

基础研究

LINGO-1 在脊髓神经干细胞分化中的表达及影响

赵晨光¹, 许刚², 琚芬¹, 孙玮¹, 袁华¹, 牟翔¹

(1 空军军医大学第一附属医院康复医学科 710032 陕西省西安市; 2 新疆军区总医院全军骨科中心 830000 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市)

【摘要】目的:观察 LINGO-1 在大鼠脊髓神经干细胞(spinal cord derived neural stem cells, SpNSCs)分化过程中的表达特征及其对 SpNSCs 分化的影响。**方法:**分别在体外分离培养 3 只 10 周龄 Fischer 344 大鼠 SpNSCs, 培养至第 3 代对其进行 Nestin 表达鉴定和观察在其分化过程中 LINGO-1 的表达量(分化第 0、1、3、5 天)。随后用包装好的 LINGO-1 shRNA 慢病毒及 Scramble shRNA 慢病毒感染 SpNSCs, 观察感染效率及对比感染后下调 LINGO-1 蛋白表达的效果。在确定 LINGO-1 shRNA 的下调效果后, 将第 4 代 SpNSCs 分为干扰组及对照组, 干扰组感染 LINGO-1 shRNA 慢病毒, 对照组感染 Scramble-shRNA 慢病毒, 于分化 5d 后使用免疫荧光染色检测神经元及星形胶质细胞的比例。**结果:**体外分离培养的 SpNSCs 表达 Nestin 阳性。LINGO-1 蛋白的积分光密度(integrated option density, IOD)在第 0、1、3、5 天分别为 514 ± 45 、 715 ± 68 、 1017 ± 92 、 654 ± 61 , LINGO-1 从 SpNSCs 分化第 1 天起表达量上升, 为第 0 天表达量的 1.39 倍, 至分化第 3 天为第 0 天表达量的 1.98 倍, 随后表达下降, 至第 5 天为第 0 天表达量的 1.36 倍, 以上 4 个时间点 LINGO-1 蛋白表达量有统计学差异 ($P < 0.05$)。LINGO-1 shRNA 慢病毒感染效率 $> 90\%$, 感染 LINGO-1 shRNA 慢病毒的 SpNSCs 的 LINGO-1 蛋白表达量为感染 Scramble-shRNA 慢病毒 SpNSCs 的 26%。干扰组神经元分化比例为对照组的 3.85 倍, 星形胶质细胞分化比例为对照组的 0.65 倍, 两组神经元分化比例及星形胶质细胞分化比例的差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:**LINGO-1 在大鼠 SpNSCs 分化初期表达上升, 抑制 LINGO-1 表达可促进 SpNSCs 向神经细胞分化, 减少其向星形胶质细胞分化。

【关键词】LINGO-1; 脊髓神经干细胞; 分化; 大鼠

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2017.09.12

中图分类号: Q786 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2017)-09-0832-07

Expression and influence of LINGO-1 in differentiation of spinal cord neural stem cells/ZHAO Cheng-guang, XU Gang, JU Fen, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2017, 27(9): 832-838

【Abstract】Objectives: To investigate the expression and effect of LINGO-1 in differentiation of spinal cord derived neural stem cells (SpNSCs). **Methods:** SpNSCs were isolated from spinal cord in three 10-week-old Fisher 344 rats and cultured in vitro, stained with Nestin, and the expression of LINGO-1 on P3(on differentiation day 0, 1, 3, 5) was observed. SpNSCs were transfected with LINGO-1 shRNA lentiviral vector and Scramble-shRNA lentiviral vector to investigate the infection efficiency and RNA interference effect. SpNSCs of P4 were divided into RNAi group and control group. The RNAi group was transfected with LINGO-1 shRNA lentiviral vector and control group was transfected with Scramble-shRNA lentiviral vector. The proportions of neurons and astrocyte were measured by immunofluorescence histochemistry. **Results:** SpNSCs were Nestin positive. The expression of LINGO-1 IOD was 514 ± 45 , 715 ± 68 , 1017 ± 92 , 654 ± 61 on the 0th, 1st, 3rd, 5th differentiation day respectively. The expression of LINGO-1 at the very 1st differentiation day increased and was 1.39 times of expression on the day 0, 1.98 times on the 3rd day, and then decreased to 1.36 times on the 5th day, the differences of all expressions on the 4 days were statistically significant ($P < 0.05$). The rate of LINGO-1 shRNA lentivirus infection was higher than 90%, which reduced the protein ex-

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81100932); 中国博士后科研基金(编号: 20100481518)

第一作者简介: 男(1981-), 主治医师, 博士研究生, 研究方向: 脊髓损伤

电话: (029)84775439 E-mail: edelweiss_zcg@126.com

通讯作者: 牟翔 E-mail: Pro.mu@fmmu.edu.cn

pression of LINGO-1 to 26% expression of SpNSCs with Scramble-shRNA lentiviral vector infection. The proportion of neurons in RNAi group was 3.85 times of that of the control group, and the differentiation of astrocytes was 0.65 times of the control group, the proportions of neurons and astrocytes in two groups were significantly different ($P < 0.05$). **Conclusions:** The expression of LINGO-1 increases in the early days of differentiation. Inhibition of LINGO-1 gene expression in spinal cord derived neural stem cell, can promote differentiation into neurons and reduce into astrocyte.

[Key words] LINGO-1; Spinal cord derived neural stem cells; Differentiation; Rat

[Author's address] Department of Rehabilitation, Xijing Hospital, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shanxi, 710032, China

神经干细胞(neural stem cells, NSCs)具有自我复制、增殖及多向分化潜能。正常情况下,脊髓室管膜区存在着“静止”状态的 NSCs,在脊髓损伤后可被激活,发生增殖分化并参与损伤后病理及修复过程。如何调控其分化特性,促进脊髓损伤后的神经修复、减少胶质瘢痕形成是目前脊髓损伤研究的热点^[1]。髓鞘源性抑制因子(myelin-associated inhibitory factors, MAIFs)被认为是影响中枢神经系统再生的重要因子之一^[2],其复合受体之一 LINGO-1(LRR and Ig domain containing, Nogo receptor interacting protein)在 MAIFs 介导的多种生理作用中扮演了重要的角色^[3]。研究表明, LINGO-1 与脊髓损伤后的神经修复密切相关,其中包括调控轴突再生、调控神经元存活以及调控少突胶质细胞成熟及再髓鞘化^[4,5]。本研究旨在观察 LINGO-1 基因对脊髓神经干细胞(spinal cord derived neural stem cells, SpNSCs)的生物学作用,进一步探明其对 SpNSCs 生长及分化等方面的影响。

1 材料和方法

1.1 主要材料和试剂

实验用 SPF 级别 10 周龄 Fischer 344 雌性大鼠(160~180g)3 只(独立 3 个生物学重复实验),由空军军医大学实验动物中心提供,动物饲养许可编号:SCXK(军)2012-007,并得到空军军医大学实验动物伦理委员会的许可。细胞培养用改良杜氏伊戈尔培养基(Dulbecco's modified eagle medium, DMEM)、B27 添加剂、N2 添加剂、GlutaMAX 添加剂及胎牛血清等均为 Gibco 公司产品;碱性成纤维生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)和表皮细胞生长因子(epidermal growth factor, EGF)购于 Peprotech 公司, Accutase、多聚赖氨酸(Poly-L-Lysine)及 Laminin

购于 Sigma 公司;Nestin、 β -Tubulin III、神经胶质酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)一抗购于 Stemcell 公司;荧光二抗 Alexa Fluor 488 标记的山羊抗小鼠二抗、Alexa Fluor 488 标记的驴抗兔二抗、Alexa Fluor 594 标记的山羊抗鼠二抗购自 Stemcell 公司。

1.2 成年大鼠 SpNSCs 的分离培养

实验用 SPF 级别 10 周龄 Fischer 344 大鼠采用脊柱脱臼法处死,椎板减压暴露脊髓,取 C3~T12 节段脊髓置于预冷的 Hanks 液中,小心用眼科剪剥离硬脊膜,将脊髓剪碎后加入 Accutase 中,于 37℃ 中消化 30min,加入 NSCs 培养基终止消化,离心后用 NSCs 培养基重悬,用火焰抛光的巴斯德吸管反复吹打成单细胞悬液并用 40 μ m 滤网过滤后,胎盘蓝计数,按 10⁵/ml 密度植于 NSCs 培养基(DMEM/F12+2% B27+1% N2+20ng/ml EGF+20ng/ml bFGF)中,每 3d 半量换液一次。生长至第 7 天时机械吹打法传代处理。每 7d 传代,传代至第 3 代进行实验。

1.3 SpNSCs 的干性鉴定

第 3 代的 SpNSCs 培养至第 3 天,吸弃培养基用 PBS 清洗 1 次以彻底去除残留的培养基,4%多聚甲醛固定 30min 后用磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)清洗 3 次,每次 5min;加入 0.3% Triton X-100 通透 5min, PBS 清洗 2 次。加入稀释好的 NSCs 标志 Nestin 一抗 4℃ 孵育过夜,次日吸弃一抗, PBS 洗 3 次,每次 5min。加入稀释好的 Alexa Fluor 488 标记的山羊抗小鼠二抗,荧光 37℃ 避光孵育 2h, PBS 洗 3 次,每次 5min,之后滴加 DAPI 封片剂,室温孵育 30min。蔡司荧光倒置显微镜(型号:Axiovert 200M)镜下观察细胞浆呈绿色荧光为 Nestin 阳性细胞,即为 SpNSCs,观察 SpNSCs 的形态。

1.4 LINGO-1 蛋白的 Westernblot 定量检测

分别在第 3 代 SpNSCs 分化第 0、1、3、5 天取蛋白,吸弃培养液,用预冷的 PBS 清洗两次,以彻底去除残留的培养液。加入预冷的放射免疫沉淀法(radioimmunoprecipitation assay, RIPA)裂解细胞并转移入预冷的离心管中,离心后将上清转移至预冷的离心管中,用二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)对提取的蛋白进行定量。取蛋白样品,加入蛋白上样缓冲液,十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)分离蛋白,湿转法将蛋白质转移至 PVDF 膜上。将 PVDF 膜转移至含有 5% 脱脂奶粉的 TBST 封闭液中封闭 1h,加入 LINGO-1 一抗的稀释液,4℃过夜,次日 TBST 洗膜 3 次,每次 10min。将 PVDF 膜放入含稀释二抗的 10cm 培养皿中,孵育 1h,在增强化学发光反应混合液中反应 2~3min 后,拍片显影。采用 Image J 软件分析显影条带灰度,以 β -actin 为内参,分别与分化第 0 日蛋白量比较得出倍数关系。

1.5 LINGO-1 shRNA 慢病毒表达载体构建及包装

整套慢病毒表达载体构建及包装由上海吉凯生物基因公司提供。LINGO-1-shRNA 插入序列为: Sense 5'-TGCTGTAGTCTAGCAGGATGACGA TCGTTTTGGCCACTGACTGACGATCGTCACTGCT AGACTA-3', Antisense 5'-CCTGTAGTCTAGCAG TGACGATCGTCACTGAGTGGCCAAAACGATCGT CATCCTGCTAGACTAC-3'。

1.6 LINGO-1-shRNA 慢病毒感染效率及下调效果的检测

用设计包装好的慢病毒感染第 3 代的 SpNSCs 72h,然后在倒置荧光显微镜下观察绿色荧光阳性细胞数占总细胞数的比例,随后比较观察 LINGO-1 shRNA 慢病毒及 Scramble-shRNA 慢病毒感染 SpNSCs 后 LINGO-1 的蛋白表达量,用 Westernblot 进行定量检测,检测方法同 1.4。

1.7 SpNSCs 的分组及其处理

取第 4 代的 SpNSCs 消化后制备成单细胞悬液,接种至 Poly-L-Lysine/Laminin 包被的培养皿中。次日待 SpNSCs 完全贴壁后,对照组用 Scramble-shRNA 的慢病毒感染、干扰组用 LINGO-1 shRNA 慢病毒感染,继续培养 3d 后更换为 NSCs 分化培养基 DMEM/F12 加 10% 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)诱导 NSCs 进行分

化,之后 3d 换液一次,5d 后观察干扰组及对照组 SpNSCs 向神经元及星形胶质细胞分化的比例。

1.8 神经细胞分化检测

吸弃培养基用 PBS 清洗 1 次以彻底去除残留的培养基,4%多聚甲醛固定 30min 后用 PBS 清洗 3 次,每次 5min;加入 0.3% Triton X-100 通透 5min, PBS 清洗 2 次。加入稀释好的神经细胞标志物 β -Tubulin III 和星形胶质细胞标志物 GFAP 一抗 4℃孵育过夜,次日吸弃一抗, PBS 洗 3 次,每次 5min。加入稀释好的 Alexa Fluor 488 标记的驴抗兔二抗, Alexa Fluor 594 标记的山羊抗鼠二抗, 荧光 37℃避光孵育 2h, PBS 洗 3 次, 每次 5min, 之后滴加 DAPI 封片剂, 室温孵育 30min。荧光显微镜下观察神经细胞及星形胶质细胞的形态及分化比例。神经细胞胞浆 β -Tubulin III 呈红色荧光及星形胶质细胞胞浆 GFAP 呈绿色荧光。

1.9 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,数据以均数 $\pm$ 标准差表示。LINGO-1 蛋白表达量比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD- t 检验,干扰及对照组分化比例比较采用两独立样本的 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SpNSCs 的分离培养情况

原代培养的 SpNSCs 在含有 EGF 和 bFGF 的培养液中悬浮生长,生长 24h 后部分细胞凋亡,另有少量细胞贴壁生长,培养液中可见分裂成 2~4 个细胞的克隆团。加入新鲜培养液及因子(EGF 及 bFGF)继续培养可见中等大小的圆形细胞克隆团形成,克隆团呈悬浮球状生长,细胞形态规则,折光性好,未见明显突起。对形成的克隆球进行干性鉴定,发现克隆球表达 NSCs 特异性抗体 Nestin (图 1)。

2.2 LINGO-1 在 SpNSCs 分化过程中的表达特征

脊髓来源 NSCs 的细胞克隆球用 NSCs 分化培养基诱导进行分化并于第 0、1、3、5 天进行观察。实验发现 LINGO-1 蛋白从分化第 1 天开始,表达量逐渐上升,至第 5 天开始下降(图 2),分化第 0、1、3、5 天积分光密度(integrated option density, IOD) 值分别为 514 ± 45 , 715 ± 68 , 1017 ± 92 , 654 ± 61 , 与分化第 0 天蛋白量 IOD 比较,分化第

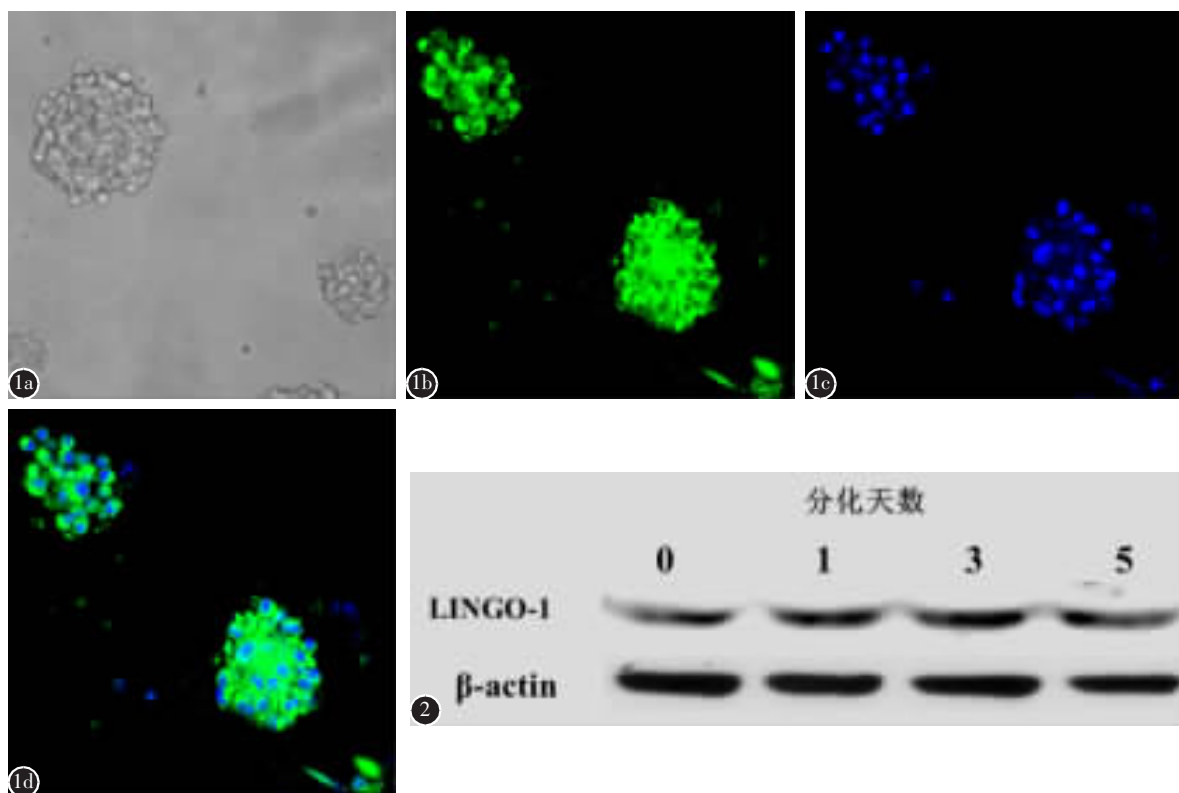


图 1 脊髓来源神经干细胞培养及鉴定 **a** 显微镜下观察到克隆球($\times 40$) **b** 克隆球在激光共聚焦显微镜下表现为神经巢蛋白染色阳性(绿色荧光, $\times 600$) **c** 细胞核 Hoechst 染色阳性(蓝色荧光 $\times 600$) **d** b 与 c 的 Merge 合成图像显示荧光($\times 600$) **图 2** 脊髓神经干细胞分化过程中第 0、1、3、5 天的 LINGO-1 蛋白表达量

Figure 1 Culturing of spinal cord derived neural stem cells(SpNSCs) and identification **a** Neurosphere under the microscope($\times 40$) **b** Nestin positive staining under confocal laser scanning microscope(green fluorescent $\times 600$) **c** Nuclear Hoechst staining(blue fluorescent $\times 600$) **d** Merge image of picture 1b and 1c($\times 600$) **Figure 2** Expression of LINGO-1 protein in the differentiation of spinal cord neural stem cells on day 0, 1, 3, 5

1、3、5 天分别为 1.39 倍、1.98 倍及 1.36 倍,4 个时间点的蛋白量之间比较有统计学差异 ($P < 0.05$),第 1、3、5 天蛋白量与第 0 天比较均有统计学差异 ($P < 0.05$)。

2.3 LINGO-1 干扰效率的检测

LINGO-1 shRNA 慢病毒感染 SpNSCs 的效率 $> 90\%$ 。感染 LINGO-1 shRNA 慢病毒的 SpNSCs 的 LINGO-1 蛋白表达量为感染 Scramble-shRNA 慢病毒 SpNSCs 的 26%(图 3)。

2.4 LINGO-1 对 SpNSCs 分化能力的影响

对照组及干扰组的 SpNSCs 均向神经元及星形胶质细胞分化(图 4)。对照组神经元呈散在分布,数量较少,神经元突起数目、突起长度下降,成熟神经元比例下降,而星形胶质细胞分化数量较多,成聚集性分化生长。对照组 β -Tubulin III 阳性细胞(神经元细胞)比例为 $(6.4 \pm 0.7)\%$,GFAP 阳性细胞(星形胶质细胞)比例为 $(39.6 \pm 1.1)\%$;干

扰组 β -Tubulin III 阳性细胞比例为 $(24.8 \pm 0.9)\%$ 而 GFAP 阳性细胞比例为 $(25.4 \pm 1.2)\%$,两组比较无论是神经元分化比例还是星形胶质细胞分化比例均有统计学差异 ($P < 0.05$)。细胞核 Hoechst 染色后合成 Merge 图进一步确认 LINGO-1 shRNA 干扰后,SpNSCs 在较少向星形胶质细胞分化的同时促进克隆球向神经元分化。干扰组神经元分化比例为对照组的 3.85 倍,而星形胶质细胞分化比例则为对照组的 0.65 倍。

3 讨论

NSCs 具有自我复制、增殖及多种分化潜能。由于其特殊的分化潜能,为脑及脊髓损伤后的神经修复带来了光明。瑞典卡罗林斯卡 Frisen 小组的一系列研究证实,在小鼠室管膜区存在着“静止”状态的 NSCs,在脊髓损伤等特定因素诱导下可以被激活,从而出现增殖进而分化的现象,但无

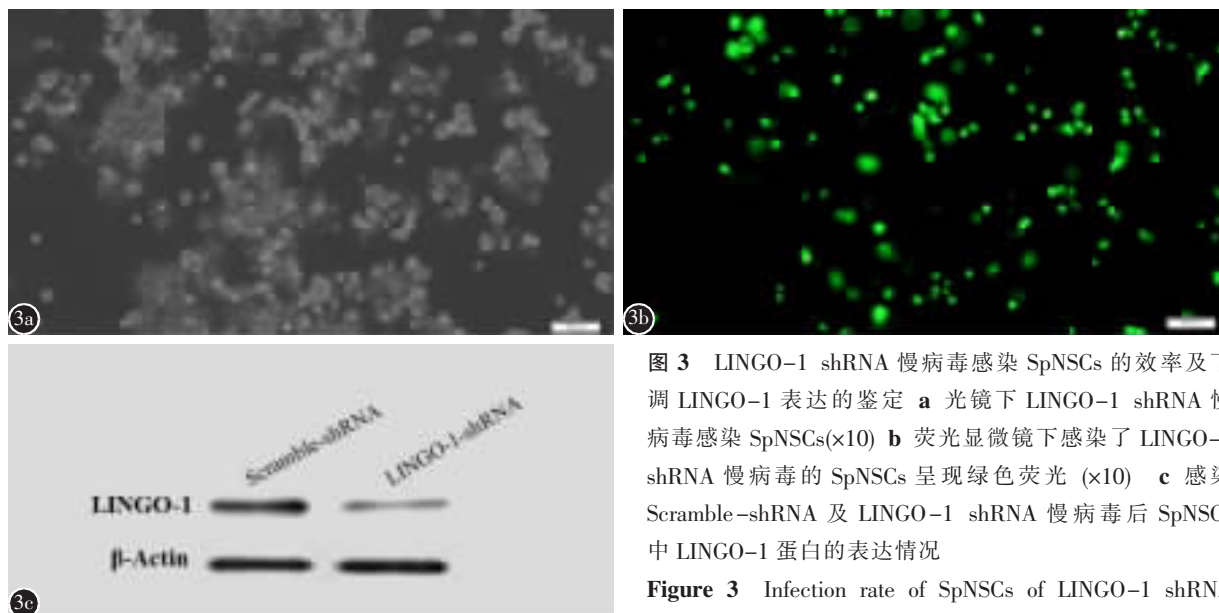


图 3 LINGO-1 shRNA 慢病毒感染 SpNSCs 的效率及下调 LINGO-1 表达的鉴定 **a** 光镜下 LINGO-1 shRNA 慢病毒感染 SpNSCs($\times 10$) **b** 荧光显微镜下感染了 LINGO-1 shRNA 慢病毒的 SpNSCs 呈现绿色荧光 ($\times 10$) **c** 感染 Scramble-shRNA 及 LINGO-1 shRNA 慢病毒后 SpNSCs 中 LINGO-1 蛋白的表达情况

Figure 3 Infection rate of SpNSCs of LINGO-1 shRNA infection and down-regulation of LINGO-1 expression in

LINGO-1 **a** SpNSCs infected with LINGO-1 shRNA Lentiviral vector under the microscope($\times 40$) **b** SpNSCs infected with LINGO-1 shRNA Lentiviral vector appear green under confocal laser scanning microscope($\times 40$) **c** Expression of LINGO-1 infected with Scramble-shRNA and LINGO-1 shRNA Lentiviral vector

论是这些内源性的 NSCs 还是移植外源性的 NSCs, 大多数都分化为星形胶质细胞, 参与胶质瘢痕的形成^[6]。所以探究有效的作用靶点来调控 NSCs 的分化因素, 提高神经细胞的分化率, 抑制胶质瘢痕形成, 是目前 NSCs 移植治疗脊髓损伤研究领域的热点之一。

脊髓损伤后出现神经元坏死、少突胶质细胞髓鞘大量崩解, 释放出包括神经生长抑制因子-A (neurite outgrowth inhibitor A, Nogo-A)、髓磷脂相关糖蛋白(myelin associated glycoprotein, MAG) 在内的 MAIFs。研究表明, 此类因子正是导致脊髓损伤后神经功能恢复受限的主要原因之一^[7]。MAIFs 的主要结合受体是 NgR, 但是此受体缺少胞内段, 其复合受体 LINGO-1 便在 MAIFs 介导的多种生理作用中扮演了重要的角色。LINGO-1 是由 614 个氨基酸构成的跨膜生物蛋白, 包括 12 个富亮氨酸重复序列、1 个 Ig 区、1 个跨膜区和 1 个短小的胞浆区, 定位于 15q24.3。研究表明, LINGO-1 可以通过 NgR1/P75/LINGO-1 或 NgR1/Troy/LINGO-1 调控 RhoA 途径, 最终使生长锥塌陷而使轴突再生受阻^[8]; 也可以参与并下调表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR), 从而影响 Akt 通路而调控神经元存活^[9]; 还可能抑制 EFGR 表达或下调 EFGR 表

达均可使 少突胶质细胞成熟及再髓鞘化^[9]。但是 LINGO-1 在脊髓源性 NSCs 中的表达特点及其与 NSCs 的分化关系却未见相关报道。

本研究结果显示, SpNSCs 在分化过程中 LINGO-1 的表达量在分化初期会迅速上升, 到第 3 天时达到高峰, 为初始表达量的 1.98 倍, 随后表达缓慢下降, 但仍高于初始量, 至第 5 天表达量为 1.36 倍。Mi 等^[3]曾报道过大鼠的 LINGO-1 在不同发育时期的表达量, 在出生后前期也是迅速上升, 至生后第 4 天缓慢下降。Camilla 等^[10]也检测过小鼠皮层来源 NSCs 中 LINGO-1 的表达特征, 结果显示从分化第 1 天开始至第 9 天, 其表达量在持续上升, 最高为初始量的 5.7 倍, 这与本实验的表达特征不尽相同, 可能是由于不同来源的 NSCs 自身特性造成的。

脊髓损伤后神经元坏死, 损伤节段白质区域内传导束崩解, 所以在治疗脊髓损伤的种种方法中, 用新生的神经元取代原有神经元以达到神经修复的目的是目前主要的研究方向。外源性移植可以分化成为神经元的方法有很多, 诸如间充质干细胞^[11]、胚胎干细胞^[12]、诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs) 等都进行过相关研究^[13], 可是对于脊髓中央管附近的内源性 NSCs 却研究甚少。本研究观察了 LINGO-1 对

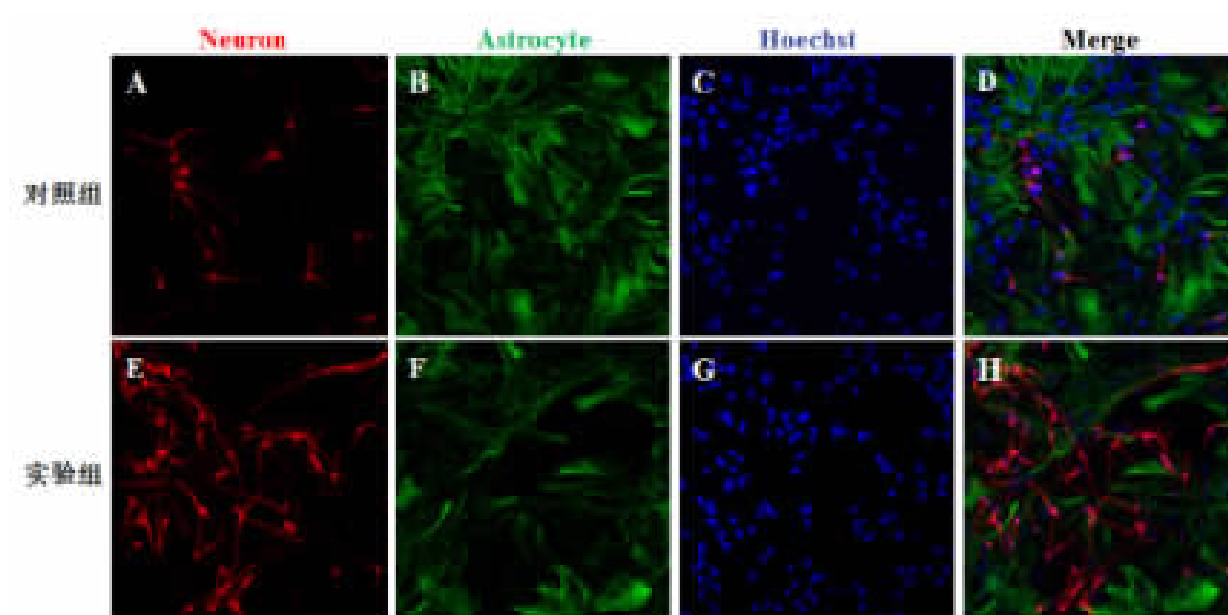


图4 SpNSCs在RNA干扰后的分化情况($\times 20$):A,对照组神经元(红色荧光)细胞分化较少;B,星形胶质细胞(绿色荧光)分化较多;C,细胞核染色后(蓝色荧光);D,图A、B、C的Merge合成图像;E,干扰组神经元(红色荧光)细胞分化较多;F,星形胶质细胞(绿色荧光)相对减少;G,细胞核染色后(蓝色荧光);H,图E、F、G的Merge合成图像;G和H进一步确认对比对照组,干扰组神经元比例较高而星形胶质细胞比例较低

Figure 4 Differentiation of SpNSCs after RNA interference($\times 20$): A Less Neurons(red fluorescent) and B more astrocytes(green fluorescent) were observed after differentiation in control group, C The nuclear is stained with blue fluorescent and D Merge image of picture A, B and C confirmed that differentiation of neurons ratio is low, and astrocyte ratio is high. E More Neurons(red fluorescent)and F less astrocytes(green fluorescent) were observed after differentiation in RNA interference group, G The nuclear is stained with blue fluorescent and H Merge image of picture E, F and G confirmed that differentiation of neurons ratio is high, while astrocyte ratio is low

脊髓源性 NSCs 的分化调控作用。本研究发现应用 RNA 干扰,下调 LINGO-1 的表达以后,脊髓源性 NSCs 向神经元分化增多,而向星形胶质细胞分化减少,这与有些报道不尽相同。Camilla 等^[10]采用 LINGO-1 特异性抗体对 LINGO-1 进行功能封闭,发现皮层来源 NSCs 向神经元分化增多,但同时发现其向星形胶质细胞分化也有增多,只是程度不同而已。LINGO-1 作为 Nogo-A 的复合受体之一,其不直接接受相应配体的激活,而是通过 NgR 来完成传导的,其胞内段有酪氨酸磷酸化位点,Mi 等^[3]运用显负性突变使 LINGO-1 的胞内段失活,结果发现下游效应蛋白表达下调。所以单纯应用抗体进行细胞外功能封闭可能有一定的局限性,这也可能是导致本研究与 Camilla 等^[10]研究中显示对星形胶质细胞形成能力的差异所在,当然这其中也不乏 NSCs 来源不同带来的不同影响。

总之,本研究结果显示,LINGO-1 在 SpNSCs

分化初期表达上升,抑制 LINGO-1 表达可以促进 SpNSCs 向神经细胞分化,减少其向星形胶质细胞分化。但本研究没有进一步检测 LINGO-1 影响 NSCs 分化可能涉及的通路。明确 LINGO-1 对 SpNSCs 分化的影响,可以使我们更加广泛地了解 LINGO-1 的生物学功能,也为进一步促进脊髓损伤后神经修复提供可能的作用靶点,为治疗脊髓损伤带来更多的希望。

4 参考文献

1. Sabelström H, Stenudd M, Frisén J. Neural stem cells in the adult spinal cord[J]. Exp Neurol, 2014, 260(6): 44-49.
2. Stefanie S, Stefano S, Hans W. Non-canonical actions of Nogo-A and its receptors [J]. Biochem Pharmacol, 2016, 100: 28-39.
3. Mi S, Lee X, Shao Z, et al. LINGO-1 is a component of the Nogo-66 receptor/p75 signaling complex [J]. Nat Neurosci, 2004, 7(3): 221-228.

综述

射频消融治疗转移性脊柱肿瘤的研究进展

Research progress of radiofrequency ablation for metastatic spinal tumors

刘永刚, 曹佳实, 刘超, 刘铁龙

(第二军医大学附属长征医院骨肿瘤科 200003 上海市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2017.09.13

中图分类号: R738.1, R454.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2017)-09-0838-04

骨是转移性肿瘤的好发部位之一^[1],在死于恶性肿瘤的患者中约有 80% 发生骨转移^[2],其中约有 50% 为脊柱转移^[3]。脊柱转移瘤最常见的症状是难以忍受的慢性疼痛(占 90% 以上)^[4],导致患者卧床不起或依靠轮椅生活的情况^[5],严重影响患者的生活质量。目前,对于中位生存期不长的转移性脊柱肿瘤患者,外科治疗方式的选择往往陷于两难境地,既要解决患者症状,又没有必要行开放性手术让患者面临创伤及并发症等风险^[6]。随着微创理念和医疗技术的发展,射频消融(radiofrequency ablation, RFA)作为一种

发展迅速的非血管介入技术,自 20 世纪 90 年代以来,逐步应用于骨转移性肿瘤的治疗;还有学者联合应用经皮椎体成形术(percutaneous vertebroplasty, PVP)治疗晚期脊柱转移瘤,以缓解患者疼痛并改善生活质量^[7,8]。现就 RFA 在治疗转移性脊柱肿瘤的应用综述如下。

1 RFA 的工作原理

RFA 系统主要由三部分组成:电发生器、电极针和皮肤电极。通过各种影像引导,将射频电极探针定位于肿瘤组织,产生一个椭圆形高温区域,局部温度可达 60℃~100℃,使电极周围的肿瘤组织脱水、干燥,最终发生凝固性坏死,形成液化灶或由纤维组织替代,从而灭活肿瘤细胞。同时,肿瘤组织周围会形成反应带,切断肿瘤血供并防止肿瘤增大或转移。RFA 治疗过程中,热传导情况和热场

第一作者简介:男(1988-),住院医师,硕士研究生在读,研究方向:脊柱肿瘤的临床治疗

电话:(021)81885667 E-mail:lyg881127@163.com

通讯作者:刘铁龙 E-mail:czyytl@163.com

4. Ji B, Li M, Wu WT, et al. LINGO-1 antagonist promotes functional recovery and axonal sprouting after spinal cord injury[J]. Mol Cell Neurosci, 2006, 33(3): 311-320.
5. Zhao XH, Jin WL, Wu J, et al. Inactivation of glycogen synthase kinase-3 β and up-regulation of LINGO-1 are involved in LINGO-1 antagonist regulated survival of cerebellar granular neurons[J]. Cell Mol Neurobiol, 2008, 28(5): 727-735.
6. Sabelström H, Stenudd M, Réu P, et al. Resident neural stem cells restrict tissue damage and neuronal loss after spinal cord injury in mice[J]. Science, 2013, 342(6158): 637-640.
7. Alyso F, Tadzia G, Stephen S, et al. Identification of a receptor mediating Nogo-66 inhibition of axonal regeneration [J]. Nature, 2001, 409(6818): 341-346.
8. Palandri A, Salvador V, Wojnacki J, et al. Myelin-associated glycoprotein modulates apoptosis of motoneurons during early postnatal development via NgR/p75 receptor-mediated activation of RhoA signaling pathways[J]. Cell Death Dis, 2015, 6(9): e1876.
9. Mi S, Hu B, Hahm K, et al. LINGO-1 antagonist promotes spinal cord remyelination and axonal integrity in MOG-induced experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. Nat Med, 2007,

13(10): 1228-1233.

10. Camilla L, Maria F, Adrian W. Neutralization of LINGO-1 during in vitro differentiation of neural stem cells results in proliferation of immature neurons[J]. PLoS One, 2012, 7(1): e29771.
11. Lopez-Verrilli MA, Caviedes A, Cabrera A, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes from different sources selectively promote neurite outgrowth[J]. Neuroscience, 2016, 320: 129-139.
12. McCreedy A, Wilems S, Xu H, et al. Survival, differentiation, and migration of high-purity mouse embryonic stem cell-derived progenitor motor neurons in fibrin scaffolds after sub-acute spinal cord injury[J]. Biomater Sci, 2014, 2(11): 1672-1682.
13. Nutt E, Chang A, Suhr T, et al. Caudalized human iPSC-derived neural progenitor cells produce neurons and glia but fail to restore function in an early chronic spinal cord injury model[J]. Exp Neurol, 2013, 248: 491-503.

(收稿日期:2017-05-30 末次修回日期:2017-09-06)

(英文编审 唐翔宇/贾丹彤)

(本文编辑 李伟霞)