

周围神经趋化性再生研究新进展*

贺倩茹 丁 斐[△]

(江苏省神经再生重点实验室, 南通 226001)

摘要 周围神经损伤后修复及功能重建一直是临床治疗的难题。现从周围神经趋化性再生的概念, 感觉与运动神经元自身差异、远侧端神经、施万细胞、成纤维细胞以及轴突导向因子等方面阐述了目前周围神经趋化性再生的研究进展, 为将来开发更好的工程化神经组织, 促进神经功能良好的恢复提供基础知识。

关键词 周围神经; 趋化性再生; 感觉神经; 运动神经

Advances in chemotactic regeneration of peripheral nerve*

He Qianru, Ding Fei[△]

(Key Laboratory of Neuroregeneration of Jiangsu, Nantong 226001, China)

Abstract After peripheral nerve injury, the repair and functional reconstruction is always a difficult problem in clinical treatment. In this paper, the concept of chemotactic regeneration of peripheral nerve, the differences between sensory and motor neurons, the distal end of the nerve, Schwann cells, fibroblasts and axon guidance factors were reviewed, which will provide fundamental knowledge for developing better engineered nerve tissue and promoting the recovery of neural function in the future.

Key words peripheral nerve; chemotactic regeneration; sensory nerve; motor nerve

周围神经损伤的修复及功能重建一直是临床治疗的难题。神经损伤后修复及功能恢复, 主要取决于断端的桥接修复, 再生神经的生长速度及其对靶器官精确再支配, 涉及到特异性趋化作用、桥梁作用和微环境作用^[1]。虽然近年来随着显微外科和组织工程学的发展, 在神经桥接吻合及促进神经再生方面取得了一定进展, 但神经功能恢复仍不理想^[2]。主要原因归结于感觉和运动神经再生轴突的错向生长, 即感觉神经轴突错向长入运动神经内膜管, 运动神经轴突错向长入感觉神经内膜管, 均会导致再生神经功能恢复不佳。

周围神经主要由神经元的轴突和包绕轴突的施万细胞 (Schwann cells) 组成, 成纤维细胞是神经内膜、神经束膜和神经外膜的主要成分, 此外还存在少量血管内皮细胞、巨噬细胞以及中性粒细胞。周围神经损伤后的再生, 需要神经元与再生微环境中的施万细胞、成纤维细胞 (fibroblasts)、巨噬细

胞、血管内皮细胞以及细胞外基质之间复杂而精确的相互作用, 引导再生轴突沿着特定的通路延伸到达远侧端, 再支配靶器官^[3, 4]。因此, 充分理解周围神经再生的细胞和分子生物学基础, 并在临床治疗中加以运用, 对促进周围神经功能更好恢复具有重要意义。

1 周围神经趋化性再生理论概述

周围神经趋化性再生理论认为, 在神经发育与再生的过程中, 新生轴突受到远侧断端神经或靶组织释放的化学物质诱导作用而定向生长。神经趋化性 (neurotropism) 的概念最早由 Forssman 于 1898 年提出。其研究发现离断神经近侧断端总是向远侧断端生长, 而不向其他组织生长, 据此假设再生的轴突由于受远端神经可弥散物质的浓度梯度引导, 向着产生此类物质的远侧端神经生长。Cajal (1928 年) 研究发现神经横断后, 即使人为破坏近、远侧断端良好的对合关系, 两断端间留有小的间隙, 近侧端仍旧会向远侧端生长。这种定向作用是由于远端神经分泌的特殊物质, 并形成浓度梯度而产生的, 进一步证实了周围神经趋化性生长现象的存在。

顾晓松等^[5]将背根神经节 (dorsal root

* 国家重点研发计划 (干细胞及转化研究) 重点专项 (2017YFA0104700); 国家自然科学基金 (31500927); 南通市基础科学研究面上项目 (JC2020035)

第 1 作者 E-mail: heqianru@ntu.edu.cn

[△] 通信作者, E-mail: dingfei@ntu.edu.cn

收稿日期: 2020-11-13; 修回日期: 2020-12-10

ganglion, DRG)与正常神经组织和离断后的神经远侧端进行联合培养,结果显示DRG发出的轴突选择性地向远侧端延伸,而不向其他方向生长。生长过程中神经元呈集聚状态,并在施万细胞引导下向远侧端定向迁移,从细胞水平为神经趋化性生长理论提供了佐证。Brushart等^[6-7]的一系列研究表明大鼠股神经横断后,即使错向对接、保留距离对接或去除末端靶器官,运动神经元轴突最终总是优先进入再支配肌肉的分支,因此提出选择性运动神经再生(preferential motor reinnervation, PMR)概念,为趋化性再生理论提供了更有力的佐证。PMR现象的产生是由于运动轴突再生进入运动神经内膜管可以存活,而进入感觉神经内膜管的运动轴突会被“修剪”(pruning)。研究者用大鼠股神经近端连接Y形管近端,远端分别与股四头肌肌支和隐神经连接,结果显示股神经横断2周时,运动神经元轴突再生进入运动和感觉神经内膜管的数量相近;在3周时,再生进入运动神经内膜管的运动轴突数量显著增加,而进入感觉神经内膜管的运动轴突数量减少,至损伤后8周差异更加显著。Höke等^[8]研究显示感觉神经轴突再生过程中也优先进入感觉神经内膜管。

2 周围神经趋化性再生的细胞与分子生物学机制

2.1 神经元与远侧端神经

周围神经损伤后,近侧端轴突回缩,轴膜生长并封闭断端,轴突肿胀膨大形成回缩球。远侧端神经发生瓦勒变性,轴突和髓鞘变性崩解,被增殖的施万细胞与巨噬细胞清除。同时施万细胞在基底膜管内形成细胞索(Büngner带),并分泌多种因子,为轴突再生营造适宜的微环境。再生轴突在基底膜管和Büngner带的支撑以及神经营养因子(NTFs)的刺激下,生长锥按正确的方向向远端靶组织延伸,最终实现神经再支配。

感觉和运动神经元在解剖结构、对损伤的反应以及生长需求等方面均有不同。胚胎发育期神经管发育为大脑和脊髓,包括运动神经元,而神经板边缘形成神经嵴,最终形成包括DRG感觉神经元在内的周围神经。感觉神经元轴突切断后,肌动蛋白、生长相关微管蛋白、生长相关蛋白-43和cAMP^[9]等多种再生相关基因上调,转录因子如激活转录因子-3(ATF-3)、c-Jun、Sox11和信号转导与转录激活子3表达增加^[10-11];而神经丝蛋白、参与神经递质合成的离子通道和蛋白质表达减少^[12]。感觉神经损伤后大量mRNA通过特定机制进入感觉轴

突,在再生神经轴突到达远端前,这些mRNA翻译受到保护^[13]。ATF-3作为应激标记物,损伤后在运动神经元中持续高表达,导致运动神经再生障碍,但仅在易于再生的感觉神经元中短暂高表达^[14]。此外,Rho/ROCK通路因调节肌动蛋白细胞骨架而促进轴突的生长和发育一直备受关注。在生长抑制剂如硫酸软骨素蛋白多糖(CSPGs)存在下,Rho相关激酶的失活和ROCK的抑制可以促进轴突生长^[15]。然而,由于RhoA的不同激活水平,Rho/ROCK通路的抑制对运动和感觉轴突再生产生不同影响。CSPGs存在时,运动神经元比感觉神经元对ROCK的抑制反应更灵敏,轴突延伸更长^[16]。整合素(integrin)可促进感觉神经元轴突再生,CSPGs存在时,整合素与其激活剂kindlin-1可显著促进长距离(25 mm)缺损感觉轴突再生^[17]。然而,随着运动神经元的成熟,轴突运输主要为逆向运输,且轴突起始段负责排除整合素,导致整合素被选择性地排除在轴突之外,仅在胞体和树突区域表达^[18-19]。表明感觉和运动神经元之间的关键区别在于感觉神经元中较多促进生长的分子进入轴突,而在运动神经元中被排除在轴突外。

NTFs在神经元的生长、发育和分化等过程中均发挥重要作用,可以促进损伤后轴突的再生^[20]。在NTFs包埋的胶原基质中,感觉神经元比运动神经元表现出更强的生长能力^[21]。研究表明神经生长因子(NGF)可以显著促进感觉神经元突起生长,脑源性神经营养因子(BDNF)对运动神经元有明显促进作用,而胶质细胞源神经营养因子(GDNF)可以促进2种神经元的再生。造成此差异的主要原因是NGF受体TrkA仅在感觉神经元中表达,而BDNF受体TrkB在运动神经元中有较高表达^[22]。目前关于感觉与运动神经元内在差异的研究仍然有限,未来随着单细胞测序等技术的发展,将会有更多研究聚焦于2种神经元内在特征的不同。

周围神经损伤后,如果远端基底膜管得以保留,施万细胞和成纤维细胞增殖,巨噬细胞浸润,释放各种NTFs,对再生轴突起着支持和引导作用。因此,神经远侧端在趋化性再生中起至关重要的作用。

Takahashi等^[23]建立大鼠隐神经Y形管再生模型,远端分别置入体积不同的神经组织,比较6周后远侧端再生轴突数目,显示远端神经体积大的一侧再生轴突数量多。大鼠胫-腓神经Y形管再生模型^[24]和尺神经-正中神经Y形管再生模型^[25]研究均显示,远端神经体积显著影响神经趋化性再生的轴

突数目,若远端神经粗大,则再生轴突数量多,并且两侧再生轴突数目之比与正常神经轴突数目之比呈正相关。股神经再生模型发现运动神经元正确再生轴突数量取决于远侧端神经所产生的营养支持,再生轴突优先长入营养支持多的一侧,并认为营养支持可能由远端施万细胞和终末器官及其相互作用产生^[26]。Robinson等^[27]在股神经Y形管模型中显示,当远端接入大小相似的感觉与运动神经时,再生的运动轴突最初均等向两侧生长,但最终趋向于运动神经端;而当远端接入的感觉神经较粗大时,再生的运动轴突则趋向于感觉神经端生长。因此认为,运动轴突再生受远端神经体积大小的影响,该影响的基础为远端神经施万细胞分泌相关的NTFs,以诱导近端神经再生。Moradzadeh等^[28]提出神经体系构架(nerve architecture)理论,认为施万细胞基底膜管的尺寸在神经趋化性再生中起着重要作用。与感觉神经相比,运动神经具有更大的施万细胞基底膜管,损伤后可以允许更多的再生轴突长入,从而得到更好修复。因此,运动神经的移植修复效果通常要优于感觉神经。本课题组建立大鼠单纯感觉与运动神经损伤模型,结果显示神经横断14 d,与轴突再生与导向相关蛋白如睫状神经营养因子、载脂蛋白D和整合素连接激酶等在感觉与运动神经远侧端差异表达,而这些差异表达蛋白究竟为远侧端何种细胞表达还有待进一步研究^[29]。

2.2 施万细胞

施万细胞在周围神经再生过程中发挥重要的趋化作用和微环境作用。施万细胞来源于神经嵴,在胚胎发育期由前体施万细胞沿轴突移行,并逐步发育,分化为成髓鞘施万细胞和非成髓鞘施万细胞^[30]。神经损伤后其迅速去分化,并增殖、合成和分泌多种NTFs、细胞黏附分子以及细胞外基质,在清除轴突碎片、维持神经元胞体存活、促进轴突再生以及引导轴突再生方向等过程中发挥重要作用^[31-32]。

早期的研究表明L2/HNK-1蛋白主要由运动神经来源的施万细胞分泌,在运动神经施万细胞中高表达,而感觉神经中的施万细胞表达很少。并且L2/HNK-1蛋白只影响运动神经神经元生长,而不影响感觉神经元^[33]。神经细胞黏附分子也被发现只在感觉神经的非成髓鞘施万细胞中表达^[34]。Höke等^[8]研究显示周围神经损伤再生过程中,感觉与运动神经施万细胞NTFs具有不同的表达模式:NGF、血管内皮细胞生长因子、BDNF、胰岛素样生长因子-1和肝细胞生长因子在感觉神经施万细胞中明显高表达,而多效蛋白和GDNF在运动

神经施万细胞中明显高表达。据此认为周围神经趋化性再生具有表型特异性,施万细胞可分为感觉与运动表型,其分泌的神经营养因子不全相同,故对感觉和运动神经元轴突的定向生长起不同的调节作用,从而支持相同表型的神经轴突再生。此外,运动终板末梢的施万细胞在慢性失神经肌肉神经重建过程中发挥重要作用。错过窗口期,到达靶器官的运动轴突无法重新支配运动终板。而无论再生早期或晚期,感觉轴突能以相似的程度重新再支配皮肤。笔者认为运动终板上的施万细胞在长时间去神经支配后可能变得不允许再生,并阻止运动轴突与肌肉的功能性突触形成^[35]。2012年本课题组采用定量蛋白质组学技术首次建立了大鼠感觉与运动神经的全蛋白质组表达谱,并获得差异表达蛋白,56个感觉神经高表达蛋白主要为细胞黏附蛋白、钙结合蛋白和脂代谢蛋白等;而44个为运动神经高表达蛋白主要为细胞骨架蛋白、细胞外基质分子和NTFs等。通过免疫组织化学显色对差异表达蛋白进行定位,显示差异表达蛋白既有神经元表达的差异,也有施万细胞表达差异,如神经细胞黏附分子1(NCAM1)和L1样细胞黏附分子(L1)均在感觉神经施万细胞中高表达^[36]。同时显示感觉和运动神经施万细胞具有不同的生物学特性,体外培养的感觉和运动神经施万细胞其增殖和迁移能力均不同,并且相关基因的表达也不同^[37]。Jesuraj等^[38]通过基因芯片技术分析大鼠感觉与运动神经施万细胞的基因表达存在显著差异,从基因水平进一步证明周围神经施万细胞存在感觉与运动表型。本课题组利用蛋白质组学技术检测了原代培养的小鼠感觉与运动神经施万细胞,结果显示2种类型施万细胞蛋白表达存在显著差异,分别有63和11个蛋白在感觉和运动神经施万细胞中高表达,并且差异表达蛋白影响施万细胞增殖能力^[39]。Wright等^[40]研究显示神经再生过程中,感觉神经施万细胞分泌的骨桥蛋白和运动神经施万细胞分泌的丛生蛋白分别支持感觉和运动神经元轴突的再生。这2种表型的施万细胞在维持感觉与运动神经正常功能以及趋化性再生过程中发挥重要作用,在施万细胞中过表达某些NTFs或膜黏附分子等,可能有助于阐明感觉与运动神经施万细胞的差异,并促进选择性轴突再生。

2.3 成纤维细胞及其他细胞

周围神经系统中,成纤维细胞是组成神经内膜、神经外膜和神经束膜的主要细胞成分^[41]。传统的观点认为成纤维细胞产生疤痕是不利于神经再生恢复^[42]。然而,近年越来越多的研究表明成纤维细

胞在周围神经再生过程中发挥重要的作用。Lewis等^[43]在斑马鱼模型中发现一类神经胶质细胞在神经损伤后先于施万细胞清除碎片,并形成再生桥,引导运动轴突再生,并推测此神经胶质细胞为成纤维细胞。Parrinello等^[3]研究显示周围神经损伤后,首先出现大量的成纤维细胞聚集在损伤部位的最前端,并在再生过程中引导施万细胞和再生轴突排列的方向,而此引导效应主要是由受体型酪氨酸激酶配体Ephrin-B/EphB2信号通路介导。使用神经外膜成纤维细胞条件培养基培养神经元和施万细胞,条件培养基中的可溶性蛋白可以促进感觉神经元突起生长和施万细胞迁移^[44]。顾晓松团队的研究也发现周围神经损伤后,损伤近侧端的成纤维细胞大量分泌细胞外基质组分腱糖蛋白C(TNC),与施万细胞膜表达的整合素- $\beta 1$ (integrin- $\beta 1$)受体作用后激活胞内信号,进而引导施万细胞迁移^[45]。角膜间质成纤维细胞条件培养基中包含多种生物活性因子,并以浓度梯度依赖的方式促进DRG神经元突起的生长^[46]。以上研究肯定了成纤维细胞分泌的生物活性物质在促进施万细胞迁移和神经元生长方面发挥重要作用。

本课题组通过基因芯片技术分析大鼠感觉与运动神经成纤维细胞的基因表达,发现其基因表达存在差异。感觉神经成纤维细胞高表达基因主要涉及细胞增殖、迁移、趋化和免疫反应等生物学过程,而运动神经成纤维细胞高表达基因主要涉及神经元分化和模式特异性等生物学过程。感觉神经成纤维细胞增殖和迁移速率均高于运动神经成纤维细胞,趋化因子CXCL3和CXCL10在感觉与运动神经成纤维细胞增殖和迁移过程中发挥不同的作用。感觉和运动神经成纤维细胞和施万细胞共培养实验显示,成纤维细胞可以促进相同表型施万细胞向自身方向迁移^[47]。据此笔者认为神经成纤维细胞具有不同的感觉与运动表型,涉及不同的基因表达模式、生物学过程,并对不同表型施万细胞产生不同的生物学作用。

此外,巨噬细胞、内皮细胞以及中性粒细胞也在神经再生过程中发挥着重要作用。神经横断2 d再生神经桥中细胞比例为:巨噬细胞50%、中性粒细胞24%、成纤维细胞13%、血管内皮细胞5%。巨噬细胞最先感受缺氧状态,并分泌血管内皮细胞生长因子;吸引内皮细胞迁移至损伤部位,并纵向排列形成血管;引导施万细胞迁移,并介导轴突再生^[48]。而血管内皮细胞和中性粒细胞在趋化性再生的作用目前未见报道。

2.4 轴突导向因子

神经系统发育与再生过程中,轴突的生长方向受吸引性和排斥性导向因子作用,引发一系列胞内信号转导机制,从而引导轴突到达正确的靶器官^[1]。目前发现的轴突导向因子家族主要包括四大类:导素(Netrins)、Eph相关受体酪氨酸激酶配体(Ephrins)、Slit和信号素(Semaphorins)^[49]。

导素是一类与层黏连蛋白相关的胞外蛋白家族,在神经系统发育过程中对轴突引导起关键作用。目前鉴定的4种分泌型导素1、3、4和5中,导素1是家族中最具特征的成员。导素1能与DCC、新生素(Neogenin)和CD146等多种受体结合,介导吸引或排斥作用,但对轴突的吸引作用主要由DCC受体介导^[50]。周围神经损伤后施万细胞中导素1表达上调,促进轴突再生和功能恢复。斑马鱼模型去除运动神经元的DCC可导致神经桥中再生的运动轴突偏离其原始路径进入异位轨道^[51-52]。以上研究表明施万细胞分泌的导素1通过与轴突上的DCC受体作用引导神经桥的轴突再生。

Ephrins受体包括Eph-A和Eph-B两大类。Ephrin/Eph信号在胚胎神经系统发育和损伤后神经再生过程中均发挥重要作用^[53]。神经损伤后,成纤维细胞表达Ephrin-B与施万细胞上的EphB2受体作用激活下游信号,在再生桥中引导施万细胞迁移、排列和轴突再生的方向^[3]。

Slit家族包括Slit1/2/3,和其受体Robo(Robo1/2)结合主要介导轴突的排斥作用^[54]。Slits蛋白既可促进感觉神经元轴突分支,也可排斥运动神经元突起生长,还能使嗅神经元投射的轴突改变方向^[55]。周围神经损伤后神经桥最外层的巨噬细胞分泌Slit3,与桥内施万细胞和成纤维细胞表面的Robo1作用介导排斥效应,引导施万细胞和成纤维细胞沿着正确的轨迹前行,并引导轴突再生^[4]。

Semaphorins(SEMA)家族成员与其受体复合物(NP-1、PlexinA和L1)结合,在轴突生长过程中主要介导排斥作用^[56-57]。而当SEMA 3A激活cAMP和cGMP途径时,其功能则由排斥转变为吸引^[58]。SEMA 3A作用于受体复合物导致神经元生长锥萎缩塌陷主要通过激活FAK-MAPK信号通路来介导^[59],并且瞬时表达轴索糖蛋白1,对于调节结合后的胞吞转运起着关键作用^[60]。股神经横断模型发现运动神经远侧端高表达SEMA3A可能通过与感觉神经近侧端高表达的L1相互作用,排斥再生的感觉轴突进入错误运动神经通路,转而进入

正确的感觉神经通路^[61]。

3 展望

周围神经损伤后良好的修复需要再生微环境中各种细胞和因子复杂而精细的调控,施万细胞、成纤维细胞、巨噬细胞、血管内皮细胞和中性粒细胞等细胞以及各种NTFs、细胞生长因子和轴突导向因子等共同构成了神经再生微环境^[62]。研究再生微环境中关键的细胞和分子如何参与控制神经桥中细胞协调的机制,将有助于将来开发更好的工程化神经组织,促进神经功能良好的恢复。

参考文献

- [1] Dun X P, Parkinson D B. Classic axon guidance molecules control correct nerve bridge tissue formation and precise axon regeneration[J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15 (1): 6-9.
- [2] Allodi I, Udina E, Navarro X. Specificity of peripheral nerve regeneration: interactions at the axon level[J]. *Prog Neurobiol*, 2012, 98 (1): 16-37.
- [3] Parrinello S, Napoli I, Ribeiro S, et al. EphB signaling directs peripheral nerve regeneration through Sox2-dependent Schwann cell sorting[J]. *Cell*, 2010, 143 (1): 145-155.
- [4] Dun X P, Carr L, Woodley P K, et al. Macrophage-derived slit3 controls cell migration and axon pathfinding in the peripheral nerve bridge[J]. *Cell Rep*, 2019, 26 (6): 1458-1472.e1454.
- [5] 顾晓松, 张沛云, 严志强, 等. 神经再生中靶器官的诱导作用[J]. *交通医学*, 1995, 9 (1): 1-7.
- [6] Brushart T M. Preferential reinnervation of motor nerves by regenerating motor axons[J]. *J Neurosci*, 1988, 8 (3): 1026-1031.
- [7] Redett R, Jari R, Crawford T, et al. Peripheral pathways regulate motoneuron collateral dynamics[J]. *J Neurosci*, 2005, 25 (41): 9406-9412.
- [8] Höke A, Redett R, Hameed H, et al. Schwann cells express motor and sensory phenotypes that regulate axon regeneration[J]. *J Neurosci*, 2006, 26 (38): 9646-9655.
- [9] Qiu J, Cai D, Dai H, et al. Spinal axon regeneration induced by elevation of cyclic AMP[J]. *Neuron*, 2002, 34 (6): 895-903.
- [10] Tsujino H, Kondo E, Fukuoka T, et al. Activating transcription factor 3 (ATF3) induction by axotomy in sensory and motoneurons: A novel neuronal marker of nerve injury[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2000, 15 (2): 170-182.
- [11] Jankowski M P, McIlwrath S L, Jing X, et al. Sox11 transcription factor modulates peripheral nerve regeneration in adult mice[J]. *Brain Res*, 2009, 1256: 43-54.
- [12] Perry R B, Fainzilber M. Local translation in neuronal processes--in vivo tests of a "heretical hypothesis"[J]. *Dev Neurobiol*, 2014, 74 (3): 210-217.
- [13] Vuppalandi D, Coleman J, Yoo S, et al. Conserved 3'-untranslated region sequences direct subcellular localization of chaperone protein mRNAs in neurons[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285 (23): 18025-18038.
- [14] Payne S C, Belleville P J, Keast J R. Regeneration of sensory but not motor axons following visceral nerve injury[J]. *Exp Neurol*, 2015, 266: 127-142.
- [15] Fournier A E, Takizawa B T, Strittmatter S M. Rho kinase inhibition enhances axonal regeneration in the injured CNS[J]. *J Neurosci*, 2003, 23 (4): 1416-1423.
- [16] Joshi A R, Bobylev I, Zhang G, et al. Inhibition of Rho-kinase differentially affects axon regeneration of peripheral motor and sensory nerves[J]. *Exp Neurol*, 2015, 263: 28-38.
- [17] Cheah M, Andrews M R. Expression of an activated integrin promotes long-distance sensory axon regeneration in the spinal cord[J]. *J Neurosci*, 2016, 36 (27): 7283-7297.
- [18] Andrews M R, Soleman S, Cheah M. Axonal localization of integrins in the CNS is neuronal type and age dependent[J]. *eNeuron*, 2016, 3 (4): e0029-0016.
- [19] Franssen E H, Zhao R R. Exclusion of integrins from CNS axons is regulated by Arf6 activation and the AIS[J]. *J Neurosci*, 2015, 35 (21): 8359-8375.
- [20] Harvey A R, Lovett S J, Majda B T, et al. Neurotrophic factors for spinal cord repair: Which, where, how and when to apply, and for what period of time?[J]. *Brain Res*, 2015, 1619: 36-71.
- [21] Allodi I, Guzmán-Lenis M S, Hernández J, et al. In vitro comparison of motor and sensory neuron outgrowth in a 3D collagen matrix[J]. *J Neurosci Methods*, 2011, 198 (1): 53-61.
- [22] Santos D, Gonzalez-Perez F, Navarro X, et al. Dose-dependent differential effect of neurotrophic factors on in vitro and in vivo regeneration of motor and sensory neurons[J]. *Neural Plast*, 2016, 2016: 4969523.
- [23] Takahashi Y, Maki Y, Yoshizu T, et al. Both stump area and volume of distal sensory nerve segments influence the regeneration of sensory axons in rats[J]. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*, 1999, 33 (2): 177-180.
- [24] Iwabuchi Y, Maki Y, Yoshizu T, et al. Lack of topographical specificity in peripheral nerve regeneration in rats[J]. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*, 1999, 33 (2): 181-185.
- [25] Lee J M, Tos P, Raimondo S, et al. Lack of topographic specificity in nerve fiber regeneration of rat forelimb mixed nerves[J]. *Neuroscience*, 2007, 144 (3): 985-990.
- [26] Madison R D, Robinson G A, Chadaram S R. The specificity of motor neurone regeneration (preferential reinnervation) [J]. *Acta Physiologica*, 2007, 189 (2): 201-206.
- [27] Robinson G A, Madison R D. Influence of terminal nerve branch size on motor neuron regeneration accuracy[J]. *Exp Neurol*, 2009, 215 (2): 228-235.
- [28] Moradzadeh A, Borschel G H, Luciano J P, et al. The impact of motor and sensory nerve architecture on nerve regeneration[J]. *Exp Neurol*, 2008, 212 (2): 370-376.
- [29] He Q, Yu F, Cong M, et al. Comparative proteomic analysis of differentially expressed proteins between injured sensory and motor nerves after peripheral nerve transection[J]. *J Proteome Res*, 2020, doi:10.1021/acs.jproteome.0c00639.
- [30] Jessen K R, Mirsky R. The origin and development of glial cells in peripheral nerves[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2005, 6 (9): 671-682.
- [31] Vaquié A, Sauvain A, Duman M, et al. Injured axons instruct schwann cells to build constricting actin spheres to accelerate axonal disintegration[J]. *Cell Rep*, 2019, 27 (11): 3152-3166.e3157.

- [32] Min Q, Parkinson D B, Dun X P. Migrating Schwann cells direct axon regeneration within the peripheral nerve bridge[J]. *Glia*, 2021, 69 (2) : 235-254.
- [33] Martini R, Schachner M, Brushart T M. The L2/HNK-1 carbohydrate is preferentially expressed by previously motor axon-associated Schwann cells in reinnervated peripheral nerves[J]. *J Neurosci*, 1994, 14 (11 Pt 2) : 7180-7191.
- [34] Saito H, Nakao Y, Takayama S, et al. Specific expression of an HNK-1 carbohydrate epitope and NCAM on femoral nerve Schwann cells in mice[J]. *Neurosci Res*, 2005, 53 (3) : 314-322.
- [35] Ma C H, Omura T, Cobos E J, et al. Accelerating axonal growth promotes motor recovery after peripheral nerve injury in mice[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121 (11) : 4332-4347.
- [36] He Q, Man L, Ji Y, et al. Comparative proteomic analysis of differentially expressed proteins between peripheral sensory and motor nerves[J]. *J Proteome Res*, 2012, 11 (6) : 3077-3089.
- [37] He Q, Man L, Ji Y, et al. Comparison in the biological characteristics between primary cultured sensory and motor Schwann cells[J]. *Neurosci Lett*, 2012, 521 (1) : 57-61.
- [38] Jesuraj N J, Nguyen P K, Wood M D, et al. Differential gene expression in motor and sensory Schwann cells in the rat femoral nerve[J]. *J Neurosci Res*, 2012, 90 (1) : 96-104.
- [39] Shen M, Tang W, Cheng Z, et al. A proteomic view on the differential phenotype of Schwann cells derived from mouse sensory and motor nerves[J]. *J Comp Neurol*, 2020, doi : 10.1002/cne.25018.
- [40] Wright M C, Mi R, Connor E, et al. Novel roles for osteopontin and clusterin in peripheral motor and sensory axon regeneration[J]. *J Neurosci*, 2014, 34 (5) : 1689-1700.
- [41] Dreesmann L, Mitnacht U, Lietz M, et al. Nerve fibroblast impact on Schwann cell behavior[J]. *Eur J Cell Biol*, 2009, 88(5) : 285-300.
- [42] Atkins S, Smith K G, Loescher A R, et al. Scarring impedes regeneration at sites of peripheral nerve repair[J]. *Neuroreport*, 2006, 17 (12) : 1245-1249.
- [43] Lewis G M, Kucenas S. Perineurial glia are essential for motor axon regrowth following nerve injury[J]. *J Neurosci*, 2014, 34 (38) : 12762-12777.
- [44] van Neerven S G, Pannaye P, Bozkurt A, et al. Schwann cell migration and neurite outgrowth are influenced by media conditioned by epineurial fibroblasts[J]. *Neuroscience*, 2013, 252 : 144-153.
- [45] Zhang Z, Yu B, Gu Y, et al. Fibroblast-derived tenascin-C promotes Schwann cell migration through β 1-integrin dependent pathway during peripheral nerve regeneration[J]. *Glia*, 2016, 64 (3) : 374-385.
- [46] Yam G H, Williams G P, Setiawan M, et al. Nerve regeneration by human corneal stromal keratocytes and stromal fibroblasts[J]. *Sci Rep*, 2017, 7 : 45396.
- [47] He Q R, Shen M, Tong F, et al. Differential gene expression in primary cultured sensory and motor nerve fibroblasts[J]. *Front Neurosci*, 2019, 12 : 1016.
- [48] Cattin A-L, Burden J J, Van Emmenis L, et al. Macrophage-induced blood vessels guide schwann cell-mediated regeneration of peripheral nerves[J]. *Cell*, 2015, 162 (5) : 1127-1139.
- [49] Chilton J K. Molecular mechanisms of axon guidance[J]. *Dev Biol*, 2006, 292 (1) : 13-24.
- [50] Dun X P, Parkinson D B. Role of Netrin-1 signaling in nerve regeneration[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18 (3) .
- [51] Rosenberg A F, Isaacman-Beck J. Schwann cells and deleted in colorectal carcinoma direct regenerating motor axons towards their original path[J]. *J Neurosci*, 2014, 34 (44) : 14668-14681.
- [52] Ke X, Li Q, Xu L, et al. Netrin-1 overexpression in bone marrow mesenchymal stem cells promotes functional recovery in a rat model of peripheral nerve injury[J]. *J Biomed Res*, 2015, 29 (5) : 380-389.
- [53] Wu B, Rockel J S, Lagares D, et al. Ephrins and Eph receptor signaling in tissue repair and fibrosis[J]. *Curr Rheumatol Rep*, 2019, 21 (6) : 23.
- [54] Blockus H, Chédotal A. Slit-Robo signaling[J]. *Development*, 2016, 143 (17) : 3037-3044.
- [55] Zinn K, Sun Q. Slit branches out : a secreted minireview protein mediates both attractive and repulsive axon guidance[J]. *Cell*, 1999, 97 : 1-4.
- [56] Balastik M, Zhou X Z, Alberich-Jorda M, et al. Prolyl isomerase pin1 regulates axon guidance by stabilizing CRMP2A selectively in distal axons[J]. *Cell Rep*, 2015, 13 (4) : 812-828.
- [57] Tan C, Lu N N, Wang C K, et al. Endothelium-derived semaphorin 3G regulates hippocampal synaptic structure and plasticity via neuropilin-2/PlexinA4[J]. *Neuron*, 2019, 101 (5) : 920-937.e913.
- [58] Song H, Ming G, He Z, et al. Conversion of neuronal growth cone responses from repulsion to attraction by cyclic nucleotides[J]. *Science*, 1998, 281 (5382) : 1515-1518.
- [59] Bechara A, Nawabi H, Moret F, et al. FAK-MAPK-dependent adhesion disassembly downstream of L1 contributes to semaphorin3A-induced collapse[J]. *Embo J*, 2008, 27 (11) : 1549-1562.
- [60] Dang P, Smythe E, Furley A J. TAG1 regulates the endocytic trafficking and signaling of the semaphorin3A receptor complex[J]. *J Neurosci*, 2012, 32 (30) : 10370-10382.
- [61] He Q R, Cong M, Chen Q Z, et al. Expression changes of nerve cell adhesion molecules L1 and semaphorin 3A after peripheral nerve injury[J]. *Neural Regen Res*, 2016, 11 (12) : 2025-2030.
- [62] Cattin A L, Lloyd A C. The multicellular complexity of peripheral nerve regeneration[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2016, 39 : 38-46.