

电针对局灶脑缺血/再灌注模型大鼠缺血海马区血管再生的影响及其机制

谢宸宸¹, 罗勇¹, 高祥², 庞月珊¹, 李满¹, 汶海琪¹, 陈瑞芳¹

(1. 重庆医科大学附属第一医院神经内科 重庆市神经病学重点实验室, 重庆 400016;
2. 成都铁路分局医院肾内科, 成都 610081)

【摘要】 目的 探讨电针促进局灶脑缺血/再灌注后缺血海马区血管再生的机制。方法 180只雄性SD大鼠随机分为假手术组、模型组、电针组、CXCR4特异性拮抗剂AMD3100药物组、AMD3100+电针组。线栓法制备右侧局灶脑缺血/再灌注模型。取大鼠“百会”穴(GV 20)及左侧“四关”穴(合谷 LI 4/太冲 LR 3)为电针穴位,刺激时间为30 min/d。采用逆转录聚合酶链反应法(RT-PCR)检测各组缺血海马区SDF-1 α 、CXCR4 mRNA表达,免疫荧光双标法检测CD34⁺VEGFR2⁺EPCs源性血管的表达。结果 与假手术组比较,模型组与电针组SDF-1 α 、CXCR4 mRNA表达明显增高($P < 0.05$),其中电针组各时间点相对模型组增高更为显著($P < 0.05$)。AMD3100+电针组缺血海马SDF-1 α 、CXCR4 mRNA表达在再灌注后1 d时明显高于电针组($P < 0.05$),但后逐渐下降,7 d时明显低于电针组($P < 0.01$)。与模型组比较,电针组再灌注3 d、7 d海马CD34⁺VEGFR2⁺EPCs源性血管表达明显增多($P < 0.05$)。与电针组比较,AMD3100+电针组再灌注后7 d CD34⁺VEGFR2⁺EPCs源性血管表达明显下降($P < 0.01$)。CD34⁺VEGFR2⁺血管表达变化与SDF-1 α 的表达变化显著相关($R = 0.784, P < 0.01$)。结论 电针可通过上调局灶脑缺血/再灌注大鼠缺血海马区SDF-1 α /CXCR4的表达,促进血管再生。

【关键词】 局灶脑缺血/再灌注;SDF-1 α ;血管再生;电针;大鼠

【中图分类号】 R 743.31;R245.9+7 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2014)04-0041-06

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2014.04.010

Effect of electroacupuncture on angiogenesis in rat ischemic hippocampus after focal cerebral ischemia/reperfusion and its mechanism

XIE Chen-chen¹, LUO Yong¹, GAO Xiang², PANG Yue-shan¹, LI Man¹, WEN Hai-qi¹, CHEN Rui-fang¹

(1. Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing Key Laboratory of Neurology, Chongqing 400016, China;

2. Department of Nephrology, Chengdu Railway Branch Bureau Hospital, Chengdu, Sichuan 610018)

【Abstract】 Objective To explore the effect of electroacupuncture on CD34⁺VEGFR2⁺endothelial progenitor cell (EPC)-derived vessels and stromal cell-derived factor-1 α (SDF-1 α)/CXCR4, and study its mechanism of promoting angiogenesis in hippocampus after focal cerebral ischemia/reperfusion. **Methods** A total of 180 healthy male adult Sprague Dawley (SD) rats were randomly divided into sham operation (sham) group, model (I/R) group, electroacupuncture (I/RE) group, I/RE plus AMD3100 (A specific antagonist of CXCR4) group (I/REA) and AMD3100 (I/RA) group. The rats received filament occlusion of the right middle cerebral artery for 2 hours followed by reperfusion. Electroacupuncture was applied to “Baihui” (GV20)/“Siguan” (Hegu LI 4/Taichong LR 3) acupoints for 30 min, once a day. The mR-

【基金项目】教育部“高等学校博士学科点专项科研基金”联合资助课题(20095503110001);重庆市卫生局中医药科研重点项目(ZY20131027);重庆市卫生局中医药科研项目(渝中医2005-B-24)。

【作者简介】谢宸宸(1989年-),女,硕士研究生,从事脑血管病研究。Email: xiechenchen-888@163.com

【通讯作者】罗勇,博士,研究员,博士生导师,Tel: 023-89012307; E-mail: Luoyong1998@163.com

NA expression of SDF-1 α and CXCR4 were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). Double immunofluorescence was used to stain CD34⁺ VEGFR2⁺ EPC-derived vessels. **Results** Compared with the sham group, the mRNA expressions of SDF-1 α and CXCR4 were significantly upregulated in I/R and I/RE group ($P < 0.05$), but that in I/RE group was more significantly increased than I/R group ($P < 0.05$). In addition, the mRNA expression of SDF-1 α and CXCR4 were highly increased on day 1 in the I/REA group than that of I/RE group, but decreased than that of I/RE group on day 7 after reperfusion ($P < 0.01$). CD34⁺ VEGFR2⁺ EPCs-derived vessels were obviously increased on 3d and 7d in the I/RE group compared with that of the I/R group, and significantly decreased on 7d in the I/REA group compared with that of the I/RE group ($P < 0.01$). **Conclusions** Electroacupuncture can effectively promote angiogenesis through upregulating the expression of SDF-1 α and CXCR4 in rat ischemic hippocampus after focal cerebral ischemia/reperfusion.

【Key words】 Focal cerebral ischemia /reperfusion; SDF-1 α ; Angiogenesis; Electroacupuncture; Rat

缺血性脑血管病是临床常见病,具有高死亡率、高致残率。针刺作为祖国的传统医学,用于治疗缺血性脑血管病已有数千年历史,并已得到广泛推广和认可。针刺可从多种途径治疗和改善缺血性脑血管病的病症,其中改善脑血流循环,增加脑血流量、改善半暗带供血、促进血管再生等是治疗和预后的关键途径^[1]。而近年内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)在缺血组织血管再生中的作用受到广泛关注^[3]。EPCs 主要存在于骨髓^[2],基质细胞衍生因子-1 α (stromal cell derived factor-1 α , SDF-1 α)及其受体 CXCR4 可有效动员骨髓 EPCs 至外周血参与缺血组织的血管再生^[4]。研究发现,电针可上调脑缺血皮质区 SDF-1 α /CXCR4 的表达而促进血管再生^[5],但此作用是否与电针促进 EPCs 归巢相关并不明确。故本研究通过观察局灶脑缺血/再灌注后电针及 CXCR4 特异性拮抗剂 AMD3100 作用下海马 SDF-1 α /CXCR4 的表达变化及 EPCs 源性血管形成的情况,以期深入探讨电针促进局灶脑缺血/再灌注后脑内血管再生的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

SPF 级成年雄性 SD 大鼠 180 只,体重(250 \pm 20)g,由重庆医科大学动物中心【SCXK(渝)2012-0002】提供。重庆医科大学附属第一医院实验研究中心【SYXK(渝)2010-0002】提供实验操作平台,并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。大鼠随机分为假手术组(Sham 组)、模型组(I/R 组)、电针组(I/RE 组)、CXCR4 特异性拮抗剂 AMD3100 药物组(I/RA 组)、AMD3100 + 电针组(I/REA 组)五组,每组 36 只。根据局灶脑缺血 2 h 再灌注后观察的时间点,各组分为 1 d、3 d、7 d 三个时相点,每个

亚组 12 只。

1.2 主要试剂及仪器

兔抗大鼠 VEGFR2 抗体(Cell Signal Technology 公司,美国)、藻红蛋白(PE)标记小鼠抗大鼠 CD34 抗体(Santa Cruz Biotechnology 公司,美国)、异硫氰酸荧光素(FITC)标记羊抗兔二抗(北京鼎国生物有限公司,中国)、RNA 提取试剂盒和逆转录试剂盒等 PCR 相关试剂(Takara 公司,日本)。SDF-1 α 、CXCR4 引物由上海生物生工有限公司合成。G6805 型电针治疗仪购自北京精工仪器厂。

1.3 动物模型制备

根据 Longa 等^[6]报道的方法,结合以往实验^[7,8]及本课题组罗勇等^[9]报道的经验方法,线栓法规范化制备右侧大脑中动脉梗塞/再灌注模型(middle cerebral artery occlusion/reperfusion, MCAO/R)。大鼠术前禁食一晚,不禁饮。用 10% 水合氯醛(1 mL/100 g)腹腔麻醉大鼠后仰卧位固定、消毒、做颈部正中切口,暴露大鼠右侧颈总动脉(CCA),分离颈外动脉(ECA)、颈内动脉(ICA)颅外段,分离 ECA、ICA 交通支后结扎 ECA 远端,将 ECA 残端下拉与 ICA 成直线,在其 ECA 残端剪一小口,将事先做好的直径约 0.25 ~ 0.27 mm 线栓插入 ECA,经 CCA 分叉处进入 ICA 离分叉处约 18 ~ 20 mm,遇阻力即表明线栓头端已进入大脑中动脉起始处,将线栓固定于 ECA。清理手术野,缝合皮肤。缺血 2 h 后剪开缝合线,暴露手术视野,拔出线栓至 ECA 残端,实现再灌注,再次缝合皮肤。假手术组线栓只插入颈内动脉 10 mm,不阻断大脑中动脉。整个实验过程中大鼠置于 37 $^{\circ}$ C 恒温台。实验中尽可能避免造模外因素对实验结果的影响。大鼠清醒后按照 Longa 方法^[7]评分:0 分:无神经功能缺失症状;1 分:轻度局灶神经功能缺失(不能完全伸展左侧前

肢);2分:中度局灶神经功能缺失(向左侧转圈);3分:重度神经功能缺失(向左侧倾斜);4分:不能自发行走,意识水平降低。评分为2~3分者视为造模成功,入选实验。凡因各种原因导致各实验组动物数不足预定数量者,均通过随机抽样原则补齐实验动物。

1.4 电针及药物 AMD3100 干预方法

根据中国针灸学会实验针灸委员会制定的动物穴位图谱,选取大鼠“百会”穴(GV 20)及左侧“四关”穴(合谷 LI 4/太冲 LR 3)为电针穴位;利用华佗牌不锈钢银针(直径为 0.38 mm,长度为 1 寸)取“百会”穴斜刺入头皮 1 mm,直刺“合谷”穴及“太冲”穴 2 mm,针刺“百会”穴及“四关”穴通电刺激,“百会”穴连接电针方式:一侧电极接通“百会”穴位上的针灸针,与“百会”穴形成环路的另外一电极包湿纱布,固定于动物右侧后肢。电针治疗仪采用频率为 2/20 Hz,波型为疏密波,刺激时间为 30 min,强度以大鼠肢体轻度颤动为度,I/RE 组及 I/REA 组大鼠各时相点每天电针一次,直至取材。另外对 I/RA 及 I/REA 组皮下注射 CXCR4 特异性拮抗剂 AMD3100 每次 1.25 mg/kg,每日 2 次。

1.5 检测指标和方法

1.5.1 逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)

提取各组大鼠缺血区海马总 RNA,通过琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的完整性,测定 RNA 的纯度和浓度,并调浓度一致。根据 PubMed 上 GenBank 提供的基因序列,引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。SDF-1 α 上游引物:5'-CATCAGT-GACGGTAAGCCAGT-3',下游引物:5'-CAA-CAATCTGAAGGCACAGT-3'。CXCR4 上游引物:5'-CCTCCTGACTAT

CCCTGACATC-3',下游引物:5'-CAGTAACAG-GACAGGATGACGA-3'。 β -actin 上游引物:5'-AG-ATGACCCAGATCATGTTTGA-3',下游引物 5'-TTG-GCATAGAGGTCCTTTA-3'。逆转录扩增为 cDNA 后,进行配胶、上样、电泳、照相,采用 Quantity One 软件对进行结果分析。

1.5.2 免疫荧光双标

各组大鼠到观察时间点后,3.5%水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠,经左心室 4%多聚甲醛灌注以固定脑组织后取脑,取视交叉前后 2 mm 的脑组织,制作连续冠状面冰冻切片(厚约 10 μ m)。切片每隔 10 张取 1 张,每个组织各取 10 张做免疫荧光染色。切

片固定修复后,山羊血清 37 $^{\circ}$ C 封闭 30 min,加 VEGFR2 抗体(1:300)4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,同时用 PBS 代替一抗做为阴性对照。37 $^{\circ}$ C 烤箱复温 1 h,PBS 冲洗后加 PE-CD34(1:50)及 FITC 标记羊抗兔二抗(1:50)孵育 1 h。PBS 反复冲洗后封片,激光共聚焦显微镜(Leica TCS SP2, Germany),观察 CD34、VEGFR2 双阳性血管的表达并照相。

1.6 统计学处理

实验数据均用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 16.0 版统计软件处理。统计分析采用单因素方差分析(ANOVA),多组间进一步比较采用 LSD 检验。相关分析采用 Spearman 相关分析。检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 时认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 电针及 AMD3100 干预对局灶脑缺血/再灌注大鼠缺血海马区 SDF-1 α mRNA 表达的影响

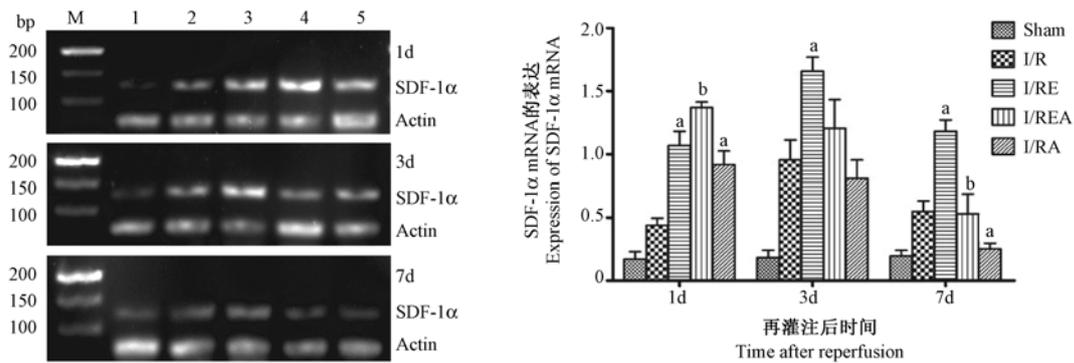
模型组海马 SDF-1 α mRNA 表达在再灌注后 1 d 时开始增高,3 d 时达高峰($P < 0.05$),7 d 时表达低于 3 d 但仍高于再灌注后 1 d。电针组各时间点均高于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$),电针 + AMD3100 组 SDF-1 α mRNA 表达在再灌注后 1 d 时明显高于电针组($P < 0.05$),但 3 d、7 d 表达逐渐下降,7 d 时明显低于电针组($P < 0.01$)。药物组 1 d 表达高于模型组($P < 0.01$),至 7 d 时明显低于模型组($P < 0.05$)。见图 1。

2.2 电针及 AMD3100 干预对局灶脑缺血/再灌注大鼠缺血海马区 CXCR4 mRNA 表达的影响

模型组与电针组再灌注后各时间点海马 CXCR4 mRNA 的表达均高于假手术组,电针组各时间点均明显高于模型组($P < 0.05$)。电针 + AMD3100 组 CXCR4 mRNA 表达在再灌注后 1 d 时明显高于电针组与模型组($P < 0.01$),而后逐渐下降,7 d 时明显低于电针组($P < 0.01$)。药物组再灌注后 1 d 表达高于模型组($P < 0.01$),7 d 明显低于模型组($P < 0.01$)。见图 2。

2.3 电针及 AMD3100 干预对局灶脑缺血/再灌注缺血海马区 CD34 $^{+}$ VEGFR2 $^{+}$ EPCs 源性血管表达的影响

模型组与电针组 CD34 $^{+}$ VEGFR2 $^{+}$ 血管数量随着时间延长逐渐增多,7 d 时增至最多($P < 0.01$)。与模型组比较,再灌注后 1 d 电针组血管数量差异无统计学意义($P > 0.05$),但再灌注后 3 d、7 d 时电

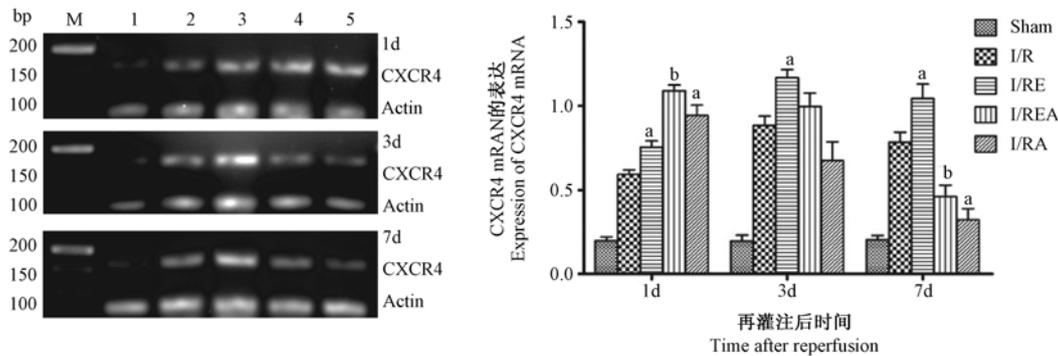


注: M: Marker; 1-5: Sham, I/R, I/RE, I/REA, I/RA; a: $P < 0.05$ 与 I/R 组比较; b: $P < 0.05$ 与 I/RE 比较。

图 1 RT-PCR 显示各组不同时间点 SDF-1 α mRNA 表达变化

Note. M: Marker; 1-5: Sham, I/R, I/RE, I/REA, I/RA; a: $P < 0.05$, compared with I/R group; b: $P < 0.05$, compared with I/RE group.

Fig. 1 Changes of expression of SDF-1 α mRNA in each group detected by RT-PCR at different time points



注: M: Marker; 1-5: Sham, I/R, I/RE, I/REA, I/RA; a: $P < 0.05$ 与 I/R 比较; b: $P < 0.01$ 与 I/RE 组比较。

图 2 RT-PCR 显示各组不同时间点 CXCR4 mRNA 表达变化

Note. M: Marker; 1-5: Sham, I/R, I/RE, I/REA, I/RA; a: $P < 0.05$, compared with I/R group; b: $P < 0.01$, compared with I/RE group.

Fig. 2 Changes of expression of CXCR4 mRNA in each group detected by RT-PCR at different time points

针组明显高于模型组 ($P < 0.05$)。与电针组比较, 电针 + AMD3100 组再灌注后 1 d、3 d 血管表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但至 7 d 时电针 + AMD3100 组明显低于电针组 ($P < 0.01$)。与模型组比较, AMD3100 组再灌注 1 d、3 d 血管数量表达差异无统计学意义, 但 7 d 时明显低于模型组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见图 3、4 (图 4 见彩插 5)。

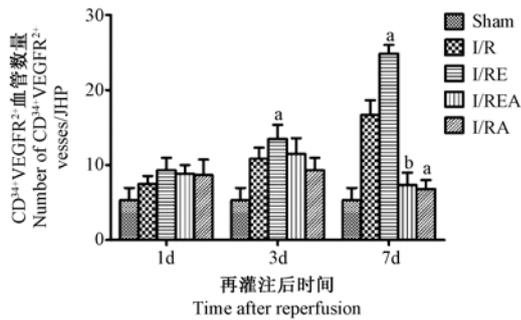
2.4 局灶脑缺血/再灌注后各组缺血海马区 SDF-1 α mRNA 与 CD34⁺ VEGFR2⁺ 血管表达的相关性分析

对局灶脑缺血/再灌注后第 7 天模型组、电针组、电针 + AMD3100 组、AMD3100 组缺血海马区

SDF-1 α mRNA 与 CD34⁺ VEGFR2⁺ 血管表达的相关性分析, 得回归方程: $Y = 15.016x + 4.415$, $R^2 = 0.6148$ 。相关系数 $R = 0.784$, $P < 0.01$ 。表明两者呈正相关且显著相关。提示局灶脑缺血/再灌注后脑内缺血海马区的 CD34⁺ VEGFR2⁺ 血管表达变化与 SDF-1 α 的表达变化具有显著相关性。结果见图 5。

3 讨论

针刺作为脑缺血的一种“非药物”治疗手段, 可有效地改善脑缺血的症状及预后^[10]。本研究选取“百会”穴与“四关”穴作为电针穴位, “一气一血”、“一阳一阴”、“一上一下”相互调节相互影响, 能够



注: a: $P < 0.05$ 与 I/R 组比较; b: $P < 0.05$ 与 I/RE 组比较。

图 3 免疫荧光双标各组不同时间点 CD34⁺ VEGFR2⁺ 血管

Note. a: $P < 0.05$ compared with I/R group; b: $P < 0.05$ compared with I/RE group.

Fig. 3 CD34⁺ VEGFR2⁺ blood vessels in each group at different time points. Double immunofluorescence staining.

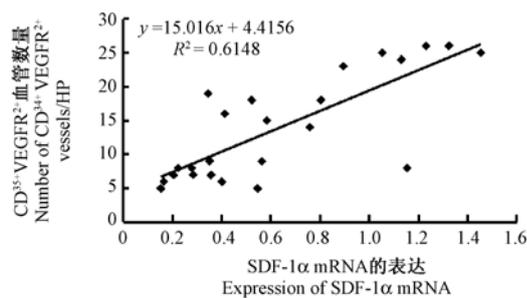


图 5 局灶脑缺血/再灌注后 7d 各组缺血海马区 SDF-1 α mRNA 与 CD34⁺ VEGFR2⁺ 血管表达的相关性分析

Fig. 5 Correlation analysis of the expression of SDF-1 α mRNA and CD34⁺ VEGFR2⁺ vessels in the ischemic hippocampus after focal cerebral ischemia/reperfusion

达到醒脑开窍、舒经活络、平肝熄风、祛瘀化痰的作用,是脑卒中治疗最常选取的基础穴。本研究发现,电针可明显上调局灶脑缺血/再灌注后缺血海马区 SDF-1 α /CXCR4 的表达,增加海马区 CD34⁺ VEGFR2⁺ 血管表达,且 CD34⁺ VEGFR2⁺ 血管表达变化与 SDF-1 α 的表达变化具有显著相关性。CXCR4 特异性拮抗剂 AMD3100 在脑缺血/再灌注后早期 1 d 时并不能抑制 SDF-1 α 的表达,反而明显增加 SDF-1 α 的表达,但 7 d 时可明显抑制由电针或脑缺血诱发的 SDF-1 α /CXCR4 表达及 CD34⁺ VEGFR2⁺ EPCs 源性血管表达的上调。

EPCs 可参与脑缺血后的脑内血管再生修

复^[11]。遗憾的是目前仍没有特异鉴定 EPCs 的方法,回顾多项研究发现,CD34、VEGFR2 表面抗原的结合鉴定 EPCs 具有敏感性、特异性和可靠性,是目前科研和临床研究中较好的选择^[12,13]。王秀志等^[14]发现电针可增加局灶脑缺血/再灌注大鼠外周血 VEGFR2⁺ PECAM⁺ EPCs 数量。赵瑛等^[15]发现电针可增加局灶脑缺血/再灌注大鼠外周血 CD31⁺ VEGFR2⁺ EPCs 数量,从而促进脑缺血区的血管再生修复。本研究进一步发现电针可增加脑缺血后缺血海马区 CD34⁺ VEGFR2⁺ EPCs 源性血管数量,推测电针可能促进骨髓 EPCs 动员至外周血归巢至脑内缺血区参与血管形成。

SDF-1 α /CXCR4 轴是 EPCs 动员的关键调控因素之一^[16,17],SDF-1 α 能增强 EPCs 的迁移粘附及其成血管能力,急性局灶性脑缺血患者的 SDF-1 α 水平与早期外周血 EPCs 数量密切相关^[4,18]。孙宏毅等^[19]发现电针可上调外周血 SDF-1 α 的表达,增加骨髓和外周血 VEGFR2⁺ EPCs、CXCR4⁺ EPCs 数量。CXCR4 特异性阻断剂 AMD3100 体外长期干预可明显抑制 EPCs 的增殖迁移及成血管能力^[20]。但 AMD3100 的早期作用反而是促进 EPCs 的动员^[21]。本课题组早期研究发现电针亦可上调脑缺血皮质区 SDF-1 α /CXCR4 的表达,促进微血管形成^[5]。为进一步深入研究,故本研究的主要研究对象为脑内另一重要解剖区“脑缺血海马区”,探讨电针对脑缺血海马区 SDF-1 α /CXCR4 轴表达的影响。且本研究采取 CD34 和 VEGFR2 双标 EPCs 源性血管,观察电针对 CD34⁺ VEGFR2⁺ EPCs 源性血管表达的影响,本研究发现 AMD3100 在脑缺血早期并不能抑制反而增加 SDF-1 α 的表达,至中晚期时才明显抑制由电针或脑缺血诱发的 SDF-1 α /CXCR4 及 CD34⁺ VEGFR2⁺ EPCs 源性血管表达的上调,且脑缺血中晚期 CD34⁺ VEGFR2⁺ 血管表达变化与 SDF-1 α 的表达变化显著相关。Petit 等^[22]认为在缺血早期 AMD3100 对 SDF-1 α /CXCR4 轴的阻断作用,可能导致 SDF-1 α 短暂性处于较高水平,从而诱导 EPCs 动员入血并归巢至脑内参与血管再生,故出现 SDF-1 α 表达增高,EPCs 数量增多的情形。但长期应用 AMD3100,EPCs 的增殖迁移及成血管能力受到抑制,SDF-1 α 表达逐渐降低,即可阻断 EPCs 动员归巢,从而抑制 EPCs 参与脑内血管再生。由此可见 AMD3100 作为 CXCR4 的特异性阻断剂在局灶脑缺血/再灌注中晚期可阻断电针促进脑内血管再生的

作用,进一步阐明电针促进脑内血管再生的机制与上调 SDF-1 α /CXCR4 的表达密切相关。

结合以往研究,推测 SDF-1 α /CXCR4 所诱导的 EPCs 的动员、迁移、归巢,可能是电针促进脑缺血/再灌注后脑内血管再生中的一个极其重要的机制,而其更为全面的机制还需进一步探索。

(本文图 4 见彩插 5。)

参 考 文 献

- [1] 张慧敏, 费宇彤, 时宇静, 等. 针刺“百会”“太阳”改善局灶性脑缺血脑微血管内皮细胞功能的动态观察 [J]. 针刺研究, 2006, 31(2):67-73.
- [2] 崔碧, 李健丁, 张瑞平. 大鼠骨髓内皮祖细胞 SPIO 标记及检测 [J]. 中国医药导报, 2011, 8(9):33-35.
- [3] Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology [J]. Circ Res, 2004, 95(4):343-353.
- [4] Bogoslovsky T, Spatz M, Chaudhry A, et al. Stromal-derived factor-1[α] correlates with circulating endothelial progenitor cells and with acute lesion volume in stroke patients [J]. Stroke, 2011, 42(3):618-625.
- [5] 赵旺, 罗勇. 电针对局灶性脑缺血/再灌注大鼠大脑皮质基质细胞衍生因子-1 表达的影响及其促进脑内血管再生的作用 [J]. 中华物理医学与康复杂志, 2010, 32(6):409-413.
- [6] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke, 1989, 20(1):84-91.
- [7] 赵浩, 李永宁, 王任直, 等. 大鼠局灶性脑缺血模型的有效制备 [J]. 中国实验动物学报, 2009, 17(6):432-436.
- [8] 何学令, 尹海林. 脑缺血动物模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2004, 14(4):248-252.
- [9] 罗勇, 董为伟. Wistar 大鼠插线法局灶性脑缺血/再灌注模型的实验研究 [J]. 重庆医科大学学报, 2002, 27(1):1-4.
- [10] 曹莹, 戴建武, 胡志兵, 等. 依达拉奉联合电刺激小脑顶核治疗急性脑梗死疗效观察 [J]. 中国医药导报, 2009, 6(16):100-101.
- [11] Navarro-Sobrinho M, Rosell A, Hernandez-Guillamon M, et al. Mobilization, endothelial differentiation and functional capacity of endothelial progenitor cells after ischemic stroke [J]. Microvasc Res, 2010, 80(3):317-323.
- [12] Fadini GP, Losordo D, Dimmeler S. Critical reevaluation of endothelial progenitor cell phenotypes for therapeutic and diagnostic use [J]. Circ Res, 2012, 110(4):624-637.
- [13] Asahara T, Kawamoto A, Masuda H. Concise review: circulating endothelial progenitor cells for vascular medicine [J]. Stem Cells, 2011, 29(11):1650-1655.
- [14] 王秀志, 张莉, 蔡绍哲, 等. 电针对脑缺血再灌注大鼠缺血局部脑血管形成的影响 [J]. 针灸临床杂志, 2010, 26(8):61-63.
- [15] 赵瑛, 陈斯佳, 于文娟, 等. 电针刺激对脑缺血大鼠内源性 EPCs 及相关血清细胞因子的影响 [J]. 生物医学工程学报, 2010, 27(6):1322-1326.
- [16] Liekens S, Schols D, Hatse S. CXCL12-CXCR4 axis in angiogenesis, metastasis and stem cell mobilization [J]. Curr Pharm Des, 2010, 16(35):3903-3920.
- [17] 姚峰, 周军媚, 王佐, 等. SD 大鼠 SDF-1 α 基因克隆与序列分析 [J]. 中国实验动物学报, 2008, 16(1):14-18.
- [18] 姚峰, 周军媚, 王佐, 等. SDF-1 α 对单核细胞的黏附作用 [J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(3):32-34.
- [19] 孙宏毅, 罗勇, 卢桃利, 等. 电针对局灶性脑缺血/再灌注大鼠外周血和骨髓内皮祖细胞的作用 [J]. 针刺研究, 2012, 37(3):179-185.
- [20] Yin Y, Huang L, Zhao X, et al. AMD3100 mobilizes endothelial progenitor cells in mice, but inhibits its biological functions by blocking an autocrine/paracrine regulatory loop of stromal cell derived factor-1 in vitro [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2007, 50(1):61-67.
- [21] Shepherd RM, Capoccia BJ, Devine SM, et al. Angiogenic cells can be rapidly mobilized and efficiently harvested from the blood following treatment with AMD3100 [J]. Blood, 2006, 108(12):3662-3667.
- [22] Petit I, Jin D, Rafii S. The SDF-1-CXCR4 signaling pathway: a molecular hub modulating neoangiogenesis [J]. Trends Immunol, 2007, 28(7):299-307.

[收稿日期] 2014-01-25