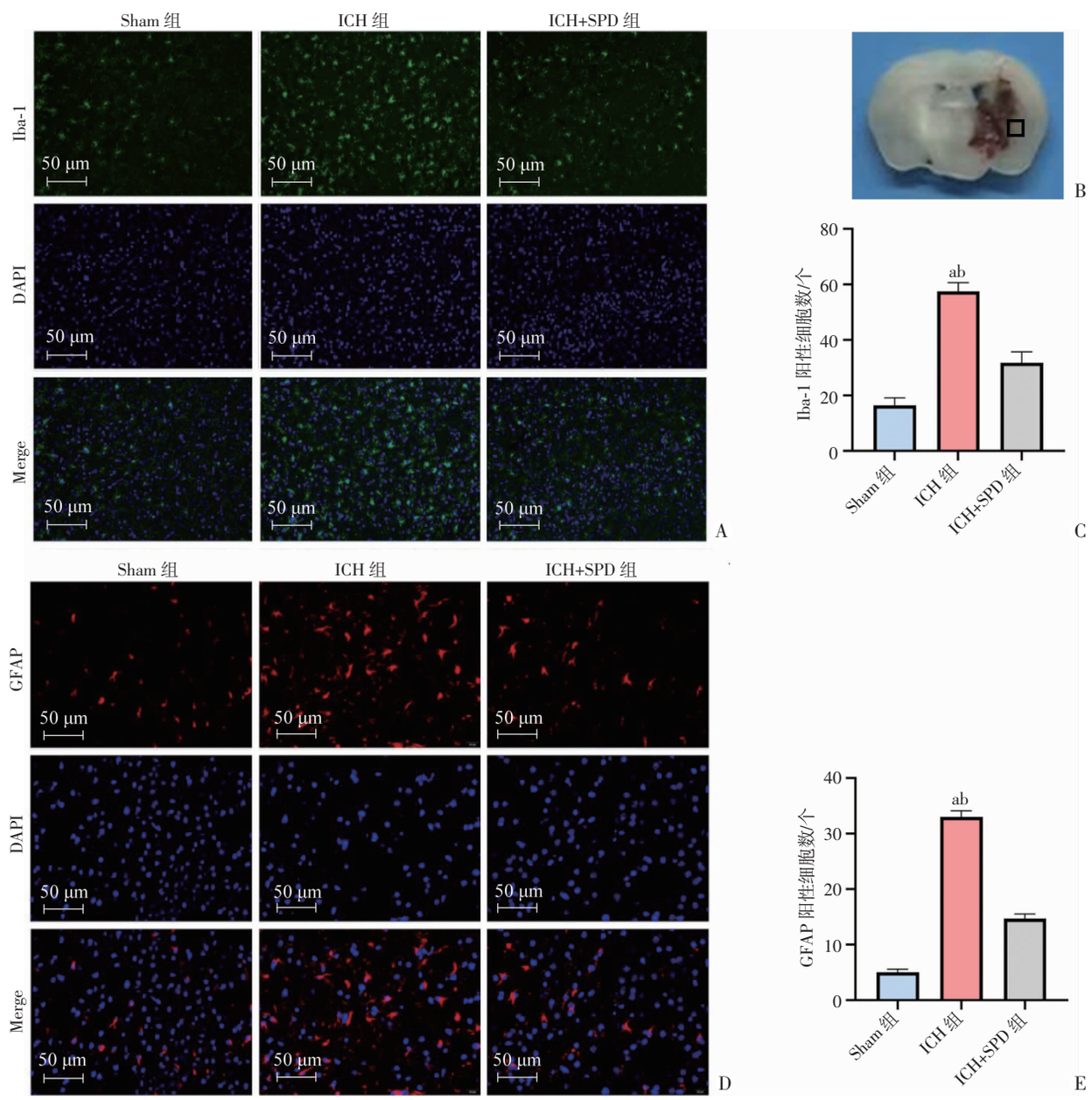
图2　亚精胺进一步加强ICH后的自噬激活

2.3　亚精胺抑制血肿周围脑组织中小胶质细胞/巨噬细胞和星形胶质细胞的活化

与Sham组相比,ICH组Iba-1和GFAP阳性细胞数量显著增多,差异有统计学意义(P<0.001),这说明ICH后这2种神经胶质细胞的显著激活。与ICH组相比,亚精胺处理降低了激活的小胶质细胞/巨噬细胞和星形胶质细胞的数量(P<0.01),表明亚精胺能够抑制小胶质细胞/巨噬细胞及星形胶质细胞的活化。

2.4　亚精胺减轻ICH炎症因子的释放和氧化应激

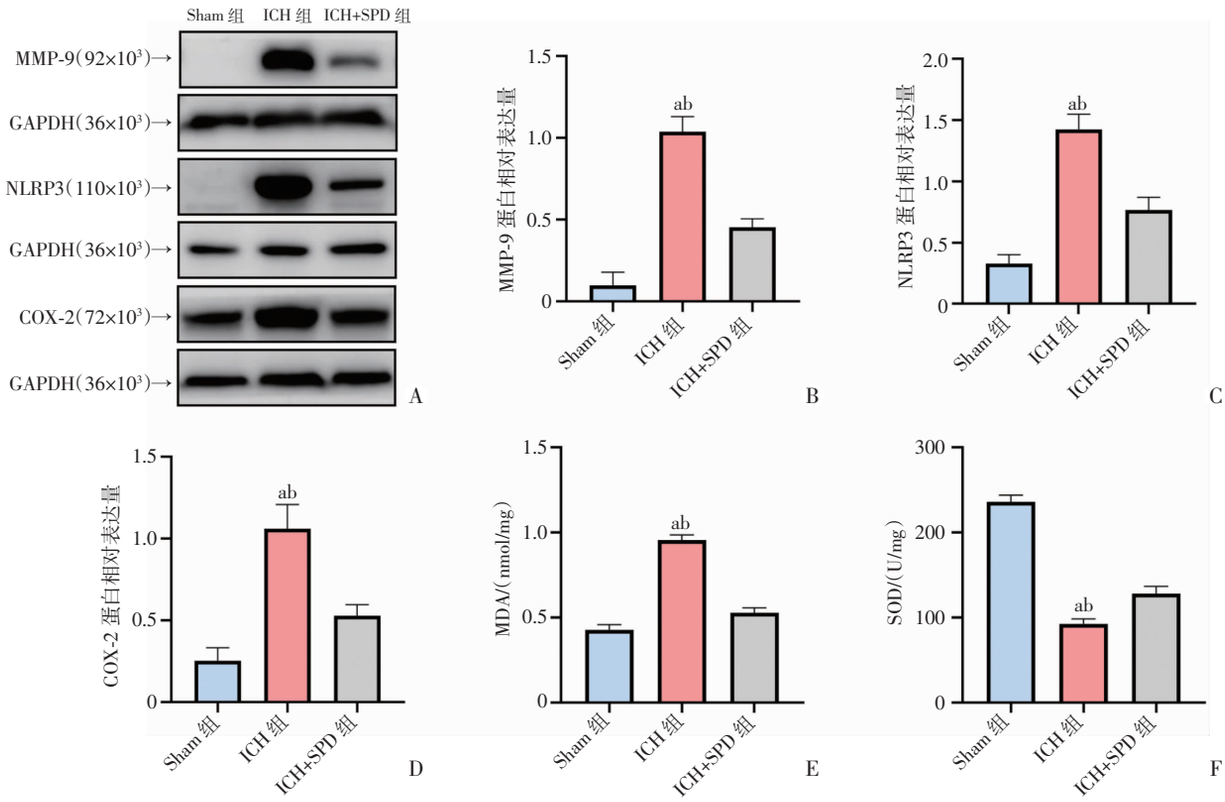
ICH后第3天,通过Western blot检测血肿周围组织中MMP-9、NLRP3及COX-2的表达水平(图4A~D)。结果显示,ICH组MMP-9、NLRP3及COX-2表达较Sham组显著升高(P<0.01),而亚精胺干预后上述炎症因子表达显著降低(P<0.05)。进一步评估氧化应激水平发现,ICH组SOD活性较Sham组降低(P<0.01),脂质过氧化产物MDA含量升高(P<0.01),亚精胺可有效逆转这一趋势(P<0.05,图4E、F)。



a:P<0.001,与Sham组比较;b:P<0.01,与ICH+SPD组比较

A:Iba-1的代表性免疫荧光图像;B:冠状位脑切片示意图　黑色方框:示荧光染色脑区;C:Iba-1阳性细胞数量的定量分析;D:GFAP的代表性免疫荧光图像;E:GFAP阳性细胞数量的定量分析

图3　ICH后72 h亚精胺减轻血肿周围区域小胶质细胞/巨噬细胞和星形胶质细胞的激活



a:P<0.01,与 Sham 组比较;b:P<0.05,与 ICH+SPD 组比较

A:Western blot 检测 MMP-9、NLRP3 和 COX-2 蛋白表达量;B~D:MMP-9、NLRP3 和 COX-2 蛋白相对表达量的定量分析;E、F:MDA 和 SOD 的定量分析

图 4 亚精胺抑制炎症细胞因子的释放和氧化应激

2.5 亚精胺对 HT-22 细胞的保护作用可能依赖于自噬激活

为探索亚精胺的神经保护功能是否与自噬有关,通过体外实验分析 4 组 HT-22 细胞的活性及自噬的变化。将 HT-22 细胞暴露于不同浓度的 Hemin 中 24 h,并使用 CCK-8 检测细胞活力。CCK-8 实验显示,Hemin 处理 24 h 后,HT-22 细胞存活率呈浓度依赖性下降(图 5A)。选择半数抑制浓度 120 μmol/L 用于后续实验。浓度<20 μmol/L 的亚精胺对 HT-22 细胞没有显示出细胞毒性,故选择 20 μmol/L 的亚精胺浓度用于后续体外实验(图 5B)。相比于 Control 组,Hemin 组细胞存活率显著降低,加入亚精胺后细胞活性显著升高,而自噬抑制剂 3-MA 完全逆转此效应(P<0.05,图 5C)。Western blot 结果表明,自噬抑制剂 3-MA 处理降低了 LC3-Ⅱ的水平(P<0.05),并增加了 P62 的水平(P<0.05,图 5D~F)。这些结果表明,亚精胺对 HT-22 细胞的保护作用可能与自噬激活有关。

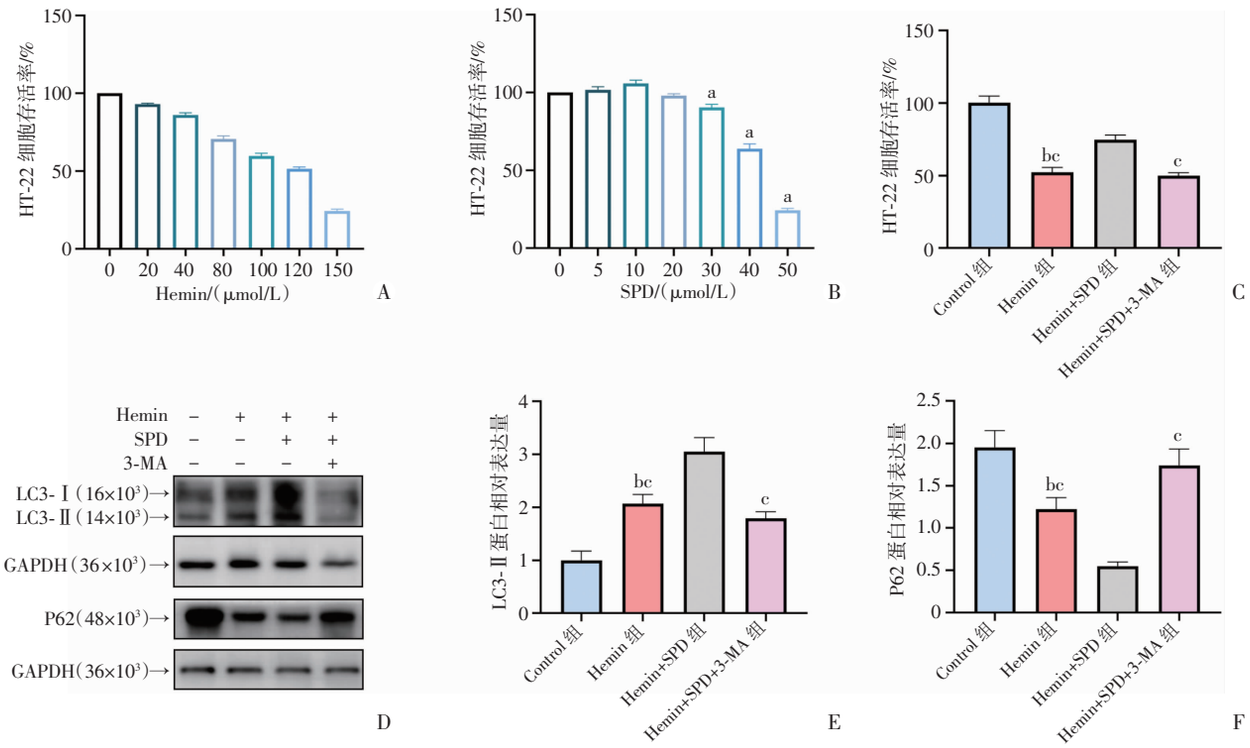
2.6 亚精胺缓解 HT-22 细胞的氧化应激

Western blot 结果显示,Hemin 刺激 24 h 后,HT-22 细胞中 SOD 活性下降,且 MDA 水平升高(P<0.001)。此外,亚精胺处理显著提高了 SOD 活性,并降低 MDA 水平,而 3-MA 处理逆转上述变化(P<0.01)。结果表明,亚精胺抑制血红素诱导的 HT-22 细胞氧化应激,这种效应可能与自噬有关。

3 讨论

3.1 ICH 研究背景与亚精胺的潜在价值

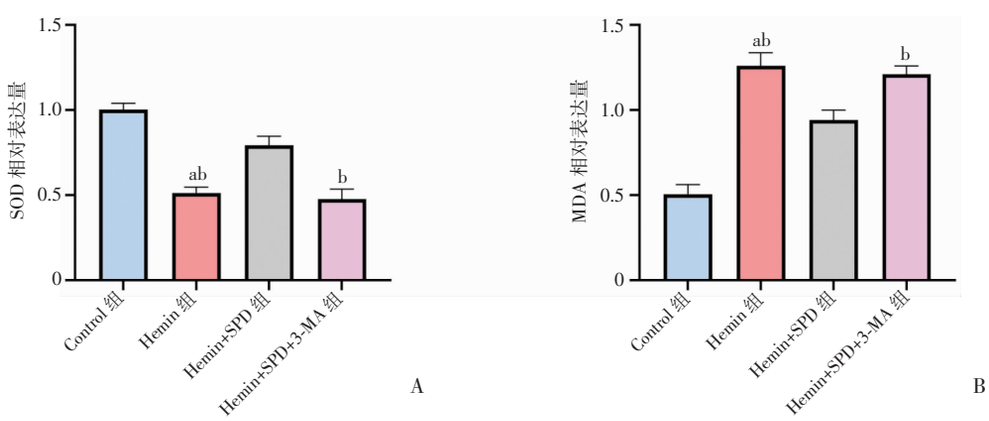
ICH 是一种致命的卒中类型,其致残率与致死率显著高于缺血性卒中,而现有治疗手段对 ICH 神经功能预后的改善极为有限[11-12]。随着人口老龄化加剧,探索针对 ICH 的新型药物治疗至关重要[13-14]。ICH 的不良预后是原发性损伤和继发性损伤共同作用的结果[15]。继发性损伤主要由血肿周围炎症反应和氧化应激共同驱动,导致神经元和血管成分的进一步损伤[16]。ICH 后,血肿分解产物(如血红素和铁离子)通过激活小胶质细胞和巨噬细胞,释放促炎细胞因子和活性氧,进一步放大炎症级联反应。同时,氧化应激通过损伤线粒体功能和诱导细胞凋亡,显著加剧了脑细胞的死亡[15-17]。这些继发性损伤是 ICH 后脑功能恶化的主要原因,且其病理机制涵盖炎症、氧化应激



a:P<0.05,与 0 μmol/L SPD 组比较;b:P<0.05,与 Control 组比较;c:P<0.05,与 Hemin+SPD 组比

A、B:经不同浓度 Hemin 或 SPD 处理 24 h 后 HT-22 细胞的活力;C:经 Hemin、SPD 或 3-MA 处理后的 HT-22 细胞的活力;D:Western blot 检测细胞经不同处理后 LC3-Ⅱ和 P62 蛋白表达量;E、F:LC3-Ⅱ和 P62 蛋白相对表达量的定量分析

图 5　亚精胺对 HT-22 细胞的保护作用可能依赖于自噬激活



a:P<0.001,与 Control 组比较;b:P<0.01,与 Hemin+SPD 组比

A:各组 HT-22 细胞中 SOD 的活性;B:各组 HT-22 细胞中 MDA 的水平

图 6　亚精胺减轻 HT-22 细胞的氧化应激

等多个方面。

自噬诱导剂亚精胺是一种天然多胺,它的抗炎与抗氧化特性已在多种疾病模型中被广泛报道[18-19]。近年来的研究发现,亚精胺可能通过多通路协同发挥保护效应:①亚精胺可能通过抑制 mTOR 磷酸化激活促进保护性自噬,从而抑制氧化应激[20-21]。②通过介导线粒体自噬改善认知功能[22]。③通过抑制 ROS 的产生和 NF-κB/NLRP3 炎症小体通路减轻细胞氧化损伤[23]。这些错综复杂且相互关联的信号通路为亚精胺的多效性提供了分子基础。本研究通过实验证实,亚精胺在脑出血模型中促进自噬并通过抑制神经炎症与氧化应激在 ICH 后发挥神经保护作用。

3.2　亚精胺抑制 ICH 后的神经炎症和氧化应激

ICH 后神经炎症的发生与小胶质细胞/巨噬细胞

和星形胶质细胞的激活以及促炎因子如MMP-9、NLRP3和COX-2的聚集密切相关[24-26]。在本研究中,小鼠实验的结果表明,亚精胺治疗显著抑制小胶质细胞/巨噬细胞及星形胶质细胞的活化,并下调MMP-9、NLRP3炎症小体及COX-2的表达,这对改善ICH后的神经炎症意义重大。

ICH后的氧化应激表现为脂质过氧化产物MDA水平升高和SOD活性降低[27]。本研究发现,在ICH小鼠模型中,亚精胺干预显著提升SOD活性、降低MDA水平,表明其增强了抗氧化防御系统并减轻了脂质过氧化损伤。值得注意的是,体外实验同样显示亚精胺可逆转血红素诱导HT-22细胞氧化损伤,提高了细胞存活率。因此体内外实验数据一致表明,亚精胺通过抑制氧化应激在ICH模型中发挥神经保护作用。

3.3 亚精胺通过诱导自噬促进HT-22细胞存活

自噬是维持细胞稳态和促进细胞存活的一种重要分子途径[28-29]。亚精胺可通过竞争性抑制乙酰转移酶EP300触发细胞保护性自噬,从而在多种疾病模型中发挥保护作用[30-31]。近年研究表明,亚精胺的自噬调控能力与其多效性功能密切相关:在神经系统疾病中,SPD通过增强Beclin-1依赖性自噬通量减轻神经元损伤[32];在炎症模型中,其抗炎效应(如抑制小胶质细胞活化)及抗氧化活性(如清除自由基)也可能通过自噬-炎症/氧化应激交互网络实现[33-34]。这些证据共同提示,亚精胺可能通过增强自噬来发挥抗炎和抗氧化应激作用,自噬通路的激活可能是其发挥神经保护的枢纽。

在ICH中,自噬也是一种重要的调节机制。有研究表明,在ICH继发性脑损伤的病理生理过程中,血凝块成分如柠檬酸铁和凝血酶参与了ICH后自噬的诱导[35-36]。但自噬在ICH中的作用仍存争议[37-38]。有趣的是,人们普遍认为天然自噬诱导剂亚精胺刺激细胞保护性自噬[30]。本研究证实了ICH中存在自噬现象,且亚精胺进一步促进了自噬,这从Beclin-1和LC3-Ⅱ水平的升高以及P62水平的下降得到了证实。本研究中动物实验的结果表明,亚精胺在脑出血模型中促进自噬并抑制神经炎症与氧化应激。此外,细胞实验部分使用了自噬抑制剂3-MA对细胞进行处理。实验结果表明,亚精胺对HT-22细胞的保护效应可被3-MA特异性抑制。这表明了亚精胺通过诱导自噬促进HT-22细胞存活,为自噬的有益作用提供了新的见解。

3.4 研究局限性与展望

本研究有一定的局限性:①本研究中的动物实验部分仅使用雄性成年小鼠,未考虑性别和年龄对ICH病理及亚精胺疗效的潜在影响;②亚精胺的干预浓度单一,无法揭示其剂量依赖效应;③本研究中小鼠实验结果证明了亚精胺促进自噬并抑制小胶质细胞/巨噬细胞和星形胶质细胞的激活以及炎症因子的释放,但由于时间限制,当前研究未能充分揭示亚精胺的自噬调控与ICH后胶质细胞激活以及炎症因子释放之间的调控机制。未来需结合多时间点、多剂量及性别/年龄分层模型进一步验证亚精胺的核心机制,从而为亚精胺的临床转化及ICH的治疗提供新方向。总之,动物实验的结果表明,自噬诱导剂亚精胺通过抑制神经炎症和氧化应激改善了ICH后继发性脑损伤,而细胞实验进一步表明亚精胺促进HT-22细胞存活与自噬激活有关。因此,亚精胺可能成为ICH治疗的潜在候选药物,未来需结合多维度模型探索其临床转化价值。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献:

[1] SCHRAG M, KIRSHNER H. Management of intracerebral hemorrhage[J]. J Am Coll Cardiol, 2020, 75(15): 1819-1831. DOI:10.1016/j.jacc.2019.10.066.

[2] XUE M Z, YONG V W. Neuroinflammation in intracerebral haemorrhage: immunotherapies with potential for translation[J]. Lancet Neurol, 2020, 19(12): 1023-1032. DOI: 10.1016/S1474-4422(20)30364-1.

[3] MORRIS N A, MARC SIMARD J, CHATURVEDI S. Surgical management for primary intracerebral hemorrhage[J]. Neurology, 2024, 103(4): e209714. DOI: 10.1212/WNL.0000000000209714.

[4] HOFER S J, SIMON A K, BERGMANN M, *et al*. Mechanisms of spermidine-induced autophagy and geroprotection[J]. Nat Aging, 2022, 2(12): 1112-1129. DOI:10.1038/s43587-022-00322-9.

[5] MADEO F, EISENBERG T, BÜTTNER S, *et al*. Spermidine: a novel autophagy inducer and longevity elixir[J]. Autophagy, 2010, 6(1): 160-162. DOI: 10.4161/auto.6.1.10600.

[6] ZOU D, ZHAO Z Y, LI L, *et al*. A comprehensive review of spermidine: safety, health effects, absorption and metabolism, food materials evaluation, physical and chemical processing, and bioprocessing[J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2022, 21(3): 2820-2842. DOI:10.1111/1541-4337.12963.

[7] SKATCHKOV S N, WOODBURY-FARIÑA M A, EATON M. The role of glia in stress: polyamines and brain disorders[J]. 2014, 37(4): 653-678. DOI:10.1016/j.psc.2014.08.008.

[8] SU Q Y, SU C H, ZHANG Y, *et al*. Adjudin protects blood-brain barrier integrity and attenuates neuroinflammation following intracerebral hemorrhage in mice [J]. Int Immunopharmacol, 2024, 132: 111962. DOI: 10.1016/j.intimp.2024.111962.

[9] HUANG J X, ZHANG H P, ZHANG J N, *et al*. Spermidine exhibits protective effects against traumatic brain injury [J]. Cell Mol Neurobiol, 2020, 40(6): 927-937. DOI: 10.1007/s10571-019-00783-4.

[10] ZHENG Z M, WANG Z G, CHEN Y, *et al*. Spermidine promotes nucleus pulposus autophagy as a protective mechanism against apoptosis and ameliorates disc degeneration [J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(6): 3086-3096. DOI: 10.1111/jcmm.13586.

[11] FEIGIN V L, LAWES C M M, BENNETT D A, *et al*. Worldwide stroke incidence and early case fatality reported in 56 population-based studies: a systematic review [J]. 2009, 8(4): 355-369. DOI: 10.1016/S1474-4422(09)70025-0.

[12] ZILLE M, FARR T D, KEEP R F, *et al*. Novel targets, treatments, and advanced models for intracerebral haemorrhage [J]. EBioMedicine, 2022, 76: 103880. DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.103880.

[13] ZHANG Y, LIU Y, WEE YONG V, *et al*. Omarigliptin inhibits brain cell ferroptosis after intracerebral hemorrhage [J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 14339. DOI: 10.1038/s41598-023-41635-y.

[14] HUANG H Y, BACH J R, SHARMA H S, *et al*. The 2023 yearbook of neurorestoratology [J]. J Neurorestoratol, 2024, 12(3): 100136. DOI: 10.1016/j.jnrt.2024.100136.

[15] ZHANG Y, KHAN S, LIU Y, *et al*. Oxidative stress following intracerebral hemorrhage: from molecular mechanisms to therapeutic targets [J]. Front Immunol, 2022, 13: 847246. DOI: 10.3389/fimmu.2022.847246.

[16] SHI K B, TIAN D C, LI Z G, *et al*. Global brain inflammation in stroke [J]. Lancet Neurol, 2019, 18(11): 1058-1066. DOI: 10.1016/S1474-4422(19)30078-X.

[17] ZHOU F F, HE Y J, ZHANG M R, *et al*. Polydopamine (PDA)-coated diselenide-bridged mesoporous silica-based nanoplatform for neuroprotection by reducing oxidative stress and targeting neuroinflammation in intracerebral hemorrhage [J]. J Nanobiotechnology, 2024, 22(1): 731. DOI: 10.1186/s12951-024-03023-0.

[18] ZHANG Y G, YE P, ZHU H, *et al*. Neutral polysaccharide from *Gastrodia elata* alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting ferroptosis-mediated neuroinflammation *via* the NRF2/HO-1 signaling pathway [J]. CNS Neurosci Ther, 2024, 30(3): e14456. DOI: 10.1111/cns.14456.

[19] ZHANG X Y, LI H H, WANG H M, *et al*. Iron/ROS/Itga3 mediated accelerated depletion of hippocampal neural stem cell pool contributes to cognitive impairment after hemorrhagic stroke [J]. Redox Biol, 2024, 71: 103086. DOI: 10.1016/j.redox.2024.103086.

[20] TIRUPATHI PICHIAH P B, SURIYAKALAA U, KAMALAKKANNAN S, *et al*. Spermidine may decrease ER stress in pancreatic beta cells and may reduce apoptosis *via* activating AMPK dependent autophagy pathway [J]. Med Hypotheses, 2011, 77(4): 677-679. DOI: 10.1016/j.mehy.2011.07.014.

[21] JIANG D M, JI C W, ZHOU X M, *et al*. Pathway analysis of spermidine anti-oxidative stress and inducing autophagy in granulosa cells of Sichuan white geese [J]. Theriogenology, 2024, 215: 290-301. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2023.12.020.

[22] SCHROEDER S, HOFER S J, ZIMMERMANN A, *et al*. Dietary spermidine improves cognitive function [J]. Cell Rep, 2021, 35(2): 108985. DOI: 10.1016/j.celrep.2021.108985.

[23] BANG E, PARK C, HWANGBO H, *et al*. Spermidine attenuates high glucose-induced oxidative damage in retinal pigment epithelial cells by inhibiting production of ROS and NF-κB/NLRP3 inflammasome pathway [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(13): 10550. DOI: 10.3390/ijms241310550.

[24] DUAN S R, WANG F, CAO J W, *et al*. Exosomes derived from microRNA-146a-5p-enriched bone marrow mesenchymal stem cells alleviate intracerebral hemorrhage by inhibiting neuronal apoptosis and microglial M1 polarization [J]. Drug Des Devel Ther, 2020, 14: 3143-3158. DOI: 10.2147/DDDT.S255828.

[25] LEI P, LI Z Y, HUA Q W, *et al*. Ursolic acid alleviates neuroinflammation after intracerebral hemorrhage by mediating microglial pyroptosis *via* the NF-κB/NLRP3/GSDMD pathway [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(19): 14771. DOI: 10.3390/ijms241914771.

[26] YANG M X, DENG S X, JIANG J L, *et al*. Oxytocin improves intracerebral hemorrhage outcomes by suppressing neuronal pyroptosis and mitochondrial fission [J]. Stroke, 2023, 54(7): 1888-1900. DOI: 10.1161/STROKEAHA.123.043391.

[27] WANG J N, TONG M L, ZHAO B, *et al*. Parthenolide ameliorates intracerebral hemorrhage-induced brain injury in rats [J]. Phytother Res, 2020, 34(1): 153-160. DOI: 10.1002/ptr.6510.

[28] DEBNATH J, GAMMOH N, RYAN K M. Autophagy and autophagy-related pathways in cancer [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2023, 24(8): 560-575. DOI: 10.1038/s41580-023-

00585-z.

[29] 高媛媛, 赵恒光, 杨桂红, 等. DDIT4介导的自噬在毛乳头细胞氧化应激损伤中的保护作用[J]. 陆军军医大学学报, 2024, 46(21): 2397-2406. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202406063.
GAO Y Y, ZHAO H G, YANG G H, *et al*. Protective role of DDIT4-mediated autophagy in dermal papilla cells after oxidative stress injury[J]. J Army Med Univ, 2024, 46(21): 2397-2406. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202406063.

[30] MADEO F, BAUER M A, CARMONA-GUTIERREZ D, *et al*. Spermidine: a physiological autophagy inducer acting as an anti-aging vitamin in humans?[J]. Autophagy, 2019, 15(1): 165-168. DOI:10.1080/15548627.2018.1530929.

[31] GHOSH I, SANKHE R, MUDGAL J, *et al*. Spermidine, an autophagy inducer, as a therapeutic strategy in neurological disorders[J]. Neuropeptides, 2020, 83: 102083. DOI: 10.1016/j.npep.2020.102083.

[32] YANG Y, CHEN S C, ZHANG Y Q, *et al*. Induction of autophagy by spermidine is neuroprotective *via* inhibition of caspase 3-mediated Beclin 1 cleavage[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(4): e2738. DOI:10.1038/cddis.2017.161.

[33] SAVA I G, BATTAGLIA V, ROSSI C A, *et al*. Free radical scavenging action of the natural polyamine spermine in rat liver mitochondria[J]. Free Radic Biol Med, 2006, 41(8): 1272-1281. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2006.07.008.

[34] CHOI Y H, PARK H Y. Anti-inflammatory effects of spermidine in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglial cells[J]. J Biomed Sci, 2012, 19(1): 31. DOI: 10.1186/1423-0127-19-31.

[35] LI H Y, WU J, SHEN H T, *et al*. Autophagy in hemorrhagic stroke: Mechanisms and clinical implications[J]. Prog Neurobiol, 2018, 163/164: 79-97. DOI:10.1016/j.pneurobio.2017.04.002.

[36] ZHANG R Y, BAI Q, LIU Y, *et al*. Intracerebral hemorrhage in translational research[J]. Brain Hemorrhages, 2020, 1(1): 13-18. DOI:10.1016/j.hest.2020.02.003.

[37] GONG Y, HE Y, GU Y, *et al*. Effects of aging on autophagy after experimental intracerebral hemorrhage[C]// ZHANG J, COLOHAN A. Intracerebral hemorrhage research: Vol. 111. Vienna: Springer Vienna, 2011: 113-117. DOI:10.1007/978-3-7091-0693-8_18.

[38] SU Y, ZHANG W, ZHANG R X, *et al*. Activation of cholinergic anti-inflammatory pathway ameliorates cerebral and cardiac dysfunction after intracerebral hemorrhage through autophagy[J]. Front Immunol, 2022, 13: 870174. DOI:10.3389/fimmu.2022.870174.

(**收稿**:2025-02-06;**修回**:2025-02-09)

(编辑 严 涵)