

骨 科 学

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.000239

按摩促进骨骼肌损伤后肌纤维再生机理的研究

谢 辉,唐成林,陈晓琳,唐念珍

(重庆医科大学中医药学院中医药研究室,重庆 400016)

【摘要】目的:研究按摩对兔股四头肌损伤成肌调节因子 Myf5 mRNA 和 MyoD mRNA 的影响,探讨按摩促进肌纤维再生的作用机理。**方法:**将健康成年新西兰大白兔 42 只,体质量(2.0 ± 0.5) kg,随机分为 4 组,正常组(A 组, $n=3$)、损伤组(B 组, $n=3$)、按摩组(C 组, $n=18$)和自然恢复组(D 组, $n=18$)。A 组实验动物不作任何处理,作为正常对照;用重物打击法将 B、C、D 3 组实验兔左后肢股四头肌进行损伤造模。C 组于造模后第 4 天开始按摩,按摩器转速 2 600 r/min,按摩时间 15 min,每天 1 次;D 组不予按摩。C、D 组于损伤第 5 天及第 10 天各取 9 只实验动物取股四头肌样本,进行 HE 染色观察组织的病理变化,并采用 real-time PCR 检测各组 Myf5 mRNA 和 MyoD mRNA 的相对表达量,与 A、B 2 组股四头肌标本进行比较。**结果:**成肌调节因子 Myf5 mRNA 的表达,A、B 组分别为(7.82 ± 0.19)、(4.99 ± 0.17),损伤第 5 天 C、D 组分别为(5.28 ± 0.15)、(5.78 ± 0.04),损伤第 10 天 C、D 组分别为(5.95 ± 0.16)、(6.26 ± 0.26),C、D 组相比,差异有统计学意义($P<0.01$);MyoD mRNA 的表达,A、B 组分别为(14.94 ± 0.12)、(12.12 ± 0.03),损伤第 5 天 C、D 组分别为(12.52 ± 0.12)、(12.88 ± 0.14),损伤第 10 天 C、D 组分别为(13.28 ± 0.02)、(13.81 ± 0.17),C、D 组相比,差异有统计学意义($P<0.01$);HE 染色显示,C 组充血、水肿减轻,与 D 组相比,肌纤维排列较整齐,直径增粗。**结论:**按摩能够促进兔损伤股四头肌肌胶原纤维合成,利于损伤组织的修复,其机理可能是通过促进成肌调节因子 Myf5 mRNA 和 MyoD mRNA 的表达有关。

【关键词】按摩;骨骼肌损伤;Myf5;MyoD**【中图分类号】**R264;R247.9;R685.4;R244**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2013-10-29Mechanism of using massage to promote the fiber formation
in skeletal muscle damage

Xie Hui, Tang Chenglin, Chen Xiaolin, Tang Nianzhen

(Teaching and Research Section of Traditional Chinese Medicine Traditional Chinese Medical College,
Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the mechanism of using massage to promote muscle fiber regeneration by studying on the effect of massage on myogenic regulatory factor of rabbit quadriceps injury Myf5 mRNA and MyoD mRNA. **Methods:** The 42 healthy adult New Zealand white rabbits, weighting (2.0 ± 0.5) kg, were randomly divided into four groups: normal group (A, $n=3$), control group before massage (B group, $n=3$), massage group (C group, $n=18$) and natural recovery group (D group, $n=18$). No treatment was used in A group while hitting by a homemade device was used in B, C and D groups to build rabbits' quadriceps injury model in right and hind limb. In group C, massage was provided in the first four days after modeling, with speed of 2 600 r/min and frequency of 1/d, for 15 min. In group D, no massage was given. Quadriceps specimens of nine rabbits in C group and D group were got respectively on the 5th d and 10th d after modeling and pathological changes were observed by HE staining. The relative expression of Myf5 mRNA and MyoD mRNA was detected by real-time quantitative PCR. **Results:** The myogenic regulatory factor Myf5 mRNA expression was (7.82 ± 0.19) and (4.99 ± 0.17) in A and B groups, (5.28 ± 0.15) and (5.78 ± 0.04) in C and D groups on the 5th d after modeling, (5.95 ± 0.16) and (6.26 ± 0.26) in C and D groups on the 10th d after modeling, with statistical differences ($P<0.01$). MyoD mRNA expression was (14.94 ± 0.12) and (12.12 ± 0.03) in A and B groups, (12.52 ± 0.12) and (12.88 ± 0.14) in C and D groups on the 5th d after modeling, (13.28 ± 0.02) and (13.81 ± 0.17) in C and D groups on the 10th d after modeling, with statistical differences ($P<0.01$). HE staining showed that the damage was mitigated and the muscle fibers were more orderly with larger diameter in C groups than in D groups. **Conclusion:** Massage can promote the synthesis of collagen fibers of injured quadriceps muscles in rabbits, which will help re-

pair damaged tissues; its mechanism may be through the promotion of myogenic regulatory factor Myf5 mRNA and MyoD mRNA expression.

【Key words】massage; skeletal muscle damage; Myf5; MyoD

作者介绍: 谢 辉, Email: Ppgo1177953@163.com,

研究方向: 推拿对损伤修复机制研究。

通信作者: 唐成林, Email: CYTCL996@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号: 81273870)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20150209.1107.003.html>

(2014-04-28)

骨骼肌损伤是运动医学中最常发生的一种创伤,是创伤修复中一个亟待解决的问题。肌肉钝挫伤又是最常见的肌肉损伤之一。力量性对抗常常会引起肌肉急性损伤,原因多是由于骨骼肌直接遭受到暴力或钝性压迫所致,其中股四头肌和/或腓肠肌是最易发生创伤的部位^[1],目前对治疗肌肉钝挫伤尚无特效方法。肌肉损伤修复过程可能伴随或产生一系列的症状,如疼痛、反复损伤、早期功能障碍、肌肉纤维疤痕形成,甚至肌萎缩等,从而妨碍运动训练,影响比赛成绩。对肌肉损伤的大量研究,多是以骨骼肌缺血/再灌注损伤、骨骼肌挤压伤或脊髓挫伤为模型^[2-4],但这些造模方式,在临床上造成的肌肉损伤程度过于严重;在治疗方面,常采用高压氧和低级别的激光疗法(low-level laser therapy, LLLT)^[5]等,但费用高昂。骨骼肌损伤尽管自身具有一定的再生能力,但自然愈合过程缓慢,且往往愈合不完全。因此,寻找一种快速、有效而又经济的方法治疗肌肉钝挫伤,具有实际临床意义。

有资料显示,肌纤维再生和瘢痕组织生成是不可分割的^[6],而成肌调节因子(myogenic regulatory factors, MRFs)是肌纤维再生的关键。经前期研究结果显示,按摩对骨骼肌损伤中两种构成肌纤维细胞骨架的重要蛋白——即结蛋白和 α -肌动蛋白(α -Actin)^[7]的表达具有促进作用。本研究中以兔骨骼肌建立钝挫伤为模型,以按摩的方式对骨骼肌钝挫伤后进行干预,应用 HE 染色和 real-time PCR 技术,观察骨骼肌挫伤愈合过程中 2 个成肌调节因子 Myf5 (myogenic factors 5) 和 MyoD (myogenic differentiation protein) 的变化,探讨按摩在骨骼肌挫伤恢复过程中的作用以及可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验试剂和材料

1.1.1 动物 选取纯种成年健康雄性新西兰大白兔 42 只,体质量为 (2.0 ± 0.5) kg,均由重庆医科大学实验动物中心提供(医学动物合格证 SCXK 渝 20120001)。

1.1.2 材料 Myf5 和 MyoD 引物;酶标仪(RT-2100C, 中国);Triol 总 RNA 提取试剂(天根生化科技有限公司);反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)试剂盒(TaKaRa 宝生物公司);8%硫化钠脱毛剂;AFY-10 按摩器(天津京康瑞福科技发展有限公司);自制软组织打击器;80-2 型低速离心机(上海手术器械厂)。

1.2 动物制模和分组

1.2.1 分组 实验兔分笼饲养,适应性饲养 7 d 后,随机分

为正常组 A($n=3$);损伤组 B(即伤后第 3 天组, $n=3$)、按摩组 C(包括 C₁ 伤后第 5 天组, $n=9$;C₂ 伤后第 10 天组, $n=9$)和自然恢复组 D(包括 D₁ 伤后第 5 天组, $n=9$;D₂ 伤后第 10 天组, $n=9$)。

1.2.2 制模 采用重物打击法制作兔股四头肌急性损伤模型^[8]。重力打击器为自制的底面平滑的重力铅锤;锤长 10 cm、质量 0.5 kg、直径 2.5 cm;塑料导向管长 100 cm,直径 3.0 cm。具体操作如下:A 组不做任何处理,为正常对照;将 B、C、D 3 组,每只家兔俯卧位固定,并于左后肢打击部位垫一层纱布,防止皮肤破损;打击时自由落高 60 cm,同一部位连续打击 3 次,为保证每只实验兔所受撞击力度和损伤范围一致,每次的铅锤投放和导管固定由同一人执行^[9]。肉眼可见受打击的部位出现肿胀和淤血,同肌肉撞伤相似,无皮肤破裂及骨折,表明造模成功。

1.3 实验方法

1.3.1 按摩干预 C 组于造模后第 4 天开始按摩治疗^[10],D 组不予按摩。按摩采用天津京康瑞福科技发展有限公司生产的 AFY-10 智能按摩器,按摩转速为 2 600 r/min,直接在受损组织及临近部位按摩,每天 1 次,每次 15 min,C 组动物连续按摩,直至处死。

1.3.2 取材与预处理 A、B 组实验兔于伤后第 3 天处死取材,用于损伤模型对照;于损伤后第 5 天和第 10 天,用空气栓塞法处死 C、D 组实验兔。快速切取造模处股四头肌标本,用预冷 PBS 清洗受损股四头肌,横切为左右 6 块,取其中 3 块约 $1.5 \text{ cm} \times 1.0 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$ 的肌组织标本置入 4%多聚甲醛固定液中固定过夜,用于 HE 染色。另 3 块约 $1.5 \text{ cm} \times 1.0 \text{ cm} \times 0.3 \text{ cm}$ 立即置入液氮冷冻,转移至 -80°C 低温冰箱保存备用。

1.3.3 HE 染色 4%多聚甲醛固定液中固定 4 h 后取出肌肉标本,常规乙醇梯度脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,切片,片厚 $5 \mu\text{m}$ 。取其中一部分切片常规法行 HE 染色。在 100 倍光镜下观察切片病理结构后,200 倍光镜下对目标位点进行照相,并记录下至少 5 个不同视野。

1.3.4 Real-time PCR 检测 从 -80°C 冰箱中取出各组实验兔受损骨骼肌标本 0.1 g,加入液氮反复研磨数次,待标本成粉末状后加入 1 ml Trizol,按照试剂盒说明书提取总 RNA。采用 DNase I 纯化总 RNA,按逆转录试剂盒说明书合成 cDNA。取各组待测样本 cDNA $2 \mu\text{l}$,SYBR real-time PCR Master Mix $12.5 \mu\text{l}$,上、下游引物各 $1 \mu\text{l}$,去离子水 $8.5 \mu\text{l}$,总反应体系为 $25 \mu\text{l}$ 。在 MX3005P 型荧光定量 PCR 仪上进行 PCR 扩增及荧光定量检测,检测指标包括 Myf5、MyoD 及内参基因(GAPDH)的扩增情况。引物设计及合成均由 Invitrogen Biotechnology Co., LTD 中国公司合成,Myf5 mRNA 上游引物序列:5'-CCAGTCTCTCGCCTTCTGAGTATTTC-3',下游引物序列:5'-ATGCTGGTGGACTTCCTCTTGC-3',MyoD mRNA 上游引物序列:5'-TACTGCCTAATGGCTCTGGCCACTCC-3',下游引物序列:5'-TCTGCTGCTGCCCTTGCTCTTCTT-3',GAPDH:上游引物序列:5'-CAACAGTGCCACCCACTCCTCT-3',下

游引物序列:5'-AAGAGGGGCAGATTCTCAGCGT-3'。Myf5 mRNA、MyoD mRNA 基因表达计算方法采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法进行半定量分析。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,数据结果用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$)。对各组成肌调节因子表达数据进行单因素方差分析比较,采用 SNK- q 法进行两两比较。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 组织学观察

如图所示,正常肌纤维排列紧密,直径较粗,大小一致(图 1A)。损伤组,肌纤维之间明显充血、水肿,部分肌纤维崩解,间隙明显增大,排列较乱,有部分结缔组织在间隙填充(图 1B)。损伤第 5 天,C 组肌纤维萎缩,坏死较明显,退变的肌纤维横截面积逐渐增大,整体排列也较稀疏,结缔组织填充明显;而 D 组肌纤维萎缩、坏死更加明显,横截面积更小,且萎缩纤维间间隙明显较 C 组大(图 1C、D)。损伤第 10 天,C 组的肌纤维排列略紧密整齐,但肌纤维间仍有少量结缔组织填充,与正常组接近(图 1E);损伤第 10 天,D 组的肌纤维仍然排列紊乱,结缔组织相互交织,肌纤维之间有大量结缔组织填充,说明了损伤恢复仍在继续(图 1F)。

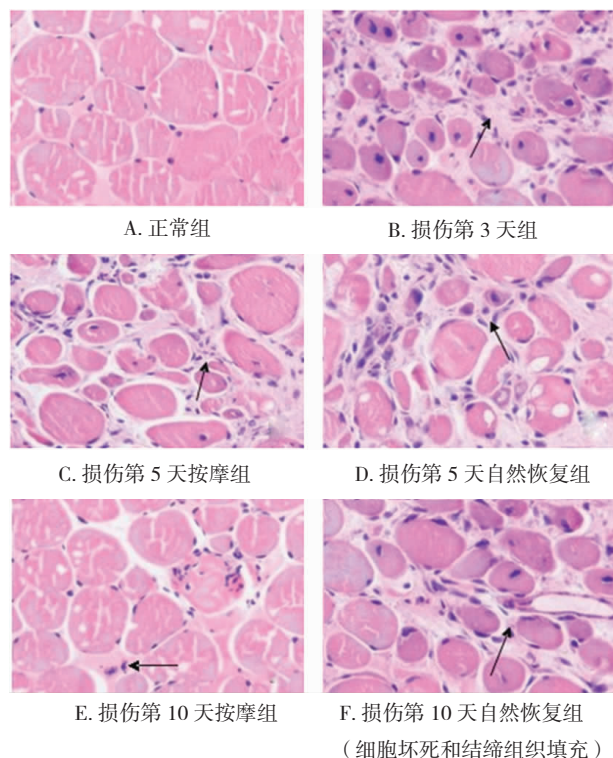


图 1 各组股四头肌组织学观察(200 $\times$)

Fig.1 Histological observation of quadriceps femoris muscle in each group(200 $\times$)

2.2 损伤肌肉组织成肌调节因子 Myf5 和 MyoD 表达水平

如表 1 示,B、C 组和 D 组同 A 组相比 Myf5 mRNA 具有明显表达($F=62.463, P=0.000$);经按摩干预,伤后第 5 天,Myf5 mRNA 的表达水平 C 组与 D 组相比,差异有统计学意义($P<0.01$);伤后第 10 天,Myf5 mRNA 的表达水平 C 组与 D 组相比,差异有统计学意义($P=0.000$)。同样,MyoD mRNA 在损伤后 B、C 和 D 组中与 A 组相比,差异具有统计学意义($F=70.125, P<0.01$);经按摩干预,伤后第 5 天,MyoD mRNA 的表达水平 C 组与 D 组相比,差异有统计学意义($P<0.01$);伤后第 10 天,MyoD mRNA 的表达水平 C 组与 D 组相比,差异有统计学意义($P<0.01$)。见图 2。

表 1 不同时间段 Myf5 mRNA 和 MyoD mRNA 相对表达量的差异 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Differences of Myf5 mRNA and MyoD mRNA relative expression during different time periods ($\bar{x} \pm s$)

相对表达量	Myf5		MyoD	
	ΔCT	$2^{-\Delta\Delta CT}$	ΔCT	$2^{-\Delta\Delta CT}$
正常组 (A, $n=3$)	7.82 $\pm$ 0.19	1.00	14.94 $\pm$ 0.12	1.00
伤后第 3 天 (B, $n=3$)	4.99 $\pm$ 0.17 ^a	7.13	12.12 $\pm$ 0.03 ^a	7.08
伤后第 5 天 (C, $n=9$)	5.28 $\pm$ 0.15 ^{ab}	5.83	12.52 $\pm$ 0.12 ^{ab}	5.38
伤后第 5 天 (D, $n=9$)	5.78 $\pm$ 0.04 ^a	4.13	12.88 $\pm$ 0.14 ^a	4.17
伤后第 10 天 (C, $n=9$)	5.95 $\pm$ 0.16 ^{ac}	3.66	13.28 $\pm$ 0.02 ^{ac}	3.17
伤后第 10 天 (D, $n=9$)	6.26 $\pm$ 0.26 ^a	2.96	13.81 $\pm$ 0.17 ^a	2.19
<i>F</i> 值	62.463		70.125	
<i>P</i> 值	0.000		0.000	

注:a,各组与 A 组比较,经单因素方差分析, $P<0.01$ (2 数据 $P_a=0.000$);b,第 5 天时,C 组与 D 组比较,经 SNK 法分析, $P<0.01$ (Myf5: $P_b=0.003$; MyoD: $P_b=0.000$);c,第 10 天时,C 组与 D 组比较,经 SNK 法分析, $P<0.01$ (Myf5: $P_c=0.000$; MyoD: $P_c=0.004$)

3 讨论

引起运动员肌肉损伤的机制有多种,包括直接创伤(如撕裂、拉伤、挫伤)和间接损伤(缺血和神经功能障碍)。在前期研究中显示,按摩可以有效减少转移生长因子和 I 型胶原 2 种参与瘢痕形成的重要因子的表达,促进损伤的修复,防止纤维化^[10]。Pavlati 等^[11]经过实验显示,损伤后的骨骼肌再生及发育都需要成肌调节因子家族的调节,包括 MyoD、Myogenin (肌细胞生成素)、Myf5 和 MRF4 (muscle regulatory factor 4)。

目前,有很多关于成肌调节因子的研究报道,但都是以大强度训练和失神经性骨骼肌损伤为基础进行的研究;本实验是用重物打击法造成骨骼肌急性损伤模型,此模型更贴近临床上钝挫伤,通过

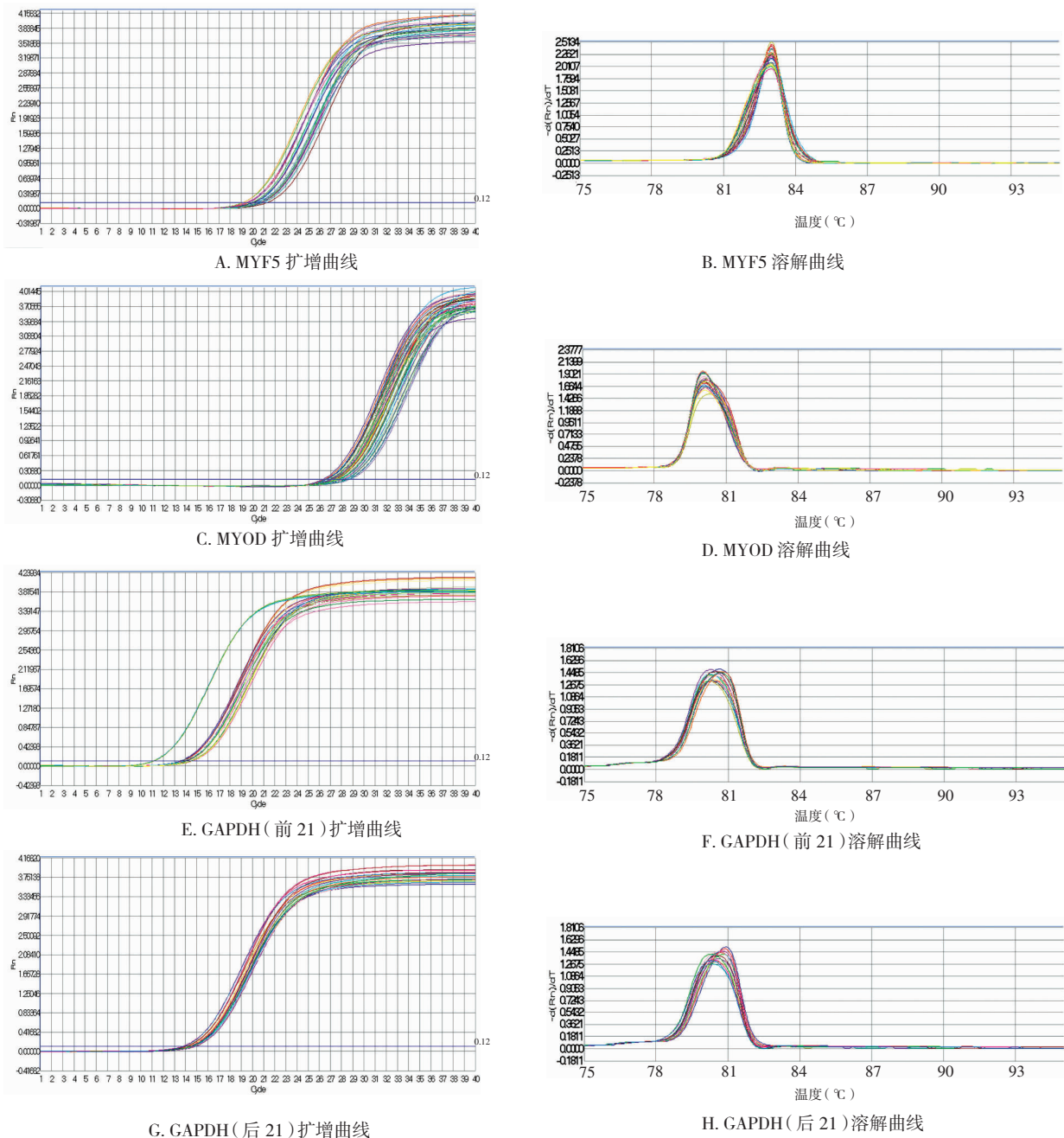


图 2 MYF5, MyoD 和 GAPDH 的扩增曲线和溶解曲线

Fig.2 Amplification curve and solubility curve of MYF5, MyoD and GAPDH

按摩这种相对简单易操作的治疗方式,采用 HE 染色和 real-time PCR 检测的方法,来观察对兔骨骼肌损伤修复的影响。在伤后第 4 天进行按摩,避免急性炎症阶段,因外力作用导致炎症反应扩大,不利于肌肉的修复^[8]。

Cooper 等^[12]通过实验证实的结果显示:小鼠骨骼肌再生时,MyoD 和(或)Myf5 早期就被激活表达,随后 MyoD 在增生肌卫星细胞表达。本实验中在伤后第 3 天时,两者表达量均有所增高,说明骨骼肌

肌纤维损伤较严重,逐渐进入肌纤维修复再生过程。而在伤后第 5 天,通过 H&E 也可发现,肌纤维明显比伤后第 3 天时增多,横截面直径增大,而按摩组明显比自然恢复组更好,两调节因子 mRNA 在按摩组中表达更多,表明按摩可促进 MyoD 和 Myf5 的表达,从而利于损伤更好更快地恢复,同 Peterson 等的研究^[13]相符,疾病或损伤累及肌肉时,卫星细胞被激活并有 MRFS 表达。伤后第 10 天时,按摩组从形态上和正常组织更接近,Myf5 mRNA 和 MyoD mRNA

的基因表达仍然比自然恢复组较高,说明此时修复还不完全,但同此时的自然恢复组相比,肌纤维更紧密直径更大。本实验还可明显观察到,骨骼肌正常肌纤维排列紧密,大小一致。损伤后,肌纤维退变、变细,间隙明显增大,排列紊乱。通过按摩治疗,退变的肌纤维横截面积逐渐增大,也使排列逐渐紧密整齐,与正常组更接近。在这个过程中能够发现,成肌调节因子 MyoD 和 Myf5 也从几乎不表达到达量递增。肌肉损伤时 Myf5 mRNA 和 MyoD mRNA 表达上升,再次证实了按摩通过促进 MRFs 的表达,从而帮助损伤肌肉的修复^[14]。本实验只是从修复过程中探寻了按摩的作用一些机理,而关于两组都恢复至正常时的情况,仍需进一步研究。

在成肌细胞的定向分化和增殖过程^[16-17]以及肌细胞融合、形成及增加肌卫星细胞数量^[18]特异性基因转录中,Myf5 是 MyoD 的上游基因,所以 Myf5 对转录调控的起始有重要作用^[19]。MyoD 与 Myf5 具有较高的同源性,无论是成肌细胞分化前表达,还是成肌分化决定因子,作用都是诱导前成肌细胞分化成成肌细胞,而 MyoD 确定肌源性的发生^[11,20]。在本研究中,通过对损伤肌肉组织进行按摩,发现 MyoD 和 Myf5 的表达增高,从而促进损伤肌肉的再生。构成肌肉组织的 MyoD 蛋白,通过其特定碱性区与靶基因的启动子区或增强子区相结合,来促进肌纤维的形成^[21]。在本实验中也明显发现了损伤后再生肌肉 2 个成肌调节因子都大量增加。由此,在成体骨骼肌中,可以认定 MyoD 是一个激活肌卫星细胞很好的标记蛋白。

临床上,骨骼肌损伤是最常见的运动伤害,而按摩对肌肉损伤可起到解痉止痛、疏通经络、活血化瘀的作用^[22]。通过本实验研究,可以得出以下结论:按摩可促进损伤部位成纤维细胞转化为纤维细胞;促进胶原纤维合成,并使其排列规整致密,利于伤口的愈合;促进新陈代谢,从而减轻受损组织水肿,清除坏死成分,加快炎症消散。本研究为临床治疗肌肉损伤寻找更实用、简单、经济和方便的治疗方法提供了可靠的实验依据。

参 考 文 献

- [1] Beiner JM, Jokl P. Muscle contusion injuries: current treatment options[J]. *J Am Acad Orthop Sur*, 2001, 9(4): 227-237.
- [2] Erkanli K, Erkanli Senturk G, Aydin U, et al. Oxytocin protects rat skeletal muscle against ischemia/reperfusion injury[J]. *Ann Vasc Surg*, 2013, 27(5): 662-670.
- [3] Dobek GL, Fulkerson ND, Nicholas J, et al. Mouse model of muscle

crush injury of the legs[J]. *Comp Med*, 2013, 63(3): 227-232.

- [4] Jayaraman A, Liu M, Ye F, et al. Regenerative responses in slow- and fast-twitch muscles following moderate contusion spinal cord injury and locomotor training[J]. *Eur J Appl Physiol*, 2013, 113(1): 191-200.
- [5] Luo L, Sun Z, Zhang L, et al. Effects of low-level laser therapy on ROS homeostasis and expression of IGF-1 and TGF- β 1 in skeletal muscle during the repair process[J]. *Lasers Med Sci*, 2013, 28(3): 725-734.
- [6] Järvinen TA, Järvinen TL, Kääriäinen M, et al. Muscle injuries: biology and treatment[J]. *Am J Sports Med*, 2005, 33(5): 745-764.
- [7] 侯懿烜, 柳满然, 余 敏, 等. 按摩促进兔股四头肌损伤修复的体内研究[J]. *中国修复重建外科*, 2012, 26(3): 347-352.
- [8] 张海平, 宋吉锐. 急性骨骼肌损伤动物实验模型构建及应用[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(49): 9984-9988.
- [9] 石茜明, 王学礼, 李桂桐, 等. 按摩对肌肉损伤修复作用的形态学研究[J]. *中国运动医学*, 1991, 10(4): 201-205.
- [10] 刘仁建, 唐成林, 邹 敏, 等. 按摩抑制兔钝挫伤骨骼肌瘢痕形成的机制研究[J]. *中华物理医学与康复*, 2012, 34(10): 742-746.
- [11] Pavlath GK, Dominov JA, Kegley KM, et al. Regeneration of transgenic skeletal muscles with altered timing of expression of the basic helix-loop-helix muscle regulatory factor MRF4[J]. *Am J Pathol*, 2003, 162: 1685-1691.
- [12] Cooper RN, Taybukhsh S, Mouly G, et al. In vivo satellite cell activation via Myf5 and MyoD in regenerating mouse skeletal muscle[J]. *J Cell Sci*, 1999, 112(Pt 17): 2895-2901.
- [13] Peterson JM, Bryner RW, Alway SE. Satellite cell proliferation is reduced in muscles of obese Zucker rats but restored with loading[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008, 295(2): C521-C528.
- [14] Maier A, Zhou Z, Bornemann A. The expression profile of myogenic transcription factors in satellite cells from denervated rat muscle[J]. *Brain Pathol*, 2002, 12(2): 170-177.
- [15] Koishi K, Zhang M, McLennan IS, et al. MyoD protein accumulates in satellite cells and is neurally regulated in regenerating myotubes and skeletal muscle fibers[J]. *Dev Dyn*, 1995, 202(3): 244-254.
- [16] Biresia S, Bjornsona CR, Carlaga PM, et al. Myf5 expression during fetal myogenesis defines the developmental progenitors of adult satellite cells[J]. *Dev Biol*, 2013, 379(2): 195-207.
- [17] Perez-Ruiz A, Gnocchi VF, Zammit PS. Control of Myf5 activation in adult skeletal myonuclei requires ERK signaling[J]. *Cell Signal*, 2007, 19(8): 1671-1680.
- [18] 张文辉, 梁炳生, 梁 勇, 等. 成肌调节因子 Myf-5 在失神经骨骼肌萎缩不同时段的表达[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13(28): 5515-5518.
- [19] 赵志强, 刘 强, 李 钢. 骨骼肌卫星细胞移植对延缓失神经肌肉萎缩的作用[J]. *中华骨科杂志*, 2006, 26(1): 51-55.
- [20] 马玉虹, 王 珊, 邓晓斌, 等. MyoD1, Myogenin 在儿童横纹肌肉瘤中的表达及其临床意义[J]. *重庆医科大学学报*, 2010, 35(12): 1870-1873.
- [21] Wyzykowski JC, Winata TI, Mitin N, et al. Identification of novel MyoD gene targets in proliferating myogenic stem cells[J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(17): 6199-6208.
- [22] 金宏柱. 中国推拿[M]. 上海: 上海中医药大学出版社, 2002.

(责任编辑: 冉明会)