

· 基础研究 ·

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

赵旺 罗勇

【摘要】 目的 探讨电针促进局灶性脑缺血再灌注大鼠脑内缺血区血管再生的作用机制。**方法** 选择 Sprague-Dawley 大鼠 84 只,分为对照组、模型组和模型电针组。采用线栓法制备局灶性脑缺血再灌注模型并按局灶性脑缺血 1h 再灌注后观察时间点,将模型组和模型电针组分为第 1,3,7,14 和 21 天 5 个亚组。取双侧合谷穴(LI4)为电针刺激穴位。再灌注第 3,7,14 天,采用逆转录聚合酶链反应法检测基质细胞衍生因子-1 α (SDF-1 α) mRNA 的表达;再灌注后各时间点,采用免疫组织化学法检测 SDF-1 α 蛋白的表达,CD34 标记微血管并计数。**结果** 与对照组各时间点比较,模型组、模型电针组缺血区大脑皮质 SDF-1 α 蛋白表达增加($P < 0.05$);与模型组比较,再灌注第 3,7,14 天,模型电针组缺血区大脑皮质 SDF-1 α mRNA 表达增加($P < 0.05$)。再灌注第 1 天,模型电针组缺血区大脑皮质 SDF-1 α 蛋白表达增强,微血管计数增加,但与模型组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。再灌注第 3,7,14,21 天,模型电针组缺血区大脑皮质 SDF-1 α 蛋白表达明显增强,微血管计数明显增加($P < 0.05$)。**结论** 电针可能通过上调局灶性脑缺血再灌注大鼠缺血区大脑皮质 SDF-1 α mRNA 及蛋白质的表达而促进缺血区大脑皮质血管再生。

【关键词】 电针; 局灶性脑缺血/再灌注; 基质细胞衍生因子-1; 血管再生; 合谷穴

Electro-acupuncture up-regulates the expression of stromal cell-derived factor-1 α mRNA and its protein and promotes revascularization in the brain after focal cerebral ischemia and reperfusion ZHAO Wang, LUO Yong. Chongqing Key Laboratory of Neurology, The First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Corresponding author: LUO Yong, Email: Luoyong1998@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the mechanism by which electro-acupuncture (EA) promotes revascularization in the brain after focal cerebral ischemia and reperfusion. **Methods** The Sprague-Dawley rat model of focal cerebral ischemia was made by filament occlusion. The rats were randomly divided into a control group, a model group, and an EA group. The model and EA groups were each divided into 5 subgroups receiving reperfusion 1, 3, 7, 14 or 21 days after ischemia. EA was given at the bilateral Hegu point (LI 4) in the EA group. The expression of stromal cell-derived factor-1 α (SDF-1 α) mRNA was detected using a RT-PCR in the 3, 7 and 14 day subgroups. The immunohistochemical method was employed to detect the expression of SDF-1 α protein. **Results** Compared with the control group, expression of SDF-1 α protein increased significantly in the model and EA groups. Compared with the model group, the expression of SDF-1 α mRNA increased significantly in the 3, 7 and 14 day subgroups. SDF-1 α protein expression and microvessel count increased slightly but not significantly in the 1d subgroup, but the increases were significant in the 3, 7, 14 and 21 day subgroups. **Conclusions** EA may promote angiogenesis in an ischemic area of the cortex by increasing the expression of SDF-1 α mRNA and its protein after focal cerebral ischemia and reperfusion.

【Key words】 Electro-acupuncture; Focal cerebral ischemia, reperfusion; Stromal cell-derived factor-1; Vascular regeneration; Hegu point

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2010.06.003

基金项目:重庆市卫生局中医药科研项目(渝中医 2005-B-24),高等学校博士学科点专项科研基金(20095503110001)

作者单位:400016 重庆,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

通信作者:罗勇,Email:Luoyong1998@163.com

脑缺血后,缺血区血管再生的程度和范围直接影响组织血液供应,对患者神经功能恢复有重要的作用。在脑缺血后血管再生的机制研究中,既往对血管内皮细胞、血管内皮生长因子的研究较多,而对血管内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)及其成血管机制关注较少,电针对脑缺血后 EPCs 成血管机制的影

响鲜见报道。本研究通过制作大鼠局灶性脑缺血再灌注模型,对影响 EPCs 增殖、迁移、归巢的重要因素——基质细胞衍生因子-1 α (stromal cell-derived factor-1, SDF-1 α) 在缺血区大脑皮质的 mRNA 和蛋白质表达及微血管生成进行研究,从不同的角度探讨电针对血管再生的作用。

材料和方法

一、实验动物及分组

清洁级成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠 84 只,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。将大鼠分为正常对照组(对照组)4 只、局灶性脑缺血/再灌注模型组(模型组)40 只、局灶性脑缺血再灌注 + 电针组(模型电针组)40 只。根据局灶性脑缺血 1h 再灌注后观察时间点,将模型组与模型电针组分为再灌注第 1, 3, 7, 14 和 21 天 5 个亚组;再灌注第 3 天、第 7 天、第 14 天每亚组 10 只,其中 5 只用于免疫组织化学检测,另 5 只用于逆转录聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR);再灌注第 1 天、第 21 天每亚组 5 只,用于做免疫组织化学检测。

二、主要试剂和仪器

SDF-1 α 抗体购自美国 eBioscience 公司;CD34 抗体、生物素化山羊抗兔 IgG 二抗购自北京博奥森公司;SP 二抗试剂盒、DAB 显色试剂盒购自北京中杉公司;PCR 试剂盒购自上海东洋纺生物科技有限公司。G6805-2 型电针治疗仪购自北京精工仪器厂。

三、模型制备

1. 大鼠局灶性脑缺血再灌注模型的制备:模型组和模型电针组参照 Longa 等^[1]报道的方法,结合罗勇和董为伟^[2]介绍的经验,用改良线栓法制备右侧大脑中动脉局灶性脑缺血再灌注模型。线栓为用聚氨酯预先处理的尼龙钓丝,直径约 0.25 ~ 0.27 mm,酒精消毒后放入肝素生理盐水中备用。大鼠经 3.5% 水合氯醛腹腔注射麻醉(0.1 ml/kg 体重)后仰卧位固定于操作台上,备皮、消毒;经颈部正中切口依次暴露右侧颈总动脉、颈外动脉、颈内动脉颅外段;断离颈内、外动脉分支及交通支,距颈外动脉分叉约 0.5 cm 处灼烧断离颈外动脉,并在残端上做一环形切口;将线栓由颈外动脉经切口向颈内动脉颅内方向插入 17 ~ 20 mm,遇阻力表明线栓头端已通过大脑中动脉起始部,实现一侧大脑中动脉缺血;清理手术野,全层缝合皮肤。缺血 1 h 后拔回线栓至颈外动脉残端,实现再灌注。对照组不做特殊处理。

2. 模型成功的判断标准:大鼠麻醉清醒后行神经功能学评分,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 分为不能自发行走,意识丧失。评分 2 ~ 3 分的大鼠为造模成功,被用于实验。术中出血较多、出现呼吸困难、取脑时发现蛛网膜下腔出血及提前死亡者剔除,并补足相应只数。

四、电针刺激方法

模型电针组根据实验动物穴位图谱及华兴邦和李辞蓉^[3]介绍的大鼠穴位图谱,选择双侧合谷穴(LI4)为电针穴位,左边接正极,右边接负极,每日治疗 1 次,每次 15 min,最长 7 d,刺激频率为 20/40 Hz 的疏密波,空载输出电压为 1.5 V。

五、免疫组织化学检测

1. 取材:大鼠在各观察时间点麻醉后剖胸暴露心脏,升主动脉插管,用 200 ml 生理盐水快速灌注冲洗,再用 4% 多聚甲醛磷酸盐缓冲溶液 500 ml 先快后慢灌注固定;断头取脑,取视交叉前后 2 mm 脑组织,常规包埋切片。

2. SDF-1 α 蛋白及脑缺血区微血管检测:切片脱蜡至水,92 ~ 98 °C 抗原热修复 15 min;血清封闭,滴加兔抗大鼠一抗(CD34 与抗体稀释液比例为 1:100, SDF-1 α 与抗体稀释液比例为 1:200),同时滴加 PBS 代替一抗做阴性对照;4 °C 过夜,37 °C 复温 1 h,滴加生物素化二抗,37 °C 下作用 20 min;滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液,37 °C 下作用 20 min;DAB 显色,苏木素复染,分化、透明、封片。

3. 结果判定:所有切片均编号,取非连续的 3 张切片,每张切片读取 2 个非连续视野数值。缺血区微血管计数(microvessel count, MVC)结果的判定:在 200 倍视野下观察,染成棕褐色或棕黄色的细胞或细胞簇,直径 < 20 μ m,与相邻的血管分界清楚,均认为是 1 条微血管。由第一作者和另 2 名经过专业训练的专业技术人员观察计数,微血管数(个/HP)为每个视野下的血管数。SDF-1 α 蛋白定量分析:在 200 倍视野下,采用 Image-Pro Plus 图像测量分析软件自动测定观察区阳性细胞平均光密度(optical density, OD)值,即为蛋白质表达结果。

六、RT-PCR 检测 SDF-1 α mRNA 的表达

1. 合成引物:参照 PubMed 基因库提供序列, SDF-1 α 序列号 NM-022177.3,设计出引物,并由上海生工生物工程技术有限公司合成。扩增大鼠 SDF-1 α mRNA 的上、下游引物:Forward 5' CAGATT-GTTGCAAGGAA 3', Reverse 5' CTTTGTGCTG-GCAAATCTCA 3',产物大小 256 bp;扩增大鼠 β -actin mRNA 的上、下游引物:Forward 5' AGATGACCCAGAT-CATGTTTGA 3', Reverse 5' TTGGCATAGAGGTCTTTA 3',产物大小 535 bp。

2. 总 RNA 提取:在各观察时间点,大鼠麻醉后断头取脑,迅速剥离出脑组织,准确称取 100 mg 缺血区大脑皮质,立即放入液氮罐冷冻备用;每 100 mg 组织加入 1 ml Trizol 试剂,室温下放置 5 min,离心后去沉淀,加入 0.2 ml 氯仿,混匀,室温下放置 15 min;4℃ 下以 12 000 转/min 离心 15 min,取上清液;加入 0.5 ml 异戊醇,混匀,室温下放置 20 min;4℃ 下以 12 000 转/min 离心 10 min,离心后弃上清;用 75% 乙醇(DEPC 处理的水配制)洗涤 RNA 沉淀,干燥后溶于 50 μ l 无 RNase 超纯水中;用琼脂糖凝胶电泳法检测 RNA 的完整性,分光光度计测定 RNA 的纯度和浓度,并将其浓度调整为 1 μ g/ μ l。

3. SDF-1 α mRNA 水平检测:总 RNA 的 OD260 值/OD280 值在 1.8 ~ 2.0 间为纯度合格标本。将总 RNA 1 μ l、Oligo (dT) 1 μ l 加超纯水至 12 μ l,冰上放置 5 min 变性;加入 5 $\times$ RT Buffer 4 μ l、dNTP 2 μ l、RNase 抑制剂 1 μ l、ReverTra Ace 1 μ l,加超纯水配置成 20 μ l 反应体系,逆转录为 cDNA;按退火温度 64℃、35 个循环进行 PCR 反应;配胶、上样、电泳、照相。

4. SDF-1 α mRNA 水平分析:用 Quantity One 4.4.0 版软件分析产物条带,SDF-1 α 与内参 β -actin 的累积光密度值比值即为其 mRNA 相对值。

七、统计学分析

数据用 ($\bar{x} \pm s$) 表示,应用 SPSS 13.0 版统计软件处理,采用 *t* 检验、单因素方差分析和秩和检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

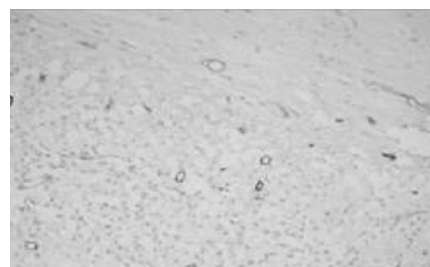
一、微血管计数

对照组大脑皮质血管密集,呈空心管道状,可见毛细血管相互吻合。模型组缺血区大脑皮质可见成簇、条索状新生血管,再灌注第 1,3,7,14 天,微血管计数逐渐增加,第 14 天达高峰,第 21 天时稍有回落,但仍处于较高表达水平;模型电针组微血管表达规律同模型组。与模型组比较,模型电针组再灌注第 1 天到第 21 天微血管计数增加明显,模型组与模型电针组各观察时间点组间比较显示:再灌注第 1 天差异无统计学意义($P > 0.05$),再灌注第 3,7,14,21 天差异具有统计学意义($P < 0.01$)。结果提示:电针可促进局灶性脑缺血再灌注大鼠脑缺血区皮质血管再生。见图 1 和表 1。

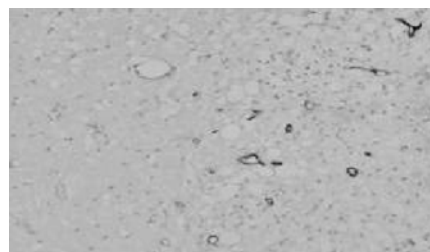
二、SDF-1 α 蛋白质半定量分析

对照组大鼠脑内有少量 SDF-1 α 蛋白表达,在大脑皮质、海马、脑室旁周围等处脑组织、血管周围可见着色较浅的黄染细胞(图 2a)。模型组缺血侧大脑

皮质可见大量棕黄色细胞,双侧脑组织对比,缺血侧大脑半球细胞呈棕黄色,较对侧脑组织着色明显加深(图 2b)。与对照组比较,模型组缺血区大脑皮质 SDF-1 α 蛋白表达在再灌注第 1 天开始增加,其后呈增高趋势($P < 0.05$,图 2c),第 7 天达峰值($P < 0.01$,图 2d),第 14 天开始回落,但仍有较高表达,第 21 天时仍未回到对照组水平。模型电针组 SDF-1 α 蛋白表达规律及部位同模型组,再灌注第 1 天表达增加,高峰仍在第 7 天。与模型组相应时间点比较,模型电针组 SDF-1 α 蛋白表达更加明显,再灌注第 1 天表达开始增加,但差异无统计学意义($P > 0.05$);再灌注第 3 天表达明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$,图 2e);再灌注第 7,14,21 天组间比较,差异具有统计学意义($P < 0.01$,图 2f)。结果提示:电针可促进局灶性脑缺血再灌注大鼠脑缺血区皮质 SDF-1 α 蛋白表达。见表 1。



a 模型组再灌注第 7 天缺血侧微血管

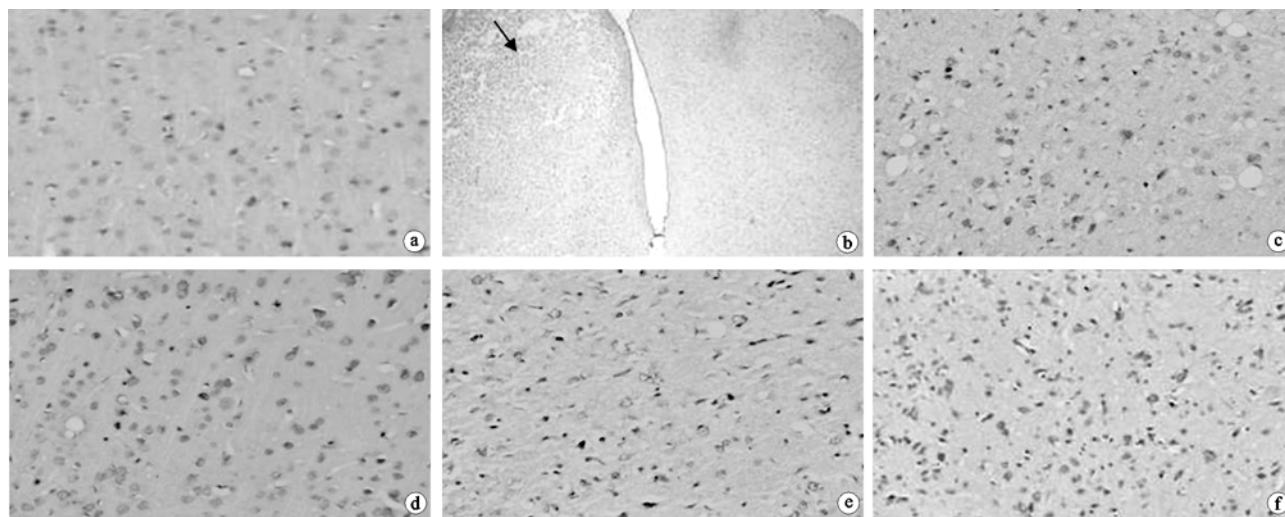


b 模型电针组再灌注第 7 天缺血侧微血管

图 1 模型组与模型电针组脑缺血区微血管的表达(CD34 免疫组织化学法, $\times 200$)

三、SDF-1 α mRNA 半定量分析

模型组与模型电针组均选择再灌注第 3,7,14 天三个时间点观察脑缺血区大脑皮质 SDF-1 α mRNA 的表达。再灌注第 3,7,14 天,SDF-1 α mRNA 表达呈单峰,再灌注第 7 天达峰值,与免疫组织化学检测结果吻合。模型电针组与模型组各时间点电泳结果比较,模型电针组 SDF-1 α mRNA 表达较模型组高,再灌注第 3 天、第 7 天组间比较,差异具有统计学意义($P < 0.01$),再灌注第 14 天比较,差异仍有统计学意义($P < 0.05$)。结果提示:电针可促进局灶性脑缺血再灌注大鼠脑缺血区皮质 SDF-1 α mRNA 表达。见图 3 和表 1。



注:a. 对照组 SDF-1 蛋白表达($\times 200$);b. 模型组第 3 天双侧脑组织 SDF-1 蛋白表达,箭头指示为缺血侧($\times 40$);c. 模型组第 3 天 SDF-1 蛋白表达($\times 200$);d. 模型组第 7 天 SDF-1 蛋白表达($\times 200$);e. 模型电针组第 3 天 SDF-1 蛋白表达($\times 200$);f. 模型电针组第 7 天 SDF-1 蛋白表达($\times 200$)

图 2 模型组与模型电针组脑缺血区皮质 SDF-1 α 蛋白质表达(免疫组织化学法)

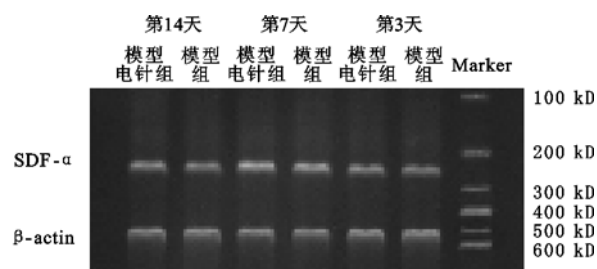


图 3 模型组与模型电针组再灌注后第 3, 7, 14 天 SDF-1 α mRNA 表达

表 1 各组大鼠缺血区大脑皮质微血管数、SDF-1 α mRNA 和 SDF-1 α 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	微血管数(个/高倍镜视野)	SDF-1 α 蛋白(OD 值)	SDF-1 α mRNA 相对值
对照组	4	29.22 $\pm$ 2.72	0.0176 $\pm$ 0.0042	
模型组	40			
再灌注第 1 天		8.72 $\pm$ 1.67	0.0216 $\pm$ 0.0016 ^a	-
再灌注第 3 天		16.00 $\pm$ 2.38	0.0354 $\pm$ 0.0065 ^b	0.965 $\pm$ 0.055
再灌注第 7 天		27.06 $\pm$ 1.51	0.0582 $\pm$ 0.0107 ^b	1.064 $\pm$ 0.053
再灌注第 14 天		32.94 $\pm$ 3.84	0.0370 $\pm$ 0.0047 ^b	0.955 $\pm$ 0.037
再灌注第 21 天		23.17 $\pm$ 2.20	0.0323 $\pm$ 0.0040 ^b	-
模型电针组	40			
再灌注第 1 天		9.33 $\pm$ 1.41	0.0251 $\pm$ 0.0029 ^b	-
再灌注第 3 天		18.78 $\pm$ 1.70 ^c	0.0430 $\pm$ 0.0058 ^{bd}	1.085 $\pm$ 0.032 ^c
再灌注第 7 天		30.00 $\pm$ 3.03 ^c	0.0745 $\pm$ 0.0052 ^{bc}	1.263 $\pm$ 0.069 ^c
再灌注第 14 天		36.22 $\pm$ 2.80 ^c	0.0441 $\pm$ 0.0028 ^{bc}	1.015 $\pm$ 0.035 ^d
再灌注第 21 天		25.82 $\pm$ 2.38 ^c	0.0400 $\pm$ 0.0020 ^{bc}	-

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与模型组比较,^c $P < 0.01$,^d $P < 0.05$

讨 论

缺血性脑血管病为临床常见病和多发病,是临床和基础研究的重点。但既往较注重脑缺血后神经再生

及修复机制的研究,而对血管再生的关注相对较少。脑缺血后,缺血区新生血管的范围和程度直接影响到缺血区血流灌注状态,进而影响神经功能的恢复。血管再生分血管新生和血管发生两个途径:血管新生指血管内皮细胞的出芽生长,是被人们所接受和认识的传统的血管生成方式;而血管发生则指 EPCs 的成血管方式。但既往在对缺血性脑血管病的血管修复机制研究中,对血管新生研究较多,而对血管再生研究很少。

脑缺血后,部分脑内的新生血管可源于血管发生^[4]。有研究报道,出生后,缺血区新生血管中约有 5%~25% 的内皮细胞来源于 EPCs,而 EPCs 主要存在于骨髓中^[5]。因此,脑缺血后,脑外的成血管因素——EPCs 可被动员入血,起到促进脑内缺血区血管再生的作用。而脑内释放的某些细胞因子正是动员脑外成血管的条件之一。具有代表性的促血管发生细胞因子为 SDF-1,分 SDF-1 α 和 SDF-1 β 两型。其中,SDF-1 α 在促进 EPCs 增殖、归巢方面的作用已被肯定^[6-8]。

SDF-1 及其受体 CXCR4 轴为组织新生研究中的热点,其作用机制为 SDF-1 α 可促进血管发生,从而进一步促进新生组织生长。关于 EPCs 的细胞实验显示^[9]: SDF-1 α 可增强 EPCs 的迁移和增殖能力。因此认为 SDF-1 α 促进血管发生的机制为:缺血后,损伤组织释放缺氧诱导因子-1 等刺激 SDF-1 α 释放入血,并改变骨髓微环境,SDF-1 α 与其受体 CXCR4 结合后激活磷脂酰肌醇-3 激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)信号途径,促进骨髓 EPCs 释放并归巢到缺血组织参与血管生成^[10]。动物实验也显示: SDF-1 α 常伴随 EPCs 出现在新生血管周围^[11]。

本实验从 mRNA 和蛋白质水平上检测缺血区大脑皮质 SDF-1 α , 结果显示: 正常大脑皮质细胞可表达少量 SDF-1 α 蛋白质。脑缺血后, 缺血区皮质脑组织释放出大量 SDF-1 α , 再灌注第 1 天表达开始增加, 再灌注第 7 天达高峰, 第 21 天仍未回到对照组水平。RT-PCR 检测结果与免疫组织化学检测结果吻合。提示脑缺血后, 脑内缺血区促血管发生细胞因子——SDF-1 α mRNA 及蛋白表达增加。缺血区大脑皮质微血管计数结果显示: 再灌注第 1 至 21 天, 微血管计数呈单峰样增加, 表达高峰在再灌注第 14 天。提示脑缺血后, 缺血区大脑皮质已开始血管再生修复。上述结果表明: 脑缺血区大脑皮质 SDF-1 α 的增加可能动员骨髓 EPCs 释放并归巢, 促进血管发生, 证明脑缺血后脑内缺血区血管再生机制可能与 SDF-1 α 表达升高, 从而促进脑内血管发生相关。有文献报道, 脑缺血后 SDF-1 的表达部位为缺血半暗带, 缺血中心区 SDF-1 表达较少^[12]。而本实验结果显示, 缺血中心区及缺血半暗带均有 SDF-1 α 蛋白表达, 且双侧脑组织对比, 缺血侧脑组织较对侧着色明显加深。我们推测, SDF-1 α 作为一种细胞因子可广泛存在于多种细胞及细胞间质中, 提前到达缺血中心的各种细胞可能担负了修复损伤区的功能, 因此缺血中心区仍有较多的 SDF-1 α 蛋白表达。

中医认为中风的理论之一是: 风痰流窜经络, 血脉闭阻, 经隧不通, 气不能行, 血不能濡, 脑失所养, 引发中风。脑缺血在“本虚”的基础上“上气不足, 脑为之不满”, 出现痰浊、瘀血等病理现象, 故应行通畅血脉、活血化瘀、醒脑开窍等治疗手段。施以针法, 调理经络, 畅通经气则中风可治。针灸可改善脑卒中患者的肢体运动功能^[13]; 电针可激活脑内血管内皮生长因子表达、促进血管新生^[14]; 并能抑制缺血再灌注区炎症反应, 从而实现脑保护^[15]。我们既往的研究也显示^[16], 电针可上调血管内皮生长因子、血管生成素 (Ang-1), 下调内皮抑素 (endostatin), 促进脑缺血后血管新生。而 VEGF 对血管发生也有促进作用。这进一步提示, 电针可上调血管生成因子、下调血管抑制因子, 促进脑缺血后血管再生。以上研究为电针的治疗作用提供了有力的佐证。

本实验结果也显示, 模型电针组 SDF-1 α 的表达规律同模型组; 与模型组比较, 模型电针组各观察时间点 SDF-1 α 的表达水平增高。CD34 标记微血管计数显示, 模型电针组再灌注第 3, 7, 14, 21 天, 微血管计数均高于模型组且差异有统计学意义。因此我们初步推测: 电针可能通过上调局灶性脑缺血再灌注大鼠脑内

SDF-1 α 水平来促进骨髓 EPCs 释放入血并归巢到脑缺血区, 从而促进血管再生。

参 考 文 献

- [1] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*, 1989, 20: 84-91.
- [2] 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. *重庆医科大学学报*, 2002, 27: 1-4.
- [3] 华兴邦, 李辞蓉. 穴位图谱的研制. *实验动物与动物实验*, 1991, 8: 1-5.
- [4] Zhang ZG, Zhang L, Jiang Q, et al. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells participate in cerebral neovascularization after focal ischemia in the adult mouse. *Circ Res*, 2002, 90: 284-288.
- [5] Asahara T, Kawamoto A. Endothelial progenitor cells for postnatal vasculogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 287: 572-579.
- [6] Yamaguchi J, Kusano KF, Masuo O, et al. Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization. *Circulation*, 2003, 107: 1322-1328.
- [7] Petit I, Jin D, Rafii S. The SDF-1-CXCR4 signaling pathway: a molecular hub modulating neoangiogenesis. *Trends Immunol*, 2007, 28: 299-307.
- [8] Pitchford SC, Furze RC, Jones CP, et al. Differential mobilization of subsets of progenitor cells from the bone marrow. *Cell Stem Cell*, 2009, 4: 62-72.
- [9] 尹扬光, 黄岚, 赵晓辉, 等. SDF-1 对内皮祖细胞增殖迁移的影响及 AMD3100 对其的干预. *第三军医大学学报*, 2007, 29: 474-478.
- [10] Li M, Ransohoff RM. Multiple roles of chemokine CXCL12 in the central nervous system: a migration from immunology to neurobiology. *Prog Neurobiol*, 2008, 84: 116-131.
- [11] Guerin E, Sheridan C, Assheton D, et al. SDF1-alpha is associated with VEGFR-2 in human choroidal neovascularisation. *Microvasc Res*, 2008, 75: 302-307.
- [12] Hill WD, Hess DC, Martin-Studdard A, et al. SDF-1 (CXCL12) is up-regulated in the ischemic penumbra following stroke: association with bone marrow cell homing to injury. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2004, 63: 84-96.
- [13] Schaechter JD, Connell BD, Stason WB, et al. Correlated change in upper limb function and motor cortex activation after verum and sham acupuncture in patients with chronic stroke. *J Altern Complement Med*, 2007, 13: 527-532.
- [14] 黄晓琳, 韩肖华. 电针结合经颅磁刺激对脑缺血大鼠 VEGF164 mRNA 和 CD31 表达的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2006, 28: 10-13.
- [15] 毛庆菊, 李厚秀, 孔立红, 等. 电针对脑缺血再灌注大鼠脑微血管内皮细胞间黏附分子-1 和 P-选择素表达的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2007, 29: 734-737.
- [16] 马璟曦, 罗勇. 电针对大鼠局灶性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. *中国针灸*, 2007, 27: 129-133.

(修回日期: 2009-09-12)

(本文编辑: 吴倩)