

· 基础研究 ·

坐骨神经冷损伤后的病理改变与基因表达谱研究

徐敏 耿志伟 宋珏娴 李浩 吴忱 刘芳艳 刘璐 贾建平

【摘要】目的 通过观察大鼠坐骨神经在非冻结性冷损伤后,坐骨神经以及 L_4 、 L_5 、 L_6 背根神经节(DRG)感觉神经元的形态学变化以及 mRNA 转录谱的变化,初步探讨周围神经冷损伤及修复的分子机制。**方法** 24 只雄性 Wistar 大鼠分为实验组和对照组,每组 12 只,实验组右侧坐骨神经冷损伤(4°C , 2 h),对照组左侧坐骨神经同样方法暴露,但不给予冷处理。分别于冷损伤后 1, 2, 3 周取两侧坐骨神经和 L_4 、 L_5 、 L_6 的 DRG,分别在光镜和电镜下观察病理变化,采用激光捕获显微切割(LCM)结合寡核苷酸基因芯片技术研究 DRG 神经元的基因表达谱。**结果** 神经病理显示,坐骨神经冷损伤后第 7 天时,已出现明显的以大纤维为主的神经变性;第 14 天时,有髓纤维密度显著减少,已可见再生纤维;冷损伤后第 21 天,坐骨神经已经有明显的再生,小直径的有髓纤维增多。冷损伤后第 14 天对 DRG 神经元进行基因表达谱分析,显示 96 个基因表达差异达 2 倍以上($P < 0.05$),均上调。其功能涉及对外界刺激的适应性反应、凋亡的调节、细胞黏附因子、免疫和炎症反应、神经再生相关、疼痛、细胞骨架、离子通道类、神经递质及受体等。**结论** 大鼠坐骨神经冷损伤和修复是由大量的基因参与的复杂过程,应用基因芯片是全面揭示其分子机制的有效方法。

【关键词】 冷损伤; 周围神经; 基因表达; 基因芯片; 激光捕获显微切割

Pathology and gene expression of the sciatic nerve after non-freezing cold injury XU Min, GENG Zhi-wei, SONG Jue-xian, LI Hao, WU You, LIU Fang-yang, LIU Lu, JIA Jian-ping. Department of Neurology, XuanWu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China

Corresponding author: JIA Jian-ping, Email: jiaxuanwu@126.com

【Abstract】Objective To investigate the morphological changes in the sciatic nerve and the dorsal root ganglions (DRGs) and also gene expression in DRGs after non-freezing cold injury, and to explore the molecular mechanism of peripheral nerve cold injury and regeneration. **Methods** Twenty-four male Wistar rats were used. The sciatic nerve on one side was cooled to 4°C for 2 h, and the sciatic nerve on the opposite side was exposed, but without cooling. Sciatic nerves and L_4 , L_5 and L_6 DRGs from both sides were harvested at the 1st, 2nd and 3rd week after cooling. Any pathological changes were observed using light and electron microscopy. Laser capture microdissection (LCM) was used to investigate the DRG neurons' gene expression. The array result was verified with RT-PCR for eight genes. **Results** Large fiber degeneration was obvious by the 7th day after cooling. Myelinated fiber regeneration had begun by the 14th day, so this time was chosen to explore the neurons' gene expression. Ninety-six genes and expressed sequence tags (ESTs) were up-regulated greater than 2 fold. Their proteins' functions were classified as adaptive response to external stimulus, apoptosis regulation, cell adhesion, immune and inflammation response, nerve regeneration, pain associated molecules, microtubule cytoskeleton, ion-channels, neurotransmitters and receptors, and neuropeptides. **Conclusions** A complex molecular mechanism is involved in cold injury and regeneration of the sciatic nerve, and many genes are involved. Large scale microarray analysis is a potent means to screen out related genes, thus suggesting future repair strategies.

【Key words】 Cold injury; Peripheral nerves; Gene expression; Microarrays; Laser capture microdissection

中枢神经系统(central nervous system, CNS)损伤后缺乏修复能力,往往造成永久的功能障碍,是一直困扰临床医生的难题,日益成为神经病学基础研究的热

点。而周围神经损伤后却能够成功地再生,因此,作为经典的神经病理疼痛模型,大鼠坐骨神经损伤模型近年来不断得到发展和改进,更重要的意义在于它对神经损伤和再生的机制研究提供了机会。采用激光捕获显微切割(laser capture microdissection, LCM)结合寡核苷酸基因芯片技术对坐骨神经冷损伤后背根神经节(dorsal root ganglia, DRG)的基因表达变化和形态学

研究目前鲜见报道。本实验旨在建立可行的方法学,全面了解周围神经损伤和再生的机制,为进一步研究和治疗提供线索。

材料与方法

一、实验动物分组及坐骨神经冷损伤模型制备

无特殊病原体级雄性 Wistar 大鼠 24 只,体重 350~400 g,分为实验组和对照组,每组 12 只。每组中 4 只用于病理学研究,8 只用于基因表达谱研究。用 5% 水合氯醛(400 mg/kg 体重)腹腔注射麻醉,在髌至大腿后侧切开皮肤,于股二头肌前缘肌间隙处显露并分离出坐骨神经 20 mm,在其分为胫后神经和腓肠神经近端约 15 mm 处,将 10 mm 分离的坐骨神经置于制冷槽中,以石蜡油棉片覆盖。实验组右侧坐骨神经局部给予 4℃ 持续作用 2 h,对照组同样暴露并分离出左侧坐骨神经,但不给予冷刺激。

二、病理学研究

于实验后第 7 天、第 14 天、第 21 天,2 组各取 4 只大鼠,断颈处死,取双侧坐骨神经和双侧 L₄、L₅、L₆ 的 DRG。2.5% 戊二醛前固定 2 h,1% 四氧化锇后固定 2 h,梯度酒精脱水,环氧树脂 812 包埋。超薄切片机切片,半薄 1 μm,甲苯胺兰染色后光镜观察,定位。另超薄切片,铅铀双染,电镜观察。

三、激光捕获显微切割技术获取神经元

为排除其它细胞成分的干扰,采用 LCM 技术获取 DRG 中的神经元细胞。根据坐骨神经的病理学,在出现明显再生的时间点时,取受冷侧 L₄、L₅、L₆ 的 DRG,标本离体后迅速置于 0.5 ml 冻存管中,液氮速冻后 -80℃ 保存。切片时,将组织取出,置于 -30℃ 的冰冻切片机中,迅速以 OCT 包埋。所有操作均在严格无 RNase 的环境下进行,切片厚度 10 μm,苏木素-伊红染色后立即使用 PixCell II 激光捕获显微切割系统开始显微捕获。神经元捕获的总点数大约为 24 000~30 000。为减少个体差异引起的表达结果偏差,将实验组每 4 只大鼠的 DRG 感觉神经元捕获后,混合提取总 RNA。对照组同样混合提取总 RNA。

四、表达谱芯片实验步骤

采用 RNeasy MiniKit(Qiagen 公司)试剂盒,按说明手册提供的步骤进行 RNA 提取,使用 RNeasy MinElute Cleanup Kit(Qiagen 公司)试剂盒对 RNA 进行纯化和浓缩。经单轮 cRNA 扩增、生物素标记法对样品进行靶标制备,用于芯片(型号:GeneChip rat Genome 230 2.0 Array,美国 Affymetrix 公司)杂交;对芯片进行洗脱、染色和扫描;用基因芯片分析软件(GeneChip Operating Software,GCOS 1.4)对芯片原始图像进行分析,把图像信号转化为数字信号;采用

dChip 软件做校正和归一化处理;最后以同时满足表达差异 > 2 倍、 $P < 0.05$ 的标准来确定差异表达基因。差异基因的聚类分析采用 Cluster 3.0 软件,差异基因的批量分析采用博奥生物有限公司的在线分子注释系统(Molecular Annotation System 2.0, MAS 2.0, <http://bioinfo.capitalbio.com/mas/>)。将实验组与对照组的 RNA 单独标记后分别与 2 张芯片杂交,为保证基因芯片的可靠性和重复性,做 3 次平行杂交,3 次有统计学显著差异的基因被认为表达有差异。

结 果

一、坐骨神经和 DRG 的病理改变

坐骨神经冷损伤后第 7 天时,已出现明显的神经变性,可见 Wallerian 变性,髓鞘也松散水肿,以大纤维为主。冷损伤第 14 天时,有髓纤维密度显著减少,已可见再生纤维;背根神经节有单核细胞浸润,神经元胞浆中线粒体肿胀变性,但无明显凋亡表现。冷损伤后第 21 天时,坐骨神经已经有明显的再生,小直径的有髓纤维增多。根据冷损伤后第 14 天坐骨神经由变性坏死向修复再生转化,决定取术后第 14 天的 DRG 进行基因表达研究。

二、差异表达基因

在 Affymetrix 大鼠全基因组 230 2.0 芯片所涵盖的 30,000 个基因以及表达序列标签(expressed sequence tags, EST)中,实验组和对照组的平均阳性表达率分别为 62.45% 和 61.5%,见图 1。

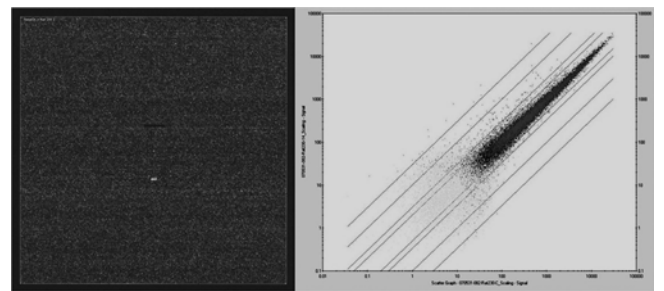


图 1 芯片原始扫描图像与基因表达二维分析图

由聚类分析(图 2)可见,横向聚类,实验组的 3 张芯片聚为 1 类,对照组 3 张芯片聚为 2 类,说明组内各芯片间的表达一致性较高,达到了实验设计中减少生物样品间差异的目的。纵向聚类,功能相关的基因以及表达趋势相似的基因成功聚类在一起。

以表达差异 2 倍以上,并且 $P < 0.05$ 为标准,共有 96 个基因和 EST 表达上调(表 1),无表达下调的基因。已知功能的基因分类:外界刺激反应相关的基因 15 个、参与凋亡调节的基因 18 个、细胞黏附因子 6 个、免疫和炎性反应相关的 9 个、神经再生相关的基因

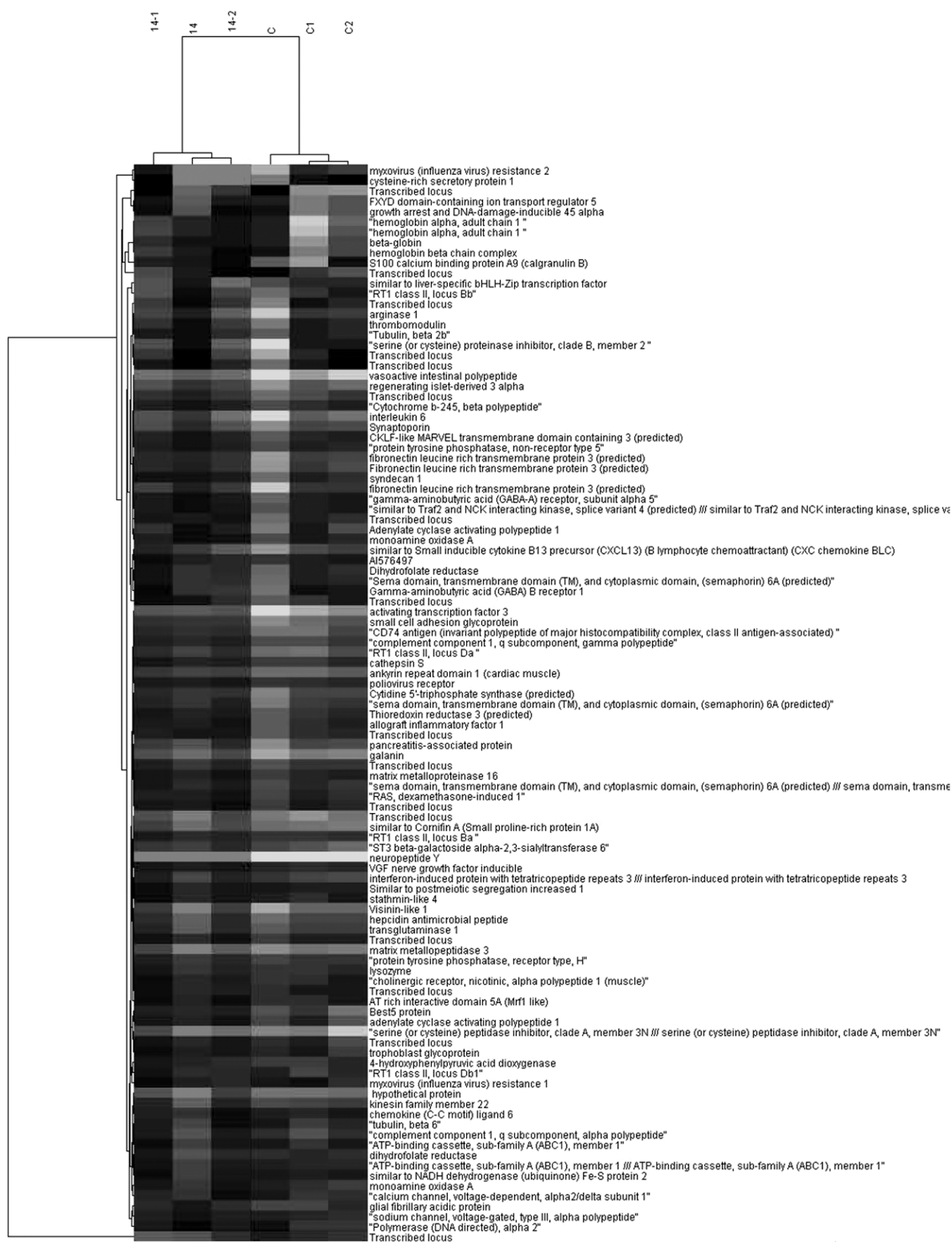


图 2 芯片结果的聚类分析图

表 1 坐骨神经冷损伤后第 14 天相应 DRG 神经元细胞的差异表达基因

基因名称	基因名称缩写	差异倍数	基因名称	基因名称缩写	差异倍数
对外界刺激的反应			growth arrest and DNA-damage-inducible 45 alpha	Gadd45a	3.04
allograft inflammatory factor 1	Aifl	2.34	allograft inflammatory factor 1	Aifl	2.35
complement component 1, q subcomponent, gamma polypeptide	C1qg	2.73	ankyrin repeat domain 1 (cardiac muscle)	Ankrd1	4.57
lysozyme	Lyz	2.61	thrombomodulin	Thbd	2.76
myxovirus (influenza virus) resistance 2	Mx2	23.35	arginase 1	Arg1	4.5
regenerating islet-derived 3 alpha	Reg3a	5.07	免疫反应		
hepcidin antimicrobial peptide	Hamp	3.99	pancreatitis-associated protein	Pap	4.33
interleukin 6	Il6	6.83	similar to NADH dehydrogenase (ubiquinone)	LOC498279	2.14
CD74 antigen	Cd74	3.77	Fe-S protein 2		
myxovirus (influenza virus) resistance 1	Mx1	2.03	allograft inflammatory factor 1	Aifl	2.35
serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade B, member 2	Serpinb2	3.93	serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A, member 3N	Serpina3n	9.19
arginase 1	Arg1	4.5	interleukin 6	Il6	6.82
glial fibrillary acidic protein	Gfap	2.6	galanin	Gal	7.24
complement component 1, q subcomponent, alpha polypeptide	C1qa	3.01	regenerating islet-derived 3 alpha	Reg3a	5.07
pancreatitis-associated protein	Pap	4.33	S100 calcium binding protein A9 (calgranulin B)	S100a9	2.53
thrombomodulin	Thbd	2.77	cathepsin S	Ctss	2.39
细胞黏附			神经再生		
RT1 class II, locus Ba	RT1-Ba	2.52	pancreatitis-associated protein	Pap	4.33
syndecan 1	Sdc1	2.29	arginase 1	Arg1	4.5
RT1 class II, locus Db1	RT1-Db1	2.38	transglutaminase 1	Tgm1	3.61
RT1 class II, locus Bb	RT1-Bb	3.26	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 5	Ptpn5	2.22
poliovirus receptor	PVR	2.26	activating transcription factor 3	Atf3	8.85
trophoblast glycoprotein	Tpbp	2.1	glial fibrillary acidic protein	Gfap	2.6
small cell adhesion glycoprotein	Smagp	4.32	stathmin-like 4	Stmn4	2
RT1 class II, locus Da	RT1-Da	4.03	galanin	Gal	7.24
凋亡			VGF nerve growth factor inducible	Vgf	2.13
monoamine oxidase A	Maoa	2.38	neuropeptide Y	Npy	33.93
chemokine (C-C motif) ligand 6	Ccl6	2.18	regenerating islet-derived 3 alpha	Reg3a	5.07
interleukin 6	Il6	6.83	interleukin 6	Il6	6.83
cysteine and glycine-rich protein 3	Csrp3	6.81	微管和细胞骨架		
pancreatitis-associated protein	Pap	4.33	kinesin family member 22	Kif22	3.7
lysozyme	Lyz	2.62	Tubulin, beta6	Tubb6	2.5
galanin	Gal	7.24	疼痛		
sema domain, transmembrane domain (TM), and cytoplasmic domain, (semaphorin) 6A (predicted)	Sema6a_predicted	3.22	calcium channel, voltage-dependent, alpha2/delta subunit 1	Cacna2d1	2.37
syndecan 1	Sdc1	2.23	vasoactive intestinal polypeptide	Vip	12.04
CD74 antigen	Cd74	3.77	neuropeptide Y	Npy	33.93
Cytochrome b-245, beta polypeptide	Cybb	2.31	hemoglobin alpha, adult chain 1	Hba-a1	3.41
activating transcription factor 3	Atf3	8.85	hemoglobin alpha 2 chain	LOC360504	
serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade B, member 2	Serpinb2	3.93	galanin	Gal	7.24
			sodium channel, voltage-gated, type III, alpha polypeptide	Scn3a	2.11
			其它		

12 个、疼痛相关的基因 6 个、细胞骨架基因 2 个,其他 31 个,部分基因具有多种功能。

三、采用实时定量逆转录 PCR 验证部分差异基因

选择部分基因 Adecyap1, Vgf, Ctss, Gabra5, Maoa, Flrt3, Hba-a1, 以实时定量 RT-PCR 方法进行验证,均重复 2 次,显示基因 mRNA 的表达差异与芯片结果基本

相符,见表 2。

讨 论

一、基因表达谱概况及与相关文献比较

本研究显示,96 个基因表达均为显著上调,其中 Pola2 有 DNA 指导的 DNA 聚合酶活性;锚蛋白重复序列(Ankrd1),可结合 DNA,发挥转录的协同调节功能;

表 2 实时定量 RT-PCR 结果与芯片结果的比较

基因名称	表达差异 (实验/对照)	芯片显示的差异 (实验/对照)
Adcyap1	1.86	2.55
Vgf	1.83	2.11
Ctss	2.41	2.26
Gabra5	2.28	2.03
Maoa	2.23	2.04
Flrt3_predicted	2.95	2.84
Hba-a1	6.30	8.29

转录激活因子 3 (Atf3) 上调,表明基因表达在转录水平普遍上调。这说明坐骨神经冷损伤第 14 天后,DRG 神经元功能十分活跃,与病理显示的坐骨神经神经变性与再生并存现象相一致。

差异基因的功能涉及凋亡、神经源性疼痛、神经再生,并且部分与坐骨神经切断术后 DRG 基因的表达研究报道相同^[1-3],如 Gadd45、Lyz、VGF、Npy、Gal、ATF-3、Vip、Arg1^[4]、Adcyap1^[5]、Mmp16、protein tyrosine phosphatase、Cacna2d1、Gabra5。这说明坐骨神经冷损伤与其它机械性损伤后神经元的反应有相同的机制,从另一方面也证明了本研究结果的可靠性。Xiao 等^[2]报道周围神经断伤后,DRG 有大量生长因子表达上调:basic fibroblast growth factor, fibroblast growth factor 7、13, glial cell line-derived neurotrophic factor 和其受体 α , growth associated protein 43, nerve growth factor-inducible protein, 而它们在本实验中表达均无变化,只有周围神经轴突损伤的特异标志 growth arrest and DNA-damage-inducible protein 45 表达增高相同,说明周围神经冷损伤可能存在与断伤不同的机制。

二、周围神经对损伤性刺激的反应

周围神经损伤时,严重者会导致神经元死亡,轻者神经可再生;并产生慢性疼痛、损伤部位和 DRG 的炎症反应、免疫反应、DRG 中神经元的凋亡坏死、轴突(周围神经)的再生等反应。这些形态、功能变化的背后是神经元基因表达的变化,其中有的是对伤害刺激的被动性反应,有的是神经元主动的修复,识别这两种性质的反应途径具有深远的意义,有利于寻找减轻损伤、促进再生的治疗方法。

冷损伤对感觉神经元是一刺激,神经元接受到刺激后会产生一些适应性的反应。本实验发现,在冷损伤亚急性期(第 14 天),热休克蛋白(-1.07 倍)、即刻早基因(c-Jun、c-Fos)表达早已降至正常。但仍有为数不少的(15 个)对外界刺激反应性的基因上调: Aif1、C1qg、Lyz、Mx2、Reg3a、Hamp、IL6、Cd74、Mx1、Serpib2、Arg1、Gfap、C1qa、Pap、Thbd。它们均在基因相互作用的列表中(表 3)位于前列,说明它们与许多基因存在广泛的相互作用,可能位于基因表达调控瀑布链的上游。它们分别通过多种途径参与多方面的功能,

这与神经元损伤后的复杂反应相一致。

表 3 基因相互作用

基因名称	与其有相互作用的 基因个数
Cd74	19
Mx1	11
Reg3a	12
Il6	10
Serpib2	7
Aif1	8
Lyz	5
C1qg	5

本实验的结果显示,18 个凋亡相关的基因上调,虽然其中 Maoa、Sema6a_predicted、Sdc1、Ankrd1、Thbd,细胞色素 C 相关的 Ccl6、Cybb,半胱氨酸蛋白 Csrp3 有促进凋亡的作用,但并没有凋亡终末环节的 BCL2 和 caspase 家族成员,可直接诱发凋亡、激活 caspase 的 apoptotic peptidase activating factor 1 表达也无显著差异。伤害性刺激诱导的基因 Cd74、Gadd45a、Aif1 等,而其中 Il6、Pap、Lyz、Gal、Arg1、Atf3 同时还有促进神经生长作用,caspase 抑制剂 Serpinb2 表达上调 3.93 倍。说明在转录水平,存在凋亡的正性和负性调控两方面的力量^[6],结果凋亡在早期可逆阶段就得到逆转,并没有真正启动,这与我们病理所见 DRG 中神经元数量无明显减少的结果相一致。

坐骨神经损伤后,不仅损伤部位有炎症细胞浸润,近端的 DRG 中也会有 T 淋巴细胞(伤后第 2~3 天开始,持续 11 周以上)、中性粒细胞的浸润^[7],本实验也发现,DRG 中单核细胞与神经元胞体有接触。这些炎症反应的发生具有延迟性,而且远离轴索直接损伤的部位,其来源和意义有待于进一步研究。炎症细胞的趋化首先需要化学趋化或其它趋化因子,有抗原呈递细胞,与神经元的相互作用还需要细胞黏附因子,要发挥作用还会释放细胞因子。本实验有 6 个差异基因参与抗原呈递过程,提示感觉神经元可能具有抗原呈递的功能,而其中 RT1-Da、RT1-Bb、RT1-Db1、RT1-Ba 同时还是细胞间黏附因子。显著上调的细胞因子有: Il6、Cd74、Ccl6,细胞因子可造成疼痛和神经元死亡。在表 2 中显示,许多基因同时参与炎症反应、疼痛和再生的反应,如 Gal 和 Npy 同时与疼痛和再生都相关,说明炎症和免疫反应一方面是对损伤刺激的反应,引发疼痛,另一方面也促进神经的再生,有神经活性的细胞因子和神经营养因子甚至是神经再生所必需的^[8]。

本实验结果中有 5 个与疼痛相关的基因表达显著上调,其中 GABA 受体上调,提示 GABA 的抑制性作用增强,这个结果不同于以往周围神经损伤的报道,可能是周围神经冷损伤后的代偿机制良好,有助于神经病

理性疼痛的消除。

三、周围神经的可塑性和再生能力

CNS 缺乏再生能力,而周围神经损伤后可以再生,故其机制一直受到关注。本实验中 11 个与再生相关的基因表达显著上调,还有 2 个作为轴突生长所需的微管骨架原料 Kif22、Tubb6。

谷氨酰胺酶在 CNS 损伤后的神经节中表达增高^[9],有促进轴突延长的作用。本实验发现,谷氨酰胺酶在周围神经损伤后的神经元中也表达上调,且可能与神经再生相关,也提示它不是中枢神经特异的再生调节因素。

酪氨酸激酶和酪氨酸的磷酸化,参与神经元包括生存、轴突的生长和突触形成等几乎所有的功能。来自成年灵长类动物的在体研究显示,酪氨酸蛋白磷酸酯酶(protein tyrosine phosphatase, PTP)受体是调节再生的神经突生长的主要基因家族^[10]。本研究结果显示,两个 PTP 相关的基因上调:protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 5 (Ptpn5) 表达上调 2.21 倍,protein tyrosine phosphatase, receptor type, H (Ptpnh) 表达上调 2.90 倍,提示非受体型基因也参与了神经的再生调节。

神经的再生不仅取决于神经本身的再生能力,还必须要有周围环境的许可。值得关注的是,本研究中基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP) Mmp3、Mmp16 表达显著上调。可以降解细胞外基质的胶原、蛋白多糖和层黏蛋白,有利于再生神经突的生长和延伸;神经生长因子前体(pro-NGF)和脑源性神经营养因子(pro-BDNF)前体也必须与 MMP 结合后才能产生活性;炎症反应中,MMP 可由细胞因子诱导产生。在脊髓前根断伤后 3 d 的脊髓前角中 MMP1 和 MMP7 的 mRNA 分别有 10 倍和 3.2 倍增高。但 Zhang 和 Xiao^[1]的研究显示,脊髓断伤后,同样是 14 d,脊髓中有 12 个生长因子或生长相关蛋白,2 个生长因子受体都有表达上调,MMP16 的 mRNA 表达却下降了 0.4~0.6 倍。提示 CNS 损伤后再生困难可能并不是由于缺乏生长因子,而有可能是神经生长因子无法发挥作用,或者再生遇到了周围不利的内环境的阻碍。

总之,本实验使我们对周围神经冷损伤的机制有了较为全面的了解;有凋亡、免疫和炎症反应参与,它

们具有双重作用,一方面可能造成神经元的迟发性损伤,另一方面也激活了神经元潜在的再生能力,而神经元兴奋性增高的副反应则是神经病理性疼痛的产生。但是本实验只检测了冷损伤后第 14 天的 DRG 神经元的基因转录为 RNA 水平的情况,下一步还需建立时间序列性研究,以及了解基因翻译为蛋白水平的表达情况等。

参 考 文 献

- [1] Zhang X, Xiao HS. Gene array analysis to determine the components of neuropathic pain signaling. *Curr Opin Mol Ther*, 2005, 7: 532-537.
- [2] Xiao H, Huang Q, Zhang F, et al. Identification of gene expression profile of dorsal root ganglion in the rat peripheral axotomy model of neuropathic pain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 8360-8365.
- [3] Costigan M, Befort K, Karchewski L, et al. Replicate high-density rat genome oligonucleotide microarrays reveal hundreds of regulated genes in the dorsal root ganglion after peripheral nerve injury. *BMC Neurosci*, 2002, 25:16.
- [4] Kuo HS, Tsai MJ, Huang MC, et al. The combination of peripheral nerve grafts and acidic fibroblast growth factor enhances arginase I and polyamine spermine expression in transected rat spinal cords. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 357:1-7.
- [5] McIlvain HB, Baudy A, Sullivan K, et al. Pituitary adenylate cyclase-activating peptide (PACAP) induces differentiation in the neuronal F11 cell line through a PKA-dependent pathway. *Brain Res*, 2006, 1077: 16-23.
- [6] Azkue JJ, Zimmermann M, Hsieh TF, et al. Peripheral nerve insult induces NMDA-receptor-mediated, delayed degeneration in spinal neurons. *Eur J Neurosci*, 1998, 10: 2204-2206.
- [7] Morin N, Owolabi SA, Harty MW, et al. Neutrophils invade lumbar dorsal root ganglia after chronic constriction injury of the sciatic nerve. *J Neuroimmunol*, 2007, 184: 164-171.
- [8] Liu RY, Snider WD. Different signaling pathways mediate regenerative versus developmental sensory axon growth. *J Neurosci*, 2001, 21: RC164.
- [9] Sugitani K, Matsukawa T, Koriyama Y, et al. Upregulation of retinal transglutaminase during the axonal elongation stage of goldfish optic nerve regeneration. *Neuroscience*, 2006, 142: 1081-1092.
- [10] Xie Y, Yeo TT, Zhang C, et al. The leukocyte common antigen-related protein tyrosine phosphatase receptor regulates regenerative neurite outgrowth in vivo. *J Neurosci*, 2001, 21: 5130-5138.

(修回日期:2010-01-14)

(本文编辑:松 明)

本刊随时恭候广大读者、作者就如何办好刊物提出批评与建议