

## 研究报告

# 姜黄素对大鼠脊髓损伤后微生物多样性及脊髓转录组学的影响

王青燕, 郝琴, 高慧, 张欣, 马佳蕊, 张振显, 梁家兴, 靳雅惠, 沈娟, 杨彦玲\*

延安大学延安医学院, 陕西 延安 716000

王青燕, 郝琴, 高慧, 张欣, 马佳蕊, 张振显, 梁家兴, 靳雅惠, 沈娟, 杨彦玲. 姜黄素对大鼠脊髓损伤后微生物多样性及脊髓转录组学的影响[J]. 微生物学通报, 2024, 51(11): 4712-4724.

WANG Qingyan, HAO Qin, GAO Hui, ZHANG Xin, MA Jiarui, ZHANG Zhenxian, LIANG Jiaying, JIN Yahui, SHEN Juan, YANG Yanling. Effects of curcumin on microbial diversity and transcriptomics in rats with spinal cord injury[J]. Microbiology China, 2024, 51(11): 4712-4724.

**摘要:**【背景】脊髓损伤是一种中枢神经系统的严重创伤,除了导致运动、感觉、自主神经功能障碍外,还会引起胃肠道功能障碍,不利于后续功能恢复。先前的研究表明,姜黄素对脊髓损伤具有一定的治疗作用,但姜黄素对脊髓损伤后肠道菌群是否具有调节作用及治疗相关通路鲜有报道。【目的】观察姜黄素对脊髓损伤大鼠行为学和组织形态学的影响,并利用高通量测序技术探讨姜黄素对盲肠组织微生物及其代谢产物的影响,探究姜黄素对脊髓损伤大鼠微生物多样性及脊髓转录组学的影响。【方法】将50只6-8周、220-240g左右雌性SD大鼠随机分为假手术组、脊髓损伤模型组、脊髓损伤后姜黄素低、中、高剂量给药组。假手术组无脊髓损伤,模型组和姜黄素组建立脊髓损伤模型,在脊髓损伤模型建立30min后分别腹腔注射姜黄素50、100和200mg/kg,每天1次,连续治疗1周。术后采用大鼠脊髓损伤评分(basso, beattie & bresnahan locomotor rating scale, BBB scale)量表评定运动功能;苏木精-伊红染色观察大鼠脊髓组织形态学变化;通过对16S rRNA基因的V3+V4可变区进行高通量测序,分析 $\alpha$ 及 $\beta$ 多样性、菌群的相对丰度以及短链脂肪酸含量,评估治疗前后对肠道菌群的影响。【结果】中等剂量姜黄素100mg/kg可使脊髓损伤后肢体运动功能明显改善,对受损脊髓有一定的保护和修复作用;姜黄素给药可改善脊髓损伤后微生物群多样性,提高短链脂肪酸水平;脊髓损伤后大鼠肠道菌群信号转导通路发生变化,在应用姜黄素后部分信号通路恢复表达。【结论】姜黄素可以影响脊髓损伤大鼠肠道微生物多样性并提高短

资助项目:陕西省科学技术厅一般项目(2024SF-YBXM-037);延安市科技局项目(2019ZCSY-013);延安大学研究生教育创新计划(YCX2023114)

This work was supported by the General Project of Shaanxi Provincial Department of Science and Technology (2024SF-YBXM-037), the Yan'an Science and Technology Bureau Program (2019ZCSY-013), and the Graduate Education Innovation Program of Yan'an University (YCX2023114).

\*Corresponding author. E-mail: yangyanling8889@163.com

Received: 2024-03-03; Accepted: 2024-04-25; Published online: 2024-05-21

链脂肪酸水平，对脊髓损伤大鼠具有治疗作用。

关键词：脊髓损伤；姜黄素；肠道菌群

## Effects of curcumin on microbial diversity and transcriptomics in rats with spinal cord injury

WANG Qingyan, HAO Qin, GAO Hui, ZHANG Xin, MA Jiarui, ZHANG Zhenxian, LIANG Jiaying, JIN Yahui, SHEN Juan, YANG Yanling\*

Yan'an Medical School of Yan'an University, Yan'an 716000, Shaanxi, China

**Abstract:** **[Background]** Spinal cord injury, a severe trauma of the central nervous system, causes not only motor, sensory, and autonomic nerve dysfunction but also gastrointestinal dysfunction, being not conducive to subsequent functional recovery. Studies have shown that curcumin has a therapeutic effect on spinal cord injury, while little is known about whether curcumin can regulate intestinal microbiota after spinal cord injury or not and the treatment-related pathways. **[Objective]** To observe the effects of curcumin on the behaviors, the spinal cord histomorphology, the diversity and metabolites of cecal microbiota, and the spinal cord transcriptomics in the rats with spinal cord injury. **[Methods]** A total of 50 female SD rats of 6–8 weeks and 220–240 g were randomized into a sham operation group, a model (spinal cord injury) group, and low-, medium-, and high-dose (50, 100, and 200 mg/kg, respectively) curcumin+spinal cord injury groups. Curcumin 50 mg/kg, 100 mg/kg, and 200 mg/kg was intraperitoneally injected 30 min after the establishment of the rat model of spinal cord injury, once a day for a week. The Basso, Beattie & Bresnahan (BBB) locomotor rating scale was used for scoring of the motor function. Hematoxylin-eosin staining was used to observe the histomorphological changes in the spinal cord of rats. High-throughput sequencing of the V3+V4 variable region of 16S rRNA gene was carried out to analyze the  $\alpha$  diversity,  $\beta$  diversity, and relative abundance of microflora, and the levels of short-chain fatty acids were measured, on the basis of which the changes of intestinal microbiota before and after treatment were evaluated. **[Results]** The medium dose (100 mg/kg) of curcumin significantly improved the limb motor function after spinal cord injury, demonstrating protective and repair effects on the damaged spinal cord. Curcumin administration in the rat model of spinal cord injury improved the diversity of microbiota and elevated the levels of short-chain fatty acids. The spinal cord injury altered the signaling pathways of intestinal microbiota, which was restored after the administration of curcumin. **[Conclusion]** Curcumin can affect intestinal microbial diversity and increase the levels of short-chain fatty acids in the rat model of spinal cord injury, and had a therapeutic effect on rats with spinal cord injury.

**Keywords:** spinal cord injury; curcumin; intestinal microbiota

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是严重的中枢神经系统创伤性疾病,导致患者损伤平面以下运动、感觉和自主神经功能障碍<sup>[1]</sup>。脊髓损伤后患者周围神经和肠道中枢功能紊乱导致肠道正常功能破坏,影响患者后续恢复<sup>[2]</sup>。基于我国快速发展以及体力活动、慢性损伤、外伤等因素持续存在,脊髓损伤的发病率呈逐年快速上升趋势<sup>[3]</sup>。

姜黄素是从姜科属草本植物姜黄梗茎中提取出来的具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等多种作用的一类多酚类物质<sup>[4-7]</sup>。大量研究表明姜黄素可以在全身多种器官的损伤中起到保护作用<sup>[8-10]</sup>。同时,研究发现姜黄素对创伤后脊髓出血、水肿、中性粒细胞浸润和炎症的发生有一定的治疗作用<sup>[11-13]</sup>。但关于姜黄素在脊髓损伤的治疗中是否对损伤后紊乱的肠道菌群具有作用鲜有报道。

本研究采用了转录组学、气相色谱分析等方法分析了脊髓损伤及脊髓损伤应用姜黄素后大鼠肠道菌群的变化,同时探究姜黄素对大鼠脊髓损伤后基因表达的影响及相关通路,以期姜黄素用于治疗脊髓损伤提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品

SPF级健康雌性SD大鼠50只,6周龄,体重180-200g,北京维通利华公司。大鼠置于动物房中适应性饲养2周,自由进食进水,室温25℃左右,每天给予大鼠12h光照环境和12h暗室环境。用随机数字表将实验动物分为5组,分别为假手术组、脊髓损伤模型组、姜黄素(低、中、高)剂量组,每组各10只。若试验过程出现动物死亡情况无法完成实验时,应及时重新制作模型补充。

动物实验中涉及的所有操作均以符合动物福利与伦理原则为基础,试验方案已经得到延安

大学实验动物伦理委员会的批准(S-S20240038)。

### 1.2 主要试剂和仪器

姜黄素、乙酸-d4、丙酸-d6、丁酸-d8以及短链脂肪酸(short chain fatty acid, SCFA)标准品,西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;组织DNA抽提试剂盒,凯杰生物工程(深圳)有限公司;组织RNA抽提试剂盒,天根生化科技(北京)。脊髓打击器, Precision Systems and Instrumentation公司;普通PCR仪,杭州朗基仪器有限公司;气相色谱仪,上海磐太电子科技有限公司;核酸定量分析仪 NanoDrop ND-1000,赛默飞世尔科技公司;全波长酶标仪,美谷分子仪器(上海)有限公司;光镜, Leica公司。

### 1.3 SCI模型的建立

将大鼠用戊巴比妥钠(15-40 mg/kg)进行腹腔麻醉,备皮后固定于手术台上,逐层钝性分离组织,暴露脊柱T9-T10节段,使用持针器剪开椎板,暴露脊髓后使用PSI脊髓打击器以200K dynes力打击脊髓<sup>[13-14]</sup>,对照组仅打开椎板,不做打击。随后使用手术缝线逐层缝合肌肉及皮肤。模型成功的判定标准:打击后损伤处脊髓表现出水肿、出血形态;大鼠出现摆尾行为,双下肢及躯干回缩样扑动,麻醉苏醒后观察大鼠运动,发现其运动时双下肢表现为弛缓性瘫痪。术后单独饲养,提供饮水及食物,麻醉清醒后姜黄素组术后3d,每天注射青霉素 $4 \times 10^4$  U/次,同时补充生理盐水10 mL/次;每天3次手动排尿。昼夜节律为光照:黑暗=1:1,动物房温度控制在26℃,相对湿度50%。

### 1.4 模型分组及实验方案

将50只大鼠随机分为假手术组(Sham)、模型组(SCI)、姜黄素(低、中、高)剂量组(CUR),每组10只。假手术组和脊髓损伤模型组不予干预,于脊髓损伤模型建立30 min后对姜黄素(低、中、高)剂量组大鼠分别腹腔注射50、100

和 200 mg/kg 姜黄素。随后继续饲养至 14 d。于术后 1、3、7、14 d 对各组大鼠进行大鼠脊髓损伤评分(basso, beattie & bresnahan locomotor rating scale, BBB scale)。所有大鼠在 14 d BBB 评分后随机选取 3 只进行脊髓组织取材进行后续实验。

### 1.5 HE 染色

采集各组大鼠脊髓组织, 首先使用 4%多聚甲醛对组织进行过夜固定, 随后对组织进行脱水, 将经过脱水的组织使用包埋机进行包埋, 并应用石蜡切片机制作切片。对切片进行常规 HE 染色, 染色完成后在光镜下观察脊髓组织, 并使用图像采集系统留取照片。

### 1.6 盲肠微生物组学分析

取假手术组、模型组、姜黄素低剂量、中剂量、高剂量组大鼠的盲肠内容物进行 16S rRNA 基因 V3+V4 区测序分析。在使用 Ezup 柱式动物组织 DNA 抽提试剂盒从各组动物的盲肠样本中提取总 DNA 后, 为获得浓度和纯度均符合标准的样品, 取无菌水对样品进行稀释, 随后将其制成微量溶液, 浓度为 0.5 ng/ $\mu$ L。选定扩增区域后, 为确保高效率 and 低出错率, 使用特定引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGC-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 进行扩增<sup>[15-16]</sup>。扩增结束后, 将相同浓度的 PCR 产物混匀处理, 随后使用 2%的琼脂糖凝胶电泳检测样品是否合格。样品检测合格后构建文库, 用 Illumina HiSeq 平台进行测序, 依照微生物分类等级对质控筛选后的序列进行定级, 最后按照 97%的相似性将序列进行 OTU 聚类划分, 从而对每组样品的多样性和差异性进行分析。

### 1.7 短链脂肪酸浓度分析

取假手术组、模型组和姜黄素组 50 mg 盲肠内容物解冻后加入 1.5 mL 离心管中, 加入 300  $\mu$ L 超纯水后使用组织细胞破碎仪混匀, 涡旋振荡仪混合样品 5 min 后于 1 400 r/min 离心

10 min, 随后将上清液转移至新的 1.5 mL 离心管中。内参溶液选用乙酸-d4、丙酸-d6、丁酸-d8 溶解于无水乙醇中, 混合物终浓度为 1  $\mu$ g/mL。短链脂肪酸标准溶液的配制是将短链脂肪酸标准混合品溶于无水乙醇中, 浓度范围为 20–1 000  $\mu$ mol/L<sup>[16]</sup>。随后使用气相色谱仪进行液相色谱分析, 根据标准品浓度对应曲线计算肠道内容物中短链脂肪酸的浓度。

### 1.8 差异基因表达的 Pathway 功能分析

使用 RNA 抽提试剂盒提取假手术组、模型组和姜黄素组脊髓组织 RNA, 使用 NanoDrop 对 RNA 浓度、纯度、吸收峰进行检测, 样品检测合格后构建文库, 通过 Illumina HiSeq 平台对样品上机测序。差异基因筛选条件为  $\lg FC \geq 2$ ,  $FDR \leq 0.001$ 。通过 Seq 筛选差异表达的基因获得大鼠脊髓组织中的差异表达基因。随后通过 KEGG 注释分类对大鼠脊髓组织不同样本间的差异表达的基因进行通路富集分析。

### 1.9 统计学方法

在 IBM SPSS Statistics 20.0 软件中使用单因素方差分析(ANOVA)或独立样本 *t* 检验确定组间或组内差异的显著性, 当  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  时该差异被判定具有统计学意义。使用 GraphPad Prism 绘制图片。

## 2 结果与分析

### 2.1 姜黄素对脊髓损伤大鼠运动功能的影响

通过 BBB 评分来评估大鼠运动功能的恢复情况。由表 1 所示, 术前所有大鼠后肢 BBB 评分为 20 分左右, 活动基本正常; 损伤 1 d 后各组大鼠出现完全性后肢瘫痪, 3 d 后 BBB 评分逐渐上升, 姜黄素组评分与 SCI 组无明显差异; 大鼠术后 7、14 d 姜黄素组评分显示后肢功能有所恢复, 与 SCI 组相比有显著性差异( $P < 0.05$ ), 尤其是 100 mg/kg 组和 200 mg/kg 组效果更加明显。

## 2.2 姜黄素对脊髓损伤大鼠组织形态学的影响

假手术组脊髓内含有大量的神经元, 神经元结构完整、形态清晰, 未出现神经元凋亡和胶质细胞增生现象; 模型组损伤 2 周后, 脊髓失去典型形态, 出现局灶性坏死的现象, 神经元细胞核固缩、溶解、坏死, 并且局部有空洞

形成, 炎性反应严重, 损伤处灰色和白色的交界线清晰; 相较于 SCI 组, 姜黄素低剂量组治疗 2 周后, 脊髓组织结构较清晰, 神经元变性坏死程度较轻, 炎性反应降低, 正常神经元数量较多, 细胞核稍浓聚, 核膜完整, 局部有无明显空泡形成。随着姜黄素给药剂量的升高, 神经元损伤及组织病理变化得到明显改善(图 1)。

表 1 各组大鼠术后不同时间点 BBB 评分结果

Table 1 BBB scores at different times points after operation in each groups of rats

Time (d)	Sham	SCI	CUR (50 mg/kg)	CUR (100 mg/kg)	CUR (200 mg/kg)
1	20.000±0.76	1.3±0.67	1.4±0.70	1.0±0.82	1.3±0.82
3	20.625±0.52	4.0±1.12	3.6±1.00	4.0±1.22	4.0±0.87
5	20.500±0.53	6.3±1.12	6.3±0.87	6.9±1.54	7.0±1.41
7	20.375±0.74	9.0±1.00	9.5±1.33	11.7±2.12	13.8±2.68*
14	20.125±0.64	10.8±1.09	12.5±1.51	17.9±2.67*	17.8±3.15*

Sham: 假手术对照组; SCI: 脊髓损伤模型组; CUR: 模型+姜黄素处理组; \*: CUR 组与 SCI 组相比, 具有统计学意义( $P<0.05$ )

Sham: Sham control group; SCI: Spinal cord injury model group; CUR: Model + curcumin treatment group; \*: The CUR group was statistically significant compared with the SCI group ( $P<0.05$ ).

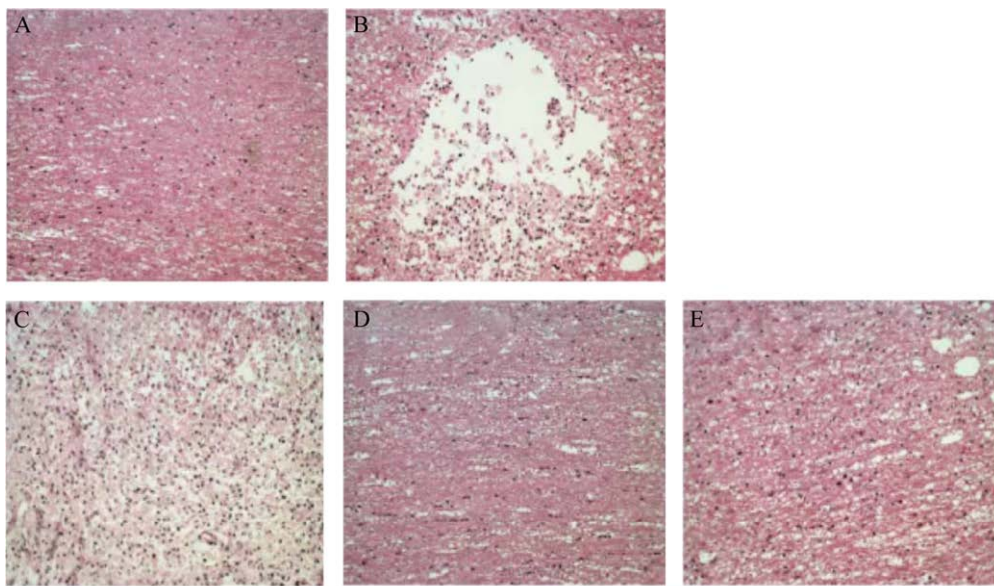


图 1 各组大鼠脊髓损伤 14 d 后病理变化(200×) A: 假手术对照组; B: 模型组; C-E: 50、100、200 mg/kg 姜黄素处理组

Figure 1 Pathological changes after 14 days of spinal cord injury in each group (200×). A: Sham control group; B: Spinal cord injury model group; C-E: 50, 100, 200 mg/kg curcumin treatment group.

### 2.3 姜黄素对脊髓损伤大鼠肠道菌群的影响

脊髓损伤后盲肠组织菌群丰度改变, 姜黄素治疗可以改变脊髓损伤引起的肠道菌群丰度(图 2)。在门水平上, 假手术组的主要优势菌群主要是厚壁菌门(*Firmicutes*)、 $\epsilon$ -拟杆菌门(*Epsilonbacteraeota*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)。脊髓损伤模型组的优势菌群主要是厚壁菌门、 $\epsilon$ -拟杆菌门、拟杆菌门、变形菌门

(*Proteobacteria*)。姜黄素治疗组的优势菌群主要是厚壁菌门、 $\epsilon$ -拟杆菌门、拟杆菌门、放线菌门(*Actinobacteria*) (图 2A); 在科水平上, 假手术组的优势菌群主要是螺杆菌科(*Helicobacteraceae*)、毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)、瘤胃球菌科(*Ruminococcaceae*)、刺果木科(*Muribaculaceae*)、乳酸杆菌科(*Lactobacillaceae*)、消化链球菌科(*Peptostreptococcaceae*)。脊髓损伤组的优势菌群

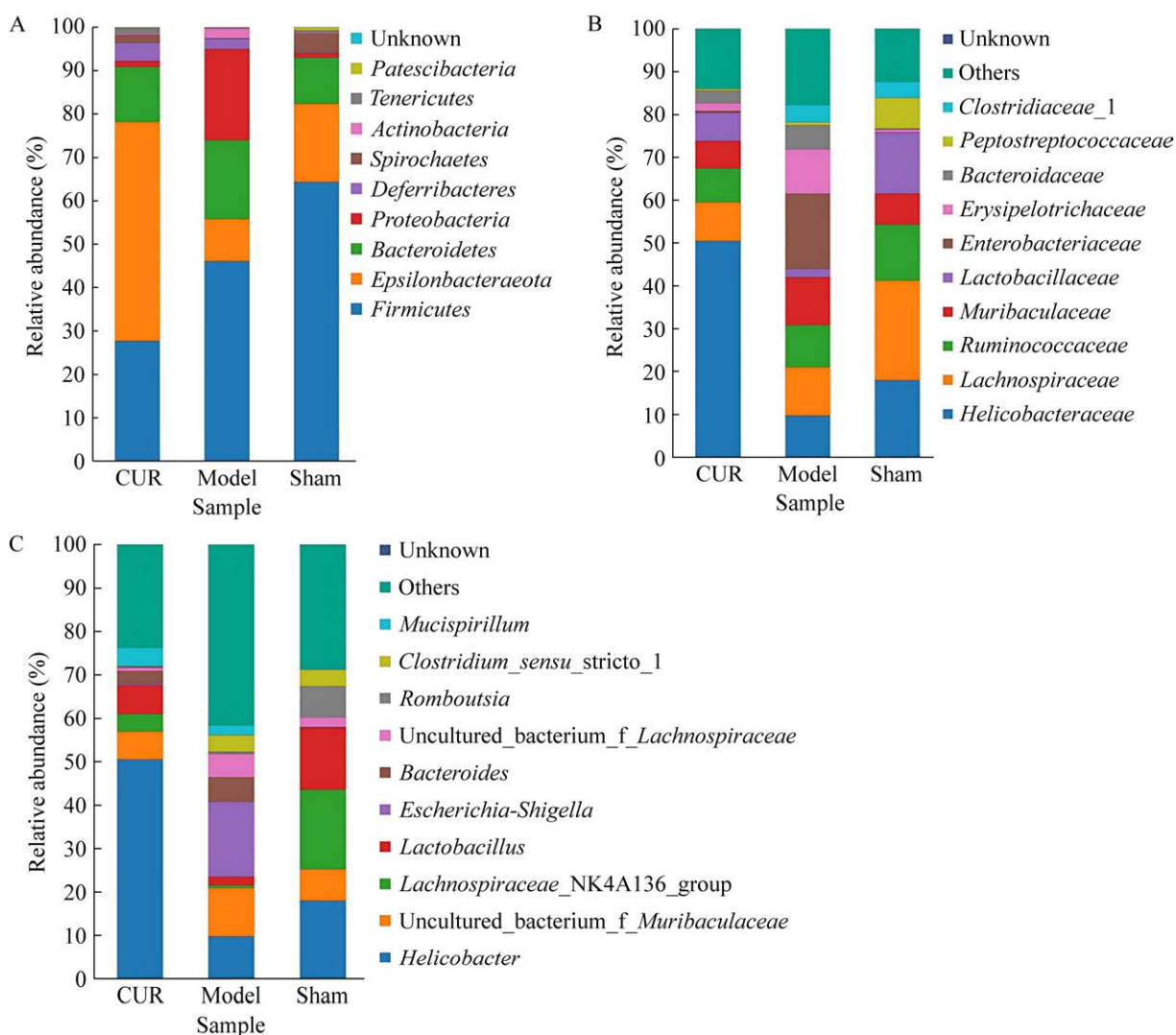


图 2 姜黄素对脊髓损伤大鼠盲肠组织菌群的影响 A、B、C 分别为不同组大鼠盲肠组织菌群在门水平、科水平和属水平的变化

Figure 2 Effect of curcumin on the cecal tissue microbiota in rats with SCI. A, B, and C show the changes of cecal tissue microbiota at the phylum, family, and genus levels, respectively.

主要是肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)、螺杆菌科、毛螺菌科,其中与假手术组相比韦荣球菌科、肠杆菌科的相对丰度增加,乳酸杆菌科、螺杆菌科以及毛螺菌科的相对丰度降低;与脊髓损伤模型组相比,姜黄素治疗组螺杆菌科及乳酸杆菌科相对丰度增加,其中螺杆菌科的相对丰度显著升高(图 2B);在属水平上,假手术组的优势菌群有螺杆菌属(*Helicobacter*)、毛螺菌属(*Lachnospira*)、乳酸杆菌属(*Lactobacillus*),脊髓损伤模型组的优势菌群主要是螺杆菌属、大肠杆菌-志贺菌属(*Escherichia-Shigella*),姜黄素治疗组的优势菌群是螺杆菌属及乳酸杆菌属,其中螺杆菌属占有菌群的 50%以上(图 2C)。

进一步进行群落结构差异性分析(图 3),其中图 3A、3B 分别为组间样品 LEfS 分析图和 LEfS 分析进化分析图。结果显示,假手术组在厚壁菌门、梭状芽孢杆菌纲(*Clostridia*)、梭状芽孢杆菌目(*Clostridiales*)、毛螺菌科、毛螺菌属\_NK4A136 属(*Lachnospiraceae\_NK4A136*)丰度较高;模型组在变形菌门(*Proteobacteria*)、 $\gamma$ -变形菌纲(*Grammaproteobacteria*)、肠杆菌目(*Enterobacteriales*)、肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)、大肠杆菌-志贺菌属的相对丰度较高;姜黄素治疗后,脊髓损伤大鼠肠道菌群组成发生了变化,可以明显看到  $\epsilon$ -拟杆菌门、弯曲杆菌纲(*Campylobacteria*)、*s* 弯曲杆菌(*Campylobacterales*)、螺杆菌科、螺杆菌属的相对丰度升高。

#### 2.4 姜黄素对脊髓损伤大鼠菌群代谢产物短链脂肪酸的影响

检测大鼠肠道内容物中乙酸、丙酸、丁酸和戊酸的浓度变化(图 4),结果提示脊髓损伤模型组肠道内容物中乙酸( $P<0.001$ )、丙酸( $P<0.001$ )、丁酸( $P<0.05$ )和戊酸( $P<0.05$ )的水平显著下降,差异具有统计学意义。相较于脊髓损伤模型组,姜黄素治疗组肠道内容物中乙酸

( $P<0.01$ )、丙酸( $P<0.001$ )、丁酸( $P<0.001$ )和戊酸( $P<0.001$ )的水平显著升高,差异具有统计学意义。

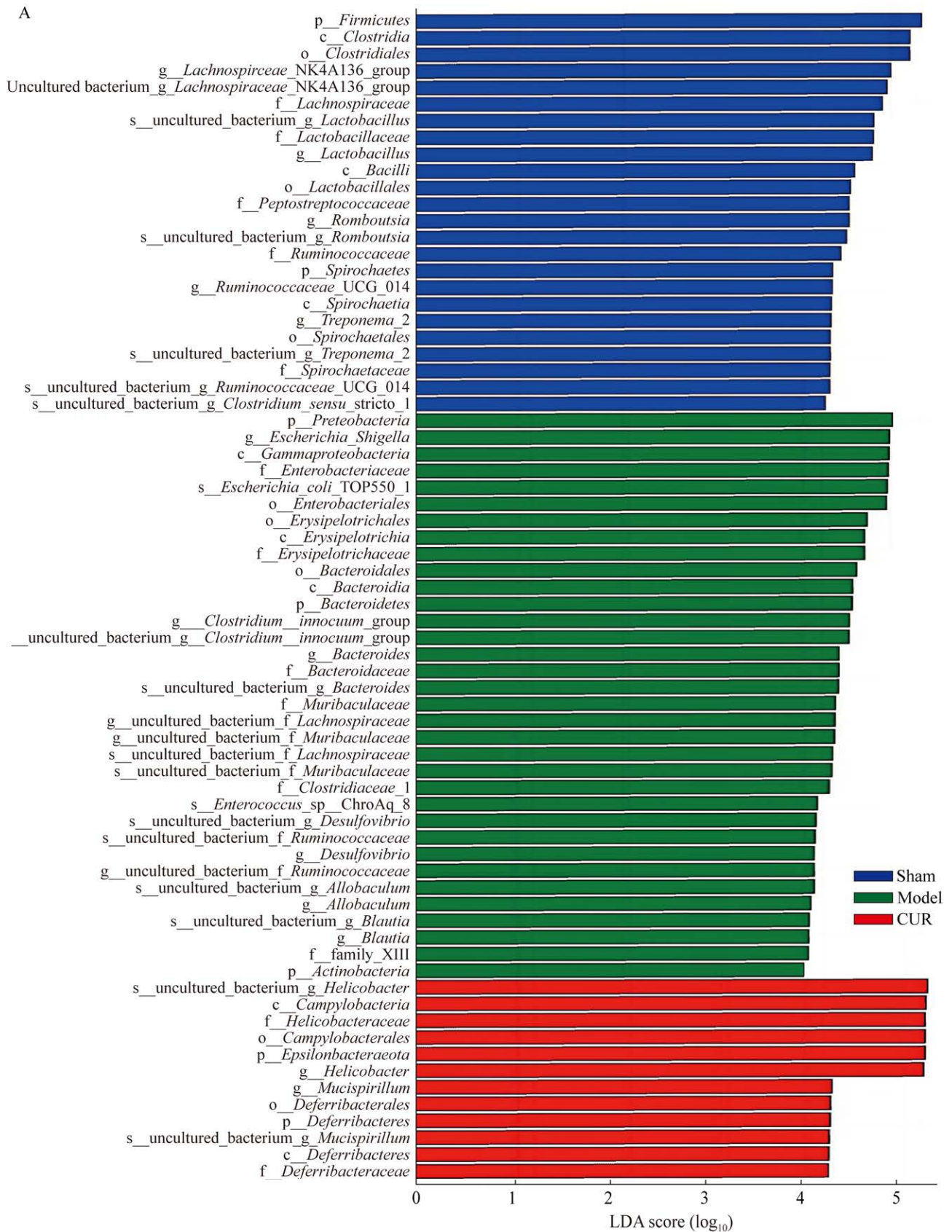
#### 2.5 姜黄素治疗对脊髓损伤大鼠信号通路表达富集程度的影响

通过 KEGG 代谢途径分析,可以得到各组脊髓样品之间功能基因的差异及在代谢途径的变化(图 5)。脊髓损伤大鼠 MAPK 通路、神经活动配体-受体相互作用通路、破骨细胞分化通路以及轴突导向通路等大量活化。而在应用了姜黄素之后 MAPK 通路、神经活动配体-受体相互作用通路、细胞黏附分子通路、吞噬体通路、黏着斑通路等大量活化。

### 3 讨论与结论

脊髓损伤作为一种中枢神经系统严重的创伤性疾病,导致患者损伤平面以下运动、感觉和自主神经功能障碍,在国内外都具有较高的发病率,严重影响患者及家属的生活质量。但针对脊髓损伤后神经元的再生依旧无有效的治疗方案,临床治疗也仅局限于尽可能恢复残余的神经元功能。有文献指出脊髓损伤后高位神经系统对消化系统的控制能力丧失,导致自主神经调节失衡导致肠道菌群紊乱发生,而肠道菌群变化会影响脊髓损伤的发展<sup>[17-18]</sup>。

本研究选用 50、100 和 200 mg/kg 姜黄素对 SCI 大鼠给药进行实验,发现 100 mg/kg 姜黄素给药为脊髓损伤大鼠治疗的最佳浓度。结果显示,相较于假手术组,模型组表现为 BBB 评分明显降低( $P<0.05$ ),表明大鼠神经及运动功能受损,论证脊髓损伤模型建立成功;经姜黄素 14 d 治疗后,经过治疗的大鼠与脊髓损伤大鼠相比 BBB 评分出现有明显提升( $P<0.05$ ),说明姜黄素能够促进损伤后神经再生并对脊髓功能进行修复,从而使大鼠运动功能得到恢复。





B

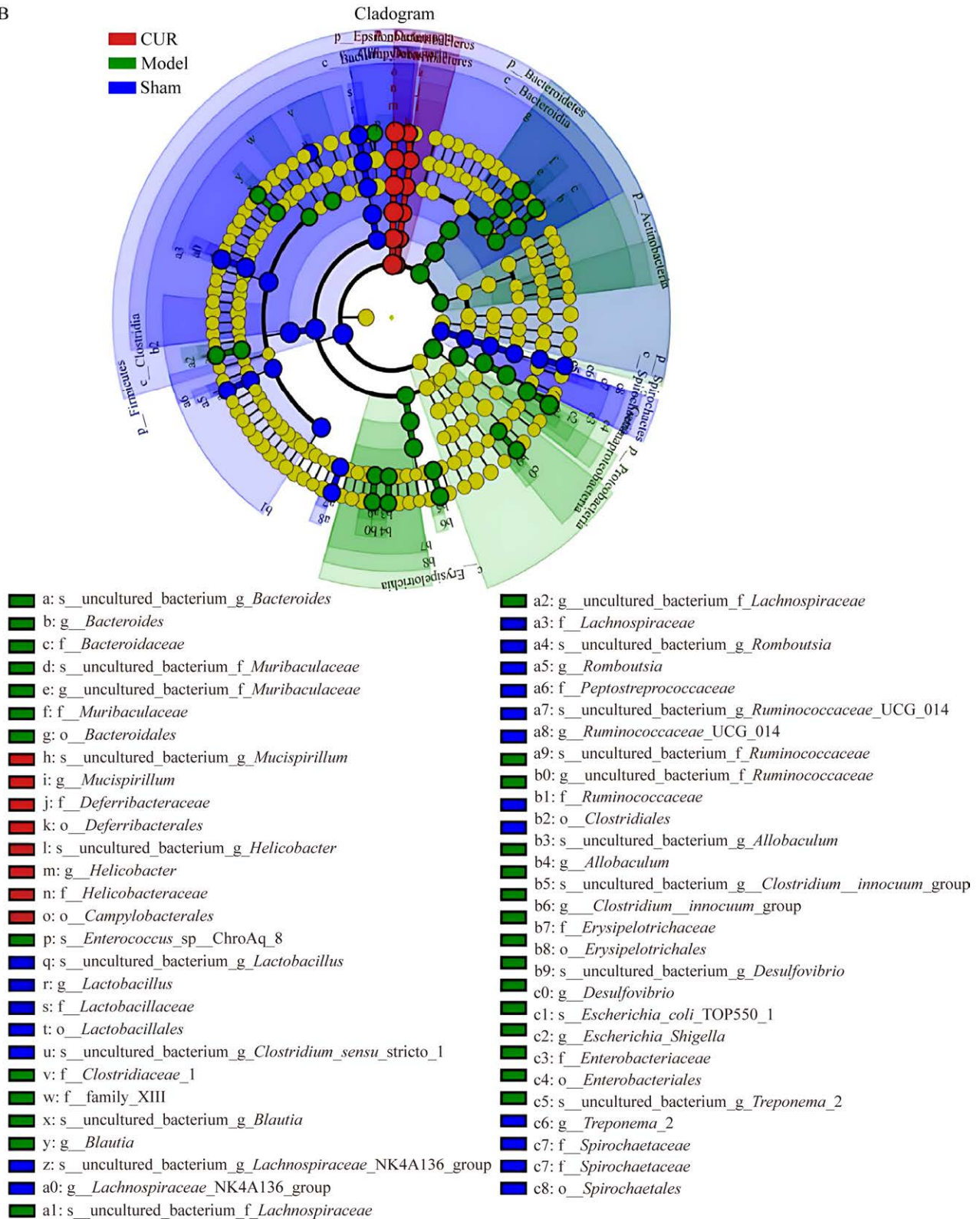


图3 组间差异显著性分析

Figure 3 Differences analysis of each group.

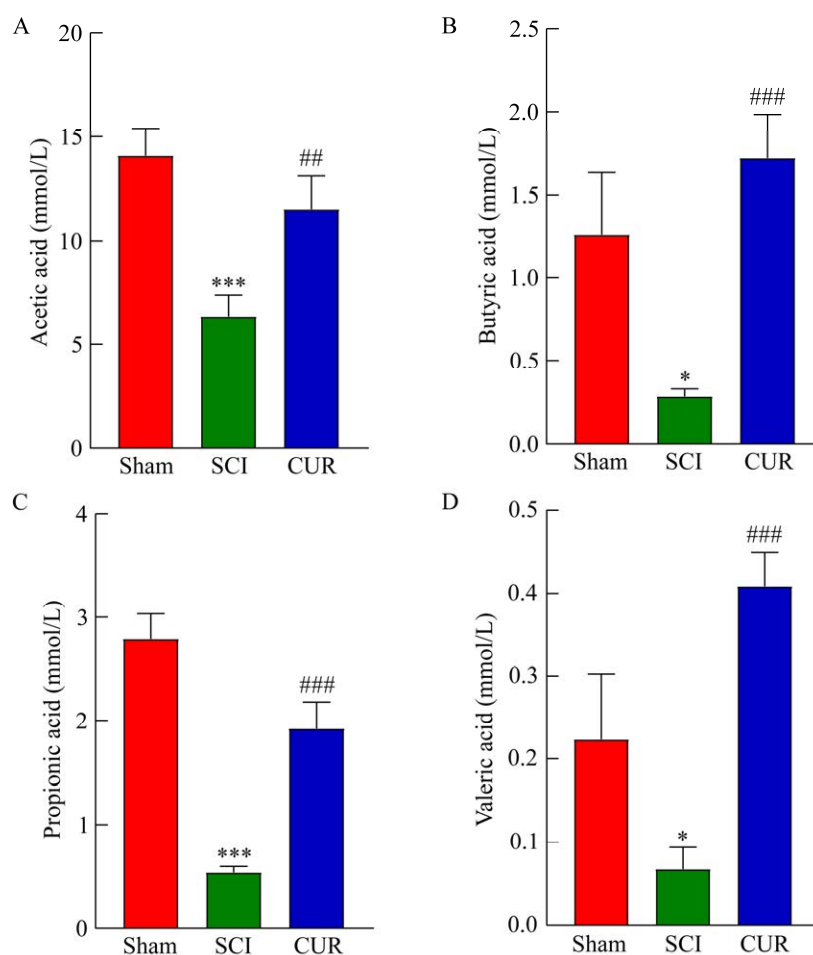


图 4 脊髓损伤后大鼠肠道内容物中短链脂肪酸含量变化 \*表示 SCI 组与 Sham 组相比,具有统计学意义, \*:  $P < 0.05$ , \*\*\*:  $P < 0.001$ . #表示 CUR 组与 SCI 组相比,具有统计学意义, ##:  $P < 0.01$ , ###:  $P < 0.001$

Figure 4 Changes in short-chain fatty acids in the intestinal contents of rats after SCI. \*indicates that the SCI group was statistically significant compared with the Sham group. \*:  $P < 0.05$ , \*\*\*:  $P < 0.001$ ; # indicates that the CUR group was statistically significant compared with the SCI group. ##:  $P < 0.01$ , ###:  $P < 0.001$ .

HE 染色发现,经姜黄素治疗后脊髓损伤大鼠的脊髓组织的坏死情况有明显改善,脊髓坏死范围缩小、局部空洞数量减少,表明姜黄素可减轻大鼠脊髓损伤程度。

正常情况下,肠道菌群与宿主及外部环境保持动态平衡,从而发挥保护和维持机体健康的作用,有学者提出肠道微生物是一种能够影响机体生理和病理生理的疾病修饰因子。研究

表明,脊髓损伤患者的肠道微生物群表现为致病菌、炎症前体、黏膜降解细菌的增多,以及产生短链脂肪酸细菌明显减少等生物学特征,这与脊髓损伤后严重的炎症反应和感染的发生有关<sup>[19]</sup>。目前对于姜黄素与脊髓损伤大鼠肠道微生物多样性的研究报道较少,但有研究发现姜黄素在抗炎、抗肿瘤、促进脊髓损伤恢复多方面表现出重要作用。此外,姜黄素可与肠道菌

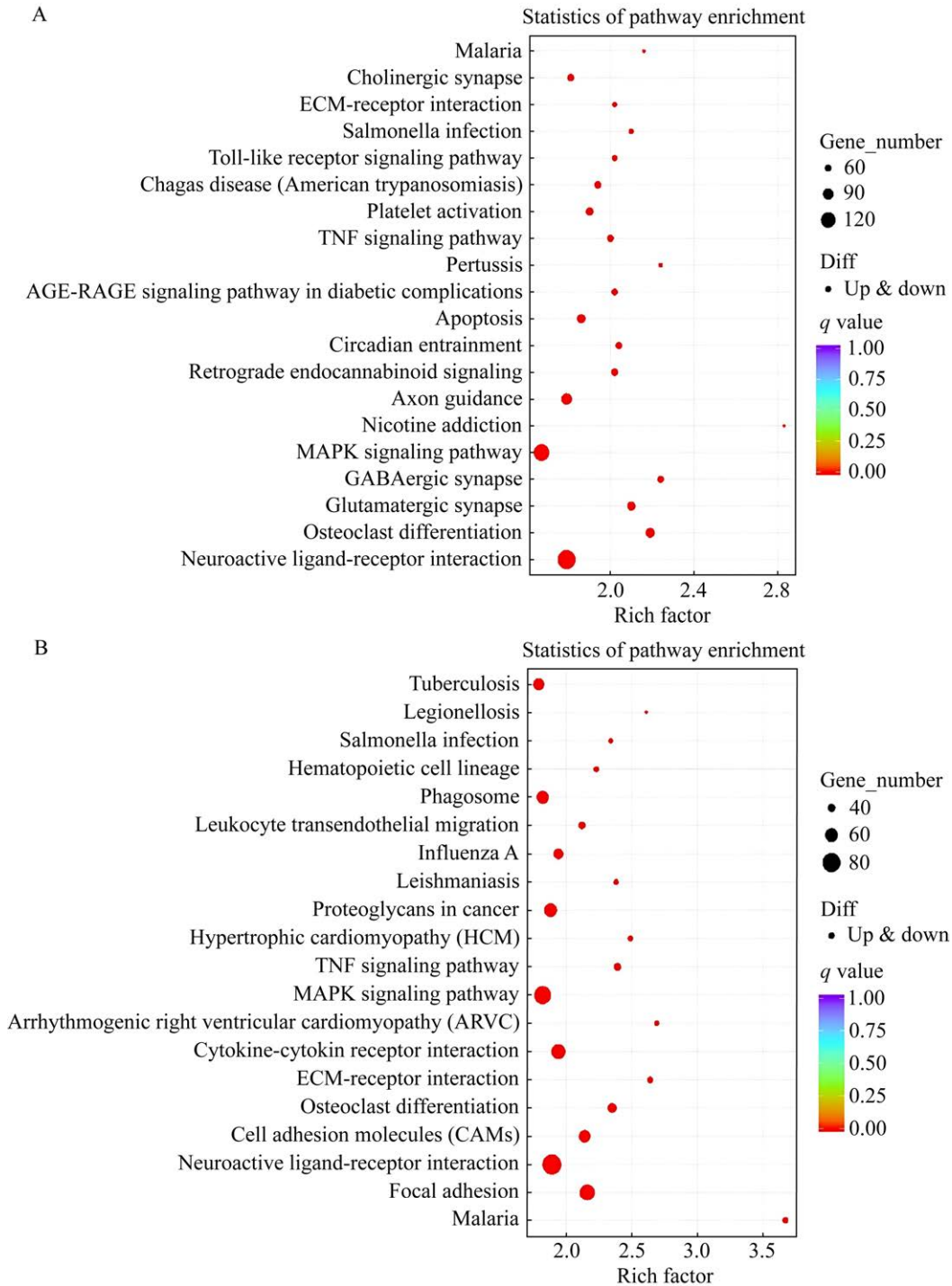


图 5 脊髓损伤后大鼠信号通路表达富集程度 A: Sham 组与 SCI 组差异基因 KEGG 通路富集图; B: Sham 组与 SCI+CUR (100 mg/kg)组差异基因 KEGG 通路富集图

Figure 5 Enrichment of signaling pathway expression in rats after SCI. A: the enrichment of KEGG pathway of differential genes between the Sham group and the SCI group. B: the KEGG pathway enrichment of differentially expressed genes between the Sham group and the SCI+CUR (100 mg/kg) group.

群直接作用,因此本实验通过高通量测序技术对脊髓损伤后肠道菌群进行分析,发现大鼠肠道内容物中菌群分布会发生显著变化,主要表现为厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门、肠杆菌科、韦荣球菌科、乳酸杆菌属、志贺菌属、拟杆菌属的相对丰度增加,并进而导致大鼠肠道内容物中短链脂肪酸水平下降。经姜黄素治疗后, $\epsilon$ -拟杆菌门、放线菌门、脱铁杆菌门、螺旋菌门、厚壁菌门、乳酸杆菌科、螺杆菌科、螺杆菌属、乳酸杆菌属的相对丰度升高,同时逆转了脊髓损伤后短链脂肪酸含量的减少。而研究表明<sup>[18]</sup>,短链脂肪酸可以通过增加 CD4<sup>+</sup>T 细胞产生 IL-22 起到调节免疫反应的作用<sup>[20]</sup>。同时, Tang 等<sup>[21]</sup>的研究显示短链脂肪酸对血脑屏障起保护作用,所以短链脂肪酸可以在许多神经系统疾病中发挥保护作用。因此,姜黄素可以调节脊髓损伤导致的肠道微生物多样性,同时提高短链脂肪酸含量以促进大鼠脊髓损伤的修复。进一步的 Pathway 功能分析表明,姜黄素治疗脊髓损伤可能是通过吞噬体通路、MAPK 信号通路、成骨细胞分化通路、细胞黏附分子等通路实现的。

以上实验结果表明,姜黄素可以改善大鼠脊髓损伤后的运动功能和脊髓形态学变化,调节脊髓损伤后紊乱的肠道菌群,提高微生物代谢产物短链脂肪酸水平对脊髓损伤大鼠起到治疗作用。

## REFERENCES

- [1] STERNER RC, STERNER RM. Immune response following traumatic spinal cord injury: Pathophysiology and therapies[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 1084101.
- [2] LEE J, LEE G, KO G, LEE SJ. Nerve injury-induced gut dysbiosis contributes to spinal cord TNF- $\alpha$  expression and nociceptive sensitization[J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2023, 110: 155-161.
- [3] DING WZ, HU SA, WANG PJ, KANG HL, PENG RP, DONG YM, LI F. Spinal cord injury: the global incidence, prevalence, and disability from the global burden of disease study 2019[J]. *Spine*, 2022, 47(21): 1532-1540.
- [4] ISLAM T, KOBOZIEV I, ALBRACHT-SCHULTE K, MISTRETTA B, SCOGGIN S, YOSOFVAND M, MOUSSA H, ZABET-MOGHADDAM M, RAMALINGAM L, GUNARATNE PH, MOUSTAID-MOUSSA N. Curcumin reduces adipose tissue inflammation and alters gut microbiota in diet-induced obese male mice[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2021, 65(22): e2100274.
- [5] GAO F, SHEN J, ZHAO L, HAO Q, YANG YL. Curcumin alleviates lipopolysaccharide (LPS)-activated neuroinflammation via modulation of miR-199b-5p/I $\kappa$ B kinase  $\beta$  (IKK $\beta$ )/nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) pathway in microglia[J]. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 2019, 25: 9801-9810.
- [6] IGLESIAS DE, CREMONINI E, OTEIZA PI, FRAGA CG. Curcumin mitigates TNF $\alpha$ -induced caco-2 cell monolayer permeabilization through modulation of NF- $\kappa$ B, ERK1/2, and JNK pathways[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2022, 66(21): e2101033.
- [7] LIU CF, ROKAVEC M, HUANG ZK, HERMEKING H. Curcumin activates a ROS/KEAP1/NRF2/miR-34a/b/c cascade to suppress colorectal cancer metastasis[J]. *Cell Death & Differentiation*, 2023, 30: 1771-1785.
- [8] WANG YJ, LIU FJ, LIU MR, ZHOU X, WANG M, CAO KX, JIN SJ, SHAN AS, FENG XJ. Curcumin mitigates aflatoxin B1-induced liver injury via regulating the NLRP3 inflammasome and Nrf2 signaling pathway[J]. *Food and Chemical Toxicology: an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 2022, 161: 112823.
- [9] PIVARI F, MINGIONE A, PIAZZINI G, CECCARANI C, OTTAVIANO E, BRASACCHIO C, CAS MD, VISCHI M, COZZOLINO MG, FOGAGNOLO P, RIVA A, PETRANGOLINI G, BARREA L, Di RENZO L, BORGHI E, SIGNORELLI P, PARONI R, SOLDATI L. Curcumin supplementation (meriva<sup>®</sup>) modulates inflammation, lipid peroxidation and gut microbiota composition in chronic kidney disease[J]. *Nutrients*, 2022, 14(1): 231.
- [10] YANG C, HAN MM, LI RY, ZHOU LG, ZHANG Y, DUAN LN, SU SY, LI M, WANG Q, CHEN TK, MO

- YS. Curcumin nanoparticles inhibiting ferroptosis for the enhanced treatment of intracerebral hemorrhage[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2021, 16: 8049-8065.
- [11] JIN WL, BOTCHWAY BOA, LIU XH. Curcumin can activate the Nrf2/HO-1 signaling pathway and scavenge free radicals in spinal cord injury treatment[J]. *Neurorehabilitation and Neural Repair*, 2021, 35(7): 576-584.
- [12] ZHOU Y, ZHANG Y, BOTCHWAY BOA, WANG XC, LIU XH. Curcumin can improve spinal cord injury by inhibiting DNA methylation[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2024, 479(2): 351-362.
- [13] 王启. 姜黄素对大鼠脊髓损伤后心肺功能的修复作用及其机制研究[D]. 延安: 延安大学硕士学位论文, 2020.
- WANG Q. Effect and mechanism of Curcumin on Cardiopulmonary Function after Spinal cord Injury in Rats[D]. Yan'an: Master's Thesis of Yan'an University, 2020 (in Chinese).
- [14] EOR JY, SON YJ, KIM JY, KANG HC, YOUN SE, KIM JH, KIM SH. Neuroprotective effect of both synbiotics and ketogenic diet in a pentylenetetrazol-induced acute seizure murine model[J]. *Epilepsy Research*, 2021, 174: 106668.
- [15] YUAN JY, BOTCHWAY BOA, ZHANG Y, TAN XN, WANG XZ, LIU XH. Curcumin can improve spinal cord injury by inhibiting TGF- $\beta$ -SOX9 signaling pathway[J]. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 2019, 39(5): 569-575.
- [16] 徐由立. 慢性乙型肝炎脾胃湿热证和肝郁脾虚证患者肠道菌群的变化及其与甲基化相关蛋白的关联性研究[D]. 成都: 成都中医药大学博士学位论文, 2019.
- XU YL. Study on the changes of intestinal flora in patients with chronic hepatitis B syndrome of spleen and stomach dampness-heat and liver depression and spleen deficiency and their association with methylation-related proteins[D]. Chengdu: Doctoral Dissertation of Chengdu University of TCM, 2019 (in Chinese)
- [17] 张振显. 姜黄素对大鼠脊髓损伤后微生物多样性及脊髓转录组学影响的研究[D]. 延安: 延安大学硕士学位论文, 2019.
- ZHANG ZX. Effect of curcumin on microbial diversity and transcriptomics in rats with spinal cord injury[D]. Yan'an: Master's Thesis of Yan'an University, 2019 (in Chinese).
- [18] KANG JN, SUN ZF, LI XY, ZHANG XD, JIN ZX, ZHANG C, ZHANG Y, WANG HY, HUANG NN, JIANG JH, NING B. Alterations in gut microbiota are related to metabolite profiles in spinal cord injury[J]. *Neural Regeneration Research*, 2023, 18(5): 1076-1083.
- [19] 李政, 李龙文, 徐东, 汪晓宁, 周英龙, 帅勤, 唐瑗, 何燕飞. 白藜芦醇对脊髓损伤大鼠的治疗作用与肠道菌群的相关性研究[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2024, 26(1): 10-15.
- LI Z, LI WL, XU D, WANG XN, ZHOU YL, SHUAI Q, TANG Y, HE FY. Therapeutic Effect of Resveratrol on Spinal Cord Injury in Rats and Its Mechanism[J]. *Journal of Liaoning University of TCM*, 2024, 26(1): 10-15 (in Chinese).
- [20] YANG WJ, YU TM, HUANG XS, BILOTTA AJ, XU LQ, LU Y, SUN JR, PAN F, ZHOU J, ZHANG WB, YAO SX, MAYNARD CL, SINGH N, DANN SM, LIU ZJ, CONG YZ. Intestinal microbiota-derived short-chain fatty acids regulation of immune cell IL-22 production and gut immunity[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 4457.
- [21] TANG CF, WANG CY, WANG JH, WANG QN, LI SJ, WANG HO, ZHOU F, LI JM. Short-chain fatty acids ameliorate depressive-like behaviors of high fructose-fed mice by rescuing hippocampal neurogenesis decline and blood-brain barrier damage[J]. *Nutrients*, 2022, 14(9): 1882.