

# 基于单细胞测序技术探讨脊髓损伤后星形胶质细胞异质性的研究进展

杜磊<sup>1</sup>, 张彦军<sup>2</sup>, 郭铁峰<sup>2</sup>, 罗林钊<sup>2</sup>, 马平怡<sup>2</sup>, 李家明<sup>2</sup>, 檀盛<sup>1</sup>

(1. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省中医院, 甘肃 兰州 730050)

**【摘要】** 单细胞转录组测序技术在脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 后星形胶质细胞 (astrocytes) 异质性的研究为创伤后神经再生和修复提供了新的视角。就单细胞测序技术在脊髓损伤后星形胶质细胞的研究进展进行综述, 更加全面、深入地阐述单细胞测序技术在脊髓损伤后星形胶质细胞领域的应用。单细胞测序技术可以高通量地分析单个细胞的转录组, 从而揭示细胞类型和状态的精细差异。通过使用单细胞测序技术, 揭示 SCI 后星形胶质细胞的异质性及其与神经再生和修复的关联。总之, 单细胞测序技术的应用为揭示 SCI 后星形胶质细胞异质性的研究提供了重要工具, 进一步探索星形胶质细胞在 SCI 中的作用机制, 并开发针对其调控机制的干预策略, 以提高 SCI 的治疗效果。发现星形胶质细胞转录组动态变化提高了研究者们对脊髓损伤病变进程的理解, 并为脊髓损伤在不同时间点的治疗提供了新见解。截至目前, 这些研究结果均还需要更多的基础研究和足够的临床试验来验证。在未来, 单细胞测序技术通过与生物信息学、计算机科学、组织工程学和临床医学等跨学科合作, 有望为脊髓损伤的诊疗打开新的一扇窗户。

**【关键词】** 单细胞测序技术; 星形胶质细胞; 脊髓损伤; 神经恢复; 病理机制

中图分类号: R826.64

DOI: 10.12200/j.issn.1003-0034.20240352

## Progress in investigating astrocyte heterogeneity after spinal cord injury based on single-cell sequencing technology

DU Lei<sup>1</sup>, ZHANG Yan-jun<sup>2</sup>, GUO Tie-feng<sup>2</sup>, LUO Lin-zhao<sup>2</sup>, MA Ping-yi<sup>2</sup>, LI Jia-ming<sup>2</sup>, TAN Sheng<sup>1</sup> (1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, Gansu, China; 2. Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, Gansu, China)

**ABSTRACT** In recent years, the study of single-cell transcriptome sequencing technology in the heterogeneity of astrocytes (astrocytes) after spinal cord injury (SCI) has provided new perspectives on post-traumatic nerve regeneration and repair. To provide a review on the research progress of single-cell sequencing technology in astrocytes after spinal cord injury (SCI), and to more comprehensively and deeply elaborate the application of single-cell sequencing technology in the field of astrocytes after SCI. Single-cell sequencing technology can analyse the transcriptomes of individual cells in a high-throughput manner, thus revealing fine differences in cell types and states. By using single-cell sequencing technology, the heterogeneity of astrocytes after SCI and their association with nerve regeneration and repair were revealed. In conclusion, the application of single-cell sequencing technology provides an important tool to reveal the heterogeneity of astrocytes after SCI, to further explore the mechanisms of astrocytes in SCI, and to develop intervention strategies targeting their regulatory mechanisms in order to improve the therapeutic efficacy of SCI. The discovery of changes in astrocyte transcriptome dynamics has improved researchers' understanding of spinal cord injury lesion progression and provided new insights into the treatment of spinal cord injury at different time points. To date, all of these findings need to be validated by more basic research and sufficient clinical trials. In the future, single-cell sequencing technology, through interdisciplinary collaboration with bioinformatics, computer science, tissue engineering, and clinical medicine, is expected to open a new window for the treatment of spinal cord injury.

**KEYWORDS** Single cell sequencing technology; Astrocytes; Spinal cord injury; Neurological recovery; Pathological mechanism

研究表明脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 后星

形胶质细胞 (astrocytes) 可分化为不同亚型, 包括经典星形胶质细胞 (typical astrocytes) 和反应性星形胶质细胞 (reactive astrocytes)。这些亚型在细胞形态、基因表达和功能上存在显著差异。经典星形胶质细胞在 SCI 发生初期常见, 并表现出支持细胞存活和神经再生的增强作用。而反应性星形胶质细胞主要

基金项目: 国家自然科学基金地区项目 (编号: 82360947)

Fund project: Regional Project of National Natural Science Foundation of China (No.: 82360947)

通讯作者: 张彦军 E-mail: 1486815305@qq.com

Corresponding author: ZHANG Yan-Gjun E-mail: 1486815305@qq.com

在 SCI 后期出现,其主要功能是形成胶质瘢痕和抑制神经再生<sup>[1]</sup>。单细胞测序技术可以揭示 SCI 后星形胶质细胞的部分功能调控机制。研究发现<sup>[2]</sup>,多个信号通路和转录因子在调控星形胶质细胞的分化和功能转变中起关键作用。例如,Wnt 信号通路和 FOXO 转录因子家族可以促进经典星形胶质细胞的增殖和生存,从而改善神经再生。相反,NFκB 通路和 STAT3 转录因子则参与了反应性星形胶质细胞的形成和功能增强。通过单细胞测序技术,研究者们还发现了与 SCI 相关的潜在治疗靶点。通过分析 SCI 后星形胶质细胞的基因表达谱,可以筛选出与神经再生和修复紧密相关的基因,为开发新的治疗策略提供依据。例如,通过抑制 NFκB 通路或增加 Wnt 信号通路的活性,可以促进经典星形胶质细胞的形成和功能增强,从而改善 SCI 的恢复效果<sup>[3]</sup>。

## 1 星形胶质细胞概述

### 1.1 星形胶质细胞的形态结构

星形胶质细胞是中枢神经系统中最常见的胶质细胞类型之一,它们在中枢神经系统中具有重要作用。星形胶质细胞具有独特的结构,与神经元和其他胶质细胞相互作用,维持神经系统的正常功能。星形胶质细胞呈星形或网状形状,与其名称相符。其形态结构可分为细胞体、主要突起(主干枝)和次级突起(小枝和叶)3个主要部分。星形胶质细胞的细胞体呈圆形或椭圆形,包含细胞质和细胞核<sup>[4]</sup>。细胞质含有许多蛋白质和细胞器,如线粒体和高尔基体。主要突起是星形胶质细胞中最明显的部分,通常只有1条。它们与其他胶质细胞、神经元和微血管相互连接。主要突起从细胞体延伸出来,具有较长的、较粗的结构。主要突起的末端存在许多突触小结,可以与其他神经元的突触接触。次级突起是在主要突起之外分支后更小的突起,它们通常与神经元的轴突或其他星形胶质细胞的主要突起相连。次级突起较为细长,并可扩展到较远的区域。胶质纤维是星形胶质细胞的突起之间的细胞骨架元素,给予细胞形态以稳定性<sup>[5]</sup>。胶质纤维主要由胶质颗粒蛋白组成,这是星形胶质细胞特异性的蛋白质。胶质纤维负责支撑和保护神经元,并帮助维持细胞在脑组织内的位置。星形胶质细胞的足突是一种特殊的突起,常常与血管壁和脑脊液接触。它们覆盖在脑血管和脑脊液周围,形成血脑屏障的一部分。这种屏障可以保护神经组织免受外部有害物质的侵害,并调节脑内外的物质交换<sup>[6]</sup>。

### 1.2 星形胶质细胞的生物发生过程

星形胶质细胞的生物发生过程是一个复杂的过程,涉及细胞增殖、分化、定位和功能发展等多个阶

段。在星形胶质细胞的生物发生过程中,最初的细胞来源是神经干细胞或祖细胞。这些干细胞和祖细胞具有增殖能力,在特定的生长因子和信号分子的调控下,开始进行增殖。这一过程可以分为2个阶段:扩张期和生成期。在扩张期,神经干细胞或祖细胞经过对称分裂产生2个一样的细胞,其中一个继续保持干细胞或祖细胞状态,而另一个进入生成期,这个过程中涉及一系列的细胞分裂和自我更新的过程<sup>[7]</sup>。在生成期,分化细胞开始在细胞分裂后进一步分化为星形胶质细胞的前体细胞。这些前体细胞继续进行增殖和分化,准备进入分化阶段。当星形胶质细胞前体细胞进入分化阶段,它们经历了形态的改变和特异性蛋白的表达。细胞形态由原来的圆形细胞转变为星形的细胞形态,并且细胞胞体周围出现多个突起,形成了星形胶质细胞的特征性状。这些突起通常被称为星突,在细胞分化过程中起着重要作用<sup>[8]</sup>。在分化期间,星形胶质细胞前体细胞开始表达特定的细胞标志物,如谷氨酸转运体、谷胱甘肽转移酶等。这些蛋白质的表达和功能的发展与星形胶质细胞的成熟和功能密切相关。成熟的星形胶质细胞分布在整個中枢神经系统,形成一个星形胶质细胞网络。这个网络包括以星形胶质细胞为基础的细胞突起,并与周围神经元和其他胶质细胞进行联系和通信。星形胶质细胞的排列和定位有一定的规律,可以形成层次结构或特定区域的聚集<sup>[9]</sup>。星形胶质细胞具有多种功能,包括稳态调节、代谢支持、炎症反应等,这些功能在星形胶质细胞发育过程中得到发展和完善。成熟的星形胶质细胞通过细胞突起与邻近神经元和胶质细胞形成密切的联系,维持神经元的正常功能。它们还参与神经元细胞外环境的调节,如清除神经元周围的代谢废物和调节离子浓度平衡等<sup>[10]</sup>。

## 2 星形胶质细胞与脊髓损伤

### 2.1 星形胶质细胞在 SCI 中的反应

在 SCI 中,星形胶质细胞扮演着关键的病理反应角色,会在损伤区域发生细胞和分子改变,以应对损伤的发生和进展。SCI 会导致损伤水平以下自主神经元损伤,运动和感觉的障碍,膀胱等功能的丧失<sup>[11]</sup>,SCI 常常产生机械性损伤和次级病理过程两个方面的影响,会导致神经功能丧失或受限。在机械性损伤的过程中,外力作用下脊髓组织发生直接的物理破坏,导致形态和细胞功能的变化。次级病理过程,则指的是损伤后继发的炎症、免疫反应和细胞增殖等反应<sup>[12]</sup>。在 SCI 的病理反应中,星形胶质细胞扮演着重要角色。首先,在 SCI 发生后,星形胶质细胞会被激活并开始增殖。这是一种预防性的反应,旨在

修复脊髓组织并恢复其正常功能。但是,星形胶质细胞的增殖会导致损伤区域的胶质细胞密度增加,并形成瘢痕组织<sup>[13]</sup>。被激活的星形胶质细胞会发生形态学的变化。通常,正常的星形胶质细胞具有分枝突起,形成营养和结构支持网络。但在 SCI 中,星形胶质细胞的分枝突起会变得更粗,形成棘突,并且会出现胞质增多和细胞体积增大<sup>[14]</sup>。除此之外,星形胶质细胞在 SCI 中还参与炎症反应的调节。当损伤发生时,星形胶质细胞会释放多种炎症介质,如白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin, IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor, TNF- $\alpha$ ) 和 IL-6 等。这些炎症介质会引起局部细胞的活化和炎症反应,导致损伤区域的神经组织损伤进一步恶化<sup>[15]</sup>。OH 等<sup>[16]</sup>研究发现,由星形胶质细胞内钙离子浓度升高所导致的 Best 1 通道开放与谷氨酸的释放有着极大的关系,而谷氨酸的过量释放可以导致神经毒性。需要注意的是,星形胶质细胞在 SCI 中的病理反应并不是单一的过程,而是一个复杂的相互作用网络。除了上述病理特征外,星形胶质细胞还可能通过与其他细胞类型的相互作用影响损伤区域的炎症、免疫反应和再生能力。

## 2.2 星形胶质细胞对 SCI 的正向作用

尽管神经细胞和轴突的损伤在 SCI 后是不可逆的,但是星形胶质细胞可以通过多种途径参与 SCI 的修复过程。首先,星形胶质细胞在 SCI 后的炎症反应中起到了关键的调节作用。损伤后,星形胶质细胞会被激活并释放多种生物活性分子,如细胞因子和趋化因子。这些分子的释放会引起炎症反应,但同时也会激活附近的神经干细胞和增生性星形胶质细胞,促进再生<sup>[17]</sup>。此外,星形胶质细胞还可以分泌抗炎因子,调节炎症反应的程度,减少炎性介质的释放,降低细胞的损伤程度。其次,星形胶质细胞在 SCI 后的神经再生中发挥重要的支持作用。经典星形胶质细胞可以分泌多种神经生长因子,如神经营养因子(neurotrophic factors, NF),如神经营养因子-3 (neurotrophin-3, NT-3)、神经营养因子-4 (neurotrophin-4, NT-4) 等,这些因子能够促进受损神经细胞的存活和再生<sup>[18]</sup>。星形胶质细胞还可以促进神经轴突的生长和导向,提供支架和适当的环境来引导轴突生长,促进损伤区域的连接再生。此外,星形胶质细胞还在 SCI 后的瘢痕形成和控制中起着重要作用。当 SCI 发生时,反应性星形胶质细胞会迅速增生并形成瘢痕。这个瘢痕会围绕受损区域,形成一个屏障,阻止神经细胞和轴突的再生<sup>[19]</sup>。GOVIER-COLE 等<sup>[20]</sup>通过动物实验证明,血管内皮生长因子 mRNA 的表达可以由星形胶质细胞调节,从而促进血脑屏障的生成。此外,一定程度的瘢痕可以为受

损区域提供一定的保护和支持。反应性星形胶质细胞通过调控瘢痕的形成和成分,影响损伤区域的再生能力。在 SCI 后的修复过程中,星形胶质细胞还可以通过形成环境因子来吸引新生神经元和轴突<sup>[21]</sup>。最后,经典星形胶质细胞在 SCI 后的神经可塑性中也发挥着重要的作用。神经可塑性是指神经系统在损伤后通过改变神经元和突触的连接方式,以适应新的环境和任务。星形胶质细胞通过调节突触形成和修剪过程,为神经可塑性提供支持<sup>[22]</sup>。尽管星形胶质细胞在 SCI 修复中具有重要作用,但是在实际治疗中,仅仅依靠星形胶质细胞的自身修复能力是不够的。因此,研究人员正在不断寻找更有效的方法来增强星形胶质细胞的修复潜能。一种常见的方法是使用基因治疗技术,将特定基因导入星形胶质细胞中,以增强其再生能力和生长因子的分泌。此外,干细胞疗法和纳米技术也被广泛研究,以提供更有有效的替代治疗策略<sup>[23]</sup>。

## 3 单细胞测序技术与 SCI

### 3.1 单细胞测序技术在 SCI 中的应用

单细胞测序技术作为一种高分辨率的基因表达分析方法,能够揭示个体细胞之间的转录组异质性,帮助研究者更好地理解复杂的生物学系统。目前主要的单细胞测序技术包括单细胞 RNA 测序(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)、单细胞 DNA 测序(single-cell DNA sequencing, scDNA-seq)、单细胞甲基化测序(single-cell methylation sequencing, scMethyl-seq)等<sup>[24]</sup>。在 SCI 方面,单细胞测序技术能够提供深入的洞察力。传统上,研究者经常使用整个组织的 RNA 测序来研究 SCI,但这遗漏了各个细胞之间的异质性。通过单细胞测序技术可以分析 SCI 中各个细胞的转录组,从而深入研究 SCI 的发病机制和治疗靶点<sup>[25]</sup>。首先,单细胞测序技术可以帮助研究者确定 SCI 中细胞的异质性,揭示不同细胞类型的比例和分布。通过将脊髓组织进行体外分离,可以获得单个细胞的悬液,然后使用单细胞测序技术对每个细胞的转录组进行测序。通过聚类和可视化分析,可以鉴定并定位不同的细胞类型,如神经元、胶质细胞和免疫细胞等,这对于了解 SCI 中各个细胞类型的功能和相互作用至关重要<sup>[26]</sup>。单细胞测序技术还可以帮助研究者识别 SCI 中潜在的分子途径和治疗靶点。通过比较受损脊髓组织中不同细胞类型的转录组,可以发现差异表达的基因,并进一步研究其功能。例如,有研究表明,在 SCI 中,少突胶质细胞和星形胶质细胞参与了炎症反应和瘢痕形成。通过单细胞测序技术可以鉴定这些细胞群体中的关键基因,从而寻找可能的治疗靶点<sup>[27]</sup>。此外,单细胞测序

技术有助于揭示 SCI 后细胞的响应和重塑过程。通过监测单个细胞的转录组,可以追踪不同细胞类型在损伤后的表达动态。例如,在损伤后,星形胶质细胞可能会通过改变基因表达来调节炎症反应和细胞凋亡<sup>[28]</sup>。单细胞测序技术也可以用于研究 SCI 后的神经再生。通过识别并研究损伤后产生的新神经元和胶质细胞,可以了解它们的分化和功能特点<sup>[29]</sup>。尽管单细胞测序技术在 SCI 的研究中有巨大的潜力,但仍然面临一些挑战。例如,单细胞测序技术的成本和处理时间较长,需要一定的专业技术。此外,脊髓组织中的细胞种类繁多且复杂,样本的纯度和细胞的捕获效率也是关键因素。但是,随着单细胞测序技术的快速发展,这些挑战正在逐渐得到解决。此外,融合其他技术(如蛋白质组学和代谢组学)也有可能提供更全面的 SCI 生物信息。

### 3.2 单细胞测序技术研究 SCI 后星形胶质细胞

单细胞测序技术可以实现对 SCI 后星形胶质细胞的分型,揭示不同类型星形胶质细胞在损伤后的功能差异。例如,通过单细胞 RNA 测序可以对星形胶质细胞进行转录组分析,将其分成多个不同的亚型。通过比较亚型之间的转录组差异,可以发现哪些基因在 SCI 后的不同阶段中发挥作用,从而揭示星形胶质细胞的功能和调控机制<sup>[30]</sup>。其次,单细胞测序技术可以揭示 SCI 后星形胶质细胞中的基因表达变化。通过比较损伤前后的星形胶质细胞的基因表达谱,可以发现哪些基因发生变化,并从中找出与 SCI 恢复相关的关键因子。这对于开发治疗 SCI 的新靶点和策略具有重要意义<sup>[31]</sup>。再者,单细胞测序技术可以追踪 SCI 后星形胶质细胞的转录组动态变化<sup>[32]</sup>。通过连续采样不同时间点的星形胶质细胞,并进行单细胞 RNA 测序,可以建立转录组图谱,并从中发现不同时间点的基因表达变化。这有助于理解星形胶质细胞在 SCI 后的功能修复和再生过程中的作用和机制<sup>[33]</sup>。最后,单细胞测序技术结合系统生物学分析方法,可以对 SCI 后星形胶质细胞的转录组数据进行功能注释和生物学路径分析。通过功能注释,可以揭示损伤后星形胶质细胞的调控网络,进一步理解星形胶质细胞在 SCI 恢复过程中的作用。同时,通过生物学路径分析,可以找到与星形胶质细胞相关的信号通路和分子靶点,为研究和治疗 SCI 提供新的方向和靶点<sup>[34]</sup>。总之,单细胞测序技术在 SCI 后星形胶质细胞的研究中起着重要的作用。通过该技术的应用,可以更好地理解星形胶质细胞的功能和调控机制,寻找治疗 SCI 的新靶点和策略,并推动 SCI 研究的发展。这将为 SCI 的预防、治疗和康复提供新的思路 and 机会。

## 4 结语

单细胞测序技术是一种能够对单个细胞进行基因组测序的高通量技术。通过单细胞测序技术,可以揭示细胞的个体差异和功能异质性,有助于理解细胞类型和状态的多样性。单细胞测序技术已经被广泛用于研究各种疾病和生物过程。在 SCI 后,星形胶质细胞是脊髓中最常见的胶质细胞类型之一,其在神经保护和修复过程中起着重要作用。然而,在使用单细胞测序技术研究星形胶质细胞时,存在一些问题和挑战。首先,单细胞测序技术要求将单个细胞分离和捕获,这对于星形胶质细胞来说可能是一个挑战。星形胶质细胞之间有着丰富的细胞突起,难以准确地将它们分离并捕获为单个细胞。针对该问题,可以使用流式细胞术或荧光活细胞排序来区分和分离星形胶质细胞。另外,研究人员还可以利用星形胶质细胞特异性标记物,如特定的表面蛋白标记来进行分离。其次,单细胞测序产生大量的数据,对于数据的处理和解读也是一个挑战。尤其对于星形胶质细胞这样的细胞类型来说,有着复杂的转录异质性和多样性。为了解决数据分析和解读的问题,可以采用一系列的生物信息学分析方法。例如,可以使用不同的聚类和降维技术,如 t-SNE、UMAP,来将细胞分类和可视化。此外,可以使用差异表达分析来找出在不同 SCI 阶段中表达量显著变化的基因。通过这些方法,研究人员可以更好地理解星形胶质细胞的异质性和功能。最后,单细胞测序技术有一些局限性,可能会对星形胶质细胞的研究造成影响。其中一个主要的问题是 RNA 测序的检测限度,可能无法捕获细胞内的低表达基因或特定细胞亚群中的稀有细胞。而为了解决技术局限性的问题,可以使用更灵敏的测序方法,如 Drop-seq 和 10x Genomics 等。此外,可以结合其他单细胞测序技术,如 chip-seq 和 ATAC-seq,来获得更全面的细胞转录组和表观遗传信息。总的来说,单细胞测序技术在星形胶质细胞的研究中具有很大的应用潜力,但也面临着一些问题和挑战。通过改变细胞分离和捕获的方法、数据分析和解读的策略,以及使用其他细胞学和遗传学方法的结合,可以克服这些问题,并更好地理解星形胶质细胞在 SCI 后的功能和机制。

**利益冲突:**所有作者声明不存在利益冲突。

#### 参考文献

- [1] ENDO F, KASAI A, SOTO J S, et al. Molecular basis of astrocyte diversity and morphology across the CNS in health and disease [J]. *Science*, 2022, 378(6619): eadc9020.
- [2] GAO M Y, WANG J Q, HE J, et al. Single-cell RNA-sequencing in astrocyte development, heterogeneity, and disease [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2023, 43(7): 3449-3464.

- [3] BRENNAN F H, LI Y, WANG C K, et al. Microglia coordinate cellular interactions during spinal cord repair in mice [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 4096.
- [4] GALLAND F, SEADY M, TADAY J, et al. Astrocyte culture models: Molecular and function characterization of primary culture, immortalized astrocytes and C6 glioma cells [J]. *Neurochem Int*, 2019, 131: 104538.
- [5] ATEN S, KIYOSHI C M, ARZOLA E P, et al. Ultrastructural view of astrocyte arborization, astrocyte - astrocyte and astrocyte - synapse contacts, intracellular vesicle - like structures, and mitochondrial network [J]. *Prog Neurobiol*, 2022, 213: 102264.
- [6] POPOV A, BRAZHE A, DENISOV P, et al. Astrocyte dystrophy in ageing brain parallels impaired synaptic plasticity [J]. *Aging Cell*, 2021, 20(3): e13334.
- [7] ABBOTT N J. Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain barrier permeability [J]. *J Anat*, 2002, 200(6): 629-638.
- [8] LAWAL O, ULLOA SEVERINO F P, EROGLU C. The role of astrocyte structural plasticity in regulating neural circuit function and behavior [J]. *Glia*, 2022, 70(8): 1467-1483.
- [9] GUERIT S, FIDAN E, MACAS J, et al. Astrocyte - derived Wnt growth factors are required for endothelial blood-brain barrier maintenance [J]. *Prog Neurobiol*, 2021, 199: 101937.
- [10] POTOKAR M, JORGACEVSKI J, ZOREC R. Astrocyte aquaporin dynamics in health and disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(7): 1121.
- [11] 胡蓉, 徐海鹏, 何克林, 等. 神经元胞外基质网络在脊髓损伤修复作用中的研究进展 [J]. *中国骨伤*, 2021, 34(1): 91-96.  
HU R, XU H P, HE K L, et al. Advances about perineuronal nets in the repair of nerve function after spinal cord injury [J]. *China J Orthop Traumatol*, 2021, 34(1): 91-96. Chinese.
- [12] MIAO L, QING S W, TAO L. Huntingtin-associated protein 1 ameliorates neurological function rehabilitation by facilitating neurite elongation through TrKA-MAPK pathway in mice spinal cord injury [J]. *Front Mol Neurosci*, 2023, 16: 1214150.
- [13] BALTAZAR A, TUCKER A, JANG J, et al. Differences in anatomical outcomes between early chronic and far chronic time-points after transplantation of spinal cord neural progenitor cells in mice [J]. *J Neurotrauma*, 2023, 40(23-24): 2487-2499.
- [14] CAPUZ A, OSIEN S, CARDON T, et al. Heimdall, an alternative protein issued from a ncRNA related to kappa light chain variable region of immunoglobulins from astrocytes: a new player in neural proteome [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(8): 526.
- [15] PEREZ-GIANMARCO L, KUKLEY M. Understanding the role of the glial scar through the depletion of glial cells after spinal cord injury [J]. *Cells*, 2023, 12(14): 1842.
- [16] OH S J, HAN K S, PARK H, et al. Protease activated receptor 1-induced glutamate release in cultured astrocytes is mediated by Bestrophin-1 channel but not by vesicular exocytosis [J]. *Mol Brain*, 2012, 5: 38.
- [17] LI Z X, XU P P, SHANG L J, et al. 3D collagen porous scaffold carrying PLGA-PTX/SDF-1 $\alpha$  recruits and promotes neural stem cell differentiation for spinal cord injury repair [J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2023, 34(17): 2332-2355.
- [18] KITADE K, KOBAYAKAWA K, SAIWAI H, et al. Reduced neuroinflammation via astrocytes and neutrophils promotes regeneration after spinal cord injury in neonatal mice [J]. *J Neurotrauma*, 2023, 40(23-24): 2566-2579.
- [19] PATIL V, BOHARA R, KRISHNA KANALA V, et al. Models and approaches to comprehend and address glial inflammation following spinal cord injury [J]. *Drug Discov Today*, 2023, 28(10): 103722.
- [20] GOVIER-COLE A E, WOOD R J, FLETCHER J L, et al. Inhibiting bone morphogenetic protein 4 type I receptor signaling promotes remyelination by potentiating oligodendrocyte differentiation [J]. *eNeuro*, 2019, 6(2): ENEURO.0399-ENEURO.0318.2019.
- [21] TORO C A, JOHNSON K, HANSEN J, et al. Boldine modulates glial transcription and functional recovery in a murine model of contusion spinal cord injury [J]. *Front Cell Neurosci*, 2023, 17: 1163436.
- [22] TAN Z J, QIN S Y, LIU H, et al. Small molecules reprogram reactive astrocytes into neuronal cells in the injured adult spinal cord [J]. *J Adv Res*, 2024, 59: 111-127.
- [23] YANG R, ZHANG Y, KANG J N, et al. Chondroitin sulfate proteoglycans revisited: its mechanism of generation and action for spinal cord injury [J]. *Review Aging Dis*, 2024, 15(1): 153-168.
- [24] ZIEGENHAIN C, VIETH B, PAREKH S, et al. Comparative analysis of single-cell RNA sequencing methods [J]. *Mol Cell*, 2017, 65(4): 631-643.e4.
- [25] YE J J, WEN Z F, WU T X, et al. Single-cell sequencing reveals the optimal time window for anti-inflammatory treatment in spinal cord injury [J]. *Adv Biol*, 2023, 7(10): e2300098.
- [26] ZHANG F, HE X L, DONG K, et al. Combination therapy with ultrasound and 2D nanomaterials promotes recovery after spinal cord injury via Piezo1 downregulation [J]. *J Nanobiotechnology*, 2023, 21(1): 91.
- [27] ZHAO Q, ZHU Y J, REN Y L, et al. Neurogenesis potential of oligodendrocyte precursor cells from oligospheres and injured spinal cord [J]. *Front Cell Neurosci*, 2022, 16: 1049562.
- [28] CAO Y Q, ZHU S X, YU B, et al. Single-cell RNA sequencing for traumatic spinal cord injury [J]. *FASEB J*, 2022, 36(12): e22656.
- [29] MATSON K J E, RUSS D E, KATHE C, et al. Single cell atlas of spinal cord injury in mice reveals a pro-regenerative signature in spinocerebellar neurons [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 5628.
- [30] MILICH L M, CHOI J S, RYAN C, et al. Single-cell analysis of the cellular heterogeneity and interactions in the injured mouse spinal cord [J]. *J Exp Med*, 2021, 218(8): e20210040.
- [31] SUN J J, SONG Y X, CHEN Z H, et al. Heterogeneity and molecular markers for CNS glial cells revealed by single-cell transcriptomics [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2022, 42(8): 2629-2642.
- [32] WEI H C, WU X Z, WITHROW J, et al. Glial progenitor heterogeneity and key regulators revealed by single-cell RNA sequencing provide insight to regeneration in spinal cord injury [J]. *Cell Rep*, 2023, 42(5): 112486.
- [33] SONG B G, KWON S Y, KYUNG J W, et al. Synaptic cell adhesion molecule 3 (SynCAM3) deletion promotes recovery from spinal cord injury by limiting glial scar formation [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(11): 6218.
- [34] WANG J J, YE G, REN H, et al. Molecular expression profile of changes in rat acute spinal cord injury [J]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15: 720271.