

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.00323

• 综 述 •

嗅鞘细胞生物学特性及其表达的相关分子

陈晶晶,袁一旻,苏志达*

第二军医大学基础部神经科学研究所,分子神经生物学教育部重点实验室,长征医院神经科学研究中心,上海 200433

[摘要] 嗅鞘细胞(olfactory ensheathing cells, OECs)起源于外周神经系统(嗅基板),可穿越外周与中枢之间的屏障进入中枢神经系统,是嗅觉系统内一类特殊的胶质细胞。OECs 在整个嗅觉通路中包绕在嗅神经外周,伴随其进入嗅中枢,在嗅神经生长和再生中发挥重要作用。OECs 是目前移植治疗中枢神经损伤的重要候选细胞之一。其生物学特点是由特异表达的分子决定的,这些分子包括 PDGF、NDY、S-100 和 Nestin 等。目前实验室中常用 p75^{NTR} 标记 OECs 的定位与分布,尚缺乏可以特异标记 OECs 的分子,将其与神经膜细胞和星形胶质细胞区分开。本文就 OECs 生物学特性及其表达的相关分子作一简要综述。

[关键词] 嗅鞘细胞;生物学特性;分泌性蛋白;膜蛋白质类;胞质蛋白质类

[中图分类号] R 329.481

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2011)03-0323-06

Olfactory ensheathing cells: cellular biology and molecular properties

CHEN Jing-jing, YUAN Yi-min, SU Zhi-da*

Institute of Neuroscience and Key Laboratory of Molecular Neurobiology of Ministry of Education, Neuroscience Research Center of Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] Olfactory ensheathing cells (OECs), a unique population of glia in the primary olfactory nervous system, are derived from the olfactory placode in the peripheral nervous system; they can envelop olfactory axons during migration from the olfactory epithelium to the bulb in the central nervous system and are thought critical for growth of olfactory axons in both the developing and adult olfactory nervous system. Importantly, OECs are potential candidates for implantation therapy of damage to the central nervous system. The biological features of OECs are determined by the molecules they express: PDGF, NDY, S-100, Nestin, etc. Although p75^{NTR} is commonly used to label OECs, up to now there have been no specific molecules for identifying OECs from Schwann cells and astrocytes. This paper reviews the cellular and molecular biological properties of OECs.

[Key words] olfactory ensheathing cells; biological properties; secreted protein; membrane proteins; periplasmic proteins

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(3): 323-328]

在成年哺乳动物中,中枢神经系统损伤后很难再生,但嗅觉系统是一个特例。当嗅神经损伤后,新生的嗅受体神经元轴突可以从外周神经系统的嗅上皮通过嗅通路跨越筛骨板进入中枢神经系统的嗅球,形成新的突触联系^[1-2]。嗅觉系统中嗅神经之所以能够再生,主要是因为该系统中存在一类特殊的胶质细胞——嗅鞘细胞(olfactory ensheathing cells, OECs)^[3-4]。OECs 可以通过表达黏附分子、细胞外基质分子和分泌一些神经营养因子促进嗅神经再生。因此,近年来 OECs 移植已成为治疗中枢神经系统疾病特别是脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)的一种前景非常看好的实验治疗方法^[5-9]。

1 OECs 的分布及其在神经系统发育中的起源

OECs 在嗅觉系统主要分布于嗅上皮、嗅神经及嗅球的

最外面两层。在胚胎发育早期,嗅基板处会有早期的嗅神经元伸出轴突穿过中间介质到达端脑泡^[10]。嗅神经元从嗅基板伸出轴突后,进入固有层(lamina propria),在那里被 OECs 包绕,形成一个鞘状结构,使轴突与外界绝缘,这样可以减少轴突长出不必要的侧支,有助于嗅神经轴突长距离、高效地传递信息^[11-12]。OECs 伴随嗅神经迁移一直到达嗅球表层,与星形胶质细胞共同形成嗅球的嗅神经层^[13]。嗅神经向嗅球生长过程中,OECs 总是在嗅神经轴突末端的前面,这提示 OECs 可能参与了嗅神经轴突的导向。在发育的不同阶段,OECs 所表达的相关分子存在着一定的差异(表 1),这可能与 OECs 的正常发育导向有密切关系。

在成年期,OECs 和嗅神经元一样存在着凋亡和再生过程。新生细胞都来自嗅上皮的干细胞——基底细胞(basal cells)。嗅上皮的基底细胞分为 2 种:一种是球状基底细胞

[收稿日期] 2010-09-29

[接受日期] 2011-02-11

[基金项目] 国家自然科学基金(30700209)。Supported by National Natural Science Foundation of China (30700209)。

[作者简介] 陈晶晶,硕士生。E-mail: cjj2006first@163.com

* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-81871042-520, E-mail: suzhida@gmail.com

(globose basal cells, GBCs), 圆形, 具有高增殖率, 目前认为该基底细胞可以分化为嗅神经元和非神经元细胞系, 如 OECs^[14]; 另一种是水平基底细胞 (horizontal basal cells, HBCs), 大多时间处于休眠期, 增殖率很低, 具有多分化潜能。目前研究认为, 当嗅觉系统受到严重损伤时 HBCs 才会发挥这种潜能分化增殖为 GBCs、嗅神经元和其他群系细胞以完成嗅觉系统的修复和重塑^[15]。目前, 很多的实验证据表明 OECs 和嗅神经具有共同的起源——嗅基板 (olfactory placode)^[16]。嗅球处的 OECs 是胚胎发育过程中, 由嗅上皮处 OECs 迁移过去的。然而, 关于 OECs 发育分化的具体分子调控机制还不清楚。嗅基板中表达的 Distal-less-5 (Dlx5) 分子是嗅上皮中 OECs 分化的一个重要调控分子^[17-18]。在 Dlx5 基因突变的小鼠中, 只发现残存的、未发育的嗅上皮, 且嗅球的嗅神经层中也未发现 OECs。目前, OECs 发育和分化机制方面的相关研究进展缓慢, 其主要的原因在于缺乏标记 OECs 分化发育不同阶段的特异性标志物^[19-20]。

表 1 体内 OECs 表达的免疫学标志物^[11]
Tab 1 Biological markers of OECs *in vivo*^[11]

Marker	Embryo	Neonate	Adult
PDGF	ND	+	ND
NPY	ND	+	+
S-100	ND	+	+
Nexin	ND	+	ND
p75 ^{NTR}	+	+	+
L1	+	+	+
Laminin	+	+	+
PSA-NCAM	+	+	+
NCAM	+	+	+
Vimentin	+	+	-
Nestin	+	+	+
GFAP	-	+	-
GAP-43	-	-	-
Gal-C	-	-	-
HNK-1	-	-	-
O4	+	+	+
1E8	+	+	ND

ND: Not described; +: Present; -: Absent

2 OECs 的生物学特性

2.1 形态学特征 Cuschieri 和 Bannister^[21] 通过对发育过程中 OECs 超微结构的观察, 于 1975 首先提出 OECs 可能由不同形态的亚型细胞所组成这一观点。他们发现, 不同发育阶段及不同组织来源的 OECs 其形态也不一致。在体外, 由于供体动物年龄和培养条件的差异, OECs 呈现出不同的形态和抗原表型。胚胎大鼠的 OECs 在含有血清的培养基中, 一般呈现 3 种形态: 扁平、双极或三极; 而无血清培养基条件下主要以双极、三极和星形状的形态为主。新生大鼠的 OECs 在含有血清的培养基中呈现出胞质延伸的扁平状细胞, 而三极和双极却很少; 而进行无血清培养时, 双极和三极则占主流。成年大鼠的 OECs 一般呈现双极或星状外观。当 OECs 与神经元共培养时, 其形态也会发生变化。OECs 与神

经元-胶质细胞共培养时, 形态为双极梭形, 并能包裹轴突。目前, 已经鉴定出了几种不同形态的 OECs^[22], 但根据它们表达的抗原表型的不同可以将其分为 2 型——神经膜细胞样 OECs (Schwann-cell-like OECs) 和星形胶质细胞样 OECs (Astrocyte-like OECs)。神经膜细胞样 OECs 形态呈梭形, 表达 p75^{NTR} 和散在的 GFAP; 星形胶质细胞样 OECs 形态呈扁平状, 表达 PSA-NCAM 和丝状 GFAP, 而 p75^{NTR} 呈阴性。除此之外, 我们实验室还发现星形胶质细胞样 OECs 有两种不同形态的亚型 (图 1), 且这 3 种形态的 OECs 迁移能力也存在差别^[23]。而且, 不同形态 OECs 对于中枢神经损伤后的轴突再生具有不同功能^[24]。这些不同形态的 OECs 是否在发育过程中不同阶段发挥不同功能, 目前还不太清楚。关于这点, 很多科学家提出了两种不同的假说 (图 2)^[25]: 一种认为是未知的前体细胞先分化成星形胶质细胞样 OECs, 再由后者发育成一个中间体阶段的 OECs, 最后再发育成神经膜细胞样 OECs; 另一种假说则认为星形胶质细胞先发育成中间体 OECs, 然后由后者分别发育成神经膜细胞样 OECs 和星形胶质细胞样 OECs。

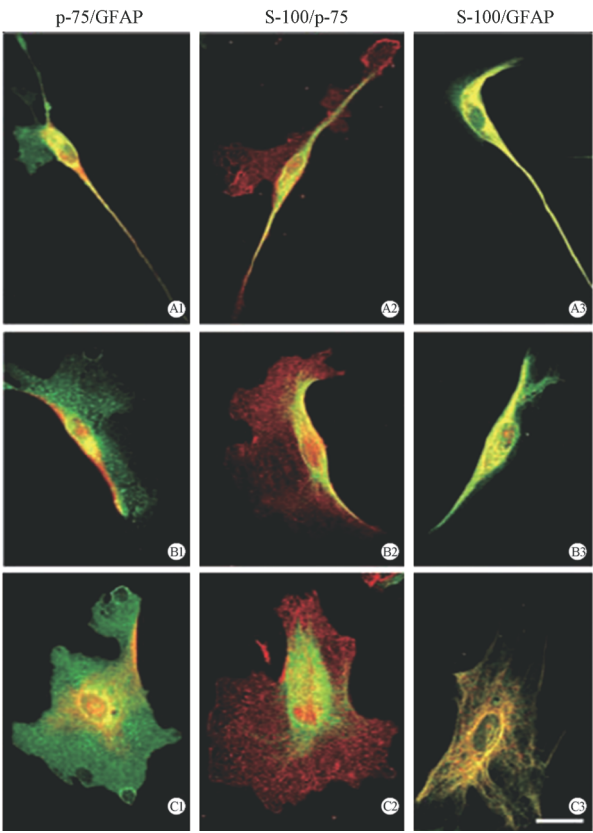


图 1 三种不同形态的 OECs^[23]

Fig 1 Three subtypes of OECs^[23]

A1-A3: Schwann-cell-like OECs; B1-B3: Astrocyte-like type 1 OECs; C1-C3: Astrocyte-like type 2 OECs

2.2 迁移能力 在嗅觉系统的发育过程中, OECs 的迁移特性发挥了重要作用。在胚胎发育的早期, 嗅基板处会有一团包含有嗅神经元生长突起和 OECs 的群体迁移穿过中间介质到达端脑泡, 在那里形成最早的嗅球结构^[10]。Liu 等^[26]应用

离体培养和 OECs 移植实验发现, 嗅球处可分泌某些可溶性因子诱导 OECs 向嗅球方向迁移。我们实验室在 OECs 的体外培养实验中发现胶质细胞源性的神经营养因子(GDNF)可通过 GFR α -1 和 Ret 受体激活 JNK 和 Src 通路, 从而促进 OECs 迁移^[27]。1998 年 Buckland 等^[28]发现嗅球处可分泌高浓度的 GDNF, 我们在体内和体外实验中证实了 GDNF 对 OECs 的迁移有促进作用^[27]。

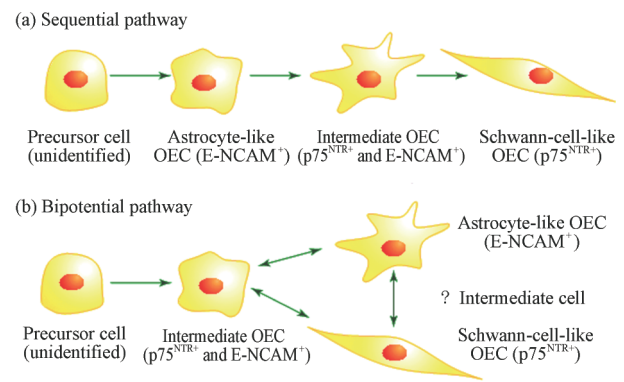


图 2 前体细胞分化为各种亚型 OECs 的两种假说^[25]

Fig 2 Two hypothesis of OECs differentiation^[25]

2.3 免疫学特性 嗅觉神经元是个典型的双极细胞, 它的两个突起分别伸向外周与中枢, 处于外周嗅觉神经元的突起与外界空气直接接触, 这就给空气中的病原体带来了许多侵袭机会, 但事实上由于嗅觉系统的感染而侵袭到中枢系统的病例极少。研究认为, 这一现象可能与 OECs 在嗅觉系统中具有一定的免疫功能有关^[29-31]。2005 年, Vincent 等^[32]在比较 OECs 与星形胶质细胞及神经膜细胞的基因表达差异时发现, OECs 表达的溶菌酶、炎症趋化因子和单核细胞趋化蛋白类蛋白等免疫相关因子的水平明显比另外两种细胞高。另外, 他们还发现 OECs 表达 Toll 样受体 2 和 4 的 mRNA, 但是在蛋白水平上只检测到了 Toll 样受体 4。OECs 在遭遇外界病原体时, Toll 样受体 4 会促使胞质内 NF- κ B 迅速转到核内, 激活相关蛋白的转录表达^[33], 并且还会促进诱导型一氧化氮合酶(iNOS)的合成^[34]。不仅如此, 在 OECs 与大肠杆菌体外共培养实验中还发现, 大肠杆菌可以被 OECs 吞噬^[35]。

3 OECs 表达的相关分子

3.1 分泌性蛋白 最近几年, 在嗅觉系统中已经发现并鉴定出许多生长因子及其受体。Dp71 是一种肌营养不良蛋白的亚型, Takatoh 等^[36]发现在小鼠的嗅觉系统中, 如果 OECs 缺失这种亚型会引起犁鼻神经的去肌束震颤。在 OECs 中, Dp71 可与层粘连蛋白(laminin)、基底膜聚糖蛋白(perlecan)共标。他们推测 OECs 中表达的 Dp71 可能通过与细胞外基质的作用, 参与了犁鼻神经的肌束震颤活动。

神经肽 Y(NPY)最早是在牛脑中被发现, 由 36 个氨基酸组成, 是神经系统中丰富表达的一种神经肽。很多研究表明, NPY 实际上是一种神经营养因子, 可以促进神经的生

长。1994 年, Ubink 等^[37]发现在 OECs 中有 NPY 的表达。鼠胚胎第 15 天时, 在嗅球神经层第一次检测到 NPY 的免疫反应和它的 mRNA, 从第 16 天开始观察到嗅神经层中 NPY 和它 mRNA 的分离现象。在嗅神经层外侧的 NPY 表达降低, 而嗅神经层的内侧表达增高, 其与 p75^{NTR} 和 S-100 不能共标。但是, 在嗅球神经层的外侧至由 p75^{NTR} 包绕嗅神经的嗅上皮均发现 NPY 能与 S-100 共存^[37]。上述现象表明, 在嗅神经成熟之前和嗅小球形成初期, OECs 已经开始表达有 NPY。NPY 可能在嗅神经导向、延伸或定位到靶嗅小球的这个过程中发挥了重要作用。除此之外, NPY 还可能与嗅神经的成熟有关。有关 OECs 分泌的神经营养因子, 研究比较多的有神经生长因子(NGF)、脑源性神经营养因子(BDNF)、神经营养蛋白 3(NT-3)、神经营养素蛋白 4/5(NT-4/5)。这些神经营养因子可与膜上的组氨酸受体家族结合, 也可与低亲和力神经生长因子受体结合。NGF、BDNF 和 NT-3 可以促进神经元中 c-Fos 的表达, 从而有利于神经元的存活。2001 年, Woodhall 等^[38]通过 RT-PCR 和免疫细胞化学的方法研究发现, 体外培养的 OECs 表达 NGF、BDNF、GDNF 和它们的受体 TrkB 和 GFR α 2, 但不表达 NT-3、TrkA、TrkC、GFR α 1 和 Ret。然而我们实验室通过荧光免疫细胞化学和蛋白质印迹研究发现, 体外培养的 OECs 有 GFR α 1 和 Ret 表达^[27]。NCAM 是最近新发现的一个 GDNF 受体^[39], 它在体内 OECs 上有表达, 但我们研究发现它在体外培养的 OECs 上不表达^[27]。

Senut 等^[40]报道, 嗅球的内丛状层和外丛状层处有 NGF 表达。Kato-Semba 等^[41]检测大鼠和小鼠嗅球中 NGF 的表达, 提出大鼠嗅球中 NGF 表达量恒定不变, 而在小鼠嗅球中, NGF 的表达量与小鼠年龄正相关。在嗅球胆碱能神经元的神经生长中, NGF 发挥营养因子的功能。在体外培养时, 只加 NGF 不会增加神经元的数量或促进神经元的存活, 但是若在神经元与 OECs 的共培养体系中加入 NGF, 就会引起神经元数量的显著减少。这就表明 NGF 这种非直接性的促进神经元的存活是依赖于 OECs 产生作用的。另外, 我们实验室还发现 OECs 可以分泌 NGF 从而促进神经膜细胞的迁移^[42]。

成纤维生长因子家族有 18 个成员, 最先发现的是碱性成纤维生长因子(FGF2)和酸性成纤维生长因子(FGF1)。FGF 在神经系统中的作用主要是促进神经元的增殖而抑制分化。有研究表明, 在 OECs 中有 FGF2 mRNA 的转录; 后来, 又在 OECs 中检测到了 FGF2 蛋白的表达。在成年的嗅上皮组织中检测到了广泛的 FGF2 的表达。另外, 在 OECs 上还表达大量的成纤维细胞生长因子受体 1(FGFR1)^[43]。

血小板源性生长因子(PDGF)最先是在血小板中发现, 故得此名。其实, PDGF 在其他很多细胞中也都有表达, 如星形胶质细胞、内皮细胞、上皮细胞和成纤维细胞。研究表明, OECs 中表达有 PDGF-B。SPARC(secreted protein acidic rich in cysteine)是一种由细胞外基质分泌的富含半胱氨酸的酸性蛋白, 可与 PDGF-B 结合, 从而阻止它与 PDGF-B 受体结合。2003 年, 有人用 SPARC 敲除的大鼠做实验, 把嗅黏膜固有层的 OECs 注射到大鼠脊髓损伤处, 发现感觉神经元再

生的轴突明显减少,而且也改变 OECs 移植后的蛋白表达^[44]。在体外实验中,OECs 分泌的 SPARC 可以刺激神经膜细胞,促进神经轴突的生长及损伤神经修复^[45]。这些研究表明,SPARC 是嗅黏膜固有层内 OECs 发挥内在神经损伤修复作用的一个中间分子。胶质细胞来源的连接蛋白(glia-derived nexin,GDN)可由嗅神经层和黏膜下层的 OECs 表达分泌,是一种相对分子质量为 43 000 的蛋白分子,具有蛋白酶抑制剂作用,可以促进轴突生长^[10]。S-100 是一种 Ca 结合的螺旋-环-螺旋结构的蛋白,而 S-100 β 是 S-100 蛋白的一种形式。OECs 可表达分泌 S-100 β ,并作为 OECs 的一种生物标志^[46]。在神经系统中,S-100 发挥着神经营养蛋白的功能,是一种神经轴突促进因子^[47]。

3.2 膜蛋白 OECs 上表达的膜分子大多作为受体,与外界信号传递有关,与它们行使的功能密切相关。目前,有关 OECs 表达的膜蛋白可见表 2^[12]。OECs 膜蛋白主要有 L1 层粘连蛋白(laminin)、纤连蛋白(fibronectin)、胚胎源性的神经细胞黏附分子(PSA-NCAM)和成熟形式的神经细胞黏附分子(NCAM)等,在整个发育阶段都持续表达,可促进 OECs 黏附或促进神经元轴突生长。Laminin 最早发现定位于嗅球的嗅神经层,在大鼠 E13 开始由 OECs 和嗅神经轴突表达。研究表明,该分子在嗅觉系统中具有多种功能,包括诱导神经轴突生长和促进细胞迁移^[48]。Galectin-1 是一种糖蛋白,它最早出现于 E15 鼻腔周围的间叶细胞内,E17 时可明显定位于 OECs 内,之后在整个胚胎发育阶段和成年时期的 OECs 上均有表达。HSPG(heparan sulfate proteoglycans)于胚胎发育早期大约 E13 时出现于间叶细胞内,随后定位于 OECs 内。Rohm 等^[49]研究发现,OECs 上表达 Semaphorin 3A,并通过嗅神经轴突上表达的跨膜蛋白发挥排斥作用,介导嗅神经的导向。

表 2 OECs 表达的膜蛋白分子^[12]

Tab 2 Membrane proteins expressed by OECs^[12]

Antigen molecule	Spatial presence	
	In axons	In lamina propria
Laminin	+	—
NCAM	+	+
L1	+	+
Galectin-1	—	+
HSPG	—	+
Semaphorin 3A	—	+

+: Present; -: Absent

p75^{NTR} (low-affinity nerve growth factor receptor)是属于肿瘤坏死因子受体家族的一种低亲和力神经生长因子受体。Tisay 等^[50]研究发现,在 p75^{NTR} 缺失的小鼠中,嗅小球发生异常,这就表明 p75^{NTR} 影响了神经轴突的生长,而且在出生后嗅球的成熟过程中也发挥了重要作用。目前,OECs 上表达的 p75^{NTR} 已成为识别该细胞的一个重要标志物。p75^{NTR} 在 OECs 上的表达受到胚胎发育过程的严格调控。在胚胎 14 d,嗅觉系统迁移的细胞团(olfactory migratory mass)开始

呈现 p75^{NTR} 阳性。在大鼠出生后 1 周,OECs 上 p75^{NTR} 的表达增多。而到成年后,p75^{NTR} 的表达水平则下降到几乎检测不到,只有嗅小球层内的部分 OECs 还呈现 p75^{NTR} 阳性。有趣的是,嗅神经横断后可上调成年嗅觉系统中 OECs 上 p75^{NTR} 的表达水平。2005 年,Kumar 等^[24] 在比较不同来源的 OECs 促进神经再生的作用时发现,分离得到的 p75^{NTR} 阳性 OECs 对轴突生长的促进作用更加显著。最新的临床研究发现,在人类嗅球处的 OECs 也表达有 p75^{NTR}^[51]。

3.3 胞质蛋白 Wnt 作用于多条信号通路,但是它最经典的通路是 Wnt/ β -catenin 信号通路,Wnt 配体与膜上的 Fz 受体或 LPR5/6 结合后,阻止了胞内 β -catenin 的降解, β -catenin 进入核内与 Lef1 和 Tcf 形成复合体作用于相应的启动子上,引起下游基因的转录表达。最近,在嗅觉系统中 Wnt/ β -catenin 信号通路已引起很多学者的关注。Zaghetto 等^[52] 和 Booker-Dwyer 等^[53] 利用转基因 TOPGAL 小鼠进行实验,发现在嗅觉发育过程中,Wnt/ β -catenin 信号通路的激活与嗅觉神经建立连接的时间恰好吻合,提示该通路很可能与嗅觉神经建立正确连接有关。另外,Wang 等^[54] 利用该小鼠发现 OECs 某种亚型中有 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活。他们还发现 Wnt/ β -catenin 信号通路可能参与了嗅小球的形成和嗅神经轴突的筛选及汇聚过程。

Barnett 等^[55] 发现嗅神经层处星形胶质细胞 O4 染色是阴性的,而此处的 OECs O4 染色则是阳性的,所以可以利用 O4 标志筛选高纯度的 OECs。1E8 的表达是迁移的神经巢细胞(neural nest cells)和神经膜细胞的一个共同特征,同时它也是 OECs 的一个标志物。GFAP(glial fibrillary acidic protein)是一种 49 000 的胶质纤维酸性蛋白,是星形胶质细胞的一种标志物,但在 OECs 和神经膜细胞中也有表达。Vimentin 是一种波形蛋白,表达在发育阶段的中枢神经系统中。一般情况下,星形胶质细胞成熟后将不再表达 Vimentin,取而代之的是 GFAP 的表达。但有趣的是,在成熟的 OECs 中,Vimentin 却是主要的中间纤维成分,这是否表明这些 OECs 并非真正成熟呢?Nestin 是一种巢蛋白,在胚胎期和新生的 OECs 中都有表达。值得注意的是,OECs 表达的相关蛋白不仅随着时间发育存在差异性,而且在空间分布上也存在差异性(图 3)。

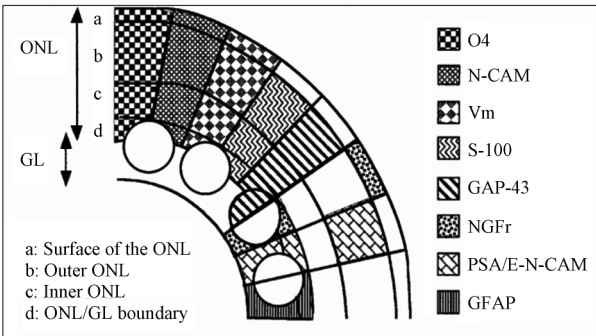


图 3 OEC 表达蛋白的空间分布^[55]

Fig 3 Spatial distribution of OECs-expressed proteins^[55]

ONL: Olfactory nerve layer; GL: Glomerular layer; GFAP: Glial fibrillary acidic protein; Vm: Vimentin; NCAM: Neural cell adhesion molecule; CAM: Polysialylated(“embryonic”) form of NCAM

4 展 望

OECs 的特殊生物学特点,使它成为人们关注的焦点。近年来,OECs 移植已经运用到临床中枢神经损伤的相关治疗中,并且取得了不错的疗效。但是,有关 OECs 促进神经再生的具体分子机制还不清楚,其研究一直无法进一步深入,这也限制了 OECs 移植治疗神经损伤的临床应用。因此,在未来的研究中,我们应该更加重视 OECs 本身的生物学特性研究(如寻找 OECs 特异表达分子),通过对 OECs 生物学特性的深入研究,明确 OECs 在嗅觉系统中的功能,取得 OECs 治疗临床应用领域的重大突破。

【参 考 文 献】

- [1] Williams S K, Gilbey T, Barnett S C. Immunohistochemical studies of the cellular changes in the peripheral olfactory system after zinc sulfate nasal irrigation[J]. *Neurochem Res*, 2004, 29: 891-901.
- [2] Costanzo R M. Rewiring the olfactory bulb: changes in odor maps following recovery from nerve transection[J]. *Chem Senses*, 2000, 25: 199-205.
- [3] Franssen E H, de Bree F M, Verhaagen J. Olfactory ensheathing glia: their contribution to primary olfactory nervous system regeneration and their regenerative potential following transplantation into the injured spinal cord[J]. *Brain Res Rev*, 2007, 56: 236-258.
- [4] Li Y, Li D, Raisman G. Interaction of olfactory ensheathing cells with astrocytes may be the key to repair of tract injuries in the spinal cord: the 'pathway hypothesis'[J]. *J Neurocytol*, 2005, 34(3-5): 343-351.
- [5] Raisman G, Li Y. Repair of neural pathways by olfactory ensheathing cells[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2007, 8: 312-319.
- [6] Barnett S C, Riddell J S. Olfactory ensheathing cell transplantation as a strategy for spinal cord repair—what can it achieve[J]? *Nat Clin Pract Neurol*, 2007, 3: 152-161.
- [7] Richter M W, Roskams A J. Olfactory ensheathing cell transplantation following spinal cord injury: hype or hope[J]? *Exp Neurol*, 2008, 209: 353-367.
- [8] Kocsis J D, Lankford K L, Sasaki M, Radtke C. Unique *in vivo* properties of olfactory ensheathing cells that may contribute to neural repair and protection following spinal cord injury[J]. *Neurosci Lett*, 2009, 456: 137-142.
- [9] Su Z, He C. Olfactory ensheathing cells: biology in neural development and regeneration[J]. *Prog Neurobiol*, 2010, 92: 517-532.
- [10] Doucette R. Glial influences on axonal growth in the primary olfactory system[J]. *Glia*, 1990, 3: 433-449.
- [11] Ramón-Cueto A, Avila J. Olfactory ensheathing glia: properties and function[J]. *Brain Res Bull*, 1998, 46: 175-187.
- [12] Chuah M I, West A K. Cellular and molecular biology of ensheathing cells[J]. *Microsc Res Tech*, 2002, 58: 216-227.
- [13] Valverde F, Santacana M, Heredia M. Formation of an olfactory glomerulus: morphological aspects of development and organization[J]. *Neuroscience*, 1992, 49: 255-275.
- [14] Chen X, Fang H, Schwob J E. Multipotency of purified, transplanted globose basal cells in olfactory epithelium [J]. *J Comp Neurol*, 2004, 469: 457-474.
- [15] Leung C T, Coulombe P A, Reed R R. Contribution of olfactory neural stem cells to tissue maintenance and regeneration[J]. *Nat Neurosci*, 2007, 10: 720-726.
- [16] Beites C L, Kawauchi S, Crocker C E, Calof A L. Identification and molecular regulation of neural stem cells in the olfactory epithelium[J]. *Exp Cell Res*, 2005, 306: 309-316.
- [17] Levi G, Puche A C, Mantero S, Barbieri O, Trombino S, Palestini L, et al. The *Dlx5* homeodomain gene is essential for olfactory development and connectivity in the mouse[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2003, 22: 530-543.
- [18] Long J E, Garel S, Depew M J, Tobet S, Rubenstein J L. *DLX5* regulates development of peripheral and central components of the olfactory system[J]. *J Neurosci*, 2003, 23: 568-578.
- [19] Ibanez C, Ito D, Zawadzka M, Jeffery N D, Franklin R J. Calponin is expressed by fibroblasts and meningeal cells but not olfactory ensheathing cells in the adult peripheral olfactory system [J]. *Glia*, 2007, 55: 144-151.
- [20] Tom M, Siladze E, Santos-Silva A, Barnett S C. Calponin is expressed by subpopulations of connective tissue cells but not olfactory ensheathing cells in the neonatal olfactory mucosa[J]. *BMC Neurosci*, 2007, 8: 74.
- [21] Cuschieri A, Bannister L H. The development of the olfactory mucosa in the mouse: electron microscopy[J]. *J Anat*, 1975, 119(Pt 3): 471-498.
- [22] Audisio C, Raimondo S, Nicolino S, Gambartotta G, Di Scipio F, Macr L, et al. Morphological and biomolecular characterization of the neonatal olfactory bulb ensheathing cell line[J]. *J Neurosci Methods*, 2009, 185: 89-98.
- [23] Huang Z H, Wang Y, Cao L, Su Z D, Zhu Y L, Chen Y Z, et al. Migratory properties of cultured olfactory ensheathing cells by single-cell migration assay[J]. *Cell Res*, 2008, 18: 479-490.
- [24] Kumar R, Hayat S, Felts P, Bunting S, Wigley C. Functional differences and interactions between phenotypic subpopulations of olfactory ensheathing cells in promoting CNS axonal regeneration[J]. *Glia*, 2005, 50: 12-20.
- [25] Barnett S C, Chang L. Olfactory ensheathing cells and CNS repair: going solo or in need of a friend[J]? *Trends Neurosci*, 2004, 27: 54-60.
- [26] Liu K L, Chuah M I, Lee K K. Soluble factors from the olfactory bulb attract olfactory Schwann cells[J]. *J Neurosci*, 1995, 15: 990-1000.
- [27] Cao L, Su Z, Zhou Q, Lv B, Liu X, Jiao L, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor promotes olfactory ensheathing cells migration[J]. *Glia*, 2006, 54: 536-544.
- [28] Buckland M E, Cunningham A M. Alterations in the neurotrophic factors BDNF, GDNF and CNTF in the regenerating olfactory system[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1998, 855: 260-265.
- [29] Getchell M L, Li H, Vaishnav R A, Borders A S, Witta J, Subhedar N, et al. Temporal gene expression profiles of target-ablated olfactory epithelium in mice with disrupted expression of scavenger receptor A: impact on macrophages[J]. *Physiol Ge-*

- nomics, 2006, 27: 245-263.
- [30] Chuang C F, Bargmann C I. A Toll-interleukin 1 repeat protein at the synapse specifies asymmetric odorant receptor expression via ASK1 MAPKKK signaling[J]. *Genes Dev*, 2005, 19: 270-281.
- [31] Chuah M I, Hale D M, West A K. Interaction of olfactory ensheathing cells with other cell types *in vitro* and after transplantation: Glial scars and inflammation[J]. *Exp Neurol*, 2010 Aug 14. [Epub ahead of print]
- [32] Vincent A J, Taylor J M, Choi-Lundberg D L, West A K, Chuah M I. Genetic expression profile of olfactory ensheathing cells is distinct from that of Schwann cells and astrocytes[J]. *Glia*, 2005, 51: 132-147.
- [33] Vincent A J, Choi-Lundberg D L, Harris J A, West A K, Chuah M I. Bacteria and PAMPs activate nuclear factor kappaB and Gro production in a subset of olfactory ensheathing cells and astrocytes but not in Schwann cells[J]. *Glia*, 2007, 55: 905-916.
- [34] Harris J A, West A K, Chuah M I. Olfactory ensheathing cells: nitric oxide production and innate immunity[J]. *Glia*, 2009, 57: 1848-1857.
- [35] Leung J Y, Chapman J A, Harris J A, Hale D, Chung R S, West A K, et al. Olfactory ensheathing cells are attracted to, and can endocytose, bacteria [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65: 2732-2739.
- [36] Takato H, Kudoh H, Kondo S, Hanaoka K. Loss of short dystrophin isoform Dp71 in olfactory ensheathing cells causes vomeronasal nerve defasciculation in mouse olfactory system [J]. *Exp Neurol*, 2008, 213: 36-47.
- [37] Ubink R, Halasz N, Zhang X, Dagerlind A, Hökfelt T, et al. Neuropeptide tyrosine is expressed in ensheathing cells around the olfactory nerves in the rat olfactory bulb[J]. *Neuroscience*, 1994, 60: 709-726.
- [38] Woodhall E, West A K, Chuah M I. Cultured olfactory ensheathing cells express nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, glia cell line-derived neurotrophic factor and their receptors[J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 2001, 88(1-2): 203-213.
- [39] Paratcha G, Ledda F, Ibáñez C F. The neural cell adhesion molecule NCAM is an alternative signaling receptor for GDNF family ligands[J]. *Cell*, 2003, 113: 867-879.
- [40] Senut M C, Lamour Y, Lee J, Brachet P, Dicou E. Neuronal localization of the nerve growth factor precursor-like immunoreactivity in the rat brain[J]. *Int J Dev Neurosci*, 1990, 8: 65-80.
- [41] Katoh-Semba R, Semba R, Takeuchi I K, Kato K. Age-related changes in levels of brain-derived neurotrophic factor in selected brain regions of rats, normal mice and senescence-accelerated mice: a comparison to those of nerve growth factor and neurotrophin-3[J]. *Neurosci Res*, 1998, 31: 227-234.
- [42] Cao L, Zhu Y L, Su Z, Lv B, Huang Z, Mu L, et al. Olfactory ensheathing cells promote migration of Schwann cells by secreted nerve growth factor[J]. *Glia*, 2007, 55: 897-904.
- [43] Hsu P, Yu F, Féron F, Pickles J O, Sneesby K, Mackay-Sim A. Basic fibroblast growth factor and fibroblast growth factor receptors in adult olfactory epithelium[J]. *Brain Res*, 2001, 896(1-2): 188-197.
- [44] Bradshaw A D, Puolakkainen P, Dasgupta J, Davidson J M, Wight T N, Helene Sage E. SPARC-null mice display abnormalities in the dermis characterized by decreased collagen fibril diameter and reduced tensile strength [J]. *J Invest Dermatol*, 2003, 120: 949-955.
- [45] Au E, Richter M W, Vincent A J, Tetzlaff W, Aebersold R, Sage E H, et al. SPARC from olfactory ensheathing cells stimulates Schwann cells to promote neurite outgrowth and enhances spinal cord repair[J]. *J Neurosci*, 2007, 27: 7208-7221.
- [46] Pellitteri R, Spatuzza M, Stanzani S, Zaccheo D. Biomarkers expression in rat olfactory ensheathing cells [J]. *Front Biosci (Schol Ed)*, 2010, 2: 289-298.
- [47] Sedaghat F, Notopoulos A. S100 protein family and its application in clinical practice[J]. *Hippokratia*, 2008, 12: 198-204.
- [48] Tisay K T, Key B. The extracellular matrix modulates olfactory neurite outgrowth on ensheathing cells[J]. *J Neurosci*, 1999, 19: 9890-9899.
- [49] Rohm B, Ottemeyer A, Lohrum M, Püschel A W. Plexin/neuropilin complexes mediate repulsion by the axonal guidance signal semaphorin 3A[J]. *Mech Dev*, 2000, 93(1-2): 95-104.
- [50] Tisay K T, Bartlett P F, Key B. Primary olfactory axons form ectopic glomeruli in mice lacking p75^{NTR} [J]. *J Comp Neurol*, 2000, 428: 656-670.
- [51] Liu K, Li Y, Wang H, Jiang X, Zhao Y, Sun D, et al. The immunohistochemical characterization of human fetal olfactory bulb and olfactory ensheathing cells in culture as a source for clinical CNS restoration[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2010, 293: 359-369.
- [52] Zaghetto A A, Paina S, Mantero S, Platonova N, Peretto P, Bovetti S, et al. Activation of the Wnt-beta catenin pathway in a cell population on the surface of the forebrain is essential for the establishment of olfactory axon connections[J]. *J Neurosci*, 2007, 27: 9757-9768.
- [53] Booker-Dwyer T, Hirsh S, Zhao H. A unique cell population in the mouse olfactory bulb displays nuclear beta-catenin signaling during development and olfactory sensory neuron regeneration [J]. *Dev Neurobiol*, 2008, 68: 859-869.
- [54] Wang Y Z, Molotkov A, Song L, Li Y, Pleasure D E, Zhou C J. Activation of the Wnt/beta-catenin signaling reporter in developing mouse olfactory nerve layer marks a specialized subgroup of olfactory ensheathing cells [J]. *Dev Dyn*, 2008, 237: 3157-3168.
- [55] Barnett S C, Hutchins A M, Noble M. Purification of olfactory nerve ensheathing cells from the olfactory bulb [J]. *Dev Biol*, 1993, 155: 337-350.