DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.07.009

dopamine and acetylcholine[J]. Jpn J Pharmacol, 1985, 39(4): 529—539.

[6] Chleide E, Ishikawa K. Hypoxia-induced decrease of brain acetylcholine release detected by microdialysis[J]. Neuroreport, 1990, 1(3-4): 197—199.

[7] Burn J D, Leighton F A. Further studies of brain cholinesterase: cholinergic receptor ratios in the diagnosis of acute lethal poisoning of birds by anticholinesterase pesticides[J]. J Wildl Dis, 1996, 32(2): 216—224.

[8] 吴 强, 董兆君, 魏相德. 梭曼中毒复合缺氧损伤对PC12细胞游离钙的影响[J]. 第三军医大学学报, 1997, 19(4): 346—348.

[9] 董兆君, 赵吉清, 吴 强, 等. 模拟高原缺氧复合梭曼中毒脑损伤特点及救治[J]. 卫生毒理学杂志, 1999, 13(3): 185—186.

(编辑 冷怀明)

经验与短篇

文章编号: 1000-5404(2000)07-0634-01

同种胚胎脊髓移植治疗成年大鼠脊髓损伤

Treatment of spinal cord injury by fetal cord allograft in adult rats

彭亦良, 吴梅英, 崔大勇 (第三军医大学附属西南医院骨科, 重庆 400038)

脊髓损伤所造成的截瘫, 至今仍缺乏有效的治疗方法。本实验采用同种胚胎脊髓移植治疗成年大鼠脊髓损伤, 通过观察植入的胚胎脊髓在宿主脊髓内的分化发育过程及对损伤脊髓再生修复的促进作用, 为进一步探索脊髓损伤后再生修复的机制和胚胎脊髓移植的临床应用提供可能有用的实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物与分组

Wistar大鼠96只, 体重(200±20)g, 雌雄不拘。随机分为两组: ①胚胎脊髓移植组: 72只; ②单纯脊髓损伤组: 24只。

1.2 截瘫模型制备

采用大鼠胸腰段(T_{11}-L_1)脊髓左侧半横切损伤模型。

1.3 胚胎脊髓移植

选用妊娠14 d的胎鼠作为移植供体, 损伤组不作移植。

1.4 组织标本制作

以术后15、30、60 d作为制作标本及观察的时相点。

1.5 观察指标

1.5.1 HE染色、尼氏染色和嗜银染色。

1.5.2 免疫细胞化学染色 采用S-P法进行SP、SOM、GFAP、NF-200 4种抗体的免疫细胞化学染色。

1.5.3 图像分析 运用图像分析软件, 对阳性染色的神经元数目、面积、平均灰度值进行测量和分析。

1.5.4 统计学处理 实验数据作方差分析。

2 结果

2.1 一般组织病理学改变

HE染色显示, 移植组织存活率为72.26%。移植组术后30 d时, 87.19%的移植物与受体脊髓融合在一起; 术后60 d时融合更紧密; 而损伤组术后左半侧脊髓均形成一个大的空腔。尼氏染色显示移植组术后30 d时, 移植物中神经元体积增大, 神经元内尼氏体增多, 神经元排列较规整; 术后60 d时移植物中神经元大小、形态与脊髓后角神经元基本相似; 而损伤组在术后15 d时, 损伤区周围神经元内尼氏体大多消失, 60 d时仍无明显恢复。镀银染色显示移植组术后15 d, 63.96%的移植组织内可见纤细的神经纤维, 与受体脊髓间有少量的纤维连接。30 d时74.08%的移植物与受体纤维连接增多, 60 d时移植物与受体脊髓交界面可见明显的纤维联系; 而损伤组则至术后60 d时脊髓内神经纤维在空腔处仍不连续。

2.2 免疫细胞化学改变

移植组术后15 d, 69.48%的移植物内即可见较明显的SP和SOM阳性染色细胞, 呈斑片状或网状分布; GFAP和NF染色不明显。术后30 d时, 87.25%的移植物内SP和SOM染色呈强阳性, 阳性染色的细胞呈类圆形或多角形, 可见较多棕黄色颗粒分布于胞浆内, 并可见长短不一的突起向周围延伸。GFAP染色阳性的细胞和纤维稀疏, 主要见于移植物与宿主脊髓融合不紧密处。NF染色阳性的神经纤维在纵切面上呈纵形排列, 分布密集; 在横截面上呈点状散在分布, 并可见少量NF阳性神经元。术后60 d时, 以上4种染色与30 d时基本相似, 仅阳性染色略浅。单纯损伤组在各时相点中GFAP阳性染色最明显, 呈带状或网状分布于脊髓空腔周围。

作者简介: 彭亦良(1964-), 男, 重庆市人, 硕士, 主治医师, 主要从事脊髓损伤方面的研究, 发表论文5篇。电话: (023)68754019

收稿日期: 1999-08-15; 修回日期: 1999-12-28

(下转638页)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

存活及正常的生理功能，损伤后神经营养因子在一定的条件下，可促进未损伤的神经元生芽而重建被破坏的神经回路，神经营养因子在体内和离体的情况下，都具有维持损伤脊髓神经元的存活，促使轴突延伸等功能[5]。NGF是神经系统最重要的生物活性因子之一，有促进和维持神经细胞生长、生存、分化和执行功能的作用。NGF主要对脊髓中感觉、交感神经元起作用，对前角部分运动神经元也有一定作用。BDNF和NGF有50%的同源性，对多种感觉神经元，胆碱能神经元，多巴胺能神经元以及GABA能神经元的发育分化与生长再生具有维持和促进作用，在阻止损伤后运动神经元死亡的作用上，NT-3与BDNF有相同效应。在发育中及成熟后的大鼠中，NT-3能促进脊髓损伤后皮质脊髓束的生长，且能阻止大鼠发育中损伤红核神经元的退行性死亡。NGF，BDNF，NT-3可以挽救轴突切除的前脑神经元并能促进神经元的再生[6]。CNTF与运动神经元关系密切。对培养的鸡胚运动神经元，CNTF是最有效的神经营养因子。CNTF能减少新生鼠面神经切断后运动神经元在终板区发芽，与运动神经元的功能维持有关[7]。另外的研究表明神经营养因子能维持Ca^{2+}稳态，NGF，BDNF，NT-3均可减少由于缺少葡萄糖所引起的培养鼠海马隔区或皮质神经元中Ca^{2+}的升高，还可以减少自由基的损伤[8,9]。我们的实验结果表明胚胎脊髓移植兼用神经营养因子有协同作用，能维持神经元的细胞形态，促进成年大鼠脊髓损伤后后肢功能的恢复。

参考文献：

[1] Tessler A. Intraspinal transplants[J]. Ann Neurol, 1991, 29(2): 115—117.

[2] Cheng H, Yihai D. Spinal cord repair in adult paraplegic rat: partial restoration of hind limb function[J]. Science, 1996, 273(7): 510—513.

[3] Gale K, kerasidis H, Wrathall J R. Spinal cord contusion in the rat: behavioral analysis of functional neurological impairment[J]. Exp Neurol, 1985, 88(2): 123—131.

[4] Zompa E A, Cain L D, Everhart A W, *et al*. Transplant therapy: Recovery of function after spinal cord injury[J]. J Neurotrauma, 1997, 14(6): 479—512.

[5] Levi-Montalcini R, Shaper S D, Toso R D, *et al*. Nerve growth factor: from neurotrophin to neurokine[J]. TINS, 1996, 19(6): 514—517.

[6] Kramer L F. Nerve growth factor treatment after brain injury prevent neuronal death[J]. Science, 1996, 235(4): 214—218.

[7] Thoenen H, Hughes R A, Sendtner M. Trophic support of motoneurons: physiological, pathphysiological, and therapeutic implication[J]. Exp Neurol, 1993, 124(1): 47—61.

[8] Cheng B, Mattson M P. NGF and bFGF protect rat hippocampal and human cortical neurons against hypoglycemic damage by stabilizing calcium homestasis[J]. Neuron, 1991, 7(12): 1 031—1 039.

[9] Pan Z, Perez-Polo R. Role of nerve growth factor in oxidant homeostasis: Glutathione metabolism[J]. J Neurochem, 1993, 61(12): 1 713—1 725.

（编辑 冯崇英）

（上接634页）

2.3 图像分析结果

图像分析结果显示，在各个时相点两组动物的SP、SOM和NF-200染色差异非常显著（$P<0.01$），GFAP染色差异显著（$P<0.05$）。

3 讨论

本实验表明，植入成年大鼠损伤脊髓内的胚胎脊髓，不仅可存活，还可在宿主脊髓内继续生长及分化发育。随着移植物的体积增大，可在大体上恢复损伤脊髓的解剖连续性。此外，镀银染色结果还显示，胚胎脊髓移植后，移植物与宿主脊髓间的纤维联系逐渐增多。

处于未分化阶段的胚胎期神经元缺乏神经肽或递质等标记物，通过检测这些特异性标记物，即可了解神经元的发育情况。SP、SOM染色结果表明，植入的胚胎脊髓可在宿主脊髓内逐渐发育成熟，并具有正常成熟神经元的特征。GFAP染色的强弱反映了胶质增生的活跃程度，GFAP染色结果提示，胚胎脊髓移植物对胶质增生有一定的抑制作用。NF-200染色可特异性地显示神经元的轴突，本实验的结果提示，移植的胚胎脊髓可诱导脊髓损伤后的轴突再生，并且显示胚胎脊髓神经元在发育成熟过程中细胞功能活跃。

由于脊髓结构和功能的复杂性，目前离脊髓再生修复的最终目标——恢复感觉和控制运动，还有很大有距离。因此，进一步探索脊髓再生的本质，对提高脊髓损伤的修复水平及改善外伤性截瘫的预后，具有重要的意义。

关键词：脊髓损伤；脊髓移植；移植，同种
中图法分类号：R651.2 文献标识码：B

参考文献：

[1] Bahr M, Bonhoeffer F. Perspectives on axonal regeneration in the mammalian CNS[J]. Trends Neurosci, 1994, 17(11): 473—479.

[2] Bernstein J J, Goldberg A. Experimental spinal cord transplantation as a mechanism of spinal cord regeneration[J]. Paraplegia, 1995, 33(5): 250—253.

[3] Tatagiba M, Brosamle C, Schwab M E. Rengeneration of injured axons in the adult mammalian central nervous system[J]. Neurosurgery, 1996, 273(11): 451—458.

（编辑 陈聪连）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net