文章编号:1000-5404(2008)21-2015-05

论著

OEC-SC-ECM-PLGA 桥接体对大鼠坐骨神经缺损的解剖学修复作用

游　华[1],矫树生[2],冯帅南[1],陈建梅[3],李兵仓[1]　([1]第三军医大学大坪医院野战外科研究所第六研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400042;[2]北京军区白求恩国际和平医院神经内科,石家庄 050082;[3]南京军区福州总医院骨科,福州 350025)

摘　要: 目的　研究 OEC-SC-ECM-PLGA 桥接体对大鼠坐骨神经缺损的解剖学修复作用。**方法**　建立 15 mm 的 SD 大鼠右侧坐骨神经缺损模型后,用 OEC、SC、ECM 以及自行制备的 PLGA 导管构成 OEC-SC-ECM-PLGA 桥接体进行修复,同时设 OEC-ECM-PLGA 组、SC-ECM-PLGA 组、ECM-PLGA 组、PLGA 组和自体神经移植组进行对照。术后 1、3、6、9 周 OEC-SC-ECM-PLGA 组、OEC-ECM-PLGA 组和 SC-ECM-PLGA 组行细胞示踪检测,在术后 9 周各组行神经连接率、再生神经相对直径恢复率及超微结构检测。**结果**　OEC 和 SC 可在桥接体内至少存活 6 周,SC 的存活率高于 OEC,两者沿神经纵轴呈梭形分布,并向桥接体近心端和远心端坐骨神经内迁移至少 2.5 mm,OEC-SC-ECM-PLGA 组的神经连接率、再生神经相对直径恢复率、有髓神经纤维密度、总神经纤维数及有髓神经纤维成熟度优于 OEC-ECM-PLGA 组、SC-ECM-PLGA 组、ECM-PLGA 组和 PLGA 组,还未达到自体神经移植组水平。**结论**　OEC 和 SC 可在缺损坐骨神经桥接体内存活,沿神经纵轴分布,并向桥接体两端坐骨神经内迁移。OEC-SC-ECM-PLGA 桥接体对大鼠坐骨神经缺损具有显著的解剖学修复作用。

关键词: 嗅球成鞘细胞;雪旺细胞;聚乳酸-聚羟基乙酸共聚物;坐骨神经缺损
中图法分类号: R318.08; R322.85; R741.05　　**文献标识码**: A

Anatomical repair of rat sciatic nerve defect with OEC-SC-ECM-PLGA bridging complex

YOU Hua[1], JIAO Shu-sheng[2], FENG Shuai-nan[1], CHEN Jian-mei[3], LI Bing-cang[1] ([1]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Department 6, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042; [2]Department of Neurology, Bethune International Peace Hospital of Beijing Military Command, Shijiazhuang 050082; [3]Department of Orthopaedics, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command, Fuzhou 350025, China)

Abstract: Objective　To investigate the anatomical repairing effect of self-made bridging complex of olfactory ensheathing cells, schwann cells, extracellular matrix and poly (DL-lactide-co-glycolide) (OEC-SC-ECM-PLGA) on the defect of sciatic nerve of rats. **Methods**　The 15-mm SD rat right sciatic nerve defect model was established and repaired with OEC-SC-ECM- PLGA bridging complex, which contained OEC, SC, ECM, and self-made PLGA conduit. At the same time, OEC-ECM-PLGA group, SC-ECM-PLGA group, ECM- PLGA group, PLGA group, and nerve autograft group were set up as the controls. At 1, 3, 5 and 9 weeks after surgery, the cell tracking test was performed in these groups. The nerve connective rate, relative diameter recovery rate and ultrastructure observation were performed in all groups in 9 weeks after surgery. **Results**　OEC and SC survived at least 6 weeks in the bridging complex, and SC had higher survival rate than OEC, both cell types distributed longitudinally along the nerve and demonstrated spindle morphous, migrated at least 2.5 mm toward proximal and distal ends of bridging complex in rat sciatic nerve defect. Compared to OEC-ECM-PLGA group, SC-ECM-PLGA group, ECM-PLGA group and PLGA group, OEC-SC-ECM-PLGA group showed better results in nerve connective rate, relative diameter recovery rate, the fiber density, the total nerve fiber number and maturity of myelinated nerve fiber, but all of these were not as well as in nerve autograft group. **Conclusion**　OEC-SC-ECM-PLGA bridging complex has significantly anatomical repairing effect on sciatic nerve defect in rats.

Key words: olfactory ensheathing cells; schwann cells; poly (DL-lactide-co-glycolide); sciatic nerve defect

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2005CB522604)
Supported by the National Key Basic Research and Development Plan of China (973 Program, 2005CB522604)
作者简介:游　华,男,重庆市人,硕士研究生,医师,主要从事神经损伤与修复方面的研究。E-mail: youhuadream@yahoo.com.cn
通信作者:李兵仓,E-mail: bcli1118@yahoo.com
收稿日期:2008-06-10;**修回日期**:2008-08-31

组织工程人工神经的应用极大地提高了神经缺损的修复效果,移植细胞在宿主体内的存活、迁移和分布是其发挥修复作用的前提[1],而神经连接率、再生神经相对直径恢复率是宏观反映神经缺损修复的2个重要解剖学指标,有髓神经纤维密度、总神经纤维数及有髓神经纤维成熟度则从微观层面反映了神经再生的解剖学状况。本研究用自行制备的OEC-SC-ECM-PLGA桥接体修复大鼠坐骨神经缺损后,行细胞示踪检测以观察嗅球成鞘细胞(olfactory ensheathing cell,OEC)和雪旺细胞(Schwann cell,SC)在桥接体内的存活、迁移和分布规律,并行坐骨神经连接率、再生神经相对直径恢复率、有髓神经纤维密度、总神经纤维数及有髓神经纤维成熟度检测,从宏观和微观2个层面,评价OEC-SC-ECM-PLGA桥接体对大鼠坐骨神经缺损的解剖学修复作用。

1 材料与方法

1.1 OEC和SC的分离培养及鉴定、PLGA导管的制作、OEC和SC的预标记

OEC的分离培养及鉴定按文献[2,3]介绍的方法进行。SC的分离培养及鉴定:无菌条件下取出双侧坐骨神经,解剖显微镜下仔细剥离神经外膜及其相连的组织,剪碎后置于酶中37 ℃消化30 min,加入等量含20% FBS的DMEM/F12培养基终止消化,离心、重悬,接种于培养板内孵育1 h, DMEM/F12培养液轻轻洗去未贴壁细胞,重新接种于培养板内再孵育1 h,反复进行3次后,接种于层粘连蛋白包被的12孔培养板内,37 ℃、5% CO_2孵箱内培养,2 d后行S-100蛋白免疫荧光鉴定。参考矫树生等[4]的方法制作长20 mm,内径1.5 mm,壁厚0.3 mm的PLGA导管,计算孔隙率[5],扫描电镜观察。

OEC和SC的预标记:收集新鲜分离的OEC,加入CM-DiI工作液,使其终浓度为2 μg/ml,先于37 ℃、5% CO_2孵箱内孵育5 min,然后转入4 ℃冰箱继续孵育15 min,1 000 r/min离心5 min,弃上清,加入PBS液重悬,反复进行3次后,重新加入DMEM/F12培养液重悬,置于冰台上备用。收集新鲜分离的SC,加入Hoechst33342工作液,使其终浓度为5 μg/ml,于37 ℃、5% CO_2孵箱内孵育30 min,1 000 r/min离心5 min,弃上清,加入PBS液重悬,反复进行3次后,重新加入DMEM/F12培养液重悬,置于冰台上备用。

1.2 动物模型的建立及分组

体质量220~250 g的成年SD大鼠(180只,购于第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心,雌雄不拘)以3%戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉,右侧大腿后外侧入路,无菌条件下暴露坐骨神经,10倍手术显微镜下追踪至梨状肌下缘5.0 mm处,切除远端10 mm神经干,由于神经断端收缩作用,形成15 mm的神经缺损区,然后用OEC-SC-ECM-PLGA桥接体进行修复。实验分6组,每组30只动物:OEC-SC-ECM-PLGA组:3×10^4/μl的OEC悬液5 μl、3×10^4/μl的SC悬液5 μl和ECM 10 μl混匀后,微量进样器抽取注入PLGA导管;OEC-ECM-PLGA组:3×10^4/μl的OEC和细胞外基质(ECM)等体积混匀,微量进样器抽取20 μl注入PLGA导管;SC-ECM-PLGA组:3×10^4/μl的SC和ECM等体积混匀后,微量进样器抽取20 μl注入PLGA导管;ECM-PLGA组:微量进样器抽取20 μl ECM注入PLGA导管;PLGA组:只植入PLGA导管;自体神经移植组:切除的坐骨神经旋转180°缝上,不做其他处理。用9-0无损伤显微缝合线将神经近、远断端与PLGA导管缝合固定2针。依次缝合肌间膜、皮肤,皮下注射青霉素10 U/kg。实验动物分笼饲养,加强营养护理,昼夜各半。

1.3 标记细胞的体内观察

术后1、3、6、9周OEC-SC-ECM-PLGA组、OEC-ECM-PLGA组和SC-ECM- PLGA组行细胞示踪检测。4%多聚甲醛灌注固定后,取材桥接管内再生组织,冰冻纵行切片,片厚10 μm。每5张切片抽取1张,荧光显微镜TRITC激发模式和紫外线激发模式下观察,摄像。计数抽取切片上的细胞总数×5,即为存活细胞总数。细胞存活率=存活细胞总数/移植细胞总数×100%。

1.4 神经连接率和再生神经相对直径恢复率

术后9周,4%多聚甲醛灌注固定后,取材桥接管内再生组织,测定神经连接率。判断标准为:肉眼下在PLGA导管内神经断端间有神经组织完全连接,透射电镜下再生神经远段有神经纤维通过。同时,测量再生神经中间位置的直径(D1)及近端桥接点以上5 mm处的近段神经直径(D2),以(D1/D2)×100%表示再生神经的相对直径恢复率。

1.5 再生神经超微结构观察

术后9周,4%多聚甲醛/0.5%戊二醛灌注固定后,取桥接管内再生神经中段及远段组织各2 mm,2%戊二醛中再固定6 h,1%锇酸4 ℃固定2 h,漂洗、丙酮梯度脱水,醋酸铀4 ℃染色4 h,环氧树脂618包埋,半薄切片甲苯胺蓝染色,光学显微镜下观察、记录,每组选取5张切片,利用Image Pro Plus图像分析软件对半薄切片进行图像分析,得出有髓神经纤维密度、总神经纤维数2项指标。同时,半薄切片行美蓝染色、定位后,超薄切片,枸橼酸铅染色,2000EX型透射电子显微镜(JEM公司,日本)观察、记录,每组选取5张切片,利用Image Pro Plus图像分析软件对超薄切片进行图像分析,得出有髓神经纤维平均直径、髓鞘厚度2项指标。

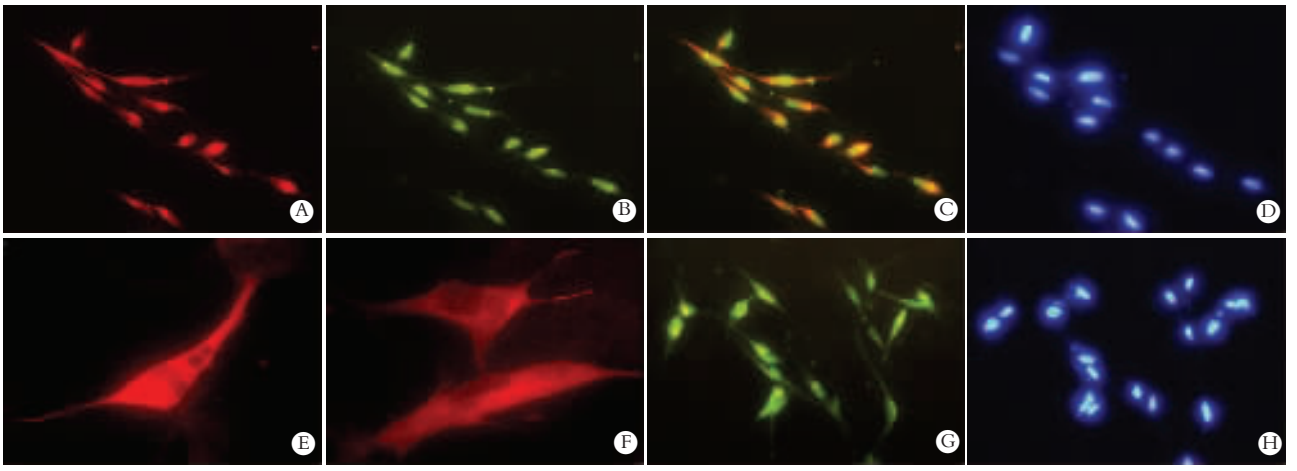
1.6 统计学处理

数据经SPSS 10.0统计软件处理,结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用单因素方差分析Turkey法进行多样本均数的两两比较。

2 结果

2.1 OEC和SC的分离培养及鉴定、PLGA导管的制作、OEC和SC的预标记结果

培养2 d时,低亲和力的神经生长因子受体p75(NGFRp75)、S-100免疫荧光鉴定及Hoechst33342染色结果如图1所示。S-100和NGFRp75双阳性细胞为OEC,Hoechst 33342标记者为其胞核,2种典型的OEC形态均能观察到,即雪旺细胞样(图1E)和星形胶质细胞样(图1F)。经计算,其纯度为95%左右。培养2 d时S-100免疫荧光鉴定及Hoechst33342染色见图1G和图1H,S-100阳性细胞为SC,Hoechst33342标记者为其胞核,经计算,其纯度也为95%左右。构建的PLGA导管在干燥状态下呈白色泡沫状结构,形态与模具相同,表面不平,可见白色细小颗粒。扫描电镜下PLGA导管呈多孔样,孔径大小不等,腔壁光滑,其孔隙率为85%左右。CM-DiI标记的OEC在相应激发光下呈现红色荧光,Hoechst33342标记的SC在相应激发光下呈现蓝色荧光。OEC和SC的预标汇率至少可达95%。



A、B、C、D:分别为 OEC 培养 2 d 时 NGFRp75 免疫组化、S-100 免疫组化、S-100/NGFRp75 免疫组化及 Hoechst33342 染色结果(×600);E、F:分别为雪旺细胞样 OEC 和星形胶质细胞样 OEC(×1 000);G、H:分别为 SC 培养 2 d 时 S-100 免疫组化、Hoechst33342 染色结果(×600)

图 1　OEC 和 SC 的鉴定

2.2　标记细胞的体内观察

桥接体内的 OEC 与 SC 大多呈梭形,沿神经纵轴分布,并向两端迁移,由于该桥接体两端各包含 2.5 mm 的坐骨神经,因而桥接体内的 OEC 和 SC 至少可迁移到坐骨神经内 2.5 mm(图 2)。桥接后 1 周时,OEC 和 SC 的数量约为移植量的 34.67%,此后逐渐减少,术后 9 周时完全消失(图 2,表 1)。

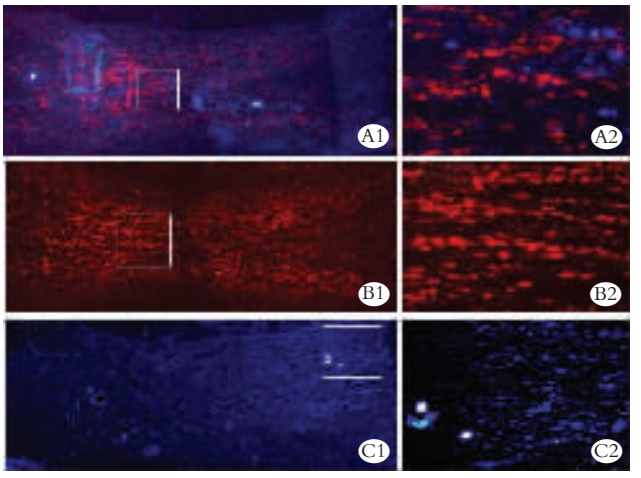
表 1　存活的细胞数(×10^5)及百分比(%)($\bar{x} \pm s$)

组别	1 周		3 周		6 周	
	数量	百分比	数量	百分比	数量	百分比
OEC-SC-ECM-PLGA	1.04 ±0.13	34.67	0.61 ±0.10	20.33	0.25 ±0.10	8.33
OEC-ECM-PLGA	0.68 ±0.12[a]	22.67	0.44 ±0.09[a]	14.67	0.12 ±0.07[a]	4.00
SC-ECM-PLGA	0.82 ±0.11[ab]	27.33	0.49 ±0.13[ab]	16.33	0.18 ±0.09[ab]	6.00

a:$P < 0.05$,与 OEC-SC-ECM-PLGA 组比较;b:$P < 0.05$,与 OEC-ECM-PLGA 组比较

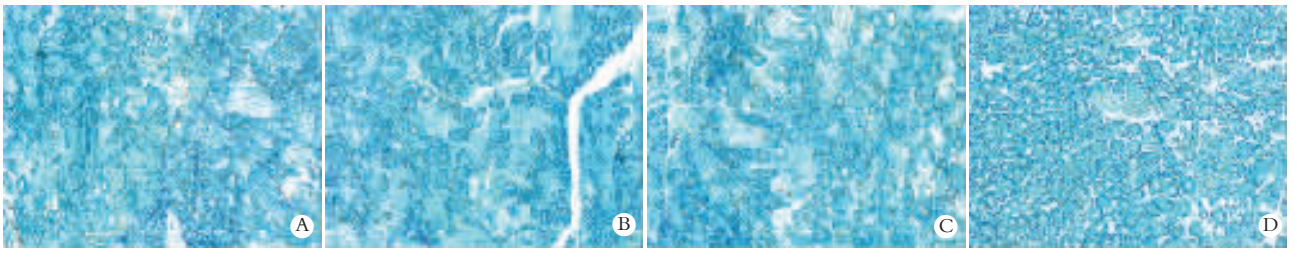
2.3　甲苯胺蓝髓鞘染色结果

术后 9 周,OEC-SC-ECM-PLGA 组的神经组织成份居多,夹杂着结缔组织成份,OEC-ECM-PLGA 组和 SC-ECM-PLGA 组的神经组织成份中夹杂数量不等的结缔组织成份,自体神经移植组以神经组织成份为主,结缔组织成份较少。OEC-SC-ECM-PLGA组的神经纤维密度和总神经纤维数显著高于OEC-ECM-PLGA 组和 SC-ECM-PLGA 组($P < 0.05$),但显著低于自体神经移组($P < 0.05$)。同时,SC-ECM-PLGA 组的远段神经纤维密度和总神经纤维数显著高于 OEC-ECM-PLGA 组($P < 0.05$)(图 3,表 2)。



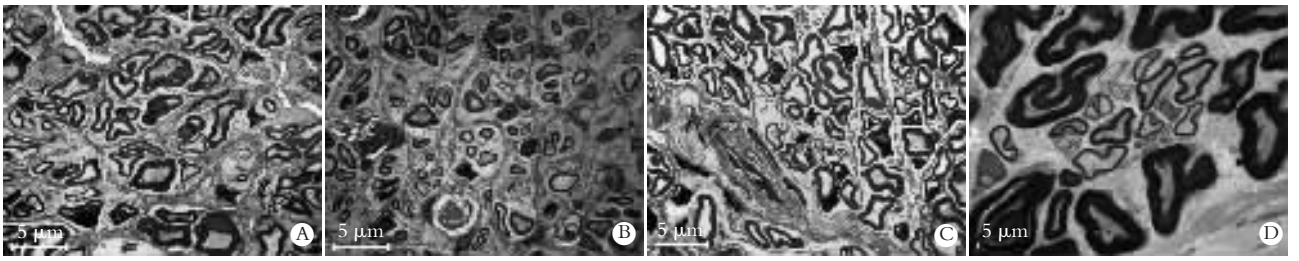
A:OEC-SC-ECM-PLGA 组;B:OEC-ECM-PLGA 组;C:SC-ECM-PLGA 组(A1、B1、C1 为放大 100 倍图像,A2、B2、C2 为放大 400 倍图像,红色:OEC;蓝色:SC)

图 2　术后 1 周 OEC 与 SC 的存活、迁移与分布



A:OEC-SC-ECM-PLGA 组;B:OEC-ECM-PLGA 组;C:SC-ECM-PLGA 组;D:自体神经移植

图 3　各组再生神经中段标本甲苯胺蓝髓鞘染色　(×600)



A:OEC-SC-ECM-PLGA 组;B:OEC-ECM-PLGA 组;C:SC-ECM-PLGA 组;D:自体神经移植组

图4　各组再生神经中段标本透射电镜观察

表2　各组再生神经纤维密度和总神经纤维数($\bar{x} \pm s$)

组别	神经纤维密度 (/mm²)		总神经纤维数	
	中段	远段	中段	远段
OEC-SC-ECM-PLGA	16 190 ±1 476[a]	13 576 ±2 662[a]	6 965 ±727[a]	4 580 ±596[a]
OEC-ECM-PLGA	12 573 ±1 757[ab]	7 941 ±479[ab]	4 238 ±1 184[ab]	2 701 ±345[ab]
SC-ECM-PLGA	12 384 ±2 364[abc]	9 132 ±653[abc]	4 359 ±962[abc]	3 834 ±534[abc]
自体神经移植	21 351 ±1 723	18 327 ±2 156	8 375 ±1 049	6 357 ±682

a:$P<0.05$,与自体神经移植组比较;b:$P<0.05$,与 OEC-SC-ECM-PLGA 组比较;c:$P<0.05$,与 OEC-ECM-PLGA 组比较

2.4　神经连接率和再生神经相对直径恢复率

术后9周,OEC-SC-ECM-PLGA 组的神经连接率为86.67%,高于 OEC-ECM-PLGA 组的53.33%和 SC-ECM-PLGA 组的60.00%,但低于自体神经移植组的神经连接率(100.00%),ECM-PLGA 组和 PLGA 组无神经组织再生。此时,再生神经相对直径恢复率 OEC-SC-ECM-PLGA 组为(62.4±3.9)%,显著高于 OEC-ECM-PLGA 组的(48.5±6.4)%和 SC-ECM-PLGA 组的(44.9±5.3)%($P<0.05$),但未达到自体神经移植组的水平(73.2±6.0)%($P<0.05$),ECM-PLGA 组和 PLGA 组无神经组织再生。

2.5　透射电镜观察结果

术后9周时,电镜下观察可见各组再生神经均有大量的有髓和无髓神经纤维形成,OEC-SC-ECM-PLGA 组、OEC-ECM-PLGA组和 SC-ECM-PLGA 组还可见神经内膜,有髓神经纤维的数量和无髓神经纤维的数量依组别的不同而异。OEC-SC-ECM-PLGA 组的有髓神经纤维成熟度显著高于 OEC-ECM-PLGA 组和 SC-ECM-PLGA 组,但显著低于自体神经移组($P<0.05$)。OEC-SC-ECM-PLGA 组再生神经有髓神经纤维平均直径和髓鞘厚度,显著高于 OEC-ECM-PLGA 组和 SC-ECM-PLGA 组($P<0.05$),但显著低于自体神经移组($P<0.05$)。同时,SC-ECM-PLGA 组的远段有髓神经纤维平均直径和髓鞘厚度显著高于 OEC-ECM-PLGA 组($P<0.05$)(图4,表3)。

表3　各组再生神经纤维平均直径、髓鞘厚度($\bar{x} \pm s$)

组别	神经纤维平均直径(μm)		髓鞘厚度(μm)	
	中段	远段	中段	远段
OEC-SC-ECM-PLGA	1.672 ±0.592[a]	1.318 ±0.426[a]	0.477 ±0.105[a]	0.371 ±0.105[a]
OEC-ECM-PLGA	1.250 ±0.332[ab]	0.726 ±0.384[ab]	0.348 ±0.181[ab]	0.237 ±0.138[ab]
SC-ECM-PLGA	1.235 ±0.658[ab]	1.045 ±0.353[abc]	0.352 ±0.126[ab]	0.305 ±0.087[abc]
自体神经移植	2.794 ±1.359	2.337 ±1.282	0.593 ±0.142	0.520 ±0.154

a:$P<0.05$,与自体神经移植组比较;b:$P<0.05$,与 OEC-SC-ECM-PLGA 组比较;c:$P<0.05$,与 OEC-ECM-PLGA 组比较

3　讨论

细胞移植前的标记在细胞移植修复研究中极为重要,它能够直观地反映移植细胞在宿主体内存活、增殖、迁移和分化等行为。本实验应用2种荧光染料 CM-DiI 和 Hoechst33342 在移植前分别标记新鲜分离的 OEC 和 SC,结果显示,移植的 OEC 和 SC 均沿神经纵轴呈梭形分布,可向近心端和远心端迁移至少2.5 mm,移植后第1周存活率在22.67%~34.67%。Hill 等[6]应用表达绿色荧光蛋白的 SC 修复大鼠脊髓挫伤模型,发现移植后24 h,细胞坏死的数量是凋亡的6倍,移植后第1周细胞的存活率仅22%。本实验经计量得到的第1周细胞存活率和 Hill 等[6]的报道一致,以后随着时间推移,细胞死亡,细胞存活率下降。同时,我们也观察到 OEC-SC-ECM-PLGA 组存活细胞总数显著高于其他2组($P<0.05$),SC-ECM-PLGA 组又显著高于 OEC-ECM-PLGA 组($P<0.05$),这和 Pearse 等[1]观察到的在损伤脊髓里 SC 存活率高于 OEC 的结果一致,认为这是因为 SC 可分泌更多的营养因子支持其存活[7]。

Pearse 等[1]归纳了细胞移植后死亡的原因,针对这些原因,人们设计了不同的移植策略提高细胞的存活率。Fouad 等[8,9]将细胞移植到损伤位点的头端和尾端,与移植到损伤位点的相比,明显改善了细胞存活。为使细胞适应低氧的在体环境,有人设计了低氧培养或者转染抗低氧基因,以降低细胞对低氧的易感性[10]。Li 等[11]将 OEC、嗅球成纤维细胞及其产生的基质一起从培养板刮下来,移植到半切损伤的脊髓里,细胞存活良好,认为这些基质成分可以明显抑制细胞凋亡。

细胞从移植位点向宿主迁移,并和宿主建立解剖联系,是移植细胞修复的前提。以往研究[1,12,13]在细胞的迁徙能力上持有不同观点,Pearse 等[1]报道在距挫伤脊髓位点4 mm 的头端和尾端分别移植细胞,周边的正常白质和灰质内未观察到迁移的 OEC 和 SC,但损伤位点可观察到 OEC 和 SC 的存在,说明移植细胞缺乏向周围正常组织迁移的能力,却容易向损伤位点迁移。Ramon-Cueto 等[12]报道 OEC 在全切的脊髓内的迁移能力和 Pearse 等[1]的报道类似。Deng 等[13]的研究却表明 OEC 在半切的脊髓里具有强烈的迁移

能力。这可能和研究者所用的脊髓损伤模型和移植时间的差异有关。与 Pearse[1] 和 Ramon-Cueto 等[12] 在损伤脊髓内得到的结果不同,本研究显示 OEC 和 SC 可向桥接体两端的坐骨神经内至少迁移 2.5 mm,这可能与断端坐骨神经受到切除时的损伤有关。

本研究还从宏观和微观 2 个层面证实了 OEC-SC-ECM-PLGA 桥接体对大鼠坐骨神经缺损具有显著的解剖学修复作用,宏观上表现为该桥接体可以显著提高神经连接率和再生神经相对直径恢复率,微观上表现为该桥接体可以显著增加神经纤维密度、总神经纤维数,以及神经纤维平均直径、髓鞘厚度。从结构上证实了 OEC 和 SC 2 种种子细胞联合 ECM 和 PLGA 导管组建的人工神经的解剖学修复作用优于单细胞移植,且在微观层面上证实了 SC 的解剖学修复作用优于 OEC。

OEC 和 SC 合用可以获得比单细胞更强的解剖学修复作用,据认为这是由于 OEC 和 SC 合用可以发挥更强的神经保护效应(释放神经营养因子和导向分子[7],抑制脊髓前角细胞凋亡和保护外周靶组织),更强的促轴突再生效应(提供轴突再生通道,恢复轴浆运输功能,营养再生轴突),更强的促髓鞘再形成作用,更优越的内源性保护机制(激活内源性雪旺细胞[1],分泌神经营养因子和炎症介质)等。而在微观层面上 SC 的解剖学修复作用优于 OEC,这可能和 SC 释放更多的支持分子[7],以及 OEC 的成髓鞘能力相对较弱有关。

SC 的解剖学修复作用强于 OEC,这和 Pearse[1] 和 Takami 等[7] 在损伤脊髓里观察到的 SC 的成髓鞘作用强于 OEC 的结论是一致的。特别值得一提的是 Sasaki 等[14] 的研究,他把表达绿色荧光蛋白的 OEC 植入损伤脊髓里,经免疫电镜检查发现移植的 OEC 可以形成约 50% 的髓鞘,另外的髓鞘形成可能只能用内源性 SC 侵入解释了,重要的是他的研究定量的表明了 OEC 形成髓鞘的百分比。我们的研究也证实了 OEC 移植后可以形成髓鞘。

Hou 等[15] 用分化为 SC 的骨髓基质细胞复合 PLGA导管修复大鼠 10 mm 坐骨神经缺损,术后 12 周,发现分化为 SC 的骨髓基质细胞移植、SC 移植和自体神经移植 3 组再生坐骨神经近段的有髓神经纤维密度和神经纤维平均直径无显著差异,但显著好于无细胞移植组,同时,发现所有组别的髓鞘厚度无显著差异。这个研究和我们所得到的结果有所不同,这可能和研究者所用的缺损较短,观察时间较长有关。

本研究同时应用 OEC 和 SC 2 种种子细胞组建人工神经,修复坐骨神经缺损,初步阐明了 OEC-SC-ECM-PLGA 桥接体对大鼠坐骨神经缺损的解剖学修复作用,但由于此类研究尚处于起步阶段,对其促解剖学修复的机制自知甚少,下一步应重点关注和阐明其促解剖学修复的机制。

参考文献:

[1] Pearse D D, Sanchez A R, Pereira F C, *et al*. Transplantation of Schwann cells and/or olfactory ensheathing glia into the contused spinal cord: Survival, migration, axon association, and functional recovery[J]. Glia, 2007, 55(9): 976 – 1000.

[2] 游　华,矫树生,陈建梅,等. 嗅球成鞘细胞的分离培养与鉴定[J]. 现代生物医学进展, 2008, 8(1): 10 – 12.

[3] 矫树生,李兵仓,陈建梅,等. 嗅鞘细胞与聚乳酸-聚羟基乙酸共聚物材料的细胞相容性研究[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(5): 370 – 373.

[4] 矫树生,陈建梅, 游　华,等. 嗅鞘细胞复合 PLGA 导管修复周围神经缺损的研究[J]. 现代生物医学进展, 2007, 7(4): 494 – 498, 503.

[5] Chang C J, Hsu S H. The effect of high outflow permeability in asymmetric poly(dl-lactic acid-co-glycolic acid) conduits for peripheral nerve regeneration[J]. Biomaterials, 2006, 27(7): 1035 – 1042.

[6] Hill C E, Hurtado A, Blits B, *et al*. Early necrosis and apoptosis of Schwann cells transplanted into the injured rat spinal cord[J]. Eur J Neurosci, 2007, 26(6): 1433 – 1445.

[7] Takami T, Oudega M, Bates M L, *et al*. Schwann cell but not olfactory ensheathing glia transplants improve hindlimb locomotor performance in the moderately contused adult rat thoracic spinal cord[J]. J Neurosci, 2002, 22(15): 6670 – 6681.

[8] Fouad K, Schnell L, Bunge M B, *et al*. Combining Schwann cell bridges and olfactory-ensheathing glia grafts with chondroitinase promotes locomotor recovery after complete transection of the spinal cord[J]. J Neurosci, 2005, 25(5): 1169 – 1178.

[9] Barakat D J, Gaglani S M, Neravetla S R, *et al*. Survival, integration, and axon growth support of glia transplanted into the chronically contused spinal cord[J]. Cell Transplant, 2005, 14(4): 225 – 240.

[10] Tang Y L, Tang Y, Zhang Y C, *et al*. Improved graft mesenchymal stem cell survival in ischemic heart with a hypoxia-regulated heme oxygenase-1 vector[J]. J Am Coll Cardiol, 2005, 46(7): 1339 – 1350.

[11] Li Y, Decherchi P, Raisman G. Transplantation of olfactory ensheathing cells into spinal cord lesions restores breathing and climbing[J]. J Neurosci, 2003, 23(3): 727 – 731.

[12] Ramon-Cueto A, Cordero M I, Santos-Benito F F, *et al*. Functional recovery of paraplegic rats and motor axon regeneration in their spinal cords by olfactory ensheathing glia[J]. Neuron, 2000, 25(2): 425 – 435.

[13] Deng C, Gorrie C, Hayward I, *et al*. Survival and migration of human and rat olfactory ensheathing cells in intact and injured spinal cord[J]. J Neurosci Res, 2006, 83(7): 1201 – 1212.

[14] Sasaki M, Lankford K L, Zemedkun M, *et al*. Identified olfactory ensheathing cells transplanted into the transected dorsal funiculus bridge the lesion and form myelin[J]. J Neurosci, 2004, 24(39): 8485 – 8493.

[15] Hou S Y, Zhang H Y, Quan D P, *et al*. Tissue-engineered peripheral nerve grafting by differentiated bone marrow stromal cells[J]. Neuroscience, 2006, 140(1): 101 – 110.

(编辑　吴培红)