doi:10.11659/jjssx.06E025148

·基础研究·

miR-379-5p改善大鼠脑缺血再灌注损伤的机制研究

王明远,张娅洁,沙 晶,党 辉,李红燕 (新疆维吾尔自治区人民医院神经内科,新疆 乌鲁木齐 830001)

[摘 要] **目的** 探究miR-379-5p对大鼠脑缺血再灌注损伤(CIRI)的影响及其作用机制。**方法** 采用短暂性阻断大脑中动脉的方法构建CIRI大鼠模型,并随机分为模型组、miR-379-5p激动剂组(侧脑室注射miR-379-5p激动剂)、miR-379-5p拮抗剂组(侧脑室注射miR-379-5p拮抗剂)、消皮素D(GSDMD)抑制剂组(侧脑室注射80 nmol necrosulfonamide),另将仅暴露颈内动脉和颈外动脉的大鼠设为假手术组。采用改良神经功能缺损评分(mNSS)评估各组大鼠神经功能缺损程度,2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色和苏木精-伊红(HE)染色观察各组大鼠脑组织梗死情况及形态结构变化,TUNEL染色检测各组大鼠脑组织神经元凋亡情况,RT-qPCR检测各组大鼠脑组织中miR-379-5p表达水平,免疫荧光染色、Western blot检测各组大鼠脑组织中GSDMD荧光表达及NOD样受体蛋白3(NLRP3)、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、前体半胱天冬酶-1(pro-Caspase-1)、GSDMD、GSDMD蛋白N端片段(GSDMD-N)蛋白表达水平。**结果** 与模型组比较,miR-379-5p激动剂组、GSDMD抑制剂组大鼠mNSS评分降低,脑组织梗死面积减少,脑组织皮质层神经元排列紊乱、细胞肿胀、空泡样等病变现象显著改善,神经元凋亡指数降低,miR-379-5p表达水平上调,GSDMD平均荧光密度及NLRP3、ASC、pro-Caspase-1、GSDMD、GSDMD-N蛋白表达水平下调,差异均有统计学意义($P<0.05$);而与模型组比较,miR-379-5p拮抗剂组大鼠mNSS评分升高,脑组织梗死面积增加,神经元排列紊乱、细胞肿胀及空泡样等病变现象加重,神经元凋亡指数升高,miR-379-5p表达水平下调,GSDMD平均荧光密度及NLRP3、ASC、pro-Caspase-1、GSDMD、GSDMD-N蛋白表达水平进一步上调,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 上调miR-379-5p表达对CIRI大鼠具有保护作用,其作用机制可能与抑制GSDMD介导的细胞焦亡有关。

[关键词] miRNA-379-5p;脑缺血再灌注损伤;消皮素D;焦亡
[中图分类号] R743.3 [文献标志码] A [收稿日期] 2025-06-27

Mechanism study of miR-379-5p in improving cerebral ischemia-reperfusion injury in rats

WANG Ming-yuan, ZHANG Ya-jie, SHA Jing, DANG Hui, LI Hong-yan (Department of Neurology, Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Urumqi Xinjiang 830001, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of miR-379-5p on cerebral ischemia-reperfusion injury (CIRI) in rats and its underlying mechanism. **Methods** The CIRI rat model was established by transiently blocking the middle cerebral artery. The rats were randomly divided into the model group, the miR-379-5p agonist group (injection of miR-379-5p agonist into the lateral ventricle), the miR-379-5p antagonist group (injection of miR-379-5p antagonist into the lateral ventricle), the gasdermin D (GSDMD) inhibitor group (injection of 80 nmol necrosulfonamide into the lateral ventricle). In addition, rats with only the internal and external carotid arteries exposed were designated as the sham-operated group. The modified neurological severity score (mNSS) was used to evaluate the degree of neurological deficits of rats in each group. 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining and hematoxylin-eosin (HE) staining were used to observe the cerebral infarction and morphological changes in the brain tissues of rats in each group. TUNEL staining was used to detect the neuronal apoptosis in the brain tissues of rats in each group. RT-qPCR was used to detect the expression level of miR-379-5p in the brain tissues of rats in each group. Immunofluorescence staining and Western blot were used to detect the fluorescence expression of GSDMD and the protein expression levels of NOD-like receptor protein 3 (NLRP3), apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC), pro-Caspase-1, GSDMD and N-terminal active fragment of GSDMD (GSDMD-N) in the brain tissues of rats in each group. **Results** Compared with the model group, the mNSS scores of rats in the miR-379-5p agonist group and the GSDMD inhibitor group were decreased, the infarct area of brain tissue was reduced, the disordered arrangement of neurons, cell swelling, and vacuolation in the cortical brain tissue were significantly improved, the neuronal apoptosis index was decreased, the miR-379-5p expression level was upregulated, the mean fluorescence density of GSDMD and the protein expression levels of NLRP3, ASC, pro-Caspase-1, GSDMD, and GSDMD-N were downregulated, and all these differences were statistically significant ($P<0.05$). Compared with the model group, the mNSS score of rats in the miR-379-5p antagonist group was increased, the infarct area of brain tissue was increased, the disordered arrangement of neurons, cell swelling and vacuolation

[基金项目] 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2022D01C627)
[通信作者] 李红燕,E-mail:lhyxxy@126.com

were aggravated, the neuronal apoptosis index was increased, the miR-379-5p expression level was downregulated, the mean fluorescence density of GSDMD and the protein expression levels of NLRP3, ASC, pro-Caspase-1, GSDMD, GSDMD-N were further upregulated, and all these differences were statistically significant (P<0.05). **Conclusion** Upregulation of miR-379-5p expression has a protective effect on CIRI rats, and its mechanism of action may be related to the inhibition of GSDMD-mediated pyroptosis.

Keywords: miRNA-379-5p; cerebral ischemia-reperfusion injury; gasdermin D; pyroptosis

缺血性脑卒中是全球范围内导致残疾和死亡的主要原因,也是脑血管疾病的最常见类型[1]。脑缺血后的早期再灌注对于脑功能恢复至关重要。然而,在经历短暂的缺血状态后,随着血流的恢复,当血氧到达缺血组织时可能会进一步引发损伤,称为脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI)[2]。CIRI的发生机制复杂,涉及氧化应激、炎症反应、细胞凋亡及坏死等生理病理改变[3]。对于CIRI迄今仍缺乏有效的治疗手段,因此,需要探索CIRI潜在的分子机制以寻找有效的新型治疗靶点。

近年来,细胞程序性死亡在CIRI中的作用受到广泛关注。焦亡作为一种高度炎性程序性细胞死亡方式,与CIRI的病理进程密切相关。其特征性表现为细胞膜孔形成、细胞肿胀、溶解以及大量促炎因子的释放[4]。研究表明,在CIRI中焦亡的核心执行蛋白是消皮素D(gasdermin D, GSDMD),其被Caspase-1切割后释放出GSDMD蛋白N端活性片段(N-terminal active fragment of GSDMD, GSDMD-N),在细胞膜上形成孔道,导致细胞溶解及炎症因子释放,从而加剧脑组织损伤,说明GSDMD是调控CIRI期间细胞焦亡的关键因子[5]。通过调控GSDMD抑制神经细胞焦亡,可能是改善或抑制CIRI的有效方法,但其具体调控机制目前尚不清楚。

微小RNA(microRNA, miRNA)是一类长度为18~25个核苷酸的非编码单链RNA分子,其可通过序列特异性方式与靶mRNA的3′非翻译区结合来调控基因表达。miRNA广泛参与细胞增殖、分化、凋亡及炎症反应等多种生理病理过程[6]。在CIRI过程中,已发现多种miRNAs异常表达且能够调控炎症因子释放、神经元存活及脑组织损伤修复等[7]。miR-379-5p在多种神经系统疾病中发挥重要作用。有研究显示,miR-379-5p在缺血性脑卒中患者血清和氧糖剥夺处理的神经元中表达下调,而上调其表达可减轻大脑中动脉闭塞诱发的神经功能障碍及减少脑梗死面积[8]。然而,miR-379-5p是否通过焦亡通路在CIRI中发挥作用尚不清楚。本研究通过构建CIRI大鼠模型,探讨miR-379-5p对GSDMD介导的焦亡通路的调控作用及对CIRI大鼠的影响,以期为CIRI的治疗提供新的理论依据和潜在靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物

30只健康雄性SD大鼠,8周龄,体质量260~280 g,购自新疆医科大学实验动物中心,饲养于温度22~25 ℃、湿度50%~60%以及12 h光照/12 h黑暗交替的标准化SPF级屏障实验室,期间给予饲料和水,1周后进行实验。本研究动物实验通过我院伦理委员会审核批准(批准号:KY20230526158)。

1.2 主要试剂

miR-379-5p激动剂和miR-379-5p拮抗剂购自广州锐博生物科技有限公司,GSDMD抑制剂necrosulfonamide购自美国Med Chem Express公司,2,3,5-氯化三苯基四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride,TTC)购自上海雅吉生物科技有限公司,苏木精-伊红(hematoxylin and eosin,HE)染色试剂盒购自北京伊塔生物科技有限公司,Proteinase K和TUNEL细胞凋亡检测试剂盒购自北京百奥博莱科技有限公司,Triton X-100购自美国Sigma-Aldrich公司,DAPI购自温州科淼生物科技有限公司,TRIzol试剂盒购自美国Invitrogen公司,All-in-One™ miRNA逆转录试剂盒和All-in-One™ miRNA qPCR试剂盒购自美国GeneCopoeia公司,GAPDH、NOD样受体蛋白3(NOD-like receptor protein 3, NLRP3)、凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)、前体半胱天冬酶-1(pro-cysteine-aspartic acid protease 1, pro-Caspase-1)、GSDMD、GSDMD-N、荧光/辣根过氧化物酶标记抗体均购自英国Abcam公司,BCA蛋白浓度测定试剂盒和化学发光底物购自武汉亚科因生物技术有限公司。

1.3 动物造模与分组

参考文献[9]方法造模,大鼠禁食不禁水12 h后,腹腔注射40 mg/kg戊巴比妥钠进行麻醉,固定于手术台上,沿颈部中线解剖并分离动脉,线栓结扎总动脉近心端和颈外动脉,将线栓由总动脉剪口处插入颈内动脉,阻断右侧大脑中动脉2 h,拔出线栓进行再灌注,构建CIRI大鼠模型。将造模成功且24 h未死亡的大

鼠分为模型组、miR-379-5p激动剂组、miR-379-5p拮抗剂组、GSDMD抑制剂组，每组5只；另取5只大鼠作为假手术组，仅暴露颈内动脉和颈外动脉，但不插入线栓进行动脉阻断。假手术组和模型组于大鼠侧脑室注射等体积的生理盐水；miR-379-5p激动剂组和miR-379-5p拮抗剂组分别于大鼠侧脑室注射miR-379-5p激动剂、miR-379-5p拮抗剂，每只10 μL；GSDMD抑制剂组于大鼠侧脑室注射80 nmol necrosulfonamide[10]。

1.4 改良神经功能缺损评分（modified neurological severity score，mNSS）

给药24 h后，依据mNSS评分标准，对各组大鼠的运动、感觉、平衡及反射等神经功能进行量化评分，以评估大鼠神经功能缺损程度，判断不同处理方式对神经功能恢复的影响。

1.5 TTC染色

处死各组大鼠并迅速取出新鲜脑组织，切成2 mm均匀薄片，浸入TTC溶液中，室温避光孵育30 min，4%多聚甲醛固定。正常脑组织为红色，梗死脑组织为白色，利用IPP软件对染色后的脑片图像进行处理，分析各组大鼠脑组织内梗死面积百分比。

1.6 HE染色

将各组大鼠脑组织进行固定、脱水、包埋后制作成切片，脱蜡至水，依次用苏木精染液、伊红染液进行染色，脱水透明后，封固，通过光学显微镜观察病理改变，并采集图像。

1.7 TUNEL染色

取制备的各组大鼠脑组织切片，加入Proteinase K（不含DNase）修复20 min，PBS清洗，滴加50 μL配制好的TUNEL检测液，37 ℃避光孵育1 h。PBS清洗，滴加DAPI染液避光孵育10 min，封固后荧光显微镜下观察、采集图像，分析脑组织中细胞凋亡情况。

1.8 免疫荧光染色

取各组大鼠脑组织切片进行抗原修复后，0.1% Triton X-100透化剂处理10 min，牛血清白蛋白封闭，加入稀释的GSDMD（1∶200）一抗4 ℃孵育过夜，PBS清洗后，加入带荧光标记的二抗（1∶200）室温孵育1 h，清洗多余抗体后，滴加DAPI染液避光孵育10 min，封固，在荧光显微镜下观察并采集图像，通过分析平均荧光强度评估GSDMD在脑组织中的表达与分布情况。

1.9 RT-qPCR

TRIzol法分别提取各组大鼠脑组织的总RNA，通过Poly A聚合酶和逆转录酶将RNA反转录为cDNA，具体按照miRNA逆转录试剂盒操作。设计miR-379-5p的特异性引物，以U6作为内参，miR-379-5p正向引物5′-GCGCGTGGTAGACTATGGAA-3′，反向引物5′-AGTGCAGGGTCCGAGGTATT-3′；U6正向引物5′-CTCGCTTCGGCAGCACA-3′，反向引物5′-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3′。在RT-PCR仪上进行扩增反应，实验重复3次。利用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法分析脑组织样本中miR-379-5p的相对表达量。

1.10 Western blot

从各组大鼠脑组织中分别提取总蛋白，测定其浓度后，加热煮沸变性。将等量蛋白经凝胶电泳分离后转膜，用5%脱脂奶粉封闭膜上的非特异性结合位点，依次与稀释的NLRP3（1∶1 000）、ASC（1∶1 000）、pro-Caspase-1（1∶1 000）、GSDMD（1∶1 000）、GSDMD-N（1∶1 000）一抗4 ℃孵育过夜，再与辣根过氧化物酶标记的二抗（1∶5 000）室温孵育1 h，利用化学发光底物显色，Image J软件分析条带灰度值，以GAPDH作为内参，统计各目的蛋白的相对表达量。

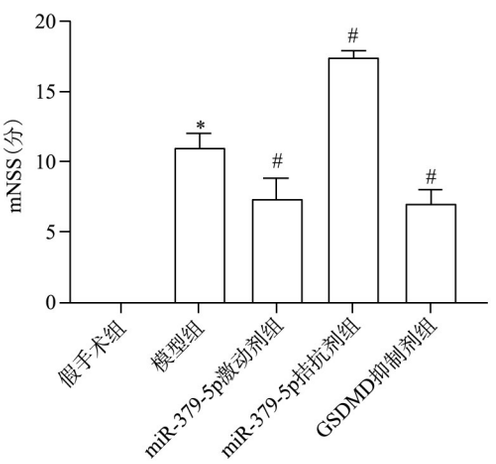
1.11 统计学分析

采用SPSS 23.0软件进行统计学分析，GraphPad Prism 8软件绘制图。所有实验数据以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，多组间数据比较采用单因素方差分析，两两比较采用*LSD-t*检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠mNSS评分比较

与假手术组比较，模型组大鼠mNSS评分显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，miR-379-5p激动剂组和GSDMD抑制剂组大鼠mNSS评分均显著降低（$P<0.05$），而miR-379-5p拮抗剂组大鼠mNSS评分显著升高（$P<0.05$），见图1。



*：与假手术组比较，$P<0.05$；#：与模型组比较，$P<0.05$

图1 各组大鼠mNSS评分

2.2 各组大鼠脑梗死情况比较

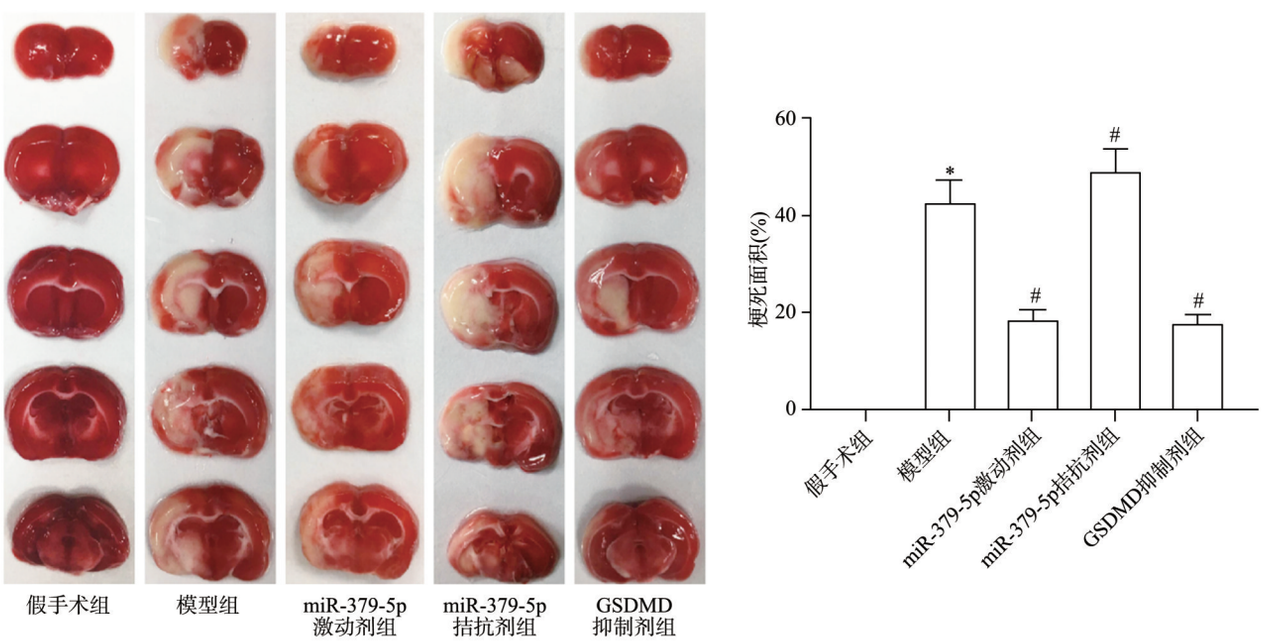
TTC染色结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠脑组织梗死面积显著增加(P<0.05);与模型组比较,miR-379-5p激动剂组和GSDMD抑制剂组大鼠脑组织梗死面积均显著减少(P<0.05),而miR-379-5p拮抗剂组大鼠脑组织梗死面积显著增加(P<0.05),见图2。

2.3 各组大鼠脑组织病理学变化比较

HE染色结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠脑组织皮质层神经元排列紊乱,细胞出现肿胀、空泡样,细胞核固缩、碎裂,染色质浓缩聚集在核膜边缘;与模型组比较,miR-379-5p激动剂组和GSDMD抑制剂组大鼠脑组织皮质层上述病理变化现象得到明显改善,而miR-379-5p拮抗剂组大鼠脑组织皮质层神经元排列紊乱、细胞肿胀、空泡样等现象加重,见图3。

2.4 各组大鼠脑组织神经元凋亡水平比较

TUNEL染色结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠脑组织中神经元凋亡指数显著升高(P<0.05);与模型组比较,miR-379-5p激动剂组和GSDMD抑制剂组大鼠脑组织中神经元凋亡指数均显著降低(P<0.05),而miR-379-5p拮抗剂组大鼠脑组织中神经元凋亡指数显著升高(P<0.05),见图4、5。



*:与假手术组比较,P<0.05;#:与模型组比较,P<0.05

图2 各组大鼠脑梗死面积检测结果

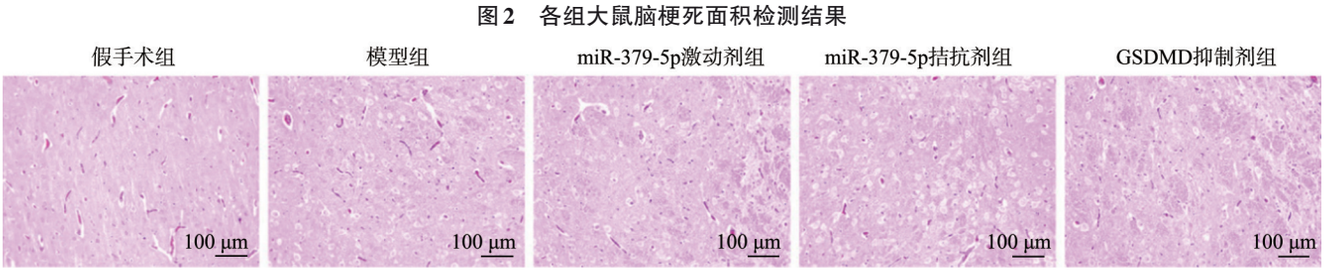


图3 各组大鼠脑组织病理学染色结果

2.5 各组大鼠脑组织中miR-379-5p表达比较

与假手术组比较,模型组大鼠脑组织中miR-379-5p表达水平显著下调(P<0.05);与模型组比较,miR-379-5p激动剂组和GSDMD抑制剂组大鼠脑组织中miR-379-5p表达水平均显著上调(P<0.05),而miR-379-5p拮抗剂组大鼠脑组织中miR-379-5p表达水平显著下调(P<0.05),见图6。

2.6 各组大鼠脑组织中GSDMD荧光表达

免疫荧光染色结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠脑组织中GSDMD平均荧光密度显著升高(P<0.05);与模型组比较,miR-379-5p激动剂组和GSDMD抑制剂组大鼠脑组织中GSDMD平均荧光密度均显著降低(P<0.05),而miR-379-5p拮抗剂组大鼠脑组织中GSDMD平均荧光密度显著升高(P<0.05),见图7、8。

2.7 各组大鼠脑组织中相关蛋白表达

Western blot结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠脑组织中NLRP3、ASC、pro-Caspase-1、GSDMD、GSDMD-N蛋白表达水平均显著上调(P<0.05);与模

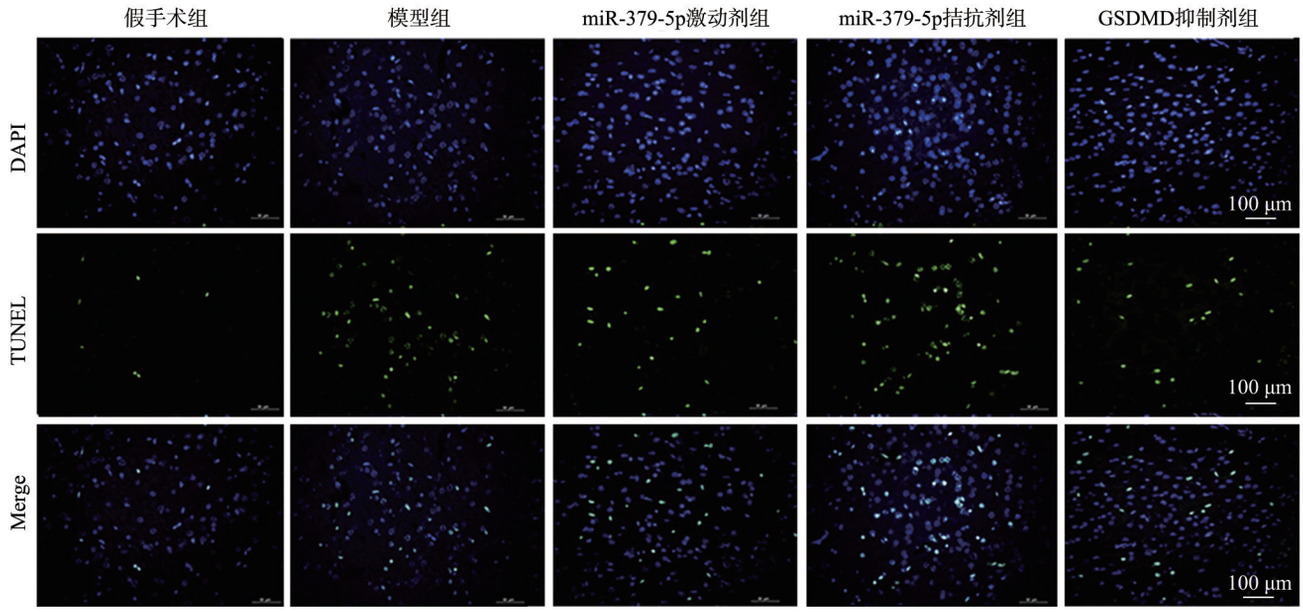
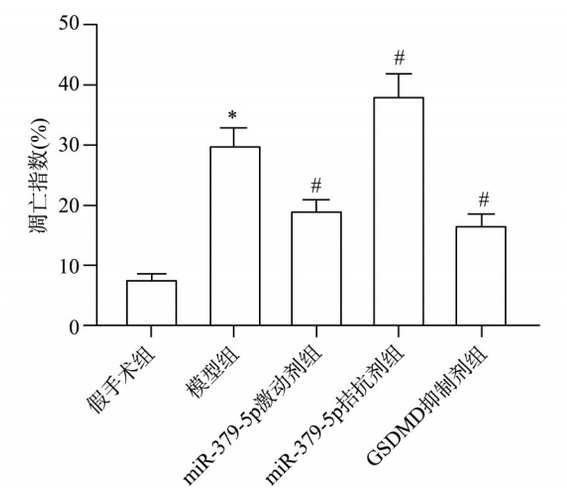
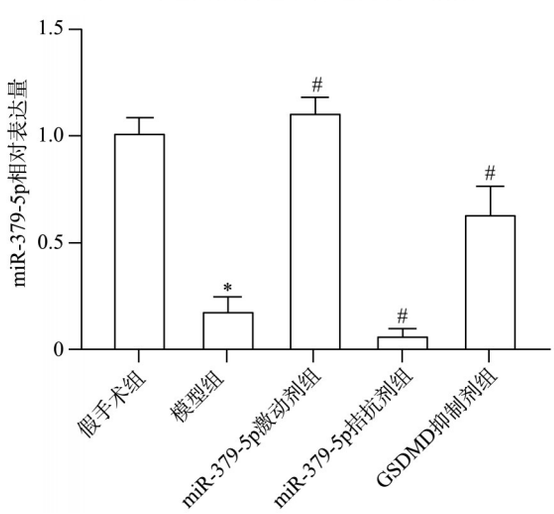


图4 各组大鼠脑组织神经元TUNEL染色结果



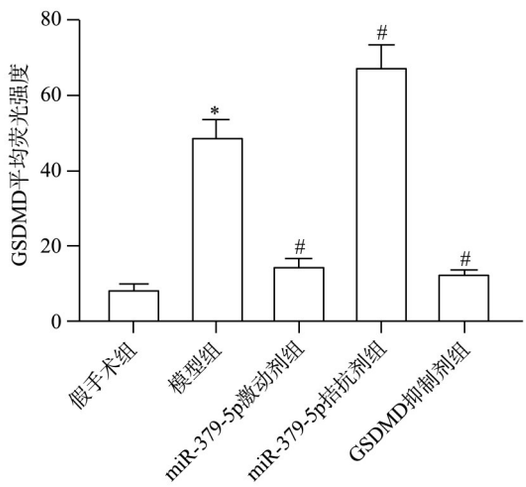
*:与假手术组比较,$P<0.05$;#:与模型组比较,$P<0.05$

图5 各组大鼠脑组织神经元凋亡指数



*:与假手术组比较,$P<0.05$;#:与模型组比较,$P<0.05$

图6 各组大鼠脑组织miR-379-5p表达



*:与假手术组比较,$P<0.05$;#:与模型组比较,$P<0.05$

图7 各组大鼠脑组织GSDMD荧光表达统计结果

型组比较,miR-379-5p激动剂组和GSDMD抑制剂组大鼠脑组织中NLRP3、ASC、pro-Caspase-1、GSDMD、GSDMD-N蛋白表达水平均显著下调($P<0.05$),而miR-379-5p拮抗剂组大鼠脑组织中以上蛋白表达水平均显著上调($P<0.05$),见图9。

3 讨论

研究表明,miRNA在CIRI的病理过程中发挥重要的调控作用,参与缺氧、炎症反应、凋亡以及焦亡等过程,是潜在的诊断和治疗靶点[11-15]。miRNA在CIRI中的作用已成为近年来的研究热点,深入探索其在该疾病中的作用机制有助于开发新的治疗策略。本研究中CIRI模型大鼠脑组织中miR-379-5p表达下调,上调miR-379-5p表达后,显著改善了CIRI引起的神经功能

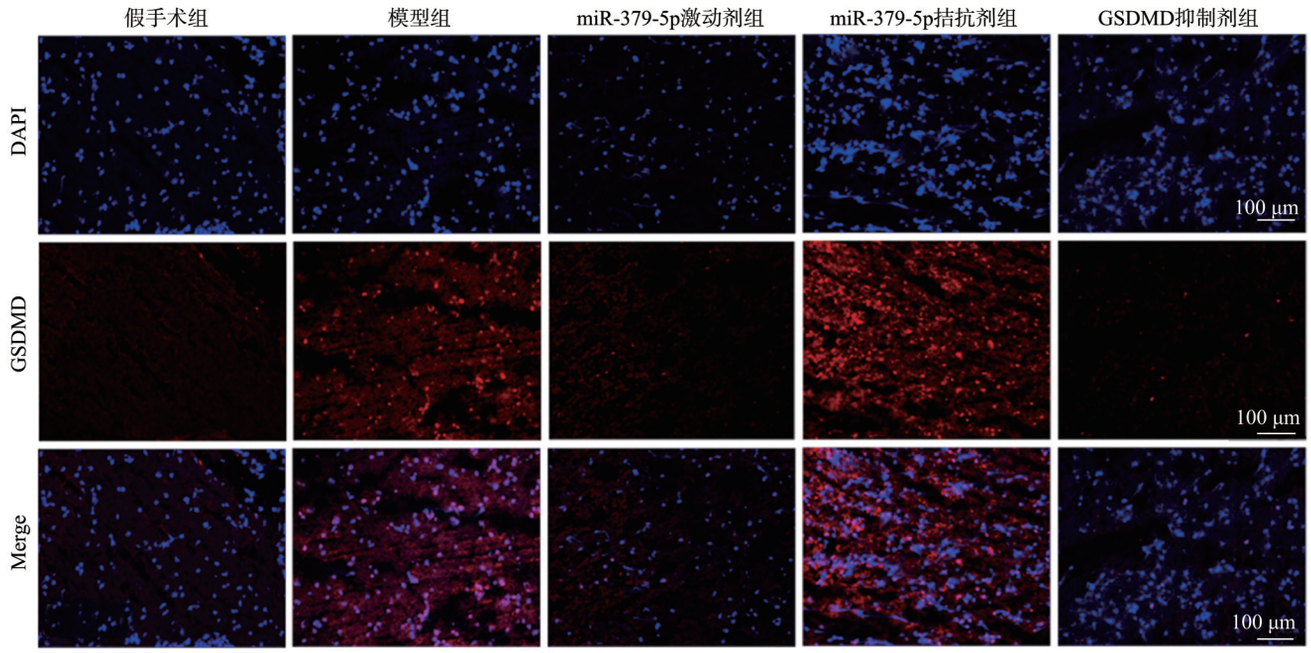
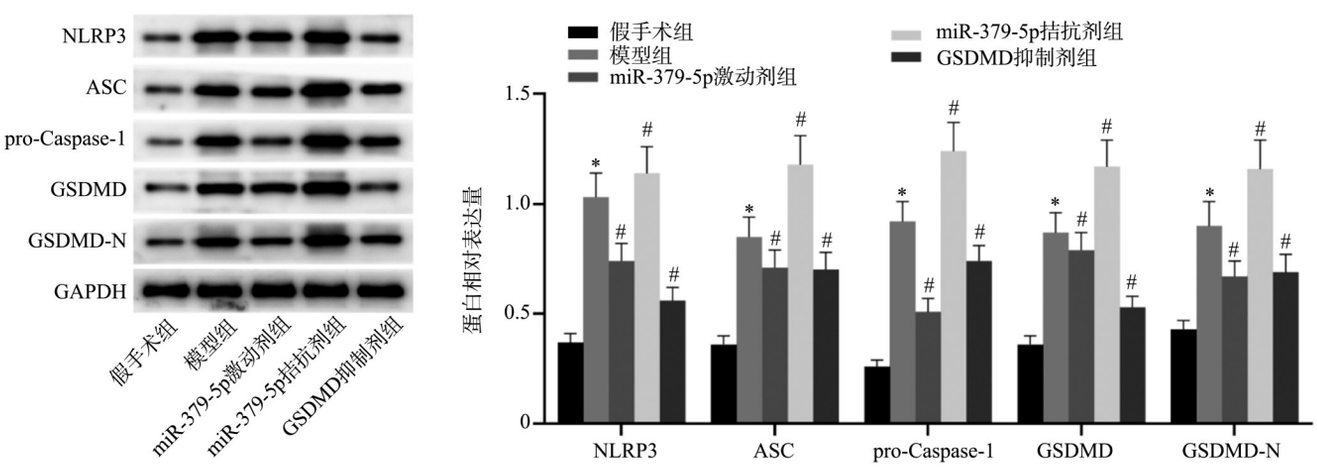


图8 各组大鼠脑组织GSDMD荧光表达检测结果



*:与假手术组比较,$P<0.05$;#:与模型组比较,$P<0.05$

图9 各组大鼠脑组织相关蛋白表达检测结果

障碍和脑组织病理学损伤,而下调miR-379-5p表达则起相反作用,提示miR-379-5p可能在CIRI中发挥神经保护作用。

miR-379-5p与多种疾病的发生和发展有关[16-19]。有研究发现,miR-379-5p在缺血性脑卒中患者血清样本中的表达水平显著降低,提示miR-379-5p可能在脑血管疾病中发挥重要作用[20]。本研究结果显示,与模型组比较,miR-379-5p激动剂组大鼠的mNSS评分降低,提示神经功能障碍减轻;TTC染色和HE染色显示脑组织梗死面积减少,神经元排列紊乱、细胞肿胀及空泡样变性均得到改善,表明脑组织损伤得到缓解;TUNEL染色结果显示神经元凋亡指数降低。以上结果表明miR-379-5p激动剂可显著改善CIRI大鼠的神经功能,进一步支持在CIRI中上调miR-379-5p表达可起到神经保护作用。相反,miR-379-5p拮抗剂组显示出与miR-379-5p激动剂组相反的病理变化,mNSS评分升高,脑组织梗死面积扩大,神经元损伤加重,表明miR-379-5p的下调加剧了CIRI的病理损伤。

细胞焦亡是一种具有炎症特征的程序性死亡方式。在焦亡过程中,NLRP3炎性小体被激活,会招募ASC蛋白并聚集大量pro-Caspase-1,pro-Caspase-1通过自身切割为活化的Caspase-1,而Caspase-1又可切割GSDMD生成具有活性的GSDMD-N,该片段能够插入细胞膜并形成膜孔,导致细胞肿胀和破裂;同时,成熟的炎症介质如白细胞介素-1β和白细胞介素-18通过这些膜孔释放到细胞外,从而引发焦亡相关的炎症

反应[21]。这一机制在CIRI病理过程中发挥重要作用，焦亡会加剧CIRI并促进神经元死亡。miRNA可以通过靶向作用于焦亡相关的关键分子或通路来调控细胞焦亡，从而影响CIRI的发生和发展。Jin等[22]研究发现，miR-96-5p在缺血性脑卒中后表达下调，上调其表达能够通过抑制Caspase-1表达来减轻CIRI行为障碍，降低脑含水量和脑组织梗死体积。Liu等[23]揭示了miR-135a-5p通过靶向DDX3X抑制NLRP3介导的神经元焦亡，从而缓解CIRI并改善神经功能。本研究结果显示，与模型组比较，miR-379-5p激动剂组大鼠脑组织中GSDMD平均荧光密度降低，同时NLRP3、ASC、pro-Caspase-1、GSDMD及GSDMD-N的蛋白表达水平下调，这表明miR-379-5p通过抑制炎症小体的激活与焦亡相关蛋白的表达，减轻了焦亡发生。然而，本研究还发现，miR-379-5p拮抗剂组大鼠脑组织中GSDMD平均荧光密度升高，且NLRP3、ASC、pro-Caspase-1、GSDMD及GSDMD-N的蛋白表达水平上调，进一步证明了miR-379-5p对焦亡的抑制作用。上述结果表明，miR-379-5p通过负向调控焦亡相关因子的表达，可能在减轻CIRI大鼠脑损伤和改善神经功能方面发挥重要作用。

GSDMD属于Gasdermin家族的蛋白成员，是细胞焦亡的关键效应物。GSDMD-N具有膜孔形成能力，C端结构域通过与N端结合抑制其焦亡作用。当炎症小体激活后，Caspase-1可裂解GSDMD，去除C端抑制域并释放N端结构域，促进焦亡[24]。研究证实，GSDMD与CIRI中焦亡过程密切相关[25]。在CIRI急性期，脑梗死区域细胞焦亡水平增加，敲除GSDMD可通过抑制小胶质细胞焦亡和抑制神经炎症发挥神经保护作用。本研究利用GSDMD抑制剂necrosulfonamide处理的结果与miR-379-5p激动剂组结果一致，表现为大鼠mNSS评分降低、脑组织梗死面积减少、神经元损伤改善以及焦亡相关蛋白表达水平下降，以上结果进一步支持了GSDMD在CIRI中的关键作用，并提示miR-379-5p可能通过抑制GSDMD介导的焦亡来发挥神经保护作用。

综上所述，miR-379-5p在CIRI大鼠脑组织中表达下调，上调其表达可减轻脑组织损伤程度，恢复神经功能，抑制焦亡核心执行蛋白GSDMD及NLRP3、ASC、pro-Caspase-1、GSDMD-N的表达水平，从而抑制GSDMD-N介导的细胞焦亡，改善CIRI。这一发现为CIRI的治疗提供了新的潜在靶点。然而，本研究仍存在一定的局限性，miR-379-5p在CIRI中是否调控其他细胞死亡途径（如自噬或铁死亡）尚不清楚，且其作用的靶基因及具体机制也尚未确定，有待后续进一步研究。

[参考文献]

[1] Wang Q, Yang F, Duo K, et al. The role of necroptosis in cerebral ischemic stroke[J]. Mol Neurobiol, 2024, 61(7): 3882-3898. doi: 10.1007/s12035-023-03728-7.

[2] Kumar Saini S,Singh D. Mitochondrial mechanisms in cerebral ischemia-reperfusion injury: unravelling the intricacies [J]. Mitochondrion, 2024,77:101883. doi:10.1016/j.mito.2024.101883.

[3] Kapanova G, Tashenova G, Akhenbekova A, et al. Cerebral ischemia reperfusion injury: from public health perspectives to mechanisms[J]. Folia Neuropathol, 2022, 60(4): 384-389. doi: 10.5114/fn.2022.120101.

[4] Oladapo A, Jackson T, Menolascino J, et al. Role of pyroptosis in the pathogenesis of various neurological diseases[J]. Brain Behav Immun, 2024,117:428-446. doi:10.1016/j.bbi.2024.02.001.

[5] 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. doi:10.1002/jnr.24385.

[6] Brillante S, Volpe M, Indrieri A. Advances in microRNA therapeutics: from preclinical to clinical studies[J]. Hum Gene Ther, 2024, 35(17/18):628-648. doi:10.1089/hum.2024.113.

[7] Neag MA, Mitre AO, Burlacu CC, et al. miRNA Involvement in cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. Front Neurosci, 2022, 16:901360. doi: 10.3389/fnins.2022.901360.

[8] Mo Y, Sun YY, Yue E, et al. MicroRNA-379-5p targets MAP3K2 to reduce autophagy and alleviate neuronal injury following cerebral ischemia via the JNK/c-Jun signaling pathway[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2022, 38(3):230-243. doi:10.1002/kjm2.12488.

[9] 李华妮，刘长河，郭晓燕，等. 心脑舒通胶囊抑制铁死亡减轻大鼠脑缺血再灌注损伤的机制[J]. 中国药房，2025，36(3)：306-311. doi：10.6039/j.issn.1001-0408.2025.03.08.

[10] Zhou XY, Lin B, Chen W, et al. The brain protection of MLKL inhibitor necrosulfonamide against focal ischemia/reperfusion injury associating with blocking the nucleus and nuclear envelope translocation of MLKL and RIP3K[J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1157054. doi:10.3389/fphar.2023.1157054.

[11] Yuan L, Chen W, Xiang J, et al. Advances of circRNA-miRNA-mRNA regulatory network in cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. Exp Cell Res, 2022, 419(2): 113302. doi: 10.1016/j.yexcr.2022.113302.

[12] 王坤鹏，卢志刚. 微小RNA调控脑缺血再灌注损伤炎症反应机制的研究进展[J]. 实用心脑肺血管病杂志，2024，32(8)：136-140. doi：10.12114/j.issn.1008-5971.2024.00.158.

[13] Tu Y, Hu Y. MiRNA-34c-5p protects against cerebral ischemia/reperfusion injury: involvement of anti-apoptotic and anti-inflammatory activities[J]. Metab Brain Dis, 2021, 36(6): 1341-1351. doi: 10.1007/s11011-021-00732-7.

[14] Sun K, Zhang J, Yang Q, et al. MiR-10b-3p alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by targeting Krüppel-like factor 5 (KLF5)[J]. Pflugers Arch, 2022, 474(3): 343-353. doi: 10.1007/s00424-022-02663-z.

[15] Li J, Yang C, Wang Y. miR-126 overexpression attenuates oxygen-glucose deprivation/reperfusion injury by inhibiting oxidative stress and inflammatory response via the activation of SIRT1/Nrf2 signaling pathway in human umbilical vein endothelial cells[J]. Mol Med Rep, 2021, 23(2): 165. doi: 10.3892/mmr.2020.11804.