

· 基础研究 ·

不同间歇时间磁刺激对星形胶质细胞迁移能力的影响及机制分析

郭君 李哲 范家宏 郭钢花 李晓丽 关晨霞 乐琳

【摘要】 目的 探讨不同间歇时间磁刺激对星形胶质细胞迁移能力的影响及相关机制。**方法** 将传代星形胶质细胞分为对照组、1 s 间歇组、5 s 间歇组和 10 s 间歇组,分别给予相应间歇时间磁刺激,观察不同间歇时间磁刺激对星形胶质细胞迁移能力的影响;星形胶质细胞在磁刺激作用下,采用 PEA-15 磷酸化阻滞剂 Bis I、细胞外调节蛋白激酶(ERK1/2)阻滞剂 U0126 处理细胞,采用 Transwell 实验检测星形胶质细胞迁移能力,采用 Western blot 技术检测 pPEA-15 和 pERK1/2 表达。**结果** 1 s 间歇时间磁刺激可明显增强星形胶质细胞迁移能力,促进 PEA-15 及 ERK1/2 磷酸化,并提高基质金属蛋白酶-9(MMP-9)表达;加入 Bis I 可降低 ERK1/2 磷酸化水平及 MMP-9 表达,减弱磁刺激对星形胶质细胞的促迁移作用;经 U0126 试剂处理后,发现磁刺激对星形胶质细胞的促迁移作用显著下降。**结论** 1 s 间歇时间磁刺激能促进星形胶质细胞 PEA-15 磷酸化,提高 ERK1/2 磷酸化水平,进而增强下游蛋白 MMP-9 表达,从而促进星形胶质细胞迁移。

【关键词】 磁刺激; 星形胶质细胞; PEA-15; 细胞迁移

基金项目:河南省基础与前沿技术研究计划项目(142300410035)

The effects of the inter-stimulus interval in magnetic stimulation on astrocyte migration and its mechanism

Guo Jun, Li Zhe, Fan Jiahong, Guo Ganghua, Li Xiaoli, Guan Chenxia, Yue Lin. Department of Rehabilitation, The Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

Corresponding author: Li Zhe, Email: lizhe.1974@163.com

【Abstract】 Objective To examine the effect of the inter-stimulus interval (ISI) in magnetic stimulation (MS) on astrocyte migration and its related mechanism. **Methods** Cultured astrocytes were treated with intermittent MS with intervals of 1, 5 and 10 seconds. The PEA-15 inhibitor Bis I (10 $\mu\text{mol/ml}$) and the ERK1/2 inhibitor U0126 (10 $\mu\text{mol/ml}$) were administered and cell migration assays evaluated the astrocytes' migration. The expression of phosphorylated ERK1/2 and PEA-15 was detected using Western blotting. **Results** The 1 second interval significantly facilitated astrocyte migration, the phosphorylation of PEA-15 and ERK1/2, and the expression of MMP-9 (browse matrix metalloproteinase-9). The addition of Bis I significantly reduced the production of phosphorylated ERK1/2 and MMP-9, as well as astrocyte migration induced by MS. In addition, pretreatment with U0126 also significantly decreased the astrocyte migration induced by MS. **Conclusion** 1s-ISI MS can induce PEA-15 activation and subsequently lead to ERK1/2 phosphorylation and upregulation of MMP-9, which may contribute to the migration of astrocytes.

【Key words】 Magnetic stimulation; Astrocytes; PEA-15; Migration

Fund program: A Henan Province Fundamental and Advanced Technology Research project (No. 142300410035)

星形胶质细胞是中枢神经系统中数量最多的细胞之一,在病理情况下能增生活化。如脑出血 6 h 后星形胶质细胞即可被激活,并迁移至病灶周围形成胶质瘢痕,阻止病灶进一步发展,但胶质瘢痕形成阻碍了神经轴突生长,不利于神经功能恢复^[1-2]。因此,研究星形胶质细胞迁移的分子调控机制对神经损伤修复具有重要意义。相关研究表明^[3],磁刺激(magnetic stimu-

lation,MS)能激活并调控星形胶质细胞迁移,并且与细胞外调节蛋白激酶(extracellular signal-regulated kinases,ERK1/2)信号通道有关。星形胶质细胞中含有大量星形胶质细胞磷酸化蛋白(phosphoprotein enriched in astrocytes of 15 kDa,PEA-15),可调控 ERK1/2 活化状态及核转位,影响其功能发挥;但 PEA-15 在 MS 诱导星形胶质细胞迁移中的作用还不清楚。一直以来刺激频率及强度被认为是影响 MS 治疗效果的主要参数,近年来有研究表明刺激间歇时间对 MS 干预作用也有影响^[4-5];但 MS 刺激间歇时间是否对星形胶

质细胞迁移能力有影响目前鲜见报道。基于此,本研究将进一步探讨 MS 刺激间歇时间对星形胶质细胞迁移能力的影响及其作用机制。

材料与方法

一、动物与试剂

新生 2~3 d Sprague-Dawley (SD) 大鼠购于郑州大学动物实验中心;主要实验试剂包括磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered solution, PBS)、DMEM (Dulbecco's modified eagle medium, DMEM) 培养基、胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS)、胰蛋白酶消化液-乙二胺四乙酸 (ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)、PEA-15 磷酸化阻滞剂 Bis I、细胞外调节蛋白激酶 (ERK1/2) 阻滞剂 U0126、抗 pPEA-15 抗体、抗 pERK1/2 抗体、抗基质金属蛋白酶家族 (browse matrixmetalloproteinases, MMPs) 抗体、胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillaryacidic protein, GFAP) 抗体、3-磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体、Cy3 标记山羊抗兔 IgG、山羊抗兔二抗、牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA)、辣根过氧化物酶 IgG、蛋白酶裂解液、二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO)、4', 6-二脒基-2-苯基吲哚 (4', 6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 等;主要实验仪器为武汉产依瑞德 CYY-1 型磁刺激仪。

二、原代星形胶质细胞培养与鉴定

取出生 2~3 d 的新生 SD 大鼠,在无菌条件下取出大脑皮质,用 2.5 g/L 胰蛋白酶 (37 ℃) 消化,30 min 后加入含 10% FBS 培养基终止消化,经离心 (1000 r/min) 5 min 后弃上清取沉淀,加入培养液吹打,吹打后经 200 目筛网过滤,再离心 (1000 r/min) 5 min 后取沉淀,加入培养液吹打成单细胞悬液,采用差速黏附法将细胞悬液加入培养瓶中,放入培养箱 30 min 后倒转培养瓶,吸出液体后弃去培养瓶,经台盼蓝染色计数后按 5.0×10^4 个/cm² 密度接种于培养瓶中,再放入 CO₂ 孵箱 (37 ℃) 中培养,于 24 h 后换液,以后则每 2~3 天换液 1 次,培养至第 3 代得到成熟原代星形胶质细胞,采用 GFAP 免疫细胞化学法对所培养星形胶质细胞进行鉴定及纯度计算。

三、不同间歇时间磁刺激干预

将培养的星形胶质细胞接种于培养皿内,培养方法同上,待细胞覆盖面积达 80%~90% 时,将直径约 8 cm 的磁刺激线圈垂直放置于培养皿上方,磁刺激线圈不直接接触培养皿,距培养皿约 1 cm。根据磁刺激间歇时间将上述星形胶质细胞分为 4 组,分别为对照组、1 s 间歇组、5 s 间歇组及 10 s 间歇组,对照组不给予磁刺激,其他各组细胞每天于固定时间

段给予磁刺激,磁刺激频率为 10 Hz,30% 最大输出强度 (等幅),1 s 间歇组、5 s 间歇组及 10 s 间歇组于磁刺激 1 s 后分别间歇 1 s、5 s、10 s,重复进行刺激,每组均给予 1000 次磁刺激,每日干预 1 次,连续干预 3 d。各组细胞于第 4 天同一时间点取材。该实验重复进行 3 次。

四、星形胶质细胞迁移信号通道干预

将对数生长期星形胶质细胞接种于 35 mm² 培养皿中,培养方法同上,待细胞覆盖面积达 80%~90% 时,弃去培养基,加入不含 FBS 的培养液培养 24 h 后,弃去培养液,将细胞分为 3 组,分别是控制组、Bis I 组及 U0126 组,控制组加入含稀释剂 DMSO 的培养液,Bis I 组加入含 10 μM Bis I 的培养液,U0126 组则加入含 10 μM U0126 的培养液,培养 30 min 后吸去培养液,加入正常培养液,再分别给予不同间歇时间的磁刺激 (同上)。上述实验重复进行 3 次。

五、星形胶质细胞鉴定

将悬浮星形胶质细胞种植于 12 孔板内,培养方法同上,待细胞覆盖面积达 80%~90% 时,吸去培养基,经 PBS 轻洗 3 次,经 4% 多聚甲醛室温固定 30 min,再经 PBS 轻洗 3 次,加入含 0.1% Triton X-100 的 PBST 室温封闭 60 min,吸去封闭液后加入 anti-GFAP (1:400),4 ℃ 过夜,经 PBS 轻洗 3 次后加入 Cy3 标记的二抗 (1:200),室温孵育 60 min,PBS 轻洗 3 次,DAPI 室温标记 5 min。经荧光封片液封片后观察。该实验重复进行 3 次。

六、Western blotting 法检测 pPEA-15、pERK1/2、MMP-9 蛋白水平

用 2×SDS 加样缓冲裂解液裂解星形胶质细胞,收集蛋白,采用考马斯亮蓝法进行蛋白定量。每孔上样量为 10 μl,经 SDA-PAGE 电泳分离、PVDF 转膜、5% BSA 溶液封闭 1 h 后,按照不同目标蛋白加入相应应用 5% BSA 稀释的一抗 pPEA-15 (1:1000)、pERK1/2 (1:2000)、MMP-9 (1:1000)、GAPDH (1:800),在 4 ℃ 环境下孵育过夜,经 TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,再加入羊抗兔二抗,室温封闭 2 h,经 TBST 洗涤 3 次后用增强化学发光试剂显色、拍照,采用 Gel-PRO Analyzer 系统进行电泳条带光密度值分析,每组蛋白重复分析 3 次。

七、Transwell 法检测星形胶质细胞迁移

将星形胶质细胞悬液 (10×10^5 个/ml, 0.2 ml 1% FBS) 置于 Transwell 小室上室内,将 500 μl 含 10% FBS 的培养基加入到 Transwell 小室的下室内。经孵育器培养 24 h 后,用棉签擦净小室滤膜上层未迁移细胞,用 PBS 轻洗 Transwell 小室 3 次,经 4% 多聚甲醛固定 15 min,再经 PBS 轻洗 3 次,室温下结晶紫染色 30 min,

经 PBS 轻洗 3 次、晾干,于显微镜下每孔随机选取 3 个视野拍照并计数。该实验重复进行 3 次。

八、统计学分析

本研究所得计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 SPSS 18.0 版统计学软件包进行数据分析,符合正态性分布的计量资料比较采用独立样本 t 检验,方差齐的计量资料多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、大鼠原代星形胶质细胞鉴定

取培养的第 3 代大鼠星形胶质细胞,用 GFAP 荧光染色鉴定,发现阳性细胞胞质发出红色荧光,细胞核发出蓝色荧光,GFAP+/DAPI+ 为星形胶质细胞,本研究培养的星形胶质细胞纯度 $> 95\%$ (图 1)。

二、不同间歇时间磁刺激对星形胶质细胞迁移的影响

采用不同间歇时间磁刺激作用星形胶质细胞,发现各组迁移细胞数量明显不同,其中对照组为 (21.14 ± 2.27) 个/高倍镜视野,1 s 间歇组为 (49.71 ± 2.50) 个/高倍镜视野,5 s 间歇组为 (29.86 ± 1.78) 个/高倍镜视野,10 s 间歇组为 (28.29 ± 1.38) 个/高倍镜视野。经统计学比较,发现 1 s 间歇组、5 s 间歇组及 10 s 间歇组细

胞迁移能力均明显强于对照组 ($P < 0.05$),并且以 1 s 间歇组星形胶质细胞的迁移能力最强 ($P < 0.01$),具体情况见图 2。

三、不同间歇时间磁刺激对星形胶质细胞 PEA-15 和 ERK1/2 磷酸化水平的影响

经 Western blotting 检测显示,磁刺激可促进星形胶质细胞 PEA-15 和 ERK1/2 磷酸化,并且以 1 s 间歇组 PEA-15 和 ERK1/2 的磷酸化水平最为显著,与其他组间差异均具有统计学意义 ($P < 0.01$),具体情况见图 3。

四、PEA-15 对 ERK1/2 磷酸化的调控

与控制组比较,Bis I 组加入 PEA-15 磷酸化抑制剂(Bis I)后其 ERK1/2 磷酸化水平明显降低 ($P < 0.01$,图 4a),并且迁移细胞数量显著减少,如控制组迁移细胞数量为 (52.43 ± 2.51) 个/高倍镜视野,Bis I 组为 (22.70 ± 2.50) 个/高倍镜视野,组间差异具有统计学意义 ($P < 0.01$),具体情况见图 4b。另外 U0126 为 ERK1/2 磷酸化特异性阻滞剂,与控制组比较,发现 U0126 组迁移细胞数量 $[(19.43 \pm 1.40)$ 个/高倍镜视野]较控制组显著减少,组间差异具有统计学意义 ($P < 0.01$),具体情况见图 4b。

五、Bis I 对 MMP-9 蛋白表达的影响

为进一步确认 PEA-15 对 ERK1/2 亚细胞定位的

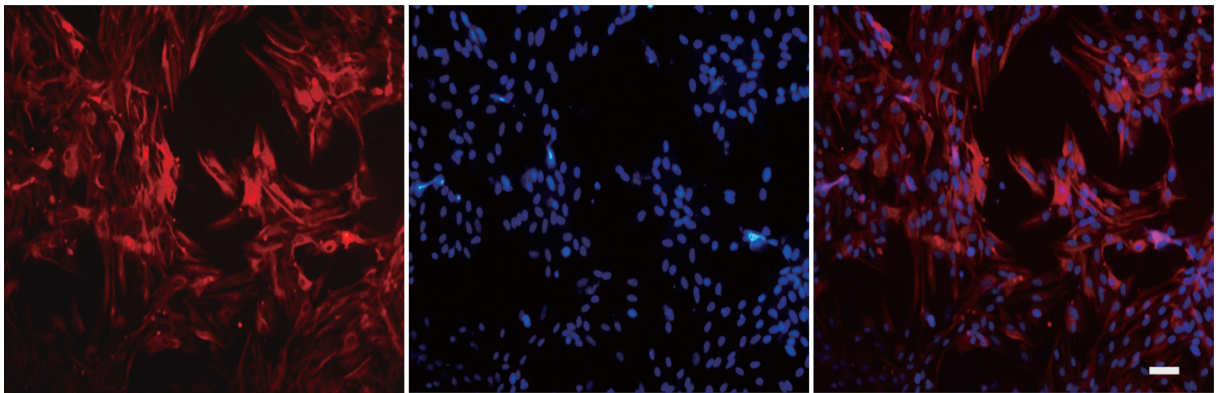
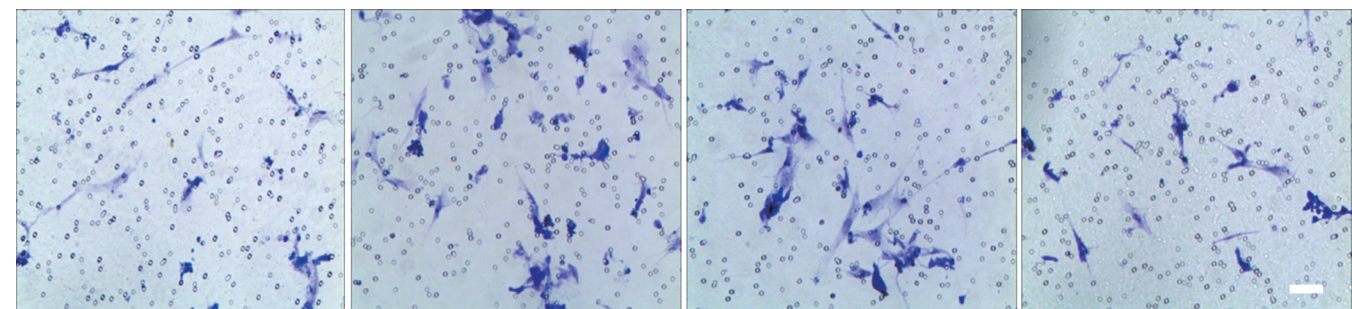


图 1 GFAP 鉴定原代星形胶质细胞(GFAP 荧光染色,×400)



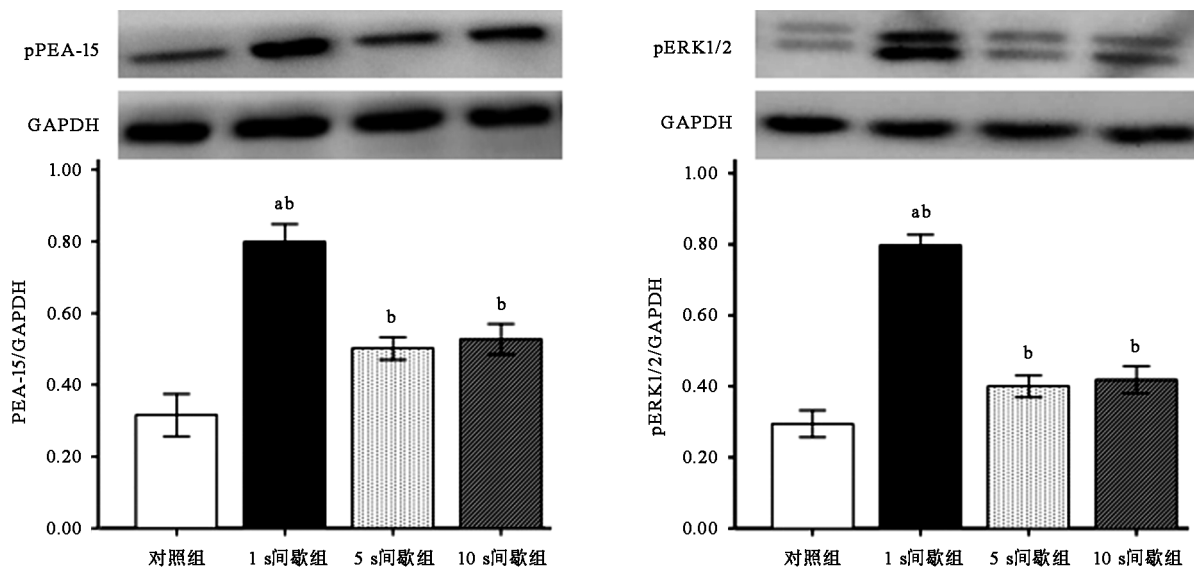
对照组

1 s 间歇组

5 s 间歇组

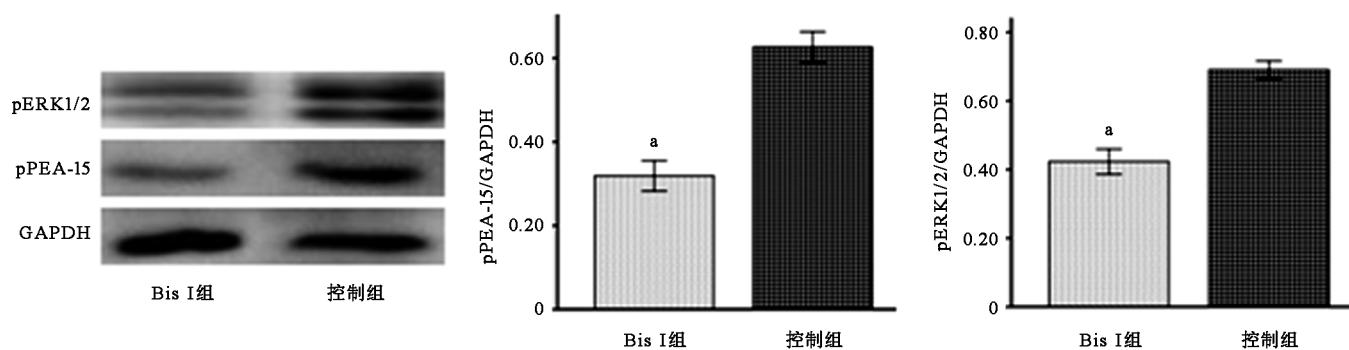
10 s 间歇组

图 2 不同间歇时间磁刺激对星形胶质细胞迁移能力的影响(结晶紫染色,×400)



注: 1 s 间歇组分别与其它 3 组比较,^a $P<0.01$,与对照组比较,^b $P<0.05$

图 3 不同间歇时间磁刺激对星形胶质细胞 PEA-15 和 ERK1/2 磷酸化水平的影响



注:与对照组比较,^a $P<0.01$

图 4a PEA-15 对 ERK1/2 磷酸化水平的调控

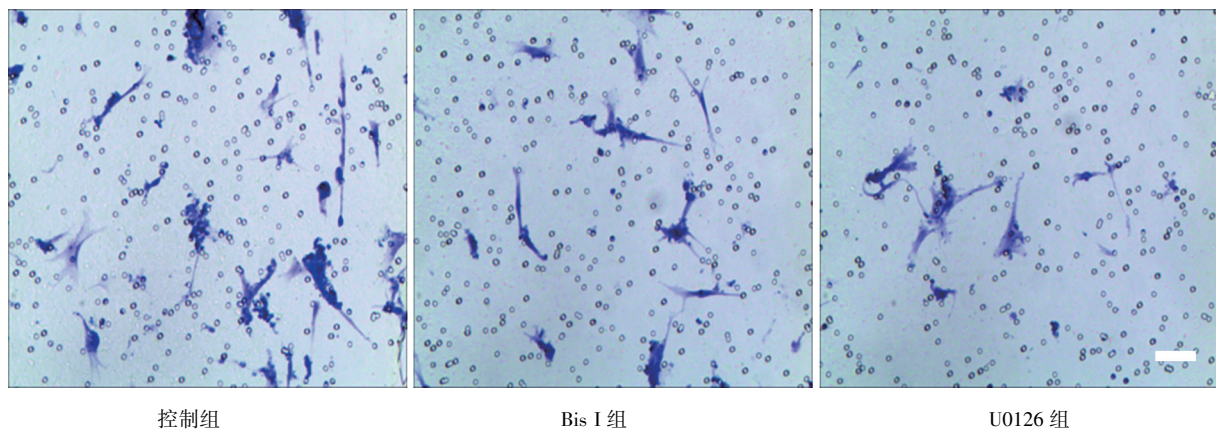
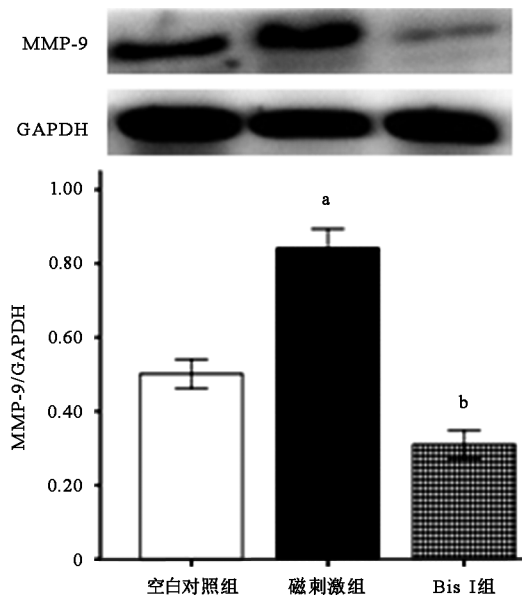


图 4b Bis I、U0126 对星形胶质细胞迁移能力的影响(结晶紫染色, $\times 400$)

影响,本研究将星形胶质细胞分为空白对照组(不给予任何处理)、磁刺激组(给予 1 s 间歇时间磁刺激)及 Bis I 组(给予 1 s 间歇时间磁刺激+10 μ M Bis I)。经 Western blotting 法检测 MMP-9 发现,与空白对照组比

较,磁刺激组 MMP-9 表达量明显增加($P<0.01$);加入 Bis I 后,发现 Bis I 组 MMP-9 表达量较磁刺激组显著下降($P<0.01$),组间差异具有统计学意义($P<0.05$)。具体见图 5。



注:与空白对照组比较,^a $P < 0.01$;与磁刺激组比较,^b $P < 0.01$

图 5 Bis I 对星形胶质细胞 MMP-9 表达的影响

讨 论

当机体中枢神经系统受损后,其星形胶质细胞形态及功能均会发生变化,如星形胶质细胞由静息状态转变为激活状态,则称之为反应性星形胶质细胞。活化的星形胶质细胞可通过抗氧化、营养支持、摄取过剩谷氨酸、调节神经细胞外 K^+ 及分泌神经保护因子等途径发挥神经保护作用,持续激活的星形胶质细胞可迁移至病灶周围,包围病灶阻止神经炎症反应扩大,减小二次损伤^[1,6-7];但大量迁移至病灶周围的星形胶质细胞能形成胶质瘢痕,阻碍后期神经轴突生长及神经功能修复^[1]。通过研究星形胶质细胞迁移的分子调控机制,在不影响其有利作用前提下,针对特定的靶分子进行调控有望成为神经康复新的治疗手段。

磁刺激是一种非侵入性物理治疗方法,利用脉冲磁场改变神经细胞膜电位,影响机体神经活动。在中枢神经受损后给予磁刺激干预,可影响大脑兴奋性及可塑性,发挥神经保护作用^[8]。影响磁刺激疗效的参数较多,包括磁刺激频率、强度、刺激间歇及持续时间、治疗次数等。大部分研究利用不同频率或强度的磁刺激干预星形胶质细胞,并观察其相应作用,但目前鲜见有研究涉及不同间歇时间磁刺激对星形胶质细胞的影响。本研究利用不同间歇时间磁刺激干预星形胶质细胞后发现,不同间歇时间磁刺激对星形胶质细胞迁移能力的影响各异,如短间歇时间磁刺激可明显促进星形胶质细胞迁移。

PEA-15 是机体广泛表达的 15 kD 蛋白,参与细胞增殖、凋亡、迁移及葡萄糖代谢等多项病理生理过

程^[9-10]。相关研究表明,PEA-15 是 ERK1/2 的调控蛋白,可与 ERK1/2 结合并抑制其磷酸化,同时将 ERK1/2 绑定于细胞质中,减少 ERK1/2 在细胞核中的聚集,从而抑制 ERK1/2 信号传递作用^[11]。PEA-15 的 Ser104 和 Ser116 位点可分别被蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)、钙调蛋白激酶 II (calcium-calmodulin kinase II, CamK II) 或蛋白激酶 B/Akt 磷酸化^[12]。体内、外研究均显示,PEA-15 的 Ser-104 位点被 PKC 磷酸化后可明显降低其与 ERK1/2 在细胞质中的结合^[13-14]。PEA-15 富含于星形胶质细胞中^[9],本研究结果发现,1 s 间歇时间磁刺激可明显促进星形胶质细胞迁移,增强 PEA-15 及 ERK1/2 磷酸化,加入 Bis I 抑制 PEA-15 磷酸化后,磁刺激诱导的 ERK1/2 磷酸化和细胞迁移均减弱,说明 PEA-15 参与了磁刺激诱导的 ERK1/2 磷酸化及细胞迁移过程。U0126 是 ERK1/2 磷酸化特异性抑制剂,加入 U0126 后能明显减弱磁刺激诱导的星形胶质细胞迁移,说明 ERK1/2 磷酸化降低不利于星形胶质细胞迁移。因此本研究推测磁刺激可能是通过强化 PEA-15 磷酸化,降低其与 ERK1/2 的结合能力,使更多 ERK1/2 激活并进入核内,从而调控星形胶质细胞迁移。

ERK1/2 的核转位是启动核基因表达的基础,MMPs 是与细胞迁移有关的代表性基因,其表达水平与 ERK1/2 核转位密切相关^[15-16]。MMPs 在细胞迁移中起着非常重要的作用^[17],在中枢神经系统中 MMPs 主要来源于星形胶质细胞,中枢神经受损时机体 MMP-9 分泌水平明显增加^[18-19]。本研究结果显示,1 s 间歇时间磁刺激在促进星形胶质细胞迁移同时,还能增强 MMP-9 分泌,加入 Bis I 后 MMP-9 表达明显减少,可能是因为非磷酸化状态 PEA-15 与 ERK1/2 相结合,PEA-15-ERK1/2 复合物不能穿过核膜发挥生物活性,进而减弱核内相关基因表达。MMP-9 表达减少也进一步证实了 PEA-15 能通过调控 ERK1/2 亚细胞定位进而影响星形胶质细胞迁移。

综上所述,本研究结果表明,短间歇时间磁刺激可促进星形胶质细胞 PEA-15 磷酸化,而 PEA-15 磷酸化有利于 ERK1/2 磷酸化及核转位,ERK1/2 磷酸化增强及核转位增多能促进星形胶质细胞迁移。本实验已证明 1 s 间歇时间磁刺激可明显促进星形胶质细胞迁移,但大于 10 s 间歇时间磁刺激对细胞迁移能力的影响还未明确,本实验仅初步证实间歇时间对磁刺激的促细胞迁移作用有影响,同时本研究仅为体外实验,体内实验结果还需进一步验证。

参 考 文 献

- [1] Pekny M, Wilhelmsson U, Pekna M. The dual role of astrocyte activa-

- tion and reactive gliosis[J]. *Neurosci Lett*, 2014, 565: 30-38. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.12.071.
- [2] Li Y, Chopp M, Zhang ZG, et al. Expression of glial fibrillary acidic protein in areas of focal cerebral ischemia accompanies neuronal expression of 72-kDa heat shock protein [J]. *J Neurol Sci*, 1995, 128 (2): 134-142. DOI: 10.1016/0022-510X(94)00228-G.
- [3] 李哲, 方征宇, 黄晓琳. ERK1/2 阻滞剂 U0126 抑制高频磁刺激引起的星形胶质细胞迁移[J]. *中国康复*, 2010, 25(2): 86-89. DOI: 10.3870/zgkf.2010.02002.
- [4] Chao CC, Karabanov AN, Paine R, et al. Induction of motor associative plasticity in the posterior parietal cortex-primary motor network [J]. *Cereb Cortex*, 2015, 25(2): 365-373. DOI: 10.1093/cercor/bht230.
- [5] Rizzo V, Siebner HS, Morgante F, et al. Paired associative stimulation of left and right human motor cortex shapes interhemispheric motor inhibition based on a Hebbian mechanism [J]. *Cereb Cortex*, 2009, 19 (4): 907-915. DOI: 10.1093/cercor/bhn144.
- [6] Lee KM, MacLean AG. New advances on glial activation in health and disease [J]. *World J Virol*, 2015, 4(2): 42-55. DOI: 10.5501/wjv.v4.i2.42.
- [7] 朱敏, 王海云. 星形胶质细胞在脑缺血损伤中的作用及其机制 [J]. *国际麻醉学与复苏杂志*, 2014, 35(10): 936-939, 947. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4378.2014.10.016.
- [8] Smith MC, Stinear CM. Transcranial magnetic stimulation (TMS) in stroke: Ready for clinical practice [J]. *J Clin Neurosci*, 2016, 31: 10-14. DOI: 10.1016/j.jocn.2016.01.034.
- [9] Thomason LA, Smithson LJ, Hazrati LN, et al. Reactive astrocytes associated with plaques in TgCRND8 mouse brain and in human Alzheimer brain express phosphoprotein enriched in astrocytes (PEA-15) [J]. *FEBS Lett*, 2013, 587(15): 2448-2454. DOI: 10.1016/j.febslet.2013.06.015.
- [10] Formisano P, Ragno P, Pesapane A, et al. PED/PEA-15 interacts with the 67 kD laminin receptor and regulates cell adhesion, migration, proliferation and apoptosis [J]. *J Cell Mol Med*, 2012, 16(7): 1435-1446. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2011.01411.x.
- [11] Formstecher E, Ramos JW, Fauquet M, et al. PEA-15 mediates cytoplasmic sequestration of ERK MAP kinase [J]. *Dev Cell*, 2001, 1(2): 239-250.
- [12] Kubes M, Cordier J, Glowinski J, et al. Endothelin induces a calcium-dependent phosphorylation of PEA-15 in intact astrocytes: identification of Ser104 and Ser116 phosphorylated, respectively, by protein kinase C and calcium/calmodulin kinase II in vitro [J]. *J Neur*, 1998, 71 (3): 1307-1314.
- [13] Renganathan H, Vaidyanathan H, Knapinska A, et al. Phosphorylation of PEA-15 switches its binding specificity from ERK/MAPK to FADD [J]. *Biochem J*, 2005, 390(3): 729-735.
- [14] Mace PD, Wallez Y, Egger MF, et al. Structure of ERK2 bound to PEA-15 reveals a mechanism for rapid release of activated MAPK [J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 1681. DOI: 10.1038/ncomms2687.
- [15] Huang C, Jacobson K, Schaller MD. MAP kinases and cell migration [J]. *J Cell Sci*, 2004, 117(20): 4619-4628.
- [16] Glading A, Koziol JA, Krueger J, et al. PEA-15 inhibits tumor cell invasion by binding to extracellular signal-regulated kinase 1/2 [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(4): 1536-1544. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1378.
- [17] Song J, Wu C, Korpos E, et al. Focal MMP-2 and MMP-9 activity at the blood-brain barrier promotes chemokine-induced leukocyte migration [J]. *Cell Rep*, 2015, 10(7): 1040-1054. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.01.037.
- [18] Ogier C, Bernard A, Chollet AM, et al. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) regulates astrocyte motility in connection with the actin cytoskeleton and integrins [J]. *Glia*, 2006, 54(4): 272-284. DOI: 10.1002/glia.20349.
- [19] Aoki T, Sumii T, Mori T, et al. Blood-brain barrier disruption and matrix metalloproteinase-9 expression during reperfusion injury: mechanical versus embolic focal ischemia in spontaneously hypertensive rats [J]. *Stroke*, 2002, 33(11): 2711-2717.

(修回日期: 2018-02-12)

(本文编辑: 易 浩)

· 外刊撷英 ·

Transcranial direct current stimulation for post-stroke dysphagia

BACKGROUND AND OBJECTIVE Oral pharyngeal dysphagia (OD) has been reported in 20% to 81% of patients after stroke. As transcranial direct current stimulation (tDCS) has been found to enhance brain plasticity, this study examined the effects of this intervention on patients with OD after stroke.

METHODS Subjects were patients hospitalized for acute ischemic stroke who demonstrated dysphagia at admission screening. Of those screened for participation, 60 were identified and randomized to receive either 20 minutes of active tDCS or a sham tDCS over the center of the motor cortical swallowing network on four consecutive days. The subjects were evaluated before and after this intervention with the Fiber-optic Endoscopic Dysphagia Severity Scale (FEDSS) and by clinical assessment.

RESULTS Scores on the FEDSS significantly improved from baseline to postintervention in both groups. More patients in the active group improved by one or more points on the FEDSS than in the sham group (83.3% vs 36.7%; $P < 0.0005$). In addition, the active treatment group showed greater improvement in all secondary swallow outcomes, including the Dysphagia Severity Rating Scale ($P = 0.001$) and the FEDSS ($P = 0.04$). Pneumonia was identified in 53.3% of the sham group and 37.9% of the active treatment group, although this difference failed to reach statistical significance.

CONCLUSION This study of patients with stroke related dysphagia found that transcranial direct current stimulation can accelerate the recovery of swallowing.

【摘自: Suntrup-Krueger S, Ringmaier C, Muhle P, et al. Randomized trial of transcranial direct current stimulation for post-stroke dysphagia. *Ann Neurol*, 2018, 2, 83(2): 328-340.】