

骨髓间充质干细胞移植脊髓全横断模型大鼠运动和体感诱发电位的评价☆

李宽新^{1,2}, 李 锋¹

Motor and somatosensory evoked potential evaluation in rat spinal cord transection models following bone marrow mesenchymal stem cell transplantation

Li Kuan-xin^{1,2}, Li Feng¹

¹Department of Orthopedics, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China;
²Department of Orthopedics, First Affiliated Hospital of Shihezi University Medical School, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Li Kuan-xin☆, Studying for doctorate, Associate chief physician, Department of Orthopedics, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China; Department of Orthopedics, First Affiliated Hospital of Shihezi University Medical School, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
likuanxin@sohu.com

Correspondence to: Li Feng, Professor, Doctoral supervisor, Department of Orthopedics, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China
fengli@tjh.tjmu.edu.cn

Received: 2010-12-09
Accepted: 2011-01-21

Abstract

BACKGROUND: In clinic, cortical motor evoked potentials (MEP) and somatosensory evoked potentials (SEP) are commonly used to evaluate the injury or repair of motor and sensory pathways following spinal cord injury.

OBJECTIVE: To investigate the treatment of acute complete spinal cord injury in rats with the transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) and to monitor the change in the neurologic functions of the lower limbs using MEP and SEP.

METHODS: Fifty Wistar rats were randomized into saline group, BMSCs group, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) group, neurotrophin 3+BMSCs group, sham-operation group. Rats in the former four groups were used to produce Allen's models of spinal cord injury before treatment. At 4, 8 and 12 weeks after treatment, rat hind limb motor function score was evaluated, and MEP and SEP were measured 1, 3, 7, 14 days after modeling.

RESULTS AND CONCLUSION: Using the MEP, we found that the motor function of each treatment groups was recovered to some extent. There was a significant difference between treatment groups and saline group ($P < 0.05$). The BBB score of the hind limbs showed that the motor function of the hind limbs in treatment groups was superior to that in the saline group ($P < 0.05$). BMSCs modified by BDNF could be transplanted into the injured spinal cord to improve the motor function of rat lower limbs. NT-3 could improve the survival rates of BMSCs and axonal regeneration following spinal cord injury.

Li KX, Li F. Motor and somatosensory evoked potential evaluation in rat spinal cord transection models following bone marrow mesenchymal stem cell transplantation. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(23): 4262-4266.
[http://www.crter.cn http://en.zgckf.com]

摘要

背景: 临床常用皮质运动诱发电位和皮质体感诱发电位来分别评价脊髓损伤后运动传导路和感觉传导路的损伤或修复情况。
目的: 以脊髓诱发电位监测骨髓间充质干细胞移植后急性脊髓完全性损伤大鼠下肢神经功能的变化。

方法: 选取健康 Wistar 大鼠 50 只, 分成 5 组, 即生理盐水组、骨髓间充质干细胞移植组、脑源性神经营养因子修饰组、神经营养因子 3+骨髓间充质干细胞移植组和假手术组。除假手术组外, 其余各组均制作 Allen's 脊髓完全性损伤动物模型, 造模后各组均行相应治疗。治疗后 4, 8 和 12 周行大鼠后肢运动功能评分, 并于造模后 24 h, 3, 7, 14 d 行运动和体感诱发电位检测。

结果与结论: 运动诱发电位检测结果提示, 各治疗组的运动功能均有不同程度的恢复, 与生理盐水组间差异均有显著性意义 ($P < 0.05$), 大鼠后肢 BBB 评分也证实了各治疗组后肢运动功能明显优于生理盐水组 ($P < 0.05$)。提示经脑源性神经营养因子修饰的骨髓间充质干细胞可移植到脊髓损伤处, 可改善大鼠的后肢运动, 神经营养因子 3 蛋白有可能提高骨髓间充质干细胞在体内的生存率, 促进受损脊髓的轴突再生。

关键词: 脊髓完全性损伤; 骨髓间充质干细胞; 细胞移植; 脊髓诱发电位; BBB 评分
doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.23.019

李宽新, 李锋. 骨髓间充质干细胞移植脊髓全横断模型大鼠运动和体感诱发电位的评价[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(23):4262-4266. [http://www.crter.org http://cn.zgckf.com]

0 引言

骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)具有多潜能性, 在适宜条件下可以向3个胚层的多种组织分化, 特别是可以向外胚层的神经细胞分化, 而备受人们的关注。它具有可以自体骨髓取材、来源充足、自体应用无免疫排斥反应、可在体外大量扩增等优点, 因而可作为神经干细胞移植的来源, 用于解决脊髓损伤临床移植的个体化治疗^[1]。

本实验以幼鼠BMSCs为观察对象, 用脑源性神经营养因子(brain-driven neurotrophic

factor, BDNF)体内诱导和移植的方法, 通过BMSCs在体内分化为神经元样细胞和神经营养因子3诱导并改善残存神经元的生存环境, 用脊髓诱发电位运动诱发电位(motor evoked potentials, MEP)和体感诱发电位(somatosensory evoked potentials, SEP)评估BDNF修饰的BMSCs联合神经营养因子3蛛网膜下腔间断连续注入对大鼠急性脊髓完全性损伤的修复效果。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 于2010-03/09在石河子大学医学院完成。

材料: 选取健康Wistar大鼠50只, 体质量250~320 g, 平均 (285.1 ± 15.17) g, 雌雄各半。先制作脊髓完全性损伤动物模型, 按随机数字表法分成5组, 即生理盐水组、BMSCs移植组、BDNF修饰组、神经营养素3+BMSCs移植组和假手术组, 每组10只。Wistar幼鼠4只, 雄性, 体质量约150 g, 用来进行BMSCs原代培养。Wistar大鼠购于新疆实验动物研究中心, 实验动物机构许可证号: scxk(新疆)2003-0002。BDNF蛋白购自R&D公司, 神经营养素3蛋白购自上海西康生物科技有限公司。

方法:

BMSCs的培养、标记: BMSCs原代培养、传代及BrdU标记, 调整移植细胞终浓度 $1 \times 10^{10} \text{ L}^{-1}$ 备用^[1]。

配置BDNF和神经营养素3蛋白: 取BDNF干粉配置质量浓度为30 mg/L的蛋白液备用, 神经营养素3蛋白溶液10 mg/L备用。

急性大鼠脊髓完全性损伤模型制作(改良Allen's法): 用100 g/L水合氯醛300 mg/kg腹腔内注射麻醉, 麻醉成功后, 予腰背部手术区备皮, 先剪短鼠毛再用80 g/L硫化钠溶液(脱毛剂)脱毛。将大鼠俯卧位固定于手术台上, 术前体表定位标记, 以T₁₀棘突为中心, 取背部正中纵切口, 常规消毒、铺巾(全部手术操作均在XSQ-IB手术用显微镜下进行), 逐层显露T₈₋₁₂棘突及椎板, 切除T₉₋₁₀棘突及椎板, 暴露相应脊髓段作为损伤区。避免神经及硬脊膜损伤, 准确定位, 使用自制大脑三维定位仪改良设计的Allen's打击装置, 在打击前放置标准型方丝弓托槽于T₁₀脊髓节段处, 应用WD(weight dropping)法致伤脊髓(300 gcf=15 g×20 cm, 即15 g的重物从20 cm的高度垂直落下产生的致伤力)^[2]。局部见, 打击处脊髓组织出现水肿、淤血(术中应保存硬脊膜的完整性); 整体见, 大鼠出现摆尾反射, 双下肢及躯体回缩扑动后, 双后肢呈迟缓性瘫痪, 表明撞击成功^[3-4]。予脊髓诱发电位MEP和SEP检测并记录。

取无菌的蛛网膜下腔预留导管1根, 按照试验要求分别在管内充满神经营养素3和生理盐水后放置在成功模型的蛛网膜下腔中, 备用。逐层缝合切口。所有术后模型单笼饲养, 禁食水12 h后, 逐渐增加进食量及饮水。常规肌注青霉素 $20 \times 10^4 \text{ U} \times 3 \text{ d}$ 。术后注意保暖, 每日按摩膀胱促进排尿四五次, 预防压疮。

急性大鼠脊髓完全性损伤的治疗: 假手术组仅咬除T₉₋₁₀棘突和椎板, 不做脊髓打击。其余各组大鼠均造模, 造模成功后, BDNF修饰组每日定时给予30 mg/L BDNF蛋白溶液10 μL 治疗; 神经营养素3+BMSCs移植组每日定时给予30 mg/L BDNF蛋白溶液10 μL 及10 mg/L神经营养素3蛋白溶液10 μL 治疗, 连续同法给药7 d。生理盐水组仅给予生理盐水预留在蛛网膜下腔的置管中。BMSCs移植组、神经营养素3+BMSCs移植组在造模成功后第6天夜晚取用BrdU标记好的BMSCs 10 μL 进行细胞移植治疗, 保留置管24 h后拔除给药通道。

主要观察指标: 各组大鼠于治疗后4, 8和12周行后肢运动功能评分(Basso, Beattie and Bresnahan score, BBB评分)及斜板试验。

大鼠后肢BBB评分: 将大鼠后肢运动分为22个等级。后肢全瘫为0分, 完全正常为21分, 两者之间根据功能分别定为1~20分, 其基本内容为: 观察动物的臀、膝、踝关节活动的数目和范围, 负重程度及前后肢协调性, 前、后爪和尾部的活动情况。BBB评分观察期为5 min, 动物应尽量保持在活动范围的中心区域活动^[5-7]。由熟悉该评分标准的实验人员进行盲法评分。

神经电生理检测: 每只大鼠模型均在造模后24 h, 3, 7, 14 d做脊髓诱发电位MEP和SEP检测。

造模后的检测: 当手术显露T₈₋₁₂棘突及椎板, 切除T₉₋₁₀棘突及椎板, 暴露相应脊髓段致伤造模成功后。在损伤段脊髓上、下各一两个脊髓节段放置刺激电极和接收电极, 诱导并记录脊髓MEP生物电信号。然后同上法置管。

取材前的检测: 麻醉下取原切口暴露相应的术野, 对于损伤段脊髓不要刻意分离肉芽组织, 仅暴露其上下两端正常的脊髓组织即可, 安放刺激电极和接收电极, 诱导并记录脊髓MEP和SEP生物电信号。观察P1-N1-P2波形及每个波幅和潜伏期。

统计学分析: 由本文作者用SPSS 11.0软件处理数据, 所有阳性指标以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 选取健康Wistar大鼠50只, 分成5组, 即生理盐水组、BMSCs移植组、BDNF修饰组、神经营养素3+BMSCs移植组和假手术组, 每组10只。全部进入结果分析,

¹ 华中科技大学同济医学院附属同济医院骨科, 湖北省武汉市430022; ² 石河子大学医学院附属医院骨科, 新疆维吾尔自治区石河子市832000

李宽新☆, 男, 1969年生, 安徽省凤阳县人, 回族, 华中科技大学同济医学院附属同济医院在读博士, 副主任医师, 主要从事脊柱脊髓损伤研究。likuanxin@sohu.com

通讯作者: 李锋, 教授, 博士生导师, 华中科技大学同济医学院附属同济医院骨科, 湖北省武汉市430022 fengli@tjh.tjmu.edu.cn

中图分类号: R394.2
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225
(2011)23-04262-05

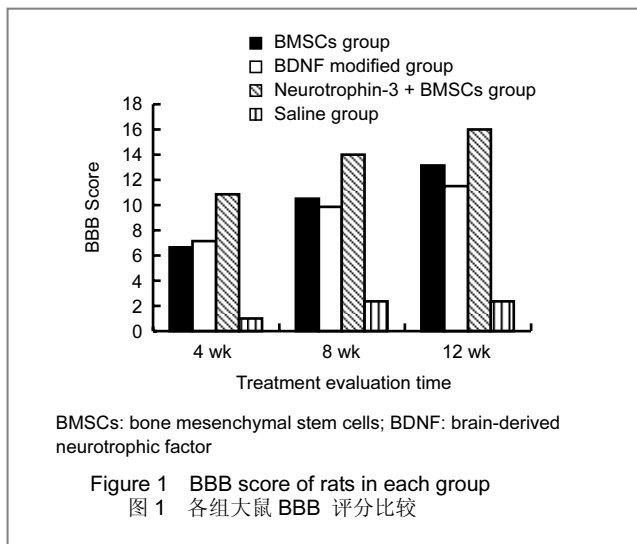
收稿日期: 2010-12-09
修回日期: 2011-01-21
(20101025009/G·W)

无脱失。

2.2 行为学评价结果 大鼠脊髓受到损伤后均出现了典型的截瘫综合征, 表现为两后肢瘫痪、肌张力低、肌力0级、腹肌麻痹扩张, 伴有体温降低、肠麻痹、血尿、尿潴留等症状。

伤后24 h开始爬行, 两后肢呈拖行, 足背着地。治疗后1周, 各组大鼠差异无显著性意义。治疗后4周, 各治疗组均较生理盐水组明显有力, 足掌可以着地, 爬行活动较灵活。治疗后8, 12周各治疗组大部分大鼠可以用后肢负重站立, 而生理盐水组大鼠均不能用后肢负重站立。其中以神经营养素3+BMSCs移植组恢复效果最佳。

大鼠后肢BBB评分也证实了各治疗组明显优于生理盐水组($P < 0.05$), 见图1。



2.3 脊髓诱发电位检测结果 生理盐水组大鼠脊髓T₁₀水平脊髓诱发电位MEP检查均表现为典型的P1-N1-P2波形其中向上的N1波比较稳定, BMSCs移植组、BDNF修饰组、神经营养素3+BMSCs移植组动物模型各时段的比较均以N1波的波幅为准。造模后的脊髓诱发电位引出的N1波明显低于正常N1波形。各治疗组取材前所获得的MEP波形多呈M形的双峰波, 波幅较损伤后明显恢复。

结果提示, 大鼠脊髓完全性损伤后, 经上述方法处置后, MEP及SEP检测结果提示各治疗组的运动功能均有不同程度的恢复。经SPSS 11.0统计软件分析, 各治疗组与生理盐水组间差异均有显著性意义($P < 0.05$), 见图2~5。

MEP N1波潜伏期变化结果显示, 神经营养素3+BMSCs移植组N1波潜伏期明显短于生理盐水组, 并且随着时间的推移, 潜伏期逐渐缩短, 神经营养素3+BMSCs移植组潜伏期恢复幅度大于生理盐水组, 见表1。

表1 各组大鼠脊髓损伤后不同时间点 MEP N1 波潜伏期比较
Table 1 Comparison of Motor evoked potential N1 wave latency at different time points after the spinal cord injury ($\bar{x} \pm s$, $n=6$, ms)

Group	Detection time			
	24 h	3 d	7 d	14 d
Saline	80.80±7.39	53.04±7.51	42.10±0.53	39.46±4.99
Neurotrophin-3 + BMSCs	48.80±1.14 ^{bd}	43.52±3.74 ^{ad}	32.65±1.78 ^{bd}	23.25±3.84 ^{bc}
Sham-operation	25.65±1.71	23.65±0.35	21.35±0.52	18.30±0.68

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, vs. saline group; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$, vs. sham-operation group; BMSCs: bone mesenchymal stem cells

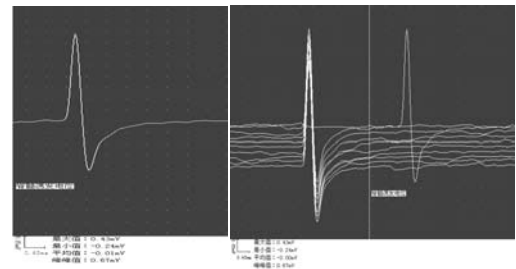


Figure 2 Motor evoked potential wave form of overlay 10 times and spinal cord induced potential in sham-operation group
图2 假手术组大鼠脊髓诱发电位 MEP 及叠加 10 次的 MEP 波形

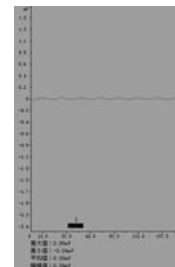
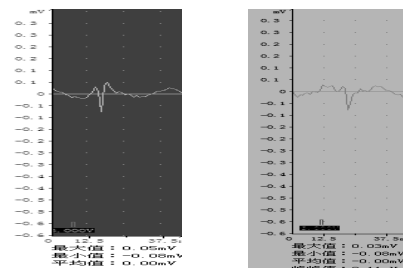


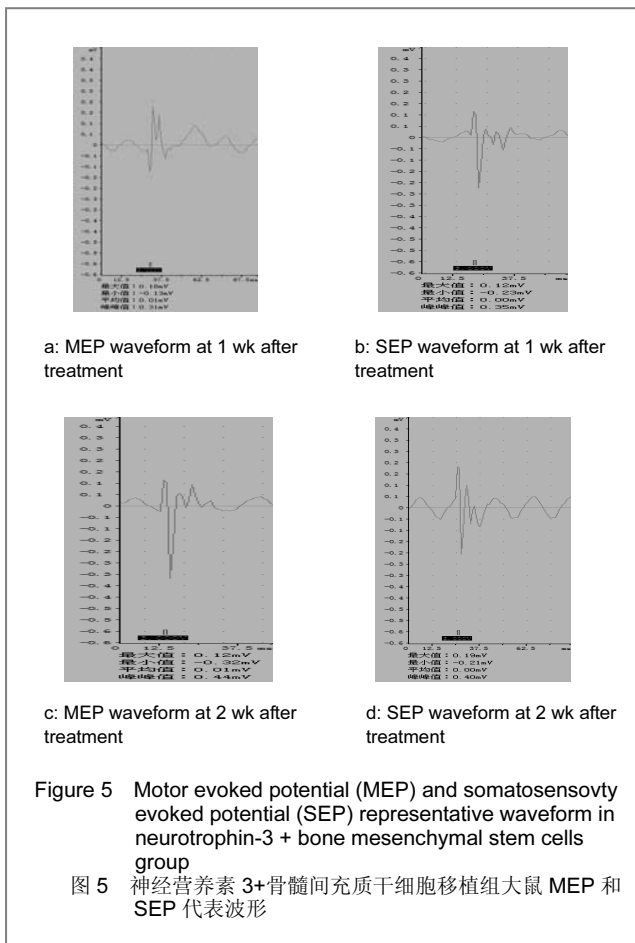
Figure 3 Motor evoked potential representative waveform of spinal cord induced potential in saline group
图3 生理盐水组大鼠脊髓诱发电位 MEP 的代表波形



a: BMSCs group b: BDNF modified group

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

Figure 4 Motor evoked potential waveform in each treatment group after operation
图4 各治疗组大鼠治疗后 MEP 波形



3 讨论

目前应用到脊髓损伤的细胞移植多种多样, 包括胚胎中枢神经组织、胚胎干细胞、骨髓间充质干细胞、基因转染的成纤维细胞、许旺细胞、嗅鞘细胞等。有实验表明BDNF基因修饰神经干细胞移植, 可以降低神经细胞的凋亡率, 促进损伤神经的功能恢复^[8-11]。近年来, 国内学者应用基因转染技术, 分别在体外构建胶质源性神经营养因子和神经营养因子3基因修饰细胞进行脊髓损伤的修复治疗研究, 也取得了可喜的成果^[12-14]。

实验采用经典的大鼠脊髓背侧重物坠落撞击致脊髓损伤法^[15], 是1911年由Allen首先建立, 它的原理简单, 其操作简便易行、可重复性高、实验损伤病理改变和功能障碍与临床脊髓损伤相似、撞击力可定量控制、硬脊膜完整能防止外源成分侵入损伤区等优点, 是理想的实验性脊髓损伤模型。目前有很多的改良Allen's法制模型。根据胥少汀等^[16]的研究, 大鼠等小动物300 gcf致完全脊髓损伤, 280~270 gcf以下才致不完全脊髓损伤。本实验以此为基础, 改良自制打击装置, 用300 gcf致伤脊髓, 得到稳定的大鼠完全性脊髓损伤模型。术中采用新型打击垫片, 其弧面与脊髓外形吻合度高, 减少了损伤误差, 提高了大鼠脊髓损伤模型的标准化和可重

复性。采用细胞移植治疗是近年来脊髓损伤修复研究的热点之一^[17-19]。

近年来脊髓损伤发病率呈逐年上升的趋势, 其原发性和继发性损伤可导致神经细胞死亡, 从而引起运动、感觉和自主神经功能障碍。脊髓损伤是中枢神经系统严重创伤, 常导致损伤平面以下感觉、运动和括约肌功能完全丧失, 其高致残率和死亡率成为脊柱外科工作者急需解决的难题^[20-21]。模型成功后, 作者采用单纯BMSCs、BDNF修饰和神经营养因子3二者混合移植治疗脊髓损伤, 并在移植后4, 8和12周通过动物的各种运动行为、活体脊髓诱发电位MEP和SEP及免疫组化检测NSE来综合反映脊髓损伤与修复的程度。MEP潜伏期的长短主要由脊髓破坏程度决定, 反映神经传导速度; 白质纤维脱髓鞘越严重, 前角运动细胞损伤数目越多, 则MEP的潜伏期延长越明显^[22]; MEP波幅一般反映刺激后引起同步放电神经元数量的多少。诱发电位被认为是衡量脊髓损伤后功能恢复的重要客观指标, 人们常用CMEP和CSEP来分别评价脊髓损伤后运动传导路和感觉传导路的损伤或修复情况。诱发电位的主要检测指标为潜伏期和峰峰值。潜伏期能反映神经通路的传导速度, 而峰峰值则可反映电位的强度, 即参与神经通路的神经纤维的多少及兴奋程度^[23]。BDNF和神经营养因子3对脊髓胆碱能神经元生长发育的影响有所不同, 支持Femandes等^[24]的研究结果, 胆碱能神经元受到NTF调节的差异与其相应受体的表达不同有关。神经营养因子通过不同的途径分别促进不同的基因表达或蛋白合成, 发挥着不同的作用^[25]。

本实验采用BBB评分法, 从开放空间运动、脚趾伸展、触地反射、回缩反射、矫正反射及斜板试验等方面来相对客观地评定大鼠脊髓的运动功能。在脊髓损伤早期, 其评分降低除因脊髓受损使神经元发生原发性及继发性死亡外, 还与局部出血、水肿及血管痉挛等急性炎症致动物疼痛及限制其活动有关。随着急性炎症的逐渐减轻以及胶质细胞的增生和补充部分外源性神经营养因子可促进了神经的修复与再生^[26], 评分会相应增高。此外, 也不排除残留神经组织的代偿性活动。造模后和取材前的脊髓诱发电位MEP和SEP相应的反映了脊髓损伤后的病理过程与行为学的改变一致。治疗组和非治疗组局部受损的脊髓组织改变明显, 非治疗组随着时间的增加损伤段脊髓逐步液化坏死, 而治疗组损伤段脊髓坏死及囊腔面积均较非治疗组小。许旺细胞经神经营养因子3基因修饰后过量分泌的神经营养因子3不仅能防止脊髓损伤后神经元的萎缩, 促进受损伤的上行和下行轴突再生^[27-28], 神经营养因子3与TrkC结合后才能具有更好的生物学活性, Baker等^[29]研究发现许旺细胞后, 神经营养因子3对脊髓内缺乏TrkC受体的感觉神经元没有作用。Zhang等^[30]已证实, 神经营养因子3基因修饰的许旺细胞

和神经干细胞共移植到脊髓损伤处,能有效促进上述神经元存活及其轴突再生。BMSCs取材方便,在体外可大量扩增,能自体移植,且没有免疫排斥和伦理问题。而且有研究者将急性脊髓损伤大鼠的自体骨髓细胞移植到脊髓损伤的部位,取得了不错的效果^[31]。

本实验结果还表明,改良Allen's法所致的大鼠脊髓损伤早期病理学改变主要是出血、炎症反应和神经元的迅速减少;中后期其损伤区则表现为炎症减轻、逐渐形成囊腔样改变。早期积极的治疗措施可有效的挽救残存神经元的存活并改善其存活的环境。单纯BMSCs或是BDNF修饰移植治疗脊髓损伤的效果均高于空白对照组,但低于经体内联合神经营养素3蛋白诱导分化BMSCs移植治疗的效果。提示经体内诱导分化的BMSCs可移植到脊髓损伤处,能长期存活并能持续分泌神经生长因子,明显促进受损脊髓的轴突再生,改善大鼠的后肢运动。BDNF和神经营养素3蛋白有可能提高BMSCs在体内的生存率,二者具有协同作用。

4 参考文献

- [1] Pittenger MF, Mackay AM, Bect SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999;284(5411): 143-147.
- [2] Basso DM, Beattie MS, Bresbahan JC. Graded histological and locomotor outcomes after spinal cord injury using the NYU weight-drop device versus transection. *Exp Neurol*. 1996; 139(2): 244-256.
- [3] Xu XQ, Xiao D, Sui JH, et al. *Zhongguo Xiufu Chongjian Waikexue*. 2003;17(1):22. 徐晓庆,肖达,睢久红,等.急性脊髓损伤动物模型的建立[J].中国修复重建外科杂志,2003;17(1):22.
- [4] Wrathall JR, Pettegrew RK, Harvey F. Spinal cord contusion in the rat: production of graded, reproducible, injury groups. *Exp Neurol*. 1985;88(1):108-122.
- [5] Basso DM, Beattie MS, Bresbahan JC, et al. MASCIS evaluation of open field locomotor scores: effect of experience and teamwork on reliability. *J Neurotrauma*. 1996;13(7):343-354.
- [6] Basso DM, Beattie MS, Bresbahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma*. 1995;12(1):1-21.
- [7] Tarlov IM, Klinger H, Vitale S. Spinal cord compression studies. I. Experimental techniques to produce acute and gradual compression. *AMA Arch Neural Psychiatry*. 1953;70(6):813-819.
- [8] Yan JF, Yue CB. *Zhongguo Linchuang Shenjing Waikexue*. 2006;11(9):547-560. 燕景峰,岳长波. BDNF基因修饰神经干细胞移植治疗脊髓损伤的实验研究[J].中国临床神经外科杂志, 2006,11(9):547-560.
- [9] De Vries M, Cooper HM. Emerging roles for neogenin and its ligands in CNS development. *Neurochem*. 2008;106(4): 1483-1492.
- [10] Cole SJ, Bradford D, Cooper HM. Neogenin: A multi-functional receptor regulating diverse developmental processes. *Int Biochem Cell Biol*. 2007;9:1569-1575.
- [11] Liu Y, Zhang BA, Song Y, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation for treatment of spinal cord injury: an in vivo magnetic resonance imaging tracking study. *Neural Regen Res*. 2011;6(13):978-982.
- [12] Zhang WJ, Zhou Y, Chen J, et al. *Zhongguo Kangfu Yixue Zazhi*. 2006;21(4):325-327. 张文捷,周跃,陈菁,等. HRP神经逆行示踪评价GDNF修饰的神经移植复合体对大鼠脊髓运动神经元的保护作用[J].中国康复医学杂志, 2006, 21(4):325-327.
- [13] Cai PQ, Tang S, Lin YQ, et al. *Zhongguo Kangfu Yixue Zazhi*. 2006;21(5):398-340. 蔡培强,汤逊,林月秋,等.基因工程化分泌神经营养因子-3的鼠胚神经干细胞实验研究[J].中国康复医学杂志, 2006,21(5):398-340.
- [14] Wilson NH, Key B. Neogenin: one receptor, many functions. *Int Biochem Cell Biol*. 2007;5:874-878.

- [15] Allen AR. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. A preliminary report. *JAMA*. 1911;57:878-880.
- [16] Xu ST, Guo SF. Beijing: People's Medical Publishing House. 2002: 193-194. 胥少汀,郭世绶. 脊髓损伤基础与临床[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2002:193-194.
- [17] Guo SG, Jin F, Wang CJ, et al. *Zhongguo Kangfu Yixue Zazhi*. 2007;22(1):18-20. 郭守刚,靳峰,汪春娟,等. 嗅鞘细胞移植对实验性变态反应性脑脊髓炎髓鞘修复及运动功能的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2007,22(1): 18-20.
- [18] Schwab ME. Repairing the injured spinal cord. *Science*. 2002; 295(5557):1029-1031.
- [19] Reier PJ. Cellular transplantation strategies for spinal cord injury and translational neurobiology. *Neuro RX*. 2004;1(4):424-451.
- [20] Dong F, Lin JH, Wu ZY. *Zhongguo Kangfu Yixue Zazhi*. 2008; 23(5):416-419. 董锋,林建华,吴朝阳. 骨髓间充质干细胞经静脉注射移植对大鼠脊髓损伤后BDNF NGF mRNA表达的影响[J].中国康复医学杂志, 2008, 23(5):416-419.
- [21] Young HM, Anderson RB, Anderson CR, et al. Guidance cues involved in the development of the peripheral autonomic nervous system. *Auton Neurosci*. 2008;112(1-2):1-14.
- [22] Zhu XJ, Wang CZ, Dai PG, et al. Myosin X regulates netrin receptors and functions in axonal path-finding. *Nat cell Biol*. 2007; 9(2):184-192.
- [23] Guha A, Tator CH, Rochon J. Spinal cord blood flow and systemic blood pressure after experimental spinal cord injury in rats. *Stroke*. 1989;20(3): 372-377.
- [24] Fernandes KJ, Kobayashi NR, Jasmin BJ, et al. Acetylcholinesterase gene expression in axotomized rat facial motoneurons is differentially regulated by neurotrophins: correlation with trkB and trkC mRNA levels and isoform. *J Neurosci*. 1998;18(23):9936-9947.
- [25] Snider WD. Function of the neurotrophins during nervous system development: what the knockouts are teaching us. *Cell*. 1994;77: 627.
- [26] Gimenez Ribotta M, Menet V, Privat A, et al. The role of astrocytes in axonal regeneration in the mammalian CNS. *Prog Brain Res*. 2001;132(3):587-610.
- [27] Bradbury EJ, King VR, Simmons LJ, et al. NT-3, but not BDNF prevents atrophy and demyelination of axotomized spinal cord projection neurons. *Eur J Neurosci*. 1998;10(10):3058-3068.
- [28] Grill R, Murai K, Blesch A, et al. Cellular delivery of neurotrophin-3 promotes corticospinal axonal growth and partial functional recovery after spinal cord injury. *J Neurosci*. 1997;17(14): 5560-5572.
- [29] Baker KA, Nakashima S, Hagg T, et al. Dorsal column sensory axons lack TrkC and are not rescued by local neurotrophin-3 infusions following spinal cord contusion in adult rats. *Exp Neurol*. 2007;205(1):82-91.
- [30] Zhang X, Zeng Y, Zhang W, et al. Co-transplantation of neural stem cells and NT-3-overexpressing Schwann cells in transected spinal cord. *Neurotrauma*. 2007;24(12):1863-1877.
- [31] Zhang JJ, Chen X, Liu LZ, et al. *Zhongguo Kangfu Yixue Zazhi*. 2009;24(4):335-337. 张军军,陈先,刘兰泽,等.组织工程化干细胞移植治疗大鼠急性脊髓损伤的研究[J].中国康复医学杂志,2009,24(4):335-337.

来自本文课题的更多信息——

作者贡献: 李宽新负责实验设计及实施,李锋负责实验评估,实验采用盲法评估。

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方法符合动物伦理学标准。

本文创新性: 实验以幼鼠骨髓间充质干细胞为观察对象,用脑源性神经营养因子体内诱导和移植的方法,在体内分化为神经元样细胞,并以神经营养素 3 诱导并改善残存神经元的生存环境,通过监测脊髓诱发电位运动诱发电位和体感诱发电位,评估脑源性神经营养因子修饰的 BMSCs 联合神经营养素 3 蛛网膜下腔间断连续注入对大鼠急性脊髓完全性损伤的修复效果。