

# 外源性电场对组织修复过程中细胞行为的影响

刘永玲<sup>1</sup> 高润池<sup>1</sup> 赵三军<sup>1</sup> 赵敏<sup>1,2</sup> 王晓燕<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>云南师范大学再生生物学实验室, 昆明 650500; <sup>2</sup>美国加州大学戴维斯分校医学院, 加州 95616, USA)

**摘要** 组织修复涉及一系列复杂的生理学、免疫学及细胞生物学过程。研究表明, 受损组织周围存在着一定强度的内源性电场, 类似生理强度的外源性电场能指导细胞定向迁移、控制细胞极化、调节细胞增殖和分化等一系列生物学行为。该文针对外源性电场在伤口愈合、骨组织愈合以及血管新生过程中的细胞生物学作用及其对修复过程中组织水平的影响进行综述, 以为外源性电场在今后临床中的应用提供参考。

**关键词** 外源性电场; 细胞行为; 组织修复

## Extracellular Electrical Fields Direct Cell Behaviors in Tissue Repair

Liu Yongling<sup>1</sup>, Gao Runchi<sup>1</sup>, Zhao Sanjun<sup>1</sup>, Zhao Min<sup>1,2</sup>, Wang Xiaoyan<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Regeneration Biology Research Section, Yunnan Normal University, Kunming 650500, China; <sup>2</sup>School of Medicine, University of California at Davis, California 95616, USA)

**Abstract** Tissue repair is a complicated process, which requires a complex interplay of diverse physiological, immunological and cell biological process. It has long been known that the endogenous electric fields exist at fresh wounds. Mimic experiments have shown that electric fields play a direction guidance in cell migration, polarization, proliferation and differentiation in wound healing. In this paper, we reviewed the advance of extracellular electrical fields guid cell migration, polarization and proliferation in wound healing, bone healing and revascularization, which might be a potential way in tissue repair.

**Key words** extracellular electrical fields; cell behaviors; tissue repair

组织修复是指外伤或其他疾病过程中, 造成组织缺损后局部组织通过分裂增生等方式进行修补的一系列复杂的病理生理过程。这一过程涉及细胞运动、黏附、增殖和分化等细胞生物学的各个方面, 主要是由进入伤口的成纤维细胞增殖、分化和合成分泌, 细胞外基质的纤维化, 新生血管长入伤口的血管化和表皮细胞增生覆盖创面的再上皮化等综合作用的结果。1843年, 人们首次发现在受损皮肤周围存在内源性电场<sup>[1]</sup>。近年来, 借助分子生物学、遗传学以及活体成像等技术, 证实内源性生理电场在伤口愈合、组

织再生以及胚胎发育阶段都具有十分重要的生物学意义。然而, 在体实验较体外实验复杂并受一定条件的限制, 因此, 需要借助外源性电场来模拟内源性电场。实验研究显示, 外源性电场对多种组织修复具有重要影响, 主要包括伤口愈合、骨愈合、神经修复和血管再生等。近年来, 国内外学者对电场影响细胞行为从而促进组织修复进行了不断地探索, 以期了解电场影响细胞行为的机制, 从而为疾病的临床治疗和诊断提供新的策略。本文主要就外源模拟的电信号对组织修复过程中细胞行为的影响进行简要综述。

收稿日期: 2013-11-20 接受日期: 2014-01-20

国家973项目(批准号: 2012CB518100)和云南省高端科技人才引进项目(批准号: 2009CI127)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0871-65943723, E-mail: wxy5837@163.com

Received: November 20, 2013 Accepted: January 20, 2014

This work was supported by the National Basic Research Program of China (973 Program) (Grant No.2012CB518100) and the Yunnan High-end Talent Introduction (Grant No.2009CI127)

\*Corresponding author. Tel: +86-871-65943723, E-mail: wxy5837@163.com

网络出版时间: 2014-03-20 14:45 URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.04.0384.html>

## 1 外源性电场对伤口愈合的作用

伤口愈合是指皮肤等组织出现离断或缺损后, 机体会出现非常协调的愈合过程, 包括多种细胞、细胞因子和细胞外基质错综复杂的网络作用, 并涉及了细胞迁移、分裂和增殖等一系列行为。参与伤口愈合的细胞主要包括各种炎症细胞和组织修复细胞等。

大量研究显示, 模拟的外源性电场可以通过指导细胞分裂、增殖和定向迁移来控制伤口愈合, 从而发挥其生物学效应。研究发现, 在角膜伤口修复过程中, 不管是散在的单个角膜上皮细胞还是由成群角膜上皮细胞组成的细胞片均向负极迁移, 且外源性生理电场可加快角膜上皮细胞的运动速率<sup>[2]</sup>。而在一定强度的外源性电场中, 晶状体上皮细胞因来源和电场强度的不同表现出双向迁移的特点<sup>[3-4]</sup>。例如, 牛晶状体上皮原代培养细胞在电场中向正极迁移, 而人晶状体上皮原代培养细胞则向负极迁移。牛晶状体原代培养细胞在电场强度为150~250 mV/mm时向正极迁移, 而在50 mV/mm的低场强下向负极迁移。Li等<sup>[5]</sup>的研究发现, 电场可指导表皮干细胞向负极定向迁移, 从而促进伤口愈合过程。此外, 电刺激也能促进皮肤成纤维细胞的增殖和迁移, 增加生长因子的分泌, 以及促进成纤维细胞分化为肌成纤维细胞, 从而促进伤口愈合<sup>[6]</sup>。更为重要的是, 当其他引导信号同时作用于角膜伤口时, 细胞优先感知生理强度的电信号<sup>[7]</sup>。该现象表明, 电信号在伤口愈合过程中对细胞的定向迁移发挥主导作用。组织修复和再生过程中还涉及细胞形态和轴向的动态变化。有研究显示, 成纤维细胞、晶状体上皮细胞、角膜上皮细胞、角膜内皮细胞和血管内皮细胞等许多类型的细胞长轴都受外源性电场的诱导, 垂直于电场方向, 并且该过程还伴随着细胞的延伸<sup>[8]</sup>。

研究者们用培养的细胞单层伤口模型证实了外源性电场在伤口愈合中的作用。实验通过人为的“刮伤”形成新鲜伤口, 并给伤口施加一个外源性电场, 电场极性决定伤口周围细胞的迁移方向, 从而调节伤口的愈合或扩大<sup>[7,9-11]</sup>。此外, 在体实验也证明, 持续性电刺激(500 mV/mm<sup>2</sup>)在绝大多数情况下可以加速兔糜烂角膜上皮的形成, 且电场作为糜烂愈合的刺激因子, 在上皮损伤的最初两天效果最明显<sup>[12]</sup>。越来越多的研究表明, 电刺激可抑制炎症并加速伤口愈合<sup>[13-15]</sup>, 这为治愈复杂和顽固的伤口等提供了一个独特的治疗方法, 但目前还需要严格的临床试

验来确定电刺激的方式、电压大小和作用时间<sup>[16]</sup>。

电场在伤口愈合中的作用机理目前尚不十分清楚, 有证据显示, 外源性电场通过诱导细胞内F肌动蛋白的非对称聚合以及激活细胞外调节激酶(extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2)信号通路和磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路来指导细胞定向迁移<sup>[5]</sup>, 最终促进皮肤伤口愈合。若抑制上皮生长因子受体、ERK1/2和PI3K, 将会抑制F肌动蛋白在负极的分布和表皮干细胞的趋电性反应。

## 2 外源性电场对骨愈合的作用

骨愈合是骨折或骨缺损的修复过程, 其实质是骨损伤后的再生过程。在理想情况下, 修复过程结束后, 只有骨组织的重建而没有瘢痕形成。而调查发现, 仍有5%~10%的病人在骨愈合过程中受到破坏, 导致骨愈合延迟或者骨不愈合<sup>[17]</sup>。研究显示, 外源性电场有望成为一种促进骨愈合的治疗方法应用于临床。

20世纪50年代初, 日本学者Yasuda和Fukada提出压电效应, 认为机械压力作用于骨后, 会引起骨表面电位发生改变, 并证实产生的内源性电场, 可促进骨形成<sup>[18-19]</sup>。该理论提出了刺激内源性电场的产生会增强骨愈合, 基于此观点, 随后的研究发现, 使用电刺激是增强骨愈合的有效方法之一<sup>[20-23]</sup>。Hammerick等<sup>[24]</sup>发现, 细胞在受到电刺激时细胞骨架发生重排, 并且电场在脂肪衍生间质细胞的骨生成中起促进作用。Zhao等<sup>[25]</sup>的研究也发现, 生理强度的外源性电场可控制和加强骨髓间充质干细胞在骨愈合过程中的迁移, 促进骨形成。有研究认为, 电场能促进离子穿过细胞膜, 从而促使细胞迁移和移位, 这可能就是电场促进骨生成而应用于治疗方面的主要优势<sup>[26]</sup>。然而, 有研究者曾指出, 电场诱导的骨重建可能会改变间充质干细胞的功能, 从而可望预防和治疗随年龄增长而引起的病理性骨疾病(如骨质减少和骨质疏松等)<sup>[26-27]</sup>, 这为电刺激更好地促进骨愈合提供了新思路。Hwang等<sup>[28]</sup>的进一步研究表明, 与单层培养的细胞相比, 电刺激明显增加了三维培养的人类间充质基质细胞中趋化因子受体(chemokine receptors、CXCR4和IL-8RB)的表达, 通过CXCR4和IL-8RB调节人类间充质基质细胞的功能从而增加体内组织再生。因为培养于三维系统的

细胞比单层培养的细胞能更精确地反映活体内的变化,所以这些结果为电刺激应用于活体内组织的再生研究提供了可靠依据。

此外,细胞的增殖和分化是骨愈合过程中必不可少的生物学过程,而外源性电场对骨细胞的增殖和分化同样具有显著影响。研究发现,脉冲电场可以通过调节钙离子、钙调素和cGMP的生成而改变组织内NO的水平,最终通过NO的信号转导途径促进软骨细胞的增殖<sup>[29]</sup>。电刺激还能促进成骨细胞的增殖和分化,并增加骨形态生成蛋白(bone morphogenetic protein 2, BMP-2)的表达<sup>[30]</sup>。进一步研究表明,直流电场和BMP-2对成骨细胞增殖、分化和成熟具有协同效应,从而增强骨生成<sup>[31]</sup>。因此,外源性电场在以细胞为基础的骨骼再生过程中具有重要的作用。

目前,在矫形外科领域,以外源性电场来促进难愈合骨损伤的康复治疗也取得了一定进展。有研究指出,交流电刺激可以加速骨折端新生骨的成熟,以及促进新生骨之间的连接,因此交流电刺激辅以外固定是用于预防关节粉碎性骨折术后畸形的有效手段<sup>[32]</sup>。

### 3 外源性电场对血管再生的作用

血管再生即新血管的形成,是通过分化的内皮细胞的增殖、迁移,从已经存在的血管中衍生出新的毛细血管的过程。血管再生参与许多生理和病理过程,如在胚胎发育、损伤修复、肿瘤和一些心血管疾病发生过程中都起着至关重要的作用。而血管再生过程依赖于血管内皮细胞的一系列生物学行为,包括细胞增殖、定向迁移和定向排列等。

有研究显示,暴露于电场强度为150~200 mV/mm的直流电场中,血管内皮细胞向正极发生定向迁移。但当电场强度大于200 mV/mm时,细胞的定向迁移反而会降低<sup>[33]</sup>。Wang等<sup>[34]</sup>的研究也显示,与未受电场暴露的对照细胞相比,在外源性电场(200 mV/mm, 72 h)作用下,血管内皮细胞的增殖受到明显抑制,表现出细胞密度、细胞生长率和有丝分裂指数明显降低。但在电场强度为50 mV/mm或100 mV/mm电场中,血管内皮细胞的增殖行为没有受到明显影响。此外,外源性电场也可以使血管内皮细胞发生重新定向排列<sup>[33]</sup>,且这种排列依赖于电场强度和刺激时间。当血管内皮细胞暴露于100 mV/mm的外源性电场中持续刺激72 h后,几乎所有的细胞都呈现出与电场方向垂直的排列方式。血管内皮细胞的这种有序的排

列方式对新生血管的延伸方向具有重要的意义。

此外,有研究结果指出,外源性电场刺激可增加肌细胞内血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达,从而促进缺血性和非缺血性大鼠肢体的血管生成<sup>[35-36]</sup>。这表明电场是通过刺激VEGF的表达来促进血管生成的。但是,Sheikh等<sup>[37]</sup>最新研究发现,血管内皮细胞对电场的应答不需要VEGF和血管内皮细胞生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)的结合,而是通过丝裂原活化蛋白激酶/胞外信号调节激酶(mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase, MAPK/ERK)信号通路的激活来调节毛细血管形态发生。这为电场调节血管生成反应的新机制提供了证据。在体研究也发现,外源性电场会影响血管再生。在发育第8天的鸡胚尿囊绒毛膜(chick embryo chorioallantoic membrane, CAM)上植入明胶海绵载体,并加载外源性电场,通过比较长入载体的血管数量和载体内的微血管密度发现,电场不仅能显著增加血管数量,而且能促进血管分支<sup>[38]</sup>。Baba等<sup>[39]</sup>用缺血性中风的大鼠大脑皮层研究发现,电刺激可通过PI3K/Akt信号通路来抑制凋亡和促进血管再生,从而减少梗塞并恢复大鼠行为。肿瘤生长和转移都依赖于新血管的形成<sup>[40]</sup>,许多研究表明,纳秒级脉冲电场可通过诱导肿瘤细胞凋亡,降低VEGF、VEGFR和血小板衍生内皮细胞生长因子(platelet-derived endothelial cell growth factor, PD-ECGF)来抑制肿瘤血管生长<sup>[41-44]</sup>,因此,电场可能是一种潜在的不依赖药物的抗肿瘤方法。

### 4 外源性电场对神经修复的作用

神经修复是指在原有神经解剖和功能基础上,促进被破坏或受损害神经再生修复,重建神经投射通路,改善神经信号传导,最终达到神经功能恢复或重建的目的。已往许多研究已经证实,外源性电场能促进神经的再生功能。近年来,基于过去的研究发现,对外源性电场在神经修复再生中的作用进行了更深入的探索。McCaig等<sup>[45]</sup>研究发现,分离的非洲爪蟾脊髓神经元的轴突生长方向受到外源性电场的调控。相比于未受电场刺激的神经元,外源性电场刺激后的神经突向负极生长的比例明显增加。Koppes等<sup>[46]</sup>用外源性电场对新生大鼠背根神经节神经元的作用进行了研究,结果发现,直流电场可



与雪旺细胞协同促进外周神经系统损伤后的神经突生长。Koppes等<sup>[47]</sup>进一步研究发现, 外源性电场可促进与神经元共培养的雪旺细胞释放神经生长因子(nerve growth factor, NGF), 从而促进神经突生长持续性增加。大量研究显示, 外源性电场能增加神经干细胞的增殖和分化, 并指导神经干细胞朝向负极定向迁移<sup>[48-51]</sup>。因此, 可通过外源性电场来指导神经干细胞迁移到脑损伤或者神经退化区域, 从而改善多种与神经系统相关的疾病<sup>[52]</sup>。

此外, 在体实验研究也取得了一些肯定的结果。Wan等<sup>[53]</sup>用电刺激坐骨神经断裂损伤位点, 通过增加神经营养因子促进髓鞘的成熟, 为轴突生长提供机械性管道, 最终促进神经修复。Teodori等<sup>[54]</sup>研究发现, 高压电刺激能加速机能恢复, 加强神经纤维的成熟以及减少巨噬细胞和结缔组织表面密度, 从而加速神经修复。用糖尿病大鼠研究也发现, 电刺激能促进大量的巨噬细胞聚集在远端坐骨神经, 从而促进坐骨神经断裂处NGF、PDGF和转化生长因子 $\beta$ 的分泌, 最终修复外周神经损伤<sup>[55-56]</sup>。因此认为, 电刺激可作为糖尿病创伤的一种辅助疗法, 并可能成为临床上神经修复的新疗法。

## 5 展望

借助于外源性电场来模拟内源性电场的研究已有较长时间, 并且在细胞和分子层面都取得较大进展。大量证据表明, 外源性电场对细胞的生物学行为(如细胞迁移、分裂、增殖、极化和排列等)具有重要的影响, 而这些生物学效应对复杂的组织修复和再生过程(如伤口愈合、骨愈合、血管再生等)至关重要。目前, 对于细胞如何感知外源电场并作出相应应答的分子机制还不甚了解。因此, 进一步深入研究细胞如何感知胞外电信号, 并揭示细胞感知胞外电场的可能机制成为了目前亟待解决的关键问题。总之, 电场作用是一个具有潜力的研究领域, 在将来治疗肿瘤、缺血性疾病、骨愈合等重要临床疾病方面具有广阔的应用前景。

## 参考文献 (References)

- Zhao M. Electrical fields in wound healing-An overriding signal that directs cell migration. *Semin Cell Dev Biol* 2009; 20(6): 674-82.
- Zhao M, Agius-Fernandez A, Forrester JV, McCaig CD. Orientation and directed migration of cultured corneal epithelial cells in small electric fields are serum dependent. *J Cell Sci* 1996; 109(Pt 6): 1405-14.
- Wang E, Zhao M, Forrester JV, McCaig CD. Bi-directional migration of lens epithelial cells in a physiological electrical field. *Exp Eye Res* 2003; 76(1): 29-37.
- Wang E, Zhao M, Forrester JV, CD MC. Re-orientation and faster, directed migration of lens epithelial cells in a physiological electric field. *Exp Eye Res* 2000; 71(1): 91-8.
- Li L, Gu W, Du J, Reid B, Deng X, Liu Z, *et al*. Electric fields guide migration of epidermal stem cells and promote skin wound healing. *Wound Repair Regen* 2012; 20(6): 840-51.
- Rouabhia M, Park H, Meng S, Derbali H, Zhang Z. Electrical stimulation promotes wound healing by enhancing dermal fibroblast activity and promoting myofibroblast transdifferentiation. *PLoS One* 2013; 8(8): e71660.
- Zhao M, Song B, Pu J, Wada T, Reid B, Tai G, *et al*. Electrical signals control wound healing through phosphatidylinositol-3-OH kinase-gamma and PTEN. *Nature* 2006; 442(7101): 457-60.
- Wang ET, Zhao M. Regulation of tissue repair and regeneration by electric fields. *Chinese Journal of Traumatology* 2010; 13(1): 55-61.
- Reid B, Song B, McCaig CD, Zhao M. Wound healing in rat cornea: the role of electric currents. *FASEB J* 2005; 19(3): 379-86.
- Wang E, Zhao M, Forrester JV, McCaig CD. Electric fields and MAP kinase signaling can regulate early wound healing in lens epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44(1): 244-9.
- 王恩普, 王恩彤. 电场暴露抑制晶状体上皮伤口的愈合. *眼科 (Wang Enpu, Wang Entong. Inhibition of wound healing of lens epithelial monolayer wounds by an applied electric field. Ophthalmology in China)* 2006; 15(4): 274-76.
- Zheleznov EA, Fedorov AA, Sheludchenko VM. Impact of a continuous electric field on corneal healing in an experiment. *Vestn Oftalmol* 2010; 126(4): 30-5.
- Thakral G, Lafontaine J, Najafi B, Talal TK, Kim P, Lavery LA. Electrical stimulation to accelerate wound healing. *Diabet Foot Ankle* 2013; doi: 10.3402/dfa.v4i0.22081.
- Magnoni C, Rossi E, Fiorentini C, Baggio A, Ferrari B, Alberto G. Electrical stimulation as adjuvant treatment for chronic leg ulcers of different aetiology: An RCT. *J Wound Care* 2013; 22(10): 525-6, 528-33.
- Gurgen SG, Sayin O, Cetin F, Tuc Yucel A. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) accelerates cutaneous wound healing and inhibits pro-inflammatory cytokines. *Inflammation* 2013; doi: 10.1007/s10753-013-9796-7.
- Szuminsky NJ, Albers AC, Unger P, Eddy JG. Effect of narrow, pulsed high voltages on bacterial viability. *Phys Ther* 1994; 74(7): 660-7.
- Ryaby JT. Clinical effects of electromagnetic and electric fields on fracture healing. *Clin Orthop Relat Res* 1998; (355 Suppl): S205-15.
- Barranco SD, Spadaro JA, Berger TJ, Becker RO. *In vitro* effect of weak direct current on *Staphylococcus aureus*. *Clin Orthop Relat Res* 1974; (100): 250-5.
- 阴小龙, 程延, 梅强. 电刺激促进骨愈合. *生物骨科材料与临床研究 (Yin Xiaolong, Cheng Yan, Mei Qiang. Electrical stimulation to promote bone healing. Orthopaedic Biomechanics Materials and Clinical Study)* 2006; 3(5): 26-8.
- Griffin M, Bayat A. Electrical stimulation in bone healing: Critical analysis by evaluating levels of evidence. *Eplasty* 2011; 11: e34.
- Bassett CA, Pawluk RJ, Becker RO. Effects of electric currents on bone *in vivo*. *Nature* 1964; 204: 652-4.
- Friedenberg ZB, Kohanim M. The effect of direct current on bone. *Surg Gynecol Obstet* 1968; 127(1): 97-102.

- 23 Brighton CT, Adler S, Black J, Itada N, FriedenberG ZB. Cathodic oxygen consumption and electrically induced osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res* 1975; (107): 277-82.
- 24 Hammerick KE, James AW, Huang Z, Prinz FB, Longaker MT. Pulsed direct current electric fields enhance osteogenesis in adipose-derived stromal cells. *Tissue Eng Part A* 2010; 16(3): 917-31.
- 25 Zhao Z, Watt C, Karystinou A, Roelofs AJ, McCaig CD, Gibson IR, *et al.* Directed migration of human bone marrow mesenchymal stem cells in a physiological direct current electric field. *Eur Cell Mater* 2011; 22: 344-58.
- 26 Isaacson BM, Bloebaum RD. Bone bioelectricity: What have we learned in the past 160 years? *J Biomed Mater Res A* 2010; 95(4): 1270-9.
- 27 Pearce D, Bonnet D. Ageing within the hematopoietic stem cell compartment. *Mech Ageing Dev* 2009; 130(1/2): 54-7.
- 28 Hwang SJ, Song YM, Cho TH, Kim RY, Lee TH, Kim SJ, *et al.* The implications of the response of human mesenchymal stromal cells in three-dimensional culture to electrical stimulation for tissue regeneration. *Tissue Eng Part A* 2012; 18 (3/4): 432-45.
- 29 Fitzsimmons RJ, Gordon SL, Kronberg J, Ganey T, Pilla AA. A pulsing electric field (PEF) increases human chondrocyte proliferation through a transduction pathway involving nitric oxide signaling. *J Orthop Res* 2008; 26(6): 854-9.
- 30 Wang W, Li XC, Cheng SW, Chen QY, Peng L, Lin ZQ, *et al.* Proliferation, differentiation and BMP-2 expression of osteoblasts cultured in the plane under suitable electrical stimulation. *Zhongguo Gu Shang* 2012; 25(7): 587-91.
- 31 Zhang J, Neoh KG, Hu X, Kang ET, Wang W. Combined effects of direct current stimulation and immobilized BMP-2 for enhancement of osteogenesis. *Biotechnol Bioeng* 2013; 110(5): 1466-75.
- 32 Kohata K, Itoh S, Takeda S, Kanai M, Yoshioka T, Suzuki H, *et al.* Enhancement of fracture healing by electrical stimulation in the comminuted intraarticular fracture of distal radius. *Biomed Mater Eng* 2013; 23(6): 485-93.
- 33 Bai H, McCaig CD, Forrester JV, Zhao M. DC electric fields induce distinct preangiogenic responses in microvascular and macrovascular cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24(7): 1234-9.
- 34 Wang E, Yin Y, Zhao M, Forrester JV, McCaig CD. Physiological electric fields control the G<sub>1</sub>/S phase cell cycle checkpoint to inhibit endothelial cell proliferation. *FASEB J* 2003; 17(3): 458-60.
- 35 Kanno S, Oda N, Abe M, Saito S, Hori K, Handa Y, *et al.* Establishment of a simple and practical procedure applicable to therapeutic angiogenesis. *Circulation* 1999; 99(20): 2682-7.
- 36 Hang J, Kong L, Gu JW, Adair TH. VEGF gene expression is upregulated in electrically stimulated rat skeletal muscle. *Am J Physiol* 1995; 269(5 Pt 2): H1827-31.
- 37 Sheikh AQ, Taghian T, Hemingway B, Cho H, Kogan AB, Narmoneva DA. Regulation of endothelial MAPK/ERK signalling and capillary morphogenesis by low-amplitude electric field. *J R Soc Interface* 2013; 10(78): 20120548.
- 38 邵 阳, 王永堂, 高 洁, 罗治斌. 直流电场对鸡胚绒毛尿囊膜血管生成作用的研究. *中国医学物理学杂志*(Shao Yang, Wang Yongtang, Gao Jie, Luo Zhibin. Effect of direct electric fields on angiogenesis of CAM. *Chinese Journal of Medical Physics*) 2007; 24(1): 36-37, 40.
- 39 Baba T, Kameda M, Yasuhara T, Morimoto T, Kondo A, Shingo T, *et al.* Electrical stimulation of the cerebral cortex exerts anti-apoptotic, angiogenic, and anti-inflammatory effects in ischemic stroke rats through phosphoinositide 3-kinase/Akt signaling pathway. *Stroke* 2009; 40(11): e598-605.
- 40 Folkman J. Anti-angiogenesis: New concept for therapy of solid tumors. *Ann Surg* 1972; 175(3): 409-16.
- 41 Wu S, Wang Y, Guo J, Chen Q, Zhang J, Fang J. Nanosecond pulsed electric fields as a novel drug free therapy for breast cancer: An *in vivo* study. *Cancer Lett* 2014; 343(2): 268-74.
- 42 Guo F, Yao C, Li C, Mi Y, Peng Q, Tang J. *In vivo* evidences of nanosecond pulsed electric fields for melanoma malignancy treatment on tumor-bearing BALB/c nude mice. *Technol Cancer Res Treat* 2013; 12(4): 275-84.
- 43 Chen X, Kolb JF, Swanson RJ, Schoenbach KH, Beebe SJ. Apoptosis initiation and angiogenesis inhibition: melanoma targets for nanosecond pulsed electric fields. *Pigment Cell Melanoma Res* 2010; 23 (4): 554-63.
- 44 Ren Z, Chen X, Cui G, Yin S, Chen L, Jiang J, *et al.* Nanosecond pulsed electric field inhibits cancer growth followed by alteration in expressions of NF-kappaB and Wnt/beta-catenin signaling molecules. *PLoS One* 2013; 8(9): e74322.
- 45 McCaig CD, Rajnicek AM, Song B, Zhao M. Controlling cell behavior electrically: Current views and future potential. *Physiol Rev* 2005; 85(3): 943-78.
- 46 Koppes AN, Seggio AM, Thompson DM. Neurite outgrowth is significantly increased by the simultaneous presentation of Schwann cells and moderate exogenous electric fields. *J Neural Eng* 2011; 8(4): 046023.
- 47 Koppes AN, Nordberg AL, Paolillo G, Goodsell N, Darwish H, Zhang L, *et al.* Electrical stimulation of Schwann cells promotes sustained increases in neurite outgrowth. *Tissue Eng Part A* 2014; 20(3/4): 494-506.
- 48 Li L, El-Hayek YH, Liu B, Chen Y, Gomez E, Wu X, *et al.* Direct-current electrical field guides neuronal stem/progenitor cell migration. *Stem Cells* 2008; 26(8): 2193-200.
- 49 Yao L, Shanley L, McCaig C, Zhao M. Small applied electric fields guide migration of hippocampal neurons. *J Cell Physiol* 2008; 216(2): 527-35.
- 50 Feng JF, Liu J, Zhang XZ, Zhang L, Jiang JY, Nolta J, *et al.* Guided migration of neural stem cells derived from human embryonic stem cells by an electric field. *Stem Cells* 2012; 30(2): 349-55.
- 51 Liu HH, Xiang Y, Yan TB, Tan ZM, Li SH, He XK. Functional electrical stimulation increases neural stem/progenitor cell proliferation and neurogenesis in the subventricular zone of rats with stroke. *Chin Med J (Engl)* 2013; 126(12): 2361-7.
- 52 Yao L, Pandit A, Yao S, McCaig CD. Electric field-guided neuron migration: A novel approach in neurogenesis. *Tissue Eng Part B Rev* 2011; 17(3): 143-53.
- 53 Wan LD, Xia R, Ding WL. Electrical stimulation enhanced remyelination of injured sciatic nerves by increasing neurotrophins. *Neuroscience* 2010; 169(3): 1029-38.
- 54 Teodori RM, Silva AM, Silva MT, Oliveira LS, Polacow ML, Guirro EC. High-voltage electrical stimulation improves nerve regeneration after sciatic crush injury. *Rev Bras Fisioter* 2011; 15(4): 325-31.
- 55 Yao CH, Chang RL, Chang SL, Tsai CC, Tsai FJ, Chen YS. Electrical stimulation improves peripheral nerve regeneration in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Trauma Acute Care Surg* 2012; 72(1): 199-205.
- 56 Kao CH, Chen JJ, Hsu YM, Bau DT, Yao CH, Chen YS. High-frequency electrical stimulation can be a complementary therapy to promote nerve regeneration in diabetic rats. *PLoS One* 2013; 8(11): e79078.