

Nogo 蛋白及其抗体在脊髓损伤修复中作用的研究进展

The research progress of role of Nogo and Nogo-antibody in the repair of spinal cord injury

王自强¹, 刘彦², 宋科冉¹, 唐家广¹

(1 解放军总医院第一附属医院脊柱脊髓损伤科 100048 北京市;

2 解放军总医院第一附属医院全军骨科研究所 100048 北京市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2016.11.12

中图分类号: R683.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2016)-11-1033-05

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)多指由于外界直接或间接机械创伤因素导致的脊髓损伤,脊髓损伤包括创伤引起的原发性损伤,以及继发性缺血、炎症及神经退变等继发性损伤,脊髓损伤会导致损伤平面以下感觉、运动功能减退或丧失,给患者、家庭和社会带来沉重的负担^[1]。然而,目前仍缺乏对于脊髓损伤有效的治疗方法^[2]。对受损脊髓进行修复,是当前研究的热点,然而修复过程十分复杂,除了神经细胞的再生困难、神经胶质瘢痕、髓鞘糖蛋白的阻碍、神经生长因子的缺乏外^[3],研究发现轴突生长抑制因子 Nogo 是一个重要的因素, Nogo 蛋白对轴突再生有较大的抑制作用^[4],而通过制备 Nogo 蛋白特异性抗体,中和 Nogo 对轴突的抑制作用,对脊髓损伤修复有重要意义^[5]。笔者将 Nogo 及其抗体在 SCI 中作用综述如下。

1 Nogo 蛋白

1.1 Nogo 蛋白的结构

1988 年, Caroni 和 Schwab^[6]发现分子质量分别为 35kD(NI35)和 250kD(NI250)的两种蛋白片段,对神经的生长有很强的抑制特性。2000 年, Chen 等^[7]、GrandPre 等^[8]和 Prinjha 等^[9]同时报道了与 NI250 有关的基因 Nogo。Nogo 基因通过不同的转录 RNA 翻译成 3 种异构体,分别为 Nogo-A、Nogo-B、Nogo-C,其中, Nogo-A 是 Nogo 蛋白主要表达形式^[10]。Nogo-A 全长由 1163 个氨基酸构成,含有 172 个氨基酸组成的 N 端结构和由 188 个氨基酸组成的 C 端结构,与 Nogo-A 相比 Nogo-B 不含 Nogo-A 中间长度为 803 个氨基酸的序列, Nogo-C 由 N 端 11 个氨基酸和 C 端 188 个氨基酸构成;三者含有相同的长度为 188 个氨基酸的 C 端结构,其中有一段位于两端疏水区之间长度为 66 个氨基酸的区域(Nogo-66)^[7]。在进一步研究中发现 N 端

区域主要抑制神经细胞的迁移,而对神经元轴突生长的影响作用小;Nogo-A 蛋白中的特殊区域(aa 623-640)有强烈的抑制神经元轴突生长作用;Nogo-66 区域主要诱导轴突生长椎的崩溃,对抑制细胞迁移和神经轴突向外生长也有一定作用^[11]。通过蛋白质印迹法对 Nogo 蛋白定位分析,发现 Nogo 蛋白主要存在于成熟少突胶质细胞表面,是一种跨膜蛋白, Nogo-66 区域暴露在少突胶质细胞表面,被认为是 Nogo 蛋白发挥作用的主要区域^[12]。

1.2 Nogo 蛋白的表达分布

Huber 等^[13]使用蛋白质印迹分析 Nogo-A 蛋白的分布,发现 Nogo-A 蛋白高度表达在大脑和脊髓,在心脏和睾丸有低水平的表达;Nogo-B 在大脑、脊髓、睾丸、心脏、肺、脾和肾中表达较高,在肝脏中表达较低,在骨骼肌的神经轴突中,没有检测出 Nogo-B 的表达;Nogo-C 在骨骼肌神经轴突中表达较高,在大脑、脊髓和心脏表达较低。Walchli 等^[14]对刚出生不同天数的小鼠大脑进行蛋白质染色,在出生后第 9 天的小鼠大脑中,检查到了 Nogo 蛋白的表达,这与少突胶质细胞开始发育的时期相一致,进一步说明 Nogo 蛋白是由少突胶质细胞产生。Nogo 蛋白主要分布于内质网膜,少数分布于细胞表面^[15],细胞表面的 Nogo 蛋白是 Nogo 蛋白总量的 1%,其余 Nogo 蛋白在少突胶质细胞内以一种未处理的前体存在。研究发现, Nogo 蛋白与其受体接触部位主要位于轴突髓鞘接触处^[15],因此,轴突髓鞘接触部位可能会成为 Nogo 抗体中和 Nogo 蛋白发挥主要作用的主要作用区域。

1.3 Nogo-A 蛋白的功能

1.3.1 生理状态下 Nogo-A 蛋白的功能 Nogo-A 是 Nogo 基因的主要表达产物。Nogo-A 蛋白是一种多功能蛋白,在细胞迁移、轴突引导、胶质细胞分化和髓磷脂的形成中,都有着重要作用,在未损伤的机体中,有维持中枢神经系统可塑性和限制神经过度生长,从而达到维持中枢神经系统结构和功能稳定的作用^[16]。Nogo-A 在发育过程和成年活体内有不同的作用。近期的研究发现^[17], Nogo 蛋白起源于人的胚胎腹侧中脑具有多巴胺能的细胞系,通过体外培

基金项目:国家自然科学基金资助项目(项目编号:814720093)

第一作者简介:男(1992-),硕士在读,研究方向:脊柱脊髓损伤

电话:(010)66848873 E-mail: ziqiangwang304@163.com

通讯作者:唐家广 E-mail: tangjiaguang2013@163.com

养,发现在不成熟的多巴胺能神经元中,细胞质中的 Nogo-A 对神经轴突生长起始和分支形成有积极的作用。Kurowska 等^[17]将敲除 Nogo-A 基因的 Nogo-A KO 型小鼠与野生型(WT 型)的小鼠进行对比研究,发现在胚胎期和刚出生后的鼠中,WT 型小鼠在每 100 μ m 的神经长度中,观察到有平均 2 个神经突以及 3 个神经分支,而 Nogo-A KO 型小鼠中,每 100 μ m 的神经长度中只有平均 1 个突触和 1 个神经分支,这些结果暗示了 Nogo-A 对发育中的神经组织,有促进突触和神经分支形成的作用。因此,Nogo 蛋白对神经再生的具体作用,还需要更精细的试验来证实。中枢神经系统的 Nogo-A,也有保持稳定记忆痕迹的能力^[18]。Delekat 等^[19]研究 Nogo-A 对海马的作用,当使用抗体中和 Nogo-A 或者中和 Nogo-A 受体,以及在 Nogo-A 基因沉默型小鼠中,海马神经元突触间的长时程增强作用(long term potentiation, LTP)显著增强,而注入 Nogo-A 蛋白后的海马组织, LTP 并没有被减弱,由此推断 Nogo 在成熟的神经网络中,可能是一种十分重要的与功能和结构重塑有关的负调控因子。Walchli 等^[14]通过敲除 Nogo 基因,发现培养的大鼠体内血管内皮细胞有明显的出芽以及板状伪足和丝状伪足的出现,并且血管的密度有明显的增加,说明 Nogo-A 可负调节血管的生成。此外,在许多中枢神经疾病例如创伤性的脊髓损伤或者中风,以及神经退行性疾病如阿尔茨海默氏症、多发性硬化症等疾病,Nogo 蛋白都参与其病变过程^[16]。

1.3.2 脊髓损伤后 Nogo 蛋白的功能 研究表明,在脊髓损伤急性期时,在受损部位发现许多抑制性因子^[20],其中 Nogo-A 的含量增加更为明显。Wang 等^[21]利用实时定量 PCR 法,对在脊髓损伤鼠模型中不同时期 Nogo-A 蛋白含量进行记录,发现在脊髓损伤 24h 后,在损伤部位的 Nogo-A 及其 mRNA 与对照组相比表达下降,在脊髓损伤后第 3 天表达达到最低水平,之后迅速上升,在脊髓损伤后第 7 天达到峰值,达到峰值后 Nogo-A 及其 mRNA 表达缓慢下降,进一步研究脊髓损伤后早期 Nogo 蛋白表达的动态变化,对于脊髓损伤的治疗时机选择有很大的帮助。Liu 等^[22]使用 shRNA 敲出大鼠 Nogo 基因后,发现脊髓损伤大鼠的功能得到恢复,Wang 等^[23]将敲除 Nogo 基因的骨髓间充质干细胞和雪旺细胞移植入脊髓损伤模型大鼠中,发现脊髓损伤大鼠的运动功能得到明显改善。也有研究发现,在没有消除 Nogo 的情况下,脊髓损伤大鼠也有脊髓神经束的再生^[24]。Beattie 等^[25]对脊髓损伤 6 周的小鼠进行研究,发现小鼠损伤部位有大量的纤维生成,暗示在脊髓损伤后,小鼠体内有内源性的神经修复。Hill 等^[26]对大鼠 T9~T10 挫伤后不同时间的受损部位进行研究,发现在损伤后 2 周时,损伤部位有大量枯死的皮质脊髓束,在受损部位边缘有轴突的发芽和生长,这些纤维在损伤部位边缘生长至 0.5mm 便不再继续生长,在 14 周时损伤部位新生轴突的平均数量为 16.3 $\pm$ 5.8 条,而在 8 个月平均数量为 17.8 $\pm$ 5.2 条,表现出轴突的再生呈现衰竭的趋势。

2 Nogo 抗体

2.1 Nogo 抗体的作用机制

脊髓损伤后,Nogo 蛋白通过少突胶质细胞表面的 Nogo-66 区域直接与受损神经细胞的 Nogo 蛋白受体(Nogo receptor, NgR)结合;也可从受损的少突胶质细胞中脱落,水解出含有 Nogo-66 的片段或 Nogo-A 蛋白中的特殊区域^[27]。NgR 通过糖基化磷脂酰肌醇镶嵌于神经元细胞膜表面,需要神经营养因子受体(p75 neurotrophin receptor, p75NTR)、肿瘤坏死因子受体(orphan TNF receptor family, TROY)、跨膜信号蛋白(nogo receptor-interacting protein 1, Lingo-1)等作为协调因子,形成具有完整信号传导功能的复合体^[28],将髓磷脂相关抑制信号传递至细胞内,当抑制信号传至下游信号转导分子 Rho 激酶时,Rho 激酶蛋白酶活性增加,使胞内多个氨基酸位点磷酸化,形成有活性的 Rho 激酶,其在有活性的 Rho 激酶与效应蛋白 ROCK 结合,激活其蛋白酶活性,从而诱导生长锥的崩溃并抑制神经生长和轴突的出芽^[29]。Nogo 蛋白抗体通过与 Nogo 蛋白表面的特异性位点相结合,阻止其与受体 NgR 结合,阻断信号通路的传递,抑制 Rho 激酶的活化^[30],解除神经抑制作用,从而达到促进轴突生长的作用。

2.2 Nogo 蛋白抗体的制备

在早期的研究中,Caroni 等^[31]提纯大鼠中枢神经系统中质量为 250kD 的 Nogo 蛋白片段,通过淋巴细胞杂交瘤技术,在培养液中获得 5 种单克隆抗体,将其中一种对 Nogo 蛋白的中和作用最强的单克隆抗体,命名为 NI-1,之后,发现 NI-1 同样能特异性结合质量为 35kD 的蛋白片段,说明质量为 250kD 和 35kD 的蛋白有共同的抗原结构,将 NI-1 加入离体培养大鼠视神经中,视神经出现明显的生长。Oertle^[12]通过使用外切核酸酶 III 处理大鼠 Nogo-A/B/C,将其分解为不同的 Nogo 碎片,并使用 PCR 技术扩增 Nogo 碎片,使用不同碎片培养抗体,制备出抗血清(AS) 472[使用抗原序列为 NYESIKHEPENPPPYEEA(牛序列)或 SYDSIKLEPENPPPYEEA(大鼠 aa 623-640 序列)],AS 922(抗原序列为 RIYKGVIAIQKSDEGHPFRAYLESEV-AISEELVQKYSNSALGHV 人 Nogo-A 序列 aa 1055-1099)、AS Rosa(注入原核细胞内产生)、AS Bianca(注入原核细胞内产生)、AS Florina(抗原为 NiG)、AS Laura(抗原为 NiG);单克隆抗体(mAbs)11C7(抗原序列为 SYDSIKLEPENPPPYEEA 大鼠 aa 623-640 序列)、mAbs 11A8、7B12、3D11(抗原为 NiR-G)。Deng 等^[9]通过提取大鼠 Nogo-A 的 N 端碎片和 Nogo-66 碎片,获得两种单克隆抗体 anti-NogoA-N 和 anti-Nogo-66,通过免疫荧光组织化学染色和蛋白质印迹技术与常用的兔抗大鼠 Nogo-A 的多克隆抗体比较,发现两种抗体都可以特异性识别 Nogo-A 蛋白。目前,动物实验中最常用的 Nogo 蛋白抗体是兔抗鼠 Nogo-A(aa623-640)肽序列的单克隆抗体 11C7,在脊髓损伤后使用 11c7 抗体中和 Nogo 蛋白后均表现出促进神经再生的作用^[17,19,32-34]。

2.3 Nogo 蛋白抗体应用

在体外实验中, Yazdi 等^[34]将 Nogo-A 单克隆抗体 11c7 加入体外培养的鼠肾上腺嗜铬细胞(PC12 细胞)中,发现当 11c7 的浓度从 1 μ g/ml 到 12 μ g/ml 时,随着抗体浓度的增加,细胞增殖能力不断增强,在 12 μ g/ml 时,对细胞增生刺激作用最强烈。在试验中,没有发现使用单克隆抗体对细胞生存的不利因素。Wilems 等^[35]持续性使用 Nogo 抗体体外培养胚胎背根神经节,发现神经轴突生长明显,为脊髓损伤后轴突的生长提供了方法。在活体实验中,由于血脑屏障的存在,静脉注射 Nogo 蛋白抗体不能有效进入脊髓受损部位,不能发挥其作用,因此常采用硬脊膜内注射使抗体发挥作用^[36]。Craveiro 等^[37]将特异性的 anti-Nogo-A 抗体(11c7)和对照组(抗小鼠 IgG)分别鞘内持续注入正常成年大鼠的 CNS 中,观察 2~4 周,发现只有 11c7 散布在大鼠的大脑和整个脊髓中,而对照组中,只检测出低水平的染色;而且,注入 11c7 的正常成年大鼠体内出现了短暂的诱导神经元生长的反应,在中枢神经系统中脊髓损伤使用 Nogo 抗体治疗是安全的,为在临床试验中鞘内注射的应用提供了依据。Wannier-Morino 等^[37]将 mAb11c7 在 PBS 缓冲液中浓缩至 3.7~10mg/ml,用于治疗急性期 C7 单侧脊髓横断的恒河猴,使用自动微量施药泵以 5 μ l/h 的速度持续皮下泵入 2ml,3 个月后恒河猴手的灵巧性活动功能与受伤后相比有很大的改善,而且发现受损区域周围的轴突出芽增加。Nogo 蛋白抗体对治疗肌萎缩侧索硬化有一定作用,Bros-Facer 等^[38]将 anti-Nogo-A 抗体应用于早期有症状的肌萎缩侧索硬化小鼠,小鼠肌肉中的运动神经元生存明显增强,运动功能得到了显著的改善。在临床试验中,研究^[39]发现鞘内注入 anti-Nogo-A 抗体能够通过脑脊液渗透整个脊髓和大脑,促进发芽、轴突再生和改善中枢神经系统损伤后功能恢复,鞘内注入 anti-Nogo-A 抗体已应用于临床试验,用于研究治疗脊髓损伤及多发性硬化的患者。特异性的 Nogo 蛋白抗体可以通过结合 Nogo 蛋白及其主要功能区,中和其神经生长抑制作用^[39],从而促进损伤脊髓的再生。Popovich 等^[40]发现,在脊髓损伤后,脊髓纵轴不同长度血脑屏障会在脊髓损伤后出现暂时开放状态,时程在 4~28d,在此期间,屏障通透性改变,各种离子、氨基酸在此期间进入血脑屏障内,由此推断,对于脊髓损伤急性期,静脉注射 Nogo 抗体可在此期间发挥作用,对于陈旧性脊髓损伤,静脉注射可能无效。转铁蛋白(transferrin)位于血管表面负责将铁转运到中枢神经系统中,Yu 等^[41]将一种特殊的抗体与转铁蛋白结合,使抗体成功突破小鼠血脑屏障,该实验为 Nogo 抗体如何突破血脑屏障到达受损部位提供了新的研究思路。然而脊髓损伤后神经生长受到多种抑制因素的共同作用,单独使用 Nogo 抗体可能不能得到有效的结果。研究表明,使用神经营养因子结合 Nogo 蛋白抗体比单独使用两者在促进急性脊髓损伤后功能恢复方面有更好的效果^[42]。目前治疗脊髓损伤的方法还有硬膜下松解、神经胶质瘢痕清除以及神经胶原

支架^[43]等,进一步联合 Nogo 蛋白抗体可能会带来更好的结果。

3 展望

脊髓损伤是世界性的难题,仍未发现完全有效的治疗方法。动物实验已经证实应用 Nogo 蛋白抗体可以促进脊髓损伤后神经的恢复,可以继续研制 Nogo 蛋白不同位点的特异性抗体,获得对脊髓损伤修复最有利的抗体,目前常通过硬膜内注射将 Nogo 抗体送至损伤部位,近期研究发现转铁蛋白^[41]可帮助抗体突破血脑屏障,为 Nogo 蛋白通过循环系统到达受损部位提供了新的研究思路。对于 Nogo 蛋白抗体有效剂量、半衰期等问题仍需要进一步的研究。而对于 Nogo 抗体应用于临床治疗脊髓损伤,还需要更多大样本的临床试验来验证其安全性和有效性。

4 参考文献

- Ohtake Y, Li S. Molecular mechanisms of scar-sourced axon growth inhibitors[J]. Brain Res, 2015, 1619: 22-35.
- 贾军, 冯世庆, 曾宪铁, 等. Nogo 蛋白及其受体在脊髓损伤中的作用[J]. 国际骨科学杂志, 2015, 36(6): 441-444.
- Wang YT, Lu XM, Chen KT, et al. Immunotherapy strategies for spinal cord injury[J]. Curr Pharm Biotechnol, 2015, 16(6): 492-505.
- Schwab ME, Strittmatter SM. Nogo limits neural plasticity and recovery from injury[J]. Curr Opin Neurobiol, 2014, 27(1): 53-60.
- Deng B, Gao F, Liu FF, et al. Two monoclonal antibodies recognising aa 634-668 and aa 1026-1055 of NogoA enhance axon extension and branching in cultured neurons [J]. PLoS One, 2014, 9(2): e88554.
- Caroni P, Schwab ME. Two membrane protein fractions from rat central myelin with inhibitory properties for neurite growth and fibroblast spreading[J]. J Cell Biol, 1988, 106(4): 1281-1288.
- Chen MS, Huber AB, van der Haar ME, et al. Nogo-A is a myelin-associated neurite outgrowth inhibitor and an antigen for monoclonal antibody IN-1[J]. Nature, 2000, 403(6768): 434-439.
- GrandPre T, Nakamura F, Vartanian T, et al. Identification of the Nogo inhibitor of axon regeneration as a Reticulon protein [J]. Nature, 2000, 403(6768): 439-444.
- Prinjha R, Moore SE, Vinson M, et al. Inhibitor of neurite outgrowth in humans[J]. Nature, 2000, 403(6768): 383-384.
- Schwab ME. Nogo and axon regeneration[J]. Curr Opin Neurobiol, 2004, 14(1): 118-124.
- Yan J, Zhou X, Guo JJ, et al. Nogo-66 inhibits adhesion and migration of microglia via GTPase Rho pathway in vitro [J]. J Neurochem, 2012, 120(5): 721-731.
- Oertle T, van der Haar ME, Bandtlow CE, et al. Nogo-A inhibits neurite outgrowth and cell spreading with three

- discrete regions[J]. *J Neurosci*, 2003, 23(13): 5393–5406.
13. Huber AB, Weinmann O, Brosamle C, et al. Patterns of Nogo mRNA and protein expression in the developing and adult rat and after CNS lesions[J]. *J Neurosci*, 2002, 22(9): 3553–3567.
 14. Walchli T, Pernet V, Weinmann O, et al. Nogo-A is a negative regulator of CNS angiogenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(21): E1943–1952.
 15. Wang X, Chun SJ, Treloar H, et al. Localization of Nogo-A and Nogo-66 receptor proteins at sites of axon-myelin and synaptic contact[J]. *J Neurosci*, 2002, 22(13): 5505–5515.
 16. Schmandke A, Schmandke A, Schwab ME. Nogo-A: Multiple Roles in CNS Development, Maintenance, and Disease [J]. *Neuroscientist*, 2014, 20(4): 372–386.
 17. Kurowska Z, Brundin P, Schwab ME, et al. Intracellular Nogo-A facilitates initiation of neurite formation in mouse midbrain neurons in vitro[J]. *Neuroscience*, 2014, 256(2014): 456–466.
 18. Zagrebelsky M, Korte M. Maintaining stable memory engrams: new roles for Nogo-A in the CNS[J]. *Neuroscience*, 2014, 283: 17–25.
 19. Delekate A, Zagrebelsky M, Kramer S, et al. NogoA restricts synaptic plasticity in the adult hippocampus on a fast time scale[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(6): 2569–2574.
 20. Oyinbo CA. Secondary injury mechanisms in traumatic spinal cord injury: a nugget of this multiply cascade [J]. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 2011, 71(2): 281–299.
 21. Wang JW, Yang JF, Ma Y, et al. Nogo-A expression dynamically varies after spinal cord injury[J]. *Neural Regen Res*, 2015, 10(2): 225–229.
 22. Liu GM, Luo YG, Li J, et al. Knockdown of Nogo gene by short hairpin RNA interference promotes functional recovery of spinal cord injury in a rat model[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(5): 4431–4436.
 23. Wang D, Fan Y, Zhang J. Transplantation of Nogo-66 receptor gene-silenced cells in a poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) scaffold for the treatment of spinal cord injury [J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8(8): 677–685.
 24. Young W. Spinal cord regeneration[J]. *Cell Transplant*, 2014, 23(4–5): 573–611.
 25. Beattie MS, Bresnahan JC, Komon J, et al. Endogenous repair after spinal cord contusion injuries in the rat[J]. *Exp Neurol*, 1997, 148(2): 453–463.
 26. Hill CE, Beattie MS, Bresnahan JC. Degeneration and sprouting of identified descending supraspinal axons after contusive spinal cord injury in the rat[J]. *Exp Neurol*, 2001, 171(1): 153–169.
 27. 唐勇, 任先军. Nogo 受体和阻断剂与脊髓损伤[J]. *中国临床康复*, 2006, 10(42): 127–130.
 28. Hasegawa Y, Fujitani M, Hata K, et al. Promotion of axon regeneration by myelin-associated glycoprotein and Nogo through divergent signals downstream of Gi/G[J]. *J Neurosci*, 2004, 24(30): 6826–6832.
 29. Wu X, Xu XM. RhoA/Rho kinase in spinal cord injury[J]. *Neural Regen Res*, 2016, 11(1): 23–27.
 30. 王永堂, 鲁秀敏, 曾琳, 等. Nogo 及其受体在脊髓损伤修复中的作用机制 [J]. *中国康复理论与实践*, 2007, 13 (11): 1008–1010.
 31. Caroni P, Schwab ME. Antibody against myelin-associated inhibitor of neurite growth neutralizes nonpermissive substrate properties of CNS white matter[J]. *Neuron*, 1988, 1(1): 85–96.
 32. Zorner B, Schwab ME. Anti-Nogo on the go: from animal models to a clinical trial[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1198 (Suppl 1): E22–34.
 33. Craveiro LM, Weinmann O, Roschitzki B, et al. Infusion of anti-Nogo-A antibodies in adult rats increases growth and synapse related proteins in the absence of behavioral alterations[J]. *Exp Neurol*, 2013, 250: 52–68.
 34. Yazdi IK, Taghipour N, Hmadian S, et al. Antibody-mediated inhibition of Nogo-A signaling promotes neurite growth in PC-12 cells[J]. *J Tissue Eng*, 2016, 7: 1–9.
 35. Wilems TS, Sakiyama-Elbert SE. Sustained dual drug delivery of anti-inhibitory molecules for treatment of spinal cord injury[J]. *J Control Release*, 2015, 213: 103–111.
 36. Neuwelt EA, Bauer B, Fahlke C, et al. Engaging neuroscience to advance translational research in brain barrier biology[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2011, 12(3): 169–182.
 37. Wannier-Morino P, Schmidlin E, Freund P, et al. Fate of rubrospinal neurons after unilateral section of the cervical spinal cord in adult macaque monkeys: effects of an antibody treatment neutralizing Nogo-A[J]. *Brain Res*, 2008, 1217: 96–109.
 38. Bros-Facer V, Krull D, Taylor A, et al. Treatment with an antibody directed against Nogo-A delays disease progression in the SOD1G93A mouse model of Amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(16): 4187–4200.
 39. Zemmar A, Weinmann O, Kellner Y, et al. Neutralization of Nogo-A enhances synaptic plasticity in the rodent motor cortex and improves motor learning in vivo [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(26): 8685–8698.
 40. Popovich PG, Horner PJ, Mullin BB, et al. A quantitative spatial analysis of the blood-spinal cord barrier. I. Permeability changes after experimental spinal contusion injury[J]. *Exp Neurol*, 1996, 142(2): 258–275.
 41. Yu YJ, Atwal JK, Zhang Y, et al. Therapeutic bispecific antibodies cross the blood-brain barrier in nonhuman primates[J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(261): 261ra154.
 42. Zhang Y, Gu Z, Qiu G, et al. Combination of chondroitinase ABC, glial cell line-derived neurotrophic factor and Nogo A antibody delayed-release microspheres promotes the

实验性脊髓损伤模型的研究进展

Research progress of experimental spinal cord injury model

吴 狄, 郑 超, 伍 骥, 黄蓉蓉

(中国人民解放军空军总医院骨科 100142 北京市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2016.11.13

中图分类号: R683.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2016)-11-1037-05

脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 在美国以 10000 人/年的速度递增, 法国 1000 人/年, 德国 2000 人/年^[1]。SCI 可由多种不同原因的损伤机制引起^[2]。一个多世纪以来, 各国学者对 SCI 进行了大量研究, 涌现出了各种新的治疗措施, 脊髓再生实验也带来了令人鼓舞的前景, 这些成绩的取得主要归结于实验性 SCI 模型的建立和发展^[3]。为此, 笔者就有关实验性 SCI 模型的研究进展综述如下。

1 实验动物的选择

实验研究 SCI 至今, 已有不少种类动物被选入实验^[4]。

1.1 大鼠

其脊髓结构近似于人类, 经济、来源广泛。现有的实验观察标准, 如功能评分及形态定量, 都首先建立在大鼠的实验模型上^[5-11]。大鼠被认为是研究 SCI 的一种有效的、合理的、较为理想的实验动物^[6]。但大鼠并非灵长类动物, 其神经解剖与人类有较大差别, 导致实验结果的变异性较大。

1.2 兔

虽然兔的中枢神经不如猫发达, 但其脊髓的解剖结构与其他动物相比存在着重要差别。兔的腰段脊髓为 7 个节段, 较粗大, 一直延伸到骶管内。这些解剖特点造成了脊髓较易受缺血机制的影响^[12]。同时兔的脊髓血管类似于人

类, 侧支循环较猫和鼠的变异少, 相对恒定^[13]。血管结构简单, 呈节段分布, 缺血后病理变化规则, 重复性好, 特别适用于脊髓缺血性损伤模型^[13-15]。

1.3 猫

猫的中枢神经较为发达, 是较为理想的实验动物。但猫的脊髓侧支循环较多, 不恒定。在肾动脉以上的主动脉常有一到数支动脉分支供应腰段和骶段脊髓, 压迫腹主动脉常不能导致下段脊髓的缺血性损伤^[16], 故不适合制作脊髓缺血性损伤模型。另外, 猫不如大鼠及兔经济和来源广泛^[16]。

1.4 其他

除以上最常用的实验动物外, 还有犬、猴、猪等被选入作为实验动物建立实验性 SCI 模型, 它们中有的中枢神经系统虽然更接近于人类, 但受到动物来源及经费等因素的限制, 难以获得足够的样本量^[17, 18]。

2 机械性实验性 SCI 的模型

根据临床上各式各样的创伤性 SCI, 有学者模拟了相应的机械性实验性 SCI 模型, 包括动力负荷模型 (dynamic load model) 和静力负荷模型 (static load model)^[6]。

2.1 动力负荷模型

2.1.1 脊髓背侧撞击模型 Allen^[19] 的重物坠击 (weight dropping, WD) 技术首先引进了定量的概念, 人们从此把它看成是实验性 SCI 的标准技术。但是, Allen 的 WD 技术中尚有一些问题正在受到许多学者的批评。

(1) 技术问题。WD 技术中最严重的问题就在于 SCI 的瞬时脊柱和脊髓的不稳定和脊髓的侧向偏移, 导致了 SCI 的不对称, 损伤范围不恒定, 症状出现与否以及程度

第一作者简介: 男 (1991-), 大连医科大学在读硕士研究生, 研究方向: 脊柱外科

电话: (010) 66928362 E-mail: wdnjmu@163.com

通讯作者: 伍骥 E-mail: bjwuji@sina.com

functional recovery of spinal cord injury[J]. J Craniofac Surg, 2013, 24(6): 2153-2157.

43. Xiao Z, Tang F, Tang J, et al. One-year clinical study of NeuroRegen scaffold implantation following scar resection in

complete chronic spinal cord injury patients [J]. Sci China Life Sci, 2016, 59(7): 647-655.

(收稿日期: 2016-09-12 修回日期: 2016-10-29)

(本文编辑 彭向峰)