

本文引文格式: 欧阳扬, 刘佩, 刘玥彤, 等. 基于网络药理学分析三七总皂苷通过外泌体 miR-21 干预缺血性脑卒中作用机制[J]. 右江民族医学院学报, 2022, 44(3): 351-358.

【论著与临床报道】

基于网络药理学分析三七总皂苷通过外泌体 miR-21 干预缺血性脑卒中作用机制

欧阳扬¹, 刘佩¹, 刘玥彤¹, 杨臻鑫¹, 黄清², 刘蕾³, 陈维¹, 陈玉珍¹, 方子文¹, 蒙兰青²

(1. 右江民族医学院研究生学院, 广西 百色 533000;

2. 右江民族医学院附属医院, 广西 百色 533000;

3. 粤北人民医院, 广东 韶关 512000)

摘要:目的 利用生物信息学方法探讨外泌体 miR-21 和三七总皂苷在缺血性脑卒中治疗的分子作用机制及调控网络。**方法** 使用多个数据库查询三七总皂苷活性成分及靶基因、外泌体 miR-21 和缺血性脑卒中的靶基因; 对共同靶基因进行 GO 和 KEGG 分析, 使用 Cytoscape 软件构建活性化合物-靶基因-信号通路网络图和 PPI 网络图, 筛选核心基因。最后运用分子对接对活性化合物和主要靶点进行验证。**结果** 获得三七总皂苷 12 个活性成分及 47 个共同靶基因。PPI 网络构建得到 10 个核心基因: CASP3、EGFR、VEGFA、STAT3、HIF1A、ESR1、BCL2L1、HSP90AA1、PTGS2、MTOR。GO 富集分析表明靶基因主要富集在凋亡过程的负调控、一氧化氮生物合成过程的正调控、RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、细胞增殖的正调控生物学过程项目。KEGG 富集分析表明, 共同基因主要参与癌症中的蛋白聚糖、HIF-1 信号通路、胰脏癌、肿瘤坏死因子信号通路等通路。分子对接表明主要活性成分与核心靶点有较强的结合能力。**结论** 外泌体 miR-21 和三七总皂苷通过多靶点、多途径、多通路干预缺血性脑卒中, STAT3、VEGFA、HSP90AA1、BCL2L1、MAPK1 是值得关注的靶基因, 蛋白多糖与癌症通路是主要调控通路。

关键词: 缺血性脑卒中; 外泌体; miRNA-21; 网络药理学; 分子对接

中图分类号: R743.3

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2022)03-0351-08

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2022.03.009

Analysis of the mechanism of *Panax notoginseng* saponins intervening ischemic stroke through exosome miR-21 based on network pharmacology

Ouyang Yang¹, Liu Pei¹, Liu Yuetong¹, Yang Liuxin¹, Huang Qing², Liu Lei³,
Chen Wei¹, Chen Yuzhen¹, Fang Ziwen¹, Meng Lanqing²

(1. Graduate School, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;

2. The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000,

Guangxi, China; 3. Yue Bei People's Hospital, Shaoguan 512000, Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To explore the molecular mechanism and regulatory network of exosome miR-21 and *Panax notoginseng* saponins in the treatment of ischemic stroke by bioinformatics. **Methods** The active components and target genes of *Panax notoginseng* saponins, target genes of exosome miR-21 and ischemic stroke were investigated by multiple databases. Common target genes were analyzed by GO and KEGG. Cyto-

基金项目: 国家自然科学基金项目(81460614, 81660791)

第一作者简介: 欧阳扬(1983-), 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 脑血管病的基础与临床研究, E-mail: oy-yang@hotmail.com

通讯作者简介: 蒙兰青(1972-), 男, 硕士, 教授, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 脑血管病的基础与临床研究, E-mail: menglanqingsj@qq.com

scape software was used to construct active compound-target gene-signal pathway network map and PPI network map to screen core genes. Finally, molecular docking was used to verify the active compounds and main targets. **Results** This study obtained twelve active components and 47 common target genes of Panax notoginseng saponins. The PPI network was constructed to obtain 10 core genes: CASP3, EGFR, VEGFA, STAT3, HIF1A, ESR1, BCL2L1, HSP90AA1, PTGS2, MTOR. GO enrichment analysis showed that the target genes were mainly enriched in the biological processes of negative regulation of apoptosis, positive regulation of nitric oxide biosynthesis, positive regulation of RNA polymerase II promoter transcription, and positive regulation of cell proliferation. KEGG enrichment analysis showed that common genes were mainly involved in proteoglycan, HIF-1 signaling pathway, pancreatic cancer, tumor necrosis factor signaling pathway and other pathways in cancer. Molecular docking showed that the main active components had strong binding ability with the core target. **Conclusion** Exosome miR-21 and Panax notoginseng saponins intervene ischemic stroke through multiple targets, multiple approaches, and multiple pathways. STAT3, VEGFA, HSP90AA1, BCL2L1, and MAPK1 are target genes that deserve attention, and proteoglycan and cancer pathways are main regulatory pathways.

Key words: ischemic stroke; exosome; miRNA-21; network pharmacology; molecular docking

脑卒中是世界范围内死亡和残疾的主要原因之一,其两大分类是缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)和出血性脑卒中,其中缺血性脑卒中占80%以上^[1-2]。全世界每年大约有1 500万人患中风,500万长期残疾,严重威胁人类生命安全和生活质量^[3]。缺血再灌注损伤是缺血性脑卒中的主要病理过程,其特征是炎症损伤、氧化损伤和凋亡^[4]。有研究表明^[5],三七的提取物三七总皂苷(panax notoginseng saponins, PNS)能通过多靶点多途径干预缺血再灌注损伤过程,是近年防治缺血性脑卒中的研究热点。

外泌体是在细胞内囊泡与质膜融合后分泌到细胞外环境中的40~100 nm微泡,主要携带蛋白质、mRNA和miRNA等小分子物质^[6],通过胞吐作用从细胞中释放,受体细胞摄取外泌体后发挥相应生物学效应^[7]。有研究表明,外泌体携带的多种miRNA可以减轻脑缺血再灌注损伤,具有治疗缺血性脑卒中的潜力^[8-9]。miRNA是长度约为22个核苷酸的非编码小RNA,通过抑制下游靶基因发挥生物学功能,在多种生物过程中发挥重要作用^[10]。现有研究表明^[11],miR-21对缺血再灌注损伤的神经具有保护作用,然而,外泌体miR-21与三七总皂苷在缺血性脑卒中的治疗相关机制尚未完全明确。

本研究使用生物信息学方法、网络药理学及分子对接研究外泌体miR-21和三七总皂苷共同靶点在治疗缺血性脑卒中作用,可能会增加对缺血再灌注损伤理解,并有助于开发缺血性脑卒中的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 筛选缺血性脑卒中的相关基因 在Genecard数据库(<http://www.genecards.org>)和DisGeNet数据库(<https://www.disgenet.org/>)使用关键词缺血性

脑卒中(ischemic stroke, IS)、脑梗塞(cerebralinfarction)、脑缺血(cerebralischemia)查询与缺血性脑卒中相关的基因,合并查询到的靶基因,并删除重复项。

1.2 外泌体miR-21的靶基因预测 外泌体miR-21的靶基因由mirnet在线工具(<https://www.mirnet.ca/>)及外泌体数据库EVmiRNA(<http://bioinfo.life.hust.edu.cn/>)检索得到。在mirnet中,以关键词“has-mir-21”进行预测,物种选择“human”,组织来源选择“exosome”,靶基因数据库选择“miRTarBase V8.0”、“TarBase”,“miRecords”。在EVmiRNA中,输入miR-21,查询相应的靶基因。将上述二者查询到的靶基因合并后去除重复项。

1.3 三七主要活性成分的筛选和靶点预测 在TCMIP(<http://www.tcmip.cn/TCMIP/index.php/Home/>)和BATMAN-TCM数据库(<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/index.php>, cutoff = 20、Adjusted P-value < 0.05)中,以“SANQI”作为关键检索词,筛选三七总皂苷的活性化合物。将两个数据库得到的三七总皂苷活性化合物取交集,得到12个三七总皂苷活性化合物。

为了得到三七总皂苷活性化合物的作用靶点,从PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库中获取了三七活性化合物的简化分子输入线输入规范(SMILES)信息,将SMILES信息导入SwissTargetPrediction平台(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)^[12],属性设置为“Homo sapiens”,筛选结合概率 ≥ 0 的三七活性化合物基因靶标。

1.4 蛋白质相互作用网络的建立及核心基因筛选 将三七总皂苷活性化合物靶基因、缺血性脑卒中靶基因、外泌体miR-21靶基因分别上传到在线维恩图中,

以获取它们的共同基因。使用 CytoScape 软件 (version 3.9.0) 的 STRING 插件对共同基因构建蛋白互作网络,物种设置为“Homo sapiens”,置信水平设置为 ≥ 0.4 ,删除无连接的靶点。最后通过 Cytohubba 插件进行关键靶点分析,筛选前 10 基因为核心基因。

1.5 GO 和 KEGG 富集分析 使用在线工具 DAVID 对 47 个共同基因进行基因本体 (Gene Ontology, GO) 和京都基因和基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 途径分析,物种设置为“Homo sapiens”。

1.6 活性化合物-靶基因-信号通路网络建立 将三七活性化合物及预测到的靶基因、缺血性脑卒中靶基因、miR-21 靶基因及关键信号通路导入 Cytoscape 软件,构建“三七总皂苷活性成分-靶基因-信号通路”网络。

1.7 分子对接 鉴于生物活性分子的靶点筛选尚无统一标准,因此选择 PPI 网络度最高的 5 个靶基因与三七总皂苷的活性分子进行分子对接。使用在线工具 CB-Dock (<http://clab.labshare.cn/cb-dock/php/blinddock.php>) 进行分子对接,最后选择结合能最低的对接模型进行可视化。

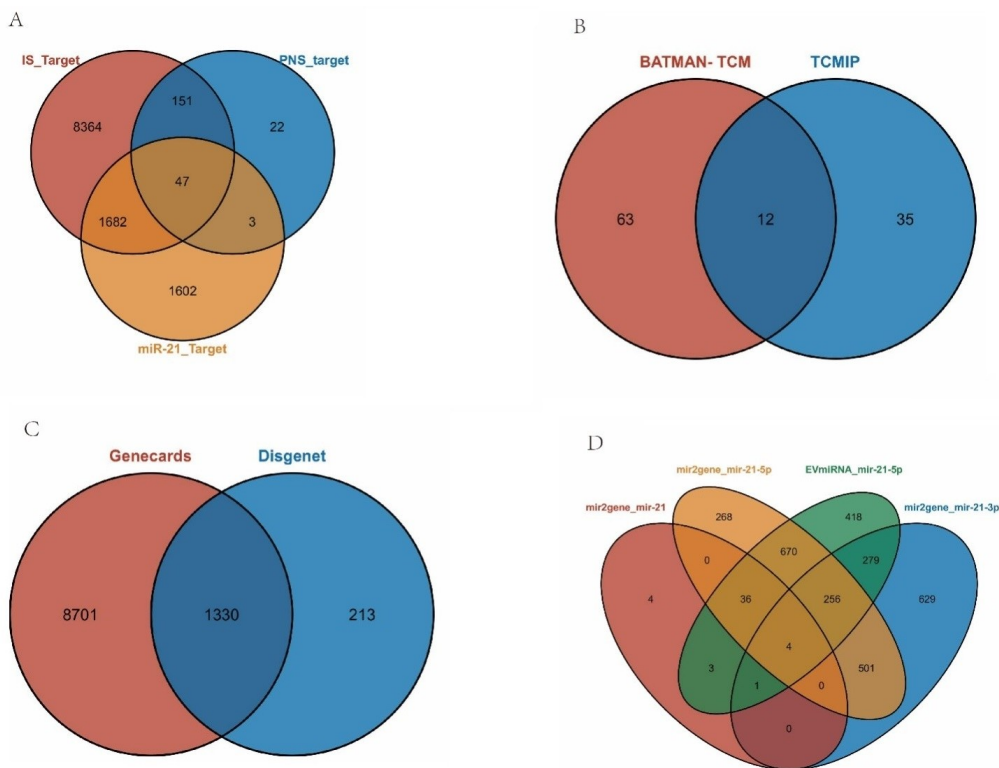
2 结果

2.1 活性成分和共同调控基因分析 从 Genecard 和

DisGeNet 数据库中共获得 10 244 个缺血性脑卒中相关基因。从 BATMAN-TCM 和 TCMIP 数据库中查询到的三七总皂苷共有活性化合物为 12 个 (见表 1),通过 SwsisTargetPrediction 平台得到 223 个活性化合物作用的靶基因。在 EVmiRNA 数据库查询到的 1 667 个 has-mir-21-5p 的靶基因,在 mir2gene 数据库中,has-mir-21 的靶基因为 48 个,has-mir-21-3p 的靶基因为 1 670 个,has-mir-21-5p 的靶基因为 1 735 个。通过绘制韦恩图将上述过程可视化 (见图 1),得到 47 个共同基因。

表 1 三七总皂苷 12 种主要成分信息

Chemical Component	CAS	Molecular formula
Notoginsenoside R4	87741-77-3	C ₅₉ H ₁₀₀ O ₂₇
Ginsenoside Rb1	41753-43-9	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃
Notoginsenoside R3	575446-95-6	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₉
Notoginsenoside R1	80418-24-2	C ₄₇ H ₈₀ O ₁₈
Notoginsenoside A	193895-21-5	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₄
Acetophenone	98-86-2	C ₈ H ₈ O
Notoginsenoside R2	80418-25-3	C ₄₁ H ₇₀ O ₁₃
Sanchinoside B1	97744-96-2	C ₃₆ H ₆₂ O ₉
Cyclododecanone	830-13-7	C ₁₂ H ₂₂ O
Stigmasterol	83-48-7	C ₂₉ H ₄₈ O
Panaxatriol	87005-03-6	C ₁₇ H ₂₆ O ₃
Cuparene	16982-00-6	C ₁₅ H ₂₂

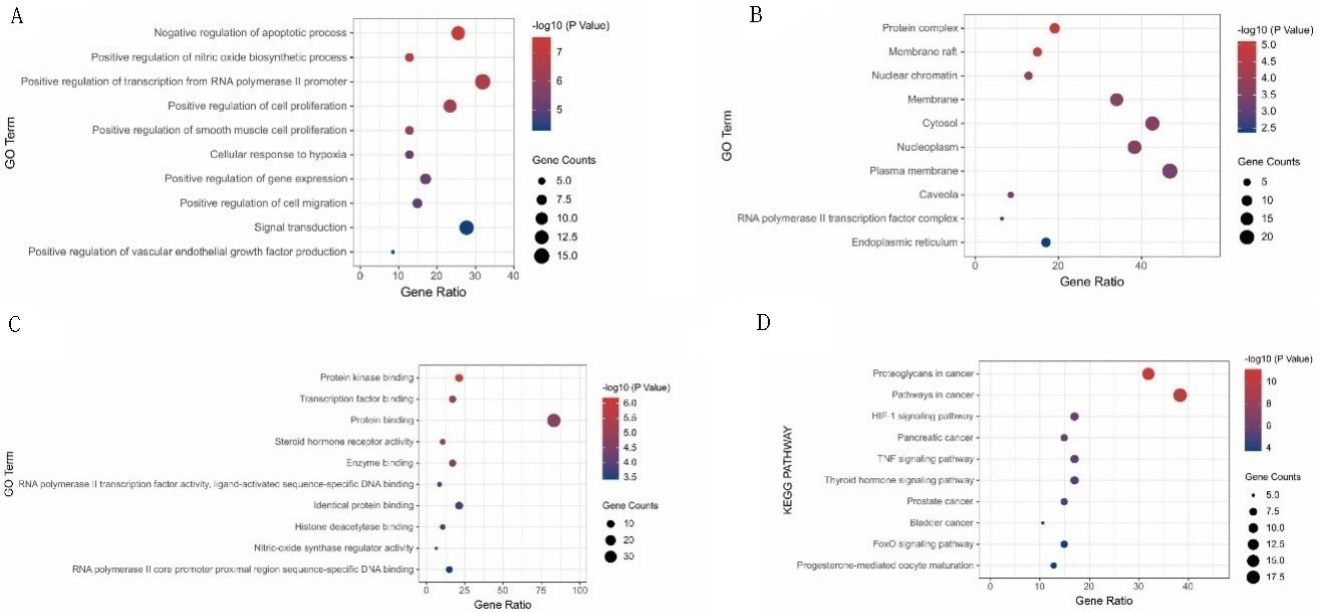


A: 共同靶点韦恩图; B: 筛选活性成分韦恩图; C: 缺血性脑卒中靶点韦恩图; D: 外泌体 miR-21 靶点韦恩图。

图 1 缺血性脑卒中靶点、三七总皂苷主要活性成分及外泌体 miR-21 靶点韦恩图

2.2 GO 和 KEGG 分析 使用在线工具 DAVID 对 47 个共同靶基因进行 GO 和 KEGG 富集分析,以 $P \leq 0.05, Q \leq 0.05$ 为标准筛选。结果如图 2 显示,在生物过程中,靶基因主要富集在凋亡过程的负调控、一氧化氮生物合成过程的正调控、RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、细胞增殖的正调控等项。在细胞组分中,

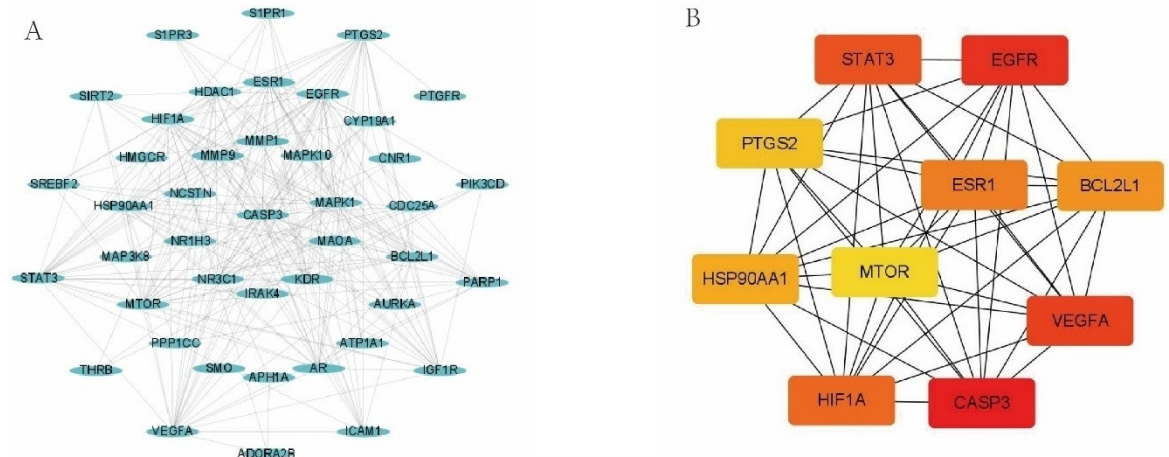
主要富集在蛋白复合体、膜筏、核染色质、细胞膜、胞液等项目。在细胞功能中,主要富集在蛋白激酶结合、转录因子结合、蛋白结合、类固醇激素受体活性、酶结合等项目。KEGG 分析表明,共同基因主要参与癌症中的蛋白聚糖、HIF-1 信号通路、胰腺癌、肿瘤坏死因子信号通路等通路。



A: 生物过程富集图; B: 细胞组分富集图; C: 细胞功能富集图; D: KEGG 富集图。
图 2 GO、KEGG 富集分析气泡图

2.3 PPI 网络构建及核心基因分析 使用 Cytoscape 的 STRING 插件,对 47 个靶基因进行 PPI 网络构建,计算靶基因在 PPI 网络中的度值(Degree),cutoff > 0.4,忽略与主网络无连接点的靶点,最终得到 41 个节点,235 条边的 PPI 网络(见图 3)。使用 Cytohubba 插件中的 MCC 算法对 PPI 网络进行计算,得到属于前

10 的核心基因为 CASP3、EGFR、VEGFA、STAT3、HIF1A、ESR1、BCL2L1、HSP90AA1、PTGS2、MTOR。这些基因可能是在治疗缺血性脑卒中过程中,三七总皂苷和外泌体 miR-21 发挥重要作用的节点,为治疗缺血性脑卒中的关键靶点。



A: PPI 网络; B: 核心基因。
图 3 PPI 网络及核心基因

2.4 化合物-靶点-通路网络构建 “活性化合物-靶点-疾病-通路”网络结果如图 4 所示,该网络有 74 个节点,209 条边,其中度值较大的活性成分有人参炔三醇 (panaxytriol,5)、三七皂甙 B1(sanchinoside B1,4)、三七皂甙 R3(notoginsenoside R3,4)、三七皂甙 R1(notoginsenoside R1,4)、人参皂甙 Rb1(ginsenoside Rb1,

4),这可能是三七总皂苷治疗缺血性脑卒中的主要活性成分。而度值较大的靶点有 STAT3(9)、VEGFA(8)、HSP90AA1(8)、BCL2L1(7)、MAPK1(5)、EGFR(5)、PIK3CD(4)、IGF1R(4),这些可能是三七总皂苷活性成分与外泌体 miR-21 共同干预缺血性脑卒中的主要靶点。

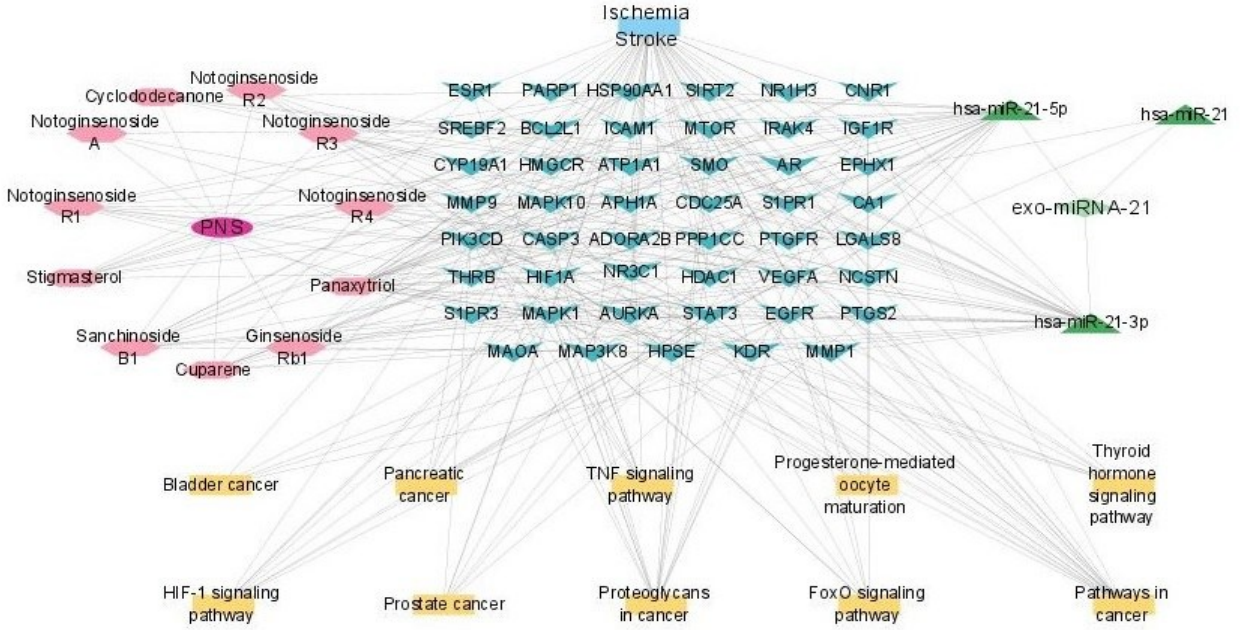
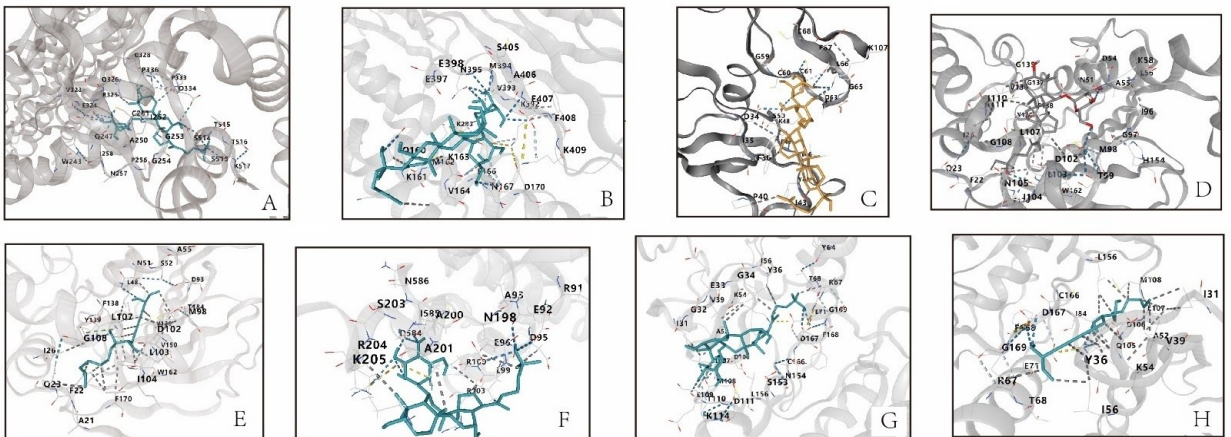


图 4 缺血性脑卒中靶点-三七总皂苷-miR-21 靶点网络图

2.5 主要活性成分-关键靶点分子对接 对三七总皂苷主要活性化合物人参炔三醇 (panaxytriol)、三七皂甙 B1 (sanchinoside B1)、三七皂甙 R1 (notoginsenoside B1)、三七皂甙 R3(notoginsenoside R3)及对应的靶点 STAT3、VEGFA、HSP90AA1、BCL2L1、MAPK1 进行分子对接。通常认为,对于蛋白质-配体复合物,结合能越低,结合亲和力越高。以结合能 ≤

-5.0 kJ/mol 为标准,结果表明,所有选定的生物活性成分与受体的最小结合能远低于-5.0 kJ/mol。表 2 显示了与每个核心靶点对接的对应种活性成分中结合能最低的具体信息。图 5 为对接结果的可视化。分子对接结果表明,重要的生物活性成分与核心靶点具有良好的结合力。



A:Notoginsenoside R2 与 STAT3 对接;B:Sanchinoside B1 与 STAT3 对接;C:Notoginsenoside R2 与 VEGFA 对接; D:Sanchinoside B1 与 HSP90AA1 对接;E:Panaxytriol 与 HSP90AA1 对接;F:BCL2L1 与 Sanchinoside B1 对接; G:Sanchinoside B1 与 MAPK1 对接;H:Panaxytriol 与 MAPK1 对接

图 5 活性分子-核心靶点对接图

表 2 分子对接结合能

活性化合物	STAT3	VEGFA	HSP90AA1	BCL2L1	MAPK1
Notoginsenoside R2	-8.2	-7.8	-	-	-
Sanchinoside B1	-8.1	-	-8.6	-7.3	-9.4
Panaxatriol	-	-	-7.3	-	-6.6

3 讨论

缺血性脑卒中大多数由血栓形成和栓塞引起^[13-14],动脉闭塞缺血后,每分钟有超过 200 万个神经元凋亡^[15]。治疗缺血性脑卒中的首要目标是尽快解除动脉梗阻,恢复血流,实现再灌注,以减少脑组织损伤。然而,恢复血流会加重脑损伤和功能损伤,导致脑缺血再灌注损伤,损伤的机制复杂,涉及多靶点、多种信号通路和生物学过程^[16-17]。静脉溶栓已被广泛用于治疗缺血性脑卒中,但存在一定局限性如导致出血或有时间窗限制^[18-19]。因此,有必要寻找新的治疗缺血性卒中的药物。

中草药是发现新药的重要资源,诸多从中草药中提取的天然产物对缺血性脑卒中有确切疗效^[20]。三七总皂苷是从传统中药三七中提取的主要成分,主要有效成分为三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Rb1、人参皂苷 Rd 和人参皂苷 Re 等,已经广泛应用于缺血性脑卒中的治疗^[21]。在本研究中,通过中药数据库查询到三七总皂苷的 12 个活性成分在缺血再灌注中具备保护神经的作用,如三七皂苷 R1 通过抑制内质网应激途径来保护大脑免受缺氧缺血性损伤^[21],人参皂苷 Rb1 可以通过抑制 NF- κ B 转录活性和促炎细胞因子的表达来减轻脑缺血性损伤^[22],人参三醇能抑制促炎细胞因子如 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的 mRNA 表达,从而抑制小胶质细胞诱导的神经元死亡^[23]。

外泌体携带蛋白质、核酸、脂质等多种小分子物质,这些分子可以选择性地被其他细胞识别或转移到其他细胞,从而影响受体细胞的表型和功能^[24]。研究表明,多种外泌体携带的 miRNA 在缺血性脑卒中心理病理过程中发挥重要作用,同时,miR-21 是值得关注的分子之一^[25-28]。体外研究证实 miR-21-5p 的高表达,可以抑制配对免疫球蛋白受体(BPirB)以减轻脑缺血损伤。此外,miR-21 的水平上调后,通过抑制 TLR4/NF- κ B 通路,从而抑制神经元凋亡和 ROS 的产生,提高增殖活性,发挥神经保护作用^[29]。

本研究通过网络药理学和数据挖掘预测得到 47 个共同作用靶基因,通过构建 PPI 网络,CASP3、EGFR、VEGFA、STAT3、HIF1A、ESR1、BCL2L1、HSP90AA1、PTGS2、MTOR 被确定为排名前 10 的核心靶点。细胞凋亡是 I/R 的必然生理过程,CASP3 在细胞凋亡的执行阶段起核心作用,其编码的蛋白质是

一种半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶^[30],抑制 CASP3 的表达可以减少神经元凋亡,并能改善缺血再灌注损伤后的空间和记忆障碍^[31-32]。最近研究表明,血清 CASP3 水平与恶性大脑中动脉梗死(MMCAI)患者的死亡率正相关^[33]。STAT3 是 JAK2/STAT3 通路的重要环节,降低 STAT3 的磷酸化能抑制下游促炎细胞因子,减轻缺血性脑卒中损伤^[34]。CHEN S 等^[35]研究发现,STAT3 在小胶质细胞活化和神经炎症中起关键作用,抑制 STAT3 可能缓解缺血性脑卒中的进展。缺血性脑卒中后,STAT3 激活促进自噬,在 XIA Y G 等^[36]的研究中,使用人诱导多能干细胞(iPSC,iMSC-sEV)抑制 STAT3 能抑制自噬并促进血管生成。BCL2L1 属于抗凋亡蛋白家族的一员,其表达量增加能减少神经元的凋亡,在动物模型上,BCL2L1 能有效抑制 Caspase-9 等凋亡相关蛋白的表达的活化起到神经保护作用^[37]。VEGFA 能诱导血管内皮细胞的增殖和迁移,是生理和病理条件下血管生成的主要调节剂,有报道指出,急性缺血性脑卒中患者 VEGFA 低表达^[38],VEGFA 高表达能促进卒中后血管生成并改善长期神经功能恢复^[39],因此,VEGFA 是潜在的缺血性脑卒中诊断标志物和干预靶点。HIF1A 是机体对缺氧的适应性反应的主要转录调节因子,通过上调 HIF1A 的表达,能介导 VEGF 的转录活性,进而促进 I/R 脑组织和脑微血管内皮细胞的管腔生成和细胞增殖^[40]。LIU B W 等^[41]研究发现,激活 HIF1A 能改善脑卒中后的神经功能、存活率和梗死体积。这些结果表明,靶基因在缺血性脑卒中中与抗凋亡、促进血管再生、调节缺氧耐受有关。

GO 富集分析表明,共同调控核心基因在细胞的多个组分中对生物学过程有凋亡过程的负调控、一氧化氮生物合成过程的正调控、RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控中发挥作用。在 KEGG 通路的富集中,蛋白多糖与癌症通路是值得关注的通路之一,蛋白聚糖是存在于细胞膜和细胞外基质中的复杂分子,在细胞黏附、迁移、增殖和信号通路中起着重要的作用。已有研究表明,缺血性脑卒中后,富含蛋白多糖的神经胶质瘢痕,会阻碍轴突再生并限制神经的再生能力,进而干扰功能恢复^[42]。然而,目前尚不清楚三七总皂苷是否在缺血性脑卒中发病进程中具备调节蛋白聚糖作用。因此,应进行进一步研究以证实这一点。

综上所述,本研究结果表明,三七总皂苷的多个活性化合物与外泌体 miR-21 共同调控靶基因,进而多途径、多通路干预缺血性脑卒中进程,这些发现为后续的临床和实验研究指明了方向和科学依据。但本研究仍存在一定局限性,如网络药理学的数据库迭代更新和不同数据库算法差异,导致预测结果不同。未来仍需

通过实验验证相应通路和靶点,以确认本研究预测结果的准确性。

参考文献:

- [1] LI Z J, CUI Y R, FENG J, et al. Identifying the pattern of immune related cells and genes in the peripheral blood of ischemic stroke[J]. *J Transl Med*, 2020, 18(1): 296.
- [2] Ontario Health(Quality). Continual long-term physiotherapy after stroke: a health technology assessment[J]. *Ont Health Technol Assess Ser*, 2020, 20(7): 1-70.
- [3] MOLA-CAMINAL M, CARRERA C, SORIANO-TARRAGA C, et al. PATJ low frequency variants are associated with worse ischemic stroke functional outcome[J]. *Circ Res*, 2019, 124(1): 114-120.
- [4] ZHANG Z, SUN Y H, CHEN X. NLRC5 alleviated OGD/R-induced PC12-cell injury by inhibiting activation of the TLR4/MyD88/NF-kappaB pathway[J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(8): 300060520940455.
- [5] 项昌培, 周瑞, 张毅, 等. 三七中皂苷类成分及其抗脑缺血分子机制研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(13): 3045-3054.
- [6] LIU B, HU D, ZHOU Y, et al. Exosomes released by human umbilical cord mesenchymal stem cells protect against renal interstitial fibrosis through ROS-mediated P38MAPK/ERK signaling pathway [J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(9): 4998-5014.
- [7] WU D, YAN J H, SHEN X, et al. Profiling surface proteins on individual exosomes using a proximity barcoding assay[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3854.
- [8] LI J Y, LI Q Q, SHENG R. The role and therapeutic potential of exosomes in ischemic stroke[J]. *Neurochem Int*, 2021, 151: 105194.
- [9] FORRO T, BAJKO Z, BALASA A, et al. Dysfunction of the neurovascular unit in ischemic stroke: highlights on micrornas and exosomes as potential biomarkers and therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11): 5621.
- [10] RYU W S, WOO S H, SCHELLINGERHOUT D, et al. Stroke outcomes are worse with larger leukoaraiosis volumes[J]. *Brain*, 2017, 140(1): 158-170.
- [11] LOPEZ M S, MORRIS-BLANCO K C, LY N, et al. MicroRNA miR-21 decreases post-stroke brain damage in rodents[J]. *Transl Stroke Res*, 2022, 13(3): 483-493.
- [12] DAINA A, MICHELIN O, ZOETE V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W357-W364.
- [13] DONG X Y, GAO J, ZHANG C Y, et al. Neutrophil membrane-derived nanovesicles alleviate inflammation to protect mouse brain injury from ischemic stroke[J]. *ACS Nano*, 2019, 13(2): 1272-1283.
- [14] CHEN H, LI X M. LncRNA ROR is involved in cerebral hypoxia/reoxygenation-induced injury in PC12 cells via regulating miR-135a-5p/ROCK1/2 [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(9): 6145-6158.
- [15] SAVER J L. Time is brain-quantified[J]. *Stroke*, 2006, 37(1): 263-266.
- [16] HAN M Y, HU L, CHEN Y. Rutaecarpine may improve neuronal injury, inhibits apoptosis, inflammation and oxidative stress by regulating the expression of ERK1/2 and Nrf2/HO-1 pathway in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 2923-2931.
- [17] 黄清, 梁萍, 欧阳扬, 等. 神经血管单元多靶点抗缺血性脑卒中的相关靶标及通路研究[J]. *右江民族医学院学报*, 2020, 42(2): 167-174.
- [18] GAO X J, YANG H, SU J B, et al. Aescin protects neuron from ischemia-reperfusion injury via regulating the PRAS40/mTOR signaling pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020: 7815325.
- [19] 陈英石, 刘佩, 罗丹, 等. 心源性脑梗死与非心源性脑梗死静脉溶栓治疗的疗效及安全性对比研究[J]. *右江民族医学院学报*, 2021, 43(3): 347-350.
- [20] YU H L, SONG L L, CAO X, et al. Hederagenin attenuates cerebral ischaemia/reperfusion injury by regulating MLK3 signalling[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 1173.
- [21] WANG L L, LI Z, ZHAO X P, et al. A network study of chinese medicine xuesaitong injection to elucidate a complex mode of action with multicomponent, multitarget, and multipathway[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013: 652373.
- [22] LYU J, XIE Y M, SUN M H, et al. Efficacy and safety of xueshuan injection on acute cerebral infarction: clinical evidence and GRADE assessment[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 822.
- [23] CHENG Z K, ZHANG M, LING C L, et al. Neuroprotective effects of ginsenosides against cerebral ischemia[J]. *Molecules*, 2019, 24(6): 1102.
- [24] WITWER K W, BUZÁS E I, BEMIS L T, et al. Standardization of sample collection, isolation and analysis methods in extracellular vesicle research[J]. *J Extracell Vesicles*, 2013, 2(1): 20360.
- [25] CAI G F, CAI G L, ZHOU H H, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosome miR-542-3p suppresses inflammation and prevents cerebral infarction[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 2.
- [26] WANG W, LI D B, LI R Y, et al. Diagnosis of hyperacute and acute ischaemic stroke: the potential utility of exosomal microRNA-21-5p and microRNA-30a-5p[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2018, 45(5-6): 204-212.
- [27] LI C S, FEI K X, TIAN F P, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells attenuate ischemic brain injuries in

- rats by modulating miR-21-3p/MAT2B signaling transduction[J]. *Croat Med J*, 2019, 60(5): 439-448.
- [28] NASIRISHARGH A, KUMAR P, RAMASUBRAMANIAN L, et al. Exosomal microRNAs from mesenchymal stem/stromal cells: biology and applications in neuroprotection[J]. *World J Stem Cells*, 2021, 13(7): 776-794.
- [29] ZHAN L, PANG Y, JIANG H, et al. Butylphthalide inhibits TLR4/NF- κ B pathway by upregulation of mir-21 to have the neuroprotective effect[J]. *J Healthc Eng*, 2022: 4687349.
- [30] HENTZEN N B, MOGAKI R, OTAKE S, et al. Intracellular photoactivation of caspase-3 by molecular glues for spatiotemporal apoptosis induction[J]. *J Am Chem Soc*, 2020, 142(18): 8080-8084.
- [31] LUO S Y, LI R, LE Z Y, et al. Anfibatide protects against rat cerebral ischemia/reperfusion injury via TLR4/JNK/caspase-3 pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 807: 127-137.
- [32] ERFANI S, MOGHIMI A, ABOUTALEB N, et al. Nesfatin-1 improve spatial memory impairment following transient global cerebral ischemia/reperfusion via inhibiting microglial and caspase-3 activation[J]. *J Mol Neurosci*, 2018, 65(3): 377-384.
- [33] LORENTE L, MARTIN M M, PEREZ-CEJAS A, et al. Serum caspase-3 levels and early mortality of patients with malignant middle cerebral artery infarction[J]. *Neurocrit Care*, 2019, 31(3): 486-493.
- [34] ZHU H, JIAN Z H, ZHONG Y, et al. Janus kinase inhibition ameliorates ischemic stroke injury and neuroinflammation through reducing NLRP3 inflammasome activation via JAK2/STAT3 pathway inhibition[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 714943.
- [35] CHEN S, DONG Z P, CHENG M, et al. Homocysteine exaggerates microglia activation and neuroinflammation through microglia localized STAT3 overactivation following ischemic stroke[J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1): 187.
- [36] XIA Y G, LING X Z, HU G W, et al. Small extracellular vesicles secreted by human iPSC-derived MSC enhance angiogenesis through inhibiting STAT3-dependent autophagy in ischemic stroke[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 313.
- [37] LIM C, LIM S, LEE B, et al. Licorice pretreatment protects against brain damage induced by middle cerebral artery occlusion in mice[J]. *J Med Food*, 2018, 21(5): 474-480.
- [38] SETYOPRANOTO I, SADEWA A H, WIBOWO S, et al. Comparison of mean VEGF-A expression between acute ischemic stroke patients and non-ischemic stroke subjects[J]. *Open Access Maced J Med Sci*, 2019, 7(5): 747-751.
- [39] SUN P, MA F F, XU Y, et al. Genetic deletion of endothelial microRNA-15a/16-1 promotes cerebral angiogenesis and neurological recovery in ischemic stroke through Src signaling pathway[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2021, 41(10): 2725-2742.
- [40] LIANG Z, CHI Y J, LIN G Q, et al. MiRNA-26a promotes angiogenesis in a rat model of cerebral infarction via PI3K/AKT and MAPK/ERK pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(11): 3485-3492.
- [41] LIU B W, LUO C, ZHENG Z G, et al. Shengui sansheng san extraction is an angiogenic switch via regulations of AKT/mTOR, ERK1/2 and notch1 signal pathways after ischemic stroke[J]. *Phytomedicine*, 2018, 44: 20-31.
- [42] ZHANG R R, WU Y P, XIE F, et al. RGMa mediates reactive astrogliosis and glial scar formation through TGF β 1/Smad2/3 signaling after stroke [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(8): 1503-1516.

收稿日期: 2022-02-04; 修回日期: 2022-02-18

(上接第 340 页)

- [19] 秦颢诚, 武俊, 于明, 等. MUC1 靶向性载紫杉醇超声造影剂的制备及体外靶向实验[J]. *中国临床医学影像杂志*, 2021, 32(6): 445-448.
- [20] CAI Y, LIANG P P, TANG Q Y, et al. Diketopyrrolopyrrole-triphenylamine organic nanoparticles as multifunctional reagents for photoacoustic imaging-guided photodynamic/photothermal synergistic tumor therapy [J]. *ACS Nano*, 2017, 11(1): 1054-1063.
- [21] NITTAYACHARN P, YUAN H X, HERNANDEZ C, et al. Enhancing tumor drug distribution with ultrasound-triggered nanobubbles[J]. *J Pharm Sci*, 2019, 108(9): 3091-3098.
- [22] WU M, WANG Y, WANG Y R, et al. Paclitaxel-loaded and A10-3. 2 aptamer-targeted poly(lactide-co-glycolic acid) nanobubbles for ultrasound imaging and therapy of prostate cancer[J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 5313-5330.
- [23] GUO L, SHI D D, MENG D, et al. New FH peptide-modified ultrasonic nanobubbles for delivery of doxorubicin to cancer-associated fibroblasts[J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2019, 14(22): 2957-2971.

收稿日期: 2022-03-22; 修回日期: 2022-04-22