

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research败酱总黄酮调节 RhoA/ROCK 通路对
缺血性脑卒中大鼠神经保护的研究Research on the neuroprotective effect of total flavonoids of *Patrinia scabra* on rats
with ischemic stroke by regulating the RhoA/ROCK pathway聂群成¹, 贾晓彤¹, 刘鹏飞²

(1. 济源职业技术学院, 河南 济源 459000,
2. 济源市人民医院 神经外科, 河南 济源
459000)

NIE Qun - cheng¹, JIA Xiao - tong¹,
LIU Peng - fei²

(1. Jiyuan Polytechnic, Jiyuan 459000,
Henan Province, China; 2. Department
of Neurosurgery, Jiyuan People's
Hospital, Jiyuan 459000, Henan
Province, China)

基金项目: 济源市科技发展计划基金资助项目
(20023004)

作者简介: 聂群成(1990 -), 男, 讲师, 主要从
事中西医结合康复治疗方面的研究

通信作者: 刘鹏飞, 主治医师

MP: 13507676242

E - mail: 630609698@qq.com

摘要:目的 研究败酱总黄酮调节大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(Ras)同源基因家族成员(Rho)A/Rho相关激酶(ROCK)信号通路对缺血性脑卒中(IS)大鼠的神经保护作用的影响。方法 通过线栓法建立IS大鼠模型,并随机分为B组(IS)、C组(败酱总黄酮低剂量)、D组(败酱总黄酮高剂量)、E组(阳性药组)、F组(败酱总黄酮高剂量+U-46619F),并以不插入缝合线的大鼠为A组(假手术),A、B组均以生理盐水灌胃及腹腔注射;C组以 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 败酱总黄酮灌胃;D组以 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 败酱总黄酮灌胃;E组以 $1.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的尼莫地平腹腔注射;F组以灌胃 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 败酱总黄酮,同时以 $30\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ U-46619腹腔注射;各组均每天1次,连续2周。干预结束后,用改良神经功能缺损(mNSS)评分评估神经损伤;用氯化三苯基四氮唑染色(TTC)法检测脑梗死面积比;分离脑组织,用苏木精-伊红法检测病理学变化;用免疫组化法检测神经生长因子(NGF)表达;用末端脱氧核苷酸转移酶介导的dUTP缺口末端标记法(TUNEL)检测纹状体多巴胺能神经元凋亡变化;用蛋白质印迹法检测Bcl-2相关X蛋白(Bax)、RhoA、ROCK、B细胞淋巴瘤因子2(Bcl-2)蛋白表达。结果 A、B、D、E及F组神经损伤评分分别为 (0.15 ± 0) 、 (11.24 ± 1.26) 、 (4.06 ± 0.42) 、 (3.52 ± 0.38) 及 (7.18 ± 0.73) 分;梗死面积比 $(0\pm 0)\%$ 、 $(27.86\pm 2.81)\%$ 、 $(11.57\pm 1.27)\%$ 、 $(12.07\pm 1.24)\%$ 及 $(18.07\pm 1.88)\%$;NGF表达 34.11 ± 3.51 、 15.86 ± 1.61 、 32.07 ± 3.28 、 32.11 ± 3.32 及 22.87 ± 2.31 ;多巴胺能神经元凋亡 $(6.57\pm 0.68)\%$ 、 $(27.81\pm 2.82)\%$ 、 $(12.75\pm 1.31)\%$ 、 $(12.52\pm 1.27)\%$ 及 $(20.47\pm 2.11)\%$;B组的上述指标与A组比较;C和D组的上述指标与B组比较;F组的上述指标与D组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。结论 败酱总黄酮对IS大鼠具有神经保护作用,其机制可能与激活RhoA/ROCK信号通路有关。

关键词:败酱总黄酮;缺血性脑卒中;Ras同源基因家族成员A/Rho相关激酶信号通路;神经保护

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.21.008

中图分类号:R285.5 文献标志码:A

文章编号:1001-6821(2025)21-3043-06

Abstract: Objective To investigate the effect of total flavonoids from *Patrinia* on neuroprotection in rats with ischemic stroke (IS) by Rat sarcoma virus oncogene homolog (Ras) homolog gene family member (Rho) A/Rho - associated kinase (ROCK) signaling pathway. **Methods** The IS rat model was established by the suture method, and was randomly divided into B group (IS), C group (total senna flavonoids low dose), D group (total senna flavonoids high dose), E group (positive drug), F group (high dose of total senna flavonoids +

U-46619F) and A group (the sham operation), where group A and group B were given intragastric and intraperitoneal injections of normal saline; group C was given $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ total senna flavonoids by intragastric administration; group D was given $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ total senna flavonoids by intragastric administration; group E was given $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ nimodipine by intraperitoneal injection; group F was given intragastric administration of $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ total senna flavonoids and $30 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ U-46619 by intraperitoneal injection; each group was administered once a day for two consecutive weeks. After the intervention, the modified neurological severity (mNSS) score was used to evaluate the nerve injury; the triphenyltetrazolium chloride staining (TTC) was used to detect the ratio of cerebral infarction area; the brain tissue was separated, and hematoxylin-eosin was used for pathological changes; the expression of nerve growth factor (NGF) was detected by immunohistochemistry; the apoptosis changes of striatal dopaminergic neurons were detected by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling method (TUNEL); the relative expression levels of Bcl-2 related X protein (Bax), RhoA, ROCK and B-cell lymphoma factor 2 (Bcl-2) proteins were detected by immunoblotting. **Results** The nerve injury scores for groups A, B, D, E, and F were (0.15 ± 0) , (11.24 ± 1.26) , (4.06 ± 0.42) , (3.52 ± 0.38) and (7.18 ± 0.73) points, respectively; the ratio of infarct area were $(0 \pm 0)\%$, $(27.86 \pm 2.81)\%$, $(11.57 \pm 1.27)\%$, $(12.07 \pm 1.24)\%$ and $(18.07 \pm 1.88)\%$; the relative expression levels of NGF were 34.11 ± 3.51 , 15.86 ± 1.61 , 32.07 ± 3.28 , 32.11 ± 3.32 and 22.87 ± 2.31 ; the apoptosis of dopaminergic neurons were $(6.57 \pm 0.68)\%$, $(27.81 \pm 2.82)\%$, $(12.75 \pm 1.31)\%$, $(12.52 \pm 1.27)\%$ and $(20.47 \pm 2.11)\%$; the aforementioned indicators of group B were compared with those of group A; those of groups C and D were compared with group B; and those of group F were compared with group D, all showing statistically significant differences (all $P < 0.05$). **Conclusion** The total flavonoids of *Cynanchum paniculatum* have neuroprotective effects on IS rats, and the mechanism may be related to the activation of the RhoA/ROCK signaling pathway.

Key words: total flavonoids of *Patrinia scabra*; ischemic stroke; Ras homolog gene family member A/Rho-associated kinase signaling pathway; neuroprotection

中风是由脑血管突然破裂或血液阻塞导致脑组织损伤引起的,包括脑出血和更为常见的脑缺血,可导致严重的神经缺陷^[1]。缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)的临床有效治疗方法是机械取栓、静脉溶栓,但其应用严重受限^[2]。神经保护已成为 IS 患者有效拯救功能性脑损伤的主要方法^[3]。败酱总黄酮是败酱草的主要活性物质,具有活血化瘀、清热解毒的作用,已有研究表明,败酱总黄酮可抑制 IS 大鼠中的炎症因子,减轻大鼠梗死面积,对 IS 大鼠发挥神经保护作用^[4],但其机制尚未完全明确。大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(rat sarcoma virus oncogene homolog, Ras)同源基因家族成员(Ras homolog gene family member, Rho) A/Rho 相关激酶(rho-associated coiled-coil containing protein kinase, ROCK)信号通路 with 多种中枢神经系统疾病相关,并作为 IS 治疗的潜在治疗靶点^[5]。研究表明,抑制 RhoA/ROCK 通路可以促进脑损伤后的神经元恢复,抑制炎症反应并诱导神经元的生长^[6]。但败酱总黄酮对 IS 的神经保护作用是否与 RhoA/ROCK 信号通路有关仍需进一步研究,本研究旨在探讨败酱总黄酮通过调节 RhoA/ROCK 信号通路

对 IS 大鼠的神经保护作用。

材料与方法

1 材料

动物 60 只清洁级 260 ~ 300 g(7 周龄)SD 雄性(为缺血性脑卒中领域的常规研究模型,减少性别差异)大鼠,购自广州明迅生物科技有限责任公司(许可证号:SCXK(粤)2024-0070)。大鼠可随意获得食物和水,在实验之前适时适应环境。实验在 40% ~ 60% 的室内湿度及 22 ~ 24 ℃ 的室温下进行。常规实验操作均按照《实验动物管理条例》^[7]进行,本研究获得济源职业技术学院动物伦理委员会批准(伦理批号:2024-016)。

药品与试剂 败酱草总黄酮,含量,51.76%,批号:ZL20150513,购自江苏省泽朗医药科技有限公司;尼莫地平片,规格:每片 20 mg,批号,140861,批文准号:国药准字 H14022821,购自山西省亚宝药业集团股份有限公司;RhoA 激动剂 U-46619,规格:5 mg,纯度:≥98%,购自湖南省艾美捷科技有限公司;神经生

长因子(nerve growth factor, NGF)、B 细胞淋巴瘤因子 2(B-cell lymphoma 2, Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)、RhoA、ROCK 抗体,均购自英国 Abcam 公司;提取试剂盒,购自江苏省 KeyGEN 公司;3,3'-二氨基联苯胺(3,3'-diaminobenzidine, DAB)显色试剂盒,购自湖北省武汉博士德公司;山羊抗大鼠免疫球蛋白 G(immunoglobulin G, IgG)抗体,购自湖北省 Abbkine 公司;蛋白提取试剂盒,购自浙江省杭州弗德生物科技有限公司;末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记法(Terminal Deoxynucleotidyl Transferase - Mediated dUTP Nick - End Labeling, TUNEL)试剂盒,购自美国 MCE 公司。

仪器 DP80 光学显微镜,日本奥林巴斯产品;RM2016 切片机,上海徕卡仪器公司产品。

2 实验方法

2.1 IS 模型的制备、动物分组及处理

随机选取 50 只大鼠,按照参考文献[8]进行造模,每组各 10 只,其余 10 只大鼠作为 A 组(假手术),假手术组大鼠不插入缝合线,其余操作同 IS 大鼠操作。

将 IS 大鼠随机分为 B 组(IS)、C 组(败酱总黄酮低剂量)、D 组(败酱总黄酮高剂量)、E 组(阳性药组)、F 组(败酱总黄酮高剂量 + U-46619F),术后 24 h 各组开始给药干预,均每天 1 次,连续 2 周。其中 C 组、D 组分别以 100 、 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 败酱总黄酮灌胃^[9];E 组腹腔注射 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的尼莫地平^[10];F 组以灌胃 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 败酱总黄酮,同时以 $30 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ U-46619 腹腔注射^[11];A、B 组分别用生理盐水处理。

2.2 评估神经损伤^[12]

通过改良神经功能缺损(modified neurological severity score, mNSS)评分对大鼠进行神经功能缺损进行评估,其中包括感觉、运动、反射和平衡。评分分数为 0~18 分,分数越高,损伤越严重。

2.3 氯化三苯基四氮唑染色(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride staining, TTC)法检测脑梗死面积比^[13]

每组随机选取 3 只大鼠,用戊巴比妥钠($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)麻醉后分离大脑,冷冻切 2 mm 冠状切片,用 TTC 染色室温避光孵育。正常组织呈红色,梗死组织呈白色。染色后固定拍照,用 Image J 软件计算梗死面积同侧大脑半球总面积比值,表示梗死面积比,取前囟后 -2.0 mm 至 -4.0 mm 的连续脑切片计算平均值。

2.4 苏木精-伊红法检测脑组织病理学变化^[14]

剩余大鼠戊巴比妥钠($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)麻醉后取右脑前半部分,经固定、脱水、透明和石蜡包埋过程后,切 $5 \mu\text{m}$ 切片,脱蜡后苏木精溶液中浸泡,伊红染色 5 min。用乙醇和二甲苯透明,用中性树脂封片,用光学显微镜观察组织变化。

2.5 免疫组化法检测脑组织中 NGF 表达^[15]

取上述组织切片脱蜡、脱水后,3% 过氧化氢去除内源性过氧化物酶活性并进行抗原修复,与 5% 正常山羊血清反应,并在 4°C 下与 NGF (1:500)一起孵育,用磷酸缓冲液冲洗后加二抗(1:1 000)孵育,磷酸缓冲液洗涤 3 次, DAB 显色。用苏木精复染,封片后,随机选取不同切片,统计棕褐色阳性细胞数。

2.6 TUNEL 法检测脑组织细胞凋亡变化^[16]

将石蜡样本切片浸泡在 TUNEL 染色溶液中避光孵育。染色后,脑切片加入 4',6-二脒基-2-苯基吲哚,磷酸缓冲液清洗切片,用光学显微镜观察凋亡细胞,其中凋亡细胞为棕黄色,选取 5 个视野进行计数。

2.7 蛋白印迹法检测脑组织中 RhoA、ROCK、Bcl-2、Bax 和 NGF 蛋白表达^[17]

用提取试剂盒从右侧大脑后半部分组织中提取蛋白质并测定浓度,将蛋白样品分离并转移到膜上,在 20°C 下封闭 2 h 后,将转移的膜与鼠源 RhoA (1:500)、ROCK (1:1 000)、Bcl-2 (1:500)、Bax (1:1 000)、NGF (1:500) 抗体及山羊抗鼠 IgG (1:2 000)在 4°C 下孵育过夜。通过显影液显影,增强化学发光法,用 Image J 分析蛋白质表达。

3 统计学分析

用 SPSS 27.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,单因素方差分析用于多组间比较,以 $snk-q$ 检验进一步两两比较。

结 果

1 败酱总黄酮对各组大鼠一般状况、神经损伤及梗死面积比的影响

A 组大鼠毛发有光泽,活动正常,精神饱满;B 组大鼠毛发蓬松无光泽,活动量不佳,饮食进水明显减少,精神状态较差,易激怒,神经损伤评分显著高于 A 组($P < 0.05$);C、D、E 组大鼠经药物干预后,毛发状态被改善,活动量逐渐增加,饮水进食也

增多,精神状态有所改善,神经损伤评分均显著低于B组(均 $P<0.05$),D、E组神经损伤评分较C组下降更为显著($P<0.05$);F组大鼠整体状况接近C组大鼠,较B组大鼠整体状态有所改善,神经损伤评分显著高于D组($P<0.05$)。梗死面积比的比较显示,与A组相比,B组梗死面积比显著增加($P<0.05$);与B组相比,C、D、E梗死面积比降低,不同剂量的败酱总黄酮组间在统计学上差异有统计学意义($P<0.05$);与D组相比,F组梗死面积比显著增加($P<0.05$),见表1。

2 败酱总黄酮对大鼠脑组织病理学的影响

假手术组的脑组织结构完好无损;IS组大鼠表现细胞皱缩、变性和坏死,细胞数量减少;经败酱总黄酮、尼莫地平干预后,细胞数量有所增加,细胞形态明显改善,以败酱总黄酮-H组、阳性药组改善最为显著;但败酱总黄酮-H联合U-46619共同干预后,病理损伤较败酱总黄酮-H单一治疗,病理损伤加重。

表1 各组大鼠神经损伤评分及梗死面积比的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of nerve injury scores and infarct area ratios among different groups of rats ($\bar{x}\pm s$)

Group	Neurological injury score (points, $n=10$)	Infarction area ratio (%, $n=3$)
A	0.15±0	0
B	11.24±1.26 [*]	27.86±2.81 [*]
C	7.05±0.72 [#]	18.41±1.91 [#]
D	4.06±0.42 ^{#△}	11.57±1.27 ^{#△}
E	3.52±0.38 ^{#△}	12.07±1.24 ^{#△}
F	7.18±0.73 [□]	18.07±1.88 [□]

Group A and Group B were treated with normal saline respectively; Group C and Group D were intragastrically administered with 100 and 200 mg·kg⁻¹ of total sanguisorba flavonoids, respectively; Group E was intraperitoneally injected with 1.0 mg·kg⁻¹ nimodipine; Group F was intragastrically administered with 200 mg·kg⁻¹ of total sanguisorba flavonoids, and simultaneously was intraperitoneally injected with 30 μg·kg⁻¹ U-46619; Compared with group A, ^{*} $P<0.05$; Compared with group B, [#] $P<0.05$; Compared with group C, [△] $P<0.05$; Compared with group D, [□] $P<0.05$.

3 败酱总黄酮对大鼠脑组织 NGF 表达及纹状体多巴胺能神经元凋亡的影响

与A组相比,B组NGF表达降低,纹状体多巴胺能神经元凋亡显著增加($P<0.05$);与B组相比,C、D、E组NGF表达均增加,纹状体多巴胺能神经元凋亡均降低,且不同剂量的败酱总黄酮组间在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);与D组相比,F组NGF表达降低,纹状体多巴胺能神经元凋亡显著增加($P<0.05$),见图1及表2。

4 败酱总黄酮对大鼠脑组织 RhoA、ROCK、Bcl-2、Bax 和 NGF 蛋白表达的影响

与A组相比,B组脑组织RhoA、ROCK、Bax蛋白相对表达水平均显著增加,Bcl-2、NGF相对表达水平均显著降低(均 $P<0.05$);与B组相比,C、D、E组脑组织RhoA、ROCK、Bax蛋白相对表达水平均降低,Bcl-2、NGF相对表达水平均增加,不同剂量的败酱总黄酮组间在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);与D组相比,F组脑组织RhoA、ROCK、Bax蛋白相对表达水平均显著增加,Bcl-2、NGF相对表达水平均显著降低(均 $P<0.05$),见图2及表3。

表2 各组大鼠 NGF 表达及纹状体多巴胺能神经元凋亡比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of NGF expression and apoptosis of dopaminergic neurons in striatum of rats in each group of rats ($\bar{x}\pm s$)

Group	<i>n</i>	Number of NGF-positive cells	Apoptosis rate (%)
A	7	34.11±3.51	6.57±0.68
B	7	15.86±1.61 [*]	27.81±2.82 [*]
C	7	23.07±2.32 [#]	19.72±2.01 [#]
D	7	32.07±3.28 ^{#△}	12.75±1.31 ^{#△}
E	7	32.11±3.32 ^{#△}	12.52±1.27 ^{#△}
F	7	22.87±2.31 [□]	20.47±2.11 [□]

Compared with group A, ^{*} $P<0.05$; Compared with group B, [#] $P<0.05$; Compared with group C, [△] $P<0.05$; Compared with group D, [□] $P<0.05$.

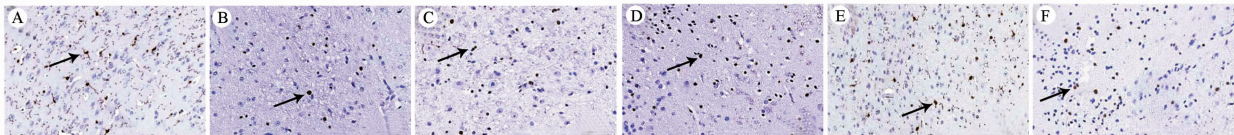


图1 脑组织神经生长因子(NGF)表达变化(免疫组化,×200)

Figure 1 Changes in nerve growth factor (NGF) expression in brain tissue (Immunohistochemistry, ×200)

The arrows indicate the expression of positive cells.

表3 脑组织中同源基因家族成员 A(RhoA)、Rho 相关激酶(ROCK)、B 细胞淋巴瘤因子 2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)和神经生长因子(NGF)蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of protein expression of Ras homolog gene family member(RhoA), rho-associated coiled-coil containing protein kinase(ROCK), B-cell lymphoma 2(Bcl-2), Bcl-2 associated X protein(Bax) and nerve growth factor(NGF) in brain tissue ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	RhoA/ β -actin	ROCK/ β -actin	Bcl-2/ β -actin	Bax/ β -actin	NGF/ β -actin
A	7	0.16 $\pm$ 0.02	0.35 $\pm$ 0.04	1.36 $\pm$ 0.15	0.44 $\pm$ 0.05	1.28 $\pm$ 0.13
B	7	0.75 $\pm$ 0.08 *	1.34 $\pm$ 0.14 *	0.41 $\pm$ 0.05 *	1.62 $\pm$ 0.18 *	0.44 $\pm$ 0.05 *
C	7	0.49 $\pm$ 0.05 #	0.82 $\pm$ 0.09 #	0.72 $\pm$ 0.09 #	1.11 $\pm$ 0.13 #	0.68 $\pm$ 0.07 #
D	7	0.23 $\pm$ 0.03 # Δ	0.51 $\pm$ 0.06 # Δ	1.24 $\pm$ 0.14 # Δ	0.62 $\pm$ 0.08 # Δ	0.97 $\pm$ 0.10 # Δ
E	7	0.22 $\pm$ 0.03 # Δ	0.44 $\pm$ 0.05 # Δ	1.29 $\pm$ 0.14 # Δ	0.59 $\pm$ 0.07 # Δ	1.02 $\pm$ 0.11 # Δ
F	7	0.42 $\pm$ 0.05 $\square$	0.79 $\pm$ 0.08 $\square$	0.68 $\pm$ 0.08 $\square$	1.06 $\pm$ 0.11 $\square$	0.72 $\pm$ 0.08 $\square$

Compared with group A, * $P < 0.05$; Compared with group B, # $P < 0.05$; Compared with group C, $\Delta P < 0.05$; Compared with group D, $\square P < 0.05$.

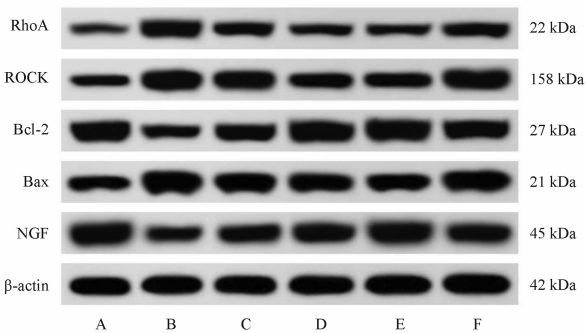


图2 用蛋白质印迹法检测脑组织中 RhoA、ROCK、Bcl-2、Bax 和 NGF 蛋白相对表达水平

Figure 2 Relative expression levels of RhoA, ROCK, Bcl-2, Bax and NGF proteins in brain tissue detected by Western blot

讨 论

IS 是血管内血栓形成、动脉狭窄或栓塞造成的，致死率、发病率、致残率和复发率均较高^[18]。有效的神经保护被认为是治疗中风的有效方法，并对中风患者的功能恢复至关重要，但目前该类药物仍需进一步研究^[19]，因此可开发此类药物用于治疗中风。

败酱草作为一种具有清热解毒功效的中药，在中国已有数千年的使用历史，临床上具有重要的药用价值，广泛用于治疗腹泻、急性肝炎、溃疡性结肠炎和风湿性关节炎等^[20]。败酱总黄酮是败酱草的主要活性成分，有助于减少脑缺血中的细胞凋亡，促进受损的神经功能恢复，减轻神经元受损^[21-22]。本研究发现，线栓法成功建立 IS 大鼠模型。NGF 作为神经营养因子，对神经元的生长发育以及神经细胞损伤后具有保护和修复作用^[23]。但经败酱总黄酮干预后，鼠神经损伤得到缓解，脑组织病理损伤得到缓解，表明败酱总黄酮对 IS 大鼠具有神经保护作用。

RhoA 属于 Rho GTP 酶家族，ROCK 是 RhoA 的下游效应子，研究表明，RhoA/ROCK 通路的上调参与了 IS 的病理过程，抑制该通路可显著减轻脑缺血再灌注诱导的神经元损伤^[24]。此外，法舒地尔抑制 ROCK 表达阻止了缺血诱导的脑组织神经元凋亡，对缺血性脑损伤发挥神经保护作用^[25]。本研究显示，上调 RhoA/ROCK 通路参与 IS 的神经元损伤。但经败酱总黄酮干预后，抑制了 RhoA、ROCK 表达，减轻了 IS 神经受损。实验以 U-46619 激活 RhoA/ROCK 通路，逆转了败酱总黄酮对 IS 大鼠神经保护作用，表明败酱总黄酮通过抑制 RhoA/ROCK 通路对 IS 大鼠发挥神经保护作用。本研究发现，败酱总黄酮可通过调控 RhoA/ROCK 通路发挥神经保护作用，减轻 IS 大鼠的神经元凋亡及病理损伤，但未检测炎症因子与氧化应激指标，而抑制 RhoA/ROCK 通路可减轻脑卒中大鼠神经炎症、氧化应激，改善神经功能障碍^[26-27]。鉴于败酱总黄酮作为天然小分子化合物本身具备抗炎、抗氧化等药理活性，推测其可能通过调节 RhoA/ROCK 通路干预 IS 介导的氧化应激炎症反应，这与依达拉奉单一抗氧化机制存在区别。

本研究提示：败酱总黄酮调节 RhoA/ROCK 信号通路减轻 IS 大鼠细胞凋亡及病理受损，对脑组织神经损伤发挥保护作用，本研究虽明确上述效应，却存在机制细节尚未揭示：如抑制 RhoA 的 GDP-GTP 活化过程进而减少 ROCK 的转录表达还是通过上游调控因子间接起效，需通过体外实验进一步验证。

参考文献：

[1] SUN X, PAN Y, LUO Y, *et al.* Naoxinqing tablet protects against cerebral ischemic/reperfusion injury by regulating ampk α /NAMPT/SIRT1/PGC-1 α pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 322 (1) : 117672—117681.

[2] XIONG Y, WAKHLOO A K, FISHER M. Advances in acute

- ischemic stroke therapy[J]. *Circ Res*, 2022, 130(8): 1230—1251.
- [3] ZHAO Y, ZHANG X, CHEN X, *et al.* Neuronal injuries in cerebral infarction and ischemic stroke: From mechanisms to treatment (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2022, 49(2): 15—23.
- [4] 魏珍珍, 方晓艳, 王灿, 等. 败酱总黄酮对局灶性脑缺血再灌注大鼠的神经保护作用及炎症因子的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2019, 30(4): 396—402.
- [5] PINOȘANU E A, PCÎRȘCOVEANU D, ALBU C V, *et al.* RhoA/ROCK, mTOR and secretome - based treatments for ischemic stroke: New perspectives [J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2024, (4): 3484—3501.
- [6] LU W, CHEN Z, WEN J. The role of RhoA/ROCK pathway in the ischemic stroke - induced neuroinflammation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 165(1): 115141—115150.
- [7] 马岩. 实验动物管理条例[J]. *畜牧兽医科技信息*, 2003, 19(9): 29—30.
- [8] 李亚琴, 任维, 罗钢, 等. 蛭龙活血通瘀胶囊对缺血性脑卒中模型大鼠的作用及对脑皮层神经元线粒体的影响[J]. *中药药理与临床*, 2021, 37(5): 119—124.
- [9] 王灿, 张思森, 苗明三, 等. 基于 Notch1/NF- κ B 信号轴探讨败酱草总黄酮对大鼠脑缺血耐受模型炎症级联反应的影响[J]. *中药药理与临床*, 2023, 39(8): 67—71.
- [10] 于心洋, 刘云平, 张贺齐, 等. 水蛭素对缺血性脑卒中大鼠微血管新生及 HIF-VEGF-Notch 通路的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2022, 20(16): 2925—2929.
- [11] 张秀峰, 李小菲, 刘明, 等. 杜仲叶总黄酮通过 RhoA/ROCK 信号通路参与脑出血大鼠神经功能修复[J]. *天津医药*, 2023, 51(3): 252—258.
- [12] FAN X, LIN F, CHEN Y, *et al.* Luteolin - 7 - O - β - d - glucuronide ameliorates cerebral ischemic injury: Involvement of RIP3/MLKL signaling pathway [J]. *Molecules*, 2024, 29(7): 1665—1680.
- [13] 张杨, 严寒, 梁永. 补阳还五汤对缺血性脑卒中大鼠认知功能的影响[J]. *中成药*, 2023, 45(4): 1309—1314.
- [14] 李琬, 刘炳周, 鞠建明, 等. 中风瘀热方对缺血性脑卒中模型大鼠的干预作用及机制 [J]. *中国药房*, 2023, 34(13): 1601—1605.
- [15] 张贤, 张保, 柏中喜, 等. 经颅直流电刺激联合穴位针刺对脑梗死大鼠学习记忆能力, 神经细胞自噬及脑组织 BDNF, NGF 表达的影响[J]. *中国康复*, 2025, 40(5): 259—264.
- [16] 穆克达斯·阿布力提甫, 古丽班努, 亚森江·买买提. 绿茶提取物介导 Rho/ROCK 通路缓解脑梗死大鼠脑组织损伤的实验研究 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2023, 21(5): 846—854.
- [17] 丁迪卿, 李菁, 彭生, 等. 利多卡因调节 RhoA/ROCK 信号通路对缺血性脑卒中大鼠的神经保护作用[J]. *解剖学研究*, 2024, 46(5): 456—461.
- [18] 陈明惠, 严苗艺, 陈颖, 等. 葛根异黄酮抗缺血性脑卒中作用机制的研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2022, 38(21): 2591—2595.
- [19] GUO X H, PANG L, GAO C Y, *et al.* Lyoniresinol attenuates cerebral ischemic stroke injury in MCAO rat based on oxidative stress suppression via regulation of Akt/GSK-3 β /Nrf2 signaling [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 167(1): 115543—115551.
- [20] GONG L, ZOU W, ZHENG K, *et al.* The herba patriniae (caprifoliaceae): A review on traditional uses, phytochemistry, pharmacology and quality control [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 265(1): 113264—113299.
- [21] 扎西吉, 张赞, 马凤美, 等. 基于 PKC/ERK 通路探讨败酱总黄酮对缺氧缺血性脑病新生大鼠神经元凋亡的影响[J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2023, 43(6): 786—794.
- [22] 王灿, 苗明三, 白莉. 基于抗氧化作用探讨败酱草总黄酮对脑缺血耐受模型的保护作用[J]. *中药药理与临床*, 2021, 37(1): 101—105.
- [23] 刘燕, 王陈妮, 兰崴, 等. 通督调神针刺对脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能及 VEGF, NGF, MBP 表达的影响[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2022, 28(2): 218—223.
- [24] CHEN Y, CHEN S, WU M, *et al.* Hydrogen sulfide protects against rat ischemic brain injury by promoting RhoA phosphorylation at serine 188 [J]. *ACS Omega*, 2024, 9(11): 13227—13238.
- [25] KIMURA T, HORIKOSHI Y, KURIYAGAWA C, *et al.* Rho/ROCK pathway and noncoding RNAs: Implications in ischemic stroke and spinal cord injury [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21): 11573—11588.
- [26] 王月, 邵月, 权兴苗, 等. 益气升清方调节 RhoA/ROCK 信号通路对脑卒中大鼠血脑屏障和神经炎症的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2024, 44(17): 4266—4270.
- [27] 单海雷, 焦光美, 程曦, 等. 大豆异黄酮基于 RhoA/ROCK2 信号通路改善 MCAO 大鼠神经功能损伤[J]. *现代生物医学进展*, 2020, 20(17): 3233—3238. (收稿日期 2025-06-10)