

# 汉黄芩素调节 Notch 信号通路对脑缺血/再灌注模型小鼠神经细胞凋亡的影响

张乐国 朱翠敏 夏瑞雪 贾建普 张丽冉 赵泽宇 霍虹达 齐曼曼

**【摘要】 目的** 探讨汉黄芩素(Wogonin, WOG)通过调节 Notch 信号通路对脑缺血/再灌注模型(Ischemia/reperfusion, I/R)小鼠神经细胞凋亡的影响。**方法** 采用改良线栓堵塞法建立 I/R 小鼠模型,建模成功后将小鼠随机分为假手术组(Sham 组)、模型组(I/R 组)、汉黄芩素低、中、高剂量组(WOG-L 组、WOG-M 组、WOG-H 组),汉黄芩素高剂量 + Notch 信号通路抑制剂组[WOG + 3,5-二氟苯乙酰基)-L-丙氨酰基-L-2-苯基甘氨酸叔丁酯(DAPT)组],每组各 15 只;采用神经功能缺损评分评价小鼠神经功能损伤,苏木素-伊红(Hematoxylin and eosin, HE)染色法、原位末端标记法(TDT mediated dUTP nick end labeling, Tunel)观察小鼠脑组织海马 CA1 区病理情况及神经细胞凋亡情况,2,3,5-氯化三苯基四氮唑(2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride, TTC)染色法计算小鼠脑梗死体积,酶联免疫吸附测定法(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法检测海马组织中肿瘤坏死因子- $\alpha$ (Tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(Interleukin 6, IL-6)水平,Western blot 法检测半胱氨酸蛋白酶-3(CysteinyI aspartate specific proteinase-3, Caspase-3)及 Notch 信号通路相关蛋白(受体 Notch1、配体蛋白 Jagged1、下游转录因子 Hes1)表达水平。**结果** 与 Sham 组比较,I/R 组小鼠脑组织细胞损伤严重,神经功能缺损评分、脑梗死体积、神经细胞凋亡率、TNF- $\alpha$  及 IL-6, Caspase-3, Notch1, Jagged1, Hes1 蛋白表达水平显著升高( $P > 0.05$ );与 I/R 组比较, WOG-L 组、WOG-M 组、WOG-H 组小鼠脑组织细胞损伤减轻,神经功能缺损评分、脑梗死体积、神经细胞凋亡率、TNF- $\alpha$  及 IL-6, Caspase-3 蛋白表达水平显著降低, Notch1, Jagged1, Hes1 表达水平显著升高( $P < 0.05$ );与 WOG-H 组比较, WOG + DAPT 组 DAPT 可部分逆转汉黄芩素对 I/R 组小鼠神经细胞的保护作用( $P < 0.05$ )。**结论** 汉黄芩素可以减少脑缺血/再灌注小鼠神经细胞的凋亡,改善神经功能损伤,其作用机制可能与激活 Notch 信号通路有关。

**【关键词】** 汉黄芩素 Notch 信号通路 脑缺血/再灌注 神经细胞 凋亡

**【中图分类号】** R743.3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2024)01-0008-06

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1007-0478.2024.01.002

**Impact of wogonin on neuronal apoptosis in a cerebral ischemia/reperfusion mouse model by regulating Notch signaling pathway** Zhang Leguo\*, Zhu Cuimin, Xia Ruixue\*, et al.\* Department of Neurology, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou 061001

**【Abstract】 Objective** To investigate the impact of wogonin (WOG) on neuronal apoptosis in cerebral ischemia/reperfusion (I/R) mice by regulating Notch signaling pathway. **Methods** The I/R rat model was established by the modified thread plug method. After successful modeling, the mice were randomly grouped into Sham surgery group (Sham group), model group (I/R group), low, medium and high dose Wogonin groups (WOG-L group, WOG-M group, WOG-H group), and high dose Wogonin + Notch signaling pathway inhibitor group (WOG + DAPT group), with 15 mice in each group. The neurological deficit score was applied to evaluate neurological impairment in mice. Hematoxylin and eosin (HE) staining and terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated dUTP nick-end labeling (Tunel) staining were applied to observe the pathological changes and neuronal apoptosis in the CA1 region of the hippocampus in mice. The 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining method was applied to calculate the volume of cerebral infarction in mice. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was applied to detect the levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin 6 (IL-6) in the hippocampus. Western blot method was applied to detect the expression of cysteinyl

aspartate specific proteinase-3 (Caspase-3) and Notch signaling pathway related proteins (receptor Notch1, ligand protein Jagged1, downstream transcription factor Hes1). **Results** Compared with the Sham group, the cells of the I/R group mice were severely damaged. The neurological deficit score, cerebral infarction volume, neuronal apoptosis rate, TNF- $\alpha$  and IL-6 levels, Caspase-3, Notch1, Jagged1, and Hes1 protein expression were obviously increased ( $P>0.05$ ). Compared with the I/R group, the damage of cells in the WOG-L, WOG-M, and WOG-H groups was alleviated. And the neurological deficit score, cerebral infarction volume, neuronal apoptosis rate, TNF- $\alpha$  and IL-6 levels, and Caspase-3 protein expression were obviously reduced, while the expressions of Notch1, Jagged1, and Hes1 were obviously increased ( $P<0.05$ ). Compared with the WOG-H group, the experimental results in the WOG + DAPT group showed that DAPT could partially reverse the protective effect of Wogonin on neural cells in the I/R group ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Wogonin can reduce the neuronal apoptosis and improve the neurological damage in mice with cerebral ischemia/reperfusion, and its mechanism may be related to the activation of Notch signaling pathway.

**【Key words】** Wogonin Notch signaling pathway Cerebral ischemia/reperfusion Neural cells Apoptosis

脑卒中是脑血管疾病的一种,具有较高复发率、致残率、病死率三高特征<sup>[1]</sup>。其中缺血性脑卒中占脑卒中的 80%左右,多发于中老年人群,近年来发病趋势逐渐年轻化<sup>[2]</sup>。及时恢复脑灌注可改善患者预后,降低致残率和病死率,但血流再灌注不可避免地导致脑组织 2 次损伤,影响患者预后<sup>[3]</sup>,因此降低脑缺血/再灌注(I/R)损伤是改善患者预后的关键。寻找安全有效的治疗药物是目前缺血性脑卒中临床研究的热点。汉黄芩素(Wogonin, WOG)是提取于中药黄芩根部的一种类黄酮类化合物,已被证明具有抗炎、抗癌、抗氧化、扩张血管等<sup>[4]</sup>多种药理活性。已有研究表明,汉黄芩素可以减少 I/R 大鼠神经细胞凋亡,减轻神经功能损伤<sup>[5-6]</sup>。Notch 信号通路是由 Notch 受体、配体(DSL 蛋白)和胞内效应分子(结 CSL-DNA 合蛋白)构成,在神经元增殖分化中具有关键的调控作用<sup>[7]</sup>,Wang 等<sup>[8]</sup>研究表明,Notch 信号通路激活可以促进脑卒中后神经功能的恢复。刘振等<sup>[9]</sup>通过采用天麻素对脑卒中模型大鼠进行干预治疗,发现天麻素通过激活 Notch 信号通路而发挥对脑卒中模型大鼠的神经保护功能。目前汉黄芩素对 Notch 信号通路的作用,尚未有明确的报道。本研究采用改良线栓法建立脑缺血/再灌注小鼠模型,探究汉黄芩素对脑缺血/再灌注小鼠神经细胞凋亡的影响,以期对缺血性脑卒中临床治疗药物的开发提供一定的理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

无特殊病原体(Specific pathogen free, SPF)级

雄性小鼠,体质量 20 g 左右,购于北京百奥赛图基因生物技术有限公司,许可证号为 SCXK(京)2020-0007,适应性喂养 7 d 后用于实验。

### 1.2 主要试剂

汉黄芩素(IW0010)、Tunel 细胞凋亡试剂盒(T2195)、酶联免疫试剂盒 TNF- $\alpha$ (SEKR-0009), IL-6(SEKR-0005)购于北京索莱宝科技有限公司; Caspase-3(ab184787), Notch1(ab167441), Jagged1(ab300561), Hes1(ab108937), DAPT(ab120633)购于购于艾博抗(上海)有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 造模与分组

造模:小鼠禁水 4 h,禁食 12 h 后将小鼠进行深度麻醉,仰卧固定,暴露颈部皮肤,于颈部正中切开约 2 cm 切口,暴露右侧颈总动脉、颈外动脉、颈内动脉,近心端结扎颈总动脉、颈外动脉,血管夹夹闭颈内动脉,打开颈内动脉,插入线栓,局灶性缺血处理 2 h 后抽出线栓,缝合伤口,12 h 后通过 Longa 评分法评价小鼠神经功能,得分 1~3 分,则建模成功。假手术组(Sham 组)小鼠只进行动脉分离,不插入线栓。

分组:将建模成功的小鼠随机分为模型组(I/R 组)、汉黄芩素低、中、高剂量组(WOG-L 组、WOG-M 组、WOG-H 组)、汉黄芩素高剂量 + Notch 信号通路抑制剂组(WOG + DAPT 组),取未插入线栓小鼠为假手术组(Sham 组),每组各 15 只。WOG-L 组、WOG-M 组、WOG-H 组小鼠于术后第 12 h 分别灌胃汉黄芩素 7、14、28 mg/kg<sup>[5]</sup>,汉黄芩素高剂量 + Notch 信号通路抑制剂组(WOG + DAPT 组)

灌胃汉黄芩素 28 mg/kg + DAPT 140 mg/kg<sup>[10]</sup>, Sham 组和 I/R 组灌胃等量生理盐水, 1 次/d, 连续灌胃 14 d。

1.3.2 神经功能损伤评价

采用 Longa 评分法评估小鼠神经功能: 无神经功能障碍, 记为 0 分; 提尾时对侧前肢屈曲, 记为 1 分; 活动时身体向瘫痪侧倾斜或转圈, 记为 2 分; 活动时身体向瘫痪侧摔倒, 记为 3 分; 无自主活动意识, 记为 4 分。

1.3.3 观察病理组织

各组随机选取 5 只小鼠, 麻醉后断头处死, 迅速取出脑组织, 洗去表面浮血, 滤纸吸干水份, 使用 4% 多聚甲醛冰上固定、70% 乙醇溶液脱水、石蜡包埋, 进行冠状位切片(5 μm 厚度)、烤片, HE 染色液染色 10 min, 洗去多余染色液, 二甲苯、乙醇脱水处理至透明, 封片, 在光学显微镜下观察海马 CA1 区神经细胞形态。

1.3.4 观察神经细胞凋亡

取 1.3.3 中石蜡切片, 以原位末端标记法(Tunel)检测神经细胞凋亡, 根据 Tunel 试剂盒说明书对切片进行处理, 二脒基苯基吡啶(Diamidino phenyl indole, DAPI)复染细胞核; 在 400 倍光学显微镜下随机选取 5 个视野, 观察海马 CA1 区神经细胞凋亡情况并计算凋亡率。

1.3.5 计算脑梗死体积

各组随机选取 5 只小鼠, 麻醉后断头处死, 取出完整脑组织, -20℃ 冷冻 30 min, 便于切片操作; 冠状位切片, 厚度约为 2 mm, 将切片浸入 2,3,5 三苯基氯化四氮唑(TTC)染液中, 37℃ 避光染色 20 min; 使用 Image J 软件进行分析并计算脑梗死体积百分比。

1.3.6 TNF-α、IL-6 水平检测

各组剩余 5 只小鼠, 麻醉后断头处死, 选取海马 CA1 区脑组织, 冰上匀浆处理后 4500 r/min 离心 20 min, 取上清液, 一部分根据 ELISA 试剂盒操作说明书检测海马组织 TNF-α, IL-6 水平; 另一部分用于 Western blot 检测。

1.3.7 Caspase-3 及 Notch 信号通路相关蛋白表达水平检测

取 1.3.6 中蛋白样本, 测定总蛋白, 经凝胶电泳、转膜, 加入 5% 脱脂乳粉溶液, 4℃ 封闭 60 min, 加入一抗 Caspase-3(1:1000), Notch(1:1000), Jag-

ged1(1:1000), Hes1(1:1000), 4℃ 孵育 12 h, 加入对应二抗(1:1000), 室温孵育 90 min; 磷酸盐缓冲液(Phosphate buffered saline, PBS)洗涤 3 次, 增强化学发光剂(Enhanced chemiluminescence, ECL)曝光处理, 使用 ImageJ 软件对灰度值进行定量分析。

1.3.8 统计学处理

使用 SPSS 20.0; 实验数据符合正态分布以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间比较进行 SNK-*q* 检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 汉黄芩素对 I/R 小鼠神经功能缺损评分的影响

如表 1 所示, 相比于 Sham 组, I/R 组小鼠神经功能缺损评分明显提高( $P < 0.05$ ); 相比于 I/R 组, WOG-L 组、WOG-M 组、WOG-H 组小鼠神经功能缺损评分明显降低, 呈药物依赖效应( $P < 0.05$ ); 相比于 WOG-H 组, WOG + DAPT 组小鼠神经功能缺损评分明显提高( $P < 0.05$ )。

表 1 各组小鼠神经功能缺损评分比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 15$ , 分)

组别	神经功能缺损评分	
	给药前	给药 14 d 后
Sham 组	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
I/R 组	2.52 ± 0.22*	3.12 ± 0.30*
WOG-L 组	2.49 ± 0.21*	2.33 ± 0.21*△
WOG-M 组	2.56 ± 0.22*	1.82 ± 0.18*△#
WOG-H 组	2.45 ± 0.21*	1.34 ± 0.13*△#▽
WOG + DAPT 组	2.55 ± 0.22*	2.46 ± 0.22▲

注: 与 Sham 组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与 I/R 比较, △  $P < 0.05$ ; 与 WOG-L 组比较, #  $P < 0.05$ ; 与 WOG-M 组比较, ▽  $P < 0.05$ ; 与 WOG-H 组比较, ▲  $P < 0.05$

2.2 汉黄芩素对 I/R 小鼠海马 CA1 区组织病理情况的影响

如图 1 所示, Sham 组小鼠脑组织神经细胞排列整齐紧密、形态规则完整、核仁圆润清晰, 未见炎症细胞浸润; I/R 组细胞排列松散紊乱、轮廓模糊、细胞核固缩, 可见大量炎症细胞浸润, 脑组织损伤严重; 相比于 I/R 组, WOG-L 组、WOG-M 组、WOG-H 组神经细胞数目逐渐增多, 边界相对清晰, 炎症细胞减少, 损伤减轻; 相比于 WOG-H 组, WOG + DAPT 组神经细胞数量减少, 细胞结构破坏严重, 可见大量炎症细胞。

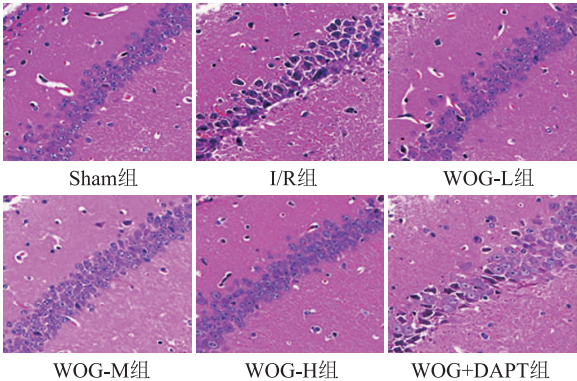


图 1 HE 染色观察小鼠海马 CA1 区病理情况(×400 倍)

2.3 汉黄芩素对 I/R 小鼠海马 CA1 区神经细胞凋亡的影响

如图 2、表 2 所示,Sham 组可见少量红色细胞核(Tunel 阳性细胞);相比于 Sham 组,I/R 组红色区域显著增加,小鼠海马神经细胞凋亡率显著升高( $P<0.05$ );相比于 I/R 组,WOG-L 组、WOG-M 组、WOG-H 组小鼠海马神经细胞凋亡率显著降低( $P<0.05$ );相比于 WOG-H 组,WOG + DAPT 组小鼠海马神经细胞凋亡率明显提高( $P<0.05$ )。

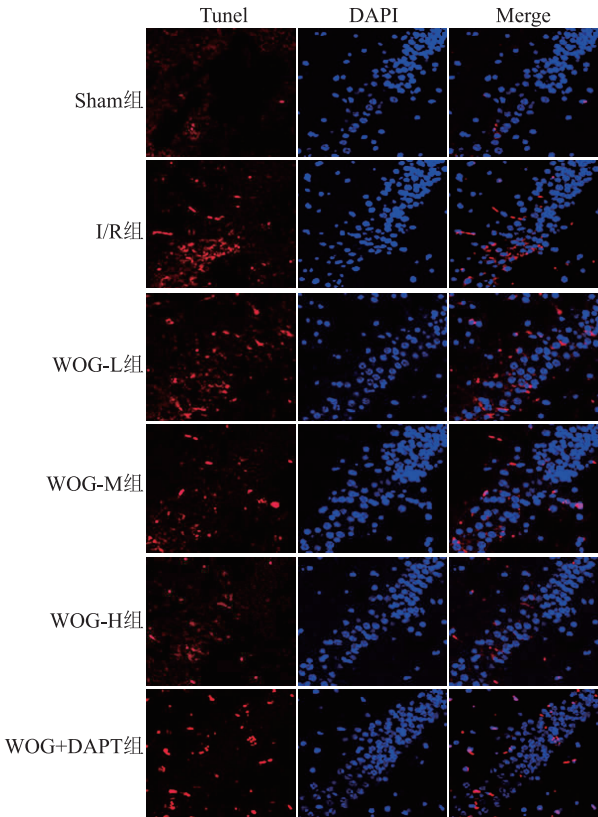


图 2 Tunel 染色观察小鼠海马 CA1 区神经细胞凋亡情况(×400 倍)

表 2 各组小鼠海马 CA1 区神经细胞凋亡率比较( $\bar{x} \pm s, n = 15, \%$ )

组别	神经细胞凋亡率
Sham 组	3.42 ± 0.58
I/R 组	28.65 ± 1.94 *
WOG-L 组	23.17 ± 1.70 *△
WOG-M 组	18.54 ± 1.24 *△#
WOG-H 组	12.46 ± 0.96 *△#▽
WOG + DAPT 组	21.55 ± 1.62 ▲

注:与 Sham 组比较,\* $P<0.05$ ;与 I/R 比较,△ $P<0.05$ ;与 WOG-L 组比较,# $P<0.05$ ;与 WOG-M 组比较,▽ $P<0.05$ ;与 WOG-H 组比较,▲ $P<0.05$

2.4 汉黄芩素对 I/R 小鼠脑梗死体积的影响

如图 3、表 3 所示,Sham 组未见明显梗死区;相比于 Sham 组,I/R 组小鼠脑梗死体积显著升高( $P<0.05$ );相比于 I/R 组,WOG-L 组、WOG-M 组、WOG-H 组小鼠脑梗死体积呈药物剂量依赖性降低( $P<0.05$ );相比于 WOG-H 组,WOG + DAPT 组小鼠脑梗死体积明显提高( $P<0.05$ )。



图 3 TTC 染色观察小鼠脑梗死体积

表 3 各组小鼠脑梗死体积比较( $\bar{x} \pm s, n = 15, \%$ )

组别	脑梗死体积
Sham 组	0.00 ± 0.00
I/R 组	27.85 ± 1.88 *
WOG-L 组	22.64 ± 1.75 *△
WOG-M 组	17.56 ± 1.35 *△#
WOG-H 组	13.28 ± 1.06 *△#▽
WOG + DAPT 组	20.15 ± 1.52 ▲

注:与 Sham 组比较,\* $P<0.05$ ;与 I/R 比较,△ $P<0.05$ ;与 WOG-L 组比较,# $P<0.05$ ;与 WOG-M 组比较,▽ $P<0.05$ ;与 WOG-H 组比较,▲ $P<0.05$

2.5 汉黄芩素对 I/R 小鼠脑组织 TNF-α, IL-6 水平的影响

如表 4 所示,相比于 Sham 组,I/R 组小鼠脑组织 TNF-α, IL-6 水平显著升高( $P<0.05$ );相比于 I/

R 组、WOG-L 组、WOG-M 组、WOG-H 组小鼠脑组织 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平逐渐降低( $P<0.05$ )；相比于 WOG-H 组，WOG + DAPT 组小鼠脑组织 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平显著提高( $P<0.05$ )。

表 4 各组小鼠脑组织 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平的比较( $\bar{x}\pm s, n=15$ )

组别	TNF- $\alpha$ (pg/mL)	IL-6(ng/mL)
Sham 组	23.54 $\pm$ 2.04	0.31 $\pm$ 0.02
I/R 组	72.29 $\pm$ 6.26*	0.96 $\pm$ 0.08*
WOG-L 组	59.56 $\pm$ 4.08 $\Delta$	0.78 $\pm$ 0.06* $\Delta$
WOG-M 组	45.02 $\pm$ 3.54 $\Delta$ #	0.59 $\pm$ 0.05* $\Delta$ #
WOG-H 组	31.88 $\pm$ 2.25 $\Delta$ # $\nabla$	0.42 $\pm$ 0.04* $\Delta$ # $\nabla$
WOG + DAPT 组	56.21 $\pm$ 5.20 $\blacktriangle$	0.74 $\pm$ 0.06 $\blacktriangle$

注：与 Sham 组比较，\*  $P<0.05$ ；与 I/R 比较， $\Delta$   $P<0.05$ ；与 WOG-L 组比较，#  $P<0.05$ ；与 WOG-M 组比较， $\nabla$   $P<0.05$ ；与 WOG-H 组比较， $\blacktriangle$   $P<0.05$

## 2.6 汉黄芩素对 I/R 小鼠脑组织 Caspase-3 及 Notch 信号通路相关蛋白表达水平的影响

如图 4、表 5 所示，相比于 Sham 组，I/R 组小鼠脑组织 Caspase-3、Notch1、Jagged1、Hes1 表达水平均显著升高( $P<0.05$ )；相比于 I/R 组，WOG-L 组、WOG-M 组、WOG-H 组小鼠脑组织 Caspase-3 表达水平显著降低，Notch1、Jagged1、Hes1 表达水平依次升高( $P<0.05$ )；相比于 WOG-H 组，WOG + DAPT 组小鼠脑组织 Caspase-3 表达水平显著升高，Notch1、Jagged1、Hes1 表达水平显著降低( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

缺血性脑卒中是因脑部血流不畅引起的一种急性脑血管疾病，及时疏通血管，恢复供血，可以促进神经功能的修复，但脑缺血/再灌注可再次严重损伤脑组织，引起其它并发症，如肾功能衰竭、肺部感染、脑心综合征等，甚至危及患者生命<sup>[11-12]</sup>。因此，缓解脑缺血/再灌注损伤已成为缺血性脑卒中研究的重点。神经细胞凋亡是脑组织损伤的重要病理过程，

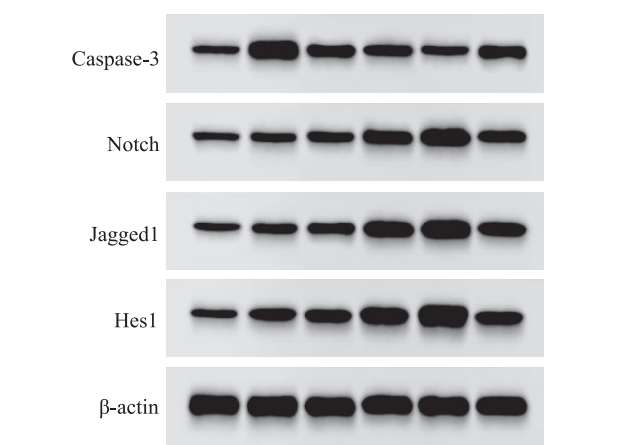


图 4 小鼠脑组织 Caspase-3、Notch1、Jagged1、Hes1 表达水平的比较 A 为 Sham 组；B 为 I/R 组；C 为 WOG-L 组；D 为 WOG-M 组；E 为 WOG-H 组；F 为 WOG + DAPT 组

减少神经细胞的凋亡是保护神经功能的主要措施之一。胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶(Caspase-3)是“蛋白凋亡酶”家族的一员，是细胞凋亡的起点，可以抑制 DNA 的复制、转录和损伤修复功能，最终导致细胞凋亡<sup>[13]</sup>；细胞凋亡进一步促进炎症因子的释放，加重组织损伤。汉黄芩素作为一种药用植物类黄酮，具有广泛的药理作用，可以作为一种神经保护剂，抑制炎症介质的产生及神经细胞凋亡<sup>[14]</sup>。本实验结果显示，汉黄芩素干预后脑缺血/再灌注小鼠神经功能缺损明显得到改善，Caspase-3 蛋白表达、TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平显著下调，神经细胞凋亡率降低，脑梗死体积缩小，脑组织海马 CA1 区病理损伤减轻。此结果提示，汉黄芩素可以减少脑缺血/再灌注小鼠神经细胞的凋亡，对小鼠神经功能具有一定的保护作用。

Notch 信号通路由 Notch 受体(如 Notch1)、配体(DSL 蛋白，如 Jagged1)和胞内效应分子(结 CSL-DNA 合蛋白，如 Hes1)构成，在哺乳动物的脑皮层和海马神经元中均有表达，可以平衡神经干细

表 5 各组小鼠脑组织 Caspase-3、Notch1、Jagged1、Hes1 表达水平的比较( $\bar{x}\pm s, n=15$ )

组别	caspase-3	Notch1	Jagged1	Hes1
Sham 组	0.35 $\pm$ 0.03	0.37 $\pm$ 0.03	0.41 $\pm$ 0.03	0.46 $\pm$ 0.04
I/R 组	0.92 $\pm$ 0.08*	0.49 $\pm$ 0.04*	0.55 $\pm$ 0.04*	0.60 $\pm$ 0.05*
WOG-L 组	0.76 $\pm$ 0.06* $\Delta$	0.63 $\pm$ 0.06* $\Delta$	0.70 $\pm$ 0.07* $\Delta$	0.75 $\pm$ 0.07* $\Delta$
WOG-M 组	0.62 $\pm$ 0.05* $\Delta$ #	0.84 $\pm$ 0.07* $\Delta$ #	0.92 $\pm$ 0.09* $\Delta$ #	0.98 $\pm$ 0.09* $\Delta$ #
WOG-H 组	0.49 $\pm$ 0.04* $\Delta$ # $\nabla$	1.07 $\pm$ 0.10* $\Delta$ # $\nabla$	1.13 $\pm$ 0.10* $\Delta$ # $\nabla$	1.30 $\pm$ 0.11* $\Delta$ # $\nabla$
WOG + DAPT 组	0.73 $\pm$ 0.06 $\blacktriangle$	0.64 $\pm$ 0.06 $\blacktriangle$	0.72 $\pm$ 0.07 $\blacktriangle$	0.61 $\pm$ 0.06 $\blacktriangle$

注：与 Sham 组比较，\*  $P<0.05$ ；与 I/R 比较， $\Delta$   $P<0.05$ ；与 WOG-L 组比较，#  $P<0.05$ ；与 WOG-M 组比较， $\nabla$   $P<0.05$ ；与 WOG-H 组比较， $\blacktriangle$   $P<0.05$



胞的增殖、分化与凋亡,对神经系统的发育具有重要的调控作用<sup>[15-16]</sup>。Notch1 受体与配体 Jageed-1 结合进入细胞核,作用于 Hes1 等,通过促进下游基因的表达,调控神经干细胞的增殖与分化<sup>[17]</sup>。苏明珠等<sup>[18]</sup>研究发现,Notch 信号通路的激活可以促进神经细胞的分化,修复缺血后神经元的损伤;房裕钞等<sup>[19]</sup>研究表明,通过 miR-155 缺失上调 Notch 信号通路相关蛋白表达可以缓解脑缺血/再灌注损伤。本研究结果显示,脑缺血/再灌注后通路相关蛋白 Notch1, Jageed-1, Hes1 表达水平显著升高,表明机体可以内源性激活 Notch 信号通路,缓解损伤;汉黄芩素对脑缺血/再灌注模型小鼠干预后 Notch 信号通路被进一步激活,神经细胞凋亡率明显降低,神经功能损伤减轻;为了进一步验证汉黄芩素对神经功能的保护作用与 Notch 信号通路的激活相关,本研究同时使用汉黄芩素与 Notch 信号通路抑制剂(DAPT)干预脑缺血/再灌注模型小鼠,结果表明 DAPT 可以逆转汉黄芩素对小鼠神经功能的保护作用,表明汉黄芩素可能通过激活 Notch 信号通路来抑制脑缺血/再灌注模型小鼠神经细胞的凋亡,对神经系统具有一定的保护作用。

综上所述,汉黄芩素可以减少脑缺血/再灌注模型小鼠神经细胞的凋亡,其作用机制可能与 Notch 信号通路的激活有关。但脑缺血/再灌注脑损伤的病理机制复杂,还需进一步探究。

## 参 考 文 献

- [1] Kim KA, Kim D, Kim JH, et al. Autophagy-mediated occludin degradation contributes to blood-brain barrier disruption during ischemia in Bend. 3 brain endothelial cells and rat ischemic stroke models[J]. *Fluids Barriers CNS*, 2020, 17(1): 21.
- [2] Xian Y, Xu HL, O'Brien EC, et al. Clinical effectiveness of direct oral anticoagulants vs warfarin in older patients with atrial fibrillation and ischemic stroke: findings from the patient-centered research into outcomes stroke patients prefer and effectiveness research (PROSPER) study[J]. *JAMA Neurol*, 2019, 76(10): 1192-1202.
- [3] 周宇, 李斌, 马勇, 等. 环状 RNA 在调控脑缺血再灌注损伤中的作用研究进展[J]. *中华神经医学杂志*, 2023, 22(5): 523-528.
- [4] Zheng ZC, Zhu W, Lei L, et al. Wogonin ameliorates renal inflammation and fibrosis by inhibiting NF- $\kappa$ B and TGF- $\beta$ 1/Smad3 signaling pathways in diabetic nephropathy[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 4135-4148.
- [5] Kong ZH, Shen QL, Jiang J, et al. Wogonin improves functional neuroprotection for acute cerebral ischemia in rats by promoting angiogenesis via TGF- $\beta$ 1[J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(22): 639.
- [6] Umemoto Y, Patel A, Huynh T, et al. Wogonin attenuates the deleterious effects of traumatic brain injury in anesthetized Wistar rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 848: 121-130.
- [7] Yan YH, Kong L, Xia Y, et al. Osthole promotes endogenous neural stem cell proliferation and improved neurological function through Notch signaling pathway in mice acute mechanical brain injury[J]. *Brain Behav Immun*, 2018, 67: 118-129.
- [8] Wang J, Cao B, Zhao HP, et al. Long noncoding RNA H19 prevents neurogenesis in ischemic stroke through p53/Notch1 pathway[J]. *Brain Res Bull*, 2019, 150: 111-117.
- [9] 刘振, 张磊, 胡灿芳, 等. 天麻素通过调节 miR-155 介导的 Notch 通路对脑卒中大鼠发挥神经保护作用[J]. *国际医药卫生导报*, 2022, 28(1): 2-7.
- [10] 金朝, 郭培培, 杨新, 等. 鸢尾素预处理激活 Notch 信号通路减轻大鼠全脑缺血-再灌注损伤[J]. *临床麻醉学杂志*, 2021, 37(1): 66-71.
- [11] Zhai ZY, Feng J. Constraint-induced movement therapy enhances angiogenesis and neurogenesis after cerebral ischemia/reperfusion[J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14(10): 1743-1754.
- [12] 冯青锋, 王纵, 李力, 等. 脑源性神经营养因子对脑缺血再灌注损伤的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2023, 40(4): 671-674.
- [13] Zhao W, Li HX, Hou Y, et al. Combined administration of Poly-ADP-ribose polymerase-1 and caspase-3 inhibitors alleviates neuronal apoptosis after spinal cord injury in rats[J]. *World Neurosurg*, 2019, 127: e346-e352.
- [14] Feng Y, Ju YR, Yan ZJ, et al. Protective role of wogonin following traumatic brain injury by reducing oxidative stress and apoptosis via the PI3K/Nrf2/HO-1 pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2022, 49(4): 53.
- [15] Wissel S, Harzer H, Bonnay F, et al. Time-resolved transcriptomics in neural stem cells identifies a v-ATPase/Notch regulatory loop[J]. *J Cell Biol*, 2018, 217(9): 3285-3300.
- [16] Engler A, Zhang RR, Taylor V. Notch and neurogenesis[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1066: 223-234.
- [17] Zhang RR, Engler A, Taylor V. Notch: an interactive player in neurogenesis and disease[J]. *Cell Tissue Res*, 2018, 371(1): 73-89.
- [18] 苏明珠, 马跃文. 放散式冲击波通过 Notch1/Hes1 通路调节脑缺血后海马组织中神经干细胞的增殖与分化[J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(19): 3009-3015.
- [19] 房裕钞, 王黎洲, 黄学卿, 等. 微小 RNA-155 通过 Notch 信号通路对脑缺血-再灌注损伤的影响[J]. *介入放射学杂志*, 2019, 28(7): 661-668.

(2023-06-21 收稿)