

银杏二萜内酯葡胺注射液调控缺血性脑卒中急性期血小板生成与活化的作用机制

戴文静, 吕文欣, 詹乐, 颜昌钰, 武子寅, 赵宾江, 曹亮, 肖伟, 孙雨琴*, 王振中*

中药制药过程控制与智能制造技术全国重点实验室(江苏康缘药业股份有限公司/南京中医药大学), 江苏 南京 211112

摘要:目的 基于血小板的生成与活化探讨银杏二萜内酯葡胺注射液(Diterpene Ginkgolides Meglumine Injection, DGMI)治疗缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)急性期的作用机制。方法 设置假手术组、模型组、伊布替尼(10 mg/kg)组和DGMI低、中、高剂量(6.25、12.50、25.00 mg/kg)组,采用线栓法制备C57BL/6小鼠短暂性大脑中动脉栓塞(transient middle cerebral artery occlusion, tMCAO)模型,术后0.5 h开始给药,连续给药3 d。采用2,3,5-氯化三苯基四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC)染色测定脑梗死率;采用转棒实验和Bederson评分评估运动及神经功能;采用流式细胞术和ELISA分别检测全血血小板数量与血清中血小板因子4(platelet factor 4, PF4)水平;采用骨髓涂片和免疫组化观察骨髓巨核细胞的增殖、分化、凋亡以及黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)的磷酸化水平;采用免疫荧光染色检测脑组织内血小板的激活和FAK的磷酸化水平。另设置FAK激动剂ZINC40099027(ZIN)与中剂量DGMI联用组,验证DGMI是否通过抑制FAK激活发挥保护作用。结果 DGMI能显著减轻tMCAO小鼠脑梗死和巨核细胞生成,其中,中剂量DGMI对tMCAO小鼠骨髓巨核细胞的分化与增殖的抑制作用以及对脑梗死面积的减少、运动协调能力和神经功能评分的改善作用最为明显($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001)。此外,DGMI能显著减少tMCAO小鼠血小板的数量和血清中PF4水平($P<0.05$ 、 0.001),并抑制骨髓巨核细胞和脑内浸润血小板中FAK的磷酸化($P<0.01$ 、 0.001)。FAK激动剂ZIN显著逆转了DGMI对tMCAO小鼠的上述保护作用($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001)。结论 DGMI通过抑制IS急性期巨核细胞过度生成和脑内浸润血小板中FAK的磷酸化,进而抑制血小板的生成和活化,最终发挥脑保护作用。

关键词: 银杏二萜内酯葡胺注射液; 缺血性脑卒中; 血小板; 巨核细胞; 黏着斑激酶

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)10-3818-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.10.013

Mechanism of Diterpene Ginkgolides Meglumine Injection in regulating platelet production and activation during acute phase of ischemic stroke

DAI Wenjing, LYU Wenxin, ZHAN Le, YAN Changyang, WU Ziyin, ZHAO Binjiang, CAO Liang, XIAO Wei, SUN Yuqin, WANG Zhenzhong

State Key Laboratory of Technologies for Chinese Medicine Pharmaceutical Process Control and Intelligent Manufacture (Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd. & Nanjing University of Chinese Medicine), Nanjing 211112, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of Diterpene Ginkgolides Meglumine Injection (银杏二萜内酯葡胺注射液, DGMI) in treatment of acute ischemic stroke (IS) based on platelet generation and activation. **Methods** Sham group, model group, ibrutinib (10 mg/kg) group, DGMI low-, medium- and high-dose (6.25, 12.50, 25.00 mg/kg) groups were established. A transient middle cerebral artery occlusion (tMCAO) model was prepared in C57BL/6 mice using suture method. Medication was administered continuously for 3 d starting 0.5 h after surgery. The infarct rate was measured using 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining. Motor and neurological function were evaluated using spinning rod experiment and Bederson score. Flow cytometry and ELISA were used to detect the whole blood platelet count and platelet factor 4 (PF4) level in serum. Bone marrow smears and immunohistochemistry were

收稿日期: 2026-01-13

基金项目: 癌症、心脑血管、呼吸和代谢性疾病防治研究国家科技重大专项(2024ZD0522100); 中药制药过程控制与智能制造技术全国重点实验室重点项目(SK2023D01001); 基因组学研究建设平台(SK2023D01009)

作者简介: 戴文静(2001—), 女, 硕士研究生, 研究方向为药物制剂与产品研发。E-mail: dwj01191202@163.com

*通信作者: 王振中(1968—), 男, 研究员级高级工程师, 博士生导师, 研究方向为中药新药创制与过程控制研究。E-mail: kyzy@wzz.com
孙雨琴(1996—), 女, 中级工程师, 研究方向为中药新药创制与过程控制研究。E-mail: syq3141599@163.com

used to observe the proliferation, differentiation, apoptosis and phosphorylation levels of focal adhesion kinase (FAK) in bone marrow megakaryocytes. Immunofluorescence staining was used to detect platelet activation and FAK phosphorylation levels in brain tissue. A combination group of FAK agonist ZINC40099027 (ZIN) and medium-dose DGMI was set up to verify whether DGMI exerts a protective effect by inhibiting FAK activation. **Results** DGMI significantly reduced cerebral infarction and megakaryocyte generation in tMCAO mice. Among them, the inhibitory effect of medium-dose DGMI on differentiation and proliferation of bone marrow megakaryocytes in tMCAO mice, as well as the improvement of cerebral infarction area, motor coordination ability and neurological function score were the most significant ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). In addition, DGMI could significantly reduce the number of platelets and PF4 level in serum of tMCAO mice ($P < 0.05, 0.001$), and inhibit the phosphorylation of FAK in bone marrow megakaryocytes and infiltrating platelets in brain ($P < 0.01, 0.001$). The FAK agonist ZIN significantly reversed the protective effects of DGMI on tMCAO mice ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). **Conclusion** DGMI exerts neuroprotective effects by inhibiting the excessive generation of megakaryocytes during the acute phase of IS and the phosphorylation of FAK in infiltrating platelets in the brain, thereby suppressing platelet generation and activation.

Key words: Diterpene Ginkgolides Meglumine Injection; ischemic stroke; platelet; megakaryocyte; focal adhesion kinase

缺血性脑卒中 (ischemic stroke, IS) 是目前我国病死率与致残率最高的疾病之一^[1], 通过血管再通恢复血流灌注, 从而挽救 IS 导致的脑缺血损伤并改善神经功能, 是目前公认的根本救治措施^[2]。然而, 临床实践表明, 即便成功实现 IS 后血管再通, 仍有部分患者神经功能恢复不佳, 其原因与再灌注后持续的微循环障碍、继发性炎症反应及血栓形成风险密切相关^[3]。在此病理过程中, 血小板的异常活化与聚集扮演了核心角色。再灌注诱发的血管内皮损伤、炎症因子释放及氧自由基风暴可进一步触发血小板级联反应, 不仅导致微血管栓塞并加重“无复流”现象, 还会通过释放多种活性物质放大炎症与氧化应激损伤, 形成恶性循环^[4]。因此, 在血管再通治疗的基础上, 如何有效调控再灌注后血小板的异常状态, 是减轻继发损伤、促进神经功能恢复的关键。

血小板由骨髓巨核细胞分化产生, 其活化涉及复杂的信号网络^[5], 在病理状态下 (如全身性炎症), 巨核细胞的加速分化与成熟可导致循环血小板数量激增, 从而加剧血栓形成的倾向^[6]。血小板的活化主要与其跨膜糖蛋白受体整合素介导, 并由其触发的胞内信号级联所驱动; 黏着斑激酶 (focal adhesion kinase, FAK) 作为整合素下游的关键信号分子, 是一种非受体酪氨酸激酶, 其通过在特定酪氨酸残基 (如 Y397) 上的自身磷酸化而被激活, 进而在血小板活化、细胞骨架重组及稳定聚集过程中发挥重要作用^[7]。FAK 不仅参与血小板活化, 还可能通过调控骨髓巨核细胞与细胞外基质的相互作用而影响血小板生成^[8]。因此, 同时干预血小板的生成数量 (如巨核细胞分化) 与活化 (如 FAK 通

路), 可能为改善再灌注后微循环提供新思路。

银杏二萜内酯葡胺注射液 (Diterpene Ginkgolides Meglumine Injection, DGMI) 是临床用于卒中恢复期的中药复方制剂, 前期研究证实其具有神经保护、抗炎及抑制血小板聚集等作用^[4,9-10]。然而, DGMI 是否通过调控巨核细胞生成以影响血小板生成, 并抑制血小板内 FAK 信号活化, 从而在缺血再灌注后发挥脑保护作用, 其机制尚未明确。基于此, 本研究旨在探讨 DGMI 在脑缺血再灌注急性期对巨核细胞成熟及血小板 FAK 活化的影响, 以及从降低血小板生成数量与抑制功能活化双重角度, 阐明其减轻脑损伤、促进神经功能恢复的药理机制, 为 IS 的精准治疗提供新的实验依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠, 体质量 20~22 g, 购自斯贝福 (苏州) 生物技术有限公司, 许可证号 SCK (苏) 2022-0006。动物于 12 h 明暗交替的光照周期、温度 22~26 °C、相对湿度 35%~45% 的环境中, 适应性饲养 7 d 后开始实验, 自由进食饮水。动物实验经江苏省康缘药业股份有限公司动物伦理委员会批准 (批准号 2024030509)。

1.2 药品与试剂

DGMI (国药准字 Z20120024, 批号 241008) 由江苏省康缘药业股份有限公司提供; 伊布替尼 (批号 936563-96-1)、FAK 激活剂 ZINC40099027 (ZIN, 批号 1211825-25-0) 购自美国 MCE 公司; 2,3,5-氯化三苯基四氮唑 (2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC, 批号 T8877) 购自美国 Sigma 公司; p-FAK (Tyr397) 单克隆抗体 (批号 AA402004) 购

自美国 Thermo 公司；CD41 抗体（批号 1136098-1）、增殖细胞核抗原（proliferating cell nuclear antigen, PCNA）抗体（批号 1107575-3）购自英国 Abcam 公司；TUNEL 凋亡试剂（批号 A111-03）购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司；BD OptiBuild™ BV480 Rat Anti-Mouse CD41 抗体（批号 746554）购自美国 BD 公司；瑞氏-吉姆萨复合染色试剂盒（批号 240008009）购自北京索莱宝科技有限公司；小鼠血小板因子 4（platelet factor 4, PF4）ELISA 检测试剂盒（批号 JA06CAF3）购自爱必信上海生物科技有限公司；4%多聚甲醛（批号 PH0427）购自福州飞净生物科技有限公司；BeyoTSA™ 酪酰胺信号放大试剂盒（批号 P1396S）购自上海碧云天生物技术股份有限公司。

1.3 仪器

DOM-1001 型显微镜、RFLSI ZW 型激光散斑血流成像系统、FS800 型半自动冷冻切片机（深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司）；VS200 型玻片扫描仪（日本奥林巴斯公司）；YLS-31B 型转棒疲劳仪（济南益延科技发展有限公司）；SpectraMaxM2 型酶标仪（美国 MolecularDevices 公司）；FACSLytic™ 型流式细胞仪（美国 BD 公司）；L2-4K 型离心机（湖南可成仪器设备有限公司）。

2 方法

2.1 短暂性大脑中动脉栓塞（transient middle cerebral artery occlusion, tMCAO）模型的建立、分组与给药

采用线栓法^[10]制备 tMCAO 模型。小鼠采用 1.5%~2.5%异氟烷麻醉后分离并结扎颈总动脉，于颈外动脉（external carotid artery, ECA）切口插入线栓，并推送至颈内动脉直至大脑中动脉起点，以阻断血流。缺血 1 h 后拔出线栓，结扎 ECA 并关闭切口。假手术组仅进行 ECA 切口，不插入线栓。手术期间室温控制在 25~27 °C，术后将小鼠置于加热垫上维持体温 36~38 °C 直至苏醒。

伊布替尼能够有效抑制巨核细胞分化，将其作为阳性对照。设置假手术组、模型组、伊布替尼（10 mg/kg^[11]）组和 DGMI 低、中、高剂量（6.25、12.50、25.00 mg/kg^[12]，分别为临床等效剂量的 2、4、8 倍）每组 25 只。tMCAO 术后 0.5 h，DGMI 各剂量组尾 iv 给药（10 mL/kg），伊布替尼组 ip 给药（10 mL/kg），假手术组和模型组尾 iv 等体积的生理盐水（10 mL/kg），1 次/d，连续给药 3 d。

2.2 运动神经功能评分

末次给药后，使用 Bederson 评分法^[13]对小鼠的运动神经状态进行评分，评分标准：0 分，未见明显神经功能缺损；1 分，前肢屈曲；2 分，前肢屈曲且对侧向推力抵抗减弱；3 分，出现转圈；4 分，转圈并沿头尾轴旋转；5 分，无自主活动。

2.3 TTC 染色检测脑梗死率

末次给药后，称定小鼠质量，随后采用颈椎脱臼法处死。迅速取出全脑，自嗅球端向小脑方向均匀切取 6 个冠状脑片，片厚 1~2 mm。将脑片置于 2% TTC 溶液中，37 °C 避光孵育 30 min 进行染色。采用 Image J 软件分析脑梗死率，统计过程中使用双盲法。

脑梗死率 = 梗死面积/全脑面积

2.4 转棒实验

末次给药后，预先将每只小鼠放置于转棒疲劳仪适应性训练 5 min。测试阶段从 4~40 r/min（加速度为 0.12 r/min，4 r/min 恒速开始放置小鼠），测试 3 次，每次 5 min，每次间隔 15 min。记录小鼠落棒时间。

2.5 ELISA 检测血清中 PF4 水平

末次给药后 12 h，小鼠使用异氟烷麻醉后进行眼眶取血，用枸橼酸钠抗凝管收集 1 mL 血液，4 °C、2 500×g 离心 15 min，取上清；4 °C、10 000×g 离心 10 min，取上清，根据 ELISA 试剂盒说明书检测血清中 PF4 水平。

2.6 流式细胞术检测全血血小板数量

取 10 μL 小鼠全血于 190 μL PBS 缓冲液中，轻柔吹打混匀后，取 100 μL，加入 0.5 μL Ms CD41 BV480 MWREG30 抗体，轻轻混匀后室温避光孵育 20 min。孵育完成后取 40 μL 加入 1 960 μL PBS 缓冲液中颠倒数次，采用流式细胞仪上机检测，分析血小板数量。

2.7 骨髓涂片制备与瑞氏-吉姆萨染色

小鼠安乐死后，快速取出股骨和胫骨，按照前期研究方法^[14]制备骨髓涂片：使用 1 mL 注射器吹出骨髓，均匀涂在粘附载玻片上，用甲醇固定 10 min 后晾干。使用瑞氏-姬姆萨复合染色试剂盒说明书步骤进行骨髓中巨核细胞的染色，并统计每只小鼠骨髓涂片中不同形态巨核细胞的数量。

2.8 免疫组化检测骨髓中巨核细胞增殖、凋亡和 p-FAK 表达

按照前期研究方法^[15]制备骨髓石蜡切片：小鼠

安乐死后快速取出股骨，剔除多余组织后在 4%多聚甲醛中固定 24 h，于快速脱钙液中脱钙 10 d。脱水后浸入石蜡中。制成 5 μm 切片，在二甲苯中脱蜡。将骨髓石蜡切片水化后放入 PBS 缓冲液中清洗，进行抗原修复、封闭、抗体孵育等操作。使用 DAB 显色液显色，苏木素染液对细胞核复染后玻片脱水、中性树脂封片。将切片于显微镜下观察，使用 Image J 软件对图像进行定量分析。每组随机选取 3 只小鼠的骨髓切片，各随机选取 5 个不重叠 40 倍镜下视野。

2.9 激活 FAK 对 DGMI 作用的影响

2.9.1 分组、造模与给药 C57BL/6J 小鼠随机分为假手术组、模型组、DGMI (12.5 mg/kg) 组和 DGMI (12.5 mg/kg) + ZIN (900 μg/kg^[16]) 组，每组 25 只。tMCAO 术后 0.5 h，DGMI 组尾 iv 给药 (10 mL/kg)，DGMI+ZIN 组尾 iv DGMI 同时 ip ZIN (10 mL/kg)，假手术组和模型组尾 iv 等体积的生理盐水 (10 mL/kg)，1 次/d，连续给药 3 d。

2.9.2 指标检测 按“2.2”项下方法进行运动神经功能评分，按“2.3”项下方法测定脑梗死率，按“2.4”项下方法记录落棒时间，按“2.5”项下方法检测血清中 PF4 水平，按“2.6”项下方法检测全血血小板数量，按“2.7”项下方法检测骨髓涂片中不同形态巨核细胞的数量。

2.9.3 免疫荧光染色检测脑组织 CD41 和 p-FAK 表达 取小鼠新鲜脑组织，放入 4%多聚甲醛中固定 24 h，进行蔗糖溶液梯度脱水 OTC 包埋，冰冻切片，于载玻片上展平脑切片并于 -20 °C 保存。取冰冻脑切片充分漂洗，使用快速封闭液室温封闭 10~60 min。滴加一抗，4 °C 孵育过夜；以二抗稀释液配制对应种属的二抗，室温避光孵育 60 min，最后封片晾干，于显微镜下观察并拍照。每组随机选取 3 只小鼠的脑切片进行量化分析。在梗死核心区及半暗带区（从梗死核心区边缘向周围扩展 500 μm 的边界区域）^[17]随机采集 5 个不重叠 40 倍镜下视野，使用 Image J 软件对图像进行定量分析，分别测量每个视野中 CD41 和 p-FAK 的平均荧光强度、CD41 与 p-FAK 信号的共定位平均荧光强度。

2.10 统计学分析

使用 GraphPad Prism 9.0 软件进行数据分析与统计，通过 Shapiro-Wilk test 检验正态性，Brown-Forsythe test 检验方差齐性。数据符合正态分布及方差齐时采用 One-way ANOVA 或 Two-way ANOVA

分析方法，非正态分布采用 Kruskal-Wallis test 检验。所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 DGMI 抑制 tMCAO 小鼠骨髓巨核细胞分化生成血小板

为评价 DGMI 对 tMCAO 模型小鼠巨核细胞生成的影响，给予不同剂量的 DGMI 或伊布替尼干预 3 d，通过瑞氏-吉姆萨染色、TTC 染色、神经功能评分和转棒实验，系统评估 DGMI 治疗效果并筛选最佳给药剂量。

通过骨髓涂片瑞氏-吉姆萨染色观察 tMCAO 术后 3 d 巨核细胞的分化情况。结果如图 1 所示，与假手术组比较，模型组小鼠骨髓中巨核细胞总数显著升高 ($P < 0.001$)，其中颗粒型巨核细胞和裸核型巨核细胞数量均显著增加 ($P < 0.05$ 、 0.001)，产板型巨核细胞数量呈升高趋势；与模型组比较，中、高剂量的 DGMI 和伊布替尼均能显著降低骨髓中巨核细胞总数及各分化阶段细胞数量 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。其中，中剂量的 DGMI 在减少产板型和颗粒型巨核细胞方面效果最为明显，其作用强度与阳性药伊布替尼相当。提示 12.5 mg/kg 可能为 DGMI 调节巨核细胞生成的最佳作用剂量。

3.2 DGMI 减少 tMCAO 小鼠脑梗死面积

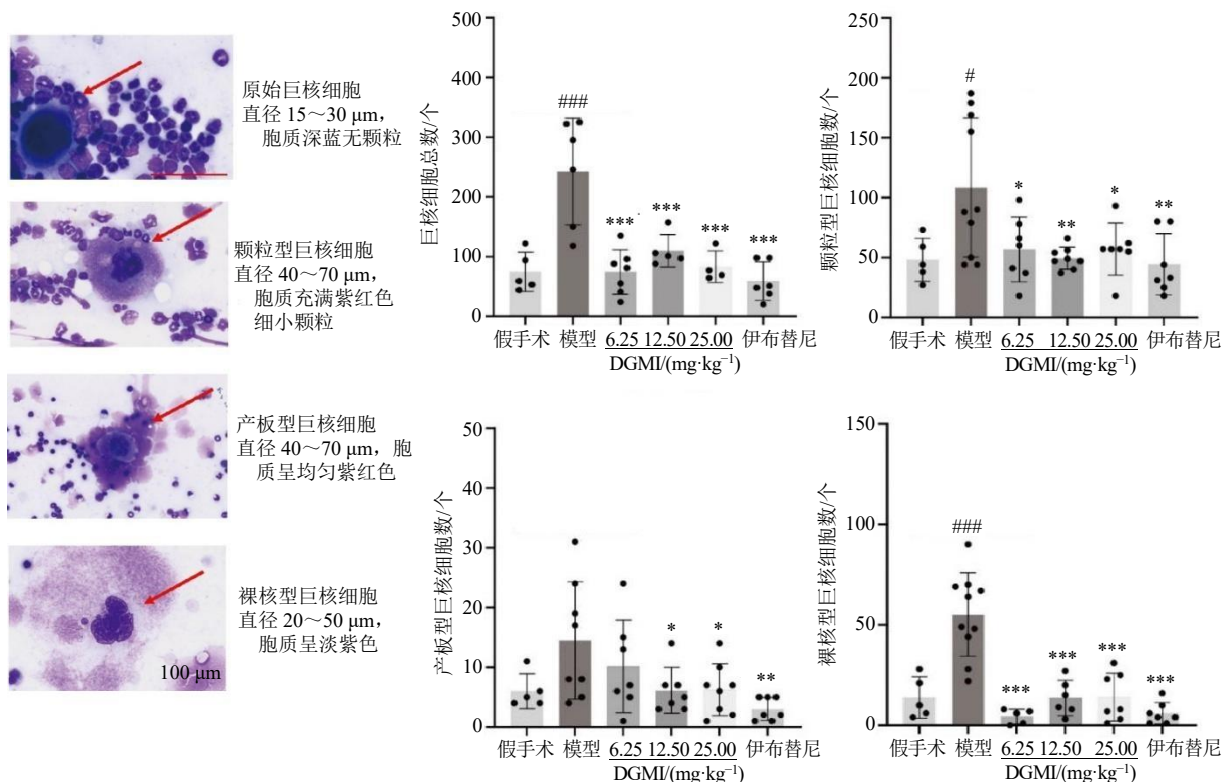
如图 2 所示，与假手术组比较，模型组小鼠缺血半脑的脑梗死率显著升高 ($P < 0.001$)；与模型组比较，各剂量的 DGMI 和伊布替尼均能显著降低小鼠缺血半脑的脑梗死率 ($P < 0.01$ 、 0.001)，其中 DGMI 中剂量组的保护效果最为明显。

3.3 DGMI 改善 tMCAO 小鼠神经功能缺损

采用转棒实验与 Bederson 评分进一步评估 tMCAO 小鼠急性期神经功能缺损的改善情况。结果如图 3 所示，与假手术组比较，模型组小鼠运动功能有所下降，表现为转棒实验落棒时间显著降低 ($P < 0.05$)，且 Bederson 评分显著升高 ($P < 0.001$)；与模型组比较，DGMI 中剂量组小鼠在转棒实验中的落棒时间显著升高 ($P < 0.05$)，且 Bederson 评分显著降低 ($P < 0.05$)，表明中剂量的 DGMI 可有效改善 tMCAO 小鼠的神经功能缺损，后续采用中剂量的 DGMI 进行研究。

3.4 DGMI 抑制 tMCAO 小鼠骨髓巨核细胞的增殖

为进一步探讨 DGMI 对巨核细胞增殖的调控作用，对小鼠股骨组织切片进行 PCNA 免疫组化染色。PCNA 阳性信号定位于巨核细胞核，表现为明

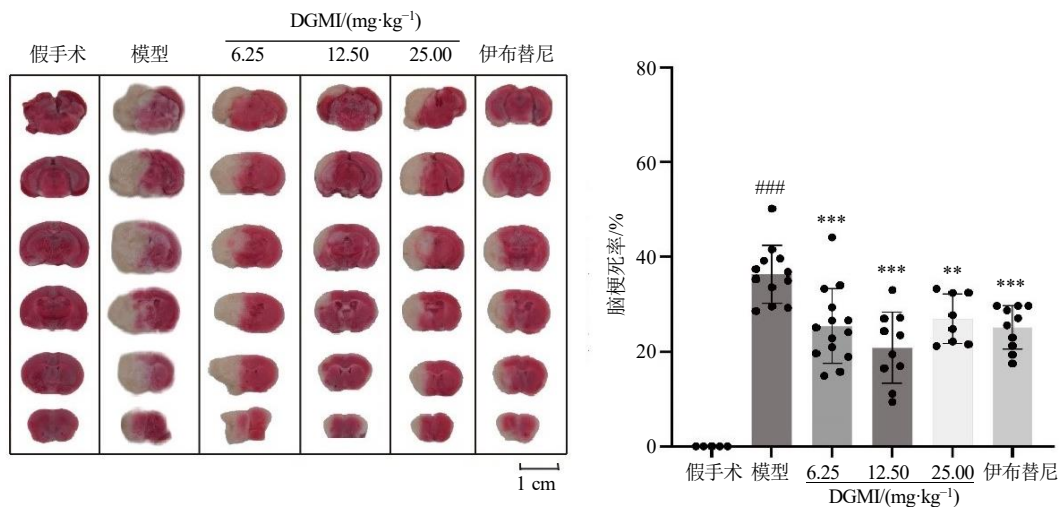


假手术组 $n=5$, 模型组 $n=10$, DGMI 低剂量组 $n=7$, DGMI 中剂量组 $n=8$, DGMI 高剂量组 $n=7$, 伊布替尼组 $n=7$; 与假手术组比较: $\#P<0.05$ $\#\#P<0.01$ $\#\#\#P<0.001$; 与模型组比较: $*P<0.05$ $**P<0.01$ $***P<0.001$, 下图同。

Sham group ($n=5$), model group ($n=10$), DGMI low-dose group ($n=7$), DGMI medium-dose group ($n=8$), DGMI high-dose group ($n=7$), ibrutinib group ($n=7$); $\#P<0.05$ $\#\#P<0.01$ $\#\#\#P<0.001$ vs sham group; $*P<0.05$ $**P<0.01$ $***P<0.001$ vs model group, same as below figures.

图1 DGMI对tMCAO小鼠不同分化阶段巨核细胞数量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 1 Effect of DGMI on numbers of megakaryocytes at various maturation stages in tMCAO mice ($\bar{x} \pm s$)

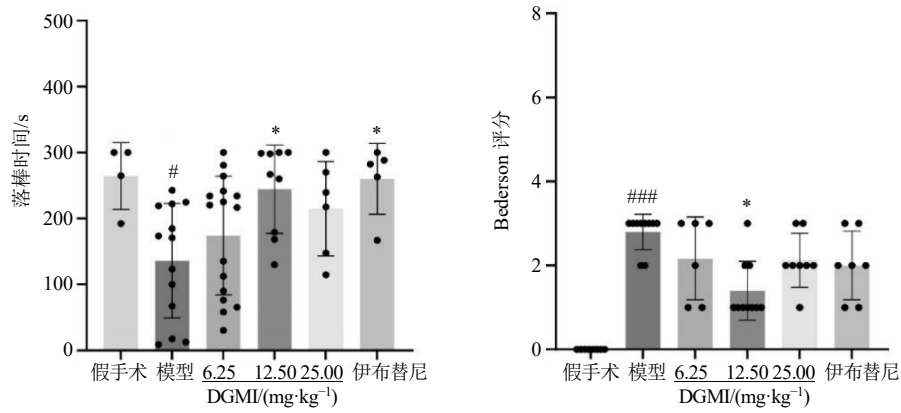


假手术组 $n=5$, 模型组 $n=12$, DGMI 低剂量组 $n=14$, DGMI 中剂量组 $n=10$, DGMI 高剂量组 $n=8$, 伊布替尼组 $n=10$ 。

Sham group ($n=5$), model group ($n=12$), DGMI low-dose group ($n=14$), DGMI medium-dose group ($n=10$), DGMI high-dose group ($n=8$), ibrutinib group ($n=10$).

图2 DGMI对tMCAO小鼠脑梗死率的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 2 Effect of DGMI on infarct rate in tMCAO mice ($\bar{x} \pm s$)



假手术组 $n=4$, 模型组 $n=13$, DGMI 低剂量组 $n=16$, DGMI 中剂量组 $n=9$, DGMI 高剂量组 $n=6$, 伊布替尼组 $n=4$. Sham group ($n=4$), model group ($n=13$), DGMI low-dose group ($n=16$), DGMI medium-dose group ($n=9$), DGMI high-dose group ($n=6$), ibrutinib group ($n=4$).

图3 DGMI对tMCAO小鼠转棒实验落棒时间和Bederson评分的影响 ($\bar{x} \pm s$)

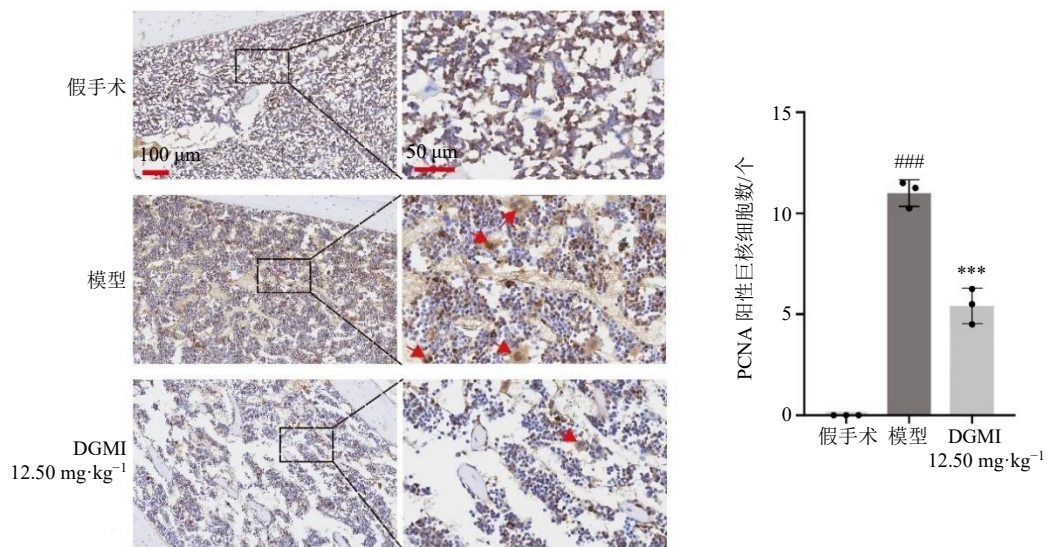
Fig. 3 Effect of DGMI on rod drop time in rod rotation experiment and Bederson score of tMCAO mice ($\bar{x} \pm s$)

显的棕黄色颗粒。如图4所示,与假手术组比较,模型组小鼠股骨中PCNA阳性巨核细胞的数量显著增加 ($P<0.001$);与模型组比较,DGMI中剂量组小鼠股骨中PCNA阳性巨核细胞的数量显著减少 ($P<0.001$),且大部分呈现弱阳性信号,表明DGMI可显著抑制tMCAO小鼠巨核细胞的过度增殖。

3.5 DGMI不影响tMCAO小鼠骨髓巨核细胞的凋亡

为明确DGMI降低巨核细胞数量是否与促进

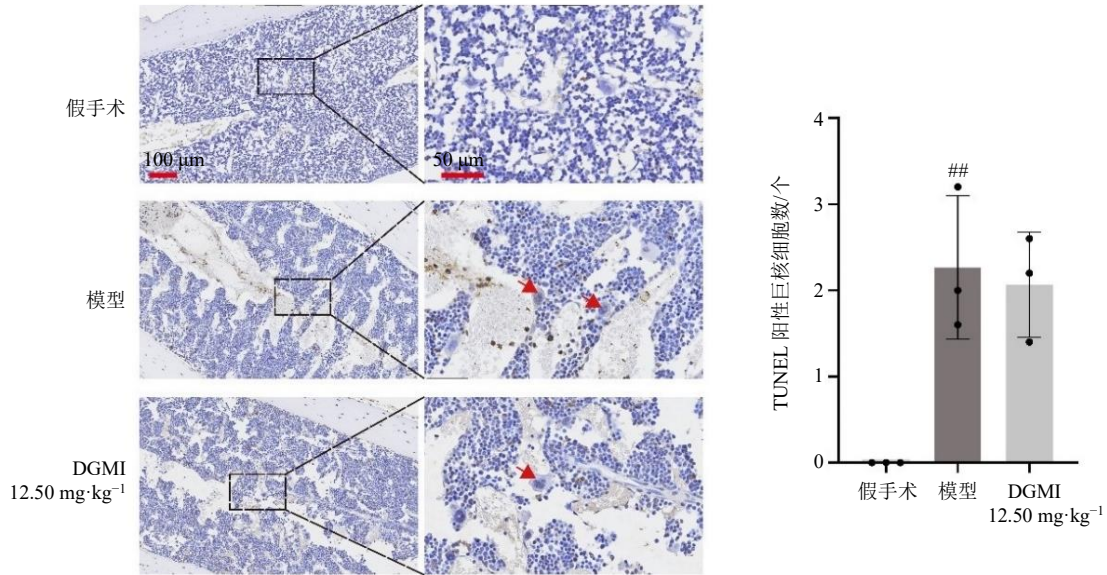
其凋亡有关,对小鼠股骨组织切片进行TUNEL免疫组化染色。TUNEL阳性信号定位于细胞核,表现为棕色染色。如图5所示,与假手术组比较,模型组小鼠股骨中TUNEL阳性巨核细胞的数量显著增加 ($P<0.01$);与模型组比较,DGMI中剂量组小鼠股骨中TUNEL阳性巨核细胞的数量无显著差异。表明DGMI并不影响tMCAO小鼠骨髓巨核细胞的凋亡进程,提示其降低巨核细胞总数的作用主要通过抑制增殖而非诱导凋亡实现。



红色箭头表示PCNA阳性的巨核细胞。
Red arrow represents PCNA positive megakaryocytes.

图4 DGMI对tMCAO小鼠骨髓中巨核细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 4 Effect of DGMI on proliferation of megakaryocytes in bone marrow of tMCAO mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)



红色箭头表示 TUNEL 阳性的巨核细胞。
Red arrow represents TUNEL positive megakaryocytes.

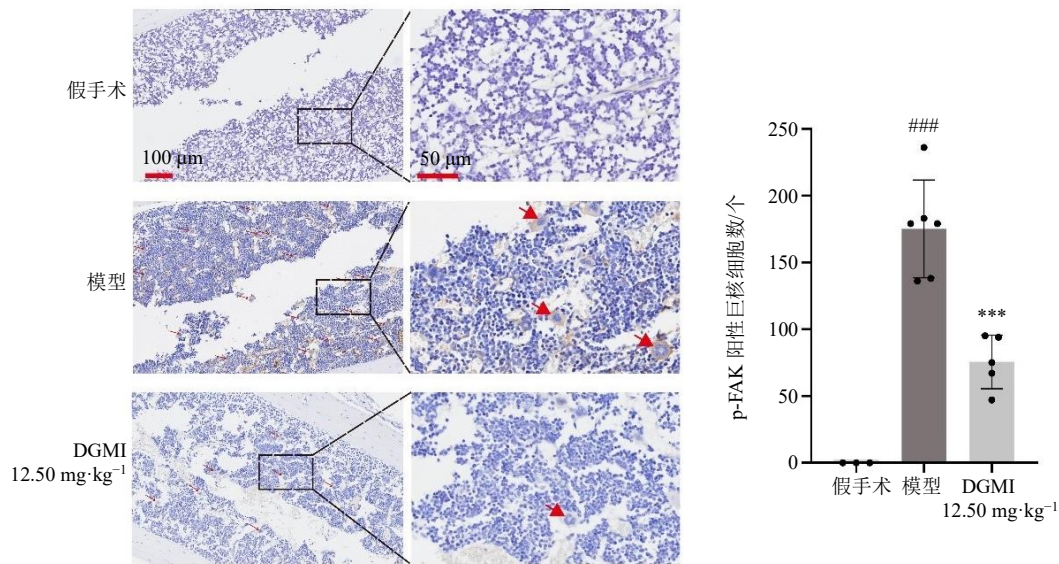
图 5 DGMI 对 tMCAO 小鼠骨髓中巨核细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Effect of DGMI on apoptosis of megakaryocytes in bone marrow of tMCAO mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.6 DGMI 抑制 tMCAO 小鼠骨髓中巨核细胞 FAK 的磷酸化

为了探究 DGMI 调控巨核细胞生成的分子机制, 通过免疫组化染色检测小鼠股骨切片中 p-FAK 的表达。p-FAK 阳性的巨核细胞的细胞质呈棕色。

如图 6 所示, 与假手术组比较, 模型组小鼠股骨中 p-FAK 阳性巨核细胞的数量显著增加 ($P < 0.001$), 且信号较强, 染色呈现深棕色; 与模型组比较, DGMI 中剂量组小鼠股骨中 p-FAK 阳性巨核细胞的数量显著降低 ($P < 0.001$), 染色呈现浅棕色, 总体



红色箭头表示 p-FAK 阳性的巨核细胞。
Red arrow represents p-FAK positive megakaryocytes.

图 6 DGMI 对 tMCAO 小鼠骨髓中巨核细胞 FAK 磷酸化的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

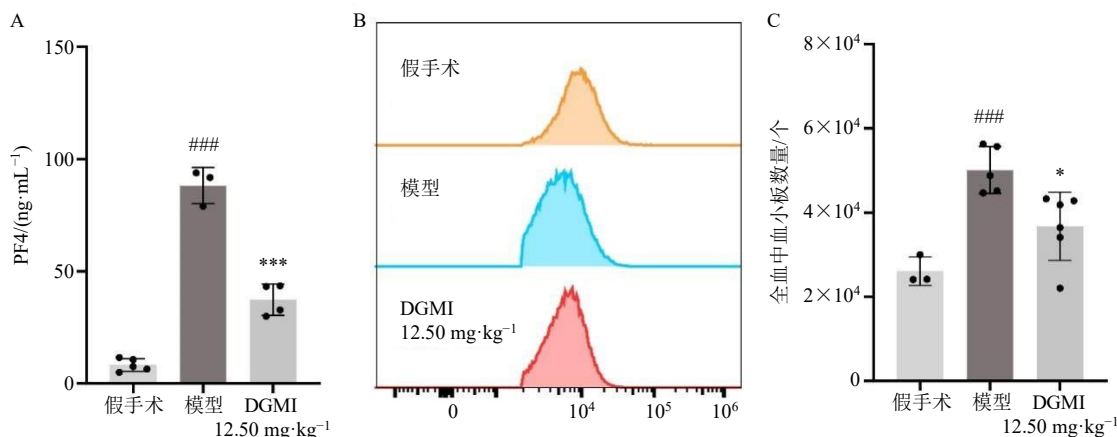
Fig. 6 Effect of DGMI on FAK phosphorylation in megakaryocytes of bone marrow in tMCAO mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

呈弱阳性。表明 tMCAO 可诱导小鼠骨髓巨核细胞 FAK 磷酸化水平的激活, 而 DGMI 干预后可抑制其磷酸化水平。

3.7 DGMI 减少 tMCAO 小鼠血小板数量和活化程度

为评价 DGMI 对 tMCAO 小鼠血小板功能的抑制作用, 采用 ELISA 检测小鼠血清中 PF4 水平。结果如图 7-A 所示, 与假手术组比较, 模型组小鼠血清中 PF4 水平显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, DGMI 中剂量组血清中 PF4 水平显著降低 ($P <$

0.001)。提示再灌注后血小板发生了强烈的脱颗粒反应与活化, 而 DGMI 能有效抑制血小板的活化。为了明确 DGMI 对 tMCAO 小鼠外周血小板数量的影响, 采用流式细胞术对小鼠全血血小板进行计数分析。结果如图 7-B、C 所示, 与假手术组比较, 模型组小鼠全血中血小板的数量显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, DGMI 中剂量组全血中血小板的数量显著减少 ($P < 0.05$)。以上结果表明, DGMI 能从降低外周血小板基数与抑制血小板活化 2 个方面, 有效纠正缺血再灌注后血小板的过度激活。



A-小鼠血清中 PF4 水平, 假手术组 $n=5$, 模型组 $n=3$, DGMI 中剂量组 $n=4$; B、C-小鼠全血中血小板数量, 假手术组 $n=3$, 模型组 $n=5$, DGMI 中剂量组 $n=6$ 。

A-PF4 level in serum of mice, sham group ($n=5$), model group ($n=3$), DGMI medium-dose group ($n=4$); B, C-platelet count in whole blood of mice, sham group ($n=3$), model group ($n=5$), DGMI medium-dose group ($n=6$).

图 7 DGMI 对 tMCAO 小鼠血小板活化和数量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 7 Effect of DGMI on platelet activation and quantity in tMCAO mice ($\bar{x} \pm s$)

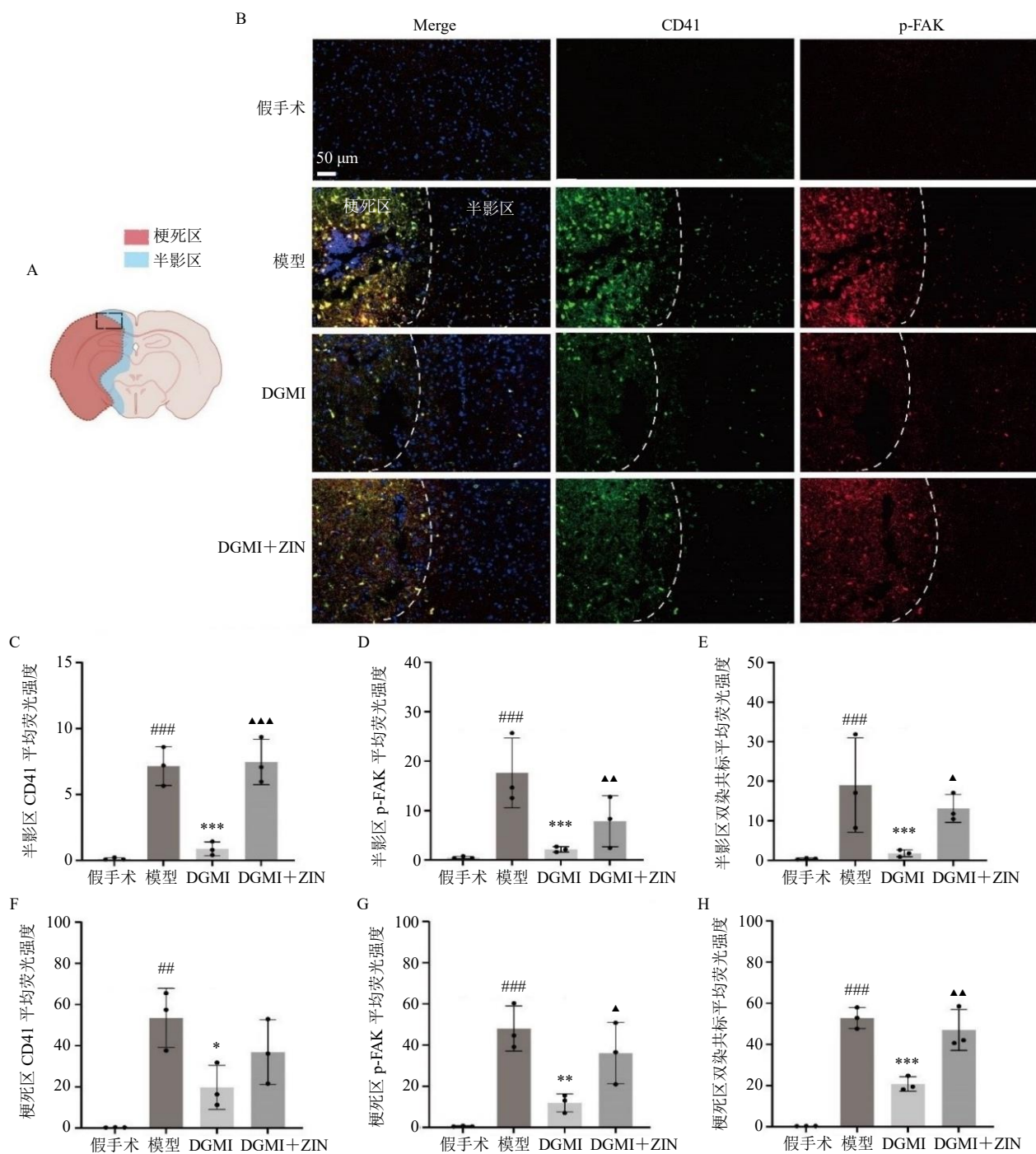
3.8 DGMI 抑制 tMCAO 小鼠脑组织中血小板 FAK 的磷酸化

为探究 DGMI 对 tMCAO 小鼠血小板 FAK 活化的影响, 通过免疫荧光染色对 tMCAO 小鼠脑组织切片进行血小板标志物 CD41 和 p-FAK 标记观察。结果如图 8 所示, 与假手术组比较, 模型组小鼠脑组织中半影区和梗死区的 CD41 和 p-FAK 荧光强度均显著增强 ($P < 0.01$ 、0.001), 且二者共定位显著增多 ($P < 0.001$); 与模型组比较, DGMI 组半影区和梗死区的 CD41 和 p-FAK 荧光强度均显著减低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 且二者共定位减少 ($P < 0.001$)。以上结果表明, 小鼠 tMCAO 术后脑内血小板浸润增强且 FAK 磷酸化水平升高, DGMI 治疗有效减少了小鼠脑内血小板数量并降低 FAK 的磷酸化。当联用 FAK 特异性激动剂 ZIN 后, DGMI 对 CD41 与 p-FAK 的抑制作用被部分抵消, 其荧光强

度及共定位水平较 DGMI 组出现回升 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001)。以上结果表明, DGMI 能够抑制 tMCAO 后脑内血小板的聚集与 FAK 磷酸化, 而此效应可被 FAK 的激活所逆转, 提示 FAK 通路可能是 DGMI 发挥作用的关键环节。

3.9 激活 FAK 逆转 DGMI 对 tMCAO 小鼠血小板生成及活化的抑制作用

为验证 FAK 是否为 DGMI 发挥保护作用的关键下游靶点, 通过联用 ZIN 系统评估了激活 FAK 对 DGMI 抑制血小板生成与活化的逆转效应。如图 9-A、B 所示, 与 DGMI 组比较, DGMI+ZIN 组小鼠全血中血小板数量呈升高趋势。结合脑组织切片免疫荧光染色结果 (图 8), ZIN 显著逆转了 DGMI 对脑内血小板标志物 CD41 及 p-FAK 表达的抑制作用 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 且与模型组无显著差异。此外, 骨髓涂片实验结果 (图 9-C~F) 中, 与

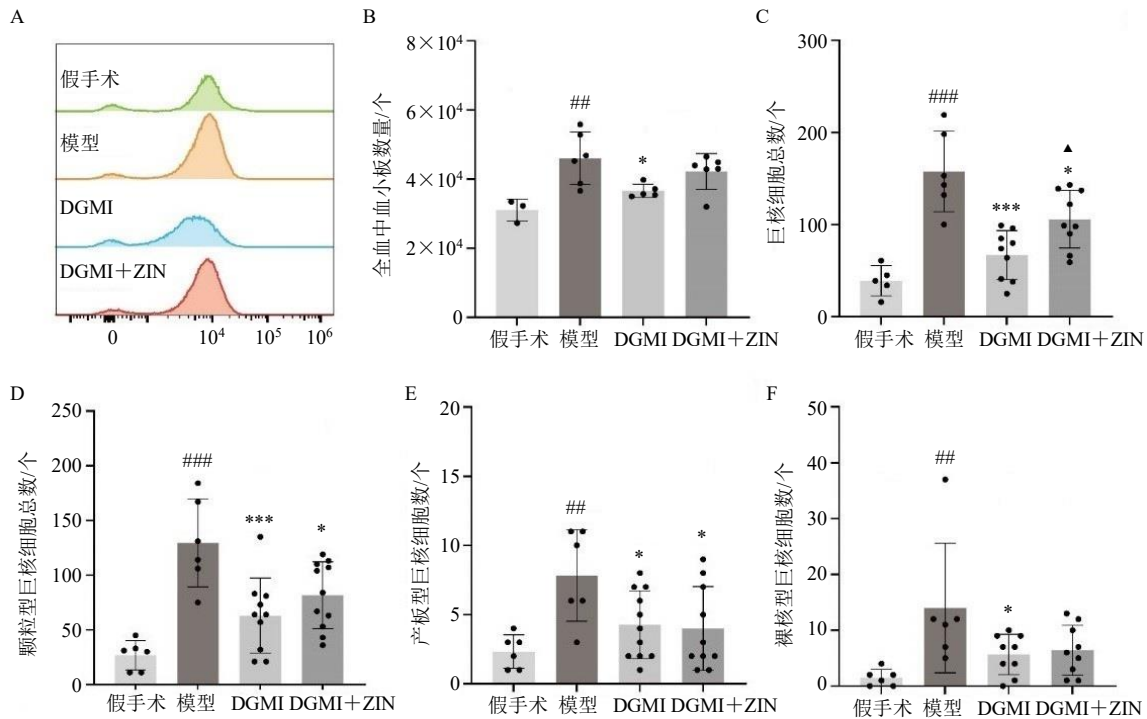


A-脑梗死区和半影区位置示意图; B-免疫荧光染色观察小鼠脑组织中 CD41、p-FAK 表达; C-半影区 CD41 平均荧光强度统计; D-半影区 p-FAK 平均荧光强度统计; E-半影区 CD41 和 p-FAK 双染共标平均荧光强度统计; F-梗死区 CD41 平均荧光强度统计; G-梗死区 p-FAK 平均荧光强度统计; H-梗死区 CD41 和 p-FAK 双染共标平均荧光强度统计; 与 DGMI 组比较: ▲ $P < 0.05$ ▲▲ $P < 0.01$ ▲▲▲ $P < 0.001$, 图 9、10 同。

A-schematic diagram of location of cerebral infarction area and penumbra area; B-expressions of CD41 and p-FAK in brain tissue of mice observed by immunofluorescence staining; C-statistics of CD41 average fluorescence intensity in penumbra area; D-statistics of p-FAK average fluorescence intensity in penumbra area; E-statistics of average fluorescence intensity of CD41 and p-FAK double staining co-labeling in penumbra area; F-statistics of CD41 average fluorescence intensity in infarcted area; G-statistics of average fluorescence intensity of p-FAK in infarcted area; H-statistics of average fluorescence intensity of CD41 and p-FAK double staining co-labeling in infarcted area; ▲ $P < 0.05$ ▲▲ $P < 0.01$ ▲▲▲ $P < 0.001$ vs DGMI group, same as Figs. 9, 10.

图 8 DGMI 和 ZIN 对 tMCAO 小鼠脑组织中血小板 FAK 磷酸化的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 8 Effect of DGMI and ZIN on FAK phosphorylation in platelets of brain tissue in tMCAO mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)



A、B-小鼠全血中血小板数量，假手术组 $n=3$ ，模型组 $n=6$ ，DGMI 组 $n=5$ ，DGMI+ZIN 组 $n=6$ ；C~F-小鼠骨髓中巨核细胞总数及各分化阶段细胞数量，假手术组 $n=6$ ，模型组 $n=6$ ，DGMI 组 $n=10$ ，DGMI+ZIN 组 $n=10$ 。

A, B-platelet count in whole blood of mice, sham group ($n=3$), model group ($n=6$), DGMI group ($n=5$), DGMI + ZIN group ($n=6$); C~F-total number of megakaryocytes and number of cells at each differentiation stage in bone marrow of mice, sham group ($n=6$), model group ($n=6$), DGMI group ($n=10$), DGMI + ZIN group ($n=10$).

图9 ZIN对tMCAO小鼠血小板和不同形态巨核细胞数量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 9 Effect of ZIN on numbers of platelet and megakaryocytes at various maturation stages in tMCAO mice ($\bar{x} \pm s$)

DGMI 组比较，DGMI+ZIN 组小鼠骨髓中的巨核细胞总数显著升高 ($P<0.05$)。上述结果表明，在外周和脑内的血小板活化及骨髓生成多个层面，激活 FAK 均可有效拮抗 DGMI 的抑制作用，从而初步证实 FAK 是 DGMI 调控血小板稳态的核心靶点。

3.10 激活 FAK 逆转 DGMI 对 tMCAO 小鼠脑梗死及神经功能的改善作用

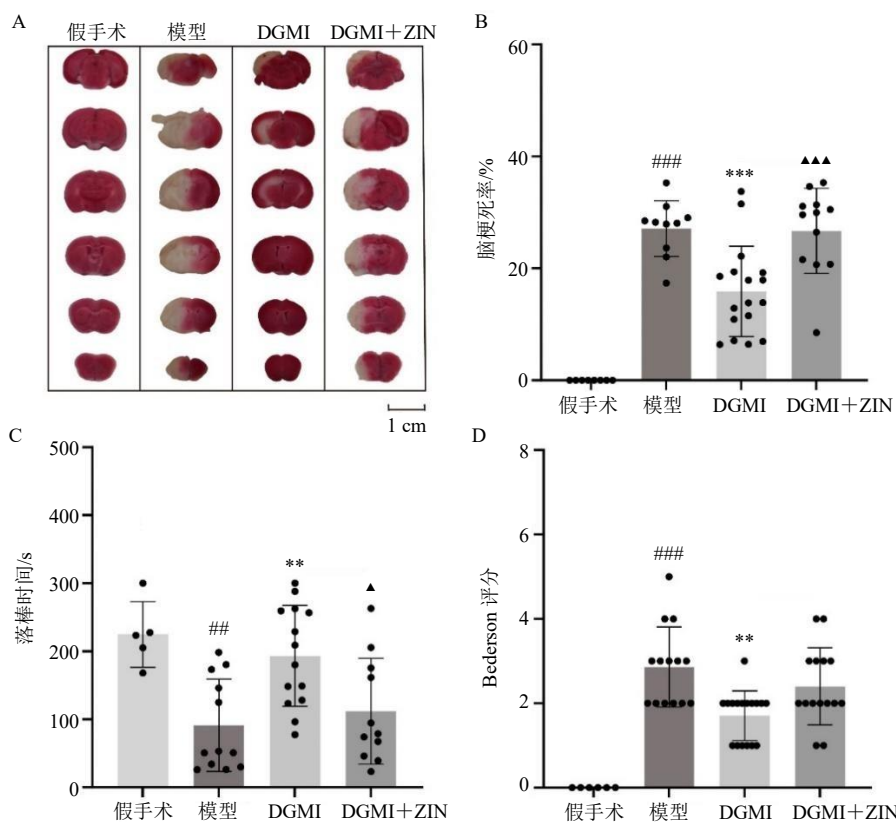
为进一步明确 FAK 激活是否拮抗 DGMI 的整体神经保护效应，通过 TTC 染色检测脑梗死率，并结合转棒实验与 Bederson 评分系统评估运动协调及神经功能缺损情况。如图 10-A、B 所示，与 DGMI 组比较，DGMI+ZIN 组小鼠的脑梗死率显著增加 ($P<0.001$)，表明激活 FAK 逆转了 DGMI 对缺血性脑损伤的保护作用。如图 10-C、D 所示，与 DGMI 组比较，DGMI+ZIN 组小鼠在转棒实验中的落棒时间显著缩短 ($P<0.05$)，Bederson 评分呈升高趋势，表明激活 FAK 削弱了 DGMI 在改善运动协调与神经功能方面的疗效。以上结果提示 DGMI 通过抑制 FAK 信号减轻缺血再灌注所致的脑损伤，同时

促进运动协调能力和神经功能恢复，改善卒中结局。

4 讨论

IS 是临床常见病，具有高发病率、高致残率、高死亡率、高复发率及高经济负担的特点^[18]。目前临床治疗仍主要集中于血管再通，然而再灌注后常伴随微循环障碍、“无复流”现象等继发损伤，严重影响患者预后^[19]。在这一过程中，血小板的异常活化与聚集是加剧再灌注损伤的关键环节^[20]。DGMI 是临床用于卒中恢复期治疗的中药复方制剂，其疗效已得到初步证实^[21]，但其是否通过调控血小板功能与数量发挥脑保护作用目前尚未明确。因此，本研究聚焦于缺血再灌注急性期血小板的生成与活化状态调控，探讨 DGMI 是否通过影响巨核细胞生成及血小板 FAK 信号通路，从而减轻脑损伤、促进神经功能恢复，以期为 IS 的治疗提供实验依据。

在血栓形成的初期阶段，血小板会迅速聚集到血管损伤部位。已有研究表明，血小板激活在 IS 患者中显著增加，这一现象在皮层性梗死中尤为明显^[22-24]。DGMI 作为血小板活化因子受体 (platelet-



A、B-TTC 染色检测脑梗死率，假手术组 $n=8$ ，模型组 $n=10$ ，DGMI 组 $n=17$ ，DGMI+ZIN 组 $n=12$ ；C-小鼠转棒实验中的落棒时间，假手术组 $n=6$ ，模型组 $n=12$ ，DGMI 组 $n=14$ ，DGMI+ZIN 组 $n=11$ ；D-Bederson 评分，假手术组 $n=6$ ，模型组 $n=12$ ，DGMI 组 $n=14$ ，DGMI+ZIN 组 $n=11$ 。

A, B-cerebral infarction rate detected by TTC staining, sham group ($n=8$), model group ($n=10$), DGMI group ($n=17$), DGMI + ZIN group ($n=12$); C-drop time of mice in rod rotation experiment, sham group ($n=6$), model group ($n=12$), DGMI group ($n=14$), DGMI + ZIN group ($n=11$); D-Bederson score, sham group ($n=6$), model group ($n=12$), DGMI group ($n=14$), DGMI + ZIN group ($n=11$).

图 10 ZIN 对 tMCAO 小鼠脑梗死及神经功能的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 10 Effect of ZIN on cerebral infarction and neurological function in tMCAO mice ($\bar{x} \pm s$)

activating factor receptor, PAFR) 拮抗剂，可能通过抑制血小板活化与传统抗血小板治疗方案协同作用^[25-27]。本研究发现，在超急性期给予中剂量 DGMI，不仅能有效改善小鼠 tMCAO 术后运动与神经功能，并减轻脑组织损伤，还可降低外周血中血小板的数量和 PF4 水平。

血小板缺乏细胞核，无法自主合成新的蛋白质，其止血潜能主要取决于骨髓巨核细胞在血小板生成阶段所赋予的分子特性^[28]。本研究在骨髓涂片中发现 tMCAO 小鼠的巨核细胞数量显著升高。该发现与前期临床研究一致，即急性卒中时存在巨核细胞-血小板-止血轴的促血栓性变化^[29]。糖蛋白 VI (glycoprotein VI, GPVI) 是血小板识别胶原的特异性启动受体，也是整合素 $\alpha IIb\beta 3$ 活化的关键上游调控因子，其表达仅限于血小板及巨核细胞，研究表明抑制 GPVI、切断血小板和巨核细胞活化途径能

有效改善卒中预后且不增加脑出血风险^[30]。单细胞分析数据也证实 IS 发生后小鼠外周血中巨核细胞群体显著扩增^[31]。但巨核细胞在 IS 中的具体作用及机制尚未明确。因此，本研究针对该方向，通过骨髓涂片和免疫组化染色发现中剂量 DGMI 在超急性期减少 tMCAO 术后小鼠骨髓中的巨核细胞增殖并抑制巨核细胞分化成熟，同时减轻小鼠脑损伤，改善运动及神经功能。通过流式细胞术和 ELISA 实验发现 DGMI 能显著减少 tMCAO 小鼠外周血小板数量及 PF4 水平。以上结果提示 DGMI 可通过抑制骨髓巨核细胞生成减少血小板数量，同时降低血小板活化水平，进而发挥神经保护作用。

FAK 是整合素 $\alpha IIb\beta 3$ 外向信号传导的关键介质，主要调控血小板活化后期的细胞骨架重组和稳定聚集过程，对维持血栓结构至关重要^[32-33]。本研究观察到，tMCAO 小鼠血小板及骨髓巨核细胞内

的 FAK 磷酸化水平均显著升高, DGMI 干预能显著降低脑内血小板的浸润及 FAK 的磷酸化水平。进一步使用 ZIN 激活 FAK 可部分逆转 DGMI 对巨核细胞分化、血小板数量与活化以及脑内 FAK 磷酸化的抑制作用, 并削弱 DGMI 在减小脑梗死面积、改善神经功能方面的药效。提示 DGMI 可抑制 FAK 的过度激活, 进而调控血小板生成与活化, 最终发挥脑保护作用。DGMI 同时也是 PAFR 的拮抗剂, 通过调节下游 PAF 信号通路减轻脑缺血再灌注损伤。尽管已有研究提示, PAFR 可通过诱导 FAK 磷酸化并与其发生蛋白相互作用, 进而激活下游信号转导与转录激活因子 1 (signal transducer and activator of transcription 1, STAT1), 形成 PAFR-FAK-STAT1 信号轴, 从而协同驱动卵巢上皮细胞的早期恶性转化、进展与转移^[34]。但 PAFR-FAK 通路在缺血再灌注过程对血小板生成和活化的影响暂未阐明, 本研究未来将聚焦于这一方向, 并对 PAFR-FAK 在 IS 中的作用机制展开后续探索。

本研究发现 tMCAO 后巨核细胞中 FAK 磷酸化水平升高并与分化增强并存, 这与既往认知存在表象矛盾。既往研究认为在生理状态下 FAK 作为整合素下游的关键信号分子, 对巨核细胞成熟呈负向调控作用, 特异性敲除小鼠巨核细胞 FAK 会导致血小板生成素信号增强和巨核细胞分化增加^[35]。然而, 也有研究发现, 药理学抑制和特异性敲除星形胶质细胞 FAK 可显著减轻梗死体积和神经炎症^[36], 提示在卒中病理条件下, FAK 信号网络可能发生了功能重编程, 即从生理状态下的细胞稳态维持功能转变为病理性炎症放大功能。因此, DGMI 所抑制的更可能是在病理背景下被异常激活的、具促分化功能的 FAK 信号模块。

综上, DGMI 通过抑制 IS 急性期巨核细胞过度生成和脑内浸润血小板中 FAK 的磷酸化, 进而抑制血小板的生成和活化, 最终发挥脑保护作用。该发现为阐释 DGMI 的作用机制提供了新的实验依据, 为拓展 IS 的治疗策略提供更多理论支持。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Feigin V L, Owolabi M O. Pragmatic solutions to reduce the global burden of stroke: A World Stroke Organization-Lancet Neurology Commission [J]. *Lancet Neurol*, 2023, 22(12): 1160-1206.
- [2] Prabhakaran S, Ruff I, Bernstein R A. Acute stroke

- intervention: A systematic review [J]. *JAMA*, 2015, 313(14): 1451.
- [3] Andrews R K, Gardiner E E, Shen Y, et al. Platelet interactions in thrombosis [J]. *IUBMB Life*, 2004, 56(1): 13-18.
- [4] Li X, Huang L L, Liu G, et al. Ginkgo diterpene lactones inhibit cerebral ischemia/reperfusion induced inflammatory response in astrocytes via TLR4/NF- κ B pathway in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 249: 112365.
- [5] Andrews R K, Berndt M C. Platelet physiology and thrombosis [J]. *Thromb Res*, 2004, 114(5/6): 447-453.
- [6] Stoll G, Nieswandt B. Thrombo-inflammation in acute ischaemic stroke: Implications for treatment [J]. *Nat Rev Neurol*, 2019, 15(8): 473-481.
- [7] Arold S T. How focal adhesion kinase achieves regulation by linking ligand binding, localization and action [J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2011, 21(6): 808-813.
- [8] Guidetti G F, Torti M, Canobbio I. Focal adhesion kinases in platelet function and thrombosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(5): 857-868.
- [9] 刘子宇, 徐欣玉, 吕文欣, 等. 银杏二萜内酯葡胺注射液对缺血性脑卒中小鼠黑质脑区的调控机制研究 [J]. *中草药*, 2024, 55(11): 3735-3748.
- [10] Wu Z Y, Guo Z H, Lv W X, et al. Hyperacute intervention with DGMI for optimized stroke recovery: Modulating immune and inflammatory pathways in motor and sensory cortices [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 347: 119734.
- [11] Huang J S, Huang S J, Ma Z X, et al. Ibrutinib suppresses early megakaryopoiesis but enhances proplatelet formation [J]. *Thromb Haemost*, 2021, 121(2): 192-205.
- [12] Khandelwal P, Yavagal D R, Sacco R L. Acute ischemic stroke intervention [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 67(22): 2631-2644.
- [13] Bieber M, Gronewold J, Scharf A C, et al. Validity and reliability of neurological scores in mice exposed to middle cerebral artery occlusion [J]. *Stroke*, 2019, 50(10): 2875-2882.
- [14] Travlos G S. Histopathology of bone marrow [J]. *Toxicol Pathol*, 2006, 34(5): 566-598.
- [15] Ding L, Yang F, Wang Z, et al. Ginsenoside compound K enhances fracture healing via promoting osteogenesis and angiogenesis [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 855393.
- [16] Wang Q G, More S K, Vomhof-DeKrey E E, et al. Small molecule FAK activator promotes human intestinal epithelial monolayer wound closure and mouse ulcer healing [J]. *Sci Rep*, 2019, 9: 14669.
- [17] Jiang M Q, Zhao Y Y, Cao W Y, et al. Long-term survival and regeneration of neuronal and vasculature cells inside

- the core region after ischemic stroke in adult mice [J]. *Brain Pathol*, 2017, 27(4): 480-498.
- [18] Feigin V L, Stark B A, Johnson C O, *et al.* Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990—2019: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20(10): 795-820.
- [19] Li X A, Guo T T, Feng Q, *et al.* Progress of thrombus formation and research on the structure-activity relationship for antithrombotic drugs [J]. *Eur J Med Chem*, 2022, 228: 114035.
- [20] Wang Y, Mulder I A, Westendorp W F, *et al.* Immunothrombosis in acute ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2025, 56(2): 553-563.
- [21] 王乐乐, 王伟杰, 王建军, 等. 银杏二萜内酯葡胺注射液的药理作用及临床应用研究进展 [J]. *中国药科大学学报*, 2024, 55(6): 837-844.
- [22] Smith N M, Pathansali R, Bath P M, *et al.* Platelets and stroke [J]. *Vasc Med*, 1999, 4(3): 165-172.
- [23] 孙静, 任法新, 孙晓健, 等. 缺血后适应对心肌缺血再灌注损伤大鼠 p38 丝裂原活化蛋白激酶和血小板-白细胞聚集体表达的影响 [J]. *中国循环杂志*, 2018, 33(6): 611-615.
- [24] Schanze N, Bode C, Duerschmied D. Platelet contributions to myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1260.
- [25] Han X Y, Li Y J, Chen X M, *et al.* Platelet-activating factor antagonist-based intensive antiplatelet strategy in acute ischemic stroke: A propensity score matched with network pharmacology analysis [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2023, 29(12): 4082-4092.
- [26] Wang T J, Wu Z Y, Yang C H, *et al.* Multiple mechanistic models reveal the neuroprotective effects of diterpene ginkgolides against astrocyte-mediated demyelination via the PAF-PAFR pathway [J]. *Am J Chin Med*, 2022, 50(6): 1565-1597.
- [27] 马文阳, 汤武装, 孙杨, 等. 银杏二萜内酯葡胺注射液联合双重抗血小板治疗急性非心源性轻型卒中的效果 [J]. *西北药学杂志*, 2023, 38(5): 149-154.
- [28] Schuhmann M K, Kraft P, Bieber M, *et al.* Targeting platelet GPVI plus rt-PA administration but not $\alpha\beta 1$ -mediated collagen binding protects against ischemic brain damage in mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(8): 2019.
- [29] Smith N M, Pathansali R, Bath P M W. Altered megakaryocyte-platelet-haemostatic axis in patients with acute stroke [J]. *Platelets*, 2002, 13(2): 113-120.
- [30] Holmes M L, Bartle N, Eisbacher M, *et al.* Cloning and analysis of the thrombopoietin-induced megakaryocyte-specific glycoprotein VI promoter and its regulation by GATA-1, fli-1, and Sp1 [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(50): 48333-48341.
- [31] Cheng Z Q, Zhu H, Feng S, *et al.* Cross-species multi-omics analysis reveals myeloid-driven endothelial oxidative stress in ischemic stroke [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2025, 30(4): 37429.
- [32] Guan X J, Liu Y, An Y J, *et al.* FAK family kinases: A potential therapeutic target for atherosclerosis [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2024, 17: 3151-3161.
- [33] Thornton P, McColl B W, Greenhalgh A, *et al.* Platelet interleukin-1 α drives cerebrovascular inflammation [J]. *Blood*, 2010, 115(17): 3632-3639.
- [34] Zhang L F, Wang D, Jiang W, *et al.* Activated networking of platelet activating factor receptor and FAK/STAT1 induces malignant potential in BRCA1-mutant at-risk ovarian epithelium [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2010, 8(1): 74.
- [35] Kostyak J C, Naik M U, Naik U P. Calcium- and integrin-binding protein 1 regulates megakaryocyte ploidy, adhesion, and migration [J]. *Blood*, 2012, 119(3): 838-846.
- [36] Jia C H, Lovins C, Malone H M, *et al.* Female-specific neuroprotection after ischemic stroke by vitronectin-focal adhesion kinase inhibition [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2022, 42(10): 1961-1974.

[责任编辑 李亚楠]