

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2022.08.001

❖ 基础研究 ❖

异秦皮素治疗脑梗死大鼠的疗效观察及机制研究

陈历, 季一飞, 尹书斌, 赵玉萍

(川北医学院第二临床医学院·南充市中心医院神经内科, 四川 南充 637000)

【摘要】目的: 探究异秦皮素(ISO)治疗脑梗死大鼠的疗效及机制。**方法:** Longa 法建立大鼠大脑中动脉闭塞(MCAO)模型。32 只雄性 SD 大鼠分为假手术组(sham 组)、MCAO 组、ISO 10 组(10 mg/kg)和 ISO 20 组(20 mg/kg), 每组各 8 只。药物组大鼠每天给予腹腔注射相应剂量的 ISO; sham 组、MCAO 组腹腔注射相同体积的生理盐水, 持续 8 周。评估各组神经功能后, 取相应标本行 TUNEL、HE 和 Nissl 染色, 测量脑组织含水量后, 采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测活性氧自由基(ROS)、血清丙二醛(MDA)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6、IL-18、IL-10、超氧化物歧化酶(SOD)的含量。采用 Western blotting 法检测核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)和 CARD 结构域凋亡相关颗粒样蛋白(ASC)的表达水平。**结果:** 两组 ISO 处理后可降低脑梗死引起的神经功能评分($P < 0.01$)。TUNEL 染色表明, 两组 ISO 处理后可减少脑梗死后 TUNEL 阳性细胞数量($P < 0.01$); HE 和 Nissl 染色结果表明, 两组 ISO 处理后均能有效减轻脑梗死后神经元损伤; ISO 20 组脑梗死后脑组织含水量降低($P < 0.05$)。ISO 20 组 ROS 和 MDA 含量均低于 MCAO 组($P < 0.01$), SOD 含量高于 MCAO 组($P < 0.01$); 与 MCAO 组比较, 两组 ISO 处理后可降低 TNF- α 、IL-6 水平($P < 0.01$), 同时 IL-10 水平上调($P < 0.01$)。两组 ISO 处理后可降低 NLRP3 和 ASC 含量($P < 0.01$); 两组 ISO 处理后可降低 IL-1 β 和 IL-18 水平($P < 0.01$)。**结论:** ISO 可能通过调节 NLRP3 炎症小体来改善脑梗死后的神经炎症和氧化应激, 可能是临床治疗脑梗死的潜在有效药物。

【关键词】 异秦皮素; 脑梗死; 神经炎症; 氧化应激; NLRP3 炎症小体

【中图分类号】 R743.33; R285.5 **【文献标志码】** A

Effect and mechanism of Isofraxidin in the treatment of cerebral infarction rats

CHEN Li, JI Yi-fei, YIN Shu-bin, ZHAO Yu-ping

(Department of Neurology, the Second Clinical Medical College of North Sichuan Medical College, Nanchong Central Hospital, Nanchong 637000, Sichuan, China)

【Abstract】 Objective: To explore the effect and mechanism of Isofraxidin (ISO) in the treatment of cerebral infarction rats. **Methods:** The model of middle cerebral artery occlusion (MCAO) was established by Longa method. 32 male Sprague Dawley rats were randomly divided into sham operation group (sham group), MCAO group, MCAO + ISO 10 group (10 mg/kg) and MCAO + ISO 20 group (20 mg/kg), with 8 rats in each group. Rats in drug group were intraperitoneally injected with the corresponding dose of ISO every day. Sham group and MCAO group were intraperitoneally injected with the same volume of normal saline. It lasts for 8 weeks. After evaluating the nerve function of each group, TUNEL, HE and Nissl staining were used to measure brain tissue water content. ELISA was used for the detection of the levels of ROS, MDA, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-18, SOD and IL-10. The protein expression levels of NLRP3 and ASC were detected by Western blot. **Results:** Both ISO groups could reduce the neurological function score caused by cerebral infarction after treatment ($P < 0.01$). TUNEL staining showed that both groups of ISO treatment could reduce the TUNEL positive cells after cerebral infarction ($P < 0.01$). The results of HE and Nissl staining showed that both groups of ISO treatment could effectively reduce the injury of neurons after cerebral infarction. ISO 20 group could reduce the water content of cerebral tissue after cerebral infarction ($P < 0.05$). Compared with MCAO group, the ROS content and MDA content in ISO group were decreased ($P < 0.01$), while SOD content was increased ($P < 0.01$). Compared with MCAO group, the levels of TNF- α and IL-6 were decreased in both groups of ISO treatment ($P < 0.01$), IL-10 content was increased ($P < 0.01$). The contents of NLRP3 and ASC were decreased in both groups of ISO treatment ($P < 0.01$). The contents of IL-1 β and IL-18 were reduced in both groups of ISO treatment ($P < 0.01$). **Conclusion:** ISO may ameliorate the neuroinflammation and oxidative stress of cerebral infarction via regulation of NLRP3 inflammasomes, suggesting that ISO may be an underlying and effective drug for treating cerebral infarction in clinic.

基金项目: 国家自然科学基金(81870966); 四川省南充市市校科技战略合作项目(19SXHZ0264)

作者简介: 陈历(1986-), 男, 博士研究生, 主治医师。E-mail: 787673571@qq.com

通讯作者: 季一飞, 博士, 教授。E-mail: jiyifei_2003@163.com

[Key words] Isofraxidin; Cerebral infarction; Neuroinflammation; Oxidative stress; NLRP3 inflammasomes

异秦皮素 (isofraxidin, ISO) 是从刺五加提取的一种香豆素类化合物^[1]。随着医疗技术的发展, ISO 的临床应用越来越多, 如在人类癌症^[2-4]、炎症疾病^[5-6] 和氧化应激^[7-8] 中的抑制作用。Chen 等^[8] 发现, ISO 在体内和体外均可抑制 NLRP3 炎症小体的激活, 从而改善心肌梗死预后。然而, ISO 在脑梗死中的具体功能及其与 NLRP3 炎性小体之间的相互作用尚不清楚。因此, 本研究拟探讨 ISO 在脑梗死中的调控机制及其与 NLRP3 炎性小体的相关性。

1 材料和方法

1.1 实验动物

32 只雄性 SD 大鼠 (220 ~ 240 g) 购自川北医学院实验动物中心, 适应实验环境 7 d。本研究的动物实验程序严格按照《实验动物护理使用指南》进行, 并经医院伦理委员会批准, 伦理批号: NSMC 伦理动物审 [2021] 69 号。

1.2 主要试剂及仪器

ISO (武汉远成共创科技有限公司); 活性氧 (ROS) 试剂盒、丙二醛 (MDA) 试剂盒、超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所); 肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 试剂盒、白细胞介素-6 (IL-6) 试剂盒、IL-10 试剂盒、IL-1 β 试剂盒、IL-18 试剂盒、NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NLRP3) 抗体试剂盒、凋亡相关斑点样蛋白 (ASC) 抗体试剂盒、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 抗体试剂盒 (Abcam 公司); SDS-PAGE 凝胶制、聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜 (北京索莱宝科技有限公司)。鼠大脑中动脉闭塞模型 (MCAO); 栓线 (型号: 2636-A4TC); 全波长酶标仪 (美国, Multiskan); 电子分析天平 (LCD-A500)、高速冷冻离心机 (德国, Sigma 1-15K); 恒温水浴箱 (ZWY-110X50)。

1.3 实验方法

1.3.1 脑梗死大鼠模型及 ISO 处理 SD 大鼠适应实验环境 7 d 后, 分为假手术组 (sham 组)、MCAO 组、ISO 10 组 (10 mg/kg) 和 ISO 20 组 (20 mg/kg), 每组均为 8 只。ISO 组腹腔注射相应剂量的 ISO, 1 次/d; sham 组、MCAO 组腹腔注射相同体积生理盐水。持续 8 周。取相应标本做后续的研究。MCAO 操作按照 Longa 等^[9] 的研究进行: 将 SD 大鼠用 10% 水合氯醛 (0.35 mL/100 g) 腹腔注射麻醉后, 固定于手术台, 右侧颈部备皮, 作一长约 2 cm 的纵向切口, 钝性分离右侧胸锁乳突肌等肌肉, 暴露分离右侧颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉。结扎右侧颈总动

脉向心端和颈外动脉根部, 动脉夹夹闭颈总动脉远心端, 在右侧颈总动脉下方穿一线备用。在分叉处下方约 8 mm 处作一切口, 将线栓插入右侧颈总动脉, 收紧备用线, 松开动脉夹, 当线栓送入约 20 mm 深时, 遇到轻微阻力则轻微回拉 1 ~ 2 mm, 线栓穿过右侧大脑中动脉起始端, 将右侧大脑中动脉起始端阻塞, 结扎备线, 固定线栓, 然后迅速记录时间, 缝合皮肤, 线栓尾端固定在皮肤上。缺血 2 h 后, 小心将线栓抽出, 恢复右侧大脑中动脉血供, 即形成 MCAO 模型。sham 组大鼠仅给予同样暴露分离颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉操作, 但不做结扎和线栓处理。

1.3.2 神经行为评估 再灌注 24 h 及 8 周后, 由两位对本研究不知情的实验者评估大鼠的神经行为, 参照 Zea-Longa^[9] 神经功能障碍评分: 5 分: 不能行走, 意识昏迷; 4 分: 原地向左侧旋转; 3 分: 左侧旋转步行; 2 分: 左前肢阻力降低, 行走偏左侧; 1 分: 提起鼠尾, 左前肢不能完全伸直; 0 分: 无明显神经损伤。将模型组评分为 1 ~ 4 分且无蛛网膜下腔出血的大鼠纳入后续实验, 剔除评分为 5 分的大鼠, 并随机补充。

1.3.3 染色分析 用 50 mg/kg 戊巴比妥钠对大鼠进行麻醉。麻醉成功后将大鼠仰卧位固定于木板上, 剪开腹腔, 暴露心脏, 经左心室灌注, 肉眼观察到生理盐水基本无色和肝脏完全变黄后停止冲洗, 再以 4% 多聚甲醛灌注固定, 大鼠全身僵硬后断头取出脑组织, 用手术刀沿正中裂矢状位把大脑切开, 将右侧大脑半球置于 4% 多聚甲醛固定液 4 °C 下固定 24 h, 在视交叉后 1 mm 及 5 mm 处冠状切面切开, 取中间脑组织。置于 4% 多聚甲醛固定液 4 °C 固定 24 h, 石蜡包埋后, 把大脑切片 (4 μ m 厚) 用于苏木精-伊红染色法 (HE) 染色、原位末端转移酶标记技术 (TUNEL) 染色试验和 Nissl 染色。

1.3.4 大脑含水量的测量 大鼠麻醉后断头取脑, 去除小脑、脑干及嗅球, 用手术刀沿正中裂矢状位把大脑切开, 将右侧大脑半球用精确度为 0.01 mg 电子分析天平测量湿重 (wet weight, ww), 然后包入锡箔纸放置烤箱中, 72 h 后称大脑干重 (dry weight, dw), 按以下公式计算出大脑含水量^[10], 含水量 = (ww-dw) \div ww \times 100%。

1.3.5 氧化应激标志物检测 取新鲜右侧大脑半球, 称重后研磨并加入 9 倍质量的生理盐水制成匀浆液, 离心半径 6 cm, 2 000 rpm 离心 10 min 取上清, 采用特异性酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒, 对 ROS、MDA 和 SOD 的含量进行测定。

1.3.6 ELISA 试验 大鼠麻醉后, 腹腔注射麻醉,

打开腹腔,腹主动脉采血 4 mL,注入离心管中待凝固后,4 ℃,离心半径 6 cm,3 000 rpm 离心 10 min,分离血清,-20 ℃ 保存备用。大鼠采血后,迅速断头冰浴中取脑,取右侧大脑半球,去掉嗅球、小脑和低位脑干等,吸去血迹,用电子天平称重,尽快加入预冷的生理盐水碾磨,制成组织匀浆,4 ℃,离心半径 6 cm,3 000 rpm 离心 15 min,取上清液 -20 ℃ 备用。采用特异性 ELISA 试剂盒,检测大鼠血清和脑组织中炎症因子(TNF- α 、IL-6、IL-10、IL-1 β 、IL-18)水平。

1.3.7 Western blotting 取新鲜右侧大脑半球,制备匀浆并提取总蛋白,然后用快速金 BCA 蛋白测定试剂盒测定浓度,用 10% SDS-PAGE 分离蛋白产物并转移到 PVDF 膜上。将 PVDF 膜分别加入 NL-RP3、ASC 和 GAPDH 的一抗,在 4 ℃ 下孵育过夜,然后分别将二抗在室温下孵育 1 h。GAPDH 为内参。化学发光法显色,应用凝胶图像处理系统分析目标条带的分子量和净光密度值。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ISO 改善脑梗死大鼠神经功能缺损和脑水肿

脑梗死大鼠各组神经功能评分较 sham 组升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。ISO 可降低各组脑梗死引起的神经功能评分升高。MCAO 组相对 sham 组评分升高($t = 17.15, P < 0.01$);ISO 10 组的神经功能评分相对 MCAO 组降低($t = 4.50, P < 0.05$);ISO 20 组的神经功能评分相对 MCAO 组降低($t = 5.38, P < 0.01$)。脑梗死后各组脑组织水含量差异有统计学意义($P < 0.01$),MCAO 组相对 sham 组脑组织水含量升高($t = 5.96, P < 0.01$);ISO 10 组相对 MCAO 组水含量降低,差异无统计学意义($P > 0.05$);ISO 20 组相对 MCAO 组水含量降低,且差异具有统计学意义($t = 3.77, P < 0.05$)。见图 1。

2.2 ISO 减轻脑梗死大鼠的神经元损伤

与 sham 组相比,脑梗死各组大鼠脑组织中 TUNEL 阳性细胞百分比增加,差异有统计学意义($P < 0.01$)。其中,MCAO 组相对 sham 组 TUNEL 阳性细胞率升高($P < 0.01$);ISO 10 组 TUNEL 阳性细胞率相对 MCAO 组降低($P < 0.01$);ISO 20 组 TUNEL 阳性细胞率相对 MCAO 组降低($P < 0.01$)。ISO 处理可减轻脑梗死后 TUNEL 阳性细胞的增加,差异有统计学意义($P < 0.01$)。HE 染色显示四组

的组织学变化中,sham 组无明显组织病理异常,细胞轮廓清晰,核仁明显。然而,脑梗死后出现细胞轮廓模糊、细胞变形和水肿等异常。ISO 可减轻上述损伤,且 ISO 20 组对细胞病理状态的改善更为明显。Nissl 染色则显示,sham 组的神经元完好,而脑梗死诱导的神经元损伤伴随细胞体和核仁萎缩。与 HE 染色结果相似,ISO 处理可明显减轻脑梗死后神经元的损伤。见图 2。

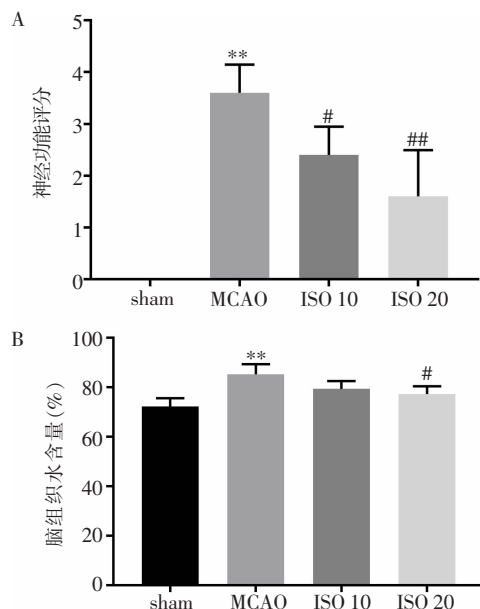


图 1 ISO 可改善脑梗死大鼠的神经功能缺损和脑水肿

A. ISO 对 MCAO 大鼠神经系统评分的影响;B. ISO 对 MCAO 大鼠脑含水量影响。** $P < 0.01$, 与 sham 组相比;# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$,与 MCAO 组比较。

2.3 ISO 减轻脑梗死引起的大鼠氧化应激

与 sham 组相比,脑梗死各组 ROS 含量升高($P < 0.01$)、MDA 含量升高($P < 0.01$),SOD 含量降低($t = 22.80, P < 0.01$)。ISO 处理后可减轻氧化应激,ISO 10 组和 ISO 20 组相对 MCAO 组,ROS 含量、MDA 含量均降低($P < 0.01$),SOD 含量升高($P < 0.01$)。见图 3。

2.4 ISO 减轻脑梗死引起的炎症反应

据报道^[11-12],脑梗死后炎症的加重促进了神经元和脑组织损伤。因此,本研究分析 ISO 处理对脑梗死后大鼠炎症反应的影响。血清和脑组织结果显示,脑梗死后 TNF- α 和 IL-6 水平较 sham 组升高,差异有统计学意义(均 $P < 0.01$)。与 MCAO 组相比,ISO 10 组 TNF- α 、IL-6 水平降低,差异有统计学意义($P < 0.01$),ISO 20 组对炎症因子释放的抑制作用更明显。MCAO 组与 sham 组大鼠血清及脑组织的抗炎因子 IL-10 水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)。与 MCAO 组相比,ISO 组 IL-10 水平呈剂量

依赖性增加,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图 4。

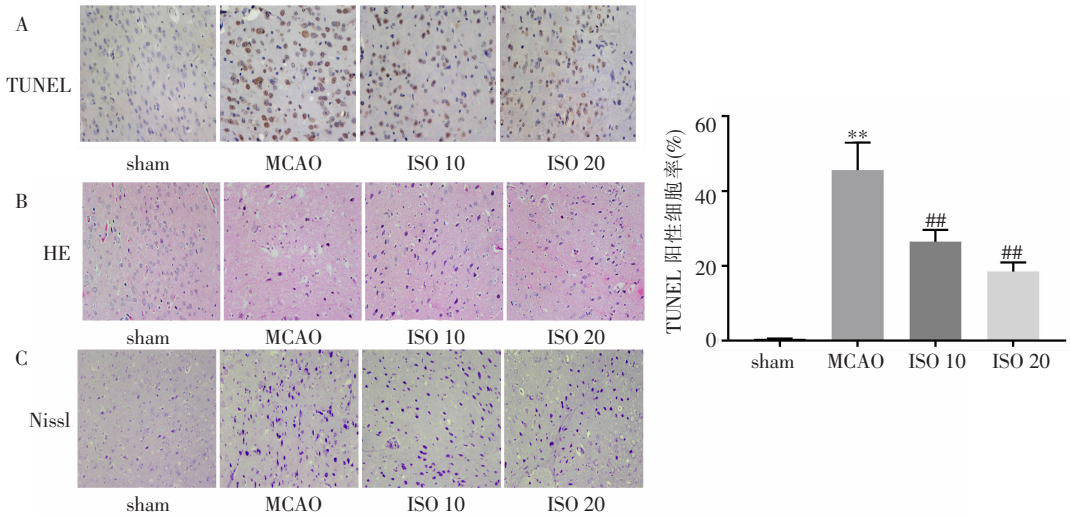


图 2 ISO 减轻脑梗死大鼠的神经元损伤

A. TUNEL 染色法检测 ISO 对神经元凋亡的影响 (TUNEL $\times 400$); B. HE 染色法检测 ISO 对细胞形态学改变的影响 (HE $\times 200$); C. Nissl 染色法测定 ISO 对形态学神经元改变的影响 (Nissl $\times 200$)。** $P < 0.01$, 与 sham 组比较; ## $P < 0.01$, 与 MCAO 组比较。

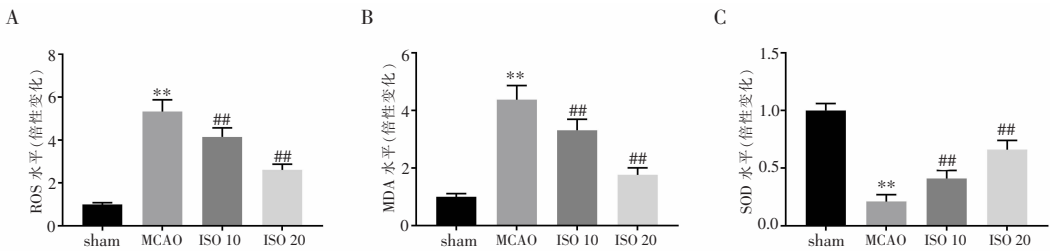


图 3 ISO 对各组大鼠脑组织中氧化应激相关指标的影响

A. ISO 对各组大鼠脑组织中 ROS 相对含量的影响; B. ISO 对各组大鼠脑组织中 MDA 相对含量的影响; C. ISO 对各组大鼠脑组织中 SOD 相对含量的影响。** $P < 0.01$, 与 sham 组相比; ## $P < 0.01$, 与 MCAO 组比较。

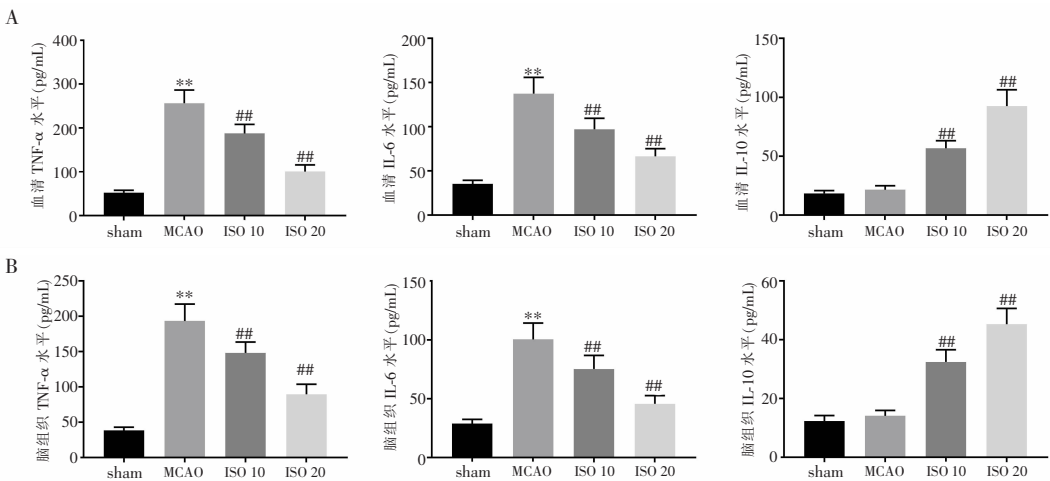


图 4 ISO 可减轻脑梗死引起的炎症反应

A. MCAO 大鼠血清中 TNF- α 、IL-6、IL-10 水平; B. MCAO 大鼠脑组织中 TNF- α 、IL-6、IL-10 水平。** $P < 0.01$, 与 sham 组相比; ## $P < 0.01$, 与 MCAO 组比较。

2.5 ISO 抑制脑梗死大鼠 NLRP3 炎性小体活化

由于 NLRP3 炎性小体的激活伴随着 IL-1 β 和 IL-18 的释放在脑梗死后炎症反应的调控中起着重

要的作用^[13-15], 于是研究了脑梗死大鼠脑组织中 NLRP3 炎性小体相关蛋白的水平及 IL-1 β 和 IL-18 的含量。Western blotting 的结果表明, NLRP3 和

ASC 的蛋白水平在脑梗死大鼠中上调,差异有统计学意义($P < 0.01$),ISO 10 组、ISO 20 组表达水平下降,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。同时,在脑梗死大鼠脑组织中 IL-1 β 和 IL-18 的含量在脑梗死

大鼠中上调,差异有统计学意义($P < 0.01$),ISO 10 组、ISO 20 组表达水平下降,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。见图 5。

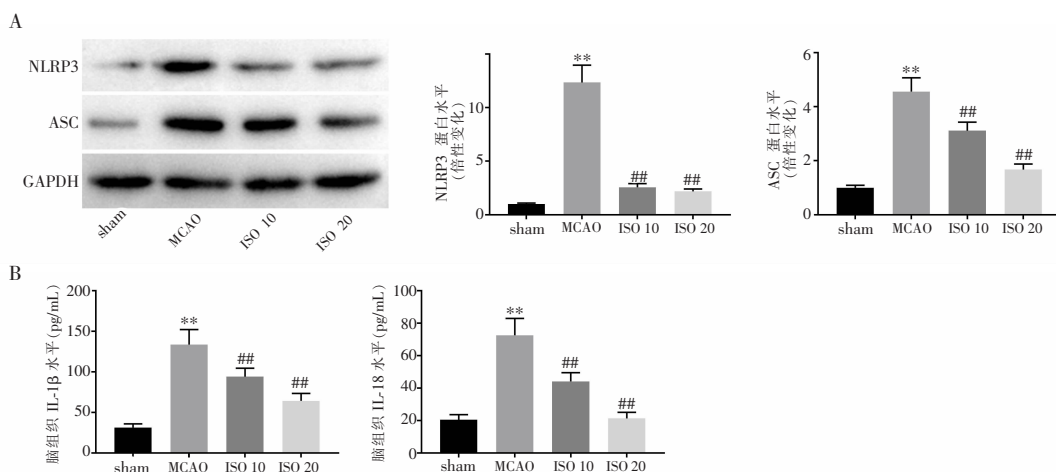


图5 ISO抑制脑梗死大鼠NLRP3炎症小体的活化

A. MCAO大鼠脑组织中NLRP3和ASC蛋白水平;B. MCAO大鼠脑组织中IL-1 β 和IL-18水平。 $**P < 0.01$,与sham组相比;## $P < 0.01$,与MCAO组比较。

3 讨论

脑梗死是一种全球发病率较高的严重脑血管疾病,目前尚无有效的临床药物,其临床管理仍颇具挑战性。缺氧和神经炎症引起的脑损伤贯穿于脑梗死急性期整个过程。因此,抑制神经炎症和氧化应激成为脑梗死治疗的主要应对策略。

ISO在炎症应激下产生抗菌、抗炎和抗肿瘤作用,因其在脑梗死中的临床应用逐渐普及。既往研究^[16-17]表明,ISO通过调节细胞外调节蛋白激酶1/2(extracellular regulated protein kinases, ERK1/2)、p38的磷酸化活性显著抑制脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的小鼠腹腔巨噬细胞的整体炎症反应水平,并缓解急性肺损伤中的炎症反应以减轻肺部损伤。

脑梗死后多出现神经元凋亡、核仁萎缩、水肿。本研究中,ISO显著降低脑梗死引起的神经功能评分和脑组织含水量,并减轻上述损伤,提示ISO对脑梗死大鼠具有保护作用,可能是一种治疗脑梗死的有效药物。

脑组织易受氧化应激的影响可归因于神经递质自动氧化、线粒体功能紊乱和不饱和脂质的富集等^[18-20]。Zhao等^[20]认为,在大鼠脑梗死再灌注损伤模型中,MDA水平增加,而SOD含量下降,ROS、MDA和SOD之间的平衡可用于评估氧化应激对脑损伤的影响。本研究中,ISO可降低ROS和MDA的水平,并上调SOD表达,ISO 20组尤为明显,表明

ISO对脑梗死的保护作用之一可能是抗氧化作用。

促炎症细胞因子如TNF- α 和IL-6,以及抗炎因子IL-10也被证实参与了脑梗死后炎症调节过程^[21-22]。本研究显示,在血清和受伤的脑组织中,ISO明显抑制了TNF- α 和IL-6的分泌,ISO剂量在20 mg/kg时对炎症因子释放的抑制作用更明显;同时呈剂量依赖性促进了IL-10的释放,表明ISO可减轻脑梗死炎症反应。

NLRP3炎症小体是一种亚细胞多蛋白复合物,与神经炎症密切相关,包括NLRP3和ASC等重要蛋白,可促进IL-18和IL-1 β 的产生^[22]。Yang等^[23]在NLRP3(-/-)小鼠中进行了大脑中动脉闭塞再灌注实验,发现下调NLRP3可通过抑制IL-1 β 的分泌,显著减少梗死区域,减轻血脑屏障的损伤。Xiao等^[24]发现,脑出血是卒中最致命的亚型,可诱导NLRP3炎症小体的激活,导致一系列炎症反应和神经炎症,加重脑损伤。Joaquim等^[25]在脑缺血/再灌注损伤模型中注射NLRP3抑制剂MCC950,发现MCC950可降低脑组织的过氧化作用。本研究中,ISO不仅抑制了NLRP3和ASC的蛋白水平,而且还减少了MCAO大鼠的IL-18和IL-1 β 的产生,提示NLRP3炎症小体是ISO治疗脑梗死的靶点,与既往研究^[22-25]结果基本一致。

综上,ISO可降低脑梗死引发的神经功能评分和脑组织含水量,减轻神经元凋亡、核仁萎缩、水肿程度,降低ROS、MDA、TNF- α 、IL-6、IL-18、IL-1 β 、NLRP3和ASC的表达水平,上调SOD、IL-10表达,

减轻神经炎症反应,可能是脑梗死的潜在治疗药物。

参考文献

[1] Su X, Liu B, Gong F, *et al.* Isofraxidin attenuates IL-1beta-induced inflammatory response in human nucleus pulposus cells[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2019, 120(8): 13302 - 13309.

[2] Yamazaki T, Tokiwa T. Isofraxidin, a coumarin component from *Acanthopanax senticosus*, inhibits matrix metalloproteinase-7 expression and cell invasion of human hepatoma cells[J]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2010, 33(10): 1716 - 1722.

[3] Zhang H, Feng QQ, Gong JH, *et al.* Anticancer effects of isofraxidin against A549 human lung cancer cells via the EGFR signaling pathway [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2018, 18 (1): 407 - 414.

[4] Lin J, Li X, Qi W, *et al.* Isofraxidin inhibits interleukin-1beta induced inflammatory response in human osteoarthritis chondrocytes [J]. *International Immunopharmacology*, 2018, 64: 238 - 245.

[5] Liu L, Mu Q, Li W, *et al.* Isofraxidin protects mice from LPS challenge by inhibiting pro-inflammatory cytokines and alleviating histopathological changes [J]. *Immunobiology*, 2015, 220 (3): 406 - 413.

[6] Yu J, Wang WN, Matei N, *et al.* Ezetimibe attenuates oxidative stress and neuroinflammation via the AMPK/Nrf2/TXNIP pathway after MCAO in rats [J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 2020: 1 - 14.

[7] Li P, Zhao QL, Wu LH, *et al.* Isofraxidin, a potent reactive oxygen species (ROS) scavenger, protects human leukemia cells from radiation-induced apoptosis via ROS/mitochondria pathway in p53-independent manner [J]. *Apoptosis*, 2014, 19(6): 1043 - 1053.

[8] Chen G, Song X, Lin D, *et al.* Isofraxidin alleviates myocardial infarction through NLRP3 inflammasome inhibition [J]. *Inflammation*, 2020, 43(2): 712 - 721.

[9] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, *et al.* Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84 - 91.

[10] Hatashita S, Hoff JT, Salamat SM. Ischemic brain edema and the osmotic gradient between blood and brain [J]. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 1988, 8: 552 - 559.

[11] Moskowitz MA, Lo EH, Iadecola C. The science of stroke; Mechanisms in search of treatments [J]. *Neuron*, 2010, 67 (2): 181 - 198.

[12] Yu J, Zhu H, Gattioni-Celli S, *et al.* Dietary supplementation of GrandFusion mitigates cerebral ischemia-induced neuronal damage and attenuates inflammation [J]. *Nutritional Neuroscience*, 2016, 19(7): 290 - 300.

[13] Fann DY, Lee SY, Manzanero S, *et al.* Pathogenesis of acute stroke and the role of inflammasomes [J]. *Ageing Research Reviews*, 2013, 12(4): 941 - 966.

[14] Yin H, Guo Q, Li X, *et al.* Curcumin suppresses IL-1beta secretion and prevents inflammation through inhibition of the NLRP3 inflammasome [J]. *Immunology*, 2018, 200(8): 2835 - 2846.

[15] Zhong WJ, Duan JX, Liu T, *et al.* Activation of NLRP3 inflammasome up-regulates TREM-1 expression in murine macrophages via HMGB1 and IL-18 [J]. *International Immunopharmacology*, 2020, 89(Pt A): 107045.

[16] Niu X, W Xing, W Li, *et al.* Isofraxidin exhibited anti-inflammatory effects invivo and inhibited TNF-alpha production in LPS-induced mouse peritoneal macrophages in vitro via the MAPK pathway [J]. *International Immunopharmacology*, 2012, 14(2): 164 - 171.

[17] Niu X, Wang Y, Li W, *et al.* Protective effects of isofraxidin against lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice [J]. *International Immunopharmacology*, 2015, 24(2): 432 - 439.

[18] Chen Z, Zhong C. Oxidative stress in Alzheimer's disease [J]. *Neuroscience Bulletin*, 2014, 30(2): 271 - 281.

[19] Hemmati-Dinarvand M, Saedi S, Valilo M, *et al.* Oxidative stress and Parkinson's disease; Conflict of oxidant-antioxidant systems [J]. *Neuroscience Letters*, 2019, 709: 134296.

[20] Zhao Q, Wang X, Chen A, *et al.* Rhein protects against cerebral ischemic/reperfusion-induced oxidative stress and apoptosis in rats [J]. *Molecular Medicine*, 2018, 41(5): 2802 - 2812.

[21] He J, Zhou D, Yan B. Eriocitrin alleviates oxidative stress and inflammatory response in cerebral ischemia reperfusion rats by regulating phosphorylation levels of Nrf2/NQO-1/HO-1/NF-kappaB p65 proteins [J]. *Annals of Translational Medicine*, 2020, 8(12): 757.

[22] Shi YL, Wang Q, Wei JC. Influence of lncRNA-MALAT1 on neuronal apoptosis in rats with cerebral infarction through regulating the ERK/MAPK signaling pathway [J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2019, 23(18): 8039 - 8048.

[23] Yang F, Wang Z, Wei X, *et al.* NLRP3 deficiency ameliorates neurovascular damage in experimental ischemic stroke [J]. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2014, 34(4): 660 - 667.

[24] Xiao L, Zheng H, Li J, *et al.* Neuroinflammation mediated by NLRP3 inflammasome after intracerebral hemorrhage and potential therapeutic targets [J]. *Molecular Neurobiology*, 2020, 57(12): 5130 - 5149.

[25] Joaquim LS, Danielski LG, Bonfante S, *et al.* NLRP3 inflammasome activation increases brain oxidative stress after transient global cerebral ischemia in rats [J]. *International Journal of Neuroscience*, 2021, Dio: 10.1080/00207454.2021.1922402.

(收稿日期: 2022 - 02 - 25

修回日期: 2022 - 04 - 09)