柴胡加龙骨牡蛎汤含药血清对癫痫细胞模型炎性损伤的影响及机制Δ

单　萍[1*]，孙　纯[1]，张继龙[2#]（1.武汉市第一医院神经内科，武汉　430022；2.武汉市第一医院急诊科，武汉　430022）

中图分类号　R285.5；R742.1　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2026）21-2827-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2026.21.10

摘　要　目的　基于干扰素基因刺激因子（STING）/TANK结合激酶1（TBK1）/干扰素调节因子3（IRF3）通路，探究柴胡加龙骨牡蛎汤（CLMT）含药血清对癫痫细胞模型炎性损伤的影响及潜在机制。**方法**　取雄性Wistar大鼠，分别以生理盐水和12 g/（kg·d）的CLMT灌胃，制备空白血清和CLMT含药血清。将大鼠海马神经元分为正常对照组，模型组，CLMT低、高浓度含药血清组，CLMT高浓度含药血清+STING激活剂组。除正常对照组外，其余各组均以无镁离子细胞外液培养3 h以构建癫痫细胞模型；随后，正常对照组和模型组细胞以空白血清处理24 h，CLMT低、高浓度含药血清组细胞分别以5%、10% CLMT含药血清处理24 h，CLMT高浓度含药血清+STING激活剂组细胞以10% CLMT含药血清+100 μg/mL的STING激活剂DMXAA处理24 h。检测各组细胞的存活率、凋亡率，细胞培养液中炎症因子（白细胞介素1β、白细胞介素6、肿瘤坏死因子α）水平，以及细胞中凋亡[B细胞淋巴瘤2（Bcl-2）、Bcl-2相关X蛋白（Bax）]、通路（STING、TBK1、IRF3）相关蛋白的表达情况。**结果**　与模型组比较，CLMT低、高浓度含药血清组细胞的存活率和Bcl-2蛋白的表达均显著升高或上调，其凋亡率、炎症因子水平、Bax和STING蛋白的表达、Bax/Bcl-2以及TBK1、IRF3蛋白的磷酸化水平均显著下调或降低（$P<0.05$）；且高浓度含药血清组上述指标的改善均较低浓度含药血清组更显著（$P<0.05$）。与CLMT高浓度含药血清组比较，CLMT高浓度含药血清+STING激活剂组细胞上述指标均被显著逆转（$P<0.05$）。**结论**　CLMT含药血清可促进癫痫细胞模型存活，抑制其凋亡，减少炎性损伤；其机制可能与抑制STING/TBK1/IRF3通路激活有关。

关键词　柴胡加龙骨牡蛎汤；癫痫；炎性损伤；含药血清；STING/TBK1/IRF3通路

Effect and mechanism of Chaihu jia longgu muli tang-containing serum on inflammatory injury in an epileptic cell model

SHAN Ping[1], SUN Chun[1], ZHANG Jilong[2] (1. Dept. of Neurology, Wuhan No. 1 Hospital, Wuhan 430022, China; 2. Dept. of Emergency, Wuhan No.1 Hospital, Wuhan 430022, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To explore the effect and potential mechanism of Chaihu jia longgu muli tang (CLMT)-containing serum on inflammatory injury in an epileptic cell model based on the stimulator of interferon genes (STING)/TANK-binding kinase 1 (TBK1)/interferon regulatory factor 3 (IRF3) pathway. **METHODS** Male Wistar rats were administered either saline or 12 g/(kg·d) of CLMT via gavage to prepare blank serum and CLMT-containing serum, respectively. Rat hippocampal neurons were divided into the normal control group, model group, low- and high-concentration CLMT-containing serum groups, and high-concentration CLMT-containing serum+STING agonist group. Except for the normal control group, the epilepsy cell model was established in all other groups by culturing the cells in magnesium ion-free extracellular solution for 3 hours; subsequently, cells in the normal control and model groups were treated with blank serum for 24 hours; cells in the low- and high-concentration CLMT-containing serum groups were treated with 5% and 10% CLMT-containing serum, respectively, for 24 hours; and cells in the high-concentration CLMT-containing serum+STING agonist group were treated with 10% CLMT-containing serum+100 μg/mL DMXAA (STING agonist) for 24 hours. The cell survival rate and apoptosis rate in each group, as well as the levels of inflammatory cytokines (interleukin-1β, interleukin-6 and tumor necrosis factor-α) in the culture medium, and the expressions of proteins related to apoptosis [B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2-associated X protein (Bax)] and pathway (STING, TBK1, IRF3) in the cells were detected. **RESULTS** Compared with the model group, the cell survival rate and protein expression of Bcl-2 were significantly increased or upregulated, while the apoptosis rate, levels of inflammatory cytokines, protein expressions of Bax and STING, Bax/Bcl-2 ratio, and the phosphorylation levels of TBK1 and IRF3 were significantly decreased or downregulated in the low- and high-concentration CLMT-containing serum groups ($P<0.05$). Moreover, the improvements of the above indicators in the high-concentration group were superior to those in the low-concentration group ($P<0.05$). Compared with the high-concentration CLMT-containing serum group, the above effects were markedly reversed in the high-concentration CLMT-containing serum+STING agonist group ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** CLMT-containing serum can promote cell

Δ**基金项目** 湖北省自然科学基金面上项目（No.2024AFB1070）

＊**第一作者** 主任医师，博士。研究方向：中药复方药理、中枢神经系统疾病的中药干预机制。E-mail：danping1978d@163.com

＃**通信作者** 主任医师，硕士。研究方向：中药药理与神经炎症调控。E-mail：tdgse03@163.com

survival, inhibit apoptosis and alleviate inflammatory injury in the epileptic cell model, and its mechanism may be related to the inhibition of STING/TBK1/IRF3 pathway activation.

KEYWORDS Chaihu jia longgu muli tang; epilepsy; inflammatory injury; medicated serum; STING/TBK1/IRF3 pathway

癫痫是常见的慢性神经系统疾病，是由异常的、高度同步的脑神经元放电引起的暂时性脑功能紊乱[1]。该疾病主要表现为抽搐、意识丧失、肌肉僵硬、肌肉松弛和肌肉长时间收缩，严重影响患者的生活质量[2]。目前，癫痫的治疗手段以口服药物为主，尽管多种新的抗癫痫药物问世，但仍有部分患者无法摆脱癫痫发作的痛苦，且不得不承受抗癫痫药物的严重副作用（如头晕、嗜睡、共济失调、认知功能障碍、肝肾功能损害等）[3]。因此，学界仍有必要继续探索治疗癫痫的新靶点和有效药物。

近年来，中医在癫痫治疗中表现出显著效果。有研究显示，柴胡加龙骨牡蛎汤（Chaihu jia longgu muli tang，CLMT）可改善患者癫痫症状、降低神经细胞因子水平，对癫痫具有显著的治疗效果[4]。既往研究表明，CLMT可抑制癫痫大鼠炎症反应、减轻神经元损伤[5]，但其抗癫痫的具体机制尚未完全阐明。干扰素基因刺激因子（stimulator of interferon genes，STING）/TANK结合激酶1（TANK-binding kinase 1，TBK1）/干扰素调节因子3（interferon regulatory factor 3，IRF3）通路是先天免疫系统的重要组成部分，与帕金森病、脑梗死等多种神经系统疾病的发生发展密切相关[6-7]。既往研究显示，STING/TBK1/IRF3通路的过度激活是加剧神经元损伤的核心机制，靶向抑制该通路则可缓解神经炎症、保护神经元[8]，而CLMT具有修复神经元功能、减轻海马组织炎性损伤的药理活性[9]。鉴于神经炎症是癫痫发生发展的重要驱动因素，是STING/TBK1/IRF3通路介导神经元损伤的核心途径，也是CLMT发挥脑保护作用的重要环节[5,8-9]，本课题组推测CLMT可能通过抑制STING/TBK1/IRF3通路活化，进而减轻癫痫相关神经炎性损伤。此外，中药复方组分繁杂，将药液直接作用于体外细胞难以模拟其体内吸收、转化过程；含药血清干预是中药体外药理研究的经典手段，可体现中药复方经体内代谢后实际发挥药效的活性物质特征。基于此，本研究拟构建癫痫细胞模型，探讨CLMT含药血清对细胞炎性损伤的改善作用及潜在机制，以期为该方用于癫痫治疗提供新的实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括CytoFLUX型流式细胞仪（美国Beckman Coulter公司），CLARIOstar PLUS型多功能酶标仪（德国BMG Labtech公司），HERAcell VIOS 150i型细胞培养箱（美国Thermo Fisher Scientific公司），XDS-3型倒置生物显微镜（广州粤显光学仪器有限责任公司），Gel Doc XR+型凝胶成像仪、1658033型电泳仪（美国Bio-Rad公司）等。

1.2 主要药品与试剂

CLMT组方药材柴胡、龙骨、黄芩、生姜、铅丹、人参、桂枝、茯苓、牡蛎、半夏、大黄、大枣（批号分别为202304015、202303028、202305012、202306007、202302031、202304023、202305019、202303014、202306008、202304027、202303011、202305022，产地分别为山西、山西、河北、四川、河南、吉林、广西、云南、江苏、四川、青海、新疆）均购自我院药房，经我院药学部副主任药师邓体瑛鉴定均为真品。

STING激活剂DMXAA（对照品，批号HY-10964，纯度99.93%）购自美国MCE公司；MTS细胞增殖检测试剂盒（批号ST1009）购自上海贝博生物科技有限公司；Annexin Ⅴ-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒（批号FA101-01）购自北京全式金生物技术有限公司；Neurobasal神经元基础培养基（批号21103049）、无镁离子（Mg^{2+}）细胞外液（含氯化钠、氯化钾、碳酸氢钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、葡萄糖，浓度依次为137、5.4、4.2、0.3、0.4、5.6 mmol/L，pH7.2～7.4；批号14170120）、B-27神经细胞培养添加剂（批号17504044）均购自美国Thermo Fisher Scientific公司；白细胞介素1β（interleukin-1β，IL-1β）、IL-6、肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒（批号分别为RE1074R、RE3186R、RE1060R）均购自瑞迪生物科技（武汉）有限公司；ECL发光液（批号BD-ECL-2026-001）购自碧迪医疗器械（上海）有限公司；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）、STING、磷酸化TBK1（phosphorylated TBK1，p-TBK1）、TBK1、磷酸化IRF3（phosphorylated IRF3，p-IRF3）、IRF3、甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）抗体和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G（IgG）二抗（批号分别为T40051、T40056、MA8145、TA8190、TB2320、PC9278、TD6895、TT0004、M212115）均购自艾比玛特医药科技（上海）有限公司。

1.3 实验动物与细胞

SPF级雄性Wistar大鼠[生产许可证号为SCXK（鄂）2023-0021，体重为（200±20）g]购自武汉云克隆动物有限公司，饲养于温度（22±2）℃、相对湿度（55±5）%、每12 h光/暗循环的环境下，自由摄食、饮水。大鼠海马神经元（批号MZ-659）购自宁波明舟生物科技有限公司。本实验在武汉云克隆动物有限公司完成，实验方案经该公司动物伦理委员会批准，批号为DWLL-2025100195。

2 方法

2.1 CLMT药液制备

取CLMT组方药材（柴胡12 g，龙骨、黄芩、生姜、铅丹、人参、桂枝、茯苓、牡蛎各4.5 g，半夏6 g，大枣6枚），

混合，加水至没过药材约2 cm，浸泡30 min，以大火煮沸后转文火煎煮20 min；随后，加入大黄6 g，继续煎煮10 min，过滤，收集滤液。药渣再加8倍量水，煮沸后转文火煎煮15 min，过滤。合并两次滤液，于60 ℃下浓缩，制得质量浓度为1.725 mg/mL（以生药量计）的CLMT药液，经冷却、离心、过滤后分装、保存，备用。

2.2 含药血清制备

将大鼠随机分为对照组和中药组，每组20只。其中，中药组大鼠灌胃CLMT药液12 g/(kg·d)[5]，对照组大鼠灌胃等体积生理盐水，每天1次，连续1周（两组大鼠所处饲养环境、干预时长、操作流程均完全一致）。末次给药2 h后，将各组大鼠麻醉，于腹主动脉取血。血样经离心后，分别获得CLMT含药血清（中药组）与空白血清（对照组）。将所得血清置于56 ℃水浴中灭活30 min，再经0.22 μm无菌滤器过滤后分装，于－80 ℃下保存，备用。

2.3 细胞培养及癫痫细胞模型建立

将大鼠海马神经元接种于含2% B-27的Neurobasal培养基（后称“正常培养基”）中，培养10 d后，将其分为正常对照组（C组），模型组（M组），CLMT低、高浓度含药血清组（CLMT-L、CLMT-H组），CLMT高浓度含药血清+ STING激活剂组（CLMT-H+DMXAA组），每组设置6个复孔。C组细胞以正常培养基培养，其余各组细胞经无Mg^{2+}细胞外液孵育3 h以构建癫痫细胞模型（若M组细胞存活率较C组显著降低且炎症因子分泌显著增多，则提示模型构建成功[10]）；随后，C组和M组细胞均以10%空白血清处理24 h，CLMT-L、CLMT-H组细胞分别以5%、10%的CLMT含药血清处理24 h[11]，CLMT-H+DMXAA组细胞以10%的CLMT含药血清和100 μg/mL的DMXAA处理24 h[12]。

2.4 细胞存活率检测

取对数生长期细胞，按照“2.3”项下方法分组（另设置不含细胞、不含药物的空白组）、造模、处理。处理24 h后，每孔加入MTS试剂10 μL；孵育4 h后，使用酶标仪于490 nm波长处检测各孔的光密度（OD）值并计算细胞存活率[细胞存活率＝（实验组OD值－空白组OD值）/（C组OD值－空白组OD值）×100%]。

2.5 细胞凋亡率检测

取对数生长期细胞，按照“2.3”项下方法分组、造模、处理。处理24 h后，各组细胞分别经Annexin Ⅴ试剂孵育15 min、PI试剂孵育5 min后，使用流式细胞仪检测其凋亡率。严格按照相应试剂盒说明书方法操作。

2.6 细胞炎症因子水平检测

取对数生长期细胞，按照“2.3”项下方法分组、造模、处理。处理24 h后，收集各组细胞培养液，采用ELISA法以酶标仪检测其IL-1β、IL-6、TNF-α水平。严格按照相应试剂盒说明书方法操作。

2.7 细胞中凋亡及通路相关蛋白表达检测

采用Western blot法检测。取对数生长期细胞，按“2.3”项下方法分组、造模、处理。处理24 h后，收集各组细胞，经裂解、提取总蛋白后检测总蛋白浓度。所得蛋白经金属浴变性处理后，取变性蛋白适量，进行凝胶电泳分离、转膜、封闭；洗膜后，分别加入凋亡相关蛋白一抗（Bax、Bcl-2，稀释比例均为1∶2 000）、通路相关蛋白一抗（STING、p-TBK1、TBK1、p-IRF3、IRF3，稀释比例分别为1∶1 000、1∶2 000、1∶2 000、1∶2 000、1∶2 000）、内参一抗（GAPDH，稀释比例为1∶2 000），于4 ℃下孵育过夜；洗膜后，加入相应二抗（稀释比例为1∶20 000），于37 ℃下孵育2 h；洗膜后，以ECL发光液显影，并置于凝胶成像仪中成像。使用ImageJ软件计算蛋白条带灰度值，以目的蛋白与内参蛋白的条带灰度值比值表示各目的蛋白的相对表达量，计算Bax与Bcl-2蛋白相对表达量的比值（Bax/Bcl-2），并以p-TBK1与TBK1、p-IRF3与IRF3的条带灰度值比值表示TBK1、IRF3蛋白的磷酸化水平。

2.8 统计学方法

使用SPSS 27.0软件对数据进行统计分析。实验结果以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，若差异有统计学意义则进一步采用LSD-t检验进行事后检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 CLMT含药血清对癫痫细胞模型存活的影响

与C组比较，M组细胞的存活率显著降低（$P<0.05$）；与M组比较，CLMT-L、CLMT-H组细胞的存活率均显著升高（$P<0.05$），且CLMT-H组的改善较CLMT-L组更显著（$P<0.05$）；与CLMT-H组比较，CLMT-H+DMXAA组细胞的存活率显著降低（$P<0.05$）。结果见表1。

表1 各组细胞存活率和凋亡率比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$，%）

组别	细胞存活率	细胞凋亡率
C组	97.85±8.46	5.19±0.74
M组	43.26±3.57[a]	42.36±3.81[a]
CLMT-L组	65.42±5.19[b]	30.82±4.15[b]
CLMT-H组	90.13±6.85[bc]	17.75±1.12[bc]
CLMT-H+DMXAA组	49.32±3.28[d]	38.41±4.06[d]
F	85.782	141.217
P	<0.001	<0.001

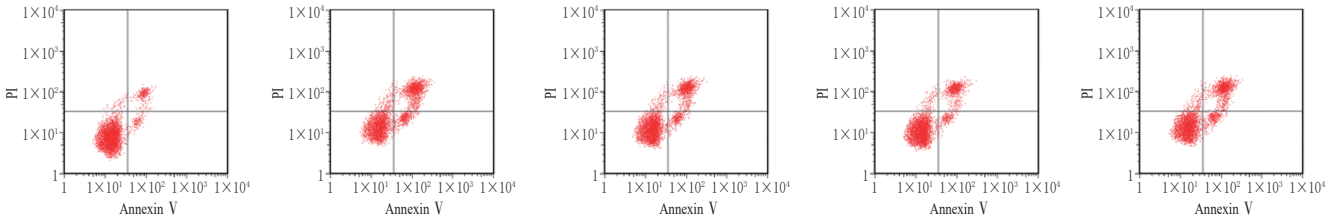
a：与C组比较，$P<0.05$；b：与M组比较，$P<0.05$；c：与CLMT-L组比较，$P<0.05$；d：与CLMT-H组比较，$P<0.05$。

3.2 CLMT含药血清对癫痫细胞模型凋亡的影响

与C组比较，M组细胞的凋亡率显著升高（$P<0.05$）；与M组比较，CLMT-L、CLMT-H组细胞的凋亡率均显著降低（$P<0.05$），且CLMT-H组的改善较CLMT-L组更显著（$P<0.05$）；与CLMT-H组比较，CLMT-H+DMXAA组细胞的凋亡率显著升高（$P<0.05$）。结果见图1、表1。

3.3 CLMT含药血清对癫痫细胞模型炎症因子水平的影响

与C组比较，M组细胞培养液中IL-1β、IL-6、TNF-α水平均显著升高（$P<0.05$）；与M组比较，CLMT-L、CLMT-H组细胞培养液中IL-1β、IL-6、TNF-α水平均显著降低（$P<0.05$），且CLMT-H组的改善较CLMT-L组更显著（$P<0.05$）；与CLMT-H组比较，CLMT-H+DMXAA



A. C组　B. M组　C. CLMT-L组　D. CLMT-H组　E. CLMT-H+DMXAA组

图1　各组细胞凋亡的流式细胞图

组细胞培养液中IL-1β、IL-6、TNF-α水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见表2。

表2　各组细胞培养液中炎症因子水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$，pg/mL）

组别	IL-1β	IL-6	TNF-α
C组	36.45±4.47	47.93±4.57	13.25±1.84
M组	132.83±14.38[a]	182.62±19.35[a]	47.82±5.16[a]
CLMT-L组	105.26±11.54[b]	155.41±12.66[b]	36.59±4.72[b]
CLMT-H组	68.37±5.29[bc]	82.39±7.18[bc]	22.61±2.43[bc]
CLMT-H+DMXAA组	119.65±10.48[d]	167.25±15.69[d]	43.74±4.98[d]
F	94.178	120.965	76.422
P	<0.001	<0.001	<0.001

a：与C组比较，$P<0.05$；b：与M组比较，$P<0.05$；c：与CLMT-L组比较，$P<0.05$；d：与CLMT-H组比较，$P<0.05$。

3.4　CLMT含药血清对癫痫细胞模型凋亡和通路相关蛋白表达的影响

3.4.1　凋亡相关蛋白

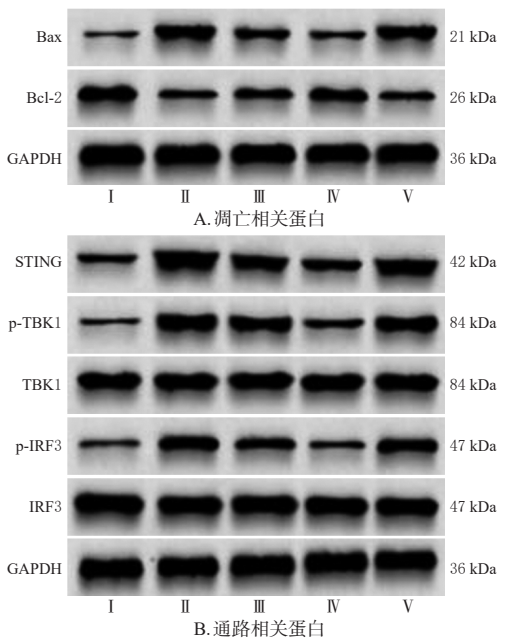
与C组比较，M组细胞中Bax蛋白的表达和Bax/Bcl-2均显著上调或升高，Bcl-2蛋白的表达显著下调（$P<0.05$）；与M组比较，CLMT-L、CLMT-H组细胞中Bax蛋白的表达和Bax/Bcl-2均显著下调或降低，Bcl-2蛋白的表达均显著上调（$P<0.05$），且CLMT-H组的改善较CLMT-L组更显著（$P<0.05$）；与CLMT-H组比较，CLMT-H+DMXAA组细胞中Bax蛋白的表达和Bax/Bcl-2均显著上调或升高，Bcl-2蛋白的表达显著下调（$P<0.05$）。结果见图2A、表3。

3.4.2　通路相关蛋白

与C组比较，M组细胞中STING蛋白的表达和TBK1、IRF3蛋白的磷酸化水平均显著上调或升高（$P<0.05$）；与M组比较，CLMT-L、CLMT-H组细胞中STING蛋白的表达和TBK1、IRF3蛋白的磷酸化水平均显著下调或降低（$P<0.05$），且CLMT-H组的改善较CLMT-L组更显著（$P<0.05$）；与CLMT-H组比较，CLMT-H+DMXAA组细胞中STING蛋白的表达和TBK1、IRF3蛋白的磷酸化水平均显著上调或升高（$P<0.05$）。结果见图2B、表3。

4　讨论

癫痫相关神经元损伤、异常炎症反应是癫痫发生发展的重要病理环节[1]。因此，抑制神经元凋亡、控制神经炎症是研究药物抗癫痫、神经保护机制的重要方向。CLMT由柴胡、人参等12味药材配伍组成，既往研究已证实该方具有抗癫痫、保护神经元的作用[13]。基于此，本研究以无Mg^{2+}细胞外液诱导的癫痫细胞模型为对象，对其潜在作用机制进行探讨。



A. 凋亡相关蛋白

B. 通路相关蛋白

Ⅰ：C组；Ⅱ：M组；Ⅲ：CLMT-L组；Ⅳ：CLMT-H组；Ⅴ：CLMT-H+DMXAA组。

图2　各组细胞中凋亡和通路相关蛋白表达的电泳图

表3　各组细胞中凋亡和通路相关蛋白表达情况比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	凋亡相关蛋白			通路相关蛋白		
	Bax	Bcl-2	Bax/Bcl-2	STING	p-TBK1/TBK1	p-IRF3/IRF3
C组	0.15±0.01	0.74±0.08	0.20±0.03	0.38±0.04	0.21±0.02	0.16±0.01
M组	0.59±0.06[a]	0.22±0.01[a]	2.68±0.32[a]	0.96±0.09[a]	0.84±0.09[a]	0.68±0.07[a]
CLMT-L组	0.41±0.05[b]	0.36±0.03[b]	1.13±0.26[b]	0.78±0.08[b]	0.65±0.06[b]	0.47±0.05[b]
CLMT-H组	0.22±0.02[bc]	0.52±0.05[bc]	0.41±0.05[bc]	0.51±0.05[bc]	0.43±0.03[bc]	0.29±0.02[bc]
CLMT-H+DMXAA组	0.51±0.05[d]	0.27±0.02[d]	1.89±0.42[d]	0.85±0.08[d]	0.77±0.08[d]	0.58±0.06[d]
F	115.648	129.961	91.687	70.476	103.608	116.687
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

a：与C组比较，$P<0.05$；b：与M组比较，$P<0.05$；c：与CLMT-L组比较，$P<0.05$；d：与CLMT-H组比较，$P<0.05$。

细胞凋亡失衡是癫痫神经元损伤的重要表现[10]。本研究的MTS及流式细胞凋亡检测结果显示，与C组比较，M组细胞的存活率显著降低，凋亡率显著升高；而CLMT含药血清可显著提升癫痫细胞模型的存活率，并显著降低其凋亡率；Western blot检测结果提示，与C组比较，M组细胞中促凋亡蛋白Bax的表达显著上调，抗凋亡蛋白Bcl-2的表达显著下调，Bax/Bcl-2显著升高；而CLMT含药血清可显著下调Bax的表达，上调Bcl-2的表达，并使Bax/Bcl-2显著降低，提示该方可促进模型细胞存活，抑制其凋亡，具有保护神经元的作用。

神经炎症可驱动神经元兴奋性升高并促进其凋亡，

是癫痫持续进展的关键因素[14]。本研究的ELISA实验结果显示，与C组比较，M组细胞培养液中IL-1β、IL-6、TNF-α水平均显著升高；而CLMT含药血清能显著降低细胞培养液中上述促炎因子水平，提示该方可通过抑制炎症应答来减轻癫痫相关神经元损伤，与既往该方抑制癫痫动物模型炎症的研究结论基本一致[5]。

STING/TBK1/IRF3通路是调控先天免疫与神经炎症的经典通路，其被激活后可驱动下游炎症因子释放，从而参与多种中枢神经系统疾病的神经元损伤过程[15－16]。既往研究证实，环鸟苷酸-腺苷酸合酶（cyclic GMP-AMP synthase，cGAS）/STING通路活化后，cGAS可催化生成第二信使环鸟苷酸-腺苷酸（cyclic GMP-AMP，cGAMP），后者可激活内质网上的STING；活化的STING可招募并激活TBK1，再由TBK1磷酸化IRF3，诱导Ⅰ型干扰素表达；若抑制STING/TBK1/IRF3通路激活，则可降低炎症因子表达，减少细胞凋亡，减轻阿尔茨海默病大鼠的神经炎症[17－19]。本研究的Western blot实验结果显示，与C组比较，M组细胞中STING蛋白的表达和TBK1、IRF3蛋白的磷酸化水平均显著上调或升高；而CLMT含药血清可显著下调STING蛋白的表达，同时降低TBK1、IRF3蛋白的磷酸化水平，提示该方可能通过抑制STING/TBK1/IRF3通路活化来发挥改善神经炎症的作用。为进一步明确通路-药效的因果关联，本研究引入STING激活剂DMXAA进行回补验证，结果显示，DMXAA可显著逆转CLMT对炎症因子、细胞凋亡及STING/TBK1/IRF3通路的抑制作用，初步证实CLMT的神经保护作用可能依赖于对STING/TBK1/IRF3通路的抑制。

综上所述，CLMT含药血清可促进癫痫细胞模型存活，抑制其凋亡，减轻炎性损伤；其机制可能与抑制STING/TBK1/IRF3通路激活有关。但本研究存在一定的局限性：本研究仅设置体外细胞模型，缺乏体内动物实验佐证该方对上述通路的调控效应；本研究未设置阳性对照，难以横向对比该方对上述通路抑制效应的强弱；CLMT为多组分复方，本研究仅验证STING/TBK1/IRF3这一条通路，其活性物质基础、是否存在其他协同调控通路，仍有待后续机制研究进一步挖掘。

利益冲突　本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Nomair A M, Mekky J F, Ali El-hamshary S, et al. Circulating miR-146a-5p and miR-132-3p as potential diagnostic biomarkers in epilepsy[J]. Epilepsy Res, 2023, 191: 107089.

[2] Li C J, Wang X Y, Deng M, et al. Antiepileptic drug combinations for epilepsy: mechanisms, clinical strategies, and future prospects[J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(9): 4035.

[3] Löscher W, White H S. Animal models of drug-resistant epilepsy as tools for deciphering the cellular and molecular mechanisms of pharmacoresistance and discovering more effective treatments[J]. Cells, 2023, 12(9): 1233.

[4] 王鑫，张小倩，阎丽媚，等. 基于脑肠轴理论探讨柴胡加龙骨牡蛎汤对癫痫患者胶质纤维酸性蛋白、神经肽Y及S100B的影响[J]. 辽宁中医杂志，2023(1)：1-5.

[5] 单萍，张继龙. 柴胡加龙骨牡蛎汤对难治性癫痫大鼠神经元损伤的影响及机制[J]. 中国药房，2025，36(6)：692-697.

[6] 郭敏，李佳，贺冠强，等. 毛蕊花糖苷调节STING/TBK1/IRF3信号通路对帕金森病小鼠神经炎症的影响[J]. 脑与神经疾病杂志，2025，33(4)：211-217.

[7] 那丽莎，陈毅超，张凯，等. 异钩藤碱对急性脑梗死大鼠认知障碍的影响及机制研究[J]. 中国脑血管病杂志，2024，21(7)：444-454.

[8] Chauhan C, Kaundal R K. Senegenin mitigates neuroinflammation, pyroptosis, and apoptosis in cerebral ischemia via inhibiting STING and downstream inflammatory pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2026, 1030: 179147.

[9] 孔怡梦，刘志勇，段成思，等. 柴胡加龙骨牡蛎汤治疗神经系统疾病的临床应用及作用机制研究进展[J]. 中国药房，2026，37(11)：1515-1520.

[10] 何频，文静，黄一. 人参皂苷Rb_1对癫痫大鼠海马神经元损伤的影响[J]. 临床神经病学杂志，2023，36(4)：289-294.

[11] 马迪，张秀静，王威，等. 柴胡加龙骨牡蛎汤含药血清调控NLRP3/Caspase-1通路介导心肌细胞焦亡的研究[J]. 现代中西医结合杂志，2023，32(2)：183-187，204.

[12] Sun J, Zhou Y Q, Xu B Y, et al. STING/NF-κB/IL-6-mediated inflammation in microglia contributes to spared nerve injury (SNI)-induced pain initiation[J]. J Neuroimmune Pharmacol, 2022, 17(3/4): 453-469.

[13] 王倩，曾培，袁莉莉，等. 柴胡加龙骨牡蛎汤调控NF-κB信号通路对癫痫大鼠神经炎症及海马神经元损伤的影响[J]. 陕西中医，2021，42(10)：1327-1332，1362.

[14] Wang G L, Wang J T, Xin C J, et al. Inflammatory response in epilepsy is mediated by glial cell gap junction pathway: review[J]. Mol Med Rep, 2021, 24(1): 493.

[15] Jiang J, Zuo M, Zhao K, et al. mtDNA leakage promotes neuron-glia crosstalk to induce epilepsy by cGAS-STING-driven neuroinflammation and serine metabolic reprogramming[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2026, 123(9): e2522313123.

[16] Duan N, Zhang Y P, Tan S W, et al. Therapeutic targeting of STING-TBK1-IRF3 signalling ameliorates chronic stress induced depression-like behaviours by modulating neuroinflammation and microglia phagocytosis[J]. Neurobiol Dis, 2022, 169: 105739.

[17] 李羽薇，张莹莹，刘妮. 山柰酚调节STING/TBK1/IRF3信号通路对阿尔茨海默病大鼠神经炎症的影响[J]. 贵州医科大学学报，2025，50(11)：1644-1651.

[18] 张君宇，余菁菁，李成龙，等. 电针对脑缺血再灌注损伤大鼠大脑皮层cGAS/STING/NLRP3通路的影响[J]. 针刺研究，2025，50(7)：773-781.

[19] Zhai J X, Wang C, Jin L, et al. Gut microbiota metabolites mediate Bax to reduce neuronal apoptosis via cGAS/STING axis in epilepsy[J]. Mol Neurobiol, 2024, 61(12): 9794-9809.

（收稿日期：2026-06-26　修回日期：2026-10-30）
（本文责编：张元媛）