

# 不同时程电针预处理对脑缺血再灌注大鼠血脑屏障水通道蛋白-4 及紧密连接蛋白-5 的影响

林咸明 李金霞 姚旭

**【摘要】目的** 观察不同时程电针(取穴百会、水沟)预处理对继发脑缺血再灌注大鼠血脑屏障水通道蛋白-4(AQP4)及紧密连接蛋白-5(CLN5)表达的影响。**方法** 采用随机数字表法将 64 只雄性 SD 大鼠分为模型组、假手术组、电针预处理 7 d 组及电针预处理 15 d 组,电针预处理 7 d 组及电针预处理 15 d 组分别给予持续 7 d、15 d 的电针(取穴百会、水沟)预处理。待上述预处理结束后,参照 Longa 改良线栓法将模型组、电针预处理 7 d 组及电针预处理 15 d 组大鼠制成单侧大脑中动脉栓塞(MCAO)模型,假手术组大鼠术中仅分离颈总动脉,不栓塞中动脉血流。各组大鼠于大脑中动脉栓塞 90 min 后进行再灌注。于制模 24 h 后采用免疫组化法、荧光定量 PCR 法检测各组大鼠血脑屏障 AQP4、CLN5 阳性细胞及其 mRNA 表达情况。**结果** 与假手术组比较,模型组及各电针预处理组大鼠血脑屏障 AQP4 阳性细胞及其 mRNA 表达均明显上调( $P < 0.05$ ),CLN5 阳性细胞及其 mRNA 表达均明显下调( $P < 0.05$ );与模型组比较,电针预处理 7 d 组及 15 d 组 AQP4 阳性细胞及其 mRNA 表达均明显下调( $P < 0.05$ ),CLN5 阳性细胞及其 mRNA 表达均明显上调( $P < 0.05$ );与电针预处理 7 d 组比较,电针预处理 15 d 组 AQP4 阳性细胞数[(25.15 ± 0.55)个/每高倍镜视野]及其 mRNA 表达(1.16 ± 0.04)下调幅度、CLN5 阳性细胞数[(62.88 ± 0.61)个/每高倍镜视野]及其 mRNA 表达(0.80 ± 0.03)上调幅度均更显著( $P < 0.05$ )。**结论** 不同时程电针(取穴百会、水沟)预处理可抑制脑缺血再灌注大鼠血脑屏障 AQP4 阳性细胞及其 mRNA 表达,促进 CLN5 阳性细胞及其 mRNA 表达;以电针预处理 15 d 对脑缺血再灌注大鼠血脑屏障的保护作用相对较好;电针预处理诱导大鼠脑缺血耐受可能与调节脑缺血再灌后血脑屏障 AQP4、CLN5 及其 mRNA 表达有关。

**【关键词】** 电针预处理; 脑缺血再灌注; 血脑屏障; 水通道蛋白-4; 紧密连接蛋白-5

**The impact of electroacupuncture on the expression of AQP4 and CLN5 in the blood-brain barrier after cerebral ischemia and reperfusion** Lin Xianming\*, Li Jinxia, Yao Xu. \*The Third Clinical Medical College, Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China

Corresponding author: Lin Xianming, Email: linxianming66@126.com

**【Abstract】Objective** To observe the effect of electroacupuncture (EA) pretreatment of different durations on the expressions of AQP4 and CLN5 in the blood-brain barrier after cerebral ischemia and reperfusion. **Methods** Sixty-four male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into a model group, a sham operation group, a 7-day EA-pretreatment group (EAP-7 group) and a 15-day EA-pretreatment group (EAP-15 group), each of 16. After EA-pretreatment on the baihui and shuigou acupoints for 7 days or 15 days, a model of unilateral middle cerebral artery embolism (MCAO) model was induced in the rats of the model, EAP-7 and EAP-15 group using a modified Longa method. In the sham operation group the carotid artery was separated without middle cerebral artery embolism. The reperfusion was begun 90 min after the MCAO modeling. Immunohistochemical methods and fluorescence quantitative PCR were applied to detect the expression of AQP4, CLN5 and their mRNAs expression in the blood brain barrier (BBB) 24h after the operation. **Results** Compared with the sham operation group, the expression of AQP4 positive cells and AQP4 mRNA in the BBB in the other three groups had increased significantly, while the expression of CLN5 positive cells and CLN5 mRNA was significantly less. Compared with the model group, the expression of AQP4 positive cells and AQP4 mRNA in the EAP-7 and EAP-15 groups was significantly reduced, while the expression of CLN5 positive cells and CLN5 mRNA was significantly increased. Moreover, the expression of AQP4 positive cells and AQP4 mRNA in the EAP-15 group were significantly higher than in the EAP-7 group, while the expression of CLN5 positive cells and CLN5 mRNA were significantly lower. **Conclusions** EA-pretreat-

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2015.07.005

基金项目:浙江省自然科学基金项目(Y2111260)

作者单位:310053 杭州,浙江中医药大学第三临床医学院(林咸明、姚旭);浙江省湖州市中医院针灸科(李金霞)

通信作者:林咸明,Email:linxianming66@126.com

ment on the baihui and shuigou acupoints can restrain the expression of AQP4-positive cells and AQP4 mRNA and promote that of CLN5-positive cells and CLN5 mRNA in the BBB after cerebral ischemia and reperfusion, at least in rats. The BBB protection effect is better when the EA-pretreatment lasts longer. The mechanisms of cerebral ischemia tolerance may be related to the regulation of AQP4, CLN5 and their mRNAs in the blood-brain barrier after cerebral injury.

【Key words】 Acupuncture; Cerebral ischemia; Reperfusion; Blood-brain barrier; AQP4; CLN5

自从 Kitagawa 等<sup>[1]</sup>发现预处理可产生脑缺血耐受现象后,预处理已逐渐成为防治脑卒中研究热点之一,目前常见的预处理措施主要有缺血、缺氧、高压氧、低温干预等,但大多数预处理手段均具有一定损伤性,难以直接应用于临床治疗<sup>[2-3]</sup>。近年来有大量研究发现,针刺预处理亦可诱导脑缺血耐受效应,但相关研究多处于动物实验阶段,其作用机制尚未明确<sup>[4-5]</sup>。脑缺血再灌注损伤过程中有多种因素参与破坏血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)的结构及功能,其中水通道蛋白-4(aquaporin-4, AQP4)参与胶质细胞与脑脊液以及血管之间的水调节和运输,与脑脊液重吸收、渗透压调节及脑水肿形成的病理过程密切相关<sup>[6]</sup>,在介导水分子通透血脑屏障过程中发挥重要作用;而紧密连接蛋白-5(claudin-5, CLN5)是调节脑血管内皮细胞通透性的关键靶点<sup>[7]</sup>。本研究通过观察不同时程电针预处理(取穴百会、水沟穴)对脑缺血再灌注大鼠血脑屏障 AQP4、CLN5 的影响,探讨电针预处理的适宜时程以及电针预处理诱导脑缺血再灌注大鼠脑缺血耐受的可能机制。

## 材料与方法

### 一、实验动物

共选取清洁级健康雄性 3 月龄 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 64 只,体重(270 ± 20)g,均购于上海西普尔-必凯实验动物有限公司,动物合格证号[SCXK(沪)2008-0016],实验大鼠均常规饲养,饲养环境温度为 18 ~ 22 °C。

### 二、主要试剂与设备

主要药物试剂包括逆转录试剂盒(美国 BioRad 公司,批号 CA94547)、扩增试剂盒(美国 BioRad 公司,批号 HC-139718)、AQP4、CLN5、β-actin 上下游引物(上海生物工程有限公司,批号 HC-139718)、Triton-X100(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号 T8200)、兔抗 AQP4、兔抗 CLN5(美国 Bioworld Technology 公司,编号 GR24121-1)、免疫组化染色试剂盒(河北博海生物工程开发有限公司,批号 948868A)、DAB 显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号 C-0020)等。主要实验仪器与设备包括酶标仪(德国 Thermo 公司)、PCR 扩增仪(美国 BIO-RAD 公司)、ECKMAN 超高速离心机(美国贝克曼仪器公司)、冷冻切片机(德

国 Leica 公司)、激光多普勒组织血流仪(帕瑞医学科技有限公司)、HANS-100 型韩氏镇痛仪(南京济生医疗科技有限公司)等。

### 三、分组及电针预处理

采用随机数字表法将上述大鼠分为假手术组、模型组、电针预处理 7 d 组及电针预处理 15 d 组。电针预处理 7 d 组给予 7 d 电针百会、水沟穴预处理;电针预处理 15 d 组给予 15 d 电针百会、水沟穴预处理。实验大鼠百会、水沟取穴均参照《实验动物穴位图谱》<sup>[8]</sup>,采用华佗牌 0.3 mm × 25 mm 针灸针刺入上述穴位,然后连接 HANS-100 型电针仪,选择频率为 2 Hz 与 15 Hz 的组合疏密波(2/15 Hz),电流强度为 1 mA,每次治疗 30 min,每天治疗 1 次。在实验大鼠预处理期间,模型组及假手术组大鼠均常规饲养,不给予特殊干预。

### 四、脑缺血再灌注模型制作

待各组大鼠既定处理完成后,采用 Longa 改良线栓法将模型组、电针预处理 7 d 组及电针预处理 15 d 组大鼠制成单侧(右侧)大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)动物模型<sup>[9]</sup>,并采用激光多普勒组织血流仪监测脑缺血程度,以脑血流值下降至基础值的(45% ± 10%)水平为造模成功初选标准<sup>[10-11]</sup>,待缺血 90 min 后进行再灌注;剪开颈部缝合线,抽出栓线至颈总动脉起始部,剪去大鼠体外栓线并缝合切口。待大鼠清醒后按文献<sup>[12]</sup>介绍的方法对大鼠神经功能进行评分,具体评分标准如下:4 分表示大鼠昏迷或不能爬行;3 分表示大鼠重度神经功能缺陷,向脑缺血病灶对侧倾倒;2 分表示大鼠中度神经功能缺陷,向脑缺血病灶对侧转圈;1 分表示大鼠轻度神经功能缺损,大鼠不能完全伸展脑缺血病灶对侧前爪;0 分表示大鼠无神经功能缺损症状。选取神经功能评分为 1 ~ 3 分的大鼠纳入后续实验。假手术组大鼠手术期间只分离颈总动脉,未进行血管栓塞操作。

### 五、各组大鼠血脑屏障 AQP4 及 CLN5 阳性细胞检测

于制模 24 h 后各组分别取 8 只大鼠采用 10% 水合氯醛麻醉,待完全麻醉后开胸,从心尖部插入灌注针头,剪开右心耳,采用生理盐水经左心室、升主动脉进行灌注,直至右心房流出液变清,再推注 4% 多聚甲醛

150 ml, 然后滴注 4% 多聚甲醛液 300 ml, 半小时后断头取脑, 用滤纸吸干表面血迹, 弃去小脑及双侧嗅球, 切取右侧大脑组织置于多聚甲醛溶液中固定 6 h, 然后依次于 15%、30% 蔗糖溶液中梯度脱水, 待脑组织沉底后取出, 用锡箔纸包裹, 浇灌液氮速冻 1 min, 保存于 -80 °C 冰箱内。上述脑组织标本采用恒温冷冻切片进行连续冠状位冰冻切片, 片厚 20 μm, 按照试剂盒说明书进行免疫组织化学染色。封片后先在 10 倍物镜下确定大脑缺血侧皮质, 然后更换为 20 倍物镜, 在缺血侧皮质区域选取 1 个清晰视野, 采用 Leica Qwin 3.1 设备采集图像, 选用 Image-Pro Plus Express 6.0 版图片分析软件进行分析, 统计各组大鼠脑缺血侧皮质免疫阳性细胞数量。

六、各组大鼠血脑屏障 AQP4 及 CLN5 mRNA 检测

于制模 24 h 后各组分别取 8 只大鼠采用 10% 水合氯醛麻醉并断头取脑, 用滤纸吸干脑组织表面血迹, 切取右侧大脑组织用冰生理盐水清洗后置于冻存管内, 保存于 -80 °C 冰箱中。按照 Trizol 说明书中的方法取右侧部分脑缺血组织 (50 ~ 100 g) 提取总 RNA。在 20 μl 逆转录反应体系中, 以 1.0 μg mRNA 为模板将 mRNA 逆转录为 cDNA。PCR 反应以 β-actin 为内参, β-actin 上游引物序列为 5'-TATCGGCAATGAGCGGTTCC-3', 下游引物序列为 5'-GTGTTGGCATAGAGGCTTTTACG-3'; AQP4 上游引物序列为 5'-CACCAGTTGAACCAGCAC-3', 下游引物序列为 5'-GAAATGAACCCACAGACC-3'; CLN5 上游引物序列为 5'-GGGCGTCCAGAGTTCAGTT-3', 下游引物序列为 5'-TTCCCACATCGGTCTTTCC-3'。采用 β-actin 的拷贝数作为校正基数, 将各样本中 AQP4、CLN5 的 Ct 值 (cycle threshold) 减去对应样本中 β-actin 的 Ct

值, 即获得该样本中 AQP4 及 CLN5 的 ΔCt 值, 根据  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  公式计算各样本中 AQP4 mRNA 及 CLN5 mRNA 表达量。

七、统计学分析

本研究所得计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用 SPSS 20.0 版统计学软件包进行数据分析, 组间两两比较采用单因素方差分析, 方差齐性时采用 LSD (least significant difference, LSD) 检验, 方差不齐时采用 Dunnett-t3 检验, 以  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

结 果

一、各组大鼠血脑屏障 AQP4 与 CLN5 阳性细胞比较

从图 1 及表 1 可以看出, 假手术组大鼠血脑屏障 AQP4 阳性细胞表达较少, 模型组 AQP4 阳性细胞表达较假手术组明显上调 ( $P < 0.05$ ), 电针预处理 7 d 组血脑屏障 AQP4 阳性细胞表达较模型组明显减少 ( $P < 0.05$ ), 电针预处理 15 d 组 AQP4 阳性细胞表达亦较模型组及电针预处理 7 d 组明显减少 ( $P < 0.05$ ); 假手术组大鼠血脑屏障 CLN5 阳性细胞呈强阳性表达, 模型

表 1 各组大鼠血脑屏障 AQP4 与 CLN5 阳性细胞数量比较 (个/每高倍镜视野,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数	AQP4 阳性细胞数	CLN5 阳性细胞数
假手术组	8	19.12 ± 0.45	72.37 ± 0.06
模型组	8	41.60 ± 1.22 <sup>a</sup>	38.39 ± 0.89 <sup>a</sup>
电针预处理 7 d 组	8	36.06 ± 0.54 <sup>ab</sup>	45.10 ± 1.44 <sup>ab</sup>
电针预处理 15 d 组	8	25.15 ± 0.55 <sup>abc</sup>	62.88 ± 0.61 <sup>abc</sup>

注: 与假手术组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与电针预处理 7 d 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

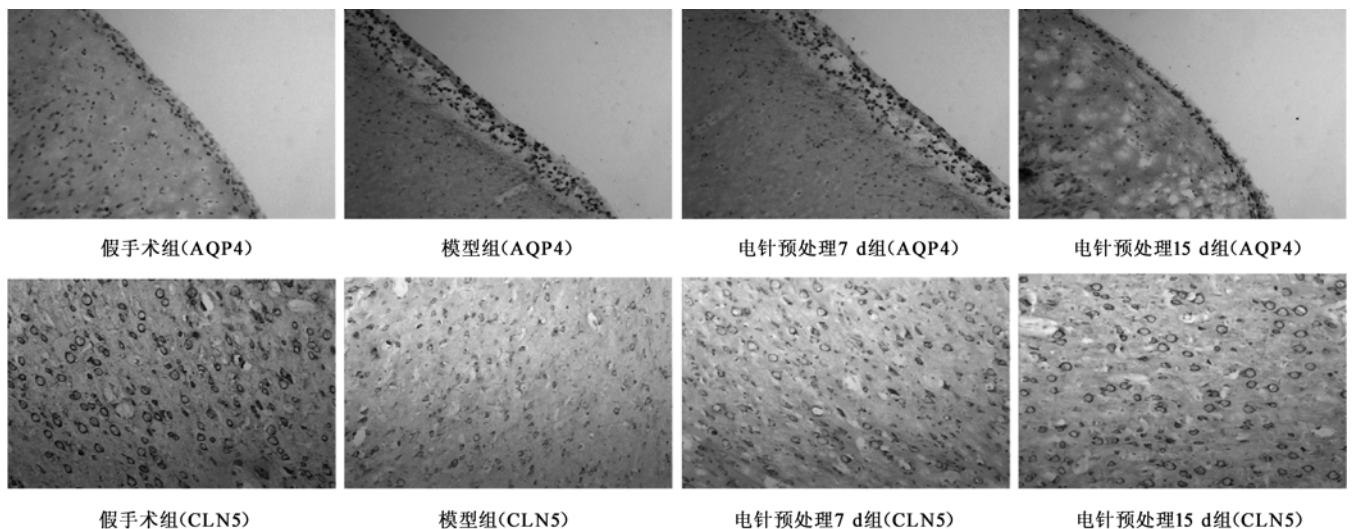


图 1 各组大鼠血脑屏障 AQP4、CLN5 阳性细胞表达比较 (免疫组化染色, ×200)

组 CLN5 阳性细胞数量较假手术组明显下降 ( $P < 0.05$ ), 电针预处理 7 d 组 CLN5 阳性细胞数量较模型组明显增多 ( $P < 0.05$ ), 并且电针预处理 15 d 组 CLN5 阳性细胞数量亦较模型组及电针预处理 7 d 组明显增多 ( $P < 0.05$ )。

二、各组大鼠血脑屏障 AQP4 与 CLN5 mRNA 表达比较

从表 2 可以看出, 模型组大鼠血脑屏障 AQP4 mRNA 表达较假手术组显著上调 ( $P < 0.05$ ), 电针预处理 7 d 组与电针预处理 15 d 组 AQP4 mRNA 表达均较模型组明显减弱 ( $P < 0.05$ ), 电针预处理 15 d 组 AQP4 mRNA 表达亦显著弱于电针预处理 7 d 组 ( $P < 0.05$ ); 模型组大鼠血脑屏障 CLN5 mRNA 表达较假手术组显著下降 ( $P < 0.05$ ), 电针预处理 7 d 组与电针预处理 15 d 组 CLN5 mRNA 表达均较模型组明显增强 ( $P < 0.05$ ), 电针预处理 15 d 组 CLN5 mRNA 表达亦较电针预处理 7 d 组明显增强 ( $P < 0.05$ )。

表 2 各组大鼠血脑屏障 AQP4 与 CLN5 mRNA 表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数	AQP4 mRNA	CLN5 mRNA
假手术组	8	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.03
模型组	8	1.82 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.47 ± 0.05 <sup>a</sup>
电针预处理 7 d 组	8	1.38 ± 0.04 <sup>ab</sup>	0.63 ± 0.01 <sup>ab</sup>
电针预处理 15 d 组	8	1.16 ± 0.04 <sup>abc</sup>	0.80 ± 0.03 <sup>abc</sup>

注: 与假手术组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与电针预处理 7 d 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

## 讨 论

目前临床在救治缺血性脑血管病方面取得较大进展, 但多数是脑缺血发生后的补救措施, 并不能降低脑血管病的发生率及发病时带来的损伤。近年来预处理已逐渐成为防治脑卒中的热点研究方向之一, 在不同的预处理手段中, 方法选择、介入时间及持续时间仍是影响患者血脑屏障通透性的重要因素, 故探讨合适的预处理方法、预处理时间对预防性治疗缺血性脑血管病高危人群具有重要意义。缺血性脑血管病在中医上归属于“中风”病范畴, “窍闭神匿、神不导气”为其病机, 醒神开窍为针刺治疗“中风”的基本原则。百会与水沟为醒脑开窍要穴, 均属于督脉, 位于头面部, 与脑损伤部位接近, 刺之不仅能通其局部气血, 而且还能加速脑血管侧支循环建立, 改善脑营养状态, 具有醒脑开窍作用, 适用于中风患者全程治疗<sup>[13]</sup>。如有文献报道, 针刺百会、水沟穴可降低局灶性脑缺血大鼠缺血侧大脑皮质细胞凋亡率, 提高脑皮质 PKA (protein kinase A) 阳性细胞表达率, 促进神经修复与再生, 从而降低神经行为缺损评分, 改善受损神经功能, 同时还可以增加

缺血区大脑皮质微血管密度、促进血管新生<sup>[14-15]</sup>; 另外有学者证实, 当电针频率为 2/15 Hz 时, 则实验大鼠脑缺血耐受效应相对较显著<sup>[16]</sup>。Wu 等<sup>[17]</sup>应用免疫技术观察电针对大鼠脑缺血后再灌注损伤的影响, 发现电针治疗脑缺血的作用机制之一是减弱再灌注对血脑屏障的破坏作用, 缩小血脑屏障破坏区域, 保持血脑屏障完整性。基于上述背景, 本实验选取百会、水沟两穴进行电针 (频率为 2/15 Hz, 电流强度为 1 mA) 刺激预处理, 并观察对脑缺血再灌注模型大鼠脑缺血耐受效应的影响。

目前研究发现, AQP4 在脑组织中分布非常广泛, 并且其分布具有高度选择性, 主要分布在中枢神经系统的星形胶质细胞膜以及与脑脊液 (cerebrospinal fluid, CSF) 密切接触的界面上, 参与胶质细胞与脑脊液以及血管之间的水调节和运输, 在介导水分子通透血脑屏障过程中发挥重要作用<sup>[18]</sup>。已有研究表明, AQP4 与脑水肿形成密切相关, 认为 AQP4 参与了脑创伤、脑出血、炎症、脑肿瘤或脑缺血等所诱发的一系列脑水肿病理过程<sup>[19]</sup>。本研究观察到假手术组脑组织中 AQP4 表达较少, 模型组大鼠缺血侧皮质 AQP4 阳性细胞表达强烈, 而电针预处理 7 d 组及 15 d 组 AQP4 表达均较模型组明显减弱, 并且电针预处理 15 d 组 AQP4 表达亦明显弱于电针预处理 7 d 组, 与脑水肿程度变化趋势一致<sup>[20]</sup>, 提示脑缺血后 AQP4 表达上调, 则脑水肿程度加重。本研究结果进一步证实 AQP4 与脑缺血性水肿形成有关, 与近年来国内、外相关报道结果基本一致<sup>[21-22]</sup>。当大鼠发生脑缺血损伤后, 其血脑屏障通透性增加, 同时脑缺血损伤激活了星形胶质细胞终足上的 AQP4, 故模型组大鼠脑组织中 AQP4 表达增多。经电针预处理的大鼠发生脑缺血后, 其脑组织中 AQP4 表达较模型组减弱, 并且以电针预处理 15 d 对脑缺血大鼠受损血脑屏障中 AQP4 的抑制作用较显著, 提示长时程累积的电针预处理对缺血再灌注血脑屏障损伤的保护作用更为显著。

CLN5 是脑微血管内皮细胞中的特异性蛋白, 其表达增高可诱导血脑屏障形成<sup>[23]</sup>。Koto 等<sup>[7]</sup>证实跨膜蛋白 CLN5 是反映小鼠血脑屏障通透性的关键性因素, 同时也是调节脑血管内皮细胞通透性的关键靶点。本研究结果显示, 在脑缺血再灌注损伤早期, 模型组大鼠脑组织中 CLN5 表达水平明显下降, 其可能原因是血脑屏障破坏后, CLN5 从紧密连接 (tight junction, TJ) 释放出来后被降解所致。经电针预处理大鼠其脑组织中 CLN5 下降幅度较模型组减弱, 说明电针预处理可上调脑缺血再灌注损伤早期血脑屏障 CLN5 表达, 从而减轻血脑屏障破坏程度; 并且以电针预处理 15 d 对 CLN5 的促进作用较显著, 同样提示长时程电针预处理

对继发脑缺血再灌注血脑屏障损伤具有更显著的保护作用。

综上所述,针对百会、水沟穴不同时程电针预处理可通过调节脑缺血损伤后血脑屏障 AQP4 与 CLN5 表达,从而减轻血脑屏障破坏程度,增强缺血性耐受效应,且长时程积累的电针预处理对脑缺血再灌注大鼠血脑屏障具有更显著的保护作用,其保护机制可能与抑制脑缺血再灌注大鼠血脑屏障 AQP4 表达及促进 CLN5 表达有关,确切作用机制还有待继续深入探讨。

### 参 考 文 献

[1] Kitagawa K, Matsumoto M, Tagaya M, et al. Ischemic tolerance phenomenon found in the brain[J]. Brain Res, 1990, 528(2): 21-24.

[2] Tseitlin AM, Lubnin AIu, Zel'man V, et al. Ischemic tolerance (preconditioning) of the brain[J]. Anesteziol Reanimatol, 2008, 26(2): 41-47.

[3] 黄翔, 吴丽珉, 孙连坤, 等. 高压氧预处理可对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中风与神经疾病杂志, 2012, 29(5): 423-425.

[4] 李卓, 沈燕, 王勇, 等. 针刺诱导脑缺血耐受研究进展[J]. 河南中医, 2014, 34(3): 430-432.

[5] 魏海东, 王世全, 郭钊, 等. 电针预处理促进缺血再灌注后 GSK-3β 磷酸化诱导脑缺血耐受效应[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(8): 1464-1467.

[6] Papadopoulos MC, Verkman AS. Aquaporin-4 and brain edema[J]. Pediatr Nephrol, 2007, 22(6): 778-784.

[7] Koto T, Takubo K, Ishida S, et al. Hypoxia disrupts the barrier function of neural blood vessels through changes in the expression of claudin-5 in endothelial cells[J]. Am J Pathol, 2007, 170(4): 1389-1397.

[8] 华兴邦, 李辞蓉, 周浩, 等. 大鼠穴位图谱的研制[J]. 实验动物与动物实验, 1991, 19(1): 1-5.

[9] 赵凯, 张国华, 贾宇臣, 等. 线栓法制备大鼠局灶性脑缺血/再灌注模型的改良及探讨[J]. 中国卒中杂志, 2012, 7(12): 916-921.

[10] 刘宇, 孟然, 闫峰, 等. 激光多普勒血流仪评价活体大鼠大脑中动脉

栓塞模型成功的可行性分析[J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(3): 620-624.

[11] 崔景军, 何娇君, 李晶, 等. 大鼠大脑中动脉梗死模型的评价标准探讨[J]. 天津中医药, 2013, 30(1): 33-35.

[12] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-87.

[13] 迟相林, 李振光, 郭兆荣, 等. 针刺治疗急性缺血性脑卒中的机制研究进展[J]. 针刺研究, 2007, 32(4): 285-288.

[14] 黄浏姣, 陈邦国, 洪亚群. 电针对脑缺血再灌注大鼠神经功能及脑组织微血管密度影响的研究[J]. 湖北中医药大学学报, 2013, 15(1): 9-11.

[15] 李占标, 刘方铭, 刘维菊. 针刺疗法对局灶性脑缺血大鼠神经功能、大脑皮层蛋白激酶 A 表达及细胞凋亡率的影响[J]. 针刺研究, 2013, 38(2): 106-111.

[16] 劳宁, 熊利泽. 不同频率电针预处理对诱导脑缺血耐受程度的差异[J]. 中国临床康复, 2005, 9(9): 116-117.

[17] Wu XD, Du LN, Wu GC, et al. Effect of electroacupuncture on blood-brain barrier after cerebral ischemia reperfusion in rat[J]. Acupunct Electro Ther Res, 2001, 26(1-2): 1-9.

[18] 彭雪华, 孙善全. 水通道蛋白 4 在大鼠大脑中的定位研究[J]. 解剖学报, 2004, 35(2): 132-136.

[19] Schaller B, Graf R. Cerebral ischemia tolerance[J]. Praxis(Bern 1994), 2002, 91(40): 1639-1644.

[20] 刘建勋, 林咸明. 不同时程电针预处理对脑缺血大鼠血脑屏障功能的保护效应[J]. 上海针灸杂志, 2014, 33(12): 1169-1172.

[21] 李敏, 陈少军, 陈学群, 等. 脑水肿的 AQP4 调节机制研究进展[J]. 浙江大学学报(医学版), 2013, 42(1): 114-122.

[22] Zhou J, Kong H, Hua X, et al. Altered blood brain barrier integrity in adult aquaporin-4 knock-out mice[J]. Neuroreport, 2008, 19(1): 1-5.

[23] Seth A, Sheth P, Elias BC, et al. Protein phosphatases 2A and 1 interact with occludin and negatively regulate the assembly of tight junctions in the CACO-2 cell monolayer[J]. J Biol Chem, 2007, 282(15): 11487-11498.

(修回日期:2015-04-30)

(本文编辑:易 浩)

## 《中华物理医学与康复杂志》第七届编辑委员会通讯编委名单

(按姓氏笔画排序)

- |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 马 超 | 尹 勇 | 王俊华 | 王楚怀 | 王蓓蓓 | 白玉龙 | 刘雅丽 | 孙乐蓉 | 毕 胜 |
| 许 涛 | 许光旭 | 余 茜 | 张载福 | 李 丽 | 李铁山 | 李雪萍 | 杨卫新 | 汪 萍 |
| 汪 琴 | 汪军民 | 陆 敏 | 陈 刚 | 陈 翔 | 范晓华 | 姜志梅 | 胡昔权 | 胥方元 |
| 商晓英 | 舒 彬 | 谢 明 | 虞乐华 |     |     |     |     |     |