

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research姜黄素通过调控 SPP1 抑制脑出血小鼠脑内
铁死亡并改善神经功能损伤的研究Research of curcumin inhibiting ferroptosis and improving neuronal functional
impairment in mice with intracerebral hemorrhage by regulating SPP1屈茜茜¹, 赵修敏^{2a}, 王建林^{2b},
马海波^{2a}(1. 济南市中心医院 中医科, 山东 济南 250013;
2. 山东大学 附属山东省立第三医院 a. 神经内
科; b. 急诊医学科, 山东 济南 250031)QU Xi-xi¹, ZHAO Xiu-min^{2a},
WANG Jian-lin^{2b}, MA Hai-bo^{2a}(1. Department of Traditional Chinese
Medicine, Jinan Central Hospital, Jinan
250013, Shandong Province, China; 2.
a. Department of Neurology; b.
Department of Emergency Medicine;
Shandong Provincial Third Hospital
Affiliated to Shandong University, Jinan
250031, Shandong Province, China)基金项目: 山东省医药卫生科技基金资助项目
(202303071319)作者简介: 屈茜茜(1989-), 女, 主治医师, 主
要从事心脑血管病方面的研究

通信作者: 马海波, 副主任医师

MP: 13235314212

E-mail: mailquxixi@163.com

摘要:目的 探讨姜黄素对脑出血小鼠脑内铁死亡及神经功能损伤的影响,并阐明其潜在分子机制。方法 将40只小鼠分为假手术组、模型组、实验组及抑制剂组,每组10只。用尾静脉自体血注射法构建小鼠脑出血模型。假手术组注射等量生理盐水,模型组建模并注射等量生理盐水,实验组造模后每日灌胃200 mg·kg⁻¹姜黄素,抑制剂组在200 mg·kg⁻¹姜黄素基础上,每日腹腔注射5 mg·kg⁻¹分泌型磷酸蛋白1(SPP1)抑制剂溶液。给药结束后,用Longa评分标准进行神经功能缺损评分,用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测血清Fe²⁺、丙二醛(MDA)及超氧化物歧化酶(SOD)水平;用免疫荧光法检测脑组织活性氧(ROS)相对荧光强度;用蛋白质印迹法检测B细胞淋巴瘤因子2(BCL-2)、BCL-2相关X蛋白(Bax)、核因子红细胞2相关因子2(Nrf2)和谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)表达水平;用免疫组化法检测脑组织SPP1相对阳性水平。结果 假手术组、模型组、实验组及抑制剂组的神经功能缺损评分分别为(0±0)、(3.20±0.42)、(1.40±0.52)和(2.10±0.57)分;血清中Fe²⁺水平分别为(220.35±26.17)、(432.40±65.28)、(276.52±33.20)和(329.15±45.71) μmol·kg⁻¹;血清中MDA水平分别为(53.75±7.62)、(120.36±18.22)、(72.68±11.23)和(89.44±13.16) nmol·mg⁻¹;血清中SOD水平分别为(63.78±9.80)、(20.86±3.41)、(51.18±7.30)和(37.35±5.08) U·mg⁻¹;ROS相对荧光强度分别为1.00±0.09、3.87±0.56、1.52±0.22和2.43±0.38;脑组织中Bax相对表达水平分别为1.00±0.11、2.95±0.33、1.58±0.26和2.37±0.29;BCL-2相对表达水平分别为1.00±0.15、0.20±0.04、0.65±0.12和0.43±0.07;Nrf2相对表达水平分别为1.00±0.13、0.33±0.05、0.65±0.10和0.54±0.09;GPX4相对表达水平分别为1.00±0.14、0.21±0.04、0.58±0.09和0.45±0.06;SPP1相对阳性水平分别为1.00±0.13、0.30±0.05、0.76±0.12和0.43±0.07,模型组与假手术相比、实验组与模型组相比、抑制剂组与实验组相比,上述指标在统计学上差异均有统计学意义(P<0.05, P<0.01, P<0.001)。结论 姜黄素能减轻脑出血后神经细胞凋亡与铁死亡,改善小鼠神经功能损伤,其机制可能与上调SPP1表达,进而激活Nrf2/GPX4通路激活有关。

关键词:姜黄素;脑出血;分泌型磷酸蛋白1;核因子红细胞2相关因子2/谷胱甘肽过氧化物酶4通路;铁死亡

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2026.08.018

中图分类号:R28 文献标志码:A

文章编号:1001-6821(2026)08-1164-06

Abstract: Objective To investigate the effects of curcumin on ferroptosis and neurological deficit in mice with intracerebral hemorrhage (ICH) and to clarify its potential molecular mechanism. **Methods** A total of 40 mice were divided into sham group, model group,

experimental group and inhibitor group, with 10 mice in each group. Intracerebral hemorrhage model in mice was established by tail vein autologous blood injection. The sham group was injected with the same amount of normal saline; in the model group, the model group was established and injected with the same amount of normal saline; the experimental group was intragastrically administered with $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ curcumin, and the inhibitor group was intraperitoneally injected with $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ secretory phosphoprotein 1 (SPP1) inhibitor solution on the basis of $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ curcumin. At the end of the treatment, Longa score was used to evaluate the neurological deficit; the serum levels of Fe^{2+} , malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); the relative fluorescence intensity of reactive oxygen species (ROS) in brain tissue was detected by immunofluorescence method; the relative expression levels of B-cell lymphoma 2 (BCL-2), BCL-2-associated X protein (Bax), nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) and glutathione peroxidase (GPX4) were detected by Western blot; the relative positive level of SPP1 in brain tissue was detected by immunohistochemistry. **Results** The neurological deficit scores of sham group, model group, experimental group and inhibitor group were (0 ± 0) , (3.20 ± 0.42) , (1.40 ± 0.52) and (2.10 ± 0.57) scores, respectively; the serum Fe^{2+} levels were (220.35 ± 26.17) , (432.40 ± 65.28) , (276.52 ± 33.20) and $(329.15 \pm 45.71) \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively; the serum MDA levels were (53.75 ± 7.62) , (120.36 ± 18.22) , (72.68 ± 11.23) and $(89.44 \pm 13.16) \text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$, respectively; the serum SOD levels were (63.78 ± 9.80) , (20.86 ± 3.41) , (51.18 ± 7.30) and $(37.35 \pm 5.08) \text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$, respectively; the relative fluorescence intensities of ROS were 1.00 ± 0.09 , 3.87 ± 0.56 , 1.52 ± 0.22 and 2.43 ± 0.38 , respectively; the relative expression levels of Bax in brain tissue were 1.00 ± 0.11 , 2.95 ± 0.33 , 1.58 ± 0.26 and 2.37 ± 0.29 , respectively; the relative expression levels of Bcl-2 were 1.00 ± 0.15 , 0.20 ± 0.04 , 0.65 ± 0.12 and 0.43 ± 0.07 , respectively; the relative expression levels of Nrf2 were 1.00 ± 0.13 , 0.33 ± 0.05 , 0.65 ± 0.10 and 0.54 ± 0.09 , respectively; the relative expression levels of GPX4 were 1.00 ± 0.14 , 0.21 ± 0.04 , 0.58 ± 0.09 and 0.45 ± 0.06 , respectively; the relative positive levels of SPP1 were 1.00 ± 0.13 , 0.30 ± 0.05 , 0.76 ± 0.12 and 0.43 ± 0.07 , respectively. There were statistically significant differences in the above indicators between the model group and the sham operation group, between the experimental group and the model group, and between the inhibitor group and the experimental group ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$). **Conclusion** Curcumin can alleviate neuronal apoptosis and ferroptosis after ICH, and improve neurological function injury in mice. The underlying mechanism may be associated with the up-regulation of SPP1 expression, which in turn activates the Nrf2/GPX4 signaling pathway.

Key words: curcumin; intracerebral hemorrhage; secreted phosphoprotein 1; nuclear factor erythroid 2-related factor 2/glutathione peroxidase signaling pathway; ferroptosis

脑出血 (intracerebral hemorrhage, ICH) 是一种高致死、致残率的脑卒中类型^[1]。其继发性脑损伤涉及复杂的病理过程,其中,以细胞内铁超载和脂质过氧化物累积为特征的铁死亡,在神经炎症与氧化应激级联反应中扮演关键角色,成为干预新靶点^[2]。分泌型磷蛋白 1 (secreted phosphoprotein 1, SPP1) 作为一种多功能糖蛋白,已被报道可能参与调控铁死亡进程^[3]。姜黄素作为一种天然多酚,已被证实具有抗炎、抗氧化及抗铁死亡的潜力^[4]。然而,姜黄素是否通过调控 SPP1 来发挥神经保护作用,特别是其是否通过影响核因子红细胞 2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)/谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase, GPX4) 这一关键抗铁死亡通路来减轻 ICH 损伤仍需进一步研究。因此,本研究

旨在构建小鼠 ICH 模型,探讨姜黄素对神经功能/铁死亡的影响,并重点阐明 SPP1 及 Nrf2/GPX4 通路在其神经保护机制中的作用,以期为 ICH 治疗提供新的理论依据和潜在药物靶点。

材料与方法

1 材料

动物 6~8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠 40 只,体重 $18 \sim 22 \text{ g}$,购自山东泰安鸿菲尔生物科技有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(鲁) 2024 0006,本实验经山东大学附属山东省立第三医院伦理委员会批准,伦理批号:SYDW-2024013。

药品与试剂 姜黄素,规格:每瓶 25 g ,纯度:95%,货号:S19245,上海源叶生物科技有限公司生产;SPP1 抑制剂,货号:HY-146064,美国 MedChe-

mExpress 公司生产;血清铁浓度试剂盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒,均由上海酶联生物科技有限公司生产;B 细胞淋巴瘤因子 2(B-cell lymphoma 2, BCL-2)相关 X 蛋白(BCL-2-associated X protein, Bax)、BCL-2、Nrf2、SPP1、甘油-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体,均由英国 Abcam 公司生产;GPX4 抗体,德国 Merck 公司生产。

仪器 Rt-6100 多功能酶标仪,美国 Rayto 公司产品;BX63 荧光显微镜,日本 Olympus 公司产品;1658033 蛋白电泳仪,美国 Bio-Rad 公司产品。

2 实验方法

2.1 小鼠脑出血模型的构建^[5]

将小鼠麻醉后,头部进行消毒,纵向切开头皮组织,钝性分离骨膜以充分暴露前囟、后囟及冠状缝结构,参照小鼠脑立体定位图谱,确定右侧基底节尾状核坐标(前囟前 0.2 mm,矢状缝右侧 2.0 mm)。用微型颅钻低速钻孔(直径约 1 mm),注意保护硬脑膜。用 26 G 针头穿刺尾动脉,以 100 μL 微量进样器采集非肝素化新鲜自体血 50 μL ;用微量注射泵,深度位于硬膜下 3.0 mm,以 2 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速率注入自体全血,为防止血液反流导致的漏出,注射完成后留针 5 min 后缓慢拔针,按压止血并缝合头皮。

2.2 动物分组与处理方法

将小鼠按照随机数表法分为 4 组,假手术组在相同部位注射等量等渗生理盐水,不进行其他操作;模型组按照“2.1”方法进行造模并注射生理盐水,不给药;实验组在造模成功后,每只小鼠灌胃 200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的姜黄素,每日 1 次,连续给药 3 d^[6];抑制剂组在造模成功后,每只小鼠灌胃 200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的姜黄素,并腹腔注射 5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 SPP1 抑制剂溶液,每日 1 次,连续给药 3 d。

2.3 神经功能缺损评分^[7]

参照 Longa 评分标准对各组小鼠进行神经功能缺损评分,具体标准如下:0 分,无神经功能缺损症状,小鼠活动正常、步态平稳;1 分,轻度神经功能缺损,小鼠不能完全伸展对侧前肢;2~3 分,小鼠行走时向对侧转圈或倾倒;4 分,小鼠意识障碍或无法自主行走,2 分以上表示模型构建成功。

2.4 酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法检测小鼠血清中 Fe^{2+} 、MDA 和 SOD 水平

采集小鼠血清样本,严格按照试剂盒说明书进行

操作,用酶标仪测定光密度,并根据标准曲线计算样本中 Fe^{2+} 、MDA 和 SOD 含量。

2.5 苏木精-伊红染色法(hematoxylin-eosin, HE)染色法观察小鼠脑组织病理形态变化

将小鼠脑组织用多聚甲醛固定,制备石蜡切片,浸入苏木素染液室温染色,随后经伊红染液室温染色,蒸馏水冲洗,封片后,用显微镜观察。

2.6 免疫荧光法检测小鼠脑组织中 ROS 相对荧光强度

取小鼠脑组织切片,用磷酸盐缓冲液洗涤后,滴加适量稀释好的二氢乙锭(dihydroethidium, DHE)荧光探针,避光孵育后,再用磷酸盐缓冲液洗涤,抗荧光淬灭封片剂封片后,用荧光显微镜观察并采集图像。

2.7 蛋白质印迹法检测小鼠脑组织中凋亡及 Nrf2/GPX4 通路相关蛋白表达水平

用裂解液提取小鼠脑组织的总蛋白,测定蛋白浓度并定量准备上样。每孔上样蛋白 20 μg ,经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,转印至聚偏二氟乙烯膜。5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h,弃封闭液,分别加入稀释好的一抗 Bax (1:1.0 $\times 10^4$)、BCL-2 (1:2 000)、Nrf2 (1:5 000) 及 GPX4 (1:1.0 $\times 10^4$),次日, TBST 洗涤后,加入辣根过氧化物酶标记羊抗兔 IgG 二抗(1:5 000 稀释),室温孵育 1 h。再次洗涤后,滴加化学发光显色液,于凝胶成像系统采集蛋白条带图像,并使用 ImageJ 1.53t 软件分析蛋白条带灰度值。

2.8 免疫组化法检测小鼠脑组织中 SPP1 相对阳性水平

取小鼠脑组织石蜡切片,脱蜡至水后使用柠檬酸抗原修复缓冲液热修复,过氧化氢封闭,胎牛血清封闭,加入一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,次日加入二抗室温孵育,二氨基联苯胺显色,苏木素复染细胞核,封片后,用荧光显微镜观察。用 ImageJ 1.53t 软件对染色结果进行半定量分析,以平均光密度值表示 SPP1 的表达水平。

3 统计学处理

用 SPSS 25.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内比较用配对样本 t 检验,组间比较用独立样本 t 检验。

结 果

1 姜黄素对脑出血小鼠神经功能缺损评分的影响

假手术组、模型组、实验组和抑制剂组的神经功能缺损评分分别为 (0 $\pm$ 0)、(3.20 $\pm$ 0.42)、(1.40 $\pm$ 0.52) 和 (2.10 $\pm$ 0.57) 分。与假手术组相比,模型组小鼠的神经功能缺损评分显著下降

($P < 0.001$);与模型组相比,试验组小鼠的神经功能缺损评分显著上升($P < 0.001$);与实验组相比,抑制剂组小鼠的神经功能缺损评分显著下降($P < 0.05$)。

2 姜黄素对脑出血小鼠血清中 Fe^{2+} 、MDA 和 SOD 水平的影响

ELISA 实验法显示:与假手术组相比,模型组小鼠血清中 Fe^{2+} 和 MDA 含量均显著升高(均 $P < 0.001$),SOD 含量显著降低($P < 0.001$);与模型组相比,试验组小鼠血清中 Fe^{2+} 和 MDA 含量均显著降低(均 $P < 0.001$),SOD 含量显著升高($P < 0.001$);与试验组相比,抑制剂组小鼠血清中 Fe^{2+} 和 MDA 含量均显著升高(均 $P < 0.01$),SOD 含量显著降低($P < 0.001$),见表 1。

3 姜黄素对脑出血小鼠脑组织病理形态的影响

HE 染色法显示,假手术组小鼠脑组织形态结构完整,未见明显病理变化;与假手术组相比,模型组小鼠脑组织形态结构不完整,神经细胞变性,排列不规则,细胞核皱缩;与模型组相比,实验组小鼠脑组织整体病变程度减轻;与实验组相比,抑制剂组小鼠脑组织病理损伤程度明显加重,见图 1。

4 姜黄素对脑出血小鼠脑组织中 ROS 水平的影响

免疫荧光法显示,假手术组、模型组、实验组和抑制剂组的 ROS 相对荧光强度分别为 1.00 ± 0.09 、 3.87 ± 0.56 、

1.52 ± 0.22 和 2.43 ± 0.38 。与假手术组相比,模型组小鼠脑组织中 ROS 相对荧光强度显著增强($P < 0.001$);与模型组相比,实验组小鼠脑组织中 ROS 相对荧光强度显著减弱($P < 0.001$);与实验组相比,抑制剂组小鼠脑组织中 ROS 相对荧光强度显著增强($P < 0.001$)。

5 姜黄素对脑出血小鼠脑组织中凋亡相关蛋白表达水平的影响

蛋白质印迹法显示,与假手术组相比,模型组小鼠脑组织中 Bax 蛋白相对表达水平显著上升($P < 0.001$),BCL-2、Nrf2 和 GPX4 蛋白相对表达水平均显著下降(均 $P < 0.001$);与模型组相比,实验组小鼠脑组织中 Bax 蛋白相对表达水平显著下降($P < 0.001$),BCL-2、Nrf2 和 GPX4 蛋白相对表达水平均显著上升(均 $P < 0.001$);与实验组相比,抑制剂组小鼠脑组织中 Bax 蛋白相对表达水平显著上调($P < 0.001$),BCL-2、Nrf2 和 GPX4 蛋白相对表达水平均显著下调($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$),见表 2。

6 姜黄素对脑出血小鼠脑组织中 SPP1 相对阳性水平的影响

免疫组化法显示,假手术组、模型组、实验组和抑制剂组的 SPP1 相对阳性水平分别为 1.00 ± 0.13 、 0.30 ± 0.05 、 0.76 ± 0.12 和 0.43 ± 0.07 。与假手术组相比,模型组小鼠脑组织中 SPP1 相对阳性水平显著

表 1 各组小鼠血清中亚铁离子(Fe^{2+})、丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of ferrous ion(Fe^{2+}), malondialdehyde(MDA) and superoxide dismutase(SOD) levels in serum among mice groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Fe^{2+} ($\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	MDA ($\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$)	SOD ($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$)
Sham	10	220.35 ± 26.17	53.75 ± 7.62	63.78 ± 9.80
Model	10	$432.40 \pm 65.28^{***}$	$120.36 \pm 18.22^{***}$	$20.86 \pm 3.41^{***}$
Experimental	10	$276.52 \pm 33.20^{###}$	$72.68 \pm 11.23^{###}$	$51.18 \pm 7.30^{###}$
Inhibitor	10	$329.15 \pm 45.71^{\Delta\Delta}$	$89.44 \pm 13.16^{\Delta\Delta}$	$37.35 \pm 5.08^{\Delta\Delta\Delta}$

Sham group: The same amount of isotonic saline without other operations; Model group: Modeled; Experimental group: Modeled and administered with $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ curcumin once a day for 3 days; Inhibitor group: Modeled and administered with $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ curcumin and $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ SPP1 inhibitor solution, once a day for 3 consecutive days; Compared with sham group, $^{***}P < 0.001$; Compared with model group, $^{###}P < 0.001$; Compared with experimental group, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$, $^{\Delta\Delta\Delta}P < 0.001$.

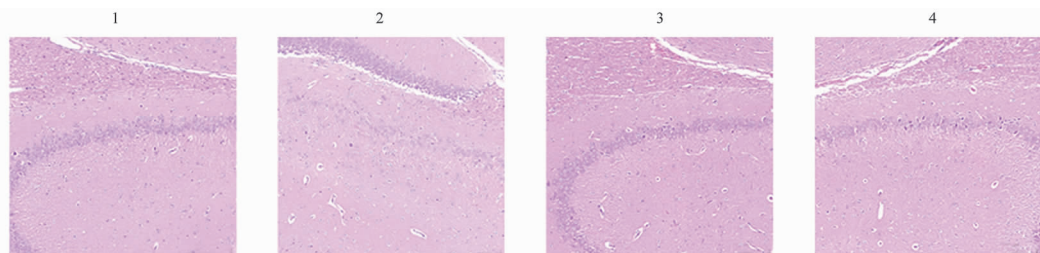


图 1 苏木精-伊红染色法(HE)染色法观察小鼠脑组织病理形态变化($50 \times$)

Figure 1 Pathological morphological changes of mice brain tissues observed by hematoxylin-eosin(HE)staining ($50 \times$)

1: Sham group; 2: Model group; 3: Experimental group; 4: Inhibitor group.

降低($P < 0.001$);与模型组相比,实验组小鼠脑组织中 SPP1 相对阳性水平显著升高($P < 0.001$);与实验

组相比,抑制剂组小鼠脑组织中 SPP1 相对阳性水平显著降低($P < 0.001$),见图2。

表2 各组小鼠脑组织中B细胞淋巴瘤因子2(BCL-2)、BCL-2相关X蛋白(Bax)和核因子红细胞2相关因子2(Nrf2)/谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)通路相关蛋白相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the relative expression levels of B-cell lymphoma 2(BCL-2), BCL-2-associated X protein(Bax) and nuclear factor erythroid 2-related factor 2(Nrf2)/glutathione peroxidase(GPX4) related protein in brain tissues of experimental mice groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Bax	BCL-2	Nrf2	GPX4
Sham	10	1.00 ± 0.11	1.00 ± 0.15	1.00 ± 0.13	1.00 ± 0.14
Model	10	2.95 ± 0.33***	0.20 ± 0.04***	0.33 ± 0.05***	0.21 ± 0.04***
Experimental	10	1.58 ± 0.26###	0.65 ± 0.12###	0.65 ± 0.10###	0.58 ± 0.09###
Inhibitor	10	2.37 ± 0.29▲▲▲	0.43 ± 0.07▲▲▲	0.54 ± 0.09▲	0.45 ± 0.06▲▲

Compared with sham group, *** $P < 0.001$; Compared with model group, ### $P < 0.001$; Compared with experimental group, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$, ▲▲▲ $P < 0.001$.

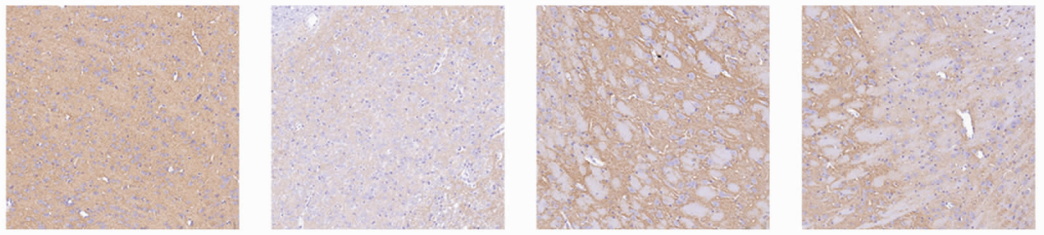


图2 免疫组化法检测小鼠脑组织中分泌型磷蛋白1(SPP1)相对阳性水平(100×)

Figure 2 The relative positive levels of secreted phosphoprotein 1 (SPP1) in mice brain tissues detected by immunohistochemistry (100 ×)

1: Sham group; 2: Model group; 3: Experimental group; 4: Inhibitor group.

讨 论

脑出血是高致残率、高致死率的神经系统疾病,继发性脑损伤由红细胞碎片及其降解产物触发^[8-9],其内在机制是探寻该疾病新型治疗靶点的核心。姜黄素作为中药姜黄的主要活性成分,在多种疾病中具有强效药理活性^[10]。研究表明,姜黄素可以降低脑出血大鼠血清炎症因子水平发挥抗炎作用^[11],还能通过调控自噬、缓解氧化应激在脑缺血中产生神经保护效应^[12]。因此,本研究构建小鼠 ICH 模型,探究姜黄素对 ICH 后铁死亡的抑制及神经保护机制,为临床治疗策略优化奠定基础。

铁死亡是一类由氧化应激诱导、受 GPX4 调控的程序性细胞死亡,其在形态学上的典型特征表现为线粒体皱缩、线粒体膜密度增高,而细胞核形态则相对完整^[13]。铁死亡的生化特征以铁蓄积与 ROS 介导的脂质过氧化为核心,细胞内过度的氧化应激与抗氧化系统功能失活是诱发铁死亡的主要诱因^[14]。细胞凋亡作为 ICH 后神经细胞死亡的重要形式之一,与铁死亡共同参与继发性脑损伤的病理进程, Bax 作为

BCL-2 家族促凋亡蛋白,可以通过线粒体途径启动凋亡信号;而 BCL-2 作为抗凋亡蛋白,可以稳定线粒体膜完整性,抑制凋亡通路激活,2 者的表达平衡直接调控细胞凋亡进程^[15]。本研究显示,与假手术组相比,模型组小鼠血清中 Fe^{2+} 、MDA 含量与 Bax 蛋白相对表达水平均显著升高、SOD 含量和 BCL-2 蛋白相对表达水平均显著降低,而姜黄素干预后可以逆转这些效应,表明姜黄素可以通过清除过量 ROS、减轻脂质过氧化损伤,发挥抗铁死亡效应,且姜黄素对 ICH 后的神经细胞保护作用可能同时涉及抗凋亡与抗铁死亡 2 条途径。研究表明, SPP1 在中枢神经系统修复中发挥着多方面的神经保护作用^[16]。研究发现, ROS 过量蓄积可以激活 SPP1,而 SPP1 反过来又可调控细胞内 ROS 水平,关键的是,过量 ROS 可以直接驱动铁死亡并构成其分子机制基础,提示抑制 SPP1 炎症小体可能在病理状态下减轻铁死亡^[17]。本研究中,与假手术组相比,模型组小鼠脑组织 ROS 相对荧光强度显著增强;姜黄素干预可以显著下调 ROS 的相对荧光强度;而与实验组相比,抑制剂组的 ROS 相对荧光强度显著增强,该结论与上述研究一致,证实了姜黄素可能通过抑制 ICH 诱导的 SPP1 异常激活,阻断 ROS

与 SPP1 之间的正反馈放大,从而减轻氧化应激、抑制铁死亡与细胞凋亡,最终发挥神经保护作用。本研究免疫组化实验显示,模型组小鼠脑组织 SPP1 相对阳性水平显著降低,姜黄素干预后,SPP1 表达显著上调,提示 SPP1 可能参与姜黄素对 ICH 的保护效应。GPX4 作为关键抗氧化酶,可抑制脂质过氧化、负向调控铁死亡,其功能异常会诱发铁死亡,而 Nrf2 可调控 GPX4 等抗氧化基因表达^[18-20]。研究发现,与假手术组相比,模型组小鼠脑组织 Nrf2 和 GPX4 蛋白相对表达水平均显著降低,姜黄素干预可以显著上调 2 者相对表达水平;而抑制剂组与实验组比较,Nrf2 和 GPX4 相对表达水平均显著降低,表明 SPP1 抑制剂可以逆转姜黄素对 Nrf2/GPX4 通路的激活,提示姜黄素通过上调 SPP1 激活该通路,抑制铁死亡、减轻 ICH 后继发性脑损伤的相关调控机制。本研究存在局限性,SPP1 是否通过直接结合 Nrf2 或调控其上游激酶影响其核转位与激活未能被证实,需后续通过免疫共沉淀等实验探索;且仅探讨姜黄素对铁死亡与凋亡的影响,其是否调控自噬等其他程序性细胞死亡途径仍需进一步研究。

本研究提示:姜黄素可以通过上调 SPP1、激活 Nrf2/GPX4 通路,抑制 ICH 后神经细胞铁死亡与凋亡,减轻脑损伤、改善神经功能,明确了姜黄素治疗 ICH 的分子靶点与信号通路,为 ICH 临床治疗提供了新的实验依据。

参考文献:

- [1] LEE T H. Intracerebral hemorrhage[J]. *Cerebrovasc Dis Extra*, 2025,15(1):1—8.
- [2] GU L, CHEN H, GENG R, *et al*. Single - cell and spatial transcriptomics reveals ferroptosis as the most enriched programmed cell death process in hemorrhage stroke - induced oligodendrocyte - mediated white matter injury[J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(10): 3842—3862.
- [3] LI P, TAO Z, GAO Y, *et al*. Ability of SPP1 to alleviate post - intracerebral hemorrhage ferroptosis via Nrf2/HO1 pathway[J/OL]. *Brain Behav*, 2025,15(5): e70493. 2025 - 03 - 05 [2025 - 10 - 11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40321093/>.
- [4] ZHANG Y, YU C, PENG C, *et al*. Potential roles and mechanisms of curcumin and its derivatives in the regulation of ferroptosis[J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(12): 4838—4852.
- [5] WANG Y, TIAN M, TAN J, *et al*. Irisin ameliorates neuroinflammation and neuronal apoptosis through integrin α V β 5/AMPK signaling pathway after intracerebral hemorrhage in mice[J]. *J Neuroinflammation*, 2022, 19(1): 82.
- [6] 谭俊,张品晶,张海峰. 姜黄素调控 ATP/P2X4/NLRP3/Caspase - 1 信号通路改善脑出血小鼠神经功能[J]. 解剖科学进展, 2024, 30(6): 599—602.
- [7] 安凯,郭沛然,孙玉凤. 三七白及粉通过 Nrf2/Gpx4 介导的铁死亡改善脑出血型应激性溃疡大鼠的胃黏膜损伤[J]. 河北医学, 2023, 29(8): 1267—1274.
- [8] BAUTISTA W, ADELSON P D, BICHER N, *et al*. Secondary mechanisms of injury and viable pathophysiological targets in intracerebral hemorrhage[J/OL]. *Ther Adv Neurol Disord*, 2021, 14: 17562864211049208. 2021 - 10 - 13 [2025 - 10 - 11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34671423/>.
- [9] WANG Y, TIAN M, TAN J, *et al*. Irisin ameliorates neuroinflammation and neuronal apoptosis through integrin α V β 5/AMPK signaling pathway after intracerebral hemorrhage in mice[J]. *J Neuroinflammation*, 2022, 19(1): 82.
- [10] LEE S, CHO D C, HAN I, *et al*. Curcumin as a promising neuroprotective agent for the treatment of spinal cord injury: A review of the literature[J]. *Neurospine*, 2022, 19(2): 249—261.
- [11] 杨凡慧,曹龄之,黄晓红,等. 姜黄素治疗大鼠脑出血后血清 IL - 6、IL - 1 β 、TNF - α 变化的实验研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2016, 23(9): 1033—1037.
- [12] 孙博宇,张世阳,赵靖楠,等. 姜黄素对脑卒中保护机制和作用靶点研究进展[J]. 脑与神经疾病杂志, 2022, 30(2): 129—133.
- [13] HIRSCHHORN T, STOCKWELL B R. The development of the concept of ferroptosis[J/OL]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 133: 130—143. 2018 - 09 - 28 [2025 - 10 - 11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30268886/>.
- [14] SUN Y, LI Q, GUO H, *et al*. Ferroptosis and iron metabolism after intracerebral hemorrhage[J]. *Cells*, 2022, 12(1): 90.
- [15] FLORES - ROMERO H, HOHORST L, JOHN M, *et al*. BCL - 2 - family protein tBID can act as a BAX - like effector of apoptosis[J/OL]. *EMBO J*, 2022, 41(2): e108690. 2022 - 12 - 17 [2025 - 10 - 11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34931711/>.
- [16] DE SCHEPPER S, GE J Z, CROWLEY G, *et al*. Perivascular cells induce microglial phagocytic states and synaptic engulfment via SPP1 in mouse models of Alzheimer's disease[J]. *Nat Neurosci*, 2023, 26(3): 406—415.
- [17] FEI C, CHEN Y, TAN R, *et al*. Single - cell multi - omics analysis identifies SPP1⁺ macrophages as key drivers of ferroptosis - mediated fibrosis in ligamentum flavum hypertrophy[J]. *Biomark Res*, 2025, 13(1): 33.
- [18] SHEN K, WANG X, WANG Y, *et al*. miR - 125b - 5p in adipose derived stem cells exosome alleviates pulmonary microvascular endothelial cells ferroptosis via Keap1/Nrf2/GPX4 in sepsis lung injury[J/OL]. *Redox Biol*, 2023, 62: 102655. 2023 - 06 - 30 [2025 - 10 - 10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36913799/>.
- [19] 鲁婵婵,李鹤,王诗韵,等. 茯苓酸通过 Nrf2/SLC7A11/GPX4 铁死亡途径对慢性炎症性肠病模型小鼠的影响[J]. 中国药业, 2025, 34(20): 36—42.
- [20] 聂薇,姜雨微,杨利,等. 基于 Sirt1/Nrf2/HO—1/Gpx4 轴探讨槲子苷对糖尿病并发抑郁症模型大鼠的神经保护作用及机制[J]. 中国细胞生物学学报, 2025, 47(10): 2578—2586.

(本文编辑:马凌云 收稿日期 2026 - 03 - 14)