

富血小板纤维蛋白诱导骨髓间充质干细胞向许旺细胞的分化

冯玉华¹, 董静¹, 卢蕾², 李琦³, 宋磊⁴

文章亮点: 富血小板纤维蛋白对多数细胞增殖具有促进作用, 实验发现富血小板纤维蛋白对体外培养的兔骨髓间充质干细胞增殖同样具有促进作用, 并且在培养 21 d 前具有剂量依赖性, 富血小板纤维蛋白诱导骨髓间充质干细胞分化为许旺细胞的分化率高于传统化学诱导方法。

关键词: 血小板纤维蛋白; 许旺细胞; 骨髓间充质干细胞; 诱导分化; 周围神经; S-100; 神经胶质原纤维酸性蛋白; 组织工程

摘要

背景: 富血小板纤维蛋白被誉为新一代血小板浓缩物, 有研究表明, 富血小板纤维蛋白可以诱导骨髓间充质干细胞分化为神经样细胞。

目的: 观察富血小板纤维蛋白对骨髓间充质干细胞向许旺细胞分化的影响。

方法: 分离兔骨髓间充质干细胞, 并分为 3 组: 对照组使用传统抗氧化剂诱导, 富血小板纤维蛋白 1 组加入 1 块富血小板纤维蛋白诱导, 富血小板纤维蛋白 2 组加入 2 块富血小板纤维蛋白诱导。

结果与结论: 培养第 3, 7, 14, 21 天时取各组细胞行 CCK-8 细胞毒性检测发现, 与对照组相比, 富血小板纤维蛋白 1 组各时间点细胞增殖增快($P < 0.05$), 与富血小板纤维蛋白 1 组相比, 富血小板纤维蛋白 2 组各时间点细胞增殖增快($P < 0.05$); 培养第 21 天时 Real Time PCR 检测发现, 富血小板纤维蛋白 1 组细胞内 S-100 和神经胶质原纤维酸性蛋白 mRNA 表达较对照组增高($P < 0.05$), 富血小板纤维蛋白 1 组与富血小板纤维蛋白 2 组相比 S-100 和神经胶质原纤维酸性蛋白 mRNA 表达差异无显著性意义($P > 0.05$); 培养第 21 天时流式细胞术检测发现, 富血小板纤维蛋白 1 组 S-100(+)细胞百分比和神经胶质原纤维酸性蛋白(+)细胞百分比均高于对照组, 富血小板纤维蛋白 1 组与富血小板纤维蛋白 2 组相比, 阳性细胞百分比差异无显著性意义($P > 0.05$)。结果表明, 富血小板纤维蛋白可促进骨髓间充质干细胞增殖, 且富血小板纤维蛋白诱导骨髓间充质干细胞分化为许旺细胞的分化率高, 优于传统化学诱导方法。

¹ 吉林医药学院附属医院, 吉林省吉林市 132013;
² 哈励逊国际和平医院神经内科, 河北省衡水市 053000;
³ 吉林大学口腔医院种植中心, 吉林省长春市 130021;
⁴ 吉林大学白求恩第一医院神经内科, 吉林省长春市 130021

冯玉华, 女, 1969 年生, 吉林省吉林市人, 汉族, 2009 年吉林大学毕业, 主治医师, 主要从事脑血管病的研究。
articlehelp@163.com

中图分类号: R394.2
文献标识码: A
文章编号: 2095-4344 (2012)49-09157-05

收稿日期: 2012-04-10
修回日期: 2012-06-21
(20120410002/M · S)

Platelet-rich fibrin induces the differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells into Schwann cells

Feng Yu-hua¹, Dong Jing¹, Lu Lei², Li Qi³, Song Lei⁴

Abstract

BACKGROUND: Platelet-rich fibrin is known as a novel platelet condensate. Several studies have demonstrated that platelet-rich fibrin can induce the differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells into neuronal-like cells.

OBJECTIVE: To investigate the effects of platelet-rich fibrin on differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells into Schwann cells.

METHODS: Rabbit bone marrow mesenchymal stem cells were isolated and randomized to three groups. In the control group, conventional antioxidants were used. In the platelet-rich fibrin 1 group, one piece of platelet-rich fibrin was added to induce cell differentiation. In the platelet-rich fibrin 2 group, two pieces of platelet-rich fibrin were added to induce cell differentiation.

RESULTS AND CONCLUSION: At days 3, 7, 14, 21 days of culture, CCK-8 assay was performed to detect cell toxicity. Results showed that cell proliferation at each time point was faster in the platelet-rich fibrin 1 group than that in the control group ($P < 0.05$), and it was faster in the platelet-rich fibrin 2 group than that in the platelet-rich fibrin 1 group ($P < 0.05$). Real-time PCR results showed that at day 21 of culture, intracellular S-100 and glial fibrillary acidic protein mRNA expression levels were significantly higher in the platelet-rich fibrin 1 group than those that in the control group ($P < 0.05$), and no significant differences were observed between platelet-rich fibrin 1 group and platelet-rich fibrin 2 group ($P > 0.05$). Flow cytometry results showed that at day 21 of culture, the proportions of intracellular S-100 and glial fibrillary acidic protein positive cells in the platelet-rich fibrin 1 group were significantly higher than those in the control group ($P > 0.05$) and there was no significant difference between platelet-rich fibrin 1 group and platelet-rich fibrin 2 group ($P > 0.05$).

¹Affiliated Hospital of Jilin Medical College, Jinlin 132013, Jilin Province, China;

²Department of Neurology, Harrison International Peace Hospital, Hengshui 053000, Hebei Province, China;

³Implantation Centre, Stomatology Hospital, Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China;

⁴Department of Neurology, First Hospital of Norman Bethune College of Medicine of Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China

Feng Yu-hua, Attending physician, Affiliated Hospital of Jilin Medical College, Jinlin 132013, Jilin Province, China
articlehelp@163.com

Received: 2012-04-10
Accepted: 2012-06-21

Results indicate that platelet-rich fibrin can promote the proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells in a dose-dependent manner, and platelet-rich fibrin can induce bone marrow mesenchymal stem cells to differentiate into a high proportion of Schwann cells. The platelet-rich fibrin induction is superior to conventional chemical induction.

Feng YH, Dong J, Lu L, Li Q, Song L. Platelet-rich fibrin induces the differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells into Schwann cells. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2012;16(49): 9157-9161.

0 引言

富血小板纤维蛋白是新一代血小板浓缩物,最早由法国学者Choukroun于2000年提出^[1],主要由纤维蛋白、血小板及各种细胞因子如表皮生长因子、转化生长因子 β 1、血小板衍生因子AB和胰岛素样生长因子1等构成。与传统富血小板血浆技术相比,富血小板纤维蛋白克服了制备过程需要添加异源性凝血酶而带来的伦理道德争议,并且富血小板纤维蛋白中的纤维蛋白与天然血凝块中纤维蛋白的结构类似,能将血小板和释放的生长因子以化学键的方式结合起来,通过缓慢释放,延长生长因子的作用时间^[2-3]。

富血小板纤维蛋白具有良好的促进骨、牙周组织细胞增殖、再生的能力,并可用于外周神经的修复^[4]。最近研究表明,富血小板纤维蛋白还有促进骨髓间充质干细胞分化为神经样细胞的作用。因此设计本实验,研究富血小板纤维蛋白对骨髓间充质干细胞向许旺细胞分化的影响,为体外获取许旺细胞寻找一种安全、有效的方法。

1 材料和方法

设计: 分子生物学随机对照试验。

时间及地点: 实验于2011年8至10月在吉林大学病理学实验室完成。

材料:

实验动物: 3月龄新西兰纯种大耳白兔9只,体质量2.5–2.8 kg,雌雄不拘,由吉林大学动物繁育中心提供,购入后严格按照国家部属实验动物管理委员会制定的实验动物饲养条件下进行标准饲养2周。动物许可证号: SCXK(吉)2003-0006。实验对动物的处理方法符合中华人民共和国科学技术部颁发的《关于善待实验动物的指导性意见》^[5]。

主要试剂和仪器:

试剂及仪器	来源
速眠新	长春军事兽医研究所
Superscript III Reverse Transcriptase 试剂盒	Invitrogen, CA, USA
Cell Counting Kit-8	Sigma-Aldrich, 上海
UV-240 型紫外分光光度计	北京凯奥
SYBR Green PCR 试剂盒	北京全式金生物技术 有限公司
神经胶质原纤维酸性蛋白和 S-100 mRNA	上海生物工程研究所
Flow Cytometry Fixation/ Permeabilization Buffer kit-I、FITC 标记的羊抗兔神经胶质原纤维酸性蛋白单克隆抗体、PE 标记的鼠抗兔 S-100 单克隆抗体 IgG	R&D Systems China, 上海
BD FACSCalibur 流式细胞仪、Cellquest 软件	Becton Dickinson Medical Devices Co Ltd, 上海

实验方法:

富血小板纤维蛋白的制备: 按Choukroun等^[1]的方法:取大耳白兔,分别称体质量,肌肉注射速眠新后使动物静卧,待动物角膜反射消失后仰卧位固定于动物手术台。剪除动物颈部毛,碘伏常规消毒皮肤,盖无菌洞巾。切开颈部皮肤,经蚊式钳钝性分离皮下显露右侧颈静脉,注射器采血5 mL,压迫止血。随即将血液转入无菌采血管,用盛有水的相同试管迅速配平后,离心10 min(3 000 r/min,离心半径5 cm)静置后弃上清,取出中间的Choukroun's富血小板纤维蛋白,用消毒眼科剪剪除其下部红细胞胶冻,将所得富血小板纤维蛋白凝胶用无菌纱布挤压成膜状,消毒眼科剪修剪Choukroun's富血小板纤维蛋白膜。

骨髓间充质干细胞的分离培养: 在静脉取血之前,于兔髂后上嵴处剪毛备皮,消毒后铺巾。参照Guo等^[6]方法,16号骨髓穿刺针接10 mL注射器,穿刺进入骨髓腔。注射器内含1.0 mL肝素钠(3 000 U/mL),抽取5 mL骨髓液。将骨髓液与等体积的不含血清的DMEM培养基混匀,离心5 min(500 r/min,离心半径5 cm)后弃

上清液, 再加入DMEM培养基混匀。加入5.0 mL密度1.073 g/mL的Percoll液于离心管内静置5 min, 离心20 min(2 400 r/min, 离心半径5 cm)。可见管内液体分为4层, 小心吸取第2层乳白色云雾状悬浮的单个核细胞层, 移至另一无菌离心管中, PBS洗2遍, 离心5 min(500 r/min, 离心半径5 cm)。加入DMEM完全培养基重悬细胞, 调节细胞浓度为 $1.0 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$, 接种于一次性塑料培养瓶中, 置于37 °C, 体积分数为5%CO₂培养箱中培养, 24 h时全量换液。此后两三天更换一次培养基。

富血小板纤维蛋白对骨髓间充质干细胞增殖的影响: 取第3代骨髓间充质干细胞, 置于96孔板上, 调整细胞数为20 000/孔。将所选取细胞分为3组, 对照组、富血小板纤维蛋白1组和富血小板纤维蛋白2组, 每组30孔。其中对照组孔中为普通EDEM培养基, 富血小板纤维蛋白1组加1块富血小板纤维蛋白, 富血小板纤维蛋白2组加入2块富血小板纤维蛋白, 培养7 d后移除富血小板纤维蛋白(防止受到污染), 细胞培养继续。并于培养3, 7, 14, 21 d, 每次取18孔(每组6孔, 共3组)使用Cell Counting Kit-8检测细胞增殖, 具体方法如下: 向每孔加入10 μL CCK-8溶液后将培养板在培养箱内孵育0.5-4 h(37 °C, 体积分数为5% CO₂的条件下), 用酶标仪测定在450 nm处的吸光度值, 以吸光度值表示细胞增殖程度绘制细胞生长曲线。

QRT-PCR测定S-100和神经胶质原纤维酸性蛋白mRNA表达: 分别于培养第21天时取3组细胞悬液离心(5 min, 800×g)后彻底弃上清。按Romero-Ramirez等^[7]的方法进行PCR测定S-100 mRNA和神经胶质原纤维酸性蛋白mRNA表达, 步骤如下: 加入Trizol提取总RNA。所提RNA均经UV-240型紫外分光光度计(北京凯奥)测定其含量, 总RNA A₂₆₀/A₂₈₀比值在1.80-2.00。取2 μg总RNA, 严格按照说明书, 使用Superscript III Reverse Transcriptase试剂盒进行cDNA合成。将合成后的cDNA按照说明书, 使用SYBR Green PCR试剂盒进行实时定量PCR, 步骤如下: 将特异性引物1 μL(包含0.5 μL上游引物和0.5 μL下游引物), 2×SYBR Green QPCR Master Mix 12.5 μL, 稀释的cDNA 2.5 μL和nuclease-free PCR-grade water 9 μL混合, 混合物在95 °C变性5 min, 随后进行40次循环(95 °C 30 s, 60 °C 1 min, 72 °C 30 s)。PCR仪检测PCR产物SYBR绿色荧光, 以β-actin为内参定量产物浓度。

S-100和神经胶质原纤维酸性蛋白特异性引物参考序列来自GeneBank, 由Prime primer5.0软件设计, 委托上海生物工程研究所合成, 其具体序列如下: S-100

上游引物: 5'-CTC TGC ACC AAG TCC TTT TAA TC-3', 下游引物: 5'-AGG AGG GGT AAG ACT GGT CAT AG-3'。神经胶质原纤维酸性蛋白上游引物: 5'-CAC GGA TCC CAA GCC AAA CAC AAA CAG CGG AA-3', 下游引物: 5'-GTG AAG CTT CTA GCG ACA CCC ACA ACC CTC C-3'。

流式细胞仪测定细胞分化情况: 至培养21 d时, 取3组骨髓间充质干细胞制成单细胞悬液, 流式细胞术鉴定, 具体步骤如下: 细胞经酶消化后PBS重新悬浮制成单细胞悬液, 用Flow Cytometry Fixation/Permeabilization Buffer kit-I对待检细胞进行固定、打孔。然后用含体积分数为5%山羊血清的PBS室温封闭30 min, 离心(800 r/min, 离心半径5 cm)5 min后弃去上清液, PBS重新悬浮。然后向细胞悬液中加入PE标记的鼠抗兔S-100单克隆抗体IgG(1:200)和FITC标记的羊抗兔神经胶质原纤维酸性蛋白单克隆抗体(1:200), 室温反应30 min, PBS漂洗。在标记的同时设阴性对照。使用BD FACSCalibur流式细胞仪对标记后的细胞悬液进行测定, 采用488 nm的氩离子激光激发, Cellquest软件对检测结果进行分析。

统计学分析: 使用SPSS 17.0软件进行数据处理。计量资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 分组资料以相对数表示。组间比较采用方差分析及 q 检验, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

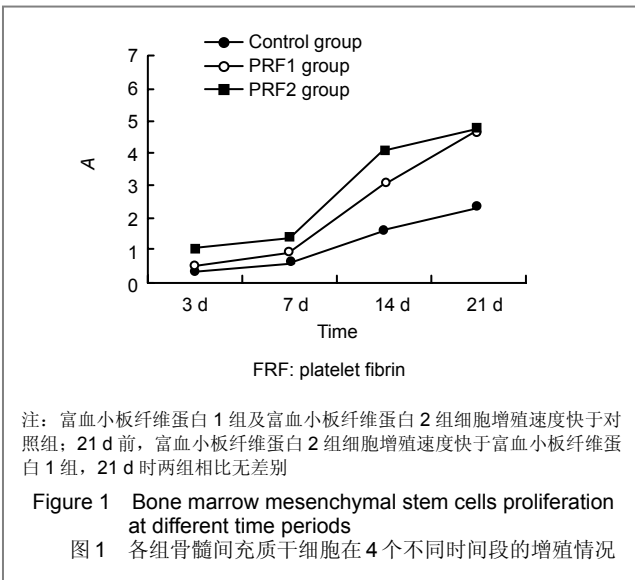
2 结果

2.1 富血小板纤维蛋白和骨髓间充质干细胞形态 静脉血经过离心后得到富血小板纤维蛋白的初级产物, 呈半透明淡黄色胶冻状, 经过挤压后, 其中的血清渗出, 变成凝胶状, 表面光滑, 具有良好的弹性和韧性。所制9块富血小板纤维蛋白整体均呈现淡黄色半透明膜状结构, 大小约15.0 mm×8.0 mm×0.8 mm, 与血凝块交界处富集血小板和白细胞, 呈现为淡红色。

原代兔骨髓间充质干细胞在接种24 h后开始贴壁, 大多呈梭形、三角形, 并可见散在分布的细胞集落的形成, 集落中心细胞致密, 集落边缘细胞呈放射状向外分布。传代后细胞单层贴壁生长, 大多数细胞呈长梭形平行分布, 并可见少量的圆形细胞散在其间。

2.2 富血小板纤维蛋白促进骨髓间充质干细胞增殖 于培养第3, 7, 14, 21天, CCK-8试剂盒对3组细胞增殖进行检测, 结果显示: 第3, 7天, 富血小板纤维蛋白1组细胞吸光度值高于对照组, 差异有显著性意义($P < 0.05$); 第14天与第21天, 富血小板纤维蛋白1组细胞吸

光度值高于对照组, 差异有非常显著性意义($P < 0.01$); 第3天起到第21天, 富血小板纤维蛋白2组细胞吸光度值高于对照组, 差异有非常显著性意义($P < 0.01$); 第3, 7, 14天, 富血小板纤维蛋白2组细胞吸光度值高于富血小板纤维蛋白1组, 差异有显著性意义($P < 0.05$); 第21天富血小板纤维蛋白1组细胞吸光度值与富血小板纤维蛋白2组相比, 差异无显著性意义($P > 0.05$), 见图1。



2.3 富血小板纤维蛋白诱导骨髓间充质干细胞中S-100 mRNA和神经胶质原纤维酸性蛋白mRNA表达于培养21 d取3组细胞进行QRT-PCR测定, 以与 β -actin的比值表示结果: 与对照组相比, 富血小板纤维蛋白1组骨髓间充质干细胞中S-100及神经胶质原纤维酸性蛋白mRNA表达增高($P < 0.05$); 与对照组相比, 富血小板纤维蛋白2组骨髓间充质干细胞中S-100 mRNA表达增高($P < 0.05$), 神经胶质原纤维酸性蛋白mRNA表达显著性升高($P < 0.01$); 与富血小板纤维蛋白1组相比, 富血小板纤维蛋白2组S-100与神经胶质原纤维酸性蛋白mRNA表达无明显差异($P > 0.05$), 见表1。

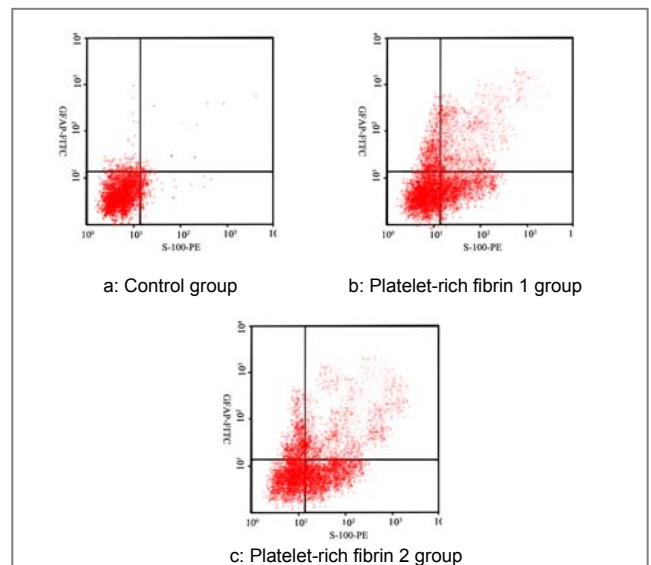
表1 各组骨髓间充质干细胞中S-100 mRNA和神经胶质原纤维酸性蛋白mRNA表达比较
Table 1 S-100 and GFAP mRNA expression in bone marrow mesenchymal stem cells ($\bar{x} \pm s$)

mRNA	Control group	PRF1 group	PRF2 group
S-100	1.47±0.29	1.96±0.37 ^a	2.14±0.44 ^a
GFAP	1.79±0.17	2.39±0.61 ^a	2.41±0.52 ^b

^a $P < 0.05$, vs. control group; ^b $P < 0.01$, vs. PRF1 group. GFAP: glial fibrillary acidic protein; RPF: platelet-rich fibrin

2.4 富血小板纤维蛋白促进骨髓间充质干细胞分化培养21 d后, 荧光抗体S-100、神经胶质原纤维酸性蛋白直接标记3组骨髓间充质干细胞, 流式细胞学检测3组

S-100(+)和GFAP(+)细胞百分比, 结果显示: 对照组S-100(+)细胞数占总细胞数(3.38±0.68)%, 神经胶质原纤维酸性蛋白(+)细胞百分比为(4.96±0.41)%; 与对照组相比, 富血小板纤维蛋白1组S-100(+)、神经胶质原纤维酸性蛋白(+)细胞数增多($P < 0.05$), 分别为(38.78±10.42)%和(22.74±10.28)%; 富血小板纤维蛋白2组S-100(+)及神经胶质原纤维酸性蛋白(+)细胞数分别为(40.04±10.10)%和(24.32±12.23)%, 与富血小板纤维蛋白1组相比差异无显著性意义($P > 0.05$), 见图2。



3 讨论

富血小板纤维蛋白制备方法最突出的特点是简单快捷^[1], 制作过程中不添加任何人工试剂, 仅是静脉血经过离心制得。但在制备过程中需要操作者动作迅速, 在短时间内即凝血之前采集到实验所需的血量。如果有延迟而发生自然凝血, 纤维蛋白将以分散的形式聚合, 无法形成结构完整、可供利用的富血小板纤维蛋白膜^[8]。因此, 在本实验中, 为了排除动物皮毛对操作的影响及为了采集足够的血量, 采取了直视下颈静脉采血的方法。富血小板纤维蛋白整个制备过程操作迅速, 严格无菌, 制备的富血小板纤维蛋白膜形态、弹性及韧性均良好, 可以进行下步实验。另外实验采用密度梯度离心法分离骨髓间充质干细胞, 所得骨髓间

充质干细胞形态较一致, 纯度相对较高, 便于下步实验观察和记录细胞的生长状态。

富血小板纤维蛋白对多数细胞增殖具有促进作用, 实验发现富血小板纤维蛋白对体外培养的兔骨髓间充质干细胞增殖同样具有促进作用, 并且在培养21 d前同样具有剂量依赖性。富血小板纤维蛋白促进细胞增殖的原因比较明确, 与富血小板纤维蛋白中所富含的生长因子类物质有关。但为何在21 d时, 富血小板纤维蛋白2组和富血小板纤维蛋白1组细胞增殖能力几乎相同呢? 作者推测其可能的原因有两点: 一是培养环境是有限的, 只能支持一定程度的细胞增殖; 二是富血小板纤维蛋白中所含的生长因子是逐步释放的, 当去除富血小板纤维蛋白后, 生长因子不能维持恒定的浓度, 无论是富血小板纤维蛋白1组还是富血小板纤维蛋白2组培养液中的生长因子都很快耗竭。

Farrag等^[4]曾将血小板制品用于大鼠面神经损伤后的修补, 结果发现血小板制品可以明显促进面神经轴突以及神经功能的恢复, 但还没有研究报道富血小板纤维蛋白是否可以促进体外培养的骨髓间充质干细胞向神经样细胞分化。S-100和神经胶质原纤维酸性蛋白分别是许旺细胞和星形胶质细胞的特异性标志物^[9-10]。本次实验使用实时定量PCR和流式细胞术对与富血小板纤维蛋白共培养的骨髓间充质干细胞检测发现, S-100 mRNA、神经胶质原纤维酸性蛋白mRNA表达以及S-100(+)、神经胶质原纤维酸性蛋白(+)阳性细胞数百分比都明显高于对照组, 实验结果表明富血小板纤维蛋白可以明显促进骨髓间充质干细胞向许旺细胞以及类神经细胞方向分化, 但并不具有剂量依赖性。富血小板纤维蛋白中富含纤维蛋白以及生长因子类如表皮生长因子、转化生长因子 β 1、血小板衍生因子AB和胰岛素样生长因子1。其中血小板衍生因子是一种趋化因子和有丝分裂原, 有研究证实其可以强烈诱导骨髓间充质干细胞分化为许旺细胞^[11-12]。推测富血小板纤维蛋白促进骨髓间充质干细胞分化为许旺细胞可能和血小板衍生因子有关, 但详细的作用机制还需进一步研究证实。

4 参考文献

- [1] Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, et al. Une opportunité en parodontologie: le PRF. *Implantodontie*. 2000; 42: 55-62.
- [2] Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(3):e45-50.

- [3] Lundquist R, Dziegiel MH, Agren MS. Bioactivity and stability of endogenous fibrogenic factors in platelet-rich fibrin. *Wound Repair Regen*. 2008;16(3):356-363.
- [4] Farrag TY, Lehar M, Verhaegen P, et al. Effect of platelet rich plasma and fibrin sealant on facial nerve regeneration in a rat model. *Laryngoscope*. 2007;117(1):157-165.
- [5] 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.
- [6] Guo XM, Wang CY, Wang YH, et al. Experimental study of the isolation, culture and in chondrogenic differentiation of human bone mesenchymal stem cell. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2003;38(1):63-66.
- [7] Romero-Ramirez L, Cao H, Regalado MP, et al. X box-binding protein 1 regulates angiogenesis in human pancreatic adenocarcinomas. *Transl Oncol*. 2009;2(1):31-38.
- [8] Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(3):e37-44.
- [9] Kikuchi M, Yatabe M, Tando Y, et al. Immunohistochemical localization of anterior pituitary hormones in S-100 protein-positive cells in the rat pituitary gland. *Cell Tissue Res*. 2011;345(3):425-429.
- [10] Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000). *Neurochem Res*. 2000; 25(9-10):1439-1451.
- [11] Mantur M, Koper O. Platelet-derived growth factor--the construction, role and its receptors. *Pol Merkuri Lekarski*. 2008;24(140):173-176.
- [12] Movaghar B, Tiraihi T, Mesbah-Namin SA. Transdifferentiation of bone marrow stromal cells into Schwann cell phenotype using progesterone as inducer. *Brain Res*. 2008;1208:17-24.

来自本文课题的更多信息--

作者贡献: 实验设计为冯玉华, 实验实施为所有作者, 实验评估为冯玉华, 资料收集为卢蕾。冯玉华成文, 宋磊审校, 冯玉华对文章负责。

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。

伦理要求: 实验过程中对动物的处置应符合 2009年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。