

丹参酮IIA治疗缺血性脑卒中后神经损伤的信号通路研究进展

秦文秀^{1,2,3}, 许军峰^{1,2}, 杨婷^{1,2,3}, 王坪霏^{1,2,3}

¹天津中医药大学第一附属医院, 天津 300381;

²国家中医针灸临床医学研究中心, 天津 300381;

³天津中医药大学, 天津 301617

摘要 丹参酮IIA是传统中药丹参发挥药理作用的主要活性成分之一,经现代研究证实具有抗缺血性脑卒中后神经损伤作用。本文通过检索文献,梳理近年来丹参酮IIA作用于缺血性脑卒中后神经损伤的信号通路及其作用机制,发现丹参酮IIA可通过调控PI3K/Akt/mTOR、Nrf2、NF- κ B、NLRP3、MAPK等多条信号通路,抑制IL-6、IL-8、TNF- α 等关键炎症因子的活性和释放、上调神经元特异性结构蛋白表达、抑制星形胶质细胞活化和增殖,发挥抗神经炎症、氧化应激、神经元凋亡等作用,从而减轻缺血性脑卒中后神经细胞的损伤,显示出多靶点、多途径、多层次和交互性的机制特点。基于此,本文对丹参酮IIA干预上述信号通路对缺血性脑卒中后的神经保护机制进行了简要综述,以期对丹参酮IIA的临床应用和药物研发提供参考。

关键词 丹参酮IIA; 中药; 缺血性脑卒中; 神经; 信号通路

中图分类号: R743.32

文献标志码: A

文章编号: 1009-2501(2023)06-0705-09

doi: 10.12092/j.issn.1009-2501.2023.06.014

2023-01-20 收稿 2023-05-08 修回

天津中医药大学天津市教委科研计划项目(2022ZD045)

秦文秀,女,硕士研究生,研究方向:脑血管病及神经系统疾病。

E-mail: 1139705105@qq.com

许军峰,通信作者,女,博士,主任医师,研究方向:脑血管病及神经系统疾病。

E-mail: 239498173@qq.com

脑卒中是全球人口第二大死因,也是第六大最常见的致残原因^[1]。目前的研究表明,缺血后脑损伤是由一系列复杂的病理生理级联反应引起的,包括氧化应激、炎症、兴奋性毒性、凋亡、自噬和线粒体能量代谢障碍等^[2-4]。这些因素发生在不同的时间点,相互影响导致神经元损伤。神经元缺血损伤后刺激谷氨酸释放,使N-甲基-D-天冬氨酸受体被过度激活,大量的Ca²⁺顺势进入细胞内激活一系列Ca²⁺依赖性酶,细胞内的DNA和蛋白质因水解过度,最终导致神经元因兴奋性毒性而死亡^[5],不断加重缺血后脑组织损伤,形成恶性循环,若不及时干预,则会产生不可逆转的神经功能障碍。目前对于缺血性脑卒中的治疗,仍以溶栓和抗凝为主,以重建脑内血液循环,延缓病情进展,但是这些药物的功效仍受限于较多不良反应,难以达到较好改善神经功能缺损及提高生活质量的目的^[6-9]。

丹参是我国的传统中药,为唇形科植物丹参的干燥根和根茎,味苦,微寒。有良好的活血化瘀功效,临床上广泛用于治疗心脑血管疾病如脑梗死、冠心病、心绞痛等^[10]。虽然研究者根据病因将缺血性脑卒中分为大血管动脉粥样硬化性梗死、心源性梗死、小血管闭塞性梗死、其他确切原因梗死和不明原因梗死五种^[11]。但作为丹参的主要脂溶性成分之一,丹参酮IIA(Tanshinone IIA)具有抗氧化和清除自由基等多种药理作用,可通过抑制细胞凋亡、炎症因子激活、趋化因子表达和小胶质细胞活化来逆转缺血性脑损伤后的氧化应激反应及血脑屏障功能障碍,缩小脑梗死体积,减轻脑水肿和神经功能缺损程度^[12-13]。

在临床中及时并合理应用 TanshinoneIIA 能有效改善各型缺血性脑卒中患者的临床症状,减少并发症及后遗症,使患者尽早回归正常社会生活。本文就近年来国内外 TanshinoneIIA 通过不同信号通路治疗缺血性脑卒中后神经损伤的机制研究进展作进行简要综述,为丹参酮类药物制剂的进一步研究以及临床应用提供理论参考。

1 Nrf2 信号通路

Nrf2 是一种主要的内源性抗氧化防御调节剂,也是一种介导活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生并维持氧化还原稳态所必需的转录因子^[14]。正常静息状态下,Nrf2 可以与其抑制因子偶联,使细胞的抗氧化能力处于稳态水平。而在氧化应激或炎症反应下,Nrf2 被 Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) 释放并转运到细胞核中^[15],与 ARE 序列结合并启动下游内源性保护基因和 II 期解毒酶(例如人血红素氧化酶和醌氧化还原酶)的转录,调节抗氧化酶表达,对神经元起到保护作用^[16-18]。在当前的研究中发现,在大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型中 Nrf2 信号通路的关键蛋白表达明显增加以对抗脑缺血引起的脑组织损伤。因此 Nrf2 信号通路被认为是关键的细胞防御通路,该通路的激活可有效减轻缺血性脑损伤^[19]。

Miao 等^[20]采用葛根素和 TanshinoneIIA 联合干预 MCAO 大鼠模型,发现干预后细胞核中的 Nrf2 显著表达,细胞质中的表达减少,细胞总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)和过氧化氢酶(catalase、CAT、SOD 和 GSH)活性增加,GSSG 活性和脂质过氧化物(malonydialdehyde, MDA)、TNF- α 、IL-6、ICAM-1 及 COX-2 的水平降低,并能限制炎症反应,减轻氧化应激,从而改善大鼠的神经功能。

Cai 等^[21]发现 TanshinoneIIA 能够上调核提取物中 Nrf2-mRNA 的表达和 Nrf2 蛋白的含量。经活化的 Nrf2 能增加抗氧化酶的含量并减少氧化产物的产生,有效提高了小鼠神经功能评分,减少了细胞凋亡与梗死体积。反之,Nrf2 基因敲除可消除 TanshinoneIIA 的抗氧化和神经保护作用。这说明 TanshinoneIIA 是通过激活 Nrf2 信号通路发挥抗氧化作用,以达到对缺血性脑卒中后的神

经保护。

Zhu 等^[22]发现 TanshinoneII 能激活 Keap1-Nrf2/ARE 信号通路,上调下游的 NQO1 和 HO-1 因子,抑制细胞 ROS 产生和线粒体膜电位改变,促进神经细胞增殖,从而改善模型大鼠神经损伤。

2 NF- κ B 信号通路

NF- κ B 是一种重要的转录调控因子,包括 NF- κ B1 (p50), NF- κ B2 (p52), RelA (p65), RelB 等^[23]。NF- κ B 是介导多种生理和病理活动的经典信号转导通路,在正常情况下,NF- κ B 处于抑制状态并以其抑制蛋白(inhibitory protein κ B)I κ B 的复合物中的二聚体形式存在于细胞质中。脑缺血损伤后,细胞受到炎症和氧化应激等因素的刺激,I κ B 蛋白被磷酸化降解,导致 NF- κ B 二聚体激活。活化的 NF- κ B 迁移至细胞核并发挥其转录调控作用,诱导相关炎症因子的转录合成和表达,加重脑损伤程度^[24]。Howard 等^[25]已证实,活化的 NF- κ B 进入细胞核结合靶序列促进 IL-6、IL-8、TNF- α 、ICAM-1 等炎症细胞因子表达,导致局部内皮细胞向血栓前状态转化,破坏血脑屏障,加重神经细胞损伤和组织水肿。

研究表明建立脑缺血再灌注损伤细胞模型后,NF- κ B 蛋白的核转运增加,并随着细胞内和细胞外高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group protein 1, HMGB1) 的表达而显著增加。Tang 等^[26]发现 TanshinoneIIA 能降低 HMGB1 的过表达,并降低细胞核中 NF- κ B 蛋白以及细胞质和细胞外培养基中 IL-6 蛋白的水平。TanshinoneIIA 通过阻断 HMGB1/RAGE/NF- κ B/IL-6 促炎通路,降低炎症细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 水平,从而降低质膜中水通道蛋白 AQP4 的表达,抑制损伤后星形胶质细胞的活化和增殖,减轻中枢神经系统炎症反应,最终缓解缺血和缺氧引起的神经元损伤。

Song 等^[27]发现 TanshinoneIIA 能抑制 NF- κ B 信号通路相关蛋白的表达水平,下调 BV2 细胞中 p-I κ B 和 p-p65 蛋白的表达水平,减少 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的释放,下调 M1 小胶质细胞并上调 M2 小胶质细胞。此外,BAY-11-7082 (一种 NF- κ B 抑制剂)可逆转上述过程,反证了 TanshinoneIIA 能通过 NF- κ B 信号通路调节小胶质细胞从 M1 向 M2 的极化,发挥抗炎作用,显著减轻 MCAO 大鼠神

神经元损伤。

ICAM-1 是一种主要表达于血管内皮细胞细胞黏附分子,脑缺血再灌注发生时,ICAM-1 的数量和功能明显上调,细胞粘附性增强^[28],导致微循环通道阻塞,组织的血液供应受限。Ye 等^[29]发现,经冰片修饰的 TanshinoneIIA 脂质体 (BO-TA-Lip) 在脑缺血再灌注大鼠中能调控 NF- κ B 通路,显著降低脑组织中 ICAM-1 的表达,从而阻断缺血早期白细胞和内皮细胞的粘附过程,改善微循环流动及周围神经损伤状态。

Fang 等^[30]对缺氧缺血性新生小鼠采用 TanshinoneIIA 干预后,发现 TanshinoneIIA 能够通过抑制 NF- κ B 信号,使细胞凋亡前蛋白 caspase-3、caspase-9 和 p53 的表达水平下调, bcl-2 抗凋亡蛋白的表达上调,并能降低炎症细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 、c-x-c 基序趋化因子 10 (CXCL10) 和趋化因子 12 (CXCL12) 的产生,达到抑制细胞凋亡、控制炎症的作用。同时, TanshinoneIIA 降低了神经元中 toll 样受体-4 (tlr-4) 的表达,进一步抑制了神经炎症性细胞因子的产生和氧化应激,对小鼠梗塞区域受损神经元有显著保护作用。

3 PI3K/Akt/mTOR 信号通路

PI3K/AKT 信号通路是调节细胞活化、炎症反应和细胞凋亡的重要通路,在保护脑缺血再灌注损伤中起重要作用^[31]。Akt 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是 PI3K 下游必不可少的信号靶标^[32-33]。PI3K 激活导致质膜上 PIP3 的形成,引起 Akt 的构象变化并转移到细胞膜,暴露其两个主要的磷酸化位点 Thr308 和 Ser473,继而 PDK1 磷酸化 Thr308, PDK2 磷酸化 Ser473,导致 Akt 完全激活^[34]。mTOR 是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,也是 PI3K/AKT 信号通路的下游分子, mTOR 的激活有助于抑制缺血再灌注损伤后的炎症反应,防止缺血再灌注损伤。通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路上调脑组织 PI3K、p-Akt、p-mTOR 的表达,显著缩小 MCAO 大鼠脑梗死面积,减轻脑组织病理变化和神经损伤^[35]。

Wang 等^[36]发现,经 TanshinoneIIA 干预 MCAO 小鼠模型后, PI3K/Akt/mTOR 信号通路被激活,显著降低了炎症反应相关基因的表达,包括 COX-2, IL-1 β , PGE2 和 MCP-1,增加了神经元的活力,恢复

了小鼠脑功能活动。还发现 TanshinoneIIA 能促使神经元葡萄糖转运蛋白过表达,对炎症抑制效果更为明显,这种反馈调节有助于神经元加快恢复。

Zhu 等^[37]通过对海马神经元细胞 HT-22 培养物进行氧葡萄糖剥夺后再灌注,建立脑缺血体外模型,经干预后发现, TanshinoneIIA 能通过激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路抑制缺血再灌注介导的 HT-22 细胞死亡和自噬,降低 ROS 水平,并增加细胞活力。

4 MAPK 信号通路

MAPK 是信号从细胞表面传导到细胞核内部的重要传递者,是细胞生理学和免疫反应的关键调节因子。MAPK 将信号从细胞质传递到细胞核,并激活各种生物反应,如细胞增殖、分化、凋亡、氧化应激、炎症和先天免疫等^[38]。细胞外刺激通过自身磷酸化激活细胞膜上的 MAPK 并将其转移到细胞核中,与转录因子相互作用,上调靶基因的表达或作用于细胞质中的下游激酶,调节细胞活性^[39]。大量实验表明, MAPK 通路在缺血性脑损伤的发生和发展中起着重要作用^[40]。MAPK 通路特异性抑制剂的应用能有效减少磷酸化 MAPK3 的表达,增加缺血区域的细胞数量,参与缺血后神经元的保护,在脑缺血再灌注中发挥调节作用。

p44/42 信号通路是 MAPK 信号通路的成员。Zhao 等^[41]发现 TanshinoneIIA 剂量依赖性促进神经元分化,诱导神经保护的 TanshinoneIIA 最低浓度为 0.1 ~ 10 μ m。具体机制是 TanshinoneIIA 可能激活 MAPK42/44,增加脑源性神经营养因子 (brain derived neurotrophic factor, BDNF) 和神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 的表达及后期的分化。他们发现 BDNF 和 NGF 受体的拮抗剂 (K252a) 可以部分消除 TanshinoneIIA 的分化作用。反过来,升高的 NGF 和 BDNF 激活其受体,然后募集并激活 MAPK42/44 和 CREB。因此可知,经 TanshinoneIIA 干预后,可通过 MAPK42/44 途径的正反馈和级联反应诱导神经元分化,减轻缺血后神经损伤。

p38 蛋白激酶 (p38MAPK) 是 MAPK 的 4 个亚族之一。p38MAPK 在脑缺血后被激活,并在缺血

性损伤期间的炎症和凋亡中起重要作用。脑缺血后小胶质细胞中磷酸化的 p38MAPK 水平升高, 激活的 p38MAPK 介导促炎性细胞因子释放及小胶质细胞激活^[42]。Liu 等^[43]的实验结果表明 TanshinoneIIA 能显著抑制 p38MAPK 磷酸化及其 mRNA 表达, 减少与卒中相关的促炎细胞因子 TNF- α 、IL-1b 和 IL-6 分泌, 达到改善大鼠神经功能和缩小梗死体积的效用。

5 NLRP3 信号通路

NLRP3 炎症小体(一种多蛋白胞质复合物)是 NOD 样受体(NLRs)家族中的一员, 其他成员包括包括 NLRP1, NLRP2, NLRC4, NLRC5 等。Trx1 和 TXNIP 是参与激活 NLRP3 炎症小体的两种调节蛋白。在正常条件下, TXNIP 作为氧化还原相关的蛋白质复合物与 Trx1 结合, NLRP3 炎症小体由于缺乏可结合的 TXNIP 而保持无活性状态。在脑卒中氧化应激条件下, ROS 诱导 Trx1/TXNIP 解离, NLRP3 炎症小体被解离的 TXNIP 激活^[44], 然后通过 NLRP3 信号通路激活 caspase-1, 释放炎症因子 IL-1 β 、IL-18, 诱导细胞凋亡和炎症发生, 引起神经元损伤^[45]。许多临床和实验研究已经证明 NLRP3 炎症小体在缺血性脑卒中中起着关键作用^[46]。

蔡琳等^[47]发现, BV2 细胞在脑缺血再灌注损伤后, 细胞内 NLRP3 和 Caspase-1 以及下游炎症因子 IL-1 β 和 IL-18 的表达高于对照组, 说明在脑缺血再灌注损伤过程中, NLRP3 炎症体信号通路被激活, 这之前 NLRP3 参与小鼠脑缺血再灌注损伤过程的报道相符。该研究发现, TanshinoneIIA 能够有效抑制再灌注损伤 3 h 后 BV2 细胞内 NLRP3 的表达, 同时降低 IL-1 β 及 IL-18 的表达, 从而减轻小胶质细胞 BV2 损伤。除此之外, 该实验结果显示其抑制程度随着 TanshinoneIIA 浓度的升高而增强。

6 Nogo-A/NgR1/RhoA/ROCKII/MLC 信号通路

脑缺血后中枢神经系统自我修复程度有限, 关键因素是由于缺血损伤后轴突生长抑制剂的表达增加, 轴突难以再生^[48]。神经突生长抑制剂-A(Nogo-A)是一种轴突生长抑制蛋白, 它与受

体 Nogo 受体 1(NgR1) 结合, 触发下游 RhoA/ROCKII/MLC 信号通路, 阻碍神经修复和再生^[49]。

Wang 等^[50]发现 TanshinoneIIA 可明显减弱 Nogo-A, NgR1, RhoA, ROCKII 和 p-mlc 的表达, 抑制该信号通路的激活, 并上调 NF200 和 GAP-43 的表达, 促进缺血性卒中后轴突再生。提高大鼠的存活率, 减轻神经元损伤, 降低神经功能评分。其中, NF200 是一种神经元特异性结构蛋白, 主要反映神经元轴突的形态变化以及轴突的生长或修复状态, 已被用作评估中枢神经元轴突再生的标志物^[51]。GAP-43 是一种膜相关的磷酸化蛋白, 脑缺血损伤后, GAP-43 主要集中在生长锥末端和突触前末端, 在轴突生长和突触形成过程中高水平表达。所以他们的上调程度可以反映神经元恢复情况。

7 Caspases 信号通路

细胞内蛋白被半胱氨酸依赖性天冬氨酸定向蛋白酶(caspases)家族降解。胱天蛋白酶是细胞凋亡的中央调节剂, 在体内和体外在缺血诱导的细胞毒性中起关键作用^[52]。半胱天冬酶按其功能分为引发剂半胱天冬酶(如 caspase-8)和效应剂半胱天冬酶(如 caspase-3)。Caspase-3 可以通过两个不同的途径被上游 caspase-8 激活, 即死亡受体介导的外在 caspase-8 途径或线粒体依赖性细胞色素 c/caspase-9 内在途径^[53]。Caspase-3 在缺血脑组织中明显上调和激活, 并且 caspase-3 的遗传缺失或药理学抑制会导致缺血性脑组织神经元死亡减少。

Zhou 等^[54]的发现与上述报道相似, 在大鼠接受缺血后再灌注时, 脑组织中胱天蛋白酶(caspase)的水平显著增加, 而 TanshinoneIIA 能明显抑制这种酶的增加, 并减轻缺血再灌注诱导的神经细胞凋亡。这种神经保护作用机制是 TanshinoneIIA 通过抑制 caspase-3 和 caspase-8 活性, 限制大鼠神经胶质细胞的过度活化而实现的。

综上所述, 缺血性脑卒中后神经损伤所涉及的信号通路众多, 而 TanshinoneIIA 能通过调控多种信号通路抑制细胞凋亡、小胶质细胞活化、炎症细胞激活和趋化因子表达, 减轻脑损伤后的氧化应激等, 缩小脑梗死体积、减轻脑水肿、修复神经功能缺损(表 1)。

表1 丹参酮 IIA 对缺血性脑中神经损伤的保护机制

Tab.1 Protective mechanism of tanshinone IIA on nerve injury in ischemic stroke

信号通路	丹参酮 IIA 的调控效应	作用机制	参考文献
Nrf2	激活性调节	(1)增加 CAT、SOD 和 GSH 等表达活性并降低 COX-2 水平,上调下游 NQO1、HO-1 因子,减轻氧化应激反应; (2)降低 TNF- α 、IL-6 等炎性细胞因子水平,抑制炎症反应; (3)降低 ICAM-1 表达水平,减少缺血早期白细胞和内皮细胞的粘附过程,改善微循环流动及周围神经损伤;	[20-22]
NF- κ B	抑制性调节	(1)降低 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 CXCL10、CXCL12、TLR-4 表达水平,限制炎症反应; (2)降低 AQP4 的表达,促进星形胶质细胞的活化和增殖抑制; (3)抑制小胶质细胞极化; (4)降低 ICAM-1 的表达,阻断缺血早期白细胞和内皮细胞粘附过程,改善微循环流动及周围神经损伤;	[26-27, 29-30]
PI3K/Akt/mTOR	激活性调节	(1)降低了炎症反应相关基因表达,包括 COX-2、IL-1 β 、PGE2 和 MCP-1,抑制炎症反应; (2)抑制细胞内 ROS 水平与 HT-22 细胞自噬,减轻神经元细胞死亡,并增强细胞活力;	[36-37]
MAPK	抑制性调节	(1)促进脑源性神经营养因子(BDNF)和神经生长因子(NGF)的表达,诱导神经细胞分化; (2)减少促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 释放,抑制炎症反应;	[41, 43]
NLRP3	抑制性调节	降低炎性因子 IL-1 β 、及 IL-18 的含量,抑制炎症反应;	[47]
Nogo-A/NgR1/RhoA/ROCKII/ML	抑制性调节	上调 NF200 和 GAP-43 的表达,诱导缺血性卒中后轴突再生;	[50]
Caspase	抑制性调节	抑制 caspase-3 和 caspase-8 活性,限制大鼠神经胶质细胞的过度活化;	[54]

8 讨论

缺血性脑卒中是由于各种因素导致局部脑组织血供紊乱,引起局部脑组织缺血缺氧,进而发生一系列复杂的病理生理级联反应,包括炎症反应、氧化应激、和能量代谢障碍等导致神经功能损伤^[55-56]。中医学认为瘀血理论在缺血性脑卒中的病理演变中至关重要,是其发病的首要病机。张仲景认为:“孙络血溢,则经有留血,血瘀则中风使然”。严用和指出“内虚致瘀而成中风”,王清任则提出“血瘀”论,创立补阳还五汤广泛应用于中风病的治疗^[57]。因此,中医往往选择具有活血化瘀功效的中药来祛除瘀血,疏通脉络。研究表明活血化瘀药可扩张血管,稀释血液,降低血流阻力,改善血液微循环,通过调节血小板高凝状态来抑制血栓形成。近年来,Tanshi-

noneIIA 对缺血性脑卒中后神经损伤的保护作用是脑血管疾病领域的研究热点。目前含有丹参酮类的药品主要有丹参酮片、丹参酮胶囊、丹红注射液、丹参酮 IIA 磺酸钠注射液、丹参酮油膏、丹参舒心胶囊、复方丹参滴丸、丹参舒心片、精制冠心病片等。其中丹红注射液和丹参酮 IIA 磺酸钠注射液已被证实具有显著抑制炎症反应和氧化应激反应的作用,能够有效改善大脑局部微循环,促进神经组织重塑^[58-59]。现代药理表明,TanshinoneIIA 治疗缺血性脑卒中后神经损伤所涉及的多种信号通路并非单独发挥作用,而是通过多途径、多靶点、多层次的相互作用共同抑制脑损伤后的炎症反应和氧化应激,改善血脑屏障功能,修复神经损伤。如 mTOR 为 PI3K/Akt 及 AMPK 信号通路的下游因子,PI3K/Akt 及 AMPK 通过激活 mTOR 发挥抑制脑损伤的作用,但 Akt 因子又可通

过调控 MAPK 及 NF- κ B 等其他信号通路发挥同等效用。另外,近年来多项研究表明,与氧化应激相关的铁死亡也参与了缺血性脑卒中的发生发展过程^[60-62]。现有研究证实 Tanshinone IIA 对脑缺血模型中的铁死亡具有抑制作用,具体机制是 Tanshinone IIA 通过调节铁稳态,减少细胞内的 ROS、Lipid peroxidation 及活性铁含量,从而发挥神经保护作用^[63]。He 等^[64]发现 Tanshinone IIA 可通过激活 NRF2 途径来保护人冠状动脉内皮细胞 (human coronary artery endothelial cells, HCAECs) 免受铁死亡,这为 Tanshinone IIA 治疗缺血性脑损伤提供了一个潜在的参考方向。基于此,未来仍需要进一步探究 Tanshinone IIA 对其他通路的作用以及各类信号通路之间复杂的相互作用。

尽管丹参酮 IIA 对缺血性脑卒后的神经损伤有积极的保护作用,但仍有许多难题需要克服。临床研究中缺血性脑卒中的影响因素较动物模型更为复杂,如何明确丹参酮 IIA 的作用靶点,构建新的临床研究思路,研发中药新药等众多问题将是今后重要的课题。尽管如此,动物实验和体外实验的结果对丹参酮 IIA 用于治疗缺血性脑卒中和神经退行性疾病提供了重要的初始证据,为今后丹参酮 IIA 的神经保护作用及作用机制的深入研究奠定了基础。

参考文献

- [1] Feske SK. Ischemic Stroke [J]. *Am J Med*, 2021, 134(12): 1457-1464.
- [2] Orellana-Urzuía S, Rojas I, Líbano L, et al. Pathophysiology of ischemic stroke: role of oxidative stress [J]. *Curr Pharm Des*, 2020, 26(34): 4246-4260.
- [3] Warach SJ, Dula AN, Milling TJ Jr. Tenecteplase thrombolysis for acute ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2020, 51(11): 3440-3451.
- [4] Rabinstein AA. Update on treatment of acute ischemic stroke [J]. *Continuum (Minneapolis)*, 2020, 26(2): 268-286.
- [5] Maida CD, Norrito RL, Daidone M, et al. Neuroinflammatory mechanisms in ischemic stroke: focus on cardioembolic stroke, background, and therapeutic approaches [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(18): 6454.
- [6] Herpich F, Rincon F. Management of acute ischemic stroke [J]. *Crit Care Med*, 2020, 48(11): 1654-1663.
- [7] Faizy TD, Mlynash M, Marks MP, et al. Intravenous tPA (tissue-type plasminogen activator) correlates with favorable venous outflow profiles in acute ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2022, 53(10): 3145-3152.
- [8] Peña-Martínez C, Durán-Laforet V, García-Culebras A, et al. Neutrophil extracellular trap targeting protects against ischemic damage after fibrin-rich thrombotic stroke despite non-reperfusion [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 790002.
- [9] Yu WX, Huang SH, Wang YJ, et al. Recanalization treatment for acute stroke: Can we skip the bridge? [J]. *Neurosci Bull*, 2021, 37(6): 585-587.
- [10] 单晓晓, 洪帮振, 刘洁, 等. 丹参化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及质量标志物的预测分析 [J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(21): 5496-5511.
- [11] 吴丽娥, 刘鸣, 张月辉, 等. 缺血性脑卒中 TOAST 病因分型和预后 [J]. *中华神经科杂志*, 2004, 11(4): 9-12.
- [12] 冯晶晶, 李铁军, 章超凡. 丹参酮 IIA 对脑缺血后炎症反应影响机制的研究进展 [J]. *药学实践杂志*, 2018, 36(2): 4.
- [13] Huang Y, Long X, Tang J, et al. The attenuation of traumatic brain injury via inhibition of oxidative stress and apoptosis by tanshinone IIA [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 4170156.
- [14] Yuan H, Xu Y, Luo Y, et al. Role of Nrf2 in cell senescence regulation [J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(1): 247-259.
- [15] Lu J, Gu L, Li Q, et al. Andrographolide ameliorates maltol aluminium-induced neurotoxicity via regulating p62-mediated Keap1-Nrf2 pathways in PC12 cells [J]. *Pharmaceutical Biol*, 2021, 59(1): 232-241.
- [16] Guan J, Wei X, Qu S, et al. Osthole prevents cerebral ischemia-reperfusion injury via the Notch signaling pathway [J]. *Biochem Cell Biol*, 2017, 95(4): 459-467.
- [17] Chen QM, Maltagliati AJ. Nrf2 at the heart of oxidative stress and cardiac protection [J]. *Physiol Genomics*, 2018, 50(2): 77-97.
- [18] Sui YB, Zhang KK, Ren YK, et al. The role of Nrf2 in astragaloside IV-mediated antioxidative protection on heart failure [J]. *Pharmaceutical Biol*, 2020, 58(1): 1192-1198.
- [19] Bellezza I, Giambanco I, Minelli A, et al. Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 2018, 1865(5): 721-733.
- [20] Miao Q, Wang R, Sun X, et al. Combination of puera-

- rin and tanshinone IIA alleviates ischaemic stroke injury in rats via activating the Nrf2/ARE signalling pathway [J]. *PharmBiol*, 2022, 60(1): 1022-1031.
- [21] Cai M, Guo Y, Wang S, et al. Tanshinone IIA elicits neuroprotective effect through activating the nuclear factor erythroid 2-related factor-dependent antioxidant response [J]. *Rejuvenation Res*, 2017, 20(4): 286-297.
- [22] Zhu X, He L, Gao W, et al. Neuroprotective investigation of tanshinone in the cerebral infarction model in the Keap1-Nrf2/ARE pathway [J]. *Cell Cycle*, 2022, 1-13.
- [23] Gordon JW, Shaw JA, Kirshenbaum LA. Multiple facets of NF- κ B in the heart: to be or not to NF- κ B [J]. *Circ Res*, 2011, 108(9): 1122-1132.
- [24] Bruno V, Svensson-Arvelund J, Marie R, et al. Effects of low molecular weight heparin on the polarization and cytokine profile of macrophages and T helper cells in vitro [J]. *Scient Rep*, 2018, 8(1): 4166.
- [25] Howard EF, Chen Q, Cheng C, et al. NF-kappa B is activated and ICAM-1 gene expression is upregulated during reoxygenation of human brain endothelial cells [J]. *Neurosci Lett*, 1998, 248(3): 199-203.
- [26] Tang Z, Yang G, Liao Z, et al. Tanshinone IIA reduces AQP4 expression and astrocyte swelling after OGD/R by inhibiting the HMGB1/RAGE/NF- κ B/IL-6 pro-inflammatory axis [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 14110.
- [27] Song Z, Feng J, Zhang Q, et al. Tanshinone IIA protects against cerebral ischemia reperfusion injury by regulating microglial activation and polarization via NF- κ B pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 641848.
- [28] Li W, Suwanwela NC, Patumraj S. Curcumin prevents reperfusion injury following ischemic stroke in rats via inhibition of NF- κ B, ICAM-1, MMP-9 and caspase-3 expression [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(4): 4710-4720.
- [29] Ye X, Peng X, Song Q, et al. Borneol-modified tanshinone IIA liposome improves cerebral ischemia reperfusion injury by suppressing NF- κ B and ICAM-1 expression [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2021, 47(4): 609-617.
- [30] Fang C, Xie L, Liu C, et al. Tanshinone IIA improves hypoxic ischemic encephalopathy through TLR-4-mediated NF- κ B signal pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(2): 1899-1908.
- [31] Gu C, Zhang Q, Li Y, et al. The PI3K/AKT pathway-the potential key mechanisms of traditional Chinese medicine for stroke [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9: 900809.
- [32] Burke JE. Structural basis for regulation of phosphoinositide kinases and their involvement in human disease [J]. *Mol Cell*, 2018, 71(5): 653-673.
- [33] Sugiyama MG, Fairn GD, Antonescu CN. Akt-ing up just about everywhere: Compartment-specific Akt activation and function in receptor tyrosine kinase signaling [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 70.
- [34] Mayer IA, Arteaga CL. The PI3K/AKT pathway as a target for cancer treatment [J]. *Annu Rev Med*, 2016, 67: 11-28.
- [35] Zhang Q, An R, Tian X, et al. β -caryophyllene pretreatment alleviates focal cerebral ischemia-reperfusion injury by activating PI3K / Akt signaling pathway [J]. *Neurochem Res*, 2017, 42(5): 1459-1469.
- [36] Wang J, Tong H, Wang X, et al. Tanshinone IIA alleviates the damage of neurocytes by targeting GLUT1 in ischaemia reperfusion model (in vivo and in vitro experiments) [J]. *Folia Neuropathol*, 2020, 58(2): 176-193.
- [37] Zhu Y, Tang Q, Wang G, et al. Tanshinone IIA protects hippocampal neuronal cells from reactive oxygen species through changes in autophagy and activation of phosphatidylinositol 3-kinase, protein kinase B, and mechanistic target of rapamycin pathways [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2017, 14(2): 132-140.
- [38] Meng X, Zhang S. MAPK cascades in plant disease resistance signaling [J]. *Annu Rev Phytopathol*, 2013, 51: 245-266.
- [39] Oh CC, Lee J, D'Souza K, et al. Activator protein-1 and caspase 8 mediate p38 α MAPK-dependent cardiomyocyte apoptosis induced by palmitic acid [J]. *Apoptosis*, 2019, 24(5/6): 395-403.
- [40] Zheng Y, Han Z, Zhao H, et al. MAPK: A key player in the development and progression of stroke [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2020, 19(4): 248-256.
- [41] Zhao Y, Xu P, Hu S, et al. Tanshinone II A, a multiple target neuroprotectant, promotes caveolae-dependent neuronal differentiation [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 765: 437-446.
- [42] Walton KM, DiRocco R, Bartlett BA, et al. Activation of p38MAPK in microglia after ischemia [J]. *J Neurochem*, 1998, 70(4): 1764-1767.

- [43] Liu X, An C, Jin P, et al. Protective effects of cationic bovine serum albumin-conjugated PEGylated tanshinone IIA nanoparticles on cerebral ischemia [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(3): 817-830.
- [44] Zhou K, Shi L, Wang Y, et al. Recent advances of the NLRP3 inflammasome in central nervous system disorders [J]. *J Immunol Res*, 2016, 2016: 9238290.
- [45] Yoshihara E, Masaki S, Matsuo Y, et al. Thioredoxin/Txnip: redoxosome, as a redox switch for the pathogenesis of diseases [J]. *Front Immunol*, 2014, 4:514.
- [46] Hou Y, Wang Y, He Q, et al. Nrf2 inhibits NLRP3 inflammasome activation through regulating Trx1 / TXNIP complex in cerebral ischemia reperfusion injury [J]. *Behav Brain Res*, 2018, 336: 32-39.
- [47] 蔡琳, 易小波, 袁利邦, 等. 丹参酮IIA通过NLRP3炎症体信号通路对小胶质细胞糖氧剥夺/再灌注损伤的保护作用 [J]. *四川大学学报(医学版)*, 2016, 47(5): 660-664.
- [48] Rosochowicz TW, Wrotek S, Kozak W. Axonal regeneration inhibitors: emerging therapeutic options [J]. *Acta Neurol Belg*, 2015, 115(4): 527-532.
- [49] Chang J, Yao X, Zou H, et al. BDNF/PI3K/Akt and Nogo-A/RhoA/ROCK signaling pathways contribute to neurorestorative effect of Houshiheisan against cerebral ischemia injury in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 194: 1032-1042.
- [50] Wang J, Ni G, Liu Y, et al. Tanshinone IIA promotes axonal regeneration in rats with focal cerebral ischemia through the inhibition of Nogo-A/NgR1/RhoA/ROCKII/MLC signaling [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 2775-2787.
- [51] Xiong XX, Pan F, Chen RQ, et al. Neuroglobin boosts axon regeneration during ischemic reperfusion via p38 binding and activation depending on oxygen signal [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 163.
- [52] Shimmyo Y, Kihara T, Akaike A, et al. Three distinct neuroprotective functions of myricetin against glutamate-induced neuronal cell death: involvement of direct inhibition of caspase-3 [J]. *J Neurosci Res*, 2008, 86(8): 1836-1845.
- [53] Hu W, Kavanagh JJ. Anticancer therapy targeting the apoptotic pathway [J]. *Lancet Oncol*, 2003, 4(12): 721-729.
- [54] Zhou L, Bondy SC, Jian L, et al. Tanshinone IIA attenuates the cerebral ischemic injury-induced increase in levels of GFAP and of caspases-3 and -8 [J]. *Neuroscience*, 2015, 288: 105-111.
- [55] 张艾嘉, 王爽, 王萍, 等. 缺血性脑卒中的病理机制研究进展及中医药防治 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(5): 227-240.
- [56] Rabinstein AA. Update on treatment of acute ischemic stroke [J]. *Continuum (Minneapolis)*, 2020, 26(2): 268-286.
- [57] 陈星宇, 王月, 苏卓异, 等. 活血化瘀法治疗缺血性脑卒中的研究进展 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2022, 20(16): 2958-2961.
- [58] 秦秀德, 王家传, 蔡浩斌. 丹红注射液治疗缺血性脑卒中的研究进展 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2020, 18(3): 452-456.
- [59] 郭荷娜, 康蓓, 赵婧钰, 等. 丹红注射液对脑缺血再灌注损伤大鼠皮质区新生微血管的影响研究 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2020, 28(2): 69-73.
- [60] Chen B, Chen Z, Liu M, et al. Inhibition of neuronal ferroptosis in the acute phase of intracerebral hemorrhage shows long-term cerebroprotective effects [J]. *Brain Res Bull*, 2019, 153: 122-132.
- [61] Cao Y, Li Y, He C, et al. Selective ferroptosis inhibitor liproxstatin-1 attenuates neurological deficits and neuroinflammation after subarachnoid hemorrhage [J]. *Neurosci Bull*, 2021, 37(4): 535-549.
- [62] Li Y, Liu Y, Wu P, et al. Inhibition of ferroptosis alleviates early brain injury after subarachnoid hemorrhage in vitro and in vivo via reduction of lipid peroxidation [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2021, 41(2): 263-278.
- [63] 许璐. 丹参酮IIA通过调节铁稳态抑制脑缺血模型中铁死亡的机制研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2019.
- [64] He L, Liu YY, Wang K, et al. Tanshinone IIA protects human coronary artery endothelial cells from ferroptosis by activating the NRF2 pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 575: 1-7.

Research progress on signaling pathway of tanshinone IIA in treatment of nerve injury after ischemic stroke

QIN Wenxiu^{1,2,3}, XU Junfeng^{1,2}, YANG Ting^{1,2,3}, WANG Pingfei^{1,2,3}

¹First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300381, China; ²National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion, Tianjin 300381, China; ³Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

ABSTRACT Tanshinone IIA is one of the main active components of traditional Chinese medicine *Salvia miltiorrhiza*, which plays a pharmacological role, and has been proved by modern research to have the effect of anti ischemic stroke nerve damage. This article reviews the signal pathway and mechanism of tanshinone IIA on nerve damage after ischemic stroke in recent years through literature search, and finds that tanshinone IIA can regulate the activity and release of PI3K/Akt/mTOR, Nrf2, NF- κ B, NLRP3, MAPK and other signal pathways, inhibit IL-6, IL-8 and TNF- α , up regulate the expression of neuron specific structural proteins, in-

hibit the activation and proliferation of astrocytes, play the role of anti neuroinflammation, oxidative stress, neuronal apoptosis, etc., thus reducing the damage of neurons after ischemic stroke, showing the mechanism characteristics of multi target, multi-channel and multi-level interaction. Based on this, this article briefly reviewed the neuroprotective mechanism of tanshinone IIA intervention on the above signal pathways after ischemic stroke, in order to provide reference for the clinical application and drug development of tanshinone IIA.

KEYWORDS tanshinone IIA; traditional Chinese medicine; ischemic stroke; nerve; signaling pathway

2023 年本刊一些常用词汇可直接用缩写

磷酸盐缓冲液(PBS)

核因子- κ B(NF- κ B)

酶联免疫吸附测定(ELISA)

一氧化氮(NO)

总胆固醇(TC)

甘油三酯(TG)

丙氨酸转氨酶(ALT)

天冬氨酸转氨酶(AST)

尿素氮(BUN)

肌酐(Cr)

干扰素(IFN)

白细胞介素(IL)

肿瘤坏死因子(TNF)

二甲基亚砷(DMSO)

四唑盐比色法(MTT法)

舒张压(DBP)

收缩压(SBP)

药时曲线下面积(AUC)

半抑制浓度(IC₅₀)

最小抑菌浓度(MIC)

半数致死量(LD₅₀)

体质量指数(BMI)

糖化血红蛋白(HbA1c)