神经病学 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000824

Sonic hedgehog 信号通路在神经病理性疼痛模型大鼠中的表达及其意义

刘宇临，刘丹彦
（重庆医科大学附属第一医院麻醉科，重庆 400016）

【摘 要】**目的**：观察神经病理性疼痛模型大鼠脊髓组织中（sonic hedgehog，Shh）信号通路的表达及随时间的动态变化规律，探索其在神经病理性疼痛中所发挥的作用。**方法**：取 80 只成年 SD 大鼠，采用随机数字表法均分为假手术组（sham operation group，Sham）与坐骨神经慢性压迫模型（chronic constriction injury of the sciatic nerve，CCI）组。CCI 组（n=40）左侧坐骨神经以 4.0 丝线结扎，Sham 组（n=40）不结扎，仅暴露左侧坐骨神经。建模后 1、4、7、14、28 d 分别对 2 组大鼠进行一般行为学观察，并测定大鼠机械缩足反射阈值（mechanical withdrawal threshold，MWT）；采用 Western blot 和免疫组化检测大鼠脊髓腰骶膨大部（L4~6 节段）的 Shh、Gli 表达。**结果**：与 Sham 组相同时间点比较：CCI 组术前 MWT（P=0.832）差异无统计学意义，术后其余各时间点均明显降低（P<0.01）具有统计学意义；CCI 组内不同时间点比较：术后第 1 天 MWT 开始明显降低（P=0.002），7 d 达到最低值（P=0.027），28 d 仍处于较低的水平（P=0.003）。Western blot 结果显示：与 Sham 组相同时间点比较：CCI 组术后 1 d 大鼠脊髓腰骶膨大部 Shh、Gli 蛋白表达没有明显变化（P=0.215），其余各时间点 Shh、Gli 蛋白表达均出现明显增加（P<0.01）；CCI 组内不同时间点比较：术后 7 d Shh、Gli 蛋白表达水平达到最大值（P<0.01），这种高水平的表达可持续到损伤后 28 d（P<0.01）。免疫组化结果显示：与 Sham 组比较：CCI 术后第 7 天 Shh、Gli 蛋白在相应区域显示染色明显增加（P<0.01）。**结论**：神经病理性疼痛的发生、发展与 Shh 通路的激活具有显著相关，其通路蛋白的表达第 7 天达到峰值，第 28 天仍处于较高水平。

【关键词】Shh；Gli；神经病理性疼痛；慢性压迫
【中图分类号】R-4 【文献标志码】A 【收稿日期】2015-02-25

Expression and significance of sonic hedgehog in neuropathic pain rat model

Liu Yulin, Liu Danyan
(*Department of Anesthesia, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To analyze the activation of sonic hedgehog (Shh) signaling pathways in the rat model of neuropathic pain and the dynamic changing regularity over time, and to explore the role of Shh in the neuropathic pain. ***Methods***: Eighty adult male SD rats were randomly allocated into two groups (n=40): chronic constriction injury of the sciatic nerve (CCI) group and sham-operated group. Right sciatic nerve was ligated by 4.0 silk suture in CCI group; rats in sham-operated group did not receive ligation and their left sciatic nerves were exposed. General behavior of the two groups were observed respectively to determine mechanical withdrawal threshold (MWT) in rats on 1, 4, 7, 14, 28 d after modeling. The expression of Shh, Gli in the spinal cord of the rat lumbosacral enlargement was analyzed using Western blot and immunohistochemistry. ***Results***: The difference in preoperative MWT between CCI group and sham group rats was not statistical significant (P=0.832); MWT was significantly lower at all other time points after the operation (P<0.01). The MWT of CCI group began to decrease on the postoperative first day (P=0.002), then achieved a minimum on day 7 (P=0.027), and was still in lower level on day 28 (P=0.003). The protein expression of Shh, Gli in CCI group rats was not significantly changed on the postoperative first day (P=0.215), and Shh, Gli in the CCI group were significantly increased at all other time points (P<0.01). The protein expression of Shh, Gli in the CCI group was unregulated on day 7 after injury with maximal expression levels (P<0.01), which was maintained up to at least day 28 after injury (P<0.01). Immunohistochemistry showed that the Shh and Gli protein displayed significantly increase in the corresponding region than the sham group on the postoperative day 7 (P<0.01). ***Conclusion***: Neuropathic pain can induce the expression of Shh signaling pathways. The expressions of related proteins reach the peak on day 7 and maintain the high level till day 28.

【Key words】Shh; Gli; neuropathic pain; chronic compression

作者介绍：刘宇临，Email：20576226@qq.com，
研究方向：神经病理性疼痛的研究和治疗。
通信作者：刘丹彦，Email：liudanyan418@qq.com。

基金项目：卫生部国家临床重点专科经费建设资助项目[编号：财社（2011）170]；重庆市医学重点学科资助项目[编号：渝卫科教（2007）2]；重庆市渝中区科技计划资助项目（编号：20140113）。
优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20151215.1655.010.html（2015-12-15）

神经病理性疼痛是一种难治性的慢性疼痛综合症[1]，其最新定义：由躯体感觉神经系统疾病或损伤直接引起的疼痛[2]。大部分患者痛不欲生，终生不愈，患者的生活质量受到严重影响，给人类社会有限的卫生资源带来巨大的压力和负担。Sonic Hedgehog 信号通路于 1980 年在果蝇发育机制的研究中被发现。HH 信号家族中包括 3 个同源的基因：Sonic Hedgehog（Shh）、DesertHedgehog（Dhh）和 Indian Hedgehog（Ihh），其 Shh 研究最为广泛。该通路主要由胞内的转录因子 Ci/Gli、细胞膜表面的特异性受体 Patched（Ptc-1）及相关蛋白 Smoothened（Smo）、胞外的 Hedgehog 配体组成，Shh 作为起始蛋白被激活后，与 Ptch 相联接，此时 Ptch 对 smo 的抑制功能被消除，信号传递至下游的转录因子 Gli，Gli 被激活后，进入细胞核，从而对细胞产生各种生物调节[3]。有多项研究已表明，Shh 信号通路参与了外周神经损伤后的再生和修复[4-6]，也参与了脑卒中后的神经修复过程[7]。而神经病理性疼痛是由外周神经损伤引起的最常见的一种慢性疼痛综合征。所以，Shh 可能是影响神经病理性疼痛信息传递与调控的重要信号转导通路。然而 Shh 信号通路在神经病理性痛中的作用及变化规律尚未见报道。本课题拟观察：Shh 相关蛋白在慢性坐骨神经压迫模型大鼠的表达，探讨 Shh 信号通路及相关蛋白与神经病理性疼痛的发生与持续的相关性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 雄性成年（SD）大鼠，由重庆医科大学的动物实验中心提供，体质量为 300~350 g，混合饲料常规喂养，自由饮水，术前禁食 12 h。

1.1.2 主要试剂 Shh 抗体（GeneTex 公司，批号：GTX37548）、Gli 抗体（Abcam 公司，批号：ab151796）、HRP 二抗（欣博盛生物科技有限公司，批号：ANR0-2）、β-actin（欣博盛生物科技有限公司，批号：NBL02a/ NBL02b/NBL02c NBL02d）

1.2 方法

1.2.1 实验分组及动物建模 取 80 只雄性 SD 大鼠，采用随机数字表法均分为 2 组：假手术组（Sham 组）（n=40）和手术组（CCI 组）（n=40）。模拟 Bennett 的步骤建立 CCI 大鼠模型：称重后的 SD 大鼠以 10%的水合氯醛经腹腔注射，麻醉起效后，将 SD 大鼠固定于操作台上呈俯卧位。常规消毒后，以后肢左外侧大腿切开皮肤，以血管钳钝性分离组织，玻璃分针暴露坐骨神经干，用 4.0# 羊肠线围绕神经干依次作 4 个结扎，结间距约为 1 mm，结扎的强度以诱发小腿轻度抽搐为宜，肌肉皮肤分成缝合，缝皮前后分别用碘伏消毒，术毕放回原笼喂养。Sham 组大鼠麻醉、消毒及手术步骤相同，仅暴露其坐骨神经干不作结扎。

1.2.2 测定机械痛阈值 于术前 1 d，术后 1、4、7、14、28 d 测量各组大鼠的机械缩足反射阈值（mechanical withdrawal threshold，MWT）。握不等折力 Von-Frey 纤维越过铁丝网以 S 形依次刺激各组大鼠左后肢足底皮肤的各个位置，每次刺激持续 4~6 s。以 0.6 g 折力作测量起点，依次增加 0.9、1.5、2.0、4.0、6.0、9.0、14、25 g，阳性反应为大鼠出现快速缩足，若该刺激折力没有诱发阳性反应，则增加一级刺激折力，每只大鼠共测量 5 次，每次间隔 3 min，机械性缩足反射阈值为诱发≥3 次的缩足 Von Frey 纤维相对应的压力值。术前 1 d 测量阈值 < 2.0 g，或 > 25 g 的大鼠作为机械性痛敏失常，剔除不进入后期实验。

1.2.3 采集标本 成功建立 CCI 模型后，对 Sham 组和 CCI 组大鼠分别于术后 1、4、7、14、28 d 机械痛阈值测定后，2 组大鼠各时间点均取 8 只共 80 只大鼠，腹腔注射 10%的水合氯醛麻醉后，取脊髓腰骶膨大部（L4~6 节段）约 2 cm 的脊髓标本，每份标本备用行 Western blot 检测。其中 7 d 时所取标本，其中一半置于-80 ℃冰箱保存，备用于 Western blot 检测，另一半用多聚甲醛固定 24 h 后，进行免疫组化检测。

1.2.4 Western blot 检测大鼠脊髓腰骶膨大部 Shh、Gli 的蛋白表达 于各时点，在冰上采集大鼠（L4~6 节段）脊髓腰骶膨大部，低温离心后提取上清蛋白。制作 10%的 SDS-PAGE 凝胶，依次进行电泳以及低温转膜。封闭 1 h 后，加（1:1 000）一抗 4 ℃孵育过夜。加入（1:1 000）的 HRP 二抗，于 37 ℃恒温箱内反应 2 h，加入 ECL 试剂，暗室内曝光，扫描图片成像。用 Fusion 分析软件分析图像，计算条带的灰度值。

1.2.5 以免疫组化方法测量脊髓腰骶膨大部 Shh 信号通路相关蛋白 Shh、Gli 的表达 于第 7 天时点，取 Western blot检测时预留的脊髓腰骶膨大部标本，以多聚甲醛固定 24 h 后，用不同梯度酒精进行脱水、包埋、切片。以兔抗 Shh、Gli 抗体作为一抗，以 1 000 倍稀释后加入 HRP，在室温显色，以苏木素染色。以显微镜观测切片 Shh、Gli 的表达，并用分析软件 image-pro plus 6.0 对表达情况进行图像分析，测得图片的平均观密度值。

1.3 统计学分析

运用 SPSS 19.0 软件分析数据，以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）的方式显示计量资料，两组间不同时间点数据比较用重复测量方差分析。检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 大鼠行为学观察

Sham 组大鼠各时间点未发现明显姿态、步态变化，而 CCI 组大鼠术后各时间点均出现明显的的姿态、步态变化，主

要表现为：跛行、手术侧肢体后爪轻微内收畸形、轻度跖屈、手术侧肢体后足动作不协调、惧怕着地、有悬空左后肢、舔左足等保护性姿势。

2.2 机械痛阈值的测定

所有 SD 大鼠术前 MWT 范围在 6~25 g 之间。表 1 显示 CCI组大鼠不同时间因素的 MWT 有明显差异（F=14.785，P=0.001）；Sham 组与 CCI 组的 MWT 有明显差异（F=17.697，P=0.000）；时间与分组的交互作用对各组大鼠的 MWT 也有显著影响（F=2.617，P=0.032）。与 Sham 组相同时间点比较：CCI 组 MWT 术后各时间点均明显降低（P<0.01）。CCI 组内不同时间点比较：术后第 1 天 MWT 开始明显降低（F=14.211，P=0.002），7 d 达到最低值（F=6.067，P=0.007），28 d 仍处于较低的水平（F=12.293，P=0.003）（见表 1）。

2.3 Western blot 测量 Shh、Gli 蛋白

根据表 2 数据进行统计分析，结果显示：CCI 组大鼠Shh、Gli 蛋白在不同时间点的表达有统计学差异，结果分别是 F=25.099，P=0.000；F=4.800，P=0.016。Shh、Gli 蛋白在sham 组与 CCI 组的表达有统计学差异（F=66.361，P=0.000；F=102.275，P=0.000）；时间与分组的交互作用对各组大鼠Shh、Gli 蛋白的表达也有明显影响（F=8.587，P=0.002；F=7.082，P=0.003）。与 Sham 组相同时间点比较：CCI 组术后 1 d 大鼠脊髓腰骶膨大部 Shh 蛋白表达无明显变化（F=1.695，P=0.215），其余各时间点 Shh 蛋白表达均明显增加（P<0.01）；CCI 组内不同时间点两两比较：Shh 蛋白表达从术后 4 d 开始明显增加（F=19.316，P=0.001），7 d 达到峰值（F=16.036，P=0.001），28 d 仍然处于较高的水平（F=17.750，P=0.001）。而Gli 蛋白组间相同时间点比较：除术后 1 d Gli 蛋白表达无明显变化（F=5.719，P=0.330）外，其余各时间点 Gli 蛋白表达均明显增加（P<0.01）；CCI 组内不同时间点两两比较：Gli 蛋白表达从术后 4 d 开始明显增加（F=6.961，P=0.019），7 d 达到峰值（F=7.776，P=0.005），致 28 d 仍然处于较高的水平（F=13.507，P=0.002）（图 1、2，表 2）。

2.4 脊髓腰骶膨大部免疫组织化学染色

图 4 显示：CCI 组术后第 7 天 Shh、Gli 蛋白光密度（OD）均值分别为（27.1 ± 3.3；38.6 ± 8.5），与 Sham 组比较在相应区域显示染色明显增加，Shh 蛋白 P、F 值分别为（F=7.553，P=0.017），而 Gli 蛋白 F、P 值分别为（F=16.263，P=0.001），差异有统计学意义（图 3、图 4）。

表 1 各组大鼠 MWT 的比较（$\bar{x} \pm s$，n=40）

Tab.1 Changes of MWT in rats（$\bar{x} \pm s$，n=40）

组别	base	1 d	4 d	7 d	14 d	28 d	F 值	P 值
sham	12.5 ± 5.8	13.1 ± 5.7	13.5 ± 5.2	12.9 ± 5.4	13.7 ± 6.9	14.1 ± 5.6	2.617[d]	0.032[d]
CCI	13.2 ± 5.7	5.2 ± 1.3[ab]	5.1 ± 1.9[ab]	2.8 ± 1.2[ac]	4.3 ± 1.5[ab]	4.6 ± 3.7[ab]	14.785[e]	0.001[e]
统计量	0.046	14.211	17.467	20.969	11.157	19.525		
P 值	0.832	0.002	0.001	0.000	0.005	0.001		

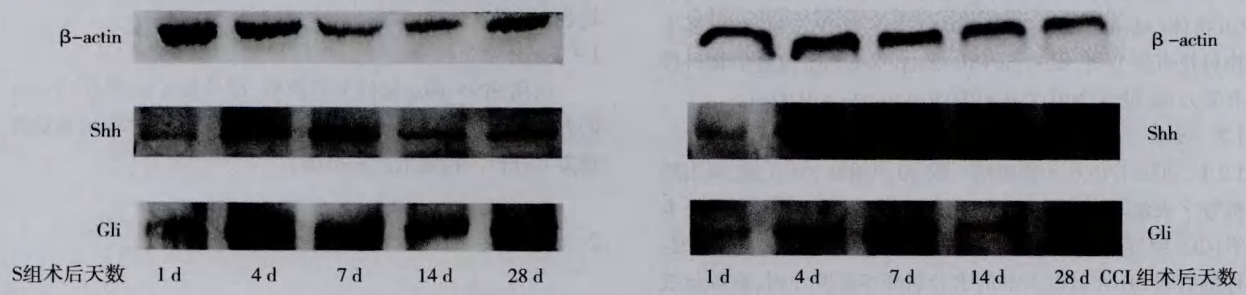
注：a，与 S 组比较，P<0.01；b，与 CCI 组术前比较，P<0.01；c，与 CCI 组内不同时间点比较，P<0.01；d，交互效应的 F 值和 P 值；e，主效应的 F 值和 P 值

表 2 各组大鼠脊髓 Shh、Gli 蛋白的表达情况（$\bar{x} \pm s$，n=40）

Tab.2 Levels of Shh，Gli proteinsin spinal cord of rats（$\bar{x} \pm s$，n=40）

组别	Shh					Gli				
	术后 1 d	术后 4 d	术后 7 d	术后 14 d	术后 28 d	术后 1 d	术后 4 d	术后 7 d	术后 14 d	术后 28 d
sham	1.52 ± 0.22	2.23 ± 0.32	3.23 ± 0.52	1.62 ± 0.21	2.09 ± 0.12	2.10 ± 0.49	1.99 ± 0.53	1.84 ± 0.52	1.65 ± 0.42	2.11 ± 0.54
CCI	1.78 ± 0.55	3.53 ± 0.39[a]	6.22 ± 0.73[ab]	4.96 ± 0.56[a]	3.23 ± 0.38[a]	2.17 ± 0.11	3.16 ± 0.11[a]	5.26 ± 0.18[ab]	3.61 ± 0.87[a]	3.06 ± 0.54[a]

注：a，与 S 组比较，P<0.01；b，与 CCI 组内不同时间点比较，P<0.01



Sham组和 CCI 组术后大鼠 Shh、Gli 蛋白在各时间点的表达

图 1 Western blot 测量各组大鼠脊髓 Shh、Gli 蛋白的表达结果

Fig.1 Levels of Shh，Gli proteinsin spinal cord of rats (Western blot)

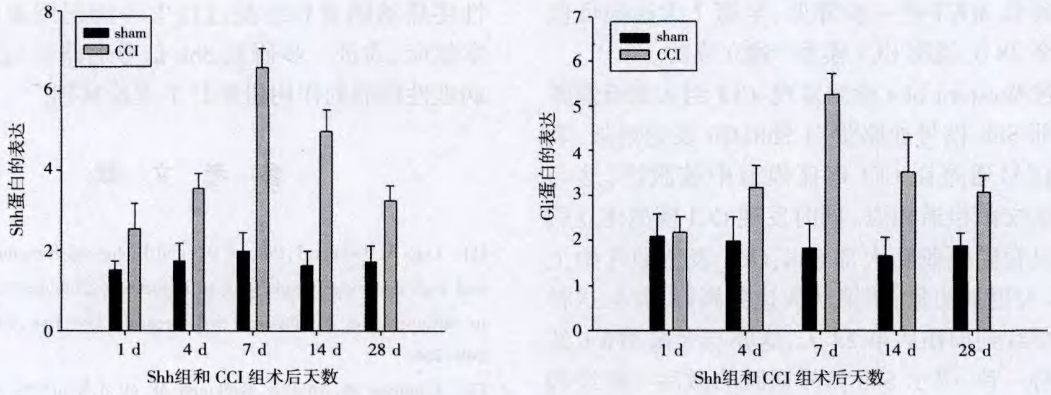
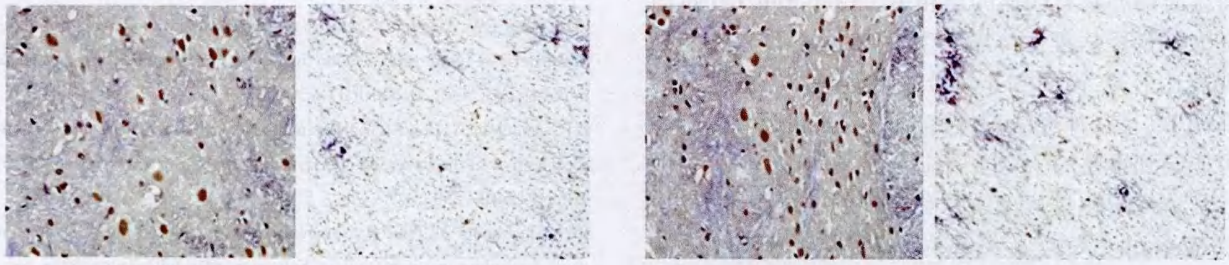


图 2　Western blot 法检测各组大鼠脊髓 Shh、Gli 蛋白表达

Fig.2　Levels of Shh,Gli proteinsin spinal cord of rats (Western blot)



A. Shh CCI 组　　B. Shh 对照组　　C. Gli CCI 组　　D. Gli 对照组

A、C 为 CCI 组大鼠中 Shh、Gli 蛋白在第 7 天的表达，B、D 为 Sham 组大鼠 Shh、Gli 蛋白在第 7 天的表达。

图 3　免疫组化显示 CCI 组和对照组第 7 天脊髓腰骶膨大部 Shh 和 Gli 的表达

Fig.3　Immunohistochemical staining showing the protein expression of Shh,Gli in the spinal cord in Sh group and CCI group

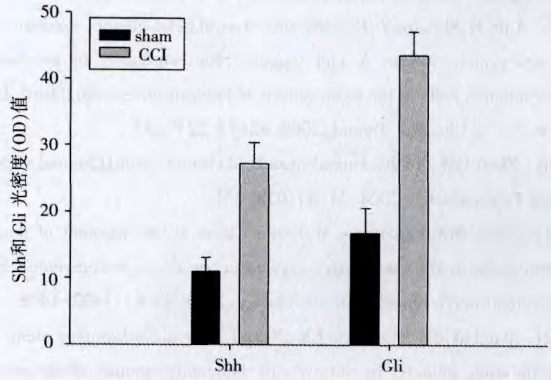


图 4　免疫组化检测假手术组和 CCI 组大鼠第 7 天 Shh和 Gli 光密度（OD）值

Fig.4　Immunohistochemical staining showing the protein expression of Shh,Gli OD value in the spinal cord in Sh group and CCI group

3　讨　论

Sonic Hedgehog 信号通路是控制胚胎发育的经典信号转导通路，近年发现 Shh 信号通路与炎症反应[8-9]及外周神经损伤后的修复和再生有着密切的联系。在众多神经损伤疾病中，神经病理性疼痛由于机制复杂、病程长、症状重，成为临床上最为难治的慢性疼痛之一，本研究推测：该信号通路可能参与神经病理性疼痛的调节。Shh 信号通路包括 4 个相关蛋白：转录因子 Gli、特异性受体 Patched 及相关蛋白 Smoothened、胞外的 Hedgehog 配体，Shh 蛋白为整个通路的起始蛋白，激活该通路，首先必须活化 Shh 起始蛋白，活化后的 Shh 蛋白最终通过激活 Gli 转录因子发挥生物学活性，检测 Shh、Gli 的表达情况，可以判断 Shh 信号通路是否激活，并观察 Shh、Gli 蛋白动态变化与神经病理性疼痛的关联性。

本实验采用大鼠坐骨神经干结扎，建立慢性缩窄性损伤模型，该模型可以检测物理损伤所诱发的疼痛敏化及痛觉异常[10]，结扎大鼠左侧坐骨神经干后第 1、4、7、14、28 天，均观察到出现不同程度的姿态、步态变化；MWT 测定，发现建模后 1 d 开始降低，

随时间延长 MWT 进一步降低，至第 7 天达最低值并持续至 28 d，说明 CCI 模型[11]建立成功。

通过 Western blot 检测发现：CCI 组大鼠脊髓腰骶膨大部 Shh 信号通路蛋白 Shh、Gli 表达增加，表明 Shh 信号通路在 CCI 疼痛模型中被激活，这与 Daniel[7]的文献报道相似。同时发现 CCI 模型建立后 1 d，大鼠脊髓腰骶膨大部 Shh、Gli1 表达即开始上升，第 4 天更加明显，至第 7 天达到高峰，并且这种高表达持续到损伤后第 28 天，这亦与大鼠 MWT 的变化趋势一致，提示 Shh 信号通路的激活与神经病理性疼痛的发生具有同时性；而该通路相关蛋白的高表达及表达持续时间与神经病理性疼痛程度和持续时间亦具有明显的正相关。由于 Shh、Gli 蛋白在大鼠神经病理性疼痛发生、发展全部过程中均出现表达上调，说明 Shh 信号通路参与神经病理性疼痛调节，且在神经病理性疼痛的诱导和维持过程中可能起到重要的生物学效应。

免疫组化是病理学与免疫学的主要技术方法。以 Western blot 实验结果为基础，应用免疫组化测量 CCI 组和 S 组建模后第 7 天，Shh、Gli 蛋白的表达：提示 CCI 大鼠表达明显高于 S 组大鼠，进一步证实神经病理性疼痛与 Shh 信号通路中相关蛋白 Shh、Gli 蛋白的表达具有相关性。

已有研究报道：鞘内注射 Shh 激动剂可以诱使大鼠脊髓损伤后神经细胞和少突胶质细胞增殖，对外周神经损伤有保护作用[12-13]。因此，本研究推测，Shh 信号通路通过参与神经病理性疼痛的调节，提高 Shh、Gli 蛋白的表达可能对损伤的外周神经起保护作用，这一推测需要在后期研究 Shh 信号通路参与调节神经病理性疼痛的作用机制中进一步去证实。而随着神经病理性疼痛病程的发展，MWT 于损伤后第 7 天达到最低值，提示 CCI 术后第 7 天大鼠疼痛最为剧烈。与此同时，Shh、Gli 蛋白于损伤后第 7 天表达也达到峰值，此现象表明：当损伤后第 7 天大鼠行为学表现最突出时，Shh 信号通路对神经病理性疼痛的调节作用同时达到高峰。

综上所述，Shh 信号通路在神经病理性疼痛模型大鼠被激活，其相关蛋白表达的变化规律与神经病理性疼痛的发生、持续正相关。本研究提示 Shh 信号通路参与神经病理性疼痛调节，且在神经病理性疼痛的诱导和维持过程中可能起到重要的生物学效应；为进一步研究 Shh 信号通路参与调节神经病理性疼痛的作用机制打下理论基础。

参 考 文 献

[1] Liao S, Bodmer J, Pietras D, et al. Biological functions of the low and high molecular weight protein isoforms of fibmblast growth factor2 in cardiovascular development and disease[J]. Dev Dyn, 2009, 238(2): 249-264.

[2] Haanpaa M, Attal N, Backonja M, et al. NeuPSIG guidelines on neuropathic pain assessment[J]. Pain, 2011, 152(1): 14-27.

[3] 成薇婷，田德英. 原发性肝细胞癌组 Shh 和 Ptch-1 与 Gli-2 表达及生物学意义的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志，2009, 16(3): 200-203.

[4] Bond CW, Angeloni N, Harrington D, et al. Sonic hedgehog regulates brain derived neurotrophic factor in normal and regenerating cavernous nerves[J]. Sex Med, 2013, 10(3): 730-737.

[5] Angeloni N, Bond CW, Harrington D, et al. Sonic hedgehog is neuroprotective in the cavernous nerve with crush injury[J]. Sex Med, 2013, 10(5): 1240-1250.

[6] Hashimoto M, Ishii K, Nakamura Y, et al. Neuroprotective effect of sonic hedgehog up-regulated in Schwann cells following sciatic nerve injury[J]. Neurochem, 2008, 107(4): 918-927.

[7] Zhang L, Chopp M, Meier DH, et al. Sonic hedgehog signaling pathway mediates cerebrolysin-improved neurological function after stroke [J]. Stroke, 2013, 44(7): 1965-1972.

[8] Dai RL, Zhu SY, Xia YP, et al. Sonic hedgehog protects cortical neurons against oxidative stress[J]. Neurochem Res, 2011, 36(1): 67-75.

[9] Auto K, Shikata Y, Higashiyama D, et al. Fetal ethanol exposure activates protein kinase A and impairs Shh expression in proehordal mesendodem cells in the pathogenesis of holoprosencephaly[J]. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 2008, 82(4): 224-231.

[10] Zhou QW, Xu JG. Animal models of chronic pain[J]. Journal of Medical Postgraduates, 2008, 21(6): 638-641.

[11] Suter MR, Papaloïzos M, Berde CB, et al. Development of neuropathic pain in the rat spared nerve injury model is notprevented by a peripheral nerve block[J]. Anesthesiology, 2003, 99(6): 1402-1408.

[12] Bambakidis NC, Horn EM, Nakaji P, et al. Endogenous stem cell proliferation induced by intravenous hedgehog agonist administration after contusion in the adult rat spinal cord[J]. Neurosurg Spine, 2009, 10 (2): 171-176.

[13] Bambakidis NC, Petrullis M, Kui X, et al. Improvement of neurological recovery and stimulation of neural progenitor cell proliferation by intrathecal administration of Sonic hedgehog[J]. Neurosurg, 2012, 116(5): 1114-1120.

（责任编辑：冉明会）