

## 基于机器学习与实验验证的缺血性卒中核心机制解析及中药防治策略预测

廖昊森<sup>1,2</sup>, 陈翠兰<sup>1</sup>, 马月辉<sup>1,2</sup>, 顿玲露<sup>1</sup>, 符钰岚<sup>2,3</sup>, 晏洪恩<sup>1,2</sup>, 周哲屹<sup>1\*</sup>

1. 广西中医药大学附属柳州市中医医院, 广西 柳州 545000

2. 广西中医药大学, 广西 南宁 530200

3. 广西中医药大学第一临床医学院, 广西 南宁 530022

**摘要:** **目的** 通过整合多组学与机器学习方法, 筛选缺血性卒中 (ischemic stroke, IS) 关键基因并解析其机制, 预测其潜在的中医药防治靶点。**方法** 整合 GEO 数据库中 IS 转录组数据, 经差异表达、加权基因共表达网络分析 (weighted gene co-expression network analysis, WGCNA) 及蛋白互作网络分析筛选候选基因。运用包括最小绝对收缩和选择算子 (logistic least absolute shrinkage and selection operator, LASSO)、随机森林等在内的多种机器学习算法构建诊断模型, 并通过交叉验证确定最优基因集。通过构建大鼠大脑中动脉栓塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 模型, 以贝德森 (Bederson) 评分、HE 染色及实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR) 进一步验证。利用 CIBERSORTx 分析免疫浸润, 并基于 Coremine Medical 数据库反向匹配潜在中药。**结果** 确定 8 个核心基因 ARG1、CLEC4E、CLEC5A、FCAR、FCGR1A、IRAK3、MCEMP1、TLR5, 其诊断模型在训练与验证队列中均表现良好 [曲线下面积 (area under curve, AUC) > 0.7]。动物实验证实上述基因在 IS 模型大鼠皮层组织中表达显著上调, 且与 M0 型巨噬细胞、中性粒细胞等免疫细胞浸润水平密切相关。基于上述靶点预测出 59 味潜在中药, 四气多属寒、温、平, 五味多属苦、甘, 归经主要集中在肝、肾和脾经, 其性味归经与 IS “肝肾阴虚、瘀热内蕴” 病机相符。**结论** 通过整合生物信息学、机器学习与实验验证, 系统筛选并验证了 8 个参与卒中后免疫微环境重塑的关键基因, 可作为 IS 的潜在诊断生物标志物。中药预测分析提示靶向这些基因的中药性味归经特点与 IS 病机相符, 为从免疫调控角度开展 IS 的中医药防治提供了理论依据。

**关键词:** 缺血性卒中; 机器学习; 分子机制; 中药防治策略; 药性

中图分类号: Q811.4; R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)07-2640-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.07.018

## Analysis of core mechanisms of ischemic stroke based on machine learning and experimental verification and prediction of traditional Chinese medicine prevention and treatment strategies

LIAO Haosen<sup>1,2</sup>, CHEN Cuilan<sup>1</sup>, MA Yuehui<sup>1,2</sup>, DUN Linglu<sup>1</sup>, FU Yulan<sup>2,3</sup>, YAN Hongen<sup>1,2</sup>, ZHOU Zheyi<sup>1</sup>

1. Liuzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to the Guangxi University of Chinese Medicine, Liuzhou 545000, China

2. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

3. The First School of Clinical Medicine of the Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530022, China

**Abstract: Objective** To screen key genes of ischemic stroke (IS) and analyze their mechanisms by integrating multi-omics and machine learning methods, and predict their potential targets for traditional Chinese medicine prevention and treatment. **Methods** IS transcriptome data from GEO database was integrated, and candidate genes were screened through differential expression, weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) and protein interaction network analysis. A variety of machine learning algorithms including logistic least absolute shrinkage and selection operator (Lasso), random forest, etc. were used to construct a diagnostic model, and the optimal gene set is determined through cross-verification. An middle cerebral artery occlusion (MCAO) model was constructed

收稿日期: 2025-12-17

基金项目: 国家自然科学基金项目基金 (82560989); 柳州市科技项目 (2024YB0103B011); 广西青年岐黄学者培养计划 (GXQH202414); 八桂青年拔尖人才项目 (桂人才办[2025]1 号)

作者简介: 廖昊森, 博士研究生, 研究方向为脑系病证防治研究。E-mail: liaohaosen16@163.com

\*通信作者: 周哲屹, 主任医师, 博士研究生导师, 从事脑系病证研究。E-mail: yingdaizhi@163.com

and further verified by Bederson scoring, HE staining and real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). Immune infiltration was analyzed using CIBERSORTx and potential traditional Chinese medicines were reverse-matched based on Coremine Medical database. **Results** Eight core genes (ARG1, CLEC4E, CLEC5A, FCAR, FCGR1A, IRAK3, MCEMP1, TLR5) were identified, and their diagnostic models performed well in both the training and verification cohorts [area under curve (AUC) > 0.7]. Animal experiments had confirmed that the expression of these genes was significantly up-regulated in the cortical tissue of IS model rats, and was closely related to the infiltration level of immune cells such as M0-type macrophages and neutrophils. Based on the above targets, 59 potential traditional Chinese medicines were predicted. Most of the four *qi* were cold, warm and calm, and most of the five are bitter and sweet. The meridian tropism was mainly concentrated in the liver, kidney and spleen meridians. The medicinal properties and meridian tropism were consistent with the pathogenesis of IS “liver and kidney *yin* deficiency, and stasis and heat accumulation”. **Conclusion** By integrating bioinformatics, machine learning and experimental validation, this study systematically identified and validated eight key genes involved in the remodelling of the post-stroke immune microenvironment, which may serve as potential diagnostic biomarkers for IS. Predictive analysis of traditional Chinese medicine suggests that the pharmacological properties—including taste, nature and meridian tropism—of drugs targeting these genes are consistent with the pathogenesis of IS, thereby providing a theoretical basis for the prevention and treatment of IS using traditional Chinese medicine from the perspective of immune regulation.

**Key words:** ischemic stroke; machine learning; molecular mechanisms; strategies for prevention and treatment with traditional Chinese medicine; medicinal properties

缺血性卒中 (ischemic stroke, IS) 是全球范围内致残和致死的主要病因之一, 给社会与家庭带来沉重的疾病负担<sup>[1-2]</sup>。尽管再灌注治疗等临床手段不断发展, 但因其治疗时间窗狭窄、部分患者预后不佳以及缺乏针对性的神经保护策略, IS 的总体防治效果仍需进一步提升<sup>[3-4]</sup>。中医药具有多成分、多靶点、多通路协同作用的特点, 其“病证结合”的诊疗模式为复杂疾病的干预提供了新思路, 在 IS 防治方面展现出独特潜力<sup>[5]</sup>。然而, 中医药现代化发展仍面临瓶颈, 其核心药理作用靶点及分子调控网络尚未被系统阐明<sup>[6]</sup>, 这极大地制约了其精准应用与科学内涵的深度阐释。因此, 深入阐明 IS 发生发展的核心分子机制, 并精准筛选可用于指导中药干预的关键靶点, 已成为连接传统医学智慧与现代精准医学、实现 IS 有效防治的重要科学需求<sup>[7]</sup>。

IS 的病理过程涉及复杂的分子网络调控, 传统单一层次的研究方法难以全面解析其本质<sup>[8]</sup>。随着高通量测序技术的发展, 多组学数据的积累为系统理解 IS 提供了前所未有的机遇<sup>[8]</sup>。然而, 如何从海量、高维度的数据中精准提取关键信息是当前面临的主要挑战。在此背景下, 机器学习作为一种强大的数据分析工具, 因其在处理复杂非线性关系、识别潜在模式方面的优势, 已被广泛应用于疾病生物标志物的挖掘中<sup>[9-10]</sup>。

尽管机器学习在 IS 生物标志物挖掘中展现出潜力, 但其效能尚未充分发挥。许多研究在方法学上未能系统整合多种算法以提升模型的稳健性, 也

未能将计算预测与实验验证有效结合, 从而形成一个完整的研究闭环<sup>[9-11]</sup>。本研究旨在构建一个“机制解析-靶点筛选-中药策略预测”的整合性研究, 整合多种机器学习算法, 构建稳健的诊断模型, 进一步通过动物实验对筛选出的关键基因进行功能验证。基于实验验证所识别的核心靶点, 利用中药系统药理学方法反向预测具有干预潜力的中药及活性成分, 并深入探讨其性味归经与 IS 的核心中医病机的科学关联<sup>[12-13]</sup>, 为深入理解 IS 病理机制及中医药防治策略提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 数据库

基因表达数据库 (Gene Expression Omnibus, GEO, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)。

### 1.2 动物实验

SPF 级健康雄性 Wistar 大鼠 12 只, 体质量 250~300 g, 购自广东维通利华实验动物技术有限公司 [生产许可证号 SCXK (粤) 2022-0063]。已有研究证实, 雌性大鼠因内源性雌激素的神经保护作用, 在线栓法制备大鼠大脑中动脉栓塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 模型后表现的脑梗死面积通常小于同龄雄性大鼠。基于此, 为减少性别特异性激素因素的干扰, 从而更聚焦地解析本研究所关注的神经炎症及损伤核心机制, 本研究选用雄性大鼠作为实验对象<sup>[14-15]</sup>。所有大鼠均饲养于广西中医药大学附属柳州市中医医院动物实验室内, 环境安静, 温度控制在 (24±2) °C, 湿度范围

为 40%~50%，采用自然光照周期，所有动物均自由摄食与饮水。实验前适应性饲养 1 周。本研究方案已获得广西中医药大学实验动物伦理委员会审批，批准编号 DW20210213-012。

### 1.3 试剂

总 RNA 提取液和实时荧光定量 PCR 试剂盒  $2\times$  Universal Blue SYBR Green qPCR Master Mix (批号 G3326)、反转录试剂盒 SweScript All-in-One RT SuperMix for qPCR (批号 G3337) 均购于武汉赛维尔生物科技有限公司。PCR 引物由武汉赛维尔生物科技有限公司设计、合成；苏木精、伊红染液 (批号分别为 BA-4041、BA-4024) 购于珠海贝索生物技术有限公司。

### 1.4 仪器

SLX-1024F 台式高速冷冻型微量离心机 (武汉赛维尔生物科技有限公司); CFX Connect 荧光定量 PCR 仪 (Bio-rad 公司); KZ-5F-3D 三维冷冻研磨仪 (武汉赛维尔生物科技有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 生物信息学

**2.1.1 数据获取** 数据来源于 GEO 中 4 个公开数据集 (GSE16561、GSE58294、GSE22255 和 GSE195442)，所有数据集均包含 IS 患者及相匹配的健康对照样本。在分析流程中，首先将 GSE16561 与 GSE58294 整合为训练队列；GSE22255 与 GSE195442 合并构成独立验证队列，用于后续模型验证。为消除不同数据集间的技术变异，采用 SVAR 软件包 (v3.56.0) 中的 ComBat 算法对合并前各队列进行批次效应校正。进一步使用 limma R 软件包 (v3.64.3) 对整合后的基因表达矩阵进行  $\log_2$  转换及标准化处理，以提升数据的可比性与分析效能。

**2.1.2 差异基因 (differentially expressed genes, DEGs) 分析** 为识别训练队列中 IS 组与对照组间的 DEGs，基于 Limma 包进行分析。将校正后  $P$  值  $<0.05$  且  $|\log_2FC|>0.585$  预设为显著性标准，并据此筛选出显著的 DEGs 用于后续分析。

**2.1.3 加权基因共表达网络分析 (weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)** 采用 WGCNAR 软件包 (v1.73) 对训练队列基因表达数据构建加权基因共表达网络，以识别具有高度协同表达特征的基因模块。在网络构建过程中，设定软阈值功率 ( $\beta=4$ )，从而使网络满足无尺度分布要求

(尺度自由拓扑拟合指数  $R^2>0.85$ )。进一步将邻接矩阵转换为拓扑重叠矩阵 (topological overlap matrix, TOM)，并基于 TOM 进行层次聚类分析，同时采用动态树剪切算法识别共表达模块。为筛选与疾病相关的关键模块，计算每个模块的特征基因值，并进一步将其与 IS 临床性状进行关联分析。

**2.1.4 功能富集分析** 为阐明 IS 相关基因的生物功能，将关键 WGCNA 模块与 DEGs 列表取交集获得核心基因集合，进而采用 clusterProfiler R 软件包 (v4.16.0) 对该基因集进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能注释及京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析。设定校正后错误发现率 (false discovery rate, FDR)  $<0.05$  为显著性阈值，以此识别在功能和通路上显著富集的条目。

**2.1.5 蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络及枢纽基因** 基于 STRING 数据库 (v12.0, <https://cn.string-db.org/>) 构建核心基因集的 PPI 网络，设定相互作用评分阈值为 0.400 (中等置信度)。随后，将该网络导入 Cytoscape 平台 (v3.10.4) 进行可视化处理，并利用其插件 cytoHubba，采用 5 种拓扑分析方法筛选关键枢纽基因。最终，选取在各算法中均位列前 20 的基因作为候选枢纽基因进行后续分析。

**2.1.6 机器学习筛选生物标志物** 为构建高稳健性的 IS 诊断模型，采用了一套系统的集成机器学习流程进行生物标志物筛选。首先，将整合后的训练队列 (GSE16561、GSE58294) 作为建模基础。采用 12 种机器学习算法，涵盖多种建模范式，以兼顾方法的多样性与互补性。具体包括 (1) 正则化线性模型类：最小绝对收缩和选择算子 (logistic least absolute shrinkage and selection operator, LASSO)、岭回归 (ridge regression, Ridge) 与弹性网络 (elastic net, Enet)，其通过引入惩罚项控制模型复杂度，适用于高维特征选择。(2) 树集成模型类：随机森林 (random forest, RF)、梯度提升机 (gradient boosting machine, GBM) 与极限梯度提升 (extreme gradient boosting, XGBoost)，具有强大的非线性拟合能力并能评估特征重要性；支持向量机 (support vector machine, SVM)，擅长处理小样本、非线性分类问题。(3) 广义线性模型拓展类：广义线性模型提升 (generalized linear model boosting, glmBoost)、偏最小二乘广义线性模型 (partial least squares

generalized linear model, plsRglm)与逐步广义线性模型(stepwise generalized linear model, Stepglm),在传统线性模型基础上融合了提升、降维或变量选择技术。(4)概率分类模型类:朴素贝叶斯与线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA),基于明确的概率统计假设,计算效率高。通过上述不同类别算法的串联组合,共构建了113种预测模型。

为提升模型泛化能力并避免过拟合,采用集成学习策略,通过对不同算法模型进行串联组合,对预测结果进行优化整合来构建最终的复合分类器。所有模型均在训练集上采用 $k$ 折交叉验证( $k=10$ )进行训练与超参数调优,以确保性能评估的稳定性。最优模型的遴选综合考量2个核心指标:(1)模型在训练集与独立验证集上表现出的诊断效能,主要以受试者工作特征(receiver operator characteristic, ROC)曲线下面积(area under curve, AUC)衡量;(2)模型所包含的特征基因数量,以期在保证高精度的同时获得简约的基因集。最终筛选出的最优模型及其对应的基因集合将被定义为缺血性脑卒中的关键诊断特征。

**2.1.7 验证诊断模型** 采用 pROC R 软件包(v1.19.0.1)分别在训练队列与验证队列中对各基因及其整合后的逻辑回归联合诊断模型进行 ROC 曲线分析,以评估其诊断效能。设定  $AUC>0.7$  为判别效能良好的标准。进一步利用 Performance Analytics 软件包(v2.0.8)进行 Pearson 相关性分析,以揭示特征基因间的共表达关系。

**2.1.8 转录因子(transcription factor, TF)调控网络** 为进一步探索潜在的上游转录调控机制,基于 TRRUST v2 数据库预测可靶向调控前述枢纽基因的转录因子;随后,在训练队列中通过相关性分析验证显著转录因子与枢纽基因表达水平之间的关联。

**2.1.9 免疫细胞浸润分析** 采用 CIBERSORTx 反卷积算法,基于整体组织转录组数据对 22 种免疫细胞亚型的浸润比例进行定量分析。进而通过斯皮尔曼相关分析,系统评估枢纽基因表达水平与关键免疫细胞群体丰度之间的相关性。

## 2.2 动物实验

**2.2.1 实验动物模型建立** 将 12 只 Wistar 大鼠随机分为假手术组( $n=6$ )与模型组( $n=6$ )。术前于标准环境适应性饲养 7 d。参照既往方法,ip 3%戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉后,模型组采用线栓法

建立大脑 MCAO 模型;假手术组仅分离血管,不插入线栓。术后连续 3 d 每日 ip 青霉素(8 万 U/只)预防感染。

**2.2.2 贝德森(Bederson)评分** 再灌注 24 h 后,采用 Bederson 评分法评估神经功能缺损情况,以验证模型是否成功。具体操作如下:将大鼠尾部提起,使其躯干悬空,距台面约 10 cm。正常大鼠双侧前肢均向台面伸展。评分标准:0 分,无神经功能缺损;1 分,悬吊时对侧前肢屈曲内收;2 分,除符合 1 分外,于台面推动躯体时瘫痪侧阻力明显降低;3 分,除符合 2 分外,出现向瘫痪侧自主旋转行为。评分 $\geq 1$ 分视为造模成功。

**2.2.3 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色** 大鼠深度麻醉后,经心脏灌注 4%多聚甲醛固定,取脑组织于同浓度固定液中 4 °C 保存。经梯度脱水、石蜡包埋后切片(厚 4  $\mu\text{m}$ ),常规脱蜡至水,苏木精染色 3 min、伊红染色 5 min,再脱水透明,中性树胶封片,于光学显微镜下观察并采集图像。

**2.2.4 实时荧光定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)检测** 取大鼠脑梗死周边区组织,采用 TRIzol 法提取总 RNA,测定纯度与浓度。取 1  $\mu\text{g}$  RNA 进行逆转录合成 cDNA。qPCR 采用 SYBR Green 法,反应体系(20  $\mu\text{L}$ )含 2  $\mu\text{L}$  cDNA、7.5  $\mu\text{L}$  2 $\times$ SYBR Green Master Mix、正反向引物共计 1.5  $\mu\text{mol/L}$ ,以无核酸酶水补足至总体积 20  $\mu\text{L}$ 。PCR 扩增程序设定为 95 °C 预变性 30 s;随后进行 40 个循环的 95 °C 变性 15 s、60 °C 退火/延伸 30 s。以磷酸甘油醛脱氢酶(reduced glyceraldehyde-phosphate dehydrogenase, GAPDH)作为内参基因,采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算目标基因的相对表达量,所得数据均以假手术组为基准进行标准化处理。引物序列见表 1。

## 2.3 基于核心靶点的中药预测

将机器学习筛选所得的关键基因作为潜在作用靶标,利用医学本体信息检索数据库(Coremine Medical)进行反向药效匹配。以  $P<0.05$  为显著性阈值,筛选与各靶标具有显著关联性的前 10 种中药,并进一步对这些中药的性味归经及功效进行系统归纳与分析。

## 3 结果

### 3.1 识别 IS 中 DEGs

基于 GSE16561 和 GSE58294 数据集,经批次校正和标准化处理后(图 1-A~D),对训练队列中

表 1 引物序列  
Table 1 Primer sequence

引物	序列 (5'-3')	长度/bp
GAPDH	正向: CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG	138
	反向: GGTGGAAGAATGGGAGTTGCT	
ARG1	正向: ACACTGACATCAACACTCCGCT	257
	反向: CACTTTGCCAATTCCCAGCT	
CLEC4E	正向: CAACCACCTTATCCTGGCTATCA	181
	反向: GTATCATCCACCCATCGCCAC	
FCAR	正向: AAACCCCTGAAGCTAGTGGTG	122
	反向: AACAGGTTGTGGGCTGAACT	
FCGR1A	正向: AGAAATCTACAGAGATTGGCTGCT	216
	反向: ATGGCTGAGCAGTGATAGATGC	
IRAK3	正向: TTCAAACAGCTGGCTGGATG	238
	反向: TTAGGTGTAAGTTGGGAAATCG	
MCEMP1	正向: CCCACAACAAGTCAAGTTCAAGC	268
	反向: GTCTCTCTGAACAGCTTCCCAAATA	
TLR5	正向: GCTCCTACTCAGCTTCAATTACATC	241
	反向: TCCACAGTCAAAACAGCCGAAGT	
CLEC5A	正向: GGAGAGCTACGGAACCACTAATG	171
	反向: CTGCTGTTTTTCCAAGGTGATTC	

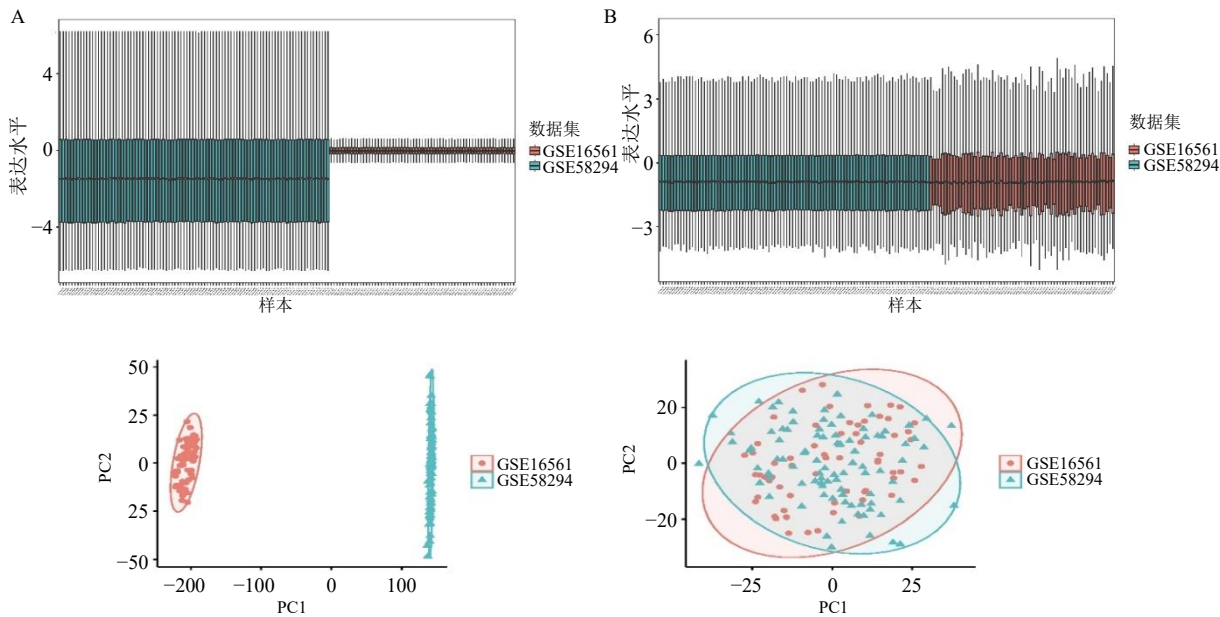
IS 与对照样本进行差异表达分析, 筛选阈值为  $|\log_2FC| > 0.585$  且  $FDR < 0.05$ , 共筛选出 202 个 DEGs。热图 (图 2-A) 与火山图 (图 2-B) 结果显示, IS 与对照组样本 DEGs 呈现明显聚类, 表明其表达谱具有疾病特异性。

### 3.2 WGCNA

为系统识别与 IS 相关的共表达基因模块, 采用 WGCNA 法 (软阈值  $\beta = 4$ , 图 3-A)。模块-性状关联分析显示, “MEyellow” 模块与 IS 临床性状呈显著负相关 ( $r = -0.65$ ,  $P = 8 \times 10^{-20}$ ), 提示该模块基因在 IS 中普遍下调 (图 3-B)。该模块共包含 192 个基因。进一步分析表明, 模块内基因的基因显著性 (gene significance, GS) 与模块成员度 (module membership, MM) 呈显著正相关 ( $r = 0.65$ ,  $P < 0.05$ ), 说明该模块核心基因在 IS 病理过程中具有重要作用 (图 3-C)。

### 3.3 核心交集基因的富集分析

为筛选高置信度的 IS 相关基因, 将 202 个 DEGs 与 MEgreen 模块中的 192 个基因取交集, 最



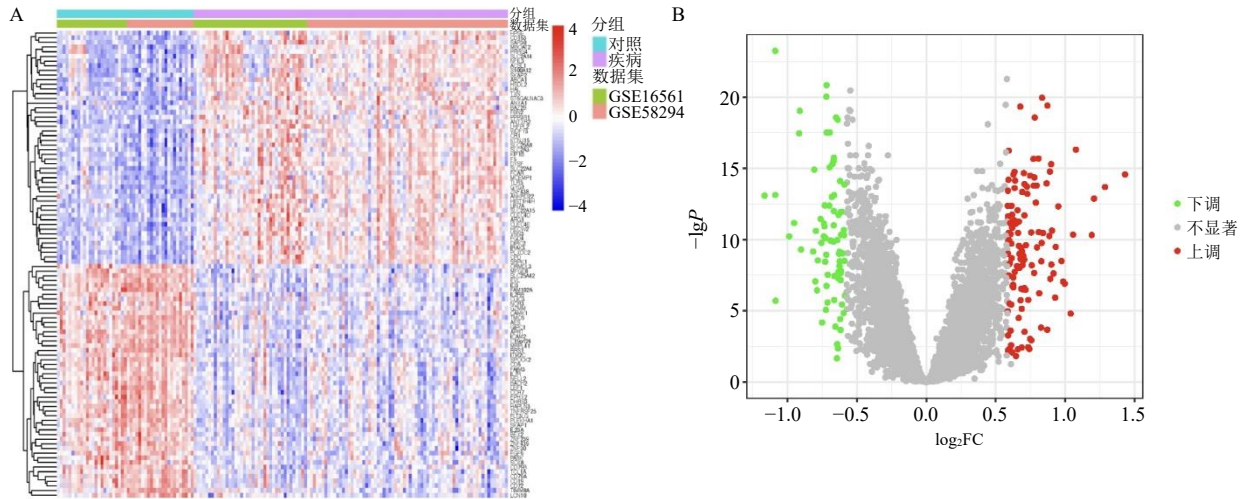
A-标准化前数据箱线图; B-标准化后数据箱线图; C-批次去除前主成分分析; D-批次去除后主成分分析。  
A-boxplot of data before standardization; B-boxplot of data after standardization; C-principal component analysis before batch removal; D-principal component analysis after batch removal.

图 1 训练队列基因表达数据的标准化与批次效应校正

Fig. 1 Standardization and batch effect correction of gene expression data in training cohort

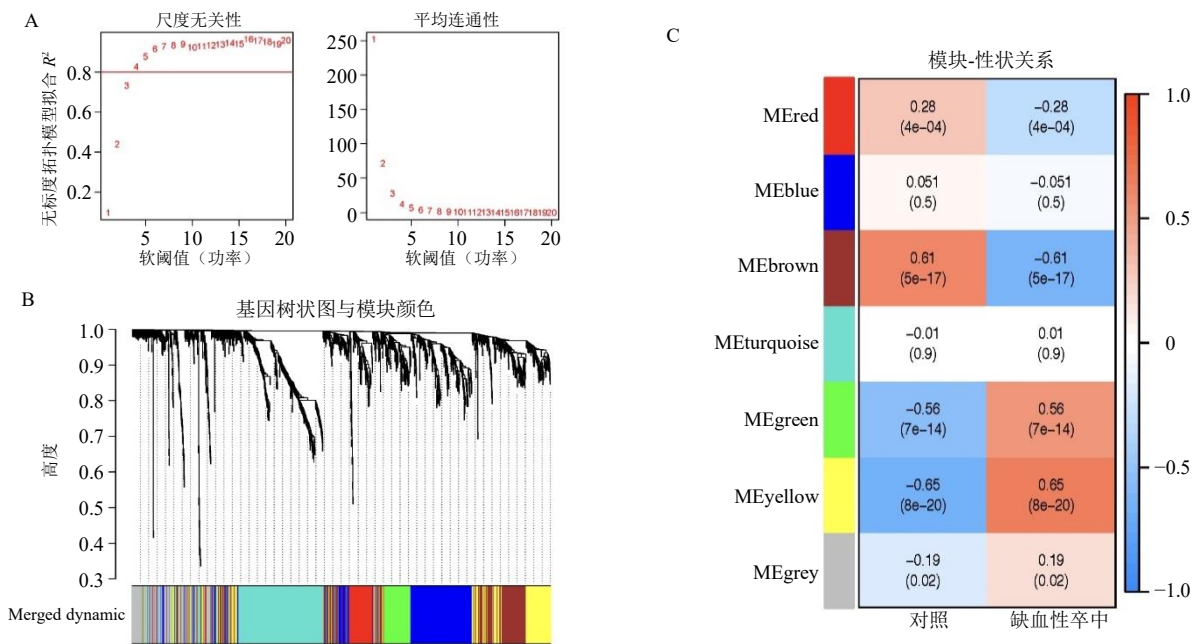
终获取 65 个核心基因用于后续研究 (图 4-A)。随后, 对该核心基因集进行 GO 功能与 KEGG 通路富集分析, 设定显著性阈值为  $P < 0.05$ , 并分别选取生

物过程 (biological processes, BP)、分子功能 (molecular functions, MF) 和细胞组分 (cellular components, CC) 中富集最显著的 10 个条目以气



A-差异基因热图; B-差异基因火山图。  
A-heatmap of DEGs; B-volcano plot of DEGs.

图 2 差异表达基因分析结果  
Fig. 2 Results of differentially expressed gene analysis



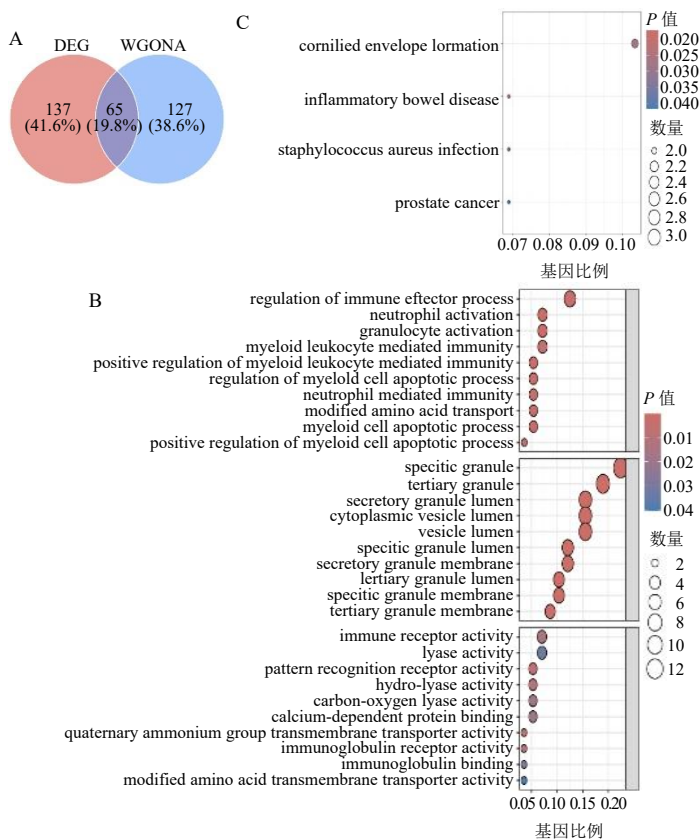
A-最佳软阈值的选择; B-WGCNA 分析的阈值; C-模块-性状相关性热图。  
A-selection of optimal soft threshold; B-thresholds for WGCNA analysis; C-heatmap of module-trait correlations.

图 3 WGCNA 分析共表达模块  
Fig. 3 WGCNA analysis co-expression module

泡图呈现。结果显示,核心基因显著富集于免疫效应过程调控、中性粒细胞活化、粒细胞活化、髓系白细胞介导的免疫及其正向调控等生物学过程(图 4-B)。KEGG 分析则提示这些基因在炎症性肠病、角质形成细胞包膜、金黄色葡萄球菌感染及前列腺癌等通路中显著富集(图 4-C)。

### 3.4 PPI 网络和枢纽基因筛选

为识别交集基因中的关键调控因子,将 65 个交集基因导入 STRING 数据库构建 PPI 网络,数据库检索限定于人类(Homo sapiens),交互置信度阈值设定为 0.4(图 5-A)。随后,利用 Cytoscape 软件中的 CytoHubba 插件,根据其算法评分筛选出排名

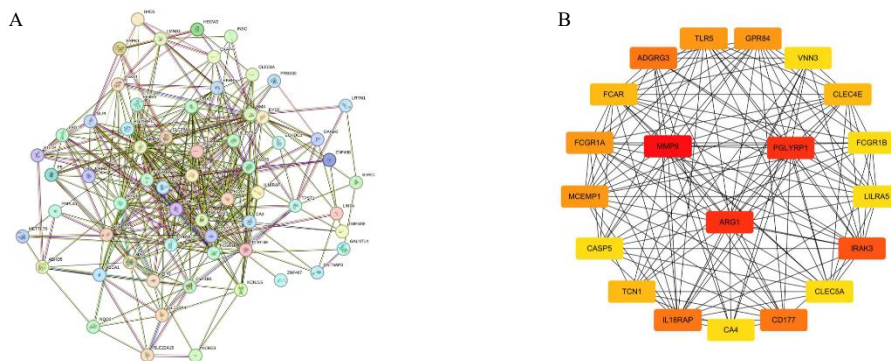


A-差异表达基因与 MEyellow 模块基因的交集韦恩图; B-交集基因的 GO 富集分析图; C-交集基因的 KEGG 富集分析图。

A-Venn diagram of intersection of DEGs and Genes from the MEyellow module; B-GO enrichment analysis of intersection genes; C-KEGG enrichment analysis of intersection genes.

图 4 核心交集基因富集分析

Fig. 4 Enrichment analysis of core intersection genes



A-PPI 网络图; B-核心枢纽基因图。

A-PPI network diagram; B-core hub gene map.

图 5 PPI 网络和核心枢纽基因

Fig. 5 PPI network and core hub gene

前 20 的基因作为枢纽基因 (图 5-B)。

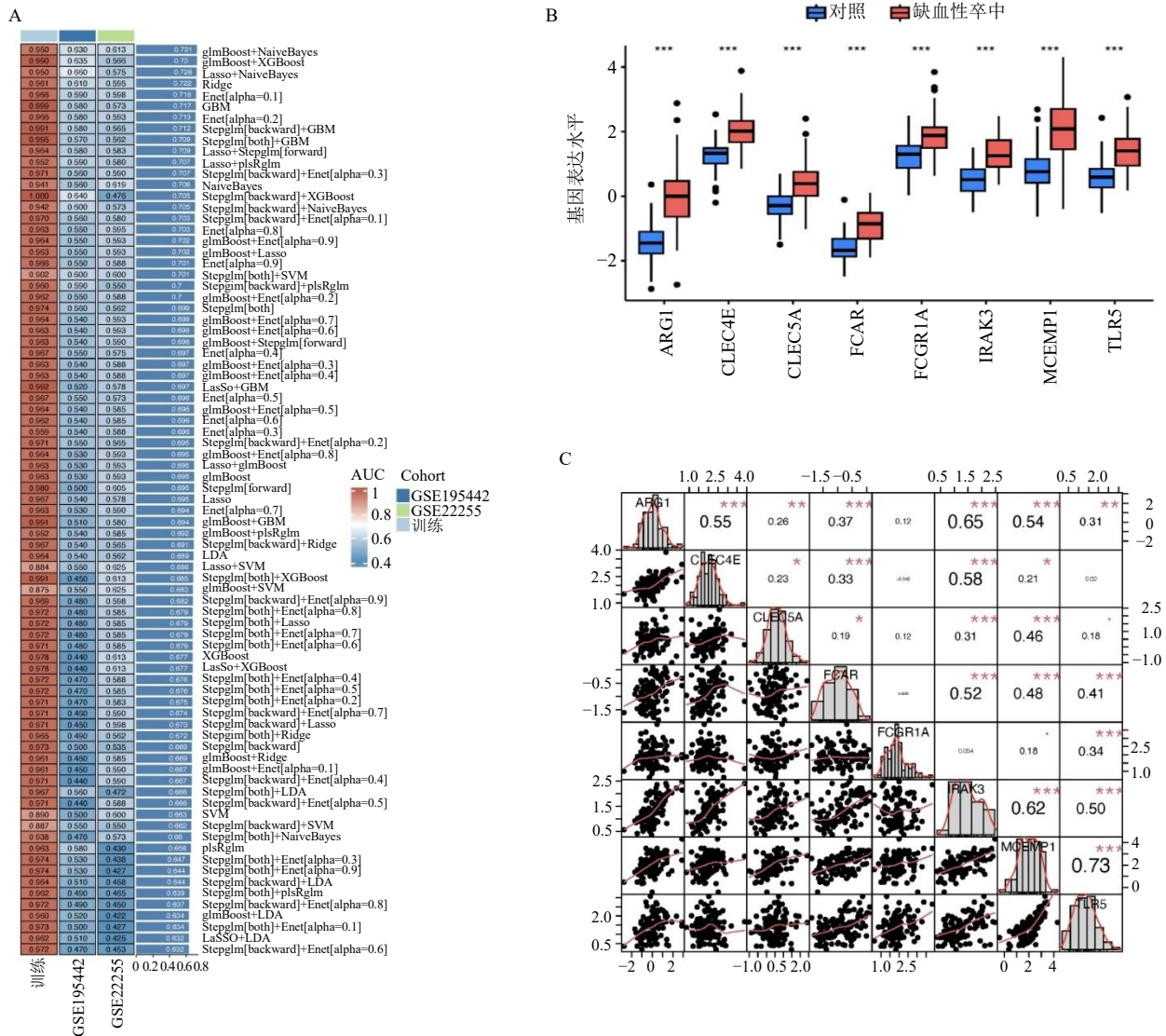
### 3.5 百种机器学习筛选特征基因

采用十折交叉验证框架系统评估了 12 种机器学习算法基于 65 个 DEGs 构建的诊断模型性能, 以期

筛选出最具稳健性的预测模型。模型训练基于整合数据集 (GSE16561 与 GSE58294), 并在 2 个独立队列 (GSE195442 与 GSE22255) 中进行外部验证。通过对 113 种算法组合进行系统比较与综合评估, 最

终确定“glmBoost+NaiveBayes”组合模型为最优模型（平均 AUC=0.731）。该模型在训练集中表现出卓越的判别效能（十折交叉验证 AUC=0.950），且在 2 个独立验证队列中均维持了稳定的诊断表现（GSE195442 队列 AUC=0.630，GSE22255 队列 AUC=0.613）（图 6-A）。训练集与验证集之间较小的性能衰减提示该模型具有较好的泛化能力与较低过拟合风险。基于此最优模型，进一步提取出对分类贡献最为显著的 8 个特征基因：精氨酸酶-1（arginase 1, ARG1）、C 型凝集素结构域家族 4 成员

E（C-type lectin domain family 4 member E, CLEC4E）、C 型凝集素结构域家族 5 成员 A（C-type lectin domain family 5 member A, CLEC5A）、IgA 结晶片段受体（FC fragment of IgA receptor, FCAR）、Fcγ 受体 1a（gamma receptor 1a, FCGR1A）、白细胞介素-1 受体相关激酶 3（interleukin 1 receptor associated kinase 3, IRAK3）、肥大细胞赤细胞组成蛋白 1（mast cell erythrocyte comprising protein 1, MCEMP1）和 Toll 样受体 5（Toll like receptor 5, TLR5），这些基因共同构成了 IS 的最终诊断特征基因集（图 6-B~C）。



A-对所有 113 种机器学习模型组合的平均 AUC 分数进行比较；B-最佳模型所鉴定的 8 个特征基因；C-IS 中转录因子与特征基因表达相关性的热图。

A-comparison of mean AUC scores for all 113 machine learning model combinations; B-eight characteristic genes identified by optimal model; C-heatmap of expression correlation between TFs and characteristic gene in IS.

图 6 机器学习模型筛选特征基因

Fig. 6 Screening of feature genes using machine learning models

### 3.6 特征基因表达验证

采用 ROC 曲线分析, 对所筛选的 8 个特征基因在 IS 诊断中的效能进行评价。训练队列结果显示, 这 8 个基因均显示出优越的诊断性能, 其 AUC 均大于 0.795 (图 7)。该结果表明, 上述基因在区分 IS 患者与对照个体方面具有较高的敏感性与特异性。

### 3.7 免疫浸润分析

为解析 IS 的免疫微环境特征, 本研究采用 CIBERSORTx 算法对样本免疫细胞浸润情况进行定量分析。结果显示, IS 患者免疫细胞组成发生显著改变, 浆细胞、单核细胞、M0 型巨噬细胞及中性粒细胞比例升高, 而初始 B 细胞、CD8<sup>+</sup> T 细胞及初始 CD4<sup>+</sup> T 细胞比例下降 (图 8-A~C)。进一步分

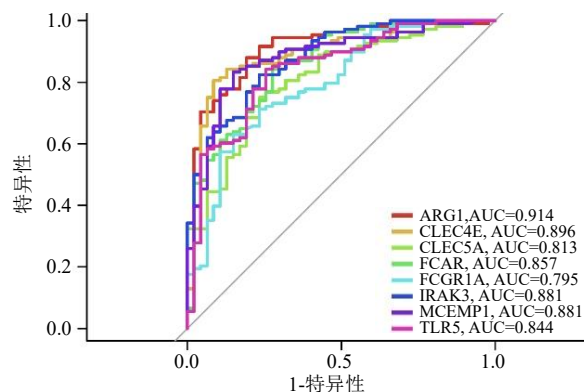
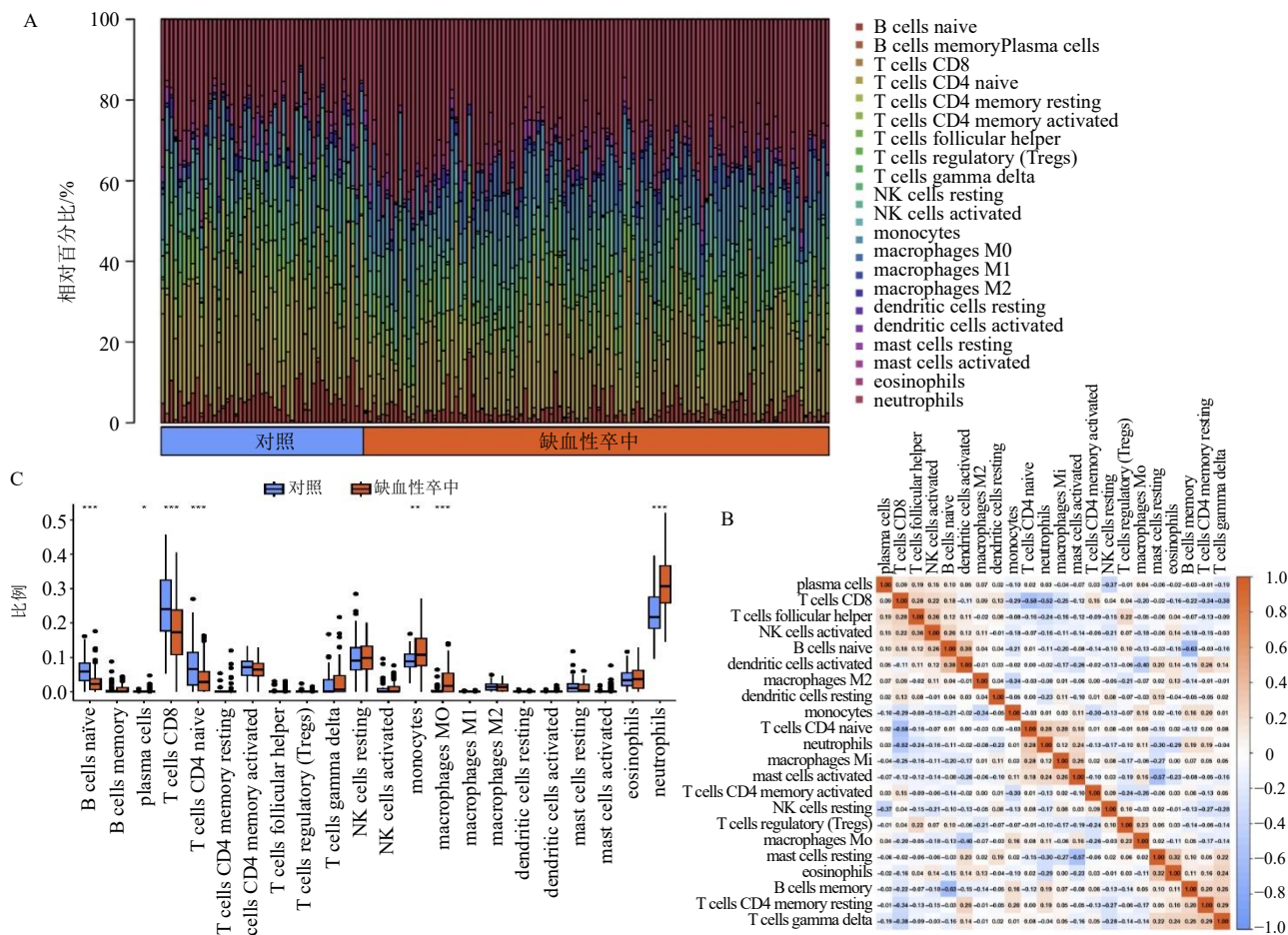


图 7 8 个特征基因在训练队列中的诊断效能 ROC 曲线  
Fig. 7 ROC curves of diagnostic performance for eight feature genes in training cohort



A-关键免疫细胞的相关性分析; B-免疫细胞热图; C-对照组与疾病组中 22 种重要免疫浸润细胞的分析。

A-correlation analysis of key immune cells; B-heat map of immune cells; C-analysis of 22 important immune-infiltrating cells in control and disease cohort.

### 图 8 免疫细胞浸润分析

Fig. 8 Analysis of immune cell infiltration

析发现, 8 个特征基因的表达水平均与特定免疫细胞亚群的浸润程度存在显著关联 ( $P < 0.001$ )。具体

而言, ARG1、CLEC4E、FCAR 和 IRAK3 的表达与 M0 型巨噬细胞及中性粒细胞的浸润水平呈正相

关，其中 ARG1 和 CLEC4E 分别与 CD8<sup>+</sup> T 细胞、嗜酸性粒细胞呈负相关；MCEMP1 和 TLR5 的表达与 M0 型巨噬细胞呈正相关，且二者均与活化的记忆 CD4<sup>+</sup> T 细胞呈负相关；此外，MCEMP1 还与单核细胞呈正相关，CLEC5A 与 M0 型巨噬细胞的浸润呈正相关（图 9-A~H）。

### 3.8 大鼠神经行为学评分结果

MCAO 损伤对大鼠贝德森评分的影响如表 2 所示，假手术组大鼠未观察到神经行为的缺陷，而模

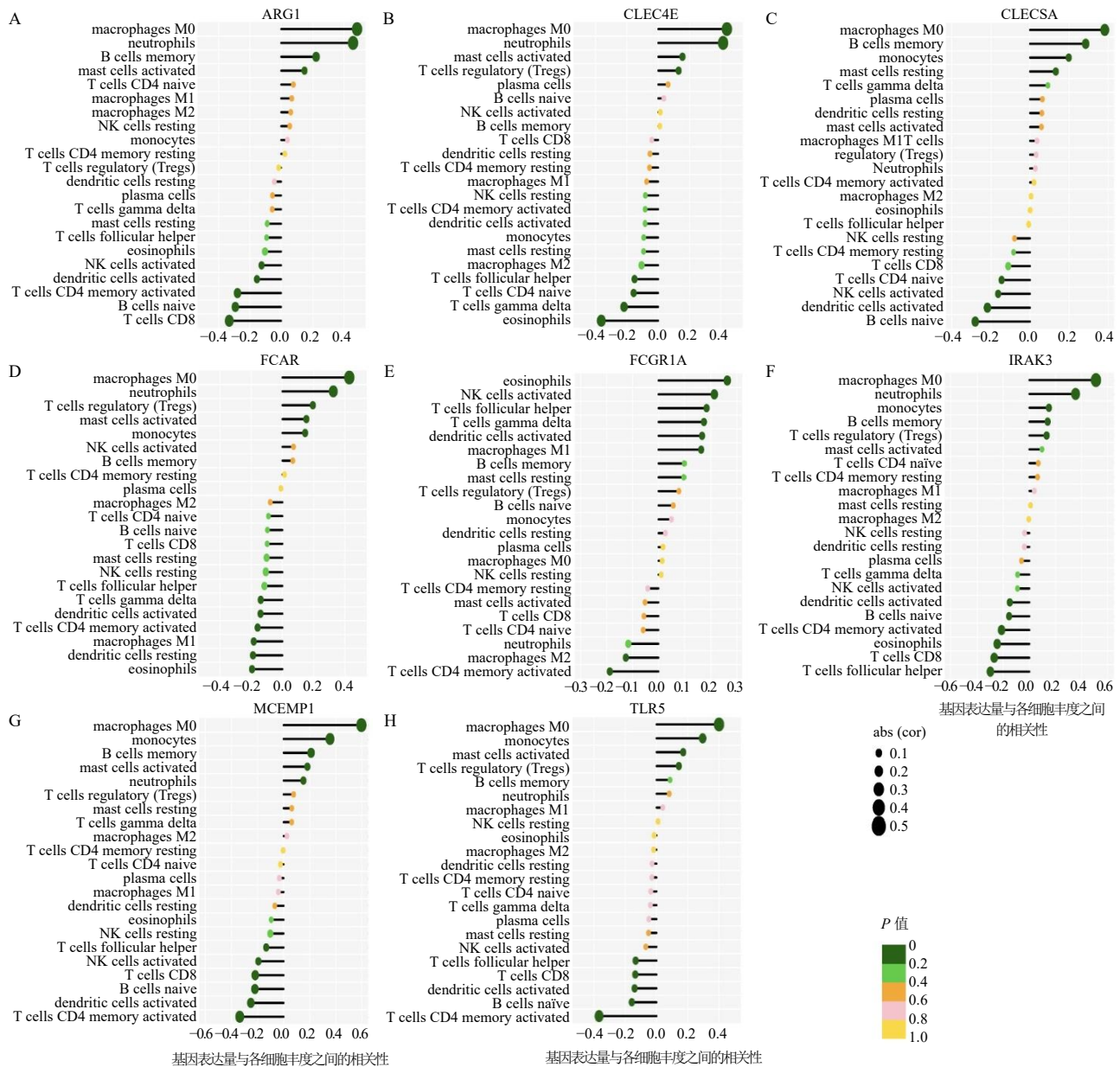
型组大鼠的神经行为学评分显著升高 ( $P < 0.001$ )。

### 3.9 HE 结果

HE 染色法观察大鼠脑组织皮层神经元的形态变化。如图 10 所示，假手术组大鼠神经元细胞结构完整，细胞形态正常，排列整齐，细胞核清晰可见，核仁清晰，染色均匀；模型组大鼠的神经元排列紊乱，空泡化严重，出现核固缩，坏死和碎裂的现象。

### 3.10 RT-qPCR 结果

如图 11 所示，与假手术组比较，模型组大鼠脑



A-ARG1; B-CLEC4E; C-CLEC5A; D-FCAR; E-FCGR1A; F-IRAK3; G-MCEMP1; H-TLR5.

图 9 特征基因与 22 种免疫细胞浸润的关系

Fig. 9 Relationship between characteristic genes and infiltration of 22 immune cells

表 2 各组大鼠 Bederson 评分 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
Table 2 Bederson scores of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	Bederson 评分
假手术	0.00 ± 0.00
模型	2.00 ± 0.894***

与假手术组比较: \*\*\* $P < 0.001$ 。

\*\*\* $P < 0.001$  vs sham group.

组织皮层中 *ARG1*、*CLEC5A*、*FCAR*、*FCGR1A*、*IRAK3* 和 *TLR5* 的 mRNA 相对表达明显升高 ( $P < 0.05$ )。 *CLEC4E* 和 *MCEMP1* 的 mRNA 相对表达与假手术组比较无明显差异 ( $P > 0.05$ )。

### 3.11 核心靶点的中药预测

经筛选共得到 59 味中药, 见表 3。四气五味、归经分析结果显示, 药物四气多属寒、温、平, 五味多属苦、甘, 归经主要集中在肝、肾和脾经。见图 12。

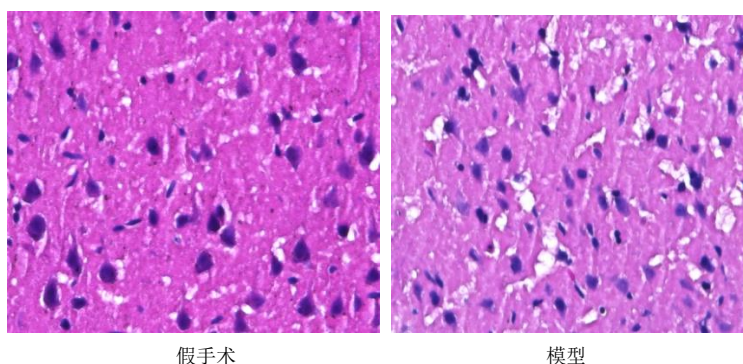
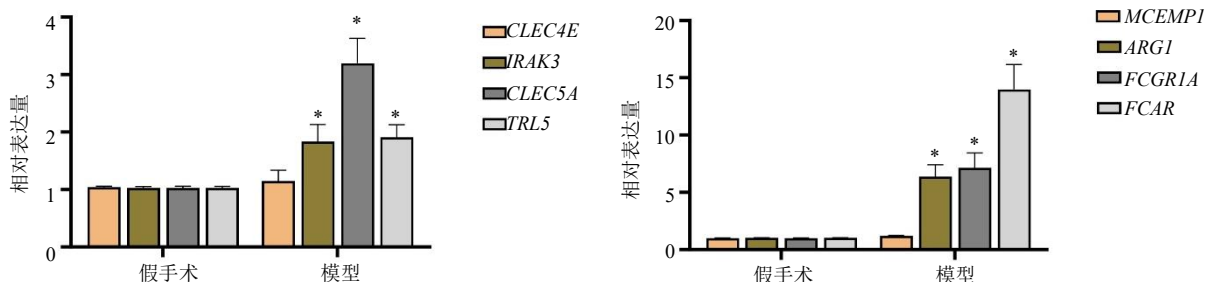


图 10 HE 染色结果 ( $\times 400, n = 3$ )  
Fig. 10 HE staining results ( $\times 400, n = 3$ )



与假手术组比较: \* $P < 0.05$ 。

\* $P < 0.05$  vs Sham group.

图 11 核心基因相对表达量 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
Fig. 11 Relative expression of core genes ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

表 3 基于核心基因的潜在干预中药预测

关键基因	潜在干预中药
CLEC5A	白芷
FCGR1A	刺五加皮
IRAK3	南沙参、黄精、水牛角、大蒜
CLEC4E	昆布、牛膝、鱼脑石、小鱼脑石、鱼鳔胶、当归、黄芪、三七叶、三七花、三七
TLR5	鱼脑石、小鱼脑石、鱼鳔胶、巴豆、墨旱莲、大黄、黄柏、鳖甲胶、鳖头、云芝、鳖甲、水牛角、鹿茸
ARG1	败酱草、大血藤、石斛、元宝草、云芝、南沙参、拳参、石上柏、水红花子、大百部、秦皮、旋复花、金沸草、穿山龙、苦蕒、树舌灵芝、曼陀罗子、洋金花、黄药子、地榆、鱼脑石、小鱼脑石、鱼鳔胶、淫羊藿、瓜蒌、瓜蒌皮、瓜蒌子、茜草、天花粉、苏木、连翘、夏枯草、枸杞子、牛蒡根、白术、牛蒡子、绞股蓝、黄芩、苦参
FCAR	无
MCEMP1	无

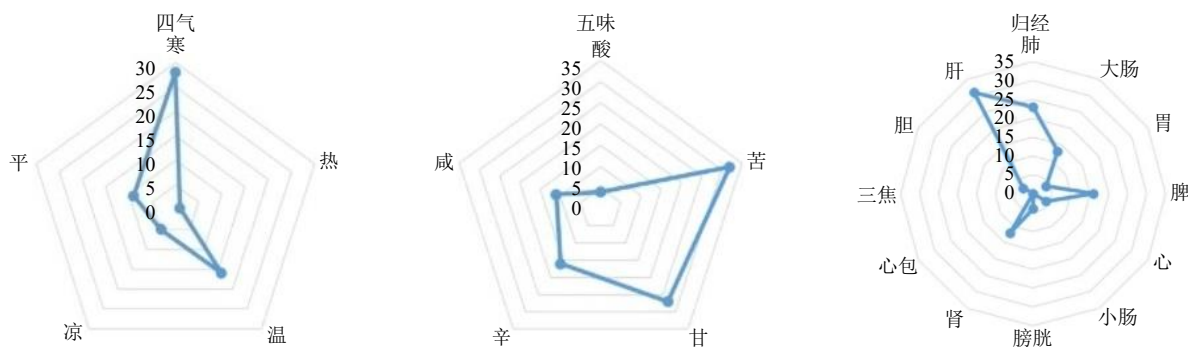


图 12 预测的中药四气五味及归经

Fig. 12 Four natures, five flavors and meridian tropism of predicted traditional Chinese medicines

#### 4 讨论

本研究通过差异表达分析、机器学习等方式，最终筛选并验证了 8 个与 IS 显著相关的核心基因：ARG1、CLEC4E、CLEC5A、FCAR、FCGR1A、IRAK3、MCEMP1、TLR5。这些基因在训练队列与独立验证队列中均表现出良好的诊断效能 (AUC > 0.7)，提示其作为 IS 潜在生物标志物的价值。进一步体内实验验证发现 ARG1、CLEC5A、FCAR、FCGR1A、IRAK3 和 TLR5 在 MCAO 模型大鼠中表达均显著上调，与生物信息学预测一致，提示它们共同参与了 IS 后的核心病理生理过程。CLEC4E 与 MCEMP1 在动物皮层组织中的表达虽呈上调趋势，但无明显统计学意义，这与机器学习筛选结果存在差异。这一现象可能源于①细胞来源特异性：两者主要在外周髓系免疫细胞（如单核/巨噬细胞）中高表达，其早期激活信号在血液中更易被捕获，而在脑组织中，浸润免疫细胞的转录贡献在损伤早期可能被实质细胞背景稀释<sup>[16-17]</sup>；②时间动态差异：卒中后基因表达具有时相性，24 h 检测点可能未覆盖其中枢的表达峰值<sup>[18]</sup>；③物种差异：人与大鼠在免疫应答调控上存在固有区别<sup>[19]</sup>。因此，它们在外周血中的诊断价值可能主要体现在识别卒中相关的系统性免疫炎症状态，而非指示脑实质细胞的持续高表达。后续可通过免疫细胞分选、多时间点检测进一步验证其在脑内的具体作用时空。

ARG1 是精氨酸代谢的关键酶，其上调可能通过消耗 L-精氨酸、影响一氧化氮合成及免疫调节参与 IS 病理过程<sup>[20]</sup>。CLEC4E 可与多种病原相关分子模式结合，参与缺血后固有免疫识别与炎症启动<sup>[21]</sup>。CLEC5A 作为 C 型凝集素受体，已被证实可通过激活核因子-κB (nuclear factor-κB, NF-κB)/核苷酸结

合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3) 等通路加剧炎症<sup>[22-23]</sup>，本研究证实其与 IS 严重程度相关，支持其促炎作用。FCAR (CD89) 是免疫球蛋白 A (immunoglobulin A, IgA) Fc 受体，通过介导免疫复合物激活髓系细胞，参与卒中后炎症应答<sup>[24]</sup>。FCGR1A 是 IgG 高亲和力受体，近期研究提示其通过腺苷酸活化蛋白激酶 (adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK) -哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 通路影响小胶质细胞极化，进而调节卒中后炎症<sup>[25]</sup>。IRAK3 作为 TLR 信号负调控因子，其上调可能与内源性抗炎反馈有关，在蛛网膜下腔出血模型中已被证实具有神经保护作用<sup>[26]</sup>。MCEMP1 在卒中患者外周血中高表达，被认为是潜在的预后标志物<sup>[27]</sup>。TLR5 作为识别细菌鞭毛蛋白的模式识别受体，本研究发现其在 IS 后表达上调，与既往研究中黄体酮通过下调 TLR5 发挥脑保护作用的结论看似相左，实则可能反映了 TLR5 在缺血早期炎症激活中的促进作用，其表达动态可能具有时间依赖性<sup>[28-30]</sup>。这些基因共同勾勒出 IS 涉及免疫识别、细胞活化、炎症调控及代谢重塑等多层次、多通路的复杂网络图景。

本研究通过 CIBERSORT 反卷积分析发现，IS 发生后脑组织免疫微环境发生显著重塑，表现为浆细胞、单核细胞、M0 型巨噬细胞及中性粒细胞浸润增加，而初始 B 细胞、CD8<sup>+</sup> T 细胞等比例下降，呈现固有免疫激活与适应性免疫抑制的特征。基于上述免疫背景，进一步分析发现上述 8 个核心基因的表达水平与特定免疫细胞亚群的浸润程度存在关联性，为理解它们在 IS 免疫调控网络中的潜在功

能提供了线索: ARG1 的表达与 M0 型巨噬细胞和中性粒细胞呈正相关, 而与 CD8<sup>+</sup> T 细胞呈负相关, 提示其可能通过影响局部精氨酸代谢, 在调节髓系炎症反应的同时, 或可影响细胞毒性 T 细胞的功能状态<sup>[31]</sup>; CLEC4E 和 CLEC5A 与 M0 型巨噬细胞和中性粒细胞的正相关性支持它们作为损伤相关模式识别受体在早期固有免疫应答中可能发挥的作用<sup>[32-33]</sup>; FCAR 与 FCGR1A 的表达与髓系细胞浸润呈正相关, 表明免疫复合物触发的 Fc 受体信号通路可能参与卒中后髓系细胞的活化过程; IRAK3 的表达也与促炎性髓系细胞呈正相关, 推测这或许反映了其在炎症环境下作为 TLR 信号负反馈调节器的一种适应性表达变化; MCEMP1 的表达与 M0 型巨噬细胞及单核细胞呈正相关, 而与活化的记忆 CD4<sup>+</sup> T 细胞呈负相关, 暗示其功能可能倾向于调控髓系细胞活性并参与限制特定 T 细胞反应<sup>[34]</sup>; TLR5 的表达与 M0 型巨噬细胞呈正相关且与记忆 CD4<sup>+</sup> T 细胞呈负相关, 为卒中后“肠-脑轴”免疫通讯机制提供了一种潜在关联解释<sup>[28,35]</sup>。这些基因通过分别涉及代谢途径、模式识别、受体信号、炎症反馈、髓系细胞功能及肠脑交互等不同维度, 共同参与塑造了 IS 后以髓系细胞浸润增强和淋巴细胞抑制为特征的免疫微环境。该分析从系统层面揭示了这些基因作为免疫调控节点的潜在多重作用机制, 从而为它们成为后续深入研究的干预靶点提供了一定的理论依据。

此外, 本研究基于核心基因靶点逆向预测出多味潜在干预 IS 的中药, 并对预测中药的性味归经进行了系统分析, 发现其药性特征与 IS “肝肾阴虚为本, 瘀热内蕴为标”的核心病机深度契合, 体现了“病证结合、方证相应”的中医药研究思路。具体而言, 在四气分布上, 药物多属寒、温、平。其中, 寒性药功擅清热泻火、凉血解毒, 正针对 IS 急性期“瘀热内蕴”之标实。如大黄为苦寒之品, 其活性成分大黄素已被研究证实可通过抑制核因子- $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B) 等经典炎症通路发挥抗炎作用, 可能与本研究中促炎靶点 TLR4 的预测关联, 提示了其“泻下攻积、清热泻火”传统功效干预免疫炎症网络的现代可能途径<sup>[36-37]</sup>。连翘亦属寒性, 其主要活性成分连翘苷能够调控髓样分化蛋白 88 (myeloid differential protein 88, MyD88) / NF- $\kappa$ B 抑制蛋白 (inhibitory of NF- $\kappa$ B $\alpha$ , I $\kappa$ B $\alpha$ ) / NF- $\kappa$ B 信号通路, 降低白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ ,

IL-1 $\beta$ )、IL-6 和 TNF- $\alpha$  等促炎因子的表达, 进而抑制中性粒细胞过度活化并增强血脑屏障的保护作用<sup>[38-39]</sup>, 本研究预测连翘与 ARG1 靶点相关, 而 ARG1 作为精氨酸代谢关键酶, 在免疫调节和炎症反应中扮演重要角色。因此, 连翘可能通过干预与 ARG1 相关的免疫代谢通路, 协同发挥其“清热解毒、消肿散结”的功效, 从而为缓解缺血后继发性炎症损伤提供潜在的药理学依据。另一方面, 温性药长于补气温阳、活血通络, 契合 IS 恢复期“气虚血瘀”或“阳气不足”之本虚。如当归作为补血活血要药, 其成分阿魏酸和藁本内酯已被证实具有改善微循环、抗炎及神经保护等多重效应, 可能协同作用于包含炎症与凝血在内的复杂网络<sup>[40-41]</sup>。预测结果显示刺五加皮与 FCGR1A 靶点相关联, FCGR1A 是 IgG 的高亲和力受体, 在调节炎症反应中起关键作用<sup>[25]</sup>。这提示具有益气健脾、补肾安神功效的刺五加皮, 可能通过与该靶点的相互作用参与调节卒中后的免疫稳态, 为其“扶正固本”的效用提供了现代药理学视角。

在五味分布上, 预测中药以苦、甘为主, 精准契合了 IS “标本兼治”的核心治则。苦味能泻、能燥、能坚, 具有清热泻火、燥湿解毒及活血祛瘀之功, 主要针对 IS 急性期“瘀热内蕴”的标实证候。甘味能补、能和、能缓, 具有益气养血、滋阴润燥及调和药性之效, 主要对应 IS 恢复期“气虚血瘀”或“肝肾阴虚”的本虚状态。苦甘合化, 体现了“清补兼施”“祛邪不伤正”的中医治法智慧。

在归经分布上, 药物主要归肝、肾、脾 3 经, 这一归经取向精准聚焦了 IS 的核心病位与病机转变。肝主疏泄、藏血、主筋, 卒中发病常与肝阳上亢、肝风内动密切相关, 归肝经之药可收平肝潜阳、熄风止痉、疏通气血之效<sup>[42]</sup>。肾藏精、主骨生髓、通于脑, “脑为髓海”, 卒中后遗症多责之于肾精亏虚、髓海不足, 归肾经之药能达滋肾填精、涵养肝木、充养脑髓之功<sup>[43]</sup>。脾主运化, 为气血生化之源及生痰之源, IS 急性期痰瘀互结、恢复期气虚运化无力皆与脾密切相关, 归脾经之药可奏健脾益气、化痰祛湿、活血通络之效<sup>[43-44]</sup>。肝、肾、脾 3 经在生理上相互资生, 在病理上相互影响, 药物归经于此 3 经正是对 IS “肝肾阴虚为病之本, 脾虚痰瘀为病之标”这一复杂病机网络的整体性调控, 展现了中医“从脏腑相关整体论治”的特色与优势。

部分中药与多个核心靶点存在关联, 凸显了中

药多靶点协同的作用特点。例如,南沙参同时关联 IRAK3 与 ARG1 靶点,云芝同时关联 TLR5 与 ARG1 靶点。IRAK3 是 TLR 信号通路的负向调控因子, ARG1 参与精氨酸代谢及免疫调节, TLR5 是重要的模式识别受体。一味中药与多个功能各异的靶点相关联,从系统层面印证了中药通过“多成分、多靶点、多通路”发挥整体调节、协同干预复杂疾病网络的优势。

本研究在方法学上具有系统性优势:通过整合多算法机器学习构建稳健模型,形成“数据挖掘-实验验证-中药预测”的完整研究闭环,并将现代分子靶标与中医药理论相桥接。然而,研究仍存在一定局限,包括动物实验样本量较小、模型需多中心外部验证、免疫浸润结果有待蛋白水平确认,以及中药预测需后续实验验证等。本研究的潜在中药预测依赖于现有医学本体数据库的知识收录,FCAR 与 MCEMP1 2 个靶点在当前数据库中未匹配到显著关联的中药,这可能限制了预测结果的覆盖范围,也提示未来需要结合更新、更全面的数据库或逆向网络药理学加以补充。

## 5 结论

本研究通过整合生物信息学、机器学习与实验验证,系统筛选出 ARG1、CLEC5A、FCAR、FCGR1A、IRAK3 和 TLR5 等基因作为缺血性卒中后免疫微环境重塑的关键参与者,并验证了其与疾病病理过程的相关性。这些基因为阐释卒中后“瘀热内蕴、肝肾阴虚”的病机提供了潜在的现代分子靶点。基于这些靶点所预测的中药及其性味归经规律,体现了“病证结合、靶点导向”的研究思路,为从中医药宝库中挖掘多成分、多通路协同的防治策略提供了有价值的科学依据。当然,将这些靶点转化为可在血清中检测的早期诊断标志物,或进一步开发具体的中药复方与制剂是未来值得深入探索的转化研究方向。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

[1] He M L, Zhang S, Liu X, *et al.* Global, regional, and national epidemiology of ischemic stroke in young adults, 1990–2021 [J]. *J Neurol*, 2025, 272(5): 354.

[2] Hou S, Zhang Y F, Xia Y L, *et al.* Global, regional, and national epidemiology of ischemic stroke from 1990 to 2021 [J]. *Eur J Neurol*, 2024, 31(12): e16481.

[3] Jia J, Jiao W J, Wang G, *et al.* Drugs/agents for the treatment of ischemic stroke: Advances and perspectives [J]. *Med Res Rev*, 2024, 44(3): 975-1012.

[4] Mosconi M G, Paciaroni M. Treatments in ischemic stroke: Current and future [J]. *Eur Neurol*, 2022, 85(5): 349-366.

[5] Yin X Y, Li S T, Wang J W, *et al.* Research progress of active compounds from traditional Chinese medicine in the treatment of stroke [J]. *Eur J Med Chem*, 2025, 291: 117599.

[6] Long J X, Tian M Z, Chen X Y, *et al.* The role of NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis in ischemic stroke and the intervention of traditional Chinese medicine [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1151196.

[7] Liu Y Q, Ye Y, Bai L, *et al.* Exploring research trends and hotspots in PI3K/Akt signaling pathway in ischemic stroke: A bibliometric analysis [J]. *Front Mol Neurosci*, 2025, 18: 1613702.

[8] Li W T, Shao C Y, Zhou H F, *et al.* Multi-omics research strategies in ischemic stroke: A multidimensional perspective [J]. *Ageing Res Rev*, 2022, 81: 101730.

[9] Jia J, Niu L, Feng P, *et al.* Identification of novel biomarkers for ischemic stroke through integrated bioinformatics analysis and machine learning [J]. *J Mol Neurosci*, 2025, 75(1): 13.

[10] Zhang H P, Wu T, Li X H, *et al.* Machine learning identifies neutrophil extracellular traps-related biomarkers for acute ischemic stroke diagnosis [J]. *Front Neurol*, 2025, 16: 1611776.

[11] Li Q, Tian Y, Niu J Y, *et al.* Identification of diagnostic signatures for ischemic stroke by machine learning algorithm [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2024, 33(3): 107564.

[12] Gu Y X, Sun Z J, Li T, *et al.* Huanglian Jiedu decoction treats ischemic stroke by regulating pyroptosis: Insights from multi-omics and drug-target relationship analysis [J]. *Pharmaceuticals*, 2025, 18(6): 775.

[13] Ren M H, Li Y, Yuan J M, *et al.* The mechanism of *Bovis Culus Sativus* protecting BBB damage in stroke: Insights from network pharmacology, bioinformatics, and experiments [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 342: 119390.

[14] Inagaki T, Etgen A M. Neuroprotective action of acute estrogens: Animal models of brain ischemia and clinical implications [J]. *Steroids*, 2013, 78(6): 597-606.

[15] 徐小雯. 电针调控 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路改善 MCAO/R 大鼠神经功能损伤的机制研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2024.

[16] Yamasaki S, Ishikawa E, Sakuma M, *et al.* Mincle is an ITAM-coupled activating receptor that senses damaged cells [J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(10): 1179-1188.

[17] Zhang L, Yue L, Jia P, *et al.* Comprehensive transcriptomic analysis integrating bulk and single-cell RNA-seq with machine learning to identify and validate mitochondrial unfolded protein response biomarkers in patients with ischemic stroke [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2025, 13: 1582252.

[18] Iadecola C, Anrather J. The immunology of stroke: From mechanisms to translation [J]. *Nat Med*, 2011, 17(7): 796-

- 808.
- [19] Seok J, Warren H S, Cuenca A G, *et al.* Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(9): 3507-3512.
- [20] Heuser S K, Li J J, Pudewell S, *et al.* Biochemistry, pharmacology, and *in vivo* function of arginases [J]. *Pharmacol Rev*, 2025, 77(1): 100015.
- [21] Wang X, Liu X Y. Exploration of the shared gene signatures and molecular mechanisms between cardioembolic stroke and ischemic stroke [J]. *Front Neurol*, 2025, 16: 1567902.
- [22] Chen Z J, Pan C F, Chen X X, *et al.* CLEC5A knockdown reduces oxidative stress and inflammation caused by lipopolysaccharide in renal tubular epithelial cells via the NF- $\kappa$ B/NLRP3 signaling pathway [J]. *Arch Immunol Ther Exp*, 2025, doi: 10.2478/aite-2026-0001.
- [23] Qi D X, Wang F, Zhang X K, *et al.* Epigenetic upregulation of CLEC5A contributes to monocyte/macrophage dysfunction in coronary artery disease [J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 308(Pt 2): 142471.
- [24] Shimokawa T, Ra C. C/EBP $\alpha$  functionally and physically interacts with *GABP* to activate the human myeloid IgA Fc receptor (Fc  $\alpha$ R, CD89) gene promoter [J]. *Blood*, 2005, 106(7): 2534-2542.
- [25] Liu M, Fan X H, Chen D Y, *et al.* FCGR1A alleviates ischemic stroke-induced injury by promoting anti-inflammatory microglial polarization via the AMPK-mTOR signaling pathway [J]. *Front Biosci*, 2025, 30(5): 26614.
- [26] Cao C, Ding J S, Cao D M, *et al.* TREM2 modulates neuroinflammation with elevated IRAK3 expression and plays a neuroprotective role after experimental SAH in rats [J]. *Neurobiol Dis*, 2022, 171: 105809.
- [27] Raman K, O'Donnell M J, Czlonkowska A, *et al.* Peripheral blood *MCEMP1* gene expression as a biomarker for stroke prognosis [J]. *Stroke*, 2016, 47(3): 652-658.
- [28] Wang H D, Li J, Wu G Y, *et al.* Activated sympathetic nerve post stroke downregulates Toll-like receptor 5 and disrupts the gut mucosal barrier [J]. *Cell Rep Med*, 2024, 5(10): 101754.
- [29] Qiao H M, Zhang X J, Zhu C H, *et al.* Luteolin downregulates TLR4, TLR5, NF- $\kappa$ B and p-p38MAPK expression, upregulates the p-ERK expression, and protects rat brains against focal ischemia [J]. *Brain Res*, 2012, 1448: 71-81.
- [30] Seo B, Lim M Y. Balancing harm and harmony: Evolutionary dynamics between gut microbiota-derived flagellin and TLR5-mediated host immunity and metabolism [J]. *Virulence*, 2025, 16(1): 2512035.
- [31] Fan L, Sun Y, Lou F Z, *et al.* Pp6-Pfkfb1 axis modulates intracellular bacterial proliferation by orchestrating host-pathogen metabolic crosstalk [J]. *PLoS Pathog*, 2025, 21(12): e1013304.
- [32] Stegmann F, Diersing C, Lepenies B. *Legionella pneumophila* modulates macrophage functions through epigenetic reprogramming via the C-type lectin receptor Mincle [J]. *iScience*, 2024, 27(9): 110700.
- [33] Legaki E, Koutouratsas T, Theocharopoulos C, *et al.* Polymorphisms in *CLEC5A* and *CLEC7A* genes modify risk for inflammatory bowel disease [J]. *Ann Gastroenterol*, 2024, 37(1): 64-70.
- [34] Liu C Y, Peng C F, Jia X D, *et al.* Determining the biomarkers and pathogenesis of myocardial infarction combined with ankylosing spondylitis via a systems biology approach [J]. *Front Med*, 2025, 19(3): 507-522.
- [35] Gu L, Huang J Y, Tan J J, *et al.* Impact of *TLR5* rs5744174 on stroke risk, gene expression and on inflammatory cytokines, and lipid levels in stroke patients [J]. *Neurol Sci*, 2016, 37(9): 1537-1544.
- [36] 李佳鑫, 王世伟. 虎杖生品及其3种炮制品的肝毒性比较研究 [J]. *中国药房*, 2025, 36(24): 3060-3065.
- [37] Styczeń A, Krysa M, Mertowska P, *et al.* The role of Toll-like receptors and viral infections in the pathogenesis and progression of pulmonary arterial hypertension—a narrative review [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(22): 11143.
- [38] 王越欣, 王梅, 李宁, 等. 连翘抗炎活性成分及作用机制研究进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(1): 115-120.
- [39] Jiang W L, Tian J W, Fu F H, *et al.* Neuroprotective efficacy and therapeutic window of Forsythoside B: In a rat model of cerebral ischemia and reperfusion injury [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 640(1/2/3): 75-81.
- [40] 韩斌宝, 邵碧晨, 潘丽玲, 等. 天然小分子化合物对阿尔茨海默病改善作用及机制研究进展 [J]. *中草药*, 2025, 56(24): 9211-9223.
- [41] 蔡明, 熊梦琪, 夏文文, 等. 基于多角度数据挖掘与整合探讨中医药治疗糖尿病脑病的核心方证规律及分子机制 [J]. *中草药*, 2025, 56(24): 9076-9089.
- [42] 任小巧. 探析中医“整体观念”在“脑卒中”防治中的价值 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2019, 25(7): 880-882.
- [43] 迟显苏, 梁晓, 刘红喜, 等. 基于“脾肾-脑相通”理论从核心认知域视角分期论治卒中后认知障碍 [J]. *中医杂志*, 2023, 64(2): 128-131.
- [44] 陈丽斌, 纪立金, 冯珂. 从“脾脉相关”理论论治缺血性脑卒中 [J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(9): 5253-5255.

[责任编辑 潘明佳]