

·特邀综述·

# 电针督脉经穴联合成体干细胞移植策略 在修复脊髓损伤中的研究进展

曾园山<sup>1, 2, 3</sup>

(1. 中山大学 中山医学院组织胚胎学教研室, 广东 广州 510080; 2. 广东省脑功能与脑疾病重点实验室, 广东 广州 510080; 3. 中山大学脊髓损伤研究所, 广东 广州 510120)

**作者简介:** 曾园山, 医学博士, 教授。现任中山大学组织胚胎学教研室主任、中山大学脊髓损伤研究所副所长、广东省脑功能与脑疾病重点实验室副主任、中国解剖学会常务理事、广东省解剖学会名誉理事长、广东省细胞生物学会副理事长、广东省人体生物组织工程学会副理事长。现研究方向是: 组织工程神经网络修复脊髓损伤; 电针联合干细胞移植修复脊髓损伤。迄今在国际学术期刊上发表学术论文60多篇, 其中有影响力的专业性杂志包括 *Biomaterials*、*J Neurosci*、*Scientific Reports* 等。曾获国家卫生部科技进步奖。E-mail: zengyush@mail.sysu.edu.cn.



**摘要:** 本文以电针督脉经穴、内源性神经营养因子表达、移植的成体干细胞源性神经元与脊髓宿主神经元环路整合修复脊髓损伤为主线, 概述了电针督脉经穴联合成体干细胞移植改善脊髓损伤组织微环境重建神经元传导通路机制—电针督脉经穴刺激全横断脊髓损伤或脊髓脱髓鞘损伤的大鼠脊膜支传入神经纤维将信息传入脊髓, 激活脊髓组织细胞合成和分泌神经营养素-3 (NT-3), 介导表达NT-3受体TrkC的外源性神经干细胞 (NSC) 和骨髓间充质干细胞 (MSC) 在全横断脊髓损伤/移植处或脊髓脱髓鞘损伤/移植处存活、分化和迁移, 替换和保护受损的宿主神经元、改善受损组织微环境、促进神经纤维再生及其髓鞘形成、改善大脑皮层运动诱发电位以及瘫痪肢体的运动功能。

**关键词:** 电针; 督脉经穴; 神经营养素-3; 神经干细胞; 骨髓间充质干细胞; 移植; 脊髓损伤; 脊髓脱髓鞘

**中图分类号:** R245.97      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1672-3554(2017)06-0801-07

## Study on Combination Strategy of Governor Vessel Acupoints Electroacupuncture and Adult Stem Cell Transplantation in Repaired Spinal Cord Injury

ZENG Yuan-Shan<sup>1, 2, 3</sup>

(1. Department of Histology and Embryology, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Brain Function and Disease, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 3. Institute of Spinal Cord Injury, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

**Abstract:** On the basis of an outline on Governor Vessel acupoints electroacupuncture, endogenous neurotrophic factor expression, grafted adult stem cell-derived neurons integrating to spinal host neuron circuit for repairing spinal cord injury, it is summarized that mechanism of a combination of Governor Vessel acupoints electroacupuncture and grafted adult stem cells improving the tissue microenvironment of spinal cord injury to reestablish neuron conduction pathway. Governor Vessel acupoints electroacupuncture stimulate meningeal branch of spinal nerve in rat spinal cord transected or demyelinated. The stimulation message is input into spinal cord through afferent nerve, which activates spinal cord cells synthesizing and secreting neurotrophin-3 (NT-3). The NT-3 can promote the survival, differentiation and migration of exogenous neural stem cells (NSC) and bone marrow mesenchymal stem cells (MSC) expressing tyrosine kinase receptor C (TrkC) at the injury/graft site or demyelination/graft site in the spinal cord transected or

收稿日期: 2017-08-12

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(30472132; 30973721; 8167150879; 81774397)

demyelinated. The combined therapeutic strategy may replace and protect host neurons injured, perfect tissue microenvironment injured, promote nerve fiber regenerating, and improve motor evoked potential of cerebral cortex and motor function of paralysis limbs.

**Key words:** electroacupuncture; Governor Vessel acupoints; neurotrophin-3; neural stem cells; bone marrow mesenchymal stem cells; transplantation; spinal cord injury; spinal cord demyelination

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2017, 38(6): 801-807; 847]

严重的脊髓损伤尚无行之有效的治疗策略<sup>[1-2]</sup>,这是受损伤的脊髓组织微环境不利于修复断裂的神经元传导通路导致的结果。因此,要设法改善脊髓损伤组织的微环境,积极寻找有效治疗脊髓损伤的新策略已成为国际研究的热点。应用外源性神经营养因子治疗是修复脊髓损伤重要的策略之一,所运用的多是神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)和神经营养素-3(neurotrophin-3, NT-3)等神经营养因子。现已证明NGF主要作用于感觉神经元,对运动神经元作用不明显,而BDNF作用的神经元类型范围较窄小。许多研究认为,NT-3对神经元的发育、分化以及对受损伤中枢神经元的存活及其轴突再生有重要作用<sup>[3]</sup>。有研究还证实,NT-3对脊髓损伤处皮质脊髓束神经纤维的再生有明显的促进作用<sup>[4]</sup>——这也在我们先前的研究中得到了验证<sup>[5]</sup>。但是,外源性NT-3难以直接和持续在脊髓损伤处及其邻近组织细胞起作用。在中国传统医学(中医)中,脊髓损伤导致的截瘫属于“痿痹”、“风痲”和“痿证”的范畴,认为这是由于督脉损伤所致。结果是经脉不通,气血不达四末,筋脉肌肉失于气血涵养而致萎废不用。如果针刺督脉经穴直达病所,即能培补真阳,又可通经气使之上下贯通,阳气通达,则截瘫可愈。根据此理论,中医在应用针刺治疗脊髓创伤所导致的截瘫时,均首选督脉经穴<sup>[6]</sup>。电针督脉经穴(是指在刺入督脉经穴的毫针上通以微量低频脉冲电流)既可以调节经气,疏通气血,又是一种脉冲电场,故具有针刺和电场的双重作用。已有临床研究表明,以电针督脉经穴为主治疗创伤性截瘫有一定的疗效<sup>[6-7]</sup>。近十多年来,已证实电针或电针督脉经穴可以通过调控神经营养因子、神经递质、神经肽和一些信号通路蛋白分子等的改变,减轻脊髓损伤后的继发性损害,保护神经元并促进其神经纤维的再生和功能的修复<sup>[8-12]</sup>。电针督脉经穴虽然可以通过调控脊髓损伤组织分泌神经营养因子,改

善损伤组织微环境,但是,电针督脉经穴策略不能激活和替换因脊髓创伤而死亡的神经元。在脊髓损伤处移植干细胞已成为近十多年来新发展的一种细胞治疗策略<sup>[1]</sup>。在发育中或成年的脊髓损伤处植入胚胎神经组织,通过其中的神经干细胞(neural stem cells, NSC)或分裂后的幼年神经元替换病伤死亡的神经元,并重建神经环路及其功能<sup>[13]</sup>。NSC在一定条件下能够分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞。目前,用于移植的NSC主要来源于成体组织,这种NSC可用于脊髓损伤修复的基础研究。NSC移植可能通过以下机制修复受损伤的脊髓:①替换因创伤而死亡的神经元,重建神经网络<sup>[14]</sup>;②使再生神经纤维重新形成髓鞘<sup>[15]</sup>;③分泌神经营养因子改善受损伤脊髓微环境,促进神经纤维再生<sup>[16]</sup>等。此外,对骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal cells, MSC)的移植或输注研究发现,MSC来源丰富、取材简便、易分离培养,可迅速扩增,具有多向分化潜能。将其移植到体内,可诱导分化为少突胶质细胞、神经元、成软骨细胞、脂肪细胞、成肌细胞等<sup>[17-18]</sup>。MSC被用于自体移植可避免伦理和免疫排斥等问题,因而可成为多种疾病的细胞治疗载体。因此,MSC已作为脊髓损伤细胞治疗新的细胞来源<sup>[1]</sup>。但是,直接在脊髓损伤处移植NSC或MSC,其被诱导分化为神经元的占少数,不能起到较好替换死亡神经元的作用。因此,需要进一步提高移植的成体干细胞在脊髓损伤处被诱导分化为神经元的效率、改善受损伤组织的微环境、促进宿主神经元轴突再生及其髓鞘形成。为了探讨这些科学问题,本文主要结合作者研究团队的前期工作就电针督脉经穴联合成体干细胞移植策略近十多年来在修复脊髓损伤中的研究作一概述。

## 1 电针督脉经穴对脊髓损伤修复具有一定的特异性作用

随着针刺(或电针)与神经系统之间相互作

用机制的深入研究,其研究结果已逐渐被众多学者所接受<sup>[19]</sup>。电针可以引起神经系统相关神经元合成和分泌某些特异性蛋白和神经肽,它们可作为电针在机体内产生生物效应的物质基础。这使得特异性蛋白和神经肽成为近十多年来电针作用机制的研究热点。韩济生院士等研究发现<sup>[20]</sup>,采用不同的电针频率可以引起中枢神经系统释放不同种类的神经肽,从而有助于激发机体得到康复。神经肽是一类神经递质或神经调质,其作用特点是启动慢,持续时间长,此与针感所伴的慢传导性颇为相似。脊髓是外周感觉传入的第一站,其背角接受复杂的肽能神经投射。有研究证实<sup>[21]</sup>,穴位区域分布的肽能神经纤维是产生针感的重要结构之一,肽类物质(如SP、VIP和NPY)参与了针感过程。作者也推测,电针督脉经穴后有可能引起受损伤脊髓组织细胞分泌具有穴位特异性的蛋白和神经肽,从而促进受损伤脊髓神经元的存活。随后我们的研究发现<sup>[11]</sup>,电针督脉经穴可以促进大鼠受损伤脊髓组织更多表达穴位特异性蛋白——膜联蛋白A5(annexin A5, ANXA5)和塌陷反应介导蛋白(collapsin response mediator protein 2, CRMP2),而电针非穴位和电针夹脊穴则较少表达这两种蛋白质;并观察到这两种蛋白对受损伤的脊髓背核神经元有保护作用。我们还发现<sup>[22-23]</sup>,电针督脉经穴、电针非穴位和电针夹脊穴对大鼠受损伤脊髓组织降钙素基因相关肽(一种神经肽, calcitonin gene-related peptide, CGRP)的含量有不同的影响,其中,电针督脉经穴能够明显提高大鼠受损伤脊髓组织CGRP的含量。而且观察到,CGRP能够促进受损伤脊髓背核和中脑红核的神经元存活。进一步研究发现,电针督脉经穴比电针夹脊穴更有效地降低脊髓背核受损伤神经元表达一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS),结果促进了背核神经元存活<sup>[24]</sup>。这些研究表明,电针督脉经穴对脊髓损伤修复具有一定的特异性作用。

## 2 电针督脉经穴可能是通过脊膜支传入刺激信息到达脊髓内部

采用督脉经穴电针治疗脊髓损伤一般是从脊

髓损伤处上、下两个节段相对应的脊柱椎体棘突下方的阿是穴位进针,然后在上、下两根毫针上分别接通电针治疗仪的正负电极<sup>[22]</sup>。因此我们推测,这种方式的督脉经穴电针刺激可能直接作用于脊髓损伤处邻近节段所发出的脊神经分支——脊膜支(meningeal branch of spinal nerve, 分布到韧带、椎骨骨膜和硬脊膜等),并通过背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)感觉神经元的传入神经纤维将电针刺激信息输送达脊髓内部;也就是说督脉经穴区域分布有脊膜支的神经末梢。为此,我们将带绿色荧光的假狂犬病病毒(pseudorabies virus, PRV)注射到督脉经穴区域,目的是跨DRG标记进入脊髓内部的脊膜支传入神经纤维。结果显示,在相应节段的脊髓背角出现有绿色荧光标记的神经纤维(资料尚未发表)。这表明,督脉经穴区域分布的脊膜支传入神经纤维可以到达脊髓内部。

基于上述研究发现,电针督脉经穴能够明显提高受损伤脊髓组织CGRP的水平,我们有理由设想,受损伤脊髓组织CGRP水平的升高可能与脊膜支传入神经纤维传递电针刺激信息到达脊髓内部有关。一般认为,脊髓组织本身不能合成CGRP,它主要来源于相应脊髓节段的DRG感觉神经元合成,并通过其发出的传入神经纤维输送到脊髓背角,主要是参与初级感觉信息的传递<sup>[25]</sup>。为了进一步验证上述设想,我们应用单侧背根切断联合利多卡因穴位注射实施督脉经穴脊膜支传入神经纤维信息阻断方法再进行相关督脉经穴电针,结果发现,相关受损伤脊髓节段的CGRP含量明显减少。这表明,督脉经穴电针可能是通过分布在督脉经穴区域的脊膜支传入神经纤维将信息传入脊髓,提高大鼠受损伤脊髓组织的CGRP含量<sup>[22]</sup>。

## 3 电针督脉经穴激活全横断脊髓损伤和脊髓脱髓鞘损伤组织细胞合成和分泌NT-3

在全横断脊髓损伤和脊髓脱髓鞘损伤后,其损伤区以及邻近的组织细胞随之发生一系列病理生理变化,其中涉及减少神经营养因子的合成和分泌,这是脊髓损伤后神经修复失败的主要原因之一。电针督脉经穴的治疗效应<sup>[27]</sup>,其中一个重要机制是体现在它可能是通过促进受损伤的脊髓组

组织细胞合成和分泌内源性神经营养因子来实现的。

NT-3是神经营养因子的一种,是脊髓神经修复微环境中的重要因素之一,它在防止受损伤脊髓神经元死亡、维持神经元存活、增强神经元轴突再生能力、促进内源性少突胶质前体细胞分化为成熟的少突胶质细胞重建髓鞘结构等方面起重要作用<sup>[28]</sup>。我们的研究发现,电针督脉经穴可以促进大鼠全横断脊髓损伤组织细胞合成和分泌NT-3<sup>[28-30]</sup>。这些细胞包括神经元、星形胶质细胞、少突胶质细胞和巨噬细胞/小胶质细胞。从电针督脉经穴的第1天、第3天和第7天,全横断脊髓损伤组织细胞逐渐增加NT-3的分泌量。在第7天时,NT-3的分泌量已经显示出有明显的统计学意义<sup>[28]</sup>。我们还检测了电针督脉经穴的第14天和第28天,全横断脊髓损伤组织细胞分泌NT-3的水平,结果显示,电针督脉经穴组的NT-3水平要明显高于对照组<sup>[29-30]</sup>。此外,我们也发现电针督脉经穴能够明显提高大鼠脊髓脱髓鞘损伤组织细胞合成和分泌NT-3<sup>[31-33]</sup>。这些数据都表明,电针督脉经穴可以通过增强神经营养因子的合成和分泌,改善受损伤脊髓组织的微环境。

#### 4 电针督脉经穴通过NT-3介导移植的NSC或MSC修复全横断脊髓损伤

在脊髓损伤后发现,大约有一半伤者为完全性脊髓损伤。这些伤者脊髓损伤段的神经组织不复存在或剩余很少部分,恢复截瘫缺少解剖学基础。因此,需要脊髓结构修复才有希望获得更有效的治疗<sup>[34]</sup>。一般认为,细胞移植是其中一种修复脊髓结构有效的策略<sup>[1]</sup>。例如,将NSC或MSC移植到受损伤的脊髓内,通过脊髓损伤处微环境的诱导分化来替换死亡的神经元和神经胶质细胞,从而促进脊髓结构和功能的修复。我们的研究结果也表明,NSC移植入受损伤脊髓后能够分化为神经元及神经胶质细胞,减轻脊髓的继发性损伤,保护受损伤神经元,改善脊髓的运动功能<sup>[35]</sup>。然而,单纯移植NSC,其在受损伤脊髓内分化为神经元的比率低,更易分化为星形胶质细胞。因此,提高NSC向神经元分化的数量是细胞移植治疗脊髓损伤亟待解决的难题。

为此,我们将能够增强受损伤脊髓组织分泌NT-3、改善微环境的电针督脉经穴方法联合NSC

移植,结果观察到,电针督脉经穴具有促进移植NSC在受损伤脊髓内存活、迁移和分化为神经元的作用<sup>[36]</sup>;同时促进宿主受损伤神经元存活及其神经纤维再生,改善大脑皮层运动诱发电位以及瘫痪后肢的肌萎缩和活动能力<sup>[37-39]</sup>。我们认为,这些与电针督脉经穴增加受损伤脊髓组织细胞分泌内源性NT-3有关。有研究表明,NT-3介导的细胞内ERK信号通路能够导致NSC分化为神经元,因为应用ERK抑制剂后NSC源性神经元明显减少<sup>[40]</sup>。

虽然电针督脉经穴联合NSC移植能够促进受损伤脊髓的结构和功能修复,但是NSC移植存在伦理和取材等问题,临床转化应用会受到限制。然而,MSC可以自体移植,不存在免疫排斥及伦理等问题,已经被广泛应用于骨、软骨、肌腱及肌肉的损伤修复<sup>[41]</sup>。至今,应用MSC移植治疗脊髓损伤也受到许多研究者的关注<sup>[42]</sup>。我们在体外发现,应用NT-3可以促进过表达NT-3受体(tyrosine kinase receptor C, TrkC)的MSC分化为神经元样细胞<sup>[30]</sup>。在此基础上,我们采用电针督脉经穴联合TrkC基因修饰的MSC移植发现<sup>[30,43-45]</sup>,这种治疗策略可以提高全横断脊髓损伤/移植区及其邻近组织的NT-3水平,能够更好促进过表达TrkC的MSC存活及其分化为神经元样细胞和少突胶质样细胞,下调神经再生抑制因子—硫酸软骨素蛋白多糖(chondroitin sulfide proteoglycan, CSPG)和胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP),以及上调神经再生促进因子—层粘连蛋白(laminin, LN),还可以促进降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)阳性神经纤维(上行)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)阳性神经纤维(下行)和皮质脊髓束神经纤维(下行)再生进入全横断脊髓损伤/移植区,改善皮层运动诱发电位以及瘫痪肢体的运动功能。

#### 5 督脉经穴电针通过神经营养素-3介导移植的MSC修复脊髓脱髓鞘损伤

无论是机械性脊髓损伤,还是化学性脊髓损伤,均能导致损伤区神经纤维的脱髓鞘。我们前期研究发现,单独电针督脉经穴治疗可以促进脊髓脱髓鞘区的NT-3合成和分泌,也能增加脊髓内源性少突胶质前体细胞的数量<sup>[31,46]</sup>。然而,这些内源性少突胶质前体细胞的数量是有限的,即使

是移植在脊髓损伤区的MSC也极少分化为少突胶质样细胞<sup>[43-45]</sup>。已知NT-3可优先与其高亲和力受体TrkC结合,促进脊髓少突胶质前体细胞的存活和分化为髓鞘形成细胞<sup>[46-49]</sup>。因此,我们设想利用电针督脉经穴提高脊髓脱髓鞘区NT-3水平,促进移植TrkC基因修饰的MSC更多地分化为少突胶质样细胞,在神经纤维上形成髓鞘结构。研究发现<sup>[32]</sup>,电针督脉经穴联合过表达TrkC的MSC移植能够明显提高脊髓脱髓鞘损伤组织NT-3含量,促进脊髓脱髓鞘/移植处过表达TrkC的MSC存活及其分化为少突胶质细胞,重建髓鞘结构,修复脊髓脱髓鞘的神经元传导通路功能。我们的另一项研究也发现<sup>[33]</sup>,电针督脉经穴在提高脊髓脱髓鞘损伤组织NT-3水平的同时,促进脊髓脱髓鞘/移植处维甲酸(retinoic acid, RA)预诱导的MSC(表达TrkC)更多向少突胶质样细胞分化,形成髓鞘结构包绕裸露的轴突,改善脊髓神经元传导通路功能。这些研究结果可为临床治疗多发性硬化症等脱髓鞘疾病提供新策略。

## 6 小 结

综上所述,我们在过去十多年来以电针督脉经穴、内源性神经营养因子表达、移植的成体干细胞存活及分化、与脊髓宿主神经元整合修复脊髓损伤为研究主线,首次揭示了电针督脉经穴联合成体干细胞移植改善脊髓损伤组织微环境重建神经元传导通路机制—电针督脉经穴刺激全横断脊髓损伤或脊髓脱髓鞘损伤的大鼠脊膜支传入神经纤维将信息传入脊髓,激活脊髓组织细胞合成和分泌NT-3,介导表达NT-3受体TrkC的外源性NSC和MSC在全横断脊髓损伤/移植处或脊髓脱髓鞘损伤/移植处存活、分化和迁移,替换和保护受损的宿主神经元、改善受损组织微环境、促进神经纤维再生及其髓鞘形成、改善皮层运动发电位以及瘫痪肢体的运动功能。在此基础上,我们将进一步研究电针督脉经穴通过NT-3介导炎症调节,以促进移植的干细胞源性神经网络在受损伤脊髓内存活及功能性整合。上述研究为中国医学应用电针督脉经穴治疗脊髓损伤提供了理论和实验依据;更为将来临床治疗脊髓损伤提供了创新性策略。所以,上述研究既有重要的科学意义,又有潜在的临床转化前景。同时,上述研究

成果被许多有影响力的SCI收录期刊录用和引用,表明上述研究不但以科学的方法向世界介绍了中医,更让世界接受了中医的科学性,为中医和中西医结合现代化做出应有贡献。

### 参考文献:

- [1] Assinck P, Duncan GJ, Hilton BJ, et al. Cell transplantation therapy for spinal cord injury [J]. *Nat Neurosci*, 2017, 20(5):637-647.
- [2] National Spinal Cord Injury Statistical Center. Spinal cord injury facts and figures at a glance [J]. *J Spinal Cord Med*, 2010, 33(4):439-440.
- [3] Lu P, Yang H, Jones LL, et al. Combinatorial therapy with neurotrophins and cAMP promotes axonal regeneration beyond sites of spinal cord injury [J]. *J Neurosci*, 2004, 24(28):6402-6409.
- [4] Taylor SJ, McDonald JW 3rd, Sakiyama-Elbert SE. Controlled release of neurotrophin-3 from fibrin gels for spinal cord injury [J]. *J Control Release*, 2004, 98(2):281-294.
- [5] Guo JS, Zeng YS, Li HB, et al. Cotransplant of neural stem cells and NT-3 gene modified Schwann cells promote the recovery of transected spinal cord injury [J]. *Spinal Cord*, 2007, 45(1):15-24.
- [6] 许建鹏,王明久,刘学茹,等.以督脉电针为主治疗脊髓损伤80例的临床观察[J].*针灸临床杂志*, 1994, 10(6):13-15.  
Xu JP, Wang MJ, Liu XR, et al. Clinical observation of 80 cases of treatment on spinal cord injury with Governor Vessel acupoints electroacupuncture [J]. *J Clin Acup Moxib*, 1994, 10(6):13-15
- [7] 王伟,谢杰,方坚,等.督脉电针治疗脊髓损伤的研究进展[J].*针灸临床杂志*, 2005, 20(1):60-62.  
Wang W, Xie J, Fang J, et al. The research progress about Spinal cord injury treatment of Du channel electroacupuncture [J]. *J Clin Acup Moxib*, 2005, 20(1):60-62.
- [8] Liu SJ, Zheng SS, Den QQ, et al. Effects of Governor Vessel electroacupuncture on the systematic expressions of NTFs in spinal cord transected rats [J]. *Neuropeptides*, 2014, 48(4):239-247.
- [9] 李波霖,周宾宾,金昕,等.督脉对比夹脊电针治疗对脊髓损伤大鼠下肢功能恢复作用的网状Meta分析[J].*中国中医基础医学杂志*, 2016, 22(12):1676-1680.  
Li BL, Zhou BB, Jin X, et al. Effect of electroacupuncture on the recovery of lower limbs of rats after spinal

- cord injury on the contrast of Jiaji and Du Meridian [J]. *J Basic Chin Med*, 2016, 22(12):1676-1680.
- [10] 时素华, 吕威, 秦丽娜, 等. 基于 Raf/Ras/ERK 信号通路探讨督脉电针对脊髓损伤 1、7d 后 MEK2、p-ERK1 的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(7): 2919-2923.
- Shi SH, Lv W, Qin LN, et al. Effects of governor channel electroacupuncture treatment on MEK2, p-ERK1 after 1, 7 days on spinal c injury based on Raf/Ras/ERK signal pathway [J]. *China J Trad Chin Med Pharm*, 2017, 32(7):2919-2923.
- [11] Li WJ, Pan SQ, Zeng YS, et al. Identification of acupuncture-specific proteins in the process of electro-acupuncture after spinal cord injury [J]. *Neurosci Res*, 2010, 67(4):307-316.
- [12] 郭家松, 曾园山, 陈玉玲, 等. 督脉电针治疗大鼠全横断性脊髓损伤的实验研究 [J]. *中国针灸*, 2003, 23(6):351-354.
- Guo JS, Zeng YS, Chen YL, et al. Experimental study on treatment of spinal cord transection by electroacupuncture at the Governor Vessel in the rat [J]. *Chin Acup Moxib*, 2003, 23(6):351-354.
- [13] Bonner JF, Steward O. Repair of spinal cord injury with neuronal relays: From fetal grafts to neural stem cells [J]. *Brain Res*, 2015, 1619:115-123.
- [14] Muheremu A, Peng J, Ao Q. Stem cell based therapies for spinal cord injury. *Tissue Cell*, 2016, 48(4):328-333.
- [15] Mothe AJ, Kulbatski I, Parr A, et al. Adult spinal cord stem/progenitor cells transplanted as neurospheres preferentially differentiate into oligodendrocytes in the adult rat spinal cord [J]. *Cell Transplant*, 2008, 17(7):735-751.
- [16] Garbossa D, Boido M, Fontanella M, et al. Recent therapeutic strategies for spinal cord injury treatment: possible role of stem cells [J]. *Neurosurg Rev*, 2012, 35(3):293-311.
- [17] Akiyama Y, Radtke C, Kocsis JD. Remyelination of the rat spinal cord by transplantation of identified bone marrow stromal cells [J]. *J Neurosci*, 2002, 22(15):6623-6630.
- [18] Ding DC, Shyu WC, Lin SZ. Mesenchymal stem cells [J]. *Cell Transplantation*, 2011, 20(1):5-14.
- [19] 鞠大宏, 杨介宾, 宋开源, 等. 针刺镇痛的神经内分泌免疫调节环路的实验研究 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 1998, 4(2):29-34.
- Ju DH, Yang JB, Song KY, et al. Experimental studies on the neuro-endocrine-immune regulating circuit of acupuncture analgesia [J]. *J Basic Chin Med*, 1998, 4(2):29-34.
- [20] 韩济生. 能否通过外周电刺激引起中枢神经肽的释放 [J]. *北京大学学报(医学版)*, 2002, 34(5):408-413.
- Han JS. Induction of the release of central neuropeptides by peripheral electrical stimulation [J]. *J Peking Univ (Health Sci)*, 2002, 34(5):408-413.
- [21] 潘朝宠, 沈德凯, 金文秀, 等. 穴位针感与神经肽相关的研究 [J]. *皖南医学院学报*, 1993, 12(2):82-85.
- Pan CC, Shen DK, Jin WX, et al. The correlation of neuropeptides with needling sensation response of acupoints [J]. *Acta Academiae Medicinae Wannan*, 1993, 12(2):82-85.
- [22] Li WJ, Li SM, Ding Y, et al. Electro-acupuncture up-regulates CGRP expression after rat spinal cord transection [J]. *Neurochem Int*, 2012, 61(8):1397-1403
- [23] 李淑敏, 李文杰, 曾园山, 等. 不同局部穴位电针对大鼠受损伤脊髓组织降钙素基因相关肽表达的影响 [J]. *中国康复医学杂志*, 2010, 25(9):823-827.
- Li SM, Li WJ, Zeng YS, et al. Effects of different local points of electroacupuncture on the expression of calcitonin gene-related peptide in rats with spinal cord injury [J]. *Chin J Rehabil Med*, 2010, 25(9):823-827.
- [24] 丁英, 曾园山, 陈雅云, 等. 督脉电针与夹脊电针对受损伤的脊髓背核神经元存活及其表达 NOS 的影响比较 [J]. *中国康复医学杂志*, 2006, 21(1):8-10.
- Ding Y, Zeng YS, Chen YY, et al. A comparison of the effects of electric acupuncture stimulation between Dumai and Jiaji on the neuronal survival and expression of nitric oxide synthase at Clarke's nucleus in injured spinal cord [J]. *Chin J Rehabil Med*, 2006, 21(1):8-10.
- [25] Lyengar S, Ossipov MH, Johnson KW. The role of calcitonin gene-related peptide in peripheral and central pain mechanisms including migraine [J]. *Pain*, 2017, 158(4):543-559.
- [26] Shin HK, Lee SW, Choi BT. Modulation of neurogenesis via neurotrophic factors in acupuncture treatments for neurological diseases [J]. *Biochem Pharmacol*, 2017, Apr 29;pii: S0006-2952(17)30246-0. doi: 10.1016/j.bcp.2017.04.029. [Epub ahead of print].
- [27] Harvey AR, Lovett SJ, Majda BT, et al. Neurotrophic factors for spinal cord repair: Which, where, how and when to apply, and for what period of time? [J]. *Brain*

- Res, 2015, 1619:36-71.
- [28] Zhang K, Liu Z, Li G, et al. Electro-acupuncture promotes the survival and differentiation of transplanted bone marrow mesenchymal stem cells pre-induced with neurotrophin-3 and retinoic acid in gelatin sponge scaffold after rat spinal cord Transection [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2014, 10(4):612-625.
- [29] 李晓滨, 曾园山, 陈玉玲, 等. 督脉电针与神经干细胞移植联合应用促进大鼠受损伤脊髓组织产生神经生长活性物质 [J]. *解剖学报*, 2006, 37(6):622-626.
- Li XB, Zeng YS, Chen YL, et al. Combination of Goremor Vessel electroacupuncture and transplanted neural stem cells promotes injured spinal cord tissue producing nerve growth active substances [J]. *Acta Anatomica Sinica*, 2006, 37(6):622-626.
- [30] Ding Y, Yan Q, Ruan JW, et al. Electroacupuncture promotes the differentiation of transplanted bone marrow mesenchymal stem cells overexpressing TrkC into neuron-like cells in transected spinal cord of rats [J]. *Cell Transplant*, 2013, 22(1):65-86.
- [31] Huang SF, Ding Y, Ruan JW, et al. An experimental electro-acupuncture study in treatment of the rat demyelinated spinal cord injury induced by ethidium bromide [J]. *Neurosci Res*, 2011, 70(3):294-304.
- [32] Ding Y, Zhang RY, He B, et al. Combination of electroacupuncture and grafted mesenchymal stem cells overexpressing TrkC improves remyelination and function in demyelinated spinal cord of rats [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5:9133
- [33] Liu Z, He B, Zhang RY, et al. Electroacupuncture promotes the differentiation of transplanted bone marrow mesenchymal stem cells pre-induced with neurotrophin-3 and retinoic acid into oligodendrocyte-like cells in demyelinated spinal cord of rats [J]. *Cell Transplant*, 2015, 24(7):1265-1281.
- [34] Heimbürger RF. Return of function after spinal cord transection [J]. *Spinal cord*, 2005, 43(7):438-440.
- [35] Zhang XB, Zeng YS, Zhang W, et al. Co-transplantation of neural stem cells and NT-3 overexpressing Schwann cells in transected spinal cord [J]. *J Neurotrauma*, 2007, 24(12):1863-1877.
- [36] Chen YY, Zhang W, Chen YL, et al. Electro-acupuncture improves survival and migration of transplanted neural stem cells in injured spinal cord in rats [J]. *Acupunct Electrother Res*, 2008, 33(1-2):19-31.
- [37] 李晓滨, 曾园山, 陈玉玲, 等. 督脉电针与神经干细胞移植联合应用促进脊髓全横断大鼠受损伤的神经元存活及其轴突再生 [J]. *解剖学报*, 2006, 37(1):30-35.
- Li XB, Zeng YS, Chen YL, et al. A study on the combination of Goremor Vessel electroacupuncture and transplanted neural stem cells to promote the survival and axonal regeneration of injured neurons in completely transected spinal cord in rats [J]. *Acta Anatomica Sinica*, 2006, 37(1):30-35.
- [38] 李晓滨, 曾园山, 陈玉玲, 等. 督脉电针与神经干细胞移植联合应用促进大鼠脊髓全横断损伤的前角运动神经元存活以及减轻后肢肌萎缩 [J]. *中国康复医学杂志*, 2006, 21(2):104-107.
- Li XB, Zeng YS, Chen YL, et al. The combination of Goremor Vessel electroacupuncture and neural stem cells transplantation to promote the survival of injured motoneuron of anterior horn and to reduce the myatrophy of hind limbs in rat spinal cord transected completely [J]. *Chin J Rehabil Med*, 2006, 21(2):104-107.
- [39] 李晓滨, 曾园山, 陈玉玲, 等. 督脉电针与神经干细胞移植联合应用促进脊髓全横断大鼠后肢运动功能的恢复 [J]. *解剖学报*, 2004, 35(6):582-588.
- Li XB, Zeng YS, Chen YL, et al. The combination of Goremor vessel electroacupuncture and neural stem cells transplantation to promote the Recovery of motor function of hind limbs in rat spinal cord transected completely [J]. *Acta Anatomica Sinica*, 2004, 35(6):582-588.
- [40] Lim MS, Nam SH, Kim SJ, et al. Signaling pathways of the early differentiation of neural stem cells by neurotrophin-3 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 357(4):903-909.
- [41] Wang LT, Ting CH, Yen ML, et al. Human mesenchymal stem cells (MSC) for treatment towards immune- and inflammation-mediated diseases: Review of current clinical trials [J]. *J Biomed Sci*, 2016, 23(1):76.
- [42] Qu J, Zhang H. Roles of mesenchymal stem cells in spinal cord injury [J]. *Stem Cells Int*, 2017,2017:5251313. doi: 10.1155/2017/5251313. Epub 2017 May 28.
- [43] Ding Y, Yan Q, Ruan JW, et al. Electro-acupuncture promotes survival, differentiation of the bone marrow mesenchymal stem cells as well as functional recovery in the spinal cord-transected rats [J]. *BMC neurosci*, 2009, 10(1):35-47.