

薯蓣皂苷调控MAPK信号通路减轻小鼠 创伤性脑损伤后小胶质细胞介导的炎症反应

黄健¹, 张玉华², 胡国庆¹

摘要 目的:采用体内与体外创伤性脑损伤(trumatic brain injury, TBI)模型评估薯蓣皂苷对TBI后小胶质细胞表型转化、炎症反应及MAPK信号通路的调控作用。方法:SPF级C57BL/6小鼠随机分为对照组、创伤组和薯蓣皂苷组,每组15只。利用Feeney氏自由落体法建立体内TBI模型、采用原代小胶质细胞划痕实验建立体外TBI模型。造模后24 h采用检测脑水肿和NSS评分评估对神经功能影响;采用尼氏染色检测神经细胞损伤水平;免疫荧光染色评估小胶质细胞活化及表型转化水平;q-PCR检测促炎因子白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)及肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的基因转录水平;采用蛋白质免疫印迹法评估MAPK信号通路相关蛋白ERK1/2、JNK、p38及其磷酸化相关蛋白的表达。结果:体内外模型中结果显示,薯蓣皂苷显著改善TBI后神经功能损害,降低神经细胞损伤比例,小胶质细胞活化程度及表型转化($P<0.05$);降低促炎介质IL-1 β 、IL-6及TNF- α 的基因转录水平($P<0.05$);抑制MAPK信号通路相关蛋白的磷酸化水平($P<0.05$)。结论:薯蓣皂苷预处理抑制TBI后神经炎症反应及小胶质细胞活化,可能与抑制MAPK信号通路活化有关,具有神经保护作用。

关键词 薯蓣皂苷;创伤性脑损伤;小胶质细胞神经炎性;MAPK信号通路

中图分类号 R741;R741.02;R651.1 文献标识码 A DOI 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20220084

本文引用格式:祁林瑞,耿新,曾嵘,胡风云.薯蓣皂苷调控MAPK信号通路减轻小鼠创伤性脑损伤后小胶质细胞介导的炎症反应[J].神经损伤与功能重建,2023,18(8):441-445,455.

作者单位

1. 南京大学医学院
附属泰康仙林鼓楼
医院神经外科
南京 210000

2. 南京大学医学院
附属鼓楼医院神经
外科
南京 210000

收稿日期

2022-08-06

通讯作者

黄健

huangjian910@

163.com

Dioscin Alleviates Microglia Mediated Inflammatory Response Following Traumatic Brain Injury through MAPK Signaling HUANG Jian¹, ZHANG Yuhua², HU Guoqing¹. 1. Department of Neurosurgery, Taikang Xianlin Drum Tower Hospital, Medical School of Nanjing University, Nanjing 210000, China; 2. Department of Neurosurgery, Drum Tower Hospital, Medical School of Nanjing University, Nanjing 210000, China

Abstract Objective: Our work was attempted to evaluate the effect of dioscin on brain injury following traumatic brain injury (TBI) and explore its mechanism. **Methods:** TBI model was constructed in C57BL/6 mice by Feeney's free-falling method *in vivo* and in primary cortical neurons by wound scratch assay *in vitro*. Then, TBI model was treated with dioscin *in vivo* and *in vitro*. Cerebral edema and Neurologic severity score (NSS) were evaluated in mice 24 h post TBI construction. The nerve cell injury was assessed by Nissl staining, and the microglia activation and phenotypic transformation were analyzed by immunofluorescence staining. The expression levels of proinflammatory factors (IL-1 β , IL-6 and TNF- α) were measured by RT-qPCR assay and MAPK pathway related proteins (p-ERK1/2, p-P38 and p-JNK) were observed by western blot. **Results:** Dioscin significantly attenuated TBI induced cerebral edema, neurological dysfunctions and microglia mediated inflammation, reflected by reduced brain water content, NSS score, M1 microglia percentage and proinflammatory factors expression (all $P<0.05$). The levels of phosphorylated ERK1/2, P38 and JNK were obviously declined in TBI mice after treated with dioscin ($P<0.05$). **Conclusion:** Dioscin elicited neuroprotective effect against TBI induced injury through MAPK pathway.

Keywords dioscin; traumatic brain injury; microglia; inflammation; MAPK pathway

创伤性脑损伤(trumatic brain injury, TBI)是高病死率、高致残率的疾病^[1]。以炎症损害及神经细胞损伤为特征的继发性脑损伤是导致TBI后神经功能障碍的主要原因^[2]。早期减轻TBI后神经炎性损害有助于改善TBI患者的不良预后^[3],但尚缺乏有效的治疗药物^[4]。

小胶质细胞在TBI后神经炎性损害中

发挥关键作用^[5]。小胶质细胞分为M1促炎型(经典型)和M2抑炎型(替代型)^[6]。在实验性TBI大鼠模型中,抑制M1型活化同时促进小胶质细胞向M2型转化可显著减轻神经元损害,改善神经功能障碍^[7]。多项研究证实不同活化态的小胶质细胞占主导与TBI的预后存在密切联系^[8,9]。有效调节TBI后小胶质细胞的活化状态成为新的潜在治

疗靶点。

薯蓣皂苷是从中药穿山龙中提取的天然甾体皂苷,具有抗肿瘤^[10]、抗炎^[11]、调节免疫^[12]等活性。其对TBI后继发性脑损伤中小胶质细胞表型调控的作用受到关注。研究表明薯蓣皂苷可通过抑制丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)信号通路减轻缺血再灌注损伤大鼠模型的炎症损害^[13]。同时,薯蓣皂苷可以阻断核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)通路,降低血清中血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)和细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)等促炎介质的活性^[11,14]。薯蓣皂苷通过调控MAPK信号通路诱导小胶质细胞表型转化^[15]。目前,薯蓣皂苷对TBI后神经炎症反应及小胶质细胞表型转化的影响研究很少。

本研究采用在体和离体TBI模型探讨薯蓣皂苷对小胶质细胞表型转化的影响及作用机制,以期为临床提供新的干预靶点和治疗药物提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与材料

SPF级成年雄性C57BL/6小鼠(20~28 g)和出生1 d内的乳鼠,均购于南京医科大学实验动物中心,合格证号:SCXK(苏)2017-0001。于12小时照明/黑暗循环的SPF环境中适应性饲养3 d,自由食水。本研究所有试剂均由南京大学医学院附属鼓楼医院高永月博士惠赠。

1.2 方法

1.2.1 TBI在体模型建立 将小鼠随机分为对照组、创伤组、薯蓣皂苷组,各15只。TBI模型建立前,对薯蓣皂苷组小鼠给予20 mg/kg(薯蓣皂苷-低组)或60 mg/kg(薯蓣皂苷-高组)薯蓣皂苷连续灌胃7 d,创伤组和对照组给予等量生理盐水灌胃。采用改良的Feeney氏自由落体法建立TBI模型^[16],术前禁食8 h,戊巴比妥钠(50 mg/kg,腹腔注射)麻醉小鼠后将其固定于立体定向仪,碘伏消毒后沿矢状位中线切开头皮,分离骨膜暴露颅骨,左侧顶骨平面中线旁开2 mm作为撞击点,使用333 g重物从2.5 cm高处沿金属导丝自由落

下撞击。缝合消毒后,置于37℃恒温垫中麻醉复苏。对照组除未进行重物撞击外,其余采用相同的流程。

1.2.2 TBI离体模型建立^[17] 75%的医用酒精浸泡乳鼠消毒,断头并剥离出脑组织放置于预冷的DMEM培养基中,显微镜下去除脑组织表面软脑膜。显微剪将脑组织剪成直径1 mm左右组织块,加入1 mL预温的0.25%胰酶置于37℃恒温箱中消化10 min,加入2 mL胎牛血清终止消化,5 mL移液枪轻轻吹打10余次静置,将单细胞悬液用直径70 μm的滤网。将滤液1000转/min离心10 min。去除上清液后,使用DMEM培养基(含10%胎牛血清+1%青霉素/链霉素双抗)重悬浮后接种至培养瓶中。每隔1天换液1次,至第10天时小胶质细胞成熟,轻摇培养瓶收集悬液、计数,将含有成熟小胶质细胞的悬浮液接种至培养板,贴壁后进行TBI处理。采用纤细的塑料针、9×9方格机械划伤贴壁细胞,划痕间隔4 mm,随后将培养板放置于37℃培养箱中培养24 h。薯蓣皂苷组细胞在机械划伤操作前加入100 ng/mL薯蓣皂苷预处理12 h。

1.2.3 神经功能评分(neurologic severity score, NSS) TBI后24 h,围绕运动、平衡和警觉性功能对小鼠进行神经功能评估, NSS分值越高代表损伤程度越重^[18]。

1.2.4 脑水肿检测 将TBI后24 h的小鼠深度麻醉后行左心室灌注,断头取脑后将小脑、脑干及皮质腹侧的丘脑海马组织去除,用吸水纸轻轻吸除皮质表面液体,称取重量记录为皮质湿重;随后将脑组织置于80℃烘箱中72 h,再次称取重量记录为皮质干重。脑水肿含量(%)=(湿重-干重)/湿重×100%。

1.2.5 促炎因子的基因水平检测 TBI后24 h,在动物实验中,深度麻醉小鼠后行左心室灌注,留取损伤灶周围脑组织标本;在细胞实验中,将各组细胞采用磷酸盐缓冲液冲洗3次; Trizol法提取总RNA,逆转录PCR(reverse transcription PCR, RT-PCR)检测促炎因子白细胞介素(interleukin, IL)1β、IL-6及肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)-α转录水平。引物序列见表1。转录体系(20 μL): SYBR Green 10 μL、cDNA 2 μL、引物5 μL、DEPC水补齐。扩增条件: 95℃变性20 s, 60℃延伸30 s,共进行40个循环。以18S为内参,采用2^{-ΔΔCt}法分析IL-1β、IL-6及TNF-α的变化。

表1 IL-1β、IL-6及TNF-α扩增引物序列(5'→3')

炎症因子	上游引物序列	下游引物序列
IL-1β	AAGCCTCGTGCTGTCGGACC	TGAGGCCCCAAGGCCACAGG
IL-6	GAGACTTCCATCCAGTTGCCT	TGGGAGTGGTATCCTCTGTGA
TNF-α	GTAGCCACGTCGTAGCAAA	CCCTTCTCCAGCTGGAAGAC

1.2.6 Western Blot法检测蛋白表达水平 TBI后24 h,分别提取脑损伤部位周围脑组织及细胞,加入蛋白裂解液充分匀浆,13000 g离心15 min后取上清液。按1:4加上样缓冲液,搅拌均匀后加热至100℃,5 min,采用BCA法检测蛋白浓度,加入等量蛋白样本进行SDS-PAGE凝胶电泳,将分离的蛋白条带转至PVDF膜中。取出条带后用5%的脱脂牛奶进行封闭2 h,分别加入Iba-1一抗(1:3000)、p-ERK1/2(1:3000)、p-P38(1:5000)及p-JNK(1:2000),4℃孵育过夜,TBST洗5 min×6次。加入对应二抗,常温下孵育1 h,TBST洗5 min×6次,ECL显影液拍照。

1.2.7 尼氏染色法检测神经细胞损伤情况 TBI后24 h,采用尼氏染色试剂盒检测小鼠损伤灶周围神经细胞的损伤情况。石蜡切片脱蜡,尼氏染色液常温下孵育10 min;蒸馏水流动冲洗数秒×2次;再置于95%酒精中脱水2 min×2次;二甲苯处理5 min×2次;封片,显微镜下观察并拍照统计神经元存活。

1.2.8 免疫荧光染色检测小胶质细胞活化水平 TBI后24 h,制作小鼠脑组织冰冻切片(片厚6 μm)或取培养板,10%胎牛血清常温下封闭30 min,加入小胶质细胞标记物离子钙接头蛋白抗原(Ionized calcium binding adaptor molecule-1,Iba-1)一抗(1:200)或加入Iba-1(1:200)及促炎型小胶质细胞标记物CD86(1:200),4℃孵育过夜;PBST洗10 min×3次;滴加对应荧光二抗(1:1000),避光孵育1 h,PBST洗10 min×3次;滴加DAPI常温下避光孵育15 min,PBST洗10 min×3次;封片,荧光显微镜下观察并拍照,分析小胶质细胞活化水平。

1.3 统计学处理

采用SPSS 25.0软件处理数据。符合正态分布以及方差齐性的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用Tukey检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 薯蓣皂苷减轻小鼠TBI后脑水肿、神经细胞损害,改善TBI后小鼠神经功能障碍

创伤组小鼠脑水含量显著增加,损伤灶周围脑组织中大量受损的神经细胞(尼氏染色),NSS评分显著高于对照组($P < 0.05$);薯蓣皂苷-高组(60 mg/kg)小鼠的脑水含量降低,损伤灶周围神经细胞损害减轻,NSS评分显著低于创伤组($P < 0.05$);薯蓣皂苷-低组(20 mg/kg)与创伤组差异无统计学意义($P > 0.05$),见图1。后续研究均采用60 mg/kg作为薯蓣皂苷研究剂量。

2.2 薯蓣皂苷抑制TBI后小胶质细胞活化,降低Iba-1的表达水平

免疫荧光染色显示创伤组小鼠损伤灶周脑组织中Iba-1⁺的小胶质细胞比例较对照组显著增加($P < 0.01$),胞体增大,轴突增多较长;薯蓣皂苷组Iba-1⁺的小胶质细胞比例较创伤组降低($P < 0.01$);Western Blot检测结果显示创伤组中Iba-1蛋白的表达水平较对照组增加($P < 0.01$),薯蓣皂苷组Iba-1蛋白的表达较创伤组降低($P < 0.01$),见图2。

在体外TBI模型中,免疫荧光双染显示创伤组中CD86⁺/Iba-1⁺小胶质细胞比例较对照组明显增多($P < 0.01$),胞体变大,呈类圆盘状;薯蓣皂苷组M1型小胶质细胞比例较创伤组降低($P < 0.05$),细胞呈现为双极状,见图3。提示薯蓣皂苷对TBI后小胶质细胞活化有一定的抑制作用。

2.3 薯蓣皂苷抑制TBI后促炎介质的释放

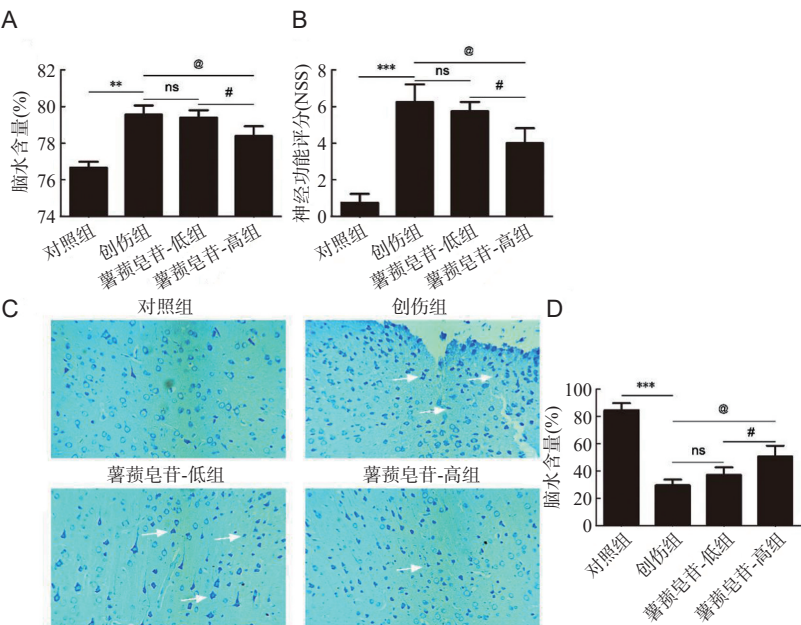
体内、体外TBI模型的RT-PCR检测结果均显示,与对照组相比,创伤组的IL-1β、IL-6和TNF-α转录水平明显增加($P < 0.01$);薯蓣皂苷组的IL-1β、IL-6和TNF-α的转录水平较创伤组降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),见图4、图5。提示薯蓣皂苷对TBI后炎症反应有一定的减轻作用。

2.4 薯蓣皂苷降低小鼠TBI后MAPK通路活化水平

与对照组比较,创伤组中MAPK信号通路相关蛋白(p-ERK1/2、p-P38及p-JNK)的表达均增加($P < 0.01$);薯蓣皂苷组的p-ERK1/2、p-P38及p-JNK蛋白的表达较创伤组明显降低($P < 0.05$),见图6。提示薯蓣皂苷抑制TBI后炎症反应可能与降低MAPK信号通路相关蛋白磷酸化水平、下调该信号通路活化水平有关。

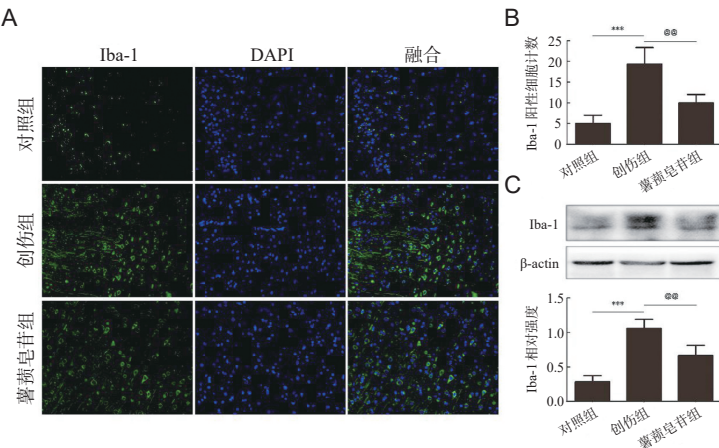
3 讨论

TBI是一种由机械暴力对脑造成的即刻损伤及一定时间内继发一系列病理性损害的颅脑疾病。超过53%以上的患者伴有神经功能障碍,其中继发性脑损伤及产生的一系列分子水平事件是引起神经功能障碍的关键因素^[19]。TBI发生后,损伤灶周围的神经细胞因缺血缺氧发生凋亡、坏死,继而破裂释放大量损伤介质,导致周围正常神经细胞进一步损害^[14];细胞性和细胞外脑水肿发生进一步导致颅内压增高,加剧TBI患者的神经功能障碍^[20,21]。本研究分别从体内、外水平观察薯蓣皂苷缓解TBI脑损伤机制,结果显示薯蓣皂苷可以明显降低TBI后神经细胞死亡发生率,减轻脑水肿,改善神经功能障碍。



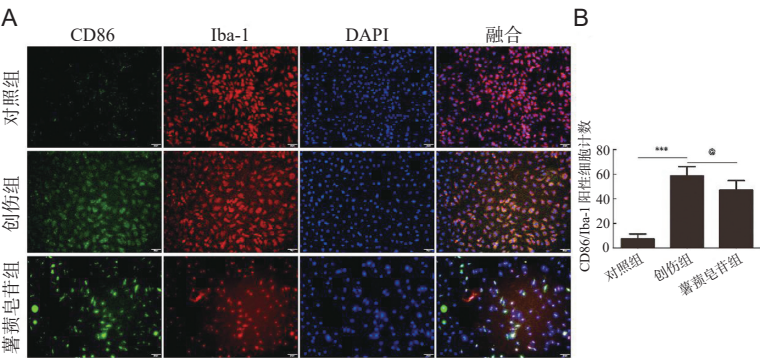
注:(A)对照组、创伤组及薯蓣皂苷-低组(20 mg/kg)和薯蓣皂苷-高组(60 mg/kg)脑水含量,评估脑水肿程度;(B)4组的NSS评分,评估神经功能损伤;(C)尼氏染色评估神经细胞损伤程度(光学显微镜,×40);(D)尼氏染色统计分析;与对照组比较,** $P<0.01$,*** $P<0.001$;与创伤组比较,@ $P<0.05$;与薯蓣皂苷-低组比较,# $P<0.05$;箭头指示损伤细胞(细胞形态不规则,胞浆稀疏,细胞核结果不清晰,尼氏小体稀少)。

图1 薯蓣皂苷减轻小鼠TBI后脑水肿、神经细胞损害,改善TBI后小鼠神经功能障碍



注:(A)TBI后24 h,小鼠脑组织Iba-1免疫荧光染色(荧光显微镜,×40);(B)各组Iba-1⁺小胶质细胞数量统计分析柱状图;(C)Western blotting检测小鼠脑组织Iba-1蛋白表达水平;与对照组比较,*** $P<0.01$;与创伤组比较,@@ $P<0.01$ 。

图2 薯蓣皂苷降低TBI后Iba-1⁺小胶质细胞比例,下调其蛋白表达水平



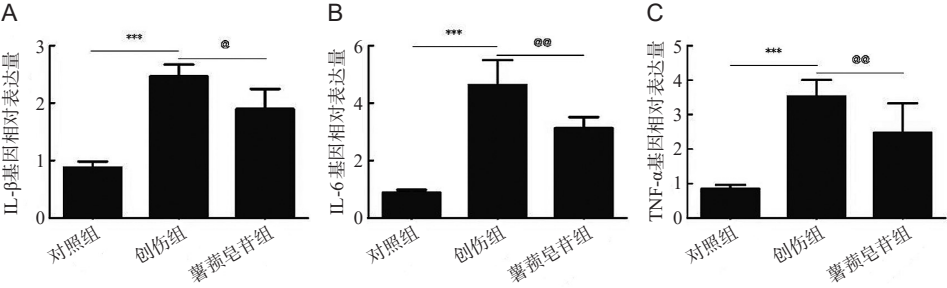
注:(A)TBI离体模型损伤后24 h,免疫荧光双标(CD86⁺/Iba-1⁺)检测培养细胞的中M1型小胶质细胞的比例;(B)各组CD86⁺/Iba-1⁺细胞数量统计学分析柱状图;与对照组比较,*** $P<0.01$;与创伤组比较,@ $P<0.05$ 。

图3 薯蓣皂苷降低TBI体外模型中M1型小胶质细胞比例

在TBI发生后,促炎介质激活静息态小胶质细胞活化并分化成促炎型,产生、释放炎症因子,加重神经元损害^[4]。本研究在体内TBI实验中发现损伤灶周围多种促炎因子的表达水平明显增加,在体外TBI模型中,损伤的小胶质细胞中促炎介质表达升高;此外,TBI可导致小胶质细胞M1型活化,加重炎性损伤。薯蓣皂苷作为一种神经保护剂,在多种中枢神经疾病包括神经退行性病变^[22]、脑缺血中,均发现其具有抑制炎症反应作用^[23]。与既往相关研究结果类似,本研究结果证

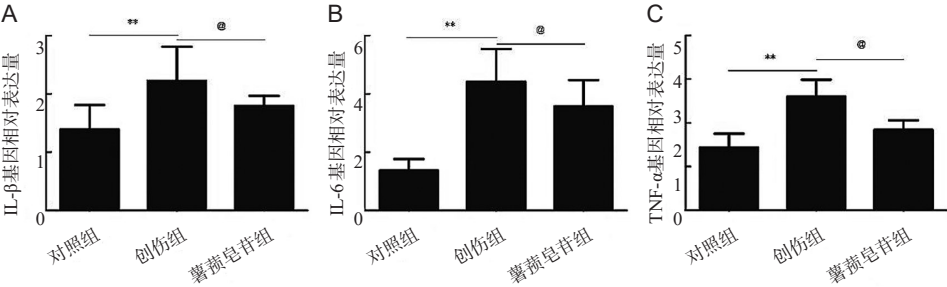
实在体内外TBI模型中,薯蓣皂苷可以显著降低伤灶周围脑组织中促炎介质IL-6、IL-1 β 及TNF- α 的表达水平,同时限制M1型小胶质细胞的活化水平,发挥神经保护作用。

MAPK信号通路主要包含ERK,p38和JNK,与炎症反应之间关系密切^[24],对TBI后多种炎症介质的生成、释放进行调控,是TBI后多种炎症损伤主要调控机制之一^[13]。近年来,研究发现MAPK信号通路参与调控小胶质细胞表型向M1型转化,对炎症反应起到促进



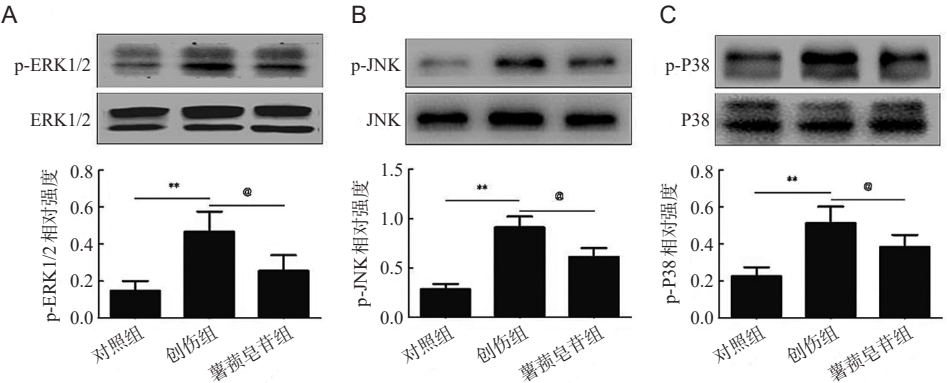
注:TBI后24 h,RT-PCR检测小鼠损伤灶周围脑组织中IL-1 β (A)、IL-6(B)及TNF- α (C)的mRNA转录水平;与对照组比较,*** P <0.01;与创伤组比较,@ P <0.05,@@ P <0.01。

图4 薯蓣皂苷降低小鼠TBI损伤灶周围脑组织中促炎介质的转录水平



注:TBI后24 h,RT-PCR检测体外TBI模型小胶质细胞中促炎介质IL-1 β (A)、IL-6(B)及TNF- α (C)的mRNA水平;与对照组比较,** P <0.01;与创伤组比较,@ P <0.05。

图5 薯蓣皂苷降低体外TBI模型小胶质细胞释放的促炎介质转录水平



注:TBI后24 h,各组p-ERK1/2(A)、p-JNK(B)及p-P38(C)蛋白表达水平的Western Blotting检测结果;与对照组比较,** P <0.01;与创伤组比较,@ P <0.05。

图6 薯蓣皂苷下调小鼠TBI后MAPK信号通路相关蛋白表达

作用^[15]。TBI后抑制MAPK信号通路活性可能具有改善TBI不良预后的潜在作用。本研究结果显示薯蓣皂苷可以显著降低MAPK信号通路中相关蛋白的磷酸化水平,对TBI后显著活化的磷酸化ERK、p38和JNK蛋白均有抑制作用。由此推测薯蓣皂苷抑制TBI后M1型小胶质细胞活化,减轻炎症反应,可能与下调MAPK信号通路活性有关。

本研究尚有不足之处。首先,本研究并未采用MAPK特异性抑制剂进行干预从而进一步明确MAPK对小胶质细胞活性的影响;其次,研究只初步探讨了薯蓣皂苷对MAPK信号通路的影响,是否对其他调控机制产生影响并未探讨;此外,本研究未能明确薯蓣皂苷对M2型小胶质细胞介导的远期神经修复的影响。

综上所述,薯蓣皂苷可显著降低TBI诱导的脑水肿和神经细胞凋亡;抑制伤灶周围促炎介质的释放,下调M1型小胶质细胞比例,减轻炎症损害。同时,薯蓣皂苷介导的抗炎反应可能与调控MAPK信号通路有关。本研究为薯蓣皂苷成为临床TBI患者的潜在治疗药物提供了一定的理论依据。

参考文献

[1] Maas AIR, Menon DK, Adelson PD, et al. Traumatic brain injury: integrated approaches to improve prevention, clinical care, and research[J]. Lancet Neurol, 2017, 16: 987-1048.

[2] Kabadi SV, Faden AI. Neuroprotective strategies for traumatic brain injury: improving clinical translation[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15: 1216-1236.

[3] 郭振宇, 刘重霄, 周任, 等. 外伤性硬膜下积液向慢性硬膜下血肿转化的相关因素探讨[J]. 神经损伤与功能重建, 2016, 11: 122-124.

[4] Griffiths MR, Gasque P, Neal JW. The regulation of the CNS innate immune response is vital for the restoration of tissue homeostasis (repair) after acute brain injury: a brief review[J]. Int J Inflam, 2010, 2010: 151097.

[5] Yao X, Liu S, Ding W, et al. TLR4 signal ablation attenuated neurological deficits by regulating microglial M1/M2 phenotype after traumatic brain injury in mice[J]. J Neuroimmunol, 2017, 310: 38-45.

[6] 胡曼, 赵虹, 陈准立, 等. 小胶质细胞在脑梗死治疗中的研究进展[J]. 神经损伤与功能重建, 2022, 17: 31-34.

[7] Li Q, Barres BA. Microglia and macrophages in brain homeostasis and disease[J]. Nat Rev Immunol, 2018, 18: 225-242.

[8] Mao M, Xu Y, Zhang XY, et al. MicroRNA-195 prevents hippocampal microglial/macrophage polarization towards the M1 phenotype induced by chronic brain hypoperfusion through regulating CX3CL1/CX3CR1 signaling[J]. J Neuroinflammation, 2020, 17: 244.

[9] Bohnert S, Seiffert A, Trella S, et al. TMEM119 as a specific marker of microglia reaction in traumatic brain injury in postmortem examination [J]. Int J Legal Med, 2020, 134: 2167-2176.

[10] Tasneem S, Liu B, Li B, et al. Molecular pharmacology of inflammation: Medicinal plants as anti-inflammatory agents[J]. Pharmacol Res, 2019, 139: 126-140.

[J]. World Neurosurg, 2019, 124: 5-8.

[40] Suga Y, Ogasawara K, Saito H, et al. Preoperative cerebral hemodynamic impairment and reactive oxygen species produced during carotid endarterectomy correlate with development of postoperative cerebral hyperperfusion[J]. Stroke, 2007, 38: 2712-2717.

[41] Ogasawara K, Yukawa H, Kobayashi M, et al. Prediction and monitoring of cerebral hyperperfusion after carotid endarterectomy by using single-photon emission computerized tomography scanning[J]. J Neurosurg, 2003, 99: 504-510.

[42] Lee TH, Cheng ML, Shiao MS, et al. Metabolomics study in severe extracranial carotid artery stenosis[J]. BMC Neurol, 2019, 19: 138.

[43] Hashimoto T, Matsumoto S, Ando M, et al. Cerebral Hyperperfusion Syndrome After Endovascular Reperfusion Therapy in a Patient with Acute Internal Carotid Artery and Middle Cerebral Artery Occlusions[J]. World Neurosurg, 2018, 110: 145-151.

[44] Gogela SL, Gozal YM, Zhang B, et al. Severe carotid stenosis and delay of reperfusion in endovascular stroke treatment: an Interventional Management of Stroke-III study[J]. J Neurosurg, 2018, 128: 94-99.

[45] Di Napoli A, Cheng SF, Gregson J, et al. Arterial Spin Labeling MRI in Carotid Stenosis: Arterial Transit Artifacts May Predict Symptoms[J]. Radiology, 2020, 297: 652-660.

(本文编辑:唐颖馨)

(上接第445页)

[11] Wu S, Xu H, Peng J, et al. Potent anti-inflammatory effect of dioscin mediated by suppression of TNF-alpha-induced VCAM-1, ICAM-1 and EL expression via the NF-kappaB pathway[J]. Biochimie, 2015, 110: 62-72.

[12] Chen L, Li Q, Lei L, et al. Dioscin ameliorates cardiac hypertrophy through inhibition of the MAPK and Akt/GSK3 β /mTOR pathways[J]. Life Sci, 2018, 209: 420-429.

[13] Tao X, Sun X, Yin L, et al. Dioscin ameliorates cerebral ischemia/reperfusion injury through the downregulation of TLR4 signaling via HMGB-1 inhibition[J]. Free Radic Biol Med, 2015, 84: 103-115.

[14] 苏一洵, 李晖, 易陈菊. 运用化学遗传学方法鉴定星形胶质细胞调控抑制性突触形成的关键蛋白[J]. 神经损伤与功能重建, 2022, 17: 1-3.

[15] Cui L, Yang G, Ye J, et al. Dioscin elicits anti-tumour immunity by inhibiting macrophage M2 polarization via JNK and STAT3 pathways in lung cancer[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24: 9217-9230.

[16] Li W, Ling HP, You WC, et al. Elevated cerebral cortical CD24 levels in patients and mice with traumatic brain injury: a potential negative role in nuclear factor κ B/inflammatory factor pathway[J]. Mol Neurobiol, 2014, 49: 187-198.

[17] Zhang H, Zhang D, Li H, et al. Biphasic activation of nuclear factor-kappaB and expression of p65 and c-Rel following traumatic neuronal injury[J]. Int J Mol Med, 2018, 41: 3203-3210.

[18] Muhammad SA, Abbas AY, Imam MU, et al. Efficacy of stem cell secretome in the treatment of traumatic brain injury: A systematic review and meta-analysis of preclinical studies[J]. Mol Neurobiol, 2022, 59: 2894-2909.

[19] Jiang JY, Gao GY, Feng JF, et al. Traumatic brain injury in China[J]. Lancet Neurol, 2019, 18: 286-295.

[20] Xiong Y, Mahmood A, Chopp M. Animal models of traumatic brain injury[J]. Nat Rev Neurosci, 2013, 14: 128-142.

[21] Khellaf A, Khan DZ, Helmy A. Recent advances in traumatic brain injury[J]. J Neurol, 2019, 266: 2878-2889.

[22] Zhang Z, Han K, Wang C, et al. Dioscin Protects against A β 1-42 Oligomers-Induced Neurotoxicity via the Function of SIRT3 and Autophagy[J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2020, 68: 717-725.

[23] Zhu S, Tang S, Su F. Dioscin inhibits ischemic stroke-induced inflammation through inhibition of the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway in a rat model[J]. Mol Med Rep, 2018, 17: 660-666.

[24] Fan T, He J, Yin Y, et al. Dioscin inhibits intimal hyperplasia in rat carotid artery balloon injury model through inhibition of the MAPK-FoxM1 pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2019, 854: 213-223.

(本文编辑:唐颖馨)