

·基础研究·

小剂量超短波对大鼠脊髓损伤后早期A1型星形胶质细胞的影响*

王 帅¹ 段家玉¹ 陈丹莹¹ 冯思宁¹ 苏 浩¹ 田雨鑫¹ 张立新^{1,2}

摘要

目的:研究超短波治疗对脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)后早期A1型星形胶质细胞分化的影响。

方法:将45只SD大鼠随机分成3组:假手术组,仅暴露T10脊髓并不打击,其他操作同其他实验组;对照组,暴露胸10(T10)脊髓后给予Allen打击制备SCI模型,并不给予任何治疗;干预组,给予Allen法打击致SCI,并在损伤后24h开始给予小剂量超短波干预,每日1次,每周5次,每次7min,直至取材前。大鼠的运动功能用BBB评分及大鼠脊髓损伤联合行为评价方法(combined behavioral evaluation of spinal cord injury, CBS)评分进行评定,SCI大鼠取材后分别对组织进行纵向切片行免疫荧光染色,检测C3/GFAP、IBA-1/P65在组织内的表达部位和表达量。

结果:①BBB评分显示,SCI后大鼠运动功能逐渐改善,7d时治疗组BBB评分相比对照组明显改善($P<0.05$);SCI后5d、7d时,干预组CBS评分低于对照组,这说明干预组大鼠的功能恢复强于对照组($P<0.05$, $P<0.01$);②SCI后1d、3d、7d小胶质数量逐渐增多,SCI后3d、7d,干预组IBA-1数量明显低于对照组($P<0.01$)。③SCI后1d、3d、7d随着时间的推移,表达P65蛋白的细胞逐渐增多。SCI后3d,与对照组相比,干预组SCI大鼠的受损脊髓组织IBA-1/P65共染阳性细胞数量显著降低($P<0.01$)。此外,干预组P65阳性细胞入核数明显低于对照组($P<0.01$)。④SCI后A1型促炎性星形胶质细胞逐渐出现,相比SCI后1d、7d,SCI后3d大鼠受损脊髓当中的A1型星形胶质细胞(C3/GFAP阳性细胞之比)达峰值($P<0.01$)。SCI后3d、7d时,干预组A1型星形胶质细胞数量均明显低于对照组($P<0.01$)。

结论:SCI后早期小剂量USW治疗可以抑制损伤周围小胶质细胞数量及炎症因子释放,进而抑制A1型星形胶质细胞的形成,促进运动功能恢复,这一现象与NF- κ B通路相关。

关键词 脊髓损伤;炎症微环境;IBA-1;A1型星形胶质细胞;小剂量超短波治疗;NF- κ B通路

中图分类号:R651.2, R454.1, R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2020)-10-1158-08

Effects of low dose ultrashort wave on early A1 astrocytes after spinal cord injury/WANG Shuai, DUAN Jiayu, CHEN Danying, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2020, 35(10): 1158—1165

Abstract

Objective: To investigate the effect of ultrashort wave therapy on the differentiation of astrocytes with spinal cord injury(SCI) in the early stage.

Method: Totally 45 SD rats were randomly divided into three groups: Sham group, only exposed the T10 spinal cord and did not strike; Control group, after exposing chest 10 (T10) spinal cord, spinal cord contusion was inflicted using Allen's method without any treatment; Intervention group, spinal cord contusion was inflicted using Allen's method, a low dose ultra-short wave intervention was given 24h after injury, 7min per time, once a day, 5 times a week until sacrificed. The motor function of rats was evaluated by Basso Beattie Bresnahan score (BBB score) and combined behavioral evaluation of spinal cord injury (CBS). After sacrificed, spinal

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2020.10.002

*基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(81101462);辽宁省自然科学基金项目(201602875);辽宁省公益科学基金项目(2016003001);辽宁省自然科学基金项目(20180551013);辽宁省重点大学基础研究项目(LQNK201712)

1 中国医科大学附属盛京医院康复中心,辽宁省沈阳市,110134; 2 通讯作者

第一作者简介:王帅,男,硕士研究生(现工作单位:中山大学附属第一医院康复医学科);收稿日期:2019-08-05

cord was cut longitudinally on a frozen biopsy machine for immunofluorescence staining to detect the expression sites and levels of C3/GFAP and IBA-1 /P65 in the tissues.

Result: BBB score showed that motor function of rats was gradually improved after SCI, and BBB score in the treatment group was significantly improved compared with the control group on day 7 ($P<0.05$). At 5d and 7d after SCI, the CBS score of the intervention group was lower than that of the control group, indicating that the functional recovery of the rats in the intervention group was stronger than that in the control group ($P<0.05, P<0.01$). The quantity of microglia gradually increased on 1d, 3d and 7d after SCI, and the quantity of IBA-1 in the intervention group was significantly lower than that in the control group ($P<0.01$). As time passed after SCI, the number of cells expressing P65 protein increased gradually. The number of IBA-1 /P65 co-staining positive cells in SCI rats in the USW intervention group was significantly lower than that in the control group ($P<0.01$) in rats of 3d after SCI. At the same time, the number of P65 positive cells in the intervention group was significantly lower than that in the control group ($P<0.01$). After SCI, A1 astrocytes reached the peak on day 3 ($P<0.01$) and decreased some on day 7. The number of A1 astrocytes in the intervention group were significantly lower than that in the control group ($P<0.01$) on day 3 and day 7.

Conclusion: Early low-dose USW therapy after SCI can inhibit the number of microglia and the release of inflammatory factors, thus inhibiting the formation of A1 astrocytes and promoting the recovery of motor function, which is related to the NF-B pathway.

Author's address Rehabilitation Center of Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang, 110134

Key word spinal cord injury; inflammatory microenvironment; IBA-1; A1 astrocytes; low dose ultrashort wave therapy; Nf-kB pathway

脊髓损伤(spinal cord injury)是多种原因所致的脊髓组织结构与功能损害,严重影响患者的生存质量,为社会带来了巨大的负担。外力打击后,血脊髓屏障的破坏一方面引起宿主小胶质细胞、星形胶质细胞发挥免疫作用,另一方面外来中性粒细胞、T细胞、巨噬细胞的浸润共同促进炎症反应的发生。星形胶质细胞在其中发挥着重要的作用,一方面填补了组织缺损、分泌多种营养物质,另一方面分泌多种炎性因子、促进纤维化的形成。随着 Liddelow 等对于促炎与抑炎的星形胶质细胞的发现,我们对于星形胶质细胞在 SCI 当中的作用有了更深的认识。小胶质细胞在脂多糖诱导下或神经系统遭受创伤性打击后被激活,它们分泌肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-1- α (interleukin-1- α , IL-1- α)、血清补体-1(serum complement, C1q)从而改变星形胶质细胞的行为,并将“好”的“静息星形胶质细胞”转变为特征行为异常的“A1 型反应性星形胶质细胞”。在小鼠的视神经损伤实验当中,反应性星形胶质细胞在轴突被切断后迅速形成,使用 TNF- α , IL-1- α , C1q 抑制剂可以明显抑制 A1 型细胞的形成、促进轴突再生、抑制视神经节细胞坏死^[1]。超短

波(ultrashort wave, USW)作为一种经典的消炎、止痛、消肿的理疗方法,其主要特点是:价格低廉、覆盖面广、治疗效果明显、用途广泛。本次研究拟探寻小剂量 USW 对 SCI 大鼠早期 A1 型星形胶质细胞的影响,以期为临床治疗带来帮助。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

本次实验选用辽宁长生公司清洁级 SD 雌性大鼠 45 只,体重 220—240g。分为假手术组($n=3$)、对照组($n=21$)、干预组($n=21$),对照组和干预组分别在术后 1d、3d、7d 取材 7 只。本次实验动物饲养在盛京医院本溪基地 SPF 级实验室,饲养标准均一,并在严格执行动物伦理(伦理审批号:2019PS461K)的情况下进行本次实验。

1.2 SCI 打击伤模型的建立

腹腔注射 1%戊巴比妥溶液麻醉后,以胸 10(T10)为中心进行备皮、固定、常规消毒、铺无菌洞巾。以 T10 为中心,用手术刀、剪刀沿脊柱切开 1.5cm 切口,随后紧接着去分离皮下的筋膜及附属组织,充分暴露棘突和椎体。随后在不破坏硬脊膜

的前提下,充分暴露脊髓组织。随后使用Allen法打击,以T10为中心,用10g冲击棒自10.00mm高度,对脊髓造成条件均一的打击伤,打击的力度(gram force)为125g·mm,此时大鼠会在麻醉情况下出现痉挛性蹬腿、摆尾。假手术组只暴露T10脊髓不予打击,其他操作均相同。术后大鼠给予1ml生理盐水,为SCI后大鼠补充水分,保持其在温暖的环境下直至苏醒。术后大鼠单笼饲养,不限制水、料,膀胱区每天3次膀胱按摩,直至恢复排尿功能或取材为止。若出现泌尿系感染所引起的血尿,则给予8万单位青霉素治疗,直至血尿消失。术后除观察鼠生理特征外,在双盲的前提下,对所观察大鼠进行Basso Beattie Bresnahan评分(BBB评分)及大鼠脊髓损伤联合行为评价方法(combined behavioral evaluation of spinal cord injury,CBS)评分。

1.3 USW治疗

SCI术后第1天,给予干预组大鼠每天1次,每周5天的剂量超短波干预,具体方法如下:每次治疗前,先打开USW治疗仪预热5min,随后将旋钮调至1挡并使用氖管氖管检验,氖管发光后即可开始治疗。以损伤中心为基准,将2号电极(R=4cm)对置于受损脊髓两侧,电极与大鼠皮肤保持2cm的间隙(上海生产五官超短波治疗仪,功率为14W,波长7.37m,实际输出功率约11W,每天7min)。

1.4 大鼠后肢的运动功能观察

本次研究采用BBB评分^[2]及CBS^[3]评分。CBS评分主要包括:①后肢运动;②伸趾;③触地反射;④回缩反射;⑤矫正反射;⑥斜板试验;⑦热板法;⑧游泳。CBS评分可以综合评定大鼠的运动功能。为了保证实验的稳定性,所有大鼠在造模前及造模后1d、3d、5d、7d,在直径为1m的圆形开放透明实验台内完成,上述评分采用双人、双盲法由文章的第二、第三作者完成。BBB评分完全瘫痪的大鼠为0分,正常大鼠21分,SCI大鼠的功能情况介于两者之间,每1只模型观察4min。

1.5 脊髓组织4%多聚甲醛固定

具体步骤:①术后1天、3天、7天的大鼠,给予足量1%戊巴比妥溶液直至大鼠心跳停止后,取俯卧位剪开上腹部,并将膈肌沿两侧向上剪开,以“V”字形剪断肋骨,用止血钳翻开,充分暴露两肺和心尖。②4℃预冷

的PBS溶液用输液袋装满,插上输液器并连接20ml注射器针头。③左手用镊子夹住心尖,将针头刺入主动脉、剪开右心耳后,使用4℃预冷的PBS溶液进行心脏灌流,液体滴注速度先慢后快,直到肝脏颜色变浅、冲洗液无明显血色,采用80ml 4%多聚甲醛溶液,液体先快速滴注,直到大鼠四肢震颤、摆尾,将剩余液体缓慢滴注大鼠体内,滴注后4℃冰箱固定5min后再进行取材。④切开颈、背部皮肤,分离皮下软组织,暴露骨性结构,以T10为中心去除骨板充分暴露脊髓,取损伤1cm为主。取出的组织放置于冰板上,使用PBS溶液漂洗后,把组织转移至预冷的4%多聚甲醛4℃固定24h。随后采用15%、20%、30%蔗糖溶液4℃梯度沉糖脱水,最后将组织用OCT包埋后放置于深度冷冻冰箱长期保存。

1.6 免疫荧光C3/GFAP、IBA-1/P65染色

使用冰冻切片制备连续切片,将取出的组织纵切,片厚10μm。将切片室温晾晒4—6h后,移至-20℃冰箱或直接进行C3/GFAP、IBA-1/P65免疫荧光染色。IBA-1/P65选取脊髓损伤损伤区域,采用同一参数在共聚焦显微镜下拍摄小胶质细胞特异性标志物IBA-1、NF-κB通路转录因子P65的阳性细胞区域及入核细胞数量,每张图片选取2个高倍视野。补体C3是广谱炎症的标志物,GFAP是星形胶质细胞的标志物;C3/GFAP共染的阳性区域代表促炎的A1型星形胶质细胞,本次研究在共聚焦显微镜下统计上述三者的细胞变化情况。

1.7 统计学分析

本次研究使用Graphpad Prism8.0进行单因素重复测量方差分析(two-way repeated measures ANOVA multiple comparisons)统计分析及图表绘制,数据采用平均数±标准差进行展示。两组之间采用配对t检验, $P < 0.05$ 即认为具有显著性差异。

2 结果

2.1 SCI早期大鼠运动功能评分

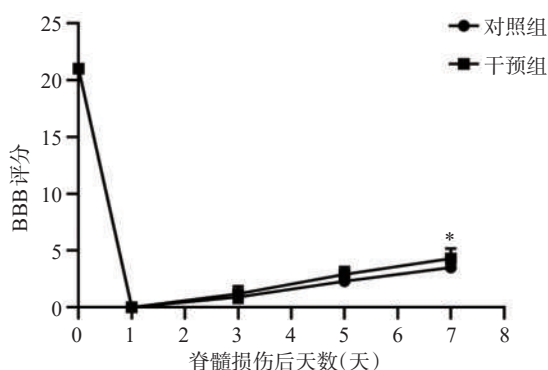
对于BBB评分,所有大鼠在造模前及假手术大鼠在SCI苏醒后均为21分。造模后1d对照组、干预组BBB评分均处于0分,证实SCI大鼠打击模型建立的成功。对照组和干预组在SCI后3d、5d时BBB评分无明显差异($P=0.9767$, $P=0.0732$),见图1。大

鼠SCI后7d时BBB评分,干预组高于对照组($P<0.05$),这代表干预组SCI大鼠相比对照组表现出更好的运动功能恢复。所有大鼠造模前及假手术组大鼠苏醒后CBS评分均为0分,SCI后对照组、干预组大鼠苏醒后CBS评分上升至90—100分附近,这代表大鼠出现严重的运动、感觉功能障碍,视为造模成功。SCI 1d时,对照组、干预组大鼠运动功能逐渐好转,CBS评分逐渐下降,干预组SCI大鼠的评分所绘制的曲线处于对照组的下方,这代表干预组大鼠神经功能的逐渐好转。随着时间的推移,两条曲线的在同一时间点的差异逐渐变大。结果显示,SCI后1d、3d两组间CBS评分无明显差异($P=0.0616$, $P=0.7895$)。SCI造模后5d、7d,与对照组比较(图2),干预组SCI大鼠的CBS评分更低,差异具有显著性意义($P=0.04$; $P<0.01$)。

2.2 IBA-1/P65免疫荧光

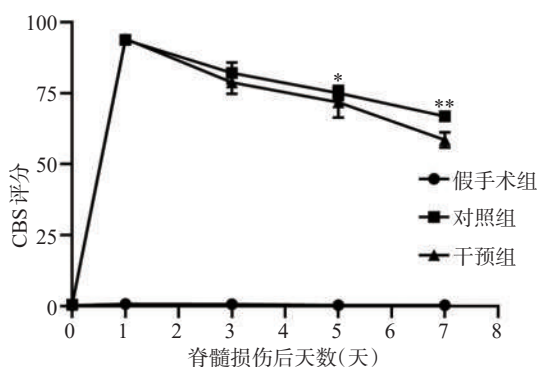
IBA-1是小胶质细胞的特异性标志物,在假手

图1 SCI后早期BBB行为学评分



* $P<0.05$

图2 SCI后早期CBS行为学评分



* $P<0.05$, ** $P<0.01$

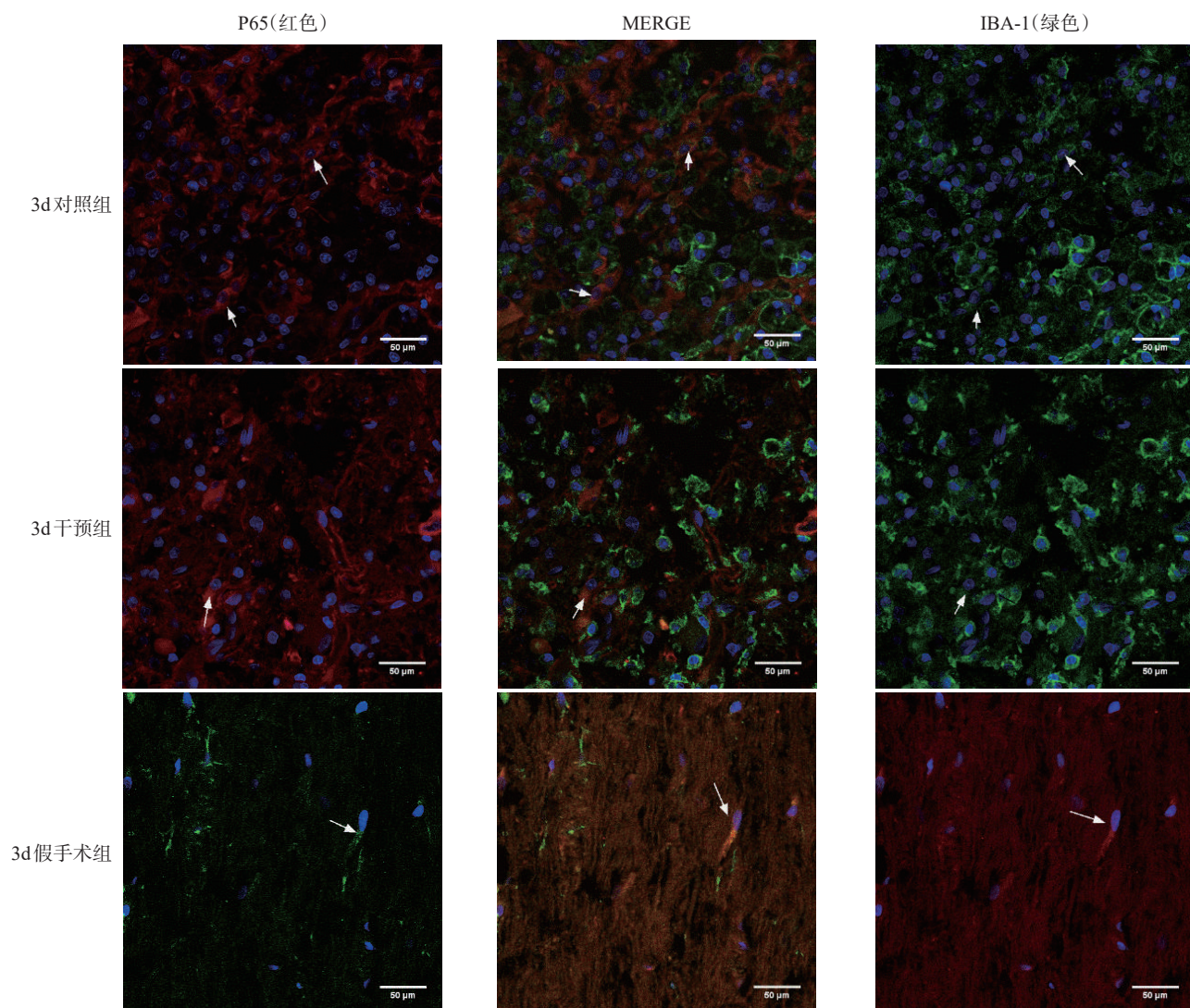
术组脊髓组织当中,小胶质细胞呈现长梭状。SCI后,小胶质细胞及浸润的巨噬细胞共同发挥免疫作用,吞噬过细胞的巨噬细胞呈现大而圆的多核状。荧光显微镜下观察发现,SCI后对照组、干预组1—3d时脊髓组织周围小胶质细胞数量快速升高,SCI后1d两组间浸润细胞的巨噬细胞数量无明显差异。SCI后3—7d两组小胶质细胞数量处于缓慢上升当中(图3)。SCI后3d、7d,干预组大鼠脊髓损伤组织周围IBA-1阳性细胞数显著低于对照组($P<0.01$)(图4)。P65蛋白是NF- κ B的核转录因子,P65在胞质和胞核同时表达,P65蛋白向核内转移说明其发挥作用,将信号逐级传导促使下游分泌IL-1 β 、TNF- α 等炎症因子,造成继发性损伤。P65蛋白在假手术组仅少量表达在胞浆当中。SCI后小胶质细胞、星形胶质细胞、神经元等均表达P65蛋白,P65蛋白存在于胞质和胞核当中,当其进入胞核将发挥作用,介导下游分子促进炎症反应的发生(图5)。SCI后1d,对照组与干预组相比,两组间IBA-1/P65共染阳性细胞数量没有显著性差异($P=0.6205$)。SCI后3d时,与对照组相比,干预组SCI大鼠受损脊髓组织的IBA-1/P65共染阳性细胞数量显著降低,差异具有显著性意义($P<0.01$)。此外,SCI 3d时干预组P65阳性细胞入核数明显低于对照组($P<0.01$)。这代表早期小剂量USW治疗抑制了SCI大鼠损伤周围NF- κ B通路转录因子入核、避免下游IL-1 β 等炎症因子的表述,从而发挥保护作用。

2.3 C3/GFAP免疫荧光

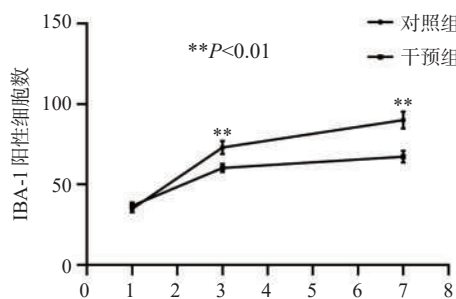
C3作为炎症补体的标志物,在假手术组当有阳性细胞,而无C3/GFAP共染区域。SCI后,随着时间的推移,C3的表达量逐渐上升,在损伤周围的神经元也有表达(图6)。SCI后1d大鼠损伤脊髓周围,随着星形胶质细胞激活发挥作用,促炎的A1亚型开始出现。相比SCI后1d、7d,SCI后3d时大鼠受损脊髓当中的A1型星形胶质细胞(C3/GFAP阳性细胞之比)达峰值($P<0.01$)。SCI后1d时,对照组与干预组受损脊髓周围A1型星形胶质细胞数量无明显差异($P=0.0782$)。SCI后3d、7d时,干预组A1型星形胶质细胞数量均明显低于对照组($P<0.01$),见图7。

图3 SCI后3d时假手术组、对照组、干预组IBA/P65蛋白表达情况

(免疫荧光,×400)



SCI后3d时假手术组、对照组、干预组IBA/P65表达情况。红色:P65;绿色:IBA-1;蓝色:DAPI



3 讨论

BBB评分是脊髓损伤大鼠模型最常用的行为学评分之一^[2],该评分共22个等级,通过观察下肢、

足趾、关节、尾巴的运动情况从而判断其运动功能的恢复。0分代表大鼠完全无随意运动,21分代表大鼠运动功能正常。CBS评分运动功能评估主要包括运动、反射、协调性和感觉等方面,CBS总分越大代表神经功能缺损越严重,最大总分值100分,代表运动功能完全丧失;最小总分值0分,代表神经功能无明显异常。若两下肢运动功能不同,则取两者当中的最大值^[3]。本次研究发现:与对照组相比,干预组大鼠的BBB运动评分在SCI7d后恢复明显优于对照组,干预组大鼠的CBS运动评分在SCI后5d、7d时恢复明显优于对照组。上述的结果表明,USW

图4 SCI后对照组和干预组IBA阳性细胞表达情况

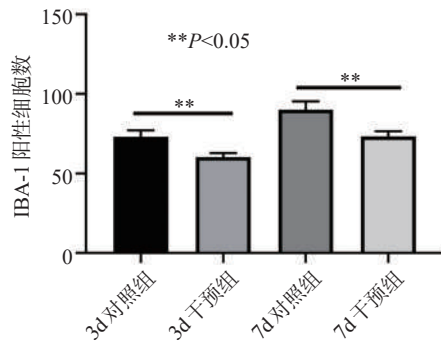


图5 SCI后对照组和干预组P65/IBA-1阳性细胞表达情况

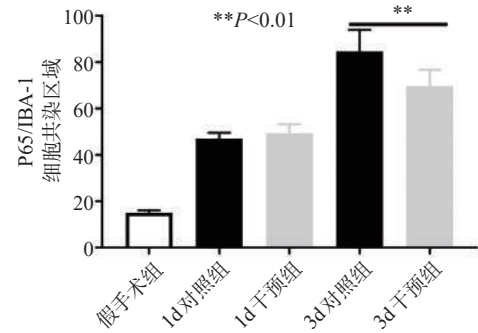


图6 SCI后3d时假手术组、对照组、干预组C3/GFAP蛋白表达情况

(免疫荧光, ×400)

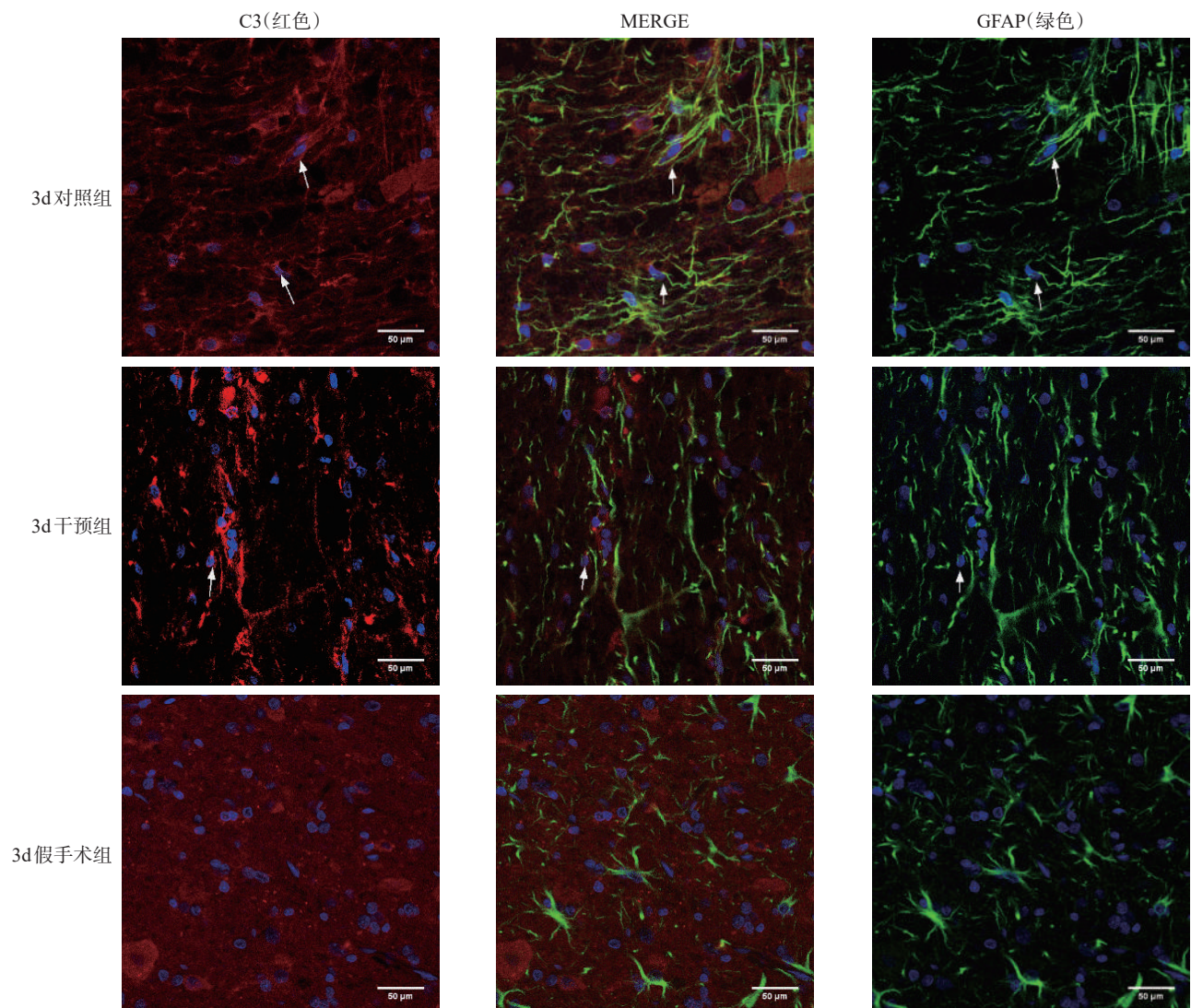
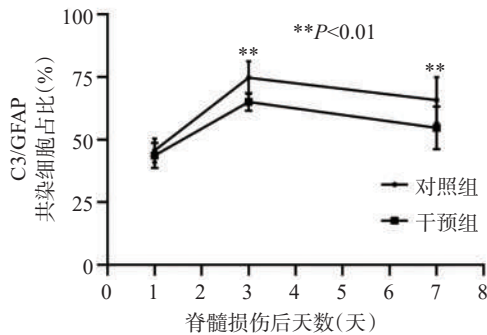


图7 SCI后对照组、干预组A1型星形胶质细胞阳性细胞表达情况



治疗可以在SCI早期改善SCI大鼠的运动功能,这与高琳等的研究结果相符^[4-7]。CBS评分相比BBB评分操作虽然所需耗费时间更长、所需设备更多,但其每一项分值变化较大,更加适用于SCI后早期运动功能恢复情况的研究^[9],因此相关研究应结合CBS行为学评分。

SCI后常出现继发性炎症反应、细胞浸润、水肿、微环境紊乱,上述情况继而影响宿主神经元的存活。小胶质细胞、星形胶质细胞被激活,发挥免疫反应。在打击较轻的情况下,炎症反应的激活将先发挥对机体的保护作用。随着时间的推移,继发性炎症反应加重,炎症对机体的保护作用消失,继而变成SCI后致残的主要诱因^[9]。炎症初期,中性粒细胞从破坏的血脊屏障当中浸润,SCI 2—3d单核细胞的浸润、迁移、分化为巨噬细胞,这些巨噬细胞无法与宿主的小胶质细胞所分化的巨噬细胞进行区分,巨噬细胞的聚集将炎症反应推向了最高峰^[10]。本研究发现,小剂量超短波的早期介入,可以明显降低SCI后3d、7d脊髓损伤组织周围聚集的巨噬细胞数量,这一结果与孙师等的研究结果一致^[5-6]。

补体级联系统在创伤性脑损伤和SCI后被激活,C3作为一种炎症补体广泛的存在于SCI后的胶质及神经元当中,SCI后补体C3激活,其裂解产物C3a和C3等介导炎症反应,抑制轴突向外生长,降低神经元的活性,并抑制髓鞘的再生^[15]。Liddelow等^[1]发现一种在脂多糖的诱导下,可以分泌炎症因子的星形胶质细胞亚群,并将其命名为A1型星形胶质细胞。这种细胞受小胶质分泌的IL-1 β 、TNF- α 、C1q等炎症因子的影响而产生。为了进一步证明该

细胞的存在,他们分别对阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病、萎缩性侧索硬化、多发性硬化人脑片进行研究,进一步证实了该细胞亚群的存在。Liu等发现,SCI所介导小胶质细胞聚集,会释放IL-1 β 、TNF- α 、C1q,这些炎症因子诱导了A1型星形胶质细胞的产生并促进损伤附近的神经元凋亡、血管再生紊乱、纤维瘢痕形成等不利于功能恢复的情况出现,最终影响运动功能的恢复^[12]。我们的前期研究表明^[4-7],小剂量USW治疗可以抑制大鼠SCI后小胶质细胞的聚集从而降低IL-1 β 、TNF- α 等炎症因子的释放从而最大程度的保留残存的运动功能。本次研究发现,小剂量USW治疗可以降低SCI后A1型星形胶质细胞在疾病早期的数量,而没有直接影响星形胶质细胞的总数,这与我们前期的研究结果相类似^[5]。综上所述,SCI后小剂量USW早期干预治疗可以通过降低小胶质细胞数量从而降低炎症因子的分泌,从而影响A1型星形胶质细胞的产生。

核因子(nuclear factor, Nf)- κ B由RelA/P65、RelB、C-Rel、NF- κ B-1/P50、NF- κ B2/p52共同构成,IKK β 等IKKs作为激活其核转录因子P65入核的核心蛋白起到重要的作用。IKK β 可以使I- κ B磷酸化,引起P65蛋白的入核从而发挥作用。Bethea等^[11]早在1998年发现该通路与脊髓损伤密切相关,他们的实验结果发现该通路在炎症超早期就被激活,在慢性期可以持续发挥致炎作用,并与SCI后神经元凋亡^[12-13]、慢性纤维化^[14]等不利于SCI后运动功能恢复的表型密切相关。本次采用IBA-1/P65免疫荧光共染的实验技术发现,USW治疗可以显著抑制SCI后3d、7d时IBA-1与P65细胞共染阳性细胞的数量,并显著抑制SCI后3d时P65入核细胞的数量。M1型巨噬细胞主要分泌IL-1 β 、TNF- α 、IL-6等促炎因子,其主要与NF- κ B、STAT1通路交互,起到促炎、清除细胞碎片、杀菌、促凋亡等作用,而M2型细胞主要以精氨酸酶-1(arginase-1, Arg-1)、CD206为主要的标记物,与STAT6信号通路共同交互发生作用^[15]。高琳等^[4]采用同样的超短波治疗参数与剂量发现,USW治疗可以明显抑制SCI大鼠损伤脊髓中诱导型一氧化氮合酶(induced nitric oxide synthase, iNOS)、TNF- α 在蛋白水平和mRNA水平的表达,并提高Arg-1的蛋白和mRNA水平。上述结果的原因是

USW治疗抑制了SCI后促炎性质M1型星形胶质细胞亚群,保留促进轴突功能恢复、利于运动功能恢复的M2型细胞亚群,从而降低了P65/IBA-1共染区域从而抑制炎症反应的发生。有学者采用免疫荧光采用C3/GFAP、GFAP/P65共定位并采用蛋白免疫印迹技术对C3、GFAP、P65进行蛋白水平相对定量后发现^[13],SCI后A1型星形胶质细胞的激活与P65通路密切相关,间充质细胞移植可以抑制这种促炎细胞亚型增多。上述结果表明,USW治疗通过影响SCI大鼠脊髓损伤组织周围小胶质细胞的数量及IBA-1/P65共染细胞的数量从而间接导致A1型星形胶质细胞数量的下降。接下来我们的研究会聚焦于星形胶质细胞与NF- κ B之间的关系,去探索二者的交互关系。

综上所述,USW治疗抑制SCI后小胶质细胞的浸润,降低IBA-1/P65共染细胞数量,从而下调A1型星形胶质细胞的数量。SCI后脊髓组织当中炎症微环境的改变,促进SCI了大鼠早期运动功能的恢复。此外,脊髓损伤运动功能恢复相关的治疗技术依然是世界性难题,单纯USW治疗无法治愈这一疾病,因此USW与相关药物、细胞移植的联合治疗研究,将成为我们接下来研究的重点方向。

4 结论

小剂量USW治疗通过抑制SCI后小胶质细胞数量,从而抑制炎症反应,降低A1型星形胶质细胞的形成,从而促进SCI后大鼠早期运动功能的恢复,这一现象与NF- κ B通路相关

参考文献

- [1] Liddelow SA, Guttenplan KA, Clarke LE, et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia[J]. Nature, 2017, 541(7638):481.
- [2] Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. Graded histological and locomotor outcomes after spinal cord contusion using the NYU weight-drop device versus transection[J]. Exp Neurol, 1996, 139(2):244—256.
- [3] Metz GA, Curt A, van de Meent H, et al. Validation of the weight-drop contusion model in rats: a comparative study of human spinal cord injury[J]. J Neurotrauma, 2000, 17(1):1—17.
- [4] 高琳, 冯智萍, 代辰飞, 等. 超短波促进巨噬细胞表型转化并抑制大鼠SCI后炎症反应的作用[J]. 中国康复理论与实践, 2018, 22(6):21—27.
- [5] 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SCI后早期GFAP和ED-1的影响[J]. 中国医科大学学报, 2016, 45(8):678—683.
- [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, 6:625—631.
- [7] 万峪岑, 孙师, 冯智萍, 等. 小剂量超短波治疗对大鼠脊髓损伤后VEGF和BDNF的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2018, 8:891—895+909.
- [8] 殷钰涵. 脊髓康对大鼠脊髓损伤后电生理表现影响的实验研究[D]. 南京:南京中医药大学, 2012:41.
- [9] Kjell J, Olson L. Rat models of spinal cord injury: from pathology to potential therapies[J]. Dis Model Mech, 2016, 9(10):1125—1137.
- [10] Gensel JC, Zhang B. Macrophage activation and its role in repair and pathology after spinal cord injury[J]. Brain Res, 2015, 1619:1—11.
- [11] Bethea JR, Castro M, Keane RW, et al. Traumatic spinal cord injury induces nuclear factor-kappa B activation[J]. J Neurosci, 1998, 18(9):3251—60.
- [12] Liu W, Wang Y, Gong F, et al. Exosomes derived from bone mesenchymal stem cells repair traumatic spinal cord injury by suppressing the activation of A1 neurotoxic reactive astrocytes[J]. J Neurotrauma, 2019, 36(3):469—484.
- [13] Wang L, Pei S, Han L, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes reduce A1 astrocytes via downregulation of phosphorylated NF- κ B P65 subunit in spinal cord injury[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 50(4):1535—1559.
- [14] Sun X, Liu Y, Li C, et al. Recent advances of curcumin in the prevention and treatment of renal fibrosis[J]. Biomed Res Int, 2017, 2017:2418671.
- [15] Roselli F, Karasu E, Volpe C, et al. Medusa's Head: The complement system in traumatic brain and spinal cord injury[J]. J Neurotrauma, 2018, 35(2):226—240.