

DOI:10.3724/SP.J.1008.2015.01087

· 论 著 ·

三维球体间充质干细胞移植对大鼠缺血再灌注损伤脑组织 Nogo-A 及 NgR 表达的影响

刘明¹, 夏玉军¹, 张明¹, 付青松¹, 单守勤^{2*}, 王洪霞³

1. 青岛大学医学院人体解剖学教研室, 青岛 266071

2. 济南军区青岛第一疗养院, 青岛 266071

3. 青岛大学附属医院急诊神经内科, 青岛 266071

[摘要] **目的** 探讨三维球体胎盘来源间充质干细胞(MSCs)移植对大鼠缺血再灌注损伤脑组织 Nogo-A 及其受体 NgR 表达的影响。**方法** 大鼠随机分为假手术组(Sham组)、溶剂对照组(Vehicle组)及治疗组(MSCs组),后两组应用线栓法制备大鼠中动脉缺血模型,缺血2h后拔除鱼线再灌注,1d后MSCs组注射三维球体 MSCs,Vehicle组注射等量培养液;移植后1、3、7d测定大鼠神经运动功能,取脑组织,应用RT-PCR法、蛋白质印迹法检测 Nogo-A、NgR mRNA 及蛋白表达。**结果** 与 Vehicle组相比, MSCs组大鼠7d神经运动功能有明显改善($P < 0.05$);移植后1、3、7d MSCs组 Nogo-A、NgR mRNA 及蛋白水平均较 Vehicle组降低($P < 0.05$)。**结论** 三维球体 MSCs 移植可改善脑缺血再灌注后神经运动功能,其机制可能与下调脑组织 Nogo-A 及其受体 NgR 水平有关。

[关键词] 脑缺血;再灌注损伤;间质干细胞移植;Nogo-A;NgR

[中图分类号] R 743.3

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2015)10-1087-05

Effect of transplantation with the three-dimensional spheroid-cultured mesenchymal stem cells on Nogo-A and NgR expression in rats with cerebral ischemia reperfusion injury

LIU Ming¹, XIA Yu-jun¹, ZHANG Ming¹, FU Qing-song¹, SHAN Shou-qin^{2*}, WANG Hong-xia³

1. Department of Anatomy, Medical College of Qingdao University, Qingdao 266071, Shandong, China

2. Qingdao First Sanatorium, PLA Jinan Military Area Command, Qingdao 266071, Shandong, China

3. Department of Neurology Emergency, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266071, Shandong, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of transplantation with the three-dimensional spheroid-cultured mesenchymal stem cells (MSCs) on the expression of Nogo-A and NgR in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury. **Methods** The experimental animals were randomly divided into Sham group, Vehicle group and MSCs treated group. The model of focal ischemia-reperfusion in rats was induced by intraluminal middle cerebral artery (MCA) occlusion with a nylon monofilament suture in Vehicle group and MSCs treated group. The fishing line was unplugged for reperfusion 2 h after ischemia and MSCs were transplanted in MSCs treated group one day later. Equivalent medium solution was given to the Vehicle group 1 d later. On the 1st day, 3rd day, and 7th day after transplantation, the neuromotor function of the animals was detected. The brain tissue of rats was harvested for RT-PCR detection of *Nogo-A* and *NgR* mRNA expression in the brain tissue of rats, and Western blotting analysis was used to detect the expression of Nogo-A and NgR protein. **Results** Compared with the Vehicle group, the neuromotor function was significantly improved in MSCs treated group on the 7th day; and the expressions of Nogo-A and NgR mRNA and protein were significantly down-regulated in MSCs treated group on the 1st day, 3rd day, and 7th day after transplantation ($P < 0.05$). **Conclusion** Transplantation of the three-dimensional spheroid-cultured MSCs can improve the neuromotor function following cerebral ischemia/reperfusion injury, and its mechanism may be associated with down-regulation of Nogo-A and NgR in the brain tissue.

[收稿日期] 2015-01-04

[接受日期] 2015-03-26

[基金项目] 全军医学科研“十二五”重点课题(BWS11J003)。Supported by the “12th Five-Year Plan” for Key Medical Research Project of PLA (BWS11J003).

[作者简介] 刘明, 硕士生。E-mail: lewisliuming@126.com

* 通信作者 (Corresponding author)。Tel: 0532-51885027, E-mail: qdylkxk@163.com

[Key words] brain ischemia; reperfusion injuries; mesenchymal stem cell transplantation; Nogo-A; NgR

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2015, 36(10):1087-1091]

脑梗死是最常见的脑血管病,梗死后脑组织缺血坏死,再生困难。目前对脑梗死导致的神经功能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来改善患者神经功能障碍。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一种具有多向分化潜能的干细胞,近年来, MSCs 移植治疗脑梗死已成为重要的研究方向。Nogo-A 在髓鞘损伤后具有强烈的抑制轴突生长作用^[1]。Nogo-A 与其受体 NgR 结合,介导神经生长抑制作用,是影响神经修复的重要通路^[2]。已有实验证实下调 Nogo-A 或 NgR 均可促进脑梗死后神经恢复^[3]。骨髓间充质干细胞(BMSCs)移植可降低脊髓梗死模型中 Nogo-A 及 NgR 的表达,从而减轻神经损伤^[4-5]。但是受到其体积及迁徙能力的影响, MSCs 在移植过程中易形成血栓,通过微循环到达病灶发挥作用的细胞数量有限,故其临床应用仍有局限性。

研究发现三维(3-D)水平培养所得球体 MSCs 能够明显减小 MSCs 的细胞体积,通过静脉途径移植未发现血管栓塞现象,并且 3-D 球体培养细胞较普通 MSCs 归巢效应明显,具有更强的多潜能分化能力^[6-7]。本研究将 3-D 球体 MSCs 应用于大鼠大脑中动脉缺血再灌注损伤模型,观察大鼠脑缺血区(海马区)Nogo-A 及其受体 NgR 的变化规律,探讨胎盘来源 MSCs 移植对脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能恢复的作用,以及对大鼠脑缺血区 Nogo-A 及其受体 NgR 的影响。

1 材料和方法

1.1 主要仪器及试剂 胎盘来源的 3-D 球体 MSCs 为清华大学深圳研究生院培养并传代^[7-8],用红色荧光染料 DiI 标记;Nogo-A、NgR PCR 引物及兔抗大鼠 Nogo-A、NgR 单克隆抗体(南京金斯瑞生物科技有限公司);蛋白质印迹化学发光试剂盒(北京康为生物科技公司);Centrifuge 5804R 型冷冻离心机(德国艾本德生命科学公司);PCR 仪(美国 Bio-Rad T100 Thermal Cycler);Leica CM1860/1860UV 冰冻组织切片机(德国 Leica 公司)。

1.2 动物分组及处理 随机选取健康雄性 Wistar 大鼠 54 只,体质量(300±50) g,由山东青岛实验动

物中心提供。普通颗粒饲料喂养,饮用自来水。室温控制在 14~25℃。随机分为:假手术组(Sham 组)、MSCs 治疗组(MSCs 组)、溶剂处理对照组(Vehicle 组),每组再分为移植后 1、3、7 d 3 个亚组($n=6$)。MSCs 组和 Vehicle 组根据改良 Longa 等^[9]的方法制备大脑中动脉闭塞(MCAO)模型,造模前大鼠禁食水 24 h,10%水合氯醛腹腔注射麻醉,正中颈部切口,分离并暴露左侧颈总动脉(CCA)、颈外动脉(ECA)、颈内动脉(ICA),结扎 ECA 及 CCA,夹闭 ICA 远心端。于 CCA 近分叉处用眼科剪剪一小口。线栓入 ICA,深 18.0~20.0 mm。缝合皮肤,以插入鱼线成功开始计时,缺血后 2 h 给予再灌注处理[鱼线外拉约 10 mm 恢复大脑中动脉(MCA)供血]。Sham 组除鱼线不插入颈内动脉外,其余处理同上。对大鼠进行神经功能评分后选取手术成功的模型, MSCs 组于再灌注 24 h 后腹腔注射移植 MSCs,细胞含量 5×10^6 个;Vehicle 组腹腔注射等容量培养液;Sham 组不予处理。

1.3 神经功能评分 再灌注清醒时及移植后 1、3、7 d 测定大鼠神经运动功能并评分,评分标准如下:0 分,无明显神经功能缺损;1 分,不能伸展右前肢;2 分,行走时向右侧旋转;3 分,行走时向右侧倾倒;4 分,不能自发行走,意识丧失。再灌注清醒时神经功能评分 1~3 分者为手术成功模型。

1.4 脑组织获取及尼氏染色 各组大鼠在移植后 1、3、7 d 进行神经功能评分后,10%水合氯醛腹腔麻醉,打开胸腔,暴露心脏,剪开右心耳,从左心室快速灌注生理盐水,至流出液透明、动物肝脏及肠系膜苍白,继续以 4%多聚甲醛灌注,待动物出现四肢肌肉抽搐后停止灌注,开颅取脑,脑组织固定于多聚甲醛中。自大鼠前囟后 4.3 mm 处向后切取 1.5 mm 脑组织(相当于大脑海马区)制作冰冻切片(厚度 20 μm),切片用蒸馏水洗 2 min,置于尼氏染液中 15 min,双蒸水洗涤 2 次(数秒),95%乙醇分化约 5 s,在显微镜下观察到尼氏体(呈蓝紫色颗粒状或斑片状)后用双蒸水终止分色,常规脱水透明,中性树胶封片。

1.5 RT-PCR 测定脑组织 Nogo-A、NgR mRNA 表达 按照 RNA 提取试剂盒说明书(康为世纪)制

备总 RNA, 反转录反应按照试剂盒说明书操作, 采用三步 RT-PCR 法测定 *Nogo-A*、*NgR* mRNA 含量。*Nogo-A* 引物序列: 上游 5'-CGC TGG TGC TTC TGT AGT GC-3', 下游 5'-CTT TGT GCT GGG CTA CTG-3' (扩增产物 470 bp)。*NgR* 引物序列: 上游 5'-ACA GTC TTG ACC GTC TCC TCT TGC-3', 下游 5'-TGG CTA CGG GTG CGG TTC TT-3' (扩增产物 679 bp)。*Nogo-A* 及 *NgR* 扩增条件: 95°C 预变性 3 min; 94°C 变性 1 min, 56°C 退火 40 s, 72°C 延伸 1 min, 进行 30 个循环。 *β actin* 引物序列: 上游 5'-CCT TCC TGG GCA TGG AGT CCT G-3', 下游 5'-GGA GCA ATG ATC TTG ATC TTC-3' (扩增产物 208 bp)。 *β actin* 扩增条件: 94°C 预变性 5 min; 94°C 变性 40 s, 55°C 退火 40 s, 72°C 延伸 40 s, 进行 30 个循环。最后 72°C 延伸 10 min。1% 琼脂糖凝胶电泳, 凝胶成像分析系统成像, ID Image Analysis Software 半定量分析。

1.6 蛋白质印迹法测定脑组织 *Nogo-A*、*NgR* 蛋白表达 取冰冻脑组织梗死区用生理盐水匀浆后, 加入蛋白裂解液, 离心后取上清液定量, 上样量为 20 μ g, 以 10% SDS 凝胶进行电泳分离, 然后将蛋白转移至 PVDF 膜上。5% 脱脂牛奶封闭 1 h, 加入一抗 (1:100), 4°C 孵育过夜, TBST 溶液充分洗膜 3 次后, 加入辣根过氧化物酶标记的二抗 (1:10 000), 37°C 孵育 1 h, TBST 溶液洗膜。ECL 法发光, 放入 X 线夹片中曝光, 显影, 然后进行拍照; 用 Image J 软件分析各组蛋白相对比值。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行数据处理, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 所得数据经正态分析和方差齐性检验后, 组间比较采用单因素方差分析, 检验水准 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 MSCs 在脑组织中的分布 冰冻切片荧光显微镜观察 DiI 标记的移植 MSCs 细胞, 结果 (图 1) 可见, MSCs 组在脑损伤大鼠海马 CA1 区有红色荧光信号表达, 表明 MSCs 移植入脑组织并存活良好。

2.2 脑组织尼氏染色 Sham 组神经细胞形态完好, 大小一致, 分布较密集, 细胞内尼氏体含量丰富, 分布均匀; Vehicle 组神经细胞内尼氏体消失, 仅少量细胞可见残留尼氏体; MSCs 组较 Vehicle 组胞内尼氏体增多, 肿胀细胞内可见尼氏体分布 (图 2)。

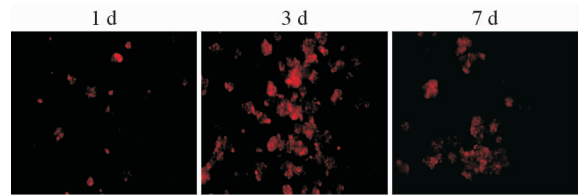


图 1 大鼠脑组织海马区标记 MSCs 分布

Fig 1 Rat hippocampus brain tissue distribution of labeled MSCs
MSCs: Mesenchymal stem cells. Original magnification: $\times 100$

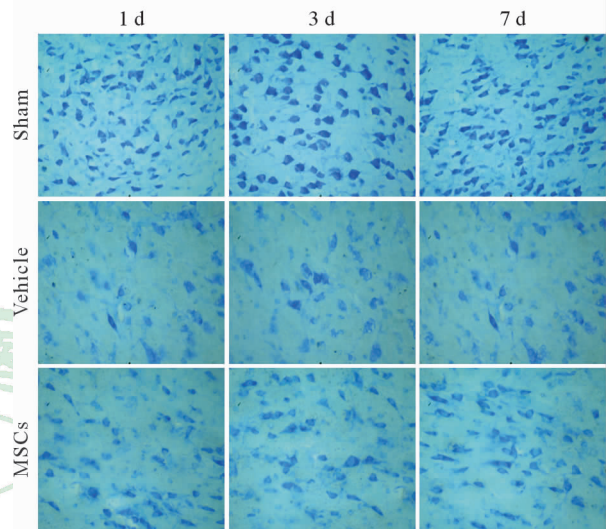


图 2 大鼠脑组织海马区神经元尼氏染色

Fig 2 Nissl staining of neurons in rat hippocampus

MSCs: Mesenchymal stem cells. Original magnification: $\times 100$

2.3 神经功能评分 Sham 组大鼠神经运动功能正常, Vehicle 组、MSCs 组大鼠均出现右侧肢体功能异常, 向右侧 (瘫痪侧) 旋转、倾倒, 提尾悬空可出现右前肢伸展异常。与 Vehicle 组相比, MSCs 组移植后 1、3 d 神经功能无明显改善, 移植后 7 d 神经功能明显改善, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 1)。

表 1 各组大鼠不同时间点神经运动功能评分

Tab 1 Neuromotor function score of each group rats at different time points

Group	$n=6, \bar{x} \pm s$		
	1 d	3 d	7 d
Sham	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
Vehicle	2.16 \pm 0.68*	2.50 \pm 0.76*	2.33 \pm 0.74*
MSCs	2.00 \pm 0.81	2.50 \pm 0.50	1.83 \pm 0.68 Δ

MSCs: Mesenchymal stem cells. * $P < 0.05$ vs Sham group; $\Delta P < 0.05$ vs Vehicle group

2.4 各组大鼠脑组织 *Nogo-A*、*NgR* mRNA 和蛋白的表达 结果 (表 2) 表明: Sham 组移植后 1、3、7 d

Nogo-A mRNA 和蛋白表达量均较低; Vehicle 组 Nogo-A mRNA 和蛋白表达量的变化规律为移植 3 d 后表达量较 Sham 组增多($P < 0.05$), 7 d 回归正常水平; MSCs 组移植后 1, 3, 7 d Nogo-A mRNA 和蛋白表达量均低于 Vehicle 组($P < 0.05$)。Sham 组移植后

1, 3, 7 d NgR mRNA 和蛋白表达量均较低; Vehicle 组表达量在各时间点均较 Sham 组增多($P < 0.05$); MSCs 组的表达量在各时间点均低于 Vehicle 组($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠脑组织不同时间点 Nogo-A 及 NgR mRNA 和蛋白的表达量

Tab 2 mRNA and protein expression of Nogo-A and NgR at different time points in each group

$n=6, \bar{x} \pm s$

	Nogo-A			NgR		
	1 d	3 d	7 d	1 d	3 d	7 d
mRNA						
Sham	0.57±0.26	0.53±0.19	0.56±0.22	0.33±0.18	0.35±0.19	0.36±0.14
Vehicle	0.62±0.20	0.89±0.17*	0.51±0.10	0.43±0.28*	0.73±0.24*	0.73±0.20*
MSCs	0.41±0.15 Δ	0.64±0.24 Δ	0.30±0.20 Δ	0.36±0.16 Δ	0.55±0.35 Δ	0.52±0.27 Δ
Protein						
Sham	0.88±0.39	0.88±0.37	0.89±0.26	0.63±0.30	0.68±0.28	0.66±0.26
Vehicle	1.26±0.30*	1.45±0.33*	0.94±0.29	0.86±0.30*	1.16±0.32*	1.16±0.23*
MSCs	0.93±0.36 Δ	1.05±0.38 Δ	0.84±0.30 Δ	0.64±0.34 Δ	0.97±0.22 Δ	0.86±0.38 Δ

MSCs; Mesenchymal stem cells. * $P < 0.05$ vs Sham group; $\Delta P < 0.05$ vs Vehicle group

3 讨论

近年来脑梗死后的神经再生及功能恢复问题备受关注。本研究结果提示胎盘来源的 3-D 球体 MSCs 可以改善大鼠脑梗死后的神经功能恢复, 机制可能涉及多方面, 其中 Nogo-A 的作用不容忽视。早期神经元再生失败的主要原因是存在 Nogo、髓鞘相关糖蛋白(MAG)、少突胶质细胞髓鞘糖蛋白(OMgp)等髓磷脂抑制物的过表达^[10-11]。这 3 种抑制因子均与相同的受体 Nogo 受体(NgR)结合^[12]。而 Nogo-A 是已知最强的轴突再生抑制蛋白^[1]。因此, Nogo-A 及其受体 NgR 的研究已成为热点。Cajal^[13]研究发现, 中枢神经系统轴突损伤后开始发芽, 但很快发生退变, 推测中枢神经系统中存在抑制轴突生长的因子。Nogo-A 是中枢神经系统髓鞘磷脂中最重要的一种抑制轴突生长的因子, 广泛表达于成年大鼠神经元和少突胶质细胞中。Nogo-A 通过结合 NgR 激活细胞内 RhoA 信号通路, 抑制神经轴突的生长和诱导生长锥塌陷^[14]。许多研究已证明, 应用 Nogo-A 和 NgR 拮抗剂降低其表达可以改善神经功能。Liebscher 等^[15]发现, 应用 Nogo-A 特异性抗体(IL-1)可以促进脊髓损伤模型恢复。Fischer 等^[16]应用 NgR 阻断剂阻断大鼠 Nogo 受体后发现可促进轴突再生。

干细胞移植技术是近年来神经再生研究的热点。MSCs 具有向外胚层来源的神经系细胞定向分化的潜能, 并能分泌多种神经营养因子以促进神经再生^[17-19]; 且具有来源广泛, 易于采集、制备及保存, 避免免疫排斥反应, 不涉及社会、伦理及法律等问题的优点^[20]。本研究应用 3-D 球体 MSCs 更是克服了普通干细胞体积过大的缺点, 使 MSCs 能够更顺利通过肺循环和血脑屏障, 到达病变部位, 发挥更强的修复作用。

本研究观察了 3-D 球体 MSCs 移植对脑缺血再灌注后脑组织 Nogo-A 及 NgR 的表达水平及对缺血再灌注损伤大鼠神经功能的作用。结果显示, 移植 MSCs 出现在大鼠脑组织内, 表明 3-D 球体 MSCs 顺利通过肺循环及血脑屏障, 进入脑组织发挥作用, 改善了大鼠神经功能。RT-PCR 法和蛋白质印迹法检查结果显示, 在 Vehicle 组的多个时间点 Nogo-A 表达水平较 Sham 组增加, 其趋势为移植后 1 d 开始增加, 移植后 3 d 增加较明显, 移植后 7 d 恢复到正常水平, 与闫凤霞等^[21]的研究结果一致; 而 NgR 的表达水平在移植后 1 d 开始增加, 移植后 3 d 增加明显, 移植后 7 d 仍处于较高水平。Nogo-A 和 NgR 的表达水平不同步的原因可能为 NgR 同时为 Nogo、MAG、OMgp 的受体。而 MSCs 组海马中 Nogo-A 及 NgR 水平在移植后 1, 3, 7 d 均较 Vehicle 组下降, 差异有统计学意

义($P < 0.05$)。结果提示 MSCs 进入大鼠脑组织后通过下调 Nogo-A 及 NgR 的表达从而达到了改善大鼠神经功能的效果。

综上所述, 胎盘来源的 3-D 球体 MSCs 可以有效保护脑缺血再灌注损伤脑组织, 改善神经运动功能, 其可能的机制是下调脑梗死后脑组织 Nogo-A 及其受体 NgR 的表达。

[参考文献]

- [1] Chen M S, Huber A B, van der Haar M E, Frank M, Schnell L, Spillmann A A, et al. Nogo-A is a myelin-associated neurite outgrowth inhibitor and an antigen for monoclonal antibody IN-1[J]. *Nature*, 2000, 403: 434-439.
- [2] Budel S, Padukkavidana T, Liu B P, Feng Z, Hu F, Johnson S, et al. Genetic variants of Nogo-66 receptor with possible association to schizophrenia block myelin inhibition of axon growth[J]. *J Neurosci*, 2008, 28: 13161-13172.
- [3] Wang T, Wang J, Yin C, Liu R, Zhang J H, Qin X. Down-regulation of Nogo receptor promotes functional recovery by enhancing axonal connectivity after experimental stroke in rats[J]. *Brain Res*, 2010, 1360: 147-158.
- [4] Tohda C, Kuboyama T. Current and future therapeutic strategies for functional repair of spinal cord injury[J]. *Pharmacol Ther*, 2011, 132: 57-71.
- [5] Shen L H, Li Y, Chen J, Cui Y, Zhang C, Kapke A, et al. One-year follow-up after bone marrow stromal cell treatment in middle-aged female rats with stroke[J]. *Stroke*, 2007, 38: 2150-2156.
- [6] Bartosh T J, Ylostalo J H, Mohammadipour A, Bazhanov N, Coble K, Claypool K, et al. Aggregation of human mesenchymal stromal cells (MSCs) into 3D spheroids enhances their antiinflammatory properties[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 13724-13729.
- [7] Guo L, Ge J, Zhou Y, Wang S, Zhao R C, Wu Y. Three-dimensional spheroid-cultured mesenchymal stem cells devoid of embolism attenuate brain stroke injury after intra-arterial injection[J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23: 978-989.
- [8] Li Z, Liu C, Xie Z, Song P, Zhao R C, Guo L, et al. Epigenetic dysregulation in mesenchymal stem cell aging and spontaneous differentiation[J]. *PLoS One*, 2011, 6: e20526.
- [9] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. *Stroke*, 1989, 20: 84-91.
- [10] Mueller B K, Mack H, Teusch N. Rho kinase, a promising drug target for neurological disorders[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4: 387-398.
- [11] Yamashita T, Fujitani M, Yamagishi S, Hata K, Mimura F. Multiple signals regulate axon regeneration through the Nogo receptor complex[J]. *Mol Neurobiol*, 2005, 32: 105-111.
- [12] Schimmele B, Plückthun A. Identification of a functional epitope of the Nogo receptor by a combinatorial approach using ribosome display[J]. *J Mol Biol*, 2005, 352: 229-241.
- [13] Cajal S R. Degeneration & regeneration of the nervous system (History of Neuroscience, No 5) [M]. London: Oxford University Press, 1991: 478-484.
- [14] Woolf C J, Bloechlinger S. It takes more than two to Nogo[J]. *Science*, 2002, 297: 1132-1134.
- [15] Liebscher T, Schnell L, Schnell D, Scholl J, Schneider R, Gullo M, et al. Nogo-A antibody improves regeneration and locomotion of spinal cord-injured rats[J]. *Ann Neurol*, 2005, 58: 706-719.
- [16] Fischer D, He Z, Benowitz L I. Counteracting the Nogo receptor enhances optic nerve regeneration if retinal ganglion cells are in an active growth state[J]. *Neurosci*, 2004, 24: 1646-1651.
- [17] Peng J, Wang Y, Zhang L, Zhao B, Zhao Z, Chen J, et al. Human umbilical cord Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells differentiate into a Schwann-cell phenotype and promote neurite outgrowth *in vitro* [J]. *Brain Res Bull*, 2011, 84: 235-243.
- [18] Lim J Y, Park S I, Kim S M, Jun J A, Oh J H, Ryu C H, et al. Neural differentiation of brain-derived neurotrophic factor-expressing human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in culture via TrkB-mediated ERK and-catenin phosphorylation and following transplantation into the developing brain[J]. *Cell Transplant*, 2011, 20: 1855-1866.
- [19] 曲学彬, 王 贝, 罗梦娇, 郭 瑞, 王会平, 张 强, 等. 过表达少突胶质细胞转录因子 2 加速小鼠胚胎干细胞分化为神经元-胶质细胞抗原 2 阳性少突胶质祖细胞样细胞[J]. *解剖学杂志*, 2014, 37: 480-481, 486.
- [20] Ringden O, Le Blanc K. Mesenchymal stem cells for treatment of acute and chronic graft-versus-host disease, tissue toxicity and hemorrhages[J]. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2011, 24: 65-72.
- [21] 闫凤霞, 李永刚, 王守彪. 局灶性脑缺血再灌注大鼠 Nogo-A mRNA 的表达[J]. *神经解剖学杂志*, 2004, 4: 394-398.