

# NMDA受体拮抗剂剂量与脑缺血再灌注大鼠海马内源性神经干细胞的增殖\*★

任铭新<sup>1,2</sup>, 周立<sup>2</sup>, 李娜娜<sup>2</sup>, 冯志博<sup>2</sup>, 臧卫东<sup>1</sup>, 袁国艳<sup>3</sup>

## N-methyl-D-aspartic acid receptor antagonist dose and proliferation of endogenous neural stem cells in the hippocampus of rats with cerebral ischemia/reperfusion

Ren Ming-xin<sup>1,2</sup>, Zhou Li<sup>2</sup>, Li Na-na<sup>2</sup>, Feng Zhi-bo<sup>2</sup>, Zang Wei-dong<sup>1</sup>, Yuan Guo-yan<sup>3</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** After cerebral ischemia-reperfusion, excessive excitatory amino acids activate N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) receptor which repairs nerve cells by the proliferation and differentiation of endogenous neural stem cells (NSCs), but damages nerve cells by intracellular calcium overload at the same time. Controlling NMDA receptor activation may activate endogenous NSCs and minimize damage simultaneously.

**OBJECTIVE:** To investigate the effect of NMDA receptor antagonist MK-801 on endogenous neural stem cell proliferation of reperfusion rat hippocampus.

**METHODS:** A total of 54 healthy male Sprague-Dawley rats were randomized into control group (without any treatment), operation group (establish ischemia model), various doses of MK-801 group. Four-vessel occlusion (Pulsinelli-4VO method) was used to establish global cerebral ischemia/reperfusion model. Different doses of MK-801 were injected into lateral ventricle 30 minutes before cerebral ischemia according to 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mg/kg. Western-blot and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) were used to detect nestin protein and mRNA level expression in each group.

**RESULTS AND CONCLUSION:** When MK-801 was under 0.8 mg/kg, no significant differences in the protein and mRNA expression of nestin were detected among groups ( $P > 0.05$ ), with the presence of high expression. When MK-801 was equal to 0.8 mg/kg, MK-801 significantly suppressed proliferation of endogenous NSCs. When MK-801 was more than 0.8 mg/kg, inhibitory effect was increased with increased concentration. At 1.2 mg/kg, rats developed adverse reaction such as restlessness and ataxia. The nestin mRNA expression results were consistent with the tendency of protein expression, which suggested that MK-801 dose is associated with the repair of nerve function following cerebral infarction. 0.6 mg/kg is a suitable dose during this test. This concentration can make MK-801 reduce the toxic effect of excitatory amino acids on neurons, can protect neural cells, and cannot greatly affect proliferation of endogenous NSCs.

Ren MX, Zhou L, Li NN, Feng ZB, Zang WD, Yuan GY. N-methyl-D-aspartic acid receptor antagonist dose and proliferation of endogenous neural stem cells in the hippocampus of rats with cerebral ischemia/reperfusion. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(40): 7493-7496. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

### 摘要

**背景:** 脑缺血再灌注后, 过度释放的兴奋性氨基酸可通过 NMDA 受体激活内源性神经干细胞, 促使其增殖、分化, 修复神经细胞, 但同时也导致细胞内钙离子超载, 引起神经细胞的损伤。通过控制 NMDA 受体活化的程度, 刺激内源性神经干细胞激活的同时把损伤减到最小。

**目的:** 观察 NMDA 受体拮抗剂 MK-801 质量浓度对脑缺血再灌注大鼠海马内源性神经干细胞增殖的影响。

**方法:** 健康雄性 SD 大鼠 54 只随机数字表法分为对照组(不进行任何处理)、手术组(缺血模型制作)及不同剂量 MK-801 组。采用大鼠四条血管阻断方法(Pulsinelli-4VO 法)制备大鼠全脑缺血再灌注模型。不同浓度 MK-801 组在模型制作前 30 min 按照 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mg/kg 侧脑室注射 MK-801。Western-blot、RT-PCR 技术检测各组 nestin 蛋白及 mRNA 水平及表达。

**结果与结论:** MK-801 剂量在 0.8 mg/kg 以下时, nestin mRNA 及蛋白的表达差异无显著性意义( $P > 0.05$ ), 呈现高表达; 当剂量为 0.8 mg/kg 时, 明显抑制内源性神经干细胞增殖; 在 0.8mg/kg 以上, 对神经干细胞的抑制作用随着剂量的升高呈递增趋势; 在 1.2 mg/kg 时, 大鼠有躁动、共济失调等严重不良反应。nestin mRNA 表达结果与蛋白表达趋势相吻合。说明 MK-801 的剂量与脑梗死后神经功能的修复有一定的关系, 实验中 0.6 mg/kg 是一个比较合适的实验应用剂量, 在此剂量下既可使 MK-801 减少兴奋性氨基酸对神经元的毒性作用, 保护神经细胞, 又使内源性神经干细胞的增殖不受较大影响。

**关键词:** 脑缺血; 神经干细胞; NMDA 受体拮抗剂; 海马; 增殖

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.40.018

任铭新, 周立, 李娜娜, 冯志博, 臧卫东, 袁国艳. NMDA 受体拮抗剂剂量与脑缺血再灌注大鼠海马内源性神经干细胞的增殖[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(40):7493-7496. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

## 0 引言

缺血缺氧性脑损伤(hypoxic-ischemic brain injure, HIBI)后, 如何积极有效地促进患者神经功能的恢复是目前脑缺血的研究重点。自1989年

Anderson等<sup>[1]</sup>最早在实验中首先证实了神经干细胞的存在以来, 大量的实验已经证明脑缺血后, 过度释放的兴奋性氨基酸可以通过NMDA受体激活内源性神经干细胞, 促使其增殖、分化, 以达到修复丧失神经功能的作用<sup>[2-6]</sup>。而脑缺血后兴奋性氨基酸过度释放和NMDA受体过

<sup>1</sup>Department of Human Anatomy, Basic Medical College, Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, Henan Province, China; <sup>2</sup>Department of Human Anatomy, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China; <sup>3</sup>Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital, Xinxiang Medical University, Weihui 453100, Henan Province, China

Ren Ming-xin★, Studying for master's degree, Department of Human Anatomy, Basic Medical College, Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, Henan Province, China; Department of Human Anatomy, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China hnlyrmx@163.com

Correspondence to: Yuan Guo-yan, Master, Attending physician, Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital, Xinxiang Medical University, Weihui 453100, Henan Province, China hnlyrmx@163.com

Supported by: the Seventh Batch Provincial-level Key Subject Opening Topic of Xinxiang Medical University in 2009, No. ZD200923\*

Received: 2010-06-10  
Accepted: 2010-07-03

<sup>1</sup> 郑州大学基础医学院人体解剖学教研室, 河南省郑州市 450000; <sup>2</sup> 新乡医学院人体解剖学教研室, 河南省新乡市 453003; <sup>3</sup> 新乡医学院第一附属医院神经外科, 河南省卫辉市 453100

任铭新★, 男, 1979年生, 河南省周口市人, 汉族, 郑州大学在读硕士。  
hnlmymx@163.com

通讯作者: 袁国艳, 硕士, 主治医师, 新乡医学院第一附属医院神经外科, 河南省卫辉市 453100  
hnlmymx@163.com

中图分类号: R394.2  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225 (2010)40-07493-04

收稿日期: 2010-06-10  
修回日期: 2010-07-03  
(20100609001/GW · Q)

度兴奋, 又可导致细胞内钙离子超载, 引起神经细胞的损伤<sup>[7]</sup>。

那么, 如何调控NMDA受体的活化程度, 使其对神经元的保护作用和对内源性神经干细胞的激活达到最合适的配比关系? MK-801为非竞争性NMDA受体拮抗剂, 可减少脑梗死的面积, 对神经元具有一定的保护作用<sup>[8]</sup>。本实验通过侧脑室注射MK-801进行干预, 用Western-blot、RT-PCR技术检测海马nestin蛋白及mRNA水平及表达, 探讨MK-801的浓度与内源性神经干细胞数目之间的关系。

## 1 材料和方法

**设计:** 随机对照动物实验。

**时间及地点:** 于2009-10/2010-05在新乡医学院河南省组织再生重点实验室完成。

**材料:** 成年健康雄性SD大鼠54只, 体质量200~250 g, 随机数字表法分为对照组( $n=6$ )、手术组( $n=12$ )和MK-801不同剂量组(0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mg/kg)( $n=36$ )。大鼠均由新乡医学院动物中心提供, 实验过程对动物的处理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>[9]</sup>。

**实验用主要仪器与试剂:**

试剂及仪器	来源
68000 型大鼠头颅定位仪、HDL-2100 型程控高精度微量注射泵	瑞沃德生命科技有限公司
MK-801	深圳晶美科技有限公司
电泳仪	Bio-rad
Trizol Reagent	Invitrogen
兔抗大鼠 nestin	深圳晶美科技有限公司

**实验方法:**

**侧脑室插管建立给药途径:** 手术组和MK-801组进行侧脑室插管。用大鼠头颅立体定位仪固定大鼠头部, 按Bures图谱定坐标: P 1.5 mm, R 1.5 mm, H 3.5 mm。大鼠颅骨钻钻孔, 垂直插入导管, 用牙科水泥固定导管。适应3 d后, 建立脑缺血模型。缺血前30 min, 微量注射器侧脑室注射不同浓度MK-801 10  $\mu$ L, 每次5 min注毕, 留针5 min。手术组注射生理盐水。

**动物模型建立:** 手术组和MK-801组进行缺血模型制作。10%水合氯醛(300 mg/kg, 腹腔注射)麻醉, 按照Pulsinelli-4VO法制作全脑缺血模型, 于颈后第一颈椎处切口, 钝性剥离颈部肌

肉显露第一颈椎之上双侧翼孔, 灼烧闭塞其下走行的椎动脉, 缝合切口。随后切开颈部正中皮肤, 分离颈部肌肉, 显露双侧颈总动脉, 分离其上的迷走神经丛, 并置线备用。次日, 在动物清醒状态下, 提起颈总动脉, 用动脉夹夹闭双侧颈总动脉, 15 min后松夹再灌注。判断模型成功标准: 动脉夹闭后, 大鼠出现意识丧失, 翻正反射消失。术后将大鼠在光照条件下分笼饲养。模型制作后7 d, 10%水合氯醛(300 mg/kg, 腹腔注射)麻醉, 断头处死动物, 开颅取脑, 在冰上迅速剥离海马, 液氮冻存备用。

**主要观察指标:**

**大鼠nestin基因蛋白表达水平的测定:** 按50 g/L加入裂解液, 加入cocktail冰上匀浆20 min, 4  $^{\circ}$ C 12 000 r/min离心10 min, 取上清。以7% SDS-PAGE凝胶电泳分离, 电转移蛋白至PVDF膜上, 5%脱脂奶粉封闭2 h后弃去封闭液, 加入一抗, 封闭袋中4  $^{\circ}$ C过夜, 弃去一抗, 用TBS洗10 min $\times$ 3次。弃去TBS, 加入二抗37  $^{\circ}$ C孵育1 h, 弃去二抗, 用TBS洗10 min $\times$ 3次。增强化学发光显影, 置于凝胶图像分析系统分析条带灰度。用凝胶成像分析仪采集图像并用Image J图像处理软件进行吸光度分析。以nestin与 $\beta$ -actin的吸光度之比进行半定量分析。

**大鼠nestin基因mRNA表达水平的测定:** 用TRIZOL一步法提取总RNA, 经电泳显示28 S、18 S和5 S清晰3条带, 测定 $A_{260}/A_{280}$ 比值, 取1  $\mu$ g RNA, 以Oligo(dT)18为引物进行反转录反应, 反应体系20  $\mu$ L, 引物见表1。

表1 目的基因及内参照基因 PCR 引物序列表  
Table 1 Polymerase chain reaction (PCR) primers and sequence of target genes and internal control genes

Gene	Primer sequence	Product size(bp)
Nestin	F: GAG AGG GAG GAC AAA GTC CC	181
	R: TCC CTC AGA GAC TAG CGC AT	
$\beta$ -actin	F: CTT TTG TGC CTT GAT AGT TC	302
	R: GAG TCC TTC TGA CCC ATA C	

PCR扩增反应条件为: 95  $^{\circ}$ C预变性5 min, 94  $^{\circ}$ C变性30 s, 62  $^{\circ}$ C退火40 s, 72  $^{\circ}$ C延伸60 s, 共30循环; 72  $^{\circ}$ C延伸5 min。PCR扩增产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳后, 以Image J图像处理软件进行吸光度分析, 以nestin和 $\beta$ -actin吸光度之比进行半定量分析。

**设计、实施、评估者:** 分别为第一、二、三作者, 均经过系统培训, 未采取盲法评估。

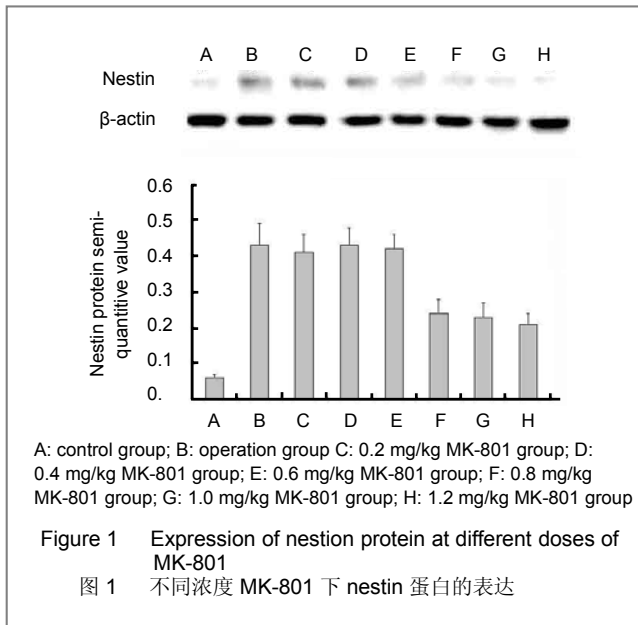
**统计学分析:** 由第一作者采用SPSS 12.0

软件完成统计处理, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较行单因素方差分析,  $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

## 2 结果

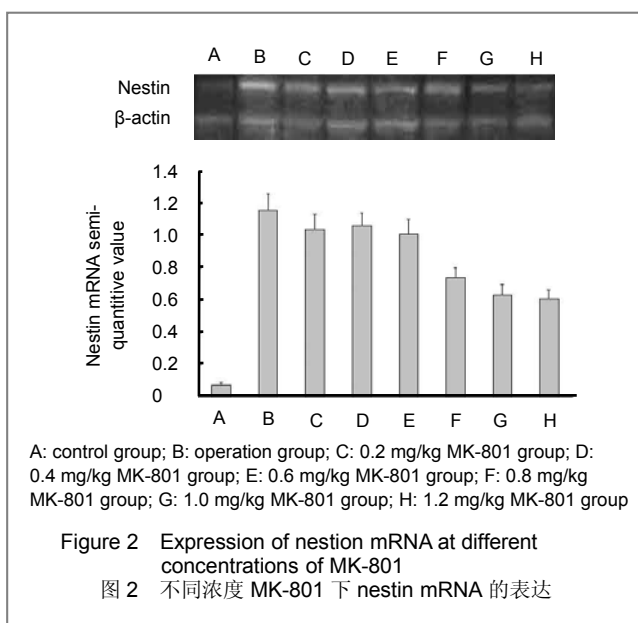
2.1 实验动物数量分析 54只大鼠均进入结果分析。

2.2 不同浓度MK-801组海马nestin蛋白的表达 见图1。



手术组和各浓度MK-801组nestin蛋白显著高于对照组( $P < 0.01$ ), 0.2, 0.4, 0.6 mg/kg MK-801组和手术组相比nestin蛋白表达基本相似( $P > 0.05$ ), 0.8, 1.0, 1.2 mg/kg MK-801组和手术组相比表达显著减少( $P < 0.01$ ), 0.6 mg/kg和0.8 mg/kg组间差异有显著性意义( $P < 0.01$ ), 其余相邻组间差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。

2.3 不同浓度MK-801组海马nestin mRNA的表达 见图2。



手术组和各浓度MK-801组nestin mRNA显著高于对照组( $P < 0.01$ ), 手术各组与对照组相比差异有显著性意义( $P < 0.05$ ), 且0.8, 1.0, 1.2 mg/kg MK-801组和手术组相比表达显著减少( $P < 0.01$ ), 0.6, 0.8 mg/kg MK-801组间差异有显著性意义( $P < 0.01$ ), 其余相邻组间差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

nestin 作为中间丝蛋白, 是未分化状态多能神经干细胞的特异性抗原标记物, 其主要存在于胚胎发生期的中枢神经系统。在正常中枢神经系统发育过程中, 胚胎晚期随着干细胞的分化成熟逐渐被胶质纤维酸性蛋白、神经丝蛋白等中间丝蛋白所替代。中间丝蛋白的表达和变化与细胞分化方向和分化阶段密切相关, 也就是说 nestin 的表达被公认为是神经干细胞<sup>[10]</sup>, 意味着该细胞是一个处于原始状态的, 具有分化潜能的细胞。本实验中, 对照组的大脑海马 nestin 表达非常弱, 但是在手术组和实验组的海马 nestin 表达强烈, 因此可以说明缺血性脑损伤可以激活内源性神经干细胞。与 Leker<sup>[11]</sup>文献报道相吻合。

文献报道成人脑内神经干细胞发生主要存在两个区域, 即海马齿状回亚颗粒细胞层和室管膜下区<sup>[12-15]</sup>。Yagita等<sup>[16]</sup>报道, 雄性Wistar大鼠在脑缺血再灌注损伤后, nestin阳性细胞首先出现在海马齿状回颗粒下区, 与对照组相比增加 5.7倍, 7 d达到高峰。Zhang等<sup>[17]</sup>报道, 成年MCAO大鼠除了脑室管膜下区内有神经干细胞外, 损伤侧大脑皮质也存在神经干细胞增殖, 这些细胞成簇位于梗死区域皮质, 说明大脑皮质也存在神经干细胞, 它们在缺血损伤后发生增殖。本实验通过正常对照组、手术组和MK-801不同浓度组之间的nestin蛋白表达结果分析: MK-801对神经干细胞的抑制作用与其浓度有关。在浓度为0.8 mg/kg时, 可明显抑制内源性神经干细胞的增殖; 在0.8 mg/kg浓度以上, 对神经干细胞的抑制作用, 随着浓度的升高呈递增趋势; 并且在浓度为1.2 mg/kg时, 大鼠有躁动、共济失调等严重不良反应。nestin mRNA表达结果与蛋白表达趋势相吻合。

关于NMDA受体拮抗剂MK-801对神经元的保护和抑制的机制目前仍然存在争议, 大多数学者认为MK-801是通过抑制兴奋性氨基酸毒性, 促进神经干细胞增殖; 同时降低钙离子浓度, 维持钙离子在细胞内外的平衡, 抑制细胞的凋亡<sup>[18-19]</sup>。另外碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF)是神经干细胞的有丝分裂原, 主要调节早期前体细胞的分裂, 并与其他细胞因子一起促进神经干细胞迁移<sup>[20]</sup>。在脑缺血后, MK-801可以调节脑内bFGF的表达, 促进一些对bFGF敏感的神经干细胞向一定的方向迁移<sup>[21]</sup>。

同时在脑缺血后, NMDA受体拮抗剂还可以促进一些细胞因子的上调, 如VEGF、BDNF、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 等, 而这些因子又在不同阶段促进神经干细胞的增殖和分化<sup>[22-27]</sup>。但NMDA受体拮抗剂对神经元和神经干细胞的具体影响机制还不明确, 需进一步的深入探讨和研究。

从本实验得出的结论来看, MK-801的浓度与脑梗死后神经功能的修复有一定的关系, 实验中0.6 mg/kg是一个比较合适的实验应用浓度, 在此浓度下既可使MK-801减少兴奋性氨基酸对神经元的毒性作用, 保护神经细胞, 又使内源性神经干细胞的增殖不受到大的影响, 而增殖的神经干细胞能否进一步分化为具有功能的神经元达到修复丢失的神经网络环路, 还有待于进一步研究。

#### 4 参考文献

- [1] Anderson DJ, Michelsohn A. Role of glucocorticoids in the chromaffin-neuron developmental decision. *Int J Dev Neurosci.* 1989;7(5):475-487.
- [2] McKay R. Stem cells in the central nervous system. *Science.* 1997;276(6309):66-71.
- [3] Jin K, Minami M, Lan JQ, et al. Neurogenesis in dentate subgranular zone and rostral subventricular zone after focal cerebral ischemia in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(8):4710-4715.
- [4] Jin K, Wang X, Xie L, et al. Evidence for stroke-induced neurogenesis in the human brain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(35):13198-13202.
- [5] Iwai M, Sato K, Kamada H, et al. Temporal profile of stem cell division, migration, and differentiation from subventricular zone to olfactory bulb after transient forebrain ischemia in gerbils. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2003;23(3):331-341.
- [6] Yamashita T, Ninomiya M, Hernandez Acosta P, et al. Subventricular zone-derived neuroblasts migrate and differentiate into mature neurons in the post-stroke adult striatum. *J Neurosci.* 2006;26(24):6627-6636.
- [7] Gibson CJ, Meyer RC, Hamm RJ. Traumatic brain injury and the effects of diazepam, diltiazem, and MK-801 on GABA-A receptor subunit expression in rat hippocampus. *J Biomed Sci.* 2010;17(1):38.
- [8] Han RZ, Hu JJ, Weng YC, et al. NMDA receptor antagonist MK-801 reduces neuronal damage and preserves learning and memory in a rat model of traumatic brain injury. *Neurosci Bull.* 2009; 25(6):367-375.
- [9] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance suggestion of caring 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.
- [10] Len Dahl U, Zimmerman LB, McKay RD, et al. CNS stem cells express a new class of intermediate filament protein. *Cell.* 1990; 60:585.
- [11] Leker RR. Fate and manipulations of endogenous neural stem cells following brain ischemia. *Expert Opin Biol Ther.* 2009;9(9): 1117-1125.
- [12] Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med.* 1998;4(11):1313-1317.
- [13] Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science.* 2000; 287(5457): 1433-1438.
- [14] Doetsch F. A niche for adult neural stem cells. *Curr Opin Genet Dev.* 2003;13(5):543-550.
- [15] Kim Y, Comte I, Szabo G, et al. Adult mouse subventricular zone stem and progenitor cells are sessile and epidermal growth factor receptor negatively regulates neuroblast migration. *PLoS One.* 2009;4(12):e8122
- [16] Yagifa Y, Kitagawa K, Ohtsuki T, et al. Neurogenesis by progenitor cells in the ischemic adult rat hippocampus. *Stroke.* 2001; 32(8): 1890-1896.
- [17] Zhang RL, Zhang ZG, Zhang L, et al. Proliferation and differentiation of progenitor cells in the cortex and the subventricular zone in the adult rat after focal cerebral ischemia. *Neuroscience.* 2001;105(1):33-41.
- [18] Richard L, Pitts S, Andrew I, et al. The mood stabilizer valproic acid stimulates GABA neurogenesis from rat forebrain stem cells. *J Neurochemical.* 2004;91(1):238-251.
- [19] Langton JM, Kim JH, Nicholas J, et al. The effect of the NMDA receptor antagonist MK-801 on the acquisition and extinction of learned fear in the developing rat. *Learn Mem.* 2007;14(10): 665-668.
- [20] Nygren J, Wieloch T, Pesic J, et al. Enriched environment attenuates cell genesis in subventricular zone after focal ischemia in mice and decreases migration of newborn cells to the striatum. *Stroke.* 2006;37(11):2824-2829.
- [21] Pearson S, Sroczynska P, Lacaud G, et al. The stepwise specification of embryonic stem cells to hematopoietic fate is driven by sequential exposure to Bmp4, activin A, bFGF and VEGF. *Development.* 2008;135(8):1525-1535.
- [22] Numakawa T, Suzuki S, Kumamaru E, et al. BDNF function and intracellular signaling in neurons. 2010;25(2):237-258.
- [23] Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev.* 2004;25(4):581-611.
- [24] Arany Z, Foo SY, Ma Y, et al. HIF-independent regulation of VEGF and angiogenesis by the transcriptional coactivator PGC-1 $\alpha$ . *Nature.* 2008;451(7181):1008-1012.
- [25] Birk DM, Barbato J, Mureebe L, et al. Current insights on the biology and clinical aspects of VEGF regulation. *Vasc Endovascular Surg.* 2008;42(6):517-530.
- [26] Zhou C. Inhibition effect of IL-1 $\beta$  on calcium channels currents in cultured cortical neurons of rat. *Dongwuxue Yanjiu.* 2010;31(1): 89-93.
- [27] Wang Y, Jin K, Mao XO, et al. VEGF-overexpressing transgenic mice show enhanced post-ischemic neurogenesis and neuromigration. *J Neurosci Res.* 2007;85(4):740-747.

#### 来自本文课题的更多信息--

**基金资助:** 2009 年度新乡医学院第七批省级重点学科开放课题资助项目(ZD200923)。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**课题的创新点:** 脑缺血后, 过度释放的兴奋性氨基酸可以通过 NMDA 受体激活内源性神经干细胞, 促使其增殖、分化, 达到修复丧失神经功能的作用。而同时过度释放的兴奋性氨基酸又引起钙离子超载, 导致神经元的损伤。那么, 如何控制 NMDA 受体活化的程度, 使其对神经元的保护作用和对内源性神经干细胞的激活达到最合适的配比关系? 这是本课题的着眼点。

**课题评估的“金标准”:** nestin 作为中间丝蛋白, 是未分化状态多能神经干细胞的特异性抗原标记物, 也就是说 nestin 的表达可被看作是神经干细胞, 本实验中, 在正常对照组的大脑海马 nestin 表达非常弱, 但是实验组的海马 nestin 表达强烈, 因此可以说明缺血性脑损伤可以激活内源性神经干细胞。

**课题的偏倚与不足:** 增殖的神经干细胞能否进一步分化为具有功能的神经元达到修复丢失的神经网络环路, 还有待于进一步研究。准备在不同时间段内检测大鼠脑 NSE 的变化。

**提供临床借鉴的价值:** 探讨 MK-801 的最佳实验浓度, 为临床治疗和预防脑缺血寻求实验室基础。