

离子型谷氨酸受体拮抗剂MK-801浓度与全脑缺血再灌注大鼠海马内源性神经干细胞的增殖***

袁国艳¹, 任铭新², 郭义威², 周立²

Effect of ionotropic glutamate receptor antagonists MK-801 on the proliferation of endogenous neural stem cells in rats with global cerebral ischemia-reperfusion injury

Yuan Guo-yan¹, Ren Ming-xin², Guo Yi-wei², Zhou Li²

Abstract

BACKGROUND: After cerebral ischemia-reperfusion, excessive excitatory amino acids can activate endogenous neural stem cells (NSCs) through N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) receptor and can repair nerve cells by the proliferation and differentiation of endogenous NSCs but damage nerve cells by intracellular calcium overload at the same time.

OBJECTIVE: To study the effect of NMDA receptor antagonist MK-801 on the proliferation of endogenous NSCs of global cerebral ischemia-reperfusion rat hippocampus.

METHODS: The SD rats were divided into control group, operation group and different concentrations of MK-801 group (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mg/kg). The rats were first treated with lateral ventricle intubation, and 3 days later, four-vessel occlusion was used to establish global cerebral ischemia-reperfusion model, except the control group. Different doses of MK-801 were intracerebrally ventricularly injected at 30 minutes before cerebral ischemia. The same concentration of normal saline was used in control group and operation group. Immunohistochemistry and RT-PCR technique were used to detect nestin positive cells and mRNA level expression.

RESULTS AND CONCLUSION: When the concentration of MK-801 was under 0.8 mg/kg, the protein and mRNA expression of nestin was high and there was no difference between MK-801 group and operation group ($P > 0.05$). When the concentration of MK-801 was equal to 0.8 mg/kg, the expression of nestin gene and protein was decreased significantly with MK-801 increasing ($P < 0.05$). MK-801 can not only inhibit calcium overload but also has good effect on stimulating neural stem cell proliferation at the concentration of 0.6 mg/kg.

Yuan GY, Ren MX, Guo YW, Zhou L. Effect of ionotropic glutamate receptor antagonists MK-801 on the proliferation of endogenous neural stem cells in rats with global cerebral ischemia-reperfusion injury. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(6): 1003-1006. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 脑缺血再灌注后, 过度释放的兴奋性氨基酸可通过 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体激活内源性神经干细胞, 促使其增殖、分化, 修复神经细胞, 但同时也会导致细胞内钙离子超载, 引起神经细胞的损伤。

目的: 观察 NMDA 受体拮抗剂 MK-801 浓度对脑缺血再灌注大鼠海马内源性神经干细胞增殖的影响。

方法: SD 大鼠随机分为正常对照组、手术对照组及 MK-801 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mg/kg 组。除正常对照组外, 大鼠首先进行侧脑室插管, 3 d 后进行 4 条血管阻断方法制备大鼠全脑缺血再灌注模型。在模型制作前 30 min 按照不同浓度侧脑室注射 MK-801。正常对照组和手术对照组侧脑室注射同剂量的生理盐水。免疫组织化学、RT-PCR 技术检测各组海马 nestin 阳性细胞及其 mRNA 表达。

结果与结论: MK-801 浓度在 0.8 mg/kg 以下时, 用药组大鼠海马 nestin mRNA 及蛋白的表达与手术对照组差异无显著性意义($P > 0.05$), 呈现高表达; 当 MK-801 浓度达到 0.8 mg/kg 时, 与手术对照组相比, 用药组大鼠海马 nestin 基因及蛋白的表达明显下降($P < 0.05$), 并随浓度的增高呈递减趋势。提示 MK-801 在浓度为 0.6 mg/kg 时, 即可抑制钙超载保护神经元, 又有良好的刺激神经干细胞增殖作用。

关键词: 离子型谷氨酸受体拮抗剂; 脑缺血; 再灌注; 神经干细胞; MK-801

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.06.012

袁国艳, 任铭新, 郭义威, 周立. 离子型谷氨酸受体拮抗剂 MK-801 浓度与全脑缺血再灌注大鼠海马内源性神经干细胞的增殖[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(6):1003-1006. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

缺血缺氧性脑损伤后, 如何积极有效地促进患者神经功能的恢复是目前脑缺血的研究重点。自1989年Anderson等^[1]最早在实验中首先证实了神经干细胞(neural stem cells, NSCs)的存在以来, 大量的实验已经证明脑缺血后, 过度释放的兴奋性氨基酸可以通过N-甲基-D-

天冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDA)受体激活内源性NSCs, 促使其增殖、分化, 以达到修复丧失神经功能的作用^[2-6]。而脑缺血后兴奋性氨基酸过度释放和NMDA受体过度兴奋, 又可导致细胞内钙离子超载, 引起神经细胞的损伤^[7]。

那么, 如何调控NMDA受体的活化程度, 使其对神经元的保护作用和对内源性NSCs的激活达到最合适的配比关系? MK-801为非竞争

¹Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Weihui 453100, Henan Province, China; ²Department of Anatomy, Xinxiang Medical College, Xinxiang 453003, Henan Province, China

Yuan Guo-yan★, Master, Attending physician, Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Weihui 453100, Henan Province, China
yuanguoyan2001@163.com

Correspondence to: Ren Ming-xin, Master, Lecturer, Department of Anatomy, Xinxiang Medical College, Xinxiang 453003, Henan Province, China
hnlmymx@163.com

Supported by: the Seventh Installment of Provincial Key Disciplines Open Issues of Xinxiang Medical College in 2009, No. ZD200923*; Tender Subject of Key Research Areas of Xinxiang Medical College in 2011, No.ZD2011-14*

Received: 2011-07-01
Accepted: 2011-10-29

¹新乡医学院第一附属医院神经外科, 河南省卫辉市 453100; ²新乡医学院人体解剖学教研室, 河南省新乡市 453003

袁国艳★, 女, 1980年生, 河南省开封市人, 汉族, 2003年新乡医学院毕业, 硕士, 主治医师, 主要从事神经外科脑损伤修复研究。yuanguoyan2001@163.com

通讯作者: 任铭新, 硕士, 讲师, 新乡医学院人体解剖学教研室, 河南省新乡市 hnlyrmx@163.com

中图分类号: R394.2
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2012)06-01003-04

收稿日期: 2011-07-01
修回日期: 2011-10-29 (20110613015/G·C)

性NMDA受体拮抗剂, 可减少脑梗死的面积, 对神经元具有一定的保护作用^[8-10]。本实验通过侧脑室注射MK-801进行干预, 用免疫组织化学、RT-PCR技术检测海马nestin阳性细胞及mRNA水平及表达, 探讨MK-801的浓度与内源性NSCs数目之间的关系, 为临床治疗和预防脑缺血寻求实验基础。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 于2009-10/2011-05在新乡医学院河南省组织再生重点实验室完成。

材料: 成年健康雄性SD大鼠54只, 体质量200~250 g, 按随机数字表法分组, 正常对照组6只, 手术对照组12只, MK-801 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mg/kg组各6只。大鼠均由新乡医学院动物中心提供, 动物合格证号: 医动字410116, 实验过程中对动物的处理符合中华人民共和国科学技术部2006年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准^[11]。

主要仪器与试剂:

仪器与试剂	来源
68000型大鼠头颅定位仪、HDL-2100型程控高精度微量注射泵	瑞沃德生命科技有限公司
MK-801、兔抗大鼠巢蛋白(nestin)	深圳晶美科技有限公司
电泳仪、梯度PCR仪	Bio-rad
Trizol Reagent	Invitrogen

实验方法:

侧脑室插管建立给药途径: 用大鼠头颅立体定位仪固定大鼠头部, 按Bures图谱定坐标: P 1.5 mm, R 1.5 mm, H 3.5 mm。大鼠颅骨钻钻孔, 垂直插入导管, 用牙科水泥固定导管。适应3 d后, 建立脑缺血模型, 正常对照组不进行此操作。缺血前30 min, 微量注射器侧脑室注射不同浓度MK-801, 容积为10 μL, 每次5 min注毕, 留针5 min。正常对照组和手术对照组注射同等剂量的生理盐水。

动物模型建立: 10%水合氯醛(300 mg/kg腹腔注射)麻醉, 按照Pulsinelli-4VO法制作全脑缺血模型^[12], 于颈后C₁处切口, 钝性剥离颈部肌肉显露C₁之上双侧翼孔, 灼烧闭塞其下走行的椎动脉, 缝合切口。随后切开颈部正中皮肤, 分离颈部肌肉, 显露双侧颈总动脉, 分离其上的迷走神经丛, 并置线备用。次日, 在动物清

醒状态下, 提起颈总动脉, 用动脉夹夹闭双侧颈总动脉, 15 min后松夹再灌注。判断模型成功标准: 动脉夹闭后, 大鼠出现意识丧失, 翻正反射消失。术后将大鼠在光照条件下分笼饲养。

大鼠nestin免疫组织化学检测: 造模后7 d, 石蜡切片60℃烤箱烤片2 h; 将石蜡切片常规脱蜡至水, 蒸馏水洗涤5 min×3次; 体积分数0.3% H₂O₂: 甲醇液封闭30 min, PBS洗涤5 min×3次; 滴加正常羊血清封闭液, 室温20 min, 甩去多余液体, 不洗; 滴加适当稀释的一抗(兔IgG)4℃过夜孵育; 次日37℃温箱复温20 min, PBS洗5 min×3次; 滴加生物素化山羊抗兔IgG, 37℃ 30 min, PBS洗5 min×3次; 滴加试剂SABC, 37℃ 30 min, PBS洗5 min×3次; DAB室温显色5~10 min, 蒸馏水终止反应, 脱水、封固; 在光学显微镜下观察并记录实验结果。

大鼠nestin基因mRNA表达水平的测定: 用TRIzol一步法提取总RNA, 经电泳显示28 S、18 S和5 S清晰3条带, 测定吸光度A₂₆₀/A₂₈₀比值, 取1 μg RNA, 以Oligo(dT)18为引物进行反转录反应, 反应体系20 μL, 引物见表1。PCR扩增反应条件为: 95℃预变性5 min, 94℃变性30 s, 62℃退火40 s, 72℃延伸60 s, 共30循环; 72℃延伸5 min。PCR扩增产物经15 g/L琼脂糖凝胶电泳后, 以Image J图像处理软件进行A分析, 以nestin和β-actin A值之比进行半定量分析。

表1 目的基因及内参照基因 PCR 引物序列表
Table 1 PCR primers and sequence of target genes and internal reference genes

Gene	Primer sequence	Product size (bp)
Nestin	F: GAG AGG GAG GAC AAA GTC CC	181
	R: TCC CTC AGA GAC TAG CGC AT	
β-actin	F: CTT TTG TGC CTT GAT AGT TC	302
	R: GAG TCC TTC TGA CCC ATA C	

主要观察指标: 免疫组织化学、RT-PCR技术检测各组海马形态变化、nestin阳性细胞及nestin mRNA表达。

统计学分析: 由第一作者采用SPSS 13.0软件完成统计处理, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 54只大鼠全部进入结

果分析, 无脱失。

2.2 MK-801不同浓度组nestin阳性细胞的表达 手术对照组和MK-801各浓度组nestin蛋白表达显著高于对照组($P < 0.01$), 0.2, 0.4, 0.6 mg/kg MK-801组和手术对照组相比nestin蛋白表达基本相似($P > 0.05$), 0.8, 1.0, 1.2 mg/kg和手术对照组相比表达显著减少($P < 0.01$), 0.6 mg/kg和0.8 mg/kg组间差异有显著性意义($P < 0.05$), 见表2, 图1。

表2 各组大鼠脑海马 nestin 阳性细胞表达比较
Table 2 Expression of nestin-positive cells of rats hippocampus in different groups (x±s)

Group	n	Positive cells
Control	6	0.67±0.06
Operation	12	28.29±5.68 ^a
0.2 mg/kg MK-801	6	30.52±5.31 ^a
0.4 mg/kg MK-801	6	26.66±4.32 ^a
0.6 mg/kg MK-801	6	25.36±4.57 ^a
0.8 mg/kg MK-801	6	18.89±5.45 ^{abc}
1.0 mg/kg MK-801	6	13.26±3.23 ^{ab}
1.2 mg/kg MK-801	6	8.08±0.85 ^{ab}

^a $P < 0.01$, vs. control group; ^b $P < 0.01$, vs. operation group; ^c $P < 0.05$, vs. 0.8 mg/kg MK-801 group

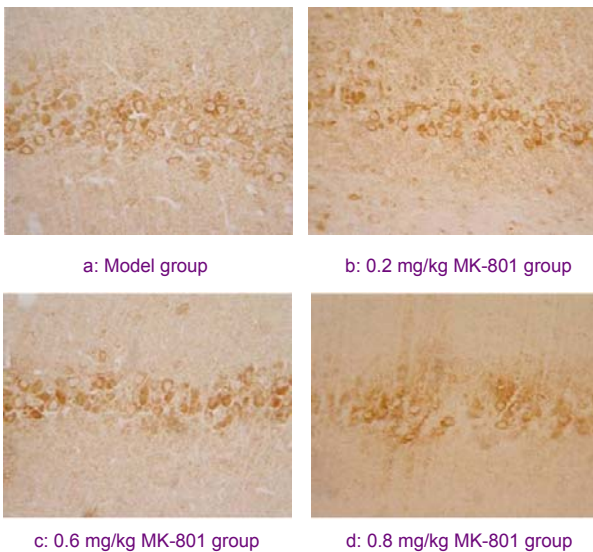
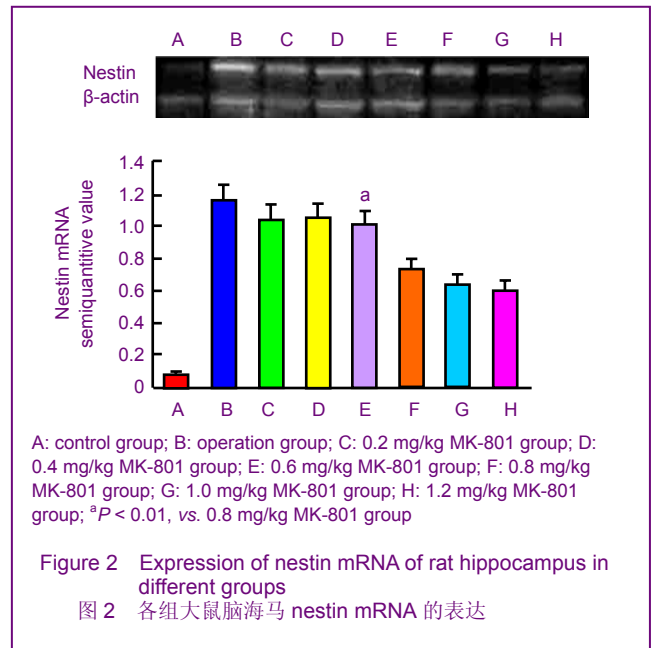


Figure 1 Expression of nestin positive cells of rat hippocampus in different groups (SABC-DAB staining, ×400)

图1 各组大鼠脑海马 nestin 阳性细胞表达(SABC-DAB 染色, ×400)

2.3 MK-801不同浓度组nestin mRNA的表达 手术对照组和各浓度组nestin mRNA显著高于正常对照组($P < 0.01$), 手术各组与正常对照组相比差异均有显著性意义($P < 0.05$), 且0.8 mg/kg组、1.0 mg/kg组、1.2 mg/kg组和手术对照组相比表达显著减少($P < 0.01$), 0.6 mg/kg组、0.8 mg/kg组间差异有显著性意义($P < 0.01$), 其余相邻组间差异无显著性意义($P > 0.05$), 见图2。



A: control group; B: operation group; C: 0.2 mg/kg MK-801 group; D: 0.4 mg/kg MK-801 group; E: 0.6 mg/kg MK-801 group; F: 0.8 mg/kg MK-801 group; G: 1.0 mg/kg MK-801 group; H: 1.2 mg/kg MK-801 group; ^a $P < 0.01$, vs. 0.8 mg/kg MK-801 group

Figure 2 Expression of nestin mRNA of rat hippocampus in different groups

图2 各组大鼠脑海马 nestin mRNA 的表达

3 讨论

Nestin作为中间丝蛋白, 是未分化状态多能神经干细胞的特异性抗原标记物, 其主要存在于胚胎发生期的中枢神经系统^[13]。在正常中枢神经系统发育过程中, 胚胎晚期随着干细胞的分化成熟逐渐被胶质纤维酸性蛋白、神经丝蛋白等中间丝蛋白所替代。中间丝蛋白的表达和变化与细胞分化方向和分化阶段密切相关, 也就是说nestin的表达被公认为是NSCs^[14], 意味着该细胞是一个处于原始状态的, 具有分化潜能的细胞。本实验中, 在对照组的大脑海马nestin表达非常弱, 但是在手术对照组和实验组的海马nestin表达强烈, 因此可以说明缺血性脑损伤可以激活内源性神经干细胞, 与Leker^[15]报道相吻合。

成人脑内NSCs发生主要存在两个区域, 即海马齿状回亚颗粒细胞层和室管膜下区^[16-18]。Yagifa等^[19]报道, 雄性Wistar大鼠在脑缺血再灌注损伤后, nestin阳性细胞首先出现在海马齿状回颗粒下区, 与对照组相比增加5.7倍, 7 d达到高峰。Zhang等^[20]、Richard等^[21]报道, 成年MCAO大鼠除了脑室管膜下区内有NSCs外, 损伤侧大脑皮质也存在NSCs增殖, 这些细胞成簇位于梗死区域皮质, 说明大脑皮质也存在NSCs, 它们在缺血损伤后发生增殖。本实验通过正常对照组、手术对照组和MK-801不同浓度组之间的nestin蛋白表达结果分析, MK-801对神经干细胞的抑制作用与其浓度有关。在浓度为0.8 mg/kg时, 可明显抑制内源性NSCs的增殖; 在0.8 mg/kg浓度以上, 对NSCs的抑制作用, 随着浓度的升高呈递增趋势; 并且在浓度为1.2 mg/kg时, 大鼠有躁动、共济失调等严重不良反应。对nestin mRNA表达

结果与蛋白表达趋势相吻合。

关于NMDA受体拮抗剂MK-801对神经元的保护和抑制的机制目前仍然存在争议,大多数学者认为MK-801是通过抑制兴奋性氨基酸毒性,促进NSCs增殖;同时降低钙离子浓度,维持钙离子在细胞内外的平衡,抑制细胞的凋亡^[22-23]。另外碱性成纤维细胞生长因子是NSCs的有丝分裂原,主要调节早期前体细胞的分裂,并与其他细胞因子一起促进NSCs迁移^[24]。在脑缺血后, MK-801可以调节脑内碱性成纤维细胞生长因子的表达,促进一些对碱性成纤维细胞生长因子敏感的NSCs向一定的方向迁移^[25]。同时在脑缺血后, NMDA受体拮抗剂还可以促进一些细胞因子的上调,如血管内皮生长因子、脑源性神经营养因子、白细胞介素1 β 、白细胞介素6、肿瘤坏死因子 α 等,而这些因子又在不同阶段促进NSCs的增殖和分化^[26-27]。但NMDA受体拮抗剂对神经元和NSCs的具体影响机制还不明确,需进一步的深入探讨和研究。

从本实验结论来看, MK-801的浓度与脑梗死后神经功能的修复有一定的关系,实验中0.6 mg/kg是一个比较合适的实验应用浓度,在此浓度下即可使MK-801减少兴奋性氨基酸对神经元的毒性作用,保护神经细胞,又使内源性神经干细胞的增殖不受到大的影响。而增殖的神经干细胞能否进一步分化为具有功能的神经元达到修复丢失的神经网络环路,还有待于进一步研究。

4 参考文献

[1] Anderson DJ, Michelsohn A. Role of glucocorticoids in the chromaffin-neuron developmental decision. *Int J Dev Neurosci*. 1989;7(5):475-487.

[2] McKay R. Stem cells in the central nervous system. *Science*. 1997;276(6309):66-71.

[3] Jin K, Minami M, Lan JQ, et al. Neurogenesis in dentate subgranular zone and rostral subventricular zone after focal cerebral ischemia in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(8):4710-4715.

[4] Jin K, Wang X, Xie L, et al. Evidence for stroke-induced neurogenesis in the human brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(35):13198-13202.

[5] Kantrowitz JT, Javitt DC. N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor dysfunction or dysregulation: the final common pathway on the road to schizophrenia? *Brain Res Bull*. 2010;83(3-4):108-121.

[6] Yamashita T, Ninomiya M, Hernandez Acosta P, et al. Subventricular zone-derived neuroblasts migrate and differentiate into mature neurons in the post-stroke adult striatum. *J Neurosci*. 2006;26(24):6627-6636.

[7] Gibson CJ, Meyer RC, Hamm RJ. Traumatic brain injury and the effects of diazepam, diltiazem, and MK-801 on GABA-A receptor subunit expression in rat hippocampus. *J Biomed Sci*. 2010;17(1):38.

[8] Meltzer HY, Horiguchi M, Massey BW. The role of serotonin in the NMDA receptor antagonist models of psychosis and cognitive impairment. *Psychopharmacology (Berl)*. 2011;213(2-3):289-305.

[9] Cam E, Yulug B, Ozan E. MK 801: a possible neuroprotective agent by poststroke depression? *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2008;20(3):367-368.

[10] Han RZ, Hu JJ, Weng YC, et al. NMDA receptor antagonist MK-801 reduces neuronal damage and preserves learning and memory in a rat model of traumatic brain injury. *Neurosci Bull*. 2009;25(6):367-375.

[11] 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.

[12] Pulsinelli WA, Brierley JB. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. *Stroke*. 1979;10(3):267-272.

[13] Suzuki S, Namiki J, Shibata S, et al. The neural stem/progenitor cell marker nestin is expressed in proliferative endothelial cells, but not in mature vasculature. *J Histochem Cytochem*. 2010;58(8):721-730.

[14] Lendahl U, Zimmerman LB, McKay RD. CNS stem cells express a new class of intermediate filament protein. *Cell*. 1990;60(4):585-595.

[15] Leker RR. Fate and manipulations of endogenous neural stem cells following brain ischemia. *Expert Opin Biol Ther*. 2009;9(9):1117-1125.

[16] Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med*. 1998;4(11):1313-1317.

[17] Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science*. 2000;287(5457):1433-1438.

[18] Doetsch F. A niche for adult neural stem cells. *Curr Opin Genet Dev*. 2003;13(5):543-550.

[19] Yagifa Y, Kitagawa K, Ohtsuki T, et al. Neurogenesis by progenitor cells in the ischemic adult rat hippocampus. *Stroke*. 2001;32(8):1890-1896.

[20] Zhang RL, Zhang ZG, Zhang L, et al. Proliferation and differentiation of progenitor cells in the cortex and the subventricular zone in the adult rat after focal cerebral ischemia. *Neuroscience*. 2001;105(1):33-41.

[21] Richard L, Pitts S, Andrew I, et al. The mood stabilizer valproic acid stimulates GABA neurogenesis from rat forebrain stem cells. *J Neurochemical*. 2004;91(1):238-251.

[22] Kim Y, Comte I, Szabo G, et al. Adult mouse subventricular zone stem and progenitor cells are sessile and epidermal growth factor receptor negatively regulates neuroblast migration. *PLoS One*. 2009;4(12):8122.

[23] Langton JM, Kim JH, Nicholas J, et al. The effect of the NMDA receptor antagonist MK-801 on the acquisition and extinction of learned fear in the developing rat. *Learn Mem*. 2007;14(10):665-668.

[24] Nygren J, Wieloch T, Pesic J, et al. Enriched environment attenuates cell genesis in subventricular zone after focal ischemia in mice and decreases migration of newborn cells to the striatum. *Stroke*. 2006;37(11):2824-2829.

[25] Pearson S, Sroczynska P, Lacaud G, et al. The stepwise specification of embryonic stem cells to hematopoietic fate is driven by sequential exposure to Bmp4, activin A, bFGF and VEGF. *Development*. 2008;135(8):1525-1535.

[26] Numakawa T, Suzuki S, Kumamaru E, et al. BDNF function and intracellular signaling in neurons. *Histol Histopathol*. 2010;25(2):237-258.

[27] Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev*. 2004;25(4):581-611.

来自本文课题的更多信息--

基金声明: 2009 年度新乡医学院第七批省级重点学科开放课题资助项目(ZD200923); 2011 年新乡医学院重点研究领域招标课题项目(ZD2011-14)。

作者贡献: 实验设计、实施、评估分别为第一、二、三作者,均经过系统培训,未采取盲法评估。

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: 实验过程对动物的处理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》标准。

本文创新性: 作者以“MK-801, 脑缺血, 内源性神经干细胞”为关键词通过检索万方医学全文数据库(1999/2010-12)中国期刊网(1999/2010-12)中国生物医学文献服务系统(1999/2010-12) Ovid-Medline 医学文献库(1999/2010-12),最终认定具有先进性。创新点如下:脑缺血后,过度释放的兴奋性氨基酸可以通过 NMDA 受体激活内源性 NSCs,促使其增殖、分化,达到修复丧失神经功能的作用。而同时过度释放的兴奋性氨基酸又引起钙离子超载,导致神经元的损伤。那么,如何控制 NMDA 受体活化的程度,使其对神经元的保护作用和对内源性 NSCs 的激活达到最合适的配比关系?这是本课题的着眼点。