

文章编号:1005-0957(2022)10-1021-07

· 动物实验 ·

夹脊电针对脊髓损伤大鼠血管内皮生长因子及其受体的调节作用

薛玉满^{1,2}, 滕秀英^{1,2}, 刘洋¹, 许文婷^{1,2}, 陆丽娜^{1,2}, 时国臣³

(1. 黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150001; 2. 黑龙江中医药大学附属第二医院, 哈尔滨 150000; 3. 黑龙江中医药大学附属第一医院, 哈尔滨 150040)

【摘要】 目的 观察电针夹脊穴对脊髓损伤(SCI)大鼠血管内皮生长因子(VEGF)及其受体表达的影响,探讨其对SCI的修复作用及机制。**方法** 60只雌性Wistar大鼠随机分为假手术组、模型组、夹脊电针组,各组再分为7d和28d两个亚组,每组10只。采用Allen's改良式重物坠落法建立SCI大鼠模型,夹脊电针组在造模成功后给予夹脊电针治疗,于治疗7d和28d后应用BBB评分量表评定大鼠后肢功能,酶联免疫吸附法(ELISA)检测大鼠血清中碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)和血管生成素-1(Ang-1)水平变化,免疫组织化学法检测脊髓组织中VEGF的蛋白表达,蛋白质免疫印迹(Western blot)及反转录酶聚合酶链式反应(RT-PCR)法检测脊髓组织中VEGF及其受体VEGFR-2蛋白和mRNA的表达。**结果** 与假手术组比较,术后7d和28d模型组和夹脊电针组大鼠BBB评分显著降低($P<0.01$);血清中bFGF水平显著升高($P<0.01$),Ang-1的水平显著降低($P<0.01$);脊髓组织中VEGF的阳性细胞表达数明显增多($P<0.01$),VEGF及VEGFR-2的蛋白和mRNA均显著增多($P<0.05$, $P<0.01$);与模型组比较,夹脊电针组治疗7d和28d后,BBB评分显著升高($P<0.01$),大鼠血清bFGF和Ang-1水平显著升高($P<0.01$),同时脊髓组织VEGF的阳性细胞数及VEGF、VEGFR-2的蛋白和mRNA水平显著增加($P<0.01$)。**结论** 夹脊电针治疗能够有效恢复SCI大鼠运动能力,其作用机制可能与调控VEGF及其受体的表达,进而改善损伤组织微环境,促进血管生成相关。

【关键词】 电针;穴,夹脊;脊髓损伤;血管内皮生长因子;大鼠**【中图分类号】** R2-03 **【文献标志码】** A

DOI:10.13460/j.issn.1005-0957.2022.13.2017

Regulatory Effects of Electroacupuncture at Jiaji (EX-B2) on Vascular Endothelial Growth Factor and Its Receptor in Rats with Spinal Cord Injury XUE Yuman^{1,2}, TENG Xiuying^{1,2}, LIU Yang¹, XU Wenting^{1,2}, LU Lina^{1,2}, SHI Guochen³. 1.Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150001, China; 2.Second Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150000, China; 3.First Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

[Abstract] **Objective** To observe the impact of electroacupuncture at Jiaji (EX-B2) on vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor in rats with spinal cord injury (SCI) and discuss its role and mechanism in repairing SCI. **Method** Sixty female Wistar rats were randomized into a sham operation group, a model group, and a Jiaji electroacupuncture group; each group was further divided into 7 d and 28 d subgroups, with 10 rats in each group. The modified Allen's weight-drop method was used to induce SCI rat models. The Jiaji electroacupuncture group received electroacupuncture at Jiaji. The Basso, Beattie, and Bresnahan (BBB) locomotor rating scale was adopted to estimate

基金项目: 黑龙江省中医药科研项目(ZHY2020-162); 黑龙江中医药大学科研基金项目(201730);

黑龙江中医药大学科研基金项目(2019MS24); 黑龙江省第二批省级名中医师承项目(2021-2023)

作者简介: 薛玉满(1983—),女,主治医师,硕士,Email:xueyuman111@163.com**通信作者:** 时国臣(1962—),男,主任医师,硕士,Email:sgc4197@126.com

rat's hind-limb function on day 7 and day 28; the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the serum levels of basic fibroblast growth factor (bFGF) and angiogenin-1 (Ang-1); the protein expression of VEGF in spinal cord tissues was examined using the immunohistochemistry technique; the protein and mRNA expression levels of VEGF and VEGF receptor-2 (VEGFR-2) were tested using Western blot and real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) methods. **Result** Compared with the sham operation group, the BBB score dropped significantly in the 7 d and 28 d model and Jiaji electroacupuncture groups ($P < 0.01$); the serum bFGF level rose notably ($P < 0.01$), and the Ang-1 level declined markedly ($P < 0.01$); the positive cell number of VEGF increased notably ($P < 0.01$), and the protein and mRNA expression of VEGF and VEGFR-2 also increased substantially ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, the BBB score elevated significantly after 7 d or 28 d of treatments in the Jiaji electroacupuncture group ($P < 0.01$); the serum bFGF and Ang-1 levels increased noticeably ($P < 0.01$); the positive VEGF cells and the protein and mRNA expression levels of VEGF and VEGFR-2 also increased significantly in the spinal cord tissues ($P < 0.01$). **Conclusion** Electroacupuncture at Jiaji can effectively improve the motor function of SCI rats. The mechanism may be associated with regulating the expression of VEGF and its receptor to ameliorate the microenvironment of the injured tissues and promote angiogenesis.

[Key words] Electroacupuncture; Point, Jiaji (EX-B2); Spinal cord injury; Vascular endothelial growth factor; Rats

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是以脊髓组织出血、坏死和神经功能损伤为主要表现的一类中枢神经系统严重创伤。多由外伤所致,可造成下肢运动和感觉功能障碍,致残率高,极大地影响了患者的生活质量^[1]。SCI发生后原发损伤区域出现缺血、缺氧和炎症等一系列组织细胞的持续性损伤,即为继发性SCI。继发性SCI较原发的机械性损伤更为持久,但是具有可逆性^[2]。目前继发性SCI的发病机制仍未完全明确,临床尚没有针对性的治疗措施,如何抑制其进展来促进SCI神经功能的恢复成为现代医学研究的热点与难题。近年来,针灸对SCI的治疗效果受到广泛关注。针刺治疗不良反应小,起效迅速,而电针疗法较普通针刺更能扩大治疗范围,增强针感,在继发SCI及其并发症的治疗中发挥重要作用^[3-4]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种内皮细胞特异性血管生成肽,对内皮细胞增殖和血管生成具有促进作用^[5]。VEGF还可直接作用于神经元,对神经元起着营养、保护和促进生长的作用,对SCI修复具有重要意义^[6]。本课题组在前期实验中证实电针夹脊穴可改善SCI大鼠损伤区微环境,发挥对损伤神经元的修复功能^[7]。在此基础上,本实验拟通过研究夹脊电针对VEGF及其受体表达的影响,进一步探讨其促进损伤脊髓再生的分子机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

60只SPF级Wistar雌性大鼠,体质量(200±20)g,由黑龙江中医药大学提供,动物许可证号为SYXK(黑)2021-010。饲养于温度20~22℃,12h光照与黑暗交替的环境中,适应性饲养1周。所有动物实验均经黑龙江中医药大学实验动物福利伦理委员会审核通过,伦理审批号为20210306。

1.2 主要试剂与仪器

碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)和血管生成素-1(angiopoietin-1, Ang-1)的酶联接免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(m1004021, m1003017, 上海酶联生物科技公司);VEGF和血管内皮细胞生长因子受体2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR-2)、GAPDH(5211LF、5211SF、3700S, 美国CST公司)。电针治疗仪(常州英迪);石蜡切片和光学显微镜(德国Leica);高速冷冻离心机(美国Thermo);酶标仪(美国BIOTEK);电泳仪(美国Bio-Rad);PCR仪(美国ABC)。

1.3 分组与造模

将60只Wistar大鼠按体质量随机分为假手术组、模型组和夹脊电针组(每组20只),每组再分为7d和28d两个亚组(每个亚组10只)。模型组和夹脊电针组均采用Allen's改良式重物坠落法^[8]制备SCI大

鼠模型。大鼠经腹腔注射麻醉后,取仰卧位固定于手术台,常规消毒术区皮肤,标记 T₈ 棘突位置。以 T₈ 棘突为中心作一切口,分离皮下肌肉筋膜,暴露 T₇~T₉ 棘突,切除 T₈ 棘突椎板并暴露硬脊膜,从 10 cm 高处将冲击棒(5 g)自由坠落,击打大鼠脊髓致 SCI。大鼠躯体和后肢回缩,尾部摆动痉挛为击打成功,脊髓组织可见充血肿胀,硬脊膜无破损,以 BBB(Basso, Beattie, and Bresnahan locomotor rating scale, BBB)评分在 1~3 分为造模成功标准。假手术组只切除椎板而不损伤大鼠脊髓。各组大鼠术后腹腔注射青霉素,自由饮食饮水,每日按压膀胱 2 次促进排尿,直至大鼠恢复自主排尿。

1.4 电针干预

造模结束后,夹脊电针组给予电针夹脊穴治疗。取距脊髓损伤处上下两端的两段椎体旁夹脊穴^[9],毫针垂直进针 4~5 mm,使针尖触及椎板,连接电针仪,将正、负两端分别连接于同侧毫针针柄(上正下负),输出频率为 100 Hz,电流强度为 2 mA,连续波刺激,于造模成功后 30 min、4 h 和 8 h 各治疗 1 次,每次 15 min,以后每日 1 次,每次 15 min,持续治疗 7 d 和 28 d 后分别取材。假手术组、模型组不予治疗。

1.5 观察指标

1.5.1 BBB 评分

分别于造模前和夹脊电针干预 7 d、28 d 后采用 BBB 评分量表对各组大鼠后肢功能进行评分^[10]。将大鼠置于 100 cm×40 cm×7 cm 的观察盘中,轻轻敲打外部,使大鼠爬行,观察其下肢关节行走及协调情况并评分,分值为 0~21 分,评分越低表示大鼠运动功能障碍越严重。造模前各组大鼠 BBB 评分均为 21 分,将不足 21 分者剔除并补充新的大鼠,每次评分前检查大鼠膀胱充盈程度,将尿液充分排除,避免因尿滞留而影响其行动。

1.5.2 ELISA 法检测血清中 bFGF、Ang-1 的水平

大鼠于治疗 7 d、28 d 后经腹主动脉取血,将所采集血液 3 000 r/min 离心 15 min,分离血清,分装保存于 -20 °C 冰箱备用。临用前将血清置于室温平衡 1 h,以 3 000 r/min 离心 20 min,吸取上清液。分别设置空白孔、标准孔及样品孔,样品孔先加样品稀释剂 40 μL,再加入血清样品 10 μL 及辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗 100 μL,封板后 37 °C 恒温箱温育 30 min,再经洗涤、拍板后加入显色液,37 °C 避光温育 15 min,

加终止液后酶标仪 450 nm 检测各孔吸光度(OD 值),绘制标准曲线并计算直线回归方程,根据各样本 OD 值得出 bFGF、Ang-1 的水平。

1.5.3 免疫组织化学法检测脊髓组织 VEGF 的蛋白表达

取大鼠损伤脊髓组织于 4%甲醛溶液中固定 24 h,依次浸泡于二甲苯和梯度乙醇脱蜡和水化,滴加 0.3% 的 H₂O₂ 溶液室温下封闭 20 min 以去除过氧化物酶活性,蒸馏水冲洗后抗原热修复,5% BSA 溶液封闭 20 min,滴加一抗(1:1 000)于 4 °C 冰箱过夜,滴加二抗于 37 °C 温箱孵育 20 min,滴加 DAB 显色剂,蒸馏水冲洗,中性树脂封片,光学显微镜下观察 VEGF 的阳性表达,高倍镜下随机选取 5 个视野计数 VEGF 的阳性细胞表达数。

1.5.4 蛋白质免疫印迹(Western blot)法检测脊髓组织 VEGF 和 VEGFR-2 蛋白表达

大鼠脊髓组织研磨后置于 RIPA 裂解液中冰上裂解,提取组织总蛋白,BCA 试剂盒测定总蛋白浓度。制备分离胶和浓缩胶,每孔加入 30 μg 蛋白样品,电泳分离转膜,5%BSA 溶液封闭 2 h,一抗(1:1 000)4 °C 孵育过夜,TBST 溶液洗涤 3 次,每次 10 min,二抗室温孵育 1 h, TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,加入 ECL 发光液曝光,以 GAPDH 作为内参,采用 Image J 软件分别计算 VEGF、VEGFR-2 与 GAPDH 灰度值比值,得出其相对表达量。

1.5.5 Real-time PCR 检测脊髓组织 VEGF 和 VEGFR-2 mRNA 表达

将脊髓组织充分研磨后采用 Trizol 法提取组织总 RNA,紫外分光光度法检测脊髓组织总 RNA 浓度,将样品反转录为 cDNA,再按 PCR 试剂盒进行扩增反应,反应参数为 95 °C 预变性 10 min,95 °C 变性 1 min,62 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,以 GAPDH 作为内参,采用 2^{-ΔΔCT} 法分析 VEGF 和 VEGFR-2 的 mRNA 相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 各基因引物序列

基因名称	引物序列	长度
VEGF	5' -GCCCATGAAGTGGTGAAGTT- 3'	412 bp
	5' -TATGTGCTGGCTTTGGTGAG- 3'	
VEGFR-2	5' -TTTATTGGCTACAAGGAACG- 3'	535 bp
	5' -AGTCTGAATGGCGGTGGT- 3'	
GAPDH	5' -TACCCACGGCAAGTTCAACG- 3'	237 bp
	5' -CACCAGCATCACCCATTG- 3'	

1.6 统计学方法

采用 SPSS20.0 软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料采用均数±标准差表示;多时点资料采用重复测量数据的方差分析,两组同时点资料采用独立样本 *t* 检验,方差不齐采用 Dunnett's 检验,若不服从正态分布则用秩和检验比较。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 BBB 评分比较

假手术组大鼠术前、术后 7 d 和 28 d 的 BBB 评分差别无统计学意义 ($P > 0.05$)。与假手术组比较,模型组和夹脊电针组在术后 7 d 和 28 d 的 BBB 评分均显著降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,夹脊电针组治疗 7 d 和 28 d 后 BBB 评分显著升高 ($P < 0.01$)。详见表 2。

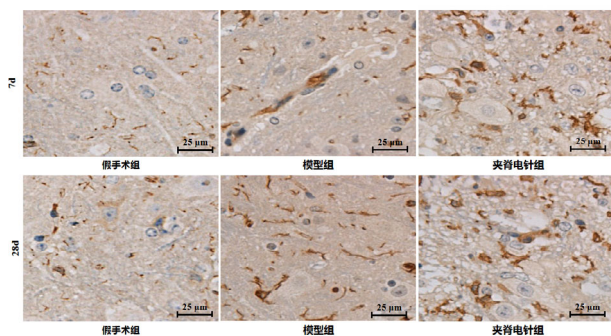
表 2 各组大鼠 BBB 评分比较 ($\bar{x} \pm s, n$)

组别	<i>n</i>	术前	治疗 7 d	治疗 28 d
假手术组	10	21.00±0.00	20.54±1.45	20.39±1.51
模型组	10	21.00±0.00	1.93±0.69 ¹⁾	2.71±0.87 ¹⁾
夹脊电针组	10	21.00±0.00	5.46±1.17 ¹⁾²⁾	13.58±1.96 ¹⁾²⁾

注:与假手术组比较 ¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较 ²⁾ $P < 0.01$

2.2 各组大鼠血清 bFGF 和 Ang-1 水平的变化

与假手术组比较,模型组大鼠术后 7 d 血清中



注:与假手术组比较 ¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较 ²⁾ $P < 0.01$

图 1 各组大鼠脊髓组织中 VEGF 阳性细胞比较 (IHC, ×400)

2.4 各组大鼠 VEGF 及其受体蛋白表达的比较

与假手术组比较,模型组大鼠术后 7 d 和 28 d 脊髓组织中 VEGF 和 VEGFR-2 蛋白表达均显著增多 ($P < 0.05$)。夹脊电针组治疗 7 d 和 28 d 后,较模型组进一步上调了脊髓组织 VEGF 和 VEGFR-2 的蛋白表达 ($P < 0.01$)。详见图 2。

bFGF 的水平明显升高 ($P < 0.01$);治疗 28 d 后,与假手术组比较,模型组 bFGF 水平降低但差异无统计学意义 ($P > 0.05$);与假手术组比较,模型组 Ang-1 的水平于治疗后 7 d、28 d 均显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较,夹脊电针组治疗 7 d 和 28 d 后血清中 bFGF、Ang-1 的水平均显著升高 ($P < 0.01$)。详见表 3。

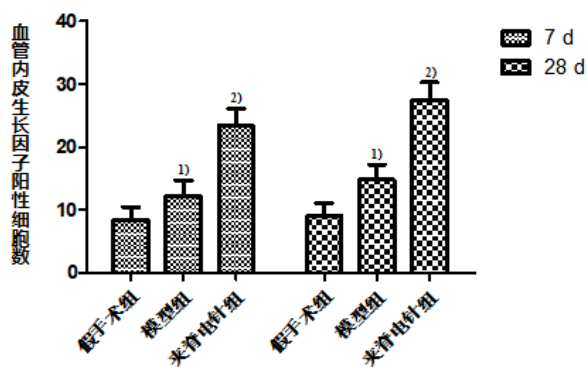
表 3 各组大鼠血清中 bFGF 和 Ang-1 的水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

时间	组别	<i>n</i>	bFGF (ng/mL)	Ang-1 (μg/mL)
治疗 7 d	假手术组	10	102.69±7.42	10.57±0.45
	模型组	10	126.30±10.86 ¹⁾	7.32±0.63 ¹⁾
	夹脊电针组	10	145.28±12.65 ¹⁾²⁾	8.85±0.59 ¹⁾²⁾
治疗 28 d	假手术组	10	108.51±8.75	10.89±0.76
	模型组	10	112.57±11.19	8.08±0.55 ¹⁾
	夹脊电针组	10	169.34±11.64 ¹⁾²⁾	9.62±0.48 ¹⁾²⁾

注:与假手术组比较 ¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较 ²⁾ $P < 0.01$

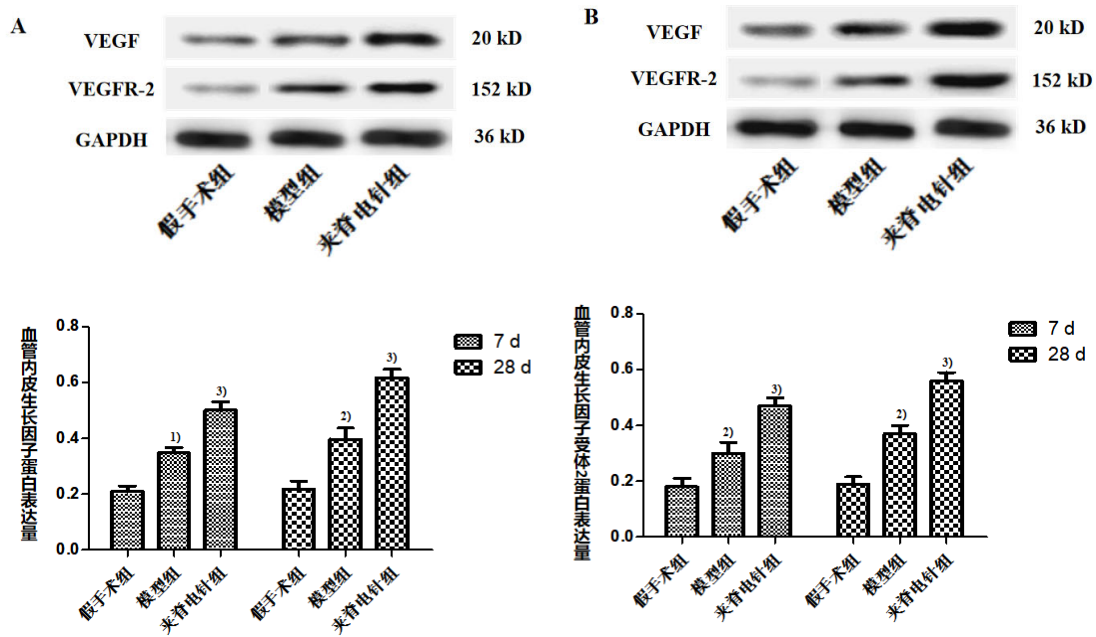
2.3 各组大鼠脊髓组织中 VEGF 阳性细胞比较

免疫组化结果显示 VEGF 阳性表达主要定位在细胞膜和细胞浆,假手术组脊髓组织见 VEGF 阳性细胞少量分布,模型组在术后 7 d 和 28 d 均可见 VEGF 阳性表达,阳性细胞数较假手术组显著增多 ($P < 0.01$);与模型组相比,夹脊电针组治疗 7 d 和 28 d 后脊髓组织中 VEGF 的阳性细胞数显著增多 ($P < 0.01$)。详见图 1。



2.5 各组大鼠 VEGF 及其受体 mRNA 表达的比较

与假手术组比较,模型组术后 7 d 和 28 d 脊髓组织中 VEGF、VEGFR-2 的 mRNA 表达显著增多 ($P < 0.01$);与模型组比较,夹脊电针组治疗 7 d 和 28 d 后脊髓组织 VEGF 和 VEGFR-2 mRNA 的表达显著增加 ($P < 0.01$)。详见表 4。



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

图 2 各组大鼠脊髓组织 VEGF 和 VEGFR-2 的蛋白表达

表 4 各组大鼠脊髓组织中 VEGF 和 VEGFR-2 mRNA 表达比较
($\bar{x} \pm s$)

时间	组别	n	VEGF	VEGFR-2
治疗 7 d	假手术组	10	1.00 ± 0.03	1.00 ± 0.05
	模型组	10	1.34 ± 0.08 ¹⁾	1.24 ± 0.10 ¹⁾
	夹脊电针组	10	1.88 ± 0.12 ¹⁾²⁾	1.72 ± 0.18 ¹⁾²⁾
治疗 28 d	假手术组	10	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.03
	模型组	10	1.85 ± 0.15 ¹⁾	1.62 ± 0.09 ¹⁾
	夹脊电针组	10	2.69 ± 0.21 ¹⁾²⁾	2.23 ± 0.16 ¹⁾²⁾

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$

3 讨论

脊髓损伤(SCI)是由交通事故、生活意外等外伤造成脊髓组织挫裂和神经功能损害,引起损伤局部水平以下脊髓反射消失,运动和感觉功能障碍的一类中枢神经系统创伤^[1]。由于脊髓位置的特殊性,SCI常导致患者截瘫或四肢瘫、大小便失禁等并发症,给患者个人及其家庭造成沉重负担。因此,探究能够有效恢复SCI运动功能的治疗方法及其机制具有十分重大的医学意义。

SCI发生后,损伤部位的炎症反应及微循环障碍可造成局部血流量减少,而继发脊髓组织缺血缺氧、神经细胞凋亡等一系列组织细胞损伤。相对于原发的机械性损伤,继发性损伤可通过药物及物理疗法改善,具

有可逆的特点^[2]。目前临床主要应用糖皮质激素大剂量冲击来控制继发SCI的发生,然而其不良反应较多,可导致消化道反应、糖尿病、感染等并发症,引起了许多临床医生的争议与质疑^[11]。近年临床及实验研究证实,针灸疗法能够减轻SCI病理损害,并可促进神经功能的重建,对SCI继发损伤及后遗症均具有良好疗效^[3-4]。

中医学中并无“SCI”对应病名,根据其肢体痿弱无力,筋脉迟缓等症表现,可归属于“痿病”之范畴^[12]。而其具体病机又与“痿病”不同,为外力致督脉损伤,引起气血经脉阻滞不通,四肢筋脉肌肉失于气血濡养而运动不灵、懈惰不用。督脉位于人体背部正中,解剖位置与脊髓重叠,针灸治疗可从督脉论治,以疏通督脉为主要治则^[13]。华佗夹脊穴为经外奇穴之一,位于督脉与足太阳膀胱两经之间,挟脊而行。督脉为“阳脉之海”,其别络长强别走于太阳,两经脉气相通,共主一身之阳。故针刺夹脊穴可起到一针连及二经的作用,使一身阳气振奋,脏腑阴阳调和,四肢气血运行通畅^[14]。多项临床研究^[15-17]表明,应用电针刺刺激夹脊穴治疗能够促进SCI患者感觉和运动功能以及排尿障碍的恢复,且其治疗效果优于督脉经穴电针治疗。

本实验参照文献^[18]方法应用Allen's改良式重物坠落法制备SCI大鼠模型,SCI病变呈持续性加重,损伤后首先出现局部水肿、缺血和血管内皮细胞损伤,

随后可见中央管出血、髓鞘破坏、轴索肿胀等继发性损害,在伤后 8 h 内为最佳治疗时间,超过 8 h 可出现不可逆的脊髓功能损害^[19]。钟煜朝^[20]比较不同电针频率对 SCI 大鼠的影响发现,高频电针刺激优于低频电针,以 100 Hz 疗效最佳。因此本实验以 100 Hz 为治疗频率,于造模后 30 min、4 h 和 8 h 进行夹脊电针治疗,随后持续治疗 7 d 和 28 d,观察夹脊电针对 SCI 的治疗作用。BBB 行为检测结果可见,夹脊电针治疗 7 d 后,大鼠后肢运动能力得到有效改善,其改善效果在治疗 28 d 后更为显著。提示夹脊电针在治疗早期即对 SCI 作用明显,其治疗效果随着时间的延长而增强。bFGF 是一类具有神经营养作用的多肽,在人体神经系统中广泛分布。SCI 早期,损伤缺血区的神经细胞通过释放 bFGF 以促进神经元的增殖和损伤组织血管新生,并在之后下降至基础水平^[21-22]。ELISA 结果显示模型组大鼠血清 bFGF 水平在术后 7 d 明显上升,并在 28 d 后降低,与文献报道一致^[23]。提示机体在 SCI 初期分泌了 bFGF 以适应缺血缺氧环境。夹脊电针组治疗 7 d 和 28 d 后,大鼠血清 bFGF 的水平较模型组均有显著提升,表明夹脊电针治疗能够促进 bFGF 的分泌,以改善局部缺血状态和神经功能损伤,延缓 SCI 进展。Ang-1 是一种血管特异性生长因子,在缺血低氧环境下,能够与 VEGF 协同促进血管新生,并可维持血管内皮细胞结构的稳定性,加强细胞间连接,促进新生微血管的成熟^[24]。模型组大鼠血清中 Ang-1 的水平较假手术组明显降低,夹脊电针治疗 7 d 和 28 d 后,明显升高了 Ang-1 水平。提示夹脊电针对 SCI 的治疗作用可能与上调 Ang-1 的表达,促进缺血损伤区域血管新生相关。

目前研究普遍认为,SCI 患者预后较差的原因在于神经元再生和存活的困难性^[25]。SCI 患者损伤组织处于缺氧缺血状态,此时机体可表达一系列特异性基因以调节自身环境,促进局部血管新生和神经功能的恢复。通过诱导血管形成因子的表达,干预 SCI 微环境,对 SCI 患者中枢神经的修复和再生具有重要意义^[26]。脊髓损伤后,VEGF 能够与 bFGF、Ang-1 等血管因子相互协调,共同促进局部血管新生。VEGF 还可通过其受体血管内皮生长因子受体-1(vascular endothelial growth factor receptor-1, VEGFR-1)和 VEGFR-2 的共同作用促进脊髓微血管形成,稳定神经内环境,并通过 VEGFR-2 促进星形胶质细胞生长,发挥神经保护和神经营养功能^[27]。研究^[28]证实电针治疗能通过上调

VEGF 的表达以诱导血管新生,改善大脑中动脉梗塞大鼠神经功能。在本实验中,假手术组脊髓组织中可见少量 VEGF 和 VEGFR-2 表达,模型组造模 7 d 和 28 d 后,脊髓组织 VEGF 和 VEGFR-2 的表达面较假手术组增多,表明 SCI 后机体为适应缺血缺氧微环境而表达了一定的 VEGF 和 VEGFR-2。夹脊电针治疗显著增加了 VEGF 的阳性细胞数及 VEGF、VEGFR-2 的蛋白和 mRNA 表达,从而改善 SCI 局部微环境,使大鼠运动功能得到有效恢复。

综上所述,夹脊电针能够有效促进 SCI 运动功能的恢复,其作用机制可能与上调 VEGF 与 VEGFR-2 的表达,改善损伤局部微环境,促进血管新生相关。

参考文献

- [1] DELARUE Q, CHALFOUH C, GUÉROUT N. Spinal cord injury: can we repair spinal cord non-invasively by using magnetic stimulation?[J]. *Neural Regen Res*, 2021, 16(12):2429-2430.
- [2] MPUTUMPUTU P, BEAUSÉJOUR M, RICHARD-DENIS A, et al. Early predictors of neurological outcomes after traumatic spinal cord injury: a systematic review and proposal of a conceptual framework[J]. *Am J Phys Med Rehabil*, 2021, 100(7): 700-711.
- [3] 曹亚男,王盛春,来丹丹,等. 针灸治疗脊髓损伤的临床研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(16): 62-63.
- [4] 姜天鑫,李飞. 针灸结合康复技术治疗脊髓损伤后二便功能障碍的研究进展[J]. 长春中医药大学学报, 2015, 31(5):1084-1087.
- [5] MASGUTOV R, ZEINALOVA A, BOGOV A, et al. Angiogenesis and nerve regeneration induced by local administration of plasmid pBud-coVEGF165-coFGF2 into the intact rat sciatic nerve[J]. *Neural Regen Res*, 2021, 16(9):1882-1889.
- [6] TUBI M A, KOTHAPALLI D, Hapenny M, et al. Regional relationships between CSF VEGF levels and Alzheimer's disease brain biomarkers and cognition[J]. *Neurobiol Aging*, 2021, 105:241-251.
- [7] 宋学鑫. 夹脊电针配合跑台训练对 SCI 大鼠巨噬细胞表达 NgR 的影响[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2018.

- [8] 吴群华, 李文彦. 褪黑素对急性脊髓损伤大鼠脊髓组织丙二醛以及血清炎症因子水平的影响[J]. 广西医学, 2018, 40(24):2928-2931.
- [9] 陈荣良, 杜伟斌, 全仁夫. 针刺夹脊穴及督脉穴对急性脊髓损伤神经传导通路影响的研究[J]. 中国中医急症, 2016, 25(4):619-622.
- [10] 马善峰, 马奎, 吕合作. 运动诱发电位和 BBB 评分在大鼠脊髓损伤功能评价中的相关性研究[J]. 中华解剖与临床杂志, 2019, 24(3):299-304.
- [11] 孙天胜. 甲基强的松龙对急性脊髓损伤的治疗效果与存在的问题[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2005, 15(7):389-391.
- [12] 张刘波, 周峻, 王佩佩, 等. 脊髓损伤中医药辨证论治研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(16):1813-1817.
- [13] 时香雄. 针灸治疗脊髓损伤的疗效及其部分机制的研究进展[J]. 中国处方药, 2019, 17(7):22-24.
- [14] 仇会玉, 秦晓光, 雒明栋. 华佗夹脊穴临床应用研究进展[J]. 中医药学报, 2020, 48(1):67-71.
- [15] 吴明莉, 冯晓东, 王永福. 夹脊穴、督脉穴电针治疗脊髓损伤患者的疗效观察[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2016, 38(11):858-859.
- [16] 刘妍妍, 陆贵中, 张立峰. 电针夹脊穴配合康复训练治疗脊髓损伤患者的临床研究[J]. 上海针灸杂志, 2015, 34(1):45-47.
- [17] 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.
- [18] 谢谨, 程宇核, 朱小虎, 等. 电针联合磁刺激治疗对脊髓损伤模型大鼠脊髓 AQP-4、MCP-1 的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2013, (27):2978-2979.
- [19] 傅一山, 曾炳芳. 大剂量甲基强的松龙治疗急性脊髓损伤-临床系统回顾[J]. 国外医学(骨科学分册), 2001, 22(2):113.
- [20] 钟煜朝. 不同频率电针对急性脊髓损伤大鼠 MDA、SOD 和 Glu 影响的实验研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2009.
- [21] ZHU S, YING Y, YE J, *et al.* AAV2-mediated and hypoxia response element-directed expression of bFGF in neural stem cells showed therapeutic effects on spinal cord injury in rats[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(3):274.
- [22] ZHU S, YING Y, HE Y, *et al.* Hypoxia response element-directed expression of bFGF in dental pulp stem cells improve the hypoxic environment by targeting pericytes in SCI rats[J]. *Bioact Mater*, 2021, 6(8):2452-2466.
- [23] 吴金隆, 杨堃, 金永喜, 等. 督脉电针联合康复训练对脊髓损伤模型大鼠 NGF, bFGF, BDNF 表达的影响[J]. 浙江中西医结合杂志, 2020, 30(6):449-453.
- [24] DURHAM-LEE J C, WU Y, MOKKAPATI V U, *et al.* Induction of angiopoietin-2 after spinal cord injury[J]. *Neuroscience*, 2012, 202:454-464.
- [25] CHEN J, SHIFMAN M I. Inhibition of neogenin promotes neuronal survival and improved behavior recovery after spinal cord injury[J]. *Neuroscience*, 2019, 408:430-447.
- [26] LI R, ZHAO K, RUAN Q, *et al.* The transcription factor Foxd3 induces spinal cord ischemia-reperfusion injury by potentiating microRNA-214-dependent inhibition of Kcnk2[J]. *Exp Mol Med*, 2020, 52(1):118-129.
- [27] LIU S M, XIAO Z F, LI X, *et al.* Vascular endothelial growth factor activates neural stem cells through epidermal growth factor receptor signal after spinal cord injury[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2019, 25(3):375-385.
- [28] CHEN G, XIANG J, OUYANG L Z, *et al.* Effect of electroacupuncture on expressions of VEGF and CD31 in MCAO model rats[J]. *J Acupuncture Tuina Sci*, 2017, 15(5):311-316.

收稿日期 2021-12-17