

丙酮酸乙酯通过Notch1和NF- κ B信号修复大脑中动脉闭塞诱导的神经损伤

杨德民 杨文佳 唐鹏

712100 陕西省西安市杨凌示范区医院神经内科(杨德民、杨文佳); 710068 西安, 陕西省人民医院神经内科(唐鹏)

通信作者: 杨德民, Email: yangdemin_1968@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2018.12.006

【摘要】目的 探讨丙酮酸乙酯(EP)对大脑中动脉闭塞(MCAO)诱导的神经功能损伤的作用及其潜在的分子机制。**方法** 将40只SD雄性大鼠随机均分为4组:假手术组(Sham),大脑中动脉闭塞组(MCAO),大脑中动脉闭塞+5 mg/kg丙酮酸乙酯组(MCAO+5EP),大脑中动脉闭塞+10 mg/kg丙酮酸乙酯组(MCAO+10EP)。神经损伤严重程度评分(mNSS)及旋转试验检测大鼠神经损伤及恢复,实时定量PCR检测脑源性神经营养因子(BDNF)和神经生长因子(NGF)、Notch1和核因子 κ B(NF- κ B)信号的表达。**结果** 与MCAO组相比,2个剂量的EP均可降低mNSS评分(均 $P < 0.05$),提高大鼠在15 r/min旋转轴上的持续时间(均 $P < 0.05$),上调BDNF和NGF mRNA的表达(均 $P < 0.05$),下调Notch1和NF- κ B mRNA的表达(均 $P < 0.05$),且10 mg/kg的EP作用效果更好。**结论** 10 mg/kg的EP具有较好的神经保护作用,其机制可能与抑制Notch1和NF- κ B信号有关。

【关键词】 丙酮酸乙酯; Notch1; NF- κ B; 大脑中动脉闭塞; 神经损伤

Ethyl pyruvate repairs nerve injury induced by middle cerebral artery occlusion through regulating Notch1 and NF- κ B signals Yang Demin, Yang Wenjia, Tang Peng

Neurology Department, Yangling Demonstration Zone Hospital of Shaanxi Province, Xi'an 712100, China (Yang DM, Yang WJ); Neurology Department, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 712100, China (Tang P)

Corresponding author: Yang Demin, Email: yangdemin_1968@163.com

【Abstract】Objective This study was to investigate the role and potential molecular mechanism of ethyl pyruvate (EP) on the damage of nervous function induced by middle cerebral artery occlusion (MCAO). **Methods** A total of 40 male sprague-dawley rats were randomly and averagely divided into 4 groups: sham operation group (Sham), middle cerebral artery occlusion group (MCAO), middle cerebral artery occlusion + 5 mg/kg EP group (MCAO+5EP), middle cerebral artery occlusion + 10 mg/kg EP group (MCAO+10EP). Nerve injury and repairment in rats were measured by nerve injury severity score (mNSS) and rotation test. Expressions of brain derived neurotrophic factor (BDNF) and neuron growthfactor (NGF), Notch1 and Nuclear factor-kappa B (NF- κ B) signals were tested by Real-time quantitative PCR. **Results** Compared with MCAO group, EP with two dosages all significantly reduced mNSS score (all $P < 0.05$), increased the duration of rats in 15 rpm rotating shaft (all $P < 0.05$), up-regulated the expressions of BDNF and NGF mRNA (all $P < 0.05$), down-regulated the expressions of Notch1 and NF- κ B mRNA (all $P < 0.05$). The effectiveness with 10 mg/kg EP was better. **Conclusions** 10 mg/kg EP has better neuroprotective effects on nerve protection, and its mechanism may be related to inhibition of Notch1 and NF- κ B signals.

【Key words】 Ethyl pyruvate; Notch1; NF- κ B; Middle cerebral artery occlusion; Nerve injury

缺血性脑血管病主要指缺血性脑卒中,是一种在全球范围内具有高发病率和高死亡率神经系统疾病。缺血性脑卒中是最常见的脑缺血形式,占所有卒中类疾病的80%左右^[1]。流行病学研究一致表明,引起缺血性脑卒中的机制主要为血栓形

成、栓塞和全身缺血^[2]。在缺血性脑卒中期间,血流减少可导致氧-葡萄糖剥夺,从而诱导细胞死亡和神经元损伤^[3]。因此,神经保护类药物有助于改善缺血性脑血管病的临床结局。丙酮酸乙酯(ethyl pyruvate, EP)是由丙酮酸衍生的简单脂肪族酯,可

迅速清除过氧化氢^[4],保护神经元。体内和体外研究已经证明EP具有神经元保护作用^[5]。在脂多糖刺激的小鼠小胶质细胞中,EP抑制一氧化氮(nitric oxide, NO)和促炎性因子释放^[5]。目前,大量研究广泛关注EP对恶性肿瘤、炎症和再灌注综合征等疾病的治疗^[6]。且EP具有治疗帕金森病、溶血性贫血、脓毒症和缺血性卒中的价值^[7]。但是,EP对大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)诱导的神经元缺血性损伤的作用及分子机制甚少报道。本研究主要研究EP对MCAO诱导的神经功能损伤的作用,并探讨其作用剂量及潜在的分子机制。

一、材料与方法

1. 实验动物及分组: 雄性SD大鼠40只,体重250~300 g,由西安交通大学实验动物中心提供[SCXK(陕)2015-002]。将所有大鼠随机均分为4组:假手术组(Sham),大脑中动脉闭塞组(MCAO),大脑中动脉闭塞+5 mg/kg EP组(MCAO+5EP),大脑中动脉闭塞+10 mg/kg EP组(MCAO+10EP),每组各10只。

2. MCAO大鼠模型的建立及EP干预: 给大鼠腹腔注射350 mg/kg的水合氯醛进行麻醉,参照Zhang等^[8]的研究建立MCAO大鼠模型。暴露颈总动脉及分支,将4-0尼龙缝合线插入颈外动脉,经颈内动脉到大脑前动脉,阻断大脑中动脉血供1 h,然后移除缝合线,进行再灌注。整个手术过程,维持体温在(37±0.5)℃。Sham组只暴露颈总动脉,不插入缝合线。用任氏(Ringer's)生理盐水制备EP溶液,MCAO建模后,随机取MCAO组中10只大鼠给予腹腔注射5 mg/kg的EP溶液,另取10只大鼠给予10 mg/kg的EP溶液,每天一次,连续7 d。

3. 修订的神经损伤严重程度评分(modified neurological severity score, mNSS): 分别于建模前1 d、建模后1 d、3 d、7 d,采用mNSS评价神经系统功能^[9]。mNSS功能评价主要包括运动、感觉、平衡和反射测试,结果采用0~18的等级进行分级(正常:0;最大损伤:18)。

4. 旋转试验: 根据何旭英等^[10]的研究,采用旋转试验检测大鼠的平衡及协调能力。旋转装置购自

北京优必爱信息技术有限公司。首次测试前24 h,大鼠在3 r/min旋转适应3 min。分别于建模前1 d、建模后1 d、3 d、7 d、15 d对大鼠进行15 r/min旋转试验,记录大鼠在轴上的持续时间。每次测试后休息1 h,测试3次,取平均值。

5. 实时定量PCR: 采用TRIzol(美国Invitrogen公司)试剂提取大鼠脑组织总RNA,反转录第一链cDNA合成试剂盒进行反转录(美国Invitrogen公司),采用20 ml反应体系、SYBR Green荧光染料(美国Invitrogen公司)在ABI PRISM 7500实时PCR系统(美国Applied Biosystems公司)上进行qPCR。2^{-ΔΔCt}方法分析数据,GAPDH为参照物。检测指标包括脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)、神经生长因子(neuron growth factor, NGF)、Notch 1和核因子-κB(NF-κB)。所有引物均由Primer Designing Tool在线引物设计软件设计,由上海生工合成。引物序列见表1。

6. 统计学方法: 所有数据均采用SPSS 19.0进行统计学分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,单因素方差分析进行多组间比较,LSD-*t*进行多重比较,*P*<0.05为差异有统计学意义。

二、结果

1. EP对MCAO后神经损伤的影响: 见表2。与Sham组比较,在术前1 d、术后1 d、术后3 d和术后7 d MCAO组大鼠的mNSS评分均显著增加(*P*均<0.05)。与MCAO组比较,5 mg/kg和10 mg/kg的EP均可降低mNSS评分(*P*均<0.05)。但在术后第7天时,MCAO+10EP组的mNSS评分显著低于MCAO+5EP组(*P*<0.05)。

2. EP对MCAO后神经功能恢复的影响: 见表3。在术前1 d时,各组大鼠在旋转轴上的持续时间差异无统计学意义。在术后1 d时,与假手术组对比,3个MCAO模型组大鼠在旋转轴上的持续时间均显著缩短(*P*均<0.05)。在术后3 d时,与MCAO组对比,10 mg/kg的EP可显著增加大鼠在旋转轴上的持续时间(*P*<0.05)。在术后7 d时,MCAO+10EP组大鼠的持续时间显著高于MCAO+5EP组(*P*<0.05)。

表1 引物序列

引物	上游引物5' -3'	下游引物5' -3'
BDNF	CATAAGCCCGCACACTCTGT	TGGCCTTTTGATACCGGGAC
NGF	ATCGCTCTCCTTCACAGAGTTT	TGTACGGTTCTGCCTGTACG
Notch1	GTGTGTGAAAAGCCCGTCTC	GCACAAGTTCTGGCAGTTG
NF-κB	TACGATGGGACGACACCTCT	TCTCGGAGCTCATCTCATACT

3. EP对MCAO后脑组织神经营养因子的影响: 见表4。与假手术组对比, MCAO可显著抑制大鼠脑组织中BDNF和NGF mRNA的表达(均 $P < 0.05$), 且随着术后时间的推移, BDNF和NGF的表达逐渐降低。与MCAO组对比, 5 mg/kg和10 mg/kg的EP均可显著上调BDNF和NGF的表达(均 $P < 0.05$)。且MCAO+10EP组对BDNF的上调从术后第3天开始就显著高于MCAO+5EP组(均 $P < 0.05$), 对NGF的上调从术后第7天开始显著高于MCAO+5EP组($P < 0.05$)。

4. EP对MCAO后脑组织Notch1和NF- κ B信号的影响: 见表5。与假手术组对比, MCAO可显著增加大鼠脑组织中Notch1和NF- κ B mRNA的表达(均 $P < 0.05$), 且随着术后时间的推移, Notch1和NF- κ B表达并没有降低的趋势。与MCAO组对比, 5 mg/kg和10 mg/kg的EP均显著降低Notch1和NF- κ B的表达(均 $P < 0.05$)。且在术后7 d时, MCAO+10EP组Notch1和NF- κ B的表达均高于MCAO+5EP组(均 $P < 0.05$)。

讨论 保护神经元可改善神经功能, 有利于神经退行性疾病的治疗及预防^[8]。有研究报道, 20 mg/kg和40 mg/kg的EP干预可显著降低MCAO诱导的缺血性脑梗死体积, 且40 mg/kg的EP可改善及修复大鼠的运动损伤及神经功能缺陷^[5]。并指出EP的神经保护作用涉及多种机制, 包括EP可抑制小胶质细胞的活性。小胶质细胞活化后可持续释放一系列炎性介质, 导致氧化应激反应, 造成神经组织损伤。因此, 40 mg/kg的EP抑制小胶质细胞活化可能是其发挥神经保护作用的机制之一。另一篇报道也指出, 大鼠进行MCAO后给予5 mg/kg的EP干预, 可有效保护缺血诱导的神经损伤, 作用机制与抑制高迁移率族蛋白B1(high mobility group protein B1, HMGB1)的释放有关^[11]。受损细胞可将核内HMGB1释放至细胞外诱导炎性反应, 因此EP抑制受损神经元释放HMGB1, 从而阻止炎性反应的发生, 可能也是EP神经保护作用的机制之一。这些研究表明, EP确实具有神经保护的作用, 但对其作用剂量的应用还需进一步探讨。本研究分别采用5 mg/kg和10 mg/kg的EP干预MCAO损伤的大鼠, 用mNSS评估其对神经损伤的影响。结果发现EP可缓解MCAO诱导的神经损伤, 且10 mg/kg剂量的作用效果更好, 表明10 mg/kg的EP具有更好的神经保护作用。

研究表明, EP可保护大鼠癫痫持续状态(status epilepticus, SE)后的神经元损伤^[9], SE为反复癫痫发作, 是在癫痫连续发作间期内意识或神经功能

未完全恢复至正常水平又频繁发作, 而50 mg/kg的EP预处理可延缓癫痫的发作时间, 降低癫痫发作时的强度。表明单次高剂量的EP注射对神经损伤的保护有持续性作用。另有研究表明, 建模后分别持续3 d和7 d注射40 mg/kg的EP, 可显著改善大鼠脑出血诱导的神经损伤^[12], EP的持续干预亦可保护神经元损伤。虽然对EP的作用剂量和给药方式的报道众说纷纭, 但可以确定, EP确实对神经元损伤的保护作用具有持续性。本研究显示, 5 mg/kg和10 mg/kg的EP连续干预7 d可显著促进旋转试验中大鼠在旋转轴上的维持时间, 提示EP可逐渐促进MCAO损伤后神经功能的恢复, 且10 mg/kg剂量的作用效果更好。当然, 对于EP作用剂量范围的研究还应该再拓展, 后续的研究可以集中在EP发挥最有效神经保护作用时的作用时间及剂量范围。

新生儿缺氧缺血性脑损伤引起的脑病导致脑组织萎缩, 并导致长期神经功能缺陷。BDNF和NGF为神经营养因子, 在中枢神经系统中高表达。BDNF为最常见的神经营养因子, 在突触可塑性、神经再生、神经生长和分化中起重要作用^[13]。NGF与神经元存活、神经可塑性以及学习功能有关。研究表明, 每天给予0.431 mmol/kg的EP可显著降低脊髓损伤部位神经元凋亡的数量, 促进损伤部位轴突再生^[14], 提示EP具有神经保护作用。但是, 另有研究表明, 在蛛网膜下腔出血后的7~14 d, 每天连续腹腔注射一次EP, 可降低BDNF和NGF的表达, 并降低海马和大脑皮层形态正常神经元的数量^[15]。分析可能的原因为蛛网膜下腔出血后, EP主要通过抑制HMGB1的表达降低神经营养因子的表达。而脊髓损伤后EP主要通过抑制星形胶质细胞反应性增生来保护神经元。因此, EP通过不同的途径对神经元的作用截然不同。本研究显示, EP显著增加MCAO诱导的BDNF和NGF的表达, 提示EP可能与缺血损伤后神经元的修复有关。

为研究EP促进缺血损伤后神经元修复的分子途径, 我们检测脑组织中Notch1和NF- κ B信号的表达。众所周知, Notch1信号在维持细胞增殖及细胞凋亡的平衡上起重要作用。Notch1受体可转位进入细胞核, 与靶蛋白结合激活下游靶点, 促进Notch1信号的级联反应。然而, 近期有研究报道, Notch1和NF- κ B之间可能有密切的关联, Notch1活化后可进一步激活NF- κ B^[16]。也有少量的研究强调了EP通过抑制NF- κ B活化改善细胞凋亡和自噬^[16]。

表 2 各组大鼠 mNSS 评分比较(分, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	术前 1 d	术后 1 d	术后 3 d	术后 7 d
Sham 组	10	2.48 ± 0.14	3.82 ± 0.32	3.16 ± 0.38	2.94 ± 0.51
MCAO 组	10	2.50 ± 0.26	12.41 ± 0.69 ^a	11.98 ± 0.54 ^a	11.25 ± 0.60 ^a
MCAO+5EP 组	10	2.47 ± 0.33	11.82 ± 0.53 ^a	10.04 ± 0.47 ^{ab}	7.97 ± 0.46 ^{ab}
MCAO+10EP 组	10	2.52 ± 0.20	11.66 ± 0.27 ^a	9.25 ± 0.61 ^{ab}	6.05 ± 0.52 ^{abc}
F 值		0.083	715.800	563.711	440.100
P 值		0.968	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注: 与 Sham 组比较, ^a*P* < 0.05; 与 MCAO 组比较, ^b*P* < 0.05; 与 MCAO+5EP 组比较, ^c*P* < 0.05

表 3 各组大鼠在旋转轴上的持续时间比较(min, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	术前 1 d	术后 1 d	术后 3 d	术后 7 d
Sham 组	10	182.15 ± 11.25	158.61 ± 13.84	167.85 ± 15.62	176.25 ± 10.87
MCAO 组	10	179.54 ± 10.54	55.34 ± 13.52 ^a	60.82 ± 14.27 ^a	75.38 ± 12.54 ^a
MCAO+5EP 组	10	190.42 ± 10.95	68.98 ± 13.57 ^a	81.54 ± 12.94 ^a	110.18 ± 14.35 ^a
MCAO+10EP 组	10	185.75 ± 13.65	80.18 ± 12.05 ^a	113.58 ± 10.68 ^{ab}	158.42 ± 11.82 ^{bc}
F 值		1.636	122.152	119.386	135.629
P 值		0.198	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注: 与 Sham 组比较, ^a*P* < 0.05; 与 MCAO 组比较, ^b*P* < 0.05; 与 MCAO+5EP 组比较, ^c*P* < 0.05

表 4 各组大鼠脑组织中 BDNF 和 NGF mRNA 相对表达比较(/GAPDH, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	BDNF				NGF			
		术前 1 d	术后 1 d	术后 3 d	术后 7 d	术前 1 d	术后 1 d	术后 3 d	术后 7 d
Sham 组	10	1.02 ± 0.09	1.01 ± 0.10	1.06 ± 0.21	0.98 ± 0.17	0.99 ± 0.15	1.00 ± 0.08	0.97 ± 0.11	1.03 ± 0.16
MCAO 组	10	1.04 ± 0.07	0.65 ± 0.10 ^a	0.52 ± 0.08 ^a	0.41 ± 0.06 ^a	1.02 ± 0.14	0.68 ± 0.04 ^a	0.46 ± 0.06 ^a	0.37 ± 0.03 ^a
MCAO+5EP 组	10	0.99 ± 0.08	0.78 ± 0.06 ^a	0.69 ± 0.07 ^{ab}	0.61 ± 0.05 ^{ab}	1.00 ± 0.06	0.76 ± 0.10 ^a	0.64 ± 0.05 ^{ab}	0.58 ± 0.09 ^{ab}
MCAO+10EP 组	10	1.03 ± 0.04	0.87 ± 0.09 ^b	0.83 ± 0.05 ^{abc}	0.79 ± 0.13 ^{abc}	0.99 ± 0.08	0.83 ± 0.12 ^{ab}	0.78 ± 0.15 ^{ab}	0.73 ± 0.10 ^{abc}
F 值		0.889	28.970	36.040	45.900	0.154	22.910	45.820	69.080
P 值		0.456	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.927	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注: 与 Sham 组比较, ^a*P* < 0.05; 与 MCAO 组比较, ^b*P* < 0.05; 与 MCAO+5EP 组比较, ^c*P* < 0.05

表 5 各组大鼠脑组织中 Notch1 和 NF-κ B mRNA 相对表达比较(/GAPDH, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	Notch1				NF-κ B			
		术前 1 d	术后 1 d	术后 3 d	术后 7 d	术前 1 d	术后 1 d	术后 3 d	术后 7 d
Sham 组	10	1.00 ± 0.12	1.12 ± 0.07	1.10 ± 0.05	1.07 ± 0.09	1.00 ± 0.09	1.09 ± 0.08	1.06 ± 0.04	1.02 ± 0.11
MCAO 组	10	1.02 ± 0.11	2.76 ± 0.14 ^a	3.25 ± 0.09 ^a	3.79 ± 0.12 ^a	1.02 ± 0.11	1.96 ± 0.09 ^a	2.48 ± 0.13 ^a	2.65 ± 0.04 ^a
MCAO+5EP 组	10	1.00 ± 0.06	1.95 ± 0.08 ^{ab}	2.28 ± 0.10 ^{ab}	2.51 ± 0.05 ^{ab}	1.00 ± 0.06	1.65 ± 0.11 ^a	2.01 ± 0.09 ^{ab}	2.32 ± 0.10 ^a
MCAO+10EP 组	10	0.99 ± 0.08	1.38 ± 0.13 ^b	1.62 ± 0.10 ^b	1.78 ± 0.16 ^{abc}	0.99 ± 0.08	1.38 ± 0.12 ^b	1.51 ± 0.09 ^{abc}	1.67 ± 0.09 ^{abc}
F 值		0.174	441.500	1 124.000	1 066.000	0.210	135.000	435.500	656.300
P 值		0.914	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.889	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注: 与 Sham 组比较, ^a*P* < 0.05; 与 MCAO 组比较, ^b*P* < 0.05; 与 MCAO+5EP 组比较, ^c*P* < 0.05

NF-κ B 为转录因子, 与缺血损伤后的细胞凋亡有关^[17]。而本研究也显示, EP 可抑止 MCAO 诱导的 Notch1 和 NF-κ B 信号的表达。因此, 我们推断 EP 通过抑制 Notch1 和 NF-κ B 信号促进缺血损伤后神经元的修复。总之, 10 mg/kg 的 EP 具有较好的神经保护作用, 其机制可能与抑制 Notch1 和 NF-κ B 通路的激活有关。

利益冲突 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

作者贡献声明 文章构思、试验设计及论文撰写为杨德民, 实验操作及数据统计为杨德民、杨文佳、唐鹏, 绘制图表为杨德民、杨文佳, 论文修订为杨文佳、唐鹏

参 考 文 献

[1] Sun Y, Li Y, Liu L, et al. Identification of miRNAs Involved in the Protective Effect of Sevoflurane Preconditioning Against

- Hypoxic Injury in PC12 Cells[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2015, 35(8): 1117-1125. DOI: 10.1007/s10571-015-0205-7.
- [2] Marlier Q, Verteneuil S, Vandenbosch R, et al. Mechanisms and Functional Significance of Stroke-Induced Neurogenesis[J]. *Front Neurosci*, 2015, 9: 458. DOI: 10.3389/fnins.2015.00458.
- [3] Rodhe J, Burguillos MA, de Pablos RM, et al. Spatio-temporal activation of caspase-8 in myeloid cells upon ischemic stroke[J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2016, 4(1): 92. DOI: 10.1186/s40478-016-0365-9.
- [4] Najafi G, Atashfaraz E, Farokhi F. Attenuation of Methotrexate-Induced Embryotoxicity and Oxidative Stress by Ethyl Pyruvate[J]. *Int J Fertil Steril*, 2016, 10(2): 232-238. DOI: 10.22074/ijfs.2016.4914.
- [5] Yu YM, Kim JB, Lee KW, et al. Inhibition of the cerebral ischemic injury by ethyl pyruvate with a wide therapeutic window[J]. *Stroke*, 2005, 36(10): 2238-2243. DOI: 10.1161/01.STR.0000181779.83472.35.
- [6] Birkenmeier G, Hemdan NY, Kurz S, et al. Ethyl Pyruvate Combats Human Leukemia Cells but Spares Normal Blood Cells[J]. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0161571. DOI: 10.1371/journal.pone.0161571.
- [7] Huh SH, Chung YC, Piao Y, et al. Ethyl pyruvate rescues nigrostriatal dopaminergic neurons by regulating glial activation in a mouse model of Parkinson's disease[J]. *J Immunol*, 2011, 187(2): 960-969. DOI: 10.4049/jimmunol.1100009.
- [8] Zhang Y, Qiao L, Xu W, et al. Paeoniflorin Attenuates Cerebral Ischemia-Induced Injury by Regulating Ca²⁺/CaMKII/CREB Signaling Pathway[J]. *Molecules*, 2017, 22(3). DOI: 10.3390/molecules22030359.
- [9] 齐登斌, 郑辑英, 李光来, 等. 丙酮酸乙酯对癫痫持续状态大鼠神经元凋亡及 XIAP、Caspase-3 表达的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2011, 9(1): 81-82. DOI: 10.3969/j.issn.1672-1349.2011.01.046.
- [10] 何旭英, 陈镇洲, 段传志, 等. 骨髓基质细胞及血管内皮祖细胞移植对局灶性脑缺血大鼠神经功能恢复的影响[J]. *中华神经医学杂志*, 2010, 9(4): 330-333. DOI: 10.3760/ema.j.issn.1671-8925.2010.04.002.
- He XY, Chen ZZ, Duan CZ, et al. Effects of bone marrow stromal cell and endothelial progenitor cell transplantations on the recovery of nerve function in rats with focal cerebral ischemia[J]. *Chinese Journal of Neuromedicine*, 2010, 9(4): 330-333.
- [11] Shin JH, Lee HK, Lee HB, et al. Ethyl pyruvate inhibits HMGB1 phosphorylation and secretion in activated microglia and in the postischemic brain[J]. *Neurosci Lett*, 2014, 558: 159-163. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.11.006.
- [12] 邓楠, 杨光伟, 李小刚. 丙酮酸乙酯对脑出血大鼠血清肿瘤坏死因子 α 和白介素 6 水平的影响[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2015, 23(2): 49-52. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2015.02.015.
- Deng N, Yang GW, Li XG. Influence of Ethyl Pyruvate on Serum Levels of TNF- α and IL-6 in Rats with Cerebral Hemorrhage[J]. *Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease*, 2015, 23(2): 49-52.
- [13] Coskun S, Varol S, Ozdemir HH, et al. Association of brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor gene polymorphisms with susceptibility to migraine[J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2016, 12: 1779-1785. DOI: 10.2147/NDT.S108814.
- [14] Yuan Y, Su Z, Pu Y, et al. Ethyl pyruvate promotes spinal cord repair by ameliorating the glial microenvironment[J]. *Br J Pharmacol*, 2012, 166(2): 749-763. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01804.x.
- [15] 田孝迪. 高迁移率组蛋白 B1 在蛛网膜下腔出血后表达及作用机制的实验研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2017.
- [16] Liu Y, Su C, Shan Y, et al. Targeting Notch1 inhibits invasion and angiogenesis of human breast cancer cells via inhibition Nuclear Factor- κ B signaling[J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(6): 2681-2692.
- [17] Shen M, Lu J, Dai W, et al. Ethyl pyruvate ameliorates hepatic ischemia-reperfusion injury by inhibiting intrinsic pathway of apoptosis and autophagy[J]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013: 461536. DOI: 10.1155/2013/461536.

(收稿日期: 2018-11-06)

(本文编辑: 戚红丹)