

推拿影响坐骨神经损伤大鼠行为学及神经 营养索 3、酪氨酸激酶受体 C 表达的研究

吴剑聪 耿楠 李小琴 潘璠 冼思彤 于跃 高玉峰 鲁梦倩 于天源

【摘要】 目的 观察推拿对坐骨神经损伤大鼠行为学、神经营养索 3 (neurotrophin-3, NT-3)、酪氨酸激酶受体 C (tyrosine receptor kinase C, TrkC) 表达的影响, 研究推拿修复坐骨神经损伤的机理。**方法** 将大鼠分为正常组、假手术组、模型组、模型对照组、推拿组, 采用大鼠坐骨神经夹持损伤法于右侧股骨中段下方夹持神经进行造模, 7 天后进行推拿干预, 共 20 次。干预 10 次、20 次后, 分别通过坐骨神经功能指数 (sciatic functional index, SFI)、斜板试验观察各组大鼠的行为学变化; 再通过免疫组化法检测各组大鼠脊髓腹角 NT-3、TrkC 的表达情况, 最后对各组数据进行统计分析。**结果** 模型组和模型对照组大鼠行为学检测提示坐骨神经损伤大鼠的运动功能明显降低, 在推拿干预后, 斜板试验明显升高, 神经功能恢复情况优于模型组和模型对照组 ($P < 0.05$); SFI 有一定程度恢复, 负值较模型组、模型对照组高, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。模型组、模型对照组及推拿组脊髓 NT-3、TrkC 表达与正常组相比差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 推拿组 NT-3 表达与模型组相比差异也有统计学意义 ($P < 0.05$), 推拿组更高。**结论** 中医推拿可以改善神经损伤大鼠的行为学表现, 可能是通过促进 NT-3 及其受体 TrkC 的表达, 发挥抑制细胞凋亡, 促神经元存活的作用, 最终实现促进神经功能恢复, 改善其运动功能。

【关键词】 推拿; 坐骨神经损伤; 动物行为学; 神经营养索 3; 酪氨酸激酶受体 C

【中图分类号】 R244.1 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2014.03.004

Investigation of Tuina therapy on NT-3, TrkC and behavioristics of SNI model rats WU Jian-cong, GENG Nan, LI Xiao-qin, et al. School of Acupuncture, Moxibustion and Tuina, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Corresponding author: YU Tian-yuan, E-mail: yutianyuan@sina.com

【Abstract】 Objective To observe the influence of Tuina therapy on neurotrophin-3 (NT-3), tyrosine receptor kinase (TrkC) and behavioristics of sciatic nerve injury model rats in order to probe the mechanisms of Tuina therapy in sciatic nerve injury. **Methods** We divide rats into five groups which include normal group, sham-operation group, model group, bondage group and Tuina group. Use the nerve clamping method to make the sciatic nerve injury model. Sciatic functional index (SFI) and oblique board test in each group are observed as behavioral evidences. Then observe the density of NT-3 and TrkC in spinal cord by using immunohistochemistry. **Results** The SFI scores of Tuina group, model group and bondage group are significantly lower than blank control group, while Tuina group score is higher than model group, but still lower than blank control group. The oblique board test scores of the model group and bondage group are significantly lower than blank control group, while score of Tuina group is much higher. The immunohistochemistry shows that the amount of the NT-3 and TrkC are all significantly different in model control group, bondage group and Tuina group. NT-3 and TrkC is significantly higher in Tuina group.

基金项目: 国家自然科学基金 (30873311); 北京中医药大学在读研究生资助项目 (532/0100604213)

作者单位: 100029 北京中医药大学针灸推拿学院 [吴剑聪 (博士研究生)、耿楠 (硕士研究生)、李小琴 (硕士研究生)、潘璠 (博士研究生)、冼思彤 (硕士研究生)、于跃 (硕士研究生)、高玉峰 (博士研究生)、鲁梦倩 (博士研究生)、于天源]

作者简介: 吴剑聪 (1985 -), 2011 级在读博士研究生。研究方向: 针灸推拿治疗周围神经损伤的机理研究。E-mail: 39671377@qq.com

通讯作者: 于天源 (1965 -), 博士, 教授, 主任医师。研究方向: 针灸推拿治疗周围神经损伤的机理研究。E-mail: yutianyuan@sina.com

Conclusion Tuina therapy could treat the sciatic nerve injury by increasing NT-3 and TrkC. As a result, the survival of nerve cell is promoted by Tuina therapy, then the motor function of sciatic nerve injury rats are improved.

【Keywords】 Tuina; Sciatic nerve injury; Zoological behavioristics; Neurotrophin-3; Tyrosine receptor kinase C

神经营养因子(neurotrophic factors, NTFs)是能促进神经元存活,诱导神经元分化,并对神经系统的发育及功能维持起作用的一类多肽。神经营养因子 3(neurotrophin-3, NT-3)是 NTFs 的一种,属于典型的靶源性神经营养因子^[1],主要由靶器官分泌。它对神经元的生长发育、增殖分化和损伤修复有重要作用^[2],它通过酪氨酸激酶受体 C(tyrosine receptor kinase C, TrkC)和 p75 神经营养因子受体(p75 neurotrophin receptor, p75NTR)介导神经元的发育、生长、存活和凋亡过程。其中 TrkC 是其高亲和力受体,与 NT-3 结合时起正性作用;p75NTR 是其低亲和力受体,主要起负性作用。本次实验目的在于考察推拿对损伤后 NT-3、TrkC 的表达变化,以明确 NT-3、TrkC 与推拿疗效之间的关系,揭示推拿治疗周围神经损伤的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

清洁级雄性 SD 大鼠 104 只(北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证编号:SCXK(京)2012-0001;出笼批次号:11400700025137),体重(150 ± 10)g。

1.2 动物分组

采用随机表法先将实验动物随机分为正常组、假手术组、造模组,其中正常组、假手术组各 24 只,造模组 56 只。在造模结束后,对造模组进行第二次随机分组,分为模型组、模型对照组、推拿组,其中模型组 24 只,模型对照组、推拿组各 16 只。实验期间未出现动物死亡现象,最终每组均有 8 只大鼠纳入统计。

1.3 模型制备

采用夹持损伤法^[3]制造坐骨神经损伤模型,方法如下:水合氯醛 0.35 ml/100 g 体重麻醉;手术区剪毛、常规消毒;于右侧臀股交界处切开皮肤,钝性逐层分离暴露梨状肌下缘及坐骨神经;用 10 号持针钳,夹持梨状肌下缘 5 mm 处的坐骨神经,满扣夹持 5 秒,造成长约 2 mm 的损伤点;术后逐层消毒缝合。假手术组只暴露坐骨神经,不夹持,暴露后即消毒

缝合。

1.4 取材时间点

于造模后第 7 日于正常组、假手术组、模型组各取 8 只大鼠进行行为学检测和免疫组化取材,再于治疗 10 次、20 次后分别对正常组、假手术组、模型组、模型对照组、推拿组进行行为学检测及免疫组化取材,每次取材每组各取 8 只。

1.5 仪器及试剂

仪器:按摩推拿手法模拟仪(发明专利号 200710187403.1),模拟推拿手法,保证频率、力度的定量输出,确保推拿手法统一。病理石蜡包埋机(沈阳市龙首电子仪器有限公司,LS-100)、石蜡切片机(北京弘泰嘉业科技发展有限公司,Finess 325)、显微镜(麦克奥迪,BA400)等。

试剂:NT-3 抗体(Anti-NT3 antibody),生产厂家美国 Abcam 公司,编号:ab65804;TrkC 抗体(Anti-TrkC antibody),生产厂家美国 Abcam 公司,编号:ab75174。

1.6 干预方式

各组均在造模后第 7 天开始干预。推拿组干预时,先使大鼠钻入自制布袋中,并使其四肢从四个小开口处伸出布袋;鼠尾从入口处露于袋外,并用绳子绑住入口,使大鼠无法脱离布袋。再用手法模拟仪依次刺激大鼠右侧股门、承山、阳陵泉;手法模拟为点法、拨法、揉法;刺激力量为 4 N。每法每穴 1 分钟;三穴三法总计 9 分钟。手法模拟仪按摩头为直径 5 mm 的圆形光滑接触面;正常组、假手术组、模型组常规喂养;模型对照组大鼠每天以布袋束缚 9 分钟,束缚方法同推拿组。

1.7 实验检测

行为学检测为测定坐骨神经功能指数^[4](sciatic functional index, SFI):自制大鼠行走箱,长 80 cm,宽 10 cm,高 10 cm,行走道上铺针式打印纸,用印盒将大鼠双后足染色后,在行走箱中直线行走,在打印纸上留下 3~4 对足印,量取大鼠手术侧足(E)、正常侧足(N)的足印长度作为变量:足印长度(PL),足趾宽度(TS),中间足趾距离(IT)。当动物用足背行走或由于足挛缩无法测量 PL 或 TS 或

IT 时,则定 PL = 80 mm,LS = 6 mm,IT = 6 mm。测量全部变量后,运用 Bain 公式计算 SFI,即: $SFI = -38.3[(EPL - NPL)/NPL] + 109.5[(ETS - NTS)/NTS] + 13.3[(EIT - NI)/NIT] - 8.8$ 。每组数据测量精确到毫米,代入 Bain 公式计算,得出 SFI。SFI = 0 为正常值,SFI ≤ -100 为神经完全断离。

斜板试验^[5]测定,评价运动恢复情况,主要步骤为:(1)把大鼠放置在测试面带有浅沟槽的胶皮特制的斜板上;(2)测量大鼠在斜板上至少停留 5 秒的最大角度并记录数值。每只大鼠测量 3 次,计算平均角度。

免疫组化:大鼠以 4% 多聚甲醛全身灌注固定,取 L3 ~ L5 脊髓,再入 4% 多聚甲醛溶液固定,石蜡包埋、切片,经脱蜡、水化,抗原修复,SABC 法染色,脱水、透明、封片、镜检,观察蛋白表达,并用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件进行平均光密度半定量分析。

1.8 统计方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析,计量结果以($\bar{x} \pm s$)表示,各组数据经正态性检验,再进行方差齐性检验,结果各组均正态,方差齐,因此组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),用 LSD 法进行两两比较, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 行为学检测结果

SFI:均采用单因素方差分析对每组 SFI 进行比较,两两比较采用 LSD 法,结果见表 1。造模 7 天后,方差为 $F = 232.17$,模型组大鼠 SFI 的负值显著低于正常组和假手术组($P < 0.01$);治疗 10 次、20 次后,方差分别为 $F = 15.94$ 、 $F = 22.57$,模型组和模型对照组的负值明显低于正常组和假手术组($P < 0.05$),推拿组与模型组、模型对照组比较没有统计学意义($P > 0.05$),但负值小于此二组,与正常组相比有统计学差异($P < 0.05$)。

表 1 推拿对坐骨神经损伤模型大鼠 SFI 的影响($\bar{x} \pm s$)

组名	造模后 7 天	治疗 10 次	治疗 20 次
正常组($n=8$)	-5.28 ± 8.01 ^b	-2.67 ± 21.37 ^b	-5.59 ± 10.4 ^b
假手术组($n=8$)	-11.7 ± 8.06 ^b	4.88 ± 16.71 ^b	-12.46 ± 11.96 ^b
模型组($n=8$)	-83.59 ± 8.14 ^a	-49.98 ± 10.11 ^a	-44.5 ± 3.17 ^a
模型对照组($n=8$)		-50.15 ± 20.26 ^a	-44.78 ± 9.16 ^a
推拿组($n=8$)		-36.51 ± 16.07 ^a	-35.06 ± 9.99 ^a

注:与正常组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.2 斜板试验

均采用单因素方差分析对每组斜板试验数据进行统计,两两比较采用 LSD 法,结果如表 2 所示,造模 7 天后,方差为 $F = 96.11$,模型组大鼠斜板试验角度明显低于正常组和假手术组($P < 0.01$);治疗 10 次、20 次后,方差分别为 $F = 22.71$ 、 $F = 4.35$,模型组和模型对照组大鼠斜板试验角度与正常组相比均明显降低($P < 0.05$),治疗 10 次后,推拿组与模型组相比明显升高($P < 0.05$),但与正常组相比仍有显著性差异($P < 0.05$),低于正常组。治疗 20 次后,推拿组与模型组相比明显升高($P < 0.05$),同时,与正常组相比没有显著性差异($P > 0.05$)。

表 2 推拿对坐骨神经损伤模型大鼠斜板试验的影响($\bar{x} \pm s$,单位:°)

组名	造模后 7 天	治疗 10 次	治疗 20 次
正常组($n=8$)	51.74 ± 3.51 ^b	52.59 ± 3.4 ^b	53.02 ± 3.24 ^b
假手术组($n=8$)	50.26 ± 2.62 ^b	51.63 ± 2.32 ^b	52.70 ± 3.55 ^b
模型组($n=8$)	42.68 ± 3.02 ^a	43.42 ± 2.5 ^a	45.24 ± 2.91 ^a
模型对照组($n=8$)		44.06 ± 3.51 ^a	45.95 ± 2.79 ^a
推拿组($n=8$)		47.50 ± 3.21 ^{ab}	51.20 ± 2.86 ^b

注:与正常组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.3 免疫组化结果

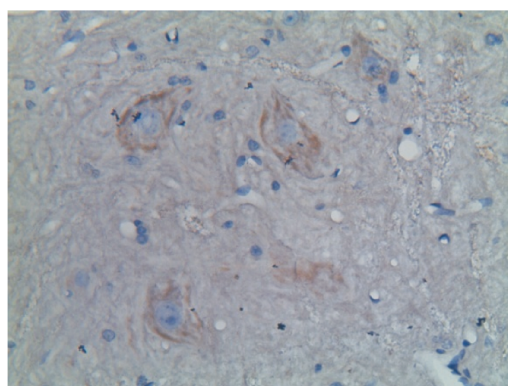
2.3.1 NT-3 表达 经 Image-Pro Plus 6.0 进行平均光密度检测,后采用单因素方差分析对每组光密度值进行统计,两两比较采用 LSD 法。结果如表 3 所示,造模 7 天后,方差为 $F = 42.11$,模型组大鼠脊髓前角 NT-3 的表达已明显高于正常组和假手术组,有统计学意义($P < 0.05$);但治疗 10 次后,方差为 $F = 15.54$,模型组和模型对照组 NT-3 平均光密度与正常组相比没有统计学意义($P > 0.05$),推拿组

表 3 推拿对坐骨神经损伤模型大鼠脊髓 NT-3 平均光密度的影响($\bar{x} \pm s$)

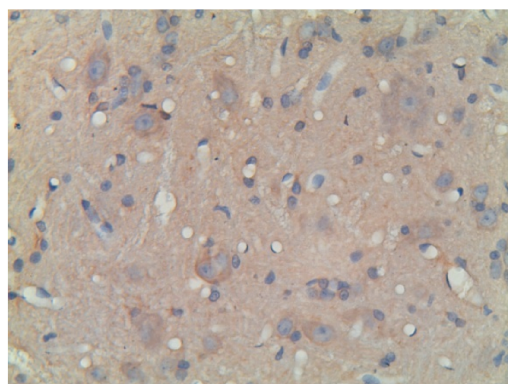
组名	造模后 7 天	治疗 10 次	治疗 20 次
正常组($n=8$)	9.20 ± 1.43 ^b	9.81 ± 2.61	10.73 ± 3.00 ^b
假手术组($n=8$)	10.36 ± 3.95 ^b	10.19 ± 2.45	10.85 ± 3.48 ^b
模型组($n=8$)	20.22 ± 1.81 ^a	14.79 ± 3.25	15.87 ± 3.71 ^a
模型对照组($n=8$)		13.82 ± 3.36	15.8 ± 3.3 ^a
推拿组($n=8$)		28.14 ± 8.21 ^{ab}	33.24 ± 6.21 ^{ab}

注:与正常组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

与模型组、正常组相比则明显升高($P < 0.05$)。治疗 20 次后,方差为 $F = 42.53$,模型组和模型对照组 NT-3 平均光密度比正常组有所升高($P < 0.05$),推拿组与模型组、正常组相比明显升高($P < 0.05$)。免疫组化结果如图 1、2 所示。



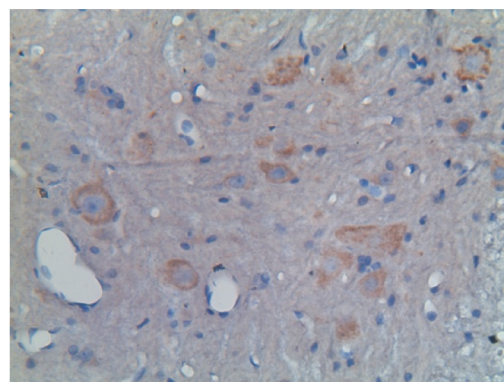
模型组



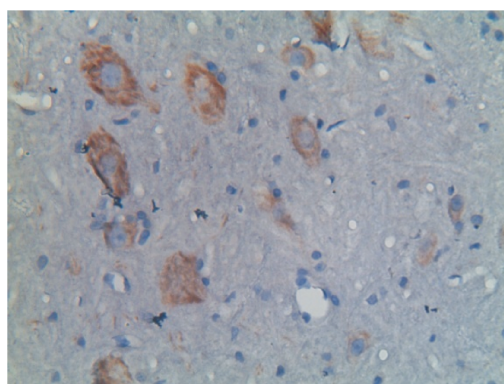
推拿组

图 1 坐骨神经损伤大鼠推拿治疗 10 次后脊髓 NT-3 免疫组化结果($\times 400$)

2.3.2 TrkC 表达 以 Image-Pro Plus 6.0 分析图片光密度,后采用单因素方差分析对各组光密度值进行统计,两两比较采用 LSD 法,结果见表 4。造模 7 天后,方差为 $F = 3.9$,模型组大鼠脊髓前角 TrkC 的表达低于正常组和假手术组,没有统计学意义($P < 0.05$);治疗 10 次后,方差为 $F = 9.68$,模型组、模型对照组、推拿组 TrkC 平均光密度与正常组比较有统计学意义($P < 0.05$),三组均高于正常组,同时推拿组与模型组比较亦有显著差异($P < 0.05$),推拿组更高。治疗 20 次后,方差为 $F = 89.12$,组内两两比较结果与治疗 10 次类似,而各组蛋白表达均有提高,其中推拿组最高,与模型组比较有统计学意义($P < 0.05$)。免疫组化结果如图 3、4 所示。



模型组



推拿组

图 2 坐骨神经损伤大鼠推拿治疗 20 次后脊髓 NT-3 免疫组化结果($\times 400$)

表 4 推拿对坐骨神经损伤模型大鼠脊髓 TrkC 平均光密度的影响($\bar{x} \pm s$)

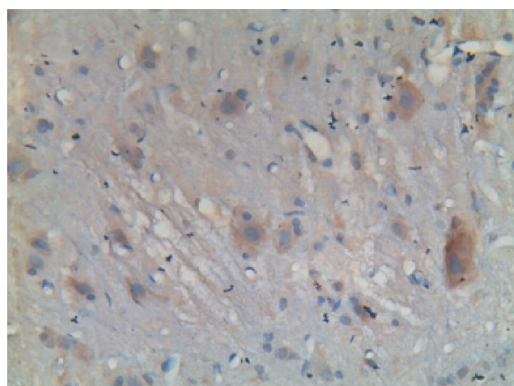
组名	造模后 7 天	治疗 10 次	治疗 20 次
正常组($n=8$)	17.33 ± 6.61^b	18.93 ± 8.95^b	27.16 ± 3.81^b
假手术组($n=8$)	19.07 ± 7.98^b	18.42 ± 6.09^b	24.12 ± 3.00^b
模型组($n=8$)	10.41 ± 4.65^a	39.37 ± 9.47^a	58.65 ± 10.68^a
模型对照组($n=8$)		39.22 ± 13.48^a	52.59 ± 6.59^a
推拿组($n=8$)		67.77 ± 34.58^{ab}	91.38 ± 10.81^{ab}

注:与正常组比较,^a $P < 0.05$;与与模型组比较,^b $P < 0.05$

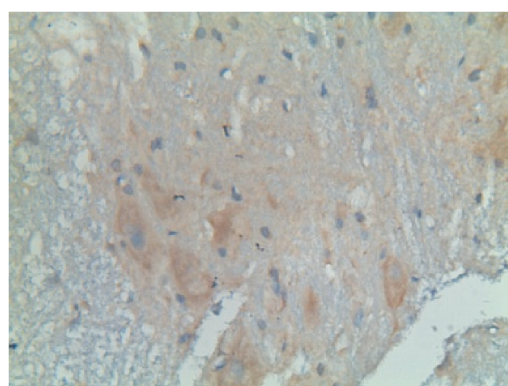
3 讨论

3.1 取穴原则

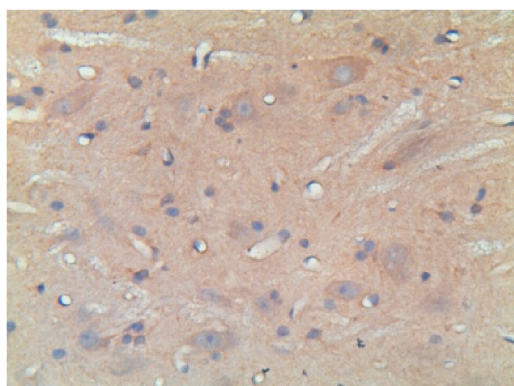
本次实验中,选用的治疗区域为“穴位—神经—肌肉”相关区域,所选穴位“殷门、承山、阳陵泉”位于足太阳膀胱经和足少阳胆经上,符合针灸学中的循经取穴、局部取穴原则;同时 3 穴位于坐骨神经及其分支上,殷门位于坐骨神经干上,承山位于坐骨神经的分支胫神经上,阳陵泉位于坐骨神经



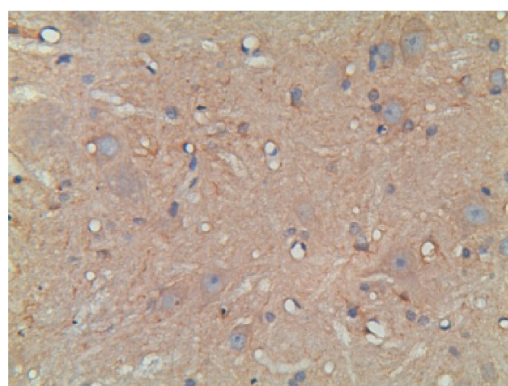
正常组



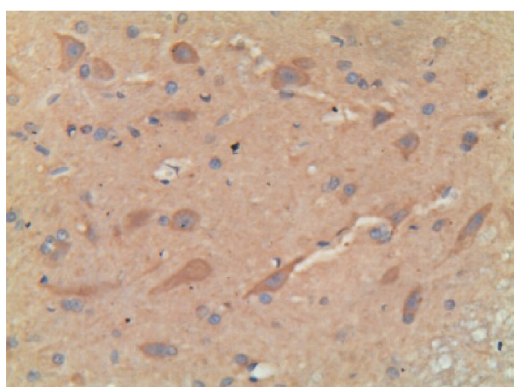
正常组



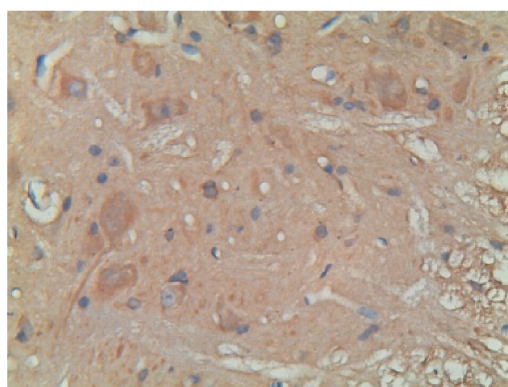
模型组



模型组



推拿组



推拿组

图3 坐骨神经损伤大鼠推拿治疗 10 次后脊髓 TrkC 免疫组化结果(×400)

图4 坐骨神经损伤大鼠推拿治疗 20 次后脊髓 TrkC 免疫组化结果(×400)

的分支腓总神经上;而从神经支配区角度分析,此 3 穴分别是坐骨神经、胫神经、腓总神经所支配的肌肉区——股二头肌、腓肠肌、腓肠肌。通过行为学对疗效进行综合评价,从运动角度分析推拿对坐骨神经损伤的恢复情况,明确推拿可促进周围神经损伤的修复。

3.2 手法选择

本次实验选择点法、拨法、揉法作为干预方法,

其原因有两点:(1) 三种手法是临床最常用的手法,广泛应用于神经损伤性疾病的治疗中,其中,点法、拨法刺激性强,针对性明确,而揉法放松效果好,刺激范围大,三种手法结合,兼具刺激量大、针对性强及刺激范围大的优势,可获得最佳治疗效果;(2) 本实验通过自制手法模拟仪进行干预,其中点法、拨法、揉法所涉及的参数较少,其模拟易于实现。基于以上两点,本次实验选择点、拨、揉三法作为干预

手法。

3.3 SFI 结果分析

行为学检测中, SFI 的多重比较显示, 正常组与模型、模型对照组、推拿组之间有统计学差异, 而推拿组与模型组之间比较没有统计学差异, 说明 SFI 的恢复并不明显, 但治疗 10 次、20 次的推拿组 SFI, 负值均大于模型组, 有恢复的趋势。SFI 主要用于评价大鼠的精细动作, 而本次实验的治疗时间最多为 20 次, 神经功能还不能完全修复, 精细动作也仅为部分恢复, 因此, SFI 出现阴性结果是正常现象。

3.4 NT-3 表达情况分析

脊髓腹角 NT-3 表达变化方面, 造模 7 天后, 脊髓前角 NT-3 的表达已有显著升高, 这是机体损伤后的反应性增高; 但治疗 10 次后, 模型组、模型对照组的 NT-3 含量与正常组比较没有明显差异, 含量低于造模 7 天后, 而推拿组在此时期的 NT-3 表达已明显高于正常组及模型组。治疗 20 次后, 模型组、模型对照组的 NT-3 含量又开始升高, 高于正常组, 有统计学差异, 但仍明显低于推拿组。由此可知, 推拿干预后, 脊髓腹角 NT-3 的表达时间早于模型组, 并且表达量高于模型组, 说明 NT-3 的表达是推拿治疗周围神经损伤, 保护脊髓腹角运动神经元的可能机制之一。但脊髓腹角中的 NT-3 是否由脊髓前角神经元自分泌或者靶肌肉运输而来, 这一点还需进一步研究, 未来, 可从 mRNA 角度深入研究, 探明推拿后 NT-3 分泌的确切部位, 以更深入地研究推拿促进坐骨神经损伤的机理。

3.5 NT-3、TrkC 与 p75NTR 之间的关系

NT-3 是神经元在胚胎期及发育期成活和发育所必需的蛋白质^[6-7], 能够维持骨骼肌肌梭、肌腱和皮肤传入感觉神经元的存活^[8], 促进神经肌肉接头 (neuromuscular Junctions, NMJ) 的成熟, 对机体感觉、运动功能的发育和修复均有重要意义。其中, Trk 受体是原癌基因编码的 NTFs 受体, 是细胞分化、增殖、凋亡信号通路中的关键调控因子^[9], TrkC 是 NT-3 的高亲和力受体, 两者结合时起正性作用, 促进神经元生长、分化、成熟和损伤后存活。而 p75NTR 是低亲和力受体, 与 NT-3 结合时, 可启动神经元凋亡程序, 诱导神经神经元凋亡。课题组前期研究表明, 推拿能降低坐骨神经损伤大鼠脊髓中 p75NTR 的含量^[10-12], 促进 NGF、TrkA 的表达, 因此, 本次研究着眼于损伤后、干预后 NT-3 与 TrkC 表达的变化及两者间关系, 以揭示推拿的起效机理。

3.6 NT-3 与 TrkC 的相互作用

NT-3 主要通过 TrkC 结合而发挥生理功能^[13], TrkC 表达与否对 NT-3 促进神经发育、存活的作用有较大影响。NT-3 与 Trk C 结合后, 刺激受体自身磷酸化, 激活 Ras^[14], 随后, 通过两种途径起作用: (1) 磷酸肌醇-3-激酶/丝氨酸—苏氨酸激酶 (PI3K/Akt) 信号转导途径, Ras 激活 PI3K 后, PI3K 又激活 Akt, 最后 Akt 通过抑制凋亡信号而发挥抑制细胞凋亡的作用。(2) MAPK 激酶/丝裂原激活的蛋白激酶 (MEK/MAPK) 信号转导途径, 激活后的 Ras 磷酸化 MEK (MAPK 的激酶), 引起 ERK1/2 的磷酸化, 并启动两个级联反应, 最后产生扩大的转录信号, 刺激抗凋亡蛋白 (Bcl-2) 表达。本次实验中, 神经损伤后脊髓 TrkC 的表达也明显增加, 其中推拿组蛋白表达程度明显高于模型组和正常组, 提示神经损伤后, 通过 NT-3、TrkC 的高表达和两者的相互作用, 促进了脊髓神经元存活, 为神经修复创造了良好条件。因此, 推断推拿促进神经损伤修复可能与激活 NT-3、TrkC 受体通路有关, 而非单纯促进 NT-3 或 TrkC 的表达。

3.7 结论

推拿治疗可以通过促进 NT-3 及其高亲和力受体 TrkC 的表达, 而发挥抑制神经元凋亡、促神经元存活的作用, 最终促进坐骨神经损伤大鼠的神经功能恢复, 改善运动功能。

参 考 文 献

- [1] 李志全. 神经生长因子 3 对神经细胞凋亡的保护作用机制研究 [D]. 西安: 第四军医大学, 2008.
- [2] Seshi B, Kumar S, King D. Multilineage gene expression in human bone marrow stromal cells as evidenced by single-cell microarray analysis [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2003, 31(2): 268-285.
- [3] 孙忠人, 梅晨健, 宋春华, 等. 针刺对大鼠坐骨神经损伤模型组织形态学改变影响的实验研究 [J]. *中国中医药科技*, 1998, (1): 1-3.
- [4] Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA, et al. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat [J]. *Plast Reconstr Surg*, 1989, 83(1): 129-138.
- [5] Rivlin AS, Tator CH. Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in rat [J]. *J Neurosurg*, 1997, 47(4): 577-581.
- [6] Fox E A, Mc Adams J. Smooth-muscle-specific expression of neurotrophin-3 in mouse embryonic and neonatal gastrointestinal tract [J]. *Cell Tissue Res*, 2010, 340(2): 267-286.
- [7] Sahenk Z, Galloway G, Edwards C, et al. TrkB and TrkC ago-