

督脉电针结合超短波疗法对大鼠脊髓全横断损伤后脑源性神经生长因子和神经轴突生长抑制剂-A表达的影响*

李启超¹ 刘义富^{1,2} 窦静敏¹ 段晓娜¹ 王宏江¹

摘要

目的:通过检测大鼠脊髓损伤(SCI)后运动功能恢复情况和脑源性神经生长因子(BDNF)、神经轴突生长抑制剂-A(Nogo-A)的表达来探讨联合应用督脉电针和超短波疗法对SCI的作用机制。

方法:复制并评价脊髓全横断损伤大鼠模型,100只雌性大鼠随机分为5组:假手术组、SCI组、SCI+督脉电针组、SCI+超短波组、SCI+督脉电针+超短波组(n=20),检测各组7d、14d、21d、28d这4个时间点BDNF和Nogo-A表达,对各组大鼠进行BBB评分。

结果:与模型组相比,各治疗组的BBB评分显著增加,联合组在术后第7d、14d、21d、28d较超短波组和督电组BBB评分显著增加,具有显著性差异($P < 0.01$)。与模型组相比,各治疗组BDNF的表达均显著增加,Nogo-A的表达均显著减少,联合组在术后第7d、14d、21d、28d较超短波组和督电组BDNF的表达显著增加,Nogo-A的表达显著减少,具有显著性差异($P < 0.01$)。

结论:①联合应用督脉电针与超短波治疗,能够提高SCI后BDNF的表达及抑制Nogo-A的表达来促进神经的修复。②联合疗法对大鼠运动功能恢复更佳。

关键词 脊髓损伤;督脉电针;超短波;脑源性神经生长因子;神经轴突生长抑制剂-A

中图分类号:R744, R245 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2017)-09-0977-07

Effects of Du Meridian electroacupuncture combined with ultrashort wave therapy on the expressions of BDNF and Nogo-A after acute complete spinal cord injury in rats/LI Qichao, LIU Yifu, DOU Jingmin, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2017, 32(9): 977—983

Abstract

Objective: To investigate the mechanism underlying the effects of Du Meridian electroacupuncture combined with ultrashort wave therapy on spinal cord injury (SCI) by detecting the motor function recovery and the expressions of BDNF and Nogo-A in the spinal lesion segments.

Method: Copying and evaluating the models of rats with spinal cord complete transections, 100 female rats were randomly divided into 5 groups: Sham-control group, the group of SCI, SCI with Du Meridian electroacupuncture (DMEA) group, SCI with ultra-short wave group, SCI with DMEA plus ultrashort wave group (n=20). The BBB scores and expressions of BDNF and Nogo-A in groups at 7d, 14d, 21d and 28d were tested.

Result: Compared with the Sham-control group, the BBB scores increased significantly in all treatment groups. Moreover, the BBB scores of the combination treatment group was significantly higher than that of the ultra-short wave group and DMEA group at 7d, 14d, 21d and 28d post-operation ($P < 0.01$). Comparing with the

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2017.09.002

*基金项目:辽宁省省级科研项目下分项(KK0457)

1 锦州医科大学附属第三医院,辽宁省锦州市凌河区和平路5段2号,121000; 2 通讯作者

作者简介:李启超,男,硕士研究生;收稿日期:2016-08-21

Sham-control group, the expression of BDNF significantly increased and the expression of Nogo-A significantly decreased. Furthermore, the expression of BDNF significantly increased and the expression of Nogo-A significantly decreased in the combination treatment group when compared with the ultra-short wave group and DMEA group at 7d, 14d, 21d and 28d post-operation ($P < 0.01$).

Conclusion: ①DMEA combined with ultrashort wave therapy can improve the expression of BDNF after SCI and decrease the expression of Nogo-A to promote neural repair. ②The combination therapy is more effective to promote motor function recovery in rats than using them separately.

Author's address The Third Hospital Affiliated to Jinzhou Medical University, 121000

Key word spinal cord injury; Du Meridian electroacupuncture; ultrashort wave; brain derived neurotrophic factor; neurite outgrowth inhibitor-A

目前认为,中枢神经系统(central neural system, CNS)神经再生困难的主要原因不在于神经元本身,而是周围缺乏神经元轴突再生的微环境^[1],脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)后会出现脊髓缺血、水肿、细胞变性,局部缺氧,神经营养因子的缺乏以及抑制修复因子的表达等,这些变化导致神经元轴突再生的微环境被破坏,因此如何给神经元轴突再生提供一个良好微环境是关键。有研究表明,在影响损伤脊髓再生能力的众多因素中,一个很重要的因素是损伤脊髓神经元外部生存环境中神经营养支持的匮乏^[2]。而在被发现的神经营养因子中,脑源性神经生长因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)是迄今发现的对运动神经元的促活作用最强的神经营养因子^[3]。另有研究表明,SCI后的轴突再生与中枢神经系统内抑制性因子的关系密切,其中髓磷脂相关抑制物神经轴突生长抑制剂-A(neurite outgrowth inhibitor-A, Nogo-A)被认为是最主要的髓磷脂相关轴突生长抑制蛋白^[4]。诸多证据显示督脉电针可以促进损伤脊髓断端组织表达BDNF^[5],促进SCI功能修复^[6]。另有研究表明,小剂量超短波作为一种外界物理因子,通过其生物刺激作用可以改善血液循环,促进炎症吸收,减轻水肿^[7],增强组织营养,加强局部组织代谢。近年来,临床上单一疗法越来越不能完全满足患者的需要。联合疗法可能相比于单一疗法具有更好的疗效。本实验从促进脊髓神经再生修复的角度出发,通过检测BDNF和抑制蛋白Nogo-A表达的变化,观察大鼠下肢运动情况,探讨督脉电针结合超短波疗法对大鼠SCI后运动功能的恢复情况和作用机制,为临床SCI的治疗提供理论依据和方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物

成年健康清洁级SD雌性大鼠100只,由锦州医科大学生命科学院动物实验中心提供。体重180—200g。饲养环境:温度为 $(20 \pm 3)^\circ\text{C}$,湿度40%—55%;通风良好。运用SPSS软件产生随机数字,将其随机分为假手术组、SCI组、SCI+督脉电针组(督电组)、SCI+超短波组(超短波组)、SCI+督脉电针组+超短波组(联合组)。每组分为7d、14d、21d、28d四个时间点,每个时间点5只大鼠。

1.2 大鼠模型复制

大鼠称重,10%水合氯醛(0.3ml/100g)腹腔注射,俯卧位,以第10胸椎(大鼠颈部向下触摸最高突出处)作为骨性定位标志,备皮,消毒,无菌操作下沿后正中线做纵行切口约3.5cm,剥离筋膜,钝性分离椎旁肌,充分暴露椎板。咬除T10椎板,充分暴露相对应的脊髓,弯显微镊抬起脊髓,10号手术刀快速切断脊髓,大鼠后肢痉挛性抽搐数次后瘫痪,止血,生理盐水冲洗,逐层缝合。假手术组仅咬除椎板,显露脊髓但不予切断,其余同上。

1.3 术后护理

①术后7天内腹腔注射青霉素(8万U/d)预防感染。②每日按摩膀胱2次至出现自主排尿为止。

1.4 处理方法和仪器

1.4.1 督脉电针治疗:督脉电针组和联合治疗组大鼠行脊髓横断术后第2天开始进行督脉电针治疗,方法如下:大鼠固定器内固定,根据《大鼠穴位图谱的研制》,选取督脉大椎、命门两穴位,各用一次性1寸毫针沿棘突间隙刺入0.5cm,选择2Hz、疏密波,电流强度以大鼠背部及后肢出现规律性收缩抖动为

度,30min/次,1次/天。

1.4.2 超短波治疗:五官超短波治疗机(由汕头医用设备厂提供),频率为40.68MHz,最大输出功率为40W,调谐后输出功率11.58W,输出功率采用光度学测定法。将大鼠固定于自制塑料固定器内,直径4cm电极左右对置于手术伤口部位,电极与鼠皮肤间隙1.5—2.0cm。超短波治疗组和联合治疗组大鼠行脊髓横断术后第2天开始行超短波治疗,7min/次,1次/天。

1.5 BBB评分

BBB评分即Basso, Beattie & Bresnahan locomotor rating scale,是一种分级评定脊髓功能的神经学标准,目前大多数脊髓损伤试验研究常用此评分作为评价标准,共21分。0—7分重点评判动物后肢各关节的活动,8—13分重点评判后肢的步态及协调功能,14—21分重点评判运动中的精细运动。各组大鼠在造模后进行BBB评分,除假手术组外,其余各组评分在1分以上的大鼠,说明造模不成功,予以剔除,并及时补充。所有大鼠在术后第2天治疗后进行运动功能评分,为保证实验结果的准确性,在观察时采取三人分别观察记录打分的方法整理数据后求平均分,并对其进行统计学处理。

1.6 实验检测

处死后大鼠迅速置于冰上,术区常规消毒,逐层暴露脊髓组织,截取以损伤点(损伤点周径较周围略小,并呈暗红色)为中心,上下各1cm的脊髓组织后,一部分置于标本储存瓶中,加入4%多聚甲醛溶液,每天更换,连续7d,备免疫组化染色。另一部分用PBS缓冲液冲洗,去除残留血液后,置于EP管内存于-80℃冰箱保存,备Western Blot检测。此方法有以下三个优点:①减小实验误差;②降低实验成本;③减小每日饲养、护理的工作量。

1.6.1 免疫组化法检测BDNF、Nogo-A蛋白:经多

聚甲醛固定的脊髓,制备组织标本切片,常规脱蜡,高压抗原修复,3% H₂O₂溶液孵育,滴加5% BSA封闭液,滴加一抗(1:150),4℃孵育过夜,次日复温后PBS洗涤3次,滴加二抗,SABC染色,DAB显色,苏木精复染,分化,透明封片。随机取每张切片的5个视野(10×20)拍照。采用Image-Pro Plus 6.0软件测定BDNF、Nogo-A的阳性产物的平均积分光密度值与其面积的比值。

1.6.2 Western Blot测定BDNF的表达:裂解液裂解并制成匀浆,4℃,12000r/min离心20min,取上清液,-80℃冻存,经蛋白定量、制胶、加样、电泳、转膜、封闭、加一抗、4℃过夜、洗膜、加二抗,常温下孵育2h、洗膜后用ECL法显色呈像。采用Image-Pro Plus 6.0软件分析灰度值。

1.7 统计学分析

实验数据采用SPSS 16.0软件进行统计分析,实验结果以均数±标准差表示,实验结果为正态分布,满足方差齐性,采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 实验大鼠死亡分析

假手术组因手术误伤脊髓而导致下肢瘫痪而排除1只,SCI组因麻醉过量而死亡1只,尿路感染而死亡1只,联合组术后7天内因腹胀死亡1只,其余大鼠均存活至取材,各组排除及死亡大鼠均及时同条件补齐。

2.2 大鼠BBB评分

与模型组相比,超短波组、督电组和联合组的BBB评分显著增加,联合组在术后第7d、14d、21d、28d较超短波组和督电组BBB评分显著增加,具有显著性差异($P < 0.01$),见表1。

2.3 免疫组化结果

2.3.1 各组在各个时间点BDNF均有表达,主要分

表1 各组大鼠术后各时间点BBB评分

($\bar{x} \pm s$, n=5)

组别	第7d	第14d	第21d	第28d
模型组	3.132±0.181	5.200±0.504	8.398±0.434	9.598±0.435
超短波组	4.866±0.556 ^①	6.800±0.504 ^①	10.800±0.504 ^①	11.666±0.623 ^①
督电组	4.868±0.181 ^①	7.200±0.379 ^①	11.534±0.557 ^①	12.034±0.280 ^①
联合组	5.734±0.493 ^{①②③}	8.200±0.299 ^{①②③}	12.600±0.435 ^{①②③}	14.400±0.435 ^{①②③}
假手术组	21.000±0.000	21.000±0.000	21.000±0.000	21.000±0.000

与模型组比较:① $P < 0.01$;与超短波组比较:② $P < 0.01$;与督电组比较:③ $P < 0.01$

布在脊髓前区神经元和胶质细胞内,为细胞浆和突触着色,棕黄色,胞核为蓝色的阴性信号(图1)。超短波组、督电组和联合组于术后各时间点较模型组BDNF的表达明显增加,具有显著性差异($P < 0.01$),联合组于术后各时间点较超短波组、督电组BDNF的表达明显增加,具有显著性差异($P < 0.01$),见图1,表2。

2.3.2 各组于各时间点Nogo-A均有表达,主要分布于脊髓灰质,胞浆为棕褐色的阳性信号,胞核为蓝色的阴性信号(见图2)。超短波组、督电组和联合组于术后各时间点较模型组Nogo-A的表达明显减

少,具有显著性差异($P < 0.01$),联合组于术后各时间点较超短波组、督电组Nogo-A的表达明显减少,具有显著性差异($P < 0.01$),见表3。

2.4 Western Blot检测结果

各组在各时间点均可检测出BDNF的表达,假手术组各时间点变化无显著性差异($P > 0.05$),超短波组、督电组和联合组于术后各时间点较模型组BDNF的表达明显增加,具有显著性差异($P < 0.01$),联合组于术后各时间点较超短波组、督电组BDNF的表达明显增加,具有显著性差异($P < 0.01$)。见图3,表4。

表2 各组BDNF的平均积分光密度值比

($\bar{x} \pm s$, $n=5$, IOD/Area)

组别	第7d	第14d	第21d	第28d
模型组	0.0829±0.0117	0.0778±0.0110	0.0736±0.0106	0.0695±0.0092
超短波组	0.0986±0.0116 ^①	0.0871±0.0088 ^①	0.0782±0.0072 ^①	0.0772±0.0054 ^①
督电组	0.1049±0.0105 ^①	0.0930±0.0125 ^①	0.0822±0.0095 ^①	0.0810±0.0114 ^①
联合组	0.1212±0.0063 ^{①②③}	0.1067±0.0132 ^{①②③}	0.0903±0.0152 ^{①②③}	0.0862±0.0100 ^{①②③}
假手术组	0.0678±0.0090	0.0699±0.0091	0.0681±0.0109	0.0688±0.0074

注:①与模型组比较, $P < 0.01$;②与超短波组比较, $P < 0.01$;③与督电组比较, $P < 0.01$

图1 7d时各组脑源性神经生长因子的表达

(免疫组化染色,×200)

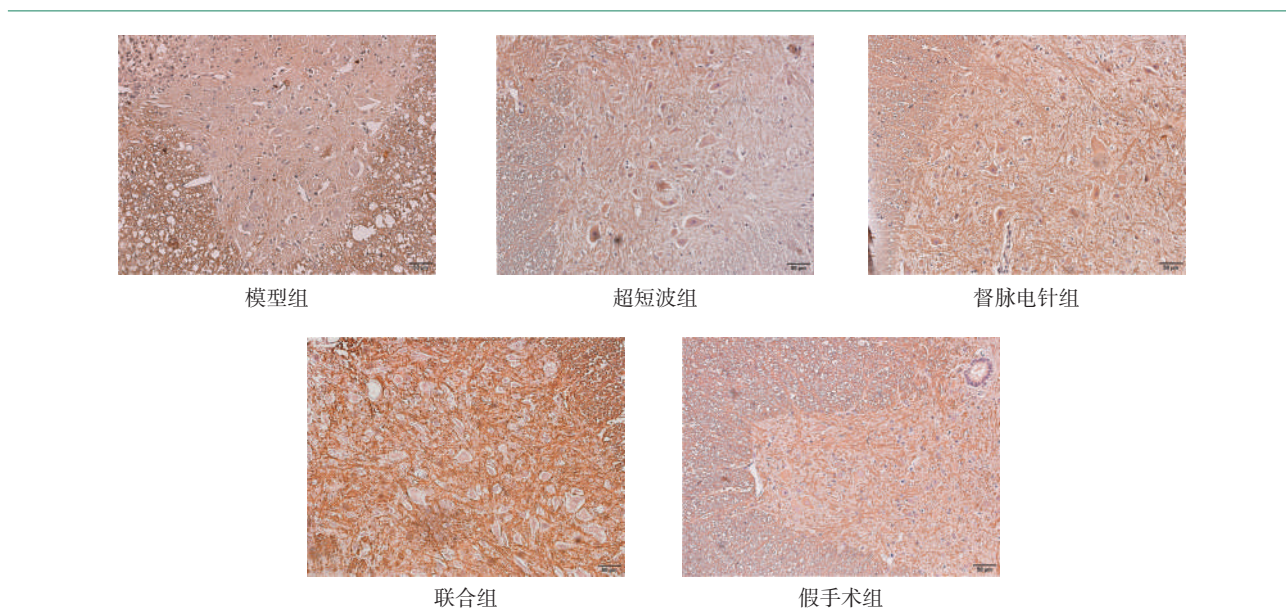


表3 各组Nogo-A的平均积分光密度值比

($\bar{x} \pm s$, $n=5$, IOD/Area)

组别	第7d	第14d	第21d	第28d
模型组	0.1931±0.0058	0.1666±0.0116	0.1433±0.0081	0.1026±0.0060
超短波组	0.1643±0.0068 ^①	0.1439±0.0085 ^①	0.1133±0.0080 ^①	0.0969±0.0154 ^①
督电组	0.1640±0.0090 ^①	0.1420±0.0074 ^①	0.1083±0.0056 ^①	0.0941±0.0059 ^①
联合组	0.1283±0.0041 ^{①②③}	0.1193±0.0079 ^{①②③}	0.1030±0.0076 ^{①②③}	0.0883±0.0054 ^{①②③}
假手术组	0.0856±0.0046	0.0848±0.0053	0.0864±0.0053	0.0840±0.0062

注:①与模型组比较, $P < 0.01$;②与超短波组比较, $P < 0.01$;③与督电组比较, $P < 0.01$

表4 各组BDNF/ β -actin WB灰度比值表 $(\bar{x} \pm s, n=5)$

组别	1周	2周	3周	4周
模型组	0.6463 $\pm$ 0.0653	0.4540 $\pm$ 0.0416	0.3987 $\pm$ 0.0700	0.3619 $\pm$ 0.0252
超短波组	0.7457 $\pm$ 0.0966 ^①	0.5613 $\pm$ 0.0757 ^①	0.4937 $\pm$ 0.0568 ^①	0.4543 $\pm$ 0.0453 ^①
督电组	0.7653 $\pm$ 0.0738 ^①	0.6247 $\pm$ 0.0917 ^①	0.5123 $\pm$ 0.0315 ^①	0.4720 $\pm$ 0.0355 ^①
联合组	0.9153 $\pm$ 0.1715 ^{①②③}	0.7633 $\pm$ 0.1080 ^{①②③}	0.6313 $\pm$ 0.0470 ^{①②③}	0.6157 $\pm$ 0.0513 ^{①②③}
假手术组	0.3083 $\pm$ 0.0453	0.3190 $\pm$ 0.0476	0.3227 $\pm$ 0.0513	0.3150 $\pm$ 0.0138

注:①与模型组比较, $P<0.01$;②与超短波组比较, $P<0.01$;③与督电组比较, $P<0.01$

图2 7d时各组Nogo-A的表达

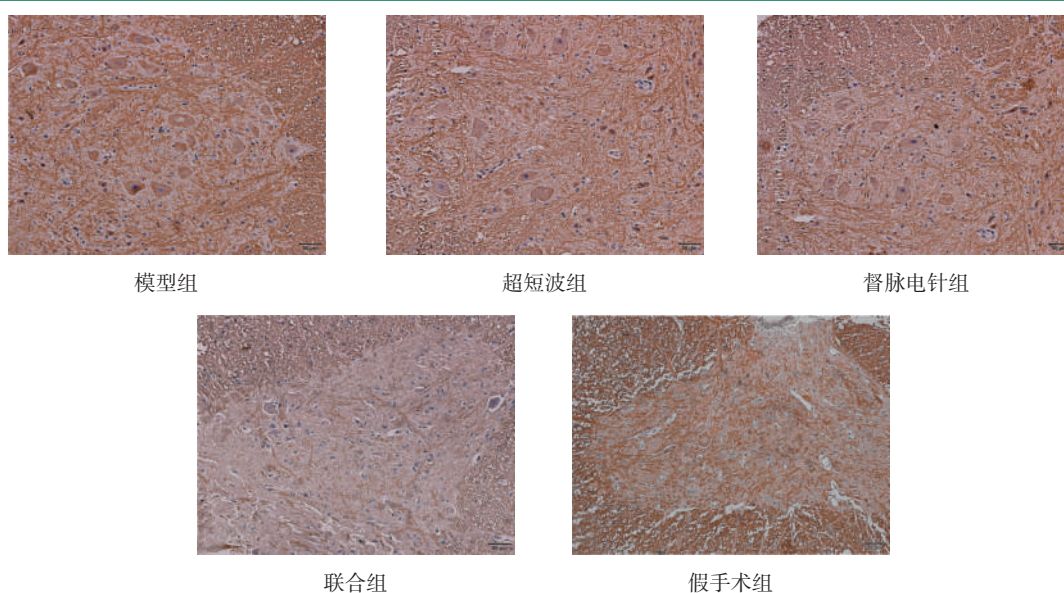
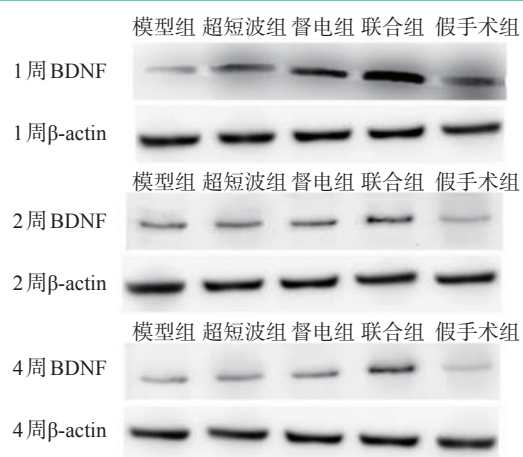
(免疫组化染色, $\times 200$)

图3 1、2、4周大鼠BDNF蛋白在脊髓中的表达



3 讨论

SCI分为原发性损伤和继发性损伤,由于原发性SCI是不可逆的,所以采取各种有效治疗措施减

少或预防继发性损伤是促进损伤脊髓结构的功能重建及改善预后的关键。近年来的研究表明,继发性神经细胞的死亡有16%—50%是神经细胞的凋亡,而局部组织的缺血、缺氧及神经营养因子缺乏造成的微环境障碍是SCI后神经细胞凋亡的关键因素^[8]。

在神经营养因子家族中,BDNF是迄今发现的对运动神经元的促活作用最强的一种,它不仅在中枢神经系统发育过程中对神经元的生存、分化、生长和维持神经元正常的生理功能起关键作用,而且还具有抵抗损伤性刺激,促进神经元的再生,保护缺血、缺氧的神经元,刺激诱导轴突再生以及促进神经通路及抑制神经细胞凋亡的作用^[9]。因此,如何有效提高BDNF在损伤脊髓处的表达对SCI后神经的修复具有重要意义。本实验结果显示,SCI后大鼠通过超短波、督脉电针及其联合治疗后,在术后7d、14d、21d、28d较模型组BDNF表达明显增加,具有显著性差异($P<0.01$),联合组于术后7d、14d、21d、28d

较超短波组、督电组BDNF的表达明显增加,具有显著性差异($P < 0.01$)。表明应用超短波和督脉电针对SCI的恢复均有效,且联合疗法优于单一疗法。

髓磷脂相关轴突生长抑制蛋白在中枢神经系统神经元轴突再生的微环境中也发挥重要的作用,尤以Nogo蛋白作用最为突出。Nogo分子有三种异构体Nogo-A、Nogo-B和Nogo-C,其中Nogo-A被认为是SCI后抑制轴突再生最重要的一种。它在CNS中由少突胶质细胞和一些神经元产生^[10],当SCI后,少突胶质细胞和髓磷脂释放出细胞内的Nogo-A到细胞外基质,抑制轴突再生。因此有效抑制Nogo-A在损伤脊髓处的表达对SCI后神经的修复具有重要意义。本实验结果显示,超短波、督脉电针及其联合治疗,在术后7d、14d、21d、28d较模型组Nogo-A表达明显减少,具有显著性差异($P < 0.01$),联合组于术后7d、14d、21d、28d较超短波组、督电组Nogo-A的表达明显减少,具有显著性差异($P < 0.01$)。表明应用超短波和督脉电针对SCI的恢复均有效,且联合疗法优于单一疗法。

超短波属于高频电场治疗范围,目前广泛应用于物理治疗中。大量研究证明高频电场治疗对SCI后功能障碍的恢复有促进作用。在SCI病理恢复过程中,高频电场治疗可以改善截瘫肢体运动功能,提高日常生活能力及步行能力^[11]。近年来Mangold等^[12]的研究发现SCI后高频电场可以促进其功能恢复;这可能是高频电场增加脊髓血流量,改善缺血周边血供状态,减轻水肿的作用,从而减轻了初级运动皮质及其邻近运动皮质的损伤。Hossain-Ibrahim MK等^[13]的研究则表明,电场可影响大脑神经系统的结构、功能和行为,影响神经细胞突起的生长。Hamasaki T等^[14]实验观察到大鼠脊髓缺血再灌注早期进行电场刺激治疗可以明显地促进其神经功能恢复,减小损伤区体积,可能通过增加脊髓组织突触的表达,促进脊髓缺血性损伤后新生突触的形成;或促进血管新生,增加脊髓缺血区微血管密度,从而改善脊髓血液循环,达到脊髓保护的作用。但是电场如何发挥其脊髓保护作用及其促进神经功能恢复的机制还需要进一步深入的探讨。

针灸作为中华医学的瑰宝,经历史的检验,在临床治疗当中取得了毋庸置疑的效果,同时也是治

疗SCI的一种重要方法,中医经络学认为SCI所导致的肢体功能障碍与督脉关系密切,该病的病理机制可理解为督脉受损导致督脉及其相关联的其他经络、脏腑功能出现紊乱,出现的一系列临床综合征。可总结为督脉枢机不利。大椎穴为手足三阳经的阳气交汇之处,而后与督脉并行入脑。因此,针刺大椎穴可能治疗SCI。中医称两肾之间为生命之门,简称命门。针刺命门可增强肾经功能,而肾经入络脑生髓,加强脊髓受损区域的自我修复功能。督脉电针作为一种传统治疗手段,其促进SCI修复的作用已在实验研究和临床治疗中得到肯定^[15-17]。

本实验选取100只大鼠均为雌性,因为大鼠在脊髓全横断后会出现血尿、脓尿或尿潴留现象,雌性大鼠相较于雄性大鼠而言其尿道短,故尿道感染、水肿发生几率更低。当对膀胱进行挤压排尿时,对雄性大鼠外生殖器不适当的刺激会导致生殖器外翻,尿道口水肿严重,尿道末端狭窄梗阻导致排尿困难。为了便于术后护理及降低术后死亡率故全部选用雌性大鼠。

本实验结果显示,模型组大鼠在术后BBB评分不断提高,这表明大鼠SCI后运动功能能够在一定程度上自我恢复,但超短波组、督电组及联合组在术后各时间点BBB评分明显高于模型组($P < 0.01$),表明大鼠SCI后可以通过治疗手段更好地提高运动能力。大鼠SCI后BDNF的表达在7d时达到高峰,随后逐渐降低,这一动态表达变化与李群等^[18]研究报道一致。大鼠SCI术后Nogo-A在术后7d时表达达到高峰,至术后14d时逐渐下降。SCI后7—14d时高度表达,说明在SCI后14d中,进行各种治疗措施抑制Nogo-A的表达是关键。本实验结果显示在大鼠SCI术后各时间点,超短波组、督电组和联合组BDNF的表达显著高于模型组,而Nogo-A的表达显著低于模型组,具有非常显著差异($P < 0.01$),这表明通过高频电场或者电针刺激能够明显提高BDNF的表达和降低Nogo-A的表达,同时伴随着运动功能的改善,即BBB评分的提高,进而在一定程度上解释了高频电场和电针治疗SCI的机制。本实验结果也显示在术后第7d、14d、21d、28d联合组BDNF的表达显著高于超短波组和督电组($P < 0.01$),而Nogo-A的表达显著低于超短波组和督电组($P <$

0.01)。同时BBB评分结果显示,联合组在术后第7d、14d、21d、28d较超短波组和督电组BBB评分显著增加,具有显著性差异($P < 0.01$)。这表明联合疗法对大鼠运动功能恢复更佳。

SCI的康复是一个较长的过程,由于各种实验条件限制,本实验设计的最长时间为28d,未能体现出SCI后长期使用理疗干预手段是否有效。另外,本研究从改善SCI微环境出发,联合超短波和督脉电针治疗SCI,虽然证实了应用超短波和督脉电针对SCI的恢复有效,且联合疗法优于单一疗法,但本试验结果的检测方法有限,对其具体的分子机制研究尚不深入,仍需进行进一步探讨。

综上所述,督脉电针结合超短波疗法,可以通过更好地上调BDNF的表达和抑制Nogo-A的表达,促进神经轴突的再生,进而促进SCI后神经的修复,改善运动功能。

参考文献

- [1] Tuszynski MH, Peterson DA, Ray J, et al. Fibroblasts genetically modified to produce nerve growth factor induce robust neuritic ingrowth after grafting to the spinal cord[J]. *Exp Neurol*, 1994, 126(1):1—14.
- [2] Sayer FT, Oudega M, Hagg T. Neurotrophins reduce degeneration of injured ascending sensory and corticospinal motor axons in adult rat spinal cord[J]. *Exp Neurol*, 2002, 175(1): 282—296.
- [3] Henderson CE, Phillips HS, Pollock RA, et al. GDNF: a potent survival factor for motoneurons present in peripheral nerve and muscle[J]. *Science*, 1994, 266(5187):1062—1064.
- [4] Broggin T, Nitsch R, Savaskan NE. Plasticity-related gene 5 (PRG5) induces filopodia and neurite growth and impedes lysophosphatidic acid- and nogo-A-mediated axonal retraction[J]. *Mol Biol Cell*, 2010, 21(4):521—537.
- [5] Wang TH, Wang XY, Li XL, et al. Effect of electroacupuncture on neurotrophin expression in cat spinal cord after partial dorsal rhizotomy[J]. *Neurochem Res*, 2007, 32(8):1415—1422.
- [6] Liang W, Han Q, Jin W, et al. The promotion of neurological recovery in the rat spinal cord crushed injury model by collagen-binding BDNF[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(33):8634—8641.
- [7] Pang CJ, Tong L, Ji LL, et al. Synergistic effects of ultra-short wave and bone marrow stromal cells on nerve regeneration with acellular nerve allografts[J]. *Synapse*, 2013, 67(10):637—647.
- [8] Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms[J]. *J Neurosurg*, 1991, 75(1):15—26.
- [9] Jakeman LB, Wei P, Guan Z, et al. Brain-derived neurotrophic factor stimulates hindlimb stepping and sprouting of cholinergic fibers after spinal cord injury[J]. *Exp Neurol*, 1998, 154(1):170—184.
- [10] Chong SY, Rosenberg SS, Fancy SP, et al. Neurite outgrowth inhibitor Nogo-A establishes spatial segregation and extent of oligodendrocyte myelination[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(4):1299—1304.
- [11] Mushahwar VK, Jacobs PL, Normann RA, et al. New functional electrical stimulation approaches to standing and walking[J]. *J Neural Eng*, 2007, 4(3):S181—197.
- [12] Mangold S, Keller T, Curt A, et al. Transcutaneous functional electrical stimulation for grasping in subjects with cervical spinal cord injury[J]. *Spinal Cord*, 2005, 43(1):1—13.
- [13] Hossain- Ibrahim MK, Rezajooi K, Stallcup WB, et al. Analysis of axonal regeneration in the central and peripheral nervous systems of the NG2-deficient mouse[J]. *BMC Neurosci*, 2007, (8):80.
- [14] Hamasaki T, Tanaka N, Kamei N, et al. Magnetically labeled neural progenitor cells, which are localized by magnetic force, promote axon growth in organotypic cocultures[J]. *Spine*, 2007, 32(21):2300—2305.
- [15] 李晓宁,迟蕾.夹脊配合督脉电针治疗脊髓损伤后功能障碍临床观察[J].*上海针灸杂志*,2015,34(10):972—974.
- [16] 李波霖,周宾宾,金昕.电针刺激不同穴位治疗脊髓损伤机制实验研究进展[J].*针灸临床杂志*,2015,31(5):75—78.
- [17] 杨波,隋汝波.电针对大鼠脊髓损伤细胞凋亡相关因子的影响[J].*中国老年医学杂志*,2015,35(12):3263—3266.
- [18] 李群,李明,杨晓华.大鼠脊髓全横断后脊髓内BDNF表达的变化[J].*神经解剖学杂志*,2005,21(6):661—663.