

· 实验研究 ·

碱性成纤维细胞生长因子对大鼠局灶性

脑缺血的保护作用与 bax 表达

李志欣 贺能树 张云亭 田俊芝 刘长宏

【摘要】 目的 观察动脉内溶栓与碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)联合治疗对大鼠缺血性脑梗死面积的影响,并探讨 bFGF 的保护机制。方法 将 50 只雄性 Wistar 大鼠,用血栓栓塞法制备大脑中动脉缺血模型,于缺血 4h 后随机分为:1. 单纯溶栓组 2. 溶栓与 bFGF 联合治疗组。分别在治疗后不同时间点观察大鼠神经功能缺陷和 MRI T2WI 显示病变面积的变化,采用免疫组化法检测各时间点 bax 的表达。结果 在单纯溶栓组,脑缺血再灌注 3h 时, bax 表达开始增加,再灌注 12h 时达到高峰;与单纯溶栓组比较,溶栓与 bFGF 联合治疗 6h 后, MRI T2WI 显示病变面积显著缩小($P < 0.05$), bax 表达明显减弱($P < 0.05$)。结论 bFGF 对大鼠局灶性缺血具有保护作用,可降低 bax 表达,抑制细胞凋亡可能是其作用机制之一。

【关键词】 脑缺血;碱性成纤维细胞生长因子;脑保护;大鼠

The neuroprotection effects of basic fibroblast growth factor on focal cerebral ischemia in rats and the expression of bax LI Zhixin, HE Nengshu, ZHANG Yunting, et al. Department of Radiology, the General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

【Abstract】 Objective To study the effect of intra-arterial thrombolysis in combination with basic fibroblast growth factor(bFGF), and the protecting mechanism of the bFGF. Methods 50 male Wistar rats were subjected to middle cerebral artery occlusion(MACO) for 4 hours by a single fibrin-rich clot. The rats were randomly assigned to the following two experimental groups: 1) treatment with urokinase alone; 2) treatment with urokinase and bFGF. The neurological deficits and the volume of lesions on MRI T2WI were observed at different periods after therapy. The expression of bax were analyzed by immunohistochemical method at each time point. Results Bax expression increased at 3 hours after reperfusion, and reached the peak level at 12h reperfusion. At 6h after therapy, expression of bax($P < 0.05$) and the volume of lesions($P < 0.05$) on MR T2WI were significantly reduced in group 2 comparing with those in group 1. Conclusions bFGF provides neuroprotection on focal cerebral ischemia in rats, and reduces the expression of bax. Suppressing the apoptosis of damaged neurons after reperfusion is probably one of the protection mechanism.

【Key words】 Cerebral ischemia; Basic fibroblast growth factor; Neuroprotection; Rat

对于脑缺血的治疗,溶栓可以重建血流,增加缺血区的血供,但同时带来的再灌注损伤是目前急需解决的问题。实验证明,再灌注损伤涉及多重病理生理机制,因此,在恢复血流的同时,采取针对不同损伤机制的神经保护治疗,可减轻再灌注损伤。近年来,碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)对缺血性脑损伤的保护作用备受关注^[1,2]。本研究采用局灶性脑缺血模型,观察动脉内溶栓与 bFGF 联合应用对脑梗死面积等的影响,并通过凋亡相关蛋白 bax 表

达的变化,探讨 bFGF 的保护机制。

材料和方法

一、材料

(一)实验动物 健康雄性 Wistar 大鼠 50 只,体重 270~300g,由天津医学动物中心提供。

(二)试剂 bFGF(美国, Sigma 公司), bax 多克隆抗体(美国, Sigma 公司), SABC 免疫组化试剂盒(武汉博士德生物公司)。

二、方法

(一)动物模型制备 将大鼠用 10% 水合氯醛(300mg/kg)腹腔注射麻醉,仰卧位固定,颈部正中

切口,分离右侧颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉,将颈外动脉远端结扎并切断,反向拉直,颈外动脉切口,插入 PE50 导管,沿颈内动脉向前推进约 15mm,至大脑中动脉开口处,经导管将约 1 μ l 的自体血凝块注入到大脑中动脉开口处。模型成功的标准为出现确切的神经功能损害症状和(或)MR 出现长 T2 信号。

(二)实验分组 大脑中动脉闭塞 4h 后,将大鼠随机分为 2 组。第 1 组为单纯尿激酶治疗组:经导管缓慢持续注入尿激酶(600 IU/kg),分别于再灌注后 0.5、3、6、12、24h 进行 MRI 检查。每个时间点 5 只。第 2 组为尿激酶和 bFGF 联合治疗组:以同样方法经导管注入尿激酶和 bFGF(10 μ g/kg),在相同的时间点行 MRI 检查。每个时间点 5 只。

(三)标本采集和免疫组化检测 各组大鼠在到达规定的时间点后,腹腔内注射过量水合氯醛深麻醉处死,断头取脑组织。于额极后 5mm 处取材,4%多聚甲醛磷酸缓冲液固定,石蜡常规包埋,并制成 4~5 μ m 厚的连续冠状切片。bax 免疫组化染色步骤按试剂盒操作说明进行。结果判定采用病理图像分析仪,胞浆或胞核有棕色颗粒者为阳性细胞,细胞计数以阳性细胞占视野内细胞总数的百分比为标准。

(四)神经功能评分 所有大鼠脑缺血 4h 和治疗后 24h 的神经功能用改良的 Zea-Longa 量表进行评分 0 分,神经功能正常;1 分,提尾时左前爪不能完全伸直;2 分,行走时向左侧转圈;3 分,站立时向左侧倾倒;4 分,无自发行走及意识障碍。

(五)MR 检查和脑梗死面积测量 按前采用 GE 1.5T MRI 机,冠状面快速自旋回波(FSE)成像。T2WI 序列参数:视野(FOV)8 cm \times 4 cm,层厚 3 mm,层间距 0.5 mm,TR 4000 ms,TE86 ms,矩阵 512 \times 256,3 次激励,图像采集时间 150s。在 T2WI

显示病灶范围最大的层面测量高信号区的面积,并与同层同侧大脑半球面积相比,计算半球异常面积比例。

结 果

一、脑缺血再灌注时 bax 表达的变化

单纯尿激酶组缺血再灌注 0.5h,可见少量 bax 阳性表达,主要分布在缺血侧额顶皮质区和基底节区。再灌注 3h 后额顶皮质区阳性免疫细胞表达开始增强,再灌注 6h,表达明显增强($P<0.05$),于再灌注 12h 达到高峰,再灌注 24h,阳性表达减弱,基底节区阳性细胞减少。

bFGF 联合治疗组 bax 表达的分布范围与单纯尿激酶组一样,主要在额顶皮质区,于再灌注 3h 开始增加,再灌注 6~24 h bax 表达较单纯尿激酶组明显减弱($P<0.05$,见表 1)。

二、脑缺血再灌注时脑梗死面积的变化

由表 1 可以看出,单纯尿激酶组缺血 4h 时 T2WI 异常信号局限于基底节区,再灌注 0.5h 后异常信号略有扩大,再灌注 3h 后额顶皮质出现异常信号,再灌注 6~24h 时,异常信号的面积显著增加。bax 表达阳性细胞数与 T2WI 异常信号面积呈正相关($r=0.41, P<0.05$)。

bFGF 联合治疗组异常信号出现的部位与单纯尿激酶组相同,主要位于基底节区,再灌注 0.5h 和 3h 时,异常信号的范围与单纯尿激酶组无明显差异,再灌注 6~24h 时,异常信号向额顶叶皮质扩大,各时间点均明显小于同一时刻的单纯尿激酶组。

三、神经功能损害评分

单纯尿激酶组脑缺血 24h 的神经功能损害评分高于再灌注 4h,置 bFGF 联合治疗组再灌注 24h 的神经功能损害评分低于缺血 4h,但各组比较差异无显著性($P>0.05$),见表 2。

表 1 各组不同时间点 T2WI 异常信号面积和 bax 表达变化

组别	bFGF 联合治疗组		单纯尿激酶组	
	面积(%)	bax(%)	面积(%)	bax(%)
缺血4h	13.4 \pm 1.8	8.3 \pm 0.9	13.2 \pm 1.6	8.5 \pm 0.7
再灌注0.5h	14.9 \pm 1.2	10.1 \pm 0.8	14.2 \pm 1.5	10.5 \pm 0.6
3h	16.6 \pm 1.3	11.8 \pm 0.9	19.2 \pm 2.1	12.1 \pm 0.9
6h	22.5 \pm 1.6*	13.4 \pm 1.1	31.2 \pm 1.8**	18.9 \pm 1.2**
12h	24.5 \pm 2.9*	14.5 \pm 0.7*	36.4 \pm 1.9**	21.6 \pm 1.1**
24h	25.6 \pm 2.1*	13.2 \pm 1.6*	39.7 \pm 1.4**	19.5 \pm 0.8**

*表示各组不同时间点比较, $P<0.05$; **表示 bFGF 联合治疗组与单纯尿激酶组比较, $P<0.05$ 。

表 2 bFGF 联合治疗对大鼠神经功能损害评分的影响

组别	2h	24h	P 值
单纯尿激酶组	2.4±1.0	2.5±1.4	0.23
bFGF 联合治疗组	2.2±0.6	2.11±0.9	0.06

讨 论

近年研究表明,缺血性脑损伤存在坏死和凋亡两种形式。凋亡主要发生在轻、中度缺血的半暗带区并伴有多种凋亡相关基因和蛋白的表达^[3,4]。现已证实,bax 是 bcl-2 基因家族中的主要促凋亡基因,脑缺血后可过度表达^[5]。本研究结果显示,bax 蛋白的表达水平和分布与脑缺血再灌流的程度有关,再灌流早期,缺血周边区额顶叶皮质和缺血中心基底节区均有 bax 阳性表达,并随再灌流时间的不同,其表达水平不同,缺血周边区于再灌流 12h 达到高峰,再灌流 24h 时表达减弱,基底节区随再灌流时间的延长,bax 阳性表达则逐渐下调,提示基底节区神经元对缺血敏感,缺乏侧支循环代偿,早期即形成坏死灶,缺血周边区表达 bax 的神经元可能随时间延长而凋亡。这与 bax 诱导神经元凋亡的观点一致,认为缺血可引起 bax 由胞浆移位到线粒体膜,随后出现线粒体 Cyt 缺失和细胞凋亡^[6]。

MRI 对氢质子比较敏感,T2WI 上异常信号出现的时间与血脑屏障破坏、间质水肿的出现时间相一致^[7]。本研究发现,bFGF 虽不能减轻缺血中心基底节区的神经元缺血损伤,但可有效阻止再灌流 3h 后额顶叶长 T2 信号面积的增加,提示缺血周边区存在可逆性脑损伤。从 bax 表达时程和空间分布与 MRI 长 T2 信号面积之间的相关性分析,这可能与 bFGF 抑制缺血周边区细胞凋亡有关。

bFGF 是一种具有多种生物活性的神经营养因子,其受体位于细胞膜表面,至少存在 4 种受体亚型,分布于神经元、胶质细胞、成纤维细胞、内皮细胞等多种细胞。bFGF 与受体结合,引起受体二聚化,产生信号传导和细胞效应^[8,9]。离体实验证实 bFGF 能促进神经元存活和突起生长^[10]。在体内,具有保护神经元免受机械性损伤并能阻止缺血后神经元死亡的作用^[1,11]。其确切机制尚不清楚,目前认为与抗兴奋性氨基酸毒性、维持细胞内 Ca²⁺ 稳定、降低 NO 神经毒性等有关。用核素标记法检测,正常情况下,外源性 bFGF 不能通过血脑屏障,当脑组织受到各种损伤时,bFGF 可以通过血脑屏障发

挥其神经保护作用^[11]。

本研究中我们探讨了脑缺血 4h 后溶栓与 bFGF 神经保护联合治疗可以减轻脑缺血溶栓后的再灌注损伤,结果表明,尿激酶与 bFGF 联合治疗可显著缩小脑梗死的面积,抑制 bax 诱导的神经元凋亡,提示溶栓治疗后与神经保护联合治疗可以产生协同作用,减轻再灌注损伤,延长脑梗死溶栓治疗时间窗。

本实验结果显示,bFGF 对脑缺血具有保护作用,其保护机制与抑制神经元凋亡有关,通过神经保护治疗阻止神经元凋亡的发生和发展将为脑缺血的治疗提供新的思路。

参 考 文 献

1. Kawamata T, Alexis NE, Dietrich WD, et al. Intracisternal basic fibroblast growth factor enhances behavioral recovery following focal cerebral infarction in the cat. J Cereb Blood Flow Metab, 1996, 16 :542-548.

2. Cuevas P, Carceller F, Gimenez G, et al. Basic fibroblast growth factor and cerebral ischemia. Neurol Res, 1994, 16 :181-188.

3. Chopp M, Chen PH, Hsu CY, et al. DNA damage and DNA repair in central nervous system injury. Stroke, 1996, 27 :363-369.

4. Hatun R, Nies G, Wiessner C, et al. Differential expression of c-fos and Hsp 72mRNA in focal cerebral ischemia of mice. Neuroreport, 1998, 9 :27-32.

5. Krajewski S, Mai JK, Krajewska M, et al. Upregulation of bax protein levels in neurons following cerebral ischemia. J Neurosci, 1995, 15 :6364-6376.

6. Putcha GV, Deshmukh M, Johnson EM, et al. Bax translocation is a critical event in neuronal apoptosis: regulation by neuroprotectants, bcl-2 and caspase. J Neurosci, 1999, 19 :7476-7485.

7. Knight RA, Dereski MD, Helpert JA, et al. Magnetic resonance imaging assessment of evolving focal cerebral ischemia: comparison with histopathology in rats. Stroke, 1994, 25 :1252-1262.

8. Seth P, Ahmed K, Cornelio G, et al. Basic fibroblast growth factor protects cerebrocortical neurons against excitatory amino acid toxicity in vitro. Stroke, 1993, 12 :142-148.

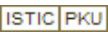
9. Mark P, Bin C. Growth factor protect neurons against excitotoxic ischemia damage by stabilizing calcium homeostasis. Stroke, 1993, 12 :136-142.

10. Matsuda S, Saito H, Nishiyama N. Effects of basic fibroblast growth factor on neurons cultured from various regions of postnatal rat brain. Brain RES, 1990, 520 :310-316.

11. Tanaka R, Miyasaka Y. Basic fibroblast growth factor increase regional cerebral blood flow and reduces infarct size after experimental ischemia in a rat model. Stroke, 1995, 26 :2154-2159.

(收稿日期 2001-04-08)

bax表达

作者：[李志欣](#)，[贺能树](#)，[张云亭](#)，[田俊芝](#)，[刘长宏](#)
作者单位：[天津医科大学总医院放射科](#)
刊名：[介入放射学杂志](#) 
英文刊名：[JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY](#)
年，卷(期)：2001，10(3)
被引用次数：4次

参考文献(11条)

- 1.[Kawamata T](#).[Alexis NE](#).[Dietrich WD](#) Intracisternal basic fibroblast growth factor enhances behavioral recovery following focal cerebral infarction in the cat 1996
- 2.[Cuevas P](#).[Carceller F](#).[Gimenz G](#) Basic fibroblast growth factor and cerebral ischemia 1994
- 3.[Chopp M](#).[Chen PH](#).[Hsu CY](#) DNA damage and DNA repair in central nervous system injury 1996
- 4.[Hatun R](#).[Nies G](#).[Wiessner C](#) Differential expression of c-fos and Hsp 72mRNA in focal cerebral ischemia of mice 1998
- 5.[Krajewski S](#).[Mai JK](#).[Krajewska M](#) Upregulation of bax protein levels in neurons following cerebral ischemia 1995
- 6.[Putcha GV](#).[Deshmukh M](#).[Johnson EM](#) Bax translocation is a critical event in neuronal apoptosis: regulation by neuroprotectants, bcl-2 and caspase 1999
- 7.[Knight RA](#).[Dereski MD](#).[Helpert JA](#) Magnetic resonance imaging assesment of evolving focal cerebral ischemia: comparison with histopathology in rats 1994
- 8.[Seth P](#).[Ahmed K](#).[Cornelio G](#) Basic fibroblast growth factor protects cerebrocoritical neurons against excitatory amino acid toxicity in vitro 1993
- 9.[Mark P](#).[Bin C](#) Growth factor protect neurons against excitotoxic ischemia damage by stabilizing calcium homeostasis 1993
- 10.[Matsuda S](#).[Saito H](#).[Nishiyama N](#) Effects of basic fibroblast growth factor on neurons cultured from various regions of postnatal rat brain 1990
- 11.[Tanaka R](#).[Miyasaka Y](#) Basic fibroblast growth factor increase regional cerebral blood flow and reduces infarct size after experimental ischemia in a rat modal 1995

相似文献(10条)

1. 期刊论文 [张海峰](#).[崔海](#).[唐强](#) 头皮针对脑缺血大鼠模型碱性成纤维细胞生长因子的影响 -针刺研究2003, 28(1)
目的:研究头皮针对脑缺血大鼠模型碱性成纤维细胞生长因子的影响,并与电针组比较.方法:线栓法制备大鼠脑缺血模型,甲醛固定脑组织切片,运用免疫组化方法检测各组碱性成纤维细胞生长因子的变化情况.结果:术后6 h与术后15天内神经功能评分比较,模型组无明显差异(P>0.05),电针组与针刺组有显著性差异(P<0.01).组间15天时比较,电针组与针刺组无明显差异(P>0.05),两组与模型组比较均有显著性差异(P<0.01).在第15天时碱性成纤维细胞生长因子免疫组化染色比较,电针组与模型组有明显差异(P<0.05),针刺组与模型组有显著性差异(P<0.01),针刺组与电针组有明显差异(P<0.05).结论:头皮针可促进碱性成纤维细胞生长因子产生并延长碱性成纤维细胞生长因子产生时限,这可能是头皮针减轻脑缺血损伤并促使肢体功能恢复的机理之一.
2. 期刊论文 [刁利红](#).[于海波](#).[皮敏](#).[罗文舒](#).[饶晓丹](#).[刘远声](#).[杨卓欣](#).[Diao Li-hong](#).[Yu Hai-bo](#).[Pi Min](#).[Luo Wen-shu](#).
[Rao Xiao-dan](#).[Liu Yuan-sheng](#).[Yang Zhuo-xin](#) 电针任脉和肌肉注射碱性成纤维细胞生长因子对脑缺血模型大鼠侧脑室下区原位神经干细胞增殖的影响 -中国组织工程研究与临床康复2008, 12(8)
目的:近期的研究认为,针刺任脉治疗脑卒中的机制在于针刺任脉可能产生与干细胞增殖分化有一些联系的生长因子.脑缺血损伤后调动内源性神经干细胞试图自我修复的途径应是多元化的,针刺及外源性生成因子的给予为其不同的途径.实验拟观察电针任脉和肌肉注射碱性成纤维细胞生长因子对脑缺血模型大鼠缺血侧脑室下区5'-溴-2'-脱氧尿苷和5'-溴-2'-脱氧尿苷/巢蛋白阳性细胞的表达的影响.方法:实验于2004-09/2005-07在中山大学医学院解剖学实验室完成.①材料:选用成年健康雄性Wistar大鼠83只.将实验动物按随机抽签法分为5组:空白对照组6只、假手术组6只、模型组26只、电针任脉组23只、碱性成纤维细胞生长因子组22只.后3组又分为缺血后7,14和28 d 3个时间点进行观察.②干预:除空白对照组和假手术组外,其余大鼠采用线栓法制作局灶性脑缺血模型.再灌注后参考Longa神经病学评分标准,1~4分为造模成功.空白对照组不作任何处理;假手术组仅分离右侧颈总动脉并离断右颈外动脉,不予栓塞.电针任脉组大鼠于造模后第2天采用上海华谊医用仪器厂生产的G6805 II型电针仪针刺承浆、气海、关元3穴,针刺后加电,疏密波刺激(疏波30 Hz,密波100 Hz),强度6~15 V,以身体相应部位出现轻微颤动为准,持续时间为20 min.碱性成纤维细胞生长因子组:再灌注后立即给药,肌注碱性成纤维细胞生长因子4 000

U/d, 此后每天肌注碱性成纤维细胞生长因子, 1次/d. 模型组、假手术组大鼠于造模后第2天固定于针刺操作台上20 min, 不予针刺. 空白对照组大鼠不作任何处理. ③观察指标: 通过免疫荧光方法测定侧脑室下区5-溴-2'-脱氧尿苷和5-溴-2'-脱氧尿苷/巢蛋白阳性细胞的表达. 用Olympus FV 500激光共聚焦显微镜系统, 在200倍镜下, 计数平均5个视野阳性细胞数. 结果: 造模成功大鼠54只及空白对照组和模型组各6只进入结果分析. 侧脑室5-溴-2'-脱氧尿苷阳性细胞数和5-溴-2'-脱氧尿苷/巢蛋白双标细胞: 空白对照组与假手术组比较, 差异无显著性意义($P > 0.05$). 模型组与空白对照组相比, 均有不同程度的增加, 其中造模后7和14 d差异有显著性意义($P < 0.01$). 电针任脉组和碱性成纤维细胞生长因子组造模后3个时间点与模型组比较, 均有较大程度的增加, 差异有显著性意义($P < 0.05 \sim 0.01$). 碱性成纤维细胞生长因子组与电针任脉组相比, 差异无显著性意义($P > 0.05$). 结论: 电针任脉和肌肉注射碱性成纤维细胞生长因子均可促进局灶性缺血模型大鼠原位神经干细胞增殖, 且两者作用相当.

3. 学位论文 [赵晓春](#) [异丙酚、咪唑安定、硫喷妥钠对脑缺血大鼠碱性成纤维细胞生长因子表达的影响](#) 2005

目的: 观察异丙酚、咪唑安定、硫喷妥钠对大鼠局灶性脑缺血/再灌注时脑组织碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)表达水平的影响, 从缺血后细胞增殖和分化的角度探讨静脉麻醉药物对脑缺血保护的作用机制。

方法

采用雄性SD大鼠, 制作可逆性大脑中动脉缺血(MCAO)再灌注模型, 缺血2h后随机分为4组, 再灌注同时腹腔分别注射生理盐水、异丙酚、咪唑安定、硫喷妥钠($50\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 再灌注6h、24h后断头取脑. 观察大鼠神经行为损伤的改变, 采用红四氮唑染色观察脑梗死体积的变化, 用免疫组织化学方法及Western-blot方法观察缺血区bFGF的表达水平变化。

结果

脑缺血2h再灌注6h、24h后, 生理盐水对照组神经功能缺损逐渐加重, 脑梗死体积明显增加. 异丙酚组和咪唑安定组与对照组相比可明显改善大鼠神经功能障碍($P < 0.05$), 而硫喷妥钠组与对照组比无明显差异($P > 0.05$). 异丙酚和咪唑安定可明显降低脑缺血再灌注后的脑梗死体积($P < 0.01$), 而硫喷妥钠作用不显著($P > 0.05$).

脑缺血再灌注后, 缺血灶周围bFGF表达水平升高, 阳性细胞主要以神经元、神经胶质细胞为主. 免疫组化和Western-blot结果均表明异丙酚组和咪唑安定组缺血灶周围bFGF表达水平明显高于对照组($P < 0.05$), 而硫喷妥钠组与对照组相比无明显变化($P > 0.05$).

结论

异丙酚和咪唑安定对脑缺血大鼠有脑保护作用, 这可能与其促进和增强脑缺血周围区bFGF的表达, 进而减轻神经元的损伤, 促进细胞的增殖和分化有关。

4. 期刊论文 [李晓波](#) [丁新生](#) [潘风华](#) [张炜明](#) [邓晓萱](#) [姚娟](#) [碱性成纤维细胞生长因子、表皮生长因子对脑缺血大鼠内源性神经干细胞增殖的影响](#) -临床神经病学杂志2006, 19(3)

目的探讨碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、表皮生长因子(EGF)对大鼠局灶性脑缺血模型内源性神经干细胞增殖的影响. 方法通过大脑中动脉阻塞法建立大鼠的局灶性脑缺血模型, 随机分组后分别皮下注射生理盐水、bFGF、EGF以及bFGF+EGF;每日1次, 共3 d, 此后每3 d 1次. 采用免疫组化法, 以5-溴脱氧嘧啶尿苷(BrdU)标记神经干细胞, 观察并比较各组大鼠制模后第7 d、14 d、21 d侧脑室室管膜下区(SVZ)和海马齿状回BrdU阳性细胞的表达. 结果制模后, 各组大鼠双侧SVZ和海马齿状回均出现BrdU阳性细胞, 且阳性细胞数随时间递减;与对照组相比, 药物干预组BrdU阳性细胞数显著增加($P < 0.05 \sim 0.01$);与单药组相比, bFGF+EGF组(联合组)BrdU阳性细胞数增加更明显($P < 0.05 \sim 0.01$);各药物干预组在制模第7 d BrdU阳性细胞数最多($P < 0.05 \sim 0.01$). 结论皮下注射bFGF、EGF可促进脑缺血大鼠模型内源性神经干细胞的增殖; bFGF和 EGF联合应用对脑缺血大鼠神经干细胞的增殖效应有协同作用。

5. 期刊论文 [徐曦](#) [肖新莉](#) [郑建云](#) [刘勇](#) [脑缺血组织nestin蛋白重新表达及其与碱性成纤维细胞生长因子表达的关系](#) -西安交通大学学报(医学版) 2004, 25(4)

目的研究缺血脑组织nestin蛋白重新表达和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)表达的关系. 方法建立永久性脑缺血大鼠模型, 采用免疫组化染色方法, 观察脑缺血后1、3、7、14、28 d脑组织nestin蛋白和bFGF的表达. 结果缺血后1~3 d缺血灶附近nestin免疫阳性细胞大量出现, 缺血7 d开始减少;而bFGF免疫阳性细胞在缺血14 d大量出现, 缺血28 d开始减少. 结论缺血脑组织重新表达nestin蛋白不需要bFGF的营养和支持, 缺血脑组织周围的nestin免疫阳性细胞来源于重演胚胎发育过程的星形胶质细胞。

6. 学位论文 [施昱丞](#) [针刺对实验性高血脂合并脑缺血大鼠星形胶质细胞影响的实验研究](#) 2007

研究目的:

近年来脑血管病的发病率呈现较快的上升趋势, 该类疾病的致残率和病死率较高. 动脉粥样硬化是脑血管病的基本病因之一, 而血脂代谢紊乱可致动脉粥样硬化, 这在国内外许多研究报道中已证实; 血脂异常与脑血管疾病密切相关。

高脂血症是引起和加重动脉粥样硬化的病理基础, 是导致脑血管疾病的重要危害因素; 高脂血症约占整个脑卒中发病率的1/3, 因此, 降低血脂对减少脑血管疾病的发病率具有重要的意义. 在临床上脑血管病患者大多有高脂血症, 而高脂血症患者在脑卒中后, 会因原本的血脂代谢紊乱, 更加重脑缺血后损伤, 比单纯性脑缺血损伤更严重; 有效地调节血脂水平就可预防脑血管疾病的发生. 因此寻找适当有效的早期干预防治措施是针灸临床与实验研究的重要课题之一。

研究方法:

(1) 首先以高脂饲料喂养大鼠造成高脂血症大鼠后, 采用氯化铁(FeCl_3)化学诱导大脑中动脉血栓闭塞模型法, 将高脂血症大鼠造成高脂合并脑缺血模型, 将动物随机分为八组, 电针术前干预及脑缺血后全程治疗;

(2) 应用生化法观察高脂大鼠脑缺血后血脂四项变化及针刺的影响;

(3) 应用神经行为学指标观察治疗后神经症状的改善情况; 应用形态学方法观察缺血侧及海马区大脑病理改变状况及针刺的作用;

(4) 采用免疫组化方法观察针刺前后大鼠缺血侧及海马区星形胶质细胞表达GFAP、HSP70、S-100 β 、vimentin等的变化;

(5) 通过双抗夹心ABC-ELISA法, 测定脑匀浆中神经生长因子(NGF)、脑源性神经营养因子(BDNF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的含量。

结论:

1. 本实验首先选用经典高脂饲料喂养大鼠6周造成高脂血症模型后, 接着再用 FeCl_3 化学诱导大脑中动脉血栓闭塞模型法造成局灶性脑缺血, 最终二种模型结合造成高脂合并脑缺血模型. 高脂合并脑缺血模型建立成功, 将可为往后的针刺对高脂合并脑缺血大鼠星形胶质细胞影响的各种实验研究及探究高脂合并脑缺血的发病机理提供正确的动物模型。

2. 脑缺血损伤过程中, 高脂血症可加重脑缺血损伤程度;

3. 针刺可以通过降低总胆固醇、低密度脂蛋白, 升高高密度脂蛋白的含量, 有效地调节血脂水平。

4. 持续电针治疗可使星形胶质细胞表达GFAP、HSP70、S-100 β 、vimentin及大脑中神经生长因子(NGF)、脑源性神经营养因子(BDNF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的含量, 在相当长时间内保持较高水平, 有利于受损神经元的修复; 电针介入治疗时间点有其重要性, 电针早期介入治疗可能是治疗高脂合并脑缺血疾病的良策, 而电针持续增高星形胶质细胞表达GFAP、HSP70、S-100 β 、vimentin及持续增高大脑中神经生长因子(NGF)、脑源性神经营养因子(BDNF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的含量, 可能是电针抗高脂合并脑缺血损伤的重要机制之一。

7. 期刊论文 [赵晓春](#) [安平](#) [吴秀英](#) [马铃](#) [陈卫民](#) [ZHAO Xiao-chun](#) [AN Ping](#) [WU Xiu-ying](#) [MA Ling](#) [CHEN Wei-min](#) [咪唑安定对脑缺血/再灌注大鼠顶叶碱性成纤维细胞生长因子表达的调节作用](#) -解剖科学进展2005, 11(4)

目的观察咪唑安定对大鼠局灶性缺血/再灌注脑组织碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)表达水平的影响, 从而探讨咪唑安定对脑缺血的作用机制. 方法采用可逆性大脑中动脉缺血再灌注模型, 再灌注同时腹腔注射咪唑安定 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 再灌注6 h、24 h后断头取脑. 观察大鼠脑梗死体积的变化, 用免疫组织化学方法及Western-blot方法观察缺血区bFGF的表达, 并进行显微图像分析. 结果顶叶缺血区周围组织可见bFGF阳性表达产物, 正常大鼠未见bFGF阳性表达产物, 咪唑安定组与生理盐水组(NS)相比梗死灶体积缩小, 免疫组化结果显示咪唑安定组脑缺血灶周围bFGF的平均光密度值高于NS组($P < 0.05$), 阳性细胞主要以神经元、神经胶质细胞为主. Western-blot结果表明咪唑安定组整合光密度值与 β -actin比值显著高于NS组($P < 0.05$). 结论咪唑安定对脑缺血性损伤的恢复作用可能与提高缺血周围区bFGF的表达有关。

8. 期刊论文 [施昱丞](#) [任秀君](#) [洪银珠](#) [图娅](#) [Shi Yu-cheng](#) [Ren Xiu-jun](#) [Hong Yin-zhu](#) [Tu Ya](#) [电针干预后高血脂合并](#)

目的:观察电针干预对高脂合并脑缺血大鼠脑匀浆脑源性神经营养因子、碱性成纤维细胞生长因子含量的影响。方法:实验于2005-03/2006-06在北京中医药大学基础医学院科研实验中心动物室、仪器室、脑功能研究室完成。选择健康清洁级成年SD大鼠50只,先根据随机数字表法分为2组,即正常对照组10只(普通饲料喂养)和高脂饲料喂养组40只。以上大鼠同期喂养6周后,高脂饲料喂养组再按随机数字表法分为4组,即高脂血症模型组、高脂合并脑缺血模型组、高脂合并脑缺血模型早期电针治疗组和高脂合并脑缺血模型晚期电针治疗组,每组10只。后3组大鼠在高脂血症造模基础上,采用氯化铁化学诱导大鼠中动脉血栓闭塞模型法,造成高脂合并脑缺血模型。①正常对照组:每天抓取1次。存活期满后(共60 d)处死取脑。②高脂血症模型组:高脂饲料喂养6周后,每天抓取1次。存活期满后(共60 d)处死取脑。③高脂合并脑缺血模型组:高脂饲料喂养6周后,不予治疗,10 d后,造成高脂合并脑缺血模型,仍不予治疗,7 d后处死取脑。治疗期间,每天抓取1次。④高脂合并脑缺血模型早期电针治疗组:造成高脂血症大鼠模型后,电针双侧“三阴交”及“丰隆”,1次/d,治疗10 d后,造成高脂合并脑缺血模型,针刺“百会”及“水沟”,同时电针双侧“三阴交”及“丰隆”,治疗7 d后处死取脑。⑤高脂合并脑缺血模型晚期电针治疗组:造成高脂血症大鼠模型后,不予任何治疗,10 d后,造成高脂合并脑缺血模型,针刺“百会”及“水沟”,同时电针双侧“三阴交”及“丰隆”,治疗7 d后处死取脑。电针于脑缺血造模术前进行干预并于术后全程治疗,通过双抗夹心ABC-ELISA法,测定各组大鼠脑匀浆中脑源性神经营养因子、碱性成纤维细胞生长因子含量。结果:45只大鼠进入结果分析,每组9只。①各组大鼠脑匀浆脑源性神经营养因子含量比较:高脂血症模型组、高脂合并脑缺血模型组均显著低于正常对照组($P<0.01$)。高脂合并脑缺血模型早、晚期电针治疗组均显著高于高脂血症模型组($P<0.05\sim0.01$)。另外高脂合并脑缺血模型早期电针治疗组也显著高于高脂合并脑缺血模型组及高脂合并脑缺血模型晚期电针治疗组($P<0.01$)。②各组大鼠脑匀浆碱性成纤维细胞生长因子含量比较:高脂血症模型组及高脂合并脑缺血模型组均显著低于正常对照组($P<0.01$)。高脂合并脑缺血模型早、晚期电针治疗组均显著高于高脂血症模型组及高脂合并脑缺血模型组($P<0.01$)。结论:持续电针治疗可使脑源性神经营养因子、碱性成纤维细胞生长因子含量在相当长时间内保持较高水平,有利于受损神经元的修复。而电针早期介入治疗可能是治疗高脂合并脑缺血疾病的良策。

9. 学位论文 方媛 碱性成纤维细胞生长因子对缺血性脑损伤保护作用的实验研究 1999

第一部分:大鼠局灶性脑缺血再灌注后bFGFmRNA及其蛋白的表达。目的:研究局灶性脑缺血再灌注后bFGFmRNA及其蛋白表达的意义及其可能机制。结论:局灶性脑缺血再灌注诱导bFGFmRNA及其蛋白的表达, MK-801抑制脑缺血后bFGFmRNA及其蛋白的表达;第二部分:大鼠缺血再灌注后HSP70蛋白的表达和bFGF对其影响。目的:研究局灶性脑缺血再灌注后HSP70蛋白表达的意义及外源性bFGF对其影响。结论:局灶性脑缺血诱导HSP70蛋白的表达,外源性bFGF增加HSP70蛋白的表达;第三部分:大鼠脑缺血再灌注后P53基因表达与细胞凋亡的关系 和bFGF对其影响。目的:研究局灶性脑缺血再灌注后P53mRNA及其蛋白的表达与细胞凋亡的关系和外源性bFGF对它们的影响。结论:脑缺血再灌注后诱导P53mRNA及其蛋白的表达和细胞凋亡,外源性bFGF抑制脑缺血再灌注后P53基因的表达和细胞凋亡。

10. 期刊论文 段淑荣. 王慧慧. 戚基萍. 滕文丽. 徐冉. 王德生. 王海涛. DUAN Shu-rong. WANG Hui-hui. QI Ji-ping.

TENG Wen-li. XU Ran. WANG De-sheng. WANG Hai-tao 脑缺血后碱性成纤维细胞生长因子、表皮生长因子对内源性神

经干细胞增殖的影响 -中华医学杂志2008, 88 (47)

目的 观察人脑梗死后室管膜下区(SVZ)及海马齿状回颗粒层(SGZ)区域碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、表皮生长因子(EGF)的表达规律,并探讨其对内源性神经干细胞增殖的影响。方法 (1)选取因脑梗死而死亡的尸检脑标本22例,并按缺血时间(发病至死亡的时间)分为5组,选取因其他疾病死亡(无脑缺血)的尸检脑标本5例为对照组。(2)采用HE染色、免疫组织化学技术观察不同时间点梗死侧侧脑室SVZ区和ISGZ区nestin、bFGF、EGF在不同时间点的表达和变化规律。结果 应用SPSS 13.0软件进行统计学分析。结果 (1)与对照组相比,梗死侧SVZ区nestin阳性细胞在24~70 h组开始增加[(144±6)个/高倍视野],SGZ区在4.5~10 h组开始增加[(11±5)个/高倍视野],120~144 h组达到高峰,SVZ区[(38±7)个/高倍视野],SGZ区[(54±17)个/高倍视野]。216~336 h组逐渐减弱,与对照组比,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。(2)梗死侧bFGF阳性细胞在4.5~10 h组开始增加,SVZ区[(8.1±2.9)个/高倍视野],SGZ区[(19.0±8.2)个/高倍视野],24~70 h组达到高峰SVZ区[(15.6±3.5)个/高倍视野],SGZ区[(32.0±5.7)个/高倍视野],72~96 h组开始下降。但仍高于对照组($P<0.05$)。(3)梗死侧EGF阳性细胞在4.5~10 h组开始增加,SVZ区[(4.3±1.6)个/高倍视野],SGZ区[(7.0±3.7)个/高倍视野],120~144 h组达到高峰SVZ区[(27.0±1.4)个/高倍视野],SGZ区[(51.5±4.9)个/高倍视野],216~336 h组开始下降,但仍高于对照组($P<0.05$)。结论 (1)脑缺血后bFGF、EGF表达上调,这可能是脑组织神经元损伤后的一种内源性修复反应。(2)bFGF、EGF可以激活来自于中枢神经系统不同区域的神经元前体细胞潜在的再生能力,促进内源性神经干细胞增殖。

引证文献(4条)

1. 张秋霞. 赵晖 侯氏黑散对MCAO大鼠大脑皮质TGF- β 1 bFGF蛋白表达的影响[期刊论文]-辽宁中医杂志 2007 (2)
2. 于文涛. 杨牧祥. 徐华洲 中风康对局灶性脑缺血大鼠脑组织bFGFmRNA表达的影响[期刊论文]-中国老年学杂志 2006 (1)
3. 何小兵. 张靖. 李成昌 成纤维细胞生长因子-2介入治疗周围血管缺血性疾病实验研究[期刊论文]-现代医院 2005 (8)
4. 张靖. 杨文铎 兔缺血性肢体bFGF动脉内灌注实验研究[期刊论文]-介入放射学杂志 2005 (1)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfsxzz200103013.aspx

授权使用: qkahy(qkahy), 授权号: 99cb86c5-698f-4e35-aa2b-9e38014a7727

下载时间: 2010年11月24日