

## 论 著

(基础研究)

## 丹参多酚酸介导 PIDD 通路改善大鼠缺血性脑损伤的机制研究

李 蒙, 何地芹, 曹自为, 管叶明, 黄海丽, 汪青松

**【摘要】 目的** 探讨注射用丹参多酚酸(SA)对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用及其与 p53 诱导的死亡结构域蛋白(PIDD)通路的关系。**方法** 选择 40 只健康雄性 SD 大鼠,随机均分为 4 组:假手术组、缺血模型组、丹参多酚酸组、抑制剂组,每组 10 只。采用改良线栓法构建大鼠右侧大脑中动脉栓塞模型,改良的神经功能缺损评分(mNSS)法评估神经功能缺损程度,逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法和 Western blot 法检测各组大鼠缺血再灌注后不同时间点(1 d、3 d、7 d)脑组织匀浆中 PIDD mRNA 及蛋白表达变化,以及 7 d 半胱氨酸天冬氨酸酶 2(caspase-2)、t-BID、细胞色素 C、半胱氨酸天冬氨酸酶 3(caspase-3)蛋白表达。取缺血再灌注后 7 d 脑组织,采用 TUNEL 法检测神经细胞凋亡情况,计算梗死灶脑组织神经细胞凋亡指数(AI)。**结果** 与缺血模型组比较,丹参多酚酸组在缺血再灌注后 3 d、7 d 时神经功能缺损评分明显降低( $P < 0.01$ );与抑制剂组比较,丹参多酚酸组缺血再灌注后 3 d、7 d 神经功能缺损评分高于抑制剂组( $P < 0.01$ )。丹参多酚酸组 PIDD mRNA 和蛋白的表达显著低于缺血模型组,高于抑制剂组( $P < 0.01$ );丹参多酚酸组 caspase-2、t-BID、细胞色素-c 和 caspase-3 蛋白的表达显著低于缺血模型组,高于抑制剂组( $P < 0.01$ )。缺血模型组 AI[(53.25±4.16)%]显著增加,丹参多酚酸组 AI[(35.13±4.23)%]和抑制剂组 AI[(24.5±5.14)%]均低于缺血模型组( $P < 0.05$ )。**结论** 丹参多酚酸通过下调 PIDD 及其下游半胱氨酸天冬氨酸酶 2、t-BID、细胞色素-c 和半胱氨酸天冬氨酸酶 3 的表达改善大鼠脑缺血损伤。

**【关键词】** 丹参多酚酸;缺血性脑损伤;p53 诱导的死亡结构域蛋白

**【中图分类号】** R743.3 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-271X(2022)03-0225-05

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1672-271X.2022.03.001

## Salvianolic acids ameliorate cerebral ischemic injury via PIDD pathway in rats

LI Meng<sup>1</sup>, HE Di-qin<sup>2</sup>, CAO Zi-wei<sup>2</sup>, GUAN Ye-ming<sup>2</sup>, HUANG Hai-li<sup>2</sup>, WANG Qing-song<sup>2</sup>

(1. Department of Neurology, Nanjing Jiangbei Hospital, Nanjing 210048, Jiangsu, China; 2. Department of Neurology, the 901th Hospital of the Joint Logistics Support Force, PLA, Hefei 230031, Anhui, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of salvianolic acids (SA) on cerebral ischemic injury via PIDD (p53-induced protein with a death domain) pathway. **Methods** A total of 40 healthy male SD rats were randomly divided into 4 groups: sham operation group (Sham), ischemia model group (IS), SA group and PIDD inhibitor group (BubR1). Focal cerebral ischemia was induced in rats by occlusion of MCA for 2h. Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to measure the expression of PIDD mRNA. PIDD, caspase-2, t-BID, cytochrome-c, and caspase-3 protein expression were detected by Western blot. The neurological deficits were assessed by modified Neurological Severity Scores (mNSS) at 1, 3, and 7 days after reperfusion. TUNEL-positive cells were considered to be undergoing apoptosis. The percentage of apoptosis (apoptotic index; AI) was determined as a percentage of the total cell number. **Results** Compared with IS group, the mNSS score in the SA group was significantly lower ( $P < 0.01$ ), while the mNSS score in SA group was higher than those in the BubR1 group ( $P < 0.01$ ) at 3 d and 7 d after reperfusion. The

**基金项目:**国家自然科学基金(81171108);全军医药卫生科研基金(15MS047)

**作者单位:**210048 南京,南京江北医院神经内科(李 蒙);  
230031 合肥,解放军联勤保障部队第九〇一医院神经内科(何地芹、曹自为、管叶明、黄海丽、汪青松)

**通信作者:**汪青松, E-mail: wangqingsong68@hotmail.com

expression of PIDD mRNA and protein in SA group was significantly lower than that in IS group, but higher than that in BubR1 group ( $P < 0.01$ ). The expression of caspase-2, t-BID, cytochrome-c and caspase-3 protein was significantly lower than that in IS group and was higher than that in BubR1 group ( $P < 0.01$ ). The AI in the IS group was significantly increased [(53.25±4.16)%]. The AIs in SA group [(35.13±4.23)%] and BubR1 group [(24.5±5.14)%] were lower

than that in IS group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** SA ameliorates cerebral ischemic injury in rat by down-regulation of PIDD and its downstream expression of caspase-2, t-BID, cytochrome-c and caspase-3.

**[Key words]** salvianolic acids; cerebral ischemic injury; p53-induced protein with a death domain (PIDD)

## 0 引言

脑梗死作为神经系统的常见疾病,发病率高和致死、致残率高以及复发频率高是它的主要特点<sup>[1]</sup>,而神经细胞凋亡是脑缺血再灌注损伤的主要形式。目前,溶栓治疗是有效治疗手段,但其存在严格的治疗时间窗限制以及再灌注后出血等并发症<sup>[2]</sup>。丹参多酚酸(salvianolate, SA)是丹参的提取物,SA 主要包括丹酚酸 B、丹酚酸 E、紫精酸和迷迭香酸。已报道 SA 具有微循环、抗炎、抗氧化、清除氧自由基等作用<sup>[3-4]</sup>。我们课题组的既往研究表明:SA 可以通过促进沉默信息调节因子 1(SIRT1)转录、抑制高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)迁移和表达,减少下游的炎症因子 p53、核转录因子(NF- $\kappa$ B)的释放,与此同时抑制神经细胞凋亡,进而减轻大鼠脑缺血损伤<sup>[5]</sup>。

p53 诱导死亡结构域蛋白(p53-induced protein with a death domain, PIDD)是 Lin 等<sup>[6]</sup>和 Telliez 等<sup>[7]</sup>首次在其研究课题中描述的一种蛋白质,作为 p53 蛋白的靶基因, PIDD 能调节细胞周期与细胞凋亡,决定 p53 基因能否响应下游的应激反应。既往多项研究表明, caspase-2、caspase-3 等细胞蛋白与 PIDD 相互作用可以调节细胞的凋亡与存活。PIDD 的研究大多数关注于肿瘤的治疗, PIDD 与脑缺血性损伤中神经细胞凋亡的关系较少报道。因此,我们推测 SA 可以通过介导 PIDD 途径改善大鼠脑缺血损伤。

本实验采用建立大鼠大脑中动脉栓塞模型的方式进行研究,通过大鼠尾静脉注入 SA 及 PIDD 抑制剂 BubR1(Bub-related1, 即纺锤体检测点 spindle assembly checkpoint 的重要组成部分),观察缺血再灌注大鼠脑组织中 PIDD 表达变化及其与 caspase-2、caspase-3 等下游靶标分子的关系,以及 SA 能否通过介导 PIDD 表达而发挥抗凋亡作用,从而减轻脑缺血神经功能损伤,为缺血性脑损伤的临床治疗提供有力的探索。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物与分组** 所有动物协议均经安徽医科大学临床学院动物护理和使用机构委员会批准

(批准号:LLSC20180149)。40 只 SPF 级 SD 雄性大鼠, 7~8 周龄, 体重在 250~280 g 之间, 购于安徽医科大学实验动物中心(实验动物许可证号:34072922010002554)。将大鼠置于自然光照环境下, 给予自由饮水及进食 1 周。随机将所有大鼠分为 4 组:假手术组、缺血模型组、丹参多酚酸组、PIDD 抑制剂组, 每组 10 只。

**1.2 动物模型制备及干预** 脑缺血模型按照 Miao 等<sup>[8]</sup>的方法建立。通过腹侧、中线切口暴露出右侧颈总动脉(CCA)、颈外动脉(ECA)和颈内动脉(ICA)。将具有圆形尖端(头端直径 0.53 mm)的尼龙单丝缝合线引入 CCA 管腔并轻轻推进到 ICA 中, 直到它阻塞大脑中动脉(MCA)的分叉起点。闭塞后 2 h, 通过撤回缝合线直到其尖端清除 CCA 的管腔, 对动物进行重新麻醉和再灌注。所有的实验都是随机的。在缺血期间, 死亡、昏迷或抽搐的大鼠被排除在实验之外。将 SA(天津天士力子药有限公司)和 PIDD 抑制剂(BubR1)分别溶于 5%二甲基亚砜(DMSO)中, 丹参多酚酸组和抑制剂组于术前 1 h 100 mg/kg 腹腔注射。在同样的时间点给假手术组和缺血模型组大鼠腹腔注射等量的等渗盐水。

**1.3 神经功能缺损评分** 模型制备成功后分别在缺血再灌注后 1 d、3 d、7 d 对 3 组大鼠进行评分, 采用改良的神经功能缺损评分(modified neurological severity scores, mNSS)<sup>[9]</sup>, 共 18 分, 其中轻度:1~6 分; 中度:7~12 分; 重度:13~18 分。

**1.4 Western blot 法检测梗死灶脑组织 PIDD、caspase-2、t-BID、细胞色素-c、caspase-3 的蛋白表达** 在脑梗死区域取脑组织标本。第一步:提取组织匀浆及蛋白。剪取组织并称重, 每个样品重量控制在 100 mg 左右, 加入 1 mL RIPA 细胞裂解液(内含 1 mM PMSF)进行裂解, 采取 11 280×g, 保持 4℃离心 15 min, 收集含有组织总蛋白的上清液。第二步:电泳。配制 10%SDS-PAGE 凝胶备用, 在收集的上清液中按照 1:4 加入 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液, 经上样后进行垂直电泳; 分离后采用湿法转膜至聚偏二氯乙烯膜上, 漂洗 5 min 后加入 4%牛血清白蛋白(BSA), 在摇床上缓慢摇动, 室温封闭 2 h; 分别加入一抗维持 4℃孵育过夜, 洗涤后加入二抗室温再

孵育 2 h,并再次洗涤;最后使用化学发光试剂盒来检测蛋白。

**1.5 荧光定量实验检测梗死灶脑组织中 PIDD mRNA 表达** 取标本于梗死灶脑组织,按试剂盒说明书提取总 RNA。第一步:RT 反应。在 0.2 mL 离心管中,加入总 RNA(质量为 1  $\mu\text{g}$ )、10  $\mu\text{M}$  低聚核苷酸 (Oligo) (dT) 1  $\mu\text{L}$ 、焦碳酸二乙酯水补足至 12  $\mu\text{L}$ ,混匀、点动离心,PCR 仪上 65  $^{\circ}\text{C}$  加热 5 min,立即冰浴 3 min,在上述 EP 管中加入各种试剂,置于 42  $^{\circ}\text{C}$  60 min,70  $^{\circ}\text{C}$  5 min,最后取出上述反应液,即为 cDNA,-80  $^{\circ}\text{C}$  保存备用。第二步:荧光定量 PCR 反应。取出 cDNA 作为荧光定量的模板,反应条件为 95  $^{\circ}\text{C}$  5 min、95  $^{\circ}\text{C}$  5 s、60  $^{\circ}\text{C}$  30 s、40 个循环。以  $\beta$ -actin 为内参物, $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  计算所得结果。

**1.6 TUNEL 法检测各组梗死灶脑组织神经细胞凋亡情况** 为了研究 SA 是否可以改善脑缺血引起的神经细胞凋亡,使用大鼠局灶性脑缺血模型计算梗死灶脑组织神经细胞凋亡指数 (AI)。4 组分别取 10 只大鼠于缺血再灌注 7 d 后取缺血脑组织,制成石蜡切片,根据操作说明使用 ApopTag 荧光素原位凋亡检测试剂盒 (Roche) 进行 TUNEL 法检测,显微镜下观察细胞核中含有棕褐色颗粒者为凋亡细胞,计算 4 组神经细胞凋亡率进行比较,细胞凋亡指数 (AI) 为视野内凋亡细胞数占总细胞数的百分比。

**1.7 统计学分析** 采用 SPSS 20.0 进行结果分析,计量资料数据以均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示,方差齐时采用单因素方差分析处理数据,组间对比采用 LSD- $t$  检验处理,以  $P\leq 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 各组在不同时间点神经功能损伤评分结果** 假手术组在各时间点评分均为 0 分。其余 3 组在缺血再灌注后 1 d 的评分比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。与缺血模型组比较,丹参多酚酸组神经功能缺损评分在 3 d、7 d 明显降低 ( $P<0.01$ )。与抑制剂组比较,丹参多酚酸组的神经功能缺损评分在 3 d、7 d 明显增加 ( $P<0.01$ )。见表 1。

**2.2 SA 对梗死灶脑组织 PIDD mRNA 表达的影响** 与假手术组比较,缺血模型组缺血再灌注后 1 d、3 d 和 7 d 的 PIDD mRNA 水平显著升高 ( $P<0.01$ )。与缺血模型组比较,丹参多酚酸组缺血再灌注后 1 d、3 d 和 7 d 的 PIDD mRNA 水平显著降低

( $P<0.01$ ),并且抑制剂组 PIDD mRNA 水平降低得更多 ( $P<0.01$ ),表明 SA 可以显著抑制缺血模型大鼠 PIDD mRNA 表达。见表 2。

表 1 各组大鼠缺血再灌注后不同时间神经功能缺损评分比较 ( $\bar{x}\pm s$ , 分)

组别	n	神经功能缺损评分		
		1 d	3 d	7 d
假手术组	10	0	0	0
缺血模型组	10	11.00 $\pm$ 0.81	9.50 $\pm$ 0.70	8.60 $\pm$ 0.51
丹参多酚酸组	10	10.40 $\pm$ 0.84	9.40 $\pm$ 0.69*	8.30 $\pm$ 0.67*
抑制剂组	10	10.30 $\pm$ 0.94	8.30 $\pm$ 0.67	7.40 $\pm$ 0.69

与缺血模型组和抑制剂组比较,\* $P<0.01$

表 2 各组大鼠缺血再灌注不同时间 PIDD mRNA 表达水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	PIDD mRNA		
		1 d	3 d	7 d
假手术组	10	1.00 $\pm$ 0.15	1.00 $\pm$ 0.15	1.00 $\pm$ 0.15
缺血模型组	10	4.10 $\pm$ 0.39*	3.16 $\pm$ 0.30*	1.86 $\pm$ 0.22*
丹参多酚酸组	10	2.59 $\pm$ 0.19**	2.61 $\pm$ 0.30**	1.60 $\pm$ 0.16**
抑制剂组	10	1.24 $\pm$ 0.19**	1.23 $\pm$ 0.26**	1.37 $\pm$ 0.28**

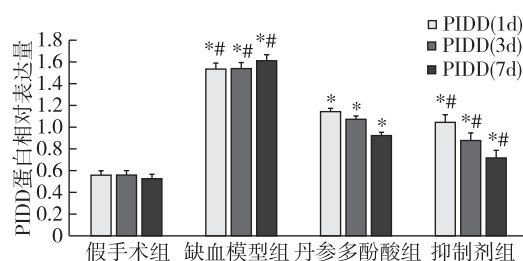
与假手术组比较,\* $P<0.01$ ;与缺血模型组比较,\*\* $P<0.01$

**2.3 SA 对梗死灶脑组织 PIDD、caspase-2、t-BID、细胞色素-c 和 caspase-3 蛋白表达** 缺血模型组、丹参多酚酸组和抑制剂组缺血再灌注后 PIDD 表达明显高于假手术组 ( $F=663.398$ 、231.584、182.711, $P<0.01$ ),丹参多酚酸组缺血再灌注后 PIDD 蛋白表达低于缺血模型组,高于抑制剂组 ( $F=67.700$ 、141.168、871.009, $P<0.01$ ),见图 1。丹参多酚酸组、缺血模型组和抑制剂组缺血再灌注后 7 d 的 caspase-2、t-BID、细胞色素-c 和 caspase-3 的表达均显著高于假手术组 ( $F=2019.980$ 、304.864、299.969、699.548, $P<0.01$ ),丹参多酚酸组再灌注后 7 d 的 caspase-2、t-BID、细胞色素-c 和 caspase-3 蛋白的表达显著低于缺血模型组但略高于抑制剂组 ( $F=210.997$ 、1027.480、613.917、612.462, $P<0.01$ ),见图 2。

**2.4 SA 对梗死灶脑组织神经细胞凋亡的影响** 假手术组、缺血模型组、丹参多酚酸组和抑制剂组大鼠脑缺血再灌注后 7 d 神经细胞 AI 分别为 (5.02 $\pm$ 1.32)%、(53.25 $\pm$ 4.16)%、(35.13 $\pm$ 4.23)%、(24.5 $\pm$ 5.14)%。400 倍光镜下可见假手术组皮质区仅有少数或无凋亡细胞,细胞结构完整。缺血模型组可见大量凋亡神经细胞,细胞的胞核明显固缩,胞浆可见

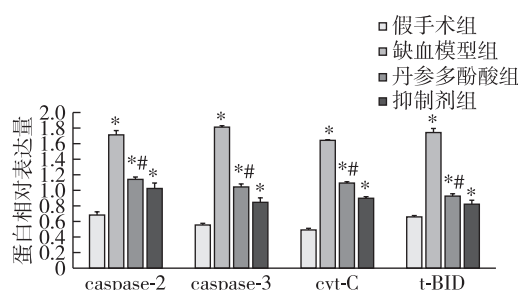


浓缩深染,核仁模糊不清,细胞浆及细胞核内呈棕褐色,与假手术组比较凋亡指数明显增高 ( $P<0.05$ )。抑制剂组神经细胞凋亡情况最轻,凋亡指数明显低于缺血模型组和丹参多酚酸组 ( $P<0.05$ ),丹参多酚酸组细胞凋亡情况介于抑制剂组和缺血模型组之间,凋亡指数明显低于缺血模型组 ( $P<0.05$ )。见图 3。



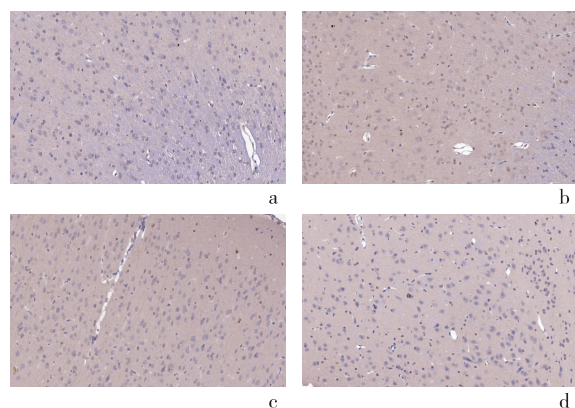
与假手术组比较, \*  $P<0.01$ ; 与丹参多酚酸组比较, #  $P<0.01$

图 1 各组大鼠缺血再灌注后 1 d、3 d、7 d 梗死灶脑组织 PIDD 蛋白表达



与假手术组比较, \*  $P<0.01$ ; 与缺血模型组及抑制剂组比较, #  $P<0.01$

图 2 各组大鼠缺血再灌注后 7 d 梗死灶脑组织 caspase-2、t-BID、细胞色素-c、caspase-3 蛋白表达



a: 假手术组; b: 缺血模型组; c: 丹参多酚酸组; d: 抑制剂组

图 3 各组大鼠缺血再灌注 7 d 后脑组织皮质神经细胞凋亡情况

### 3 讨 论

PIDD 即 p53 诱导的死亡结构域蛋白, DNA 损伤后可产生含有富含亮氨酸重复序列的 48 kDa N-末端片段 (LRRs, PIDD-N) 和含有死亡结构域 (DD, PIDD-C) 的 51kDa C 端片段, 后者进一步裂解产生 37 kDa 片段 (PIDD-CC)<sup>[10]</sup>。可分别介导两种信号传导途径, 其中一种是触发 caspase-2 活化, 可形成称为 PIDDosome 的复合物, 从而造成细胞凋亡<sup>[11]</sup>。

Niizuma 等<sup>[12]</sup>在短暂性全脑缺血 (tGCI) 模型中利用小干扰 RNA (siRNA) 处理来测试对 PIDD 表达的抑制, siRNA 的施用对 PIDD 的抑制作用不仅减少了 PIDD-CC 的表达, 还降低了 procaspase-2 和 Bid 的活性, 导致 tGCI 后海马 CA1 亚区的组织学神经元损伤和 DNA 断裂减少。研究者提出 PIDD 是 tGCI 后神经元死亡的假设分子靶点。研究结果显示 PIDD 在 procaspase-2 激活和延迟 tGCI (短暂性全脑缺血) 后 CA1 神经元死亡中起重要作用。Jang 等<sup>[13]</sup>研究中发现, 新型 TAT 融合肽, RDH3 和 PDH3, 它们对 PIDDosome 的形成产生强烈的负面影响, 并能够拯救鱼藤酮处理的神经元细胞死亡, 提示 PIDDosome 是神经细胞凋亡过程的重要角色。Wan 等<sup>[14]</sup>研究显示, PIDD 在损伤后的脑组织中表达明显上升, 损伤后 3 d 左右表达达到顶峰, 之后表达下降, 在约 14 d 左右回到正常水平, 并且主要定位于神经元之中, 推测 PIDD 可能是决定脑损伤神经元命运的重要调节因子。

本研究中大鼠脑缺血模型制备成功后, 缺血模型组、丹参多酚酸组和抑制剂组 1 d、3 d、7 d PIDD mRNA 表达高于假手术组, 说明急性脑缺血后可诱导脑组织中 PIDD mRNA 表达上调, 介导神经细胞凋亡过程。丹参多酚酸组 1 d、3 d、7 d PIDD mRNA 表达明显低于缺血模型组, 但稍高于抑制剂组。抑制剂 BubR1, 一种有丝分裂监视蛋白, 是一种直接的 PIDDosome 抑制剂, 可以结合 PIDD DD, 与 RAIDD 募集竞争, 在 PIDD 对接站点上超越了 RAIDD, 抑制 PIDDosome 介导的细胞凋亡<sup>[15]</sup>。本研究实验结果显示丹参多酚酸也能抑制 PIDD 表达从而发挥抑制细胞凋亡的作用, 它是否也如 BubR1 一样, 通过与 RAIDD 竞争招募来抑制 PIDDosome 的形成而产生作用有待进一步研究。但仍可说明注射用丹参多酚酸可通过抑制 PIDD 的表达, 从而发挥改善神经功能的作用, 虽然未能达到和 PIDD 的抑制剂 BubR1 同等水平的作用, 但作用效果是一致的。

PIDD 诱导细胞凋亡可通过 PIDD/caspase-2/t-BID/细胞色素-c/caspase-3 信号通路进行<sup>[15-17]</sup>, caspase-3 是凋亡级联反应过程中关键的蛋白酶,受上游蛋白酶的活化,活化的 caspase-3 又参与激活下游底物,诱发细胞凋亡,而细胞色素 c (cyt-c) 从线粒体释放到细胞质中,可诱导神经细胞凋亡<sup>[18]</sup>。Ray 等<sup>[15]</sup>在结直肠癌细胞凋亡机制研究中发现,PIDD 表达激活 caspase-2,后者继而裂解 BID 以产生活性 t-BID,进而引起 MTP 损失,细胞色素 c 从线粒体间隙释放及下游 caspase-3 的激活。而 Wang 等<sup>[16]</sup>研究发现碘-131 通过 PIDD/caspase-2/t-BID/细胞色素-c/caspase-3 信号通路诱导心肌细胞凋亡。Shi 等<sup>[17]</sup>也发现 PIDD 的表达与肝细胞癌细胞增殖和凋亡有关。

本研究中丹参多酚酸组、缺血模型组、抑制剂组第 7 天 caspase-2、t-BID、细胞色素-c、caspase-3 蛋白表达均明显高于假手术组,显示在脑缺血损伤后凋亡相关因子 caspase-2、t-BID、细胞色素-c、caspase-3 蛋白表达显著升高,而丹参多酚酸组第 7 天 PIDD、caspase-2、t-BID、细胞色素-c、caspase-3 蛋白表达明显低于缺血模型组,提示注射用丹参多酚酸改善大鼠神经功能缺损,对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护机制可能与 PIDD/caspase-2/t-BID/细胞色素-c/caspase-3 信号通路有关。

综上所述,本实验研究结果表明:注射用丹参多酚酸可能通过介导 PIDD/caspase-2/t-BID/细胞色素-c/caspase-3 信号通路,下调 PIDD 及其下游凋亡相关因子 caspase-2、t-BID、细胞色素-c、caspase-3 的表达,发挥改善神经功能缺损的作用。

#### 【参考文献】

- [1] 魏俊,杨珉,王威. 亚低温联合阿替普酶对急性脑梗死患者脑血流和神经功能恢复的影响[J]. 东南国防医药, 2020,22(3):254.
- [2] Ma H, Campbell BCV, Parsons MW, *et al.* Thrombolysis guided by perfusion imaging up to 9 hours after onset of stroke[J]. *N Engl J Med*, 2019,380(19):1795-1803.
- [3] Chen X, Guo Y, Hu Y, *et al.* Quantitative analysis of highly similar salvianolic acids with (1)H qNMR for quality control of traditional Chinese medicinal preparation Salvia miltiorrhiza Lyophilized Injection[J]. *Pharm Biomed Anal*, 2016,124:281-287.
- [4] Zhang J, An SJ, Fu JQ, *et al.* Mixed Aqueous Extract of Salvia miltiorrhiza Reduces Blood Pressure through Inhibition of Vascular Remodelling and Oxidative Stress in Spontaneously Hypertensive Rats[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 40(1-2):347.
- [5] 曹自为,张嵘,李蒙,等. 丹参多酚酸通过 SIRT1/HMGB1 路径改善大鼠脑缺血/再灌注损伤的机制研究[J]. 中风与神经疾病杂志,2021,38(1):4-8.
- [6] Lin Y, Ma W. Pidd, a new death-domain-containing protein, is induced by p53 and promotes apoptosis[J]. *Nat Genet*, 2000,26(1):122-127.
- [7] Telliez JB, Bean KM, Lin LL. LRDD, a novel leucine rich repeat and death domain containing protein[J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*,2000, 1478(2):280-288.
- [8] Miao MS, Cao LH, Li RQ, *et al.* Protective effect of chlorogenic acid on the focal cerebral ischemia reperfusion rat models[J]. *Saudi Pharm J*,2017,25(4):556-563.
- [9] Shan LY, Li JZ, Zu LY, *et al.* Platelet-derived microparticles are implicated in remote ischemia conditioning in a rat model of cerebral infarction[J]. *CNS Neurosci Ther*,2013,19(12):917-925.
- [10] Sidi S. Direct pro-apoptotic role for NPM1 as a regulator of PIDDosome formation[J]. *Mol Cell Oncol*,2017,4(5):e1348325.
- [11] Di Donato N, Jean YY, Maga AM, *et al.* Mutations in CRADD Result in Reduced Caspase-2-Mediated Neuronal Apoptosis and Cause Megalencephaly with a Rare Lissencephaly Variant[J]. *Am J Hum Genet*,2016,99(5):1117-1129.
- [12] Niizuma K, Endo H, Nito C, *et al.* The PIDDosome mediates delayed death of hippocampal CA1 neurons after transient global cerebral ischemia in rats[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2008, 105(42):16368-16373.
- [13] Jang TH, Lim IH, Kim CM, *et al.* Rescuing neuronal cell death by RAIDD- and PIDD- derived peptides and its implications for therapeutic intervention in neurodegenerative diseases[J]. *Sci Rep*, 2016,6:31198.
- [14] Wan C, Jiang J, Mao H, *et al.* Involvement of upregulated p53-induced death domain protein (PIDD) in neuronal apoptosis after rat traumatic brain injury[J]. *J Mol Neurosci*, 2013, 51(3):695-702.
- [15] Ray P, Guha D, Chakraborty J, *et al.* Crocetin exploits p53-induced death domain (PIDD) and FAS-associated death domain (FADD) proteins to induce apoptosis in colorectal cancer[J]. *Sci Rep*, 2016,6:32979.
- [16] Wang Y, Liu C, Wang J, *et al.* Iodine-131 induces apoptosis in human cardiac muscle cells through the p53 / Bax / caspase-3 and PIDD / caspase-2/t-BID/ cytochrome-c/caspase-3 signaling pathway[J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(3):1579-1586.
- [17] Shi W, Huang W, Chen Y, *et al.* Low expression of PIDD is associated with cell proliferation and apoptosis in hepatocellular carcinoma[J]. *Tumour Biol*,2016,37(8):10447-10457.
- [18] Jiang W, Chen Y, Li B. DBA-induced caspase-3-dependent apoptosis occurs through the rat hippocampus[J]. *Mol Biosyst*, 2017,13(9):1863-1873.

(收稿日期:2022-01-29; 修回日期:2022-03-14)

(责任编辑:叶华珍; 英文编辑:朱一超)