·基础研究·

电针对失神经骨骼肌萎缩及纤维化的影响*

吴珍元[1] 黄英如[1,4] 冼 华[1] 邓 熊[1] 高伟峰[2] 米庆高[2] 张 军[3] 孙永博[3]

摘要

目的:观察不同强度电针对失神经支配骨骼肌萎缩及肌纤维化的影响。

方法:32只SD大鼠随机等分为4组(n=8):A组(模型组)、B组(0.5mA电针组)、C组(1.0mA电针组)、D组(1.5mA电针组)。切断坐骨神经干造成失神经支配腓肠肌模型,术后1天,B、C、D组术侧分别给予相应强度电针(针刺"足三里"和"承山")治疗,每次治疗10min,隔天1次,每周3次,共治疗4周,A组不行治疗。术后8周,测定术侧腓肠肌湿重比,Masson染色测定腓肠肌结缔组织截面积率、肌纤维直径和截面积,Western blot检测转化生长因子β_1(transforming growth factor β_1, TGF-β_1)、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)、Bcl-2和Bax表达,透射电镜观察腓肠肌超微结构。

结果:A组与B、C、D组间,D组与B、C组间腓肠肌湿重比差异均有显著性意义($P<0.05$),但B、C组间差异无显著性意义($P>0.05$)。A组与B、C、D组间,以及D组与B、C组间结缔组织截面积率差异均有显著性意义($P<0.05$),但B、C组间差异无显著性意义($P>0.05$)。A组与B、C、D组间,以及B、C、D组间肌纤维直径和截面积差异均有显著性意义($P<0.01$)。A组最高、D组最低,A组与B、C、D组间,以及B、C、D组间TGF-β_1、CTGF蛋白表达差异均有显著性意义($P<0.01$)。Bcl-2蛋白表达,A组最低、D组最高,而Bax蛋白表达,A组最高、D组最低;Bcl-2/Bax比值A组最低,B、C、D组依次升高,且A组与C、D组间,以及B、C、D组间差异均有显著性意义($P<0.01$)。透射电镜显示,A组肌丝排列紊乱、溶解严重,Z线断裂,线粒体空泡化;B、C、D组肌丝排列基本整齐,肌丝溶解、Z线断裂较轻,B组可见线粒体肿胀、空泡化,但轻于A组。

结论:电针可减轻失神经骨骼肌萎缩程度,其机制可能与抑制靶肌肉结缔组织增生,调节Bcl-2、Bax蛋白表达有关。

关键词 失神经骨骼肌萎缩;电针;结缔组织增生;细胞凋亡

中图分类号:R651.3, R685 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2016)-02-0177-06

Effects of electroacupuncture on denervated skeletal muscle atrophy and muscle fibrosis/WU Zhenyuan, HUANG Yingru, XIAN Hua, et al.//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2016,31(2): 177—182

Abstract

Objective: To observe the effect of different intensity electroacupuncture on denervated skeletal muscle atrophy and muscle fibrosis.

Method: Thirty-two SD rats were randomly divided into four groups (each group contains 8 rats): group A was model group, groups B, C and D were treated with 0.5mA, 1.0mA, 1.5mA electroacupuncture respectively. The sciatic nerve of rats were transected to establish the model of denervated skeletal muscle. 1 day after surgery, groups B, C and D were treated with the corresponding intensity of electroacupuncture last 10 minutes, and 3 times weekly for 4 weeks, group A wasn't given any treatment. The wet weight ratio of gastrocnemius muscle were measured 8 weeks after operation. The ratio of cross sectional area of connective tissue, muscle fi-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2016.02.010

*基金项目:国家自然科学基金面上项目(81373668);重庆市渝中区科技计划项目(20120219);重庆市九龙坡区科技项目(2010-43;2010-44;2011-62)

1 重庆医科大学中医药学院骨科教研室,重庆,400016; 2 重庆医科大学2011级中医骨伤本科; 3 重庆医科大学2011级针灸推拿本科; 4 通讯作者

作者简介:吴珍元,女,硕士研究生; 收稿日期:2015-08-19

ber diameter and cross-sectional area were measured using Masson staining method. The expression of transforming growth factor β_1(TGF-β_1), connective tissue growth factor(CTGF), Bcl-2 and Bax were detected by Western blot. The ultrastructure of gastrocnemius muscles were observed with transmission electron microscope.

Result: The wet weight ratio of gastrocnemius muscle in group A was lower than that in groups B, C and D, and in groups B and C lower than that in group D ($P<0.05$), but there was no significant difference between group B and group C ($P>0.05$). The ratio of cross sectional area of connective tissue in group A was higher than that in groups B, C and D, and in groups B and C higher than that in group D ($P<0.05$), but there was no significant difference between group B and group C ($P>0.05$). There was significant difference in the muscle fiber diameter and cross-sectional area between different groups ($P<0.01$), and in the expression of TGF-β_1 and CTGF between different groups ($P<0.01$). The expression of Bcl-2 in group A was the lowest, and that in group D was the highest, on the contrary, the expression of Bax in group A was the highest, and that in group D was the lowest. The ratio of Bcl-2 / Bax increased gradually in groups A, B, C and D, there was significant difference between group A and groups C and D, and among groups B, C and D ($P<0.01$). Transmission electron microscopy results showed that disorder-arranged myofilament, broken Z line, and mitochondrial vacuole in group A were seen, while these degeneration in groups B, C and D were lighter than those of group A.

Conclusion: Electroacupuncture could retard the process of denervated skeletal muscle atrophy, its mechanism might be related to the inhibition of hyperplasia in the skeletal muscles connective tissue and the regulation of expression of the Bcl-2 and Bax.

Author's address Chongqing Medical University, 400016

Key word denervated skeletal muscle atrophy; electroacupuncture; connective tissue hyperplasia; cell apoptosis

周围神经损伤后，其支配的骨骼肌失去神经支配，随着时间推移将出现骨骼肌湿重比下降、肌纤维直径及截面积减小、细胞凋亡增加、肌丝排列及线粒体等超微结构的退变等[1—2]。由于周围神经损伤后生长速度缓慢，长时间失神经支配的骨骼肌将出现不可逆萎缩、变性，导致骨骼肌发生纤维化，严重影响了神经损伤后患者肢体功能的恢复。失神经骨骼肌萎缩属于中医的“痿症”范畴，有研究证实[3—4]，不同频率电针能延缓周围神经损伤后靶肌肉湿重、肌纤维直径和截面积的下降速度，但其作用机制尚不清楚。转化生长因子β_1(transforming growth factor β_1, TGF-β_1)是骨骼肌纤维化的重要因素，可启动骨骼肌纤维化并以级联形式促进诱导成肌细胞向成纤维细胞分化[5—6]。结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)是TGF-β_1下游的特异性效应因子，可促进成纤维细胞增殖和分泌胶原，其过表达直接导致细胞外基质的过量分泌，促进组织和器官纤维化[7]。因此，TGF-β_1—CTGF信号通路在骨骼肌纤维化病变过程中起着重要作用[8]。在本实验中，我们研究不同强度电针对失神经骨骼肌TGF-β1、CTGF表达及凋亡相关蛋白Bcl-2和Bax表达的影响，探讨应用不同强度电针延缓失神经骨骼肌萎缩及其可能机制，避免骨骼肌在再生神经到达前出现不可逆的萎缩、变性乃至纤维化，为周围神经损伤后再生神经到达并恢复对骨骼肌的支配争取宝贵时间。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

3月龄清洁级健康雄性SD大鼠32只，体重(200±20)g，由重庆医科大学动物实验中心提供[批号：SCXK渝2012-0002]。随机分为A组(模型组)、B组(0.5mA电针治疗组)、C组(1.0mA电针治疗组)、D组(1.5mA电针治疗组)，每组8只。实验过程中对大鼠的处理符合中华人民共和国科学技术部2006年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》。

1.2 主要试剂与仪器

①试剂：TGF-β_1、CTGF单克隆抗体(博奥森生物技术有限公司，北京)，Bcl-2和Bax单克隆抗体(SANTA CRUZ公司，美国)。②仪器：6805-电针仪(YZB/粤 0250-2009，汕头市医用设备厂有限公司)；正置显微镜(CYMML-EPTXCJ-004，Olym-

pus);电泳仪(Blo-RAO POWER/PAC 1000,上海汇分电子科技有限公司),凝胶成像系统(Blo-RAO Gel Doc 2000,美国伯乐公司)。H-7500型透射电镜(Hitachi公司,日本)。

1.3 造模方法

以10%水合氯醛(0.4ml/100g)腹腔注射麻醉大鼠,俯卧位固定,无菌条件下于右股后外侧作切口,钝性分离、暴露坐骨神经,在梨状肌下缘10mm处截断坐骨神经,并造成10mm长神经缺损,制备失神经支配腓肠肌动物模型[9]。

1.4 电针方法

术后1天,将大鼠俯卧位固定在大鼠固定架上,B、C、D组术侧取足阳明经穴"足三里"和足太阳膀胱经穴"承山",直刺7mm,穴位定位依据《大鼠穴位图谱的研制》[10]和《实验针灸学》[11]。针刺后给予电针治疗,正极接"足三里",负极接"承山"。电针参数:连续波,频率5Hz[3—4],电流强度分别为0.5mA、1.0mA、1.5mA,每次留针10min,隔天1次,每周3次,共治疗4周。A组不针刺,仅接受相同的固定方法和固定时间。术后8周以10%水合氯醛(0.4ml/100g)腹腔注射麻醉大鼠后,取材进行相关检测。

1.5 观察指标及检测方法

1.5.1 腓肠肌湿重比:术后8周,取材时大体观察术侧腓肠肌萎缩情况,包括肌肉饱满度、弹性、色泽等。观察后自股骨内外髁腓肠肌起点至跟骨结节止点完整取下双侧腓肠肌,电子天平称取腓肠肌湿重,计算腓肠肌湿重比=(术侧腓肠肌湿重/健侧腓肠肌湿重)×100%。

1.5.2 组织学观察:取材后切取腓肠肌中部,4%多聚甲醛固定后石蜡包埋,切片(片厚5μm),行Masson染色。切片脱蜡至水,Weigert铁苏木素染5—10min,1%盐酸酒精分化,丽春红酸性品红染液染5min,冲洗后磷钼酸溶液处理,不用水洗直接用苯胺蓝染液复染5min,酒精脱水、二甲苯透明后树胶封片。400倍光学显微镜观察,每张切片随机选取5个视野照相,用IPP6.0图像分析软件分析结缔组织增生情况(用结缔组织截面积率表示)并测定肌纤维直径和截面积。结缔组织截面积率=结缔组织横截面积/(结缔组织横截面积+肌纤维横截面积)×100%。

1.5.3 Western blot检测TGF-β_1、CTGF、Bcl-2和Bax的表达:取材后取适量(100mg)腓肠肌组织,按照蛋白提取试剂盒说明书提取蛋白,用BCA蛋白定量法测蛋白浓度,上样量50μg,进行SDS-PAGE凝胶电泳:12%分离胶,4%浓缩胶,电压为80V、120V;电泳结束后,取出凝胶,和相同大小的PVDF膜置于三层滤纸中间放入转移槽,电流为250mA,转膜至PVDF膜上;取出PVDF膜,放入5%脱脂奶粉中封闭;加1抗(1∶500用0.01MPBT配制),4℃过夜,次日PBST洗涤3×5min次;加2抗(1∶1000用0.01MPBT配制),放入37℃恒温箱1h,然后将PVDF膜置于化学发光试剂中增强反应3min,以GAPDH为内参,在暗室中曝光、显影和定影,并扫入凝胶成像系统进行图像分析计算光密度(optical density, OD)值,计算目的蛋白相对表达量=目的蛋白条带灰度值/GAPDH条带灰度值。

1.5.4 腓肠肌超微结构观察:取材后每组随机选择1只大鼠腓肠肌中份组织(5mm×2mm×2mm大小),固定于2.5%戊二醛二甲酸钠缓冲液中,经1%锇酸固定后,环氧树脂包埋,铀铅双重染色,透射电镜下观察腓肠肌超微结构。

1.6 统计学分析

采用SPSS 19.0统计软件包进行分析。数据以均数±标准差表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用q检验。

2 结果

2.1 腓肠肌湿重比

术后8周,A、B、C、D各组术侧腓肠肌均萎缩明显,弹性较差、色泽欠佳。腓肠肌湿重比:A组(23.7±1.2)%,B组(26.4±1.2)%,C组(27.3±1.8)%,D组(30.8±2.5)%,其中A组与B、C组间,D组与B、C组间差异均有显著性意义($P<0.05$),而A组与D组间差异有显著性意义($P<0.01$),但B、C组间差异无显著性意义($P>0.05$)。

2.2 组织学观察

术后8周,Masson染色显示A组肌纤维变细,肌纤维间结缔组织增生明显,B、C、D组肌纤维较A组粗,且结缔组织增生较A组明显减少。术侧腓肠肌结缔组织截面积率A组最高,B、C组次之,D组最

低：B、C组与A组间差异有显著性意义（$P<0.05$），D组与A、B、C组间差异有显著性意义（$P<0.01$），但B、C组间差异无显著性意义（$P>0.05$）。肌纤维直径和截面积：A组与B、C、D组间，B、C组与D组间，以及B、C组间差异均有显著性意义（$P<0.01$）。见表1，图1。

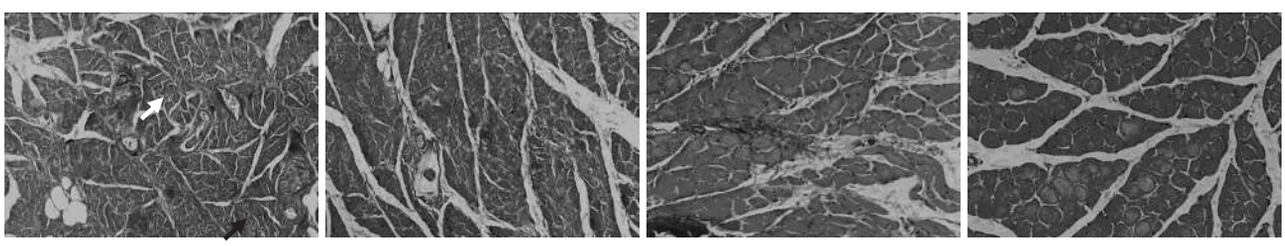
2.3 Western blot检测TGF-β_1、CTGF、Bcl-2和Bax的表达

术后8周，TGF-β_1、CTGF蛋白表达A组最多，B、C、D组较A组表达降低，A组与B、C、D组间，B组与C、D组间，以及C组与D组间差异均有显著性意义（$P<0.01$）。Bcl-2蛋白的表达A组最低，B、C、D组依次升高，A组与B、C、D组间，B组与C、D组间，以及C组与D组间差异均有显著性意义（$P<0.01$）。Bax蛋白的表达A组最高，B、C、D组依次降低，A组与B组间、B组与C组间差异均有显著性意义（$P<0.05$）；A组与C、D组间，以及D组与B、C组间差异均有显著性意义（$P<0.01$）。Bcl-2/Bax比值A组最低，B、C、D组依次升高，且A组与C、D组间，B组与C、D组间，以及C组与D组间差异均有显著性意义（$P<0.01$）。见图2，表2，表3。

2.4 超微结构观察

术后8周，A组肌丝排列紊乱，肌丝溶解严重，线粒体肿胀、空泡化明显，Z线模糊甚至消失；B组肌丝排列基本整齐，可见肌丝溶解和线粒体肿胀、空泡化，但程度明显轻于A组，偶见Z线断裂；C、D组肌丝排列整齐，偶见肌丝溶解和线粒体肿胀、Z线断裂，尤以D组变化最轻。见图3。

图1 术后8周腓肠肌Masson染色 (×400)



注：白色箭头所示为萎缩的肌纤维，黑色箭头所示为增生结缔组织；a：A组，b：B组，c：C组，d：D组

图2 术后8周Western blot检测TGF-β_1、CTGF、Bcl-2和Bax蛋白的表达 (×400)

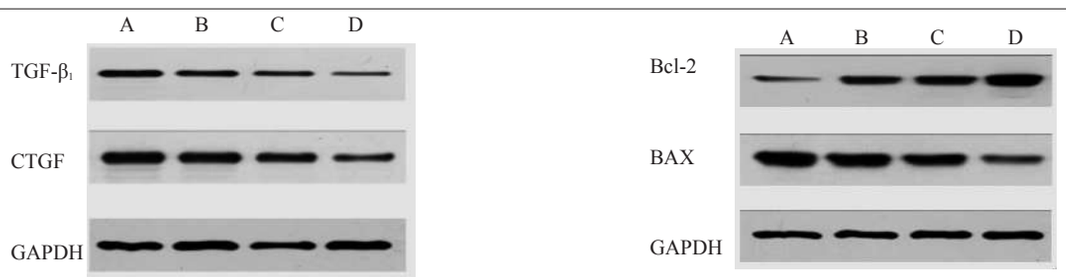
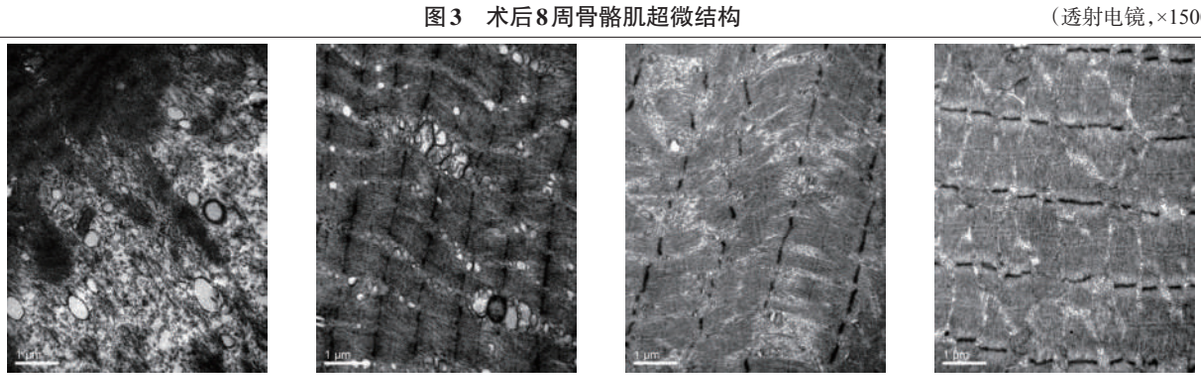


图3 术后8周骨骼肌超微结构 （透射电镜，×15000）



注：a：A组，b：B组，c：C组，d：D组

表1 术后8周腓肠肌结缔组织截面积率、肌纤维直径及截面积 ($\bar{x}\pm s$,n=8)

组别	结缔组织截面积率(%)	肌纤维直径(μm)	肌纤维截面积(μm^2)
模型组(A组)	55.1±7.2	9.6±0.2	81.0±2.6
0.5mA电针治疗组(B组)	45.8±4.3①	13.9±0.5②	162.9±11.8②
1.0mA电针治疗组(C组)	42.2±1.2①	18.9±0.6②④	299.2±13.6②④
1.5mA电针治疗组(D组)	26.7±4.8②③	20.7±0.7②③	357.7±21.2②③

B、C、D组与A组比较:①$P<0.05$;②$P<0.01$;D组与B、C组比较:③$P<0.01$;C组与B组比较:④$P<0.01$

表2 Western blot检测TGF-β_1、CTGF相对表达量 ($\bar{x}\pm s$,n=8)

组别	TGF-β_1	CTGF
模型组(A组)	2.02±0.17	2.26±0.09
0.5mA电针治疗组(B组)	1.54±0.09①②	1.71±0.07①②
1.0mA电针治疗组(C组)	1.14±0.13①③	1.47±0.09①③
1.5mA电针治疗组(D组)	0.60±0.09①	1.05±0.08①

B、C、D组与A组比较:①$P<0.01$;B组与C、D组比较:②$P<0.01$;C组与D组比较:③$P<0.01$

表3 Western blot检测Bcl-2和Bax相对表达量($\bar{x}\pm s$,n=8)

组别	Bcl-2	Bax	Bcl-2/Bax
模型组(A组)	1.92±0.08	3.40±0.15	0.57±0.03
0.5mA电针治疗组(B组)	2.32±0.05②	3.01±0.13①	0.77±0.05
1.0mA电针治疗组(C组)	3.11±0.12②④	2.63±0.14②③	1.19±0.10②④
1.5mA电针治疗组(D组)	3.89±0.11②④⑤	1.80±0.18②④⑤	2.18±0.27②④⑤

B、C、D组与A组比较:①$P<0.05$;②$P<0.01$;C、D组与B组比较:③$P<0.05$;④$P<0.01$;D组与C组比较:⑤$P<0.01$

3 讨论

周围神经损伤后出现的失神经骨骼肌萎缩,属于中医"痿症"范畴。《素问·痿论》:"阳明者,五脏六腑之海,主润宗筋,宗筋主束骨而利机关也",提出了"治痿独取阳明"之说,认为"独取阳明"重在调理脾胃,脾胃虚者益其损,脾胃实者调其气,以强阳明之脉,达到补后天脾胃之本,充气血生化之源,以润养筋肉。"足三里"穴属足阳明胃经,是治疗下肢痿瘦、半身不遂等经络搏阻病症的要穴,即"治痿独取阳明"。针刺"足三里"穴可作用于坐骨神经远端分支所联络的肌肉、血管、筋膜等组织,能使气血得充,经络得通,宗筋得养,加快痿症的恢复。"承山"穴位于腓肠肌两肌腹之间凹陷的顶端处,属足太阳膀胱经,"腧穴所在,主治所在",下肢痿痹取"承山"穴,可增强局部血液循环,改善肌肉的营养状态、抑制肌肉萎缩、促进功能恢复。在本实验中选择"足三里"穴和"承山"穴进行电针治疗。有研究表明[3—4],电针频率为5Hz的连续波较其他频率对大鼠坐骨神经损伤后腓肠肌萎缩有更显著的延缓作用,且电针有抑制钝器伤后骨骼肌纤维化及促进骨骼肌再生的作用[12]。因此,本实验电针刺激频率采用5Hz,波形为连续波。

研究发现,周围神经损伤后4周内骨骼肌萎缩最严重,肌纤维直径及其截面积下降50%左右[13]。本实验中,失神经支配骨骼肌采用电针治疗4周,观察失神经骨骼肌远期萎缩病理变化。腓肠肌湿重比(即失神经侧腓肠肌湿重/健侧腓肠肌湿重)是反映失神经支配腓肠肌萎缩程度的可靠指标,由于未造模的健康鼠双侧腓肠肌神经支配正常,不出现失神经支配肌萎缩,因此本实验中未设置阴性对照组。在本实验中,腓肠肌失神经支配后早期电针治疗,腓肠肌湿重比模型对照组(A组)显著低于电针治疗组(B、C、D组),$P<0.05$,表明电针治疗可延缓失神经骨骼肌萎缩速度。

骨骼肌失神经支配后随着时限的延长,肌纤维截面积逐渐减小,胶原纤维逐渐增加,肌肉截面积/胶原截面积比率逐渐下降[14],失神经骨骼肌内大量的胶原聚集,可形成致密结缔组织板障,阻隔肌纤维间血液供应,阻断再生神经恢复对靶肌肉的再支配。TGF-β_1是目前公认的强效致纤维化因子,在成肌细胞中表达并可促进、诱导肌细胞和成肌细胞向成纤维细胞分化[15],通过传导成纤维细胞信号增加蛋白基质的合成,减少基质降解酶类的产生,几乎参与纤维变性疾病每一步组织纤维化的病理过程[16]。CTGF是TGF-β_1下游的特异性效应因子,可直接导致细胞外基质的过量分泌,促进组织纤维化[17]。本实验中,不同强度的电针治疗大鼠失神经支配腓肠肌,术后8周Western blot检测显示,TGF-β_1和CTGF蛋白在模型对照组(A组)表达最多,不同强度电针治疗组(B、C、D组)表达较A组降低,且D组表达最低,C组次之,B组再次之;Masson染色显示A组肌纤维严重萎缩,肌纤维间结缔组织增生明显,不同强度电针治疗组(B、C、D组)肌纤维较A组粗,且结缔组织增生较A组明显减少,与Western blot检测结果一致。实验结果表明,电针治疗能一定程度减轻失神经骨骼肌萎缩程度,抑制失神经骨骼肌中

TGF-β_1和CTGF的表达，减少失神经骨骼肌内结缔组织增生。

细胞凋亡是失神经支配骨骼肌萎缩的一个重要原因[18—19]，骨骼肌失去神经支配后，肌动蛋白、原肌球蛋白基因表达下调，促凋亡相关基因Tfar-15、Mtd、Bid及Bax表达上调[20—21]，当凋亡肌细胞的比例达到一定程度时，骨骼肌就不能维持其基本功能。Bcl-2家族成员构成比例是细胞凋亡调控的关键因素，Bcl-2有抗凋亡作用，Bax有促凋亡作用，Bcl-2/Bax比值是启动细胞凋亡的“分子开关”。卜渊等学者[22]研究证实，电针能调节脑缺血再灌注后Bcl-2、Bax蛋白表达，抑制脑缺血再灌注神经细胞凋亡。本实验中，术后8周，模型对照组（A组）Bcl-2表达最少，Bax表达最多，Bcl-2/Bax比值最低；不同强度电针治疗组（B、C、D组）失神经骨骼肌Bcl-2表达较A组增多、Bax表达较A组减少（与卜渊等学者[22]研究结果一致），Bcl-2/Bax比值升高，细胞凋亡减少。电镜观察超微结构显示，不同强度电针治疗组肌丝排列紊乱、溶解、线粒体肿胀等退变现象均轻于模型对照组。提示不同强度电针可通过调控失神经骨骼肌中凋亡相关蛋白的表达来抑制细胞凋亡，达到延缓失神经骨骼肌萎缩速度的效果，为再生神经到达并恢复对靶肌肉的支配赢得时间。

目前研究已经证实电针治疗对周围神经损伤后肌萎缩有延缓作用[23—24]。电针治疗参数主要包括频率、波形和强度等，以往的研究主要集中在对频率和波形的筛选，强度均以肢体轻微颤动为度，而不同个体对刺激强度的敏感性差异对实验结果影响较大。本实验中，通过检测失神经支配腓肠肌湿重比、结缔组织增生情况、凋亡相关蛋白Bcl-2、Bax的表达及腓肠肌超微结构的退变，对电针的强度进行筛选，发现强度较大的D组（1.5mA组）对失神经骨骼肌萎缩病理变化作用最佳，C组（1.0mA组）次之，B组（0.5mA组）再次之。其机制我们认为可能为电针刺激引起的穴位周围组织颤动可改善骨骼肌微循环、防止有害代谢产物堆积，进而调节肌肉细胞能量代谢[24—25]；较大强度的电针刺激时，周围组织的颤动程度明显大于刺激强度较小者，而周围组织颤动程度可能将直接调节失神经支配骨骼肌微循环、改善骨骼肌细胞能量代谢。但是，更大强度的电针刺激是否具有这样的效果，还需要进一步观察。

综上所述，不同强度电针通过抑制失神经骨骼肌TGF-β_1和CTGF蛋白表达，减轻失神经骨骼肌结缔组织增生，防止失神经骨骼肌纤维化；能调控凋亡相关蛋白的表达，以减少细胞凋亡和肌纤维直径及截面积的减少，进而延缓失神经骨骼肌萎缩的速度，并且电针刺激效果与电针强度直接相关。本实验仅对失神经骨骼肌萎缩过程中电针对肌纤维化和细胞凋亡的影响进行了探索，至于有无其他机制参与失神经骨骼肌萎缩的调节以及电针延缓失神经骨骼肌萎缩的最佳参数等问题有待于进一步研究。

参考文献

[1] 徐建广,顾玉东.大鼠失神经支配骨骼肌萎缩的实验研究[J].中华实验外科杂志,2004,21(1):58—59.

[2] 周晓兰,张志强.弱激光对兔失神经肌肉萎缩的防治作用[J].中国康复医学杂志,2010,25(8):725—728.

[3] 李庆雯,石田寅夫,郭义,等.不同频率电针对大鼠坐骨神经损伤后神经组织形态学与骨骼肌肌电图的影响[J].中国针灸,2005,25(3):73—76.

[4] 陈家泽,陈传伟,孙锋.针刺对大鼠坐骨神经损伤后腓肠肌萎缩的影响[J].实用医学杂志,2008,24(8):1313—1315.

[5] Andreetta F, Bernasconi P, Baggi F, et al. Immunomodulation of TGF-beta 1 in mdx mouse inhibits connective tissue proliferation in diaphragm but increases inflammatory response: implications for antifibrotic therapy[J]. J Neuroimmunol, 2006, 175(1—2):77—86.

[6] 李鸿章,覃霄燕,邵素菊,等.针刺对哮喘大鼠气道重构及转化生长因子-β1表达的影响[J].针刺研究,2014,39(4):278—281,317.

[7] 马晓燕,闫渊,崔峥.肾衰饮对TGF-β1诱导的下游因子CTGF及FN的调控作用[J].中华中医药学刊,2015,33(7):1543—1545.

[8] 聂铭博,陈振兵.TGF-β1及其下游因子CTGF与骨骼肌纤维化[J].国际骨科学杂志,2006,27(5):306—308.

[9] 彭建平,何继业,王栋梁,等.骨髓间充质干细胞成肌诱导后移植对延缓失神经肌肉萎缩的作用[J].中国组织工程研究与临床康复,2008,12(25):4824—4828.

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

[11] 郭义.实验针灸学[M].北京:中国中医药出版社,2008.414—417.