

DOI:10.13350/j.cjpb.250602

• 论著 •

基于 SOCS3/JAK2/STAT3 通路探讨丙泊酚对脊髓损伤大鼠神经修复和肠道菌群的作用研究

修振华, 刘莹*

(中国医科大学附属盛京医院急诊科, 辽宁沈阳 110166)

【摘要】 **目的** 基于细胞因子信号转导抑制因子 3(SOCS3)/Janus 激酶 2(JAK2)/信号转导和转录激活因子 3(STAT3)信号通路探讨丙泊酚对脊髓损伤(SCI)大鼠神经修复和肠道菌群的影响。**方法** 构建 SCI 大鼠模型并随机分为 SCI 组、丙泊酚组、丙泊酚+sh-NC 组和丙泊酚+sh-SOCS3 组,每组 12 只;另取 12 只大鼠为假手术(Sham)组。分组处理后,分别于脊髓损伤后第 14、28 d,使用 Basso Beattie Bresnahan(BBB)量表和斜板实验评估后肢运动功能;HE 染色观察脊髓组织病理形态学变化;TUNEL 检测脊髓组织中神经元细胞凋亡情况;ELISA 法检测脊髓组织炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 含量;16S rDNA 测序分析大鼠肠道菌群分布;Western blot 法检测脊髓组织 SOCS3/JAK2/STAT3 信号通路相关蛋白表达。**结果** 与 Sham 组比较,SCI 组大鼠 BBB 评分、斜板角度、Shannon、Chao1、Observed species 指数、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、瘤胃球菌科(*Ruminococcaceae*)、乳杆菌科(*Lactobacillaceae*)、毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)丰度、SOCS3 蛋白水平降低,脊髓组织细胞凋亡率、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 含量、变形菌门(*Proteobacteria*)、肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)丰度、p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 比值升高($P < 0.05$);与 SCI 组比较,丙泊酚组大鼠 BBB 评分、斜板角度、Shannon、Chao1、Observed species 指数、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、瘤胃球菌科(*Ruminococcaceae*)、乳杆菌科(*Lactobacillaceae*)、毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)丰度、SOCS3 蛋白水平升高,脊髓组织细胞凋亡率、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 含量、变形菌门(*Proteobacteria*)、肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)丰度、p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 比值降低($P < 0.05$);敲低 SOCS3 表达可明显减弱丙泊酚对 SCI 大鼠脊髓组织损伤的改善作用。**结论** 丙泊酚可能通过上调 SOCS3 表达,抑制 JAK2/STAT3 通路的激活,进而改善肠道菌群紊乱,促进 SCI 大鼠的神经修复。

【关键词】 脊髓损伤;神经修复;肠道菌群;细胞因子信号转导抑制因子 3;Janus 激酶 2;信号转导和转录激活因子 3

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2025)06-0696-07

[*Journal of Pathogen Biology*. 2025 Jun.;20(06):696–702.]

Exploring the effects of propofol on neural repair and gut microbiota in rats with spinal cord injury based on the SOCS3/JAK2/STAT3 pathway

XIU Zhenhua, LIU Ying (Department of Emergency, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang, Liaoning 110166, China)*

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of propofol on neural repair and gut microbiota in spinal cord injury (SCI) rats based on the suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3)/Janus kinase 2 (JAK2)/signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signaling pathway. **Methods** SCI rat models were constructed and stochastically assigned into SCI group, propofol group, propofol + sh-NC group, and propofol + sh-SOCS3 group, with 12 rats in each group. Another 12 rats were used as the Sham group. After grouping, the Basso Beattie Bresnahan (BBB) scale and slant plate test were used to evaluate hind limb motor function on the 14th and 28th day after spinal cord injury, respectively. HE staining was used to observe the pathological morphological changes of spinal cord tissue. TUNEL was performed to detect neuronal cell apoptosis in spinal cord tissue. ELISA method was performed to detect the levels of TNF- α , IL-6, and IL-1 β in spinal cord tissue. The 16S rDNA sequencing method was used to analyze the distribution of gut microbiota in rats. Western blot was used to detect the expression of SOCS3/JAK2/STAT3 signaling pathway related proteins in spinal cord tissue. **Results** Compared with the Sham group, the BBB score, slant plate angle, Shannon, Chao1, Observed species indexes, *Bacteroidota*, *Firmicutes*, *Ruminococcaceae*, *Lactobacillaceae*, and *Lachnospiraceae* abundances, SOCS3 protein level were lower in the SCI group, while the spinal cord tissue cell apoptosis rate, TNF- α , IL-6, and IL-1 β contents, *Proteobacteria*, *Enterobacteriaceae* abundances, p-JAK2/JAK2, and p-STAT3/STAT3 ratios were higher ($P < 0.05$).

* **【通信作者】** 刘莹, E-mail: 290607023@qq.com

【作者简介】 修振华(1986-),男,辽宁本溪人,本科,主管护师,从事急诊相关工作研究。E-mail: xzh7023@126.com

Compared with the SCI group, the BBB score, slant plate angle, Shannon, Chao1, Observed species indexes, *Bacteroidota*, *Firmicutes*, *Ruminococcaceae*, *Lactobacillaceae*, and *Lachnospiraceae* abundances, SOCS3 protein level were higher in the propofol group, while the spinal cord tissue cell apoptosis rate, TNF- α , IL-6, and IL-1 β contents, *Proteobacteria*, *Enterobacteriaceae* abundances, p-JAK2/JAK2, p-STAT3/STAT3 ratios were lower ($P < 0.05$). Knocking down SOCS3 expression could greatly weaken the improvement effect of propofol on spinal cord tissue injury in SCI rats.

Conclusion Propofol may improve gut microbiota disruption and promote neural repair in SCI rats by upregulating SOCS3 expression, inhibiting the activation of JAK2/STAT3 pathway.

【Keywords】 Spinal cord injury; Neural repair; Gut microbiota; Suppressor of cytokine signaling 3; Janus kinase 2; Signal transducer and activator of transcription 3

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是一种常见的、高致残率的神经系统疾病,通常由急性外部机械损伤引起,包括交通事故和严重跌倒^[1]。目前缺乏有效的治疗方法。研究发现,脊髓损伤后,患者常伴有严重的胃肠功能障碍^[2];脊髓损伤后肠道菌群的紊乱和脊髓损伤后的胃肠道功能障碍密切相关;诱导肠道菌群失调会加剧病理损伤并损害SCI后的功能恢复,而重塑肠道微生物有利于损伤后的运动恢复^[3-4]。丙泊酚是一种短效静脉麻醉药,广泛应用于临床麻醉,具有抗氧化、抗凋亡、抗炎和神经保护作用,已被证明对受伤的脊髓具有神经保护作用^[5-6]。然而,丙泊酚对SCI后肠道菌群的影响尚不清楚。

炎症反应是致使SCI后神经功能缺损的主要原因^[7]。肠道菌群紊乱可加剧脊髓损伤后的炎症反应^[8]。Janus激酶2(Janus kinase 2, JAK2)/信号转导和转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)信号通路是多种炎症细胞因子信号转导的共同通路之一,也是SCI的重要干预靶点。据报道,抑制JAK2/STAT3信号通路的激活可促进SCI后的神经再生修复功能^[9];且抑制JAK2/STAT3信号通路可以重塑肠道菌群,减轻炎症反应^[10]。细胞因子信号转导抑制因子3(suppressor of cytokine signaling 3, SOCS3)是JAK2/STAT3通路的负调控因子,其直接抑制JAK2的活性,进而抑制STAT3的激活,促进脊髓损伤后神经功能修复^[11]。丙泊酚被报道可通过增强SOCS3表达,抑制JAK2/STAT3通路的磷酸化,抑制Th17细胞分化^[12],还可通过抑制JAK2/STAT3信号通路的激活,抑制神经炎症的发生而发挥脑保护作用^[13]。因此,本研究基于SOCS3/JAK2/STAT3信号通路探讨丙泊酚对SCI后神经修复和肠道菌群的影响,以期对SCI的治疗提供理论参考。

材料与方法

1 材料

1.1 动物 60只雌性Wistar大鼠(6~7周龄SPF级,体重200~220 g)由济南朋悦实验动物繁育有限公

司[许可证号:SCXK(鲁)2022-0006]提供。所有大鼠饲养在相同的环境中(温度22~24℃,湿度60%~80%,12 h光/暗循环),自由摄食、进水。

1.2 药品与主要试剂 丙泊酚注射液(国药准字H20030115,四川国瑞药业有限责任公司);SOCS3敲低(sh-SOCS3)慢病毒及空载体(sh-NC)购自上海汉恒生物科技有限公司;HE染色试剂盒(E-IR-R117)、TUNEL凋亡检测试剂盒(E-CK-A320)、大鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α)(E-EL-R2856)、白细胞介素(IL)-1 β (E-EL-R0012)和IL-6(E-EL-R0015)酶联免疫吸附测定试剂盒购自武汉Elabscience Biotechnology公司;Fast DNA Stool Mini试剂盒(51604)购自德国Qiagen公司;兔源SOCS3(ab280884)、JAK2(ab108596)p-JAK2(ab32101)、STAT3(ab68153)、p-STAT3(ab76315)、 β -actin(ab8227)抗体购自英国Abcam公司。

2 方法

2.1 造模与分组 参照文献[14]方法构建SCI大鼠模型:用1%戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉大鼠,通过椎板切除术在T9-10水平暴露大鼠脊髓。然后,使用脊髓冲击器(RWD, CA, USA)将一根10 g的金属棒从25 cm的高度落在脊髓背表面上,造成损伤。然后分层闭合切口,局部应用抗生素。手术后,SCI大鼠每天2次手动排尿,直至膀胱反射恢复。当造模大鼠受撞击处的脊髓出现水肿、出血且硬脊膜呈紫红色时,表示模型构建成功。将造模成功大鼠随机分为4组,分别为SCI组、丙泊酚组、丙泊酚+sh-NC组和丙泊酚+sh-SOCS3组,每组12只;另取12只大鼠为假手术(Sham)组(仅暴露脊髓,不造成损伤)。丙泊酚组大鼠于尾静脉泵注2 mL/(kg·h)丙泊酚4 h^[15];丙泊酚+sh-NC组和丙泊酚+sh-SOCS3组大鼠在尾静脉泵注2 mL/(kg·h)丙泊酚4 h的同时分别通过尾静脉注射慢病毒空载体(sh-NC)SOCS3敲低慢病毒载体(sh-SOCS3)(病毒滴度 1×10^9 TU/mL, 10 μ L,每周注射1次);Sham组和SCI组大鼠以同样方式注射生理盐水,持续28 d。

2.2 运动功能评估 分别于脊髓损伤后第14、28 d,

使用 Basso Beattie Bresnahan (BBB) 量表和斜板实验评估后肢运动功能^[14]。BBB 评分: 实验前, 将大鼠置于开阔场地, 允许大鼠自由活动 5 min。然后根据关节运动和爬行协调性从 0 分(完全瘫痪)到 21 分(正常运动), 采用 BBB 量表对大鼠后肢活动进行盲法评估, 以评估损伤后大鼠后肢的恢复程度。

斜板实验: 在一长方形木板上, 将大鼠头向前放置于一长方形木板上, 逐渐增大木板与水平面之间的角度, 直至大鼠在原定位置上可以停留 5 s, 记录此时的斜板角度。每只大鼠重复测量 3 次取均值。

2.3 HE 染色观察脊髓组织病理形态学变化 干预结束后, 以戊巴比妥钠(80 mg/kg, 腹腔注射)过量处死大鼠, 收集损伤中心的脊髓组织。切取约 5 mm 长的损伤脊髓, 在 4% 多聚甲醛溶液中固定过夜。经蔗糖梯度脱水后, 石蜡包埋, 切成 5 μ m 厚切片。切片用苏木精染色液染色 2 min, 用分化液(1% 盐酸)分化后, 用 0.5% 伊红染色液染色 1 min。最后, 将组织切片依次置于 70%、80%、90%、100% 梯度乙醇溶液中脱水, 二甲苯透明后, 用中性树胶密封。光学显微镜下观察脊髓组织病理形态变化。

2.4 TUNEL 检测脊髓组织中神经元细胞凋亡情况 将脊髓组织石蜡切片脱蜡、水化、抗原修复后, 进行 TUNEL 染色, 光学显微镜下观察染色阳性细胞并计数, 计算凋亡率。凋亡率(%) = TUNEL 阳性神经元数量/神经元总数 $\times$ 100%。

2.5 ELISA 法检测脊髓组织炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 含量 取部分脊髓组织, 按 1: 9 的重量体积比加入生理盐水研磨, 制备 10% 的组织匀浆, 4 $^{\circ}$ C 3 000 r/min 离心 20 min 后保留上清液, 采用 ELISA 试剂盒检测损伤脊髓组织中的炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量。

2.6 16S rDNA 测序分析大鼠肠道菌群分布 采集粪便进行 16S rDNA 测序分析。每组采集粪便样本, 收集在单独的无菌 EP 管中, -80 $^{\circ}$ C 储存, 每个样本不小于 0.5 g。使用 Fast DNA Stool Mini 试剂盒分离粪便微生物基因组 DNA。分别用 NanoDrop ND-100 分光光度计和琼脂糖凝胶电泳测定 DNA 的数量和质量。使用一套索引引物(V3-V4 高变区, 515F 和 806R)生成 16S rDNA 标签库, 使用 Ampure XP 磁珠(Beckman)进行纯化, 并用 TruSeq DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 构建。16S rDNA 标签库在 NovaSeq6000 平台(上海百树生物医药科技有限公司)上测序。然后, 使用 Uparse v7.0.1001 软件(<http://www.drive5.com/uparse/>)进行操作分类单元(OTUs)划分, 相似度阈值为 97%。分析肠道菌群多样性和菌群差异。

2.7 Western blot 法检测脊髓组织 SOCS3/JAK2/STAT3 信号通路相关蛋白表达 取部分脊髓组织样本, 在 RIPA 裂解缓冲液中均质, 其中含有 1% 的蛋白酶和磷酸酶抑制剂。裂解液 4 $^{\circ}$ C 12 000 g 离心 15 min, 收集含蛋白的上清液。然后, 使用 BCA 试剂盒测定上清液中的总蛋白浓度。取等量的蛋白质(30 μ g), 用 10% 的 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 并转移到 PVDF 膜上。在室温下 5% 脱脂牛奶中阻断 1 h 后, 膜与以下一抗在 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜: 抗 SOCS3(1: 1000)、抗 JAK2(1: 2000)、抗 p-JAK2(1: 1000)、抗 STAT3(1: 1000)、抗 p-STAT3(1: 1000)、抗 β -actin(1: 10000)。然后用二抗(1: 2000)室温孵育 2 h。ECL 显影后, 使用 Image J 软件对每个蛋白条带强度进行量化。

3 统计分析

统计数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行分析。单因素方差分析和 Bonferroni 事后检验分析来检验组间差异。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠运动功能比较

与 Sham 组比较, SCI 组大鼠 BBB 评分、斜板角度降低($P < 0.05$); 与 SCI 组比较, 丙泊酚组大鼠 BBB 评分、斜板角度升高($P < 0.05$); 与丙泊酚组、丙泊酚 + sh-NC 组比较, 丙泊酚 + sh-SOCS3 组大鼠 BBB 评分、斜板角度降低($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠 BBB 评分和斜板角度比较($\bar{x} \pm s, n = 12$)
Table 1 Comparison of BBB scores and oblique plate angles among different groups of rats

组别	BBB 评分(分)		斜板角度(度)	
	第 14 d	第 28 d	第 14 d	第 28 d
Sham	20.50 $\pm$ 0.52	20.67 $\pm$ 0.49	63.67 $\pm$ 3.58	64.75 $\pm$ 3.72
SCI	5.42 $\pm$ 0.79 ^a	6.00 $\pm$ 0.74 ^a	33.25 $\pm$ 3.14 ^a	34.33 $\pm$ 4.05 ^a
丙泊酚	14.33 $\pm$ 0.89 ^b	15.25 $\pm$ 0.97 ^b	48.92 $\pm$ 3.42 ^b	51.75 $\pm$ 3.82 ^b
丙泊酚 + sh-NC	14.67 $\pm$ 0.98 ^b	15.83 $\pm$ 0.94 ^b	50.67 $\pm$ 2.81 ^b	52.42 $\pm$ 3.70 ^b
丙泊酚 + sh-SOCS3	7.25 $\pm$ 0.97 ^{cd}	7.83 $\pm$ 0.58 ^{cd}	38.25 $\pm$ 3.86 ^{cd}	40.83 $\pm$ 2.98 ^{cd}

注: 与 Sham 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 SCI 组比较, ^b $P < 0.05$; 与丙泊酚组比较, ^c $P < 0.05$; 与丙泊酚 + sh-NC 组比较, ^d $P < 0.05$ 。

2 各组大鼠脊髓组织病理形态学变化比较

Sham 组大鼠脊髓组织结构完整, 无炎症细胞浸润; 与 Sham 组比较, SCI 组大鼠脊髓组织存在明显的损伤, 结构紊乱, 水肿和出血明显, 存在明显的空腔, 炎性细胞浸润增加; 与 SCI 组比较, 丙泊酚组和丙泊酚 + sh-NC 组脊髓组织损伤明显减轻, 组织水肿、出血和空腔形成以及炎性细胞浸润明显减少; 与丙泊酚组、丙泊酚 + sh-NC 组比较, 丙泊酚 + sh-SOCS3 组大鼠脊髓组织损伤加重, 可见明显空腔, 炎性细胞浸润增加。

见图 1。

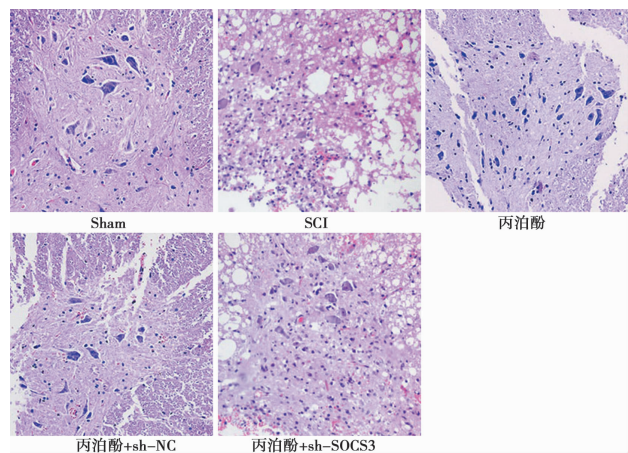


图 1 各组大鼠脊髓组织病理形态学变化(HE 染色,200×)
Fig. 1 Pathological and morphological changes of spinal cord tissue in each group of rats (HE staining,200×)

3 各组大鼠脊髓组织细胞凋亡比较

与 Sham 组比较,SCI 组大鼠脊髓组织细胞凋亡率升高($P<0.05$);与 SCI 组比较,丙泊酚组和丙泊酚+sh-NC 组脊髓组织细胞凋亡率降低($P<0.05$);与丙泊酚组、丙泊酚+sh-NC 组比较,丙泊酚+sh-SOCS3 组大鼠脊髓组织细胞凋亡率升高($P<0.05$)。见图 2、表 2。

表 2 各组大鼠脊髓组织细胞凋亡率比较($\bar{x}\pm s,n=12$)
Table 2 Comparison of apoptosis rates of spinal cord tissue cells among different groups of rats

组别	凋亡率(%)
Sham	4.16±0.59
SCI	32.52±2.10 ^a
丙泊酚	14.30±1.68 ^b
丙泊酚+sh-NC	13.85±1.54 ^b
丙泊酚+sh-SOCS3	26.74±1.83 ^{cd}

注:与 Sham 组比较,^a $P<0.05$;与 SCI 组比较,^b $P<0.05$;与丙泊酚组比较,^c $P<0.05$;与丙泊酚+sh-NC 组比较,^d $P<0.05$ 。

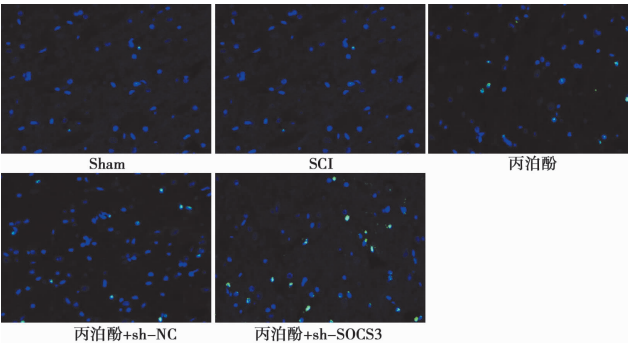


图 2 各组大鼠脊髓组织细胞凋亡情况(TUNEL 染色,200×)
Fig. 2 Apoptosis of spinal cord tissue cells in each group of rats (TUNEL staining,200×)

4 各组大鼠脊髓组织 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 含量比较

与 Sham 组比较,SCI 组大鼠脊髓组织 TNF-α、

IL-6 和 IL-1β 含量升高($P<0.05$);与 SCI 组比较,丙泊酚组和丙泊酚+sh-NC 组脊髓组织 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 含量降低($P<0.05$);与丙泊酚组、丙泊酚+sh-NC 组比较,丙泊酚+sh-SOCS3 组大鼠脊髓组织 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 含量升高($P<0.05$)。见表 3。

表 3 各组大鼠脊髓组织 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 含量比较
($\bar{x}\pm s,n=12$)
Table 3 Comparison of TNF-α, IL-6, and IL-1β levels in spinal cord tissues of rats in each group

组别	TNF-α(pg/mg)	IL-6(pg/mg)	IL-1β(pg/mg)
Sham	45.62±5.30	13.80±2.37	25.32±4.48
SCI	121.75±9.44 ^a	65.43±4.28 ^a	91.47±8.25 ^a
丙泊酚	69.31±7.58 ^b	30.65±3.14 ^b	40.53±5.69 ^b
丙泊酚+sh-NC	64.90±7.37 ^b	28.92±3.06 ^b	37.78±5.46 ^b
丙泊酚+sh-SOCS3	103.45±8.85 ^{cd}	51.40±3.78 ^{cd}	80.33±7.95 ^{cd}

注:与 Sham 组比较,^a $P<0.05$;与 SCI 组比较,^b $P<0.05$;与丙泊酚组比较,^c $P<0.05$;与丙泊酚+sh-NC 组比较,^d $P<0.05$ 。

5 各组大鼠肠道菌群的多样性比较

与 Sham 组比较,SCI 组 Shannon、Chao1、Observed species 指数降低($P<0.05$)($P<0.05$);与 SCI 组比较,丙泊酚组和丙泊酚+sh-NC 组 Shannon、Chao1、Observed species 指数升高($P<0.05$);与丙泊酚组、丙泊酚+sh-NC 组比较,丙泊酚+sh-SOCS3 组 Shannon、Chao1、Observed species 指数($P<0.05$);5 组 Goods coverage 指数均 >0.99 ,表明本研究的测序质量高,几乎覆盖样本中的所有物种。见表 4。

表 4 各组大鼠 Shannon、Chao1、Observed species 和 Goods coverage 指数比较($\bar{x}\pm s,n=12$)
Table 4 Comparison of Shannon,Chao1,Observed species, and Goods coverage indices among different groups of rats

组别	Shannon	Chao1	Observed species	Goods coverage
Sham	5.45±0.56	406.12±33.79	313.69±27.26	0.999±0.000
SCI	4.06±0.47 ^a	311.58±26.40 ^a	208.30±21.57 ^a	0.997±0.000
丙泊酚	5.23±0.54 ^b	380.77±30.62 ^b	292.41±25.83 ^b	0.998±0.000
丙泊酚+sh-NC	5.29±0.52 ^b	384.20±31.15 ^b	297.02±26.11 ^b	0.996±0.000
丙泊酚+sh-SOCS3	4.38±0.49 ^{cd}	327.51±28.67 ^{cd}	226.35±23.28 ^{cd}	0.997±0.000

注:与 Sham 组比较,^a $P<0.05$;与 SCI 组比较,^b $P<0.05$;与丙泊酚组比较,^c $P<0.05$;与丙泊酚+sh-NC 组比较,^d $P<0.05$ 。

6 各组大鼠肠道菌群的物种成分比较

物种成分分析显示,在门水平上,与 Sham 组比较,SCI 组变形菌门(Proteobacteria)丰度升高,拟杆菌门(Bacteroidota)、厚壁菌门(Firmicutes)降低($P<0.05$);与 SCI 组比较,丙泊酚组和丙泊酚+sh-NC 组变形菌门(Proteobacteria)丰度降低,拟杆菌门(Bacteroidota)、厚壁菌门(Firmicutes)升高($P<0.05$);与丙泊酚组、丙泊酚+sh-NC 组比较,丙泊酚+sh-SOCS3 组变形菌门(Proteobacteria)丰度升高,拟杆菌门(Bacteroidota)、厚壁菌门(Firmicutes)降低($P<0.05$)。见表 5。

表 5 各组大鼠门水平肠道菌群相对丰度比较($\bar{x} \pm s, n=12$)
Table 5 Comparison of relative abundance of gut microbiota at the phylum level among different groups of rats

组别	变形菌门 (Proteobacteria)	拟杆菌门 (Bacteroidota)	厚壁菌门 (Firmicutes)
Sham	0.104±0.020	0.502±0.051	0.343±0.037
SCI	0.515±0.041 ^a	0.207±0.036 ^a	0.182±0.025 ^a
丙泊酚	0.180±0.025 ^b	0.434±0.048 ^b	0.305±0.034 ^b
丙泊酚+sh-NC	0.174±0.023 ^b	0.440±0.050 ^b	0.311±0.033 ^b
丙泊酚+sh-SOCS3	0.420±0.037 ^{cd}	0.263±0.041 ^{cd}	0.219±0.028 ^{cd}

注:与 Sham 组比较,^a $P<0.05$;与 SCI 组比较,^b $P<0.05$;与丙泊酚组比较,^c $P<0.05$;与丙泊酚+sh-NC 组比较,^d $P<0.05$ 。

在科水平上,与 Sham 组比较,SCI 组肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)丰度升高,瘤胃球菌科(*Ruminococcaceae*)、乳杆菌科(*Lactobacillaceae*)、毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)降低($P<0.05$);与 SCI 组比较,丙泊酚组和丙泊酚+sh-NC 组肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)丰度降低,瘤胃球菌科(*Ruminococcaceae*)、乳杆菌科(*Lactobacillaceae*)、毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)升高($P<0.05$);与丙泊酚组、丙泊酚+sh-NC 组比较,丙泊酚+sh-SOCS3 组肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)丰度升高,瘤胃球菌科(*Ruminococcaceae*)、乳杆菌科(*Lactobacillaceae*)、毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)降低($P<0.05$)。见表 6。

表 6 各组大鼠科水平肠道菌群相对丰度比较($\bar{x} \pm s, \%, n=12$)
Table 6 Comparison of relative abundance of gut microbiota at the family level among different groups of rats

组别	肠杆菌科	瘤胃球菌科	乳杆菌科	毛螺菌科
Sham	0.130±0.021	0.195±0.018	0.241±0.026	0.216±0.022
SCI	0.547±0.037 ^a	0.073±0.012 ^a	0.112±0.019 ^a	0.089±0.013 ^a
丙泊酚	0.258±0.029 ^b	0.165±0.015 ^b	0.227±0.024 ^b	0.185±0.019 ^b
丙泊酚+sh-NC	0.251±0.028 ^b	0.169±0.016 ^b	0.231±0.024 ^b	0.188±0.020 ^b
丙泊酚+sh-SOCS3	0.423±0.032 ^{cd}	0.108±0.013 ^{cd}	0.146±0.020 ^{cd}	0.127±0.016 ^{cd}

注:与 Sham 组比较,^a $P<0.05$;与 SCI 组比较,^b $P<0.05$;与丙泊酚组比较,^c $P<0.05$;与丙泊酚+sh-NC 组比较,^d $P<0.05$ 。

7 各组大鼠脊髓组织 SOCS3/JAK2/STAT3 信号通路相关蛋白表达比较

与 Sham 组比较,SCI 组大鼠脊髓组织 SOCS3 蛋白水平降低,p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 比值升高($P<0.05$);与 SCI 组比较,丙泊酚组和丙泊酚+sh-NC 组脊髓组织 SOCS3 蛋白水平升高,p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 比值降低($P<0.05$);与丙泊酚组、丙泊酚+sh-NC 组比较,丙泊酚+sh-SOCS3 组大鼠脊髓组织 SOCS3 蛋白水平降低,p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 比值升高($P<0.05$) (表 7)。

讨 论

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是一种严重的神经疾病,可导致感觉和运动功能丧失。创伤性事件,

如交通事故,可导致脊髓组织的压缩和撕裂,称为原发性损伤;随后会出现继发性损伤,包括炎症、细胞凋亡、氧化应激、神经元丢失和轴突损伤,最终导致大量组织损伤和运动功能障碍,给患者及其家属带来了巨大的负担^[16]。然而,目前仍缺乏明确的治疗策略。

表 7 各组大鼠脊髓组织 SOCS3、p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s, n=12$)
Table 7 Comparison of SOCS3, p-JAK2/JAK2, and p-STAT 3/STAT3 protein expression in spinal cord tissues of rats in each group

组别	SOCS3	p-JAK2/JAK2	p-STAT 3/STAT 3
Sham	0.58±0.07	0.23±0.04	0.18±0.03
SCI	0.21±0.04 ^a	0.64±0.08 ^a	0.75±0.07 ^a
丙泊酚	0.45±0.05 ^b	0.38±0.05 ^b	0.40±0.05 ^b
丙泊酚+sh-NC	0.42±0.05 ^b	0.36±0.04 ^b	0.37±0.04 ^b
丙泊酚+sh-SOCS3	0.29±0.04 ^{cd}	0.51±0.06 ^{cd}	0.62±0.07 ^{cd}

注:与 Sham 组比较,^a $P<0.05$;与 SCI 组比较,^b $P<0.05$;与丙泊酚组比较,^c $P<0.05$;与丙泊酚+sh-NC 组比较,^d $P<0.05$ 。

近年来,多项研究证实丙泊酚是一种神经保护麻醉剂,其对大脑的神经保护作用与其抗炎、抗氧化、抑制细胞内钙超载、调节 γ -氨基丁酸受体和抑制细胞凋亡有关^[17-18]。在脊髓中,丙泊酚通过抑制细胞凋亡和炎症因子分泌,减轻脊髓组织损伤和血脊髓屏障通透性,减轻脊髓缺血/再灌注所致的神经功能障碍^[19];在 SCI 大鼠和 LPS 诱导 PC12 细胞构建的 SCI 细胞模型中,丙泊酚可抑制细胞凋亡、炎症和氧化应激,减轻 LPS 诱导的 PC12 细胞损伤,改善 SCI 大鼠的运动功能^[5];在 SCI 小鼠模型中,丙泊酚被报道可通过诱导细胞自噬对 SCI 小鼠发挥神经保护作用^[6]。本研究采用脊髓撞击法成功建立 SCI 大鼠模型,主要表现为神经功能和后肢运动功能障碍(BBB 评分和斜板角度降低),脊髓组织可见明显的水肿和出血,并伴随大量炎性细胞浸润,且脊髓组织细胞凋亡率、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平升高。SCI 常伴有出血、周围组织水肿、继发性神经炎症,这严重限制了神经再生和功能恢复。经丙泊酚干预后,SCI 大鼠的 BBB 评分和斜板角度均升高,脊髓组织水肿、出血和炎性细胞浸润均减少,细胞凋亡率、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平降低,表明丙泊酚可改善 SCI 大鼠的神经功能和运动功能障碍,减轻脊髓组织损伤。

据报道,SCI 患者表现出肠道微生物群的破坏,SCI 后肠道菌群的变化可影响 SCI 后并发症的发生及加重^[20-21]。SCI 后肠道菌群多样性、丰富度和相对丰度的变化,影响肠道菌群调节炎症反应和代谢的原有功能,并通过神经内分泌系统和肠脑轴的改变影响 SCI 的进展及其并发症。肠道菌群的变化会破坏双向肠脑轴的平衡,这会加重继发性脑损伤,损害认知功能和运动功能,引发外周循环和中枢神经系统的促炎反应,导致预后不良^[22]。实验室研究显示,调节肠道菌

群结果能够有效抑制 SCI 后炎症反应,减轻脊髓神经元损伤,改善 SCI 大鼠的运动功能^[23-24]。拟杆菌门(*Bacteroidota*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)是肠道的主要优势菌,可以将肠道中一些食物纤维素分解为短链脂肪酸,短链脂肪酸具有抗炎作用,对于维持肠道稳态、抵御致病菌感染和能量代谢有重要的意义。变形菌门(*Proteobacteria*)是细菌中最大的一门,包括许多病原菌,如大肠埃希菌杆菌、沙门氏菌、霍乱弧菌和幽门螺杆菌等,是肠道中主要的致病菌。肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)为革兰染色阴性直杆菌,包括大肠埃希菌属、沙门氏菌属、志贺菌属等,对人类具有致病性。瘤胃球菌科(*Ruminococcaceae*)是消化球菌科的一属,属于革兰阳性厌氧细菌,是产生短链脂肪酸的菌群。乳杆菌科(*Lactobacillaceae*)和毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)均属于厚壁菌门(*Firmicutes*),是人体小肠内的主要益生菌,对维持肠道菌群平衡起着重要作用。本研究结果显示,SCI 后大鼠肠道变形菌门(*Proteobacteria*)、肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)丰度升高,拟杆菌门(*Bacteroidota*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、瘤胃球菌科(*Ruminococcaceae*)、乳杆菌科(*Lactobacillaceae*)、毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)丰度降低,这与既往的研究^[23-24]结果一致,表明 SCI 后大鼠肠道菌群紊乱,有益菌的丰度减少,有害菌的丰度增加。经丙泊酚干预后,SCI 大鼠肠道变形菌门(*Proteobacteria*)、肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)丰度降低,拟杆菌门(*Bacteroidota*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、瘤胃球菌科(*Ruminococcaceae*)、乳杆菌科(*Lactobacillaceae*)、毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)丰度升高,提示丙泊酚可增加 SCI 大鼠肠道内益生菌的丰度,减少有害菌的丰度,改善肠道菌群紊乱。

JAK2/STAT3 通路是参与 SCI 炎症、凋亡过程的重要通路,研究表明,SCI 后会激活 JAK2/STAT3 通路,JAK2/STAT3 通路的激活可促进炎症因子(如 IL-6)的释放和脊髓神经细胞的凋亡,加剧脊髓组织的损伤^[25];抑制 JAK2/STAT3 通路的活性,可以减少脊髓神经细胞的凋亡,减轻 SCI 的程度^[26]。此外,异常激活的 JAK2/STAT3 通路可影响肠道免疫系统的功能,加剧肠道菌群紊乱^[10];而抑制 JAK2/STAT3 通路的激活可促进短链脂肪酸的产生,改善肠道菌群代谢紊乱^[27]。SOCS3 是一种细胞因子信号阻抑蛋白,是 JAK2/STAT3 信号通路中最关键的负调控因子,可通过抑制 JAK2/STAT3 通路的活化来调节炎症因子的释放,从而发挥抑炎作用。据报道,上调 SOCS3 表达可通过抑制 JAK2/STAT3 通路的激活,促进 SCI 后神经功能修复^[11]。在本研究中,SCI 大鼠脊髓组织中 SOCS3 蛋白水平降低,p-JAK2/JAK2、p-STAT3/

STAT3 比值升高,表明 SCI 大鼠脊髓组织中 JAK2/STAT3 通路被激活;而经丙泊酚干预后,SCI 大鼠脊髓组织中 SOCS3 蛋白水平升高,p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 比值降低,由此推测:丙泊酚对 SCI 大鼠脊髓组织损伤的改善作用可能与 SOCS3/JAK2/STAT3 通路有关。为了进一步验证此推测,本研究在丙泊酚干预的基础上,采用慢病毒转染的方式敲低 SCI 大鼠中 SOCS3 的表达,结果显示,敲低 SOCS3 表达可明显减弱丙泊酚对 SCI 大鼠脊髓组织损伤的改善作用;提示丙泊酚可能通过上调 SOCS3 表达,抑制 JAK2/STAT3 通路的激活,进而改善肠道菌群紊乱,促进 SCI 大鼠的神经修复。

综上所述,丙泊酚可改善肠道菌群紊乱,促进 SCI 大鼠的神经修复,其作用可能是通过上调 SOCS3 表达,抑制 JAK2/STAT3 通路的激活实现的。本研究以肠道菌群为切入点再次证实了丙泊酚的神经保护作用,为其应用于 SCI 等神经系统疾病的防治提供了理论依据。但 SCI 的发病机制复杂,丙泊酚能否通过其他途径发挥神经保护作用仍有待探索,未来将结合体外实验进一步分析和验证丙泊酚的神经保护作用与机制。

【参考文献】

- [1] Hersh AM, Weber-Levine C, Jiang K, et al. Spinal cord injury: emerging technologies[J]. *Neurosurg Clin N Am*, 2024, 35(2): 243-251.
- [2] Bigford GE, Szeto A, Darr AJ, et al. Characterization of gastrointestinal hormone dysfunction and metabolic pathophysiology in experimental spinal cord injury [J]. *J Neurotrauma*, 2023, 40(9-10): 981-998.
- [3] Hamilton AM, Blackmer-Raynolds L, Li Y, et al. Diet-microbiome interactions promote enteric nervous system resilience following spinal cord injury[J]. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2024, 10(1): 75.
- [4] Gur Arie A, Toren I, Hadar R, et al. Lack of gut microbiome recovery with spinal cord injury rehabilitation[J]. *Gut Microbes*, 2024, 16(1): 2309682.
- [5] Sun C, Liu D, Gao S, et al. Propofol ameliorates spinal cord injury process by mediating miR-672-3p/TNIP2 axis [J]. *Biochem Genet*, 2024. doi:10.1007/s10528-024-10718-4.
- [6] 吴驰,曹殿青,傅彩娟. 丙泊酚介导细胞自噬及 mTOR 信号通路对脊髓损伤小鼠的保护机制[J]. *颈腰痛杂志*, 2024, 45(2): 199-204.
- [7] Seo YK. Modulation of inflammatory responses to enhance nerve recovery after spinal cord injury[J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2024, 21(3): 367-368.
- [8] 李凤至,程晓馨. 肠道菌群与脊髓损伤并发症[J]. *中国微生态学杂志*, 2020, 32(6): 741-745.
- [9] 吴成林,郭德华,许洋,等. 基于 JAK2/STAT3 信号通路探讨补阳还五汤联合骨髓间质干细胞移植治疗大鼠脊髓损伤的机制[J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(7): 1543-1546.

- [10] Yang S, Huang J, Tan W, et al. Xiaoyankangjun tablet alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice by regulating gut microbiota and JAK2/STAT3 pathway [J]. Nat Prod Bioprospect, 2024, 14(1):44.
- [11] Yuan F, Peng W, Yang Y, et al. Endothelial progenitor cell-derived exosomes promote anti-inflammatory macrophages via SOCS3/JAK2/STAT3 axis and improve the outcome of spinal cord injury[J]. J Neuroinflammation, 2023, 20(1):156.
- [12] Lin CC, Chen DY, Tang KT, et al. Inhibitory effects of propofol on Th17 cell differentiation [J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2017, 39(4):211-218.
- [13] 徐思源, 吕靖, 魏琼, 等. 丙泊酚对孕鼠妊娠晚期睡眠剥夺后子代大鼠海马区 JAK2/STAT3 信号通路及神经炎症的影响[J]. 中国实用医药, 2022, 17(13):187-191.
- [14] 刘娜, 黄培培, 杨静, 等. 仙茅苷对脊髓损伤大鼠的神经保护作用研究[J]. 中国药房, 2024, 35(12):1469-1475.
- [15] 郭永娟, 张丽, 陆化梅. 七氟醚复合丙泊酚对脊髓骨折大鼠疼痛递质、神经元活性的影响[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(36):5850-5855.
- [16] Zipser CM, Cragg JJ, Guest JD, et al. Cell-based and stem-cell-based treatments for spinal cord injury: evidence from clinical trials[J]. Lancet Neurol, 2022, 21(7):659-670.
- [17] 肖志博, 符少川, 谢海, 等. 基于 UCP2 信号研究丙泊酚对脑缺血/再灌注大鼠小胶质细胞极化的影响[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(1):104-109.
- [18] 祝君, 周楠, 李德明. 丙泊酚后处理对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的改善作用及其机制[J]. 吉林大学学报(医学版), 2023, 49(1):46-54.
- [19] Zhou Y, Bai Y, Zhang P, et al. Propofol alleviates spinal cord ischemia-reperfusion injury by preserving PI3K/AKT/GIT1 axis [J]. J Investig Med, 2024, 72(7):705-714.
- [20] 汪俊宇, 庞日朝, 王文春, 等. 脊髓损伤患者肠道菌群属水平的特征及意义[J]. 中国康复理论与实践, 2020, 26(4):393-399.
- [21] 李凤至, 程晓馨. 肠道菌群与脊髓损伤并发症[J]. 中国微生态学杂志, 2020, 32(6):741-745.
- [22] Jing Y, Yu Y, Bai F, et al. Effect of fecal microbiota transplantation on neurological restoration in a spinal cord injury mouse model: involvement of brain-gut axis[J]. Microbiome, 2021, 9(1):59.
- [23] 王天雨, 魏炜, 杨志新, 等. 艾灸“相对穴”对脊髓损伤大鼠运动能力和其肠道菌群的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2022, 34(11):1283-1288.
- [24] 刘明富, 刘槲, 宁宇, 等. 粪菌移植疗法对大鼠脊髓损伤后的作用研究[J]. 广西医科大学学报, 2021, 38(12):2240-2245.
- [25] Lee JY, Park CS, Seo KJ, et al. IL-6/JAK2/STAT3 axis mediates neuropathic pain by regulating astrocyte and microglia activation after spinal cord injury[J]. Exp Neurol, 2023, 370:114576.
- [26] Xiao S, Zhang Y, Liu Z, et al. Alpinetin inhibits neuroinflammation and neuronal apoptosis via targeting the JAK2/STAT3 signaling pathway in spinal cord injury[J]. CNS Neurosci Ther, 2023, 29(4):1094-1108.
- [27] Tang X, Li X, Wang Y, et al. Butyric acid increases the therapeutic effect of EHLJ7 on ulcerative colitis by inhibiting JAK2/STAT3/SOCS1 signaling pathway[J]. Front Pharmacol, 2020, 10:1553.
- 【收稿日期】 2024-12-20 【修回日期】 2025-03-10
- ~~~~~
- (上接 695 页)
- [5] Grezzi L, Martinez YE, Barrios AA, et al. Characterization of the immunosuppressive environment induced by larval *Echinococcus granulosus* during chronic experimental infection [J]. Infect Immun, 2024, 92(2):e0027623- e0027623.
- [6] Radtke AJ, Chu CJ, Yaniv Z, et al. IBEX: an iterative immunolabeling and chemical bleaching method for high-content imaging of diverse tissues[J]. Nat Protoc, 2022, 17(2):378-401.
- [7] 冶赓博, 陈功富, 崔紫烟, 等. 多房棘球蚴源性外泌体对巨噬细胞极化的影响[J]. 临床肝胆病杂志, 2023, 39(4):876-884.
- [8] 马洋洋. miR-133a 在泡球蚴感染所致肝细胞损伤中的作用[D]. 乌鲁木齐:新疆大学, 2018.
- [9] 王立群, 吴易璇, 蒲桂婷, 等. 敲低多房棘球蚴 let-7-5p 可抑制 BALB/c 小鼠腹腔巨噬细胞极化和虫体生长[J]. 畜牧兽医学报, 2024, 55(6):2619-2628.
- [10] Zheng Y, Guo X, He W, et al. Effects of *Echinococcus multilocularis* miR-71 mimics on murine macrophage RAW264.7 cells[J]. Inter Immun, 2016, 3:4259-4262.
- [11] 王立群. 豆状囊尾蚴外泌体的特征及其对巨噬细胞极化的调节机制[D]. 北京:中国农业科学院, 2020.
- [12] Emerson LE, Gioseffi A, Barker H, et al. *Leishmania* infection-derived extracellular vesicles drive transcription of genes involved in M2 polarization [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022; 12934611-934611.
- [13] Saikat M, Soubhik G, Sriparna B, et al. Administration of soluble gp130Fc disrupts M-1 macrophage polarization, dendritic cell activation, MDSC expansion and Th-17 induction during experimental cerebral malaria [J]. Inter Immun, 2023, 123:110671-110671.
- [14] 凌薇. 弓形虫外泌体对巨噬细胞调节作用及其机制研究[D]. 镇江:江苏大学, 2020.
- [15] Li QY, Wang SC, Zhou RJ, et al. Macrophage-mediated mechanisms of lung injury in the sensitization reaction to *Echinococcus granulosus*[J]. Front Immun, 2024, 15:1388120-1388120.
- [16] 冯叶叶, 许军英, 逮君霞, 等. 细粒棘球蚴通过 STAT6 促进巨噬细胞向 M2 型极化[J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38(10):1158-1163.
- [17] Hui W, Qian Y, Mingkun W, et al. Hepatic macrophages play critical roles in the establishment and growth of hydatid cysts in the liver during *Echinococcus granulosus* sensu stricto infection [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2023, 17(11):e0011746-e0011746.
- [18] 周璇, 侯秋莲, 李斌, 等. 细粒棘球蚴微囊对小鼠腹腔巨噬细胞活化及炎症因子水平的影响[J]. 中国病原生物学杂志, 2021, 16(4):411-418.
- 【收稿日期】 2025-01-20 【修回日期】 2025-04-05