

莫诺昔介导 Nrf2 通路对 HIBI 模型大鼠的 抗氧化和神经保护作用

李江涛¹, 尹永锋¹, 王润青¹, 张平², 赵杰¹, 刘荣丽¹, 陈园园¹

摘要 目的 研究莫诺昔对 HIBI(HIBI)模型大鼠的抗氧化和神经保护作用及其可能机制。方法 采用 Rice 法建立 HIBI 模型,再将大鼠随机分为 6 组:对照组、模型组、莫诺昔(25、50、100 mg/kg)组及尼莫地平组。前 2 组灌胃给予生理盐水,后 4 组灌胃给予对应剂量的莫诺昔和尼莫地平,每 d 1 次,连续 28 d。对大鼠脑神经功能进行评分,检测大鼠脑积水量;HE 染色观察大鼠脑组织病理学改变;ELISA 测定大鼠脑组织中丙二醛(MDA)、乳酸脱氢酶(LDH)和超氧化物歧化酶(SOD)水平;Western blot 法检测脑组织中 B 淋巴细胞瘤 2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)、Caspase-9、脑源性神经营养因子(BDNF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、突触小泡蛋白(SYP)、突触后密度蛋白 95(PSD95)、转录因子 NF-E2 相关因子 2(Nrf2)和醌氧化还原酶 1(HO-1)的蛋白表达水平。结果 与模型组比较,莫诺昔处理组大鼠神经功能评分和脑积水量均降低($P < 0.01$)。脑组织的病理学损伤程度也得到改善,凋亡相关蛋白 Bcl-2 上调,Bax、Caspase-3 和 Caspase-9

则均下调($P < 0.01$),且脑组织中抗氧化酶 SOD 活性上升($P < 0.01$),LDH 和 MDA 含量降低($P < 0.01$),bFGF、BDNF、PSD95、SYP 及抗氧化通路蛋白 Nrf2 和 HO-1 的表达均上调($P < 0.01$)。结论 莫诺昔对 HIBI 模型大鼠可发挥抗氧化和神经保护作用,这一作用是通过介导 Nrf2 信号通路实现的。

关键词 莫诺昔;HIBI;核因子 E2 相关因子 2;醌氧化还原酶 1

中图分类号 R 743

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)03-0374-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.03.008

低氧缺血性脑病是由于脑缺氧或缺血引起脑损伤,从而导致意识改变、肌张力变化,常引起诸如脑瘫、癫痫等后遗症。其中血管性痴呆(vascular dementia,VD)是一种由大脑低氧缺血引发的脑血管疾病,会损伤患者的学习和记忆,常伴随着运动失调、语言能力受损及人格障碍^[1]。阿尔茨海默病(alzheimer disease,AD)有约 15% 的患者会发生 VD^[2]。山茱萸,中医称为“山珠玉”,莫诺昔是其活性成分,长期以来一直被用于治疗脑血管疾病和糖尿病^[3]。莫诺昔具有抗氧化应激^[4]、改善微血管循环^[5]、抗细胞凋亡^[6]和神经修复功能^[7]等多种

2020-10-23 接收

基金项目:河南省科技厅科技攻关计划项目(编号:182102310529)

作者单位:¹郑州大学附属郑州中心医院神经内三科,郑州 450000

²新乡医学院第一附属医院神经内科,河南省神经修复重点实验室 新乡 453100

作者简介:李江涛,男,本科,副主任医师,责任作者,E-mail:lijiang-
tao178@163.com

cell line GBC-SD. **Methods** shRNA-SPRY4-IT1 shRNA was designed and synthesized. shRNA-SPRY4-IT1 was transfected into GBC-SD cells, and the expression level of SPRY4-IT1 was detected by RT-PCR. BrdU staining was used to detect cell proliferation. Cell apoptosis was detected by flow cytometry. Tumor cell pelleting assay was used to detect the characteristics of tumor stem cells. The changes of mitochondrial membrane potential were detected by flow cytometry. Western blot was used to detect the protein expression of dry tumor characteristic markers and mitochondrial damage markers. **Results** shRNA-SPRY4-IT1 was transfected into GBC-SD cells, the expression level of SPRY4-IT1 decreased. Interference with SPRY4-IT1 inhibited proliferation of GBC-SD cells, improved mitochondrial membrane potential and promoted apoptosis of GBC-SD cells, reduced stem cell-like properties of gallbladder cancer, inhibited the expression of SOX2, OCT4, CD44, c-Myc, Bcl-2 and promoted the expression of cleaved Caspase-3, cleaved Caspase-9, Bax. **Conclusion** Gene interference with lncRNA SPRY4-IT1 can reduce the characteristics of GBC-SD cancer stem cells in gallbladder cancer cells, increase mitochondrial membrane potential, and promote apoptosis of gallbladder cancer cell line GBC-SD.

Key words lncRNA SPRY4-IT1; gallbladder carcinoma; stem cell-like properties; mitochondrial membrane potential

生物活性。然而,莫诺昔对低氧缺血性脑损伤(hypoxic ischemic brain injury, HIBI)与转录因子NF- κ B相关因子(Nf)通路的相关性研究尚无报道。该文采用Rice法建立HIBI大鼠模型,探讨莫诺昔是否能够通过介导Nf通路对HIBI模型产生正面影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及主要试剂 60只SPF级雄性SD大鼠,体质量240~280g,中国科学院实验动物中心提供。莫诺昔(纯度 $\geq 98.0\%$,美国SIGMA公司),水合氯醛(天津市大茂化学试剂厂公司),苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色试剂盒(南京凯基生物有限公司),化学发光液(密理博中国有限公司),蛋白抽提试剂盒、二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白测定试剂盒(北京索莱宝生物有限公司),B细胞淋巴瘤2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、Bcl-2相关X(Bcl2-associated X, Bax)、半胱天冬酶3(Caspase-3)、Caspase-9、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、突触后致密蛋白95(postsynaptic density-95, PSD95)、海马突触素(synaptophysin, SYP)、转录因子NF- κ B相关因子2[transcription factor nuclear factor erythroid 2(NF- κ B)-related factor 2, Nrf2]和血红素加氧酶1(heme oxygenase 1, HO-1)一抗、二抗(英国Abcam公司),超氧化物歧化酶(reactive oxygen species, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)和乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)检测试剂盒(上海信帆生物科技有限公司)。

1.2 主要仪器 电泳仪及半干转膜仪、化学发光凝胶成像系统(美国伯乐公司),超低温冰箱(美国THERMO公司),倒置显微镜(日本奥林巴斯公司)。

1.3 方法

1.3.1 分组、造模及给药 适应性喂养大鼠1周,并于手术前禁食12h,禁水4h。大鼠随机均分为对照组、模型组、尼莫地平组及莫诺昔(25、50、100 mg/kg)组。采用Rice法建立HIBI模型^[8]。实验方法具体步骤如下:10%水合氯醛腹腔注射,对大鼠进行麻醉,仰卧姿势固定大鼠,从颈正中处切口找出左颈总动脉A-0手术线对结扎血管,之后将皮肤缝合。术后2h,在密闭环境中,37℃、8% O₂ + 92% N₂混合气体低氧处理2.5h。对照组大鼠在相同部位切开处理后即缝合皮肤,不作其他处理。缺血缺氧处理完成后,模型组大鼠通过灌胃给予以25、50、100

mg/kg莫诺昔或者4 mg/kg阳性药尼莫地平,每日1次,连续28d;对照组和模型组给予相同体积的生理盐水进行灌胃。

1.3.2 神经功能评分 Bederson法^[9]评价大鼠神经功能。0分:无神经功能损伤;1分:对侧腕、肘屈曲,肩内收屈曲;2分:在1分指标的基础上,同时发生了前肢抵抗对侧推力下降;3分:对侧转圈。

1.3.3 脑积水检测及脑组织取材 神经功能评分完成后,断颈处理,迅速取脑组织,测量各组大鼠脑积水量后,将脑组织置于PBS中预冷5min,4%多聚甲醛进行固定,分装后保存于-80℃冰箱中备用。

1.3.4 HE染色 取双侧端脑前2/3,切片后行HE染色。

1.3.5 ELISA检测SOD、MDA及LDH水平 取脑组织相同部位进行匀浆处理,在4℃、3000 r/min条件下离心25min,收集上清液,按照试剂盒的步骤,检测SOD、MDA和LDH含量。

1.3.6 Western blot检测Bcl-2、Bax、Caspase-3、Caspase-9、bFGF、BDNF、PSD95、SYP、Nrf2和HO-1表达 取大鼠双侧脑后1/3部分,等比例加入含蛋白抑制剂的裂解液,提取各组总蛋白。BCA定量后加Loading buffer煮沸变性,SDS-PAGE凝胶电泳分离蛋白并转至PVDF膜,5%牛血清白蛋白(albumin from bovine serum, BSA)室温封闭1h后一抗4℃孵育过夜,次日用Tri盐酸+吐温缓冲盐溶液(Tris-HCl + Tween, TBST)进行洗涤,重复3次,加入辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育1h, TBST缓冲液洗涤,重复3次,加入电化学发光试剂(electrochemiluminescence, ECL)进行显影,凝胶成像仪分析结果,实验以 β 肌动蛋白(β -actin)作为内参。

1.4 统计学处理 采用SPSS 20.0软件进行分析,进行方差齐性检验和正态性检验,计量资料数据以实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,非参数统计实验数据采用秩和检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠神经功能和脑积水检测 相比对照组,模型组大鼠神经功能学评分高于2分($q = 22.15, P < 0.01$),表明成功建立了HIBI模型;与模型组比较,经过25、50、100 mg/kg剂量莫诺昔治疗的大鼠神经功能评分均降低($P < 0.01$),并具有剂量依赖性,差异有统计学意义($F = 58.47, P < 0.01$)。见

图 1A。同时,与对照组比较,模型组大鼠脑积水量增加($P < 0.01$),经过 25、50、100 mg/kg 剂量莫诺苕苷的治疗,相比于模型组,脑积水量下降,差异有统计学意义($P < 0.01$),且与莫诺苕苷给药剂量呈反比($F = 48.78, P < 0.01$)。见图 1B。提示莫诺苕苷能剂量依赖性地减轻 HIBI 诱导的大鼠神经功能损伤,同时 HIBI 大鼠脑积水量降低。

2.2 莫诺苕苷改善 HIBI 模型大鼠脑组织病理改变

对照组脑组织细胞排列规则,轮廓清晰且结构完整;模型组可见细胞呈弥漫性分布,排列紊乱疏松、空泡化增加,且可见炎性浸润现象;而与模型组相比,莫诺苕苷 25、50、100 mg/kg 组和尼莫地平组治疗 28 d 后细胞密度增加、排列整齐,脑组织病理改变减少。提示莫诺苕苷能有效改善 HIBI 模型大鼠的脑组织病理改变。见图 2。

2.3 大鼠脑组织 Bcl-2、Bax、Caspase-3、Caspase-9 的蛋白表达水平

相比对照组,模型组大鼠脑组织高表达 Bax、Caspase-3 和-9 蛋白,低表达 Bcl-2 蛋白($P < 0.01$);同时,与模型组相比,莫诺苕苷 25、50、100 mg/kg 组和尼莫地平组上述蛋白的表达趋势有了逆转($P < 0.01$),且呈莫诺苕苷剂量依赖性。莫诺苕苷可抑制 HIBI 诱导的促凋亡蛋白表达同时促进抗凋亡蛋白表达(Bcl-2: $F = 164.8$; Bax: $F = 162.6$; Caspase-3: $F = 389.1$; Caspase-9: $F = 203.2$; P 均 < 0.01)。见图 3。

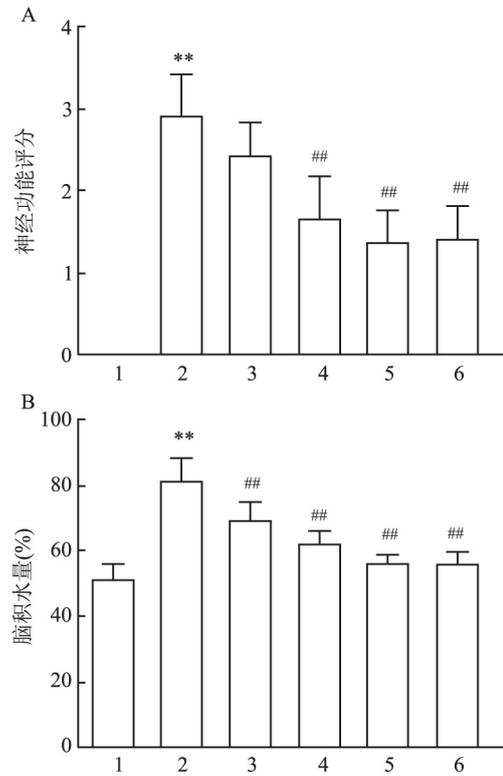


图 1 大鼠神经功能评分和脑积水量检测结果

A: 大鼠神经功能评分; B: 大鼠脑积水量百分比; 1: 对照组; 2: 模型组; 3: 莫诺苕苷 25 mg/kg 组; 4: 莫诺苕苷 50 mg/kg 组; 5: 莫诺苕苷 100 mg/kg 组; 6: 尼莫地平组; 与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$

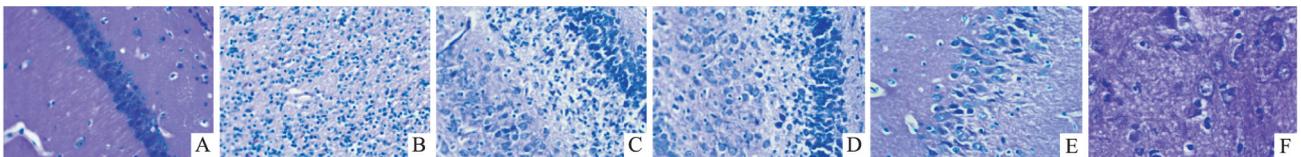


图 2 大鼠脑组织 HE ×400

A: 对照组; B: 模型组; C: 莫诺苕苷 25 mg/kg 组; D: 莫诺苕苷 50 mg/kg 组; E: 莫诺苕苷 100 mg/kg 组; F: 尼莫地平组

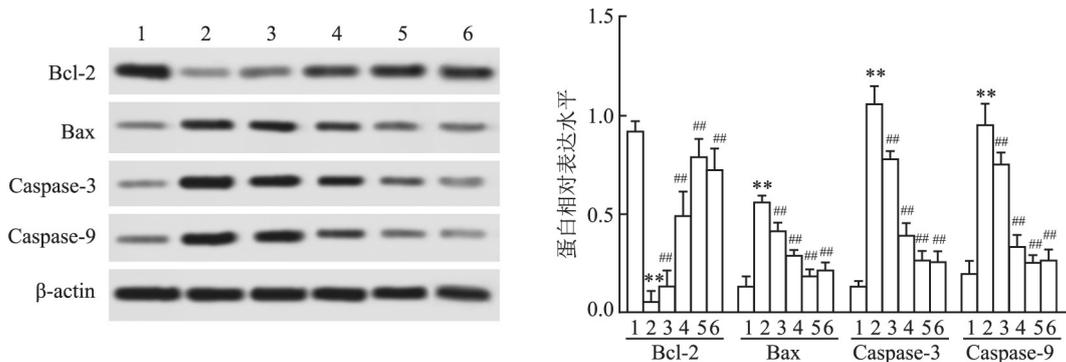


图 3 大鼠脑组织凋亡蛋白表达情况

1: 对照组; 2: 模型组; 3: 莫诺苕苷 25 mg/kg 组; 4: 莫诺苕苷 50 mg/kg 组; 5: 莫诺苕苷 100 mg/kg 组; 6: 尼莫地平组; 与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$

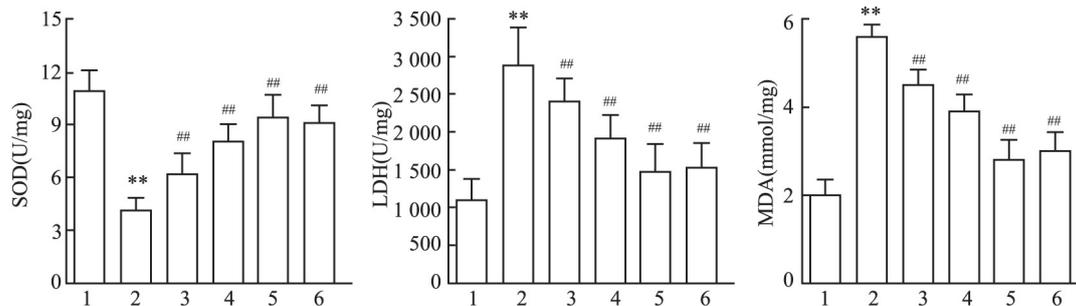


图4 MDA、SOD和LDH检测结果

1: 对照组; 2: 模型组; 3: 莫诺昔 25 mg/kg 组; 4: 莫诺昔 50 mg/kg 组; 5: 莫诺昔 100 mg/kg 组; 6: 尼莫地平组; 与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$

2.4 MDA、SOD和LDH检测 与对照组的MDA、SOD和LDH水平比较,模型组脑组织中SOD活性下降 ($P < 0.01$),MDA和LDH水平上升 ($P < 0.01$);莫诺昔治疗28 d后,与模型组比较,莫诺昔25、50、100 mg/kg剂量组大鼠脑组织中SOD水平剂量升高 ($P < 0.01$),同时莫诺昔25、50、100 mg/kg组的MDA水平下调,莫诺昔25、50、100 mg/kg组的LDH水平下调 ($P < 0.01$)。这说明莫诺昔提高了HIBI大鼠脑组织SOD水平,降低MDA和LDH水平,变化趋势具有剂量依赖性(SOD: $F = 50.50$; MDA: $F = 117.8$; LDH: $F = 35.13$; $P < 0.01$)。见图4。

2.5 bFGF、BDNF、PSD95和SYP检测 Western blot检测各组脑组织蛋白表达,相对对照组,模型组大鼠脑组织中bFGF、BDNF、PSD95和SYP的蛋白表达水平降低 ($P < 0.01$);莫诺昔治疗28 d后,与模型组相比,莫诺昔25、50、100 mg/kg剂量组大鼠上述指标呈莫诺昔浓度依赖性上调 ($P < 0.01$)。莫诺昔具有逆转HIBI诱导的bFGF、BDNF、PSD95和SYP蛋白表达下调的作用(bFGF: $F = 131.6$; BDNF: $F = 174.4$; PSD95: $F = 436.2$; SYP: $F = 346.2$; $P < 0.01$)。见图5。

2.6 Nrf2和HO-1检测 Western blot法对各组大鼠脑组织Nrf2和HO-1表达进行检测,相对对照组,模型组大鼠脑组织中Nrf2和HO-1的蛋白表达水平均下调 ($P < 0.01$);莫诺昔治疗28 d后,莫诺昔25、50、100 mg/kg剂量组大鼠上述指标较模型组均上调 ($P < 0.01$),且与莫诺昔给药剂量呈现相关性。结果表明,莫诺昔能正向调节HIBI诱导的抗氧化相关通路蛋白Nrf2、HO-1表达水平下调(Nrf2: $F = 448.9$; HO-1: $F = 442.6$; $P < 0.01$)。见图6。

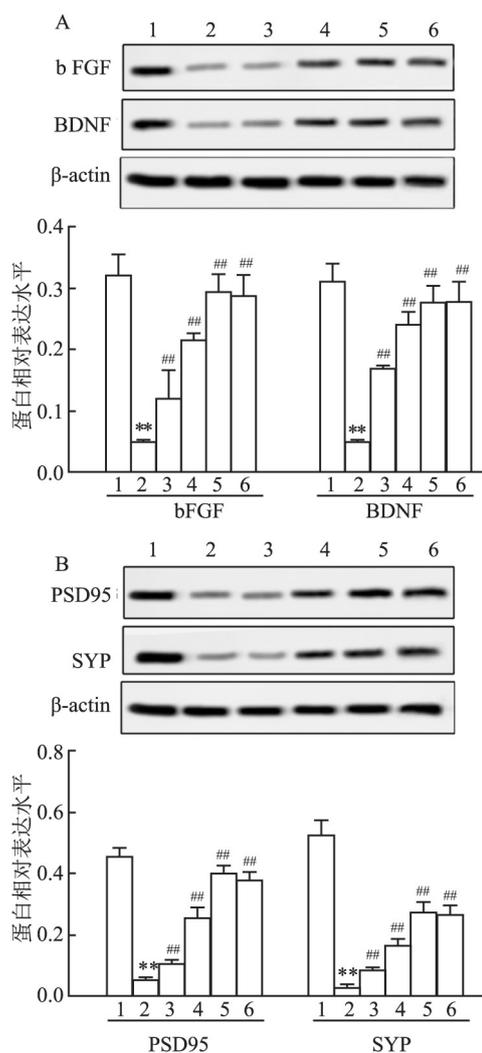


图5 bFGF、BDNF、PSD95和SYP检测结果

1: 对照组; 2: 模型组; 3: 莫诺昔 25 mg/kg 组; 4: 莫诺昔 50 mg/kg 组; 5: 莫诺昔 100 mg/kg 组; 6: 尼莫地平组; 与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$

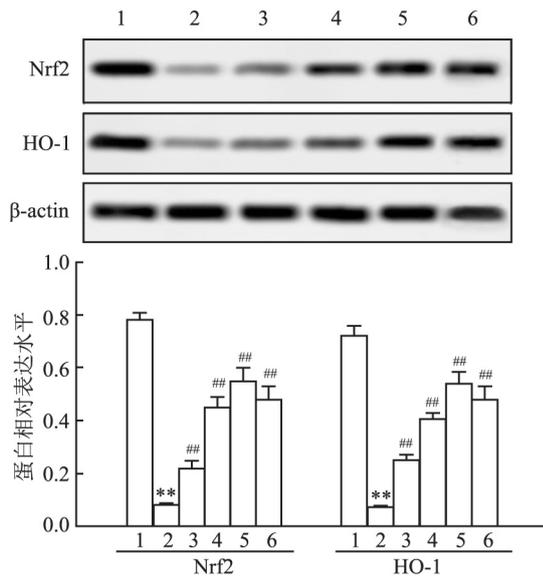


图6 Nrf2和HO-1检测结果

1: 对照组; 2: 模型组; 3: 莫诺昔 25 mg/kg 组; 4: 莫诺昔 50 mg/kg 组; 5: 莫诺昔 100 mg/kg 组; 6: 尼莫地平组; 与对照组比较: ** P < 0.01; 与模型组比较: ### P < 0.01

3 讨论

AD 是一种以记忆和认知渐进性障碍为特征的神经系统退行性疾病,治疗主要是通过影响突触传递,降低兴奋性氨基酸对胆碱能神经的毒害等方式,仅可缓解认知减退,发挥的作用十分有限,因此需要寻找更为有效的治疗新方法。研究[4-7]表明莫诺昔的抗氧化应激、改善微血管循环及神经修复等功能均可能决定了其在脑损伤保护方面的潜在作用。Nrf2 信号通路在机体对抗病原入侵和氧化应激损伤的过程中发挥着不可替代的作用。本文拟采用 Rice 法建立 HIBI 大鼠模型,并通过莫诺昔灌胃治疗 HIBI 大鼠,以研究莫诺昔对 HIBI 的抗氧化和神经保护作用。

该研究采用了 Bederson 法[9]评价大鼠神经功能,表明 HIBI 模型会使大鼠的神经功能评分升高,主要神经症状表现为对侧腕、肘屈曲,肩内收屈曲等,并且引起脑积水增加。神经功能评分和脑积水增加是 HIBI 最为直观的表现,证明 HIBI 模型复制成功。而灌胃给予不同浓度莫诺昔治疗 28 d 后表明 HIBI 可降低大鼠神经功能评分,同时减少脑积水量,呈剂量依赖性。说明莫诺昔可减轻 HIBI 模型大鼠的神经功能损伤,减少脑积水;与 Liu et al[5]研究相符。进一步研究显示莫诺昔有效抑制 Bax、

Caspase-3 和 Caspase-9,促进 Bcl-2 蛋白表达,并减少 HIBI 引起的神经元细胞凋亡,减轻大鼠脑组织的病理学改变。此外,莫诺昔还能调节 SOD、MDA 和 LDH 活性/含量以发挥抗氧化功能。脑组织低氧缺血损伤会产生大量活性氧、自由基等物质,从而引起线粒体膜脂质过氧化,最终引起细胞凋亡。在大脑中动脉闭塞模型中,莫诺昔能通过减少氧化应激反应和抗细胞凋亡来保护缺血/再灌注诱导的脑损伤[3,10]。在脑组织低氧缺血损伤中,莫诺昔很可能通过相同的机制发挥脑组织保护作用。此外,本研究还显示莫诺昔能剂量依赖性地逆转 HIBI 诱导的 bFGF、BDNF、SYP 和 PSD95 的低表达。bFGF 和 BDNF 同属于神经营养因子家族,可减轻神经元损伤诱发的神经变性,改善记忆,在 AD 脑组织修复中发挥着重要作用[11]。SYP 和 PSD95 也被证明与认知功能障碍相关[12-13]。因此,莫诺昔可通过促进 bFGF、BDNF、SYP 和 PSD95 表达,促进脑组织修复,从而减轻脑组织低氧缺血损伤引起的神经变性。

转录因子 Nrf2 在生理条件下与 Keap1 以非活性状态结合于胞质内;当受到环境因素刺激而被激活时,Keap1 降解并释放出 Nrf2,再经过核转运入核,提高 GST、HO-1 和 NQO1 等抗氧化基因表达,从而抵抗氧化应激,维持细胞的氧化还原平衡[14]。周玉燕等[15]研究表明,莫诺昔能通过调节氧化应激通路相关蛋白 Nrf2 和 HO-1 表达,介导 Nrf2 通路对雷公藤甲素造成的肝损伤起到有效的保护作用。本研究也得到了相似的结果,Nrf2/HO-1 通路受莫诺昔影响上调,提升了 HIBI 模型大鼠的抗氧化能力,具有剂量依赖性,这一作用减轻了氧化应激损伤,也从另一方面解释了 HE 染色观察到的组织病理学改变。

参考文献

- [1] Liu B, Tang J, Zhang J, et al. Autophagy activation aggravates neuronal injury in the hippocampus of vascular dementia rats[J]. Neural Regen Res 2014 9(13): 1288-96.
- [2] O'Brien J T, Thomas A. Vascular dementia[J]. Lancet 2015 386(10004): 1698-706.
- [3] Wang W, Xu J, Li L, et al. Neuroprotective effect of morroniside on focal cerebral ischemia in rats[J]. Brain Res Bull 2010 83(5): 196-201.
- [4] Zhang J X, Wang R, Xi J, et al. Morroniside protects SK-N-SH human neuroblastoma cells against H₂O₂-induced damage[J]. Int J Mol Med 2017 39(3): 603-12.
- [5] Liu T, Xiang B, Guo D, et al. Morroniside promotes angiogenesis

- and further improves microvascular circulation after focal cerebral ischemia/reperfusion[J]. *Brain Res Bull* 2016 ,127: 111 – 8.
- [6] Chen K ,Lu Y ,Liu C , et al. Morroniside prevents H₂O₂ or A β ₁₋₄₂-induced apoptosis via attenuating JNK and p38 MAPK phosphorylation[J]. *Eur J Pharmacol* 2018 ,334: 295 – 304.
- [7] Sun F L ,Wang W ,Zuo W , et al. Promoting neurogenesis *via* Wnt/ β -catenin signaling pathway accounts for the neurorestorative effects of morroniside against cerebral ischemia injury[J]. *Eur J Pharmacol* 2014 ,738: 214 – 21.
- [8] Ma Q ,Dasgupta C ,Li Y , et al. MicroRNA-210 suppresses junction proteins and disrupts blood-Brain barrier integrity in neonatal rat hypoxic-ischemic brain injury[J]. *Int J Mol Sci* 2017 ,18(7) : 1356.
- [9] Li Z W ,Zheng X N ,Li P , et al. Time-effect relationship of acupuncture on histopathology , ultrastructure , and neuroethology in the acute phase of cerebral hemorrhage [J]. *Neural Regen Res* , 2019 ,14(1) : 107 – 13.
- [10] Zeng G ,Ding W ,Li Y , et al. Morroniside protects against cerebral ischemia/reperfusion injury by inhibiting neuron apoptosis and MMP2/9 expression [J]. *Exp Ther Med* ,2018 ,16(3) : 2229 – 34.
- [11] Siuda J ,Patalong-Ogiewa M ,Zmuda W , et al. Cognitive impairment and BDNF serum levels[J]. *Neurol Neurochir Pol* 2017 ,51(1) : 24 – 32.
- [12] Whitfield D R ,Vallortigara J ,Alghamdi A , et al. Assessment of ZnT3 and PSD95 protein levels in Lewy body dementias and Alzheimer's disease: association with cognitive impairment [J]. *Neurobiol Aging* 2014 ,35(12) : 2836 – 44.
- [13] Han X F ,Zhang Y ,Xiong L L , et al. Lentiviral-mediated netrin-1 overexpression improves motor and sensory functions in SCT rats associated with SYP and GAP-43 expressions[J]. *Mol Neurobiol* , 2017 ,54(3) : 1684 – 97.
- [14] 曹娟,郑伟,朱柯斌,等. Musashi-1、COX-2、Nrf-2 在子宫腺肌病中的表达及意义[J]. 2017 ,6: 337 – 41.
- [15] 周玉燕,孙玉,李萍,等. 莫诺昔通过抗氧化应激保护雷公藤甲素所致肝细胞凋亡[J]. *南方医科大学学报* ,2018 ,38(8) : 949 – 55.

Antioxidant and neuroprotective effects of Monoside-mediated Nrf2 pathway on hypoxic-ischemic brain injury model rats

Li Jiangtao ,Yin Yongfeng ,Wang Runqing , et al

(Dept of 3rd Neurology , Zhengzhou Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University , Zhengzhou 450000)

Abstract Objective To investigate the antioxidant and neuroprotective effects of morroniside on hypoxic ischemic brain injury (HIBI) model rats and its possible mechanism. **Methods** Rice method was used to establish HIBI rat model. Rats were randomly divided into 6 groups: Control group , model group , Morroniside (25 , 50 , 100 mg/kg) group and Nimodipine group. The first two groups were given normal saline by gavage , and the last four groups were given corresponding doses of Morroniside and nimodipine , once every day for 28 consecutive days. The cerebral nerve function of rats was scored and the cerebral water volume was measured. HE staining was used to observe the histopathological changes of rat brain tissue. The levels of malondialdehyde (MDA) , lactate dehydrogenase (LDH) and superoxide dismutase (SOD) in rat brain tissue were measured by ELISA. The protein expression levels of B cell lymphoma-2(Bcl-2) , Bcl-2 associated X protein(Bax) , Caspase-3 , Caspase-9 , brain-derived neurotrophic factor(BDNF) , basic fibroblast growth factor(bFGF) , synaptophysin (SYP) , postsynaptic density-95 (PSD95) , transcription factor nuclear factor erythroid 2(NF-E2)-related factor 2(Nrf2) and heme oxygenase 1 (HO-1) in brain tissue were detected by Western blot. **Results** Compared with the model group , the neurological function score and hydrocephalus volume of rats in Monoside treatment group decreased ($P < 0.01$) , the pathological damage degree of brain tissue improved , Bcl-2 increased , Bax , Caspase-3 and Caspase-9 decreased ($P < 0.01$) , and SOD activity increased ($P < 0.01$) , LDH and MDA content decreased ($P < 0.01$) . In addition , the expressions of bFGF , BDNF , PSD95 , SYP and antioxidant pathway proteins Nrf2 and HO-1 were up-regulated ($P < 0.01$) . **Conclusion** Monoside has antioxidant and neuroprotective effects on hypoxic-ischemic brain injury model rats , and its function may be related to the mediating Nrf2 signaling pathway.

Key words morroniside; hypoxic ischemic brain injury; nuclear factor erythroid 2 – related factor 2; heme oxygenase 1