

蒙药扎冲十三味丸通过调控 IL-17/NF- κ B/MAPK 信号通路改善血管性痴呆大鼠模型中的神经炎症和细胞凋亡

梁茹¹, 田彩云², 李卿¹, 樊凌暄¹, 段超慧^{1*}, 高博闻^{1*}

1. 内蒙古科技大学包头医学院 药学院, 内蒙古 包头 014040

2. 内蒙古科技大学包头医学院 基础医学与法医学院, 内蒙古 包头 014040

摘要: **目的** 探究蒙药扎冲十三味丸(ZC13)抗血管性痴呆(VaD)的作用机制。**方法** 通过完全随机分组法将大鼠分为假手术组、模型组、多奈哌齐(Don, 阳性药, 0.45 mg·kg⁻¹)组和 ZC13 高、低剂量(0.324、0.162 g·kg⁻¹)组, 利用双侧颈总动脉结扎术构建血管性痴呆大鼠模型, 假手术组仅分离双侧颈总动脉不结扎, 于造模完成 24 h 首次 ig 给药, 每天 1 次, 连续 28 d。采用 Morris 水迷宫实验考察大鼠的学习和记忆能力; 伊文思蓝(EB)染色评估大鼠血脑屏障(BBB)通透性; 尼氏(Nissl)染色及苏木精-伊红(HE)染色检测脑组织病理损伤; 转录组学分析结合基因本体(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集揭示 ZC13 可能调控的关键信号通路。并采用 Western blotting 对其中的核心靶点进行实验验证, ELISA 检测通路下游炎症因子水平, 免疫组化检测细胞凋亡水平。**结果** 与假手术组比较, 模型组大鼠游泳路径紊乱, 穿越平台次数减少($P<0.01$), 平均游泳速度下降($P<0.001$), 目标象限停留时间显著缩短($P<0.001$), 逃避潜伏期也明显延长; 神经细胞明显受损, BBB 通透性显著增加, 胞质紧密黏连蛋白 1(ZO-1)、闭合蛋白(Occludin)、紧密连接蛋白-1(Claudin-1)表达显著下降($P<0.001$), 尼氏体数量大幅下降($P<0.01$); 差异基因(DEGs)功能主要集中在少突胶质细胞发育, 氧化还原酶活性等方面, 主要富集的通路途径包括丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、核因子(NF)- κ B、白细胞介素(IL)-17 等信号通路; 肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TRAF6)、环氧化酶-2 (COX-2)、核因子 κ B 激活剂 1 (ACT1)、c-Jun 氨基末端激酶(JNK)、c-Jun、p38、I κ B α 及 p65 等蛋白表达水平显著上调($P<0.001$); IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、IL-8 及 IL-17 促炎因子水平也显著升高($P<0.001$); Bax 蛋白表达水平显著升高($P<0.001$), Bcl-2 蛋白表达水平显著降低($P<0.001$)。与模型组相比, 不同剂量 ZC13 干预后, 大鼠的学习记忆能力得不同程度的改善; 神经元损伤减轻, BBB 通透性下降; DEGs 功能主要富集在 T 细胞活化的正调控、对 II 型干扰素的应答等方面, 主要富集的通路途径包括 MAPK、NF- κ B 等信号通路; TRAF6、COX-2、ACT1、JNK、c-Jun、p38、I κ B α 及 p65 等蛋白表达水平显著下调($P<0.001$); IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、IL-8、IL-17 促炎因子水平也显著下降($P<0.001$); Bax 蛋白表达水平显著降低($P<0.01$ 、0.001), Bcl-2 蛋白表达水平显著升高($P<0.001$)。**结论** ZC13 能够有效抑制 VaD 发生与发展进程中神经炎症反应及神经元凋亡, 其作用机制可能与负向调控 IL-17/NF- κ B/MAPK 信号通路, 下调促炎因子水平, 调控 Bax/Bcl-2 表达有关。

关键词: 蒙药扎冲十三味丸; 血管性痴呆; 转录组学测序; 炎症反应; 细胞凋亡; NF- κ B/IL-17/MAPK 信号通路

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2026)06-1957-15

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.06.009

Mongolian medicine Zhachong 13 Pills attenuate neuroinflammation and neuronal apoptosis in vascular dementia rats via IL-17/NF- κ B/MAPK pathway

LIANG Ru¹, TIAN Caiyun², LI Qing¹, FAN Lingxuan¹, DUAN Chaohui¹, GAO Bowen¹

1. School of Pharmacy, Baotou Medical College, Baotou 014040, China

2. School of Basic and Forensic Medicine, Baotou Medical College, Baotou 014040, China

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effects and underlying molecular mechanisms of Zhachong 13 Pills (ZC13) against vascular dementia (VaD). **Methods** Rats were divided into a sham operation group, a model group, a donepezil (Don, positive

收稿日期: 2026-02-08

基金项目: 内蒙古自治区高等学校科学研究项目(NJZY21054, NJZY20177)

作者简介: 梁茹, 硕士, 从事天然药物化学研究。E-mail: 1158691625@qq.com

*通信作者: 高博闻, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事天然药物化学研究。E-mail: 102009110@btmc.edu.cn

段超慧, 博士, 副主任中药师, 硕士生导师, 从事药理学研究。E-mail: 602372078@qq.com

control, 0.45 mg·kg⁻¹ group, and ZC13 high and low dose (0.324, 0.162 g·kg⁻¹) groups using a completely randomized grouping method. A vascular dementia rat model was established by bilateral common carotid artery ligation. The sham operation group only underwent separation of bilateral common carotid arteries without ligation. The first ig administration was performed 24 hours after the completion of model establishment, once daily for 28 consecutive days. A rat model of vascular dementia was generated by bilateral common carotid artery occlusion. Cognitive performance was assessed using the Morris water maze test. Blood-brain barrier integrity was evaluated by Evans blue extravasation, and histopathological changes in brain tissues were analyzed by Nissl and HE staining. Transcriptomic profiling of rat hippocampal tissue was conducted using RNA sequencing to screen differentially expressed genes, followed by Gene Ontology annotation and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway enrichment analyses to explore signaling pathways potentially regulated by ZC13. Representative molecules within these pathways were subsequently examined by Western blotting and enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** Compared with the sham operation group, the model group exhibited disordered swimming paths, reduced number of platform crossings ($P < 0.01$), decreased average swimming speed ($P < 0.001$), significantly shortened time spent in the target quadrant ($P < 0.001$), and markedly prolonged escape latency. Neuronal damage was evident, with significantly increased blood-brain barrier (BBB) permeability and notably reduced expression of cytoplasmic tight junction proteins including zonula occludens-1 (ZO-1), occludin, and claudin-1 ($P < 0.001$), as well as a substantial decrease in Nissl body count ($P < 0.01$). The functions of differentially expressed genes (DEGs) were primarily associated with oligodendrocyte development and redox enzyme activity, with enriched pathways including mitogen-activated protein kinase (MAPK), nuclear factor (NF)- κ B, and interleukin (IL)-17 signaling pathways. Protein levels of tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 (TRAF6), cyclooxygenase-2 (COX-2), NF- κ B activator 1 (ACT1), c-Jun N-terminal kinase (JNK), c-Jun, p38, I κ B α , and p65 were significantly upregulated ($P < 0.001$). Levels of pro-inflammatory cytokines IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, and IL-17 were also significantly elevated ($P < 0.001$). Bax protein expression was significantly increased ($P < 0.001$), while Bcl-2 protein expression was significantly decreased ($P < 0.001$). Compared to the model group, rats treated with different doses of ZC13 showed varying degrees of improvement in learning and memory abilities; neuronal injury was alleviated and BBB permeability decreased. DEG functions were mainly enriched in positive regulation of T-cell activation and response to type II interferons, with key pathways including MAPK and NF- κ B signaling. Expression levels of TRAF6, COX-2, ACT1, JNK, c-Jun, p38, I κ B α , and p65 were significantly downregulated ($P < 0.001$). Pro-inflammatory cytokine levels of IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, and IL-17 were also significantly reduced ($P < 0.001$). Bax protein expression was significantly decreased ($P < 0.01, 0.001$), whereas Bcl-2 protein expression was significantly increased ($P < 0.001$). **Conclusion** ZC13 negatively regulates the IL-17/NF- κ B/MAPK signaling pathways by modulating key signaling molecules, including TRAF6, COX-2, ACT1, JNK, c-Jun, p38, I κ B α , and p65, thereby alleviating neuroinflammation and intervening in the progression of vascular dementia. **Key words:** Mongolian medicine; Zhachong 13 Pills; vascular dementia; transcriptomic sequencing; neuroinflammation; neuronal apoptosis; NF- κ B/IL-17 signaling pathway

血管性痴呆 (VaD) 是一种与脑内血管损伤直接相关的认知功能障碍^[1], 约占北美和欧洲痴呆病例的 15%~20%, 在亚洲和发展中国家约为 30%。血管炎症既是 VaD 的关键发病机制之一, 也是脑低灌注/缺氧及血脑屏障 (BBB) 功能失调等病理过程的结果, 多种病理因素相互作用, 共同加重神经元损伤并导致认知功能下降^[2]。其中, 高血压、糖尿病及吸烟等血管风险因素可诱导氧化应激并激活炎症相关信号通路, 导致血管内皮细胞功能失调及黏附分子表达上调, 促进外周免疫细胞向血管壁及脑实质的黏附与浸润; 同时, BBB 破坏和缺氧等病理刺激可进一步加重局部炎症反应, 持续加重血管炎症并促进神经损伤^[3]。目前, 临床上常采用多奈哌齐 (Don) 与尼莫地平联合治疗 VaD, 但该方案易引发恶心、腹泻、头晕、胃部不适及失眠等不良

反应^[4], 临床应用仍存在一定局限性。

蒙药扎冲十三味丸 (ZC13) 又名嘎日迪-13, 由石菖蒲、木香、沉香、禹粮土、磁石 (煅)、甘草、麝香、珊瑚 (制)、诃子、草乌 (制)、珍珠、丁香和肉豆蔻十三味药组成。研究表明, 该药物中多种成分可通过多靶点药理机制改善缺血性脑损伤。例如, 诃子中的鞣质和多酚类成分具有显著的抗氧化和神经保护作用, 可减轻缺血/再灌注损伤相关的氧化应激和细胞凋亡^[5]; 甘草中的主要活性成分甘草酸及黄酮类化合物在缺血性脑损伤模型中表现出抗炎、抗氧化和抑制炎症通路的神经保护作用^[6]; 肉豆蔻中的木脂素类及相关酚性化合物同样具有抗炎和抗氧化活性, 与神经保护相关机制一致^[7]。此外, 该药物具有纠正“协日乌素”、祛风通窍、舒筋活血、镇静安神的作用, 并能显著改善缺血性脑

卒中的神经功能缺损及认知障碍^[8]。临床上 ZC13 被广泛用于治疗包含脑缺血在内的多种脑血管疾病，其疗效确切、用药安全性高，是蒙医院治疗卒中的首选方剂之一^[9]。

前期研究中，本课题组利用 UHPLC-Q exactive Orbitrap MS 对 ZC13 进行系统成分鉴定，共鉴定出 315 种化学成分，主要包括生物碱类、2-(2-苯乙基)色原酮类、黄酮类及萜类等^[10]，为其多靶点药理作用提供了化学基础。此外，本课题组结合网络药理学与分子对接等方法，探讨了 ZC13 对慢性缺血性脑卒中的作用机制。结果表明其可能通过调节神经递质水平(多巴胺、5-羟色胺)发挥神经细胞保护作用以及干预关键信号通路而产生治疗作用^[11]。目前研究亦提示，ZC13 及其组成在缺血性脑损伤^[12-13]、神经炎症及认知功能障碍等方面具有一定的改善作用，其机制可能与抗氧化、抗炎及多靶点调控有关。然而，关于 ZC13 在 VaD 中的系统机制研究仍然有限，尤其是其是否通过特定炎症相关信号通路发挥作用尚缺乏明确证据。

本研究采用双侧颈总动脉结扎术构建 VaD 大鼠模型，从行为学、组织病理学及 BBB 功能等多个层面系统评价 ZC13 的干预效果。在此基础上，结合转录组测序(RNA-Seq)筛选 ZC13 可能调控的关键靶点及信号通路，并通过 Western blotting 对相关通路关键蛋白进行验证；同时，采用 ELISA 和免疫组化检测通路下游炎症因子水平及神经元凋亡情况，旨在系统阐明 ZC13 干预 VaD 的潜在分子机制，并为其临床应用及新药研发提供参考。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只，体质量 200~250 g，购自斯贝福(北京)生物技术有限公司，实验动物生产许可证号 SCXK(京)2019-0010；动物质量合格证号 110324230103018243。动物试验伦理批件号：包医伦审动物 2021 第(022)号。动物经 1 周适应性饲养，饲养环境为标准条件(室温 22~26 °C，湿度 55%，12 h/12 h 明暗循环)，期间自由饮食，并定时通风。

1.2 药物与主要试剂

ZC13(批号 220218043，内蒙古库伦蒙药有限公司)；Don(批号 02220370，植恩生物技术股份有限公司)；戊巴比妥钠(包头医学院动物实验研究中心)；苏木精-伊红(HE)染料溶液(武汉百仟度生

物有限公司)；大鼠白细胞介素(IL)-6、IL-17、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)ELISA 试剂盒(上海碧云天生物技术股份有限公司，货号分别为 P1328、P1548、P1303、PT516)；大鼠 IL-8 ELISA 试剂盒(武汉贝茵莱生物科技有限公司，货号为 RA20035)；BCA 蛋白浓度测定试剂盒(艾迪生生物)； β -actin 抗体(1:1 000，货号 A6776)、磷酸化 p38 抗体(p-p38，1:100，货号 AP1311)，ABclonal 公司；环氧化酶-2(COX-2)抗体(1:1 000，货号 27308-1-AP)、c-Jun 抗体(1:1 000，货号 24909-1-AP)、磷酸化 c-Jun 抗体(p-c-Jun，1:1 000，货号 80086-1-RR)、c-Jun 氨基末端激酶(JNK)抗体(1:1 000，货号 51153-1-AP)、磷酸化 JNK 抗体(p-JNK，1:1 000，货号 60666-1-Ig)、p38 抗体(1:1 000，货号 14064-1-AP)、核因子 κ B 抑制蛋白 α (I κ B α)抗体(1:1 000，货号 10268-1-AP)、磷酸化 I κ B α 抗体(p-I κ B α ，1:1 000，货号 82349-1-RR)、p65 抗体(1:1 000，货号 80979-1-RR)、GAPDH 抗体(1:2 000，货号 60004-1-Ig)、 β -actin 抗体(1:2 000，货号 66009-1-Ig)、二抗为山羊抗兔 IgG-HRP(1:4 000，货号 RGAR001)、山羊抗鼠 IgG-HRP(1:4 000，货号 RGAM001)，Proteintech 公司；肿瘤坏死因子受体相关因子 6(TRAF6)抗体(1:1 000，货号 AF5376，Affinity 公司)；磷酸化 p65 抗体(p-p65，1:1 000，货号 3033，Cell Signaling Technology 公司)。

1.3 仪器

DP26 光学显微镜(OLYMPUS 公司)；LEICA RM2245 病理切片仪(上海徕卡仪器有限公司)；Infinite F50 酶标分析仪(Tecan Group Ltd.)；BS-224S 电子天平(Sartorius 公司)；KZ-5F-3D 高速低温组织研磨仪(Servicebio 公司)；5417R 低温高速离心机(Eppendorf 公司)。

2 方法

2.1 VaD 大鼠模型的制备

对大鼠行双侧颈总动脉结扎术造模^[14]：大鼠称体质量后采用 10%戊巴比妥钠进行 ip 麻醉，沿颈正中中线做 1.5~2.0 cm 皮肤正中切口，钝性分离皮下组织显露颈总动脉，轻柔分离并避开迷走神经，用 4-0 丝线对颈总动脉近心端、远心端各双重打结，切断血管防血流恢复，采用同样的方式在第 2 天处理对侧，结扎部位滴入 3~5 滴青霉素粉(10~20 mg)，缝合皮肤，再次消毒切口，术后将大鼠放入预热笼中直至清醒，必要时补液或镇痛。假手术组仅分离

双侧颈总动脉不结扎。

2.2 大鼠分组及给药

通过完全随机分组法将大鼠分为假手术组、模型组、Don (阳性药, $0.45 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组和 ZC13 高、低剂量 (0.324 、 $0.162 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组, 共 5 组, 每组 12 只。ZC13 与 Don 分别用纯水溶解, 制成混悬液和溶液备用, ZC13 混悬液采用研磨助溶。于造模完成 24 h 首次 ig 给予 ZC13 和 Don 药物, 每天 1 次, 连续 28 d, 假手术组与模型组给予同体积 0.9% 氯化钠溶液。

2.3 Morris 水迷宫实验

连续给药 21 d 后, 采用 Morris 水迷宫实验评价各组大鼠的学习与记忆功能。实验周期为 6 d, 其中第 1~5 天进行定位航行训练, 第 6 天开展空间探索测试。每天训练 4 次, 训练时长为 60 s。空间探索阶段移除隐藏平台, 并从远离原平台位置的象限放置大鼠入水, 记录其游泳速度、平台穿越次数及在目标象限的停留时间比例等指标, 以综合评估大鼠的学习记忆能力。实验中仅将能够完整完成 Morris 水迷宫训练与测试流程的大鼠纳入统计分析。

2.4 HE 和 Nissl 染色

各组大鼠先以 0.9% 氯化钠溶液经心脏灌流, 随后以 4% 多聚甲醛灌流固定。取出脑组织后经后固定、常规脱水并石蜡包埋, 连续切片。切片经二甲苯脱蜡后, 依次通过梯度乙醇 (100%、95%、85%) 复水, 蒸馏水冲洗备用。随后分别采用 HE 染色和 Nissl 染色进行处理。HE 染色用于评估大鼠海马区神经元的形态及排列情况, Nissl 染色用于检测大脑皮层及海马区尼氏体数量变化, 以评价缺血后脑组织的病理学损伤。采用 Image J (version 1.53) 对图像进行分析, 在相同放大倍数下选取固定视野, 统计单位面积内尼氏体阳性细胞数量并进行定量比较。

2.5 伊文思蓝 (EB) 染色

将大鼠固定在固定器中, 尾 iv 2% 的 EB 染液 ($2 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)。6 h 后, 通过经心输注 0.9% 氯化钠溶液 (含肝素) 收集完整的大脑, 直至积液澄清。脑组织用三氯乙酸溶液处理并匀浆。离心, 取上清液。使用酶标仪在 620 nm 处测量上清液吸光度 (A) 值, 并从标准曲线计算出其浓度。

2.6 免疫组化检测胶质紧密黏连蛋白 1 (ZO-1)、闭合蛋白 (Occludin)、紧密连接蛋白-1 (Claudin-1)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 及 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因 (Bcl-2) 蛋白表达

脑组织石蜡切片经二甲苯脱蜡并梯度复水后,

采用高温条件进行抗原修复。随后以 3% H_2O_2 溶液处理切片以阻断内源性过氧化物酶活性, 并使用 5% 正常山羊血清进行封闭以减少非特异性结合。封闭后分别加入 ZO-1、Occludin、Claudin-1、Bax 及 Bcl-2 一抗, 于 4°C 孵育过夜。次日加入相应酶标二抗, 室温孵育 1 h, 并采用亲和素-生物素复合物 (ABC) 法进行信号放大。经 DAB 显色、苏木精复染后, 切片依次完成脱水、透明及封片处理, 在光学显微镜下观察 ZO-1、Occludin、Claudin-1、Bax 及 Bcl-2 蛋白的表达情况, 以评估脑组织 BBB 功能及细胞凋亡水平。采用 Image J (version 1.53) 对免疫组化图像进行定量分析, 在相同放大倍数下选取固定视野, 测定阳性染色区域吸光度 (A) 值, 并进行组间比较。

2.7 RNA 提取与 RNA-seq 分析

从假手术组、模型组及 ZC13 高剂量组中各随机选取 3 只大鼠, 分离海马组织并提取总 RNA 用于转录组测序分析。对质量合格的 RNA 样品进行 DNase I 处理以去除基因组 DNA 污染, 随后采用 Oligo (dT) 磁珠富集 mRNA。将富集的 mRNA 进行片段化处理, 并以其为模板合成第一链和第二链 cDNA。扩增后的 cDNA 依次进行末端修复、3'端加 A 及测序接头连接。接头连接产物经 PCR 扩增后, 利用 UDG 酶去除含 U 标记的第二链模板, 再次扩增并纯化以构建最终文库, 随后完成高通量测序。

2.8 基因本体 (GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析

对转录组测序的原始数据 (raw data) 进行质量控制, 筛选得到高质量数据信息 (clean reads); 通过 DESeq 软件分析各组之间的差异表达基因 (DEGs), 将条件设置为差异倍数对数绝对值 $|\log_2\text{FC}| > 0.58$, 显著性 $P < 0.05$, 筛选出样品间 DEGs。使用 GO 数据库对所获得基因进行富集分析, 以研究差异基因所参与的生物学过程 (BP)、分子功能 (MF) 和细胞组分 (CC); 再通过 KEGG 通路富集分析, 掌握主要代谢途径, 并通过 R 语言将相关信息进行可视化分析。

2.9 Western blotting 法检测相关蛋白表达

取约 0.1 g 大鼠脑组织, 经 RIPA 裂解后制备组织匀浆, 并收集上清用于后续检测。采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。等量蛋白样品经加热变性处理后进行短暂离心, 并上样于十二烷基硫酸钠

聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 中完成分离, 随后转移至膜上。转膜结束后, 采用含 5% 脱脂奶粉的 $1 \times$ TBST 溶液对膜进行封闭。封闭后的膜分别与核因子 κ B 激活剂 1 (ACT1)、COX-2、TRAF6、c-Jun、p-c-Jun、JNK、p-JNK、p38、p-p38、I κ B α 、p-I κ B α 、p65 及 p-p65 等一抗于 4°C 条件下摇床孵育过夜。次日用 $1 \times$ TBST 洗膜 3 次后, 加入相应二抗, 于室温孵育 1 h。最终经 TBST 清洗后, 采用 ECL 化学发光体系显影并采集图像。

2.10 ELISA 检测大鼠脑组织炎症因子表达水平

取大鼠脑组织匀浆上清液, 准备相应试剂盒, 按说明书操作, 检测 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、IL-8、IL-17 5 个炎症因子浓度。

2.11 统计学分析

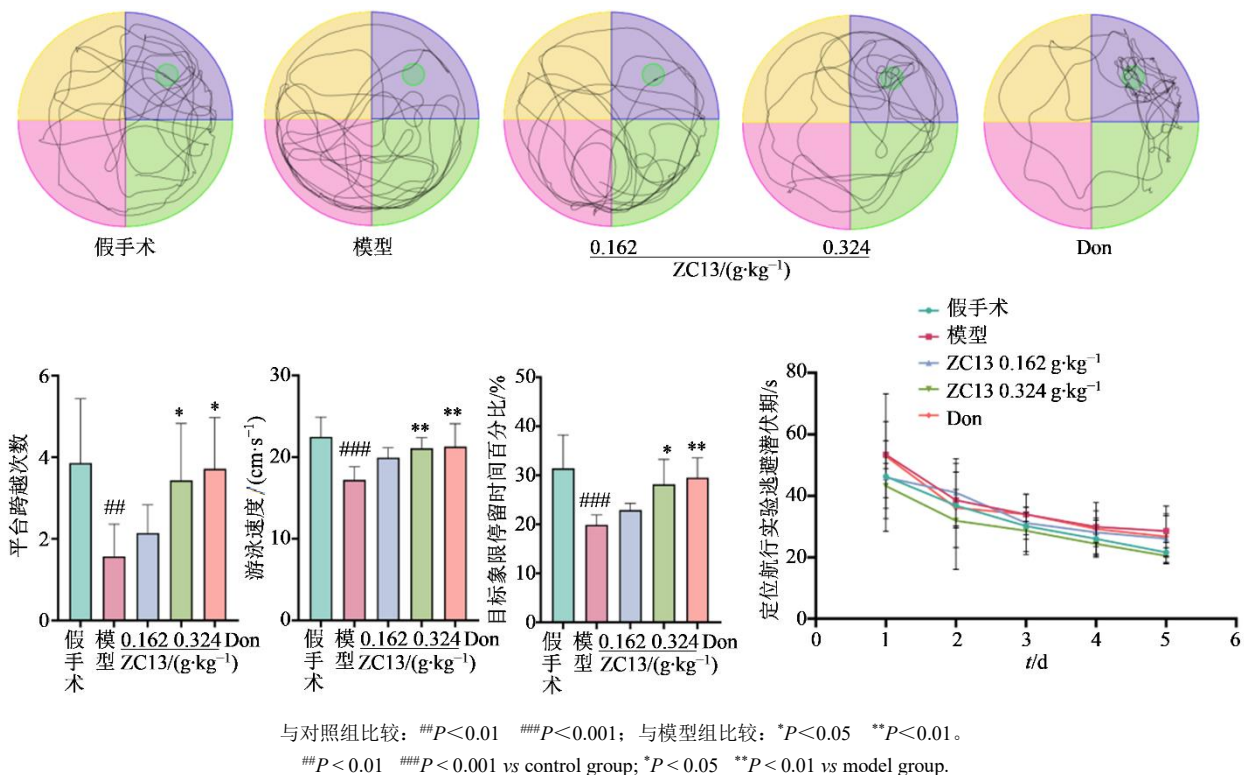
数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据统计分析采用 GraphPad Prism 10.0 软件完成。Morris 水迷宫实验中逃避潜伏期采用重复测量双因素方差分析进行比

较, 其余多组数据采用单因素方差分析。尼氏染色尼氏体数量通过 Image J 软件进行计数分析。

3 结果

3.1 ZC13 提高 VaD 大鼠学习和记忆能力

如图 1 所示, 与假手术组相比, VaD 模型大鼠的游泳路径表现出明显紊乱, 经 ZC13 干预后, 大鼠穿越目标象限的次数增加。与假手术组相比, 模型组大鼠的穿越平台次数减少 ($P < 0.01$)、平均游泳速度下降 ($P < 0.001$)、在目标象限的停留时间也显著缩短 ($P < 0.001$); 与模型组相比, ZC13 干预后, 上述行为学指标均得到不同程度的改善, 其中 ZC13 高剂量组差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01)。在连续 5 d 的定位航行实验中, VaD 大鼠的逃避潜伏期较假手术组明显延长, 而经 ZC13 干预后, 逃避潜伏期较模型组明显缩短。结果表明, ZC13 能够显著改善 VaD 大鼠的学习与记忆功能障碍, 且 ZC13 高剂量组的改善效果更为明显。



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ 。
^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

图 1 ZC13 对 VaD 大鼠的认知功能改善效果 ($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

Fig. 1 ZC13 improve cognitive impairment in VaD rats ($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

3.2 ZC13 减轻 VaD 大鼠海马与皮层的病理损伤

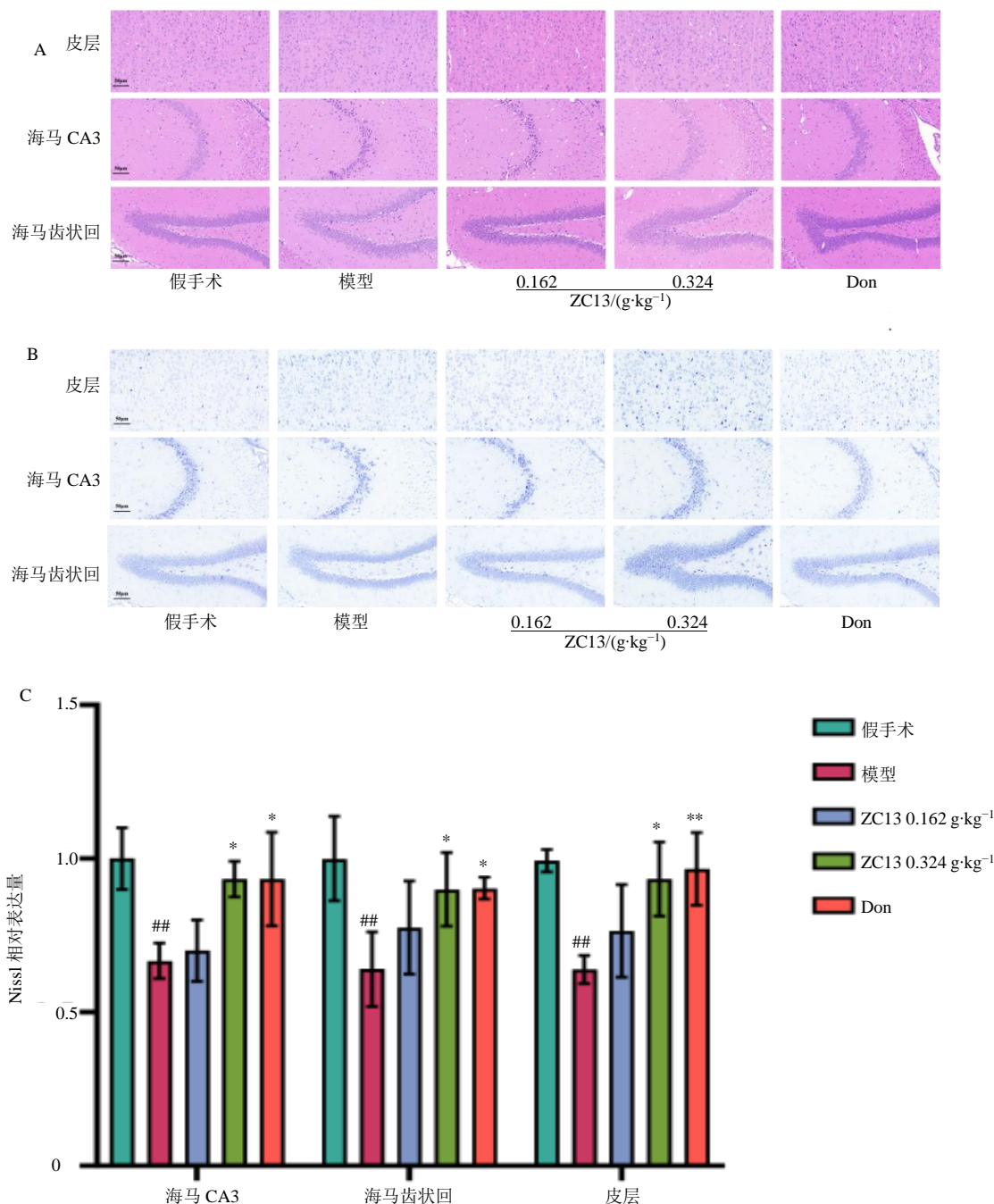
将大鼠脑切片进行 HE 染色后, 置于显微镜下观察分析。如图 2-A 所示, 假手术组皮层、海马 CA3 和 DG 区的神经细胞层次清晰、排列整齐、数量多; 模型组神经细胞排列松散、数量减少、形态不规则,

细胞核皱缩明显, 表示模型组神经细胞明显受损; 而与模型组比较, ZC13 组神经细胞层次较为清晰, 数量增多, 胞质丰富, 胞核均匀, 细胞核固缩明显减轻, 且 ZC13 高剂量组效果更为显著, 与 Don 效果相当。提示 ZC13 显著减轻了 VaD 大鼠脑皮层及

海马区神经细胞的病理损伤，在一定程度上发挥了神经保护作用。

Nissl 染色结果显示 (图 2-B、C)，模型组大鼠

脑皮层及海马区的尼氏体数量均较假手术组显著减少 ($P < 0.01$)；而 ZC13 组大鼠的上述区域尼氏体数量显著多于模型组，且 ZC13 高剂量组差异显



A-大鼠脑组织 HE 染色 ($\times 200$)；B-Nissl 染色 ($\times 200$)；C-Nissl 染色的定量分析；与对照组比较：## $P < 0.01$ ；与模型组比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。
A-HE staining ($\times 200$)；B-Nissl staining ($\times 200$)；C-quantitative Nissl staining；## $P < 0.01$ vs control group；* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group.

图 2 ZC13 减轻 VaD 大鼠神经元损伤 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 2 ZC13 reduces neuronal degeneration in VaD rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

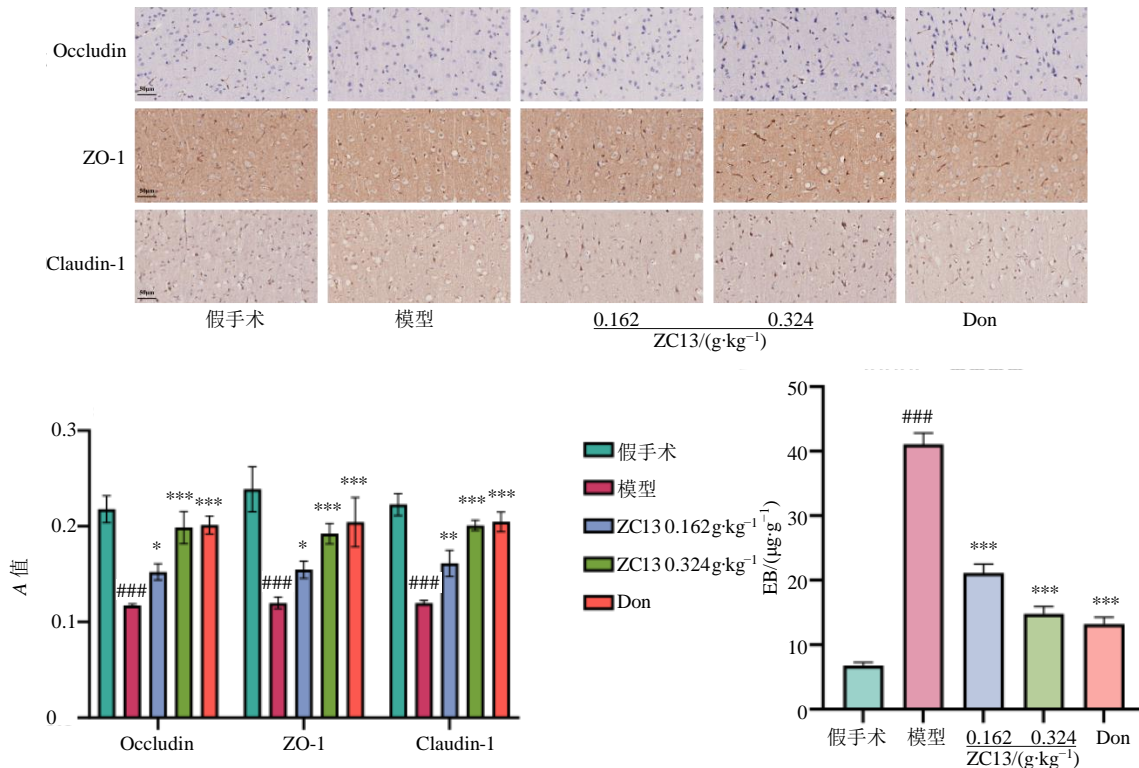
著 ($P < 0.05, 0.01$)，与 Don 组效果相当。说明 ZC13 对 VaD 大鼠的脑组织具有明显保护作用，显著减轻了 VaD 病变对脑内神经元的损伤。

3.3 ZC13 改善 VaD 大鼠 BBB 功能损伤

如图 3 所示，免疫组织化学结果显示，与假手术组相比，模型组脑组织中 ZO-1、Occludin 和

Claudin-1 的表达水平均明显下降。经 ZC13 干预后，上述紧密连接蛋白的表达显著上调，其中 ZC13 高剂量组改善效果最为突出。

定量分析结果进一步证实，模型组 ZO-1、Occludin 和 Claudin-1 的 A 值较对照组均显著降低 ($P < 0.001$)；与模型组比较，ZC13 处理后各指标均



与对照组比较：#### $P < 0.001$ ；与模型组比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

$P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group.

图 3 ZC13 对 VaD 后 BBB 功能障碍的修复作用 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 3 Effect of ZC13 on repairing BBB dysfunction after VaD ($\bar{x} \pm s, n=3$)

得到不同程度恢复，差异显著 ($P < 0.05, 0.001$)。

此外，为进一步评价 BBB 功能状态，本研究采用 EB 外渗量对 BBB 通透性进行功能性评估。与对照组比较，模型组 EB 外渗量显著增加 ($P < 0.001$)；与模型组相比，各给药组 EB 外渗量均明显减少 ($P < 0.001$)，其中 ZC13 高剂量组降低幅度最大。结果提示，ZC13 对脑缺血所致 BBB 功能异常具有一定的保护作用。

3.4 RNA-Seq 分析

3.4.1 测序数据质量评估 在所构建的测序文库中，9 组样本的碱基质量 (Q) 值均较高，其中 Q20 的碱基比例均超过 96.74%，Q30 的碱基比例均超过 89.75% (表 1)，表明测序结果较好。

3.4.2 DEGs 分析 上述实验发现 ZC13 高剂量组治疗效果优于低剂量组，且与 Don 组治疗效果相当，因此选择 ZC13 高剂量组进行进一步分析。采用 DEGseq 软件对 RNA-Seq 数据进行差异表达分析，如图 4 所示，各组样本间区分明显，组内生物

表 1 各组样本 cDNA 文库测序数据的质量评价 ($n=3$)

Table 1 Quality evaluation of cDNA library sequencing data for each group of samples ($n=3$)

样品	Clean Reads Q20/%	Clean Reads Q30/%
Don1	98.03	93.73
Don2	97.96	93.53
Don3	98.01	93.72
模型 1	98.16	94.22
模型 2	98.08	93.96
模型 3	98.03	93.72
假手术 1	98.03	93.58
假手术 2	97.99	93.65
假手术 3	98.06	93.84
ZC13 高剂量 1	96.74	89.75
ZC13 高剂量 2	98.05	93.77
ZC13 高剂量 3	98.09	93.88
ZC13 低剂量 1	97.98	93.66
ZC13 低剂量 2	98.00	93.66
ZC13 低剂量 3	98.06	93.91

学重复性良好，提示假手术组、模型组及 ZC13 高剂量组组间存在显著表达差异。

如图 5-A、B 所示，以 $|\log_2FC| > 0.58$ 、 $P < 0.05$ 为条件进行筛选。结果显示，与假手术组相比，模型组共有 86 个差异基因，其中上调 52 个，下调 34 个；与模型组相比，ZC13 高剂量组共有 106 个差异基因，其中上调 89 个，下调 17 个；其中，ZC13 干预后有 8 个差异基因的表达水平发生逆转(图 5-C)。

热图分析结果表明(图 5-D)，模型组与 ZC13 高剂量组在转录表达谱上呈现出明显分离，组内样本一致性较好，而组间 mRNA 表达差异显著，提示 ZC13 干预可显著重塑 VaD 大鼠海马组织的转录表达特征。

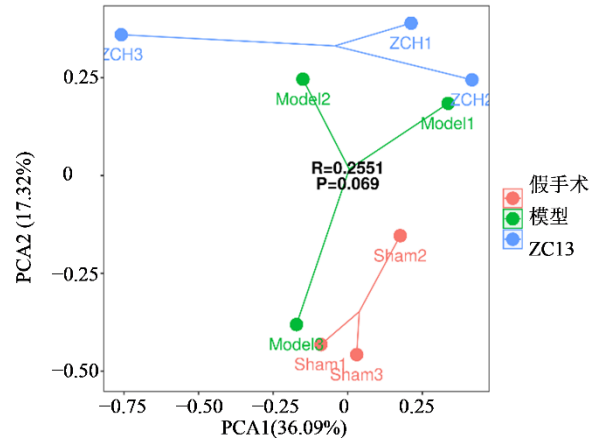
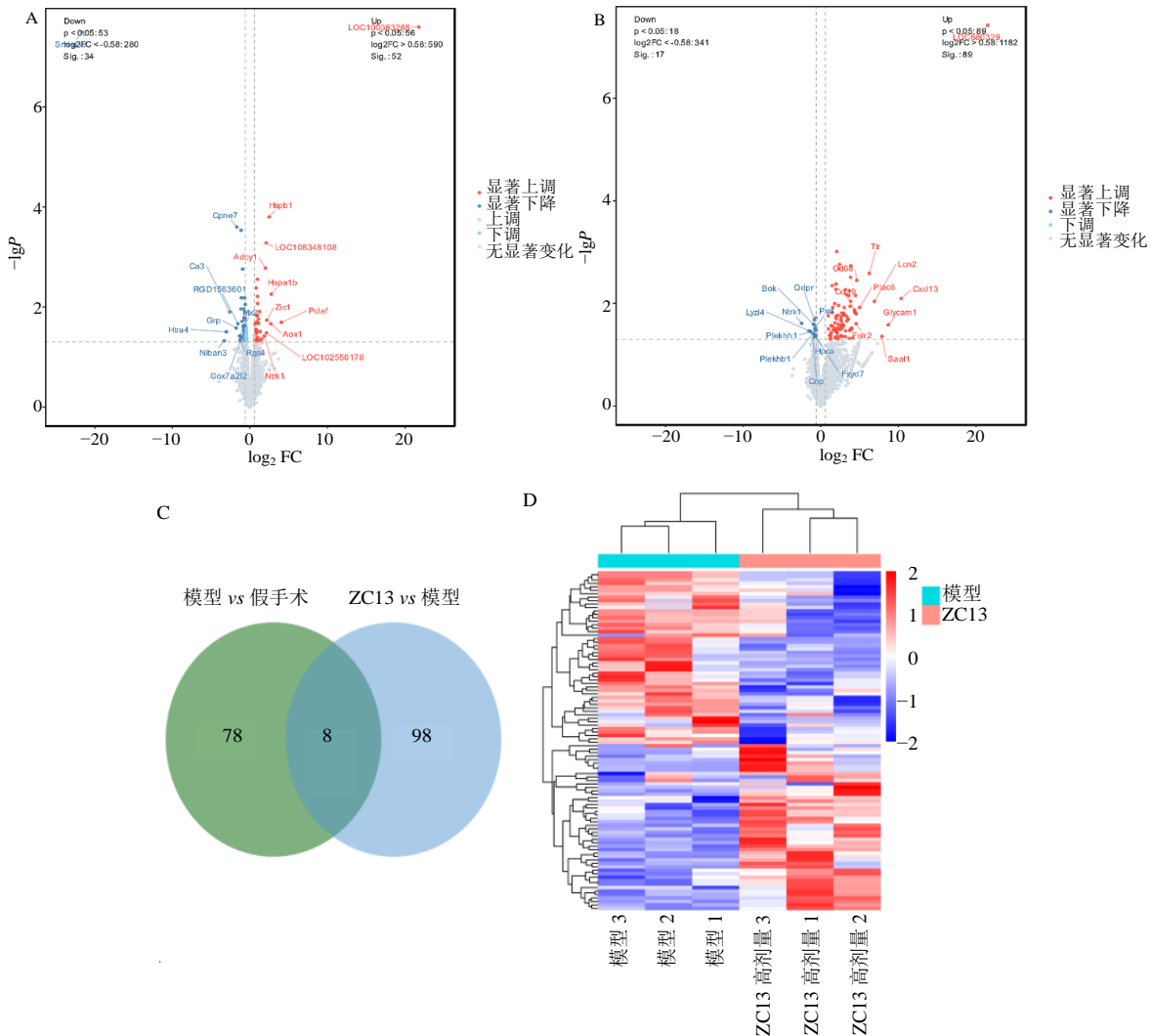


图 4 各组样本的 PCA

Fig. 4 PCA of samples of each group



模型组与假手术组 (A)、ZC13 组与模型组 (B) 之间的 DEGs 的火山图; C-ZC13 治疗 VaD 的核心靶基因; D-ZC13 高剂量组与模型组核心 DEGs 的表达聚类热图。

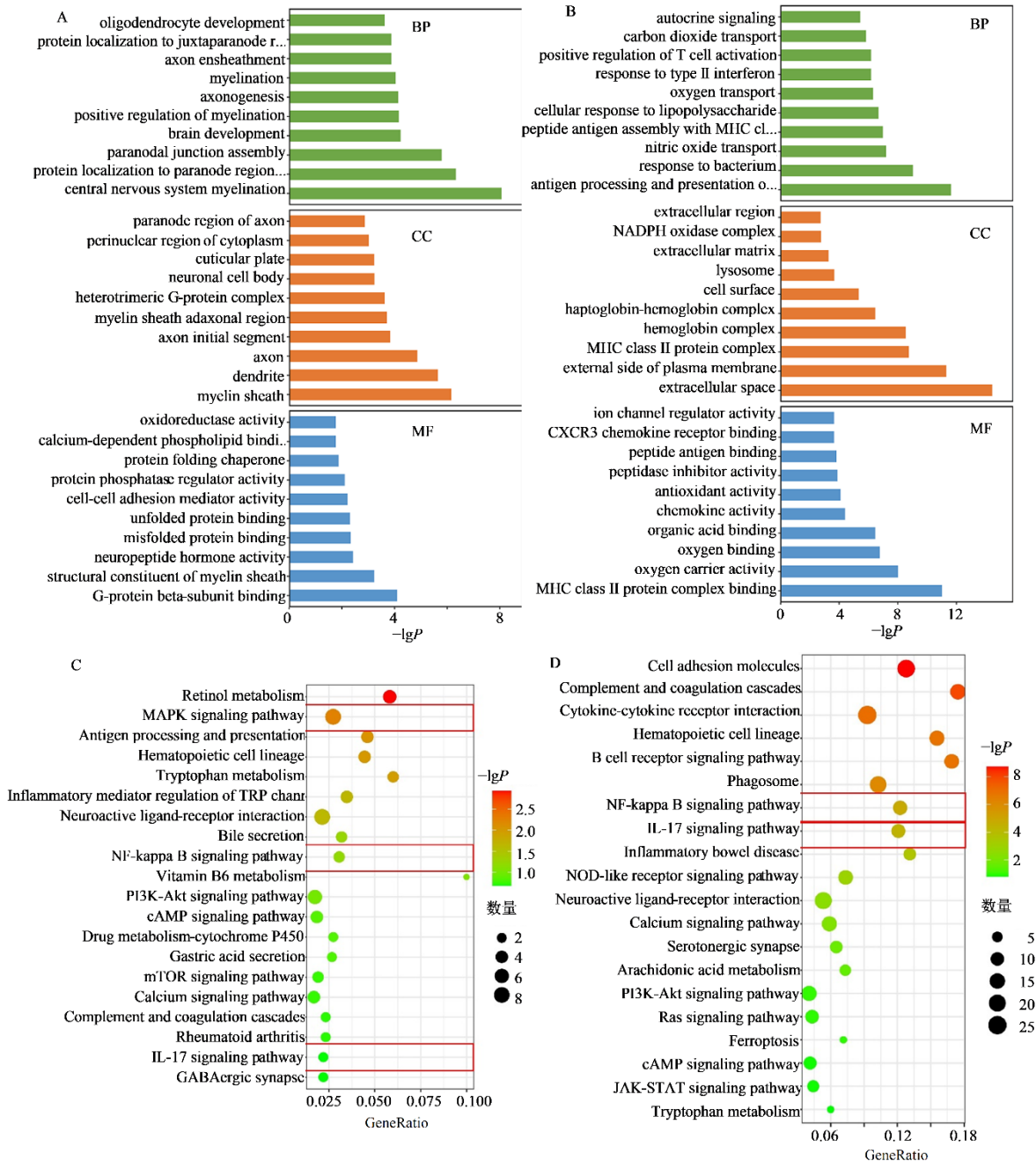
Volcano plots of DEGs between model group and sham operation group (A), ZC13 group and model group (B); C-core target genes of ZC13 treatment for VaD; D-expression clustering heatmap of core DEGs in high-dose ZC13 group and model group.

图 5 ZC13 干预 VaD 后 DEGs 分析

Fig. 5 Analysis of DEGs after ZC13 intervention in VaD

3.4.3 GO 功能富集分析 为进一步明确 VaD 发病及 ZC13 干预 VaD 所涉及基因的生物学功能变化, 本研究对模型组 vs 假手术组的 86 个差异基因、ZC13 高剂量组 vs 模型组的 106 个差异基因进行 GO 功能富集分析, 主要包括生物学过程 (BP)、细

胞组分 (CC) 和分子功能 (MF) 富集分析, 并设置 $P < 0.05$ 为筛选标准。结果显示, 模型组 vs 假手术组的差异基因功能主要集中在少突胶质细胞发育、中枢神经系统髓鞘化、神经元胞体、氧化还原酶活性和钙依赖性磷脂结合方面 (图 6-A)。而 ZC13 高



模型组与假手术组 (A)、ZC13 组与模型组 (B) 的 GO 功能富集分析; 模型组与假手术组 (C)、ZC13 组与模型组 (D) 的 KEGG 功能富集分析。
GO functional enrichment analysis of model group vs sham operation group (A), ZC13 group vs model group (B); KEGG functional enrichment analysis of model group vs sham operation group (C), ZC13 group vs model group (D).

图 6 GO、KEGG 功能富集分析

Fig. 6 GO and KEGG functional enrichment analysis

剂量组 vs 模型组差异基因的功能主要富集在 T 细胞活化的正调控、对 II 型干扰素的应答、对脂多糖

的细胞应答、MHCII 类蛋白复合物和 CXCR3 趋化因子受体结合等方面 (图 6-B)。值得注意的是, 以

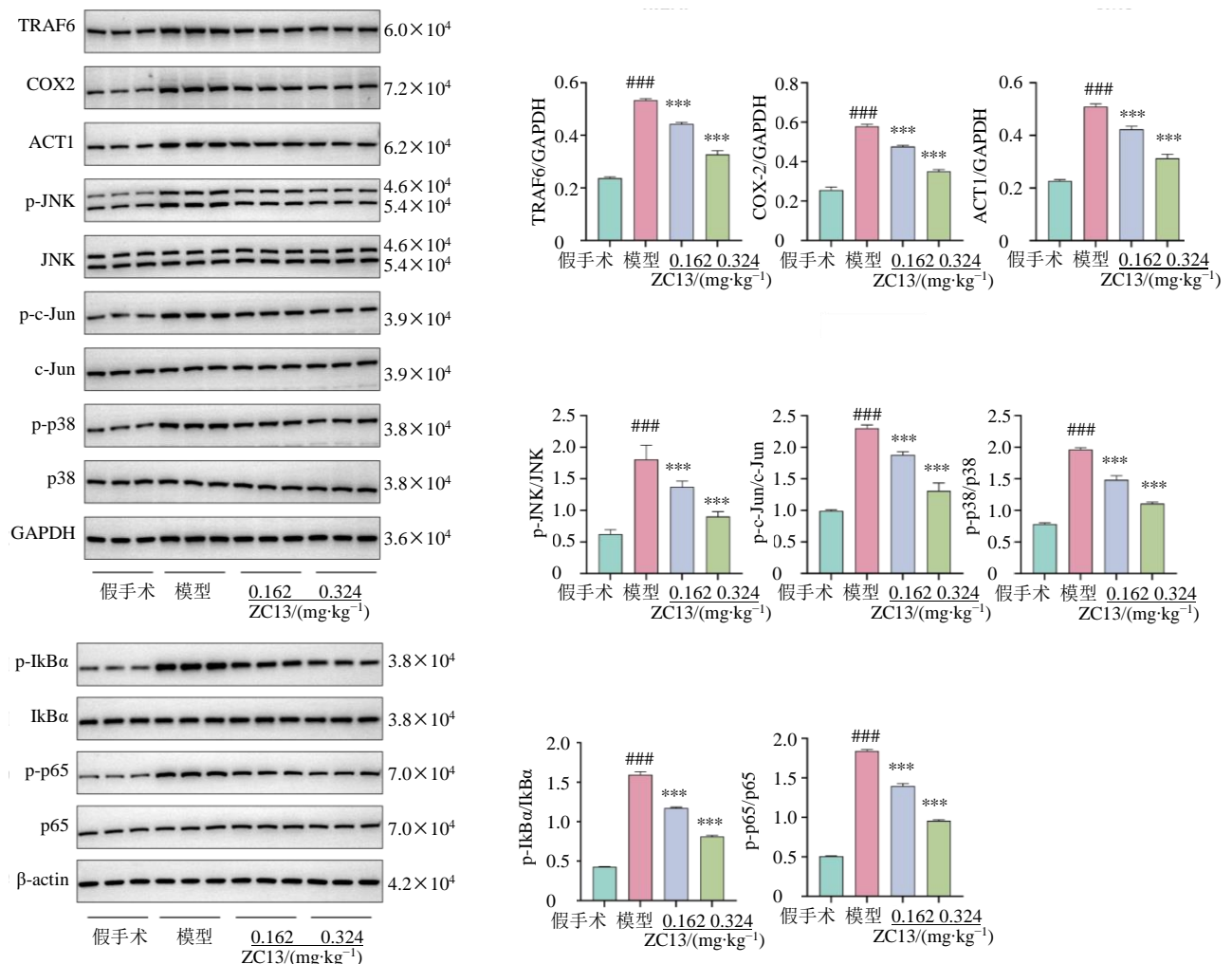
上生物学过程大多指向神经炎症过程。

3.4.4 KEGG 通路富集分析 通过 KEGG 数据库对模型组 vs 假手术组、ZC13 高剂量组 vs 模型组的 DEGs 进行通路富集分析, 设置 $P < 0.05$ 为筛选标准, 以富集比率 (rich ratio) 进行排序。如图 6-C 所示, 对模型组 vs 假手术组的 DEGs 进行富集分析, 发现以上基因主要富集的途径有 MAPK 信号通路、NF- κ B 信号通路及 IL-17 信号通路等。ZC13 高剂量组 vs 模型组的 106 个 DEGs 主要富集的信号通路有 NF- κ B 信号通路、IL-17 信号通路等 (图 6-D)。提示 ZC13 通过调控神经炎症相关信号通路干预 VaD 疾病进程。因此后续本研究采用 Western blotting 检测了神经炎症相关的差异基因以探究其

作用机制。

3.5 ZC13 高剂量显著抑制 IL-17/NF- κ B/MAPK 信号通路激活

Western blotting 检测结果显示, 与假手术组相比, 模型组大鼠脑组织中关键炎症介质 TRAF6、ACT1、COX-2 的蛋白表达水平显著上调 ($P < 0.001$); 同时, 该病理状态下 JNK、c-Jun、p38、I κ B α 、p65 等信号分子的磷酸化水平亦呈现显著升高趋势 ($P < 0.001$); 与模型组比较, ZC13 干预后, 上述异常升高的蛋白表达及磷酸化水平均被显著抑制 ($P < 0.001$), 其中高剂量组表现出更为显著的下调效应, 见图 7。结果表明, ZC13 的抗 VaD 作用可能与负向调控 IL-17/NF- κ B/MAPK 信号通路有关。



与对照组比较: ### $P < 0.001$; 与模型组比较: *** $P < 0.001$ 。
$P < 0.001$ vs control group; *** $P < 0.001$ vs model group.

图 7 ZC13 调控 VaD 大鼠的 NF- κ B/IL-17/MAPK 信号通路 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 7 ZC13 regulated IL-17/NF- κ B/MAPK pathway following VaD *in vivo* ($\bar{x} \pm s, n=3$)

3.6 ZC13 对 VaD 大鼠脑组织炎症细胞因子表达的影响

基于上述转录组学及 Western blotting 检测结果, 进一步采用 ELISA 技术对大鼠脑组织中的炎症细胞因子水平进行定量分析。结果显示, 与假手术组相比, 模型组大鼠脑内 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、IL-8、IL-17 的

浓度均呈现显著的病理升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 给予 ZC13 干预后, 上述促炎因子的释放水平被显著抑制 ($P < 0.001$), 见图 8。综合 Western blotting 及 ELISA 数据, 结果显示 ZC13 处理后 IL-17/NF- κ B/MAPK 通路相关分子及下游炎症介质水平均发生变化, 提示该通路可能参与其抗炎作用的发挥。

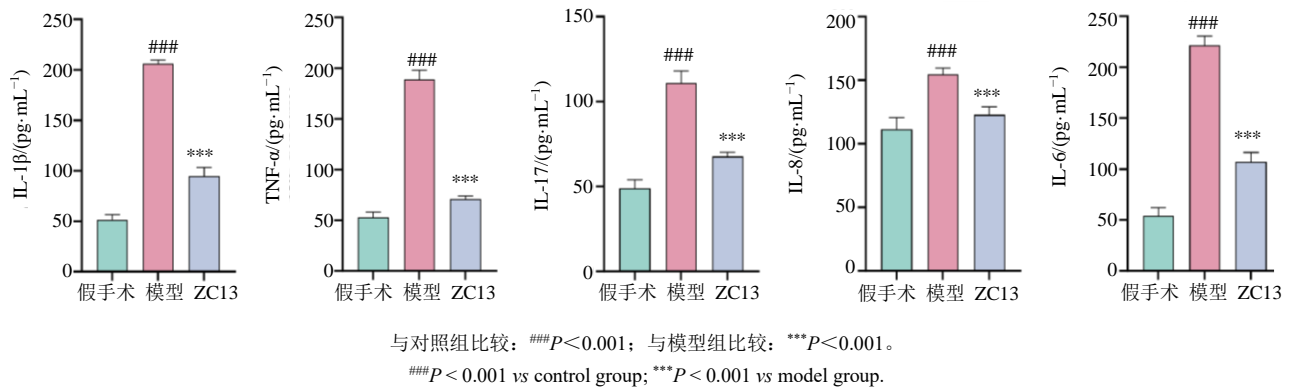


图 8 ZC13 对 VaD 后海马组织炎症细胞因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 8 Effect of ZC13 on reducing inflammatory cytokines in hippocampus after VaD ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.7 ZC13 对 VaD 大鼠脑组织细胞凋亡相关蛋白表达的影响

免疫组织化学结果显示 (图 9), Bax 和 Bcl-2 阳性细胞主要表现为胞质呈棕黄色或深棕色着色。

与假手术组相比, 模型组脑组织中 Bax 蛋白表达显著升高, 而 Bcl-2 表达明显降低; 经给药处理后上述变化得到逆转, 其中 ZC13 高剂量组改善最为显著。进一步定量分析表明, 模型组 Bax 的 A 值显著

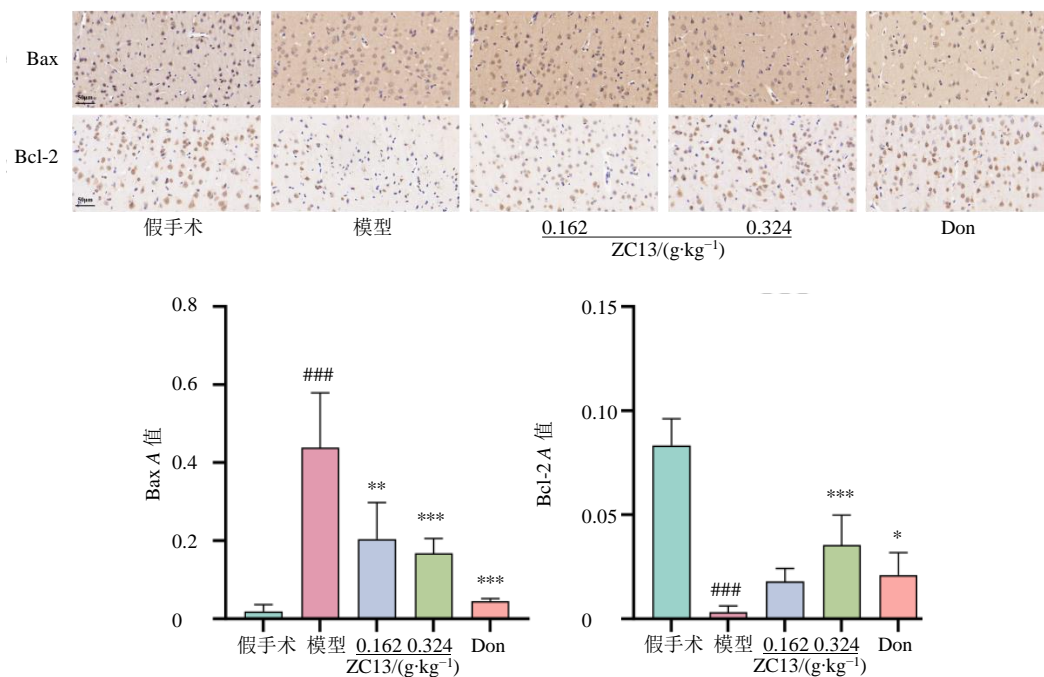


图 9 ZC13 对 VaD 后脑组织细胞凋亡相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 9 Effects of ZC13 on expression of apoptosis-related proteins in brain tissue after vascular dementia ($\bar{x} \pm s, n=6$)

升高($P < 0.001$)、Bcl-2 的 A 值显著降低($P < 0.001$); 与模型组比较, ZC13 高剂量组 Bax 的 A 值显著降低($P < 0.001$)、Bcl-2 的 A 值显著升高($P < 0.001$)。结果表明, ZC13 可对 VaD 大鼠脑组织发挥保护作用, 减轻神经元凋亡, 且高剂量给药的效果优于低剂量。

4 讨论

VaD 是一种由脑血管病理改变引起的严重认知功能障碍综合征, 其核心病理机制在于长期脑低灌注、缺氧及继发性神经炎症反应所导致的神经元损伤和认知功能下降^[16-17]。作为一种典型的神经炎症驱动型神经退行性疾病, VaD 的发生发展与多条炎症相关信号通路的异常激活密切相关。然而, 目前针对其分子机制的系统研究及有效干预策略仍然有限。ZC13 是蒙医药体系中具有悠久临床应用历史的经典复方制剂, 其主要组成麝香、挥发油及矿物药等已被证实可通过抑制 IL-1、IL-6、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 等炎症因子的表达, 协同发挥脑缺血保护作用^[18-19]。此外, 本课题组前期基于网络药理学方法系统分析了 ZC13 的主要活性成分及潜在靶点, 并提示其可能通过多成分、多靶点、多通路协同作用参与脑缺血及认知功能障碍的调控。在此基础上, 本研究主要聚焦于在 VaD 动物模型中验证 ZC13 的整体治疗作用及其关键炎症相关信号通路的调控效应, 而非针对单一成分与分子靶点进行一一对应分析。基于这一整体实验框架, 本研究首次在整体动物水平上, 整合转录组测序与多模式实验验证, 系统揭示了 ZC13 参与协同调控 IL-17/NF- κ B/MAPK 信号通路轴抑制神经炎症, 从而改善 VaD 认知功能障碍的潜在分子机制。

本研究采用双侧颈总动脉结扎术成功构建 VaD 大鼠模型^[20-21], 并通过 Morris 水迷宫实验、EB 染色、免疫组化染色、HE 染色及 Nissl 染色对模型动物的认知功能、BBB 通透性及神经元损伤情况进行了系统评价。结果显示, ZC13 显著改善 VaD 大鼠的学习记忆能力, 减轻海马及皮层神经元损伤并改善 BBB 通透性。这些行为学及组织学改善与分子水平变化高度一致, 提示 ZC13 对认知功能的保护作用很可能源于其对神经炎症及继发性神经元损伤的有效抑制。

在机制层面, NF- κ B、IL-17、MAPK 信号通路在维持 VaD 相关慢性神经炎症状态中发挥关键作用。缺血损伤可诱导 NF- κ B 关键亚基 p65 的磷酸化

和核转位, 促进 TNF- α 、IL-1 β 等促炎因子大量生成, 加重 BBB 损伤及神经元凋亡^[22-23]。IL-17 作为 Th17 细胞及其他免疫细胞分泌的促炎因子, 在脑损伤后迅速表达并结合其受体复合体 (IL-17RA/RC), 通过胞内结构域招募适配蛋白 ACT1 并激活 TRAF6, 成为炎症信号的上游触发节点, IL-17A/ACT1/TRAF6 复合体进一步触发 p38 MAPK/JNK 级联反应, 放大炎症信号并促进 c-Jun 等转录因子介导的促炎反应^[24-26]。这一点不仅在 Th17 调控免疫反应的综述中得到明确描述, 而且在特定神经炎症模型中已有实验证据支持, IL-17 能通过激活 NF- κ B/MAPK 信号在星形胶质细胞中诱导炎症表型并加重组织损伤^[27]。此外, NF- κ B 和 MAPK 信号通路本身也存在交互放大的机制, NF- κ B 的激活可促进多种促炎细胞因子的表达, 而 MAPK 激酶簇的磷酸化进一步增强 NF- κ B 的转录活性, 两者共同驱动神经炎症级联反应^[28]。这种交互在脑缺血相关的炎症中具有重要意义, 实验证据显示在缺血条件下抑制 NF- κ B 或 MAPK 信号可以有效降低炎症小体激活和炎症介质表达, 从而改善神经元存活率^[29]。有研究表明, 在 VaD 的病理进程中, TLR4/MyD88/NF- κ B 信号轴以及 p38 MAPK/JNK/NF- κ B 级联通路的协同激活, 共同驱动中枢神经系统慢性神经炎症、蛋白质结构破坏及认知功能进行性衰退^[30-31]。综上, IL-17 信号作为上游触发器通过 TRAF6 介导 NF- κ B 和 MAPK 的并发激活, 而 MAPK 的活性又反馈增强 NF- κ B 介导的炎症转录, 形成一个信号串扰网络, 这种级联放大机制共同促进脑缺血后慢性神经炎症的持续和扩散。本研究与以上发现一致, 显示 ZC13 有效地减弱了这一网络, 从而减轻了神经炎症。在此基础上, 本研究转录组测序结果提示 NF- κ B、IL-17 及 MAPK 相关通路显著富集, Western blotting 检测进一步证实 ZC13 干预后, VaD 模型大鼠脑内 TRAF6、ACT1、JNK、c-Jun、p38、I κ B α 及 p65 蛋白表达水平均显著降低, 提示 ZC13 可能在上游阻断 IL-17/ACT1/TRAF6 信号轴, 并抑制 MAPK 及 NF- κ B 通路的异常激活, 从而协同削弱炎症信号的级联放大。

长期慢性脑低灌注可持续激活中枢炎症反应并诱导促炎细胞因子大量释放, 其中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17 等被认为是 VaD 慢性炎症状态的重要介质^[32-33]。本研究结果显示, ZC13 干预显著降低了 VaD 模型大鼠脑组织中 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、IL-8、

IL-17 等促炎因子的水平。同时, COX-2 这一典型炎症效应酶的表达亦明显下调。鉴于 COX-2 是 NF- κ B、IL-17 及 MAPK 通路共同调控的经典下游靶基因^[34], 其降低进一步从蛋白水平印证了 ZC13 对 IL-17/NF- κ B/MAPK 信号轴下游炎症级联反应的有效抑制。此外, 慢性神经炎症还可通过激活多种促凋亡信号通路诱导神经元程序性死亡, 从而加重认知障碍^[35-36]。NF- κ B、IL-17、MAPK 信号通路的持续异常激活已被证实可上调 Bax、cleaved-Caspase-3 等促凋亡蛋白的表达, 并抑制 Bcl-2 等抗凋亡因子, 从而促进神经元凋亡的发生^[37, 39]。本研究免疫组化结果显示, ZC13 干预显著减轻了 VaD 模型大鼠神经元凋亡。结合其对 IL-17/NF- κ B/MAPK

信号通路的抑制作用, 提示 ZC13 可能通过阻断炎症-凋亡轴的异常激活, 减轻神经元丢失并发挥神经保护作用。

本研究系统揭示了 ZC13 通过协同调控 IL-17/NF- κ B/MAPK 信号通路, 抑制神经炎症及继发性神经元凋亡, 从而改善 VaD 认知功能的潜在机制, 作用机制见图 10。然而, 本研究仍主要基于整体动物模型, 尚未明确其在特定细胞类型(如小胶质细胞、神经元)中的直接作用靶点。未来研究可进一步结合细胞模型及条件性基因敲除动物, 对关键靶点进行细胞特异性验证, 并明确复方中关键活性成分与信号通路之间的对应关系, 从而为其临床应用及科学用药提供更坚实的理论依据。

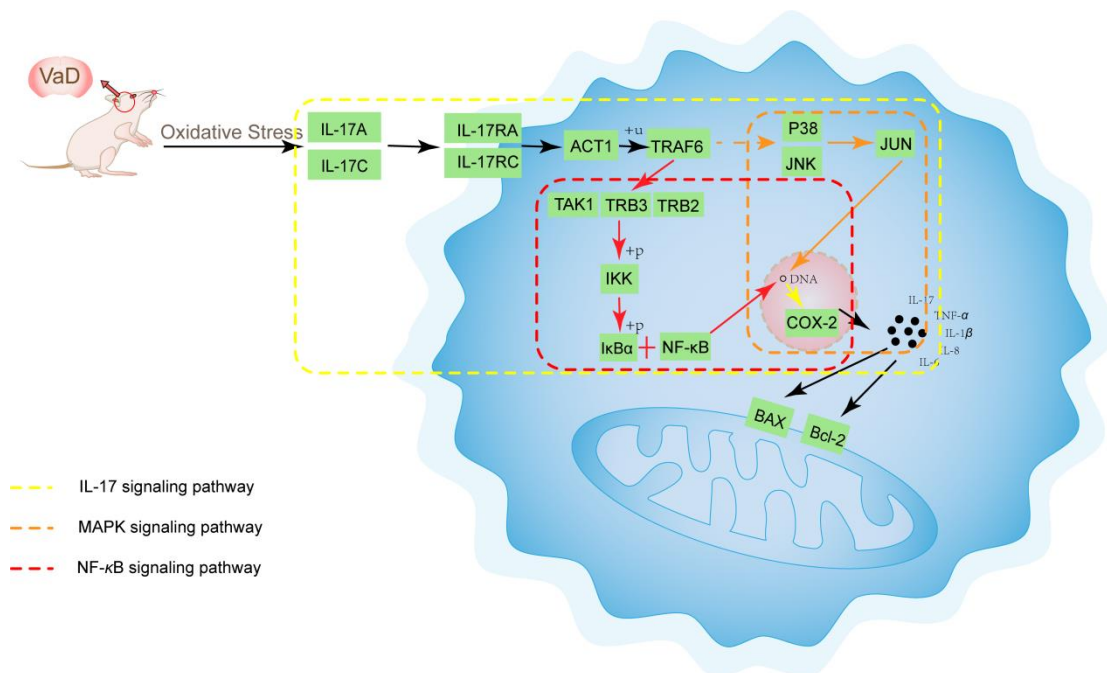


图 10 ZC13 抗 VaD 作用相关信号通路机制示意图

Fig. 10 Schematic diagram illustrating signaling pathways underlying anti-vascular dementia effects of ZC13

作者贡献: 梁茹、樊凌暄负责实验建立大鼠血管性痴呆模型和相关实验研究工作; 田彩云、段超慧参与实验设计、提供研究思路; 高博闻负责指导实验设计与研究方法、提供项目经费支持。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Bir S C, Khan M W, Javalkar V, et al. Emerging concepts in vascular dementia: A review [J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2021, 30(8): 105864.
- [2] Inoue Y, Shue F, Bu G J, et al. Pathophysiology and

probable etiology of cerebral small vessel disease in vascular dementia and Alzheimer's disease [J]. Mol Neurodegener, 2023, 18(1): 46.

- [3] Rundek T, Tolea M, Ariko T, et al. Vascular cognitive impairment (VCI) [J]. Neurotherapeutics, 2022, 19(1): 68-88.
 - [4] 周杜娟, 江羚, 林自恒. 尼莫地平联合多奈哌齐对血管性痴呆的临床疗效 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2021, 31(8): 137-139.
- Zhou D J, Jiang L, Lin Z H. Clinical effect of nimodipine combined with donepezil on vascular dementia [J]. Shenzhen J Integr Tradit Chin West Med, 2021, 31(8):

- 137-139.
- [5] Lin K, Zhou M, Leng C L, et al. Neuroprotective effect of polyphenol extracts from *Terminalia chebula* Retz. against cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Molecules*, 2022, 27(19): 6449.
- [6] Li Y W, Wu J, Du F, et al. Neuroprotective potential of glycyrrhizic acid in ischemic stroke: Mechanisms and therapeutic prospects [J]. *Pharmaceuticals*, 2024, 17(11): 1493.
- [7] Zhang C R, Jayashree E, Kumar P S, et al. Antioxidant and anti-inflammatory compounds in nutmeg (*Myristica fragrans*) pericarp as determined by *in vitro* assays [J]. *Nat Prod Commun*, 2015, 10(8): 1934578X1501000822.
- [8] 宝鲁尔, 陈红梅, 刘小伟, 等. 蒙药经典方扎冲十三味丸的方解、方源、药理与临床应用 [J]. *世界中医药*, 2021, 16(14): 2177-2182.
- Bao L E, Chen H M, Liu X W, et al. Review of pharmacological mechanism, clinical application, prescription source and clinical application of the classic Mongolian medicinal prescription Zhachong-13 flavor pills [J]. *World Chin Med*, 2021, 16(14): 2177-2182.
- [9] 都布新. 蒙药扎冲十三味丸临床应用及药物作用概况 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2018, 18(10): 152.
- Du B X. Overview of clinical application and drug action of Mongolian medicine Zhachong 13 pills [J]. *World Latest Med Inf*, 2018, 18(10): 152.
- [10] Tian C Y, Yang Q R, Fan L X, et al. Online identification of chemical constituents in Mongolian medicine Zhachong-13 pills by UHPLC-Q-exactive Orbitrap MS [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2025, 27(1): 47-61.
- [11] 樊凌暄, 田彩云, 杨玉梅, 等. 基于网络药理学与分子对接探讨蒙药扎冲十三味丸抗缺血性脑卒中的作用机制及实验验证 [J]. *中国医院药学杂志*, 2024, 44(7): 802-809.
- Fan L X, Tian C Y, Yang Y M, et al. Mechanistic study of Mongolian medicine Zhachong 13 Pills for ischemic stroke based upon network pharmacology, molecular docking and experimental verification [J]. *Chin J Hosp Pharm*, 2024, 44(7): 802-809.
- [12] Wang R K, Cai M Y, Yu X, et al. Exploring the neuroprotective mechanism of the Mongolian medicine ZSP against acute ischemic stroke from TRPV1/NMDAR-mediated excitotoxicity [J]. *J Ethnopharmacol*, 2026, 355: 120625.
- [13] Song Q, Bi L, Jiao J K, et al. Zhachong Shisanwei Pill resists ischemic stroke by lysosome pathway based on proteomics and bioinformatics [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 301: 115766.
- [14] Yan M L, Ai J. A rodent model for chronic brain hypoperfusion related diseases: Permanent bilateral occlusion of the common carotid arteries (2VO) in rats [J]. *Bio Protoc*, 2018, 8(1): e2668.
- [15] 田彩云, 徐彬, 贾克文, 等. 蒙药扎冲十三味丸对脑缺血大鼠神经行为功能的影响 [J]. *药物评价研究*, 2022, 45(3): 488-492.
- Tian C Y, Xu B, Jia K W, et al. Effect of Mongolian medicine Zhachong 13 Pill on neurobehavioral function of rats with cerebral ischemia [J]. *Drug Eval Res*, 2022, 45(3): 488-492.
- [16] Raz L, Knoefel J, Bhaskar K. The neuropathology and cerebrovascular mechanisms of dementia [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2016, 36(1): 172-186.
- [17] Chang Wong E, Chang Chui H. Vascular cognitive impairment and dementia [J]. *Continuum*, 2022, 28(3): 750-780.
- [18] 武海军, 何静波, 杨玉梅, 等. 扎冲十三味及其有效组分挥发油对大鼠脑缺血的保护作用 [J]. *中药药理与临床*, 2012, 28(5): 190-193.
- Wu H J, He J B, Yang Y M, et al. Protective effects of "Garidi-13" and its effective fraction-the volatile oil on focal cerebral ischemia injury in rats [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2012, 28(5): 190-193.
- [19] 李焕婷, 何静波, 杨玉梅, 等. 扎冲十三味中矿物药对脑缺血保护作用初探 [J]. *中国现代医学杂志*, 2015, 25(15): 25-28.
- Li H T, He J B, Yang Y M, et al. Protective effects of Garidi-13 mineral fraction on focal cerebral ischemia injury in rats [J]. *China J Mod Med*, 2015, 25(15): 25-28.
- [20] Du S Q, Wang X R, Xiao L Y, et al. Molecular mechanisms of vascular dementia: What can be learned from animal models of chronic cerebral hypoperfusion? [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(5): 3670-3682.
- [21] 谭洁, 韩国栋, 张泓, 等. 改良大鼠双侧颈总动脉结扎方式建立血管性痴呆模型的评价研究 [J]. *中国康复医学杂志*, 2017, 32(3): 264-268.
- Tan J, Han G D, Zhang H, et al. Evaluation of vascular dementia rat model established by modified bilateral carotid artery ligation way [J]. *Chin J Rehabil Med*, 2017, 32(3): 264-268.
- [22] Ma S J, Jia J X, Wu L, et al. Total flavonoids of *Dracocephalum moldavica* L. alleviate cognitive impairment via TNF- α /NF- κ B p65 signaling pathway in vascular dementia rats [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1640272.
- [23] 王颖, 高伶俐, 王莎, 等. 丹参酮 II A 治疗血管性痴呆作用机制研究进展 [J]. *江苏中医药*, 2023, 55(12): 73-

77.
Wang Y, Gao L L, Wang S, et al. Review of tanshinone II A in the treatment of vascular dementia [J]. *Jiangsu J Tradit Chin Med*, 2023, 55(12): 73-77.
- [24] Zhang Q H, Liao Y, Liu Z Q, et al. Interleukin-17 and ischaemic stroke [J]. *Immunology*, 2021, 162(2): 179-193.
- [25] 李君, 高维娟. MAPK 级联信号通路与管理性痴呆的相关性研究进展 [J]. *第四军医大学学报*, 2009, 30(17): 1630-1632.
Li J, Gao W J. Advan in the correlation between MAPK cascade signaling pathway and vascular dementia [J]. *J Fourth Mil Med Univ*, 2009, 30(17): 1630-1632.
- [26] 刘芳, 李梦醒, 李真, 等. 艾灸督脉组穴对血管性痴呆大鼠海马 p38 MAPK 信号通路及细胞凋亡的影响 [J]. *安徽中医药大学学报*, 2024, 43(2): 42-48.
Liu F, Li M X, Li Z, et al. Effect of governor vessel moxibustion on the p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway and neuronal apoptosis in rats with vascular dementia [J]. *J Anhui Univ Chin Med*, 2024, 43(2): 42-48.
- [27] Li S M, Wang L, Luo Q Q, et al. Cardiac arrest triggers IL-17-mediated neuroinflammation and astrocyte polarization: Insights into pathogenesis and intervention [J]. *J Neuroinflam*, 2025, 22(1): 268.
- [28] Ge X, Zhang D M, Li M M, et al. Microglial LOX-1/MAPKs/NF- κ B positive loop promotes the vicious cycle of neuroinflammation and neural injury [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 70: 187-200.
- [29] Fann D Y, Lim Y A, Cheng Y L, et al. Evidence that NF- κ B and MAPK signaling promotes NLRP inflammasome activation in neurons following ischemic stroke [J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(2): 1082-1096.
- [30] Tian Z M, Ji X M, Liu J. Neuroinflammation in vascular cognitive impairment and dementia: Current evidence, advances, and prospects [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(11): 6224.
- [31] Jiang H L, Ashraf G M, Liu M M, et al. Tilianin ameliorates cognitive dysfunction and neuronal damage in rats with vascular dementia via p-CaMKII/ERK/CREB and ox-CaMKII-dependent MAPK/NF- κ B pathways [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 6673967.
- [32] Yang Y, Zhao X Y, Zhu Z R, et al. Vascular dementia: A microglia's perspective [J]. *Ageing Res Rev*, 2022, 81: 101734.
- [33] Custodero C, Ciavarella A, Panza F, et al. Role of inflammatory markers in the diagnosis of vascular contributions to cognitive impairment and dementia: A systematic review and Meta-analysis [J]. *GeroScience*, 2022, 44(3): 1373-1392.
- [34] Zhao Y D, Yang Y W, Liu M, et al. COX-2 is required to mediate crosstalk of ROS-dependent activation of MAPK/NF- κ B signaling with pro-inflammatory response and defense-related NO enhancement during challenge of macrophage-like cell line with *Giardia duodenalis* [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2022, 16(4): e0010402.
- [35] Fu X C, Cai Z B, Wu Y X, et al. Serum amyloid A-mediated neuro-inflammation induces hippocampal neuron apoptosis and postoperative cognitive dysfunction in mice [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1661881.
- [36] Huang S, Lu Y X, Fang W Z, et al. Neurodegenerative diseases and neuroinflammation-induced apoptosis [J]. *Open Life Sci*, 2025, 20: 20221051.
- [37] Gu J H, Ge J B, Li M, et al. Inhibition of NF- κ B activation is associated with anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of Ginkgolide B in a mouse model of cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2012, 47(4): 652-660.
- [38] Xu D D, Kong T T, Shao Z Q, et al. Orexin-a alleviates astrocytic apoptosis and inflammation via inhibiting OX1R-mediated NF- κ B and MAPK signaling pathways in cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. *Biochim Biophys Acta BBA Mol Basis Dis*, 2021, 1867(11): 166230.
- [39] Li T, Zhang Y M, Han D, et al. Involvement of IL-17 in secondary brain injury after a traumatic brain injury in rats [J]. *Neuro Molecular Med*, 2017, 19(4): 541-554.

[责任编辑 兰新新]