

# 成对关联刺激对缺血性脑卒中大鼠缺血半暗带区 NogoA/NgR/RhoA 信号通路蛋白表达的影响\*

胡 艳<sup>1,2</sup> 郭铁成<sup>1,4</sup> 张香玉<sup>1,3</sup> 鲁银山<sup>1</sup> 张秀娟<sup>1</sup> 田 峻<sup>2</sup>

## 摘要

**目的:**观察成对关联刺激对缺血性脑卒中大鼠缺血半暗带区 NogoA、NgR、RhoA 蛋白表达的影响。

**方法:**90只健康雄性SD大鼠随机分为假手术组、模型组和PAS组,每组又分为7d、14d、28d三个亚组(n=10)。模型组和PAS组大鼠采用Longa线栓法制作MCAO模型,假手术组除不插入线栓外,其余操作与模型组和PAS组相同。PAS组于术后第1d开始给予0.05Hz、共90对脉冲的PAS治疗,每日1次,每次持续30min;模型组和假手术组不予任何干预措施,各时间点治疗结束后取缺血半暗带区脑组织,Western Blot和免疫荧光检测缺血半暗带NogoA、NgR、RhoA蛋白的表达和分布情况。

**结果:**术后第7、14、28d,假手术组NogoA、NgR、RhoA蛋白的表达水平最低,模型组在各时间点NogoA、NgR、RhoA含量均较假手术组明显升高( $P<0.05$ ),PAS组术后各时间点NogoA、NgR、RhoA的含量高于假手术组( $P<0.05$ ),低于同时点模型组( $P<0.05$ ),PAS组NogoA、NgR、RhoA蛋白在术后28d的含量低于同组第7d、14d( $P<0.05$ )。

**结论:**PAS可抑制NogoA/NgR/RhoA信号通路蛋白的表达,可能是PAS促进脑缺血大鼠神经再生,改善脑缺血大鼠的感觉运动功能障碍的内在分子机制之一。

**关键词** 脑缺血;成对关联刺激;NogoA;NgR;RhoA

**中图分类号:**R743.3,R49 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2020)-12-1409-07

**Effects of paired associative stimulation on the expression of NogoA/NgR/RhoA signaling regulation pathway in ischemic penumbra in rats with focal cerebral ischemia-reperfusion/HU Yan, GUO Tiecheng, ZHANG Xiangyu, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2020, 35(12): 1409—1415**

## Abstract

**Objective:** To study the effect of paired associative stimulation(PAS) on the expression of NogoA, NgR, RhoA in ischemic penumbra in rats with middle cerebral artery occlusion(MCAO).

**Method:** Ninety male adult Sprague-Dawley rats were randomly divided into a sham operation group (Sham group), model group (Model group) and paired associative stimulation group (PAS group). Each group was then subdivided into 7-, 14-, and 28-day subgroups with 10 rats in each. The focal cerebral ischemia-reperfusion model was established by Longa suture method in model group and PAS group. The rats in sham operation group underwent the same operation procedure except for the real occlusion of the middle cerebral artery. The rats of PAS group received PAS treatment beginning 24h after the occlusion, sham group and model group weren't given any intervention. Rats in each subgroup were sacrificed in a random order on the 7th, 14th and 28th days, the expression of NogoA, NgR, RhoA protein in ischemic penumbra were detected using Western Blot and immunofluorescence.

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2020.12.001

\*基金项目:国家自然科学基金项目(81272156)

1 华中科技大学同济医学院附属同济医院康复医学科,武汉,430030; 2 武汉大学中南医院; 3 郑州大学第五附属医院; 4 通讯作者  
第一作者简介:胡艳,女,住院医师; 收稿日期:2019-06-03

**Result:** The levels of NogoA, NgR and RhoA were the lowest in the sham group at 7, 14 and 28 days after operation. The expression of NogoA, NgR and RhoA in the model group were significantly higher than those in the sham group ( $P<0.05$ ). The contents of NogoA, NgR and RhoA in the PAS group were significantly higher than those in the sham group ( $P<0.05$ ), but lower than those in the model group ( $P<0.05$ ). The expression of NogoA, NgR and RhoA in PAS group at 14, 28d were lower than those at 7d.

**Conclusion:** PAS can inhibit the expression of NogoA/NgR/RhoA signaling pathway protein, which may be one of the internal molecular mechanisms of PAS to promote nerve regeneration and improve sensory motor dysfunction in cerebral ischemia rats.

**Author's address** Department of Rehabilitation Medicine, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430030

**Key word** cerebral ischemia; paired associative stimulation; NogoA; NgR; RhoA

脑卒中目前已成为威胁人类健康的重大疾病之一<sup>[1]</sup>,其中以缺血性脑卒中最为常见<sup>[2]</sup>,脑卒中后约50%—70%的患者都遗留有不同的神经功能障碍<sup>[3]</sup>,是临床康复中的难题。

成对关联刺激 (paired associative stimulation, PAS) 作为一种非侵入性的大脑刺激技术,已逐渐成为神经康复领域中研究的热点。近年来,越来越多的临床研究证实,PAS可通过影响大脑皮质的兴奋性、促进神经突触可塑性,进而改善脑卒中后运动功能障碍<sup>[4-6]</sup>。本课题组前期研究中,将PAS应用于缺血性脑卒中大鼠,发现其可以促进缺血半暗带区神经可塑性相关蛋白——微管相关蛋白-2 (microtubule associated protein-2, MAP-2) 和生长相关蛋白-43 (growth associated protein-43, GAP-43) 的表达,促进神经再生,进而促进缺血性脑卒中大鼠感觉运动功能的恢复<sup>[7]</sup>。而研究表明NogoA及其受体NgR所介导的抑制信号通路在神经轴突再生中发挥重要负性调节作用<sup>[8]</sup>。NogoA作为重要的轴突抑制因子,与其受体NgR结合后激活下游RhoA蛋白的细胞内信号,影响肌动-肌球蛋白系统,导致生长锥塌陷,从而抑制中枢神经轴突再生<sup>[9-10]</sup>。基于前期的研究基础,本研究中我们拟将PAS应用于脑缺血大鼠模型,观察PAS对缺血性脑卒中大鼠缺血半暗带区NogoA/NgR/RhoA信号通路蛋白表达的影响,进一步从神经再生抑制的角度初步探讨PAS促进缺血性脑卒中大鼠感觉运动功能恢复的内在机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

**实验动物及分组:** 健康清洁级成年雄性Sprague-Dawley大鼠90只,体重 $230\pm 10\text{g}$ ,鼠龄8周,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供。采用随机数字表法将大鼠分为假手术组(S组)、模型组(M组)和PAS治疗组(P组),每组又分为7d、14d、28d三个亚组( $n=10$ ),所有大鼠适应性饲养3d后开始实验,实验过程中因麻醉及手术意外死亡的大鼠(S组死亡1只,M组死亡2只,P组死亡1只),再次遵循随机原则分别予以补充。实验过程中对动物的所有处置均符合动物伦理学标准,并得到华中科技大学同济医学院动物伦理委员会批准。

**主要的仪器和试剂:** YRD CCY-IV经颅磁刺激仪(武汉依瑞德医疗设备新技术有限公司);大鼠来源的NogoA单克隆一抗(Abcam);兔来源的NgR和RhoA单克隆一抗(Abcam)。

### 1.2 脑缺血再灌注模型制作及筛选

参照Zea Long法<sup>[11]</sup>对模型组和PAS组大鼠行右侧大脑中动脉阻塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)术。术前12h所有的大鼠禁食、不禁水。具体手术的实施过程参考相关文献。待动物完全苏醒后,采用Longa五级四分法评定标准,纳入评分为1—3分的大鼠,剔除评分为0及4分的大鼠(M组排除2只,P组排除3只),排除断头取脑时有蛛网膜下腔出血者或未观察到观察时间点死亡者(M组2只,P组2只),由于上述各种原因导致的各组动物样本量不足者,再次遵循随机抽样原则分别予以补充。

### 1.3 PAS干预

PAS组大鼠于造模成功后第1天开始接受PAS干预,将大鼠固定在柔软型的大鼠固定器(温州原上

草医疗科技有限公司,专利号 ZL 2011 10016075.0)上,尽可能保证刺激过程中安静、舒适。PAS 的刺激位置及刺激参数依据前期的实验研究<sup>[7,12]</sup>,具体如下:周围神经电刺激(peripheral nerve stimulation, PNS)刺激左侧胫神经,刺激强度为 6mA,波形为方波,波宽 200 $\mu$ s;经颅磁刺激(transcranial magnetic stimulation, TMS)刺激线圈中心位置切于大鼠头部前囟右旁开 0.5cm 处,可以向头尾侧稍微移动以确定最佳刺激点,以最小的刺激强度诱发左侧腓肠肌最大波幅运动诱发电位(motor evoked potential, MEP)的位置,刺激强度为最大输出强度的 42%;PNS 和 TMS 之间的时间间隔(interstimulus interval, ISI)为 15ms,频率为 0.05Hz,共 90 个脉冲对,刺激时长 30min。实验过程中注意观察 PAS 刺激组大鼠的反应,有无痛苦异常表现,有无死亡等极端情况出现。整个实验过程中大鼠都表现出很好的耐受性,未出现烦躁、抽搐、死亡等异常现象。

#### 1.4 检测方法

蛋白质免疫印迹(Western Blot):各时间点治疗结束后 24h,各组随机选取 5 只大鼠腹腔注射 10%的水合氯醛(3ml/kg)麻醉,予以断头处理,于冰上迅速分离右侧脑缺血半暗带,将所取的脑组织与裂解液混合并匀浆,离心(4 $^{\circ}$ C, 12000r/min, 5min)后,行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)(浓缩 80V 30min;分离 120V 90min),再以 200mA 转膜(120min);用含 5%脱脂奶粉的 TBST 封闭 2h,加入一抗 NogoA (1:1000)、NgR(1:200)、RhoA (1:5000) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 充分洗涤 5—6 次, 5min/次,加入辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的二抗(1:50000) 37 $^{\circ}$ C 孵育 2h, TBST 充分洗涤 5—6 次, 5min/次,行增强化学发光(enhanced chemiluminescence, ECL)检测,采用 Image-J 软件分析目标蛋白及内参蛋白的灰度值并计算比值。

免疫荧光:将剩下的大鼠于各时间点治疗结束后 24h, 10%的水合氯醛(0.5ml/100g)腹腔注射麻醉,经心脏依次快速灌注生理盐水 500ml、4%多聚甲醛 250ml,断头取脑,取前囟后 1—4mm 处脑组织置于 4%多聚甲醛 4 $^{\circ}$ C 固定 24h,常规浸蜡包埋,冠状面连续切片制作石蜡切片,片厚 5 $\mu$ m。切片常规脱蜡、水

化,加适量的修复液(0.01M 枸橼酸缓冲液, pH6.0)抗原修复 10—15min(95—98 $^{\circ}$ C),自然冷却后,将玻片置于 PBS(pH7.4,下同)中在摇床上晃动洗涤(5min/次,3次)。切片稍甩干后用组化笔在组织周围画圈,在圈内滴加自发荧光淬灭剂 A 液,常温孵育 10min 后用 PBS 冲洗,再滴加自发荧光淬灭剂 B 液常温孵育 5min,然后用流水冲洗 5min,切片稍甩干后在圈内滴加用封闭液,室温封闭 30min,轻甩掉封闭液,在切片上滴加 PBS 按一定比例配好的一抗(NogoA 1:100; NgR 1:100; RhoA 1:50),切片平放于湿盒内 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜后将玻片置于 PBS 中在摇床上晃动洗涤(5min/次,3次),将切片稍甩干后在圈内滴加与一抗相应种属的二抗(1:400)覆盖组织,避光室温孵育 50min,再将其置于 PBS 中在脱色摇床上晃动洗涤(5min/次,3次),待切片稍甩干后在圈内滴加 DAPI 染液,避光室温孵育 10min,后置于 PBS 中在摇床上晃动(5min/次,3次)。切片稍甩干后用抗荧光淬灭封片剂封片、拍照。每只大鼠观察 3 张完整无损的脑片,并在 400 倍镜下每张脑片拍摄梗死灶周边皮质区阳性细胞最多但不重叠的区域,进行统计学分析。

#### 1.5 统计学分析

用 SPSS 18.0 版统计软件进行统计学分析处理,数据以平均值 $\pm$ 标准差表示,多组间比较采用单因素方差分析(one-way analysis of variance, ANOVA),多组间一一对比采用最小显著差异法(least significant difference, LSD), $P < 0.05$  认为差异有显著性意义。

## 2 结果

Western Blot 结果显示:术后 7、14、28d,模型组和 PAS 组 NogoA、NgR、RhoA 蛋白的表达量均较假手术组显著增高( $P < 0.05$ ),在术后第 7 天时,表达量最高,随着时间的推移,表达量逐渐降低。PAS 介入治疗后,NogoA、NgR、RhoA 蛋白的表达量较模型组显著降低( $P < 0.05$ );术后 28d, PAS 组 NogoA、NgR、RhoA 蛋白的表达量低于组内术后 7、14d( $P < 0.05$ )。见表 1、图 1。

免疫荧光检测:术后各时间点,假手术组皮质周边可见较少 NogoA、NgR、RhoA 阳性细胞的表达(图 2),PAS 组和模型组缺血半暗带周边皮质 NogoA、

NgR、RhoA 阳性细胞数均较假手术组显著升高,随着时间的变化,模型组和PAS组大鼠梗死灶周边皮质 NogoA、NgR、RhoA 阳性细胞数逐渐降低,但PAS组三种蛋白的阳性细胞数在各时间点均低于模型组,PAS组术后28d阳性细胞数比7d组明显降低。见表2及图3—5。

表1 各组大鼠不同时间点缺血半暗带NogoA、NgR、RhoA蛋白相对含量的比较 (x±s)

组别	NogoA	NgR	RhoA
假手术组(n=5)			
7d	0.29±0.06	0.33±0.04	0.36±0.09
14d	0.30±0.04	0.37±0.05	0.38±0.09
28d	0.30±0.05	0.38±0.06	0.37±0.09
模型组(n=5)			
7d	0.90±0.14 <sup>①</sup>	0.94±0.15 <sup>①</sup>	0.96±0.14 <sup>①</sup>
14d	0.87±0.08 <sup>①</sup>	0.87±0.07 <sup>①</sup>	0.89±0.06 <sup>①</sup>
28d	0.72±0.07 <sup>①</sup>	0.76±0.08 <sup>①</sup>	0.77±0.07 <sup>①</sup>
PAS组(n=5)			
7d	0.70±0.10 <sup>①②</sup>	0.70±0.12 <sup>①②</sup>	0.70±0.06 <sup>①②</sup>
14d	0.65±0.09 <sup>①②</sup>	0.65±0.04 <sup>①②</sup>	0.65±0.11 <sup>①②</sup>
28d	0.48±0.05 <sup>①②③④</sup>	0.48±0.04 <sup>①②③④</sup>	0.50±0.08 <sup>①②③④</sup>

注:①与假手术组同时间点比较P<0.05;②与模型组同时间点比较P<0.05;③与组内术后7d比较P<0.05;④与组内术后14d比较P<0.05

图1 各组大鼠不同时间点缺血半暗带NogoA、NgR、RhoA蛋白的表达条带

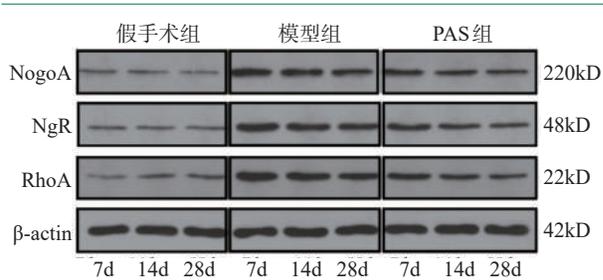
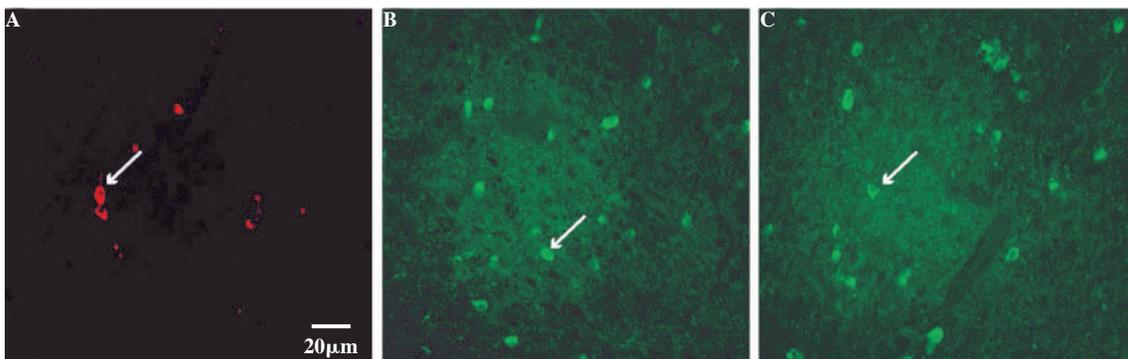


图2 假手术右侧皮质区NogoA、NgR、RhoA蛋白表达 (×400)



A.假手术组第7天NogoA的表达,B.假手术组第7天NgR的表达,C.假手术组第7天RhoA的表达

表2 各组大鼠缺血半暗带区NogoA、NgR、RhoA阳性细胞数 (x±s)

组别	NogoA	NgR	RhoA
假手术组(n=5)			
7d	6.5±1.2	10.7±2.4	8.5±1.8
14d	6.9±1.5	12.5±3.2	6.6±2.4
28d	7.2±0.9	9.80±2.3	10.1±2.2
模型组(n=5)			
7d	30.6±3.1 <sup>①</sup>	97.0±8.2 <sup>①</sup>	101.5±7.6 <sup>①</sup>
14d	24.9±2.3 <sup>①</sup>	66.4±7.8 <sup>①</sup>	89.6±8.2 <sup>①</sup>
28d	20.2±1.5 <sup>①③</sup>	58.7±12.4 <sup>①③</sup>	56.7±7.7 <sup>①③④</sup>
PAS组(n=5)			
7d	20.9±2.6 <sup>①②</sup>	67.4±8.3 <sup>①②</sup>	82.7±6.9 <sup>①②</sup>
14d	14.8±2.1 <sup>①②</sup>	48.2±7.2 <sup>①②</sup>	50.6±7.1 <sup>①②</sup>
28d	10.2±2.1 <sup>①②③</sup>	26.4±5.8 <sup>①②③④</sup>	38.5±7.8 <sup>①②③④</sup>

注:①与假手术组同时间点比较P<0.05;②与模型组同时间点比较P<0.05;③与组内术后7d比较P<0.05;④与组内术后14d比较P<0.05

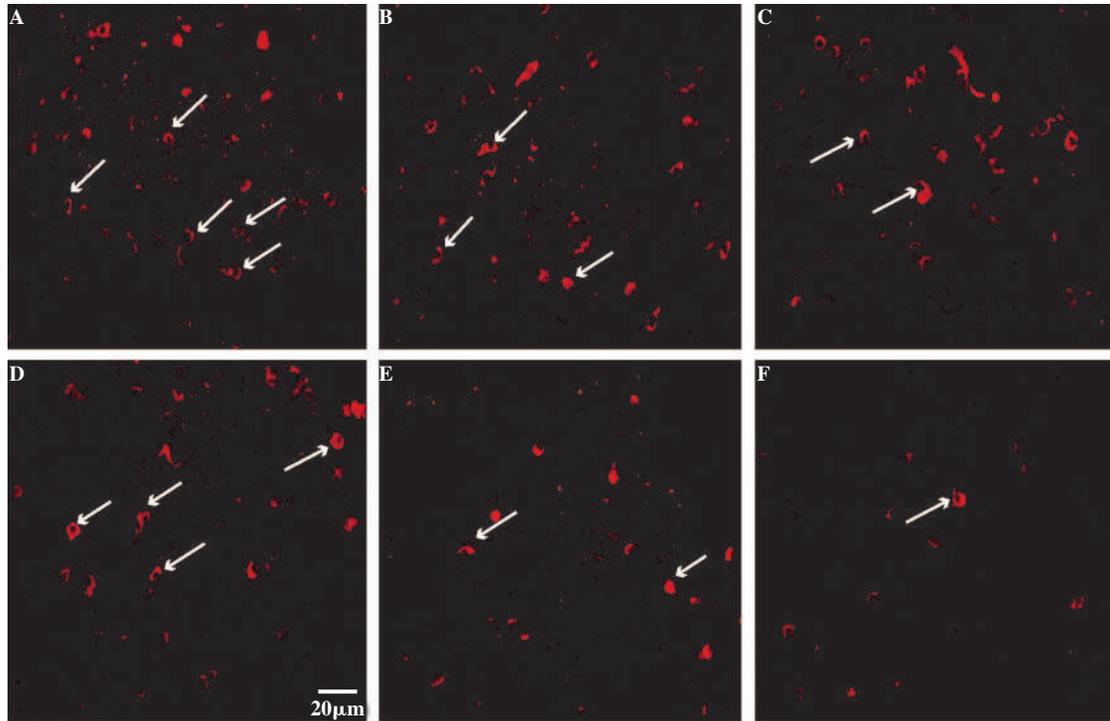
### 3 讨论

PAS是一种结合了中枢经颅磁刺激(transcranial magnetic stimulation, TMS)和周围神经电刺激(peripheral nerve stimulation, PNS)两种刺激手段的非侵入性大脑刺激(non-invasive brain stimulation, NIBS)技术<sup>[1]</sup>,可有效调节大脑皮质兴奋性水平,促进大脑皮质发生长期增强(long-term potentiation, LTP)或长期抑制(long-term depression, LTD)的可塑性变化<sup>[1]</sup>。鉴于脑卒中后双侧大脑半球间抑制失衡的异常电生理模式,PAS可易化或者抑制皮质兴奋性,促使两侧半球间的抑制失衡正常化,引起皮质感觉运动区神经可塑性变化以改善脑卒中后的感觉运动功能<sup>[4-6]</sup>,在脑卒中康复的临床应用上表现出巨大的潜力。

脑卒中后感觉运动功能恢复的重要解剖学基础

图3 模型组和PAS组缺血半暗带皮质区NogoA的表达

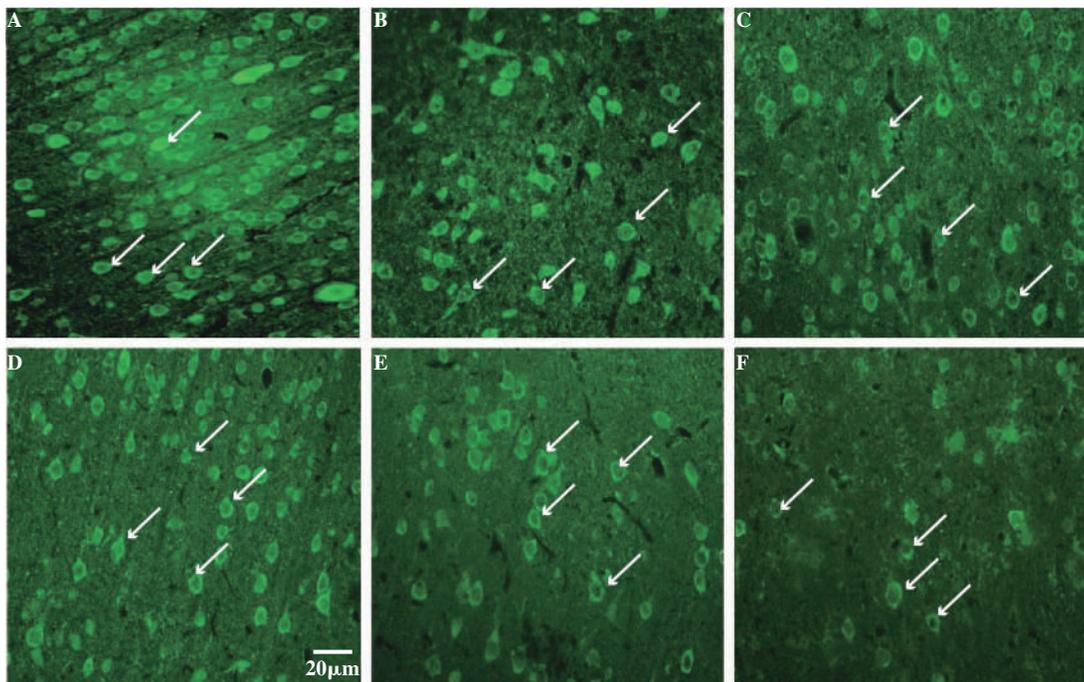
(×400)



A. 模型组 7d, B. 模型组 14d, C. 模型组 28d, D. PAS 组 7d, E. PAS 组 14d, F. PAS 组 28d

图4 模型组和PAS组缺血半暗带皮质区NgR的表达

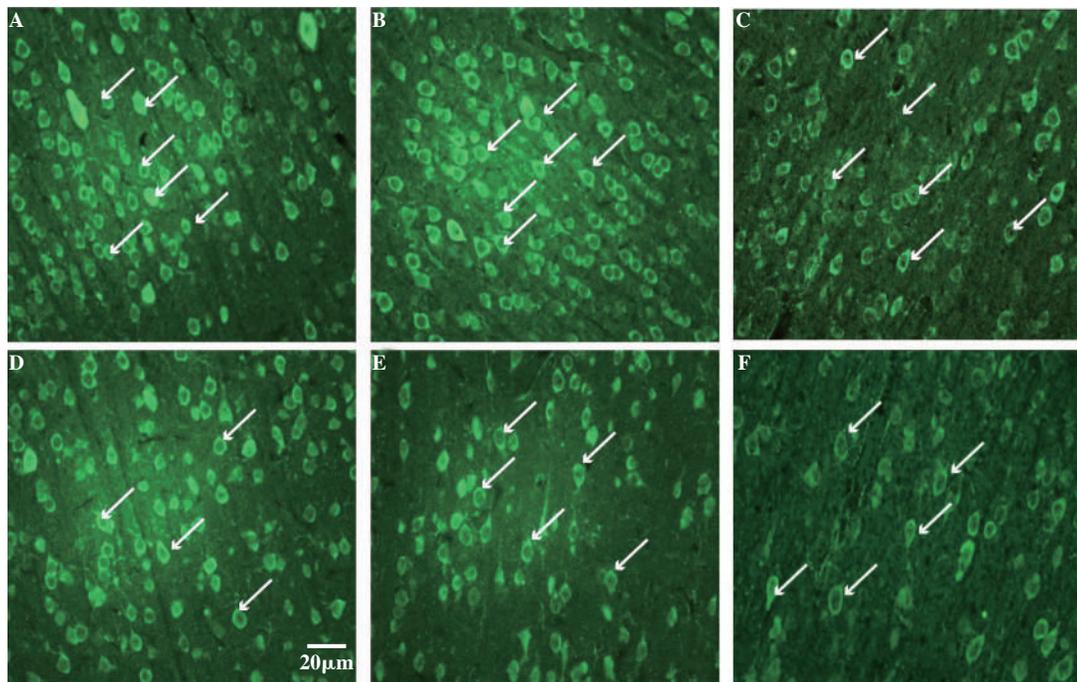
(×400)



A. 模型组 7d, B. 模型组 14d, C. 模型组 28d, D. PAS 组 7d, E. PAS 组 14d, F. PAS 组 28d

图5 模型组和PAS组缺血半暗带皮质区 RhoA 的表达

(×400)



A. 模型组 7d, B. 模型组 14d, C. 模型组 28d, D. PAS 组 7d, E. PAS 组 28d, F. PAS 组 28d

是轴突和树突完整有效的出芽、再生,并与皮质和皮质下感觉运动相关的区域建立新的突触联系<sup>[14]</sup>。然而脑缺血后神经再生、出芽往往不完全,原因是中枢神经系统中存在一些抑制因素,如胶质瘢痕的屏障作用、髓鞘相关蛋白的生长抑制作用等<sup>[15]</sup>。在这些抑制神经元再生的髓鞘相关蛋白(髓鞘相关糖蛋白 MAG、少突胶质细胞髓鞘糖蛋白 OMgp、勿动蛋白 NogoA)中,NogoA 最引人注目,其与受体 NgR 结合后通过第二信使作用于下游 RhoA 蛋白,可诱导生长锥的塌陷,抑制神经元突起的生长<sup>[9-10]</sup>。在正常的哺乳动物的中枢神经系统中,NogoA 有一定量的表达,起着限界和防止形成异常联系的作用<sup>[8]</sup>。当中枢神经系统受损后,NogoA/NgR 的表达上调<sup>[16]</sup>,主要作用是抑制损伤后神经重塑和修复。有大量研究证明,使用抗 NogoA 抗体<sup>[17]</sup>、阻断 NgR mRNA 的表达<sup>[18]</sup>或者是促进机体抗 NgR 抗体<sup>[19]</sup>的产生,都可促进脑卒中后神经元轴突再生和功能恢复。

我们前期研究<sup>[7]</sup>将 PAS 应用于缺血性脑卒中大鼠,发现其可以促进缺血半暗带区 MAP-2 和 GAP-43 的表达,促进神经轴突和树突的发芽和再生,进

而促进缺血性脑卒中大鼠感觉运动功能的恢复。在本研究中,我们进一步观察 PAS 对 NogoA/NgR/RhoA 信号通路的影响,探讨 PAS 促进脑缺血大鼠神经再生,改善脑缺血大鼠的感觉运动功能障碍的内在分子机制。结果显示,术后 7、14、28d 的观察时间内,模型组缺血半暗带区 NogoA、NgR、RhoA 三种蛋白的表达量显著高于假手术组 ( $P < 0.05$ ),在 7d 时最高,随着时间的推移,逐渐降低,说明缺血可诱导中枢抑制因子的表达,这可能是脑卒中后功能难以恢复的原因之一,与前期的结果一致。Jiang 等<sup>[20]</sup>建立 MCAO 大鼠模型,采用 western blot 和免疫荧光观察梗死灶周边 NogoA、NgR、RhoA 蛋白的表达,发现三者术后 6h 显著升高,术后 24h 达到高峰;Tsai 等<sup>[21]</sup>发现成年大鼠脑卒中后 9 周给予抗 NogoA 抗体治疗,仍可以促进轴突的生长,并促进功能恢复,说明脑卒中后慢性期 NogoA 仍有较强的抑制作用。PAS 治疗后,NogoA、NgR、RhoA 蛋白的表达量显著低于模型组,高于假手术组,说明 PAS 在一定程度上可以抑制缺血性脑卒中大鼠缺血半暗带区 NogoA/NgR/RhoA 信号通路的表达,对中枢神经系统损伤

中发挥负性调节作用的方面有一定的调节作用,这可能是PAS促进缺血再灌注大鼠轴突再生及感觉运动功能恢复的机制之一。

综上所述,本研究显示: PAS可抑制NogoA/ NgR/RhoA信号通路蛋白的表达,这可能是PAS促进脑缺血大鼠神经再生,改善脑缺血大鼠的感觉运动功能障碍的内在分子机制之一。但是,由于缺血性脑卒中后感觉运动功能障碍的机制十分复杂, PAS可能存在有多靶点的综合作用,其确切机制尚需进一步深入研究。

### 参考文献

- [1] 甘勇,杨婷婷,刘建新,等. 国内外脑卒中流行趋势及影响因素研究进展[J]. 中国预防医学杂志, 2018,(1):24—30.
- [2] Liu L, Wang D, Wong KS, et al. Stroke and stroke care in China: huge burden, significant workload, and a national priority[J]. *Stroke*, 2011, 42(12): 3651—3654.
- [3] Hatem SM, Saussez G, Della F M, et al. Rehabilitation of motor function after stroke: a multiple systematic review focused on techniques to stimulate upper extremity recovery [J]. *Front Hum Neurosci*, 2016, 10: 442.
- [4] Uy J, Ridding MC, Hillier S, et al. Does induction of plastic change in motor cortex improve leg function after stroke? [J]. *Neurology*, 2003, 61(7): 982—984.
- [5] Castel-Lacanal E, Gerdelat-Mas A, Marque P, et al. Induction of cortical plastic changes in wrist muscles by paired associative stimulation in healthy subjects and post-stroke patients[J]. *Exp Brain Res*, 2007, 180(1): 113—122.
- [6] Castel-Lacanal E, Marque P, Tardy J, et al. Induction of cortical plastic changes in wrist muscles by paired associative stimulation in the recovery phase of stroke patients[J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2009, 23(4): 366—372.
- [7] 胡艳,张香玉,郭铁成,等. 成对关联刺激对脑缺血再灌注大鼠感觉运动功能和MAP-2、GAP-43表达的影响[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2018,(10):733—739.
- [8] Schmandke A, Schmandke A, Schwab ME. Nogo-A: multiple roles in CNS development, maintenance, and disease [J]. *Neuroscientist*, 2014, 20(4): 372—386.
- [9] Montani L, Gerrits B, Gehrig P, et al. Neuronal Nogo-A modulates growth cone motility via Rho-GTP/LIMK1/cofilin in the unlesioned adult nervous system[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(16): 10793—10807.
- [10] Schwab ME. Functions of Nogo proteins and their receptors in the nervous system[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2010, 11(12): 799—811.
- [11] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84—91.
- [12] Zhang X, Sui Y, Guo T, et al. Effect of paired associative stimulation on motor cortex excitability in rats[J]. *Curr Med Sci*, 2018,38:727—733.
- [13] Stefan K, Kunesch E, Cohen LG, et al. Induction of plasticity in the human motor cortex by paired associative stimulation[J]. *Brain*, 2000, 123 Pt 3(3): 572—584.
- [14] Wieloch T, Nikolich K. Mechanisms of neural plasticity following brain injury[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2006, 16(3): 258—264.
- [15] Fenrich K, Gordon T. Canadian association of neuroscience review: axonal regeneration in the peripheral and central nervous systems--current issues and advances[J]. *Can J Neurol Sci*, 2004, 31(2): 142—156.
- [16] Jiang W, Xia F, Han J, et al. Patterns of Nogo-A, NgR, and RhoA expression in the brain tissues of rats with focal cerebral infarction[J]. *Transl Res*, 2009, 154(1): 40—48.
- [17] Tsai SY, Markus TM, Andrews EM, et al. Intrathecal treatment with anti-Nogo-A antibody improves functional recovery in adult rats after stroke[J]. *Exp Brain Res*, 2007, 182(2): 261—266.
- [18] Chen C, Chen X, Yin X, et al. NgR RNA interference, combined with zymosan intravitreal injection, enhances optic nerve regeneration[J]. *J Neurochem*, 2009, 110(5): 1628—1634.
- [19] Yu P, Huang L, Zou J, et al. Immunization with recombinant Nogo-66 receptor (NgR) promotes axonal regeneration and recovery of function after spinal cord injury in rats[J]. *Neurobiol Dis*, 2008, 32(3): 535—542.
- [20] Jiang W, Xia F, Han J, et al. Patterns of Nogo-A, NgR, and RhoA expression in the brain tissues of rats with focal cerebral infarction[J]. *Transl Res*, 2009, 154(1): 40—48.
- [21] Tsai SY, Papadopoulos CM, Schwab ME, et al. Delayed anti-Nogo-A therapy improves function after chronic stroke in adult rats[J]. *Stroke*, 2011, 42(1): 186—190.