

· 基础研究 ·

经颅和经脊髓低频磁刺激对脊髓损伤后生长相关蛋白-43 表达的影响

王秋 许涛

【摘要】目的 探讨经颅和经脊髓低频磁刺激对脊髓损伤 (SCI) 大鼠脊髓内生长相关蛋白 (GAP)-43 表达的影响。**方法** 将 51 只 SD 雌性大鼠随机分为正常对照组、模型对照组、经颅磁刺激组和经脊髓磁刺激组。采用改良 Allen's 法将模型对照组、经颅磁刺激组和经脊髓磁刺激组大鼠制作 T₉₋₁₀ SCI 模型。经颅磁刺激组和经脊髓磁刺激组分别于术后次日给予低频磁刺激,磁刺激频率 0.5 Hz,75% 最大输出强度,每天治疗 1 次,每次刺激 30 个脉冲,共刺激 4 周,模型对照组制模后未给予特殊处理。分别于术后 1、7、14、21 及 28 d 时采用 BBB 评分、运动诱发电位 (MEP) 检测各组大鼠肢体运动功能及神经传导功能,同时对各组大鼠受损脊髓 GAP-43 表达情况进行检测。**结果** 术后各 SCI 模型大鼠 BBB 评分均较正常对照组明显降低,以后逐渐恢复,两磁刺激组 BBB 评分均高于模型对照组 ($P < 0.05$),并且经脊髓磁刺激组 BBB 评分亦显著高于经颅磁刺激组 ($P < 0.05$)。术后各 SCI 模型大鼠 MEP 波幅均明显降低,潜伏期延长,术后不同时间点各组 SCI 模型大鼠 MEP 组间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。术后各 SCI 模型大鼠 GAP-43 表达均较正常对照组明显增高,两磁刺激组 GAP-43 表达明显高于模型对照组,并且经脊髓磁刺激组 GAP-43 表达亦显著高于经颅磁刺激组 ($P < 0.05$)。**结论** 磁刺激对脊髓损伤后神经再生具有促进作用,有利于运动功能恢复;而在低频率、同样强度磁刺激条件下,经脊髓磁刺激疗效优于经颅磁刺激,其机制可能与激活中枢模式发生器 (CPG) 有关。

【关键词】 脊髓损伤; 磁刺激; 生长相关蛋白-43

Effects of transcranial and trans-spinal low frequency magnetic stimulation on the expression of growth associated protein-43 after spinal cord injury WANG Qiu*, XU Tao. * Department of Rehabilitation Medicine, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

【Abstract】 Objective To compare the effects of transcranial and trans-spinal low frequency magnetic stimulation (MS) on the expression of growth-associated protein-43 (GAP-43) in the spinal neurons of rats after spinal cord injury (SCI). **Methods** Forty-five Sprague-Dawley female rats were divided randomly into a transcranial magnetic stimulation (TMS) group, a trans-spinal cord magnetic stimulation group and a model control group with 15 in each group. Another 6 rats served as a normal control group. Spinal cord injury at the T₉₋₁₀ level was modeled according to the modified Allen's method. The rats in the two MS groups received magnetic stimulation at 0.5 Hz and 75% of the maximum output intensity (1.9 T) of the magnetic stimulator beginning 24 h post injury. They received 30 pulses daily for 28 days while the rats in the model control group were not exposed to MS. Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) scale scores and motion evoked potentials (MEPs) were measured at the 1st, 7th, 14th, 21st and 28th day post injury. The expression of GAP-43 protein was studied using immunohistochemical methods and semi-quantified by Western blotting. **Results** At the 4th week post injury the average BBB scores in the model control group, the TMS group and the trans-spinal cord magnetic stimulation group were all significantly different. MEP amplitudes decreased significantly in all groups after the injury, and the latency was prolonged, but there were no significant differences among groups at any time point. GAP-43 expression also increased after SCI, and it was significantly higher in the MS groups than in the model control group at 4 weeks. Moreover, the expression of GAP-43 in the trans-spinal cord MS group was significantly greater than in the TMS group. **Conclusion** Magnetic stimulation can promote nerve regeneration and improve locomotor recovery after spinal cord injury, at least in rats. The effect of trans-spinal cord magnetic stimulation is superior to that of TMS. The mechanism may be related to the activation of central pattern generators.

【Key words】 Spinal cord injury; Magnetic stimulation; Growth associated protein-43

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2012.08.002

作者单位:430030 武汉,华中科技大学同济医学院附属同济医院康复科(王秋、许涛);天津医科大学总医院康复科(王秋)

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)具有高发生率和致残率,是一种严重危害人类生命健康和生活质量的疾病。已有大量研究证实,受损脊髓具有一定可塑性,在适宜环境下断裂轴突可通过侧芽生长、轴突重塑或再生等方式重新建立传导通路^[1-2]。磁刺激作为一种无痛、无创、快捷、方便的治疗手段,具有改变细胞兴奋性、加速神经细胞再生、诱导轴突发芽生长、促进神经重塑等功效^[3-5],有利于脊髓损伤后神经功能恢复。基于上述背景,本研究分别给予 SCI 模型大鼠经颅和经脊髓磁刺激,并观察制模后不同时间点脊髓内生长相关蛋白-43(growth associated protein-43, GAP-43)的表达情况,以探讨不同部位磁刺激对脊髓损伤后神经再生的影响及相关机制。

材料与方法

一、实验材料

共选取清洁级雌性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 51 只,体重 220 ~ 250 g,由同济医学院实验动物中心提供,将其随机分为正常对照组(6 只)、模型对照组(15 只)、经颅磁刺激组(15 只)和经脊髓磁刺激组(15 只)。主要实验试剂包括兔抗 GAP-43(购于美国 Chemicon 公司)、NC 膜、羊抗兔二抗、蛋白提取试剂盒(购于美国 Pierce 公司)、SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳(购于美国 Sigma 公司)、小鼠抗 3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)多克隆抗体(购于武汉博士德公司)。本研究所用磁刺激器由丹麦 Dantec 公司生产,选用圆形磁刺激线圈,脉冲磁场强度峰值为 1.9 T,由华中科技大学同济医学院附属同济医院康复科提供。

二、SCI 模型制作

参照改良 Allen's 重物打击(modified Allen's weight drop)法将模型对照组、经颅磁刺激组及经脊髓磁刺激组大鼠制成大鼠背侧不完全性 SCI 模型^[1],采用 10% 水合氯醛按每千克体重 300 mg 行腹腔注射麻醉,将大鼠俯卧位固定于定位仪上,经碘伏消毒后,以 T₉₋₁₀ 棘突为中心行正中切口,逐层分离肌肉,暴露以 T₉₋₁₀ 节段为中心、直径约 3.0 mm 的圆形区域作为脊髓损伤区,将 10 g 重锤从 5 cm 高度自由落下致伤脊髓。如大鼠出现摆尾反射、双下肢及躯体回缩扑动后双下肢瘫痪,提示 SCI 制模成功。

三、磁刺激干预

经颅磁刺激组及经脊髓磁刺激组大鼠于制模后次日给予磁刺激,磁刺激频率 0.5 Hz,75% 最大输出强度,每次 30 个脉冲,每天刺激 1 次,连续刺激 4 周。经颅磁刺激组在治疗过程中,将磁刺激线圈中心对准脑中线旁区域(约左眼后眦与左耳前缘连线中点

区域),经脊髓磁刺激组则将磁刺激器水平置于大鼠脊柱上方,磁刺激线圈中心对准脊髓 L₁₋₂ 节段、距离背部皮肤约 1 cm。模型对照组亦于相同时间点给予假磁刺激,在进行假磁刺激时,大鼠所处环境条件均与两磁刺激组一致,但在治疗过程中磁刺激器无能量输出。

四、运动行为学评定

于术后 1、7、14、21 及 28 d 时采用 Basso Beattie Bresnahan (BBB) 评分对各组大鼠后肢爬行及肢体活动功能进行评定(双人盲法),将大鼠置于 125 cm × 125 cm 大小的空间内让其自由活动,观察大鼠后肢运动、躯干控制及肢体协调性,观察时间为 4 min,最终结果取平均值。

五、运动诱发电位检测

于术后 1、7、14、21 及 28 d 时对各组大鼠进行运动诱发电位(motor evoked potential, MEP)检测。将大鼠固定于手术台上,记录电极插入后肢腓肠肌内,地线涂导电膏粘于尾根远侧 1 cm 处,磁刺激器分别置于大鼠头部运动区及脊髓腰膨大处,调整磁刺激参数:脉宽 0.1 ms,40% 最大输出,记录大鼠 MEP 波幅、潜伏期等参数。

六、HE 染色及免疫组织化学染色

于术后 28 d 时各组分别取 8 只大鼠(正常对照组取 3 只)经 10% 水合氯醛麻醉后,以受损部位为中心取长约 1.5 cm 脊髓标本。经 4% 多聚甲醛固定后进行石蜡包埋、切片,片厚 5 μm,每相邻 2 张取 1 张,分 2 套待测。第 1 套切片进行常规 HE 染色。第 2 套切片进行 GAP-43 免疫组织化学染色,切片脱蜡至水,经抗原热修复、5% BSA 室温封闭 30 min,滴加一抗(兔抗 GAP-43, 1:2000),4 ℃ 孵育过夜,滴加生物素化二抗(羊抗兔 IgG),滴加 ABC 复合物,37 ℃ 孵育 50 min, DAB 显色,梯度乙醇脱水、二甲苯透明,中性树脂封固。以磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)和封闭液替换一抗分别作为空白对照和阴性对照。

七、Western blot 免疫印迹检测

于术后 28 d 时各组分别取 8 只大鼠(正常对照组取 3 只)经 10% 水合氯醛麻醉后,以受损部位为中心取长约 1 cm 脊髓标本,置于 -80 ℃ 冰箱内保存。采用蛋白提取试剂盒进行样品制备,考马斯亮兰 G-250 测定蛋白浓度,待变性后行 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳以及转移电泳至 NC 膜上,最后进行免疫酶染色,以 TBST 洗 NC 膜,加脱脂奶粉室温下封闭 2 h,滴加 1:500 兔抗 GAP-43 在 4 ℃ 环境下孵育过夜,经 TBST 洗膜后,与 1:300 稀释的辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)羊抗兔二抗在室温下

孵育 90 min, 再经 TBST 冲洗 15 min $\times$ 4 次, DAB 显色。测定各组大鼠标本 Western blot 蛋白条带的累积光密度值 (integrated optical density, IOD), 以 IOD 比值 (GAP-43 IOD 值/GAPDH IOD 值) 代表 GAP-43 表达强度。

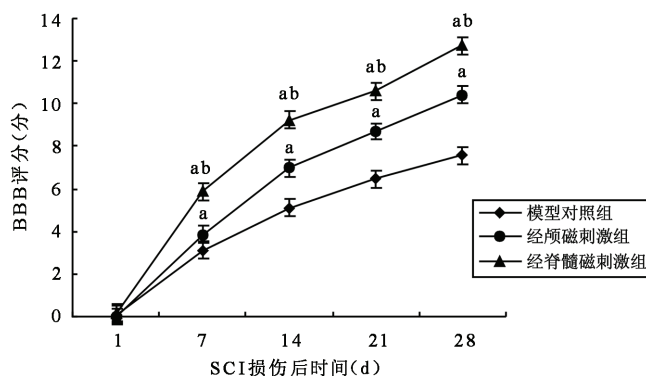
八、统计学分析

本研究所得数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS 17.0 版统计学软件包进行数据分析, 两组间比较经单因素方差分析后采用 Tukey's post hoc 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、术后不同时间点各组大鼠 BBB 评分比较

正常对照组大鼠在术后 1、7、14、21 及 28 d 时 BBB 评分均为 21 分。模型对照组、经颅磁刺激组和经脊髓磁刺激组大鼠术后次日 BBB 评分均为 0 分, 无肉眼可见的后肢运动; 随着时间进展, 各组大鼠后肢功能逐渐恢复, 偶可见后肢关节轻微活动, 以术后前 2 周 BBB 评分上升幅度较显著, 随后恢复速度减缓; 进一步分析发现, 经脊髓磁刺激组从术后第 7 天开始, 其各时间点 BBB 评分均显著高于经颅磁刺激组 ($P < 0.05$); 模型对照组、经颅磁刺激组、经脊髓磁刺激组大鼠在术后 28 d 时 BBB 评分分别为 (7.61 ± 0.57) 分、(10.54 ± 0.92) 分和 (12.87 ± 0.46) 分, 组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示磁刺激对 SCI 大鼠后肢运动功能恢复具有促进作用。具体数据见图 1。



注: 与模型对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与经颅磁刺激组比较, ^b $P < 0.05$

图 1 术后不同时间点各组大鼠 BBB 评分比较

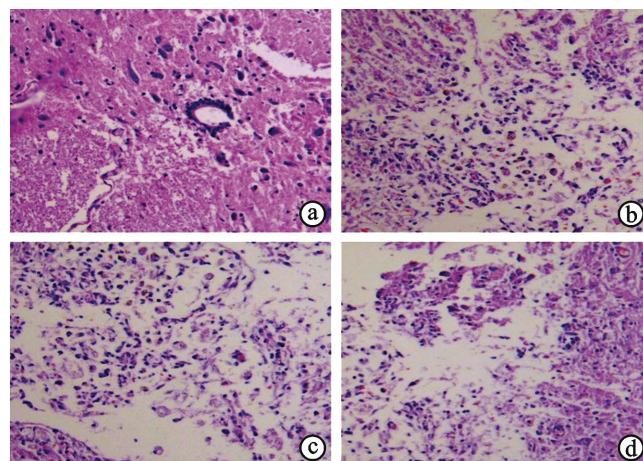
二、术后不同时间点各组大鼠 MEP 检测结果比较

正常对照组大鼠中枢神经 MEP 潜伏期为 (7.12 ± 0.49) ms, 波幅为 (2.69 ± 1.78) μ V; 周围神经 MEP 潜伏期为 (2.35 ± 0.52) ms, 波幅为 (12.82 ± 4.39) μ V。模型对照组、经颅磁刺激组和经脊髓磁刺激组大鼠制模后次日中枢神经 MEP 波形均完全消失, 周围神经

MEP 波形无明显变化; 从术后 1 周开始, 各 SCI 模型大鼠逐渐出现中枢 MEP 波形, 其波幅较正常对照组明显降低, 潜伏期则显著延长; 周围神经 MEP 潜伏期及波幅仍未见明显变化; 随着时间进展, 各 SCI 模型大鼠中枢 MEP 潜伏期均恢复正常, 波幅则逐渐增大, 但仍低于正常对照组水平; 模型对照组、经颅磁刺激组和经脊髓磁刺激组术后各时间点 MEP 检测结果组间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

三、各组大鼠受损脊髓组织学观察结果比较

通过光镜观察术后 28 d 时各组大鼠受损脊髓标本, 发现正常对照组脊髓组织结构完整, 神经细胞形态正常, 分布均匀, 尼氏体清晰, 细胞膜、细胞核及组织间隙均正常。各 SCI 模型大鼠均可见脊髓组织疏松水肿、细胞空泡变性、部分细胞胞核固缩、神经纤维溶解、消失, 同时还发现有不同程度胶质细胞增生, 大量胶质细胞聚集成形成痕, 并可见脊髓损伤区有空洞形成, 具体情况见图 2。



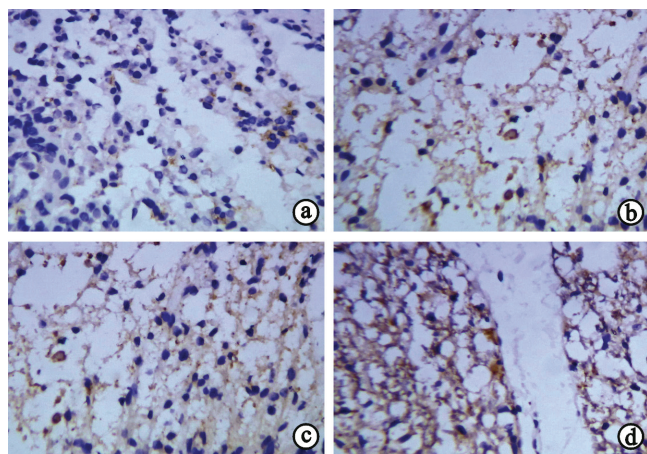
注: a 正常对照组; b 经脊髓磁刺激组; c 经颅磁刺激组; d 模型对照组

图 2 术后 28 d 时各组大鼠脊髓组织形态学比较 (HE 染色, $\times 200$)

四、各组大鼠受损脊髓免疫组化染色结果比较

通过观察术后 28 d 时各组大鼠受损脊髓免疫组化染色结果发现, 正常对照组大鼠脊髓前角运动神经元内偶见着色很浅的 GAP-43 阳性染色, 未见阳性细胞结构。各 SCI 模型大鼠 GAP-43 阳性神经元数量均较正常对照组明显增多, 并可见阳性细胞结构, GAP-43 阳性染色表现为散在或片状分布, 还有一些不规则的粗颗粒和较细的扣状或串珠状结构, 主要分布于神经元、再生的施万细胞和神经胶质细胞中。进一步分析发现, 经颅磁刺激组 GAP-43 IOD 值 (0.368 ± 0.021) 和经脊髓磁刺激组 IOD 值 (0.496 ± 0.028) 均较模型对照组 GAP-43 IOD 值 (0.285 ± 0.016) 显著增高 ($P < 0.05$), 并且以经脊髓磁刺激组 GAP-43 IOD 值

增高幅度较显著,与经颅磁刺激组间差异具有统计学意义($P < 0.05$),具体情况见图 3。



注:a 正常对照组;b 模型对照组;c 经颅磁刺激组;d 经脊髓磁刺激组

图 3 术后 28 d 时各组大鼠受损脊髓 GAP-43 免疫组化染色结果比较($\times 200$)

五、各组大鼠受损脊髓 Western blot 免疫印迹检测结果比较

通过观察术后 28 d 时各组大鼠 GAP-43 Western blot 免疫印迹检测结果发现,模型对照组、经颅磁刺激组和经脊髓磁刺激组 GAP-43 表达量均较正常对照组明显增高($P < 0.05$),经颅磁刺激组和经脊髓磁刺激组 GAP-43 表达量均较模型对照组表达增高($P < 0.05$),并且经脊髓磁刺激组 GAP-43 表达量亦显著高于经颅磁刺激组,组间差异具有统计学意义($P < 0.05$),具体情况见图 4、图 5。

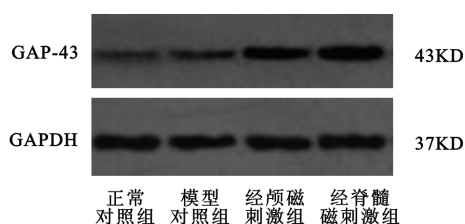
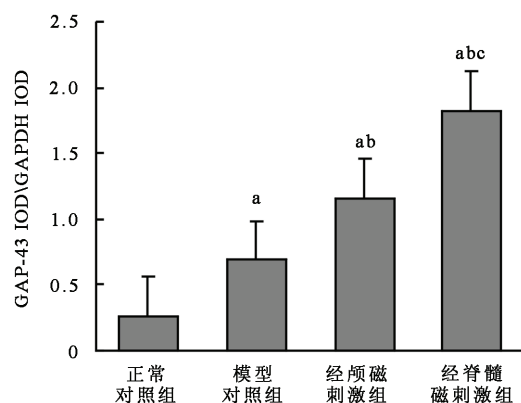


图 4 术后 28 d 时各组大鼠受损脊髓 GAP-43 Western blot 免疫印迹检测结果比较

讨 论

近年来国内、外大量研究发现,经颅磁刺激与在损伤脊髓局部进行磁刺激均可促进神经系统重塑,有利于机体运动功能恢复^[3-5]。重复经颅磁刺激促进 SCI 大鼠运动功能恢复的机制可能与增强轴突生长锥可塑性及残存下行 5-HT 能纤维神经递质分泌有关^[6]。Poirrier 等^[7]通过制作大鼠高位(T_{4-5})和低位(T_{10-11})不完全性胸髓损伤模型,应用快速磁刺激器和蝶形线



注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型对照组比较,^b $P < 0.05$;与经颅磁刺激组比较,^c $P < 0.05$

图 5 术后 28 d 时各组大鼠受损脊髓 GAP-43 蛋白表达水平比较(Western blot 检测)

圈(直径 25 mm)对大鼠头部进行刺激,发现假磁刺激组高位胸髓损伤大鼠运动功能评分优于低位胸髓损伤大鼠,而重复经颅磁刺激组低位胸髓损伤大鼠运动功能评分优于高位胸髓损伤大鼠,认为重复经颅磁刺激促进低位胸髓损伤大鼠运动功能恢复可能与激活运动模式发生器有关。另外当脊髓发生损伤后,对脊髓损伤局部进行磁刺激,能够改善患部神经组织内离子失衡,减轻继发性脊髓水肿,抑制脊髓损伤后血流量下降,从而加快受损神经功能恢复^[8];同时磁刺激还可直接兴奋残存运动神经元从而发挥神经保护功能^[9]。本研究也得到类似结果,如经颅磁刺激组及经脊髓磁刺激组大鼠分别经相应磁场干预后,其运动功能均较模型对照组显著改善,进一步证明磁刺激有利于 SCI 后机体运动功能恢复。

诱发电位被认为是衡量 SCI 后功能恢复的重要客观指标^[12],能直接反映脊髓下行传导束或外周运动神经功能状态。有研究报道,经颅磁刺激诱发的 MEP 与运动功能恢复间存在相关性^[13]。尽管目前对经颅磁刺激诱发 MEP 的机制及传导通路还存在争议,但无论是基础实验或是临床研究均显示,SCI 后机体运动功能异常总伴有 MEP 改变,如波幅降低、潜伏期延长、甚至 MEP 波形完全消失等。通常机体 MEP 恢复早于运动功能改善,对于 SCI 患者而言,如能早期记录到 MEP 改善,将是判断患者预后良好的重要参考因素之一^[14]。但同时也有学者提出,磁刺激诱发的 MEP 与 SCI 后运动功能恢复间无明显相关性^[15-16]。本研究也未发现磁刺激诱发的 MEP 与 SCI 大鼠运动功能恢复间具有良好一致性,这与部分研究结果基本一致,造成该结果也有可能是样本量不足或检测方法误差所致。

GAP-43 是一种快速转运胞膜磷酸蛋白,主要分布于神经元轴突生长锥部位,与神经发育、轴突生长、突

触结构和功能等密切相关,能引导轴突生长、促进新的神经连接形成,即使在缺乏其他营养因子情况下也能促使神经元发出新的终末,是神经元再生和功能重塑的重要分子标志物^[17]。发育期大鼠脊髓中 GAP-43 是轴突生长、延伸的关键因子,而在发育成熟的中枢神经系统中,GAP-43 无明显表达;当中枢神经系统损伤后,GAP-43 可在再生神经轴突中重新高表达^[18]。本研究以 GAP-43 作为神经再生检测指标,结果显示模型对照组大鼠 GAP-43 表达水平显著高于正常对照组,表明大鼠受损神经轴突末端膜结构处于代谢旺盛、生长活跃状态,提示发生 SCI 后机体脊髓具有一定可塑性。这种可塑性是由损伤诱导的,又称为自发可塑性,主要包括轴突芽生、潜伏通路重启、突触效率提高等形式^[19-20]。而脊髓可塑性还可由特殊形式的训练启动,称之为训练任务依赖性可塑性,表现为中枢模式发生器(central pattern generator,CPG)重新激活、脊髓神经元回路重组等^[20]。本研究中两磁刺激组大鼠 GAP-43 表达均高于模型对照组($P < 0.05$),并且经脊髓磁刺激组 GAP-43 表达亦显著高于经颅磁刺激组($P < 0.05$),与运动功能恢复具有良好一致性,造成该现象原因可能与激活 CPG 有关。CPG 是动物产生节律运动行为的生物神经环路,当发生 SCI 后 CPG 可实现网络功能重组^[21]。由于大鼠 CPG 位于脊髓 L_{1-2} 节段,部分可到达 T_{13} 节段^[22],而经脊髓磁刺激组于 L_{1-2} 部位进行磁刺激,可能对 CPG 具有刺激作用,从而促其功能重组,加速运动功能恢复。

综上所述,本研究结果表明,中枢神经系统具有强大的代偿修复功能,本研究通过给予 SCI 大鼠经颅磁场干预,在脑内可使神经元产生累积生物学效应,促进神经功能重塑;而直接对 SCI 大鼠受损脊髓进行磁刺激,则更有助于运动功能恢复,其机制可能与控制节律性运动的 CPG 被激活有关。

参 考 文 献

- [1] Volker D, Roland M. Degradation of neuronal function following a spinal cord injury: mechanisms and countermeasures. *Brain*, 2004, 127: 2221-2231.
- [2] 宗兆文, 廖维宏, 伍亚民, 等. 功能训练促进颈脊髓损伤大鼠功能恢复的机制研究. *中国脊柱脊髓杂志*, 2006, 16: 770-776.
- [3] 李新志, 郭风劲, 许涛, 等. 磁刺激和碱性成纤维细胞生长因子对脊髓损伤后神经再生的影响. *中华创伤杂志*, 2004, 20: 491-492.
- [4] 李新志, 郭风劲, 陈安民, 等. 磁刺激对脊髓损伤后神经再生的影响. *中国康复*, 2001, 16: 129-131.
- [5] Solinas C, Lee YC, Reutens DC. Effect of levetiracetam on cortical excitability: a transcranial magnetic stimulation study. *Eur J Neurol*, 2008, 15: 501-505.
- [6] 张新, 李建军, 霍小林, 等. 重复经颅磁刺激对脊髓运动功能恢复的影响及其机制的实验研究. *中国康复理论与实践*, 2008, 14: 228-230.
- [7] Poirrier AL, Nyssen Y, Scholtes F, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation improves open field locomotor recovery after low but not high thoracic spinal cord compression injury in adult rats. *J Neurosci Res*, 2004, 75: 253-261.
- [8] 郭风劲, 李新志, 许涛, 等. 磁刺激对脊髓神经组织损伤的早期保护作用. *中国康复*, 2001, 16: 4-6.
- [9] 潘钰, 宋为群, 王茂斌. 磁刺激在脊髓损伤康复中的研究进展. *中国康复医学杂志*, 2007, 22: 88-90.
- [10] Mark JE, Penelope T, John CR. Clinical applications of transcranial magnetic stimulation inpatients with movement disorders. *Lancet Neurol*, 2008, 7: 827-840.
- [11] Belci M, Catley M, Husain M. Magnetic brain stimulation can improve clinical outcome in incomplete spinal cord injured patients. *Spinal Cord*, 2004, 7: 417-419.
- [12] Shields CB, Ping ZY, Shields LB, et al. Objective assessment of cervical spinal cord injury levels by transcranial magnetic motor-evoked potentials. *Surg Neurol*, 2006, 66: 483.
- [13] Levy WJ, McCaffrey M, Hagichi S. Motor evoked potentials as a predictor of recovery in chronic spinal cord injury. *Neurosurgery*, 1987, 20: 138-142.
- [14] Machida M, Yamada T, Krain L. Magnetic stimulation: examination of motor function in patients with cervical spinal cord lesion. *J Spinal Disord*, 1991, 4: 123-130.
- [15] 宋斌. 诱发电位与脊髓损伤. *解剖学研究*, 2004, 26: 298-302.
- [16] 寇德伟, 于腾波. 大鼠脊髓损伤后神经功能评价方法比较. *山东医药*, 2009, 49: 37-38.
- [17] Benowitz LI, Routtenberg A. GAP-43: an intrinsic determinant of neuronal development and plasticity. *Trends Neurosci*, 1997, 20: 84-91.
- [18] Chakravarthy B, Rashid A, Brown L, et al. Association of GAP-43 (neuromodulin) with microtubule-associated protein MAP-2 in neuronal cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 371: 679-683.
- [19] Tsai EC, Tator CH. Neuroprotection and regeneration strategies for spinal cord repair. *Curr Pharm Des*, 2005, 11: 1211-1222.
- [20] Dietz V. Spinal cord pattern generators for locomotion. *J Clin Neurophysiol*, 2003, 114: 1379-1389.
- [21] 张纛, 纪树荣. 脊髓步行中枢模式发生器. *中国康复理论与实践*, 2006, 12: 1017-1020.
- [22] Lafreniere RM, McCrea DA. Deletions of rhythmic motoneuron activity during fictive locomotion and scratch provide clues to the organization of the mammalian central pattern generator. *J Neurophysiol*, 2005, 94: 1120-1132.

(修回日期: 2012-06-20)

(本文编辑: 易 浩)