

·基础研究·

在大鼠骨骼肌急性损伤修复过程中按摩对神经型一氧化氮合成酶、肝细胞生长因子mRNA表达的影响*

杨 辉¹ 唐成林^{2,3} 常 青¹ 黄思琴² 唐念珍² 谢 辉² 陈晓琳² 田 源² 张 毅²

摘要

目的:研究按摩对大鼠骨骼肌急性损伤修复过程中肌卫星细胞激活关键因子神经型一氧化氮合成酶(nNOS)、肝细胞生长因子(HGF) mRNA表达的影响,探讨按摩对于骨骼肌急性损伤修复的作用。

方法:将44只SPF级成年雄性SD大鼠按随机抽样法分为3组,正常对照组(A组,n=4),自然恢复组(C组,n=24),按摩组(M组,n=16)。A组不做任何处理,C、M组用改良打击器制备大鼠腓肠肌急性损伤模型。C组不给予按摩,M组于造模后第3天介入按摩治疗。C、M组于造模后第7天、第14天、第21天及第28天取实验动物腓肠肌样本,HE染色观察组织病理改变,实时荧光PCR检测肌卫星细胞中nNOS、HGF mRNA表达量。

结果:按摩干预治疗后,M、C组与A组比较,各时间点nNOS、HGF mRNA表达量均高于A组,且具有显著差异($P < 0.01$);M组与C组比较,在7天、第14天、第21天及第28天nNOS、HGF mRNA表达量M组均高于C组($P < 0.01$)。M组与C组比较,损伤区域成肌细胞更多,肌丝稠密,肌卫星细胞增殖明显,血供更丰富,坏死组织恢复更快。

结论:按摩可有效提高肌卫星细胞中nNOS、HGF mRNA表达水平,激活更多的肌卫星细胞,促进受损骨骼肌的修复再生。

关键词 按摩;肌卫星细胞;神经型一氧化氮合成酶;肝细胞生长因子

中图分类号:R244.1 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2015)-03-0224-07

Effects of massage on expressions of nNOS and HGF mRNA as key factors of satellite cells proliferation in acute skeletal muscle injury of rats/YANG Hui, TANG Chenglin, CHANG Qing, et al//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2015, 30(3): 224—230

Abstract

Objective: To investigate the effects of massage on proliferation of muscle satellite cells and the expressions of neuronal nitric oxide synthase(nNOS) and hepatocyte growth factor(HGF) mRNA in acute skeletal muscle injury of rats, so that to explore the role of massage on the repair of acute skeletal muscle.

Method: Forty-four SPF adult male SD rats were randomly divided into 3 groups: normal control (group A, n=4), self-healing group (group C, n=24), control group of massage (group M, n=16). In group A, rats were taken care as normal controls; in groups C and M, rats were made to the model of rats with acute muscle injury by the modified traumatizing unit. Group C was not given the treatment, massage was given to group M at the 3rd after modeling. At the 7th, 14th, 21st, and 28th days after modeling, rats gastrocnemius samples were taken in groups C and M respectively, HE staining was employed to inspect pathological changes. Real-time PCR was applied to detect the expressions of nNOS and HGF mRNA in muscle satellite cells.

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2015.03.004

*基金项目:国家自然科学基金资助项目(81273870)

1 重庆医科大学,重庆,400016; 2 重庆医科大学中医药学院; 3 通讯作者

作者简介:杨辉,男,硕士; 收稿日期:2014-04-22

Result: After massage intervention, the expressions of nNOS and HGF mRNA were higher in groups C and M than in group A at every time point, and there were significant differences ($P < 0.01$). Comparing to group C, the expressions of nNOS and HGF mRNA of Group M were higher at the 7th, 14th, 21st and 28th days after modeling ($P < 0.01$). HE staining showed that group M had more myoblasts, more myofilaments and more activated muscle satellite cells, blood supply was richer, necrotic tissue recovered faster compared to group C.

Conclusion: Massage can effectively improve the expression levels of nNOS and HGF mRNA in muscle satellite cells, and increase the number of activated muscle satellite cells, promote repair and regeneration of the damaged skeletal muscles, provide some basis for improving the level of recovery of body function, and in maximize to reduce the time for returning to training and to participate in the athletic contest after injury.

Author's address The First Clinical College, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016

Key word massage; muscle satellite cell; neuronal nitric oxide synthase; hepatocyte growth factor

骨骼肌损伤是运动中常见的损伤,在各种运动项目的创伤类型中,肌肉损伤所占的比率最高^[1-3]。据不完全统计,在骨骼肌损伤中,90%是钝挫伤和牵拉伤。如此高的损伤率,使骨骼肌损伤一直成为国内外研究的热点和难点。现发现,在骨骼肌损伤后,机体会进行一系列复杂的动态修复过程,在这个过程中,损伤肌组织炎症的发展以及肌卫星细胞的激活增殖是其中很关键的两个阶段。在肌细胞增殖过程中,骨骼肌肌卫星细胞起着关键作用。骨骼肌卫星细胞(muscle satellite cell)是一种静止的、无活性的单核肌细胞,它附着在终末分化的肌纤维膜底部,位于肌纤维膜与基底膜之间,好似肌纤维的卫星,在动物出生后肌肉组织的生长和肌肉损伤的修复过程中起着重要作用^[4]。相关研究也证实,肌卫星细胞在骨骼肌损伤修复过程中发挥了重要作用^[5-6]。通过对骨骼肌肌卫星细胞的研究,我们可以了解骨骼肌损伤修复的机制,从而为临床治疗骨骼肌损伤提供充实的理论依据。肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)与NO作为肌卫星细胞激活的关键因子,它们在卫星细胞激活信号通路的关键作用也已得到证实^[7]。从理论上讲,研究影响受损肌组织中HGF、NO分泌量的相关影响因子,有助于发现影响骨骼肌损伤修复的影响因素,为临床治疗骨骼肌急性损伤找到更好的措施。

按摩疗法,在肌肉损伤康复方面具有独特的疗效^[8]。但有关按摩治疗骨骼肌急性损伤,对肌卫星细胞激活因子影响的相关研究却没有组织形态学及分子生物学检测的报道。本实验借助SD大鼠急性骨骼肌损伤模型,探讨按摩疗法对骨骼肌损伤修复

过程中肌卫星细胞激活关键影响因子神经型一氧化氮合成酶(neuronal nitric oxide synthase, nNOS)、HGF的作用,为按摩疗法治疗骨骼肌损伤提供实验依据,并进一步为骨骼肌损伤的修复设计出更好的方案,以应用到运动康复训练上,让伤者更快恢复生活并参与运动。

1 材料与方法

1.1 实验动物

本实验共选取12周SPF级健康成年雄性SD大鼠44只,体质量在200—230g,由重庆医科大学实验动物中心提供(医学动物合格证SCXK渝20070002)。分笼饲养,每笼1只,室温(21±2)℃,相对湿度为65%—75%,每日自由饮水,喂食标准饲料,自然光照。

1.2 主要试剂及仪器

主要试剂:①RNAiso Plus试剂, RNA逆转录(Perfect Real Time)试剂盒,荧光定量SYBR® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)试剂盒, DEPC水,均购自日本TAKARA生物公司。②2×Taq MasterMix(含染料)酶:购自北京天根生化有限公司。③8%硫化钠脱毛剂。

主要仪器:低温离心机购自德国LEICA公司,PCR仪购自美国MJR公司,荧光定量PCR仪购自美国ABI公司。自制软组织打击器、AFY-10型按摩器(天津产)。生物显微镜、图像采集系统等设备由重庆医科大学生命科学研究院提供。

1.3 方法

1.3.1 动物造模:参照Katsuya Kami^[9]的模型并稍

加改进。在造模前1天用8%硫化钠脱毛剂除去C、M实验组雄性SD大鼠右侧小腿腓肠肌被毛,10g/L水合氯醛腹腔麻醉后,重物下落导致一次性打击,打击部位为大鼠右侧小腿内侧面(其皮下为腓肠肌中段),打击器为一个打击面平坦的空心铝制圆柱体(直径1cm,长20cm,质量20g),底面与木制圆柱体相接(直径1cm,长2cm,质量2g),木制打击面与打击部位直接接触,自制重力锤640g,从25cm高处落下,重力6.27N,产生了1.57J的动能打击力,造成腓肠肌急性挫伤模型。重力锤的投放和大鼠的固定均由一人操作,加上改进的打击器,保证了打击力和损伤部位及程度的一致性。

1.3.2 分组处理:所有SD大鼠经过适应性喂养1周后,随后进行随机分3组。分别为正常对照组(A组,n=4),按摩组(M组,n=16),自然恢复组(C组,n=24),又根据造模后时间观察点不同,C组分为造模后1d、3d、7d、14d、21d、28d 6个亚组(每个亚组各4只),M组分为造模后7d、14d、21d、28d 4个亚组(每个亚组各4只)。A组为空白对照组,不做任何处理;M、C组SD大鼠用自制打击器造大鼠右后肢腓肠肌损伤模型。C组不给予按摩,M组于造模后第3天开始给予按摩。正常对照组于造模前1天取标本;自然恢复组第1天、第3天、第7天、第14天、第21天、第28天处死大鼠取标本;按摩组分别造模后第1天、第7天、第14天、第21天、第28天处死大鼠取标本。提取大鼠右侧腓肠肌损伤最严重区域肌肉,一部分用PBS缓冲液冲洗干净后,放入事前标记好的1.5ml离心管,于液氮冻存0.5h,然后转移到-80℃冰箱,待PT-PCR检测nNOS,HGF mRNA转录水平;一部分用生理盐水清洗干净后,用4%多聚甲醛固定,备以石蜡切片及HE染色。

1.4 按摩干预方案

造模后第3天,按摩组实验大鼠介入按摩治疗。自制固定器,将实验大鼠以侧卧位的方式固定,用天津产AFY-10型小动物按摩器固定于受损部位附近,对受损腓肠肌中部及邻近肌组织进行按摩干预,设置按摩头转速为2600r/min,按摩时间为15min,每天1次^[10]。

1.5 实时荧光定量PT-PCR检测大鼠骨骼肌nNOS与HGF mRNA转录水平

1.5.1 引物设计与合成:检索美国国立生物技术信息中心(NCBI)数据库(Gene Bank)中nNOS、HGF mRNA序列,用Primer P remier 5.0软件设计出nNOS、HGF基因以及内参GAPDH基因的上下游引物序列,均由TAKARA生物工程(大连)有限公司合成。见表1。

表1 nNOS、HGF和GAPDH基因引物序列

基因	引物序列	退火温度
nNOS	F:5'-ATGTCCTCAAAGCCATCCAG-3'	55℃
	R:5'-ACTCAGATCTAAGCGGTTG-3'	
HGF	F:5'-ACACTGGATTGATCAACGCG-3'	55℃
	R:5'-CATCCACGACCAGGAACAAT-3'	
GAPDH	F:5'-AGGTCGGTGTGAACGGATTTG-3'	56℃
	R:5'-TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA-3'	

1.5.2 总RNA提取与鉴别:选取冻存于-80℃冰箱中离心管的样本,加入液氮预冷的研钵中,用研杵研磨组织,其间不断加入液氮,直至研磨成粉末状,按照RNAiso Plus试剂盒说明书提取RNA。用TE Buffer稀释RNA后测定吸光度,使用紫外分光光度计检测,OD260/OD280比值在1.7—2.1为好。

1.5.3 RNA逆转录反应:取1μg的总RNA,按照逆转录试剂盒(TAKARA)配制PT反应液(总体积10μl),逆转录后得cDNA模板。

1.5.4 实时荧光定量PCR:反应体系为20μl,其中SYBR® Green PCR Master Mix (TOYOBO)10μl,前向、反向引物各1μl,dH2O6μl,cDNA模板2μl。反应条件:①预变性(95℃,30s);②(95℃,15s;55℃/56℃,30s;65℃,30s)×40个循环;③扩增建立PCR产物的溶解曲线,再变性(95℃,15s),退火(55℃/56℃,35s),然后从55℃/56℃缓慢加热到(95℃,15s);每1℃收集荧光一次。经仪器自动分析,各基因溶解曲线(melt curve)均为单峰,表明扩增产物特异性较高。反应结束后,PCR仪给出各反应孔的Ct值,以GAPDH基因为内参,根据公式 $2^{-\Delta Ct}$ ($\Delta Ct=CT_{target}-CT_{GAPDH}$)计算出样品目的基因的相对表达量。

1.6 组织学观察

取出固定于4%多聚甲醛的各种实验大鼠受损腓肠肌标本,常规乙醇梯度脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、然后切片5μm/片,HE染色后置于生物显微镜下观察受损组织病理学改变,用图像采集系统获取

图片。

1.7 统计学分析

本研究数据的表示方法为均数±标准差。实验数据由 SPSS 19.0 统计软件和 Excel 2003 处理,使用单因素方差分析不同治疗组与对照组差异显著性,使用独立样本 *t* 检验分析不同治疗组组间差异显著性。

2 结果

2.1 造模前后实验各组大鼠骨骼肌组织变化

见图 1。正常对照组大鼠骨骼肌肌丝排列整齐,肌节结构完整,肌细胞正常(图 1A)。造模即刻,自然恢复组大鼠肌纤维断裂,碎裂,炎症细胞浸润,吞噬碎片(图 1B);第 7 天后,自然恢复组炎症细胞减少,出现少量成肌细胞,周围肌丝稀疏,肌卫星细胞增殖不明显(图 1G);按摩组受损部位出现大量成肌细胞,核周围有大量新形成的肌丝,肌卫星细胞增

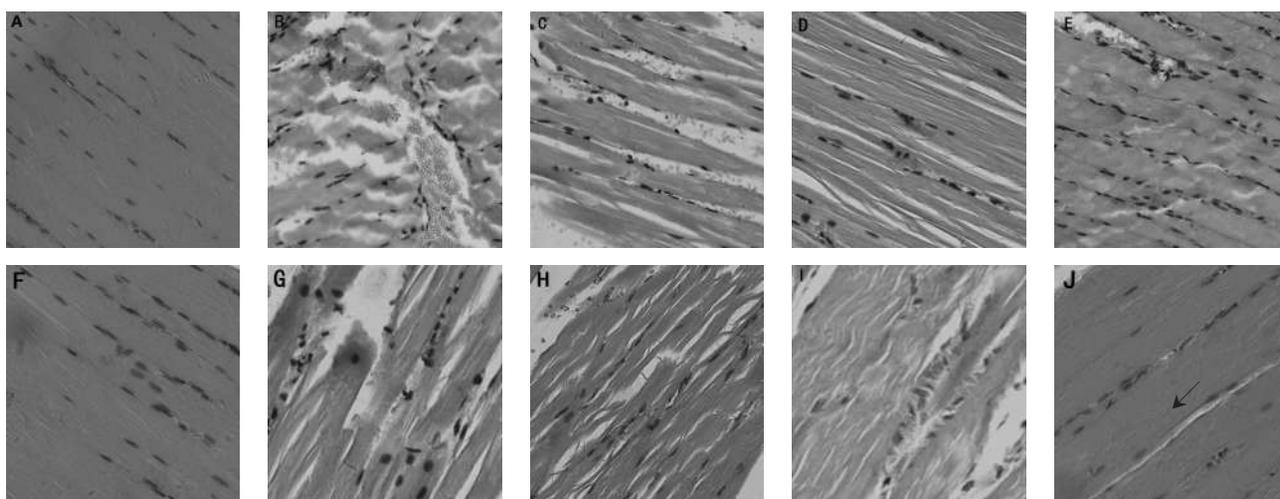
殖明显(图 1C)。第 14 天后,自然恢复组出现在肌管,成肌细胞核周围出现很多新生肌纤维;按摩组卫星细胞增殖更加明显,肌管融合成新生的肌纤维(图 1D)。第 21 天后,自然恢复组形成瘢痕组织,损伤部位愈合缓慢(图 1I);按摩组肌丝排列整齐,肌节结构完整(图 1E)。第 28 天,自然恢复组损伤部位基本愈合,但是瘢痕组织明显(图 1J);按摩组则痊愈,瘢痕组织微小,损伤部位与正常对照组无异(图 1F)。

2.2 实验各组骨骼肌肌卫星细胞中 nNOS 与 HGF mRNA 整体转录水平实时荧光定量 PCR 检测结果

C 组、M 组与 A 组比较,nNOS mRNA 转录水平明显增高且具有极显著性差异($P < 0.01$);M 组与 C 组比较,nNOS mRNA 表达增加且具有极显著性差异($P < 0.01$);C 组、M 组与 A 组比较,HGF mRNA 表达亦增加且具有极显著性差异($P < 0.01$);M 组与 C 组比较,HGF mRNA 表达亦增加,且具有极显著性差异($P < 0.01$)。见表 2。

图 1 大鼠小腿腓肠肌组织学观察

(HE, ×400)



注:黑色箭头表示结缔组织

表 2 大鼠骨骼肌中 nNOS、HGF mRNA 转录水平($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	nNOS mRNA	HGF mRNA
正常对照组(A)	4	1.1059±0.0243	1.1016±0.0133
自然恢复组(C)	16	10.4290±0.2031 ^②	10.7340±0.7004 ^②
按摩组(M)	16	14.1290±1.2708 ^{①②}	12.8260±0.4952 ^{①②}

M 组与 C 组比较:① $P < 0.01$;M 组、C 组与 A 组比较:② $P < 0.01$

2.3 实验各组骨骼肌 nNOS 与 HGF mRNA 转录水平各时间点表达量比较

M 组和 C 组各自时间点的连线呈现上升趋势,这说明随着时间的增长,各组 nNOS 与 HGF mRNA 转录水平持续上升,A 组则基本保持不变。M 组、C 组 nNOS 与 HGF mRNA 转录水平在各时间点明显高于 A 组,这说明损伤后骨骼肌 nNOS 与 HGF mRNA 表达量会增加;M 组各时间点的连线亦高于 C 组。这水平在按摩治疗介入下,骨骼肌 nNOS 与 HGF mRNA 表达量会明显增加。见表 3。

2.4 实验各组治疗前后骨骼肌 nNOS 与 HGF mRNA 转录水平比较

各种治疗前后,自然恢复组 nNOS 与 HGF

mRNA 表达水平高于自然恢复组,且具有极显著性 ($P < 0.01$)。提示在促进大鼠骨骼肌急性损伤修复过程中,按摩对于肌卫星细胞激活效果明显(表4)。

表3 本研究各时间点大鼠骨骼肌中 nNOS、HGF mRNA 转录水平

($\bar{x} \pm s$)

干预周数 (周)	nNOS mRNA				HGF mRNA			
	1	2	3	4	1	2	3	4
正常对照组	1.0759±0.0919	1.1000±0.1011	1.1146±0.0045	1.13310±0.1335	1.1006±0.0211	1.1277±0.0344	1.06250±0.0122	1.11570±0.0301
自然恢复组	9.6908±0.4706	10.1819±0.3151	10.6869±0.3323	10.6502±0.6053	10.000±0.0000	10.6935±0.3129	11.1706±0.4939	11.0720±0.3672
按摩组	15.0040±0.5681	15.3795±0.4440	15.4639±0.4690	15.7253±0.4350	12.3075±0.1069	12.6077±0.2232	13.1462±0.2340	13.2430±0.1930

表4 本研究各实验大鼠治疗前后骨骼肌中 nNOS、HGF mRNA 转录水平

($\bar{x} \pm s$)

干预周数	nNOS mRNA		HGF mRNA	
	自然恢复组(C)	按摩组(M)	自然恢复组(C)	按摩组(M)
干预1周	9.6908±0.4706 ^①	15.0040±0.5681	10.0000±0.0000 ^①	12.3075±0.1069
干预2周	10.1819±0.3151 ^①	15.3795±0.4440	10.6935±0.3129 ^①	12.6077±0.2232
干预3周	10.6869±0.3323 ^①	15.4639±0.4690	11.1706±0.4939 ^①	13.1462±0.2340
干预4周	10.6502±0.6053 ^①	15.7253±0.4350	11.0720±0.3672 ^①	13.2430±0.1930

按摩干预M组与自然恢复组C组比较:① $P < 0.01$

3 讨论

骨骼肌损伤一直是运动医学领域研究的热点和难点。近些年来,祖国医学在国际取得了举世瞩目的成就,让祖国医学越加得到国外医学研究者的重视。按摩作为祖国医学的瑰宝,它以无创、有效为特点得到了广大患者的喜爱,按摩疗法被广泛运用于各种疾病的治疗以及康复中。本团队有关骨骼肌急性损伤的研究,从骨骼肌急性损伤修复机制开始,先后进行了前期炎症以及后期修复相关的研究,相继发现了骨骼肌损伤修复的生理生化机制^[11],按摩可以增强SDH和钾钠-ATPase酶活性促进兔股四头肌的损伤修复^[12],按摩能显著降低实验兔受损股四头肌TGF-B,及COL-I mRNA表达,有助于抑制瘢痕过度形成,从而促进受损肌组织修复^[13],同时也发现按摩可以促进血管生成,其机制可能与bFGF有关^[14]。本研究结合前期研究成果和当今研究热点,进行了本课题的研究。

骨骼肌卫星细胞是存在于成熟骨骼肌组织的一类成肌细胞,通过增殖与分化形成新的肌纤维或与原来的肌纤维融合完成肌肉组织的生长与发育^[15]。在成熟的骨骼肌中,肌卫星细胞处于静息状态。当肌纤维受到损伤时,肌卫星细胞被激活,随后增殖、分化,融合成新的肌纤维更换损伤的肌纤维或肌细胞核^[16-17]。HGF和NO作为肌卫星细胞激活过程中

关键的影响因子,他们的作用密切相关。

NO是一种小分子,它在体内经一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase, NOS)的催化下生成,并通过自由扩散在组织与细胞中运输,在心血管系统、神经系统和免疫系统中发挥了重要作用。NOS作为NO合成的最主要的限速因子,对于NO生成量起着决定性作用。NOS由1025个氨基酸残基组成,分子量为13.3KD,广泛分布于机体的各种组织与器官中。按其分布的位置不同,NOS可以分为三种类型,神经型NOS(nNOS)、内皮型NOS(eNOS)和诱导型NOS(iNOS)。nNOS主要存在于视网膜、植物神经纤维、大脑皮质、海马、垂体后叶、骨骼肌细胞核平滑肌细胞等;eNOS主要存在于血管内皮细胞、支气管内皮细胞核海马锥体细胞层;iNOS则主要存在于肝细胞、单核巨噬细胞、内皮细胞和成纤维细胞。目前已确定,存在于骨骼肌膜表面的NOS同功酶为nNOS,它与syntrophin(抗肌萎缩蛋白-糖蛋白复合体)结合,并可以产生NO^[18-19]。在正常肌肉组织中,NO的生成量是维持在一个相对低的水平下,通过损伤、剪切外力、运动训练或者机械牵拉的刺激,NOS的表达或活性增高^[20]。在外界刺激下,卫星细胞上nNOS生成的NO,通过上调MMPs活性介导了HGF的释放^[21]。

HGF是存在于急性肝损伤动物血浆中的蛋白

因子,它能刺激肝细胞的DNA合成,在肝再生过程中起着重要作用。越来越多的研究表明,HGF不仅对于肝再生,而且对于许多组织和细胞的生长、分化起着重要作用^[22]。c-met是HGF的特异性膜表面受体,表达于多种组织细胞,如骨骼肌细胞、血管内皮细胞。HGF作为唯一一个经过证实的肝细胞生长因子,当骨骼肌损伤后,它快速从其储存部位细胞外基质释放并与卫星细胞表面受体c-met结合,从而激活卫星细胞^[23-25]。正是在HGF与NO的联合作用下,机体肌卫星细胞才得以激活,骨骼肌肌纤维数量才得到提升,损伤的机体才能得到恢复。

目前关于NO与HGF在骨骼肌肌卫星细胞激活作用的研究仍是运动医学领域的热点,陈涛等^[26]研究发现,耐力或力量运动训练均可增加nNOS mRNA与HGF mRNA的表达水平,猜测nNOS蛋白表达或酶活性可能因此而增加,提高骨骼肌中NO含量,从而促进卫星细胞的激活。McConell等^[27]研究发现,耐力训练可以明显提高肌纤维中nNOS蛋白表达水平。上述研究集中在运动训练对于nNOS蛋白水平的研究,也证明了运动训练包括运动耐力训练或者力量训练都可以明显提高肌卫星细胞nNOS蛋白表达量,从而提高肌纤维数量,达到增强肌肉力量的作用。现有研究证明了耐力训练可以提高正常肌组织nNOS与HGF表达水平,但是有关在骨骼肌损伤后,在按摩、运动跑台训练等刺激下,肌卫星细胞nNOS与HGF蛋白表达的研究却很少。

本研究在前期团队研究的基础之上,通过改良的大鼠骨骼肌急性损伤建模模型,运用HE染色,实时荧光PCR的检测方法,研究了按摩对于急性损伤肌组织恢复过程中肌卫星细胞激活因子nNOS与HGF mRNA表达的影响。本实验发现,经过4周的按摩介入治疗,发现按摩组和自然恢复组的nNOS表达量比正常对照组高,且具有极显著差异($P < 0.01$);按摩组与自然恢复组比较,肌卫星细胞中nNOS表达量更高,且具有极显著差异($P < 0.01$)。肌组织中nNOS mRNA转录水平越高,则产生nNOS蛋白的量越多,从而提高骨骼肌中nNOS酶的活性,产生更多的NO。在肌卫星细胞中,则会有更多的NO参加到MMPs活性的上调,促进了HGF的释放。对于HGF mRNA表达转录的测试也证明了

这点。从表2可以看出,按摩组与自然恢复组HGF mRNA表达量比正常组高并且按摩组HGF mRNA表达量也高于B组($P < 0.01$)。在骨骼肌nNOS与HGF mRNA转录水平各时间点表达量上看,我们可以发现按摩组比自然恢复组,nNOS与HGF mRNA转录水平各时间点高,说明在整个损伤恢复期中,按摩能明显提高肌卫星细胞内nNOS与HGF mRNA转录水平,对肌卫星细胞的激活增殖,受损组织的恢复具有促进作用,本实验所做的组织形态学观察也证明了这点。实验结果表明,按摩可以提高肌卫星细胞中nNOS与HGF mRNA表达水平,可能促进了肌卫星细胞的激活水平,进而加快了肌卫星细胞的增殖,加速了骨骼肌损伤的修复速度,促进了受损机体的康复。

按摩在骨骼肌的损伤修复过程中,能明显提高肌卫星细胞中nNOS mRNA转录水平,产生更多的nNOS蛋白,提高肌组织中nNOS酶活性,产生更多的NO。新增的NO增加HGF的释放,释放的HGF与卫星细胞表面受体c-met结合,激活更多静息状态下的肌卫星细胞,促进肌卫星细胞的增殖,使受损骨骼修复。本研究提示了按摩治疗骨骼肌急性损伤过程中对于肌卫星细胞激活关键因子nNOS与HGF mRNA表达的影响作用,为按摩在临床中开展运动损伤及运动队中运动损伤的治疗提供了理论依据,亦为按摩在基层医疗中的实施提供了保障。本研究只是从单一按摩干预的手段,讨论了按摩治疗骨骼肌急性损伤的机制,并没有比较其他治疗手段,至于其他干预手段如药物、针灸等干预的治疗机制如何,以及多手段联合治疗的骨骼肌修复机制又如何,有待在以后的实验研究中进一步进行探讨。

参考文献

- [1] 曲绵域,高云秋,浦均宗,等.实用运动医学[M].第4版.北京:科学技术出版社,1996.475—475.
- [2] 任玉衡,田得祥.优秀运动员的运动创伤流行病学调查[J].中国运动医学杂志,2000,19(4):377—386.
- [3] Lockhart NC, Brooks SV. Protection from contraction-induced injury provided to skeletal muscles of young and old mice by passive stretch is not due to a decrease in initial mechanical damage[J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2006, 61(6):527—533.

- [4] Shefer G, Van de Mark DP, Richardson JB, et al. Satellite-cell pool size does matter: defining the myogenic potency of aging skeletal muscle[J]. *Dev Biol*, 2006, 294(1):50—66.
- [5] Hill M, Goldspink G. Expression and splicing of the insulin-like growth factor gene in rodent muscle is associated with muscle satellite (stem) cell activation following local tissue damage[J]. *J Physiol*, 2003, 549(Pt 2):409—418.
- [6] Hill M, Wernig A, Goldspink G. Muscle satellite (stem) cell activation during local tissue injury and repair[J]. *J Anat*, 2003, 203(1):89—99.
- [7] Tatsumi R, Allen RE. Mechano-biology of resident myogenic stem cells: Molecular mechanism of stretch-induced activation of satellite cell secular mechanism of stretch-induced activation of satellite cells[J]. *Anim Sci J*, 2008, 79(3):279—290.
- [8] 巫国辉, 李小林. 重组人表皮细胞生长因子与碱性成纤维细胞生长因子联合应用促进创面愈合[J]. *整形外科杂志*, 2005, 4(2):233.
- [9] Kami K, Masuhara M, Kashiba H, et al. Changes of vinculin and extracellular matrix components following blunt trauma to rat skeletal muscle[J]. *Med Sci Sports Exerc*, 1993, 25(7):832—840.
- [10] 石葛明, 王学理, 李佳桐, 等. 按摩对肌肉损伤修复作用的形态学研究[J]. *中国运动医学杂志*, 1991, 10(4):201—204.
- [11] 侯懿烜, 柳满然, 张萍, 等. 骨骼肌损伤修复的生理生化机制研究[J]. *激光生理学报*, 2011, 20(5):662—667.
- [12] 侯懿烜, 郑元义, 张萍, 等. 按摩增强琥珀酸脱氢酶和钾-钠 ATP 酶活性促进兔股四头肌的损伤修复[J]. *第三军医大学学报*, 2011, 33(19):2012—2015.
- [13] 刘仁建, 唐成林, 邹敏, 等. 按摩抑制兔钝挫伤骨骼肌瘢痕形成的机制研究[J]. *中华物理与康复杂志*, 2012, 34(10):742—746.
- [14] 刘仁建, 唐成林, 邹敏, 等. 兔骨骼肌钝挫伤恢复过程中碱性成纤维细胞生长因子的变化及按摩的干预作用[J]. *重庆医科大学学报*, 2013, 38(11):1303—1307.
- [15] Rehfeldt C, Fiedler I, Dietl G, Ender K. Myogenesis and postnatal skeletal muscle cell growth as influenced by selection[J]. *Livestock Production Science*, 2000, 66(12):177—188.
- [16] Hawke TJ, Garry DJ. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology[J]. *J Appl Physiol*, 2001, 91(2):534—551.
- [17] Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers[J]. *J Biochem Physiol Biochem Cytol*, 1961, (9):493—495.
- [18] Bogdan C. Nitric oxide and the regulation of gene expression[J]. *Trends Cell Biol*, 2001, 11(2):66—75.
- [19] Stamler JS, Meissner G. Physiology of nitric oxide in skeletal muscle[J]. *Physiol Rev*, 2001, 81(1):209—237.
- [20] Tidball JG, Lavergne E, Lau KS, et al. Mechanical loading regulates NOS expression and activity in developing and adult skeletal muscle[J]. *Am J Physiol*, 1998, 275(1 Pt 1):C260—C266.
- [21] Yamada M, Sankoda Y, Tatsumi R, et al. Matrix metalloproteinase-2 mediates stretch-induced activation of skeletal muscle satellite cells in a nitric oxide-dependent manner[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008, 40(10):2183—2191.
- [22] 朱广领. 肝细胞生长因子与肾小管间质纤维化[J]. *医学综述*, 2013, 19(3):428—430.
- [23] Anderson JE. A role for nitric oxide in muscle repair: nitric oxide-mediated activation of muscle satellite cells[J]. *Mol Biol Cell*, 2000, 11(5):1859—1874.
- [24] Anderson J, Pilipowicz O. Activation of muscle satellite cells in single-fiber cultures[J]. *Nitric Oxide*, 2002, 7(1):36—41.
- [25] Tatsumi R, Hattori A, Ikeuchi Y, et al. Release of hepatocyte growth factor from mechanically stretched skeletal muscle satellite cells and role of pH and nitric oxide[J]. *Mol Biol Cell*, 2002, 13(8):2909—2918.
- [26] 陈涛, 陈彩珍, 卢健. 耐力、力量和混合运动对成年 C57BL/6 小鼠骨骼肌卫星细胞激活信号通路的影响[J]. *体育科学*, 2011, 31(9):69—76.
- [27] McConell GK, Bradley SJ, Stephens TJ, et al. Skeletal muscle nNOS mu protein content is increased by exercise training in humans[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2007, 293(2):R821—828.