

周围神经移植联合 aFGF 治疗急性 脊髓损伤的实验研究

于占革, 杨洪波

(哈尔滨医科大学附属第一医院骨科 150001 黑龙江省哈尔滨市)

【摘要】目的:探讨周围神经移植联合酸性成纤维细胞生长因子(aFGF)治疗大鼠脊髓损伤(SCI)的可行性及效果。**方法:**雌性 Sprague-Dawley 大鼠 115 只,随机分为 4 组。A 组(自体肋间神经移植组, $n=30$):在 T9 水平横行切断脊髓并切除 3mm,植入自体肋间神经;B 组(自体肋间神经联合 aFGF 移植组, $n=30$):同法制备脊髓横断模型,脊髓缺损处植入自体肋间神经和含 aFGF 的纤维蛋白凝胶;C 组(脊髓横断组, $n=30$):同法制备脊髓横断模型,断端间旷置;D 组(椎板切除组, $n=25$):仅行椎板切除术。分别通过 BBB 后肢运动功能评分、体感诱发电位(SEP)及运动诱发电位(MEP)、生物素葡聚糖胺(BDA)逆行神经示踪及荧光金(FG)逆行神经示踪,观察大鼠 SCI 恢复情况。采用 SPSS 13.0 软件行统计学分析。**结果:**术后 70d 时 A、B、C、D 组 BBB 后肢运动功能评分分别为 11.9 ± 1.42 分、 14.3 ± 1.27 分、 0.6 ± 0.51 分、 21.0 ± 0.00 分,各组间两两比较均有显著性差异($P < 0.01$)。术后 90d 时 C 组未引出 SEP 波形, A 组 SEP 潜伏期和波幅分别是 (62.7 ± 2.18) ms 和 (1.70 ± 0.07) μ V, B 组分别是 (40.6 ± 1.25) ms 和 (2.28 ± 0.12) μ V, D 组分别是 (10.1 ± 0.65) ms 和 (6.86 ± 0.19) μ V, A、B、D 三组间两两比较均有显著性差异($P < 0.01$)。C 组未引出 MEP 波形, A 组 MEP 潜伏期和波幅分别是 (12.7 ± 0.50) ms 和 (1.0 ± 0.18) mV, B 组分别是 (9.2 ± 0.20) ms 和 (1.3 ± 0.13) mV, D 组分别是 (6.4 ± 0.32) ms 和 (2.0 ± 0.18) mV, A、B、D 三组间两两比较均有显著性差异($P < 0.01$)。术后 90d 时, A 组在损伤区有 BDA 标记阳性神经纤维通过,计数为 (62.6 ± 8.04) 条,在颈髓背角、延髓薄束核和楔束核、网状结构、背侧丘脑腹后外侧核及大脑感觉皮层均发现 FG 标记阳性神经细胞,计数为 (4086.9 ± 182.58) 个, B 组分别为 (81.0 ± 4.62) 条和 (4979.3 ± 489.43) 个, D 组分别为 (158.6 ± 9.03) 条和 (6214.1 ± 423.98) 个, C 组在上述解剖区域未发现 BDA 标记阳性神经纤维和 FG 标记阳性神经细胞, A、B、D 三组间两两比较均有显著性差异($P < 0.01$)。**结论:**单纯周围神经移植能部分恢复脊髓功能,联合 aFGF 则能更好地恢复脊髓功能。

【关键词】 脊髓损伤;周围神经移植;神经纤维示踪;诱发电位;大鼠

中图分类号:R322.8, R683.2 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2008)-09-0698-05

The experimental study of treatment of acute spinal cord injury with peripheral nerve graft combined with aFGF/YU Zhange, YANG Hongbo//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2008, 18(9):698-702

【Abstract】 Objective: To explore the feasibility and effect of the repair of spinal cord injury (SCI) by peripheral nerve graft combined with aFGF in rats. **Method:** One hundred and fifteen female Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups. Group A ($n=30$): the spinal cord of rats was transected at T9 level, and 3mm of tissue was removed, the gap in the spinal cord was bridged by autogeneic intercostal nerve. Group B ($n=30$): the same methods as group A, however, fibrin glue with aFGF was used to fix the autogeneic intercostal nerve. Group C ($n=30$): transaction of the spinal cord at T9 level and removal of the tissue were made only. Group D ($n=25$): laminectomy only. Somatosensory evoked potentials (SEP), motor evoked potentials (MEP), BDA anterograde tracing, FG retrograde tracing, BBB open field locomotor test were used to evaluate the restoration after SCI in rats. All the results were analyzed statistically using the SPSS 13.0 software package. **Result:** The mean of BBB scores of group A, B, C and D at 70 days after operation were 11.9 ± 1.42 , 14.3 ± 1.27 , 0.6 ± 0.51 and 21.0 ± 0.00 , among the groups, there was significant difference between every two groups ($P < 0.01$). 90 days after operation, the SEP waveform disappeared in the group C, latency and amplitude of SEP were (62.7 ± 2.18) ms and (1.70 ± 0.07) μ V in the group A, (40.6 ± 1.25) ms and (2.28 ± 0.12) μ V in the group B,

第一作者简介:男(1967-),副主任医师,医学博士,研究方向:脊柱外科

电话:(0451)53643849 E-mail:zhangyu1967@yahoo.com.cn

(10.1±0.65)ms and (6.86±0.19)μV in the group D, among the group A, B and D, there was significant difference in the changes of SEP wave between every two groups ($P<0.01$). The MEP waveform disappeared in the group C, latency and amplitude of MEP were (12.7±0.50)ms and (1.0±0.18)mV in the group A, (9.2±0.20)ms and (1.3±0.13)mV in the group B, (6.4±0.32)ms and (2.0±0.18)mV in the group D, among the group A, B and D, the comparison between every two groups shown significant difference ($P<0.01$). In the group A, BDA anterograde labeling of nerve fiber presented at the graft site and FG retrograde labeling of nerve cell in cervical cord dorsal horn, gracile nucleus, cuneate nucleus, reticular formation, ventral posterolateral nucleus and sensory cortex were found, the count of BDA and FG positive were 62.6±8.04 and 4086.9±182.58 in the group A, 81.0±4.62 and 4979.3±489.43 in the group B, 158.6±9.03 and 6 214.1±423.98 in the group D, BDA anterograde labeling of nerve fiber and FG retrograde labeling of nerve cell were not found in the group C, among the group A, B and D, the comparison between every two groups had significant difference ($P<0.01$).

Conclusion: The peripheral nerve transplantation can promote the SCI repair partly, however, the transplantation with both peripheral nerve and aFGF can promote the SCI repair effectively.

[Key words] Spinal cord injury; Peripheral nerve transplantation; Neurofibril tracing; Evoked potential; Rat

[Author's address] Department of Orthopaedics, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, 150001, China

轴突再生是脊髓损伤(SCI)修复领域的研究热点,基础科学在此领域取得了一定的进展,发现了许多对轴突再生有效的方法,并且发现联合应用多种方法显示出较单独应用某种方法更好的效果。周围神经移植可对轴突再生起引导和桥梁作用,周围神经的雪旺氏细胞可髓鞘化再生轴突,合成、分泌多种高浓度神经营养因子、细胞外基质和细胞间黏附分子,有利于神经元存活并促进轴突再生^[1]。酸性成纤维细胞生长因子(aFGF)可调节细胞增殖、移行、分化和生存,也可以向下调节已知的轴突再生抑制因子,对神经纤维的再生有重要作用。本研究旨在探讨周围神经联合 aFGF 移植治疗大鼠 SCI 的可行性及效果。

1 材料与方法

1.1 实验动物的选取与分组

哈尔滨医科大学附属第一医院动物实验中心提供的健康成年雌性 Sprague-Dawley 大鼠 115 只,体重 248~325g (273.58±27.9g)。随机分为 4 组:A 组($n=30$),自体肋间神经移植组;B 组($n=30$),自体肋间神经联合 aFGF 移植组;C 组($n=30$),脊髓横断组;D 组($n=25$),椎板切除组。每组再随机分为 4 个亚组,第 1 亚组 7 只,用于体感诱发电位(SEP)及运动诱发电位(MEP)检测;第 2 亚组 7 只,用于生物素葡聚糖胺(BDA)顺行神经示踪;第 3 亚组 7 只,用于荧光金(FG)逆行神经示踪;第 4 亚组 9 只(D4 亚组 4 只),作为实验补充组。

1.2 实验动物模型制备

实验动物以 3%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(40mg/kg),以 T9 为中心纵行切开皮肤,分离椎旁肌,咬除 T8~T10 的棘突、椎板,显露硬膜囊,A、B、C 组用虹膜剪横行切断脊髓并切除 3mm,显微镜下确认无神经纤维相连。A 组和 B 组大鼠同时剥开椎旁肌,取双侧第 8~10 对肋间神经各 2cm,将肋间神经参考文献^[2-3]交叉移植入脊髓缺损处(近端白质与远端灰质、远端白质与近端灰质),A 组用纤维蛋白凝胶固定植入的肋间神经;B 组用含有 aFGF 的纤维蛋白凝胶(浓度为 2.1μg/ml)固定植入的肋间神经,缝合硬膜;C 组断端间旷置;D 组仅行椎板切除术。各组动物围手术期均肌肉注射庆大霉素(0.03mg/kg)3d,每日人工按摩膀胱排尿 3 次。

1.3 检测指标和方法

1.3.1 BBB 后肢运动功能评分 术后 70d,参考文献^[4]进行盲法 BBB 后肢运动功能评分,观察后肢功能恢复情况。取各组第 1、2、3 亚组共 21 只大鼠的 BBB 评分观察值用于统计分析。

1.3.2 BDA 顺行神经示踪 术后 76d,采用 BDA 顺行神经示踪技术,参考文献^[5-8],将 10% BDA 注入各组第 2 亚组大鼠双侧大脑初级运动皮层内,每只大鼠 BDA 注射总量为 1.26μl。术后 90d,用 4%多聚甲醛溶液灌注固定,取损伤区及损伤区下 5mm 脊髓组织冰冻切片,厚 20μm,每隔 3 片取 1 片,每只大鼠取 20 片,采用自由漂染法染色显影。光学显微镜下定量观察通过损伤区的纤维数量。

1.3.3 FG 逆行神经示踪 术后 76d, 各组第 3 亚组大鼠参考文献^[7,8], 在 T13 水平行椎板切除术, 将 4 μ l 4% FG 加压注入动物脊髓两侧。术后 90d, 4%多聚甲醛溶液灌注固定, 取脑和 C1~C3 脊髓节段, 在颈脊髓、延髓薄束核和楔束核、网状结构、背侧丘脑腹后外侧核及大脑感觉皮层水平行冰冻切片, 厚 8 μ m, 每隔 3 片取 1 片, 每只大鼠取 20 片。荧光显微镜下计数阳性标记的神经细胞数。

1.3.4 SEP 及 MEP 检测 术后 90d, 各组第 1 亚组大鼠麻醉后, 使用美国 Medtronic 公司生产的 KEYPOINT 4 诱发电位仪进行 SEP 及 MEP 检测并记录潜伏期和波幅, 观察神经电生理变化情况。

(1)SEP 检测: 环状刺激电极置于胫后神经处(踝关节上方), 环状参考电极置于远侧 1cm 处, 刺激强度 2.0mA, 刺激波宽 0.2ms, 刺激频率 1Hz, 叠加次数 300~500 次, 扫描速度 10ms/D (D 在诱发电位仪上代表一个单元格), 灵敏度 5 μ V/D, 电阻抗 <2.0 Ω 。记录电极安放于冠状缝和矢状缝愈合线的相交处头皮下(即后肢皮层感觉区), 参考电极置于其后方 0.5cm 处。地线安放于背部皮下。

(2)MEP 检测: 针状刺激电极置于顶冠状缝前 2mm、矢状缝旁 2mm 处头皮下(即大脑皮质运动区), 刺激强度 40mA, 刺激波宽 0.1ms, 刺激频率 1Hz, 叠加次数 300~500 次, 扫描速度 5ms/D, 灵敏度 2mV/D。记录电极安放于胫后神经处(踝关节上方), 参考电极置于远侧 1cm 处, 地线紧贴生理盐水浸湿的动物尾部。

1.4 统计学分析

所有数据均采用 SPSS 13.0 软件分析处理。采用完全随机设计的单因素方差分析 (one-way ANOVA) 推断各组间是否存在差异, 进一步采用 SNK-q 检验推断各组两两之间是否存在差异。P<0.05 为有显著性差异。

2 结果

2.1 一般情况

实验动物手术后观察 3 个月共存活 93 只, 死亡 22 只, A 组死亡 7 只, B 组死亡 7 只, C 组死亡 8 只, D 组全部存活, 死亡动物由各组第 4 亚组(实验补充组)补充。

2.2 BBB 后肢运动功能评分结果

D 组大鼠麻醉清醒后运动恢复正常。C 组大

鼠在观察期内后肢持续伸展、旋转, 术后 70d 时仅 12 只大鼠可见 1 或 2 个后肢关节轻度活动。A 组和 B 组大鼠后肢功能术后 3 周开始明显恢复, 70d 时 A 组大鼠后肢能支持体重, 负重步行, B 组大鼠可见协调足底负重步行。BBB 后肢运动功能评分 A、B 组明显高于 C 组 (P<0.01), B 组高于 A 组, 差异有统计学意义 (P<0.01, 表 1)。

2.3 BDA 顺行神经示踪结果

D 组大鼠可见大量 BDA 标记阳性神经纤维位于脊髓白质后索中的皮质脊髓束(图 1a, 后插页 V)。C 组大鼠在脊髓近侧断端可见到 BDA 标记阳性神经纤维, 但在移植位点及远侧断端未见 BDA 标记阳性神经纤维(图 1b, 后插页 V)。A 组和 B 组大鼠在相当于脊髓皮质脊髓束区域可见 BDA 标记阳性神经纤维从脊髓近侧断端通过移植植物到达远端灰质内, A 组可达到 T11~T12 水平, B 组可达到 T12~L1 水平(图 1c、d, 后插页 V)。在移植位点 BDA 阳性神经纤维数 A、B 组明显少于 D 组 (P<0.01), 多于 C 组 (P<0.01), 两组间比较, B 组明显多于 A 组 (P<0.01, 表 1)。

2.4 FG 逆行神经示踪结果

A 组和 B 组大鼠在颈髓背角、延髓薄束核和楔束核、网状结构、背侧丘脑腹后外侧核以及大脑感觉皮层有较多 FG 标记阳性神经细胞(图 2a、b, 后插页 V)。在上述的解剖区域, C 组未见 FG 标记阳性神经细胞, D 组可见大量 FG 标记阳性神经细胞(图 2c、d, 后插页 V)。各组在不同解剖区域的 FG 阳性神经细胞总数比较, 差异有统计学意义 (P<0.01, 表 1)。

2.5 诱发电位检测结果

A 组大鼠 3 只引出双侧 SEP, 4 只引出单侧 SEP, B 组大鼠 5 只引出双侧 SEP, 2 只引出单侧 SEP, 两组再次切断脊髓后 SEP 均消失。C 组大鼠未引出 SEP 波形。各组大鼠 SEP 潜伏期和波幅见表 2, 波形见图 3。A、B 组与 D 组比较, 差异显著

表 1 各组大鼠术后 70d 时 BBB 评分及 90d 时 BDA 阳性神经纤维和 FG 阳性细胞数 ($\bar{x} \pm s$)

	BBB 评分 (分)	BDA 阳性 神经纤维(条)	FG 阳性 神经细胞(个)
A 组	11.9 $\pm$ 1.42 ^{①②}	62.6 $\pm$ 8.04 ^{①②}	4086.9 $\pm$ 182.58 ^{①②}
B 组	14.3 $\pm$ 1.27 ^①	81.0 $\pm$ 4.62 ^①	4979.3 $\pm$ 489.43 ^①
C 组	0	0	0
D 组	21.0 $\pm$ 0.00	158.6 $\pm$ 9.03	6214.1 $\pm$ 423.98

注: ①与 C、D 组比较 P<0.01; ②与 B 组比较 P<0.01

($P<0.01$);B 组较 A 组潜伏期明显缩短,波幅明显升高,差异有显著性($P<0.01$)。

A 组大鼠 4 只引出双侧 MEP,3 只引出单侧 MEP,B 组大鼠 5 只引出双侧 MEP,2 只引出单侧 MEP,两组再次切断脊髓后 MEP 均消失。C 组大鼠未引出 MEP 波形。各组大鼠 MEP 潜伏期和波幅见表 2,波形见图 4。A、B 组与 D 组比较,差异有显著性($P<0.01$);B 组较 A 组潜伏期明显缩短,

波幅明显升高,差异有显著性($P<0.01$)。

表 2 各组大鼠诱发电位检测结果 ($\bar{x}\pm s$)

	SEP潜伏期 (ms)	SEP波幅 (μV)	MEP潜伏期 (ms)	MEP波幅 (mV)
A组	62.7 $\pm$ 2.18 ^{①②}	1.70 $\pm$ 0.07 ^{①②}	12.7 $\pm$ 0.50 ^{①②}	1.0 $\pm$ 0.18 ^{①②}
B组	40.6 $\pm$ 1.25 ^①	2.28 $\pm$ 0.12 ^①	9.2 $\pm$ 0.20 ^①	1.3 $\pm$ 0.13 ^①
C组	0	0	0	0
D组	10.1 $\pm$ 0.65	6.86 $\pm$ 0.19	6.4 $\pm$ 0.32	2.0 $\pm$ 0.18

注:①与 D 组比较 $P<0.01$;②与 B 组比较 $P<0.01$

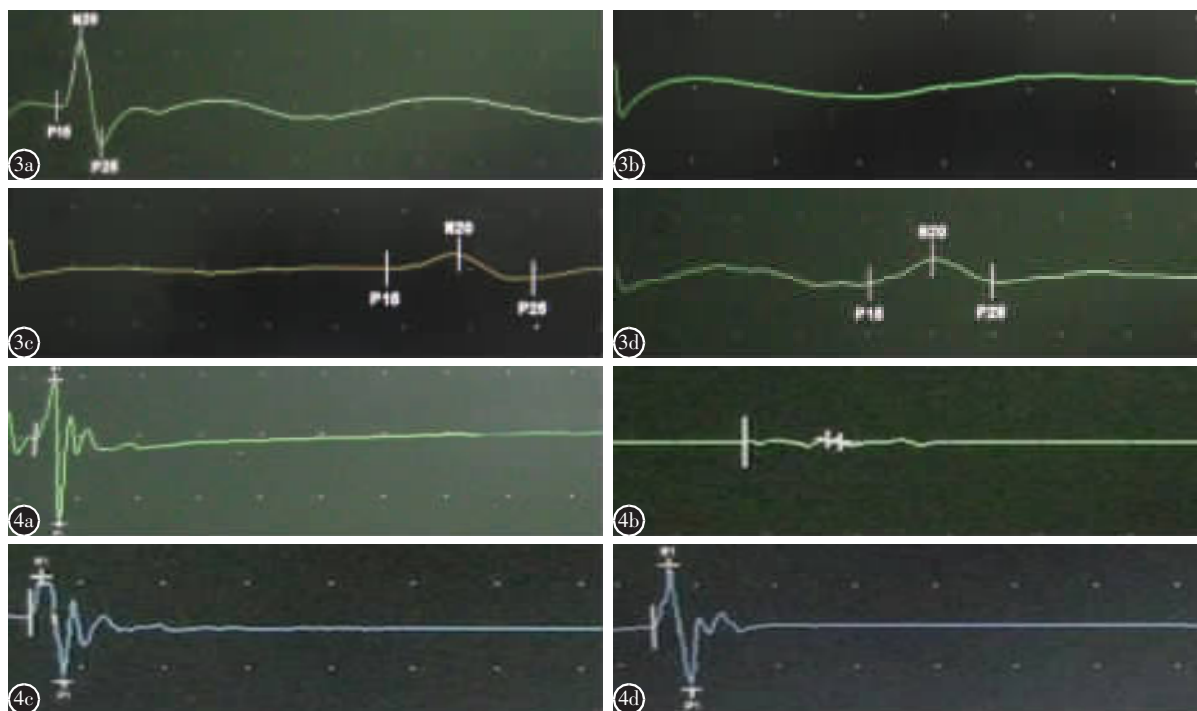


图 3 各组大鼠 SEP 波形 a D 组大鼠正常 SEP 波形,呈先正后负的 PN 型,从刺激至 P 波起始的距离可测出 SEP 的潜伏期,从基线到波峰的距离可测出 SEP 波幅 b C 组大鼠未引出 SEP 波形 c、d A 组和 B 组大鼠可记录到 SEP 波形,B 组潜伏期较 A 组明显缩短,波幅显著升高 图 4 各组大鼠 MEP 波形 a D 组大鼠正常 PN 型 MEP 波形,潜伏期为刺激至波形起始的时间,波幅为从基线至 N1 波峰的距离 b C 组大鼠未引出 MEP 波形 c、d A 组和 B 组大鼠可记录到 MEP 波形,B 组波幅较 A 组显著升高

3 讨论

中枢神经系统(CNS)轴突再生失败从大的方面来说有两个原因:(1)损伤的神经元存在内在再生能力的缺陷;(2)中枢微环境不适合轴突再生,如神经营养因子生成不足、细胞外基质不适宜、损伤产生了抑制神经元生长的因子、损伤局部胶质细胞形成坚硬的瘢痕妨碍轴突生长穿过等。因此,在 CNS 再生研究过程中,形成了两个重要的研究方向。一个是研究和改变中枢神经内在的生长能力。在这个方向上,目前的研究主要是试图了解控制 CNS 神经元存活和轴突生长的信号途径,从而对细胞内的信号途径实现干预。另外一个解决

CNS 再生的环境问题,利用移植的神经或细胞,提供损伤神经元再生的合适环境,促进受损神经的再生。既往的实验表明^[9],将周围神经植入成年哺乳动物损伤的脊髓内,不仅可诱导和促进脊髓再生,并且再生的轴突可沿着周围神经桥延伸较远的距离,动物脊髓功能可明显恢复。本研究也证明自体肋间神经移植后脊髓断端可见大量再生轴突通过移植神经向远端生长,诱发电位和 BBB 评分表明动物后肢功能明显改善,其可能的作用机制为:(1)引导和桥接作用,周围神经移植为损伤脊髓的轴突再生提供一个连接通道,让再生的神经轴突能够顺利通过损伤区,为损伤脊髓的远、

近侧残端重新形成神经突触联系创造条件^[10,11];
(2)中继作用,周围神经移植物作为一个中间站,使宿主上、下行传导束在此交换神经元后再传递到宿主远端,形成解剖结构上的连续性,为功能恢复奠定基础;(3)营养作用,周围神经含有雪旺氏细胞,可以为脊髓再生提供所需的微环境。此外,CNS的髓鞘是少突胶质细胞,产生较多的神经生长抑制因子,如髓鞘相关蛋白 MAG、Nogo、少突胶质细胞糖蛋白 OMgp 等,其中的大多数分子能够在脊髓损伤或胶质瘢痕形成过程中被诱导表达,不利于 CNS 轴突的再生。本研究用自体肋间神经将脊髓缺损处远端白质与近端灰质、近端白质与远端灰质交叉连接,使得生长的轴突能进入宿主灰质,避免了白质中髓鞘相关分子的抑制作用。

aFGF 是纤维原细胞生长因子家族中的一员,有许多功能,如调节细胞增殖、移行、分化和生存等^[12,13],向下调节已知的轴突再生抑制因子如蛋白聚糖等^[14],帮助轴突克服这些抑制因子,对神经纤维的再生有重要作用。本研究中自体肋间神经联合 aFGF 移植组与单纯自体肋间神经移植组比较,BDA 标记阳性的神经纤维从脊髓横断处近端通过移植物到达远端灰质内较远距离,可达到 T12~L1 水平,FG 标记阳性的神经细胞数、SEP 及 MEP 潜伏期和波幅、BBB 评分均明显优于后者,差异有统计学意义($P<0.01$)。表明 SCI 后单一的治疗方法不足以确保损伤传导束的再生和功能恢复,应用联合移植增加了恢复程度。已有的研究也表明联合应用一些治疗手段能更好地促进轴突的再生^[15,16]。但与脊髓未损伤组比较仍有显著性差异($P<0.01$),这是因为游离神经移植时,神经的厚度过大,组织液渗透及神经重新获得血管支配困难,容易发生移植神经的“中心性坏死”,只有少数神经元长入移植的神经中,脊髓功能恢复有限。鉴于脊髓再生的复杂性和困难性,任何单独的治疗手段可能都不足以修复损伤的脊髓,为了能最大程度修复损伤的脊髓,联合使用治疗性手段是必要的,如何设计合理、科学的联合治疗措施将是下一步研究的重点。

4 参考文献

1. Torigoe K, Hashimoto K, Lundborg G. A role of migratory Schwann cells in a conditioning effect of peripheral nerve regeneration[J]. *Exp Neurol*, 1999, 160(1): 99-108.
2. Cheng H, Cao Y, Olson L. Spinal cord repair in adult paraplegic rats: partial restoration of hind limb function[J]. *Science*, 1996, 273(5274): 510-513.
3. 孙永明, 郑祖根, 董启榕, 等. 周围神经不同移植方式修复治疗损伤脊髓的实验研究[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2003, 13(6): 351-354.
4. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats [J]. *J Neurotrauma*, 1995, 12(1): 1-21.
5. Sequeira H, Poulain P, Ba-M'Hamed S, et al. Immunocytochemical detection of fos protein combined with anterograde tract-tracing using biotinylated dextran[J]. *Brain Res Brain Res Protoc*, 2000, 5(1): 49-56.
6. 王星星, 查伟光, 易林华, 等. 生物素葡聚糖胺皮质脊髓束逆行示踪技术在大鼠脊髓损伤模型中的应用 [J]. *中华神经外科杂志*, 2004, 20(1): 51-54.
7. Liu Y, Kim D, Himes BT, et al. Transplants of fibroblasts genetically modified to express BDNF promote regeneration of adult rat rubrospinal axons and recovery of forelimb function [J]. *J Neurosci*, 1999, 19(11): 4370-4387.
8. 姚猛, 王岩松, 邓小明, 等. 周围神经移植联合神经营养因子修复脊髓传导束的实验研究 [J]. *中华骨科杂志*, 2005, 25(12): 731-735.
9. Wardrope J, Wilson DH. Peripheral nerve grafting in the spinal cord: a histological and electrophysiological study [J]. *Paraplegia*, 1986, 24(6): 370-378.
10. Schwab ME. Repairing the injured spinal cord [J]. *Science*, 2002, 295(5557): 1029-1031.
11. Geller HM, Fawcett JW. Building a bridge: engineering spinal cord repair [J]. *Exp Neurol*, 2002, 174(2): 125-136.
12. Laird JM, Mason GS, Thomas KA, et al. Acidic fibroblast growth factor stimulates motor and sensory axon regeneration after sciatic nerve crush in the rat [J]. *Neuroscience*, 1995, 65(1): 209-216.
13. Lee YS, Baratta J, Yu J, et al. AFGF promotes axonal growth in rat spinal cord organotypic slice co-cultures [J]. *J Neurotrauma*, 2002, 19(3): 357-367.
14. Höke A, Silver J. Proteoglycans and other repulsive molecules in glial boundaries during development and regeneration of the nervous system [J]. *Prog Brain Res*, 1996, 108: 149-163.
15. Lu P, Yang H, Jones LL, et al. Combinatorial therapy with neurotrophins and cAMP promotes axonal regeneration beyond sites of spinal cord injury [J]. *J Neurosci*, 2004, 24(28): 6402-6409.
16. Iannotti C, Li H, Yan P, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor enriched bridging transplants promote propriospinal axonal regeneration and enhance myelination after spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2003, 183(2): 379-393.

(收稿日期: 2008-02-28 修回日期: 2008-07-07)

(英文编审 郭万首)

(本文编辑 彭向峰)