

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.22.005

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200915.0957.002.html\(2020-09-15\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200915.0957.002.html(2020-09-15))

丙戊酸钠对大鼠缺血性脑卒中后血管生成及神经保护作用的研究*

廖礼尚, 张明伟[△]

(西南医科大学附属中医医院神经外科, 四川泸州 646000)

[摘要] **目的** 探讨丙戊酸钠(VPA)对大鼠缺血性脑卒中后神经系统功能的保护作用,以及对微血管生成的促进作用。**方法** 50只雄性Wistar大鼠随机分为VPA组(20只)、生理盐水组(Saline组,15只)、对照组(Control组,15只),VPA组、Saline组均行大脑中动脉阻塞(MCAO)手术,Control组不插入线栓;用Morris水迷宫实验检测大鼠脑卒中后的认知能力,通过磁共振成像(MRI)检测脑梗死体积,免疫组织化学观察VPA对小胶质细胞活化的影响并观察脑组织微血管密度,ELISA测定炎症因子的表达,Western blot检测缺血海马组织中乙酰化组蛋白H3(Ac-H3)、血管内皮生长因子(VEGF)和热休克蛋白70(HSP70)的表达。**结果** VPA明显增加大鼠缺血性脑卒中后海马CA1区存活神经元和同侧皮质微血管密度,改善了脑卒中引起的认知功能障碍,并能明显减少缺血后14d的脑梗死区体积百分比。与Saline组比较,VPA组大鼠OX-42阳性表达的小胶质细胞数量明显减少($P<0.05$),白细胞介素-1 β 、肿瘤坏死因子 α 水平明显降低($P<0.05$)。与Saline组比较,VPA组大鼠海马中Ac-H3、VEGF和HSP70水平明显升高($P<0.05$)。**结论** 长期VPA治疗可促进大鼠脑缺血后血管生成和功能恢复,这些作用可能与其抑制缺血诱导的炎症反应,抑制组蛋白脱乙酰化酶和诱导HSP70、VEGF表达有关。

[关键词] 脑缺血;卒中;丙戊酸钠;乙酰化组蛋白;神经保护;血管生成**[中图法分类号]** R743.3**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2020)22-3702-07

Study on the effect of sodium valproate on angiogenesis and neuroprotection after ischemic stroke in rats*

LIAO Lishang, ZHANG Mingwei[△]

(Department of Neurosurgery, Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital, Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the protective effect of sodium valproate (VPA) on the nervous system function after ischemic stroke in rats, and analyse its angiogenesis-promoting effect. **Methods** A total of 50 male Wistar rats were randomly divided into the VPA group (20 rats), the saline group (15 rats) and the control group (15 rats). For rats in the VPA group and the Saline group, global cerebral ischemia were performed with middle cerebral artery occlusion (MCAO), while rats in the control group were treated without line embolism method. Morris water maze test was used to detect the cognitive ability of rats after stroke, the cerebral infarct volume was detected by using magnetic resonance imaging (MRI), the effect of VPA on the activation of microglia and microvessel density were also investigated by immunohistochemistry. The expression of proinflammatory cytokine was determined by using ELISA, and the expression of acetylated histone H3 (Ac-H3), vascular endothelial growth factor (VEGF) and heat shock protein 70 (HSP70) in ischemic hippocampus tissues was detected by using Western blot. **Results** VPA significantly increased the density of surviving neurons in the CA1 region of the hippocampus after transient global ischemia, and markedly enhanced microvessel density. VPA ameliorated severe deficiencies in spatial cognitive performance induced by transient global ischemia, and significantly reduced the percentage of cerebral infarction area 14 d after global ischemia. Compared with the Saline group, the number of microglia with positive expression of OX-42 in the VPA group was significantly reduced ($P<0.05$), and the levels of interleukin-1 β and tumor necrosis factor α were significantly reduced, as well ($P<0.05$). Compared with the Saline group, the levels of Ac-H3, VEGF and

* 基金项目:西南医科大学-西南医科大学附属中医医院联合基金(2017LZLY-J14)。 作者简介:廖礼尚(1984-),主治医师,博士,主要从事颅内肿瘤及血管的基础研究。 [△] 通信作者, E-mail:643034295@qq.com。

HSP70 in the hippocampus of rats in the VPA group were significantly increased ($P < 0.05$).

Conclusion Long-term treated with VPA can promote angiogenesis and functional recovery after cerebral ischemia in rats, which might be related to its suppression of ischemia-induced inflammation response, inhibition of histone deacetylase and induction of HSP70 and VEGF expression.

[Key words] brain ischemia; stroke; sodium valproate; acetylated histone; neuroprotection; angiogenesis

缺血性脑卒中是全球第二大常见死亡原因,也是致残的主要原因之一。尽管目前对缺血后脑损伤的机制认识已经有了很大的进展,但对治疗缺血性脑卒中的药物开发却进展缓慢。脑缺血损伤时导致细胞死亡的机制较为复杂,包括兴奋毒性、离子失衡、氧化应激和炎症反应等^[1-2]。由于中风在普通人群中的发病率越来越高,而且缺乏足够的治疗方法,因此,研究和开发更有效的药物势在必行。丙戊酸钠(VPA)是组蛋白脱乙酰化酶(HDAC)抑制剂,常用于治疗癫痫和双相情感障碍。在神经退行性疾病的细胞和动物模型中,已证明 VPA 在治疗水平上具有神经保护特性。另有研究表明,曲古他汀 A(TSA)也是减少脑缺血后脑损伤的一种药物,VPA 和 TSA 的作用可能与抑制 HDAC 有关,HDAC 可引起染色质的高乙酰化,导致基因表达的改变^[3-4]。因此,本研究探讨 VPA 是否对海马细胞具有神经保护作用,并分析其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组

无特殊病原体(SPF)级 Wistar 大鼠 50 只,体重 200~270 g,购自厦门大学实验动物中心,采用简单随机抽样法分为 VPA 组(20 只)、生理盐水组(Saline 组,15 只)、对照组(Control 组,15 只),VPA 组、Saline 组大鼠均行大脑中动脉阻塞(MCAO)手术。

1.1.2 主要仪器与试剂

VPA 购自美国 Sigma 公司(批号:H32019266);血管内皮生长因子(VEGF)、OX-42、CD31 均购自英国 Abcam 公司(货号分别为 ab32152、ab133357、ab28364);抗乙酰化组蛋白 H3(Ac-H3)及抗热休克蛋白 70(HSP70)均购自美国 Millipore 公司(货号分别为 h9286、SAB2702384)。磁共振成像(MRI)扫描采用 7.0T 核磁共振(德国 Bruker BioSpin 公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型制备及实验干预

VPA 组、Saline 组大鼠吸入麻醉(70% N₂O 和 30% O₂ 中含有 1.5% 异氟醚)下在右颈部行 MCAO 手术:通过颈部中线切口暴露右颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉;将 4-0 尼龙缝合线经右侧颈总动脉穿入右侧颈内动脉,再穿入 Willis 环,阻断右侧大脑中动脉起点,60 min 后取出缝合线;术中使用加热毯将大鼠体温保持在(37.0±0.5)℃。Control 组不插入线栓,其他手术操作同 VPA 组及 Saline 组。待大鼠完全从麻醉中苏醒后,VAP 组大鼠对大鼠神经系统进行评分,剔除没有表现出神经功能缺陷的大鼠。造模成功后,VAP 组大鼠立即予以腹腔注射 VPA(300

mg/kg),以后每 12 小时注射 1 次,持续 14 d;Saline 组大鼠予以等量生理盐水持续 14 d 腹腔注射,其余同 VPA 组。

1.2.2 MRI 检测

MRI 扫描采用 T2 加权成像序列评价梗死体积。扫描参数:层厚 1 mm,视野(FOV)=32 mm×28 mm,矩阵=256×224,分辨率 125 μm,回波时间(TE)=12 ms,重复时间(TR)=3 500 ms,回波列长=16。

1.2.3 Morris 水迷宫实验

用 Morris 水迷宫实验检测大鼠脑卒中后的认知能力,在大鼠缺血性脑卒中后 8~11 d 进行。实验中所有大鼠需找到一个隐藏的透明塑料平台(直径 10 cm),放置在离水迷宫墙壁 50 cm(水迷宫直径 150 cm,深度 60 cm)和离水 1 cm 的地方。每天将该平台随机分配,记录到达隐蔽平台所需的时间和游泳速度。实验期间,大鼠可以在平台上休息 30 s。如果大鼠在 120 s 内未能到达平台,则手动引导其到达平台。

1.2.4 病理检测

造模 14 d 后处死大鼠,取脑组织做石蜡切片,甲酚紫染色。显微镜下计数 CA1 区锥体层中正常锥体细胞数。CD31 免疫组化法检测缺血同侧皮质微血管密度。

1.2.5 Western blot 检测

在组织蛋白提取液中超声裂解海马组织。4℃下以 12 000 r/min 离心裂解产物 10 min,并提取上清液。蛋白质水平测定采用二喹啉甲酸(BCA)法,分离出相同的总蛋白的样品,并转移到硝酸纤维素膜上。用兔抗 VEGF(1:1 000)、兔抗 Ac-H3(1:3 000)、兔抗 HSP70(1:500)孵育过夜。磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗后,室温下二抗孵育 1 h。

1.2.6 ELISA 法检测促炎细胞因子

海马组织在含有蛋白酶抑制剂的混合物[胃蛋白酶 A、抑肽酶、磷酸胺和亮肽各 20 mg/mL,0.5 mmol/L 苯甲磺酰氟(PMSF)和 1 mmol/L 乙二醇二乙醚二胺四乙酸(EGTA)]中经短暂超声处理(10 w,2×5 s),并在 4℃下 100 000 r/min 离心 20 min,取上清液采用 ELISA 法测定白细胞介素-1β(IL-1β)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)。

1.3 统计学处理

采用 SPSS17.0 统计软件分析数据,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用两组独立样本 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 VPA 对缺血性脑卒中诱导的大鼠神经元死亡

的影响

在造模第 14 天,磁共振 T2 图像显示,Saline 组大鼠的脑梗死约占整个大脑的 18%,而 VPA 治疗后(VPA 组)脑梗死约占整个大脑的 13%,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1、2。免疫组织化学显示,与

Control 组相比,Saline 组海马 CA1 区神经元密度明显降低($P < 0.05$),尼氏染色显示萎缩的神经元胞体和固缩的细胞核;而 VPA 组与 Saline 组相比,CA1 区神经元密度明显升高($P < 0.05$),萎缩的神经元胞体和固缩的细胞核也有所好转,见图 3、4。

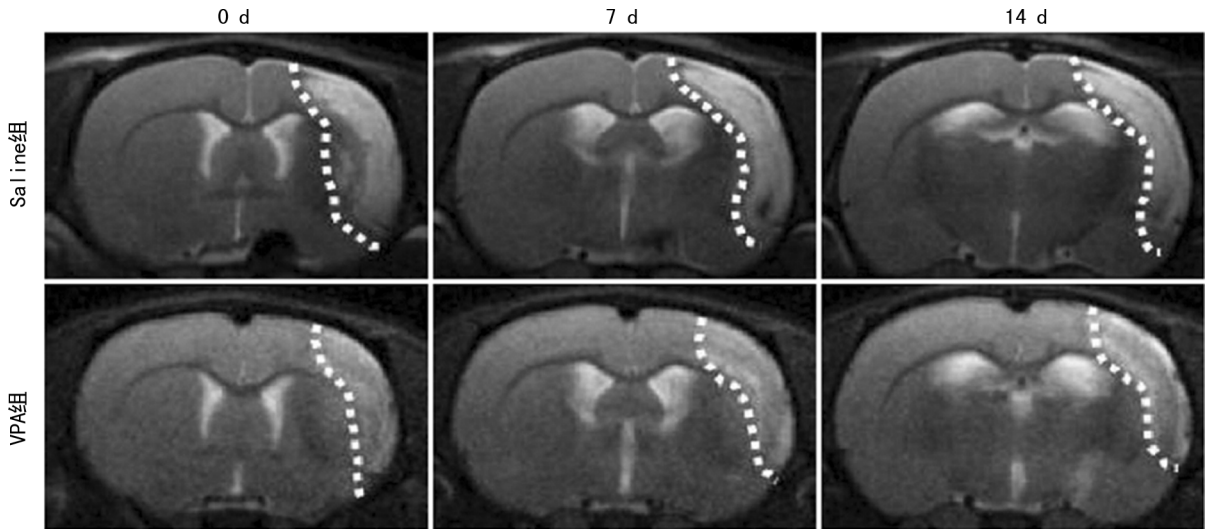
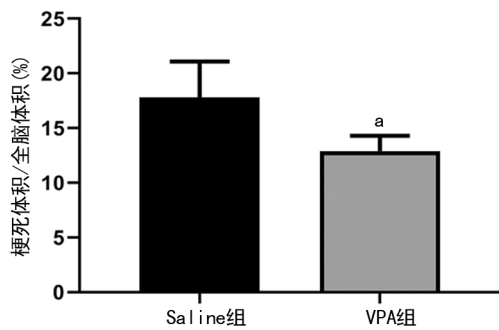


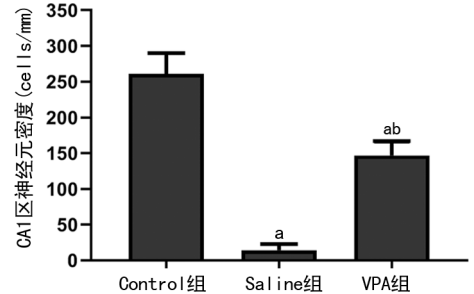
图 1 大鼠缺血性脑卒中后 Saline 组与 VPA 组 MRI 检查 T2 序列



^a: $P < 0.05$, 与 Saline 组比较。

图 2 大鼠缺血性脑卒中后第 14 天梗死区域体积百分比比较

显的功能缺陷,VPA 组较 Saline 组大鼠功能状态有所好转($P < 0.05$),见图 5。



^a: $P < 0.05$, 与 Control 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 Saline 组比较。

图 4 尼氏染色检测大鼠海马 CA1 区残存神经元计数

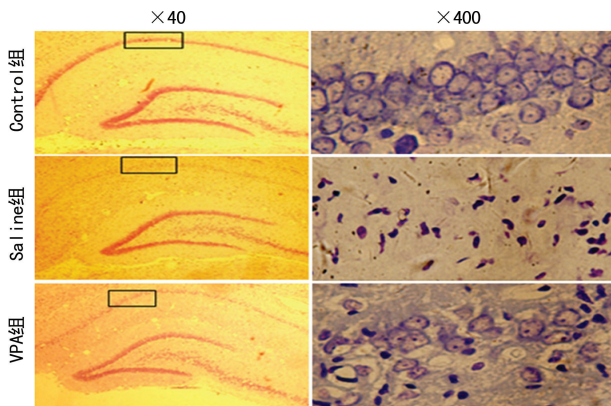
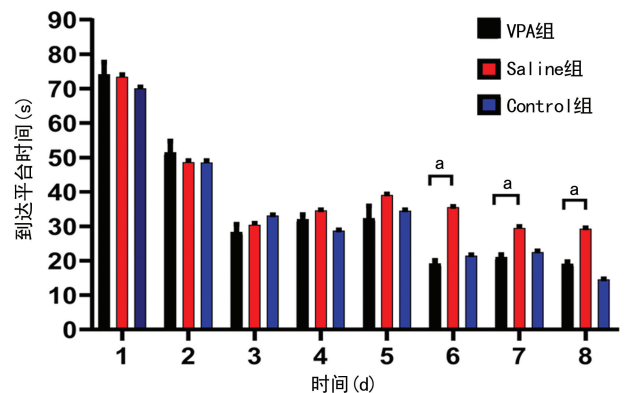


图 3 尼氏染色检测大鼠海马 CA1 区神经元细胞损伤



^a: $P < 0.05$ 。

图 5 各组大鼠 Morris 水迷宫完成任务表现

2.2 VPA 对缺血性脑卒中诱导的脑损伤大鼠空间认知功能的影响

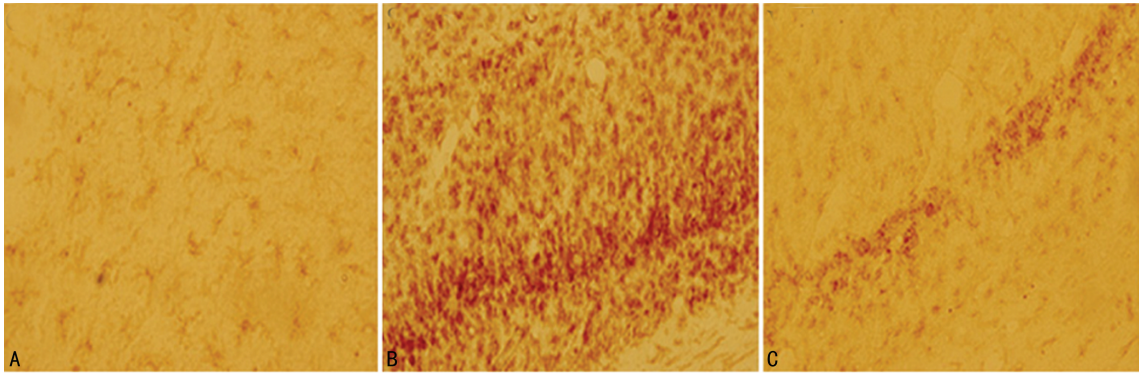
为了评估 CA1 区存活神经元与脑功能状态的相关性,采用 Morris 水迷宫实验检测海马参与学习和记忆功能。Control 组大鼠能够在较短时间内到达隐藏平台;与 Control 组比较,Saline 组大鼠表现出较明

2.3 VPA 对大鼠海马区 OX-42 阳性细胞、IL-1 β 和 TNF- α 水平的影响

评估 VPA 治疗对缺血相关小胶质细胞活化的影响,缺血后 7 d,海马 CA1 区出现了激活的小胶质细胞,经 VPA 处理后(VPA 组),与 Saline 组相比 OX-

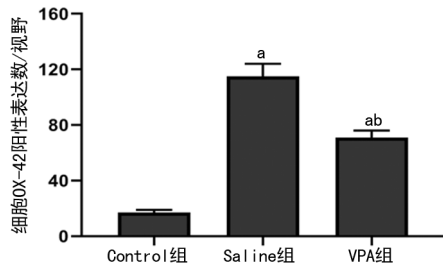
42 阳性表达的小胶质细胞数量明显减少 ($P < 0.05$), 见图 6、7。为了确定 VPA 是否抑制小胶质细胞活化诱导的促炎性因子的上调, 测定海马匀浆中促炎细胞

因子 IL-1 β 和 TNF- α 水平变化。与 Saline 组相比, VPA 组 IL-1 β 和 TNF- α 水平明显降低 ($P < 0.05$), 见图 8。



A: Control 组; B: Saline 组; C: VPA 组。

图 6 各组大鼠海马 CA1 区 OX-42 阳性细胞 (免疫组织化学染色, $\times 400$)



^a: $P < 0.05$, 与 Control 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 Saline 组比较;。

图 7 各组大鼠海马 CA1 区 OX-42 阳性细胞数比较

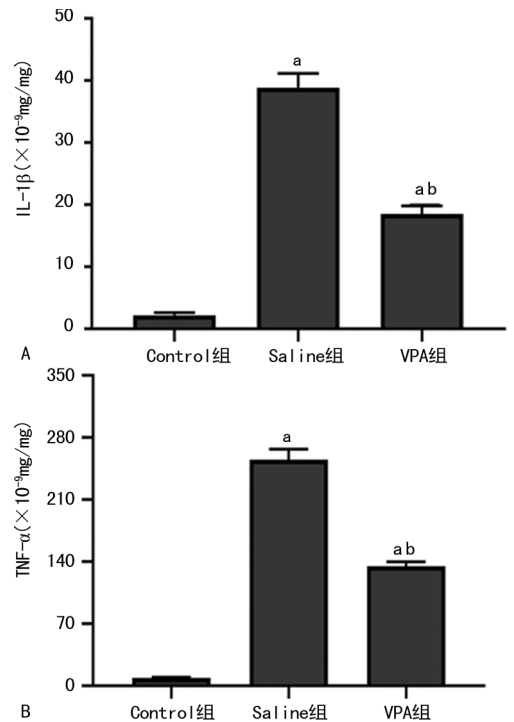
2.4 VPA 对大鼠脑 Ac-H3、VEGF 和 HSP70 水平的影响

为探讨 VPA 对 HDAC 活性的影响, 采用 Western blot 检测海马中 Ac-H3 的表达, 与 Saline 组相比, VPA 组 Ac-H3 表达水平明显增加 ($P < 0.05$)。为了评价 HSP70 在 VPA 神经保护中的作用, 与 Saline 组相比, VPA 组 HSP70 表达水平明显升高 ($P < 0.05$); 同时, VPA 组 VEGF 表达水平也明显高于 Saline 组 ($P < 0.05$), 见图 9。

2.5 VPA 对缺血后血管生成的影响

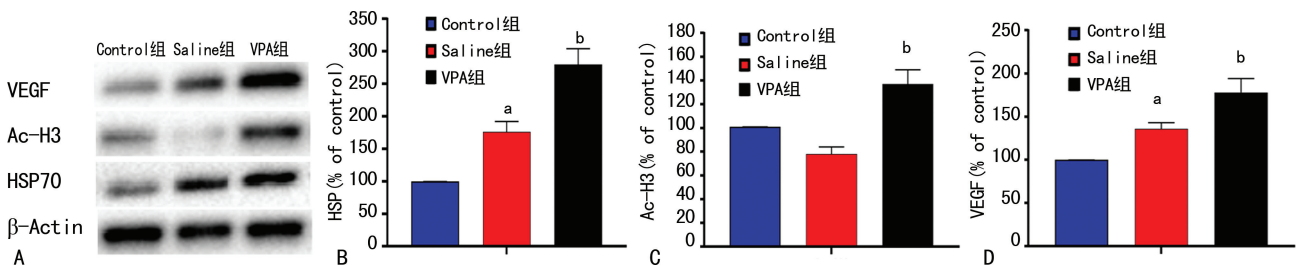
通过对大鼠同侧海马的内皮细胞标志物 CD31 进行免疫组织化学染色分析显示, 与 Control 组及 Saline 组相比, VPA 组给药 14 d 后大鼠海马的微血管

密度明显增加 ($P < 0.05$), 见图 10、11。



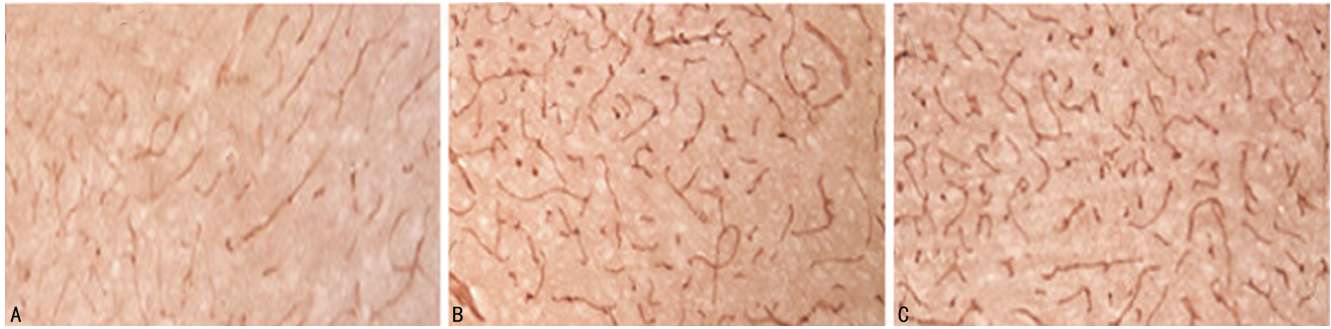
A: IL-1 β 水平比较; B: TNF- α 水平比较; ^a: $P < 0.05$, 与 Control 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 Saline 组比较。

图 8 各组大鼠海马 CA1 区 IL-1 β 及 TNF- α 水平比较



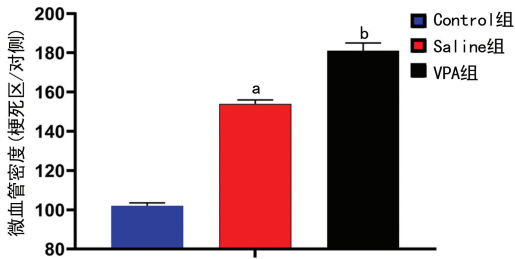
A: Western blot 法测定 VEGF、Ac-H3、HSP70 的蛋白水平; B~D 各组 HSP70、Ac-H3、VEGF 蛋白水平柱状图; ^a: $P < 0.05$, 与 Control 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 Saline 组比较。

图 9 Western blot 检测各组大鼠海马 CA1 区 Ac-H3、HSP70 及 VEGF 的表达



A: Control 组; B: Saline 组; C: VPA 组。

图 10 各组大鼠海马 CA1 区 CD31 阳性细胞(免疫组织化学染色, $\times 200$)



^a: $P < 0.05$, 与 Control 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 Saline 组比较。

图 11 CD31 染色各组大鼠微血管密度比较

3 讨 论

现有研究表明,缺血性脑卒中会导致海马 CA1 区神经元大量丢失,海马损伤的同时会伴随着学习和记忆功能不同程度的损伤^[5-6]。且越来越多的研究发现,在缺血性脑卒中动物模型中,一些抗惊厥药可减少脑损伤并改善部分脑功能^[7-8]。

在本研究中,VPA 组大鼠脑梗死区域体积百分比明显低于 Saline 组,VPA 组比 Saline 组大鼠在水迷宫中有更好的行为学表现,提示 VPA 治疗有助于大鼠缺血后神经元功能的恢复。同时,VPA 治疗后,增加了脑内微血管密度,除增强 HDAC 的抑制作用外,VPA 还增强海马区 VEGF、Ac-H3、HSP70 表达水平,减少了与脑损伤相关炎症反应。

越来越多的证据表明,人和动物脑缺血后的血管再生有助于改善脑组织的微循环。在卒中后早期,VPA 通过抑制 VEGF 及其受体的过度表达来减轻病理性内皮细胞功能。在缺血性恢复期,VEGF 可以增加血脑屏障的通透性,促进脑卒中后的神经血管重建,VPA 通过上调 VEGF 表达促进缺血后血管生成^[9-10]。因此,VPA 在保护缺血后内皮细胞功能方面具有双重作用,早期通过抑制 VEGF 来限制细胞损伤,而晚期通过上调 VEGF 来促进血管生成。相关研究表明,缺血性脑卒中患者的梗死区含有比正常脑组织更高比例的微血管,但是缺乏有效的灌注^[11]。在目前的研究中,VPA 治疗能显著增强缺血半球的微血管密度,提示 VPA 可促进微血管的形成和灌注。此外,有学者认为,缺血引发的血管生成需要脑源性神经营养因子,VPA 可通过激活脑源性神经营养因子

的启动子,诱导大鼠皮层神经元产生脑源性神经营养因子^[12]。在大鼠和人脑缺血后数小时内,VEGF 的表达迅速增加,并持续数周,大鼠缺血半暗带给予外源性 VEGF 可促进血管生成和神经恢复^[13]。与上述研究一致,本研究表明,VPA 治疗明显增强了 VEGF 的上调,VEGF 水平明显升高,提示 VEGF 有助于 VPA 增强缺血后血管生成的能力。

缺血性脑卒中导致的脑损伤与炎症反应密切相关,包括单核吞噬细胞系统浸润,小胶质细胞介导的神经炎症在缺血性脑损伤中起着重要作用,其分泌的炎症细胞因子(IL-1 β 和 TNF- α)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和环氧合酶-2(Cox-2)过表达,进而诱导炎症反应^[14-16]。本研究显示,VPA 具有神经保护作用,VPA 治疗可明显减少 OX-42 阳性小胶质细胞的数量,抑制脑缺血后炎症细胞因子上调。此外,也有学者认为 VPA 可能通过抑制核因子 κ B(NF- κ B)转录活性来抑制炎症细胞因子的产生^[17]。

一些研究表明,包括 HSP70 在内的 HSPs 在全脑缺血后不久即上调,并在不同的脑缺血模型中持续存在于缺血半暗带^[18-19]。在小鼠脑卒中动物模型中,HSP70 的过度表达可促进缺血性脑卒中后神经系统功能恢复。脑卒中缺血后 1、3、24、72 h,HSP70 水平均明显上升^[20]。与相关研究结果相似^[21],本研究显示,与 Saline 组相比,VPA 治疗引起 HSP70 水平进一步升高。HSP70 可能通过多种机制发挥其抗凋亡作用,它抑制半胱氨酸蛋白酶-3(caspase-3)的激活及其下游因子(包括磷脂酶 A2)^[22]。因此,VPA 诱导的 HSP70 过表达可能在缺血性脑卒中后的神经保护中起关键作用。可能的原因之一是 VPA 治疗后,HSP70 过表达与 HDAC 的抑制作用有关,促进了 HSP70 的转录起始。

组蛋白乙酰化水平的高低改变染色质构象是基因转录调控的主要机制之一,越来越多的证据支持组蛋白乙酰化与许多神经系统疾病有关。HDAC 抑制剂已被证明对脑缺血诱导的脑损伤具有很强的神经保护作用。VPA 是 HDAC I(1、2、3、8 亚型)和 II a

(4、5、7、9 亚型)的抑制剂,VPA 诱导的 HDAC 抑制导致组蛋白高乙酰化、染色质结构松弛和启动基因转录。Ac-H3 是 HDAC 受抑制的一个指标,在 VPA 治疗后显著增加,提示 HDAC 抑制可能参与了 VPA 在缺血后的促血管生成作用。最近的一项研究表明,HDAC 抑制剂、VPA 和亚油酸能显著促进 VEGF 诱导的内皮细胞的形成,VPA 增加了内皮细胞的迁移^[23]。此外,HDAC 抑制剂可诱导多能干细胞向内皮细胞分化^[24]。总之,这些研究表明,VPA 诱导的 HDAC 抑制可能促进了血管生成。而且 HDAC 抑制剂由于其在肿瘤中的抗血管生成作用,已被证明可抑制多种肿瘤细胞系中血管生成,目前也被广泛关注^[25]。

值得注意的是,现有的研究表明,在特定条件下,每种 HDAC 亚型与血管生成途径的相互作用可能不同。有研究发现,HDAC7 直接与缺氧诱导因子 1 相互作用并增加其在 HEK293 细胞中的转录活性^[26]。此外,HDAC5 下调已被证明可以增加内皮细胞的形成和迁移,同时在电镜下发现,缺血性脑卒中后新生血管的形态与正常脑内新生血管相似^[27-28]。

综上所述,长时接受 VPA 治疗可以显著防止缺血性脑卒中后海马 CA1 区神经元死亡,促进缺血后血管生成及神经系统功能恢复。VPA 诱导的脑缺血后神经保护可能涉及多种作用机制,包括明显抑制缺血诱导的脑内炎症反应、HDAC 活性和增加 VEGF、Ac-H3、HSP70 的表达。

参考文献

- [1] JIANG B, WANG W Z, CHEN H L, et al. Incidence and trends of stroke and its subtypes in China; results from three large cities[J]. *Stroke*, 2006, 37(1): 63-68.
- [2] 单海雷, 焦光美, 窦志杰, 等. 脑梗死过程中微 RNA-181d 和肿瘤坏死因子 α 的表达及机制研究[J]. *重庆医学*, 2019, 48(7): 1094-1098.
- [3] ROMOLI M, MAZZOCCHETTI P, D'ALONZO R, et al. Valproic acid and epilepsy: from molecular mechanisms to clinical evidences[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2019, 17(10): 926-946.
- [4] ZHU S, ZHANG Z, JIA L Q, et al. Valproic acid attenuates global cerebral ischemia/reperfusion injury in gerbils via anti-pyoptosis pathways[J]. *Neurochem Int*, 2019, 124: 141-151.
- [5] SHI L L, CHEN B N, GAO M, et al. The characteristics of therapeutic effect of pinocembrin in transient global brain ischemia/reperfusion rats [J]. *Life Sci*, 2011, 88(11/12): 521-528.
- [6] ZHANG P, XU J, HU W, et al. Effects of pinocembrin pretreatment on connexin 43 (Cx43) protein expression after rat myocardial ischemia-reperfusion and cardiac arrhythmia [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 5008-5014.
- [7] ANAN'INA T, KISEL A, KUDABAEVA M, et al. Neurodegeneration, myelin loss and glial response in the three-vessel global ischemia model in rat [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(17): E6246.
- [8] ZHANG B, ZHONG Q, CHEN X, et al. Neuroprotective effects of celastrol on transient global cerebral ischemia rats via regulating HMGB1/NF- κ B signaling pathway [J]. *Front Neurosci*, 2020, 14: 847.
- [9] ZHAO Y, YOU W, ZHENG J, et al. Valproic acid inhibits the angiogenic potential of cervical cancer cells via HIF-1 α /VEGF signals [J]. *Clin Transl Oncol*, 2016, 18(11): 1123-1130.
- [10] COSTALONGA E C, DE FREITAS L J, DA S P ARAGONE D, et al. Anti-fibrotic effects of valproic acid in experimental peritoneal fibrosis [J]. *PLoS One*, 2017, 12(9): e0184302.
- [11] KUMANISHI S, YAMANEGI K, NISHIURA H, et al. Epigenetic modulators hydralazine and sodium valproate act synergistically in VEGF-mediated anti-angiogenesis and VEGF interference in human osteosarcoma and vascular endothelial cells [J]. *Int J Oncol*, 2019, 55(1): 167-178.
- [12] KERMANI P, RAFII D, JIN D K, et al. Neurotrophins promote revascularization by local recruitment of TrkB⁺ endothelial cells and systemic mobilization of hematopoietic progenitors [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(3): 653-663.
- [13] YASUDA S, LIANG M H, MARINOVA Z, et al. The mood stabilizers lithium and valproate selectively activate the promoter IV of brain-derived neurotrophic factor in neurons [J]. *Mol Psychiatry*, 2009, 14(1): 51-59.
- [14] CHEN J Y, CHU L W, CHENG K I, et al. Valproate reduces neuroinflammation and neuronal death in a rat chronic constriction injury model [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 16457.
- [15] 戴旭芳, 秦利燕. 抑制 MEK/ERK 通路对孤独症模型大鼠病症行为的影响 [J]. *重庆医学*, 2015,

44(36):5065-5067.

- [16] EL-MOWAFY A M, KATARY M M, PYE C, et al. Novel molecular triggers underlie valproate-induced liver injury and its alleviation by the omega-3 fatty acid DHA: role of inflammation and apoptosis [J]. *Heliyon*, 2016, 2 (7): e00130.
- [17] WANG Z, LENG Y, TSAI L K, et al. Valproic acid attenuates blood-brain barrier disruption in a rat model of transient focal cerebral ischemia: the roles of HDAC and MMP-9 inhibition [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2011, 31(1): 52-57.
- [18] KIM J Y, HAN Y, LEE J E, et al. The 70-kDa heat shock protein (Hsp70) as a therapeutic target for stroke [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2018, 22(3): 191-199.
- [19] HUANG Y C, LEONG C P, WANG L, et al. Effect of kinesiology taping on hemiplegic shoulder pain and functional outcomes in subacute stroke patients: a randomized controlled study [J]. *Eur J Phys Rehabil Med*, 2016, 52 (6): 774-781.
- [20] LIU T, WEN X, KUANG W, et al. Therapeutic effect of Fu's subcutaneous needling for hemiplegic shoulder pain among stroke survivors: study protocol for a randomized controlled trial [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98 (19): e15507.
- [21] CLAUSEN B H, LUNDBERG L, YLI-KARJA NMAA M, et al. Fumarate decreases edema volume and improves functional outcome after experimental stroke [J]. *Exp Neurol*, 2017, 295: 144-154.
- [22] REN M, LENG Y, JEONG M, et al. Valproic acid reduces brain damage induced by transient focal cerebral ischemia in rats: potential roles of histone deacetylase inhibition and heat shock protein induction [J]. *J Neurochem*, 2004, 89 (6): 1358-1367.
- [23] WEINSTEIN-FUDIM L, ERGAZ Z, SZYF M, et al. Prenatal S-adenosine methionine (SAME) induces changes in gene expression in the brain of newborn mice that are prevented by co-administration of valproic acid (VPA) [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(8): 2834.
- [24] KIM H, LIN Q, YUN Z. BRCA1 regulates the cancer stem cell fate of breast cancer cells in the context of hypoxia and histone deacetylase inhibitors [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 9702.
- [25] 伍健伟, 梁建峰, 何伟文, 等. 组蛋白去乙酰化酶抑制剂抑制神经胶质瘤细胞增殖的机制研究 [J]. *中华神经医学杂志*, 2015, 14(6): 547-552.
- [26] BUTT N A, KUMAR A, DHAR S, et al. Targeting MTA1/HIF-1 α signaling by pterostilbene in combination with histone deacetylase inhibitor attenuates prostate cancer progression [J]. *Cancer Med*, 2017, 6(11): 2673-2685.
- [27] FORMISANO L, LAUDATI G, GUIDA N, et al. HDAC4 and HDAC5 form a complex with DREAM that epigenetically down-regulates NCX3 gene and its pharmacological inhibition reduces neuronal stroke damage [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2019(2019): 271678X19884742.
- [28] SHI L, TIAN Z, FU Q, et al. miR-217-regulated MEF2D-HDAC5/ND6 signaling pathway participates in the oxidative stress and inflammatory response after cerebral ischemia [J]. *Brain Res*, 2020, 1739: 146835.

(收稿日期: 2020-03-25 修回日期: 2020-08-02)

(上接第 3701 页)

- [10] CHOI Y J, UHM S J, SONG S J, et al. Cytochrome c upregulation during capacitation and spontaneous acrosome reaction determines the fate of pig sperm cells: linking proteome analysis [J]. *J Reprod Dev*, 2008, 54(1): 68-83.
- [11] 黄娜, 李为民. BAD 与肿瘤关系的研究 [J]. *华西医学*, 2011, 26(11): 1747-1749.
- [12] 李闯. 促凋亡基因 Bad 在肿瘤细胞凋亡中的作用及进展 [J]. *湖北民族学院学报(医学版)*, 2013, 30(1): 70-72.
- [13] 陈晓锋, 顾振纶. 金荞麦抗肿瘤作用研究进展 [J]. *中草药*, 2000, 31(9): 715-718.
- [14] 白爽, 李奕诺, 徐鑫, 等. 通关藤化学成分及药理活性研究进展 [J]. *解放军药学学报*, 2015, 31 (3): 260-264.
- [15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 296-297.
- [16] 黄兆胜. 中药学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002.

(收稿日期: 2020-02-28 修回日期: 2020-07-13)