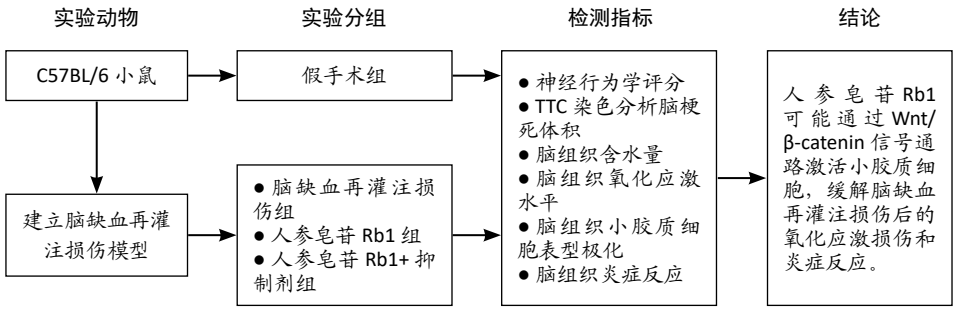
人参皂苷 Rb1 调控小胶质细胞极化减轻小鼠脑缺血损伤

刘若静[1, 2]，赵 雪[3]，朱毅祯[4]，付玲玲[1, 2]，朱俊德[1, 2]

https://doi.org/10.12307/2025.774
投稿日期：2024-09-24
采用日期：2024-11-12
修回日期：2024-12-13
在线日期：2024-12-26
中图分类号：
R459.9；R319；R285.5
文章编号：
2095-4344(2025)29-06219-09
文献标识码：B

文章快速阅读：人参皂苷 Rb1 治疗小鼠脑缺血损伤的机制



文题释义：

人参皂苷Rb1：为人参的主要活性成分之一，具有良好的抗氧化、抗炎和抗细胞凋亡作用。

Wnt/β-catenin信号通路：当Wnt信号存在时，糖原合酶激酶3β的活性被抑制，β-catenin的生物降解复合物(主要由轴蛋白、糖原合酶激酶3β和大肠腺瘤息肉样蛋白构成)形成受到抑制，β-catenin得以发生核易位，与转录因子TCF/LEF结合，最终调控下游基因的表达。

摘要

背景：课题组前期研究证明，人参皂苷Rb1改善脑缺血再灌注损伤的神经保护作用可能与Wnt/β-catenin信号通路相关，但具体作用机制仍不清楚。

目的：探讨人参皂苷Rb1减轻小鼠脑缺血再灌注损伤的分子机制。

方法：将 100 只 C57BL/6 小鼠随机分为 4 组：假手术组 (*n*=25) 不建模，脑缺血再灌注损伤组 (*n*=25) 采用线栓法制备小鼠大脑中动脉阻塞模型，人参皂苷 Rb1 组 (*n*=25) 采用线栓法制备小鼠大脑中动脉阻塞模型前 3 d 每天腹腔注射人参皂苷 Rb1，人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组 (*n*=25) 采用线栓法制备小鼠大脑中动脉阻塞模型前 3 d 每天腹腔注射人参皂苷 Rb1 与 Wnt/β-catenin 信号通路抑制剂 XAV939。造模 3 d 后，采用 Zea Longa 评分、平衡木测试评估小鼠神经功能缺损，TTC 染色观察脑梗死体积，干湿质量法检测小鼠脑水肿程度，比色法检测缺血侧脑顶叶超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶活性及丙二醛浓度，免疫荧光检测小胶质细胞标志物 Iba1 与诱导型一氧化氮合成酶 (或精氨酸酶 1) 共表达情况，Western Blot 检测水通道蛋白 AQP4、炎症相关因子及 Wnt/β-catenin 通路蛋白糖原合酶激酶 3β、β-catenin 磷酸化水平，q-PCR 检测炎症因子 mRNA 表达。

结果与结论：①与脑缺血再灌注损伤组相比，人参皂苷Rb1组小鼠神经功能缺损症状、脑梗死灶及脑组织水肿、氧化应激与炎症反应均减轻，M1型(Iba1与诱导型一氧化氮合成酶共表达)小胶质细胞数量增减少，M2型(Iba1与精氨酸酶1共表达)小胶质细胞数量增多，磷酸化糖原合酶激酶3β、磷酸化β-catenin蛋白表达降低；与人参皂苷Rb1组相比，人参皂苷Rb1+抑制剂组小鼠神经功能缺损症状、脑梗死灶及脑组织水肿程度、氧化应激与炎症反应均加重，M1型小胶质细胞数量增加，M2型小胶质细胞数量减少，磷酸化糖原合酶激酶3β、磷酸化β-catenin蛋白表达升高。②结果表明，人参皂苷Rb1可调控小胶质细胞向M2型极化、缓解脑缺血再灌注损伤后的氧化应激损伤和炎症反应，其机制可能与Wnt/β-catenin信号通路介导的β-catenin核易位相关。

关键词：脑缺血再灌注损伤；人参皂苷Rb1；小胶质细胞；Wnt/β-catenin信号通路；神经炎症；氧化应激；神经保护；工程化组织构建

缩略语：糖原合酶激酶3β：glycogen synthase kinase-3β，GSK-3β

Ginsenoside Rb1 alleviates cerebral ischemic injury in mice by regulating microglial polarization

Liu Ruojing[1, 2], Zhao Xue[3], Zhu Yizhen[4], Fu Lingling[1, 2], Zhu Junde[1, 2]

[1]Human Anatomy Teaching and Research Laboratory, School of Basic Medical Science, Guizhou Medical University, Gui'an 561113, Guizhou Province, China; [2]Key Laboratory of Brain Function and Diseases Tissue Bank of Higher Education Institutions in Guizhou Province, Gui'an 561113, Guizhou Province, China; [3]Guiqian International General Hospital, Guiyang 550024, Guizhou Province, China; [4]Class 5, School of Clinical Medicine, Guizhou Medical University, Gui'an 561113, Guizhou Province, China

Liu Ruojing, Master candidate, Human Anatomy Teaching and Research Laboratory, School of Basic Medical Science, Guizhou Medical University, Gui'an 561113, Guizhou Province, China; Key Laboratory of Brain Function and Diseases Tissue Bank of Higher Education Institutions in Guizhou Province, Gui'an 561113,

贵州医科大学，[1]基础医学院人体解剖学教研室，[4]临床医学 5 班，贵州省贵安新区 561113；[2]贵州省高等学校功能与疾病人脑组织库重点实验室，贵州省贵安新区 561113；[3]贵黔国际总医院，贵州省贵阳市 550024

第一作者：刘若静，女，1998 年生，四川省成都市人，汉族，贵州医科大学在读硕士，主要从事中枢神经系统损伤修复方面的研究。

通讯作者：朱俊德，硕士，教授，博士生导师，贵州医科大学基础医学院人体解剖学教研室，贵州省贵安新区 561113；贵州省高等学校功能与疾病人脑组织库重点实验室，贵州省贵安新区 561113

https://orcid.org/0009-0003-5011-9923(刘若静)

基金项目：国家自然科学基金项目 (81660243)，项目负责人：朱俊德；贵州省自然科学基金项目 (黔科合基础 −ZK[2023] 一般 323)，项目负责人：朱俊德；贵州医科大学国家自然科学基金培育项目 (20NSP006)，项目负责人：朱俊德

引用本文：刘若静，赵雪，朱毅祯，付玲玲，朱俊德 . 人参皂苷 Rb1 调控小胶质细胞极化减轻小鼠脑缺血损伤 [J]. 中国组织工程研究，2025，29(29):6219-6227.

Guizhou Province, China
Corresponding author: Zhu Junde, MS, Professor, Doctoral supervisor, Human Anatomy Teaching and Research Laboratory, School of Basic Medical Science, Guizhou Medical University, Gui'an 561113, Guizhou Province, China; Key Laboratory of Brain Function and Diseases Tissue Bank of Higher Education Institutions in Guizhou Province, Gui'an 561113, Guizhou Province, China

Abstract

BACKGROUND: Previous studies by the research team have shown that the neuroprotective effect of ginsenoside Rb1 on improving cerebral ischemia-reperfusion injury may be related to the Wnt/β-catenin signaling pathway, but the specific mechanism of action remains unclear.

OBJECTIVE: To explore the molecular mechanism of ginsenoside Rb1 in alleviating cerebral ischemia-reperfusion injury in mice.

METHODS: 100 C57BL/6 mice were randomly divided into four groups. The sham operation group (*n*=25) did not undergo model establishment. In the cerebral ischemia-reperfusion injury group (*n*=25), the middle cerebral artery occlusion model was established by thread embolism. In the ginsenoside Rb1 group (*n*=25), the middle cerebral artery occlusion model was established by thread embolism and ginsenoside Rb1 was intraperitoneally injected every day for 3 days before the establishment. In ginsenoside Rb1+inhibitor group (*n*=25), the middle cerebral artery occlusion model was established by thread embolism and ginsenoside Rb1 and Wnt/β-catenin signaling pathway inhibitor XAV939 were intraperitoneally injected every day for 3 days before the establishment. Three days after modeling, Zea Longa score and balance beam test were used to evaluate the neurological deficits of mice. TTC staining was used to observe the volume of cerebral infarction. The dry-wet mass method was used to detect the degree of brain edema in mice. The activities of superoxide dismutase and glutathione peroxidase and the concentration of malondialdehyde in the parietal lobe of the ischemic side were detected by colorimetry. The co-expression of microglial marker Iba1 and inducible nitric oxide synthase (or arginase 1) was detected by immunofluorescence. The levels of aquaporin AQP4, inflammatory-related factors, and phosphorylation of Wnt/β-catenin pathway proteins glycogen synthase kinase 3β and β-catenin were detected by western blot assay. The mRNA expression of inflammatory factors was detected by q-PCR.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Compared with cerebral ischemia-reperfusion injury group, the neurological deficit symptoms, cerebral infarction foci and brain tissue edema, oxidative stress and inflammatory response of the mice were alleviated; the number of M1 microglia (Iba1 and inducible nitric oxide synthase co-expressed) decreased; the number of M2 microglia (Iba1 and arginase 1 co-expressed) increased; the expression of phosphorylated glycogen synthase kinase 3β and phosphorylated β-catenin protein decreased in ginsenoside Rb1 group. Compared with ginsenoside Rb1 group, the neurological deficit symptoms, cerebral infarction foci and brain tissue edema, oxidative stress and inflammatory response of the mice were aggravated; the number of M1 microglia increased; the number of M2 microglia decreased; the expression of phosphorylated glycogen synthase kinase 3β and phosphorylated β-catenin protein increased in ginsenoside Rb1+inhibitor group. (2) The results indicate that ginsenoside Rb1 can regulate the polarization of microglia to M2 type and alleviate oxidative stress damage and inflammatory response after cerebral ischemia-reperfusion injury. Its mechanism may be related to the nuclear translocation of β-catenin mediated by the Wnt/β-catenin signaling pathway.

Key words: cerebral ischemia-reperfusion injury; ginsenoside Rb1; microglia; Wnt/β-catenin signaling pathway; neuroinflammation; oxidative stress; neuroprotection; engineered tissue construction

Funding: *National Natural Science Foundation of China, No. 81660243 (to ZJD); Natural Science Foundation of Guizhou Province, No. ZK[2023]323 (to ZJD); National Natural Science Foundation Cultivation Project of Guizhou Medical University, No. 20NSP006 (to ZJD)*

How to cite this article: *LIU RJ, ZHAO X, ZHU YZ, FU LL, ZHU JD. Ginsenoside Rb1 alleviates cerebral ischemic injury in mice by regulating microglial polarization. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2025;29(29):6219-6227.*

0 引言 Introduction

脑卒中具有高发生率、高致残率和高死亡率的特点，每年约有 79 万多人患有新发或复发性脑卒中 [1]，其中缺血性脑卒中占比高达 85%[2]。目前国内外对缺血性脑卒中的主要治疗方式是静脉注射重组组织型纤溶酶原激活剂和血管内机械取栓 [3-4]，目的是快速恢复血液灌流，然而这两种治疗方式均对时间窗有严格要求，注射重组组织型纤溶酶原激活剂要求患者在脑卒中发病后 4.0–5.0 h 内进行 [5]，而机械取栓时间窗在 6 h 左右 [6]，所以仅有 1%–2% 的患者能受益于这两种治疗方法 [5]。临床上大多数血管再通后极易发生脑缺血再灌注损伤 [7-8]，脑缺血再灌注损伤是缺血脑组织恢复血液灌流过程中出现的一种常见并发症，发病机制主要涉及氧化应激、细胞内钙超载、自噬和炎症反应等过程 [9]，其中氧化应激和炎症反应在脑缺血再灌注损伤的病程中发挥重要作用 [10]。炎症反应主要与小胶质细胞相关，小胶质细胞在缺血缺氧后迅速增殖，转变为“阿米巴样”形态，极化为 M1 和 M2 两种表型 [11]，其极化状态的改变导致神经炎症的不同结果 [12]，M1 型小胶质细胞释放促炎因子加重神经炎症 [13]，M2 型小胶质细胞则通过分泌抗炎因子清除死亡组织碎片 [14]。有文献报道，在脑缺血早期梗死周围区以 M2 小胶质细胞激活为主，在恢复血流灌注后的一长段时间转为以 M1 小胶质细胞激活为主 [15-16]，与此同时加重脑缺血再灌注损伤。氧化应激与炎症反应密切相关，机体发生氧化应激反应后产生大量活性氧激活炎症通路 [17]，促进小胶质细胞向 M1 型极化，增加促炎因子表达。Wnt/β-catenin 信号通路在脑缺血再灌注损伤中起重要作用 [18]，主要通过促进 β-catenin 核易位调控下游基因表达发挥作用。在缺血性脑卒中模型中，激活 Wnt/β-catenin 信号通路可以调节小胶质细胞向 M2 表型极化，改善神经元炎性微环境 [19]，但起作用的分子机制尚不清楚。

中医药在神经系统疾病治疗中得到了广泛而深入的研究。人参皂苷 Rb1 属于人参二醇型皂苷，是人参的主要活性成分之一 [20]，具有抗氧化、抗炎和抗细胞凋亡等神经保护作用 [21]。课题组前期研究证明，人参皂苷 Rb1 改善脑缺血再灌注损伤的作用可能与 Wnt/β-catenin 信号通路相关 [22]，但具体作用机制仍不清楚。在前期研究基础上，此次实验进一步探讨人参皂苷 Rb1 调控 Wnt/β-catenin 信号通路改善脑缺血再灌注损伤的具体机制。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验，符合正态分布、方差齐性的计量资料，采用单因素方差分析；正态分布、方差不齐或非正态分布的计量资料，采用非参数检验。

1.2 时间及地点 实验于 2024 年 8 月在贵州医科大学完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物与分组 成年雄性 C57BL/6 小鼠 100 只，SPF 级，8−10 周龄，体质量 25−30 g，由贵州医科大学实验动物中心提供，许可证号：SYXK(贵)2023-0002。实验动物在明暗各 12 h 交替环境下自由进食饮水。采用随机数字表法将 100 只 C57BL/6 小鼠随机分为假手术组 (*n*=25)、脑缺血再灌注损伤组 (*n*=25)、人参皂苷 Rb1 组 (*n*=25) 与人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组 (*n*=25)。

实验已通过贵州医科大学动物伦理委员会批准，伦理批准号：No.2200054。

1.3.2 主要试剂和仪器 人参皂苷 Rb1(中国上海源叶生物有限公司 生产批号：MFCD00153848，纯度≥ 98%)；Wnt/β-catenin 信号通路抑制剂 XAV939(美国 APExBIO 公司)；2，3，5− 氯化三苯基四氮唑 (2，3，5-triphenyltetrazolium chloride，TTC) 染液 (中国北京索莱宝科技有限公司)；线栓 (中国北京西浓科技有限公司)；兔抗糖原合酶激酶 3β(glycogen synthase kinase-3β，GSK-3β)、p-GSK-3β、β-catenin、p-β-catenin、白细胞介素 6、白细胞介素 1β、转化生长因子 β1、精氨酸酶 1、β-actin、AQP4(中国沈阳万类生物技术有限公司)；羊抗兔二抗 (中国武汉三鹰生物技术有限公司)；兔抗 Iba1、羊抗精氨酸酶 1(美国 Abcam 公司)、羊抗诱导型一氧化氮合成酶 (美国赛默飞公司)；DAPI 溶液 (中国北京索莱宝科技有限公司)；q-PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司)；激光共聚焦显微镜 (日本奥林巴斯株式会社)；冰冻切片机 (德国塞利公司)。

1.4 方法

1.4.1 小鼠大脑中动脉阻塞模型的建立 除假手术组外 (仅分离右侧颈总动脉及颈内、外动脉)，其余 3 组均建立右侧大脑中动脉阻塞模型。腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 麻醉小鼠，缓慢分离颈总动脉、颈内动脉和颈外动脉，结扎颈外动脉远心端，剪断颈外动脉近心段后用电凝笔对切口充分止血，接着用动脉夹临时阻断颈总动脉近心段及颈内动脉，在颈外动脉与分叉口之间剪一小口，将专用线栓沿此小口插入颈外动脉，调整角度经分叉口进入颈内动脉，最终到达大脑中动脉起始段后固定线栓，堵塞 50 min 后拔出线栓实现再灌注。造模后 2 h，参考 Zea Longa 评分标准进行神经功能缺损评分 [23]，评分 1−3 分视为造模成功，纳入实验。剔除无神经缺损症状或死亡的小鼠并补充样本量，保证每组 25 只小鼠。

1.4.2 分组干预 造模前 3 d，人参皂苷 Rb1 组小鼠腹腔注射 20 mg/(kg•d) 人参皂苷 Rb1，人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组小鼠同时腹腔注射 20 mg/(kg•d) 人参皂苷 Rb1 与 5 mg/kg Wnt/β-catenin 信号通路抑制剂 XAV939[24]，连续注射 3 d。

组织工程实验动物造模过程中的相关问题	
造模目的	探究人参皂苷 Rb1 对小鼠脑缺血再灌注损伤的作用机制
选择动物的条件	SPF 级，雄性，体质量 25−30 g，8−10 周龄
模型与所研究疾病的关系	实验建立的脑缺血再灌注损伤模型与人脑缺血再灌注损伤病理机制相似
动物来源及品系	贵州医科大学实验动物中心提供的 C57BL/6J 小鼠
造模技术描述	腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 麻醉小鼠，缓慢分离颈总动脉、颈内动脉和颈外动脉，结扎颈外动脉远心端，剪断颈外动脉近心段后用电凝笔对切口充分止血，接着用动脉夹临时阻断颈总动脉近心段及颈内动脉，在颈外动脉与分叉口之间剪一小口，将专用线栓沿此小口插入颈外动脉，调整角度经分叉口进入颈内动脉，最终到达大脑中动脉起始段后固定线栓，堵塞 50 min 后拔出线栓实现再灌注
动物数量及分组方法	采用随机数字表法将 100 只 C57BL/6 小鼠随机分为假手术组 (*n*=25)、脑缺血再灌注损伤组 (*n*=25)、人参皂苷 Rb1 组 (*n*=25) 与人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组 (*n*=25)。除假手术组外 (仅分离右侧颈总动脉及颈内、外动脉)，其余 3 组均建立右侧大脑中动脉阻塞模型。造模前 3 d，人参皂苷 Rb1 组小鼠腹腔注射 20 mg/(kg·d) 人参皂苷 Rb1，人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组小鼠同时腹腔注射 20 mg/(kg • d) 人参皂苷 Rb1 与 5 mg/kg Wnt/β-catenin 信号通路抑制剂 XAV939[24]，连续注射 3 d
造模成功评价指标	造模后 2 h，参考 Zea Longa 评分标准进行神经功能缺损评分 [23]，评分 1−3 分视为造模成功，纳入实验
造模后观察指标	造模后 3 d，采用神经功能评分和平衡木测试评估小鼠行为学改变，TTC 染色评估小鼠脑梗死体积，干湿质量法测定小鼠脑水肿程度，氧化应激试剂盒测定氧化应激指标丙二醛、谷胱甘肽过氧化物酶和超氧化物歧化酶水平，免疫荧光染色检测梗死侧脑皮质 Iba1 与诱导型一氧化氮合成酶、精氨酸酶 1 共表达情况，Western Blot 小鼠梗死侧脑皮质中水通道蛋白 AQP4、Wnt/β-catenin 信号通路相关蛋白及相关炎症因子的蛋白表达，q-PCR 检测相关炎症因子 mRNA 表达
造模过程中动物死亡原因	麻醉过量、造模过程中失温、造模损伤过重、出血过多等
如何补充造模过程中缺失的动物	在造模过程中，脑缺血再灌注损伤组死亡 5 只，人参皂苷 Rb1 组死亡 3 只，人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组死亡 8 只。另脑缺血再灌注损伤组和人参皂苷 Rb1 组各有 2 只未通过神经行为学评分，未纳入统计结果。最后每组补足 25 只小鼠，共计 100 只小鼠进入后续实验
造模后动物处理	造模前各组进行相应预处理，造模 3 d 后麻醉处死，取材进行后续相关检测
伦理委员会批准	实验方案经贵州医科大学伦理委员会批准 (伦理批准号：No.2200054)

1.4.3 取材 造模 3 d 后，首先进行神经行为评估。随后腹腔注射 1% 戊巴比妥钠麻醉小鼠后快速取脑，分别进行 TTC 染色、脑组织含水量分析、脑组织氧化应激、免疫荧光染色、Western Blot 与 q-PCR 检测。

1.4.4 神经行为学评分 造模 3 d 后，采用 Zea-Longa 评分和平衡木测试小鼠神经行为 [23]。

Zea-Longa **评分标准**：0 分，无神经功能缺损症状；1 分，提尾倒悬时，左前肢向胸前屈曲；2 分，左侧腿阻力下降，伴前肢屈曲，无转圈行为；3 分，同 2 分行为，

同时伴自发性向左侧转圈；4 分，有意识障碍，没有自发活动。

平衡木测试主要评估小鼠的运动协调能力[25]。评分标准：0 分，小鼠无法在横杆上行走；1 分，小鼠可以抓住横杆但无法移动；2 分，小鼠试图通过横杆但失败并在途中掉落；3 分，小鼠在通过横杆时脚滑超过 50%；4 分，小鼠在通过横杆时脚滑少于 50%；5 分，小鼠仅用一只脚通过横杆；6 分，小鼠在通过横杆时没有脚滑。

1.4.5 TTC 染色 造模 3 d 后，腹腔注射 1% 戊巴比妥钠麻醉小鼠后快速取脑，置于 −20 ℃速冻 20 min，以 2 mm 厚度为标准制作冠状切片共 6 片，置于 2%TTC 溶液中 37 ℃避光孵育 20 min，每 5 min 翻转一次以保证染色均匀，染色完成后吸弃 TTC 染液，置于 40 g/L 多聚甲醛溶液中固定 24 h，观察脑梗死体积并拍照，利用 Image J 软件分析每张脑片梗死区域并计算梗死体积比。脑组织相对梗死体积 = 微梗死体积 / 总体积 $=(S_1+S_2+\cdots\cdots+S_n)\times H/(S_{1总}+S_{2总}+\cdots\cdots+S_{n总})\times H$，$S_n$ 为每片脑片的梗死面积，H 为脑片厚度 2 mm。

1.4.6 脑组织含水量分析 造模 3 d 后，腹腔注射 1% 戊巴比妥钠麻醉小鼠，取部分脑用冰盐水冲洗干净，去除延髓，用定性滤纸吸除脑组织表面水分及血迹，将脑组织分为左右 2 个半脑，此时质量为湿质量。将脑组织放入 65 ℃烘箱中干燥 48 h，直至质量恒定不变，此时为干质量。脑组织含水量 (100%)=[(湿质量 − 干质量)/ 湿质量]×100%。

1.4.7 氧化应激指标检测

超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性检测：按照脑组织质量 (g) ：提取液体积 (mL)1 ： 5 的比例进行冰浴匀浆，于 4 ℃条件下 8 000×*g* 离心 10 min，取上清，置冰上待测。待测前将试剂水浴 (37 ℃)5 min 以上，按照试剂盒说明书加入试剂，于 37 ℃水浴 30 min 后，分别在 560 nm 和 412 nm 处测定各组吸光度值，计算酶活性。

丙二醛浓度检测：称取 0.1 g 脑组织，加入 1 mL 提取液进行冰浴匀浆；于 4 ℃条件下 10 000×*g* 离心 10 min，取上清，置冰上待测。按试剂盒说明书依次加入试剂，将混合液在 100 ℃水浴中放置 60 min，冰浴冷却，10 000×*g* 离心 10 min，取上清，使用酶标仪测定各组上清液吸光度值，计算丙二醛浓度。

1.4.8 免疫荧光染色 取脑组织冠状切片，先用 0.01 mol/L PBS 漂洗 5 min，共 3 次；置于单克隆兔抗离子 Iba1、羊抗诱导型一氧化氮合酶 (或羊抗精氨酸酶 1)(稀释比均为 1 ： 200) 于 4 ℃孵育过夜，再用 PBS 漂洗 5 min，共 3 次，加入相应荧光二抗和 DAPI(稀释比 1 ： 500) 于室温孵育 2 h，用 PBS 漂洗 5 min，共 3 次，封固，置于激光共聚焦显微镜下观察拍照，使用 Image J 分析诱导型一氧化氮合酶 /Iba1、精氨酸酶 1/Iba1 阳性细胞计数。

1.4.9 Western Blot 检测 取缺血侧大脑顶叶组织 10 mg 加入 100 μL 裂解液 (RIPA 与 PMSF 体积比 100 ： 1)，置于研磨管内加入蛋白裂解液并研磨组织。研磨后的混悬液倒入离心管中，4 ℃条件下 12 000 r/min 离心 20 min，取上清液。120 V 凝胶电泳分离蛋白 120 min，转膜，用 TBST 洗膜 10 min×3 次；5% 脱脂奶粉封闭 2 h，用 TBST 洗膜 10 min×3 次；分别加入多克隆兔抗鼠一抗 AQP4、GSK-3β、p-GSK-3β、β-catenin、p-β-catenin、白细胞介素 6、白细胞介素 1β、转化生长因子 β1、精氨酸酶 1(稀释比均为 1 ： 1 000) 及 β-actin(稀释比 1 ： 5 000) 于 4 ℃孵育过夜，用 TBST 洗膜 10 min ×3 次；加入相应二抗 (1 ： 5 000) 室温摇床孵育 2 h，暗室曝光显影，利用 Image J 分析图像分析蛋白条带灰度值。

1.4.10 q-PCR 检测 使用 RNA 提取试剂盒提取大脑顶叶皮质总 RNA，测量 RNA 浓度及纯度，使用快速反转录试剂盒进行反转录，运用已反转录合成的 cDNA 为模板进行扩增。实时荧光定量 PCR 仪反应条件为：95 ℃ 30 s，95 ℃ 15 s，60 ℃ 60 s，40 个循环。所得结果用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 和 GAPDH 归一化进行分析，以表示各基因 mRNA 的相对表达水平。引物序列见**表 1**。

表 1 | q-PCR 检测引物序列
Table 1 | **Primer sequences for q-PCR**

基因	引物序列 (5′–3′)	产物长度 (bp)
诱导型一氧化氮合成酶	正义链：CAA GCA CCT TGG AAG AGG AG	20
	反义链：AAG GCC AAA CAC AGC ATA CC	20
肿瘤坏死因子 α	正义链：GAC GTG GAA CTG GCA GAA GAG	21
	反义链：TTG GTG GTT TGT GAG TGT GAG	21
白细胞介素 10	正义链：CCA AGC CTT ATC GGA AAT GA	20
	反义链：TTT TCA CAG GGG AGA AAT CG	20
YM1/2	正义链：CAG GGT AAT GAG TGG GTT GG	20
	反义链：CAC GGC ACC TCC TAA ATT GT	20
GAPDH	正义链：AGA CAG CCG CAT CTT CTT GT	20
	反义链：TAC TCA GCA CCA GCA TCA CC	20

1.5 主要观察指标 各组小鼠行为学改变、脑梗死体积、氧化应激反应、脑水肿程度、梗死侧脑皮质 Iba1 与诱导型一氧化氮合成酶、精氨酸酶 1 共表达情况、Wnt/β-catenin 信号通路蛋白以及相关炎症因子的蛋白、mRNA 表达。

1.6 统计学分析 采用 GraphPad Prism 8.0 统计学软件进行数据分析及作图，所有数据均采用 $\bar{x}\pm s$ 表示。3 组及以上数据先进行单因素方差分析 (one-way ANOVA)，再进行组间 *t* 检验。2 组数据比较采用独立样本 *t* 检验或双因素方差分析。当数据非正态分布或组间差异很大时，使用非参数检验 (如，Kruskal-Wallis 检验或 Mann-Whitney *U* 检验)，$P < 0.05$ 认为差异有显著性意义。该文章统计学方法已由贵州医科大学基础医学院生物统计学专家审核。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 100 只小鼠全部进入结果分析。

2.2 人参皂苷 Rb1 改善脑缺血再灌注损伤后的神经功能缺损症状 各组小鼠 Zea-Longa 评分与平衡木测试得分见**图 1** 所示。假手术组小鼠未见神经功能缺损症状，提尾时四肢可自由伸展，行走正常无倾倒转圈；与假手术组相比，脑缺血再灌注损伤组评分显著升高 ($P < 0.001$)，小鼠出现偏瘫症状，行走时向健侧倾倒或转圈；与脑缺血再灌注损伤组相比，人参皂苷 Rb1 组小鼠 Zea Longa 评分显著降低 ($P < 0.05$)，神经损伤症状有所缓解；人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组小鼠 Zea Longa 评分与脑缺血再灌注损伤组相比无差异 ($P > 0.05$)，但高于人参皂苷 Rb1 组相比 ($P < 0.05$)。

平衡木测试结果显示，假手术组小鼠均能平稳通过平衡木且无滑倒情况；与假手术组相比，脑缺血再灌注损伤组小鼠平衡木测试评分明显降低 ($P < 0.01$)；与脑缺血再灌注损伤相比，人参皂苷 Rb1 组平衡木测试评分升高 ($P < 0.05$)；人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组小鼠平衡木测试评分低于脑缺血再灌注损伤组、人参皂苷 Rb1 组 ($P < 0.05$)，说明抑制 Wnt/β-catenin 信号通路可逆转人参皂苷 Rb1 对于脑缺血再灌注损伤的神经保护作用。

2.3 人参皂苷 Rb1 改善脑缺血再灌注损伤后的脑梗死体积 各组小鼠脑组织 TTC 染色与脑梗死体积检测结果，见**图 2**。假手术组小鼠脑组织切片均匀红染，未见白色梗死区域，其余 3 组可见不同程度白色梗死灶。与假手术组相比，脑缺血再灌注损伤组小鼠脑梗死体积比升高 ($P < 0.01$)；与脑缺血再灌注损伤组相比，人参皂苷 Rb1 组小鼠脑梗死体积比降低 ($P < 0.05$)；与人参皂苷 Rb1 组相比，人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组小鼠脑梗死体积比升高 ($P < 0.01$)。

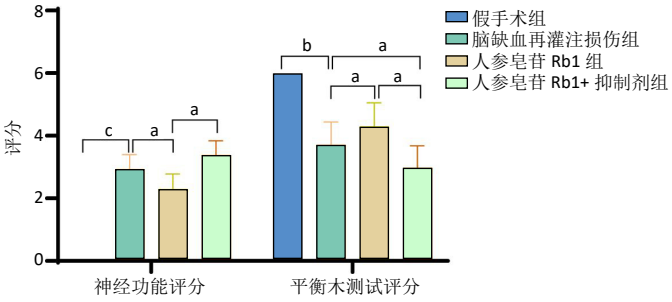
2.4 人参皂苷 Rb1 减轻脑缺血再灌注损伤后的脑水肿程度 各组小鼠水通道蛋白 AQP4 表达与脑组织含水量检测结果，见**图 3**。与假手术组相比，脑缺血再灌注损伤组水通道蛋白 AQP4 表达及脑组织含水量均升高 ($P < 0.01$)；与脑缺血再灌注损伤组相比，人参皂苷 Rb1 组水通道蛋白 AQP4 表达与脑组织含水量均降低 ($P < 0.01$，$P < 0.05$)，人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组水通道蛋白 AQP4 表达与脑组织含水量均升高 ($P < 0.05$)；与人参皂苷 Rb1 组相比，人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组水通道蛋白 AQP4 表达与脑组织含水量均升高 ($P < 0.01$，$P < 0.05$)。

2.5 人参皂苷 Rb1 减轻脑缺血再灌注损伤后的脑组织氧化应激反应 各组小鼠脑组织中氧化应激指标检测结果，见**图 4**。与假手术组相比，脑缺血再灌注损伤组超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性降低 ($P < 0.01$)，丙二醛浓度升高 ($P < 0.001$)；与脑缺血再灌注损伤组相比，人参皂苷 Rb1 组超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性升高 ($P < 0.01$)、丙二醛浓度降低 ($P < 0.01$)，人参皂苷 Rb1+ 抑制剂 XAV939 组超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性降低 ($P < 0.05$，$P < 0.01$)，丙二醛浓度升高 ($P < 0.01$)；与人参皂苷 Rb1 组相比，人参皂苷 Rb1+XAV939 组超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性显著降低 ($P < 0.01$)，丙二醛浓度升高 ($P < 0.01$)。

2.6 人参皂苷 Rb1 改变脑缺血再灌注损伤后脑皮质小胶质细胞表型变化 使用免疫荧光染色检测 M1 型小胶质细胞标志物诱导型一氧化氮合成酶、M2 型小胶质细胞标志物精氨酸酶 1 与小胶质细胞标志物 Iba1 的共表达情况，见**图 5**。与假手术组相比，脑缺血再灌注损伤组 M1 型小胶质细胞数量明显增多且细胞形态发生变化，由静息时的细长分支状变为胞体圆润且树突状分支减少甚至消失的“阿米巴样”激活态；与脑缺血再灌注损伤组相比，人参皂苷 Rb1 组 M1 型小胶质细胞数量减少且 M2 型小胶质细胞数量增多，人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组 M1 型小胶质细胞数量增多、M2 型小胶质细胞数量减少；与人参皂苷 Rb1 组相比，人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组 M1 型小胶质细胞数量明显增加，M2 型小胶质细胞数量减少。结果证明人参皂苷 Rb1 促进小胶质细胞向 M2 抗炎表型极化，但加入 Wnt/β-catenin 信号通路抑制剂 XAV939 后小胶质细胞向 M1 促炎表型极化。

2.7 人参皂苷 Rb1 改变脑缺血再灌注损伤后脑皮质 Wnt/β-catenin 信号通路蛋白的表达 如**图 6** 所示，与假手术组相比，脑缺血再灌注损伤组 p-GSK-3β 和 p-β-catenin 蛋白表达均升高，表明在脑缺血再灌注损伤发生后 Wnt/β-catenin 信号通路被抑制；与脑缺血再灌注损伤组相比，人参皂苷 Rb1 组 p-GSK-3β 和 p-β-catenin 蛋白表达均降低，说明人参皂苷 Rb1 活化了 Wnt/β-catenin 信号通路，人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组 p-GSK-3β 和 p-β-catenin 蛋白表达升高；与人参皂苷 Rb1 组相比，人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组 p-GSK-3β 和 p-β-catenin 蛋白表达均升高 ($P < 0.01$)，表明在 Wnt/β-catenin 信号通路抑制剂 XAV939 作用下人参皂苷 Rb1 的对 Wnt/β-catenin 信号通路的活化作用被抑制。

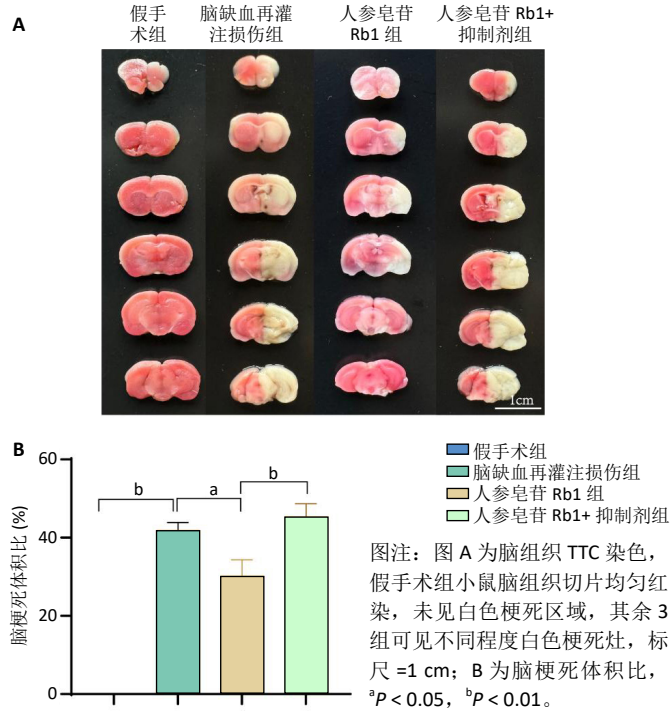
2.8 人参皂苷 Rb1 改善脑缺血再灌注损伤后的神经炎症反应 Western Blot 检测结果显示，与假手术组相比，脑缺血再灌注损伤组白细胞介素 6、白细胞介素 1β、精氨酸酶 1 蛋白表达均升高，转化生长因子 β1 蛋白表达降低；与脑缺血再灌注损伤组相比，人参皂苷 Rb1 组白细胞介素 6、白细胞介素 1β 蛋白表达均降低以及精氨酸酶 1、转化生长因子 β1 蛋白表达均升高，人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组白细胞介素 6、白细胞介素 1β 蛋白表达均升高以及精氨酸酶 1、转化生长因子 β1 蛋白表达均降低；与人参皂苷 Rb1 组相比，人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组白细胞介素 6、白细胞介素 1β 蛋白表达均升高，精氨酸酶 1、转化生长因子 β1 蛋白表达均降低，见**图 7A–E**。



图注：$^{a}P < 0.05$，$^{b}P < 0.01$，$^{c}P < 0.001$。

图 1 | 各组小鼠 Zea-Longa 评分与平衡木测试评分 (*n*=10)

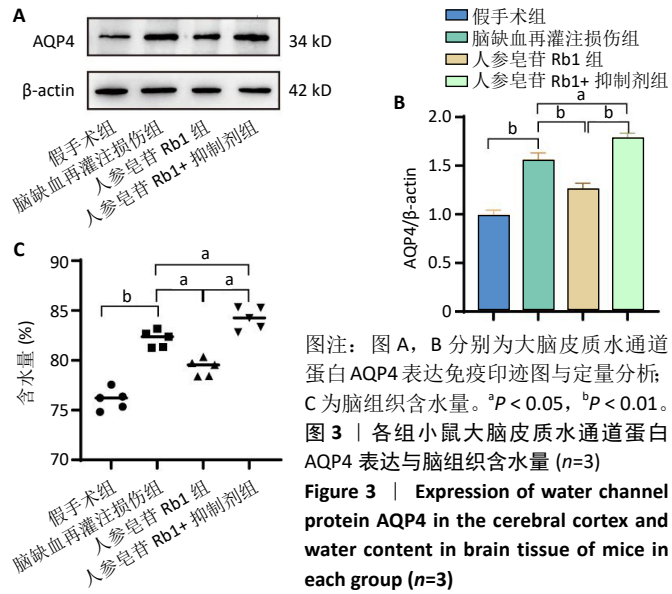
Figure 1 | Zea-Longa scores and balance beam test scores of mice in each group (*n*=10)



图注：图 A 为脑组织 TTC 染色，假手术组小鼠脑组织切片均匀红染，未见白色梗死区域，其余 3 组可见不同程度白色梗死灶，标尺 =1 cm；B 为脑梗死体积比，$^{a}P < 0.05$，$^{b}P < 0.01$。

图 2 | 各组小鼠脑组织 TTC 染色及脑梗死体积比 (*n*=3)

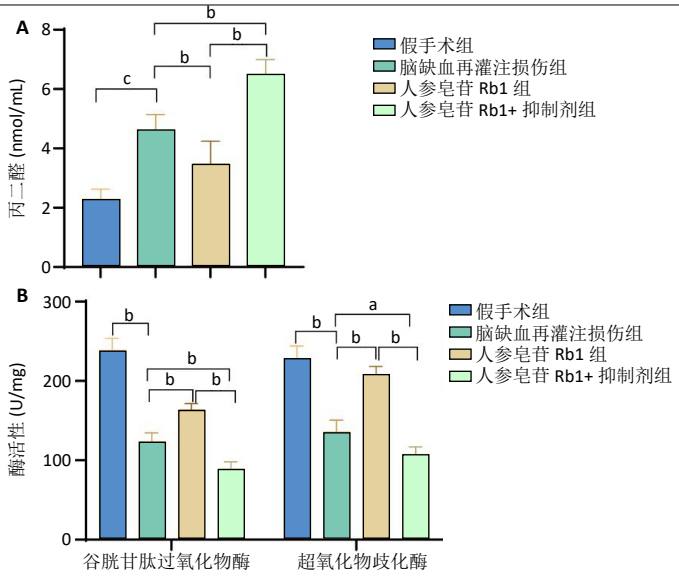
Figure 2 | TTC staining of brain tissue and cerebral infarction volume ratio of mice in each group (*n*=3)



图注：图 A，B 分别为大脑皮质水通道蛋白 AQP4 表达免疫印迹图与定量分析；C 为脑组织含水量。$^{a}P < 0.05$，$^{b}P < 0.01$。

图 3 | 各组小鼠大脑皮质水通道蛋白 AQP4 表达与脑组织含水量 (*n*=3)

Figure 3 | Expression of water channel protein AQP4 in the cerebral cortex and water content in brain tissue of mice in each group (*n*=3)



图注：图 A 为脑组织中丙二醛浓度；B 为脑组织中谷胱甘肽过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性。$^{a}P < 0.05$，$^{b}P < 0.01$，$^{c}P < 0.001$。

图 4 | 各组小鼠脑组织氧化应激指标检测结果 (*n*=3)

Figure 4 | Detection results of oxidative stress indexes in brain tissue of mice in each group (*n*=3)

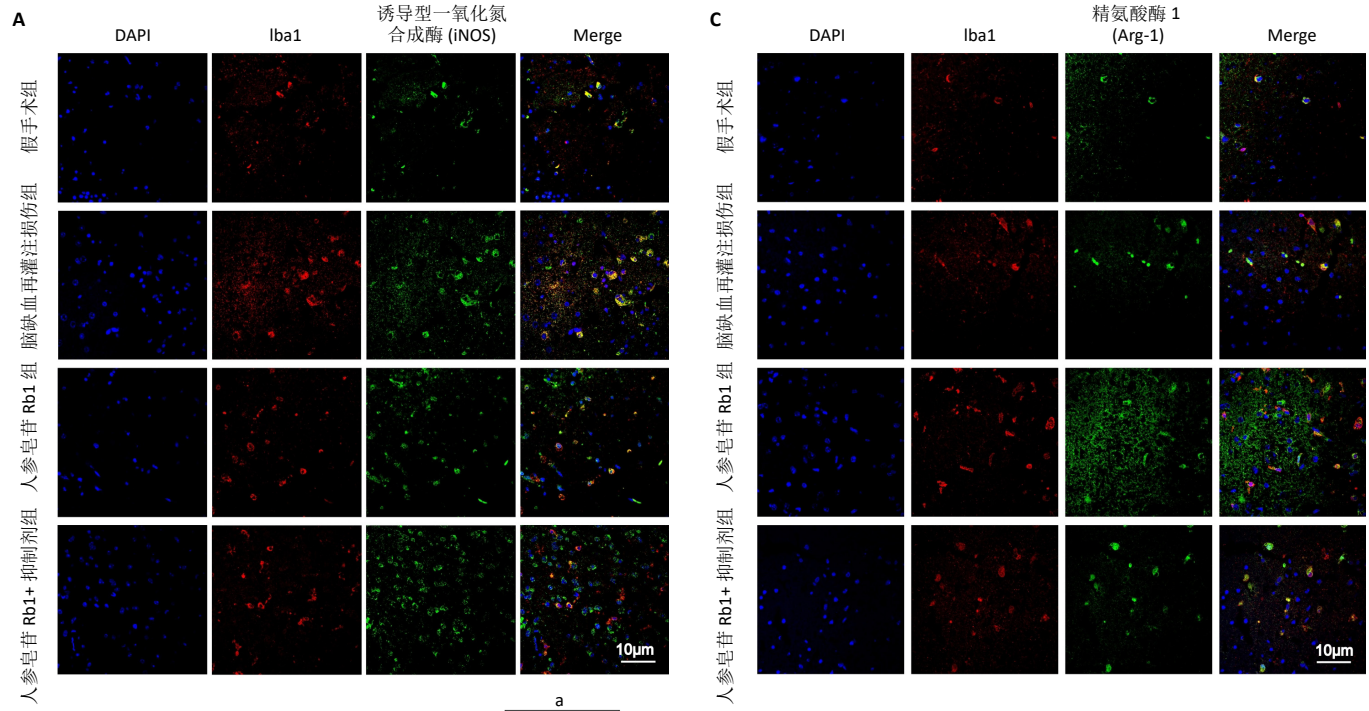
qPCR 检测结果显示，与假手术组相比，脑缺血再灌注损伤组诱导型一氧化氮合成酶、肿瘤坏死因子 α mRNA 表达均升高，白细胞介素 10、YM1/2 mRNA 表达均降低；与脑缺血再灌注损伤组相比，人参皂苷 Rb1 组诱导型一氧化氮合成酶、肿瘤坏死因子 α mRNA 表达均降低以及白细胞介素 10、YM1/2 mRNA 表达均升高，人参皂苷 Rb1+ 抑制剂组诱导型一氧化氮合成酶、肿瘤坏死因子 α mRNA 表达均升高以及白细胞介素 10、YM1/2 mRNA 表达均降低；与人参皂苷 Rb1 组相比，诱导型一氧化氮合成酶、肿瘤坏死因子 α mRNA 表达均升高，白细胞介素 10、YM1/2 mRNA 表达均降低，见**图 7F–I**。

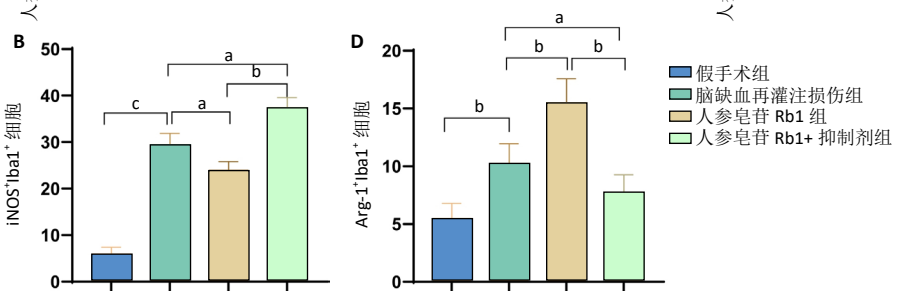
以上结果表明，脑缺血再灌注损伤发生后伴随着严重的神经炎症反应，而人参皂苷 Rb1 能减轻神经炎症，加入 Wnt/β-catenin 信号通路抑制剂后神经炎症反应更为严重，说明人参皂苷 Rb1 对神经炎症的保护作用与 Wnt/β-catenin 信号通路密切相关。

3 讨论 Discussion

缺血性脑卒中是一种常见的脑血管疾病，临床治疗缺血性脑卒中的主要方式是实现血管再通，而血管再通易引发脑缺血再灌注损伤 [26]。氧化应激和炎症反应在脑缺血再灌注损伤中具有重要作用 [27]，此次研究旨在阐明人参皂苷 Rb1 在脑缺血再灌注损伤中的神经保护作用，并探讨其作用机制。

人参皂苷 Rb1 作为人参主要活性成分之一具有丰富的药理作用，已被证明具有抗氧化、抗细胞凋亡和抗炎等作用 [28-29]。有研究证明，人参皂苷 Rg1 通过调控 Wnt/

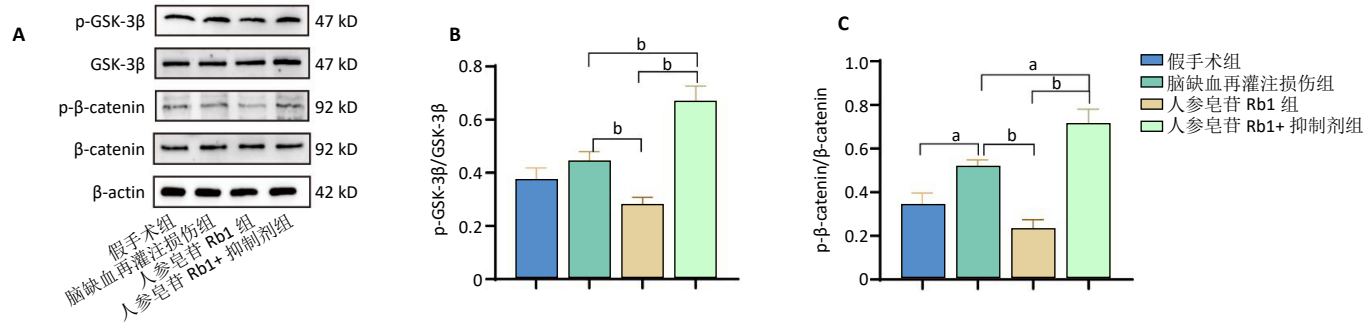




图注：图 A，B 分别为 Iba1 与诱导型一氧化氮合成酶共表达 (M1 型) 小胶质细胞免疫荧光染色与定量分析结果；C，D 分别为 Iba1 与精氨酸酶 1 共表达 (M2 型) 小胶质细胞免疫荧光染色与定量分析结果。$^{a}P<0.05$，$^{b}P<0.01$，$^{c}P<0.001$。

图 5 | 各组小鼠脑皮质小胶质细胞表型变化 (*n*=3)

Figure 5 | Phenotypic changes of microglia in the cerebral cortex of mice in each group (*n*=3)



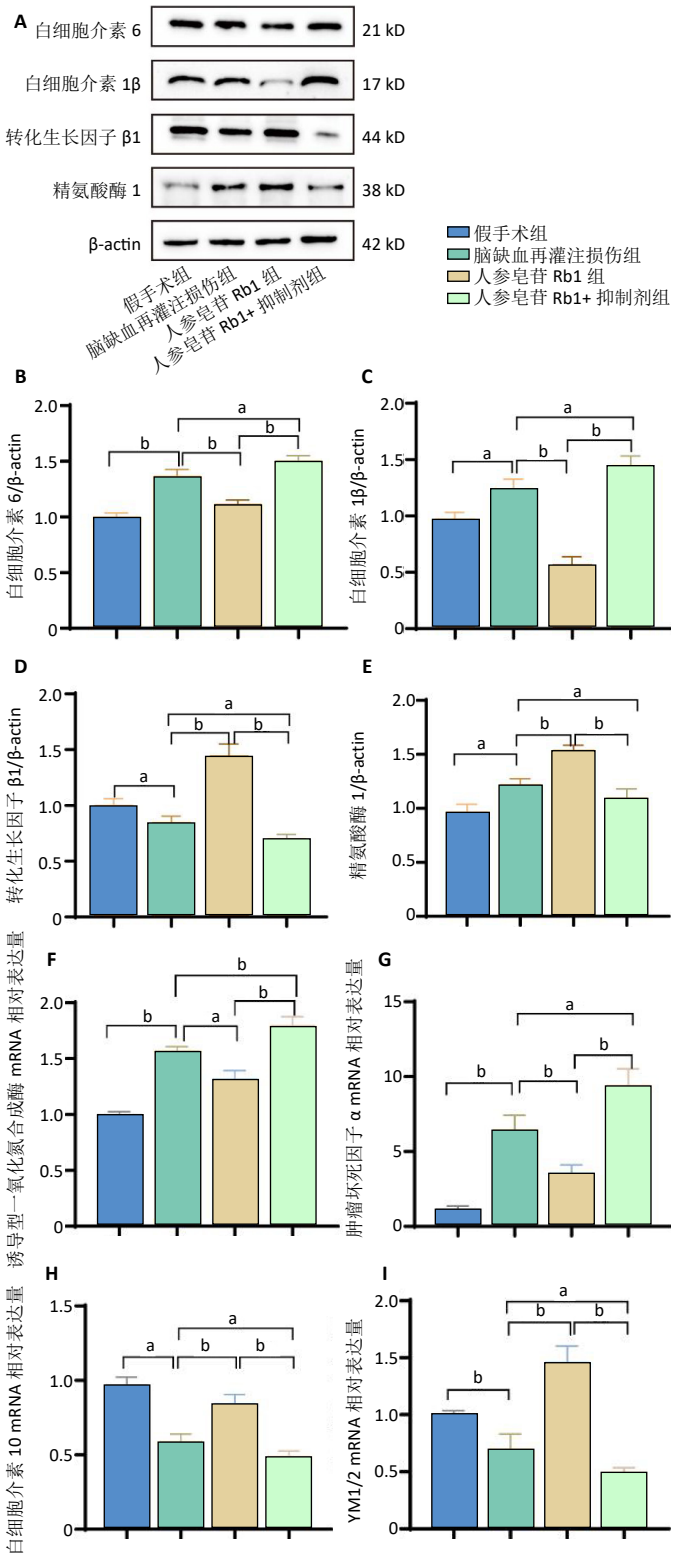
图注：图 A 为 Wnt/β-catenin 信号通路蛋白表达免疫印迹图；B，C 为 Wnt/β-catenin 信号通路蛋白表达定量分析结果。$^{a}P<0.05$，$^{b}P<0.01$。

图 6 | 各组小鼠脑皮质 Wnt/β-catenin 信号通路蛋白的表达 (*n*=3)

Figure 6 | Expression of Wnt/β-catenin signaling pathway proteins in the cerebral cortex of mice in each group (*n*=3)

β-catenin 信号通路抑制炎症因子释放，从而保护多巴胺能神经免受伤害 [30]。课题组前期工作已证实，人参皂苷 Rb1 在脑缺血再灌注损伤小鼠中的神经保护作用可能与 Wnt/β-catenin 信号通路的激活相关 [22]。此次实验观察 Wnt/β-catenin 信号通路抑制剂 XAV939 与人参皂苷 Rb1 对脑缺血神经保护作用的关系，实验结果表明，人参皂苷 Rb1 组 β-catenin 和 GSK-3β 磷酸化水平降低，β-catenin 核易位激活通路下游因子发挥作用，同时小胶质细胞表现出抗炎表型，促炎因子表达降低且抗炎因子表达升高，表现为小鼠脑梗死体积和脑水肿程度明显减轻，神经功能缺损症状明显改善。人参皂苷 Rb1 的神经修复作用可能与 β-catenin 核易位介导的小胶质细胞由 M1 型向 M2 型极化相关。

脑损伤后小胶质细胞被激活转变为 M1 促炎或 M2 抗炎表型并相应地释放炎症相关因子 [31]，抗炎效应随着时间推移而下降，而炎症反应可以在损伤后长时间存在 [32]。此次实验结果显示人参皂苷 Rb1 可以促进小胶质细胞向 M2 抗炎表型转变，同时增加抗炎因子的释放，从而减轻神经炎症；而阻断 Wnt/β-catenin 信号通路后，人参皂苷 Rb1 的神经保护作用被抵消，神经炎症反应较脑缺血再灌



图注：图 A–E 为相关炎症因子蛋白表达免疫印迹图与定量分析结果；F–I 为相关炎症因子 mRNA 表达。$^{a}P < 0.05$，$^{b}P < 0.01$。

图 7 | 各组小鼠脑皮质相关炎症因子蛋白及 mRNA 表达 (n=3)

Figure 7 | Expression of proteins and mRNA of inflammatory factors in the cerebral cortex of mice in each group (n=3)

注损伤组更为严重。从机制上来讲，人参皂苷 Rb1 通过抑制 GSk-3β 的活性来提高 β-catenin 在细胞质内的浓度，从而提高 β-catenin 核易位激活下游基因，最后促进小胶质细胞向抗炎 M2 型极化，减轻脑缺血再灌注损伤后的神经炎症反应，这种神经保护作用在抑制 Wnt/β-catenin 信号通路后被抵消，同时抑制 Wnt/β-catenin 信号通路可降低超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化酶活性，加重氧化应激损伤。因此，人参皂苷 Rb1 对神经炎症和氧化应激损伤的抑制作用可能与 Wnt/β-catenin 信号通路的活化相关。有文献证明，β-catenin 可以诱导单核细胞来源的树突状细胞 M1 和 M2 表型极化及相关因子的释放，通过增加 β-catenin 核含量来增加抗炎因子表达 [33]，此次实验结果与前人基本一致，证明了 β-catenin 核易位可以促进小胶质细胞向 M2 型极化，从而增加抗炎因子释放，促进炎症恢复。为了进一步探索其作用机制，此次实验在使用人参皂苷 Rb1 的同时加入 Wnt/β-catenin 信号通路抑制剂 XAV939，发现 XAV939 可以促进小胶质细胞向 M1 表型极化，同时增加促炎因子释放，加重神经炎症。大多研究聚焦在人参皂苷 Rb1 的抗氧化与抗凋亡作用 [21, 34]，然而此实验将人参皂苷 Rb1 的治疗作用聚焦在小胶质细胞表型极化影响神经炎症方面，通过干预 Wnt/β-catenin 信号通路来探索人参皂苷 Rb1 的神经保护作用是否与激活 Wnt/β-catenin 信号通路相关。

综上所述，人参皂苷 Rb1 预处理可以改善脑缺血再灌注损伤小鼠的病理表现，尤其是氧化应激和急性炎症反应，作用机制与 Wnt/β-catenin 信号通路调控 β-catenin 核易位密切相关。人参皂苷 Rb1 调控 Wnt/β-catenin 信号通路介导小胶质细胞极化、减轻神经炎症和氧化应激损伤，将为缺血性脑卒中的临床治疗提供实验依据和作用靶点。尽管研究取得了一些进展，但实验数据集中在动物模型上，并未深入到细胞层面，更加深入的分子机制仍需要进一步研究。

致谢：衷心感谢贵州医科大学基础医学院科学研究中心及转化医学研究中心提供的实验仪器和技术支持。

作者贡献：朱俊德负责实验设计，赵雪进行实验技术指导，刘若静、付玲玲、朱毅桢进行资料收集，刘若静进行实验操作，刘若静、付玲玲进行实验数据分析。

利益冲突：文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明：这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名－非商业性使用－相同方式共享 4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让：文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范：该文章撰写遵守了国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

[1] TSAO CW, ADAY AW, ALMARZOOQ ZI, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2023 Update: A Report From the American Heart Association. Circulation. 2023;147(8):e593-e621.

[2] GO AS, MOZAFFARIAN D, ROGER VL, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics--2014 update: a report from the American Heart Association. Circulation. 2014;129(3):399-410.

[3] POWERS WJ, RABINSTEIN AA, ACKERSON T, et al. Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: 2019 Update to the 2018 Guidelines for the Early Management of Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. Stroke. 2019;50(12):e344-e418.

[4] HERPICH F, RINCON F. Management of Acute Ischemic Stroke. Crit Care Med. 2020;48(11):1654-1663.

[5] MAJIDI S, SIMPKINS AN, LEIGH R. The Efficacy of IV Tissue Plasminogen Activator for Restoring Cerebral Blood Flow in the Hours Immediately after Administration in Patients with Acute Stroke. J Neuroimaging. 2019;29(2):206-210.

[6] MOZAFFARIAN D, BENJAMIN EJ, GO AS, et al. Executive Summary: Heart Disease and Stroke Statistics--2016 Update: A Report From the American Heart Association. Circulation. 2016;133(4):447-454.

[7] DING R, WU W, SUN Z, et al. AMP-activated protein kinase: An attractive therapeutic target for ischemia-reperfusion injury. Eur J Pharmacol. 2020;888:173484.

[8] STOLL G, NIESWANDT B. Thrombo-inflammation in acute ischaemic stroke- implications for treatment. Nat Rev Neurol. 2019;15(8):473-481.

[9] ZHANG Q, JIA M, WANG Y, et al. Cell Death Mechanisms in Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury. Neurochem Res. 2022;47(12):3525-3542.

[10] LI H, GUO Z, CHEN J, et al. Computational research of Belnacasan and new Caspase-1 inhibitor on cerebral ischemia reperfusion injury. Aging (Albany NY). 2022;14(4):1848-1864.

[11] SONG Z, FENG J, ZHANG Q, et al. Tanshinone IIA Protects Against Cerebral Ischemia Reperfusion Injury by Regulating Microglial Activation and Polarization via NF-κB Pathway. Front Pharmacol. 2021;12:641848.

[12] JURCAU A, SIMION A. Neuroinflammation in Cerebral Ischemia and Ischemia/Reperfusion Injuries: From Pathophysiology to Therapeutic Strategies. Int J Mol Sci. 2021;23(1):14.

[13] ARIOZ BI, TASTAN B, TARAKCIOGLU E, et al. Melatonin Attenuates LPS-Induced Acute Depressive-Like Behaviors and Microglial NLRP3 Inflammasome Activation Through the SIRT1/Nrf2 Pathway. Front Immunol. 2019;10:1511.

[14] JOLIVEL V, BICKER F, BINAMÉ F, et al. Perivascular microglia promote blood vessel disintegration in the ischemic penumbra. Acta Neuropathol. 2015;129(2):279-295.

[15] LUO L, LIU M, FAN Y, et al. Intermittent theta-burst stimulation improves motor function by inhibiting neuronal pyroptosis and regulating microglial polarization via TLR4/NFκB/NLRP3 signaling pathway in cerebral ischemic mice. J Neuroinflammation. 2022;19(1):141.

[16] GAO T, HUANG F, WANG W, et al. Interleukin-10 genetically modified clinical-grade mesenchymal stromal cells markedly reinforced functional recovery after spinal cord injury via directing alternative activation of macrophages. Cell Mol Biol Lett. 2022;27(1):27.

[17] ZHANG Z, XU J, ZHANG X, et al. Protective Effect of SeMet on Liver Injury Induced by Ochratoxin A in Rabbits. Toxins (Basel). 2022; 14(9):628.

[18] 赵晓华，田倩倩，薛伟，等. 吴茱萸碱通过 GSK-3β/β-catenin 通路减轻大鼠脑缺血再灌注损伤 [J]. 南开大学学报（自然科学版），2023,56(5):23-28.

[19] SONG D, ZHANG X, CHEN J, et al. Wnt canonical pathway activator TWS119 drives microglial anti-inflammatory activation and facilitates neurological recovery following experimental stroke. J Neuroinflammation. 2019;16(1):256.

[20] JIANG N, ZHANG Y, YAO C, et al. Ginsenosides Rb1 Attenuates Chronic Social Defeat Stress-Induced Depressive Behavior via Regulation of SIRT1-NLRP3/Nrf2 Pathways. Front Nutr. 2022;9:868833.

[21] NI XC, WANG HF, CAI YY, et al. Ginsenoside Rb1 inhibits astrocyte activation and promotes transfer of astrocytic mitochondria to neurons against ischemic stroke. Redox Biol. 2022;54:102363.

[22] 周璐，陈珊，赵雪，等. 人参皂苷 Rb1 改善局灶性 CIRI 小鼠模型神经损伤的调控机制研究 [J]. 安徽医科大学学报 ,2023,58(2):252-258.

[23] BELAYEV L, ALONSO OF, BUSTO R, et al. Middle cerebral artery occlusion in the rat by intraluminal suture. Neurological and pathological evaluation of an improved model. Stroke. 1996;27(9):1616-1622; discussion 1623.

[24] ZHAO B, ZHU J, FEI Y, et al. JLX001 attenuates blood-brain barrier dysfunction in MCAO/R rats via activating the Wnt/β-catenin signaling pathway. Life Sci. 2020;260:118221.

[25] ZHOU S, YU G, CHI L, et al. Neuroprotective effects of edaravone on cognitive deficit, oxidative stress and tau hyperphosphorylation induced by intracerebroventricular streptozotocin in rats. Neurotoxicology. 2013;38:136-145.

[26] LIU K, LI L, LIU Z, et al. Acute Administration of Metformin Protects Against Neuronal Apoptosis Induced by Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury via Regulation of the AMPK/CREB/BDNF Pathway. Front Pharmacol. 2022;13:832611.

[27] ZHENG Y, HU Y, HAN Z, et al. Lomitapide ameliorates middle cerebral artery occlusion-induced cerebral ischemia/reperfusion injury by promoting neuronal autophagy and inhibiting microglial migration. CNS Neurosci Ther. 2022;28(12):2183-2194.

[28] ZHANG Z, SONG Z, SHEN F, et al. Ginsenoside Rg1 Prevents PTSD-Like Behaviors in Mice Through Promoting Synaptic Proteins, Reducing Kir4.1 and TNF-α in the Hippocampus. Mol Neurobiol. 2021;58(4):1550-1563.

[29] WEN S, ZOU ZR, CHENG S, et al. Ginsenoside Rb1 improves energy metabolism after spinal cord injury. Neural Regen Res. 2023;18(6): 1332-1338.

[30] ZHOU T, ZU G, ZHANG X, et al. Neuroprotective effects of ginsenoside Rg1 through the Wnt/β-catenin signaling pathway in both in vivo and in vitro models of Parkinson's disease. Neuropharmacology. 2016;101: 480-489.

[31] CHEN H, FENG Z, MIN L, et al. Vagus Nerve Stimulation Reduces Neuroinflammation Through Microglia Polarization Regulation to Improve Functional Recovery After Spinal Cord Injury. Front Neurosci. 2022;16:813472.

[32] KUMAR A, ALVAREZ-CRODA DM, STOICA BA, et al. Microglial/ Macrophage Polarization Dynamics following Traumatic Brain Injury. J Neurotrauma. 2016;33(19):1732-1750.

[33] AZEEM W, BAKKE RM, APPEL S, et al. Dual Pro- and Anti-Inflammatory Features of Monocyte-Derived Dendritic Cells. Front Immunol. 2020; 11:438.

[34] WU Y, DU J, WU Q, et al. The osteogenesis of Ginsenoside Rb1 incorporated silk/micro-nano hydroxyapatite/sodium alginate composite scaffolds for calvarial defect. Int J Oral Sci. 2022;14(1):10.

（责任编辑：GW，ZN，QY，YJ）