

脊髓压迫和半横断损伤小鼠模型的时空基因表达谱及修复机制研究

徐 波¹, 陈泰任², 方 乾¹, 吴 际¹

(1. 上海交通大学 Bio-X 研究院遗传发育与精神神经疾病教育部重点实验室, 上海 200240; 2. 赣州市人民医院病理科, 赣州 341000)

[摘要] **目的** 旨在深入探讨脊髓压迫损伤和半横断损伤小鼠模型在亚急性至慢性期 (1~28 d), 局部微环境中相关基因的表达次序及其分子机制, 从而揭示其脊髓修复的分子特征, 并为脊髓损伤治疗靶点的选择提供理论依据。**方法** 选用 36 只 8~9 周龄 SPF 级 ICR 小鼠, 随机分为假手术对照 (CTR) 组、脊髓半横断损伤 (HSCI) 组和脊髓压迫损伤 (SCC) 组, 每组 12 只。CTR 组小鼠经麻醉后, 仅行椎板切除术暴露 T₉~T₁₀ 节段的硬脊膜, 并保持其完整, 在空气中暴露 10 min 后缝合切口, 不施加任何损伤干预; HSCI 组小鼠在 CTR 组操作的基础上, 通过显微器械横断 70% 的 T₉ 节段脊髓组织构建脊髓半横断损伤模型; SCC 组小鼠也在 CTR 组操作的基础上, 采用自制压迫器 (30 g 实心小铁棒) 持续压迫 T₁₀ 节段脊髓 10 min 构建脊髓压迫损伤模型。在术后第 1、3、7、14、21 及 28 天, 采用改良 BBB (Basso-Beattie-Bresnahan) 评分法评估各组小鼠运动功能的恢复情况; 在术后第 7、14 天, 将小鼠麻醉后, 取损伤段脊髓组织, 通过 RNA 测序 (RNA-Seq) 和富集分析来解析脊髓损伤小鼠模型中特异的分子网络演变, 并利用实时荧光定量 PCR 法验证关键基因的表达情况。**结果** BBB 评分结果显示, SCC 组小鼠的运动功能恢复情况显著优于 HSCI 组, 其 BBB 评分在 4 周内呈持续上升趋势且高于 HSCI 组 ($P<0.001$)。基于 RNA-Seq 差异表达基因的基因本体 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组数据库 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 富集分析显示: 与 CTR 组相比, SCC 组在术后第 7 天, 细胞外基质相关基因显著上调 ($P<0.05$), 而轴突引导相关基因显著下调 ($P<0.05$); 在术后第 21 天, SCC 组免疫调控和视黄醇信号通路相关基因被显著激活 ($P<0.05$)。相比之下, HSCI 组在术后第 7 天, 炎症和免疫反应基因显著上调 ($P<0.001$), 神经元分化和突触形成相关基因则显著下调 ($P<0.001$); 在术后第 21 天, 细胞-基质连接和 N-甲基-D-天门冬氨酸受体相关基因显著上调 ($P<0.001$)。此外, 与 SCC 组相比, HSCI 组在损伤后第 7 天和第 21 天的 GO 和 KEGG 富集分析中表现出不同的通路富集特征。术后第 7 天, HSCI 组中的 NOD 样受体信号通路以及补体和凝血级联反应相关基因显著上调 ($P<0.001$); 而在术后第 21 天, 细胞外基质-受体相互作用和神经活性配体-受体相互作用通路相关基因被显著激活 ($P<0.001$)。最后, 实时荧光定量 PCR 验证结果与 RNA-Seq 结果高度一致, 进一步确认了 SCC 组和 HSCI 组关键基因表达趋势的差异。**结论** 脊髓压迫损伤与脊髓半横断损伤模型可能驱动了不同的修复路径: SCC 模型中部分轴突的保留使其更倾向于组织修复, 而脊髓半横断损伤模型则需协调更复杂的分子网络以达成新的平衡。这一发现进一步深化了对脊髓损伤异质性调控机制的理解。

[关键词] 脊髓损伤; ICR 小鼠; 小鼠模型; 脊髓压迫损伤; 脊髓半横断损伤; RNA 测序; 神经修复

[中图分类号] Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2026)01-0032-14

Research on Spatiotemporal Gene Expression Profiles and Repair Mechanisms of Spinal Cord Compression and Hemisection Spinal Cord Injury Mouse Models

XU Bo¹, CHEN Tairen², FANG Qian¹, WU Ji¹

(1. Key Laboratory of Hereditary Development and Mental Neurological Diseases of the Ministry of Education, Bio-X Institute, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; 2. Pathology Department of Ganzhou People's Hospital, Ganzhou 341000, China)

Correspondence to: WU Ji (ORCID: 0000-0002-6424-9783), E-mail: jiwu@sjtu.edu.cn



[第一作者] 徐 波 (1979—), 男, 本科, 实验师, 研究方向: 生殖发育相关实验技术研究。E-mail: smartassi@sjtu.edu.cn。ORCID: 0009-0001-0506-0884

[通信作者] 吴 际 (1963—), 女, 博士, 教授, 研究方向: 分子生殖生物与干细胞生物。E-mail: jiwu@sjtu.edu.cn。ORCID: 0000-0002-6424-9783

[ABSTRACT] Objective To investigate the gene expression sequence and molecular mechanisms in the local microenvironment during the subacute to chronic phases (1-28 days) in mouse models of spinal cord compression injury and hemisection spinal cord injury, thereby revealing the molecular characteristics of spinal cord repair and providing a theoretical basis for selecting therapeutic targets for spinal cord injury.

Methods Thirty-six 8-9-week-old SPF-grade ICR mice were randomly divided into three groups ($n=12$ per group): sham-operated control (CTR) group, hemisection spinal cord injury (HSCI) group, and spinal cord compression injury (SCC) group. Mice in the CTR group underwent the same surgical preparation and anesthesia, followed by a dorsal midline incision at the T_9 - T_{10} segment. After layer-by-layer dissection and removal of the corresponding lamina, the spinal cord dura mater was fully exposed and kept intact. The cord was exposed to air for 10 minutes (matching the duration of the compression injury group), during which any instrument contact with the cord was avoided. The incision was then irrigated and sutured. The HSCI group underwent a 70% transection of the T_9 spinal cord segment using micro-instruments to establish a hemisection spinal cord injury model. The SCC group underwent sustained compression of the T_{10} spinal cord segment for 10 minutes using a self-made compressor (a 30 g solid small iron bar) to establish a spinal cord compression injury model. Motor function recovery was assessed using the modified Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) score on postoperative days 1, 3, 7, 14, 21, and 28. On days 7 and 14 post-operation, mice were anesthetized, and the injured spinal cord segments were harvested. The evolution of specific molecular networks in the spinal cord injury mouse models was analyzed via RNA sequencing (RNA-Seq) and enrichment analysis, and the expression of key genes was verified using real time fluorogenic quantitative PCR.

Results BBB scores indicated that motor function recovery in the SCC group was significantly better than that in the HSCI group, with BBB scores showing a continuously increasing trend and remaining higher than those in the HSCI group over the 4-week period ($P<0.001$). Gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analyses based on RNA-Seq differentially expressed genes revealed that, compared to the CTR group, genes related to the extracellular matrix were significantly up-regulated ($P<0.05$), while genes related to axon guidance were significantly down-regulated ($P<0.05$) in the SCC group on day 7 post-operation. On day 21, genes involved in immune regulation and the retinol signaling pathway were significantly activated in the SCC group ($P<0.05$). In contrast, in the HSCI group, genes associated with inflammation and immune response were significantly up-regulated ($P<0.001$), while genes related to neuronal differentiation and synapse formation were significantly down-regulated ($P<0.001$) on day 7. On day 21, genes related to cell-matrix junctions and N-methyl-D-aspartate receptors were significantly up-regulated ($P<0.001$) in the HSCI group. Furthermore, compared to the SCC group, the HSCI group exhibited different pathway enrichment characteristics in GO and KEGG analyses on days 7 and 21 post-injury. On day 7, genes involved in the NOD-like receptor signaling pathway and the complement and coagulation cascades were significantly up-regulated in the HSCI group ($P<0.001$). On day 21, genes related to the extracellular matrix-receptor interaction and the neuroactive ligand-receptor interaction pathways were significantly activated ($P<0.001$). Finally, real time fluorogenic quantitative PCR validation results were highly consistent with the RNA-Seq results, further confirming the differential expression trends of key genes between the SCC and HSCI groups.

Conclusion The SCC and HSCI injury models may drive distinct repair pathways: the preservation of some axons in the SCC model predisposes it toward tissue repair, whereas the HSCI model requires the coordination of more complex molecular networks to achieve a new equilibrium. This finding further deepens the understanding of the heterogeneous regulatory mechanisms underlying spinal cord injury.

[Key words] Spinal cord injury; ICR mice; Mouse model; Spinal cord compression injury; Hemisection spinal cord injury; RNA-Seq; Neural repair

脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 是指外伤或疾病等因素导致脊髓结构或功能受损, 从而引起损伤平

面以下的运动、感觉及自主神经功能障碍的一种严重疾病。作为导致青壮年残疾与功能障碍的主要原因之

一, SCI不仅给患者个体带来沉重的身心负担,也构成了重大的公共卫生挑战。脊髓损伤后的功能恢复存在显著的个体异质性,这一特征与损伤局部微环境的动态演变密切相关^[1]。临床上,脊髓压迫损伤(spinal cord compression injury)与脊髓半横断损伤(hemisection spinal cord injury)是两种典型的脊髓损伤类型,其在外科诊断、病理机制与修复基础上存在显著差异:脊髓压迫损伤通常由持续性物理压迫引起,以进行性缺血、水肿和脱髓鞘为特征,但解剖连续性常部分保留;而脊髓半横断损伤则涉及脊髓一侧结构的解剖性横断,可引发急性坏死、强烈的炎性反应及沃勒变性,并常导致典型的脊髓半切综合征^[1-3]。

尽管手术减压与康复训练是目前治疗脊髓损伤的主要手段,但它们对慢性期神经环路的根本性重建作用有限,难以逆转进行性的组织病理变化。因此,揭示在亚急性至慢性期(脊髓损伤后第7~28天)这一关键的修复窗口期,不同损伤模式驱动的修复轨迹的分子与细胞时空程序,对于理解功能修复异质性的本质至关重要。然而,现有认知多源于脊髓完全横断或挫伤模型,对不同损伤模式(如脊髓压迫损伤与脊髓半横断损伤)如何驱动特异性微环境重塑程序的系统性解析仍存在巨大空白。因此,对这两种具有明确临床对应性的模型进行并行的、高分辨率动态图谱绘制与比较研究,对于发现脊髓损伤特异性的治疗靶点具有关键意义。

目前,多数研究聚焦于急性期或单一脊髓损伤模型,未能充分揭示不同病理条件下(如轴突连续性是否保留)所触发修复机制的差异。例如,在压迫性损伤中,部分轴突的保留可能为神经修复提供了独特的微环境基础,然而其背后的分子通路,尤其是细胞外基质胶原代谢的时序性调控、慢性脊髓损伤后期(脊髓损伤后第21天)的免疫重塑与代谢适应等关键过程,仍有待深入解析^[3]。

为此,本研究分别构建了脊髓压迫损伤和脊髓半横断损伤两种小鼠模型,旨在通过对术后第1~28天修复过程的动态分析,系统揭示脊髓损伤后微环境演变的核心规律:通过改良BBB(Basso-Beattie-Bresnahan)评分法评估小鼠运动功能的恢复情况,并结合多时间点RNA测序(RNA-Seq)与分析结果,重点解析神经炎症、胶质瘢痕、细胞外基质重构等关键生理学过程的时序特征。本研究旨在阐明轴突连续性在调节修复微环境中的作用,并为靶向治疗的时机选择提供理论依据^[4-6]。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

8~9周龄的SPF级ICR小鼠(雌雄各半,3只/笼)共36只,由浙江维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(浙)2019-0001]提供,饲养于上海交通大学实验动物中心的屏障环境设施内[SYXK(沪)2018-0028]。动物饲养条件为温度(22±2)℃、相对湿度(50±10)%,12h昼夜交替循环,动物自由摄食和饮水。动物实验方案符合实验动物伦理学要求,经上海交通大学动物伦理委员会批准(A2019119);本实验严格遵守实验动物操作规范,所有操作均遵循减少动物的痛苦和不适的原则,且所使用的动物数量均为实现实验目的的最小必要数量。

1.2 主要仪器与试剂

Invitrogen™ TRIzol™ Reagent(批号15596026)、Ambion RNAlater™ Stabilization Solution(批号AM7020)均购自美国Thermo Fisher Scientific公司;Illumina TruSeq Stranded mRNA LT Kit(批号RS-122-2101/2102)购自美国Illumina公司;SYBR Premix Ex Taq(批号AQ131-01)购自宝日医生物技术(北京)有限公司;戊巴比妥钠(批号P3761)购自美国Sigma-Aldrich公司。

NanoDrop超微量分光光度计(型号ND-2000)、荧光计(型号Qubit 2.0)购自美国Thermo Fisher Scientific公司;高通量测序平台(型号HiSeq 2500)购自美国Illumina公司;实时荧光定量PCR仪(型号CFX96 Touch)购自美国Bio-Rad公司;动物运动追踪系统(型号ETHOVISION XT 15.0)购自荷兰Noldus公司;-80℃超低温冰箱(型号DW-86L338J)购自青岛海尔生物医疗股份有限公司。

手术显微镜(型号SteREO Discovery.V8)购自卡尔蔡司光学(中国)有限公司;小鼠立体定位仪(型号SR-9M)购自日本Narishige公司;生物分析仪(型号2100)购自安捷伦科技有限公司;显微手术剪(型号JZ1302,刃长12mm)购自上海医疗器械(集团)有限公司;显微镊(型号0203-5-PO)购自瑞士Dumont公司;吸收性明胶海绵(货号G6002)购自武汉塞维尔生物科技有限公司;用于构建脊髓压迫损伤模型的压迫器为实验室自制,其核心部件30g实心不锈钢棒(型号304)及辅助固定镊(YAJO10)均购自上海沪工实业有限公司。

1.3 实验分组及模型构建

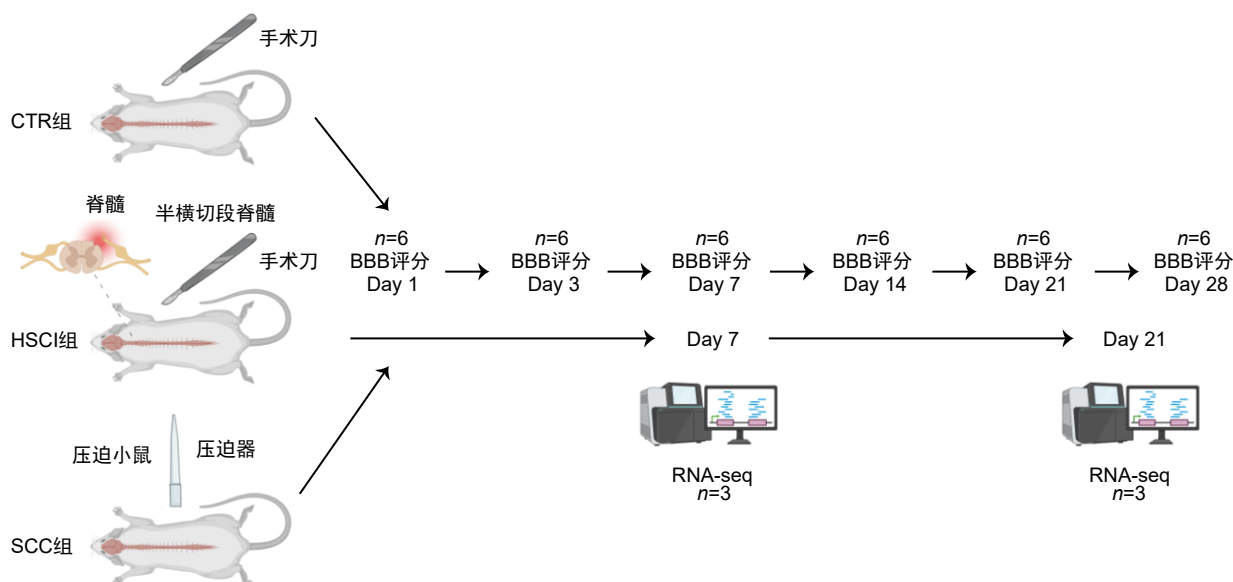
将36只小鼠随机分为假手术对照(CTR)组、脊髓半横断损伤(HSCI)组和脊髓压迫损伤(SCC)组,每组12只(雌雄比为1:1)。模型构建和实验过程如图1所示。

CTR组:术前小鼠禁食12 h,不禁水。经腹腔注射50 mg/kg 戊巴比妥钠对小鼠进行麻醉,待麻醉起效后(表现为小鼠意识消失、四肢松软、痛觉反射消失),将小鼠俯卧位固定于手术台上,背部向上。沿背部正中中线从T₈胸椎至L₂腰椎做一长约2 cm的皮肤切口,逐层分离皮下组织及肌肉,使用显微手术剪和5号显微镊轻轻牵拉并分离软组织,解剖定位以可明确触及的第12肋骨与脊柱的交界点(对应T₁₃椎体)为关键骨性标志,由此向头侧计数,准确确定目标节段,暴露T₁₀胸椎。手术过程中注意保持脊柱的湿润状态,为确保神经组织活性,自皮肤切开起即持续向术野滴注无菌生理盐水;在暴露硬脊膜后,于骨窗边缘放置浸润了温生理盐水的无菌棉球以维持局部湿度,并在后续10 min假性暴露期间,每隔2~3 min补充滴注生理盐水,以确保术野持续的湿润状态,防止硬脊膜表面干燥,从而避免机械性损伤。暴露完成后,用生理盐水冲洗创口,逐层缝合肌肉、皮下组织和皮肤。CTR组术后接受规

范的镇痛、抗感染及支持护理,以促进手术创伤恢复并维持其基础生理状态,但该处理方法不涉及针对脊髓神经功能缺损的特殊干预措施。

HSCI组:麻醉及手术步骤同CTR组。暴露T₉胸椎后,在手术显微镜视野下,使用特制的显微手术刀片,沿T₉胸椎脊髓矢状面从一侧向另一侧横断切开70%的脊髓组织,为确保横断深度一致且精确达到70%,术前在刀片刃部距尖端预置刻度标记(该标记深度基于前期组织学测量确定的T₉节段脊髓平均矢状径计算得出);在切割过程中,以该标记为参考,并同步依据显微镜下清晰可视的中央管及对侧白质边缘作为解剖学止点进行双重验证,当刀尖抵达中央管外侧缘时即停止推进,从而在精确控制损伤范围的同时,严格保留对侧30%的脊髓组织。整个切割过程力求平稳、连续,以最大限度地减少对周围正常组织的牵拉与挤压。横断完成后,用生理盐水冲洗创口,检查出血情况,如有出血,使用吸收性明胶海绵压迫止血,随后逐层缝合肌肉、皮下组织和皮肤,术后处理同CTR组。

SCC组:麻醉及手术步骤同CTR组。暴露T₁₀胸椎后,使用自制压迫器(由一根30 g实心小铁棒及辅助固定镊组成)进行建模。为确保定位精确、压力均匀且持续稳定,将底部平整的铁棒置于立体定位仪的固定



注:在术后第1、3、7、21和28天采用改良BBB(Basso-Beattie-Bresnahan)评分评估假手术对照(CTR)组、脊髓半横断损伤(HSCI)组和脊髓压迫损伤(SCC)组小鼠运动功能的恢复情况,并在术后第7和21天对三组小鼠脊髓损伤段组织进行RNA测序(RNA-seq)。

Note: On postoperative days 1, 3, 7, 21, and 28, the modified Basso-Beattie-Bresnahan scale was used to assess motor recovery in the sham-operated control (CTR) group, hemisection spinal cord injury (HSCI) group, and spinal cord compression injury (SCC) group. RNA-seq was performed on spinal cord tissue from the injured segments of mice in all three groups at days 7 and 21 post-surgery.

图1 模型构建和实验过程的技术路线图

Figure 1 Technical roadmap for model construction and experimental process

夹持器上, 在手术显微镜下垂直对准 T_{10} 胸椎背侧正中部, 避开主要血管, 轻置于 T_9 胸椎表面, 仅依靠压迫器自重压迫胸椎。操作者双手脱离, 以确保长达10 min的压迫期内压力值恒定且无侧向应力。压迫过程中, 可见受压区域脊髓色泽均匀变白, 无侧向滑动, 提示压力垂直、均匀地作用于目标脊髓节段且未伤及周围组织。压迫结束后, 缓慢移除压迫器, 用温生理盐水冲洗创口, 逐层缝合切口, 术后处理同CTR组。

模型的构建方法参考先前CAO等^[7]和WANG等^[8]的研究报告, 模型构建过程中的所有手术操作均由同一实验人员完成, 以确保手术效果的一致性。手术器械在术前均进行高压蒸汽灭菌(121 °C, 20 min)处理, 以防止术后感染。本实验遵循动物实验伦理规范, 为最大程度地保障动物福利并确保实验的一致性, 本研究制定了详细的术后管理方案。(1) 术后饲养管理: 所有手术动物在术后72 h内均单笼饲养, 以完全避免合笼可能引发的相互踩踏、舔舐伤口等风险。72 h后, 确认伤口无渗血、感染且动物状态稳定, 恢复原“3只/笼”的群居饲养模式。为持续降低风险, 笼内提供充足且经灭菌的纸质筑巢材料, 以分散动物休息空间, 并且每日至少密切观察动物行为与伤口恢复情况2次。(2) 术后镇痛与抗感染: 为缓解手术疼痛, 所有动物在术后48 h内, 皮下注射布洛芬(5 mg/kg)进行镇痛, 每日2次。此外, 术后每日给予1次抗生素(头孢唑林, 25 mg/kg)以预防感染, 持续3 d。(3) 异常情况处理: 若观察到动物出现食欲严重减退、异常蜷缩或伤口红肿渗液等异常情况, 将立即安排兽医会诊并给予对症支持治疗(如补充温葡萄糖盐水、加强伤口护理等), 必要时将该动物移出研究序列。

1.4 运动功能评估

在术后第1、3、7、14、21及28天, 采用改良BBB评分法评估各组小鼠后肢运动功能的恢复情况^[9-11]。该评分法主要通过对动物后肢的运动能力、关节活动范围、负重情况、步态协调性以及躯干稳定性等多方面进行综合考量, 对其运动功能进行量化。具体操作如下: 每次评估均在一个安静、标准的圆形开放场地(直径约90 cm)中进行。先将小鼠置于场地中心适应5 min, 随后由同一名经过培训且对实验分组不知情的专业实验人员进行为期5 min的正式观察。评估人员系统记录小鼠后肢各关节(踝、膝、髌)的活动频率与幅度、躯干姿态、步伐协调性以及爪子的精细动作等行为表现, 并严格依据改良BBB量表(0~21分)的标准进行客观打分, 其中0分代表无后肢运动,

21分代表正常运动功能, 得分越高表明运动功能恢复得越好。为确保数据的准确性与可靠性, 每次评估均独立完成。最终记录的评分为测量结果的平均值(每组测6只小鼠, 每组小鼠测3次)。

1.5 脊髓组织样本的采集与RNA提取

在术后第7天和第21天, 从每组随机选取3只小鼠, 腹腔注射过量戊巴比妥钠(150 mg/kg, 以夹捏无反应判定小鼠深度麻醉)诱导麻醉后, 采用颈椎脱臼法实施安乐死。取材时, 迅速将小鼠俯卧位固定, 沿背部中线切开皮肤, 充分暴露 T_8 ~ L_2 节段椎板; 用精细咬骨钳移除椎板后, 以损伤组(SCC组和HSCI组)肉眼可见的损伤灶和假手术对照组(CTR组)原手术暴露对应的脊髓节段为中心, 在冰上使用预冷、带刻度的显微器械沿脊髓表面纵轴精确量取并标记5 mm长度; 随即用预冷的显微剪垂直于纵轴快速横断脊髓, 再用精细镊子轻柔夹取该段组织, 立即置入盛有预冷无菌生理盐水的培养皿中轻柔漂洗1~2次, 以去除表面血液。随后, 用预冷的精细镊子将组织块转移至液氮蒸汽环境中进行快速冷冻(约10~15 s), 待组织完全硬化后, 迅速将其移入已预冷的无菌离心管, 并立即储存于-80 °C超低温冰箱。

RNA提取采用TRIzol法: 将冷冻组织于液氮中研磨成粉后加入TRIzol试剂, 经氯仿分层、异丙醇沉淀及75%乙醇洗涤等步骤获得总RNA。提取完成后, 使用超微量分光光度计检测RNA纯度, 以 A_{260}/A_{280} 比值介于1.8~2.0为合格标准, 符合条件的RNA可用于后续实验。

1.6 RNA测序与分析

RNA测序与分析委托上海京房生物科技有限公司完成。具体流程如下: 取1 μ g高质量总RNA(RNA完整性分数 >8), 使用Illumina TruSeq RNA样本制备试剂盒构建互补DNA文库。经安捷伦2100生物分析仪和Qubit 2.0荧光计质检合格后, 在Illumina HiSeq 2500高通量测序平台上进行双端150 bp测序, 平均每个样本产出超过30 Gbp的原始数据。使用FastQC软件(v0.11.9)进行原始数据质控, 随后使用Trimmomatic软件(v0.39)进行过滤[参数设置如下: 去除接头(ILLUMINACLIP:adapters.fa:2:30:10); 去除reads首尾的低质量碱基(LEADING:3与TRAILING:3); 使用滑动窗口进行修剪(SLIDINGWINDOW:4:15); 最终舍弃长度 <36 bp的reads(MINLEN:36)], 原始数据的保留率约为92.3%。使用STAR软件(v2.7.10a)将质控后的数据比对至GRCm39小鼠参考基因组(数据来

源于Ensembl数据库),整体比对率约为85.6%(唯一比对率约为78.2%)。使用StringTie软件(v2.2.1)基于参考注释基因组进行转录本组装与定量,以每千个碱基的转录每百万映射读取的片段数(Fragments Per Kilobase of transcript per Million mapped reads, FPKM)表示基因的表达水平。利用DESeq2软件包(v1.38.3)进行差异表达分析,以校正后的 P 值 <0.01 (经Benjamini-Hochberg方法校正)且表达量变化倍数(fold change) ≥ 2 或 ≤ 0.5 (即 $|\log_2 \text{fold change}| \geq 1$)为标准,筛选差异表达基因。对获得的差异表达基因,采用clusterProfiler软件包(v4.6.2)进行基因本体(gene ontology, GO)与京都基因与基因组数据库(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)富集分析(使用超几何检验,以校正后的 P 值 <0.05 为标准,经Benjamini-Hochberg方法校正)。

1.7 实时荧光定量PCR验证

使用逆转录试剂盒将总RNA逆转录为cDNA。首先基于RNA-seq数据筛选关键的差异表达基因(基因缩略语见附表1),其标准为 $|\log_2 \text{fold change}| \geq 1$,并在GO功能分析和KEGG通路分析中显著富集于相关条目(如细胞外基质构成、免疫炎症反应等),从中选取具有核心代表性的基因进行实时荧光定量PCR验证。实时荧光定量PCR检测均采用20 μL 反应体系,其中包括cDNA模板、特异性引物[均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,具体序列见附表2]以及SYBR Green qPCR Premix预混液。扩增程序统一设定为:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性3 min;随后进行40个循环(95 $^{\circ}\text{C}$ 变性15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s),最后对溶解曲线进行分析以验证产物的特异性。以GAPDH为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的基因的相对表达量。每组实验均设置3个生物学重复和3个技术重复。所有原始数据与分析结果均已规范存档,以备后续核查与验证。

1.8 统计方法

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用GraphPad Prism 8.0软件进行统计分析。两组间比较时,若数据符合正态分布且方差齐,采用Student's t 检验;若不符合正态分布且方差齐,则采用Mann-Whitney U 检验。多组间比较采用方差分析,若整体差异有统计学意义($P < 0.05$),则进一步采用Tukey's HSD校正进行两两比较。采用Benjamini-Hochberg方法对RNA-Seq数据进行校正,筛选差异表达基因的标准为校正后的 P 值 <0.01 且 $|\log_2 \text{fold change}| \geq 1$ 。所有实验至少进行3次重复,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

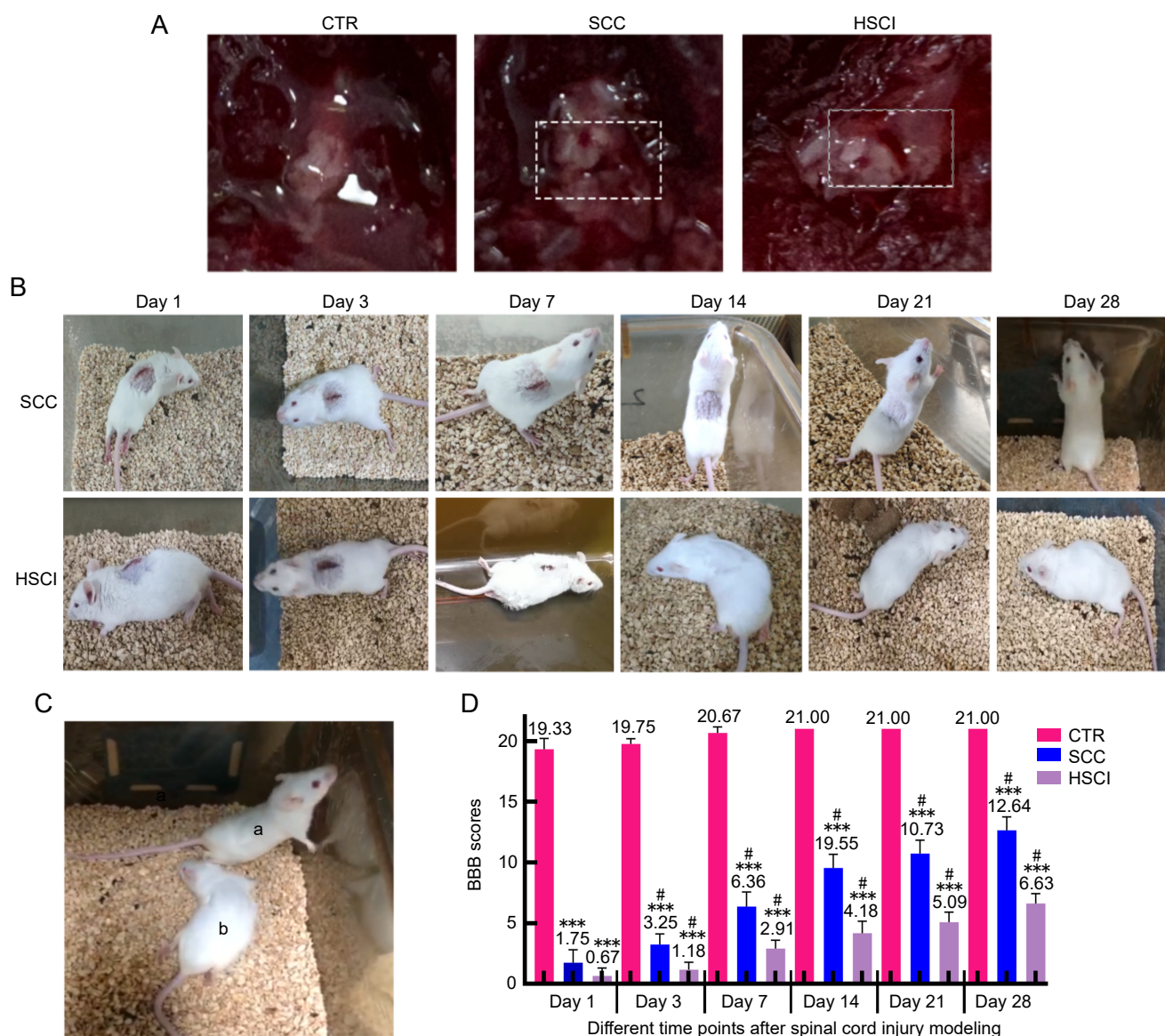
2.1 各组小鼠造模后一般情况及运动功能恢复的时序观察

体视镜的观察结果显示,3组小鼠脊髓标本表现出与损伤类型相符的典型外观特征(图2A)。CTR组小鼠脊髓结构完整、表面光滑,血管走行自然,无肉眼可见的损伤或变形;SCC组小鼠可见损伤节段脊髓出现局部膨大或色泽改变,提示存在水肿或出血,但整体解剖的连续性得以保持;与之形成鲜明对比的是,在HSCI组小鼠损伤侧可观察到明确的组织缺损与回缩,形成明显的沟槽或切迹,表明成功构建了脊髓半横断损伤模型。

在整个28 d的观察期内,3组小鼠在精神状态、进食饮水和运动功能方面呈现明显差异。CTR组小鼠始终精神活跃、反应敏捷,无异常行为;食欲及饮水量正常,体重稳步增长;运动功能完整,改良BBB评分维持在21分左右,步态协调,后肢各关节活动自如且负重良好。SCC组小鼠在术后初期出现短暂的精神萎靡与活动减少,但于术后第3~7天内迅速改善;进食和饮水稍受影响但仍能自主完成;运动功能损伤后恢复较快,改良BBB评分随时间显著上升(图2B~D),表现为后肢关节(尤其是踝与膝)出现早期主动活动,并逐渐恢复协调的踏步动作与部分负重能力。HSCI组小鼠术后精神沉郁与活动减少更为明显和持久;早期需辅助进食和饮水,后期逐步转为自主进食和饮水;运动功能损伤最重且恢复缓慢,改良BBB评分虽随时间的推移逐渐升高,但整体显著低于SCC组(图2B~D),其特征表现为典型的偏瘫步态,损伤侧后肢关节活动度小、协调性差且负重能力弱,而健侧后肢呈代偿性过度活动。综上所述,SCC组小鼠在精神状态、一般活动及运动功能恢复方面均显著优于HSCI组。

2.2 SCC和HSCI组差异表达基因的分析结果

本研究对比分析了不同脊髓损伤模型及同一模型不同时间点的基因表达。与CTR组相比(图3A~B),在术后第7天,SCC组中上调的差异表达基因有344个,下调的差异表达基因有213个;到术后第21天时,SCC组中有328个上调的差异表达基因,下调的差异表达基因增至602个。与CTR组小鼠相比(图3C~D),在术后第7天,HSCI组中上调的差异表达基因有603个,下调的差异表达基因有1 273个,表明脊髓损伤早期(第7天)基因表达的差异较大;到术后第21天时,



注：A，CTR组、SCC组和HSCI组小鼠的脊髓体视镜明场图（白色虚线框内为脊髓造模状态）；B，SCC组和HSCI组小鼠在术后第1、3、7、14、21和28天恢复情况；C，为术后第28天SCC组（标记为a）和HSCI组（标记为b）小鼠恢复情况的对比图；D，脊髓损伤术后不同时间点的BBB评分。CTR，假手术对照组；SCC，脊髓压迫损伤组；HSCI，脊髓半横断损伤组。***与CTR组相比， $P<0.001$ ；#与组内前一个时间点相比， $P<0.05$ 。

Note: A, the spinal cord stereoscopy bright-field images of CTR group, SCC group and HSCI group, respectively (the white dashed box indicates the site of spinal cord modeling); B, recovery of mice in SCC and HSCI groups at 1, 3, 7, 14, 21 and 28 days after modeling; C, the comparison chart of the recovery of mice in the SCC group (marked as a) and the HSCI group (marked as b) on the 28th day after surgery; D, BBB scores at different time points after SCI modeling. CTR, sham-operated control group; SCC, spinal cord compression injury group; HSCI, hemisection spinal cord injury group. *** $P<0.001$, compared with CTR group; # $P<0.05$, compared with the previous time point within the group.

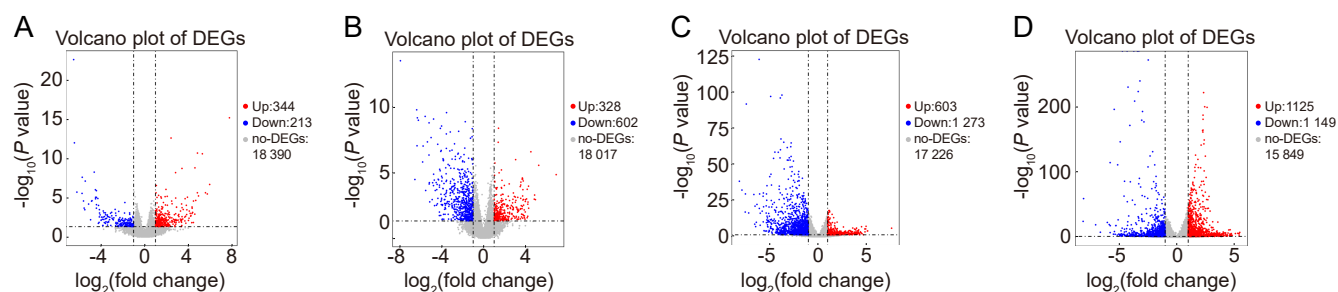
图2 假手术对照组、脊髓半横断损伤组和脊髓压迫损伤组小鼠宏观形态、恢复过程及运动功能的比较

Figure 2 Comparison of macroscopic morphology, recovery process and motor function of mice in sham-operated control group, spinal cord compression and hemisection spinal cord injury group

上调的差异表达基因激增至1 125个，下调的差异表达基因有1 149个，表明两种损伤模式在后期修复或病理发展中涉及的分子机制显著不同。

2.3 实时荧光定量PCR验证结果

为验证RNA-seq结果的可靠性，我们选取了SCC组与HSCI组在差异分析及核心生物学通路中具有代表



注：A~B，与CTR组相比，SCC组小鼠在术后第7天和第21天基因的表达情况；C~D，与CTR组相比，HSCI组小鼠在第7天和第21天基因的表达情况。红色圆点代表上调的差异表达基因（DEGs），蓝色圆点代表下调的DEGs，灰色点代表表达无显著差异的基因。CTR，假手术对照组；HSCI，脊髓半横断损伤组；SCC，脊髓压迫损伤组。

Note: A-B, gene expression in the SCC group compared with the CTR group at postoperative day 7 and day 21; C-D, gene expression in the HSCI group compared with the CTR group at day 7 and day 21. Red dots represent up-regulated differentially expressed genes (DEGs), blue dots represent down-regulated DEGs, and gray dots represent genes with no significant difference in expression. CTR, sham-operated control group; HSCI, hemisection spinal cord injury group; SCC, spinal cord compression injury group.

图3 脊髓损伤组小鼠与假手术对照组小鼠在第7天和第21天基因表达差异的火山图

Figure 3 Volcano plots of differentially expressed genes in spinal cord injury models compared with the sham-operated control group at day 7 and day 21 post-injury

性的关键基因进行实时荧光定量PCR验证（SCC组和HSCI组中关键基因的实时荧光定量PCR结果见附表3~4）。结果显示，这些关键基因在SCC与HSCI组间的表达变化趋势与测序数据高度吻合。与CTR组相比，在术后第7天，SCC组小鼠细胞外基质和细胞骨架相关基因（如COL1A1、ACTB等）的表达显著上调，而免疫炎症相关基因（如IL-6、CD19等）的表达显著下调；到术后第21天时，SCC组小鼠组织修复相关基因（如FN1、LAMP1等）的表达持续上调，而免疫调节相关基因（如CD3D、DNMT1等）的表达则出现下调（图4A~D）。

与CTR组相比，在术后第7天，HSCI组小鼠的细胞外基质重塑（如COL1A1、FN1等）和免疫应答相关基因被激活，肌肉功能相关基因（如MYH6、ACTA2等）的表达普遍受到抑制；在术后第21天，HSCI组小鼠中的细胞连接和突触结构相关基因（如ITGB1、SYP等）的表达上调，膜结构和离子通道相关基因（如FLNA、KCNJ2等）的表达下调。这些结果从分子层面验证了不同损伤模式下的特征性基因表达谱（图4E~H）。

2.4 SCC组与CTR组小鼠差异表达基因的比较分析结果

2.4.1 术后第7天：急性损伤期的结构重塑与免疫抑制

在损伤早期，基因表达呈现出强烈的结构重塑与免疫抑制特征。一方面，细胞外基质（如COL4A1、

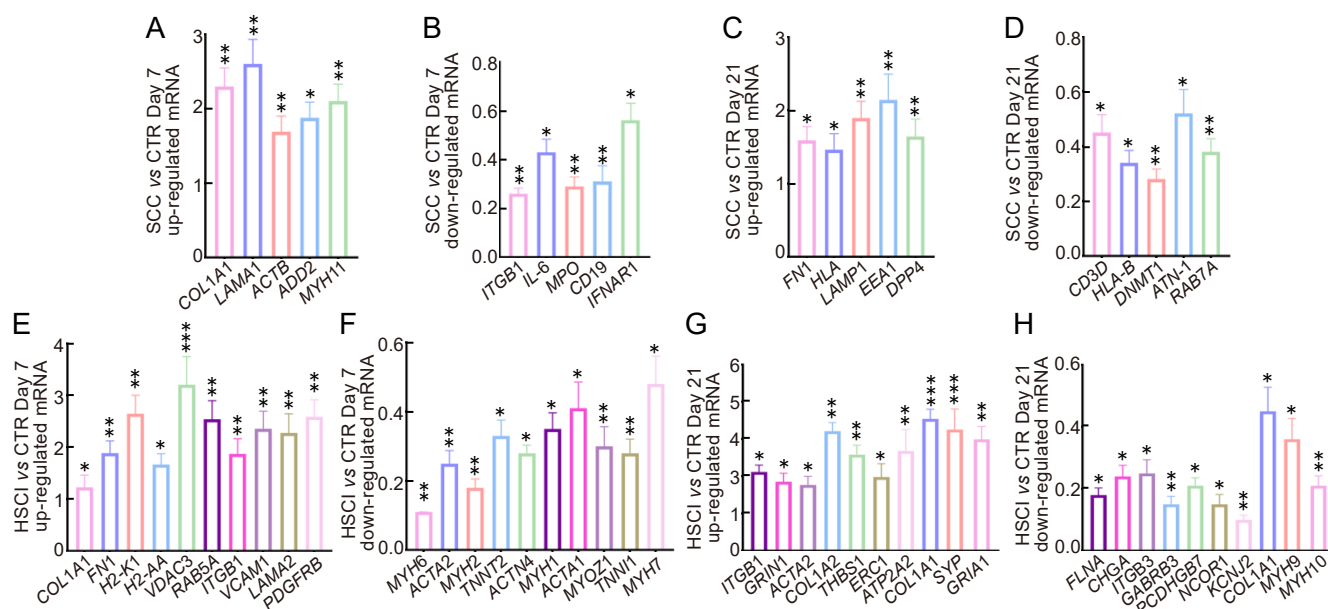
COL5A2）、细胞骨架（如EZR、MSN、ACTB）及轴突再生（如TUBB3、MAP2）相关基因的表达显著上调。另一方面，免疫相关通路的基因也受到广泛抑制，包括细胞外基质受体相互作用（如ITGA、ITGB）、细胞因子-细胞因子受体相互作用（如IL-6、IL-10）及B细胞受体信号通路（如CD19、CD22）。同时，轴突导向（如SLIT1、ROBO1）与胆固醇合成（如HMGCR、HMGCS1）相关基因的表达也受到抑制（图5A~D）。

2.4.2 术后第21天：慢性期的持续修复与代谢调整

在慢性期，细胞外基质（如COL1A2、COL3A1）、主要组织相容性复合体（major histocompatibility complex, MHC）蛋白复合物（如H2-K1、H2-D1）及相关信号通路（如P53、WNT）等相关基因的表达持续上调，表明组织重塑与免疫应答仍在活跃进行。与此同时，部分功能出现适应性改变：免疫突触形成信号（如LCK、FYN）与DNA甲基化酶（如DNMT1、DNMT3A）相关基因的表达下调，而皮质醇合成（如CYP11B1、CYP11B2）及蛋白酶体（如PSMA1、PSMA2）相关基因的表达受到抑制，反映了在长期脊髓损伤后小鼠神经内分泌与蛋白降解过程的系统性调整（图5E~H）。

2.5 HSCI组与CTR组小鼠差异表达基因的比较分析结果

与SCC组小鼠相比，HSCI组相较于CTR组小鼠的差异表达基因表现出更强烈的炎症反应与神经功能受损。



注：A~D，与CTR组相比，SCC组在第7和21天上调和下调关键基因的实时荧光定量PCR结果；E~H，与CTR组相比，HSCI组在第7和21天上调和下调关键基因的实时荧光定量PCR结果。CTR，假手术对照组；SCC，脊髓压迫损伤组；HSCI，脊髓半横断损伤组。图中数据均以CTR组基因表达水平为1进行归一化展示。实时荧光定量PCR实验使用RNA测序后剩余的同一批小鼠组织样本进行检测（ $n=3$ ）。* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ，*** $P<0.001$ 。

Note: A-D, real time fluorogenic quantitative PCR results of the key genes that up-regulated and down-regulated in the SCC group compared with the CTR group at days 7 and 21; E-H, real time fluorogenic quantitative PCR results of the key genes that up-regulated and down-regulated at days 7 and 21 in the HSCI group compared with the CTR group. CTR, sham-operated control group; SCC, spinal cord contusion injury group; HSCI, hemisection spinal cord injury group. All data in the figure are normalized to a baseline of 1 for the CTR group. Real time fluorogenic quantitative PCR experiments were performed using the same batch of mouse tissue samples remaining after RNA-seq ($n=3$). * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

图4 实时荧光定量PCR验证表达差异基因的mRNA相对表达水平

Figure 4 Validation of mRNA expression levels of differentially expressed genes by real time fluorogenic quantitative PCR

2.5.1 术后第7天：急性炎症爆发与神经功能缺损

在术后第7天，HSCI组呈现出广泛的炎症反应与应激反应。GO富集分析结果显示，炎症反应（如*IL-1B*、*TNF*）、白细胞趋化（如*CXCL1*、*CXCL2*）及细胞凋亡（如*CASP3*、*CASP9*）等相关基因均被显著激活（ $P<0.001$ ）。KEGG富集结果与此一致，肿瘤坏死因子信号通路、核转录因子- κ B信号通路及白细胞介素-17信号通路等关键炎症通路均显著富集，表明该时期机体正处于剧烈的炎症状态（图6A~D）。同时，大量神经功能相关基因的表达受到明显抑制。神经元分化（如*NEUROD1*、*NEUROD2*基因）、突触形成（如*SNCG*、*SYP*基因）及轴突延长（如*NEFH*、*NEFM*基因）等GO条目均显著下调（ $P<0.001$ ）。KEGG分析显示，神经营养因子信号通路、谷氨酸能突触及轴突导向等信号通路也普遍受到抑制，清晰地揭示了急性期严重神经功能缺损的分子基础（图6A~D）。

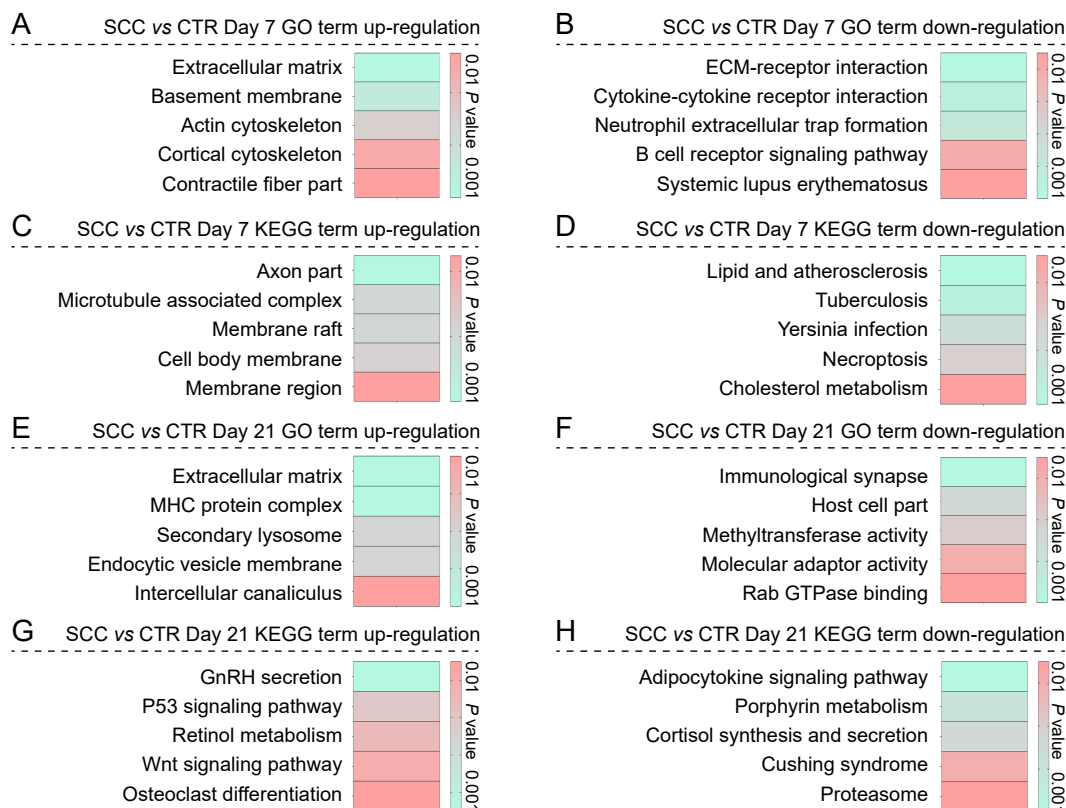
2.5.2 术后第21天：炎症缓解与修复启动

在损伤后第21天，基因表达谱显示机体出现从急性破坏向修复过渡的趋势。虽然炎症反应调控（如*IL-10*、*TGF- β 1*）与组织修复（如*MMP2*、*MMP9*）相关基因开始上调，提示炎症开始消退并启动修复，但突触传递与神经递质受体活性等相关基因的表达仍处于较低水平，表明神经功能的恢复尚未完成（图6E~H）。

2.6 HSCI组与SCC组小鼠差异表达基因的比较分析结果

2.6.1 术后第7天：细胞外基质重塑与肌肉功能损伤

在损伤早期，与SCC组相比，HSCI组小鼠表现出更显著的细胞外基质重塑与免疫应答。GO和KEGG富集结果显示，细胞外基质胶原蛋白（如*COL4A1*、*COL5A2*）与MHC蛋白复合体（如*H2-K1*、*H2-AA*）相关基因的表达显著上调（ $P<0.01$ ）；同时，



注：A-B，术后第7天，SCC组和CTR组之间上调和下调差异表达基因的基因本体（GO）富集分析结果；C-D，术后第7天，SCC组和CTR组之间上调和下调差异表达基因的京都基因与基因组数据库（KEGG）富集分析结果；E-F，术后第21天，SCC组和CTR组之间上调和下调差异表达基因的GO富集分析结果；G-H，术后第21天，SCC组和CTR组之间上调和下调差异表达基因的KEGG富集分析结果。图中条形颜色代表对应功能类别的P值，反映富集显著性。SCC，脊髓压迫损伤组；CTR，假手术对照组。

Note: A-B, gene ontology (GO) enrichment analysis results of up-regulated and down-regulated differentially expressed genes between the SCC and CTR groups on postoperative day 7; C-D, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis results of up-regulated and down-regulated differentially expressed genes between the SCC and CTR groups on postoperative day 7; E-F, GO enrichment analysis results of up-regulated and down-regulated differentially expressed genes between the SCC and CTR groups on postoperative day 21; G-H, KEGG enrichment analysis results of up-regulated and down-regulated differentially expressed genes between the SCC and CTR groups on postoperative day 21. The color of the bars represents the P value of the corresponding functional category, reflecting the significance of enrichment. SCC, spinal cord compression group; CTR, sham-operated control group.

图5 脊髓压迫损伤组与假手术对照组小鼠在术后第7天和第21天差异表达基因的富集分析结果

Figure 5 Enrichment analysis of differentially expressed genes in the spinal cord compression group compared to the sham-operated control group at postoperative days 7 and 21

HSCI组中特有的肌原纤维与收缩纤维相关基因（如MYH7、ACTA1）的表达广泛下调，提示该模型可能伴随着严重的继发性肌肉功能损伤（图7A~D）。

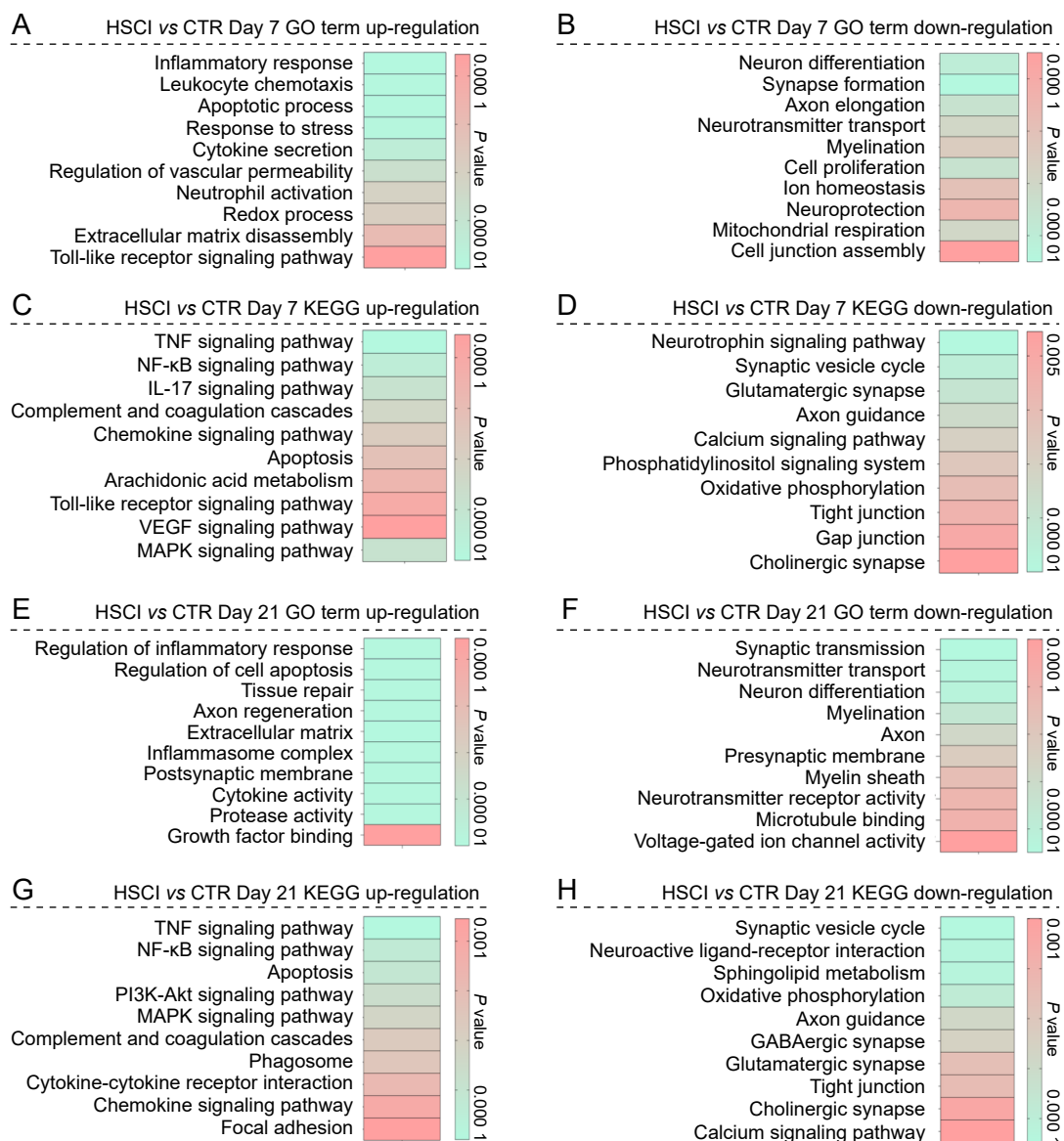
2.6.2 术后第21天：神经信号与代谢通路差异

在损伤后慢性期（第21天），HSCI组与SCC组之间的基因表达差异主要体现在神经信号传导与代谢相关通路上。与SCC组相比，HSCI组中与细胞-基质连接、突触功能及细胞骨架组织相关的GO条目显著上调（ $P<0.001$ ）；而膜结构及部分突触组成相关的GO条目则显著下调（ $P<0.001$ ）。进一步KEGG通路分析显示，相较于SCC组，HSCI组小鼠细胞外基质-受体

相互作用、神经活性配体-受体相互作用以及谷氨酸能突触等通路被显著激活（ $P<0.001$ ）；相反，支持细胞存活、免疫调节及部分代谢相关通路（如磷脂酰肌醇3激酶-蛋白激酶B信号通路、钙信号通路、补体与凝血级联反应等）的富集程度则显著低于SCC组（ $P<0.001$ ）（图7E~H）。这些结果表明，在脊髓损伤慢性期，两种模型在组织重塑、神经信号传递及微环境调控等方面呈现出不同的分子适应策略。

3 讨论

脊髓损伤的病理异质性与脊髓损伤模式及分子网



注：A~B，术后第7天，HSCI组和CTR组之间上调和下调差异表达基因的基因本体（GO）富集分析结果；C~D，术后第7天，HSCI组和CTR组之间上调和下调差异表达基因的京都基因与基因组数据库（KEGG）富集分析结果；E~F，术后第21天，HSCI组和CTR组之间上调和下调差异表达基因的GO富集分析结果；G~H，术后第21天，HSCI组和CTR组之间上调和下调差异表达基因的KEGG富集分析结果。图中条形颜色代表对应功能类别的P值，反映富集显著性。HSCI组，脊髓半横断损伤组；CTR组，假手术对照组。

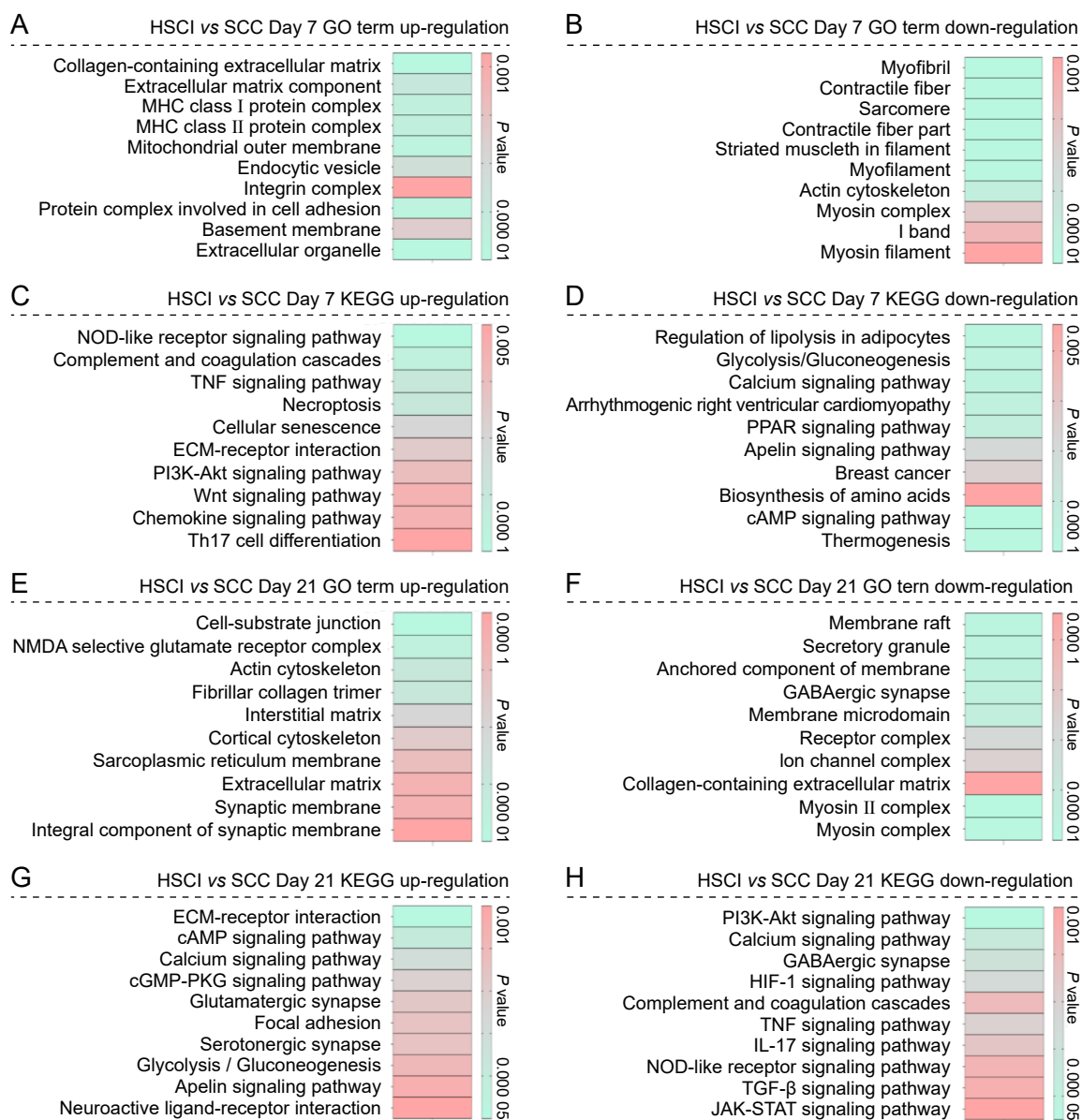
Note: A-B, gene ontology (GO) enrichment analysis results of up-regulated and down-regulated differentially expressed genes between the HSCI and CTR groups on postoperative day 7; C-D, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis results of up-regulated and down-regulated differentially expressed genes between the HSCI and CTR groups on postoperative day 7; E-F, GO enrichment analysis results of up-regulated and down-regulated differentially expressed genes between the HSCI and CTR groups on postoperative day 21; G-H, KEGG enrichment analysis results of up-regulated and down-regulated differentially expressed genes between the HSCI and CTR groups on postoperative day 21. The color of the bars represents the P value of the corresponding functional category, reflecting the significance of enrichment. HSCI, hemisection spinal cord injury group; CTR, sham-operated control group.

图6 脊髓半横断损伤组与假手术对照组小鼠在第7天与第21天的差异表达基因的功能富集分析结果

Figure 6 Functional enrichment analysis of differentially expressed genes between the hemisection spinal cord injury group and the sham-operated control group at postoperative days 7 and 21

络动态变化密切相关。本研究通过对比脊髓压迫损伤和脊髓半横断损伤模型发现，SCC组的运动功能恢复显著优于HSCI组（术后第28天的BBB评分：SCC组为

12.64±1.12，HSCI组为6.63±0.81）。这一差异可能源于SCC组中轴突的保留程度较高，为神经修复提供了更有利的结构基础^[12-14]。



注：A-B，术后第7天，HSCI组和SCC组之间上调和下调差异表达基因的基因本体（GO）富集分析结果；C-D，术后第7天，HSCI组和SCC组之间上调和下调差异表达基因的京都基因与基因组数据库（KEGG）富集分析结果；E-F，术后第21天，HSCI组和SCC组之间上调和下调差异表达基因的GO富集分析结果；G-H，术后第21天，HSCI组和SCC组之间上调和下调差异表达基因的KEGG通路富集分析结果。条形颜色表示相应功能条目的P值，用于反映富集的显著性水平。HSCI组，脊髓半横断损伤组；SCC组，脊髓压迫损伤组。

Note: A-B, gene ontology (GO) enrichment analysis results of up-regulated and down-regulated differentially expressed genes between the HSCI and SCC groups on postoperative day 7; C-D, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis results of up-regulated and down-regulated differentially expressed genes between the HSCI and SCC groups on postoperative day 7; E-F, GO enrichment analysis results of up-regulated and down-regulated differentially expressed genes between the HSCI and SCC groups on postoperative day 21; G-H, KEGG pathway enrichment analysis results of up-regulated and down-regulated differentially expressed genes between the HSCI and SCC groups on postoperative day 21. The color of the bars represents the *P* value of the corresponding functional term, indicating the significance level of enrichment. HSCI, hemisection spinal cord injury group; SCC, spinal cord compression group.

图7 脊髓半横断损伤组与脊髓压迫损伤组在术后第7天与第21天表达差异基因的功能富集分析结果

Figure 7 Functional enrichment analysis of differentially expressed genes between the hemisection spinal cord injury group and the spinal cord compression injury group at postoperative days 7 and 21

RNA-Seq 的分析结果显示，SCC 组在建模后第7天的基因表达主要表现为细胞外基质重构、轴突微管通路的激活，以及炎症反应的抑制；在术后第21天转

向免疫调控和视黄醇信号通路的激活。这些时序性的基因表达变化表明，脊髓压迫损伤模型中存在一系列系统的分子调控机制，共同参与损伤修复过程。既往

研究表明,微环境的优化和炎症的有效抑制能够显著促进脊髓损伤后的修复,这与SCC组的基因表达模式相吻合,提示脊髓压迫损伤模型可能通过调节炎症和免疫反应为组织修复创造有利条件^[15-17]。然而,其中具体的分子调控机制仍有待进一步探究。

在脊髓半横断损伤模型中,损伤后第7天的基因表达谱显示,大量与炎症和免疫反应相关的基因及通路(如NOD样受体和TNF信号通路)被激活。这种强烈的炎症反应可能会进一步加剧组织损伤。与此同时,肌肉结构相关基因的表达受到抑制,其中脂肪降解和糖酵解等代谢通路的下调则可能影响能量供应和肌肉功能的恢复^[18]。尽管细胞外基质-受体互作等通路的上调表明机体试图启动修复机制,但整体修复进程仍受到明显阻碍。在损伤后第21天,HSCI组小鼠中细胞-基质连接和N-甲基-D-天门冬氨酸受体相关基因的上调提示机体仍在努力促进神经修复和功能重建;同时,糖酵解通路相关基因的上调可能为修复过程提供必要的能量支持,已有研究发现糖酵解的增强有助于抑制神经元凋亡^[19-21]。然而,磷酸肌醇3激酶-蛋白激酶B和钙信号通路的抑制可能在一定程度上阻碍轴突再生和细胞正常功能的恢复^[22-24]。这些结果表明,脊髓半横断损伤后的修复过程涉及多个复杂且相互关联的生理过程,各通路之间的动态平衡对于损伤修复至关重要。深入研究这些通路间的交互作用,有助于揭示脊髓损伤修复的潜在调控机制。

综上所述,本研究通过对比脊髓压迫损伤和脊髓半横断损伤模型,系统揭示了不同损伤模式下脊髓修复的分子特征。两组模型在不同时间点展现出不同的基因表达变化,其中SCC组的运动功能恢复更为显著,提示该组的基因表达变化更有利于组织修复,但其背后的调控机制仍需进一步探索。相比之下,HSCI组的修复过程则更为复杂,依赖于多种通路的动态协调与平衡。本研究为深入理解脊髓损伤的分子机制及探索潜在的治疗靶点提供了重要依据。

尽管本研究通过两种脊髓损伤模型探讨了脊髓损伤后的分子机制,但仍存在一些局限性。首先,本研究主要集中在转录组水平,缺乏对蛋白质水平和其功能的实验验证,未来需要通过蛋白质组学和功能研究来进一步探究基因表达变化的生理意义。其次,本研究中构建的动物模型可能无法完全模拟人类脊髓损伤的复杂性和多样性,在研究结果向临床转化时需要谨慎论证。最后,受实验周期和资源的限制,本研究仅观察了特定时间点的基因表达变化,未来有必要进

行连续的动态监测,以全面了解脊髓损伤后的动态修复过程。

[医学伦理声明 Statement on Medical Ethics]

本研究涉及动物实验已通过上海交通大学实验动物伦理委员会审查(伦理批号:2019119),实验全程严格遵循中国实验动物相关法律法规条例及标准[如《实验动物福利伦理审查指南》(GB/T 35892—2018)]。

All animal experiments involved in this study were approved by the Shanghai Jiao Tong University Laboratory Animal Ethics Committee (Approval number: 2019119). The entire experimental process was strictly conducted in accordance with Chinese laws, regulations, and standards pertaining to laboratory animals [such as *Guidelines for the Welfare and Ethics Review of Laboratory Animals* (GB/T 35892—2018)].

[作者贡献 Author Contribution]

徐波负责动物造模和制定核心生物信息学分析策略,主导信号通路等多层次数据的整合与深度解析,构思并确定整体研究设计框架与技术路线,负责动物造模,指导数据解读、论文架构设计和论文深度修订,最终审定研究结论;

陈泰任负责信号通路等生物信息学分析、图表制作、数据整理、统计分析、撰写初稿和投稿返修;

方乾参与动物造模和研究设计;

吴际主导研究整体设计,提供资源支持,全面负责学术质量监督、论文终稿定稿及研究福利伦理的最终把关。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[数据共享 Data Sharing]

本文中附表1~4可见本刊官网的附件资料。

[参考文献 References]

- [1] 崔英杰,孙文卓,张红梅,等. 颈椎椎间盘突出致脊髓半横断综合征误诊为脑卒中1例报告[J]. 脊柱外科杂志, 2022, 20(4): 283-285. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2957.2022.04.013.
CUI Y J, SUN W Z, ZHANG H M, et al. Brown-Sequard syndrome due to cervical disc herniation misdiagnosed as stroke: a case report[J]. J Spinal Surg, 2022, 20(4): 283-285. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2957.2022.04.013.
- [2] COWAN H, LAKRA C, DESAI M. Autonomic dysreflexia in spinal cord injury[J]. Bmj, 2020: m3596. DOI: 10.1136/bmj.m3596.
- [3] FAN B Y, WEI Z J, YAO X, et al. Microenvironment imbalance of spinal cord injury[J]. Cell Transplant, 2018, 27(6): 853-866. DOI:10.1177/0963689718755778.
- [4] BASSO D M, FISHER L C, ANDERSON A J, et al. Basso Mouse Scale for locomotion detects differences in recovery after spinal cord injury in five common mouse strains[J]. J Neurotrauma, 2006, 23(5): 635-659. DOI: 10.1089/neu.2006.23.635.
- [5] ASHAMMAKHI N, KIM H J, EHSANIPOUR A, et al. Regenerative therapies for spinal cord injury[J]. Tissue Eng

- Part B Rev, 2019, 25(6):471-491. DOI:10.1089/ten.teb.2019.0182.
- [6] DAVID G, PFYFFER D, VALLOTTON K, et al. Longitudinal changes of spinal cord grey and white matter following spinal cord injury[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2021, 92(11): 1222-1230. DOI:10.1136/jnnp-2021-326337.
- [7] CAO J F, HU X, XIONG L, et al. Interference of interleukin-1 β mediated by lentivirus promotes functional recovery of spinal cord contusion injury in rats *via* the PI3K/AKT1 signaling pathway[J]. Mediat Inflamm, 2022, 2022(1):1-17. DOI: 10.1155/2022/6285099.
- [8] WANG Y M, ZHAO Z, REGE S V, et al. 3K3A-activated protein C stimulates postischemic neuronal repair by human neural stem cells in mice[J]. Nat Med, 2016, 22(9): 1050-1055. DOI: 10.1038/nm.4154.
- [9] ZÜCHNER M, GLOVER J C, BOULLAND J L. A neonatal mouse spinal cord compression injury model[J]. JoVE, 2016 (109): 1-10. DOI:10.3791/53498
- [10] ZHU S P, YING Y B, WU Q J, et al. Alginate self-adhesive hydrogel combined with dental pulp stem cells and FGF21 repairs hemisection spinal cord injury *via* apoptosis and autophagy mechanisms[J]. Chem Eng J, 2021, 426: 130827. DOI:10.1016/j.cej.2021.130827.
- [11] EVANS R M, DAVIES M. ScoreCentre: a computer program to assist with collection and calculation of BBB locomotor scale data[J]. J Neurosci Methods, 2010, 194(1):102-107. DOI:10.1016/j.jneumeth.2010.09.018.
- [12] OTANI M, KUSHIDA Y, KURODA Y, et al. New rat model of spinal cord infarction with long-lasting functional disabilities generated by intraspinal injection of endothelin-1[J]. Stroke Vasc Neurol, 2025, 10(2): 1-10. DOI:10.1136/svn-2023-002962.
- [13] WILKINS N, SKINNER N P, MOTOVLYAK A, et al. Evolution of magnetic resonance imaging as predictors and correlates of functional outcome after spinal cord contusion injury in the rat[J]. J Neurotrauma, 2020, 37(6): 889-898. DOI:10.1089/neu.2019.6731.
- [14] NING X J, LU X H, LUO J C, et al. Molecular mechanism of microRNA-21 promoting Schwann cell proliferation and axon regeneration during injured nerve repair[J]. RNA Biol, 2020, 17 (10):1508-1519. DOI:10.1080/15476286.2020.1777767.
- [15] MAGGIORE J C, BURRELL J C, BROWNE K D, et al. Tissue engineered axon-based "living scaffolds" promote survival of spinal cord motor neurons following peripheral nerve repair [J]. J Tissue Eng Regen Med, 2020, 14(12): 1892-1907. DOI: 10.1002/term.3145.
- [16] HU X, XU W, REN Y L, et al. Spinal cord injury: molecular mechanisms and therapeutic interventions[J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8:1-28. DOI:10.1038/s41392-023-01477-6.
- [17] FAN L, LIU C, CHEN X X, et al. Exosomes-loaded electroconductive hydrogel synergistically promotes tissue repair after spinal cord injury *via* immunoregulation and enhancement of myelinated axon growth[J]. Adv Sci, 2022, 9 (13):1-22. DOI:10.1002/advs.202105586.
- [18] QIAN D F, XU J Q, ZHANG X L, et al. Microenvironment self-adaptive nanomedicine promotes spinal cord repair by suppressing inflammation cascade and neural apoptosis[J]. Adv Mater, 2024, 36(50): e2307624. DOI: 10.1002/adma.202307624.
- [19] MA J J, LI J Y, WANG X R, et al. GDNF-loaded polydopamine nanoparticles-based anisotropic scaffolds promote spinal cord repair by modulating inhibitory microenvironment[J]. Adv Healthc Mater, 2023, 12(8): e2202377. DOI: 10.1002/adhm.202202377.
- [20] GAO L S, WANG C, QIN B, et al. 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-bisphosphatase Suppresses Neuronal Apoptosis by Increasing Glycolysis and "cyclin-dependent kinase 1-Mediated Phosphorylation of p27 After Traumatic Spinal Cord Injury in Rats[J]. Cell Transplant, 2020, 29: 1-14. DOI:10.1177/0963689720950226.
- [21] MATA-BERMEDEZ A, RÍOS C, BURELO M, et al. Amantadine prevented hypersensitivity and decreased oxidative stress by NMDA receptor antagonism after spinal cord injury in rats[J]. Eur J Pain, 2021, 25(8):1839-1851. DOI:10.1002/ejp.1795.
- [22] ZHOU W J, ZHAO T T, DU J Y, et al. TIGAR promotes neural stem cell differentiation through acetyl-CoA-mediated histone acetylation[J]. Cell Death Dis, 2019, 10: 1-13. DOI: 10.1038/s41419-019-1434-3.
- [23] ZHAO J, CHEN K Z, WANG T, et al. Vimentin inhibits neuronal apoptosis after spinal cord injury by enhancing autophagy[J]. CNS Neurosci Ther, 2025, 31(1): 1-14. DOI:10.1111/cns.70200.
- [24] YAO R B, REN L R, WANG S Y, et al. Euxanthone inhibits traumatic spinal cord injury *via* anti-oxidative stress and suppression of p38 and PI3K/Akt signaling pathway in a rat model[J]. Transl Neurosci, 2021, 12(1): 114-126. DOI: 10.1515/tnsci-2021-0012.

(收稿日期:2025-03-27 修回日期:2025-10-29)

(本文编辑:周培)

[引用本文]

徐波, 陈泰任, 方乾, 等. 脊髓压迫和半横断损伤小鼠模型的时空基因表达谱及修复机制研究[J]. 实验动物与比较医学, 2026, 46(1): 32-45. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2025.052.

XU B, CHEN T R, FANG Q, et al. Research on spatiotemporal gene expression profiles and repair mechanisms of spinal cord compression and hemisection spinal cord injury mouse models[J]. Lab Anim Comp Med, 2026, 46(1): 32-45. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2025.052.