

·药理·

基于多脑区非靶向脂质代谢组学的刺五加提取物 对 PD 小鼠的作用研究

高澳¹, 徐晓敏¹, 卢柠霞¹, 于栋华², 王宇², 陈平平², 卢芳^{2*}, 刘树民^{2*}

(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 中医药研究院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

[摘要] 该研究旨在探讨刺五加提取物(ASH)对 α -突触核蛋白(α -syn)过表达转基因帕金森病(PD)模型小鼠的作用机制,重点关注其对脑内脂质代谢的影响。将20只PD模型小鼠随机分为模型组和ASH组($45.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃,干预4周),并设10只C57BL/6小鼠为空白组。通过行为学测试发现,与空白组相比,模型组小鼠爬杆时间延长、自主活动减少、在棒时间缩短、旷场实验活动总距离缩短,血清中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、天冬氨酸特异性的半胱氨酸蛋白酶-9(caspase-9)水平显著升高,B淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)和增殖细胞核抗原(PCNA)表达降低,脑组织出现明显神经元损伤。ASH干预后上述行为学指标和血清指标均得到显著改善,神经损伤减轻。非靶向脂质代谢组学分析显示,模型组小鼠脑内多个区域(皮层、黑质、小脑、纹状体)的鞘磷脂(SM)、神经酰胺(Cer)、磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰丝氨酸(PS)等脂质丰度发生显著变化,ASH干预后这些代谢物出现显著回调。通路分析表明这些代谢物共同参与鞘脂代谢通路。Western blot结果进一步显示,ASH能显著下调鞘脂代谢关键蛋白丝氨酸棕榈酰转移酶长链碱基亚基1和2(SPTLC1和SPTLC2)的表达,同时显著上调UDP-葡萄糖神经酰胺糖基转移酶(UGCG)、 β -半乳糖苷酶(GALC)和鞘氨醇激酶2(SPHK2)的表达,从而抑制黑质区SM和Cer的异常蓄积,并提高纹状体区域PS和PC水平。Spearman相关性分析支持了ASH对脑组织代谢轮廓的调节作用。综上所述,ASH可以改善PD的行为学障碍,发挥抗炎作用,调控鞘脂代谢通路,改善脂质代谢紊乱,进而发挥对PD的神经保护作用。

[关键词] 刺五加; 帕金森病; 不同脑区; 脂质代谢; 鞘脂代谢

Effects of *Acanthopanax senticosus* extract on Parkinson's disease mice via untargeted lipidomics across multiple brain regions

GAO Ao¹, XU Xiao-min¹, LU Ning-xia¹, YU Dong-hua², WANG Yu², CHEN Ping-ping², LU Fang^{2*}, LIU Shu-min^{2*}

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

2. Institute of Traditional Chinese Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

[Abstract] This study aimed to investigate the mechanisms by which *Acanthopanax senticosus* extract (ASH) exerts effects on α -synuclein (α -syn) overexpressing transgenic mouse model of Parkinson's disease (PD), with a focus on its regulation of brain lipid metabolism. Twenty PD model mice were randomly assigned to a model group or an ASH treatment group ($45.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ by gavage for 4 weeks), and 10 C57BL/6 mice served as a normal control group. Behavioral assessments revealed that, compared with controls, PD model mice showed prolonged pole test time, reduced spontaneous locomotor activity, shorter latency to fall in the rotarod test, and decreased total distance traveled in the open field test. Serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), caspase-9 were significantly elevated, B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression was

[收稿日期] 2025-08-26

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82374067,82274125)

[通信作者] *刘树民,博士生导师,主要从事中药药性理论及药物功效研究,E-mail:keji-liu@163.com;*卢芳,博士生导师,主要从事中药药性理论及药物功效研究,E-mail:lufang_1004@163.com

[作者简介] 高澳,博士研究生,主要从事中药药性理论及药物功效研究,E-mail:1453531667@qq.com

reduced, and marked neuronal damage was observed in brain tissue. ASH intervention significantly improved these behavioral and biochemical parameters and attenuated neuronal injury. Untargeted lipidomics analysis revealed significant alterations in sphingomyelin (SM), ceramide (Cer), phosphatidylcholine (PC), and phosphatidylserine (PS) across multiple brain regions (cortex, substantia nigra, cerebellum, and striatum) in PD mice, which were notably restored by ASH treatment. Pathway analysis indicated that these metabolites were predominantly involved in sphingolipid metabolism. Western blot further demonstrated that ASH downregulated the expression of key sphingolipid metabolic enzymes serine palmitoyltransferase long-chain base subunits 1 and 2 (SPTLC1 and SPTLC2) and upregulated UDP-glucose ceramide glucosyltransferase (UGCG), β -galactosylceramidase (GALC), and sphingosine kinase 2 (SPHK2), thereby suppressing abnormal SM and Cer accumulation in the substantia nigra and elevating PS and PC levels in the striatum. Spearman's correlation analysis supported the modulatory effect of ASH on brain lipid metabolic profiles. In conclusion, ASH improves behavioral deficits, exerts anti-inflammatory effects, and regulates sphingolipid metabolism to correct disordered lipid profiles, thereby providing neuroprotective effects in PD mice.

[Key words] *Acanthopanax senticosus*; Parkinson's disease; different brain regions; lipid metabolism; sphingolipid metabolism

DOI:10.19540/j.cnki.cjmm.20251011.704

帕金森病(PD)在老年人群患神经退行性疾病中发病率第二高,PD的病理特征是黑质多巴胺神经元变性死亡伴 α -突触核蛋白(α -syn)异常聚集,引发神经炎症、氧化应激和代谢紊乱,最终导致多巴胺能系统功能障碍^[1-3]。与此同时,越来越多的研究表明,脂质代谢紊乱等是PD病理生理学的另一显著特征^[4-5]。随着PD在全球范围内的重大疾病负担和持续上升的发病率,利用脂质代谢组学技术发现早期生物标志物,开发靶向脂质代谢通路的新治疗策略,对进一步推动精准医疗发展尤为重要。

中药的作用特点主要体现在其多成分协同作用的整体性和双向调节的适应性。刺五加为五加科植物刺五加 *Acanthopanax senticosus* 的干燥根、根茎或茎部,具有益气健脾、补肾宁神的功效^[6],现代药理学研究发现,刺五加提取物(ASH)具有抗氧化作用。刺五加的黄酮类、三萜类及苯丙素苷类成分可通过调控 Nrf2/HO-1 信号通路和 NF- κ B 基因表达,提高肾组织抗氧化能力,从而发挥肾功能保护作用^[7-8];刺五加的根和茎皮提取物分别能促进人类巨噬细胞向抗炎的 M2a 和 M2b 表型极化,促进伤口愈合^[9];ASH 可增强多巴胺的合成和释放,并减少其降解,提高黑质-纹状体通路中的神经递质水平,长期摄入可改善认知功能,并可能减缓神经退行性疾病的进展^[10]。此外,刺五加还可能通过调节胆碱能、谷氨酸能和 GABA 能系统的平衡,提高神经传递效率,从而改善认知和运动功能^[11]。课题组前期实验发现^[12-13],ASH 可以通过调控小鼠小脑的鞘脂代谢和甘油磷脂代谢,上调 TH 表达并抑制 α -syn 聚集,从而改善 PD 运动障碍及神经退行性病症。经

靶向脂质代谢组学技术研究,ASH 还能够通过调控脂质差异代谢物及花生四烯酸代谢通路,进而发挥对 PD 的治疗作用。

本研究采用非靶向脂质代谢组学方法以小鼠脑内的脂质代谢为切入点,对小鼠不同区域脑组织对比分析并进行通路富集,结合药效学研究和通路验证,探讨脂质代谢紊乱在 PD 病理过程中的作用,阐明 ASH 潜在的干预靶点,为 PD 的治疗提供新思路。

1 材料

1.1 动物

10 只 6.5 月龄 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠,体重(30 $\pm$ 2)g,20 只 6.5 月龄 SPF 级雄性 α -syn 转基因小鼠,体重(30 $\pm$ 2)g,均购自江苏华创信诺医药科技有限公司,许可证号 SCXK(苏)2020-0009。饲养环境:室温 21~23℃,相对湿度 40%~60%,每天 12 h/12 h 光/暗交替,自由饮食、饮水。所有动物实验相关操作均遵守相关规定,本研究已获得黑龙江中医药大学伦理委员会批准(伦理号 2023122902)。

1.2 药品及试剂

刺五加药材购于黑龙江省五常市(批号 170634)。取刺五加药材粗粉,采用 10 倍量 80%乙醇为溶剂,进行 3 次浸渍提取,每次 2 h。合并提取液并浓缩至生药质量浓度 500 g $\cdot$ L⁻¹,随后经大孔吸附树脂纯化,以 30%乙醇为洗脱剂收集目标组分。该组分经浓缩、去除乙醇后冷冻干燥,最终获得刺五加提取物,粉末产率为 1.296%^[14]。

肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、天冬氨酸特异性的半胱氨酸蛋白水解酶-9(caspase-9)、B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)试剂盒(南京建

成生物科技有限公司,批号分别为20230417、20230417、20230703、20230703);小鼠增殖细胞核抗原(PCNA)试剂盒(江苏晶美生物科技有限公司,批号202306);丝氨酸棕榈酰转移酶长链碱基亚基(SPTLC)1、SPTLC2(美国Sigma Aldrich公司,批号分别为SAB2102293、SAB1300294); β -半乳糖脑苷酯酶(GALC)、UDP-葡萄糖神经酰胺糖基转移酶(UGCG)、鞘氨醇激酶2(SPHK2)多抗(武汉三鹰生物技术有限公司,批号分别为11991-1-AP、12869-1-AP、17096-1-AP);苏木精-伊红(HE)染色剂(北京索莱宝科技有限公司,批号G1120);乙腈、异丙醇(德国Merck公司,色谱纯);甲酸(美国Sigma-Aldrich公司,色谱纯);甲酸铵、氯仿(美国Fisher公司,色谱纯);甲基叔丁基醚(上海安谱实验科技股份有限公司,色谱纯)。

1.3 仪器

ZZ-6 自主活动计数器(北京金泰科技发展有限公司);YLS-4C 转棒式疲劳仪(济南益延科技发展有限公司);Smart 3.0 旷场仪器(深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司);CHT210R 高速台式冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);-80℃超低温冰箱(美国Thermo公司);CX41 型显微镜(日本Olympus公司);EG1150H 石蜡包埋机(德国Leica公司);RM2135 型切片机(德国Leica公司);AcquityTHUPLC 超高液相色谱、XEVO G2 XS Q-TOF-MS 质谱仪(美国Waters公司)。

2 方法

2.1 动物分组与给药方案

适应性喂养7 d后,将 α -syn 转基因小鼠随机分为模型组、ASH组;同月龄的C57BL/6小鼠作为空白组,每组10只小鼠。在小鼠7月龄时ASH组灌胃给予ASH治疗,而空白组、模型组灌胃等量的娃哈哈矿泉水。根据课题组前期已筛选的最佳剂量^[14],故只设定单剂量的ASH组,给药剂量为45.5 mg·kg⁻¹。每天上午8:00—9:00灌胃给药1次,连续给药4周。

2.2 行为学实验

2.2.1 爬杆实验 自小鼠7月龄起,每周检测1次,每只小鼠重复爬杆3次取平均值,每次间隔至少30 min。当小鼠滑下或跳出杆子,则不记录该次时间,至少间隔30 min后重新补测。

2.2.2 自主活动实验 每个小室放入1只小鼠让其自由活动,盖上盖子让小鼠在黑暗、安静的环境中

适应2 min后,启动仪器,记录5 min内小鼠的自由活动状态。自小鼠7月龄起,每周进行1次检测。

2.2.3 转棒实验 记录小鼠第1次从棒上跌落的时间并将小鼠放回棒上,记录5 min内小鼠从棒上掉落的次数。每只小鼠测3次,每次间隔30 min,取平均值。自小鼠7月龄起,每周进行1次实验。

2.2.4 旷场实验 将8月龄小鼠置于旷场中,使用Smart 3.0 软件捕捉小鼠活动轨迹,记录小鼠5 min内在旷场中运动总距离以及小鼠从边缘进入中央格所需时间。

2.3 生化指标测定

于第5周,采集各组小鼠眼眶静脉血,4℃冰箱中静置4 h,3 500 r·min⁻¹,4℃离心15 min,吸取上清液冻存。小鼠处死后,快速剥离新鲜脑组织,称取组织质量,加入9倍量生理盐水,充分研磨,2 500 r·min⁻¹,4℃离心10 min,得到上清液用于后续ELISA实验。

2.4 HE染色组织病理学

取多聚甲醛固定后的小鼠脑黑质部,进行修剪、脱水、用4%多聚甲醛固定,包埋在石蜡中,然后切片20 μ m厚,通过HE染色,在显微镜下观察并拍照,以评估ASH对PD小鼠脑组织神经元的影响。

2.5 脂质代谢组学及分析

2.5.1 样本收集及制备 每组另取8只小鼠取血后快速分离脑组织,于冰上分割为皮层、黑质、小脑和纹状体,存于-80℃备用。取25 mg组织样本加入研磨管,内置2个小钢珠,加300 μ L预冷甲醇-水(1:1)溶液,-80℃预冷1 min后研磨(60 Hz,2 min)。随后加入300 μ L氯仿,涡旋1 min,超声提取10 min,-80℃静置10 min,4℃离心(12 000 r·min⁻¹,10 min),收集200 μ L下层氯仿。向原管中再加300 μ L氯仿-甲醇(2:1),涡旋1 min,冰水浴超声10 min,-80℃静置10 min后同条件离心,再取200 μ L下层氯仿,合并共得400 μ L。取200 μ L挥干,残渣用300 μ L异丙醇-甲醇(1:1)复溶(涡旋1 min,超声3 min),转至EP管,-20℃静置2 h。4℃离心(12 000 r·min⁻¹,10 min)后取150 μ L上清液至LC-MS进样小瓶,供分析。

2.5.2 UPLC-MS分析条件 液相条件:采用Thermo AccucoreTM C₃₀ 色谱柱(2.1 mm×100 mm,2.6 μ m),以乙腈-水(60:40,含0.1%甲酸和10 mmol·

L⁻¹甲酸铵)为 A 相,乙腈-异丙醇(10:90,含 0.1% 甲酸和 10 mmol·L⁻¹甲酸铵)为 B 相,进行梯度洗脱(0~2 min,80%~70% A;2~4 min,70%~40% A;4~9 min,40%~15% A;9~14 min,15%~10% A;14~15.5 min,10%~5% A;15.5~17.3 min,5% A;17.3~17.5 min,5%~80% A;17.5~20 min,80% A)。流速 0.35 mL·min⁻¹,柱温 45 ℃,进样量 2 μL。

质谱条件:电喷雾离子源(ESI)温度 500 ℃,正离子模式下质谱电压 5 500 V,负离子模式下质谱电压-4 500 V,离子源 gas1(GS1)45 psi(1 psi≈6.895 kPa),gas2(GS2)55 psi,帘气(CUR)35 psi,碰撞诱导电离(CAD)参数设置为 medium。在三重四极杆中,每个离子对是根据优化的去簇电压(DP)和碰撞能(CE)进行扫描检测。

2.5.3 质谱数据的多元统计分析 采用 UPLC-Q-TOF-MS 获取原始数据后通过 Progenesis Q1 和 EZinfo 2.0 进行预处理(峰对齐、降噪、归一化)。先通过对小鼠脑样本数据进行偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)查看各组组间差异,评估模型可靠性并筛选样本潜在的生物标志物。取投影中的可变重要性(VIP)>1,及 *t* 检验 $P<0.05$ 的差异离子,利用人类代谢组学数据库(HMDB)和京都基因与基因组百科全书数据库(KEGG)进一步确定差异代谢物并进行代谢通路分析。

2.6 Western blot 法检测相关蛋白表达水平

称取小鼠脑组织 50 mg 置于 2 mL 离心管中,加入裂解液和 4 粒研磨钢珠研磨后,10 000×*g* 离心 5 min,取上清液,使用 BCA 试剂盒对样品进行定量。制胶上样后电泳、转膜,封闭,分别置于 SPTLC1(1:500)、SPTLC2(1:500)、UGCG(1:500)、SPHK2(1:500)、GALC(1:500)中 4 ℃ 过夜后,摇床,TBST 洗膜,山羊抗兔或山羊抗小鼠(1:3 000)孵育 1 h 后显影,将曝光得到的蛋白条带导入 ImageJ 软件进行灰度值分析。

2.7 统计分析

各组实验数据均用 SPSS 26.0 统计软件进行分析,结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,方差齐采用 LSD 比较策略,方差不齐采用 Dunnett's T3 比较策略, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。采用 Spearman 相关检验分析显著差异代谢物与所富集通路涉及关键蛋白的相关性。

3 结果

3.1 行为学评价 ASH 对 PD 模型小鼠的治疗作用

与空白组相比,模型组小鼠爬杆时间显著延长,自主活动次数显著减少,在棒时间明显缩短,旷场实验总距离明显减短;ASH 给药 4 周后,PD 小鼠的爬杆时间明显缩短,自主活动次数有显著改善,在棒时间明显延长,旷场实验总距离显著增加,见表 1。

表 1 刺五加提取物对 PD 模型小鼠行为学水平的影响($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Table 1 Effects of *Acanthopanax senticosus* extract on behavioral levels in PD model mice($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	爬杆时间/s	自主活动次数	在棒时间/s	旷场实验总距离/m
空白	—	4.74±0.89	250.08±24.14	298.43±1.61	17.87±2.10
模型	—	15.11±2.24 ²⁾	153.30±32.42 ²⁾	182.86±19.99 ²⁾	11.97±2.33 ²⁾
ASH	45.5	7.54±2.74 ⁴⁾	204.49±26.50 ⁴⁾	269.32±36.13 ⁴⁾	15.13±3.48 ³⁾

注:ASH. 刺五加提取物;与空白组相比¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与模型组相比³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表 2、3 同)。

3.2 ASH 对 PD 模型小鼠血清炎症和神经凋亡指标的影响

与空白组相比,模型组小鼠血清中的 TNF-α 和 IL-6 表达量显著升高,Bcl-2、PCNA 浓度显著下调,Caspase-9 浓度显著上调;给予 ASH 后,小鼠血清中的 TNF-α 和 IL-6 浓度显著回调,Bcl-2、PCNA 含量显著增多,Caspase-9 含量显著降低。结果提示,ASH 可能对 PD 小鼠的脑神经元具有一定保护作用,见表 2。

3.3 ASH 对 PD 小鼠脑组织病理学的影响

HE 染色显示,空白组小鼠的黑质区域,神经细

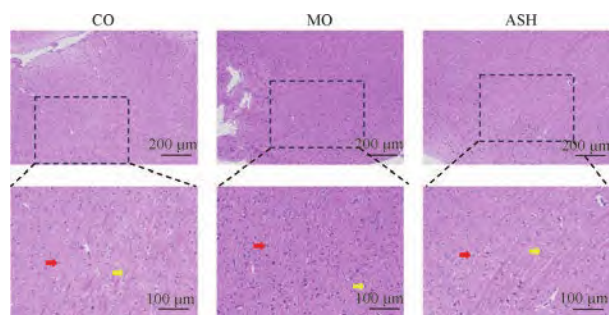
胞分布均匀,具有清晰的细胞核和大量的神经细胞,神经元结构也清晰可见且形态完整。相较于空白组,黑质区域神经细胞表现出细胞膜皱缩的现象,部分神经细胞出现空泡化或内陷,胶质细胞明显增多;ASH 干预后的小鼠脑组织黑质区域中不仅受损细胞数量显著减少,神经细胞坏死的现象也明显减少,见图 1。

3.4 ASH 对 PD 小鼠脑组织各区域脂质代谢轮廓的影响

为进一步明确 ASH 对 PD 小鼠脂质代谢的影

表 2 刺五加提取物对 PD 模型小鼠血清炎症和神经凋亡指标的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)Table 2 Effects of *Acanthopanax senticosus* extract on serum inflammatory and neuronal apoptosis indicators in PD model mice($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	炎症因子/ng·L ⁻¹		神经凋亡指标/ng·mL ⁻¹		
		TNF- α	IL-6	Caspase-9	Bcl-2	PCNA
空白	—	71.20 $\pm$ 23.90	268.52 $\pm$ 28.49	6.42 $\pm$ 1.20	3.09 $\pm$ 0.31	2.57 $\pm$ 0.14
模型	—	96.26 $\pm$ 18.94 ¹⁾	360.45 $\pm$ 44.30 ²⁾	7.79 $\pm$ 1.14 ¹⁾	2.17 $\pm$ 0.46 ²⁾	1.94 $\pm$ 0.13 ²⁾
ASH	45.5	72.75 $\pm$ 13.71 ³⁾	304.55 $\pm$ 34.12 ⁴⁾	6.65 $\pm$ 0.85 ³⁾	2.64 $\pm$ 0.22 ³⁾	2.22 $\pm$ 0.12 ⁴⁾



红色箭头为神经元;黄色箭头为胶质细胞。CO. 空白组;MO. 模型组;ASH. 刺五加提取物组(图 2、3、5 同)。

图 1 各组小鼠脑黑质部病理切片(HE 染色)

Fig. 1 Histopathological sections of the substantia nigra in mice from each group (HE staining)

响,通过对各组小鼠脑黑质、小脑、皮层、纹状体样本数据进行无监督主成分分析(PCA)筛选潜在的生物标志物,检验标准为 VIP>1 作为投射筛选条件。结果显示,正、负离子模式下,黑质、小脑、皮层、纹状体各部位空白组、模型组和 ASH 组的样本明显分离,距离较远,说明各组样本间具有显著差异性,提示模型复制成功。ASH 组样本介于空白组和模型组之间,趋向于空白组,提示 ASH 可回调由 PD 导致的脂质代谢稳态失衡,见图 2。从正离子和负离子状态下的 S-plot 图(见中国知网本文增强出版附加材料)得知,图中的每个点均代表代谢物,多数脂质代谢物处于象限中的原点附近,红点为差异贡献显著的代谢物,处于象限左下角的为显著下调的代谢物,处于右上角的为显著上调的代谢物多数脂质代谢物处于象限中的原点附近,少数离子偏离原点,这些偏离原点的离子表明 2 组之间存在明显的差异。

3.5 各区域非靶脂质代谢潜在生物标志物对比分析

通过对小鼠各区域脑组织样本代谢产物变化的预测,寻找符合 VIP>1, fold change>1.2 或<0.8 及 $q<0.05$ 的代谢产物,与空白组相比,在黑质区域筛选

出 22 个代谢物,其中 20 个上调,2 个下调;在小脑区域筛选出 20 个代谢物,全部出现上调;在皮层区域筛选出 18 个代谢物,14 个上调,4 个下调;在纹状体区域在小脑区域筛选出 10 个上调代谢物。给药刺五加后能够显著调节模型组小鼠脑中鞘磷脂(SM)、神经酰胺(Cer)、磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰丝氨酸(PS)等代谢物的丰度,见图 3。

3.6 潜在生物标志物的富集通路分析

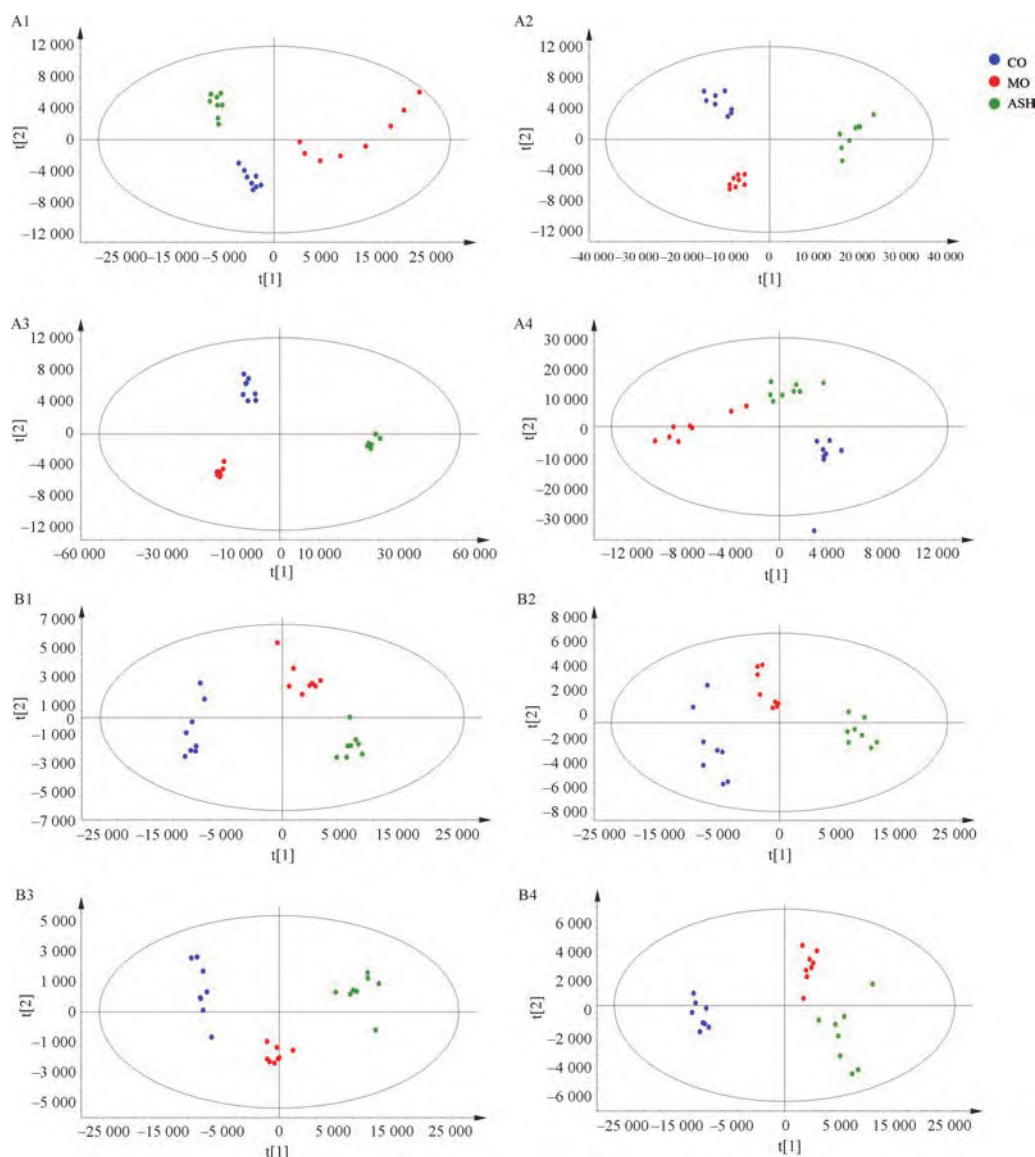
对黑质区域、小脑区域、皮层区域、纹状体区域的差异代谢物通路进行富集分析发现通路主要富集于鞘脂代谢,见图 4。

3.7 ASH 对 PD 模型小鼠脑组织相关通路蛋白表达的影响

基于非靶向脂质代谢组学筛选出鞘脂代谢为 ASH 干预 PD 最为显著的代谢通路,对鞘脂代谢通路中的核心蛋白进行验证,与空白组相比,模型组的 SPTLC1、SPTLC2 蛋白表达量显著增加,UGCG、GALC、SPHK2 显著降低;相较模型组,给予 ASH 后能够显著降低 PD 小鼠脑组织中 SPTLC1、SPTLC2 的表达,并显著升高 UGCG、GALC、SPHK2 的表达。这提示 PD 的进程与鞘脂代谢密切相关,ASH 可能通过改变鞘脂代谢通路相关蛋白的表达来调节代谢过程,见图 5、表 3。

3.8 各区域差异代谢物与通路蛋白相关性分析

采用 Spearman 相关性分析方法对各区域脂质代谢物与脂质调控蛋白进行分析。结果表明,小鼠脑黑质、小脑和皮层中的 SPTLC2 以及小脑、皮层中 SPHK2、GALC 的表达量与 SM 丰度具有显著的正相关性;小鼠脑黑质、小脑中的 UGCG 以及小鼠脑皮层的 SPTLC1 表达量与 SM 丰度具有显著的负相关性。值得注意的是,在小鼠脑纹状体中 GALC 的表达量与 Cer、PC 和 PS 丰度呈正相关,SPTLC1 的表达量与 PS 和 PC 丰度具有显著的负相关性。以上结果表明,在 PD 发病过程中,不同脑区的代谢物与



A1、B1. 黑质; A2、B2. 小脑; A3、B3. 皮层; A4、B4. 纹状体。

图 2 正离子模式(A)和负离子模式(B)下不同组别小鼠脑代谢 PCA 图

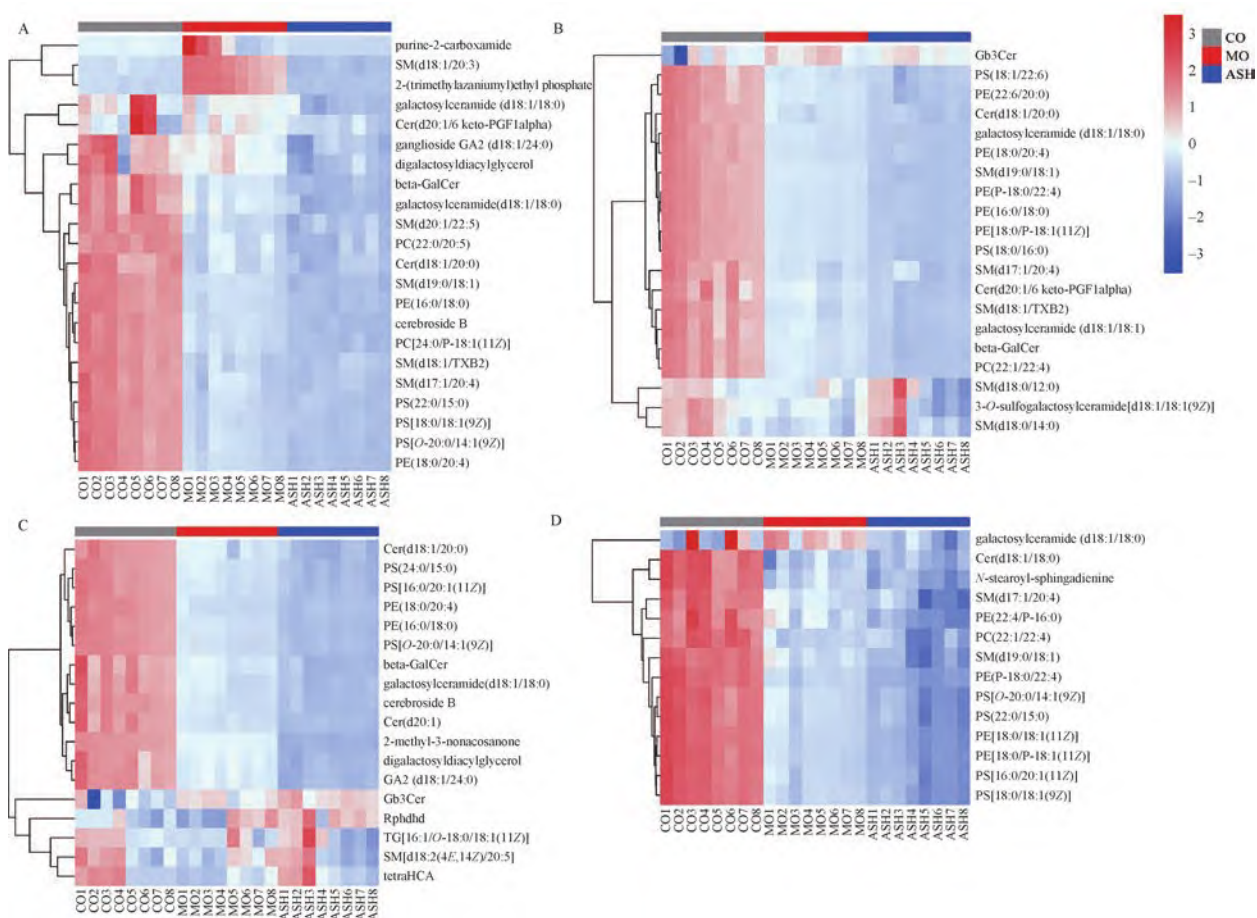
Fig. 2 PCA score plots of brain metabolites in mice from each group under positive ion mode (A) and negative ion mode (B)

鞘脂代谢相关蛋白之间存在显著相关性。结合蛋白表达分析结果推测,ASH 可能主要通过调控小鼠黑质区 SPTLC2 和 UGCG 的表达水平,进而调节 SM 和 Cer 的含量,改善脂质代谢紊乱,从而发挥治疗 PD 的作用,见图 6。

4 讨论

本研究以刺五加提取物干预的 α -syn 转基因小鼠为研究对象,系统探讨 ASH 对小鼠脑组织神经元损伤的影响及其作用机制。研究结果显示,模型组小鼠相比空白组表现出显著的肢体协调能力减弱、

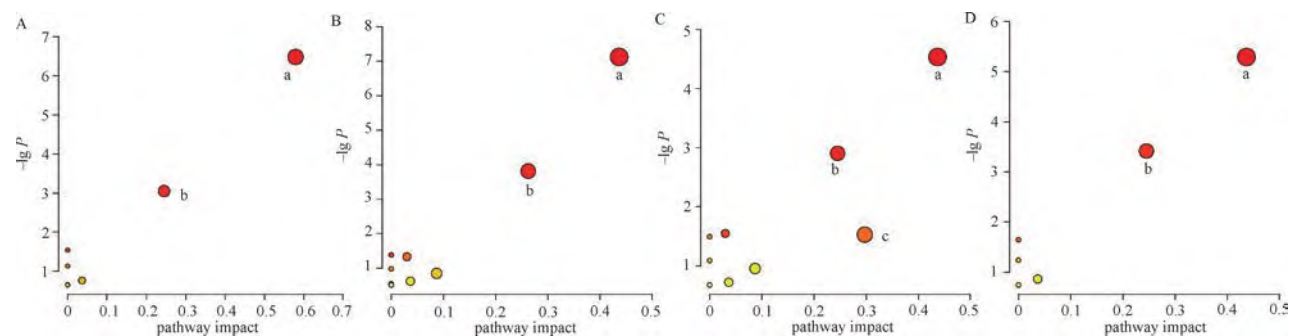
运动缓慢等症状;给药 4 周 ASH 后,ASH 能够显著改善 PD 小鼠运动协调性、增强肌肉力量以及平衡能力,降低 PD 小鼠血清中 TNF- α 、IL-6 和 Caspase-9 水平以及升高 Bcl-2、PCNA 水平,显著减少小鼠脑组织病理学的异常改变,这与以往众多实验结果相一致^[15-20]。实验证实 ASH 不仅具有抗炎作用,还能够减少 PD 小鼠脑神经元损伤,改善 PD 模型小鼠行为学障碍,从而发挥对 PD 的治疗作用。基于此,采用非靶向脂质代谢组学技术探究 ASH 对小鼠脑组织中黑质、小脑、皮层及纹状体区域样本中脂质代谢



A. 黑质; B. 小脑; C. 皮层; D. 纹状体(图 4, 6 同)。

图 3 小鼠脑各区域潜在脂质生物标志物热图

Fig. 3 Heatmap of potential lipid biomarkers in different mouse brain regions



a. 鞘脂代谢; b. 甘油磷脂代谢; c. 花生四烯酸代谢。

图 4 刺五加提取物对 PD 模型小鼠脑各区域脂质代谢通路的影响

Fig. 4 Effect of *Acanthopanax senticosus* extract on lipid metabolism pathways in different brain regions of PD model mice

谱的变化情况,深入阐明 ASH 对 PD 小鼠脑神经元损伤的影响的机制。研究结果显示,ASH 可调节 SM、Cer、PC 及 PS 等代谢物的水平进而介导代谢途径,其中最为核心的途径为鞘脂代谢。

鞘脂是细胞膜和脂蛋白的重要组成部分,关系着细胞结构和功能^[21]。鞘脂代谢是一个高度复杂的过程,涉及多种代谢物和酶^[22]。主要参与代谢过程的有 Cer、SM、鞘糖脂 (GSL)、鞘氨酰胺-1-磷酸

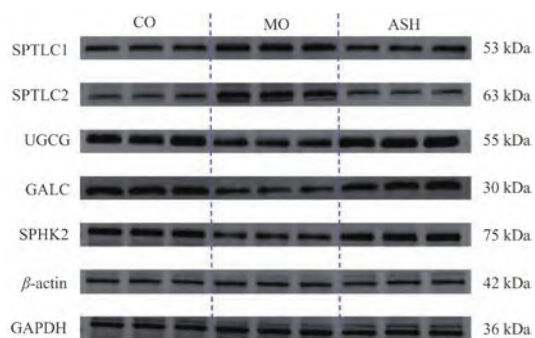


图 5 各组小鼠脑组织蛋白表达的代表性条带

Fig. 5 Representative immunoblots of protein expression in mouse brain tissue from each group

表 3 各组小鼠脑组织蛋白相对表达水平 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 3 Relative protein expression levels in mouse brain tissue from each groups ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	SPTLC1/GAPDH	SPTLC2/ β -actin	UGCG/GAPDH	GALC/ β -actin	SPHK2/ β -actin
空白	—	0.843 $\pm$ 0.025	0.655 $\pm$ 0.062	1.103 $\pm$ 0.057	2.430 $\pm$ 0.066	2.548 $\pm$ 0.038
模型	—	1.125 $\pm$ 0.034 ²⁾	1.041 $\pm$ 0.055 ²⁾	0.850 $\pm$ 0.037 ²⁾	1.205 $\pm$ 0.190 ²⁾	1.658 $\pm$ 0.039 ²⁾
ASH	45.5	0.938 $\pm$ 0.088 ³⁾	0.481 $\pm$ 0.078 ³⁾	1.205 $\pm$ 0.051 ⁴⁾	2.101 $\pm$ 0.247 ⁴⁾	2.372 $\pm$ 0.138 ⁴⁾

(S1P)等鞘脂代谢物,其中 Cer 和 SM 水平异常会导致氧化应激和炎症反应,通过调节纹状体的突触后功能影响多巴胺的释放和摄取,从而加剧多巴胺能神经元损伤^[23-24]。氨基酸棕榈酰转移酶(SPT)由 SPTLC1 和 SPTLC2 亚基组成,是鞘脂合成的限速酶,催化丝氨酸与棕榈酰-CoA 缩合生成 3-酮二氢鞘氨醇,继而合成 Cer 及 SM 等其他鞘脂^[25]。UGCG 是鞘脂代谢中的关键酶,它将 Cer 糖基化,促进 Cer 向葡萄糖神经酰胺(GlcCer)的转化,阻止 α -syn 的异常聚集。既往研究表明^[26-27],SPTLC1 与 SPTLC2 的表达异常或突变可导致 Cer 与 SM 的异常积聚,

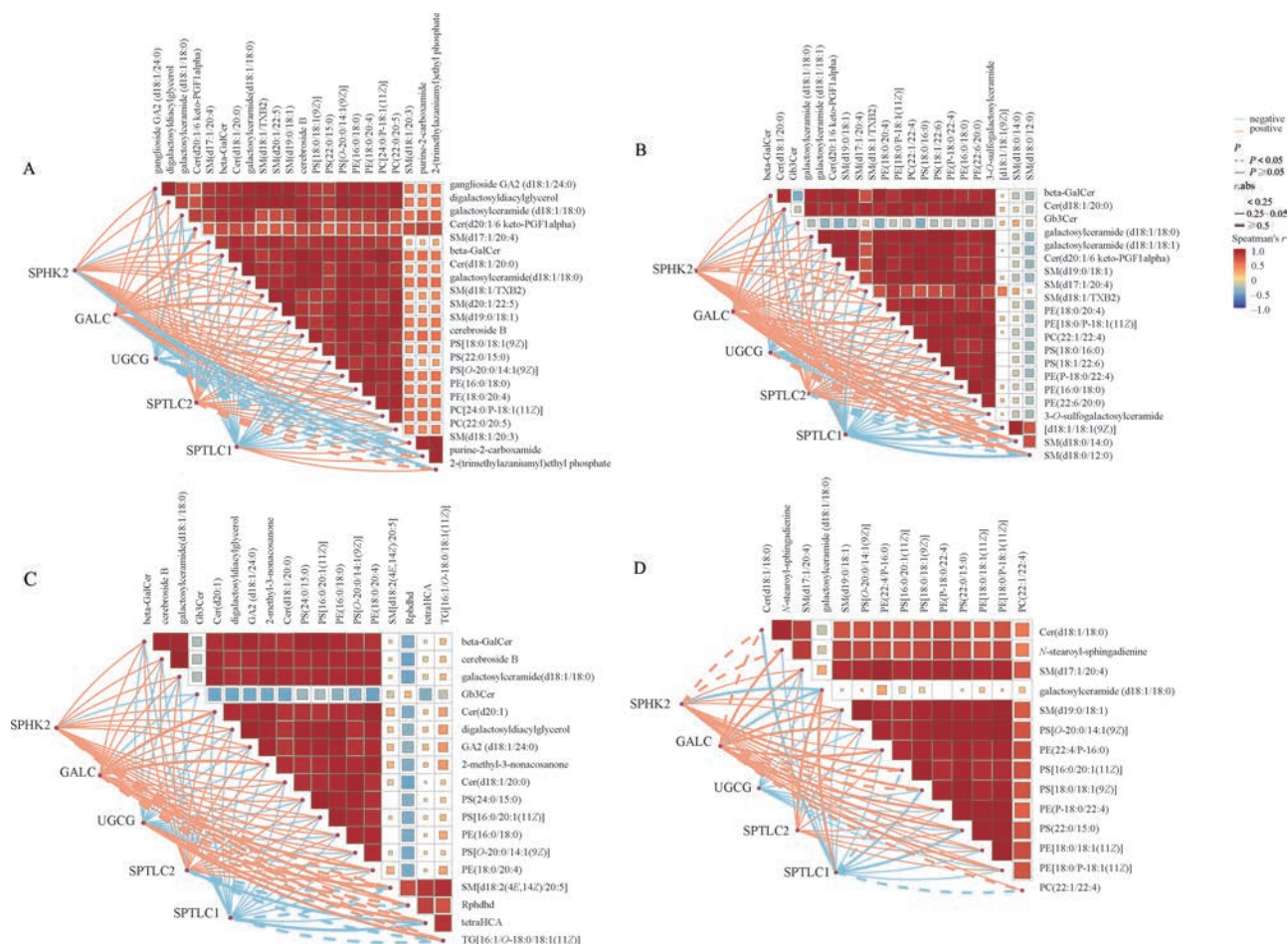


图 6 各脑区差异代谢物与通路蛋白相关性分析

Fig. 6 Correlation analysis between differential metabolites and pathway proteins across various brain regions

引起鞘脂代谢紊乱,从而促进PD的病理进展。临床数据也显示^[28-29],PD患者黑质区中SPTLC1和SPTLC2的表达上调常伴随Cer水平的升高。此外,SPTLC1表达上调和UGCG表达减少能够通过扰乱鞘脂代谢,进一步激活小胶质细胞并诱发神经炎症反应,这些发现均与本研究的实验结果相一致。本研究进一步证实,与模型组相比,经ASH干预后,PD小鼠脑内SPTLC2的表达显著降低,而UGCG的表达则明显上升。通过对鞘脂代谢相关蛋白与不同脑区脂质代谢物进行Spearman相关性分析,结果显示,通过调控黑质区鞘脂代谢中的关键蛋白SPTLC2与UGCG的表达,可有效抑制Cer和SM的过度积累。

β -半乳糖脑苷酯酶(GALC)在鞘脂代谢中主要负责降解乳糖神经酰胺(GalCer)和鞘氨醇半乳糖苷(GalSph),以防止其在少突胶质细胞中积累,避免髓鞘毒性^[30-31]。在维护髓鞘稳态和神经元功能中起重要作用。有研究通过对HeLa细胞进行基因工程改造以过表达GALC的方法发现接受治疗的小鼠表现出星形胶质细胞增生和小胶质细胞增生的减少^[32]。本研究中,相比空白组,ASH组GALC在小鼠脑组织中的表达显著升高,说明ASH可由此干预鞘糖脂的积累,抑制胶质细胞增生,进而改善PD。SPHK2催化鞘氨醇磷酸化生成S1P,后者是重要的信号分子,调控细胞增殖、凋亡和神经炎症。研究发现^[33-34],在阿尔茨海默病中神经元细胞质中的SPHK2蛋白表达显著降低,而其核定位和酶解片段增加;这种亚细胞定位的异常转变(从胞质到细胞核)破坏了促生存的S1P信号,可能加剧了A β 沉积相关的神经细胞损伤和疾病进展。本研究中,ASH给药后SPHK2的水平显著上调,说明ASH可以介导SPHK2的表达,调控S1P信号,进而改善鞘脂代谢紊乱,修复PD的神经细胞损伤。

本研究表明,ASH通过全局性调控PD小鼠多个脑区中的鞘脂代谢关键酶(包括SPTLC1、SPTLC2、UGCG、GALC和SPHK2)的表达,进而发挥神经保护作用;抑制神经毒性鞘脂如SM和Cer的异常积聚,纠正脂质代谢紊乱,从而维持细胞膜结构的完整性。基于此,ASH有效减轻了神经炎症与神经毒性损伤。不同于以往聚焦于单一靶点的研究策略,本研究借助非靶向代谢组学,系统揭示了ASH对多脑区多条鞘脂代谢分支通路的协同调控作用,

阐明了其基于多靶点、网络化机制的整体治疗优势。

[参考文献]

- [1] ZÚÑIGA-RAMÍREZ C, FARÍAS-MORENO K C, MORENO G, et al. The costs and benefits of deep brain stimulation in Parkinson's disease: a review and social network analysis[J]. *Arq Neuropsiquiatr*, 2025, 83(7): 1.
- [2] 张培, 董健健, 徐陈陈, 等. 霍山石斛多糖对帕金森病小鼠运动障碍、神经元受损及星形胶质细胞衰老的改善作用[J]. *山东医药*, 2023, 63(35): 24.
- [3] 段青蕊, 高玉元, 聂坤, 等. α -突触核蛋白异常聚集与传播在帕金森病发生发展中的作用及机制[J]. *中华神经科杂志*, 2022, 55(3): 254.
- [4] ZHANG H, CAO F, YU J, et al. Investigating plasma lipid profiles in association with Parkinson's disease risk[J]. *NPJ Parkinsons Dis*, 2025, 11(1): 99.
- [5] YANG R, HE C, ZHANG P, et al. Plasma sphingolipids, dopaminergic degeneration and clinical progression in idiopathic Parkinson's disease[J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2024, 126: 107071.
- [6] WANG Y H, MENG Y, ZHAI C, et al. The chemical characterization of *Eleutherococcus senticosus* and Ci-wu-jia Tea using UHPLC-UV-QTOF/MS[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(3): 475.
- [7] 郑静, 范文涛. 中药刺五加活性成分抗抑郁作用机制研究进展[J]. *中药新药与临床药理*, 2025, 36(7): 1214.
- [8] 蒋诗琴, 罗姣, 韦春玲, 等. 五加属植物苯丙素类成分及药理作用研究进展[J]. *湖南中医药大学学报*, 2024, 44(7): 1335.
- [9] JIN L, SCHMIECH M, EL G M, et al. A comparative study on root and bark extracts of *Eleutherococcus senticosus* and their effects on human macrophages[J]. *Phytomedicine*, 2020, 68: 153181.
- [10] 王业豪, 王宇, 杨津津, 等. 刺五加提取物调控大脑皮质代谢组学及PI3K-RAC1通路改善帕金森病的作用机制[J]. *中药药理与临床*, 2025, doi:10.13412/j.cnki.zyyj.20250910.007.
- [11] ZHANG Z, WU Y, SHI D, et al. *Acanthopanax senticosus* improves cognitive impairment in Alzheimer's disease by promoting the phosphorylation of the MAPK signaling pathway[J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1383464.
- [12] 卢柠霞, 高澳, 王业豪, 等. 基于脂质组学探讨刺五加提取物治疗帕金森小鼠的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, doi:10.13422/j.cnki.syfjx.20250714.
- [13] 王业豪, 卢意, 王宇, 等. 刺五加提取物通过影响小脑代谢组学治疗帕金森病的作用机制[J]. *中药药理与临床*, 2025, 41(8): 73.
- [14] LIU S M, LI X Z, HUO Y, et al. Protective effect of extract of *Acanthopanax senticosus* Harms on dopaminergic neurons in Parkinson's disease mice[J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(7): 631.
- [15] MASINI D, KIEHN O. Targeted activation of midbrain neurons restores locomotor function in mouse models of parkinsonism[J].

- Nat Commun, 2022, 13(1): 504.
- [16] FERRAZZO S, GUNDUZ-CINAR O, STEFANOVA N, et al. Increased anxiety-like behavior following circuit-specific catecholamine denervation in mice [J]. Neurobiol Dis, 2019, 125: 55.
- [17] LI J, YU J, GUO J, et al. *Nardostachys jatamansi* and levodopa combination alleviates Parkinson's disease symptoms in rats through activation of Nrf2 and inhibition of NLRP3 signaling pathways [J]. Pharmaceut Biol, 2023, 61(1): 1175.
- [18] MAROGIANNI C, SOKRATOUS M, DARDIOTIS E, et al. Neurodegeneration and inflammation-an interesting interplay in Parkinson's disease [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(22): 8421.
- [19] LIU J, LIU W, LU Y, et al. Piperlongumine restores the balance of autophagy and apoptosis by increasing BCL2 phosphorylation in rotenone-induced Parkinson disease models [J]. Autophagy, 2018, 14(5): 845.
- [20] ZHANG W, HE H, SONG H, et al. Neuroprotective effects of salidroside in the MPTP mouse model of Parkinson's disease: involvement of the PI3K/Akt/GSK3 β pathway [J]. Parkinsons Dis, 2016, 2016: 9450137.
- [21] KUO A, HLA T. Regulation of cellular and systemic sphingolipid homeostasis [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2024, 25(10): 802.
- [22] ZHAO M, BIAN R, XU X, et al. Sphingolipid metabolism and signalling pathways in heart failure: from molecular mechanism to therapeutic potential [J]. J Inflamm Res, 2025, 18: 5477.
- [23] WILKERSON J L, TATUM S M, HOLLAND W L, et al. Ceramides are fuel gauges on the drive to cardiometabolic disease [J]. Physiol Rev, 2024, 104(3): 1061.
- [24] WON J H, KIM S K, SHIN I C, et al. Dopamine transporter trafficking is regulated by neutral sphingomyelinase 2/ceramide kinase [J]. Cell Signal, 2018, 44: 171.
- [25] HANNUN Y A, OBEID L M. Sphingolipids and their metabolism in physiology and disease [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19(3): 175.
- [26] GUEDES J R, LAO T, CARDOSO A L, et al. Roles of microglial and monocyte chemokines and their receptors in regulating Alzheimer's disease-associated amyloid- β and Tau pathologies [J]. Front Neurol, 2018, 9: 549.
- [27] SEEKER L A, WILLIAMS A. Oligodendroglia heterogeneity in the human central nervous system [J]. Acta Neuropathol, 2022, 143(2): 143.
- [28] ZHU F, HONG J, XUE T, et al. *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus infection regulated by host glycosphingolipids [J]. Pestic Biochem Physiol, 2025, 210: 106388.
- [29] ZUNKE F, MOISE A C, BELUR N R, et al. Reversible conformational conversion of α -synuclein into toxic assemblies by glucosylceramide [J]. Neuron, 2018, 97(1): 92.
- [30] WEINSTOCK N I, SHIN D, DHIMAL N, et al. Macrophages expressing GALC improve peripheral krabbe disease by a mechanism independent of cross-correction [J]. Neuron, 2020, 107(1): 65.
- [31] SALDIVIA N, HELLER G, ZELADA D, et al. Deficiency of galactosyl-ceramidase in adult oligodendrocytes worsens disease severity during chronic experimental allergic encephalomyelitis [J]. Mol Ther, 2024, 32(9): 3163.
- [32] ZELADA D, SALDIVIA N, SAMANO S, et al. Amelioration of inflammation and metabolic blockage in GALC deficient mice after enzyme replacement therapy via extracellular vesicles [J]. Int J Nanomed, 2025, 20: 9093.
- [33] DOMINGUEZ G, MADDELEIN M L, PUCELLE M, et al. Neuronal sphingosine kinase 2 subcellular localization is altered in Alzheimer's disease brain [J]. Acta Neuropathol Commun, 2018, 6(1): 25.
- [34] BRAVO G Á, CEDEÑO R R, CASADEVALL M P, et al. Sphingosine-1-phosphate (S1P) and S1P signaling pathway modulators, from current insights to future perspectives [J]. Cells, 2022, 11(13): 2058.

[责任编辑 陈玲]