·基础研究·

电针结合超短波疗法对大鼠全横断脊髓损伤后GAP-43和Caspase-3表达的影响*

裴俐锋[1] 周达岸[1,2] 李灵玲[1] 王宏江[1] 李启超[1]

摘要

目的:观察电针结合超短波疗法对脊髓全横断损伤大鼠损伤部位神经生长相关蛋白(GAP-43)、神经细胞凋亡相关蛋白(Caspase-3)的影响。探讨电针结合超短波疗法对脊髓全横断损伤大鼠运动功能恢复的机制。

方法:复制并评价SCI大鼠模型。将75只大鼠随机分为5组:假手术组、脊髓损伤组(SCI组)、SCI+电针治疗组(电针组)、SCI+超短波治疗组(超短波组)、SCI+电针治疗组+超短波治疗组(联合组),每组15只大鼠。检测各组1周、2周、3周、4周、5周 5个时间点GAP-43、Caspase-3的表达,对各组大鼠进行BBB评分。

结果:在不同时间点各治疗组的脊髓损伤大鼠BBB评分均有所提高($P<0.05$)。与SCI组相比,电针组、超短波组和联合组GAP-43的表达显著增加,Caspase-3的表达显著减少($P<0.05$)。联合组在术后第1周、2周、3周、4周、5周较其他组GAP-43的表达显著增加,Caspase-3的表达显著减少($P<0.05$)。

结论:①电针疗法和超短波疗法都可以促进大鼠损伤区脊髓组织内GAP-43表达增多和抑制大鼠损伤区脊髓组织内Caspase-3表达增多。②联合治疗对大鼠运动功能的恢复更为有效。

关键词 电针;超短波;脊髓损伤;生长相关蛋白43;半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶-3

中图分类号:R651.2, R493, R245 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2017)-12-1345-06

Effects of electroacupuncture combined with ultrashort wave therapy on the expression of GAP-43 and Caspase-3 in rats with spinal cord transection/PEI Lifeng, ZHOU Da'an, LI Lingling, et al.//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2017, 32(12): 1345—1350

Abstract

Objective: To observe the effects of electroacupuncture combined with ultrashort wave therapy on changing the expression of nerve growth related protein (GAP-43) and neural cell apoptosis related protein (Caspase-3) in the injured spinal cord of the rat , and study the subsequent primary recovery mechanism of the spinal cord after transection.

Method: To moulding the rat with spinal cord injury (SCI), 75 rats were randomly divided into 5 groups: sham operation group, SCI group, SCI + electroacupuncture treatment group (electroacupuncture group), SCI + ultrashort wave therapy group (ultrashort wave group), SCI + electroacupuncture treatment + ultrashort wave therapy group (combination group), each group had 15 rats. Detected the expression of GAP-43 and Caspase-3 at 1w, 2w, 3w, 4w, 5w after moulding. BBB score of rats in every group were taken at the same time points.

Result: The BBB scores increased ($P<0.05$) in every treatment group at every time points. Comparing with the SCI group, the expression of GAP-43 significantly increased in the electroacupuncture group and the expression of Caspase-3 significantly decreased in the electroacupuncture group, ultrashort wave therapy group and combination treatment group ($P<0.05$). Furthermore, the expression of GAP-43 significantly increased and the

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2017.12.005

*基金项目:锦州医科大学校长基金——奥鸿博泽研究生科研创新基金资助(AH2014016)

1 锦州医科大学附属第三医院,锦州,121000; 2 通讯作者

作者简介:裴俐锋,男,硕士研究生; 收稿日期:2016-12-27

expression of Caspase-3 significantly decreased in the combination treatment group compared with SCI group, electroacupuncture group and ultrashort wave therapy group at 1w, 2w, 3w, 4w, 5w time points($P < 0.05$).

Conclusion: ①Electroacupuncture treatment and ultrashort wave therapy can increase the expression of GAP-43 and decrease the increased expression of Caspase-3 in the transection area of the rat spinal cord. ②Electroacupuncture treatment combined with ultrashort wave therapy is more effective for the recovery of motor function of the rat after spinal cord transection.

Author's address Rehabilitation Center, The Third Hospital of Jinzhou Medical University, 121000

Key word electroacupuncture; ultrashort wave; spinal cord injury; growth associated protein-43; Caspase-3

脊髓损伤多见于交通事故、高空坠落和运动意外等，受伤后导致患者损伤平面以下的感觉、运动等功能障碍，这种障碍往往是永久性的，给患者本人及其家庭带来了巨大的心理负担和经济负担[1]。大量研究表明，电针能够促进脊髓损伤后神经传导通路及运动功能恢复，并能抑制脊髓损伤后神经元凋亡、炎症浸润、星形胶质细胞增生，还能够促进神经干细胞向神经元及少突胶质细胞分化[2—3]。超短波因为其治疗安全、有效，现已广泛应用于临床康复治疗中。超短波治疗可以改善血液循环，促进炎症吸收，减轻水肿，增强组织营养，加强局部组织代谢，被广泛应用于临床颈椎病、腰椎间盘突出、神经炎、脊髓炎等的治疗[4—6]。在基础试验中，超短波已被证实对外周神经的营养、再生及功能恢复有效[4,7]。生长相关蛋白43（growth associated protein-43, GAP-43）是神经组织中一种特有的，能够快速转运的胞膜磷酸蛋白，其与脊髓损伤后神经元再生、轴突再生及突触重建密切相关。近年来研究表明，GAP-43除了在大脑、小脑、脊髓、背根神经节和自主神经系统中表达外，其在神经胶质细胞、少突胶质细胞及雪旺细胞中亦有表达[8]。近年来发现Bcl-2、Bax、半胱氨酸—天冬氨酸蛋白酶（Caspase）、c-fos、c-myc、p53等基因参与了细胞凋亡的调控，在哺乳动物细胞凋亡执行阶段起重要作用的一系列Caspase家族中，Caspase-3是各种凋亡刺激因子激活的关键蛋白酶，是细胞凋亡蛋白酶级联反应的必经之路，在细胞凋亡早期的启动与执行过程中起着极其重要的作用[9—10]。因此，如何促进SCI后神经细胞轴突生长和抑制神经细胞的凋亡，是亟待解决的问题。近年来，临床康复医学中单一康复疗法越来越不能满足各类患者的需要，联合疗法相比单纯的单一运动康复训练要更有优势，从而广泛地用于脊髓损伤后的康复治疗[11]。本研究从细胞凋亡和神经轴突再生角度出发，通过检测轴突生长相关蛋白GAP-43和神经细胞凋亡相关蛋白Caspase-3的表达变化，观察大鼠下肢的运动情况，探讨电针结合超短波疗法对大鼠脊髓损伤后运动功能的恢复情况和作用机制，为临床治疗脊髓损伤提供理论依据和方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康成年SPF级雌性SD大鼠75只，体重180—200g，由锦州医科大学实验动物中心提供。实验中，麻醉及手术中死亡大鼠8只，假手术组因手术误伤脊髓导致大鼠下肢瘫痪而排除3只，术后感染死亡4只，联合组术后7天内因腹胀死亡2只，其余大鼠均存活至取材，各组被排除及死亡的大鼠均及时同条件补齐。室温保持在20—25℃并分笼饲养。运用SPSS软件产生随机数字，将其随机分为假手术组、脊髓损伤组（SCI组）、SCI+电针治疗组（电针组）、SCI+超短波治疗组（超短波组）、SCI+电针治疗+超短波治疗组（联合组）。每组按术后1周、2周、3周、4周、5周各时间点各取材3只。实验中对动物处置方法严格按照锦州医科大学实验动物伦理学要求操作。

1.2 动物模型

对动物采用7%水合氯醛（3.5ml/kg）进行腹腔注射麻醉。俯卧位四肢外展固定于手术台。暴露T10段脊髓用10号手术刀于T10节段处连同硬脊膜和脊髓一同快速切断，用眼科镊夹T10节段处以下2mm节段的脊髓组织，压迫止血，然后逐层缝合切口，术毕，建立大鼠双后肢瘫痪实验模型。术后处理：①在腹腔注射青霉素（80000U/d）以抗感染，每天1次持续5天；②每日按摩膀胱2次至排尿反射恢复。假手术组仅切除棘突、椎板，暴露脊髓。SCI组

于损伤脊髓后不予任何治疗。

1.3 电针治疗

电针组和联合组于大鼠脊髓损伤3天后开始进行督脉电针治疗,选取大椎穴、命门穴两个穴位。方法如下:于每天上午8点,将大鼠俯卧位捆绑固定,用"汉医牌"一次性毫针(0.30mm×13mm)向两穴进行施针,沿棘突间隙刺入5mm。电针频率4Hz(疏密波),电流强度以大鼠后肢出现颤动为宜。30min/次,1次/日,连续1周为1个疗程,共5个疗程。

1.4 超短波治疗

假手术组不给予治疗。超短波组在SCI后24h用上海电子仪器厂生产的五官高频电场治疗机处理,频率为40.68MHz,最大输出功率为40W,调谐后第3档输出功率约为14.24W。输出功率测定采用光度学测定法。将大鼠固定于特制的塑料固定器内,直径4cm的圆形电极板对置于大鼠SCI部位两侧,电极板与SCI皮肤间隙2.0cm,7分钟/次,1次/日,直至取材前一天,连续1w为1个疗程,共5个疗程。

1.5 免疫组化染色

脊髓组织经4%多聚甲醛固定冲洗后,完整取出约1cm的脊髓组织,行脱水、透明、浸蜡、包埋,制成4μm厚切片。经烤片、烘片、脱蜡,进行GAP-43和Caspase-3免疫组化染色(SABC三步法)。按照SABC-POD试剂盒的步骤进行,其中一抗以1∶150比例稀释,于4℃湿盒过夜。经DAB显色、苏木素复染、脱水、透明、中性树脂封片。显微镜下查看,阳性表达呈淡黄色、棕褐色。

1.6 Western Blot测定GAP-43蛋白

采用7%水合氯醛(3.5ml/kg)进行腹腔注射麻醉大鼠,以造模损伤区为中心,取SCI区约1cm的脊髓组织放于2ml冻存管,-80℃冰箱保存。制备脊髓组织样品蛋白,蛋白定量后放入-80℃冰箱备用。制胶、上样、电泳、转膜、5% BSA室温封闭1.5h。一抗4℃孵育过夜,β-actin(1∶2000),GAP-43(1∶400)。二抗室温孵育2h,山羊抗兔(1∶10000),ECL法显色后成像。

1.7 BBB评分评定大鼠肢体运动功能

各组大鼠于造模后第1周、2周、3周、4周、5周各个时间点进行运动功能评分。BBB评分最高分为21分,最低分为0分,评分越高说明大鼠运动功能恢复越好。为确保实验结果准确,由固定5人(熟悉评分标准但非本组实验人员)进行BBB评分,最终取5人的平均分值,并对其进行统计学处理。

1.8 图像分析及统计处理

免疫组化:每只大鼠随机非连续性取SCI段、SCI上段、SCI下段切片3张,每张片GAP-43和Caspase-3阳性细胞计数为该切片在光镜下随机选取3个视野的均值,再将3张切片阳性细胞计数的均值作为该大鼠的GAP-43和Caspase-3阳性细胞数。

Western Blot:用ImageJ分析蛋白条带灰度值,β-actin为内参蛋白,用GAP-43蛋白条带灰度值/β-actin条带灰度值来表示GAP-43蛋白的相对表达量。

实验数据采用SPSS 17.0软件进行统计处理,实验结果以均数±标准差表示,用单因素方差分析和LSD-*t*检验处理。

2 结果

2.1 免疫组化结果

2.1.1 免疫组化Caspase-3检测结果:Caspase-3于各组各时间点均有表达,主要分布于脊髓灰质,表达Caspase-3的阳性细胞为胞浆着色(图1)。超短波组和联合组在各时间点较SCI组Caspase-3的表达明显减少,具有显著性差异($P<0.05$)。联合组于术后第2周、3周、4周、5周较超短波组Caspase-3的表达明显较少,具有显著性差异($P<0.05$),见表1。

2.1.2 免疫组化GAP-43检测结果:GAP-43于各组各时间点均有表达,主要分布于脊髓灰质,表达GAP-43的阳性细胞为胞浆着色(图2)。超短波组和联合组在各时间点较SCI组GAP-43的表达明显增加,具有显著性差异($P<0.05$)。联合组于术后2周、3周、4周、5周较超短波组GAP-43的表达明显增加,具有显著性差异($P<0.05$),见表2。

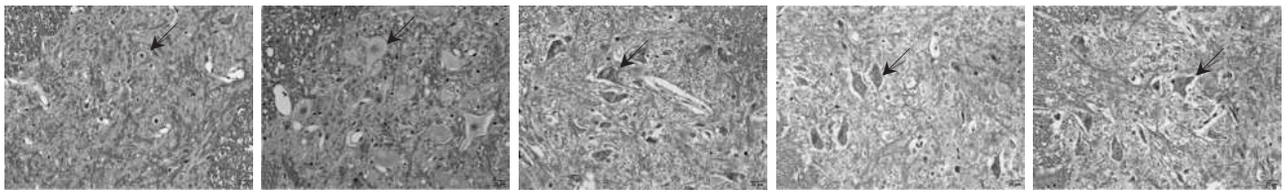
2.2 Western Blot检测结果

治疗组和模型组在各时间点均可检测出GAP-43的表达,GAP-43的表达于1周最高,随后下降。超短波组和联合组在各时间点GAP-43表达均高于SCI组,具有显著性差异($P<0.05$)。第2周、3周、4周、5周联合组GAP-43的表达均高于超短波组,具有显著性差异($P<0.05$)。见图3,表3。

2.3 BBB评分结果

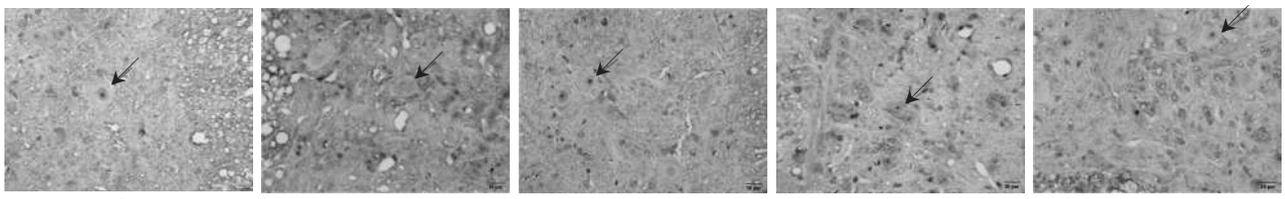
采用BBB评分法对各组大鼠进行模型评价,分

图1　术后1周免疫组化技术检测全横断大鼠脊髓标本Caspase-3的表达　（免疫组化染色，×400）



假手术组　SCI组　电针组　超短波组　联合组

图2　术后1周免疫组化技术检测全横断大鼠脊髓标本GAP-43的表达　（免疫组化染色，×400）



假手术组　SCI组　电针组　超短波组　联合组

表1　各组大鼠术后各时间点Caspase-3阳性细胞数　（$\bar{x}\pm s$，n=3）

组别	例数	第1周	第2周	第3周	第4周	第5周
假手术组	15	3.500±0.416	3.167±0.240	2.167±0.635	1.333±0.480	1.000±0.416
SCI组	15	11.667±0.635	10.167±0.240	9.167±0.635	8.500±0.721	7.167±0.635
电针组	15	9.167±1.047①	8.667±0.635①	7.500±0.416①	6.000±0.721①	5.500±0.721①
超短波组	15	7.333±0.866①②	7.167±0.635①②	6.167±0.635①②	4.500±0.416①②	4.000±0.832①②
联合组	15	5.500±0.416①②③	5.167±0.480①②③	4.667±0.240①②③	3.000±0.832①②③	2.500±0.416①②③

与SCI组比较：①$P<0.05$；与电针组比较：②$P<0.05$；与超短波组比较：③$P<0.05$

表2　各组大鼠术后各时间点GAP-43阳性细胞数　（$\bar{x}\pm s$，n=3）

组别	例数	第1周	第2周	第3周	第4周	第5周
假手术组	15	4.333±0.240	4.000±0.416	3.667±0.240	2.833±0.635	3.000±0.416
SCI组	15	12.333±0.240	10.833±0.635	9.500±1.248	7.500±0.416	5.667±0.635
电针组	15	14.833±0.635①	15.667±0.866①	13.333±1.047①	11.167±0.240①	8.167±0.240①
超短波组	15	19.667±0.240①②	18.500±0.416①②	15.333±1.047①②	14.167±0.635①②	11.333±0.240①②
联合组	15	21.500±0.416①②③	20.833±0.635①②③	18.333±0.240①②③	15.833±0.866①②③	13.500±0.416①②③

与SCI组比较：①$P<0.05$；与电针组比较：②$P<0.05$；与超短波组比较：③$P<0.05$

表3　各组大鼠SCI后脊髓损伤区GAP-43蛋白表达水平　（$\bar{x}\pm s$，n=3）

组别	例数	第1周	第2周	第3周	第4周	第5周
假手术组	15	0.228±0.009	0.202±0.001	0.191±0.018	0.172±0.005	0.170±0.015
SCI组	15	0.290±0.006	0.284±0.002	0.292±0.024	0.255±0.014	0.199±0.001
电针组	15	0.620±0.007①	0.579±0.011①	0.485±0.014①	0.397±0.038①	0.374±0.005①
超短波组	15	0.769±0.022①②	0.696±0.011①②	0.605±0.036①②	0.541±0.015①②	0.458±0.014①②
联合组	15	0.969±0.006①②③	0.911±0.075①②③	0.788±0.014①②③	0.695±0.045①②③	0.696±0.006①②③

与SCI组比较：①$P<0.05$；与电针组比较：②$P<0.05$；与超短波组比较：③$P<0.05$

别在术后的第1周、2周、3周、4周、5周五个时间点对各组大鼠进行BBB评分，并进行统计分析。BBB评分结果统计显示：电针组、超短波组和联合组于术后第1周、2周、3周、4周、5周较SCI组BBB评分高，具有显著性差异（$P<0.05$），超短波组和联合组于术后第1周、2周、3周、4周、5周较电针组BBB评分高，具有显著性差异（$P<0.05$），联合组于术后第1周、2周、3周、4周、5周较超短波组BBB评分高，具有显著性差异（$P<0.05$），见表4。

3　讨论

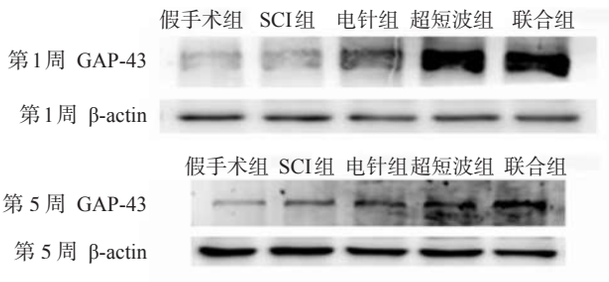
脊髓损伤后，神经细胞进行细胞凋亡，细胞凋亡

表4 各组大鼠各时间点BBB评分 ($\bar{x}\pm s$, n=3)

组别	例数	第1周	第2周	第3周	第4周	第5周
假手术组	15	21.000±0.000	21.000±0.000	21.000±0.000	21.000±0.000	21.000±0.000
SCI组	15	2.867±0.129	7.067±0.114	10.067±0.114	11.567±0.148	12.317±0.114
电针组	15	3.033±0.088①	9.067±0.114①	11.733±0.176①	12.083±0.154①	13.117±0.129①
超短波组	15	3.183±0.258①②	10.100±0.184①②	12.183±0.148①②	13.083±0.122①②	13.733±0.114①②
联合组	15	3.450±0.302①②③	11.833±0.181①②③	13.200±0.194①②③	13.733±0.114①②③	14.467±0.129①②③

与SCI组比较:①$P<0.05$;与电针组比较:②$P<0.05$;与超短波组比较:③$P<0.05$

图3 第1周和第5周时大鼠GAP-43蛋白在脊髓的表达



是影响脊髓损伤修复的重要因素。凋亡是一种程序性的细胞死亡,其途径主要有两条,一条是通过胞外信号激活细胞内的凋亡酶Caspase;一条是通过线粒体释放凋亡酶激活因子,激活Caspase,这些活化的Caspase可将细胞内的重要蛋白质降解,引起细胞凋亡[12]。Caspase-3作为Caspase家族中大部分细胞凋亡途径中最重要的蛋白酶,在脊髓损伤中发挥着关键的作用。研究发现,Caspase-3可以在不同细胞中表达并与细胞凋亡同步[13]。而且SCI后Caspase-3的表达与神经细胞凋亡水平呈正相关[14]。崔开等[15]报道在大鼠急性脊髓损伤后,Caspase-3表达伴随了细胞凋亡的整个起落过程。因此,如何有效减少Caspase-3在SCI后的表达,对SCI后脊髓修复具有重要意义。脊髓损伤后,轴突的再生受到影响。帮助受损的轴突再生,促进脊髓神经系统的重建和恢复是脊髓损伤领域研究的热门。在脊髓损伤修复中GAP-43多次被提及,其在SCI后神经轴突再生、突触功能重建中发挥重要的作用。GAP-43是一种高度特异性磷酸蛋白质,是神经再生的相关蛋白质和关键因子。GAP-43能够促进神经轴突生长发芽和突触连接形成,与轴突的生长密切相关,在神经元发育,再生及创伤修复过程中具有重要作用。周围神经损伤后,GAP-43的含量明显增多,其不仅可促进轴突的再生和功能的恢复,同时可能提高再生神经的传导速度[16—17]。

电针是祖国传统医学中重要的治疗手段之一。脊髓损伤在祖国医学中大致可归于"痿证"的范畴,脊髓损伤病因病机认为是督脉受损,是因各种原因导致督脉功能失调,以督脉所过部位不适为主要特征的病征,外伤性截瘫、督脉损伤是其实质[18]。《素问·骨空论》云:"督脉者,贯脊,属肾。"督脉有"阳脉之海"之称,大椎又为"三阳督脉之会",故大椎内可通行督脉,外可流走于三阳;"肾主骨生髓",两肾之间为生命之门,简称命门,针刺大椎、命门,既可培补机体之真阳,又可疏通脏腑之经气,从而上下贯通,阳气可达,则截瘫可愈[19]。因此选取督脉上常用的大椎穴、命门穴两个穴位进行电针治疗。有研究表明,督脉电针可以促进大鼠脊髓损伤后GAP-43的表达,有助于轴突再生及突触重建,发挥促进脊髓损伤修复的作用[20]。超短波是采用电子管震荡产生超短波高频电场对疾病进行治疗而广泛用于临床康复医学的一种高频电治疗法,常用于医院康复医学科的物理治疗中,其作用机制分为热效应和非热效应。高频电治疗时,带电颗粒在高频电场中急剧振荡和旋转,与周围媒介发生摩擦产生"内源性热",产热深度可达深部肌肉和骨,产热均匀且可控[5]。小剂量超短波作用机制主要为非热效应。但这并不意味着绝对无热的产生,只不过是机体感受不到而已,但这样微弱的热量在微观上仍可能对机体的生物物理或生物化学过程产生复杂又精细的影响,其具体机制并不十分明确[6]。芮永军等[21]对坐骨神经损伤大鼠应用超短波治疗后发现,超短波能增加脊髓中神经生长蛋白、内皮生长因子及相关肽的表达,并提示应用超短波治疗能够促进周围神经的再生。中枢神经系统的研究中,陆宇等[7]用骨髓间充质干细胞移植联合超短波疗法来促进大鼠脊髓损伤功能恢复

的实验中表明，脊髓间充质干细胞联合超短波可以减轻损伤处炎症反应以及空洞面积，促进胶质细胞再生和运动功能的恢复。

BBB评分用于评定大鼠肢体运动功能，BBB得分越高说明肢体运动功能恢复越好。电针结合超短波疗法与单纯电针治疗脊髓损伤大鼠，其患肢BBB评分均呈稳定的上升趋势，电针结合超短波疗法治疗脊髓损伤大鼠，其患肢BBB评分升高较单纯电针治疗更为明显（$P < 0.05$）。故而BBB评分在宏观角度说明：电针结合超短波疗法在脊髓损伤后肢体运动功能恢复上更有优势。

出于实验经费及实验周期等因素考虑，本实验共75只大鼠随机分为5组，每组15只各组1周，2周，3周，4周，5周5个时间点各取材3只。为了减小实验误差，每只大鼠均做GAP-43，Caspase-3指标的免疫组化检测及GAP-43指标的Western Blot检测，即每只大鼠做了3次检测，每组各个时间点取材的3只大鼠共做了9次检测以降低对本实验结果的影响，本实验所选择的大鼠数量能够说明本实验所研究的问题。所有的检测结果均进行严格的统计学处理，以$P<0.05$表示有显著性差异。

本实验研究结果表明，大鼠SCI后GAP-43的表达在1周时达到最大，随后逐渐降低，这一结果表明SCI可上调GAP-43的表达，促进神经轴突生长和突触连接，促进创伤修复。大鼠SCI后1周时Caspase-3的表达达到最大，这一动态表达变化与Liu等[22]研究报道一致。SCI于2周时逐渐下降，Caspase-3在1—2周时细胞凋亡高度表达，说明在SCI后的2周以内，越早进行康复治疗减少神经细胞凋亡，对脊髓损伤恢复的程度越好。电针组GAP-43的表达较SCI组于术后第2、3、4、5周明显增加，Caspase-3的表达明显减少，说明电针治疗可以促进GAP-43的表达和抑制Caspase-3的表达，促进轴突再生，抑制神经细胞凋亡，从而促进大鼠运动功能恢复。超短波组较SCI组GAP-43的表达明显增多，而Caspase-3的表达明显减少，这一结果说明超短波治疗可以明显增加GAP-43的表达，同时减少Caspase-3的表达，促进轴突再生和突触重构，抑制神经细胞凋亡，进而促进脊髓损伤重建和恢复。由各组Caspase-3和GAP-43的表达结果可以看出：联合组、电针组、超短波组较SCI组于术后各时间点都具有显著性差异，而联合组较其他组于术后第1、2、3、4、5周都具有显著性差异，说明电针结合超短波疗法在脊髓损伤后功能恢复上更有优势。

综上所述，联合疗法优于单一疗法，即电针结合超短波疗法是本实验干预方式中最佳的治疗方案。但电针结合超短波疗法的相关作用机制有待进一步研究。

参考文献

[1] Devivo MJ. Epidemiology of traumatic spinal cord injury: trends and future implications[J]. Spinal Cord, 2012, 50(5): 365—372.

[2] 张丽,林海燕,屠文展,等.电针对慢性期脊髓损伤大鼠功能恢复及神经营养因子表达的影响[J].中国康复医学杂志,2014,29(4): 311—315.

[3] 胡凌云,张建英,林涛,等.激活Akt/m TOR/p70S6K信号通路对大鼠脊髓损伤后神经再生的影响[J].中国脊柱脊髓杂志,2015, 25(1):67—75.

[4] Pang CJ, Tong L, Ji LL, et al. Synergistic effects of ultrashort wave and bone marrow stromal cells on nerve regeneration with acellular nerve allografts[J]. Synapse, 2013, 67 (10):637—647.

[5] 万峪岑,孙师,赵利娜,等.小剂量超短波治疗对大鼠脊髓损伤后炎症反应及水肿的影响[J].中国康复理论与实践,2016,22(2): 150—155.

[6] 孙师,万峪岑,赵利娜,等.骨髓间充质干细胞联合超短波对大鼠脊髓损伤后早期AQP-4和GAP-43的影响[J].中国康复医学杂志,2016,31(6):625—631.

[7] Yin YM, Lu Y, Zhang LX, et al. Bone marrow stromal cells transplantation combined with ultrashortwave therapy promotes functional recovery on spinal cord injury in rats [J]. Synapse, 2015, 69(3):139—147.

[8] Novotna I, Slovinska L, Vanicky I, et al. IT delivery of ChABC modulates NG2 and promotes GAP-43 axonal regrowth after spinal cord injury[J]. Cell Mol Neurobiol, 2011, 31(8):1129—1139.

[9] 董贤慧,谢红林,贺小平,等.补阳还五汤对脊髓损伤大鼠脊髓组织Caspase-3表达的影响[J].广东医学,2015,36(1):55—57.

[10] Du M, Chen R, Quan R, et al. A brief analysis of traditional chinese medical elongated needle therapy on acute spinal cord injury and its mechanism[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, 2013(1):1439—1457.

[11] 刘鹏民,李灵玲,王良,等.督脉电针结合游泳训练对大鼠全横

（下转第1360页）