

## · 基础研究 ·

# 大鼠脊髓压迫性损伤后脱髓鞘病变及硫酸软骨素蛋白多糖的表达变化

黄思琴 漆伟 孙善全 汪克建 蒋锦 陆蔚天

**【摘要】目的** 探讨脊髓压迫性损伤(CSCI)后脱髓鞘病变及硫酸软骨素蛋白多糖(CSPG,NG2)的表达变化。**方法** 选取健康成年SD大鼠75只,雌雄不限,采用随机数字表法将其分为正常组、假手术组、CSCI 1 d组、CSCI 3 d组和CSCI 7 d组,每组15只。采用自行设计的大鼠脊髓压迫器制作脊髓压迫模型,应用BBB运动功能评分、钼酸染色及透射电镜观察CSCI后1 d、3 d及7 d时大鼠的运动功能情况及白质有髓神经纤维的病理变化,计算脊髓后索有髓神经纤维的数量及髓鞘厚度与轴突直径的比值即G-ratio值,并采用免疫印迹法检测NG2蛋白的表达变化。**结果** CSCI后,CSCI 1 d组、CSCI 3 d组和CSCI 7 d组的大鼠后肢BBB评分分别为 $(1.23 \pm 0.45)$ 分、 $(0.65 \pm 0.35)$ 分和 $(0.00 \pm 0.00)$ 分,与正常组 $(21.00 \pm 0.00)$ 分和假手术组 $(21.00 \pm 0.00)$ 分相比,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),大鼠的运动功能随受压时间延长而逐渐下降。钼酸染色显示正常组和假手术组大鼠的白质正常,脊髓受压后,CSCI 1 d组、CSCI 3 d组和CSCI 7 d组的有髓神经纤维开始出现水肿、变性、崩解,正常组和假手术组脊髓后索的有髓神经纤维计数分别为 $(2771 \pm 108)$ 根和 $(2675 \pm 199)$ 根,CSCI 1 d组、CSCI 3 d组和CSCI 7 d组的有髓神经纤维计数分别为 $(2403 \pm 161)$ 根、 $(1708 \pm 70)$ 根和 $(810 \pm 95)$ 根,压迫后有髓神经纤维数目减少,压迫后7 d,有髓神经纤维数目减至最低( $P < 0.05$ ),与正常组和假手术组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。电镜定量分析结果显示,正常组、假手术组、CSCI 1 d组、CSCI 3 d组和CSCI 7 d组的G-ratio值分别为 $(18.10 \pm 0.4)$ 、 $(17.70 \pm 1.0)$ 、 $(6.69 \pm 0.8)$ 、 $(5.73 \pm 0.4)$ 和 $(4.95 \pm 0.5)$ ,CSCI 1 d组、CSCI 3 d组和CSCI 7 d组的G-ratio值均较正常组和假手术组低,且在压迫后7 d时降至最低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。透射电镜结果显示,正常组和假手术组的轴突、髓鞘板层结构正常;脊髓受压后,轴索出现肿胀,轴浆内细胞器变性、坏死、减少;髓鞘折叠、皱缩,出现“洋葱皮”样变,髓鞘崩解;少突胶质细胞的染色质凝聚;巨噬细胞浸润。NG2蛋白免疫印迹结果显示,脊髓受压后,NG2蛋白表达水平在压迫后第1天升至最高( $P < 0.05$ ),且表达水平随压迫时间延长而逐渐下调,但均高于正常组和假手术组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** CSCI后,大鼠运动功能随受压时间延长而逐渐下降,有髓神经纤维发生脱髓鞘病变且数量减少,随着压迫时间延长,溃变呈现出进行性加重趋势;NG2细胞与CSCI后髓鞘的变化情况关系密切,可能增殖分化为少突胶质细胞或其它类型细胞,是脊髓髓鞘内源性修复的机制之一。

**【关键词】** 脊髓压迫性损伤; 脱髓鞘病变; 硫酸软骨素蛋白多糖

## Demyelination and changes in chondroitin sulfate proteoglycan expression after spinal cord compression injury

HUANG Si-qin\*, QI Wei, SUN Shan-quan, WANG Ke-jian, JIANG Jin, LU Wei-tian. \*The Traditional Chinese Medicine College, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Corresponding author: SUN Shan-quan, Email: sunsq2151@sohu.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the role of demyelination and the alteration of chondroitin sulfate proteoglycan (CSPG,NG2) expression after compression injury of the spinal cord (CSCI). **Methods** Seventy-five adult Sprague-Dawley rats were randomly divided into a normal group, a sham-operation group, a CSCI 1 day group, a CSCI 3 day group, and a CSCI 7 day group. There were 15 rats in each group. The injuries in the CSCI groups were inflicted using a technique devised in our laboratory. Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) neurological function assessment was used to assess the rats' motor function, osmic acid staining and transmission electronic microscopy (TEM) were used to observe any pathological changes of myelinated nerve fibers in the white matter at 1, 3 and 7 days after CSCI. The amount of myelinated nerve fibers in the posterior funiculus of the spinal cord and the ratio of myelin

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2013.04.002

基金项目:国家自然科学基金(30270437);重庆市卫生局中医药科技项目(2012-2-138);重庆市教委科学技术研究项目(KJ120312)

作者单位:400016 重庆,重庆医科大学中医药学院针灸推拿教研室(黄思琴);基础医学院解剖教研室(漆伟、孙善全、汪克建、蒋锦、陆蔚天)

通信作者:孙善全,Email:sunsq2151@sohu.com

sheath thickness to axon diameter (the G-ratio) were calculated. Any alteration in NG2 expression was observed by Western blotting. **Results** The average neurological function assessment scores in the CSCI groups were  $(1.23 \pm 0.45)$ ,  $(0.65 \pm 0.35)$  and  $(0.00 \pm 0.00)$  respectively. Compared with the normal group  $(21.00 \pm 0.00)$  and the sham operation group  $(21.00 \pm 0.00)$ , the differences were all statistically significant. The rats' motor function deteriorated gradually with time after the CSCI. Osmic acid staining showed that the white matter was intact in the normal and sham groups. After being compressed the myelinated nerve fibers became swollen, degenerated and broke down. The amount of myelinated nerve fibers in the normal group, the sham operation group and the three CSCI groups was  $(2771 \pm 108)$ ,  $(2675 \pm 199)$ ,  $(2403 \pm 161)$ ,  $(1708 \pm 70)$  and  $(810 \pm 95)$  respectively. The amount of myelinated nerve fibers decreased in the CSCI groups and reached a minimum on the 7th day. The difference was statistically significant. The TEM quantity analysis showed that the G-ratios in the normal, sham operation, and CSCI 1 day, 3 day and 7 day groups were  $(18.10 \pm 0.4)$ ,  $(17.70 \pm 1.0)$ ,  $(6.69 \pm 0.8)$ ,  $(5.73 \pm 0.4)$  and  $(4.95 \pm 0.5)$  respectively. Compared with the normal and sham operation groups, the G-ratios in the 3 CSCI groups were lower and reached their minimum on the 7th day after injury. The difference was statistically significant. TEM observation showed that the axons and myelin sheaths were intact in the normal and sham groups. After CSCI the axons became swollen and cell organelles in the axoplasm degenerated and decreased. The layers of myelin sheath shrank, folded and even wrinkled, which had an onion-like appearance. The oligodendrocytes exhibited chromatin condensation. Macrophages showed infiltration. Western blotting showed that the expression of NG2 in the CSCI groups reached a maximum on the 1st day after injury and then decreased with time. The expression of NG2 in the CSCI groups was higher than in the normal and sham groups, and the difference was statistically significant. **Conclusion** Demyelination occurs after CSCI-the amount of myelinated nerve fibers decreases and neurological deficits increase with time. The expression of NG2 was associated with changes in the myelin sheaths after CSCI and contributed to recovery of the myelin sheath through proliferation and differentiation to oligodendrocytes and perhaps other kinds of cells.

【Key words】 Compression injuries; Spinal cord injury, Demyelination; Chondroitin sulfate proteoglycan

脊髓压迫性损伤 (compressive spinal cord injury, CSCI) 是临床脊柱外科的常见疾病, 常常导致患者的生活质量降低, 严重危害着人类的生命健康, 同时, CSCI 的治疗也一直是康复领域研究的重点及难点之一<sup>[1]</sup>。有研究认为, 神经元凋亡是造成神经功能缺陷的重要病理机制之一<sup>[2]</sup>。实际上, 早在 1906 年就有研究指出, 脱髓鞘病变是 CSCI 中非常重要的病理变化<sup>[3]</sup>, 遗憾的是此结论并未能引起研究者的足够重视。近年来越来越多的研究表明<sup>[4-5]</sup>, 在 CSCI 过程中, 脱髓鞘病变是导致运动功能障碍的主要原因之一。有报道指出<sup>[6]</sup>, 在发育及成熟哺乳动物的中枢神经系统中, 有一种胶质细胞能被硫酸软骨素蛋白多糖 (chondroitin sulphate peoteoglycan, CSPG) 即 NG2 特异性标记, 故被称为 NG2 细胞。由于该细胞在发育早期能表达出未成熟少突胶质细胞的标记物, 所以它又常被命名为少突胶质前体细胞<sup>[7]</sup> (oligodendrocyte precursor cell, OPC)。目前, 在体情况下 NG2 细胞的功能研究, 尤其是 NG2 与 CSCI 后髓鞘修复之间的关系尚鲜见报道。为此, 本试验运用自行设计的大鼠脊髓压迫器制作 CSCI 模型<sup>[8]</sup>, 通过 BBB (Basso, Beattie and Bresnahan) 运动功能评分<sup>[9]</sup>、钼酸染色及透射电镜观察 CSCI 后大鼠运动功能和有髓神经纤维的病理变化, 采用免疫印迹法观察 NG2 的表达变化, 探讨 CSCI 后脱髓鞘病变规律及其与 NG2 表达变化间的关系。

## 材料与方法

### 一、实验动物与分组

选取健康成年无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 75 只, 雌雄不限, 体重 250 ~ 300 g, 由重庆医科大学实验动物中心提供, 将其按随机数字表法分为正常组、假手术组、CSCI 1 d 组、CSCI 3 d 组和 CSCI 7 d 组, 每组 15 只。

### 二、CSCI 模型制备

正常组不作特殊处理, 假手术组只做椎板切除术, 不进行脊髓压迫。CSCI 1 d 组、CSCI 3 d 组和 CSCI 7 d 组均采用自行设计的大鼠脊髓压迫器, 用 3.5% 的水合氯醛腹腔麻醉大鼠后, 无菌操作显露 T<sub>11</sub> ~ L<sub>3</sub> 椎板, 切除 L<sub>1</sub> 的椎板及前后关节突, 显露其所对应的脊髓, 将脊髓压迫钢板直接置于暴露的脊髓上, 然后将内固定器卡在 T<sub>12</sub> 的上、下后关节突分叉处与 L<sub>2</sub> 的棘突根部之间。将螺钉从内固定器小孔内拧入, 直至螺钉的前端与压迫钢板接触, 然后逐层缝合, 将螺帽暴露于皮肤外。麻醉苏醒后, 待大鼠下肢及大小便功能恢复正常, 提示造模成功。术后第 1 天将各组螺钉均拧入 1 圈, 即向内旋进 1 mm, 造成大鼠 CSCI, 表现为双下肢截瘫, 大小便失禁。每日给大鼠挤尿 4 ~ 5 次, 并进行抗感染、预防压疮等处理。

### 三、实验仪器及试剂

研究所用的仪器包括德国 LEICA CM1900 型恒冷

切片机、日本 Olympus-45 型显微照相系统、日本 Hitachi-7500 型透射电子显微镜。氯酸钾、浓甲醛溶液、冰醋酸、多聚甲醛、蔗糖、枸橼酸铅、醋酸铀、中性树胶等均为国产分析纯试剂；钼酸为南非进口分装试剂；NG2 抗体购于 Millipore 公司。

#### 四、神经功能检查

分别将各组大鼠放置于直径为 2 m 的圆形平台上,采用 BBB 评分法观察其后肢运动情况,观察时间为 4 min。根据其关节活动、前后肢协调运动、体质量支撑、躯干及尾的位置等情况进行评分,分值区间为 0~21 分,0 分代表后肢无活动,21 分表示后肢活动正常。观察者均为对评分标准十分熟悉的非本组实验人员,采用双盲、双人独立评分,取均值作为最终结果。

#### 五、钼酸染色

各组动物完成神经功能评定后,于第 1,3,7 天分别取 5 只大鼠,用 3.5% 水合氯醛以腹腔注射方式麻醉,开胸暴露心脏,经左心室插管至升主动脉起始处,剪开右心耳,用微量泵灌注温度为 4 ℃ 的生理盐水 200 ml,待流出液清亮后,灌注 40 g/L 多聚甲醛 450 ml,灌注固定后,取出以伤段脊髓为中心、长约 2 cm 的脊髓组织,将组织投入浸泡液(由 1% 钼酸 20 ml、1% 氯酸钾 60 ml、浓甲醛溶液 12 ml、冰醋酸 1 ml 配制而成)中,于 15~20 ℃ 的恒温条件下,暗处浸泡贮存。3 d 后取出浸泡组织,流水冲洗 1~2 d,采用 30% 的蔗糖脱水后,在恒冷切片机上作横断切片,切片厚约 10 μm,最后以中性树胶封片。在 400 倍光学显微镜下,每张切片在脊髓后索部位随机选取 5 个视野,所得图像用 Image J 图像软件分析计数有髓神经纤维数量。

#### 六、透射电镜检测

各组动物完成神经功能评定后,于 1,3,7 d 分别取 5 只大鼠,用 3.5% 水合氯醛以腹腔注射方式麻醉,打开胸腔暴露其心脏,经左心室插管至升主动脉起始处,剪开右心耳,用微量泵灌注温度为 4 ℃ 的生理盐水 200 ml,待流出液清亮后,再用 2.5% 戊二醛(0.1 mol/L PBS 配制, pH=7.4)400 ml 灌注固定后,取脊髓后索组织 1 mm<sup>3</sup>,置于 4% 戊二醛溶液中再固定 4 h,以 1% 钼酸染色后固定 1 h,逐级酒精丙酮梯度脱水,环氧树脂 618# 包埋,超薄切片,片厚 50 nm,用枸橼酸铅、醋酸铀双重染色,在 Hitachi-7500 型透射电镜下观察有髓神经纤维的超微结构变化。每个标本随机选取 4 个视野,放大 15 000 倍,运用 MIAS 医学图像分析管理系统计算髓鞘厚度与轴突直径的比值,即 G-ratio<sup>[10]</sup>。

#### 七、免疫印迹法

以 β-actin 作为内参照,分别取各时间点 CSCI 标本约 30 mg。加入液氮,研磨组织。根据细胞量吸取全蛋白裂解液 1 ml,加入蛋白酶抑制剂,12 000 r/min

离心 10 min,离心半径 r=20 min,吸上清,测量蛋白浓度。提取总蛋白,用 Lowry 法进行蛋白定量,取上清液经加热后按蛋白定量结果进行加样。经 12% 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 2 h,然后转移至硝酸纤维素膜,封闭 2 h 后进行 NG2 抗体孵育,4 ℃ 过夜。加入辣根过氧化物标记的二抗,37 ℃ 水浴恒温下孵育 1 h。最后采用化学发光法进行显影,利用凝胶成像系统捕获图片,用 Image J 软件进行半定量分析,结果以相对光密度值与面积的乘积表示,蛋白的相对含量=目的蛋白条带/β-actin 条带。

#### 八、统计学处理

采用 SPSS 17.0 版统计学软件进行分析,数据以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 形式表示,多组均数比较采用方差分析,两两比较采用最小显著差异法 (least significant difference, LSD) 法。P<0.05 认为差异有统计学意义。

## 结 果

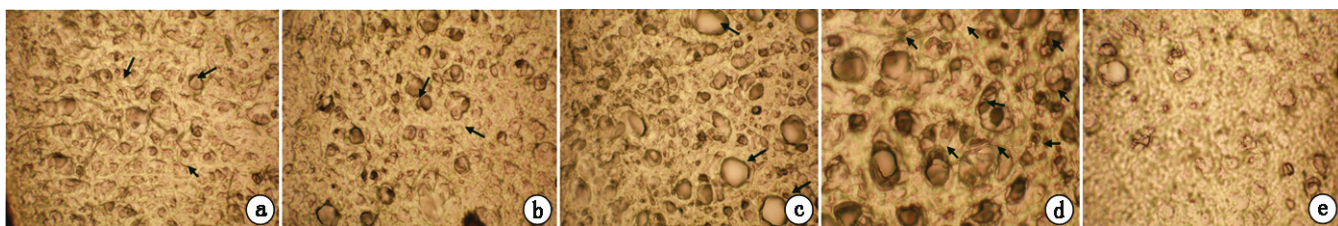
#### 一、BBB 评分、白质有髓纤维计数及 G-ratio 情况

正常组和假手术组大鼠后肢 BBB 评分均为 (21.00 ± 0.00) 分, CSCI 1 d 组、CSCI 3 d 组和 CSCI 7 d 组的大鼠后肢 BBB 评分分别为 (1.23 ± 0.45) 分、(0.65 ± 0.35) 分和 (0.00 ± 0.00) 分,与正常组和假手术组相比均明显下降 (P<0.05),且于压迫 7 d 时降至最低 (P<0.05)。正常组和假手术组脊髓后索的有髓神经纤维计数分别为 (2771 ± 108) 根和 (2675 ± 199) 根, CSCI 1 d 组、CSCI 3 d 组和 CSCI 7 d 组的有髓神经纤维计数分别为 (2403 ± 161) 根、(1708 ± 70) 根和 (810 ± 95) 根,压迫后有髓神经纤维数目减少,压迫后 7 d,有髓神经纤维数目减至最低 (P<0.05),与正常组和假手术组比较,差异有统计学意义 (P<0.05)。电镜定量分析结果显示,正常组、假手术组、CSCI 1 d 组、CSCI 3 d 组和 CSCI 7 d 组的 G-ratio 值分别为 (18.10 ± 0.4)、(17.70 ± 1.0)、(6.69 ± 0.8)、(5.73 ± 0.4) 和 (4.95 ± 0.5), CSCI 1 d 组、CSCI 3 d 组和 CSCI 7 d 组的 G-ratio 值均较正常组和假手术组低 (P<0.05),且在压迫后 7 d 时降至最低,差异有统计学意义 (P<0.05)。详见表 1。

表 1 各组大鼠 BBB 评分、白质有髓纤维计数及 G-ratio 值 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别         | 只数 | BBB 评分<br>(分)              | 白质有髓纤维<br>计数(根)           | G-ratio                   |
|------------|----|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 正常组        | 15 | 21.00 ± 0.00               | 2771 ± 108                | 18.10 ± 0.4               |
| 假手术组       | 15 | 21.00 ± 0.00               | 2675 ± 199                | 17.70 ± 1.0               |
| CSCI 1 d 组 | 15 | 1.23 ± 0.45 <sup>abc</sup> | 2403 ± 161 <sup>abc</sup> | 6.69 ± 0.8 <sup>abc</sup> |
| CSCI 3 d 组 | 15 | 0.65 ± 0.35 <sup>abc</sup> | 1708 ± 70 <sup>abc</sup>  | 5.73 ± 0.4 <sup>abc</sup> |
| CSCI 7 d 组 | 15 | 0.00 ± 0.00 <sup>ab</sup>  | 810 ± 95 <sup>ab</sup>    | 4.95 ± 0.5 <sup>ab</sup>  |

注:与正常组比较,<sup>a</sup>P<0.05;与假手术组比较,<sup>b</sup>P<0.05;与 CSCI 7 d 组比较,<sup>c</sup>P<0.05



注:a 为正常组;b 为假手术组;c 为 CSCI 1 d 组;d 为 CSCI 3 d 组;e 为 CSCI 7 d 组

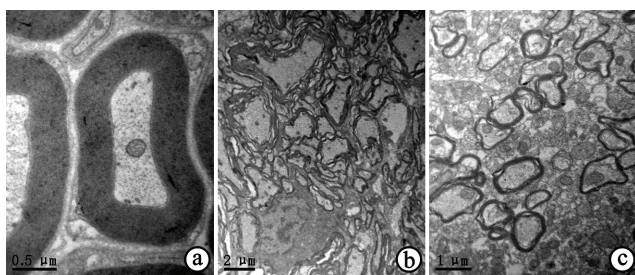
图 1 铁酸染色观察各组大鼠有髓神经纤维结构变化(铁酸染色,  $\times 400$ )

## 二、铁酸染色有髓神经纤维结构观察

正常组大鼠的白质正常,神经纤维分布均匀,髓鞘致密,轴浆密度均匀,见图 1a;假手术组大鼠的白质形态正常,仅极少量轴突肿胀,见图 1b;CSCI 1 d 组大鼠的白质以局部肿胀为主,少量髓鞘、轴突出现肿胀,神经纤维少量溃变,见图 1c;CSCI 3 d 组大鼠的神经纤维溃变逐渐加重,髓鞘、轴突肿胀明显,见图 1d;CSCI 7 d 组大鼠的白质呈疏网状改变,髓鞘崩解,神经纤维大量缺失,仅可见少量残留,见图 1e。

## 三、电镜有髓神经纤维超微结构观察

正常组大鼠的轴突间距、髓鞘板层结构正常,轴浆内可见神经微丝、神经微管及线粒体等细胞器,神经微丝的走向与轴索纵行方向一致,见图 2a。CSCI 3 d 组大鼠的轴索明显肿胀,轴浆内可见肿胀的线粒体及变性的神经微丝和微管,髓鞘发生折叠、皱缩,出现“洋葱皮”样变,少突胶质细胞内出现染色质凝聚,见图 2b。CSCI 7 d 组大鼠的轴突肿胀,神经微丝和微管可见不同程度地破裂、减少,线粒体裂解、消失;髓鞘崩解,巨噬细胞浸润,内有残片出现,见图 2c。



注:a 为 CSCI 1 d 组;b 为 CSCI 3 d 组;c 为 CSCI 7 d 组

图 2 电镜观察各组大鼠脊髓有髓神经纤维的超微结构

## 四、OPC 标记物 NG2 蛋白免疫印迹结果

各组样本均出现特异性免疫染色反应条带,将免疫印迹结果条带与标准蛋白分子质量相比后发现,脊髓受压后,NG2 蛋白表达水平在压迫后第 1 天升至最高( $P < 0.05$ ),且表达水平随压迫时间延长而逐渐下调,但均高于正常组和假手术组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。详见图 3、图 4。

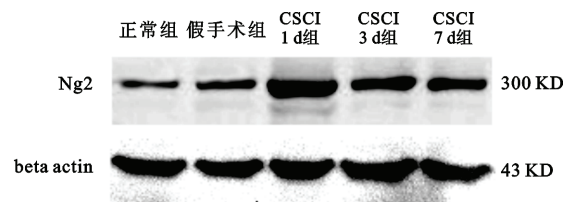
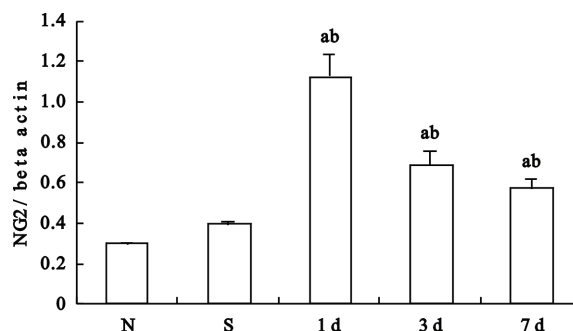


图 3 各组大鼠免疫印迹条带结果



注:N 为正常组,S 为假手术组,1 d 为 CSCI 1 d 组,3 d 为 CSCI 3 d 组,7 d 为 CSCI 7 d 组。与正常组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与假手术组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 CSCI 7 d 组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

图 4 不同时间点各组大鼠脊髓 NG2 蛋白表达变化

## 讨 论

CSCI 后可引起缺血、水肿、炎性细胞转移、微循环障碍、神经元丢失、轴突变性及脱髓鞘等一系列病理改变<sup>[11-13]</sup>,并最终导致神经功能障碍。一直以来,人们认为神经元丢失是造成神经功能损害的主要原因,而对于白质脱髓鞘病变的研究却相对较少。近年来,越来越多的研究表明,脱髓鞘病变是造成脊髓神经功能缺损的重要病理因素之一<sup>[4-5]</sup>。

本研究中 BBB 评分显示,CSCI 1 d 组、CSCI 3 d 组和 CSCI 7 d 组大鼠的运动功能随受压时间延长而逐渐下降,与正常组及假手术组相比,差异具有统计学意义。铁酸染色显示,正常组脊髓白质内的神经纤维分布均匀,髓鞘致密,当脊髓受到压迫后,髓鞘和轴突发生肿胀、崩解,有髓神经纤维数目逐渐减少,与正常组及假手术组比较,差异具有统计学意义。通过透射电镜还可观察到正常组和假手术组有髓神经纤维轴突和髓鞘的完整超微结构,受压后,轴索逐渐肿胀,轴浆内的细胞器水

肿、变性、坏死;髓鞘发生折叠、皱缩,出现“洋葱皮”样改变,逐渐崩解;少突胶质细胞内出现染色质凝聚,表明其已发生凋亡<sup>[14]</sup>;巨噬细胞浸润,内含残片。此外,G-ratio 值也随着时间延长而逐渐下降,在压迫第 7 天时降至最低。上述有髓神经纤维的病理变化与 BBB 评分变化趋势一致,提示 CSCI 后有脱髓鞘病变发生,且少突胶质细胞凋亡和巨噬细胞浸润是脊髓损伤后脱髓鞘病变的典型特征<sup>[15]</sup>。该病变随着脊髓受压时间的延长而逐渐加重,有髓神经纤维数量也逐渐减少,从而导致神经功能损害也呈现出进行性加重趋势。

有报道指出<sup>[16]</sup>,在发育及成年哺乳动物中枢神经系统中,胶质细胞的组成除星形胶质细胞、少突胶质细胞和小胶质细胞外,还有 NG2 细胞,这类细胞表面能被 NG2 特异性标记,在发育早期不仅可以表达出血小板衍生生长因子  $\alpha$  受体<sup>[17]</sup>等未成熟少突胶质细胞的标记物,还可分化为成熟少突胶质细胞,此后再由其形成中枢神经系统的髓鞘,因此 NG2 细胞又被称为少突胶质细胞前体细胞(OPC)。此外,NG2 细胞在一定条件下还可分化为星形胶质细胞和神经元。有学者指出<sup>[18]</sup>,中枢神经系统缺血损伤后,受损部位的 NG2 阳性细胞表达水平增加,胞体变大,数目增多,提示 NG2 细胞可能参与了损伤区域的修复。因此,NG2 细胞的增殖和分化在脊髓损伤后髓鞘的维持和修复方面具有重要作用<sup>[19]</sup>。本研究通过免疫印迹法检测到大鼠的 NG2 蛋白表达在压迫后第 1 天就上升至峰值,随着压迫时间延长,其表达水平逐渐下调,但仍高于正常组和假手术组水平;该结果提示,CSCI 后,受压部位缺血损伤,诱导 NG2 细胞大量增殖,并参与损伤部位的修复,故其表达水平在短时间内明显增高,但随着时间延长,具有分化潜能的 NG2 细胞开始分化为少突胶质细胞或其它类型细胞,并参与到髓鞘的内源性修复中,故其表达水平逐渐下调。然而也有学者发现<sup>[20]</sup>,在离体环境下,将纯化的 NG2 大片段胞外域加入到培养的神经元中,会迅速诱导生长锥塌陷,由此表明,NG2 细胞具有抑制轴突生长的特性。NG2 表达水平的上调可促进少突胶质前体细胞增殖,并分化为少突胶质细胞,对损伤脊髓髓鞘的修复具有积极意义。除此之外,NG2 还具有抑制轴突生长的作用,可对神经功能的恢复产生负面影响。

综上所述,本研究对 CSCI 后脱髓鞘病变的机制进行了深入探讨,发现 CSCI 后有髓神经纤维会发生脱髓鞘病变,且其数量随着压迫时间延长而逐渐减少,上述变化与 BBB 评分的变化趋势表现一致,且 NG2 细胞的表达变化与脊髓损伤后髓鞘的修复有关,是脊髓内源性修复的机制之一,为 CSCI 的干预性治疗提供了实验基础。

## 参 考 文 献

- [1] 王秋,许涛. 经颅和经脊髓低频磁刺激对脊髓损伤后生长相关蛋白-43 表达的影响. 中华物理医学与康复杂志,2012, 34:565-569.
- [2] Mizuno J, Nakagawa H, Inoue T, et al. Clinicopathological study of “snake-eye appearance” in compressive myelopathy of the cervical spinal cord. J Neurosurg,2003,99:162-168.
- [3] Holmes, G. On the relation between loss of function and structural change in focal lesions of the central nervous system, with special reference to secondary degeneration. Brain, 1907,29: 514-523.
- [4] All AH, Bazley FA, Gupta S, et al. Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitors aid in functional recovery of sensory pathways following contusive spinal cord injury. PLoS One,2012,7: 47645.
- [5] O’Gorman C, Lucas R, Taylor B. Environmental risk factors for multiple sclerosis: a review with a focus on molecular mechanisms. Int J Mol Sci,2012,13:11718-11752.
- [6] 戈鹤平,段树民. NG2 胶质细胞的研究进展. 神经损伤与功能重建,2006,1:133-137.
- [7] Nishiyama A. Polydendrocytes: NG2 cells with many roles in development and repair of the CNS. Neuroscientist,2007,1:62-76.
- [8] 梁益建,孙善全,汪克建,等. 大鼠脊髓慢性压迫性损伤实验模型的建立. 中国临床解剖学杂志,2006,24:320-324.
- [9] Menezes K,de Menezes JR,Nascimento MA,et al. Polyaminin, a polymeric form of laminin, promotes regeneration after spinal cord injury. FASEB J,2010,24:4513-4522.
- [10] Pavelko KD, van Engelen BG, Rodriguez M. Acceleration in the rate of CNS remyelination in lysocleithin-induced demyelination. J Neurosci, 1988,18:2498-2505.
- [11] Beattie MS, Hermann GE, Rogers RC, et al. Cell death in models of spinal cord injury. Prog Brain Res,2002,137:37-47.
- [12] Valenzuela V, Collyer E, Armentano D, et al. Activation of the unfolded protein response enhances motor recovery after spinal cord injury. Cell Death Dis,2012,3: 272.
- [13] Maegele M, Riess P, Sauerland S, et al. Characterization of a new rat model of experimental combined neurotrauma. Shock, 2005, 23: 476-481.
- [14] Casha S, Yu WR, Fehlings MG. Oligodendroglial apoptosis occurs along degenerating axons and is associated with FAS and p75 expression following spinal cord injury in the rat. Neuroscience,2001,103:203-218.
- [15] Dogan RN, Elhofy A, Karpus WJ. Production of CCL2 by central nervous system cells regulates development of murine experimental autoimmune encephalomyelitis through the recruitment of TNF- and iNOS-expressing macrophages and myeloid dendritic cells. J Immunol, 2008,180:7376-7384.
- [16] Nishiyama A, Komitova M, Suzuki R, et al. Polydendrocytes (NG2 cells): multifunctional cells with lineage plasticity. Nat Rev Neurosci, 2009,10:9-22.
- [17] Nishiyama A, Lin XH, Giese N, et al. Co-localization of NG2 proteoglycan and PDGF  $\alpha$ -receptor on O2A progenitor cells in the developing rat brain. J Neurosci Res,1996,43:299-314.
- [18] Wang A, He BP. Characteristics and functions of NG2 cells in normal brain and neuropathology. Neurol Res,2009,31:144-150.
- [19] Nishiyama A. Polydendrocytes: NG2 cells with many roles in development and repair of the CNS. Neuroscientist,2007,13:62-76.
- [20] 朱丽霞,田代实,王伟. NG2 在中枢神经系统中的作用及损伤后的反应. 卒中与神经疾病, 2008, 15:182-184.

(修回日期:2012-12-30)

(本文编辑:凌 琛)