

· 基础研究 ·

电针联合丁苯酞对 MCAO/R 大鼠
神经血管单元的保护效应李笑笑¹ 李广大¹ 董健健² 韩永升^{2,3}

摘要 目的 观察电针联合丁苯酞对脑缺血再灌注损伤大鼠模型神经血管单元 (NVU) 的影响。方法 将成年 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、丁苯酞组、电针组、电针联合丁苯酞组, 每组 12 只。采用改良线栓法建立脑缺血再灌注损伤 MCAO/R 模型。造模后电针组和电针联合丁苯酞组大鼠选取双侧“内关”、双侧“三阴交”与“水沟”“百会”穴位进行电针干预, 每日 30 min, 连续 7 日; 丁苯酞组和电针联合丁苯酞组大鼠以 5 mg/kg 丁苯酞注射液腹腔注射, 每日 1 次, 连续 7 日。造模 7 日后各组大鼠进行神经功能评分; 免疫组织化学法和 Western Blot 法检测缺血区脑组织血管内皮生长因子 (VEGF)、胶质纤维酸性蛋白 (GFAP)、神经元核抗原 (NeuN) 蛋白的表达水平; 实时荧光定量 PCR 法检测缺血区脑组织 VEGF、GFAP、NeuN mRNA 的表达水平。结果 与正常组比较, 模型组大鼠脑组织缺血区 VEGF、GFAP 表达增多, NeuN 表达减少 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 各干预组大鼠脑组织缺血区 VEGF、GFAP、NeuN 表达增多 ($P < 0.05$)。与电针或丁苯酞组比较, 电针联合丁苯酞组大鼠脑组织缺血区 VEGF、GFAP、NeuN 表达增多 ($P < 0.05$)。实时荧光定量 PCR 检测结果与免疫组化法和 Western Blot 法结果趋于一致。结论 电针联合丁苯酞可上调 VEGF、GFAP、NeuN 的表达, 对神经血管单元发挥保护作用, 且针药结合效果优于单用电针或丁苯酞, 表明电针联合丁苯酞对 MCAO/R 大鼠神经血管单元损伤有协同保护作用。

关键词 缺血; 再灌注损伤; 电针; 丁苯酞; 神经血管单元; 中医疗法

Protective Effect of Electroacupuncture Combined with Butylphthalide on Neurovascular Unit in MCAO/R Rats LI Xiao-xiao¹, LI Guang-da¹, DONG Jian-jian², and HAN Yong-sheng^{2,3} 1 Graduate School of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei (230012); 2 Institute of Neurology of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei (230038); 3 Neurology Department, Anhui Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Hefei (230031)

ABSTRACT Objective To observe the effects of electroacupuncture combined with butylphthalide on neurovascular unit (NVU) in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury. **Methods** Adult SD rats were randomly divided into the normal group, model group, butylphthalide group, electroacupuncture group, and electroacupuncture combined butylphthalide group, with 12 rats in each group. Cerebral ischemia-reperfusion injury model (MCAO/R) was established by modified thread embolization. After modeling, rats in electroacupuncture group and electroacupuncture and drug combination group were selected for electroacupuncture treatment at bilateral "Neiguan (PC6)" "Sanyinjiao (SP6)" "Shuigou (DU26)" and "Baihui (DU20)", 30 min a day for 7 consecutive days. Rats in butylphthalide group and electroacupuncture and drug combination group were intraperitoneally injected with 5 mg/kg butylphthalide injection, once a day, for consecutive 7 days. Neurobehavioral scores were recorded on 7 days after modeling. Immunohistochemistry

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (No.81774425); 安徽中医药大学研究生科技创新基金 (No.2019ZC03)

作者单位: 1. 安徽中医药大学研究生院 (合肥 230012); 2. 安徽中医药大学神经病学研究所 (合肥 230038); 3. 安徽省中西医结合医院神经内科 (合肥 230031)

通讯作者: 韩永升, Tel: 0551-62736702, E-mail: hyssp@126.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20220110.202

and Western Blot was used to detect the expression levels of VEGF, GFAP and NeuN proteins in ischemic brain tissue. The mRNA expression levels of VEGF, GFAP and NeuN in ischemic brain tissue were detected by Real-time fluorescence quantitative PCR. **Results** Compared with the normal group, the expression of VEGF and GFAP increased in model group, while the expression of NeuN decreased ($P < 0.05$). Compared with model group, the expressions of VEGF, GFAP and NeuN in the ischemic brain tissue of rats in each intervention group were increased ($P < 0.05$). Compared with electroacupuncture or butylphthalide group, the expressions of VEGF, GFAP and NeuN in the ischemic area of rat brain tissue in electroacupuncture and butylphthalide combination group were increased (all $P < 0.05$). The results of Real-time fluorescence quantitative PCR were consistent with those of immunohistochemistry and Western Blot. **Conclusions** Electroacupuncture combined with butylphthalide can up-regulate the expressions of VEGF, GFAP and NeuN, and play a protective role on neurovascular unit. The effect of acupuncture combined with butylphthalide is better than that of electroacupuncture or butylphthalide alone, indicating that electroacupuncture combined with butylphthalide has a synergistic protective effect on neurovascular unit injury in cerebral ischemic area of MCAO/R rats.

KEYWORDS ischemia; reperfusion injury; electroacupuncture; butylphthalide; neurovascular unit; Chinese medicinal therapy

卒中 (stroke) 是当前世界上最主要的致死和致残原因^[1]。WHO 预测到 2030 年, 全球脑卒中患者将达到 7 700 万, 其中 85% 以上为缺血性脑卒中 (ischemic stroke, ICS) 患者, 这将给社会和家庭造成巨大的经济压力和医疗负担^[2]。溶栓和机械取栓是当前治疗 ICS 的主要措施, 但二者存在严格的时间窗限制, 因此临床治疗显著获益患者较少^[3]。而神经保护治疗目前尚缺乏有效的药物, 基于神经血管单元 (neurovascular unit, NVU) 的整体保护正逐渐成为临床治疗 ICS 的共识。NVU 是由神经元、星形胶质细胞、血脑屏障 (blood brain barrier, BBB), 包括血管内皮细胞、紧密连接、基底膜、星形胶质细胞的足突、周细胞等以及细胞外基质组成, 是脑结构和功能的基本单位^[4]。缺血脑组织血流恢复后出现组织损伤以及功能障碍加重的现象, 称为脑缺血再灌注损伤 (cerebral ischemia reperfusion injury, CIRI)。多项研究发现, CIRI 不仅使 NVU 整体结构遭到破坏, 同时对 NVU 各成分均可造成损伤, 对脑功能产生严重影响^[5, 6]。电针是传统针刺与现代电刺激的结合, 可以通过多层次、多靶点对 CIRI 起保护作用^[7]。丁苯酞为芹菜籽的活性成分, 基础研究表明丁苯酞可通过多途径减轻 MCAO/R 大鼠大脑皮质神经元损伤; 临床研究显示丁苯酞能显著改善 ICS 患者的神经功能, 广泛用于 ICS 的临床治疗^[8, 9]。电针和丁苯酞均可减轻 CIRI, 两者联合应用在 ICS 的临床治疗中也较为广泛, 但两者是否通过对 NVU 这一整体调控而发挥治疗作用, 目前相关研究报道较少。鉴于此, 本实验通过电针联合丁苯酞对 MCAO/R 大鼠进行干预, 运用免疫组化及实时荧光定量 PCR 检测缺血脑

组织血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP)、神经元核抗原 (neuronal nuclei antigen, NeuN) 的表达, 探究其对 CIRI 的神经保护作用及相关机制。

材料与方 法

1 实验动物 选择 SPF 级健康雄性 SD 成年大鼠 60 只, 2~3 月龄, 体重 250~300 g, 由济南朋悦实验动物繁育有限公司提供 [许可证号: SCXK (鲁) 2019-0003]。大鼠于常规实验室动物房饲养, 环境温度 24~26 °C, 相对湿度 50%~60%, 保持通风, 12 h 光照, 自由摄食、饮水, 喂养 7 日后进行实验。将大鼠随机分为正常组、模型组、丁苯酞组、电针组、电针联合丁苯酞组, 每组 12 只。实验过程中对动物的处置符合中华人民共和国科技部颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》, 本实验获得安徽中医药大学实验动物伦理委员会批准 (No. AHUCM-rats-2020022)。

2 药物 丁苯酞注射液, 100 mL, 石药集团恩必普药业有限公司, 批号: 6181908031。

3 主要试剂及仪器 免疫组化试剂盒; PCR 引物 (武汉赛维尔生物科技有限公司); Trizol 试剂盒 (美国 Life technologies 公司); RNA 反转录试剂盒 (德国 Novoprotein 公司); 荧光定量 PCR 试剂 (美国 TaKaRa 公司); 辣根酶标记山羊抗兔 IgG 二抗 (北京中杉金桥生物技术有限公司, 批号: ZB-2301); DAB 显色试剂盒 (武汉赛维尔生物科技有限公司); VEGF (成都正能生物技术有限责任公司, 批号:

R26069); GFAP (成都正能生物技术有限责任公司, 批号: 384433); β -Tubulin (成都正能生物技术有限责任公司, 批号: 380628); NeuN (美国 CST 公司, 批号: 24307); β -actin 抗体 (武汉赛维尔生物科技有限公司, 批号: HB1101001B)。一次性无菌针灸针 (13 mm \times 0.18 mm, 吴江云龙医疗器械有限公司); 电针仪 (G6805-2A, 上海华谊医用仪器有限公司); 石蜡包埋机 (JB-P5, 武汉俊杰电子有限公司); 脱水机 (型号: JJ-12J, 武汉俊杰电子有限公司); 组织摊片机 (型号: KD-P, 金华市科迪仪器有限公司); 高速组织研磨仪 (型号: KZ- II, 武汉赛维尔生物科技有限公司); 普通 PCR 仪 (K960, 杭州晶格科学仪器有限公司); 病理切片机 (RM2016, 上海徠卡仪器有限公司); 显微镜 (XSP-C204, 重庆光电仪器有限公司), 荧光定量 PCR 仪 (Stepone plus, 美国 ABI 公司)。

4 方法

4.1 模型制备 参考 Longa EZ^[10] 方法并加以改进。大鼠以 10% 水合氯醛 (3 mL/kg) 腹腔注射麻醉, 仰卧位, 固定于手术台上, 局部采用碘酒、酒精消毒后, 在左侧颈部切开, 逐层钝性分离暴露左侧颈总动脉与颈外动脉, 结扎颈外动脉并电凝, 使之与颈内动脉成一条直线, 微动脉夹夹闭颈总动脉与颈内动脉, 在颈外动脉处微动脉剪一小口, 将预制末端圆钝的尼龙线插进颈内动脉, 松开颈内动脉动脉夹, 继续进线直至进线深度与颈总动脉分叉处约 19 mm 处停止进线, 结扎颈外动脉进线处近心端, 清创缝合消毒皮肤, 2 h 后缓慢拔出尼龙线。术后以兽用青霉素 4 000 IU/d, 连续 3 天, 肌内注射。大鼠苏醒后参照 Longa EZ 法评分: 1~3 分为造模成功, 采用差额补充的方法以保证每组实验例数, 本研究造模成功率为 85%。

4.2 干预方法 正常组与模型组常规饲养于笼内, 不干预。电针组和电针联合丁苯酞组用自制鼠夹固定大鼠, 电针干预。根据李辞荣等^[11] 制定的豚鼠穴位图谱, 主穴双侧内关、双侧足三里、水沟、百会。采用一次性无菌针灸针先直刺内关穴 1 mm 至筋间; 继刺水沟穴, 在鼻中隔下部向上斜刺 1 mm, 其次刺足三里穴, 直刺 5 mm, 最后向前或向后斜刺百会穴 2 mm, 留针 30 min, 留针期间将 PC6、SP6 穴位针刺针柄分别连接电针仪, 施以疏密波, 频率 2/100Hz, 电压 2~4 V, 强度逐渐增加至模型大鼠针刺部位轻微抖动为度, 每日 1 次, 连续 7 日。丁苯酞组和电针联合丁苯酞组大鼠腹腔注射丁苯酞注射液 5 mg/kg, 每日 1 次, 连续 7 日。

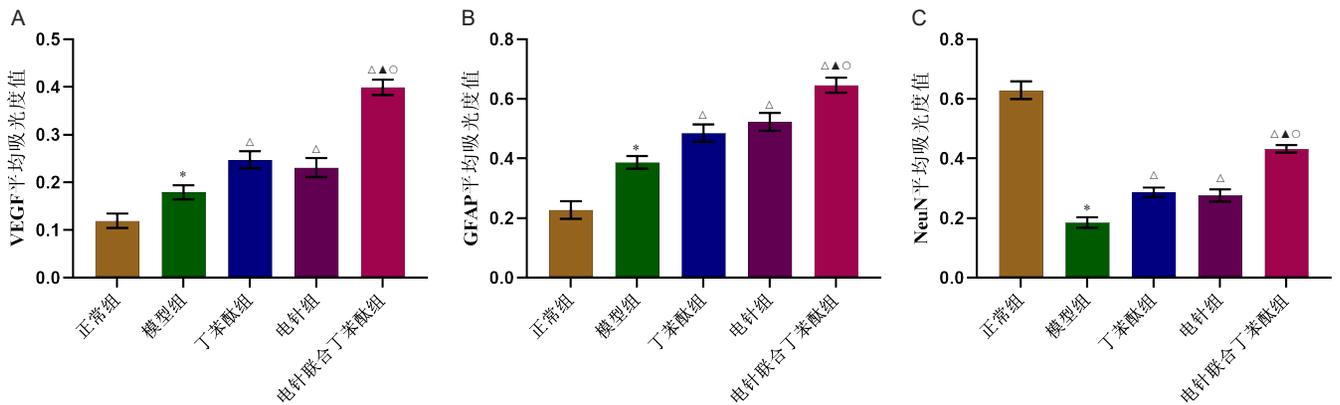
4.3 标本采集 干预结束后, 各组大鼠用 10% 水合氯醛 (3 mL/kg) 腹腔注射麻醉后, 剪开胸腔, 暴露心脏, 用针头插入左心室, 注入生理盐水, 剪开右心耳, 至右心耳流出液为无色透明为止, 再以 4% 多聚甲醛灌注固定, 每只大鼠约需 300 mL, 在 30 min 内完成。固定后立即剖颅取脑, 在视交叉处切开, 冠状切取 2 mm 厚包含梗死灶区域及左右半球的组织块, 24 h 后石蜡包埋, 行免疫组化检测, 组织匀浆提取总 RNA 并置于液氮中保存。

4.4 观察指标及检测方法

4.4.1 神经功能评分 各组大鼠于造模后 7 日进行神经功能测定, 参照 Bederson JB 等^[12] 法评分, 0 分: 无神经功能缺损; 1 分: 前肢出现屈曲表现, 不伴其他异常表现; 2 分: 侧推抵抗力下降, 伴前肢屈曲, 无转圈行为; 3 分: 同 2 级行为, 伴自发性旋转; 4 分: 无自主意识。

4.4.2 免疫组织化学法观察大鼠脑组织缺血区 VEGF、GFAP、NeuN 的表达 将各组厚度为 2 mm 石蜡切片依次放入二甲苯 I 15 min、二甲苯 II 15 min、二甲苯 III 15 min, 无水乙醇 I 5 min、无水乙醇 II 5 min、85% 酒精 5 min、75% 酒精 5 min、蒸馏水洗, 脱蜡至水。将切片置于盛满柠檬酸抗原修复缓冲液 (pH6.0) 的修复盒中于微波炉中进行抗原修复, 待其自然冷却后用 PBS 在脱色摇床上洗涤 3 次。3% 双氧水溶液, 室温避光孵育 25 min, PBS 于脱色摇床上漂洗 3 遍, 以阻断内源性过氧化物酶。以 3% BSA 室温封闭 30 min 后, 轻轻甩掉封闭液加一抗 VEGF、GFAP、NeuN 抗体 (1:500) 孵育过夜。PBS 漂洗后滴加相对应的二抗 (辣根过氧化物酶标记) 室温孵育 50 min。PBS 洗涤 3 次后, 加入 DAB 显色液, 显微镜下控制显色时间, 阳性为棕黄色, 自来水冲洗切片终止显色。以苏木素复染 3 min, 自来水洗, 苏木素分化液分化数秒, 自来水冲洗, 苏木素返蓝液返蓝, 流水冲洗。将切片依次加入 75% 酒精 5 min、85% 酒精 5 min、无水乙醇 I 5 min、无水乙醇 II 5 min、二甲苯 I 5 min 中脱水透明, 稍晾干后, 中性树胶封片。显微镜观察并采集图像, 每张切片选取 3 个不同视野, 用 Image-Pro Plus 6.0 软件分析并计算其平均吸光度值。

4.4.3 Western Blot 法检测各组大鼠脑组织缺血区 VEGF、GFAP、NeuN 蛋白的表达情况 取适量脑组织, 加入 PMSF 和 RIPA 裂解液混合后, 经高速组织研磨仪研磨, 冰浴摇床上裂解 30 min, 每 10 min 混匀一次。4 $^{\circ}$ C 12 000 r/min 离心 30 min,



注: A 为 VEGF; B 为 GFAP; C 为 NeuN; 与正常组比较, * $P<0.05$; 与模型组比较, [△] $P<0.05$; 与丁苯酞组比较, [▲] $P<0.05$; 与电针组比较, [○] $P<0.05$

图 2 各组大鼠脑组织缺血区 NVU 标志蛋白 VEGF、GFAP、NeuN 免疫组化检测结果柱状图

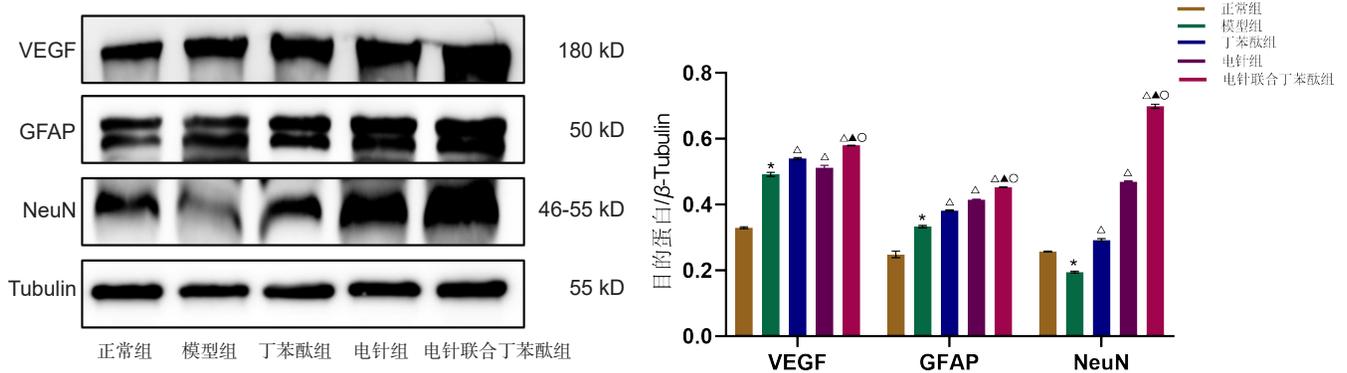
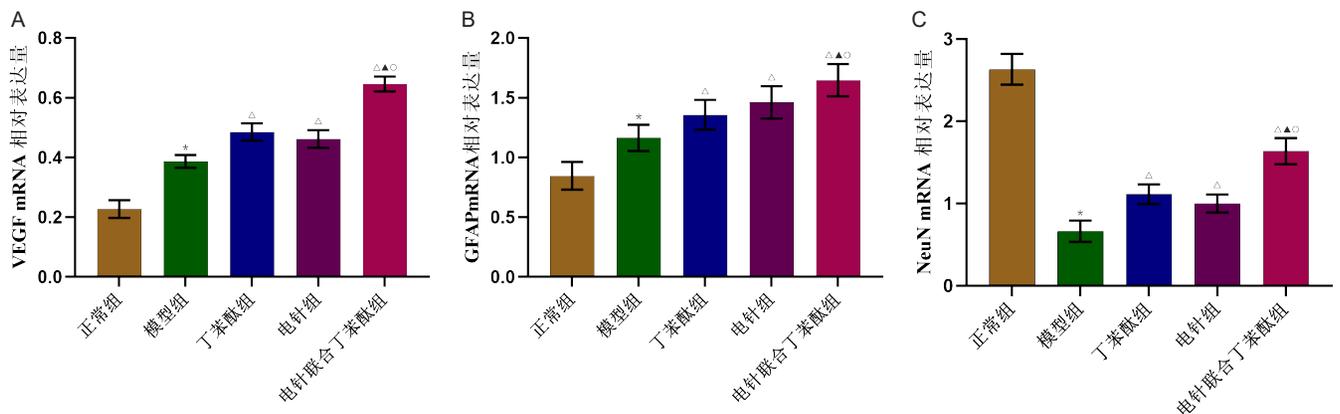


图 3 Western Blot 法检测各组大鼠脑组织缺血区 NVU 标志蛋白 VEGF、GFAP、NeuN 表达情况



注: A 为 VEGF; B 为 GFAP; C 为 NeuN; 与正常组比较, * $P<0.05$; 与模型组比较, [△] $P<0.05$; 与丁苯酞组比较, [▲] $P<0.05$; 与电针组比较, [○] $P<0.05$

图 4 各组大鼠脑组织缺血区 VEGF、GFAP、NeuN mRNA 表达水平

型组比较, 各干预组 VEGF、GFAP、NeuN 阳性表达增多 ($P<0.05$)。与电针组或丁苯酞组比较, 电针联合丁苯酞组 VEGF、GFAP、NeuN 阳性表达增多 ($P<0.05$)。

3 各组大鼠缺血脑组织 NVU 标志蛋白 VEGF、GFAP、NeuN mRNA 表达水平比较 (图 4) 与正常

组比较, 模型组 VEGF、GFAP mRNA 表达水平升高 ($P<0.05$), NeuN mRNA 表达水平降低 ($P<0.05$)。与模型组比较, 各干预组 VEGF、GFAP、NeuN mRNA 表达升高 ($P<0.05$)。与电针组或丁苯酞组比较, 电针联合丁苯酞组 VEGF、GFAP、NeuN mRNA 表达水平升高 ($P<0.05$)。

讨 论

CIRI 是缺血性脑血管病溶栓治疗过程中加重的继发性损伤,也是 ICS 恶化的主要原因。神经元变性坏死、微血管完整性破坏、内皮细胞损伤、星形胶质细胞肿胀等一系列生理病理变化常伴随 CIRI 的发生而出现^[13, 14]。

针刺已广泛用于治疗中枢神经系统疾病^[15, 16],可通过减少梗死体积,改善神经功能缺损,促进神经干细胞的增殖、迁移和分化等多项机制促进中风恢复^[17]。本研究以石学敏院士创立的“醒脑开窍”针刺法主穴,配以电针对 MCAO/R 大鼠进行干预。醒脑开窍针刺法具有醒脑调神、开窍启闭、安神定志的作用^[18],基础研究表明其可通过上调 VEGF、GFAP、GAP-43、SYN 等表达,促进血管、神经元、神经胶质细胞损伤的恢复^[19, 20],同时对临床卒中患者的治疗和康复治疗,疗效显著^[21, 22]。丁苯酞广泛用于缺血性脑血管疾病患者的临床治疗^[23, 24]。相关研究发现,丁苯酞具有改善脑缺血和再灌注后神经功能缺损症状、减少梗塞面积、维持 BBB 完整性、增加脑血流量、调节内皮细胞活性抑制血管内炎症等作用^[25]。本研究结果示,与模型组比较,各干预组大鼠神经功能评分降低,且电针联合丁苯酞组大鼠神经功能评分最低($P<0.05$),说明电针、丁苯酞以及电针联合丁苯酞均可改善 MCAO/R 大鼠的神经功能缺损症状,且电针联合丁苯酞组的治疗效果优于电针或丁苯酞组。

NVU 概念的提出为研究正常脑功能以及缺血性脑病的发病机理和潜在疗法提供了一个综合框架^[26]。VEGF 是内皮细胞特有的促分裂原,具有强大的刺激血管生成作用。VEGF 与受体信号通路的激活一方面能促进缺氧/缺血性脑损伤后血管内皮细胞的增殖分化、促进血管增生,另一方面促进神经胶质细胞向神经元转化、调控神经元生长发育,进而促进神经功能恢复和神经血管重塑^[27, 28]。GFAP 是星形胶质细胞的标记,其表达被认为是反应性胶质细胞活化增生的标志^[29]。脑缺血发生后,反应性星形胶质细胞一方面通过在梗死灶周围形成神经胶质瘢痕,限制炎症级联反应和继发性脑损伤^[30],另一方面通过合成并释放神经营养蛋白来保护神经元^[31]。由此可见,脑缺血损伤后 VEGF、GFAP 表达增加均能促进 NVU 损伤修复。NeuN 分布在脊椎动物神经系统几乎所有成熟的神经元核中,高度保守,并在发育的特定阶段稳定表达,一直被认为是成熟神经元的可靠标记^[32]。

神经元、星形胶质细胞和血管内皮细胞是 NVU 的核心成分,本研究通过对 VEGF、GFAP、NeuN 表达水平的检测,以了解血管内皮细胞、星形胶质细胞和神经元的变化,进而较全面的反映 NVU 的整体情况。结果显示,模型组大鼠脑组织缺血区 VEGF、GFAP 表达增多,NeuN 表达减少($P<0.05$),提示 NVU 各成分受损。与模型组比较,电针组和丁苯酞组大鼠脑组织缺血区 VEGF、GFAP、NeuN 表达上调($P<0.05$),提示电针和丁苯酞均能通过调控 NVU 各组分,促进 MCAO/R 大鼠损伤的恢复。该发现与课题组前期研究结果保持一致^[20],同时与魏微等^[33]相关研究结果趋于一致。而与电针或丁苯酞组比较,电针联合丁苯酞组大鼠脑组织缺血区 VEGF、GFAP、NeuN 表达增多($P<0.05$),提示二者联用更有利于 NVU 的修复。

Wnt 信号通路广泛存在于各个生物体中,与个体的生长发育、干细胞的自我更新和损伤修复等过程密切相关^[34],经典 Wnt/ β -catenin 信号通路参与 ICS 后 NVU 的恢复,并发挥重要作用^[35]。研究发现,电针和丁苯酞均参与调控 Wnt/ β -catenin 信号通路,并促进脑缺血 NVU 损伤的修复^[36-39]。本研究结果提示电针联合丁苯酞对 MCAO/R 大鼠 NVU 具有保护作用。结合相关研究报道,笔者推测电针联合丁苯酞有可能是通过调控 Wnt/ β -catenin 信号通路,保护 NVU 整体,进而发挥治疗作用。

综上所述,电针和丁苯酞均能促进 MCAO/R 大鼠脑组织 VEGF、GFAP、NeuN 的表达,对 NVU 整体发挥保护作用,且电针联合丁苯酞的作用效果优于单用电针或丁苯酞。提示二者联合可通过对 NVU 整体调控来发挥治疗作用,为临床上使用针药结合疗法治疗 CIRI 奠定理论基础。但二者联合是否通过激活 Wnt 信号通路发挥脑保护作用仍需进一步探究。

利益冲突:无利益冲突。

参 考 文 献

- [1] Virani SS, Alonso A, Benjamin EJ, et al. Heart disease and stroke statistics-2020 update: a report from the American Heart Association[J]. Circulation, 2020, 141 (9): e139-e596.
- [2] Andrabi SS, Parvez S, Tabassum H. Ischemic stroke and mitochondria: mechanisms and targets[J]. Protoplasma, 2020, 257: 335-343.
- [3] Yang CJ, Kimberly EH, Sylvain D, et al. Neuroinflammatory mechanisms of blood-brain

- barrier damage in ischemic stroke[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2019, 316: C135–C153.
- [4] Lo EH. Experimental models, neurovascular mechanisms and translational issues in stroke research[J]. *Br J Pharmacol*, 2008, 153: S396–S405.
- [5] Han D, Zhang S, Fan B, et al. Ischemic postconditioning protects the neurovascular unit after focal cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. *Mol Neurosci*, 2014, 53 (1): 50–58.
- [6] Garbuzova-Davis S, Haller E, Williams SN, et al. Compromised blood-brain barrier competence in remote brain areas in ischemic stroke rats at the chronic stage[J]. *J Comp Neurol*, 2014, 522 (13): 3120–3137.
- [7] 陈向华, 李雪焕, 何海明, 等. 电针干预脑缺血再灌注损伤相关信号转导通路研究进展 [J]. *陕西中医药大学学报*, 2016, 39 (1): 123–125.
- [8] 逯冉冉, 耿建红, 张群英, 等. 丁苯酞注射液对局灶性脑缺血再灌注大鼠皮质区星型胶质细胞、 β -catenin 表达量及细胞凋亡的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39 (21): 5340–5343.
- [9] 张美艳, 潘心, 蔺建文, 等. 缺血性脑卒中患者应用丁苯酞软胶囊治疗的临床疗效分析 [J]. *黑龙江医药*, 2020, 33 (4): 808–810.
- [10] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. *Stroke*, 1989, 20 (1): 84–91.
- [11] 李辞蓉, 华兴邦, 周浩良, 等. 豚鼠针灸穴位图谱的研制 [J]. *上海针灸杂志*, 1992, 21 (2): 28–30.
- [12] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination[J]. *Stroke*, 1986, 17 (3): 472–476.
- [13] del Zoppo GJ. Inflammation and the neurovascular unit in the setting of focal cerebral ischemia[J]. *Neuroscience*, 2009, 158 (3): 972–982.
- [14] 张伟, 赵伟秦, 卢德宏. 大鼠脑缺血再灌注损伤后神经血管单元的改变 [J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2008, 10 (8): 620–622.
- [15] Wu P, Mills E, Moher D, et al. Acupuncture in poststroke rehabilitation: a systematic review and meta-analysis of randomized trials[J]. *Stroke*, 2010, 41 (4): e171–e179.
- [16] 李笑笑, 李广大, 马艳艳, 等. 针刺基于 Wnt/ β -catenin 通路治疗阿尔茨海默病的实验研究进展 [J]. *针刺研究*, 2020, 45 (6): 508–512.
- [17] Lu L, Zhang XG, Zhong LL, et al. Acupuncture for neurogenesis in experimental ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis[J]. *Sci Rep*, 2016: 19521.
- [18] 刘抒雯, 杨丽华, 马春, 等. 中医药保护脑缺血再灌注损伤后神经血管单元的作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24 (23): 225–234.
- [19] 李钦潘, 韩永升, 韩咏竹, 等. “醒脑开窍”针刺法对脑缺血再灌注大鼠模型早期脑内血管内皮生长因子与胶质纤维酸性蛋白表达的影响 [J]. *中国康复医学杂志*, 2015, 30 (7): 645–650.
- [20] 韩永升, 徐银, 韩咏竹, 等. 电针对局灶性脑缺血再灌注大鼠神经血管单元的保护作用 [J]. *针刺研究*, 2013, 38 (3): 173–180.
- [21] 毛平, 谢雁鸣, 李梦漪. 针刺对缺血性中风早期康复的作用及针刺时间窗的研究概况 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2009, 29 (6): 566–569.
- [22] 陈红霞, 杨志敬, 潘锐焕, 等. 中西医结合康复方案对脑卒中后偏瘫患者运动功能、日常生活活动能力和生活质量的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2016, 36 (4): 395–398.
- [23] Wang S, Ma F, Huang L, et al. DI-3-n-Butylphthalide (NBP): a promising therapeutic agent for ischemic stroke[J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2018, 17 (5): 338–347.
- [24] Xu ZQ, Zhou Y, Shao BZ, et al. A systematic review of neuroprotective efficacy and safety of DL-3-N-butylphthalide in ischemic stroke[J]. *Am J Chin Med*, 2019, 47 (3): 507–525.
- [25] Yang CS, Guo A, Li Y, et al. DI-3-n-butylphthalide reduces neurovascular inflammation and ischemic brain injury in mice[J]. *Aging Dis*, 2019, 10 (5): 964–976.
- [26] Han D, Zhang S, Fan B, et al. Ischemic postconditioning protects the neurovascular unit after focal cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *J Mol Neurosci*, 2014, 53 (1): 50–58.
- [27] 潘之光, 毛颖, 孙凤艳. 血管内皮生长因子促损伤脑内神经血管单元的重构 [J]. *生理学报*, 2017, 69 (1): 96–108.
- [28] Geiseler SJ, Morland C. The Janus face of VEGF

- in stroke[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19 (5): 1362.
- [29] Pimentel VC, Bellé LP, Pinheiro FV, et al. Adenosine deaminase activity, lipid peroxidation and astrocyte responses in the cerebral cortex of rats after neonatal hypoxia ischemia[J]. *Int J Dev Neurosci*, 2009, 27 (8): 857–862.
- [30] Yu Q, Li L, Liang WM. Effect of sevoflurane preconditioning on astrocytic dynamics and neural network formation after cerebral ischemia and reperfusion in rats[J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14 (2): 265–271.
- [31] Liu Z, Chopp M. Astrocytes, therapeutic targets for neuroprotection and neurorestoration in ischemic stroke[J]. *Prog Neurobiol*, 2016, 144: 103–120.
- [32] Duan W, Zhang YP, Hou Z, et al. Novel insights into NeuN: from neuronal marker to splicing regulator[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53 (3): 1637–1647.
- [33] 魏微, 徐琴, 黄勇华. 丁苯酞对慢性低灌注后神经血管单元的保护作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22 (10): 1015–1018.
- [34] Nusse R, Clevers H. Wnt/ β -catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities[J]. *Cell*, 2017, 169 (6): 985–999.
- [35] 文静, 王建, 罗世兰, 等. Wnt/ β -catenin 信号通路参与脑缺血后神经血管单元调控及相关药物的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2016, 32 (3): 310–314.
- [36] 张晶晶, 杜元灏, 李晶, 等. 电针干预对脑梗死大鼠脑组织 Wnt 信号通路的影响[J]. *针刺研究*, 2020, 45 (3): 202–208.
- [37] 师帅. 基于 Wnt/ β -catenin 信号通路研究头穴围刺对大鼠脑梗死后血管新生的作用机制[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2020.
- [38] 邓春颖, 李海滨, 毛文静, 等. 丁苯酞对阿尔茨海默病模型大鼠海马 CA1 区 Wnt3a 及 β -连环蛋白表达的影响[J]. *安徽医药*, 2020, 24 (9): 1701–1704, 1909.
- [39] 张兰. 丁苯酞对实验性脑梗死小鼠神经功能改善和神经再生的影响及其作用机制的研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2017.
- (收稿: 2021-03-15 在线: 2022-03-30)
责任编辑: 赵芳芳

欢迎订阅 2022 年 *Chinese Journal of Integrative Medicine*

Chinese Journal of Integrative Medicine 《中国结合医学杂志》是由中国中西医结合学会、中国中医科学院主办的国际性学术期刊, 旨在促进结合医学及替代医学的国际交流, 及时发表结合医学或替代医学领域的最新进展、趋势以及临床实践、科学研究、教育、保健方面经验和成果的科学论文。1995 年创刊, 由中国科学院院士陈可冀担任主编。设有述评、专题笔谈、论著、临床经验、病例报道、综述、药物相互作用、法规指南、学术探讨、思路与方法、跨学科知识、会议纪要、书评、读者来信等栏目。本刊被多种国际知名检索系统收录, 如: Science Citation Index Expanded (SCI-E)、Index Medicus/Medline、Chemical Abstracts (CA)、Abstract Journal (AJ)、CAB Abstracts、CAB International、Excerpta Media (EMBASE)、Expanded Academic、Global Health、Google Scholar、Index Copernicus (IC)、Online Computer Library Center (OCLC)、SCOPUS 等。本刊于 2007 年被 SCI-E 收录, 2021 年 6 月底科睿唯安公布 2020 年本刊 SCI 影响因子为 1.978。2010 年 10 月 1 日与汤森路透集团签约, 正式采用 ScholarOne Manuscripts 在线投审稿系统。

Chinese Journal of Integrative Medicine 为大 16 开本, 铜版纸印刷, 彩色插图, 2011 年改为月刊, 80 页, 国内定价, 60.00 元/期, 全年定价: 720.00 元。国际标准刊号: ISSN 1672-0415, 国内统一刊号: CN 11-4928/R, 国内邮发代号: 82-825, 海外发行由 Springer 公司代理。国内订户在各地邮局均可订阅, 也可直接汇款至本社邮购。

地址: 北京市海淀区西苑操场 1 号, 中国中西医结合杂志社, 邮政编码: 100091; 电话: 010-62886827, 62876547, 62876548; 传真: 010-62876547-815; E-mail: cjim_en@cjim.cn; 网址: http://www.cjim.cn.