

针刺诱导胶原信号变化对骨骼肌损伤的修复作用*☆

马忆南¹, 杨华元¹, 冯麟², 赵宇平¹, 陈静静¹

¹上海中医药大学
针灸推拿学院, 上海
市 201203;
²成都中医药大学
基础医学院, 四川
省成都市
610072

马忆南☆, 女,
1983年生, 新疆
维吾尔自治区伊
宁市人, 汉族,
2012年上海中医
药大学毕业, 博
士, 主要从事针刺
手法的量化及规
范化研究。
mynxj2006@
yahoo.com.cn

通讯作者: 杨华
元, 教授, 博士生
导师, 上海中医
药大学针灸推拿
学院, 上海市
201203
yhyabcd@
sina.com

中图分类号:R318
文献标识码:B
文章编号:2095-4344
(2012)42-07888-05

收稿日期: 2012-02-21
修回日期: 2012-06-07
(20120221009/N·C)

文章亮点: ①实验从胶原纤维的某些物质结构出发, 从蛋白质分子中建立的生物能量传递理论出发, 假设胶原纤维的基因表达信号的变化极有可能是穴位能量变化的物质载体, 是针刺治疗骨骼肌挫伤及其引起的疼痛的基本性原理之一, 故观察电针干预足三里对胶原纤维 mRNA 表达量以及胶原酶降解物羟脯氨酸表达量影响。②发现针刺可诱导胶原信号的变化, 促进穴位区胶原纤维 mRNA 表达的稳态平衡, 并证明电针对胶原信号的干涉作用是其促进骨骼肌修复的基本机制。

关键词: 骨骼肌; 电针; 足三里; I型胶原纤维; 羟脯氨酸; 肌酸激酶; 信号传输; 信号转换; 大鼠; 组织构建

摘要

背景: 根据既有研究表明, 胶原纤维走向与经穴密切相关, 而每个细胞至少存在两根胶原纤维以保持连接性, 因此有学者推测它是人体能量传递的信号通路。

目的: 以经穴胶原通路假说为依据, 观察胶原信号变化对骨骼肌损伤的影响, 并证明电针对胶原信号的干涉作用是其促进骨骼肌修复的基本机制。

方法: 雄性 SD 大鼠按随机化原则分为 3 组: 对照组为空白对照; 模型组应用重力化打击法制备骨骼肌损伤模型; 治疗组造模后采用 G6850 电针刺激双侧足三里穴进行干预。

结果与结论: 治疗组穴位区 I 型胶原纤维 mRNA 表达量和羟脯氨酸水平低于对照组 ($P < 0.05$), 其变化趋势较模型组更为平稳; 治疗组血清肌酸激酶水平在治疗第 7 天就达到正常水平, 治疗组穴位区 I 型胶原纤维对比血清肌酸激酶呈现正相关。提示针刺后穴位区的 I 型胶原纤维和羟脯氨酸可能在骨骼肌损伤修复中起到关键作用, 从而引导了针刺信号的传输与转换过程, 而且此信号传播过程始终与骨骼肌修复的核心指标肌酸激酶呈现高度正相关。

Effect of acupuncture-induced collagen fiber signal changes in recovery of skeletal muscle injury

Ma Yi-nan¹, Yang Hua-yuan¹, Feng Lin², Zhao Yu-ping¹, Chen Jing-jing¹

Abstract

BACKGROUND: Studies have shown that the collagen fiber orientation is closely related with meridian, and there are at least two collagen fibers in each cell in order to stay connection with each other, so scholars have speculated that it is the human energy transfer signaling pathway.

OBJECTIVE: To observe the effect of collagen fibers signal changes in the recovery of the skeletal muscle injury based on the meridian collagen pathway hypothesis, and to prove that the interference effect of electroacupuncture on collagen signal is the basic mechanism to promote skeletal muscle repair.

METHODS: Male Sprague Dawley rats were randomly divided into three groups: the control group was the blank control; the model group was used to establish the skeletal muscle injury model by weight combat method; rats in the treatment group received the G6850 electric acupuncture at *Zusanli* (ST36).

RESULTS AND CONCLUSION: The expression of collagen I fiber mRNA and hydroxyproline level in the treatment group were lower than those in the control group ($P < 0.05$), and the change trend was more stable in the treatment group when compared with the model group; the serum creatine kinase level in the treatment group reached to the normal level at 7 days after treatment, and there was a positive correlation between the changes of collagen I fibers and the serum creatine kinase level in the treatment group. The collagen I fibers and hydroxyproline level in the acupoint area after acupuncture may play a key role in the repair of muscle injury, thereby guiding the transmission and conversion process of acupuncture signal, and signal propagation always positively correlates with creatine kinase level during skeletal muscle repair.

Ma YN, Yang HY, Feng L, Zhao YP, Chen JJ. Effect of acupuncture-induced collagen fiber signal changes in recovery of skeletal muscle injury. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2012;16(42): 7888-7892.

0 引言

经络胶原假说认为可能是循经感传过程中的能量传输载体, 现代研究表明人体所有组织乃至微小的细胞, 都至少存在2根胶原纤维以保持连接性, 因此有学者推测它是人体能量传递的信号通路。同时现代物理学研究亦表明, 胶原组织可通过自身结构和含量的变化吸收或释放巨大能量, 而且实验也证明胶原蛋白分子具备传导生物能量和信息的潜在能力, 可作为能量信号传递研究的重要突破口。基于此种假说, 胶原及其修饰结构极有可能是针刺信号传输的基础性物质, 通过胶原信号传输, 可调节损伤后能量代谢紊乱从而达到修复损伤的目的。故实验采用电针干预足三里, 研究穴位区胶原含量变化是否存在整体性的稳态平衡, 探索胶原及其修饰物与损伤后能量信号(肌酸激酶)的波动是否存在耦合机制, 并观察损伤后的修复情况, 从而探讨胶原能量信号传递假说的合理性。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 实验于2011年7月在上海中医药大学动物实验中心完成。

材料:

针刺诱导胶原信号变化对骨骼肌损伤修复作用实验主要试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
Trizol 反转录 cDNA 合成试剂盒 SYBRGreen PCR 试剂盒、引物 设计合成	Invitrogen 公司, 美国 MBI(Fermentas)立陶宛 捷瑞生物科技公司
漩涡振荡器 XW-80A	Vortex 上海青浦泸西仪器厂
干式恒温器、K10CD	杭州蓝焰科技有限公司
手持式匀浆机 F6/10、FLUKO	德国
Real-time 检测仪 (7500Sequence Detection System)ABI-7500 ABI	美国

实验动物: 雄性SD大鼠168只, 体质量250–300 g, 由上海中医药大学动物实验中心提供, 动物生产许可证编号: SCXK(沪) 2011-

0018。饲养环境温度(22±2) °C, 湿度控制在(50±5)%。适应性饲养1周。实验时室温维持在(23±1) °C。

实验方法:

模型制备: 取8 g硫化钠晶体, 用100 mL (100 g)温水溶化配制成浓度为8%的硫化钠水溶液(硫化钠:水=1:12.5), 待用。先用组织剪剪去大鼠左后肢大腿后内侧中上部较长的鼠毛, 然后用纱布将脱毛剂均匀涂在该部位, 稍停1.0–2.0 min, 待涂抹脱毛剂部位毛色发黄时用干净纱布沾洁净温水将鼠毛清洗干净即可。

模型组大鼠脱毛24 h后, 采用“量化打击法”方法制作大鼠骨骼肌急性钝挫伤模型^[1]。重锤质量160 g, 高度1.4 m, 做自由落体运动, 在接触面的瞬间, 势能完全转化成动能。整个冲击过程中瞬间冲击量, 冲击过程量, 平均压力, 平均压强基本保持一致。该模型稳定, 可重复性高。

验证造模成功的方法: 伤后即刻, 打击部位即出现瘀点、瘀斑, 单侧后肢跛行, 用手触摸无骨折征。打击后皮肤破损和明显骨折的未纳入本实验中。

动物选穴: 选择SD大鼠双侧足三里, 足三里位于髌骨下缘远端3.0–4.0 mm, 膝关节中线外侧1.0–2.0 mm处^[2]。

干预分组: 雄性SD大鼠168只, 按随机化原则分为对照组、模型组和治疗组, 每组56只。对照组: 空白对照; 模型组: 重力化打击法造骨骼肌损伤模型; 治疗组: 造模后采用G6850电针刺激足三里穴进行干预。每组各分为7个观察点, 分别为治疗1, 3, 5, 7, 10, 15, 20 d。

电针干预方法: 针刺大鼠双侧足三里后, 联接G6850电针治疗仪, 选用疏密波, 频率为30次/min, 通电20 min后起针, 每2 d治疗1次。

取材: ①血清标本采集: 大鼠麻醉后, 采用腹主动脉取血, 收集血液, 静置30 min, 备用。收集完血液后断头处死大鼠。收集的血液静置后离心10 min, 3 000 r/min(离心半径6 cm), 用移液枪取上层的黄色清亮液至EP管中, 编号后放置在–20 °C冰箱中备用。②穴位区标本采集: 取患侧足三里穴区结缔组织, 编号后放置在–70 °C冰箱中备用。

指标检测: ①酶联免疫吸附法检测穴位区羟

¹School of Acupuncture-Moxibustion and Moxibustion, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China;
²School of Basic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Ma Yi-nan☆, Doctor, School of Acupuncture-Moxibustion and Moxibustion, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China
myxj2006@yahoo.com.cn

Corresponding author: Yang Hua-yuan, Professor, Doctoral supervisor, School of Acupuncture-Moxibustion and Moxibustion, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China
yhyabcd@sina.com

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No.81072880*

Received: 2012-02-21
Accepted: 2012-06-07

脯氨酸和血清肌酸激酶水平。②Real-time PCR法检测穴位区胶原纤维mRNA表达量。

Real-time PCR法引物序列: 扩增长度117 bp, Col I -Sense: 5'-GGC AAC AGC AGA TTC ACC TAC AC-3', Col I -Antisense: 5'-AAG GAA TGG CAG GCG AGA TGG-3'; 扩增长度207 bp, Rat-actb-F: cac ccg cga gta caa cct tc, Rat-actb-R: ccc ata ccc acc atc aca cc. mRNA相对表达量= $2^{-\Delta\Delta Ct} \times 100\%$, $\Delta Ct = \text{目标基因CT值} - \text{内参(b-actin)CT值}$, 实验组样本基因相对于对照组样本基因的量通过公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算得到。 $\Delta\Delta Ct = (\text{实验组} \Delta Ct - \text{对照组} \Delta Ct)$

主要观察指标: Real-time PCR法检测各组不同时间点穴位区结缔组织 I 型胶原纤维mRNA的表达, 酶联免疫吸附法检测各组不同时间点穴位区结缔组织羟脯氨酸和血清肌酸激酶的动态变化。

统计学分析: 由第三作者采用SPSS 16.0软件完成统计处理, 每组样本测得数据均进行正态分布检验(one-Sample Kolmogorov-Smirnov Test); 服从正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间两两比较采用单因素方差分析, 方差齐性用LSD检验, 方差不齐用Tamhane's T2, 检验显著性差异水平 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 大鼠穴位区 I 型胶原纤维mRNA水平 见表1。

表 1 对照组、骨骼肌急性钝挫伤模型及针刺大鼠双侧足三里的治疗组大鼠治疗不同时间点穴位区 I 型胶原纤维 mRNA 表达

Table 1 Expression of collagen I fiber mRNA in acupoint area of rats in the control group, model group and treatment group ($\bar{x} \pm s, n=8$)

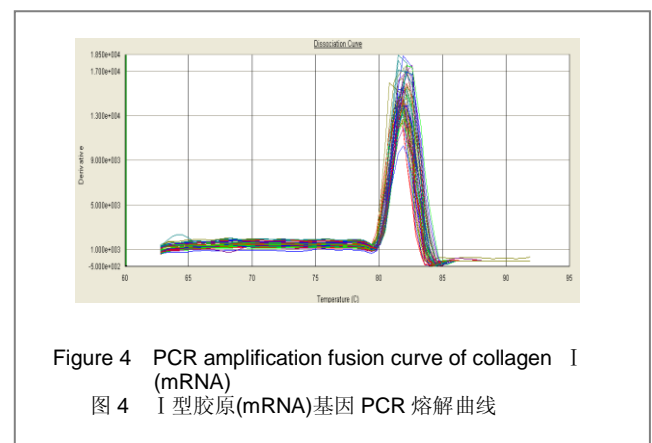
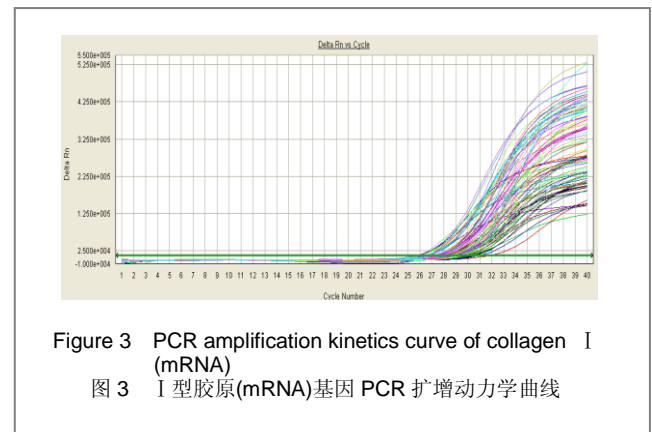
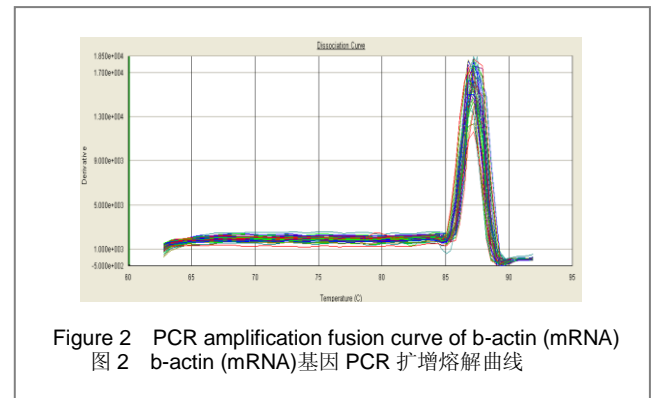
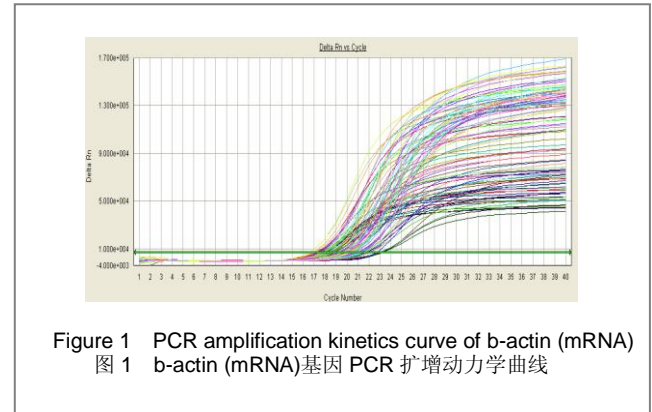
Time	Control group	Model group	Treatment group
1 d	30.04±1.01	28.25±0.81 ^a	28.55±0.71 ^{ad}
3 d	30.51±1.12	26.83±0.77 ^{ac}	29.29±0.99 ^{abd}
5 d	30.98±1.05	28.88±0.77 ^a	27.81±0.36 ^{ab}
7 d	30.77±0.87	29.09±1.06 ^a	27.21±1.39 ^{ab}
10 d	29.95±0.97	25.88±0.71 ^{ac}	26.59±0.62 ^a
15 d	30.17±0.65	27.15±1.02 ^{ac}	27.72±0.97 ^a
20 d	30.46±1.00	27.94±0.50 ^{ac}	26.56±0.65 ^{ab}

与对照组比, ^a $P < 0.05$; 与同时间点模型组比, ^b $P < 0.05$; 模型组组内, 与7 d比, ^c $P < 0.05$; 治疗组内, 与7 d比, ^d $P < 0.05$

注: 模型组和治疗组 I 型胶原纤维的表达量均降低, 但变化趋势不尽相同, 治疗组的变化趋势较为平坦

表1结果说明模型组和治疗组 I 型胶原纤维的表达量均降低, 但变化趋势不尽相同, 治疗组变化趋势较为平坦, 通过相关回归分析, 治疗组胶原表达和治疗组肌酸激酶的人 person corrolation=0.874($P < 0.05$), 说明电针刺激后可有效调节穴位区胶原表达, 促进损伤修复。

其中b-actin(mRNA)基因及 I 型胶原(mRNA)基因 PCR扩增动力学曲线、熔解曲线分析见图1-4。



2.2 治疗不同时间穴位区羟脯氨酸水平 见表2。结果说明损伤后穴位区的羟脯氨酸水平降低从而抑制胶原的合成, 但是治疗后5, 15, 20 d羟脯氨酸水平更低, 说明针刺后可进一步降低羟脯氨酸表达, 从而更加抑制胶原的合成。

表2 对照组、骨骼肌急性钝挫伤模型及针刺大鼠双侧足三里的治疗组大鼠治疗不同时间穴位区羟脯氨酸水平
Table 2 Level of hydroxyproline in acupoint area of rats in the control group, model group and treatment group ($\bar{x}\pm s$, $n=8$, $\mu\text{g/L}$)

Time	Control group	Model group	Treatment group
1 d	10.41±0.71	4.53±0.55 ^a	4.97±0.35 ^a
3 d	10.20±0.54	5.18±1.00 ^a	5.65±0.61 ^a
5 d	10.00±0.21	5.65±0.49 ^a	4.78±0.74 ^{ab}
7 d	10.54±0.10	4.96±0.92 ^a	9.46±3.19 ^b
10 d	9.78±0.89	3.54±0.60 ^a	3.57±1.17 ^a
15 d	9.95±0.74	4.82±1.68 ^a	3.95±1.47 ^{ab}
20 d	10.23±0.44	10.32±0.71	5.62±0.62 ^{ab}

与对照组比, ^a $P < 0.05$; 与同时间点模型组比, ^b $P < 0.05$

注: 结果说明损伤后穴位区的羟脯氨酸水平降低从而抑制胶原的合成, 但是治疗后5, 15, 20 d羟脯氨酸水平更低, 说明针刺后可进一步降低羟脯氨酸表达, 从而更加抑制胶原的合成。

2.3 治疗不同时间血清肌酸激酶水平 见表3。

表3 对照组、骨骼肌急性钝挫伤模型及针刺大鼠双侧足三里的治疗组大鼠治疗不同时间血清肌酸激酶水平
Table 3 Level of serum creatine kinase of rats in the control group, model group and treatment group ($\bar{x}\pm s$, $n=8$, $\mu\text{g/L}$)

Time	Control group	Model group	Treatment group
1 d	850.10±150.56	1 373.70±156.79 ^a	1 321.90±230.41 ^a
3 d	838.24±272.56	1 382.10±144.76 ^a	1 350.40±210.93 ^a
5 d	820.32±120.56	1 336.30±151.85 ^a	1 339.40±201.24 ^a
7 d	815.77±173.86	1 124.30±204.29 ^a	708.30±216.47 ^b
10 d	840.12±123.11	1 109.60±161.22 ^a	920.42±39.68 ^b
15 d	860.52±200.44	1 045.80±123.56 ^a	949.83±106.41
20 d	810.33±100.95	696.50±91.55 ^a	881.23±83.59 ^b

与对照组比, ^a $P < 0.05$; 与同时间点模型组比, ^b $P < 0.05$

注: 结果说明电针刺刺激后有助于骨骼肌纤维的修复, 使得血清肌酸激酶在第7天即可恢复正常水平, 且直到20 d一直保持在正常水平, 但模型组20 d降至正常水平以下, 说明模型组机体免疫功能低下, 甚至还有炎症反应, 从而引起肌酸激酶活性的降低。

表3结果说明电针刺刺激后有助于骨骼肌纤维的修复, 使得血清肌酸激酶在第7天即可恢复正常水平, 且直到20 d一直保持在正常水平, 但模型组20 d降至正常水平以下, 说明模型组机体免疫功能低下, 甚至还有炎症反应, 从而引起肌酸激酶活性的降低。

3 讨论

以往研究认为胶原组织存在非晶体异构现象, 随着结构的变化, 可以吸收与释放巨大的能量^[3-4]; 胶原蛋白浓度、密度变化、结缔组织卷曲、扭转、挤压的关系导

致胶原改变很大程度上影响针刺的效应和针刺信号的传递^[5-6], 然而, 经穴胶原假说并未阐明胶原蛋白变化产生能量信号传递的中间过程, 因此尚不能称之为机制较为明确的系统性科学理论。针刺信号如果干涉胶原蛋白, 那么其中间环节必然存在调节修饰物及能量承载物, 但是相关的研究还处于空白阶段。

而目前, 大多数研究从针刺修复损伤区的血管内皮细胞、加快异常细胞吞噬作用、防止肌肉细胞凋亡、加速肌细胞的活化和生长、分泌细胞因子等方面进行阐释^[7-11], 但很少有研究从经络穴位理论, 从穴位区的胶原变化出发, 探讨针刺治疗软组织损伤的修复机制, 穴位区胶原调节修饰物和相关能量信号变化是否可能促使机体恢复稳态以达到修复损伤的目的, 所以本实验探索穴位区I型胶原纤维mRNA的表达变化对骨骼肌损伤的影响, 是否为针刺信号传输的基础性物质之一, 并通过胶原mRNA表达信号传输而达到修复损伤的目的。

I型胶原纤维是胶原的重要组成部分^[12], 由氨基酸羟脯氨酸(Hyp)合成^[13], 而胶原纤维很可能是人体内部传递能量信息的信息高速公路^[14]。血清肌酸激酶是反映骨骼肌损伤的重要指标, 可反映细胞膜的完整性和通透性^[15]。所以本实验选择穴位区I型胶原纤维mRNA的表达量和羟脯氨酸, 以及血液中肌酸激酶水平作为检测指标, 探讨不同时间点研究穴位区胶原含量变化是否存在整体性的稳态平衡, 胶原及其修饰物与损伤后能量信号(肌酸激酶)的波动是否存在耦合机制。同时观察电针干预足三里后, 穴位区羟脯氨酸和I型胶原纤维mRNA表达的变化及其对骨骼肌损伤动态修复情况。有研究提示骨骼肌损伤经过治疗3周后, 骨骼肌的张力、断裂强度及拉伸形变会得到明显改善^[16], 本实验主要观察骨骼肌损伤修复的情况, 所以实验周期设定为20 d。

实验结果表明治疗组治疗5, 7, 20 d的I型胶原纤维mRNA表达量比模型相同时间点低, 而且穴位区I型胶原纤维mRNA表达量降低的同时伴随着血清肌酸激酶水平的恢复, 即治疗组血清肌酸激酶表达在第7天即降低至正常水平, 而模型组却在第15天尚未恢复, 20 d却又降低至正常水平之下。由于肌纤维大量变形、坏死、瘢痕形成时大量的肌酸激酶被释放入血液, 使得血清肌酸激酶值显著升高^[17], 并且通过二元变量相关性分析发现治疗组I型胶原的变化和血清肌酸激酶存在正相关关系, 推测针刺穴位可影响穴位胶原表达, 从而引导了针刺信号的传输与转换过程, 且这个信号传播过程始终与骨骼肌修复的核心指标肌酸激酶呈现正相关。羟脯氨酸作为胶原酶的降解产物变化较为活跃, 除治疗组第7

天外, 治疗组和模型组穴位区造模后第1-15天羟脯氨酸水平均显著降低, 从而抑制了穴位区胶原的合成, 导致穴位区 I 型纤维mRNA的表达量降低, 治疗组的肌酸激酶虽然未与肌酸激酶呈高度正相关关系, 但是治疗后5, 15, 20 d后的羟脯氨酸水平低于模型组, 说明针刺后可降低羟脯氨酸表达, 从而更进一步抑制胶原的合成。

此外, 损伤后7-20 d, 模型组和治疗组穴位区 I 胶原纤维的mRNA表达都降低, 但是变化曲线却不同, 模型组 I 胶原纤维的mRNA表达在不同时间点跨越的幅度较大, 而治疗组的变化趋势较为平坦, 由于过多的胶原合成会导致瘢痕形成, 影响骨骼肌的收缩性质与愈合质量; 而胶原合成过少, 可导致肌肉脆性增加, 容易再损伤^[18], 所以电针刺刺激足三里可使穴位区的胶原变化相对稳定, 推测穴位区 I 型胶原纤维mRNA表达变化有可能产生信号传递以促使损伤部位的胶原维持相对稳态平衡, 从而促进损伤部位胶原纤维的修复。

实验结果显示电针干预足三里可以有效促进闭合性软组织损伤的修复, 穴位区胶原及其调节修饰物的变化起到了极其关键的作用。I 型胶原纤维与骨骼肌修复的重要指标肌酸激酶呈正相关, 提示胶原参与了针刺信号传输与转换过程并显著于损伤的机体; 而胶原调节修饰物和反映细胞能量运转、ATP再生的肌酸激酶之间存在耦合变化关系进而促进能量信号传输, 这种变化模式有助于机体恢复稳态从而达到修复损伤的目的。

4 参考文献

- [1] Kami K, Masuhara M, Kashiba H, et al. Changes of vinculin and extracellular matrix components following blunt trauma to rat skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc.* 1993;25(7): 832-840.
- [2] Zhao ZQ. Neural mechanism underlying acupuncture analgesia. *Prog Neurobiol.* 2008;85(4):355-375.
- [3] Pang XF, Shijie Keji Yanjiu yu Fazhan. 2006;8(2):208-210. 庞小峰. 生物能量在生命体中传递的新理论及实验证实[J]. 世界科技研究与发展, 2006, 8(2):208-210.
- [4] Deng C, Weng YM, Xu ZZ. *Wuli Xuebao.* 2005;4(5):351-335. 邓闯, 翁渝民, 徐至中. 胶原蛋白分子中电场激发的孤子特性[J]. 物理学报, 2005, 4(5):351-35
- [5] Ahn AC, Park M, Shaw JR, et al. Electrical impedance of acupuncture meridians: the relevance of subcutaneous collagenous bands. *PLoS One.* 2010;5(7):e11907.
- [6] Julias M, Edgar LT, Buettner HM, et al. An in vitro assay of collagen fiber alignment by acupuncture needle rotation. *Biomed Eng Online.* 2008;7:19.
- [7] Smith C, Kruger MJ, Smith RM, et al. The inflammatory response to skeletal muscle injury: illuminating complexities. *Sports Med.* 2008;38(11):947-969.
- [8] Warren GL, Summan M, Gao X, et al. Mechanisms of skeletal muscle injury and repair revealed by gene expression studies in mouse models. *J Physiol.* 2007;582(Pt 2):825-841.
- [9] Gierer P, Hoffmann JN, Mahr F, et al. Sublethal trauma model with systemic endotoxemia for the study of microcirculatory disorders after the second hit. *J Surg Res.* 2008;147(1):68-74.
- [10] Gierer P, Röther J, Mittlmeier T, et al. Ebselen reduces inflammation and microvascular perfusion failure after blunt skeletal muscle injury of the rat. *J Trauma.* 2010;68(4): 853-858.
- [11] Berman BM, Langevin HM, Witt CM, et al. Acupuncture for chronic low back pain. *N Engl J Med.* 2010;363(5):454-461.
- [12] Xu F, Liu W, Cao DJ, et al. *Shanghai Dier Yike Daxue Xuebao.* 2004;74(3):275-278. 许锋, 刘伟, 曹德君, 等. 人肌腱与皮肤组织及其细胞I型和III型胶原表达的比较研究[J]. 上海第二医科大学学报, 2004, 74(3): 275-278.
- [13] Edwards CA, O'Brien WD Jr. Modified assay for determination of hydroxyproline in a tissue hydrolyzate. *Clin Chim Acta.* 1980; 104(2):161-167.
- [14] Klebe RJ, Caldwell H, Milam S. Cells transmit spatial information by orienting collagen fibers. *Matrix.* 1989;9(6): 451-458.
- [15] Hua B, Dong R, Su QS. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu.* 2009;13(28):5535-5538. 华冰, 董柔, 苏全生. 大强度离心运动大鼠不同时相骨骼肌结构及血白细胞介素6、肌酸激酶、肌酸激酶同工酶的变化[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(28):5535-5538.
- [16] Zhu WH, Chen SY, Li YX, et al. *Zhongguo Yundong Yixue Zazhi.* 2004;23(2):146-151. 朱文辉, 陈世益, 李云霞, 等. 注射活血生肌类中药对大鼠骨骼肌急性钝挫伤后肌肉IIB型MHC及I、III型胶原mRNA表达的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2004, 23(2):146-151.
- [17] Nakae Y, Stoward PJ, Kashiyama T, et al. Early onset of lipofuscin accumulation in dystrophin-deficient skeletal muscles of DMD patients and mdx mice. *J Mol Histol.* 2004; 35(5):489-499.
- [18] Hurme T, Kalimo H, Lehto M, et al. Healing of skeletal muscle injury: an ultrastructural and immunohistochemical study. *Med Sci Sports Exerc.* 1991;23(7):801-810.

来自本文课题的更多信息--

基金声明: 国家自然科学基金资助项目(81072880)。

作者贡献: 马忆南进行实验设计, 实施为马忆南, 陈静静, 评估为杨华元, 资料收集为马忆南, 赵宇平, 冯麟, 马忆南成文, 杨华元审校, 马忆南对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验中对动物的处置符合中国科技部2006年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。