

针刺联合神经干细胞移植对脑性瘫痪幼鼠模型的作用机制

介小素, 侯玉晋(河南中医学院第二附属医院儿童康复科, 河南省郑州市 450002)

文章亮点:

- 1 脑性瘫痪的发生率较高, 是导致运动障碍的最主要原因, 目前尚无好的办法预防, 早发现, 早诊断, 早干预可改善预后提高生活质量。
- 2 针灸可以改善脑性瘫痪的症状, 但存在穴位选择配伍复杂等问题, 随着神经干细胞的研究进展, 目前越来越重视干细胞移植治疗, 并取得了一定成果。
- 3 实验通过对脑性瘫痪幼鼠进行针刺+神经干细胞联合治疗, 观察其对脑性瘫痪幼鼠运动、学习和记忆能力的影响, 并探讨其作用机制。

关键词:

干细胞; 移植; 神经干细胞; 针刺; 治疗; 脑性瘫痪; 大鼠; Bax; Bcl-2; 凋亡

主题词:

组织工程; 干细胞; 针刺; 细胞凋亡

基金资助:

河南中医学院青年基金项目(MP2011-16)

摘要

背景: 针灸治疗脑性瘫痪效果显著, 神经干细胞治疗可以改善脑性瘫痪症状, 对于针灸和神经干细胞联合治疗脑性瘫痪的研究较少。

目的: 观察针刺和神经干细胞联合治疗对脑性瘫痪鼠模型的影响及其作用机制。

方法: 建立幼鼠脑性瘫痪模型, 分别给与单纯针刺、单纯神经干细胞移植、针刺和神经干细胞联合治疗, 同时设正常对照鼠和模型鼠作对比。

结果与结论: 与模型组、单纯针刺组、单纯神经干细胞移植组相比, 针刺和神经干细胞联合治疗组的脑性瘫痪幼鼠行为学评分明显提高($P < 0.05$), 神经细胞数量和 Bcl-2 蛋白表达增高($P < 0.05$), 凋亡神经细胞数量和 Bax 蛋白表达降低($P < 0.05$), 模型组、单纯针刺组、单纯神经干细胞移植组上述各指标变化差异不显著。结果说明, 针刺+神经干细胞联合治疗可以明显改善脑性瘫痪幼鼠的运动学习和记忆能力, 减轻神经细胞凋亡, 其机制可能与抑制 Bax 蛋白表达, 上调 Bcl-2 蛋白表达有关。

介小素, 侯玉晋. 针刺联合神经干细胞移植对脑性瘫痪幼鼠模型的作用机制[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(45):7309-7313.

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2015.45.017

Combined therapy of acupuncture and neural stem cell transplantation in immature rats with cerebral palsy

Jie Xiao-su, Hou Yu-jin (Department of Children Rehabilitation, Second Affiliated Hospital, Henan University of TCM, Zhengzhou 450002, Henan Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Both acupuncture and neural stem cell therapy have good achievements in the treatment of cerebral palsy, but there are few reports about their combined therapy.

OBJECTIVE: To observe the therapeutic effect of combined therapy of acupuncture and neural stem cell transplantation on cerebral palsy rats and to explore the relevant mechanism of action.

METHODS: Cerebral palsy models were built in newborn rats, and then, the model rats were subjected to acupuncture, neural stem cell transplantation and their combination, respectively. Meanwhile, normal control group and model group were set up.

RESULTS AND CONCLUSION: Compared with the other groups, in the combined therapy group, the behavior scores of cerebral palsy rats improved significantly ($P < 0.05$), the number of nerve cells and Bcl-2 protein expression were increased significantly ($P < 0.05$), and the number of apoptotic nerve cells and Bax protein expression were decreased significantly ($P < 0.05$). Additionally, there were no significant differences in these indicators among the model, acupuncture and neural stem cell transplantation groups. These findings indicate that the combined therapy of acupuncture and neural stem cell therapy can obviously improve learning and memory ability of cerebral palsy rats and reduce neuronal apoptosis, which is probably associated with down-regulation of Bax protein and up-regulation of Bcl-2 protein.

介小素, 女, 1977年生, 河南人, 汉族, 2007年广西中医药大学毕业, 硕士, 主治医师。

通讯作者: 介小素, 河南中医学院第二附属医院儿童康复科, 河南省郑州市 450002

中国分类号: R284.2

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344

(2015)45-07309-05

稿件接受: 2015-09-20

http://www.cjter.org

Jie Xiao-su, Master, Attending physician, Department of Children Rehabilitation, Second Affiliated Hospital, Henan University of TCM, Zhengzhou 450002, Henan Province, China

Corresponding author: Jie Xiao-su, Department of Children Rehabilitation, Second Affiliated Hospital, Henan University of TCM, Zhengzhou 450002, Henan Province, China

Accepted: 2015-09-20

Subject headings: Tissue Engineering; Stem Cells; Acupuncture; Apoptosis

Funding: the Nursery Garden Engineering of Henan University of TCM, No. MP2011-18

Jie XS, Hsu YJ. Combined therapy of acupuncture and neural stem cell transplantation in immature rats with cerebral palsy. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2015;19(45):7309-7313.

0 引言 Introduction

脑性瘫痪全球范围的发生率为0.2%-0.3%，是导致运动障碍的最主要原因。对于脑性瘫痪目前没有好的有效的办法进行预防，但是如果能够早发现、早诊断、进行早期干预，可以帮助改善患者的运动能力，提高其生活质量^[1-3]。脑性瘫痪目前没有特效的治疗方法，主要是进行康复治疗，针灸作为中国传统的中医疗法，近年来在脑性瘫痪的治疗中被广泛应用。考虑目前的治疗只能改善患者症状，所以研究者越来越重视用于细胞移植治疗脑性瘫痪，并在动物实验及临床研究中取得一定成果。

实验以此建立大鼠脑性瘫痪模型，对其进行针刺+神经干细胞联合治疗，观察其对脑性瘫痪大鼠运动、学习和记忆能力的影响，并探讨其作用机制，现报告如下。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 于2013年3月至2014年12月在河南省中医学临床基础实验中心完成。

1.3 材料

实验动物: 选用体质量12~20 g、7日龄SD大鼠50只，孕7 d SD大鼠1只，幼鼠及孕7 d大鼠购于河南省实验动物中心，动物许可证号: SCXK(豫)2010-0002。

神经干细胞移植脑性瘫痪大鼠实验用主要试剂及仪器。

试剂名称	来源
胎鼠血清 DMEM/F12培养基	Gibco公司
神经干细胞	美国宝灵曼公司
鼠抗人Nestin、Tuj-1抗体	R&D 公司
鼠抗人GFAP抗体	Abcam 公司
GMR05-1 电刺激仪	上海通光电气设备有限公司
荧光显微镜	Olympus 公司
图像分析系统	广州亿通科技发展有限公司
RM2255全自动组织切片机，5010型电镜 切片染色机	莱卡仪器有限公司

1.4 实验方法

1.4.1 神经干细胞培养及鉴定

分离海马组织: 脱颈椎处死孕7 d的SD大鼠，剪下子宫，分离子宫内胚胎组织，获得并剪碎海马组织，胰蛋白酶消化10 min后用含胎牛血清培养液终止消化。

神经干细胞培养: 反复吹打后制成细胞悬液，离心后重新悬于神经干细胞培养液中，按 $6 \times 10^5 \text{ L}^{-1}$ 的细胞浓度接

种到培养瓶中悬浮培养，每隔2 d更换1次培养液。原代克隆形成后再次制成细胞悬液，按 $5 \times 10^5 \text{ L}^{-1}$ 的浓度接种到培养瓶中，每8 d克隆传代1次，然后接种于96孔板，观察具有1个细胞的孔，将其增殖形成的单细胞克隆制成单细胞悬液，接种于25 mL培养瓶中进行培养。具体步骤为：①原代培养：神经干细胞在无血清培养基中培养5 d形成细胞集落，集落逐渐增大增多形成神经球(图1A)。②传代培养：神经球传代培养两天后单细胞开始分裂，传代五六天可见折光性强、边界清晰的散在的神经球(图1B)。③贴壁培养：神经干细胞分化后在不含生长因子的培养基中贴壁培养4 h使其贴壁，贴壁后培养1 d，细胞形态变为星形或梭形，突起逐渐伸长，培养至第7天，细胞突起密集，互相交织成网状，细胞核圆形或圆形，突起折光性好(图1C)。

神经干细胞的鉴定: 培养神经干细胞加包被，PBS洗涤，多聚甲醛固定，PBS再洗涤，PBS+Triton X-100穿透，山羊单抗封闭，一抗室温下孵育，PBS洗涤，二抗生物素标记物室温下孵育，PBS洗涤，DAPI染核，PBS洗涤，缓冲甘油封固，显微镜下观察：①Nestin(+): Nestin是中间纤维蛋白，染色后胞浆呈红色，胞核呈蓝色，第1代神经干细胞培养Nestin阳性率约为60%，第2代培养Nestin阳性率约为80%，第3-5代约为90%-95%。②Tuj-1(+): Tuj-1为神经元标记物，染色后胞浆及突起呈红色，胞核呈蓝色，阳性率为10%-20%。③GFAP(+): GFAP是星形胶质细胞标记物，染色后胞浆呈红色，胞核为蓝色，分化后阳性率不断增加，5-25 d阳性率为70%-85%。④O4(+): O4为少突胶质细胞标记物，染色后胞浆呈红色，胞核蓝色，阳性率为2%-5%。

1.4.2 实验分期干预及脑性瘫痪大鼠模型的构建

分组: 将50只大鼠随机分为5组，每组10只，正常对照组不做任何处理；其余4组均建立大鼠脑性瘫痪模型，模型组仅建模；单纯针刺组予针刺治疗；单纯神经干细胞移植组予神经干细胞移植治疗；针刺+神经干细胞移植组予针刺和神经干细胞移植联合治疗。

脑性瘫痪大鼠模型的构建: 幼鼠麻醉成功后，逐层分离出幼鼠左侧总动脉，结扎幼鼠左侧总动脉，然后逐层缝合，观察生命体征平稳后放入恒温水浴容器恢复2 h，密闭容器，通入体积分数92%氮气+8%氧气，2.5 h后取出，1 h后测定，平衡异常，不能翻身视为脑性瘫痪模型制作成功。

针刺治疗: 选取百会穴、涌泉穴、内关穴、足三里穴、曲池穴及肩髃穴作为针刺穴位。百会穴在顶骨正中，涌泉穴在足底掌心前正中；内关穴在腕骨近端关节外侧，离腕关节约3 mm尺桡骨缝间。足三里在膝关节后外侧，胫骨

小头下5 mm处; 圆针穴外耳道口直上8 mm处。建模后3 s, 对针刺组和针刺+神经干细胞移植组进行针刺治疗, 其他组不做针刺处理。涌泉和内关穴针刺出血, 不予留针, 由趾和足三里用电针针刺15 min。圆针和百会针束即可, 不用电针, 每日针刺1次。

细胞移植: 建模后1周, 用1 mL注射器将大鼠尾静脉注入神经干细胞, 每只大鼠注入 1×10^5 个细胞, 注入后观察幼鼠局部皮肤情况, 局部皮肤发白无水肿为注射成功。

1.4.3 幼鼠行为学观察 ①悬吊实验: 手术后第10天进行悬吊实验测试肌力, 让幼鼠抓住直径0.6 mm玻璃棒, 计算掉下时间, 以s为单位, 每只幼鼠均实验3次取平均值。②斜坡实验: 术后第19天进行斜坡实验测试的负重运动功能, 将幼鼠放到45°斜面上, 头向下, 以“s”为单位记录转为头向上135°需要的时间, 每只幼鼠均实验3次取平均值。③Y迷宫实验: 术后第20天进行Y迷宫实验测试学习记忆能力, 用信号灯训练幼鼠辨别信号和逃避点击的能力, 1 d内分10次为一段训练幼鼠, 在10次训练中如果有9次反应正确表示学会, 记录幼鼠到学会需要的训练次数, 用Y迷宫实验测试其记忆能力, 对每个幼鼠测试10次, 记录正确反应次数。

1.4.4 海马组织形态学检测 术后21 d取幼鼠处死, 取出双侧脑组织, 左侧用甲醛固定, 右侧置于-4℃冰箱内保存, 将石蜡切片分别用苏木精-伊红染色, 光学显微镜下观察脑缺血后变化情况, 每张切片选取5个视野观察, 计算神经细胞数量, 取平均值。

1.4.5 神经细胞凋亡检测 用TUNEL法检测细胞凋亡情况, 幼鼠脑组织切片脱蜡经二甲苯后经Trition X-100液处理洗涤后滴加标记混合物, 阴性对照组滴加替代液, BCIP-NBT镜下控制显色, GVA封固, 光学显微镜下观察幼鼠同一部位切片5个视野内神经细胞的凋亡数量, 取平均值。

1.4.6 免疫组织化学染色检测幼鼠脑组织Bcl-2和Bax的表达 用Bcl-2单抗免疫组织化学试剂盒按SABC检测试剂盒对幼鼠脑组织进行免疫组织化学染色封闭, 光学显微镜下观察幼鼠同一部位切片5个视野内Bcl-2、Bax阳性反应细胞数的平均吸光度, 取平均值。

1.5 主要观察指标 各组幼鼠的行为学检测结果, 各组幼鼠正常神经细胞数量和凋亡细胞数量, 以及Bcl-2、Bax蛋白的表达。

1.6 统计学分析 所有数据输入SPSS 16.0软件进行处理, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间数据差异的比较采用单因素方差分析法, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 实验纳入幼鼠56只均计入最终结果分析。

2.2 幼鼠行为学变化 模型组悬吊实验、斜坡实验、Y迷

宫实验结果明显优于正常对照组($P < 0.05$), 表明幼鼠脑性瘫痪模型制作成功。单纯针刺组、单纯神经干细胞移植组与模型组比较, 各实验结果相似; 针刺+神经干细胞移植组各实验结果明显优于以上3组($P < 0.05$), 见表1。

2.3 各组海马组织神经细胞数量变化 模型组海马组织正常神经细胞数量明显低于正常($P < 0.05$); 单纯针刺组和单纯神经干细胞移植组与模型组比较, 海马组织正常神经细胞数量相似; 针刺+神经干细胞移植组海马组织正常神经细胞数量明显高于模型组($P < 0.05$), 见表1。

2.4 各组神经细胞凋亡情况 模型组脑皮质神经细胞凋亡数量明显高于正常对照组($P < 0.05$); 单纯针刺组和单纯神经干细胞移植组与模型组比较, 脑皮质神经细胞凋亡数量相似; 针刺+神经干细胞移植组脑皮质神经细胞凋亡数量明显低于模型组($P < 0.05$), 见表1。

2.5 各组脑组织Bcl-2和Bax蛋白的表达情况 模型组与正常组比较, Bcl-2蛋白的表达平均吸光度明显降低($P < 0.05$); 单纯针刺组、单纯神经干细胞移植组及针刺+神经干细胞移植组与模型组比较, Bcl-2蛋白的表达平均吸光度明显增高($P < 0.05$); 模型组与正常对照组比较, Bax蛋白的表达平均吸光度明显增高($P < 0.05$); 单纯针刺组、单纯神经干细胞移植组及针刺+神经干细胞移植组与模型组比较, Bax蛋白的表达平均吸光度明显降低($P < 0.05$), 见表1。

3 讨论 Discussion

脑性瘫痪是儿童功能受损引起中枢神经系统功能障碍, 影响智力、运动及行为等方面能力^[4]。小儿脑性瘫痪是儿童肢体残疾的主要原因, 主要表现为姿势异常和运动发育迟缓, 中国小儿脑性瘫痪的发生率为1.92%, 致残率达到42%-45%^[5]。脑性瘫痪的诊断主要靠临床观察发现其运动功能障碍, 影像学检查可以协助脑性瘫痪的诊断, 并用于脑性瘫痪诊断和预后评价^[2,15]。婴幼儿脑组织发育不成熟, 代偿能力弱, 早发现早干预是治疗脑性瘫痪的主要原则。早期干预主要包括以下措施: ①早期筛查: 对于早产儿、围产儿窒息、颅内出血等高危对象进行筛查, 对上述高危儿定期复查CT, 有助于发现病因及病变部位^[15], 进行早期诊断^[16], 对诊断为脑性瘫痪的患儿进行系统管理, 提供最佳治疗时机^[17]。②家庭康复训练: 家庭康复训练增进母子感情, 减少并发症, 有利于患儿身心发展^[18], 患儿家长提高安全防范意识, 防止患儿出现意外, 家中备用改善脑功能药物; 对患儿家长进行心理疏导也有利于患儿的康复^[19,20]。③综合训练: 对于脑性瘫痪患儿可以进行物理疗法训练粗大运动; 作业疗法训练精细动作; 语言康复训练提高患儿的语言表达及沟通能力^[21]; 运动感知和认知训练培养其感知和思维能力^[22,23]。④中西医结合治疗: 高压氧治疗可以改善缺氧状态; 中药熏气浴+康复训练改善运动功能发育; 音乐治疗^[24]、水疗等均可以改善患儿的运动功能; 针刺治疗在患儿运动异常中姿势异常的作用具有明显优势。

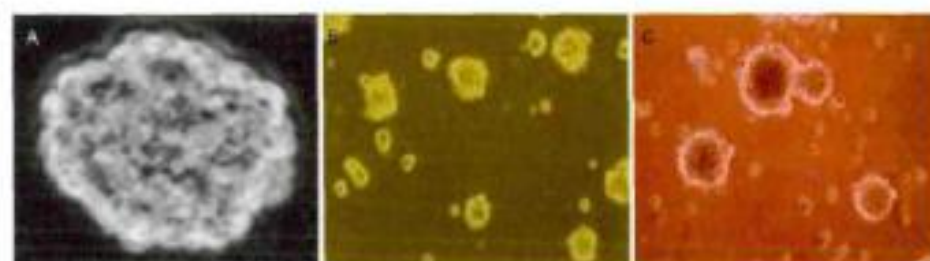


图1 神经干细胞的培养结果
($\times 400$)
Figure 1 Cultured neural stem cells ($\times 400$)
图注: 图A为原代培养第5天, 细胞形成神经球; B为传代培养第5天, 神经球生长性强, 边界清晰; C为传代培养第7天, 细胞相互交融成网孔, 突起生长性好。

表1 针刺联合神经干细胞移植对脑性瘫痪动物模型的影响

($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of acupuncture with neural stem cell transplantation in neonatal rats with cerebral palsy

指标	正常对照组	模型组	单纯针刺组	单纯神经干细胞移植组	针刺+神经干细胞移植组
术后第18天肢体伸展度(mm)	59.55 $\pm$ 3.34	22.14 $\pm$ 4.32 ^a	29.23 $\pm$ 5.34 ^{ab}	32.11 $\pm$ 6.05 ^{ab}	50.19 $\pm$ 7.98 ^b
肢体伸展时间(s)	4.02 $\pm$ 1.85	29.23 $\pm$ 5.07 ^a	18.30 $\pm$ 6.03 ^{ab}	17.23 $\pm$ 1.05 ^{ab}	11.26 $\pm$ 4.90 ^b
术后第20天Y型迷宫学习实验结果(次)	75.33 $\pm$ 7.08	187.30 $\pm$ 1.44 ^a	156.33 $\pm$ 16.09 ^a	167.22 $\pm$ 10.30 ^a	112.34 $\pm$ 8.88 ^b
术后第20天Y型迷宫记忆实验结果(次)	7.22 $\pm$ 1.62	4.23 $\pm$ 1.63 ^a	4.93 $\pm$ 1.06 ^a	4.99 $\pm$ 1.30 ^a	6.48 $\pm$ 1.07 ^b
海马组织正常神经细胞数(个)	18.96 $\pm$ 1.04	8.89 $\pm$ 0.97 ^a	11.33 $\pm$ 1.67 ^{ab}	14.01 $\pm$ 1.03 ^{ab}	16.57 $\pm$ 1.16 ^b
海马组织凋亡神经细胞数(个)	5.15 $\pm$ 0.24	59.68 $\pm$ 1.08 ^a	50.87 $\pm$ 2.09 ^a	48.76 $\pm$ 2.77 ^a	16.77 $\pm$ 1.09 ^b
Bcl-2蛋白的表达平均吸光度	0.88 $\pm$ 0.11	0.11 $\pm$ 0.03 ^a	0.44 $\pm$ 0.04 ^a	0.56 $\pm$ 0.07 ^a	0.54 $\pm$ 0.03 ^b
Bax蛋白的表达平均吸光度	1.01 $\pm$ 0.31	2.11 $\pm$ 0.14 ^a	1.47 $\pm$ 0.36 ^a	1.46 $\pm$ 0.29 ^a	1.51 $\pm$ 0.38 ^b

图注: 与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与针刺+神经干细胞移植组比较, ^b $P < 0.05$ 。

中国传统中医在脑性瘫痪患儿的治疗中起主要作用, 其中针刺疗法能够调节血液动力和流变, 扩张血管, 改善神经电生理变化, 从而改善脑性瘫痪患者脑部发育, 促进功能重建。中医理论认为: 患儿脑性瘫痪的主要原因为父母精血衰弱, 胎气不足, 使其先天之气不足所致, 肾乃先天之本, 通于脑, 脑性瘫痪为肾气不足, 出现失语、痴呆等; 肝肾同源, 肝肾虚则行迟, 立迟; 先天肾虚则后天脾胃虚, 脾胃虚则手足软, 肌肉软等。在中医治疗中针刺是其主要方法。①体针: 有研究发现“靳三针”^[25]、针刺督任冲三脉^[26]、通督冲针法^[27]等都可改善脑性瘫痪治疗效果。②头皮针: 采用头部脑穴分区法-七区划分法进行针刺可以改善脑性瘫痪患儿预后^[28]。互动式头针治疗效果也比较显著^[29]。③穴位注射: 穴位注射配合功能训练治疗脑性瘫痪患儿也有显著效果。④动物实验: 近年来针刺在动物实验中的研究表明^[30-31], 针刺可以改善神经细胞内代谢紊乱, 保持细胞膜的完整性, 减轻脑水肿, 维持神经细胞的功能和结构稳定; 促进血液循环, 减轻神经细胞的损害等。

脑性瘫痪传统的治疗方法有很多种, 但效果都不太理想, 目前干细胞成为治疗脑性瘫痪的一种新的方法。传统的治疗方法中, 国外常用的Vojta法通过抑制异常反射来达到治疗脑性瘫痪的目的, 但该技术比较贵, 时效低, 且容易受耐药性影响; 神经肌肉电刺激法可以增加肌肉力量^[32], 扩大肌肉运动范围, 但对患儿整体恢复效果不大; 手术治疗方面, 切断脊神经后根定位定量方面存在问题, 并且其降低肌力的作用会随着神经的修复而改变。国内针刺是治疗脑性瘫痪的主要方法, 但理论依据、重复性欠佳, 穴位比较复杂, 层次混乱, 使针刺在脑性瘫痪的治疗中受到一定限制。神经干

细胞在体外可以增殖分化为神经元, 在脑性瘫痪动物模型中可以减少神经细胞凋亡, 增加微血管密度, 提高脑性瘫痪鼠的治疗效果^[33]。目前治疗脑性瘫痪的干细胞有骨髓间充质干细胞、脐血干细胞及神经干细胞等^[34-37]。

神经干细胞的发现改变了以往神经系统细胞不可再生的说法, 2005年首例神经干细胞治疗脑性瘫痪患者取得成功。大量的研究发现神经干细胞可以分化成神经元^[38], 可以改善脑性瘫痪患者的肌张力以及肌痉挛程度^[39], 可以促进脑性瘫痪患者的肢体运动功能恢复。实验采用针刺+神经干细胞移植联合治疗脑性瘫痪鼠发现: 针刺+神经干细胞移植联合治疗可以改善脑性瘫痪鼠的肢体运动能力以及学习记忆功能; 针刺+神经干细胞移植联合治疗可以促进Bcl-2的蛋白表达, 可以抑制Bax的蛋白表达; 脑性瘫痪幼鼠中针刺+神经干细胞移植联合治疗组海马变性细胞最少, 正常神经细胞数最多, 神经细胞凋亡最少。与上述研究结果一致。

综上所述, 针刺+神经干细胞移植联合治疗可以改善脑性瘫痪幼鼠的肌力、运动及学习记忆能力, 其机制可能为抑制Bax蛋白的表达, 促进Bcl-2蛋白的表达。

作者贡献: 第一作者负责设计和实施, 第二作者负责实施及文章的修改。

利益冲突: 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题: 本次研究相关内容和方法均经本院伦理部门审核并批准, 实验过程中对动物的处理应符合2009年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

文章发表: 文章发表前已经过CNKI反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章声明: 本刊实行双盲外审制度。文章经国内小同行外审专家审核,符合本刊发表宗旨。

学术术语: 小儿脑性瘫痪的定义?是指从出生后一个月内脑发育尚未成熟阶段,由于非进行性脑损伤所致的以姿势各运动功能障碍为主的综合征。是小儿时期常见的中枢神经障碍综合征。病变部位在脑,累及四肢。常伴有智力缺陷、癫痫、行为异常、精神障碍及视、听觉、语言障碍等症状。

作者声明: 第一作者对于研究和撰写的论文中出现的不实行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁,可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] Novak N. Last breath effectiveness of hyperbaric oxygen treatment for cerebral palsy. *Ann Neurol*. 2012;72(5):633-634.
- [2] Benini R, Shevell MI. Updates in the treatment of spasticity associated with cerebral palsy. *Curr Treat Options Neurol*. 2012;14(6):660-669.
- [3] Wood KC, Lathan CE, Kaufman KR. Feasibility of gestural feedback treatment for upper extremity movement in children with cerebral palsy. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng*. 2013;21(2):300-305.
- [4] Richards CL, Makin F. Cerebral palsy definition, assessment and rehabilitation. *Handb Clin Neurol*. 2013;111:193-195.
- [5] 贾春芳,杨世. 脑内脑性瘫痪早期诊断工具综述[J]. 中国康复理论与实践,2011,17(4):340-342.
- [6] 张庆明,谢彩玲,谢彩红,等. 建立脑性瘫痪儿童康复发育筛查的研究[J]. 临床学,2012,42(2):112-114.
- [7] Park HJ, Kim CH, Park ES, et al. Increased GABA-A receptor binding and reduced connectivity of the motor cortex in children with hemiplegic cerebral palsy: a multimodal investigation using 18F-fluorofluorazepam PET, immunohistochemistry, and MR imaging. *J Nucl Med*. 2013;54(8):1263-1269.
- [8] Faria AV, Haon A, Stashenko E, et al. Quantitative analysis of brain pathology based on MRI and brain atlas applications for cerebral palsy. *Neuroimage*. 2011;54(3):1054-61.
- [9] 周学伟,马林. 磁共振对脑性瘫痪的鉴别价值及应用前景[J]. 武警学报,2013,24(3):267-270.
- [10] Benini R, Dagenais L, Shevell MI. Normal imaging in patients with cerebral palsy: what does it tell us. *J Pediatr*. 2013;162(2):369-374.
- [11] Towseley K, Shevell MI, Dagenais L. Population-based study of neuroimaging findings in children with cerebral palsy. *Eur J Paediatr Neurol*. 2011;15(1):29-35.
- [12] Zhu D, Zhang T, Jiang X, et al. Fusing DTI and fMRI data: a survey of methods and applications. *Neuroimage*. 2013.
- [13] Giannelli M, Diciotti S, Guerni M, et al. On the estimation of conventional DTI-derived indices by fitting the non-Gaussian DKI model to diffusion-weighted imaging datasets. *Neuroradiology*. 2012;55(11):1423-1424.

- [14] Kameis A, Sasaki M, Akasaka M, et al. Proton magnetic resonance spectroscopic images in preterm infants with bilirubin encephalopathy. *J Pediatr*. 2012;160(2):342-344.
- [15] 王东旭. CT在小儿脑性瘫痪早期诊断中的价值分析[J]. 中华医学,2014,33(3):175-177.
- [16] 张庆明. 脑性瘫痪高危儿的早期物理治疗[J]. 中国康复理论与实践,2014,20(11):1035-1039.
- [17] 杨红. 脑性瘫痪儿童康复治疗管理的重要性和意义[J]. 中国儿童保健杂志,2011,19(5):398-399.
- [18] 张荣洁. 小儿脑性瘫痪的临床护理研究进展[J]. 中国民康医学,2013,25(5):78-80.
- [19] 陈彬. 脑性瘫痪患儿父母不良情绪对患儿康复的影响[J]. 中国实用神经病学杂志,2012,15(8):63-64.
- [20] 郭成敏,吕智丹,内凤鸣,等. 脑性瘫痪儿童相关问题及其对父母心理建设的影响研究[J]. 中国儿童保健杂志,2013,21(4):391-394.
- [21] 李颖. 脑性瘫痪儿童综合康复治疗分析[J]. 中国妇幼保健,2013,28(32):5318-5320.
- [22] 覃洁. 音乐治疗在脑性瘫痪儿童康复治疗中的效果探讨[J]. 华夏医学,2013,26(5):943-946.
- [23] 唐秀梅,钟海. 经颅经颅磁刺激联合音乐疗法对小儿脑性瘫痪功能康复的效果探讨[J]. 现代诊断与治疗,2013,24(10):2385-2386.
- [24] 李永青,金炳田,严峰,等. 音乐疗法对缓解脑性瘫痪患儿紧张情绪时紧张情绪的探讨[J]. 中国儿科杂志,2013,5(4):34-36.
- [25] 高升斌,李德. 成益英. “新一针”治疗脑性瘫痪患儿智力障碍86例临床分析[J]. 中国儿科杂志,2008,4(5):44-46.
- [26] 何爽,张灼然,陈克非,郭仕升. 一体在小儿脑性瘫痪针灸治疗中的作用[J]. 长春中医药大学学报,2006,20(2):15-16.
- [27] 刘莹,杨琳琳. 李丁教授以通督调神针法治疗小儿脑性瘫痪经验介绍[J]. 新中医,2008,40(1):5-6.
- [28] 王艳,张强,李静,等. 穴位电刺激联合康复治疗对脑性瘫痪患儿运动功能及智力的影响[J]. 中国医学,2011,35(4):85-87.
- [29] 吴晓波,张为堂,孙克兴. 互动式头针治疗痉挛型小儿脑性瘫痪和运动功能障碍疗效探讨[J]. 上海针灸杂志,2011,30(3):177-178.
- [30] 刘永,张敬敏,孙娟. 新一针疗法对脑性瘫痪运动障碍小鼠细胞增殖与分化的实验研究[J]. 广州中医药大学学报,2010,27(3):231.
- [31] 李永梅,江江,江江. 穴位电刺激治疗小儿脑性瘫痪研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2010,12(12):40-42.
- [32] Wright PA, Durham S, Ewins DJ, et al. Neuromuscular electrical stimulation for children with cerebral palsy: a review. *Arch Dis Child*. 2012;97(4):364-371.
- [33] Zheng XR, Zhang SS, Yin F, et al. Neuroprotection of VEGF-expression neural stem cells in neonatal cerebral palsy rats. *Behav Brain Res*. 2012;230(1):108-115.
- [34] 王金刚,尹忠民,周华,等. 脐带间充质干细胞治疗脑性瘫痪51例疗效观察[J]. 中国全科医学,2011,14(7C):2446-2447.
- [35] 冯梅,高红霞,代立平,等. 脐带间充质干细胞移植治疗重症脑性瘫痪30例临床疗效观察[J]. 中国输血杂志,2011,24(7):602-604.
- [36] 吴景文,月凤,南超,等. 干细胞移植治疗小儿脑性瘫痪97例[J]. 中国中医药现代远程教育,2011,24(9):45-47.
- [37] Ferraz N, McGuckin CP. The umbilical cord: a rich and ethical stem cell source to advance regenerative medicine. *Cell Prolif*. 2011;44 Suppl 1:60-69.
- [38] 神经干细胞移植是目前神经损伤修复的又一新生力量吗[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2010,14(19):3558-3559.
- [39] 杨方章,吴芳,等. 脐带间充质干细胞移植治疗神经系统疾病临床总结和分析[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2009,7(3):287-290.