

不同年龄脑出血大鼠海马齿状回神经干细胞增殖与分化差异的比较

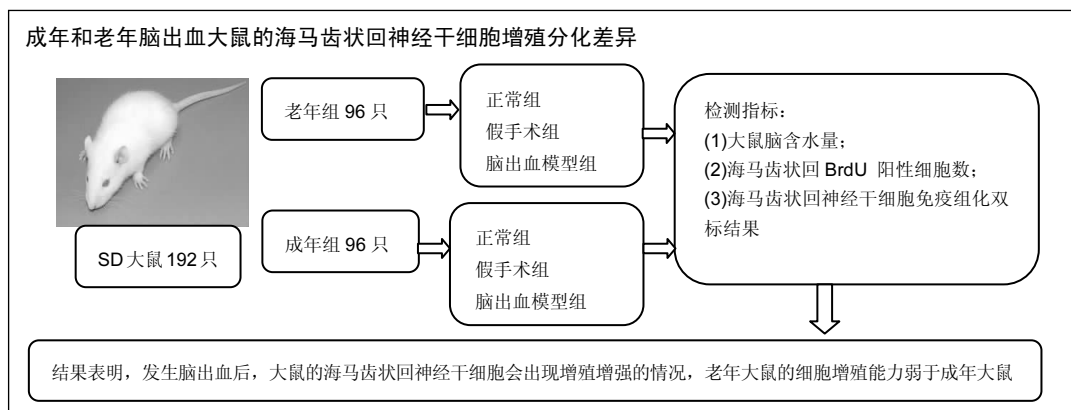
谢强¹, 王飞¹, 周国平¹, 张惠², 马进显¹(南阳市中心医院, ¹神经外科二病区, ²耳鼻喉二病区, 河南省南阳市 473000)

引用本文: 谢强, 王飞, 周国平, 张惠, 马进显. 不同年龄脑出血大鼠海马齿状回神经干细胞增殖与分化差异的比较[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(36):5426-5431.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.36.016

ORCID: 0000-0002-8114-9442(谢强)

文章快速阅读:



谢强, 男, 1980 年生, 河南省南召县人, 汉族, 2008 年新乡医学院毕业, 硕士, 主治医师, 主要从事烟雾病的研究

中图分类号: R394.2

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344

(2016)36-05426-06

稿件接受: 2016-07-17

文题释义:

齿状回: 齿状回位于海马区, 与情节记忆有关, 有助于对新环境的自发探索。有氧运动可能使得齿状回神经再生, 实验表面成年小鼠的齿状回因为新环境的刺激而发生再生。齿状回也作为一个前处理单位, 能够将非常近似的信息拆分成不同的细节, 这为海马 CA3 区的信息存储做了准备。

神经干细胞: 神经干细胞是来源于神经组织或能分化为神经组织的细胞, 具有自我更新能力和通过不对称分裂产生不同子代的细胞, 临床可用于对脑出血患者进行治疗。治疗过程中, 神经干细胞在局部进行分裂增殖, 在局部微环境的影响下分化成相应的受损细胞, 重建神经环路, 产生神经营养因子或神经保护因子, 从而抑制神经变性或促进神经再生利用。

摘要

背景: 脑出血后, 海马齿状回的神经干细胞会被激活, 导致其增殖分化能力的不断增强。通过内源性神经干细胞的不断分化和增殖, 可以逐渐对老化、受损的神经元予以取代, 进而发挥出保护脑结构等作用。

目的: 对比分析不同年龄脑出血大鼠的海马齿状回神经干细胞增殖分化差异情况。

方法: 成年和老年 SD 大鼠各 96 只, 随机各自分为正常组(18 只)、假手术组(18 只)、脑出血模型组(60 只)。其中, 脑出血模型组制备脑出血模型, 并进行 BrdU 标记, 出血 6 h、出血 24 h、出血 48 h、出血 72 h、出血 7 d, 获得大鼠脑组织标本, 计算脑含水量。术后 3, 7, 14, 21, 28 d, 进行 BrdU/NeuN、BrdU/GFAP 双标染色, 计算双标阳性细胞数。

结果与结论: ①成年与老年大鼠脑出血组不同时间的脑含水量均显著高于正常组和假手术组(均 $P < 0.05$)。老年组正常组和假手术组的脑含水量均显著低于成年组(均 $P < 0.05$); ②脑出血组不同时间的两侧 BrdU 阳性细胞数均显著高于正常组和假手术组(均 $P < 0.05$), 且出血组不同时间的出血侧 BrdU 阳性细胞数均显著高于对侧(均 $P < 0.05$); ③成年大鼠脑出血后海马齿状回神经干细胞免疫组织化学双标 BrdU/NeuN 和 BrdU/GFAP 结果显著高于正常组(均 $P < 0.05$); ④成年大鼠 3 组脑出血后出血侧海马齿状回 BrdU 阳性细胞数均显著高于相应的老年组大鼠(均 $P < 0.05$); ⑤结果表明, 正常大鼠海马齿状回存在少量神经干细胞增殖现象, 且老年大鼠的细胞增殖能力弱于成年大鼠。在发生脑出血后, 大鼠的海马齿状回神经干细胞会出现增殖增强的情况, 且老年大鼠的细胞增殖能力弱于成年大鼠。

关键词:

干细胞; 神经干细胞; 脑出血; 海马齿状回; 年龄; 细胞增殖; 细胞分化

主题词:

脑出血; 干细胞; 神经干细胞; 海马; 组织工程

Xie Qiang, Master,
Attending physician,
Second Ward of the
Department of
Neurological Surgery,
Nanyang Central Hospital,
Nanyang 473000, Henan
Province, China

Comparative analysis of the proliferation and differentiation of neural stem cells in the hippocampal dentate gyrus of rats with different ages

Xie Qiang¹, Wang Fei¹, Zhou Guo-ping¹, Zhang Hui², Ma Jin-xian¹ (¹Second Ward of the Department of Neurological Surgery, ²Second Ward of the Department of Otolaryngology, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473000, Henan Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Cerebral hemorrhage can activate the proliferation and differentiation of neural stem cells in the dentate gyrus of the hippocampus. Through continuous differentiation and proliferation, endogenous neural stem cells can gradually replace aging and damaged neurons, thus protecting the brain structure.

OBJECTIVE: To compare the difference of the proliferation and differentiation of neural stem cells in the dentate gyrus of the hippocampus of rats with different ages.

METHODS: Ninety-six adult rats and 96 aged rats were randomly divided into normal group ($n=18$ per group), sham operation group ($n=12$ per group) and cerebral hemorrhage group (model group, $n=66$ per group), respectively. Cerebral hemorrhage models were made in the two model groups in which, the rats were subjected to cerebral hemorrhage for 6, 24, 48, 72 hours and 7 days, respectively. Then, brain tissues were collected to measure brain water content. BrdU/NeuN and BrdU/GFAP double staining were performed at 3, 7, 14, 21, 28 days after surgery to calculate the number of positive cells.

RESULTS AND CONCLUSION: For both adult and aged rats, the brain water content was significantly higher than that in the normal group and sham operation group ($P < 0.05$), while in the normal and sham operation groups, the brain water content was significantly lower in the aged rats than the adult rats ($P < 0.05$). The number of bilateral BrdU-positive cells in the adult and aged model groups was significantly higher than that in the corresponding normal and sham operation groups ($P < 0.05$), and moreover, the positive cell number at the hemorrhage side was significantly higher than that at the opposite side ($P < 0.05$). In addition, the number of BrdU-positive cells at the hemorrhage side in the adult rats was significantly higher than that in the aged rats at different time after cerebral hemorrhage ($P < 0.05$). Results from immunohistochemical double staining showed that the BrdU/NeuN and BrdU/GFAP expression in the hippocampal dentate gyrus of adult rats with cerebral hemorrhage was significantly higher than that of normal adult rats. All these experimental results show that there are a few neural stem cells proliferating in the hippocampal dentate gyrus of normal rats, and the proliferation ability is stronger in the adult rats than the aged rats. Cerebral hemorrhage can significantly strengthen the proliferation of neural stem cells in the dentate gyrus in the adult rats compared with the aged rats.

Subject headings: Cerebral Hemorrhage; Stem Cells; Neural Stem Cells; Hippocampus; Tissue Engineering

Cite this article: Xie Q, Wang F, Zhou GP, Zhang H, Ma JX. Comparative analysis of the proliferation and differentiation of neural stem cells in the hippocampal dentate gyrus of rats with different ages. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(36):5426-5431.

0 引言 Introduction

脑出血是一种严重的急性脑血管疾病,患者会出现不同程度的神经元坏死现象,导致神经功能缺损的出现^[1]。临床治疗可采用降低颅压和康复治疗等,但无法达到理想的神经功能缺损修复效果。为此,寻找有效方式来对坏死缺失神经元予以补充和修复,改善患者的神经功能至关重要^[2-3]。随着干细胞相关理论和技术的不断发展,神经干细胞移植成为治疗脑出血的重要手段。但是,外源性神经干细胞治疗存在一定的不足之处,包括来源有限和培养操作复杂等,且存在一定的免疫排斥反应,内源性神经干细胞则在免疫排斥等方面存在十分明显的应用优势^[4-6]。但是,目前关于脑出血后内源性神经干细胞的增殖、分化相

关问题的研究相对较少,其中,关于年龄对脑出血后海马齿状回神经干细胞的增殖影响相关问题,相应的研究和报道相对较少。此次实验即立足这一背景,对比分析不同年龄脑出血大鼠的海马齿状回神经干细胞增殖分化差异,以期临床治疗提供一定的实验依据。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于2015年9至12月在南阳市中心医院实验室完成。

1.3 材料

实验动物: 成年SD大鼠96只,均为3月龄,健康状

况良好,体质量250-300 g;老年大鼠96只,均为18-24月龄,健康状况良好,体质量400-550 g。此次研究相关方案均提交本院医学伦理部门审核,并经批准,符合相关伦理学要求。

主要试剂: BrdU 单克隆抗体(上海广锐生物科技有限公司); NeuN 单克隆抗体(上海瑞齐生物科技有限公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 实验分组与脑出血模型制备 成年和老年SD大鼠随机各自分为正常组(18只)、假手术组(18只)、脑出血模型组(60只)^[7-8]。其中,脑出血模型组按照时间点划分为3, 7, 14, 21, 28 d组。制备脑出血模型^[7-8],模型制备完毕后对大鼠进行行为学评分,如果评分达到1-4分视为造模成功。

1.4.2 BrdU标记^[9-11] 对各组不同时间段神经干细胞进行BrdU脉冲标记,注射后7 d,水合氯醛麻醉后处死正常组和假手术组,并于3, 7, 14, 21, 28 d处死其他各组。并进行BrdU累积标记,每天注射50 mg/kg,连续注射3 d,注射完毕后28 d,麻醉后处死大鼠。

1.4.3 鼠脑含水量测定^[12] 脑出血6, 24, 48, 72 h及脑出血7 d,麻醉大鼠,获得大鼠脑组织标本,去掉嗅球和脑干,利用电子精密天平对组织湿质量进行称质量。之后置于干燥箱中进行烘烤,烘烤后对组织干质量进行称质量。记录称质量结果,计算脑含水量。计算公式:含水量=(湿质量-干质量)÷湿质量×100%。

1.4.4 BrdU/NeuN、BrdU/GFAP双标染色^[13-16] 术后3, 7, 14, 21, 28 d,麻醉后处死大鼠,获得脑组织标本,常规制备切片后进行BrdU/NeuN、BrdU/GFAP双标染色。严格按照试剂盒说明书进行操作,并置于光学显微镜下进行观察,在400倍光镜下,对5个视野中的双标阳性细胞进行计数,并计算平均值。

1.5 主要观察指标 ①各组大鼠脑含水量。②大鼠脑出血后海马齿状回BrdU阳性细胞数统计结果。③大鼠脑出血后海马齿状回神经干细胞免疫组化双标结果。

1.6 统计学分析 对研究过程中的相关数据予以完整记录与收集,使用SPSS 18.0软件进行统计学分析。组内比较予以配对t检验,组间比较予以单因素方差分析。计算P值,差异存在统计学意义的标准为 $P < 0.05$ 。

2 结果 Results

2.1 实验流程与动物数量分析 入组的动物均进入最后的结果分析,未出现死亡和脱落现象。

2.2 各组大鼠脑含水量检测结果 对成年组和老年组大鼠的脑含水量进行检测,显示两组脑含水量均呈现出不断增加的情况,并于出血后72 h达到最大值,之后逐渐下降(见图1)。成年与老年大鼠脑出血组不同时间的脑含水量均显著高于正常组和假手术组(均 $P < 0.05$),正常组和假手术组经比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。老年组正常组和假手术组的脑含水量均显著低于成年组(均 $P < 0.05$)。脑出血不同时间点老年组和成年组经比较差异无显著性意义(均 $P > 0.05$)。见表1。

2.3 成年大鼠脑出血后海马齿状回BrdU阳性细胞数统计结果 成年大鼠正常组和假手术组的海马齿状回BrdU阳性细胞数经比较差异无显著性意义(均 $P > 0.05$)。正常组和假手术组经比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。脑出血组不同时间的两侧BrdU阳性细胞数均显著高于正常组和假手术组(均 $P < 0.05$),且出血组不同时间的出血侧BrdU阳性细胞数均显著高于对侧(均 $P < 0.05$),见表2。

2.4 老年大鼠脑出血后海马齿状回BrdU阳性细胞数统计结果 老年大鼠正常组和假手术组的海马齿状回BrdU阳性细胞数经比较差异无显著性意义(均 $P > 0.05$)。正常组和假手术组经比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。脑出血组不同时间的两侧BrdU阳性细胞数均显著高于正常组和假手术组(均 $P < 0.05$),且出血组不同时间的出血侧BrdU阳性细胞数均显著高于对侧(均 $P < 0.05$),见表3。

2.5 成年、老年大鼠脑出血后出血侧海马齿状回BrdU阳性细胞数统计结果 成年大鼠脑出血后出血侧海马齿状回BrdU阳性细胞数正常组、假手术组、脑出血组均显著高于相应的老年组大鼠(均 $P < 0.05$),见表4。

2.6 大鼠脑出血后海马齿状回神经干细胞免疫组织化学双标结果 ①成年大鼠脑出血后海马齿状回神经干细胞免疫组织化学双标结果显著高于正常组($P < 0.05$)。②老年大鼠脑出血后海马齿状回神经干细胞免疫组织化学双标结果显著高于正常组($P < 0.05$)。③成年大鼠海马齿状回神经干细胞免疫组织化学双标BrdU/NeuN结果显著高于老年大鼠, BrdU/GFAP结果显著低于老年大鼠(均 $P < 0.05$)。见表5。

3 讨论 Discussion

神经干细胞是来源于神经组织或能分化为神经组织的细胞,具有自我更新能力和通过不对称分裂产生不同子代的细胞,临床可用来对脑出血患者进行治疗^[17-19]。治疗

表 1 各组大鼠脑含水量检测结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$, %)

Table 1 Brain water content of rats in each group

组别	成年大鼠	老年大鼠	<i>P</i>
正常组	77.85±0.75	74.15±0.80	< 0.05
假手术组	77.89±0.78	73.25±0.49	< 0.05
脑出血组			
出血 6 h	79.05±0.68 ^a	78.32±0.55 ^a	> 0.05
出血 24 h	79.52±1.00 ^a	79.08±0.59 ^a	> 0.05
出血 48 h	79.78±0.61 ^a	79.48±0.30 ^a	> 0.05
出血 72 h	80.02±0.81 ^a	80.15±0.42 ^a	> 0.05
出血 7 d	78.32±0.60 ^a	78.31±0.82 ^a	> 0.05

表注: 与正常组和假手术组比较, ^a*P* < 0.05。表 2 成年大鼠脑出血后海马齿状回 BrdU 阳性细胞数统计结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$, 个)

Table 2 Number of BrdU-positive cells in the dentate gyrus of adult rats following cerebral hemorrhage

组别	出血侧	对侧	<i>P</i>
正常组	53.12±3.15	53.20±3.18	> 0.05
假手术组	54.20±3.51	53.12±3.20	> 0.05
脑出血组			
出血 3 d	103.12±2.85 ^a	60.58±3.55 ^a	< 0.05
出血 7 d	170.23±5.03 ^a	105.23±5.25 ^a	< 0.05
出血 14 d	120.35±5.45 ^a	75.02±3.35 ^a	< 0.05
出血 21 d	99.03±4.51 ^a	64.28±2.75 ^a	< 0.05
出血 28 d	65.20±3.12 ^a	60.23±3.12 ^a	< 0.05

表注: 与正常组和假手术组比较, ^a*P* < 0.05。表 3 老年大鼠脑出血后海马齿状回 BrdU 阳性细胞数统计结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$, 个)

Table 3 Number of BrdU-positive cells in the dentate gyrus of aged rats following cerebral hemorrhage

组别	出血侧	对侧	<i>P</i>
正常组	44.15±4.25	44.55±4.35	> 0.05
假手术组	45.05±3.15	45.11±3.55	> 0.05
脑出血组			
出血 3 d	80.23±5.11 ^a	55.04±5.12 ^a	< 0.05
出血 7 d	130.23±7.15 ^a	98.12±4.53 ^a	< 0.05
出血 14 d	110.25±5.25 ^a	92.01±6.15 ^a	< 0.05
出血 21 d	69.12±6.22 ^a	55.26±4.65 ^a	< 0.05
出血 28 d	55.13±3.75 ^a	48.12±3.58 ^a	< 0.05

表注: 与正常组和假手术组比较, ^a*P* < 0.05。

过程中, 神经干细胞在局部进行分裂增殖, 在局部微环境的影响下分化成相应的受损细胞, 重建神经环路, 产生神经营养因子或神经保护因子, 从而抑制神经变性或促进神经再生利用^[20-24]。利用神经干细胞具有自我更新能力, 在病变部位不断增殖, 重建神经网络, 产生神经

表 4 成年、老年大鼠脑出血后出血侧海马齿状回 BrdU 阳性细胞数统计结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$, 个)

Table 4 Comparison of the number of BrdU-positive cells in the hemorrhagic dentate gyrus of aged and adult rats

组别	老年大鼠出血侧	成年大鼠出血侧	<i>P</i>
正常组	44.15±4.25	53.12±3.15	< 0.05
假手术组	45.05±3.15	54.20±3.51	< 0.05
脑出血组			
出血 3 d	80.23±5.11 ^a	103.12±2.85 ^a	< 0.05
出血 7 d	130.23±7.15 ^a	170.23±5.03 ^a	< 0.05
出血 14 d	110.25±5.25 ^a	120.35±5.45 ^a	< 0.05
出血 21 d	69.12±6.22 ^a	99.03±4.51 ^a	< 0.05
出血 28 d	55.13±3.75 ^a	65.20±3.12 ^a	< 0.05

表注: 与正常组和假手术组比较, ^a*P* < 0.05。表 5 大鼠脑出血后海马齿状回神经干细胞免疫组织化学双标结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 5 Immunohistochemical double staining results of neural stem cells in the dentate gyrus of rats following cerebral hemorrhage in rats

指标	正常组	出血组
成年 BrdU/NeuN	8.12±2.25 ^a	25.02±3.12 ^b
成年 BrdU/GFAP	19.21±3.21 ^a	24.01±3.12 ^b
老年 BrdU/NeuN	5.85±1.12 ^a	15.89±2.13
老年 BrdU/GFAP	13.25±1.20 ^a	28.12±2.11

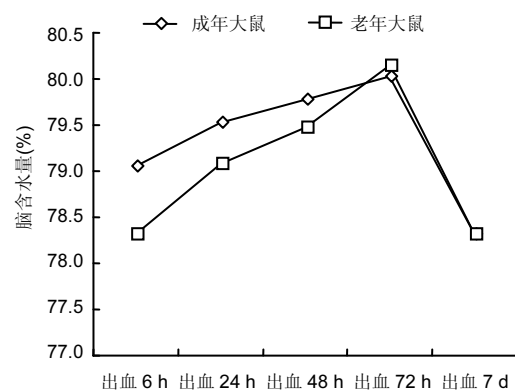
表注: 与出血组比较, ^a*P* < 0.05; 与老年大鼠比较, ^b*P* < 0.05。

图 1 成年大鼠与老年大鼠不同脑出血时间脑含水量变化情况

Figure 1 Changes of brain water content in adult and aged rats at different time of cerebral hemorrhage

图注: 两组脑含水量均呈现出不断增加的情况, 并于出血后 72 h 达到最大值, 之后逐渐下降。

营养因子或神经保护因子, 从而抑制神经变性或促进神经再生利用。

临床治疗过程中, 外源性神经干细胞移植治疗存在一定的不足之处, 内源性神经干细胞则具有明显的应用优势^[25-27]。但是, 关于年龄对脑出血后海马齿状回神经

干细胞的增殖影响相关问题,相应的研究和报道相对较少。实验中以老年大鼠和成年大鼠为例进行对比分析。脑出血后,引起细胞内水肿,会导致不同程度脑水肿的出现,导致脑含水量的增加。研究结果显示,成年与老年大鼠脑出血组不同时间的脑含水量均显著高于正常组和假手术组(均 $P < 0.05$),正常组和假手术组比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。老年组正常组和假手术组的脑含水量均显著低于成年组(均 $P < 0.05$)。上述结果表明,在发生脑出血之后,较之成年大鼠,老年大鼠更容易发生脑水肿。

脑出血后,海马齿状回的神经干细胞会被激活,导致其增殖分化能力的不断增强。通过内源性神经干细胞的不断分化和增殖,可以逐渐对老化、受损的神经元予以取代,进而发挥出保护脑结构等作用^[28-30]。在对神经干细胞增殖情况进行检测的时候,利用 BrdU 对增殖细胞进行标记和观察是常用的方法^[31-33]。实验结果显示,成年和老年大鼠的脑出血组不同时间的两侧 BrdU 阳性细胞数均显著高于正常组和假手术组,且出血组不同时间的出血侧 BrdU 阳性细胞数均显著高于对侧。且成年、老年大鼠脑出血后海马齿状回神经干细胞免疫组织化学双标结果显示,成年大鼠脑出血后海马齿状回神经干细胞免疫组化双标结果显著高于正常组。上述结果显示,随着年龄的增加,大鼠神经干细胞的增殖能力会出现不断减弱的情况。即表明,随着年龄的增加,脑内神经的再生能力会出现不断下降的情况。另外,研究结果还显示,成年大鼠脑出血后海马齿状回神经干细胞免疫组化双标 BrdU/NeuN 结果显著高于正常组, BrdU/GFAP 结果显著低于正常组,成年大鼠脑出血后出血侧海马齿状回 BrdU 阳性细胞数正常组、假手术组、脑出血组均显著高于相应的老年组大鼠。分析出现这一结果的原因,可能是因为成年大鼠神经干细胞具有较强的神经元分化能力,但老年大鼠神经干细胞则更多的倾向于分化为胶质细胞。内源性神经干细胞的激活与脑或脊髓损伤区释放的神经生长因子、炎症因子及趋化因子有关,其中生长因子对神经干细胞的增殖、迁移和分化起重要作用^[34]。但是,内源性神经干细胞的增殖、迁移能力有限,分化成神经元的数量不多,难以形成损伤区神经组织结构和功能的重建^[35-37]。因此,临床对脑出血患者进行治疗的过程中,需要结合实际情况,进行必要的外源性神经干细胞移植,以提高治疗效果^[38]。

致谢: 对本次研究过程的相关参与人员以及为本次研

究提供帮助的机构和人员表示感谢。

作者贡献: 实验设计、评估为第一作者,实施为全体作者。

利益冲突: 所有作者共同认可文章内容不涉及相关利益冲突。

伦理问题: 研究相关方案均提交本院医学伦理部门审核,并经批准,符合相关伦理学要求。实验动物在戊巴妥钠麻醉下进行所有的手术,并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审,符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 谢强对于研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁,可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] 文玉军,王登科,孙征,等.成年和老年大鼠脑出血后海马齿状回神经干细胞的变化[C].中国解剖学会2011年年会论文集,2011:57-57.
- [2] 文玉军,王登科,孙征,等.成年和老年大鼠脑出血后海马齿状回神经干细胞增殖分化的比较[J].中国老年学杂志,2012, 32(24):5455-5458.
- [3] 王登科.成年和老年大鼠脑出血后海马齿状回神经干细胞增殖及分化的研究[D].宁夏医科大学,2011.
- [4] 文玉军,王登科,孙征,等.老年大鼠脑出血后海马齿状回神经干细胞的增殖与分化[J].中风与神经疾病杂志,2011, 28(12):1070-1073.
- [5] 彭俊.成体神经干细胞移植治疗大鼠脑出血实验研究[D].中南大学,2013.
- [6] 谢逸群.BMP-7和noggin基因对成年大鼠脑出血神经修复的影响[D].中南大学,2004.
- [7] 张弩,周辉,杨林,等.成年大鼠海马神经干细胞移植治疗脑出血的研究[J].温州医学院学报,2007,37(1):33-35.
- [8] 罗文芳,黎杏群,罗杰坤,等.神经干细胞移植治疗脑出血大鼠模型时间窗的研究[J].中国老年学杂志,2008, 28(7): 625-628.
- [9] 王复新,燕飞,毕胜,等.大鼠脑出血微创后行神经干细胞移植对其神经功能的影响[J].中风与神经疾病杂志,2013, 30(11):1012-1015.
- [10] 罗文芳.脑出血大鼠神经干细胞移植后IL-2、IL-10的表达及中药干预的影响[D].中南大学,2008.

- [11] 刘云峰.神经干细胞的分离培养及移植治疗大鼠脑出血的实验研究[D].山西医科大学,2004.
- [12] 罗杰坤.脑溢安对缺氧神经干细胞和大鼠脑出血损伤后活化Caspase-3、磷酸化Akt表达的影响[D].中南大学, 2002.
- [13] Chu K,Jeong SW,Jung KH, et al.Celecoxib induces functional recovery after intracerebral hemorrhage with reduction of brain edema and perihematoma cell death. *J Cereb Blood Flow Metab.*2004;24(8):926-933.
- [14] Wakai T,Sakata H,Narasimhan P,et al.Transplantation of neural stem cells that overexpress SOD1 enhances amelioration of intracerebral hemorrhage in mice. *J Cereb Blood Flow Metab.*2014;34(3):441-449.
- [15] 王华,陆琴,诸葛启钊,等.绿色荧光蛋白转基因小鼠神经干细胞在脑出血大鼠脑内移植后迁移和神经功能改变[J].实用医学杂志,2013,29(19):3146-3148.
- [16] 毛进鹏,诸葛启钊,刘乐平,等.绿色荧光蛋白转基因神经干细胞脑出血大鼠脑内移植后血管生成与神经形态学的改变[J].中华实验外科杂志,2012,29(4):690-692.
- [17] 刘安民,蔡望青,麦荣康,等.大鼠脑出血后内源性神经干细胞激活和增殖的实验研究[J].中华神经医学杂志,2008,7(10):997-1000.
- [18] Qin J,Song B,Zhang H,et al.Transplantation of human neuro-epithelial-like stem cells derived from induced pluripotent stem cells improves neurological function in rats with experimental intracerebral hemorrhage. *Neurosci Lett.*2013;548:95-100.
- [19] 李秋霖,王振忠,方剑波,等.神经干细胞在脑出血大鼠脑内移植后对IL-6、TNF- α 表达的影响[J].中华神经外科杂志,2010,26(3):272-276.
- [20] Wang D,Liang JH,Zhang JJ,et al.Mild hypothermia combined with a scaffold of NgR-silenced neural stem cells/Schwann cells to treat spinal cord injury.*Neural Regen Res.*2014;9(24): 2189-2196.
- [21] Dulin JN, Lu P.Bridging the injured spinal cord with neural stem cells.*Neural Regen Res.*2014;9(3): 229-231.
- [22] 任虹宇,李明轩,何承,等.神经干细胞移植脑出血恢复期大鼠神经功能和促血管生成素1及受体的表达[J].中国组织工程研究,2015,(32):5199-5203.
- [23] 陈志颖,殷小平,潘超,等.脑出血微创血肿清除术后内源性神经干细胞激活的实验观察[J].内科急危重症杂志,2014,20(3):188-192.
- [24] Khalili MA,Anvari M,Hekmati-Moghadam SH,et al. Therapeutic benefit of intravenous transplantation of mesenchymal stem cells after experimental subarachnoid hemorrhage in rats. *J Stroke Cerebrovasc Dis.*2012;21(6):445-451.
- [25] Aisa Y,Mori T,Nakazato T,et al.Primary central nervous system post-transplant lymphoproliferative disorder presenting as cerebral hemorrhage after unrelated bone marrow transplantation. *Transpl Infect Dis.*2009; 11(5):438-441.
- [26] 汤华军,范光碧,郑宇杰,等.脑出血后大鼠神经干细胞增殖及迁徙途径的实验研究[J].中国临床解剖学杂志,2015, 33(2):189-192.
- [27] 唐洲平,康慧聪,彭岚,等.神经干细胞和嗅鞘细胞联合移植与神经干细胞移植治疗实验性脑出血的比较[J].中华神经科杂志,2005,38(8):503-506.
- [28] 李峰,刘玉光,朱树干,等.经颈动脉注入神经干细胞治疗脑出血后遗症的时间窗及疗效[J].中华实验外科杂志, 2008, 25(4):474-476,封3.
- [29] Fatar M,Stroick M,Griebe M et al.Lipoaspirate-derived adult mesenchymal stem cells improve functional outcome during intracerebral hemorrhage by proliferation of endogenous progenitor cells stem cells in intracerebral hemorrhages. *Neurosci Lett.*2008; 443(3):174-178.
- [30] 唐洲平,彭岚,康慧聪,等.神经干细胞和嗅鞘细胞联合移植改善脑出血大鼠的运动功能[J].中华器官移植杂志,2005, 26(5):303-306.
- [31] 高鲁.脑出血大鼠神经干细胞移植对调节性T细胞和 $\gamma\delta$ T细胞及其相关因子的调节作用[D].温州医科大学,2014.
- [32] 卢旺盛,田增民,赵全军,等.立体定向神经干细胞移植治疗脑出血后遗症疗效分析[J].中华神经外科疾病研究杂志, 2008,7(6):502-504.
- [33] Chen J, Tang YX, Liu YM,et al.Transplantation of adipose-derived stem cells is associated with neural differentiation and functional improvement in a rat model of intracerebral hemorrhage. *CNS Neurosci Ther.*2012;18(10):847-854.
- [34] 陈志颖.大鼠脑出血后Nrf2-ARE信号通路对灶周神经保护作用及内源性神经干细胞激活的机制研究[D].南昌大学,2013.
- [35] Kim IH,Carlson BR,Heindel CC,et al.Disruption of wave-associated Rac GTPase-activating protein (Wrp) leads to abnormal adult neural progenitor migration associated with hydrocephalus.*J Biol Chem.*2012; 287(46):39263-39274.
- [36] 高俊玮,罗湘颖,伍军,等.神经干细胞移植促进脑出血大鼠神经功能恢复的实验研究[J].卒中与神经疾病,2006, 13(4):208-211.
- [37] 余震.缺氧诱导因子-1 α 对脑出血后神经干细胞的增殖、迁移、分化及血管新生作用的实验研究[D].重庆医科大学,2009.
- [38] 刘清娥,邢之华,黎杏群,等.泻火补肾汤对大鼠脑出血神经干细胞移植后脑内TGF- β 1和VCAM-1蛋白表达的影响[J].山东中医药大学学报,2008,32(3):234-238.