维普资讯 http://www.cqvip.com

参 考 文 献

1. Martin G, Hanson JR, Bavres BA, et al. Cyclic AMP elevation is sufficient to promote the survival of spinal motor neuron in vitro. J Neurosci, 1998, 18(8): 7361.
2. Sendtner M, Hotlmann B, Kolbeck R, et al. Brain-derived neurotrophic factor prevents the death of motoneurons in newborn rats after nerve section. Nature, 1992, 360(6406): 757-759.
3. Chang, HM, Ling EA, Lue JH, et al. Melationin attenuates neuronal NADPH-d/NOS expression in the hypoglosssl nucleus of adult rats following peripheral nerve injury. Brain Res, 2000, 873(2): 243-251.
4. Rodriguez FJ, Gomez N, Perego G, et al. Highly permeable polylacide-caprolactone nerve guides enhance peripheral nerve regeneration through long gaps. Biomaterial, 1999, 20: 1489-1500.
5. Tong XJ, Hirai KI, Shimada H, et al. Sciatic nerve regeneration navigated by laminin-fibronectin double coated biodegradable collagen grafts in rats. Brain Res, 1994, 663: 155-162.
6. Sorensen J, Haase C, Kranip C, et al. Gene transfer to Schwann cells after peripheral nerve injury: a delivery system for therapeutic agents. Ann Neurol, 1998, 43(2): 205-211.
7 Dijkhuizen PA, Heeuents WT, Teuuis MA, et al. Adenovira; vector-directed expression of neurotrophin-3 in rat dorsal root ganglion explants results in a robust neurite outgrowth response. J Neurobiol, 1997, 32(2): 172-184.
8. Pittmann RE, Dibenieditto AJ. PC12 cell overexpressing tissue plasminogen activator regenerate neurites to a greater extent and migrate fast than control cell in complex extracellular matrix. J Neurochem, 1995, 64: 566-575.
9. Hyden SM, Seeds NW. Modulated expression of plasminogen activitor system components in cultured cells from dissociated mouse dosal root ganglia. J Neurosci, 1996, 16: 2307-2317.
10. 曾志成. 荧光标记法对骨骼肌桥接周围神经缺损的评价. 中国临床解剖学杂志, 1991, 19(6): 541-544.
11. 曾志成, 王铁霞. 同系异体神经桥接大鼠周围神经缺损的形态学观察. 湖南医科大学学报, 1991, 19(6): 541-544.
12. 刘 强, 孟庆水, 韩西城, 等. 同种异体移植神经再生能力的实验研究. 中华创伤杂志, 1996, 12(5): 315-316.
13. 易西南, 曾志成. 胎儿神经加自雪旺氏细胞桥接修复周围神经缺损实验研究. 中国局解手术学杂志, 1998, 7(4): 194-198.
14. Lundborg G, Dahin L, Dohi D, et al. A new type of bioartificial nerve gratt for bridging extended defects in nerves. J Hand Surg (Br), 1997, 22(3): 299.
15. Kiyotani T, Teranuchi M, Takimoto Y, et al. Nerve regeneration across a 25-mm gap bridged by a polyglycolic acid-collgen tube: a histological and electrophsiological evaluation of regenerated nerves. Brain Res, 1996, 740: 66-74.
16. Dunne WF, Vader L B, Schakenraad JM, et al. Poly (DL-lactide-epsilon-caprolactone) nerve guides perform better than autologous nerve grafts. Mirosurg, 1996, 17(7): 348.
17. 沈尊理, Berger A, Hiemer R, 等. 组织工程化人工神经修复长段神经缺损的实验研究. 中华手外科杂志, 2001, 17(2): 112-115.
18. 易西南, 李昌琪. 周围神经端侧吻合再生纤维的实验研究. 中国临床解剖杂志, 2001, 19(3): 252-253.
19. Card DJ. Denervation in sequence of neuromuscule degenerative changes in rats and the effects of stimulation. Exp Neurol, 1997, 54: 251-265.
20. Tews DS, Goebel HH, Meinck HM. DNA Fragmentation and apoptosis-related proteins of muscle cells in motor neuron. Acta Neurol Scand, 1997, 96: 380-386.
21. Koirala S, Qiang H, Ko CP. Reciprocal interaction between perisynaptic Schwann cells and regenerating nerve terminals at the frog neuromuscular junction. J Neurobiol, 2000, 44(3): 343-360.

(收稿日期: 2002-02-18)

少突胶质细胞应用的研究与思维方法

许愿忠* 曾志成*

少突胶质细胞是中枢神经系统的成髓鞘胶质细胞,但传统认为其抑制中枢神经系统损伤后的再生。直到最近利用神经干细胞分化、纯化、培养少突胶质细胞方法的出现,才使人们对其应用的研究产生了兴趣并在某些方面取得了成功。科学在于创新,在于突破,实践-认识-再实践-再认识的思维方法对指导少突胶质细胞应用的研究起着十分重要的作用。

一、传统对少突胶质细胞的认识和困惑

少突胶质细胞是位于中枢神经系统内的一种神经胶质细胞,在金属浸镀标本上,少突胶质细胞的突起比星形胶质细胞的小和少,故 Delrio-Hortega(1921年)称之为少突胶质细胞。其又可分为束间、神经元周和血管周少突胶质细胞三种,据其电镜下的不同致密度和胞核异染色质聚集情况差异,Mori 等(1970年)把少突胶质细胞分为亮型、中间型和暗型三种,而 3H-胸腺嘧啶核苷法研究指出亮型少突胶质细胞分裂最活跃。GC(半

* 作者单位:410078 长沙市中南大学湘雅医学院解剖学教研室

维普资讯 http://www.cqvip.com

中国局解手术学杂志 2002年第11卷第2期
Chin J Regional Anat & Operative Surg, 2002, Vol.11, No.2

乳糖脑苷脂)、A2B5单抗可鉴别少突胶质细胞及其是否成熟，少突胶质细胞是中枢神经系统的髓鞘形成细胞，但却抑制中枢神经系统损伤后突起的再生。二十世纪后半叶以来，由于多种原因造成的颅脑、脊髓损伤和帕金森、脱髓鞘等中枢神经系统疾病不断增多，而传统观念认为少突胶质细胞抑制中枢神经系统再生的思维定式无疑是有志于利用少突胶质细胞治疗各种相关疾病的科学家们的一大困惑，即虽然少突胶质细胞能形成髓鞘但却抑制中枢神经突起的再生，怎样获得体外分化培养的大量少突胶质细胞也是一个难题。

二、体外利用神经干细胞定向分化培养少突胶质细胞方法的出现和对传统观念的挑战

数十年来，科学家为神经再生的研究进行了不懈的努力。20世纪90年代初期，研究者在成年哺乳动物脑组织内分离出能够不断分裂、增殖具有多分化潜能的细胞群落，提出神经干细胞的概念，并因此彻底改变了以往认为中枢神经系统神经元不能再生的认识，还为从事神经损伤修复的研究者提供了一种新的治疗策略[1]。神经干细胞具有无限增殖和分化为神经元或神经胶质细胞(星型胶质细胞、少突胶质细胞)的潜能。成年哺乳动物的神经干细胞一般位于脑室壁部位，而成年的少突胶质细胞首先从培养视神经获得，然后又从中枢神经系统其他部位分离出来[2]。科学发展是一个复杂的历史过程，既有量的积累又有质的飞跃，科学家辛勤的工作和正确的科研思维方法无疑是科学产生质的飞跃的量的积累。人体解剖学是文艺复兴时期摆脱权威束缚最早的生物学科，近年来随着分子生物技术、细胞生物学和基因工程的飞速发展，逐渐形成了一门新的交叉学科—神经生物学，并成为了当今人们关注的热点。神经干细胞定向分化培养少突胶质细胞是神经生物学的一个重要的内容，也是科学发展到今天新的科学范畴下新科学思维方法的很好应用，它必然会对传统观念作出更大的挑战，为少突胶质细胞的应用开创广阔的前景。

三、神经干细胞定向分化培养少突胶质细胞的启示

1.对少突胶质细胞应用的启示：用神经干细胞定向分化培养少突胶质细胞的成功，也是新的科学思维方法的成功。科学工作者不是单纯为了获得体外培养的少突胶质细胞而研究，而是为了将它应用于中枢神经系统疾病的治疗。神经干细胞定向分化培养少突胶质细胞的科学思维方法对少突胶质细胞的应用是一个很好的启示。在过去的二十年中，一种崭新的治疗方法——细胞治疗(cell therapy)正逐渐为人们重视，且1999年美国科学家McDonald等首次通过移植鼠胚胎干细胞来治疗中枢神经系统损伤[3]。少突胶质细胞是中枢神经系统的成髓鞘大胶质细胞，其能对细胞内和细胞外环境的变化产生反应，可能与一个胶质网有关。少突胶质细胞系有明显的可塑性，甚至在成人也有一定的潜能对髓鞘进行修复[4]。体外培养的少突胶质细胞系与在体特性极其相关，通过体外培养研究可以掌握少突胶质细胞系的增殖、分化、存活以及各种因子对其发育过程的影响、对细胞系的调节和基因的表达、更令人兴奋的是：可将体外培养大量增殖甚至转基因培育的少突胶质细胞系细胞移植入正常的或髓鞘形成障碍(dysmyelinating)或脱髓鞘的(demyelinating)中枢神经系统，揭示髓鞘形成或再生的分子机制以及用于治疗。最近有研究已经表明髓鞘相关少突胶质细胞碱性蛋白(MOBP)大量表达在中枢神经(CNS)的髓鞘中并且控制轴突的直径[5]，且在实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)严重的脱髓鞘和轴突的损坏炎症中可导致整个髓鞘存在髓鞘少突胶质细胞糖蛋白(MOG)复合体，而不是仅存有髓鞘碱性蛋白(MOBP)[6]。移植外源性的少突胶质细胞可促使中枢神经损伤后脱髓鞘的神经再生，产生新的郎飞结，使传导部分或全部修复，对中枢神经系统损伤的修复具有重要作用。最近有人已通过实验发现将体外大量得到的少突胶质细胞移植入 shi/shi 先天性髓鞘缺失的鼠中，少突胶质细胞不但与宿主整合而且产生髓鞘使宿主的轴索髓鞘再生。少突胶质细胞在形成髓鞘的髓鞘化诱导中起着非常重要的作用。在少突胶质细胞识别轴突形成髓鞘时、黏附分子NCAM、N－cadherin等介导轴突髓鞘化的启动[7]。少突胶质细胞在中枢神经损伤后抑制神经元突起的再生，近年先后应用过周围神经(作为细胞桥)、胎儿中枢神经细胞、表达NT－3的成纤维细胞、抗表达抑制蛋白的杂交瘤细胞以及嗅神经鞘细胞移植入急性脊髓损伤的模型中，观察到轴突的再生和部分的功能恢复。最近的研究证明MAG和主要分布在少突胶质细胞内质网和高尔基体以及细胞表面的Nogo-A是抑制神经再生的主要因子、转基因抑制Nogo-A纯化培养的少突胶质细胞尚未见有报道，神经干细胞定向分化培养少突胶质细胞已对人们更好的利用少突胶质细胞奠定了坚实的基础，更开阔了科学家的科研思维方法、少突胶质细胞的应用前景也会更加广阔。

2.对科研思维方法的启示：在科学发展中，人们往往重视技术的发展而忽视研究方法的改进，这个问题在医学领域尤其突出。人体不是可以拆散并组装的的机器，而是一个巨大的有机系统，是有机联系的要素组成的具有系统性质或特定功能的复合体，它具有如下特点：(1)整体性，(2)动态性，(3)交叉性，(4)最佳化[8]。少突胶质细胞作为人体的一个组成部分，对它应具有的研究的科学思维方法，也不能脱离人体的系统性特点。首先，少突胶质细胞作为整体的一部分受到各种因子的调节，在其分化早期shh(snic hedyehog)起很重要的作用[9]，此外，血小板源性生长因子(PDGF)、神经营养因子(NT-3)和胰岛素生长因子(IGF-1)协同促进少突胶质细胞的增殖，而早期甲状腺素却促进少突胶质细胞的分化。其次，在少突胶质细胞应用的研究过程中应动态的向前探索更好的研究方法，如近年来纯化少突胶质细胞的方法有振荡法、密度梯度法、免疫"淘选"法和神经干细胞定向分化培养等，为了获得更高纯度的少突胶质细胞何平等[10]采用振荡法结合纯化Schwann细胞的差速贴壁方法获得少突胶质细胞，然后利用无血清化学培养基诱导分化为较成熟的少突胶质细胞系细胞以备对其应用进行研究。再次，少突胶质细胞的应用研究与其它各门学科纵横交叉，如利用转基因工程将myc、neu、p53、腺病毒E1A基因导入少突胶质细胞共同培养、可以获得自己需要特性的细胞[2]。研究少突胶质细胞

维普资讯 http://www.cqvip.com

的应用的思维方法另一个要点是使其达到最佳化，最近通过永生化神经前体细胞分化培养少突胶质细胞回体移植治疗中枢神经系统疾病已成为神经生物学的研究热点之一。这种永生化的细胞具有很多特殊的优点：如多分化潜能性、稳定性、可控性、安全性、免疫无应答性和无限增殖性等[1]，从而为少突胶质细胞应用的研究朝最佳化方向迈进了一大步。

四、科学思维在科研工作中的地位

以上是以少突胶质细胞应用的研究为例，阐明了思维方法在研究领域的运用。科学技术的特点是创新，科学所追求的是突破，因此科学研究需要理论思维，恩格思曾经说过"一个民族想要站在科学的最高峰，就一刻也不能没有理论思维"，在医学发展的过程中尤其需要创造性思维。创造性思维能摆脱思维定式的束缚，具有发散性的特征，能推动我们对了解较少的事物提出设想、形成初步的认识。在少突胶质细胞应用的研究中也是先摆脱了成年哺乳动物中枢神经系统损伤后不能再生的传统认识，在体外能利用神经干细胞分化、培养少突胶质细胞方法的基础上再发散的想到运用飞速发展的基因工程转导少突胶质细胞，从而使人们能更深层次的认识其更多的应用。

科学研究的道路是曲折而漫长的，实践-认识-再实践-再认识，以至无穷，这是人类认识发展的普遍规律。任何人都无法保证人类今后的认识就下再犯错误[12]。人们对少突胶质细胞应用的研究也是一个实践-认识-再实践-再认识的过程，可能我们现时对少突胶质细胞的认识还处于较肤浅的阶段，更好的利用它用于中枢神经系统的损伤和疾病还需要漫长的探索道路。

参 考 文 献

1.李 怡，娄淑杰，路长林.神经干细胞分化研究进展.中国神经科学杂志.2001,17(3):235.
2.徐群渊. 神经干细胞及其在脑修复中的可能应用. Chin J Neurosci.1999,5(2):156-163
3.蔡 诚，侯铁胜，刘少君.诱导胚胎干细胞向神经元分化及其在中枢神经系统损伤中的应用.Chin J Neurosci, 2001,17(2):153-157.
4.Baumann N, Pham-Dih D. Biology of oligodendrocyte and myelin in the mammalian central nervous system. Physiol Rev, 2001, 81(2):871-927.
5.Yoshikawa H. Myelin-associated oligodendrocytic basic protein modulates the arrangement of radial growth of the axon and the radial component of myelin. Med Electron Microsc,2001,34(3):48.
6.Mancardi G, Hart BA, Capello E, et al. Restricted immune response lead to CNS demyelination and axonal damage . J Neuroimmunol, 2000, 24,107(2):178-83.
7.何平，沈馨亚.少突胶质细胞增殖分化的研究进展.神经解剖学杂志.2000,16(2):183-188.
8.冯国瑞.系统论信息控制论与马克思主义论.北京：北大出版社.1991,207-213.
9.Alberta JA. Sonic hedyehog is required during an early phage of oligodendrocyte development in mammalian brain. Mol cell Neurosci, 2001,18(4).434-441.
10.何平，沈馨亚，杨勤等。新生大鼠大脑少突胶质细胞系的分离纯化和定向分化培养. Chin J Neurosci. 2001,17(1):32-35.
11.罗燕，唐仕波，姚志彬.永生化前体细胞及其应用.神经解剖学杂志,2001,17(1):87-90.
12.贺达仁.人类不能铲除自身的一切疾病与病痛.中医药理论研究,2001,22(4):40-43.

(收稿日期:2002-03-26)

第七届全国局解手术学学术年会征文通知

经中华医学会外科学会批准，局解手术学组拟定于2003年7月底在云南省大理市召开第七届全国局解手术学学术年会，会期5天。

本届年会主题：21世纪局部解剖与外科手术学的发展。

本届年会交流局部解剖学与外科手术学科研成果，尤其突出局解手术学相结合指导临床工作、开拓新科技、新技术为特点的论文；局解手术学的教学研究、教改设想、教研室建设、实验(含解剖标本)技术改进及多媒体经验；手术方法的改进、手术技术的提高、手术的经验及教训、临床手术总结；局解手术学的发展与展望等。

凡上述内容未经杂志发表过的论文均可投稿。稿件要求科学性强、文字精炼、字迹工整，稿纸电脑打字、全文4000字以内及500字摘要各1份(一律不退稿，请自留底稿)。

稿件请寄辽宁省沈阳市中国医科大学附属一院局解手术学教研室凌光烈教授收，信封上请注明会议征文。邮政编码：110001，截稿日期：2003年4月30日。

中华外科学会局解手术学学组
2002年6月1日