

· 基础研究 ·

电针对脑缺血大鼠碱性成纤维细胞生长因子和血管生成素及其受体表达的影响

韩肖华 黄晓琳 郭铁成 喻澜

【摘要】目的 观察电针对急性脑缺血大鼠血管新生的影响。**方法** 将 30 只雄性 Wistar 大鼠随机分成 3 组:正常组、模型组、电针组。复制急性大脑中动脉缺血模型,电针“百会”、“水沟”穴,采用免疫组织化学方法,检测碱性成纤维细胞生长因子和血管生成素 2 及其受体的表达。**结果** 电针组梗死灶周围碱性成纤维细胞生长因子和血管生成素 2 表达增强,分别为 (0.039 ± 0.009) 和 (0.080 ± 0.023) ,与正常组和模型组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);而血管生成素 2 受体的表达虽增强,但与其他两组比较差异无统计学意义。**结论** 电针可以增强急性脑缺血大鼠梗死灶周围碱性成纤维细胞生长因子和血管生成素 2 的表达,促进了梗死灶周围的血管新生。

【关键词】 电针; 脑缺血; 血管新生

Effect of electroacupuncture on bFGF, Ang-2 and Tie-2 expression in rats with cerebral ischemia HAN Xiaohua, HUANG Xiao-lin, GUO Tie-cheng, YU Lan. Department of Rehabilitation Medicine, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

【Abstract】Objective To observe the effect of electroacupuncture (EA) on the angiogenesis in rats with cerebral ischemia. **Methods** 30 male Wistar rats were randomly divided into 3 groups: normal group, model group and EA group. After the establishment of acute middle cerebral artery occlusion (MCAO), the rats were treated with EA on DU20 and DU26. Then the expression of bFGF, Ang-2 and Tie-2 by immunohistochemical staining was observed. **Results** The expression of bFGF and Ang-2 around the infarction locus of EA group increased remarkably compared with normal group and model group and the increase of Tie-2 was not significant. **Conclusion** EA can increase the expression of bFGF and Ang-2 around the infarction locus and promote the angiogenesis in rats with cerebral ischemia.

【Key words】 Electroacupuncture; Cerebral ischemia; Angiogenesis

尽快恢复急性脑缺血病灶的血液供应,挽救濒死的神经元、神经胶质细胞和血管内皮细胞,是治疗脑梗死的关键。新形成的侧枝血管可改善缺血区周围的组织灌注。血管新生可促进缺血后神经功能的恢复^[1]。已有研究发现:缺血后脑组织中血管生成素 2 (angiotensin-2, Ang-2) 的表达上调,促进血管新生^[2];而运用外源性碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 具有促进神经生成和毛细血管增生的作用^[3,4]。所以,本研究观察了电针对脑缺血大鼠内源性 bFGF 和 Ang-2 及其受体 2 (Tie-2) 表达的影响,现报道如下。

材料与方法

一、动物分组与造模

1. 分组:30 只健康雄性 Wistar 大鼠(同济医学院实验动物中心提供),体重 (200 ± 20) g,随机分成正常

组、模型组和电针组,每组 10 只。

2. 造模:参照廖维靖等^[5]和 Zea Longa 等^[6]的大鼠大脑中动脉缺血模型造模方法,腹腔注射 6% 的水合氯醛(剂量为 350 mg/kg 体重),颈部正中切口,长约 2 cm,暴露右侧颈总动脉和颈外动脉,0 号丝线结扎颈外动脉。分离与颈总动脉伴行的迷走神经,在距颈总动脉分叉处近端 0.5 ~ 0.6 cm 处结扎颈总动脉。在结扎线的远端置丝线备用。用微动脉夹夹闭备用线远端的颈总动脉,在备用线的近端用眼科剪剪一小切口,将黑色 5/0 尼龙线线栓送进切口,向上推至动脉夹处,将备用线稍微扎紧,随即松开动脉夹。将线栓沿颈总动脉、颈内动脉顺行向上插入至大脑中动脉起始部,遇阻力时停止,从颈总动脉分叉处计算插入深度为 (1.9 ± 0.2) cm,造成大脑中动脉供血阻断。正常组不作特殊处理。

二、模型神经功能缺损评分方法

动物清醒后,按 Bederson 方法进行肢体功能的神经缺损评分^[7]。标准:0 分,无任何神经功能缺失;1 分,左前肢不能伸展;2 分,向左侧行走;3 分,向左侧转

圈,成追尾状。20 只实验动物造模清醒后神经功能缺损平均评分 2.25 分。

三、处理方法

电针组:于造模结束后,且动物尚未清醒时即开始针刺治疗,选用“百会”、“水沟”穴,根据中国针灸学会实验针灸研究会 1992 年制定的“实验动物穴位标准”定位。选用苏州医疗用品有限公司生产的直径为 0.40 mm、长 25 mm 的华佗牌不锈钢毫针,“百会”斜向前刺入 10 mm,“水沟”直刺入 4 mm。接通 ZYZ-20GZ1 型高性能针灸治疗仪,“百会”接负极,“水沟”接正极,选用连续波,频率为 40 Hz,刺激强度以大鼠肢体出现轻微抖动为度,每天治疗 1 次,每次 20 min,连续治疗 6 d。

模型组和正常组动物自然饲养,不作特殊处理。

四、免疫组织化学染色

将已麻醉的大鼠用生理盐水 200 ml 快速左心室灌注冲洗,再用 4% 多聚甲醛 500 ml 先快后慢灌注固定,恒定灌注时间 45 ~ 60 min。灌注完毕立即断头取脑,4% 多聚甲醛溶液后固定不超过 24 h,石蜡包埋、切片。免疫组化所用 bFGF、Ang-2 和 Tie-2 抗体购于武汉博士德生物技术公司,采用链霉亲和素-生物素-过氧化物酶复合物法。

五、统计学分析

采用 HPIAS-1000 型高分辨病理图文分析系统(同济医科大学千屏影像工程公司)进行图像分析处理得出平均面密度值。用 SPSS 11.0 统计软件,多组间比较用方差分析、两组间比较用 q 检验。

结 果

一、bFGF 的表达

正常组大鼠脑组织与模型组梗死灶周围对应部位仅有少量的 bFGF 表达,为黄褐色胞浆着色。模型组表达增加,电针组梗死灶周围有大量的 bFGF 表达,与正常组和模型组比较差异有统计学意义。详见表 1、图 1。

二、Ang-2 和 Tie-2 的表达

模型组大鼠梗死灶周围 Ang-2 的表达较正常组上调,但差异无统计学意义。电针干预后梗死灶周围 Ang-2 的表达与模型组比较明显增强,差异有统计学意义($P < 0.05$),而梗死灶周围 Tie-2 的表达各组之间比较差异无统计学意义。详见表 1、图 1。

表 1 各组脑组织 bFGF、Ang-2 和 Tie-2 的表达($\bar{x} \pm s$)

组 别	<i>n</i>	bFGF	Ang-2	Tie-2
正常组	10	0.017 ± 0.011	0.045 ± 0.012	0.052 ± 0.013
模型组	10	0.024 ± 0.014	0.053 ± 0.016	0.070 ± 0.022
电针组	10	0.039 ± 0.009*	0.080 ± 0.023*	0.078 ± 0.025

注:与模型组比较,* $P < 0.05$

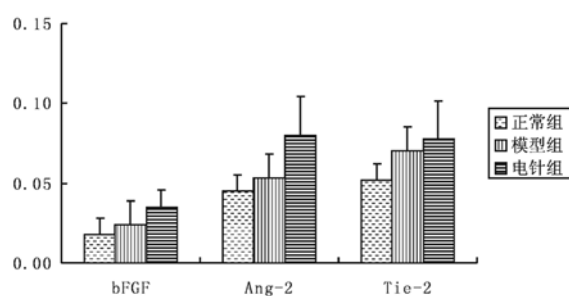


图 1 各组脑组织 bFGF、Ang-2 和 Tie-2 的表达

讨 论

脑的血管生成分为血管发生、血管新生和动脉形成 3 个相互联系的过程,其中血管新生是指新生的毛细血管从已经存在的血管侧枝中出芽与再塑。血管新生受一系列刺激因子调节,其中主要的血管新生刺激因子有血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及其受体、bFGF、血管生成素及其受体等。我们以前的工作已经证实了电针干预可以上调梗死灶周围 VEGF 及其受体的表达,从而促进血管新生^[8]。

bFGF 是一种广谱的有丝分裂原,具有广泛的细胞增殖效应,它对广泛的来源于中胚层和神经外胚层的细胞具有明显的促增殖作用,其靶细胞有成纤维细胞、血管内皮细胞、神经元和胶质细胞等。它可直接作用于内皮细胞刺激血管新生(包括迁移、增生、出芽和管腔形成等多个环节),也可上调 VEGFmRNA 的表达而发挥间接的调节作用。人们已经认识到 bFGF 改善微循环、促进中枢和外周神经发育、生长等作用,并利用外源性 bFGF 来治疗脑梗死,但如何运用传统方法(如针灸)影响内源性 bFGF 的表达还鲜有报道。

血管生成素(angiotensin, Ang)是一族特异性作用于血管内皮细胞的生长因子,其家族成员 Ang-2 与血管生成关系密切。Tie-2 是 Ang-1 和 Ang-2 的共同受体,广泛表达于各级血管内皮细胞中^[9,10]。人们发现 Ang-2 对血管的作用与血管因子特别是 VEGF 的存在与否关系密切^[9,11],当 VEGF 不存在时,Ang-2 的表达主要使血管发生退化,血管数目减少,同时伴有内皮凋亡;而当 VEGF 存在时,Ang-2 促血管生成,血管增生显著。我们以前的工作证实了电针可以上调梗死灶周围 VEGF 的表达。因此,我们认为电针组大鼠脑梗死灶周围 Ang-2 水平上调的可能原因之一是电针干预了 VEGF 的表达。

脑梗死又称缺血性中风,中医将中风分为中经、中络、中脏、中腑,归纳其病机为虚、火、风、痰、气、血六端,以肝肾阴虚为根本。脑为元神之府,督脉入络于脑,故督脉要穴百会既可祛外风又可熄内风,通瘀以安

神;急救要穴水沟具有醒脑开窍之功效。许多现代研究从多个角度证实了针刺对脑梗死大鼠的脑保护作用^[12,13]。我们的实验以电针百会、水沟干预急性脑缺血模型,结果发现:治疗组大鼠梗死灶周围 bFGF 和 Ang-2 表达上调,提示电针可能促使了局部内源性 bFGF 和 Ang-2 的表达,从而促进内皮细胞增殖、迁移,加速血管新生,由此可尽快恢复急性脑缺血病灶的血液供应,改善缺血区周围的组织灌注,促进缺血后神经功能的恢复。

参 考 文 献

- 1 Zhang ZG, Zhang L, Jiang Q, et al. VEGF enhances angiogenesis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain. Clin Invest, 2000, 106:829-838.
- 2 Wang RG, Zhu XZ. Expression of angiopoietin-2 and vascular endothelial growth factor in mice cerebral cortex after permanent focal cerebral ischemia. Acta Pharmacol Sin, 2002, 23:405-411.
- 3 Baldauf K, Reymann KG. Influence of EGF/bFGF treatment on proliferation, early neurogenesis and infarct volume after transient focal ischemia. Brain Res, 2005, 21:158-167.
- 4 Huang Z, Chen K, Huang PL, et al. bFGF ameliorates focal ischemic injury by blood flow-independent mechanisms in eNOS mutant mice. Am J Physiol, 1997, 272: H1401-1405.
- 5 廖维靖, 刘淑红, 范明, 等. 线栓阻断大鼠大脑中动脉制作缺血性脑损伤模型的改良. 中华物理医学与康复杂志, 2002, 24:349-352.
- 6 Zea Longa E, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke, 1989, 20:84-91.
- 7 Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurological examination. Stroke, 1986, 17:472-476.
- 8 韩肖华, 黄晓琳, 李春芳, 等. 电针对脑缺血大鼠 VEGF 及 Flk-1 表达和细胞外钙离子浓度的影响. 中国康复, 2003, 18:329-331.
- 9 Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie-2 that disrupts in vivo angiogenesis. Science, 1997, 277:55-60.
- 10 Suri C, Jones PF, Patan S, et al. Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the Tie-2 receptor, during embryonic angiogenesis. Cell, 1996, 87:1171-1180.
- 11 Zhu Y, Lee C, Shen F, et al. Angiopoietin-2 facilitates vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis in the mature mouse brain. Stroke, 2005, 36:1533-1537.
- 12 余晓慧, 孙国杰. 针刺对局灶性脑缺血大鼠脑细胞凋亡及 Bcl-2 蛋白表达的影响. 针刺研究, 2004, 29:15-17.
- 13 郭壮丽, 裴海涛. 急性脑缺血再灌注大鼠脑内 IL-1 β 蛋白表达及针刺对其抑制作用的研究. 中华物理医学与康复杂志, 2005, 27:16-19.

(修回日期:2006-07-12)

(本文编辑:阮仕衡)



SL-100 型激光治疗仪

镇痛抗炎新选择

半导体激光治疗仪临床适应证:

- 带状疱疹及后遗神经痛
- 促进各种创面、溃疡面愈合(糖尿病、术后、下肢静脉曲张)
- 腰背部疼痛
- 湿疹

技术特点:

- 1、对人体组织穿透性好、最深可达 7cm, 治疗效果明显。
- 2、为非侵入性外照射, 无创伤, 无痛苦, 使用寿命长。
- 3、有更好的价格性能比。

请在医生指导下使用

全国 24 小时免费咨询电话: 8008606660 服务电话: 0531-86515050
 传真: 0531-86515050-888
<http://www.shensiyiliao.com>
 E-mail: shensiyiliao@163.com
 地址: 济南市高新东区舜华路 1 号齐鲁软件园 F 座 B516 室 邮编: 250101



注册号: 鲁食药监械(准)字 2005 第 2340228 号
 广告审查批准文号: 鲁广核广审(文)第 2005120061 号

山东神思医疗设备有限公司出品