

脑泰方经 miRNA-124/STAT3 信号通路减轻脑缺血再灌注损伤后胶质瘢痕

刘吉勇¹, 廖君², 荆志伟³, 王国佐⁴, 葛金文⁵, 梅志刚^{6*}

1. 湖南中医药大学中医学院, 中医诊断学湖南省重点实验室, 湖南长沙 410208

2. 湖南中医药大学医学院, 湖南长沙 410208

3. 中国中医科学院中医临床基础医学研究所, 北京 100700

4. 湖南中医药大学第二附属医院, 湖南长沙 410005

5. 湖南省中医药研究院, 湖南长沙 410013

6. 湖南中医药大学中医药科学院, 湖南长沙 410208

摘要:目的 探讨脑泰方通过 miRNA-124/信号转导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 信号通路减轻脑缺血再灌注损伤 (cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI) 后胶质瘢痕的作用。方法 将 48 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、脑泰方、脑泰方+miRNA-124 拮抗剂组, 每组 12 只。除假手术组外, 各组采用大鼠中动脉阻塞/复灌注方法建立大鼠 CIRI 模型。脑泰方+miRNA-124 拮抗剂组于术前 20 min 侧脑室注射 miR-124-3P antagomir, 给予脑泰方连续治疗 14 d 后, 采用 Longa 法进行神经功能评分; 水迷宫实验检测大鼠学习和记忆能力; 旷场实验评估大鼠焦虑程度; TTC 染色法检测脑梗死面积; 苏木素-伊红 (HE) 染色法观察脑组织病理变化; 免疫荧光法检测缺血脑皮质胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP) 的表达; qRT-PCR 检测脑缺血皮质组织 miRNA-124 基因表达; Western blotting 检测脑缺血皮质组织 M2 型小胶质细胞标志分子 [精氨酸酶-1 (arginase-1, Arg-1)、CD206], 炎症因子 [白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、IL-4], 胶质瘢痕相关蛋白 [GFAP、神经蛋白聚糖 (neurocan)、磷酸聚糖 (phosphacan)] 以及 p-STAT3、STAT3 蛋白表达。结果 与模型组比较, 脑泰方组及脑泰方+miRNA-124 拮抗剂组大鼠脑组织病理损伤减轻, 脑梗死面积减少 ($P < 0.05, 0.01$); 水迷宫和旷场实验结果显示, 各给药组大鼠认知功能改善, 卒中后焦虑减轻 ($P < 0.05, 0.01$); 免疫荧光结果显示, 各给药组大鼠脑缺血皮质组织 GFAP 荧光表达减少 ($P < 0.01$), 瘢痕厚度减轻; qRT-PCR 结果显示, 各给药组大鼠脑缺血皮质组织 miRNA-124 基因表达水平升高 ($P < 0.01$); Western blotting 结果显示, 各给药组大鼠脑缺血皮质组织 GFAP、neurocan、phosphacan、p-STAT/STAT3、IL-1 β 、IL-6 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), CD206、Arg-1、IL-4 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05, 0.01$)。结论 脑泰方对 CIRI 具有神经保护作用, 可能与通过 miRNA-124/STAT3 信号通路减轻 CIRI 大鼠星形胶质细胞增生和神经胶质瘢痕形成有关。

关键词: 脑缺血再灌注损伤; 脑泰方; 胶质瘢痕; miRNA-124; 信号转导和转录激活因子 3; 川芎嗪; 阿魏酸; 黄芪甲苷
中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)13-4691-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.13.013

Naotaifang alleviates glial scar in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury through miRNA-124/STAT3 signaling pathway

LIU Jiyong¹, LIAO Jun², JING Zhiwei³, WANG Guozuo⁴, GE Jinwen⁵, MEI Zhigang⁶

1. Hunan Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Diagnostics, College of Traditional Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. Medical School, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

3. Institute of Basic Research in Clinical Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

4. The Second Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410005, China

5. Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410013, China

6. Academy of Chinese Medical Sciences, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

收稿日期: 2025-01-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82174167); 湖南省自然科学基金面上项目 (2023JJ30464); 湖南省教育厅青年项目 (22B0382); 湖南省卫生健康委科研项目 (D202303078170)

作者简介: 刘吉勇 (1982—), 女, 讲师, 从事中医药对脑病的防治研究。E-mail: liujiyong@hnuocm.edu.cn

*通信作者: 梅志刚 (1977—), 男, 博士生导师, 教授, 从事中西医结合防治神经和精神疾病研究。E-mail: meizhigang@hnuocm.edu.cn

Abstract: Objective To investigate the effect of Naotaifang (脑泰方, NTF) on reducing glial scar formation after cerebral ischemia-reperfusion injury (CIRI) through miRNA-124/signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signaling pathway. **Methods** A total of 48 SD rats were randomly divided into sham group, model group, NTF group and NTF + miRNA-124 antagonist group, with 12 rats in each group. Except for sham group, CIRI model was established by middle cerebral artery occlusion/reperfusion in each group. NTF + miRNA-124 antagonist group was injected with miR-124-3P antagomir into the lateral ventricle 20 min before surgery. After continuous treatment with NTF for 14 d, the neural function score was evaluated using Longa method; The learning and memory ability of rats was detected by the water maze experiment. The anxiety degree of rats was evaluated by open field experiment. The infarct size was detected by TTC staining. The pathological changes of brain were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. The expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in ischemic cerebral cortex was detected by immunofluorescence. The expression of *miRNA-124* gene in cerebral ischemic cortex was detected by qRT-PCR. Western blotting was used to detect M2 microglial cell marker molecules [arginase-1 (Arg-1), CD206], inflammatory factors [interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6, IL-4], glial scar associated proteins [GFAP, neurocan, phosphatan], as well as p-STAT3 and STAT3 protein expressions in cerebral ischemic cortex. **Results** Compared with model group, the pathological injury of brain tissue in NTF group and NTF + miRNA-124 antagonist group was reduced, and the cerebral infarction area was decreased ($P < 0.05, 0.01$). The results of water maze and open field experiments showed that the cognitive function of rats in each administration group were improved, and the anxiety after stroke was alleviated ($P < 0.05, 0.01$). The results of immunofluorescence showed that the fluorescence expression of GFAP was decreased and scar thickness was decreased ($P < 0.01$). The results of qRT-PCR showed that the expression of *miRNA-124* gene in cerebral ischemic cortex tissues of rats in each administration group was increased ($P < 0.01$). The results of Western blotting showed that the expressions of GFAP, neurocan, phosphacan, p-STAT/STAT3, IL-1 β and IL-6 protein in cerebral ischemic cortical tissue of rats in each administration group were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$), the expressions of CD206, Arg-1 and IL-4 were significantly increased ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** NTF exhibits a neuroprotective effect on CIRI, which may be attributed to the reduction of astrocyte proliferation and glial scar formation in CIRI rats through miRNA-124/STAT3 signaling pathway.

Key words: cerebral ischemia-reperfusion injury; Naotaifang; glial scar; miRNA-124; signal transducer and activator of transcription 3; ligustrazine; ferulic acid; astragaloside A

缺血性脑卒中 (ischemic stroke, IS) 是由脑血管发生病变而引起的一种疾病, 是全球第 2 大死亡病因, 具有高发病率、高复发率、高致残率、高死亡率、高经济负担的特点^[1-4]。再灌注治疗是急性脑梗死治疗的里程碑, 但部分脑梗死患者采用重组组织型纤溶酶原激活剂 (recombinant tissue plasminogen activator, rt-PA) 溶栓或介入取栓恢复血供后, 脑损伤反而加重, 发生脑缺血再灌注损伤 (cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI), 涉及氧化应激、炎症、自噬、凋亡、大量胶质细胞活化等一系列病理改变^[5-6]。胶质瘢痕 (glial scar, GS) 是 CIRI 后重要的病理特征, GS 致密结构会阻碍神经重塑及突触延伸, 严重阻碍脑卒中后期脑组织的修复^[7]。因此, 有效地调控胶质瘢痕的形成和降解有利于 CIRI 后神经功能康复。脑泰方是本课题组研发的专利处方 (专利号 ZL201110178359.4), 主要由黄芪、川芎、僵蚕、地龙 4 味中药组成, 具有益气活血、祛痰通络之功效, 临床用于治疗缺血性脑病显示具有良好的疗效^[8]。前期研究证实, 脑泰方可以通过发挥抗炎、抗氧化^[9]、抗铁死亡^[10]、改善微

循环^[11]、抑制瘢痕形成^[12]等作用减轻 CIRI, 然而其具体作用机制尚不清楚。

神经胶质瘢痕形成的特征是小胶质细胞 (microglia, MG) 与反应性星形胶质细胞 (reactive astrocytes, RA) 的增殖, 表现为胞体增大、神经胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP) 免疫反应性增加及星形胶质细胞增厚^[13-14]。研究表明, 信号转导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 蛋白是中枢神经系统损伤 RA 增生的关键调节因子, 其激活可促进 GFAP 表达, 导致脑损伤后出现严重的星形胶质细胞增生, 在胶质瘢痕形成过程中发挥重要作用^[15-16]。微小 RNA-124 (miRNA-124) 是中枢神经系统中 MG 表型转换的关键调节因子, 其高表达能促进 MG 向 M2 型极化^[17], STAT3 为 miRNA-124 的直接靶基因, M2 型 MG 分泌的 miRNA-124 可抑制星形胶质细胞 STAT3 的表达, 减少胶质瘢痕形成, 在 CIRI 后 GS 形成过程中扮演着重要角色^[18], 故 miRNA-124 是 MG 与星形胶质细胞 (astrocytes, Ast) 交互作用的重要调控因子。前期研究发现, 脑

泰方能诱导 MG 向 M2 型极化,减少胶质瘢痕形成,但是 MG 如何影响神经胶质细胞瘢痕形成仍不清楚,故本研究拟从 miRNA-124/STAT3 信号通路探讨脑泰方干预调控胶质瘢痕形成,防治 IS 的潜在机制,为其临床推广应用提供科学依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 48 只,3 月龄,体质量 (260±20)g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限责任公司,实验动物使用许可证号 SYXK(湘)2019-0009,实验动物合格证号 SCXK(湘)2019-0004。动物饲养在湖南中医药大学实验动物中心,环境温度 20~25℃,相对湿度 60%~70%,12 h 明暗循环,自由进食饮水。动物实验经湖南中医药大学动物伦理委员会批准(批准号 LL2022062705)。

1.2 药品与试剂

脑泰方由黄芪 40 g、川芎 10 g、地龙 15 g、僵蚕 15 g 组成,药物颗粒剂(批号 0022380042)由四川新绿色药业科技发展有限公司制成,根据前期研究结果^[12,19-20],采用临床等效剂量(27 g/kg)进行实验。采用高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)对脑泰方超微颗粒进行定量分析,经检测每 80 克复方中含川芎嗪 0.360 mg、阿魏酸 44.826 mg、黄芪甲苷 18.634 mg。

磷酸酶抑制混合物(批号 K10151133EE8D)购自美国 Apexbt 公司;戊巴比妥钠(批号 2106211)购自 Merck KGaA 公司;RIPA 裂解液(批号 35621)、超纯总 RNA 提取试剂盒(批号 QL56715)、Ultra SYBR Mixture(批号 00601/06723)、蛋白酶抑制剂混合(批号 01392/30721)购自北京康为世纪生物科技有限公司;SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(批号 101321220318)购自上海碧云天生物技术有限公司;DAPI 溶液(批号 20220105)购自北京索莱宝科技有限公司;抗荧光衰减封片剂(批号 17C03A09)购自武汉博士德生物工程有限公司;FITC 标记的山羊抗兔 IgG 二抗(批号 ATUNO1601)购自亚科因生物技术有限公司;GFAP 抗体(批号 00103758)、CD206 抗体(批号 00096679)购自武汉三鹰生物技术有限公司;白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)抗体(批号 B8001)、精氨酸酶-1(arginase-1, Arg-1)抗体(批号 B5801)、IL-6 抗体(批号 B3901)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase,

GAPDH)抗体(批号 20220218)、STAT3(批号 AF06176)、p-STAT3 抗体(批号 AF11258)购自湖南艾方生物科技有限公司;IL-4 抗体(批号 F083512)购自 Bioss 公司;神经蛋白聚糖(neurocan)抗体(批号 42z8204)、磷酸聚糖(phosphacan)抗体(批号 29Y8501)购自安诺伦(北京)生物科技有限公司;BCA 蛋白定量试剂盒(批号 E-BC-K318-M)购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;PCR 引物(批号 MFCD006027)购自上海生工生物工程股份有限公司;HiScript III 1st Strand cDNA Synthesis Kit(+gDNA wiper,批号 L/N7E582I1)购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司;miRNA-124 拮抗剂(miR-124-3P antagomir,批号 T1013)购自广州锐博生物有限公司。

1.3 仪器

250~280 g MCAO 线栓(北京西浓科技有限公司);RWD510 型动物麻醉机(深圳瑞沃德生命科技有限公司);SMART 3.0 型小动物行为学记录仪(硬件为深圳市瑞沃德生命科技有限公司,软件为西班牙 Panlab 公司);5417R 型高速冷冻离心机、5810R 型小型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);ChemiDoc™ XRS+型蛋白表达成像系统、Mini-PROTEAN Tetra 型蛋白电泳系统(美国 Bio-Rad 公司);Nanodrop 超微量分光光度计、HM325 型石蜡切片机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);ABI7500 型实时荧光定量 PCR 仪(美国 Applied Biosystem 公司);TissueFAXS PLUS 型全景组织细胞定量分析系统(奥地利 TissueGnostics GmbH 公司);AE2000 型倒置光学显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司)。

2 方法

2.1 大鼠侧脑室注射操作方法

大鼠 ip 2%戊巴比妥钠麻醉,以俯卧姿势将大鼠头部固定在脑立体定位仪上,以《大鼠脑立体定位图谱》(第 6 版)作为参照,以前囟为基准,距离前囟向后 0.92 mm;距颅骨正中线向右 1.5 mm,距颅骨表面进针 3.7 mm 进针,微量注射器在右侧脑室注射 5 μ L miR-124-3P antagomir (2 nmol/ μ L),其他各组注射等剂量生理盐水,控制速度 1 μ L/min,结束后留针 5 min。缓慢出针,控制伤口消毒并缝合,立即后续的 CIRI 模型的制备。

2.2 动物分组、造模与给药

48 只大鼠按随机数字表法分为假手术组、模型

组、脑泰方组和脑泰方+miRNA-124拮抗剂组，每组12只。大鼠适应性喂养1周后建立CIRI模型，脑泰方+miRNA-124拮抗剂组术前20 min侧脑室注射miR-124-3P antagomir，除假手术组外，其余各组大鼠均参照Zea Longa线栓法制备大脑中动脉闭塞法制备脑缺血大鼠模型并加以改良^[12]，缺血2 h后缓慢将线栓拔出进行再灌注，再灌注2 h后出现左侧肢体瘫痪，站立不稳，提尾时向一侧转圈，即为模型成功的判断标准。假手术组只分离神经与血管，不插入线栓。造模成功后，假手术组、模型组ig等体积的生理盐水；将脑泰方超微颗粒溶于蒸馏水，配制成质量浓度为2.7 g/mL的溶液，脑泰方组、脑泰方+miRNA-124拮抗剂组ig脑泰方给药溶液，2 mL/只，连续给药14 d。

2.3 大鼠神经功能评分

参考Longa评分标准进行神经功能评分^[21]，再灌注24 h后对动物进行神经功能评分，分值越高说明动物行为障碍越严重，选取评分 ≥ 1 的大鼠进行后续实验，具体标准见表1。

表1 Longa评分标准
Table 1 Longa scoring criteria

分值	评分标准
0	无神经功能缺失症状且活动正常
1	提住大鼠的尾巴时，病灶对侧前肢不能完全伸直
2	大鼠爬行时向对侧转圈
3	大鼠爬行时肢体向对侧倾倒
4	大鼠不能自发行走且意识丧失

2.4 神经行为学检测

药物干预14 d后，进行Morris水迷宫实验（定位航行实验和空间探索实验）评估大鼠的空间记忆能力^[22]，采用Smart 3.0软件记录大鼠的行动轨迹及时间路程数据。各组大鼠于给药第8天进行定位航行实验，第14天进行空间探索实验，末次给药后进行旷场实验。

2.4.1 定位航行实验 实验前5 d，每天固定时间从4个象限分别将大鼠头朝池壁放入水池中，平台位于迷宫第1象限，水面高于平台2 cm，软件设置大鼠寻找平台时间为1 min，1 min内爬上平台且停留2 s，测试结束，记录所需时间，此段时间称为逃逸潜伏期；若未爬上平台，则逃避潜伏期记录时间60 s，然后需由实验者将大鼠引找到平台，停留10 s进行学习记忆。

2.4.2 空间探索实验 实验第6天取出平台，再从

4个象限依次将大鼠头朝池壁放入水池，记录60 s内大鼠穿梭原平台区域的次数及在第1象限即平台象限停留的时间。

2.4.3 旷场实验 旷场实验设备尺寸为100 cm×100 cm×40 cm，划分为中心区域和周围区域。实验前1 d将大鼠放于实验室适应以消除恐惧心理。实验开始时将大鼠置于中央的正方形内，为记录起始点，用摄像头记录其在旷场中5 min自由活动的轨迹，并利用Smart 3.0软件分析其中央区域进入次数、总运动距离、中央格停留时间。

2.5 TTC染色观察脑梗死面积

行为学测试结束后，大鼠ip 2%戊巴比妥钠（50 mg/kg）麻醉，剥离脑组织，置于-20 °C冰箱20 min待脑组织变硬，去除小脑和嗅球，自脑额将其切成5个厚度为2 mm的连续冠状切片。将脑片平摊于2% TTC染液中，37 °C避光孵育30 min，每隔15 min翻面，正常区为红色，缺血梗死区为白色，染色分明后取出，将TTC染色脑片于4%多聚甲醛中固定24 h。用Image J软件分析梗死面积。

缺血面积比=白色缺血面积总和/脑切片面积总和^[23]

2.6 苏木素-伊红(HE)染色观察缺血半暗带脑组织病理学改变

行为学测试结束后，大鼠ip 2%戊巴比妥钠（50 mg/kg）麻醉，开胸暴露心脏，左心室进针，血管钳固定后剪开右心耳，先以预冷生理盐水50 mL快速冲洗血管，后用4%多聚甲醛固定液缓慢灌注固定，灌注至肝脏发白，取脑组织在4%多聚甲醛固定后制作4 μm厚的石蜡切片，采用HE染色观察脑组织的形态及病理变化，在光学显微镜20倍下观察拍照。

2.7 免疫荧光染色观察缺血半暗带脑组织GFAP表达

取4 μm厚的脑组织石蜡切片，经脱蜡和抗原修复后，用含0.3% Triton X-100透膜5 min，用封闭液室温封闭1 h，滴加稀释后的GFAP一抗（1：200），4 °C孵育过夜。PBST清洗后，滴加相应的荧光二抗，在室温下避光孵育1 h，清洗二抗，DAPI染液染色细胞核后封片。使用全景组织细胞定量分析系统在40倍镜下扫描成像，用Image J软件进行图像分析。

2.8 qRT-PCR检测缺血半暗带皮质组织miRNA-124基因表达

取各组大鼠右侧脑梗死区边缘皮质组织，按超

纯 RNA 提取试剂盒说明书提取总 RNA，用 Nanodrop 超微量分光光度计测定 RNA 浓度和纯度，用 miRNA cDNA 第一链合成试剂盒进行反转录，实验操作按产品说明书进行。选择 U6 snRNA 作为 miRNA-124 mRNA 的内参，每个样品设 3 个复孔，采用相对定量法计算基因表达量。引物序列见表 2。

2.9 Western blotting 检测缺血半暗带皮质组织相关蛋白表达

取各组大鼠右侧脑梗死区边缘皮质组织，加入 RIPA 裂解液研磨，离心后取上清，BCA 法测定蛋白浓度，蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝

胶电泳，转至 PVDF 膜，5%脱脂牛奶封闭，分别加入稀释的一抗 (1:500)，4 ℃ 孵育过夜；加入二抗 (1:10 000)，室温孵育 2 h，采用 ECL 化学发光试剂盒显影，凝胶成像系统拍照，Image J 软件分析目的蛋白条带灰度值。

2.10 统计学分析

采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组间比较使用 One-Way ANOVA 检验和 Tukey 检验。用 Image J 软件进行图像分析，用 GraphPad Prism9 软件作图。

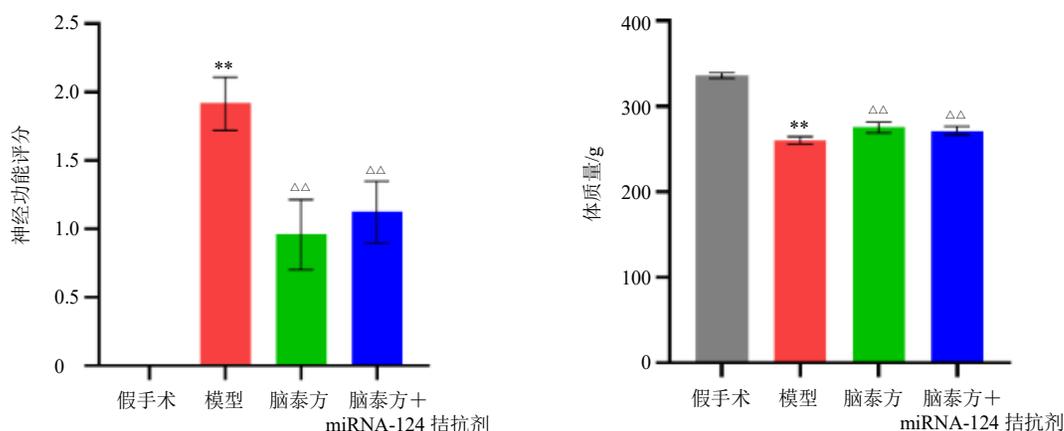
3 结果

3.1 各组大鼠神经功能评分和体质量比较

如图 1 所示，假手术组大鼠无神经功能缺损症状，与假手术组比较，模型组大鼠出现神经行动迟缓、提尾悬空时左前肢蜷缩、行走时向左侧转圈或倾倒等神经功能障碍体征，神经功能评分显著升高 ($P < 0.01$)，体质量明显下降 ($P < 0.01$)；与模型组比较，脑泰方组和脑泰方 + miRNA-124 拮抗剂组大鼠神经功能评分显著降低 ($P < 0.01$)，神经功能改善，体质量显著升高 ($P < 0.01$)。

表 2 引物序列
Table 2 Primer sequences

基因	引物序列 (5'-3')	长度/ bp
miRNA-124	F: TAAGGCACGCGGTGAATGCC	64
	R: GGCCAACCGCGAGAAGATG	
U6	F: CTGCGCAAGGATGACACGCAAATT	69
	R: GGCCAACCGCGAGAAGATG	



与假手术组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$, 下图同。
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs sham group; $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ vs model group, same as below figures.

图 1 各组大鼠神经功能评分和体质量比较 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 1 Comparison of neural function scores and body weight in each group of rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

3.2 各组大鼠 Morris 水迷宫实验结果

定位航行实验中，从第 2 天起，随着训练次数增加，各组大鼠平均逃逸潜伏期总体呈下降趋势，取各组第 5 天逃逸潜伏期进行统计分析。如图 2 和表 3 所示，与假手术组比较，模型组大鼠逃逸潜伏期显著延长 ($P < 0.01$)；与模型组比较，脑泰方组、脑泰方 + miRNA-124 拮抗剂组大鼠逃逸潜伏期显

著缩短 ($P < 0.05, 0.01$)。空间探索实验中，与假手术组比较，模型组大鼠穿越平台次数及在目标象限停留时间百分比、目标象限路程占总路程百分比显著降低 ($P < 0.01$)；与模型组比较，脑泰方组、脑泰方 + miRNA-124 拮抗剂组大鼠穿越平台次数及在目标象限停留时间百分比、目标象限路程占总路程百分比均显著增加 ($P < 0.05, 0.01$)。

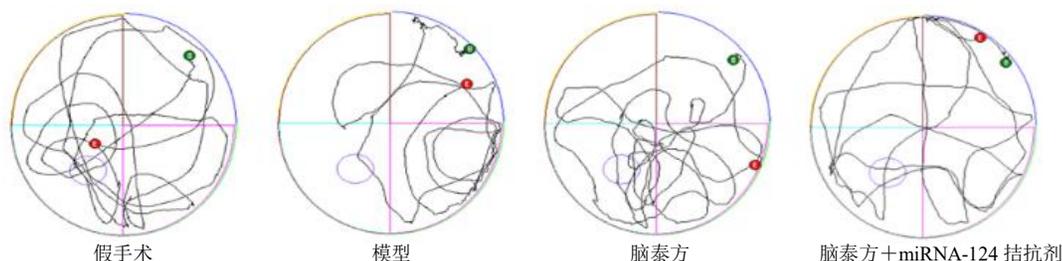


图2 各组大鼠 Morris 水迷宫实验运动轨迹图

Fig. 2 Motion trajectories of rats in each group in Morris water maze experiment

表3 各组大鼠 Morris 水迷宫实验结果 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Results of Morris water maze experiment of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	逃逸潜伏期/s	穿越平台次数	目标象限路程占总路程百分比/%	目标象限停留时间百分比/%
假手术	11.90 ± 4.86	6.30 ± 1.70	45.76 ± 10.75	47.47 ± 11.34
模型	45.33 ± 14.93**	0.40 ± 0.51**	18.10 ± 5.88**	15.05 ± 6.57**
脑泰方	18.79 ± 5.86 $\Delta\Delta$	3.50 ± 0.53 $\Delta\Delta$	46.06 ± 10.37 $\Delta\Delta$	43.46 ± 9.28 $\Delta\Delta$
脑泰方+miRNA-124拮抗剂	28.97 ± 6.03 Δ	2.30 ± 0.48 $\Delta\Delta$	32.07 ± 5.01 Δ	30.91 ± 5.39 $\Delta\Delta$

与假手术组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$, 下表同。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs sham group; $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ vs model group, same as below tables.

3.3 各组大鼠旷场实验结果

如图3和表4所示,与假手术组比较,模型组大鼠中央区进入次数、中央区进入时间、中央区总路程以及总运动距离显著减少 ($P < 0.01$);与模型组比较,脑泰方组、脑泰方+miRNA-124拮抗剂组大鼠中央区进入次数、中央区进入时间、中央区总路程以及总运动距离均显著提高 ($P < 0.05$ 、0.01)。

3.4 各组大鼠脑组织 TTC 染色结果

如图4所示,与假手术组比较,模型组大鼠出现大范围白色梗死区,梗死面积显著增加 ($P < 0.01$);与模型组比较,脑泰方组、脑泰方+miRNA-

124拮抗剂组大鼠梗死面积显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01)。

3.5 各组大鼠脑缺血皮质组织 GFAP 表达比较

如图5所示,与假手术组比较,模型组大鼠脑梗死周边 GFAP 荧光表达显著增强 ($P < 0.01$),瘢痕增厚;与模型组比较,脑泰方组、脑泰方+miRNA-124拮抗剂组大鼠脑梗死周边 GFAP 荧光表达显著下降 ($P < 0.01$),表明脑泰方能抑制 Ast 增生及减少梗死周边胶质瘢痕形成。

3.6 各组大鼠脑缺血皮质及海马组织病理形态比较 HE 染色结果 (图6) 显示,假手术组大鼠脑皮

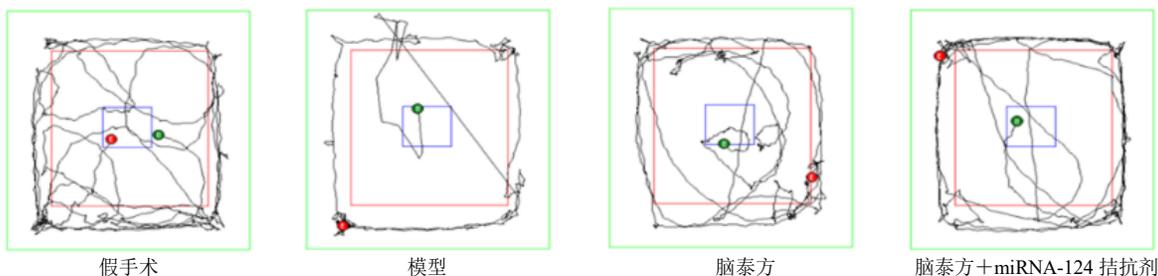


图3 各组大鼠旷场实验运动轨迹图

Fig. 3 Movement trajectories of rats in each group in open field experiment

表4 各组大鼠旷场实验结果 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Results of open field experiment of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	中央区进入次数	中央区时间占比/%	中央区路程占比/%	总运动距离/cm
假手术	6.00 ± 1.41	3.90 ± 1.27	4.40 ± 1.25	6 931 ± 1 915
模型	0.33 ± 0.51**	0.34 ± 0.23**	0.74 ± 0.27**	1 881 ± 340**
脑泰方	3.33 ± 1.03 $\Delta\Delta$	3.82 ± 1.41 $\Delta\Delta$	3.47 ± 1.35 $\Delta\Delta$	5 539 ± 1 691 $\Delta\Delta$
脑泰方+miRNA-12拮抗剂	2.17 ± 0.41 $\Delta\Delta$	2.64 ± 1.01 Δ	2.51 ± 0.63 Δ	4 325 ± 851 Δ

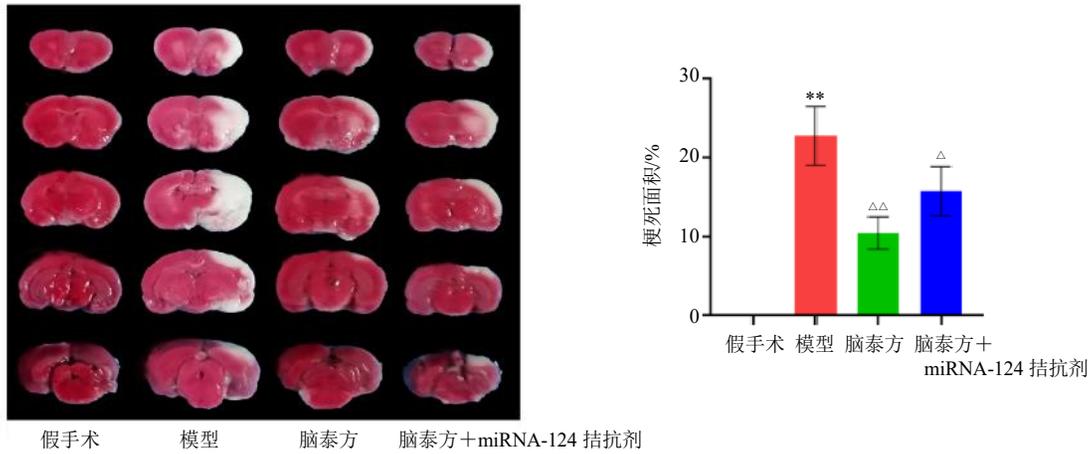


图4 各组大鼠脑组织 TTC 染色图片及梗死面积比较 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Comparison of TTC staining images and infarct size of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

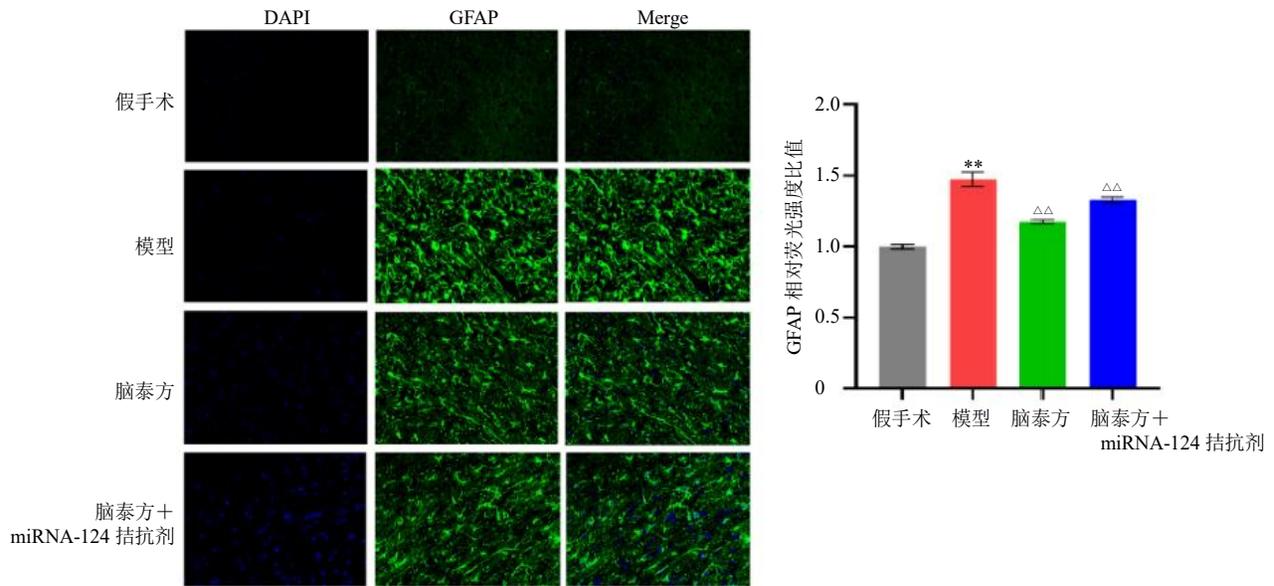
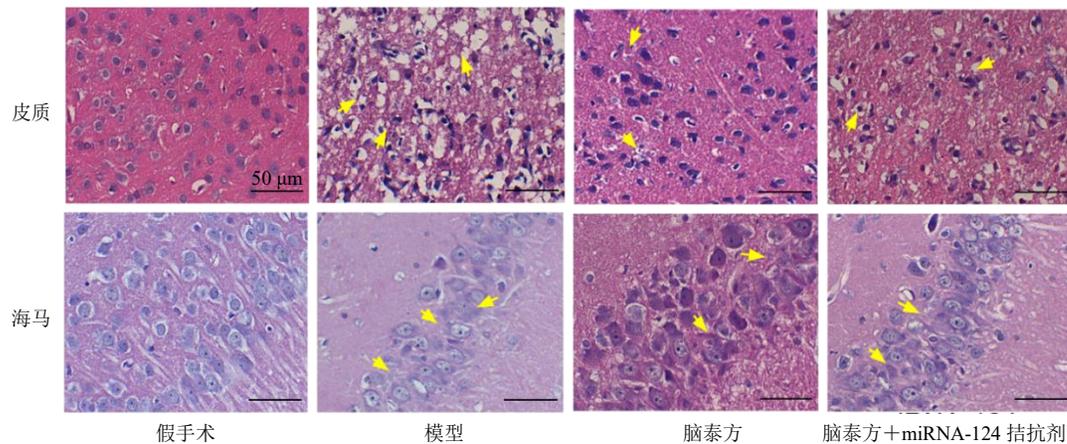


图5 各组大鼠缺血半暗带脑组织 GFAP 表达比较 ($\times 200; \bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Comparison of GFAP expression in ischemic penumbra brain of rats in each group ($\times 200; \bar{x} \pm s, n = 3$)



黄色箭头指示病理改变。

Yellow arrows indicate pathological changes.

图6 各组大鼠脑缺血皮质及海马组织病理形态比较 (HE, $\times 200$)

Fig. 6 Comparison of pathological morphology of cerebral ischemic cortex and hippocampus of rats in each group (HE, $\times 200$)

质细胞结构完整,细胞间排列紧密,核仁清晰可见,间质无炎性细胞浸润,海马神经元组织排列整齐,神经元胞质丰富,淡染,胞核居中,核仁清晰。与假手术组比较,模型组大鼠缺血脑皮质区细胞排列紊乱,胞核不规整,细胞核深染固缩,细胞间隙增宽,出现空泡样改变,伴有炎性细胞浸润及瘢痕组织形成,海马神经元组织排列紊乱,神经元细胞丢失严重、核固缩。与模型组比较,脑泰方组、脑泰方+miRNA-124 拮抗剂组大鼠缺血区皮质组织细胞损伤减轻,核固缩和空泡样细胞数量明显减少,海马神经元细胞排列整齐且清晰可见,神经元丢失、核固缩减轻。

3.7 各组大鼠脑缺血皮质组织 miRNA-124 mRNA 表达

如表 5 所示,与假手术组比较,模型组大鼠脑缺血皮质组织中 miRNA-124 mRNA 表达水平呈升

表 5 各组大鼠脑缺血皮质组织 miRNA-124 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Comparison of miRNA-124 mRNA expression in cerebral tissue of ischemic cortex of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	miRNA-124 mRNA 相对表达量
假手术	0.71 ± 0.25
模型	1.05 ± 0.07
脑泰方	5.14 ± 0.08 $\Delta\Delta$
脑泰方+miRNA-124 拮抗剂	3.27 ± 0.06 $\Delta\Delta$

高趋势;与模型组比较,脑泰方组、脑泰方+miRNA-124 拮抗剂组大鼠脑缺血皮质组织中 miRNA-124 mRNA 表达水平均显著升高($P < 0.01$)。

3.8 各组大鼠脑缺血皮质组织 M2 型 MG 标志分子 Arg1、CD206 及炎症因子 IL-1 β 、IL-6、IL-4 蛋白的表达

如图 7 所示,与假手术组比较,模型组大鼠脑缺血皮质组织 M2 型标志分子 Arg1、CD206 以及促炎因子 IL-1 β 、IL-6 蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$ 、 0.01);与模型组比较,脑泰方组、脑泰方+miRNA-124 拮抗剂组大鼠脑缺血皮质组织 Arg1、CD206 蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$ 、 0.01),促炎因子 IL-1 β 、IL-6 蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$ 、 0.01),抗炎因子 IL-4 蛋白表达水平显著升高($P < 0.01$)。

3.9 各组大鼠脑缺血皮质组织胶质瘢痕相关蛋白表达

如图 8 所示,与假手术组比较,模型组大鼠脑缺血皮质组织中胶质瘢痕相关蛋白 phosphacan、neurocan、GFAP 蛋白表达水平显著升高($P < 0.01$),p-STAT3/STAT3 值显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,脑泰方组、脑泰方+miRNA-124 拮抗剂组大鼠脑缺血皮质组织中 phosphacan、neurocan、GFAP 蛋白表达水平显著降低($P < 0.01$),p-STAT3/STAT3 值显著降低($P < 0.01$),表明脑泰方能够抑制胶质瘢痕相关蛋白表达。

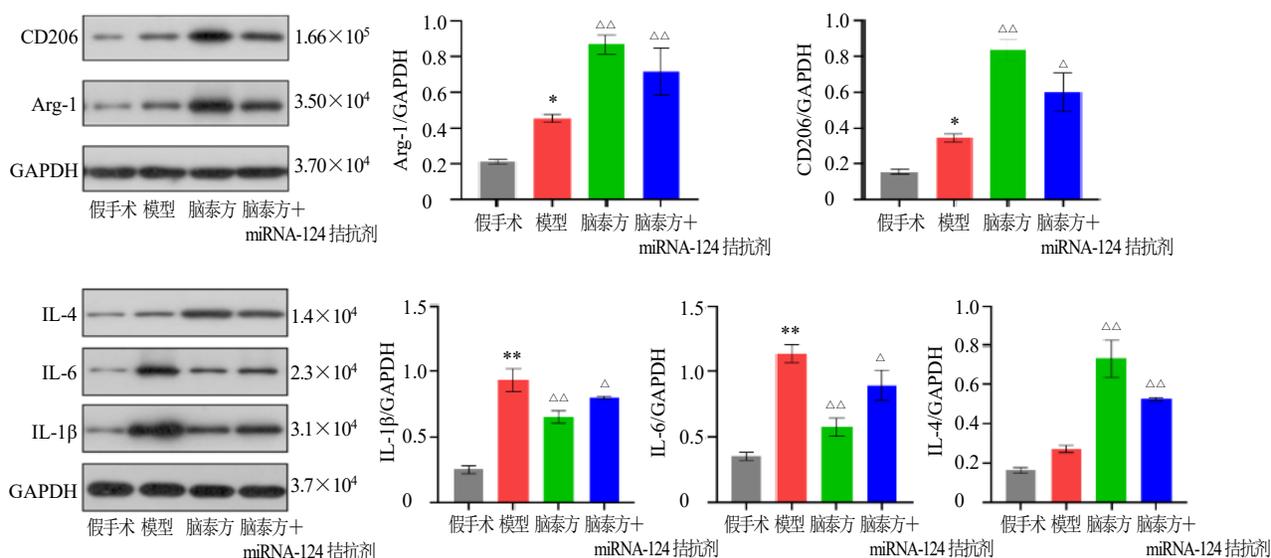


图 7 各组大鼠脑缺血皮质组织 Arg1、CD206、IL-1 β 、IL-6、IL-4 蛋白表达 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 7 Arg1, CD206, IL-1 β , IL-6 and IL-4 protein expressions in cerebral ischemic cortex of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

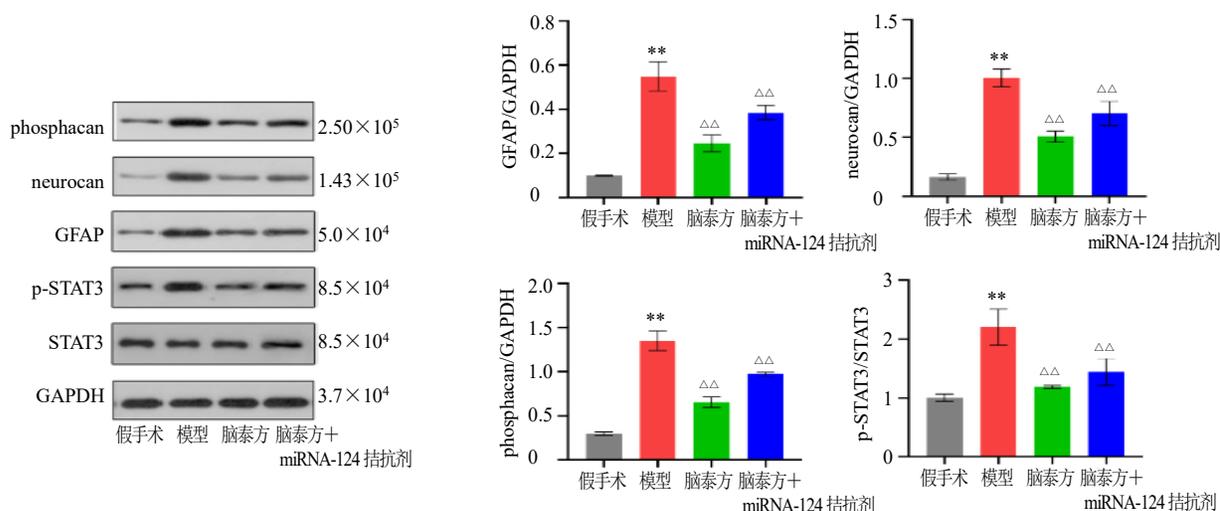


图8 各组大鼠脑缺血皮质组织胶质瘢痕相关蛋白表达 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 8 Glial scarring related protein expressions in cerebral ischemic cortex of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

CIRI 是当下临床治疗 IS 迫切需要攻克却仍未解决的难题, 严重制约着 IS 患者的康复进程^[5]。胶质瘢痕是 CIRI 晚期轴突再生和功能恢复的主要障碍^[7], 因此, 抑制其形成和促进其降解的方法有利于卒中后恢复。中医学认为, CIRI 属于卒中范畴, CIRI 的病机是脑脉闭阻, 病机关键是气虚血瘀, 故治疗以益气活血化痰为主^[24-25]。目前研究表明, 中医药可以通过抑制 Ast 增生、减少小胶质细胞活化、减少炎症介质的产生及抑制硫酸软骨素蛋白聚糖 (chondroitin sulfate proteoglycans, CSPGs) 的分泌等方面减少胶质瘢痕的形成, 进而改善 CIRI 后神经功能。本课题组前期运用数据挖掘手段, 对 CIRI 的用药规律和作用机制开展深入研究, 发现益气活血类方剂里, 黄芪、川芎以及地龙是治疗急性 IS 的关键核心药物, 涉及 STAT3、磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 等多条信号通路防治 CIRI^[26]。脑泰方由黄芪、地龙、僵蚕、川芎 4 味中药按照 4 : 1.5 : 1.5 : 1 配比组成, 黄芪为君药, 借其力专、性走, 周行全身, 大补脾胃之气以治其本, 令气旺则血行, 血行则瘀除, 其有效成分为黄芪甲苷; 川芎行气活血, 为臣药, 其活性成分为川芎嗪、阿魏酸; 地龙、僵蚕两者具有通经活络、化痰熄风的功效, 两者均为佐药, 诸药配合, 共奏益气活血通络、祛风化痰之效。本课题组前期通过超高效液相色谱-四极杆时间飞行质谱 (UPLC-Q-TOF/MS) 对脑泰方颗

粒进行定性分析, 发现其主要含有黄芪甲苷 A、川芎嗪、毛蕊异黄酮、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、东莨菪内酯、阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、芒柄花黄素、洋川芎内酯 A、藁本内酯、欧当归内酯 A、白僵菌素等成分^[20]。现代药理学研究表明, 黄芪甲苷、川芎嗪、阿魏酸具有抗炎、抗氧化作用, 能诱导小胶质细胞/巨噬细胞从 M1 型向 M2 型极化, 抑制炎症反应^[27-29]。前期研究显示脑泰能诱导 MG 向 M2 型极化, 减少炎症反应, 抑制 Ast 增生及减少胶质瘢痕形成, 显著改善 CIRI 后大鼠神经功能, 充分证明脑泰具备神经功能保护作用, 故推测黄芪甲苷、川芎嗪、阿魏酸可能是脑泰方抗胶质瘢痕的主要药效物质, 然而其具体调控机制不明^[12]。

胶质瘢痕由神经胶质细胞与细胞外基质的共同参与下形成, Ast 是中枢神经系统中数量最多、体积最大的一种胶质细胞类型。因此, RA 是构成胶质瘢痕的重要成分, 是影响 CIRI 后神经功能恢复的关键^[30]。在 CIRI 中后期阶段, 胶质瘢痕会逐渐变得更加致密, 瘢痕组织中的 RA 会过度释放大量的神经抑制性因子如 CSPGs、neurocan 和 phosphocan 等, 包裹在胶质瘢痕周围, 构成阻碍神经轴突再生和抑制新生神经元迁移的屏障^[31]。研究表明, JAK-STAT3 通路在介导缺血和损伤后 Ast 的活化、增生、迁移中起关键作用^[32]。STAT3 蛋白能够调节 GFAP 启动子活性强度, 是中枢神经系统损伤后 Ast 增生和胶质瘢痕形成的关键调节因子, 抑制 Ast 的 STAT3 信号通路能减少 RA 增生, 因此 STAT3 蛋白是调控 CIRI 后 Ast 增生和 GS 形成的潜

在靶点^[9-10]。研究显示, IL-1 β 通过 JAK2-STAT3 促进中枢神经系统损伤后 GS 形成^[33]。本研究结果显示, 与模型组比较, 脑泰方组、脑泰方+miRNA-124 拮抗剂组大鼠脑缺血皮质组织中 GFAP、neurocan、phosphacan 蛋白表达水平降低, p-STAT3/STAT3 值下降, 表明脑泰方通过抑制 STAT3 磷酸化减少胶质瘢痕的形成, 改善神经功能。

MG 和 Ast 之间的相互作用为 CIRI 后胶质瘢痕的形成提供了调节系统, MG 在瘢痕形成中发挥重要作用^[34]。MG 是中枢神经系统的主要常驻免疫细胞, 缺血性脑损伤后, MG 最先被激活, 活化的 MG 极化为 M1 型 (促炎表型) 和 M2 型 (抑炎表型), 释放促炎因子或抑炎因子, 参与中枢炎症反应的发生发展。M1 型 MG 表达 M1 特征基因 (TNF- α 、iNOS、CD86、IL-6 等), 释放促炎因子触发并维持 Ast 的激活和增殖, 诱导胶质瘢痕形成^[35]。相反, M2 型 MG 表达 M2 特征基因 (Arg-1、CD206、TGF- β 、IL-10 等), 通过增强吞噬作用、释放抗炎因子及神经营养因子, 改善大脑修复/再生^[36]。MicroRNA 是一类内源性非编码 RNA, 主要参与基因表达调控, 其中 miRNA-124 是一种在大脑皮层和小脑中优先表达的特异性 miRNA, 是大脑中表达最丰富的 miRNA, miRNA-124 通过调节神经炎症、氧化应激、

神经分化等在 IS 中发挥重要作用^[37]。研究表明, miRNA-124 的高表达有助于 MG 从促炎 M1 型转变为抗炎 M2 型, 减轻神经炎症并促进组织修复, 发挥抗炎和神经保护作用^[38-39]。miRNA-124 虽未在 Ast 中表达, STAT3 鉴定为 miRNA-124 的直接靶基因, M2 型 MG 来源的外囊泡通过 miRNA-124 调节 STAT3, 减少 Ast 增殖及 GS 形成^[18]。此外有研究显示, miRNA-124 可通过调节 STAT3 来调节 CIRI 疗效, 通过脑室内注射 miRNA-124 激动剂可显著改善神经功能, 而 miRNA-124 拮抗剂则逆转上述作用^[40]。本研究发现, 脑泰方组大鼠脑缺血皮质组织 miRNA-124 基因表达显著升高, Arg1、CD206 蛋白表达升高, 促炎因子 IL-1 β 、IL-6 表达下降, 抗炎因子 IL-4 表达升高, 胶质瘢痕相关蛋白 GFAP、neurocan、phosphacan 表达下降, p-STAT3/STAT3 值下降; 而加入 miRNA-124 antagomir 后, miRNA-124 表达仍上调, 佐证了脑泰方能够促进 miRNA-124 的表达, 进而发挥抗 CIRI 的作用。鉴于此, 推测脑泰方抗胶质瘢痕的机制可能是通过诱导 MG 向 M2 型极化, 促进 miRNA-124 的表达, 抑制 STAT3 蛋白的磷酸化, 减少 RA 的增生及炎症的产生, 进而减少胶质瘢痕形成, 改善了 CIRI 后的组织修复, 促进神经功能恢复 (图 9)。

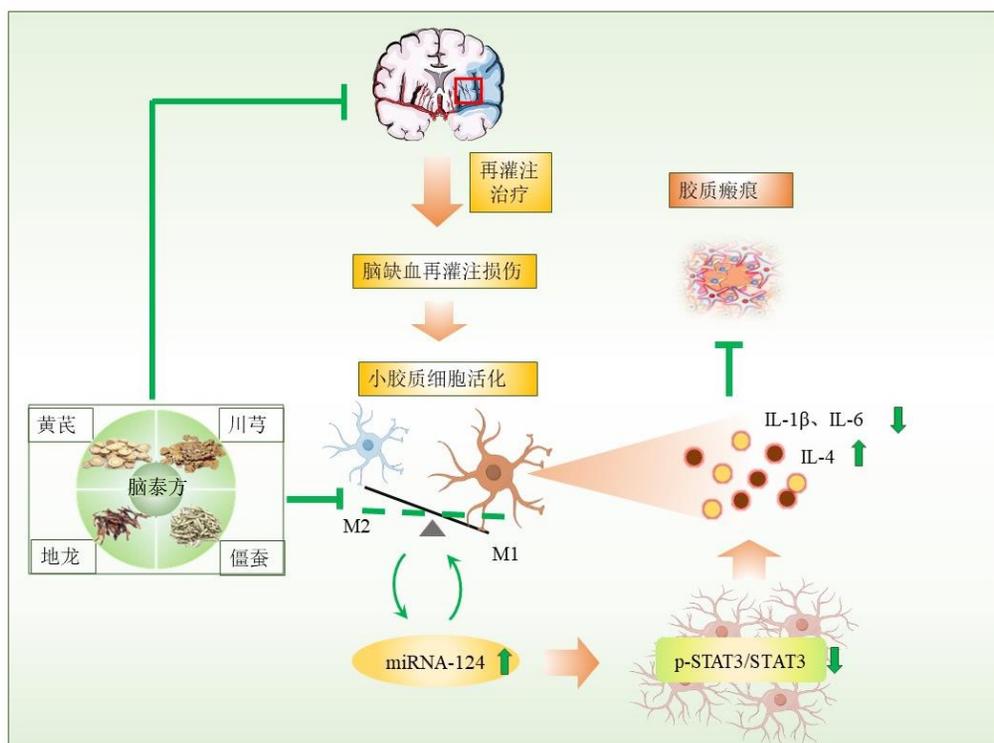


图 9 脑泰方调控胶质瘢痕形成的作用机制

Fig. 9 Mechanism of Naotaifang on regulating glial scar formation

本研究以中医经典理论为基础,开展了体内实验,研究显示,脑泰方具有改善 CIRI 大鼠的作用,能促进 MG 向 M2 型极化,上调 miRNA-124 的表达,抑制 Ast 增生,减少促炎因子的产生,减少蛋白聚糖、磷酸蛋白聚糖生成,进而减少胶质瘢痕形成,发挥改善 CIRI 大鼠神经功能损伤的作用,其作用机制可能与 miRNA-124/STAT3 信号通路有关。本研究为临床推广应用脑泰方治疗 IS 奠定理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Collaborators G2N. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990 — 2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 [J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(5): 459-480.

[2] Shen Y, Chao B H, Cao L, *et al.* Stroke center care and outcome: Results from the CSPPC stroke program [J]. *Transl Stroke Res*, 2020, 11(3): 377-386.

[3] 王陇德. 《中国脑卒中防治报告 2021》概要 [J]. *中国脑血管病杂志*, 2023, 20(11): 783-793.

[4] 黄奇, 刘志华, 程率芳, 等. 中药单体靶向缺血性脑卒中相关通路的药理作用机制研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(6): 1413-1420.

[5] Lim S, Kim T J, Kim Y J, *et al.* Senolytic therapy for cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21): 11967.

[6] Wang L, Zhang X, Xiong X, *et al.* Nrf2 regulates oxidative stress and its role in cerebral ischemic stroke [J]. *Antioxidants: Basel*, 2022, 11(12): 2377.

[7] Adams K L, Gallo V. The diversity and disparity of the glial scar [J]. *Nat Neurosci*, 2018, 21(1): 9-15.

[8] 贺运河, 郝晓元, 葛金文. 脑泰方治疗气虚血瘀证脑梗塞临床研究 [J]. *中国中医急症*, 2001, 10(6): 319-320.

[9] 刘吉勇, 朱惠斌, 陈懿, 等. 脑泰方对动脉粥样硬化兔氧化应激的影响研究 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2015, 35(10): 22-26.

[10] 饶政清, 梅志刚, 葛金文, 等. 脑泰方调控细胞铁转运抑制铁死亡保护脑卒中缺血损伤的机制研究 [J]. *中草药*, 2021, 52(21): 6552-6560.

[11] 陈懿, 朱惠斌, 廖君, 等. 脑泰方对脑缺血再灌注大鼠 HIF-1 α /VEGF 的调节作用 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2014, 34(10): 1225-1230.

[12] 张玉超, 钟鹏英, 夏凡, 等. 基于拓扑指数的 QSAR 法探讨脑泰方中抗脑血栓关键活性成分簇 [J]. *中草药*, 2023, 54(3): 877-885.

[13] Sofroniew M V. Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation [J]. *Trends Neurosci*, 2009, 32(12): 638-647.

[14] Zucha D, Abaffy P, Kirdajova D, *et al.* Spatiotemporal transcriptomic map of glial cell response in a mouse model of acute brain ischemia [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2024, 121(46): e2404203121.

[15] Renault-Mihara F, Mukaino M, Shinozaki M, *et al.* Regulation of RhoA by STAT3 coordinates glial scar formation [J]. *J Cell Biol*, 2017, 216(8): 2533-2550.

[16] Herrmann J E, Imura T, Song B B, *et al.* STAT3 is a critical regulator of astrogliosis and scar formation after spinal cord injury [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(28): 7231-7243.

[17] Yu A Y, Zhang T X, Duan H Z, *et al.* miR-124 contributes to M2 polarization of microglia and confers brain inflammatory protection via the C/EBP- α pathway in intracerebral hemorrhage [J]. *Immunol Lett*, 2017, 182: 1-11.

[18] Li Z W, Song Y Y, He T T, *et al.* M2 microglial small extracellular vesicles reduce glial scar formation via the miR-124/STAT3 pathway after ischemic stroke in mice [J]. *Theranostics*, 2021, 11(3): 1232-1248.

[19] 廖君, 杨梅, 石咏梅, 等. 益气活血中药脑泰方对脑缺血后海马 CA2 区铁跨膜转运蛋白表达的调节作用 [J]. *世界中医药*, 2016, 11(4): 592-596.

[20] She R N, Tian H Y, Sun F Y, *et al.* Naotai Fang Formula regulates Drp1-induced remodeling of mitochondrial dynamics following cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Free Radic Biol Med*, 2025, 229: 139-153.

[21] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, *et al.* Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.

[22] Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat [J]. *J Neurosci Meth*, 1984, 11(1): 47-60.

[23] Yang T, Liu X L, Zhou Y, *et al.* Sanpian decoction ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury by regulating SIRT1/ERK/HIF-1 α pathway through *in silico* analysis and experimental validation [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 318(Pt A): 116898.

[24] 宋祖荣, 胡建鹏. 中风病中医病因病机及其治法研究进展 [J]. *中医药临床杂志*, 2013, 25(5): 463-465.

[25] Zhang H, Jin B, You X, *et al.* Pharmacodynamic advantages and characteristics of traditional Chinese medicine in prevention and treatment of ischemic stroke [J]. *Chin Herb Med*, 2023, 15(4): 496-508.

[26] 陈祥宇, 张晶涵, 赖嘉豪, 等. 基于数据挖掘的益气活血类方防治脑缺血再灌注损伤用药规律及其作用机制研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(10): 3221-3236.

[27] 郑心甜, 甘海燕, 李琳, 等. 黄芪甲苷通过促进小胶质细胞/巨噬细胞 M2 型极化抑制大鼠脑缺血后炎症反应 [J]. *浙江大学学报: 医学版*, 2020, 49(6): 679-686.

- [28] 陈红阳, 贾壮壮, 赵磊, 等. 益气活血组分黄芪甲苷配伍川芎嗪对脑缺血再灌注损伤大鼠神经血管单元的保护作用 [J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(21): 5312-5318.
- [29] 张雯雯, 韦子强, 罗文汇, 等. 阿魏酸对 M2 型巨噬细胞极化的抗炎机制研究 [J]. 海峡药学, 2024, 36(10): 10-14.
- [30] Sofroniew M V. Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation [J]. *Trends Neurosci*, 2009, 32(12): 638-647.
- [31] Sami A, Selzer M E, Li S X. Advances in the signaling pathways downstream of glial-scar axon growth inhibitors [J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 174.
- [32] Yu Y, Shen T J, Zhong X L, *et al.* NEK6 is an injury-responsive kinase cooperating with STAT3 in regulation of reactive astrogliosis [J]. *Glia*, 2022, 70(2): 273-286.
- [33] 刘敬贤, 夏永智, 王富贵, 等. IL-1 β 通过 JAK2-STAT3 促进大鼠脊髓损伤后胶质瘢痕形成 [J]. 基础医学与临床, 2017, 37(5): 668-675.
- [34] Zhou Z L, Xie H, Tian X B, *et al.* Microglial depletion impairs glial scar formation and aggravates inflammation partly by inhibiting STAT3 phosphorylation in astrocytes after spinal cord injury [J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(6): 1325-1331.
- [35] Liddelow S A, Guttenplan K A, Clarke L E, *et al.* Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia [J]. *Nature*, 2017, 541(7638): 481-487.
- [36] Hu X M, Leak R K, Shi Y J, *et al.* Microglial and macrophage polarization: New prospects for brain repair [J]. *Nat Rev Neurol*, 2015, 11(1): 56-64.
- [37] Liu X L, Feng Z T, Du L P, *et al.* The potential role of microRNA-124 in cerebral ischemia injury [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 21(1): 120.
- [38] Periyasamy P, Liao K, Kook Y H, *et al.* Cocaine-mediated downregulation of miR-124 activates microglia by targeting KLF4 and TLR4 signaling [J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(4): 3196-3210.
- [39] Zhao J H, He Z W, Wang J L. microRNA-124: A key player in microglia-mediated inflammation in neurological diseases [J]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15: 771898.
- [40] Sun H, Li J J, Feng Z R, *et al.* microRNA-124 regulates cell pyroptosis during cerebral ischemia-reperfusion injury by regulating STAT3 [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(6): 227.

[责任编辑 李亚楠]