

活血通督汤对大鼠脊髓损伤后 I 和 IV 型胶原蛋白表达的影响

汪今朝¹ 范筱¹ 张俐^{2△}

[摘要] **目的:**观察活血通督汤对大鼠脊髓损伤后 I 型胶原蛋白(Collagen I)和 IV 型胶原蛋白(Collagen IV)表达的影响,探讨该方对脊髓损伤后肢体运动功能恢复的作用机制。**方法:**将 36 只成年 SD 大鼠随机分为假手术组($n=12$)、模型组($n=12$)及活血通督汤组($n=12$)。假手术组行椎板切除术,不损伤脊髓,模型组和活血通督汤组采用 NYU 脊髓损伤打击器复制脊髓损伤模型。造模成功后,假手术组和模型组给予生理盐水灌胃,活血通督汤组给予活血通督汤灌胃,给药剂量为 $12.6 \text{ mL}/(\text{kg} \cdot \text{d})$,术后第 1,3,5 和 7 天行 BBB 肢体运动功能评分。采用 Western blot 检测 Collagen I 和 Collagen IV 蛋白表达量,尼氏染色法观察神经细胞形态,免疫组织化学染色法检测脊髓组织中 Collagen I 和 Collagen IV 定位表达。**结果:**1)术后第 3 天开始,活血通督汤组 BBB 评分高于模型组($P<0.05$);2)尼氏染色显示活血通督汤组神经元的结构形态优于模型组,神经元受损状况得到改善;3)免疫组化和 Western blot 显示,与假手术组比较,模型组和活血通督汤组可见较多 Collagen I 和 Collagen IV 表达($P<0.05$),但模型组 Collagen I 表达比活血通督汤组少,模型组 Collagen IV 表达多于活血通督汤组($P<0.05$)。**结论:**活血通督汤促进脊髓损伤后肢体运动功能的恢复,其机制可能与其促进 Collagen I 的表达且抑制 Collagen IV 的表达有关。

[关键词] 脊髓损伤;活血通督汤;I 型胶原蛋白;IV 型胶原蛋白

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2018)05-0001-05

Effects of Huoxue Tongdu Decoction on the Collagen I and Collagen IV after Spinal Cord Injury

WANG Jinzhao¹ FAN Xiao¹ ZHANG Li^{2△}

¹Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China;

²Xiamen Medical College, Xiamen 361008, Fujian China.

Abstract Objective: To observe the effect of Huoxue Tongdu decoction on the expression of collagen I and collagen IV after spinal cord injury in rats, and to explore the mechanism of Huoxue Tongdu decoction on the recovery of limb motor function after spinal cord injury. **Methods:** All 36 adult SD rats were randomly divided into sham operation group, model group, Huoxue Tongdu decoction group (12 rats in each group). After established of model, the sham operation group and the model group were given normal saline every day. Huoxue Tongdu decoction group was given Huoxue Tongdu decoction, and the BBB limb motor function score was recorded on the 1st, 3rd, 5th and 7th day after operation. After 7 days, the tissues were gathered for Nissl's staining while collagen I and collagen IV were detected by immunohistochemical staining and western blot. **Results:** 1) The BBB score of Huoxue Tongdu Decoction group was higher than that of model group ($P<0.05$). 2) Nissl's staining showed that the structure and morphology of neurons in the Huoxue Tongdu decoction group was better than that of model group with the improvement of the neuronal damage condition; 3) Compared to sham group, there were more collagen I and collagen IV expression in the model group and Huoxue Tongdu decoction ($P<0.05$) and the expression of collagen I in Huoxue Tongdu decoction was more than that of model group ($P<0.05$), while the expression of collagen IV in model group was more than that of Huoxue Tongdu decoction ($P<0.05$). **Conclusion:** The mechanism of Huoxue Tongdu decoction to promote the recovery of limb motor function after spinal cord injury may be related to its expression of collagen I and inhibition of collagen IV expression.

Keywords: spinal cord injury; Huoxue Tongdu decoction; collagen I; collagen IV

基金项目:国家自然科学基金项目(81273775)

福建省百千万领军人才项目

¹ 福建中医药大学(福州, 350122)

² 厦门医学院

△通信作者 E-mail: zhangli626@163.com

脊髓损伤(Spinal Cord Injury, SCI)患者多伴有损伤段以下感觉和运动功能的减退或消失^[1,2]。SCI后I型胶原蛋白(Collagen I)分泌不足所造成局部修复功能减弱,以及IV型胶原蛋白(Collagen IV)异常增多所形成的瘢痕组织,都会影响SCI后神经功能及损伤组织的恢复^[3]。因此,如何调控SCI后Collagen I和Collagen IV的表达已经成为SCI研究的一个新热点。

活血通督汤是经验方,此药已获得福建省食品药品监督管理局的批准(闽药制字Z20150010),常用于治疗脊髓损伤、颈腰椎间盘突出症等疾病^[4,5]。本课题前期研究已经证实^[6-8],活血通督汤能够改善脊髓缺血症状,抑制炎症反应、细胞凋亡,促进神经营养因子表达,从而促进肢体运动功能恢复。但是,活血通督汤对SCI后Collagen I和Collagen IV表达的影响尚不明确。本研究观察活血通督汤对SCI后Collagen I和Collagen IV表达的作用,探讨其促进SCI后肢体运动功能恢复的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

36只2月龄健康雌性SPF级SD大鼠,体质量(220±20)g,由上海斯莱克实验动物责任有限公司提供,实验动物许可证号SCXK(沪)2014-0006,福建中医药大学实验动物中心饲养。

1.2 药品、试剂

活血通督汤由黄芪、地龙、泽兰叶、牛膝、川芎、赤芍、白芍组成,购于福建中医药大学附属第三人民医院,加工成1 g/mL的汤药(每1 mL汤药含有生药1 g),无菌密封后置于-20℃冰箱保存备用。一抗:兔抗鼠Collagen I抗体(Proteintech,批号14695-1-AP)、兔抗鼠Collagen IV抗体(Proteintech,批号19797-1-AP)。免疫组化试剂盒(博士德,批号SA1052)及尼氏染色试剂盒(索莱宝,批号G1430)。

1.3 仪器

NYU脊髓打击器(W. M. Keck神经科学协作中心),4000B/DFC425C显微镜(Leica DMI),Image-lab图像分析系统,Image-Pro图像分析系统(BIORAD-HERCULES)。

1.4 方法

1.4.1 SCI模型制备 采用NYU脊髓打击器复制脊髓损伤模型^[9,10]。大鼠麻醉成功后,取俯卧位固定,于T₉~T₁₁区域沿脊柱纵向作一长约2.5 cm纵行切口,充分暴露手术区域白色硬脊膜。将大鼠置于脊髓打击器固定台上,调整打击杆朝着暴露的脊髓正中,调整打击杆高度为12.5 mm,松开打击杆使其自由下落直击脊髓,此时出现大鼠后肢回缩,尾部摆动,头部肌

肉收缩,提示造模成功。术后大鼠单笼分开饲养,人工按摩大鼠每日早晚各2次,以助大鼠排尿排便。术后每日注射青霉素4×10⁴ U/只,连续3 d,预防感染。

1.4.2 分组 将36只SD大鼠采用随机数字表法分为假手术组、模型组和活血通督汤组,每组各12只。其中假手术组行椎板切除术,不损伤脊髓,其余两组使用NYU脊髓打击器击打脊髓从而建立SCI模型。

1.4.3 药物干预 术后第1天开始,活血通督汤组大鼠给予活血通督汤灌胃,2次/d,灌胃剂量为12.6 mL/(kg·d)^[11];模型组和假手术组大鼠给予等量生理盐水灌服,2次/d。三组大鼠连续灌胃7 d。

1.4.4 行为学分析 采用Basso Beattie Bresnahan(BBB)评分^[12]评估大鼠后肢运动功能。两名非本实验专业人员于术后第1,3,5及7天独立地对每只大鼠进行BBB评分,每只大鼠进行两次评分,每次观察时间5 min,最终每只大鼠每次评分为两名评价者的平均分。

1.4.5 取材与标本制备 灌胃7 d,麻醉后剪开大鼠胸腔、腹腔,止血钳夹闭主动脉,自心尖部进针,用生理盐水对心脏快速冲洗,然后用4%多聚甲醛灌注固定。后取下大鼠脊柱,以脊髓损伤部为中心,取长约2~3 cm脊髓段,放入4%多聚甲醛中,4℃下固定48 h后常规梯度脱水,二甲苯透明、浸蜡,石蜡包埋后做成厚度4 μm的石蜡切片,用于尼氏染色以及免疫组化检测。每组剩余6只大鼠麻醉成功后不行多聚甲醛固定,直接以脊髓损伤处为中心,取长约2 cm脊髓段,放置于EP管后迅速冻存于液氮中,取材结束后移入-80℃冰箱保存备用。

1.5 指标检测

1.5.1 Western blot检测 每个样本取1 cm长置于-80℃冰箱保存的脊髓,剪碎后置于EP管中加裂解液,冰浴后离心,BCA定量蛋白。在酶标仪中测得标准曲线和吸光度,据此计算出蛋白浓度。蛋白变性后,将样品置于相应浓度的SDS-PAGE凝胶中电泳分离,待Marker蛋白跑至玻璃板底部,同时样本蛋白基本呈一条直线沉于底部时,停止电泳。后转至PVDF膜封闭,TBST洗3次。封闭液封闭,先后加入一抗二抗,每次步骤间隔均用TBST漂洗。TBST清洗去除二抗后将膜置于化学发光试剂中反应,避光条件下显影,用凝胶扫描成像系统进行分析。

1.5.2 尼氏染色 将厚度4 μm的石蜡切片常规脱蜡后放入尼氏染色液中,置于60℃温箱中浸染50 min,蒸馏水迅速冲洗3遍,再用分色液分色1~2 min,室温晾干后,中性树胶封片,镜下观察,采集图片。

1.5.3 免疫组化 采用免疫组化试剂盒染色,步骤

如下:组织切片脱蜡后,采用微波枸橼酸钠抗原修复,室温冷却;PBS 漂洗 3 次,每次 5 min;加入过氧化物酶阻断剂室温下孵育,PBS 洗 3 次;加入封闭液孵育 1 h,不洗,滴加一抗,4 ℃ 孵育过夜;次日复温后 PBS 漂洗 3 次,加入二抗室温孵育,加入链霉菌抗生物素-过氧化物酶溶液,室温孵育,滴加 DAB 显色液,苏木素复染后置于 PBS 中返蓝,梯度酒精脱水干燥,二甲苯透明,中性树脂透明封片。光学显微镜下观察,每个指标的每个区域选择 6 个不重叠视野进行统计。

1.6 统计学方法

用 SPSS 20.0 统计软件对所得实验数据进行统计

表 1 BBB 肢体运动功能评分表($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
假手术组	12	20.08±0.23	21.00±0.00	21.00±0.00	21.00±0.00
模型组	12	1.50±0.29	3.33±0.36	4.92±0.29	6.75±0.33
活血通督汤组	12	1.90±0.36	6.50±0.29 ¹⁾	8.25±0.28 ¹⁾	11.00±0.35 ¹⁾
<i>t</i>		0.906	6.917	8.324	8.878
<i>P</i>		0.375	<0.001	<0.001	<0.001

注:1)同一时间点与模型组相比, $P<0.05$ 。

2.2 活血通督汤对 Collagen I 和 Collagen IV 蛋白表达的影响

Western blot 结果显示假手术组的 Collagen I 和 Collagen IV 蛋白表达量较低。三组 Collagen I 蛋白表达量有差异,模型组 Collagen I 蛋白表达量低于活血通督汤组,差异有统计学意义($P<0.05$);三组 Collagen IV 蛋白表达量有差异,但是模型组 Collagen IV 蛋白表达量高于活血通督汤组,且差异有统计学意义($P<0.05$),见图 1 及表 2。

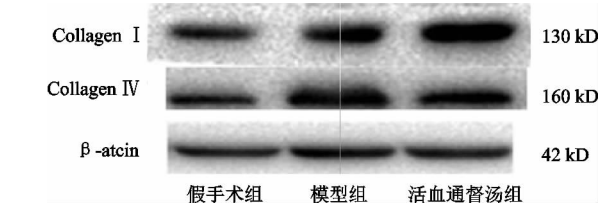
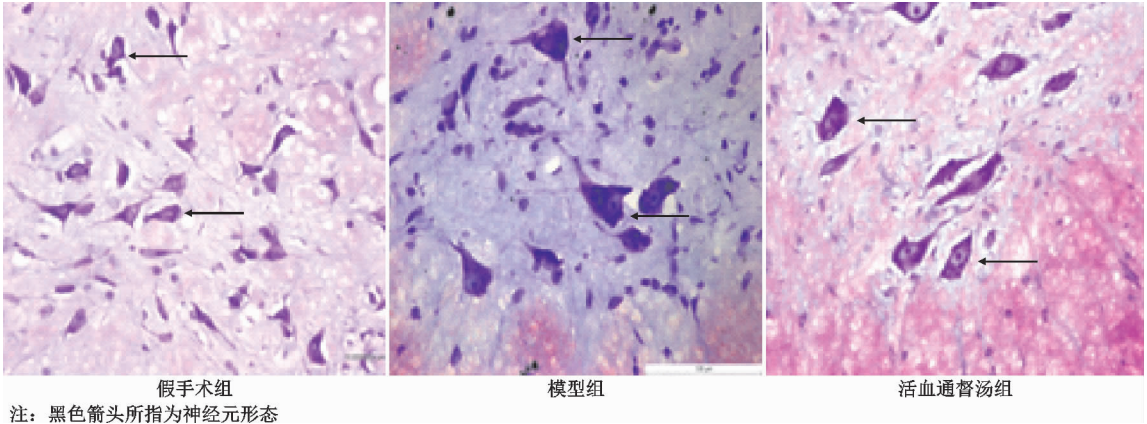


图 1 各组 Collagen I 和 Collagen IV 蛋白表达



注:黑色箭头所指为神经元形态

学分析,实验数据采用 $\bar{x}\pm s$ 来表示。符合正态分布且方差齐的组间比较采用单因素方差分析,采用 LSD 法进行组间两两比较。非正态分布资料用秩和检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 BBB 肢体运动功能评分

术后第 1 天,模型组与活血通督汤组相比,BBB 肢体运动功能评分差异无统计学意义($P>0.05$);术后第 3 天起,BBB 肢体运动功能评分逐渐升高,且活血通督汤组 BBB 肢体运动功能评分优于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 2 Collagen I 和 Collagen IV 蛋白表达量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	Collagen I	Collagen IV
假手术组	6	0.30±0.02	0.18±0.02
模型组	6	0.60±0.03 ¹⁾	0.69±0.03 ¹⁾
活血通督汤组	6	0.85±0.02 ¹⁾²⁾	0.49±0.03 ¹⁾²⁾
<i>F</i>		132.560	84.477
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:1)与假手术组比, $P<0.05$;2)与模型组比, $P<0.05$ 。

2.3 活血通督汤对 SCI 神经元结构的影响

假手术组神经元结构完整、形态规则,呈饱满的梭形状,胞质内可见清晰的虎斑样尼氏体,尼氏体饱满,细胞核明显;模型组神经细胞损伤严重,局部可见瘀血斑块,细胞水肿或碎裂,无细胞核,尼氏体萎缩或较小,神经细胞周围可见空泡样变,活血通督汤组神经细胞形态有所改善,瘀血面积较小,尼氏体较饱满,神经细胞周围空泡样改变较少,细胞水肿减轻(图 2)。

图 2 三组尼氏染色,神经细胞形态结构($\times 400$)

2.4 活血通督汤对SCI中Collagen I和Collagen IV定位表达的影响

免疫组化发现 Collagen I 和 Collagen IV 阳性表达呈深灰褐色,主要在细胞胞浆中表达。假手术组未见明显 Collagen I 和 Collagen IV 表达,模型组和活血通督汤组出现 Collagen I 和 Collagen IV 弥散性表

达,且表达量较高。三组 Collagen I 蛋白表达量有差异,模型组 Collagen I 表达量低于活血通督汤组,差异有统计学意义($P<0.05$)。三组 Collagen IV 蛋白表达量有差异,活血通督汤组 Collagen IV 表达量低于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$)。免疫组化结果见图 3,平均光密度值见表 3。

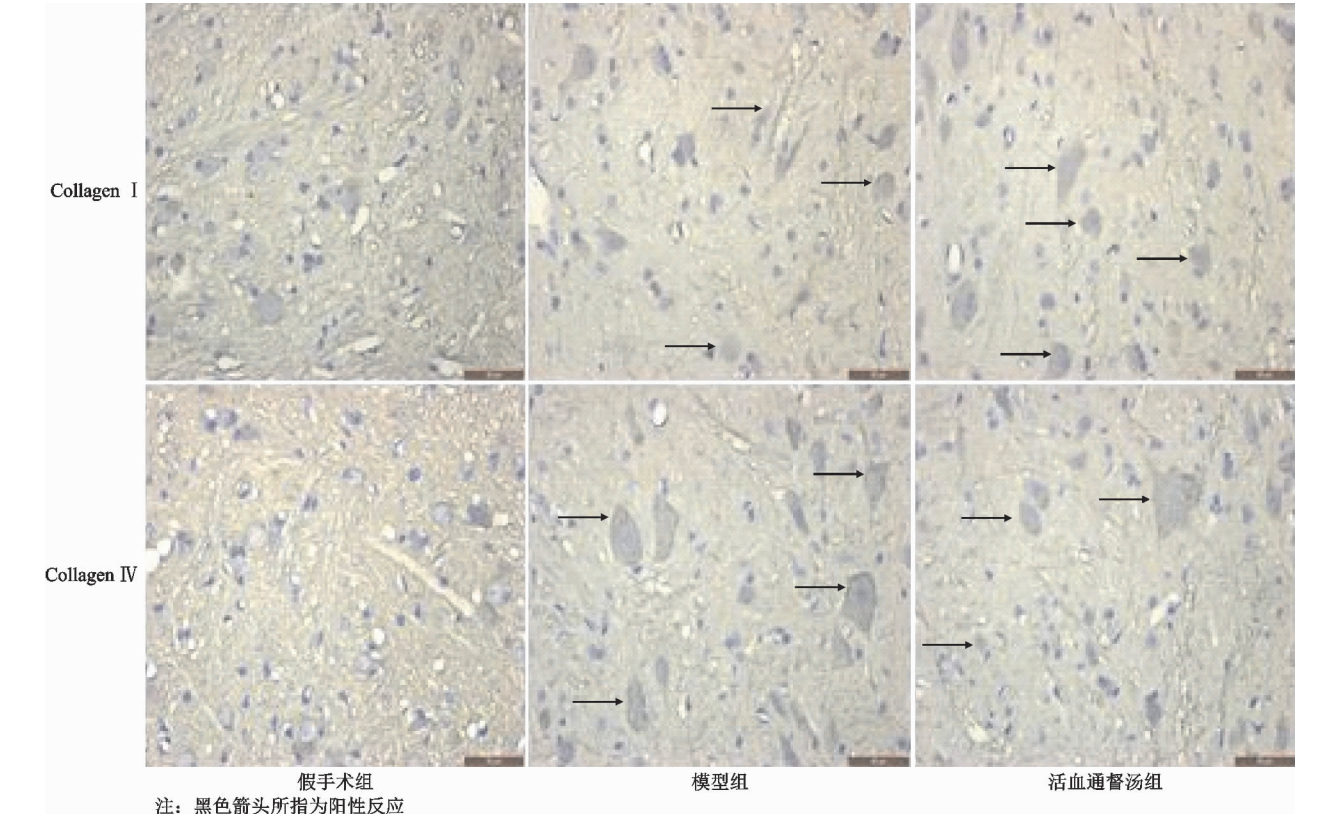


图 3 三组 Collagen I 和 Collagen IV 免疫组化结果($\times 400$)

表 3 Collagen I 和 Collagen IV 表达平均光密度值($\bar{x}\pm s$)			
组别	鼠数	Collagen I	Collagen IV
假手术组	6	0.24 ± 0.04	0.30 ± 0.03
模型组	6	$0.58\pm 0.05^{1)}$	$0.83\pm 0.05^{1)}$
活血通督汤组	6	$0.82\pm 0.05^{1)2)}$	$0.57\pm 0.05^{1)2)}$
F		37.718	36.111
P		<0.001	<0.001

注:1)与假手术组比, $P<0.05$;2)与模型组比, $P<0.05$ 。

3 讨论

SCI 包括原发性损伤以及继发性损伤,原发性损伤主要是由于脊髓受到直接或间接机械性打击造成的组织结构破坏,损伤水肿,血-脊髓屏障被破坏,神经细胞凋亡,炎症细胞和炎性因子浸润等。原发性损伤后,由于血-脊髓屏障通透性增加,导致血管内物质大量外漏,进一步加剧出血、水肿、炎症和瘢痕形成等继发性损伤^[13-15]。Collagen I 主要来自哺乳动物正常组织的真皮层,包括成纤维细胞、成骨细胞等,具有形成和保持骨与结缔组织的完整性的作用。研究表明,Collagen I 能够参与损伤血管的重新构建,其与血管内皮细胞接触后所形成的血管框架为新生血管的形成提供

理想的环境,同时 Collagen I 在形成一些特定的细胞外微环境时也起到主要作用,而这些特定的细胞外微环境对于维持细胞完整性、细胞生存及细胞之间信号传递有着重要意义和作用^[9,16]。此外,Collagen I 可以通过盘蛋白、整合素等向细胞内传递细胞外环境中的刺激信号,提高细胞应对外界刺激能力,从而发挥其生物学功能,通过截留、保存、运输生长因子从而起到一种类似于信号分子的作用。这些功能在器官发育、伤口组织愈合与损伤组织修复、神经功能的再生中发挥重要作用^[9,17]。在正常脊髓组织中,Collagen I 并无明显表达,SCI 后由于出血、水肿等病理因素的刺激作用,Collagen I 开始表达^[3],本实验研究显示假手术组无明显 Collagen I 表达,模型组出现较多 Collagen I 表达,活血通督汤组亦出现 Collagen I 表达。而且已有研究者证明 SCI 后提高 Collagen I 的表达能够促进 SCI 后的局部组织的修复及神经传导功能的再生^[18]。Collagen IV 由血管内皮细胞分泌,广泛分布于全身,是构成 ECM(由胶原、蛋白多糖、基膜等组成)的主要组成组分,分布于全身各组织,起组织间连接、缓

冲作用,对维持机体内环境的平衡稳定具有重要意义^[19,3]。Collagen IV 在正常的中枢神经系统中,仅存在于微血管周围和脑脊膜中,由血管内皮细胞分泌并包绕血管内皮细胞,也是构成微血管管壁的主要成分之一^[3,20]。当脊髓受到严重打击时,ECM 遭到破坏,基膜成分开始裂解,血管内皮细胞坏死、凋亡,但由于生理病理因素的影响,血管再生机制很快被激活,因此作为构成微血管主要成分的 Collagen IV 开始大量合成^[20,21]。然而目前研究表明,由于 SCI 后 Collagen IV 大量表达并聚积一起形成的瘢痕组织,不仅阻碍了血管的重建,而且限制了轴突的再生,阻碍了神经功能的恢复^[22-24]。因此,有效地抑制 SCI 后 Collagen IV 的表达,促进 SCI 后 Collagen I 的表达已经成为 SCI 后损伤组织修复、神经功能再生的一个热点。大量研究表明,中医药在治疗 SCI 上有其独特的经验和优势^[25,26]。活血通督汤组方有黄芪、地龙、泽兰叶、牛膝、川芎、赤芍、白芍七味中药,方中重用黄芪取其补气之功,气旺则血行,此为君药;地龙活血通络除痹,为臣药;泽兰叶、赤芍清热凉血、散瘀止痛,其性清凉有清心安神之功;白芍相须为用有活血散瘀,养血调经,缓急止痛之功;川芎活血行气,祛风止痛,为血中气药,牛膝强筋骨,引血下行,二者配伍可升达清阳,使气血调和;诸药合用,具有行气活血、化瘀通络之功。药理实验也已证明,补气药黄芪配伍活血药如地龙、川芎、赤芍等能发挥方剂配伍之协同作用,共筑行气活血之功^[27]。本实验结果显示,活血通督汤组大鼠自术后第 3 天开始,肢体运动功能恢复较明显。尼氏染色观察活血通督汤能改善受损神经元的形态,对神经元具有保护作用。免疫组化结果显示活血通督汤能提高 SCI 后 Collagen I 的表达,降低 SCI 后 Collagen IV 的表达,Western blot 检测进一步证实了这一结果。因此,活血通督汤能促进大鼠肢体运动功能的恢复,提高 SCI 后 Collagen I 的表达,抑制 Collagen IV 表达,Collagen I 表达升高后,损伤血管的重建能力加强,伤口的愈合增强,细胞应对外界的刺激及其生存环境、神经的传导功能得到进一步改善。同时由于 Collagen IV 表达降低,其所形成的瘢痕组织对轴突再生的阻碍作用也会减弱,神经功能的修复增强,因此损伤大鼠肢体运动功能得到改善。此外,由于 ECM 对于维持内环境稳定性具有重要意义,Collagen IV 作为 ECM 的重要组成部分,其表达的降低能够促进 ECM 恢复正常生理状态,加强组织间连接、对外界刺激的缓冲作用,从而维持内环境的稳定^[28],进一步促进 SCI 后损伤组织的修复以及大鼠神经功能的恢复。

参考文献

[1] Volarevic V, Erceg S, Bhattacharya SS, et al. Stem cell-

- based therapy for spinal cord injury[J]. *Cell Transplant*, 2013,22(8):1309-1323.
- [2] Min SH, Lee SH, Shim H, et al. Development of complete thoracic spinal cord transection model in rats for delayed transplantation of stem cells[J]. *Spine*, 2011,36(3):155-163.
- [3] Anik I, Kokturk S, Genc H, et al. Immunohistochemical analysis of TIMP-2 and collagen types I and IV in experimental spinal cord ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *J Spinal Cord Med*, 2011,34(3):257-264.
- [4] 刘宇,张纪浩,张俐. 运用张安桢教授治疗脊髓损伤经验的心得[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2014,22(2):63-65.
- [5] 张纪浩,张俐. 张俐教授妙用活血通督汤举隅[J]. *中华中医药杂志*, 2014,29(6):1875-1877.
- [6] 吴杨鹏,范筱,张俐. 活血通督汤对大鼠急性脊髓损伤后神经生长因子和胶质纤维酸蛋白表达的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2017,32(2):697-701.
- [7] 林庆宾,张俐. 活血通督汤对家兔脊髓缺血再灌注损伤 TNF- α 、IL-1 β 、IL-8 表达的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2015,30(7):2477-2480.
- [8] 陈凯. 活血通督汤对兔脊髓缺血再灌注损伤后肢运动功能及细胞凋亡的影响[D]. 福州:福建中医药大学,2014.
- [9] Dunham KA, Floyd CL. Contusion models of spinal cord injury in rats[M]. Totowa: Humana Press, 2011:345-362.
- [10] Chen WF, Chen CH, Chen NF, et al. Neuroprotective Effects of Direct Intrathecal Administration of Granulocyte Colony-Stimulating Factor in Rats with Spinal Cord Injury[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2015,21(9):698-707.
- [11] 徐叔云主编. 药理实验方法学[M]. 3 版,北京:人民卫生出版社, 2002:226-230.
- [12] Liu D, Hua J, Dong QR, et al. X-ray therapy promotes structural regeneration after spinal cord injury in a rat model[J]. *Journal of Orthopaedic Surgery & Research*, 2016,11(1):1-5.
- [13] Yang T, Wu L, Wang H, et al. Inflammation level after decompression surgery for a rat model of chronic severe spinal cord compression and effects on ischemia-reperfusion injury[J]. *Neurol Med Chir*, 2015,55(7):578-586.
- [14] Fang B, Li XQ, Bao NR, et al. Role of autophagy in the bimodal stage after spinal cord ischemia reperfusion injury in rats[J]. *Neuroscience*, 2016,328:107-116.
- [15] Ma Y, Qiang L, He M. Exercise therapy augments the ischemia-induced proangiogenic state and results in sustained improvement after stroke[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013,14(4):8570-8584.
- [16] Peeters SA, Engelen L, Buijs J, et al. Plasma matrix metalloproteinases are associated with incident cardiovascular disease and all-cause mortality in patients with type 1 diabetes: a 12-year follow-up study[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2017,16(1):55.

- [17] Yang J, Zhou Q, Wang Y, et al. Effect of high glucose on PKC and MMPs/TIMPs in human mesangial cells[J]. Journal of Central South University, 2009, 34(5): 425-431.
- [18] Cholas R, Hsu HP, Spector M. Collagen scaffolds incorporating select therapeutic agents to facilitate a reparative response in a standardized hemiresection defect in the rat spinal cord[J]. Tissue Eng Part A, 2012, 18(19-20): 2158-2172.
- [19] Badner A, Vawda R, Laliberte A, et al. Early intravenous delivery of human brain stromal cells modulates systemic inflammation and leads to vasoprotection in traumatic spinal cord injury[J]. Stem Cells Translational Medicine, 2016, 5(8): 911-1003.
- [20] Nd HE, Zou Y. Reinduced Wnt signaling limits regenerative potential of sensory axons in the spinal cord following conditioning lesion[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(36): 14663-14668.
- [21] Vilarino-Feltre G, Martínez-Ramos C, Monleón-de-la-Fuente A, et al. Schwann-cell cylinders grown inside hyaluronic-acid tubular scaffolds with gradient porosity[J]. Acta Biomaterialia, 2016, 30: 199-211.
- [22] Xu T, Yang MK, Sheng WB, et al. Role of telomerase reverse transcriptase in glial scar formation after spinal cord injury in rats[J]. Neurochem Res, 2013, 38(9): 1914-1920.
- [23] Hu R, Zhou J, Luo C, et al. Glial scar and neuroregeneration: histological, functional, and magnetic resonance imaging analysis in chronic spinal cord injury[J]. J Neurosurg Spine, 2010, 13(2): 169-180.
- [24] Zhang YK, Liu JT, Peng ZW, et al. Different TLR4 expression and microglia/macrophage activation induced by hemorrhage in the rat spinal cord after compressive injury[J]. J Neuroinflammation, 2013, 10(1): 881.
- [25] 张文贤, 吕江宏, 白登彦, 等. 中药银杏叶提取物联合腺病毒介导神经营养素-3 基因的神经干细胞移植治疗急性脊髓损伤的实验研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2010, 18(5): 16-18.
- [26] 李东哲. 川芎嗪对大鼠急性脊髓损伤后微血管及胶原成分的影响[D]. 长沙: 中南大学, 2014.
- [27] 俞天虹, 潘华阳. 补阳还五汤及其拆方对脑缺血大鼠神经功能及血管生成的影响[J]. 中国脑血管病杂志, 2017, 14(2): 87-93.
- [28] 邱文. Sublytic C5b-9 诱导 GMCs 增殖和 ECM 分泌的机制研究[D]. 南京: 南京医科大学, 2009.

(收稿日期: 2017-10-14)