

本文引文格式:李芹,殷姿,刘江品,等.天麻素对脑缺血大鼠缺血侧额叶皮质中 RhoA 和 ROCK-2 蛋白表达的影响[J].右江民族医学院学报,2022,44(5):638-643.

【论著与临床报道】

## 天麻素对脑缺血大鼠缺血侧额叶皮质中 RhoA 和 ROCK-2 蛋白表达的影响

李芹<sup>1</sup>,殷姿<sup>1</sup>,刘江品<sup>1</sup>,邱金明<sup>1</sup>,胡郭<sup>1</sup>,刘敏<sup>2</sup>

1. 皖南医学院临床医学院,安徽 芜湖 241002;
2. 皖南医学院解剖教研室,安徽 芜湖 241002)

**摘要:**目的 研究天麻素对脑缺血大鼠缺血侧额叶皮质 Ras 同源基因家族成员 A(RhoA)和 Rho 相关卷曲螺旋蛋白激酶(ROCK-2)表达的影响。方法 大脑中动脉阻塞法(MCAO)造模后,天麻素组腹腔注射天麻素制剂治疗,其他组不干预。采用 Nissl 染色观察缺血侧额叶皮质神经细胞变化情况;免疫组化和 Western blot 检测缺血侧额叶皮质中 RhoA、ROCK-2 蛋白的表达情况。**结果** 与假手术组相比,模型组缺血侧额叶皮质区细胞胞体明显萎缩,胞质减少,部分胞核固缩;Nissl 染色细胞数减少( $P < 0.001$ );RhoA 和 ROCK-2 蛋白表达增加( $P < 0.05$ )。与模型组相比,天麻素组缺血侧额叶皮质细胞萎缩程度减轻;Nissl 染色细胞数增加( $P < 0.05$ );RhoA 和 ROCK-2 蛋白表达减少( $P < 0.05$ )。**结论** 天麻素可对脑缺血后缺血侧额叶皮质发挥保护作用,其机制可能与抑制 RhoA、ROCK-2 蛋白表达有关。

**关键词:**额叶皮质;脑缺血;天麻素;Ras 同源基因家族成员 A;Rho 相关卷曲螺旋蛋白激酶

中图分类号:R743.3 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2022)05-0638-06  
doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2022.05.005

## Effects of gastrodin on the expression of RhoA and ROCK-2 proteins in the ischemic frontal cortex of rats with cerebral ischemia

Li Qin<sup>1</sup>, Yin Zi<sup>1</sup>, Liu Jiangpin<sup>1</sup>, Qiu Jinming<sup>1</sup>, Hu Guo<sup>1</sup>, Liu Min<sup>2</sup>

1. School of Clinical Medicine, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China;
2. Department of Anatomy, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China)

**Abstract:** **Objective** To study the effect of gastrodin on the expression of Ras homolog gene family member A (RhoA) and Rho-associated coiled-coil containing kinase (ROCK-2) in ischemic frontal cortex of rats with cerebral ischemia. **Methods** After the middle cerebral artery occlusion (MCAO) modeled, gastrodin group was treated with intraperitoneal injection of gastrodin preparation, while other groups were not intervened. Nissl staining was used to observe the changes of neural cells in the ischemic frontal cortex. Immunohistochemistry and Western blot were used to detect the expression of RhoA and ROCK-2 proteins in the ischemic frontal cortex. **Results** Compared with the sham operation group, the ischemic frontal cortex of the model group showed obvious atrophy of the cell body, decreased cytoplasm and pyknosis of some nuclei. The number of Nissl stained cells decreased ( $P < 0.001$ ), and the RhoA and ROCK-2 proteins expression increased ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the atrophy degree of ischemic frontal cortex cells in gastrodin group was reduced. The number of Nissl stained cells increased ( $P < 0.05$ ); The protein expression of RhoA and ROCK-2 decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Gastrodin can protect the frontal cortex of ischemic side af-

基金项目:皖南医学院校重点项目(WK2021Z14);安徽省省级大学生创新创业项目(S202010368102)

第一作者简介:李芹(1999-),女,在读本科生,E-mail:2963478473@qq.com

通讯作者简介:刘敏(1983-),女,硕士,讲师,研究方向:慢性脑病的解剖学研究,E-mail:89397329@qq.com

ter cerebral ischemia, and its mechanism may be related to the inhibition of RhoA and ROCK-2 proteins expression.

**Key words:** frontal cortex; cerebral ischemia; gastrodin; Ras homologous gene family member A; Rho-related coiled coil protein kinase

天麻(*Gastrodia elata* Blume)是我国传统的中药材,被广泛用于治疗头痛、头晕、痉挛、癫痫、中风、健忘症等疾病,在医学上有重要的价值<sup>[1]</sup>。经临床研究证实,天麻素注射液可以有效减轻神经系统的损害程度,且具有良好的抗炎、抗氧化、抗细胞凋亡及神经元保护等活性<sup>[2]</sup>。血栓或栓子造成的血管阻塞是引起脑缺血的原因,在脑缺血期间,大脑局部缺氧和营养不足,诱导神经细胞异常新陈代谢,进而使细胞紊乱致大脑受到严重损害,阻断脑缺血时神经细胞异常新陈代谢对治疗脑缺血起着重要作用<sup>[3]</sup>。有研究表明,有效抑制Ras同源基因家族成员A(ras homolog gene family member A, RhoA)的表达可促进神经轴突的再生,改善脑缺血大鼠的认知和记忆功能<sup>[4]</sup>。还有研究显示,在神经细胞中,Rho相关卷曲螺旋蛋白激酶(rho-associated coiled-coil containing kinase, ROCK-2)的大量表达可能会导致神经炎症和变性,降低ROCK-2的表达可以促进轴突再生,抑制凋亡,避免神经元的损伤<sup>[5-6]</sup>。已有研究证明,天麻素能显著升高缺血侧VEGF水平,强化细胞增殖并增加缺血周围区域新生神经细胞的数量。同时,天麻素还能控制炎症反应,抑制细胞凋亡,诱导神经保护,促进神经发生并恢复Wnt/ $\beta$ -Catenin信号通路,改善脑损伤<sup>[7]</sup>。但目前仍然缺乏对天麻素发挥脑缺血局灶保护作用的具体机制的研究。本研究从调控RhoA/ROCK-2信号转导通路角度进一步探讨天麻素对大鼠中动脉阻塞法(MCAO)大鼠缺血侧额叶皮质的神经保护机制,目的是为临床上应用天麻素治疗缺血性脑损伤提供相关理论依据。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 40只健康成年SD大鼠(雄性),体重(200±20)g,由青龙山动物实验中心提供[合格证号:SCXK(沪)2018-0004],适宜条件下分笼饲养,保证其自然饮水、摄食。1周后,随机分组,每组10只,共4组(正常组、假手术组、模型组及天麻素组)。

1.2 主要仪器及试剂 尼氏(Nissl)染色液、山羊抗兔IgG二抗、超敏ECL化学发光试剂盒、SABC免疫组织化学染色试剂盒均购自碧云天生物技术有限公司,天麻素注射液(2 mL:200 mg)购自西南药业股份有限公司,RhoA、ROCK-2抗体为美国Affinity、增强型HRP-DAB底物显色试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司。

1.3 模型制备及筛选 按照董文青等的研究所采用的方法复制模型,以线栓阻塞大鼠右侧颈内动脉(ICA)<sup>[8]</sup>。造模前12 h断食不断水,称重,麻醉[1.5%戊巴比妥钠腹腔注射(0.4 mL/200 g)],固定、备皮、消毒、切开,游离腺体、筋膜、肌肉、动脉及神经,操作动作放轻,尽量减少牵拉,避免不必要损伤。置线结扎颈总动脉(CCA)的近心端,动脉夹夹闭远心端,在动脉夹附近置线备用,在线近端ICA处用套管针扎一小孔,将线栓置入后取下动脉夹,沿ICA前行至微感阻力,深度(18.50±0.50) mm,扎紧备用线以固定栓线和防止出血,剪去血管外栓线。切口常规缝合、消毒。假手术组同模型组操作,但不插入栓线。造模结束麻醉苏醒后,观察大鼠行为,判断模型是否成功,将造模成功的大鼠继续后续实验。

1.4 干预方法 造模成功后第1天开始,对天麻素组进行干预,腹腔注射天麻素制剂(2 mg/200 g),每晚1次,持续14 d。其他组不加干预。

1.5 取材方法及检测方法 取材方法:在天麻素组治疗结束后,每组随机取5只大鼠,用1.5%戊巴比妥钠(0.4 mL/200 g)腹腔注射麻醉、4%多聚甲醛灌注后,断头取脑,石蜡包埋、切片(厚度5  $\mu$ m),用于Nissl和免疫组化染色。再取每组另外5只大鼠,用1.5%戊巴比妥钠(0.4 mL/200 g)腹腔注射麻醉后,断头取脑置于冰上,快速提取右侧额叶皮质,-80℃保存,用于Western blot检测。Nissl染色法:备用石蜡切片常规脱蜡至水(依次放入二甲苯I和II、乙醇梯度、双蒸水)后,Cresyl Violet Stain染色液浸染(56℃烤箱),1 h后用冷双蒸水洗去,Nissl Differentiation分化液分化10 s左右,重复上述分化步骤,至镜下观察背景、细胞分明。脱水、透明、封固,在400倍镜视野下采集图片,利用Image J软件分析系统对每张切片右侧额叶皮质相同区域细胞数量进行统计。免疫组织化学染色法:备用石蜡切片常规脱蜡至水后,滴加3%过氧化氢反应8~10 min(37℃)后,用PBS洗去(5 min×3次),再枸橼酸缓冲液微波修复(高火2 min,低火12~15 min),自然冷却后冲洗,滴加免疫组化染色通透液(TritonX-100)常温放置30 min后,用PBS洗去,再滴加5%BSA牛血清封闭液37℃封闭1 h,擦去封闭液后分别滴加一抗(RhoA和ROCK-2抗体稀释液,1:100)4℃16 h(过夜)。第2天,取出复温用PBS洗去一抗后,滴加二抗(山羊抗兔IgG)37℃1 h后,用PBS

洗去二抗,再滴加三抗(SABC)37 °C 1 h 后用 PBS 洗去。滴加 DAB(1000 : 50 : 50)避光显色,至镜下观察细胞、背景分明后,流水冲去 DAB,干片,常规固封,在 400 倍视野下采集图片,利用 Image-Pro Plus 6.0 软件测定右侧额叶皮质相同区域阳性细胞的平均吸光度值。Western blot 检测:取出冷冻(-80 °C)保存的右侧额叶皮质提取组织总蛋白后,测分子量,经验性选择配置凝胶,加样电泳 1.5~2 h,转膜(110 V,湿转)100 min,脱脂奶粉封闭 2 h 后,用 TBST 液洗 1 次(10 min),根据 Maker 线裁剪膜后分别放入稀释的 RhoA、ROCK-2 一抗(均 1 : 1000)以及  $\beta$ -actin(内参)溶液中,4 °C 过夜(摇床上)。第 2 天,3 个抗体分开用 TBST 分别洗 3 次,1 次 10 min,然后将膜放入稀释的二抗(山羊抗兔 IgG)(1 : 1000)中室温下(摇床上)1 h 后用 TBST 洗去。用 ECL 化学发光液(A : B=500 : 500)及 Amersham Imager 600 系统进行曝光。采用 Image J 软件测量并分析各组条带的灰度值。

1.6 统计学方法 所得数值均用( $\bar{x} \pm s$ )表示,使用 GraphPad Prism 9.0 绘制柱形图并进行大数据分析。用单因素方差分析比较 4 组数值,然后再用 LSD 检验进一步的两两对比。 $P < 0.05$  为差异有统计意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠缺血侧额叶皮质 Nissl 染色结果比较 正常组和假手术组缺血侧额叶皮质神经元排列整齐,结构清晰完整,胞质丰富淡染,胞核居中深染,核仁清晰可见。模型组大鼠缺血侧额叶皮质神经元排列不均,数量减少,胞体明显萎缩,胞质减少,部分胞核固缩。天麻素组大鼠缺血侧神经元萎缩状况较模型组明显减轻,细胞形态也明显改善(见图 1、图 2)。

2.2 各组大鼠缺血侧额叶皮质免疫组织化学染色检测 RhoA 和 ROCK-2 表达结果比较 与正常组相比,假手术组缺血侧额叶皮质 RhoA 和 ROCK-2 蛋白的

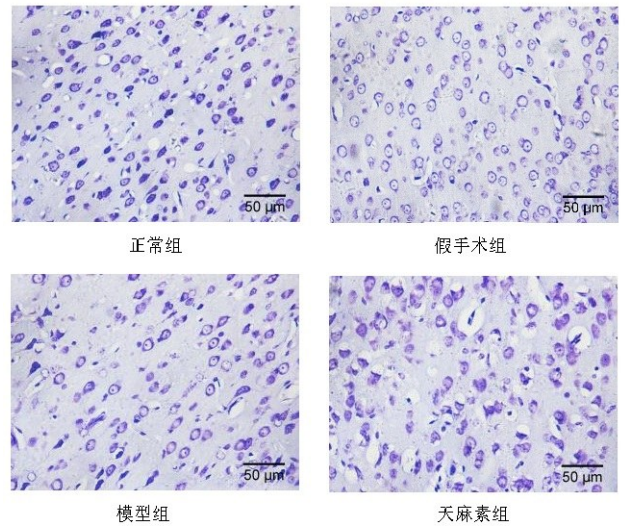
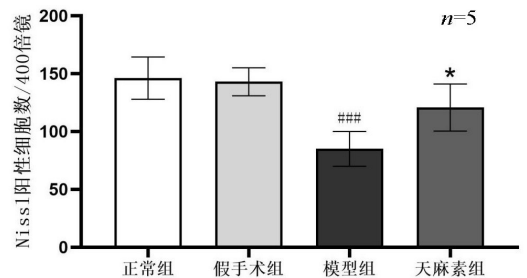


图 1 各组大鼠右侧额叶皮质的 Nissl 染色图( $\times 400$ )



注:与假手术组相比,###  $P < 0.001$ ;  
与模型组相比,\*  $P < 0.05$ 。

图 2 各组大鼠右侧额叶皮质尼氏染色比较

阳性表达差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。与假手术组相比,模型组缺血侧额叶皮质 RhoA 和 ROCK-2 蛋白的阳性表达均显著增加( $P < 0.001$ )。与模型组相比,天麻素组缺血侧额叶皮质 RhoA 蛋白的阳性表达有所减少( $P < 0.05$ );ROCK-2 蛋白的阳性表达显著减少( $P < 0.001$ ),见图 3、图 4。

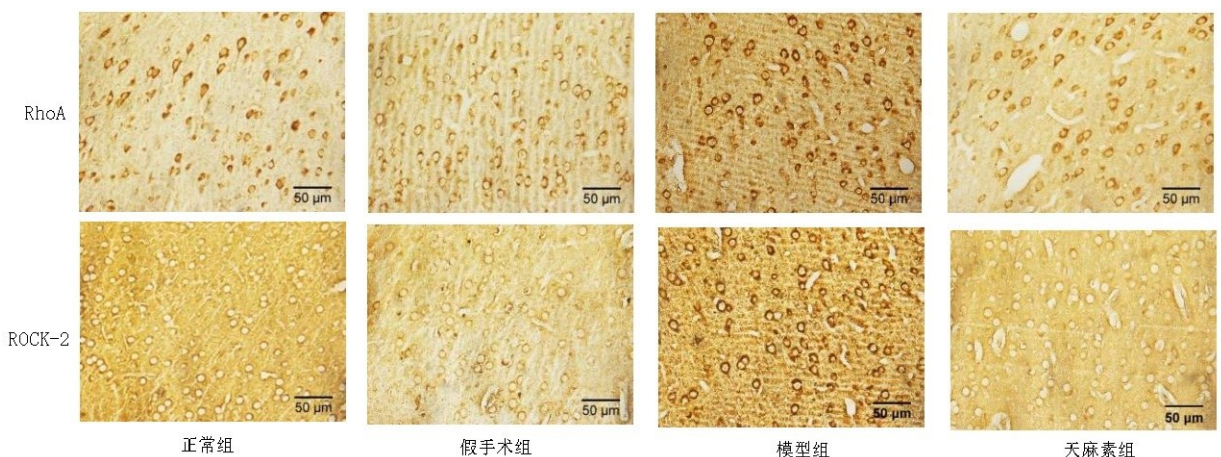
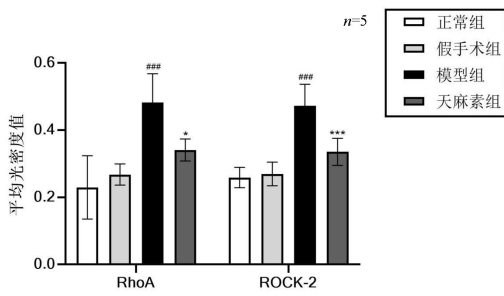


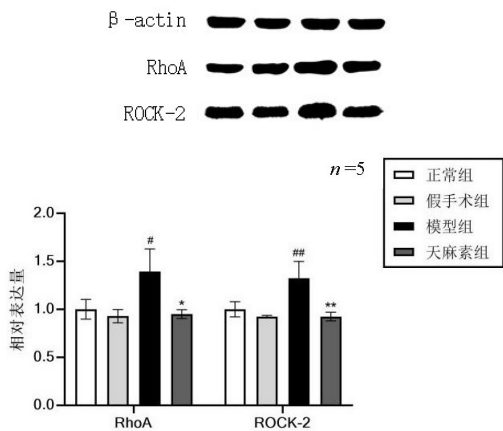
图 3 各组大鼠右侧额叶皮质 RhoA 和 ROCK-2 免疫组织化学染色图( $\times 400$ )



RhoA:与假手术组相比,\*\*\* $P < 0.001$ ;与模型组相比,\* $P < 0.05$ 。ROCK-2:与假手术组相比,\*\*\* $P < 0.001$ ;与模型组相比,\*\*\* $P < 0.001$ 。

图4 各组大鼠右侧额叶皮质 RhoA 和 ROCK-2 阳性表达的比较

2.3 各组大鼠缺血侧额叶皮质 Western blot 法测定 RhoA 和 ROCK-2 相对表达量结果比较 与正常组相比,假手术组缺血侧额叶皮质 RhoA 和 ROCK-2 蛋白的相对表达量差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。与假手术组相比,模型组缺血侧额叶皮质 RhoA 蛋白的相对表达量升高( $P < 0.05$ );ROCK-2 蛋白的相对表达量显著升高( $P < 0.01$ )。与模型组相比,天麻素组缺血侧额叶皮质 RhoA 蛋白的相对表达量有所降低( $P < 0.05$ );ROCK-2 蛋白的相对表达量显著降低( $P < 0.01$ ),见图 5。



RhoA:与假手术组相比,# $P < 0.05$ ;与模型组相比,\* $P < 0.05$ ;ROCK-2:与假手术组相比,## $P < 0.01$ ;与模型组相比,\*\* $P < 0.01$ 。

图5 各组大鼠右侧额叶皮质 RhoA 和 ROCK-2 相对表达量的比较

### 3 讨论

卒中是全世界第三大死因,全球每年平均卒中发病率为每 1000 人新增 2 例,每年大约有 79.5 万人原发卒中或卒中复发<sup>[9]</sup>。其中,急性缺血性脑卒中(AIS)是目前最常见的类型,占比 87%<sup>[10]</sup>。已有临床研究证实,大多数脑缺血患者会发生神经元的损伤和凋

亡<sup>[11]</sup>。在过去的几年中,急性缺血性卒中的治疗取得了显著的进展,尤其是与血管重建相关的治疗,但是在神经保护领域取得的进展较少<sup>[12]</sup>。本实验 Nissl 染色结果显示模型组缺血侧额叶皮质神经细胞数比假手术组明显减少,表明脑缺血损害了神经细胞。因此,寻找一种能干预脑缺血后相关蛋白表达对梗死灶周围和远隔部位神经组织影响的治疗药物或方法具有重要临床意义。

最新研究显示,中药三七、黄芪、丹参在缺血性脑卒中可以通过多靶点、多途径发挥神经保护作用<sup>[13]</sup>。三七被誉为“人参之王”,治疗缺血性脑卒中效果显著。药理研究证实,三七可通过抗炎、清除氧自由基、增加脑血流量等修复神经血管单元<sup>[14]</sup>。而黄芪—丹参药对中的黄芪为补气之王,能益气补虚;丹参为调血之首,偏于活血化瘀,两药配伍可以通过多种作用保护血管内皮和抑制细胞凋亡、抗炎、抗血栓以及保护血脑屏障<sup>[15]</sup>。天麻素也是我国传统中药材天麻中有效成分含量最高的单体,天麻素制剂对神经具有持久保护作用,目前临床辅助应用于脑血管病的治疗已得到我国专家的共识<sup>[16]</sup>。近期研究表明,天麻素可通过抑制活性氧(ROS)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )的表达发挥抗炎、抗氧化作用,进而减轻大鼠脑缺血损伤。此外,天麻素还可通过抑制激活的小胶质细胞中 Notch 途径和上调 Sirt3 减轻缺血缺氧性脑损伤,为激活的小胶质细胞介导的神经炎症提供有希望的治疗靶点<sup>[17]</sup>。

缺血性卒中所致终生残疾与神经元不可再生紧密相联,在受损的中枢神经系统中,轴突生长抑制配体的表达阻止了轴突的再生,进而抑制神经元再生<sup>[18]</sup>。小 GTP 酶 RhoA 是各种细胞外信号的分子开关,参与多种生物细胞功能,包括收缩、迁移、黏附、细胞周期调控和基因表达<sup>[19]</sup>。研究表明,RhoA 在神经元发育和再生中作为关键的抑制信号通路因子参与肌动蛋白微丝重排<sup>[20]</sup>。丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 ROCK 可作为 RhoA 下游效应分子介导对  $Ca^{2+}$  的敏感度<sup>[21]</sup>。ROCK-2 是存在于大脑、心脏和血管中 ROCK 蛋白的一种亚型,有研究显示,ROCK-2 可以促进肌球蛋白轻链的磷酸化,使突触前、后的细胞骨架蛋白解聚,抑制轴突生长,促进突触重构<sup>[22]</sup>。Nogo-A 是一种存在于中枢神经系统的轴突再生抑制因子,能够抑制轴突的生长和阻止脑卒中后轴突的重建<sup>[23]</sup>。吴锋等前期研究表明,天麻素可下调缺血后局灶皮质 Nogo-A,NgR 高表达,改善脑缺血大鼠神经功能症状<sup>[24]</sup>。还有研究表明,Nogo-A 的两个功能结构域 Nogo-A-66 和 Nogo-A- $\Delta 20$  共同激活 RhoA,进而结合并激活神经细胞的效应器 ROCK。在脑缺血大鼠中,Nogo-A、RhoA、

ROCK-2 蛋白的高表达会限制轴突再生性和神经元可塑性<sup>[25]</sup>。本实验天麻素组 Nissl 染色结果显示,天麻素具有神经元保护作用,抑制神经元凋亡,免疫组化和免疫印迹结果一致显示,天麻素可在一定程度上下调脑缺血大鼠额叶皮质中 RhoA、ROCK-2 蛋白的表达。

RhoA 和 ROCK-2 组成的一种重要细胞内信号转导通路—RhoA/ROCK-2 信号通路,参与调节生长、发育、分化和迁移等多种细胞功能。近年来已有研究证实,在卒中、脑梗死等造成中枢神经系统损伤疾病的病理生理过程中均可见 RhoA/ROCK-2 信号通路被激活,并发挥重要作用<sup>[26]</sup>。已有实验证实,急性缺血性脑卒中会激活 RhoA/ROCK 信号通路,抑制内皮型一氧化氮合酶(eNOS)和肌球蛋白轻链磷酸酶的产生,诱发肌动蛋白细胞骨架动态重组,直接参与缺血性脑卒中所致的神经元损伤,在诱导神经元凋亡阶段发挥着重要作用<sup>[27]</sup>。近期研究证明,RhoA/ROCK-2 信号通路不仅可以调节肌动蛋白微丝动力学,而且还通过参与 spastin 和 p60-katanin 调节微管蛋白动力学抑制轴突再生<sup>[28]</sup>。特异性抑制这一信号通路的药物可以为缺血性卒中的临床治疗提供有效的方案,也可以为血管研究提供药理学依据。本实验结果与上述研究结果具有一致性,提示控制 RhoA/ROCK-2 信号转导通路在缺血侧额叶皮质的过度激活可能是天麻素抑制脑缺血大鼠神经功能损伤的重要原因之一。

综上所述,天麻素可能是通过下调脑缺血大鼠额叶皮质中 RhoA 及 ROCK-2 蛋白的过度表达和抑制 RhoA/ROCK-2 信号转导通路的过度激活来促进脑缺血大鼠额叶皮质神经元修复再生,进而恢复额叶皮质的功能。然而既往研究表明,RhoA/ROCK-2 信号通路的上游调控因子 NgR1、Nogo-A 可以调节 RhoA、ROCK-2 的表达<sup>[24,29]</sup>。所以对于天麻素调控 RhoA、ROCK-2 表达的直接效应和间接效应关系还需进一步研究。

#### 参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1088.

[2] ZHANG H B, YUAN B, HUANG H F, et al. Gastrodin induced HO-1 and Nrf2 up-regulation to alleviate H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress in mouse liver sinusoidal endothelial cells through p38 MAPK phosphorylation [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2018, 51(10): e7439.

[3] SHIN T H, LEE D Y, BASITH S, et al. Metabolome Changes in Cerebral Ischemia [J]. *Cells*, 2020, 9(7): 1630.

[4] ZHAI Z Y, FENG J. Constraint-induced movement therapy enhances angiogenesis and neurogenesis after cerebral

ischemia/reperfusion [J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14(10): 1743-1754.

- [5] SI W W, YE S Y, REN Z X, et al. miR-335 promotes stress granule formation to inhibit apoptosis by targeting ROCK2 in acute ischemic stroke [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(3): 1452-1466.
- [6] SLADOJEVIC N, YU B, LIAO J K. ROCK as a therapeutic target for ischemic stroke [J]. *Expert Rev Neurother*, 2017, 17(12): 1167-1177.
- [7] QIU C W, LIU Z Y, ZHANG F L, et al. Post-stroke gastrodin treatment ameliorates ischemic injury and increases neurogenesis and restores the Wnt/ $\beta$ -Catenin signaling in focal cerebral ischemia in mice [J]. *Brain Res*, 2019, 1712: 7-15.
- [8] 董文青, 缪化春, 吴锋, 等. 电针对脑缺血大鼠胼胝体髓鞘相关蛋白表达的影响 [J]. *针刺研究*, 2021, 46(9): 721-727.
- [9] ALPUA M, SAY B, YARDIMCI I, et al. First admission neutrophil-lymphocyte ratio may indicate acute prognosis of ischemic stroke [J]. *Rambam Maimonides Med J*, 2021, 12(3): e0021.
- [10] BENJAMIN E J, VIRANI S S, CALLAWAY C W, et al. Heart disease and stroke statistics-2018 update: a report from the american heart association [J]. *Circulation*, 2018, 137(12): e67-e492.
- [11] WANG J F, MEI Z G, FU Y, et al. Puerarin protects rat brain against ischemia/reperfusion injury by suppressing autophagy via the AMPK-mTOR-ULK1 signaling pathway [J]. *Neural Regen Res*, 2018, 13(6): 989-998.
- [12] MIZUMA A, YENARI M A. Clinical perspectives on ischemic stroke [J]. *Exp Neurol*, 2021, 338: 113599.
- [13] 刘佩, 刘玥彤, 杨鑫鑫, 等. 基于网络药理学和 GEO 数据研究三七、黄芪和丹参防治缺血性脑卒中作用机制 [J]. *右江民族医学院学报*, 2022, 44(1): 43-52.
- [14] 梁萍, 蒙兰青. 三七治疗缺血性脑卒中药理机制的研究进展 [J]. *山东医药*, 2020, 60(16): 95-98.
- [15] 陈雨菡, 马善波, 杨倩, 等. 黄芪-丹参药对治疗缺血性脑卒中研究进展 [J]. *陕西中医*, 2021, 42(8): 1142-1146.
- [16] 北京脑血管病防治协会, 天麻素制剂临床应用专家共识写作组, 赵性泉, 等. 天麻素制剂临床应用中国专家共识 (2021) [J]. *中华老年医学杂志*, 2021, 40(4): 407-415.
- [17] GUO J, ZHANG X L, BAO Z R, et al. Gastrodin regulates the notch signaling pathway and sirt3 in activated microglia in cerebral hypoxic-ischemia neonatal rats and in activated BV-2 microglia [J]. *Neuromol Med*, 2021, 23(3): 348-362.
- [18] MCDONALD C L, BANDTLOW C, REINDL M. Targeting the Nogo receptor complex in diseases of the central nervous system [J]. *Curr Med Chem*, 2011, 18(2): 234-244.
- [19] RIDLEY A J. Rho family proteins: coordinating cell re-

- sponses [J]. *Trends Cell Biol*, 2001, 11(12): 471-477.
- [20] ZHANG G X, HU J L, RODEMER W, et al. RhoA activation in axotomy-induced neuronal death [J]. *Exp Neurol*, 2018, 306: 76-91.
- [21] AMANO M, FUKATA Y, KAIBUCHI K. Regulation and functions of Rho-associated kinase [J]. *Exp Cell Res*, 2000, 261(1): 44-51.
- [22] LI L S, ZHI D Y, SHEN Y L, et al. Effects of CC-chemokine receptor 5 on ROCK2 and P-MLC2 expression after focal cerebral ischaemia-reperfusion injury in rats [J]. *Brain Inj*, 2016, 30(4): 468-473.
- [23] 刘维, 英振昊, 张国丽, 等. 从 Nogo-A-NgR 信号通路探讨 MCAO 大鼠皮脊髓束重塑的启动及复健片干预机制 [J]. *中风与神经疾病杂志*, 2019, 36(10): 896-901.
- [24] 吴锋, 李怀斌, 赵健等. 电针结合天麻素对局灶性脑缺血大鼠神经功能、额叶皮质勿动蛋白 A 及其受体表达的影响 [J]. *针刺研究*, 2016, 41(1): 65-69.
- [25] LIU L R, WANG Y X, HE L, et al. Constraint-induced movement therapy promotes neural remodeling and functional reorganization by overcoming Nogo-A/NgR/RhoA/ROCK signals in hemiplegic cerebral palsy mice [J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2021, 35(2): 145-157.
- [26] GONG P, LI R, JIA H Y, et al. Anfibatide preserves blood-brain barrier integrity by inhibiting TLR4/RhoA/ROCK pathway after cerebral ischemia/reperfusion injury in rat [J]. *J Mol Neurosci*, 2020, 70(1): 71-83.
- [27] NUNES K P, RIGSBY C S, WEBB R C. RhoA/Rho-kinase and vascular diseases; what is the link? [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2010, 67(22): 3823-3836.
- [28] TAN D D, ZHANG H W, DENG J Y, et al. RhoA-GTPase modulates neurite outgrowth by regulating the expression of spastin and p60-katanin [J]. *Cells*, 2020, 9(1): 230.
- [29] SHI X W, YU W J, YANG T T, et al. Panax notoginseng saponins provide neuroprotection by regulating NgR1/RhoA/ROCK2 pathway expression, in vitro and in vivo [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 190: 301-312.

收稿日期: 2022-04-15; 修回日期: 2022-05-24

(上接第 632 页)

- [14] TAYLOR A P, SWEWCZYK M, KENNEDY S, et al. Selective, small-molecule co-factor binding site inhibition of a su(var)3-9, enhancer of zeste, trithorax domain containing lysine methyltransferase [J]. *J Med Chem*, 2019, 62(17): 7669-7683.
- [15] CAO K X, UGARENKO M, OZARK P A, et al. DOT1L-controlled cell-fate determination and transcription elongation are independent of H3K79 methylation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(44): 27365-27373.
- [16] 邢敬慈, 揭伟. 甲基转移酶 SET 结构域家族及其在心血管发育和疾病中的作用 [J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2022, 51(2): 251-260.
- [17] SINGH P K. Histone methyl transferases: A class of epigenetic opportunities to counter uncontrolled cell proliferation [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 166(8): 351-368.
- [18] MYERS J A, COUCH T, MURPHY Z, et al. The histone methyltransferase Setd8 alters the chromatin landscape and regulates the expression of key transcription factors during erythroid differentiation [J]. *Epigenetics Chromatin*, 2020, 13(1): 16-37.
- [19] TJALSMAS J D, HORI M, SATO Y, et al. H4K20me1 and H3K27me3 are concurrently loaded onto the inactive X chromosome but dispensable for inducing gene silencing [J]. *EMBO Rep*, 2021, 22(3): 51989-52005.
- [20] DANA P, KARIYA R, VATEEEWOOTTACHARN K, et al. Upregulation of CD147 promotes metastasis of cholangiocarcinoma by modulating the epithelial-to-mesenchymal transitional process [J]. *Oncol Res*, 2017, 25(7): 1047-1059.
- [21] INGRUBER J, DUDAS J, SAVIC D, et al. EMT-related transcription factors and protein stabilization mechanisms involvement in cadherin switch of head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Exp Cell Res*, 2022, 414(1): 113084-113099.
- [22] WEI W D, CHEN W D, HE N F. HDAC4 induces the development of asthma by increasing Slug-upregulated CXCL12 expression through KLF5 deacetylation [J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1): 258-272.

收稿日期: 2022-05-11; 修回日期: 2022-06-07