

李琳,王异民,王伟,等. Cuprizone 诱导的多发性硬化疾病动物模型的特点及应用 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(9): 132-137.

Li L, Wang YM, Wang W, et al. Characteristics and application of cuprizone-induced animal model of multiple sclerosis [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(9): 132-137.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.09.015

Cuprizone 诱导的多发性硬化疾病动物模型的特点及应用

李琳^{1,2}, 王异民³, 王伟³, 王珊³, 盘美良^{1,2}, 孙伟强^{1,2}, 樊卫平^{1,2}, 石建云^{1,2*}

(1.山西医科大学基础医学,太原 030001;2.山西医科大学细胞生理学教育部重点实验室,太原 030001;3.河南科技学院动物科技学院,河南新乡 453003)

【摘要】 多发性硬化(Multiple sclerosis, MS)是以人类中枢神经系统炎性脱髓鞘为主要特点的神经退行性疾病,并伴随着轴突损伤、胶质细胞增生、炎性细胞浸润等病理特征。双环己酮草酰二脲(Cuprizone, CPZ)是一种铜离子螯合剂,给小鼠饲喂 CPZ 可诱导小鼠中枢神经系统产生脱髓鞘病变,引起少突胶质细胞凋亡、少突胶质细胞增殖、星形胶质细胞和小胶质细胞激活等病理变化,停止饲喂 CPZ 后,小鼠的中枢神经系统会逐步发生髓鞘再生现象,因此是研究 MS 脱髓鞘和髓鞘再生的常用模型。本文从 CPZ 小鼠模型构建、少突胶质细胞、星形胶质细胞、小胶质细胞以及髓鞘再生等不同方面进行了总结,并对采用 CPZ 模型的特色疗法进行了概括,从而为 CPZ 模型在科研与医学实践中的广泛应用提供了详细的理论依据。

【关键词】 多发性硬化;cuprizone;神经胶质细胞;脱髓鞘;髓鞘再生;特色疗法

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 09-0132-06

Characteristics and application of cuprizone-induced animal model of multiple sclerosis

LI Lin^{1,2}, WANG Yimin³, WANG Wei³, WANG Shan³, PAN Meiliang^{1,2}, SUN Weiqiang^{1,2},
FAN Weiping^{1,2}, SHI Jianyun^{1,2*}

(1. School of Basic Medical Science, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China.

2. Key Laboratory of Cellular Physiology (Shanxi Medical University), Ministry of Education, Taiyuan 030001.

3. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003)

【Abstract】 Multiple sclerosis (MS) is a neurodegenerative disease mainly characterized by inflammatory demyelination in the central nervous system in humans, accompanied by axonal damage, gliosis, and inflammatory cell infiltration. Daily feeding with the copper chelator dicyclohexanone oxalyl dihydrazone (cuprizone, CPZ) can induce demyelination, oligodendrocyte apoptosis, proliferation of oligodendrocyte progenitor cells, and activation of astrocytes and microglia in the central nervous system in mice, while gradual remyelination occurs once CPZ is omitted from the meals. A CPZ-induced model is therefore commonly used to study demyelination and remyelination of MS. This paper focus on the construction of the CPZ mouse model, oligodendrocytes, astrocytes, microglia, and myelin regeneration, and discusses the

【基金项目】 山西省应用基础研究计划青年科技研究基金(201901D211321);山西省教育厅高校科技创新计划(2020L0184)。

【作者简介】 李琳(1987—),女,博士,讲师,研究方向:神经免疫性疾病的机制及治疗。E-mail: linli987@hotmail.com

【通信作者】 石建云(1988—),女,博士,副教授,研究方向:维生素在疾病中的应用。E-mail: shijianyun@sxmu.edu.cn

characteristic therapies for MS in the CPZ model, to provide a theoretical basis for the wide application of this model in scientific research and medical practice.

【Keywords】 multiple sclerosis; cuprizone; glial cells; demyelination; remyelination; characteristic treatment

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

多发性硬化 (multiple sclerosis, MS) 是以人类中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 炎性脱髓鞘为主要特点的神经退行性疾病,同时也是自身免疫性疾病^[1-2]。MS 的病因未知,遗传因素、环境因素、自身免疫等都可能诱发该病,该病除了以 CNS 炎性脱髓鞘为主要特点外,还伴有胶质细胞增生、轴突损伤以及淋巴细胞和巨噬细胞的炎性浸润,这些病变能够侵犯 CNS 的各个部位从而导致患者出现各种临床症状,如头晕、视力下降、言语不清、四肢无力、震颤、步态不稳、共济失调、疼痛等^[3]。在我国 MS 的发病率呈逐年升高的趋势,多数患者会反复发作,症状逐渐加剧,最终造成严重的残疾,是青年人致残的主要疾病,同时它的并发症可导致患者死亡,然而目前尚无有效的药物或技术手段来根治此病,因此深入了解动物模型,在研究 MS 的发病机制和防治药物上具有重要意义。

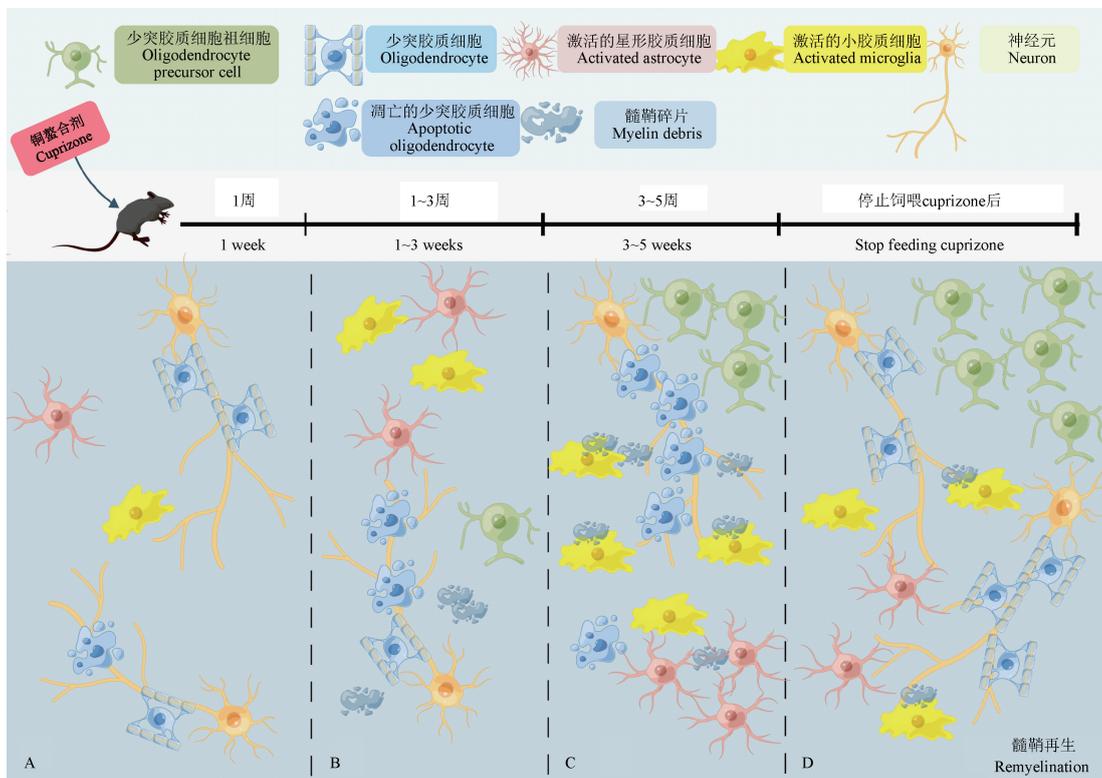
MS 常用的动物模型有病毒诱导的模型 (泰勒鼠脑炎病毒模型)、通过免疫诱导的模型 (实验性自身免疫性脑脊髓炎模型) 以及毒性物质诱导的模型 (Cuprizone 模型)。泰勒鼠脑炎病毒 (Theiler's murine encephalomyelitis virus, TMEV) 模型通过脑内注射 TMEV 病毒诱导,模拟由病毒介导的急性和原发进展型 MS^[4]。实验性自身免疫性脑脊髓炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE) 模型常由髓鞘少突胶质细胞糖蛋白诱导,适用于研究适应性免疫应答引起的脱髓鞘研究^[4]。双环己酮草酰二胺 (cuprizone, CPZ) 是一种铜离子螯合剂,可诱导小鼠 CNS 产生脱髓鞘病变,是研究 MS 常用的毒性模型^[5]。与 TMEV 和 EAE 模型相比,CPZ 模型操作简单、重现性高,并且成本相对较低,即给小鼠饲喂 CPZ 3~5 周后就可诱导的小鼠 CNS 脱髓鞘,停止饲喂后即可发生复髓鞘,因此是研究 MS 脱髓鞘和髓鞘再生的理想模型。本文将详细介绍 CPZ 模型以及在该模型上进行的一些特色疗法,为 CPZ 模型在科研与医学实践中的广泛应用提供理论依据。

1 Cuprizone 模型构建及其诱导的小鼠 CNS 的病理变化

购买 3~5 周的 C57BL/6 小鼠,正常喂养 1 周来

减少应激反应并适应新环境,随后在日常饲料中添加 0.25% 的 CPZ 用来饲喂小鼠。CPZ 喂养 1 周后,少突胶质细胞出现凋亡,星形胶质细胞和小胶质细胞被激活,但髓鞘未观察到损伤和异常^[5]。同时,少突胶质细胞内可以检测到压力变化,此外也可检测到极少量的少胶质细胞祖细胞,但并未被观察到其有明显的增殖现象 (图 1A)。CPZ 喂养 1~3 周后,少突胶质细胞凋亡增多,同时星形胶质细胞和小胶质细胞大量聚集增生 (图 1B)^[5]。组织学染色或电镜可观察到胼胝体发生了脱髓鞘^[6],然而在该阶段使用免疫组化技术检测 CPZ 小鼠和正常小鼠,只能观察到轻微的差异,此外该阶段初次观察到急性轴突损伤。CPZ 饲喂 3~5 周后,大量少突胶质祖细胞出现并激活,星形胶质细胞和小胶质细胞增生更加严重^[5]。小胶质细胞被激活并吞噬髓鞘,使得脱髓鞘更加显著,同时急性的轴突损伤也越发明显 (图 1C)。若此时停止饲喂 CPZ,小鼠则会逐步出现髓鞘再生现象 (图 1D)。若坚持 CPZ 饲喂 12~13 周,则会出现慢性脱髓鞘病变^[5]。CPZ 诱导的脱髓鞘主要发生于大脑胼胝体和体感皮质区,少量出现在大脑其他部位 (如海马、嗅球、喉前联合、视交叉、脑干、纹状体等)、小脑、脊髓和内囊。胼胝体脱髓鞘后会导致运动协调能力受损。采用 CPZ 模型能够很好的观察到 MS 的病理变化,如脱髓鞘、轴突损伤、轻度血脑屏障损伤以及严重的氧化损伤,因此是研究 MS 的理想模型之一。

CPZ 饲喂小鼠后会小鼠体重减轻,因此在建立 CPZ 模型的过程中,尚未到剖杀时间点时可通过检测小鼠体重来初步判断是否建模成功,到达剖杀时间点后则可通过组织学检测来判断。因此,CPZ 建模时应注意将不同体重的小鼠平均分配到每个小组,同时性别混匀,从而保证数据的可靠性^[7]。另外,有文献报道 CPZ 饲料制作成颗粒状后,因未知原因会造成 CPZ 失活,模型建立不成功^[6]。此外,谭笔琴等^[8]发现对小鼠采用 CPZ 灌胃法要比传统的饲料中添加 CPZ 更有优势,不仅缩短了实验时间 (灌胃 3 周后就可以观察到脱髓鞘现象),同时 CPZ 剂量也可以控制从而保证了模型的精准性。王妮妮等^[9]通过检测髓鞘碱性蛋白、LFB 染色、转



注:A:CPZ 饲喂 1 周;B:CPZ 饲喂 1~3 周;C:CPZ 饲喂 3~5 周;D:CPZ 停止饲喂。

图 1 CPZ 模型的病理发展过程

Note. A, CPZ was fed for 1 week. B, CPZ was fed for 1~3 weeks. C, CPZ was fed for 3~5 weeks. D, CPZ was stopped from feeding.

Figure 1 Pathological development of CPZ model

杆测试等方法比较了 CPZ 诱导雌性和雄性小鼠的脱髓鞘差异,发现 CPZ 更容易诱导雄性小鼠脱髓鞘。因此建议购买雄性小鼠,同时每日的饲料现配现喂,并采用灌胃形式。

2 Cuprizone 模型中各类神经细胞的研究

2.1 少突胶质细胞

CPZ 通过与少突胶质细胞内线粒体呼吸链中的细胞色素 C 氧化酶(线粒体复合物 IV)的铜离子螯合,造成线粒体功能障碍,引起能量代谢异常,导致少突胶质细胞凋亡继而产生脱髓鞘病变,是 CPZ 小鼠发生脱髓鞘病变的关键^[10]。Fischer 等^[11]在 MS 患者尸检的脑组织中发现线粒体氧化损伤,能量不足,活性氧增多,表明 MS 患者的 CNS 出现了线粒体功能障碍,线粒体呼吸链复合物缺乏或酶活性降低可导致轴突能量衰竭而变性,参与 MS 发生和发展。因此,CPZ 小鼠是研究线粒体功能障碍和能量代谢诱导的 MS 脱髓鞘的理想模型。

少突胶质细胞由少突胶质细胞祖细胞(oligodendrocyte progenitor cells, OPCs)分化而来,

包裹轴突形成髓鞘,并释放营养因子来维持轴突生存,保护神经元。正常情况下,OPCs 存在于前脑脑室下区、后脑和脊髓的腹侧区,处于相对静止状态,数量稳定^[5]。当脱髓鞘时,OPCs 被激活,体积增大,表达硫酸软骨素蛋白聚糖。CPZ 模型后期可观察到髓鞘再生现象,髓鞘再生依赖于 OPCs 的激活、增殖、迁移和成熟,这一过程被多种转录因子调控。

2.2 星形胶质细胞

在 CPZ 模型上星形胶质细胞被激活并增生。星形胶质细胞约占总的神经胶质细胞的 30%,活化的星形胶质细胞表达胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP),因此 GFAP 抗体可检测活化的星形胶质细胞^[12]。星形胶质细胞在脱髓鞘过程中被认为是发挥有害作用,但它在参与髓鞘碎片的清除以及髓鞘再生过程中被认为是有益的^[13]。巴雷斯实验室的研究显示,CNS 的神经炎症或缺血会导致星形胶质细胞极化,产生有害和有益的两种星形胶质细胞^[13-14]。借用国际上对小胶质细胞极化的分类方法,他们将不同极化的星形胶质细胞命名为 A1 星形胶质细胞(有害)和 A2 星形胶

质细胞(有益)^[15]。Liddelow 等^[14]在 MS、阿尔茨海默病、帕金森等神经退行性疾病中不同的大脑区域内观察到 A1 星形胶质细胞上调,发现它的上调与一些神经元变性的基因有关,如补体(complement 3, C3)。而 A2 星形胶质细胞则表达了许多神经营养因子,有助于修复受损的突触和神经元^[16]。有研究显示活化的小胶质细胞诱导了星形胶质细胞的激活,说明星形胶质细胞极化与小胶质细胞的状态有关^[17],反过来活化的星形胶质细胞是否影响小胶质细胞的极化依然不清楚。

2.3 小胶质细胞

在 CPZ 模型的病变部位有明显的小胶质细胞聚集和增生。小胶质细胞本质上是神经系统中的巨噬细胞,约占 CNS 中总胶质细胞的 5%~20%,一般为静息状态,在 CNS 受到损伤时被激活。Ca²⁺ 结合接头蛋白分子(ionized calcium binding adapter molecule 1, IBA-1)表达于小胶质细胞和巨噬细胞^[18]。在 CPZ 饲喂 1 周时,脑内只有少量巨噬细胞聚集,所以该阶段可用 IBA-1 抗体来检测小胶质细胞^[5]。此外小胶质细胞的活化标志物 3(microglia activation marker 3, MAC-3)表达于活化的小胶质细胞,因此 MAC-3 抗体可用于检测活化的小胶质细胞^[18-19]。根据局部微环境的不同,小胶质细胞可分化为 M1 和 M2 两种表型。M1 型小胶质细胞被激活后,分泌 IL-1 β (interleukin-1 β)、IL-6(interleukin-6)、IFN- γ (interferon- γ)、NO(nitric oxide)、TNF- α (tumor necrosis factor- α)等促炎性因子和具有神经毒性的物质,同时减少神经营养物质的分泌,导致神经组织的损伤加重^[14,20]。而 M2 型小胶质细胞则可减轻局部炎症,清除细胞碎片和嗜酸性粒细胞,分泌抗炎性因子如 IL-10(interleukin-10)、IL-3(interleukin-3)、TGF- β (transforming growth factor- β)等,分泌神经营养因子 BDNF(brain derived neurotrophic factor)和 GDNF,促进髓鞘再生^[14,21]。通过检测 M1 细胞的标志物 iNOS(inducible nitric oxide synthases)和 M2 细胞的标志物 Arg1(Arginase-1),发现 M1 和 M2 型小胶质细胞同时存在于 CPZ 诱导的小鼠模型中,说明小胶质细胞对小鼠脱髓鞘病变既有利又有害。有报道显示,CPZ 模型中,小胶质细胞对神经元和少突胶质细胞祖细胞发挥了毒性作用,同时释放蛋白酶、炎性因子和自由基等引发 CNS 炎症反应^[22]。另外,对 CPZ 模型小鼠使用小胶质细胞抑制剂(17 β -雌二醇、米诺环素)后减轻了脱髓鞘病变^[23],

说明抑制小胶质细胞活化对髓鞘有保护作用。

3 采用 Cuprizone 模型探究髓鞘再生

给小鼠饲喂 CPZ 5 周后停止,小鼠则会逐步出现髓鞘再生现象。少突胶质细胞包裹轴突形成髓鞘并跳跃式传导动作电位,而脱髓鞘影响了动作电位的传播导致相应的临床症状如四肢无力、偏瘫等。髓鞘再生能够恢复髓鞘结构,在轴突代谢以及传播动作电位过程中是必不可少的。髓鞘再生依赖于 OPC 的激活、增殖、迁移和成熟,从而产生新的少突胶质细胞包裹轴突^[24]。同时,髓鞘再生也与髓鞘碎片的清除有关,活化的小胶质细胞和星形胶质细胞无法完全吞噬并清除髓鞘碎片并分泌毒性介质,这也是阻碍髓鞘再生的原因之一^[15]。

血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)是 OPCs 的丝裂原,调控 OPCs 的增殖^[25]。Lampron 等^[25]发现 PDGFR- α 与胰岛素样生长激素-1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)的低表达与髓鞘碎片清除不足有关,从而导致 OPC 募集和增殖受损。Shen 等^[26]发现髓鞘碎片的聚集会刺激 IFN- γ (interferon- γ)表达增多,抑制 OPC 成熟,导致髓鞘形成受损。IFN- β (interferon- β)能够增强小胶质细胞对髓鞘碎片的吞噬能力,Kocur 等^[27]发现 IFN- β 的低表达导致了髓鞘碎片清除效率低,髓鞘再生不足。Ren 等^[28]发现 Quaking 信号蛋白参与了髓鞘碎片的清除,该基因的缺失会导致小胶质细胞吞噬碎片能力减弱。Dong 等^[29]和 Cignarella 等^[30]发现 Trem2 能够调节小胶质细胞对髓鞘碎片的清除。因此,及时清除髓鞘碎片、减少毒性介质分泌和增加 OPC 的增殖和分化可在一定程度上促进 MS 患者的髓鞘再生。

4 采用 Cuprizone 模型探究 MS 的特色疗法

4.1 中药

中药的使用在我国源远流长,是非常具有民族特色的治疗方法。我国有许多学者采用 CPZ 模型研究中药对 MS 的作用,获得了巨大进展。大麻素通过调节 Nkx2.2(NK2 homeobox 2)蛋白增加了 JN(Juxtandin)蛋白的表达,从而促进髓鞘再生和修复^[31]。邢雁霞等^[32]发现黄芪多糖能够增加髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)的表达,减少髓鞘损失,同时还抑制小胶质细胞的聚集,增加了 CPZ 小鼠的体重。于佳等^[33]发现槲皮素增加了 MBP、

少突胶质细胞转录因子 2 (oligodendrocyte transcription factor 2, Olig2) 以及环核苷酸-3' 磷酸水解酶 (cyclic nucleotide-3' phosphate hydrolase, CNPase) 蛋白的表达, 减少了小鼠胼胝体的脱髓鞘病变。徐芳等^[34]发现二氢丹参酮 I 干预后的 CPZ 小鼠体内 M1 型小胶质细胞的百分比减少, 胼胝体的脱髓鞘减少, 说明二氢丹参酮 I 可能通过调节小胶质细胞极化来减轻 CNS 的炎症反应。

4.2 益生菌

Gharehkhani 等^[35]在 CPZ 模型上发现干酪乳杆菌 T2 能够降低炎症小体 NLRP (nucleotide-binding and leucine-rich repeat protein)、IFN- γ 以及 IL-4 (interleukin 4) 的表达, 从而减少炎症反应缓解脱髓鞘症状^[36-37]。杨昊等^[37]发现复合益生菌制剂能够使 CPZ 小鼠回肠绒毛排列整齐、结肠腺体增多、炎性细胞浸润减少、黏蛋白即紧密连接蛋白表达增多, 改善了肠道通透性, 从而通过肠-脑轴使得脑内 LPS (lipopolysaccharide) 水平降低, TLR4 (toll like receptor 4)、NF- κ B (nuclear factor- κ B) 及 p-I κ B/I κ B (inhibitor κ B) 蛋白表达下降, 改善了 CPZ 诱导的脱髓鞘症状。

4.3 物理方法

有研究显示对 CPZ 小鼠使用低频磁疗干预后, 通过 LFB 染色和检测 MBP 发现低频磁疗组小鼠的胼胝体区脱髓鞘明显减少, 同时 IL-1 β 和 TNF- α 的表达均显著降低, 说明低频磁疗有助于改善小鼠的脱髓鞘和抑制炎症反应^[38]。郑碧娥等^[39]发现与 CPZ 组相比, 磁疗组小鼠体重有增长趋势, MBP 和 BDNF 的表达均有显著增多, 同时磁疗组小鼠的运动障碍得到了明显改善, 说明磁疗可能改善了脑内 BDNF 的表达, 从而改善了 CPZ 小鼠的脱髓鞘。

5 总结

2018 年的 MS 患者的生存报告显示我国约有 200 万名 MS 患者, 其中约 80% 患者为复发缓解型 MS。关于 MS 的脱髓鞘病变目前存在两种假说: (1) 由内向外诱导产生脱髓鞘, 即因神经元变性或轴突损伤等引起包裹轴突的髓鞘受损, 从而产生脱髓鞘; (2) 由外向内诱导产生脱髓鞘, 即因少突胶质细胞变性、坏死、凋亡等造成髓鞘损伤, 引发脱髓鞘, 同时暴露轴突, 引起轴突损伤^[4]。MS 的发病机制复杂, 病因不明, 患者需接受长期治疗且不能彻底治愈, 因此深入了解动物模型, 有助于探究 MS 的

发病机制和研发更有效的治疗药物。

目前常用的 MS 的动物模型有 CPZ 模型、TMEV 模型和 EAE 模型。TMEV 模型和 EAE 模型均适用于模拟由外向内引起的脱髓鞘^[4]。与 EAE 和 TMEV 模型相比, CPZ 模型更适用于模拟由内向外引起的脱髓鞘, 比如少突胶质细胞损伤/自噬等引起的脱髓鞘, 以及与线粒体障碍、能量代谢异常、氧化应激等相关的研究。另外, 与 EAE 和 TMEV 模型相比, CPZ 模型操作简单、安全、易于使用、成本低, 是探究 MS 的病理机制和新药研发的理想模型, 因其包括脱髓鞘和髓鞘再生两个过程, 尤其是适用于研究复发-缓解型 MS。因此, 根据不同动物模型的特点, 选择适合的模型开展研究, 对科研工作意义重大。

参考文献:

- [1] Gharibi T, Babaloo Z, Hosseini A, et al. The role of B cells in the immunopathogenesis of multiple sclerosis [J]. Immunology, 2020, 160(4): 325-335.
- [2] Wekerle H, Meinl E. Multiple sclerosis: an old drug plays a new trick [J]. Nature, 2013, 502(7471): 314-315.
- [3] Belbasis L, Bellou V, Evangelou E, et al. Environmental factors and risk of multiple sclerosis: findings from meta-analyses and Mendelian randomization studies [J]. Mult Scler, 2020, 26(4): 397-404.
- [4] Mecha M, Carrillo-Salinas FJ, Mestre L, et al. Viral models of multiple sclerosis: neurodegeneration and demyelination in mice infected with Theiler's virus [J]. Prog Neurobiol, 2013, 101(102): 46-64.
- [5] Zhan J, Mann T, Joost S, et al. The cuprizone model: dos and do nots [J]. Cells, 2020, 9(4): 843.
- [6] Fischbach F, Nedelcu J, Leopold P, et al. Cuprizone-induced graded oligodendrocyte vulnerability is regulated by the transcription factor DNA damage-inducible transcript 3 [J]. Glia, 2019, 67(2): 263-276.
- [7] Leopold P, Schmitz C, Kipp M. Animal weight is an important variable for reliable cuprizone-induced demyelination [J]. J Mol Neurosci, 2019, 68(4): 522-528.
- [8] 谭笔琴, 翁勤洁, 王飞, 等. 双环己酮草酰二胺诱导的脱髓鞘小鼠造模方法的改进 [J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(10): 1388-1391.
- [9] 王妮妮, 鲍天昊, 杨颀, 等. 双环己酮草酰二胺诱导小鼠髓鞘脱失的雌雄差异 [J]. 山东医药, 2016, 56(6): 33-35.
- [10] Rose KM, Elliott R, Martínez-Sobrido L, et al. Murine coronavirus delays expression of a subset of interferon-stimulated genes [J]. J Virol, 2010, 84(11): 5656-5669.
- [11] Fischer MT, Sharma R, Lim JL, et al. NADPH oxidase expression in active multiple sclerosis lesions in relation to oxidative tissue damage and mitochondrial injury [J]. Brain,

- 2012, 135(Pt 3): 886-899.
- [12] Li L, Ulrich R, Baumgärtner W, et al. Interferon-stimulated genes-essential antiviral effectors implicated in resistance to Theiler's virus-induced demyelinating disease [J]. *J Neuroinflammation*, 2015, 12: 242.
- [13] Brück W, Pfortner R, Pham T, et al. Reduced astrocytic NF- κ B activation by laquinimod protects from cuprizone-induced demyelination [J]. *Acta Neuropathol*, 2012, 124(3): 411-424.
- [14] Liddelow SA, Guttenplan KA, Clarke LE, et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia [J]. *Nature*, 2017, 541(7638): 481-487.
- [15] Sen MK, Mahns DA, Coorsen JR, et al. The roles of microglia and astrocytes in phagocytosis and myelination: insights from the cuprizone model of multiple sclerosis [J]. *Glia*, 2022, 70(7): 1215-1250.
- [16] Clarke LE, Liddelow SA, Chakraborty C, et al. Normal aging induces A1-like astrocyte reactivity [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(8): E1896-E1905.
- [17] Joshi AU, Minhas PS, Liddelow SA, et al. Fragmented mitochondria released from microglia trigger A1 astrocytic response and propagate inflammatory neurodegeneration [J]. *Nat Neurosci*, 2019, 22(10): 1635-1648.
- [18] Graeber MB, Streit WJ. Microglia: biology and pathology [J]. *Acta Neuropathol*, 2010, 119(1): 89-105.
- [19] Gudi V, Gingele S, Skripuletz T, et al. Glial response during cuprizone-induced de- and remyelination in the CNS: lessons learned [J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 73.
- [20] Moore CS, Milner R, Nishiyama A, et al. Astrocytic tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) promotes oligodendrocyte differentiation and enhances CNS myelination [J]. *J Neurosci*, 2011, 31(16): 6247-6254.
- [21] Wang J, Wang J, Wang J, et al. Targeting microglia and macrophages: a potential treatment strategy for multiple sclerosis [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 286.
- [22] Peng J, Pang J, Huang L, et al. LRP1 activation attenuates white matter injury by modulating microglial polarization through Shc1/PI3K/Akt pathway after subarachnoid hemorrhage in rats [J]. *Redox Biol*, 2019, 21: 101121.
- [23] Aryanpour R, Zibara K, Pasbakhsh P, et al. 17 β -estradiol reduces demyelination in cuprizone-fed mice by promoting M2 microglia polarity and regulating NLRP3 inflammasome [J]. *Neuroscience*, 2021, 463: 116-127.
- [24] Nave KA, Werner HB. Myelination of the nervous system: mechanisms and functions [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2014, 30: 503-533.
- [25] Lampron A, Laroche A, Laflamme N, et al. Inefficient clearance of myelin debris by microglia impairs remyelinating processes [J]. *J Exp Med*, 2015, 212(4): 481-495.
- [26] Shen K, Reichelt M, Kyauk RV, et al. Multiple sclerosis risk gene *Mertk* is required for microglial activation and subsequent remyelination [J]. *Cell Rep*, 2021, 34(10): 108835.
- [27] Kocur M, Schneider R, Pulm AK, et al. IFN β secreted by microglia mediates clearance of myelin debris in CNS autoimmunity [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2015, 3(1): 1-16.
- [28] Ren J, Dai C, Zhou X, et al. Qki is an essential regulator of microglial phagocytosis in demyelination [J]. *J Exp Med*, 2021, 218(1): e20190348.
- [29] Dong Y, D' Mello C, Pinsky W, et al. Oxidized phosphatidylcholines found in multiple sclerosis lesions mediate neurodegeneration and are neutralized by microglia [J]. *Nat Neurosci*, 2021, 24(4): 489-503.
- [30] Cignarella F, Filipello F, Bollman B, et al. TREM2 activation on microglia promotes myelin debris clearance and remyelination in a model of multiple sclerosis [J]. *Acta Neuropathol*, 2020, 140(4): 513-534.
- [31] 同思雅, 杨谦, 张咪娟, 等. 大麻素对双环己酮草酰二胺诱导的脱髓鞘模型小鼠髓鞘的修复作用 [J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2020, 46(1): 35-39, 207.
- [32] 邢雁霞, 李自青, 刘斌焰, 等. 黄芪多糖对 CPZ 诱导的急性脱髓鞘模型的保护作用 [J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40(4): 834-839.
- [33] 于佳, 孙雅琴, 赵晖, 等. 槲皮素促进 CPZ 诱导脱髓鞘模型小鼠髓鞘再生的作用机制研究 [J]. *国际中医中药杂志*, 2020, 42(1): 39-45.
- [34] 徐芳, 张晓娟, 刘晓琴, 等. 二氢丹参酮 I (DHTS1) 通过抑制双环己酮草酰二胺诱导的小鼠小胶质细胞激活减轻髓鞘损伤 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2020, 36(5): 404-412.
- [35] Gharehkhani Digehsara S, Name N, Esfandiari B, et al. Effects of *Lactobacillus casei* strain T2 (IBRC-M10783) on the modulation of Th17/treg and evaluation of miR-155, miR-25, and IDO-1 expression in a cuprizone-induced C57BL/6 mouse model of demyelination [J]. *Inflammation*, 2021, 44(1): 334-343.
- [36] Digehsara SG, Name N, Sartipnia N, et al. Analysis of inflammasomes and *CYP27B1* genes in cuprizone demyelinated C57BL/6 mice and evaluation of Th1 and Th2 patterns after oral administration of *Lactobacillus casei* strain T2 (IBRC-M10783) [J]. *Microb Pathog*, 2021, 155: 104931.
- [37] 杨昊, 李琳, 刘青青, 等. 复合益生菌制剂缓解 cuprizone 诱导的小鼠神经脱髓鞘 [J]. *微生物学报*, 2022, 62(3): 774-784.
- [38] 缪晓影, 郑碧娥, 苏玲玲, 等. 低频磁疗对脱髓鞘模型小鼠髓鞘及炎症反应的影响 [J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2021, 43(10): 865-870.
- [39] 郑碧娥, 何进娣, 缪晓影, 等. 磁疗对双环己酮草酰二胺诱导脱髓鞘小鼠的神经保护作用 [J]. *中国康复医学杂志*, 2020, 35(10): 1181-1186.