DOI:10.16016/j.1000-5404.201503211

论著

β-APP和NF-L在评估弥漫性轴索损伤大鼠损伤程度中的价值

向 玲,张雨婷,韦 红,梁 平,彭玲珑,李禄生 (400014 重庆,重庆医科大学附属儿童医院小儿外科神经外科,儿童发育疾病研究教育部重点实验室,儿科学重庆市重点实验室,重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地)

[摘要] **目的** 利用自制装置建立轻、中、重度的弥漫性轴索损伤(diffuse axonal injury,DAI)大鼠模型,观察不同时间点β-淀粉样前体蛋白(β-amyloid precursor protein, β-APP)及神经丝蛋白轻链多肽(neurofilament light polypeptide, NF-L)的变化与恢复期的学习记忆能力的相关性。**方法** 健康成年SD大鼠100只,随机分为正常对照组和A、B、C(轻、中、重型致伤)DAI组。伤后6、24、72 h及1、2周取脑组织切片行β-APP免疫组织化学染色;24 h时脑组织切片行HE染色和NF-L免疫组织化学染色;2周时行水迷宫测试。将损伤后24 h各组脑组织切片感兴趣区内测定的β-APP和NF-L累积光密度(IOD)值与损伤后恢复期大鼠的学习记忆能力做相关性分析。**结果** 伤后24 h取脑组织肉眼观察致伤组大脑表面、蛛网膜下腔、脑室等区域未见出血,光镜下可见A、B、C组大鼠的胼胝体区神经束疏松、紊乱,血管淤滞,空泡形成,神经元肿胀变性,细胞核显示不清,突触结构模糊等经典DAI病理特征,NF-L免疫组化鉴定实验组均有典型中线部位轴索损伤改变。实验组伤后6、24、72 h及1、2周与对照组相比各时间点胼胝体β-APP均有升高($P<0.05$),组内各时间点呈动态变化,于伤后24 h最高。伤后24 h,实验组NF-L免疫组化染色大脑水管水平脑干轴突和神经元胞体阳性染色较正常组增强,半定量分析A、B、C 3组间差异有统计学意义($P<0.05$)。水迷宫测试与正常对照组比较,A组大鼠学习记忆功能无明显下降;B、C两组下降明显($P<0.05$)。损伤后24 h,A、B、C 3组脑组织切片感兴趣区内测定的β-APP和NF-L累积光密度(IOD)值与损伤后恢复期大鼠的学习记忆能力呈负相关(r分别为-0.937、-0.939)。**结论** β-APP和NF-L不仅可以反映DAI动物模型轴索损伤的程度,还可以早期预测损伤后大鼠的学习记忆恢复能力,可能成为DAI损伤的特异性分子探针。

[关键词] 弥漫性轴索损伤;免疫组织化学;β-淀粉样前体蛋白;神经丝蛋白轻链多肽;水迷宫;大鼠
[中图法分类号] R-332;R742.8 [文献标志码] A

Value of β-APP and NF-L as markers in evaluation of rat diffuse axonal injury

Xiang Ling, Zhang Yuting, Wei Hong, Liang Ping, Peng Linglong, Li Lusheng (Department of Neurosurgery, Key Laboratory of Child Development and Disorders of Ministry of Education, Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing International Science and Technology Cooperation Center For Child Development, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400014, China)

[**Abstract**] **Objective** To observe the expression changes of β-amyloid precursor protein (β-APP) and neurofilament light polypeptide (NF-L) in rats with different degrees of diffuse axonal injury (DAI) at different time points, and identify the correlation between the changes and the learning and memory abilities of the rats in the recovery period. **Methods** A total of 100 healthy adult SD rats were randomly divided into control group, and mild, moderate and severe injury groups , with 25 rats in each group. The brain tissue specimens were detected by immunohistochemistry using rabbit antibodies of β-APP at given time points (6, 24 and 72 h, 1 and 2 weeks after injury), and at 24 h after injury, the brain tissue specimens were analyzed by HE staining and NF-L immunohistochemical staining. In 2 weeks later, the learning and memory ability of

[基金项目] 重庆市科委科技攻关项目(cstc2012gg-yyjs10013);国家临床重点专科建设项目(2013-2014小儿外科)
[通信作者] 李禄生,E-mail:404616073@qq.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20151016.1309.022.html

each group was tested by Morris water maze. Callosum and brainstem with cerebral aqueduct were selected as the interest region under a microscope. The correlation between the integral optical density (IOD) of β-APP and NF-L in the interest region at 24 h after injury and the learning and memory abilities of the rats during the recovery period was analyzed. **Results** At 24 h after injury, the bleeding at the brain surface, subarachnoid, and cerebroventricular regions was not observed in all groups. However, typical DAI pathological features such as loosened and disordered nerve bundles, clogged blood vessels, cavitation, swelling and degenerative neurons, vague and unclear nucleus, and fuzzy synaptic structure were observed in the callosum and brainstem under the microscope. The immunohistochemical results showed that the immunoreactivity of β-APP at the callosum of the injury groups was significantly enhanced compared with the control group at the given time points, and semi-quantitative analysis further revealed that the IOD values had significant difference between the control group and the injury groups ($P<0.05$). The IOD values at each time point were changed dynamically in the injury groups, and the immunoreactivity was strongest at 24 h. Compared with the control group, the immunoreactivity of NF-L in the axon and neuron cell body of the brainstem of the injury groups was significantly enhanced at 24 h after injury, and there was statistically significant difference ($P<0.05$). Morris water maze test indicated that the learning and memory abilities had no statistically significant difference between the mild injury group and the control group, but there was statistically significant difference between the control group and the moderate and severe injury groups ($P<0.05$). The correlation analysis showed that the learning and memory ability was negatively correlated with the IOD values of β-APP and NF-L at 24 h after injury ($r=-0.937$, $r=-0.939$). **Conclusion** The expression changes of β-APP and NF-L are significantly associated with the injury degree of DAI, and the learning and memory abilities in the recovery period can be predicted based on the expression changes of β-APP and NF-L at early time.

[**Key words**] diffuse axonal injury; immunohistochemistry; β-APP; NF-L, Morris water maze; rats

Supported by the Tackling Project of Chongqing Science and Technology Committee (Application Technology R & D Program, cstc2012gg-yyjs10013) and the National Clinical Key-discipline Coustruction Program(2013-2014). Corresponding author: Li Lusheng, Tel: 86-23-63621980, E-mail: 404616073@qq.com

弥漫性轴索损伤(diffuse axonal injury, DAI)是指头部在外力作用后引起的以脑白质轴索弥漫性损伤为主要特征的一种创伤性脑损伤,是导致颅脑外伤患者重度伤残的常见原因。但临床上DAI早期诊断困难,治疗缺乏针对性,预后较差[1]。因此,其早期诊治仍是国内外研究的重要课题。有研究表明β-淀粉样前体蛋白(β-amyloid precursor protein, β-APP)及神经丝蛋白(neurofilament light polypeptide, NF-L)在DAI的发生、发展过程中有明显的变化,且其变化情况与病情的发展及预后有着一定的相关性[2],如果证实二者之间的联系,对于DAI脑损伤后脑功能恢复的早期预测及干预都有积极的作用。本实验通过自制DAI致伤装置建立轻、中、重不同损伤程度的DAI模型,对其β-APP和NF-L的变化规律及其与后期神经功能恢复之间的关系进行研究。

1 材料与方法

1.1 动物及分组

选取成年健康SPF级SD雄性大鼠100只,体质量300~400 g,随机分为正常对照组和A、B、C 3个致伤组,每组25只。

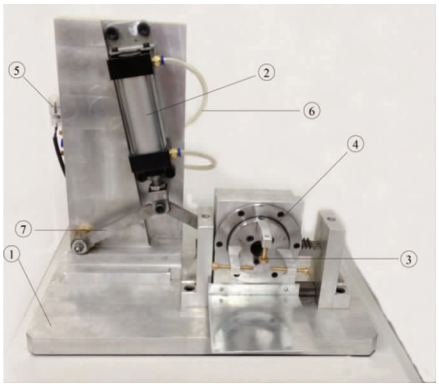
1.2 模型制作

操作时,大鼠用4%水合氯醛腹腔麻醉(0.3 mL/100 g),麻醉满意后将大鼠头部两侧颞骨及头顶部垫以棉花,将头颅固定于中心位,大鼠连接器处于水平位。启动电动充气泵,充气至0.8 kPa后,A、B、C 3组分别行1、2、3次旋转往返加速运动,致伤大鼠头颅;正常对照组大鼠麻醉后固定在致伤装置上(图1),不致伤,1 min后将大鼠卸下。

1.3 组织处理

致伤后6、24、72 h及1、2周分别在4组中随机各抽取3只大鼠,用4%水合氯醛腹腔麻醉满意后,快速开胸,左心室插管,灌注。灌注完成后迅速取脑,完整剥离全脑,同时肉眼观察大体标本的病理变化后,遂将标本组织投入4%多聚甲醛溶液固定48 h;下丘水平离断大脑及脑干,于胼胝体膝部和压部水平切除大脑额叶和枕叶而仅保留完整的胼胝体;于锥体交叉下缘2 mm切断颈髓保留完整脑干。分别进行脱水、透明、浸蜡、包埋,脑干和大脑分别冠状位切片5 μm厚,取片行HE染色,另取片行β-APP和NF-L免疫组化染色,染色法为DAB染色法。β-APP免疫组化结果光镜

下 400 倍,取胼胝体区 3 个面积均为 0.02 mm^2 的不重复视野,用 Imagepro-Plus 6.0 系统分析累积光密度(IOD 值),NF-L 免疫组化结果取脑干区 3 个面积均为 0.07 mm^2 的不重复视野分析累积光密度(IOD 值)。每例标本选择 3 张相邻切片,取平均值,每个时间点 3 例。



①底座;②动力气缸;③大鼠连接器;④旋转部分;⑤电磁阀;⑥通气管;⑦摆动杠杆

图 1 DAI 致伤装置实验装置组成

1.4 水迷宫测试

损伤后 2 周行水迷宫实验测试大鼠的学习记忆能力。Morris 水迷宫由摄像监视系统、圆形水池和安全平台构成,安全平台位于第三象限,用墨汁使水呈黑色,水温为 23 ~ 26 ℃,并由图像监视系统拍摄记录大鼠找到安全平台的潜伏期和轨迹。训练 8 天,其中第 1 天为水环境适应(无安全平台),后 6 天(水面高于平台 1 cm)每只大鼠测试 4 次,每次 60 s,若 60 s 内未找到安全平台,则潜伏期记为 60 s,最后 1 天测试撤去安全平台,测试 60 s。前 3 天为训练阶段,第 4 ~ 7 天统计大鼠找到安全平台的潜伏期,为定位航行能力测试,第 8 天撤去平台后,记录大鼠 60 s 内穿越安全平台次数及安全平台象限搜寻时间百分比,为空间探索能力测试。

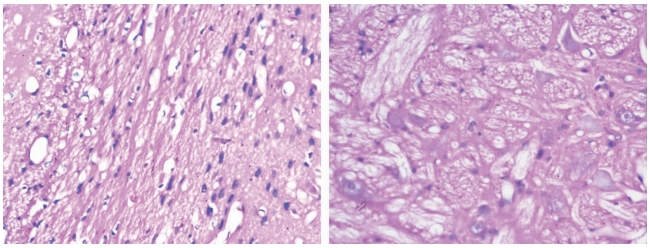
1.5 统计学方法

应用 SPSS 20.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析和相关性分析。

2 结果

2.1 病理学改变

大体观察可见各组大鼠大脑表面、蛛网膜下腔、脑室等区域均未见明显出血病灶。光镜下正常对照组可见神经束排列整齐且无空泡形成;致伤组可见大脑胼胝体区及脑干部位出现神经束疏松、紊乱、血管淤滞、空泡形成,神经元肿胀变性,细胞核显示不清,突触结构模糊的典型 DAI 病理特征。见图 2。

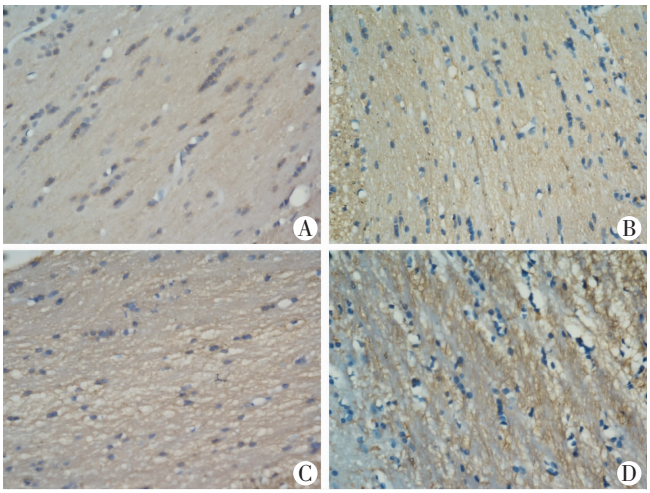


A:胼胝体;B:脑干

图 2 旋转打击造成的弥漫性轴索损伤模型大鼠脑组织胼胝体区和脑干区病理学变化 (HE ×400)

2.2 免疫组织化学检测结果

2.2.1 β-APP 免疫组化检测 损伤后 6、24、72 h 及 1、2 周大鼠 β-APP 免疫组化染色结果显示:正常组胼胝体区呈弱阳性反应,致伤组光镜下胼胝体区呈棕色强阳性反应。见图 3。Image ProPlus 6.0 系统半定量分析 IOD 值。见图 3,表 1:A、B、C 3 组各时间点均比对照组增加,且组间比较差异也有统计学意义($P < 0.05$);A、B、C 3 组各组内时间点 IOD 值呈动态变化,于伤后6 h开始逐渐增大, 24 h 达高峰,此后逐渐回落;A 组于伤后 2 周降至正常组范围内,B、C 组仍高于正常对照组。



A:正常对照组;B:轻度致伤组;C:中度致伤组;D:重度致伤组

图 3 免疫组织化学检测各组大鼠的胼胝体区 β-APP 蛋白表达的变化 (LM ×400)

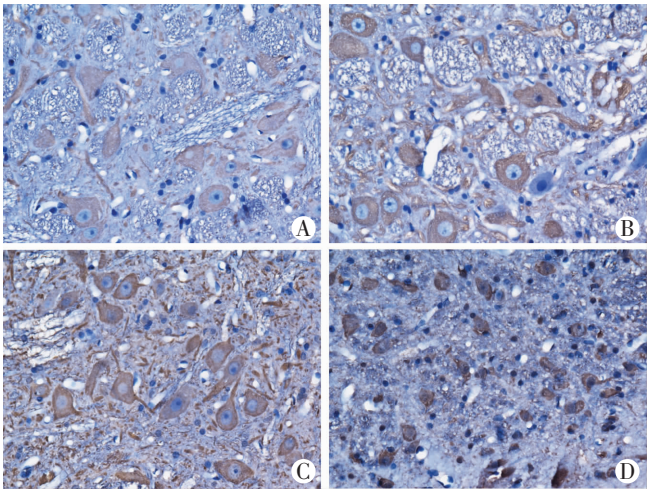
表 1 各组大鼠 B-APP 免疫组织化学检测 IOD 值变化

($\times 10^4$, $n = 3$, $\bar{x} \pm s$)

组别	6 h	24 h	72 h	1 周	2 周
正常组	4.31 ± 0.19	4.54 ± 0.17	4.44 ± 0.38	4.50 ± 0.26	4.68 ± 0.31
A 组	6.92 ± 0.58[a]	19.18 ± 0.11[a]	14.16 ± 1.53[a]	8.65 ± 0.10[a]	4.97 ± 0.34
B 组	9.34 ± 0.25[ab]	24.29 ± 1.00[ab]	17.18 ± 0.15[ab]	12.03 ± 0.74[ab]	11.52 ± 0.33[ab]
C 组	9.86 ± 0.17[ab]	28.70 ± 1.21[abc]	20.92 ± 0.98[abc]	13.50 ± 0.45[abc]	12.24 ± 0.02[abc]

a:$P < 0.05$,与正常组比较;b:$P < 0.05$,与 A 组比较;c:$P < 0.05$,与 B 组比较

2.2.2 NF-L 免疫组化检测 伤后 24 h NF-L 免疫组化染色结果显示：正常组脑干区神经元胞体和突触染色呈弱阳性，A、B、C 3 组大鼠脑干区神经元胞体和突触呈强阳性染色，神经元胞体肿胀、核偏中心位，尼氏体及突触结构模糊不清。B 组与 A 组比较，C 组与 B 组比较，其阳性染色更强，胞体肿胀、核偏中心位、尼氏体及突触结构模糊不清更明显（图 4）。半定量分析 IOD 值正常，A、B、C 组分别为（22.65 ± 2.96）× 10^4、（42.37 ± 2.51）× 10^4、（66.07 ± 1.13）× 10^4、（74.43 ± 3.07）× 10^4，A、B、C 3 组均比对照组增加，且组间比较差异也有统计学意义（$P<0.05$）。



A：正常对照组；B：轻度致伤组；C：中度致伤组；D：重度致伤组

图 4 免疫组织化学检测各组大鼠脑干 NF-L 蛋白表达的变化 （S-P ×400）

2.3 水迷宫实验结果

2.3.1 定位航行能力测试 在定位航行能力测试中发现在历时 6 d 的训练中，各组大鼠的潜伏期（找到平台所需时间），随训练次数的增加而缩短 A 组与正常组相比差异无统计学意义（$P>0.05$），提示轻度损伤组大鼠的学习记忆能力可以恢复至正常。B、C 致伤组潜伏期较正常组长，与正常组相比差异有统计学意义（$P<0.05$），且 A、B、C 组间比较差异也有统计学意义（$P<0.05$）。见表 2。

表 2 各组大鼠找到平台的潜伏期时间比较（$n=10, \bar{x}\pm s$）

组别	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天
正常组	20.00 ± 5.13	12.52 ± 3.81	12.12 ± 5.54	7.24 ± 2.78
A 组	23.64 ± 3.64	14.94 ± 6.51	12.38 ± 4.30	9.77 ± 3.23
B 组	32.42 ± 3.79^{ab}	24.84 ± 4.61^{ab}	23.23 ± 5.26^{ab}	17.53 ± 4.94^{ab}
C 组	46.78 ± 9.42^{abc}	33.7 ± 9.08^{abc}	32.78 ± 11.23^{abc}	26.45 ± 6.40^{abc}

a：$P<0.05$，与正常组比较；b：$P<0.05$，与 A 组比较；c：$P<0.05$，与 B 组比较

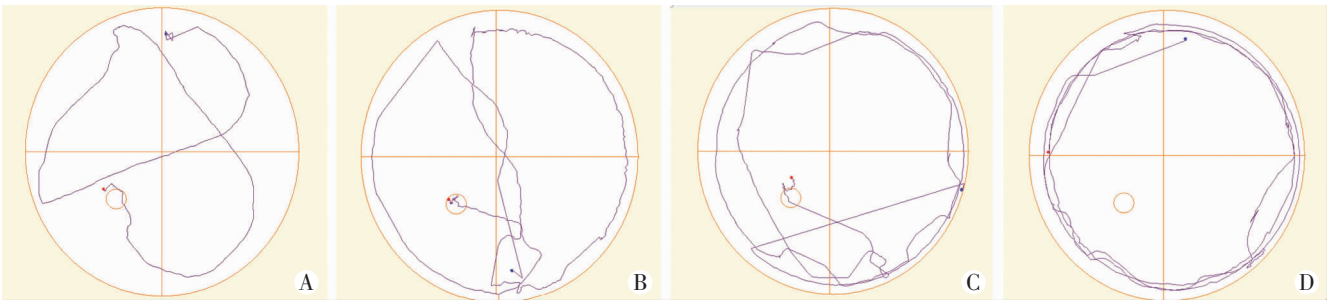
2.3.2 空间探索能力测试 在空间探索能力测试中，A 组大鼠平台搜寻成绩与正常组相比差异无统计学意义（$P>0.05$），提示轻度损伤组大鼠的学习记忆能力可以恢复至正常。B、C 致伤组大鼠平台搜寻成绩较正常组差，与正常组相比差异有统计学意义（$P<0.05$），且 A、B、C 组间比较差异也有统计学意义（$P<0.05$）。见表 3。

表 3 各组大鼠穿越安全平台次数及安全平台象限搜寻时间百分比比较 （$n=10, \bar{x}\pm s$）

组别	穿越平台次数（次）	安全平台搜寻时间百分比（%）
正常组	6.60 ± 0.89	0.74 ± 0.06
A 组	6.20 ± 1.09	0.72 ± 0.10
B 组	3.33 ± 0.89^{ab}	0.53 ± 0.06^{ab}
C 组	1.67 ± 0.82^{abc}	0.42 ± 0.03^{abc}

a：$P<0.05$，与正常组比较；b：$P<0.05$，与 A 组比较；c：$P<0.05$，与 B 组比较

2.3.3 轨迹图分析 正常对照组在训练时，先绕池壁航行，再沿水池对角线航行，运动轨迹多为直线；致伤组大鼠相对于正常组绕池壁环行时间增长，寻找平台的路线也多为曲线。见图 5。



A：正常对照组；B：轻度致伤组；C：中度致伤组；D：重度致伤组

图 5 各组大鼠 Morris 水迷宫测试的轨迹图

2.3.4 恢复期大鼠学习记忆能力与免疫组织化学染色结果相关性分析 将 A、B、C 3 组致伤大鼠水迷宫测试的穿越平台次数的结果与损伤后 24 h 脑组织切片感兴趣区内测定的 β-APP 和 NF-L IOD 值进行相关性分析,结果均呈显著负相关。提示损伤越重,大鼠的学习记忆能力恢复越差(图 6)。

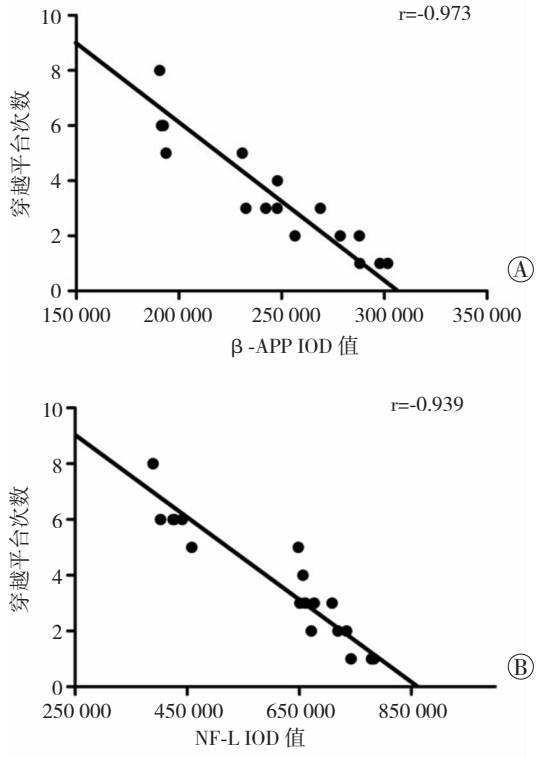


图 6 24 h β-APP IOD 值(A)及 NF-L IOD 值(B)分别与恢复期大鼠穿越平台次数的相关性分析

3 讨论

DAI 是一种常见的脑损伤,各种暴力作用于头部产生线或角加速度,在脑组织内产生剪切力,是导致 DAI 最重要的原因,因此目前认为,头颅瞬间高速旋转损伤模型是较为理想的 DAI 动物模型[3]。本实验参照 Gennarelli 和冯氏的致伤装置并加以改进,自制一 DAI 实验装置,建立轻、中、重不同损伤程度的 DAI 动物模型,此部分已在前期实验加以证实。

β-APP 是一种具有受体样结构的大分子膜糖蛋白,正常脑组织其表达水平很低而不易被检测。在机械损伤作用下,轴索受损后发生轴浆运输障碍,引起 β-APP 在损伤部位异常聚集、表达上调,是轴索损伤的主要机制和重要病理标志,因此 β-APP 常被作为检测轴索损伤的标志物[2],对轴索损伤有很好的提示作用。Smith 等[4]研究表明,DAI 后,受损的轴索可能是 β-APP 的储存器,并且它可以释放到周围脑实质。Ekmark-Lewen 等[5]研究也发现 DAI 发生后 β-APP 在脑组织中的含量显著升高。神经丝是神经元特异性中间丝,是反映神经元和突触功能状况的内在标志[6-7],分布于神经元的胞体和突起内,弥漫性轴索损伤可导致轴突和神经元胞体病变。目前,众多学者认为,外力可导致轴突断裂,轴浆流动中断,轴突局部肿胀,NF-L 在轴突异常聚集,NF-L 阳性表达量增加。创伤后 NF-L 发生异常磷酸化、减缓 NF-L 自胞体向轴突的运输,轴突断裂后,断端回缩可引起磷酸化的 NF-L 从轴突向胞体逆流,导致 NF-L 在胞体内异常聚集,使损伤神经元胞体 NF-L 含量增加[8]。有研究发现 NF-L 的免疫组织化学染色,可在创伤后 6 h 观察到脑组织内轴突肿胀病变[9]。综上,β-APP 和 NF-L 均为轴索损伤较为理想的分子标志。

但是既往研究均未涉及脑组织内 β-APP 和 NF-L 在不同程度 DAI 损伤后的不同时期的变化规律及其与远期神经功能预后的相关性。本实验对 DAI 大鼠模型损伤后的脑组织进行免疫组化染色发现:DAI 后 β-APP 及 NF-L 表达均是一个先增高,达高峰后又降低的变化过程;轻度损伤后可恢复至正常范围内,而中、重度损伤增高持续更长时间;由此可以推测,β-APP 和 NF-L 均是 DAI 损伤的早期分子标志,能反应早起损伤的程度,与损伤程度呈正相关;同时这两者在损伤后的变化规律似乎也与临床上不同程度的 DAI 损伤后的神经功能恢复规律具有相似性,即绝大部分 DAI 患者伤后神经功能障碍也是伤后最重,逐渐恢复,而部分轻型损伤可以完全恢复,中重型也有不同程度的恢复,但最终会遗留不同程度的神经功能障碍,那么这两个变化规律是否有一定的相关性呢?

我们进一步通过水迷宫实验探讨了不同损伤程度的 DAI 大鼠的远期学习记忆功能。神经网络结构的健全是的学习记忆功能基础。记忆常分为短时记忆和长时记忆。有研究证明短时记忆和长时记忆可能与脑的突触效能和脑的化学变化有关[10]。DAI 发生的机理是弥漫性的轴索损伤,尤其是与记忆和学习功能密切相关的中线部位的轴突损伤,将会导致记忆力和学习能力的明显下降,大鼠 DAI 后,与记忆有关的神经通路受损则可能导致其学习记忆功能下降。水迷宫实验中,从大鼠游泳轨迹图分析,正常组和致伤组大鼠的学习和记忆能力不同,轻度组与正常组比较无显著差异,中、重度组与正常组比较有显著差异,说明大鼠的学习能力随着损伤程度的增加而降低。DAI 损伤越

重,大鼠的学习记忆能力越差,而轻度损伤在远期学习记忆功能能够恢复值正常,中、重度则不能恢复至正常。

综上,DAI早期β-APP和NF-L开始升高,而升高的程度与损伤程度呈正相关关系,即损伤程度越重,β-APP和NF-L升高越明显,相应时间点大鼠的学习记忆功能表现与损伤程度呈正相关关系,即损伤越重,学习记忆功能障碍越明显;由此可以推测:β-APP和NF-L可早期诊断DAI并判断损伤程度。此外,脑组织内的β-APP和NF-L在DAI后是动态变化的,不同损伤程度的大鼠中均有恢复,通过统计学的分析发现其恢复的程度及维持高水平的时间均与相应时间点的同组大鼠的学习记忆功能的变化一致,恢复期大鼠学习记忆能力与β-APP和NF-L免疫组织化学染色结果相关性分析提示具有高度相关性,因此,β-APP和NF-L还可以预测DAI损伤后远期的学习记忆功能。

尽管本实验证实β-APP和NF-L是DAI损伤程度的良好分子标志并可以预测其远期神经功能预后,但β-APP和NF-L在DAI损伤后的变化规律的内在分子机理尚不明确,需进一步研究。

参考文献:

[1] 孙奎胜, 孙涛, 高攀, 等. 弥漫性轴索损伤早期CT表现与预后[J]. 中华神经外科杂志, 2013, 29(9): 927 – 930.

[2] Marklund N, Farrokhnia N, Hanell A, *et al*. Monitoring of beta-amyloid dynamics after human traumatic brain injury [J]. J Neurotrauma, 2014, 31(1): 42 – 55.

[3] Bigler E D. Neuroinflammation and the dynamic lesion in traumatic brain injury[J]. Brain, 2013, 136(Pt 1): 9 – 11.

[4] Smith D H, Chen X H, Iwata A, *et al*. Amyloid beta accumulation in axons after traumatic brain injury in humans [J]. J Neurosurg, 2003, 98(5): 1072 – 1077.

[5] Ekmark-Lewen S, Flygt J, Kiwanuka O, *et al*. Traumatic axonal injury in the mouse is accompanied by a dynamic inflammatory response, astroglial reactivity and complex behavioral changes[J]. J Neuroinflammation, 2013, 10: 44.

[6] Lee J Y, Taghian K, Petratos S. Axonal degeneration in multiple sclerosis: can we predict and prevent permanent disability? [J]. Acta Neuropathol Commun, 2014, 2: 97.

[7] Jakobsson J, Bjerke M, Ekman C J, *et al*. Elevated concentrations of neurofilament light chain in the cerebrospinal fluid of bipolar disorder patients[J]. Neuropsychopharmacology, 2014, 39(10): 23492356.

[8] Ma M. Role of calpains in the injury-induced dysfunction and degeneration of the mammalian axon[J]. Neurobiol Dis, 2013, 60: 6179.

[9] 周亦武, 邓伟年, 谭亮, 等. 人脑挫伤后神经丝蛋白NF200表达的变化[J]. 中国法医学杂志, 2007, 22(4): 229 – 232, 插5.

[10] Ham T E, Sharp D J. How can investigation of network function inform rehabilitation after traumatic brain injury? [J]. Curr Opin Neurol, 2012, 25(6): 662 – 669.

(**收稿**:2015-03-11;**修回**:2015-05-26)

(编辑 栾 嘉)