

· 论著 ·

补肾益髓方促进实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠髓鞘再生的作用

王永强 师一民 安辰 赵晖 李明 齐放 张秋霞 陈振振 樊永平 王蕾

【摘要】 目的 观察补肾益髓方促进实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)小鼠髓鞘再生的作用。**方法** 80 只雌性 C57BL/6 小鼠随机分为正常对照、模型、醋酸泼尼松及补肾益髓方组。以髓鞘少突胶质细胞糖蛋白(myelin oligodendroglia glycoprotein, MOG)₃₅₋₅₅ 诱导小鼠 EAE 模型。治疗组小鼠每天给予相应药物灌胃治疗,共 40 天,醋酸泼尼松为阳性对照药物。每天观察动物的一般情况,记录小鼠神经功能评分,统计小鼠的发病率、潜伏期、病程和疾病负荷等。取小鼠脑和脊髓经固蓝染色观察其髓鞘变化,免疫组化法测定髓鞘再生相关蛋白硫酸软骨素蛋白多糖 2 胶质细胞和髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)的表达。**结果** 补肾益髓方能够延长小鼠发病潜伏期、缩短 EAE 病程、降低小鼠疾病负荷($P < 0.05$),减少小鼠脑和脊髓内炎细胞浸润和髓鞘脱失;本方还可促进 NG2 和 MBP 蛋白的表达($P < 0.01$)。**结论** 补肾益髓方对 EAE 小鼠有神经保护作用,并能减轻髓鞘损伤和促进髓鞘修复。

【关键词】 补肾益髓方; 实验性自身免疫性脑脊髓炎; 髓鞘再生

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2016.12.002

Effects of Bushen Yisui formula on promoting remyelination in mice with experimental autoimmune encephalomyelitis WANG Yong-qiang, SHI Yi-min, AN Chen, et al. School of Traditional Chinese Medicine, Beijing Key Lab of TCM Collateral Disease Theory Research, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Corresponding author: WANG Lei, E-mail: tmwangl@ccmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To observe the effect of Bushen Yisui formula on promoting remyelination in mice with experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). **Methods** 80 female C57BL/6 mice were randomly divided into normal control, model, prednisone acetate and Bushen Yisui formula-treated groups. EAE model was established through the injection of myelin oligodendroglia glycoprotein (MOG)₃₅₋₅₅. The mice in treatment groups were administrated administration with corresponding medicines daily for 40 days. Prednisone acetate was considered as the positive control. Animal condition was observed and neurofunctional score was recorded every day. Meanwhile, the morbidity, latency, disease course and disease burden were acquired. Luxol fast blue staining of the brain and spinal cord was performed to observe the changes of myelin. The expressions of myelin regeneration associated proteins chondroitin sulfate proteoglycan 2 and myelin basic protein (MBP) were determined by the immunohistochemistry technique. **Results** Bushen Yisui formula could prolong the latent period, shorten the course, lighten the

基金项目: 国家自然科学基金(81273742、81573898);北京市属高等学校高层次人才引进与培养计划-长城学者项目(CIT&TCD20140329)

作者单位: 100069 北京,首都医科大学中医药学院中医络病研究北京市重点实验室[王永强(硕士研究生)、师一民(硕士研究生)、安辰(硕士研究生)、赵晖、李明、齐放、张秋霞、陈振振、王蕾];首都医科大学附属北京天坛医院中医科(樊永平)

作者简介: 王永强(1989-),2014 级在读硕士研究生。研究方向:中医药防治脑病研究。E-mail:644750798@qq.com

通讯作者: 王蕾(1967-),女,博士,教授,博士生导师。研究方向:中医药防治脑病研究。E-mail:tmwangl@ccmu.edu.cn

disease burden ($P < 0.05$). It could reduce inflammatory cell infiltration and demyelination in the brain and spinal cord of EAE mice. *Bushen Yisui* could also improve the protein expressions of NG2 and MBP ($P < 0.01$). **Conclusion** *Bushen Yisui* had neuroprotective effects on EAE mice. It was able to alleviate myelin injury and promote the recovery of myelin.

【Key words】 *Bushen Yisui* formula; Experimental autoimmune encephalomyelitis; Remyelination

多发性硬化(multiple sclerosis, MS)是一种以中枢神经系统脑白质脱髓鞘为病变特点的自身免疫性疾病^[1-2],髓鞘脱失、轴突损伤和少突胶质细胞等破坏是 MS 的病理特征^[3]。研究发现,在疾病早期髓鞘尚有一定的再生能力^[4]。MS 脱髓鞘后,髓鞘再生主要由少突胶质前体细胞(oligodendrocyte precursor cells, OPCs)募集至损伤部位,分化成少突胶质细胞(oligodendrocytes, OLs)并产生髓磷脂包裹受损的轴突^[5-7],最终实现再髓鞘化来恢复神经功能。因此在治疗上,除了控制炎症以减轻神经损伤外,促进髓鞘再生也是治疗 MS 的重要环节^[8]。目前西医采用免疫治疗(如激素、干扰素等)以控制其炎症,糖皮质激素(如醋酸泼尼松等)是治疗 MS 的基本药物^[9],但长期大量使用,毒副作用明显,现代医学在髓鞘再生方面几乎无药可用^[10]。而越来越多的文献报道显示了中医药在治疗 MS 疾病方面存在的优势^[11]。补肾益髓方具有滋阴补肾、化痰活血的功用,能够改善 MS 患者症状和体征,延长缓解期控制复发;同时能够调节免疫功能,促进轴突及髓鞘的修复再生,临床效果明显^[12]。研究发现,髓鞘形成过程中在 OPCs 阶段主要表达 NG2 和 A2B5,在髓鞘 OLs 阶段主要表达 MBP 和 O4 成熟的特异性蛋白^[13-14]。因此本实验在前期研究的基础上,利用 MS 动物模型实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)小鼠,观察补肾益髓方对 EAE 小鼠的神经保护作用,并通过免疫组化法观察其对 NG2 和 MBP 表达的影响,以探讨本方促进 EAE 小鼠髓鞘再生的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级 C57BL/6 雌性小鼠,6~8 周龄,体质量 15~17 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号:SCXK(京)2012-0001,饲养于首都医科大学实验动物中心国家标准实验室。置于独立通风系统单笼饲养,温度 18~22℃,相对湿度

40%~60%,自由饮食和饮水。所有实验步骤均经首都医科大学伦理委员会审核批准。

1.2 药物和试剂

补肾益髓方(生地黄 10 g、熟地黄 10 g、制何首乌 10 g、酒大黄 2 g、益母草 10 g、浙贝母 6 g、水蛭 3 g、全蝎 2 g、天麻 3 g、连翘 6 g)由北京亚东生物制药有限公司制备。制备方法简述如下:浙贝母研粉过筛;其余药物煎煮浓缩成稠膏,与浙贝母粉混匀备用。醋酸泼尼松片由天津力生制药有限公司生产。

髓鞘少突胶质细胞糖蛋白(myelin oligodendrocyte glycoprotein, MOG)₃₅₋₅₅由北京旭和源生物科技有限公司合成;灭活结核分枝杆菌(*mycobacterium tuberculosis*, H37Ra, MTB, 批号:4283842,购自 BD 公司);完全弗氏佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA, 批号:SLBH7316V, 购自 Sigma 公司);百日咳毒素(pertussis toxin, PTX, 批号:SLBP1591V, 购自 Sigma 公司);NG2 抗体(批号:GR26516-29, 购自 abcam 公司);MBP 抗体(批号:GR170892-2, 购自 abcam 公司)。

1.3 分组及模型制备

将 80 只小鼠随机分为正常对照组($n=20$)、模型组($n=20$)、醋酸泼尼松组($n=20$)及补肾益髓方组($n=20$)。在免疫当天及免疫后第 7 天于小鼠后背中线两侧皮下 4 点注射 MOG₃₅₋₅₅与 CFA 按 1:1 混合的乳化抗原 0.2 mL(含 50 μ g MOG₃₅₋₅₅、100 μ L CFA, 0.3 mg 的 MTB 和 100 μ L 生理盐水),且免疫当天及 48 小时后,腹腔注射 PTX 500 ng/只,诱导小鼠建立 EAE 模型。正常对照组小鼠用同体积生理盐水代替。

1.4 给药和处理方法

免疫第一天开始分别灌胃给予醋酸泼尼松(5 mg/kg 体重)和补肾益髓方(3.02 g 生药/kg 体重)。正常对照组和模型组均灌服相同体积蒸馏水。每天 1 次,连续 40 天,每天观察小鼠神经行为学变化。各组小鼠分别于发病急性期(20 天)、缓解期(40 天)取脑和脊髓。

1.5 组织标本采集及处理

在发病第 20、40 天,每组取 4 只小鼠予 10% 水合氯醛(190 mg/kg)腹腔注射麻醉,4% 多聚甲醛心脏灌流,取脑和脊髓,石蜡包埋成 2 μm 厚度的切片,固蓝(luxol fast blue,LFB)染色,光镜观察组织形态学变化。

1.6 检测指标

1.6.1 小鼠神经行为学观察 小鼠造模后,每天对小鼠进行神经功能评分。神经功能评分采用 15 分记分法:尾巴活动分为 3 级:无症状者 0 分,尾巴张力减低或尾巴远端瘫痪 1 分,尾巴全瘫 2 分;肢体活动分为 4 级:无症状者 0 分,步态不稳 1 分,肢体轻瘫,行走时肢体拖曳 2 分,肢体全瘫,行走时肢体外翻 3 分。通过累积分数得出总分。若出现死亡则记为 15 分。计算小鼠的发病率、潜伏期、病程和疾病负荷。疾病负荷是指观察期内每只小鼠神经功能评分的总和。

1.6.2 NG2 与 MBP 免疫组化染色观察 小鼠脑和脊髓切片经二甲苯脱蜡,梯度乙醇洗脱至水,PBS 冲洗后,放入柠檬酸缓冲液中进行抗原修复 20 分钟,取出,室温下自然冷却至 35℃ 以下,用 3% H_2O_2 孵育 10 分钟,滴加一抗稀释液 NG2(1:150)/MBP(1:350),4℃ 孵育 12 小时。取出后,在 37℃ 放置 1 小时,再依次加入聚合酶辅助剂一、抗兔 IgG 多聚体(试剂二)后,37℃ 孵育 1 小时。DAB 显色 1~5 分钟,脱水、透明、中性树胶封片,光学显微镜下观察照相,并用 NIS-Elements BR 3.2 软件测定积分光密度(integral optical density,IOD)值。

1.7 统计学处理

数据应用 SPSS 16.0 统计软件进行分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,数据符合正态分布,且方差齐,故组间比较采用单因素方差分析,两两比较运用 LSD 检验法。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义, $P<0.01$ 为差异有显著统计学意义。

2 结果

2.1 补肾益髓方对 EAE 小鼠神经行为学变化的影响

模型组小鼠于造模 12 天后开始发病,并于造模 19 天达到高峰,发病率为 100%,随后成缓慢下降趋势,但在 40 天时发病率仍为 80%。醋酸泼尼松和补肾益髓方治疗组发病率变化趋势与模型组相一致,但其发病高峰期稍有后移,发病率均低于模型

组。其中醋酸泼尼松组于造模 12 天开始发病,第 20 天发病率最高为 90%,在 40 天时发病率降至 50%;补肾益髓方组于造模后 13 天开始发病,造模 21 天发病率最高为 90%,在 40 天时发病率下降为 40%。

表 1 显示,模型组小鼠潜伏期为(14.4 \pm 0.6)天,而醋酸泼尼松和补肾益髓方明显延长了 EAE 小鼠的潜伏期,较模型组有统计学意义($P<0.05$)。模型组小鼠的病程最长,为(36.2 \pm 2.1)天,醋酸泼尼松组的病程缩短为(31.9 \pm 2.0)天,补肾益髓方组的病程明显缩短为(28.9 \pm 2.3)天,差异有统计学意义($P<0.05$)。并且醋酸泼尼松和补肾益髓方组较模型组均能够降低 EAE 小鼠疾病负荷值($P<0.05$)。

表 1 各组小鼠发病潜伏期、病程及疾病负荷的变化($\bar{x}\pm s$)

组别	n	潜伏期(天)	病程(天)	疾病负荷
模型组	10	14.4 \pm 0.6	36.2 \pm 2.1	73.0 \pm 13.6
醋酸泼尼松组	10	17.3 \pm 0.6 ^a	31.9 \pm 2.0	42.1 \pm 8.3 ^a
补肾益髓方组	10	17.2 \pm 1.1 ^a	28.9 \pm 2.3 ^a	37.0 \pm 6.3 ^a

注:与模型组相比,^a $P<0.05$ 。

2.2 补肾益髓方对 EAE 小鼠脑及脊髓髓鞘的影响

LFB 染色结果分析得出,在 20 天时正常对照组大鼠脑及脊髓均着色均匀,结构有序完整;模型组有大量炎症细胞浸润现象,髓鞘板层结构疏松呈泡沫状、髓鞘不连续、甚至呈片状脱失。醋酸泼尼松组及补肾益髓方组均有炎细胞浸润及髓鞘脱失现象,但均相对于模型组较轻。见图 1、2。

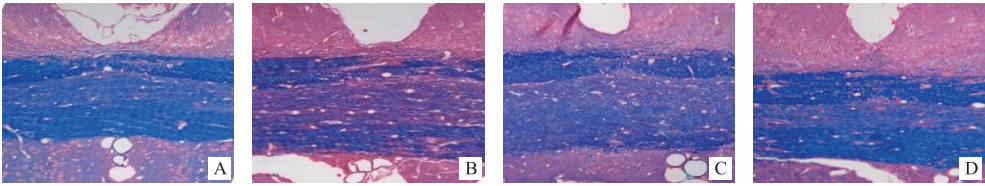
2.3 补肾益髓方对 EAE 小鼠脑及脊髓组织中 NG2 表达的影响

第 20 天,模型组小鼠脑和脊髓中 NG2 表达较正常对照组明显升高($P<0.001$),醋酸泼尼松和补肾益髓方组 NG2 表达与模型组相比均明显降低($P<0.001$);但在第 40 天时,模型组小鼠脑和脊髓中 NG2 表达较正常对照组明显降低($P<0.001$),醋酸泼尼松和补肾益髓方组小鼠 NG2 表达均较模型组明显升高($P<0.05$, $P<0.01$)。见图 3、图 4,表 2。

2.4 补肾益髓方对 EAE 小鼠脑及脊髓组织中 MBP 表达的影响

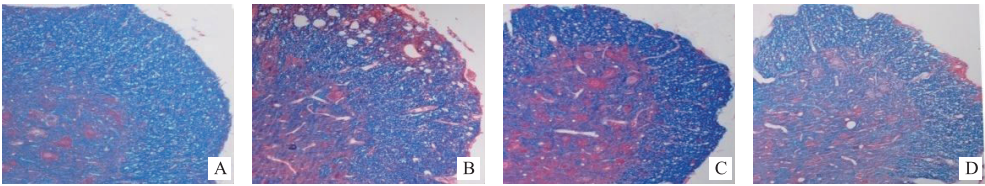
在第 20 天和第 40 天,模型组小鼠脑和脊髓中 MBP 表达较正常对照组均明显降低($P<0.05$, $P<0.001$),但经过醋酸泼尼松和补肾益髓方治疗后,小鼠脑和脊髓中 MBP 表达均较明显升高,与模型组比较有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。见图

5、图 6、表 3。



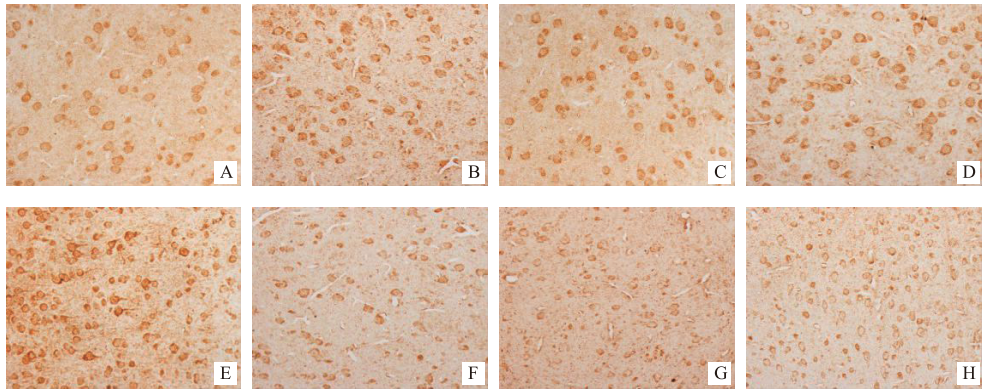
注: A. 正常对照组; B. 模型组; C. 醋酸泼尼松组; D. 补肾益髓方组

图 1 各组小鼠脑第 20 天 LFB 病理变化(LFB ×200)



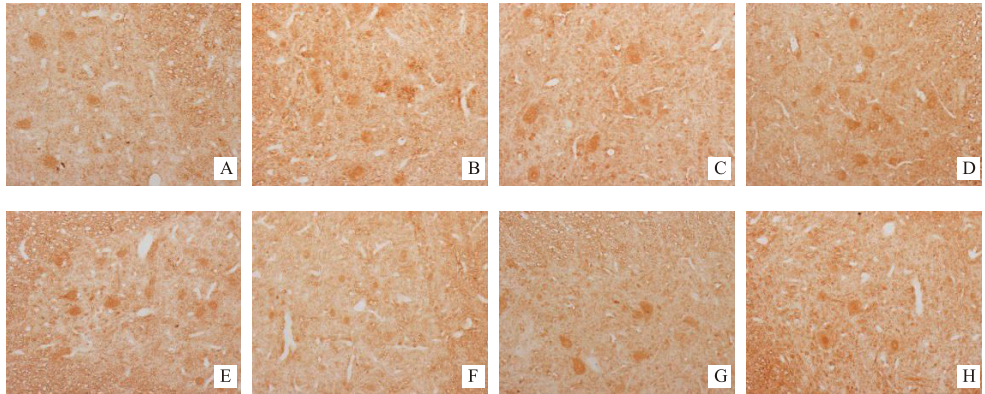
注: A. 正常对照组; B. 模型组; C. 醋酸泼尼松组; D. 补肾益髓方组

图 2 各组小鼠脊髓第 20 天 LFB 病理变化(LFB ×200)



注: A. 正常对照组(20 天); B. 模型组(20 天); C. 醋酸泼尼松组(20 天); D. 补肾益髓方组(20 天)
E. 正常对照组(40 天); F. 模型组(40 天); G. 醋酸泼尼松组(40 天); H. 补肾益髓方组(40 天)

图 3 不同时间各组小鼠脑 NG2 的表达(IHC×400)



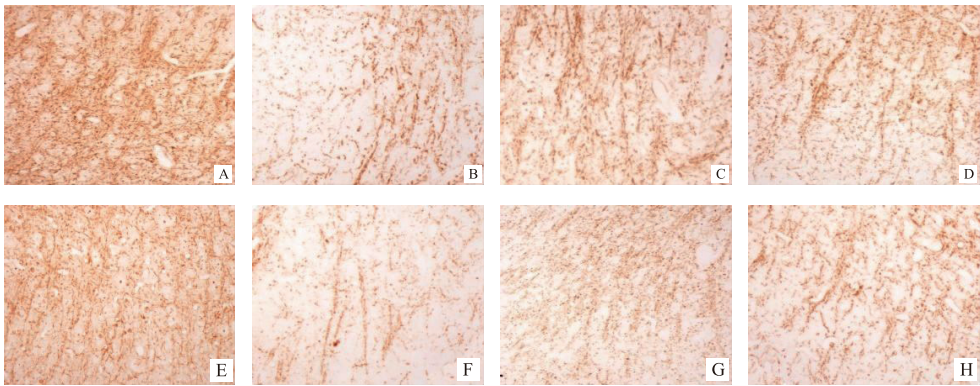
注: A. 正常对照组(20 天); B. 模型组(20 天); C. 醋酸泼尼松组(20 天); D. 补肾益髓方组(20 天)
E. 正常对照组(40 天); F. 模型组(40 天); G. 醋酸泼尼松组(40 天); H. 补肾益髓方组(40 天)

图 4 不同时间各组小鼠脊髓 NG2 表达(IHC ×400)

表 2 不同时间点各组小鼠脑和脊髓 NG2 表达比较($\bar{x}\pm s$)

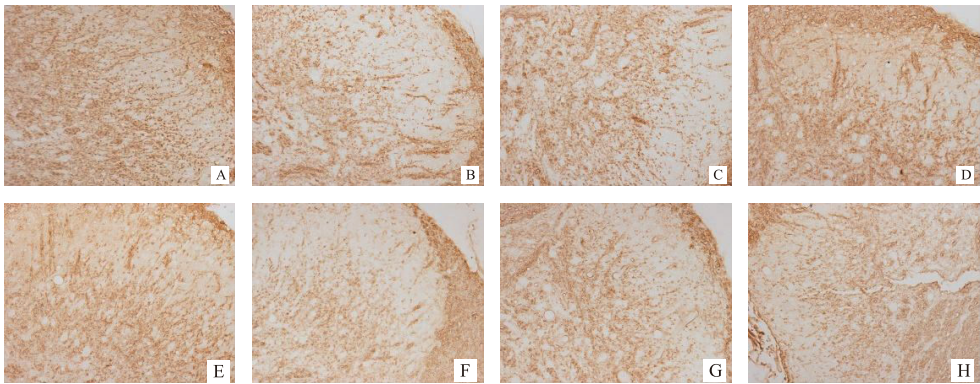
组别	n	脑		脊髓	
		第 20 天	第 40 天	第 20 天	第 40 天
正常对照组	4	20.48±0.62	20.30±0.36	19.35±0.50	20.27±1.05
模型组	4	36.55±1.17 ^a	13.76±0.48 ^a	34.82±1.31 ^a	13.06±1.30 ^a
醋酸泼尼松组	4	29.02±1.08 ^d	16.47±0.93 ^c	27.63±0.58 ^d	16.19±0.40 ^b
补肾益髓方组	4	28.46±1.12 ^d	17.91±0.64 ^d	28.89±1.70 ^d	17.46±0.56 ^c

注：与正常对照组比较，^a $P<0.001$ ；与模型组比较，^b $P<0.05$ ，^c $P<0.01$ ，^d $P<0.001$ 。



注：A. 正常对照组(20 天)；B. 模型组(20 天)；C. 醋酸泼尼松组(20 天)；D. 补肾益髓方组(20 天)
E. 正常对照组(40 天)；F. 模型组(40 天)；G. 醋酸泼尼松组(40 天)；H. 补肾益髓方组(40 天)

图 5 不同时间各组小鼠脑 MBP 的表达(IHC×400)



注：A. 正常对照组(20 天)；B. 模型组(20 天)；C. 醋酸泼尼松组(20 天)；D. 补肾益髓方组(20 天)
E. 正常对照组(40 天)；F. 模型组(40 天)；G. 醋酸泼尼松组(40 天)；H. 补肾益髓方组(40 天)

图 6 不同时间各组小鼠脊髓 MBP 的表达(IHC×400)

表 3 不同时间点各组小鼠脑和脊髓 MBP 的表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	脑		脊髓	
		第 20 天	第 40 天	第 20 天	第 40 天
正常对照组	4	26.84±0.88	26.41±0.75	26.12±0.98	25.54±0.79
模型组	4	17.20±2.02 ^a	13.82±0.93 ^a	16.32±0.40 ^a	12.42±0.44 ^a
醋酸泼尼松组	4	22.12±0.70 ^b	17.39±0.66 ^b	22.04±0.85 ^d	16.64±0.61 ^d
补肾益髓方组	4	21.78±0.67 ^b	20.39±1.37 ^d	20.84±1.34 ^c	19.32±0.49 ^d

注：与正常对照组比较，^a $P<0.001$ ；与模型组比较，^b $P<0.05$ ，^c $P<0.01$ ，^d $P<0.001$ 。

3 讨论

MS 属于中医“痿症”范畴,根据临床症状观察

该病与“骨痿”最为相似^[15-16]。目前中医对该病的认识为本虚标实,肾虚为发病之本,湿热浊毒为标,与肾、脾、肝密切相关^[16-17]。临床研究发现,MS 患

者的肝肾阴虚和痰瘀阻络证具有普遍性,因此,以补肾配伍化痰活血法为指导创立了补肾益髓方。方中生地黄、熟地黄滋肾养阴,奏扶正之功;浙贝母、益母草、水蛭、全蝎等,化痰祛瘀通络,起祛邪之用。前期研究证实补肾益髓方对 EAE 模型具有明显治疗作用^[12]。本次实验发现,补肾益髓方能够明显降低 EAE 小鼠发病率,延长发病潜伏期、缩短了病程,并明显降低了 EAE 小鼠的疾病负荷,与之前的结果一致。研究显示,在本病初期,CD4⁺T 淋巴细胞数目增多,并从外周经血脑屏障进入 CNS 攻击髓鞘等,最终造成脱髓鞘损伤^[18],是导致 MS 患者神经功能障碍的主要原因。从 LFB 染色结果分析得出,补肾益髓方能够减轻 EAE 小鼠炎细胞浸润及髓鞘脱失现象,从而发挥神经保护作用。

NG2 是一种表达在 OPCs 细胞膜上的糖蛋白,称为硫酸软骨素蛋白多糖 NG2,其可作为 OPCs 的特异性细胞标志物^[19]。MBP 是一种具有黏附作用并在髓鞘的形成中起到关键作用的一个重要的髓鞘组成成分^[20],在 OPCs 分化过程中,有丝分裂后期的少突胶质细胞成熟阶段,髓鞘抗原 MBP 被合成^[21],并在髓鞘外缘形成稳定膜状板层结构,从而保证了髓鞘的完整性,故 MBP 是成熟少突胶质细胞的标志。

本次实验结果发现,急性期 EAE 小鼠脑和脊髓 NG2 表达明显升高,在缓解期却明显降低,而 MBP 水平无论急性期还是缓解期均显著降低。研究证实,当 CNS 系统受到损伤后,NG2 细胞在损伤区的周围迅速做出反应。如在动物脊髓半损伤、兴奋性中毒以及脱髓鞘模型中,均出现脑 NG2 细胞的增殖反应^[22]。有学者认为 NG2 增殖机制可能与临近的神经元和少突胶质细胞通过 Notch 信号通路调节 NG2 细胞有关^[23]。由于 NG2 细胞上存在腺苷受体,其激活又会抑制 NG2 的过度增殖而加速其髓鞘化过程^[24],因此在缓解期 NG2 的表达量显著降低,推测可能与 OPCs 逐渐分化以补偿损失的髓鞘成分有关。MBP 水平的持续降低说明 EAE 疾病发生后,大量炎症细胞攻击髓鞘,导致髓鞘损伤,虽然髓鞘的再生发生在 EAE 中,但其能力是有限的。原因可能是脱髓鞘后产生的抑制环境,特别是影响 OPCs 功能的内源性和外源性因素,如转录因子、脑源性神经营养因子、抑制因子、趋化因子等异常表达,阻碍了 OPCs 完成髓鞘再生过程,导致髓鞘再生失败^[25-26]。然而补肾益髓方明显降低急性期 EAE 小

鼠 NG2,升高缓解期 NG2 水平,同时明显升高了急性期和缓解期 MBP 的表达,说明补肾益髓方促进髓鞘再生的作用与 OPCs 增殖有关。Yang T 等^[27]的研究中发现补肾益髓方促进髓鞘再生的作用还与调节其转录因子 Olig1 和 Olig2 有关。

综上所述,补肾益髓方可减轻 EAE 动物的神经损伤并促进其髓鞘再生,这些结果为本方临床治疗 MS 疾病提供了依据,但其深入的机制还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Fujiyoshi K, Hikishima K, Nakahara J, et al. Application of q-Space Diffusion MRI for the Visualization of White Matter[J]. J Neurosci, 2016,36(9):2796-2808.
- [2] Beauchemin P, Carruthers R. MS arising during Tocilizumab therapy for rheumatoid arthritis[J]. Mult Scler, 2016,22(2):254-256.
- [3] Haider L, Simeonidou C, Steinberger G, et al. Multiple sclerosis deep grey matter: the relation between demyelination, neurodegeneration, inflammation and iron[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2014,85(12):1386-1395.
- [4] Gaesser JM, Fyffe-Maricich SL. Intracellular signaling pathway regulation of myelination and remyelination in the CNS[J]. Exp Neurol, 2016,283(PtB):501-511.
- [5] 姚宏波,张萌,宫学武,等. Olig 对少突胶质细胞介导脱髓鞘大鼠髓鞘再生的影响[J]. 解剖学报,2014,45(1):37-40.
- [6] Lourenço T, de Faria JP, Bipes CA, et al. Modulation of oligodendrocyte differentiation and maturation by combined biochemical and mechanical cues[J]. Sci Rep, 2016,6:21563.
- [7] Khalaj AJ, Hasselmann J, Augello C, et al. Nudging oligodendrocyte intrinsic signaling to remyelinate and repair: Estrogen receptor ligand effects[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2016,160:43-52.
- [8] Kremer D, Küry P, Dutta R. Promoting remyelination in multiple sclerosis: current drugs and future prospects[J]. Mult Scler, 2015,21(5):541-549.
- [9] 申丽萍. 多发性硬化的临床治疗进展[J]. 临床医药文献电子杂志,2015,(18):3689-3690.
- [10] Kamm CP, Uitdehaag BM, Polman CH. Multiple sclerosis: current knowledge and future outlook[J]. Eur Neurol, 2014,72(3-4):132-141.
- [11] 樊永平,王蕾. 炎症脱髓鞘疾病中医药治疗[M]. 北京:人民军医出版社,2015:30-99.
- [12] 房玲,樊永平,赵晖,等. 补肾益髓方防治多发性硬化的研究进展[J]. 中医药导报,2013,19(12):108-110.
- [13] 李彩红,张婷,陈雪,等. 大鼠脊髓少突胶质前体细胞的培养与鉴定方法[J]. 卒中与神经疾病,2014,21(4):199-202.
- [14] Girolamo F, Ferrara G, Strippoli M, et al. Cerebral cortex demyelination and oligodendrocyte precursor response to experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. Neurobiol Dis, 2011,43(3):678-689.
- [15] 郑琦,杨涛,徐大鹏,等. 补肾方药防治多发性硬化研究述评[J]. 辽宁中医药大学学报,2011,13(8):96-98.
- [16] 樊永平. 多发性硬化中医病因病机和治疗[J]. 环球中医药,

- 2013,9(6):668-670.
- [17] 刘剑, 高颖. 分期辨治复发缓解型多发性硬化的理论探讨[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(4):990-993.
- [18] Goverman JM. Immune tolerance in multiple sclerosis [J]. Immunol Rev, 2011, 241(1):228-240.
- [19] Xing YL, Röth PT, Stratton JA, et al. Adult neural precursor cells from the subventricular zone contribute significantly to oligodendrocyte regeneration and remyelination [J]. J Neurosci, 2014, 34(42):14128-14146.
- [20] Vincze A, Mázló M, Seress L, et al. A correlative light and electron microscopic study of postnatal myelination in the murine corpus callosum [J]. Int J Dev Neurosci, 2008, 26(6):575-584.
- [21] 赵红, 张拥波, 王得新, 等. 大鼠局灶性脑缺血后少突胶质前体细胞激活及髓鞘再生的实验研究[J]. 中风与神经疾病杂志, 2012, 29(4):332-334.
- [22] Huang S, Tang C, Sun S, et al. Protective Effect of electroacupuncture on neural myelin sheaths is mediated via promotion of oligodendrocyte proliferation and inhibition of oligodendrocyte death after compressed spinal cord injury[J]. Mol-Neurobiol, 2015, 52(3):1870-1881.
- [23] Aparicio E, Mathieu P, Pereira LM, et al. The Notch signaling pathway: its role in focal CNS demyelination and apotransferrin-induced remyelination [J]. J Neurochem, 2013, 127(6):819-836.
- [24] Ceruti S, Viganò F, Boda E, et al. Expression of the new P2Y-like receptor GPR17 during oligodendrocyte precursor cell maturation regulates sensitivity to ATP-induced death[J]. Glia, 2011, 59(3):363-378.
- [25] Boyd A, Zhang H, Williams A. Insufficient OPC migration into demyelinated lesions is a cause of poor remyelination in MS and mouse models[J]. ActaNeuropathol, 2013, 125(6):841-859.
- [26] Boulanger JJ, Messier C. From precursors to myelinating oligodendrocytes: contribution of intrinsic and extrinsic factors to white matter plasticity in the adult brain [J]. Neuroscience, 2014, 269(1):343-366.
- [27] Yang T, Zheng Q, Zhao H, et al. Effect of BushenYisui Capsule on oligodendrocyte lineage genes 1 and 2 in mice with experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. Chin J Integr Med, 2016, (2):1-9.

(收稿日期: 2016-04-14)

(本文编辑: 韩虹娟)