

生酮饮食治疗脊髓损伤关键基因的筛选及潜在中药预测

李素福¹, 祁文², 梁永健¹, 李哲榕¹

¹广西中医药大学附属瑞康临床医学院, 广西 南宁

²广西中医药大学研究生院, 广西 南宁

收稿日期: 2023年11月25日; 录用日期: 2024年1月10日; 发布日期: 2024年1月22日

摘要

目的: 利用生物信息学技术分析生酮饮食对治疗脊髓损伤的潜在分子靶点和相关通路, 同时通过靶基因预测潜在的中药药物用于治疗脊髓损伤。在GEO数据库中提取与脊髓损伤治疗相关的生酮饮食芯片组数据, 并利用R语言软件对芯片数据进行分析, 找出差异表达的基因。然后对这些差异基因进行功能富集分析, 以获取与差异基因相关的信号通路和分子功能。并构建基因-蛋白网络, 然后使用Cytoscape对该网络进行分析, 以获取治疗脊髓损伤的关键基因。接着将这些基因映射到CTD数据库获得的脊髓损伤疾病基因网络中, 以确定生酮饮食治疗脊髓损伤过程中的核心基因。最后, 通过将核心基因与医学本体信息检索平台(Coremine Medical)相互映射, 筛选出治疗脊髓损伤的中药。结果: GEO芯片组数据分析得出生酮饮食治疗脊髓损伤的差异基因有237个, 最后筛选出10个核心基因包括LCN2、TTR、ORM1、ATP6V0D2、TNS1、HTR2C、ACTRT2、UOX、KCNAB3、RAB9B。治疗脊髓损伤的潜在中药药物有: 大黄、三七、黄芪、充蔚子。

关键词

生物信息学, 脊髓损伤, 生酮饮食, 分子机制, 蛋白互作网络, 神经保护, 神经修复

Selection of Key Genes for Ketogenic Diet Treatment of Spinal Cord Injury and Prediction of Potential Chinese Herbal Medicines

Sufu Li¹, Wen Qi², Yongjian Liang¹, Zherong Li¹

¹Rui Kang Clinical Medical College, Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning Guangxi

²Graduate School of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning Guangxi

Abstract

Objective: To analyze potential molecular targets and related pathways of ketogenic diet in the treatment of spinal cord injury using bioinformatics techniques, and predict potential Chinese herbal medicines for the treatment of spinal cord injury through target gene analysis. **Method:** Microarray data of ketogenic diet treatment for spinal cord injury in the GEO database were extracted, and differentially expressed genes were obtained through analysis using R software. Functional enrichment analysis was performed on the differentially expressed genes to identify related signaling pathways and molecular functions. Using STING, a protein-protein interaction network of the genes was constructed, and Cytoscape was used to analyze the network and identify key genes in the treatment of spinal cord injury. The identified genes were mapped to the spinal cord injury disease gene network obtained from the CTD database, and core genes of the ketogenic diet treatment process for spinal cord injury were obtained. Finally, using Coremine Medical, the core genes were mapped to the medical ontology information retrieval platform to screen potential Chinese herbal medicines for the treatment of spinal cord injury. **Results:** Analysis of GEO microarray data revealed 237 differentially expressed genes associated with ketogenic diet treatment for spinal cord injury. Ten core genes, including LCN2, TTR, ORM1, ATP6V0D2, TNS1, HTR2C, ACTRT2, UOX, KCNAB3 and RAB9B, were selected. Potential Chinese herbal medicines for the treatment of spinal cord injury included Rhubarb, Sanqi, Astragalus and Chongweizi.

Keywords

Bioinformatics, Spinal Cord Injury, Ketogenic Diet, Molecular Mechanisms, Protein-Protein Interaction Network, Neuroprotection, Neural Repair

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

脊髓损伤是一种中枢神经系统疾病，能够造成严重的神经损害及功能障碍。一般见于车祸、暴力外伤、坠落等，是机体致残的常见原因，会导致损伤平面以下自主神经、运动和感觉功能障碍，脊髓损伤的流行病学研究表明[1] [2]，在我国，主要患者群体为男性，40~60岁的年龄段占比最大。造成脊髓损伤的主要原因是交通意外，其次是高处坠落。经过住院治疗，极少的人能够在出院时恢复正常的神经功能。大量研究阐明了脊髓损伤发生后的病理生理过程，但目前仍缺乏明确有效的治疗方法，对于如何使其神经修复依然是困扰我们的一大难题。近年来，随着基因芯片和相关技术的进步，越来越多的研究借助数据分析软件和在线数据平台对疾病基因进行筛选、分类、分析以深入研究其发病机制。根据研究结果，脊髓损伤的进展与多个基因的参与密切相关，这些基因可能通过控制蛋白质合成和基因转录，以及调节细胞信号传递通路，在脊髓损伤的发展过程中发挥重要作用。例如，CDK1主要参与了脊髓损伤过程中的凋亡机制，通过下调CDK1基因的表达，可以抑制脊髓损伤后前角星形胶质细胞和小胶质细胞的激活，促进运动神经元修复，抑制神经元凋亡和自噬，从而促进脊髓损伤后运动功能的恢复[3]。尽管如此，我们对于基因在治疗脊髓损伤过程中的分子机制了解甚少，然而通过预测脊髓损伤潜在的治疗靶点，或许

能够为我们揭示治疗脊髓损伤的分子机制提供新的视角。

生酮饮食是一种饮食疗法，其特点是摄入大量脂肪和极少碳水化合物[4]。20 年代起，生酮饮食 (ketogenic diet, KD) 开始被用于治疗癫痫，至今仍然对该疾病有着重要的治疗作用[5]。作为一种非药物性治疗措施，长期采用生酮饮食在神经内科疾病治疗中展现出神经保护的效果，适用于神经退行性疾病、脑功能衰老和损伤等情况[6]，根据现有研究结果，生酮饮食已被证明对脊髓损伤大鼠的肢体功能具有改善作用[7]，有实验表面，与对照组相比，生酮饮食组的 Montoya 阶梯测试(被认为是对前肢伸展和抓握技能的有效评估)表现出显著改善[8]，它可能通过抑制受损后的炎症反应和氧化应激来发挥作用[9] [10]，但对于这种治疗方法在神经保护方面的作用机制，我们还需要进一步研究。基于此，本次研究从 GEO 数据库中筛选出生酮饮食治疗脊髓损伤的芯片数据，通过生物信息学分析，从基因方面探讨生酮饮食治疗脊髓损伤的作用机制，同时通过差异表达基因预测治疗脊髓损伤的中药。

2. 材料和方法

2.1. 数据提取

使用关键词“Spine Cord Injury”，在 GEO 数据库中进行了相关芯片的检索。经过筛选，获取了矩阵文件 GSE159555 和芯片 GPL15084，下面是该数据的实验设计：首先制备脊髓损伤大鼠模型，大鼠被随意喂食串联或对照饮食(SD)或生酮饮食(KD)后，在受伤后 1 周测量受伤脊髓中基因表达的变化。

2.2. 芯片数据处理

首先使用 R 语言从芯片注解文件中提取基因名，为了获取喂食生酮饮食脊髓损伤大鼠和对照组饮食大鼠的基因表达矩阵，需要对矩阵文件中的基因名进行注释。然后，使用 R 语言对基因表达水平进行标准化处理。接下来进行差异分析，选取在 P 值小于 0.05 且 $|\log_2 \text{fold change (FC)}| \geq 0.5$ 的条件下，具有显著差异表达的 mRNA。最终，运用 R 语言进行可视化分析基因表达情况。

2.3. 差异基因的功能富集分析

为了研究生酮饮食对脊髓损伤发展过程中关键基因的影响，使用 R 语言进行 GO 和 KEGG 通路的富集分析[11]。通过这种分析，我们可以进一步了解生酮饮食在治疗脊髓损伤中所涉及的信号通路和生物功能，并利用 R 语言对分析结果进行可视化。

2.4. 获取核心基因

首先将上述分子靶点导入 STRING 数据库的“Multiple Proteins”模块[12]，并设置连接评分 > 0.4 。然后删除网络中联系不强的蛋白互作的节点，从中得到蛋白互作(PPI)关系。将结果导入 Cytoscape 软件。利用“CytoHubba”工具筛选出关键基因。接下来，使用 CTD 疾病数据库[13] (<http://ctdbase.org/>) 筛选脊髓损伤相关的靶点基因。最后，将该靶点数据与前面获得的差异基因取交集，得到生酮饮食治疗脊髓损伤的核心基因。

2.5. 潜在中药的筛选预测

Coremine Medical 数据库是一个全球领先的医学信息检索平台，它提供了丰富的数据、文献、信息和知识资源，并具备强大的检索和分析功能。通过输入基因名称，可以搜索与该基因相关的疾病和可能的治疗药物。本次研究将关键基因的 1.4 版本输入到数据库中，采用秩和检验进行统计分析，以 P 值小于 0.05 作为筛选的标准，从中筛选出具有潜在治疗作用的中药。然后将筛选出的中药结果输入到 Cytoscape 软件中进行可视化，并进行统计，得出频次最高的中药。

3. 结果

3.1. 差异表达的基因

结果显示，相较于对照组，生酮饮食的脊髓损伤大鼠筛选出 237 个差异表达基因，其中包括 125 个下调基因和 112 个上调基因。

通过火山图进行可视化，见图 1(a)，并选取差异表达最显著的 20 个基因绘制聚类热图，见图 1(b)。

3.2. 差异基因的功能注释

GO 功能富集分析分为以下 3 组：BP 组、CC 组和 MF 组，见图 2(a)。在 BP 组中，DEGs 主要富集抗原的加工和呈递、多肽抗原的抗原加工和呈递、内源性肽抗原的抗原加工和呈递、内源性抗原的抗原加工和呈递、正向调节 T 细胞介导的免疫、正向调控 T 细胞介导的细胞毒性、尿酸代谢等过程。在 CC 组

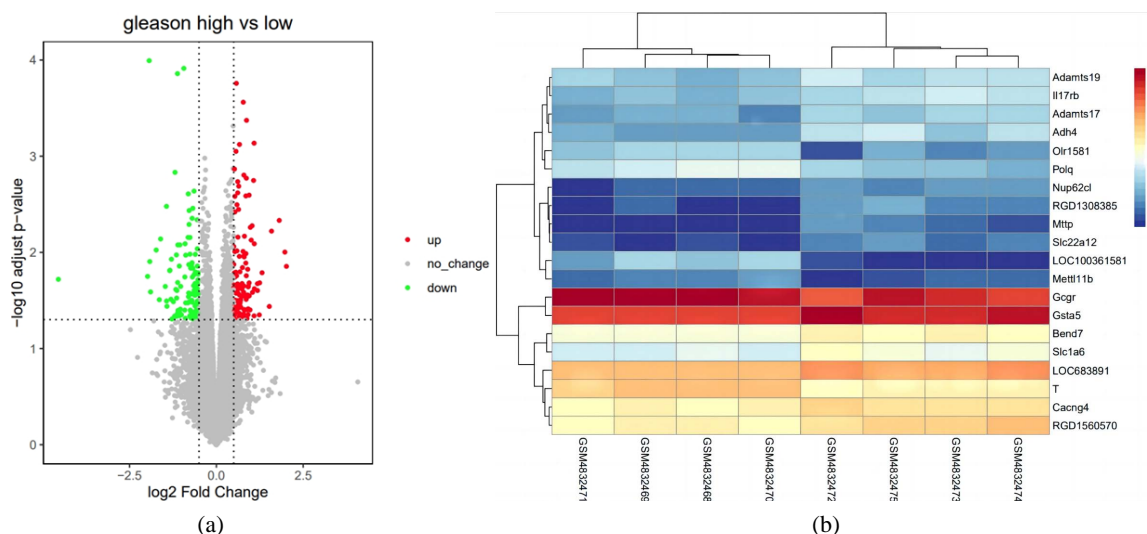


Figure 1. Differential mRNA expression on GEO chip

图 1. GEO 芯片差异 mRNA 表达

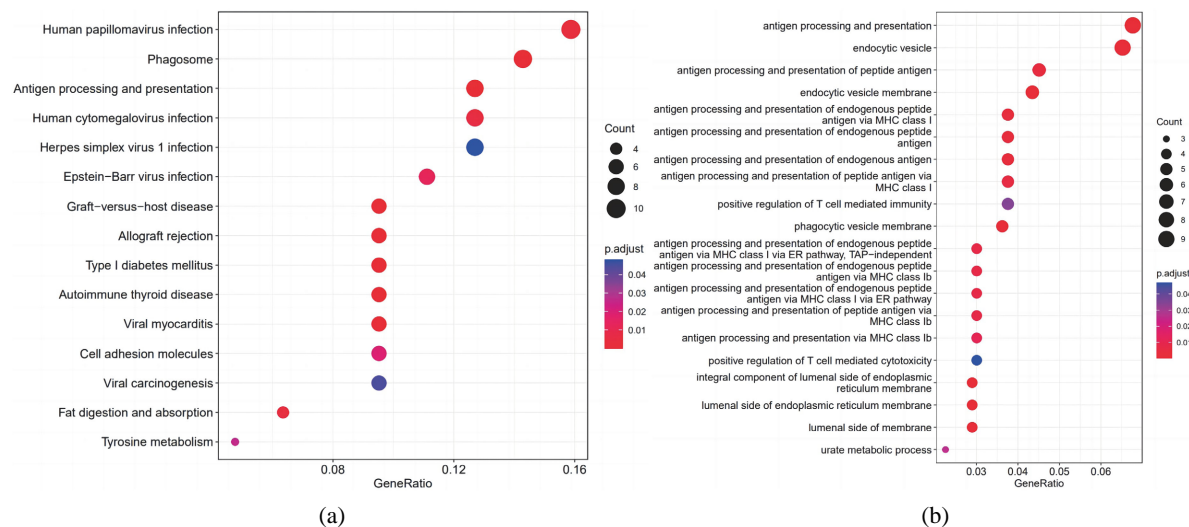


Figure 2. KEGG and Go analysis

图 2. KEGG 和 GO 分析

组中, DEGs 主要富集在细胞内小泡、内吞囊泡膜、吞噬囊泡膜、内质网膜腔侧的组成部分、内质网膜的管腔侧、膜腔侧、在 MF 组中, DEGs 主要富集在肽抗原结合、酰胺结合、酪胺酸酶活性。KEGG 主要富集到人乳头瘤病毒感染、吞噬小体、抗原的加工和呈递、人巨细胞病毒感染、单纯疱疹病毒 1 型感染、病毒性癌变、细胞粘附分子、脂肪消化吸收等, 见图 2(b)。

3.3. PPI 网络构建与 hub 基因筛选

应用 STRING 数据库对 237 个差异基因进行 PPI 网络构建, 结果显示共有 206 个节点和 68 条边, 将其导入 Cytoscape 软件, 见图 3(a), 并采取 CytoNCA 插件的 BC 算法筛选出 11 个 PPI 网络中互作关系最紧密的 hub 基因, 分别是: Actr2、Orm1、Ttr、Lcn2、Kcnab3、Uox、Rab9b、Atp6v1g2、Tns1、Htr2c、Atp6v0d2。将上述靶点转化为人源基因后同 CTD 数据库所建立的脊髓损伤基因网络取交集, 见图 3(b), 最终获得 10 个差异基因: LCN2、TTR、ORM1、ATP6V0D2、TNS1、HTR2C、ACTRT2、UOX、KCNAB3、RAB9B。这些基因可看作是脊髓损伤治疗中生酮饮食疗法的关键基因。

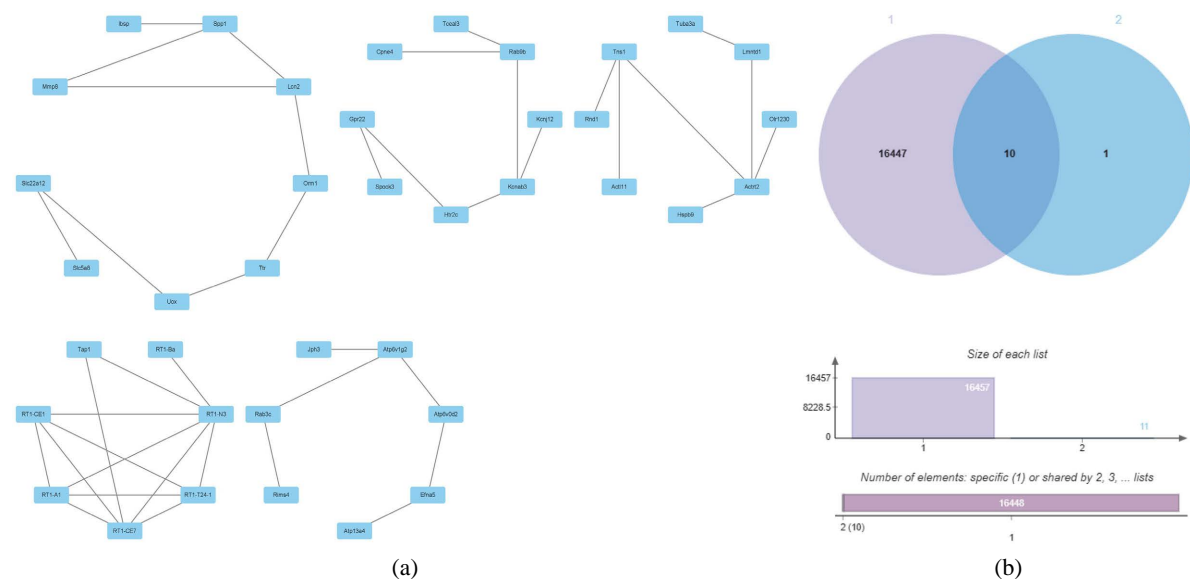


Figure 3. Construction of PPI network for differentially expressed genes and key intersecting genes

图 3. 差异表达基因的 PPI 网络构建和交集基因

3.4. 脊髓损伤潜在治疗中药

将 10 个核心基因导入到 CoremineMedical 数据库, 以 $P < 0.05$ 为选择标准, 得出 77 种潜在中药与治疗脊髓损伤可能相关。将结果导入 Cytoscape 软件进行可视化展示, 见图 4。在该网络中, 大黄、三七、黄芪和充蔚子的度值最高, 表明它们可能是治疗脊髓损伤的潜在药物靶点。

4. 讨论

脊髓损伤(SCI)可以从病理角度分为原发性和继发性两个阶段。原发性损伤是由于机械刺激直接导致轴突、血管和神经细胞等受损, 而继发性损伤则包括电解质紊乱、能量衰竭、缺血、水肿、炎症和凋亡等, 这些因素可能导致神经髓鞘脱失、神经元死亡和瘢痕形成[14] [15]。事实上, 这种能量衰竭部分是由线粒体功能受损和活性氧(ROS)过量产生引起的氧化应激增加引起的[16] [17]。ROS 产量的增加对形成线粒体电子传递系统(ETS), 细胞膜和线粒体 DNA 的蛋白质造成的损害[18] [19]而生酮状态有益于抵消 SCI

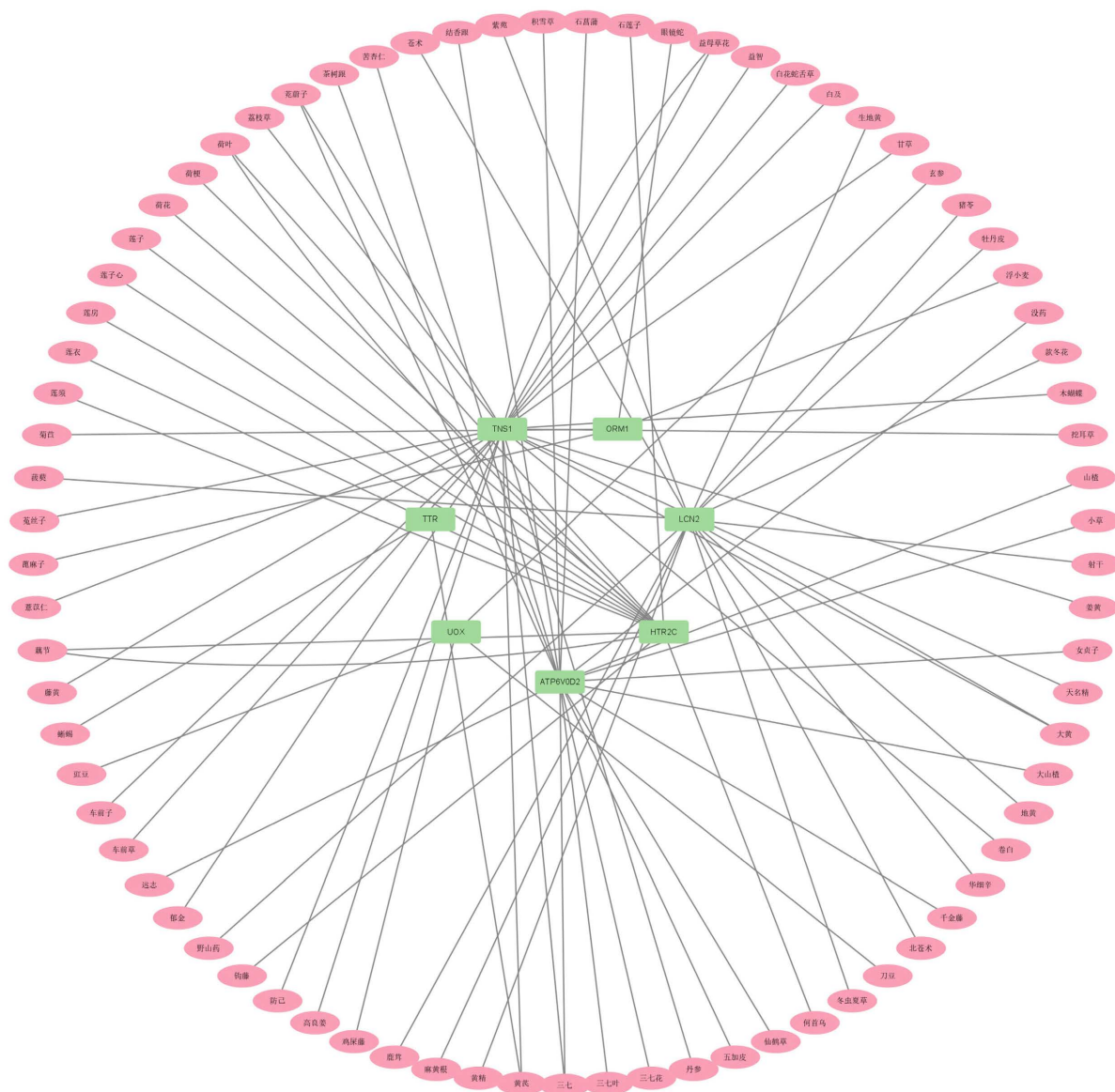


Figure 4. Predicted network graph of traditional Chinese medicine

图 4. 预测中药网络图

后发生的线粒体生物能量功能障碍的机制。生酮饮食下，参与细胞线粒体转录的特定激酶以及抗氧化剂防御机制的激活有助于减轻 SCI 中的线粒体氧化损伤和功能障碍，挽救颈脊髓损伤后的线粒体生物能量。此次研究利用差异基因富集出许多功能通路，这些通路与 SCI 的发生和发展都有一定的联系。有研究表明，线粒体 ETC 和 TCA 周期功能对于 Th1 细胞因子的产生至关重要。促进线粒体代谢的辅因子四氢生物蝶呤在 T 细胞中的合成减少，能够消除 T 细胞介导的体内自身免疫和过敏性炎症[20]。

LCN2 是一种属于脂蛋白家族的分泌型蛋白，它参与了多种细胞活动，包括细胞自我死亡、肾脏的发育以及机体的先天免疫过程[21]。根据早期研究结果，LCN2 的不足会导致海马神经元的存活能力减弱，从而导致认知能力降低[22]。在脑室内注射 LCN2 的重组蛋白会导致海马神经元的死亡和 POCD 的发生。此外，LCN2 通过 JAK2/STAT3 通路对抑制神经炎症损伤起到调节作用，对治疗脑缺血具有明显的疗效[23]。

TTR 基因在生物体内负责合成 TTR 蛋白，该蛋白也被称为前白蛋白或维生素 A 结合蛋白，在生物

体内具有重要的功能,参与了甲状腺素的运输和维生素 A 的代谢过程。TTR 基因发生突变会导致 TTR 蛋白的结构发生变化,而致病性 TTR 基因突变则会破坏 TTR 四聚体的稳定结构,使其热稳定性下降,进而在多个器官和组织中引起淀粉样纤维蛋白的异常沉积,从而导致多种疾病的发生,尤其是神经系统疾病最为常见[24]。

ORM1 基因所编码的 ORM 是一种分子量为 41~43 kDa 的蛋白质,属于急性时相血浆糖蛋白,在合成后会从肝细胞释放到血液中。在慢性炎症、过敏和烧伤等情况下,ORM 的血浆水平会出现上升的趋势[25]。

通过介导自噬体与溶酶体的融合,ATP6V0d2 能够抑制 BMDM(来自骨髓的巨噬细胞)炎症小体的激活,并促进受损线粒体的降解。敲除 Atp6v0d2 基因的小鼠在炎性刺激诱导的内毒素和肠炎模型中显示更严重的病理症状。当巨噬细胞受到炎性刺激时,ATP6V0d2 的下调抑制了自噬溶酶体的降解,从而促进了炎症的发展[26]。

同源蛋白张力蛋白是一种被广泛研究的细胞粘附成分。在很多疾病的发展过程中,它都扮演着至关重要的角色。哺乳动物张力蛋白家族由四个成员组成:张力蛋白 1 (TNS1)、紧张蛋白 2、张力蛋白 3 和紧张素 4。其中,TNS1 因其特殊结构特性而受到了许多研究者的关注。TNS1 通过与各种伙伴蛋白相互作用,参与各种生物过程,如细胞粘附、极化、迁移、侵袭、增殖、凋亡和机械转导。此外,TNS1 在体内的异常表达可以导致多种疾病,特别是与肿瘤的发展有关[27]。

KCNAB3 的突变可以加速钾通道的失活过程,从而阻碍钾电流的流动,提高神经元的兴奋性,进而促发癫痫发作。还需要进一步研究该基因与人类神经系统疾病之间的关联[28]。

RAB 蛋白属于调节囊泡运输的小型 GTP 酶家族。RAB9A 和 RAB9B 通过替代自噬在线粒体自噬中发挥作用[29],同时通过囊泡运输促进自噬起作用。此外,RAB 是囊泡运输过程中具有多功能的因素,其突变能够导致神经系统的疾病[30]。

本研究筛选出的对 SCI 潜在靶点有干预作用的中药有:大黄、三七、黄芪、充蔚子。三七的主要活性成分三七皂苷 R1 (Notoginsenoside R1, NGR1)已被研究证实与抗氧化应激、抗炎反应、抗血管生成和抗凋亡等有关[31]。NGR1 可以减轻大鼠脊髓损伤后的氧化应激和组织细胞凋亡,促进运动功能的恢复,改善神经炎症反应和线粒体功能。此外,NGR1 还能提高 PC12 细胞的活性,抑制细胞凋亡和炎症水平,并通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路发挥作用[32]。大黄素是中药大黄的主要活性成分,具有抗炎和免疫调节等药理效应[33]。研究表明,大黄素对于脊髓损伤后的神经细胞有保护作用,并有助于肢体功能的后期恢复。可能是激活 Nrf2-ARE 通路对降低 NF- κ B、ED-1、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平起作用,从而减少脊髓损伤后的炎症反应和氧化应激,并且能够促进 GFAP 和 NG2 的表达,保护残存的神经细胞和有髓神经纤维,最终促进脊髓损伤后大鼠的运动功能恢复[34]。黄芪在神经系统保护方面也显示出良好的效果[35]。在大鼠急性脊髓损伤后,神经元细胞经历凋亡过程。使用黄芪注射液进行干预治疗可以通过抑制死亡受体途径 TRAIL 和 Fas 蛋白的作用,从而影响神经元细胞的程序性凋亡,保护脊髓损伤后的神经,进而改善脊髓组织损伤病变,并促进神经运动功能障碍恢复的进程[36]。

5. 结论

综上所述,本研究系统分析了生酮饮食治疗脊髓损伤的潜在机制,筛选出 10 个可能参与修复脊髓损伤功能的基因和与这些基因有联系的中药,这些基因可能会成为未来研究脊髓损伤治疗的潜在靶点,但是,对于这些基因在脊髓损伤发生过程中具体扮演的角色与作用,仍然需要进一步的临床实验来验证。

基金项目

广西壮族自治区中医药管理局课题(编号 GZZ2020067);广西壮族自治区中医药管理局:2022 年度桂

派中医大师培养项目。

参考文献

- [1] 刘俊, 高峰, 李建军. 创伤性脊髓损伤患者的流行病学及住院费用影响因素研究[J]. 中国康复, 2020, 35(3): 139-142.
- [2] 蔡志威. 区域性创伤性脊髓损伤流行病学调查研究[D]: [硕士学位论文]. 天津: 天津医科大学, 2019.
- [3] Nie, B.X., Zhao, G., Yuan, X.F., *et al.* (2022) Inhibition of CDK1 Attenuates Neuronal Apoptosis and Autophagy and Confers Neuroprotection after Chronic Spinal Cord Injury *In Vivo*. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, **119**, Article ID: 1020533.
- [4] Veyrat-Durebex, C., Reynier, P., Procaccio, V., *et al.* (2018) How Can a Ketogenic Diet Improve Motor Function? *Frontiers in Molecular Neuroscience*, **11**, Article 315811. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00015>
- [5] Keene, L.D. (2006) A Systematic Review of the Use of the Ketogenic Diet in Childhood Epilepsy. *Pediatric Neurology*, **35**, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2006.01.005>
- [6] Pani, G. (2015) Neuroprotective Effects of Dietary Restriction: Evidence and Mechanisms. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, **40**, 106-114. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.03.004>
- [7] Streijger, F., Plunet, T.W., Lee, T.H.J., *et al.* (2017) Ketogenic Diet Improves Forelimb Motor Function after Spinal Cord Injury in Rodents. *PLOS ONE*, **8**, e78765. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078765>
- [8] Tan, B.T., Jiang, H., Moulson, A.J., *et al.* (2020) Neuroprotective Effects of a Ketogenic Diet in Combination with Exogenous Ketone Salts following Acute Spinal Cord Injury. *Neural Regeneration Research*, **15**, 1912-1919. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.280327>
- [9] Wang, X., Wu, X., Liu, Q., *et al.* (2017) Ketogenic Metabolism Inhibits Histone Deacetylase (HDAC) and Reduces Oxidative Stress after Spinal Cord Injury in Rats. *Neuroscience*, **366**, 1912-1919. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.09.056>
- [10] Wang, X.M., Wu, X.L., Liu, Q., *et al.* (2017) The Ketone Metabolite β -Hydroxybutyrate Attenuates Oxidative Stress in Spinal Cord Injury by Suppression of Class I Histone Deacetylases. *Journal of Neurotrauma*, **34**, 2645-2655. <https://doi.org/10.1089/neu.2017.5192>
- [11] Yu, G.C., Wang, L.G., Han, Y.Y. and He, Q.Y. (2012) ClusterProfiler: An R Package for Comparing Biological Themes among Gene Clusters. *OMICS: A Journal of Integrative Biology*, **16**, 284-287. <https://doi.org/10.1089/omi.2011.0118>
- [12] Szklarczyk, D., Gable, A.L., Nastou, K.C., *et al.* (2021) The STRING Database in 2021: Customizable Protein-Protein Networks, and Functional Characterization of User-Uploaded Gene/Measurement Sets. *Nucleic Acids Research*, **49**, D605-D612. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1074>
- [13] Davis, A.P., Grondin, C.J., Johnson, R.J., *et al.* (2019) The Comparative Toxicogenomics Database: Update 2019. *Nucleic Acids Research*, **47**, D948-D954. <https://doi.org/10.1093/nar/gky868>
- [14] Arsalan, A., Matthew, S.D. and Soheila, K. (2019) Traumatic Spinal Cord Injury: An Overview of Pathophysiology, Models and Acute Injury Mechanisms. *Frontiers in Neurology*, **10**, Article 441408. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00282>
- [15] Miller, V.J., Villamena, F.A. and Volek, J.S. (2018) Nutritional Ketosis and Mitohormesis: Potential Implications for Mitochondrial Function and Human Health. *Journal of Nutrition and Metabolism*, **2018**, Article ID: 5157645. <https://doi.org/10.1155/2018/5157645>
- [16] Carri, M.T., Polster, B.M. and Beart, P.M. (2018) Mitochondria in the Nervous System: From Health to Disease, Part II. *Neurochemistry International*, **117**, 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2018.04.006>
- [17] Polster, B.M., Carri, M.T. and Beart, P.M. (2017) Mitochondria in the Nervous System: From Health to Disease, Part I. *Neurochemistry International*, **109**, 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2017.09.006>
- [18] Bratic, I. and Trifunovic, A. (2010) Mitochondrial Energy Metabolism and Ageing. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Bioenergetics*, **1797**, 961-967. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.01.004>
- [19] Musatov, A. and Robinson, N.C. (2012) Susceptibility of Mitochondrial Electron-Transport Complexes to Oxidative Damage. Focus on Cytochrome c Oxidase. *Free Radical Research*, **46**, 1313-1326. <https://doi.org/10.3109/10715762.2012.717273>
- [20] Cronin, S.J.F., Seehus, C., Weidinger, A., *et al.* (2019) Publisher Correction: The Metabolite BH4 Controls T Cell Proliferation in Autoimmunity and Cancer. *Nature*, **572**, E18.
- [21] Lu, F., Inoue, K., Kato, J., *et al.* (2019) Functions and Regulation of Lipocalin-2 in Gut-Origin Sepsis: A Narrative Re-

- view. *Critical Care*, **23**, Article No. 269. <https://doi.org/10.1186/s13054-019-2550-2>
- [22] Kim, J.H., Ko, P.W., Lee, H.W., *et al.* (2017) Astrocyte-Derived Lipocalin-2 Mediates Hippocampal Damage and Cognitive Deficits in Experimental Models of Vascular Dementia. *Glia*, **65**, 1471-1490. <https://doi.org/10.1002/glia.23174>
- [23] Zhang, Y., Liu, J., Yang, B., *et al.* (2018) Ginkgo Biloba Extract Inhibits Astrocytic Lipocalin-2 Expression and Alleviates Neuroinflammatory Injury via the JAK2/STAT3 Pathway after Ischemic Brain Stroke. *Frontiers in Pharmacology*, **9**, Article 356208. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00518>
- [24] 梁修梓, 陈勇军. TTR 基因突变致神经系统损害的研究进展[J]. 中南医学科学杂志, 2020, 48(6): 565-568, 575.
- [25] 王玥, 周玥, 赵丽. 缺血性脑卒中关键基因的筛选及治疗药物的预测[J]. 科技导报, 2023, 41(9): 89-97.
- [26] 夏宇. 巨噬细胞 ATP6V0d2 通过促进自噬体-溶酶体融合抑制炎症小体活化和相关炎症性疾病[D]: [博士学位论文]. 武汉: 华中科技大学, 2018.
- [27] Wang, Z.H., Ye, J.X., Dong, F.R., *et al.* (2022) TNS1: Emerging Insights into Its Domain Function, Biological Roles, and Tumors. *Biology*, **11**, Article 1571. <https://doi.org/10.3390/biology11111571>
- [28] Ding, J., Miao, Q.F., Zhang, J.W., *et al.* (2020) H258R Mutation in KCNAB3 Gene in a Family with Genetic Epilepsy and Febrile Seizures Plus. *Brain and Behavior*, **10**, e01859. <https://doi.org/10.1002/brb3.1859>
- [29] Yuko, H., Shun-ichi, Y., Yusuke, K., *et al.* (2015) Mitophagy Is Primarily Due to Alternative Autophagy and Requires the MAPK1 and MAPK14 Signaling Pathways. *Autophagy*, **11**, 332-343. <https://doi.org/10.1080/15548627.2015.1023047>
- [30] Giannandrea, M., Bianchi, V., Mignogna, L.M., *et al.* (2010) Mutations in the Small GTPase Gene RAB39B Are Responsible for X-linked Mental Retardation Associated with Autism, Epilepsy, and Macrocephaly. *The American Journal of Human Genetics*, **86**, 185-195. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.01.011>
- [31] Jin, Z., Gan, C., Luo, G., *et al.* (2021) Notoginsenoside R1 Protects Hypoxia-Reoxygenation Deprivation-Induced Injury by Upregulation of miR-132 in H9c2 Cells. *Human & Experimental Toxicology*, **40**, S29-S38. <https://doi.org/10.1177/09603271211025589>
- [32] 罗鸿波, 周明建, 陈宇鑫. 三七皂苷 R1 对大鼠脊髓损伤后线粒体功能和神经炎症的作用及相关机制研究[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2022, 32(9): 823-833.
- [33] Shang, H., Jia, X.H., Liu, H.M., *et al.* (2022) A Comprehensive Review of Emodin in Fibrosis Treatment. *Fitoterapia*, **165**, Article ID: 105358. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2022.105358>
- [34] 曾欢欢, 黄英如, 李子健, 等. 大黄素对大鼠急性脊髓损伤后氧化应激和炎症反应的影响研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(9): 1886-1893.
- [35] Costa, I.M., Lima, F.O.V., Fernandes, L.C.B., *et al.* (2019) Astragaloside IV Supplementation Promotes A Neuroprotective Effect in Experimental Models of Neurological Disorders: A Systematic Review. *Current Neuropharmacology*, **17**, 648-665. <https://doi.org/10.2174/1570159X16666180911123341>
- [36] 冯韬, 吕烨华, 王盛, 等. 黄芪注射液对大鼠急性脊髓损伤的神经保护作用及机制研究[J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(12): 1128-1136.