

· 针灸推拿 ·

本文引用:许明,刘笑萌,艾坤,邓石峰,张雨辰,何可,姜珊多娇,张泓. 电针对骶上脊髓损伤后神经源性膀胱大鼠膀胱功能及髓内 NGF 和 NT-3 的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(2): 252-258.

电针对骶上脊髓损伤后神经源性膀胱大鼠膀胱功能及髓内 NGF 和 NT-3 的影响

许明¹,刘笑萌¹,艾坤¹,邓石峰¹,张雨辰²,何可²,姜珊多娇¹,张泓^{1*}

(1.湖南中医药大学,湖南长沙 410208;2.湖南中医药大学第二附属医院,湖南长沙 410005)

[摘要] **目的** 观察电针对完全性骶上脊髓损伤后神经源性膀胱大鼠尿流动力学及髓内神经生长因子(NGF)和神经营养因子 3 (NT-3)表达水平的影响。**方法** 选取 60 只雌性 SD 大鼠,随机抽取 24 只分为空白组和假手术组(各 12 只),其余 36 只大鼠采用脊髓横断法进行手术造模,再选取经评价符合模型标准的 24 只大鼠随机分为模型组和电针组(各 12 只),模型成功后各组予以相应干预,连续 7 d。各组动物行尿流动力学评估后处死,取膀胱组织切片观察逼尿肌功能,取脊髓组织用 Western blot 法和 RT-PCR 法测定髓内 NGF 和 NT-3 的表达。**结果** HE 染色结果提示,与空白组、假手术组比较,模型组膀胱上皮细胞结构破坏,逼尿肌肌纤维增生,有严重出血改变;与模型组比较,电针组完整膀胱上皮细胞增多,逼尿肌肌纤维增生程度减轻,出血改变减少。尿流动力学结果提示,与空白组、假手术组比较,模型组膀胱最大容量及顺应性均明显降低($P<0.01$),膀胱漏尿点压增加($P<0.01$);与模型组比较,电针组膀胱最大容量及顺应性均明显增加($P<0.01$),膀胱漏尿点压降低($P<0.01$)。Western blot 结果和 RT-PCR 结果提示,与空白组、假手术组比较,模型组髓内 NGF 蛋白及其 mRNA 含量明显降低($P<0.01$),NT-3 蛋白及其 mRNA 含量明显增加($P<0.01$);与模型组比较,电针组髓内 NGF、NT-3 蛋白及其 mRNA 含量均升高($P<0.05$)。**结论** 电针次髂、中极、三阴交、大椎可升高骶上脊髓损伤后神经源性膀胱大鼠脊髓组织中 NGF 和 NT-3 蛋白及其 mRNA 含量,改善膀胱神经支配,提高受累膀胱储尿控尿的能力。

[关键词] 电针;骶上脊髓损伤;神经源性膀胱;尿流动力学;神经生长因子;神经营养因子 3

[中图分类号]R245 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2021.02.017

Effects of Electroacupuncture on Bladder Function and Intramedullary NGF and NT-3 in Neurogenic Bladder Rats After Sacral Spinal Cord Injury

XU Ming¹, LIU Xiaomeng¹, AI Kun¹, DENG Shifeng¹, ZHANG Yuchen², HE Ke²,

JIANG Shanduo¹, ZHANG Hong^{1*}

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The Second Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410005, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of electroacupuncture on urodynamics and expression of intramedullary nerve growth factor (NGF) and neurotrophin 3 (NT-3) in neurogenic bladder rats after complete sacral spinal cord injury. **Methods** 60 female SD rats were selected, 24 rats were randomly divided into the blank group and the sham operation group (12 rats in each group), the remaining 36 rats were operated by transection of spinal cord, then 24 rats that met the model criteria were randomly divided into the model group and the electroacupuncture group (12 rats in each group), after the model was successful, each group intervened for 7 consecutive days. The animals were killed after urodynamic evaluation, bladder tissue sections were taken to observe detrusor

[收稿日期]2020-09-04

[基金项目]国家自然科学基金项目(81473753,81874510);湖南省教育厅科学研究项目(20C1432);湖南中医药大学医学技术类(康复)一流学科开放基金科研项目(2018YXJS04);湖南省大学生创新创业训练计划项目(S201910541021)。

[作者简介]许明,男,讲师,研究方向:常见疾病中西医结合康复机理与临床研究。

[通讯作者]*张泓,男,教授,博士研究生导师,E-mail:zh5381271@sina.com。

function, the expressions of intramedullary NGF and NT-3 were determined by Western blot method and RT-PCR method. **Results** HE staining results indicated, compared with the blank group and the sham operation group, there were structural disruption of bladder epithelial cells in the model group, with fibre proliferation of the detrusor and severe bleeding changes; compared with the model group, the number of intact bladder epithelial cells in the electroacupuncture group increased, the degree of myofibrillar hyperplasia of the detrusor was reduced, and bleeding changes decreased. Urodynamic results suggested, compared with the blank group and the sham operation group, both bladder maximum capacity and compliance were significantly decreased in the model group ($P<0.01$), with the bladder leak point pressure increased ($P<0.01$); compared with the model group, both bladder maximum capacity and compliance increased significantly in the electroacupuncture group ($P<0.01$), with the bladder leakage point pressure decreased ($P<0.01$). Western blot and RT-PCR results indicated that the content of intramedullary NGF protein and its mRNA decreased significantly ($P<0.01$), and the content of the NT-3 protein and its mRNA increased significantly ($P<0.01$) in the model group compared with the blank group and the sham operation group. Compared with the model group, the contents of NGF, NT-3 protein and its mRNA in the electroacupuncture group increased ($P<0.05$). **Conclusion** Electroacupuncture of "Ciliao" (BL32), "Zhongji" (RN3), "Sanyinjiao" (SP6) and "Dazhui" (DU14) can increase the contents of NGF and NT-3 protein and its mRNA in spinal cord of neurogenic bladder rats after sacral spinal cord injury, improve bladder innervation and improve the ability of urine storage and control in affected bladder.

[**Keywords**] electroacupuncture; sacral spinal cord injury; neurogenic bladder; urodynamics; nerve growth factor; neurotrophin 3

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)后引发诸多并发症,其中神经源性膀胱(neurogenic bladder, NB)严重影响了患者的生存质量。骶上 SCI 后引起的 NB 使高位排尿中枢失去对骶髓排尿中枢的抑制作用,形成新的骶髓反射弧^[1],主要表现为逼尿肌反射亢进,储尿能力差,膀胱内压大、顺应性降低等障碍。目前,认为神经营养因子缺乏是 SCI 神经再生修复失败的主要原因之一,其不仅对正常组织有营养作用,还在中枢神经损伤的修复中有减轻神经元损伤、诱导轴突再生和促进神经功能恢复的重要作用^[2]。近年来,针对神经营养素治疗 SCI 的研究很多,主要分为两种:一种是通过局部注射作用于受损部位的外源性神经营养素,与此相对的另一种是目前研究的热点,即通过各种治疗方式,如药物治疗、电刺激、针刺等促进内源性神经营养素持续表达或表达增加来治疗 SCI。研究^[3-4]证实,电针可以减少髓内细胞凋亡而最大限度抢救、保护受损神经元,改善膀胱的功能。《黄帝内经》提出针灸具有双向调控作用,这是维持机体内环境平衡的生物学基础,也是目前研究针灸疗效机制的突破口之一^[5]。内源性神经生长因子(nerve growth factor, NGF)在 SCI 后修复中起到关键作用,其高表达可促进损伤神经的修复和神经功能恢复^[6]。而神经营养素 3(neurotrophin-3, NT-3)作为神经营养因子家族的重要一员,可影响 SCI 后神经修复抑制因子作用的信号传导过程,促进中枢神

经的再生,对 SCI 后的神经损伤的修复具有重要作用。为进一步研究电针治疗对骶上 SCI 后神经源性膀胱功能恢复的影响,本实验将通过观察电针大鼠次髂、中极、三阴交、大椎穴对骶上 SCI 后 NB 大鼠膀胱功能的改变和脊髓组织细胞中 NGF 和 NT-3 蛋白及其 mRNA 含量的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

健康 SPF 级雌性 SD 大鼠 60 只,体质量(220 ± 20) g,由湖南中医药大学动物实验中心提供,许可证编号:SCXK(湘)2013-0004。随机抽取 24 只分为空白组和假手术组,各 12 只。其余 36 只大鼠行手术造模,将符合模型标准的 24 只大鼠再随机分为模型组和电针组,各 12 只。假手术组仅暴露脊髓 10 min 后缝合,同样予伤口消毒、抗感染处理,空白组不做特殊处理。实验过程中对动物处置严格遵循“人与动物权利声明”^[7]。

1.2 主要试剂及仪器

NGF 和 NT-3 蛋白检测的一抗为 HRP goat anti-rabbit IgG(20600-1-AP, 18084-1-AP),二抗为 HRP goat anti-mouse IgG(60008-1-Ig),美国 Proteintech 公司。YD-315 切片机(浙江金华益迪试验器材);164-5050 电泳仪(美国 Bio-rad 公司);SPL0960 荧光 PCR 板、PIKO REAL 96 荧光定量 RCP 仪(美

国 Thermo 公司);MP150-WSW 型 16 通道生理记录仪(美国 BIOPAC 公司);SDZ-V 型电针治疗仪(苏州医疗用品厂有限公司)。

1.3 模型制备与评价

采用完全性脊髓横断法造模^[8],主要步骤如下:用 10%水合氯醛 350 mg/kg 行腹腔麻醉,在 T10-11 切开暴露脊髓,快速切断牙探针轻勾的脊髓,观察大鼠的心跳和呼吸无异常后依次缝合肌肉、筋膜和皮肤,伤口消毒、抗感染处理。模型成功的标准为:大鼠双后肢不能运动,拖动行走,膀胱自主排尿困难,尿流动力学检测显示膀胱压力增加、顺应性降低、膀胱容量下降。

1.4 腧穴定位及干预方法

造模后第 19 天^[9]开始电针干预,次髎、中极、三阴交、大椎穴的定位参照《实验针灸学》^[9],其中,次髎穴以 L6 棘突为骨性标志,顺势定位第 2、3 骶骨棘突间隙旁开 5~10 mm,直刺 15 mm^[10],中极穴斜刺 5 mm,三阴交穴直刺 5 mm,大椎穴直刺 10 mm。大鼠俯卧位固定于自制鼠架上,进针后分别连接到 SDZ-V 型华佗牌电针治疗仪,中极与三阴交一组,次髎与大椎一组(三阴交、次髎左右两穴隔日交替进行),电针频率 10 Hz/50 Hz,强度以肢体轻颤并耐受为度,每天 1 次,每次 30 min,共 7 d。其余 3 组均以相同方式束缚相同时间,不进行电针干预。

1.5 标本采集与处理

大鼠处死后,快速剖取膀胱逼尿肌,并用 4 ℃生理盐水漂净,经 4%多聚甲醛固定后用于 HE 标本,取 T10 脊髓上下 0.5 cm 脊髓组织,用于 Western blot 检测及 RT-PCR 检测。

1.6 观察指标及检测方法

1.6.1 一般情况 观察各组实验大鼠肢体活动及排尿、排便、自残、死亡和体质量改变等情况。

1.6.2 HE 染色后光镜观察膀胱组织形态学变化 标本经 4%多聚甲醛中固定 48 h 后,60 ℃烤片 1~2 h,置于二甲苯中浸泡脱蜡 2 次,10 min/次,在 75%~100%的梯度浓度乙醇中进行洗蜡,苏木素染色 5~10 min,蒸馏水冲洗,PBS 返蓝,伊红染 3~5 min 后用蒸馏水冲洗,用梯度乙醇(95%~100%)脱水,中性树胶封片后用显微镜观察。

1.6.3 尿流动力学检测^[7] 电针干预 7 d 后,各组平行交替进行尿流动力学检测,步骤如下:予 10%

水合氯醛(350 mg/kg)麻醉,手法排空膀胱后,F3 导尿管经尿道口导入膀胱内中后部,并用三通管与微量灌注泵注水口和 MP150-WSW 多通道生理记录仪压力传感器相接,通过微量注射泵向膀胱注入适温无菌生理盐水,记录膀胱容量-压力曲线,观察到尿道口首次漏出液体时,此时压力为漏尿点压力,微量注射泵显示灌注容量为膀胱最大容量,对应时间内膀胱容量变化与压力变化的比值为膀胱顺应性。

1.6.4 Western blot 检测脊髓组织中 NGF 和 NT-3 蛋白含量 细胞裂解法提取细胞总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,经 10% SDS-PAGE 分离后,转移至 PVDF 膜上,封闭后采用 1:500(NGF)、1:2 000(NT-3)的一抗稀释比例,于 4 ℃下孵育,二抗稀释比例为 1:3 000,ECL 显影,采用 BIO-RAD 凝胶成像系统拍照,QuantityOne 软件分析目的蛋白和内参 β -actin 蛋白的灰度值,以两者灰度值的比值作为 NGF 和 NT-3 蛋白的相对表达水平。

1.6.5 RT-PCR 检测脊髓组织内 NGF mRNA 和 NT-3 mRNA 表达 取保存在 Trizol 中的脊髓组织约 0.02 g,提取细胞内 RNA 总量,以组织总 mRNA 为模板,逆转录 cDNA,运用 Primer 5 软件设计引物,有南京金斯瑞合成引物,引物信息见表 1。定量 PCR 扩增程序依次为 95 ℃预变性 10 min,95 ℃变性 10 s,退火 60 ℃反应 30 s,40 个循环。

表 1 引物信息

mRNA	序列	片段长度/bp
NGF	正向引物(F):5'-CACAGATAGCAATGTCCCAGAGG-3'	247
	反向引物(R):5'-TAAATCCAGAGTGTCCGAAGAGG-3'	
NT-3	正向引物(F):5'-CGCCAAGCTGACCAACAATA -3'	176
	反向引物(R):5'-TTCCGTAATCCTCACTGCGATAT -3'	
β -actin	正向引物(F):5'-CATCCTCGCTCTGGACCTGG-3'	116
	反向引物(R):5'-TAATGTCACGCACGATTTC-3'	

1.7 统计学处理

采用 SPSS 25.0 软件进行处理,实验数据用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。所有资料进行正态性检验,均符合正态分布者,用单因素方差分析。均以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况的观察

造模 1 周后,模型大鼠各项体征逐步稳定,此时

大鼠处于脊髓休克期,进食饮水较前稍少,排尿排便需部分辅助,至造模后 18 d,模型大鼠基本出现稳定的逼尿肌亢进表现,造模成功后各组未出现大鼠自噬和死亡。因 SCI 对胃肠道功能产生一定影响,模型大鼠体质量稍减轻。

2.2 各组大鼠膀胱组织形态学变化

模型组中逼尿肌纤维的数量和层次显著高于空白组及假手术组,同时可见固有层及黏膜层附近有出血、炎性及水肿改变,部分细胞结构被破坏。电针组膀胱逼尿肌纤维的数量和层次轻度增高,固有层及黏膜层附近少量出血,少数细胞结构被破坏。见图1。

2.3 各组大鼠尿流动力学评估结果

空白组与假手术组膀胱最大容量、漏尿点压及顺应性差异无统计学意义($P>0.05$);与空白组及假手术组比较,模型组的膀胱最大容量及顺应性均明显降低($P<0.01$),漏尿点压力明显升高($P<0.01$);与模型组比较,电针组的膀胱最大容量及顺应性明显增加($P<0.01$),漏尿点压力降低($P<0.05$)。见表2。

2.4 各组大鼠髓内细胞中 NGF 及 NT-3 蛋白表达水平的比较

空白组与假手术组 NGF 及 NT-3 蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$);与空白组及假手术组比较,模型组 NGF 蛋白表达明显降低($P<0.01$),NT-3 蛋白表达量明显增加($P<0.01$);与模型组比较,电针组 NGF 及 NT-3 蛋白表达量均增加($P<0.05$)。见图

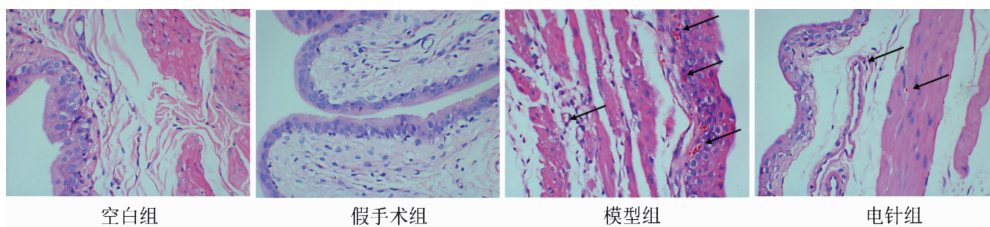
2、表3。

2.5 各组大鼠髓内细胞 NGF mRNA 及 NT-3 mRNA 表达量的比较

空白组与假手术组 NGF mRNA 及 NT-3 mRNA 表达差异无统计学意义($P>0.05$);与空白组及假手术组比较,模型组 NGF mRNA 表达明显降低($P<0.01$),NT-3 mRNA 表达量明显增加($P<0.01$);与模型组比较,电针组 NGF mRNA 及 NT-3 mRNA 表达量增加($P<0.05$)。见表4。

3 讨论

《诸病源候论》有“小便不禁者,肾气虚”“不能温制其水液,故小便不禁也”的描述。骶上 SCI 后引起的逼尿肌反射亢进型 NB,临床以尿失禁为主要表现,属中医学“遗溺”“小便不禁”范畴,中医学认为,患者脊髓外伤后,督脉受损,膀胱和下焦之气受阻,导致气滞血瘀,肾气受损,膀胱气化功能失调,引起治疗时应以疏通调理膀胱和下焦之气为大法^[1]。黄宇等^[2]利用数据挖掘技术分析针灸治疗 NB 的经穴应用规律特点,通过从多个数据库中筛选近 10 年针灸治疗 NB 的临床研究类文献,最终纳入 82 篇文献,得出结论如下:(1)常用经脉为足太阳膀胱经、任脉、足太阴脾经;(2)常用有效穴位为中极、三阴交、次髎,使用频次累及 537 次;(3)腧穴分布在腰骶部、下腹部、四肢部。本研究中选择次髎、中极、三阴交、



注:图中箭头示结构破坏的细胞出血点

图1 各组大鼠膀胱逼尿肌组织形态学光镜结果(HE, ×400)

表2 各组大鼠尿流动力学检测结果的比较($n=12, \bar{x} \pm s$)

组别	膀胱最大容量/mL	漏尿点压力/cmH ₂ O	膀胱顺应性/(mL·cmH ₂ O ⁻¹)
空白组	3.920±1.412	39.383±7.097	0.284±0.097
假手术组	4.600±1.808	39.926±6.227	0.307±0.075
模型组	1.083±0.656**	50.619±4.272**	0.071±0.022**
电针组	2.138±0.629** [#]	45.300±5.397**	0.137±0.025** [#]
F 值	20.522	9.759	39.104
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

注:与空白组、假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$

表 3 各组大鼠髓内细胞中 NGF 及 NT-3 蛋白
表达水平 ($n=12, \bar{x} \pm s$)

组别	NGF	NT-3
空白组	0.486±0.091	0.281±0.014
假手术组	0.478±0.099	0.345±0.009
模型组	0.374±0.062**	0.542±0.010**
电针组	0.463±0.094** [#]	0.755±0.016** [#]
F 值	4.101	45.612
P 值	0.012	<0.001

注:与空白组、假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$

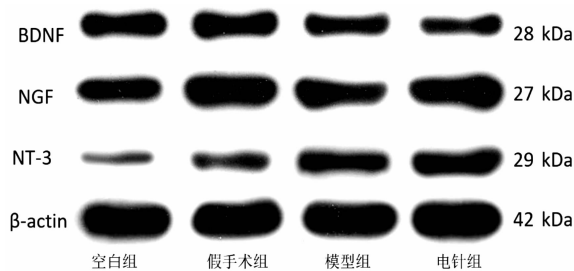


图 2 各组大鼠脊髓 NGF 及 NT-3 蛋白免疫印迹结果

表 4 各组 NGF mRNA 及 NT-3 mRNA 相对表达量 ($n=12, \bar{x} \pm s$)

组别	NGF mRNA	NT-3 mRNA
空白组	0.810±0.041	2.197±1.062
假手术组	0.808±0.036	1.999±0.551
模型组	0.669±0.049**	4.455±2.145**
电针组	0.831±0.040** [#]	5.658±1.728** [#]
F 值	38.086	27.697
P 值	<0.001	<0.001

注:与空白组、假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$

大椎穴进行电针干预,其中:大椎穴位于督脉,本经取穴,治病求本,保护脊髓神经元的功能,从而改善膀胱神经支配;次髎穴为膀胱经腧穴,位于骶部,针刺次髎能调理膀胱经气,促进膀胱与肾对尿液的气化固摄;中极穴为膀胱募穴,是膀胱经气汇聚之处,腑病多取募穴是古今医家的共识,故针刺中极穴可以直接调节膀胱功能;三阴交穴是肝脾肾三条阴经的交会穴,具有温肾健脾、调理下焦的作用,临床与实验研究^[13-14]均表明其可双向调节膀胱的功能。

针灸对骶上 SCI 后所致的逼尿肌反射亢进型 NB 临床疗效确切^[15]。近年来,针灸治疗 SCI 后 NB 已从单纯的临床观察进入到实验研究阶段,其作用机制涉及细胞凋亡、神经-内分泌网络调节等多个方面。其机制大致为以下几点:(1)通过抑制 SCI 损伤部位轴突及神经元细胞凋亡,减轻脊髓继发性损

伤,保护受损神经元,最大限度地抢救脊髓的残存功能,改善膀胱的神经支配;(2)通过对膀胱逼尿肌和尿道内括约肌的影响,调整膀胱的贮尿、排尿功能;(3)通过反射性地调节交感-副交感神经的协调作用,从产尿、储尿、控尿、排尿等各方面调节;(4)通过调节神经递质的合成和释放来影响膀胱功能活动^[16]。本研究中电针干预后的膀胱组织中逼尿肌纤维、细胞的结构破坏较模型组减轻,并且膀胱容量和顺应性增加,压力降低,受累膀胱功能得到改善,其作用机制可能是电针干预促进受损神经元与周围正常神经元形成新的突触联系,重建传导通路,优化了膀胱的神经支配。

神经营养素家族主要包括 BDNF、NGF、NT-3 等,通过结合 Trk 酪氨酸激酶受体或 P75 神经营养素受体发挥功能,神经营养素是神经元中重要的调节神经细胞存活、分化和维持的因子,作为小分子蛋白分泌到神经系统来保持神经细胞存活^[17]。NGF 与 NT-3 均由胶质细胞分泌表达,但对于促进神经元的修复有不同影响。其中,NT-3 可促进突触前运动神经元轴突的生长^[18],调节胶质细胞活性,并影响其与运动神经元的相互作用^[19],从而促进突触成熟。NGF 与 NT-3 对雪旺胶质细胞的作用相似,雪旺胶质细胞表面有 NGF 受体,NGF 可促进雪旺胶质细胞增殖,促进突触成熟^[20]。

NGF 是由 Rita Levi-Montalcini 在 1953 年首先发现的^[21],是神经营养因子的典型代表,TrkA 是其受体^[22],可促进未损伤的神经元生芽,重建被破坏的神经回路。正常脊髓组织中会有少量 NGF 的表达,当 SCI 后,受损局部的 NGF 的表达量将增加,刺激诱导轴突再生,促进神经通路及抑制神经细胞凋亡等作用^[23],SCI 早期神经再生活跃,但随着维持神经生长的神经丝蛋白减少,神经元最终会死亡,因此,为减少神经元在受损后发生继发性凋亡,需要提供更多更久的神经营养物质。NGF 在体内可维持神经元的存活,促使轴突延伸,对 SCI 的神经功能恢复、重建具有重要作用^[24-25]。本研究中观察到模型组 NGF 的表达低于正常组与假手术组,其原因主要考虑两点:其一是采集样本时间是在造模后第 26 天,NGF 的表达经历高峰后已经开始下降,此时受损部位发生了继发性损伤;其二是造模方式与损伤节段的影响,本实验中考虑到模型的标准性,采用的是完

全性脊髓横断法造模,而采用打击或夹持模型的方法则未造成脊髓全横断,这对于内源性 NGF 的生成与表达无疑是更有益的。在本实验中观察到电针治疗能增加受损脊髓神经元中 NGF 蛋白及 NGF mRNA 的表达,促进脊髓侧支的生芽和突触的重建,这可能是电针治疗促进神经再生的有效途径之一^[26]。

NT-3 是基于 NGF 和脑源性神经营养因子同源性而发现的,属于在脊髓中作用最强的神经营养因子,SCHNELL 等^[27]研究证明 NT-3 对轴突再生的促进效果优于 NGF 与 BDNF。NT-3 的生理作用广泛,尤其在促进神经元生长、分化与成熟及维持神经元存活等方面发挥重要的作用。研究^[28]发现 NT-3 在促进神经干细胞分化的过程中,更多倾向于分化为神经元和少突胶质细胞,相对而言分化成星形胶质细胞的较少。研究^[29]表明,NT-3 对与感觉神经元和运动神经元都有作用,SCI 后当天就有 NT-3 的表达,第 3 天达到高峰后逐渐降低,NT-3 参与了 SCI 后的修复过程,是脊髓感受伤害性反应的内源性保护因子,但这种内源性的保护作用是有有限度且受很多因素影响的。可以促进突触后 NT-3 分泌增加的几种机制有:Ca²⁺内流引起钙调蛋白及其蛋白激酶 II 的激活,胞内 cAMP/PKA 信号通路的激活^[30]。前期研究^[31-32]表明,电针可以激活上述通路而发挥效应。本研究中,NGF 蛋白及其 mRNA 的表达量,模型组低于正常组和假手术组,而模型大鼠 NT-3 蛋白及 mRNA 的表达却高于正常组与假手术组,这说明不同类型神经营养素在受损脊髓细胞中表达的时间与量并不完全一致,神经营养素的再受损脊髓中的表达存在“波峰”,其出现时间与峰高的差异与 SCI 类型、损伤节段、干预因素等均有关系。NT-3 是在受损脊髓组织细胞中表达时间较长和表达量较高的一种神经营养素,故很多研究都紧扣如何提高 NT-3 的表达来展开,此外 NT-3 还具有双向调节作用:一方面可以抑制 Bax 表达,促进 Bcl-2 表达,对 SCI 后神经元凋亡有抑制作用,从而在 SCI 后发挥保护作用^[33];另一方面可以促进间充质干细胞分泌更多的 NGF 和 BDNF^[34]。

本研究从电针上调骶上 SCI 后 NB 大鼠脊髓组织细胞中神经营养素 NGF 和 NT-3 蛋白及其 mRNA 含量、改善膀胱神经支配、提高受累膀胱储尿控

尿能力的角度,部分阐述了其对 NB 的可能效应机制,神经营养素作用的具体神经调节机制可进一步研究探讨,以期能为电针治疗骶上 SCI 后 NB 的临床应用提供更加明确的依据。

参考文献

- [1] KIM J H, RIVAS D A. Intravesical resiniferatoxin for refractory detrusor hyperreflexia: a multicenter, blinded, randomized, placebo-controlled trial[J]. *Journal of Spinal Cord Medicine*, 2003, 26(4): 358-363.
- [2] RAMER M S, PRIESTLEY J V, McMahon SB. Functional regeneration of sensory axons into the adult spinal cord[J]. *Nature*, 2000, 18(10): 312-316.
- [3] 许明,张泓,张健,等.电针对骶上 SCI 后 NB 大鼠尿流动力学及脊髓组织中半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 表达的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2017, 32(12): 1338-1344.
- [4] 许明,张泓,刘继生,等.电针对完全性 SCI 后 NB 大鼠脊髓组织中 Caspase-9、细胞色素 C 及凋亡蛋白酶激活因子-1 表达的影响[J]. *中国康复理论与实践*, 2017, 23(6): 628-633.
- [5] 潘卫星. 针灸的神经生物学机理[J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(10): 4281-4297.
- [6] 孟宪志,林华波,丁勇,等.早期高压氧联合鼠 NGF 对急性创伤性 SCI 患者神经及运动功能恢复的影响[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2015, 18(21): 118-120.
- [7] 中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见[Z]. 国科发财字[2006]398号, 2006-09-30.
- [8] 许明,张泓,刘继生,等.完全性骶上 SCI 后 NB 大鼠模型的建立及尿流动力学分析[J]. *中国康复理论与实践*, 2016, 22(8): 869-875.
- [9] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2003: 327-329.
- [10] 刘笑萌,许明,邓石峰,等.大鼠“次髎”穴的取穴方法研究[J]. *湖南中医药大学学报*, 2019, 39(11): 1373-1376.
- [11] 王利春,胡非非,张洪丽,等.针灸治疗 SCI 后 NB 概况[J]. *河北中医*, 2013, 35(7): 1093-1095.
- [12] 黄宇,何婷,漆双进,等.基于数据挖掘的针灸治疗 NB 取穴规律研究[J]. *云南中医学院学报*, 2019, 42(2): 47-54.
- [13] 杨静,代秀,吴扬,等.电针“三阴交”对膀胱造瘘术后功能亢进模型大鼠膀胱功能的调节作用[J]. *中国针灸*, 2014, 34(10): 998-1002.
- [14] 莫倩. 针刺对膀胱的“双向调节”效应及神经机制研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2015.
- [15] 万登峰,汪盛玉,黄涛,等.针灸治疗 SCINB 有效性的 Meta 分析[J]. *保健医学研究与实践*, 2018, 15(5): 41-46.
- [16] KUMAR V, TEMPLEMAN L, CHAPPLE C R, et al. Recent developments in the management of detrusor overactivity[J]. *Current Opinion in Urology*, 2003, 13(4): 285-291.
- [17] 刘珍巧. 功能矫治联合颊车穴位中频电刺激对大鼠咬肌 NT-3 及

- NGF 表达的影响[D].重庆医科大学,2020.
- [18] SHEARD P W, BEWICK G S, WOOLLEY A G, et al. Investigation of neuromuscular abnormalities in neurotrophin-3-deficient mice[J]. *The European Journal of Neuroscience*, 2010, 31(1): 29-41.
- [19] 杨海红,吴海涛.神经肌肉接头突触发育信号机制研究进展[J]. *生命科学*,2017,29(3):277-291.
- [20] CHAN J R, WATKINS T A, COSGAYA J M, et al. NGF controls axonal receptivity to myelination by schwann cells or oligodendrocytes[J]. *Neuron*, 2004, 43(2): 183-191.
- [21] LAI K O, FU W Y, IP F C, et al. Cloning and expression of a novel neurotrophin, NT-7, from carp[J]. *Molecular & Cellular Neurosciences*, 1998, 11(1-2): 64-76.
- [22] SPOSATO V, PARISI V, MANNI L, et al. Glaucoma alters the expression of NGF and NGF receptors in visual cortex and geniculate nucleus of rats: Effect of eye NGF application [J]. *Vision Research*, 2009, 49(1): 54-63.
- [23] ROJAS VEGA S, ABEL T, LINDSCHULTEN R, et al. Impact of exercise on neuroplasticity-related proteins in spinal cord injured humans[J]. *Neuroscience*, 2008, 153(4): 1064-1070.
- [24] HUANG F, DONG X F, ZHANG L P, et al. The neuroprotective effects of NGF combined with GM1 on injured spinal cord neurons in vitro[J]. *Brain Research Bulletin*, 2009, 79(1): 85-88.
- [25] HAJEBRAHIMI Z, MOWLA S J, MOVAHEDIN M, et al. Gene expression alterations of neurotrophins, their receptors and pro-hormone convertases in a rat model of spinal cord contusion[J]. *Neuroscience Letters*, 2008, 441(3): 261-266.
- [26] 马睿杰,滕秀英,张 力,等.电针刺激干预 SCI 大鼠 c-fos 基因和脑源性神经营养因子 mRNA 的表达[J].*中国临床康复*,2005,9(33): 102-104.
- [27] SCHNELL L, SCHNEIDER R, KOLBECK R, et al. Neurotrophin-3 enhances sprouting of corticospinal tract during development and after adult spinal cord lesion[J]. *Nature*, 1994, 367(6459): 170-173.
- [28] AVERBUCH-HELLER L, PRUGININ M, KAHANE N, et al. Neurotrophin 3 stimulates the differentiation of motoneurons from avian neural tube progenitor cells [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994,91(8):3247-3251.
- [29] ZHOU L J, BAUMGARTNER B J, HILL-FELBERG S J, et al. Neurotrophin-3 expressed in situ induces axonal plasticity in the adult injured spinal cord[J]. *The Journal of Neuroscience: the Official Journal of the Society for Neuroscience*, 2003, 23(4): 1424-1431.
- [30] KOLAROW R, BRIGADSKI T, LESSMANN V. Postsynaptic secretion of BDNF and NT-3 from hippocampal neurons depends on calcium calmodulin kinase II signaling and proceeds via a delayed fusion pore opening[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2007, 27(39): 10350-10364.
- [31] 邓石峰,余雨荷,刘笑萌,等.电针对完全性脊髓损伤 NB 大鼠尿流动力学及逼尿肌组织中 MLCK、MLC、p-MLC 的影响[J].*湖南中医药大学学报*,2020,40(6):727-731.
- [32] 刘继生.基于 PACAP-cAMP-PKA 信号通路探讨电针治疗骶上 SCI 后 NB 模型大鼠的效应机制[D].长沙:湖南中医药大学,2017.
- [33] 李晓宁,迟 蕾.夹脊配合督脉电针治疗 SCI 后功能障碍临床观察[J].*上海针灸杂志*,2015,34(10):972-975.
- [34] SHEN L, ZENG W, WU Y X, et al. Neurotrophin-3 accelerates wound healing in diabetic mice by promoting a paracrine response in mesenchymal stem cells [J]. *Cell Transplantation*, 2013, 22(6): 1011-1021.

(本文编辑 匡静之)