

[文章编号] 1007-3949(2010)18-08-0589-05

• 实验研究 •

电针对局灶脑缺血再灌注大鼠大脑皮质胎盘生长因子及其受体 FIt-1 mRNA 和蛋白表达的影响及其促进脑内血管再生的作用

武磊, 罗勇, 张珊珊

(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, 重庆市 400016)

[关键词] 电针刺激; 脑缺血再灌注; 胎盘生长因子; FIt-1; 血管再生

[摘要] 目的 观察电针对 SD 大鼠局灶脑缺血再灌注后大脑皮质胎盘生长因子及其受体 FIt-1 mRNA 和蛋白表达的影响, 探讨电针促进局灶脑缺血再灌注后脑内血管再生的可能机制。方法 采用线栓法制备 SD 大鼠局灶脑缺血再灌注模型。将 SD 大鼠随机分为正常对照组、模型组、电针组, 将模型组和电针组分为局灶脑缺血 2 h 再灌注 1、3 和 7 天三个亚组。取双侧“合谷”穴为电针刺激穴位。采用免疫组织化学法检测胎盘生长因子及其受体 FIt-1 蛋白在缺血区大脑皮质的分布及其表达; 逆转录聚合酶链反应检测缺血区大脑皮质胎盘生长因子 mRNA 和 FIt-1 mRNA 的表达; 免疫印迹法定量检测缺血区侧大脑皮质胎盘生长因子蛋白的表达。结果 与正常对照组比较, 模型组和电针组各时间点缺血区大脑皮质胎盘生长因子 mRNA 和蛋白及 FIt-1 mRNA 和蛋白的表达增加 ($P < 0.05$); 电针组各时间点缺血区大脑皮质胎盘生长因子 mRNA 和蛋白及 FIt-1 mRNA 和蛋白的表达比模型组增加更为明显 ($P < 0.05$)。结论 电针上调了局灶脑缺血再灌注大鼠缺血区大脑皮质的胎盘生长因子和 FIt-1 的表达, 胎盘生长因子/FIt-1 可能促进脑缺血后脑内血管再生。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Effects of Electroacupuncture on mRNA and Protein Expression of Placental Growth Factor and FIt-1 and Promotes Revascularization in the Brain After Focal Cerebral Ischemia/Reperfusion in SD Rats

WU Lei, LUO Yong and ZHANG Shan-Shan

(Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University & Chongqing Key Laboratory of Neurology, Chongqing 400016 China)

[KEY WORDS] Electroacupuncture; Cerebral Ischemia/Reperfusion; Placental Growth Factor; FIt-1; Vascular Regeneration

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the mechanism of electroacupuncture (EA) effects on promoting revascularization in SD rats brain of focal cerebral ischemia/reperfusion by discussing the expression of placental growth factor (PLGF) / FIt-1 pathway after middle cerebral artery occlusion (MCAO). **Methods** The SD rats received filament occlusion of the right middle cerebral artery for 2 h. SD rats were randomly divided into control group, model group and EA group. The model group and EA group were divided into three subgroups according to accepting reperfusion 1 d, 3 d, 7 d after 2 h ischemia. After 1 h of the reperfusion, EA was bilateral "Hegu" point in the EA group. Immunohistochemical method was used to detect the expression of PLGF and FIt-1 protein in the cortical ischemic region. RT-PCR was used to detect the expression of PLGF and FIt-1 mRNA. Western blotting was employed to detect the expression of PLGF protein. **Results** Compared with the control group, the mRNA and protein expression of PLGF and FIt-1 in the cortical ischemic region of the model group and EA group were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the mRNA and protein expression of PLGF and FIt-1 in the EA group were significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** EA may upregulate expression of PLGF, FIt-1 protein and PLGF, FIt-1 mRNA in the cortical ischemic region, and PLGF/FIt-1 may promote revascularization in the rats brain of focal cerebral ischemia/reperfusion.

[收稿日期] 2010-06-02

[修回日期] 2010-08-20

[基金项目] 教育部“高等学校博士学科点专项科研基金”(20095503110003)资助; 重庆市卫生局中医药科研项目(2005-B-24)资助

[作者简介] 武磊, 硕士研究生, E-mail为 wulei_19821982@163.com。通讯作者罗勇, 博士, 研究员, 博士研究生导师, 研究方向为脑血管病的损伤及保护机制, E-mail为 Luoyong1998@163.com。

脑缺血后尽快促进血管再生、恢复缺血区的血供是治疗缺血性脑血管病、减少后遗症的关键。近年来, 对脑缺血后血管再生的研究主要集中在各种促血管生长因子, 尤其是血管内皮生长因子 A (VEGF-A), 而对 VEGF 家族中的另一成员胎盘生

长因子 (placental growth factor, PLGF) 在脑缺血后血管再生中作用研究较少。PLGF 的特异性受体是 VEGFR-1, 即 Flt-1。研究表明, PLGF 和 VEGF-A 都能强烈地促进血管内皮细胞增长, 且 PLGF/Flt-1 可以放大 VEGF/Flt-1 的生物活性。更重要的是与 VEGF-A 的作用相比, PLGF 刺激产生的新血管具有正常的生理特性而无其它异常的改变, 这些新生血管不会引起水肿和低血压等副反应^[1]。本文研究大鼠局灶脑缺血再灌注模型及在电针干预下观察缺血区大脑皮质 PLGF 及其受体 Flt-1 mRNA 和蛋白表达的变化, 探讨 PLGF/Flt-1 在脑缺血再灌注后的作用并进一步探讨电针改善脑缺血、促进脑内血管再生的机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组

清洁级成年 SD 大鼠 100 只, 雄性, 体重 250~300 g 由重庆医科大学动物中心提供, 动物使用许可证号 SYXK(渝) 2007-0001。大鼠随机分为正常对照组 ($n=10$)、局灶脑缺血再灌注组 (模型组, $n=45$)、局灶脑缺血再灌注加电针干预组 (电针组, $n=45$)。将模型组和电针组再分为局灶脑缺血 2 h 再灌注后 1、3 及 7 天 3 个亚组。

1.2 主要试剂和仪器

PLGF 一抗购自美国 Santa Cruz 公司; Flt-1 一抗和 SABC 二抗试剂盒购自武汉博士德生物有限公司; SP 二抗试剂盒和 DAB 显色试剂盒购自北京中杉生物有限公司; PCR 试剂盒购自 TaKaRa 宝生物公司; Western 相关试剂购自上海碧云天公司; 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^[2]的方法, 结合罗勇等^[3]介绍的经验, 用线栓法制备右侧大脑中动脉局灶脑缺血再灌注模型。SD 大鼠术前禁食 12 h, 自由饮水, 3.5% 水合氯醛腹腔麻醉后, 仰卧固定、备皮、消毒。作颈部正中切口, 锐钝结合分离颈部筋膜, 向外牵拉胸锁乳突肌, 暴露右侧颈总动脉、颈内及颈外动脉, 灼断颈外动脉所有分支和交通支, 离分叉 0.5 cm 处灼断颈外动脉并在残断作一环形小口, 将预先准备好的头端涂有聚氨酯的尼龙丝 (涂有肝素, 直径约 0.25~0.27 mm) 插入颈外动脉, 经颈总动脉分叉进入颈内动脉, 置入 18~20 mm, 感到阻力即表明线栓头端已进入大脑中动脉起始处, 完成一侧大脑中动脉的阻塞, 清理手术视野, 缝合皮肤。缺血 2 h 后拔回线

栓至颈外动脉残端, 实现再灌注。

1.4 模型成功标准和排除标准

待大鼠完全清醒后, 参照 Zea Longa 5 分制评分标准行神经功能学评分: 0 分为无神经功能缺失症状; 1 分为提尾倒悬时, 左侧前肢不能完全伸直; 2 分为行走时原地向左侧转圈; 3 分为行走时向左侧倾倒; 4 分为不能自发的行走, 意识丧失。评分为 2~3 分者视为造模成功, 入选实验。评分低于 2 分者、高于 4 分者、蛛网膜下腔出血者、HE 染色无缺血病理改变者、未到观察时间点死亡者, 排除实验。

1.5 电针刺激方法及参数的选择

根据中国针灸学会实验针灸委员会制定的动物穴位图谱及华兴邦等^[4]介绍的大鼠穴位图谱, 选择大鼠双侧“合谷”穴区 (LI 4) 为进针部位, 进针深度 0.4~0.6 cm, 针间距 0.4 cm; 刺激参数: 疏密波 $F1=40\text{ Hz}$ $F2=60\text{ Hz}$ 空载输出电压为 1.5 V。电针动物组在缺血再灌注后 1 h 进行第一次治疗, 每次刺激时间为 15 min, 每天 1 次, 最长 7 天。

1.6 免疫组织化学检测 PLGF 和 Flt-1 蛋白的表达

到观察时间点后, 腹腔麻醉大鼠, 剪开胸腔暴露心脏, 升主动脉插管, 剪破右心耳, 先用 200 mL PBS 缓冲液快速灌注冲洗, 再用 200 mL 4% 多聚甲醛缓冲液缓慢灌注进行内固定, 断头取脑, 取视交叉前后 2 mm 的脑组织, 放入 -4°C 的 4% 多聚甲醛缓冲液过夜进行外固定, 随后梯度酒精脱水、石蜡包埋, 制作石蜡切片, 片厚 4~6 μm 。切片常规脱蜡至水, $92^{\circ}\text{C}\sim 98^{\circ}\text{C}$ 抗原热修复维持 20 min, 冷却至室温 (大约 1 h 左右); 3% H_2O_2 室温孵育 5~10 min 灭活内源性酶, PBS 洗涤 3 次; 血清封闭 30 min, 甩去余液; 不同的玻片分别加入山羊抗大鼠 PLGF 一抗 (1:50) 和兔抗大鼠 Flt-1 一抗 (1:50), 同时滴加 PBS 代替一抗做阴性对照, 4°C 过夜; 37°C 复温 1 h, PBS 洗涤 3 次, 滴加生物素二抗, 37°C 20 min, PBS 洗涤 3 次, 滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液, 37°C 20 min, DAB 显色, 常规脱水、透明、封片。

1.7 逆转录聚合酶链反应检测 PLGF 和 Flt-1 mRNA 的表达

根据 PubMed 上 GenBank 提供的基因序列, 引物设计由上海生工生物工程技术有限公司合成。PLGF mRNA 上游引物为 5'-CTGT CTG CTG GGA ACA ACT CAA-3', 下游引物为 5'-TCC TTT CTG CCT TTG TCG TCT C-3', 产物长度 343 bp Flt-1 mRNA 上游引物为 5'-AGC CGG GAC AAG GGA CTC TAC AC-3', 下游引物为 5'-AGG CTG AGG GAT GCC ATA CAC G-3', 产物长度 480 bp β -actin

mRNA 上游引物为 5'-CCA TGT TCG TCA TGG GTG TGA ACC A-3', 下游引物为 5'-GCC A GT AGA GGC AGG GAT GAT GTT C-3', 产物长度 251 bp。到观察时相后, 腹腔麻醉大鼠, 断头取脑, 保留缺血区大脑皮质新鲜组织; 立即放入液氮罐备用。各时间点分别取 100 mg 新鲜脑组织, 加入 1 mL Trizol 试剂后匀浆; 室温静置 5 min, 4℃、12000 r/min 离心 5 min, 取上清液; 加入 0.2 mL 氯仿, 振荡混匀, 室温静置 5 min, 4℃、12000 r/min 离心 15 min, 取上清液; 加入 0.5 mL 异丙醇混匀, 室温静置 20 min, 4℃、12000 r/min 离心 10 min, 弃上清液; 用 1 mL 75% 乙醇 (DEPC 处理水配制) 清洗 RNA 沉淀, 干燥后溶于 50 μ L DEPC 处理水中。通过琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的完整性, 分光光度计测定 RNA 的纯度和浓度, 并调浓度一致。取 3 μ L 总 RNA 逆转录为 25 μ L cDNA, 并按退火温度 59℃、58℃、58℃ 30 个循环进行 PCR 反应。配胶、上样、电泳、照相。

1.8 Western blotting 定量检测 PLGF 蛋白的表达

到观察时间点后, 腹腔麻醉大鼠, 断头取脑, 保留缺血区大脑皮质新鲜组织; 立即放入液氮罐备用。严格按照全蛋白的提取试剂盒说明书提取全蛋白。采用 BCA 蛋白定量法检测蛋白浓度。用 4×Loading buffer 把所提蛋白稀释成相同浓度, 封闭后 100℃水浴 10 min, -80℃保存。取各组待测蛋白 20 μ g 上样进行 SDS-PAGE 凝胶电泳 (分离胶 10%, 浓缩胶 12%), 恒压 (浓缩胶 80 V, 分离胶 100 V); 转膜至 PVDF 膜上; 5% 脱脂奶粉封闭 30 min, 孵一抗 (抗体稀释浓度为 1:100), 4℃过夜, 37℃复温 30 min, TBST 漂洗 3 次, 孵二抗 (兔抗山羊, 抗体稀释浓度为 1:2500); TBST 漂洗, 凝胶成像仪成像, 结果以 Quantity One 图像分析进行条带分析。

1.9 统计学方法

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 *t* 检验、单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 电针对缺血区大脑皮质 PLGF 蛋白和 mRNA 表达的影响

免疫组织化学检测显示 PLGF 阳性细胞胞浆黄染, 在大脑皮质、海马等部位表达, 主要见于神经胶质细胞、血管内皮细胞、神经元。正常对照组有少量 PLGF 阳性细胞表达; 与正常对照组比较, 模型组各时间点 PLGF 阳性细胞增多, 1 天表达已明显增多, 3 天表达有一峰值, 7 天仍高于正常对照组 ($P < 0.05$

或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 电针组 1、3 及 7 天 PLGF 阳性细胞增多更明显 ($P < 0.01$), 峰值仍在 3 天 (图 1 和表 1)。Western blotting 检测显示, 在正常大脑组织内 PLGF 有少量表达; 与正常对照组相比, 模型组各时间点表达增高, 于再灌注 1 天开始升高 ($P < 0.01$), 3 天时达到高峰 ($P < 0.01$), 7 天仍高于正常对照组, 但无统计学意义 ($P > 0.05$); 电针组各时间点表达明显增高 ($P < 0.01$); 与模型组同时间点相比, 电针组 1 天增高 ($P > 0.05$), 电针 3 天、7 天差别具有显著性 ($P < 0.01$), 于 3 天时表达达高峰 (图 2 和表 1)。

正常对照组 PLGF mRNA 有微量表达, 模型组各时间点 PLGF mRNA 表达高于正常对照组 ($P < 0.01$), 且 PLGF mRNA 成一单峰表达, 峰值在 3 天; 与模型组比较, 电针组 1、3 及 7 天 PLGF mRNA 表达增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 峰值仍在 3 天 (图 3 和表 1)。

表 1 缺血区大脑皮质 PLGF 的表达 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

分 组	PLGF 阳性 细胞数 ($\times 400$)	PLGF 蛋白	PLGF mRNA
正常对照组	2 167 $\pm$ 1 167	0 227 $\pm$ 0 039	0 184 $\pm$ 0 012
模型组 1 天	14 333 $\pm$ 1 211 ^b	0 383 $\pm$ 0 043 ^b	0 273 $\pm$ 0 007 ^b
模型组 3 天	20 000 $\pm$ 1 414 ^b	0 688 $\pm$ 0 049 ^b	0 406 $\pm$ 0 014 ^b
模型组 7 天	8 833 $\pm$ 0 753 ^a	0 266 $\pm$ 0 052	0 288 $\pm$ 0 016 ^b
电针组 1 天	17 500 $\pm$ 1 049 ^{bd}	0 402 $\pm$ 0 035 ^b	0 325 $\pm$ 0 011 ^{bc}
电针组 3 天	28 500 $\pm$ 1 049 ^{bd}	1 039 $\pm$ 0 068 ^{bd}	0 585 $\pm$ 0 012 ^{bd}
电针组 7 天	15 167 $\pm$ 0 753 ^{bd}	0 754 $\pm$ 0 127 ^{bd}	0 331 $\pm$ 0 009 ^{bd}

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与正常对照组比较; c 为 $P < 0.05$, d 为 $P < 0.01$, 与模型组比较。

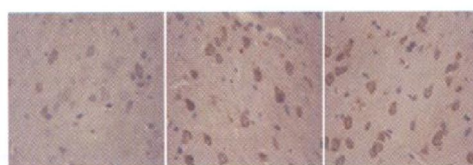


图 1 PLGF 蛋白在缺血区大脑皮质的表达 ($\times 200$) 从左至右为正常对照组、模型组 3 天和电针组 3 天。

2.2 电针对缺血区大脑皮质 Fli-1 蛋白和 mRNA 表达的影响

免疫组织化学检测显示胞浆黄染的细胞为阳性细胞, 大脑皮质、海马、脑室旁周围组织的血管内皮细胞、神经元都有表达。正常大脑组织 Fli-1 阳性细胞表达极少; 与正常对照组比较, 模型组 1 天 Fli-1 表达已经升高 ($P < 0.01$), 3 天 Fli-1 表达达高峰 ($P < 0.01$), 7 天 Fli-1 表达开始回落, 但仍有较高表达 ($P < 0.01$); 电针组 1 天 Fli-1 蛋白表达升高 ($P >$

0.05), 电针 3天和 7天 FIt-1 蛋白表达增加更明显 ($P < 0.01$), 高峰仍在 3天 (图 4和表 2)。

正常对照组有 FIt-1 mRNA 表达; 与正常对照组比较, 模型组 1天和 3天 FIt-1 mRNA 表达逐渐升高 ($P < 0.01$), 7天 FIt-1 mRNA 开始回落, 但仍高于正常对照组 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 电针组各时间点 FIt-1 mRNA 表达更明显 ($P < 0.01$; 图 5和表 2)。

表 2 缺血区大脑皮质 FIt-1 的表达 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

分 组	FIt-1 阳性细胞数 ($\times 400$)	FIt-1 mRNA
正常对照组	2 500 $\pm$ 0 548	0 962 $\pm$ 0 004
模型组 1天	9 333 $\pm$ 1 033 ^b	2 013 $\pm$ 0 023 ^b
模型组 3天	14 167 $\pm$ 1 169 ^b	2 834 $\pm$ 0 015 ^b
模型组 7天	7 500 $\pm$ 0 548 ^b	1 833 $\pm$ 0 019 ^b
电针组 1天	10 167 $\pm$ 0 753 ^b	2 167 $\pm$ 0 022 ^{bd}
电针组 3天	20 667 $\pm$ 1 033 ^{bd}	3 527 $\pm$ 0 008 ^{bd}
电针组 7天	15 333 $\pm$ 1 033 ^{bd}	2 258 $\pm$ 0 020 ^{bd}

a 为 $P < 0.05$ b 为 $P < 0.01$, 与正常对照组比较; c 为 $P < 0.05$ d 为 $P < 0.01$, 与模型组比较。

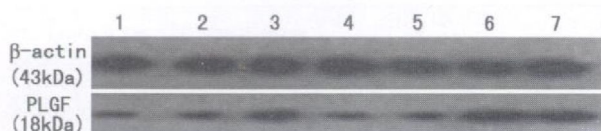


图 2. Western blotting 检测 PLGF 蛋白的表达 1 为正常对照组, 2 为模型组 1 天, 3 为模型组 3 天, 4 为模型组 7 天, 5 为电针组 1 天, 6 为电针组 3 天, 7 为电针组 7 天。

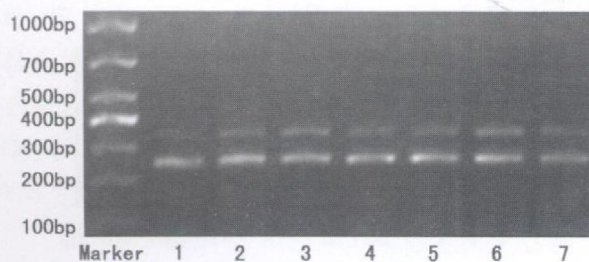


图 3. RT-PCR 检测各组 PLGF mRNA 的表达 M 为 Marker, 1 为正常对照组, 2 为模型组 1 天, 3 为模型组 3 天, 4 为模型组 7 天, 5 为电针组 1 天, 6 为电针组 3 天, 7 为电针组 7 天。

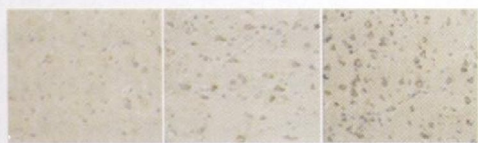


图 4. FIt-1 蛋白在缺血区大脑皮质的表达 ($\times 100$) 从左至右为正常对照组、模型组 3 天和电针组 3 天。

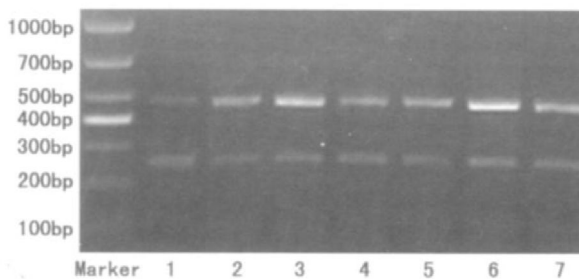


图 5. RT-PCR 检测 FIt-1 mRNA 的表达 1 为正常对照组, 2 为模型组 1 天, 3 为模型组 3 天, 4 为模型组 7 天, 5 为电针组 1 天, 6 为电针组 3 天, 7 为电针组 7 天。

3 讨论

近年来, 脑缺血后尽快恢复缺血区的血供, 促进缺血区血管再生和神经再生为研究的重点。缺血后血管再生分为血管发生、血管新生、动脉形成及血管侧支形成。作为 VEGF 家族的一员成员, PLGF 具有与 VEGF-A 一样的促血管再生作用, 不同的是 PLGF 只在病理条件下起作用, 它主要结合络氨酸激酶受体 FIt-1 参与血管新生、动脉生成、侧支形成、血管发生等病理性血管再生^[5-8]。敲除 PLGF 基因大鼠的研究表明, 出生后不会出现明显血管缺陷, 但是在心肌梗死和下肢动脉阻塞等缺氧条件下, 明显减少了血管新生和动脉生成的能力; 给予重组 PLGF 可以恢复梗死区血管新生和动脉生成的能力^[9]。Ziche 等^[10]研究发现 PLGF 呈剂量依赖性促进兔角膜和鸡胚胎绒毛膜血管新生。同时发现血管对 PLGF 应答更单一, 只产生稳定的母血管, 即使 PLGF 表达已停止, 仍可持续 1 年以上, 血管直径也接近中、小动脉, 有效缓解组织局部缺血。而 VEGF-A 产生的血管只是暂时的, 不成熟的血管, 随着 VEGF-A 表达的停止, 数周后就消失^[11]。Takeda 等^[12]研究发现 PLGF 不仅能通过血管新生和动脉生成来改善梗死后心肌功能和提高存活率; 也能动员血管内皮祖细胞进入外周血和募集 GFP 标记的骨髓细胞进入梗死区。可见 PLGF 在促进血管再生、改善组织缺血中起到重要作用。然而 PLGF 在缺血性脑血管病的表达、作用及调控机制还不是很清楚。

本研究中, 正常 SD 大鼠脑组织可以表达少量的 PLGF, 脑缺血后, 缺血区大脑皮质有大量的 PLGF 表达, 3 天有一峰值。PLGF 主要表达在缺血半暗带和梗死中心的神经元、血管内皮细胞、胶质细胞, 尤其在脑缺血后血管内皮细胞表达增多, 这与 Beck 等^[13]研究结果相吻合。这可能是静止血管内皮细胞仅释放少量 PLGF, 相反, 激活的血管内皮细胞能

释放大量的 PLGF。由于 PLGF 促进血管再生的肯定性及在血管内皮的高表达, 使我们可以大胆推测脑缺血再灌注后缺血侧皮质升高的 PLGF 可能参与脑缺血区血管再生。研究发现神经元细胞和胶质细胞也有 PLGF 表达, 提示 PLGF 可能在神经细胞保护和再生中起到一定作用; PLGF 的作用可能与“神经血管单元”有关。同时从 mRNA 和蛋白水平上检测了缺血区大脑皮质 Fli-1 的表达, 免疫组织化学显示 Fli-1 主要表达在缺血半暗带的血管内皮细胞上。与 Beck 等^[14]研究结果相一致。正常大脑组织几乎不表达 Fli-1, Fli-1 在脑缺血后缺血侧大脑皮质表达明显增多。RT-PCR 结果与免疫组织化学结果一致。提示 PLGF 促进脑缺血后血管再生经过 PLGF/Fli-1 轴传导细胞内信号通路发挥作用。

近年来国内大量研究表明, 针刺对缺血性脑损伤具有多水平、多通道、多靶点的保护和干预作用。电针能够调节免疫紊乱, 有尽早恢复免疫功能的作用, 减少感染机会, 减轻血管损伤^[15], 增加缺血区脑血流量, 减少梗死面积^[16]。本课题组赵旺等^[17]发现电针“合谷”穴组缺血侧皮质的微血管计数明显增多, 说明电针“合谷”穴可以促进脑缺血后血管再生。本研究中, 与模型组相比, 电针“合谷”穴组各时间点 PLGF 和 Fli-1 表达增高。根据我们既往研究电针“合谷”穴可上调 VEGF、血管紧张素等血管生长因子, 下调内皮抑素等血管抑制因子, 促进脑缺血后血管生成^[18]。进一步证明了 PLGF/Fli-1 轴参与脑缺血后的血管再生, 提示电针促进脑缺血后血管再生有部分可能是经过 PLGF/Fli-1 轴。既往本课题组研究认为电针可能通过上调局灶脑缺血再灌注大鼠脑内 SDF-1 α 促进骨髓内皮祖细胞释放入血并归巢到脑缺血区而促进血管再生^[17]。有报道体内 PLGF 过度表达能增加 SDF-1/CXC4 的表达^[8]。故我们推测电针可能通过上调 PLGF/Fli-1 而增加 SDF-1 α 表达从而促进骨髓内皮祖细胞释放入血并归巢到脑缺血区而促进血管再生。PLGF/Fli-1 轴对脑缺血后血管再生有重要作用。由于 PLGF/Fli-1 强的促血管再生作用及不会出现水肿、血管寿命短暂和血管瘤形成等副作用, PLGF/Fli-1 可能成为研究缺血性脑血管病的一个重点, 具体作用机制有待进一步研究。

总之, 本研究提示电针促进脑缺血后脑内血管再生部分是经过 PLGF/Fli-1 轴发挥作用, PLGF/Fli-1

1 可能促进脑缺血后脑内血管再生。进一步深化了对电针激活内源性血管再生机制的认识和理解。

[参考文献]

- [1] Roy H, Bhardwaj S, Yla-Herttuala S, et al. Biology of vascular endothelial growth factors [J]. *FEBS Lett* 2006; **580** (12): 2 879-887.
- [2] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke* 1989; **20** (1): 84-91.
- [3] 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.
- [4] 华兴邦, 李辞蓉. 穴位图谱的研制 [J]. 实验动物与动物实验, 1991; **8** (1): 1-5.
- [5] Wu Q, Du Y, Yang N, et al. Microvasculature change and placenta growth factor expression in the early stage of a rat remnant kidney model [J]. *Am J Nephrol* 2006; **26** (1): 97-104.
- [6] Cianfanini F, Zambunio G, Brogelli L, et al. Placenta growth factor in diabetic wound healing: altered expression and therapeutic potential [J]. *Am J Pathol* 2006; **169** (4): 1 167-182.
- [7] Autiero M, Luttmann A, Tjwa M, et al. Placental growth factor and its receptor: vascular endothelial growth factor receptor-1: novel targets for stimulation of ischemic tissue revascularization and inhibition of angiogenic and inflammatory disorders [J]. *J Thromb Haemost* 2003; **1** (7): 1 356-370.
- [8] Mark K, Yvonne R, Anke W, et al. Fli-1 signaling in macrophages promotes glioma growth in vivo [J]. *Cancer Res* 2008; **68** (18): 7 342-351.
- [9] Carmeliet P, Moons L, Luttmann A, et al. Synergism between vascular endothelial growth factor and placenta growth factor contributes to angiogenesis and plasma extravasation in pathological conditions [J]. *Nat Med* 2001; **7** (5): 575-583.
- [10] Ziche M, Maglione D, Ribatti D, et al. Placenta growth factor-1 is chemotactic, mitogenic and angiogenic [J]. *Lab Invest* 1997; **76** (4): 517-531.
- [11] Nagy JA, Dvorak AM, Dvorak HF, et al. VEGF-A (164/165) and PLGF: role in angiogenesis and arteriogenesis [A]. *Trends Cardiovasc Med* 2003; **13** (5): 169-175.
- [12] Takeda Y, Uemura S, Inagawa K, et al. Treatment with recombinant placental growth factor (PLGF) enhances both angiogenesis and arteriogenesis and improves survival after myocardial infarction [J]. *Circ J* 2009; **73** (9): 1 674-682.
- [13] Beck H, Acker T, Puschel AW, et al. Cell type-specific expression of neuropilins in an MCA-occlusion model in mice suggests a potential role in post-ischemic brain remodeling [J]. *Neuropathol Exp Neurol* 2002; **61** (4): 339-350.
- [14] Beck H, Raab S, Copanaki E, et al. VEGFR-1 signaling regulates the homing of bone marrow derived in a mouse stroke model [J]. *Neuropathol Exp Neurol* 2010; **69** (2): 168-175.
- [15] 何欣潘, 安娜, 沈维高, 等. 电针对急性脑梗死治疗作用的实验研究 [J]. 中国老年学杂志, 2008; **28** (20): 1 980-982.
- [16] 朱庆, 倪光夏. 针刺治疗缺血性中风的实验研究进展 [J]. 针灸临床杂志, 2010; **26** (1): 61-63.
- [17] 赵旺, 罗勇. 电针对局灶脑缺血再灌注大鼠大脑皮质基质细胞衍生因子 1 α 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.
- [18] 马璟曦, 罗勇. 电针对大鼠局灶脑缺血再灌注后脑内血管生长因子和血管抑制因子表达的影响 [J]. 中国针灸, 2007; **27** (2): 129-133.

(此文编辑 文玉珊)