

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.23.015 [http://www.crter.org]

张鹏, 周国庆, 孙晶晶. 丹红注射液联合骨髓间充质干细胞移植治疗大鼠脑梗死[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(23):4286-4291.

丹红注射液联合骨髓间充质干细胞移植治疗大鼠脑梗死*

张鹏¹, 周国庆¹, 孙晶晶²

1 河北省徐水物探局职工中心医院内二科, 河北省保定市 072550

2 唐山市协和医院神经内科, 河北省唐山市 063000

文章亮点:

1 以丹红注射液联合骨髓间充质干细胞移植治疗大鼠脑梗死, 实验观察结果表明丹红注射液作为强抗氧化剂可抑制脂质过氧化, 减少自由基损伤, 稳定细胞膜, 增加脑梗死大鼠脑组织的活力, 一定程度上保护了脑组织。

2 联合骨髓间充质干细胞移植, 可使移植的骨髓间充质干细胞更好的存活、增殖分化与迁移, 还可提高细胞移植治疗的有效率, 促进梗死后大鼠神经功能的恢复。

关键词:

干细胞; 干细胞移植; 骨髓间充质干细胞; 丹红注射液; 移植; 大鼠; 脑梗死; 尾静脉; 注射; 干细胞图片文章

摘要

背景: 单纯骨髓间充质干细胞移植修复受损脑组织的作用并不十分理想。

目的: 观察丹红注射液联合骨髓间充质干细胞移植治疗大鼠脑梗死的效果。

方法: 用线栓法制备大鼠大脑中动脉阻塞模型, 随机分为3组, 模型组尾静脉注射 PBS、丹红注射液组尾静脉注射 2 mL/kg 丹红注射液、联合治疗组联合注射 2 mL/kg 丹红注射液+ 2.0×10^9 L⁻¹ 的骨髓间充质干细胞悬液, 连续 5 d, 1 次/d。

结果与结论: 在骨髓间充质干细胞移植后 2 周, 联合治疗组神经功能评分明显优于模型组及丹红注射液组($P < 0.05$); 移植后 3 周联合治疗组大鼠脑梗死体积明显小于模型组和丹红注射液组($P < 0.05$); 病理组织学观察也可见联合治疗组的组织损伤减轻程度大于丹红注射液组和模型组。结果可见丹红注射液联合骨髓间充质干细胞移植治疗大鼠脑梗死疗效显著, 可以对脑细胞起到保护作用。

张鹏★, 女, 1979 年生, 河北省保定市人, 汉族, 河北医科大学毕业, 硕士, 主治医师, 主要从事脑梗死的研究。
nl1528523@126.com

中图分类号:R394.2

文献标识码:B

文章编号:2095-4344
(2013)23-04286-06

收稿日期:2012-10-20

修回日期:2013-01-06

(20120620007/M/Q)

Danhong injection plus bone marrow mesenchymal stem cell transplantation for treatment of cerebral infarction in rats

Zhang Peng¹, Zhou Guo-qing¹, Sun Jing-jing²

1 Second Department of Internal Medicine, Oil Geophysical Prospecting Bureau of Trade Unions Central Hospital, Baoding 072550, Hebei Province, China

2 Department of Neurology, Tangshan Union Hospital, Tangshan 063000, Hebei Province, China

Abstract

BACKGROUND: Simple bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in repair of damaged brain tissues does not exhibit ideal effect.

OBJECTIVE: To investigate the effect of *Danhong* injection combined with bone marrow mesenchymal stem cell transplantation on the treatment of cerebral infarction in rats.

METHODS: The models of middle cerebral artery occlusion were established by suture method and randomly divided into three groups. Model group received tail vein injection of PBS. *Danhong* injection group received tail vein injection of 2 mL/kg *Danhong* injection. Combination group received injection of

Zhang Peng★, Master,
Attending physician, Second
Department of Internal
Medicine, Oil Geophysical
Prospecting Bureau of Trade
Unions Central Hospital,
Baoding 072550, Hebei
Province, China
nll528523@126.com

Received: 2012-10-20
Accepted: 2013-01-06

2 mL/kg *Danhong* injection + 2.0×10^9 /L bone marrow mesenchymal stem cell suspension, for 5 consecutive days, once a day.

RESULTS AND CONCLUSION: At 2 weeks following bone marrow mesenchymal stem cell transplantation, the neurological function scores in the combination group were significantly better than those in the model group and *Danhong* injection group ($P < 0.05$). Cerebral infarct volume in the combination group was significantly less than that in the model and *Danhong* injection groups at 3 weeks following transplantation ($P < 0.05$). Histopathological observation showed that the reduced degree of tissue injury was larger in the combination group than the *Danhong* injection and model groups. Results indicated that *Danhong* injection combined with bone marrow mesenchymal stem cell transplantation on the treatment of rats with cerebral infarction showed remarkable effects and protected brain cells.

Key Words: stem cells; stem cell transplantation; bone marrow mesenchymal stem cells; *Danhong* injection; transplantation; rats; cerebral infarction; tail vein; injection; stem cell photographs-containing paper

Zhang P, Zhou GQ, Sun JJ. *Danhong* injection plus bone marrow mesenchymal stem cell transplantation for treatment of cerebral infarction in rats. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(23):4286-4291.

0 引言

脑梗死是由缺血、缺氧引起的局限性脑组织软化坏死的一种常见病,具有高致残率、高死亡率和复发率等特点^[1-3]。其发病机制与能量代谢障碍、脂类介质的毒性、自由基损伤等有关,其中自由基损伤是脑梗死发生的关键性因素。目前对脑梗死所致的缺氧缺血性脑损伤缺乏有效的治疗手段,仍采取以支持治疗为主的综合治疗方法。

骨髓间充质干细胞是近年来研究的热点之一,可分化为多种神经细胞,具有改善脑梗死鼠神经的功能^[4-7]。大量骨髓间充质干细胞治疗脑梗死的实验表明同种异体骨髓间充质干细胞在迁移至受损脑组织后,除了可在脑组织中定植并自身分化为受损组织的细胞直接参与修复外,还可通过旁分泌的形式,分泌一系列的细胞因子,发挥抗炎、抗凋亡、促新生血管生成,改善组织灌注等作用,促进了脑损伤组织的内源性修复。骨髓间充质干细胞旁分泌形式修复可能比直接分化修复更重要。同种异体骨髓间充质干细胞移植在明显改善神经功能缺损的同时,比神经保护剂具有更长的治疗时间窗。但是单纯的骨髓间充质干细胞移植对受损脑组织的修复作用并不理想,需要结合药物及生物工程材料等手段进行综合治疗。丹红注射液是中国的一种传统名药,具有活血化瘀、通脉疏络、清除自由基的作用。实验通过丹红注射液联合骨髓间充质干细胞移植治疗大鼠脑梗死,探讨其治疗效果。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 实验于2011年1月至2012年3月在华北煤炭医学院完成。

材料:

实验动物: 1月龄SD大鼠96只,雌雄不限,体质量80-100 g,购自中国医学科学院动物实验室;动物质量合格证号: SCXK(冀)20081003。动物常温饲养,自由摄食、饮水,光照12 h,术前12 h禁食。

主要药品、试剂和仪器: 丹红注射液(规格10 mL/支)购于菏泽步长制药有限公司; L-DMEM培养基购于美国Sigma公司; 体积分数为10%胎牛血清购于上海普飞生物技术有限公司; 谷氨酰胺购于上海迈瑞尔化学技术有限公司; 胰蛋白酶购于美国Gibco BRL公司; 二氧化碳培养箱购于Thermo Forma公司; 超净工作台购于苏州安泰空气技术公司; 荧光倒置显微镜购

于德国 Leica 公司。

实验方法:

骨髓间充质干细胞的分离与培养: 将6只1月龄SD大鼠脱髓处死, 全身浸入体积分数为75%乙醇消毒约10 min。无菌条件下取双侧胫骨、双侧股骨干标本, 剪除骨端, 10号注射器抽取1 mL L-DMEM培养基自一端冲洗, 制成单细胞悬液, 以1 000 r/min(离心半径8 cm)离心5 min。弃上清液及脂肪层, 用含体积分数10%胎牛血清的DMEM培养液重悬沉淀的细胞, 以 $4 \times 10^7 \text{ L}^{-1}$ 细胞浓度接种至100 mL培养瓶中, 置于37 °C、体积分数为5%CO₂及饱和湿度孵育箱中, 第3天半量换液, 以后每隔3 d全量换液, 并按1:2比例传代。逐日观察细胞生长情况, 待细胞达到80%-90%融合时, 进行下一次传代, 再次传代时按1:3比例进行。骨髓间充质干细胞在体外培养融合达到80%后换液, 经多次传代扩增, 使骨髓间充质干细胞逐渐得到纯化。选取生长良好的1, 2, 3代细胞, 用0.25%胰酶消化5 min, 以含胎牛血清的培养液终止消化, PBS清洗, 1 000 r/min(离心半径8 cm)离心5 min, 收集培养的大鼠骨髓间充质干细胞。

骨髓间充质干细胞的CM-Dil标记: 吸取CM-Dil液5 μL至1.5 mL的EP管中, 加入1 mL完全培养液, 吹打均匀, 得CM-Dil标记液。取贴壁达95%融合的细胞, 吸弃培养液, PBS洗3次, 加入标记液40 μL/cm², 于37 °C、体积分数为5%CO₂、饱和湿度恒温培养箱中孵育20 min, 吸弃标记液, 加入37 °C的完全培养液5 mL, 孵育10 min后吸弃, 继续加入培养液重复清洗2次。培养24 h后在倒置荧光显微镜下观察CM-Dil标记效果及细胞形态变化。随机选取5个视野, 计数CM-Dil阳性细胞数及细胞总数, 计算标记率。标记率=视野内阳性细胞总数/视野内细胞总数×100%。移植时PBS洗涤细胞3次, 将终浓度调为 $1 \times 10^{10} \text{ L}^{-1}$ 备用。

动物模型的建立和分组: 采取线栓法制作大鼠中动脉阻塞模型: 用2.5%氯胺酮(20 mg/kg)腹腔注射麻醉, 俯卧位, 取颈正中切口, 暴露右侧颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉, 结扎颈总动脉、颈外动脉, 于颈总动脉分叉下方剪一切口, 将一端用酒精灯烧成圆头的3-0尼龙线置入颈内动脉深度为17.0-18.0 mm, 结扎颈内动脉, 以完全阻断血供。阻断120 min后抽出尼龙线, 恢复再灌注。麻醉清醒后, 把动物放回笼中, 自由饮食。实验分组: 将大鼠中动脉阻塞成模SD大鼠90只随机分为模型组、丹红注射液组和联合治疗组(骨髓间充质干细胞移植+丹红注射液), 每组30只; 在大鼠中动脉阻塞建模成功24 h后, 联合治疗组大鼠尾静脉注射1.0 mL骨髓间充

质干细胞悬液($2.0 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$)+2 mL/kg丹红注射液, 丹红注射液治疗组尾静脉注射2 mL/kg丹红注射液; 模型组大鼠尾静脉注射1.0 mL无菌PBS。连续注射5 d, 1次/d。

大鼠神经功能评分: 分别在尾静脉注入移植液后的1 d, 1周, 2周, 3周, 应用改良神经功能评分法(modified neurological severity scores, mNSS)进行神经功能缺失评测。该量表分为运动、感觉、平衡和反射4个部分, 总分为18分, 以神经功能缺失评分在6-12分入选实验分组。正常大鼠为0分, 评分越低代表神经运动功能恢复越好, 评分越高, 则表示症状越重。

免疫荧光显微镜观察骨髓间充质干细胞存活情况并计数: 移植后2周, 3组再各取8只大鼠取材行梗死处组织学检查以证实恢复程度。取脑组织行常规冰冻切片, 对组织切片进行苏木精-伊红染色和CM-Dil阳性细胞计数。每张切片在高倍镜(×200)下任取10个视野, 计算每个视野的CM-Dil阳性细胞数, 取其均值作为每组的CM-Dil阳性细胞数。

梗死面积的测定: 于移植骨髓间充质干细胞后21 d, 断头处死各组大鼠, 取脑组织行冰冻切片, 置于2%红四氮唑(TTC)进行染色处理, 以病理图像分析系统测定梗死面积, 然后根据梯形公式计算梗死体积。梗死体积(V)= $t(A_1+A_2+\dots+A_n)-0.5(A_1+A_n)$, t为相邻切片之间的距离, A为每层梗死面积。

大鼠脑组织病理学观察: 于骨髓间充质干细胞移植梗死模型大鼠后2周, 随机取每组大鼠各10只, 取材后进行梗死处组织学检查以证实恢复情况。取梗死处组织, 经心脏灌注40 g/L多聚甲醛, 固定10 min, 行常规冰冻切片, 组织切片进行苏木精-伊红染色、室温干燥后观察。

主要观察指标: 大鼠神经功能评分, CM-Dil阳性细胞计数, 梗死体积, 组织学观察结果。

统计学分析: 采用SPSS 11.5统计软件进行统计学分析, 所有实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA), 两组间比较采用S-N-K-q检验, P < 0.05为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 骨髓间充质干细胞形态 原代培养的骨髓间充质干细胞呈圆形, 胞体透亮, 折光性好, 与骨髓单个核细胞混杂。接种36 h可见少量细胞成单层贴壁生长, 胞体细长呈梭形, 类似于成纤维细胞、成集落样生长, 以后逐步增多。接种2周细胞融合成片, 贴壁细胞分布均匀, 细胞形态渐趋于一致, 以梭形为主, 胞体变饱满, 骨髓间充质干细胞均一性好, 纯度达97%以上, 见图1。

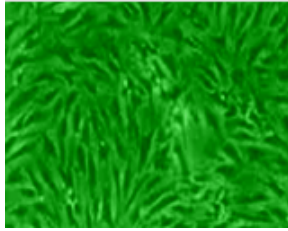


图1 接种2周后骨髓间充质干细胞细长呈梭形($\times 200$)

Figure 1 Bone marrow mesenchymal stem cells became spindle shaped at 2 wk following incubation ($\times 200$)

2.2 各组大鼠神经功能评分 各组大鼠神经功能评分比较, 在移植后第3天, 联合治疗组与丹红注射液组、模型组比较差异无显著性意义($P > 0.05$); 在移植后2周开始, 联合治疗组与模型组比较, 差异有显著性意义($P < 0.01$), 与丹红注射液组比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 丹红注射液组与模型组比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 见表1、图2。

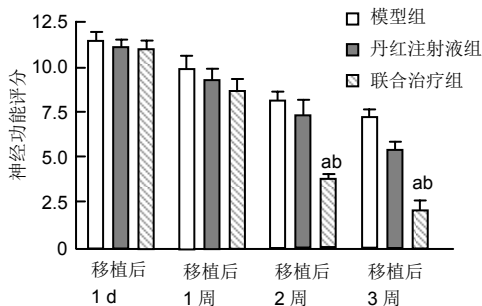
表1 各组大鼠尾静脉注入移植液后1d, 1周, 2周, 3周神经功能评分比较

Table 1 Neurological function score comparison at 1 d, 1, 2, and 3 wk following tail vein injection of transplantation solution in rats of each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	移植后1d	移植后1周	移植后2周	移植后3周
模型组	11.51 \pm 0.45	9.89 \pm 0.78	8.14 \pm 0.53	7.21 \pm 0.42
丹红注射液组	11.15 \pm 0.39	9.25 \pm 0.65	7.29 \pm 0.91	5.42 \pm 0.38
联合治疗组	11.04 \pm 0.47	8.67 \pm 0.66	3.79 \pm 0.27 ^{ab}	2.06 \pm 0.52 ^{ab}

与模型组比较, ^a $P < 0.01$, 与丹红注射液组比较, ^b $P < 0.05$ 。

注: 丹红注射液+骨髓间充质干细胞移植联合应用治疗脑梗死效果最佳。

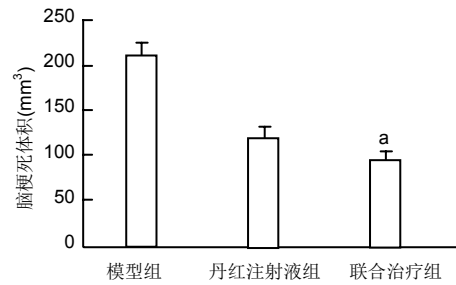


与模型组比较, ^a $P < 0.01$, 与丹红注射液组比较, ^b $P < 0.05$ 。

图2 各组大鼠尾静脉注入移植液后1d, 1周, 2周, 3周神经功能评分

Figure 2 Neurological deficit score of rats in each group at 1 d, 1, 2 and 3 wk following tail vein injection of transplantation solution

2.3 各组大鼠脑梗死体积的比较 骨髓间充质干细胞移植21d后, 对脑组织冰冻切片行TTC染色, 结果显示: 模型组大鼠脑梗死平均体积为(210 \pm 15) mm³; 丹红注射液组大鼠脑梗死平均体积为(120 \pm 10) mm³; 而联合治疗组大鼠脑梗死平均体积为(95 \pm 10) mm³, 与模型组、丹红注射液组相比较梗死面积明显减小, 两组差异有显著性意义($P < 0.05$), 见图3。

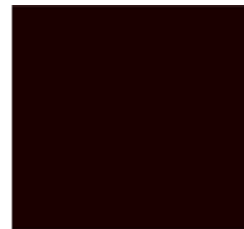


与模型组和丹红注射液组比较, ^a $P < 0.05$ 。

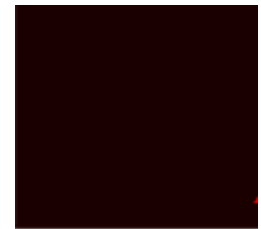
图3 各组大鼠尾静脉注入移植液后21d脑梗死体积的比较

Figure 3 Comparison of cerebral infarction volume in rats of each group at 21 d following tail vein injection of transplantation solution

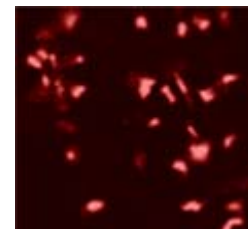
2.4 骨髓间充质干细胞存活情况 荧光显微镜观察见图4。



A: 模型组



B: 丹红注射液组



C: 联合治疗组

注: 模型组和丹红注射液组移植2周后损伤处荧光显微镜下观察无CM-Dil标记的细胞; 联合治疗组移植2周后损伤处荧光显微镜下观察可见有大量散在的CM-Dil标记的阳性细胞。

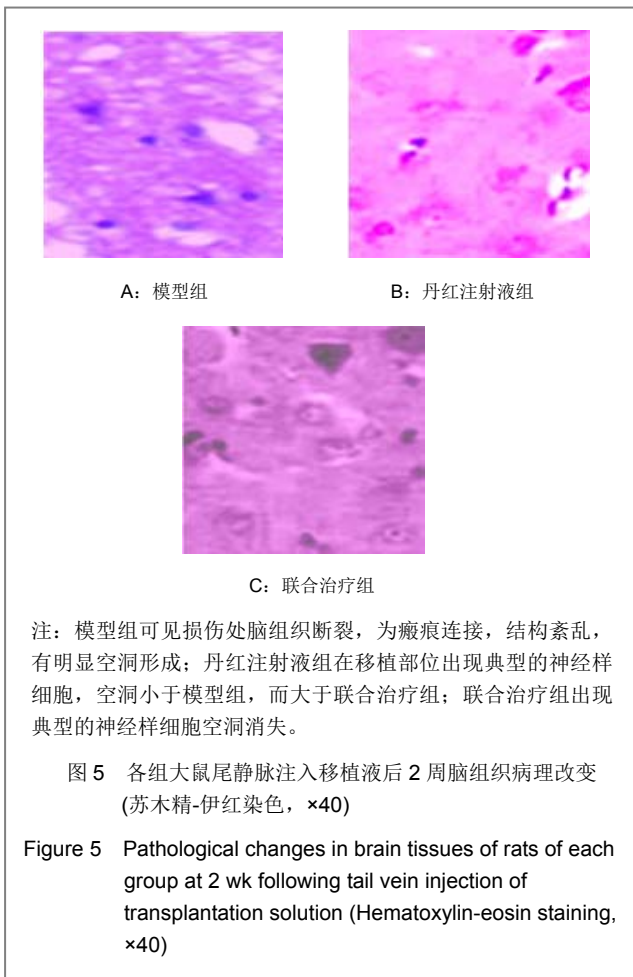
图4 移植2周后骨髓间充质干细胞存活观察($\times 200$)

Figure 4 Bone marrow mesenchymal stem cell survived at 2 wk following transplantation ($\times 200$)

结果显示大鼠梗死灶脑组织中的CM-Dil阳性细胞

数: 模型组及丹红注射液组为0, 联合治疗组为(63.47±8.13)个/高倍视野, 3者经过方差分析后两组之间的比较用 t 检验, 差异有非常显著性意义($P < 0.01$)。

2.5 大鼠脑组织病理学观察 骨髓间充质干细胞移植2周后苏木精-伊红染色模型组可见锥体细胞排列紊乱, 神经元结构模糊, 胞体肿胀, 核固缩, 深染, 尼氏体减少或消失, 梗死处脑组织形成胶质瘢痕, 局部脑萎缩, 软化灶形成, 见图5A; 丹红注射液组可见锥体细胞排列较密, 核固缩, 深染, 组织瘢痕和软化灶小于模型组, 而大于联合治疗组, 见图5B; 联合治疗组可见典型的神经细胞样形态学改变且软化灶消失, 有少量瘢痕, 见图5C。



3 讨论

近些年来随着干细胞研究的发展, 骨髓间充质干细胞移植治疗脑梗死所致的缺氧缺血性脑损伤成为当今医学界研究的热点之一。骨髓间充质干细胞是一种理想的组织工程干细胞^[8-14], 其来源充足, 特性稳定, 易于

冷冻保存和传代培养扩增, 可分泌大量的生长因子和促血管生长因子。多项研究表明骨髓间充质干细胞对大鼠脑梗死具有保护作用^[15-19]。其作用机制可能有: ①骨髓间充质干细胞移植后同宿主神经组织间的相互作用, 可导致一些细胞因子和营养因子的产生。②改善缺血局部微环境, 对神经功能的恢复发挥积极作用。③引导轴突生长和调节轴突形成新的联系, 是神经元生长发育和可塑性的分子标记物。作者所在实验室对骨髓间充质干细胞治疗大鼠脑梗死方面进行了大量研究, 其结果与Peng等^[20]的一致。

丹红注射液是由中药丹参、红花科学提取精制而成的一种传统中药, 有明显促进脑缺血后神经功能恢复、减少脑梗死体积的作用。有研究表明丹参性寒而味苦, 具有的水溶性酚酸类成分和脂溶性丹参酮类成分, 均是治疗脑血管病的有效药物^[21-23]。红花为菊科类植物, 性温味辛, 具有活血化瘀之功效^[24-27]。丹参酚酸和红花有抑制血小板黏附、聚集、激活的作用, 以及能抗血栓形成、改善微循环等作用。实验将其与骨髓间充质干细胞移植联合用于大鼠脑梗死的治疗, 结果显示二者联合应用可显著减少脑梗死体积, 联合治疗组脑梗死体积明显小于丹红注射液组及模型组($P < 0.05$); 在移植后2周, 联合治疗组大鼠神经功能障碍评分低于丹红注射液组及模型组($P < 0.05$); 提示骨髓间充质干细胞移植联合丹红注射液治疗大鼠脑梗死能显著改善大鼠的神经学功能。

实验观察了丹红注射液联合骨髓间充质干细胞移植治疗大鼠脑梗死, 结果表明丹红注射液作为强抗氧化剂, 可抑制脂质过氧化, 减少自由基损伤, 稳定细胞膜, 增加脑梗死大鼠脑组织的活力, 一定程度上保护了脑组织。联合骨髓间充质干细胞移植可使移植的骨髓间充质干细胞更好的存活、增殖分化与迁移, 还可提高细胞移植治疗的有效率, 促进梗死后大鼠神经功能的恢复, 也为今后临床治疗脑梗死提供理论依据和实验基础。

作者贡献: 实验设计为张鹏, 实验实施为张鹏, 实验评估为周国庆, 资料收集为周国庆。张鹏成文, 张鹏审校, 张鹏对文章负责。

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。

4 参考文献

- [1] Guan J, Miller OT, Waugh KM, et al. TGF beta-1 and neurological function after hypoxia-ischemia in adult rats. *Neuroreport*. 2004;15(6):961-964.
- [2] Zhang HL, Wu XM. *Zhonghua Naoxueguanbing Zazhi*. 2010; 4(4):300-307.
张洪连,吴晓牧.骨髓间充质干细胞移植治疗脑梗死及存在问题[J].中华脑血管病杂志,2010,4(4):300-307.
- [3] Mishima K, Ikeda T, Aoo N, et al. Hypoxia-ischemic insult in neonatal rats induced slowly progressive brain damage related to memory impairment. *Neurosci Lett*. 2005;376(3):194-199.
- [4] Zhang TY. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2011;15(14):2557-2561.
张婷勇.骨髓间充质干细胞移植并用单唾液酸神经节苷脂治疗大鼠脑梗死[J].中国组织工程研究与临床康复, 2011,15(14): 2557-2561.
- [5] Li J, Zhu H, Liu Y, et al. Human mesenchymal stem cell transplantation protects against cerebral ischemic injury and upregulates interleukin-10 expression in Macaca fascicularis. *Brain Res*. 2010;1334:65-72.
- [6] Jiang W, Xia F, Han J, et al. Patterns of Nogo-A, NgR, and RhoA expression in the brain tissues of rats with focal cerebral infarction. *Transl Res*. 2009;154(1):40-48.
- [7] Lei L, Zhou RX. Migration and differentiation of bone marrow-derived multipotent adult progenitor cells through tail vein injection in a rat model of cerebral ischemia. *Neural Regen Res*. 2009;4(2):118-122.
- [8] Zhou GQ, Jin Y, Zhang P. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2010;14(45):8416-8420.
周国庆,金怡,张鹏.沉默RhoA基因对骨髓间充质干细胞静脉移植治疗脑梗死大鼠的作用[J].中国组织工程研究与临床康复, 2010,14(45):8416-8420.
- [9] Watanabe K, Nakamura M, Okano H, et al. Establishment of three-dimensional culture of neural stem/progenitor cells in collagen Type-1 Gel. *Restor Neurol Neurosci*. 2007;25(2): 109-117.
- [10] Mothe AJ, Kulbatski I, Parr A, et al. Adult spinal cord stem/progenitor cells transplanted as neurospheres preferentially differentiate into oligodendrocytes in the adult rat spinal cord. *Cell Transplant*. 2008;17(7):735-751.
- [11] Wang JL, Xue KM, Liu JG, et al. *Hubei Zhongyi Xueyuan Xuebao*. 2010;12(2):12-14.
王金良,薛卡明,刘建国,等.清脑灵诱导大鼠骨髓间充质干细胞分化成神经元样细胞[J].湖北中医学院学报,2010,12(2):12-14.
- [12] Fan BS, Zhu JR, Sun QL, et al. *Zhongguo Shiyong Shenjing Jibing Zazhi*. 2010;13(11):70-71.
范波胜,朱继人,孙巧丽,等.NGF基因转染骨髓间充质干细胞治疗脑出血的分析[J].中国实用神经疾病杂志,2010,13(11):70-71.
- [13] Liu Y, Xue HL, Lv ZJ. *Zhongguo Linchuang Shenjing Waike Zazhi*. 2010;15(3):152-155.
刘洋,薛洪利,吕占举.自体骨髓间充质干细胞不同移植途径对脑冷冻伤大鼠神经功能改善的影响[J].中国临床神经外科杂志, 2010,15(3):152-155.
- [14] Zhu JX, Li ZM, Xiao TW, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2010;14(6):1097-1100.
朱建新,李忠民,肖太武,等.自体骨髓间充质干细胞移植治疗脑出血32例:是否安全、可行及有效[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(6):1097-1100.
- [15] Liu SM, Zhang KN. *Zhonghua Naoxueguanbing Zazhi*. 2010; 4(3):191-198.
刘世民,张昆南.骨髓间充质干细胞移植治疗大鼠大脑中动脉缺血再灌注的研究[J].中华脑血管病杂志:电子版,2010,4(3): 191-198.
- [16] Zhang HL, Wu XM. *Zhonghua Naoxueguanbing Zazhi*. 2010; 4(4):300-307.
张洪连,吴晓牧.骨髓间充质干细胞移植治疗脑梗死及存在问题[J].中华脑血管病杂志,2010,4(4):300-307.
- [17] Zahir T, Nomura H, Guo XD, et al. Bioengineering neural stem/progenitor cell-coated tubes for spinal cord injury repair. *Cell Transplant*. 2008;17(3):245-254.
- [18] Le Blanc K, Pittenger M. Mesenchymal stem cells: progress toward promise. *Cytotherapy*. 2005;7(1):36-45.
- [19] Stappenbeck TS, Miyoshi H. The role of stromal stem cells in tissue regeneration and wound repair. *Science*. 2009; 324 (5935):1666-1669.
- [20] Peng Y, Zhang QM, You H, et al. Growth-associated protein 43 and neural cell adhesion molecule expression following bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation in a rat model of ischemic brain injury. *Neural Regen Res*. 2010; 5(13):975-980.
- [21] Zhou ZQ, Luo J, Li Q. *Zhongguo Quanke Yixue*. 2008; 11(10): 865-867.
周志群,罗娟,李琼.丹红注射液对糖尿病肾病大鼠肾脏的保护作用及其机制[J].中国全科医学,2008, 11(10): 865-867.
- [22] Yang SC, Wang K, Zhang ZL. *Zhongguo Shiyong Fangjixue Zazhi*. 2011;17(9):84-86.
杨锁成,汪坤,张振凌.HPLC同时测定复方丹参降浊丸中丹参酮II A和丹酚酸B[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(9):84-86.
- [23] Han LM, Fu Y, Zhang LH, et al. *Fudan Xuebao: Yixueban*. 2011; 38(3):233-236.
韩丽妹,付艳,张丽红,等.新型药用辅料对复方丹参片药剂学性质及溶出性能的影响[J].复旦学报:医学版,2011,38(3):233-236.
- [24] Freret T, Bouet V, Leconte C, et al. Behavioral deficits after distal focal cerebral ischemia in mice: Usefulness of adhesive removal test. *Behav Neurosci*. 2009;123(1):224-230.
- [25] Jin B, Liu AD, Li G, et al. *Shiyong Xin Nao Fei Xueguanbing Zazhi*. 2009;17(1):3-5.
金波,刘安东,李刚,等.丹红注射液对大鼠脑缺血再灌注后损伤的保护作用及机制研究[J].实用心脑血管病杂志,2009,17(1): 3-5.
- [26] Wang S. *Linchuang he Shiyang Yixue Zazhi*. 2010;9(16):1204-1205.
王溯.丹红治疗对急性脑梗死大鼠运动功能改善的影响论著[J].临床和实验医学杂志, 2010,9(16):1204-1205.
- [27] Zhang CY. *Zhongguo Xinyao yu Linchuang Zazhi*. 2001;20(4): 273-275.
张春燕.红花注射液对急性脑梗死病人疗效、血脂、血液流变学的影响[J].中国新药与临床杂志,2001,20(4):273-275.