

# 神经干细胞移植对阿尔茨海默病大鼠海马突触素表达和学习记忆能力的影响\*\*

杨春<sup>1</sup>, 周辉<sup>2</sup>, 白琳琳<sup>3</sup>, 王书春<sup>1</sup>, 章茜<sup>1</sup>

## Effects of neural stem cell transplantation on hippocampus synaptophysin expression and learning memory abilities of Alzheimer disease rats

Yang Chun<sup>1</sup>, Zhou Hui<sup>2</sup>, Bai Lin-lin<sup>3</sup>, Wang Shu-chun<sup>1</sup>, Zhang Qian<sup>1</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** Previous studies have demonstrated that transplanted neural stem cells can survive and proliferate in the brain of Alzheimer disease (AD) rats, however, it is poorly understood whether it can rebuild the nerve tracts by substituting the injured or dead neurons and improve learning and memory abilities. Synaptophysin is one of the important markers of synaptic rebuilding.

**OBJECTIVE:** To observe the effects of neural stem cell transplantation on synaptophysin expression in hippocampus and learning and memory abilities of AD rats.

**METHODS:** Sprague Dawley rats were randomly divided into the normal control, AD model, 2-week-transplantation and 4-week-transplantation groups. All rats were established AD models except that in the normal control group. Neural stem cells were isolated from the dentate gyrus of hippocampus of newborn rats, labeled with Hoechst33258, and then transplanted into CA1 region of hippocampus of rats in the 2-week-transplantation and 4-week-transplantation groups. The behavioral testing in the rats was performed using Y-maze trial. Nissl staining and synaptophysin immunohistochemistry were detected after the rats were sacrificed. The same volume of stroke-physiological saline solution was injected into rats in the AD models group using the identical methods. There was no treatment in the normal control group.

**RESULTS AND CONCLUSION:** ①The cells number in the hippocampal CA1 region of the 2-week-transplantation and 4-week-transplantation groups were increased than that of AD model group, but were still less than that of the normal control group ( $P < 0.05$ ). There was no significantly difference between the absorbance values of 2- or 4-week-transplantation group and control group ( $P > 0.05$ ). ②The absorbance values of the 2-week-transplantation and 4-week-transplantation were significantly greater than that of the control and AD model groups ( $P < 0.05$ ). ③The learning and memory abilities in 2- and 4-week-transplantation group enhanced obviously and their correct reaction rates improved evidently, which was found statistically significant difference from AD model group ( $P < 0.05$ ), while no statistically significant difference from control group ( $P > 0.05$ ). The transplanted neural stem cells may promote the synaptic rebuilding and improve learning and memory abilities in AD rats.

<sup>1</sup>Department of Physiology, Basic Medical College, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China; <sup>2</sup>Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Yang Chun★, Master, Lecturer, Department of Physiology, Basic Medical College, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China  
yangchun@zzu.edu.cn

Yang C, Zhou H, Bai LL, Wang SC, Zhang Q. Effects of neural stem cell transplantation on hippocampus synaptophysin expression and learning memory abilities of Alzheimer disease rats. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(10): 1803-1807. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

Correspondence to: Zhang Qian, Doctor, Professor, Department of Physiology, Basic Medical College, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China  
qianzhang@zzu.edu.cn

Supported by: the Innovation Talent Program in Medical Science and Technology of Henan Province, No. 2002115\*

Received: 2009-09-25  
Accepted: 2010-01-25

### 摘要

**背景:** 前期实验已证实, 移植入阿尔茨海默病大鼠脑内的神经干细胞能够存活、增殖, 但其是否可替代损伤或坏死的神经细胞而重建神经通路, 改善学习记忆能力尚不清楚。突触素是突触重建的重要标记之一。

**目的:** 观察神经干细胞移植对阿尔茨海默病大鼠学习记忆能力及突触表达的影响。

**方法:** SD 大鼠随机数字表法分为正常对照组、阿尔茨海默病模型组、2周移植组和4周移植组, 除正常对照组外制备阿尔茨海默病模型。另取新生 24 h SD 大鼠海马齿状回分离、培养神经干细胞, 经 Hoechst33258 标记后植入 2 周和 4 周移植组海马 CA1 区, 行 Y 迷宫实验检测大鼠的学习记忆能力, 然后取脑进行尼氏染色和突触素免疫组织化学染色。阿尔茨海默病模型组则以同样的方法、同样的位点注入等量无菌生理盐水。正常对照组不施以任何处理。

**结果与结论:** ①2 周和 4 周移植组海马 CA1 区细胞比阿尔茨海默病模型组增多, 但仍少于正常对照组 ( $P < 0.05$ ), 平均吸光度与正常对照组相比差异无显著性意义 ( $P > 0.05$ )。②2 周移植组和 4 周移植组大鼠海马结构内突触素吸光度值明显高于正常对照组和阿尔茨海默病模型组 ( $P < 0.05$ )。③与阿尔茨海默病模型组相比, 2 周和 4 周移植组大鼠学习能力和记忆能力均显著增强, 正确反应率明显提高 ( $P < 0.05$ ), 而与正常对照组相比, 差异无显著性意义 ( $P > 0.05$ )。提示移植入脑内的神经干细胞可促进突触形成, 改善学习记忆能力。

**关键词:** 神经干细胞; 阿尔茨海默病; 突触素; 海马; 学习记忆

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.10.019

杨春, 周辉, 白琳琳, 王书春, 章茜. 神经干细胞移植对阿尔茨海默病大鼠海马突触素表达和学习记忆能力的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(10):1803-1807. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

郑州大学,<sup>1</sup> 基础医学院生理学教研室,<sup>2</sup> 第一附属医院神经外科, 河南省郑州市450052;<sup>3</sup> 濮阳市卫生局, 河南省濮阳市 457000

杨春★, 女, 1975年生, 辽宁省海城市人, 汉族, 2004年郑州大学毕业, 硕士, 讲师, 主要从事神经生理学的研究。yangchun@zzu.edu.cn

通讯作者: 章茜, 博士, 教授, 郑州大学基础医学院生理学教研室, 河南省郑州市450052 qianzhang@zzu.edu.cn

中图分类号: R394.2  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225 (2010)10-01803-05

收稿日期: 2009-09-25  
修回日期: 2010-01-25  
(20090925013/WL-Z)

## 0 引言

突触素是一种位于突触前囊泡内的糖蛋白, 相对分子质量为38 000, 几乎存在于中枢和外周神经系统的所有神经末梢。它的表达可以反映突触的发生和密度<sup>[1-3]</sup>, 因此, 突触素可作为突触前终末的特异性标记物, 用来检测突触的密度和分布。如今该蛋白在研究领域被广泛用于标记轴突终末, 是突触重建的重要标记之一<sup>[4-5]</sup>。作者先前的研究表明新生大鼠海马齿状回神经干细胞移植到阿尔茨海默病模型大鼠海马内能够存活、增殖<sup>[6]</sup>, 但是否能影响神经细胞的再生, 促进突触的发育尚不清楚。本实验采用新生大鼠海马齿状回分离培养的神经干细胞, 移植入阿尔茨海默病模型大鼠海马, 通过对行为学、尼氏染色和突触素免疫产物的测定来比较神经元数目和突触的变化, 探讨神经干细胞移植的效果。

## 1 材料和方法

**设计:** 随机对照动物实验。

**时间及地点:** 实验于2008-03/08在郑州大学医学院生理学教研室完成。

**材料:** 三四月龄的健康雄性SD大鼠32只, 体质量250~300 g; 另取10只新生24 h SD大鼠(由河南省实验动物中心提供)用于海马神经干细胞的分离培养。实验过程中对动物的处置符合中华人民共和国科学技术部2006年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准<sup>[7]</sup>。32只SD大鼠随机数字表法分为正常对照组, 阿尔茨海默病模型组, 2周移植组和4周移植组, 每组8只。

**主要试剂及仪器:**

试剂及仪器	来源
DMEM/F12, B27	Gibco公司
表皮生长因子	珠海京美生物公司
碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF)	北京邦定生物公司
$\beta$ -淀粉样蛋白1~40(A $\beta$ <sub>1-40</sub> )、突触素抗体	Sigma公司
SP试剂盒	北京中山生物技术 有限公司
Y型电迷宫	张家港生物医学仪器厂
大鼠立体定位仪SN-2型	日本东京成茂科学器械 研究所

## 实验过程:

**海马神经干细胞的分离培养<sup>[6, 8]</sup>:** 取新生24 h内SD大鼠, 无菌条件下打开颅腔, Hank's液冲洗脑膜, 取整个脑组织置于预先放有解剖液的无菌培养皿中, 分离海马齿状回, 加入培养液(DMEM/F12 1:1, 2%B27, bFGF 20  $\mu$ g/L, 表皮生长因子20  $\mu$ g/L)5 mL, 制备海马齿状回细胞匀浆, 0.4%锥虫蓝染色观察细胞存活率, 调整细胞浓度(4.0~5.0) $\times 10^8$  L<sup>-1</sup>, 置37 °C、体积分数为5%CO<sub>2</sub>孵育箱, 连续培养6~9 d, 两三天换半量培养液1次。原代神经球形成后, 离心收集, 机械分离神经球为单细胞悬液, 锥虫蓝染色计数细胞存活率, 以(4.0~5.0) $\times 10^7$  L<sup>-1</sup>分装, 传代培养。

**阿尔茨海默病模型的制备及干预分组:** A $\beta$ <sub>1-40</sub>溶于无菌生理盐水(2 g/L), 用前37 °C孵育1周以上, 使其变为聚集状态的A $\beta$ 。阿尔茨海默病模型组及移植组大鼠经10%水合氯醛腹腔麻醉(3 mL/kg), 参照Paxinos大鼠图谱<sup>[9]</sup>, 选择双侧海马CA1区为注射靶区, 详见参考文献<sup>[6]</sup>。

**细胞标记和移植:** 阿尔茨海默病模型组、移植组大鼠先制备成阿尔茨海默病模型。模型建立7 d后, 收集第2代培养的神经干细胞用Hoechst33258(10 mg/L培养液)标记30 min。将细胞反复吹打使之分散, 活细胞计数, 离心调整细胞浓度为1 $\times 10^{11}$  L<sup>-1</sup>; 然后以制备阿尔茨海默病模型同样的方法、同样的位点分别将5  $\mu$ L细胞悬液注入2周移植组和4周移植组大鼠海马CA1区。阿尔茨海默病模型组则以同样的方法、同样的位点注入等量无菌生理盐水。正常对照组不施以任何处理。移植2周后正常对照组、阿尔茨海默病模型组、2周移植组3组大鼠分别进行行为学检测和病理学观察, 移植4周后4周移植组大鼠进行行为学检测和病理学观察。

**行为学检测<sup>[6]</sup>:** 采用Y型电迷宫。①学习能力测试: 以大鼠受电击后从起步区直接逃至安全区为正确反应, 以连续10次中有9次(9/10)正确反应前所需的电击次数(即尝试次数)表示其学习获得能力。②记忆再现测试: 上述达标大鼠休息24 h后, 同法检测其记忆力。以达9/10标准前的尝试次数表示记忆再现能力, 并计算其正确反应率。

**免疫组织化学染色:** 迷宫实验结束后各组大鼠经10%水合氯醛腹腔麻醉(3 mL/kg)后, 经主动脉相继灌注生理盐水100 mL、40 g/L多聚甲

醛(4 °C)350 mL。快速取脑, 后固定24 h, 脑组织常规石蜡包埋, 冠状连续切片, 片厚4 μm。

**突触素免疫组织化学染色:** 取脑冠状切片, 常规脱蜡至水。体积分数为3% $H_2O_2$ 滴加入切片, 室温孵育10 min; 92~98 °C抗原修复液中高温加热15 min, 室温冷却; 山羊血清封闭; 滴加小鼠抗大鼠突触素抗体(1 : 200), 4 °C孵育24 h; 生物素标记羊抗小鼠IgG, 室温孵育15 min, 滴加辣根酶标记链霉卵白素, 孵育15 min, 以上各步骤后都用0.01 mol/L PBS冲洗5 min×3次。DAB显色。以PBS作为阴性对照。

采用捷达801系列形态分析系统测定海马CA1区突触素免疫产物的平均吸光度代表突触素的量。每例标本检测4张切片, 求其平均值, 再计算每组动物的均值。

**尼氏染色:** 石蜡切片常规脱蜡至水。入1%甲苯胺蓝水溶液, 置50~60 °C温箱内, 染色30~60 min。蒸馏水洗。常规脱水透明封固。尼氏染色的结果(×400)用捷达801系列形态分析系统定量测定尼氏染色海马CA1区锥体细胞层神经元的数目和神经元的平均吸光度。每例标本在含注射区的切片中检测4张切片, 求其平均值, 再计算每组动物的均值。

**主要观察指标:** ①海马CA1区神经元数目及平均吸光度值。②海马突触素免疫反应产物的吸光度值。③神经干细胞移植对阿尔茨海默病模型大鼠学习记忆能力的影响。

**设计、实施、评估者:** 实验设计为第一、五作者, 干预实施为第一、二、三作者, 评估为第一、四、五作者, 均经过正规培训, 采用盲法评估。

**统计学分析:** 由第一作者应用SPSS 11.0统计软件包作单因素方差分析。全部数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 方差不齐者先作倒数变换, 显著性水准为双侧 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 实验动物数量分析** 纳入SD大鼠32只, 均进入结果分析, 无脱落。

**2.2 海马神经元尼氏染色** 光镜下可见正常对照组海马神经细胞尼氏染色清晰均匀, 细胞形态完整, 排列规则、紧密。阿尔茨海默病模型组海马CA1区锥体细胞层细胞空染或淡染, 分布不均, 排列疏松, 形态不规则。2周移植组和4周移植组海马CA1区可见经Hoechst33258标记的细胞表现出尼氏深染, 细胞形态与周围正常海马神经元不同, 见图1。

**神经元数目及平均吸光度分析显示:** 阿尔茨海默病模型组海马CA1区锥体细胞明显减少, 平均吸光度亦降低( $P < 0.05$ ); 2周和4周移植组海马CA1区细胞比阿尔茨海默病模型组增多, 但仍少于正常对照组( $P < 0.05$ ), 平均吸光度与正常对照组相比, 差异无显著性意义( $P >$

0.05), 见表1。

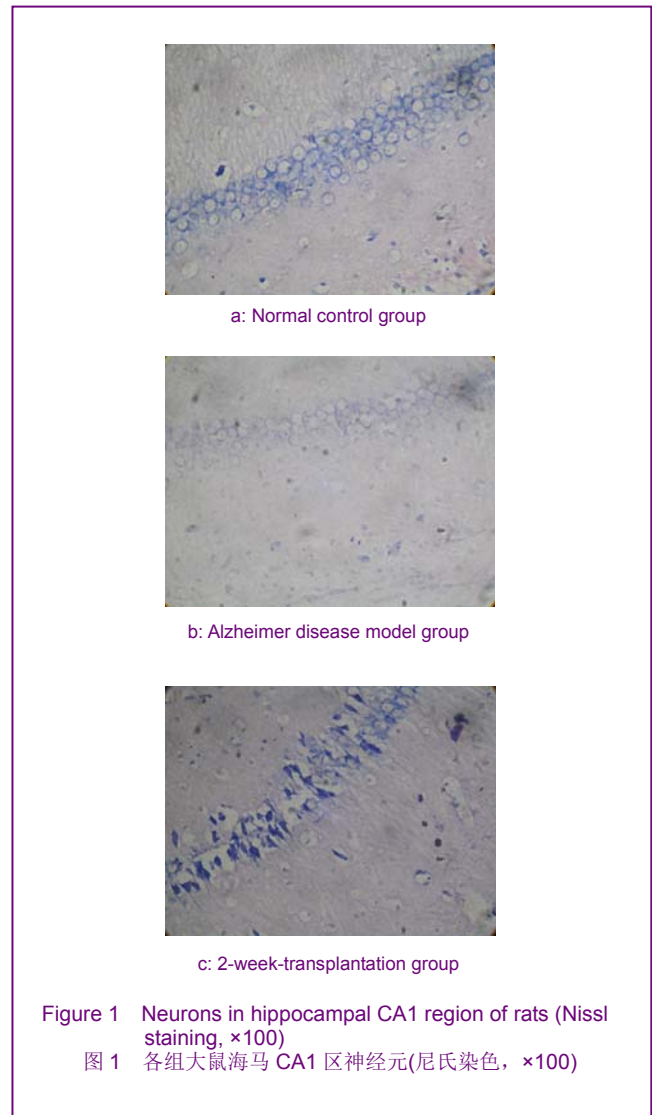


表1 各组大鼠海马CA1区细胞数及平均吸光度值  
Table 1 Comparison of the cell numbers and average A value in CA1 region ( $\bar{x} \pm s, A$ )

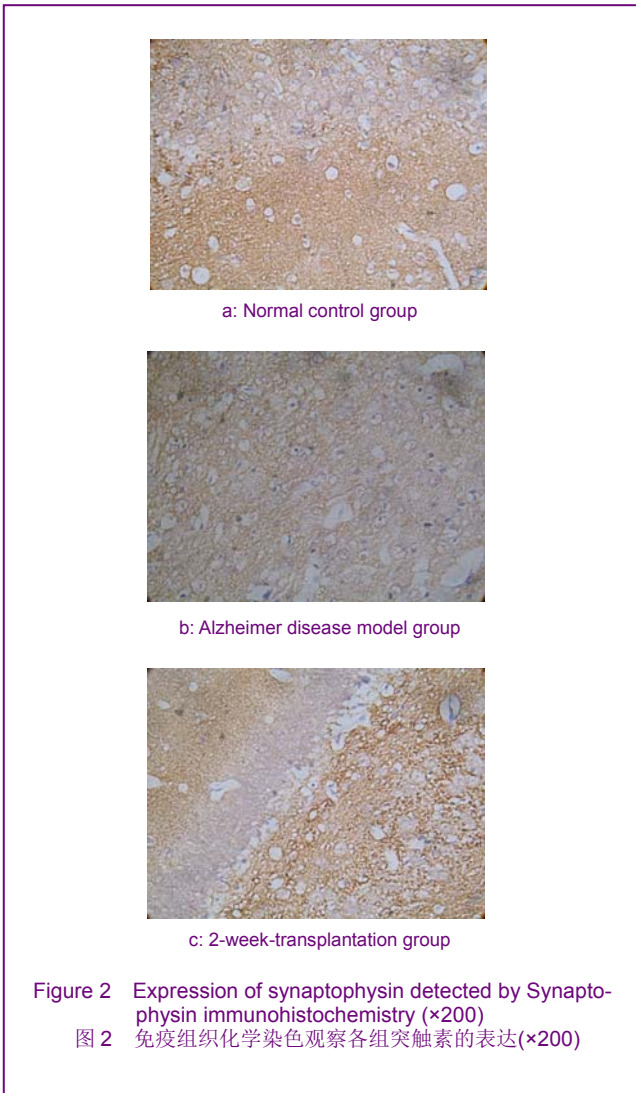
Group	Cells number of CA1 region	Average A value of CA1 region
Normal control	292.0±20.4 <sup>b</sup>	0.24±0.02 <sup>b</sup>
Alzheimer disease model	136.8±18.1	0.16±0.02
2-week-transplantation	264.5±25.5 <sup>ab</sup>	0.25±0.02 <sup>b</sup>
4-week-transplantation	270.1±23.6 <sup>ab</sup>	0.26±0.02 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , vs. control group; <sup>b</sup> $P < 0.05$ , vs. Alzheimer disease model group

**2.3 海马突触素免疫阳性反应** 光镜下观察突触素的表达呈颗粒状, 主要分布在海马CA1、CA3区多形层和分子层及齿状回, 呈点状沿多形层和分子层长轴分布。阿尔茨海默病模型组海马CA1区多形层和分子层突触素染色较正常对照组浅, 而2周移植组、4周移植组相同区域的突触



素染色则比正常对照组深, 且颗粒数目较多, 见图2。



突触素免疫阳性反应分析结果见表2。

表2 大鼠海马CA1区突触素免疫反应产物的平均吸光度比较  
Table 2 Comparison of average A values of synaptophysin immunoreaction products ( $\bar{x}\pm s, A$ )

Group	Average A value of synaptophysin
Normal control	0.270 $\pm$ 0.010
Alzheimer disease model	0.176 $\pm$ 0.010 <sup>a</sup>
2-week-transplantation	0.375 $\pm$ 0.010 <sup>ab</sup>
4-week-transplantation	0.372 $\pm$ 0.010 <sup>ab</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , vs. control group; <sup>b</sup> $P < 0.05$ , vs. Alzheimer disease model group

阿尔茨海默病模型组大鼠海马结构内突触素吸光度值明显低于正常对照组( $P < 0.05$ ); 2周移植组和4周移植组大鼠海马结构内突触素吸光度值明显高于正常对照组和阿尔茨海默病模型组, 组间差异具有显著性意义( $P < 0.05$ )。

## 2.4 各组大鼠学习记忆能力测试结果 见表3。

表3 各组大鼠行为学指标的变化  
Table 3 Comparison of behavioral test in each group ( $\bar{x}\pm s$ )

Group	Learning number	Memory number
Normal control	34.83 $\pm$ 18.60	18.33 $\pm$ 10.25
Alzheimer disease model	98.17 $\pm$ 4.49 <sup>a</sup>	77.17 $\pm$ 19.59 <sup>a</sup>
2-week-transplantation	40.00 $\pm$ 15.53 <sup>b</sup>	21.50 $\pm$ 13.16 <sup>b</sup>
4-week-transplantation	42.83 $\pm$ 9.56 <sup>b</sup>	21.67 $\pm$ 7.17 <sup>b</sup>

Group	Correct reaction rate of learning (%)	Correct reaction rate of memory (%)
Normal control	62.99 $\pm$ 2.48	74.38 $\pm$ 7.37
Alzheimer disease model	53.92 $\pm$ 1.43 <sup>a</sup>	50.41 $\pm$ 6.37 <sup>a</sup>
2-week-transplantation	58.81 $\pm$ 2.87 <sup>b</sup>	73.57 $\pm$ 5.03 <sup>b</sup>
4-week-transplantation	60.73 $\pm$ 4.91 <sup>b</sup>	68.81 $\pm$ 5.86 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , vs. control group; <sup>b</sup> $P < 0.05$ , vs. Alzheimer disease model group

A $\beta_{1-40}$ 海马注射后学习能力和记忆能力均显著下降( $P < 0.05$ ), 并且在整个过程中正确反应率明显低于正常组( $P < 0.05$ )。2周和4周移植组大鼠学习能力和记忆能力均有显著增强, 正确反应率明显提高, 与阿尔茨海默病模型组相比, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ ), 而与正常对照组相比差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

学习记忆的形成与海马神经突触的形成及可塑性密切相关<sup>[10-12]</sup>。海马结构内突触素的阳性表达部位和程度与海马结构中突触及神经元的数量、分布相一致, 药物及中枢神经系统内理化环境的改变, 均可影响突触素的表达。大量研究表明: 阿尔茨海默病患者海马结构内神经元缺失, 突触素数量明显减少<sup>[13-15]</sup>, 而且突触素免疫活性与阿尔茨海默病患者的认知障碍程度相关<sup>[16-17]</sup>。本实验发现, 注射A $\beta_{1-40}$ 的大鼠海马CA1区神经元数目减少, 突触素的表达也比正常对照组减少, 提示A $\beta_{1-40}$ 可造成大鼠海马CA1区突触减少, 此结果与相关报道吻合<sup>[18-21]</sup>。

已知突触是神经元之间信息传递的重要环节<sup>[22-24]</sup>, 海马突触数目减少将影响其神经通路的联系<sup>[25-26]</sup>, 进而引起多方面的功能障碍, 尤其是认知和记忆障碍<sup>[27-28]</sup>。阿尔茨海默病模型大鼠海马CA1区突触素的减少表明突触囊泡转运能力下降, 突触传递功能受阻, 从而使神经系统信息的传递、加工和储存出现障碍。

体外实验研究已表明, 由神经干细胞分化来的神经元之间可形成功能性的突触联系<sup>[29-30]</sup>。由神经干细胞移植至大鼠海马宿主的神经元和由移植的神经干细胞分化来的神经元之间亦可形成功能性突触联系<sup>[31]</sup>。本实验尼氏染色发现阿尔茨海默病模型大鼠移植神经干细胞

后, 海马CA1区细胞较移植前明显增多, 突触素的表达亦明显增多, 提示有新的突触生成并且空间记忆能力明显改善。提示移植入脑内的神经干细胞可通过增加突触的形成和神经递质的释放, 增强突触传递功能, 进而改善阿尔茨海默病模型鼠学习记忆能力。此外, 移植的神经干细胞分泌修复损伤必需的营养因子, 帮助无髓或新生轴突形成髓鞘, 为轴突生长提供基质等, 都可能是其修复损伤的机制。

#### 4 参考文献

- [1] Xu L, Ryugo DK, Pongstaporn T, et al. Human neural stem cell grafts in the spinal cord of SOD1 transgenic rats: differentiation and structural integration into the segmental motor circuitry. *J Comp Neurol*. 2009;514(4):297-309.
- [2] Jung SH, Lee ST, Chu K, et al. Cell proliferation and synaptogenesis in the cerebellum after focal cerebral ischemia. *Brain Res*. 2009;1284:180-190.
- [3] Brewer GJ, Boehler MD, Pearson RA, et al. Neuron network activity scales exponentially with synapse density. *J Neural Eng*. 2009;6(1):014001.
- [4] Takei H, Bhattacharjee MB, Rivera A, et al. New immunohistochemical markers in the evaluation of central nervous system tumors: a review of 7 selected adult and pediatric brain tumors. *Arch Pathol Lab Med*. 2007;131(2):234-241.
- [5] Dan C, Jian-Bin T, Hui W, et al. Synaptophysin expression in rat retina following acute high intraocular pressure. *Acta Histochem Cytochem*. 2008;41(6):173-178.
- [6] Yang C, Zhang Q, Wang SC, et al. *Zhongguo Yingyong Shenglixue Zazhi*. 2007;23(2):159-161.  
杨春, 章茜, 王书春, 等. 阿尔茨海默氏病大鼠海马内植入神经干细胞后效果观察[J]. *中国应用生理学杂志*, 2007, 23(2): 159-161.
- [7] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance Suggestions for the Care and Use of Laboratory Animals. 2006-09-30.  
中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见. 2006-09-30.
- [8] Liu TL, Zhang Q, Yang C, et al. Zhengzhou Daxue Xuebao: Yixueban. 2004;39(3):435-437.  
刘廷磊, 章茜, 杨春, 等. 新生大鼠海马齿状回神经干细胞的分离培养与鉴定[J]. *郑州大学学报: 医学版*, 2004, 39(3):435-437.
- [9] Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 4th. New York, Academic Press Inc, 1998:33
- [10] Leal-Galicia P, Castañeda-Bueno M, Quiroz-Baez R. Long-term exposure to environmental enrichment since youth prevents recognition memory decline and increases synaptic plasticity markers in aging. *Neurobiol Learn Mem*. 2008;90(3):511-518.
- [11] Lu XJ, Chen XQ, Weng J, et al. Hippocampal spine-associated Rap-specific GTPase-activating protein induces enhancement of learning and memory in postnatally hypoxia-exposed mice. *Neuroscience*. 2009;162(2):404-414.
- [12] Howland JG, Wang YT. Synaptic plasticity in learning and memory: stress effects in the hippocampus. *Prog Brain Res*. 2008;169:145-158.
- [13] Wang R, Tang Y, Feng B, et al. Changes in hippocampal synapses and learning-memory abilities in age-increasing rats and effects of tetrahydrostilbene glucoside in aged rats. *Neuroscience*. 2007;149(4):739-746.
- [14] Tannenber RK, Scott HL, Westphalen RI, et al. The identification and characterization of excitotoxic nerve-endings in Alzheimer disease. *Curr Alzheimer Res*. 2004;1(1):11-25.
- [15] Kirvell SL, Esiri M, Francis PT. Down-regulation of vesicular glutamate transporters precedes cell loss and pathology in Alzheimer's disease. *J Neurochem*. 2006;98(3):939-950.
- [16] Head E, Corrada MM, Kahle-Wroblewski K, et al. Synaptic proteins, neuropathology and cognitive status in the oldest-old. *Neurobiol Aging*. 2009;30(7):1125-1134.
- [17] Bailey JA, Lahiri DK. Neuronal differentiation is accompanied by increased levels of SNAP-25 protein in fetal rat primary cortical neurons: implications in neuronal plasticity and Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1086:54-65.
- [18] Lin YW, Yang HW, Min MY, et al. Inhibition of associative long-term depression by activation of beta-adrenergic receptors in rat hippocampal CA1 synapses. *J Biomed Sci*. 2008;15(1):123-131.
- [19] Bisel BE, Henkins KM, Parfitt KD. Alzheimer amyloid beta-peptide A-beta25-35 blocks adenylate cyclase-mediated forms of hippocampal long-term potentiation. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1097:58-63.
- [20] Dong H, Martin MV, Chambers S, et al. Spatial relationship between synapse loss and beta-amyloid deposition in Tg2576 mice. *J Comp Neurol*. 2007;500(2):311-321.
- [21] Koffie RM, Meyer-Luehmann M, Hashimoto T, et al. Oligomeric amyloid beta associates with postsynaptic densities and correlates with excitatory synapse loss near senile plaques. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(10):4012-4017.
- [22] Fujii R, Ichikawa M, Ozaki M. Imaging of molecular dynamics regulated by electrical activities in neural circuits and in synapses. *Neurosignals*. 2008;16(4):260-277.
- [23] Südhof TC. Neurotransmitter release. *Handb Exp Pharmacol*. 2008;(184):1-21.
- [24] Jaffe DB, Gutiérrez R. Mossy fiber synaptic transmission: communication from the dentate gyrus to area CA3. *Prog Brain Res*. 2007;163:109-132.
- [25] Scheff SW, Price DA. Alzheimer's disease-related alterations in synaptic density: neocortex and hippocampus. *J Alzheimers Dis*. 2006;9(3 Suppl):101-115.
- [26] Duyckaerts C, Delatour B, Potier MC. Classification and basic pathology of Alzheimer disease. *Acta Neuropathol*. 2009;118(1):5-36.
- [27] Scheff SW, Price DA, Schmitt FA, et al. Synaptic alterations in CA1 in mild Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Neurology*. 2007;68(18):1501-1508.
- [28] Bischofberger J, Engel D, Frotscher M, et al. Timing and efficacy of transmitter release at mossy fiber synapses in the hippocampal network. *Pflugers Arch*. 2006;453(3):361-372.
- [29] Gao J, Coggeshall RE, Chung JM, et al. Functional motoneurons develop from human neural stem cell transplants in adult rats. *Neuroreport*. 2007;18(6):565-569.
- [30] Hou SW, Wang YQ, Xu M, et al. Functional integration of newly generated neurons into striatum after cerebral ischemia in the adult rat brain. *Stroke*. 2008;39(10):2837-2844.
- [31] Liebau S, Vaida B, Storch A, et al. Maturation of synaptic contacts in differentiating neural stem cells. *Stem Cells*. 2007;25(7):1720-1729.

#### 来自本文课题的更多信息--

**基金资助:** 河南省医学创新人才基金资助项目 (2002115)。

**利益冲突:** 无利益冲突。

**课题的创新点:** 课题组已从新生大鼠海马齿状回成功分离、培养出具有连续增殖能力的神经干细胞, 且在一定条件下可分化为神经元和胶质细胞。神经干细胞移植到阿尔茨海默病模型大鼠海马内能够存活, 继续保持分裂增殖能力, 还可沿海马长轴迁移, 并能改善阿尔茨海默病模型大鼠学习记忆能力。

**课题评估的“金标准”:** 神经干细胞移植治疗阿尔茨海默病的目的是修复和替代受损神经细胞, 重建细胞环路和功能。本课题已有的研究表明移植入阿尔茨海默病大鼠脑内的神经干细胞能够存活、增殖, 并有新突触生成, 改善学习记忆能力。

**设计或课题的偏倚与不足:** 突触免疫反应产物的定位和定量反映了突触的分布和密度, 借助图像分析系统, 测定突触素免疫反应产物的平均吸光度值, 可以在光镜水平上对突触的含量进行定量分析, 从而推测突触数量的变化, 但如果能借助电子显微镜观测新生的突触, 两者相互佐证, 结果将更加翔实丰富。

**提供临床借鉴的价值:** 随着世界人口日趋老龄化, 阿尔茨海默病已成为当今老年医学面临的最为严峻的课题之一。神经干细胞在胚胎和成年个体神经系统中的发现和体外培养的成功为寻找适宜的治疗阿尔茨海默病的方法提供了新的思路。该课题为该病的临床治疗提供一些动物实验结果和理论依据。