

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9463.2022.03.001

• 论 著 •

## 基于 TLR4 介导的信号通路探讨人参皂苷 Rg1 抗脑缺血再灌注损伤的作用

马雪飞 冯冬军 于文霞 谭明 刘跃 翟凤国

**【摘要】目的** 探讨人参皂苷 Rg1 对大鼠脑缺血再灌注(I/R)损伤的保护作用及机制。**方法** 将 SD 大鼠分成假手术组、脑 I/R 损伤模型组、低剂量给药组(人参皂苷 Rg1 30mg/kg)、高剂量给药组(人参皂苷 Rg1 60mg/kg)。假手术组、脑 I/R 损伤模型组大鼠腹腔内注射生理盐水,低剂量给药组与高剂量给药组大鼠腹腔内注射人参皂苷 Rg1。对各组大鼠行大脑中动脉闭塞手术后进行运动神经功能缺损评分的比较;酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测各组大鼠血浆中肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 6(IL-6)及白细胞介素 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 的含量;实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测各组大鼠皮层脑组织中 TLR4 mRNA 的表达;蛋白免疫印迹(Western blot)检测各组大鼠皮层脑组织中 TLR4 蛋白及介导的通路蛋白 MyD88、NF- $\kappa$ B 的表达。**结果** 与假手术组比较,脑 I/R 损伤模型组大鼠运动神经功能缺损评分、血浆中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 及 IL-1 $\beta$  炎症因子的含量、大鼠皮层脑组织中 TLR4 mRNA 及蛋白的表达明显升高;与脑 I/R 损伤模型组比较,人参皂苷 Rg1 预处理的大鼠运动神经功能缺损评分、大鼠血浆中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 以及 IL-1 $\beta$  炎症因子的含量、大鼠皮层脑组织中 TLR4 mRNA 及蛋白的表达随着剂量的增加而逐渐降低。同时,脑 I/R 损伤模型组大鼠皮层脑组织中 MyD88 及 NF- $\kappa$ B 蛋白的表达增加,而应用人参皂苷 Rg1 预处理的大鼠随着给药剂量的增加,MyD88 及 NF- $\kappa$ B 蛋白的表达逐渐减少,呈剂量相关。**结论** 人参皂苷 Rg1 通过减轻大鼠脑 I/R 损伤后的炎症反应发挥抗脑 I/R 损伤的作用,其机制可能与抑制 TLR4 介导的 MyD88/NF- $\kappa$ B 通路有关。

**【关键词】** 脑缺血 人参皂苷 Rg1 炎症 作用机制

**Effect of ginsenoside Rg1 on cerebral ischemia/reperfusion injury based on TLR4 mediated signaling pathway** Ma Xuefei, Feng Dongjun, Yu Wenxia, et al. Department of Pharmacology, Mudanjiang Medical University, Mudanjiang 157011

**【Abstract】Objective** To investigate the protective effect and mechanism of ginsenoside Rg1 on cerebral ischemia/reperfusion (I/R) injury in rats. **Methods** SD rats were divided into sham operation group, brain I/R injury group, ginsenoside Rg1 low-dose and high-dose groups(30mg/kg,60mg/kg). Rats in sham operation group and brain I/R injury group were injected intraperitoneally with normal saline, and rats in low and high dose groups were injected intraperitoneally with ginsenoside Rg1. After middle cerebral artery occlusion operation, the neurological deficit scores was compared among all groups. Plasma levels of tumor necrosis factor  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), interleukin 6 (IL-6) and interleukin 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Real-time fluorescence quantitative PCR(qRT-PCR) was used to detect the expression of TLR4 mRNA in cortical brain tissues of rats in each group. The expression of TLR4 protein and the mediated pathway proteins MyD88 and NF- $\kappa$ B were detected by Western blot. **Results** Compared with sham operation group, brain I/R injury significantly increased neurological deficit scores, contents of TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-1 $\beta$  inflammatory factors in plasma, and expression of TLR4 mRNA and protein in cortical brain tissues of rats. Compared with the brain I/R injury group, ginsenoside Rg1-pretreated rats' neurological deficit scores, the contents of TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-1 $\beta$  inflammatory factors in plasma, the expression of TLR4 mRNA and protein in cortical brain tissues of rats decreased gradually with the increase of

▲基金项目:黑龙江省省属高校基本科研业务攀登计划项目(编号:2018-KYYWFMY-0005);牡丹江医学院研究生创新科研项目(编号:YJSCX-MY11)

作者单位:牡丹江医学院药理教研室,黑龙江 牡丹江 157011

通讯作者:翟凤国, E-mail:zhaifengguo1974@163.com

ginsenoside Rg1 dose, showing a dose-dependent manner. Meanwhile, brain I/R injury increased the expression of MyD88 and NF- $\kappa$ B protein in cortical brain tissues of rats, while the expression of MyD88 and NF- $\kappa$ B protein in rats pretreated with ginsenoside Rg1 decreased with the increase of ginsenoside Rg1 dose, presenting a dose-dependent manner. **Conclusion** Ginsenoside Rg1 plays an anti-brain I/R injury by reducing the inflammatory response after brain I/R injury in rats, and the mechanism may be related to the inhibition of TLR4-mediated MyD88/NF- $\kappa$ B pathway.

**[Key words]** Cerebral ischemia Ginsenoside Rg1 Inflammation Mechanism

脑卒中(Cerebral stroke)是一种急性脑血管疾病。据推算,我国脑卒中患者约为 1 300 万,而缺血性脑卒中占脑卒中人数的 70% 以上<sup>[1,2]</sup>。静脉化学溶栓是目前治疗缺血性脑卒中的主要治疗手段之一,然而,通过溶栓治疗恢复血流量会损害脑组织,造成脑缺血再灌注(I/R)损伤。目前脑 I/R 损伤的作用机制尚不明确,但炎症反应是脑 I/R 损伤发病过程中的关键部分,有研究指出,减少炎症因子的分泌或加强抗炎因子的表达可以缩小脑 I/R 损伤大鼠脑梗死体积,有助于神经功能恢复<sup>[3]</sup>。Toll 样受体 4(TLR4)作为 Toll 样受体识别系统,是一个参与固有免疫反应的模式识别受体蛋白,MyD88 是 TLR4 介导炎症通路重要的胞内接头蛋白,可以募集下游信号分子的 N 端死亡结构域(Death domain,DD)和承接 TLRs 活化信号的 C 端 TIR 结构域,NF- $\kappa$ B 是 TLR4/MyD88 下游的重要节点,参与转录调控,可导致炎症因子释放<sup>[4]</sup>。人参皂苷 Rg1 是人参的主要提取物之一,有研究发现,人参皂苷 Rg1 可以通过激活 Nrf 2/ARE 信号通路,减小脑 I/R 损伤大鼠的脑梗死体积<sup>[5]</sup>;也有研究表明,人参皂苷 Rg1 可以通过激活 PPAR  $\gamma$ /HO-1 信号通路缓解脑 I/R 损伤大鼠神经元凋亡<sup>[6]</sup>。但关于人参皂苷 Rg1 是否通过 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路发挥脑保护作用的研究较少。本研究通过建立脑 I/R 损伤大鼠模型,比较不同剂量的人参皂苷 Rg1 对脑 I/R 损伤大鼠的影响,为进一步探讨人参皂苷 Rg1 对大鼠脑 I/R 损伤的保护作用提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 6~8 周 SPF 级 SD (Sprague Dawley) 大鼠 60 只,重量为 250~300g,来自牡丹江医学院比较医学中心,动物许可证号为 SYXK (黑)2019-006。大鼠自由获取食物和水,室温 25  $^{\circ}$ C 恒定,模

拟昼夜光照,在牡丹江医学院比较医学中心饲养(SCXK2019-003)。严格按照中国实验动物管理条例处理动物,实验中所有动物严格遵循 3R 原则。

**1.2 试剂** 人参皂苷 Rg1 购自上海源叶生物技术有限公司;大鼠白细胞介素 1  $\beta$  (IL-1  $\beta$ )、大鼠白细胞介素 6 (IL-6)、大鼠肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、ELISA 试剂盒、RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒、SYBR Green PCR Master mix、ECL 化学发光底物试剂盒均购自北京华诺德生物科技有限公司;一抗 TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B、 $\beta$ -actin、山羊抗兔二抗等以上抗体均购自上海优宁维生物科技股份有限公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 实验分组、给药及模型的建立** 将 SD 大鼠随机分为 4 组:假手术组、脑 I/R 损伤模型组、低剂量给药组(人参皂苷 Rg1 30mg/kg)及高剂量给药组(人参皂苷 Rg1 60mg/kg),各 15 只。假手术组与脑 I/R 损伤模型组分别于术前每天 1 次腹腔内注射生理盐水,低、高剂量给药组每天 1 次腹腔内注射人参皂苷 Rg1,连续给药 5 天。末次给药 30min 后,采用颈内动脉线栓法致大鼠大脑中动脉阻塞引起脑 I/R 损伤模型,即在大鼠颈正中中部做切口,暴露右侧颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉,结扎颈总动脉和颈外动脉,于颈总动脉分叉下方剪 1 个“V”形切口,将事先准备好的尼龙线栓轻轻插入颈内动脉 18~20mm 处,当感到有明显阻力时,提示线栓已经栓在中动脉起始部位,达到阻塞动脉,即停止插栓线。阻闭 90min 后,将线栓缓慢拔出,恢复再灌注 24h,形成大鼠脑 I/R 损伤。假手术组只暴露血管、缝合,不进行任何其他操作。

**1.3.2 各组大鼠运动神经功能缺损评分比较** 待脑 I/R 损伤 24h 后,观察大鼠的精神状态,根据 Longa 等<sup>[7]</sup>的评分标准对各组大鼠进行评分,0 分:无神经系统损伤症状,活动正常;1 分:提尾时,左前肢屈

曲;2分:行走时身体向左侧转圈;3分:向左侧倾倒;4分:不能自发行走,意识丧失。各组大鼠运动神经功能缺损评分分值越高,提示大鼠神经功能障碍越严重,取1~3分大鼠用于后续实验。

**1.3.3 炎症因子水平检测** 按照 ELISA 检测试剂盒说明书中的操作步骤进行实验操作。分别检测各组大鼠血浆 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平。

**1.3.4 qRT-PCR 法检测大鼠皮层脑组织中 TLR4 的表达** 取各组大鼠的皮层脑组织样本约 100mg,提取皮层脑组织中总 RNA,用超微量核酸蛋白测定仪测定 RNA 浓度。将提取的 RNA 逆转录成 cDNA,经 SYBR Green 荧光染色法对各组大鼠皮层脑组织中 TLR4 mRNA 的表达情况进行测定。内参选取  $\beta$ -actin,以  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法来对 TLR4 mRNA 表达情况进行计算。实验中的所有引物均由英潍捷基上海贸易有限公司合成,TLR4 基因的引物序列(5'-3')为 F:CTAGTCGACGAGATGGCGCTGCAT,R:CGCGGATCCACTACAACAGGCAGATCAAC; $\beta$ -actin 基因的引物序列(5'-3')为 F:GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA,R:GACTCATCGTACTCCTGCTTGCTG。

**1.3.5 Western blot 检测大鼠皮层脑组织中各目的蛋白水平的表达** 取各组皮层脑组织样本约 100mg,加入 0.2ml 预冷的蛋白裂解缓冲液(RIPA 组织-细胞快速裂解液:蛋白磷酸酶抑制剂=100:1),用研磨棒在冰上充分研磨,4℃摇床充分裂解 30min,4℃12 000r/min 离心 15min,吸取上清液,用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定各组总蛋白的浓度。按照 15 $\mu$ l 上样量含有 40 $\mu$ g 蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳,湿法电转至 PVDF 膜上,5%脱脂奶粉封闭 1h 后,分别加入 MyD88(兔抗大鼠 1:500 稀释)、NF- $\kappa$ B(兔抗大鼠 1:1 000 稀释)、TLR4(兔抗大鼠 1:300 稀释)、 $\beta$ -actin(兔抗大鼠 1:2 000 稀释)一抗 4℃孵育过夜,PBST 缓冲液(1 000ml PBS 加入 0.5ml Tween 20)洗涤 3 次,每次 10min,加入 HRP 标记的山羊抗兔二抗(1:10 000 稀释)孵育 1h,PBST 缓冲液洗涤 3 次,每次 10min,最后用 ECL 化学发光试剂显色,化学发光成像仪曝光、取像并测定条带灰度值,各组灰度测定值与  $\beta$ -actin 灰度值比值作为实验结果。

**1.4 统计学分析** 采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析,计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间

比较采用单因素方差分析法(One-way ANOVA),组间比较采用最小显著性差异法(LSD), $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠运动神经功能缺损评分比较** 由于本实验仅选择神经功能缺损评分为 1~3 分的大鼠为实验对象,根据每组的实际情况,从中选择 8 只大鼠进行运动神经功能缺损评分的比较。脑 I/R 损伤模型组大鼠运动神经功能缺损评分为( $2.13 \pm 0.64$ )分,明显高于假手术组的 0 分( $P < 0.01$ );与脑 I/R 损伤模型组比较,低剂量给药组大鼠运动神经功能缺损评分为( $1.38 \pm 0.52$ )分稍低( $P < 0.05$ ),而高剂量给药组大鼠运动神经功能缺损评分为( $1.23 \pm 0.35$ )分明显较低( $P < 0.01$ )。

**2.2 各组大鼠血浆 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  水平比较** 在本实验中,随机从上述每组中各选 6 只大鼠对血浆进行 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  炎症因子水平的检测。与假手术组比较,脑 I/R 损伤模型组大鼠血浆 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  水平均明显较高( $P < 0.01$ );与脑 I/R 损伤模型组相比,人参皂苷 Rg1 预处理的大鼠血浆 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  水平随着给药剂量的增加而减少( $P < 0.01$ ),呈剂量相关。见表 1。

表 1 各组大鼠血浆 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  水平( $\bar{x} \pm s$ , n=6)

组别	TNF- $\alpha$ (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-1 $\beta$ (pg/ml)
假手术组	4.51 $\pm$ 2.53	34.75 $\pm$ 5.83	57.07 $\pm$ 25.85
脑 I/R 损伤模型组	73.05 $\pm$ 10.24*	114.69 $\pm$ 27.02*	398.71 $\pm$ 78.99*
低剂量给药组	41.41 $\pm$ 14.54 <sup>#</sup>	25.45 $\pm$ 6.26 <sup>#</sup>	156.59 $\pm$ 36.22 <sup>#</sup>
高剂量给药组	9.92 $\pm$ 7.09 <sup>#</sup>	10.04 $\pm$ 2.47 <sup>#</sup>	78.01 $\pm$ 36.67 <sup>#</sup>

注:与假手术组比较,\* $P < 0.01$ ;与脑 I/R 损伤模型组比较,<sup>#</sup> $P < 0.01$

**2.3 各组大鼠皮层脑组织中 TLR4 mRNA 表达比较** 与假手术组比较脑 I/R 损伤模型组大鼠皮层脑组织中 TLR4 mRNA 的表达明显升高( $P < 0.01$ );与脑 I/R 损伤模型组比较,人参皂苷 Rg1 预处理的大鼠皮层脑组织中 TLR4 mRNA 的表达随着给药剂量的增加而减少( $P < 0.01$ ),呈剂量相关。见图 1。



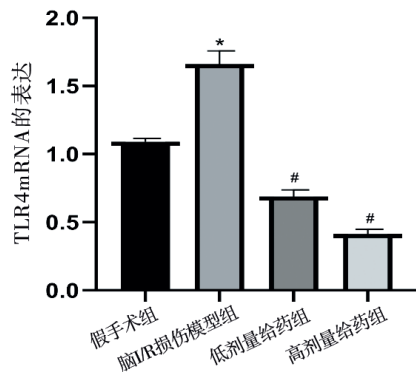


图1 各组大鼠皮层脑组织中 TLR4 mRNA 的表达  
注:与假手术组比较, \* $P<0.01$ ;与脑 I/R 损伤模型组比较, # $P<0.01$

**2.4 各组大鼠皮层脑组织中 TLR4 蛋白表达比较** 与假手术组比较,脑 I/R 损伤模型组大鼠皮层脑组织中 TLR4 蛋白表达较高( $P<0.05$ );与脑 I/R 损伤模型组比较,低剂量给药组大鼠皮层脑组织 TLR4 蛋白的表达降低( $P<0.05$ ),而高剂量给药组大鼠皮层脑组织 TLR4 蛋白的表达显著降低( $P<0.01$ ),呈剂量相关。见图 2。

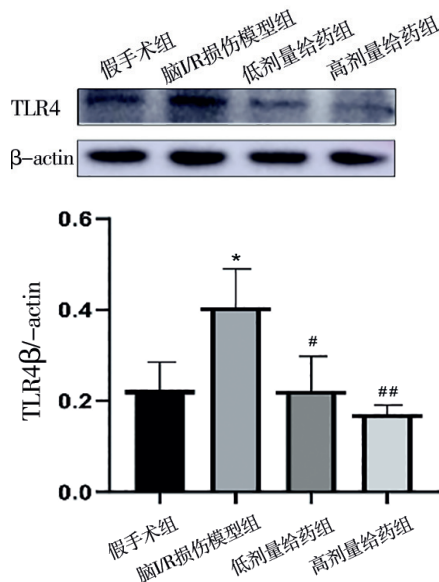


图2 各组大鼠皮层脑组织中 TLR4 蛋白的表达  
注:与假手术组比较, \* $P<0.05$ ;与脑 I/R 损伤模型组比较, # $P<0.05$ , ## $P<0.01$

**2.5 各组大鼠皮层脑组织中 TLR4 介导的通路蛋白表达比较** 与假手术组比较,脑 I/R 损伤模型组大鼠皮层脑组织中 MyD88、NF- $\kappa$ B 蛋白的表达增加( $P<0.05$ );与脑 I/R 损伤模型组比较,低剂量给药组大鼠皮层脑组织中 MyD88、NF- $\kappa$ B 蛋白的表达降低( $P<0.05$ ),而高剂量给药组大鼠皮层脑组织中

MyD88、NF- $\kappa$ B 蛋白的表达显著降低( $P<0.01$ ),呈剂量相关。见图 3。

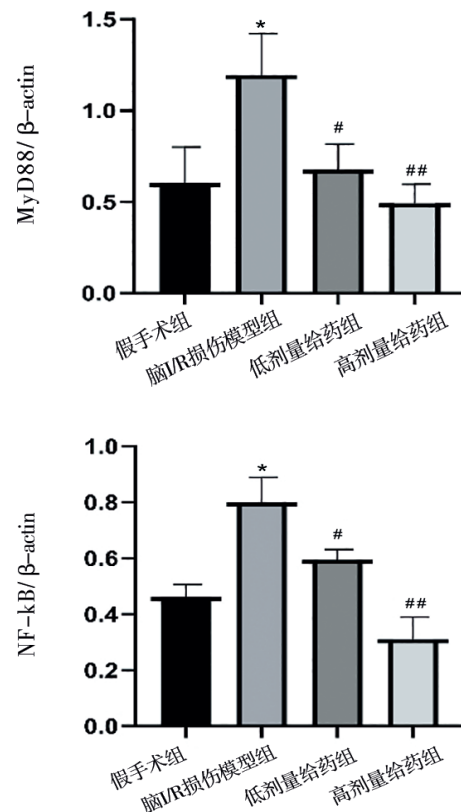
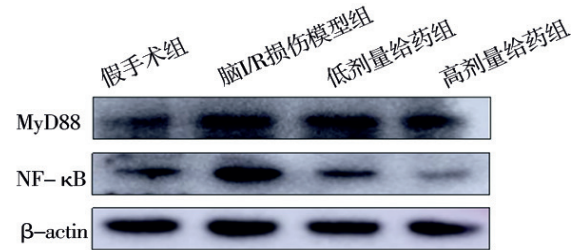


图3 各组大鼠皮层脑组织中 MyD88、NF- $\kappa$ B 蛋白的表达  
注:与假手术组比较, \* $P<0.05$ ,与脑 I/R 损伤模型组比较, # $P<0.05$ , ## $P<0.01$

### 3 讨论

脑 I/R 损伤是指脑组织缺血一定时间后再恢复血液灌注,使脑组织细胞出现了损伤加重,甚至造成不可逆损伤的现象。近年,中药提取物对脑 I/R 损伤防治作用的相关报道越来越多<sup>[8,9]</sup>。其中人参皂苷 Rg1 是人参的主要活性成分之一,因具有抗氧化、抗凋亡、神经保护等药理学活性而被广泛关注<sup>[10]</sup>。本实验发现人参皂苷 Rg1 可以明显降低脑 I/R

损伤大鼠的运动神经功能缺损评分,这与相关实验结果一致<sup>[11]</sup>,提示人参皂苷 Rg1 有助于脑 I/R 损伤大鼠的神经功能恢复。脑 I/R 损伤病理生理机制复杂,是多种因素共同作用的结果。有研究发现通过诱导自噬,可以增加脑 I/R 损伤大鼠的脑含水量,减少脑梗死体积,缓解 I/R 损伤<sup>[12]</sup>;也有研究发现,通过抑制神经元 CA3 区细胞内的钙离子,可以保护神经元免受 I/R 引起的脑损伤<sup>[13]</sup>。同样,炎症反应也参与脑 I/R 损伤过程,炎症反应是机体内白细胞和化学因子对抗损伤保护机体的过程,任何作用于机体的损伤都必将引发一系列的炎症反应。当脑 I/R 损伤发生时,中性粒细胞聚集在毛细血管内皮,同时破坏血脑屏障,引起脑内炎症介质的释放,加重脑损伤。而 TLR4 是介导脑 I/R 损伤的关键治疗靶点之一,TLR4 是第一个 Toll 样受体蛋白,可以通过诱导 NF- $\kappa$ B 控制基因的表达激活适应性免疫<sup>[14]</sup>。当 TLR4 激活时,TLR4 和 MyD88 通过促进肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TRAF6) 活化,最终导致 NF- $\kappa$ B 激活,进而诱导炎症因子的表达和释放,引起组织的进一步损伤<sup>[15-17]</sup>。TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 是重要的炎症因子,有研究证明 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 过度释放会加重脑 I/R 损伤,阻断 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 的释放,对脑 I/R 损伤 SD 大鼠具有保护作用<sup>[18]</sup>。本研究中,通过 ELISA 法检测各组大鼠血浆中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  因子的含量发现,人参皂苷 Rg1 预处理过的大鼠会降低血浆中这三种炎症因子的表达,表明人参皂苷 Rg1 可以通过抑制炎症因子的释放发挥神经保护作用,而这种保护作用必然会涉及到相关炎症通路的改变。

TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路是一条重要的调节炎症反应的通路,有研究表明,龙胆苦苷通过抑制 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路,降低脑 I/R 损伤后的炎症反应,从而发挥抗脑 I/R 损伤的作用<sup>[19]</sup>;雷帕霉素通过抑制 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路降低脑 I/R 损伤的炎症反应,抑制脑 I/R 损伤诱导的神经元凋亡,防止神经元变性<sup>[20]</sup>。为了验证人参皂苷 Rg1 是否也能介导 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路发挥抗脑 I/R 损伤的作用,我们进行 qRT-PCR 检测各组大鼠皮层脑组织中 TLR4 mRNA 的表达、Western blot 检测大鼠皮层脑组织中 TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B 蛋白的表达。发现当脑 I/R 损伤发生时,大鼠皮层脑组织中 TLR4 mRNA、蛋白以及

MyD88、NF- $\kappa$ B 蛋白的表达显著提高,而用人参皂苷 Rg1 预处理的大鼠皮层脑组织中 TLR4 mRNA、蛋白以及 MyD88、NF- $\kappa$ B 蛋白的表达明显减少,且呈剂量相关,提示当脑 I/R 损伤发生时,人参皂苷 Rg1 通过抑制 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路,抑制 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 炎症因子的释放,发挥神经保护作用。

综上,人参皂苷 Rg1 具有良好的抗脑 I/R 损伤的作用,其机制可能与抑制 TLR4 介导的 MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路有关。

### 参 考 文 献

- 1 北京高血压防治协会,北京糖尿病防治协会,北京慢性病防治与健康教育研究会,等.基层心血管病综合管理实践指南 2020[J].中国医学前沿杂志(电子版),2020,12(8):1-73
- 2 许良葵.基于 TLR4/MyD88/MAPK 通路探讨桂枝-麻黄调控脑缺血后炎症反应的作用机制[D].南方医科大学,2018
- 3 霍瑞卿,田军彪,赵敏菡,等.化浊解毒活血通络方对脑缺血再灌注损伤大鼠 LPS 及 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路的影响[J].中国免疫学杂志,2021,11(11):1-14
- 4 李旭,王玥,刘国力.基于 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路探讨木犀草素对 MPTP 诱导的帕金森病模型小鼠的炎症影响[J].沈阳农业大学学报,2021,52(2):218-223
- 5 Chu SF, Zhang Z, Zhou X, et al. Ginsenoside Rg1 protects against ischemic/reperfusion-induced neuronal injury through miR-144/Nrf2/ARE pathway[J]. Acta Pharmacol Sin, 2019, 40(1):13-25
- 6 Yang Y, Li X, Zhang L, et al. Ginsenoside Rg1 suppressed inflammation and neuron apoptosis by activating PPAR $\gamma$ /HO-1 in hippocampus in rat model of cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(3):2484-2494
- 7 Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1):84-91
- 8 郑晓宇,宋文婷,张业昊,等.黄芩苷通过抑制星形胶质细胞肿胀并抑制 TRPV4 和 AQP4 的通道开放治疗大鼠脑缺血再灌注所致脑水肿[J].中国药理学与毒理学杂志,2021,35(10):757-758
- 9 刘月阳,高永峰,杨静玉,等.拟人参皂苷-F11 对大鼠血栓栓塞性脑卒中的防治作用及血栓性炎症相关调控机制[J].中国药理学与毒理学杂志,2021,35(10):792-793
- 10 Zheng TY, Jiang H, Jin RH, et al. Ginsenoside Rg1 attenuates protein aggregation and inflammatory response following cerebral ischemia and reperfusion injury[J]. European Journal of Pharmacology, 2019, 853:65-73
- 11 Li Y, Guan Y, Wang Y, et al. Neuroprotective effect of the ginsenoside Rg1 on cerebral ischemic injury in vivo and in vitro is mediated by PPAR $\gamma$ -regulated antioxidative and anti-

inflammatory pathways[J].Evid Based Complement Alternat Med, 2017,2017:7842082

12 Wang MH, Chen ZL, Yang L, et al.A protects against inflammation, oxidative stress and apoptosis in cerebral ischemia-reperfusion injury by alleviating endoplasmic reticulum stress[J]. Inflammation,2021,44(3):934-945

13 Sun CQ, Fukushi Yasuko, Wang Y, et al.Astrocytes protect neurons in the hippocampal CA3 against ischemia by suppressing the intracellular Ca<sup>2+</sup> overload[J].Frontiers in Cellular Neuroscience,2018

14 Ruslan Medzhitov, Paula Preston-Hurlburt, Charles A Janeway. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity[J].Nature:International weekly journal of science,1997,388(6640):394-397

15 Mitchell J, Kim SJ, Seelmann A, et al.Src family kinase tyrosine phosphorylates Toll-like receptor 4 to dissociate MyD88 and Mal/ Tirap, suppressing LPS-induced inflammatory responses[J].Biochem

Pharmacol,2018,147:119-127

16 Arumugam TV, Okun E, Tang SC, et al.Toll-like receptors in ischemia-reperfusion injury[J].Shock,2009,32:4-16

17 Guo S, Nighot M, Al-Sadi R, et al.Lipopolysaccharide regulation of intestinal tight junction permeability is mediated by TLR4 signal transduction pathway activation of FAK and MyD88[J].J Immunol,2015,195(10):4999-5010

18 Chen X, Yao Z, Peng X, et al.Eupafolin alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury in rats via blocking the TLR4/NF-κB signaling pathway[J].Mol Med Rep,2020,22(6):5135-5144

19 韦敏,李波,王跃峰,等. 龙胆苦苷通过抑制 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路减轻小鼠急性肝损伤的作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021,27(22):76-83

20 吕鹏,露娜,徐长荣. 雷帕霉素减轻大鼠脑缺血再灌注损伤与 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路相关性 [J]. 解剖科学进展,2019,25(2):200-203

(收稿:2022-01-22)

医学论文书写中的有关规定

小数点前或后若超过 4 位数字时,实行三位分节法(用半个阿拉伯数字符的小间隔分开),如“1,605.794,3”应写成“1 605.764 3”,但年份、页数、部队番号、仪表型号、标准号等不用三位分节法。

参考文献按引用的先后顺序排列于文末,并于文内引用处以方角码注明。论著稿一般在 10 条以内,综述稿 10 条以内。参考文献中的作者,1~3 名者全部列出,3 名以上者只列前 3 名,后加“,等”。系列期刊和系列丛书的总名与分册名之间,用居中圆点分开。

引用期刊文献的书写格式:作者. 文题. 杂志名称,年,卷(期):页数

引用书籍文献的书写格式:作者. 书名. 版次. 出版地:出版社,年:起止页

英文摘要请用复印纸,用打字机或打印机打出,打印字迹一定要清晰可辨,行距为 2 行,纸面的左右两侧各留出 2 cm 空白。摘要正文不必分自然段。具体要求:①文题 应力求简练,一般不作缩略语。文题内第一个字母大写。②作者姓名 最多列出 3 名作者姓名,用汉语拼音拼写,姓在前,名在后,姓和名的第一个字的第一个字母大写。如姓名为两个字,则两个字的第一个字母均大写。如作者为 3 个以上,在第 3 位作者后加“,等”(et al)。③作者工作单位 科室在前,医院在后,最后是市(或县)名和邮政编码。专用名词,如医院名称和地名用汉语拼音拼写。④摘要正文 以第 3 人称书写,内容应包括以下四个要素:目的(Objective);方法(Methods);结果(Results);结论(Conclusion)。内容应与中文摘要一致,尽量不用或少用缩略语,一定要用的,对专业性强的名词在正文中首次出现时先写出英文全称,后加括号写出缩略语。⑤摘要下需列出关键词(Key words)未按以上要求书写的英文摘要,以及字迹不清、打印过于密集、严重缺项以致审稿人员难以弥补或修改,或内容与中文摘要严重脱节的英文摘要,本刊将退回作者重新书写。