

# 脊髓康对脊髓损伤大鼠脊髓组织结构及神经生长因子表达的影响

潘娅岚<sup>1</sup>, 马勇<sup>1,2\*</sup>, 郭杨<sup>1</sup>, 成吉华<sup>1</sup>, 黄桂成<sup>1</sup>

(1. 南京中医药大学骨伤研究所, 南京 210023; 2. 南京中医药大学附属医院骨伤科, 南京 210029)

**[摘要]** 目的:明确脊髓康对脊髓损伤(SCI)后脊髓组织病理的影响,探讨其对神经生长因子(NGF)蛋白和 mRNA 表达水平的影响,分析其改善损伤轴突再生微环境的可能作用机制。方法:清洁级 SD 大鼠 156 只,改良 Allen's 法建立 SCI 模型,随机分为假手术组、模型组、强的松(0.06 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)组、脊髓康高、中、低剂量组(50, 25, 12.5 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)6 组,每组 26 只。各组大鼠均于麻醉苏醒后 30 min 开始给予相应药物或生理盐水处理。分别于干预后 3, 7, 14 d 处死,取材,HE 染色、透射电镜观察脊髓组织结构的变化,免疫组化、荧光定量 PCR 法检测脊髓损伤区 NGF 蛋白及 mRNA 的表达情况。结果:HE 染色显示随着干预时间延长,强的松组、脊髓康中剂量组脊髓组织改善较为明显,神经元存活较模型组明显增加,水肿、坏死较轻。透射电镜超微结构评分显示伤后 7 d 强的松组、脊髓康中剂量组较模型组均明显降低( $P < 0.05$ )。免疫组化结果显示,模型组及各治疗组 NGF 阳性表达高于同时点假手术组,术后 7, 14 d 强的松组、脊髓康中剂量组 NGF 相对表达水平稳定,与模型组相比有统计学差异( $P < 0.01$ )。荧光定量 PCR 结果显示,各治疗组 NGF mRNA 的相对表达量均高于模型组,尤以强的松组、脊髓康中剂量组升高趋势最为明显,14 d 脊髓康中剂量组 NGF mRNA 的表达水平高于强的松组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。结论:强的松、脊髓康均可较好地减轻和延缓 SCI 后的病理损害程度,阻止不可逆性的变性现象的发生和发展,并促进 SCI 后损伤局部 NGF 蛋白及 mRNA 的表达,且强的松在 SCI 早期效应较为明显,而脊髓康在中晚期的整体调节优势明显,这可能是脊髓康促进神经功能恢复,改善轴突再生微环境的作用机制之一。

**[关键词]** 脊髓康; 脊髓损伤; 神经生长因子; 微环境

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)15-0144-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014150144

## Effect of Jisuikang on Spinal Cord Tissues and Expression of Nerve Growth Factor after Rat Spinal Cord Injury

PAN Ya-lan<sup>1</sup>, MA Yong<sup>1,2\*</sup>, GUO Yang<sup>1</sup>, CHENG Ji-hua<sup>1</sup>, HUANG Gui-cheng<sup>1</sup>

(1. Institute of Traumatology & Orthopedics, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;

2. Department of Traumatology & Orthopedics, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To clarify the effect of Jisuikang on neural functional recovery and explore its probable mechanism to improve the axon regeneration microenvironment on protein and mRNA level of nerve growth factor (NGF). **Method:** The rat models of spinal cord injury (SCI) were established by modified Allen's method. Twenty six rats were randomly allocated into pseudo surgery group (group A), other 130 rats were randomly divided into model group (group B), prednisolone group (group C), high, middle and low doses Jisuikang group (group D-F) after SCI, 26 rats in each group. The rats were intervened 30 min after anesthesia recovery. The spinal cord tissue were collected 3, 7, 14 d after SCI. The changes of the spinal cord tissues were

**[收稿日期]** 20131219(008)

**[基金项目]** 江苏省普通高校研究生科研创新计划项目(CXZZ12\_0609);江苏省自然科学基金项目(BK2011180)

**[第一作者]** 潘娅岚, 硕士在读, 从事中医药防治骨关节病的研究, Tel:13952046061, E-mail:yalan\_pan@sina.com

**[通讯作者]** \* 马勇, 教授, 主任医师, 博士生导师, 从事中医药治疗骨关节病的研究, Tel:13505153212, E-mail:zhongyi-my@263.net

observed through the HE staining, transmission electron microscope (TEM). Immunohistochemistry and RT-PCR were applied to test the expression of protein and mRNA of NGF. **Result:** HE staining: with the intervention time extending, the neuron survival in group C and E was more obvious than group B. The TEM ultrastructure scoring: group C and E reduced 7 d after injury ( $P < 0.05$ ). Immunohistochemistry: the different time points expression of NGF of group B-F was significantly higher than group A, the postoperative expression of group C and E remained a high levels after 7-14 d, compared with group B ( $P < 0.01$ ). RT-PCR: the expression of NGF of group C-F were higher than group B, especially in group C and E. The expression of NGF of group E was obvious higher than other groups after 14 d, compared with group C ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Both Jisuikang and prednisolone can reduce and delay the pathological damage, prevent the occurrence and development of irreversible deformation phenomenon, and promote the expression of NGF after SCI. Prednisolone has a more obvious effect early after SCI, while Jisuikang has a lasting effect. Maybe it is one of the factors of Jisuikang to promote neural functional recovery and improve the axon regeneration microenvironment.

[**Key words**] Jisuikang; spinal cord injury; nerve growth factor; microenvironment

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是脊柱疾病和损伤的严重并发症,如何促进SCI后神经再生是骨科及神经科学领域的研究难点。前期研究表明,中药脊髓康能抑制SCI大鼠一氧化氮合成酶表达,降低一氧化氮、丙二醛、肿瘤坏死因子 $\alpha$ 含量,提高超氧化物歧化酶、白细胞介素-10活性,清除氧自由基,防止继发性损伤<sup>[1-2]</sup>,从而改善损伤局部微环境。为进一步探讨脊髓康对SCI后神经功能恢复的影响,本研究采用HE染色、透射电镜观察各组脊髓组织结构的变化,利用免疫组化、荧光定量PCR等分子生物学技术,重点探讨脊髓康对神经生长因子(nerve growth factor, NGF)表达的影响,系统分析其改善损伤轴突再生微环境的可能作用机制,从而揭示其抗SCI的深层次作用机制。

## 1 材料

**1.1 动物** 清洁级SD大鼠156只,雌性,体重180~220 g,由浙江省实验动物中心提供,许可证号SCXK(浙)2008-0033。

**1.2 仪器与试剂** JEM-1010透射电镜(JEOL,日本),MM400混合球磨仪(Retsch,德国),蛋白核酸分析仪(eppendorf,德国),7500实时荧光定量PCR仪(Applied Biosystems),兔抗鼠NGF多克隆抗体(ab6198, Abcam,美国),Trizol(RNAiso Plus)、预混逆转录反应试剂盒(RR036A)、荧光定量反应试剂盒(RR820A)(TakaRa,宝生物工程有限公司)Envision免疫组化检测试剂盒(福建迈新生物技术有限公司)。强的松片(天津药业集团新郑股份有限公司,批号120310)。

## 2 方法

**2.1 制备实验药物** 脊髓康药液:脊髓康(生黄芪

30 g,当归12 g,川芎10 g,丹参20 g,地鳖虫10 g,赤芍12 g,淫羊藿10 g,制大黄10 g等)为笔者临床经验方(国家发明专利ZL200910026193.7),其中生药由南京中医药大学附属医院提供,按高、中、低剂量制成水煎剂,生药质量浓度分别为2.5,1.25,0.625 g·mL<sup>-1</sup>,4℃保存。

0.3%强的松药液:强的松片300 mg研磨成粉末,充分溶解于100 mL生理盐水中,4℃保存。

**2.2 动物分组及大鼠急性SCI模型建立** 随机抽取26只SD大鼠作为假手术组,其余130只大鼠造模成功后随机分为5组,每组26只,即:模型组、强的松组、脊髓康高、中、低剂量组,同时各组大鼠再随机分为3,7,14 d 3个时间点组,3,7 d 每组10只,14 d 每组6只。

采用改良Allen's法建立大鼠急性SCI模型。按4 mL·kg<sup>-1</sup> ip 10%水合氯醛麻醉,俯卧位固定,无菌条件下以T10为中心沿正中切口,掀除T9~T11段棘突及两侧椎板,暴露脊髓背侧硬膜,采用自制打击装置(不锈钢实心金属棒,直径3 mm,高18 cm,重10 g)沿玻璃套管,自距硬脊膜25 mm处自由垂直落下撞击T10段脊髓硬脊膜。假手术组仅咬除T9~T11段椎板、棘突,不损伤脊髓。逐层缝合,外敷红霉素软膏预防伤口感染。

**2.3 干预措施** 各组大鼠均于麻醉苏醒后30 min按临床等效剂量给予相应的干预处理:强的松组0.06 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,脊髓康低、中、高剂量组12.5,25,50 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>。各组大鼠均按体积20 mL·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> ig给药,每日2次,假手术组和模型组给予等量生理盐水。各组分别按时间点在最后1次ig后2 h处死取材。

**2.4 标本制备及检测指标** 3,7 d 点每组随机抽取 10 只,14 d 点随机抽取 6 只大鼠,心脏灌注 PBS 后沿原切口暴露脊髓,于损伤脊髓中心头、尾侧各 1 cm 处切断脊髓,每组每个时间点取 4 例标本放入冰生理盐水中冲洗干净,液氮速冻后转移至 -80 ℃ 冰箱保存,用于荧光定量 PCR; 剩余标本 4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋,在距脊髓直接损伤处 5 mm 部位连续进行厚约 4~5 μm 的超薄切片,每个样本 10 张,用于脊髓组织 HE 染色、透射电镜检查及免疫组化分析。

**2.4.1 脊髓组织形态学观察** ①HE 染色:3,7 d 每组各取 2 例样本,HE 染色,生物学显微镜观察脊髓的病理形态学改变。②透射电镜扫描:3,7 d

每组各取 2 例样本,透射电镜观察损伤区的脊髓超微结构,采用 Kaptanoglu 等<sup>[3-4]</sup>的超微结构评分法,每个样本评估神经细胞、轴突、线粒体各 20 个。

**2.4.2 免疫组化染色** 每组分别于 3 个时间点各取 2 例样本,按 Envision 免疫组化检测试剂盒说明书操作,镜下观察、摄片,以棕黄色颗粒染色为阳性表达。每张切片随机选取 5 个视野,采用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件,以平均吸光度(A)表示各组 NGF 蛋白的相对表达量。

**2.4.3 RT-PCR** 查找大鼠 NGF 及内参 GAPDH 的基因序列,primer premier 5.0 设计引物,见表 1。

表 1 NGF 及内参 GAPDH 的基因序列

基因名称		引物序列(5'-3')	退火温度/℃	产物长度/bp
NGF	Forward	CACTGTCTGGGTTGAGATAAG	60.07	238
	Reverse	AGCGTGTTCGTCGCTCTTGT	58.01	
GAPDH	Forward	CTGAGCACTCTCCCTCACAAATTC	61.95	102
	Reverse	GTGCAGCGAACTTTATTGATGCT	58.39	

Trizol 法提取组织总 RNA,蛋白核酸分析仪测定纯度和浓度,调整各组总 RNA 质量浓度至 250 mg·L<sup>-1</sup>,进行逆转录反应。参照 TakaRa 荧光定量反应试剂盒说明书,ABI7500 实时荧光定量 PCR 仪检测 NGF mRNA 的表达,结果以 2<sup>-ΔΔCt</sup> 表示模型组及各治疗组 NGF 在脊髓组织中相对于假手术组的表达量[ΔCt = Ct(NGF) - Ct(GAPDH); ΔΔCt = ΔCt(治疗组) - ΔCt(假手术组)]。

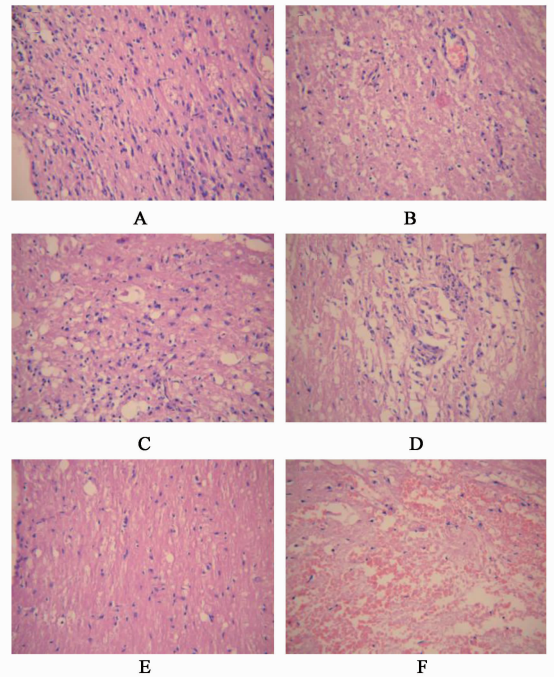
**2.5 统计分析** 所得数据采用 SPSS 17.0 软件分析,正态分布定量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用单因素方差分析及 LSD 法两两比较。以 P ≤ 0.05 为差异有统计学意义。

### 3 结果

#### 3.1 脊髓组织形态学变化

**3.1.1 脊髓组织形态显微观察** HE 染色术后 3 d:与假手术组比较,模型组神经纤维排列紊乱,部分神经元固缩坏死;与模型组比较,脊髓康高剂量组可见大量胶质细胞、少量炎细胞浸润,中、低剂量组见神经纤维间隙增大,胶质细胞浸润。

术后 7 d:与假手术组相比,模型组神经元坏死明显,间质中大量炎细胞浸润;与模型组相比,强的松组神经元存活较多,炎症细胞浸润较少;脊髓康高剂量组水肿、坏死情况改善不明显;中、低剂量组神经元存活较多,水肿、坏死较轻,尤以中剂量组保护效果更为明显。见图 1。



A. 假手术组; B. 模型组; C. 强的松 60 mg·kg<sup>-1</sup> 组; D. 脊髓康 50 g·kg<sup>-1</sup> 组; E. 脊髓康 25 g·kg<sup>-1</sup> 组; F. 脊髓康 12.5 g·kg<sup>-1</sup> 组(图 2~3 同)

图 1 术后 7 d 各组大鼠脊髓组织形态变化(HE 染色, ×200)

**3.1.2 超微结构变化** 模型组与假手术组相比,伤后 3~7 d 病变进行性加重,3 d 电镜下见强的松组髓鞘致密,部分髓鞘板层分离,变性,轴索内可见线粒体;脊髓康各组见部分轴突水肿、凝固变性,胞浆中少

量粗面内质网及线粒体;7 d后各治疗组神经元呈轻中度的细胞器变化,胶质细胞结构基本正常,髓鞘尚致密,轴索内线粒体肿胀很轻,粗面内质网有扩张、脱颗粒的现象轻微,突触的结构尚在。见图2。

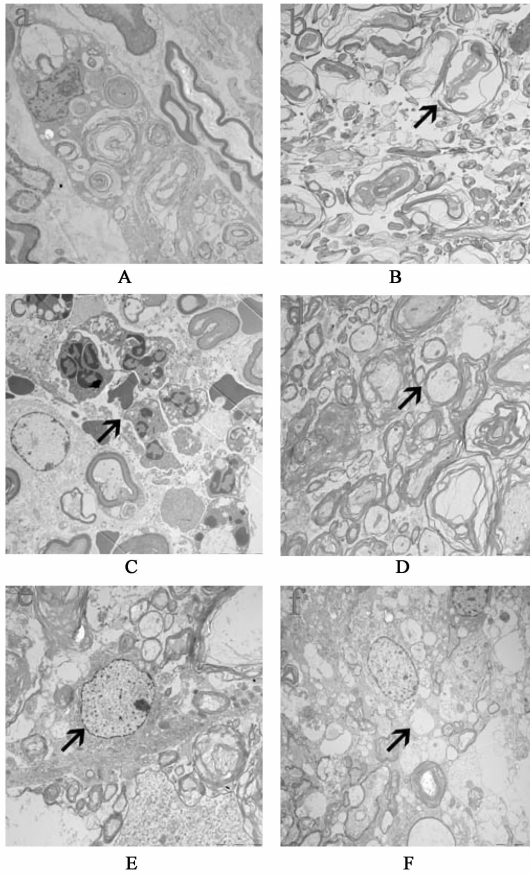


图2 术后7 d各组大鼠脊髓组织的超微结构变化(透射电镜,×5 000)

超微结构评分结果,3,7 d模型组评分均显著高于假手术组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。伤后3~7 d模型组评分随时间增加而升高,各治疗组则变化不大,伤后7 d强的松组、脊髓康中剂量组的超微结构评分均低于模型组( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 各组大鼠不同时间点的脊髓超微结构评分( $\bar{x} \pm s, n = 2$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	超微结构评分/分	
		3 d	7 d
假手术	-	1.04 ± 0.07 <sup>2)</sup>	1.11 ± 0.13 <sup>2)</sup>
模型	-	3.42 ± 0.87	5.38 ± 0.43
强的松	0.06	3.21 ± 0.19	3.43 ± 0.18 <sup>1)</sup>
脊髓康	50	3.67 ± 0.65	4.35 ± 0.32
	25	3.35 ± 1.02	3.87 ± 0.26 <sup>1)</sup>
	12.5	3.47 ± 0.39	4.16 ± 0.54

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ;与各治疗组比较<sup>2)</sup> $P < 0.01$ 。

**3.2 SCI后损伤区脊髓组织中NGF表达** 免疫组化显示假手术组脊髓组织中NGF的表达较弱,术后3 d各治疗组与模型组相比,NGF表达差异无统计学意义;术后7 d模型组NGF水平下降,强的松组、脊髓康中剂量组NGF水平稳定,且高于模型组( $P < 0.01$ )。术后14 d,强的松组、脊髓康中剂量组NGF表达水平仍较稳定,与模型组相比有统计学差异( $P < 0.01$ ),且脊髓康中剂量组高于强的松组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。见图3,表3。

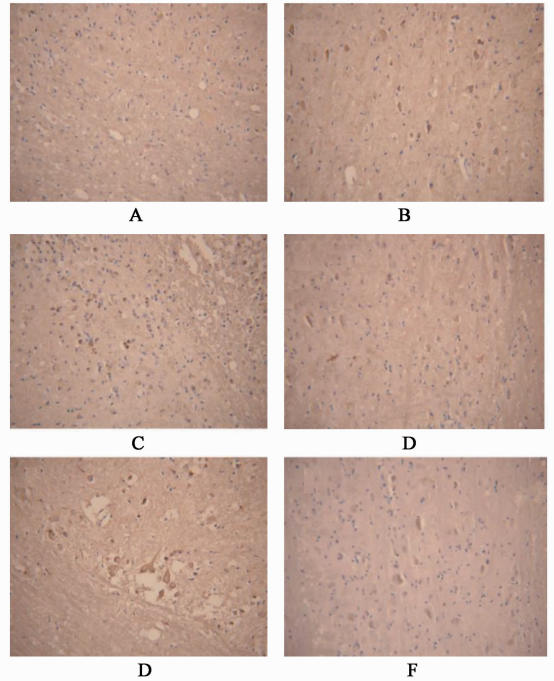


图3 各组大鼠SCI后14 d损伤区NGF蛋白表达(免疫组化染色,×200)

**3.3 各组大鼠SCI区NGF mRNA的表达** 术后3 d,各治疗组NGF mRNA的相对表达量均高于模型组,强的松组、脊髓康高、中剂量组与模型组比较,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );术后7 d,强的松组、脊髓康中、低剂量组NGF mRNA水平显著高于模型组( $P < 0.01$ ),强的松组、脊髓康中剂量组升高更为显著,但两组间比较未见明显差异;术后14 d,脊髓康中剂量组NGF mRNA的表达水平明显高于其他各组,与强的松组相比,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表4。

#### 4 讨论

现代中医根据SCI症状及体征,将其归属于“体惰”和“痿证”的范畴,并对病因病机进行了探索归纳。大多学者认为<sup>[5-6]</sup>,SCI病机为督脉受损,导致督脉和其他经络、脏腑、气血功能紊乱。针对SCI的

表 3 骨髓康对各组大鼠 SCI 后损伤区 NGF 免疫组化阳性表达水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	HGF/A		
		3 d	7 d	14 d
假手术	-	0.091 ± 0.011	0.096 ± 0.013	0.091 ± 0.002
模型	-	0.113 ± 0.015 <sup>1)</sup>	0.101 ± 0.008	0.109 ± 0.008
强的松	0.06	0.130 ± 0.006 <sup>2)</sup>	0.134 ± 0.019 <sup>2,3)</sup>	0.118 ± 0.018 <sup>2)</sup>
骨髓康	50	0.108 ± 0.020	0.110 ± 0.005	0.104 ± 0.004
	25	0.129 ± 0.017 <sup>2)</sup>	0.128 ± 0.006 <sup>2,3)</sup>	0.136 ± 0.014 <sup>2,3)</sup>
	12.5	0.106 ± 0.008	0.109 ± 0.005	0.100 ± 0.005

注:与假手术组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.01$ 。

表 4 骨髓康对各组大鼠 SCI 后损伤区 NGF mRNA 相对表达量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	HGF mRNA/2 <sup>-ΔΔCt</sup>		
		3 d	7 d	14 d
假手术	-	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
模型	-	1.09 ± 0.06	0.66 ± 0.03	0.78 ± 0.10
强的松	0.06	1.81 ± 0.12 <sup>1)</sup>	1.56 ± 0.14 <sup>1)</sup>	0.99 ± 0.01
骨髓康	50	1.36 ± 0.06 <sup>1,2)</sup>	0.63 ± 0.11	0.83 ± 0.03
	25	1.70 ± 0.17 <sup>1)</sup>	1.53 ± 0.32 <sup>1)</sup>	2.07 ± 0.25 <sup>1,2)</sup>
	12.5	1.11 ± 0.05 <sup>2)</sup>	1.24 ± 0.06 <sup>1)</sup>	0.91 ± 0.09

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ;与强的松组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ 。

病机特点,大量的实验及临床研究显示,中医药治疗 SCI 作用确切,有着独特优势<sup>[7-8]</sup>。

总结历代名家的治疗经验并结合多年临床实践,将 SCI 的病因病机归纳为:“肾督虚损,瘀阻督脉,枢机统率失职”,筛选了“肾督同治”理论下具有“祛瘀通督,滋补肝肾,调和气血”之功的中药复方骨髓康以指导中医药促进神经功能重塑,其主要由补阳还五汤、血府逐瘀汤、小承气汤等加减化裁而来。方中黄芪为君药,补脾胃之气,以资气血生化之源,使气旺以促血行,瘀去络通,祛瘀而不伤正;当归、川芎为臣药,养血和营,行气活血止痛;丹参、赤芍活血化瘀通络,清热凉血;水蛭、蜈蚣、地鳖虫破瘀散结,通络止痛,续筋接骨;淫羊藿、肉苁蓉、益智仁补益肾阳,培本固元;大黄、厚朴、枳实泻热通便,行气散瘀;茯苓、泽兰、泽泻、车前子利水渗湿,清热通淋,全方共奏活血化瘀,泻下清热,通利督脉,滋补肝肾之功。前期研究已证实骨髓康可促进 SCI 恢复,尤其对运动功能的改善有明显的疗效<sup>[9-10]</sup>。本实验结果表明,骨髓康可减轻大鼠 SCI 后脊髓组织的病理损害程度,阻止不可逆性的变性现象的发生和发展,揭示了“肾督同治”理论在指导中医药抗 SCI 中有积极意义。

随着研究的深入<sup>[11-12]</sup>,NGF 已被发现存在于多

种神经组织中,具有营养神经元、调控其生长发育、分化和再生的作用,可诱导再生轴突向神经纤维生长,减少神经元的死亡。NGF 的神经保护作用可归结于:①抑制毒性氨基酸的释放;②抑制钙离子超载;③抑制超氧自由基的释放;④抑制细胞凋亡。Meng 等<sup>[13]</sup>研究证实 NGF 通过与神经末梢酪氨酸激酶受体 A 结合,激活相应信号转导系统,调控靶细胞的基因表达,产生促进神经再生的生物效应。潘伟等<sup>[14]</sup>研究发现鞘内注射 NGF 能够增加内源性 NSCs 数目,促进其向神经元方向分化,从而更有效的促进神经发生和运动功能恢复。田林强等<sup>[15]</sup>研究表明 NGF 基因修饰的许旺细胞可促进大鼠 SCI 后 GAP-43 的表达,有效促进大鼠 SCI 后运动功能的恢复。因此,检测 NGF 的表达可直接获得关于神经损伤后再生与修复的情况。

本实验结果显示,正常大鼠脊髓组织 NGF 表达较弱,SCI 后 3 d NGF 蛋白、mRNA 水平表达均明显升高,但难以维持较高的效应浓度和时间,可能是神经元一过性的应激反应<sup>[16]</sup>,7 d 后模型组与各治疗组均开始下降,而强的松组和骨髓康中剂量组仍高于假手术组及模型组。结果表明,强的松、骨髓康均能有效促进 SCI 后损伤区 NGF 的表达,促进 SCI 修复,并以干预早期较为显著;可以推测骨髓康能促进

SCI 后 NGF 表达以协同改善轴突再生微环境,从而促进神经功能的恢复。本次研究结果以脊髓康中剂量组修复脊髓损伤作用最明显,但各浓度组间未表现出明显量效关系,可能与高浓度中药质地黏稠、不易吸收等因素相关。

众多资料表明,中医药在影响神经再生时,可能会提供更多、比例更接近神经生理需要的生长活性因子,从而有利于神经再生<sup>[17-18]</sup>。笔者前期研究,也证实了脊髓康可抑制急、慢性炎症的发生,改善损伤局部微环境。依据中医对脊髓损伤的认识,分析肾精、督脉的生理功能,结合现代医学对脊髓损伤后轴突再生微环境的认识,笔者认为:基于“肾督同治”理论的脊髓康可通过协调肾督影响神经再生相关调控因子的表达,在一定程度上改善轴突再生微环境,促进损伤脊髓的结构重建和功能恢复。

本研究所制作的 SCI 模型与理想的模型尚有很大的差距,且复制过程中存在一定的缺陷,同时本研究观察周期为 14 d,难以评价脊髓康促进 SCI 后神经功能恢复、延缓脊髓组织病理改变的远期疗效,这些还需进一步研究完善。

#### [参考文献]

[ 1 ] 周建中,马勇,殷韶健,等. 中药脊髓康治疗大鼠脊髓损伤的实验研究[J]. 江西中医学院学报,2009,21(2):71.

[ 2 ] Yong M, Jianzhong Z, Wenguin Y, et al. Effects of Jisuikang on hemorheology and inflammatory factors in rats following spinal cord injury [ J ]. Neural Regeneration Research,2008,3(11):1176.

[ 3 ] Kaptanoglu E, Palaoglu S, Surucu H S, et al. Ultrastructural scoring of graded acute spinal cord injury in the rat[J]. J Neurosurg,2002,97(1 Suppl):49.

[ 4 ] Kaptanoglu E, Solaroglu I, Surucu H S, et al. Blockade of sodium channels by phenytoin protects ultrastructure and attenuates lipid peroxidation in experimental spinal cord injury [ J ]. Acta Neurochir ( Wien ), 2005, 147(4):405.

[ 5 ] 陈宇飞,王四旺,罗卓荆,等. 中药治疗脊髓损伤的研究现状[J]. 现代生物医学进展,2010,10(10):1983.

[ 6 ] 李盛华,柴喜平,王想福,等. 中医药治疗脊髓损伤的研究进展 [ J ]. 中国中医骨伤科杂志,2010,18(11):70.

[ 7 ] 林勋,陈博,詹红生. 温阳通督中药结合理筋手法对颈脊髓机械性压迫损伤家兔模型脊髓功能的影响 [ J ]. 上海中医药大学学报,2011,25(3):89.

[ 8 ] 周叶军,王兴中. 补气活血通络中药治疗急性脊髓损伤实验研究 [ J ]. 浙江中医杂志,2012,47(3):208.

[ 9 ] 王建伟,吴毛,马勇. 手术加中药“脊髓康”治疗脊髓损伤 30 例 [ J ]. 实用临床医药杂志,2008,12(3):70.

[ 10 ] Wang J W, Wu M, Huang G C. Effect of Jisuikang on kinetic dysfunction in patients after spinal injury [ J ]. Chin J Integr Med,2008,14(3):190.

[ 11 ] Elkelini M S, Bagli D J, Fehlings M, et al. Effects of intravesical onabotulinumtoxin A on bladder dysfunction and autonomic dysreflexia after spinal cord injury;role of nerve growth factor [ J ]. BJU Int,2012,109(3):402.

[ 12 ] Ochodnický P, Cruz C D, Yoshimura N, et al. Nerve growth factor in bladder dysfunction:contributing factor, biomarker, and therapeutic target [ J ]. Neurourol Urodyn,2011,30(7):1227.

[ 13 ] Meng B, Zhang Q, Huang C, et al. Effects of a single dose of methylprednisolone versus three doses of rosiglitazone on nerve growth factor levels after spinal cord injury [ J ]. J Int Med Res,2011,39(3):805.

[ 14 ] 潘伟,尹宗生,张辉,等. 鞘内注射神经生长因子对脊髓损伤大鼠运动功能恢复及神经细胞变化的影响 [ J ]. 安徽医科大学学报,2011,46(9):875.

[ 15 ] 田林强,陈钢,杨彩虹,等. 人神经生长因子基因修饰的许旺细胞治疗脊髓损伤的实验研究 [ J ]. 实用医学杂志,2012,28(16):2693.

[ 16 ] 张继平,王志彬,林爱华,等. 补阳还五汤对脊髓损伤大鼠脊髓组织血小板活化因子含量的影响 [ J ]. 中国中医药信息杂志,2011,18(11):46.

[ 17 ] 杨立利,贾连顺,苟三怀,等. 黄芪注射液对大鼠急性脊髓损伤细胞免疫调节作用影响的实验研究 [ J ]. 中国骨与关节外科,2010,3(2):142.

[ 18 ] Ke Y, Hi L, Xu R, et al. Early response of endogenous adult neural progenitor cells to acute spinal cord injury in mice [ J ]. Stem Cells,2012,24(4):1011.

[责任编辑 聂淑琴]