

基础研究

半乳凝素-1 对脊髓损伤大鼠
室管膜区细胞增殖的影响

宋启春, 党晓谦, 姬 乐, 张永涛, 王坤正

(西安交通大学第二附属医院骨科 710004 西安市)

【摘要】目的:观察成年大鼠脊髓损伤后半乳凝素-1 对室管膜区细胞增殖的影响,为进一步研究脊髓损伤后内源性神经干细胞的自身修复作用提供理论依据。方法:72 只健康雌性 SD 大鼠,1.5 月龄,体重 190~220g,分为假手术组(A 组)、模型组(B 组)和治疗干预组(C 组),每组 24 只。B、C 两组均在 T10 节段制作急性脊髓损伤模型,A 组仅行椎板切除。C 组术后 24h 经枕大池蛛网膜下腔注入 20 μ l(0.2g/L)半乳凝素-1,单次给药;其余两组仅给予等量的生理盐水。术后 1d、7d 每组进行后肢运动功能 BBB 评分,术后 7d 每组行免疫组织化学方法检测脊髓室管膜区 BrdU 和巢蛋白(Nestin)阳性细胞的表达变化情况。结果:术后 1d 后肢运动功能 BBB 评分 A 组为 21.00 \pm 0.00 分,B 组为 1.65 \pm 0.05 分,C 组为 1.59 \pm 0.14 分,B、C 两组比较无显著性差异($P>0.05$)。术后 7d 后肢运动功能 BBB 评分,C 组(12.98 \pm 0.15)、B 组(6.38 \pm 0.21)与 A 组(21.00 \pm 0.00)比较均有显著性差异($P<0.05$);C 组与 B 组比较有显著性差异($P<0.05$)。术后 7d,A 组脊髓室管膜区免疫组化 BrdU 和 Nestin 阳性细胞相对值分别为 0.02 \pm 0.01 和 0.01 \pm 0.00,仅见极少量;B 组分别为 0.41 \pm 0.14 和 0.35 \pm 0.13,与 A 组比较均明显增加($P<0.05$);C 组分别为 1.02 \pm 0.25 和 0.88 \pm 0.20,均比 B 组增加更加明显($P<0.05$)。术后 7d,A 组脊髓室管膜区免疫组化 BrdU 和 Nestin 积分光密度值分别为 17.12 \pm 3.47 和 10.59 \pm 2.11,B 组(32.43 \pm 4.96,24.95 \pm 7.43)和 C 组(45.11 \pm 6.01,36.99 \pm 5.29)均高于 A 组($P<0.05$),但 C 组高于 B 组($P<0.05$)。结论:大鼠脊髓内室管膜区细胞具有潜在的增殖和分化能力,在损伤后该功能可被激活,半乳凝素-1 对室管膜区细胞的增殖和分化具有明显促进作用。

【关键词】脊髓损伤;室管膜区细胞;半乳凝素-1;神经干细胞;大鼠

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2013.08.12

中图分类号:R683.2 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2013)-08-0734-06

Experimental study of the effects of Galectin-1 on proliferation of ependymal region cells in injured spinal cord of adult rats/SONG Qichun, DANG Xiaolian, JI Le, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2013, 23(8): 734-739

【Abstract】 **Objectives:** To observe the effects of Galectin-1 on the proliferation of cells in the ependymal region of injured spinal cord in adult rats, and to provide a theoretical basis for further study of endogenous neural stem cells in repairment of the injured spinal cord. **Methods:** 72 healthy female SD rats, with age of 1.5 months and body weight of 190-220g, were divided into sham group(group A), model group(group B), and intervention group(group C). For the later two groups, spinal cord injury models were established on T10, and for the sham group, only laminectomy was performed. The rats in treatment intervention group received sub-arachnoid injection of single dose of 20 μ l(0.2g/L) Galectin-1 24h after injury; the remaining two groups were only given normal saline. Neurological function recovery of the hindlimbs was evaluated using the BBB score 1 day and 7 days after injury, and the expression of BrdU positive cells and Nestin positive cells in spinal cord ependymal zone were detected using immunohistochemical method 7 days after injury. **Results:** The BBB score of group A was 21.00 \pm 0.00 one day after injury. The score of group B(1.65 \pm 0.05) showed no significant difference($P>0.05$) from that of group C(1.59 \pm 0.14) one day after injury. The BBB scores of group C(12.98 \pm 0.15) and B(6.38 \pm 0.21) were significantly different($P<0.05$) from that of group A(21.00 \pm 0.00) 7 days

第一作者简介:男(1985-),在读博士,研究方向:脊髓损伤和修复

电话:(029)87679292 E-mail:surgeonsong@126.com

通讯作者:党晓谦 E-mail:dang_xiaolian@sohu.com

after injury; and the result was not significantly different between group C and B($P<0.05$). 7 days after surgery, very little amount of BrdU positive cells(0.02 ± 0.01) and Nestin positive cells(0.01 ± 0.00) was found in group A; while the amount of BrdU positive cells(0.41 ± 0.14) and Nestin positive cells(0.35 ± 0.13) in group B were abundant and significantly increased($P<0.05$); Increase in the amount of BrdU positive cells(1.02 ± 0.25) and Nestin positive cells(0.88 ± 0.20) in spinal cord ependymal zone in group C was significantly higher than group B($P<0.05$). 7d after operation, the BrdU and Nestin integral optical density value in group A were 17.12 ± 3.47 and 10.59 ± 2.11 respectively, group B(32.43 ± 4.96 , 4.96 ± 7.43) and group C(45.11 ± 6.01 , 6.01 ± 5.29) had higher value than group A($P<0.05$), and group C was higher than group B($P<0.05$). **Conclusions:** Cells in ependymal area of spinal cord display the potential of proliferation and neural differentiation after injury in rats. Galectin-1 promotes the proliferation and neural differentiation of the cells in this area.

[Key word] Spinal cord injury; Ependymal cell; Galectin-1; Neural stem cell; Rat

[Author's address] Department of Orthopedics, 2nd Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, 710004, China

在成体哺乳动物体内存在的神经干细胞称为内源性神经干细胞(endogenous neural stem cells, ENSCs), 研究表明成体动物脊髓室管膜区(包括室管膜层及室管膜下层)存在 ENSCs^[1,2], 且其具有向神经元和胶质细胞分化的能力^[3,4]。然而成体动物体内虽有 ENSCs 的存在, 但在正常情况下其增殖水平很微弱且增殖活性非常有限^[5]。在脊髓受到创伤后各种因素的刺激可能使 ENSCs 的增殖水平有所提高, 研究表明应用动脉夹夹压脊髓后 7d 增殖水平可达到高峰, 但由于各种内外因素的存在致使其增殖水平受到明显限制^[6]。因此促进其增殖分化是治疗中枢神经损伤的方法之一。半乳凝素-1(Galectin-1)在促进神经细胞的增殖、分化及轴突再生过程中发挥着重要作用^[7,8], 但对于在鞘内注射促进室管膜区细胞的增殖及神经分化的研究鲜有报道。我们设想在脊髓损伤后给予半乳凝素-1, 刺激并激活室管膜区细胞的增殖以期恢复神经功能, 为进一步研究脊髓损伤后内源性神经干细胞的自身修复作用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及主要试剂、仪器

健康雌性 SD 大鼠 72 只, 1.5 月龄, 体重 190~220g, 平均 205g。半乳凝素-1(PeproTech 公司, 美国); 5-溴 2-脱氧尿嘧啶核苷(博奥森公司, 中国); 兔抗大鼠 BrdU 单克隆抗体(Sigma 公司, 美国); 小鼠抗大鼠巢蛋白(Nestin)单克隆抗体(中杉生物工程有限公司, 中国); NYU-II 型脊髓打击器(纽约大学, 美国); 光学显微镜(Olympus 公

司, 日本)。

1.2 动物分组、模型制作及药物干预

1.2.1 动物分组和模型制作 随机分为 3 组: 假手术组(A 组)、模型组(B 组)和治疗干预组(C 组), 24 只/组。B 组和 C 组在脊髓 T10 节段应用改良 Allen 打击法创建急性脊髓撞击伤模型, 腹腔注射 10%水合氯醛(350mg/kg), 待麻醉满意后, 将大鼠俯卧于手术台上, 固定四肢后备皮、常规消毒, 以 T8~T11 棘突(一般在俯卧位时的最高点)为中心, 沿后正中线依次切开背部皮肤及皮下组织, 切口长约 3.0cm, 逐层显露硬膜并保证其完整性。打击时在脊髓暴露处覆盖一垫片, 使脊髓受力均匀一致。应用 NYU-II 型脊髓打击器打击, 致伤冲量为 $10\times 1.5\text{g}\cdot\text{mm}$, 然后依次缝合肌肉、皮下组织及皮肤。造模成功的标志: 损伤后脊髓暴露处充血水肿, 尾巴及双下肢痉挛性抽动, 随后双下肢弛缓性瘫痪。A 组不打击脊髓, 其余处理相同。

1.2.2 术后护理和药物干预 术后即刻在背部皮下注射生理盐水 2ml 以补充血容量。给予青霉素 5 万 U 腹腔内注射以预防感染, 每日 1 次, 持续 3 日。同时注意保温(25°C)和保湿(70%), 饲养于配有空调的专用室, 分笼饲养, 自由取食, 每天 3 次行膀胱按摩协助排尿, 直至反射性排尿建立为止。术后 24h 枕部剃毛, 触及寰枕关节间隙后标记, 麻醉消毒后应用静脉留置套管针与躯体成角 40° 左右, 针尖斜向头端, 穿刺约 2.0~2.5mm, 当明显感觉有突破落空感时, 可见脑脊液经套管流出并可见液面, 表明已进入枕大池, C 组应用微量注射器注入 $20\mu\text{l}$ 浓度为 0.2g/L 半乳凝素-1, A、B 组给予等量生理盐水。各组注入药物后, 均放置头高位

与水平面约为 30° 20min, 使注入药物通过脑脊液向脊髓远端循环。各组动物均于术后 7d 处死动物前 24h 腹腔内注射 BrdU, 每次 50mg/kg, 每 3h 1 次, 共 4 次。

1.3 检测指标

1.3.1 动物行为功能评分 对各组大鼠术后后肢运动功能的恢复情况进行观察, 在术后 1d、7d 进行 BBB 评分, 双人单独观察进行评分, 求平均值。

1.3.2 脊髓室管膜区免疫组织化学 BrdU 及 Nestin 阳性细胞的检测和计数 各组动物分别在术后 7d 麻醉下行心脏灌注后, 以损伤处为中心取头端和尾端各 5mm 脊髓组织, 固定过夜, 石蜡包埋, 用切片机连续切片制备组织横切片, 片厚 $5\mu\text{m}$, 每只动物取 4 张, 用 SABC 法检测分别行 BrdU 和 Nestin 免疫组织化学染色, 光镜下观察计数室管膜区免疫组化阳性细胞和室管膜细胞数量。由于各脊髓中央管的大小不同, 室管膜细胞的数量也不同, 故在放大 400 倍条件下应用光学显微镜计数室管膜细胞及其周围 $60\mu\text{m}$ 内棕褐色颗粒的细胞数与室管膜细胞总数的比值来表示阳性细胞的相对量 (图 1); 同时应用 Image ProPlus6 图像分析软件分析各组中室管膜区域组织的积分光密度值 (IOD)。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析, 数据采用平均值 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示。多样本均数比较应用方差分析, 组间均数两两比较应用 LSD 法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BBB 评分

A 组大鼠术后 1d、7d BBB 评分均为 21.00 ± 0.00 分。脊髓损伤术后 1d B、C 两组的 BBB 评分分别为 1.65 ± 0.05 分和 1.59 ± 0.14 分, 两组比较无显著性差异 ($P>0.05$), 表明 B、C 两组有可比性。脊髓损伤术后 7d, C 组评分明显高于 B 组, 差异有显著性 ($P<0.05$); B、C 组与 A 组评分比较差异均有显著性 ($P<0.05$, 表 1)。

2.2 室管膜区 BrdU 和 Nestin 阳性细胞的表达

3 组大鼠术后 7d 室管膜区 BrdU 和 Nestin 阳性细胞相对值见表 1, 定量分析室管膜区 IOD 见表 2。BrdU 定位于细胞核, 免疫组化可见中央管核显色为棕色颗粒状。在术后 7d, A 组在中央管

周边存在极少量 BrdU 阳性细胞, 数量稀少 (图 2a); B 组损伤平面室管膜细胞及周围 BrdU 阳性细胞增多 (图 2b), 与 A 组比较有显著性差异 ($P<0.05$); C 组 BrdU 阳性细胞明显增多 (图 2c), 较 A 组、B 组均有显著性差异 ($P<0.05$)。

Nestin 定位于细胞质, 免疫组化可见细胞周围显色为棕色颗粒状。在术后 7d, A 组室管膜细胞 Nestin 阳性细胞未见表达 (图 3a), B 组可见 Nestin 阳性细胞在室管膜细胞层明显表达 ($P<0.05$, 图 3b), C 组可见更高的阳性细胞表达 ($P<0.05$, 图 3c)。

3 讨论

BrdU 是 DNA 合成原料脱氧胸腺嘧啶核苷的类似物, 细胞分裂增殖时可代替胸腺嘧啶在 DNA

表 1 术后 7d 各组 BBB 评分和脊髓室管膜区 BrdU、Nestin 阳性细胞相对值 ($n=24$)

Table 1 The BBB score result and relative value of BrdU and Nestin positive cells in ependymal zone after 7d in each group

	A组 Group A	B组 Group B	C组 Group C
BBB评分(分) BBB score result	21.00 ± 0.00	6.38 ± 0.21^{①}	12.98 ± 0.15^{①②}
BrdU阳性细胞 相对值 BrdU positive cells relative value	0.02 ± 0.01	0.41 ± 0.14^{①}	1.02 ± 0.25^{①②}
Nestin阳性细胞 相对值 Nestin positive cells relative value	0.01 ± 0.00	0.35 ± 0.13^{①}	0.88 ± 0.20^{①②}

注: ①与 A 组比较 $P<0.05$; ②与 B 组比较 $P<0.05$

Note: ①Compared with group A, $P<0.05$; ②Compared with group B, $P<0.05$

表 2 术后 7d 各组脊髓室管膜区积分光密度值 ($n=24$)

Table 2 Integral optical density value of ependymal zone of spinal cord after 7d in each group

	BrdU室管膜区积分 光密度值 Ependymal zone IOD of BrdU	Nestin室管膜区积分 光密度值 Ependymal zone IOD of Nestin
A组 Group A	17.12 ± 3.47	10.59 ± 2.11
B组 Group B	32.43 ± 4.96^{①}	24.95 ± 7.43^{①}
C组 Group C	45.11 ± 6.01^{①②}	36.99 ± 5.29^{①②}

注: ①与 A 组比较 $P<0.05$; ②与 B 组比较 $P<0.05$

Note: ①Compared with group A, $P<0.05$; ②Compared with group B, $P<0.05$

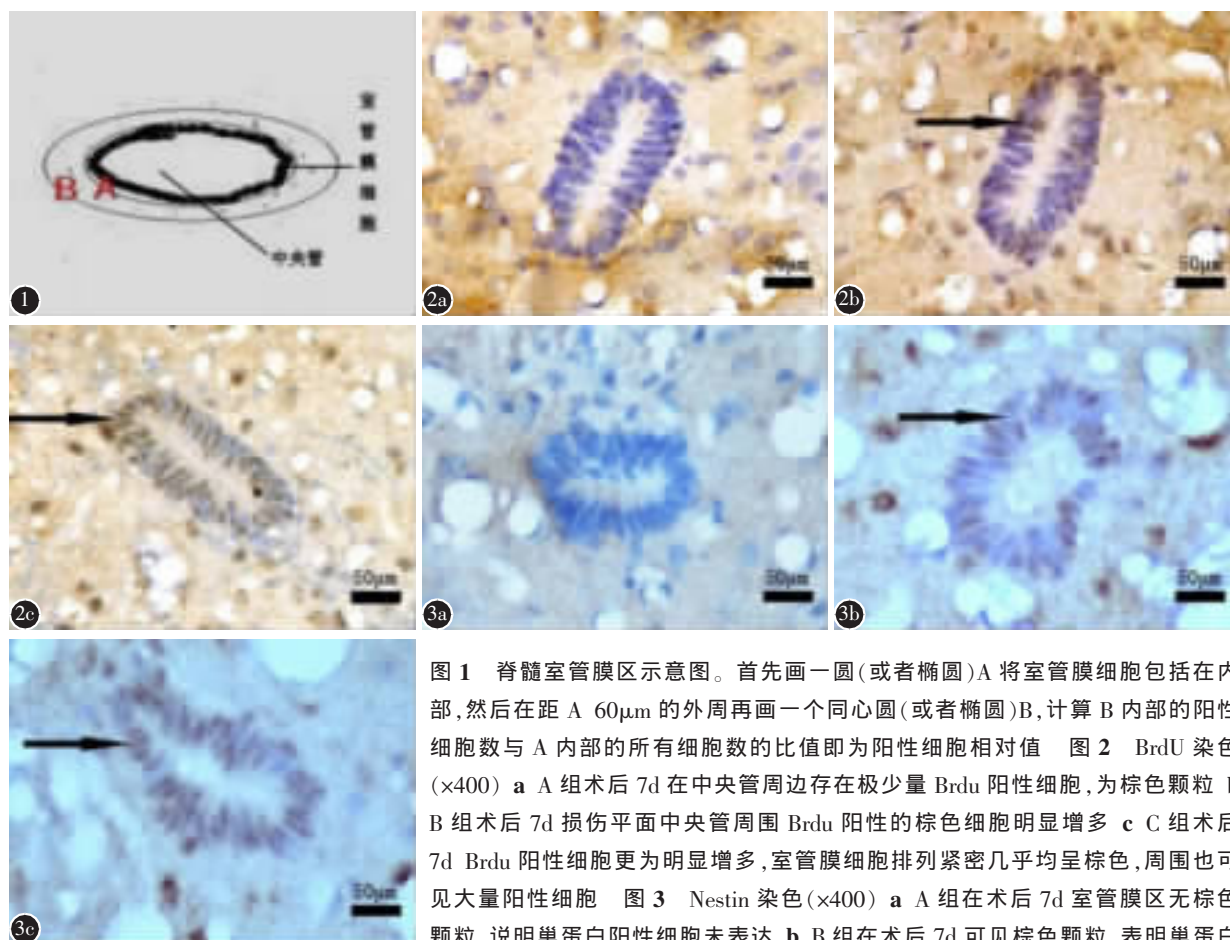


图 1 脊髓室管膜区示意图。首先画一圆(或者椭圆)A 将室管膜细胞包括在内部,然后在距 A 60 μ m 的外周再画一个同心圆(或者椭圆)B,计算 B 内部的阳性细胞数与 A 内部的所有细胞数的比值即为阳性细胞相对值 图 2 BrdU 染色($\times 400$) a A 组术后 7d 在中央管周边存在极少量 BrdU 阳性细胞,为棕色颗粒 b B 组术后 7d 损伤平面中央管周围 BrdU 阳性的棕色细胞明显增多 c C 组术后 7d BrdU 阳性细胞更为明显增多,室管膜细胞排列紧密几乎均呈棕色,周围也可见大量阳性细胞 图 3 Nestin 染色($\times 400$) a A 组在术后 7d 室管膜区无棕色颗粒,说明巢蛋白阳性细胞未表达 b B 组在术后 7d 可见棕色颗粒,表明巢蛋白阳性细胞在室管膜细胞层及周围有表达 c C 组在术后 7d,室管膜细胞大部呈棕色,周围也可见大量棕色细胞。箭头所指为免疫组化染色阳性细胞

Figure 1 Spinal cord endymal zone diagram. First drawing a circle (or ellipse) A which includes all endymal cells in the inside, and then drawing a peripheral concentric circle (or ellipse) B from A 60 μ m. Counting the number of positive cells in the interior of B and A, and the ratio of B/A is the relative magnitude of the positive cells **Figure 2** BrdU($\times 400$) a Group A after operation for 7d, there were very little BrdU positive cells with brown granules surrounding the central tube b Group B operation for 7d, BrdU positive cells with brown granules increased markedly around the central canal in damage plane c Group C after operation for 7d, BrdU positive cells increased more obviously, and endymal cells closely packed and were almost all brown, a large number of positive cells was also seen **Figure 3** Nestin($\times 400$) a Group A after operation for 7d, endymal zone showed no brown granules, which shows no expression of Nestin positive cells b Group B after operation for 7d, endymal zone were visible brown granules, which suggests Nestin positive cells were expressed in the endymal cells layer and the surroundings c Group C after operation for 7d, most endymal cells were brown and also had a lot of brown cells around them. Arrow for immunohistochemical positive cells

合成期(即 S 期)掺入到新合成细胞的 DNA 中,从腹腔注入的 BrdU 可被正在合成 DNA 的室管膜细胞所摄取,并随着细胞的分裂而传递到新产生的子代细胞的胞核中^[9]。利用 BrdU 抗体对掺入 DNA 中的 BrdU 进行免疫组化检测,便可检测到室管膜细胞的增殖状态。Nestin 属于一种中间丝类型的蛋白,是特异性表达在神经前体细胞上的

一种分子标记物^[10],能够维持神经前体细胞的正常形态,神经前体细胞的存在可说明细胞有向神经元或者神经胶质细胞继续分化、修复脊髓损伤的可能。本实验通过观察室管膜区内源性干细胞 Nestin 的表达情况,以观察室管膜区细胞的分化方向。

在脊髓室管膜区存在 ENSCs,但是干细胞数

量有限,并且大多处于静息状态,在特定的条件下才具有增殖和分化的能力^[3]。利用 ENSCs 的这种潜能来修复脊髓损伤可避免应用外源性神经干细胞移植所致免疫排斥反应和伦理道德等方面的问题,被很多学者重视。半乳凝素-1 是凝集素家族中的成员之一,属于一种糖结合蛋白,可表达于机体本身的多种类型的细胞,在细胞的增殖、凋亡及炎症反应等过程中发挥着重要的作用^[8]。此外,半乳凝素-1 在促进神经细胞的增殖、分化以及轴突再生的过程中也有着重要作用^[11-14],表达半乳凝素-1 的重组神经干细胞移植到成年猴的损伤脊髓中,动物的运动功能得到恢复^[15]。而半乳凝素-1 鞘内给药对神经内源性干细胞的作用的研究目前还没有报道。本实验对脊髓损伤大鼠蛛网膜下腔注射半乳凝素-1,通过免疫组织化学的方法发现半乳凝素-1 可促进室管膜区 ENSCs 的增殖和分化,这有望成为促进脊髓损伤后神经修复的新方法。

室管膜区细胞增殖方面,在假手术大鼠脊髓室管膜细胞可见极少量弥漫性分布的 Brdu 阳性细胞,可能是正常情况下室管膜细胞为维持自身稳定的更新代谢。在脊髓损伤术后 7d Brdu 阳性细胞大量增多,表明这些在正常情况下处于静止状态的室管膜细胞,由于损伤所致内环境改变的刺激变得敏感,以至于室管膜细胞增殖数量增多,但增殖数量极其有限,可能与损伤后的抑制因素增强有关。在损伤后蛛网膜下腔注射半乳凝素-1,术后 7d 可见 Brdu 阳性细胞显著增加,说明半乳凝素-1 明显促进了脊髓损伤后室管膜区细胞的增殖。室管膜区细胞神经分化方面,我们观察到假手术组室管膜区几乎没有 Nestin 阳性细胞的表达;而模型组在损伤后 7d 的脊髓中,可以看到室管膜区细胞 Nestin 的表达有所增加;治疗干预组在术后 7d Nestin 阳性细胞的表达增加更加明显。说明半乳凝素-1 在脊髓损伤后明显增强了室管膜区细胞的神经分化。由此可见半乳凝素-1 对室管膜区细胞的增殖和分化有着重要的调控作用。然而,区域内这些增殖并具有神经前体特性的细胞中 ENSCs 所占比例尚不能确定。结果显示增殖阳性细胞的比率(1.02 ± 0.25)较神经分化阳性细胞的比率(0.88 ± 0.20)要高,因而存在以下几种可能:(1) 室管膜区增殖的细胞不全是 ENSCs 来源;(2) 增殖的 ENSCs 只有部分表现出神经前体

细胞的性质;(3) 以上两种现象同时存在的可能。而要想进一步证实半乳凝素-1 对室管膜区 ENSCs 的增殖和分化的影响,需要使用免疫荧光双标的方法来证实。本研究虽然未直接证实,但为此提供了重要的可行性前提,使进一步深入的研究成为可能。

本研究通过鞘内注射的方式,可以使药物通过中央管的脑脊液与室管膜细胞层直接接触,能够直接刺激室管膜区的细胞;同时通过枕大池注射可以避免对造模处的二次损伤,术后采用头高位可使药物流向造模损伤处。本研究应用半乳凝素-1 干预后,大鼠脊髓室管膜区细胞的增殖能力和神经分化能力在损伤后得到了提高,但结果仅基于脊髓损伤的早期(7d)表现,半乳凝素-1 多次给药或者持续给药的远期疗效有待进一步的研究。

总之,脊髓损伤后通过蛛网膜下腔注射半乳凝素-1,可以明显增强脊髓损伤后室管膜区细胞的增殖和神经分化的能力,使得进一步研究其对室管膜区内源性神经干细胞的作用成为可能。半乳凝素-1 有望成为一种体内诱导内源性神经干细胞增殖并向神经元分化来修复脊髓损伤病灶的方法,进而可能应用于临床脊髓损伤的治疗。

4 参考文献

1. Meletis K, Barnabé-Heider F, Carlén M, et al. Spinal cord injury reveals multilineage differentiation of ependymal cells [J]. PLoS biology, 2008, 6(7): 1494-1507.
2. Martens DJ, Seaberg RM, van Der Kooy D. In vivo infusions of exogenous growth factors into the fourth ventricle of the adult mouse brain increase the proliferation of neural progenitors around the fourth ventricle and the central canal of the spinal cord [J]. Eur J Neurosci, 2002, 16(6): 1045-1057.
3. Hugnot JP, Franzen R. The spinal cord ependymal region: a stem cell niche in the caudal central nervous system [J]. Front Biosci, 2011, 16: 1044-1059.
4. Alfaro-Cervello C, Soriano-Navarro M, Mirzadeh Z, et al. Bicyclic ependymal cell proliferation contributes to spinal cord growth [J]. J Comp Neurol, 2012, 520(15): 3528-3552.
5. Horner PJ, Power AE, Kempermann G, et al. Proliferation and differentiation of progenitor cells throughout the intact adult rat spinal cord [J]. J Neurosci, 2000, 20(6): 2218-2228.
6. 刘喈,王红云,何乐,等. 室管膜细胞在大鼠脊髓损伤后的反应性增生 [J]. 中华神经外科杂志, 2004, 20(6): 476-478.
7. Rabinovich GA, Rubinstein N, Toscano MA. Role of galectins

雌激素受体在椎间盘组织中的表达及意义

张银昌, 王 强, 杨 昕, 董利军

(皖南医学院弋矶山医院关节骨科 241000 安徽省芜湖市)

【摘要】目的:通过观察雌激素 α 、 β 受体在正常与退变的人椎间盘组织的表达,探讨雌激素受体(ER)与椎间盘退变的关系。方法:根据改良 Pfirrmann 分级将收集的椎间盘组织分为三组:对照组,外伤导致腰椎爆裂性骨折手术取出的正常髓核组织(Pfirrmann 分级 1~2 级);观察组,女性腰椎滑脱及腰椎间盘突出症手术取出的退变髓核组织,Pfirrmann 分级 3~4 级为 A 组,5 级为 B 组。用 HE 染色法观察对照组和 A、B 组各 15 例人腰椎椎间盘髓核组织及髓核细胞的形态学变化;用免疫组织化学染色法(Elivison 二步法)检测对照组和 A、B 组髓核组织中 ER- α 、ER- β 的表达;采用 Western-blot 法检测对照组和观察组髓核组织中 ER- α 、ER- β 的表达。结果:HE 染色示对照组髓核组织中髓核细胞分布均匀,形态完整,未见明显细胞凋亡现象,细胞外基质染色鲜亮,分布均匀;A、B 两组髓核细胞分布不均匀,形态不规则,凋亡现象明显,细胞核增大,染色深,细胞外基质减少,色彩灰暗,B 组较 A 组更为明显。免疫组织化学染色示 ER- α 、ER- β 在对照组的髓核组织见有明显棕黄色颗粒,在 A、B 两组表达减少,以 ER- β 减少最显著,经统计学分析,A、B 两组与对照组间 ER- β 的表达有显著性差异($P<0.01$),ER- α 的表达较对照组无统计学差异($P>0.05$),其中 A 组和 B 组间无明显差异($P>0.05$)。Western-blot 方法检测,ER- α 表达 A 组(0.876 ± 0.058)、B 组(0.757 ± 0.045)较对照组(0.885 ± 0.036)降低,但无统计学差异($P>0.05$);ER- β 表达 A 组(0.947 ± 0.043)、B 组(0.626 ± 0.042)较对照组(1.275 ± 0.150)显著降低($P<0.01$),B 组较 A 组表达明显减少($P<0.01$)。结论:在人的髓核组织中的髓核细胞(类软骨细胞)的胞核和胞浆中均存在 ER。ER- α 、ER- β 在退变的椎间盘组织都明显减少,以 ER- β 最为明显,提示雌激素可能通过 ER- β 的介导对髓核细胞功能起调控作用。

【关键词】髓核细胞;雌激素;雌激素受体;免疫组织化学

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2013.08.13

中图分类号:R681.5,R977.1 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2013)-08-0739-05

基金项目:皖南医学院中青年自然科学基金(项目编号:WK2012F07)

第一作者简介:男,(1983-),医师,医学硕士,研究方向:腰椎退变性疾病

电话:(0553)5739574 E-mail:zhangyinchang_0216@yahoo.com.cn

通讯作者:董利军 E-mail:879870162@qq.com

- in inflammatory and immunomodulatory processes[J]. Biochim Biophys Acta, 2002, 1572(2): 274-284.
8. 刘辉,尹芳秋,许崇亮. 半乳凝素-1 的神经保护作用[J]. 生命的化学, 2008, 28(3): 302-303.
9. Kee N, Sivalingam S, Boonstra R, et al. The utility of Ki-67 and BrdU as proliferative markers of adult neurogenesis[J]. J Neurosci Methods, 2002, 115(1): 97-105.
10. 蔡文琴,李活标. 发育神经生物学[M]. 北京:科学出版社, 1999. 82.
11. Sasaki T, Hirabayashi J, Manya H, et al. Galectin-1 induces astrocyte differentiation, which leads to production of brain-derived neurotrophic factor[J]. Glycobiology, 2004, 14(4): 357-363.
12. Kadoya T, Oyanagi K, Kawakami E, et al. Oxidized galectin-1 advances the functional recovery after peripheral nerve injury[J]. Neurosci Lett, 2005, 380(3): 284-288.
13. Han H, Xia YY, Wang SK, et al. Synergistic effects of galectin-1 and reactive astrocytes on functional recovery after contusive spinal cord injury [J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2011, 131(6): 829-839.
14. Sakaguchi M, Okano H. Neural stem cells, adult neurogenesis, and galectin-1: from bench to bedside[J]. Develop Neurol, 2012, 72(7): 1059-1067.
15. Yamane J, Nakamura M, Iwanami A, et al. Transplantation of galectin-1-expressing human neural stem cells into the injured spinal cord of adult common marmosets [J]. J Neurosci Res, 2010, 88(7): 1394-1405.
- (收稿日期:2012-10-20 末次修回日期:2013-04-22)
- (英文编审 蒋欣/党 磬)
- (本文编辑 李伟霞)