

基于 JAK2/STAT3 信号通路探讨抵当汤对脑梗死瘀热证 大鼠小胶质细胞焦亡的影响

毛恺妮, 冯雨静, 陈思源, 殷淑婷, 戴思思, 郑彩杏,
龙昱艳, 宋志广, 李花*, 刘旺华*
(湖南中医药大学, 长沙 410208)

[摘要] 目的:探讨抵当汤调控 Janus 激酶 2/信号传导与转录激活因子 3(JAK2/STAT3)信号通路对小胶质细胞焦亡及脑梗死瘀热证的影响。方法:60 只大鼠随机分为假手术组、模型组、抵当汤低、中、高剂量组(0.95 、 1.89 、 $3.78\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)及依达拉奉组($3.20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),每组 10 只,除假手术组外采用大脑中动脉闭塞/再灌注(MCAO/R)联合腹腔注射角叉菜胶($50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)3 d 及皮下干酵母注射法($10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)1 d 构建脑梗死瘀热证模型,24 h 后中药组灌胃给药,依达拉奉组腹腔注射给药,持续 7 d。采用改良神经功能评分法(mNSS)评估神经功能缺损;2,3,5-三苯基四氮唑氯化物染色(TTC)测量脑梗死体积;血液流变学检测全血及血浆黏度。另将 36 只大鼠随机分为假手术组、模型组、抵当汤高剂量组和 AG490 组($5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),每组 9 只,造模及中药组给药方法同前,AG490 组腹腔注射给药,持续 7 d。采用苏木素-伊红(HE)染色和尼氏染色观察脑组织病理形态;蛋白免疫印记法(Western blot)检测 JAK2/STAT3 信号通路及焦亡相关蛋白表达水平;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测焦亡相关 mRNA 水平;酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清白细胞介素(IL)- 1β 、IL-18、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平;免疫荧光(IF)染色检测离子钙结合适配器分子-1(Iba-1)、焦毒素 D(GSDMD)共表达;透射电镜观察小胶质细胞膜孔洞形成。结果:与假手术组比较,模型组大鼠神经功能缺损评分、脑梗死体积、全血高、中、低切及血浆黏度、焦亡相关蛋白及 mRNA 表达、JAK2/STAT3 通路磷酸化水平、IL- 1β 、IL-18、IL-6、TNF- α 水平、Iba-1 及 GSDMD 荧光面积、细胞焦亡率、小胶质细胞膜孔数量均显著升高($P<0.01$);缺血侧脑组织病理结构及神经元存活情况显著恶化。与模型组比较,抵当汤高剂量组上述各项指标均明显下降($P<0.05$, $P<0.01$);脑组织病理损伤及神经元存活情况显著改善,且效果优于抵当汤中、低剂量组。结论:JAK2/STAT3 信号通路能够参与调控 NOD 样受体蛋白 3(NLRP3)炎症小体介导的小胶质细胞焦亡,抵当汤可通过抑制该通路活化,减轻小胶质细胞焦亡,发挥对脑梗死瘀热证的神经保护作用。

[关键词] 脑梗死;瘀热证;Janus 激酶 2/信号传导与转录激活因子 3(JAK2/STAT3)信号通路;小胶质细胞;细胞焦亡;抵当汤

[中图分类号] R242;R278;R743.3 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2026)16-0130-11

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20260467

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20260511.1747.003>

[网络出版日期] 2026-05-12 09:52:05 [增强出版附件] 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



Effect of Didang Tang on Microglial Pyroptosis in Rats with Cerebral Infarction of Stasis-heat Syndrome Based on JAK2/STAT3 Signaling Pathway

MAO Kaini, FENG Yujing, CHEN Siyuan, YIN Shuting, DAI Sisi, ZHENG Caixing,
LONG Yuyan, SONG Zhiguang, LI Hua*, LIU Wanghua*
(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

[Abstract] **Objective:** This paper aims to investigate the effects of Didang Tang on microglial pyroptosis and cerebral

[收稿日期] 2026-02-11

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82574912);湖南省自然科学基金项目(2023JJ30451,2025JJ50719);湖南省卫生健康科研课题(20256419);湖南中医药大学校级科研项目(2024XJZC019);湖南中医药大学研究生科研创新项目(2024CX154)

[第一作者] 毛恺妮,在读硕士,从事心脑血管疾病的诊治规律研究,E-mail:451032596@qq.com

[通信作者] *刘旺华,教授,博士生导师,从事心脑血管病证候本质与中医药防治研究,Tel:0731-88458217,E-mail:595413533@qq.com;

*李花,教授,硕士生导师,从事内经治则治法与心脑血管病研究,Tel:0731-88458217,E-mail:420039931@qq.com

infarction of stasis-heat syndrome through regulation of the Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 (JAK2/STAT3) signaling pathway. **Methods:** Sixty rats were randomly divided into a sham group, a model group, low-, medium-, and high-dose Didang Tang groups (0.95, 1.89, 3.78 g·kg⁻¹), and an edaravone group (3.20 mg·kg⁻¹), with ten rats per group. Except for the sham group, a cerebral infarction of stasis-heat syndrome model was established by middle cerebral artery occlusion/reperfusion (MCAO/R) combined with intraperitoneal injection of carrageenan (50 mg·kg⁻¹) for three days and subcutaneous injection of dry yeast (10 mL·kg⁻¹) for one day. Twenty-four hours later, the rats in the Didang Tang groups received intragastric administration, and those in the edaravone group received intraperitoneal injection for seven days. Neurological deficits were evaluated by the modified neurological severity score (mNSS). Cerebral infarct volume was assessed by 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining. The concentrations of whole blood and plasma were measured by hemorheology. Additionally, 36 rats were randomly divided into a sham group, a model group, a high-dose Didang Tang group, and an AG490 group (5 mg·kg⁻¹), with nine rats per group. Modeling and drug administration were performed as above. The rats in the AG490 group received AG490 via intraperitoneal injection for seven consecutive days. Hematoxylin-eosin (HE) staining and Nissl staining were used to observe the pathological morphology of brain tissues. Western blot was used to detect expression levels of the proteins related to the JAK2/STAT3 pathway and pyroptosis. Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) was used to detect pyroptosis-related mRNA levels. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to measure the levels of interleukin (IL)-1 β , IL-18, IL-6, and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in serum. Immunofluorescence staining (IF) was used to detect ionized calcium-binding adapter molecule-1/gasdermin D (Iba-1/GSDMD) co-expression. A transmission electron microscope was used to observe membrane pore formation in microglia. **Results:** Compared with those in the sham group, the rats in the model group show significantly increased neurological deficit scores, cerebral infarct volume, the whole blood viscosity at high, medium and low shear rates, plasma viscosity, pyroptosis-related protein and mRNA expressions, phosphorylation levels of the JAK2/STAT3 pathway, the levels of IL-1 β , IL-18, IL-6, and TNF- α , Iba-1 and GSDMD fluorescence areas, pyroptosis rate, and microglial membrane pore number ($P<0.01$), accompanied by significantly deteriorated pathological structure and neuronal survival of brain tissue on the ischemic side. Compared with those in the model group, the rats in the high-dose Didang Tang group exhibit significantly reduced indicators ($P<0.05$, $P<0.01$), improved pathological injury and neuronal survival in brain tissues, and better effects than those in the medium- and low-dose Didang Tang groups. **Conclusion:** The JAK2/STAT3 signaling pathway is involved in regulating NOD-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome-mediated microglial pyroptosis. Didang Tang may alleviate microglial pyroptosis and exert neuroprotective effects on cerebral infarction of stasis-heat syndrome by inhibiting the activation of this pathway.

[Keywords] cerebral infarction; stasis-heat syndrome; Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 (JAK2/STAT3) signaling pathway; microglia; pyroptosis; Didang Tang

缺血性脑卒中 (IS) 是脑梗死的主要亚型, 由脑血管阻塞或狭窄引起脑组织缺血缺氧, 最终导致神经功能损伤, 占卒中总发病率的 65.3%^[1]。超出时间窗的血流恢复极易诱发脑缺血再灌注损伤 (CIRI)^[2]。近年来研究发现, 神经炎症反应在 CIRI 中发挥核心作用, 小胶质细胞作为中枢神经系统的主要免疫细胞, 其异常激活可通过释放炎症介质加剧脑损伤^[3]。焦亡是一种依赖炎症小体激活的程序性细胞死亡方式, 会导致细胞裂解并释放大量促炎因子, 加重脑损伤^[4]。因此, 抑制小胶质细胞焦亡已成为干预 CIRI 的重要研究方向。

中医认为, 脑卒中属“中风病”范畴, 瘀热证是其急性期常见证型, 血运不畅则瘀, 而脑为清阳之所, 瘀最易化热, 瘀热搏结, 损伤脑络^[5]。现代研究亦表明, “瘀”与血液高凝状态及微循环障碍相关, “热”则与炎症反应密切相关, 提示瘀热证可能涉及炎症与血流动力学异常的综合病理过程^[6-7]。抵当汤源于《伤寒论》, 由大黄、桃仁、水蛭及虻虫组成, 具有破血逐瘀、泄热攻积之功效, 是治疗瘀热互结

证的经典方剂。研究表明, 抵当汤在脑卒中相关疾病中具有调控作用, 可通过调控炎症反应、抑制细胞凋亡减轻神经损伤, 对维护脑血屏障完整性有积极作用^[8]。此外, 本课题组前期研究发现, 抵当汤可通过调控磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路影响“凋亡-自噬-炎症”网络, 从而减轻 CIRI 损伤^[9]。

Janus 激酶 2/信号传导与转录激活因子 3 (JAK2/STAT3) 信号通路在脑缺血损伤过程中被广泛激活。已有研究表明, 该通路可能通过调节 NOD 样受体蛋白 3 (NLRP3) 炎症小体的活化参与神经炎症反应, 并对细胞焦亡产生影响^[10-12]。然而, 目前关于 JAK2/STAT3 信号通路在 CIRI 中的作用仍存在争议, 其对 NLRP3 炎症小体及小胶质细胞焦亡的调控机制尚未完全阐明。因此, 探讨 JAK2/STAT3 信号通路是否通过调控小胶质细胞焦亡参与 CIRI 的病理过程, 具有一定研究价值。本研究以脑梗死瘀热证大鼠为研究对象, 探讨抵当汤对小胶质细胞焦亡的影响及其与 JAK2/STAT3 信号通路的关系。

1 材料

1.1 动物 本研究共采用 SPF 级雄性 SD 大鼠 96 只, 年龄 7~8 周, 体质量 270~300 g, 统一购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 合格证号 SCXK(苏)2021-0013, 所有大鼠饲养在 SPF 级屏障系统内, 提供普通饲料和饮水, 室温(25±5)℃、湿度(60±5)%、12 h 明暗循环, 适应性饲养 7 d。

1.2 伦理 本研究经湖南中医药大学实验动物伦理委员会审批, 伦理批号 HNUCM21-2503-02。

1.3 药物与试剂 抵当汤由水蛭 3 g、虻虫 3 g、大黄 5 g、桃仁 10 g 组成(武汉素问中药饮片有限公司, 批号分别为 2301033、2311033、2401001、2403003), 上述饮片由湖南中医药大学药学院王智副教授鉴定, 与 2025 年版《中华人民共和国药典》质量标准相符。JAK2 抑制剂(AG490, 美国 APEX BIO 公司, 货号 A4139), 2,3,5-三苯基四氮唑氯化物(TTC)染色溶液(美国 Sigma 公司, 货号 T8877), 大鼠白细胞介素(IL)-1β、IL-6、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(上海江莱生物科技有限公司, 货号分别为 JL20884、JL20896、JL13202), IL-18 ELISA 试剂盒(武汉瑞赛齐生物科技有限公司, 货号 R-M-R07045), NOD 样受体蛋白 3(NLRP3)抗体、胱天蛋白酶-1(Caspase-1)抗体、焦孔素 D(GSDMD)抗体、JAK2 抗体、STAT3 抗体、磷酸化(p)-JAK2 抗体、p-STAT3 抗体(杭州华安生物科技有限公司, 货号分别为 ET1610-93、ET1608-69、ER1901-37、ET1607-35、ET1607-38、ET1607-34、ET1603-40), 凋亡相关斑点样蛋白(ASC)抗体、β-肌动蛋白(β-actin)抗体(成都正能生物技术有限责任公司, 货号和批号分别为 M07MA01、380624), 离子钙结合适配分子 1(Iba-1)抗体[艾博抗(上海)贸易有限公司, 货号 ab178846], 二抗均为抗兔免疫球蛋白(Ig)G(南京巴傲得生物科技有限公司, 货号 BS13278), SevenFast Total RNA Extraction 试剂盒、SevenFast Two Step RT&qPCR 试剂盒(广州赛文生物科技有限公司, 货号分别为 SM132-01、SRQ-01), 苏木素-伊红(HE)染液、甲苯胺蓝染液、电子显微镜固定剂、冰乙酸(武汉百仟度生物科技有限公司, 货号分别为 B1003、B1007、B0012、B1131), 中性树胶(国药集团化学试剂有限公司, 货号 10004160)。

1.4 仪器 ZL9100C 型全自动血流变测试仪(北京众驰伟业科技发展有限公司), Nikon Eclipse CI 型正置光学显微镜、Nikon Eclipse Ti-SR 型荧光显微镜(日本尼康公司), Multiskan FC 型酶标仪(美国赛

默飞世尔科技公司), ChemiDoc XRS⁺型蛋白成像系统(美国 Bio-Rad 公司), LightCycler[®]480 II 型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(瑞士 Roche 公司), 1400 型透射电子显微镜(日本电子株式会社)。

2 方法

2.1 药液制备 首次加入药材 5 倍体积的蒸馏水, 浸泡 30 min, 煮沸 25 min 后滤出, 再加入药材 3 倍体积的蒸馏水, 继续煎煮 15 min, 将所得药液合并, 减压浓缩至 1 g·mL⁻¹ 生药量, 冷却后 -20℃ 储存, 使用前 37℃ 水浴。

2.2 造模与模型评价 本研究分 2 个阶段进行。第一阶段选取 60 只大鼠, 随机分为假手术组($n=10$)和模型组($n=50$); 第二阶段选取 36 只大鼠, 随机分为假手术组($n=9$)和模型组($n=27$)。参照文献[13]的方法, 模型组大鼠经腹腔注射角叉菜胶 50 mg·kg⁻¹, 每天 1 次, 连续 3 d。末次注射 24 h 后, 于大鼠背部皮下注射 20% 干酵母悬液 10 mL·kg⁻¹, 6 h 后选取有瘀热证体征者继续实验。采用改良 Longa 线栓法建立大鼠脑梗死模型, 假手术组仅进行血管分离而不插入线栓。缺血 1.5 h 拔出线栓实现再灌注, 缝合切口, 将大鼠置于干净的笼盒内待其自然苏醒。造模后 24 h 大鼠出现明显“瘀热”表征, 如舌质红紫, 鼻唇黏膜、耳部、爪甲红紫色, 尾部出现明显瘀斑, 低热等异常表现, 视为瘀热证造模成功。大鼠再灌注 24 h 后, 在双盲前提下, 采用 Zea Longa 5 分法对其神经功能缺损评分并记录, 评分为 1~3 分者纳入研究。

2.3 分组及给药 为确保组间基线均衡, 依据 Zea Longa 评分对成模大鼠进行分层, 再采用随机数字表法将各层动物分配至不同实验组。本研究第一阶段为抵当汤量效实验, 共纳入 60 只动物。除假手术组外, 将 50 只成模大鼠分为模型组, 依达拉奉组(3.2 mg·kg⁻¹), 抵当汤低、中、高剂量组(0.95、1.89、3.78 g·kg⁻¹), 以筛选抵当汤最佳剂量。给药剂量为参考《药理实验方法学》大鼠与人体表面积折算得出的等效剂量, 相当于药材生药量的 0.5、1、2 倍。第二阶段为机制研究, 除假手术组外, 将 27 只成模大鼠分为模型组, 抵当汤高剂量组及 AG490(5 mg·kg⁻¹)^[14], 每组 9 只大鼠。模型组和假手术组均予等量生理盐水。术后 24 h 开始, 连续给药 7 d, 直至处死。

2.4 神经功能损伤评估 在手术后的第 1、3、5、7 天, 采用改良神经功能评分法(mNSS)对大鼠神经

功能进行评估。

2.5 血液流变学检测 采集大鼠腹主动脉血,一部分用于全血黏度(WBV)检测,一部分离心后(4℃, 3 000 r·min⁻¹, 15 min,离心半径8.6 cm)用于血浆黏度(PV)值检测,以上所有检测流程在采血后4 h内完成。

2.6 TTC染色观察大鼠脑梗死体积 将鼠大脑切成5个2 mm厚的冠状切片,放入1%的TTC溶液中染色30 min,再于4%多聚甲醛溶液中固定24 h,拍照,Image J软件(版本1.46r)计算脑梗死体积,脑梗死体积=患侧脑缺血体积/正常全脑体积×100%。

2.7 病理切片检测观察大鼠缺血侧脑组织病理结构 将4%多聚甲醛固定24 h后的脑组织修整,经梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡浸透后包埋,切片厚度4 μm,摊片并烘干。HE染色:切片脱蜡复水后,以苏木素染核,伊红染胞质,再经脱水透明,中性树胶封片,镜检。尼氏染色:切片脱蜡复水后,以甲苯胺蓝染色,冰乙酸分化,脱水透明,中性树胶封片,镜检。

2.8 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠焦亡蛋白表达及通路磷酸化水平 取缺血侧皮质组织,加入含蛋白酶及磷酸酶抑制剂的放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液匀浆,取上清为蛋白原液。经蛋白定量法(BCA)测定浓度后,稀释至2 g·L⁻¹作为上样液。经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)、转膜、快速封闭后,加入稀释的NLRP3(1:1 000)、Caspase-1(1:10 000)、GSDMD(1:2 000)、ASC(1:10 000)、JAK2(1:1 000)、p-JAK2(1:1 000)、STAT3(1:1 000)、p-STAT3(1:1 000)抗体进行一抗孵育过夜,加入稀释二抗(1:10 000)后室温孵育1 h,使用Bio-Rad系统检测蛋白表达,并用Image J软件对条带进行分析。

2.9 Real-time PCR检测大鼠焦亡相关mRNA水平 取大鼠缺血侧皮质区,按试剂盒说明提取RNA,确认纯度达标后,逆转录为cDNA。使用NLRP3、GSDMD、Caspase-1的合成引物进行扩增,扩增条件为:95℃预变性1 min;95℃变性20 s,60℃退火20 s,72℃延伸30 s,共45个循环。以β-actin为内参,采用2^{-ΔΔC_T}法计算目的mRNA的相对表达量。引物由湖南艾科瑞生物工程有限公司合成,序列见表1。

2.10 ELISA检测大鼠血清炎症因子水平 按试剂盒说明书检测大鼠血清IL-18、IL-1β、IL-6、TNF-α水平,依次进行样本孵育、抗体孵育、酶标孵育、底物显色、终止反应。样品吸光度A代入标准曲线计算

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
NLRP3	上游 CTGAAGCATCTGCTCTGCAACC	87
	下游 AACCAATGCGAGATCCTGACAAC	
GSDMD	上游 GGCAACTTCCAAGTCTCCGATGTC	106
	下游 TGAGTCACACGCAGCATACACAC	
Caspase-1	上游 TTGCTTTCTGCTCTTCAACACC	123
	下游 TGTCTCTCAAGTCACAAGACC	
β-actin	上游 GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA	150
	下游 GACTCATCGTACTCCTGCTTGCTG	

指标浓度。

2.11 免疫荧光染色(IF)检测大鼠小胶质细胞焦亡率 将石蜡切片脱蜡至水后,浸泡于乙二胺四乙酸(EDTA)溶液在微波高温下进行抗原修复。磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗后,圈定组织区域,先后经自发荧光淬灭剂及牛血清白蛋白(BSA)封闭处理。随后依次进行GSDMD(1:100)及Iba-1(1:100)的一抗及其对应荧光二抗(1:1 000)的孵育,4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染核。封片后于荧光显微镜下观察,Image J软件(版本1.46r)分析图像。通过细胞计数法计算小胶质细胞焦亡率,小胶质细胞焦亡率=Iba1+GSDMD+细胞数/Iba1+细胞数×100%。

2.12 透射电镜观察小胶质细胞膜孔洞形成 取电镜液固定后的组织,在1%锇酸中室温固定2 h,PBS漂洗。梯度酒精脱水后,依次用1:1的丙酮-812包埋剂及纯812包埋剂渗透过夜,60℃聚合48 h。切取60~80 nm切片,并用醋酸铀、枸橼酸铅双染色各15 min,室温干燥后透射电镜观察图像并采集分析。

2.13 统计学方法 使用SPSS 26.0软件进行统计分析,多组间数据比较首先进行正态性检验和方差齐性检验,若数据符合正态分布且方差齐性,则多组间比较采用单因素方差分析,神经功能评分为重复测量数据,采用两因素重复测量方差分析进行统计分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对脑梗死瘀热证大鼠宏观表征的影响 模型组大鼠表现为爬行时向患侧倾斜或转圈,精神萎靡,毛色枯槁,唇舌暗紫、舌体歪斜,耳廓散在瘀点,尾尖暗红充血,烦躁或抑郁,伴大便干结、尿黄量少。与模型组比较,依达拉奉组及抵当汤中、高剂量组大鼠症状明显改善,爬行仅呈轻度偏侧,毛发

较光亮,唇舌转红润,耳廓瘀斑淡化,社交活动增加,尤以抵当汤高剂量组效果更显著。

3.2 对脑梗死瘀热证大鼠神经功能的影响 与假手术组比较,模型组大鼠7 d内 mNSS评分均显著升高($P<0.01$);与模型组比较,抵当汤高剂量组大鼠评

分在第5、7天显著降低($P<0.01$),抵当汤中剂量组评分在第7天明显降低($P<0.05$),抵当汤低剂量组则差异无统计学意义。与依达拉奉组比较,抵当汤高剂量组评分在7 d内差异无统计学意义。见表2。

表2 抵当汤对脑梗死瘀热证大鼠mNSS评分的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effect of Didang Tang on mNSS scores in rats with cerebral infarction of stasis-heat syndrome ($\bar{x}\pm s, n=10$)						分
组别	剂量/g·kg ⁻¹	1 d	3 d	5 d	7 d	
假手术组		0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	
模型组		11.50±1.96 ¹⁾	10.80±2.49 ¹⁾	9.60±1.90 ¹⁾	8.90±1.85 ¹⁾	
抵当汤低剂量组	0.95	11.10±1.60	10.90±1.66	9.30±1.57 ⁴⁾	8.30±1.70 ⁵⁾	
抵当汤中剂量组	1.89	11.20±2.04	9.10±1.60	8.00±1.89	6.90±1.97 ^{2,4)}	
抵当汤高剂量组	3.78	10.60±2.07	8.90±1.79	7.00±1.76 ³⁾	4.70±0.82 ³⁾	
依达拉奉组	3.20×10 ⁻³	10.70±1.95	9.20±2.49	7.20±1.93 ²⁾	5.00±1.49 ³⁾	

注:与假手术组比较¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较²⁾ $P<0.05$,³⁾ $P<0.01$;与依达拉奉组比较⁴⁾ $P<0.05$,⁵⁾ $P<0.01$ (表3和表4同)

3.3 对脑梗死瘀热证大鼠全血及血浆黏度的影响 与假手术组比较,模型组WBV低、中、高切及PV均显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$);与模型组比较,抵当汤高剂量组和依达拉奉组WBV低、中、

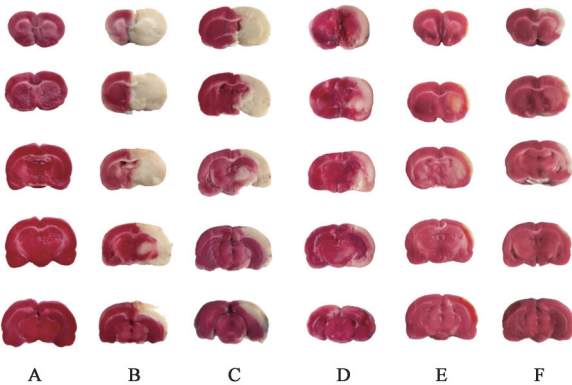
高切及PV均明显降低,差异有统计学意义($P<0.05, P<0.01$),其中抵当汤高剂量效果最佳。与依达拉奉组比较,抵当汤高剂量组WBV及PV差异均无统计学意义。见表3。

表3 抵当汤对脑梗死瘀热证大鼠血液流变学的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Effect of Didang Tang on hemorheology in rats with cerebral infarction of stasis-heat syndrome ($\bar{x}\pm s, n=10$)						mPa·s
组别	剂量/g·kg ⁻¹	WBV			PV	
		低切(5 s ⁻¹)	中切(50 s ⁻¹)	高切(200 s ⁻¹)		
假手术组		11.38±1.94	5.11±1.72	4.12±1.42	1.14±0.06	
模型组		18.88±0.84 ¹⁾	8.18±1.08 ¹⁾	6.35±1.12 ¹⁾	2.13±0.41 ¹⁾	
抵当汤低剂量组	0.95	17.22±0.60 ⁴⁾	7.84±0.55 ⁴⁾	6.30±0.56 ⁴⁾	1.41±0.13 ^{3,4)}	
抵当汤中剂量组	1.89	15.42±1.04 ^{3,4)}	7.17±0.61 ^{2,4)}	6.01±0.74 ⁴⁾	1.35±0.08 ^{3,4)}	
抵当汤高剂量组	3.78	13.11±1.05 ³⁾	6.09±1.02 ³⁾	4.85±0.97 ²⁾	1.15±0.07 ³⁾	
依达拉奉组	3.20×10 ⁻³	13.02±0.93 ³⁾	6.07±1.02 ³⁾	4.73±0.80 ³⁾	1.13±0.06 ³⁾	

3.4 对脑梗死瘀热证大鼠脑梗死体积率的影响 与假手术组比较,模型组大鼠的梗死体积率显著增大($P<0.01$),主要累及大脑中动脉供血的皮质区;与模型组比较,各剂量抵当汤组梗死体积率均明显减小($P<0.05, P<0.01$),其中抵当汤高剂量组最为显著。与依达拉奉组比较,抵当汤高剂量组梗死体积率差异无统计学意义。综合以上结果,后续机制研究采用高剂量抵当汤进行实验。见图1与表4。

3.5 对脑梗死瘀热证大鼠缺血脑组织病理形态学影响 HE染色显示,假手术组大鼠脑皮质区细胞完整,核仁居中且明显,排列呈规则的层状结构;模型组细胞数量较假手术组显著减少,可见大面积嗜酸性染色无细胞区域,残存细胞体积缩小,胞核固缩呈



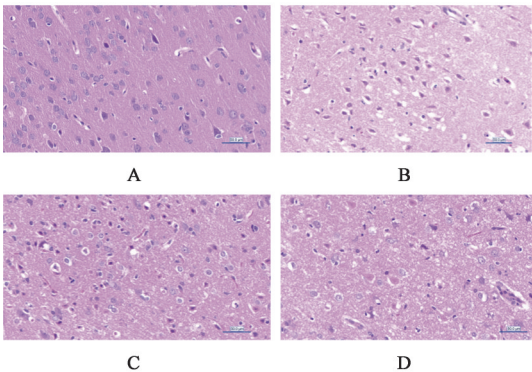
注:A.假手术组;B.模型组;C.抵当汤低剂量组;D.抵当汤中剂量组;E.抵当汤高剂量组;F.依达拉奉组

图1 抵当汤对脑梗死瘀热证大鼠脑梗死体积的影响
Fig. 1 Effect of Didang Tang on cerebral infarct volume in rats with cerebral infarction of stasis-heat syndrome

表 4 抵当汤对脑梗死瘀热证大鼠脑梗死体积率的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)
Table 4 Effect of Didang Tang on cerebral infarct volume ratio in rats with cerebral infarction of stasis-heat syndrome ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	脑梗死体积率/%
假手术组		0.00±0.00
模型组		0.39±0.04 ¹⁾
抵当汤低剂量组	0.95	0.31±0.06 ^{2,4)}
抵当汤中剂量组	1.89	0.26±0.05 ^{3,4)}
抵当汤高剂量组	3.78	0.17±0.03 ³⁾
依达拉奉组	3.20×10 ⁻³	0.15±0.03 ³⁾

深紫色碎块状,胞质内可见大量空泡;抵当汤高剂量组与 AG490 组残存细胞形态轻度不规则,部分胞核轻微碎裂或边缘化,胞质内空泡数量较模型组减少,细胞间隙略有增宽但明显优于模型组。尼氏染色显示,假手术组大鼠神经元尼氏体丰富,结构完整,未见变性或坏死迹象;模型组大鼠神经元排列紊乱,层状结构消失,细胞间隙显著增宽。抵当汤高剂量组与 AG490 组神经元排列较模型组有所改善,胞质空泡减少,提示水肿减轻。见图 2 与图 3。



注:A.假手术组;B.模型组;C.抵当汤高剂量组;D.AG490 组(图 3-图 6 同)

图 2 抵当汤对脑梗死瘀热证大鼠缺血侧脑组织病理形态的影响 (HE,×400)

Fig. 2 Effect of Didang Tang on pathological morphology of ischemic cerebral tissue in rats with cerebral infarction of blood stasis-heat syndrome (HE,×400)

3.6 对脑梗死瘀热证大鼠脑组织焦亡及 JAK2/STAT3 通路蛋白水平的影响 与假手术组比较,模型组大鼠脑组织中 NLRP3、ASC 和 Caspase-1 的相对表达量显著升高,GSDMD 及其剪切产物 GSDMD-N 的表达水平也显著增加,JAK2、STAT3 磷酸化水平显著升高($P<0.01$);与模型组比较,抵当汤高剂量组焦亡相关蛋白表达明显降低($P<0.05, P<0.01$), JAK2、STAT3 磷酸化水平显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。与 AG490 组比较,抵当汤高剂量组上述

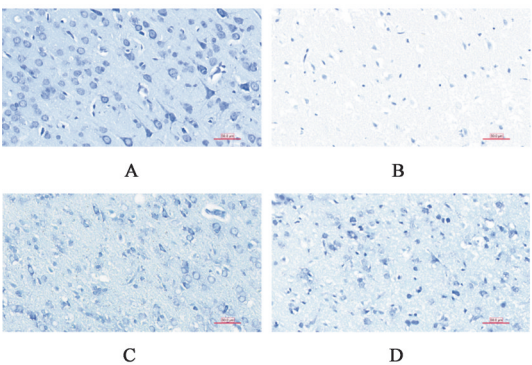


图 3 抵当汤对脑梗死瘀热证大鼠缺血侧脑组织病理形态的影响 (尼氏,×400)

Fig. 3 Effect of Didang Tang on pathological morphology of ischemic brain tissue in rats with cerebral infarction of blood stasis-heat syndrome (Nissl, ×400)

蛋白表达量差异无统计学意义。见图 4、表 5、表 6。

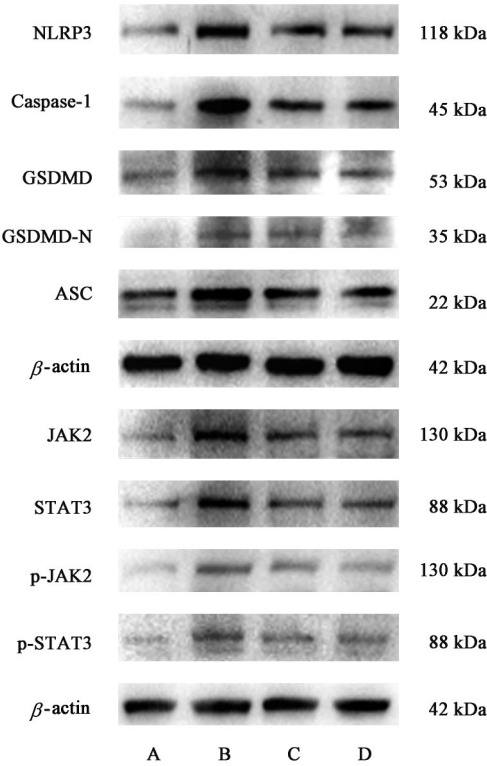


图 4 各组大鼠焦亡相关蛋白及 JAK2/STAT3 信号通路蛋白表达电泳
Fig. 4 Electrophoresis of pyroptosis-related proteins and JAK2/STAT3 signal pathway proteins expression in different groups of rats

3.7 对脑梗死瘀热证大鼠脑组织焦亡相关基因 mRNA 表达水平的影响 与假手术组比较,模型组缺血侧脑组织中 NLRP3、Caspase-1 和 GSDMD 的 mRNA 表达水平显著升高($P<0.01$);与模型组比较,抵当汤高剂量组和 AG490 组上述 mRNA 表达水平均显著降低($P<0.01$);与 AG490 组比较,抵当汤高剂量组表达水平差异无统计学意义。见表 7。

表5 抵挡汤对脑梗死瘀热证大鼠脑组织细胞焦亡相关蛋白表达量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

Table 5 Effect of Didang Tang on expression of pyroptosis-related proteins in brain tissue of rats with cerebral infarction of stasis-heat syndrome ($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	NLRP3/β-actin	GSDMD/β-actin	GSDMD-N/β-actin	Caspase-1/β-actin	ASC/β-actin
假手术组		0.56±0.13	0.52±0.01	0.35±0.07	0.38±0.13	0.43±0.22
模型组		1.19±0.21 ¹⁾	1.32±0.38 ¹⁾	1.10±0.27 ¹⁾	1.25±0.34 ¹⁾	1.20±0.45 ¹⁾
抵挡汤高剂量组	3.78	0.84±0.08 ³⁾	0.88±0.19 ²⁾	0.69±0.03 ³⁾	0.70±0.11 ³⁾	0.77±0.10 ²⁾
AG490组	5×10 ⁻³	0.73±0.26 ²⁾	0.77±0.24 ²⁾	0.62±0.10 ³⁾	0.64±0.17 ³⁾	0.74±0.02 ²⁾

注：与假手术组比较¹⁾P<0.01；与模型组比较²⁾P<0.05，³⁾P<0.01(表6-表9同)

表6 抵挡汤对脑梗死瘀热证大鼠脑组织 JAK2/STAT3 信号通路的影响 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

Table 6 Effect of Didang Tang on JAK2/STAT3 signal pathway in brain tissue of rats with cerebral infarction of stasis-heat syndrome ($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	p-JAK2/JAK2	p-STAT3/STAT3
假手术组		0.54±0.07	0.55±0.09
模型组		0.95±0.02 ¹⁾	0.93±0.06 ¹⁾
抵挡汤高剂量组	3.78	0.80±0.07 ³⁾	0.78±0.07 ³⁾
AG490组	5×10 ⁻³	0.81±0.07 ³⁾	0.83±0.05 ²⁾

3.8 对脑梗死瘀热证大鼠血清炎症因子水平的影响 与假手术组比较,模型组 IL-6、IL-1β、IL-18 及 TNF-α 的水平显著升高,差异具有统计学意义(P<0.01);与模型组比较,抵挡汤高剂量组和 AG490 组

表7 抵挡汤对脑梗死瘀热证大鼠脑组织焦亡相关 mRNA 表达水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=4$)

Table 7 Effect of Didang Tang on relative expression levels of pyroptosis-related mRNAs in brain tissue of rats with cerebral infarction of stasis-heat syndrome ($\bar{x}\pm s, n=4$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	NLRP3	GSDMD	Caspase-1
假手术组		1.02±0.24	1.00±0.05	1.00±0.05
模型组		6.18±0.45 ¹⁾	5.42±0.31 ¹⁾	3.06±0.08 ¹⁾
抵挡汤高剂量组	3.78	2.31±0.30 ³⁾	1.70±0.12 ³⁾	1.49±0.30 ³⁾
AG490组	5×10 ⁻³	2.40±0.43 ³⁾	1.78±0.08 ³⁾	1.56±0.29 ³⁾

IL-6、IL-1β、IL-18 和 TNF-α 水平均明显降低,差异具有统计学意义(P<0.05, P<0.01)。与 AG490 组比较,抵挡汤高剂量组上述炎症因子水平差异无统计学意义。见表8。

表8 抵挡汤对各组大鼠血清炎症因子含量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 8 Effect of Didang Tang on serum inflammatory cytokine levels in rats with cerebral infarction of stasis-heat syndrome ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	IL-6	IL-1β	TNF-α	IL-18
假手术组		34.77±6.75	44.87±5.30	64.69±5.45	119.30±5.58
模型组		82.33±7.61 ¹⁾	134.68±34.87 ¹⁾	116.14±22.09 ¹⁾	292.26±11.49 ¹⁾
抵挡汤高剂量组	3.78	41.20±9.64 ³⁾	62.87±12.66 ²⁾	73.37±26.30 ²⁾	241.38±9.23 ³⁾
AG490组	5×10 ⁻³	52.32±16.08 ³⁾	51.24±15.62 ³⁾	75.84±18.68 ²⁾	246.56±26.50 ³⁾

3.9 对脑梗死瘀热证大鼠小胶质细胞焦亡水平的影响 IF 染色显示,与假手术组比较,模型组 Iba-1、GSDMD 与 DAPI 荧光面积之比及小胶质细胞焦亡率显著升高(P<0.01);与模型组比较,抵挡汤高剂量组及 AG490 组 Iba-1、GSDMD 与 DAPI 荧光面积之比及焦亡率明显下降,差异有统计学意义(P<0.05, P<0.01)。见图5与表9。

3.10 对脑梗死瘀热证大鼠小胶质细胞膜孔洞形成的影响 电镜观察下,假手术组小胶质细胞形态正常,轮廓光滑,核膜完整;模型组可见胞膜多处破裂及膜孔形成,胞浆电子密度降低并伴大范围空泡化。与模型组比较,抵挡汤高剂量组和 AG490 组膜孔数量显著减少。见图6。

4 讨论

脑梗死在中医中可归为“中风病”范畴,病位在脑,病机同时涉及心、肝、脾、肾四脏。《伤寒论·太阳病篇》首次提出“瘀热”的概念,为瘀热理论的发展奠定了基础^[15]。瘀热阻窍证是中风急性期常见的一种证型,其中血热和血瘀是其重要的初始病理因素。瘀阻之后,因瘀致热,由热蕴毒,热毒互相搏结,进而损伤脑中元神^[6]。本研究建立脑梗死瘀热互结证的复合动物模型,并从该角度探讨抵挡汤的干预作用。

从病理机制上看,脑梗死所引起的神经炎症反应是造成伤害的主要机制之一^[16-17]。脑梗死患者脑缺血/再灌注直接导致脑络痹阻,脑络损伤,血液运

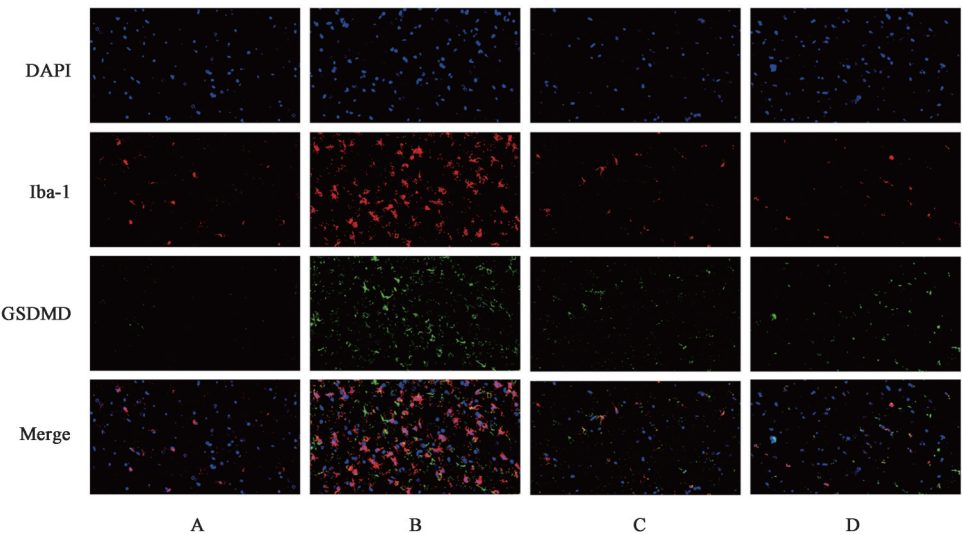


图5 抵当汤对脑梗死瘀热证大鼠缺血侧皮质区GSDMD⁺与Iba-1⁺共表达的影响(×400)
Fig. 5 Effect of Didang Tang on co-expression of GSDMD⁺ and Iba-1⁺ in ischemic cortex of rats with cerebral infarction of stasis-heat syndrome (×400)

表9 抵当汤对脑梗死瘀热证大鼠缺血侧皮质区GSDMD与Iba-1荧光面积的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 9 Effect of Didang Tang on expression levels of GSDMD and Iba-1 in ischemic cortex of rats with cerebral infarction of stasis-heat syndrome ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	Iba-1/DAPI	GSDMD/DAPI	小胶质细胞 焦亡率/%
假手术组		0.29±0.05	0.09±0.03	1.71±2.69
模型组		1.78±0.71 ¹⁾	1.32±0.41 ¹⁾	13.67±1.60 ¹⁾
抵当汤高剂量组	3.78	0.92±0.41 ²⁾	0.44±0.16 ³⁾	11.05±1.88 ²⁾
AG490组	5×10 ⁻³	0.81±0.64 ²⁾	0.52±0.42 ³⁾	9.77±1.94 ³⁾

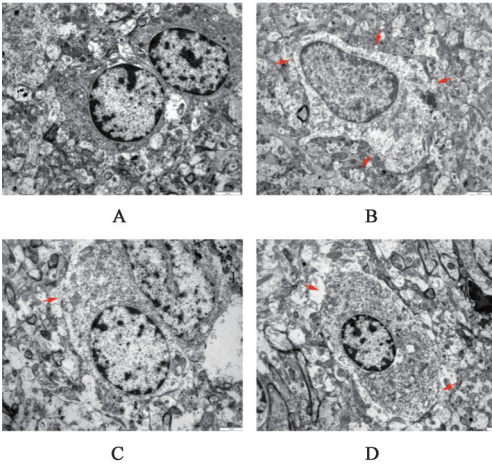


图6 各组脑梗死瘀热证大鼠缺血侧皮质区小胶质细胞超微结构观察(透射电镜,×2 500)
Fig. 6 Ultrastructural observation of Microglia in ischemic cortical region of rats with cerebral infarction of stasis-heat syndrome (TEM, ×2 500)

行不畅,同时血管活性物质比例失调,血管舒缩紊乱,凝血机制紊乱,形成中医“瘀血”阻滞的病理基

础。再灌注加剧氧化应激并导致促炎细胞因子的释放增加,从而触发一系列炎症级联反应^[18-19]。炎症因子大量释放,活性氧、过氧化脂质、兴奋性神经毒素等聚集,与脑梗死“热毒”蕴结病机紧密契合。在CIRI病理过程中,持续性的炎症不仅抑制组织再生^[20-21],还会破坏血脑屏障,加重炎症级联反应,激活更多神经胶质细胞和星形胶质细胞,最终导致神经细胞死亡^[22-23]。有研究提出将脑梗死瘀热证与栓炎反应相关联,将脑梗死后的血液流变性、凝血因子等因素归为“瘀”,而这些因素所导致的炎症即为“热”^[24]。中医理论认为,瘀热证的核心病机在于“瘀”与“热”相互搏结,互为因果。瘀血阻滞脑络,气血运行失常,郁而化热生火;火热燔灼津血,又进一步加重瘀滞,形成恶性循环^[25]。本研究所采用的角叉菜胶(致瘀)联合干酵母(致热)法,正是通过诱导血液高凝状态与全身炎症反应,模拟了脑梗死急性期“瘀热阻窍”的病理状态。实验结果显示,模型组大鼠不仅呈现唇舌暗紫、耳廓瘀斑、体温升高等典型瘀热表征,其血液流变学指标全血黏度、血浆黏度亦显著升高,同时伴随血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等促炎因子大量释放,表明“血瘀”与“热毒”在微观层面分别与血液高黏滞状态和神经炎症反应有很大关联。脑梗死后细胞发生水肿,这与《金匱要略》中“血不利则为水”的病机理论相吻合,揭示了瘀血与水肿之间的因果转化关系,成为“血瘀”与“热毒”在微观层面的物质基础。

本研究进一步发现,瘀热证在微观层面可能与神经炎症及小胶质细胞焦亡密切相关。小胶质细

胞是急性脑损伤中最早应答的非神经元细胞,其M1表型分泌促炎因子^[26],M2表型则发挥抗炎、修复作用^[27]。小胶质细胞向M2表型大量极化产生的炎症环境可能损伤神经元及血脑屏障^[28],但其异常死亡又会削弱神经保护功能^[29]。因此,调控小胶质细胞活化与死亡是干预脑梗死的关键环节。当缺血/再灌注、氧化应激、炎症等危险信号激活NLRP3炎症小体时,可诱导持续性炎症反应^[30-31]。脑缺血后,NLRP3在小胶质细胞中率先引发细胞焦亡,活化Caspase-1,一方面剪切GSDMD形成膜孔导致细胞破裂,GSDMD的核心功能是介导细胞焦亡,在炎症反应调控中发挥关键作用,通过形成细胞膜孔道释放炎症因子;另一方面促进IL-1 β 、IL-18成熟释放,放大炎症级联反应^[32-35]。本研究中,模型组大鼠缺血侧脑组织中NLRP3、Caspase-1、GSDMD等焦亡相关蛋白表达及mRNA表达水平显著上调,小胶质细胞焦亡率显著升高,透射电镜下可见典型的细胞膜孔洞形成,这些指标揭示了“瘀热搏结”在细胞水平的病理本质。小胶质细胞在缺血缺氧及炎症刺激下被过度激活,发生焦亡,释放大量炎症因子,形成“热毒”。同时,焦亡释放的炎症因子进一步激活血小板和凝血系统,加重“血瘀”。瘀与热在小胶质细胞焦亡这一节点上实现了耦合。

JAK2/STAT3信号通路是存在于细胞质中的重要信号转导途径,在多种神经退行性疾病中发挥抑制神经炎症的作用^[36-37]。该通路与小胶质细胞介导的焦亡可能存在交联作用,脑缺血后JAK2/STAT3激活可促进NLRP3炎症小体组装,而STAT3缺失则降低NLRP3启动子区组蛋白乙酰化水平,抑制其组分表达,证实STAT3对NLRP3具有直接调控作用^[38]。本研究显示,高剂量抵当汤可抑制JAK2/STAT3信号通路过度活化,下调NLRP3、Caspase-1及GSDMD的蛋白与mRNA表达,减少IL-18、IL-1 β 释放,缓解小胶质细胞焦亡及膜孔形成。方中水蛭、虻虫破血逐瘀,直入脑络以消瘀散结,针对“血瘀”之本;大黄泻热攻积、通腑降浊,导热下行以解“热毒”之标;桃仁活血化瘀,助水蛭、虻虫破血之力,兼润燥通腑,四药合用,共奏“破血逐瘀、泄热攻积”之功,作用涵盖改善血液流变学、调控炎症反应等多个环节。本研究发现,抵当汤高剂量组干预后,大鼠全血黏度和血浆黏度显著降低,炎症因子水平明显下降,JAK2/STAT3信号通路激活被抑制,NLRP3炎症小体组装受阻,小胶质细胞焦亡显著减轻。这一结果揭示了抵当汤“化瘀清热”功效的分子机制

可能为通过抑制JAK2/STAT3信号通路阻断小胶质细胞焦亡,从而切断“瘀热相搏”的根本病机。其中,JAK2/STAT3信号通路作为调控炎症反应的关键信号节点,正是瘀热搏结在分子层面的重要枢纽,抵当汤通过干预该通路,实现了“破瘀”与“泄热”的双重功效。

综上,本研究从现代医学角度部分揭示了脑梗死瘀热证的生物学基础,并为抵当汤治疗脑梗死瘀热证提供了实验依据,值得进一步推广。然而,本研究仍存在一些局限性:第一,本研究建立的动物模型虽通过复合刺激模拟了中医瘀热证的特征,但模型大鼠的“瘀热”体征与临床患者的复杂证候表现仍存在差异,且缺乏规范化的评分量表;第二,本研究尚未在体外通过细胞培养及干预等手段直接验证抵当汤对小胶质细胞焦亡的作用;第三,本研究主要聚焦于JAK2/STAT3/NLRP3信号通路,但小胶质细胞焦亡的调控网络复杂,与其他通路的串扰仍有待探索。未来研究可从以下角度深入开展:建立规范化瘀热证评分量表;慢病毒转染技术建立JAK2过表达模型,进一步明确抵当汤的作用靶点;建立BV-2小胶质细胞氧剥夺-复氧模型,验证抵当汤关键活性成分对小胶质细胞焦亡的直接调控作用。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] GBD 2021 Stroke Risk Factor Collaborators. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990-2021: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021 [J]. *Lancet Neurol*, 2024, 23(10): 973-1003.
- [2] NIE X, LENG X, MIAO Z, et al. Clinically ineffective reperfusion after endovascular therapy in acute ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2023, 54(3): 873-881.
- [3] ZHOU C, LI J, ZHENG C, et al. Neuroprotective effects of Jie-du-huo-xue decoction on microglia pyroptosis after cerebral ischemia and reperfusion-From the perspective of glial-vascular unit [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 318(Pt B): 116990.
- [4] BERGSBAKEN T, FINK S L, COOKSON B T. Pyroptosis: Host cell death and inflammation [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2009, 7(2): 99-109.
- [5] 刘慧慧,袁华,胡国恒,等.王行宽教授运用健脑通络汤辨治缺血性脑卒中恢复期临床经验[J].*中国中医急症*, 2024, 33(8): 1470-1473.
- LIU H H, YUAN H, HU G H, et al. Clinical experience of Professor Wang Xingkuan in treating convalescent stage of ischemic stroke with Jiannao Tongluo decoction [J]. *J Emerg Tradit Chin Med*, 2024, 33(8): 1470-1473.

- [6] 陆语迪. 瘀热方通过调控ROS/NLRP3对瘀热阻窍证急性缺血性脑卒中的脑保护作用研究[D]. 南京:南京中医药大学, 2022.
- LU Y D. Study on the neuroprotective effects of Yure decoction in acute ischemic stroke with stasis-heat obstruction syndrome via regulation of the ROS/NLRP3 pathway [D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2022.
- [7] 周仲瑛. 瘀热相搏证的系列研究(一)[J]. 天津中医药大学学报, 2008, 27(3): 151-155.
- ZHOU Z Y. Series study on stasis-heat syndrome (I) [J]. J Tianjin Univ Tradit Chin Med, 2008, 27(3): 151-155.
- [8] 冯丽娜, 黎明全, 任吉祥. 基于补体及凝血级联通路及PI3K-Akt信号通路探究抵挡汤对急性出血性脑卒中大鼠蛋白组学的影响[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(14): 3049-3057.
- FENG L N, LI M Q, REN J X. Proteomic analysis of the effects of Didang decoction on acute hemorrhagic stroke in rats based on the complement and coagulation cascade pathways and the PI3K-Akt signaling pathway [J]. Chin J Gerontol, 2021, 41(14): 3049-3057.
- [9] SONG Z G, LIU Y S, DAI S S, et al. The integration strategy of Didang decoction against cerebral ischemia-reperfusion injury: Regulation of apoptosis-autophagy-inflammation network and validation of PI3K/Akt pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2025, 353(Pt A): 120277.
- [10] ZHONG Y, YIN B, YE Y, et al. The bidirectional role of the JAK2/STAT3 signaling pathway and related mechanisms in cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. Exp Neurol, 2021, 341: 113690.
- [11] YU L, ZHANG Y, CHEN Q, et al. Formononetin protects against inflammation associated with cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by targeting the JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 149: 112836.
- [12] JIANG L, YANG J, MA H, et al. Decabromodiphenyl ether (BDE-209) induces learning and memory impairment via JAK2/STAT3/NLRP3 axis-mediated pyroptosis and neuroinflammation [J]. Chem Biol Interact, 2025, 419: 111665.
- [13] 邓家刚, 郝二伟, 杜正彩, 等. 中医瘀热互结证大鼠模型的建立及评价[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(3): 402-405.
- DENG J G, HAO E W, DU Z C, et al. The establishment and evaluation of the model rats of blood stasis and heat accumulation syndrome [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2012, 32(3): 402-405.
- [14] 罗静莉, 袁利, 明玥, 等. 山莨菪碱抑制JAK2/STAT3的磷酸化缓解博莱霉素诱导的大鼠肺纤维化及病理损伤[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(5): 529-534.
- LUO J L, YUAN L, MING Y, et al. Anisodamine alleviates bleomycin-induced pulmonary fibrosis and pathological injury in rats by inhibiting phosphorylation of JAK2/STAT3 [J]. Chin J Immunol, 2021, 37(5): 529-534.
- [15] 龚杰, 林朝亮, 成向进, 等. 瘀热方治疗急性缺血性脑卒中瘀热证临床研究[J]. 山东中医杂志, 2023, 42(2): 132-136.
- GONG J, LIN C L, CHENG X J, et al. Clinical study of Yure formula for acute ischemic stroke with stasis-heat syndrome [J]. Shandong J Tradit Chin Med, 2023, 42(2): 132-136.
- [16] ZHAO Y, ZHANG X, CHEN X, et al. Neuronal injuries in cerebral infarction and ischemic stroke: From mechanisms to treatment (Review) [J]. Int J Mol Med, 2022, 49(2): 15.
- [17] WU P F, ZUI Z, FANG W, et al. Natural compounds from traditional medicinal herbs in the treatment of cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. Acta Pharmacol Sin, 2010, 31(12): 1523-1531.
- [18] JURCAU A, SIMION A. Neuroinflammation in cerebral ischemia and ischemia/reperfusion injuries: From pathophysiology to therapeutic strategies [J]. Int J Mol Sci, 2021, 23(1): 14.
- [19] KWON H S, KOH S. Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: The roles of microglia and astrocytes [J]. Transl Neurodegener, 2020, 9(1): 42.
- [20] PRZYKAZA Ł. Understanding the connection between common stroke comorbidities, their associated inflammation, and the course of the cerebral ischemia/reperfusion cascade [J]. Front Immunol, 2021, 12: 782569.
- [21] KARVE I P, TAYLOR J M, CRACK P J. The contribution of astrocytes and microglia to traumatic brain injury [J]. Br J Pharmacol, 2016, 173(4): 692-702.
- [22] ALSBROOK D L, NAPOLI M D, BHATIA K, et al. Neuroinflammation in acute ischemic and hemorrhagic stroke [J]. Curr Neurol Neurosci Rep, 2023, 23(8): 407-431.
- [23] CAI L, FAN Q, PANG R, et al. Microglia programmed cell death in neurodegenerative diseases and CNS injury [J]. Apoptosis, 2025, 30(1/2): 446-465.
- [24] 周静, 梅志刚. 基于“栓炎反应”探讨缺血性中风瘀热证的生物学实质及中医药防治研究现状[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(23): 6533-6540.
- ZHOU J, MEI Z G. Biological essence of blood stasis-heat syndrome in ischemic stroke and current research status of traditional Chinese medicine prevention and treatment based on thromboinflammation reaction [J]. China J Chin Mater Med, 2024, 49(23): 6533-6540.
- [25] 唐蜀华, 范群丽. “瘀热”病机本质探析——周仲瑛国医大师“瘀热”相关学术经验发微之四[J]. 江苏中医药, 2014, 46(10): 1-4.
- TANG S H, FAN Q L. Analysis of the essential pathogenesis of "stasis-heat"-elucidation of Professor ZHOU Zhongying's academic experience on "stasis-heat" (Part IV) [J]. Jiangsu J Tradit Chin Med, 2014, 46(10): 1-4.
- [26] VARIN A, GORDON S. Alternative activation of macrophages: Immune function and cellular biology [J]. Immunobiology, 2009, 214(7): 630-641.
- [27] CHEN A, FANG Z, CHEN X, et al. Microglia-derived TNF- α mediates endothelial necroptosis aggravating blood brain-barrier disruption after ischemic stroke [J]. Cell Death Dis,

- 2019,10(7):487.
- [28] MAYER M G, FISCHER T. Microglia at the blood brain barrier in health and disease[J]. Front Cell Neurosci, 2024, 18:1360195.
- [29] DING R, LI H Y, LIU Y Q, et al. Activating cGAS-STING axis contributes to neuroinflammation in CVST mouse model and induces inflammasome activation and microglia pyroptosis[J]. J Neuroinflammation, 2022, 19(1):137.
- [30] ZHOU R, YAZDI A S, MENU P, et al. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation[J]. Nature, 2011, 469(7329):221-225.
- [31] GONG Z, PAN J, SHEN Q, et al. Mitochondrial dysfunction induces NLRP3 inflammasome activation during cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. J Neuroinflammation, 2018, 15(1):242.
- [32] WANG L, REN W, WU Q, et al. NLRP3 inflammasome activation: A therapeutic target for cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. Front Mol Neurosci, 2022, 15:847440.
- [33] GUO M, ROODSARI S K, CHENG Y, et al. Microglia NLRP3 inflammasome and neuroimmune signaling in substance use disorders[J]. Biomolecules, 2023, 13(6):922.
- [34] GAO L, QIN J X, SHI J Q, et al. Fine particulate matter exposure aggravates ischemic injury via NLRP3 inflammasome activation and pyroptosis[J]. CNS Neurosci Ther, 2022, 28(7):1045-1058.
- [35] ZHANG D, QIAN J, ZHANG P, et al. Gasdermin D serves as a key executioner of pyroptosis in experimental cerebral ischemia and reperfusion model both *in vivo* and *in vitro*[J]. J Neurosci Res, 2019, 97(6):645-660.
- [36] XIAO S N, ZHANG Y, LIU Z H, et al. Alpinetin inhibits neuroinflammation and neuronal apoptosis via targeting the JAK2/STAT3 signaling pathway in spinal cord injury [J]. CNS Neurosci Ther, 2023, 29(4):1094-1108.
- [37] LIU P P, LIU X H, REN M J, et al. Neuronal cathepsin S increases neuroinflammation and causes cognitive decline via CX3CL1-CX3CR1 axis and JAK2-STAT3 pathway in aging and Alzheimer's disease[J]. Aging Cell, 2025, 24(2):e14393.
- [38] ZHU H, JIAN Z H, ZHONG Y, et al. Janus kinase inhibition ameliorates ischemic stroke injury and neuroinflammation through reducing NLRP3 inflammasome activation via JAK2/STAT3 pathway inhibition [J]. Front Immunol, 2021, 12:714943.

[责任编辑 孙丛丛]