脑源性神经营养因子基因修饰骨髓间质干细胞移植痴呆大鼠大脑皮质及海马tau蛋白、β-淀粉样蛋白及神经元超微结构的变化*☆

魏昌秀[1]，代 宏[1]，陈松林[2]

Effects of bone marrow mesenchymal stem cells modified with brain-derived neurotrophic factor gene on tau protein, beta-amyloid and neuronal ultrastructure in the cerebral cortex and hippocampus of an Alzheimer's disease rat

Wei Chang-xiu[1], Dai Hong[1], Chen Song-lin[2]

Abstract

BACKGROUND: Our previous studies indicted that bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) modified by brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene could ameliorate the memory function of Alzheimer's disease (AD) rat.
OBJECTIVE: To observe the effect of BDNF gene-modified BMSCs transplantation on tau protein phosphorylation and beta-amyloid (Aβ) in the cerebral cortex and hippocampus, and neuron ultrastructure in the hippocampal CA1 region of AD model rat.
METHODS: After AD models were established by Aβ stereotactic injection into lateral cerebral ventricle, BDNF modified and unmodified BMSCs were implanted into AD model. One month after transplantation, the expressions of total tau protein and tau hyperphosphrylation in cerebral cortex and hippocampus were detected using Western blotting method. Aβ 40 and Aβ 42 were detected by enzyme-linked immunosorbent assay, and the hippocampal CA1 neuron ultrastructures were observed *via* transmission electron microscope.
RESULTS AND CONCLUSION: BDNF-modified BMSCs could decrease expression of total tau protein and tau hyperphosphrylation in the cerebral cortex and hippocampus and reduce Aβ 40 and Aβ 42 expression in the cerebral cortex and hippocampus. In AD model group, there were obvious degeneration of organells, such as disruption of rough endoplasmic reticulum, reduction of ribosome, mitochondrial swelling, blurred nuclear membrane. BDNF-modified BMSCs could reduce above-described changes. Its effect was more significant than unmodified BMSCs group.

Wei CX, Dai H, Chen SL. Effects of bone marrow mesenchymal stem cells modified with brain-derived neurotrophic factor gene on tau protein, beta-amyloid and neuronal ultrastructure in the cerebral cortex and hippocampus of an Alzheimer's disease rat.Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(45): 8421-8425.
[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景：课题组前期的研究表明，重组脑源性神经营养因子基因修饰的骨髓间质干细胞脑内移植可以改善阿尔茨海默病鼠的认知功能。
目的：观察脑源性神经营养因子基因修饰的骨髓间充质干细胞移植对阿尔茨海默病鼠大脑皮质及海马 tau 蛋白磷酸化、β-淀粉样蛋白及海马 CA1 区神经元超微结构的影响。
方法：采用侧脑室立体定向注射β-淀粉样肽建立阿尔茨海默病动物模型，取单纯或经脑源性神经营养因子基因修饰的骨髓间质干细胞移植，1 个月后采用 Western bloting 方法检测大脑皮质及海马组织总 tau 蛋白及磷酸化的 tau 蛋白表达，以 ELISA 方法检测β-淀粉样蛋白 40，β-淀粉样蛋白 42 含量，同时透射电镜观察海马 CA1 区神经元超微结构的变化。
结果与结论：①脑源性神经营养因子修饰的骨髓间质干细胞能够降低大脑皮质及海马组织总 tau 蛋白及磷酸化的 tau 蛋白表达，降低大脑皮质及海马β-淀粉样蛋白 40 和β-淀粉样蛋白 42 表达。②模型组大鼠海马 CA1 区神经元出现粗面内质网扩张、膜断裂，线粒体数目减少、线粒体肿胀、核膜不清等改变，脑源性神经营养因子基因修饰的骨髓间质干细胞对上述改变有减轻作用，较骨髓间质干细胞未修饰组明显。
关键词：骨髓间充质干细胞；脑源性神经营养因子；基因修饰；阿尔茨海默病；tau；β-淀粉样蛋白
doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.45.015

魏昌秀，代宏，陈松林. 脑源性神经营养因子基因修饰骨髓间质干细胞移植痴呆大鼠大脑皮质及海马 tau 蛋白、β-淀粉样蛋白及神经元超微结构的变化[J].中国组织工程研究与临床康复，2010，14(45):8421-8425.
[http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

[1]Department of Neurology, Guizhou People's Hospital, Guiyang 550002, Guizhou Province, China; [2]Department of Neurology, Huangpu Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510700, Guangdong Province, China

Wei Chang-xiu☆, Doctor, Associate chief physician, Department of Neurology, Guizhou People's Hospital, Guiyang 550002, Guizhou Province, China
weichangxiu@yahoo.com.cn

Supported by: the Nomarch Foundation Program of Excellent Science and Technology Talents of Guizhou Province, No. (2005)231*

Received: 2010-08-06
Accepted: 2010-10-07

[1]贵州省人民医院神经内科，贵州省贵阳市550002；[2]中山大学黄埔医院神经内科，广东省广州市 510700

魏昌秀☆，女，1973年生，贵州省毕节市人，汉族，2004年中山大学毕业，博士，副主任医师，主要从事痴呆、脑血管病方面的研究。
weichangxiu@yahoo.com.cn

中图分类号:R394.2
文献标识码:B
文章编号:1673-8225(2010)45-08421-05

收稿日期: 2010-08-06
修回日期: 2010-10-07
(20100806014/M · Q)

0 引言

阿尔茨海默病(Alzheimer disease，AD)最早表现是海马病变所致的记忆缺损，接着是大脑皮质病变，最终导致记忆减退及语言、空间等认知功能降低。AD的病理特征包括大脑局部尤其是海马和皮质神经元退行性变化，细胞内神经原纤维缠结和细胞外老年斑沉积[1-2]，其中老年斑的主要毒性成分为β-淀粉样蛋白(β-amyloid，Aβ)，神经纤维缠结的主要成分为磷酸化的tau蛋白。

课题组前期的研究发现脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor，BDNF)

基因修饰骨髓间充质干细胞(bone marrow derived stroma cell，BMSCs)移植治疗AD模型大鼠，可明显改善学习记忆功能[3]，本实验进一步研究BDNF基因修饰BMSCs移植对AD模型大鼠大脑皮质及海马组织tau蛋白磷酸化、Aβ含量以及神经元超微结构的影响，为BMSCs移植和基因治疗AD的临床应用提供实验基础。

1 材料和方法

设计：随机对照，细胞学观察和蛋白分子水平检测。

时间及地点：实验于2007-06/2008-03在中山大学第一附属医院神经病学实验室及贵阳医学院病理科完成。

材料：

实验动物：清洁级雄性SD大鼠48只，体质量210~260 g，由中山大学医学院实验动物中心提供，动物合格证号：粤监证字2005A060。出生3 d的清洁级SD大鼠10只，由中山大学医学院实验动物中心提供，动物合格证号：0008782。

主要试剂和仪器：

试剂及仪器	来源
Aβ40，Aβ42 Elisa 试剂盒	福建迈新生物开发技术有限公司
多克隆兔抗鼠 IgG p-tau (Ser199/202)	武汉博士德公司
单克隆小鼠抗大鼠 IgG tau-5	BD Pharmingen 公司
全自动图像分析系统	德国 KONTRON IBAS 2.0
倒置显微镜	LEICA

实验方法：

BMSCs分离培养：取出生3 d的SD大鼠后肢股骨骨髓，制备、接种、培养、传代制备BMSCs[3]。

BDNF基因修饰BMSCs：参照文献[4]方法构建BDNF重组复制缺陷型腺病毒，经激光共聚焦显微镜观察，标记基因绿色荧光蛋白和目的基因BDNF在BMSCs均有表达[3]。

动物造模及分组：选取清洁级雄性SD大鼠48只，随机数字表法分为4组：正常对照组、损伤模型组、BDNF基因修饰组、BMSCs未修饰组，每组12只。除正常对照组外，其余3组大鼠左侧脑室立体定向注射β-淀粉样肽建立阿尔茨海默病动物模型。

脑内细胞移植：造模后12 d，分别将BDNF基因修饰的BMSCs、未修饰的BMSCs侧脑室注射至BDNF基因修饰组、BMSCs未修饰组大鼠。正常对照组和损伤模型组不予干预。实验时间1个月，结束后进行以下检测。

Western blotting方法检测大脑及海马组织总tau蛋白以及磷酸化tau蛋白的表达：动物麻醉后立即冰上断头取海马及皮质置-70 ℃冰箱备用，取出标本按照1∶9加入匀浆缓冲液，冰上裂解，匀浆，15 000 r/min离心30 min，取上清，以考马斯亮蓝G250结合法测定样品蛋白含量。等量蛋白样品经10%SDS-PAGE分离后，电转至硝酸纤维素膜上，5%脱脂奶粉封闭4 ℃过夜，加一抗(分别为单克隆小鼠抗大鼠IgG tau-5，多克隆兔抗鼠IgG p-tau Ser199/202)室温摇晃2 h，加辣根过氧化物酶标记的二抗室温摇晃1 h，以上步骤间用TTBS洗10 min 3次。暗室内增强的化学发光反应显色，X射线片曝光，显影，定影，底片用JVC ky-F30B 3-CD图像摄录输入仪输入计算机，以德国KONTRON IBAS 2.0全自动图像分析系统进行图像分析，分别以 tau各条带的OPTDI(面积与平均吸光度之乘积)与β-actin的OPTDI的比值作为其相对表达量。

ELISA方法检测大脑及海马Aβ40，Aβ42含量：冰上迅速分离海马及大脑皮质，按照2.5 mL/g加入相当体积的冰生理盐水，用匀浆器将组织研磨，然后冰浴下超声粉碎制成匀浆，4 ℃下10 000 r/min离心10 min，取上清液。严格按照Aβ检测试剂盒说明书进行操作。

海马CA1区超微结构观察：取一侧海马，电镜固定液固定，戊二醛、锇酸双固定，系列乙醇梯度脱水，环氧丙烷过渡，Ep812包埋，切片，醋酸双氧铀、硝酸铅双重染色、透射电镜观察。

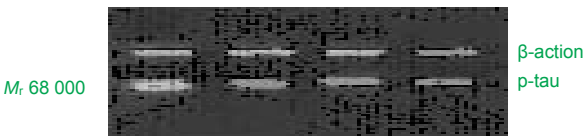
主要观察指标：观察大脑皮质及海马总tau蛋白以及磷酸化tau蛋白的表达、Aβ40，Aβ42含量以及海马CA1区超微结构的变化。

统计学分析：采用SPSS 11.0统计软件进行。使用方差分析，$P < 0.05$为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 参加实验动物48只，中途造模过程模型组死亡1只，为了各组数量一致，最终进入结果分析动物44只，每组11只。

2.2 Western boltting 方法检测p-tau(Ser199/ 202)及tau-5蛋白的表达 损伤模型组大脑皮质及海马总tau及磷酸化tau明显升高，与BMSCs未修饰组、BDNF修饰组、正常对照组相比差异有显著性意义($P < 0.01$)，而BMSCs未修饰组、BDNF修饰组、正常对照组之间差异无显著性意义($P > 0.05$)。见图1，2，表1。



1: Model group; 2: Unmodified MSCs group; 3: BDNF modified MSCs group; 4: Normal group

Figure 1 Expression of p-tau in each group
图 1 各组 p-tau 表达

1: Model group; 2: Unmodified MSCs group; 3: BDNF modified MSCs group; 4: Normal group

Figure 2 Expression of tau-5 in each group
图 2 各组 tau-5 表达

表 1 各组大脑皮质及海马 p-tau(Ser199/202)和 tau-5 的表达量
Table 1 Expression of p-tau (Ser199/202) and tau-5 in the cerebral cortex and hippocampus in each group ($\bar{x}\pm s$, n=11)

Group	p-tau	Tau-5
Normal	1.42±0.22[a]	1.43±0.24[a]
BDNF modified BMSCs	1.63±0.33[a]	1.27±0.26[a]
Unmodified BMSCs	1.84±0.61[a]	1.44±0.26[a]
Model	2.81±0.74	2.97±0.05

BDNF: brain-derived neurotrophic factor; BMSCs: bone marrow mesenchymal stem cells; [a]P < 0.01, *vs*. model group

2.3 ELISA方法检测大脑皮质及海马Aβ表达 见表2。

表 2 各组大脑皮质及海马 Aβ的表达量
Table 2 Expression of beta-amyloid (Aβ) in the cerebral cortex and hippocampus in each group ($\bar{x}\pm s$, n=10)

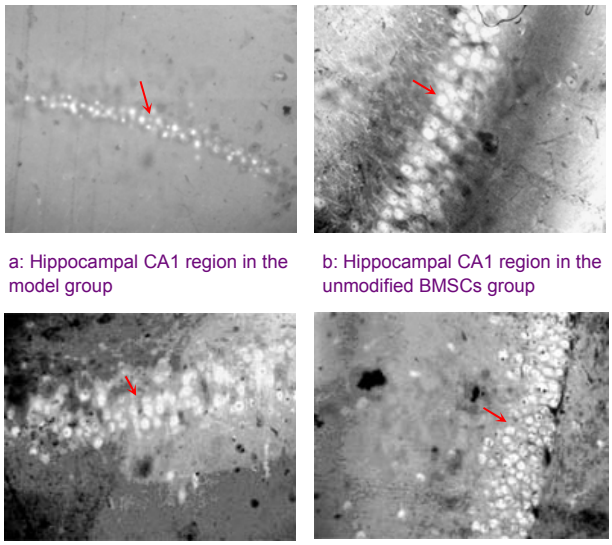
Group	Aβ40 (pg/mg)	Aβ42 (pg/mg)
Normal	58.42±4.82[ab]	72.43±5.24[ab]
BDNF modified BMSCs	63.83±5.33[ac]	77.17±6.26[ac]
Unmodified BMSCs	69.14±6.21[a]	83.44±6.26[a]
Model	79.81±6.74	93.97±7.05

BDNF: brain-derived neurotrophic factor; BMSCs: bone marrow mesenchymal stem cells; [a]P < 0.01, *vs*. model group; [b]P < 0.01, [c]P < 0.05, *vs*. unmodified BMSCs group

模型组大脑皮质及海马Aβ40，Aβ42表达最高，与BMSCs未修饰组、BDNF修饰组、正常对照组相比差异有显著性意义(P < 0.01)，BMSCs未修饰组表达量较高，与BDNF修饰组、正常对照组相比差异有显著性意义(P < 0.05，或P < 0.01)，而BDNF修饰组与正常对照组之间差异无显著性意义(P > 0.05)。

2.4 海马CA1区神经元超微结构的影响

光学显微镜观察：模型组海马CA1区细胞层数最少，细胞面积最小，细胞间距离较大。正常对照组海马CA1区细胞层数最多，胞体面积最大，细胞间联系密切，间距小。BDNF修饰组、BMSCs未修饰组介于两者之间，且BDNF修饰组细胞层数和胞体面积较BMSCs未修饰组多。见图3。



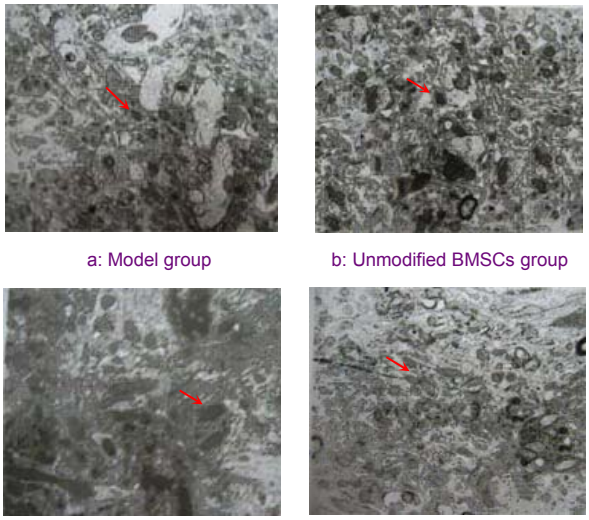
a: Hippocampal CA1 region in the model group
b: Hippocampal CA1 region in the unmodified BMSCs group
c: Hippocampal CA1 region in the BDNF modified BMSCs group
d: Hippocampal CA1 region in the normal group

BDNF: brain-derived neurotrophic factor; BMSCs: bone marrow mesenchymal stem cells

Figure 3 Structures of hippocampal CA1 region under light microscope in each group (×200)
图 3 光镜下各组海马 CA1 区结构(×200)

透射电子显微镜观察：

海马CA1区神经细胞：模型组神经纤维突起较少，细胞器结构较模糊，细胞周围空洞明显。正常对照组神经纤维突起明显增多，细胞器结构较清晰，细胞周围空洞不明显。BDNF修饰组及BMSCs未修饰组处于两者之间，且BDNF修饰组较BMSCs未修饰组神经纤维突起多，细胞结构清晰，见图4。



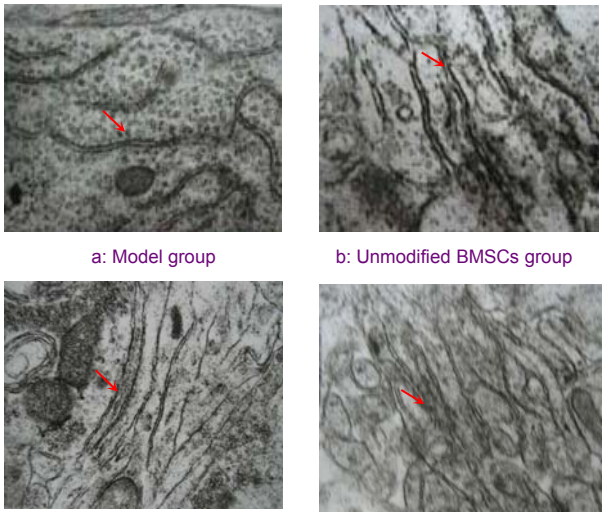
a: Model group
b: Unmodified BMSCs group
c: BDNF modified BMSCs group
d: Normal group

BDNF: brain-derived neurotrophic factor; BMSCs: bone marrow mesenchymal stem cells

Figure 4 Neuronal structures in the hippocampal CA1 region under electron microscope in each group (×1 000)
图 4 电镜下各组海马 CA1 区神经元观察(×1 000)

粗面内质网及核糖体变化：模型组粗面内质网偶有

扩张或膜结构断裂，核糖体数目明显减少。正常对照组粗面内质网发育尚好，核糖体较多。BDNF修饰组及BMSCs未修饰组处于两者之间，且BDNF修饰组较BMSCs未修饰组核糖体数目多，膜结构完整，见图5。



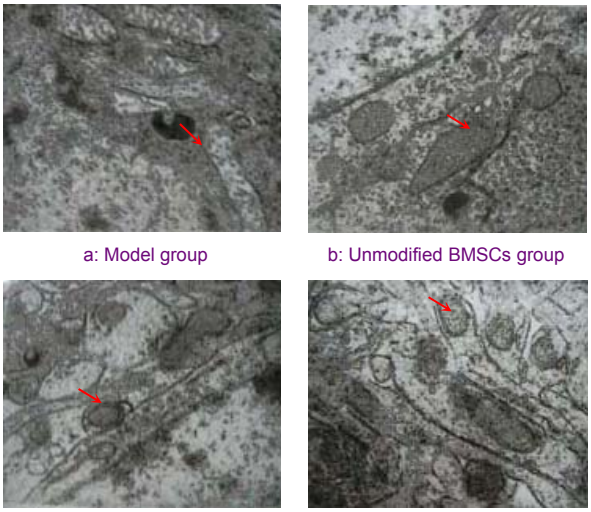
a: Model group　b: Unmodified BMSCs group

c: BDNF modified BMSCs group　d: Normal group

BDNF: brain-derived neurotrophic factor; BMSCs: bone marrow mesenchymal stem cells

Figure 5　Neuron rough endoplasmic reticulum and ribosome changes in different groups (×2 000)
图 5　各组神经元粗面内质网和核糖体变化(×2 000)

线粒体变化：模型组线粒体肿胀、核膜增厚，嵴断裂或萎缩成中空状。正常对照组线粒体数目最多，无明显肿胀，核膜完整。BDNF修饰组及BMSCs未修饰组偶见线粒体肿胀及嵴断裂，无明显空泡化，且BDNF修饰组上述变化较BMSCs未修饰组轻，见图6。



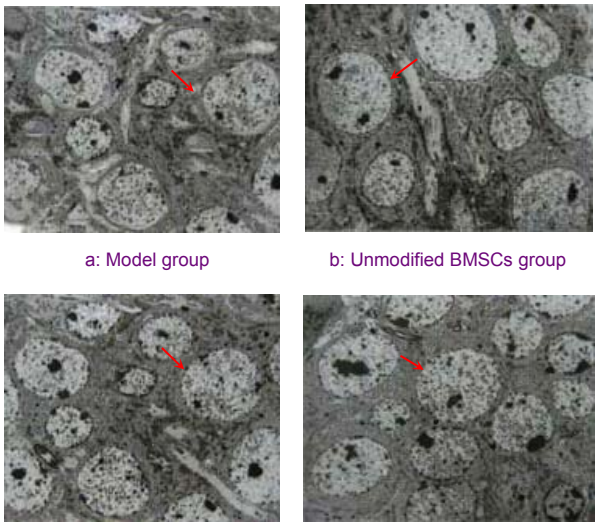
a: Model group　b: Unmodified BMSCs group

c: BDNF modified BMSCs group　d: Normal group

BDNF: brain-derived neurotrophic factor; BMSCs: bone marrow mesenchymal stem cells

Figure 6　Neuron mitochondrion changes in different groups (×2 000)
图 6　各组神经元线粒体变化(×2 000)

细胞核：模型组细胞核核膜模糊，核周池不清，染色质呈凝聚样改变，核周空泡明显。正常对照组细胞核核膜清晰，染色质正常，无核周空泡。BDNF修饰组及BMSCs未修饰组介于二者之间，且BDNF修饰组上述变化较BMSCs未修饰组轻，见图7。



a: Model group　b: Unmodified BMSCs group

c: BDNF modified BMSCs group　d: Normal group

BDNF: brain-derived neurotrophic factor; BMSCs: bone marrow mesenchymal stem cells

Figure 7　Neuron nucleus changes in different groups (×2 000)
图 7　各组神经元细胞核变化(×2 000)

3　讨论

很多证据表明Aβ是诱导AD发生的主要病理环节。①几乎在所有AD患者脑中都发现了大量淀粉样斑块沉积和神经末梢退化等改变，而在与学习记忆相关区域斑块数量直接与脑损害程度成正比[5]。②在已发现的4个AD基因中，APP，PS1，PS2的变异都导致Aβ生成增多[6-7]。③Aβ可通过引起氧化应激和Ca^{2+}超载，激活细胞内凋亡因子，使线粒体发生肿胀，导致线粒体功能障碍，造成mtDNA缺失或突变，影响细胞色素氧化酶的活性，导致神经元能量代谢障碍，从而发生神经元退行性变[8-9]。④Aβ可以启动线粒体途径的细胞凋亡程序引起神经元凋亡[10]。⑤Aβ还可激活神经胶质细胞，释放细胞因子和炎症递质，产生炎症反应，从而损伤神经细胞[11]。神经纤维缠结主要成分为成对螺旋丝，tau蛋白是组成成对螺旋丝/神经纤维缠结的惟一必需成分。Tau蛋白过度磷酸化不仅使其本身促微管组装活性降低，还通过消耗正常tau、微管相关蛋白MAP1和MAP2进一步破坏微管，导致神经元功能紊乱和退行性变。已报道明确的磷酸化位点有超过30个，其中Ser199/202位点高度磷酸化在一些实验模型中被认为是tau早期磷酸化的标志。同时该位点过度磷酸化被认为是AD经纤维缠结的早期状

态[12]。

有大量证据提示AD患者海马组织、颞叶皮质及其他可能皮质区域有BDNFmRNA及其蛋白降低[13]。有研究显示BDNF可以保护海马和基底前脑胆碱能神经元免于损伤，BDNF有使突触功能和结构长时程改变的能力[14]。近年来，转基因技术向中枢神经系统输入神经营养因子成为一种理想手段。2002年Murray等[15]将脑源性神经营养因子基因修饰的成纤维原细胞用于移植治疗脊髓损伤获得很好的疗效。Klein等[16]的研究表明将含有神经营养因子的腺病毒相关病毒载体注射入大鼠隔区对胆碱能神经元具有保护作用，可以减缓胆碱能神经元的退行性病变。

BMSCs具有高度的自我复制能力和多向分化潜能，它可以向3个胚层的多种组织细胞分化，如来源于外胚层的神经元、神经胶质细胞等。新近有研究表明它能通过血脑屏障，本身就有分化为神经元和星形胶质细胞的潜能，故被认为是一种较纤维原细胞更理想的载体细胞[17]。课题组前期研究发现BDNF修饰的骨髓间质干细胞对阿尔茨海默病鼠学习记忆有改善作用[3]，该实验中研究发现Aβ脑室内注射可以增加阿尔茨海默病鼠大脑皮质及海马Aβ40，42含量，加重tau蛋白磷酸化的程度，导致学习记忆相关区域神经元发生退行性变，而BDNF修饰的BMSCs则可以降低阿尔茨海默病鼠大脑皮质及海马Aβ40，42含量，减轻tau蛋白磷酸化，减轻海马CA1区神经元退行性变，对神经元具有保护作用，且上述作用优于未修饰的BMSCs。推测其发生作用的可能机制有脑源性神经营养因子修饰后的BMSCs产生脑源性神经营养因子，而脑源性神经营养因子对基底前脑胆碱能神经元具有保护作用[18]；另外移植脑内的BMSCs可能有部分在内环境中分化为胆碱能神经元，补充了胆碱能神经元的丢失[19]。脑源性神经营养因子对Aβ所致神经毒性可能具有一定保护作用。

4 参考文献

[1] Mattson MP. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. Nature. 2004;430(7000):631-639.
[2] Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. Science. 2002;297(5580):353-356.
[3] Wei CX,Chen SL.Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2008;12(38):7431-7434.
魏昌秀,陈松林.脑源性神经营养因子基因修饰骨髓间质干细胞移植对痴呆大鼠记忆功能的影响[J].中国组织工程研究与临床康复,2008, 12(38):7431-7434.
[4] Li HL,Li HW,Xing FY,et al.Zhongguo Bingli Shengli Zazhi. 2003; 19(4): 438-442.
李红乐,李浩威,邢飞跃,等.脑源性神经营养因子 重组腺病毒的构建及在大鼠骨髓间质干细胞的表达[J].中国病理生理杂志,2003, 19(4): 438-442.
[5] Cummings BJ.Image analysis of beta-amyloid load in Alzheimer's disease and relation to dementia severity.Lancet,1995,346: 1524-1528.
[6] Citron M, Westaway D, Xia W,et al. Mutant presenilins of Alzheimer's disease increase production of 42-residue amyloid beta-protein in both transfected cells and transgenic mice. Nat Med. 1997;3(1):67-72.
[7] Scheuner D, Eckman C, Jensen M,et al. Secreted amyloid beta-protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. Nat Med. 1996;2(8):864-870.
[8] Cardoso SM, Proença MT, Santos S,et al. Cytochrome c oxidase is decreased in Alzheimer's disease platelets. Neurobiol Aging. 2004;25(1):105-110.
[9] Hashimoto M, Rockenstein E, Crews L,et al. Role of protein aggregation in mitochondrial dysfunction and neurodegeneration in Alzheimer's and Parkinson's diseases. Neuromolecular Med. 2003;4(1-2):21-36.
[10] Fogarty MP, Downer EJ, Campbell V. A role for c-Jun N-terminal kinase 1 (JNK1), but not JNK2, in the beta-amyloid-mediated stabilization of protein p53 and induction of the apoptotic cascade in cultured cortical neurons. Biochem J. 2003;371(Pt 3):789-798.
[11] Lotz M, Ebert S, Esselmann H,et al.Amyloid beta peptide 1-40 enhances the action of Toll-like receptor-2 and -4 agonists but antagonizes Toll-like receptor-9-induced inflammation in primary mouse microglial cell cultures. J Neurochem. 2005;94(2):289-298.
[12] Du JT, Yu CH, Zhou LX,et al. Phosphorylation modulates the local conformation and self-aggregation ability of a peptide from the fourth tau microtubule-binding repeat.FEBS J. 2007;274(19): 5012-5020.
[13] Garzon D, Yu G, Fahnestock M. A new brain-derived neurotrophic factor transcript and decrease in brain-derived neurotrophic factor transcripts 1, 2 and 3 in Alzheimer's disease parietal cortex. J Neurochem. 2002;82(5):1058-1064.
[14] Manabe T. Does BDNF have pre- or postsynaptic targets? Science. 2002;295(5560):1651-1653.
[15] Murray M, Kim D, Liu Y, et al.Transplantation of genetically modified cells contributes to repair and recovery from spinal injury. Brain Res Brain Res Rev. 2002;40(1-3):292-300.
[16] Klein RL, Hirko AC, Meyers CA,et al. NGF gene transfer to intrinsic basal forebrain neurons increases cholinergic cell size and protects from age-related, spatial memory deficits in middle-aged rats. Brain Res. 2000;875(1-2):144-151.
[17] Nomura T, Honmou O, Harada K,et al. I.V. infusion of brain-derived neurotrophic factor gene-modified human mesenchymal stem cells protects against injury in a cerebral ischemia model in adult rat. Neuroscience. 2005;136(1):161-169.
[18] Jiang H,Jin DD,Qu DB,et al.Zhonghua Waike Zazhi. 2005;43(24): 1609-1612.
蒋晖,金大地,瞿东滨,等.脑源性神经营养因子基因修饰神经干细胞对体外培养的脊髓背根神经节细胞的生物学作用[J].中华外科杂志, 2005,43(24):1609-1612.
[19] Zhou J,Luo XG,Zhang CD.Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2007;11(37):7481-7484.
周进,罗晓光,张朝东. Transwell培养体系中受损PCI2细胞促进骨髓间质干细胞向神经元样细胞的转分化[J].中国组织工程研究与临床康复,2007,11(37):7481-7484.

来自本文课题的更多信息--

基金资助：贵州省优秀科技人才省长基金项目(黔省专合字(2005)231 号)。

作者贡献：设计为第一、三作者、实施为第一、三作者，均经过系统培训，未使用盲法评估。

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。

伦理批准：实验过程中对动物处置符合动物伦理学要求。

本文创新性：以“Brain-derived neurotrophic factor, Bone Marrow Stem Cells, Gene modification, Alzheimer disease, β-peptide, tau”，“骨髓间充质干细胞；脑源性神经营养因子；基因修饰；阿尔茨海默病；tau；β-淀粉样蛋白”为检索词，检索 PubMed 数据库、万方数据库、清华同方数据库 1994/2010 的相关文献。实验创新性在于构建能促进骨髓间充质干细胞分化、延缓神经元变性和死亡的脑源性神经营养因子基因重组腺病毒载体，制备高滴度重组病毒，将重组病毒上清感染骨髓间充质干细胞后移植治疗阿尔茨海默病大鼠，通过研究脑源性神经营养因子和骨髓间充质干细胞对阿尔茨海默病鼠脑内异常蛋白表达的影响以及海马 CA1 区神经元超微结构的变化，探讨脑源性神经营养因子基因修饰的骨髓间充质干细胞治疗阿尔茨海默病的可行性。