

# 基于FOXO3/Sirt1通路探讨槲皮素对腰椎间盘突出症大鼠椎间盘退变的影响<sup>△</sup>

肖博文\*, 彭 聪, 张森伟(荆州市中心医院疼痛科, 湖北 荆州 434000)

中图分类号 R285;R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)01-0049-06  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.01.09



**摘要** 目的 研究槲皮素(QUE)对腰椎间盘突出症(LDH)大鼠椎间盘退变的影响,并基于叉头框蛋白O3/沉默信息调节因子1(FOXO3/Sirt1)通路探讨其作用机制。方法 构建LDH大鼠模型,将造模成功的大鼠随机分为LDH组(灌胃+腹腔注射等体积生理盐水)、QUE-L组(灌胃50 mg/kg的QUE+腹腔注射等体积生理盐水)、QUE-H组(灌胃100 mg/kg的QUE+腹腔注射等体积生理盐水)、QUE-H+EX-527(Sirt1抑制剂)组(灌胃100 mg/kg的QUE+腹腔注射1 mg/kg的EX-527溶液),每组12只;另取12只正常健康大鼠作为Control组(灌胃+腹腔注射等体积生理盐水)。每天给药1次,连续8周。末次给药后,检测大鼠疼痛阈值、血清中炎症因子水平,观察大鼠椎间盘组织病理损伤,检测大鼠椎间盘组织髓核细胞凋亡情况,检测大鼠椎间盘组织中基质金属蛋白酶3(MMP-3)、磷脂酶A2(PLA2)以及凋亡、FOXO3/Sirt1通路相关蛋白表达。结果 与LDH组比较,QUE-L组、QUE-H组大鼠椎间盘组织病理损伤显著改善;机械缩足反射阈值、热刺激缩足反射潜伏期,血清中转化生长因子 $\beta_1$ 、白细胞介素10(IL-10)水平,椎间盘组织中B细胞淋巴瘤2(Bcl-2)、FOXO3、Sirt1蛋白的相对表达量均显著升高/延长( $P<0.05$ );血清中肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平,椎间盘组织病理评分,髓核细胞凋亡率,椎间盘组织中MMP-3、PLA2的阳性表达率和Bcl-2相关X蛋白的相对表达量均显著降低( $P<0.05$ );与QUE-H组比较,QUE-H+EX-527组大鼠椎间盘组织病理损伤加重,以上指标的变化趋势均发生了显著逆转( $P<0.05$ )。结论 QUE可改善LDH大鼠椎间盘退变,其机制可能与激活FOXO3/Sirt1通路有关。

**关键词** 槲皮素;腰椎间盘突出症;叉头框蛋白O3;沉默信息调节因子1;凋亡

## Exploration of the effects of quercetin on intervertebral disc degeneration in lumbar intervertebral disc herniation rats based on the FOXO3/Sirt1 pathway

XIAO Bowen, PENG Cong, ZHANG Senwei (Dept. of Pain Medicine, Jingzhou Central Hospital, Hubei Jingzhou 434000, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To investigate the effects of quercetin (QUE) on intervertebral disc degeneration in rats with lumbar intervertebral disc herniation (LDH) and explore its mechanism based on the forkhead box protein O3/silent information regulator 1 (FOXO3/Sirt1) pathway. **METHODS** A rat model of LDH was established. The successfully modeled rats were randomly divided into LDH group (gavaged with and intraperitoneally injected with an equal volume of normal saline), QUE-L group (gavaged with 50 mg/kg QUE+intraperitoneally injected with an equal volume of normal saline), QUE-H group (gavaged with 100 mg/kg QUE+intraperitoneally injected with an equal volume of normal saline), and QUE-H+EX-527 (a Sirt1 inhibitor) group (gavaged with 100 mg/kg QUE+intraperitoneally injected with 1 mg/kg EX-527), with 12 rats in each group. Additionally, 12 healthy normal rats were selected as the control group (gavaged with and intraperitoneally injected with an equal volume of normal saline). All rats were administered the corresponding agents once daily for consecutive 8 weeks. After the final administration, the pain threshold and serum levels of inflammatory factors in rats were measured; pathological damage of lumbar intervertebral disc tissue was observed, the apoptosis of nucleus pulposus cells in lumbar intervertebral disc tissue was assessed, and the expression levels of matrix metalloproteinase-3 (MMP-3), phospholipase A2 (PLA2), as well as apoptosis-related proteins and FOXO3/Sirt1 pathway-related proteins in intervertebral disc tissue were determined. **RESULTS** Compared with LDH group, pathological damage of intervertebral disc tissue were improved significantly in QUE-L group and QUE-H group; paw withdrawal mechanical threshold, paw withdrawal thermal latency, the serum levels of transforming growth factor- $\beta_1$  and interleukin-10 (IL-10) as well as the expression levels of B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), FOXO3 and Sirt1 were significantly increased or prolonged ( $P<0.05$ ). Serum levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ , histopathological score of intervertebral disc tissue, apoptotic rate of nucleus pulposus cells, positive expressions of MMP-3 and PLA2 in intervertebral disc tissue and expression levels of Bcl-2 associated X protein were significantly decreased ( $P<0.05$ ). Compared with the QUE-H group, the QUE-H+EX-527 group presented aggravated pathological damage of intervertebral disc tissue, and the trends of all the above indicators were significantly reversed ( $P<0.05$ ). **CONCLUSIONS** QUE can ameliorate intervertebral

<sup>△</sup>基金项目 2024年度荆州市科技计划项目(No.2024HD08)

\* 第一作者 主治医师, 硕士。研究方向: 脊柱退变。E-mail: zvrpnd@163.com

disc degeneration in LDH rats, and its mechanism may be related to the activation of the FOXO3/Sirt1 pathway.

**KEYWORDS** quercetin; lumbar intervertebral disc herniation; FOXO3; Sirt1; apoptosis

腰椎间盘突出症(lumbar intervertebral disc herniation, LDH)是一种多发于成年人的椎间盘退行性疾病,主要是由于椎间盘的髓核通过纤维环移位对神经元造成压迫,进而出现下背痛、臀腿疼痛、神经功能障碍等症状,严重影响患者生活质量<sup>[1]</sup>。目前,临床针对LDH主要以药物治疗、物理因子治疗、牵引、针灸及运动康复疗法等非手术治疗为主。多数患者经规范化非手术治疗后症状可得到缓解,但对症状持续进展甚至出现神经功能障碍的患者,则需进一步采取手术干预。然而,由于患者对治疗响应程度不同,整体治疗效果仍有待进一步提高<sup>[2]</sup>。因此,深入阐明LDH病理进展机制,筛选可靠靶点并制定更加有效的干预策略,已成为当前骨科与脊柱外科领域研究重点。

椎间盘退变是LDH的核心病理特征,而髓核细胞凋亡是椎间盘退变的重要诱因<sup>[3]</sup>。叉头框蛋白O3(forkhead box protein O3, FOXO3)/沉默信息调节因子1(silent information regulator 1, Sirt1)通路参与调控炎症、氧化应激、凋亡、自噬、代谢等多种生物学进程,在包括神经退行性疾病在内的多种疾病的发展进程中发挥重要作用,激活FOXO3/Sirt1通路可抑制髓核细胞凋亡、减缓椎间盘退变进展<sup>[4]</sup>。这提示,有效调控该通路可能有助于改善该类患者治疗结局。

槲皮素(quercetin, QUE)作为天然黄酮类化合物,具有抗炎、抗氧化、抗凋亡、保护神经等多种生物活性;近年来研究发现,其可通过抑制髓核细胞炎症反应维持细胞外基质稳态,减缓椎间盘退变进展<sup>[5]</sup>。另有研究显示,QUE可通过激活Sirt1途径抑制氧化应激、减少炎症反应、恢复线粒体功能<sup>[6]</sup>。以上研究提示,QUE可能通过激活FOXO3/Sirt1通路,发挥抑制髓核细胞凋亡、改善椎间盘退变的作用。基于此,本研究构建LDH大鼠模型,从炎症反应、细胞凋亡及信号通路调控角度出发,基于FOXO3/Sirt1通路探讨QUE对LDH大鼠椎间盘退变的保护作用及机制,为进一步明确QUE在LDH中的应用前景及分子机制提供参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

Velocity 18R Plus型离心机购自天美仪拓实验室设备(上海)有限公司;DYCZ-24EN型蛋白电泳仪购自北京六一仪器厂;EnVision型酶标仪购自瑞孚迪生物医学(上海)有限公司;TGel Image System型凝胶成像系统购自天根生化科技(北京)有限公司;LSM880型共聚焦显微镜、JUNG CM1800型切片仪均购自德国Zeiss公司;YD-6D型包埋机购自金华市益迪医疗设备有限公司;TS-Q50型脱水机购自湖北泰禾医用仪器有限公司。

### 1.2 主要药品与试剂

本研究所用的主要药品与试剂有:QUE对照品(上海睿安生物科技有限公司,批号Q4951,纯度 $\geq 95\%$ ),Sirt1抑制剂EX-527对照品(美国MedChemExpress公司,批号HY-15452,纯度99.85%),肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 $1\beta$ (interleukin- $1\beta$ , IL- $1\beta$ )酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(上海酶研生物科技有限公司,批号分别为EK-R38696、EK-R30172),转化生长因子 $\beta_1$ (transforming growth factor- $\beta_1$ , TGF- $\beta_1$ )、IL-10 ELISA试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,批号分别为ml002856、ml037371),TUNEL染色试剂盒、苏木精-伊红(HE)染色试剂盒、RIPA裂解液(上海碧云天生物技术有限公司,批号分别为C1086、C0105M、P0013B),兔抗B细胞淋巴瘤2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, BAX)、基质金属蛋白酶3(matrix metalloproteinase-3, MMP-3)、FOXO3、Sirt1多克隆抗体(武汉菲恩生物科技有限公司,批号分别为FNab00839、FNab00809、FNab05244、FNab03202、FNab07877),鼠抗磷脂酶A2(phospholipase A2, PLA2)单克隆抗体(英国Abcam公司,批号ab180469),辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔、山羊抗鼠免疫球蛋白G(IgG)二抗(美国Cell Signaling Technology公司,批号分别为7074、7076)。

### 1.3 动物

本研究所用动物为7~8周龄、体重180~220 g的SPF级健康SD雄性大鼠,共62只,购自武汉万千佳兴生物科技有限公司,动物生产许可证号为SCXK(鄂)2021-0011。将大鼠置于标准SPF级饲养环境中适应性饲养1周后用于实验研究。本研究已获得武汉万千佳兴生物科技有限公司动物伦理委员会审批(批号为2024121504)。

## 2 方法

### 2.1 LDH大鼠模型构建

将50只SPF级健康SD雄性大鼠适应性饲养1周后,参考相关文献<sup>[7]</sup>,采用自体髓核移植法构建LDH模型。具体操作如下:以戊巴比妥钠将大鼠麻醉,按俯卧位固定,腰背部备皮消毒,暴露L5和L6神经根,再将大鼠尾部纵向切开,刀尖横向插入纤维环取出尾椎髓核,并将其置于L5和L6神经根形成机械压迫,然后填入适量的吸收性明胶海绵,缝合伤口,红外灯照射1 h促进伤口愈合。另取12只大鼠作为对照组(Control组),行假手术,即仅暴露L5、L6神经根,切除尾部髓核不移植,其余操作同造模大鼠。若造模大鼠出现跛行、瘫痪、足外翻等运动障碍症状,而且后足疼痛阈值(检测方法同

“2.3”项下)显著低于Control组,则表明造模成功<sup>[8]</sup>。本研究共48只大鼠造模成功,失败2只。

## 2.2 动物分组与给药

将造模成功的48只大鼠随机分为LDH组、QUE-L组、QUE-H组和QUE-H+EX-527组,每组12只。QUE-L组、QUE-H组大鼠分别灌胃50、100 mg/kg的QUE<sup>[9]</sup>并腹腔注射等体积生理盐水;QUE-H+EX-527组大鼠灌胃100 mg/kg的QUE+腹腔注射1 mg/kg的EX-527溶液<sup>[10]</sup>;LDH组与Control组大鼠分别灌胃+腹腔注射等体积生理盐水;每天给药1次,连续8周。本研究应用的药物QUE及EX-527,均采用ddH<sub>2</sub>O配制母液(超声20 min助溶),并用生理盐水稀释至实验所需浓度。大鼠的灌胃体积为10 mL/kg。

## 2.3 大鼠疼痛阈值检测

末次给药结束,固定大鼠并使其保持安静,施力使Von Frey纤维丝垂直刺激大鼠后足表面,使纤维丝呈“S”形弯曲并持续6~8 s,若大鼠出现撤足、舔爪、嚎叫为阳性反应,将此时的最小刺激强度记为机械缩足反射阈值(paw withdrawal mechanical threshold, PWMT)。重复测定3次(每次测定间隔2 min),取平均值。

待PWMT测定结束,让大鼠休息15 min后,固定大鼠并使其保持安静。将大鼠后足置于热痛仪上方的玻璃板上,给予10~15 s热刺激,若大鼠出现缩足、足趾张开为阳性反应。记录大鼠从开始刺激到出现阳性反应的时间,即为热刺激缩足反射潜伏期(paw withdrawal thermal latency, PWTL)。热刺激上限时间为20 s,若超过20 s按20 s计。重复测定3次(每次测定间隔5 min),取平均值。

## 2.4 大鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、TGF- $\beta_1$ 、IL-10水平检测

采用ELISA法检测。疼痛阈值检测结束后,腹腔注射过量戊巴比妥钠麻醉大鼠并于腹主动脉取血,低温离心取上清液,按照相应ELISA试剂盒说明书操作,检测血清中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、TGF- $\beta_1$ 、IL-10水平。

## 2.5 大鼠椎间盘组织病理损伤观察

采用HE染色法观察。取血结束后,颈部脱臼处死大鼠,取第4~5腰椎椎间盘组织。将部分椎间盘组织低温冻存,备用。将另一部分椎间盘组织置于4%多聚甲醛中固定,然后浸蜡包埋制备3  $\mu$ m厚石蜡切片,二甲苯脱蜡至水,行HE染色。清洗后,干燥封片,采用光学显微镜观察染色图像并参考相关文献方法<sup>[9]</sup>对病理损伤进行评分,以评估椎间盘组织损伤程度(每组选6个样本进行观察)。

## 2.6 大鼠椎间盘组织髓核细胞凋亡检测

采用TUNEL染色法观察。取“2.5”项下椎间盘组织石蜡切片(每组随机取6个样本),经二甲苯脱蜡、梯度乙醇脱水后,用去离子水浸泡洗涤,使组织完全被水浸润;随后,滴加适量蛋白酶K工作液在37  $^{\circ}$ C下孵育15~30

min。将切片转入磷酸盐缓冲液(PBS)中,于摇床上低速轻轻洗涤3次(每次5 min)。吸干PBS,滴加3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>溶液,在室温下避光孵育20 min。PBS洗涤3次(每次5 min),按照试剂盒说明书操作,添加TUNEL染液,在37  $^{\circ}$ C下孵育1 h,加入DAPI染核。冲洗后,在显微镜下观察切片(细胞核呈蓝色,凋亡细胞呈绿色),计算细胞凋亡率。细胞凋亡率(%)=凋亡细胞数/总细胞数 $\times$ 100%。

## 2.7 大鼠椎间盘组织中MMP-3、PLA2表达检测

采用免疫组化染色法检测。取“2.5”项下椎间盘组织石蜡切片(每组随机取6个样本),脱蜡至水,灭活后封闭,然后加入MMP-3和PLA2对应的一抗(稀释比例均为1:200),4  $^{\circ}$ C孵育过夜;次日,将一抗洗去并加入二抗(稀释比例为1:500),在37  $^{\circ}$ C下孵育1 h;DAB显色,苏木精复染,脱水透明封片。待封片结束后,将组织切片置于显微镜下观察并拍照(阳性区域呈棕黄色颗粒或块状)。采用Image J软件计算MMP-3和PLA2对应的阳性细胞数与总细胞数的百分比,以此表示MMP-3和PLA2在椎间盘组织中的阳性表达率。

## 2.8 大鼠椎间盘组织中BAX、Bcl-2、FOXO3、Sirt1蛋白表达检测

采用Western blot法检测。取“2.5”项下冻存的椎间盘组织(每组随机取6个样本),于液氮中研碎后,加入预冷的蛋白裂解液在冰上充分裂解,离心取上清液,提取组织中总蛋白并定量。将蛋白煮沸变性,随后进行10%SDS-PAGE电泳(初始电压为80 V,然后更换为120 V电压继续电泳;电泳时间为1 h),湿法转于NC膜上(恒流250 mA,转膜时间为1.5 h),用5%脱脂牛奶封闭。添加对应一抗稀释液(BAX、Bcl-2、FOXO3、Sirt1的稀释比例均为1:1 000, $\beta$ -actin的稀释比例为1:2 000),于4  $^{\circ}$ C下孵育过夜;次日,洗去一抗,添加对应二抗(稀释比例为1:10 000),于37  $^{\circ}$ C下孵育1 h。结束后,洗去条带上的二抗,添加ECL发光液,曝光后检测。采用Image J软件分析条带灰度值,以目的蛋白条带与内参( $\beta$ -actin)蛋白条带灰度值的比值表示目的蛋白的相对表达量。

## 2.9 统计学方法

采用SPSS 25.0软件分析数据。计量资料符合正态分布的用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用SNK-*q*检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 3 结果

### 3.1 大鼠后足疼痛阈值检测结果

与Control组比较,LDH组大鼠PWMT、PWTL均显著降低/缩短( $P<0.05$ );与LDH组比较,QUE-L组、QUE-H组大鼠PWMT、PWTL均显著升高/延长( $P<0.05$ ),且QUE-H组大鼠上述指标显著高于/长于QUE-L组( $P<0.05$ );与QUE-H组比较,QUE-H+EX-527组大鼠PWMT、PWTL均显著降低/缩短( $P<0.05$ )。结果见表1。

表1 各组大鼠后足疼痛阈值比较( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

组别	PWMT/g	PWTL/s
Control组	31.59 ± 3.25	15.06 ± 1.63
LDH组	10.25 ± 1.09 <sup>a</sup>	6.21 ± 0.71 <sup>a</sup>
QUE-L组	20.14 ± 2.17 <sup>b</sup>	9.87 ± 1.03 <sup>b</sup>
QUE-H组	30.63 ± 3.22 <sup>bc</sup>	14.35 ± 1.54 <sup>bc</sup>
QUE-H+EX-527组	21.48 ± 2.23 <sup>d</sup>	9.94 ± 1.06 <sup>d</sup>

a: 与Control组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与LDH组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与QUE-L组比较,  $P < 0.05$ ; d: 与QUE-H组比较,  $P < 0.05$ 。

### 3.2 大鼠血清中炎症因子水平检测结果

与Control组比较, LDH组大鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平均显著升高( $P < 0.05$ ), TGF- $\beta_1$ 、IL-10水平均显著降低( $P < 0.05$ ); 与LDH组比较, QUE-L组、QUE-H组大鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平均显著降低( $P < 0.05$ ), TGF- $\beta_1$ 、IL-10水平均显著升高( $P < 0.05$ ), 且QUE-H组大鼠血清中上述指标较QUE-L组变化更明显( $P < 0.05$ ); 与QUE-H组比较, QUE-H+EX-527组大鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平均显著升高( $P < 0.05$ ), TGF- $\beta_1$ 、IL-10水平均显著降低( $P < 0.05$ )。结果见表2。

### 3.3 大鼠椎间盘组织病理损伤观察结果

Control组大鼠椎间盘组织结构正常, 纤维环结构完整, 髓核细胞形态完整、排列有序, 病理评分为0分; LDH组大鼠椎间盘组织病理损伤严重, 纤维环破裂, 髓核细胞皱缩、数量减少且排列紊乱, 病理评分[(4.36 ± 0.54)分;  $\bar{x} \pm s (n=6)$ , 下同]显著升高( $P < 0.05$ )。与LDH组

表2 各组大鼠血清中炎症因子水平比较( $\bar{x} \pm s, n=12$ , pg/mL)

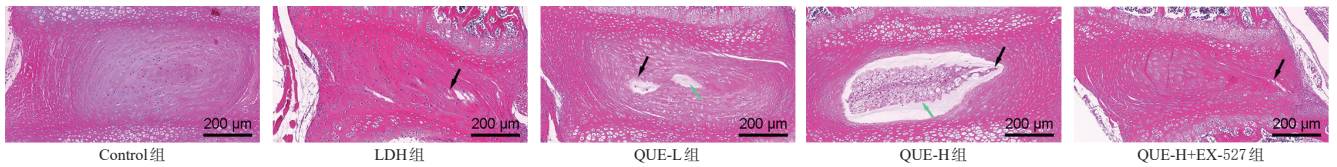
组别	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$	TGF- $\beta_1$	IL-10
Control组	43.29 ± 4.45	26.17 ± 2.79	542.45 ± 60.37	657.43 ± 83.21
LDH组	162.51 ± 17.82 <sup>a</sup>	87.45 ± 8.92 <sup>a</sup>	267.56 ± 32.43 <sup>a</sup>	346.59 ± 45.32 <sup>a</sup>
QUE-L组	115.63 ± 12.33 <sup>b</sup>	60.59 ± 6.18 <sup>b</sup>	351.37 ± 39.12 <sup>b</sup>	482.16 ± 61.27 <sup>b</sup>
QUE-H组	58.37 ± 6.03 <sup>bc</sup>	29.72 ± 3.07 <sup>bc</sup>	487.69 ± 51.83 <sup>bc</sup>	574.81 ± 65.45 <sup>bc</sup>
QUE-H+EX-527组	108.21 ± 11.56 <sup>d</sup>	58.14 ± 5.93 <sup>d</sup>	324.12 ± 36.25 <sup>d</sup>	434.65 ± 47.38 <sup>d</sup>

a: 与Control组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与LDH组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与QUE-L组比较,  $P < 0.05$ ; d: 与QUE-H组比较,  $P < 0.05$ 。

比较, QUE-L组、QUE-H组大鼠椎间盘组织病理损伤显著改善, 病理评分[分别为(3.21 ± 0.47)、(2.15 ± 0.36)分]均显著降低( $P < 0.05$ ), 且QUE-H组大鼠病理评分显著低于QUE-L组( $P < 0.05$ )。与QUE-H组比较, QUE-H+EX-527组大鼠椎间盘组织病理损伤加重, 病理评分[(3.95 ± 0.42)分]显著升高( $P < 0.05$ )。结果见图1。

### 3.4 大鼠椎间盘组织髓核细胞凋亡检测结果

与Control组比较[(2.89 ± 0.32)%;  $\bar{x} \pm s (n=6)$ , 下同], LDH组大鼠髓核细胞凋亡率[(30.14 ± 3.16)%]显著升高( $P < 0.05$ ); 与LDH组比较, QUE-L组、QUE-H组大鼠髓核细胞凋亡率[分别为(21.52 ± 2.25)%、(9.36 ± 1.04)%]均显著降低( $P < 0.05$ ), 且QUE-H组大鼠上述指标显著低于QUE-L组( $P < 0.05$ ); 与QUE-H组比较, QUE-H+EX-527组大鼠髓核细胞凋亡率[(20.17 ± 2.19)%]显著升高( $P < 0.05$ )。结果见图2。



黑色箭头: 髓核损伤部位; 绿色箭头: 髓核改善部位。

图1 各组大鼠椎间盘组织病理损伤观察图(HE染色)

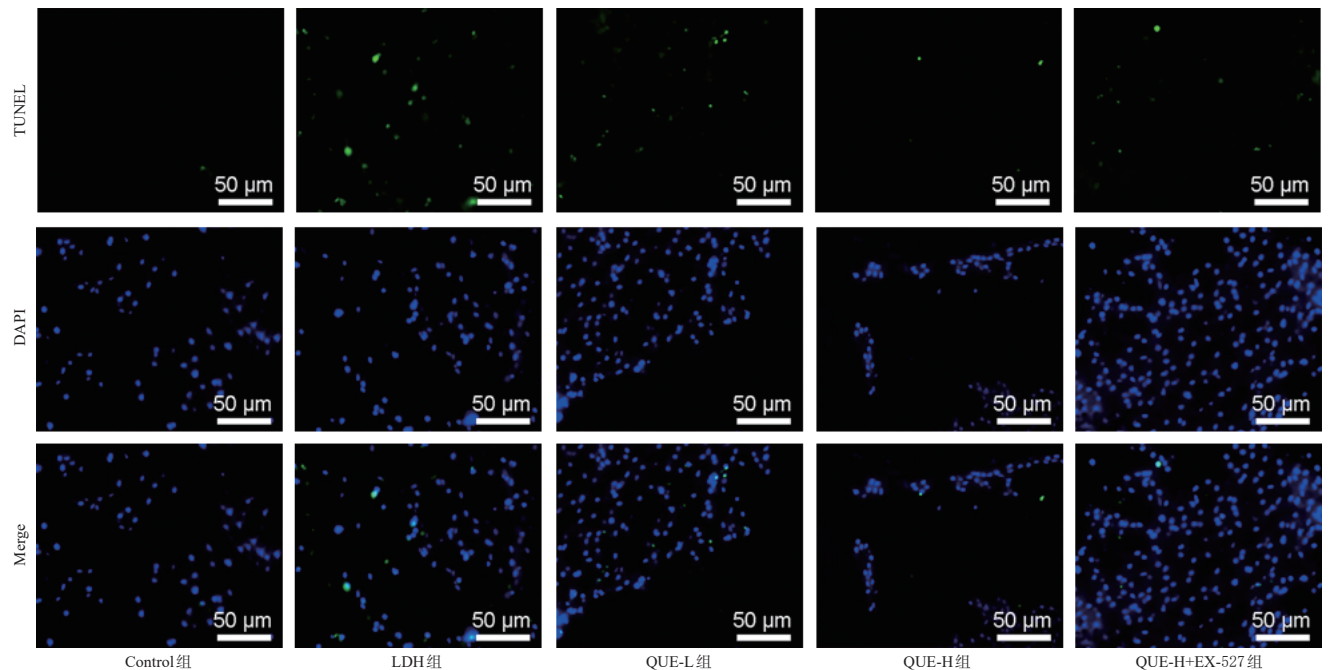


图2 各组大鼠髓核细胞凋亡情况观察图(TUNEL染色)

### 3.5 大鼠椎间盘组织中MMP-3、PLA2表达检测结果

与Control组比较,LDH组大鼠椎间盘组织中MMP-3、PLA2的阳性表达率均显著升高( $P<0.05$ );与LDH组比较,QUE-L组、QUE-H组大鼠椎间盘组织中MMP-3、PLA2的阳性表达率均显著降低( $P<0.05$ ),且QUE-H组大鼠上述指标显著低于QUE-L组( $P<0.05$ );与QUE-H组比较,QUE-H+EX-527组大鼠椎间盘组织中MMP-3、PLA2的阳性表达率均显著升高( $P<0.05$ )。结果见表3、图3。

表3 各组大鼠椎间盘组织中MMP-3、PLA2阳性表达率比较( $\bar{x} \pm s, n=6, \%$ )

组别	MMP-3	PLA2
Control组	4.51±0.47	3.74±0.39
LDH组	25.67±2.73 <sup>a</sup>	31.52±3.27 <sup>a</sup>
QUE-L组	16.33±1.74 <sup>b</sup>	20.63±2.18 <sup>b</sup>
QUE-H组	6.29±0.68 <sup>bc</sup>	8.57±0.93 <sup>bc</sup>
QUE-H+EX-527组	15.42±1.69 <sup>d</sup>	19.24±2.15 <sup>d</sup>

a: 与Control组比较,  $P<0.05$ ; b: 与LDH组比较,  $P<0.05$ ; c: 与QUE-L组比较,  $P<0.05$ ; d: 与QUE-H组比较,  $P<0.05$ 。

### 3.6 大鼠椎间盘组织中FOXO3/Sirt1通路相关蛋白表达检测结果

与Control组比较,LDH组大鼠椎间盘组织中BAX蛋白的相对表达量显著升高( $P<0.05$ ),Bcl-2、FOXO3、Sirt1蛋白的相对表达量均显著降低( $P<0.05$ );与LDH组比较,QUE-L组、QUE-H组大鼠椎间盘组织中BAX蛋白的相对表达量均显著降低( $P<0.05$ ),Bcl-2、FOXO3、Sirt1蛋白的相对表达量均显著升高( $P<0.05$ ),且QUE-H组大鼠上述指标变化较QUE-L组更明显( $P<0.05$ );与QUE-H组比较,QUE-H+EX-527组大鼠椎间盘组织中上述蛋白的相对表达量均被显著逆转( $P<0.05$ )。结果见图4、表4。

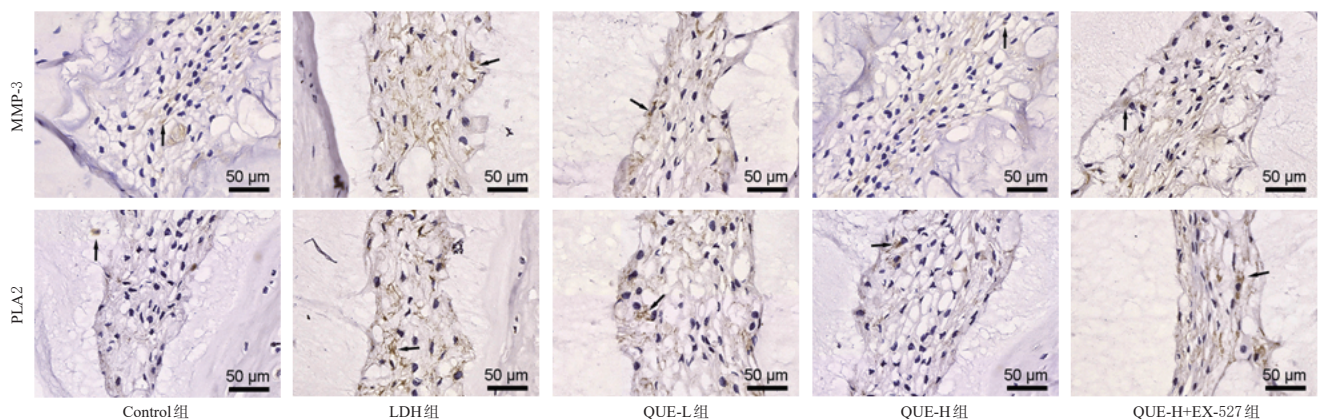
## 4 讨论

LDH具有病程易迁延的特点,严重影响患者生活质量<sup>[11]</sup>。髓核细胞凋亡引发的椎间盘退变是LDH发生的重要因素,故本研究通过自体髓核移植法构建LDH大鼠模型。结果显示,造模大鼠椎间盘组织病理损伤严重,

髓核细胞发生凋亡,血清中炎症因子(TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ )水平显著升高,PWMT、PWTL显著降低/缩短,这与LDH患者临床病理特征及相关生化指标变化具有一致性,提示造模成功,可用于后续实验研究。

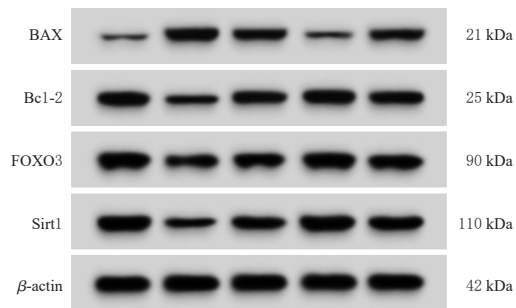
椎间盘退变的发生与炎症反应、髓核细胞凋亡、细胞外基质变性等多重因素息息相关<sup>[12]</sup>。促炎因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 可加重椎间盘退变;抗炎因子TGF- $\beta_1$ 、IL-10可改善椎间盘退变,减轻相关症状<sup>[13]</sup>。MMP-3是降解椎间盘细胞外基质的关键酶,可直接降解II型胶原和蛋白聚糖,形成级联放大效应,导致椎间盘退变加速<sup>[14]</sup>。PLA2可水解细胞膜磷脂,产生花生四烯酸等炎症介质,进一步激活炎症信号通路,加重局部炎症反应,影响椎间盘组织修复和重吸收<sup>[15]</sup>。Bcl-2、BAX可通过调节细胞凋亡影响椎间盘细胞存活和功能<sup>[16]</sup>。本研究发现,LDH模型大鼠椎间盘组织纤维环破裂,髓核细胞皱缩、排列紊乱,体内TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平及BAX、MMP-3、PLA2表达水平升高,TGF- $\beta_1$ 、IL-10水平及Bcl-2表达水平降低。QUE干预后,模型大鼠椎间盘组织病理损伤缓解,以上指标趋势均发生了逆转,表明QUE可通过抑制炎症反应、减少髓核细胞凋亡、调节细胞外基质,发挥减缓椎间盘退变的作用。

Sirt1作为一种去乙酰化酶,可通过去乙酰化调控FOXO家族成员之一的FOXO3,进而调控细胞存活、凋亡、代谢、应激反应等活动,在椎间盘退变进程中发挥重要作用。Wang等<sup>[17]</sup>的研究证实,过表达的Sirt1可通过抑制核因子 $\kappa$ B炎症通路,下调TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 表达,减轻炎症反应,并抑制细胞外基质合成,减缓小鼠椎间盘退变。Shen等<sup>[18]</sup>的研究证实,上调Sirt1、FOXO3a表达,下调MMP-3表达,可减轻炎症反应,抑制髓核细胞的细胞外基质降解,进而减缓椎间盘退变。本研究发现,LDH模型大鼠体内FOXO3、Sirt1表达下调,QUE干预后FOXO3、Sirt1表达上调。然而,在高剂量QUE基础上联合EX-527处理后,以上蛋白的表达趋势均发生了逆转,表明QUE可通过激活FOXO3/Sirt1通路改善LDH大鼠椎间盘退变。



黑色箭头:阳性表达。

图3 各组大鼠椎间盘组织中MMP-3、PLA2表达的观察图(免疫组化染色)



A: Control组; B: LDH组; C: QUE-L组; D: QUE-H组; E: QUE-H+EX-527组。

图4 各组大鼠椎间盘组织中FOXO3/Sirt1通路相关蛋白的电泳图

表4 各组大鼠椎间盘组织中FOXO3/Sirt1通路相关蛋白的相对表达量比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	BAX/ $\beta$ -actin	Bcl-2/ $\beta$ -actin	FOXO3/ $\beta$ -actin	Sirt1/ $\beta$ -actin
Control组	0.22 $\pm$ 0.03	0.92 $\pm$ 0.10	1.15 $\pm$ 0.13	1.06 $\pm$ 0.12
LDH组	0.80 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	0.41 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	0.60 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	0.49 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>
QUE-L组	0.56 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	0.62 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	0.82 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	0.70 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>
QUE-H组	0.29 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	0.87 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	1.11 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>	0.96 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>
QUE-H+EX-527组	0.51 $\pm$ 0.06 <sup>d</sup>	0.65 $\pm$ 0.07 <sup>d</sup>	0.84 $\pm$ 0.09 <sup>d</sup>	0.72 $\pm$ 0.08 <sup>d</sup>

a: 与Control组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与LDH组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与QUE-L组比较,  $P < 0.05$ ; d: 与QUE-H组比较,  $P < 0.05$ 。

综上所述, QUE可减缓LDH大鼠椎间盘退变, 其作用机制可能与激活FOXO3/Sirt1通路有关。然而, 本研究未设置阳性对照组来评估QUE效果是此次探究的不足, 后续笔者会优化方案, 纳入阳性对照药物进一步探究QUE在LDH治疗中的应用价值。

### 参考文献

[1] ZHANG A S, XU A, ANSARI K, et al. Lumbar disc herniation: diagnosis and management[J]. Am J Med, 2023, 136(7):645-651.

[2] WONG T, PATEL A, GOLUB D, et al. Prevalence of long-term low back pain after symptomatic lumbar disc herniation[J]. World Neurosurg, 2023, 170:163-173.e1.

[3] SAMUELLE-LEICHTAG G, EISENBERG E, ZOHAR Y, et al. Mechanism underlying painful radiculopathy in patients with lumbar disc herniation[J]. Eur J Pain, 2022, 26(6):1269-1281.

[4] HAO Y J, REN Z N, YU L, et al. p300 arrests intervertebral disc degeneration by regulating the FOXO3/Sirt1/Wnt/ $\beta$ -catenin axis[J]. Aging Cell, 2022, 21(8):e13677.

[5] WU X Y, PAN Q H, YAO C, et al. Therapeutic potential of quercitrin in intervertebral disc degeneration: targeting pyroptosis and inflammation[J]. Int Immunopharmacol, 2025, 156:114680.

[6] CUI Z F, ZHAO X T, AMEVOR F K, et al. Therapeutic application of quercetin in aging-related diseases: SIRT1 as a potential mechanism[J]. Front Immunol, 2022, 13:943321.

[7] 王前亮, 陈建澎, 王元斌, 等. circ05188靶向miR-199a-

5p参与腰椎间盘突出症模型大鼠痛觉高敏的机制[J]. 中国组织工程研究, 2025, 29(20):4230-4238.

[8] 刘建, 叶玉军, 刘树民, 等. 基于p38 MAPK信号通路分析咪达唑仑对腰椎间盘突出症模型大鼠疼痛的影响[J]. 中国骨伤, 2023, 36(1):55-60.

[9] ZHANG S W, LIANG W D, ABULIZI Y, et al. Quercetin alleviates intervertebral disc degeneration by modulating p38 MAPK-mediated autophagy[J]. Biomed Res Int, 2021, 2021:6631562.

[10] 安方玉, 颜春鲁, 孙柏, 等. 藤黄健骨胶囊通过SIRT1/NF- $\kappa$ B/NLRP3信号通路调节绝经后骨质疏松大鼠破骨细胞分化[J]. 中国病理生理杂志, 2023, 39(11):2044-2052.

[11] HINCAPIÉ C A, KROISMAYR D, HOFSTETTER L, et al. Incidence of and risk factors for lumbar disc herniation with radiculopathy in adults: a systematic review[J]. Eur Spine J, 2025, 34(1):263-294.

[12] XIA Q Q, ZHAO Y, DONG H Z, et al. Progress in the study of molecular mechanisms of intervertebral disc degeneration[J]. Biomed Pharmacother, 2024, 174:116593.

[13] CHEN X L, WANG W, CUI P, et al. Evidence of MRI image features and inflammatory biomarkers association with low back pain in patients with lumbar disc herniation[J]. Spine J, 2024, 24(7):1192-1201.

[14] GONG Y H, QIU J X, JIANG T, et al. Maltol ameliorates intervertebral disc degeneration through inhibiting PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B pathway and regulating NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis[J]. Inflammopharmacology, 2023, 31(1):369-384.

[15] JIN Y M, MAO G F, YANG C, et al. Establishment of a new model of lumbar intervertebral disc degeneration with pathological characteristics[J]. Global Spine J, 2023, 13(4):984-994.

[16] LI Z H, TANG Y L, WANG L H, et al. Tetrahedral framework nucleic acids-based delivery of microRNA-155 alleviates intervertebral disc degeneration through targeting Bcl-2/Bax apoptosis pathway[J]. Cell Prolif, 2024, 57(11):e13689.

[17] WANG P, YANG C C, LU J H, et al. Sirt1 protects against intervertebral disc degeneration induced by 1, 25-dihydroxyvitamin D insufficiency in mice by inhibiting the NF- $\kappa$ B inflammatory pathway[J]. J Orthop Translat, 2023, 40:13-26.

[18] SHEN M K, LI K K, WANG L L, et al. ZIP4 upregulation aggravates nucleus pulposus cell degradation by promoting inflammation and oxidative stress by mediating the HDAC4-FoxO3a axis[J]. Aging (Albany NY), 2024, 16(1):685-700.

(收稿日期:2025-08-25 修回日期:2025-12-16)

(编辑:林静)