

基础研究

成年小鼠颈 5 脊髓钳夹损伤模型的制备与评价

谭波涛¹, 刘捷², 虞乐华¹, 殷樱¹

(1 重庆医科大学附属第二医院康复医学科 400410 重庆市; 2 英属哥伦比亚大学 ICORD 中心, 加拿大不列颠哥伦比亚省, V6T 1Z4)

【摘要】目的:制备小鼠 C5 脊髓背侧及背外侧束钳夹损伤模型, 评价损伤后动物的行为学和组织学表现。**方法:**采用 C57/BL 成年小鼠为实验对象, 将 16 只动物随机分为损伤组和对照组, 每组 8 只。动物麻醉后, 切开背侧颈部皮肤, 显露并切除小鼠 C5 椎板, 损伤组采用自制改良 FST DUMONT 5 号手术钳分别钳夹背侧皮质脊髓束(dCST)和脊髓背外侧束两次; 对照组仅切除椎板不做脊髓钳夹损伤。分别在术前和术后 3d、2 周、4 周、6 周、8 周时采用圆筒实验、水平楼梯实验和食物抓取实验评价动物的行为学表现; 术后 8 周时采用 BDA 逆行示踪观察皮质脊髓束(CST)和红核脊髓束(RST)在损伤后的情况。**结果:**钳夹损伤后, 小鼠后肢步行功能正常但肢体的精细活动能力受到明显影响。在圆筒实验中, 损伤组小鼠伤侧前肢的使用频率下降, 前肢梳洗动作幅度受限, 伤后各时间点与对照组相比差异均有统计学意义($P<0.05$); 在水平楼梯实验中, 损伤组小鼠对横梁的抓握精确性降低, 伤后各时间点与对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$); 在食物抓取实验中, 损伤组小鼠的食物抓取能力也出现了明显受限, 伤后各时间点与对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$)。以上行为学结果在伤后 3d 达高峰, 2 周后逐渐恢复, 但直至 8 周仍不达正常水平。术后 8 周逆行示踪结果显示对照组小鼠 CST 和 RST 均显露清晰, 纤维束呈纵行排列; 损伤组小鼠 CST 和 RST 在损伤处大量断裂、逆向崩解, 且无再生迹象。**结论:**成年小鼠 C5 脊髓钳夹损伤模型能够方便观察动物随意运动的控制情况及评价轴突的再生状况, 适合作为轴突再生的研究模型。

【关键词】脊髓损伤; 小鼠; 轴突再生; 模型

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2019.02.11

中图分类号: R683.2, R-322 文献标识码 A 文章编号: 1004-406X(2019)-02-0164-06

Establishment and evaluation of C5 dorsal spinal cord crush injury model in adult mice/TAN Botao, LIU Jie, YU Lehua, et al/Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2019, 29(2): 164-169

【Abstract】Objectives: To evaluate the C5 spinal cord crush injury(SCI) model by behavior performance and histology in adult mice. **Methods:** A total of 16 adult mice (C57/Black) was randomly assigned into two groups, SCI group and Sham group with eight mice in each group. The spinal cord crush injury (the dorsal and dorsal lateral axons were cut) model at C5 was established by using a modified FST DUMONT 5 surgical forceps. In the Sham group, the lamina was removed without damaging the spinal cord. The behavior performance was evaluated by rearing cylinder, horizontal ladder, and stair case pellet reaching. The axons of the corticospinal tract(CST) and the rubrospinal tract(RST) were observed 8 weeks after operation by using BDA anterograde tracing. **Results:** The hind limb locomotor function was rarely affected in both groups and showed similar BMS scores after injury. However, the fine skilled motor functions were obviously impaired by this axonal crush. Specifically, animals in the SCI group showed significant decrease of the upper limbs usage on the injured side and the limitation of grooming actions in the rearing cylinder, when compared with the Sham group at all time points($P<0.05$). Similarly, when walking across the horizontal ladder, mice in the SCI group showed significant accuracy reduction in gripping the beam, especially in the injured side, when compared with the Sham group at all time points($P<0.05$). The ability of grasping food pellets in the SCI group significantly decreased when compared with the Sham group at all time points($P<0.05$). These impaired motor func-

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81702221); 重庆市科委项目(cstc2018jcyjAX0180); 重庆市渝中区科委项目(20180121)

第一作者简介: 男(1986-), 医师, 医学博士, 研究方向: 脊髓损伤相关基础与临床研究

电话: (023)63693737 E-mail: tanbotao592@126.com

通讯作者: 殷樱 E-mail: iyinying@hotmail.com.

tions reached the summit 3 days after injury and started to recover 2 weeks later. However, they did not go back to normal even 8 weeks after injury. No regeneration was observed neither in the corticospinal tract nor in the rubrospinal tract 8 weeks after injury. **Conclusions:** A stable, reliable and clinical relevant animal model of cervical spinal cord injury was successfully established, which was suitable for axon regeneration researches.

【Key words】 Spinal cord injury; Mice; Axon regeneration; Model

【Author's address】 Department of Rehabilitation Medicine, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400410, China

如何促进受损神经纤维的轴突再生,恢复脑-脊髓之间的信息联系是治疗脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)的重要途径之一,也是当前神经科研究的热点领域^[1]。由于损伤机理不同,目前应用较为广泛的 Allen's 打击模型和缺血损伤模型并不是作为轴突再生相关研究的理想模型^[2,3]。以上两种模型主要引起局部神经细胞的坏死、凋亡和轴突脱髓鞘改变,对脊髓传导束的损伤缺乏特异性,且不能保证轴突损伤的彻底性。在轴突切断损伤模型中,即使少量的轴突保留都将影响研究者对再生情况的观察^[4,5]。因此,寻找合适的动物模型对 SCI 后轴突再生的研究十分重要。解剖学研究证实,啮齿动物脊髓传导束的解剖特点与人类有显著的不同,控制随意运动的皮质脊髓束(corticospinal tract, CST)主要位于小鼠脊髓中央管背侧[约 96%的轴突,又称皮质脊髓背侧束(dCST)]^[6],小部分位于脊髓背外侧束[又称皮质脊髓背外侧束(dlCST),占 3%]且与红核脊髓束(rubrospinal tract, RST)伴行。RST 对小鼠随意运动的控制也较为重要^[7]。有研究报道在 C4 节段切断脊髓背外侧束能导致小鼠伤侧前肢功能的缺失,但该方法主要损伤 RST,对 CST 影响较小^[2],而且由于选取位置较高,若同时切断 dCST,则动物症状重,死亡率增加。本研究拟同时切断 dCST 和 dlCST+RST,并将节段降低至 C5,由此达到损伤大部分 CST 又能观察肢体精细运动能力的特点,旨在制备理想的研究轴突再生的动物模型

1 材料与方法

1.1 实验动物

12 周龄 C57BL 系小鼠,体重 25~30g,按照 12h 昼夜节律,温度 20℃,湿度 40%~60%。动物操作人员均经过英属哥伦比亚大学动物照护组织(UBC Animal Care Committee)的培训和资质考试,拥有实验动物伦理等相关证书。动物分组:损

伤组,接受脊髓钳夹损伤手术($n=8$);对照组,只打开椎板不损伤脊髓($n=8$),雌雄各半。

1.2 实验材料

Dumostar Biology 生产的 FST DUMONT 5 号手术镊子,并进行部分改进:显微镜下将尖端磨平、磨细,使其尖端宽度约为 200 μm 、尖端长度为 2mm(图 1),同时在中线处标记 1mm 记号以便识别镊子间断刺入脊髓的深度。厢式食物抓取盒(Stair Case, USA);攀爬圆筒(自制);水平楼梯(自制)。动物吸入麻醉机、小动物手术台、手术显微镜、Leica 共聚焦显微镜、高温消毒机、恒温台等;小动物手术器械;碘伏、巧克力丸(Research Diets, USA)、林格氏液、异氟烷等试剂。示踪剂:BDA 10000kDa 10% (W/V);显色剂:Day-light-594 Streptavidin(1:200)。

1.3 动物模型的制备

动物称重、麻醉、备皮、消毒后固定于恒温手术台上。切开颈部皮肤,钝性分离皮下筋膜、肌肉,显露脊椎椎板。定位 C5 棘突,咬骨钳行椎板切除术,避免损伤软脊膜。损伤组用 26 号针分别在脊髓后角灰质部分刺破软脊膜,为钳夹针开一进针孔。采用改良 FST DUMONT 5 号手术钳分别刺入双侧背角灰质(进针孔)约 1mm,对脊髓 dCST 做钳夹损伤,保持钳夹动作约 15s,并重复一次。再次将手术钳一侧尖端刺入左侧脊髓背侧针孔约 0.8mm,另一侧尖端置于脊髓外面,夹断 RST 和 dlCST(图 2),保持 15s,重复一次,逐层缝合。对照组仅切除椎板,不做脊髓钳夹损伤。操作均在显微镜下完成。术后予以生理盐水(3ml/kg)和丙泊酚(0.03mg/kg)皮下注射防止脱水和止痛。待其苏醒后观察记录有无异常活动,放回笼中饲养。每日检查动物情况,损伤组按摩膀胱协助尿液排出,并采用 BMS(Basso mouse scale)评分^[4]评价后肢运动能力。

1.4 行为学检测^[2]



图 1 DUMONT 5 号手术钳(钳夹钳尖端磨细,长度 2mm,宽度 200 μ m) 图 2 C5 脊髓钳夹损伤示意图(红色表示脊髓皮质脊髓束,绿色表示红核脊髓束)

Figure 1 Modified FST DUMONT 5 forceps (fine tips ground down to the size of 2mm in length and 200 μ m in width)

Figure 2 Schema of the crush injury on C5 spinal cord and schema of the crush injury on C5 spinal cord (red represents the CST and green represents RST)

1.4.1 圆筒攀爬实验 将两组小鼠分别放置在一个透明的有机玻璃圆筒内,录像并分析其直立状态下使用左侧前肢攀爬圆筒壁的偏好程度。每次攀爬动物都会面临使用哪侧前肢的选择,故存在左、右、双侧攀爬 3 种结果,由此可以计算使用左侧前肢(左侧攀爬及双侧攀爬)的百分比。分析前 10 次圆筒壁攀爬情况,最长观察时程为 15min。实验正式开始前 3d 将动物放置到圆筒里适应 15~20min,并接受基线检测。

1.4.2 梳洗测试 将两组小鼠分别置于透明的有机玻璃圆筒(同圆筒攀爬实验)中约 15min,录像并分析左侧前肢整理头面部毛发的动作。梳洗动作评分标准为完成左前肢舔爪(1 分)、抚鼻(2 分)等小弧形运动和触前额(3 分)、挠耳朵(4 分)及耳后毛发(5 分)等大范围运动的程度。录像前用棉球将少量水滴置于小鼠的颈背部以触发动物的梳洗动作。

1.4.3 水平楼梯实验 水平横梯跑道(100 $\times$ 13cm;L $\times$ W)由两块有机玻璃组成。动物饲养笼放置于跑道末端促使动物通过横梯跑道回笼。使用摄像机记录跑步情况,逐帧分析肢体踩空和滑落横梯的情况,计算出错误步数的比例,评价小鼠肢体在水瓶楼梯上的行走控制能力。

1.4.4 厢式楼梯食物抓取实验 该测试装置包括具有铰接盖的隔室,小鼠放置在该隔室中用于测试。开始舱的两侧有狭窄的走廊水平延伸,每个走廊都有一个七台阶的楼梯。小鼠不能进入这些狭窄的走廊,但可以攀爬到走廊上方和之间的平台上。该位置允许健康小鼠能分别用右前肢或/和左

前肢抓取梯级上的巧克力小丸。动物在测试前禁食 16h,以促进其食物抓取行为。每个梯级上放置的食物颗粒数量为 3 颗,一共为 3 $\times$ 5=15 颗。计算动物成功抓取食物颗粒的百分比。实验正式开始前动物会接受适应性训练和基线检测。

行为学检测的时间点均为手术前(基线),手术后 3d、2w、4w、6w、8w。

1.5 传导束顺行示踪

CST 示踪: 术后 6 周,动物重新麻醉,切开头部皮肤,暴露前囟(Bregma),用颅骨钻在右侧运动皮质区域钻孔,坐标:(前囟:前 0.4mm,后 0.6mm;旁开 1mm,1.5mm;皮层下 0.7mm),采用汉密尔顿微量进液器(7105/5 μ l)装载 10%DBA,缓慢注射到运动皮质 layer V,0.4 μ l/sites $\times$ 2 sites。速度 0.1 μ l/min,每个注射点滞针 3min,缓慢退针。**RST 示踪:** 时间点同 CST 示踪,坐标(前囟:后 3.5mm;旁开 1mm,1.5mm;皮层下 0.7mm),注射右侧红核,BDA 用量 0.5 μ l。CST 和 RST 示踪在不同小鼠上进行。

1.6 组织学检查

术后 8 周,予以过量麻醉小鼠并经心脏灌注。以 C5 为中心,取颈段脊髓,长度 10mm。蔗糖梯度脱水后,OTC 包埋并纵行切片,以便观察轴突的情况。BDA 显色后,共聚焦显微镜下拍照。

1.7 统计学处理

计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组比较采用非参数多重 t 检验,多个时间点比较采用多因素方差分析(2-way ANOVA)并 Tukey's 多重比较。检验水准 $\alpha=0.05$ 。所用软件为

GraphPad Prism version 6.0 for Mac, GraphPad Software(San Diego California, USA)。

2 结果

2.1 一般情况

造模后对照组小鼠行为基本正常。损伤组小鼠死亡 2 只,造模失败 1 只,均补充;小鼠在麻醉苏醒后出现较轻微的伤侧后肢活动障碍,BMS 评分显示动物的后肢踏步运动功能良好,恢复较快,在术后 3d 即达到对照组水平,较少有排尿功能障碍出现。两组小鼠体重在术后 1 周均逐渐增加。

2.2 圆筒攀爬实验结果

动物在损伤前对两侧前肢的使用选择上没有偏好,使用左、右、双侧前肢攀爬的频率基本相当。SCI 后,小鼠对损伤侧前肢(包括伤侧攀爬和双侧攀爬)的使用意愿大幅下降,与对照组比较有显著性差异 ($P<0.05$),1 周后逐渐恢复但未达伤前水平,损伤后 8 周与对照组比较仍有显著性差异 ($P<0.05$,表 1)。

2.3 梳洗测试检测结果

小鼠在损伤前会不时整理自己的头面部毛发、舔指甲以及腹部的毛发,且双侧前肢活动范围基本可以到达耳后区域,Grooming 评分多为 5 分。SCI 后,动物前肢活动能力减弱,梳洗时仅能达到鼻部区域,虽然随着时间的推移存在一定程度的功能恢复,但与对照组比较仍有显著性差异 ($P<0.05$,表 2)。

2.4 水平楼梯检测结果

损伤前,小鼠在水平楼梯上失误率很低,约为 5%。但是 SCI 后失误率均有明显升高,其中伤侧前肢和伤侧后肢失误率的升高最为明显,早期可达 90%,与对照组比较,在损伤后各个时间点均有显著性差异 ($P<0.05$,表 3)。

2.5 食物抓取实验

两组小鼠基线水平的食物抓取能力类似,双侧前肢均能成功抓取 7~9 颗食物小丸 (60%左右)。但是脊髓损伤后,抓取能力明显下降(成功抓取率),与对照组比较差异有显著性 ($P<0.05$,表 4)。

2.6 脊髓下行传导束顺行示踪结果

BDA 顺行示踪很好地标记了 CST 和 RST,通过 Alexa-594-Streptavidin 显色反应,轴突呈现出红色丝状。对照组轴突形态完整,未见断裂,组织

结构正常;而损伤组可见明显的脊髓钳夹损伤病灶,轴突大量断裂、回缩,且断端出现较多“灯泡样”改变,提示轴浆运输受阻。SCI 后 8 周,小鼠的

表 1 圆筒实验检测结果 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Table 1 The rearing cylinder results in both groups

	左前肢攀爬比率(%) Rate of left forepaw usage		双侧前肢攀爬比率(%) Rate of both forepaw usage	
	损伤组 SCI group	对照组 Control group	损伤组 SCI group	对照组 Control group
手术前 Preoperation	42.3±12.7	41.9±9.6	30.9±10.4	31.4±13.5
手术后 Postoperation				
3d	15.4±9.6	33.8±11.6 ^①	4.8±5.9	26.0±7.9 ^①
2w	20.6±7.9	41.4±9.6 ^①	15.2±8.7	31.3±6.2 ^①
4w	23.5±8.7	43.9±10.2 ^①	18.3±9.9	29.8±7.6 ^①
6w	18.7±8.1	36.0±8.7 ^①	14.6±5.6	27.0±6.5 ^①
8w	22.2±10.6	40.3±12.7 ^①	18.4±7.1	30.7±8.2 ^①

注:①与对照组比较 $P<0.05$

Note: ①Compared with control group, $P<0.05$

表 2 梳洗测试检测评分结果 ($n=8, \bar{x} \pm s$, 分)

Table 2 The results of Grooming test in both groups

	损伤组 SCI group	对照组 Control group
手术前 Preoperation	4.8±0.3	4.8±0.5 ^①
手术后 Postoperation		
3d	2.4±1.0	4.6±0.6 ^①
2w	2.5±0.8	4.9±0.6 ^①
4w	2.7±0.9	4.9±0.3 ^①
6w	2.2±0.9	4.7±0.5 ^①
8w	2.6±1.1	4.8±0.3 ^①

注:①与对照组比较 $P<0.05$

Note: ①Compared with control group, $P<0.05$

表 3 水平楼梯检测结果 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Table 3 The results of horizontal ladder in both groups

	左侧前肢失误率(%) of left forepaw error		左侧后肢失误率(%) of left hindpaw error	
	损伤组 SCI group	对照组 Control group	损伤组 SCI group	对照组 Control group
手术前 Preoperation	5.9±9.0	5.6±6.5	5.5±6.5	5.6±6.5
手术后 Postoperation				
3d	89.3±14.9	4.8±5.1 ^①	90.1±13.8	7.8±7.3 ^①
2w	67.4±18.3	5.4±6.5 ^①	61.9±25.1	9.4±9.0 ^①
4w	55.3±16.4	3.6±8.7 ^①	55.4±20.3	6.7±5.4 ^①
6w	61.7±12.7	7.2±8.2 ^①	48.3±23.5	10.9±5.9 ^①
8w	54.9±10.7	4.8±5.9 ^①	46.1±19.5	6.5±6.8 ^①

注:①与对照组比较 $P<0.05$

Note: ①Compared with control group, $P<0.05$

CST和RST均未见神经纤维向病灶远端生长。相反,大部分轴突呈现出明显的逆向回撤(retraction)(图3)。

3 讨论

既往SCI研究多采用以下动物模型^[8-14]:(1)脊髓撞击挫裂伤模型^[8-10],采用重量10g的打击杆自由落体对颈段或胸段脊髓造成撞击挫裂伤。该模型的最大优点是接近人类脊髓损伤的病理特点因此被广泛应用。但是,由于该模型对脊髓传导束的损伤不特异,因此无法评价SCI后的轴突再生情况。(2)脊髓半切模型^[11-13],采用尖手术刀将脊髓左侧半或右侧半完全切断,之后给予周围神经移植或干细胞移植等治疗评价肢体功能的恢复情况。该模型同样面临着损伤范围大(包括脊髓背外

侧束,脊髓腹侧和皮质脊髓背侧),损伤不特异(背侧皮质脊髓束彼此紧密靠近),对硬脊膜的破坏严重等缺点,影响了其在轴突再生研究中的应用。(3)脊髓背侧半切损伤模型^[14-16],该模型是SCI再生研究中的经典模型之一。Liu等^[14]采用T8脊髓背侧半切损伤模型,观察到敲除激活mTOR信号通路(PTEN)能极大促进CST的轴突再生,开启了轴突再生研究新的方向。该模型的优点是对CST的损伤比较彻底,保留了腹侧传导束,同时由于位置较低,动物的症状并不严重。但这种模型不适合进行行为学评价,因为CST对啮齿动物后肢的精细运动支配不如前肢复杂。常用的后肢行为学评价指标,如BMS评分主要侧重点在步态等方面,且未涉及CST主要控制的前肢功能^[17]。因此,需要制作一种兼有评价轴突再生能力和精细运动功能的SCI模型。

Hilton等^[12]使用DUMONT 5号手术钳分别在C4和C6节段损伤小鼠背外侧束,并比较两种不同损伤模型的功能恢复情况,发现损伤节段在C6的小鼠前肢运动功能出现较明显的恢复,相比C4节段的损伤,差异具有统计学意义。提示颈段较低位置(C6)的损伤模型可能不适合用于轴突损伤后的行为学评价,但较高位置的损伤(C4)可能带来更多的并发症,如呼吸抑制。Hollis等^[18]发现控制小鼠前肢的颈脊髓节段在C5及以下,因此损伤C5可能是引起前肢精细运动障碍的理想节段。本研究采用的C5钳夹损伤模型充分考虑了CST及RST对随意运动控制的意义,选择性切断dCST、左侧dICST以及左侧RST。为尽量减少对

表4 箱式食物抓取实验伤侧前肢食物小丸成功抓取率
($n=8, \bar{x} \pm s, \%$)

Table 4 The results of stair case pellets reaching test in both groups

	损伤组 SCI group	对照组 Control group
手术前 Preoperation	60.4±5.9	61.3±15.8
手术后 Postoperation		
3d	24.6±16.4	63.4±23.7 ^①
2w	30.4±22.3	61.6±21.2 ^①
4w	22±24.3	66.9±29.0 ^①
6w	19.8±16.4	59.3±20.0 ^①
8w	23.9±15.2	67.9±18.9 ^①

注:①与对照组比较 $P<0.05$

Note: ①Compared with control group, $P<0.05$

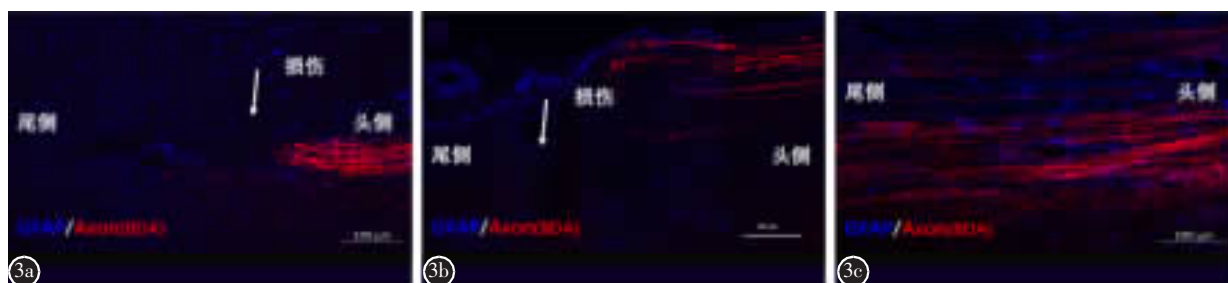


图3 脊髓下行传导束顺行示踪情况[红色为轴突(BDA),蓝色为星形胶质细胞(GFAP)染色,Bar=100μm] a 损伤组大鼠皮质脊髓束(CST)可见大量轴突断裂,断端呈现“灯泡样”改变(箭头表示钳夹损伤病灶) b 损伤组大鼠红核脊髓束(RST)可见红核脊髓束轴突数量较少,大量断裂 c 对照组大鼠皮质脊髓束(CST)可见轴突呈丝状纵行排列,无断裂

Figure 3 Anterograde tracing of descending fibers 8 weeks after operation[Red represents axon(BDA), blue represents astrocyte (GFAP), Bar=100μm] a Corticospinal tract in SCI group, the broken axon has a "bulb-like" change b Rubrospinal tract in SCI group, the number of RST fibres is not that much and many of which are abruptly c Corticospinal tract in Sham group, The axons are arranged in a row and have good continuity

其他纤维及脊髓神经元的影响,我们将手术钳的尖端磨细(仅 200 μ m 宽)且做了长度标记,方便在钳夹时控制插入深度(<1mm)。脊髓腹侧的大部分传导束(如 5-羟色胺能神经纤维)得以保留,因此损伤小鼠的步态基本不受影响,这也符合动物福利保护的相关规定,有利于后期实验的开展。

在行为学评估方面,本研究观察到小鼠在损伤后对侧前肢的使用意愿减弱;通过水平楼梯时不能准确抓握横桥而踏空或滑落;伤侧前肢也不能有效抓取食物小丸。这些功能障碍在 SCI 后早期(3d)达到高峰,并随着时间的推移获得一定恢复,但一直到损伤后 8 周仍然处于受限状态,提示损伤不能完全恢复。另一方面,该种方式的钳夹损伤对小鼠后肢的步行运动(locomotor)行为影响很小,两组小鼠的 BMS 评分在术后 3d 即恢复至接近满分。虽然是高颈段损伤,SCI 动物的一般情况却良好,较少有排尿功能障碍和严重的并发症出现,两组小鼠体重在 SCI 1 周后均开始逐渐增加。

通过 BDA 顺行示踪,本研究发现 C5 钳夹损伤能有效切断 CST 和 RST,且 SCI 后 8 周末见任何断裂的轴突向病灶远端再生,相反这些受损轴突的断端很多出现逆向的崩解和退化(die back),这也是动物精细运动功能不能完全恢复的根本原因。

综上所述,本研究证实成年小鼠 C5 脊髓钳夹损伤模型能够方便观察动物随意运动的控制情况及评价轴突的再生状况,适合作为轴突再生的研究模型。

4 参考文献

1. He Z, Jin Y. Intrinsic control of axon regeneration[J]. Neuron, 2016, 90(3): 437-451.
2. Hilton B J, Assinck P, Duncan GJ, et al. Dorsolateral funicular lesioning of the mouse cervical spinal cord at C4 but not at C6 results in sustained forelimb motor deficits[J]. J Neurotrauma, 2013, 30(12): 1070-1083.
3. Graziadei PPC. The olfactory systems: a model for the study of neurogenesis and axon regeneration in mammals [J]. Neuronal Plasticity, 1978, 131-153.
4. Hilton BJ, Moulson AJ, Tetzlaff W. Neuroprotection and secondary damage following spinal cord injury: concepts and methods[J]. Neurosci Lett, 2017, 652: 3-10.
5. Celik M, Gökmen N, Erbayraktar S, et al. Erythropoietin prevents motor neuron apoptosis and neurologic disability in experimental spinal cord ischemic injury [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(4): 2258-2263.
6. Asante CO, Martin JH. Differential joint-specific corticospinal tract projections within the cervical enlargement[J]. PloS one, 2013, 8(9): e74454.
7. Whishaw IQ, Pellis SM, Gorny B, et al. Proximal and distal impairments in rat forelimb use in reaching follow unilateral pyramidal tract lesions[J]. Behav Brain Res, 1993, 56(1): 59-76.
8. 李兵奎, 常巍, 宋跃明. 脊髓损伤动物模型制备的研究进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2012, 22(10): 947-950.
9. Koozekanani SH, Vise WM, Hashemi RM, et al. Possible mechanisms for observed pathophysiological variability in experimental spinal cord injury by the method of Allen [J]. J Neurosurg, 1976, 44(4): 429-434.
10. Tan BT, Jiang L, Liu L, et al. Local injection of Lenti-Olig2 at lesion site promotes functional recovery of spinal cord injury in rats[J]. CNS Neurosci Ther, 2017, 23(6): 475-487.
11. Hou T, Wu Y, Wang L, et al. Cellular prostheses fabricated with motor neurons seeded in self-assembling peptide promotes partial functional recovery after spinal cord injury in rats[J]. Tissue Eng Part A, 2012, 18(9-10): 974-985.
12. Lu P, Woodruff G, Wang Y, et al. Long-distance axonal growth from human induced pluripotent stem cells after spinal cord injury[J]. Neuron, 2014, 83(4): 789-796.
13. Kushchayev SV, Giers MB, Hom ED, et al. Hyaluronic acid scaffold has a neuroprotective effect in hemisection spinal cord injury[J]. J Neurosurg: Spine, 2016, 25(1): 114-124.
14. Liu K, Lu Y, Lee JK, et al. PTEN deletion enhances the regenerative ability of adult corticospinal neurons [J]. Nat Neurosci, 2010, 13(9): 1075-1081.
15. Hellal F, Hurtado A, Ruschel J, et al. Microtubule stabilization reduces scarring and causes axon regeneration after spinal cord injury[J]. Science, 2011, 331(6019): 928-931.
16. Lang BT, Cregg JM, DePaul MA, et al. Modulation of the proteoglycan receptor PTP σ promotes recovery after spinal cord injury[J]. Nature, 2015, 518(7539): 404-408.
17. Basso DM, Fisher LC, Anderson AJ, et al. Basso mouse scale for locomotion detects differences in recovery after spinal cord injury in five common mouse strains[J]. J Neurotrauma, 2006, 23(5): 635-659.
18. Hollis II ER, Ishiko N, Yu T, et al. Ryk controls remapping of motor cortex during functional recovery after spinal cord injury[J]. Nat Neurosci, 2016, 19(5): 697-705.

(收稿日期:2018-09-16 末次修回日期:2018-11-11)

(英文编审 唐翔宇/贾丹彤)

(本文编辑 卢庆霞)