

基础研究

大鼠脊髓全横断诱导芳香族氨基酸脱羧酶细胞产生 5-羟色胺的机制研究

张 向, 陈 莹, 闫凤霞, 陈 龙, 陈 萌, 任立群

(承德医学院脊髓损伤与修复研究室 067000 河北省承德市)

【摘要】目的:探讨大鼠脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)前后芳香族氨基酸脱羧酶(Aromatic L-amino acid decarboxylase, AADC)细胞的分布以及 SCI 后不同时间段 AADC 细胞表达 5-羟色胺(5-HT)的特点。方法:60 只成年雄性 Wistar 大鼠随机分为正常对照组(12 只)、脊髓损伤 2d 组(24 只,其中假手术/Sham 组 12 只)及脊髓损伤 60d 组(24 只,其中假手术/Sham 组 12 只)。使用负压吸引器将大鼠 T10-T11 脊髓完全离断 1~3mm,建立脊髓胸段 T10-T11 全横断模型。使用 BBB 评分评价 SCI 大鼠不同时间点后肢运动功能。各组大鼠在相应时间点灌注取材,并且在灌注前 30min 腹腔注射外源性 5-羟色胺酸(5-HTP)(100mg/kg),免疫荧光法检测脊髓腰段(L 段)和骶尾段(S+C 段)中 AADC 和 5-HT 表达水平。结果:SCI 大鼠在术后 1~2、3、7、14、28、60d 时 BBB 评分分别为 0、1.00±0.58、3.30±0.95、6.30±0.10、7.50±0.36、7.87±0.08 分。AADC 细胞主要在脊髓的背角、中间带、中央管周围等部位表达。正常对照组、脊髓损伤 2d 组和脊髓损伤 60d 组 AADC 表达数量在脊髓 L 段为:46.75±5.50、49.50±4.87、48.50±6.38 个,在脊髓 S+C 段为 1026.50±66.59、1066.75±80.56、1046.25±67.79 个,三组结果相比无显著性差异($P>0.05$)。正常对照组大鼠脊髓 L 段和 S+C 段中 AADC 细胞中未见 5-HT 的表达,但在 SCI 2d 组和 SCI 60d 组均观察到 AADC 细胞表达 5-HT, L 段两组表达率分别为(44.43±6.03)%和(96.20±1.53)%, S+C 段分别为(44.45±5.71)%和(95.14±3.02)%,两组间差异有显著性($P<0.05$)。结论:AADC 细胞在脊髓胸段 T10-T11 全横断损伤前后脊髓中表达数量和部位相似。SCI 后,损伤平面以下脊髓中的 AADC 细胞功能增加,可利用外源性 5-HTP 生成 5-HT。

【关键词】脊髓损伤;芳香族氨基酸脱羧酶;5-羟色胺

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2018.05.11

中图分类号:R683.2, Q556 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2018)-05-0456-07

Spinal cord transection induce aromatic L-amino acid decarboxylase cells to produce 5-HT/ZHANG Xiang, CHEN Ying, YAN Fengxia, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2018, 28(5): 456-462

【Abstract】Objectives: To reveal the role of aromatic L-amino acid decarboxylase cells(AADC) after spinal cord injury (SCI) by investigating the AADC distribution in spinal cord and the 5-HT expression in AADC following SCI at different postoperative intervals. Methods: Sixty adult male Wistar rats were randomly divided into normal control group(12 rats), spinal cord injury 2 days group(24 rats, sham in 12 rats), and spinal cord injury 60 days group(24 rats, sham in 12 rats). By using negative pressure suction device, T10-T11 spinal cord was completely separated from 1-3mm, and the spinal cord complete transection model at T10-T11 level was established. The BBB score of different time points was used to evaluate the hindlimb motor function in SCI rats. Each group was perfused and drawn at each time point and the 5-HTP(100 mg/kg) was intraperitoneally injected 30min before perfusion. Immunofluorescence technology was used to detect the expression of AADC and 5-HT in lumbar(L segment) and sacrocaudal segments(S+C segment) of spinal cord. Results: The BBB score of SCI rats was 0, 1.00±0.58, 3.30±0.95, 6.30±0.10, 7.50±0.36 and 7.87±0.08 at 1-2, 3, 7, 14, 28 and 60 days respectively. AADC cells were mainly expressed in the dorsal

基金项目:河北省教育厅重点课题(编号:GD2015002);河北省科技厅课题(编号:169A76220H)

第一作者简介:女(1991-),医师,硕士在读,研究方向:SCI 与修复

电话:(0314)2291148 E-mail:937182166@qq.com

通讯作者:任立群 E-mail:renlq2004@126.com

horn of spinal cord, intermediate zone, and around the central canal. In control group, SCI 2d group and SCI 60d group, the number of AADC in L segment was 46.75 ± 5.50 , 49.50 ± 4.87 and 48.50 ± 6.38 cells respectively; it was 1026.50 ± 66.59 , 1066.75 ± 80.56 and 1046.25 ± 67.79 cells in S+C segment respectively. There was no significant difference between the three groups ($P > 0.05$). The expression of 5-HT was not seen in the AADC cells in the L segment and S+C segment of the normal control group. But 5-HT expression was observed in the AADC cells in SCI 2d and 60d group, which was $(44.43 \pm 6.03)\%$ and $(96.20 \pm 1.53)\%$ in L segment, $(44.45 \pm 5.71)\%$ and $(95.14 \pm 3.02)\%$ in S+C segment. There was significant difference between the two groups ($P < 0.05$). **Conclusions:** There is no significant difference in SCI and normal rats respect to AADC cells distribution and numbers. Following complete transection of the rat spinal cord at T10–11 level, the function of AADC cells in the spinal cord distal to the lesion was increased, and exogenous 5-HTP can be used to generate 5-HT.

[Key words] Spinal cord injury; Aromatic amino acid decarboxylase; 5-hydroxytryptamine

[Author's address] Laboratory of Spinal Injury and Rehabilitation, Chengde Medical College, Chengde, 067000, China

在哺乳类动物的脊髓中,单胺类神经递质 5-羟色氨(5-hydroxytryptamine, 5-HT)来源于脑干中缝核。然而慢性脊髓完全横断后,损伤平面以下的脊髓中仍然含有少量的 5-HT(2%~15%)^[1-3]。有文献显示,每只大鼠的整个脊髓中含有 3~9 个固有的 5-HT 神经元^[4,5],如此少的数量显然不能提供 2%~15% 的 5-HT。关于脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)后损伤平面以下的 5-HT 来源问题,一直备受关注。2014 年,国际上两个课题组利用脊髓 S2 水平损伤的大鼠^[6,7],几乎同时发现脊髓内的芳香族氨基酸脱羧酶(aromatic L-amino acid decarboxylase, AADC)细胞能够利用外源性 5-羟色氨酸(5-hydroxytryptophan, 5-HTP)合成 5-HT。以往的研究显示正常大鼠脊髓中的 AADC 细胞不能合成儿茶酚胺或 5-HT,这也是 AADC 细胞在脊髓研究中一直被忽视的主要原因。

关于 AADC 在脊髓完全损伤中的研究,目前都集中在大鼠脊髓骶段 S2 水平,而该水平 SCI 后仅影响大鼠尾部,并且关于 AADC 在 SCI 前后的分布、功能的报道也不一致^[6,7]。由于临床胸段 SCI 较为常见^[8],因此本实验通过建立脊髓胸段 T10–11 全横断损伤模型,研究 SCI 前后 AADC 表达的部位、数量以及不同时间点损伤段以下脊髓中 AADC 细胞表达 5-HT 细胞的特点,从而揭示 AADC 在脊髓中的表达特征和作用。

1 材料和方法

1.1 主要材料和试剂

66 只 SPF 级成年雄性 Wistar 大鼠,体重 180~220g,购自北京维通利华公司,动物饲养许可

编号:CDMULAC-2017-005,并得到承德医学院实验动物伦理委员会的许可。AADC 一抗购自美国 MILLIFORE 公司,5-HT 一抗体购自美国 IMMUNOSTAR 公司;荧光二抗 Alexa Fluor 488 标记的驴抗兔二抗、Alexa Fluor 594 标记的驴抗山羊二抗购自美国 Invitrogen 公司;5-羟色氨酸购自德国 Sigma-Aldrich 公司;主要仪器:手术显微镜(深圳市瑞沃德生命科技有限公司,中国);荧光显微镜(Olympus, 日本),滑动式冰冻切片机(Thermo Microm, 德国)。

1.2 大鼠分组和 T10–11 脊髓全横断造模方法

大鼠分为正常对照组 12 只、脊髓损伤 2d 组 24 只(其中假手术/sham 组 12 只)、脊髓损伤 60d 组 24 只(其中假手术/sham 组 12 只),另取正常、2d 损伤和 60d 损伤大鼠各 2 只用于对照研究。大鼠以 4%水合氯醛(0.7ml/100g)腹腔注射麻醉,待麻醉生效后备皮,将大鼠俯卧位固定于实验台上,以 T9 棘突为中心,做 4cm 左右长的皮肤切口,用刀片分离 T9 棘突两侧肌肉,用咬骨钳咬除棘突和椎板,充分暴露脊髓 T10~T11 段后逐层打开脊髓硬脊膜以及蛛网膜,在脊髓背静脉的一侧用显微外科镊打开缺口,此时用负压吸引器将脊髓完全离断 1~3mm 即可,保证横断干净以及脊髓背静脉完好无损后缝合肌肉层和皮肤层。Sham 组大鼠在相同位置只咬除椎板并显露硬脊膜,但不损伤脊髓,最后缝合肌肉层和皮肤层。

1.3 SCI 后大鼠的护理

术后护理主要措施如下:术后连续 3d 给予每只大鼠腹腔注射青霉素 16 万 U/d。每日定量供给足够饲料和水,在安静、通风、洁净的环境下分笼

饲养,每两日更换一次鼠笼内垫料,以保证鼠笼内干燥、洁净;人工辅助排尿:排尿时要耐心轻柔,如若确实排不出膀胱内的剩余尿液,应将其留置膀胱,不应过度挤压以免造成膀胱损伤及外生殖器水肿翻出^[9],辅助排尿至大鼠自主排尿反射功能基本恢复为止。每天记录精神状态、饮食、肠胃反应、尿便、下肢水肿、感染等变化情况,并精心护理,防止其出现压疮、肠梗阻等并发症。

1.4 使用 BBB 评分评价 SCI 大鼠后肢运动功能

所有大鼠分别在手术前,术后 1~2d、3d、7d、14d、28d、60d,采用 BBB 评分法^[10],观察大鼠后肢功能情况。

1.5 给药以及组织标本准备

正常对照组、脊髓损伤后 2d 组、脊髓损伤后 60d 组大鼠在灌注取材前 30min 腹腔注射 5-HTP (100mg/kg)^[6],30min 后以 4% 水合氯醛 (0.7ml/100g) 进行腹腔注射麻醉,麻醉后将大鼠仰卧位固定灌注台上,此时迅速剪开胸腔暴露心脏,剪开右心耳和心尖,迅速从左心室-主动脉插管灌注 0.9% 生理盐水约 300~500ml,直至将血液冲洗干净,右心耳流出清亮液体,随后 20~30min 内用 4% 多聚甲醛 300~500ml 缓慢进行固定。固定后将脊髓损伤段以下的脊髓取出,放置于 4% 多聚甲醛中固定 24h,之后将其放置于 30% 蔗糖溶液 24~48h (组织保存于 4℃ 冰箱)。然后将脊髓分为腰段 (L1~L6) 和骶尾段 (S1~Ca3),使用滑动式冰冻切片将组织纵切为 40μm 薄片,存放于 24 孔板中,加入足量防冻液于 -20℃ 保存备用。做对照研究的正常大鼠、2d 损伤大鼠和 60d 损伤大鼠不给予腹腔注射 5-HTP,其他步骤同上。

1.6 免疫荧光检测脊髓中 AADC 和 5-HT 表达

取 1 只大鼠的脊髓 L1~L6 和 S1~Ca3 薄片进行染色,染色步骤如下。PBS (phosphate buffer saline) 清洗 1 次,每次 10min;加入 0.1% Triton X-100 的 PBS (PBS-T) 清洗 1 次,每次 10min;5% 的驴血清室温孵育 1h,孵育后加入稀释好的一抗 AADC (1:500)、5-HT (1:10000) 4℃ 孵育过夜。次日加入 PBS-T 清洗 4 次,每次 15min;加入稀释好的 Alexa Fluor 488 标记的驴抗兔 (1:200) 二抗、Alexa Fluor 594 标记的驴抗山羊 (1:200) 二抗孵育 1h;PBS 清洗 3 次,每次 10min,常规荧光封片,观察大鼠脊髓中 AADC 和 5-HT 的表达。

1.7 统计学分析

利用荧光显微镜观察大鼠脊髓中 AADC 细胞和 5-HT 细胞的表达,然后对所有切片脊髓中央带的 AADC 阳性细胞和 5-HT 阳性细胞分别进行人工显微镜下计数,相加计数得出总值,所有的记录将腰段和骶尾段分开统计。AADC 细胞中 5-HT 的阳性表达率计算:5-HT 阳性细胞数量/AADC 细胞数量×100%。实验数据采用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,使用 SPSS 19.0 软件进行组间比较 (用 *t* 检验),*P* < 0.05 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SCI 后不同时间点大鼠辅助排尿次数

SCI 大鼠在术后 1 周内,辅助排尿次数维持在 3 次/d;术后 8~10d 大鼠排尿功能稍有恢复,辅助排尿在 2 次/d 即可;在术后 11~14d 在排尿过程中排尿阻力明显减少,大鼠排尿功能大幅度恢复,辅助排尿可为 1 次/d;在术后 15d 以后大鼠的排尿功能基本恢复,可自行排尿,不再辅助排尿。排尿次数见图 1。

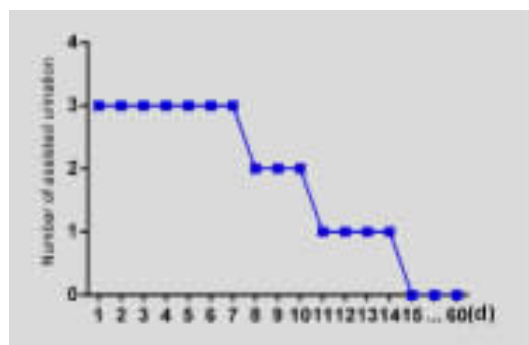


图 1 术后不同时间点脊髓损伤大鼠排尿次数

Figure 1 The number of urination with SCI rats at different time points after operation

2.2 SCI 大鼠 BBB 评分结果

见表 1。在损伤前大鼠 BBB 评分为 21 分,在术后 1~2d 内大鼠后肢运动功能丧失, BBB 评分为 0 分;3d 后肢运动功能开始恢复, BBB 评分在 1 分左右;术后 7d 时 BBB 评分在 3~4 分左右;术后 14d 时 BBB 评分在 6 分左右;到术后 28~60d 时, BBB 评分稳定在 7~8 分左右。

2.3 AADC 和 5-HT 在脊髓腰段和骶尾段的表达特征

2.3.1 AADC 和 5-HT 在脊髓的分布 正常脊髓腰段 (L 段) 和骶尾段 (S+C 段) 的灰质和白质中均可见到 AADC 细胞表达, 其中白质中可见少量

AADC细胞散在表达并且 AADC 纤维较多;灰质中 AADC 细胞主要出现在脊髓的背角、中间带、中央管周围等部位。脊髓 T10-T11 全横断后,损伤平面以下的 AADC 细胞的表达方式与损伤前相似。正常脊髓 L 段和 S+C 段灰质中可见大量 5-HT 纤维,损伤后 2d 时 5-HT 纤维减少,损伤后 60d 时基本看不到 5-HT 纤维(图 2)。

2.3.2 脊髓损伤后不同时间点 AADC 细胞表达

表 1 脊髓损伤大鼠不同时间点后肢运动功能的 BBB 评分情况

Table 1 BBB Score of hindlimb motor function with SCI rats at different time points

	BBB评分 BBB score
术前 Preoperative	21.00±0.00
术后 1~2d Postoperative 1~2d	0.00±0.00
术后 3d Postoperative 3d	1.00±0.58
术后 7d Postoperative 7d	3.30±0.95
术后 14d Postoperative 14d	6.30±0.10
术后 28d Postoperative 28d	7.50±0.36
术后 60d Postoperative 60d	7.87±0.08

数量的变化 正常对照组大鼠 (Normal rats)、脊髓损伤 2d 大鼠 (SCI rats 2d) 和脊髓损伤 60d 大鼠 (SCI rats 60d) 在 L 段和 S+C 段 AADC 细胞具体数量见表 2, 各组相比结果无显著性差异 ($P>0.05$)。

2.4 SCI 后不同时间点 AADC 细胞表达 5-HT 的特点

正常大鼠、脊髓损伤后 2d 和 60d 的大鼠, 当不给予外源性 5-HTP 时损伤平面以下的脊髓的 AADC 细胞不表达 5-HT。当给予外源性 5-HTP 的情况下, 正常对照组大鼠中 L 段和 S+C 段中 AADC 细胞中未见 5-HT 的表达, 2d 时间点 SCI 组和 60d 时间点 SCI 组中 L 段和 S+C 段可见 AADC 细胞中 5-HT 的表达(图 3), 具体表达率情况见表 3, 两组相比结果有显著性差异 ($P<0.05$)。

3 讨论

在正常大鼠中 5-HT 主要来源于脑中缝核, 由中脑下行投射的神经纤维下达脊髓背角、侧角和前角, 它可以通过其多种受体的介导参与多

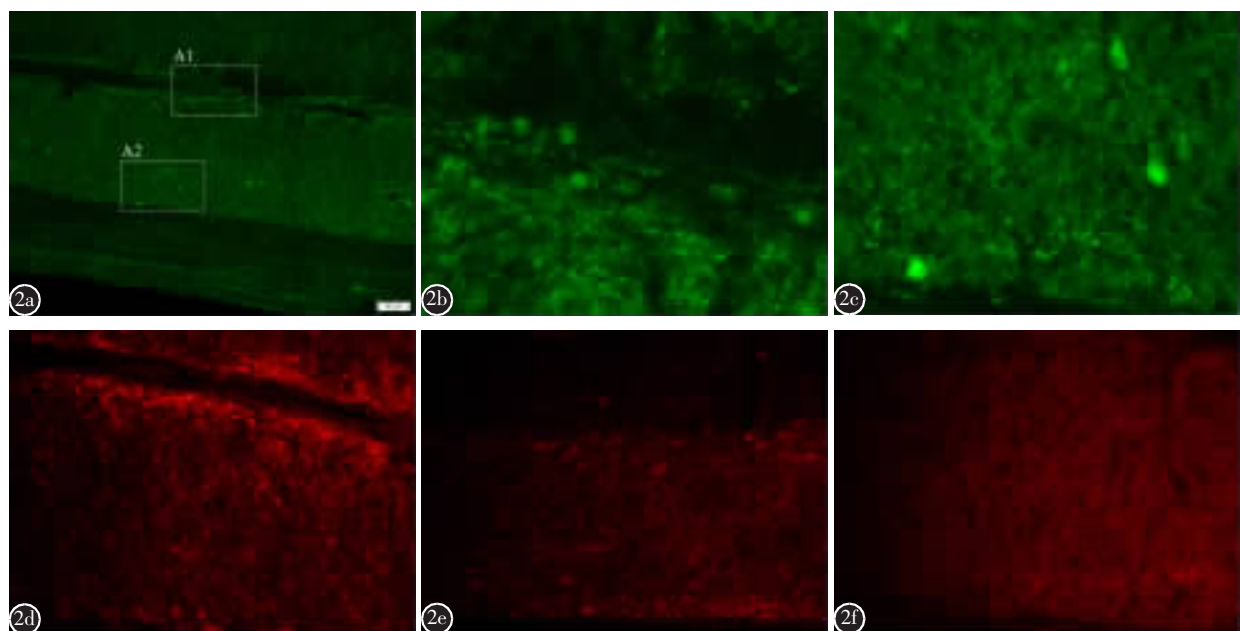


图 2 a~c 在脊髓损伤骶段可见 AADC 细胞分布 d~f 不同时间段 5-HT 纤维分布[a、d、e、f(×10); b 和 c 为(×20) CC, 中央管; IMZ, 中间带; WM, 白质] d 正常大鼠, 髓灰质中可见大量 5-HT 纤维 e 2d SCI 大鼠, 5-HT 纤维减少 f 60d SCI 大鼠, 基本看不到 5-HT 纤维

Figure 2 a~c The distribution of AADC cells could be seen in the sacral segment of spinal cord injury d~f The distribution of 5-HT fibers in the sacral segment of spinal cord injury at different time points[a, d, e, f(×10); b and c(×20); CC, The central tube; IMZ, The middle zone; WM, White matter] d Normal rats, a large number of 5-HT fibers were seen in the gray matter of the spinal cord e 2d injured rats, 5-HT fibers were decreased f 60d injured rats, 5-HT fibers were almost invisible

表 2 各组大鼠在脊髓中间带 AADC 细胞数量
Table 2 The number of AADC cells in the spinal cord of rats in three groups

	腰段 L	骶尾段 S+C
正常对照组大鼠 Normal rats	46.75±5.50	1026.50±66.59
脊髓损伤 2d 大鼠 SCI rats 2d	49.50±4.87 ^①	1066.75±80.56 ^①
脊髓损伤 60d 大鼠 SCI rats 60d	48.50±6.38 ^{①②}	1046.25±67.79 ^{①②}

注:①与正常对照组大鼠比较 $P>0.05$;②与脊髓损伤 2d 大鼠比较 $P>0.05$

Note: ①Compared with normal rats group, $P>0.05$; ②Compared with SCI rats 2d group, $P>0.05$

种机体的生理活动^[11-13],比如参与运动、认知记忆、情绪、焦虑、痛觉、心血管、睡眠-觉醒周期等活动。脊髓损伤后 5-HT 的一个重要来源是 AADC 细胞^[6,7]。AADC 广泛分布在外周组织和中

枢神经系统组织中,AADC 可以催化 5-HTP 和左旋多巴分别生成 5-HT 和多巴胺^[14-16]。另外 AADC 参与微量胺的合成,微量胺及其受体与脊髓局部运动功能调节相关^[17,18]。脊髓中的 AADC 细胞,过去曾一直被认为主要分布在中央管周围而且不能合成单胺(儿茶酚胺和 5-HT)^[19,20]。为什么正常脊髓中 AADC 细胞不能产生单胺?这可能与脊髓中 AADC 酶的活性被脑下行性单胺类神经纤维所抑制有关^[6,21]。2014 年,国际上两个课题组对 AADC 的研究有了突破性的进展,几乎同时发现 SCI 能够提高 AADC 酶的活性,进而可利用外源性 5-HTP 产生 5-HT。但关于 AADC 的分布研究两课题组结果不一致。Wienecke 等^[6]报道:(1)正常骶尾部脊髓中的 AADC 细胞不仅分布在中央管周围而且在中央带、背角和白质中均可表达。(2)脊髓 S2 水平全横断后,损伤平面以下脊髓内损伤前

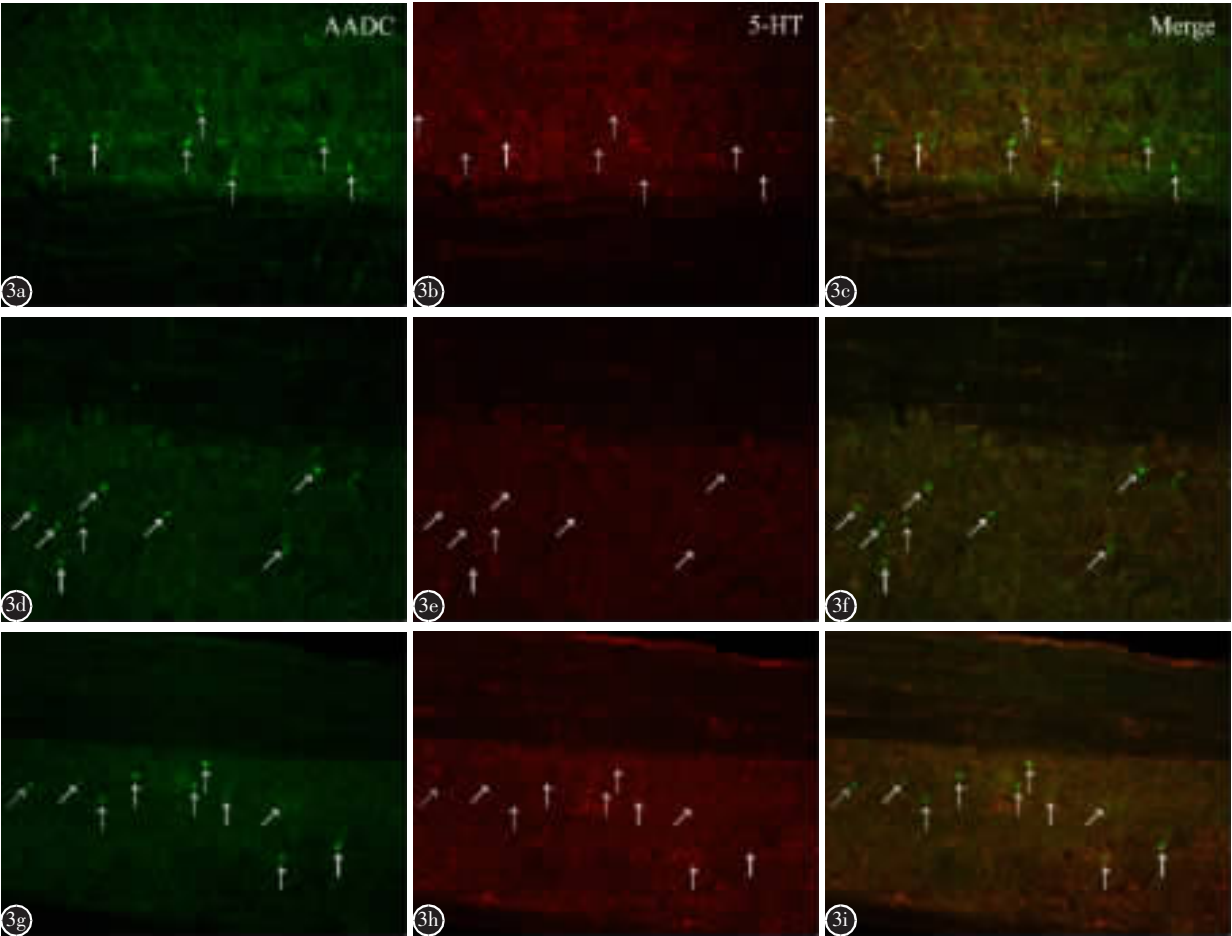


图 3 各组 AADC 细胞表达 5-HT 细胞情况($\times 10$)。箭头标示了 AADC 细胞表达的部位 a~c 在正常大鼠中 AADC 细胞不表达 5-HT d~f 正常组+5-HTP,AADC 细胞不表达 5-HT g~i 在 SCI 2d 组 AADC 细胞不表达 5-HT

Figure 3 Expression of 5-HT cells of AADC cells in each group ($\times 10$) Arrows indicate the site of AADC cell expression a~c AADC cells do not express 5-HT in normal rats d~f In normal cells+5-HTP, but AADC cells do not express 5-HT g~i In SCI 2d group AADC cells do not express 5-HT

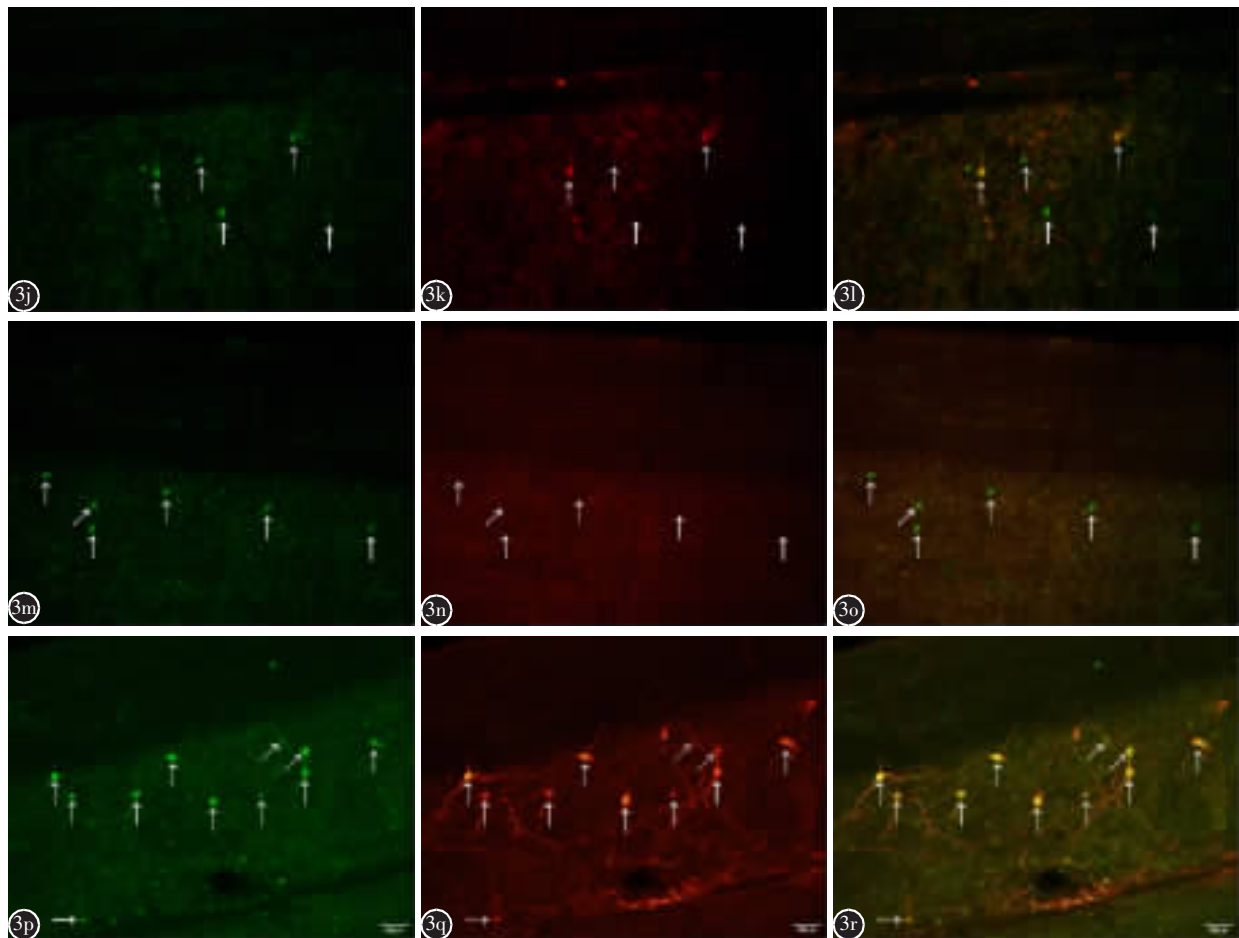


图 3 j~l SCI 2d 组+5-HTP, AADC 细胞部分表达 5-HT m~o 在 SCI 60d 组, AADC 细胞不表达 5-HT p~r 在 SCI 60d 组+5-HTP 情况下, AADC 细胞几乎全部表达 5-HT

Figure 3 j~l In SCI 2d group+5-HTP, 5-HT was partly expressed in AADC cells m~o 5-HT was not expressed in AADC cells in SCI 60d group p~r In SCI 60d group+5-HTP, almost all AADC cells express 5-HT

后 AADC 细胞表达水平、表达部位没有明显区别。(3) 当外源性给予 5-HTP 后, S2 水平全横断以下的脊髓中 AADC 细胞可以发生表型改变表达 5-HT。Li 等^[7]研究表明, (1) 正常骶尾部脊髓中只有中央管周围可见 AADC 细胞, 其他区域只可

见 AADC 纤维; (2) 脊髓 S2 水平全横断后, 损伤平面以下 AADC 在微血管和脊髓中央带的神经元中强表达; (3) 当外源性给予 5-HTP 后, S2 水平全横断以下的脊髓中 AADC 细胞表达 5-HT, 且 5-HT 也表达在微血管。2015 年, Azam 等^[22]发现脊髓 T11-12 的半横断后损伤与非损伤侧脊髓中 AADC 表达部位和数量无明显改变, 但损伤 5d 组损伤侧脊髓中 AADC 细胞产生 5-HT 的数量增多, 这种现象在半损伤 60d 没有发现。2017 年, Ren 等^[16]对 AADC 细胞在大鼠所有脊髓节段内的分布做了系统研究。Li 等^[23]新近研究提示, SCI 后表达在毛细血管周细胞的大量 AADC 会影响大鼠的运动功能。

为了进一步证实 AADC 在脊髓中的分布和作用, 深入研究较高脊髓水平损伤后 T10-11 是否 AADC 细胞也会出现 S2 损伤一样的变化。本研究采用 T10-11 脊髓全横断模型, 将损伤水平

表 3 在各组中 AADC 细胞表达 5-HT 阳性率

Table 3 AADC cells express 5-HT positive rate in the spinal cord of rats in three groups

	腰段 L	骶尾段 S+C
正常对照组大鼠 Normal rats	00.00±0.00	00.00±0.00
脊髓损伤 2d 大鼠 SCI rats 2d	44.43±6.03 ^①	44.45±5.71 ^①
脊髓损伤 60d 大鼠 SCI rats 60d	96.20±1.53 ^②	95.14±3.02 ^②

注: ①与正常对照组大鼠比较 $P<0.05$; ②与脊髓损伤 2d 大鼠比较 $P<0.05$

Note: ①Compared with normal group rats, $P<0.05$; ②Compared with SCI 2d rats, $P<0.05$

以下的脊髓分为 L 段和 S+C 段分别研究,发现损伤平面以下脊髓内损伤前后无论是 L 段或 S+C 段中,AADC 细胞的数量和表达部位没有明显区别,结果与 Wienecke 等^[7]和 Ren 等^[6]的研究相似。L 段 AADC 细胞的数量比 S+C 段少,与本课题组前期研究结果一致。实验中,我们发现如果大鼠灌注效果不理想,脊髓的微血管中确实会有 AADC 的表达。

当给予外源性的 5-HTP,我们发现正常大鼠脊髓未损伤组中的 AADC 细胞功能没有改变,不能产生 5-HT,这个结果与 Li 等^[7]的报道相似,但与 Wienecke 等^[6]不同;SCI 组 L 段及 S+C 段的 AADC 细胞中均可见 5-HT 阳性表达,且 SCI 60d 时的表达率更高。本组结果表明,脊髓损伤后 60d,AADC 的活性已充分被激活,产生大量 5-HT。而 AADC 细胞产生的 5-HT 被认为是运动神经元兴奋增高导致痉挛的一个主要因素。

本研究结果提示,当脊髓内来源于脑下行性单胺类神经支配缺失时,AADC 细胞可能作为储备细胞弥补单胺的不足,从而对 SCI 后运动功能的恢复发挥重要作用。

4 参考文献

- Andén NE, Haeggendal J, Magnusson T, et al. The time course of the disappearance of noradrenaline and 5-hydroxytryptamine in the spinal cord after transection[J]. *Acta Physiol Scand*, 1964, 62(1-2): 115-118.
- Magnusson T. Effect of chronic transection on dopamine, noradrenaline and 5-hydroxytryptamine in the rat spinal cord[J]. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 1973, 278(1): 13-22.
- Schmidt BJ, Jordan LM. The role of serotonin in reflex modulation and locomotor rhythm production in the mammalian spinal cord[J]. *Brain Res Bull*, 2000, 53(5): 689-710.
- Newton BW, Hamill RW. The morphology and distribution of rat serotonergic intraspinal neurons: an immunohistochemical study[J]. *Brain Res Bull*, 1988, 20(3): 349-360.
- Newton BW, Maley BE, Hamill RW. Immunohistochemical demonstration of serotonin neurons in autonomic regions of the rat spinal cord[J]. *Brain Res*, 1986, 376(1): 155-163.
- Wienecke J, Ren LQ, Hultborn H, et al. Spinal cord injury enables aromatic L-amino acid decarboxylase cells to synthesize monoamines[J]. *J Neurosci*, 2014, 34(36): 11984-12000.
- Li Y, Li L, Stephens MJ, et al. Synthesis, transport, and metabolism of serotonin formed from exogenously applied 5-HTP after spinal cord injury in rats[J]. *J Neurophysiol*, 2014, 111(1): 145-163.
- 王丙超. 新的胸腰椎骨折 AO 分型系统可信度和可重复性研究[D]. 新疆医科大学, 2017.
- 李俊杰, 饶耀剑, 林斌, 等. 术后护理对 Allen's 打击法制备 SD 大鼠 SCI 模型的影响[J]. *中外医学研究*, 2015(31): 153-155.
- Kanekiyo K, Nakano N, Noda T, et al. Transplantation of choroid plexus epithelial cells into contusion-injured spinal cord of rats[J]. *Restor Neurol Neurosci*, 2016, 34(3): 347-366.
- 孔二亮, 吴飞翔, 俞卫锋. 5-羟色胺受体及其在疼痛调控中的研究进展[J]. *第二军医大学学报*, 2016, 37(12): 1517-1523.
- 孙海涛, 巨淑慧, 庄建华, 等. 5-羟色胺受体对阿尔茨海默病的意义及相关药物研发进展[J]. *中国临床医学*, 2017, 24(6): 964-969.
- 周航宇, 姜淮芑, 王明佳. 5-羟色胺及其受体研究进展[J]. *山东医药*, 2014, 54(12): 90-93.
- Lopez-Real A, Rodriguez-Pallares J, Guerra MJ, et al. Localization and functional significance of striatal neurons immunoreactive to aromatic L-amino acid decarboxylase or tyrosine hydroxylase in rat Parkinsonian models[J]. *Brain Res*, 2003, 969(1): 135-146.
- Kitahama K, Ikemoto K, Jouvet A, et al. Aromatic L-amino acid decarboxylase-immunoreactive structures in human mid-brain, pons, and medulla[J]. *J Chem Neuroanat*, 2009, 38(2): 130-140.
- Ren LQ, Chen M, Hultborn H, et al. Heterogenic Distribution of Aromatic L-Amino Acid Decarboxylase Neurons in the Rat Spinal Cord[J]. *Nat Med*, 2017, 11(31): 1-19.
- Gozal EA, O'Neill BE, Sawchuk MA, et al. Anatomical and functional evidence for trace amines as unique modulators of locomotor function in the mammalian spinal cord [J]. *Front Neural Circuits*, 2014, 8(8): 134-154.
- Hochman S. Metabolic recruitment of spinal locomotion: intracellular neuromodulation by trace amines and their receptors[J]. *Neural Regen Res*, 2015, 10(12): 1940-1942.
- Jaeger CB, Teitelman G, Joh TH, et al. Some neurons of the rat central nervous system contain aromatic L-amino acid decarboxylase but not monoamines[J]. *Science*, 1983, 219(4589): 1233-1235.
- Nagatsu I, Sakai M, Yoshida M, et al. Aromatic-L-amino acid decarboxylase-immunoreactive cerebrospinal fluid-contacting neurons do not contain dopamine and serotonin in the mouse and rat spinal central canals [J]. *Neurosci Res Suppl*, 1988, 7(1): S163-S163.
- Branchereau P, Chapron J, Meyrand P. Descending 5-hydroxytryptamine raphe inputs repress the expression of serotonergic neurons and slow the maturation of inhibitory systems in mouse embryonic spinal cord[J]. *J Neurosci*, 2002, 22(7): 2598-2606.
- Azam B, Wienecke J, Jensen DB, et al. Spinal Cord Hemisection Facilitates Aromatic L-Amino Acid Decarboxylase Cells to Produce Serotonin in the Subchronic but Not the Chronic Phase[J]. *Neural Plast*, 2015, 2015(3): 1-10.
- Li Y, Lucasosma AM, Black S, et al. Pericytes impair capillary blood flow and motor function after chronic spinal cord injury[J]. *Nat Med*, 2017, 23(6): 733-745.

(收稿日期:2018-01-05 修回日期:2018-03-13)

(英文编审 郑国权/贾丹彤)

(本文编辑 彭向峰)