

## 他克莫司促进神经干细胞移植大鼠脊髓损伤的再生与修复\*

武俏丽<sup>1</sup>, 李庆国<sup>1</sup>, 黄慧玲<sup>1</sup>, 梁健伟<sup>1</sup>, 曹一波<sup>2</sup>, 孙异临<sup>3</sup>, 刘 啖<sup>2</sup>

### Tacrolimus promotes repair and regeneration of injured spinal cord following neural stem cells transplantation in rats

Wu Qiao-li<sup>1</sup>, Li Qing-guo<sup>1</sup>, Huang Hui-ling<sup>1</sup>, Liang Jian-wei<sup>1</sup>, Cao Yi-bo<sup>2</sup>, Sun Yi-lin<sup>3</sup>, Liu Kui<sup>2</sup>

#### Abstract

**BACKGROUND:** Studies have confirmed that tacrolimus not only inhibits T cell proliferation and activation, but also suppresses microglia, macrophages and other inflammatory cells to aggregate, activate and release associated inflammatory cytokines in injuries, which can reduce the damage of secondary inflammation to surrounding normal tissue, thus, provide protective effect to nerves in injuries.

**OBJECTIVE:** To observe the effect of tacrolimus on spinal cord regeneration and injury repair following neural stem cells (NSCs) transplantation in rats.

**METHODS:** NSCs were isolated from 13-day-pregnant SD rats. Aneurysm clipping folder was used to clip T<sub>8</sub> spinal cord of rats under microscope to establish animal model of spinal cord compression injury. At 7 days after injury, all rats were randomly divided into 3 groups: rats in the control group were injected with normal saline at the injury center orientation; those in the cell transplantation group received center directional injection of neural stem cells (NSCs); those in the tacrolimus (FK506) group received directional injection of NSCs combined with intraperitoneal injection of immunosuppressant FK506, 1 mm/kg per day for 7 continuous days. The spinal cord tissue regeneration and neuronal changes were observed using BDA anterograde tracer, haematoxylin-eosin staining, immunohistochemistry and electron microscopy at 1, 2, 4 and 8 weeks after operation.

**RESULTS AND CONCLUSION:** There were no fibers passing through the distal end of the injury center in the control group. However, some nerve fibers in the cell transplantation and FK506 groups passed at 1 week after treatment. Parts of regenerating BDA-positive corticospinal tract passed through the site of spinal cord injury in the cell transplantation and FK506 groups at 8 weeks after treatment, especially in the FK506 group, which may be continued to 1.7 cm of the injury center. Hematoxylin-eosin staining showed that, the necrotic foci began to shrink, and the foam cells decreased in the cell transplantation group and FK506 group at 2 weeks after treatment. Electron microscopy results showed that, in the FK506 group, more normal microfilament and microtubule structure appeared at 1 week, the astrocytes, Schwann cells, and myelin sheaths were commonly seen at 8 weeks after treatment, nerve axons of excitatory terminals had more excitatory transmitter and non-typical tree-axis connections, and there were more normal myelin sheaths. It illustrated that, NSCs transplantation combined with FK506 can reduce the early post-acute inflammatory response, ensure the survival of nerve cells, exhibit neuroprotective and neurotrophic roles, as well as speed up the recovery of neurological function.

<sup>1</sup>Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300060, China;  
<sup>2</sup>Department of Neurosurgery, Tianjin 464<sup>th</sup> Hospital, Tianjin 300381, China;  
<sup>3</sup>Beijing Neurosurgical Institute, Beijing 100503, China

Wu Qiao-li, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300060, China  
wql0511@yahoo.com.cn

Correspondence to: Liu Kui, Chief physician, Master's supervisor, Department of Neurosurgery, Tianjin 464<sup>th</sup> Hospital, Tianjin 300381, China  
kui Liu@hamal.com

Supported by: Health Bureau Foundation of Tianjin, No. 04KY02Z\*

Received: 2010-01-18  
Accepted: 2010-03-11

Wu QL, Li QG, Huang HL, Liang JW, Cao YB, Sun YL, Liu K. Tacrolimus promotes repair and regeneration of injured spinal cord following neural stem cells transplantation in rats. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(23):4235-4238. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

#### 摘要

**背景:** 研究证实, 他克莫司不仅抑制 T 细胞的增殖、活化, 还能抑制小胶质细胞、巨噬细胞等炎症细胞在损伤局部聚集、活化及相关炎症因子的释放, 减轻继发性炎症反应对原发损伤周围正常组织的破坏, 从而对损伤局部的神经组织起保护作用。

**目的:** 观察他克莫司对神经干细胞移植大鼠脊髓损伤后再生修复的影响。

**方法:** 分离培养孕 13d SD 大鼠神经干细胞。显微镜下动脉瘤夹夹闭 SD 大鼠 T<sub>8</sub> 脊髓, 建立压迫型脊髓损伤动物模型。损伤后 7 d 随机数字表分为 3 组: 对照组, 于损伤中心定向注射生理盐水; 细胞移植组, 于损伤中心定向注射神经干细胞; 他克莫司组, 于损伤中心定向注射神经干细胞同时给予免疫抑制剂他克莫司 1 mg/(kg·d)腹腔注射连续 7 d。1, 2, 4, 8 周后, 通过 BDA 顺行示踪、苏木精-伊红与免疫组化染色及电镜检测, 观察移植后脊髓组织再生和神经元的变化。

**结果与结论:** 对照组在损伤中心远侧无神经纤维通过。细胞移植组与他克莫司组在治疗 1 周后有部分神经纤维通过, 8 周均有部分 BDA 阳性标记的皮质脊髓束再生通过脊髓损伤部位, 特别是他克莫司组可延续至距损伤中心 1.7 cm。苏木精-伊红染色显示, 细胞移植组与他克莫司组 2 周时坏死灶开始缩小, 泡沫细胞减少。电镜结果显示, 他克莫司组 1 周时即出现较正常的微丝和微管结构, 8 周时星形细胞、许旺细胞、髓鞘典型多见, 神经轴突的终末有较多的兴奋性递质和不典型的轴树连接, 出现较多的结构正常的髓鞘。说明损伤大鼠移植神经干细胞后联合应用他克莫司后可减轻早期的急性炎症反应, 保证神经细胞的存活, 具有神经保护和神经营养作用, 可加快神经功能的恢复。

**关键词:** 脊髓损伤; 他克莫司; 神经干细胞; 移植; 形态学

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.23.013

武俏丽, 李庆国, 黄慧玲, 梁健伟, 曹一波, 孙异临, 刘啖. 他克莫司促进神经干细胞移植大鼠脊髓损伤的再生与修复[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(23):4235-4238. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

<sup>1</sup>天津市环湖医院, 天津市 300060; <sup>2</sup>天津市 464 医院神经外科, 天津市 300381; <sup>3</sup>北京市神经外科研究所, 北京市 100503

武俏丽, 女, 1970 年生, 黑龙江省绥化市人, 汉族, 1991 年哈尔滨医科大学毕业, 主要从事神经再生与修复基础与临床研究。wql0511@yahoo.com.cn

通讯作者: 刘喆, 主任医师, 硕士生导师, 天津市 464 医院神经外科, 天津市 300381 kuiliu@hotmail.com

中图分类号: R394.2  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225 (2010)23-04235-04

收稿日期: 2010-01-18  
修回日期: 2010-03-11 (20100118007/GW-Z)

## 0 引言

影响脊髓损伤后再生和修复的因素有以下几个方面: ①神经元损伤后缺乏再生的能力。②缺乏轴索再生和延长所需要的神经营养因子和附着的底物分子。③存在着轴索生长的抑制分子。④胶质瘢痕的形成构成了对轴索生长的物理障碍。⑤受损神经元的基因表达改变, 如伸张相关蛋白上调失败。必须进行有效的外部干预来激发残留的神经元或进行细胞替代, 诱导受损的神经轴突再生, 恢复神经冲动在损伤部位的传递, 最终达到神经功能的恢复。以往的研究局限于应用定向祖细胞或嗅鞘细胞移植, 观察特定已成熟分化的神经细胞对脊髓损伤功能恢复的促进作用。

本实验应用多潜能神经干细胞移植, 并给予免疫抑制剂他克莫司的干预, 从形态学观察其对损伤造成的各种类型神经元缺失的替代情况, 比较干预因素下神经干细胞与宿主组织整合及神经轴突再生情况。

## 1 材料和方法

**设计:** 随机对照动物实验。

**时间及地点:** 于 2006-12/2007-07 在天津市神经外科研究所完成。

**材料:** 清洁级 SD 雌性大鼠 120 只, 体质量 (250±50) g, 孕 13 d SD 大鼠 1 只, 均由北京军事医学科学院提供, 实验过程中对动物处置符合动物伦理学标准。

**主要仪器与试剂:**

仪器与试剂	来源
相差荧光显微镜 TE2000U	Nikon 公司
EM208s 透射电子显微镜	Philips 公司
动脉瘤夹	天津市华剑骨科器械有限公司
他克莫司注射液	香港藤泽药品有限公司
DMEM/F12 培养基, 胎牛血清	Hyclone
B27 添加剂	GibcoBRL
bFGF, EGF	Peptotech
BrdU	中山公司
微管相关蛋白 2、神经微丝	武汉博士德公司
生物素葡聚糖胺(BDA-10000)	Molecular Probe
神经示踪试剂盒 N-7167	

**实验方法:**

**神经干细胞的分离培养:** 取孕 13 d SD 大鼠,

分离培养方法参见作者以往研究<sup>[1]</sup>。

**大鼠脊髓损伤模型制作:** 取健康 SD 雌性大鼠, 常规麻醉后, 无菌条件下暴露 T<sub>8</sub> 脊髓, 动脉瘤夹穿过 T<sub>8</sub> 脊髓, 在确定位置合适后, 突然释放动脉瘤夹, 使脊髓受到突然的暴力打击, 以鼠尾出现痉挛性摆动为成功模型, 1 min 后取下动脉瘤夹, 明胶海绵止血、缝合肌肉和皮肤, 分笼饲养, 排尿 2 次/d, 至自行排尿为止。

**实验动物分组:** 脊髓损伤后 7 d 随机数字表分为: 对照组, 于损伤中心定向注射生理盐水 7 μL; 细胞移植组, 于损伤中心定向注射神经干细胞 (5×10<sup>10</sup> L<sup>-1</sup>) 7 μL; 他克莫司组, 于损伤中心定向注射等量神经干细胞 (5×10<sup>10</sup> L<sup>-1</sup>), 同时给予免疫抑制剂他克莫司 1 mg/(kg·d) 腹腔注射连续 7 d。每组分 1, 2, 4, 8 周 4 个时相点, 每个时相点 10 只。

**指标检测:**

**BDA 神经束路顺行示踪显示皮质脊髓束:** 所有动物在损伤后 7 d 用 10% 水合氯醛 (3 mL/kg) 腹腔注射麻醉后, 固定于立体定向仪上, 左侧开颅后, 用微量注射器向大脑皮质感觉运动区, 注射 10% BDA 溶液 2.5 μL 进行顺行标记, 标记动物分别存活 1, 2, 4, 8 周后, 心脏灌注固定。立即取出脑和脊髓, 其中脑部取大脑皮质、锥体交叉、脑桥和延髓。脊髓取胸髓损伤段 (以损伤点为中心长 1.5 cm)。在 40 g/L 多聚甲醛固定液中固定 4 h, 然后将组织块移入 300 g/L 蔗糖至沉底 (24 h), 冰冻切片作脊髓横断位及矢状位连续切片, 片厚 20 μm。将组织切片入 0.1 mol/L PBS (pH 7.4) 中, 洗 5 min/次×3 次。置入含有辣根过氧化物酶标记的亲合素溶液中 (质量浓度为 1 g/L), 反应 2 h。常规显色经脱水、透明后封固。光镜观察。

**组织学检测:** 移植后 1, 2, 4, 8 周动物麻醉下, 40 g/L 多聚甲醛心脏灌注, 取出脊髓, 用石蜡包埋, 沿横轴和纵轴连续切片。用免疫组织化学 ABC 法分别检测 BrdU、微管相关蛋白 2、神经微丝表达, 光镜检测。

**电镜检测:** 各组于移植后 1, 2, 4, 8 周动物麻醉下, 快速取伤段新鲜脊髓, 制成 6~8 块 1 mm<sup>3</sup> 组织块, 置于 20 g/L 多聚甲醛-2.5% 戊二醛固定 2 h, 4 °C。经 1% 锇酸 (OsO<sub>2</sub>) 固定 2 h 后, 乙醇逐级脱水, 染色, Philips EM208s 透射电镜观察植入的神经干细胞分化、增生及对周围髓鞘、轴索改善情况。

**主要观察指标:** ① BDA 神经束路顺行示踪显示皮质脊髓束。② BrdU 与微管相关蛋白 2 和

神经微丝表达的组织学检测。透射电镜观察植入的神经干细胞分化、增生及对周围髓鞘、轴索改善情况。

**设计、实施、评估者：**设计为第七作者，实施为第一、二、五作者，评估为第三、四、六、七作者。

## 2 结果

**2.1 模型制作情况** 120只大鼠均造模成功，但观察期间有7只大鼠因肠麻痹、血尿等原因死亡，3组共有113只大鼠进入结果分析。

**2.2 BDA顺行示踪结果** 显示BDA注射区内大脑皮质的锥体细胞及其发出的轴突呈阳性染色，BDA阳性染色的皮质脊髓束神经纤维在注射同侧走行，在锥体交叉后，主要在对侧的脊髓节段中行走。各实验组与正常鼠(图1a)比较，浓染的神经纤维在脊髓损伤中心头端呈纵形规则排列，愈靠近中心端排列愈紊乱，中心端的纤维呈横行排列，对照组在损伤中心端远侧无神经纤维通过(图1b)。细胞移植组和他克莫司组在治疗1周后有部分神经纤维通过，8周均有部分BDA阳性标记的皮质脊髓束再生通过脊髓损伤部位，特别是他克莫司组延续至距损伤中心1.7 cm(图1c, d)。

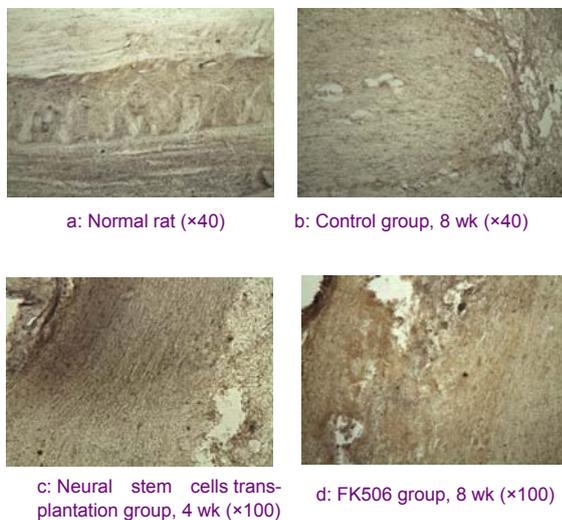


Figure 1 BDA labeling results of nerve fiber transfer after spinal cord injury  
图1 大鼠脊髓损伤 BDA 顺行示踪标记神经纤维传递结果

**2.3 苏木精-伊红染色结果** 苏木精-伊红染色显示，对照组损伤中心大面积广泛水肿、渗出，泡沫细胞吞噬现象多见，组织坏死、结构消。与对照组比较，细胞移植组2周时损伤面积缩小，只蔓延至距损伤中心1.5 cm处；8周时大部分后索后角细胞萎缩，坏死消失，泡沫细胞多见。他克莫司组1周时后索小灶性坏死，泡沫细胞不

多见，而以淋巴细胞、单核细胞及吞噬细胞多见，2周后伤段脊髓出血坏死较对照组轻，空泡变性较少。

**2.4 免疫组织化学检测结果** 显示阳性细胞数他克莫司组明显高于其他各组。

**2.5 电镜检测结果** 与对照组比较，细胞移植组和他克莫司组1周时神经元细胞膜破坏减轻，尤以他克莫司组微丝微管较完整，见图2a~c。

各组8周时均有恢复，对照组神经髓鞘轴膜下水肿，小的髓鞘正常。细胞移植组新生髓鞘成束状分布在多个吞噬细胞中间。他克莫司组星形细胞、许旺细胞、髓鞘典型多见，神经轴突的终末有较多的兴奋性递质和不典型的轴树连接，见图2d~f。

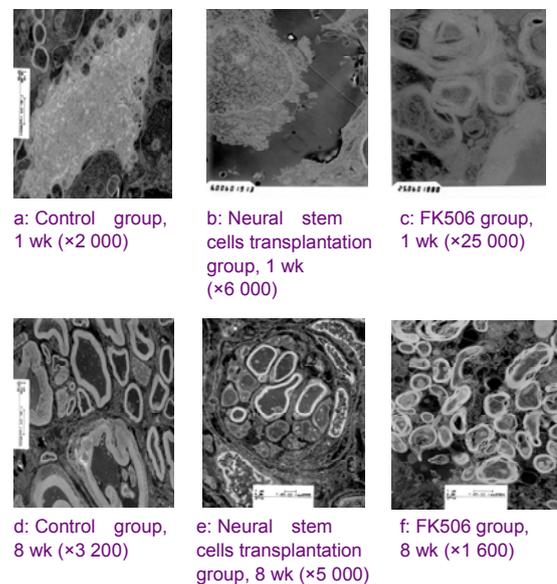


Figure 2 Ultrastructural changes of neurons and myelin sheath in each group after transplantation  
图2 移植后各组神经元、髓鞘的超微结构变化

## 3 讨论

为寻求新的及更有效的治疗手段，更透彻地阐明脊髓损伤所涉及的机制，需要有可靠性、高重复性好的脊髓损伤动物模型与相应的评价标准<sup>[2]</sup>。本实验采用动脉瘤夹瞬间夹闭脊髓，建立压迫型脊髓损伤动物模型，该方法能保持硬脊膜的完整性，且脊髓损伤后的解剖结构与神经功能的变化与挫伤型非常相似，接近于日常生活中人体脊髓损伤的模型及特殊的病理过程<sup>[3-5]</sup>。

脊髓损伤后主要表现为急性炎症过程的消退及修复过程，由于受压引起局部组织缺血、缺氧、水肿、淤血，胶质瘢痕形成，进而加重脊髓受损<sup>[6-8]</sup>。脊髓切片超微电镜可显示出出血坏死和囊腔形成、早期开始组织血肿、神经细胞变性，神经纤维板层散乱、脊髓微血管病

变等<sup>[9]</sup>。脊髓组织线粒体体积增大, 部分线粒体出现膜结构不清、嵴紊乱<sup>[10]</sup>。

神经干细胞作为治疗脊髓损伤最理想的细胞移植材料前景喜人<sup>[11-14]</sup>。神经组织移植的重要目的之一就是促进神经环路的重建。然而也有动物实验表明, 在受伤脊髓内炎症细胞因子的作用下, 神经干细胞在受损脊髓内不再分化或仅分化成星形胶质细胞并参与瘢痕组织形成<sup>[15]</sup>。有研究证实, 他克莫司不仅可抑制T细胞的增殖、活化, 还能抑制小胶质细胞、巨噬细胞等炎症细胞在损伤局部的聚集、活化及相关炎症因子的释放, 减轻继发性炎症反应对原发损伤周围正常组织的破坏, 减轻轴索损伤, 从而对损伤局部的神经组织起保护作用<sup>[16-19]</sup>。本实验从形态学角度观察显示, 他克莫司组和细胞移植组损伤后脊髓细胞空泡变性及泡沫细胞均较对照组形成减少, 髓鞘脱失现象改善, 且随着时间推移, 他克莫司组可见束状完整的新生的轴索、髓鞘, 炎细胞浸润, 浆细胞和单核细胞见于局部。但不能使受伤的脊髓恢复到正常水平。但从电镜结果来看, 与对照组、细胞移植组比较, 他克莫司组有其鲜明的特点, 8周时, 髓鞘、轴索基本正常, 新生许多细小的髓鞘, 说明他克莫司对移植组织的神经髓鞘的再生具有较强的修复作用, 保证了神经功能的恢复。

本实验从形态学角度研究脊髓损伤后其结构的改变, 观察应用他克莫司对神经干细胞移植后损伤脊髓结构的改变和神经再生修复的影响, 希望能为今后进一步从形态学上研究脊髓损伤及其临床治疗提供一些帮助。

#### 4 参考文献

- [1] Su X,Zhang WZ,Wang XP.Zhonghua Laonian Xin Nao Xueguan Bing Zazhi.2006; 8(7): 488-491.  
苏心, 张文治, 王新平. 脑源性神经营养因子对β淀粉样蛋白诱导神经干细胞损伤的保护作用[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2006, 8(7): 488-491.
- [2] Yang YB,Pu YJ.Zhonghua Chuangshang Zazhi.2002; 18(3): 187-190.  
杨迎暴, 朴英杰. 脊髓损伤模型的建立及其评价标准[J]. 中华创伤杂志, 2002, 18(3): 187-190.
- [3] Li G,Li CG,Jia DZ,et al. Zhonghua Chuangshang Zazhi.2006; 22(2): 146-147.  
李刚, 李新刚, 贾德泽, 等. 钳夹型大鼠脊髓损伤模型的建立及X线照射对损伤区组织结构恢复的影响[J]. 中华创伤杂志, 2006, 22(2): 146-147.
- [4] Zu B,Yin ZS,Zhang H,Di Si Junyi Daxue Xuebao.2007; 28(14): 1264-1267.  
祖波, 尹宗生, 张辉. 急性脊髓挫伤性模型的制备及观察[J]. 第四军医大学学报, 2007, 28(14): 1264-1267.
- [5] Talac R, Friedman JA, Moore MJ, et al. Animal models of spinal cord injury for evaluation of tissue engineering treatments strategies. Biomaterials.2004;25(9): 1505-1510.
- [6] Zhao B,Sun ZY,Hong GX,et al.Zhongguo Jizhu Jisui Zazhi.2003; 13(2):95-97.  
赵斌, 孙正义, 洪光祥, 等. 大剂量甲基强的松龙对大鼠慢性压迫性脊髓损伤后神经细胞凋亡影响的实验研究[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2003, 13(2): 95-97.
- [7] Zhou JJ,Wu GC,Hu R,et al.Zhonghua Shenjing Waikexue Zazhi.2007; 23(5): 347-350.  
周建军, 吴国材, 胡荣, 等. 大鼠实验性脊髓损伤后胶质瘢痕分布规律研究[J]. 中华神经外科杂志, 2007, 23(5): 347-350.
- [8] Hall ED, Springer JE. Neuroprotection and acute spinal cord injury : a reappraisal. NeuroRX.2004; 1 (1): 80-100.
- [9] Shu WS,Yu JH,Sun ZM,et al.Zhongguo Jiaoxing Waikexue Zazhi. 2006; 14(12): 921-922.  
舒卫生, 于建华, 孙志明, 等. 大鼠压迫性脊髓损伤的特征性超微病理表现[J]. 中国矫形外科杂志, 2006, 14(12):921-922.
- [10] Cai WH,Zhang N,Jia LS,et al. Zhongguo Jiaoxing Waikexue Zazhi. 2008; 16(14): 1094-1097.  
蔡卫华, 张宁, 贾连顺, 等. 脊髓损伤后线粒体超微结构和呼吸功能的变化[J]. 中国矫形外科杂志, 2008, 16(14): 1094-1097.
- [11] Wu QL,Li QG,Liu K.Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu.2008;12(12): 2343-2346.  
武俏丽, 李庆国, 刘晖. 干细胞移植治疗脊髓损伤研究进展[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(12): 2343-2346.
- [12] Hu M,Lu G. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu.2009;13(19):3751-3754.  
胡萌, 吕刚. 神经干细胞移植治疗脊髓损伤的研究与现状[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(19): 3751-3754.
- [13] Bai DY,Sun ZY,Zhao B.Guoji Gukexue Zazhi.2006;27(5):292-294.  
白登彦, 孙正义, 赵斌. 神经干细胞与脊髓损伤修复实验研究进展[J]. 国际骨科学杂志, 2006, 27(5): 292-294.
- [14] Zhang H,Yin ZS.Zhonghua Chuangshang Zazhi.2006; 22(10): 798-800.  
张辉, 尹宗生. 内源性神经干细胞与脊髓损伤[J]. 中华创伤杂志, 2006, 22(10): 798-800.
- [15] Ricci-Vitiani L, Casalbore P, Petrucci G, et al. Influence of local environment on the differentiation of neural stem cells engrafted on to the injured spinal cord. Neurol Res.2006;28(5):488-492.
- [16] Nito C,Kamiya T,Ueda M ,et al. Mild hypothermia enhances the neuroprotective effects of FK506 and expands its therapeutic window following transient focal ischemia in rats. Brain Res.2004; 1008(2):179-185.
- [17] Zhang GY,Cui RY,Guowai Yixue: Shenjingbingxue Shenjing Waikexue Fence.2003; 30(2): 185-188.  
张桂运, 崔尧元. FK506对脑外伤后中枢神经系统的保护及对学习记忆的影响[J]. 国外医学: 神经病学神经外科学分册, 2003, 30(2): 185-188.
- [18] Kino T, Hatanake H, Hashimoto H, et al. FK506 a novel immunosuppressant isolated from a Streptomyces I Fermentation, isolation and physico-chemical and biological characteristic. Antibiot.1987;40(9):1249-1255.
- [19] Furuichi Y, Noto T, Li JY, et al. Multiple modes of action of tacrolimus (FK506) for neuroprotective action on ischemic damage after transient focal cerebral ischemia in rats. Brain Res. 2004;1014(1-2):120-130.

#### 来自本文课题的更多信息--

**基金资助:** 天津市卫生局基金资助项目(04KY02 )。

**利益冲突:** 无利益冲突。

**课题的创新点:** ①应用动脉瘤夹瞬间夹闭脊髓方法准确模拟人体脊髓损伤模型, 保持硬脊膜的完整性。②比较单纯细胞移植与神经干细胞移植, 联合应用免疫抑制剂他克莫司治疗脊髓损伤的效果。

**课题评估的“金标准”:** 通过 BDA 顺行示踪显示皮质脊髓束传导束, 从形态学角度通过透射电镜观察植入的神经干细胞分化、增生及对周围髓鞘、轴索改善情况, 以判断轴索重建情况。

**课题的偏倚与不足:** ①细胞移植后只进行了顺行示踪, 若结合逆行示踪即可全面地观察皮质脊髓束的分布及修复情况。②本实验只是定性观察, 如果条件允许, 可以对免疫组化染色结果和电镜结果进行图像分析, 进行标记细胞和新生髓鞘计数, 粗略估计神经再生比例。

**提供临床借鉴的价值:** 应用动脉瘤夹瞬间夹闭脊髓方法准确模拟脊髓损伤模型, 损伤后 1 周移植神经干细胞并应用他克莫司明显改善急性炎症反应, 再生的神经细胞和神经轴索、髓鞘增多。