

· 论著 ·

基于网络药理学的益母草治疗神经损伤的潜在分子机制研究

张 倩^{1,3}, 郭羽晨^{1,3}, 邓珊珊², 章超凡², 李铁军^{1,3} (1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012; 2. 上海大学医学院, 上海 200444; 3. 上海市浦东新区浦南医院药剂科, 上海 200125)

[摘要] **目的** 探讨益母草治疗神经损伤的作用机制。**方法** 检索中药系统药理学数据库(TCMSP)和中药分子机制的生物信息学数据库(BATMAN-TCM)获取益母草的活性成分, 然后从 SwissTargetPrediction (STP) 和 TCMSP 数据库中收集和预测候选化合物的作用靶点。利用疾病靶点标准化数据库(Uniprot)获取益母草活性成分对应的靶标基因, 与 Genecards、DisGenet、OMIM 三个数据库获取的神经损伤的疾病基因做映射, 获得益母草治疗神经损伤的潜在作用靶点。其次借助网络拓扑分析软件 Cytoscape 3.6.0 构建益母草活性成分-作用靶点网络。通过蛋白互作平台数据库 (STRING) 构建作用靶点之间的互作关系 (PPI), 将其导入 Cytoscape 3.6.0 软件构建 PPI 网络图。最后, 通过 STRING 数据库对益母草治疗神经损伤的作用靶点进行 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析。**结果** 从益母草中筛选出 19 个有效活性成分, 涉及 654 个作用靶点, 其中与神经损伤有关的作用靶点 426 个, 关键靶点 6 个, 这些靶点基因主要参与生物调节、氧化应激反应、细胞通讯等生物学过程。分子功能主要与蛋白质结合、离子结合和催化还原有关, 它们在细胞膜外侧富集。其机制与 MAPK、Toll 样受体、PI3K-Akt、肿瘤坏死因子、IL-17 和细胞凋亡等信号通路等有关。**结论** 益母草的活性成分可能是通过抗炎、抗凋亡和促进细胞生长来发挥神经损伤的保护作用。

[关键词] 益母草; 网络药理学; 神经损伤

[中图分类号] R285

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2022)02-0113-07

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202105106

Potential molecular mechanism of motherwort in the treatment of nerve injury based on network pharmacology

ZHANG Qian^{1,3}, GUO Yuchen^{1,3}, DENG Shanshan², ZHANG Yuefan², LI Tiejun^{1,3} (1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China; 2. School of Medicine, Shanghai University, Shanghai 200444, China; 3. Punan Hospital, Pudong New Area, Shanghai 200125, China)

[Abstract] **Objective** To explore the mechanism of motherwort in the treatment of nerve injury. **Methods** The active components of motherwort were obtained by searching TCMSP and BATMAN-TCM databases. The action targets of candidate compounds were collected and predicted from TCMSP and SwissTargetPrediction (STP) databases. The target genes corresponding to the active components of motherwort were obtained by using the standardized database of disease targets (Uniprot). The potential targets of motherwort in the treatment of nerve injury were obtained by mapping the disease genes of nerve injury with the three databases of Genecards, DisGenet and OMIM. The network topology analysis software Cytoscape 3.6.0 was used to construct the action target network of motherwort active components. The protein interaction platform database (STRING) was used to construct the interaction relationship between action targets. The target protein interaction (PPI) network was constructed by introducing Cytoscape 3.6.0 software. Through STRING database, GO enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis were carried out to analyze the target points of motherwort in the treatment of nerve injury. **Results** 19 active components were screened from motherwort, involving 654 action targets, including 426 action targets related to nerve injury and 6 key targets. These target genes were mainly involved in biological regulation, oxidative stress response and cell communication and other biological processes. Molecular functions were mainly related to protein binding, ion binding and catalytic reduction. They were enriched outside the cell membrane. Its mechanism was related to signal pathways such as MAPK, Toll-like receptor, PI3K-Akt, TNF, IL-17, and apoptosis. **Conclusion** The active components of motherwort may play a protective role on nerve injury through anti-inflammation, anti-apoptosis and promoting cell growth.

[基金项目] 上海市浦东新区卫生系统新兴、交叉学科(精准临床药学, PWXx2020-03)

[作者简介] 张 倩, 硕士研究生, Email: 17855355879@163.com

[通信作者] 李铁军, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 心脑血管药理, Email: 18930502906@163.com

[Key words] motherwort; network pharmacology; nerve injury

神经损伤是世界范围内致残和导致死亡的主要原因,神经损伤疾病患病率的大幅增加导致了全社会的健康负担加重^[1]。神经损伤主要包括颅脑损伤(TBI)和缺血性脑卒中(CI)等,其中 TBI 是最常见的神经损伤类型^[2],分为急性和慢性两个阶段,炎症是这两个阶段的共同特征,目前还没有有效治疗 TBI 的药物和方法,迫切需要寻找具有更广泛作用的药物,以缓解 TBI 后炎症反应^[3]。脑缺血是神经损伤患者死亡的最常见病因之一^[4],大脑因供血中断而致脑缺血,进而导致中风等神经损伤性疾病^[5]。CI 诱导了多种细胞死亡形式,如兴奋性毒性、酸毒性和离子失衡、氧化/氧化应激、炎症^[6]、凋亡和梗死周围去极化等。目前 CI 最有效的治疗手段是静脉溶栓和血管内取栓以达到快速再灌注,这两者都能降低患者致残率,但都需要在发病 4 小时内尽快完成^[4],目前尚无有效的药物治疗 CI 患者。

中药具有多途径、多靶点的特点,已有 2000 多年的发展历史和临床用药经验^[7],如唐·孙思邈所著《备急千金方》中“小续命汤治卒中欲死”和“大秦芩汤(金·刘完素)治中风”等。因此,阐明在临床上广泛使用的中药的作用机制是本文关注的重点。益母草来自唇形科植物益母草(*Leonurus japonicus* Houtt.)的新鲜或干燥地上部分,临床上主要用于子宫收缩和镇静^[8]。现代药理学研究发现其具有子宫收缩、抗炎、镇痛和抗氧化作用等^[9]。值得引起关注的是,益母草对神经损伤也有保护作用^[10]。然而,关于益母草治疗神经损伤的物质基础和作用机制的研究还未见报道。因此有必要阐明益母草治疗神经损伤的物质基础和作用机制。

本研究旨在利用网络药理学预测益母草的活性成分、靶点及相关通路来探讨其治疗神经损伤的潜在分子机制,为益母草的药理机制深入研究和临床应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 数据库及软件

中药系统药理学分析平台(TCMSP)和中药分子机制的生物信息学分析工具(BATMAN-TCM);活性成分靶标预测数据库(SwissTargetPrediction, STP);人类基因注释数据库(GeneCards);疾病靶点标准化数据库(Uniprot);京都基因与基因组百科全书;蛋白-蛋白相互作用网络平台(STRING 11.0);

Venny2.1 软件、Cytoscape 3.6.0 软件和在线作图工具微生信。

1.2 益母草活性成分的筛选

通过 TCMSP 和 BATMAN-TCM 数据库输入“yimucao”,搜索得到益母草的活性成分,然后在 TCMSP 中设置口服生物利用度(OB)≥30%及药物相似性(DL)≥0.18;在 BATMAN-TCM 中设置“药物-靶点”相似性模型阈值≥20,调节 P 值≤0.05,筛选活性成分。

1.3 活性成分靶点的预测和筛选

在获得益母草活性成分的基础上,检索 TCMSP 和 STP 数据库,限定种属为“Homo sapiens(人类)”,获取活性成分的作用靶点。通过 PubChem 数据库来确证收集到的活性成分,将其标准化并下载 SMILES 序列。再通过 TCMSP 数据库搜索确证后的活性成分的靶点,将搜索的靶点按照度值从大到小排列后得到益母草的潜在靶点。在数据库 STP 中,搜索 SMILE 式,筛选条件为“概率>0”,删除重复值后预测得到药物的潜在靶点。此外,由于益母草中葫芦巴碱已被证实具有较好的治疗神经损伤作用,故将该化合物也纳入活性成分范围内^[11],并通过 TCMSP 和 STP 数据库获取其成分靶点。

1.4 疾病相关靶点的筛选

通过 GeneCards、DisGenet、OMIM 数据库以疾病名称“cerebral ischemia”和“traumatic brain injury”进行检索,获得神经损伤相关靶标。

1.5 药物靶点与疾病靶点标准化及 PPI 网络构建

利用疾病靶点标准化数据库 Uniprot,分别上传上述得到的益母草潜在靶点与神经损伤相关靶点名,获取其靶点的标准基因名以及 Uniprot ID。为明确益母草治疗神经损伤疾病的潜在靶点,将二者的靶点上传至 Venny 2.1 软件绘制韦恩图,并导出交集的基因。再将筛选得到的共有靶标蛋白上传至 STRING 平台,选择“multiple proteins”模式,建立药物靶蛋白-疾病靶蛋白相互作用网络,结合分值取中等“medium confidence(≥0.4)”,其余参数默认,利用 Cytoscape 3.6.0 软件构建益母草治疗神经损伤的 PPI 网络。利用 cytoHubba 插件计算 PPI 网络每个节点的度值,筛选益母草治疗神经损伤的核心靶点。

1.6 富集分析

在上述 STRING 中的结果下,选择“Analysis”,点击下载“Biological Process(GO)”“Molecular

Function(GO)”“Cellular Component(GO)”“KEGG Pathways”。阈值设置为 $P \leq 0.01$, 并按照涉及的靶点数目多少进行排序, 得到 GO 气泡图和 KEGG 信号通路条形图。

2 结果

2.1 益母草活性成分的筛选

通过 TCMSP 数据库检索到益母草已报道的化学成分, 以 ADME 参数 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 进行筛选, 得到益母草活性成分 8 个; BATMAN-TCM 数据库检索到 10 个益母草活性成分; 加上文献检索的 1 个化合物共 19 个(表 1)。再将这 19 个活性成分输入 TCMSP 以及 STP 数据库, 搜索的结果经过筛选去除重复项后共得到 654 个益母草潜在靶点。

表 1 益母草筛选所得活性成分

序号	化合物	来源数据库
1	没食子酸	BATMAN-TCM
2	水苏糖	BATMAN-TCM
3	芦丁	BATMAN-TCM
4	月桂酸	BATMAN-TCM
5	水苏碱	BATMAN-TCM
6	益母草素	BATMAN-TCM
7	西班牙夏罗草酮	BATMAN-TCM
8	鸟嘌呤	BATMAN-TCM
9	益母草碱	BATMAN-TCM
10	4-胍基丁醇	BATMAN-TCM
11	黄酮花二萜	TCMSP
12	ZINC04073977	TCMSP
13	前益母草二萜	TCMSP
14	异前益母草二萜	TCMSP
15	槲皮苷	TCMSP
16	花生四烯酸	TCMSP
17	异鼠李素	TCMSP
18	山奈酚	TCMSP
19	葫芦巴碱	文献

2.2 疾病靶点的筛选

通过 GeneCards、DisGenet 和 OMIM 数据库以疾病名称为“cerebral ischemia”和“traumatic brain injury”分别进行检索, 在 DisGenet 数据库中没有检测到 TBI 靶点, 删除重复值后, 得到神经损伤的靶点 3 605 个, 将疾病相关的靶点与益母草靶点进行 Venn 交集分析, 筛选得到益母草治疗神经

损伤的潜在靶点 426 个, 并获得药物-疾病共同靶点基因韦恩图(图 1)。

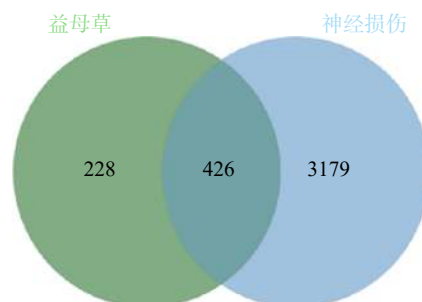


图 1 益母草治疗神经损伤的药物-疾病共同靶点韦恩图

2.3 PPI 网络分析

将益母草治疗神经损伤的 426 个潜在靶点, 导入 STRING 数据库, 将相互作用靶点的结果导入 Cytoscape 3.6.0 进行可视化分析, 得到由 331 个节点、6955 条边共同组成的网络(图 2), 同时得到网络中关键靶点的度值(表 2)。如图 2 所示, 与神经损伤相关度较高的靶点(度值 ≥ 139)为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1(AKT1)、白细胞介素 6(IL-6)受体、血管内皮生长因子 A(VEGFA)、半胱氨酸蛋白酶 3(CASP3)、肿瘤蛋白 P53(TP53)、基质金属蛋白酶-9(MMP9)。度值大的靶点提示在网络调控中起关键作用, 这些度值大的靶点很可能是益母草治疗神经损伤的关键靶点。

2.4 GO 生物过程和 KEGG 通路富集分析

将“2.2”项下获取的 426 个潜在的治疗神经损伤的靶点通过 STRING 进行生物过程(BP)、细胞组分(CC)和分子功能(MF)分析, 以 $P < 0.01$ 为条件, 筛选靠前的 GO 富集分析, 如图 3 所示。图中纵坐标表示富集条目, 横坐标表示基因计数, 颜色深浅代表 $-\log_{10}(p)$ 值大小。其中 GO-BP 主要为应激反应、生物调节和细胞通讯等; GO-CC 主要为细胞膜等; GO-MF 主要为蛋白质结合、离子结合和催化还原活性等。

利用 STRING 数据库对益母草治疗神经损伤的潜在的 426 个靶点进行富集分析, 筛选出显著的前 16 条信号通路($P < 0.01$), 主要涉及的信号通路为 MAPK、Toll 样受体、PI3K-Akt、肿瘤坏死因子、IL-17 和凋亡等信号通路(图 4)。

2.5 药物“活性成分-靶点”网络的构建与分析

通过 Cytoscape3.6.0 软件得到药物“活性成分-靶点”的网络(图 5)。网络中化合物 19 个, 靶点 426 个。在图 5 中, 箭头节点代表益母草中化合物, 椭圆形节点代表靶点, 结果可以明显看出益母草中度值相对较高的化合物有槲皮素、益母草碱、

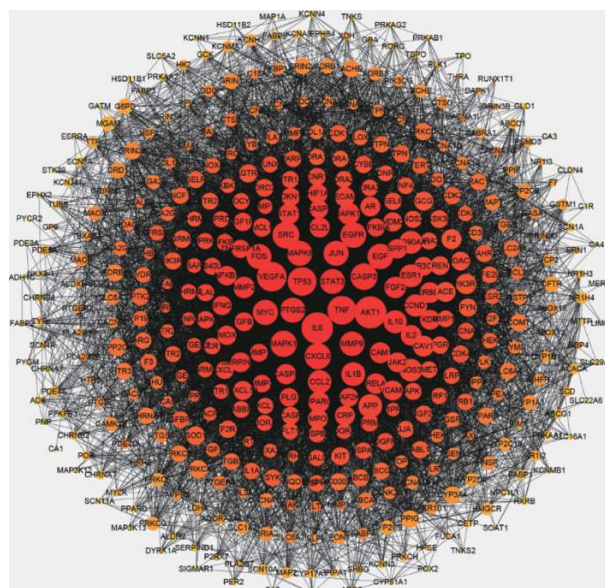


图 2 益母草治疗神经损伤的 PPI 网络

注: 图中节点面积和颜色深浅代表度值

表 2 益母草治疗神经损伤相关靶点信息

基因	度值	靶点名称	数据库中代码
AKT1	225	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶	P31749
IL6	217	白介素6	P05231
VEGFA	196	血管内皮生长因子A	P15692
TNF	187	肿瘤生长因子	P01375
TP53	186	细胞肿瘤抗原P53	P04637
SRC	165	原癌基因酪氨酸受体激酶	P12931
CASP3	163	胱天蛋白酶-3	P42574
MAPK1	160	丝裂原活化蛋白激酶1	P28482
CXCL8	157	白介素8	P10145
EGFR	153	表皮生长因子受体	P00533
EGF	150	前表皮生长因子	P01133
PTGS2	146	牛前列腺素G/H合成酶2	P35354
MAPK8	146	丝裂原活化蛋白激酶8	P45983
MYC	146	原癌基因蛋白Myc	P01106
JUN	145	转录因子AP-1	P05412
STAT3	143	信号传导及转录激活子3	P40763
FOS	143	原癌基因c-Fos	P01100
MMP9	139	基质金属蛋白酶9	P14780
IL-1 β	133	白介素1 β	P01584

山奈酚、异鼠李素、水苏碱、葫芦巴碱等,这些化合物可能是益母草治疗神经损伤的关键化合物。

3 讨论

本研究采用网络药理学方法,借助相关数据库

以及各种绘图软件对益母草治疗神经损伤的物质基础和作用机制进行研究。共筛选出益母草有效活性成分 19 个,对应活性成分靶点 654 个。其中,益母草与神经损伤的共同基因有 426 个,“药物活性成分-共同靶点”网络与 PPI 网络结合分析,结果发现,益母草治疗神经损伤的关键活性成分有槲皮素、益母草碱、山奈酚、异鼠李素、水苏碱、葫芦巴碱等,其中槲皮素对脑缺血的作用最为突出。槲皮素通过发挥抗氧化^[12]、抗炎和抗凋亡作用^[13]对脑缺血的病理学改变产生了积极的治疗作用。益母草碱通过抗氧化、抗凋亡、保护线粒体和激活 Nrf-2/HO-1 信号通路发挥血脑屏障保护作用^[14]。山奈酚具有抗氧化、抗炎、抗癌和预防心血管疾病等多种药理活性^[15]。异鼠李素具有保护心脑血管、抗肿瘤、抗炎、抗氧化、保护器官、预防肥胖等作用^[16]。水苏碱通过多种分子机制(包括 TGF- β 、 α 介导的细胞凋亡、MMPs/TIMPs、NF- κ B 和 JAK/STAT)抑制细胞外基质(ECM)沉积、降低炎症和氧化应激,以及血管生成保护血管等发挥神经保护作用^[17]。葫芦巴碱具有抗凋亡、抗炎、抗氧化、神经保护等多种药理作用,具有改善认知能力的潜力。

根据益母草靶蛋白互作网络图分析可知,益母草治疗神经损伤的核心靶点主要为: AKT1, IL-6, VEGFA, CASP3, TP53, MMP-9。AKT1 能够通过丝氨酸和/或苏氨酸磷酸化介导调节细胞代谢、增殖、细胞存活、胰岛素信号传导、生长和血管生成过程。据报道^[18]阿托伐他汀通过抑制 JNK3/cJun/caspase-3, 增强 Akt-nNOS 信号通路,抑制脑缺血大

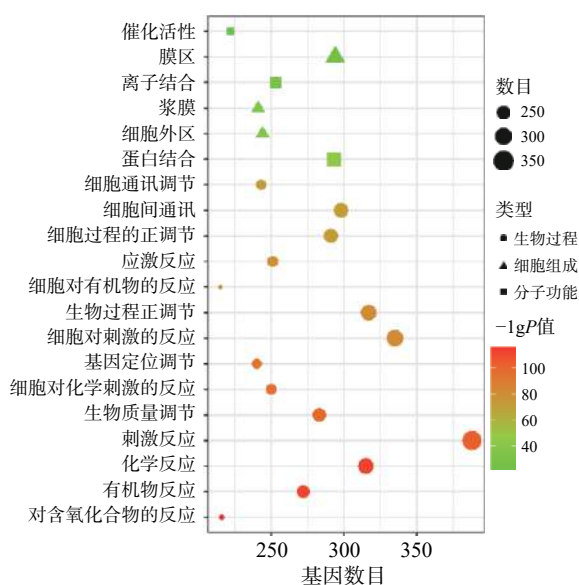


图 3 益母草治疗神经损伤的潜在作用靶点的 GO 分析

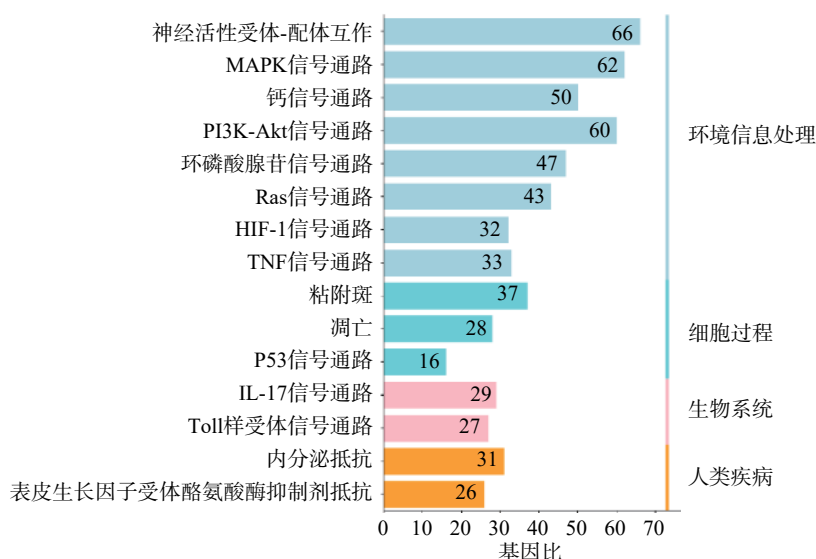
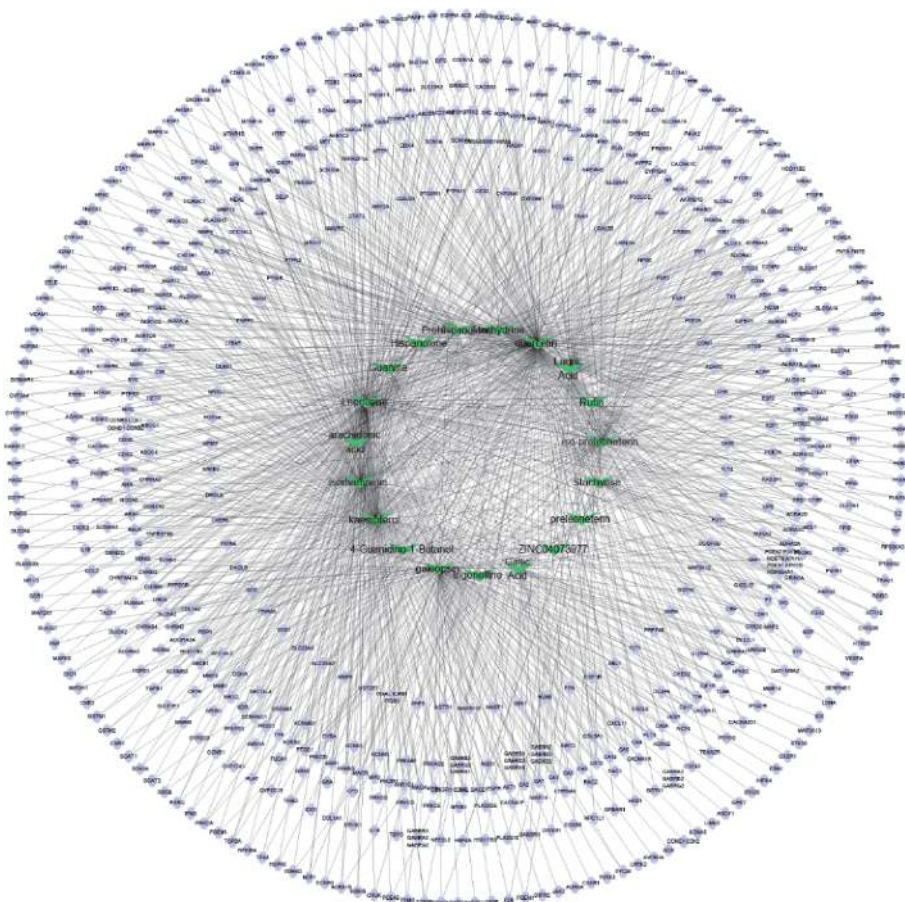


图 4 益母草治疗神经损伤的潜在作用靶点的 KEGG 信号通路富集分析

鼠脑内细胞凋亡,对脑缺血再灌注有保护作用。IL-6 可调节多种细胞的生长与分化,具有调节免疫应答、急性期反应及造血功能,并在机体的抗感染免疫反应中起重要作用。IL-6 作为促炎细胞因子在脑缺血中的作用可能是通过 NF- κ B 通路来实现的^[19]。据报道,LncRNA MEG8 通过 miR-130a-5p/VEGFA 信号靶向减轻缺血性中风后的脑缺血^[20],通过靶向 VEGFA,下调 microRNA-195 促进血管生成^[21]。Caspase-3(CASP3)是细胞凋亡途径中最关键的酶类之一,与癌症的发生、衰老、心脑血管疾病的发生等有着重要联系。Nahid 等^[22]研究发现通过降低 Bax/Bcl-2 比值和 caspase-3 活化,可减轻脑缺血后海马 CA1 神经元损伤,改善脑缺血损伤引起的功能和记忆丧失。TP53 是神经元凋亡的

主要调节因子,任何降低 TP53 稳定性及其向线粒体迁移的方法都可以减轻缺血性脑区的神经元损失^[23]。MMP-9 是一种明胶酶,大脑中许多细胞都能分泌 MMP-9。MMP-9 降解细胞外基质成分,从而引发中风,Zinnhardt 等^[24]研究发现脑缺血的发生会促进基质金属蛋白酶(MMPs)的产生,尤其是 MMP-9,另外 MMP-9 的激活又可引起血脑屏障受损。

GO 功能富集分析发现,益母草治疗神经损伤的基因功能主要体现在生物调节、氧化应激反应、细胞通讯等生物学过程以及蛋白质结合、离子结合和催化还原等。KEGG 信号通路富集分析显示,益母草治疗神经损伤所涉及的 TNF 信号通路、MAPK 信号通路、TP53 信号通路、PI3K-Akt 信号通路的 P 值较小,被显著富集。TNF 具有促进细胞生长、



综上所述,本研究应用网络药理学的方法预测

了益母草治疗神经损伤的主要活性成分和潜在分子机制,但由于所使用平台的数据收录,更新相对滞后,中药活性成分筛选条件口服生物利用度与类药性并不是唯一的标准,因而,研究预测的结果有其局限性。需要在今后的实验研究中进一步阐明和验证益母草中活性成分的作用靶点,从而完善其治疗神经损伤的有效化学成分及作用机制。

【参考文献】

- [1] PAUDEL Y N, ANGELOPOULOU E, SEMPLE B, et al. Potential Neuroprotective effect of the HMGB Inhibitor Glycyrrhizin in Neurological Disorders[J]. [ACS Chem Neurosci](#), 2020, 11(4): 485-500.
- [2] WANG L R, MA S F, HU Z H, et al. Chemogenomics systems pharmacology mapping of potential drug targets for treatment of traumatic brain injury[J]. [J Neurotrauma](#), 2019, 36(4): 565-575.
- [3] MCGOVERN A J, BARRETO G E. Network pharmacology identifies IL6 as an important hub and target of tibolone for drug repurposing in traumatic brain injury[J]. [Biomed Pharmacother](#), 2021, 140: 111769.
- [4] CAMPBELL B C V, DE SILVA D A, MACLEOD M R, et al. Ischaemic stroke[J]. [Nat Rev Dis Primers](#), 2019, 5(1): 70-70.
- [5] STOLL G, NIESWANDT B. Thrombo-inflammation in acute

- ischaemic stroke - implications for treatment[J]. *Nat Rev Neurol*, 2019, 15(8): 473-481.
- [6] LIU X, YE M, AN C Y, et al. The effect of cationic albumin-conjugated PEGylated tanshinone IIA nanoparticles on neuronal signal pathways and neuroprotection in cerebral ischemia[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(28): 6893-6905.
- [7] WU S P, WANG N, ZHAO L. Network pharmacology reveals the mechanism of activity of Tongqiao Huoxue decoction extract against middle cerebral artery occlusion-induced cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 11: 572624.
- [8] ZHANG R H, LIU Z K, YANG D S, et al. Phytochemistry and pharmacology of the genus *Leonurus*: The herb to benefit the mothers and more[J]. *Phytochemistry*, 2018, 147: 167-183.
- [9] WOJTYNIAK K, SZYMAŃSKI M, MATŁAWSKA I. *Leonurus cardiaca* L. (motherwort): a review of its phytochemistry and pharmacology[J]. *Phytother Res*, 2013, 27(8): 1115-1120.
- [10] KUANG P G, ZHOU X F, ZHANG F Y, et al. Motherwort and cerebral ischemia[J]. *J Tradit Chin Med*, 1988, 8(1): 37-40.
- [11] PRAVALIKA K, SARMAH D, KAUR H, et al. Trigonelline therapy confers neuroprotection by reduced glutathione mediated myeloperoxidase expression in animal model of ischemic stroke[J]. *Life Sci*, 2019, 216: 49-58.
- [12] SINGH V, SHRI R, KRISHAN P, et al. Isolation and characterization of components responsible for neuroprotective effects of *Allium cepa* outer scale extract against ischemia reperfusion induced cerebral injury in mice[J]. *J Food Sci*, 2020, 85(11): 4009-4017.
- [13] WANG Y Y, CHANG C Y, LIN S Y, et al. Quercetin protects against cerebral ischemia/reperfusion and oxygen glucose deprivation/reoxygenation neurotoxicity[J]. *J Nutr Biochem*, 2020, 83: 108436.
- [14] 梁博志, 罗建华, 杨冬花, 等. 益母草碱作用及机制研究进展[J]. *贵阳中医学院学报*, 2017, 39(4): 93-96, 101.
- [15] 雷晓青, 陈鳌, 刘毅, 等. 山萘酚药理作用的研究进展[J]. *微量元素与健康研究*, 2017, 34(2): 61-62.
- [16] GONG G, GUAN Y Y, ZHANG Z L, et al. Isorhamnetin: a review of pharmacological effects[J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2020: 128.110301.
- [17] CHENG F, ZHOU Y X, WANG M, et al. A review of pharmacological and pharmacokinetic properties of stachydrine[J]. *Pharmacol Res*, 2020: 155.104755.
- [18] SHAO S, XU M W, ZHOU J J, et al. Atorvastatin attenuates ischemia/reperfusion-induced hippocampal neurons injury via Akt-nNOS-JNK signaling pathway[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2017, 37(4): 753-762.
- [19] HAO M Q, XIE L J, LENG W, et al. Trim47 is a critical regulator of cerebral ischemia-reperfusion injury through regulating apoptosis and inflammation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 515(4): 651-657.
- [20] SUI S H, SUN L, ZHANG W J, et al. LncRNA MEG8 attenuates cerebral ischemia after ischemic stroke through targeting miR-130a-5p/VEGFA signaling[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2021, 41(6): 1311-1324.
- [21] ZHAO W J, ZHANG H F, SU J Y. Downregulation of microRNA-195 promotes angiogenesis induced by cerebral infarction via targeting VEGFA[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(4): 5434-5440.
- [22] ABOUTALEB N, SHAMSAEI N, RAJABI H, et al. Protection of hippocampal CA1 neurons against ischemia/reperfusion injury by exercise preconditioning via modulation of bax/bcl-2 ratio and prevention of caspase-3 activation[J]. *Basic Clin Neurosci*, 2016, 7(1): 21-29.
- [23] ALMEIDA A, SÁNCHEZ-MORÁN I, RODRÍGUEZ C. Mitochondrial-nuclear p53 trafficking controls neuronal susceptibility in stroke[J]. *IUBMB Life*, 2021, 73(3): 582-591.
- [24] ZINNHDART B, VIEL T, WACHSMUTH L, et al. Multimodal imaging reveals temporal and spatial microglia and matrix metalloproteinase activity after experimental stroke[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, 35(11): 1711-1721.
- [25] JIA L W, CHEN Y H, TIAN Y H, et al. MAPK pathway mediates the anti-oxidative effect of chicoric acid against cerebral ischemia-reperfusion injury in vivo[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(2): 1640-1646.
- [26] YAO X F, WANG Y H, ZHANG D Y. microRNA-21 confers neuroprotection against cerebral ischemia-reperfusion injury and alleviates blood-brain barrier disruption in rats via the MAPK signaling pathway[J]. *J Mol Neurosci*, 2018, 65(1): 43-53.
- [27] WANG P F, XIONG X Y, CHEN J, et al. Function and mechanism of toll-like receptors in cerebral ischemic tolerance: from preconditioning to treatment[J]. *J Neuroinflammation*, 2015, 12: 80.
- [28] PAN J Q, LI X, GUO F, et al. Ginkgetin attenuates cerebral ischemia-reperfusion induced autophagy and cell death via modulation of the NF- κ B/p53 signaling pathway[J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(9): 20191452.
- [29] ZHOU Z, DUN L, WEI B, et al. Musk ketone induces neural stem cell proliferation and differentiation in cerebral ischemia via activation of the PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Neuroscience*, 2020, 435: 1-9.

[收稿日期] 2021-05-22 [修回日期] 2021-10-26

[本文编辑] 陈盛新