土家族麝针疗法改善缺血性脑卒中模型大鼠认知能力缺陷的作用及机制Δ

陈岳望[1*]，李　鸿[1]，黄　琪[1]，杨　鑫[1]，姚佳丽[1]，徐　蕾[1]，涂　星[1,2#]（1.湖北民族大学医学部，湖北 恩施 445000；2.湖北民族大学武陵山中药材检验检测中心，湖北 恩施　445000）

中图分类号　R965；R285.5　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）09-1076-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.09.10

摘　要　目的　研究土家族麝针疗法对缺血性脑卒中模型大鼠认知能力缺陷的改善作用及机制。**方法**　将44只大鼠随机分成假手术组、模型组、麝针治疗组、普通针刺组，每组11只。除假手术组外，其余各组大鼠采用改良线栓法构建缺血性脑卒中大鼠模型。造模成功后，麝针治疗组和普通针刺组大鼠分别利用土家族麝针（含人工麝香3 mg）和传统毫针干预缺血区对侧头皮运动区肌层，干预时长为3个疗程；假手术组和模型组大鼠不进行任何干预。记录大鼠神经功能缺损评分并进行Morris水迷宫行为学测试，观察大鼠脑皮质区神经元形态及缺血侧室管膜下区DCX/BrdU和NeuN/BrdU联合标记细胞的表达情况，检测大鼠血浆中缺氧诱导因子1α（HIF-1α）和血管内皮生长因子（VEGF）水平。**结果**　与假手术组比较，模型组大鼠神经功能缺损评分显著升高，逃避潜伏期显著延长，通过平台次数显著减少（$P<0.05$）；神经元结构明显破坏，周围尼氏小体数量减少；缺血侧室管膜下区DCX/BrdU和NeuN/BrdU联合标记的细胞数量显著增加，血浆中HIF-1α、VEGF水平显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，麝针治疗组和普通针刺组大鼠神经功能缺损评分、逃避潜伏期、通过平台次数均显著逆转（$P<0.05$）；神经元结构明显改善，尼氏小体数量增多；缺血侧室管膜下区DCX/BrdU和NeuN/BrdU联合标记的细胞数量显著增加（$P<0.05$）；血浆中HIF-1α、VEGF水平显著升高（$P<0.05$）。与普通针刺组比较，麝针治疗组大鼠血浆中HIF-1α水平降低（但差异无统计学意义），VEGF水平显著升高（$P<0.05$）。**结论**　土家族麝针疗法可改善缺血性脑卒中模型大鼠的认知能力缺陷；其作用机制可能与促进缺血侧室管膜下区神经干细胞的迁移和分化，抑制HIF-1α过度释放，增加VEGF表达有关。

关键词　缺血性脑卒中；土家族麝针；认知能力缺陷；神经干细胞；神经元

Effects and mechanisms of Tujia medicine musk needle therapy on improving cognitive dysfunction in ischemic stroke model rats

CHEN Yuewang[1], LI Hong[1], HUANG Qi[1], YANG Xin[1], YAO Jiali[1], XU Lei[1], TU Xing[1,2]（1. Medical School, Hubei Minzu University, Hubei Enshi 445000, China; 2. Inspection and Testing Center for Traditional Chinese Medicine of Wuling Mountain, Hubei Minzu University, Hubei Enshi 445000, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To study the improvement effects and mechanisms of Tujia medicine musk needle therapy on cognitive dysfunction in ischemic stroke model rats. **METHODS** Totally 44 rats were randomly divided into sham operation group, model group, musk needle treatment group and ordinary acupuncture group, with 11 rats in each group. Except for the sham operation group, ischemic stroke model was induced by modified suture method in other groups. After modeling, musk needle treatment group and the ordinary acupuncture group were treated with Tujia musk needle (containing 3 mg of artificial musk) and traditional filiform needle respectively to intervene in the muscle layer of the contralateral scalp motor area, with an intervention duration of 3 courses. The sham operation group and model group were not given any treatment. The neurological deficits score in rats were recorded and Morris water maze behavioral tests were conducted. The morphology of neurons in the cortical area of rats was observed, and the expression of DCX/BrdU and NeuN/BrdU co-labeled cells in the ischemic subependymal area was observed. The plasma levels of hypoxia-inducible factor-1α (HIF-1α) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in rats were tested. **RESULTS** Compared with sham operation group, neurological deficit score of model group was increased significantly, escape latency prolonged significantly, and the times of crossing platform significantly reduced ($P<0.05$); the neuronal structure was significantly damaged, and the number of surrounding Nissl bodies decreased; the number of DCX/BrdU and NeuN/BrdU co-labeled cells in the ischemic subependymal area were significantly increased ($P<0.05$); the levels of HIF-1α and VEGF in plasma were significantly increased ($P<0.05$). Compared with model group, neurological deficits score, escape latency, the times of crossing platform were all reversed significantly in musk needle treatment group and

Δ **基金项目** 湖北省科技计划项目（No.2017CFB232）；湖北省卫生健康委员会中医药科研立项项目（No.ZY2019Q033）；湖北民族大学大学生创新创业训练计划项目（No.S202110517055）

＊ **第一作者** 研究方向：临床医学。E-mail：1652847198@qq.com
通信作者 副教授，硕士生导师，博士。研究方向：民族医药。E-mail：2015030@hbmzu.end.cn

ordinary acupuncture group ($P<0.05$); the neuronal structure was improved, and the number of Nissl bodies increased; the number of DCX/BrdU and NeuN/BrdU co-labeled cells in the ischemic subependymal area were significantly increased ($P<0.05$); the plasma levels of HIF-1α and VEGF were significantly increased ($P<0.05$). Compared with ordinary acupuncture group, the plasma level of HIF-1α was reduced (the difference was not statistically significant), while the level of VEGF was significantly increased ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Tujia medicine musk needle therapy can significantly improve the cognitive dysfunction in ischemic stroke model rats, and its mechanism of action may be associated with promoting migration and differentiation of neural stem cell in ischemic subependymal area, preventing the excessive release of HIF-1α and increasing the expression of VEGF.
KEYWORDS ischemic stroke; Tujia medicine musk needle; cognitive dysfunction; neural stem cells; neurons

脑卒中起病急、进展快，疾病负担逐年上升[1]。缺血性脑卒中在所有脑卒中类型中最为常见，约占60%[2]。动脉粥样硬化介导脑血栓形成后导致的脑部缺血坏死是缺血性脑卒中的主要发病机制，静脉溶栓是其主要治疗手段，但其存在时间窗口，患者需要在发病后4.5 h内进行静脉溶栓，否则效果大大降低，从而增加患者的病死率[3]。患者缺血性脑卒中后常伴有血管性认知能力缺陷，预后自主生存能力也逐渐下降[4]，因此，缺血性脑卒中的早期预防和临床治疗成为目前亟待解决的难题。

土家族麝针疗法是恩施土家族地区治疗急暴症（如缺血性脑卒中、惊厥、晕厥）的一种特殊外治疗法，是将麝香放入香樟子挡门牙中，制成麝针以代替刀或针来刺激穴位从而达到治疗目的，具有传统针灸疗法和药物治疗联合作用的优势。在前期研究中，本课题组根据土家族麝针的基本原理，研制出了其替代用针，并取得了相关专利（授权号为ZL201720035406.2）[5]。

本课题组前期研究发现，土家族麝针疗法可改善缺血性脑卒中模型大鼠的认知能力[6]，但是具体作用机制尚未完全阐明。有研究表明，机体在缺氧时可通过促进缺氧诱导因子1α（hypoxia-inducible factor-1α，HIF-1α）的生成，启动血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）的转录，致使VEGF表达增强，促进缺氧的恢复[7]。基于此，本研究采用改良线栓法构建缺血性脑卒中模型大鼠，并通过检测HIF-1α、VEGF的水平，研究土家族麝针疗法对模型大鼠认知能力缺陷的改善作用及机制，以期为土家族麝针的临床应用提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有DMS-2型Morris水迷宫测试系统（中国医学科学院药物研究所），ECLIPSE E100型正置光学显微镜、ECLIPSE TI-SR型荧光显微镜（日本Nikon公司），5810R型高速冷冻离心机（德国Eppendorf公司），1530型酶标定量测定仪（美国Thermo Fisher Scientific公司），Enspire型多功能酶标仪（美国Perkinelmer公司），Milli-QIQ-7000型超纯水仪（美国Millipore公司）。

1.2 主要药品与试剂

土家族麝针由本实验室自制，麝香的含量为3 mg/支；大鼠HIF-1α酶联免疫吸附试验（ELISA）试剂盒（批号BR20959）购自上海榕柏生物技术有限公司；大鼠VEGF ELISA试剂盒（批号EK183-02）购自杭州联科生物技术有限公司；鼠源肾上腺双皮质激素（doublecortin，DCX；其可反映神经干细胞的迁移情况）抗体、鼠源神经元核抗原（neuron specific nuclear protein，NeuN；其可反映神经干细胞的分化情况）抗体、鼠源5-溴-2-脱氧尿嘧啶核苷（5-bromo-2-deoxy uridine，BrdU）抗体（批号分别为4255S、4702S、2983T）均购自美国CST公司；异硫氰酸荧光素（FITC）标记的山羊源免疫球蛋白G（IgG）、FITC标记的山羊源IgG、CY3标记的驴源IgG二抗（批号分别为GB131356、GB131460、GB131359）均购自武汉赛维尔生物科技有限公司；尼氏染色试剂盒（批号SC2033）购自北京中杉金桥生物技术有限公司；DAPI染色液（货号ZKP-E15006-2）购自苏州泽科生物科技有限公司；其他试剂均为分析纯。

1.3 实验动物

本研究所用动物为SPF级SD雄性大鼠，共44只，5～7周龄，体质量（200±20）g，购自辽宁长生生物技术有限公司，动物生产许可证号为SCXK（辽）2015-0001。大鼠饲养于温度20 ℃、湿度55%～75%、自然光照的环境中，其间自由饮食。本研究动物实验通过湖北民族大学实验动物科学研究伦理审查，伦理批号为（2018）008。

2 方法

2.1 分组与造模

将44只大鼠随机分成假手术组、模型组、普通针刺组、麝针治疗组，每组11只。除假手术组外，其余各组大鼠采用改良线栓法并参考本课题组前期研究[8]构建缺血性脑卒中模型。具体方法如下：将大鼠麻醉后，从颈前正中纵形切口分离出左侧颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉，以微型动脉夹结扎颈总动脉、颈内动脉；在颈总动脉距颈内动脉分叉2～3 mm处剪开一“V”形口，松开微型动脉夹；将线栓从颈总动脉逐渐插入到颈内动脉，继续向下推进约18 mm，缝合肌肉与皮肤。假手术组大鼠将颈总动脉暴露充分并与其他组织结构分离，但不行栓塞处理。按照Zea-Longa 5级评分法[9]筛选出评分为1～3分的大鼠，即造模成功的大鼠。各组均死亡1只大鼠，且除假手术组外，其余各组大鼠均造模成功。

2.2 干预措施

取适量人工麝香按专利方法[5]制备土家族麝针（含人工麝香3 mg）。参考文献[7]方法进行干预：麝针治疗组大鼠将麝针置于缺血区对侧头皮运动区肌层，以20 r/min持续捻针5 min，直至针刺部位温度稍微上升后将针留置5 min，反复捻转留置3次后将针取出，每天干预2次。5 d为1个疗程，1个疗程结束后大鼠适应2 d再进入下一个疗程，持续干预3个疗程。普通针刺组则采用传统毫针以相同的针刺方式和部位进行干预，假手术组和模型组不采取任何干预措施。第2个疗程开始后，各组大鼠同时参考文献[10]方法腹腔注射BrdU溶液（50 mg/kg），连续注射12 d，以完成BrdU增殖细胞在缺血侧室管膜下区的标记（用以反映神经元的新生情况）。

2.3 大鼠神经功能缺损评分

每组随机选择6只大鼠分别于干预前和末次干预24 h后，采用改良神经功能缺损评分法评估其运动、感知、反射和平衡能力，并记录得分[11]。将各组大鼠得分取平均值作为最终得分，分值越高说明神经功能缺损程度越严重。

2.4 大鼠Morris水迷宫行为学测试

以“2.3”项下参与经神经功能缺损评分的24只大鼠进行Morris水迷宫行为学实验。前5 d仅进行适应性训练，将大鼠面对池壁，先后从一、二、三、四象限的入水点放入水面，观察并记载其在60 s内找到并爬上平台所用时间（即逃避潜伏期，时间越短说明大鼠空间记忆能力越强，反之越弱）、经过平台的次数及运动路线。若大鼠60 s内无法找到平台，则人为将其指引至平台上，等待10 s后放回笼中并记录其逃避潜伏期为60 s。第6天开始进行空间探索实验，观察并记录大鼠在60 s内从不同象限入水后找到平台的时间。

2.5 大鼠脑皮质区神经元形态观察

上述实验结束后，大鼠腹腔注射戊巴比妥钠进行麻醉，收集腹主动脉血备用；然后向大鼠心脏灌注生理盐水200 mL，继续灌入4%多聚甲醛使其灌注充分，断头后将缺血损伤侧脑组织取出，迅速放入4%多聚甲醛中固定，然后进行尼氏染色并制成切片，利用光学显微镜观察并拍照。

2.6 大鼠缺血侧室管膜下区DCX/BrdU和NeuN/BrdU联合标记细胞表达的检测

采用免疫荧光染色法进行检测。切取部分脑组织制作切片，经烤片、脱蜡、脱水后，用乙二胺四乙酸抗原进行修复，以盐酸孵育后用硼酸溶液漂洗，再以3%牛血清白蛋白室温密封；加入一抗（BrdU、DCX、NeuN的稀释度均为1∶100）、二抗孵育后，滴加DAPI染色液复染，避光孵育，以磷酸盐缓冲液冲洗切片，封片。采用显微镜观察每张切片，找到BrdU标记的脑组织并随机选取5个视野采集图像，通过Image Pro Plus 6.0软件获取联合标记细胞在单位面积内的数目，取平均值进行定量分析。BrdU标记的细胞数目越多，表明神经干细胞迁移和分化的程度越显著。其中，BrdU标记的细胞核呈红色荧光；DCX及NeuN标记的细胞质呈绿色荧光，细胞核呈蓝色荧光；DCX/BrdU和NeuN/BrdU联合标记的细胞质呈绿色荧光，细胞核呈红色荧光。

2.7 大鼠血浆中HIF-1α、VEGF水平检测

采用ELISA法进行检测。取“2.5”项下各组大鼠腹主动脉血进行离心，取上清液，按ELISA试剂盒说明书方法检测大鼠血浆中HIF-1α、VEGF水平。

2.8 统计学方法

采用SPSS23.0软件进行分析，计量资料以$\bar{x}\pm s$表示。多组间比较采用单因素方差分析；方差齐性时，组间两两比较采用LSD-t检验，同组治疗前后比较采用配对t检验；方差不齐时，采用Dunnett-t检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 土家族麝针疗法对大鼠神经功能缺损的影响

治疗前，与假手术组比较，模型组、普通针刺组、麝针治疗组大鼠神经功能缺损评分均显著升高（$P<0.05$）。治疗后，与模型组比较，麝针治疗组和普通针刺组大鼠神经功能缺损评分均显著降低（$P<0.05$）；与普通针刺组比较，麝针治疗组大鼠神经功能缺损评分显著降低（$P<0.05$）。另外，除假手术组外，其余各组与治疗前比较，大鼠神经功能缺损评分均显著降低（$P<0.05$）。结果见表1。

表1 各组大鼠神经功能缺损评分结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	治疗前	治疗后
假手术组	0	0
模型组	9.68 ± 1.02^{a}	6.86 ± 1.02^{b}
普通针刺组	9.37 ± 0.85^{a}	4.11 ± 0.60^{bc}
麝针治疗组	9.59 ± 0.67^{a}	3.22 ± 0.29^{bcd}

a：与治疗前假手术组比较，$P<0.05$；b：与同组治疗前比较，$P<0.05$；c：与治疗后模型组比较，$P<0.05$；d：与治疗后普通针刺组比较，$P<0.05$

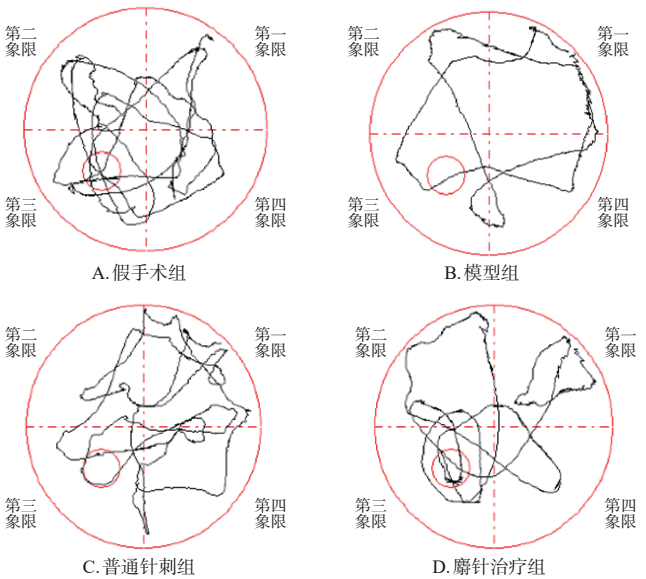
3.2 土家族麝针疗法对大鼠空间记忆能力的影响

与假手术组比较，模型组大鼠逃避潜伏期显著延长，通过平台次数显著减少（$P<0.05$）；与模型组比较，普通针灸组、麝针治疗组大鼠逃避潜伏期显著缩短，通过平台次数显著增加（$P<0.05$）；与普通针刺组比较，麝针治疗组大鼠逃避潜伏期显著缩短，通过平台次数显著增加（$P<0.05$）。结果见表2、图1。

表2 各组大鼠逃避潜伏期、通过平台次数的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	逃避潜伏期/s	通过平台次数/次
假手术组	11.60 ± 1.38	5.75 ± 1.45
模型组	27.39 ± 3.14^{a}	2.38 ± 0.71^{a}
普通针刺组	20.48 ± 1.41^{b}	4.08 ± 1.25^{b}
麝针治疗组	12.28 ± 1.06^{bc}	5.13 ± 1.03^{bc}

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与普通针刺组比较，$P<0.05$



A. 假手术组　B. 模型组

C. 普通针刺组　D. 麝针治疗组

注：红色大圈代表整个Morris水迷宫测试系统平台，红色小圈代表其中的小平台

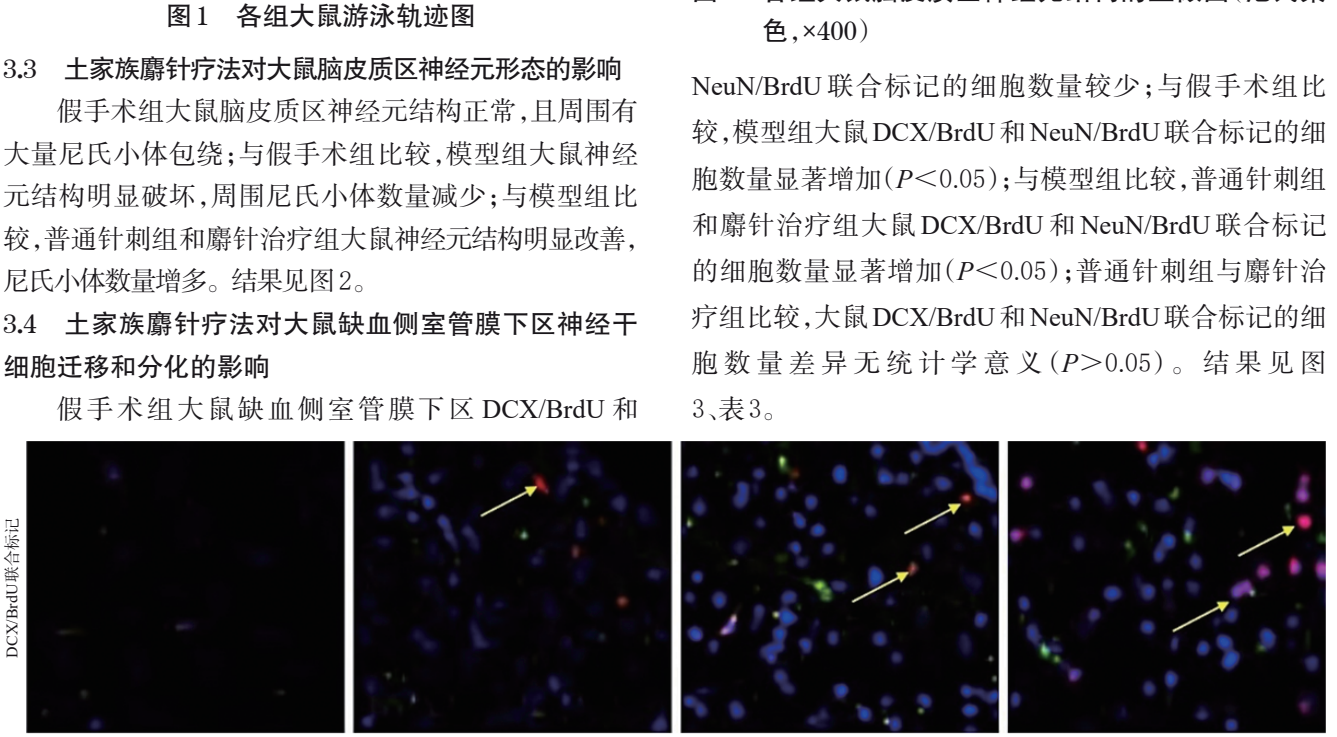
图1　各组大鼠游泳轨迹图

3.3　土家族麝针疗法对大鼠脑皮质区神经元形态的影响

假手术组大鼠脑皮质区神经元结构正常，且周围有大量尼氏小体包绕；与假手术组比较，模型组大鼠神经元结构明显破坏，周围尼氏小体数量减少；与模型组比较，普通针刺组和麝针治疗组大鼠神经元结构明显改善，尼氏小体数量增多。结果见图2。

3.4　土家族麝针疗法对大鼠缺血侧室管膜下区神经干细胞迁移和分化的影响

假手术组大鼠缺血侧室管膜下区DCX/BrdU和NeuN/BrdU联合标记的细胞数量较少；与假手术组比较，模型组大鼠DCX/BrdU和NeuN/BrdU联合标记的细胞数量显著增加（$P<0.05$）；与模型组比较，普通针刺组和麝针治疗组大鼠DCX/BrdU和NeuN/BrdU联合标记的细胞数量显著增加（$P<0.05$）；普通针刺组与麝针治疗组比较，大鼠DCX/BrdU和NeuN/BrdU联合标记的细胞数量差异无统计学意义（$P>0.05$）。结果见图3、表3。

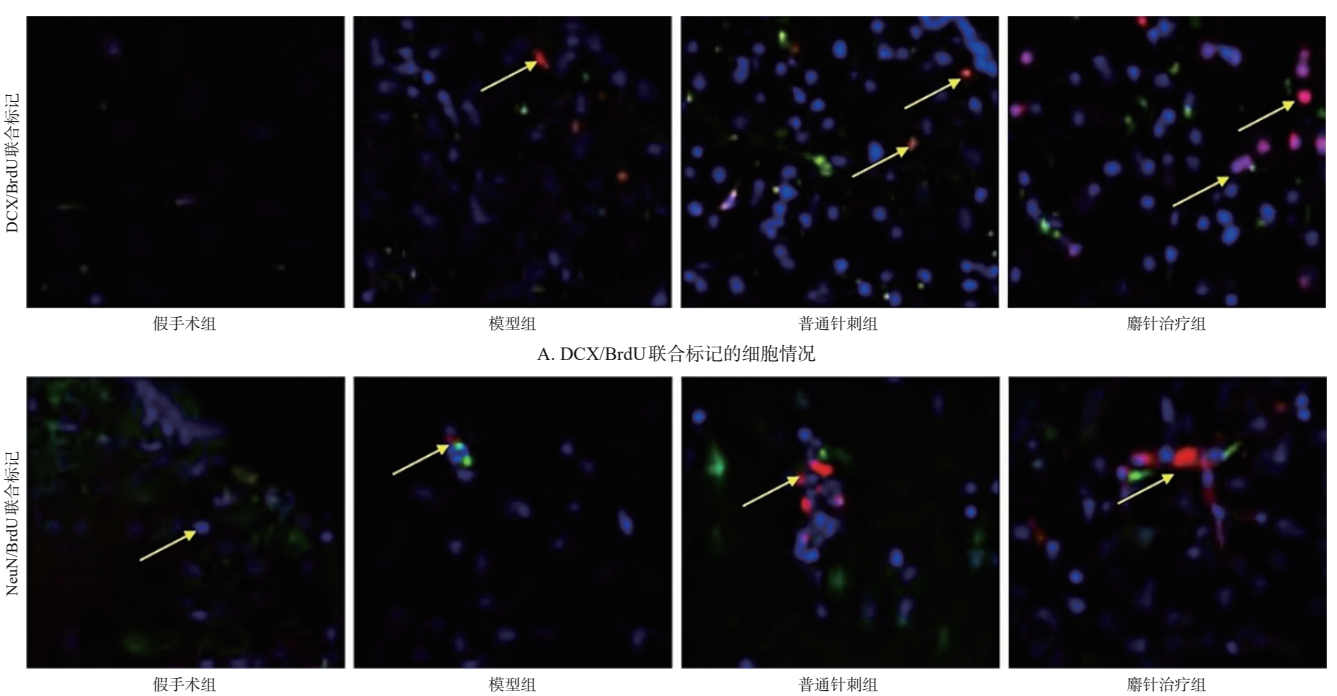


A. 假手术组　B. 模型组

C. 普通针刺组　D. 麝针治疗组

注：黑色箭头代表尼氏小体

图2　各组大鼠脑皮质区神经元结构的显微图（尼氏染色，×400）



A. DCX/BrdU联合标记的细胞情况

B. NeuN/BrdU联合标记的细胞情况

注：黄色箭头代表标记处

图3　各组大鼠缺血侧室管膜下区DCX/BrdU、NeuN/BrdU联合标记的细胞情况（×400）

表3　各组大鼠DCX/BrdU和NeuN/BrdU联合标记的细胞数量（$\bar{x}\pm s$，$n=6$，个/mm²）

组别	DCX/BrdU标注细胞	NeuN/BrdU标注细胞
假手术组	2.06±0.65	1.52±0.71
模型组	9.12±2.45[a]	4.23±0.57[a]
普通针刺组	30.90±9.22[b]	21.03±6.11[b]
麝针治疗组	35.16±6.81[b]	18.44±2.92[b]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$

3.5　土家族麝针疗法对大鼠血浆中HIF-1α、VEGF水平的影响

与假手术组比较，模型组大鼠血浆中HIF-1α、VEGF水平均显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，麝针治疗组和普通针刺组大鼠血浆中HIF-1α、VEGF水平均显著升高（$P<0.05$）；与普通针刺组，麝针治疗组大鼠血浆中HIF-1α水平降低但差异无统计学意义（$P>0.05$），VEGF水平显著升高（$P<0.05$）。结果见表4。

表4　各组大鼠血浆中HIF-1α、VEGF水平的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	HIF-1α/（pg/mL）	VEGF/（ng/mL）
假手术组	66.835 1±9.653 7	49.983 3±0.908 3
模型组	84.326 8±7.116 9[a]	86.668 3±2.329 6[a]
普通针刺组	123.065 9±10.069 8[b]	93.441 7±6.250 2[b]
麝针治疗组	113.563 4±12.006 9[b]	107.656 7±3.072 5[bc]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与普通针刺组比较，$P<0.05$

4　讨论

缺血性脑卒中极易发生认知能力障碍、运动能力受限、记忆能力减退等一系列并发症，从而影响患者治疗后的生活质量[12]。本研究通过研究缺血性脑卒中模型大鼠的神经功能缺损评分、逃避潜伏期、经过平台的次数及运行路线发现，土家族麝针疗法可改善模型大鼠神经功能缺损及空间记忆能力，且疗效优于普通针刺疗法。

当脑部供血不足时会使机体发生一系列病理生理变化，如线粒体功能障碍、炎症反应、神经元凋亡、蛋白质折叠错误等，从而导致缺血区神经元大量死亡，进而造成神经功能缺陷[13—14]。相关研究表明，在脑组织的室管膜下区存在少量神经元干细胞，但往往是不活跃的；当机体受到缺血影响时，可促进室管膜下区神经干细胞的生成，然后迁移至缺血纹状体区域，并同时分化成各类神经元转移至脑部神经网络中[15—16]。本研究结果显示，模型大鼠脑缺血发生后，神经元形态结构明显破坏，周围尼氏小体数量减少，缺血侧室管膜下区DCX/BrdU和NeuN/BrdU联合标记的细胞数量增加。经土家族麝针疗法干预后，大鼠神经元结构明显改善，尼氏小体数量增多，缺血侧室管膜下区DCX/BrdU和NeuN/BrdU联合标记的细胞数量显著增加。这表明土家族麝针疗法加速了缺血性脑卒中模型大鼠缺血侧室管膜下区神经干细胞的迁移和分化，从而促使神经元增生。

正常情况下，血浆中含有微量的HIF-1α，当脑组织供血供氧不足时，HIF-1α在血浆中的水平增加，加速促进内皮细胞新生和血管再塑，进而改善脑组织血液循环，在缺血性脑卒中的恢复中起重要作用[17—18]。但当严重且持续供血供氧不足时，HIF-1α在血浆中的水平会过度增加，加快细胞凋亡及炎症反应，使血脑屏障通透性升高，加重脑部水肿，造成严重缺血性脑卒中[19—20]。因此，使血浆中HIF-1α维持在一个适当的水平对缺血性脑卒中的治疗尤为重要。机体在发生缺血性脑卒中后会代偿性地引发血管新生，临床常采用多种方式促进脑血管新生以重建脑组织供血系统，改善脑部神经功能[21]。VEGF是诱导脑部缺血组织血管生长的关键信号分子，维持血浆中VEGF在较高水平，对促进脑部血管新生及缺血性脑卒中的治疗十分重要[22]。本研究结果显示，与假手术组比较，模型组大鼠血浆中HIF-1α、VEGF水平均升高，这说明当大鼠发生缺血性脑卒中时，其血浆中这两种细胞因子的表达会代偿性地增强。经普通针刺或土家族麝针疗法干预后，这两种细胞因子的表达均进一步升高；但相比于普通针刺疗法，经土家族麝针疗法干预后，大鼠血浆中HIF-1α水平降低（但差异无统计学意义），VEGF水平进一步升高，这说明土家族麝针疗法可减弱大鼠缺血性脑卒中后血浆中HIF-1α水平无限升高的趋势，并增强VEGF的表达。这与肖云等[23]研究得出的结论（脑卒中患者血浆中HIF-1α表达减少，而VEGF的表达增强）一致。

综上所述，土家族麝针疗法可改善缺血性脑卒中模型大鼠的认知能力缺陷；其作用机制可能与促进缺血侧室管膜下区神经干细胞的迁移和分化，抑制HIF-1α过度释放，增加VEGF表达有关。

参考文献

[1] KATAN M，LUFT A. Global burden of stroke[J]. Semin Neurol，2018，38(2)：208-211.

[2] GBD 2019 Stroke Collaborators. Global，regional，and national burden of stroke and its risk factors，1990—2019：a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J]. Lancet Neurol，2021，20(10)：795-820.

[3] 谭毅，苗同国，冯德勇. 三种中成药联用在脑中风恢复期治疗中的临床疗效评价[J]. 辽宁中医药大学学报，2012，14(1)：34-35.

[4] 陈孝男，杨爱琳，赵亚楠，等. 缺血性脑中风的发病机制及其常用治疗中药研究进展[J]. 中国中药杂志，2019，44(3)：422-432.

[5] 涂星，袁德培，文德鉴，等. 一种土家族麝针替代针灸用针：CN207055657U[P]. 2018-03-02.

[6] 袁丽君，涂星，李三宇，等. 土家族麝针疗法对缺血性脑卒中大鼠下丘脑中DA、5-HT、ICAM-1和MCP-1含量的影响[J]. 中国老年学杂志，2021，41(4)：840-844.

[7] LI Z B，WANG M M，GU J Y，et al. Missense variants in hypoxia-induced VEGFA/VEGFR2 signaling predict the outcome of large artery atherosclerotic stroke[J]. Cell Mol Neurobiol，2021，41(6)：1217-1225.

[8] 袁丽君. 基于PI3K/AKT/mTOR信号通路探讨土家族麝针疗法治疗缺血性脑中风大鼠的作用机制[D]. 恩施：湖北民族大学，2020.

（下转第1125页）