

[文章编号] 1007-3949(2011)19-08-0645-06

• 实验研究 •

## 碱性成纤维细胞生长因子对血管性痴呆 大鼠海马区脑血管生成的影响

张冬梅<sup>1</sup>, 叶建新<sup>2</sup>, 崔晓萍<sup>2</sup>, 翁 婧<sup>2</sup>, 姚丽青<sup>3</sup>

(南京军区福州总医院 福建医科大学福总临床医学院 1. 老年二科, 2 神经内科, 3 病理科, 福建省福州市 350025)

[关键词] 碱性成纤维细胞生长因子; 血管性痴呆; 大鼠; 脑血管; 血管内皮生长因子; 第(II)因子相关抗原多克隆抗体

[摘要] 目的 皮下注射碱性成纤维细胞生长因子于血管性痴呆大鼠, 研究用药前后对大鼠海马区脑血管生成的影响。方法 制作血管性痴呆大鼠模型, 随机取用血管性痴呆大鼠模型 12 只, 分碱性成纤维细胞生长因子处理组 6 只, 生理盐水对照组 6 只。另外, 取假手术组 6 只。皮下注射碱性成纤维细胞生长因子于血管性痴呆大鼠。治疗 5 周后, 以 Morris 水迷宫定位航行试验和空间探索试验来检测大鼠的学习记忆能力, 检测大鼠血清血管内皮生长因子变化, 第(II)因子相关抗原多克隆抗体免疫组织化学染色, 观察海马阳性细胞数的变化。结果 碱性成纤维细胞生长因子治疗 5 周后, 假手术组、生理盐水对照组、碱性成纤维细胞生长因子处理组的平台象限滞留时间分别为  $14.3 \pm 3.1$  s,  $7.4 \pm 2.9$  s 和  $12.6 \pm 2.7$  s。假手术组和碱性成纤维细胞生长因子处理组的平台期保持时间要明显长于生理盐水对照组 ( $P < 0.05$ ), 显示碱性成纤维细胞生长因子处理组空间记忆能力较生理盐水对照组明显提高。假手术组、生理盐水对照组、碱性成纤维细胞生长因子处理组的血管内皮生长因子含量分别是  $8.14 \pm 1.53$ ,  $6.07 \pm 0.18$ ,  $9.19 \pm 0.29$ , 碱性成纤维细胞生长因子处理组与生理盐水对照组比较有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。假手术组、碱性成纤维细胞生长因子处理组、生理盐水对照组海马 CA1 区 F8 免疫反应阳性神经元计数分别为  $105.38 \pm 1.45$ ,  $101.32 \pm 1.28$ ,  $43.03 \pm 2.11$ , 碱性成纤维细胞生长因子处理组与生理盐水对照组组间差异有显著性 ( $P < 0.01$ )。结论 皮下注射碱性成纤维细胞生长因子后能刺激海马区脑血管生成, 改善大鼠的学习记忆能力。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Effect of Basic Fibroblast Growth Factor on Cerebral Vascular in Hippocampus of Vascular Dementia Rats

ZHANG DongMei<sup>1</sup>, YE Jian-Xin<sup>2</sup>, CUI Xiao-Ping<sup>2</sup>, WENG Jing<sup>2</sup>, and YAO Li-Qing<sup>3</sup>

(1 Department of Geriatrics, 2 Department of Neurology, 3 Department of Pharmacology, Fuzhou Military General Hospital of Nanking Army Area and Clinical Medical College of Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350025, China)

[KEY WORDS] Basic Fibroblast Growth Factor; Vascular Dementia; Rat; Cerebral Vascular; Vascular Endothelial Growth Factor; Factor (II)-related Antigen

[ABSTRACT] **Aim** To study the change of cerebral vascular in hippocampus of vascular dementia rats after hypodermic injection of basic fibroblast growth factor. **Methods** After the vascular dementia model was reproduced, the 12 model rats were randomly divided into basic fibroblast growth factor (bFGF) treatment group, normal saline treatment group. The 6 rats were in sham group. The vascular dementia rats in therapy group were treated by hypodermic injection of bFGF. After 5 weeks, abilities of learning and memory of three section rats were tested by using the Morris water maze. The changes of vascular endothelial growth factor (VEGF) in rats' serum were tested. Immunohistochemistry staining of factor (II)-related antigen (F8) was used to observe the number of nestin positive neurons in hippocampus. **Results** The time spent on the platform was  $14.3 \pm 3.1$  s,  $7.4 \pm 2.9$  s and  $12.6 \pm 2.7$  s in the sham, bFGF treatment group and normal

[收稿日期] 2011-02-09

[基金项目] 福建省自然科学基金计划资助项目 (X0750048)

[作者简介] 张冬梅, 主任医师, 研究方向为老年脑血管病, Email 为 zdm073@163.com。通讯作者叶建新, 硕士, 副主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事血管性痴呆的临床与基础研究, Email 为 13959199189@139.com。崔晓萍, 博士, 主治医师, 研究方向为缺血性脑血管病基础与临床。

saline treatment group The VEGF in rats' serum was  $8.14 \pm 1.53$   $6.07 \pm 0.18$   $9.19 \pm 0.29$  It was more significantly increased in bFGF treatment group than that in normal saline treatment group ( $P < 0.05$ ). The number of the F8 positive neurons in the hippocampus were  $105.38 \pm 1.45$   $101.32 \pm 1.28$   $43.03 \pm 2.11$  It was more significantly increased in bFGF treatment group than that in normal saline treatment group

**Conclusions** bFGF by hypodermic injection can migrate to hippocampus area and induce hippocampus to create cerebral vascular bFGF can increase abilities of learning and memory of rats significantly.

随着脑血管发病率的不断升高,血管性痴呆发病率也逐渐升高,血管性痴呆由于脑缺血、缺氧造成学习记忆功能明显下降,因此,血管性痴呆治疗关键在于改善脑部缺血、缺氧状态。碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)具有广泛的生物学活性,其中一项重要功能是促进血管生成。作为一种血管生长因子,它能使角膜、皮肤、肾被膜等组织快速生成新血管,它能趋化血管内膜各类细胞,刺激各类细胞增殖与迁移, bFGF促使人内皮细胞真微血管的形成和迁移<sup>[1]</sup>。bFGF生物学效应广泛,包括:维持细胞的形状和迁徙功能,从而修复损伤的动脉内皮细胞;促进细胞分化,保持培养细胞表型长期表达,参与调控体内血管新生的整个过程; bFGF及其受体表达上调参与介导动脉损伤后新生血管内膜增生的过程,具有广泛的细胞增殖作用;直接营养脑神经元、胶质细胞和血管内皮细胞;扩张脑血管、增加脑血流,进而减少局灶性脑缺血后神经细胞的凋亡<sup>[2-5]</sup>。血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种内皮细胞特异的有丝分裂原,它可改变内皮细胞表达方式,促进纤维蛋白酶和间质胶原酶的表达,直接诱导新生血管的生长。第(II)因子相关抗原多克隆抗体(factor (II)-related antigen, F8)在正常动脉、静脉、毛细血管及心脏内细胞的血管内皮细胞上阳性表达。因此, VEGF与 F8免疫反应阳性细胞是血管发生的指标。

本实验通过制作血管性痴呆模型,通过皮下注射 bFGF,观察大鼠血清血管内皮生长因子 VEGF及 F8免疫反应阳性细胞数目,由此判断海马区脑血管发生的变化。为外周给药改善痴呆大鼠的脑缺血状态提供实验室依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

动物实验计划由本院 IRB 批准。12~14月龄 SD 大鼠 25只(由福州总医院实验动物中心提供),体重  $500 \pm 50$  g 雌雄不拘。以 Y 型电迷宫实验筛选学习记忆良好的大鼠 18只(指标见下面)。随机

分为治疗组、痴呆组、假手术组,每组 6只。

### 1.2 Y 型电迷宫实验

依照赵小贞等<sup>[6]</sup>介绍的方法进行实验。本研究用 MG-2Y 型电迷宫(张家港市教学实验器械厂)筛选学习记忆能力良好的大鼠。每只大鼠在一天内连续接受 20次测试。记录错误次数(EN)和 20次训练总时间(TRT)。以  $EN \leq 8$ 次,  $TRT \leq 160$  s和 10次测试中连续 9次出现正确反应为学习记忆能力良好。任意一项超过者则认为学习障碍。24 h后重复测试,仍达标者进入后续实验。

### 1.3 大鼠血管性痴呆模型制作

治疗组、痴呆组参照 Ohta等<sup>[7]</sup>的方法制作慢性脑灌注不足动物模型,观察其行为变化。假手术组仅行颈部切开,不结扎双侧颈总动脉。

### 1.4 碱性成纤维细胞生长因子治疗

碱性成纤维细胞生长因子用黄绿色荧光异硫氰酸荧光素(FITC)标记(FITC购于美国 Sigma公司)。模型动物经 Morris水迷宫测试(如下)确认血管性痴呆模型构建成功后随机分组。治疗组大鼠每天皮下注射 bFGF 10 mg/L,共 1周,以后每周 2次,每次皮下注射 bFGF 10 mg/L,共 4周,治疗共持续 5周。假手术组与痴呆组每天皮下注射生理盐水 0.1 mL,共 1周,以后每周 2次,每次皮下注射生理盐水 0.1 mL,共 4周,总计亦为 5周。

### 1.5 Morris水迷宫测试

本研究用 Morris水迷宫(广州飞迪生物科技有限公司)实验验证动物模型构建与检测 bFGF 治疗效果。(1)定位航行试验(place navigation test):连续 7天,将大鼠从入水点面向池壁置入水槽中,记录 60 s内大鼠从入水到爬上平台所需的时间,即逃避潜伏期。每只大鼠每天从 4个不同象限入水点入水进行测试各 1次,取其平均值为其每天逃避潜伏期。测试中,若大鼠在 60 s内找到平台,让其于平台上站立 10 s。若未 60 s内找到,用棒将其引上平台,并让其站立 10 s,潜伏期限记为 60 s。将大鼠从平台上拿下来休息 60 s之后,再按序由下一入水点入水进行下一次实验。(2)空间探索试验(spatial probe test):第 8天撤去平台,将大鼠从第二象限入水点放

入水槽,记录 60 s内其在平台象限的滞留时间。

### 1.6 血管内皮生长因子含量测定

腹主动脉取血 2.5 mL置于采血管中,离心后-20℃贮存备用。用酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)测定各组血清中 VEGF的含量。试剂盒购于武汉晶美公司,操作按照说明书进行。先将酶标板孔依次编号,每孔加入 100  $\mu$ L 的样品分析液,然后加入 100  $\mu$ L 的样品,混匀加盖封口,室温孵育 2 h后弃液。用冲洗液冲洗 3次,每次 400  $\mu$ L,每孔 200  $\mu$ L辣根过氧化物酶标记为第二抗体,混匀后封口,室温下静置 2 h后弃液,再用冲洗液冲洗 3次,在各孔中加入底物显色液,每孔 200  $\mu$ L,混匀,室温下静置 25 min后,各孔加入 50  $\mu$ L 的反应终止液,混匀。在 30 min内用 MK3酶标仪在波长 450 nm 的条件下,测定各孔的吸光度 (A),即 A 值。根据所测出的样品孔及平行孔的 A 值,求出 A 的均数。依此均数在绘好的标准曲线上,用内插法求出各孔中的 VEGF 含量,然后再换算出各样品中的 VEGF 含量 ( $10^{-3}$  ng/L)。

### 1.7 碱性成纤维细胞生长因子组织荧光观察

Morris水迷宫测试后用 10% 氯胺酮 (80 mg/kg 体重)腹腔注射麻醉大鼠后,仰卧固定,剪开胸腔,暴露心脏,将连续灌注液的针头插入左心室,剪破右心耳,先用预冷的 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered solution, PBS) (pH 7.4)灌注,待右心耳流出的液体基本无血色,约 5 min 更换用 0.01 mol/L PBS (pH 7.4)配制的 4% 多聚甲醛磷酸缓冲液灌注 20 min,灌流量约 10 mL/min。掀开颅盖,迅速取出海马,冠状位切取海马组织,将海马组织固定于相同的固定液中 2 h。海马组织经常规冲洗、脱水、透明、浸蜡、包埋,冠状切片,制成 5  $\mu$ m 厚连续切片,治疗组将切片直接在荧光显微镜观察海马组织中是否有黄绿色荧光的 bFGF 神经元。

### 1.8 第 II 因子相关抗原多克隆抗体

第 II 因子相关抗原多克隆抗体又称凝结因子 (II) 或抗血友病因子。免疫组织化学观察:上述组织切片行 F8免疫组化检测。具体步骤如下:切片常规脱蜡;将切片浸入煮沸 0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液 (pH 6.0) 1 min 冷却后 PBS (pH 7.4)洗涤 2次;加 3%  $H_2O_2$  室温 10 min 以灭活内源性酶;蒸馏水洗 3次后滴加正常山羊血清封闭液,室温 20 min,甩去多余液体后滴加 1:50 F8单克隆抗体 (福建迈新生物技术有限公司) 4℃过夜;PBS (pH 7.4)洗涤 2 min,共 3次,滴加生物素化山羊抗鼠 IgG, 37℃ 20 min, PBS (pH 7.4)洗涤 2 min,共 3次,滴加试剂 SABC,

37℃ 20 min, PBS (pH 7.4)洗涤 5 min,共 4次,甩去 PBS液,每张切片加 100  $\mu$ L 新鲜配制的 DAB 显色液,阳性显色为棕色;苏木素轻度复染,脱水、透明、封片,光学显微镜观察。每只动物计数 10张切片。光镜下每张切片选择 3个相邻 150倍视野计数免疫染色阳性神经元。计算各视野免疫染色阳性神经元的平均值。

### 1.9 统计学处理

数据全部以连续变量的标准差的形式表示。利用方差分析来比较连续变量在不同组群中的基线差异。重复测量方差分析用来比较基线与训练日之间的差异。控制差异后,利用方差分析来比较不同组的连续变量的基线差异。当用方差分析得出显著差异时,重复测量方差分析或协方差分析,邦费罗尼测试后用于特设多重比较试验,  $P < 0.05$  被认为是显著差异。VEGF 含量及 F8免疫反应阳性神经元采用  $t$  检验比较组间差异,所有的数据使用 SPSS 15.0 软件进行处理。

## 2 结果

### 2.1 手术对大鼠的存活和运动能力的影响

双侧颈总动脉结扎后大鼠首先出现短暂惊厥、体温降低、呼吸减慢、翻正反射消失,治疗组和痴呆组大鼠在手术后数小时内均能复苏,无动物死亡。早期观察模型动物运动减少,共济失调,术后 7天实验组已基本恢复,与假手术组相比无明显的运动障碍。

碱性成纤维细胞生长因子治疗 5周后,水迷宫实验中空间学习效率通过逃避潜伏期来评估。2天后,治疗组的逃避潜伏期显著短于痴呆组 ( $P < 0.05$ )。但治疗组与假手术组在 4、6、7天的逃避潜伏期无统计学意义。此外,假手术组、治疗组在第 1天的逃避潜伏期都显著短于痴呆组 ( $P < 0.05$ )。在痴呆组中,第 3、4、5、6和 7天逃避潜伏期都与基线有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。从第 3天到第 7天,逃避潜伏期显著低于痴呆组的基线 ( $P < 0.05$ )。

在假手术组中,第 1、2、3、4、5、6、7天的逃避潜伏期都与基线有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。从第 1天到第 7天逃避潜伏期显著短于基线 ( $P < 0.05$ , 表 1)

碱性成纤维细胞生长因子治疗 5周后,假手术组、痴呆组、治疗组的平台象限滞留时间分别为  $14.3 \pm 3.1$  s,  $7.4 \pm 2.9$  s,  $12.6 \pm 2.7$  s, 假手术组和治疗组的平台期保持时间要明显长于痴呆组 ( $P < 0.05$ ),显示治疗组空间记忆能力较痴呆组明显提高。



表 1. 假手术组、痴呆组和治疗组 7天之间逃避潜伏期的差异 ( $\bar{x} \pm s$ )Table 1. Escape latency among sham, VD and treatment groups over 7 days ( $\bar{x} \pm s$ )

分 组	动物数	基线 <sup>2</sup>	第 1天 <sup>3</sup>	第 2天 <sup>3</sup>	第 3天 <sup>3</sup>	第 4天 <sup>3</sup>	第 5天 <sup>3</sup>	第 6天 <sup>3</sup>	第 7天 <sup>3</sup>
假手术组	6	43.9 ± 6.9	43.9 ± 6.9	30.2 ± 3.6	20.0 ± 4.7	6.2 ± 1.9 <sup>c</sup>	6.4 ± 1.8 <sup>c</sup>	6.2 ± 1.8 <sup>c</sup>	5.2 ± 1.7 <sup>c</sup>
痴呆组	6	54.4 ± 7.3 <sup>a</sup>	53.7 ± 6.9	40.8 ± 2.6 <sup>a</sup>	27.0 ± 3.6 <sup>ac</sup>	24.1 ± 6.6 <sup>ac</sup>	20.7 ± 7.3 <sup>ac</sup>	17.7 ± 1.4 <sup>ac</sup>	16.0 ± 4.7 <sup>ac</sup>
治疗组	6	55.2 ± 5.5 <sup>a</sup>	44.7 ± 6.8 <sup>c</sup>	34.6 ± 4.5 <sup>bc</sup>	22.4 ± 4.6 <sup>bc</sup>	8.9 ± 4.4 <sup>abc</sup>	8.8 ± 0.5 <sup>bc</sup>	7.1 ± 1.7 <sup>abc</sup>	6.4 ± 1.4 <sup>bc</sup>
P 值		0.016	0.035	0.004	0.023	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

共变数或重复测量方差是用来比较各组 and 多个之间的差异。a 与假手术组比较, 邦费罗尼试验,  $P < 0.05$  b 与痴呆组比较, 邦费罗尼试验,  $P < 0.05$  c 目前的时间点和基线的显著区别通过重复测量方差分析显示,  $P < 0.05$  P 值根据<sup>2</sup> 方差分析和<sup>3</sup> 变数分析中得到。

## 2.2 血管内皮生长因子含量

假手术组、痴呆组、治疗组的 VEGF 含量分别是  $8.14 \pm 1.53$ ,  $6.07 \pm 0.18$ ,  $9.19 \pm 0.29$  治疗组与痴呆组比较,  $P < 0.05$  有统计学意义。治疗组与假手术组比较,  $P > 0.05$  无统计学意义, 痴呆组与假手术组比较,  $P < 0.05$  有统计学意义 (表 2)。

表 2. 假手术组、痴呆组和治疗组血清血管内皮生长因子含量 ( $\bar{x} \pm s$ )Table 2. The changes of VEGF in rats' serum among sham, VD and treatment groups ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	治疗组	痴呆组	假手术组
n	6	6	6
$\bar{x} \pm s$	$9.19 \pm 0.29$	$6.07 \pm 0.18$	$8.14 \pm 1.53$

治疗组与痴呆组比较,  $P < 0.05$  治疗组与假手术组比较,  $P > 0.05$  痴呆组与假手术组比较,  $P < 0.05$ 。

## 2.3 碱性成纤维细胞生长因子组织荧光观察

在荧光显微镜下, 在海马 CA1 区可见到带有黄绿色荧光的 bFGF 神经元, 显示外源性 bFGF 可透过血脑屏障被海马神经元摄取 (图 1)。

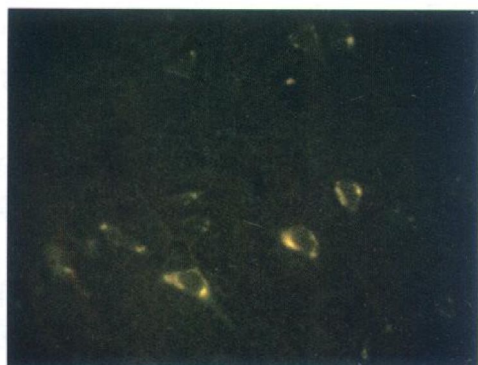


图 1. 荧光显微镜黄绿色荧光 bFGF 神经元 (×400)

Figure 1. bFGF-positive neurons with yellow-green fluorescence under fluorescent microscope (×400)

## 2.4 HE 染色

在光学显微镜下, 双侧颈总动脉结扎大鼠的海马 CA1 区, 细胞排列稀疏, 形态正常锥体细胞数量减少, 细胞核固缩, 染色深, 结构不清, 胞浆嗜酸性变 (图 2)。

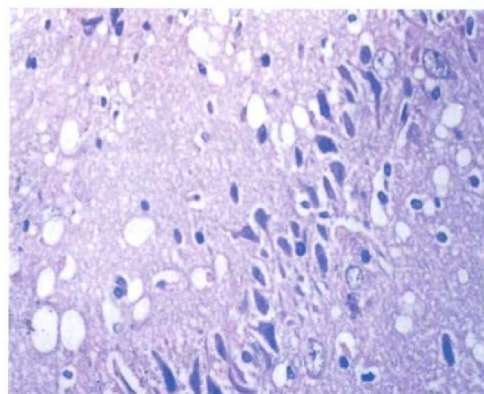


图 2 光镜下双侧颈总动脉结扎大鼠海马 CA1 区锥体细胞 (×400)

Figure 2 Pyramidal cells in CA1 region of the hippocampus in rodent model of ischemic encephalopathy (×400)

## 2.5 免疫组织化学染色

F8 免疫组化染色结果显示, 治疗组海马 CA1 区可见较多 F8 免疫反应阳性神经元, 假手术组海马 CA1 区也可见较多 F8 免疫反应阳性神经元, 痴呆组 F8 免疫反应阳性神经元分布稀疏, 数量明显减少, 3 组分别从海马 CA1 区起始点开始选择 3 个相邻视野, 在  $15 \times 10$  光镜下做免疫反应阳性神经元计数, 假手术组、治疗组、痴呆组海马 CA1 区 F8 免疫反应阳性神经元计数分别为  $105.38 \pm 1.45$ ,  $101.32 \pm 1.28$ ,  $43.03 \pm 2.11$ , 治疗组与痴呆组组间差异有显著性 ( $P < 0.01$ ), 假手术组与痴呆组组间差异有显著性 ( $P < 0.01$ ), 治疗组与假手术组组间差异无显著性 ( $P > 0.01$ ) (图 3~5)。

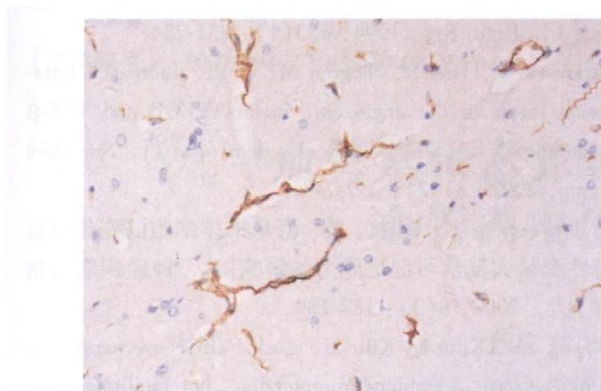


图3. 假手术组大鼠的海马CA1区F8免疫反应阳性细胞( $\times 400$ )

Figure 3. F8-positive neurons in CA1 region of the hippocampus in sham group ( $\times 400$ )

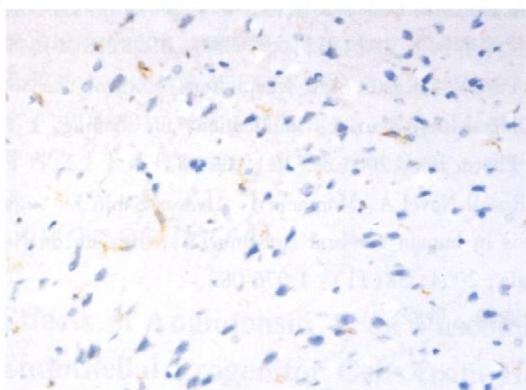


图4. 痴呆组大鼠的海马CA1区F8免疫反应阳性细胞( $\times 400$ )

Figure 4. F8-positive neurons in CA1 region of the hippocampus in VD group ( $\times 400$ )

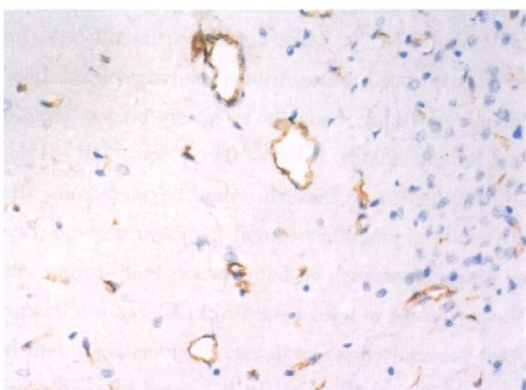


图5. 治疗组大鼠的海马CA1区F8免疫反应阳性细胞( $\times 400$ )

Figure 5. F8-positive neurons in CA1 region of the hippocampus in treatment group ( $\times 400$ )

### 3 讨论

随着脑血管发病率的不断升高,血管性痴呆发病率也逐渐升高,因此,血管性痴呆的防治越来越被

人们所重视。研究表明,血管的病理性变化在痴呆的进展中起到了重要的作用<sup>[8]</sup>。研究证实采用2-VO法建立痴呆动物模型,海马锥体细胞形态、结构发生变化,大鼠学习记忆能力下降<sup>[9]</sup>。

血管内皮生长因子是体内一种强有力的促血管生成因子,能直接或间接参与血管生成。VEGF通过与VEGF受体结合,引起一系列信号传导,释放各种生长因子和细胞因子,促进内皮细胞的增殖与迁移,最终引起血管增殖。VEGF能刺激新的毛细血管形成,给狭窄动脉的供血区建立旁路供血。动物实验证明,将外源性VEGF注入低氧小鼠体内,脑低氧梗死区域可有大量VEGF表达,梗死灶边缘新生血管密度明显增加,梗死范围缩小,VEGF还可对神经细胞起直接保护作用,减少受损细胞死亡<sup>[10]</sup>。袁倩等研究表明,VEGF基因启动子区-1154G/A位点的GG基因型是VD发病的危险因素<sup>[11]</sup>。

碱性成纤维细胞生长因子是血管生长因子家族重要成员之一,它作用广泛,具有促血管再生、抑制内膜增生、促进血管侧枝循环建立的作用。bFGF是一种强的血管源性生长因子,可刺激成纤维细胞、血管内皮细胞、血管平滑肌细胞的生长。bFGF可显著增强内皮细胞黏附迁移、分裂增殖、促进血管新生、加速创伤愈合<sup>[12]</sup>。bFGF能透过完整的血脑屏障(blood-brain barrier BBB)<sup>[13]</sup>。本实验采用2-VO法建立血管性痴呆模型可使大鼠脑缺血、缺氧,造成局部BBB损伤,使其通透性增加,使外周途径给药成为可能。本实验通过皮下注射bFGF于血管性痴呆大鼠,在海马CA1、CA2、CA3区均可见到带有黄绿色荧光的bFGF神经元,说明皮下注射bFGF可以透过血管性痴呆大鼠的血脑屏障,并可以到达海马。bFGF是血管发生的启动因子,通过修复毛细血管,使血管得以再生或重塑。本实验治疗组血清VEGF含量明显高于痴呆组,说明bFGF能够刺激血清VEGF生成<sup>[14]</sup>。同时bFGF可以使治疗组大鼠寻找平台的平均潜伏期明显少于痴呆组,平台象限的平均滞留时间明显高于痴呆组,治疗组F8阳性神经元数目较痴呆组明显提高,说明bFGF能使血清VEGF含量增多,促进血管再生,改善血管性痴呆大鼠全脑血流量,明显提高血管性痴呆大鼠学习记忆能力。本实验结果显示,皮下注射bFGF为临床通过皮下给药治疗血管性痴呆提供了实验依据。

### [参考文献]

- [1] Zhang B, Cao H, Rao GN. Fibroblast growth factor-2 is a downstream mediator of phosphatidylinositol 3-kinase-akt



- signaling in 14, 15-epoxyeicosatrienoic acid-induced angiogenesis[ J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(2): 905-914
- [ 2] Chen LW, Egan L, Li ZW, et al. The two faces of IKK and NF- $\kappa$ B inhibition: prevention of systemic inflammation but increased local injury following intestinal ischemia-reperfusion[ J]. *Nature Medicine*, 2003, 9(7): 575-581.
- [ 3] Culmsee C, Siewe J, Junker V, et al. Reciprocal inhibition of p53 and nuclear factor- $\kappa$ B transcriptional activities determines cell survival or death in neurons[ J]. *J Neurosci*, 2003, 23(24): 8586-595.
- [ 4] Ou YW, Han L, Da CD, et al. Influence of acupuncture upon expressing levels of basic fibroblast growth factor in rat brain following focal cerebral ischemia evaluated by time-resolved fluorescence immunoassay [ J]. *Neurol Res*, 2001, 23(1): 47-50.
- [ 5] Lin TN, Te J, Lee M, et al. Induction of basic fibroblast growth factor (bFGF) expression following focal cerebral ischemia[ J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 1997, 49(1): 255-265.
- [ 6] 赵小贞, 王 玮, 康仲涵, 等. 血管性痴呆大鼠学习记忆障碍与海马突触界面结构参数改变的相关性研究 [ J]. *现代康复*, 2001, 5(6): 54-55.
- [ 7] Ohta H, Matsumoto K, Watanabe H. Progressive cognitive impairment following chronic cerebral hypoperfusion induced by permanent occlusion of bilateral carotid arteries in rats[ J]. *Brain Res*, 1994, 653(1): 231-234.
- [ 8] Tarkowski E, Issa R, Sjogren M, et al. Increased intrathecal levels of the angiogenic factors VEGF and TGF- $\beta$  in Alzheimer's disease and vascular dementia[ J]. *Neurobiol Aging*, 2002, 23(2): 237-243.
- [ 9] 叶建新, 崔晓萍, 林 航, 等. 海马锥体细胞的变化对血管性痴呆大鼠学习记忆能力的影响 [ J]. *神经疾病与精神卫生*, 2008, 8(3): 187-189.
- [ 10] Wang YM, Kilic E, Kilic U, et al. VEGF overexpression induces post ischemic neuroprotection but facilitates haemodynamic steal phenomena[ J]. *Brain*, 2005, 128(1): 52-63.
- [ 11] 袁 倩, 贾建平. 血管内皮生长因子基因启动子区多态性与血管性痴呆的关系 [ J]. *中国脑血管病杂志*, 2009, 6(7): 337-342.
- [ 12] 董玉兰, 陈铁镇, 王铁吉, 等. 人脐静脉内皮细胞的继代培养 [ J]. *中国医科大学学报*, 1998, 18(1): 81-85.
- [ 13] Pan W, Kastin AJ. Interactions of cytokines with the blood-brain barrier: implications for feeding[ J]. *Curr Pharm Des*, 2003, 9(10): 827-831.
- [ 14] Rosell Novel A, Montaner J, Alvarez-Sabin J. Angiogenesis in human cerebral ischemia[ J]. *Revista de Neurologia*, 2004, 38(11): 1076-082.
- (此文编辑 曾学清)