

# 睫状神经营养因子对坐骨神经切断吻合后大鼠脊髓前角胶质纤维酸性蛋白表达的影响

伊红丽<sup>1</sup>, 张冬艳<sup>1</sup>, 孙鸿安<sup>2</sup>

## Effects of ciliary neurotrophic factor on the expression of glia fibrillary acidic protein in the anterior horn after anastomosing apocoptic sciatic nerve in rats

Yi Hong-li<sup>1</sup>, Zhang Dong-yan<sup>1</sup>, Sun Hong-an<sup>2</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** Ciliary neurotrophic factor (CNTF) has multiple biological activities, which has significance in development, differentiation and damage repair of nervous system.

**OBJECTIVE:** To study the effects of CNTF on the expression of glia fibrillary acidic protein (GFAP) in the corresponding segment spinal anterior horn astrocytes after anastomosing apocoptic sciatic nerve in rats.

**METHODS:** Sprague Dawley rats were randomly divided into control, model, saline and medicine groups. All rats were performed anastomosing apocoptic operation at both sciatic nerves except that in the control group. CNTF and saline were injected into rats in the medicine and saline groups, 100 ng/kg, once per day. The corresponding spinal segments were obtained at 1, 3, 7, 14, 21 and 28 days after the operation, and the expression of GFAP was observed by immunohistochemistry, and the number of neurons in the anterior horn of spinal cord was counted by hematoxylin-eosin staining and TUNEL staining.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The astrocytes in the anterior horn of spinal cord became bigger after anastomosing apocoptic both sciatic nerves operation, neurites increased and became thickening, neurons apoptosis less, the expression of GFAP increased. Compared with the model and saline groups, the survival neurons were increased, apoptotic neurons decreased, and the expression of GFAP protein were greater in the medicine group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). Simultaneously, the rats in the medicine group were suffered slightly motor dysfunction and recovered faster those of other groups. The results illustrate that CNTF has neuroprotective effect via promoting the high expression of GFAP in the anterior horn of spinal cord after anastomosing apocoptic sciatic nerve in rats.

Yi HL, Zhang DY, Sun HA. Effects of ciliary neurotrophic factor on the expression of glia fibrillary acidic protein in the anterior horn after anastomosing apocoptic sciatic nerve in rats. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(41):7671-7674. [http://www.crter.cn http://en.zgckf.com]

### 摘要

**背景:** 睫状神经营养因子具有多种生物活性, 在神经系统发育、分化和损伤修复中具有重要意义。

**目的:** 观察睫状神经营养因子对坐骨神经切断吻合后大鼠相应脊髓节段前角星形胶质细胞的特异标记物胶质纤维酸性蛋白表达的影响。

**方法:** 将 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、生理盐水组及药物组。除对照组外, 对所有大鼠实施双侧坐骨神经切断吻合术, 药物组手术区局部注射睫状神经营养因子 100 ng/kg, 1 次/d, 生理盐水组局部注射等量生理盐水。术后 1, 3, 7, 14, 21, 28 d 取相应脊髓节段, 免疫组织化学染色观察胶质纤维酸性蛋白的表达, 苏木精-伊红染色、TUNEL 染色对脊髓前角神经元进行计数。

**结果与结论:** 大鼠坐骨神经切断吻合后相应脊髓节段星形胶质细胞胞体大, 突起分枝多且粗大, 神经元数目逐渐减少, 凋亡神经元增多, 胶质纤维酸性蛋白表达增高。与模型组和生理盐水组比较, 药物组神经元存活数目增多, 凋亡减少, 胶质纤维酸性蛋白表达明显增加 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。同时, 药物组大鼠的运动功能障碍较轻, 恢复较快。说明睫状神经营养因子可以通过促进大鼠脊髓前角胶质纤维酸性蛋白的表达起到神经保护作用。

**关键词:** 胶质纤维酸性蛋白; 睫状神经营养因子; 星形胶质细胞; 神经元凋亡; 周围神经损伤

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.41.017

伊红丽, 张冬艳, 孙鸿安. 睫状神经营养因子对坐骨神经切断吻合后大鼠脊髓前角胶质纤维酸性蛋白表达的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(41):7671-7674. [http://www.crter.org http://cn.zgckf.com]

## 0 引言

近年来星形胶质细胞对受损神经元保护和修复作用逐渐成为人们关注的热点<sup>[1-4]</sup>。胶质纤维酸性蛋白(glia fibrillary acidic protein, GFAP)是观察星形胶质细胞反应性增生的良好指标。在不少神经系统退行性病、炎性病变以及脑血管疾病中, 星形胶质细胞在病因学和发病机制

上都起着重要的作用<sup>[5-6]</sup>。

睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)广泛分布于神经系统<sup>[7-8]</sup>, 具有多种生物活性, 能促进多种神经元的存活, 在神经系统发育、分化和损伤修复中具有重要意义<sup>[9]</sup>。CNTF是第1个被发现能维持体内和体外脊髓运动神经元的存活及突起生长的神经生长因子<sup>[10-13]</sup>。CNTF能促进中枢和周围运动神经元的存活, 防止受损神经元退变, 维持其功能。

<sup>1</sup>Department of Neurology, Affiliated Hospital of North China Coal Medical College, Tangshan 063000, Hebei Province, China; <sup>2</sup>Rehabilitation Center, the First Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao 066000, Hebei Province, China

Yi Hong-li, Professor, Chief physician, Master's supervisor, Department of Neurology, Affiliated Hospital of North China Coal Medical College, Tangshan 063000, Hebei Province, China 106671388@qq.com

Received: 2010-04-11  
Accepted: 2010-05-03

<sup>1</sup>华北煤炭医学院附属医院神经内科, 河北省唐山市 063000; <sup>2</sup>秦皇岛市第一医院康复中心, 河北省秦皇岛市 066000

伊红丽, 女, 1955年生, 河北省唐山市人, 汉族, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事运动神经元病、脑血管病方面的研究。106671388@qq.com

中图分类号:R318  
文献标识码:B  
文章编号:1673-8225  
(2010)41-07671-04

收稿日期:2010-04-11  
修回日期:2010-05-03  
(20100119003/  
WLM·Z)

中枢神经系统损伤后, 相应部位星形胶质细胞内CNTF mRNA量与CNTF蛋白量均升高, 通过作用于损伤部位神经元或神经胶质细胞而发挥其神经营养作用<sup>[14]</sup>。

实验对坐骨神经切断吻合术后大鼠给予CNTF局部注射治疗, 通过观察脊髓节段GFAP的表达、病理改变和神经元凋亡情况, 探讨CNTF对受损神经元保护作用。

## 1 材料和方法

**设计:** 随机对照动物实验。

**时间和地点:** 于2008-07/2009-01在华北煤炭医学院完成。

**材料:** 清洁级健康8周龄SD大鼠(合格证号: 0097414)114只, 雌雄不拘, 体质量200~250 g, 购于北京维通利华公司。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颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》的相关要求<sup>[15]</sup>。

**主要试剂和仪器:**

试剂和仪器	来源
CNTF	英国 Peprotech 公司
免疫组织化学染色试剂盒, 兔抗人 GFAP 多克隆抗体	北京中杉金桥生物技术有限公司
TUNEL 试剂盒	武汉博士德生物科技公司
34X-双人双目手术显微镜	德国 KAPS 公司

**方法:**

**分组与干预:** 将114只大鼠随机分成对照组( $n=6$ )、模型组( $n=36$ )、生理盐水组( $n=36$ )、药物组( $n=36$ ), 除对照组外, 对所有大鼠实施双侧坐骨神经切断吻合术, 再给予抗生素预防术区感染。药物组大鼠术后肌注CNTF 100 ng/kg, 1次/d, 生理盐水组肌注等量生理盐水。

**术后观察及组织标本制备:** 术后对大鼠进行大体观察。术后1, 3, 7, 14, 21, 28 d取对照组1只大鼠, 其于各组6只大鼠, 麻醉固定后取L<sub>4-6</sub>节段脊髓约1 cm, 石蜡包埋, 切片, 每只大鼠每种染色选2张切片。

**苏木精-伊红染色:** 切片经脱蜡至水、行苏木精-伊红染色, 在100倍镜下统计脊髓前角运动神经元总数, 200倍镜下观察运动神经元细胞形态变化。

**免疫组织化学染色:** 按照免疫组化染色试剂盒说明书进行染色, 在200倍镜下观察GFAP的表达, 100倍镜下采集图像并对其阳性表达产物进行平均吸光度测定。

**TUNEL染色:** 按照细胞凋亡检测试剂盒说明书进行染色, 100倍镜下观察切片, 统计阳性细胞数量。

**设计、实施、评估者:** 设计及实施由全体作者完成, 评估由第一作者完成, 均经过系统培训。

**统计学分析:** 由第二作者采用SPSS 13.0软件进行统计学分析, 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 差表示。各组均数之间比

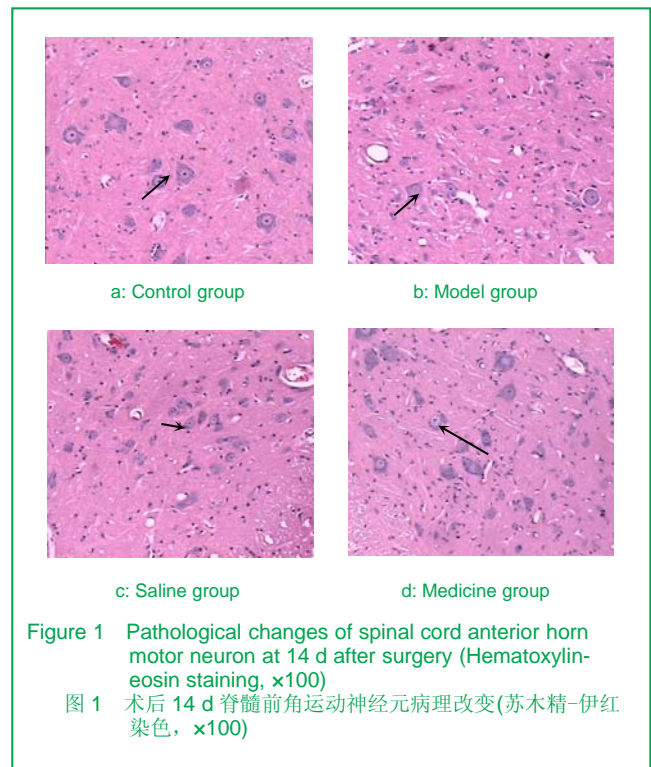
较用方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

## 2 结果

**2.1 实验动物数量分析** 实验共纳入114只大鼠, 均进入结果分析。

**2.2 术后表现** 模型组、生理盐水组大鼠双后肢出现水肿、自噬、臀部肌肉萎缩等现象及运动障碍, 如前后肢运动不协调、躯体重心不稳等。而药物组出现上述症状时间晚、程度轻, 并能较早恢复。模型组、生理盐水组大鼠在3周左右双后肢的运动功能有不同程度恢复, 药物组则在一两周就有所恢复。

**2.3 病理改变** 正常大鼠运动神经元为较大紫红色不规则块状, 胞突较多, 中央有一个大而圆或卵圆形的胞核, 核膜清楚, 核内染色质少, 有明显的核仁。术后运动神经元胞核偏位, 细胞数目减少, 出现空泡细胞。术后7 d各组神经元数量开始明显减少, 以14 d减少最为明显, 见图1。术后3 d开始, 药物组神经元计数明显多于模型组和生理盐水组( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ), 见表1。



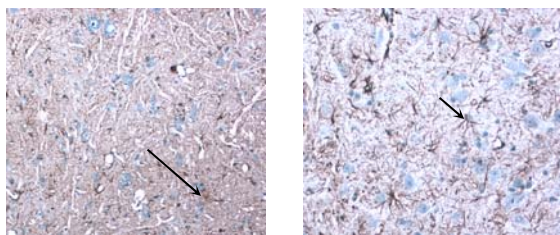
**2.4 大鼠脊髓GFAP的表达** 正常大鼠光镜下可见胞浆呈明显黄棕色的星形胶质细胞, 胞体突起较多, 核较小, 呈圆形或椭圆形, 染色质少。术后星形胶质细胞胞体大, 胞体突起分枝多且粗大, 见图2。统计学结果显示, 从术后1 d开始模型组、生理盐水组和药物组GFAP表达开始升高, 14 d时达高峰, 且药物组GFAP表达量明显高于模型组和生理盐水组( $P < 0.01$ ), 模型组、生理盐水组GFAP高表达仅持续到14 d, 到28 d时基本恢

恢复正常, 而药物组到28 d时表达水平仍然很高, 见表2。

表1 脊髓前角运动神经元计数结果  
Table 1 Counts of spinal cord anterior horn motor neuron ( $\bar{x}\pm s, n$ )

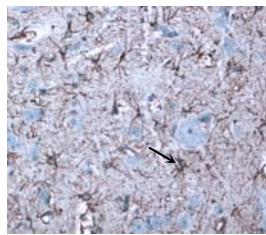
Time (d)	Control group	Model group	Saline group	Medicine group
1	121.50±4.18	118.67±4.08	119.17±4.62	121.83±3.87
3	119.83±7.00	112.33±5.99	113.83±4.02	117.17±3.06
7	121.83±7.62	104.33±4.18	102.67±4.93	111.33±4.27 <sup>ac</sup>
14	121.67±7.58	89.67±4.18	88.67±2.94	101.83±5.81 <sup>bc</sup>
21	125.00±6.36	78.67±3.83	77.17±2.86	94.83±4.45 <sup>bc</sup>
28	123.33±6.62	71.33±1.37	70.83±3.92	90.17±4.17 <sup>bc</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ , vs. model group; <sup>c</sup> $P < 0.01$ , vs. saline group

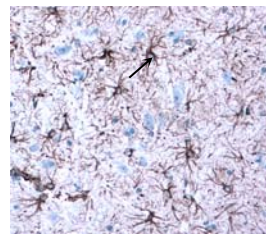


a: Control group

b: Model group



c: Saline group



d: Medicine group

Figure 2 Expression of glia fibrillary acidic protein (GFAP) in spinal cord anterior horn at 14 d after surgery (Immunohistochemical staining,  $\times 100$ )

图2 术后14 d大鼠脊髓前角GFAP的表达(免疫组化染色,  $\times 100$ )

表2 脊髓GFAP免疫组化染色平均吸光度分析  
Table 2 Mean absorbance of spinal cord glia fibrillary acidic protein (GFAP) ( $\bar{x}\pm s, A$ )

Time (d)	Control group	Model group	Saline group	Medicine group
1	1.01±0.10	3.21±0.16	3.30±0.20	3.87±0.18 <sup>ab</sup>
3	0.98±0.10	4.30±0.26	4.37±0.16	5.56±0.31 <sup>ab</sup>
7	1.00±0.09	5.89±0.20	6.06±0.16	7.72±0.28 <sup>ab</sup>
14	0.97±0.06	7.83±0.22	8.12±0.22	9.92±0.23 <sup>ab</sup>
21	1.02±0.07	5.94±0.15	6.13±0.17	7.64±0.26 <sup>ab</sup>
28	1.04±0.13	4.22±0.25	4.41±0.23	5.62±0.29 <sup>ab</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.01$ , vs. model group; <sup>b</sup> $P < 0.01$ , vs. saline group

**2.5 大鼠脊髓神经元凋亡情况** 光镜下, 脊髓凋亡前角运动神经元细胞阳性表达在细胞核, 表现为细胞核呈棕黄色, 染色质呈浓聚致密的斑点状, 核固缩, 细胞皱缩、碎裂。对照组未见TUNEL阳性运动神经元。模型组、

生理盐水组和药物组术后1 d即出现TUNEL染色阳性细胞, 14 d达高峰, 21 d时明显减少。药物组凋亡细胞较模型组和生理盐水组明显减少( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ), 见表3。

表3 脊髓前角凋亡细胞计数结果  
Table 3 Counts of apoptotic cells in anterior horn of spinal cord ( $\bar{x}\pm s, n$ )

Time (d)	Control group	Model group	Saline group	Medicine group
1	0.00±0.00	0.67±0.52	0.83±0.41	0.67±0.52
3		2.50±0.55	2.67±0.82	1.67±0.52 <sup>ac</sup>
7		5.33±1.03	5.67±0.82	3.17±0.75 <sup>bd</sup>
14		10.17±1.47	10.50±1.38	6.17±0.75 <sup>bd</sup>
21		6.83±1.17	7.17±0.75	3.50±0.55 <sup>bd</sup>
28		6.50±1.05	6.67±0.82	3.17±0.75 <sup>bd</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ , vs. model group; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ , vs. saline group

### 3 讨论

CNTF是脊髓损伤后促进存活因子<sup>[16]</sup>, 能挽救睫状、运动、感觉等受损伤的神经细胞。CNTF在中枢和周围神经系统中的许旺细胞和星形胶质细胞胞浆中表达, 对运动神经元在内的神经细胞有广泛的作用<sup>[17]</sup>。研究表明: 在体注射CNTF可见原浆型星形胶质细胞和纤维型星形胶质细胞的胞体和胞核均肥大<sup>[18]</sup>; 脊髓损伤后应用外源性CNTF治疗能使损伤脊髓GFAP免疫反应和GFAP mRNA、蛋白高表达, 并能促进大鼠功能的恢复<sup>[19]</sup>。CNTF缺陷型鼠到成年期后运动神经元大量丢失, 说明CNTF对体内运动神经元的生长和发育起很重要的作用<sup>[20]</sup>。

GFAP一直被认为是星形胶质细胞的特异性标记物<sup>[21]</sup>。坐骨神经切断后星形胶质细胞迅速反应, GFAP表达出现在灰质<sup>[22]</sup>。在正常生理情况下, 少数星形胶质细胞发生增殖, 维持正常的生理代谢<sup>[23]</sup>, 有助于神经元与环境间物质交换, 为神经元提供营养, 调节突触信号传递, 保持神经元细胞周围稳定的环境。星形胶质细胞中的线粒体是细胞能量代谢及氨基酸类神经递质前体合成的主要场所, 这些均与神经元的存活有关<sup>[24]</sup>。星形胶质细胞能合成和释放十八烯酸、乳酸盐、枸橼酸盐、成纤维细胞生长因子和雌激素等物质, 对神经元有着重要的营养和保护作用<sup>[11]</sup>。星形胶质细胞释放的枸橼酸盐是低血糖时神经元的重要能量物质<sup>[25]</sup>。突变小鼠的体内实验表明, 星形胶质细胞过表达成纤维细胞生长因子2能明显降低6-羟多巴对多巴胺能神经元的毒性作用<sup>[26]</sup>。将人类胎儿期中脑星形胶质细胞和胚胎干细胞混合培养能促进sonichedgehog和成纤维细胞生长因子8诱导的人类胚胎干细胞的多巴胺能神经元的产生, 将分化产生的多巴胺能神经元注射到新纹状体能明显改善6-羟

多巴损伤引起的帕金森病模型大鼠的运动功能<sup>[27]</sup>。在神经元和星形胶质细胞共培养时, 短暂激活星形胶质细胞上的P2Y受体, 也可增强神经元抵抗氧化应激损伤的能力<sup>[28]</sup>。在C型Niemann-Pick病小鼠体内, 降低星形胶质细胞雌激素的释放将促进神经退行性变<sup>[29]</sup>。

实验观察到, 双侧坐骨神经切断吻合术后, 大鼠脊髓L<sub>4-6</sub>前角星形胶质细胞发生反应性变化, 胞体变大, GFAP深染阳性, 突起变粗, 形成反应性星形胶质细胞。神经元和胶质细胞之间互相作用, 对生理刺激起反应的星形胶质细胞与神经元之间相互紧密接触形成复合体样结构<sup>[30-31]</sup>。实验通过对脊髓前角吸光度测定发现药物组各时间点GFAP表达均明显高于模型组和生理盐水组, 各组GFAP表达14 d时达高峰, 且药物组到28 d时GFAP表达水平仍然很高。同时药物组神经元凋亡明显减少, 说明当周围神经损伤时, 其相应脊髓节段的神经元会发生凋亡, 这可能会严重影响神经功能恢复, 而星形胶质细胞在保护和修复损伤神经元方面起着相当重要的作用, 可以减少神经元凋亡的发生。当损伤发生时, 星形胶质细胞迅速反应, 对神经元发挥及时的保护作用<sup>[21]</sup>。而应用CNTF可以促进星形胶质细胞的这一作用, 更好的保护神经元, 避免其过度凋亡影响神经功能的恢复。应用CNTF后GFAP表达增高, 但是这种骨架蛋白在促进胶质增生的同时也导致了胶质瘢痕的形成, 所以还需要进一步探索CNTF的应用时间与剂量, 以达到最佳治疗效果。

#### 4 参考文献

[1] Blackburn D, Sargsyan S, Monk PN, et al. Astrocyte function and role in motor neuron disease: a future therapeutic target? *Glia*. 2009;57(12):1251-1264.

[2] Yang H, Guan YY. *Zhongguo Yaolixue Tongbao*. 2009;25(3):284-286.  
杨慧, 关永源. 星形胶质细胞在脑缺血性疾病中的神经保护机制[J]. *中国药理学通报*, 2009, 25(3):284-286.

[3] Rong J, Zhang SH. Effects of coriaria lactone-activated, astrocyte-conditioned medium on estrogen receptor and progesterone receptor expression in rat cortical and hippocampal neurons. *Neural Regen Res*. 2009;4(2):144-147.

[4] Wang JB, Zu KQ. *Zhejiang Daxue Xuebao: Yixue Ban*. 2008;37(5):531-536.  
王建彪, 竺可青. 星形胶质细胞对神经元作用的研究进展[J]. *浙江大学学报: 医学版*, 2008, 37(5):531-536.

[5] Ferri A, Nencini M, Casciati A, et al. Cell death in amyotrophic lateral sclerosis: interplay between neuronal and glial cells. *FASEB J*. 2004;18(11):1261-1263.

[6] Li SQ, Luo HY. *Zhongguo Bingli Shengli Zazhi*. 2008;24(6):1090-1095.  
李树清, 罗海芸. 缺血后适应对树鼯海马CA1区脑血流及星形胶质细胞活化的影响及可能机制[J]. *中国病理生理杂志*, 2008, 24(6):1090-1095.

[7] Stöckli KA, Lillien LE, Näher-Noé M, et al. Regional distribution, developmental changes, and cellular localization of CNTF-mRNA and protein in the rat brain. *Cell Biol*. 1991;115(2):447-459.

[8] Sendtner M, Stöckli KA, Thoenen H. Synthesis and localization of ciliary neurotrophic factor in the sciatic nerve of the adult rat after lesion and during regeneration. *Cell Biol*. 1992;118(1):139-148.

[9] Michalski B, Bain JR, Fahnstock M. Long-term changes in neurotrophic factor expression in distal nerve stump following denervation and reinnervation with motor or sensory nerve. *Neurochem*. 2008;105(4):1244-1252.

[10] Barbin G, Manthorpe M, Varon S. Purification of the chick eye ciliary neurotrophic factor. *Neurochem*. 1984;43(5):1468-1478.

[11] Lin LF, Mismar D, Lile JD, et al. Purification, cloning, and expression of ciliary neurotrophic factor (CNTF). *Science*. 1989;

246(4933):1023-1025.

[12] Arakawa Y, Sendtner M, Thoenen H. Survival effect of ciliary neurotrophic factor (CNTF) on chick embryonic motoneurons in culture: comparison with other neurotrophic factors and cytokines. *Neurosci*. 1990;10(11):3507-3515.

[13] Xiong ZY, Li X, Zhao SQ. *Sichuan Tiyu Kexue*. 2009;6(2):27-30.  
熊正英, 李霞, 赵书勤. 睫状神经营养因子(CNTF)在运动人体科学中的研究展望[J]. *四川体育科学*, 2009, 6(2):27-30.

[14] Hashimoto Y, Abiru Y, Nishio C, et al. Synergistic effects of brain-derived neurotrophic factor and ciliary neurotrophic factor on cultured basal forebrain cholinergic neurons from postnatal 2-week-old rats. *Brain Res Dev Brain Res*. 1999;115(1):25-32.

[15] 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.

[16] Levison SW, Ducceschi MH, Young GM, et al. Acute exposure to CNTF in vivo induces multiple components of reactive gliosis. *Exp Neurol*. 1996;141(2):256-268.

[17] Sleeman MW, Anderson KD, Lambert PD, et al. The ciliary neurotrophic factor and its receptor, CNTFR alpha. *Pharm Acta Helv*. 2000;74(2-3):265-272.

[18] Hudgins SN, Levison SW. Ciliary neurotrophic factor stimulates astroglial hypertrophy in vivo and in vitro. *Exp Neurol*. 1998;150(2):171-182.

[19] Zhang Q, Liao WH, Wu YM, et al. *Disan Junyi Daxue Xuebao*. 2000;22(5):447-480.  
张强, 廖维宏, 伍亚民, 等. 睫状神经营养因子对大鼠脊髓损伤后GFAP表达的影响[J]. *第三军医大学学报*, 2000, 22(5):447-480.

[20] Ip NY, McClain J, Barrezueta NX, et al. The alpha component of the CNTF receptor is required for signaling and defines potential CNTF targets in the adult and during development. *Neuron*. 1993;10(1):89-102.

[21] Zhang GY, Duan L, Rao ZR, et al. *Zhongguo Shenjing Kexue Zazhi*. 2003;19(6):345-348.  
张光运, 段丽, 饶志仁, 等. 大鼠坐骨神经切断后腰脊髓腹角内胶质细胞和神经元的可塑性变化[J]. *中国神经科学杂志*, 2003, 19(6):345-348.

[22] Gilmore SA, Sims TJ, Leiting JE. Astrocytic reactions in spinal gray matter following sciatic axotomy. *Glia*. 1990;3(5):342-349.

[23] Chen B, Wang W. *Shandong Yiyao*. 2007;47(22):3-4.  
陈彬, 王伟. 成年大鼠神经元和星形胶质细胞细胞周期蛋白依赖激酶的表达[J]. *山东医药*, 2007, 47(22):3-4.

[24] Häberg A, Qu H, Sonnewald U. Glutamate and GABA metabolism in transient and permanent middle cerebral artery occlusion in rat: importance of astrocytes for neuronal survival. *Neurochem Int*. 2006;48(6-7):531-540.

[25] Meshitsuka S, Aremu DA. <sup>13</sup>C heteronuclear NMR studies of the interaction of cultured neurons and astrocytes and aluminum blockade of the preferential release of citrate from astrocytes. *Biol Inorg Chem*. 2008;13(2):241-247.

[26] Timmer M, Cesnulevicius K, Winkler C, et al. Fibroblast growth factor (FGF)-2 and FGF receptor 3 are required for the development of the substantia nigra, and FGF-2 plays a crucial role for the rescue of dopaminergic neurons after 6-hydroxydopamine lesion. *Neurosci*. 2007;27(3):459-471.

[27] Roy NS, Cleren C, Singh SK, et al. Functional engraftment of human ES cell-derived dopaminergic neurons enriched by coculture with telomerase-immortalized midbrain astrocytes. *Nat Med*. 2006;12(11):1259-1268.

[28] Wu J, Holstein JD, Upadhyay G, et al. Purinergic receptor-stimulated IP3-mediated Ca<sup>2+</sup> release enhances neuroprotection by increasing astrocyte mitochondrial metabolism during aging. *Neurosci*. 2007;27(24):6510-6520.

[29] Chen G, Li HM, Chen YR, et al. Decreased estradiol release from astrocytes contributes to the neurodegeneration in a mouse model of Niemann-Pick disease type C. *Glia*. 2007;55(15):1509-1518.

[30] Duan L, Tian GH, Rao ZR. *Shenjing Jiepouxue Zazhi*. 2001;17(2):175-178.  
段丽, 田国红, 饶志仁. 大鼠脑内星形胶质细胞对渗透压改变的反应及其和神经元的相互关系[J]. *神经解剖学杂志*, 2001, 17(2):175-178.

[31] Alvarez-Maubecin V, Garcia-Hernandez F, Williams JT, et al. Functional coupling between neurons and glia. *Neurosci*. 2000;20(11):4091-4098.

#### 来自本文课题的更多信息——

**致谢:** 感谢华北煤炭医学院骨科研究所为实验提供显微手术器械; 感谢学院基础部形态实验室老师对实验提供的详细指导。

**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。