

·学习园地·

中枢神经系统脱髓鞘疾病动物模型的相关研究进展

杨林林¹, 占克斌²

作者单位

1. 南华大学第二临床学院

湖南 衡阳 421001

2. 南华大学附属第二医院神经内科

湖南 衡阳 421001

收稿日期

2019-10-28

通讯作者

占克斌

zhankebin@

126.com

摘要 中枢神经系统脱髓鞘疾病是一组病因不明的复杂疾病,目前尚无有效的治疗方法,主要原因在于发病机制迄今不明,所以运用相关的动物模型来探究中枢神经系统脱髓鞘的机制对于新疗法的研发十分必要。本文就近几年来常用的中枢系统脱髓鞘动物模型的机制及特点进行综合叙述。

关键词 中枢神经系统脱髓鞘疾病;动物模型;实验

中图分类号 R741;R741.02 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.2020.03.011

杨林林, 占克斌. 中枢神经系统脱髓鞘疾病动物模型的相关研究进展[J]. 神经损伤与功能重建, 2020, 15(3): 162-164.

近年来,中枢神经系统脱髓鞘疾病发病率呈逐年上升趋势,是以多病灶、炎性脱髓鞘为主的一种自身免疫系统疾病,其常见疾病主要包括多发性硬化(Multiple Sclerosis, MS)、视神经脊髓炎(Neuromyelitis Optica, NMO)等。近年来,中枢系统脱髓鞘动物模型不断发展并逐渐完善,能在一定程度上阐明中枢系统脱髓鞘疾病的相关机制,但不能模拟中枢神经系统脱髓鞘疾病的所有特点,且不同的模型侧重于不同机制。常用的中枢神经系统脱髓鞘模型包括毒素诱导的脱髓鞘模型、实验性自身免疫性脑脊髓炎(Experimental Allergic Encephalomyelitis, EAE)和病毒感染诱导的脱髓鞘模型。本文综述近年来各模型的作用机制,总结优缺点及其适用范围,为合理应用并扩展脱髓鞘模型提供参考,为治疗中枢神经系统脱髓鞘疾病提供依据。

1 毒素诱导的脱髓鞘动物模型

1.1 溶血卵磷脂脱髓鞘模型

自1972年就有科学家发现溶血卵磷脂(lysophosphatidylcholine, LPC)能注射于中枢神经系统产生快速脱髓的现象^[1]。LPC是由磷脂酶A2产生的一种内源性溶血磷脂,其机制可能是通过G蛋白偶联受体^[2,3],或通过产生RhoA信号的G2A和GPR4受体^[4,5],使得成熟少突胶质细胞减少,从而诱导脱髓鞘;同时LPC会被水解,并产生溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid, LPA)作用于LPA受体诱导脱髓鞘^[6]。也可能通过炎症介导来增加小胶质细胞中自由基的释放,进一步对脑白质造成损害^[7,9]。最新研究以6~8周龄雌性C57BL/6小鼠为研究对象,将总量为1 μL的1%LPC溶于PBS后注射至左侧胼胝体,发现LPC脱髓鞘造模后的髓鞘损伤具有自愈性,即造模之后不进行任何处理,损伤的髓鞘在第21天也可再生恢复,所以在LPC脱髓鞘模型中选取脱髓鞘变化的关键时间点方面至关重要^[10]。

LPC模型是最常用的毒素脱髓鞘模型之一,LPC有非常明确的药物动力学,常被注射于特定位置,

并在明确的时间点会产生脱髓鞘和髓鞘再生分离,所以对于脱髓鞘与髓鞘再生机制的分离研究有特定优势,且具有良好的特征性修复速度。但LPC模型产生的脱髓鞘区域范围偏小,仅适用于体内模型,并不适合建立体外实验模型^[11]。近年来对于LPC模型的研究有所扩展,最近的双点LPC模型,不仅在短期内诱导脱髓鞘,而且可在长期内诱导脱髓鞘,且几乎不发生髓鞘再生,这有利于专注研究单独的脱髓鞘,无髓鞘再生的干扰,是一个简单、便宜、易复制的模型^[12]。

1.2 双环己酮草酰二脲诱导模型

自20世纪60年代以来,就有研究表明双环己酮草酰二脲(cuprizone, CPZ)会导致中枢神经系统脱髓鞘。CPZ是一种铜螯合剂,能扰乱铜离子的稳态,引起代谢压力,使得少突胶质细胞特别脆弱,容易凋亡^[13]。但目前CPZ脱髓鞘机制并不十分清晰。有最新研究以CPZ诱导脱髓鞘为模型来研究小鼠情绪及神经递质的变化,同样以C57BL/6雄性小鼠为对象,以含0.2%CPZ粉末的饲料饲养14周作为慢性脱髓鞘组,并以含0.2%CPZ粉末的饲料饲养12周后,再换正常饲料2周为髓鞘修复组。结果显示慢性脱髓鞘组有明显的髓鞘脱失,髓鞘修复组可见不同程度的髓鞘修复^[14],故在这些模型中尽管时间跨度较长,但CPZ模型也是一个可预测的过程,并且T细胞在CPZ模型的过程中未发挥任何作用。CPZ模型还被证明对于不同动物,发生脱髓鞘部位不同。但对于同一动物,可能会同时出现不同年龄特征的脱髓鞘病变,而且也不是大脑的所有区域都受到同样影响,这些因素会使CPZ模型的脱髓鞘病变的研究更加复杂^[15]。

2 EAE动物模型

第一次提到EAE模型是在1933年,当时的实验组在连续几次肌肉注射脑乳剂后,成功地引起中枢神经系统的炎症和脱髓鞘损伤^[16]。有研究表明EAE模型是与人类疾病最相似的实验模型,也是研

究中枢神经系统脱髓鞘疾病的药物最常用的模型。特别是EAE模型与MS有许多共同特征,这些特征包括髓鞘破坏、炎症损伤,并且这些特征会随着时间推移发生在整个中枢神经系统,但主要表现为血管周围的分散病灶。另外EAE动物模型中脱髓鞘和髓鞘再生的过程比人类中枢神经系统脱髓鞘疾病发生的脱髓鞘范围要小,但反应更剧烈^[17]。最近有研究以C57BL/6雌性小鼠为对象,连续21 d喂养抗原髓鞘少突胶质细胞糖蛋白35-55来建立EAE模型^[18],其具体机制可能是通过免疫激活并扩增外周抗原特异性的T细胞,然后T细胞进入中枢神经系统,再遇到特定的髓鞘脂抗原,进一步诱导脱髓鞘^[1]。也有研究表明NMO可能是辅助性T细胞介导的自身免疫性疾病^[19],并且NMO模型的制备是在EAE模型的基础上,再腹腔注射NMO-IgG,使得脊髓产生类似NMO的病理改变^[20]。此外,EAE模型直接促进三种已批准的用于治疗MS药物即醋酸格拉默、米托恩醌、那他珠单的开发^[21],但这些药物在动物模型中被证明有效,对于人类疾病可能不会产生同样的疗效,并且长期治疗时,可能有不可预测的副作用^[22],因此这些药物对MS的潜在疗效仍存在疑问。此外,考虑到EAE模型所需要的动物数量多和造模时间长,花费昂贵。这是本文中最复杂的模型,它的复杂性有时会使结果的解释变得困难^[23]。

3 病毒感染诱导的脱髓鞘动物模型

对于MS研究,最常用的病毒模型是在1934年发现的泰勒氏小鼠脑脊髓炎病毒(Theiler's murine encephalomyelitis virus, TMEV)^[24]。TMEV可导致多种动物产生脱髓鞘的神经病理过程,最常用的毒株包括毒性较强的GD-Ⅶ和毒性较弱的Daniels和BeAn毒株。TMEV模型与EAE模型相似^[25],但与EAE模型不同的是,这种疾病在易感小鼠体内的进展始终是慢性的。而且TMEV模型的脱髓鞘确切机制与EAE模型并不一致。其机制可能是病毒直接对少突胶质细胞的影响,或由自身免疫间接破坏已经感染病毒的少突胶质细胞,并且其产生的有毒代谢物会激活巨噬细胞,最后造成轴突损伤为主要结果,脱髓鞘为次要结果^[26]。

TMEV的病毒诱导脱髓鞘产生的病理特征与人类MS有明显的相似处,能模拟中枢神经系统中的病毒感染引发的自身免疫反应,并且使病变局限于中枢神经系统。但TMEV诱导产生的慢性病程会持续发生在动物的整个生命进程中。此外,部分小鼠的脊髓脱髓鞘损伤呈广泛性^[26],并且病毒感染模型也只适合体内建模,不适合建立体外模型。目前有研究表明由于病毒对特定的细胞有趋向性,会使体内其他部位的内源性细胞受同样的影响,并且毒性菌株潜伏期容易造成感染与死亡,所以病毒感染模型的动物死亡率高,这已成为病毒操作的技术难题^[27]。

4 问题与展望

中枢神经系统脱髓鞘疾病仍是神经医学界的难点之一,进一步深入研究其病理生理及发病机制,能为中枢神经系统脱髓鞘疾病的治疗及改善预后寻求更好的方法,每个模型各有特点,

但目前尚无一种模型能完全模拟人类中枢神经系统脱髓鞘疾病,所以仍需对脱髓鞘模型进行改良,使其能有效模拟人类的中枢神经系统脱髓鞘疾病机制,能为临床试验提供参考。

参考文献

- [1] Hall SM. The effect of injections of lysophosphatidyl choline into white matter of the adult mouse spinal cord[J]. *J Cell Sci*, 1972, 10: 535-546.
- [2] Kougias P, Chai H, Lin P, et al. Lysophosphatidylcholine and secretory phospholipase A2 in vascular disease: Mediators of endothelial dysfunction and atherosclerosis[J]. *Med Sci Monit*, 2006,12: RA5-RA16.
- [3] Murakami M, Nakatani Y, Atsumi G, et al. Regulatory functions of phospholipase A2[J]. *Crit Rev Immunol*,1997, 17: 225-283.
- [4] Sheikh AM, Nagai A, Ryu JK, et al. Lysophosphatidylcholine induces glial cell activation: role of rho kinase[J]. *Glia*, 2009, 57: 898-907.
- [5] Tobo M, Tomura H, Mogi C, et al. Previously postulated "ligand-independent" signaling of GPR4 is mediated through proton-sensing mechanisms[J]. *Cell Signal*, 2007,19: 1745-1753.
- [6] Santos-Nogueira E, Lopez-Serrano C, Hernandez J, et al. Activation of Lysophosphatidic acid receptor type 1 contributes to pathophysiology of spinal cord injury[J]. *J Neurosci*, 2015, 35: 10224-10235.
- [7] Nikic I, Merkler D, Sorbara C, et al. A reversible form of axon damage in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis[J]. *Nature Med*, 2011, 17: 495-499.
- [8] Schilling T, Eder C. Importance of lipid rafts for lysophosphatidylcholine-induced caspase-1 activation and reactive oxygen species generation [J]. *Cell Immunol*, 2010, 265: 87-90.
- [9] Schilling T, Eder C. Sodium dependence of lysophosphatidylcholine-induced caspase-1 activity and reactive oxygen species generation[J]. *Immunobiology*, 2011, 216: 118-125.
- [10] 阮峰, 邹造峰, 孙婧娴, 等. 电针促进溶血卵磷脂诱导的脱髓鞘小鼠髓鞘再生修复作用机制研究[J/OL]. *针刺研究*, 2019, doi:10.13702/j.1000-0607.190162
- [11] Eigel D, Zoupi L, Sekizar S, et al. Cryogel scaffolds for regionally constrained delivery of lysophosphatidylcholine to central nervous system slice cultures: A model of focal demyelination for multiple sclerosis research[J]. *Acta Biomater*, 2019, 97: 216-229.
- [12] Luo Q, Ding L, Zhang N, et al. "A stable and easily reproducible model of focal white matter demyelination"[J]. *J Neurosci Methods*, 2018, 307: 230-239.
- [13] Kipp M, Clarner T, Dang J, et al. The cuprizone animal model: New insights into an old story[J]. *Acta Neuropathologica*, 2009, 118: 723-736.
- [14] 雷楚, 黄嘉璐, 陈昊炜, 等. 双环己酮草酰二脲诱导脱髓鞘模型小鼠情绪及神经递质的变化[J]. *第三军医大学学报*, 2015, 38: 1263-1269.
- [15] Kipp M, Clarner T, Dang J, et al. The cuprizone animal model: New insights into an old story[J]. *Acta Neuropathologica*, 2009, 118: 723-736.
- [16] Carlton WW. Response of mice to the chelating agents sodium diethyldithiocarbamate, alpha-benzoinoxime, and bisicyclohexanone oxaldihydrazone[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1966, 8: 512-521.
- [17] Rivers TM, Sprunt DH, Berry GP, et al. Observations on attempts to produce acute disseminated encephalomyelitis in monkeys[J]. *J Exp Med*, 1933, 58: 39-53.
- [18] 孟仁亮, 谢阳, 张瑶, 等. 氯马斯汀促进实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠的再髓鞘化[J]. *天津药学*, 2018, 47: 819-823.
- [19] 赵莹莹, 张依, 梁文野, 等. 视神经脊髓炎谱系疾病临床特点分析及治疗进展[J]. *神经损伤与功能重建*, 2018, 13: 177-180.
- [20] 王晓. 视神经脊髓炎实验模型的研究进展[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2015, 42: 303-307.
- [21] Miller RH, Fyffe-Maricich SL. Restoring the balance between disease and repair in multiple sclerosis: insights from mouse models[J]. *Dis Model Mech*, 2010, 3: 535-539.
- [22] Constantinescu CS, Farooqi N, O' Brien K, et al. Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) as a model for multiple sclerosis (MS)[J]. *Br J Pharmacol*, 2011, 164: 1079-1106.
- [23] Moreno B, Espejo C, Mestre L, et al. Guidelines on the appropriate

use of animal models for developing therapies in multiple sclerosis[J]. *Revista Neurologia*, 2012, 54: 114-124.

[24] Dal Canto MC, Kim BS, Miller SD, et al. Theiler's murine encephalomyelitis virus (TMEV)-induced demyelination: a model for human multiple sclerosis[J]. *Methods*, 1996, 10: 453-461.

[25] Tsunoda I, Fujinami RS. Inside-out versus outside-in models for virus induced demyelination: axonal damage triggering demyelination, Springer

Semin[J]. *Immunopathol*, 2002, 24: 105-125.

[26] Rodriguez M, Oleszak E. Murine encephalomyelitis: a model of demyelination and persistence of virus[J]. *Crit Rev Immunol*, 1987, 7: 325-365.

[27] Osorio-Querejeta I, Saenz-Cuesta M, Munoz-Culla M, et al. Models for Studying Myelination, Demyelination and Remyelination[J]. *Neuromolecular Med*, 2017,19: 181-192.

(本文编辑:王晶)

(上接第143页)

在向右侧转动过程中出现眼震消失的位置为NP3。

在本研究中,35.7%的轻嵴帽患者有NP1。Hong等^[10]研究发现,轻嵴帽患者的自发眼震通常方向朝向健侧,该眼震亦称为假性自发眼震,推测由于直立头位时外半规管与水平面之间存在30°夹角,使壶腹位于比其他半规管更高的位置,轻嵴帽背离/偏移向椭圆囊侧将引起。Kim等^[11]报道轻嵴帽患者假性自发眼震的发生率为100%,但也有研究发现部分轻嵴帽患者在坐位头部直立位时没有出现自发性眼震^[12]。本研究中,NP1的发生率并不高,而NP2与NP3发生率很高。而且在对患者进行NP3的评价过程中,患者的耐受程度明显低于NP2。因此,在临床中应用NP2评价,对患者可能更为简便易行、有效可取。

本研究中,所有轻嵴帽患者均接受手法复位治疗并随访,结果显示复位当天约7.1%的患者有效;1周后随访,仅有14.3%的轻嵴帽患者有效;1个月后随访,所有的轻嵴帽患者位置性眼震消失。这与既往研究结果类似。Kim等^[13]对65例pG-DCPN患者进行分组治疗,其中35例行手法复位治疗,30例未采取任何治疗措施,对其眼震进行随访评价,结果显示手法复位对于pG-DCPN患者无效。进一步说明pG-DCPN的病理机制可能不是由于轻耳石粘附导致。国内学者对18例轻嵴帽患者进行Barbecue法治疗1周后随访发现,无痊愈病例,仅18.8%改善,无效达81.2%。后改为观察,不再干预,1月后评估75%病例痊愈,改善及无效各12.5%^[14]。综上可知,绝大多数轻嵴帽患者手法复位疗效不佳,但有自愈倾向,且病程多超过2周。推测可能在炎性、免疫、缺血或代谢等机制的参与介导下,导致血-迷路屏障而致内淋巴的比重及粘度增加,或嵴帽受损“变轻”,而致嵴帽/淋巴比重<1而发生“轻嵴帽”改变。

综上所述,轻嵴帽为一类临床中并不少见的位置

性眩晕疾病,诊断中需要与耳石症进行鉴别,其中NP2的评价为对轻嵴帽诊断及定侧诊断最为简便可行的方法。轻嵴帽患者复位效果差,但病程多呈自限性。轻嵴帽相关发生机制还有待进一步的研究与探讨。

参考文献

- [1] Bertholon P, Tringali S, Faye MB, et al. Prospective study of positional nystagmus in 100 consecutive patients[J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2006, 115: 587-94.
- [2] Hiruma K, Numata T. Positional nystagmus showing neutral points[J]. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 2004, 66: 46-50.
- [3] Hiruma K, Numata T, Mitsuhashi T, et al. Two types of direction-changing positional nystagmus with neutral points[J]. *Auris Nasus Larynx*, 2011, 38: 46-51.
- [4] Ichijo H. Persistent direction-changing geotropic positional nystagmus[J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2012, 269: 747-751.
- [5] Bisdorff AR, Debatisse D. Localizing signs in positional vertigo due to lateral canal cupulolithiasis[J]. *Neurology*, 2001, 57: 1085-1088.
- [6] Choung YH, Shin YR, Kahng H, et al. 'Bow and lean test' to determine the affected ear of horizontal canal benign paroxysmal positional vertigo[J]. *Laryngoscope*, 2006, 116: 1776-1781.
- [7] Lee JB, Han DH, Choi SJ, et al. Efficacy of the "bow and lean test" for the management of horizontal canal benign paroxysmal positional vertigo[J]. *Laryngoscope*, 2010, 120: 2339-2346.
- [8] Kim CH, Shin JE, Kim YW. A new method for evaluating lateral semicircular canal cupulopathy[J]. *Laryngoscope*, 2015, 125: 1921-1925.
- [9] Kim CH, Choi JM, Jung HV, et al. Sudden sensorineural hearing loss with simultaneous positional vertigo showing persistent geotropic direction-changing positional nystagmus[J]. *Otol Neurotol*, 2014, 35: 1626-1632.
- [10] Hong SM, Kim SK, Park IS, et al. Pseudo-spontaneous nystagmus in patients with geotropic direction-changing positional nystagmus[J]. *PLoS One*, 2018, 13: e0196019.
- [11] Kim CH, Shin JE, Shin DH, et al. "Light cupula" involving all three semicircular canals: A frequently misdiagnosed disorder[J]. *Med Hypotheses*, 2014, 83: 541-544.
- [12] 彭好, 王利一, 宋海涛, 等. 向地性位置性眼震患者临床特点及疗效观察[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2017, 52: 205-209.
- [13] Kim CH, Hong SM. Is the modified cupulolith repositioning maneuver effective for treatment of persistent geotropic direction-changing positional nystagmus[J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2018, 275: 1731-1736.
- [14] 张林, 区永康, 郑亿庆, 等. 轻嵴帽患者的临床特征分析[J]. *中华耳科学杂志*. 2017, 15: 657-660.

(本文编辑:唐颖馨)