

# 基于生物信息学和中性粒细胞胞外诱捕网效应探讨 银杏叶提取物减轻心肌梗死后心肌损伤的机制

魏东升<sup>1,2</sup>, 刘雨婷<sup>1</sup>, 李涵<sup>1,2</sup>, 齐佳杰<sup>1,2</sup>, 刘考生<sup>1</sup>, 张哲<sup>1,2,3</sup>

(辽宁中医药大学 1. 研究生院, 沈阳 110847; 2. 中医脏象理论及应用教育部重点实验室, 沈阳 110847; 3. 附属医院老年病科, 沈阳 110033)

**摘要** **目的** 探讨银杏叶提取物减轻心肌梗死(MI)大鼠心肌损伤的机制。**方法** 应用生物信息学挖掘银杏叶提取物治疗MI大鼠的关键靶点。采用冠状动脉结扎方法构建MI大鼠模型。采用随机数字法,将成模大鼠分为模型组、倍他乐克组(2.5 mg/kg)以及银杏叶提取物低(50 mg/kg)、中(100 mg/kg)、高(200 mg/kg)剂量组,另设假手术组。灌胃6周后,苏木精-伊红染色、天狼星红染色观察大鼠心肌组织病理变化;麦胚凝集素染色观察大鼠心肌细胞肥大情况;Western blotting检测MCODE核心靶点HIF1 $\alpha$ 、MAPK14、MMP9、CXCR4的表达变化。**结果** 与假手术组比较,模型组大鼠心肌细胞排列不规则,出现明显炎症浸润,心肌组织I型和III型胶原纤维明显增多( $P < 0.05$ ),MCODE核心靶点蛋白表达显著升高( $P < 0.05$ );与模型组比较,银杏叶提取物低、中、高剂量组大鼠心肌细胞间排列较紧密,炎症浸润减少,I型和III型胶原纤维明显减少( $P < 0.05$ ),p-MAPK14、MMP9、CXCR4蛋白表达显著减少( $P < 0.05$ ),HIF1 $\alpha$ 蛋白表达显著增加( $P < 0.05$ )。**结论** 银杏叶提取物可能通过抑制中性粒细胞胞外诱捕网形成,发挥MI后心肌细胞保护作用。

**关键词** 心肌梗死;银杏叶提取物;中性粒细胞胞外诱捕网

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 0258-4646(2024)10-0870-07

网络出版地址 <https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20241009.1600.006>

DOI:10.12007/j.issn.0258-4646.2024.10.002

## Mechanism of *Ginkgo biloba* extract in alleviating myocardial injury after myocardial infarction: a bioinformatics and neutrophil extracellular trap study

WEI Dongsheng<sup>1,2</sup>, LIU Yuting<sup>1</sup>, LI Han<sup>1,2</sup>, QI Jiajie<sup>1,2</sup>, LIU Xiaosheng<sup>1</sup>, ZHANG Zhe<sup>1,2,3</sup>

(1. Graduate School, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China; 2. Key Laboratory of Ministry of Education for TCM Viscera-State Theory and Applications, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China; 3. Department of Geriatric, Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110033, China)

**Abstract** **Objective** To investigate the mechanism by which *Ginkgo biloba* extract reduces myocardial injury in rats with myocardial infarction (MI). **Methods** Bioinformatics was used to identify key targets of *Ginkgo biloba* extract in the treatment of MI in rats. An MI rat model was established via coronary artery ligation. Rats were randomly assigned to the model group, Betaloc ZOK group (2.5 mg/kg), and low-, medium-, and high-dose *Ginkgo biloba* extract groups (50, 100, and 200 mg/kg, respectively). A sham-operation group was included for comparison. Following six weeks of gavage administration, myocardial tissues were examined using hematoxylin-eosin and Sirius red staining to assess pathological changes. Wheat germ agglutinin staining was used to observe cardiomyocyte hypertrophy. Western blotting was performed to evaluate changes in the expression of MCODE core targets, including HIF1 $\alpha$ , MAPK14, MMP9, and CXCR4. **Results** Compared to the sham-operation group, the model group exhibited irregular arrangement of cardiomyocytes, significant inflammatory infiltration, and a marked increase in type I and III collagen fibers in the myocardial tissue ( $P < 0.05$ ). Additionally, significant upregulation in the expression of MCODE core target proteins ( $P < 0.05$ ) was observed. In contrast, compared to the model group, low-, medium-, and high-dose *Ginkgo biloba* extract groups displayed more orderly arrangement of cardiomyocytes, reduced inflammatory infiltration, significantly decreased levels of type I and III collagen fibers ( $P < 0.05$ ), notable downregulation in the expression of p-MAPK14, MMP9, and CXCR4 proteins ( $P < 0.05$ ), and significantly increased expression of HIF1 $\alpha$  protein ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** *Ginkgo biloba* extract may exert protective effects on myocardial cells following MI by inhibiting the formation of neutrophil extracellular traps.

**Keywords** myocardial infarction; *Ginkgo biloba* extract; neutrophil extracellular trap

基金项目:国家中医药管理局青年岐黄学者支持项目(20201A2180)

作者简介:魏东升(1998-),男,硕士研究生。

通信作者:张哲, E-mail: pedtrainzhzh7676@163.com

收稿日期:2023-11-08

网络出版时间:2024-10-10 14:39:09

心肌梗死(myocardial infarction, MI)是常见的死亡原因之一,近年来MI发病率急速上升,并呈现出高危化、年轻化的趋势<sup>[1]</sup>。虽然目前MI已有手术和药物治疗,但临床应用最广泛的MI后恢复血供的方法仍存在一定的缺陷。因此,开发能够有效治疗MI的药物,并最大限度减少MI造成的心肌损伤,一直是心血管疾病领域的重要研究目标<sup>[2]</sup>。

中性粒细胞是人体免疫系统中最丰富的固有免疫效应细胞,中性粒细胞除了具有经典防御机制外,在许多心血管疾病的病理生理学中也具有独特的作用。最近的研究<sup>[3]</sup>发现,活化的中性粒细胞还能通过一种被称为NETosis的过程形成细胞外网络,称为中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular trap, NET)。虽然NET在宿主抵御病原体方面发挥有益作用,但越来越多的证据表明,NET的持续存在会引发一系列生物效应<sup>[4]</sup>。MI后坏死心肌细胞通过释放大量活性氧(reactive oxygen species, ROS)诱导NET形成,NET形成后会加速促炎细胞因子产生,以及向梗死区域募集免疫细胞<sup>[5]</sup>。通过这种方式,NET放大了以中性粒细胞为中心的炎症反应,加重心肌细胞凋亡,并诱导心肌纤维化。

银杏叶在中药中占据着重要地位,1个世纪前,德国从银杏叶中提取出银杏叶提取物,并广泛用于临床。大量研究<sup>[6-7]</sup>发现,银杏叶提取物具有多种功效,如抗炎、抗缺血、抗衰老和血管保护作用。本研究基于NET,通过生物信息学并结合分子生物学和形态学实验验证,探讨银杏叶提取物减轻MI后心肌损伤的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF级SD雄性大鼠,6~8周龄,体重180~220 g,购自辽宁长生生物科技有限公司,动物许可证号SCXK(辽)2020-0001,饲养于辽宁中医药大学 SPF级动物房。本研究获得辽宁中医药大学实验动物伦理委员会的批准(编号:21000042023021)。

### 1.2 药物和试剂

银杏叶提取物(30 mL/盒,德国威玛舒培博士药厂,进口药物注册证号:H20140770);酒石酸美托洛尔片[50 mg/片,20片/盒,阿斯利康投资(中国)有限公司,批号:H32025391]。

蛋白酶抑制剂混合液、磷酸酶抑制剂混合液、BCA蛋白定量试剂盒、PAGE凝胶快速制备试剂盒(6%、10%、12.5%、15%)、封闭用牛血清白蛋白、10×转膜缓冲液、10×电泳缓冲液、10×TBST、彩色预染Marker、ECL发光试剂盒、10×PBS缓冲液、GAPDH(上海雅酶生物医药科技有限公司);苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE) 高清恒染试剂盒、丝裂原活化蛋白激酶14(mitogen-activated protein kinase 14, MAPK14)、磷酸化MAPK14(phosphorylated MAPK14, p-MAPK14)、缺氧诱导因子1 $\alpha$ (hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ , HIF1 $\alpha$ )、基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP9)、C-X-C趋化因子受体4型(C-X-C motif chemokine receptor 4, CXCR4)抗体(江苏亲科生物研究中心有限公司);天狼星红染液(英国abcam公司);麦胚凝集素(wheat germ agglutinin, WGA)染料(美国Sigma-Aldrich公司)。

### 1.3 仪器

全自动组织脱水机(中国康龙电子科技有限公司);三维光学显微镜(德国Leica公司);高通量组织研磨仪(德国Retsch公司);高速冷冻离心机(美国Thermo Fisher Scientific公司);PowerPac Basic电泳仪、垂直电泳槽、转移电泳槽(美国Bio-Rad公司);显微镜玻片扫描仪(匈牙利3DHISTECH公司);偏振光滤光镜(日本Nikon公司)。

### 1.4 方法

1.4.1 药物靶点基因筛选:通过Comparative Toxicogenomics Database、SwissTargetPrediction、Binding Database Home、DrugBank、ChEMBL、SuperPred、Similarity ensemble approach 7个数据库筛选银杏叶提取物的主要成分银杏黄酮苷和萜类内酯的靶点基因。若在数据库中仅显示基因全称,则使用STRING和UniProt数据库将基因全称转换成英文缩写。

1.4.2 MI相关NET数据集获取和处理:从基因表达综合数据库(gene expression omnibus, GEO)中筛选出1个MI数据集GSE66360,其中包括49例MI人群循环内皮细胞样本,50例正常人群循环内皮细胞样本,从文献[8]中获取NET基因集。在RStudio软件中对GSE66360原始数据集进行预处理,包括背景校正、归一化和log<sub>2</sub>转换。当多个探针对应一个共同基因时,取平均值作为其表达值。最后得到MI与NET的交集基因。

1.4.3 构建药物-疾病MCODE网络:将交集基因和药物靶点基因融合、去除重复基因后,导入STRING网站中,分析出药物-疾病的蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络图。将PPI网络图导入Cytoscape中,使用CytoNCA插件中度中心性,计算药物-疾病网络中每个基因的中心性大小,以中心性值的高低划分基因的形状、大小,并将药物、疾病基因以不同颜色区分。在MCODE插件中,以Degree Cutoff=2, Node Score Cutoff=0.2, K-Core=2, Max. Depth=100为标准,筛选出药物-疾病网络的核心亚群,将评分最高的核心亚群基因标注为keycluster基因。最后,使用差异性箱图可视化keycluster基因在MI人群和正常人群间的表达差异。

1.4.4 动物模型制备和给药:将48只SD大鼠采用随机数字法分为假手术组(7只)和造模组(41只)。适应性喂养1周后,造模组大鼠第8天行冠状动脉左前降支结扎术,假手术组大鼠仅开胸不做结扎处理。术后连续3 d肌肉注射青霉素抗感染。冠状动脉结扎后共有35只大鼠造模成功,采用随机数字法将35只大鼠分为模型组、倍他乐克组和银杏叶提取物低、中、高剂量组,每组7只。术后第4天开始,倍他乐克组给予倍他乐克 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃,银杏叶提取物低、中、高剂量组分别给予银杏叶提取物50、100、200  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃,假手术组、模型组给予同等剂量生理盐水灌胃。连续灌胃6周,最后1次灌胃结束后,腹腔麻醉后采腹主动脉血,采用颈椎脱臼法处死大鼠并摘取心脏。

1.4.5 心肌组织病理染色:摘取心脏,在结扎处沿矢状面方向将心脏纵向分割成2份,分别用于石蜡切片与冰冻切片。4%多聚甲醛固定心肌组织,石蜡包埋。采用HE染色和天狼星红染色观察心肌组织病理变化,天狼星红染色后,使用ImageJ软件对I型和III型胶原纤维分布面积进行统计学分析。

1.4.6 WGA荧光染色:石蜡切片脱蜡后,加稀释好的WGA染料,用抗荧光淬灭封片剂封片,使用ImageJ软件对细胞面积进行统计学分析。由于心肌细胞近似椭圆,因此采用椭圆面积公式计算细胞表面积(S), $S(\mu\text{m}^2) = \pi \times \text{短轴半径} \times \text{长轴半径}$ 。

1.4.7 Western blotting检测各组大鼠心肌组织中蛋白表达:取50 mg心脏组织在液氮中研磨,加入RIPA裂解液,使其充分裂解。加入 $5 \times \text{loading buffer}$ , 100

℃煮沸10 min以稳定蛋白变性。采用SDS凝胶电泳,室温脱脂奶粉封闭1 h,添加一抗并在4℃孵育过夜。使用ImageJ软件分析蛋白条带。

## 1.5 统计学分析

使用RStudio(4.1.3版)进行生物信息学分析。使用SPSS 26软件进行统计学分析,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD-*t*检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 药物靶点基因筛选

银杏黄酮苷和萜类内酯的靶点基因在去除重复基因后,共有422个靶点基因。

### 2.2 MI-NET基因交集集

GSE66360数据集预处理后共得到20 849个MI基因,从文献中共获得137个NET基因,通过Venn图得到128个交集基因。

### 2.3 药物-疾病MCODE网络

去除交集基因和药物靶点基因融合后的重复基因后,共得到535个基因。在Cytoscape中,使用CytoNCA插件,获得以中心性大小为标准的药物-基因网络(图1);通过MCODE插件,筛选出评分最高的基因网络亚群,该亚群中共有59个keycluster基因,其中药物-疾病交集基因靶点有5个(图2);对MI人群和正常人群keycluster基因进行差异性分析,结果显示,大部分基因有显著差异( $P < 0.001$ ),除CASPI外,5个交集靶点基因呈现明显差异(图3)。

### 2.4 HE染色结果

假手术组心肌细胞染色均匀,形态规则,排列紧密,细胞核染色均匀,未见明显细胞间隙和炎症浸润。模型组细胞核染色深浅不均匀,排列紊乱,细胞间隙增大,细胞核游离细胞外,可见明显炎症浸润。倍他乐克组和银杏叶提取物低、中、高剂量组较模型组心肌细胞排列规则,炎症浸润减轻,其中银杏叶提取物高剂量组效果最显著。见图4。

### 2.5 天狼星红染色结果

与假手术组相比,模型组心肌组织中I型和III型胶原广泛分布并呈现密集交织。与模型组相比,倍他乐克组I型胶原纤维明显减少( $P < 0.05$ ),III型胶原纤维无明显变化。与模型组相比,银杏叶提取物低、中、高剂量组I型胶原纤维明显减少( $P <$

0.05), 银杏叶提取物中、高剂量组Ⅲ型胶原纤维明显减少( $P < 0.05$ )。见图5、表1。

### 2.6 WGA荧光染色结果

与假手术组相比,模型组心肌细胞面积明显增

大( $P < 0.05$ )。与模型组相比,倍他乐克组和银杏叶提取物低、中、高剂量组心肌细胞面积明显减少( $P < 0.05$ )。这表明银杏叶提取物具有更好地抑制心肌细胞肥大的效果。见图6、表1。

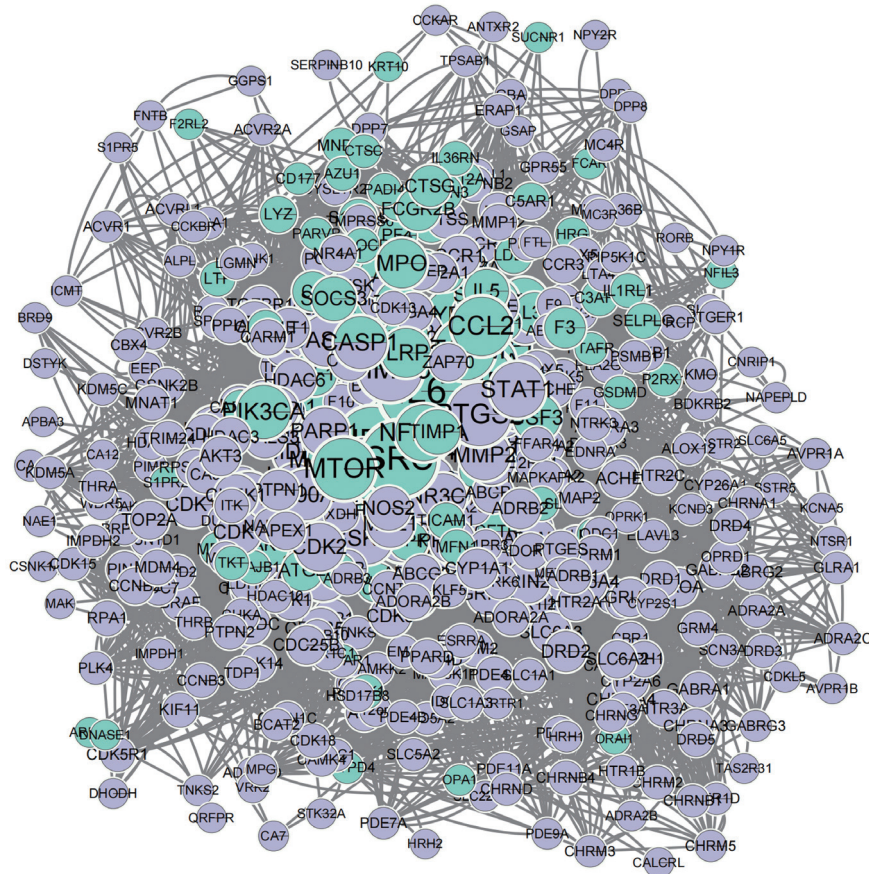


图1 PPI网络图

Fig.1 Protein-protein interaction network

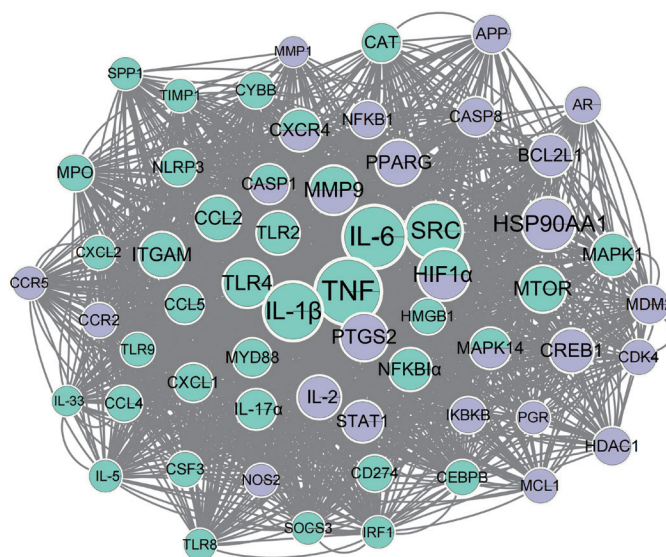


图2 MCODE核心调控网络

Fig.2 MCODE core regulatory network

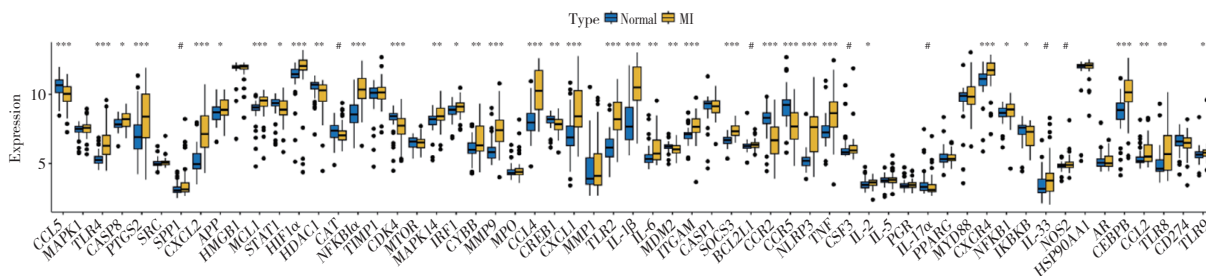
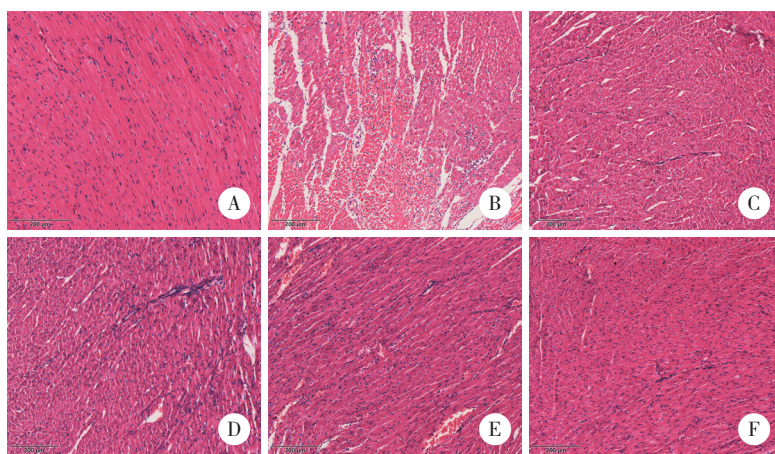


图3 keycluster基因在MI人群和正常人群中差异表达

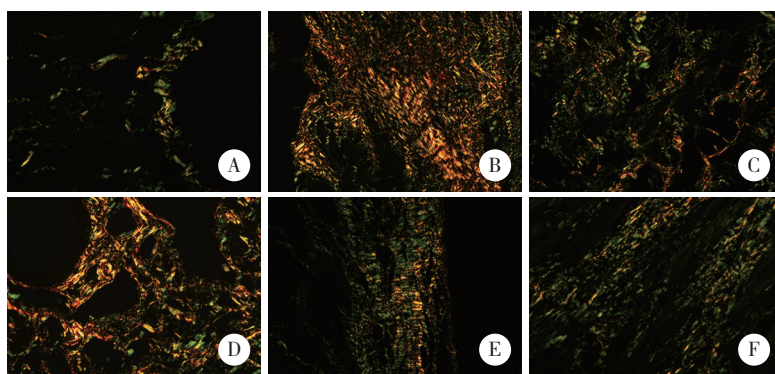
Fig.3 The keycluster genes were differentially expressed in MI patients compared to the normal population



A, sham-operation group; B, model group; C, Betaloc ZOK group; D, low-dose *Ginkgo biloba* extract group; E, medium-dose *Ginkgo biloba* extract group; F, high-dose *Ginkgo biloba* extract group.

图4 各组大鼠纵切心肌组织HE染色 ×200

Fig.4 Hematoxylin and eosin staining of longitudinally cut myocardial tissue of rats in each group ×200



A, sham-operation group; B, model group; C, Betaloc ZOK group; D, low-dose *Ginkgo biloba* extract group; E, medium-dose *Ginkgo biloba* extract group; F, high-dose *Ginkgo biloba* extract group.

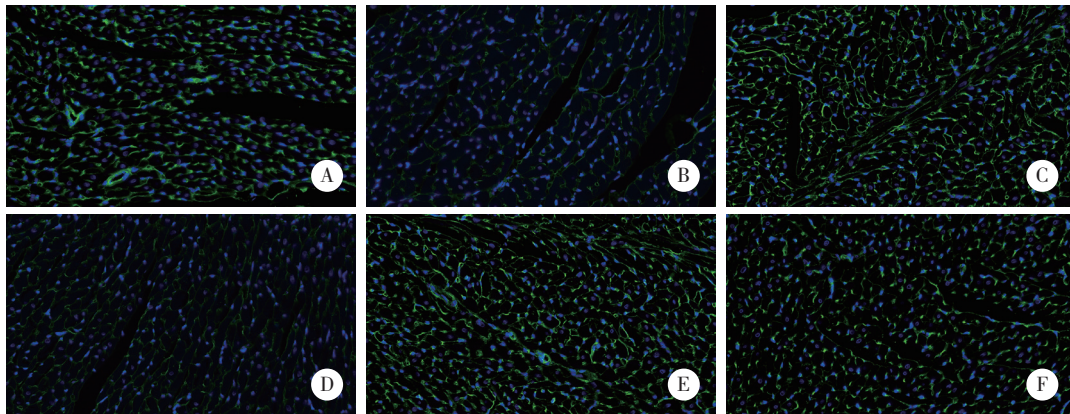
图5 各组大鼠纵切心肌组织天狼星红染色 ×400

Fig.5 Sirius red staining of longitudinally cut myocardial tissue of rats in each group ×400

### 2.7 Western blotting检测各组大鼠心肌组织中MCODE网络交集靶点变化

与假手术组相比,模型组心肌组织HIF1α、p-MAPK14、MMP9和CXCR4蛋白表达明显增加( $P < 0.05$ )。与模型组相比,倍他乐克组心肌组织HIF1α

蛋白表达明显增加( $P < 0.05$ ),p-MAPK14、MMP9和CXCR4蛋白表达明显减少( $P < 0.05$ )。与倍他乐克组相比,银杏叶提取物低、中、高剂量组心肌组织HIF1α蛋白表达明显增加( $P < 0.05$ ),p-MAPK14、MMP9和CXCR4蛋白表达明显减少( $P < 0.05$ )。见图7、表1。



A, sham-operation group; B, model group; C, Betaloc ZOK group; D, low-dose *Ginkgo biloba* extract group; E, medium-dose *Ginkgo biloba* extract group; F, high-dose *Ginkgo biloba* extract group.

图6 各组大鼠纵切心肌组织WGA荧光染色 × 600

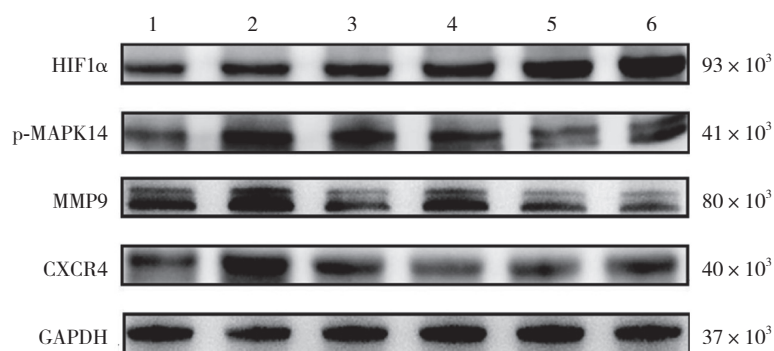
Fig.6 Wheat germ agglutinin fluorescence staining of longitudinally cut myocardial tissue of rats in each group × 600

表1 各组大鼠 I 型和 III 型胶原纤维分布面积、细胞面积以及HIF1α、p-MAPK14、MMP9和CXCR4表达水平的比较

Tab.1 Comparison of the fractions of collagen I and III, cell area, and levels of HIF1α, p-MAPK14, MMP9, and CXCR4 in each group

Group	Collagen I area fraction (%)	Collagen III area fraction (%)	Cell area (μm <sup>2</sup> )	HIF1α	p-MAPK14	MMP9	CXCR4
Sham-operation	2.11 ± 1.01	5.04 ± 0.79	226.34 ± 16.52	1.01 ± 0.11	1.01 ± 0.02	1.00 ± 0.10	1.05 ± 0.13
Model	13.67 ± 1.53 <sup>1)</sup>	11.15 ± 0.73 <sup>1)</sup>	578.33 ± 1.53 <sup>1)</sup>	1.17 ± 0.20	1.63 ± 0.01 <sup>1)</sup>	1.28 ± 0.01 <sup>1)</sup>	1.49 ± 0.01 <sup>1)</sup>
Betaloc ZOK	6.47 ± 1.15 <sup>2)</sup>	10.59 ± 0.77	432.76 ± 21.64 <sup>2)</sup>	1.25 ± 0.08	1.44 ± 0.01 <sup>2)</sup>	0.75 ± 0.02 <sup>2)</sup>	0.90 ± 0.06 <sup>2)</sup>
Low-dose GBE	7.23 ± 1.13 <sup>2)</sup>	10.00 ± 0.78	457.31 ± 19.04 <sup>2)</sup>	1.21 ± 0.01	1.39 ± 0.01 <sup>2)</sup>	0.82 ± 0.02 <sup>2)</sup>	0.63 ± 0.02 <sup>2),3)</sup>
Medium-dose GBE	5.13 ± 1.07 <sup>2)</sup>	8.26 ± 0.36 <sup>2),3)</sup>	426.67 ± 16.51 <sup>2)</sup>	1.35 ± 0.05 <sup>2)</sup>	0.95 ± 0.01 <sup>2),3),4)</sup>	0.61 ± 0.03 <sup>2),3),4)</sup>	0.65 ± 0.01 <sup>2),3)</sup>
High-dose GBE	4.73 ± 0.58 <sup>2)</sup>	6.40 ± 0.78 <sup>2),3),4)</sup>	376.73 ± 10.61 <sup>2),3),4),5)</sup>	1.46 ± 0.01 <sup>2),3),4)</sup>	1.17 ± 0.06 <sup>2),3),4),5)</sup>	0.54 ± 0.01 <sup>2),3),4)</sup>	0.86 ± 0.02 <sup>2)</sup>

1)  $P < 0.05$  vs. sham-operation group; 2)  $P < 0.05$  vs. model group; 3)  $P < 0.05$  vs. Betaloc ZOK group; 4)  $P < 0.05$  vs. low-dose GBE group; 5)  $P < 0.05$  vs. medium-dose GBE group. GBE, *Ginkgo biloba* extract.



1, sham-operation group; 2, model group; 3, Betaloc ZOK group; 4, low-dose *Ginkgo biloba* extract group; 5, medium-dose *Ginkgo biloba* extract group; 6, high-dose *Ginkgo biloba* extract group.

图7 银杏叶提取物对MI大鼠心肌组织中HIF1α、p-MAPK14、MMP9、CXCR4的影响

Fig.7 Effects of *Ginkgo biloba* extract on HIF1α, p-MAPK14, MMP9, and CXCR4 in the myocardium of rats with myocardial infarction

### 3 讨论

据世界卫生组织的数据统计,MI已经成为全球

过早死亡的三大原因之一<sup>[9]</sup>。MI引起的炎症反应和ROS激活参与各种免疫反应,使细胞因子和免疫因子相继产生,诱导心肌纤维化。MI后中性粒细胞

激活,并通过NET加重了梗死区域炎症级联反应,加重心肌损伤<sup>[10]</sup>。既往研究<sup>[11]</sup>证实,银杏叶提取物不仅能抑制MI后梗死区域内炎性细胞因子释放,还能在一定程度上抑制中性粒细胞的激活。到目前为止,尚无研究表明银杏叶提取物能否通过抑制NET缓解心肌损伤、抑制心肌细胞凋亡和延缓心肌纤维化。

本研究中,生物信息学分析结果显示,银杏叶提取物治疗MI的靶点集中在HIF1 $\alpha$ 、MAPK14、MMP9和CXCR4上。MI后梗死区域氧含量急速下降,加速缺氧环境的建立,HIF1 $\alpha$ 通过调控细胞代谢和呼吸提高细胞对缺氧的耐受,同时还能抑制ROS的生成,缓解细胞氧化应激损伤<sup>[12]</sup>。MAPK14、MMP9和CXCR4一直被认为是炎症信号轴激活的重要蛋白。MI后CXCR4和MAPK14通过激活p38/NF- $\kappa$ B炎症信号通路<sup>[13]</sup>,激活中性粒细胞,活化后的中性粒细胞分泌MMP9,加速梗死区域炎症浸润<sup>[14-15]</sup>,诱导NET形成和积累,加重心肌损伤。本研究中,模型组HIF1 $\alpha$ 、p-MAPK14、MMP9和CXCR4表达增加,证实了MI后心肌组织中炎症信号的激活。HIF1 $\alpha$ 在银杏叶提取物各剂量组的表达水平呈逐渐上升趋势,这提示银杏叶提取物能通过诱导HIF1 $\alpha$ 表达,提高心肌细胞对组织缺氧环境的耐受。银杏叶提取物治疗后,心肌组织中p-MAPK14、MMP9和CXCR4表达减少,这提示银杏叶提取物能通过减少炎症激活,抑制NET形成,从而对MI发挥治疗功效。

综上所述,银杏叶提取物极有可能通过抑制NET发挥MI后心脏保护作用。然而,本研究仍存在不足,如未按照时间梯度动态分析指标,未发现银杏叶提取物发挥功效的最佳时间,且未通过细胞实验观察银杏叶提取物对心肌细胞MCODE靶点的影响。未来需要进行大样本、高精度、大范围的研究,以阐明银杏叶提取物对MI后心肌细胞保护作用的机制。

#### 参考文献:

- [1] VAJEN T, KOENEN RR, WERNER I, et al. Blocking CCL5-CXCL4 heteromerization preserves heart function after myocardial infarction by attenuating leukocyte recruitment and NETosis [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):10647. DOI:10.1038/s41598-018-29026-0.
- [2] SHAITO A, THUAN DTB, PHU HT, et al. Herbal medicine for cardiovascular diseases: efficacy, mechanisms, and safety [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11:422. DOI:10.3389/fphar.2020.00422.
- [3] PARACKOVA Z, ZENTSOVA I, VRABCOVA P, et al. Neutrophil extracellular trap induced dendritic cell activation leads to Th1 polarization in type 1 diabetes [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:661. DOI:10.3389/fimmu.2020.00661.
- [4] DÖRING Y, LIBBY P, SOEHNLEIN O. Neutrophil extracellular traps participate in cardiovascular diseases: recent experimental and clinical insights [J]. *Circ Res*, 2020, 126(9):1228-1241. DOI:10.1161/CIRCRESAHA.120.315931.
- [5] WILSON AS, RANDALL KL, PETTTTT JA, et al. Neutrophil extracellular traps and their histones promote Th17 cell differentiation directly via TLR2 [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1):528. DOI:10.1038/s41467-022-28172-4.
- [6] LI J, ZHANG YC, CHEN G. Effect of *Ginkgo biloba* extract EGb761 on hippocampal neuronal injury and carbonyl stress of D-gal-induced aging rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 2019:5165910. DOI:10.1155/2019/5165910.
- [7] DING H, ZHANG Z, CAO S, et al. Transformation of multi-component ginkgolide into ginkgolide B by *Coprinus comatus* [J]. *BMC Biotechnol*, 2015, 15:17. DOI:10.1186/s12896-015-0133-0.
- [8] WU J, ZHANG F, ZHENG X, et al. Identification of renal ischemia reperfusion injury subtypes and predictive strategies for delayed graft function and graft survival based on neutrophil extracellular trap-related genes [J]. *Front Immunol*, 2022, 13:1047367. DOI:10.3389/fimmu.2022.1047367.
- [9] WANG YB, LIU YF, LU XT, et al. *Rehmannia glutinosa* extract activates endothelial progenitor cells in a rat model of myocardial infarction through a SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 cascade [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1):e54303. DOI:10.1371/journal.pone.0054303.
- [10] DASEKE MJ, CHALISE U, BECIROVIC-AGIC M, et al. Neutrophil signaling during myocardial infarction wound repair [J]. *Cell Signal*, 2021, 77:109816. DOI:10.1016/j.cellsig.2020.109816.
- [11] WANG Z, ZHANG F, LIU W, et al. Impaired tricarboxylic acid cycle flux and mitochondrial aerobic respiration during isoproterenol induced myocardial ischemia is rescued by bilobalide [J]. *J Pharm Anal*, 2021, 11(6):764-775. DOI:10.1016/j.jpah.2020.08.008.
- [12] ELTZSCHIG HK, CARMELIET P. Hypoxia and inflammation [J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(7):656-665. DOI:10.1056/NEJMra0910283.
- [13] LIANG Y, IP MSM, MAK JCW. (-)-Epigallocatechin-3-gallate suppresses cigarette smoke-induced inflammation in human cardiomyocytes via ROS-mediated MAPK and NF- $\kappa$ B pathways [J]. *Phytomedicine*, 2019, 58:152768. DOI:10.1016/j.phymed.2018.11.028.
- [14] FERRONI L, GARDIN C, DALLA PAOLA L, et al. Characterization of dermal stem cells of diabetic patients [J]. *Cells*, 2019, 8(7):729. DOI:10.3390/cells8070729.
- [15] SHI J, DAI W, HALE SL, et al. Bendavia restores mitochondrial energy metabolism gene expression and suppresses cardiac fibrosis in the border zone of the infarcted heart [J]. *Life Sci*, 2015, 141:170-178. DOI:10.1016/j.lfs.2015.09.022.

(编辑 陈 姜)