

MMP-8 和 MMP-12 介导的胶质瘢痕抑制促进大鼠视神经损伤后轴突长时程再生

曹解, 耿宇*

昆明医科大学第一附属医院眼科, 云南昆明 650031

[中图分类号] R774.6 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.2581.2026.0714

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 曹解,耿宇.MMP-8 和 MMP-12 介导的胶质瘢痕抑制促进大鼠视神经损伤后轴突长时程再生[J].解放军医学杂志,DOI: 10.11855/j.issn.0577-7402.2581.2026.0714.

[收稿日期] 2025-12-14

[录用日期] 2026-02-09

[上线日期] 2026-07-14

[摘要] **目的** 探讨基质金属蛋白酶(MMP)-8 与 MMP-12 在大鼠视神经损伤后长时程轴突再生及胶质瘢痕形成中的调控作用。**方法** 将 192 只 SD 雄性大鼠随机分为对照组和转染组, 每组 96 只。两组大鼠均在右眼建立视神经钳压损伤模型; 转染组在视神经损伤区采用慢病毒转染过表达 MMP-8 和 MMP-12; 对照组同期转染等量空载体慢病毒。术后第 7、14、21、28 d 取大鼠视神经组织, Western blotting 和 qRT-PCR 法检测 MMP-8、MMP-12、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)及神经胶质抗原 2(NG2)的蛋白和 mRNA 表达水平; 采用霍乱毒素 B 亚基(CTB)逆行示踪观察视网膜神经节细胞(RGC)轴突再生。**结果** CTB 逆行示踪显示, 转染组 RGC 轴突延伸范围较对照组明显增大: 标记轴突于术后第 14 d 突破损伤横断面, 21 d 到达视交叉, 28 d 延伸至下丘脑, 而对照组荧光信号始终局限于视网膜内。与对照组比较, 在术后第 7、14、21、28 d, 转染组视神经组织 MMP-8 和 MMP-12 蛋白表达水平均明显升高, NG2 mRNA 和蛋白、GFAP mRNA 表达水平均明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 在术后第 21、28 d, 转染组 GFAP 蛋白表达水平明显降低($P < 0.01$)。**结论** 大鼠视神经钳压损伤后, MMP-8 与 MMP-12 过表达可抑制胶质瘢痕相关因子 GFAP 与 NG2 的表达, 减轻瘢痕形成, 促进 RGC 轴突的长时程再生; MMP-8 与 MMP-12 可能成为促进视神经再生的潜在靶点。

[关键词] 视神经损伤; 轴突再生; 基质金属蛋白酶 8; 基质金属蛋白酶 12; 胶质瘢痕

MMP-8/MMP-12-mediated inhibition of glial scarring promotes long-term axon regeneration after optic nerve injury in rats

Cao Xie, Geng Yu*

Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650031, China

*Corresponding author, E-mail: gengyu@ydy.cn

This work was supported by the National Science Foundation of China (82360205), and the Yunnan Province Reserve Talent of Middle-aged and Young Academic and Technical Leaders Project (202405AC350057)

[Abstract] **Objective** To investigate how matrix metalloproteinase 8 (MMP-8) and MMP-12 affect long-term axonal regeneration and glial scar formation after optic nerve crush injury in rats. **Methods** 192 male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into control group and transfection group, with 96 rats in each group. A unilateral optic nerve crush injury was produced in the right eye of every rat. At the lesion site, rats in transfection group received lentiviral vectors carrying MMP-8 and MMP-12 overexpression constructs. Rats in control group received the same volume of empty-vector lentivirus. Optic nerve tissue was collected on postoperative day 7, 14, 21, and 28. Western blotting and quantitative real-time PCR (qRT-PCR) were used to measure the protein and mRNA expression of MMP-8, MMP-12, glial fibrillary acidic protein (GFAP), and neuroglial antigen 2 (NG2), respectively. Retinal ganglion cell (RGC) axonal regeneration was evaluated by anterograde tracing with cholera toxin B subunit

[基金项目] 国家自然科学基金(82360205); 云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目(202405AC350057)

[作者简介] 曹解, 硕士研究生, 主要从事晶状体疾病与视神经损伤修复方面的研究

[通信作者] 耿宇, E-mail: gengyu@ydy.cn

(CTB). **Results** CTB tracing showed axonal regrowth in transfection group. Labeled axons crossed the lesion site by day 14, reached the optic chiasm by day 21, and extended into the hypothalamus by day 28. In contrast, no CTB-labeled axons beyond the retina were found in control group at any time point. Compared with control group, rats in transfection group showed significant higher expression level of MMP-8 and MMP-12 protein, and significant lower expression level of NG2 mRNA and protein, and GFAP mRNA ($P<0.05$ or $P<0.01$) at postoperative day 7, 14, 21, and 28; and significant lower expression level of GFAP protein ($P<0.01$) at postoperative day 21 and 28. **Conclusions** MMP-8 and MMP-12 overexpression reduces glial scar formation by lowering the expression of the scar-associated markers GFAP and NG2, supports long-distance regeneration of RGC axons after optic nerve injury. MMP-8 and MMP-12 may serve as therapeutic targets for optic nerve repair.

[Key words] optic nerve injury; axonal regeneration; matrix metalloproteinase-8; matrix metalloproteinase-12; glial scar

外伤导致的视神经损伤是神经性致盲的重要原因之一。视神经轴突再生能力有限,损伤后视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)存活率急剧下降,临床治疗困难,多以保守性措施为主^[1-2]。探索促进RGCs存活并实现轴突再生的有效途径受到国内外关注。在中枢神经损伤后,细胞外基质(extracellular matrix, ECM)异常沉积是限制轴突再生、修复的关键因素之一。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)可降解胶原、硫酸软骨素蛋白多糖(CSPGs)等ECM成分,在创伤修复、瘢痕重塑及神经再生中发挥重要调控作用^[20-22]。在外周组织如皮肤瘢痕增生及中枢神经系统的应激性胶质瘢痕重塑过程中,MMPs被认为是连接炎症反应与组织重构的关键分子。

胶质瘢痕的异常形成是限制视神经再生的重要障碍,而其调控机制尚未完全明晰。既往研究显示,MMPs在神经损伤后参与炎症反应调控及ECM重塑,对轴突再生具有重要影响^[20-22]。本研究前期基于视神经损伤相关动物模型的转录组数据及分子生物学验证实验显示,MMP-8与MMP-12在损伤后视神经组织中显著上调^[23]。由此我们推测,MMP-8和MMP-12的上调可能通过抑制胶质纤维酸性蛋白(GFAP)、神经胶质抗原2(NG2)等胶质瘢痕成分,改善损伤微环境,从而促进RGCs轴突再生。基于此,本研究通过慢病毒使大鼠视神经损伤区过表达MMP-8、MMP-12,评估后者对胶质瘢痕形成及轴突长时程再生的影响,旨在为寻找新的视神经再生干预靶点提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组 6周龄、SPF级SD雄性大鼠192只,体重210~230 g,购自河南斯克贝斯生物科技股份有限公司[实验动物生产许可证号:SCXK(豫)2025-0005]。常规检查大鼠双眼排除眼部器质性病变。大鼠在标准环境下饲养,昼夜光照12h/12h,温湿度适宜,食物和饮水充足。大鼠按随机数表法分为对照组和转染组,每组96只。两组大鼠均在右眼建立视神经钳夹损伤模型;转染组大鼠在视神经损

伤区采用慢病毒转染过表达MMP-8和MMP-12。本研究获昆明医科大学动物伦理委员会审批(kmmu20220500)。所有动物实验均遵循美国视觉与眼科研究协会(ARVO)动物使用声明,并符合ARRIVE指南、《1986年动物(科学程序)法》、欧盟2010/63号指令及美国国立卫生研究院(NIH)《实验动物护理和使用指南》要求。

1.2 主要试剂与仪器 MMP-8慢病毒颗粒(基因ID: 63849, GenBank: NM_022221.2, CDS长度1,401bp)和MMP-12慢病毒颗粒(基因ID: 117033, GenBank: NM_053963.2, CDS长度1,434bp),购自上海吉凯基因科技有限公司。兔抗MMP-8、GFAP、NG2抗体(ab81286、ab129051、ab68428)购自英国Abcam公司;兔抗MMP-12、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(22989-1-AP, 10494-1-AP)购自武汉三鹰生物技术有限公司;HRP标记的羊抗兔IgG(bs-0295G-HRP)购自北京博奥森生物技术有限公司。霍乱毒素B亚基(cholera toxin B subunit, CTB)示踪剂(Alexa Fluor 555)购自美国赛默飞世尔科技公司;Focus Clear溶液(FC-101)购自中国台湾Celexplorer Labs公司;蛋白抽提试剂盒购自上海雅酶生物医药科技有限公司;RNA提取试剂盒(TSP413)、化学修饰热启动荧光定量PCR预混液(ArtiCanCEO SYBR Mix, TSE401)、反转录试剂SynScript®III RT SuperMix (TSK314S)均购自北京擎科生物科技有限公司。

ABI实时荧光定量PCR仪(QuantStudio StepOne Plus)购自美国赛默飞世尔科技公司;离心机(5425 R)购自美国Eppendorf公司;核酸定量仪(BioTek)购自美国安捷伦科技公司;激光共聚焦显微镜购自日本Olympus公司。

1.3 方法

1.3.1 大鼠视神经损伤模型建立和慢病毒转染过表达MMP-8、MMP-12 两组大鼠均在右眼建立视神经钳夹损伤模型。大鼠腹腔注射1%戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉。在右眼上睑缘中央作“T”形切口,暴露视神经,于眼球后2 mm处用小号动脉夹垂直夹持10~12 s。术中观察眼底血供,确保无持续缺血。术毕缝合并涂红霉素眼膏预防感染。术后1周伤口愈

合、眼底无出血视为造模成功。大鼠左眼不予处理。

转染组大鼠在视神经损伤区采用慢病毒转染过表达 MMP-8、MMP-12；对照组大鼠在视神经损伤区周边等量注射空载体慢病毒。转染组大鼠在视神经损伤即刻及术后第 6、12、18、24 d，于显微镜下向视神经损伤区周边多点缓慢注射 MMP-8 与 MMP-12 慢病毒混合液(体积比 1:1，总量 2 μl，注射速率 0.5 μl/min，每点注射量约 0.5 μl)。注射针保持静止停留 30 s 防止返流。在术后第 7、14、21、28 d，两组分别从 3 只大鼠取样，检测其视神经 MMP-8 和 MMP-12 的蛋白和 mRNA 表达水平。

1.3.2 CTB 顺行示踪评估视神经损伤后 RGCs 轴突再生情况 在术后第 5、12、19、26 d，两组大鼠均通过玻璃体腔注射 CTB 溶液进行视神经轴突的顺行示踪。示踪完成后，在术后第 7、14、21 和 28 d，两组分别从 3 只大鼠取视神经及眼球，4% 多聚甲醛溶液灌注固定，随后进行蔗糖梯度脱水处理。组织经透明化后，使用共聚焦显微镜进行扫描，记录 CTB 示踪剂的分布位置，以确定轴突再生的最远端距离。定量评估 RGCs 轴突再生情况，在损伤区域的横断面，于 20 倍物镜下随机选取 3 个不同视野进行图像采集，并测量其荧光强度，取平均值作为该时间点的轴突荧光强度，间接反映轴突再生水平。

1.3.3 Western Blotting 检测大鼠视神经 MMP-8、MMP-12、GFAP、NG2 蛋白表达水平 在术后第 7、14、21、28 d，两组分别从 3 只大鼠取大鼠视神经组

织，经裂解、离心提取总蛋白。BCA 法测定蛋白浓度后等量上样(每孔上样 30 μg)，SDS-PAGE 分离并转膜至 PVDF。5% 脱脂奶粉封闭 1 h，加入 MMP-8 (稀释比 1:1000)、MMP-12(1:1000)、GFAP(1:2000)、NG2(1:2000)、GAPDH(1:5000)一抗，4 ℃ 过夜；加入 IgG 二抗 (1:10000)，室温 1 h。ECL 显影后以 GAPDH 为内参，Image J 6.0 软件分析条带灰度值。

1.3.4 实时定量 PCR(qRT-PCR)检测大鼠视神经 MMP-8、MMP-12、GFAP 及 NG2 mRNA 表达水平 在术后第 7、14、21、28 d，两组分别从 3 只大鼠取损伤的视神经组织，按 RNA 提取试剂盒说明书提取总 RNA，OD260/280 值在 1.8~2.1 为合格。引物序列根据 GenBank™ 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>)中列出的大鼠 MMP-8、MMP-12、GFAP 和 NG2 的 cDNA 序列设计(表 1)。以 GAPDH 为内参。在用于 RT-qPCR 定量研究之前，所有引物均通过常规 PCR 检测其特异性。采用 SynScript®III RT SuperMix 反转录为 cDNA，使用 ArtiCanCEO SYBR Mix 进行 qPCR 扩增，反应体系 20 μl。扩增条件：95 ℃ 5 min；循环 40 次(95 ℃ 15 s，60 ℃ 20 s，72 ℃ 20 s)。溶解曲线分析产物特异性。

1.4 统计学处理 采用 GraphPad Prism 8 软件进行统计分析。两组间比较采用独立样本 *t* 检验。多组比较采用单因素方差分析，必要时进行 Bonferroni 事后检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

表 1 反转录-定量聚合酶链反应引物

Tab.1 Primers for reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction

基因	正向引物	反向引物
MMP-8(125bp)	5'-TGAGGCGATTGGGGAGAGTC-3'	5'-TACCTGCTTCTGGCTGGGAAA-3'
MMP-12(132bp)	5'-GAGGCGAGATATACAAGCCACA-3'	5'-AGTTGGCCTTTGGAGGCATT-3'
GFAP(122bp)	5'-GTTGTTCTCCAAGCCAAGGG-3'	5'-GGCTGCTTGAACACAACGTG-3'
NG2(144bp)	5'-ACCGTAGTGCTCACCGTCTCC-3'	5'-AGGCAGGTCAAGGCTTCCAGAG-3'
GAPDH(292bp)	5'-GTGCTGAGTATGTCGTGGAGTCT-3'	5'-ACAGTCTTCTGAGTGGCAGTGA-3'

MMP.基质金属蛋白酶；GFAP.胶质纤维酸性蛋白；NG2.神经胶质抗原2；GAPDH.甘油醛-3-磷酸脱氢酶

2 结 果

2.1 大鼠视神经损伤模型建立与 MMP-8、MMP-12 过表达 所有接受视神经钳夹损伤手术操作的大鼠术后一般行为正常。未发现视网膜缺血、眼压升高、眼内炎等并发症，提示大鼠视神经损伤模型建立成功。

病毒表达动态监测显示，初次注射后大鼠视神经组织 MMP-8、MMP-12 表达水平于 7 d 内下降，通过在第 6、12、18、24 d 实施阶梯式补充注射，可分别维持其高表达至第 7、14、21 及 28 d，各时间点表

达上调均具有统计学意义(*P*<0.05 或 *P*<0.01，图 1)。

2.2 大鼠视神经损伤后轴突再生的 CTB 顺行示踪结果 共聚焦显微镜下的 CTB 示踪结果显示，与对照组比较，转染组大鼠 RGCs 轴突再生能力明显增强(图 2)。

转染组的轴突再生表现出明确的时程依赖性(图 2A、B)：第 7 d 示踪信号局限于视神经损伤区域上方；第 14 d 示踪剂突破横断面，延伸至损伤区域下方，但尚未到达视神经末端视交叉处；第 21 d 示踪剂到达视交叉(视神经最末端)；第 28 d 轴突延伸至下丘脑区域。而对照组的 CTB 示踪剂荧光信号仅局

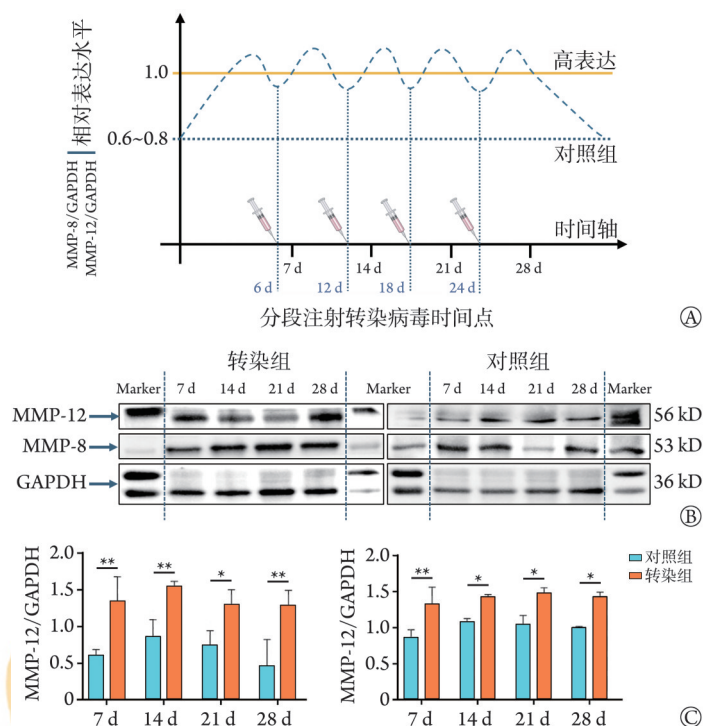


图1 慢病毒转染介导的基质金属蛋白酶(MMP)-8和MMP-12在大鼠视神经损伤区域的过表达(Western blotting)

Fig.1 Lentiviral transfection-mediated overexpression of MMP-8 and MMP-12 in the optic nerve injury area of rats (Western blotting)

A. 在慢病毒转染后的不同时间点, 目标蛋白的表达水平持续上升; B. 在第6、12、18和24 d补充转染后, MMP-8和MMP-12表达水平波动的蛋白质印迹条带。* $P<0.05$, ** $P<0.01$

限于视网膜处(RGCs层见到少量红色荧光表现), 在视神经损伤区及视神经全段、下丘脑均未观察到荧光信号, 提示轴突再生未发生(图2C、D)。

定量分析显示, 与对照组比较, 转染组各时间点损伤处的轴突荧光强度均明显增强, 且随着时间

推移, 荧光强度呈现稳定上调趋势(图3)。

2.3 大鼠视神经组织MMP-8、MMP-12和胶质瘢痕相关因子GFAP、NG2蛋白表达水平 Western Blotting检测显示, 与对照组比较, 在视神经损伤后第7、14、21、28 d, 转染组大鼠视神经组织MMP-8

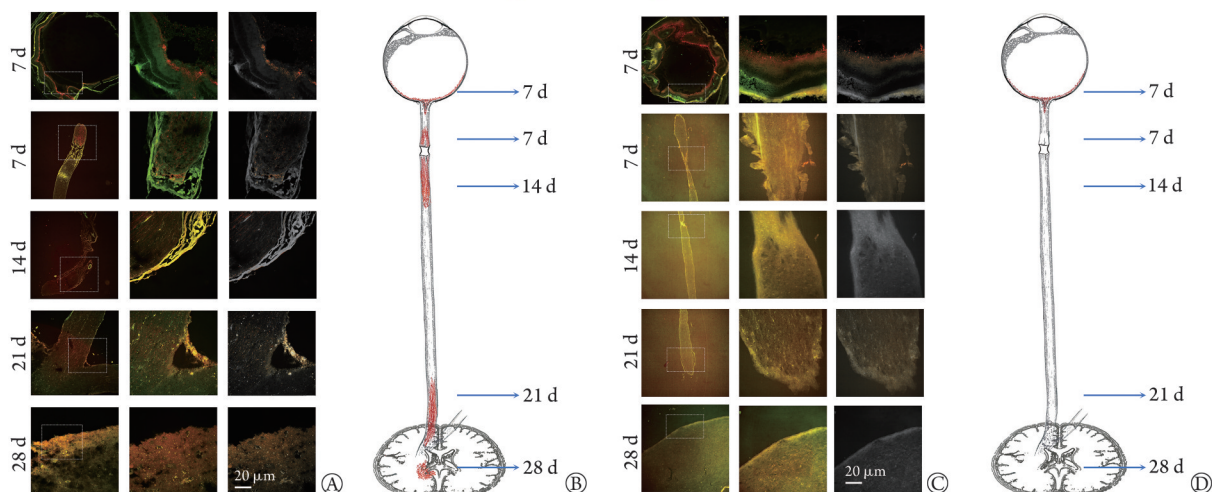


图2 共聚焦显微镜下两组大鼠视神经轴突再生的CTB示踪及时程示意图

Fig.2 Confocal microscopic CTB tracing and time-course diagram illustrating optic nerve axon regeneration in two groups of rats

A. 转染组(注射过表达慢病毒)在不同时间点(第7 d、14 d、21 d、28 d)的视神经免疫荧光共聚焦图片。红色荧光代表示踪剂CTB, 指示轴突的延伸位置; 绿色荧光代表GFP标记的慢病毒载体。可见视网膜神经节细胞层(RGCs)有高亮红色荧光信号。B. CTB示踪剂在转染组不同时间点在视神经-视交叉-下丘脑通路中的示踪位置示意图, 第7 d, 示踪剂局限于视神经夹闭损伤处上方; 第14 d, 突破损伤区域横断面到达损伤处下方, 但未超过视交叉; 第21 d, 到达视交叉处; 第28 d, 延伸至下丘脑区域。C、D. 对照组仅在视网膜视神经节细胞层观察到少量红色荧光表现; 在视神经全段及下丘脑均未观察到荧光表现, 提示无轴突再生发生。CTB. 霍乱毒素B亚基

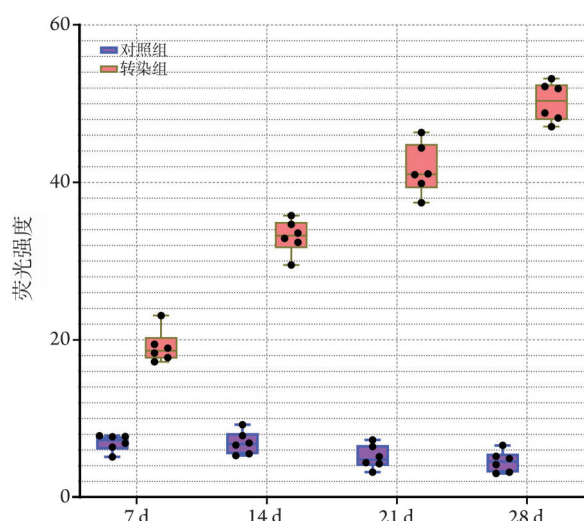


图3 两组不同时间点大鼠视神经损伤处横断面的轴突荧光强度定量分析箱线图

Fig. 3 Box plot of quantitative analysis of axonal fluorescence intensity at transected sites of the optic nerve injury in two groups of rats at different time points

共聚焦显微镜下CF561和CF488通道的观察显示,转染组的荧光强度在所有时间点均高于对照组,且随着时间推移(7 d、14 d、21 d、28 d)呈现稳定上调趋势

和MMP-12、NG2蛋白表达水平均明显增高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);在视神经损伤后第21、28 d,转染组大鼠视神经组织GFAP蛋白表达水平明显降低($P<0.01$,图4)。

2.4 大鼠视神经组织MMP-8、MMP-12、GFAP和NG2 mRNA表达水平 qRT-PCR检测显示,与对照组比较,转染组MMP-8 mRNA相对表达量在第7、14、28 d明显增高($P<0.01$),MMP-12 mRNA相对表达量在第7、14 d明显增高($P<0.01$),GFAP和NG2 mRNA相对表达量在第7、14、21、28 d均明显降低($P<0.01$)(图5)。

3 讨论

视神经损伤后的再生障碍,主要源于RGCs再生能力低下及损伤区胶质瘢痕的形成^[24]。胶质瘢痕由星形胶质细胞、小胶质细胞及少突胶质前体细胞等活化后分泌的多种抑制性分子构成,其中GFAP和NG2常作为其重要标志物^[10,25-27]。近年研究提示,MMPs能够降解ECM成分,削弱损伤区形成的物理及化学屏障,为轴突再生创造有利的微环境^[20-22]。基于前期转录组测序提示MMP-8和MMP-12在视神经损伤后显著上调和部分分子生物学验证^[23],本研究提出假设:MMP-8和MMP-12可通过局部降解ECM和抑制瘢痕形成,促进RGCs轴突的长时程再生。

为在视神经损伤区域持续提供过表达慢病毒颗粒,本研究在动物模型中采用了分阶段的视神经周边慢病毒注射策略。侵入性操作可能对视神经及其周围微环境造成物理刺激、局部组织损伤及继发性炎症反应,这在研究高度敏感的视神经再生过程中尤其值得重视。理论上,反复穿刺可能引起机械性损伤累积、反复炎症干扰等潜在影响。然而,在本研究中,尽管存在上述可能因素,转染组仍显示出明确的视神经再生与功能改善,究其可能的原因:注射操作的精准定位与技术优化,慢病毒载体介导的稳定基因表达效应,以及损伤后组织对重复刺激的适应性反应。此外,本研究设置了相同注射次数和体积的空载体对照组,该组动物接受了完全一致的物理操作,但未显示类似的再生效应,这在一定程度上排除了单纯操作因素对结果的影响。

本研究中,慢病毒转染使MMP-8和MMP-12在大鼠视神经损伤区维持高表达,而GFAP和NG2的蛋白和mRNA水平则明显下降,提示MMP-8和MMP-12表达水平与瘢痕形成呈负相关;CTB逆行示踪实验进一步验证了这种分子机制的功能效应,转染组RGCs轴突在14 d突破损伤横断面,21 d进入视交叉,28 d延伸至下丘脑,而对照组始终局限于视网膜,提示MMP-8和MMP-12上调促进了轴突长程再生。这一系列结果从分子水平-蛋白水平-形态学水平三个维度共同证实了MMP-8和MMP-12可促进轴突长程再生。

MMP-8(中性粒细胞胶原酶)和MMP-12(巨噬细胞弹性蛋白酶)在炎症反应和组织重塑中已被广泛研究,既往研究多集中于关节炎、动脉粥样硬化等疾病模型^[28-30];在神经系统中,有报道MMPs可水解胶原、纤维连接蛋白及CSPGs,减轻ECM抑制并支持神经纤维延伸^[20]。与上述报道一致,本研究在大鼠模型中验证了MMP-8和MMP-12对视神经损伤的修复作用。与既往研究不同的是,本研究不仅验证了其分子与蛋白水平的效应,还通过逆行示踪实验进一步呈现了RGCs轴突的长时程再生过程。

从病理生理机制看,MMP-8和MMP-12可能通过多重途径参与视神经损伤的修复过程:首先,作为重要的ECM降解酶,二者可水解胶原及CSPGs等瘢痕相关成分,削弱胶质瘢痕形成的物理与化学屏障,为再生轴突提供通道;其次,MMP-8和MMP-12均与炎症反应密切相关,其适度上调可能有助于损伤后炎症反应由急性期向修复期转变,间接改善再生微环境;最后,胶质细胞活化状态的改变亦可能影响轴突导向及支持性信号的分布。上述机制的协同作用,可能共同促进RGCs轴突的长时程再生。既往对胶质瘢痕的研究多强调其抑制作用,但也有

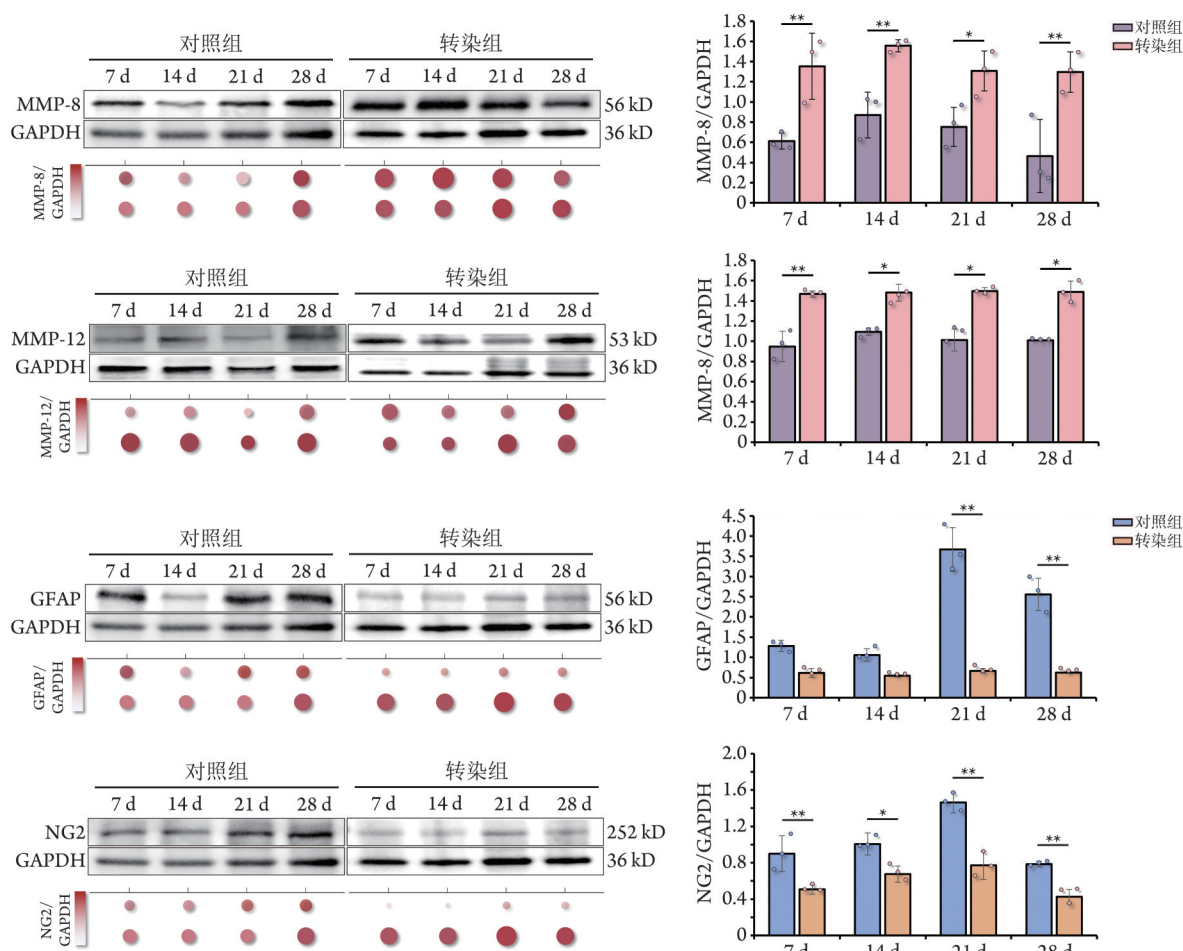


图4 MMP-8、MMP-12、GFAP和NG2蛋白相对表达量分析柱状图(Western blotting, $n=3$)

Fig.4 Bar chart of the analysis of relative expression levels of MMP-8, MMP-12, GFAP, and NG2 proteins (Western blotting, $n=3$)

* $P<0.05$, ** $P<0.01$. MMP.基质金属蛋白酶; GFAP.胶质纤维酸性蛋白; NG2.神经胶质抗原2

观点认为其在急性期可起到保护作用^[6-8,31,32]。本研究结果提示, MMP-8和MMP-12活性适度增强, 可在不破坏组织稳定性的同时, 降低瘢痕的长期抑制效应, 为RGCs的长程再生提供通路。这为未来探索靶向调控MMPs作为干预策略提供了新的思路。

本研究结果显示, 在SD大鼠视神经钳夹损伤模型中, MMP-8和MMP-12表达上调可抑制GFAP和NG2介导的胶质瘢痕形成, 进而促进RGCs轴突的长时程再生。该结果提示, 靶向MMPs的调控可能成为缓解瘢痕屏障、促进视神经修复的潜在治疗策略。

需要强调的是, 轴突的结构性再生并不必然等同于功能恢复。为验证再生轴突是否可能具有功能学意义, 我们还在独立动物队列中对部分实验动物补充进行了视觉电生理及行为学评估; 结果显示, MMP-8/MMP-12过表达组大鼠视神经损伤后视觉功能恢复有所改善, 为本研究关于胶质瘢痕抑制促进轴突再生的结构学发现提供了功能学层面的支持(附表1—2, 附图1)。

MMP-8与MMP-12促再生时, 需重点权衡慢病毒载体的生物安全性。尽管整合型载体存在插入突变及免疫原性隐忧, 但眼球的解剖生理特性为规避这些风险提供了天然优势^[33]。RGCs作为终末分化的有丝分裂后神经元, 在生理状态下缺乏分裂增殖能力。这种细胞周期特征可较大幅度地阻断因病毒基因组整合可能导致的克隆性扩增及肿瘤形成路径^[34]。结合第三代自失活(SIN)载体的应用, 通过缺失长末端重复(LTR)增强子序列, 可进一步降低反式激活内源性基因的可能性^[33]。眼球的免疫豁免属性及血-视网膜屏障可限制病毒抗原的全身暴露, 从而削弱细胞毒性T细胞介导的清除反应。虽然MMP家族蛋白对ECM的降解特性可能对血-视网膜屏障完整性构成挑战^[35], 但本研究视觉诱发电位(VEP)潜伏期的恢复提示髓鞘功能及神经屏障未受到实质性损害。为实现更精准的时空控制, 未来转化研究可引入诱导型启动子或采用非整合型慢病毒载体(IDLVs), 以进一步提升临床应用的安全性。

本研究尚存在一定局限。首先, 实验采用的SD

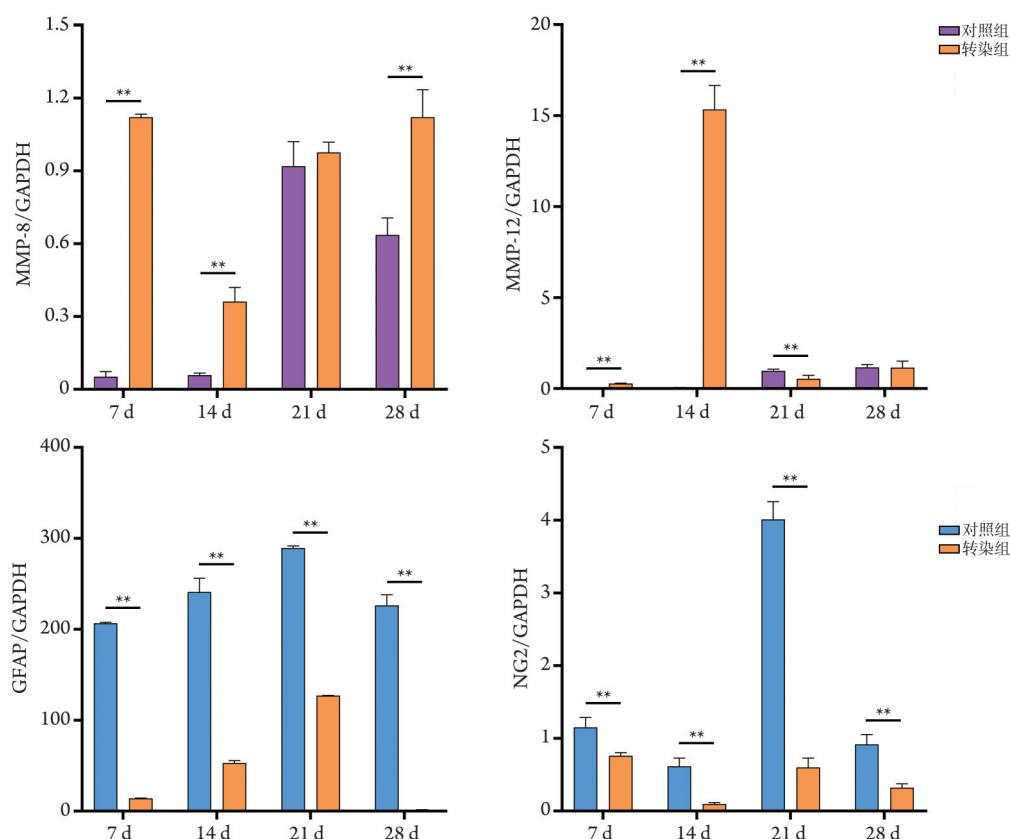


图5 大鼠视神经损伤区域MMP-8、MMP-12及胶质瘢痕因子GFAP、NG2的mRNA相对表达量小提琴图(qRT-PCR, $n=3$)

Fig.5 Violin plots showing the relative mRNA expression levels of MMP-8, MMP-12, and glial scar factors GFAP and NG2 in rat optic nerve injury region (qRT-PCR, $n=3$)

** $P<0.01$. MMP. 基质金属蛋白酶; GFAP. 胶质纤维酸性蛋白; NG2. 神经胶质抗原2

大鼠急性视神经损伤模型, 能否完全反映人类视神经慢性损伤或复杂病理环境尚须进一步验证; 其次, 仅在28 d范围内观察了视神经轴突再生, 尚缺乏更长期的实验数据; 再次, 主要聚焦于胶质瘢痕相关因子及轴突再生的结构性恢复, 尚未系统评估视神经髓鞘损伤和再髓鞘化过程, 以及其他ECM成分及炎症因子在其中的作用。已有研究提示, 髓鞘完整性对轴突传导功能恢复具有重要意义, MMPs在髓鞘降解与重塑中的作用亦值得关注。后续研究将结合髓鞘标志蛋白及超微结构分析, 以全面评估MMP-8和MMP-12在视神经修复中的作用。未来研究还可通过多组学方法结合功能阻断实验, 进一步探究MMP-8和MMP-12在不同损伤阶段的动态作用, 评估靶向调控MMPs在临床转化中的安全性与可行性。

【附加材料】

附表1—2和附图1见<https://dx.doi.org/10.11855/j.issn.0577-7402.2581.2026.0714FJ>。

请扫描右方二维码获取。



【参考文献】

- [1] Agadagba SK, Lim LW, Chan LLH. Advances in transcorneal electrical stimulation: from the eye to the brain[J]. *Front Cell Neurosci*, 2023, 17: 1134857.
- [2] Wong KA, Benowitz LI. Retinal ganglion cell survival and axon regeneration after optic nerve injury: role of inflammation and other factors[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(17): 10179.
- [3] Liu X, Hao F, Duan H, *et al.* Research progress on optic nerve injury and regeneration[J]. *Sci Sin Vitae*, 2022, 53(4): 417-430.
- [4] Li Y, Jin K, Xiang M. Optic nerve repair and regeneration in vertebrates[J]. *Scientia Sinica Vitae*, 2022, 52(7): 988-1005.
- [5] Meng Z, You R, Mahmood A, *et al.* Application of proteomics analysis and animal models in optic nerve injury diseases[J]. *Brain Sci*, 2023, 13(3): 404.
- [6] Shabanzadeh AP, D'onofrio PM, Magharious M, *et al.* Modifying PTEN recruitment promotes neuron survival, regeneration, and functional recovery after CNS injury[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(8): 567.
- [7] Anderson MA, Burda JE, Ren Y, *et al.* Astrocyte scar formation aids central nervous system axon regeneration[J]. *Nature*, 2016, 532(7598): 195-200.
- [8] Tao N, Dong X, Liu C, *et al.* Co-overexpression of OPN, IGF-1 and CNTF augment the therapeutic effect of DPSC on spinal cord injury[J]. *Regen Ther*, 2023, 24: 651-661.
- [9] Yu G, Zhang Y, Ning B. Reactive astrocytes in central nervous system injury: subgroup and potential therapy[J]. *Front Cell*

- Neurosci, 2021, 15: 792764.
- [10] Bhatt M, Sharma M, Das B. The role of inflammatory cascade and reactive astrogliosis in glial scar formation post-spinal cord injury[J]. Cell Mol Neurobiol, 2024, 44(1): 78.
- [11] 李星, 李佳音, 肖志峰, 等. 脊髓损伤后胶质瘢痕在神经再生过程中作用的探讨[J]. 中国修复重建外科杂志, 2018, 32(8): 973-978.
- [12] Yang T, Dai Y, Chen G, *et al.* Dissecting the dual role of the glial scar and scar-forming astrocytes in spinal cord injury[J]. Front Cell Neurosci, 2020, 14: 78.
- [13] Wang SM, Hsu JC, Ko CY, *et al.* Astrocytic cebpd regulates pentraxin 3 expression to promote fibrotic scar formation after spinal cord injury[J]. Mol Neurobiol, 2023, 60(4): 2200-2208.
- [14] Xue X, Wu X, Fan Y, *et al.* Heterogeneous fibroblasts contribute to fibrotic scar formation after spinal cord injury in mice and monkeys[J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 6321.
- [15] Manrique-Castano D, Bhaskar D, Elali A. Dissecting glial scar formation by spatial point pattern and topological data analysis[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 19035.
- [16] Escartin C, Galea E, Lakatos A, *et al.* Reactive astrocyte nomenclature, definitions, and future directions[J]. Nat Neurosci, 2021, 24(3): 312-325.
- [17] Yan L, Er T, Sun S, *et al.* Distinct astrocyte activation patterns associated with neuroinflammation induced by gamma and proton beam irradiation[J]. Sci Rep, 2025, 15(1): 11481.
- [18] Frohlich N, Nagy B, Hovhannisyan A, *et al.* Fate of neuron-glia synapses during proliferation and differentiation of NG2 cells[J]. J Anat, 2011, 219(1): 18-32.
- [19] Hesp Z C, Yoseph R Y, Suzuki R, *et al.* Proliferating NG2-cell-dependent angiogenesis and scar formation alter axon growth and functional recovery after spinal cord injury in mice[J]. J Neurosci, 2018, 38(6): 1366-1382.
- [20] Bou Ghanem GO, Koktysh D, Baratta RO, *et al.* Collagen mimetic peptides promote repair of MMP-1-damaged collagen in the rodent sclera and optic nerve head[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(23): 17031.
- [21] De Vincentiis S, Capitanini E, Kira K, *et al.* Mechanical forces guide axon growth through the nigrostriatal pathway in an organotypic model[J]. Adv Sci (Weinh), 2025, 12(31): e2500400.
- [22] Takeda A, Teshima M, Funakoshi K. Involvement of vimentin- and BLBP-positive glial cells and their MMP expression in axonal regeneration after spinal cord transection in goldfish[J]. Cell Tissue Res, 2024, 398(1): 15-25.
- [23] 王国栋, 赵剑峰, 徐星煜, 等. 在晶状体损伤诱导的视神经长时程再生过程中 MMP-12 的表达规律[J]. 国际眼科杂志, 2023, 23(3): 369-374.
- [24] Liu X, Liu Y, Jin H, *et al.* Reactive Fibroblasts in response to optic nerve crush injury[J]. Mol Neurobiol, 2021, 58(4): 1392-1403.
- [25] Yuan YM, He C. The glial scar in spinal cord injury and repair[J]. Neurosci Bull, 2013, 29(4): 421-435.
- [26] Guan C, Zhang L, Fomo KN, *et al.* Targeting glial fibrillary acidic protein in glaucoma: a monoclonal antibody approach to modulate glial reactivity and neuroinflammation for neuroprotection[J]. J Neuroinflammation, 2025, 22(1): 159.
- [27] Xu X, Gao F, Chen Q, *et al.* F-box/LRR-repeat protein 12 reorchestrated microglia to inhibit scarring and achieve adult spinal cord injury repair[J]. Signal Transduct Target Ther, 2025, 10(1): 259.
- [28] Sirnio P, Tuomisto A, Tervahartia T, *et al.* High-serum MMP-8 levels are associated with decreased survival and systemic inflammation in colorectal cancer[J]. Br J Cancer, 2018, 119(2): 213-219.
- [29] Aristorena M, Gallardo-Vara E, Vicen M, *et al.* MMP-12, secreted by pro-inflammatory macrophages, targets endoglin in human macrophages and endothelial cells[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(12): 3107.
- [30] Nighot M, Ganapathy AS, Saha K, *et al.* Matrix metalloproteinase MMP-12 promotes macrophage transmigration across intestinal epithelial tight junctions and increases severity of experimental colitis[J]. J Crohns Colitis, 2021, 15(10): 1751-1765.
- [31] Cai J, Wang Y, Zhai C, *et al.* Body weight-supported treadmill training reduces glial scar overgrowth in SCI rats by decreasing the reactivity of astrocytes during the subacute phase[J]. BMC Neurosci, 2025, 26(1): 30.
- [32] Paveliev M, Melnikova A, Egorchev AA, *et al.* Neuroimplants and the glial scar: what makes the brain-computer link work? [J]. J Neurochem, 2025, 169(9): e70203.
- [33] Arsenijevic Y, Berger A, Udry F, *et al.* Lentiviral vectors for ocular gene therapy[J]. Pharmaceutics, 2022, 14(8): 1605.
- [34] Fang E, He G, Chang Y, *et al.* Application advances of lentiviral vectors: from gene therapy to vaccine development[J]. Mol Biotechnol, 2026, 68: 1609-1625.
- [35] Ganguly K, Adhikary K, Acharjee A, *et al.* Biological significance and pathophysiological role of matrix metalloproteinases in the central nervous system[J]. Int J Biol Macromol, 2024, 280(Pt 3): 135967.

(责任编辑: 蒋铭敏)