

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.02.005

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211228.1215.004.html\(2021-12-28\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211228.1215.004.html(2021-12-28))

白果内酯对早产仔鼠 WMI 的改善作用及其机制*

姚娟¹,赵 旻¹,李 娜¹,秦 霞^{2△},赵 剡³

(1. 湖北医药学院附属十堰市人民医院新生儿科,湖北十堰 442000;2. 湖北医药学院附属十堰市人民医院儿科,湖北十堰 442000;3. 武汉大学中南医院急诊科,武汉 430071)

[摘要] **目的** 探讨白果内酯对早产仔鼠脑室周围白质损伤(WMI)的改善作用及其机制。**方法** 对Wistar 孕鼠腹腔注射脂多糖致子宫炎症建造早产仔鼠 WMI 模型,建模仔鼠分为模型组、白果内酯组、激动剂组,另取腹腔注射生理盐水孕鼠作为对照组。白果内酯组、激动剂组分别腹腔注射白果内酯、Ras 同源基因(Rho)/Rho 相关卷曲螺旋形成蛋白激酶(ROCK)通路激动剂+白果内酯干预,模型组、对照组腹腔注射等体积生理盐水,连续干预 2 周。采用悬吊实验、斜坡实验、旷场实验检测仔鼠神经行为学,HE 染色观察仔鼠侧脑室与脑白质病理学,免疫组化法检测仔鼠少突胶质细胞凋亡情况,Western blot 检测仔鼠脑组织 Rho/ROCK 通路相关蛋白表达。**结果** 模型组、激动剂组、白果内酯组、对照组仔鼠悬吊实验评分逐渐增加、斜坡实验时间逐渐减少、旷场实验评分逐渐增加($P<0.05$),侧脑室指数逐渐下降($P<0.05$)。模型组脑白质染色淡,结构稀疏,细胞排列紊乱,核固缩;激动剂组、白果内酯组脑白质染色、结构、细胞排列等均明显改善。模型组、激动剂组、白果内酯组、对照组,仔鼠脑白质 O4 阳性细胞数逐渐增加,p-RhoA、ROCK2、p-MLC2 蛋白表达逐渐下降($P<0.05$)。**结论** 白果内酯可能通过下调 Rho/ROCK 通路抑制少突胶质细胞凋亡,减轻早产仔鼠 WMI。

[关键词] 白果内酯;Ras 同源基因/Rho 激酶通路;少突胶质细胞;早产;脑白质损伤

[中图法分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)02-0204-05

Improvement effect of ginkgo lactone on WMI in preterm neonatal rats*

YAO Juan¹, ZHAO Yang¹, LI Na¹, QIN Xia^{2△}, ZHAO Yan³

(1. Department of Neonatology; 2. Department of Pediatrics, Shiyan Municipal People's Hospital, Hubei Medical College, Shiyan, Hubei 442000, China; 3. Department of Emergency, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430071, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the improvement effect of ginkgo lactone on the periventricular white matter injury (WMI) in preterm neonatal rats and its mechanism. **Methods** The pregnant Wistar rat was intraperitoneally injected by lipopolysaccharide (LPS) to establish the preterm neonatal rat WMI model. The modelled neonatal rats were divided into the model group, ginkgo lactone group and agonist group. The pregnant rats injected by normal saline served as the control group. The ginkgo lactone group and agonist group were intraperitoneally injected by ginkgo lactone and Ras homologous gene (Rho)/Rho associated coiled coil forming protein kinase (ROCK) pathway agonist+ginkgo lactone intervention, the model group and control group were intraperitoneally injected by equal volume of normal saline for consecutive 2 weeks intervention. The suspension test, slope test and open field test were used to detect the neuroethology in the neonatal rats. The HE staining was used to observe the pathological changes of lateral ventricle and cerebral white matter. The apoptosis of oligodendrocytes was detected by immunohistochemistry. Western blot was used to detect the expression of Rho/ROCK pathway related proteins. **Results** The score of suspension test in the model group, agonist group, ginkgo lactone group and control group was gradually increased, the slope test time was gradually decreased, the open field test score was gradually increased ($P<0.05$), and the lateral ventricle index was gradually decreased ($P<0.05$). In the model group, the cerebral white matter staining was light, the structure was sparse, the cell arrangement was disordered, and the nuclear had pyknosis; in the agonist group and ginkgo lactone group, the white matter staining, structure and cell arrangement were significantly

* 基金项目:湖北省卫生健康委 2019 年度第一批联合基金立项项目(WJ2019H010)。 作者介绍:姚娟(1986—),主治医师,本科,主要从事新生儿脑损伤的诊断及治疗研究。 △ 通信作者, E-mail:307019846@qq.com。

improved. The number of O4 positive cells in the white matter of the model group, agonist group, ginkgo lactone group and control group was gradually increased, and the expression levels of p-RhoA, ROCK2 and p-MLC2 proteins were gradually decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Ginkgo lactone may inhibit the oligodendrocyte apoptosis by down-regulating Rho/ROCK pathway, and alleviate WMI in preterm neonatal rats.

[Key words] ginkgo lactone; Ras homolog/Rho kinase pathway; oligodendrocyte; preterm birth; white matter injury

随着早产儿成活率的上升,幸存的早产儿脑损伤问题日益突出。脑室周围白质损伤(white matter injury, WMI)是最主要脑损伤,不但会增加早期病死率,还可诱发诸多后遗症,已成为新的公共卫生与社会问题^[1]。据报道^[2],WMI 可影响少突胶质细胞的正常分化、成熟,致大脑发育不良,是早产儿神经功能发育障碍的主要病因。目前国内外尚缺乏早产儿 WMI 的有效防治策略,故探讨早产儿 WMI 的发生机制,寻找神经保护药物尤为迫切。白果内酯是银杏叶提取物中唯一一种倍半萜内酯化合物,具有抗氧化应激、保护线粒体功能、抗兴奋性毒性等作用,被广泛应用于缺血性脑中风、阿尔兹海默症等脑神经损伤疾病治疗。关婷等^[3]证明以白果内酯为主要成分的中成药可用于改善神经功能缺损。但白果内酯在早产儿 WMI 治疗中的作用及其机制尚不清楚,故本研究制作早产仔鼠 WMI 模型,观察白果内酯对仔鼠 WMI 的改善作用及其可能机制,为临床治疗早产儿 WMI 提供新的途径。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

7 周龄 SPF 级 Wistar 大鼠购自北京斯贝福生物技术有限公司,雌性 18 只,体重(230 ± 10)g,雄性 6 只,体重(210 ± 10)g,生产许可证号 SCXK(京)2019-0010。实验开展前适应性饲养 1 周,饲养室温(23 ± 2)℃,相对湿度 40%~60%,12 h 自然光照,自由摄食饮水。本实验操作符合一般动物实验伦理学原则。

1.1.2 主要试剂和仪器

白果内酯(HPLC $\geq 98\%$,成都格利普生物科技有限公司)。O4 抗体免疫组化试剂盒(上海赫澎生物科技有限公司,生产批号:20190506),兔抗大鼠 Ras 同源基因家族成员 A(RhoA)、磷酸化 RhoA(p-RhoA)、Rho 相关卷曲螺旋形成蛋白激酶(ROCK)、重组人轻链 Ventricular 肌球蛋白 2(MLC2)、磷酸化 MLC2(p-MLC2)、 β -actin 一抗(上海钰博生物科技有限公司),辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗(上海碧云天生物技术有限公司)。GE ImageQuant LAS 500-生物分子成像仪(美国 Thermo Fisher 公司)。

1.2 方法

1.2.1 造模及分组

适应性饲养结束后,将 3 只雌性大鼠与 1 只雄性大鼠同笼饲养,每天早上检查雌性大鼠阴栓,从孕鼠

中取 12 只建立 WMI 模型^[4]:在雌性大鼠出现阴道栓后第 16、17 天注射脂多糖 350 $\mu\text{g/kg}$,每天 1 次,同时取 6 只孕鼠注射等体积生理盐水。将造模孕鼠孕期 ≤ 21 d 分娩的仔鼠定义为早产 WMI,分为模型组、白果内酯组、激动剂组,每组 12 只。将 6 只孕鼠足月(22~23 d)分娩的仔鼠作为对照组(10 只)。4 组仔鼠均与雌鼠同笼饲养,仔鼠出生 3 d 后开始干预,白果内酯组、激动剂组分别腹腔注射白果内酯 3.5 mg/kg、Rho/ROCK 通路激动剂 LPA 50 $\mu\text{g/mL}$ +白果内酯 3.5 mg/kg 干预,模型组、对照组腹腔注射等体积生理盐水,连续干预 2 周。

1.2.2 仔鼠神经行为学测定

仔鼠干预 2 周后,采取悬吊实验、斜坡实验、旷场实验检测仔鼠神经行为学。悬吊实验:让仔鼠前腿抓住一根水平玻璃棒(直径 0.5 cm),离开桌面 45 cm,记录仔鼠掉下时间,计分标准: < 10 s 计 1 分,10~30 s 计 2 分, > 30 s~2 min 计 3 分, $> 2 \sim 5$ min 计 4 分, > 5 min 计 5 分。斜坡实验:仔鼠头朝下倒置 45°斜面上,记录其转位为头朝上角度 $> 135^\circ$ 的时间。旷场实验:用装置为 36 cm $\times$ 36 cm $\times$ 36 cm 的纸箱,无顶,箱底以墨线分成 9 个等面积小方格,将仔鼠置于中间方格上,观察其 15 s 内活动情况,从所在方格中进入相邻方格计 1 分,累计仔鼠 15 s 进入方格数并记录总分。

1.2.3 HE 染色观察仔鼠侧脑室面积及脑白质病理学

干预 2 周后,麻醉断头处死并取出全脑组织,一部分冻存于 -80°C 待 Western blot 检测,另一部分石蜡包埋,制作 6 μm 厚的冠状脑片。HE 染色:脱蜡水化后,切片浸入苏木素液中染色细胞核,分化返蓝后,浸入伊红液中染色细胞质,梯度乙醇脱水,中性树胶封片。显微镜观察脑组织形态,Image J 软件量化全脑及左、右脑室面积,侧脑室指数(%)=左右脑室面积之和/全脑面积 $\times 100\%$ 。

1.2.4 免疫组化法检测仔鼠少突胶质细胞凋亡情况

冠状脑片脱蜡水化,参考 O4 抗体免疫组化试剂盒说明书操作:用 3%过氧化氢溶液置于玻片上进行热修复抗原,封闭玻片后,加兔抗仔鼠 O4 抗体(1:500 稀释),37℃孵育 1 h,加生物素标记的山羊抗兔 IgG 二抗,室温孵育 0.5 h,DAB 显色,显微镜下随机选取 3 个视野,用 Image J 软件观察阳性信号。

1.2.5 Western blot 检测仔鼠脑组织 Rho/ROCK 通路相关蛋白表达

取仔鼠脑组织用 RIPA 裂解液裂解,BCA 法定量蛋白浓度,上样后沸水浴变性,取等量蛋白进行 SDS-PAGE 分离,将目的蛋白转移到 PVDF 膜。将 PVDF 膜置入 10% 脱脂奶粉中封闭 2 h,加入兔抗仔鼠 RhoA(1 : 500 稀释)、p-RhoA(1 : 500 稀释)、ROCK2(1 : 500 稀释)、MLC2(1 : 500 稀释)、p-MLC2(1 : 500 稀释)、 β -actin(1 : 500 稀释)一抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日取出 PVDF 膜,加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗(1 : 1 000 稀释),避光反应 1 h,加入 ECL 发光底物显色。Image Quant LAS 4000 mini 显影分析目的蛋白相对表达量。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,方差齐采用单因素方差分析与 LSD- t 比较,方差不齐采用 Welch 检验 Dunnett T3 比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 仔鼠神经行为学评分

与对照组比较,模型组、激动剂组、白果内酯组仔鼠悬吊实验评分减少、斜坡实验时间增加、旷场实验评分减少($P < 0.05$);与模型组比较,激动剂组、白果内酯组悬吊实验评分增加、斜坡实验时间减少、旷场实验评分增加($P < 0.05$);与激动剂组比较,白果内酯组悬吊实验评分增加、斜坡实验时间减少、旷场实验评分增加($P < 0.05$),见表 1。

2.2 仔鼠侧脑室指数

HE 染色结果显示:与对照组比较,模型组仔鼠侧脑室面积增大,侧脑室指数升高($P < 0.05$);与模型组比较,激动剂组、白果内酯组侧脑室面积减小,侧脑室指数下降($P < 0.05$);与激动剂组比较,白果内酯组侧脑室面积减小,侧脑室指数下降($P < 0.05$),见图 1。

2.3 仔鼠脑白质病理学

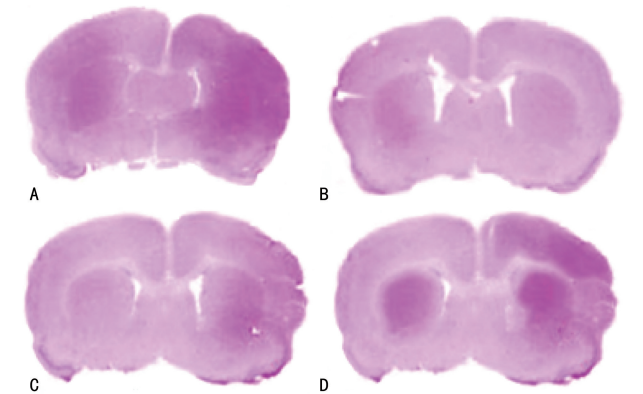
对照组仔鼠脑白质染色清晰,结构正常,细胞排

列正常,核大而深染;与对照组比较,模型组脑白质染色淡,结构稀疏,细胞排列紊乱,核固缩;激动剂组、白果内酯组脑白质染色、结构、细胞排列等均明显改善,见图 2。

表 1 仔鼠神经行为学评分($\bar{x} \pm s$)

组别	悬吊实验(分)	斜坡实验(s)	旷场实验(分)
对照组	4.31 $\pm$ 0.34	2.17 $\pm$ 0.12	6.72 $\pm$ 0.22
模型组	0.96 $\pm$ 0.11 ^a	4.92 $\pm$ 0.31 ^a	4.05 $\pm$ 0.34 ^a
激动剂组	1.88 $\pm$ 0.16 ^{ab}	3.36 $\pm$ 0.15 ^{ab}	5.11 $\pm$ 0.29 ^{ab}
白果内酯组	3.56 $\pm$ 0.23 ^{abc}	2.89 $\pm$ 0.23 ^{abc}	6.08 $\pm$ 0.25 ^{abc}
F	227.034	145.888	87.551
P	<0.001	<0.001	<0.001

^a: $P < 0.05$,与对照组比较;^b: $P < 0.05$,与模型组比较;^c: $P < 0.05$,与激动剂组比较。

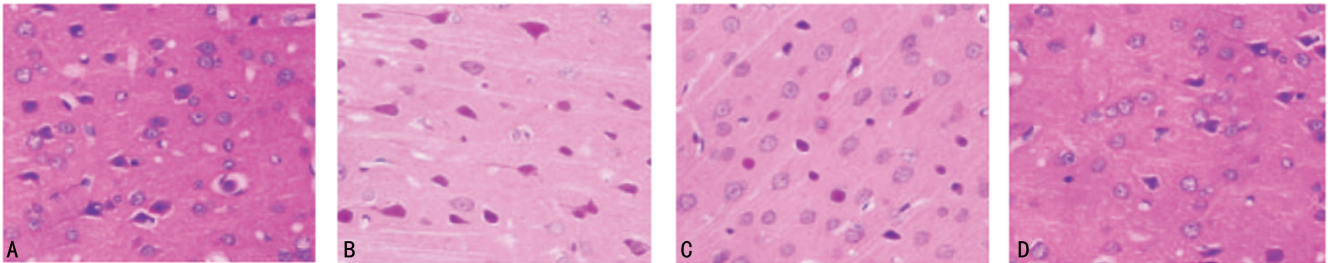


A:对照组;B:模型组;C:激动剂组;D:白果内酯组。

图 1 HE 染色观察仔鼠侧脑室扩张情况($\times 400$)

2.4 仔鼠少突胶质细胞凋亡情况

免疫组化染色显示,对照组仔鼠胼胝体、扣带回处 O4 表达丰富,阳性细胞数多;与对照组比较,模型组仔鼠 O4 阳性细胞数明显减少;与模型组比较,激动剂组与白果内酯组 O4 阳性细胞数有所增加,见图 3。



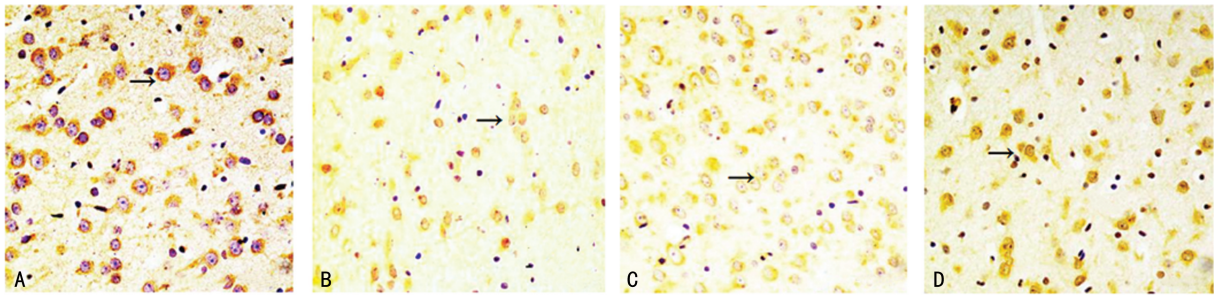
A:对照组;B:模型组;C:激动剂组;D:白果内酯组。

图 2 仔鼠脑白质 HE 染色($\times 400$)

2.5 仔鼠脑组织 Rho/ROCK 通路相关蛋白表达

各组仔鼠脑组织 RhoA、MLC2 蛋白表达比较差异无统计学意义($P > 0.05$),p-RhoA、ROCK2、p-MLC2 蛋白表达比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。与对照组比较,模型组、激动剂组、白果内酯组 p-

RhoA、ROCK2、p-MLC2 蛋白表达升高($P < 0.05$);与模型组比较,激动剂组、白果内酯组 p-RhoA、ROCK2、p-MLC2 蛋白表达降低($P < 0.05$);与激动剂组比较,白果内酯组 p-RhoA、ROCK2、p-MLC2 蛋白表达降低($P < 0.05$),见表 2、图 4。



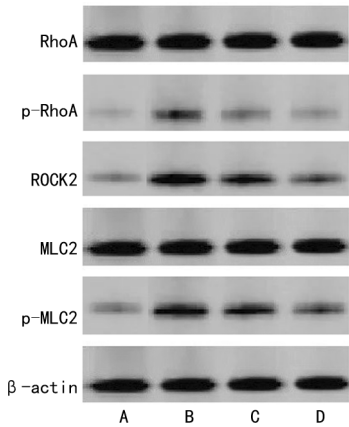
A: 对照组; B: 模型组; C: 激动剂组; D: 白果内酯组; →: O4 阳性细胞。

图 3 仔鼠少突胶质细胞凋亡免疫组化(×400)

表 2 仔鼠 Rho/ROCK 通路相关蛋白表达($\bar{x} \pm s$)

组别	RhoA	p-RhoA	ROCK2	MLC2	p-MLC2
对照组	1.12±0.13	0.11±0.01	0.20±0.02	1.09±0.14	0.21±0.03
模型组	1.13±0.11	0.46±0.09 ^a	0.91±0.12 ^a	1.08±0.16	0.62±0.09 ^a
激动剂组	1.15±0.13	0.33±0.03 ^{ab}	0.63±0.06 ^{ab}	1.07±0.15	0.47±0.05 ^{ab}
白果内酯组	1.14±0.12	0.21±0.02 ^{abc}	0.42±0.03 ^{abc}	1.09±0.13	0.39±0.02 ^{abc}
F	0.055	48.193	94.991	0.022	49.006
P	0.982	<0.001	<0.001	0.995	<0.001

^a: $P < 0.05$, 与对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较; ^c: $P < 0.05$, 与激动剂组比较。



A: 对照组; B: 模型组; C: 激动剂组; D: 白果内酯组。

图 4 各组仔鼠 Rho/ROCK 通路相关蛋白电泳图

3 讨 论

WMI 为早产儿脑病主要表现形式,对早产儿神经系统正常发育造成极大影响,往往遗留脑瘫、认知及视听功能障碍等后遗症^[5]。目前,关于早产儿 WMI 的发生机制尚不清楚,ALTENDAHL 等^[6]认为围生期子宫炎症改变了脑白质发育过程,为诱发早产儿 WMI 的主要因素,故本研究采用腹腔注射脂多糖致子宫炎症的方法。目前国内外对早产儿 WMI 尚无统一特效治疗标准,探索新的神经保护药物是治疗该病的关键方向。白果是一种药用价值显著的天然植物,药用历史悠久,白果内酯为其主要药效成分,有抗炎、抗血小板聚集等作用,长期用于增强免疫力、防治心脑血管疾病治疗^[7-8]。白果内酯已经进入神经系统疾病相关的临床实验研究中,但对早产 WMI 动物模型研究的数据鲜见。本研究主要从早产仔鼠 WMI 侧

脑室及脑白质病理损伤、少突胶质细胞特殊标记物表达角度,初步探讨白果内酯对早产仔鼠 WMI 的神经保护作用,为今后临床防治早产儿 WMI 提供参考。

悬吊实验、斜坡实验、旷场实验为公认的行为学检测方法,指标可观,可快速获得数据。悬吊实验可评估仔鼠随意运动能力,斜坡实验评估躯体协调与平衡能力,旷场实验评估仔鼠运动活力。本研究结果显示:与模型组比较,白果内酯组悬吊实验评分增加、斜坡实验时间减少、旷场实验评分增加,提示白果内酯可改善早产仔鼠 WMI 的神经行为学。侧脑室扩张是 WMI 主要症状表现,经 HE 染色观察仔鼠侧脑室与脑白质病理学发现,与模型组比较,白果内酯组侧脑室面积减小,侧脑室指数下降,脑白质结构、染色、细胞核变化等均明显改善,提示白果内酯可抑制 WMI 症状,减轻 WMI。少突胶质细胞是脑白质的主要成分,为轴突提供营养支持与能量,参与维持神经元轴突信号传递与神经功能^[9]。CHAVALI 等^[10]报道,少突胶质细胞凋亡参与了 WMI。宫内感染激活胎儿小胶质细胞,介导了细胞因子、补体、白细胞等参与的免疫性炎症,损伤少突胶质细胞前体细胞,抑制了髓鞘形成,从而出现严重 WMI。O4 为少突胶质细胞前体细胞的生物标记物,在细胞膜上呈阳性表达,早产儿发生 WMI 时,少突胶质细胞分化过程受阻,可导致 O4 表达水平下降^[11]。本研究通过免疫组化染色检测 O4 表达水平,评估少突胶质细胞分化程度,结果显示:与模型组比较,白果内酯组仔鼠脑白质 O4 阳性细胞数增加,提示白果内酯可抑制少突胶质细胞凋亡,可能与其抗炎作用有关。

Rho 蛋白是小分子 G 蛋白,RhoA 为 Rho 家族成员之一^[12]。研究表明脑白质髓鞘抑制因子是通过活化 RhoA 这一共同分子开关信号通路,诱发一系列反应,影响轴突再生,最终损伤脑白质。RhoA 为 ROCK 最早发现的 Rho 效应物,可能是脑白质轴突生长的抑制性蛋白发挥作用的焦点^[13]。ROCK 是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族成员,为 RhoA 下游靶效应分子,根据基因编码不同分为 ROCK1 和 ROCK2 两种亚型^[14]。其中,ROCK2 主要表达于大脑皮层、海马椎体神经元,据报道 ROCK2 在小鼠出生后大脑发育阶段的表达上调^[15]。Rho 受外界刺激活化后,将活化信号传递到下游靶分子——ROCK 后,作用于其底物 MLC,直接使其磷酸化,从而调控细胞动态变化。据报道^[16],Rho/ROCK 通路异常激活与 WMI 相关,但多数报道集中于缺血性动物模型中。本研究结果显示:与模型组比较,激动剂组、白果内酯组 p-RhoA、ROCK2、p-MLC2 蛋白表达降低,其中以白果内酯组上述蛋白表达最低,提示白果内酯可能通过下调 Rho/ROCK 通路改善早产仔鼠 WMI。

综上所述,白果内酯可能通过下调 Rho/ROCK 通路,抑制少突胶质细胞凋亡,从而减轻早产仔鼠 WMI。

参考文献

- [1] SCHNEIDER J, MILLER S P. Preterm brain injury: white matter injury [J]. *Handb Clin Neurol*, 2019, 162: 155-172.
- [2] SEN T, SAHA P, GUPTA R, et al. Aberrant ER stress induced neuronal-IFN β elicits white matter injury due to microglial activation and T-Cell infiltration after TBI [J]. *J Neurosci*, 2020, 40(2): 424-446.
- [3] 关婷,王思思. 银杏内酯注射液对高危非致残性缺血性脑卒中患者炎症因子水平及神经功能缺损的影响 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2019, 28(16): 1784-1787.
- [4] 唐颖林,周齐艳,张士发. 法舒地尔减轻早产仔鼠脑白质损伤 [J]. *中国病理生理杂志*, 2020, 36(10): 79-85.
- [5] O'MUIRCHARTAIGH J, ROBINSON E C, PIETSCH M, et al. Modelling brain development to detect white matter injury in term and preterm born neonates [J]. *Brain*, 2020, 143(2): 467-479.
- [6] ALTENDAHM M, MAILLARD P, HARVEY D, et al. An IL-18-centered inflammatory network as a biomarker for cerebral white matter injury [J]. *PLoS One*, 2020, 15(1): e0227835.
- [7] 黄茸茸,陆松侠,许燕,等. 白果内酯对 A β ₁₋₂₅ 诱导 HT22 细胞损伤及 NLRP-1 炎症小体激活的影响 [J]. *中成药*, 2020, 42(9): 75-81.
- [8] 熊丽丹,唐洁,李利. 白果内酯和银杏内酯 B 对过氧化氢诱导人角质形成细胞氧化损伤的保护作用 [J]. *日用化学工业*, 2019, 49(8): 531-536.
- [9] MIYAMOTO N, MAGAMI S, INABA T, et al. The effects of A1/A2 astrocytes on oligodendrocyte lineage cells against white matter injury under prolonged cerebral hypoperfusion [J]. *Glia*, 2020, 68(9): 1910-1924.
- [10] CHAVALI M, ULLOA-NAVAS M J, PÉREZ-BORREDÁ P, et al. Wnt-dependent oligodendroglial-endothelial interactions regulate white matter vascularization and attenuate injury [J]. *Neuron*, 2020, 108(6): 1130-1145.
- [11] BOCCAZZI M, VAN STEENWINCKEL J, SCHA NG A L, et al. The immune-inflammatory response of oligodendrocytes in a murine model of preterm white matter injury: the role of TLR3 activation [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(2): 166.
- [12] DENG Z, JIA Y, LIU H, et al. RhoA/ROCK pathway: implication in osteoarthritis and therapeutic targets [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(9): 5324-5331.
- [13] WANG J, LI H, YAO Y, et al. β -Elemene enhances GAP-43 expression and neurite outgrowth by inhibiting RhoA kinase activation in rats with spinal cord injury [J]. *Neuroscience*, 2018, 383: 12-21.
- [14] YAN J, PAN Y, ZHENG X, et al. Comparative study of ROCK1 and ROCK2 in hippocampal spine formation and synaptic function [J]. *Neurosci Bull*, 2019, 35(4): 649-660.
- [15] 刘方,王燕,刘敬,等. 牛磺酸抑制 Rho/ROCK 信号通路活性促进生长受限胎鼠神经干细胞增殖的研究 [J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2017, 32(2): 130-134.
- [16] DYCK S, KATARIA H, AKBARI-KELACHA YEY K, et al. LAR and PTP σ receptors are negative regulators of oligodendrogenesis and oligodendrocyte integrity in spinal cord injury [J]. *Glia*, 2019, 67(1): 125-145.