

·论 著·

## 人参皂苷 Rd 通过 SHH 信号通路促进 MCAO 模型大鼠血管新生机制研究

王宝祥 许俊杰

**摘 要** **目的** 探讨人参皂苷 Rd 对大脑中动脉闭塞(MCAO)模型大鼠血管新生的影响及相关机制。**方法** 40 只 SD 大鼠随机数字表法分为假手术组、模型组、人参皂苷 Rd 组(Rd 组)、人参皂苷 Rd+环靶明(CYC)组(Rd+CYC 组),每组 10 只。采用线栓法建立 MCAO 模型大鼠,假手术组仅分离左侧颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉。造模成功后,Rd 组大鼠按照 50 mg/kg 给予人参皂苷 Rd,Rd+CYC 组按 50  $\mu$ g/kg 给予 CYC 腹腔注射,假手术组和模型组给予同等剂量的生理盐水,每天给药 1 次,连续给药 2 周。各组大鼠神经功能评分,TTC 方法检测脑梗死体积,显微镜下观察脑组织毛细血管密度,蛋白质免疫印记检测血管生成相关分子和声波刺猬信号蛋白(SHH)、血管内皮生长因子(VEGF)、血管紧张素-1(ANG-1)、血管紧张素-2(ANG-2)蛋白表达水平。**结果** 与模型组比较,Rd 组大鼠神经功能评分显著降低[(1.000 $\pm$ 0.471)分比(3.100 $\pm$ 0.738)分, $P<0.01$ ];脑梗死体积显著减少[(18.120 $\pm$ 3.735)%比(33.920 $\pm$ 2.954)%, $P<0.01$ ];脑梗死区域毛细血管数量显著增加[(389.60 $\pm$ 23.34)条比(54.37 $\pm$ 11.21)条, $P<0.01$ ];血管生成相关分子 SHH、VEGF、ANG-1、ANG-2 蛋白表达水平显著升高[SHH:(1.267 $\pm$ 0.038)比(0.533 $\pm$ 0.043);VEGF:(0.866 $\pm$ 0.035)比(0.596 $\pm$ 0.055);ANG-1:(0.880 $\pm$ 0.036)比(0.510 $\pm$ 0.056);ANG-2:(0.870 $\pm$ 0.040)比(0.386 $\pm$ 0.045), $P$ 均 $<0.01$ ]。与 Rd 组比较,Rd+CYC 组大鼠神经功能评分显著升高[(2.700 $\pm$ 0.675)分比(1.000 $\pm$ 0.471)分, $P<0.01$ ];脑梗死体积显著增加 [(28.910 $\pm$ 4.491)%比 (18.120 $\pm$ 3.735)%, $P<0.01$ ]; 脑梗死区域毛细血管数量显著减少 [(180.90 $\pm$ 37.37)条比(389.60 $\pm$ 23.34)条, $P<0.01$ ];血管生成相关分子 VEGF、ANG-1、ANG-2 蛋白表达水平显著下降[VEGF:(0.600 $\pm$ 0.007)比(0.866 $\pm$ 0.035);ANG-1:(0.570 $\pm$ 0.027)比(0.880 $\pm$ 0.036);ANG-2:(0.476 $\pm$ 0.038)比(0.87 $\pm$ 0.04), $P$ 均 $<0.01$ ]。**结论** 人参皂苷 Rd 可能通过 SHH 信号通路促进脑梗死区域血管生成,改善 MCAO 模型大鼠预后并发挥保护作用。

**关键词** 大鼠;人参皂苷;脑梗死;大脑中动脉闭塞;声波刺猬信号蛋白

**Mechanism of ginsenoside Rd in promotion of angiogenesis by regulaiton of SHH signaling pathway activity in a rat model of middle cerebral artery occlusion (MCAO)** WANG Bao-xiang, XU Jun-jie. *Department of Neurology, The First Hospital of Jiaxing City, Jiaxing, Zhejiang 314000, China*

**ABSTRACT Objective** To assess the effects of ginsenoside Rd on regulation of angiogenesis in a rat model of the middle cerebral artery occlusion (MCAO) and then explored the underlying molecular events. **Methods** Forty Sprague-Dawley rats were randomly divided into sham operation, MCAO model control, model+ginsenoside Rd (Rd), and model+ginseng Saponin Rd+cyclopamine(Rd+CYC) groups( $n=10$  per group). The model rats were established by thread embolization and their neurological function scores and assessed and the volume of the cerebral infarction (CI) was detected by the TTC method, while the capillary density of rat brain tissues was observed in H&E stained tissue section under a microscope and expression of the angiogenesis-related molecules, sonic hedgehog(SHH), vascular endothelial growth factor(VEGF), angiotensin-1(ANG-1), and angiotensin-2(ANG-2) proteins

基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(No.2020RC123)

作者单位:浙江省嘉兴市第一医院神经内科(嘉兴 314000)

通信作者:王宝祥,E-mail:wbxjsdt@163.com

were analyzed using Western blot. **Results** The Rd treatment significantly reduced the neurological function score in rats ( $1.000\pm0.471$  vs.  $3.100\pm0.738$ ;  $P<0.01$ ) and the CI volume ( $18.120\pm3.735$  vs.  $33.920\pm2.954$ ;  $P<0.01$ ) compared those of the model control rats, whereas the Rd treatment significantly increased the number of capillaries in the CI area ( $54.37\pm11.21$  vs.  $389.60\pm23.34$ ) compared to that of the model control mice ( $P<0.01$ ). In addition, the ginsenoside Rd treatment significantly increased levels of SHH ( $1.267\pm0.038$  vs.  $0.533\pm0.043$ ), VEGF ( $0.866\pm0.035$  vs.  $0.596\pm0.055$ ), ANG-1 ( $0.88\pm0.036$  vs.  $0.51\pm0.056$ ), and ANG-2 ( $0.87\pm0.04$  vs.  $0.386\pm0.045$ ) proteins compared with the model controls (all  $P<0.01$ ). However, the SHH-specific inhibitor CYC was able to weaken the protective and angiogenesis effect of ginsenoside Rd, but decrease levels of VEGF, ANG-1, and ANG-2 proteins in mice. **Conclusion** Ginsenoside Rd promotes angiogenesis in the CI region through activation of the SHH signaling and prognosis of MCAO model rats *in vivo*.

**KEY WORDS** Rat; Ginsenosides; Stroke; MCAO; SHH

脑梗死发病率高、复发率高、致残率高,严重威胁中老年人的生命安全,是全球人口死亡的主要原因之一<sup>[1-2]</sup>。大脑动脉血栓形成后,梗死脑组织周围会自发形成新生血管,建立侧支循环,提供血液灌注,可部分重建神经网络结构,恢复脑组织功能<sup>[3-4]</sup>。有研究发现,声波刺猬信号蛋白(sonic hedgehog signaling, SHH)可促进血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达,改善脑缺血边界区的微血管密度,促进血管生成和神经元存活,在大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型大鼠中发挥保护作用<sup>[5]</sup>。活血通络法是传统中医治疗脑梗死的常用有效方法。早期积极化瘀通络治疗有助于梗死区血供恢复,减少神经功能损害,持续通络治疗还可能使梗死区微血管(脉络)再生,对梗死区功能恢复具有积极作用<sup>[6]</sup>。研究发现,人参皂甙 Rd 可通过 PI3K/mTOR/HIF-1 $\alpha$  通路促进 MCAO 模型大鼠血管新生<sup>[7]</sup>。基于以上基础,我们以 MCAO 模型大鼠为研究对象,观察人参皂苷 Rd 对治疗后缺血区域脑组织中血管的数量,进一步通过蛋白质免疫印记检测血管生成相关分子 SHH、VEGF、血管紧张素-1(angiotensin-1, ANG-1)及血管紧张素-2(angiotensin-2, ANG-2)的表达水平。

## 1 材料与方法

**1.1 动物** 40 只 6~8 周龄雄性清洁级 SD 大鼠,体质量 180~220 g,购买自上海斯莱克实验动物有限责任公司,动物生产许可证号:SCXK(沪)2017-0005;动物使用许可证号:SYXK(浙)2014-0017。将大鼠饲养于室温 24℃、相对湿度 60%、12 h 昼夜循环的洁净动物房内。所有动物实验均经嘉兴学院动物伦理委员会批准,伦理申请编号:JXY2022-001。

**1.2 主要药物** 人参皂苷 Rd 购买自信邦制药公司(批号 B21054)。

**1.3 试剂及设备** 山羊抗鼠二抗“ $\beta$ -actin、VEGF、SHH 和 ANG-2、山羊抗鼠 IgG 抗体购自 CST(Cell Signaling Technology, USA, 批号分别为: #3700S, #9698, #2207, #79299S, #91196)”。ANG-1 购买自 Sigma 公司(批号 APREST74500)。磷酸盐缓冲液购自 Boster(中国武汉,货号:AR0188)。增强型化学发光(ECL)发光试剂盒购自 Beyotime Biotechnology(中国上海,批号 P0018FS)。二辛可宁酸(BCA)蛋白试剂盒(批号 KGP902)、环靶明(Cyclopamine, CYC, 批号 SF6809)购自凯基生物科学公司(中国上海)。超净工作台购自苏州净化设备厂(型号:SW-CJ-1D/2D),脑立体定向仪购自广东省深圳瑞沃德生命科技有限公司(型号:标准型脑立体定位仪),大鼠脑切片模具购自上海玉研科学仪器有限公司(型号:5 punches),显微镜购自日本的 Olympus 公司(型号:IXplore Standard);激光多普勒血流仪购自瑞典 Perimed 公司(型号:PeriFlux 6000),Western blot 电泳转印系统购买自美国 Bio-rad 公司(型号:16580333)。

**1.4 分组** 40 只 SD 大鼠计算机随机获取编号,分为四组:假手术组、模型组、人参皂苷 Rd 组(Rd 组)和人参皂苷 Rd 组+CYC 组(Rd+CYC 组),每组 10 只。如出现造模失败,则补充造模成功 SD 大鼠数量至 10 只。

**1.5 MCAO 模型建立及给药** 采用 4%戊巴比妥钠(3 mL/kg)腹腔注射麻醉动物,仰卧固定在大鼠板上,将大鼠的颈外动脉系结,将单丝尼龙缝合线(4-0)从颈总动脉经颈外动脉插入颈内动脉。然后使用单丝尼龙缝合线在其起点(18 mm)处阻断左侧大脑中动脉。缺血 2 h 后,取出线栓进行再灌注。大鼠苏醒后参照修正的神经严重程度评分(MRS)对神经损伤程度进行评分。假手术组仅分离左侧颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉。曾联婷<sup>[7]</sup>研究中,按照 10 mg/(kg·d)通

过腹腔注射人参皂苷 Rd 给药。在本研究中,我们通过灌胃给药,考虑到药物吸收效率,因此人参皂苷 Rd 按照 50 mg/kg 给药;CYC 通过腹腔注射按照 50  $\mu$ g/kg 给药。造模成功后每天给药 1 次,连续给药 2 周。假手术组和模型组给予同等剂量生理盐水。

**1.6 神经行为评分** 采用改良 Longa 分<sup>[8]</sup>,评分如下:0 分,无缺陷;1 分,对侧前肢完全伸展困难;2 分,不能伸展对侧前肢;3 分,微圈旋转;4 分,严重的圈圈旋转;5 分,向对方倾倒。评分后,将大鼠斩首处死,迅速获取脑组织样本用于进一步实验。

**1.7 脑梗死体积测定** 大鼠处死后断头取脑组织,置于大鼠脑组织模具上,连续冠状面切成 2 mm 厚的脑片(以前囟为基点:+3.7,+1.0,-0.8,-3.3,-5.3),将切片置于 2,3,5-三苯基氯化四氮唑(2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride, TTC)染料溶液中,避光,置于 37  $^{\circ}$ C 培养箱中 30 min,使其染色均匀,再于 4  $^{\circ}$ C 条件下于 10%甲醛溶液中固定 2 h。红色是正常脑组织,白色是梗死脑组织。将染色的脑切片依次切片、排列、标记、设置尺子并拍照。使用 Image-Pro Plus 图像处理软件计算脑梗死体积,将结果用于统计分析。

**1.8 毛细血管密度评估** 用脑组织制备冷冻脑切片,然后在显微镜下观察并拍照,记录血管数量。

**1.9 蛋白质印迹** 将液氮中各组脑组织置于冰上,加入放射免疫沉淀法裂解缓冲液(radio immunoprecipitation assay, RIPA),冰上裂解 30 min,以 12000 r/min,4  $^{\circ}$ C 离心 15 min,取上清。蛋白质是 BCA 法定量,上清液按 4:1 比例加入 5x 白色上样缓冲液,沸水加热变性 10 min。样品和 5  $\mu$ L 蛋白质标记物进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS PAGE)以分离蛋白质条带。电泳结束后,以 300 mA 的电流转移膜 90 min。5%脱脂牛奶室温密封 2 h 后,用加吐温

的等渗缓冲盐溶液(Tris-HCL balanced sodium+Tween, TBST)洗膜 3 次,每次 5 min。加入替换后的一抗  $\beta$ -actin, SHH, VEGF, ANG-1, ANG-2 抗体(1:1000),4  $^{\circ}$ C 摇床过夜。第二天, TBST 溶液洗涤 3 次。每 5 min 将辣根过氧化物酶(Horseradish Peroxidase, HRP)标记的山羊抗鼠二抗(1:5000)室温振荡 1 h, TBST 溶液每 5 min 洗涤 3 次。最后均匀滴下 ECL 发光液,使用凝胶成像仪进行曝光拍摄。ImageJ 软件测量条带灰度值,目标蛋白条带灰度值与内参  $\beta$ -actin 灰度值的比值表示目标蛋白的相对表达水平。实验独立重复 3 次。

**1.10 统计学方法** 应用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析。符合正态分布的测量数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )。多组间测量数据的比较采用单因素方差分析。两组间比较方差均匀时采用 LSD 检验,方差不齐时采用 K-W 检验。 $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 人参皂苷 Rd 对 MCAO 大鼠神经功能评分和脑梗死体积的影响** TTC 染色结果显示,红色为脑组织正常区,白色为脑梗死区(见图 1)。假手术组无神经功能缺失症状,几乎没有脑梗死;与假手术组比较,模型组大鼠神经功能评分显著增加( $P<0.01$ ),左半球有明显脑梗死区,表示造模成功;与模型组比较,Rd 组大鼠神经功能评分显著降低( $P<0.01$ ),脑梗死体积显著减少( $P<0.01$ );与 Rd 组比较,Rd+CYC 组大鼠神经功能评分显著升高( $P<0.01$ ),脑梗死体积显著增加( $P<0.01$ ),见表 1。

**2.2 人参皂苷 Rd 促进血管新生** 与假手术组比较,模型组大鼠新生血管数量明显减少( $P<0.01$ );Rd 组新生血管数量较模型组显著增加( $P<0.01$ );与 Rd 组比较,Rd+CYC 组新生血管数量显著降低( $P<$

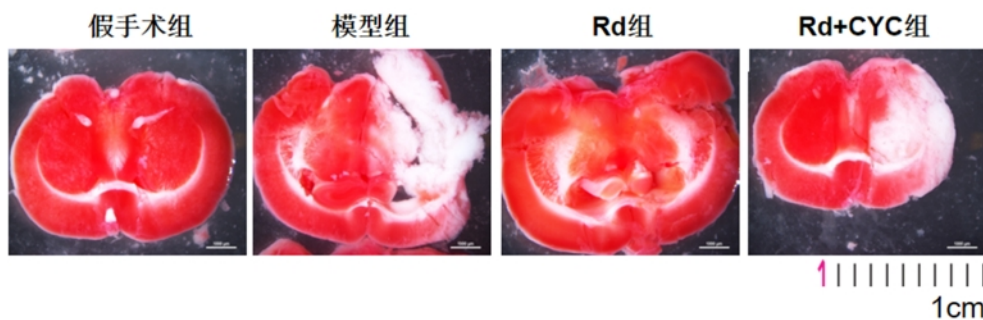


图 1 各组大鼠脑梗死体积变化

注:Rd 组予人参皂苷 50 mg/kg 灌胃;Rd+CYC 组予人参皂苷 50 mg/kg 灌胃+CYC 50  $\mu$ g/kg 腹腔注射;假手术组与模型组予同等剂量生理盐水;Rd 为人参皂苷 Rd;CYC 为环靶明

表 1 各组大鼠神经功能评分及脑梗死体积比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	鼠数	神经功能评分(分)	梗死体积(%)
假手术组	10	0.000±0.000	1.165±0.130
模型组	10	3.100±0.738 <sup>a</sup>	33.920±2.954 <sup>a</sup>
Rd 组	10	1.000±0.471 <sup>ab</sup>	18.120±3.735 <sup>ab</sup>
Rd+CYC 组	10	2.700±0.675 <sup>ac</sup>	28.910±4.491 <sup>ac</sup>

注:Rd 组予人参皂苷 50 mg/kg 灌胃;Rd+CYC 组予人参皂苷 50 mg/kg 灌胃 +CYC 50  $\mu$ g/kg 腹腔注射;假手术组与模型组予同等剂量生理盐水;Rd 为人参皂苷 Rd;CYC 为环靶明;与假手术组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.01$ ;与 Rd 组比较,<sup>c</sup> $P<0.01$

表 2 各组大鼠脑组织新生血管数量比较(条, $\bar{x}\pm s$ )

组别	鼠数	新生血管数量
假手术组	10	128.10±14.34
模型组	10	54.37±11.21 <sup>a</sup>
Rd 组	10	389.60±23.34 <sup>ab</sup>
Rd+CYC 组	10	180.90±37.37 <sup>ac</sup>

注:Rd 组予人参皂苷 50 mg/kg 灌胃;Rd+CYC 组予人参皂苷 50 mg/kg 灌胃 +CYC 50  $\mu$ g/kg 腹腔注射;假手术组与模型组予同等剂量生理盐水;Rd 为人参皂苷 Rd;CYC 为环靶明;与假手术组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.01$ ;与 Rd 组比较,<sup>c</sup> $P<0.01$

0.01)。见表 2、图 2。

**2.3 人参皂苷 Rd 促进 SHH 信号通路相关分子表达** 与假手术组比较,模型组血管生成相关分子 SHH、VEGF、ANG-1、ANG-2 表达水平明显降低( $P$  均  $<0.01$ );Rd 组较模型组,SHH、VEGF、ANG-1、ANG-2 蛋白表达水平显著升高( $P$  均  $<0.01$ );与 Rd

组比较,Rd+CYC 组 SHH 表达未见明显改变( $P>0.05$ ),但 CYC 明显抑制了 VEGF、ANG-1 和 ANG-2 表达水平( $P$  均  $<0.01$ )。见表 3、图 3。

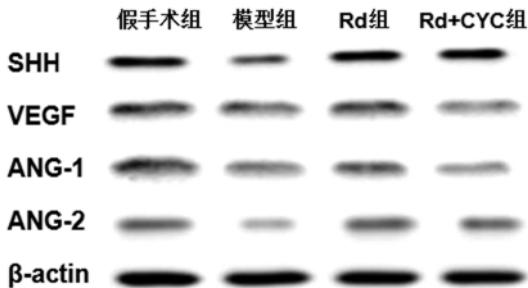


图 3 各组大鼠脑组织 SHH、VEGF、ANG-1 和 ANG-2 蛋白质表达变化

注:Rd 组予人参皂苷 50 mg/kg 灌胃;Rd+CYC 组予人参皂苷 50 mg/kg 灌胃 +CYC 50  $\mu$ g/kg 腹腔注射;假手术组与模型组予同等剂量生理盐水;Rd 为人参皂苷 Rd;CYC 为环靶明;SHH 为声波刺猬信号蛋白;VEGF 为血管内皮生长因子;ANG-1 为血管紧张素-1;ANG-2 为血管紧张素-2

### 3 讨论

促进血管新生可有效改善脑梗死预后。人参皂苷 Rd 在临床和实验室研究中均证实对脑梗死具有保护作用。在一项纳入 390 例脑梗死患者的随机、双盲、安慰剂对照、多中心临床试验中,研究者发现人参皂苷 Rd 可改善急性缺血性脑梗死<sup>[9]</sup>。叶瑞东<sup>[10]</sup>研究发现,人参皂苷 Rd 对脑梗死后氧化还原状态失衡

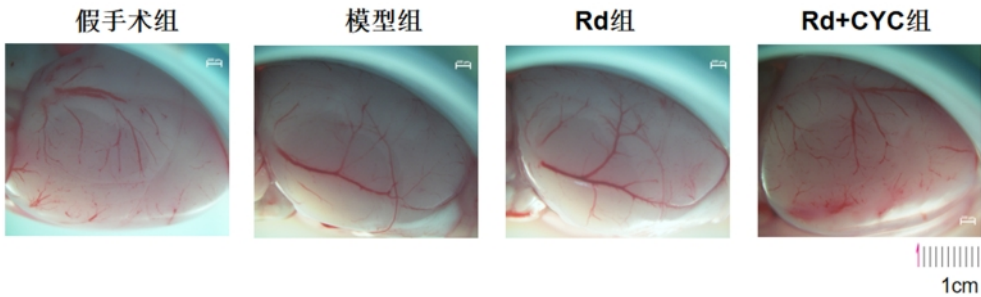


图 2 各组大鼠血管密度变化

注:Rd 组予人参皂苷 50 mg/kg 灌胃;Rd+CYC 组予人参皂苷 50 mg/kg 灌胃 +CYC 50  $\mu$ g/kg 腹腔注射;假手术组与模型组予同等剂量生理盐水;Rd 为人参皂苷 Rd;CYC 为环靶明

表 3 各组大鼠脑组织蛋白相对表达量比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	鼠数	SHH	VEGF	ANG-1	ANG-2
假手术组	10	1.017±0.029	1.010±0.070	1.030±0.062	1.020±0.072
模型组	10	0.533±0.043 <sup>a</sup>	0.596±0.055 <sup>a</sup>	0.510±0.056 <sup>a</sup>	0.386±0.045 <sup>a</sup>
Rd 组	10	1.267±0.038 <sup>ab</sup>	0.866±0.035 <sup>ab</sup>	0.880±0.036 <sup>ab</sup>	0.870±0.040 <sup>ab</sup>
Rd+CYC 组	10	1.217±0.048	0.600±0.007 <sup>ac</sup>	0.570±0.027 <sup>ac</sup>	0.476±0.038 <sup>ac</sup>

注:Rd 组予人参皂苷 50 mg/kg 灌胃;Rd+CYC 组予人参皂苷 50 mg/kg 灌胃 +CYC 50  $\mu$ g/kg 腹腔注射;假手术组与模型组予同等剂量生理盐水;Rd 为人参皂苷 Rd;CYC 为环靶明;SHH 为声波刺猬信号蛋白;VEGF 为血管内皮生长因子;ANG-1 为血管紧张素-1;ANG-2 为血管紧张素-2;与假手术组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.01$ ;与 Rd 组比较,<sup>c</sup> $P<0.01$

及线粒体功能障碍具有改善作用,可用于治疗急性缺血性脑梗死。在本研究中,我们发现人参皂苷 Rd 可以改善 MCAO 模型大鼠神经功能,减少脑梗死体积,与其他研究者的研究结果一致。

曾联婷<sup>[7]</sup>研究发现,人参皂甙 Rd 通过 PI3K/mTOR/HIF-1 $\alpha$  通路,促进 MCAO 模型大鼠血管新生。在另一项肿瘤相关的研究中,人参皂甙 Rd 通过 Akt/mTOR/p70S6K 信号通路抑制血管生成<sup>[11]</sup>。本研究发现,人参皂苷 Rd 可以促进脑梗死区域血管生成,证实了人参皂苷在脑梗死中的促血管生成作用。

SHH 信号通路是生物进化中最保守的信号通路之一,参与脊椎动物和无脊椎动物胚胎发育的多个过程,对神经系统发育和器官形成有积极影响。有研究发现,维生素 D3 通过激活 SHH 信号通路改善 MCAO 模型大鼠脑灌注并减少神经损伤<sup>[12]</sup>。最近的一项研究发现,复方通络汤通过激活 SHH 通路抑制内质网应激性铁死亡并促进血管生成,在脑梗死中发挥保护作用<sup>[13]</sup>。Sims 等<sup>[14]</sup>研究发现,脑梗死发生后海马神经元 SHH 蛋白表达水平显著上调,CYC 的使用抑制了海马神经干细胞的增殖,外源重组 SHH 蛋白可显著改善 MCAO 模型大鼠神经行为评分,减少脑梗死体积,促进脑梗死周围组织血管生成和神经干细胞增殖,而 SHH 抑制剂 CYC 则消除了脑梗死的神经保护作用。本研究发现,人参皂苷 Rd 促进 SHH 及血管生成相关分子 VEGF、ANG-1 和 ANG-2 表达,而 SHH 抑制剂 CYC 则明显削弱了人参皂苷 Rd 在脑梗死中的保护作用,减少血管生成,抑制 VEGF、ANG-1 和 ANG-2 的表达水平。这些结果表明人参皂苷 Rd 可能通过 SHH 信号通路,促进脑梗死区域血管新生,从而减少脑梗死体积。

综上所述,本研究结果显示,调控 SHH 及血管新生相关蛋白,可能是人参皂苷 Rd 减少脑梗死体积的潜在机制。

### 参 考 文 献

- [1] Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, et al. Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990–2019: update from the GBD 2019 Study[J]. J Am Coll Cardiol, 2020, 76(25):2982–3021.
- [2] Nathanson MH, Andrzejewski J, Dinsmore J, et al. Guidelines for safe transfer of the brain-injured patient: trauma and stroke, 2019; Guidelines from the Association of Anaesthetists and the Neuro Anaesthesia and Critical Care Society[J]. Anaesthesia, 2020, 75(2):234–246.
- [3] Zerna C, Thomalla G, Campbell BCV, et al. Current practice and future directions in the diagnosis and acute treatment of ischaemic stroke[J]. Lancet, 2018, 392(10154):1247–1256.
- [4] Sun P, Zhang K, Hassan SH, et al. Endothelium-targeted deletion of microRNA -15a/16 -1 promotes poststroke angiogenesis and improves long-term neurological recovery[J]. Circ Res, 2020, 126(8):1040–1057.
- [5] Chen SC, Huang M, He QW, et al. Administration of sonic hedgehog protein induces angiogenesis and has therapeutic effects after stroke in rats[J]. Neuroscience, 2017, 352:285–295.
- [6] 惠振.三七三醇皂苷促脑梗死大鼠血管新生改善脑灌注机制研究[D].南京:南京中医药大学, 2017.
- [7] 曾联婷.人参皂甙 Rd 对成年大鼠缺血性脑卒中后血管发生的机制研究[D].西安:中国人民解放军空军军医大学, 2016.
- [8] Wang Z, Sun Y, Bian L, et al. The crosstalk signals of Sodium Tanshinone II A Sulfonate in rats with cerebral ischemic stroke: Insights from proteomics [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 151:113059.
- [9] Liu X, Wang L, Wen A, et al. Ginsenoside -Rd improves outcome of acute ischaemic stroke—a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial[J]. Eur J Neurol, 2012, 19(6):855–63.
- [10] 叶瑞东.人参皂苷 Rd 治疗急性缺血性 CI 的临床前研究[D].西安:第四军医大学, 2012.
- [11] Zhang E, Shi H, Yang L, et al. Ginsenoside Rd regulates the Akt/mTOR/p70S6K signaling cascade and suppresses angiogenesis and breast tumor growth[J]. Oncol Rep, 2017, 38(1):359–367.
- [12] Bao GQ, Yu JY. Vitamin D3 promotes cerebral angiogenesis after cerebral infarction in rats by activating Shh signaling pathway [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(20):7069–7077.
- [13] Peng L, Yin J, Ge M, et al. Isoflurane post-conditioning ameliorates cerebral ischemia/reperfusion injury by enhancing angiogenesis through activating the Shh/Gli signaling pathway in rats[J]. Front Neurosci, 2019, 13:321.
- [14] Sims JR, Lee SW, Topalkara K, et al. Sonic hedgehog regulates ischemia/hypoxia-induced neural progenitor proliferation [J]. Stroke, 2009, 40(11):3618–3626.

(收稿:2022-05-28 修回:2022-11-07)