

单核细胞趋化蛋白1与神经干细胞的体外迁移***

董岳¹, 康波², 丁鹏¹, 戴孝森¹, 王崇谦¹, 王伟民¹, 尚亚军¹, 王进昆¹

In vitro migration of monocyte chemoattractant protein 1 and neural stem cells

Dong Yue¹, Kang Bo², Ding Peng¹, Dai Xiao-sen¹, Wang Chong-qian¹, Wang Wei-min¹, Shang Ya-jun¹, Wang Jin-kun¹

Abstract

BACKGROUND: Studies have shown that the chemokine stromal cell derived factor-1 and vascular endothelial growth factor have the ability to make neural stem cells (NSCs) migration.

OBJECTIVE: To explore the effect of monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) and its receptor on the migration of NSCs *in vitro*.

METHODS: Hippocampal NSCs from SD fetal rats were isolated and cultured; meanwhile they could be amplified and identified *in vitro*; The expression of CCR2 was detected with immunofluorescence and RT-PCR; Effect of MCP-1 with different concentrations (50, 100, 200, 300, 500 ng/mL) on NSCs *in vitro* migration was observed under agarose.

RESULTS AND CONCLUSION: Immunofluorescence and RT-PCR results showed that NSCs from fetal rat hippocampal could express chemokine receptor CCR2; and the migration experiment under agarose showed that the MCP-1 with different concentrations could induce the migration of NSCs *in vitro* and with the higher the dose the better the migration. But the anti-CCR2 polyclonal antibodies could inhibit the migration of NSCs.

¹Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650000, Yunnan Province, China; ²Department of Neurosurgery, Yan'an Hospital of Kunming, Kunming 650000, Yunnan Province, China

Dong Yue★, Studying for master's degree, Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650000, Yunnan Province, China Dongyue2005110@126.com

Kang Bo★, Physician, Department of Neurosurgery, Yan'an Hospital of Kunming, Kunming 650000, Yunnan Province, China

Dong Yue and Kang Bo were considered as co-first authors.

Corresponding author: Wang Jin-kun, Professor, Master's supervisor, Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650000, Yunnan Province, China

Supported by: the General Program of Research Projects of Basic Application of Yunnan province in 2008, No.2008ZC132M*, 0920033*

Received: 2011-09-29 Accepted: 2011-11-14

Dong Y, Kang B, Ding P, Dai XS, Wang CQ, Wang WM, Shang YJ, Wang JK. In vitro migration of monocyte chemoattractant protein 1 and neural stem cells. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(23): 4279-4283. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 研究表明趋化因子基质细胞衍生因子1及血管内皮生长因子参与神经干细胞的迁移。

目的: 观察趋化因子单核细胞趋化蛋白1及其受体CCR2对神经干细胞体外迁移的作用。

方法: 分离培养胎鼠海马组织神经干细胞, 体外传代扩增及鉴定; 通过细胞免疫荧光及RT-PCR检测其受体CCR2表达情况; 通过琼脂糖下细胞迁移实验观察50, 100, 200, 300, 500 μg/L单核细胞趋化蛋白1对神经干细胞的体外趋化作用。

结果与结论: 细胞免疫荧光及RT-PCR检测证实胎鼠海马来源神经干细胞表达趋化因子受体CCR2; 琼脂糖下细胞迁移实验显示, 体外条件下单核细胞趋化蛋白1可趋化神经干细胞迁移, 且趋化迁移作用随质量浓度增加而增强, 抗CCR2多克隆抗体可对抗其趋化迁移作用。

关键词: 单核细胞趋化蛋白1; 神经干细胞; 趋化因子; 细胞迁移; CCR2

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.23.020

缩略语: MCP-1: monocyte chemotactic protein 1, 单核细胞趋化蛋白1

董岳, 康波, 丁鹏, 戴孝森, 王崇谦, 王伟民, 尚亚军, 王进昆. 单核细胞趋化蛋白1与神经干细胞的体外迁移[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(23):4279-4283. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

神经干细胞是神经系统中能够增殖分化成神经元和神经胶质细胞的祖细胞, 具有高度的自我更新能力、多分化潜能、低免疫原性等特

点, 同时也具备一定的定向迁移能力及良好的组织融合性^[1-2]。目前的研究证实, 神经干细胞能在局部微环境的作用下向损伤区迁移并分化成相应的细胞来补充替代受损的细胞, 恢复中枢神经系统的正常结构和功能^[3-4]。

目前, 神经干细胞已被应用于治疗神经系

¹ 昆明医学院第一附属医院神经外科, 云南省昆明市 650000; ² 昆明市延安医院神经外科, 云南省昆明市 650000

董岳★, 男, 1984年生, 贵州省铜仁市人, 侗族, 昆明医学院第一附属医院在读硕士, 主要从事脑血管病基础与临床研究。Dongyue2005110@126.com

并列第一作者: 康波, 男, 1980年生, 山西省太原市人, 汉族, 医师。

通讯作者: 王进昆, 教授, 硕士生导师, 昆明医学院第一附属医院神经外科, 云南省昆明市 650000

中图分类号: R394.2
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225(2012)23-04279-05

收稿日期: 2011-09-29
修回日期: 2011-11-14
(20110827008/GW-C)

统退行性疾病如阿尔茨海默病、帕金森病、多发性硬化症、缺血性脑损伤及颅脑损伤等, 并取得良好的疗效^[5-9], 神经干细胞对中枢神经系统的修复主要有两种方式: 一为内源性神经干细胞在趋化因子作用下向损伤区迁移修复^[10], 二为外源性神经干细胞的植入^[11-12], 但是目前关于神经干细胞向损伤区迁移的具体机制还不清楚。有研究证实基质细胞衍生因子1及血管内皮生长因子等可诱导其迁移^[13-15]。但目前关于其他趋化因子是否参与神经干细胞体内外迁移未见报道。

本实验拟观察体外培养的SD大鼠胎鼠神经干细胞表达趋化因子受体CCR2情况, 通过体外实验观察趋化因子单核细胞趋化蛋白(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1)对神经干细胞的趋化迁移作用, 初步探讨MCP-1/CCR2通路在神经干细胞外迁移中的作用。

1 材料和方法

设计: 细胞学体外观察。

时间及地点: 于2009-11/2011-08在昆明医学院第一附属医院生物治疗中心完成。

材料:

实验动物: 纯种SPF级孕16 d的SD大鼠3只, 由昆明医学院实验动物中心提供, 实验过程中对动物的处置符合2006年科技部《关于善待实验动物的指导性意见》的规定^[16]。

主要仪器和试剂:

试剂及仪器	来源
DMEM/F12(1:1)	GIBCO 公司
B27 添加剂、碱性成纤维细胞生长因子、表皮生长因子、MCP-1	美国 Peprotech 公司
胎牛血清(FBS)	杭州四季青生物制品公司
DAPI	美国 Molecular Probes 公司
DyLight488、594 山羊抗兔荧光二抗、兔抗大鼠 nestin 多克隆抗体	北京中杉金桥生物技术有限公司
35 mm 直径一次性组织培养皿	美国 Corning 公司

实验方法:

胎鼠神经干细胞的体外培养、纯化和鉴定^[17]: 10%水合氯醛腹腔麻醉孕鼠后脱臼处死, 无菌操作下取出胎鼠, 置于D-Hank's液(4 °C, pH值

7.4)中仔细分离海马组织, 置入加有DMEM/F12培养液的24孔板中分次吹打, 机械分离使其形成细胞悬液, 吹打时应尽量避免气泡, 手法轻柔防止对细胞造成损伤。用400目细胞筛过滤后计数细胞, 调整细胞浓度为 $5 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ 接种于含有神经干细胞培养液(添加有表皮生长因子、碱性成纤维细胞生长因子、B27的DMEM/F12培养液)的24孔板中, 置于37 °C, 体积分数5%CO₂饱和湿度培养箱中连续培养。每日倒置显微镜下观察, 每一二天半量换液并分次吹打, 5~7 d收集纯化1次。

取传代培养的神经干细胞接种到多聚赖氨酸包被过的载玻片, 40 g/L多聚甲醛固定、PBS洗涤、体积分数10%山羊血清封闭后, 以免抗大鼠nestin多克隆抗体(1:200), 4 °C孵育过夜, 空白对照以磷酸盐缓冲溶液(0.01 mol/L、pH值7.4, PBS)孵育过夜, PBS洗3遍, 以DyLight488山羊抗兔(1:200)荧光二抗孵育1 h, PBS洗3遍, 抗荧光淬灭剂封固, 荧光显微镜观察、拍照。

胎鼠神经干细胞体外表达趋化因子受体CCR2的情况: ①细胞免疫荧光检测: 将胎鼠神经干细胞悬液接种多聚赖氨酸包被载玻片, 多聚甲醛固定及标准血清封闭后, 以免抗CCR2多克隆抗体(1:100, Peprotech)4 °C孵育过夜, 空白对照以PBS孵育过夜。PBS洗3遍, 以DyLight594山羊抗兔(1:200)荧光二抗孵育1 h, PBS洗3遍, 抗荧光淬灭剂封固。空白对照同上操作。荧光显微镜观察、拍照。②RT-PCR检测: 按RNeasy Mini Kit(QIAGEN)说明提取胎鼠神经干细胞RNA, 分光光度仪上定量及检测RNA纯度。参照One Step RT-PCR Kit(QIAGEN)说明行RT-PCR, CCR2上游引物为TCTCTTC-CTCCACCACTATGCA, 下游引物为GGCTCA-GACAGCACGT GGAT, 序列长度233 bp。PCR反应条件如下: 94 °C变性1 min, 60 °C退火45 s, 72 °C延伸1 min, 36个循环。RT-PCR产物以2%琼脂糖凝胶电泳, 电泳结果在GENE GENUS数码成像及分析系统中观察、拍照。

体外观察MCP-1对神经干细胞的趋化迁移作用:

琼脂糖下细胞迁移实验: ①琼脂糖平皿板的制备: 称琼脂糖于50 mL旋口管, 加去离子

水涡旋制成均匀的琼脂糖悬液(浓度为4.8%), 旋松盖子, 微波炉中加热使琼脂糖悬液沸腾, 涡旋仪上涡旋30 s, 使其混匀。重复沸腾涡旋2次, 使琼脂糖颗粒均匀溶解。取DMEM/F12培养基, 加入另一50 mL旋口管中, 放置于 $>68\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的水浴箱, 将制备好的琼脂糖液与DMEM/F12培养基(1:1)混合涡旋制成均匀的琼脂糖混合悬液, 定量5 mL快速倒入直径35 mm培养皿中(尽量涂布均匀平整), 室温冷却后置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 min后打孔, 孔径3.0 mm, 间隔2.0 mm。再 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置20 min, 清除打孔时的压缩残胶。 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 体积分数5% CO_2 孵箱平衡2 h再次清理胶孔, 筛选好的琼脂糖混合平皿板放入超净台紫外照射30 min备用。②点样: 在筛选好的琼脂糖混合平皿板每列孔中间孔加入10 μL 神经干细胞悬液(浓度 $1.0\times 10^6\text{ L}^{-1}$, 已用DAPI荧光染料标记), 两侧外侧孔实验组各加不同质量浓度(50, 100, 200, 300, 500 $\mu\text{g/L}$)MCP-1 10 μL , 对照组加10 μL 去离子水, 将琼脂糖混合平皿板放入湿盒, 置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 体积分数5% CO_2 孵箱中14 h后, 40 g/L多聚甲醛固定后在荧光显微镜下观察并拍照。在不同平皿中重复 >6 次, 测量最大迁移距离(中间孔边缘与距中间孔最远的 >2 个细胞的距离), 明确最佳趋化质量浓度。以抗CCR2多克隆抗体与神经干细胞共培养过夜后再加入最佳趋化质量浓度MCP-1 10 μL , 重复实验6次。以含2%B27、20 $\mu\text{g/L}$ 表皮生长因子、20 $\mu\text{g/L}$ 碱性成纤维细胞生长因子的DMEM/F12培养基的神经干细胞培养液为对照组。

主要观察指标: ①神经干细胞形态观察及表面标志表达。②神经干细胞趋化因子受体CCR2的表达。③MCP-1对神经干细胞体外趋化迁移作用及其特异性检测。

统计学分析: 数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 由第一作者应用SPSS 16.0软件包行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 体外培养神经干细胞的形态观察及鉴定

细胞形态: 培养2 d, 细胞死亡较多, 第4天在细胞悬液中可见2~10个细胞组成的细胞团和一些分裂期细胞, 细胞处于对数生长期。细胞体积较大, 透明, 折光性强。五六天, 细胞团明显增大, 细胞排列紧密, 形成形状规则的圆球形, 悬浮生长。至1周左右培养液中肉眼可见细沙粒状的颗粒, 镜下见几十至百余个呈悬浮生长的神经球, 组成球的细胞大小基本一致, 形态规则。传代后

细胞增殖旺盛。

表面标志的表达: 原代培养的细胞团经传代后再增殖得到的大量神经球, 呈nestin免疫反应阳性, 见图1, 表明分离培养得到的是神经干细胞。

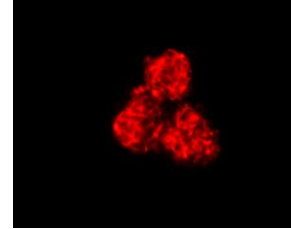


Figure 1 Immunofluorescence results showed neural stem cells could express nestin ($\times 200$)
图1 免疫荧光结果示神经干细胞表达 nestin($\times 200$)

神经球经胎牛血清诱导24 h后大部分贴壁, 细胞以神经球为中心, 向四周迁移, 贴壁生长, 相临细胞交互联接。

2.2 神经干细胞趋化因子受体CCR2的表达

细胞免疫荧光检测: 纯化的胎鼠神经干细胞呈CCR2阳性, 主要表达于细胞核, 空白对照组为阴性, 见图2。

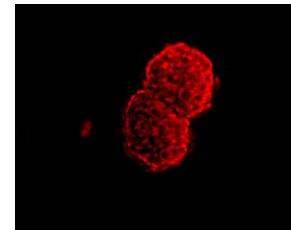
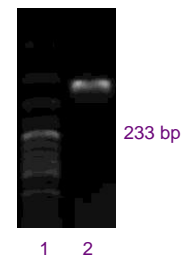


Figure 2 Positive expression of chemokine receptor CCR2 of neural stem cells (immunofluorescence staining, $\times 200$)
图2 神经干细胞趋化因子受体 CCR2 的阳性表达(细胞免疫荧光染色, $\times 200$)

RT-PCR 检测: RT-PCR 琼脂糖凝胶电泳后出现233 bp特异性扩增条带, 与预期趋化因子受体CCR2扩增片段一致, 见图3。



1: RT-PCR products; 2: marker
Figure 3 Expression of chemokine receptor CCR2 in neural stem cells detected by RT-PCR
图3 RT-PCR 检测神经干细胞趋化因子受体 CCR2 的表达

2.3 以抗CCR2多克隆抗体与神经干细胞共培养过夜后的重复实验结果 抗CCR2多克隆抗体可对抗MCP-1

对神经干细胞的迁移作用(图略), 与对照组比较差异无显著性意义($P > 0.05$), 见表1。

表 1 抗 CCR2 多克隆抗体拮抗单核细胞趋化蛋白 1 对神经干细胞体外迁移的作用
Table 1 Anti-CCR2 polyclonal antibody could antagonize the effect of monocyte chemoattractant protein-1 on the migration of neural stem cells *in vitro* ($\bar{x} \pm s$, nm)

Times	Control group	Experimental group	P
1 st	43.70±1.95	45.80±0.78	> 0.05
2 nd	44.10±2.00	48.00±1.65	> 0.05
3 rd	43.40±0.96	45.50±2.46	> 0.05
4 th	42.80±1.00	41.80±0.31	> 0.05
5 th	42.80±1.62	43.00±0.72	> 0.05
6 th	43.10±0.93	43.20±1.00	> 0.05

由表1可见, 抗CCR2拮抗剂能明显抑制MCP-1对神经干细胞的体外趋化迁移作用。

2.4 MCP-1体外趋化神经干细胞迁移的作用及其特异性检测 见图4。

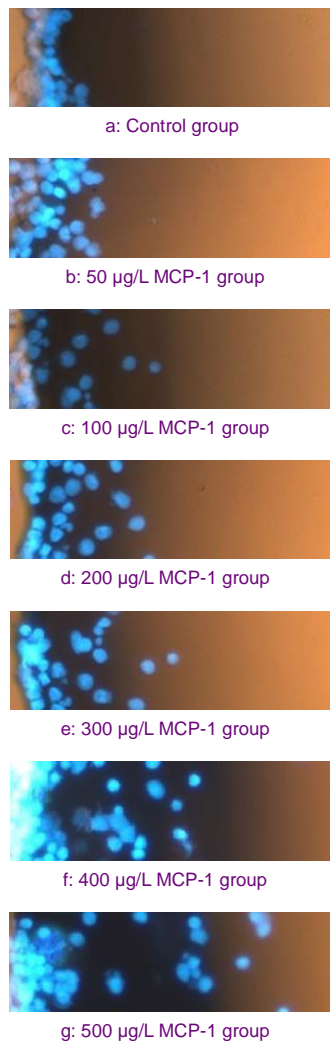


Figure 4 Effect of different concentrations of monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) on the migration of neural stem cells *in vitro* (x200)
图 4 不同质量浓度单核细胞趋化蛋白 1 体外趋化神经干细胞的迁移(x200)

与对照组(43.2±0.73) nm比较, 加入50, 100, 200, 300, 500 μg/L MCP-1后, 神经干细胞迁移距离均明显增加($P < 0.05$), 分别为(98.9±2.95), (149.6±4.16), (164.7±3.79), (173.6±2.41), (199.2±3.03), (245.5±3.19) nm, 最大迁移距离随趋化质量浓度增高而增加, MCP-1最佳趋化质量浓度为500 μg/L, 见图4。

3 讨论

趋化因子是指具有趋化作用的细胞因子, 根据靠近分子氨基端(N端)的前两个C间是否插入其他氨基酸, 将它们分为4个亚类: CXC、CC、CX3C和C类趋化因子^[18-19]。近年来研究表明, 趋化因子不仅在保护宿主、炎症反应、过敏反应, 免疫细胞的发育、分化及免疫系统的自身稳定等方面起作用, 而且在肿瘤的形成及转移、中枢神经系统神经网络的发育、损伤与疾病疾病的修复过程, 心脑血管系统疾病的修复过程等方面都发挥重要的作用^[20-22]。

MCP-1由Yoshimura于1989年首次从神经胶质瘤细胞株的培养上清中成功分离纯化得到^[23], 属β类趋化因子, 主要由星形胶质细胞、小胶质细胞和神经元表达。CCR2是目前所知MCP-1的惟一受体^[24-25]。Bemadani等^[26]研究发现, 在敲除MCP-1基因的颅脑损伤模型中, 神经干细胞向损伤处的迁移较对照组显著减少; 而MCP-1或CCR2基因敲除小鼠脑缺血后室管膜下区的神经干细胞向缺血部位的定向迁移显著减少^[27]。作者前期研究已证明MCP-1在体外可趋化骨髓基质细胞迁移^[28], 并证实体外培养的神经干细胞可表达趋化因子MCP-1的受体CCR2^[17]。因此推测, MCP-1与其受体的相互作用是趋化室管膜下区神经干细胞向损伤或者缺血部位迁移的重要机制之一。但其在体内促进内源性神经干细胞的增殖与迁移机制尚不清楚。

为探讨MCP-1/CCR2通路是否参与神经干细胞体外迁移, 本实验首先通过细胞免疫荧光及RT-PCR的方法证实神经干细胞表达趋化因子受体CCR2, 然后通过琼脂糖下细胞迁移实验证实趋化因子MCP-1体外可趋化神经干细胞迁移, 其趋化作用与浓度成正相关; 同时还观察到兔抗CCR2多克隆抗体可对抗MCP-1的趋化迁移作用, 这从侧面证实了趋化因子 MCP-1对神经干细胞体外趋化迁移的特异性。

MCP-1/CCR2通路在体外可诱导神经干细胞迁移, 为进一步研究MCP-1/CCR2通路参与神经干细胞体内迁移奠定基础。神经干细胞有自我更新及分化能力, 并能在体外培养条件下形成“神经球”, 它可能为中枢神经系

统损伤,如脑缺血和缺氧的修复及帕金森病的治疗提供新策略^[29-30],因此深入研究神经干细胞的特性,对提高其在中枢神经系统疾病治疗与修复中的应用将取得重大进展。

致谢:感谢昆明医学院第一附属医院神经外科在本实验实施过程中所提供的各种帮助,感谢昆明医学院第一附属医院中心实验室在本实验操作过程中所提供的设备支持及技术指导!

4 参考文献

- [1] Louis SA, Reynolds BA. Generation and differentiation of neurospheres from murine embryonic day 14 central nervous system tissue. *Methods Mol Biol.* 2005; 290: 265-280.
- [2] Ma W, Fitzgerald W, Liu QY, et al. CNS stem and progenitor cell differentiation into functional neuronal circuits in three-dimensional collagen gels. *Exp Neurol.* 2004; 190(2): 276-288.
- [3] Liu Z, Wu H, Xie M, Shequ Yixue Zazhi. 2011; 9(2): 41-42. 刘珍, 武衡, 谢明. 神经干细胞及其应用研究新进展[J]. 社区医学杂志, 2011, 9(2): 41-42.
- [4] Nakayama D, Matsuyama T, Ishibashi-Ueda H, et al. Injury-induced neural stem/progenitor cells in post-stroke human cerebral cortex. *Eur J Neurosci.* 2010; 31(1): 90-98.
- [5] Chuang T. Neurogenesis in mouse models of Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta.* 2010; 1802(10): 872-880.
- [6] Aerud P, Canals JM, Snyder EY, et al. Neuroprotection through delivery of glial cell line-derived neurotrophic factor by neural stem cell in a mouse model of Parkinson's disease. *J Neurosci.* 2001; (20): 8108-8118.
- [7] Yang J, Yan Y, Ciric B, et al. Evaluation of bone marrow- and brain-derived neural stem cells in therapy of central nervous system autoimmunity. *Am J Pathol.* 2010; 177(4): 1989-2001.
- [8] Martino G, Pluchino S. The therapeutic potential of neural stem cells. *Nat Rev Neurosci.* 2006; 7(5): 395-406.
- [9] Lagappan D, Larzarin DA, Felling RJ, et al. Brain injury expands the numbers of neural stem cells and progenitors in the SVZ by enhancing their responsiveness to EGF. *ASN Neuro.* 2009; 1(2). pii: e00009.
- [10] Shyu WC, Lin SZ, Lee CC, et al. Granulocyte colony-stimulating factor for acute ischemic stroke: a randomized controlled trial. *CMAJ.* 2006; 174(7): 927-933.
- [11] Makri G, Lavdas AA, Katsimpardi L, et al. Transplantation of embryonic neural stem/precursor cells overexpressing BM88/Cend1 enhances the generation of neuronal cells in the injured mouse cortex. *Stem Cells.* 2010; 28(1): 1272-1391.
- [12] Harting MT, Jimenez F, Pati S, et al. Immunophenotype characterization of rat mesenchymal stromal cells. *Cytotherapy.* 2008; 10(3): 243-253.
- [13] Li M, Ransohoff RM. Multiple roles of chemokine CXCL12 in the central nervous system: a migration from immunology to neurobiology. *Prog Neurobiol.* 2008; 84(2): 116-131.
- [14] Miller RJ, BaniSadr G, Bhattacharyya BJ, et al. CXCR4 signaling in the regulation of stem cell migration and development. *J Neumimmunol.* 2008; 198: 31-38.
- [15] Ayuso-Sacido A, Moliterno JA, Kratovac S, et al. Activated EGFR signaling increases proliferation, survival, and migration and blocks neuronal differentiation in post-natal neural stem cells. *J Neurooncol.* 2010; 97(3): 323-337.
- [16] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance Suggestions for the Care and Use of 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.
- [17] Ding P, Xue LP, Yang ZY, et al. *Kunming Yixueyuan Xuebao.* 2008; 29(1): 32-35. 丁鹏, 薛黎萍, 杨智勇, 等. 新生大鼠海马神经干细胞表达趋化因子受体 CCR2 的体外研究[J]. 昆明医学院学报, 2008, 29(1): 32-35.
- [18] Rostène W, Kitabgi P, Parsadaniantz SM, et al. Chemokines: a new class of neuromodulator? *Nat Rev Neurosci.* 2007; 8(11): 895-903.
- [19] Callewaere C, Banisadr G, Rostène W, et al. Chemokines and chemokine receptors in the brain: implication in neuroendocrine regulation. *Mol Endocrinol.* 2007; 38: 355-363.
- [20] Liu XS, Zhang ZG, Zhang RL, et al. Chemokine ligand 2 (CCL2) induces migration and differentiation of subventricular zone cells after stroke. *Neurosci Res.* 2007; 85: 2120-2125.
- [21] Charo IF, Ransohoff RM. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N Engl J Med.* 2006; 354(6): 610-621.
- [22] Raman D, Baugher PJ, Thu YM, et al. Role of chemokines in tumor growth. *Cancer Lett.* 2007; 256(2): 137-165.
- [23] Yoshimura T, Robinson EA, Tanaka S, et al. Purification and amino acid analysis of two human glioma-derived monocyte chemoattractants. *J Exp Med.* 1989; 169(4): 1449-1459.
- [24] Rostène W, Kitabgi P, Parsadaniantz SM, et al. Chemokines: a new class of neuromodulator. *Nat Rev Neurosci.* 2007; 8(11): 895-903.
- [25] Callewaere C, Banisadr G, Rostène W, et al. Chemokines and chemokine receptors in the brain: implication in neuroendocrine regulation. *Mol Endocrinol.* 2007; 38: 355-363.
- [26] Belmadani A, Tran PB, Ren D, et al. Chemokines regulate the migration of neural progenitors to sites of neuroinflammation. *J Neurosci.* 2006; 26(12): 3182-3191.
- [27] Yan YP, Sailor KA, Lang BT, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 plays a critical role in neuroblast migration after focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2007; 27(6): 1213-1224.
- [28] Ding P, Feng ZT, Yang ZY, et al. *Kunming Yixueyuan Xuebao.* 2007; 28(3): 35-38. 丁鹏, 冯忠堂, 杨智勇, 等. 趋化因子 MCP-1 体外趋化骨髓基质细胞迁移的实验研究[J]. 昆明医学院学报, 2007, 28(3): 35-38.
- [29] Qu Q, Shi Y. Neural stem cells in the developing and adult brains. *J Cell Physiol.* 2009; 221(1): 5-9.
- [30] Richardson RM, Larson PS, Bankiewicz KS. Gene and cell delivery to the degenerated striatum: status of preclinical efforts in primate models. *Neurosurgery.* 2008; 63: 629-645.

来自本文课题的更多信息—

基金声明: 2008 年云南应用基础研究面上项目 (2008ZC132M, 0920033): 趋化因子及其受体在 NSCs 迁移中的作用的研究, MCP-1/CCR2 通路在神经干细胞趋化迁移中作用的研究。

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。