

脊髓损伤大鼠触液神经元中 p75NTR 的表达

王 栋¹, 谢斌华¹, 张慧芊¹, 吕谨南¹, 王 硕¹, 李 青²

(1 贵州医科大学 550004 贵阳市; 2 贵州医科大学附属医院急诊骨科 550004 贵阳市)

【摘要】目的:探讨大鼠触液神经元(cerebrospinal fluid-contacting neurons, CSF-CNs)p75 神经营养因子受体(p75 neurotrophin receptor, p75NTR)在脊髓损伤后的表达变化。**方法:**成年雌性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 36 只, 按随机数字表法分为正常对照组(6 只)、假手术组(6 只)和脊髓损伤组(24 只), 脊髓损伤组采用 Allen's 打击模型(10g×3cm)在大鼠脊髓 T10 段造成急性脊髓损伤, 分别于损伤 3d、1 周、2 周、4 周后进行取材; 对照组不做任何处理, 假手术组只暴露脊髓, 不击伤脊髓。对各组大鼠运动功能行 BBB 评分, 各时间点取材行病理切片 HE 染色观察。取材前 48h 侧脑室注射霍乱毒素 B 亚单位与辣根过氧化物酶复合物(CB-HRP)特异性标记触液神经元。处死大鼠后, 取损伤的脊髓节段 10mm, 用免疫荧光双标法检测触液神经元 p75NTR 的表达, Image-Pro Plus 计数目标神经元 CB-HRP/p75 双阳性细胞的数目。**结果:**假手术组各时间点 BBB 评分均为 21.0±0; 脊髓损伤组在术后 3d、1 周、2 周、4 周各时间点 BBB 评分分别为 3.20±0.81、10.73±1.02、12.48±1.86、13.29±1.93, 两组各时间点差异均具有统计学意义($P<0.05$)。HE 染色可见正常对照组和假手术组脊髓组织结构完整, 细胞形态正常; 脊髓损伤组脊髓组织结构紊乱, 神经元变性坏死, 胶质细胞增生, 胶质瘢痕和脊髓空洞形成。免疫荧光双标示正常对照组和假手术组可见少量 CB-HRP/p75 双阳性细胞, 计数分别为 5.16±0.55、4.31±0.61, 两组比较差异无统计学意义($P>0.05$); 脊髓损伤组伤后 3d、1 周、2 周 CB-HRP/p75 双阳性细胞数分别为 13.35±1.53、21.68±2.15、16.26±2.09, 与正常对照组和假手术组比较差异均有统计学意义($P<0.05$), 伤后 4 周时, CB-HRP/p75 双阳性细胞数为 4.83±0.73, 与正常对照组和假手术组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论:**p75NTR 可在大鼠脊髓触液神经元中表达, 且在脊髓损伤后表达增加, 触液神经元可能通过 p75NTR 参与脊髓损伤的修复过程。

【关键词】脊髓损伤; 触液神经元; p75 神经营养因子受体

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2017.04.11

中图分类号: R683.2, Q592.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2017)-04-0361-07

Expression of p75NTR in cerebrospinal fluid-contacting neurons of rats with spinal cord injury/WANG Dong, XIE Binhua, ZHANG Huiqian, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2017, 27(4): 361-367

【Abstract】 Objectives: To investigate the changes in expression of p75 neurotrophin receptor(p75NTR) in cerebrospinal fluid-contacting neurons(CSF-CNs) of rats with spinal cord injury. **Methods:** Thirty-six female adult Sprague-Dawley(SD) rats were randomly divided into normal control group($n=6$), sham operation group($n=6$) and spinal cord injury group($n=24$). Allen's weight-drop method(10g×3cm) was adopted to induce acute spinal cord injury at T10 segment. Rats were sacrificed at 3 days and 1, 2 and 4 weeks respectively after injury. All animals were evaluated on the hind limb behavior with BBB locomotor score. HE staining was performed at different time points. Intracerebroventricular injection of cholera toxin subunit B with horse radish peroxidase (CB-HRP) was performed to specifically mark CSF-CNs at 48h before animals were sacrificed at each time point. After rats were sacrificed, double immunofluorescence staining was performed at spinal site within 10mm away from the injury to detect the expression of p75NTR in CSF-CNs. Software Image-Pro Plus was used to count the positive neurons. **Results:** The BBB score of sham operation group at each time point was 21.0±0. The BBB score of spinal cord injury group at each time point of 3 days and 1,

基金项目: 贵州省科技计划(黔科合 LH 字[2014]7149)

第一作者简介: 男(1991-), 硕士在读, 研究方向: 脊柱脊髓损伤

电话: (0851)86760914 E-mail: wangdong_119@126.com

通讯作者: 李青 E-mail: liq168@163.com

2 and 4 weeks after injury was 3.20 ± 0.81 , 10.73 ± 1.02 , 12.48 ± 1.86 , 13.29 ± 1.93 respectively. There were significant differences between the two groups at different time points ($P < 0.05$). HE staining showed that in normal control group and sham operation group, the structure of spinal cord was complete and the cell morphology was normal; in spinal cord injury group, disorder of spinal cord tissue, degeneration and necrosis of nerve cells, proliferation of glial cells, formation of glial scar and spinal cord porosis were found. Double immunofluorescence staining showed that there were a few CB-HRP/p75 double positive cells in normal control group and sham operation group. The number of CB-HRP/p75 double positive cells in these two groups was respectively 5.16 ± 0.55 , 4.31 ± 0.61 . There was no significant difference between the two groups ($P > 0.05$). The number of CB-HRP/p75 double positive cells in spinal cord injury group at 3 days and 1, 2 and 4 weeks after injury was 13.35 ± 1.53 , 21.68 ± 2.15 , 16.26 ± 2.09 respectively. Compared with normal control group and sham operation group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). At 4 weeks after injury, the number of CB-HRP/p75 double positive cells was 4.83 ± 0.73 . Compared with normal control group and sham operation group, the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusions:** p75NTR is expressed in CSF-CNs of the normal rats and its expression increases after acute spinal cord injury. CSF-CNs might participate in the repair of spinal cord injury via p75NTR.

[Key words] Spinal cord injury; Cerebrospinal fluid-contacting neurons; P75 neurotrophin receptor

[Author's address] Guizhou Medical University, Guiyang, 550004, China

接触脑脊液神经元 (cerebrospinal fluid-contacting neurons, CSF-CNs), 即触液神经元, 是大脑和脊髓中能够借胞体或突触直接与脑脊液接触的特殊神经元^[1]。此类神经元可感知脑脊液内物质变化, 并通过吸收或释放生物活性物质, 参与脑实质、脊髓实质与脑脊液之间的物质交换、信息传递和功能调控^[2-4]。有研究表明, 脊髓损伤后, 脑脊液中的物质成分会发生明显改变^[5]。虽然, 我们尚无法明确这种成分变化的根源, 但鉴于触液神经元在脊髓-脑脊液之间的桥梁作用, 我们推测脊髓损伤可能与触液神经元有关。p75 神经营养因子受体 (p75 neurotrophin receptor, p75NTR), 是肿瘤坏死因子受体 (tumor necrosis factor receptor, TNFR) 超家族中的成员, 为神经营养素 (neurotrophin, NT) 的低亲和力受体^[6]。p75NTR 在神经系统发育过程中广泛表达, 并介导不同信号转导通路发挥多重生物学效应^[7, 8]。近年有研究表明, p75NTR 参与调控神经元再生^[9], 在脊髓损伤后神经功能的保护和恢复过程中起着非常重要的作用^[10, 11]。本研究采用免疫荧光双标法观测大鼠脊髓损伤后触液神经元中 p75NTR 的表达变化, 探讨触液神经元在脊髓损伤中发挥的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

雌性成年 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 36 只, SPF 级, 体重 240 ± 10 g, 由贵州医科大学实验动物

中心提供, 实验动物许可证号: SCXK (黔)2012-0001, 并得到贵州医科大学实验动物伦理委员会的许可。采用随机数字表法, 将其分为正常对照组 (6 只)、假手术组 (6 只) 和脊髓损伤组 (24 只)。脊髓损伤组按照取材时间的不同, 分为脊髓损伤后 3d、1 周、2 周、4 周, 每个时相点 6 只。

1.2 主要仪器和试剂

大鼠脑立体定位仪 (深圳瑞沃德公司); 激光共聚焦显微镜 (日本 Olympus 公司); 病理切片机 (德国 Leica 公司); CB-HRP、CB 一抗 (美国 Sigma 公司); p75NTR 一抗 (英国 Abcam 公司); CB 二抗、p75NTR 二抗 (武汉博士德生物公司)。

1.3 大鼠运动功能评分

采用 BBB (Basso-Beattie-Bresnahan) 评分来评估实验大鼠的运动功能。评分过程中采用双盲法对假手术组和脊髓损伤组 (手术前及手术后 3d、1 周、2 周、4 周), 分别进行运动功能评分。

1.4 脊髓损伤模型的建立

正常对照组大鼠不做任何处理, 其余大鼠用 10% 水合氯醛 (350mg/kg) 腹腔注射麻醉。备皮后固定, 常规消毒, 铺无菌手术洞巾, 以 T10 棘突为中心作后背正中切口, 长约 3cm, 依次切开皮肤及皮下组织, 分离两侧椎旁肌肉, 显露棘突, 确定椎体后, 将 T10 椎板全部切除, 保留硬脊膜。假手术组只暴露脊髓, 不击伤脊髓。脊髓损伤组采用改良 Allen 打击法, 即在暴露的脊髓硬脊膜上以 $10\text{g} \times 3\text{cm}$ 的能量撞击脊髓, 并立即移开。打击后出现双

后肢抽搐、鼠尾痉挛性摆动标志造模成功。完成造模后温生理盐水清洗伤口,逐层缝合并消毒,饲养于配有空调的独立通气笼具系统,自由饮食。每日膀胱区按压排尿 2 次。

1.5 侧脑室注射霍乱毒素 B 亚单位与辣根过氧化物酶复合物(CB-HRP)^[12]

大鼠处死前 48h,腹腔注射 10%水合氯醛(350mg/kg)麻醉,参照 Paxinos 和 Watson《大鼠脑立体坐标图谱》,将大鼠头部固定于脑立体定位仪,切开头顶部皮肤及皮下组织,暴露骨缝。侧脑室定位:前囟:(-1.2±0.4)mm;深:(3.2±0.4)mm;中缝向右旁开(1.4±0.2)mm。缓慢向侧脑室注射 30%CB-HRP,3μl/只,留针 10min。在原环境中喂养 48h(根据 CB-HRP 在神经元轴浆运输所需的时间确定)后灌注取材。

1.6 标本取材

分别在各时间点取材,将大鼠用 10%水合氯醛(400mg/kg)腹腔注射,深麻醉后,分离胸部皮肤、肌肉及骨骼,暴露心脏,行左心室-主动脉插管。首先,灌注生理盐水 100ml,冲去血管中的血液。然后,灌注 4%多聚甲醛溶液 400ml 固定。以打击处为中心,取伤段脊髓组织 10mm,放入 4%多聚甲醛溶液中固定。梯度乙醇脱水,石蜡包埋,制备 4μm 组织切片。

1.7 组织病理学检测

脊髓损伤组大鼠分别在术后 3d、1 周、2 周、4 周取损伤脊髓组织行病理学检查,使用苏木精-伊红(Hematoxylin-Eosin staining, HE)染色,观察组织切片中细胞形态学变化和空洞形成情况。

1.8 免疫荧光双标记分析

CB-HRP 和 p75NTR 免疫荧光双标。石蜡切片、脱蜡、梯度酒精至水。0.01mol/L 的 PBS 漂洗 3min/次×3 次。加正常山羊血清,37℃封闭 30min,吸除封闭液,滴加兔抗大鼠 CB 一抗(1:200)4℃孵育过夜。漂洗 3min/次×3 次,加入荧光(Cy3)标记的山羊抗兔二抗(1:100),37℃孵育 1h,漂洗 3min/次×4 次。加正常山羊血清,37℃封闭 30min,吸除封闭液,滴加小鼠抗大鼠 p75NTR 一抗(1:100)4℃孵育过夜。漂洗 3min/次×3 次,滴加荧光(FITC)标记的山羊抗小鼠二抗(1:100),37℃孵育 1h,漂洗 3min/次×4 次。滴加 DAPI 避光孵育 5min,对标本进行染核,漂洗 5min/次×4 次,洗去多余的 DAPI。用含抗荧光淬灭剂的封片液封片,然后在荧光显

微镜下观察采集图像。视野中,CB-HRP 阳性的细胞显示为红色荧光,p75NTR 阳性的细胞呈绿色荧光,双标阳性的细胞为橘黄色。采用 Image-Pro Plus 图像计数软件计数 CB-HRP/p75 双阳性细胞数,用于统计学分析。使用 PBS 代替一抗作为阴性对照,其余实验步骤不变,用于检测免疫荧光的特异性。阴性对照实验未见 p75NTR 阳性的神经元(图 1)。

1.9 统计学分析

应用 SPSS 19.0 统计软件分析数据,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验和单因素方差分析,当 $P < 0.05$ 时认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验动物数量

实验过程中,脊髓损伤组大鼠于伤后 12~72h 内死亡 3 只,为了减少实验误差,随即补充,进入结果分析的仍为 36 只。

2.2 运动功能评分

所有实验大鼠术前 BBB 评分均为 21 分。脊髓损伤造模完成之后均出现双后肢软瘫,BBB 评分为 0 分,感觉丧失,钳夹双后肢未见任何反应,小便功能障碍。各时间点大鼠 BBB 评分见表 1,脊髓损伤组与假手术组在术后 3d、1 周、2 周、4 周各时间点差异较为明显,且差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。这说明大鼠在脊髓损伤后,随时间延长,其神经细胞的功能慢慢有所恢复,运动功能相应提高,BBB 评分增加,在 1 周时运动功能改善最为明显。

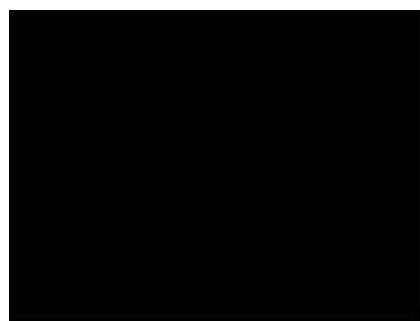


图 1 PBS 代替一抗时未检测到免疫信号(荧光显微镜×400)

Figure 1 No immunosignal was detected when phosphate buffered saline (PBS) was added to section instead of primary antibody(fluorescence microscope ×400)

表 1 各时间点大鼠 BBB 评分结果 ($\bar{x}\pm s$)
Table 1 BBB score of rats at different time points

	假手术组 Sham operation group	脊髓损伤组 SCI group
3d	21.0±0	3.20±0.81 ^①
1周(1 week)	21.0±0	10.73±1.02 ^①
2周(2 weeks)	21.0±0	12.48±1.86 ^①
4周(4 weeks)	21.0±0	13.29±1.93 ^①

注:①与假手术组比较, $P<0.05$
Note: ①Compared with sham operation group, $P<0.05$

2.3 组织病理形态学观察

HE 染色观察, 正常对照组和假手术组大鼠可见脊髓组织结构完整, 细胞形态正常, 神经元呈多角形, 细胞核较大且轮廓清晰, 核仁明显。脊髓损伤组大鼠伤后 3d 见损伤处附近灶状出血, 组织结构紊乱, 神经元肿胀, 炎性细胞浸润; 1 周时可

见神经细胞变性坏死, 胶质细胞增生明显; 2 周时损伤部位出现液化空洞, 可见核固缩神经细胞以及坏死组织碎片; 伤后 4 周可见胶质瘢痕形成, 脊髓空洞明显(图 2)。

2.4 触液神经元的分布

各组大鼠脊髓切片, 在激光共聚焦显微镜下观察, CB-HRP 标记神经元的轴突和树突均发出红色荧光, 此类神经元即为接触脑脊液神经元, 可见该类神经元胞体呈椭圆形或梭形, 大部分为多极细胞, 核圆而浅染, 突起呈放射状, 且分布在脊髓中央管两侧的灰质内, 大致呈“蝴蝶状”分布, 白质中未见表达。

2.5 免疫荧光标记结果

各组大鼠均见大量 CB-HRP 标记神经元, 组间比较均无统计学意义($P>0.05$)。正常对照组和

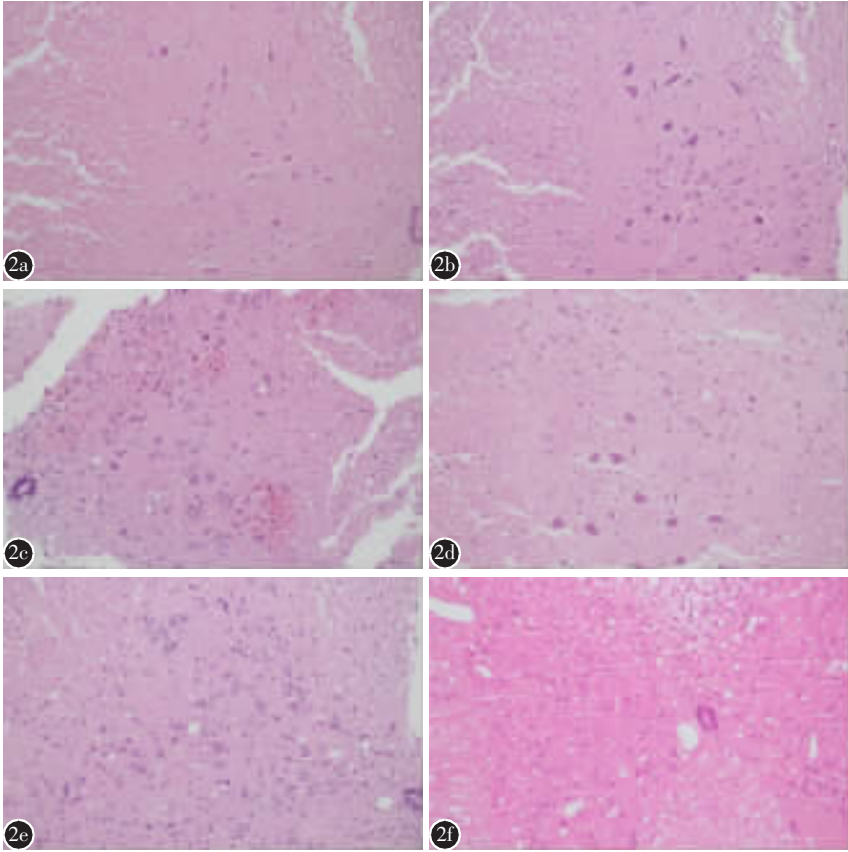


图 2 各组大鼠脊髓组织病理变化(HE ×200) a 正常对照组和 b 假手术组, 脊髓组织结构完整, 细胞形态正常 c 脊髓损伤后 3d, 灶状出血, 组织结构紊乱 d 脊髓损伤后 1 周, 神经细胞变性坏死, 胶质细胞增生明显 e 脊髓损伤后 2 周, 脊髓组织出现液化空洞 f 脊髓损伤后 4 周, 胶质瘢痕形成, 脊髓空洞明显

Figure 2 Pathological changes of spinal cord of rats in each group (HE ×200) a Normal control group and b sham operation group, the structure of spinal cord was complete and the cell morphology was normal c 3 days after SCI, focal hemorrhage and structural disorder were found d 1 week after SCI, there were degeneration and necrosis of nerve cells and the proliferation of glial cells was obvious e 2 weeks after SCI, the spinal cord tissue emerged liquefied cavity f 4 weeks after SCI, there were glial scar formation and obvious spinal cord porosis

假手术组可见极少数 CB-HRP 和 p75NTR 共表达阳性的细胞,两组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。脊髓损伤组 3d 后可见 CB-HRP 和 p75NTR 共表达阳性的细胞开始增多,1 周时 CB-HRP 和 p75NTR 共表达阳性细胞的数量明显增多,并达到高峰,而且此时大鼠运动功能改善最为明显(表 1),2 周时表达逐渐减少。与正常对照组和假手术组比较差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。4 周时 CB-HRP 和 p75NTR 共表达阳性细

胞数量较少,与对照组和假手术组比较差异无统计学意义($P>0.05$,图 3、表 2)。

3 讨论

大量研究表明,在脊髓损伤之后,脑脊液中的化学成分会发生相应的改变,但就目前的研究进展来看,人们尚不清楚这种变化的作用机制。触液神经元既可以与脊髓实质接触,又可以与脑脊液接触,是真正将脊髓实质和脑脊液联系在一起的

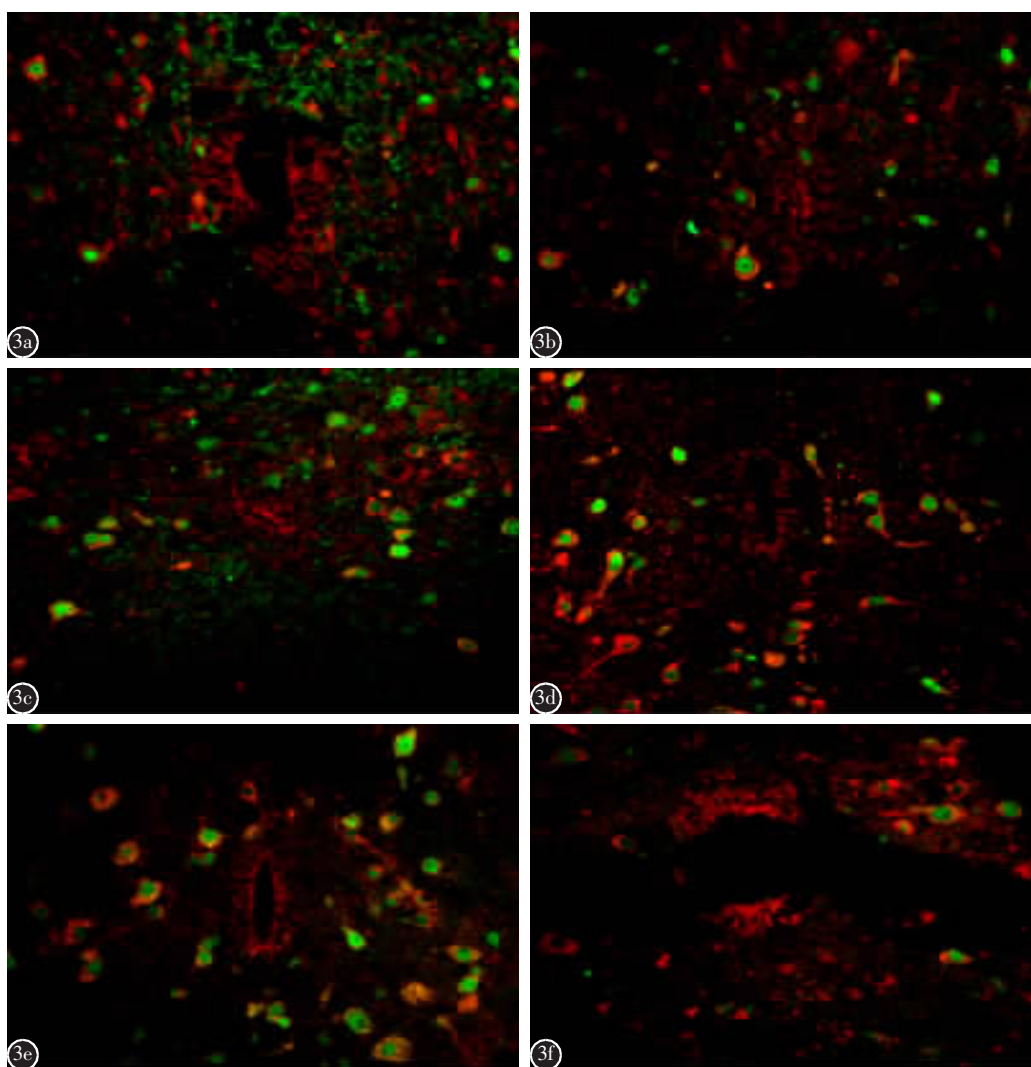


图 3 各组大鼠脊髓 CB-HRP/p75NTR 双阳性神经元表达情况(CB-HRP/p75NTR 双阳性神经元呈橘黄色,荧光显微镜 $\times 400$) a 正常对照组和 b 假手术组,可见极少数双阳性神经元 c 脊髓损伤后 3 天,双阳性神经元开始增多 d 脊髓损伤后 1 周,双阳性神经元数量达高峰 e 脊髓损伤后 2 周,双阳性神经元数量有所下降 f 脊髓损伤后 4 周,双阳性神经元明显减少

Figure 3 The expression of the CB-HRP/p75NTR double positive neurons in the spinal cord of rats in each group(the CB-HRP/p75NTR double positive neurons were orange, fluorescence microscope $\times 400$) a normal control group and b sham operation group, there were few double positive neurons c 3 days after SCI, double positive neurons began to increase d 1 week after SCI, the number of double positive neurons reached the peak e 2 weeks after SCI, the number of double positive neurons decreased f 4 weeks after SCI, double positive neurons were significantly reduced

表 2 各组 CB-HRP、CB-HRP/p75NTR 双阳性细胞数比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of CB-HRP and CB-HRP/p75ntr double positive cells in each group

组别 Group	CB-HRP	CB-HRP/p75
正常对照组 Normal control group	28.35±2.49	5.16±0.55
假手术组 Sham operation group	29.26±2.65	4.31±0.61
脊髓损伤 3 天 3d after SCI	31.51±3.08	13.35±1.53 ^①
脊髓损伤 1 周 1w after SCI	30.97±2.81	21.68±2.15 ^①
脊髓损伤 2 周 2w after SCI	31.18±2.74	16.26±2.09 ^①
脊髓损伤 4 周 4w after SCI	30.71±2.55	4.83±0.73

注:①与正常对照组和假手术组比较, $P < 0.05$.

Note: ① Compared with the normal control group and sham operation group, $P < 0.05$

特殊神经元。触液神经元是脊髓室管膜层的主要细胞之一,由于它与脑脊液密切接触,所以非常适合鞘内给药,以它为靶点来治疗脊髓疾病^[13]。最新研究表明,在斑马鱼中,触液神经元可以检测到局部脊柱弯曲,并将这种机械感受反馈信息传达给运动环路,进而调节其运动功能^[14,15]。七鳃鳗脊髓横断损伤后,既有胶质细胞的分化又有神经细胞的再生,而且,这些新生的神经元有可能就是接触脑脊液神经元^[16]。虽然,国内外学者对触液神经元有了一定的了解,但其确切的生物学功能尚未清楚,仍需进一步研究和探讨。根据触液神经元所处的位置以及与脊髓-脑脊液之间的特殊关系,我们推测其在脊髓实质与脑脊液之间的物质交换、信息传递和功能调控过程中扮演了非常重要的角色。

CB-HRP 是霍乱毒素 B 亚单位和辣根过氧化物酶的复合物,张励才等^[17]首次将 CB-HRP 作为示踪剂注射于大鼠侧脑室,成功标记了神经系统中的触液神经元。以往的实验研究^[3,17,18]发现将 CB-HRP 注入大鼠侧脑室后,它不能向室管膜下及脑实质内扩散,仅分布在室管膜系统脑与脊髓的表面。这说明 CB-HRP 只能被触液神经元摄取,不能穿过室管膜而渗漏到室管膜下的脊髓实质和脑实质中,可以清晰标记触液神经元,与其他神经元相区别。本实验观察到各组 CB-HRP 标记神经元,数量比较均等,分布在脊髓中央管两侧的

灰质内,大致呈“蝴蝶状”分布,未向脊髓实质内扩散,与以往研究报道一致。

本研究结果表明,脊髓损伤后,大鼠体内触液神经元的数量变化并不明显,然而,该神经元中 p75NTR 的表达变化明显,并与其运动功能恢复呈现一定的相关关系。P75NTR 是 TNF 受体家族的成员,可非选择性地结合所有神经营养素,与酪氨酸激酶(tyrosine receptor-kinase, TRK)受体均为神经营养素的主要受体,它可以调节 TRK 的信号传导,促进神经细胞存活,在轴突生长及突触可塑性方面发挥重要作用^[19,20]。成熟神经营养因子可以通过选择性地结合 TRK 受体和诱导支持 TRK 功能的 p75NTR 耦合机制来加强促进细胞生存的信号传导^[21]。p75NTR 与其小分子配体结合,可促进神经祖细胞存活和分化,以及神经细胞形成,在创伤性脑损伤的早期及晚期过程中均有一些有益作用^[22]。近期研究表明,在脊髓损伤后,口服 p75NTR 该配体,可促进小鼠少突胶质细胞存活,以及其运动功能的恢复。而且,除少突胶质细胞外, p75NTR 也表达于神经元中,这表明 p75NTR 与该配体结合也可能调节神经元的信号传导,从而影响其再生能力^[23]。本实验中,我们观察到正常大鼠触液神经元中仅有少量 p75NTR 表达,脊髓损伤后,触液神经元中的 p75NTR 表达明显增加,数量在 1 周时达到高峰,而且,此时大鼠运动功能改善最为明显,然后,在 2~4 周的时间里,大鼠运动功能的恢复随触液神经元中 p75NTR 表达量的减少逐渐趋于稳定,这可能与大鼠脊髓损伤后自我修复的机制有关,因此,我们推断触液神经元可能通过 p75NTR 参与脊髓损伤的修复。

4 参考文献

1. Vigh-Teichmann I, Vigh B. The cerebrospinal fluid-contacting neuron: a peculiar cell type of the central nervous system. Immunocytochemical aspects[J]. Arch Histol Cytol, 1989, 52 (Suppl): 195-207.
2. Orts-Del'imagine A, Wanaverbecq N, Tardivel C, et al. Properties of subependymal cerebrospinal fluid contacting neurons in the dorsal vagal complex of the mouse brainstem [J]. J Physiol, 2012, 590(16): 3719-3741.
3. Vigh B, Manzano e Silva MJ, Frank CL, et al. The system of cerebrospinal fluid-contacting neurons. Its supposed role in the nonsynaptic signal transmission of the brain [J]. Histol Histopathol, 2004, 19(2): 607-628.

4. Zhang LC, Zeng YM, Ting J, et al. The distributions and signaling directions of the cerebrospinal fluid contacting neurons in the parenchyma of a rat brain[J]. *Brain Res*, 2003, 989(1): 1-8.
 5. Hulme CH, Brown SJ, Fuller HR, et al. The developing landscape of diagnostic and prognostic biomarkers for spinal cord injury in cerebrospinal fluid and blood[J]. *Spinal Cord*, 2017, 55(2): 114-125.
 6. Matusica D, Skeldal S, Sykes AM, et al. An intracellular domain fragment of the p75 neurotrophin receptor (p75 (NTR)) enhances tropomyosin receptor kinase A (TrkA) receptor function[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(16): 11144-11154.
 7. Ibáñez CF, Simi A. p75 neurotrophin receptor signaling in nervous system injury and degeneration: paradox and opportunity [J]. *Trends Neurosci*, 2012, 35(7): 431-440.
 8. Kraemer BR, Yoon SO, Carter BD. The biological functions and signaling mechanisms of the p75 neurotrophin receptor[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2014, 220: 121-164.
 9. Bernabeu RO, Longo FM. The p75 neurotrophin receptor is expressed by adult mouse dentate progenitor cells and regulates neuronal and non-neuronal cell genesis [J]. *BMC Neurosci*, 2010, 11: 136.
 10. Meeker R, Williams K. Dynamic nature of the p75 neurotrophin receptor in response to injury and disease [J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2014, 9(5): 615-628.
 11. Meeker RB, Williams KS. The p75 neurotrophin receptor: at the crossroad of neural repair and death [J]. *Neural Regeneration Research*, 2015, 10(5): 721-725.
 12. Zhou F, Wang J, Zhang H, et al. Evaluation of three tracers for labeling distal cerebrospinal fluid-contacting neurons [J]. *Neurosci Bull*, 2013, 29(5): 576-580.
 13. Moore SA. The Spinal Ependymal Layer in Health and Disease[J]. *Vet Pathol*, 2016, 53(4): 746-753.
 14. Böhm UL, Prendergast A, Djenoune L, et al. CSF-contacting neurons regulate locomotion by relaying mechanical stimuli to spinal circuits[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 10866.
 15. Hubbard JM, Böhm UL, Prendergast A, et al. Intraspinous Sensory Neurons Provide Powerful Inhibition to Motor Circuits Ensuring Postural Control during Locomotion [J]. *Curr Biol*, 2016, 26(21): 2841-2853.
 16. Zhang G, Vidal PI, Swain GP, et al. Neurogenesis in the lamprey central nervous system following spinal cord transection[J]. *J Comp Neurol*, 2014, 522(6): 1316-1332.
 17. 张励才, 工梅申, 张凤真, 等. 大鼠远位接触脑脊液神经元的追踪研究[J]. *解剖学杂志*, 1994, 17(1): 37-40.
 18. Lu X, Geng X, Zhang L, et al. The methodology for labeling the distal cerebrospinal fluid-contacting neurons in rats [J]. *J Neurosci Methods*, 2008, 168(1): 98-103.
 19. Underwood CK, Coulson EJ. The p75 neurotrophin receptor [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008, 40(9): 1664-1668.
 20. Longo FM, Massa SM. Small Molecule Modulation of p75 Neurotrophin Receptor Functions [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2008, 7(1): 63-70.
 21. Longo FM, Massa SM. Small-molecule modulation of neurotrophin receptors: a strategy for the treatment of neurological disease[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2013, 12(7): 507-525.
 22. Shi J, Longo FM, Massa SM. A small molecule p75(NTR) ligand protects neurogenesis after traumatic brain injury [J]. *Stem Cells*, 2013, 31(11): 2561-2574.
 23. Tep C, Lim TH, Ko PO, et al. Oral administration of a small molecule targeted to block proNGF binding to p75 promotes myelin sparing and functional recovery after spinal cord injury[J]. *J Neurosci*, 2013, 33(2): 397-410.
- (收稿日期:2017-01-24 末次修回日期:2017-04-10)
(英文编审 蒋欣/贾丹彤)
(本文编辑 彭向峰)