

· 基础研究 ·

电针夹脊穴调控脊髓损伤后炎症反应的作用机制研究

范俊驰, 宋建东, 唐偲, 汪今朝

(湖北省中西医结合医院, 湖北 武汉 430015)

摘要 **目的:**探讨电针夹脊穴调控脊髓损伤后炎症反应的作用机制。**方法:**3 月龄雌性 SD 大鼠 48 只, 随机分为假手术组、模型组和电针组, 每组 16 只。行椎板切除显露脊髓后, 假手术组对脊髓不做处理, 模型组和电针组用 NYU 脊髓打击器击打脊髓, 建立脊髓损伤模型。造模成功后, 电针组用电针刺激大鼠 $L_1 \sim L_6$ 双侧夹脊穴, 每次 20 min, 每日早晚各 1 次, 共干预 3 d; 其余 2 组大鼠不做特殊干预。干预 3 d 后处理标本, 采用尼氏染色法观察各组大鼠脊髓神经细胞形态, 免疫组化法和 Western blot 法检测各组大鼠脊髓组织中 NLRP3 炎症小体的表达, ELISA 法检测各组大鼠血清中白细胞介素 (interleukin, IL) -1 β 、IL-18 的含量。**结果:**①脊髓神经细胞形态。假手术组大鼠脊髓神经细胞形态完整, 模型组大鼠脊髓神经细胞形态不规则, 电针组大鼠脊髓神经细胞形态较模型组有所改善。②脊髓组织中 NLRP3 炎症小体的表达。免疫组化检测结果显示, NLRP3 炎症小体主要在脊髓神经细胞胞浆中表达, 呈棕褐色; 3 组大鼠脊髓神经细胞中 NLRP3 炎症小体阳性相对表达量总体比较, 差异有统计学意义 [假手术组 (1.000 ± 0.000), 模型组 (1.599 ± 0.009), 电针组 (1.294 ± 0.007); $F = 1\,912.233, P = 0.000$]; 电针组和模型组均高于假手术组 ($P = 0.000, P = 0.000$), 模型组高于电针组 ($P = 0.000$)。Western blot 检测结果显示, 3 组大鼠脊髓组织中 NLRP3 炎症小体蛋白相对表达量总体比较, 差异有统计学意义 [假手术组 (1.000 ± 0.000), 模型组 (1.944 ± 0.076), 电针组 (1.469 ± 0.062); $F = 69.240, P = 0.000$]; 电针组和模型组均高于假手术组 ($P = 0.000, P = 0.000$), 模型组高于电针组 ($P = 0.000$)。③血清中 IL-1 β 、IL-18 含量。3 组大鼠血清中 IL-1 β 、IL-18 含量总体比较, 组间差异均有统计学意义 [IL-1 β : 假手术组 (3.500 ± 0.423) pg \cdot mL $^{-1}$, 模型组 (24.500 ± 1.180) pg \cdot mL $^{-1}$, 电针组 (13.000 ± 0.886) pg \cdot mL $^{-1}$, $F = 140.742, P = 0.000$; IL-18: 假手术组 (4.750 ± 0.675) pg \cdot mL $^{-1}$, 模型组 (28.375 ± 1.879) pgmL $^{-1}$, 电针组 (14.750 ± 1.278) pg \cdot mL $^{-1}$, $F = 75.033, P = 0.000$]; 电针组和模型组均高于假手术组 ($P = 0.000, P = 0.000; P = 0.000, P = 0.000$), 模型组高于电针组 ($P = 0.000, P = 0.000$)。**结论:**电针夹脊穴可抑制脊髓损伤大鼠脊髓组织中 NLRP3 炎症小体的表达, 减少血清中炎症因子 IL-1 β 和 IL-18 的含量, 这可能是该疗法调控脊髓损伤后炎症反应、减轻脊髓神经细胞损伤的机制。

关键词 穴, 夹脊; 电针; 脊髓损伤; 大鼠; 炎症; 白细胞介素 -1 β ; 白细胞介素 -18; NLRP3 炎症小体

Study on mechanism of action of electroacupuncture at Point JIAJI (EX - B2) for regulating inflammatory reaction after spinal cord injury

FAN Junchi, SONG Jiandong, TANG Cai, WANG Jinzhao

Hubei Combinational Hospital of Traditional Chinese Medicine and Western Medicine, Wuhan 430015, Hubei, China

ABSTRACT **Objective:** To explore the mechanism of action of electroacupuncture at Point JIAJI (EX - B2) for regulating inflammatory reaction after spinal cord injury (SCI). **Methods:** Forty - eight 3 - month - old female SD rats were randomly divided into sham - operated group, model group and electroacupuncture group, 16 cases in each group. The laminectomies were performed on rats in the 3 groups to expose their spinal cords. The spinal cords of rats in sham - operated group were not given any intervention; while the spinal cords of rats in model group and electroacupuncture group were hit by using NYU impactor to build the SCI models. After successful modeling, the rats in electroacupuncture group were stimulated with electroacupuncture at bilateral Point JIAJI (EX - B2) from L_1 to L_6 , 20 minutes at a time, twice a day in the morning and evening respectively for consecutive 3 days. No special intervention was performed on the rats in the other 2 groups. After 3 - day intervention, the spinal nerve cell morphology of rats in the 3 groups were observed by using Nissl's staining method, the expressions of NLRP3 inflammasomes in spinal cord tissues were detected by using immunohistochemical method and Western blot method, and the serum contents of interleukin (IL) -1 β and IL-18 were detected by using ELISA method. **Results:** The spinal nerve cell morphology were complete in rats of sham - operated group and irregular in rats of model group and were improved in rats of electroacupuncture group compared to model group. The immunohistochemical staining results showed that NLRP3 inflammasomes were mainly expressed in cytoplasm of spinal nerve cells and presented with tawny staining. There was statistical difference in relative levels of positive expression

of NLRP3 inflammasomes in spinal nerve cells of rats between the 3 groups in general (sham-operated group: 1.000 ± 0.000 , model group: 1.599 ± 0.009 , electroacupuncture group: 1.294 ± 0.007 ; $F = 1\,912.233$, $P = 0.000$). The relative levels of positive expression of NLRP3 inflammasomes in spinal nerve cells were higher in electroacupuncture group and model group compared to sham-operated group, and were higher in model group compared to electroacupuncture group ($P = 0.000$, $P = 0.000$; $P = 0.000$). The results of Western blot assay showed that there was statistical difference in the relative levels of protein expression of NLRP3 inflammasomes in spinal cord tissues of rats between the 3 groups in general (sham-operated group: 1.000 ± 0.000 ; model group: 1.944 ± 0.076 ; electroacupuncture group: 1.469 ± 0.062 ; $F = 69.240$, $P = 0.000$). The relative levels of protein expression of NLRP3 inflammasomes in spinal cord tissues of rats were higher in electroacupuncture group and model group compared to sham-operated group, and were higher in model group compared to electroacupuncture group ($P = 0.000$, $P = 0.000$; $P = 0.000$). There was statistical difference in serum contents of IL-1 β and IL-18 between the 3 groups in general (sham-operated group: 3.500 ± 0.423 pg/mL, model group: 24.500 ± 1.180 pg/mL, electroacupuncture group: 13.000 ± 0.886 pg/mL, $F = 140.742$, $P = 0.000$; sham-operated group: 4.750 ± 0.675 pg/mL, model group: 28.375 ± 1.879 pg/mL, electroacupuncture group: 14.750 ± 1.278 pg/mL, $F = 75.033$, $P = 0.000$). The serum contents of IL-1 β and IL-18 were higher in electroacupuncture group and model group compared to sham-operated group, and were higher in model group compared to electroacupuncture group ($P = 0.000$, $P = 0.000$; $P = 0.000$, $P = 0.000$; $P = 0.000$, $P = 0.000$). **Conclusion:** Electroacupuncture at Point JIAJI (EX-B2) can inhibit the expression of NLRP3 inflammasomes in spinal cord tissues and decrease the serum contents of IL-1 β and IL-18 in rats with spinal cord injuries, which may be its mechanism of action in regulating inflammatory reaction and lessening spinal nerve cell injuries after SCI.

Keywords point ex-b2 (JIAJI); electroacupuncture; spinal cord injuries; rats; inflammation; interleukin-1 β ; interleukin-18; NLRP3 inflammasome

脊髓损伤是由暴力直接或间接作用于脊柱,压迫或损伤脊髓所致,主要表现为损伤平面以下躯体感觉和运动功能减退或完全消失^[1-2]。目前临床上治疗脊髓损伤多采用外科手术结合激素冲击疗法等,但这些方法并不能治愈脊髓损伤^[3]。脊髓损伤后的炎症反应是导致脊髓损伤难以治愈的重要原因之一^[4]。电针夹脊穴常用于治疗颈腰椎疾病,实验研究发现,该疗法可有效调控脊髓损伤后机体的炎症反应、加快受损神经组织的自我修复、保护神经元,但其具体作用机制尚不明确^[5-7]。为探讨电针夹脊穴调控脊髓损伤后炎症反应的作用机制,笔者建立脊髓损伤大鼠模型,并对经电针夹脊穴干预的模型大鼠的脊髓神经细胞形态及脊髓组织中 NLRP3 炎症小体表达情况和血清中炎症因子的含量进行了观察,现报告如下。

1 实验材料

1.1 实验动物 健康 3 月龄雌性 SD 大鼠 48 只,体重质量(230 ± 20)g,购于上海斯莱克实验动物责任有限公司[实验动物合格证号:SCXK(沪)2014-006],饲养于 SPF 级实验室,每日给予充分食物和饮水。

1.2 实验试剂和仪器 兔抗鼠 NLRP3 抗体、兔抗鼠 cleaved-Caspase1 抗体、羊抗兔二抗(美国 Proteintech),免疫组化试剂盒(湖北奥森生物科技有限公司),Elisa 试剂盒(武汉博士德生物技术有限公司),

BCA 蛋白浓度测定试剂盒(美国 Vazyme),尼氏染色试剂盒、DAB 显色试剂盒(上海碧云天生物科技有限公司);华佗牌电子针灸仪,电子显微镜(德国 CARL ZEISS),图像分析系统、小型垂直电泳转印系统(美国 BIO-RAD),酶标仪(美国 BIO-TEK)。

2 方法

2.1 分组方法 48 只大鼠采用随机数字表分为假手术组、模型组和电针组,每组 16 只。

2.2 造模方法 1% 戊巴比妥腹腔麻醉大鼠后,固定大鼠于俯卧位。 $T_9 \sim T_{11}$ 区脱毛,纵行沿棘突切一长约 2.5 cm 的切口,剥离皮下组织,行椎板切除术显露脊髓。假手术组对脊髓不进行处理。其余 2 组在显露脊髓后,调整好 NYU 脊髓打击器,对大鼠脊髓进行垂直打击,击打时大鼠后肢触电样回缩,尾部摆动。术后大鼠下肢瘫痪,证明造模成功。

2.3 干预方法 造模术后,3 组大鼠每日早晚各 1 次顺时针按摩大鼠腹部以助其排泄;每只大鼠注射青霉素 4 万单位,每日早晚各 1 次,持续 3 d。电针组,电针刺激 $L_1 \sim L_6$ 双侧夹脊穴^[7],频率 2 Hz、电流 1 mA,每次 20 min,每日早晚各 1 次,共干预 3 d。其余 2 组大鼠不做特殊干预。

2.4 标本制备方法 连续干预 3 d 后,3 组大鼠每组各取 8 只,7% 水合氯醛腹腔麻醉,剪开腹腔,取腹主

动脉血 5 mL 置于抗凝管,血液收集完成后迅速夹闭腹主动脉。经心尖用生理盐水进行快速灌注冲洗后,4% 多聚甲醛灌注固定。在损伤段取长约 2 cm 的脊髓,4% 多聚甲醛固定 48 h,酒精脱水、二甲苯透明后,石蜡包埋制成 5 μ m 厚的组织切片。剩余大鼠,经心尖用生理盐水进行快速灌注冲洗后,取损伤段新鲜脊髓组织于 -80 $^{\circ}$ C 保存。

2.5 检测方法

2.5.1 脊髓神经细胞形态观察 将脊髓组织切片进行尼氏染色,光学显微镜下观察细胞形态。

2.5.2 脊髓组织 NLRP3 炎症小体检测 采用免疫组化和 Western blot 法进行检测。免疫组化:将脊髓组织切片进行免疫组化染色,具体操作方法按照试剂盒说明。Western blot:取脊髓组织,加入 RIPA 裂解液,用组织研磨器研磨成脊髓浆液,BCA 法测总蛋白浓度后进行上样,进行凝胶电泳。电泳完毕,电转至聚偏二氟乙烯膜上,用备好的脱脂奶粉 4 $^{\circ}$ C 下封闭 1.5 h 后加入配置好的 NLRP3 单克隆抗体,4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜。含吐温 -20 的磷酸盐缓冲液洗涤,加入二抗常温反应 1.5 h 后,进行显色处理,凝胶成像系统显示条带。均以假手术组的检测结果为 1,计算其他 2 组脊髓组织 NLRP3 炎症小体的相对表达量。

2.5.3 血清炎症因子检测 腹主动脉血高速离心(离心半径 10 cm,转速 14 000 $r \cdot \min^{-1}$) 20 min,取上清液并按照 1:100 的比例用 PBS 稀释后,根据 ELISA 试剂盒说明书进行操作,检测血清中白细胞介素(interleukin -1 β , IL -1 β)、IL -18 的含量。酶标仪检测吸光度,波长 450 nm,样本吸光度值与标准品吸光度值的比值为炎症因子含量。

2.6 数据统计方法 采用 SPSS22.0 统计软件处理数据,3 组大鼠脊髓组织中 NLRP3 炎症小体相对表达

量及血清中 IL -1 β 、IL -18 含量的组间比较均采用单因素方差分析,进一步组间两两比较采用 LSD - t 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

3 结果

3.1 脊髓神经细胞形态 假手术组大鼠脊髓神经细胞形态完整,胞质内清晰分布有尼氏体;模型组大鼠脊髓神经细胞形态不规则,散在分布瘀血斑块,无细胞核,尼氏体萎缩;电针组大鼠脊髓神经细胞形态较模型组有所改善,瘀血斑块较小,尼氏体相对饱满,细胞水肿减轻(图 1)。

3.2 脊髓组织中 NLRP3 炎症小体的表达 免疫组化检测结果表明,NLRP3 炎症小体主要在脊髓神经细胞胞浆中表达,呈棕褐色。假手术组大鼠脊髓神经细胞胞浆中有少量 NLRP3 炎症小体表达,模型组大鼠脊髓神经细胞胞浆中有大量 NLRP3 炎症小体表达,电针组大鼠脊髓神经细胞胞浆中可见散在分布 NLRP3 炎症小体(图 2);3 组大鼠脊髓神经细胞中 NLRP3 炎症小体阳性相对表达量总体比较,差异有统计学意义;电针组和模型组均高于假手术组($P = 0.000$, $P = 0.000$),模型组高于电针组($P = 0.000$);见表 1。Western blot 检测结果显示,3 组大鼠脊髓组织中 NLRP3 炎症小体蛋白相对表达量总体比较,差异有统计学意义;电针组和模型组均高于假手术组($P = 0.000$, $P = 0.000$),模型组高于电针组($P = 0.000$)。见图 3、表 1。

3.3 血清 IL -1 β 、IL -18 含量 3 组大鼠血清中 IL -1 β 、IL -18 含量总体比较,组间差异均有统计学意义;电针组和模型组均高于假手术组($P = 0.000$, $P = 0.000$, $P = 0.000$, $P = 0.000$),模型组高于电针组($P = 0.000$, $P = 0.000$);见表 2。

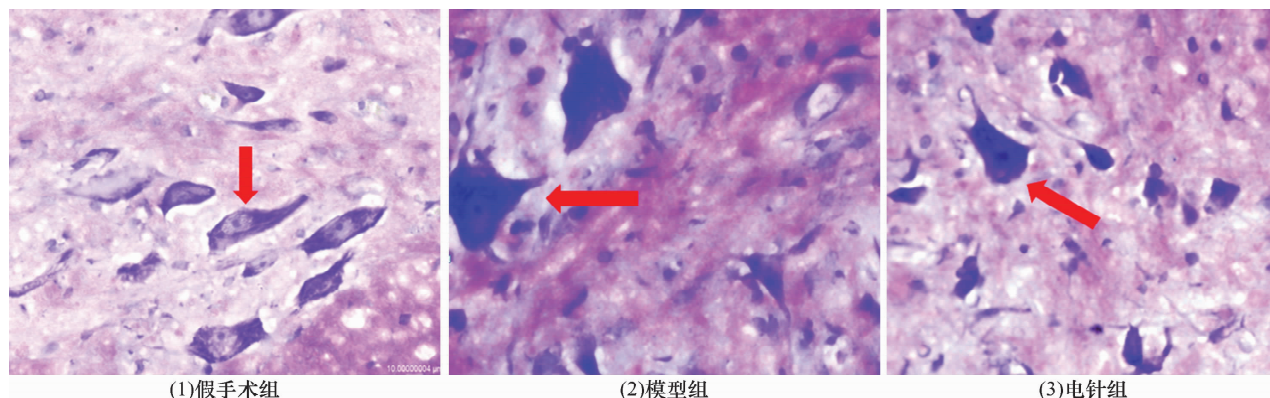


图 1 3 组大鼠脊髓神经细胞形态(尼氏染色 $\times 400$)

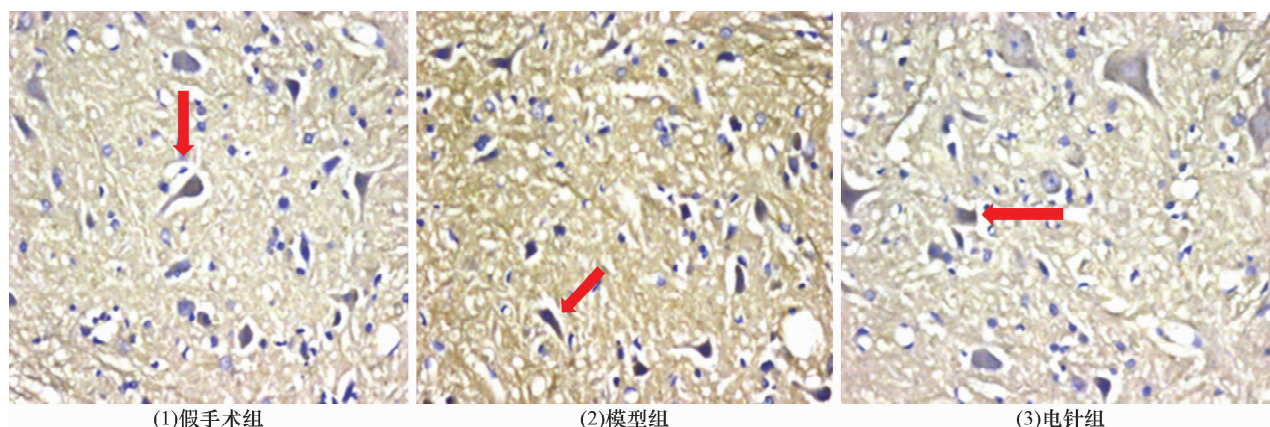


图 2 3 组大鼠脊髓组织中 NLRP3 炎症小体免疫组化染色图片 (×400)

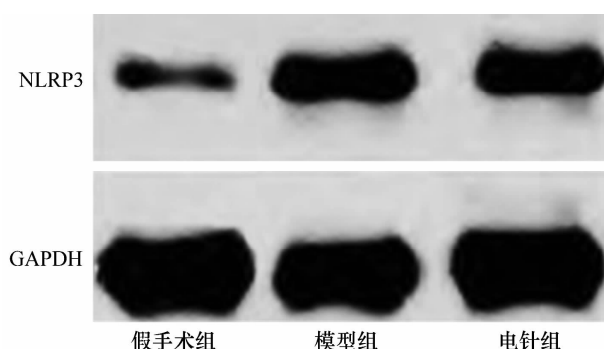


图 3 3 组大鼠脊髓组织中 NLRP3 炎症小体电泳图

表 1 3 组大鼠脊髓组织中 NLRP3 炎症小体相对表达量

组别	样本量 (只)	NLRP3 炎症小体相对表达量($\bar{x} \pm s$)	
		免疫组化	Western blot
假手术组	8	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000
模型组	8	1.599 ± 0.009	1.944 ± 0.076
电针组	8	1.294 ± 0.007	1.469 ± 0.062
F 值		1 912.233	69.240
P 值		0.000	0.000

表 2 3 组大鼠血清 IL-1 β 、IL-18 含量

组别	样本量 (只)	IL-1 β 含量 ($\bar{x} \pm s$, pg · mL ⁻¹)	
		IL-1 β 含量 ($\bar{x} \pm s$, pg · mL ⁻¹)	IL-18 含量 ($\bar{x} \pm s$, pg · mL ⁻¹)
假手术组	8	3.500 ± 0.423	4.750 ± 0.675
模型组	8	24.500 ± 1.180	28.375 ± 1.879
电针组	8	13.000 ± 0.886	14.750 ± 1.278
F 值		140.742	75.033
P 值		0.000	0.000

IL-1 β : 白细胞介素-1 β ; IL-18: 白细胞介素-18

4 讨论

脊髓损伤后病理反应较为复杂,主要包括损伤处缺血、炎症因子浸润、细胞水肿及自噬等,继而引发病理产物广泛堆积,引起代谢失调、离子平衡被打破、蛋白毒性反应等一系列病理表现^[8-9]。这些病理反应可迅速侵蚀中枢及周围神经元,致使大量神经细胞发生脱髓鞘、神经元凋亡和阻断轴突生长的病理性胶质瘢痕形成,造成神经传导和营养功能失常,最终造成

神经系统永久性损害^[10]。脊髓损伤后的炎症反应不仅可以造成周围组织损伤、细胞外基质失调,还会进一步对损伤处及其周围的神经元和结缔组织等造成损害,从而加重神经元的凋亡和瘢痕组织形成。研究发现脊髓损伤后在相关因子诱导下炎症因子会在损伤处大量聚集,且可在伤后 72 h 达到峰值^[11-13]。

炎症小体是一种由多种蛋白聚合而成的大分子复合物,主要在细胞质中表达,可促进多种炎症因子的成熟和活化,参与激活多种炎症因子介导的机体免疫应答,在机体的固有免疫反应中扮演重要的角色^[14-15]。炎症小体活化后可使机体出现相关毒性反应,各类炎症性疾病通常与炎症小体的非特异性活化有密切关联^[16]。NLRs 炎症小体是炎症小体家族的最主要成员,在与炎症反应相关联的信号识别、筛选、摄取、装配成熟中都能起到关键作用。而 NLRs 炎症小体家族中,表达量最高、与炎症反应联系更密切的是 NLRP3 炎症小体。NLRP3 炎症小体构造复杂,复杂的构造也决定了其受到刺激后介导的炎症反应的过程也十分复杂。异常信号刺激炎症小体后,其本身 NACHT 结构域呈现出寡聚化进而促使连接蛋白 PYD 结构发生改变,开始自我聚合以形成某种特殊六聚体的大分子蛋白复合物,并促使来源相同的 ASC 接头蛋白发生其募集作用,募集下游来源相同的 pro-caspase-1,两者之间通过某种分子间的相互作用使前体蛋白 pro-caspase-1 发生结构和功能的改变,自我裂解形成 α 和 β 两个亚单位, α 和 β 两个亚单位重新组装成某种四聚体,也称之为有活性的 caspase-1 即 cleaved-Caspase1,这种四聚体从 NLRP3 炎症体场所中脱离后,在细胞质内被转运到细胞膜内膜上,与细胞内膜上的相应底物蛋白结合,并接受特异性天冬氨酸酶的酶切作用从而开始发挥其生物学效应^[17]。经过酶切的 cleaved-Caspase1 可结合细胞质中游离

的 IL-1 β 和 IL-18 等炎症因子前体,使其从不具有活性的前体蛋白剪切为成熟的炎症因子,分泌到细胞外,参与机体的炎症反应^[18-19]。

郭静^[20]研究发现电针夹脊穴能够减轻神经细胞的氧化应激损伤,抑制谷氨酸对脊髓神经元的兴奋性毒性作用,发挥对神经的保护作用。郭颖^[21]研究发现电针夹脊穴可促进细胞自噬,促进细胞内异常蛋白清除,起到保护运动神经元的作用。郎庆琦^[22]研究证实电针夹脊穴抑制小鼠腰髓前角 Caspase-3 的表达,抑制细胞凋亡,进而保护了运动神经元。本研究表明,电针夹脊穴可抑制脊髓损伤大鼠脊髓组织中 NLRP3 炎症小体的表达,减少血清中炎症因子 IL-1 β 和 IL-18 的含量,这可能是该疗法调控脊髓损伤后炎症反应、减轻脊髓神经细胞损伤的机制。

参考文献

- [1] HOLM N J, MØLLER T, ADAMSEN L, et al. Health promotion and cardiovascular risk reduction in people with spinal cord injury: physical activity, healthy diet and maintenance after discharge – protocol for a prospective national cohort study and a preintervention – postintervention study [J]. *BMJ Open*, 2019, 9(12): e030310.
- [2] WANG J L, LUO X, LIU L. Targeting CARD6 attenuates spinal cord injury (SCI) in mice through inhibiting apoptosis, inflammation and oxidative stress associated ROS production [J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(24): 12213 – 12235.
- [3] SHARMA M, DIETZ N, UGILIWENEZA B, et al. Impact of surgical timing and approaches to health care utilization in patients undergoing surgery for acute traumatic cervical spinal cord injury [J]. *Cureus*, 2019, 11(11): e6166.
- [4] GOODUS M T, MCTIGUE D M. Hepatic dysfunction after spinal cord injury: a vicious cycle of central and peripheral pathology? [J]. *Exp Neurol*, 2020, 325: 113160.
- [5] 付豪, 梅继林, 李庆琳, 等. 夹脊电针对急性脊髓损伤大鼠脊髓病理形态及组织中炎症因子表达的影响 [J]. *针灸临床杂志*, 2020, 36(1): 66 – 70.
- [6] 郭玉怀, 孙忠人, 姜凡, 等. 夹脊电针促进急性脊髓损伤恢复的机制研究进展 [J]. *中国中医急症*, 2019, 28(3): 546 – 548.
- [7] 王赛, 邹恩苗, 林海燕, 等. 夹脊、督脉电针对大鼠脊髓损伤前炎症细胞因子表达的影响 [J]. *中国康复医学杂志*, 2013, 28(5): 389 – 392.
- [8] MIN S H, LEE S H, SHIM H, et al. Development of complete thoracic spinal cord transection model in rats for delayed transplantation of stem cells [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2011, 36(3): E155 – E163.
- [9] UNG R V, LAPOINTE N P, ROULEAU P, et al. Non-assisted treadmill training does not improve motor recovery and body composition in spinal cord – transected mice [J]. *Spinal cord*, 2010, 48(10): 750 – 755.
- [10] VOLAREVIC V, ERCEG S, BHATTACHARYA S S, et al. Stem cell – based therapy for spinal cord injury [J]. *Cell transplant*, 2013, 22(8): 1309 – 1323.
- [11] 王涛丽, 顾兵, 李华南, 等. 急性脊髓损伤后的炎症反应及其抗炎治疗 [J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(4): 452 – 457.
- [12] BLOOM O, HERMAN P E, SPUNGEN A M. Systemic inflammation in traumatic spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2020, 325: 113143.
- [13] GUAN Y Z, SUN C, WANG H L, et al. MiR-223-5p inhibitor suppresses microglia inflammation and promotes Nrg-1 in rats of spinal cord injury [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(22): 9746 – 9753.
- [14] JIANG W W, ZHU F G, BHAGAT L, et al. A Toll-like receptor 7, 8, and 9 antagonist inhibits Th1 and Th17 responses and inflammasome activation in a model of IL-23-induced psoriasis [J]. *J Invest Dermatol*, 2013, 133(7): 1777 – 1784.
- [15] AACHOUY Y, SAGULENKO V, MIAO E A, et al. Inflammasome-mediated pyroptotic and apoptotic cell death, and defense against infection [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2013, 16(3): 319 – 326.
- [16] WALSH J G, MURUVE D A, POWER C. Inflammasomes in the CNS [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2014, 15(2): 84 – 97.
- [17] DENES A, LOPEZ – CASTEJON G, BROUGH D. Caspase-1: is IL-1 just the tip of the iceberg? [J]. *Cell Death Dis*, 2012, 3(7): e338.
- [18] HOF M I, WILLIAMSON L, SUMMERFIELD A, et al. Effect of synthetic agonists of Toll-like receptor 9 on canine lymphocyte proliferation and cytokine production in vitro [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2008, 124(1/2): 120 – 131.
- [19] WANG M J, TAN J N, WANG Y, et al. IL-18 binding protein-expressing mesenchymal stem cells improve myocardial protection after ischemia or infarction [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(41): 17499 – 17504.
- [20] 郭静. 夹脊电针对 ALS-SOD1 ~ (G93A) 转基因小鼠腰髓中 COX-2 表达影响的实验研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2017.
- [21] 郭颖. 夹脊电针对 ALS-SOD1 ~ (G93A) 转基因小鼠腰髓运动神经元自噬相关蛋白影响的实验研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2017.
- [22] 郎庆琦. 夹脊电针对 ALS-SOD1 ~ (G93A) 转基因小鼠脊髓中 Caspase-3 蛋白表达的影响 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2017.