

DOI: 10.3969/j.issn.1006-9771.2014.04.001

· 专题 ·

## 低频电刺激改善脑梗死大鼠神经功能障碍的机制研究

何志承<sup>1</sup>, 杨万章<sup>2</sup>, 向云<sup>2</sup>, 王维<sup>2</sup>

**[摘要]** 目的 探讨低频电刺激(LFS)对脑梗死大鼠神经功能和梗死侧脑组织神经干细胞(NSC)增殖、血管再生的影响。方法 制作大鼠永久性大脑中动脉梗死模型(MCAO), 随机分为假手术组、对照组和实验组, 每组又分为 7 d 和 14 d 两个亚组, 每个亚组 12 只。术后 2 d 开始进行 LFS 治疗。采用大鼠神经功能缺损评分(NSS)评估大鼠神经功能缺损程度, 运用免疫荧光染色检测大鼠梗死侧大脑侧脑室的室管膜下层(SVZ)的 5-溴尿嘧啶脱氧核糖核苷酸(BrdU), 应用酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测大鼠梗死侧大脑的基质细胞衍生因子-1(SDF-1)、血管内皮生长因子(VEGF)含量。结果 LFS 治疗后 14 d, 实验组大鼠 NSS 评分明显低于对照组和假手术组( $P<0.01$ ); LFS 治疗后各时间点实验组大鼠梗死侧大脑的 SDF-1、BrdU 和 VEGF 水平均较对照组有不同程度的上调( $P<0.01$ )。结论 LFS 能改善脑梗死大鼠功能障碍, 其可能机制是通过激活 SDF-1/CXCR4 轴, 进而发挥促进 NSC 增殖和血管再生作用。

**[关键词]** 低频电刺激; 基质细胞衍生因子-1; 5-溴尿嘧啶脱氧核糖核苷酸; 血管内皮生长因子; 大鼠

**Effect of Low Frequency Stimulation on Neural Dysfunction in Rats with Cerebral Infarction** HE Zhi-cheng, YANG Wan-zhang, XIANG Yun, et al. Graduate School, Guangzhou Medical University, Guangzhou 510182, Guangdong, China

**Abstract:** **Objective** To investigate the effects of low frequency stimulation (LFS) on proliferation and angiogenesis of neural stem cells (NSC) in cerebral infarction side in rats. **Methods** The rats with permanent middle cerebral artery occlusion (MCAO) were randomly divided into sham-operation group, control group and LFS group, each group was divided into 7 days and 14 days subgroups with 12 rats in each subgroup. LFS therapy was started 2 days after operation. The degree of nerve function defect was evaluated with Neurological Severity Score (NSS), and the 5-bromodeoxy-dine (BrdU) positive cells in the subventricular zone (SVZ) of cerebral infarction side were detected with immunofluorescence. Stromal cell-derived factor 1 (SDF-1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in infarction side were detected with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The NSS score was lower in the LFS group than in the control group and the sham-operation group 14 days after surgery ( $P<0.01$ ). The number of BrdU positive cells, the content of SDF-1 and VEGF in the ischemic side were more in the LFS group than in the other groups ( $P<0.01$ ) after treatment. **Conclusion** LFS can improve the neurological function in rats with acute cerebral infarction, which may associate with activating SDF-1/CXCR4 axis.

**Key words:** low frequency stimulation; stromal cell-derived factor-1; 5-bromodeoxy-dine; vascular endothelial growth factor; rats

**[中图分类号]** R743.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1006-9771(2014)04-0301-05

**[本文著录格式]** 何志承, 杨万章, 向云, 等. 低频电刺激改善脑梗死大鼠神经功能障碍的机制研究[J]. 中国康复理论与实践, 2014, 20(4): 301-305.

脑卒中具有高发病率、高复发率和高致残率的特点, 给家庭和社会带来沉重的负担。而偏瘫是脑卒中患者最常见的后遗症, 急性期发生率为 80%, 严重影响患者的日常生活活动能力。如何有效恢复患者的功能障碍, 提高患者的日常生活活动能力成为近年来康复界关注的重点。低频电刺激(low frequency stimulation, LFS)不仅具有输出效应而且具有输入效应, 一方面通过输出效应诱发肌肉运动, 增加肌力, 防止肌肉萎缩; 另一方面, 通过输入效应提高皮层的兴奋性, 促进中枢神经系统的重塑<sup>[1]</sup>。LFS 以往多应用于慢性脑卒中, 近来发现无论是急性期还是慢性期, LFS 都

有很确切的临床疗效<sup>[2]</sup>, 但其作用机制至今不明。有报道提示, LFS 能促进受损中枢神经系统神经干细胞(neural stem cells, NSC)的增殖<sup>[3]</sup>, 从而产生修复受损神经组织的作用<sup>[4]</sup>, 但如何促进 NSC 增殖及增殖的程度等问题未做深入探讨。最近, 有研究发现基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)能促进 NSC 增殖, 而一些康复治疗能上调脑卒中后 SDF-1 的水平<sup>[5-6]</sup>。同时, SDF-1 的含量高低与血管再生密切相关<sup>[7]</sup>, 而神经再生和血管再生往往同时发生, 这就促使我们推测 LFS 可能是通过 SDF-1/CXC chemokine receptor 4(CXCR4)轴促进 NSC 增殖及血管再生, 进而

基金项目: 1. 深圳市科技计划项目(医疗卫生类)(No. 201203223); 2. 南山区卫生科技计划项目(No. 2011006)。

作者单位: 1. 广州医科大学研究生学院, 广东广州市 510182; 2. 深圳市第六人民医院康复医学科, 广东深圳市 518052。作者简介: 何志承(1987-), 男, 广东广州市人, 硕士研究生, 主要研究方向: 神经康复。通讯作者: 杨万章(1957-), 男, 教授, 主要研究方向: 神经干细胞、周围神经康复。

改善脑卒中的功能障碍。因此,本研究拟结合 SDF-1/CXCR4 轴探讨 LFS 改善大鼠急性脑卒中后功能障碍的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物和分组

雄性 Sprague-Dawley 大鼠 72 只, 270~300 g, 7~9 周龄, 由广东省实验动物中心提供。随机分为假手术组、对照组和实验组, 每组又分为 7 d 和 14 d 两个亚组(分别于术后 7 d、14 d 处死大鼠), 每个亚组 12 只。

### 1.2 模型制作

参照 Longa 等<sup>[8]</sup>的方法制永久性大脑中动脉梗死(middle cerebral artery occlusion)动物模型。用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠, 沿颈正中中线切开皮肤, 钝性分离左侧颈总动脉、颈外动脉及颈内动脉, 结扎颈总动脉近心端及颈外动脉, 夹闭颈内动脉。将直径为 0.26 mm 日本进口鱼线经颈总动脉导入颈内动脉, 从颈总动脉分叉处进入约 20 mm, 阻断左侧大脑中动脉血供。术后 1 d 对其进行改良 Menzies 法评分, 出现提尾时右侧前肢屈曲内收, 向后拖曳尾巴时向右爬行或自主爬行时向右转圈为模型制作成功, 具备上述表现之一者随机编入本实验对照组或实验组, 假手术组鱼线插入深度为 10 mm, 不足以阻断大脑中动脉血供。

### 1.3 神经功能缺损症状评分

术后 2 d、7 d、14 d 采用神经功能缺损评分(Neurological Severity Scores, NSS)<sup>[9]</sup>评定大鼠神经功能受损及恢复程度。NSS 包括运动功能测试、自主运动测试、感觉测试、平衡测试、反射和异常动作测试等部分, 能全面反映大鼠神经功能状况, 分值越高, 症状越重; 分值越低, 神经功能恢复越好。13~18 分为重度神经功能损伤, 7~12 分为中度神经功能损伤, 1~6 分为轻度神经功能损伤。

### 1.4 LFS 治疗

术后 2 d, 实验组大鼠 NSS 评分后, 应用 LFS 治疗仪(NeuroTrac™, Continence, Verity Medical 公司, 英国)经皮电刺激大鼠右前肢, 对照组大鼠接上 LFS 治疗仪但关闭电源, 假手术组大鼠不予治疗干预。电流具体参数<sup>[10]</sup>: 频率 100 Hz, 脉宽 200  $\mu$ s, 强度 3~4 mA, 电流通断比为 5 s:8 s, 双向对称方波, 以产生稳定的伸腕伸指动作为宜。每次 10 min, 每天 2 次, 两次间隔至少 10 min。

### 1.5 5-溴尿嘧啶脱氧核糖核苷酸(5-bromodeoxy-dine, BrdU)注射及冰冻切片制作

取 6 只大鼠, 处死前 3 d 腹腔注射 BrdU 溶液, 每天 2 次, 每次间隔至少 8 h。BrdU 溶液由生理盐水中

加入 BrdU 粉末(SIGMA 公司, B5002)配制而成, 浓度为 10 mg/ml, 按 50 mg/kg 剂量注射<sup>[11]</sup>。分别于术后 7 d 和 14 d, 麻醉大鼠后予以心脏灌注。先灌入约 150 ml 磷酸缓冲液(PBS, 0.01 mol/L)再灌入约 150 ml 4% 多聚甲醛(PFA), 直至大鼠全身僵硬后断头取脑。脑组织浸于 4% PFA 24~48 h 后, 移至 25% 蔗糖溶液中直至沉底, 冰冻包埋剂包埋。冰冻切片机将脑组织室管膜下层区(subventricular zone, SVZ)切成 30  $\mu$ m 冠状切片, 放入含叠氮化钠的 0.01 mol/L PBS 溶液中, 4  $^{\circ}$ C 下保存备用。

### 1.6 免疫荧光检测

将切片置于载有 0.01 mol/L PBS 的 24 孔板, 复温 30 min 后 0.01 mol/L PBS 漂洗 3 次。2 mol/L 盐酸 DNA 变性(37  $^{\circ}$ C 下)20 min 后, 0.01 mol/L PBS 漂洗 3 次, 滴加封闭液即 0.3% PBST(0.01 mol/L PBS+0.3% TritonX 100)+0.03 g/ml 小牛血清蛋白粉末, 摇床孵育 1 h。吸干封闭液后加入浓度为 1:200 的一抗溶液(绵羊多抗, ABCAM 公司 Ab1893, 用封闭液稀释)置于摇床 30 min 后存入 4  $^{\circ}$ C 冰箱 1~2 d。取出切片, 复温 30 min 后 0.01 mol/L PBS 漂洗 3 次。吸干一抗溶液, 滴加二抗溶液(驴抗绵羊, 1:200, Dylight488, ABCAM 公司 Ab96939, 用 0.3% PBST 稀释), 避光摇床孵育 2 h。0.01 mol/L PBS 漂洗 3 次后贴片, 用含 DAPI 防荧光淬灭液封片, 通过激光共聚焦显微镜(Leica SP5)拍片统计。观察部位为大鼠梗死侧大脑的 SVZ, 每亚组取 6 只大鼠, 每只大鼠随机抽取 5 张 SVZ 脑片。每张切片上选取 1 个 0.15 $\times$ 0.15 mm 的固定区域, 用 Image Pro Plus 软件统计该区域内所有阳性细胞(/mm<sup>2</sup>)。

### 1.7 ELISA 检测

另外 6 只大鼠于术后 7 d、14 d 处死后断头取脑, 用 0.01 mol/L PBS 冲洗脑组织表面多余的血液, 称量脑组织重量后在 1 ml 0.01 mol/L PBS 中匀浆(低温下进行), 匀浆液置于 $\leq$ -20  $^{\circ}$ C 环境过夜。两个冻-融周期后组织细胞膜破损, 将匀浆液放入离心机, 4  $^{\circ}$ C 下 12000 r/min 离心 5 min 后提取上清液, 立即检测或分装储存于 $\leq$ -20  $^{\circ}$ C 环境。样本检测操作分别按照 SDF-1 和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)试剂盒(EIAab 公司: E0477r、E0143r)说明书严格执行。酶标仪 450 nm 处测 OD 值, 绘制标准曲线计算样本浓度(ng/g 或 pg/g)。

### 1.8 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计学处理。实验所得数据采用( $\bar{x} \pm s$ )表示, 两组间比较用  $t$  检验, 多组之间的比较采用单因素方差分析, 显著性水平  $\alpha=$

0.05。

2 结果

2.1 NSS 评分

假手术组大鼠术后各时间点的 NSS 评分均为 0，故不纳入统计。术后 2 d、7 d 时实验组与对照组 NSS 评分均无显著性差异( $P>0.05$ )；术后 14 d 时，实验组大鼠 NSS 评分显著低于对照组( $P<0.001$ )。对照组大鼠术后 14 d NSS 评分明显低于术后 2 d、7 d ( $P<0.01$ )；实验组大鼠 NSS 评分呈逐渐下降趋势，术后各时间点两两比较均有非常显著性差异( $P<0.01$ )。见表 1。

2.2 SDF-1 含量

术后 7 d 和 14 d 实验组大鼠梗死侧大脑 SDF-1 含量均明显高于对照组和假手术组( $P<0.01$ )，对照组均明显高于假手术组( $P<0.01$ )。对照组术后 14 d SDF-1 含量明显低于术后 7 d( $P<0.01$ )，实验组和假手术组术后 7 d 和 14 d 之间均无显著性差异( $P>0.05$ )。见表 2。

2.3 SVZ BrdU 阳性细胞数

BrdU 免疫荧光染色结果发现，低倍镜下大鼠 SVZ 见明亮绿色的 BrdU 阳性细胞，呈层状排列，高倍镜下 BrdU 表达于细胞核，呈椭圆形或颗粒状。假手术组大鼠 SVZ 的 BrdU 阳性细胞分布较稀疏，对照组 BrdU 阳性细胞数量较之明显增多，而实验组较对照组更加密集。见图 1。

术后 7 d 和 14 d 实验组大鼠梗死侧 SVZ BrdU 阳性细胞数均明显高于对照组和假手术组( $P<0.01$ )，对照组均明显高于假手术组( $P<0.01$ )。实验组术后 14 d 明显低于术后 7 d( $P<0.01$ )，假手术组和对照组术后 7 d

和 14 d 之间均无显著性差异( $P>0.05$ )。见表 3。

表 1 各组动物术后各时间点 NSS 评分

组别	n	术后 2 d	术后 7 d	术后 14 d	F	P
假手术组	12	0.00	0.00	0.00		
对照组	12	8.75±1.42	7.83±1.47	6.17±1.34 <sup>ab</sup>	10.357	0.000
实验组	12	8.92±1.38	7.50±1.24 <sup>a</sup>	2.25±0.87 <sup>ab</sup>	105.810	0.000
t		0.291	0.601	8.517		
P		0.773	0.554	0.000		

注：a：与术后 2 d 比较， $P<0.01$ ；b：与术后 7 d 比较， $P<0.01$

表 2 各组大鼠各时间点梗死侧大脑 SDF-1 含量(ng/g)

组别	n	术后 7 d	术后 14 d	t	P
假手术组	6	1.40±0.47	1.31±0.29	0.391	0.704
对照组	6	2.58±0.40 <sup>a</sup>	1.91±0.27 <sup>a</sup>	3.443	0.006
实验组	6	3.74±0.54 <sup>ab</sup>	3.67±0.32 <sup>ab</sup>	0.307	0.765
F		37.061	104.248		
P		0.000	0.000		

注：a：与假手术组比较， $P<0.01$ ；b：与对照组比较， $P<0.01$

表 3 各组大鼠各时间点梗死侧大脑 SVZ BrdU 阳性细胞数 (/mm<sup>2</sup>)

组别	n	术后 7 d	术后 14 d	t	P
假手术组	6	1110±205	1095±216	0.123	0.904
对照组	6	1523±230 <sup>a</sup>	1515±252 <sup>a</sup>	0.054	0.958
实验组	6	2910±275 <sup>ab</sup>	2145±307 <sup>ab</sup>	4.540	0.001
F		93.762	24.532		
P		0.000	0.000		

注：a：与假手术组比较， $P<0.01$ ；b：与对照组比较， $P<0.01$

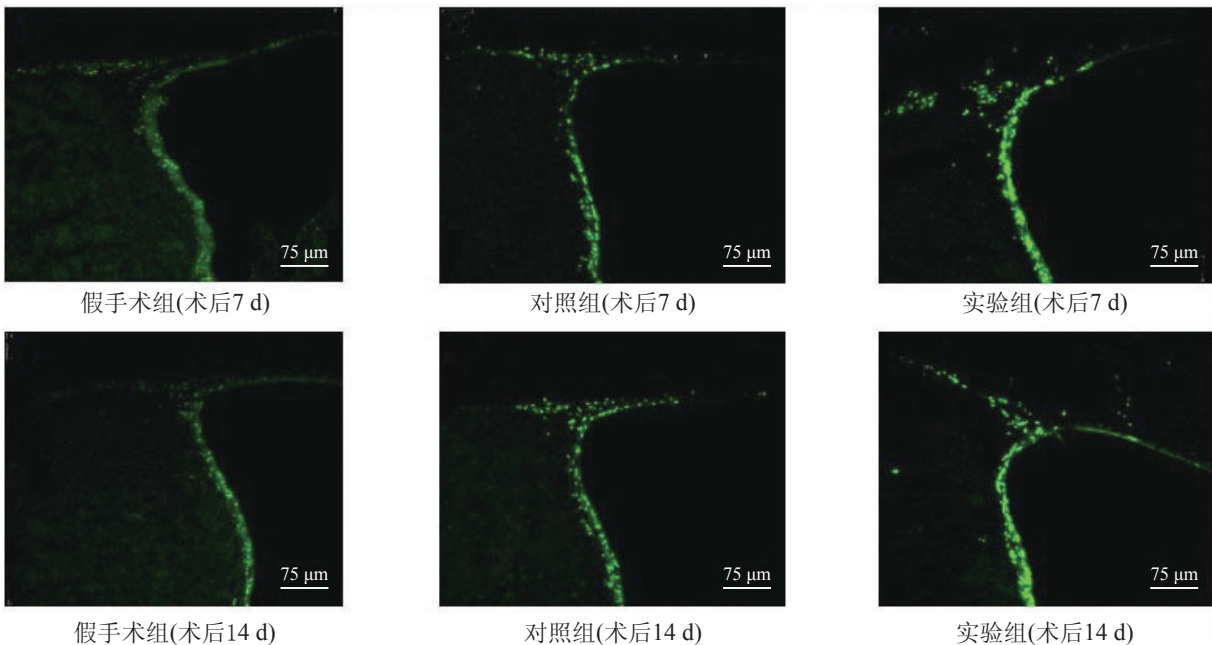


图 1 各组大鼠 SVZ BrdU 阳性细胞数(激光共聚焦, 200×)



2.4 VEGF 含量

术后 7 d 和 14 d 实验组大鼠梗死侧大脑 VEGF 含量均明显高于对照组和假手术组( $P<0.01$ ), 对照组均明显高于假手术组( $P<0.01$ )。实验组和对照组术后 14 d VEGF 含量高于术后 7 d ( $P<0.05$ ), 假手术组术后 7 d 和 14 d 之间无显著性差异( $P>0.05$ )。见表 4。

表 4 各组大鼠 7 d 和 14 d 梗死侧大脑 VEGF 含量(pg/g)

组别	n	术后 7 d	术后 14 d	t	P
假手术组	6	93.60±6.25	90.67±6.26	0.813	0.435
对照组	6	110.82±6.83 <sup>a</sup>	120.08±4.95 <sup>a</sup>	2.690	0.023
实验组	6	126.12±3.85 <sup>ab</sup>	154.14±7.98 <sup>ab</sup>	7.748	0.000
F		47.403	142.657		
P		0.000	0.000		

注: a: 与假手术组比较,  $P<0.01$ ; b: 与对照组比较,  $P<0.01$

3 讨论

NSC 的发现打破了神经细胞不能再生的传统观念。脑组织受损后, 调控 NSC 增殖与分化的微环境发生改变, NSC 因而被激活并参与受损脑组织的修复<sup>[12]</sup>。而受损脑组织的修复主要体现在神经再生和血管再生, 已有研究提示两者之间紧密联系: ①神经前体细胞和血管前体细胞在成人神经生发中心直接相连<sup>[13]</sup>; ②血管能为 NSC 提供营养支持; ③NSC 的靶向迁移受血管信号的影响; ④神经和血管的前体细胞有相同的信号传导途径和基因信息通路; ⑤NSC 上也能表达内皮祖细胞特异标记。故有“神经血管单元”学说<sup>[14]</sup>的形成。神经血管单元主要由神经细胞、血管内皮细胞、神经胶质细胞和周围细胞外基质构成, 单元内的各种细胞之间、细胞与基质之间的相互作用和动态平衡, 筑成调控 NSC 的微环境。

有关神经血管单元形成的研究甚少, SDF-1 可能在其形成中起着重要的作用。正常成年动物大脑有低水平的 SDF-1、CXCR4 表达; 脑卒中后, SDF-1 在细胞表面整合素激酶、低氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)的作用下表达释放增加<sup>[15]</sup>。SDF-1 主要由缺血灶周围的星形胶质细胞释放<sup>[16]</sup>, 当这些星形胶质细胞兴奋性升高时, SDF-1 释放的量可能会更多。低频电刺激可能通过其输入效应提高星形胶质细胞的兴奋性, 上调脑卒中后脑梗死侧 SDF-1 的水平, 进而激活 SDF-1/CXCR4 轴产生生物效应。SDF-1/CXCR4 轴能通过细胞外调节蛋白激酶和磷脂酰肌醇 3-激酶信号通路促进神经再生<sup>[17]</sup>, 通过募集血管内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)参与血管网络重建, 促进血管再生<sup>[18]</sup>。可见, SDF-1/CXCR4 轴既能促进神经再生又能促进血管再生, 可能在脑卒中后神经

血管单元的形成中起着重要的作用。

本实验用 NSS 法全面评估脑梗死大鼠神经功能障碍(包括运动功能、感觉功能和平衡功能等)恢复的情况, 结果显示, 实验组 NSS 评分逐渐下降, 术后各时间点之间均有非常显著性差异( $P<0.01$ ), 而对照组直到术后 14 d 时 NSS 评分才出现明显下降( $P<0.01$ ), 说明 LFS 治疗在术后 7 d 时已经显示出改善大鼠神经功能的作用。术后 7 d 时实验组 NSS 评分与对照组无显著性差异( $P>0.05$ ), 术后 14 d 时实验组 NSS 评分显著低于对照组( $P<0.01$ ), 提示随着 LFS 治疗时间的延长疗效更明显, 这结果与向云等研究结果<sup>[19]</sup>基本一致。

综上所述分析显示, 早期 LFS 治疗对于脑梗死大鼠神经功能障碍的恢复有益。本研究显示, 术后 7 d 和 14 d 实验组的 SDF-1 含量均明显高于对照组( $P<0.01$ ), 实验组和对照组术后 14 d SDF-1 含量均低于术后 7 d, 其中, 实验组术后 7 d 和 14 d 之间无显著性差异( $P>0.05$ ), 而对照组术后 7 d 和 14 d 之间则有非常显著性差异( $P<0.01$ ), 提示实验组 SDF-1 含量一直维持在较高水平, 而对照组则有降低至低水平的趋势。可见, LFS 治疗可能激活了 SDF-1/CXCR4 轴, 推测 LFS 正是通过这一作用促进脑梗死大鼠神经功能障碍恢复。

成年大鼠的神经生发中心为 SVZ 和海马齿状回(dentate gyrus, DG)的颗粒下层(subgranular layer, SGL), 故本实验选取脑梗死侧 SVZ 作为观察区域<sup>[20]</sup>。BrdU 是一种胸腺嘧啶核苷类似物, 在细胞增殖周期的 S 期可替代胸腺嘧啶嵌入正在复制的细胞核 DNA 中, 广泛应用于标记增殖的细胞, 常作为 NSC 增殖的标记物, 具有半衰期长、可遗传到子代细胞的特点<sup>[21]</sup>。因此, 本实验用 BrdU 标记 NSC。本研究的 BrdU 免疫荧光检测结果与 Matsumoto 等研究结果<sup>[22]</sup>相近, 假手术组各时间点均发现少量 BrdU 阳性细胞, 可见非脑梗死状态下大鼠脑内亦有少量的 NSC 存在。术后 7 d 和 14 d 实验组和对照组 BrdU 阳性细胞数均明显高于假手术组( $P<0.01$ )。这提示脑梗死是刺激大鼠脑内 NSC 增殖的一个重要因素。术后 7 d 和 14 d 实验组 BrdU 阳性细胞数均明显高于对照组( $P<0.01$ ), 表明脑梗死虽能刺激大鼠脑部 NSC 增殖, 但增殖的程度并不高, 而 LFS 能促进脑梗死大鼠脑部的 NSC 的增殖。增殖后的 NSC 可能转化为星形胶质细胞、少突细胞, 甚至神经元, 参与神经损伤处神经网络结构与功能的重组, 修复受损的脑组织<sup>[23]</sup>。实验组术后 14 d BrdU 阳性细胞数明显低于术后 7 d ( $P<0.01$ ), 说明部分增殖的 NSC 难以存活。本课题对于 NSC 的分化、迁移及增殖 NSC 的存活率未作进一步的观察, 将是今后研究

的方向。

VEGF 被证明是对血管形成有关键特异性作用的生长因子,在启动脑缺血后血管新生调控中,起着中心环节的作用<sup>[24]</sup>,故本实验检测 VEGF 以了解脑卒中后大鼠的血管再生情况。本研究显示,假手术组术后 7 d 和 14 d VEGF 含量均较低,且无显著性差异( $P>0.05$ )。提示非脑梗死大鼠血管再生并不活跃。术后 7 d 和 14 d 对照组和实验组 VEGF 含量均高于假手术组( $P<0.05$ ),表明脑梗死能刺激大鼠脑部的血管再生。术后 7 d 和 14 d 实验组 VEGF 含量均明显高于对照组( $P<0.01$ ),这说明 LFS 能促进脑梗死大鼠缺血侧脑部的血管再生,且血管再生的程度较未接受 LFS 治疗的脑梗死大鼠为高。血管再生能为 NSC 营造良好的微环境,使 NSC 能更好地修复受损脑组织。本实验结果提示, LFS 可能通过激活 SDF-1/CXCR4 轴,促进神经和血管再生,营造良好的微环境,利于脑梗死大鼠受损脑组织的修复。该通路阻断的反证研究、SDF-1/CXCR4 轴与神经血管发生的相关性研究等内容,我们将在今后的实验中进行探讨。

本研究的结果显示, LFS 能够改善脑梗死大鼠的神经功能,并能上调梗死侧脑组织的 BrdU 阳性细胞数和 VEGF 含量,其可能的机制就是通过激活 SDF-1/CXCR4 轴,至于有无其他通路激活和神经发生、血管再生的交互关系值得深入研究。

#### [参考文献]

- [1] Sasaki K, Matsunaga T, Tomite T, et al. Effect of electrical stimulation therapy on upper extremity functional recovery and cerebral cortical changes in patients with chronic hemiplegia [J]. Biomed Res, 2012, 33(2): 89-96.
- [2] Thrasher TA, Zivanovic V, McIlroy W, et al. Rehabilitation of reaching and grasping function in severe hemiplegic patients using functional electrical stimulation therapy [J]. Neurorehabil Neural Repair, 2008, 22(6): 706-714.
- [3] Becker D, Gary DS, Rosenzweig ES, et al. Functional electrical stimulation helps replenish progenitor cells in the injured spinal cord of adult rats [J]. Exp Neurol, 2010, 222(2): 211-218.
- [4] Minger SL, Ekonomou A, Carta EM, et al. Endogenous neurogenesis in the human brain following cerebral infarction [J]. Regen Med, 2007, 2(1): 69-74.
- [5] Wu Y, Peng H, Cui M, et al. CXCL12 increases human neural progenitor cell proliferation through Akt-1/FOXO3a signaling pathway [J]. J Neurochem, 2009, 109(4): 1157-1167.
- [6] 方杰,胡昔权. 功能训练对脑梗死后神经干细胞影响的研究进展[J]. 中国康复医学杂志, 2009, 24(4): 374-376.
- [7] Balabanian K, Lagane B, Infantino S, et al. The chemokine SDF-1/CXCL12 binds to and signals through the orphan receptor RDC1 in T lymphocytes [J]. J Biol Chem, 2005, 280(42): 35760-35766.
- [8] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.
- [9] Chen J, Sanberg PR, Li Y, et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats [J]. Stroke, 2001, 32(11): 2682-2688.
- [10] Ke Z, Yip SP, Li L, et al. The effects of voluntary, involuntary, and forced exercises on brain-derived neurotrophic factor and motor function recovery: a rat brain ischemia model [J]. PloS One, 2011, 6(2): e16643.
- [11] Wojtowicz JM, Kee N. BrdU assay for neurogenesis in rodents [J]. Nat Protoc, 2006, 1(3): 1399-1405.
- [12] Martino G, Pluchino S. The therapeutic potential of neural stem cells [J]. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(5): 395-406.
- [13] Tavazoie M, Van der Veken L, Silva-Vargas V, et al. A specialized vascular niche for adult neural stem cells [J]. Cell Stem Cell, 2008, 3(3): 279-288.
- [14] Ohab JJ, Fleming S, Blesch A, et al. A neurovascular niche for neurogenesis after stroke [J]. J Neurosci, 2006, 26(50): 13007-13016.
- [15] Moll NM, Ransohoff RM. CXCL12 and CXCR4 in bone marrow physiology [J]. Expert Rev Hematol, 2010, 3(3): 315-322.
- [16] Shen LH, Li Y, Chen J, et al. Therapeutic benefit of bone marrow stromal cells administered 1 month after stroke [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2006, 27(1): 6-13.
- [17] Gong X, He X, Qi L, et al. Stromal cell derived factor-1 acutely promotes neural progenitor cell proliferation in vitro by a mechanism involving the ERK1/2 and PI-3K signal pathways [J]. Cell Biol Int, 2006, 30(5): 466-471.
- [18] Teng H, Zhang ZG, Wang L, et al. Coupling of angiogenesis and neurogenesis in cultured endothelial cells and neural progenitor cells after stroke [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2007, 28(4): 764-771.
- [19] 向云,燕铁斌,庄志强,等. 功能性电刺激促进急性脑梗死大鼠脑源性神经干细胞增殖的研究[J]. 中华神经医学杂志, 2009, 8(12): 1197-1202.
- [20] Jiao J, Feldheim DA, Chen DF. Ephrins as negative regulators of adult neurogenesis in diverse regions of the central nervous system [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(25): 8778-8783.
- [21] Taupin P. BrdU immunohistochemistry for studying adult neurogenesis: paradigms, pitfalls, limitations, and validation [J]. Brain Res Rev, 2007, 53(1): 198-214.
- [22] Matsumoto J, Morioka M, Hasegawa Y, et al. Sodium orthovanadate enhances proliferation of progenitor cells in the adult rat subventricular zone after focal cerebral ischemia [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2006, 318(3): 982-991.
- [23] Christophidis LJ, Gorba T, Gustavsson M, et al. Growth hormone receptor immunoreactivity is increased in the subventricular zone of juvenile rat brain after focal ischemia: A potential role for growth hormone in injury-induced neurogenesis [J]. Growth Horm IGF Res, 2009, 19(6): 497-506.
- [24] Arany Z, Foo SY, Ma Y, et al. HIF-independent regulation of VEGF and angiogenesis by the transcriptional coactivator PGC-1alpha [J]. Nature, 2008, 451(7181): 1008-1012.

(收稿日期:2013-09-29 修回日期:2013-11-04)