

付雪琴,兰瑞,张勇,等. 基于表观遗传学调控的中医药治疗中风研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(12): 104-111.
Fu XQ, Lan R, Zhang Y, et al. Research progress of traditional Chinese medicine for stroke on the basis of epigenetic regulation [J].
Chin J Comp Med, 2023, 33(12): 104-111.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.12.016

基于表观遗传学调控的中医药治疗中风研究进展

付雪琴¹, 兰 瑞^{2*}, 张 勇³, 王漫漫¹, 邹旭欢¹, 王伟玮¹

(1.河南中医药大学,郑州 450000;2.河南中医药大学第一附属医院,郑州 450000;
3.郑州大学第三附属医院,郑州 450000)

【摘要】 表观遗传学是分子生物学的一个分支,表观遗传修饰在缺血性卒中病理学进展中起着核心作用。表观遗传机制参与调节中风后基因表达、细胞损伤反应、运动功能和认知能力的复杂而动态的过程,是阐释中医药治疗缺血性卒中的靶点及其作用机制的有效途径。目前,缺血性卒中的病因病机尚未完全明确,现代医学治疗尚有不足,而中药在治疗缺血性脑卒中方面具有独特的优势,具有多层次、多靶点的整体调节作用。最新研究发现,中医药能参与调控异常表观遗传修饰治疗中风。本文主要围绕中风病中医理论基础,从 DNA 甲基化、非编码 RNA 及组蛋白修饰三个方面在中风治疗及中医药研究中的应用入手,阐释中医药治疗中风的表观遗传作用,以期为今后抗脑缺血中药的研究开发提供参考依据。

【关键词】 表观遗传学;中风;中医药;DNA 甲基化;非编码 RNA;组蛋白修饰
【中图分类号】 R-33 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-7856 (2023) 12-0104-08

Research progress of traditional Chinese medicine for stroke on the basis of epigenetic regulation

FU Xueqin¹, LAN Rui^{2*}, ZHANG Yong³, WANG Manman¹, ZOU Xuhuan¹, WANG Weiwei¹

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China. 2. the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000. 3. the Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000)

【Abstract】 Epigenetics, a branch of molecular biology, plays a pivotal role in the pathological progression of ischemic stroke. Epigenetic modifications are intricately involved in the complex and dynamic processes that regulate gene expression, cellular injury response, motor function, and cognitive ability following stroke. This provides an effective framework for elucidating the targets and mechanisms of action underlying traditional Chinese medicine's treatment of ischemic stroke. Currently, the etiology and pathogenesis of ischemic stroke remain incompletely understood, with modern medical treatments still lacking sufficient efficacy. Traditional Chinese medicine possesses a unique advantage in treating ischemic stroke through its multi-level and multi-target comprehensive regulation. Recent studies have discovered that traditional Chinese medicine can participate in regulating abnormal epigenetic modifications during stroke treatment. This article primarily focuses on the theoretical foundation of traditional Chinese medicine for strokes by exploring its application in DNA methylation, non-coding RNA, histone modification research as well as explaining the epigenetic effects it exerts when treating strokes. The aim is to provide insights for future research and development of traditional Chinese medicine for cerebral ischemia.

【Keywords】 epigenetics; stroke; traditional Chinese medicine; DNA methylation; non-coding RNA; histone modification

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

【基金项目】国家自然科学基金(81973618,81503422);河南省自然科学基金(202300410399)。
【作者简介】付雪琴(1994—),女,硕士研究生,研究方向:中西医神经内科学。E-mail:fxq1827@163.com
【通信作者】兰瑞(1984—),女,副主任医师,硕士生导师,博士后合作导师,研究方向:中西医神经内科学。E-mail:lanrui0312@163.com

中风是一种多因素多系统疾病,被认为是全球死亡和残疾的主要原因,每年约 500 万人死于中风,另外 500 万人永久残疾,给家庭和社会造成沉重的经济负担^[1]。遗传学在中风病理生理学中起着重要作用,然而,基因组参与该疾病的机制尚不清楚。遗传和表观遗传机制都可能在中风疾病的发展中发挥作用。研究表明,表观遗传因素在导致中风风险升高的病理机制中具有重要作用^[2]。表观遗传变化是可逆的,研究表观遗传因素可以作为疾病进展和诊断的标志物,以及治疗干预新靶点的发展。

随着分子生物学对疾病研究的深入,认为中风由表观遗传修饰的改变所导致。因此,针对表观遗传的调控已成为脑卒中研究领域的热点。表观遗传学的研究与难以逆转的遗传变化相反,表观遗传畸变在医学上是可逆的。新兴的表观遗传学工具可用作预防、诊断和治疗疾病的标志物。随着靶向基因表达调控中涉及的特定表观遗传机制的药物的发展,表观遗传工具的开发利用是一种适当而有效的方法,可以在临床上应用于各种疾病的治疗。表观遗传机制可以调节生物体中发生的不同生理过程,包括细胞增殖和分化。更深入地了解与中风及其危险因素相关的表观遗传修饰,可以为开发和治疗这种致残性疾病的创新方法提供基础^[3-6]。近年来表观遗传学在中风方面研究日益增多。中医药研究发现,中医理论与表观遗传学不谋而合,二者均强调人体的生理、病理变化与外界因素的关系,明确中医药调控表观遗传学的具体作用机制,可为治疗中风提供有力证据^[7]。

1 中医药治疗脑卒中相关理论的表观遗传学基础

1.1 中风中医证候与表观遗传学

中医证候学说,即疾病的证候,是对疾病过程中一定阶段的病因、病机、病位、病势等病机本质的概括,一般由一组相对固定的、有内在联系的、能揭示疾病某一阶段或某一类型病变本质的症状和体征构成。中医认为证候是内外环境与人体相互影响的阶段性病理概括,且可以通过对环境等因素的干预以及方药的运用,调整证候的表现,从而影响复杂疾病的发生和发展。这种观点符合表观遗传学可逆调控的观点,通过多靶点调节对改善人们体质的持久作用是基于中医理论的^[8]。因此认为,中医的证候可能包含表观遗传学的内容,将表观遗传学与中医证候分析有机结合,则可能对疾病的本质

了解更深入^[7,9]。

1.2 中医整体观与表观遗传学

中医天人合一和形神一体的整体观念对疾病整体预防有重要指导作用,整体观念是治未病的基础和指导思想。整体观念认为,世界万物由气分化演变而来。注重人与自然、人与社会、人体内部各功能系统之间的相互联系、相互作用,强调整体大于部分之和。辩证论治,治贵权变,然其指导思想从整体出发,协调机体内部脏腑阴阳气血,顺应自然社会环境变化,《素问》:“阴阳逆从标本之为道也,小而大,言一而知百病之害,少而多,浅而博,可以言一而知百也。”中医学注重从整体出发的宏观认识,宏观考察生物人、自然人、社会人的总体功能变化规律,宏观认识人体自身,以及把握五脏系统与精气神、经络、体质间的相互联系和相互作用,构建“天人相应”的宏观认识。辩证的对待宏观与微观的关系。“辩证论治”“同病异治”“异病同治”思想与表观遗传学不改变 DNA 序列而使其功能改变如出一辙^[10]。

中医理论认为,阴阳是不断运动变化的,在临床实践中,平衡阴阳,实现“阴平阳秘”是中医治病的最终目标。DNA 的甲基化和去甲基化也是动态变化的,与中医理论有着相似的联系。中药在治疗疾病的过程中具有明显的效果和优势。除了方剂的应用研究外,DNA 甲基化修饰还可以为现代方剂的合理性提供理论依据,如根据药物不同主要成分的不同表观遗传效应和偏好对方剂进行合理优化。因此,我们可以根据表观遗传学的思想,为中医作为表观遗传药物的研发提供新的途径。

1.3 中药方剂与表观遗传学

中药方剂在中医文明历史上占据重要地位,经过数千年的积累和沉淀,由最初的单味药治病,到后来的数味药配合应用,逐渐形成了方剂。方剂学是中医学理、法、方、药体系的重要组成部分,推动中医药事业的发展,承载着中医药的发展史。近年来中药方剂的现代研究发展快速,已经在世界范围内用于预防和治疗不同疾病,通过多靶点和整体方法,方剂在治疗多因素全身复杂疾病方面显示出优势,随着生物药学技术的发展,组学分析等在中药方剂的应用越来越广,组学研究为中药方剂的潜在未来发展提供了新的机会,并从还原论转向整体主义,这些新方法呼应了方剂学的哲学和治疗方法。

表观遗传学研究对中草药非常有益,表观遗传

学是动态变化和可逆过程,具有遗传性和可变性特征。DNA 甲基化阐明中草药配方和化合物的药理学机制,对促进中草药临床应用具有重要意义,DNA 甲基化提供了科学验证,证明中草药理论的临床可行性,特定 DNA 甲基化位点可以作为潜在的生物标志物,在分子水平上实现中草药的诊断和应用。此外,DNA 甲基化广泛分布在人体内,中草药以系统和多目标的方式工作。从这个角度来看,甲基化可能有助于揭示中草药分子机制和定位潜在的药物靶点,对于临床实践将具有极其重要的意义^[11-13]。

2 中医药治疗缺血性卒中的表观遗传学机制

2.1 DNA 甲基化与中风

DNA 甲基化涉及胞嘧啶的 5-碳位置的化学共价修饰,以在 CpG 岛上产生 5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5-mC),使染色质更紧密地闭合并导致基因表达沉默的转录机制。DNA 甲基转移酶家族(DNA methyltransferases, DNMTs)催化 DNA 甲基化,以在基因组上保存或产生 5-mCs。此外,甲基 CpG 结合结构域(methyl-CpG binding domain, MBD)家族成员,如 MBD1 和甲基化 CG 结合蛋白 2(methyl-CpG-binding protein 2, MeCP2),也可以结合启动子中的甲基化 CpG 并抑制基因表达^[14]。研究表明,Dnmt1、Dnmt3a、MBD1 和 MeCP2 敲低,通过对神经基因的直接表观遗传调控,影响增殖的神经前体细胞(neural precursor cell, NPC)和分化神经元^[15]。此外,在对小鼠(middle cerebral artery occlusion, MCAO)后表观遗传变化的研究显示,大脑内整体 DNA 甲基化上调,侧脑室注射甲基转移酶(methyltransferase, Mase)抑制剂 5-氮杂-2-脱氧胞苷(5-az-2-deoxycytidine, 5-az-dC) 10 $\mu\text{g}/\text{d}$,连续注射 28 d 进行遗传学或药理学 DNMT 抑制,可降低 MCAO 损伤的严重程度,这表明 DNA 甲基转移酶有助于延迟缺血性脑损伤^[16]。

近年来,启动子 DNA 甲基化在缺血性卒中发病机制中得到了很好的研究^[3]。在中风动物模型中,DNA 甲基化的全局水平更高,并且与大脑中甲基转移酶(DNMT)的高活性有关。研究表明,DNMT 的药理学抑制被证明可以减少甲基化,减少大脑中动脉闭塞(MCAO)大鼠模型的梗死面积和脑缺血损伤^[17],这表明控制 DNA 甲基化对脑卒中具有保护作用。在大脑中动脉闭塞模型中,钠-钾-氯协同转运蛋白 1(Na-K-Cl cotransporter 1, NKCC1)的 DNA 甲

基化水平降低与神经元损伤后脑 NKCC1 mRNA 和蛋白质的重新表达相关^[18]。在疾病的病因研究当中,已发现高水平的血浆同型半胱氨酸是多种血管疾病的独立危险因素,同型半胱氨酸的代谢受膳食调节,饮食不良和同型半胱氨酸代谢的改变与较高卒中发生率有关,有研究表明,胱硫醚- β -合酶(cystathionine β synthase, CBS)启动子中的 DNA 高甲基化与中风风险增加具有相关性^[19]。CBS 高甲基化导致酶活性低、血浆同型半胱氨酸积累对卒中的易感性增加。同时,高水平的血浆同型半胱氨酸也与卒中患者血栓调节素(thrombomodulin, TM)的 DNA 高甲基化有关。TM 是在内皮表达的完整的膜蛋白,通过充当凝血酶受体来发挥抗凝特性,TM 的可溶性对血管内凝血调节发挥重要作用^[20-22]。Hong 等^[23]研究发现,脑缺血再灌注损伤模型制备成功后,脑络欣通每天 2 次灌胃治疗,连续 14 d 可以降低 NogoA 途径在脑缺血后的 DNA 甲基化水平,从而抑制 NogoA/RhoA/ROCK 途径的表达产生抗脑缺血作用。

2.2 非编码 RNA 与中风

MicroRNA(miRNA)是小的内源性单链非编码的 RNA 分子,长度从 18~25 nt 不等,在临床和动物实验的研究中发现,miRNA 水平在高血压、血脂异常、动脉粥样硬化和炎症中会发生变化^[18]。miRNA 的表达在许多生理和病理过程中起重要作用,包括表观遗传学和神经退行性疾病以及特定神经系统疾病的进展^[24]。已经证明在中风的不同阶段发现了 miRNA 水平的修饰,表明 miRNA 可能用于诊断、预后和治疗^[25-26]。

中风会改变人类以及动物的血液样本中的 miRNA 分布。神经干细胞(neural stem cell, NSC)表达 miRNA 和 miRNA 在卒中后神经发生功能已经显现。研究发现,大鼠 MCAO 模型中提取的缺血性脑室下区(subventricular, SVZ)NPC 中,神经元特异性 miR-124 在脑和血浆水平明显增加,在中风发展后 24 h 达到峰值。这些结果表明,miR-124 的血浆水平可用于监测脑缺血性损伤^[27]。Stanzione 等^[28]研究了 MCAO 模型中 238 个 miRNA 的大脑特征,并在不同的再灌注时间发现了几种上下调节的 miRNA。生物信息学分析显示,解除管制的 miRNA 靶向参与中风的几个基因的 mRNA。其中,有属于炎症途径,白细胞介素 1 β (interleukin 1 β , IL-1 β)和白介素 6(interleukin 6, IL-6),细胞间粘附分子 1(intercellular

cell adhesion molecule-1, ICAM1), 环加氧酶 2 (recombinant cyclooxygenase 2, COX2), 神经保护热休克蛋白 27 (heat-shock protein 27, HSP27), 外周型苯二氮卓类受体 (peripheral benzodiazepine receptor, PTBR), 锰超氧化物歧化酶 (manganese-containing superoxide dismutase, Mn-SOD), 胰岛素样生长因子结合蛋白 3 (insulin like growth factor binding protein 3, IGF-BP3) 的基因, 转录调控, 活化 B 细胞的核因子 κ -轻链增强子 (nuclear factor- κ B, NF- κ B), 缺氧诱导因子 1 (hypoxia-inducible factor 1, HIF1), 早期生长抑制因子 1 (early growth response 1, Egr1), 激活转录因子 3 (transcription Activation Factor 3, ATF3)。这些过程在缺血后大脑重塑过程中共同起着根本性的作用^[29]。

局灶性和永久性缺血已被证明可以降低卒中患者血浆中以及啮齿动物血液和大脑中的 miR-424 表达^[30]。miR-424 的过表达被证明可以通过增加 Nrf2 和 MnSOD 来减少缺血诱导的小鼠大脑中氧化应激和梗死。在永久性局灶性缺血小鼠模型中, miR-424 过表达通过抑制小胶质细胞活化来减少水肿和炎症过程。MiR-424 在缺氧作用下的人内皮细胞中的表达增加, 并通过稳定 HIF-1 α 促进血管生成。在脑卒中患者血浆中, 淋巴细胞和中性粒细胞的 miR-424 水平上调, 与 TNF- α 、IL-10 和 IGF-1 表达以及梗死大小呈负相关^[31]。研究表明, miR-124 在卒中后增加, 并且在短暂 MCAO 和体外氧糖剥夺再灌注 (oxygen-glucose deprivation/reperfusion, OGD/R) 模型中, miR-124 模拟物的递送可赋予神经保护^[32-34]。MiR-155 被证明可以上调小鼠中的炎症细胞因子, 如 IL-10、IL-4 和 IL-6 并通过大鼠的 Rheb/mTOR 途径增加细胞凋亡局灶性缺血性损伤后。通过增加一氧化氮 (NO) 的产生以及 Notch1 和内皮 NO 合酶的表达, 抑制 miR-155 显著降低了短暂 MCAO 后小鼠的梗死。张洋等^[35]研究发现, 腹腔注射丹参酮 II A 注射液 (24 mg/kg) 连续 7 d, 可以上调缺血缺氧性脑病大鼠海马组织中 miR-132 表达, 改善大鼠神经功能和海马组织病理损伤, 其机制可能与抑制海马神经元凋亡以及增加海马神经递质水平、树突棘密度、突触前蛋白、MAP-2 和 BDNF 蛋白表达有关。

2.3 组蛋白修饰与中风

组蛋白 (Histone) 是一组保守的 DNA 结合蛋白, 形成染色质基本单位核小体。组蛋白包含 5 种

成分: H1、H2A、H2B、H3 和 H4。除 H1 外, 其余四种组蛋白分别作为异源二聚化组合形成核小体核心。组蛋白尾巴的这些修饰起着至关重要的作用, 例如通过调节组蛋白和 DNA 双链相互作用来影响染色质的结构和稳定性, 并通过影响其他转录因子和结构基因启动子的亲和力来调节基因转录^[36-38]。

抑制组蛋白脱乙酰被证明可以在中风后保护大脑。丙戊酸 (valproic, VPA) 腹腔注射给药可防止 H3 和 H4 的脱乙酰化, 并改善成年大鼠缺血后海马 CA1 (hippocampal CA1 region) 神经元死亡^[39]。用 VPA 或丁酸钠或曲古抑菌素 (trichostatin, TSA) 治疗被证明可以抑制小胶质细胞活化, 下调一氧化氮合酶和上调热休克蛋白, 从而改善行为结局并减少永久性 MCAO 后大鼠的梗死体积^[40]。重要的是, VPA 和丁酸钠在啮齿动物局灶性缺血后 3~6 h 再灌注时最有益, 这表明这些药物在卒中治疗中的转化潜力。在小鼠中短暂 MCAO 后施用伏立诺他 (suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) 被证明可以抑制缺血诱导的 H3 脱乙酰化, 这导致细胞因子 IL-1 β 的水平降低和伴侣 HSC70 的水平升高。SAHA 治疗也减少了短暂性 MCAO 后梗死的大小。在缺氧缺血小鼠模型中, 用组蛋白乙酰乙酶 (histone deacetylase, HDAC) 抑制剂 4-PBA 进行中风前或中风后治疗也被证明可以显著减少梗死体积。一项使用从小鼠视神经分离的白质细胞的体外研究表明, 在氧葡萄糖剥夺之前或之后, HDAC 抑制剂治疗 (SAHA 或 MS-275) 保留了白质结构并降低了兴奋性毒性^[41-43]。

研究表明, HDAC 抑制减轻了中风后的损伤, 相关机制可能是细胞外谷氨酸清除率的上调, 抑制 p53 介导的细胞死亡和维持线粒体完整性^[44]。姜黄素在 IC 中具有 HDAC 抑制电位, Yuan 等^[45]发现 HDAC-1、HDAC-3、HDAC-8 蛋白的下调和组蛋白 H4 表达的上调调节 Raji 细胞增殖和凋亡。除作用于 HDAC 外, 姜黄素以 20、40、60 mg/kg 腹腔注射给药, 连续 7 d, 通过抑制组蛋白乙酰转移酶 (Histone acetyltransferase, HAT) 活性的 p300/CREB 结合蛋白 (CBP) 并调节 BDNF 以及 cox-2 在大鼠中的表达缓解神经性疼痛^[46]。这些研究表明姜黄素可以控制乙酰化/脱乙酰化机制, 这些过程可以改变染色质结构以控制基因表达, 姜黄素作为潜在的 HDAC 抑制剂, 可以通过调节中风发病机制中的重要机制来研究中风诱导的表观遗传机制^[47] (表 1)。

表 1 基于表观遗传学调控中医药治疗中风研究汇总表
Table 1 Summary of stroke treatment by TCM based on epigenetics

分类 Sort	名称 Name	来源/组成 Composition/source	作用靶点 Target	机制 Mechanism
单体 ^[48-53,35] Monomer	鸡血藤总黄酮 Total flavonoids from blood thorn	鸡血藤 Spatholobus suberctu	ERK mRNA, ERK DNA	鸡血藤总黄酮通过调节肠道屏障功能、减轻海马组织氧化应激促进海马组织 ERK mRNA 表达、抑制 ERK 甲基化 DNA 甲基化水平 Total flavonoids of <i>P. alopecuroides</i> enhance the expression of ERK mRNA in the hippocampus and attenuate ERK methylated DNA methylation by modulating intestinal barrier function and reducing oxidative stress in the hippocampus
单体 ^[48-53,35] Monomer	三七总皂苷 Panax Notoginsenosides	三七 Notoginseng	miRNA rno-miR-483 FIBIN, FOXERD2 NAAA	三七总皂苷可能通过 rno-miR-483 的靶基因和靶基因诱导的蛋白 FIBIN、FOXERD2 以及 NAAA 发挥脑保护作用 Potential neuroprotective effects of TSP may be mediated through the modulation of rno-miR-483 and its downstream target genes, including FIBIN, FOXERD2, and NAAA-induced proteins
单体 ^[48-53,35] Monomer	人参皂苷 Rb1 Ginsenoside Rb1	人参 Ginseng	miR-145, SOD P300/CBP, AcH3, HDAC2	人参皂苷 Rb1 通过减少 miR-145 含量来上调脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织 SOD 活性发挥脑保护作用,减轻脑缺血再灌注损伤模型小鼠缺血半暗带和海马神经元的凋亡,改善学习记忆能力 Administration of Ginsenoside Rb1 enhances superoxide dismutase (SOD) activity in the brain tissues of rats subjected to cerebral ischemia-reperfusion injury by reducing the content of miR-145. This intervention exerts neuroprotective effects by attenuating apoptosis in the ischemic penumbra and hippocampal neurons, as well as improving learning and memory abilities
单体 ^[48-53,35] Monomer	小檗碱 Berberine	黄连 Coptidis rhizoma	PPAR γ , DNMT1, DNMT3a	小檗碱在缺血再灌注损伤中可以上调 PPAR γ 表达。抑制 PPAR γ 可以减弱小檗碱对缺血再灌注损伤神经细胞的保护作用 Expression of PPAR γ is upregulated by Berberine during ischemia-reperfusion injury, and the protective effect of Berberine on ischemia-reperfusion injury is attenuated upon inhibition of PPAR γ
单体 ^[48-53,35] Monomer	姜黄素 Curcumin	姜黄 Radix curcuma	线粒体功能障碍, TIMP-2 高甲基化 Mitochondrial dysfunction, TIMP-2 hypermethylation	抑制缺血再灌注诱导损伤的小鼠的线粒体功能障碍和 TIMP-2 高甲基化。 Inhibition of mitochondrial dysfunction and hypermethylation of TIMP-2 in mice with ischemia-reperfusion-induced injury
单体 ^[48-53,35] Monomer	丹参酮 II A Tanshinone II A	丹参 Salvia miltiorrhiza	miR-132	抑制海马神经元凋亡以及增加海马神经递质水平、树突棘密度、突触前蛋白、MAP-2 和 BDNF 蛋白表达有关 Inhibitory effect on hippocampal neuronal apoptosis is enhanced, leading to an increase in hippocampal neurotransmitter levels, dendritic spine density, and protein expression of presynapse, MAP-2, and BDNF
复方 ^[54-59,23] Compound	补阳还五汤 Buyang Huanwu Decoction	黄芪、当归尾、赤芍、地龙、川芎、桃仁 Astragalus, Angelica tail, Red peony root, Dilong, Chuanxiong, Persicae serren	Cav-1、m ⁶ A 抑制线粒体凋亡和自噬, α -突触核蛋白降解, 神经元生长, 挽救 MPTP 受损神经元 Presence of Cav-1 and m ⁶ A hinders mitochondrial apoptosis and autophagy, impedes α -synuclein degradation, inhibits neuronal growth, and facilitates the recovery of MPTP-damaged neurons	补阳还五汤可能通过 Cav-1 调控脑缺血小鼠 m ⁶ A 甲基化水平和血管新生, 从而发挥抗脑缺血损伤作用。补阳还五汤降低多巴胺能神经元的损伤, 降低大脑中凋亡细胞数量, 缓解 MPTP 诱导的运动障碍 Administration of Buyang Huanwu Decoction in cerebral ischemic mice may regulate the mRNA expression of Cav-1, N(6)-methyladenosine levels, and promote angiogenesis, thereby exerting a protective effect against cerebral ischemic injury. Additionally, Buyang Huanwu Decoction attenuates dopaminergic neuronal damage, reduces apoptotic cell numbers in the brain, and alleviates MPTP-induced movement disorders

续表1

分类 Sort	名称 Name	来源/组成 Composition/ source	作用靶点 Target	机制 Mechanism
复方 ^[54-59, 23] Compound	温阳逐瘀汤 Wen Yang and Expelling Stasis Decoction	制附子、肉桂、杜仲、巴戟天、当归、熟地、桃仁、红花、水蛭、姜半夏、南山楂、红参 Prepare Aconite, Cinnamon, Eucommia, Morinda officinalis, Angelica, Rehmannia glutinosa, Persicae semen, Carthamus tinctorius, Hirudo, Ginger Pinellia, Hawthorn, Red Ginseng	miR-210, Ephrin-A3	温阳逐瘀汤改善脑缺血神经功能缺损程度,上调脑缺血损伤后 miR-210 的表达,对其靶基因进行负调控,这有可能是脑缺血损伤后诱导血管生成的机制之一 Administration of Wenyang Zhuyu Decoction resulted in an improvement in the severity of cerebral ischemic neurological deficit, upregulation of miR-210 expression following cerebral ischemia, and subsequent negative regulation of its target gene. These findings suggest that this mechanism may contribute to the induction of angiogenesis after cerebral ischemia
	复方 ^[54-59, 23] Compound	阳化汤 Yanghua Decoction		阳化汤能改善急性缺血性中风患者神经功能缺损及提高日常生活能力;阳化汤可能通过下调患者血清外泌体 miR-9-3p/5p、miR-124-3p 的表达,进一步影响 cGMP-PKG 等信号途径,发挥治疗作用 Administration of Yanghua Decoction has the potential to enhance neurological function deficits and daily life abilities in patients with acute ischemic stroke. This therapeutic effect may be attributed to the down-regulation of serum exosomes miR-9-3p/5p and miR-124-3p expression by Yanghua Decoction, subsequently influencing cGMP-PKG and other signaling pathways
复方 ^[54-59, 23] Compound	燥湿化痰饮 Zaoshi Huatan Decoction	桂枝尖、苍术、陈皮、法半夏、茯苓、南山楂、田七、丹参、石菖蒲、生姜、炙甘草 Guizhi Jian, Cangzhu, Chenpi, Fabanxia, Fuling, Nanshazha, Tianqi, Salvia miltiorrhiza, Shichangpu, Ginger and Baked Licorice	miR-9-3p/5p, miR-124-3p	燥湿化痰饮可调节脑卒中后认知障碍患者外周血单个核细胞相关 miRNA 水平,减轻氧化应激损伤,改善认知功能,提高近期疗效 Zaoshi Huatan Decoction can effectively modulate the levels of miRNA associated with peripheral blood mononuclear cells in patients suffering from post-stroke cognitive impairment, thereby mitigating oxidative stress-induced injury, enhancing cognitive function, and improving short-term therapeutic outcomes
	复方 ^[54-59, 23] Compound	和血生络方 Hexushengluo Decoction		和血生络方能够通过调节 miRNA-210 的表达,参与调控 HIF-VEGF-Notch 信号通路分子水平的变化,发挥缺血性脑卒中促血管新生的作用 Hexushengluo Decoction is capable of regulating the expression of miRNA-210, thereby participating in the molecular-level modulation of the HIF-VEGF-Notch signaling pathway and effectively promoting angiogenesis in ischemic stroke
复方 ^[54-59, 23] Compound	脑络欣通 Naoluoxintong	胆南星、川芎、天麻、钩藤、石菖蒲、水蛭、僵蚕、红景天 Southern gall, Chuanxiong, Gastrodia, Hooker vine, Shichangpu, Hirudo, stiff silkworm, Rhodiola rosea	miRNA-124, mRNA-134	
	复方 ^[54-59, 23] Compound	黄芪、人参、川芎、当归、天麻、红景天、熟地、白芍、丹参、黄芩 Astragalus, Ginseng, Chuanxiong, Angelica, Gastrodia, Rhodiola rosea, Rehmannia glutinosa, Radix paeoniae alba, Salvia miltiorrhiza, and Radix scutellariae	miRNA-21, HIF-VEGF-Notch	脑络欣通降低脑缺血再灌注损伤大鼠 NogoA 通路甲基化水平,抑制 NogoA/RhoA/ROCK 蛋白的表达,缓解神经胶质细胞的凋亡。 Administration of Naoluoxintong can effectively attenuate the methylation level of the NogoA pathway, suppress the expression of NogoA/RhoA/ROCK proteins, and ameliorate glial cell apoptosis in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury

3 讨论

中医崇尚整体观念和辨证论治,表观遗传学的整体性、动态性、个体性、与环境相互作用的特点与中医的核心理念高度一致。中药能通过多靶点、全方位、和多途径干预表观遗传学。将表观遗传学与中医药结合是诊治中风病的新思路和新方法。研究表明,中风后表观遗传修饰涉及多个环节,中药通过调控异常表观遗传修饰治疗中风是新的研究方向^[60]。目前中医药诊治中风表观遗传作用的研究尚未完全成熟,中药复方对表观遗传的调控在非编码 RNA 调控作用机制报道较多,DNA 甲基化和组蛋白修饰方面的研究较少。中医药治疗中风的研究应该利用现代科技,从分子生物学研究层面结

合临床研究,挖掘中医药的优势,形成中医药表观遗传医学知识网络,为中医药治疗中风提供科学依据及新的诊疗思路。

参考文献:

- [1] Shakir R, Norrving B. Stroke in ICD-11: the end of a long exile [J]. *Lancet*, 2017, 389(10087): 2373.
- [2] Cullell N, Soriano-Tárraga C, Gallego-Fábrega C, et al. DNA methylation and ischemic stroke risk: an epigenome-wide association study [J]. *Thromb Haemost*, 2022, 122(10): 1767-78.
- [3] Tang J, Zhuang S. Histone acetylation and DNA methylation in ischemia/reperfusion injury [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2019, 133(4): 597-609.
- [4] Hu Z, Zhong B, Tan J, et al. The emerging role of epigenetics in cerebral ischemia [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(3): 1887-1905.
- [5] Tuttolomondo A. Ischemic stroke pathogenesis: genetics, epigenetics and inflammation [J]. *Curr Pharm Des*, 2020, 26(34): 4207-4208.
- [6] Kao MH, Lin TN. Histone deacetylases in stroke [J]. *Chin J Physiol*, 2019, 62(3): 95-107.
- [7] 张宏亮, 蔡云, 朱冰梅. 表观遗传学在中医药研究中的应用 [J]. *时珍国医国药*, 2017, 28(10): 2504-2506.
- [8] Zhu D, Li A, Lv Y, et al. Traditional Chinese medicine: a class of potentially reliable epigenetic drugs [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 907031.
- [9] 王萍, 杨海燕, 王丽萍, 等. 从表观遗传学开展复杂性疾病证候本质的研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2011, 26(5): 1208-1210.
- [10] 刘敏, 刘喜德, 王安琪, 等. 中医药对表观遗传学影响的研究进展 [J]. *新中医*, 2018, 50(1): 131-134.
- [11] Hua M, Fan J, Dong H, et al. Integrating traditional Chinese medicine into Chinese medical education reform: issues and challenges [J]. *Int J Med Educ*, 2017, 8: 126-127.
- [12] Zhao ZZ. Retrospect and prospect of higher education in Chinese medicine in Hong Kong, China [J]. *Chin J Integr Med*, 2017, 23(7): 494-495.
- [13] Zhang SF, Mao XJ, Jiang WM, et al. Qian Yang Yu Yin Granule protects against hypertension-induced renal injury by epigenetic mechanism linked to Nicotinamide N-Methyltransferase (NNMT) expression [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 255: 112738.
- [14] Greenberg MVC, Bourc'his D. The diverse roles of DNA methylation in mammalian development and disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(10): 590-607.
- [15] Jobe EM, Zhao X. DNA methylation and adult neurogenesis [J]. *Brain Plast*, 2017, 3(1): 5-26.
- [16] Choi IA, Lee CS, Kim HY, et al. Effect of inhibition of DNA methylation combined with task-specific training on chronic stroke recovery [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(7): 2019.
- [17] Dock H, Theodorsson A, Theodorsson E. DNA methylation inhibitor zebularine confers stroke protection in ischemic rats [J]. *Transl Stroke Res*, 2015, 6(4): 296-300.
- [18] Wang C, Xu G, Wen Q, et al. CBS promoter hypermethylation increases the risk of hypertension and stroke [J]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2019, 74: e630.
- [19] Lee HA, Hong SH, Kim JW, et al. Possible involvement of DNA methylation in NKCC1 gene expression during postnatal development and in response to ischemia [J]. *J Neurochem*, 2010, 114(2): 520-529.
- [20] van Meurs JB, Pare G, Schwartz SM, et al. Common genetic loci influencing plasma homocysteine concentrations and their effect on risk of coronary artery disease [J]. *Am J Clin Nutr*, 2013, 98(3): 668-676.
- [21] Kadir RRA, Alwjaj M, Bayraktutan U. MicroRNA: an emerging predictive, diagnostic, prognostic and therapeutic strategy in ischaemic stroke [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2022, 42(5): 1301-1319.
- [22] Yang Z, Wang L, Zhang W, et al. Plasma homocysteine involved in methylation and expression of thrombomodulin in cerebral infarction [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 473(4): 1218-1222.
- [23] Hong L, Chen W, He L, et al. Effect of NaoluoXintong on the NogoA/RhoA/ROCK pathway by down-regulating DNA methylation in MCAO rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 281: 114559.
- [24] Eyileten C, Wicik Z, de Rosa S, et al. MicroRNAs as diagnostic and prognostic biomarkers in ischemic stroke-a comprehensive review and bioinformatic analysis [J]. *Cells*, 2018, 7(12): 249.
- [25] Mirzaei H, Momeni F, Saadatpour L, et al. MicroRNA: Relevance to stroke diagnosis, prognosis, and therapy [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(2): 856-865.
- [26] Liu X, Fan B, Chopp M, et al. Epigenetic mechanisms underlying adult post stroke neurogenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(17): 6179.
- [27] Dharap A, Bowen K, Place R, et al. Transient focal ischemia induces extensive temporal changes in rat cerebral microRNAome [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2009, 29(4): 675-687.
- [28] Stanzione R, Cotugno M, Bianchi F, et al. Pathogenesis of ischemic stroke: role of epigenetic mechanisms [J]. *Genes (Basel)*, 2020, 11(1): 89.
- [29] Liu P, Zhao H, Wang R, et al. MicroRNA-424 protects against focal cerebral ischemia and reperfusion injury in mice by suppressing oxidative stress [J]. *Stroke*, 2015, 46(2): 513-519.
- [30] Li G, Ma Q, Wang R, et al. Diagnostic and immunosuppressive potential of elevated mir-424 levels in circulating immune cells of ischemic stroke patients [J]. *Aging Dis*, 2018, 9(2): 172-181.
- [31] Pena-Philippides JC, Caballero-Garrido E, Lordkipanidze T, et al. *In vivo* inhibition of miR-155 significantly alters post-stroke

- inflammatory response [J]. J Neuroinflammation, 2016, 13 (1): 287.
- [32] Xing G, Luo Z, Zhong C, et al. Influence of miR-155 on cell apoptosis in rats with ischemic stroke: role of the ras homolog enriched in brain (rheb)/mTOR pathway [J]. Med Sci Monit, 2016, 22: 5141–5153.
- [33] Caballero-Garrido E, Pena-Philippides JC, Lordkipanidze T, et al. *In vivo* inhibition of miR-155 promotes recovery after experimental mouse stroke [J]. J Neurosci, 2015, 35 (36): 12446–12464.
- [34] Jiang T, Zhou S, Li X, et al. MicroRNA-155 induces protection against cerebral ischemia/reperfusion injury through regulation of the Notch pathway *in vivo* [J]. Exp Ther Med, 2019, 18 (1): 605–613.
- [35] 张洋, 陈美月, 崔莹, 等. 丹参酮 II A 对缺氧缺血性脑病新生大鼠海马组织中 miR-132 表达的调节作用及其机制 [J]. 吉林大学学报(医学版), 2022, 48 (4): 905–914.
- [36] Qiu M, Xu E, Zhan L. Epigenetic regulations of microglia/macrophage polarization in ischemic stroke [J]. Front Mol Neurosci, 2021, 14: 697416.
- [37] Tessarz P, Kouzarides T. Histone core modifications regulating nucleosome structure and dynamics [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15 (11): 703–708.
- [38] Patnala R, Arumugam TV, Gupta N, et al. HDAC inhibitor sodium butyrate-mediated epigenetic regulation enhances neuroprotective function of microglia during ischemic stroke [J]. Mol Neurobiol, 2017, 54 (8): 6391–6411.
- [39] Xuan A, Long D, Li J, et al. Neuroprotective effects of valproic acid following transient global ischemia in rats [J]. Life Sci, 2012, 90 (11–12): 463–468.
- [40] Kim HJ, Rowe M, Ren M, et al. Histone deacetylase inhibitors exhibit anti-inflammatory and neuroprotective effects in a rat permanent ischemic model of stroke: multiple mechanisms of action [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2007, 321 (3): 892–901.
- [41] Faraco G, Pancani T, Formentini L, et al. Pharmacological inhibition of histone deacetylases by suberoylanilide hydroxamic acid specifically alters gene expression and reduces ischemic injury in the mouse brain [J]. Mol Pharmacol, 2006, 70 (6): 1876–1884.
- [42] Qi X, Hosoi T, Okuma Y, et al. Sodium 4-phenylbutyrate protects against cerebral ischemic injury [J]. Mol Pharmacol, 2004, 66 (4): 899–908.
- [43] Baltan S, Murphy SP, Danilov CA, et al. Histone deacetylase inhibitors preserve white matter structure and function during ischemia by conserving ATP and reducing excitotoxicity [J]. J Neurosci, 2011, 31 (11): 3990–3999.
- [44] Baltan S, Morrison RS, Murphy SP. Novel protective effects of histone deacetylase inhibition on stroke and white matter ischemic injury [J]. Neurotherapeutics, 2013, 10 (4): 798–807.
- [45] Yuan Z, Syed MA, Panchal D, et al. Curcumin mediated epigenetic modulation inhibits TREM-1 expression in response to lipopolysaccharide [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2012, 44 (11): 2032–2043.
- [46] Zhu X, Li Q, Cng R, et al. Curcumin alleviates neuropathic pain by inhibiting p300/CBP histone acetyltransferase activity-regulated expression of BDNF and cox-2 in a rat model [J]. PLoS One, 2014, 9 (3): e91303.
- [47] Kalani A, Kamat PK, Kalani K, et al. Epigenetic impact of curcumin on stroke prevention [J]. Metab Brain Dis, 2015, 30 (2): 427–435.
- [48] 马敏儿, 黄浩华, 吴丽霞, 等. 鸡血藤总黄酮对急性缺血性脑卒中大鼠肠道屏障功能、氧化应激及 ERK 基因表达与 DNA 甲基化的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2023, 40 (2): 437–443.
- [49] 杨鉴鑫. 三七总皂苷通过 miRNA 调控网络影响缺血性脑卒中大鼠脑神经血管单元超微结构的机制探讨 [D]. 百色: 右江民族医学院, 2022.
- [50] 万群. 人参皂苷 Rd 通过组蛋白乙酰化调控 BDNF 对低灌注脑损伤小鼠保护作用的研究 [D]. 西安: 第四军医大学, 2017.
- [51] 徐慧, 张民远, 戴勤学. miR-145 通过调节 SOD 活性介导人参皂苷 Rb1 对脑缺血再灌注损伤大鼠的脑保护作用 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2018, 23 (11): 1215–1220.
- [52] 庞雨浓, 梁英文, 王玉刚, 等. 小檗碱通过调节 PPAR γ 启动子甲基化对缺血再灌注脑损伤的作用(英文) [J]. 中国药理学(英文版), 2018, 27 (3): 170–182.
- [53] Zhang L, Li C, Wang S, et al. Tetrahydrocurcumin-related vascular protection: an overview of the findings from animal disease models [J]. Molecules, 2022, 27 (16): 5100.
- [54] Mo C, Lin S, Li Z, et al. Qilong capsule alleviated MPTP-induced neuronal defects by inhibiting apoptosis, regulating autophagy in zebrafish embryo model [J]. Chem Biodivers, 2023, 20 (3): e202200926.
- [55] 徐雅倩, 陈博威, 田丰铭, 等. 补阳还五汤对 Cav-1^{-/-} 小鼠脑缺血后 m⁶A 修饰和血管新生的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30 (7): 68–73.
- [56] 孙诗杰. 温阳逐瘀汤对肾虚证大鼠局灶性脑缺血后微小 RNA-210 及其靶基因的影响 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2021.
- [57] 陈梓焜. 阳化汤对缺血性中风急性期阳虚证患者血清外泌体 miRNA 调控机制研究 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2021.
- [58] 郭艳平, 张赞, 张建刚, 等. 燥湿化痰饮辅助治疗脑卒中后认知障碍的效果研究 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38 (12): 75–77.
- [59] 梁策. 和血生络方通过 miRNA-210 调节 HIF-VEGF-Notch 信号通路干预脑缺血大鼠血管新生机制研究 [D]. 石家庄: 河北中医学院, 2019.
- [60] 刘晶, 古联, 杨怡冰, 等. 基于表观遗传学探讨中医药治疗缺血性脑卒中的研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2023, 38 (8): 3715–3718.