DOI:10.16016/j.2097-0927.202209207

氯马斯汀对老化小鼠视神经髓鞘再生和视功能的改善作用

冉 旗[1],陈 琳[2],叶 剑[1] 400042 重庆,陆军特色医学中心眼科[1];400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)基础医学院组织胚胎学教研室[2]

[摘要] **目的** 探究小鼠老化过程中视神经新生髓鞘的改变,及促髓鞘形成药物氯马斯汀对小鼠老化过程中视觉传导功能的影响。**方法** 利用 Cspg4-CreERt;mT/mG 报告基因小鼠标记新生髓鞘,将报告基因和野生型小鼠分别分为 4 月龄和 13 月龄,结合免疫荧光染色和蛋白定量评估老化过程中视神经少突胶质细胞数量以及新生髓鞘变化;利用小鼠闪光视觉诱发电位实验(flash visual evoked potential,fVEP)评估老化小鼠视觉传导功能改变。利用 Cspg4-CreERt;Tau-mGFP 报告基因小鼠标记新生髓鞘,将 13 月龄 Cspg4-CreERt;Tau-mGFP 小鼠和野生型小鼠分别分为对照组和氯马斯汀治疗组,结合免疫荧光染色和 fVEP 实验,评估氯马斯汀对视神经新生髓鞘的作用以及对老化小鼠视觉传导功能的影响。**结果** 免疫荧光染色发现,与 4 月龄小鼠相比,13 月龄小鼠视神经少突胶质前体细胞 $NG2^+$ 区域面积无显著变化,而成熟少突胶质细胞 $CC1^+$ 细胞数量显著下降($P<0.01$)。蛋白定量分析显示,少突胶质前体细胞 NG2 蛋白表达量无明显改变。报告基因小鼠自发免疫荧光证实,13 月龄小鼠视神经新生髓鞘 $mGFP^+$ $NG2^-$ 面积明显下降($P<0.05$)。小鼠 fVEP 实验中,13 月龄小鼠 P2 潜伏期明显延长($P<0.01$)。氯马斯汀治疗组小鼠视神经新生髓鞘 $mGFP^+$ 数量明显增加($P<0.05$),且 P2 潜伏期明显缩短($P<0.01$)。**结论** 随着年龄增加,小鼠视神经新生髓鞘数量下降,视神经传导速度降低;氯马斯汀治疗后可显著改善小鼠髓鞘生成能力,进而促进视神经信号传导。

[关键词] 老化;氯马斯汀;视觉;髓鞘;视觉诱发电位

[中图法分类号] R339.34;R774.6;R976 [文献标志码] A

Clemastine improves optic nerve myelin sheath regeneration and visual function in aged mice

RAN Qi[1], CHEN Lin[2], YE Jian[1] [1]Department of Ophthalmology, Army Medical Center of PLA, Chongqing, 400042; [2]Department of Histology and Embryology, College of Basic Medical Sciences, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the changes in myelin sheath of optic nerve in mice during the process of aging and explore the effect of clemastine, a pro-myelination drug, on visual function of aging mice. **Methods** The Cspg4-CreERt;mT/mG mice (4 and 13 months old) and wildtype C57/BL mice (4 and 13 months old) were employed in this study. The changes in number of oligodendrocytes (OLs) and newly-formed myelin were observed by immunofluorescence staining and quantitative immunoblotting. Their optical function was assessed with flash visual evoked potentials (fVEP). The reporter mice and wildtype mice at 13 months old were separately divided into control group and clemastine group. Immunostaining and fVEP test were used to observe the effects of clemastine on the newly-formed myelin and optical function. **Results**

[通信作者] 叶 剑,E-mail:yejian1979@163.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

There was no significant difference in the density of $NG2^+$ cells (oligodendrocyte precursor cells, OPCs) in the 13-month-old group in comparison with the 4-month-old group, but the count of $CC1^+$ cells (mature OLs) was obviously decreased in the 13-month-old group ($P<0.01$), and immunoblotting test also showed $NG2^+$ protein level had no change between the groups. Immunofluorescence staining indicated that the area of $mGFP^+$ $NG2^-$ (new myelin sheath) was declined greatly in the 13-month-old reporter mice ($P<0.05$). fVEP test suggested that the latency of P2 wave was significantly prolonged in the 13-month-old group as compared with the 4-month-old group ($P<0.01$). Clemastine treatment resulted in notably increased $mGFP^+$ area (new myelin sheath) in the reporter mice ($P<0.05$), and remarkably shorten the latency of P2 wave in 13-month-old mice ($P<0.01$). **Conclusion** Inhibited myelinogenesis and decreased nerve conduction velocity in optic nerve are observed in aging mice. Clemastine treatment can greatly improve myelinogenesis and promote conduction velocity in optic nerve.

[**Key words**] aging; clemastine; vision; myelin; visual evoked potential

Corresponding author: YE Jian, E-mail: yejian1979@163.com

我国老年人群数目急剧增加,视神经老化慢性退行性病变时刻威胁着老年人群视功能[1]。髓鞘是由成熟少突胶质细胞(oligodendrocyte,OLs)的突起反复包绕轴突形成。随着髓鞘研究的不断深入,它不仅能够绝缘轴突,保证动作电位的快速传导,同时也能为轴突提供能量,维持轴突的正常功能。但髓鞘在视神经老化慢性退行性病变中的改变还尚不清楚。

氯马斯汀是第一代抗组胺剂,与组胺竞争结合 H1 受体来缓解过敏反应的症状[2]。近期研究发现氯马斯汀还具有毒蕈碱 1 型受体(muscarinic receptor 1, M1R)阻断作用[3]。M1R 是一种负向调控少突胶质前体细胞(oligodendrocyte precursor cells,OPCs)分化成熟的细胞膜受体,特异性敲除 OPCs 中的 M1R 可以增加小鼠的髓鞘形成[4]。通过高通量筛选发现,氯马斯汀在离体培养体系中促进 OPCs 分化和髓鞘形成的能力比甲状腺激素等其他药物更强[5]。目前,氯马斯汀治疗多发性硬化的二期临床试验结果提示氯马斯汀在多发性硬化神经退行性病变中能促进髓鞘再生[3]。然而氯马斯汀促进髓鞘再生的确切机制还并未研究清楚。因此,本研究探讨小鼠老化过程中视神经髓鞘的改变,及促髓鞘形成药物氯马斯汀对小鼠老化过程中视觉传导功能的影响,为氯马斯汀改善视神经老化慢性退行性病变提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

C57 BL/6 小鼠购自陆军军医大学实验动物中心。Cspg4-CreERt; mT/mG 小鼠由 Cspg4-CreERt 小鼠(Jackson 实验室,货号:008538)与 mT/mG 小鼠(Jackson 实验室,货号:007676)杂交获得[6]; Cspg4-CreERt;Tau-mGFP 小鼠由 Cspg4 -CreERt 小鼠与 Tau-mGFP 小鼠(The Jackson Laboratory,货号: 021162)杂交获得[6]。雄性和雌性小鼠无偏差用于所有实验。实验设计、实验过程及动物处死方法,经过陆军军医大学实验动物福利伦理审查委员会审核,符合动物伦理和动物福利要求。实验动物生产许可证号为 SCXK(渝)20170002,使用许可证号为 SYXK(渝)20170002。

1.2 药品及试剂

氯马斯汀(SelleckChem,货号: S1847)、NG2 兔单克隆抗体(Millipore,货号:MAB5320)、CC1 小鼠单克隆抗体(Millipore,货号:OP80-100UG)、驴抗兔(二抗)抗体(Life technologies,货号:A32795)、驴抗小鼠(二抗)抗体(Life technologies,货号: A31571)、他莫昔芬(SigmaAldrich,货号:T5648)。

1.3 实验设计与分组

利用 4 月龄、8 月龄和 13 月龄的野生型小鼠,结合免疫荧光染色和蛋白定量评估小鼠老化过程中视神经 OPCs、OLs 改变;结合闪光视觉诱发电位(flash visual evoked potential,fVEP)实验评估小鼠老化过程中视觉传导功能改变。

利用 4 月龄和 13 月龄的 Cspg4-CreERt;mT/mG 报告基因小鼠,结合免疫荧光染色评估小鼠老化过程中视神经新生髓鞘数量变化。

利用 13 月龄的 Cspg4-CreERt;Tau-mGFP 报告基因小鼠,按照随机数字表法分为对照组和氯马斯汀治疗组。对照组予以空白溶剂,氯马斯汀治疗组予以氯

马斯汀治疗 1 个月,评估氯马斯汀对小鼠老化过程中视神经新生髓鞘的作用。

利用 13 月龄的野生型小鼠,按照随机数字表法分为对照组和氯马斯汀治疗组。对照组予以空白溶剂,氯马斯汀治疗组予以氯马斯汀治疗 4 个月,结合 fVEP 实验评估氯马斯汀对小鼠老化过程中视觉传导功能的影响。

1.4 基因型鉴定

报告基因小鼠出生后第 6 天剪取脚趾,与 tail 缓冲溶液和蛋白酶 K 混合,在 PCR 仪中提取基因。基因提取完成之后,与 PCR 反应液和基因提取液混合,在 PCR 仪中扩增。用电泳仪对扩增完成的基因进行电泳检测,最后在凝胶成像仪下进行结果分析。基因鉴定引物:Cspg4-CreERT 正义链:5′-TGCCACGACCAAFTFACAGCAATG-3′,反义链:5′-ACCAGACGCAAATCCATCGCTC-3′;mT/mG 引物 1:CTTTAAGCCTGCCCAGAAGA,引物 2:TA GAGCTTGCGGAACCCTTC,引物 3:AGGGAGCTGCAGTGGAGTAG;Tau-mGFP 引物 1:CCTTGTCCCCAACTCCATAC,引物 2:TGTGTATGTCCACCCACTG,引物 3:AAACAGTCCGCTCCAG。

1.5 报告基因小鼠诱导

使用他莫昔芬诱导 Cre 重组酶实现绿色荧光蛋白时空特异性表达[6]。他莫昔芬以 30 mg·kg^{-1}·d^{-1} 的剂量对转基因小鼠进行灌胃,持续 5 d,诱导完成后小鼠按之前条件继续饲养至取材时间点。

Cspg4-CreERt;mT/mG 小鼠诱导前细胞膜上表达红色荧光蛋白,但经他莫昔芬诱导后,OPCs 的细胞膜上转而表达绿色荧光蛋白,并且由 OPCs 分化成熟的 OLs 以及新生髓鞘都会表达绿色荧光蛋白。

Cspg4-CreERt;Tau-mGFP 小鼠经过他莫昔芬诱导后 OPCs 分化成熟的 OLs 的细胞膜上表达绿色荧光蛋白,而 OPCs 细胞膜上的绿色荧光蛋白表达量极低。

1.6 免疫荧光染色

小鼠腹腔内注射 25~50 mg/kg 1%戊巴比妥麻醉,用磷酸缓冲液和 4%多聚甲醛灌注。视神经取材后在 4%多聚甲醛中固定过夜,再在 30%的蔗糖溶液中脱水。脱水完成后于冰冻切片机以 10 μm 等距切片。视神经切片用 5% BSA 和 0.2% Triton X-100 封闭 2 h,一抗 4 ℃孵育过夜,洗涤后二抗(1∶1 000)室温孵育 2 h,再次洗涤后置于载玻片上封片。一抗稀释比例:NG2(1∶500)、CC1(1∶500)。

1.7 免疫印迹

新鲜视神经与 RIPA 裂解液和蛋白酶磷酸酶抑制剂结合,4 ℃ 12 000 r/min 离心 12 min,取上清液,BCA 法测定蛋白浓度并配平。200 mA 电流下经过 0.5~2 h,裂解液在 SDS-聚丙烯酰胺凝胶上分离并转移到聚偏氟乙烯膜上。将膜在含有 0.1% Tween-20 的 TBST 中洗涤后,在 5%脱脂奶粉中封闭 1.5 h。然后,膜与兔来源的 NG2 抗体(1∶500)结合过夜。洗涤后与辣根酶标记的二抗(1∶5 000)室温摇床孵育 1.5 h。洗涤后使用 ECL 发光液均匀覆盖膜表面,曝光仪曝光显影,条带由 Image J 软件进行光密度分析。

1.8 闪光视觉诱发电位测量

小鼠明适应后,腹腔内注射 25~50 mg/kg 1%戊巴比妥麻醉,放置加热垫上,保持体温在 38 ℃。记录电极位于视觉皮层中线皮下,参考电极位于额叶皮层中线皮下,接地电极位于尾部皮下[7]。对侧未被检查的眼睛被防光黑色眼罩覆盖。每次 fVEP 实验中,发送频率 1 Hz,持续 10 μs 的 50 次连续白色闪光(强度为 120~200 mJ)。VEPs 信号由视觉电生理检查系统记录。

1.9 氯马斯汀治疗

氯马斯汀以 30 mg/mL 的浓度溶于 DMSO 中,以灌胃给药的形式,10mg/(kg·d)的剂量处理氯马斯汀治疗组小鼠[4],对照小鼠使用同浓度的溶剂处理。

1.10 统计学方法

使用共焦激光扫描显微镜(Olympus, fv3000)和蔡司显微镜采集荧光图像。采用 Image J 软件进行图像计数,利用 GraphPad Prism 6 软件进行数据分析和生成统计图。所有的数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。若所得数据符合正态分布,则两组间均值的比较使用非配对 t 检验;若不符合正态分布,则使用 Mann-Whitney 秩和检验进行统计学比较,当实验设计中存在 3 个或 3 个以上分组时,使用单因素方差分析进行检验。$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

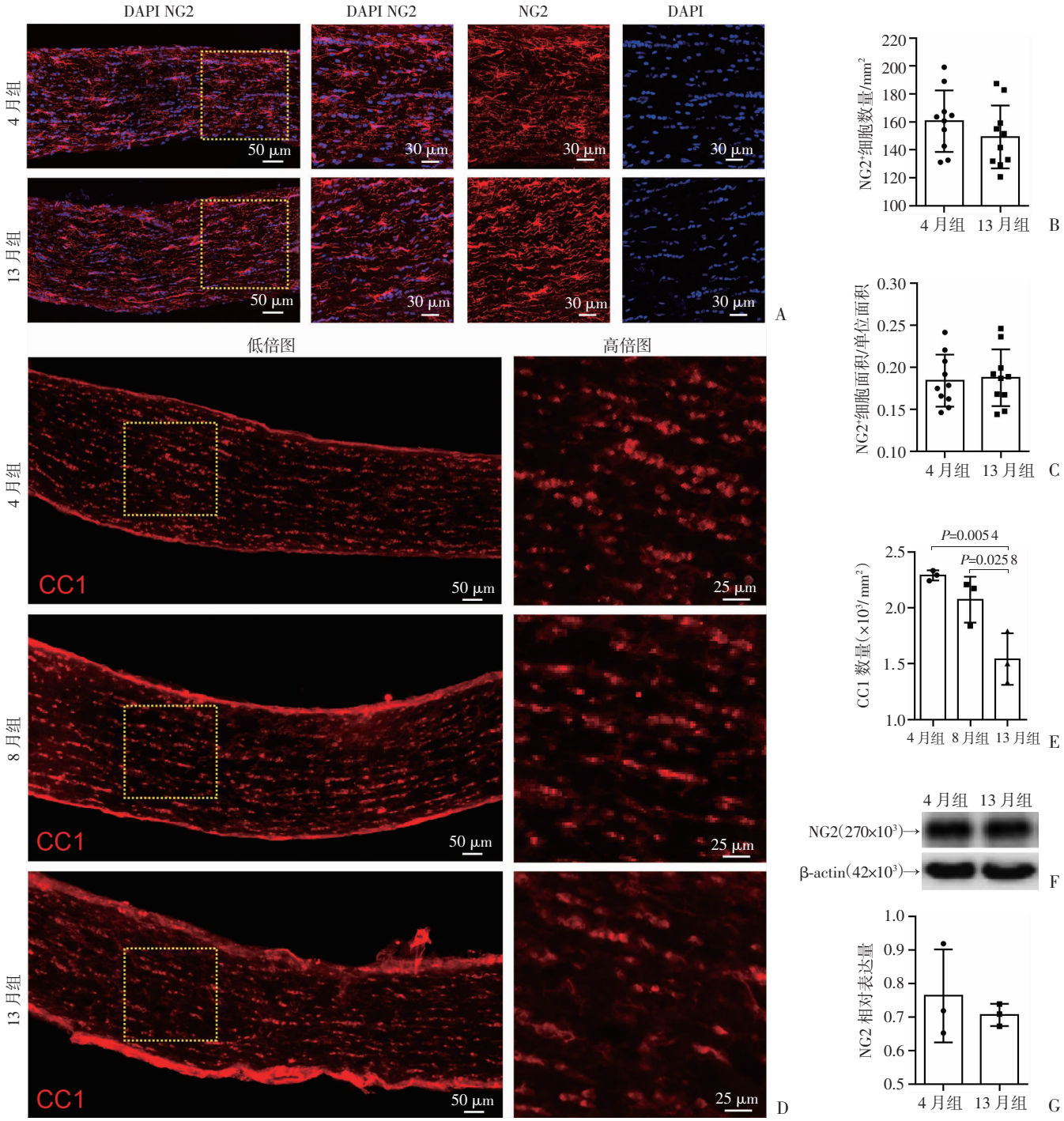
2.1 视神经老化过程中少突胶质前体细胞和成熟少突胶质细胞改变

通过免疫荧光染色对 4 月龄和 13 月龄小鼠的 OPCs 和 OLs 进行计数,如图 1A 所示,无论是 4 月龄还是 13 月龄小鼠,视神经均存在大量分布基本均匀的 NG2$^+$的 OPCs。相比 4 月龄,13 月龄小鼠视神经 NG2$^+$细胞数量无明显下降(图 1B);相比 4 月龄,13 月龄小鼠 NG2$^+$细胞面积无明显下降(图 1C);相比 4 月龄和 8 月龄,13 月龄小鼠视神经 CC1$^+$成熟少突胶质细胞数量明显下降($P<0.01$,$P<0.05$,图 1D~E)。通过蛋白质印迹检测进一步明确不同年龄组视神经 NG2 蛋白

表达量,发现相比 4 月龄,13 月龄视神经 NG2 蛋白表达量未见明显改变(图 1F~G)。

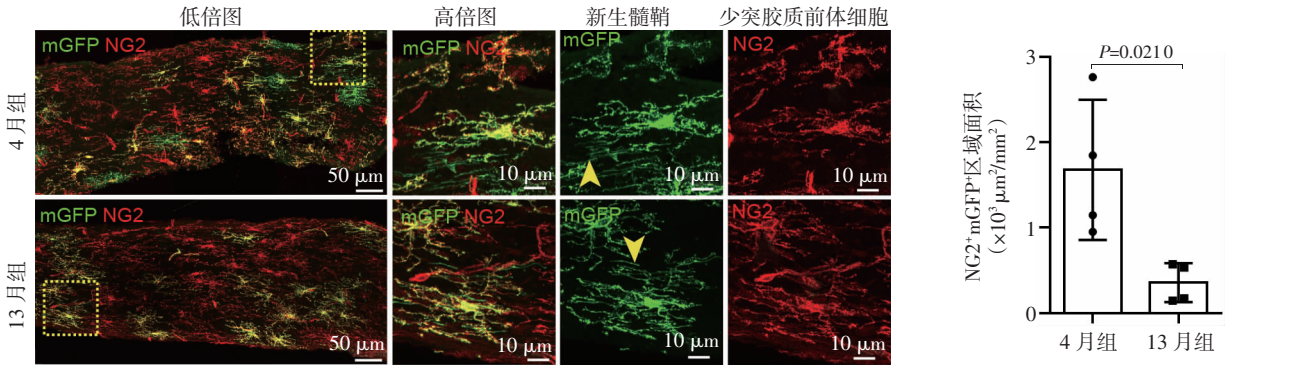
2.2 视神经老化过程中少突胶质前体细胞分化成熟能力与新生髓鞘数量改变

通过 Cspg4-CreERT; mT/mG 报告基因小鼠,结合少突胶质前体细胞特异性标志物 NG2 免疫荧光染色,如图 2 所示,可以观察到条索状成簇分布的新生髓鞘,其中 $NG2^{-}mGFP^{+}$代表新生成髓鞘; $NG2^{+}mGFP^{+}$代表少突胶质前体细胞。与 4 月龄相比,13 月龄小鼠视神经在 10 d 内新生成髓鞘的面积明显减少($P<0.05$),提示视神经老化过程中少突胶质前体细胞分化成熟能力下降,新生髓鞘数量下降。



A:视神经 NG2 免疫荧光染色观察;B:视神经 $NG2^{+}$细胞数量计数;C:视神经 $NG2^{+}$细胞面积计数;D:视神经 CC1 免疫荧光染色观察;E: 视神经 $CC1^{+}$细胞数量计数;F: 视神经 NG2 蛋白定量;G: 视神经 NG2 蛋白定量结果

图 1 不同年龄组视神经少突胶质前体细胞和成熟少突胶质细胞改变



箭头示新生髓鞘

图2　不同年龄组报告基因小鼠视新生髓鞘数量改变

2.3　闪光视觉诱发电位明确小鼠视觉传导功能改变

通过fVEP对4月龄和13月龄野生型小鼠视神经传导功能检测,如图3所示,与4月龄小鼠相比,13月龄小鼠视神经P2波潜伏期明显延长($P<0.01$),提示13月龄小鼠视神经信号传导能力下降。

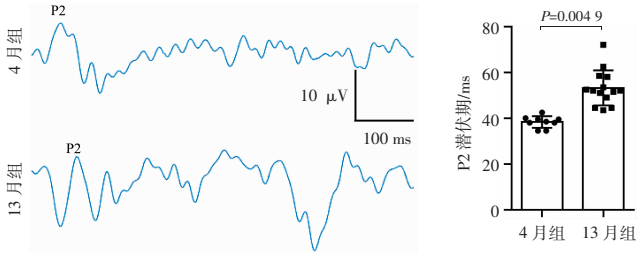
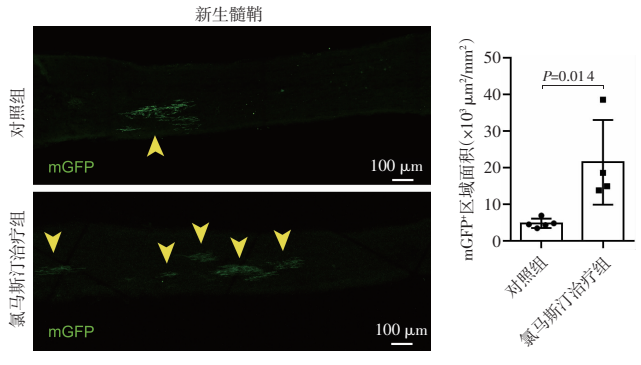


图3　不同年龄组小鼠闪光视觉诱发电位结果

2.4　氯马斯汀治疗后小鼠视神经新生髓鞘数量变化

通过Cspg4-CreERT; Tau-mGFP报告基因小鼠观察视神经新生髓鞘,mGFP⁺区域代表成簇分布的新生髓鞘(图4)。相比对照组,氯马斯汀治疗组经氯马斯汀治疗1个月后,小鼠视神经mGFP⁺区域明显增多($P<0.05$),提示氯马斯汀能促进视神经OPCs向OLs分化和髓鞘再生。



箭头示新生髓鞘

图4　氯马斯汀治疗组与对照组视神经新生髓鞘数量改变

2.5　氯马斯汀治疗后小鼠视觉传导功能改变

通过fVEP对氯马斯汀治疗组和对照组视神经传导功能进行测量,如图5所示,与对照组相比,氯马斯汀治疗组P2波潜伏期明显缩短($P<0.01$),提示氯马斯汀治疗能促进视神经信号传导。

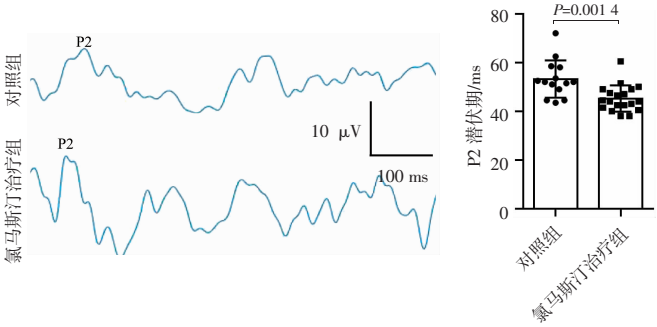


图5　氯马斯汀治疗组与对照组小鼠视觉诱发电位结果

3　讨论

视神经老化慢性退行性病变时刻威胁着老年人群的视功能,并且在多发性硬化、视神经炎等视神经病变过程中,常合并视神经老化病变。探究小鼠老化过程中视神经髓鞘的改变,及促髓鞘形成药物氯马斯汀对小鼠老化过程中视觉传导功能的影响具有重要的意义。

少突胶质前体细胞(OPCs)分化形成成熟少突胶质细胞(OLs),OLs包绕轴突形成髓鞘[8]。通过对OLs的特征性标志物CC1[9]进行免疫荧光染色,我们发现,相比运动皮层OLs数量在18月龄出现下降[6],视神经OLs数量在13月龄就已经出现下降。这可能与视神经只有50%~60%的成熟少突胶质细胞能够存活1年半以上,其比例低于运动皮层(70%)等其他中枢

神经系统有关[10]。此结果提示视神经的老化可能早于运动皮层等其他中枢神经系统。与13月龄小鼠运动皮层OPCs数量未见明显下降[6]一致,相比4月龄小鼠,13月龄小鼠视神经无论是少突胶质前体细胞数量、少突胶质前体细胞面积、少突胶质细胞NG2表达量均未见明显下降。然而另有研究表明,相比2月龄小鼠,19月龄小鼠胼胝体少突胶质前体细胞NG2表达量下降[11]。这可能是由于实验采用不同年龄小鼠,且观察部位不同导致的。

视神经多发性硬化症慢性脱髓鞘改变被认为是导致轴突损伤和神经功能障碍的重要原因之一,尽管在多发性硬化损伤区域存在许多OPCs,然而髓鞘再生是十分困难的[12]。而老化小鼠视神经同样如此,本实验证实与4月龄小鼠相比,13月龄小鼠视神经新生髓鞘数量明显下降。而成年后新生髓鞘主要有以下两个功能:已形成的神经环路为了保持功能,可能需要新生髓鞘来替代丢失的髓鞘;学习并建立新的神经环路需要新生髓鞘参与[13-15]。fVEP是用光刺激视网膜,在枕叶视皮层诱发电活动,其P2潜伏期主要由视神经轴索以及髓鞘的功能状态决定[16]。MARENNA等[17]认为非侵入式皮下fVEP检测是评估小鼠视神经功能可靠的方法。通过fVEP检测,我们发现,与4月龄小鼠相比,13月龄小鼠视神经信号传导能力下降,这可能与13月龄小鼠视神经新生髓鞘数量下降,成熟少突胶质细胞数量减少有关。

老化小鼠视神经存在大量的OPCs,我们可以通过氯马斯汀促进这些OPCs向OLs分化,促进髓鞘再生[18]。与对照组相比,13月龄小鼠氯马斯汀治疗1个月后,视神经新生髓鞘数量明显增加;氯马斯汀治疗4个月后,与对照组相比,fVEP P2波潜伏期明显缩短,提示氯马斯汀能够促进视神经髓鞘再生和改善视神经信号传导。但必须指出的是,氯马斯汀治疗后,不仅视神经新生髓鞘数量增加,中枢神经系统其他区域新生髓鞘数量也会增加[6],本研究暂无法观察中枢神经系统其他区域新生髓鞘数量增加对小鼠闪光视觉诱发电位的P2潜伏期的影响。本研究关于氯马斯汀的研究不足之处:①氯马斯汀促进视神经信号传导的治疗效果停药后能否维持。②氯马斯汀的毒副作用不明。既往研究表明,氯马斯汀治疗多发性硬化患者后出现疲乏症状加重的副作用,但暂未发现其他严重并发症。③氯马斯汀能改善视神经信号传导,但是对于小鼠的整体视功能而言,其临床意义有待进一步验证。

综上,本文主要研究了视神经髓鞘相关细胞在老化过程中的病理改变,且视神经的特殊之处在于其老化改变可能早于运动皮层等其他中枢神经系统。此外本研究也发现氯马斯汀在视神经老化慢性退行性病变中的治疗作用,为氯马斯汀治疗多发性硬化、视神经炎等其他视神经疾病奠定了基础。

参考文献:

[1] LU Y C, BROMMER B, TIAN X, *et al*. Reprogramming to recover youthful epigenetic information and restore vision[J]. Nature, 2020, 588(7836): 124-129. DOI: 10.1038/s41586-020-2975-4.

[2] BLAZSÓ G, GÁBOR M. Evaluation of the anti-oedematous effects of some H1-receptor antagonists and methysergide in rats[J]. Pharmacol Res, 1997, 35(1): 65-71. DOI: 10.1006/phrs.1996.0104.

[3] GREEN A J, GELFAND J M, CREE B A, *et al*. Clemastine fumarate as a remyelinating therapy for multiple sclerosis (ReBUILD): a randomised, controlled, double-blind, crossover trial[J]. Lancet, 2017, 390(10111): 2481-2489. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)32346-2.

[4] WANG F, YANG Y J, YANG N, *et al*. Enhancing oligodendrocyte myelination rescues synaptic loss and improves functional recovery after chronic hypoxia[J]. Neuron, 2018, 99(4): 689-701. e5. DOI: 10.1016/j.neuron.2018.07.017.

[5] MEI F, FANCY S P J, SHEN Y A, *et al*. Micropillar arrays as a high-throughput screening platform for therapeutics in multiple sclerosis[J]. Nat Med, 2014, 20(8): 954-960. DOI: 10.1038/nm.3618.

[6] WANG F, REN S Y, CHEN J F, *et al*. Myelin degeneration and diminished myelin renewal contribute to age-related deficits in memory[J]. Nat Neurosci, 2020, 23(4): 481-486. DOI: 10.1038/s41593-020-0588-8.

[7] ZHANG Z, LIU W Y, HUANG Y B, *et al*. NLRP3 deficiency attenuates secondary degeneration of visual cortical neurons following optic nerve injury[J]. Neurosci Bull, 2020, 36(3): 277-288. DOI: 10.1007/s12264-019-00445-x.

[8] STADELMANN C, TIMMLER S, BARRANTES-FREER A, *et al*. Myelin in the central nervous system: structure, function, and pathology[J]. Physiol Rev, 2019, 99(3): 1381-1431. DOI: 10.1152/physrev.00031.2018.

[9] BEHRANGI N, LORENZ P, KIPP M. Oligodendrocyte lineage marker expression in eGFP-GFAP transgenic mice[J]. J Mol Neurosci, 2021, 71(11): 2237-2248. DOI: 10.

1007/s12031-020-01771-w.

[10] TRIPATHI R B, JACKIEWICZ M, MCKENZIE I A, *et al*. Remarkable stability of myelinating oligodendrocytes in mice [J]. Cell Rep, 2017, 21(2): 316-323. DOI:10.1016/j.celrep.2017.09.050.

[11] BAO C C, HE C Q, SHU B, *et al*. Aerobic exercise training decreases cognitive impairment caused by demyelination by regulating ROCK signaling pathway in aging mice[J]. Brain Res Bull, 2021, 168: 52-62. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2020.12.010.

[12] LUBLIN F D, HÄRING D A, GANJGAHI H, *et al*. How patients with multiple sclerosis acquire disability[J]. Brain, 2022, 145(9): 3147-3161. DOI: 10.1093/brain/awac016.

[13] MCKENZIE I A, OHAYON D, LI H L, *et al*. Motor skill learning requires active central myelination[J]. Science, 2014, 346(6207): 318-322. DOI: 10.1126/science.1254960.

[14] XIAO L, OHAYON D, MCKENZIE I A, *et al*. Rapid production of new oligodendrocytes is required in the earliest stages of motor-skill learning[J]. Nat Neurosci, 2016, 19(9): 1210-1217. DOI:10.1038/nn.4351.

[15] MONIE M. Myelin Plasticity and Nervous System Function [J]. Annu Rev Neurosci, 2018, 41: 61-76. DOI: 10.1146/annurev-neuro-080317-061853

[16] ARRUDA J E, MCINNIS M C, STEELE J. The flash visual evoked potential-P2 and the detection of amnestic mild cognitive impairment: a review of empirical literature[J]. Int J Psychophysiol, 2020, 155: 162-167. DOI:10.1016/j.ijpsycho.2020.05.012.

[17] MARENNA S, CASTOLDI V, D'ISA R, *et al*. Semi-invasive and non-invasive recording of visual evoked potentials in mice[J]. Doc Ophthalmol, 2019, 138(3): 169-179. DOI:10.1007/s10633-019-09680-z.

[18] NAJM F J, MADHAVAN M, ZAREMBA A, *et al*. Drug-based modulation of endogenous stem cells promotes functional remyelination *in vivo*[J]. Nature, 2015, 522(7555): 216-220. DOI:10.1038/nature14335.

(**收稿**:2022-09-23;**修回**:2022-11-18)

(编辑 张 维)