

DOI: 10.3969/j.issn.1006-9771.2017.06.012

· 综述 ·

脊髓栓系综合征动物模型制作方法的研究进展

李大鹏^{1,2a,3,4}, 杨德刚^{1,2a,3,4}, 张文豪^{1,2a,3,4}, 刘长彬^{1,2a,3,4}, 蔡畅^{1,2a,3,4}, 张鑫^{1,2a,3,4}, 郭韵^{1,2a,3,4}, 张力伟⁵,
胡安明^{1,2b}, 杜良杰^{1,2a,3,4}, 杨明亮^{1,2a,3,4}, 李建军^{1,2a,3,4}

[摘要] 脊髓栓系综合征(TCS)是一种渐进性进展的神经发育障碍性疾病。目前TCS动物模型的制作方法主要有物理因素制作、化学因素制作和手术制作。这些动物模型普遍存在的问题是未能真实反映人类TCS渐进性进展的病程。未来该领域的研究方向是选取一个病因,单因素地分析该疾病,并逐步叠加,直至对该疾病有一个较深的了解。

[关键词] 脊髓栓系综合征;动物模型;制作方法;综述

Research Progress of Model Establishment for Tethered Cord Syndrome (review)

LI Da-peng^{1,2a,3,4}, YANG De-gang^{1,2a,3,4}, ZHANG Wen-hao^{1,2a,3,4}, LIU Chang-bin^{1,2a,3,4}, CAI Chang^{1,2a,3,4}, ZHANG Xin^{1,2a,3,4}, GUO Yun^{1,2a,3,4}, ZHANG Li-wei⁵, HU An-ming^{1,2b}, DU Liang-jie^{1,2a,3,4}, YANG Ming-liang^{1,2a,3,4}, LI Jian-jun^{1,2a,3,4}

1. Capital Medical University School of Rehabilitation Medicine, Beijing 100068, China; 2. a. Department of Spinal and Neural Function Reconstruction; b. Department of Neurosurgery, Beijing Bo'ai Hospital, China Rehabilitation Research Center, Beijing 100068, China; 3. Center of Neural Injury and Repair, Beijing Institute for Brain Disorders, Beijing 100068, China; 4. Beijing Key Laboratory of Neural Injury and Rehabilitation, Beijing 100068, China; 5. Capital Medical University, Beijing Tiantan Hospital, Beijing 100050, China

Correspondence to LI Jian-jun. E-mail: crrc100@163.com

Abstract: Tethered cord syndrome (TCS) is a progressive neurodevelopmental disorder. The TCS model was established mainly using physical and chemical methods and surgery, but remained problems in failing to fully reflect the progressive course of the human TCS. In the future, it may select a single etiological factor to analyze, and gradually add other factors until we have deeper understanding of this disease.

Key words: tethered cord syndrome; animal model; establishment methods; review

[中图分类号] R651.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1006-9771(2017)06-0677-04

[本文著录格式] 李大鹏, 杨德刚, 张文豪, 等. 脊髓栓系综合征动物模型制作方法的研究进展[J]. 中国康复理论与实践, 2017, 23(6): 677-680.

CITED AS: Li DP, Yang DG, Zhang WH, et al. Research progress of model establishment for tethered cord syndrome (review) [J]. Zhongguo Kangfu Lilun Yu Shijian, 2017, 23(6): 677-680.

脊柱裂(spina bifida)是一种常见的先天性疾病之一,又称为神经管缺陷畸形(neural tube defects, NTDs)。胚胎发育期障碍造成神经管结构异常,可累及脊髓,导致病变水平以下感觉和运动功能的损害,并造成儿童残疾^[1]。先天性脊柱裂可导致脊髓栓系综合征(tethered cords syndrome, TCS),引发一系列临床症状和体征,包括背痛、躯体畸形、排尿排便功能障碍以及双下肢运动感觉障碍等,这种功能障碍会随着患者的生长发育和脊柱屈伸而加重^[2]。TCS的发病率达0.7%,其病程呈渐进性进

展,可以逐渐造成严重的后果,最终导致神经功能缺损^[3]。在临床实践中,对于TCS手术的适应症,何时手术以及选择何类手术等存在较多的争议,所以有必要深入了解TCS的自然病史、病理生理以及神经损伤机制等方面的知识。建立TCS动物模型是重要的研究方法。该疾病的实验动物模型大多是通过物理、化学等致病因素人工诱发出具有NTDs特征的动物^[4]。

本文回顾国内外文献,归纳总结TCS动物模型的制作方法,将TCS动物模型大致分为以下几类。

基金项目: 1. 国家自然科学基金项目(No.81271366; No.81272164); 2. 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(No.2015CZ-6); 3. 中国康复研究中心课题(No.2012-1; No.2013-7)。

作者单位: 1. 首都医科大学康复医学院,北京市 100068; 2. 中国康复研究中心北京博爱医院, a. 脊柱脊髓神经功能重建科; b. 神经外科,北京市 100068; 3. 北京脑重大疾病研究院神经损伤与修复研究所,北京市 100068; 4. 北京市神经损伤与康复重点实验室,北京市 100068; 5. 首都医科大学附属北京天坛医院神经外科,北京市 100050。作者简介: 李大鹏(1976-),男,汉族,江苏徐州市人,博士研究生,主治医师,主要研究方向: 脊髓、脊柱。通讯作者: 李建军,男,汉族,教授,主任医师,博士、博士后导师,主要研究方向: 骨科及脊柱脊髓损伤的康复与治疗。E-mail: crrc100@163.com。

1 传统的 TCS 动物模型

1.1 物理因素制作

高温是自然界常见的物理致畸因子,也是引起人类神经管畸形最为常见的致畸因素之一^[5]。1967 年 Edwards 首次揭示在怀孕早期高温可以引起胚胎 NTDs^[6],随后不少学者对其发生机理进行研究。动物实验表明,高温可抑制神经上皮细胞及其周围间充质细胞的增殖分化,干扰上皮细胞的位置移动和形态变化,使细胞凋亡增加,细胞数目减少,两侧神经褶不能正常闭合,从而导致神经管的形成分化异常,最终形成 NTDs^[7]。马金龙等^[8]成功制作出黄金地鼠神经管畸形模型,引起 NTDs。

对于高温致畸的机理, Qing 等^[9]发现高温致 NTDs 下调表达的基因,这些基因编码蛋白可分为 4 类:①核糖体蛋白类,如核糖体蛋白 S4;②参与代谢的酶类,如 Obub1;③翻译及转录相关因子类,如真核启动因子 2A (Eif2a);④其他,另外还发现磷酸甘油酸酯激酶 1 的上调表达与高温致 NTDs 有关。也有文献报道,高温致 NTDs 中细胞凋亡的发生与癌基因的异常表达有关。如 p53、p21 的表达能够抑制高温导致出生缺陷^[10]。Barrier 等^[11]利用转基因小鼠进行研究,结果表明热休克蛋白 *Hspa1a* 和 *Hspa1b* 基因在高温致出生缺陷过程中,起着重要的保护作用,其机制可能是降低高温诱导的细胞凋亡。该类动物模型对温度和加温时间要求较高,并且致畸率低、致死率高,难以满足高质量的动物模型需求。

1.2 化学因素制作

1.2.1 高糖

动物实验证明,妊娠期糖尿病及孕期持续性高血糖可引起 NTDs,流行病学调查也证实了这一点,但其发病机理至今不清^[12]。国内外学者研究发现,高血糖可使胚胎发育中的神经上皮细胞过度凋亡,进而导致神经管不能闭合而产生 NTDs,而 Pax-3 表达减少似乎是造成这种凋亡的原因^[13]。马向东等^[14]用雌性 Sprague-Dawley 大鼠设计妊娠并发糖尿病诱发先天性神经管缺陷的实验,并获得成功。糖尿病胚胎畸形的发生很可能以其信号通路功能失调为分子基础:高血糖引起的胚胎卵黄囊细胞膜损伤可能影响丝裂原激活的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路的蛋白激酶活性及其功能^[14]。贾德永等^[15]研究发现,高糖培养可引起神经前体细胞过度凋亡, *c-Abl* 基因的高表达在高糖致神经前体细胞凋亡中有明显的促进作用,为高血糖致神经管畸形在基因水平上的机理和防治研究提供了重要的理论支持。刘亚千等^[16]利用链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)成功诱导巴马小型猪的糖尿病模型,为进一步制作该类动物的相关模型提供基础。但据此方法制作的动物模型实验时间较长,过程复杂,结果难以预期。

1.2.2 酒精

酒精对人类胎儿期的毒性作用已有相关报道,孕妇饮酒会导致胎儿酒精综合征(fetal alcohol syndrome, FAS)^[17]。FAS 的主要特征是发育延迟、心脏异常、骨骼缺陷、颅面部特征异常及中枢神经系统异常等^[18]。Zhou 等^[19]研究发现,酒精干扰胚胎发育时期的神经外胚层和中胚层细胞的集中延伸运动,特别是表达细胞不能集中到体轴中线处。可以推断,酒精干扰胚胎细胞的集中延伸运动引起轴裂,从而可以导致脊柱神经管畸形。

1.2.3 氨甲喋呤

目前认为神经管畸形的发生与孕妇体内的叶酸缺乏有关。

叶酸是一碳单位转移酶的辅酶,作为一碳单位的载体,参与体内很多重要物质的合成。当叶酸缺乏时,细胞分裂及其成熟不能正常进行,使神经管闭合严重受阻^[20]。氨甲喋呤(methotrexate, MTX)为叶酸拮抗剂,可干扰叶酸代谢,造成叶酸代谢障碍,从而引起神经管畸形^[21]。根据这一机理,鲍南等^[22]使鸡蛋受精,在孵化期的第 4、5 天将氨甲喋呤注射入鸡胚卵黄囊中,继续孵化至出孵。畸形鸡可有脑膜脑膨出、尾骨退化畸形,并有双下肢瘫痪排便失禁,与人类的神经管闭合不全、TCS 引起的双下肢瘫痪、大小便失禁类似。该模型虽然较好地模拟了病理生理情况下神经管缺陷的发生,但失败率很高,死亡率达 70%以上,且在存活的鸡仔中有约 40%无 TCS 的发生。

1.2.4 环磷酰胺

环磷酰胺是双功能烷化剂及细胞周期非特异性药物,为临床上常用的抗肿瘤药物和免疫抑制剂^[23]。环磷酰胺可导致神经管畸形并致 TCS^[24]。环磷酰胺在神经管闭合后的畸形发生涉及环磷酰胺诱导的神经元凋亡和 DNA 损伤,降低神经元的生长和活力,损伤核 DNA 和诱导早期凋亡形态学变化^[25]。赵海峰等^[26]利用这一原理制作出神经管畸形的大鼠模型,并指出,利用环磷酰胺制备大鼠神经管畸形模型以 12.5 mg/kg 的剂量效果最佳;畸形的发生与孕鼠机体抗氧化能力降低及胚胎神经管细胞过度凋亡有关。

1.2.5 全反式视黄酸

全反式视黄酸(all-trans-retinoic acid, RA)是维生素 A 在体内的自然活性代谢物,为信号分子,在脊椎动物胚胎多种区域的定型过程中发挥重要作用^[27]。Yasuda 等^[28]研究小鼠的动物模型发现,RA 影响细胞骨架元素的性质和神经上皮细胞的蛋白质合成;神经上皮紊乱的发生率和严重性与剂量相关,可导致神经管缺陷和颅面异常。提示早期胚胎发育过程中,尾端神经管发育不良可能导致脊髓裂、TCS 等疾病。据文献报道,RA 诱导出现的 TCS 多为显性 TCS。

1.2.6 丙戊酸

丙戊酸能够诱导发生隐性 TCS,且以腰骶段脊柱对丙戊酸比较敏感。其机制为丙戊酸钠抑制软骨细胞增生,影响椎体的软骨发生,使椎弓不能闭合而导致隐性 TCS 的发生^[29]。Wegner 等^[30]研究指出,丙戊酸诱导畸形的机制是器官发生敏感期间,致畸剂量的丙戊酸干扰了胚胎中叶酸代谢物的模式与神经管闭合(第 8 天至第 9 天),干扰胚胎叶酸代谢可能是丙戊酸诱导神经管缺陷的一个重要方面。

Bold 等^[31]在妊娠第 6、7、8 或 9 天向怀孕的 ICR 小鼠皮下注射丙戊酸,发现在妊娠第 8 天,暴露于丙戊酸的胚胎中脊神经缺陷的发生率最高,并发现其剂量依赖性增加。推测丙戊酸致神经管缺陷是由于体节和/或神经嵴细胞的节段排列被破坏。该类动物模型作用于胚胎神经系统的发育时期,即便同一种属不同品系的动物对同一种药物的剂量和敏感性及敏感期都存在差异,剂量也需随体质量相应调整,实属不易。此外,国内外一些学者研究表明,同型半胱氨酸、乙烯硫脲和邻苯二甲酸等均可导致 NTDs^[32]。

2 手术制作 TCS 动物模型

尽管物理、化学因素均可导致 TCS,但其机制极为复杂,且其制作方法相对复杂,难以逐一分析探讨 TCS 的发病机理。为此,不少学者尝试通过单病因手术的方式制作 TCS 动物模

型。既往文献报道手术制作的动物模型可大致分为急性和慢性两类。

2.1 急性

该类动物模型的制作大多是为了研究栓系病程中脊髓血供及组织代谢的改变,特点均为选取终丝,在短时间内用各种方法及各种不同的力量牵拉终丝造模,检测脊髓圆锥牵拉状态下的代谢及对神经功能的影响。

2.1.1 急性 TCS 模型

Yamada 等^[33]手术分离出猫的终丝,用不同质量的砝码(3 g、4 g、5 g)分别纵向牵拉,制作出 TCS 模型。由于脊髓远端受到牵拉,造成脊髓与脊神经缺血缺氧及变性坏死,从而导致上位神经元病变。他们还利用细胞色素 a3 的还原/氧化比作为氧化代谢的指标,观察此类模型下脊髓圆锥部的病理变化。这种动物模型制作方法较好地模拟了脊髓远端受牵拉的病理机制,也是目前为止比较公认的 TCS 动物模型的制作方法。但这种模型利用砝码的重力作为脊髓的牵拉力,只能在短时间(麻醉期)内观察这种作用,所以该模型产生的 TCS 只是一种急性脊髓末端牵拉伤,不能完全反映 TCS 渐进性进展的病程。

2.1.2 生物胶粘连 TCS 模型

Koçak 等^[34]应用一种医用生物粘合剂氰基丙烯酸酯,结合砝码牵拉的方法,将豚鼠的脊髓终丝和周围组织固定于骶骨背侧,造成脊髓末端牵拉性损伤;结果显示,实验组脊髓的次黄嘌呤和脂质过氧化物水平较对照组显著增加,体感诱发电位和动作诱发电位的潜伏期明显延长,而波幅下降,脊髓的生化指标和实验动物的电生理改变符合 TCS。由于氰基丙烯酸酯是一种水凝胶,能分解吸收,难以维持局部持续粘连,故很难模拟 TCS 进行性加重的病理进程。另外,氰培内烯酸酯的化学毒性仍有争论,氰基丙烯酸酯降解后可产生致毒物甲醛,不能排除脊髓的病理改变是由于氰基丙烯酸酯的化学毒性引起的,因此该制作方法具有一定的局限性。

2.2 慢性

Yamada 等^[33]还在急性 TCS 动物模型的基础上进行相关改进,制作出慢性牵拉的栓系模型。采用 2-0 丝线结扎猫的终丝,再用 4-0 丝线将结扎线缝合在硬脊膜上,形成 3 g 或 5 g 的牵张力,这种等长牵引模式能够对腰骶段的脊髓产生持续的栓系作用。这种模式的 TCS 已经考虑了 TCS 渐进的病程,并努力使实验接近临床,但是仍难以摆脱急性 TCS 的影子。

胡月光等^[35]对子宫内兔胎仔行手术,于胎仔髂后上棘向头端作长约 1~1.5 cm 纵切口,切除 L₅~L₆ 椎板,造成脊柱裂模型,与临床所见的脊膜膨出相似。Meuli 等^[36]采用类似方法制作出胎羊脊柱裂动物模型,并摸索出宫内修补治疗脊髓脊膜膨出的实验方法。该模型的优点在于利用动物自然生长的特点制作动物模型,并针对相关要素进行手术设计;缺点是制作方法较复杂,流产率和死胎率均很高。王旭辉^[37]选取产后 20 d 的 Wistar 大鼠,采用显微外科的方法将终丝缝合固定来制作 TCS 动物模型,并在术后 24 h、7 d、30 d 测量脊髓圆锥的位置以及后肢行为学功能等。实验组脊髓圆锥末端位置上移的速度明显减慢,术后 30 d 大鼠体感诱发电位潜伏期显著延长,波幅显著降低。光镜和透射电镜均显示,脊髓病变呈进行性加重趋势。该方法较为成功地制作出 TCS 的小动物模型,并证实采用终丝显微缝合固定的方法可以造成大鼠脊髓末端慢性牵拉性损伤。

黄胜利等^[38]将两个可旋转的钛钉螺丝固定在猫的骶骨第二椎体,用橡皮圈套住终丝,用丝线牵拉固定,选取不同大小的力牵拉终丝,制作动物模型。在 4~6 周时间点,采用电子显微镜、体感诱发电位和运动诱发电位来评估栓系的效果。随着时间的进展,可以观察到实验动物的跛行、渐进性摇摆步态等临床表现。组织病理学检查显示,牵引力增加和神经细胞损伤程度之间有关联,实验组的体感诱发电位和运动诱发电位潜伏期较对照组显著增加。该模型的成功率较高且可复制性较强,模拟了疾病病程中的慢性牵拉,有较高的可取性。

3 总结与展望

TCS 的发病机制与脊髓圆锥受到增粗终丝的异常轴向牵拉有关。近年来研究发现,TCS 的栓系结构除终丝外,脊髓和马尾神经也起着重要的作用^[39]。目前文献报道的 TCS 动物模型有狗、猫、豚鼠、猪及恒河猴等,普遍存在的问题是这些动物模型未能真实反映人类 TCS 渐进性的病理过程。使用理化因素制作的动物模型虽然复制出部分 TCS 模型,但机制极其复杂,模型动物往往并发多种严重畸形,对临床的指导意义不大,并且制作成功率不高。手术制作的动物模型,对脊髓的牵拉大多是急性牵拉,难以排除急性损伤。TCS 是渐进性的慢性加重过程,动物模型也应与该疾患的发生发展过程相似。我们更期待一种可以模拟该病慢性进展性病程的动物模型,进一步研究 TCS 的病理机制。

总而言之,TCS 是一个病因复杂且临床症状多变的渐进性进展的先天性疾病。我们认为,TCS 动物模型的制作应单因素单病因地逐步推进,终丝是一个因素,神经根是一个因素,局部的神经压迫也是一个因素,这样或许能获得一个较好的动物模型,对临床才能有一定参考价值。随着大动物实验、显微外科、神经电生理、磁共振成像等技术的发展与应用,TCS 动物模型的制作也一定会取得突破性进展,使我们进一步掌握该类疾病的病理生理,从而更好地服务于医疗卫生事业。

【参考文献】

- [1] Greene ND, Leung KY, Copp AJ. Inositol, neural tube closure and the prevention of neural tube defects [J]. Birth Defects Res, 2017, 109(2): 68-80.
- [2] Toktaş ZO, Yılmaz B, Ekşi MŞ, et al. Lumbar spinal intradural extra-medullary lipoma associated with spina bifida and tethered cord [J]. Spine J, 2016, 16(9): e611-e612.
- [3] Henderson G, Dunham C, Steinbok P. Histopathology of the filum terminale in children with and without tethered cord syndrome with attention to the elastic tissue within the filum [J]. Childs Nerv Syst, 2016, 32(9): 1683-1692.
- [4] Puvirajesinghe TM, Borg JP. Neural tube defects: from a proteomic standpoint [J]. Metabolites, 2015, 5(1): 164-183.
- [5] Dreier JW, Andersen AM, Berg-Beckhoff G. Systematic review and meta-analyses: fever in pregnancy and health impacts in the offspring [J]. Pediatrics, 2014, 133(3): e674-e688.
- [6] Edwards MJ. Congenital defects in guinea pigs. Following induced hyperthermia during gestation [J]. Arch Pathol, 1967, 84(1): 42-48.
- [7] Campbell LR, Dayton DH, Sohal GS. Neural tube defects: a review of human and animal studies on the etiology of neural tube defects [J]. Teratology, 1986, 34(2): 171-187.

- [8] 马金龙,高英茂,刘凯,等. 高温致神经管畸形中细胞增殖和细胞凋亡的定量研究[J]. 中国体视学与图像分析, 2001, 6(2): 65-69.
- [9] Qing Y, Yingmao G, Shaoling L. Identification and validation of differentially expressed genes in neural tube defects of golden hamster induced by hyperthermia using suppression subtractive hybridization [J]. *Int J Neurosci*, 2007, 117(8): 1193-1208.
- [10] Hosako H, Francisco LE, Martin GS, et al. The roles of p53 and p21 in normal development and hyperthermia-induced malformations [J]. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 2009, 86(1): 40-47.
- [11] Barrier M, Dix DJ, Mirkes PE. Inducible 70 kDa heat shock proteins protect embryos from teratogen-induced exencephaly: Analysis using Hspa1a/1b knockout mice [J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2009, 85(8): 732-740.
- [12] Dheen ST, Tay SS, Boran J, et al. Recent studies on neural tube defects in embryos of diabetic pregnancy: an overview [J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(18): 2345-2354.
- [13] Phelan SA, Ito M, Loeken MR. Neural tube defects in embryos of diabetic mice: role of the Pax-3 gene and apoptosis [J]. *Diabetes*, 1997, 46(7): 1189-1197.
- [14] 马向东,陈必良,辛晓燕,等. 妊娠合并糖尿病诱发胚胎先天性神经管缺陷的 MAP 激酶及细胞凋亡信号传导机制[J]. 现代妇产科进展, 2003, 12(5): 324-326, 335.
- [15] 贾德永. c-Abl 在高糖诱导胚胎神经前体细胞凋亡中的作用及作用机制的研究[D]. 济南:山东大学, 2008.
- [16] 刘亚千,赵玉琼,王凯,等. 巴马小型猪 1 型糖尿病模型的建立[J]. 实验动物科学, 2015, 32(4): 1-7.
- [17] Goldstein G, Arulanantham K. Neural tube defect and renal anomalies in a child with fetal alcohol syndrome [J]. *J Pediatr*, 1978, 93(4): 636-637.
- [18] Del Campo M, Jones KL. A review of the physical features of the fetal alcohol spectrum disorders [J]. *Eur J Med Genet*, 2017, 60(1): 55-64.
- [19] Zhou FC, Sari Y, Powrozek T, et al. Moderate alcohol exposure compromises neural tube midline development in prenatal brain [J]. *Brain Res Dev Brain Res*, 2003, 144(1): 43-55.
- [20] Flood TJ, Rienks CM, Flores AL, et al. Using state and provincial surveillance programs to reduce risk of recurrence of neural tube defects in the United States and Canada: A missed opportunity? [J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2016, 106(11): 875-880.
- [21] Greene ND, Copp AJ. Mouse models of neural tube defects: investigating preventive mechanisms [J]. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2005, 135C(1): 31-41.
- [22] 鲍南,施诚仁,张忠德,等. 鸡胚神经管缺陷脊髓病理与组织化学研究[J]. 中华小儿外科杂志, 1999, 20(2): 45-47.
- [23] Fraiser LH, Kanekal S, Kehrler JP. Cyclophosphamide toxicity. Characterising and avoiding the problem [J]. *Drugs*, 1991, 42(5): 781-795.
- [24] Khaksary Mahabady M, Najafzadeh Varzi H, Zareyan Jahromi S. L-carnitine protect against cyclophosphamide induced skeletal and neural tube malformations in rat fetuses [J]. *Acta Med Iran*, 2015, 53(11): 703-710.
- [25] Xiao R, Yu HL, Zhao HF, et al. Developmental neurotoxicity role of cyclophosphamide on post-neural tube closure of rodents in vitro and in vivo [J]. *Int J Dev Neurosci*, 2007, 25(8): 531-537.
- [26] 赵海峰,肖荣,杨燕,等. 环磷酰胺致神经管畸形及可能机理研究[J]. 中国公共卫生, 2002, 18(11): 28-30.
- [27] Chen WH, Morriss-Kay GM, Copp AJ. Genesis and prevention of spinal neural tube defects in the curly tail mutant mouse: involvement of retinoic acid and its nuclear receptors RAR-beta and RAR-gamma [J]. *Development*, 1995, 121(3): 681-691.
- [28] Yasuda Y, Konishi H, Kihara T, et al. Developmental anomalies induced by all-trans-retinoic acid in fetal mice: II. Induction of abnormal neuroepithelium [J]. *Teratology*, 1987, 35(3): 355-366.
- [29] Akimova D, Wlodarczyk BJ, Lin Y, et al. Metabolite profiling of whole murine embryos reveals metabolic perturbations associated with maternal valproate-induced neural tube closure defects [J]. 2017, 109(2): 106-119.
- [30] Wegner C, Nau H. Alteration of embryonic folate metabolism by valproic acid during organogenesis: implications for mechanism of teratogenesis [J]. *Neurology*, 1992, 42(4 Suppl 5): 17-24.
- [31] Bold J, Sakata-Haga H, Fukui Y. Spinal nerve defects in mouse embryos prenatally exposed to valproic acid [J]. *Anat Sci Int*, 2016. [Epub ahead of print].
- [32] Matsumoto M, Hirata-Koizumi M, Ema M. Potential adverse effects of phthalic acid esters on human health: a review of recent studies on reproduction [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2008, 50(1): 37-49.
- [33] Yamada S, Won DJ, Pezeshkpour G. Pathophysiology of tethered cord syndrome and similar complex disorders [J]. *Neurosurg Focus*, 2007, 23(2): E6.
- [34] Koçak A, Kiliç A, Nurlu G, et al. A new model for tethered cord syndrome: a biochemical, electrophysiological, and electron microscopic study [J]. *Pediatr Neurosurg*, 1997, 26(3): 120-126.
- [35] 胡月光,唐彦萍. 兔胎仔先天性脊柱裂模型制作[J]. 遵义医学院学报, 2001, 24(2): 126-127.
- [36] Meuli M, Meuli-Simmen C, Yingling CD, et al. Creation of myelomeningocele in utero: a model of functional damage from spinal cord exposure in fetal sheep [J]. *J Pediatr Surg*, 1995, 30(7): 1028-1032; discussion 1032-1033.
- [37] 王旭辉. 脊髓栓系综合征大鼠动物模型的建立及脊髓栓系松解术中肌电监护的应用研究[D]. 济南:山东大学, 2003.
- [38] Huang SL, Peng J, Yuan GL, et al. A new model of tethered cord syndrome produced by slow traction [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 9116.
- [39] 陈可夫,贾连顺,史建刚. 脊髓栓系综合征病因的研究进展[J]. 中国矫形外科杂志, 2016, 24(1): 55-57.

(收稿日期:2016-12-09 修回日期:2017-01-12)