



张亮博士, 厦门大学生命科学学院博士生导师, 副教授。主要从事髓鞘生成和脑白质发育机制研究, 探索脱髓鞘相关疾病的致病机理, 为相关脑疾病诊治提供潜在靶点。以第一或通讯作者身份在*Neuron*、*Mol Cell*、*J Clin Invest*、*Nat Commun*等著名期刊上发表论文多篇。现任中国研究型医院学会神经再生与修复专业委员会委员。

髓鞘再生研究进展

刘志雄 李荔 武媚 雷婉莹 张亮*

(细胞应激生物学国家重点实验室, 生命科学学院, 医学与生命科学学部, 厦门大学, 厦门 361102)

摘要 人脑约一半组织为白质, 白质主要是由形成髓鞘的胶质细胞和髓鞘所包裹的轴突形成。高等脊椎动物的思考和行为离不开神经元的电信号传导, 而神经元的电信号传导又离不开包裹其轴突的髓鞘。髓鞘帮助神经元完成快速的信号传导, 给予其物理保护、能量支持以及环境稳态调节。当中枢神经系统中发生脱髓鞘时, 少突胶质细胞前体细胞被激活, 并发生迁移、增殖、髓鞘化, 并最终在受损处包裹轴突, 形成新的髓鞘; 或外周神经系统中施万细胞转变为受损的施万细胞, 辅助受损残片的清理以及轴突再生, 最终形成新髓鞘, 这个过程就是髓鞘再生。髓鞘相关疾病如多发性硬化症是年轻人中最普遍的神经疾病之一, 其对许多国家的大众和社会经济活动均造成不可小觑的损害, 还有一些研究通过促进髓鞘再生干预大脑衰老。因此, 髓鞘再生相关研究具有临床治疗、经济发展以及社会稳定的丰富意义。该综述将围绕髓鞘再生主题, 对正常髓鞘再生的过程与机制, 参与的细胞, 髓鞘再生失败的原因及其所引起的相关疾病, 目前对相关疾病的改善、治疗方法, 以及所使用的动物模型进行阐述, 并对髓鞘再生相关研究的学术价值、领域遗留问题进行讨论, 以方便感兴趣人士了解髓鞘再生相关主题。

关键词 髓鞘再生; 过程与机制; 少突胶质细胞; 多发性硬化症; 动物模型

Research Progress in Remyelination

LIU Zhixiong, LI Li, WU Mei, LEI Wanying, ZHANG Liang*

(State Key Laboratory of Cellular Stress Biology, School of Life Sciences,
Faculty of Medicine and Life Science, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

收稿日期: 2022-03-07 接受日期: 2022-05-14

国家自然科学基金(批准号: 31872642、32170966)、福建省自然科学基金(批准号: 2022J01029)和厦门大学校长基金(批准号: 20720220062)资助的课题

*通讯作者。Tel: 18259240741, E-mail: lzhangxmu@xmu.edu.cn

Received: March 7, 2022 Accepted: May 14, 2022

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31872642, 32170966), the Natural Science Foundation of Fujian Province (Grant No.2022J01029) and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (Grant No.20720220062)

*Corresponding author. Tel: +86-18259240741, E-mail: lzhangxmu@xmu.edu.cn

Abstract Half of the brain is composed of white matter, which is mainly made up of myelinating glial cells and myelin-wrapping axons. The rapid electrical propagation of impulse is indispensable for the thinking and movement of higher vertebrates. Myelin insulates axons to ensure the transmission of electrical signals. It is also responsible for physical protection, energy support, and homeostasis of neurons. When demyelination occurs in the central nervous system, oligodendrocyte precursor cells undergo a process called remyelination, including activation, migration, proliferation and myelination, wrapping axons at the lesion to form new myelin sheaths. As for in the peripheral nervous system, Schwann cells convert into repairing Schwann cells, assist in cleaning damaged debris and axonal regeneration, and form myelin sheaths in the last. Myelin related disease, such as multiple sclerosis, is one of the most common neurological diseases among young people, causing considerable damage to people and economy in many countries. Some studies have indicated that human brain aging can be intervened by promoting myelin regeneration. Therefore, researches on remyelination are of great significance in clinical treatment, economic development and social stability. This review focuses on the topic of remyelination. It describes the processes and mechanisms of remyelination, the involved cells, the reasons for the failure of remyelination, current improvement and therapeutics, as well as the impact on myelination. The animal models used for research of remyelination are also introduced. The authors discuss the academic value of the research related to remyelination and the remaining issues in this field, so as to provide critical clues to the topic of remyelination.

Keywords remyelination; process and mechanism; oligodendrocyte; multiple sclerosis; animal models

在中枢神经系统(central nervous system, CNS)中,髓鞘是由少突胶质细胞形成的多层次的、致密的细胞质膜结构,其脂质含量很高(~70%),包含半乳糖鞘脂、某些磷脂以及饱和长链脂肪酸,同时富含髓鞘蛋白,由此髓鞘可以充当电绝缘体。髓鞘包裹神经元形成郎飞结,帮助动作电位实现快速、高效的跳跃式传导^[1]。当髓鞘自身受损时,动作电位传导将会受到延迟甚至阻滞。此外,髓鞘无氧代谢产生的乳酸或丙酮酸可传递至其包裹的轴突,给予其能量的支持^[2-3]。也有研究指出,少突胶质细胞还可以调节微环境中的离子浓度:当跳跃式传导时,神经元在郎飞结间向外释放大量钾离子,此时少突胶质细胞能负责转移微环境中的钾离子,调节微环境离子平衡^[4]。

髓鞘再生指的是髓鞘损伤后重新生成,细胞层面即为生成髓鞘的少突胶质细胞损坏后重新分化的过程。新生的髓鞘重新包裹轴突,有利于恢复轴突电信号传导、支持轴突代谢和防止轴突退化等,因此髓鞘再生也被称为髓鞘修复(myelin repair),但再生的髓鞘通常比损伤前的髓鞘更薄和更短。中枢神经系统中髓鞘再生的过程主要包括少突胶质前体细胞(oligodendrocyte progenitor cell, OPC)的激活、迁移、增殖和分化^[5];同时,其他类型的细胞,如小胶质细胞、星型胶质细胞和免疫细胞等,在定位病变和

再生的位置、损伤髓鞘碎屑的清理等方面起着关键作用。周围神经系统髓鞘再生能力更强,主要涉及施万细胞(Schwann cell, SC)转型为“修复模式”、损伤碎片的清理以及重新髓鞘化。髓鞘再生领域研究最多的疾病是多发性硬化症(multiple sclerosis, MS)。在该疾病的患者体内,在髓鞘损伤部位有髓鞘再生反应,然而髓鞘再生最终会失败,结果导致髓鞘不能继续为轴突提供代谢支持,进一步导致轴突退行性病变以及晚期的进展型残疾^[6]。在老年啮齿动物中仍然存在髓鞘再生,但OPC、SC增殖和分化能力随着年龄的增长而减弱,髓鞘再生能力随着年龄的增长也减弱^[7]。

髓鞘再生问题的研究大致起始于20世纪60年代^[8]。起初,研究人员对一些MS患者的病理组织进行评估,发现有的患者有明显的髓鞘再生,有的则不足^[9]。之后正电子发射断层扫描(positron emission tomography, PET)动态髓鞘成像技术也支持了患者髓鞘再生的差异, PET技术进一步阐明了髓鞘再生和病变程度的关联,髓鞘再生更活跃的病人残疾程度更轻^[10]。此后,相关研究人员开始投入研究MS患者髓鞘再生失败的原因,以及能否通过给药或其他刺激来促进髓鞘再生。MS是年轻人中最普遍的神经疾病之一,对许多国家人民的健康和经济造成不可小觑的损害^[11]。此外,促髓鞘的药物可以延缓大脑衰

老引起的痴呆^[12], 因此髓鞘再生领域的研究或许还能干预人脑衰老, 并可为脱髓鞘疾病和一些神经退行性疾病的治疗提供新的方向, 以减少相关疾病带来的社会经济损失。

1 髓鞘再生过程

在诱导脱髓鞘药物、创伤、感染、衰老或其他未知因素作用下, 少突胶质细胞发生死亡, 引起脱髓鞘。

髓鞘再生是一个依次进行的过程, OPC首先被激活并被募集到脱髓鞘的区域, 然后分化为新的少突胶质细胞, 随后在脱髓鞘轴突周围形成新的髓鞘(图1)。

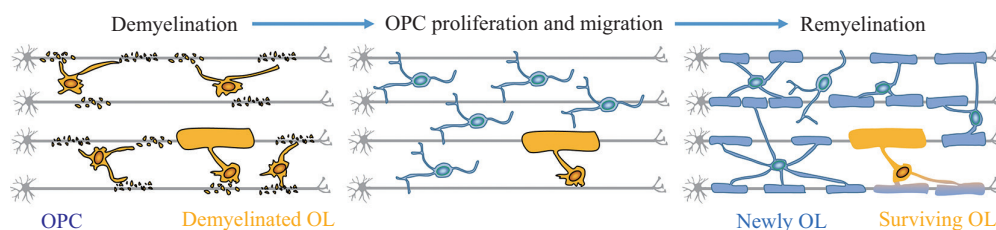
前体细胞激活, 指的是在髓鞘再生过程中, OPC响应由组织损伤引起的组织稳态破坏而发生的一系列特定变化, 主要体现在其形态和基因表达谱的变化。OPC遍布成年小鼠的大脑白质和灰质^[13], 发生脱髓鞘后, OPC的形态发生变化, 生成丝状伪足, 感受生长信号并不断迁移, 其中, 损伤处释放的PDGF(platelet-derived growth factor)和FGF(fibroblast growth factor)可以促进OPC的增殖和迁移^[14]。同时, 其表达的许多蛋白都发生上调, 主要包括一些转录因子, 如Nkx2.2(NK2 homeobox 2)、Olig2(oligodendrocyte transcription factor 2)和Sox2(SRY-box transcription factor 2)等^[15], 其中Nkx2.2是控制少突胶质细胞分化所必需的^[16]; Olig2决定了少突胶质细胞命运, 是少突胶质细胞特异性表达的转录因子^[17]; Sox2参与维持细胞干性, 并和细胞活跃增殖有关^[18]。处于激活状态的OPC的转录组

和小鼠髓鞘发育阶段OPC的转录组更相似, 而处于静息状态的OPC转录组和成熟的少突胶质细胞的转录组更相似。

在脱髓鞘发生后几天内, OPC开始迁移和分裂, 该过程需要OPC自身和其他细胞协同调控。OPC在脱髓鞘区域内的募集, 在很大程度上取决于其细胞迁移和分裂, 尽管迁移的距离可能相当短。在损伤处聚集的先天免疫系统的细胞, 无论是小胶质细胞还是募集的单核细胞衍生的巨噬细胞, 都是OPC激活、增殖和迁移信号的主要来源, 同时这也衍生出了问题: OPC为什么需要这么多不同来源的信号共同调控? OPC募集到脱髓鞘位置前, 防止其分化和退出细胞周期是重要的, 因为只有当OPC增殖到足够数量后, 才能确保生成足够的髓鞘去包裹轴突, 而抑制OPC分化的两个关键通路是: Notch信号通路和经典的WNT信号通路^[19-20]。

OPC被募集到脱髓鞘位置后接着是其分化阶段, OPC在脱髓鞘轴突周围伸展, 并形成紧密的髓鞘包裹轴突。控制OPC分化和OPC增殖的信号通路是相互排斥的, OPC必须退出细胞周期才能开始分化。当髓鞘再生顺利进行时, OPC就会及时从募集阶段过渡到分化阶段, 目前调控这种过渡的机制尚不明确, 但这显然涉及到控制细胞周期和退出细胞周期的激酶。

少突胶质细胞分化的最后阶段是形成致密的新的髓鞘。在发育阶段, 形成的髓鞘的厚度及长度和其所包裹的轴突之间存在明显的线性关系, 随着其包裹轴突直径的增加, 髓鞘厚度和长度也会增加; 但在髓鞘再生过程中, 新形成的髓鞘厚度和长度与所包裹的



左: 脱髓鞘发生后, 少突胶质细胞(oligodendrocyte, OL)死亡, 部分髓鞘损伤的OL存活下来; 中间: 髓鞘碎屑和死细胞被清理, 少突胶质前体细胞(oligodendrocyte progenitor cell, OPC)被激活, 增殖并往髓鞘损伤位置迁移; 右: 在髓鞘再生过程中, OPC分化, 变成新生的OL, 形成新的髓鞘包裹轴突, 存活的OL也能产生新的髓鞘。

Left: after demyelination, OL (oligodendrocytes) die and some myelinated OL survive; middle: myelin debris and dead cells are removed. OPC are activated, proliferate and migrate to the injury sites; right: during the process of remyelination, OPC differentiate to new myelinating-OL to wrap axons. The surviving OL contribute to remyelination.

图1 中枢神经系统髓鞘再生过程
Fig.1 Remyelination process of CNS

轴突直径之间并没有显著的线性关系, 新的髓鞘厚度和长度不会随着轴突直径的增加而增加^[21]。在髓鞘再生过程中, 新生的髓鞘比发育过程中产生的髓鞘更薄而且更短, 只有小直径纤维的髓鞘才能恢复到原始尺寸^[22]。轴突直径与髓鞘厚度之间的关系用g-ratio来表示, 其计算方法是: $g\text{-ratio} = \text{轴突直径} / \text{轴突和髓鞘总直径}$ 。再生的髓鞘的特征是: 具有比正常有髓鞘轴突更高的g-ratio, 这是识别再生髓鞘的最可靠方法。在髓鞘再生中的两个重要的科学问题是: (1) 在发育过程中髓鞘的厚度和长度与轴突大小之间的关系是如何建立的; (2) 为什么再生的髓鞘无法恢复到损伤前的状态。目前为止, 在髓鞘发育过程中的促进髓鞘生成的机理, 尚无法使髓鞘在再生过程中恢复到正常的g-ratio水平^[22]。

髓鞘再生是脱髓鞘发生后的修复机制, 髓鞘对人类的轴突存活很重要, 髓鞘再生可以防止轴突损伤, 从而减少多发性硬化症患者的残疾^[23]。促进髓鞘再生, 在一定程度上可以改善小鼠认知^[24]。

2 参与髓鞘再生过程的细胞

2.1 小胶质细胞在髓鞘再生中的作用

小胶质细胞是CNS的常驻巨噬细胞, 是在发育阶段来源于血液的单核细胞所衍生的细胞, 参与发育过程、体内平衡和对损伤的反应, 是在髓鞘损伤发生时最先被激活的细胞之一, 其被激活后, 变成类变形虫形态, 既有许多有益的作用, 又产生一定的细胞毒性。活化的小胶质细胞根据表达不一样的细胞因子, 可分为促炎型(M1型)和免疫调剂型(M2型)^[25]。活化的小胶质细胞和其他类型的巨噬细胞的区别不完全清楚, 其形态学属性以及表达模式非常相似, 使得小胶质细胞难以与其他巨噬细胞例如CNS边缘相关的巨噬细胞, 包括脑膜、脉络丛和血管周围的巨噬细胞, 以及单核细胞衍生的巨噬细胞区分开来^[26]。在MS中, 活跃病变区域的特征是整个病变处存在巨噬细胞或小胶质细胞。在溶血卵磷脂(lyssolecithin, LPC)诱导的脱髓鞘模型中, 小胶质细胞在脱髓鞘发生和髓鞘再生不同阶段表型不一样, 在OPC募集阶段是M1型, 而在髓鞘再生期间转变为M2型。M1型的小胶质细胞发生坏死性凋亡, 关闭促炎信号, 然后被再生的M2型小胶质细胞代替^[27]。

体外研究表明, 来自小胶质细胞的条件培养基

比来自星形胶质细胞的条件培养基能更有效地加速少突胶质细胞分化, 小胶质细胞分泌更多的IGF-1(insulin like growth factor 1)、SELE(selectin E)和CX3CL1(C-X3-C motif chemokine ligand 1)等因子^[28]。在髓鞘再生过程中, 小胶质细胞表达Gal-3(galectin 3)、OPN(osteopontin)和CXCL-1(C-X-C motif chemokine ligand 1)等因子, 可以促进髓鞘再生。在MS中的小胶质细胞能表达SEMA3F(semaphorin 3F), 然后将OPC募集到受损区域^[29]。脱髓鞘后小胶质细胞或巨噬细胞的一项重要功能是去除损伤位置存在的髓鞘碎片, 这种髓鞘碎片对OPC分化起抑制作用, 从而促进髓鞘再生。在脱髓鞘后白质小胶质细胞或巨噬细胞中检测到了髓鞘蛋白, 如髓磷脂碱性蛋白(myelin basic protein, MBP), 这证明了髓鞘碎片被吞噬。

M1型小胶质细胞具有一定的细胞毒性, 可以分泌细胞外囊泡和细胞因子, 如IL1 α (interleukin 1 alpha)、TNF α (tumor necrosis factor-alpha)和C1q(complement C1q)等, 这些分泌因子可将星形胶质细胞从保护性表型转变为促炎表型, 星形胶质细胞不能促进神经元存活, 并产生神经毒性, 阻断少突胶质细胞分化和增强少突胶质细胞死亡。此外, 与星形胶质细胞一样, 活化的小胶质细胞分泌CXC家族和CC家族的趋化因子, 有助于T细胞和抗原呈递细胞的脑内募集^[30]。

2.2 星形胶质细胞在髓鞘再生中的作用

CNS受损后, 星形胶质细胞迅速作出反应, 表达更多的细胞骨架蛋白, 例如GFAP(glial fibrillary acidic protein)和Vimentin, 这些激活的星形胶质细胞可增殖, 其体积变肥大, 并上调上千个基因的表达, 表达各种细胞因子和趋化因子^[31]。活化的星形胶质细胞在髓鞘再生过程中可以分别发挥有利和不利的作

用。星形胶质细胞对髓鞘再生有有利的一面。最早开展的星形胶质细胞促髓鞘再生的研究之一, 是将星形胶质细胞移植到溴化乙锭(ethidium bromide, EB)诱导的大鼠脱髓鞘模型中, 该模型缺少星形胶质细胞, 移植星形胶质细胞后, 可观察到髓鞘再生明显增加^[32]。星形胶质细胞可以产生LIF(leukemia inhibitory factor)、CNTF(ciliary neurotrophic factor)和IGF1(insulin like growth factor 1)等因子, 这些因子都与支持OPC成熟有关。比如在使用双环己酮草酰二胺(dicyclohexanoneoxaly dihydrazone, Cuprizone)

诱导脱髓鞘的研究中,发现星形胶质细胞可分泌TIMP-1(tissue inhibitor of metalloproteinases 1)促进髓鞘再生^[33]。同时,星形胶质细胞还可能在脱髓鞘处募集吞噬性小胶质细胞,小鼠星形胶质细胞的失活导致脱髓鞘后髓鞘清除率降低,从而降低髓鞘再生效率^[34]。此外,胆固醇是细胞膜和髓鞘的重要组成部分,是髓鞘再生必不可少的,星形胶质细胞是CNS中胆固醇的主要来源,星形胶质细胞可能将胆固醇转运给少突胶质细胞^[35]。

星形胶质细胞对髓鞘再生也有不利的一面。星形胶质细胞是产生细胞外基质的主要细胞之一,可以产生细胞外基质分子如高分子量透明质酸、肌腱蛋白、纤连蛋白和硫酸软骨素的各种成员,细胞外基质除了提供化学信号外,其机械刚度也会影响体内OPC的增殖和分化,年老的啮齿动物具有更硬的细胞外基质,导致OPC增殖和分化减少^[36]。此外,由星形胶质细胞分泌的ET-1(endothelin 1)可以激活Notch信号通路,抑制髓鞘再生^[37]。

星形胶质细胞对髓鞘再生到底是利还是不利的呢?由于髓鞘再生是一系列紧密协调的事件,并且取决于多种细胞类型,星形胶质细胞可能在髓鞘再生的不同阶段与其他细胞类型协同发挥不同的功能。当这一系列事件的时间和精度不能同步时,星形胶质细胞可能对髓鞘再生是不利的^[38]。

2.3 其他影响髓鞘再生的细胞

施万细胞是周围神经系统中形成髓鞘的细胞,来源于胚胎发育过程中的神经嵴,可以促进损伤的外周神经髓鞘的快速修复。在LPC诱导的脊髓脱髓鞘模型中,施万细胞出现在CNS,并能形成髓鞘。在CNS髓鞘再生过程中出现的施万细胞多数来源于OPC,但它们形成的髓鞘是否能为轴突提供适合的代谢支持,以及恢复有效的信号传导依然有待探索^[39]。

浸润到CNS的巨噬细胞也可以促进髓鞘再生,但它们和小胶质细胞之间的功能重叠情况尚不清楚。除此之外,调节性T细胞和来自SVZ的干细胞等也可能影响髓鞘再生的过程^[5,40]。

3 髓鞘再生失败的原因

髓鞘再生失败受到许多非疾病因素的影响,包括年龄、其他细胞的影响等,无论所涉及疾病过程如何,这些因素都会影响髓鞘再生的效率^[41]。

OPC的增殖和分化是髓鞘再生的必要过程,髓鞘再生的效率会随着年龄的增长而降低,这种髓鞘再生功能的下降是由于衰老过程中OPC募集和分化受损所致。在涉及衰老的各种分子机制中,表观遗传修饰的变化受到了特别关注,研究表明衰老会使OPC的DNA甲基化和组蛋白乙酰化修饰发生改变^[42-43]。此外,髓鞘再生也受到其他细胞(如小胶质细胞、巨噬细胞等)的影响,髓鞘受损会产生许多碎片,这就需要小胶质细胞和巨噬细胞迁移至受损区域清除碎片。小胶质细胞的吞噬能力受到多方面因素的影响,例如RXR- α (retinoid X receptor α)^[44],在LPC诱导的损伤模型中,巨噬细胞的RXR- α 敲除延迟了髓鞘碎片清除和髓鞘再生,而且在体外刺激MS患者单核细胞中的RXR- α 表达,改善了这种低效的髓鞘碎片吞噬作用^[45]。另外,小胶质细胞对于髓鞘的降解也必不可少,髓鞘代谢缺陷会导致胆固醇在小胶质细胞内积聚,导致炎症小体激活、炎症反应增加和髓鞘再生困难^[46]。

除了上述因素外,髓鞘再生也可能因疾病特定原因而不完整或失败。MS的研究提供了髓鞘再生失败的最有力证据,从理论上讲,髓鞘再生可能会因OPC的缺失、OPC的招募缺陷及OPC的分化和成熟缺陷而失败^[47]。

早期观点认为髓鞘再生失败的原因是OPC的缺失,认为髓鞘再生过程本身会耗尽其CNS区域的干细胞,因此同一部位或发生后续脱髓鞘的周围部位,髓鞘无法再生^[41]。但是在对EB诱导的脑干白质脱髓鞘的实验中发现,第二次和第三次脱髓鞘期间,局部脱髓鞘病变恢复后不会影响后续髓鞘再生过程。此外,在同一部位重复发生脱髓鞘后,OPC没有耗竭^[48]。信号素是脱髓鞘后OPC迁移的重要调节剂,其分泌的SEMA3A(semaphorin 3A)和SEMA3F(semaphorin 3F)在发育过程中充当少突胶质细胞的趋化因子^[49],SEMA3A会抑制少突胶质前体细胞向脱髓鞘区域的募集;相比之下,SEMA3F过表达不仅会加速少突胶质细胞前体细胞的募集,还会提高髓鞘再生率^[50]。因此,在OPC迁移过程中SEMA3A和SEMA3F的局部表达受到干扰,可能会出现OPC募集到脱髓鞘区域的失败。目前有越来越多的证据证明,少突胶质细胞分化和成熟的缺陷造成了髓鞘再生的失败。由于在MS慢性脱髓鞘的区域中检测到OPC和未成熟的少突胶质细胞,因此

髓鞘再生失败不是因为OPC的短缺, 而是因为OPC无法完全分化为成熟的少突胶质细胞。分化失败可能是因为缺乏分化诱导信号如Notch-Jagged信号通路或者存在分化抑制剂。在CNS发育过程中, Jagged1的表达下调, OPC成熟, 髓鞘开始形成^[19]。但是在MS病变区域, Jagged1在反应性星形胶质细胞中高水平表达, 激活Notch信号通路并诱导下游基因Hes5(hes family BHLH transcription factor 5)的表达^[51], 并抑制OPC向成熟少突胶质细胞的分化而影响髓鞘再生。

4 髓鞘再生相关疾病

脱髓鞘疾病是一种以脱髓鞘相关的炎症病变为特征, 进而导致轴突损伤、神经退化和进行性功能丧失的神经退行性疾病, 脱髓鞘相关疾病有MS、视神经脊髓炎、急性脱髓鞘性脑脊髓炎、格林巴利综合征、脑白质营养不良症和急性播散性脑脊髓炎等。其中最常见、研究最多的是MS和视神经脊髓炎^[52]。

MS是由大脑和脊髓区域的髓鞘丢失, 导致轴突动作电位传播受损引起的慢性脱髓鞘疾病^[53], 髓鞘和轴突不同程度地被破坏^[54], 其病理标志是在CNS中存在脱髓鞘病灶(斑块), 并伴有周围炎症和神经变性^[55], 尽管病因还不清楚, 但该疾病的发病机制似乎涉及遗传因素和非遗传触发因素的组合, 如病毒、代谢失衡或环境因素, 共同导致自我维持的自身免疫性疾病, 导致免疫系统对CNS的反复攻击^[56]。

视神经脊髓炎是一种发生在脊髓和视神经中的炎性脱髓鞘病变, 可能导致瘫痪和失明^[52]。血液中的水通道蛋白抗体[AQP4(aquaporin 4)-IgG]的存在是其主要致病因素, AQP4-IgG可穿透血脑屏障, 与星形胶质细胞的AQP4反应, 同时募集和激活补体, 产生补体依赖性细胞毒作用。此外, 效应细胞, 如自然杀伤细胞被激活后, 诱导抗体依赖性细胞毒性, 从而引发星形胶质细胞损伤。补体激活和星形胶质细胞衍生的细胞因子吸引炎症细胞, 包括嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和巨噬细胞, 引起进一步的血脑屏障损伤, 从而促进AQP4-IgG进入CNS。此外, 炎症细胞和星形胶质细胞损伤会诱导少突胶质细胞发生继发性损伤, 导致髓鞘加速丢失、轴突损伤和相关的神经功能缺损^[57]。因此, 视神经脊髓炎的病理变化包括星形胶质细胞AQP4和髓鞘丢失、轴突

损伤、AQP4-IgG和活化补体成分的血管周围沉积、巨噬细胞积聚和炎症性粒细胞浸润^[58]。

5 促进和治疗脱髓鞘的方法

5.1 细胞疗法

早在20世纪80年代, 就有研究表明将移植的神经胶质细胞引入具有突变或毒素诱导的脱髓鞘啮齿动物的CNS后, 胶质细胞可以在CNS中发生髓鞘化^[59]。利用不同的细胞类型如OPC^[60]和神经干细胞^[61], 在移植后都能产生成熟的少突胶质细胞, 使病变区内的脱髓鞘轴突再髓鞘化。将分选的胚胎人神经胶质祖细胞输送到新生shiverer髓鞘缺陷小鼠中, 成功使宿主小鼠神经轴髓鞘重新形成, 延长了其存活期, 弥补了其神经功能缺陷^[62]。但是目前将细胞移植应用于临床还有许多问题待解决, 包括细胞纯化、递送方式等。对于需要髓鞘再生的局灶性病变, 单次注射可能会提供足够的细胞进行修复。然而, 常见的MS或脑白质营养不良症是多灶性或弥漫性疾病, 则需要多个注射部位, 鉴于每次植入都会带来脑内出血的小风险, 找到其他方法来产生广泛分散的移植细胞是必要的^[14]。另外如果使用iPSCs产生的OPC或者是胚胎干细胞诱导的OPC, 就需要在临床使用前进行细胞纯化, 以最大限度地降低未分化iPSCs导致肿瘤发生的风险^[41]。

5.2 髓鞘再生药物开发

由于OPC在成人整个CNS中大量存在, 在脱髓鞘病变区域内, 增强髓鞘再生是一个可行性的策略^[41]。目前已有许多在临床前模型中鉴定出具有治疗性增强内源性髓鞘再生的药物, 一些药物如BIIB033(Opicinumab)、氯马斯汀(Clemastine, CLM)和GSK239512等已投入临床试验。

Opicinumab是一种抗富含亮氨酸重复和免疫球蛋白功能区的蛋白(leucine rich repeat and Ig domain containing 1, LINGO-1)的抗体。LINGO-1是一种在CNS神经元和少突胶质细胞上选择性表达的细胞表面糖蛋白, 其可抑制少突胶质细胞分化、髓鞘形成、神经元存活和轴突再生。LINGO-1的表达在MS病变中上调^[63]。在临床前研究中, LINGO-1敲除小鼠表现出OPC分化增加和少突胶质细胞成熟。在实验性自身免疫性脑炎(experimental autoimmune encephalitis, EAE)和LPC模型中, LINGO-1的抑制性单克隆抗体Opicinumab可增加髓鞘再生^[64], 并且其

安全性和耐受性在MS患者和健康对照的I期临床试验中证明了^[65]。但是在II期临床试验中,对82名急性视神经炎患者进行RENEW试验,尽管Opicinumab能够提高患者的视神经功能,但其并未能提高患者的视力,且与视力相关的标志也没有增强^[66]。随后,在SYNERGY的II期临床试验中,Opicinumab未能显著提高多发性硬化患者的生理和认知功能,也未能减缓疾病的进展或抑制其复发^[67]。

CLM是一种抗组胺药,是H1的拮抗剂和M1/M3受体的反向拮抗剂。在对1 000种生物活性分子的微柱阵列(BIMA)分析中发现,包括CLM在内的一组抗毒蕈碱化合物,可显著促进少突胶质细胞分化^[68]。在Cuprizone诱导小鼠脱髓鞘模型中,持续3周的CLM药物治疗使得MBP上调,成熟的少突胶质细胞增多,脱髓鞘区域的髓鞘修复大大增强^[69]。在ReBUILD临床试验中,对慢性脱髓鞘性视神经病变患者进行CLM治疗,虽然患者的疲劳加剧,但是并没有严重的不良事件发生,并且脱髓鞘区域即使在长期损伤后,患者也可以实现髓鞘修复^[70]。

GSK239512是一种高效、选择性、口服生物利用度和脑渗透性H3受体反向激动剂,具有良好的安全性/耐受性,最初被开发用于治疗阿尔茨海默病^[71]。在髓鞘形成相关试验进行时,GSK239512在促进少突胶质细胞分化和髓鞘形成方面表现出体外和体内功效^[72]。在II期临床试验中,观察到GSK239512对复发性缓解型MS患者的髓鞘再生具有微小但积极的影响^[73]。

总之,目前正在研究的促进髓鞘再生的方法主要包括以下疗法:(1) 阻断髓鞘再生抑制剂(例如抗LINGO单克隆抗体Opicinumab);(2) 增加髓鞘碎片的清除;(3) 增加OPC的数量(例如人类OPC的移植);(4) 刺激OPC分化(例如CLM和GSK239512)。然而可能需要多种组合的方法才能实现有效的髓鞘再生^[74]。

6 髓鞘再生相关动物模型

产生脱髓鞘动物模型有很多种方法,其中毒素诱导、自身免疫诱导和病毒诱导为常见的三种方式。毒素诱导常用的诱导试剂分别是Cuprizone、LPC和EB(ethidium bromide);自身免疫诱导的脱髓鞘模型最常见的是EAE模型;病毒诱导主要使用的是冠状病毒、A7 SFV病毒(semliki forest virus, SFV)和泰勒氏小鼠脑脊髓炎病毒(Theiler's murine encephalomy-

elitis virus, TMEV)等^[75]。

6.1 Cuprizone诱导的模型

该模型是由一种口服的铜整合剂Cuprizone诱导产生的慢性脱髓鞘疾病模型,该模型脱髓鞘的发生与炎症无关,是由于Cuprizone混在食物中进行喂食会导致小鼠缺失铜,而少突胶质细胞对于铜的清除很敏感,所以通过对小鼠进行不同剂量的Cuprizone喂食,特异性地对少突胶质细胞产生不同程度的毒性作用,进而导致CNS产生不同程度的脱髓鞘现象,这与EB引起的脱髓鞘模型相似,但好处是Cuprizone对其他细胞的危害很小,且当饮食恢复正常后髓鞘再生随之发生。Cuprizone模型的特征包括:少突胶质细胞缺失、脱髓鞘、轻度胶质增生以及拥有完整的血脑屏障等。值得注意的是,这个模型在血管周围缺少炎性细胞,特别是T细胞、B细胞的浸润,这个现象不同于MS的病理学^[76]。

Cuprizone模型诱导方法:饮食中混入0.2%~0.4%的Cuprizone,饲养小鼠4~5周,会诱导产生进行性脱髓鞘疾病,脱髓鞘期间伴随着小胶质细胞增生、星型胶质细胞增生和轴突损伤等过程的发生^[77]。小鼠喂食Cuprizone 5周后恢复正常饮食,髓鞘再生此时开始发生,之前缺失的髓鞘基本恢复。另外,有报道发现,诱导慢性脱髓鞘可通过延长用药时间(超过8~12周)来实现,如:小鼠在喂食Cuprizone 12周后再恢复正常饮食,会发现髓鞘再生失败^[78]。

优点: Cuprizone诱导的脱髓鞘是一个适用于研究病变恢复的模型,该模型在使用时,可以不考虑炎症诱发等因素^[79]。MS中灰质明显比白质髓鞘再生更快,但这个现象的产生是由于组织结构不同以及鞘磷脂蛋白密度不同造成的,与喂食Cuprizone无关。缺点是不同品系的小鼠对Cuprizone的敏感性不同,而且对剂量的敏感性、脱髓鞘程度和髓鞘再生效率也有不同;此外,经Cuprizone处理后,在小鼠脊髓和脑中,脱髓鞘程度很小^[80]。

6.2 LPC模型

LPC模型是一种毒素诱导的模型,可以诱导CNS局部发生特异性脱髓鞘病变,一般用于引发中枢神经系统白质区域急性脱髓鞘损伤^[81];而在外周神经系统中,也可以利用LPC在坐骨神经中诱导脱髓鞘。在CNS中,通过将LPC定向注射到大脑白质区域或脊髓的T3~T4白质区域诱导损伤的发生,在损伤14天和21天后检测少突胶质细胞的存活情况以

及髓鞘相关蛋白的表达变化,以了解在恢复期间髓鞘的再生情况^[82]。

模型诱导方法:将1% LPC注射到白质中会导致T细胞快速短暂的浸润,在损伤4天时,髓鞘受损,导致局部脱髓鞘病变,其间伴随着巨噬细胞、小胶质细胞被激活的情况发生,激活的细胞开始吞噬鞘磷脂,当损伤7天时,胞外的髓鞘碎片几乎被清除干净,并且已经发生脱髓鞘损伤的轴突开始进行快速的髓鞘再生过程;当损伤23天时,几乎所有的轴突都被髓鞘重新包裹^[83]。

LPC模型用于研究,其具有很多优势,包括:局部脱髓鞘的发生、髓鞘再生、可以观察到清晰的局部病变、有确定的病变演变时间进程等,且诱导该模型需要的时间也比较短。但存在的一个明显的劣势是,由于这个模型本身的干扰性,在注射时组织机械损伤是不可避免的,因此需要一个单一机械损伤作为对照组。与Cuprizone模型相似,LPC诱导的CNS脱髓鞘病变过程中并无神经性炎症参与。因此,利用LPC模型研究MS可以反映在CNS特殊区域的脱髓鞘影响,所以,这是一个研究CNS特殊区域脱髓鞘的理想模型^[84]。

6.3 EAE模型

EAE模型是自身免疫诱导的条件性MS模型,该模型通过对髓鞘组分MOG(myelin oligodendrocyte glycoprotein)和MBP产生免疫应答,进而引起CNS产生炎症疾病^[85]。其髓鞘再生的环境对少突胶质细胞系并不友好,因此EAE中髓鞘再生失败被看作是一个特殊的疾病阶段,而不是一个普遍髓鞘再生的特征,像EAE这种持续脱髓鞘的模型并不常见,其脱髓鞘和髓鞘再生是同时发生的,因此很难辨别不友好的生存环境对髓鞘再生产生的影响。

诱导EAE发生有两种常用的方法:①利用髓鞘抗原引发免疫活性;②在幼鼠中用预先激活的髓鞘特异性T细胞处理,激活其免疫活性^[86-87]。

激活EAE一般通过在小鼠中用MBP-PLP(myelin basic protein-myelin proteolipid protein)、MOG₃₃₋₃₅(myelin oligodendrocyte glycoprotein)或PLP₁₇₈₋₁₉₁等融合蛋白都可以诱发炎症反应,最终展现出不同的病理特征,而涉及的不同病理特征主要是由于区域特异性、脱髓鞘动力学的差异造成的^[88]。三种EAE的诱导方案提供了可靠的可以重现由免疫介导脱髓鞘病理特征的方法。在幼鼠中,被动诱导产生EAE模型,可以从

含有鞘磷脂抗原的小鼠中分离出T细胞,或幼鼠T细胞置于体外髓鞘衍生的抗原中被激活,在主动和被动诱导EAE的方法中,激活CD4⁺ T细胞因子会导致炎症细胞渗透到CNS区域,其中CD4⁺ T细胞和巨噬细胞占主要地位。这些细胞去攻击用于形成髓鞘的少突胶质细胞,进而导致脱髓鞘,并在损伤位置继续破坏髓鞘,使得轴突损伤和局部区域发生脱髓鞘,这种神经信号传导减慢会造成在病变/损伤区域的感觉、运动和认知功能下降,这与临床的MS病患症状相似,诱发EAE的啮齿动物在CNS损伤处有急性和慢性炎症、脱髓鞘、轴突缺失和神经胶质过多等症状发生。疾病发生有时会再度恶化,比如在诱导30天后,髓鞘再生速度开始逐渐变慢^[89]。

EAE与MS的相似性、优点和缺点:EAE和MS均是由炎症免疫细胞(T、B、巨噬细胞)引起的,并在CNS白质区域发生脱髓鞘损伤,与对照组相比,EAE的脑和脊髓对浸润性免疫细胞的应答存在差异,在EAE和MS中,血脑屏障渗透性均有增加,且后肢瘫痪与炎症轴突脱髓鞘有关^[90]。虽然已经证实了EAE与临床MS病理特征相似,但用EAE小鼠不能完全模拟MS疾病发生的过程,是因为啮齿动物与人类天生的免疫功能不同,这会影响它们对自身免疫攻击的应答;另一个原因是,人为诱导的EAE模型,需要外界免疫源来刺激其对鞘磷脂抗原的致敏作用,与自发性产生的MS病症有所不同^[91]。EAE模型倾向于由损伤区域的CD4⁺ T细胞来驱动免疫机制,然而MS患者的损伤区域则是由CD8⁺ T细胞驱动免疫机制,而且MS病患的病变部位多发生于大脑、脑干和脊髓,而EAE动物模型的损伤部位和特征随诱导方式和动物品系不同而产生差异,因此,选择用于诱导EAE模型的动物品系很重要。此外,由于MS的发病与周围环境中的微生物等的入侵有关,所以用于诱导EAE的动物品系的遗传同质性和无菌的生活环境也不适用于人类^[78,80]。

6.4 CIE模型

CIE(coronavirus-induced encephalomyelitis)模型即冠状病毒诱发的脑脊髓炎。CIE与EAE均属于炎症引发的脱髓鞘模型,CIE模型涉及一个急性炎症阶段,在该阶段病毒感染发挥了重要作用,随后在没有病毒感染的情况下,通过病毒特异性T细胞诱导小鼠产生慢性脱髓鞘^[92]。

CIE导致的致病潜力、临床进程和疾病结果取

决于用于诱导的病毒数量和接种小鼠的年龄,最重要的是取决于用于产生感染的冠状病毒的毒株。比如,若接种MHV-4(mouse hepatitis virus-4)则会引发严重的脑炎,并伴随着很高的致死率;但注射轻度神经毒性MHV-A59则会引发MS中类似的脱髓鞘损伤^[93]。

模型构建方法: 通过向4~6周小鼠脑内注射MHV-A59病毒,在感染5天的时候,小鼠出现了轻至重度的脑脊髓炎病症,这一时期被称为急性期,伴随着各种炎症细胞如T淋巴细胞、巨噬细胞和小胶质细胞被激活。当第一次注射病毒后的几天里,自身免疫应答开始出现,之后继续产生适应性免疫应答,病毒的抗原主要见于疾病的急性期,并且会出现在多种不同类型的细胞(包括巨噬细胞、小胶质细胞、星型胶质细胞、少突胶质细胞和神经元)^[94]中。从感染第7天开始,病毒发挥的作用开始下降,在感染10天左右,几乎检测不到病毒特征,由于动物在第一个急性期中自发修复不完全,会伴随残存的神经麻痹性症状。第二个阶段从感染7~10天开始,在感染28天时达到峰值,此时由于病毒注射引发的适应性免疫应答引起了伴随炎症性脱髓鞘病变的神经麻痹性疾病的发生,在小鼠整个疾病的病变后期,病毒RNA伴随着病毒特异性T细胞持续存在^[95-96]。

在注射1周时,在脑中一些促炎症细胞因子明显增多,说明发生了急性炎症,注射4周后,炎症细胞因子逐渐恢复到脑中的基础水平,直至注射10周后,脊柱中产生轴突损伤导致多处脱髓鞘发生^[97]。

优点: CIE小鼠在注射10周后就出现了三种神经系统发育的表型,很大程度上反映了MS疾病的发展过程。三种不同的表型分别是: (1) 从疾病急性期的最初症状开始恢复,这可作为对一种未激活但仍在进行激活的MS的应答; (2) 神经退行性改变的慢性过程,是对人类MS中临床“进行性类别”的应答; (3) 慢性过程再度恶化和缓解期阶段,反映出MS患者的“复发-缓解”的表型^[78]。缺点是用于诱导CIE的病毒在动物CNS内发生感染和扩散的方式尚不清楚。

7 外周神经系统的髓鞘再生

相比中枢神经系统,外周神经系统(peripheral nervous system, PNS)髓鞘再生能力显著更强,这很大程度上得益于施万细胞的可塑性很强。施万细胞是PNS中负责形成髓鞘的胶质细胞,与CNS中一个少

突胶质细胞包裹多个轴突形成髓鞘的情况不同,一个施万细胞只包裹一个大直径轴突形成髓鞘,或聚集多个小直径轴突形成非髓鞘的Remak SCs。当轴突受损,髓鞘化及非髓鞘化的SCs都会进行重塑,促进轴突恢复。

外周神经系统髓鞘再生过程大致分为以下五步。第一步,SCs与受损的轴突远端脱离,即为脱髓鞘过程。第二步,SCs转变为“修复模式”,包括下调一些促髓鞘相关基因,如*Egr2*(early growth response 2, 又称*Krox20*)、*Mbp*、*Mpz*(myelin protein zero)、*Mag*(myelin associated glycoprotein)等,同时上调一些发育时期高表达的基因,如*LI*、*NCAM*(neural cell adhesion molecule)、*p75NTR*(p75 neurotrophin receptor)、*GFAP*等^[98-99]。机制上,“修复模式”的SCs通过激活c-Jun、MAPK、shh等信号通路,以及组蛋白或转录因子的表观遗传修饰,改变相关基因的表达^[100]。第三步,SCs通过自噬髓磷脂(myelinophagy)、吞噬(phagocytosis)以及招募激活巨噬细胞,促进受损处髓鞘、轴突的解体和清除^[101-102]。第四步,SCs帮助轴突完成再生。一方面,SCs分泌营养因子以支持轴突^[103-104];另一方面,SCs平行排列围成一条名为Büngner带(bands of Büngner)的“轨道”,以引导再生轴突的生长,使轴突最终连接并支配其原先靶标^[105-106]。最后,促髓鞘相关基因再次上调,SCs重新包裹轴突成髓。

周围神经系统再生能力显著强于中枢神经系统,但重大创伤和神经疾病患者周围神经系统恢复也往往不完全。一方面,由于PNS再生速度缓慢,而受损环境很难长时间维持在适合修复的状态;另一方面,其再生能力会随机体衰老而下降^[107]。因此,关于周围神经系统髓鞘再生的研究也是不可或缺的。相关研究手段包括体内的剪断或挤压损伤模型,以及原代施万细胞、完整组织的体外培养。目前对周围神经系统的再生机制有了一定了解,而运用于临床上促进患者髓鞘损伤恢复还需进一步研究探索。

8 讨论与总结

首先,髓鞘再生的候选药物有待进一步探索。通过对髓鞘再生过程的分子机制的深入研究或者运用高通量筛选药物,人们找到了一些候选药物。前一种方法效率显然不如后者,因为一些小分子药物(例如咪康唑和酮康唑等)可能并不作用于经典靶点^[12]。但

以上方法都聚焦于促进OPC分化, 默认OPC分化是髓鞘再生失败的关键因素。然而, 鲜有药物是针对分化以外的髓鞘再生过程: 一些研究认为, MS患者髓鞘再生失败还与OPC生成^[108]、迁移距离^[109]、人体内OPC异质性^[110]等诸多因素相关, 因此利用目前手段找到的药物或许不足以完全解决MS病人髓鞘再生障碍的问题。此外, 由于物种的差异, 通过动物实验找到的药物并非都能实现人体应用转化, 合理的药用剂量也需谨慎试验, 筛选出的药物到临床使用还有很长的路要走, 而真正对人体有用的化合物, 或许也在小动物实验中不能体现效用。除了直接促进OPC分化外, 许多研究指出OPC的髓鞘化还受到其他细胞的调控^[111], 因此, 干扰OPC和其他胶质细胞、神经元之间的交流不失为一种治疗手段。iPS细胞和人类衍生器官的兴起也为髓鞘再生的研究提供了更多的选择^[112]。

其次, 监测药物对活体患者是否有效的问题也还有待进一步解决。生理指标方面, 目前可通过病人残疾程度(如EDSS)或生理功能维持程度(如视觉敏锐度)等指标来指示体内髓鞘再生情况。生物标记物方面, 可通过脑脊液和血液中NCAM的比例、BDNF(brain derived neurotrophic factor)的含量以及脑脊液中CNTF的含量来指示髓鞘受损情况^[113], 然而目前没有较受认可的生物标记物来指示髓鞘的再生。因此, 易获取的、可指示髓鞘再生情况的生物标记物的发掘, 将推动临床恢复监测发展。目前对髓鞘再生的评估主要依赖影像学。定量磁敏感成像(quantitative susceptibility mapping, QSM)、髓鞘水组分(myelin water fraction, MWF)、双融合张量成像(difusion tensor imaging, DTI)和正电子发射断层摄影术用于检测髓鞘动力学, 进而获取髓鞘脱落和维持情况信息^[113], 但其精确度、对检测样品要求以及对活体患者损伤程度等问题还待进一步解决。

再次, 髓鞘再生的更多分子机制和潜在应用还有许多可能。例如, 迄今越来越多研究指出: 髓鞘再生可由新生成或原本存在的胶质细胞响应神经元行为活动完成, 这个动态的生理过程可以促进脑的学习和增强其可塑性^[114]。而这种依赖性的髓鞘再生能否在体内稳定维持并应用于疾病干预, 还有待进一步研究。

髓鞘对轴突具有促进信号传导、提供机械保护以及能量供给等作用, 是机体进行正常自主行动所

不可或缺的。促进髓鞘的再生是治疗相关疾病的关键, 因此对髓鞘再生的机制研究以及药物的筛选是十分有意义的。总之, 目前人们对脱髓鞘和再生机制有了一定的了解, 临床上的诊断和治疗也有了一定成效, 但更深层的机制研究、更贴合的研究模型以及更有效的治疗和监测手段还有待进一步探索。此外, 髓鞘再生仍是组织再生领域的“先行者”, 可为其他组织的再生提供宝贵经验。我们期待髓鞘再生在临床应用方面有更多进展。

参考文献 (References)

- [1] SMITH K J, BLAKEMORE W F, MCDONALD W I. The restoration of conduction by central remyelination [J]. *Brain*, 1981, 104(2): 383-404.
- [2] FUNFSCHILLING U, SUPPLIE L M, MAHAD D, et al. Glycolytic oligodendrocytes maintain myelin and long-term axonal integrity [J]. *Nature*, 2012, 485(7399): 517-21.
- [3] LEE Y, MORRISON B M, LI Y, et al. Oligodendroglia metabolically support axons and contribute to neurodegeneration [J]. *Nature*, 2012, 487(7408): 443-8.
- [4] BRASKO C, HAWKINS V, DE LA ROCHA I C, et al. Expression of Kir4.1 and Kir5.1 inwardly rectifying potassium channels in oligodendrocytes, the myelinating cells of the CNS [J]. *Brain Struct Funct*, 2017, 222(1): 41-59.
- [5] FRANKLIN R J M, FFRENCH-CONSTANT C. Regenerating CNS myelin-from mechanisms to experimental medicines [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2017, 18(12): 753-69.
- [6] NAVE K A. Myelination and the trophic support of long axons [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2010, 11(4): 275-83.
- [7] RUCKH J M, ZHAO J W, SHADRACH J L, et al. Rejuvenation of regeneration in the aging central nervous system [J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 10(1): 96-103.
- [8] QUILLIAM T A. Growth changes in sensory nerve fibre aggregates undergoing remyelination [J]. *J Anat*, 1958, 92(3): 383-98.
- [9] PRINEAS J W, BARNARD R O, KWON E E, et al. Multiple sclerosis: remyelination of nascent lesions [J]. *Ann Neurol*, 1993, 33(2): 137-51.
- [10] BRAMOW S, FRISCHER J M, LASSMANN H, et al. Demyelination versus remyelination in progressive multiple sclerosis [J]. *Brain*, 2010, 133(10): 2983-98.
- [11] LUBETZKI C, ZALC B, WILLIAMS A, et al. Remyelination in multiple sclerosis: from basic science to clinical translation [J]. *Lancet Neurol*, 2020, 19(8): 678-88.
- [12] HUBLER Z, ALLIMUTHU D, BEDERMAN I, et al. Accumulation of 8,9-unsaturated sterols drives oligodendrocyte formation and remyelination [J]. *Nature*, 2018, 560(7718): 372-6.
- [13] DIMOU L, SIMON C, KIRCHHOFF F, et al. Progeny of Olig2-expressing progenitors in the gray and white matter of the adult mouse cerebral cortex [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(41): 10434-42.
- [14] FRANKLIN R J, FFRENCH-CONSTANT C. Remyelination in the CNS: from biology to therapy [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2008, 9(11): 839-55.
- [15] FANCY S P, ZHAO C, FRANKLIN R J. Increased expression of

- Nkx2.2 and Olig2 identifies reactive oligodendrocyte progenitor cells responding to demyelination in the adult CNS [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2004, 27(3): 247-54.
- [16] ZHANG C, HUANG H, CHEN Z, et al. The transcription factor NKX2-2 regulates oligodendrocyte differentiation through domain-specific interactions with transcriptional corepressors [J]. *J Biol Chem*, 2020, 295(7): 1879-88.
- [17] ZHANG K, CHEN S, YANG Q, et al. The oligodendrocyte transcription factor 2 OLIG2 regulates transcriptional repression during myelinogenesis in rodents [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 1423.
- [18] ZHAO C, MA D, ZAWADZKA M, et al. Sox2 sustains recruitment of oligodendrocyte progenitor cells following CNS demyelination and primes them for differentiation during remyelination [J]. *J Neurosci*, 2015, 35(33): 11482-99.
- [19] WANG S, SDRULLA A D, DISIBIO G, et al. Notch receptor activation inhibits oligodendrocyte differentiation [J]. *Neuron*, 1998, 21(1): 63-75.
- [20] FANCY S P, BARANZINI S E, ZHAO C, et al. Dysregulation of the Wnt pathway inhibits timely myelination and remyelination in the mammalian CNS [J]. *Genes Dev*, 2009, 23(13): 1571-85.
- [21] BLAKEMORE W F. Pattern of remyelination in the CNS [J]. *Nature*, 1974, 249(457): 577-8.
- [22] MOYON S, HUYNH J L, DUTTA D, et al. Functional characterization of DNA methylation in the oligodendrocyte lineage [J]. *Cell Rep*, 2016, 15(4): 748-60.
- [23] LOVAS G, SZILAGYI N, MAJTENYI K, et al. Axonal changes in chronic demyelinated cervical spinal cord plaques [J]. *Brain*, 2000, 123(Pt 2): 308-17.
- [24] CHEN J F, LIU K, HU B, et al. Enhancing myelin renewal reverses cognitive dysfunction in a murine model of Alzheimer's disease [J]. *Neuron*, 2021, 109(14): 2292-307.e5.
- [25] MIRON V E, BOYD A, ZHAO J W, et al. M2 microglia and macrophages drive oligodendrocyte differentiation during CNS remyelination [J]. *Nat Neurosci*, 2013, 16(9): 1211-8.
- [26] MRDJEN D, PAVLOVIC A, HARTMANN F J, et al. High-dimensional single-cell mapping of central nervous system immune cells reveals distinct myeloid subsets in health, Aging, and Disease [J]. *Immunity*, 2018, 48(3): 599.
- [27] LLOYD A F, DAVIES C L, HOLLOWAY R K, et al. Central nervous system regeneration is driven by microglia necroptosis and repopulation [J]. *Nat Neurosci*, 2019, 22(7): 1046-52.
- [28] PANG Y, FAN L W, TIEN L T, et al. Differential roles of astrocyte and microglia in supporting oligodendrocyte development and myelination *in vitro* [J]. *Brain Behav*, 2013, 3(5): 503-14.
- [29] KALAFATAKIS I, KARAGOGEOS D. Oligodendrocytes and microglia: key players in myelin development, damage and repair [J]. *Biomolecules*, 2021, 11(7): 1058.
- [30] CAYRE M, FALQUE M, MERCIER O, et al. Myelin repair: from animal models to humans [J]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15: 604865.
- [31] ZAMANIAN J L, XU L, FOO L C, et al. Genomic analysis of reactive astrogliosis [J]. *J Neurosci*, 2012, 32(18): 6391-410.
- [32] FRANKLIN R J, CRANG A J, BLAKEMORE W F. Transplanted type-1 astrocytes facilitate repair of demyelinating lesions by host oligodendrocytes in adult rat spinal cord [J]. *J Neurocytol*, 1991, 20(5): 420-30.
- [33] HOUBEN E, JANSSENS K, HERMANS D, et al. Oncostatin M-induced astrocytic tissue inhibitor of metalloproteinases-1 drives remyelination [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(9): 5028-38.
- [34] SKRIPULETZ T, HACKSTETTE D, BAUER K, et al. Astrocytes regulate myelin clearance through recruitment of microglia during cuprizone-induced demyelination [J]. *Brain*, 2013, 136(Pt 1): 147-67.
- [35] BOYLES J K, PITAS R E, WILSON E, et al. Apolipoprotein E associated with astrocytic glia of the central nervous system and with nonmyelinating glia of the peripheral nervous system [J]. *J Clin Invest*, 1985, 76(4): 1501-13.
- [36] SEGEL M, NEUMANN B, HILL M F E, et al. Niche stiffness underlies the ageing of central nervous system progenitor cells [J]. *Nature*, 2019, 573(7772): 130-4.
- [37] HAMMOND T R, GADEA A, DUPREE J, et al. Astrocyte-derived endothelin-1 inhibits remyelination through notch activation [J]. *Neuron*, 2014, 81(3): 588-602.
- [38] RAWJI K S, GONZALEZ MARTINEZ G A, SHARMA A, et al. The role of astrocytes in remyelination [J]. *Trends Neurosci*, 2020, 43(8): 596-607.
- [39] ASSINCK P, DUNCAN G J, PLEMEL J R, et al. Myelinogenic plasticity of oligodendrocyte precursor cells following spinal cord contusion injury [J]. *J Neurosci*, 2017, 37(36): 8635-54.
- [40] BUTTI E, BACIGALUPPI M, CHAABANE L, et al. Neural stem cells of the subventricular zone contribute to neuroprotection of the corpus callosum after cuprizone-induced demyelination [J]. *J Neurosci*, 2019, 39(28): 5481-92.
- [41] FRANKLIN R J, GOLDMAN S A. Glia disease and repair-remyelination [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2015, 7(7): a020594.
- [42] ZHOU J, WU Y C, XIAO B J, et al. Age-related changes in the global DNA methylation profile of oligodendrocyte progenitor cells derived from rat spinal cords [J]. *Curr Med Sci*, 2019, 39(1): 67-74.
- [43] LIU A, LI J, MARIN-HUSSTEGE M, et al. A molecular insight of Hes5-dependent inhibition of myelin gene expression: old partners and new players [J]. *EMBO J*, 2006, 25(20): 4833-42.
- [44] LAMPRON A, LAROCHELLE A, LAFLAMME N, et al. Inefficient clearance of myelin debris by microglia impairs remyelinating processes [J]. *J Exp Med*, 2015, 212(4): 481-95.
- [45] NATRAJAN M S, DE LA FUENTE A G, CRAWFORD A H, et al. Retinoid X receptor activation reverses age-related deficiencies in myelin debris phagocytosis and remyelination [J]. *Brain*, 2015, 138(Pt 12): 3581-97.
- [46] CANTUTI-CASTELVETRI L, FITZNER D, BOSCH-QUERALT M, et al. Defective cholesterol clearance limits remyelination in the aged central nervous system [J]. *Science*, 2018, 359(6376): 684-8.
- [47] FRANKLIN R J. Why does remyelination fail in multiple sclerosis [J]? *Nat Rev Neurosci*, 2002, 3(9): 705-14.
- [48] PENDERIS J, SHIELDS S A, FRANKLIN R J. Impaired remyelination and depletion of oligodendrocyte progenitors does not occur following repeated episodes of focal demyelination in the rat central nervous system [J]. *Brain*, 2003, 126(Pt 6): 1382-91.
- [49] WILLIAMS A, PIATON G, AIGROT M S, et al. Semaphorin 3A and 3F: key players in myelin repair in multiple sclerosis [J]?

- Brain, 2007, 130(Pt 10): 2554-65.
- [50] PIATON G, AIGROT M S, WILLIAMS A, et al. Class 3 semaphorins influence oligodendrocyte precursor recruitment and remyelination in adult central nervous system [J]. Brain, 2011, 134(Pt 4): 1156-67.
- [51] JOHN G R, SHANKAR S L, SHAFIT-ZAGARDO B, et al. Multiple sclerosis: re-expression of a developmental pathway that restricts oligodendrocyte maturation [J]. Nat Med, 2002, 8(10): 1115-21.
- [52] MURTA V, FERRARI C. Peripheral inflammation and demyelinating diseases [J]. Adv Exp Med Biol, 2016, 949: 263-85.
- [53] OLSEN J A, AKIRAV E M. Remyelination in multiple sclerosis: cellular mechanisms and novel therapeutic approaches [J]. J Neurosci Res, 2015, 93(5): 687-96.
- [54] WEINSHENKER B G. Epidemiology of multiple sclerosis [J]. Neurol Clin, 1996, 14(2): 291-308.
- [55] MUNZEL E J, WILLIAMS A. Promoting remyelination in multiple sclerosis-recent advances [J]. Drugs, 2013, 73(18): 2017-29.
- [56] DENGLER R, TACIK P. Current diagnosis and treatment: neurology, 2nd ed [J]. Arch Neurol, 2012, 69(8): 1082.
- [57] JARIUS S, WILDEMAN B, PAUL F. Neuromyelitis optica: clinical features, immunopathogenesis and treatment [J]. Clin Exp Immunol, 2014, 176(2): 149-64.
- [58] LEVIN M H, BENNETT J L, VERKMAN A S. Optic neuritis in neuromyelitis optica [J]. Prog Retin Eye Res, 2013, 36: 159-71.
- [59] LACHAPPELLE F, GUMPEL M, BAULAC M, et al. Transplantation of CNS fragments into the brain of shiverer mutant mice: extensive myelination by implanted oligodendrocytes. I. Immunohistochemical studies [J]. Dev Neurosci, 1983, 6(6): 325-34.
- [60] GROVES A K, BARNETT S C, FRANKLIN R J, et al. Repair of demyelinated lesions by transplantation of purified O-2A progenitor cells [J]. Nature, 1993, 362(6419): 453-5.
- [61] HAMMANG J P, ARCHER D R, DUNCAN I D. Myelination following transplantation of EGF-responsive neural stem cells into a myelin-deficient environment [J]. Exp Neurol, 1997, 147(1): 84-95.
- [62] WINDREM M S, SCHANZ S J, GUO M, et al. Neonatal chimera with human glial progenitor cells can both remyelinate and rescue the otherwise lethally hypomyelinated shiverer mouse [J]. Cell Stem Cell, 2008, 2(6): 553-65.
- [63] LEE X, YANG Z, SHAO Z, et al. NGF regulates the expression of axonal LINGO-1 to inhibit oligodendrocyte differentiation and myelination [J]. J Neurosci, 2007, 27(1): 220-5.
- [64] MI S, PEPINSKY R B, CADAVID D. Blocking LINGO-1 as a therapy to promote CNS repair: from concept to the clinic [J]. CNS Drugs, 2013, 27(7): 493-503.
- [65] TRAN J Q, RANA J, BARKHOF F, et al. Randomized phase I trials of the safety/tolerability of anti-LINGO-1 monoclonal antibody BIIB033 [J]. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm, 2014, 1(2): e18.
- [66] PETRILLO J, BALCER L, GALETTA S, et al. Initial impairment and recovery of vision-related functioning in participants with acute optic neuritis from the renew trial of Opicinumab [J]. J Neuroophthalmol, 2019, 39(2): 153-60.
- [67] CADAVID D, MELLION M, HUPPERTS R, et al. Safety and efficacy of opicinumab in patients with relapsing multiple sclerosis (SYNERGY): a randomised, placebo-controlled, phase 2 trial [J]. Lancet Neurol, 2019, 18(9): 845-56.
- [68] MEI F, FANCY S P J, SHEN Y A, et al. Micropillar arrays as a high-throughput screening platform for therapeutics in multiple sclerosis [J]. Nat Med, 2014, 20(8): 954-60.
- [69] LI Z, HE Y, FAN S, et al. Clemastine rescues behavioral changes and enhances remyelination in the cuprizone mouse model of demyelination [J]. Neurosci Bull, 2015, 31(5): 617-25.
- [70] GREEN A J, GELFAND J M, CREE B A, et al. Clemastine fumarate as a remyelinating therapy for multiple sclerosis (ReBUILD): a randomised, controlled, double-blind, crossover trial [J]. Lancet, 2017, 390(10111): 2481-9.
- [71] GROVE R A, HARRINGTON C M, MAHLER A, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, 16-week study of the H3 receptor antagonist, GSK239512 as a monotherapy in subjects with mild-to-moderate Alzheimer's disease [J]. Curr Alzheimer Res, 2014, 11(1): 47-58.
- [72] CHEN Y, ZHEN W, GUO T, et al. Histamine Receptor 3 negatively regulates oligodendrocyte differentiation and remyelination [J]. PLoS One, 2017, 12(12): e0189380.
- [73] SCHWARTZBACH C J, GROVE R A, BROWN R, et al. Lesion remyelinating activity of GSK239512 versus placebo in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomised, single-blind, phase II study [J]. J Neurol, 2017, 264(2): 304-15.
- [74] WOOLISCROFT L, SILBERMANN E, CAMERON M, et al. Approaches to remyelination therapies in multiple sclerosis [J]. Curr Treat Options Neurol, 2019, 21(7): 34.
- [75] TORRE-FUENTES L, MORENO-JIMENEZ L, PYTEL V, et al. Experimental models of demyelination and remyelination [J]. Neurologia, 2020, 35(1): 32-9.
- [76] ALBERT M, ANTEL J, BRUCK W, et al. Extensive cortical remyelination in patients with chronic multiple sclerosis [J]. Brain Pathol, 2007, 17(2): 129-38.
- [77] GINGELE S, HENKEL F, HECKERS S, et al. Delayed demyelination and impaired remyelination in aged mice in the Cuprizone model [J]. Cells, 2020, 9(4): 945.
- [78] RAMASAMY R, SMITH P P. PART 2: mouse models for multiple sclerosis research [J]. NeuroUrol Urodyn, 2021, 40(4): 958-67.
- [79] JUREVICS H, LARGENT C, HOSTETTLER J, et al. Alterations in metabolism and gene expression in brain regions during cuprizone-induced demyelination and remyelination [J]. J Neurochem, 2002, 82(1): 126-36.
- [80] MCCARTHY D P, RICHARDS M H, MILLER S D. Mouse models of multiple sclerosis: experimental autoimmune encephalomyelitis and Theiler's virus-induced demyelinating disease [J]. Methods Mol Biol, 2012, 900: 381-401.
- [81] SCHMITZ G, RUEBSAAMEN K. Metabolism and atherogenic disease association of lysophosphatidylcholine [J]. Atherosclerosis, 2010, 208(1): 10-8.
- [82] WOODRUFF R H, FRANKLIN R J. Demyelination and remyelination of the caudal cerebellar peduncle of adult rats following stereotaxic injections of lysocleithin, ethidium bromide, and complement/anti-galactocerebroside: a comparative study [J]. Glia, 1999, 25(3): 216-28.
- [83] OUSMAN S S, DAVID S. MIP-1 α , MCP-1, GM-CSF, and TNF- α control the immune cell response that mediates rapid phagocytosis of myelin from the adult mouse spinal cord [J]. J

- Neurosci, 2001, 21(13): 4649-56.
- [84] BIRGBAUER E, RAO T S, WEBB M. Lysolecithin induces demyelination *in vitro* in a cerebellar slice culture system [J]. J Neurosci Res, 2004, 78(2): 157-66.
- [85] REYNOLDS R, DAWSON M, PAPADOPOULOS D, et al. The response of NG2-expressing oligodendrocyte progenitors to demyelination in MOG-EAE and MS [J]. J Neurocytol, 2002, 31(6/7): 523-36.
- [86] BEN-NUN A, WEKERLE H, COHEN I R. Vaccination against autoimmune encephalomyelitis with T-lymphocyte line cells reactive against myelin basic protein [J]. Nature, 1981, 292(5818): 60-1.
- [87] FLUGEL A, BRADL M. New tools to trace populations of inflammatory cells in the CNS [J]. Glia, 2001, 36(2): 125-36.
- [88] KUERTEN S, LEHMANN P V. The immune pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis: lessons learned for multiple sclerosis [J]? J Interferon Cytokine Res, 2011, 31(12): 907-16.
- [89] RAINE C S, BARNETT L B, BROWN A, et al. Neuropathology of experimental allergic encephalomyelitis in inbred strains of mice [J]. Lab Invest, 1980, 43(2): 150-7.
- [90] COLOVER J. Immunological and cytological studies of autoimmune demyelination and multiple sclerosis [J]. Brain Behav Immun, 1988, 2(4): 341-5.
- [91] HAANSTRA K G, JAGESSAR S A, BAUCHET A L, et al. Induction of experimental autoimmune encephalomyelitis with recombinant human myelin oligodendrocyte glycoprotein in incomplete Freund's adjuvant in three non-human primate species [J]. J Neuroimmune Pharmacol, 2013, 8(5): 1251-64.
- [92] WOYCIECHOWSKA J L, TRAPP B D, PATRICK D H, et al. Acute and subacute demyelination induced by mouse hepatitis virus strain A59 in C3H mice [J]. J Exp Pathol, 1984, 1(4): 295-306.
- [93] PHILLIPS J J, CHUA M M, LAVI E, et al. Pathogenesis of chimeric MHV4/MHV-A59 recombinant viruses: the murine coronavirus spike protein is a major determinant of neurovirulence [J]. J Virol, 1999, 73(9): 7752-60.
- [94] STOHLMAN S A, WEINER L P. Chronic central nervous system demyelination in mice after JHM virus infection [J]. Neurology, 1981, 31(1): 38-44.
- [95] MCMILLAN M T, PAN X Q, SMITH A L, et al. Coronavirus-induced demyelination of neural pathways triggers neurogenic bladder overactivity in a mouse model of multiple sclerosis [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2014, 307(5): F612-22.
- [96] LAMARRE N S, BRAVERMAN A S, MALYKHINA A P, et al. Alterations in nerve-evoked bladder contractions in a coronavirus-induced mouse model of multiple sclerosis [J]. PLoS One, 2014, 9(10): e109314.
- [97] LEE S, NEDUMARAN B, HYPOLITE J, et al. Differential neurodegenerative phenotypes are associated with heterogeneous voiding dysfunction in a coronavirus-induced model of multiple sclerosis [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 10869.
- [98] JESSEN K R, MIRSKY R. Negative regulation of myelination: relevance for development, injury, and demyelinating disease [J]. Glia, 2008, 56(14): 1552-65.
- [99] CHEN Z L, YU W M, STRICKLAND S. Peripheral regeneration [J]. Annu Rev Neurosci, 2007, 30: 209-33.
- [100] NOCERA G, JACOB C. Mechanisms of Schwann cell plasticity involved in peripheral nerve repair after injury [J]. Cell Mol Life Sci, 2020, 77(20): 3977-89.
- [101] WONG K M, BABETTO E, BEIROWSKI B. Axon degeneration: make the Schwann cell great again [J]. Neural Regen Res, 2017, 12(4): 518-24.
- [102] BEIROWSKI B, ADALBERT R, WAGNER D, et al. The progressive nature of Wallerian degeneration in wild-type and slow Wallerian degeneration (Wlds) nerves [J]. BMC Neurosci, 2005, 6: 6.
- [103] JESSEN K R, ARTHUR-FARRAJ P. Repair Schwann cell update: adaptive reprogramming, EMT, and stemness in regenerating nerves [J]. Glia, 2019, 67(3): 421-37.
- [104] MADDURI S, GANDER B. Schwann cell delivery of neurotrophic factors for peripheral nerve regeneration [J]. J Peripher Nerv Syst, 2010, 15(2): 93-103.
- [105] ARTHUR-FARRAJ P J, LATOUCHE M, WILTON D K, et al. c-Jun reprograms Schwann cells of injured nerves to generate a repair cell essential for regeneration [J]. Neuron, 2012, 75(4): 633-47.
- [106] JESSEN K R, MIRSKY R, LLOYD A C. Schwann cells: development and role in nerve repair [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2015, 7(7): a020487.
- [107] PAINTER M W, BROSIUS LUTZ A, CHENG Y C, et al. Diminished Schwann cell repair responses underlie age-associated impaired axonal regeneration [J]. Neuron, 2014, 83(2): 331-43.
- [108] YEUNG M S Y, DJELLOUL M, STEINER E, et al. Dynamics of oligodendrocyte generation in multiple sclerosis [J]. Nature, 2019, 566(7745): 538-42.
- [109] BOYD A, ZHANG H, WILLIAMS A. Insufficient OPC migration into demyelinated lesions is a cause of poor remyelination in MS and mouse models [J]. Acta Neuropathol, 2013, 125(6): 841-59.
- [110] JAKEL S, AGIRRE E, MENDANHA FALCAO A, et al. Altered human oligodendrocyte heterogeneity in multiple sclerosis [J]. Nature, 2019, 566(7745): 543-7.
- [111] WAKE H, ORTIZ F C, WOO D H, et al. Nonsynaptic junctions on myelinating glia promote preferential myelination of electrically active axons [J]. Nat Commun, 2015, 6: 7844.
- [112] BALESTRI S, DEL GIOVANE A, SPOSATO C, et al. The current challenges for drug discovery in CNS remyelination [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(6): 2891.
- [113] BROD S A. A proposal: how to study pro-myelinating proteins in MS [J]. Autoimmun Rev, 2022, 21(1): 102924.
- [114] SAMPAIO-BAPTISTA C, JOHANSEN-BERG H. White matter plasticity in the adult brain [J]. Neuron, 2017, 96(6): 1239-51.