

肉苁蓉总苷通过调控 *lncRNA GAS5* 保护神经细胞缺血再灌注损伤

樊燕燕, 张石在*

(鄂尔多斯应用技术学院医学系, 内蒙古 鄂尔多斯 017000)

摘要: **目的** 探讨肉苁蓉总苷对神经细胞缺血再灌注损伤 (I/R) 的保护作用。**方法** 体外培养 PC12 细胞, 以氧糖剥离再复氧复糖培养模拟脑缺血再灌注损伤过程。设置对照组, I/R 组, 肉苁蓉总苷低、中、高剂量组, si-NC 组, si-生长停滞特异性转录本 5 (GAS5) 组, 肉苁蓉总苷高剂量+pcDNA 组, 肉苁蓉总苷高剂量+pcDNA-GAS5 组。细胞计数试剂盒 (CCK-8)、流式细胞术、蛋白质印记 (Western blot) 检测细胞活力、凋亡以及 pro-caspase3、cleaved-caspase3 蛋白表达, 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 检测 *lncRNA GAS5* 表达, 试剂盒检测细胞上清液中 TNF- α 、IL-6 水平。**结果** 与对照组比较, I/R 组细胞活力、pro-caspase3 蛋白表达降低, 凋亡率、cleaved-caspase3 蛋白、*lncRNA GAS5* 表达及上清液中 TNF- α 、IL-6 水平升高 ($P < 0.05$); 与 I/R 组比较, 肉苁蓉总苷中、高剂量组细胞活力、pro-caspase3 蛋白表达升高, 凋亡率、cleaved-caspase3 蛋白、*lncRNA GAS5* 表达及上清液中 TNF- α 、IL-6 水平降低 ($P < 0.05$); 与 si-NC 组比较, si-GAS5 组细胞活力、pro-caspase3 蛋白表达升高, 凋亡率、cleaved-caspase3 蛋白表达及上清液中 TNF- α 、IL-6 水平降低 ($P < 0.05$); 与肉苁蓉总苷高剂量+pcDNA 组比较, 肉苁蓉总苷高剂量+pcDNA-GAS5 组细胞活力、pro-caspase3 蛋白表达降低, 凋亡率、cleaved-caspase3 蛋白表达及上清液中 TNF- α 、IL-6 水平升高 ($P < 0.05$)。**结论** 肉苁蓉总苷通过下调 *lncRNA GAS5* 表达对神经细胞缺血再灌注损伤具有保护作用。

关键词: 肉苁蓉总苷; 神经细胞; 缺血再灌注损伤; *lncRNA GAS5*

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)07-2320-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.07.047

脑缺血是最常见的临床疾病之一, 血运快速重建是脑缺血最有效治疗方法之一, 然而再灌注可引起缺血区域氧化应激和炎症损伤, 导致神经元凋亡, 进一步加重脑损伤^[1]。因此, 保护神经元细胞免受缺血再灌注 (I/R) 损伤将为缺血性脑病治疗提供理论参考。肉苁蓉总苷是肉苁蓉中主要活性成分, 具有滋补肝肾、益精血、抗氧化、抗衰老、免疫增强和神经保护作用^[2]。早期研究显示, 肉苁蓉总苷可减少降低脑组织梗死面积, 增强抗氧化酶活性, 防止脂质过氧化, 减轻脑组织病理损伤, 抑制脑细胞凋亡, 对小鼠脑 I/R 具有保护作用^[3-4]。

长链非编码 RNA (lncRNA) 是一类缺乏编码能力、长度大于 200 nt 的 RNA 转录本, 近年来研究证实 lncRNA 是大脑发育和许多神经系统疾病的重要调节剂。lncRNA 生长停滞特异性转录本 5 (GAS5) 因在雷帕霉素诱导的细胞周期阻滞中表达升高而得名, 已有研究显示在缺氧诱导的神经元中 *lncRNA GAS5* 表达上调, 并对细胞存活具有负调控作用^[5]。抑制 *lncRNA GAS5* 表达可增加深低温停循环 (DHCA) 后神经元存活数量, 改善大鼠 DHCA 后认知和记忆功能, 减轻大鼠 DHCA 后脑损伤^[6]。本研究以 PC12 细胞氧糖剥夺再复氧复糖模型模拟体外脑缺血再灌注损

伤^[7], 观察肉苁蓉总苷对缺血再灌注损伤神经细胞活力、凋亡、炎症反应的影响, 并探讨其机制是否与调控 *lncRNA GAS5* 表达有关。

1 材料

1.1 细胞 大鼠嗜铬细胞瘤细胞 PC12 购自中国科学院上海细胞库。

1.2 试剂与药物 肉苁蓉总苷 (纯度 80%, 货号 YN048) 购自山西玉宁生物科技有限公司, 实验时用含血清培养基配置所需浓度。人工脑脊液购自南京亿迅生物科技有限公司; 膜联蛋白 V (Annexin-V)-异硫氰酸荧光素 (FITC) / 碘化丙啶 (PI) 细胞凋亡检测试剂盒购自杭州联科生物技术股份有限公司; 细胞计数试剂盒 (CCK-8)、兔源半胱氨酸蛋白酶 3 前体 (pro-caspase3)、裂解的 caspase3 (cleaved-caspase3)、磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 抗体、羊抗兔 IgG 抗体购自上海碧云天生物技术有限公司; 大鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 6 (IL-6) 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒上海广锐生物科技有限公司; SYBR-Green Master Mix、逆转录试剂盒购自宝生物工程 (大连) 有限公司。

收稿日期: 2020-09-02

基金项目: 内蒙古自治区高等学校科学研究项目 (NJZY21156)

作者简介: 樊燕燕 (1984—), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为生物化学与分子生物学。Tel: 15134887757, E-mail: fyy-ordos-20110001@oit.edu.cn

* **通信作者:** 张石在 (1971—), 男, 硕士, 副教授, 研究方向为药理学。Tel: 13848798288, E-mail: zrdoszs@163.com

2 方法

2.1 细胞培养和模型构建 PC12 细胞采用 DMEM 培养基 (补充 10% 胎牛血清和 1% 青霉素链霉素双抗) 置于 37 °C、5% CO₂ 恒温细胞培养箱中培养。糖氧剥夺模型制备参考张蕾等^[7]报道方法进行, 选取对数生长期细胞进行实验, 将 DMEM 培养基更换为无糖无血清的人工脑脊液模拟无氧无糖环境, 置于 37 °C 含 95% N₂、5% CO₂ 缺氧培养箱培养 4 h。

2.2 实验分组和处理 细胞分为对照组, PC12 细胞不进行糖氧剥夺, 仅更换为无血清 DMEM 培养基于正常培养箱培养 24 h; L/R 组, PC12 细胞氧糖剥夺 4 h 后, 更换为无血清 DMEM 培养基于正常培养箱培养 20 h; 肉苁蓉总苷低、中、高剂量组, PC12 细胞氧糖剥夺 4 h 后, 更换为含 6.5、12.5、25.0 μg/mL 肉苁蓉总苷^[4]的无血清 DMEM 培养基复氧复糖 20 h; si-NC 组、si-GAS5 组, 分别转染 si-NC、si-GAS5 的 PC12 细胞氧糖剥夺 4 h 后, 更换为无血清 DMEM 培养基于正常培养箱培养 20 h; 肉苁蓉总苷高剂量 + pcDNA 组、肉苁蓉总苷高剂量 + pcDNA-GAS5 组, 转染 pcDNA 或 pcDNA-GAS5 的 PC12 细胞氧糖剥夺 4 h 后, 用含 25.0 μg/mL 肉苁蓉总苷的无血清 DMEM 培养基复氧复糖 20 h。细胞转染采用脂质体转染法, 按照 Lipofectamine 2000 使用说明进行。

2.3 CCK-8 法检测细胞活力 调整细胞密度至 1×10⁶/mL 后接种于 96 孔板, 每孔 100 μL, 贴壁后每孔加入 10 μL CCK-8 工作液, 培养 2 h 后采用酶标仪在 450 nm 波长处读取各孔光密度 (OD) 值, 以 OD 值表示细胞活力。

2.4 流式细胞术检测细胞凋亡 预冷磷酸盐缓冲液洗涤各组细胞, 1×结合缓冲液重悬后, 向 100 μL 细胞悬液中加入 5 μL Annexin V-FITC、5 μL PI 室温避光染色 15 min, 通过流式细胞仪分析细胞凋亡情况。早期凋亡 (Annexin V⁺/PI⁻) 和晚期凋亡 (Annexin V⁺/PI⁺) 之和表示细胞凋亡率。

2.5 Western blot 检测 pro-caspase3 和 cleaved-caspase3 表

达 用 RIPA 缓冲液裂解各组细胞总蛋白, 检测蛋白浓度后, 取等量蛋白上样至各孔进行聚丙烯酰胺凝胶电泳, 并湿转至聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上, 5% 脱脂牛奶封闭, 特异性一抗溶液 4 °C 孵育过夜, 次日加二抗室温孵育 2 h, 使用化学发光试剂显影, 采用 Image J 软件对目的条带灰度进行定量分析。

2.6 试剂盒检测 TNF-α、IL-6 水平 收集各组细胞培养液, 3 000 r/min 离心 10 min 后取上清液。按照大鼠 TNF-α、IL-6 ELISA 检测试剂盒步骤加入待检样品 (标准品)、检测抗体、底物, 终止反应后, 15 min 内采用酶标仪检测各孔 OD_{450 nm} 值, 根据标准品绘制标准曲线, 按照方程计算上清液中 TNF-α、IL-6 水平。

2.7 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 检测 *lncRNA GAS5* 表达 使用 TRIzol 试剂分别提取各组细胞总 RNA, 取 2 μg 总 RNA 逆转录为 cDNA, 按照 SYBR-Green Master Mix 说明书进行 RT-qPCR 扩增。GAS5 正向引物 5'-TGTTCTGCTCTGGTAACG-3', 反向引物 5'-AGGATAACAGGTCTGCCTGC-3'; GAPDH 正向引物 5'-GTCAAGGCTGAGAACGGGA-3', 反向引物 5'-AAATGAGCCCCAGCCTTCTC-3'。以 GAPDH 作为内参, 2^{-ΔΔCT} 法对 *lncRNA GAS5* 相对表达进行分析。

2.8 统计学分析 通过 SPSS 20.0 软件进行处理, 实验重复 2 次, 数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 2 组间差异比较采用独立样本 *t* 检验, 多组间均数比较单因素方差分析和 LSD-*t* 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 肉苁蓉总苷对神经细胞缺血再灌注损伤的影响 与对照组比较, L/R 组细胞活力、pro-caspase3 蛋白表达降低, 凋亡率、cleaved-caspase3 蛋白表达升高 (P<0.05); 与 L/R 组比较, 肉苁蓉总苷中、高剂量组细胞活力、pro-caspase3 蛋白表达升高, 凋亡率、cleaved-caspase3 蛋白表达降低 (P<0.05), 且呈剂量依赖性 (P<0.05), 见表 1、图 1。

表 1 肉苁蓉总苷对神经细胞缺血再灌注损伤的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	OD 值	凋亡率/%	cleaved-caspase3	pro-caspase3
对照组	1.42±0.05	6.31±0.49	0.14±0.01	0.74±0.03
L/R 组	0.53±0.02*	25.67±0.94*	0.59±0.03*	0.22±0.01*
肉苁蓉总苷低剂量组	0.53±0.02	25.59±0.92	0.60±0.03	0.22±0.01
肉苁蓉总苷中剂量组	0.84±0.03 [#] Δ	20.55±0.64 [#] Δ	0.43±0.02 [#] Δ	0.43±0.02 [#] Δ
肉苁蓉总苷高剂量组	1.16±0.04 [#] Δ▲	14.09±0.56 [#] Δ▲	0.23±0.01 [#] Δ▲	0.62±0.02 [#] Δ▲

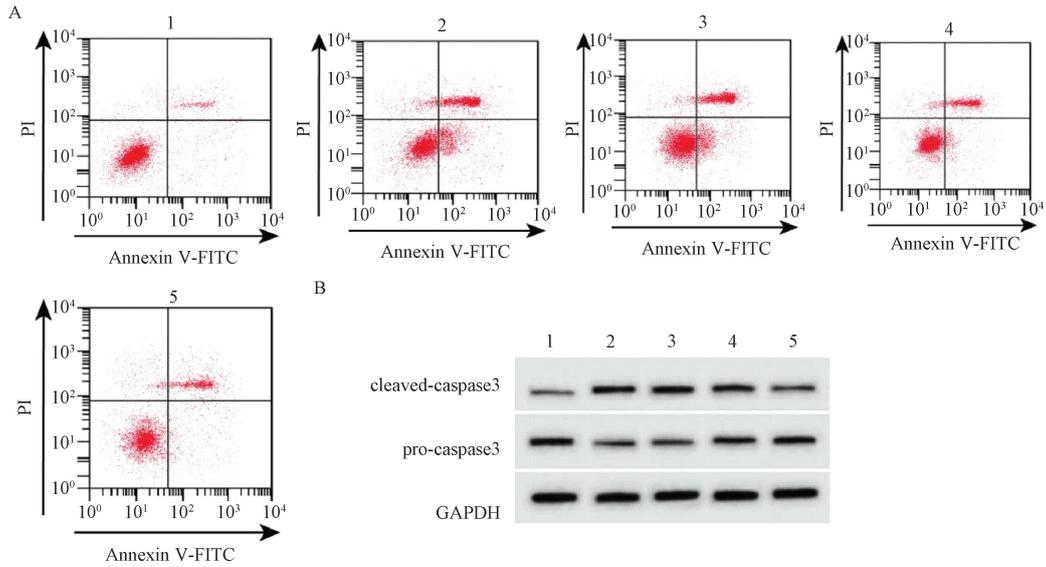
注: 与对照组比较, *P<0.05; 与 L/R 组比较, #P<0.05; 与肉苁蓉总苷低剂量组比较, ΔP<0.05; 与肉苁蓉总苷中剂量组比较, ▲P<0.05。

3.2 肉苁蓉总苷对缺血再灌注损伤神经细胞炎症因子水平的影响 与对照组比较, L/R 组细胞上清液中 TNF-α、IL-6 水平升高 (P<0.05); 与 L/R 组比较, 肉苁蓉总苷中、高剂量组细胞上清液中 TNF-α、IL-6 水平降低 (P<0.05), 且呈剂量依赖性 (P<0.05), 见表 2。

3.3 肉苁蓉总苷对缺血再灌注损伤神经细胞 *lncRNA GAS5* 表达的影响 与对照组比较, L/R 组细胞 *lncRNA GAS5* 表达

升高 (P<0.05); 与 L/R 组比较, 肉苁蓉总苷中、高剂量组细胞 *lncRNA GAS5* 表达降低 (P<0.05), 且呈剂量依赖性 (P<0.05), 见表 3。

3.4 抑制 GAS5 表达对神经细胞缺血再灌注损伤及炎症因子水平的影响 与 si-NC 组比较, si-GAS5 组细胞活力、pro-caspase3 蛋白表达升高, 凋亡率和 cleaved-caspase3 蛋白表达及细胞上清液中 TNF-α、IL-6 水平降低 (P<0.05), 见



注：1~5 分别为对照组，I/R 组，肉苻蓉总苷低、中、高剂量组。

图 1 肉苻蓉总苷对缺血再灌注损伤神经细胞凋亡 (A) 及 caspase3 蛋白表达 (B) 的影响

图 2、表 4。

表 2 肉苻蓉总苷对缺血再灌注损伤神经细胞炎症因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

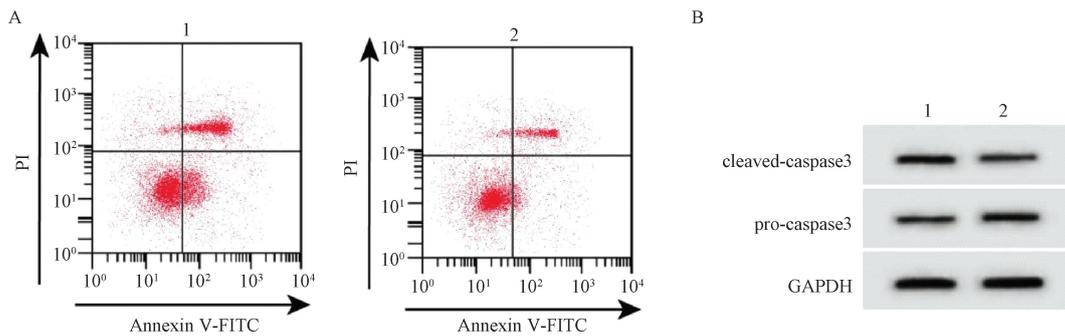
组别	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)
对照组	249.76±4.73	103.05±1.37
I/R 组	689.52±6.56*	352.63±5.97*
肉苻蓉总苷低剂量组	687.27±7.18	351.48±5.85
肉苻蓉总苷中剂量组	457.69±4.96 [#] Δ	270.92±3.96 [#] Δ
肉苻蓉总苷高剂量组	329.88±4.71 [#] Δ \blacktriangle	160.21±2.70 [#] Δ \blacktriangle

注：与对照组比较，* $P<0.05$ ；与 I/R 组比较，[#] $P<0.05$ ；与肉苻蓉总苷低剂量组比较， Δ $P<0.05$ ；与肉苻蓉总苷中剂量组比较， \blacktriangle $P<0.05$ 。

表 3 肉苻蓉总苷对缺血再灌注损伤神经细胞 lncRNA GAS5 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	lncRNA GAS5
对照组	0.97±0.03
I/R 组	3.63±0.05*
肉苻蓉总苷低剂量组	3.64±0.06
肉苻蓉总苷中剂量组	2.81±0.05 [#] Δ
肉苻蓉总苷高剂量组	1.57±0.03 [#] Δ \blacktriangle

注：与对照组比较，* $P<0.05$ ；与 I/R 组比较，[#] $P<0.05$ ；与肉苻蓉总苷低剂量组比较， Δ $P<0.05$ ；与肉苻蓉总苷中剂量组比较， \blacktriangle $P<0.05$ 。



注 1 为 si-NC 组，2 为 si-GAS5 组。

图 2 抑制 GAS5 表达对缺血再灌注损伤神经细胞凋亡 (A) 及 caspase3 蛋白表达 (B) 的影响

表 4 抑制 GAS5 表达对神经细胞缺血再灌注损伤及炎症因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	OD 值	凋亡率/%	cleaved-caspase3	pro-caspase3	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)
si-NC 组	0.53±0.02	25.67±0.92	0.60±0.03	0.23±0.01	690.43±6.73	352.90±5.47
si-GAS5 组	1.07±0.03*	16.22±0.56*	0.33±0.02*	0.50±0.03*	372.22±2.56*	208.44±2.44*

注：与 si-NC 组比较，* $P<0.05$ 。

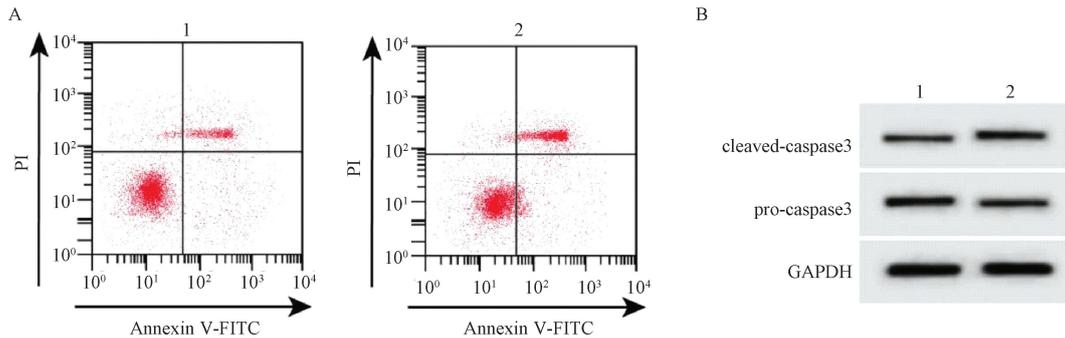
3.5 过表达 *GAS5* 逆转肉苁蓉总苷对神经细胞缺血再灌注损伤的影响 与肉苁蓉总苷高剂量+pcDNA 组比较, 肉苁蓉总苷高剂量+pcDNA-*GAS5* 组细胞活力、pro-caspase3 蛋白表达降低, 凋亡率和 cleaved-caspase3 蛋白表达升高 ($P < 0.05$), 见表 5、图 3。

3.6 过表达 *GAS5* 逆转肉苁蓉总苷对缺血再灌注损伤神经细胞中炎症因子水平的影响 与肉苁蓉总苷高剂量+pcDNA 组比较, 肉苁蓉总苷高剂量+pcDNA-*GAS5* 组细胞上清液中 TNF- α 、IL-6 水平升高 ($P < 0.05$), 见表 6。

表 5 过表达 *GAS5* 逆转肉苁蓉总苷对神经细胞缺血再灌注损伤的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	OD 值	凋亡率/%	cleaved-caspase3	pro-caspase3
肉苁蓉总苷高剂量+pcDNA 组	1.17 \pm 0.04	14.07 \pm 0.58	0.24 \pm 0.01	0.63 \pm 0.02
肉苁蓉总苷高剂量+pcDNA- <i>GAS5</i> 组	0.68 \pm 0.03*	22.68 \pm 0.68*	0.54 \pm 0.02*	0.32 \pm 0.01*

注: 与肉苁蓉总苷高剂量+pcDNA 组比较, * $P < 0.05$ 。



注: 1 为肉苁蓉总苷高剂量+pcDNA 组, 2 为肉苁蓉总苷高剂量+pcDNA-*GAS5* 组。

图 3 过表达 *GAS5* 逆转肉苁蓉总苷对缺血再灌注损伤神经细胞凋亡 (A) 及 caspase3 蛋白表达 (B) 的影响

表 6 过表达 *GAS5* 逆转肉苁蓉总苷对缺血再灌注损伤神经细胞中炎症因子的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)
肉苁蓉总苷高剂量+pcDNA 组	329.97 \pm 4.51	160.68 \pm 2.93
肉苁蓉总苷高剂量+pcDNA- <i>GAS5</i> 组	581.37 \pm 5.85*	317.83 \pm 3.97*

注: 与肉苁蓉总苷高剂量+pcDNA 组比较, * $P < 0.05$ 。

4 讨论

脑缺血损伤是世界范围内仅次于心血管疾病和癌症的常见死亡原因, 研究显示, 即使短暂性脑缺血也可导致海马区锥体迟发性神经元死亡, 甚至诱发认知缺陷, 严重影响患者生活质量^[8]。因此, 寻找有效的策略抑制神经细胞缺血再灌注损伤十分重要。

肉苁蓉总苷是肉苁蓉的主要活性成分, 由咖啡酸、糖基和苯乙醇苷元 3 部分组成, 具有较好的缺血再灌注保护作用。Yu 等^[9]研究发现, 单侧注射苯乙醇苷类化合物能缩小大鼠心肌梗死面积, 降低心肌组织中抗凋亡蛋白表达, 并抑制心肌细胞凋亡。Wang 等^[10]研究发现, 肉苁蓉总苷治疗能降低大鼠中动脉闭塞-再灌注大鼠神经功能缺损评分和梗塞体积, 促进血管生成和神经重塑, 提高脑组织抗氧化活性, 并有效维持血脑屏障的完整性。此外, 肉苁蓉总苷亦可提高大鼠肾组织 X-染色体连锁凋亡抑制蛋白 (XIAP) 表达, 减少肾脏细胞凋亡, 保护大鼠肾脏免受缺血再灌注损伤^[11]。本研究发现, 中、高剂量肉苁蓉总苷可提高细胞活力, 降低缺血再灌注诱导的细胞凋亡, 并呈剂量依赖性。caspase-3 是内源线粒体途径和外源性死亡受体凋亡途径 caspase 级联反应的终极效应因子, caspase-3 的激活可切割 DNA, 导致细胞形态特征改变, 引起细胞凋亡。

本研究发现, 肉苁蓉总苷能降低缺血再灌注诱导神经细胞 cleaved-caspase3 表达, 提高 pro-caspase-3 表达, 与其抗凋亡作用一致。糖氧剥夺再复糖复氧实验除导致细胞活力降低、促凋亡因子表达和线粒体功能障碍外, 严重的炎症反应对神经元细胞凋亡亦有促进作用^[12]。本研究显示, 肉苁蓉总苷能降低缺血再灌注诱导细胞上清液中促炎因子 TNF- α 和 IL-6 水平, 与由淑萍等^[13]研究相类似。以上研究表明, 肉苁蓉总苷通过提高细胞活力, 减轻缺血再灌注诱导的细胞凋亡和炎症反应进而对神经细胞缺血再灌注损伤具有保护作用。

lncRNA GAS5 在肿瘤复发转移、心肌缺血再灌注损伤、脑卒中等病理生理过程中具有调节作用^[14-15]。Wu 等^[16]研究显示, *lncRNA GAS5* 过表达促进缺氧复氧暴露的心肌细胞凋亡, 下调其表达可改善心肌细胞缺血再灌注损伤。Zhang 等^[17]研究表明, *lncRNA GAS5* 能够增强神经元糖酵解反应, 加剧缺血再灌注诱导神经元细胞凋亡, 抑制 *lncRNA GAS5* 可防止脑缺血再灌注损伤, 改善整体神经功能。此外, Zhao 等^[18]指出抑制 *lncRNA GAS5* 表达对新生儿缺氧/缺血性脑损伤具有潜在治疗作用。本研究显示, 肉苁蓉总苷干预后缺血再灌注诱导的细胞中 *lncRNA GAS5* 表达降低。进一步研究显示, 抑制 *lncRNA GAS5* 表达可减轻缺血再灌注

诱导的细胞毒性和凋亡,降低炎症反应,与肉苁蓉总苷保护作用一致。而过表达 *lncRNA GAS5* 则逆转肉苁蓉总苷对缺血再灌注诱导的细胞活力、凋亡、炎症反应以及 pro-caspase-3 和 cleaved-caspase3 蛋白的影响,证实肉苁蓉总苷通过下调 *lncRNA GAS5* 进而对神经细胞缺血再灌注发挥保护作用。

综上所述,本研究证实肉苁蓉总苷通过下调 *lncRNA GAS5* 表达促进细胞活力,抑制细胞凋亡和炎症反应,进而对神经细胞缺血再灌注损伤发挥保护作用,这丰富了肉苁蓉总苷在神经细胞缺血再灌注损伤中的调控机制,为缺血性脑损伤治疗提供了新的方向。

参考文献:

- [1] Sun K, Fan J Y, Han J Y. Ameliorating effects of traditional Chinese medicine preparation, Chinese materia medica and active compounds on ischemia/reperfusion-induced cerebral microcirculatory disturbances and neuron damage [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2015, 5(1): 8-24.
- [2] 薛海燕,焦婵媛,姚 军. 肉苁蓉总苷药理作用的研究现状 [J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(4): 486-488.
- [3] 王晓雯,孟新珍,蒋晓燕,等. 肉苁蓉总苷对清醒小鼠脑缺血再灌注致海马 CA₁ 区脑组织损伤的保护作用 [J]. 卒中与神经疾病, 2003, 10(6): 325-328.
- [4] 孟新珍,王晓雯,蒋晓燕,等. 肉苁蓉总苷对清醒小鼠脑缺血再灌注致脑组织生化改变的影响 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2004, 6(1): 16.
- [5] Hu X L, Liu J, Zhao G, et al. Long non-coding RNA GAS5 aggravates hypoxia injury in PC-12 cells via down-regulating miR-124 [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(8): 6765-6774.
- [6] 高诗仑. 抑制 *lncRNA GAS5* 的表达改善大鼠深低温停循环后的脑损伤 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2019.
- [7] 张 蕾,刘爱秀,王 强,等. 氨磷汀对氧糖剥夺引起的 PC12 细胞缺血再灌注损伤的保护作用研究 [J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(6): 1110-1113.
- [8] Li M, Li H Y, Fang F, et al. Astragaloside IV attenuates cognitive impairments induced by transient cerebral ischemia and reperfusion in mice via anti-inflammatory mechanisms [J]. *Neurosci Lett*, 2017, 639: 114-119.
- [9] Yu Q, Li X, Cao X. Cardioprotective effects of phenylethanoid glycoside-rich extract from *Cistanche deserticola* in ischemia-reperfusion-induced myocardial infarction in rats [J]. *Ann Vasc Surg*, 2016, 34: 234-242.
- [10] Wang F, Li R, Tu P, et al. Total glycosides of *Cistanche deserticola* promote neurological function recovery by inducing neurovascular regeneration via Nrf-2/Keap-1 pathway in MCAO/R rats [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 236.
- [11] 朱 军,赵希敏,刘 勇. 肉苁蓉总苷对缺血再灌注肾损伤保护作用的实验研究 [J]. 世界中西医结合杂志, 2015, 10(1): 19-21.
- [12] Tian T, Zeng J, Zhao G Y, et al. Neuroprotective effects of orientin on oxygen-glucose deprivation/reperfusion-induced cell injury in primary culture of rat cortical neurons [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2018, 243(1): 78-86.
- [13] 由淑萍,汪 波,赵 军,等. 肉苁蓉苯乙醇总苷对脂多糖致大鼠急性肺损伤的抑制作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(5): 347-353.
- [14] Wang Y, Kong D L. *lncRNA GAS5* Represses osteosarcoma cells growth and metastasis via sponging miR-203a [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 45(2): 844-855.
- [15] Zheng Z S, Liu S Y, Wang C H, et al. A functional polymorphism rs145204276 in the promoter of long noncoding RNA GAS5 is associated with an increased risk of ischemic stroke [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2018, 27(12): 3535-3541.
- [16] Wu N, Zhang X, Bao Y, et al. Down-regulation of GAS5 ameliorates myocardial ischaemia/reperfusion injury via the miR-335/ROCK1/AKT/GSK-3 β axis [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(12): 8420-8431.
- [17] Zhang X C, Gu A P, Zheng C Y, et al. YY1/*lncRNA GAS5* complex aggravates cerebral ischemia/reperfusion injury through enhancing neuronal glycolysis [J]. *Neuropharmacology*, 2019, 158: 107682.
- [18] Zhao R B, Zhu L H, Shu J P, et al. GAS5 silencing protects against hypoxia/ischemia-induced neonatal brain injury [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 497(1): 285-291.