DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20251118.001
网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/46.1089.R.20251118.1008.002

电针通过PERK/TXNIP/NLRP3通路调控内质网应激抑制海马神经细胞焦亡改善血管性痴呆大鼠认知功能障碍的作用机制

赵红旭[1],陈英华[2]✉,孙 玮[2],吴 彤[1],陈虹旭[1],王浩宇[2],韩玉生[3]
(1.黑龙江中医药大学,黑龙江 哈尔滨 150040;2.黑龙江中医药大学附属第一医院针灸五科,黑龙江 哈尔滨 150040;3.黑龙江中医药大学实验中心,黑龙江 哈尔滨 150040)

[摘要] **目的**:观察电针"四神聪"、"风池"穴调控内质网应激对海马神经元细胞焦亡的影响,探讨电针干预血管性痴呆(vascular dementia,VD)的可能机制。**方法**:水迷宫实验筛选后,自64只SD大鼠中随机选取12只为空白组、12只为假手术组,余鼠经四血管阻断法(4-VO)建立VD模型,再次经水迷宫实验筛选后的24只大鼠随机分为模型组及电针组各12只。电针组于"四神聪"、"风池"穴电针针刺21 d,每日1次,持续30 min。采用水迷宫实验观察大鼠学习记忆能力;H&E染色及透射电镜法观察大鼠海马组织神经元及内质网病理形态变化;免疫组化及Western blot法检测海马组织GRP78、p-PERK、PERK、p-eIF2α、eIF2α、ATF4、CHOP、TXNIP、NLRP3蛋白表达情况。**结果**:模型组较空白组、假手术组大鼠逃避潜伏期延长、穿越平台次数减少($P<0.01$),电针组较模型组逃避潜伏期缩短、穿越平台次数增加($P<0.01$);模型组海马神经元细胞排列紊乱、细胞不同程度受损,内质网肿胀扩张,膜溶解及核糖体脱颗粒情况,电针组海马神经元排列较规则、细胞损伤程度减轻,内质网肿胀、膜溶解及核糖体脱颗粒情况减轻;模型组海马组织中GRP78、ATF4、CHOP、TXNIP、NLRP3表达增加($P<0.05$),p-PERK/PERK及p-eIF2α/eIF2α比值升高($P<0.05$),电针组海马组织GRP78、ATF4、CHOP、TXNIP及NLRP3表达降低($P<0.05$),p-PERK/PERK及p-eIF2α/eIF2α比值降低($P<0.05$)。**结论**:电针"四神聪"、"风池"可改善VD大鼠学习记忆能力,其作用机制可能与通过PERK/TXNIP/NLRP3信号通路调控内质网应激,从而抑制大鼠海马神经细胞焦亡有关。

[关键词] 血管性痴呆;电针;细胞焦亡;内质网应激;PERK/TXNIP/NLRP3信号通路
[中图分类号] R245.97 [文献标志码] A [文章编号] 2097-5953(2026)20-1553-10

Electroacupuncture attenuates cognitive impairment in vascular dementia rats by inhibiting hippocampal neuronal pyroptosis *via* the PERK/TXNIP/NLRP3 pathway of endoplasmic reticulum stress

ZHAO Hongxu[1], CHEN Yinghua[2]✉, SUN Wei[2], WU Tong[1], CHEN Hongxu[1], WANG Haoyu[2], HAN Yusheng[3]
(1. *Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin* 150040, *China*; 2. *The Fifth Department of Acupuncture, The First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin* 150040, *China*; 3. *Experiment Center, Heilongjiang University of Chinese Medicine , Harbin* 150040, *China*)

[*Foundation Project*]: *This study was supported by the National Natural Science Foundation of China* (82474650, 82074530); *Natural Science Foundation of Heilongjiang Province* (*ZD*2021*H*007); *Heilongjiang Provincial Research Project on Traditional Chinese Medicine* (*ZHY*2023-189, *ZHY*2023-209, *ZHY*2024-090); *Graduate Innovation Research Project of Heilongjiang University of Chinese Medicine* (2024*yjscx*001)

[*Author*]: *ZHAO Hongxu, Ph.D., Candidate, E-mail*: 18846925081@163.*com*.
[*Correspondence to*]: *CHEN Yinghua, Chief Physician, Professor, Doctral Supervisor, E-mail*: *chyh*9000@163.*com*.

Received: 2025-10-06 *Revised*: 2025-10-17 *JHMU*, 2026;32(20):1553-1562

[基金项目]国家自然科学基金项目(82474650,82074530);黑龙江省自然科学基金项目(ZD2021H007);黑龙江省中医药科研项目(ZHY2023-189,ZHY2023-209,ZHY2024-090);黑龙江中医药大学研究生创新科研项目(2024yjscx001)

[作者简介]赵红旭,博士研究生,E-mail:18846925081@163.com。
[通讯作者]陈英华,主任医师,教授,博士生导师,E-mail:chyh9000@163.com。

[收稿日期]2025-10-06 [修回日期]2025-10-17 网络出版时间:2025-11-18 10:16:52

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective**: To investigate the effect of electroacupuncture (EA) at "Sishencong" (EX-HN1) and "Fengchi" (GB20) on hippocampal neuronal pyroptosis by regulating endoplasmic reticulum stress (ERS), and to explore the potential mechanism of EA in intervening vascular dementia (VD). **Methods**: Sixty-four male Sprague-Dawley rats were screened using the Morris water maze (MWM) test and then randomly divided into a blank group (n=12) and a sham-operated group (n=12). The remaining rats underwent the four-vessel occlusion (4-VO) method to establish a VD model. Twenty-four successfully modeled rats were randomly assigned to the model group (n=12) and the EA group (n=12). The EA group received EA at "Sishencong" and "Fengchi" acupoints for 30 min once daily for 21 consecutive days. The learning and memory abilities of rats were assessed using the MWM test. Hippocampal morphology was observed with conventional hematoxylin-eosin (H&E) staining. The morphological changes of the endoplasmic reticulum in hippocampal neurons were examined by transmission electron microscopy (TEM). The protein expressions of GRP78, p-PERK, PERK, p-eIF2α, eIF2α, ATF4, CHOP, TXNIP, and NLRP3 in the hippocampal tissue were detected by immunohistochemistry and Western blot. **Results**: Compared to the blank and sham-operated groups, the model group exhibited significantly prolonged escape latency and reduced platform crossings (P<0.01), whereas the EA group showed significant improvements compared to the model group (P<0.01). In the model group, hippocampal neurons were disorganized with varying degrees of damage, along with swollen and dilated endoplasmic reticulum, membrane dissolution, and ribosomal degranulation. In contrast, the EA group demonstrated more regularly arranged neurons, alleviated cellular damage, and reduced endoplasmic reticulum swelling, membrane dissolution, and ribosomal degranulation. Furthermore, the model group showed increased expression of GRP78, ATF4, CHOP, TXNIP, and NLRP3 (P<0.05), as well as elevated ratios of p-PERK/PERK and p-eIF2α/eIF2α (P<0.05). These changes were significantly reversed in the EA group (P<0.05). **Conclusion**: Electroacupuncture at "Sishencong" and "Fengchi" acupoints can improve learning and memory abilities in VD rats. Its mechanism may be associated with the regulation of hippocampal endoplasmic reticulum stress and the inhibition of neuronal pyroptosis *via* the PERK/TXNIP/NLRP3 signaling pathway.

[Key words] Vascular dementia; Electroacupuncture; Pyroptosis; Endoplasmic reticulum stress; PERK/TXNIP/NLRP3 signaling pathway

血管性痴呆(vascular dementia,VD)是由血管性病变引起的认知功能进行性下降的疾病,是仅次于阿尔兹海默病的第二常见痴呆亚型[1]。流行病学调查显示,全球约有2 000万人受VD影响[2],给家庭与社会带来沉重的经济负担。目前临床上尚缺乏针对该病的共识性治疗计划,常用药物仅可在一定程度上短暂改善轻、中度VD患者的认知症状,且易产生副作用[3]。研究表明,针刺可通过调节氧化应激、抑制神经炎症、减少细胞凋亡等多种机制途径改善VD[4]。

内质网是细胞内蛋白质合成与折叠的核心场所,其功能失衡可触发未折叠蛋白反应(unfolded protein response,UPR),进而激活蛋白激酶R样内质网激酶(PERK)/真核细胞起始因子2α(eIF2α)/激活转录因子4(ATF4)信号通路[5]。而在长期内质网应激条件下ATF4诱导转录因子C/EBP同源蛋白(CHOP)表达,进而促进硫氧还蛋白相互作用蛋白(TXNIP)与NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)结合,触发炎症小体激活引起细胞焦亡,加剧海马神经元损伤和认知功能衰退[6]。课题组前期研究表明电针可通过抑制NLRP3炎症小体激活,减少神经细胞焦亡改善VD认知功能障碍[7]。然而,电针是否以PERK/TXNIP/NLRP3信号通路为介导,减轻内质网应激并抑制神经细胞焦亡尚不明确,基于此,本研究拟从PERK/TXNIP/NLRP3信号通路探讨电针干预对VD大鼠海马神经细胞焦亡的调控机制,及其在内质网应激中的作用。

1 材料与方法

1.1 动物

66只SPF级雄性SD大鼠,购自辽宁长生生物技术股份有限公司(生产许可证号:SCXK(辽)2020-0001),初始体重为(270±10) g。在恒温(22±2) ℃、湿度(50±5)%、12 h光/暗循环条件下标准化饲养。在完成水迷宫实验的空间学习能力筛选后,将64只大鼠纳入后续实验,随机分为空白组、假手术组各12只。余鼠制备VD模型,成功造模的24只大鼠随机分为模型组、电针组各12只。经黑龙江中医药大学动物实验和使用伦理委员会批准(伦理号:2024110401)。

1.2 试剂与仪器

BCA试剂盒(20190904)购自北京索莱宝科技有限公司;2% 戊二醛(30092436)、812包埋剂(90529-77-4)购自国药集团化学试剂有限公司;eIF2α抗体(WL01909)购自沈阳万类生物科技有限公司;p-eIF2α抗体(AF3087)、NLRP3抗体(DF-13758)购自江苏亲科生物研究中心有限公司;葡萄

糖调节蛋白78(GRP78)抗体(bs-1219R)、PERK抗体(bs-2469R)、p-PERK抗体(bs-3330R)、ATF4抗体(bs-1531R)、CHOP抗体(bs-20669R)、山羊抗兔IgG(bs-0295G-HRP)购自北京博奥森生物技术有限公司;TXNIP抗体(Q9H3M7)购自成都正能生物技术有限责任公司;ECL发光液(P0018AS-1)购自上海碧云天生物技术股份有限公司;兔二步法试剂盒(PV-6001)购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

水迷宫实验分析系统(XR-XM101,上海欣软信息科技有限公司);针灸针(0.30 mm×13 mm,苏州华佗医疗器械有限公司);电针仪(KWD-808I,常州市武进长城医疗器械有限公司);电泳仪、凝胶成像系统(Tanon EPS-300、Tanon-4600,上海天能科技有限公司);PVDF膜(FFP24,上海碧云天生物技术股份有限公司);组织切片机(YD-1508B型,浙江金华益迪医疗设备厂);超薄切片机(Leica UC7,Leica);黏附载玻片(80312-3161-16,江苏世泰实验器材有限公司);透射电子显微镜(TECNAI G 20 TWIN,FEI公司)。

1.3 造模方法

模型制备及评价标准参照课题组前期研究[8]。应用四血管阻断法(4-VO)造模:腹腔注射2%戊巴比妥钠(35 mg/kg)麻醉,使用电推剪剔除后颈部被毛,碘伏、酒精消毒,使用保温灯维持体温,沿后颈部正中线行约1~2 cm纵行切口,钝性分离皮下组织、肌肉,充分暴露双侧翼小孔并将电凝针插入,使椎动脉永久性闭塞;24 h后同法麻醉,仰卧位固定,于甲状腺体表定位正中行约1 cm纵行切口,分离皮下组织及结缔组织,微动脉夹夹闭双侧颈总动脉3次,每次5 min,间隔1 h。缝合前局部应用青霉素防感染,术后单笼饲养并肌注青霉素7 d(4万U/d)。假手术组对椎动脉及颈总动脉不予处理,余操作同上。

以术后第7天假手术组平均逃避潜伏期为评价标准,以[(造模组潜伏期-假手术组潜伏期)/造模组潜伏期]×100%>20%为模型制备成功,最终存活并符合造模标准大鼠24只。

1.4 干预方法

造模成功7 d后,每日固定时间对电针组大鼠实施干预:大鼠俯卧位固定,暴露头部常规消毒。穴位定位[9]:左右四神聪位于百会旁开2 mm处,双侧风池位于大椎旁开5 mm处;刺法及电针仪连接[8]:四神聪向后平刺2.5 mm,风池穴直刺5 mm,以同侧正极连接四神聪负极连接风池;疗程及参数:连续干预21 d,以每日2 Hz、1 mA连续波干预30 min。假手术组与模型组每日接受与电针组一致的抓取与固定,但不行针刺;空白组始终处于未干预状态,以建立基线对照。

1.5 取材

完成行为学检测后,各组大鼠麻醉后于冰盒上快速断头取脑,每组随机选取3只取1 mm×1 mm×1 mm海马组织置于电镜固定液中固定,用于透射电镜观察;3只大鼠脑组织置于4%多聚甲醛中固定,经石蜡包埋用于H&E及免疫组化检测;剩余6只分离海马保存至-80 ℃冰箱,用于蛋白质印迹(Western blot)检测。

1.6 检测指标

1.6.1 Morris水迷宫实验 造模前,各组大鼠进行空间学习4 d,平台固定于第Ⅱ象限,每日分别从各象限将大鼠面向池壁放入水中,自由游泳找到平台或90 s后引导至平台停留10 s,以第4日逃避潜伏期均值评估大鼠学习记忆能力;第5日移除平台,记录大鼠90 s自第Ⅳ象限入水后穿越原平台位置的次数,评价空间记忆能力。在造模结束7 d后及干预后再次记录[10]。

1.6.2 H&E染色 对固定在4%多聚甲醛的脑组织进行梯度酒精脱水、石蜡包埋,切片(片厚4 μm),脱蜡处理后进行苏木素-伊红染色,树胶封片,显微镜下观察海马神经元形态结构及排列情况。

1.6.3 透射电镜 将电镜固定液中海马组织漂洗3次后,置于1%锇酸室温固定2 h,再次漂洗,置于乙醇梯度上行脱水,依次以丙酮与环氧树脂2:1、1:1及环氧树脂37 ℃温箱中渗透,样本放入包埋板后加入包埋剂于60 ℃温箱聚合,切片后室温下铀铅双染色15 min,干燥后透射电镜下观察内质网超微结构。

1.6.4 免疫组化法(IHC)检测蛋白表达情况 将石蜡切片依次经二甲苯、乙醇脱蜡至水处理,置于微波炉内柠檬酸缓冲液修复盒中以抗原修复,浸入3% H_2O_2 10 min后滴加特异性一抗(GRP78 1:200、p-PERK 1:200、PERK 1:200、p-eIF2α 1:150、eIF2α 1:100、ATF4 1:100、CHOP 1:100、TXNIP 1:200、NLRP3 1:100),切片平放置湿盒内37 ℃孵育90 min,PBS清洗后滴加二抗,37 ℃反应30 min,DAB显色,乙醇、二甲苯脱水透明后,树胶封片。光学显微镜下观察,并使用ImageJ软件对切片中棕黄色阳性信号区域的平均吸光度值进行定量分析。

1.6.5 Western blot检测 取大鼠海马组织0.03 g/只,按组织净重(g):蛋白提取试剂体积(mL)=1:10加入玻璃匀浆器,冰上研磨,离心后BCA法蛋白定量,

蛋白变性后置于－20 ℃冰箱保存。制备凝胶板置于电泳槽，各组上样15 μL，电压80 V电泳至溴酚蓝染料跑至胶板下端，200 mA恒流转膜90 min，室温封闭2 h后一抗（1∶1 000）4 ℃孵育过夜；漂洗后二抗（1∶2 000）室温孵育1 h。ECL化学发光底物检测，并用ImageJ软件分析目标条带灰度值。

1.7　统计学处理

采用SPSS 26.0、GraphPad Prism 9软件统计分析，水迷宫实验数据采用重复测量资料双因素方差分析，IHC及Western blot统计数据组间比较采用单因素方差分析，进一步比较采用LSD或Dunnett′s T3检验。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

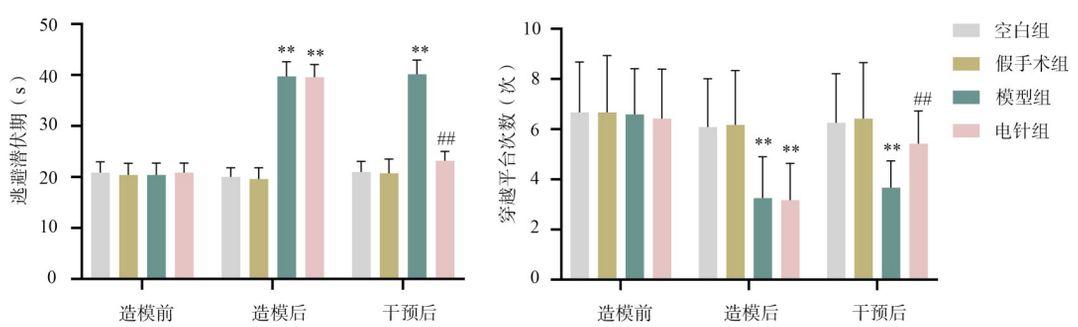
2　结果

2.1　水迷宫实验

模型组、电针组造模结束后，相较空白组、假手术组逃避潜伏期延长、穿越平台次数减少（$P<0.01$）。电针干预后，模型组较空白组、假手术组潜伏期延长、穿越平台次数减少（$P<0.01$）；电针组较模型组潜伏期缩短、穿越平台次数增加（$P<0.01$）。双因素方差分析显示，逃避潜伏期造模前后（因素1）与分组（因素2）之间存在交互作用（F交互＝124.0，$P<0.000\ 1$；$F1=213.1$，$P<0.000\ 1$；$F2=217.3$，$P<0.000\ 1$）；穿越平台次数时间与分组之间存在交互作用（F交互＝5.69，$P<0.000\ 1$；$F1=25.40$，$P<0.000\ 1$；$F2=4.85$，$P<0.001$），见图1。

2.2　各组海马神经元形态比较

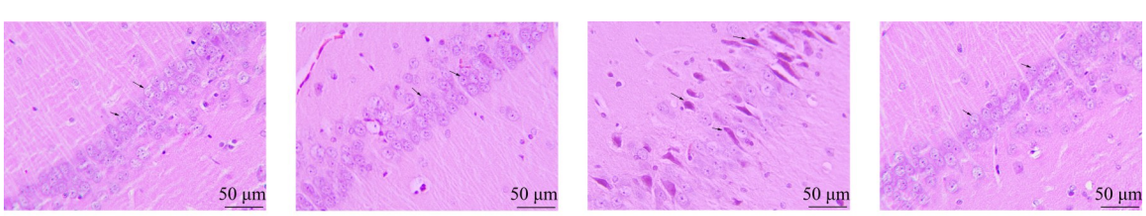
H&E染色结果显示，空白组及假手术组海马神经元结构完整，细胞排列规整、结构正常，染色均匀；模型组海马神经元排列松散，层次结构模糊，部分神经元胞体萎缩、深染，伴有核固缩及细胞间隙增宽现象。电针组较模型组海马组织损伤程度改善，细胞间隙缩小，细胞排列相对整齐，细胞核形态正常、核固缩深染现象减轻，染色较均匀，见图2。



与空白组、假手术组比，$^{**}P<0.01$；与模型组比，$^{\#\#}P<0.01$，$n=12$

图1　各组大鼠逃避潜伏期、穿越平台次数比较

Fig 1　Comparative analysis of escape latency and platform crossings



标尺：50 μm，箭头：神经元胞体，模型组箭头：神经元胞体萎缩、深染

图2　各组大鼠海马神经元形态比较（H&E染色，×200）

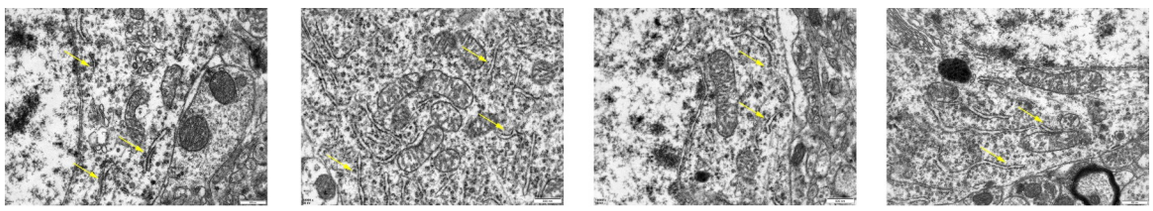
Fig 2　Comparison of hippocampal neuronal morphology among groups（H&E staining，×200）

2.3　各组海马神经细胞内质网形态比较

空白组及假手术组内质网形态完整呈平行排列的扁平囊状结构，无肿胀扩张，胞质面可见核糖体附着；模型组部分内质网呈扩张状，部分内质网膜连续性中断，出现内质网膜溶解现象，伴随核糖体脱颗粒；电针组较模型组内质网扩张程度减轻，内质网膜溶解及核糖体脱颗粒情况减少，见图3。

2.4　免疫组化检测各组蛋白表达比较

与空白组、假手术组比较，模型组内质网应激相关蛋白GRP78、ATF4、CHOP蛋白阳性表达增加（$P<0.01$），且p-PERK/PERK及p-eIF2α/eIF2α比值升高（$P<0.01$），下游TXNIP及NLRP3阳性表达增加（$P<0.05$）；电针干预后，上述指标表达改善，电针组较模型组GRP78、ATF4、CHOP、TXNIP及

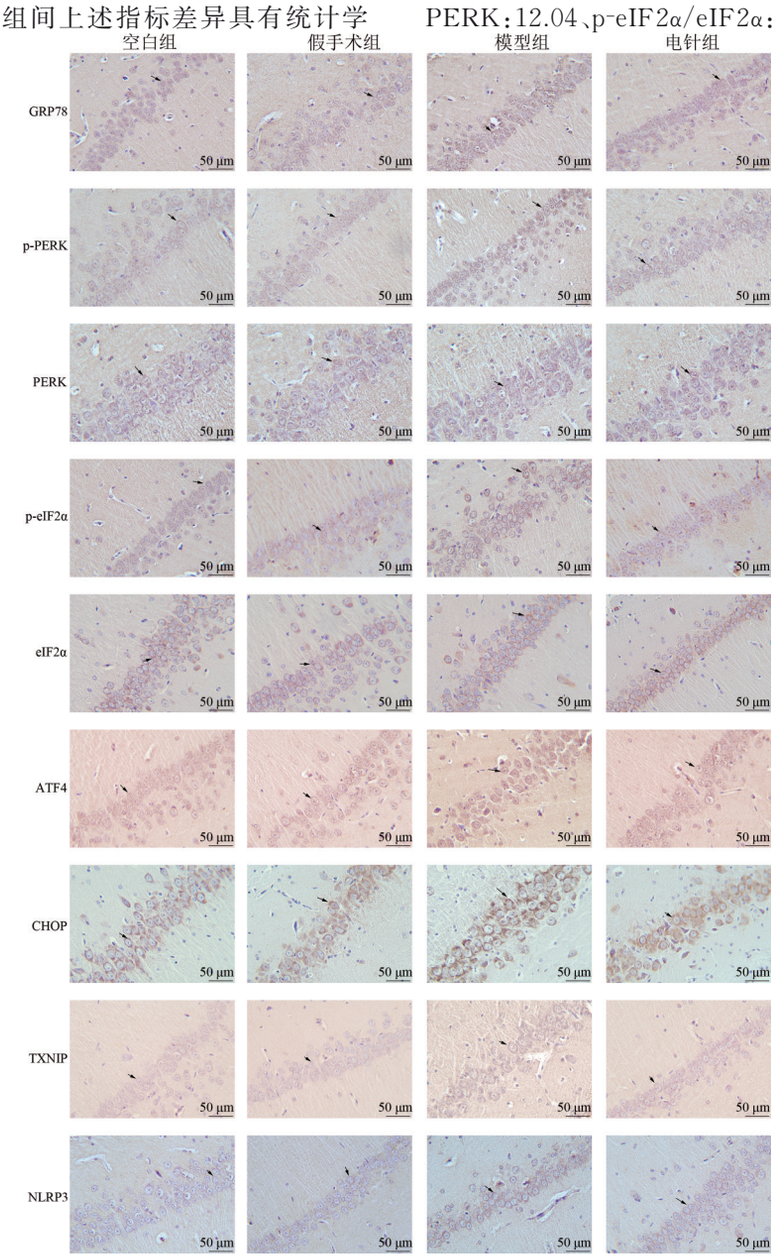


标尺：500 nm，箭头：内质网

图 3　各组大鼠海马神经元细胞内质网形态比较（透射电镜，×10 000）

Fig 3　Comparison of endoplasmic reticulum morphology in hippocampal neurons among groups (Transmission electron microscopy, ×10 000)

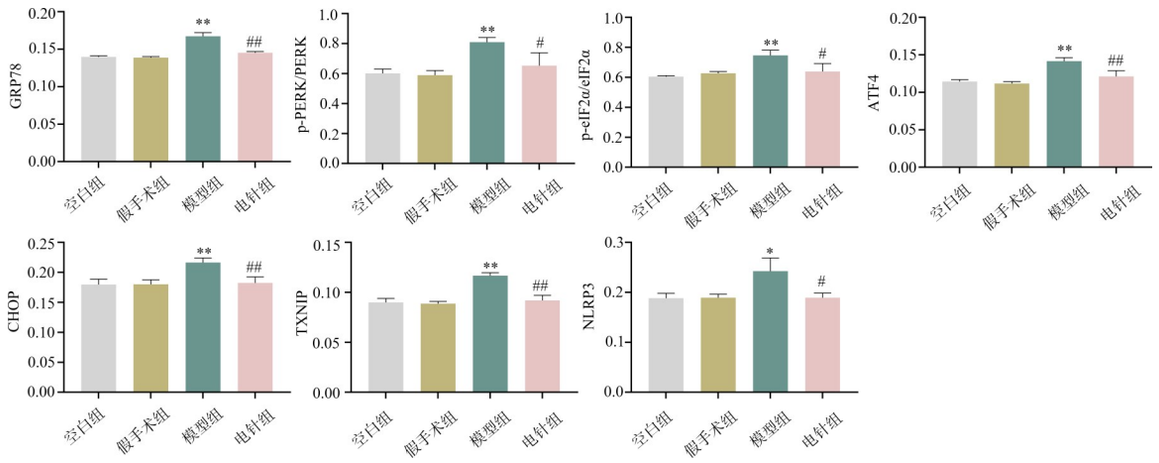
NLRP3蛋白阳性表达减少（$P<0.05$），p-PERK/PERK及p-eIF2α/eIF2α比值降低（$P<0.05$）。单因素方差分析显示，各组间上述指标差异具有统计学意义（F：GRP78：73.25、ATF4：24.47、CHOP：12.73、TXNIP：38.09、NLRP3：9.17、p-PERK/PERK：12.04、p-eIF2α/eIF2α：1.47），见图4、5。



标尺：50 μm，黑色箭头：阳性表达

图 4　各组大鼠海马组织蛋白阳性表达比较（IHC，×200）

Fig 4　Protein expression in the hippocampus across experimental groups (IHC, ×200)



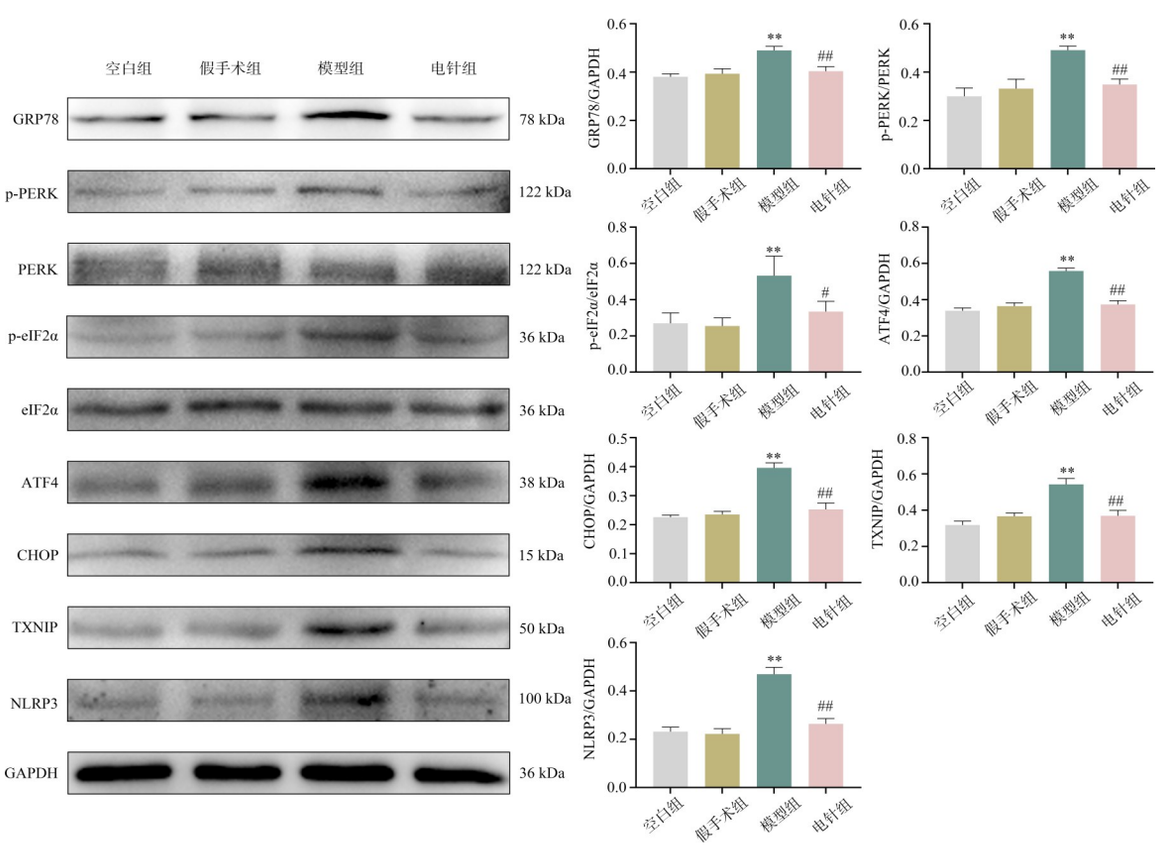
与空白组、假手术组相比，$^{**}P<0.01$、$^{*}P<0.05$；与模型组相比，$^{\#\#}P<0.01$，$^{\#}P<0.05$，$n=6$

图 5　各组大鼠海马组织蛋白阳性表达比较统计

Fig 5　Statistical comparison of protein-positive expression in hippocampal tissue among groups

2.5　Western bolt检测海马组织中蛋白表达比较

与空白组、假手术组比较，模型组内质网应激相关蛋白GRP78、ATF4、CHOP蛋白表达增加（$P<0.01$），且p-PERK/PERK及p-eIF2α/eIF2α比值升高（$P<0.01$），下游TXNIP及NLRP3表达增加（$P<0.01$）；电针干预后，上述指标表达改善，电针组较模型组GRP78、ATF4、CHOP、TXNIP及NLRP3蛋白表达减少（$P<0.01$），p-PERK/PERK及p-eIF2α/eIF2α比值降低（$P<0.01$，$P<0.05$）。单因素方差分析显示，各组间上述指标差异具有统计学意义（F：GRP78：24.40、ATF4：96.87、CHOP：81.16、TXNIP：42.80、NLRP3：77.35、p-PERK/PERK：24.55、p-eIF2α/eIF2α：9.69），见图6。



与空白组、假手术组相比，$^{**}P<0.01$；与模型组相比，$^{\#\#}P<0.01$、$^{\#}P<0.05$，$n=6$

图 6　各组大鼠海马组织蛋白表达比较

Fig 6　Comparison of protein expression in hippocampal tissue among groups

3 讨论

VD属祖国医学“痴呆”、“中风”范畴,病机为肾虚髓亏,痰瘀阻络。其可能由全脑或局部脑区长期慢性低灌注引起的缺血、缺氧诱发[11],同时VD患者常患有其他合并症,由此导致本病的发病机制及病理过程更为复杂,目前尚未建立国际认可的标准化治疗方案[12]。相关研究表明电针可能通过多种途径如神经炎症、神经元凋亡、突触可塑性及自噬等方面,对神经系统疾病认知障碍起保护作用[13]。

课题组前期通过量表评估认知功能并检测血管平均血流速度证实,电针“风池”、“四神聪”对VD患者具有临床意义[14],并成功建立动物模型,发现电针“风池”、“四神聪”可降低VD大鼠海马神经元兴奋性毒性[15]、增加突触可塑性[16]、改善神经炎症并减轻海马神经细胞焦亡程度。胆经“风池”穴位于后枕部上连脑窍,针刺刺激可上传脑部,起通利气机、疏通经络之效,其解剖学定位临椎动脉,针之可改善后循环供血[17],从而改善脑细胞缺血缺氧环境并促进侧支循环形成[18]。“四神聪”为经外奇穴,临督脉与膀胱经,具有醒神益智之效,位于与思维、记忆、精神相关的额、颞、顶皮质区,对改善前循环血流量、保护中枢神经系统具有积极意义[19]。

本研究采用改良4-VO法成功建立VD模型,可有效复制慢性脑灌注不足引起的认知功能障碍情况[20]。本研究中模型组大鼠表现出明显的空间学习记忆障碍,逃避潜伏期延长,穿越平台次数减少,同时海马神经元细胞损伤、排列紊乱,内质网出现肿胀扩张、膜溶解及核糖体脱颗粒等结构改变,提示VD状态下存在海马神经元损伤和内质网应激。内质网是真核细胞中最大的细胞器之一,参与蛋白质的合成、折叠及各种类型修饰,如寡聚化、N-连接糖基化、二硫键形成等。与胞质溶胶相比,内质网保持更高的钙浓度和更强的氧化还原电位,这种独特的环境和功能的维持需要消耗大量能量[21]。海马体尤其是CA1区在学习、记忆和信息检索的认知过程中起主导作用,也是对缺血缺氧最敏感的大脑功能区。因此,保护海马神经元及内质网结构完整性,对缓解VD认知损害具有重要意义。电针干预后,大鼠学习记忆能力明显改善,海马神经元排列趋于规整,内质网结构完整性得到保护,仇蓉蓉等[22]研究也证实,电针可以改善VD模型大鼠海马神经细胞损伤,保护内质网结构完整性,表明电针在VD海马神经保护中发挥积极作用。

近年来内质网在VD中的作用已经得到证实,Yuan等[23]发现VD大鼠神经细胞中内质网应激相关蛋白表达升高,并通过体内外研究证实由PERK介导的内质网应激通路诱导了神经元死亡。在VD中,脑缺血缺氧等因素可引起内质网应激,导致蛋白质的正确折叠和翻译后修饰被阻碍,致使未折叠或错误折叠蛋白逐渐积累。为应对这一状况,UPR激活,它是内质网中协调细胞转录和翻译过程的适应性机制,通过阻止蛋白质合成、修复及降解缺陷蛋白质,达到恢复蛋白质稳态的目的[24]。

UPR主要由3种膜驻留蛋白介导:PERK、活化转录因子6(ATF6)和肌醇酶-1(IRE1),在生理状态下,分子伴侣GRP78结合并抑制PERK等跨膜蛋白,使其处于失活状态;当未折叠蛋白积累时,GRP78转而结合这些异常蛋白,从而解除对PERK等的抑制[25]。PERK作为关键激酶,其胞质结构域感应未成熟蛋白积累的刺激后,激酶结构域发生自磷酸化被激活,进而磷酸化eIF2α降低蛋白质合成速率及翻译进程,同时选择性激活ATF4进一步平衡蛋白质折叠需求和容量[26]。当适应性UPR调节失败时,ATF4促进转录因子CHOP的表达,进而推动细胞死亡[27]。该通路在神经元损伤中的作用,在脑缺血再灌注损伤模型中得到直接印证,该研究发现内质网应激标志物及其下游靶标蛋白表达上调,进一步诱导神经元死亡[28]。此外一项VD研究直接揭示了慢性内质网功能障碍与记忆、认知损害的高度相关性,提示抑制内质网应激对保护VD大鼠神经损伤具有重要意义[29]。本研究对内质网应激相关蛋白表达进行检测,结果显示,电针可明显降低VD状态下GRP78、p-PERK/PERK、p-eIF2α/eIF2α、ATF4和CHOP的表达,提示电针能够缓解VD大鼠海马组织的内质网稳态失衡,抑制PERK通路的过度激活。

多项证据表明[30-32],内质网应激与细胞焦亡之间存在密切关联。CHOP作为内质网应激的关键转录因子,可上调TXNIP的表达。TXNIP在内质网应激与NLRP3炎症小体激活之间提供了关键连接:一方面,TXNIP可直接与NLRP3结合,促进炎症小体组装,进而招募凋亡相关斑点样蛋白(ASC)及胱天蛋白酶-1(caspase-1)[33];TXNIP可通过穿梭至线粒体,导致活性氧积累,并氧化线粒体特异性硫氧还蛋白Trx2,破坏Trx2-TXNIP结合,从而间接激活NLRP3炎症小体[34]。一项缺血性卒中研究发现,损伤及内质网应激诱导剂能引起TXNIP表达增加,影响下游NLRP3与caspase-1表达[35];江静等[36]证实,当TXNIP表达被抑制时,NLRP3炎症小体激活下调,且电针干预可降低两者共定位水平;

Wang等[31]的研究从药理学角度为此通路提供了反向验证，发现药物TUG-891可通过抑制内质网应激，阻断焦亡激活及炎症发生，发挥神经保护作用。

NLRP3炎症小体的激活是诱发细胞焦亡的核心机制，其可通过激活caspase-1剪切焦孔素D(GSDMD)导致细胞膜被破坏，释放白细胞介素-1β(IL-1β)、白细胞介素-18(IL-18)等促炎因子，执行细胞焦亡程序[37]。相关阿尔兹海默症模型研究表明，应用内质网应激抑制剂可减轻海马细胞焦亡，且该过程与认知功能改善密切相关[38]。本研究结果显示，模型组大鼠海马组织中TXNIP与NLRP3表达明显升高，与前期观察到的NLRP3炎症小体激活及细胞焦亡现象一致[7]。而电针干预后，TXNIP与NLRP3的表达明显降低，结合前期研究中电针可降低NLPR3、ASC、caspase-1、GSDMD和IL-1β、IL-18的表达[7]，表明电针可能通过抑制内质网应激下调TXNIP的表达，进而阻断其与NLRP3的结合，抑制NLRP3炎症小体的组装与激活，最终阻遏神经细胞焦亡的发生。

综上，电针“四神聪”、“风池”穴可能通过PERK/TXNIP/NLRP3通路，减轻内质网应激水平，进而抑制海马神经细胞焦亡过程。该机制有助于保护神经元，改善VD大鼠学习与记忆功能。本研究基于前期课题组研究，探讨电针是否通过内质网应激改善VD大鼠神经细胞焦亡，然而本研究未设置相关抑制剂及激动剂对照，存在局限性，后续将展开深入研究，进一步验证电针对内质网应激介导细胞焦亡的影响机制，以及该通路与其他信号通路之间的相互作用。

作者贡献度说明：

赵红旭：实验执行、数据整理及论文初稿撰写；陈英华：实验设计与总体规划；孙玮、吴彤、陈虹旭、王浩宇：实验操作及指标检测；韩玉生：实验指导。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

1 Smith EE. Clinical presentations and epidemiology of vascular dementia[J]. Clin Sci, 2017, 131(11): 1059-1068.

2 Mok VCT, Cai Y, Markus HS. Vascular cognitive impairment and dementia: Mechanisms, treatment, and future directions[J]. Int J Stroke, 2024, 19(8): 838-856.

3 Chen Y, Wang H, Sun Z, et al. Effectiveness of acupuncture for patients with vascular dementia: A systematic review and meta-analysis [J]. Complement Ther Med, 2022, 70: 102857.

4 Li G, Shi Y, Zhang L, et al. Efficacy of acupuncture in animal models of vascular dementia: A systematic review and network meta-analysis[J]. Front Aging Neurosci, 2022, 14: 952181.

5 Fan LL, Fang H, Zheng JY, et al. Taohong Siwu decoction alleviates cognitive impairment by suppressing endoplasmic reticulum stress and apoptosis signaling pathway in vascular dementia rats[J]. J Ethnopharmacol, 2024, 333: 118407.

6 蔡元钦，向阳，龙清华，等. 苁蓉散减轻阿尔茨海默病模型大鼠认知障碍和神经炎症：内质网应激与NLRP3炎症小体机制[J]. 中国中药杂志，2025，50(7)：1881-1888.
Cai YQ, Xiang Y, Long QH, et al. Congrong San ameliorates cognitive impairment and neuroinflammation in rat model of Alzheimer's disease by alleviating endoplasmic reticulum stress to inhibit NLRP3 inflammasome activation[J]. Chin J Chin Mater Med, 2025, 50(7): 1881-1888.

7 孙玮，陈英华，宋元毓，等. 基于NLRP3/Caspase-1/GSDMD通路探讨电针“四神聪”“风池”改善血管性痴呆大鼠认知功能障碍的作用机制[J]. 海南医学院学报，2024，30(21)：1607-1616.
Sun W, Chen YH, Song YY, et al. Study on the mechanism of electroacupuncture "Sishencong" and "Fengchi" to improve cognitive dysfunction in rats with vascular dementia based on NLRP3/Caspase-1/GSDMD pathway[J]. J Hainan Med Univ, 2024, 30(21): 1607-1616.

8 孙玮，陈英华，宋元毓，等. 电针调控乳酸介导缺氧诱导因子-1α信号通路抑制炎性反应改善血管性痴呆大鼠认知功能障碍[J]. 针刺研究，2024，49(10)：1010-1018.
Sun W, Chen YH, Song YY, et al. Electroacupuncture improves cognitive function by modulating hippocampal lactate-mediated HIF-1α signaling pathway and inhibiting inflammation response in vascular dementia rats[J]. Acupunct Res, 2024, 49(10): 1010-1018.

9 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位第2部分：大鼠[J]. World J Acupunct Moxibust, 2025, 35(2): 163-165.
China Association of Acupuncture and Moxibustion. Nomenclature and location of acupuncture points for laboratoryanimals Part 2: Rat[J]. World J Acupunct Moxibust, 2025, 35(2): 163-165.

10 Othman MZ, Hassan Z, Che Has AT. Morris water maze: A versatile and pertinent tool for assessing spatial learning and memory[J]. Exp Anim, 2022, 71(3): 264-280.

11 Tian Z, Ji X, Liu J. Neuroinflammation in vascular cognitive impairment and dementia: Current evidence, advances, and prospects[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(11): 6224.

12 Morgan AE, Mc Auley MT. Vascular dementia: From pathobiology to emerging perspectives[J]. Ageing Res Rev, 2024,96:102278.

13 Xin Y, Zhou S, Chu T, et al. Protective role of electroacupuncture against cognitive impairment in neurological diseases[J]. Curr Neuropharmacol, 2025, 23(2): 145-171.

14 陈英华,孙忠人,杜文秀,等.电针四神聪和风池穴治疗血管性认知障碍临床研究[J].上海针灸杂志,2013,32(4):245-247.
Chen YH, Sun ZR, Du WX, et al. Clinical study of electroacupuncture at points Sishencong and Fengchi for the treatment of vascular dementia [J]. Shanghai J Acupunct Moxibust, 2013,32(4):245-247.

15 宋元毓,陈英华,孙玮,等.电针"风池""四神聪"介导NMDAR/CREB/BDNF信号通路改善血管性痴呆大鼠的学习记忆障碍[J].中国针灸,2024,44(12):1409-1417.
Song YY, Chen YH, Sun W, et al. Exploration of electroacupuncture at "Fengchi" (GB 20) and "Sishencong" (EX-HN 1) for attenuating learning and memory impairment in vascular dementia rats based on NMDAR/CREB/BDNF signaling pathway [J]. Chin Acupunct Moxibust,2024,44(12):1409-1417.

16 王浩宇,陈英华,孙玮,等.基于NT-3/TrkC信号通路探讨电针对血管性痴呆大鼠海马突触可塑性及炎症因子的影响[J].海南医科大学学报,2025,31(10):739-749.
Wang HY, Chen YH, Sun W, et al. Exploration of electroacupuncture on synaptic plasticity and inflammatory factors in the hippocampus of vascular dementia rats based on the NT-3/TrkC signaling pathway[J]. J Hainan Med Univ,2025,31(10):739-749.

17 朱路文,高维滨,陈秋欣,等.中风后吞咽障碍颈项部针刺技术操作规范——中国康复医学会针灸技术与康复专业委员会[J/OL].康复学报,1-6[2026-10-27].https://link.cnki.net/urlid/35.1329.R.20250318.1146.002.
Zhu LW, Gao WB, Chen QX, et al. Technical operation specification for neck acupuncture in the treatment of post-stroke dysphagia—Professional Committee of Acupuncture and Rehabilitation Technology, Chinese Rehabilitation Medicine Association [J/OL]. Rehabilitat Med, 1-6 [2026-10-27]. https://link. cnki. net/urlid/35.1329. R. 20250318.1146.002.

18 吴柯玫,秦鹏,韩江秦,等.风池穴治疗缺血性卒中后吞咽障碍的研究进展[J].上海针灸杂志,2024,43(12):1403-1409.
Wu KM, Qin P, Han JQ, et al. Research progress on Fengchi (GB20) in the treatment of post-ischemic stroke dysphagia[J]. Shanghai J Acupunct Moxibust, 2024, 43(12):1403-1409.

19 王肖煜,谷文龙,李书颖,等.石学敏"百会、四神聪深纳久留"治疗卒中相关失眠应用浅析[J].针灸临床杂志,2023,39(11):92-96.
Wang XY, Gu WL, Li SY, et al. Analysis on "DU20 and EX-HN1 deep needling and long retention" acupuncture in treatment of stroke-related insomnia by TCM master SHI Xuemin [J]. J Clin Acupunct Moxibust,2023,39(11):92-96.

20 宋元毓,陈英华,李俊峰,等.血管性痴呆动物模型的研究概述[J].中国比较医学杂志,2023,33(12):75-85.
Song YY, Chen YH, Li JF, et al. A review of animal models of vascular dementia[J]. Chin J Comparat Med, 2023,33(12):75-85.

21 Merighi A, Lossi L. Endoplasmic reticulum stress signaling and neuronal cell death[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(23):15186.

22 仇蓉蓉,张泓,邓畅,等.电针对血管性痴呆大鼠海马活性氧-NOD样受体蛋白3炎性通路及自噬相关蛋白的影响[J].针刺研究,2022,47(4):298-304.
Qiu RR, Zhang H, Deng C, et al. Effects of electroacupuncture on ROS-NLRP3 inflammatory pathway and autophagy related proteins in hippocampus of vascular dementia rats[J]. Acupunct Res, 2022, 47(4): 298-304.

23 Yuan FY, Ju C, Zang CX, et al. Gardenia jasminoides extract GJ-4 alleviates memory deficiency of vascular dementia in rats through PERK-mediated endoplasmic reticulum stress pathway[J]. Am J Chin Med, 2023, 51(1):53-72.

24 Celik C, Lee SYT, Yap WS, et al. Endoplasmic reticulum stress and lipids in health and diseases[J]. Prog Lipid Res, 2023,89:101198.

25 Chen X, Shi C, He M, et al. Endoplasmic reticulum stress: Molecular mechanism and therapeutic targets[J]. Signal Transduct Target Ther, 2023,8(1):352.

26 Smedley GD, Walker KE, Yuan SH. The Role of PERK in understanding development of neurodegenerative diseases[J]. Int J Mol Sci, 2021,22(15):8146.

27 Singh R, Kaur N, Choubey V, et al. Endoplasmic reticulum stress and its role in various neurodegenerative diseases[J]. Brain Res, 2024,1826:148742.

28 Du QH, Liu YQ, Guo JL. DDX3X promotes endoplasmic reticulum protein reprogramming *via* interaction with ERN1 to amplify cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. Eur J Med Res, 2025,30(1):538.

29 Niu XL, Jiang X, Xu GD, et al. DL-3-n-butylphthalide alleviates vascular cognitive impairment by regulating endoplasmic reticulum stress and the Shh/Ptch1 signaling-pathway in rats[J]. J Cell Physiol, 2019,234(8):12604-12614.

30 Zhao G, Zhao J, Lang J, et al. Activation of NFE2L2 alleviates endoplasmic reticulum stress-mediated pyroptosis in murine hippocampus: A bioinformatics analysis and experimental validation[J]. Mol Neurobiol, 2025,62(2):1894-1903.

31 Wang HX, Liu C, Li YY, et al. TUG-891 inhibits neuronal endoplasmic reticulum stress and pyroptosis activation and protects neurons in a mouse model of intraventricular hemorrhage[J]. Neural Regen Res, 2023, 18(10):2278-2284.

32 Ding R, Ou W, Chen C, et al. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress contribute to neuronal pyroptosis caused by cerebral venous sinus thrombosis in rats: Involvement of TXNIP/peroxynitrite-NLRP3 inflammasome activation[J]. Neurochem Int, 2020,141:104856.

33 Choi EH, Park SJ. TXNIP: A key protein in the cellular stress response pathway and a potential therapeutic target[J]. Exp Mol Med, 2023,55(7):1348-1356.

34 Park SJ, Kim Y, Li C, et al. Blocking CHOP-dependent TXNIP shuttling to mitochondria attenuates albuminuria and mitigates kidney injury in nephrotic syndrome[J]. PNAS, 2022,119(35):e2116505119.

35 Zheng J, Liao Y, Xu Y, et al. Icariin attenuates ischaemic stroke through suppressing inflammation mediated by endoplasmic reticulum stress signalling pathway in rats[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2022,49(7):719-730.

36 江静,张小卿,曹锐,等.基于ROS-TXNIP-NLRP3信号通路研究电针对脑缺血再灌注大鼠星形胶质细胞活化的作用机制[J].中华中医药学刊,2025,43(7):162-167,306-308.
Jiang J, Zhang XQ, Cao R, et al. Mechanism of electroacupuncture intervention on activation of astrocytes in brain ischemia-reperfusion rats based on ROS-TXNIP-NLRP3 signaling pathway[J]. Chin Arch Tradit Chin Med,2025,43(7):162-167,306-308.

37 Lu Y, Cheng L, Xiong Y, et al. NLRP3 inflammasome in vascular dementia: Regulatory mechanisms, functions, and therapeutic implications: A comprehensive review[J]. CNS Neurosci Ther, 2025,31(5):e70403.

38 Duan K, Qin C, Zhang Y, et al. Scorpion venom heat-resistant synthetic peptide regulates Nrf-2 to alleviate neuronal pyroptosis in an AD model induced by endoplasmic reticulum stress under PM 2.5 exposure[J]. Toxicon, 2025:108504.

[本文编辑] 朱 昊