

· 论著 —— 实验研究 ·

喉返神经损伤后神经肌肉变化及再生特点研究*

白玉¹ 徐文² 胡蓉² 范尔钟²

[摘要] 目的:观察大鼠喉返神经不同程度损伤后神经及甲杓肌变化、再生特点及其相互关系。方法:实验用 SD 大鼠 95 只,因感染死亡 2 只、手术死亡 2 只、运输途中死亡 1 只未计入统计外,将剩余 90 只大鼠分为完全损伤组(横断伤)及不完全损伤组(钳夹伤)各 43 例,对照组 4 例。造模成功后 6 h、12 h、1 d、3 d、5 d、1 周、2 周、3 周及 4 周观察喉运动情况,甲杓肌肌电生理及病理组织学特点,喉返神经病理形态及超微结构变化特征。结果:大鼠喉返神经损伤后均即刻出现声带固定。完全损伤组未见声带活动恢复;不完全损伤组中 41 例于伤后 2 周声带活动恢复正常,另 2 例分别于伤后 3 周及 4 周声带活动恢复正常。完全损伤组伤后 1 d 甲杓肌出现纤颤波,伤后 4 周出现神经再生电位;不完全损伤组甲杓肌于伤后 2 周内可观察到失神经电位,3 周后肌电恢复正常。两组甲杓肌伤后 4 周均出现肌细胞卷曲变性、横纹溶解等失神经表现,完全损伤组随着时间的延长肌萎缩逐渐加重,不完全损伤组伤后 2 周后肌萎缩现象开始逐渐好转。完全损伤组喉返神经损伤后,神经远端崩解变性程度较近端明显,伤后 4 周出现少量粗大的有髓神经纤维;不完全损伤组伤后 1 d 有髓神经破坏最明显,随后逐渐好转,至伤后 1 周基本正常。完全损伤组 Schwann 细胞于伤后 2 周内出现吞噬现象,3 周后开始出现不包绕神经纤维的 Schwann 细胞,以近端尤为明显;不完全损伤组伤后 1 周内可见 Schwann 吞噬现象,偶见凋亡及变性。炎症反应在完全损伤组更为严重,同时纤维母细胞及成纤维细胞逐渐增多,间质中胶原成分增加。结论:喉返神经完全损伤后,神经远端变性更为明显,伤后 4 周观察到再生神经,不完全损伤的喉返神经具有自我修复能力,结构恢复早于神经功能的恢复。Schwann 细胞伤后可发挥吞噬作用,并有幼稚型出现。神经纤维崩解产物可能不是诱导巨噬细胞产生趋化作用的原因,但却加速巨噬细胞的迁移活化。

[关键词] 喉返神经;损伤;再生

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2017.12.009

[中图分类号] R767 [文献标志码] A

Degeneration and regeneration characteristics of nerves and muscles after recurrent laryngeal nerve injury

BAI Yu¹ XU Wen² HU Rong² FAN Erzhong²

(¹Department of Otolaryngology, the First Affiliated Hospital of Tsinghua University, Beijing, 100016, China; ² Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University)

Corresponding author: XU Wen, E-mail: entwen@trohs.com

Abstract Objective: We investigated the degeneration and regeneration characteristics of nerves and muscles after different degrees of recurrent laryngeal nerve(RLN) injury, and then discussed the possible relations between them. **Method:** Ninety-five Sprague-Dawley(SD) rats were used in this study, 2 rats died of infection, 2 died during surgery and 1 died in transit. The rest 90 SD rats were classified as having complete injuries(transection, 43 rats), incomplete injuries(crush, 43 rats) and control group(4 rats). The characteristics of nerve injuries were evaluated by endoscopic examination, laryngeal electromyography(LEMG), and histopathologic examination at 6 hours, 12 hours, 1 day, 3 day, 5 day, 1 week, 2 weeks, 3 weeks and 4 weeks after the injury. **Result:** All the vocal folds kept fixation in the completely injury group, where as 41/43 vocal folds in incompletely injury group got normal activity 2 weeks after surgery, 1 at 3 weeks and 1 at 4 weeks. Fibrillation potentials were found 1 day after transection, and reinnervation potentials appeared 4 weeks after transection. LEMG was normal 3 weeks after RLN was crushed. The average muscle fiber number of the left thyroarytenoid (TA) decreased with the time in the completely injury group, which increased in the second week after crush. Degeneration appeared more seriously in the distal region after transection, and a small amount of large myelinated nerve fibers appeared at 4 weeks after

* 基金项目:国家自然科学基金(No:81170901);北京市自然科学基金(No:7132053)

¹清华大学第一附属医院耳鼻咽喉科(北京,100016)

²首都医科大学附属北京同仁医院耳鼻咽喉头颈外科

通信作者:徐文, E-mail: entwen@trohs.com

injury. The most serious nerve degeneration appeared in the first day after crush, and 1 week later the ultrastructures of RLN were almost normal. The phagocytosis of Schwann cells occurred within 2 weeks after injury, 3 weeks later we found the appearance of Schwann cells who did not wrap around nerve fibers, especially in the proximal region. In the crush group, the phagocytosis of Schwann cells occurred within 1 week after injury, apoptosis and degeneration appeared occasionally. Inflammatory response was more severe in the transection group, the number of fibroblasts and collagen fibers in the mesenchyme increased. **Conclusion:** The degeneration is more severe in the distal nerve when RLN is traversed. Nerve regeneration appears in the fourth week after RLN is traversed. Injured nerve has the ability to repair itself. Schwann cells play a role in phagocytosis after injury, and immature Schwann cells are found. Nerve fiber disintegration product can accelerate the migration of macrophage activation.

Key words recurrent laryngeal nerve; injury; regeneration

喉返神经损伤可导致声音嘶哑、呼吸困难及吞咽困难。神经损伤后,神经受损端出现 Wallerian 变性,同时 Schwann 细胞及相关炎症因子出现继发性改变,以促进轴突再生。研究喉返神经损伤后神经自身的退行性变及再生能力,以及相关喉内肌的失神经改变有助于我们寻求适当的时机及方法进行临床干预,促进损伤修复。我们的前期实验研究了不同类型的喉返神经损伤特点^[1-2],本实验进一步对喉返神经损伤后神经及甲杓肌的变化进行探讨。

1 材料与方法

1.1 实验动物模型的建立及分组

选用健康清洁级实验用 SD 大鼠 95 只,雄性,年龄 8~9 个月,体重 220~250 g。所有实验用鼠内镜系统检查其喉部大体形态及声带运动情况均正常,叫声响亮无异常。1%戊巴比妥钠(35~50 mg/kg)腹腔麻醉大鼠成功后,固定大鼠,于左侧气管食管沟分离喉返神经。以两只单极电极刺激喉返神经,在甲杓肌记录相应动作电位,从而证实确为喉返神经。

喉返神经完全损伤组(横断伤):于第七气管环水平眼科剪剪断 5 mm,确定同侧甲杓肌诱发电位消失后,断端局部筋膜包埋,逐层缝合颈前肌肉、皮下组织及皮肤^[2]。

喉返神经不完全损伤组(钳夹伤):模拟临床喉返神经损伤方式,分离 SD 大鼠左侧喉返神经,以小蚊式钳一个扣钳夹喉返神经 10 min,逐层缝合颈前肌肉、皮下组织及皮肤^[2]。

对照组:手术分离暴露 SD 大鼠左侧喉返神经后,逐层缝合颈前肌肉、皮下组织及皮肤。

1.2 检查方法及步骤

造模成功后 6 h、12 h、1 d、3 d、5 d、1 周、2 周、3 周及 4 周观察以下项目:①喉运动情况。分别对完全损伤组、不完全损伤组以及对照组大鼠在 0°鼻内镜下观察声带运动情况。②喉肌电图检查。应用 Nicolet Vikingquest 肌电图(诱发电位仪),采用同心针电极检测甲杓肌肌电及诱发电位反应,根据进针位置、阻塞呼吸、疼痛刺激等被动活动及肌肉有无相应肌电反应来定位。主要观察指标:a. 常规肌

电特征,包括自发电位特征,平静呼吸时观察喉肌单个运动单位特征,刺激深呼吸时观察募集电位;b. 肌诱发电位特征^[1]。③组织病理检查及透射电镜检查。快速处死大鼠,完整取出大鼠喉部固定、包埋切片(厚 10 cm),苏木精-伊红染色,光学显微镜下每组随机抽取 1 只大鼠观察甲杓肌肌细胞形态,每侧标本选取有观察部位的 3 张切片,于 40×10 倍下计算 1 cm² 格子范围内的肌细胞个数,测量观察部位的数据取均值。

取出左侧喉返神经受损伤部位固定,半数以苏木精-伊红染色,光学显微镜下观察喉返神经变化;半数包埋修块,制半薄切片,以天青-美蓝染色,光镜下定位观察,选定观察位置后制超薄切片,醋酸双氧铀-枸橼酸铅染色,H-7650 透射电镜下观察神经纤维、Schwann 细胞及炎症反应情况。

1.3 统计学分析

采用 SPSS13.0 统计软件进行实验数据的统计学分析,组间比较采用方差分析及秩和检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

实验过程中因感染死亡 2 只、手术死亡 2 只、运输途中死亡 1 只未计入统计外,共计 90 只实验用 SD 大鼠存活至实验结束,并完整接受了检查。完全损伤组、不完全损伤组各 43 例,对照组 4 例,各实验组动物间的年龄、性别、体重等差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.1 喉运动功能

大鼠喉返神经损伤后均即刻出现声带固定。完全损伤组声带均无法恢复正常运动;不完全损伤组中 41 例于伤后 2 周声带活动恢复正常,其余 2 例分别于伤后 3 周及 4 周声带活动恢复正常。

2.2 喉肌电图(甲杓肌)检查结果

造模成功后伤侧甲杓肌即刻呈电静息,诱发电位无法引出。完全损伤组大鼠伤后 1 d 即观察到纤颤波,募集电位呈混合相或单纯相;伤后 4 周出现再生电位,诱发电位均无法引出。不完全损伤组伤后 1 d 开始出现纤颤波,募集电位呈病理性干扰相;伤后 3 d 可引出波幅较小的诱发电位,潜伏期长;伤后 2 周肌电大致正常,偶见纤颤波,募集电位呈干

扰相,诱发电位波幅增大,潜伏期缩短;3 周后肌电及诱发电位恢复正常,未观察到明显的再生电位。对照组大鼠甲杓肌肌电正常。

2.3 组织病理检查及透射电镜检查结果

2.3.1 甲杓肌形态学变化 完全损伤组损伤后 1 d 甲杓肌肌细胞卷曲变形,随着时间的延长横纹溶解,肌细胞轮廓渐模糊等肌萎缩表现逐渐加重,单位面积内肌细胞数量呈下降趋势。不完全损伤组伤后 3 d 出现肌细胞变性,伤后 2 周内,溶解变性现象逐渐加重,单位面积细胞数量下降,与完全损伤组相比,细胞溶解情况相对较轻;2 周后肌萎缩情况渐好转,细胞体积逐渐增大,肌细胞轮廓渐清晰,单位面积内肌细胞数量逐渐增多,但仍少于正常甲杓肌单位面积肌细胞数(图 1)。

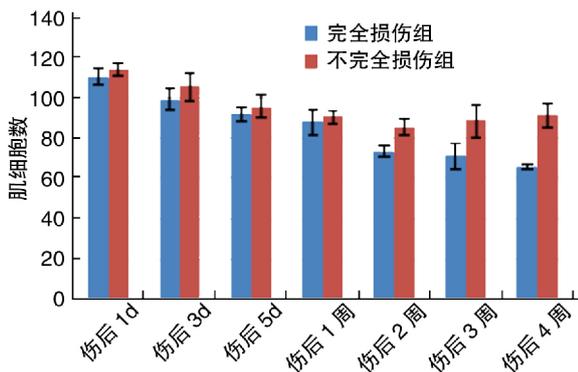


图 1 完全损伤组与不完全损伤组大鼠单位面积甲杓肌数量对比

2.3.2 喉返神经形态学变化 光学显微镜下观察:完全损伤组伤后 1 d 可见部分神经纤维髓鞘崩解,轴索肿胀,伤后 2 周内神经髓鞘崩解逐渐增多,空泡化,溶解坏死,无法清晰区别神经远端与近端的差异,伤后 3~4 周神经纤维基本被纤维组织替代(图 2a、2b);不完全损伤组伤后 1 d 神经纤维崩解坏死最为明显,可见明显的空泡化及大片溶解变性的组织,随时间延长神经变性情况渐好转(图 3a、

3b),伤后 1 周神经基本接近正常。

透射电镜下观察:完全损伤组伤后 1 d 即可观察到轴索肿胀、崩解,微丝微管模糊、消失,髓鞘板层松解变性现象,轴索崩解碎裂情况较髓鞘严重;伤后 2 周内神经变性情况逐渐加重,且远重于近端;伤后 3 周有髓神经纤维基本被大量纤维母细胞、成纤维细胞以及胶原成分所替代,仅见少量无髓神经纤维分布其中;伤后 4 周可观察到少量粗大的形态基本正常的有髓神经纤维(图 4)。Schwann 细胞于伤后 2 周出现吞噬变性的脂滴等现象,伤后 3 d 最为明显;伤后 3 周可见不包绕神经纤维的幼稚 Schwann 细胞,以近端明显。炎症反应于伤后 1 周内最为明显,神经远端较重,以巨噬细胞为主,伴有中性粒细胞等其他炎性成分;伤后 1 d 可见巨噬细胞吞噬尚未变性崩解的有髓神经纤维;伤后 3 d 炎症细胞数量达高峰且最为活跃,巨噬细胞大量吞噬变性物质(图 5a、5b)。不完全损伤组伤后 1 d 神经纤维崩解变性最为严重,轴突肿胀崩解、髓鞘板层松解变性,随后逐渐好转,至伤后 1 周神经结构接近正常,可见散在出现的纤维细胞及少许胶原成分(图 6)。Schwann 细胞于伤后 1 周内吞噬脂滴等崩解产物,未发现幼稚 Schwann 细胞。炎症反应出现于伤后 1 周内,炎症细胞远远少于完全损伤组,以巨噬细胞为主,伤后 3 d 最为活跃(图 5c)。

3 讨论

喉返神经损伤后,神经在分子水平及结构构架上发生自杀性 Wallerian 变性,神经支配的肌肉出现退行性变化。我们前期研究证实喉返神经损伤程度由重至轻依次为完全损伤(全切法)、部分损伤(结扎法>半切法>挫灭法)^[1-2]。本实验进一步针对完全横断及钳夹伤后的喉返神经结构、功能及甲杓肌变化特点进行研究,探讨可能的相互关系。

本实验中不同类型的喉返神经损伤均出现 Wallerian 变性,其变性程度与损伤程度呈正相关,完全损伤组有髓神经纤维的变性崩解情况较不完全损伤组严重,并随着时间的延长而加重,远端变性

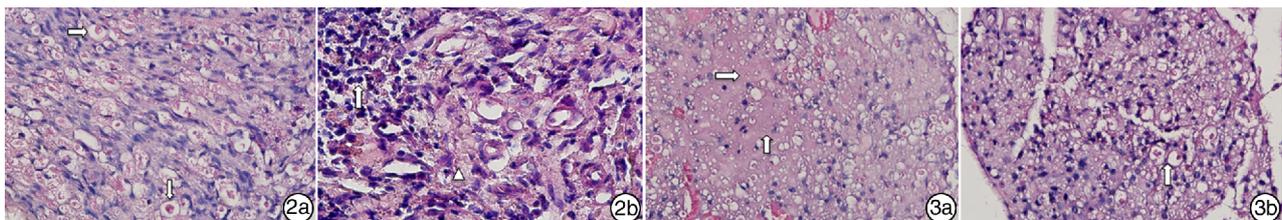


图 2 完全损伤组(苏木精-伊红染色 ×400) 2a:大鼠喉返神经完全损伤 3 d 远端有髓神经纤维空泡化,轴索变性、肿胀(箭头);2b:大鼠喉返神经完全损伤 4 周远端有髓神经纤维基本被纤维组织替代(三角形),Schwann 细胞较密集(箭头); 图 3 不完全损伤组(苏木精-伊红染色 ×400) 3a:大鼠喉返神经不完全损伤 3 d,神经中部大片有髓神经变性溶解(箭头)、空泡化,轴索肿胀, Schwann 细胞核密集,不均匀分布;3b:大鼠喉返神经不完全损伤 5 d,神经变性溶解及空泡化情况减轻(箭头)。

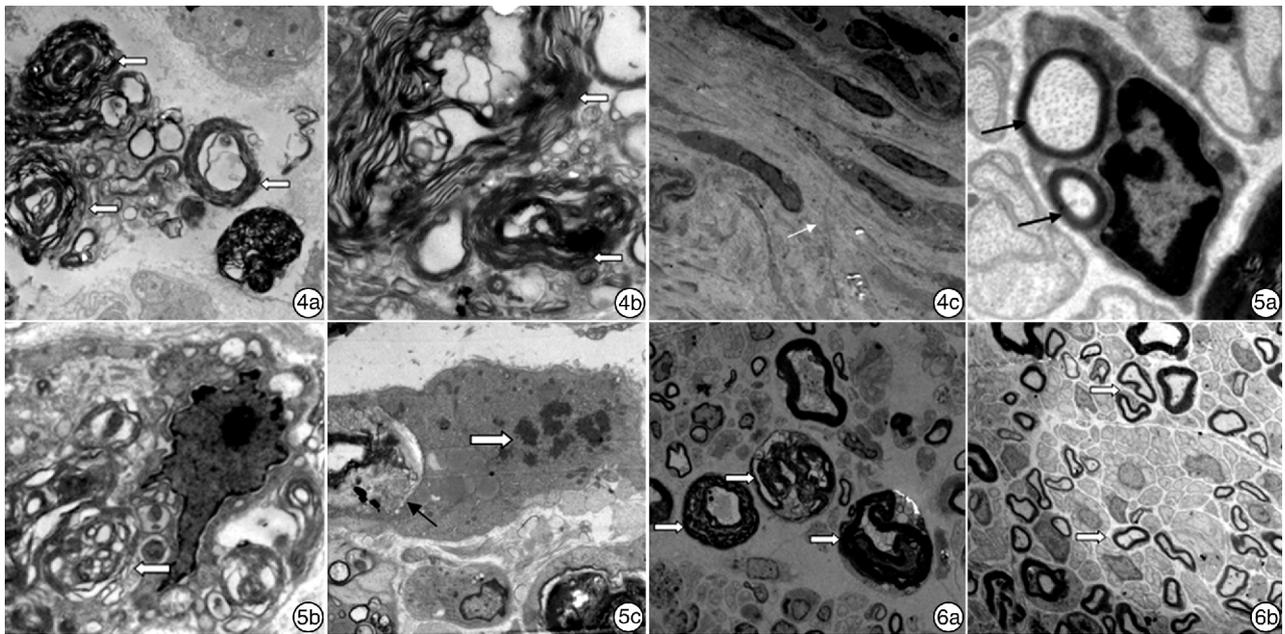


图 4 完全损伤组大鼠喉返神经 4a: 伤后 3 d(近端, Bar=2.0 μm); 4b: 伤后 5 d(近端, Bar=2.0 μm); 4c: 伤后 4 周(近端, Bar=10.0 μm); 有髓神经纤维崩解变性逐渐加重(粗箭头), 被纤维结缔组织替代(细箭头); 图 5 大鼠喉返神经损伤后炎症反应 5a: 完全损伤后 1 d, 巨噬细胞即迁移并吞噬尚未变性崩解的神经纤维(黑箭头)(Bar=1.0 μm); 5b: 完全损伤后 5 d, 大量吞噬变性崩解产物(白箭头)(Bar=2.0 μm); 5c: 不完全损伤后 3 d, 巨噬细胞进行核分裂(白箭头), 同时吞噬变性坏死物质(黑箭头)(Bar=5.0 μm); 图 6 不完全损伤组大鼠喉返神经 6a: 伤后 1 d(Bar=2.0 μm), 6b: 伤后 1 周(Bar=5.0 μm); 有髓神经纤维(白箭头)于伤后 1 d 崩解变性最为明显, 伤后 1 周结构基本正常。

情况比近端更明显, 除考虑周围环境的作用外, 此现象与神经轴突失去胞体的营养作用有关^[3]。喉返神经完全损伤 2 周内, 神经纤维的崩解变性情况最为明显, 单位面积内甲杓肌肌细胞数量下降最快, 失神经变化表现突出。本实验结果显示喉返神经完全损伤后轴突崩解变性早于且程度重于髓鞘的崩解变性, 这一现象产生的机制仍在探讨中。有学者认为轴突的崩解变性是诱发神经纤维脱髓鞘改变的关键因素^[4]; 也有学者研究发现在 Wallerian 变性的初始阶段, 轴突未受损伤的神经纤维也会发生脱髓鞘改变, 轴索变性并不一定是神经脱髓鞘改变的诱发或促进因素^[5]。不完全损伤组在损伤 1 周内轴突与髓鞘损伤程度基本一致, 伤后 1 d 即观察到明显的轴突及髓鞘崩解变性, 考虑与嵌夹对神经的直接损伤有关, 不同于完全损伤组因失神经作用而导致轴突、髓鞘变性程度不一致的现象。目前 Wallerian 变性的机制尚不明确, Wallerian 变性虽然不能降低神经元的死亡数量, 但可延缓胞体凋亡的进程^[6], 并为神经再生提供良好的微环境^[7]。本实验于喉返神经完全损伤后 4 周观察到结构正常、粗大的有髓神经纤维, 同时喉肌电图研究结果显示有再生电位产生, 提示此时可能有再生的有髓神经纤维出现。再生的粗大神经纤维是否能定向支配靶器官并对肌肉关节等产生作用, 仍有待进一步实验观察。有研究发现喉返神经损伤 4 周后可出现

再生的神经纤维, 但再生的神经需于伤后 16~20 周才可达到稳定状态^[8]。神经再生的时间对神经修复及预后具有重要影响, 早期促进神经再生, 有利于受损神经功能恢复。

喉返神经不完全损伤 1 周后神经的超微结构基本接近正常, 伤后 2 周 95% (41/43) 的大鼠声带恢复正常运动, 伤后 3 周喉肌电图肌电及诱发电位恢复正常, 甲杓肌单位面积的数量开始逐渐增加, 再次证实不完全损伤的喉返神经具有自我修复能力^[8], 神经结构的恢复最早, 为喉运动功能及神经电生理的恢复奠定了基础。肌萎缩的缓解情况迟于神经结构及神经电生理的恢复, 提示神经对甲杓肌的肌营养作用具有一定的延迟性。

本实验结果显示, 喉返神经损伤后两组均可观察到 Schwann 细胞的吞噬现象, 吞噬程度及持续时间与神经破坏情况有关, 完全损伤组神经坏死崩解较不完全损伤组严重且持续时间长, Schwann 细胞吞噬现象也表现的更为严重且时间更长。目前普遍认为 Schwann 细胞在神经损伤后几小时内可快速作出应答反应, 释放多种促炎性因子, 调节炎症反应为受损神经再生创造良好环境^[9], 而吞噬作用并非 Schwann 细胞在 Wallerian 变性过程中的主要作用^[10], 也有观点认为 Schwann 细胞可通过上调神经营养因子的表达促进损伤神经的修复^[11]。完全损伤组伤后 3~4 周出现不包绕神经纤维的幼

稚的 Schwann 细胞,且在神经崩解坏死轻的神经近端数量略多,提示神经崩解变性产物可能不是诱导 Schwann 细胞出现再生性变化的主要因素,受损神经近端的细胞微环境可能更利于幼稚 Schwann 细胞出现并发挥作用。有学者研究认为受损神经释放 ATP 是诱导 Schwann 细胞出现损伤修复反应的主要因素^[12],幼稚 Schwann 细胞向神经纤维迁移^[13-14],引导轴突以出芽方式再生并长入远侧残端^[4],防止受损神经元胞体的死亡,为搭建神经再生支架提供了基础。不完全损伤组未观察到明显的幼稚 Schwann 细胞,可能与神经纤维损伤程度轻,诱导产生幼稚 Schwann 细胞的因素较弱有关,因此 Schwann 细胞的再生性表现不明显或缺失。有观点认为幼稚 Schwann 细胞为成熟的 Schwann 细胞转化而来^[15],对神经损伤及修复有着积极的促进作用。

炎症反应在完全损伤组中更为严重,以巨噬细胞迁移、浸润、吞噬为主。实验发现在受损神经尚未出现变化之前,巨噬细胞已经开始向损伤部位迁移并发挥吞噬作用,提示神经纤维的崩解产物可能并不是诱导巨噬细胞迁移活化的主要因素。Rosenberg 等^[16]在研究神经损伤时同样发现了该现象,并且在部分没有变性的神经周围发现了巨噬细胞聚集,进一步证实 Wallerian 变性与巨噬细胞驱动的作用机制不同。本实验观察发现,随着神经纤维的进一步变性崩解,巨噬细胞数量明显增多,推测神经崩解产物可能是加速巨噬细胞迁移活化的因素,这与 Jessen 等^[4]的研究结果相一致。

综上,喉返神经损伤具有一定的自我修复能力,神经结构恢复为神经功能及电生理恢复奠定了基础。喉返神经完全损伤后 4 周出现神经再生,再生的神经能否定向生长并发挥作用尚不确定。Schwann 细胞可发挥吞噬作用,受损神经近端的细胞微环境可能更利于幼稚 Schwann 细胞出现,为搭建神经再生支架提供了基础。炎症反应于伤后 1 周明显,神经纤维崩解产物可能不是诱导巨噬细胞产生趋化作用的原因,但却加速了巨噬细胞的迁移活化。

(致谢:感谢北京神经外科研究所超微病理研究室对本文电镜部分实验的支持与帮助!)

参考文献

- [1] XU W, HAN D, HOU L, et al. Clinical and electrophysiological characteristics of larynx in myasthenia gravis[J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2009, 118: 656-661.
- [2] 徐文,赵功伟,胡慧英,等.喉返神经损伤后喉肌病理生理研究[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2009, 23(9): 403-406.
- [3] ALLODI I, UDINA E, NAVARRO X. Specificity of peripheral nerve regeneration: interactions at the axon level[J]. *Prog Neurobiol*, 2012, 98: 16-37.
- [4] JESSEN K R, MIRSKY R. Negative regulation of myelination: relevance for development, injury, and demyelinating disease[J]. *Glia*, 2008, 56: 1552-1565.
- [5] TAKADA H, YUASA S, ARAKI T. Demyelination can proceed independently of axonal degradation during Wallerian degeneration in wild mice[J]. *Eur J Neurosci*, 2011, 34: 531-537.
- [6] BEIROWSKI B, BABETTO E, COLEMAN M P, et al. The WldS gene delays axonal but not somatic degeneration in a rat glaucoma model[J]. *Eur J Neurosci*, 2008, 28: 1166-1179.
- [7] PITMAN M J, WEISSBROD P, ROARK R, et al. Electromyographic and histologic evolution of the recurrent laryngeal nerve from transection and anastomosis to mature reinnervation [J]. *Laryngoscope*, 2011, 121: 325-331.
- [8] HADLOCK T A, KOWALESKI J, LO D, et al. Rodent facial nerve recovery after selected lesions and repair technique [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2010, 125: 99-109.
- [9] MARTINI R, FISCHER S, LÓPEZ-VALES R, et al. Interactions between Schwann cells and macrophages in injury and inherited demyelinating disease[J]. *Glia*, 2008, 56: 1566-1577.
- [10] STOLL G, GRIFFIN J W, LI C Y, et al. Wallerian degeneration in the peripheral nervous system: participation of both Schwann cells and macrophages in myelin degradation[J]. *J Neurocytol*, 1989, 18: 671-683.
- [11] 付秀美,王荣良,杨振江,等.施万样细胞对大鼠脊神经节 NGF 和 BDNF 表达的影响[J]. *中国临床解剖学杂志*, 2017, 35(1): 48-51.
- [12] INO D, SAGARA H, SUZUKI J, et al. Neuronal Regulation of Schwann Cell Mitochondrial Ca²⁺ Signaling during Myelination[J]. *Cell Rep*, 2015, 12: 1951-1959.
- [13] MIRSKY R, JESSEN K R, BRENNAN A, et al. Schwann cells as regulators of nerve development[J]. *J Physiol Paris*, 2002, 96: 17-24.
- [14] HÖKE A, CHENG C, ZOCHODNE D W. Expression of glial cell line-derived neurotrophic factor family of growth factors in peripheral nerve injury in rats[J]. *Neuroreport*, 2000, 11: 1651-1654.
- [15] TAKAGI T, ISHII K, SHIBATA S, et al. Schwann-spheres derived from injured peripheral nerves in adult mice-their in vitro characterization and therapeutic potential[J]. *PLoS One*, 2011, 6: e21497.
- [16] ROSENBERG A F, WOLMAN M A, FRANZINI-ARMSTRONG C, et al. In vivo nerve-macrophage interactions following peripheral nerve injury[J]. *J Neurosci*, 2012, 32: 3898-3909.

(收稿日期: 2017-03-27)