



粒细胞集落刺激因子治疗大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤

既往认为,成熟神经系统的神经元一经产生就终身存活,受损后不能再生。目前,越来越多的证据表明,胚胎脑和成年脑内均存在具有自我更新和多种分化潜能的神干细胞[1]。多种因素,如神经营养因子、碱性成纤维细胞生长因子(FGF-2)和表皮生长因子(EGF)[2]、脑缺血损伤[3]等因素,在神干细胞分化为成熟神经细胞起着调控作用。

然而,脑缺血时,依靠缺血性损伤调动内源性神干细胞进行自我修复是不够的,不仅神干细胞的数量不足,而且某些调节迁移、分化、存活、神经元修复和突触形成的因子也不足。在合适的条件下,骨髓干细胞(BMSCs)可分化为其他类型组织细胞。粒细胞集落刺激因子(G-CSF)是BMSCs的动员剂,可将大量BMSCs动员入外周血循环。

本研究用G-CSF动员BMSCs,向动物模型的脑梗塞部位迁移,在特定的病理环境向神经细胞分化,以修复梗死的神经组织。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 药物和实验动物 SD大鼠,(240±10)g,40只,购自本校动物中心。基因重组人粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF):杭州九源基因工程有限公司。

1.1.2 试剂 多聚甲醛:广州化学试剂厂。免疫组化试剂盒:SABC-FITC、SABC-Cy3免疫组化试剂盒购于武汉博士德生物工程有限公司。脱氧溴化尿嘧啶(BrdU)抗体:博士德生物工程有限公司进口分装。nestin、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)抗体:NeuMarker公司产品。

1.2 方法

1.2.1 模型制备 参照文献颈内动脉线栓法[4]制备大鼠短暂MCAO模型,线栓时间为2 h。改进点为结扎颈外动脉,拔线后,闭塞的大脑中动脉依靠颅底动脉环再灌注。制模48 h后,行神经功能缺失评分,总分18分,将评分在12分以下20只,随即平均分为治疗组和对照组。

1.2.2 给药方法 干预性治疗组予G-CSF 20 μg/(kg·d)皮下注射,共19 d。对照组皮下注射等量生理盐水并在同样环境饲养。两组同时注射BrdU 10 mg/kg,共19 d。术后常规喂食鸡蛋、葵子花的营养食物,可以降低死亡率。

1.2.3 模型鼠的神经功能缺失评测方法 神经功能评测方法按文献介绍的评分标准[5]实施,具体评分标准如下:

(1)自发活动 3分,四周活动,探索环境,至少到达三面墙;2分,活动稍迟疑、缓慢,但最终至少探索一面墙;1分,饲养笼内缓慢活动,不探索笼壁;0分,大鼠不活动;(2)四肢对称运动(轻瘫实验) 3分,提尾,四肢对称伸展;2分,左侧肢体伸展较右侧差;1分,左侧肢体活动明显减少;0分,左前肢不动;(3)前肢运动 3分,前肢对称伸展,大鼠前肢性走对称;2分,前肢伸展较右侧差,前肢行走受损;1分,左前肢很少

运动；0分，左前肢不动；(4)攀登运动(加强运动功能检测) 3分，紧握铁丝网，攀登迅速；2分，左侧握力差，攀登功能受损；1分，不能攀登、或趋向打转；(5)疼觉 3分，刺疼时两侧对称灵敏；2分，左侧疼刺激反应较右侧差；1分，左侧疼刺激无反应；(6)深感觉(位置觉) 将大鼠腿移到桌子边缘时，3分，两侧回抽反应灵敏；2分，左侧回抽反应较右侧差；1分，左侧无回抽反应。总分6个项目完全正常为18分，缺损最严重得3分。

自发运动，轻瘫实验、运动功能检测、加强运动功能检测、痛觉、位置觉方面；总分18分，症状越重，得分越少。神经功能定量评测时间在术后48 h以及术后每周进行。选择手术后48 h神经功能缺失评分在12分以下者进入实验组。

1.2.4 新生神经细胞的免疫组化检测 取第3层脑组织切块，做10 μm厚冰冻切片，对神经胶质细胞特异性抗体GFAP和新生细胞标记物Brdu做免疫双染，以Cy3和FITC分别做二者的荧光三抗。

对新生神经元特异性抗体nestin做免疫组化检测，以Cy3做荧光三抗。观察两组大鼠脑组织新生细胞分布、分化、生长情况。免疫组化以及免疫双染的具体步骤参照文献进行[6]。

荧光显微镜观察两组大鼠GFAP和Brdu双染阳性细胞着色细胞并拍照。在缺血灶边缘上下左右选择4个视野拍照，计算nestin抗体阳性细胞总数，对G-CSF组大鼠和生理盐水鼠的均值做t检验。

1.2.5 统计学处理 两组间多组数据比较用重复测量数据的方差分析。两组间一组数据比较用独立样本的t检验。所有数据用SPSS 10.0软件包处理。

2 结果

2.1 神经功能缺失评分比较

所有MCAO大鼠均在术后予神经功能评分，体检在手术后1周、2周和3周时间进行，每次体检在晚饭后进行。对两组数据进行Mauchly's 球形检验，证明符合球形分布，再进行两组不同时间点的比较，第3周时，两组神经功能恢复出现显著性差异(表1)。大鼠脑神经组织有着非常强的自我修复能力，MCAO手术后1周，自发活动和感觉缺损两组大鼠均有明显好转；体格检查需要耐心、细致，并且在每日的同一时间进行。术后初期体检过于粗暴，会明显增加死亡率。

表 1 G-CSF 治疗组与对照组脑缺血大鼠神经功能评分 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Score of the neurological function of the two groups of rats with cerebral ischemia (n=10, Mean±SD)

Group	Time after middle cerebral artery occlusion			
	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks
Treatment	9.0±1.1	10.8±1.1	12.2±0.7	14.6±1.0
Control	9.6±1.2	10.6±1.2	12.3±1.1	13.1±1.1

$P < 0.05$ vs control

将两组大鼠的3项运动功能评分(总分为9分)在不同的时间点的数值比较，结果在第2周时即出现差异，提示G-CFS对脑缺血大鼠运动功能有更有效的改善作用(表2)。

表2 G-CSF 治疗组与对照组脑缺血大鼠运动功能缺失评分结果以及比较 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

Tab.2 Score of the motor function of the two groups of rats with cerebral ischemia ($n=10, Mean \pm SD$)

Group	Time after middle cerebral artery occlusion			
Treatment	5.06±0.621	6.08±0.38	6.94±0.56*	8.38±0.52#
Control	5.06±1.24	5.38±0.95	6.38±0.44	6.94±0.56

* $P < 0.05$, # $P < 0.01$ vs control

2.2 神经细胞特异抗体染色结果

对两组鼠脑组织切片进行GFAP免疫荧光双染后发现，G-CSF 治疗组脑缺血区周围可见较多GFAP 和BrdU 双染阳性细胞，提示其为新生胶质细胞，细胞体积较大，着色强；对照组脑组织可见稀疏、体积较小的新生胶质细胞(图1)。早期的胶质细胞增生，基本反映机体对损伤的神经组织修复程度。对缺血周围上下左右随机4个视野双染阳性细胞计数，做t检验，结果见表3。

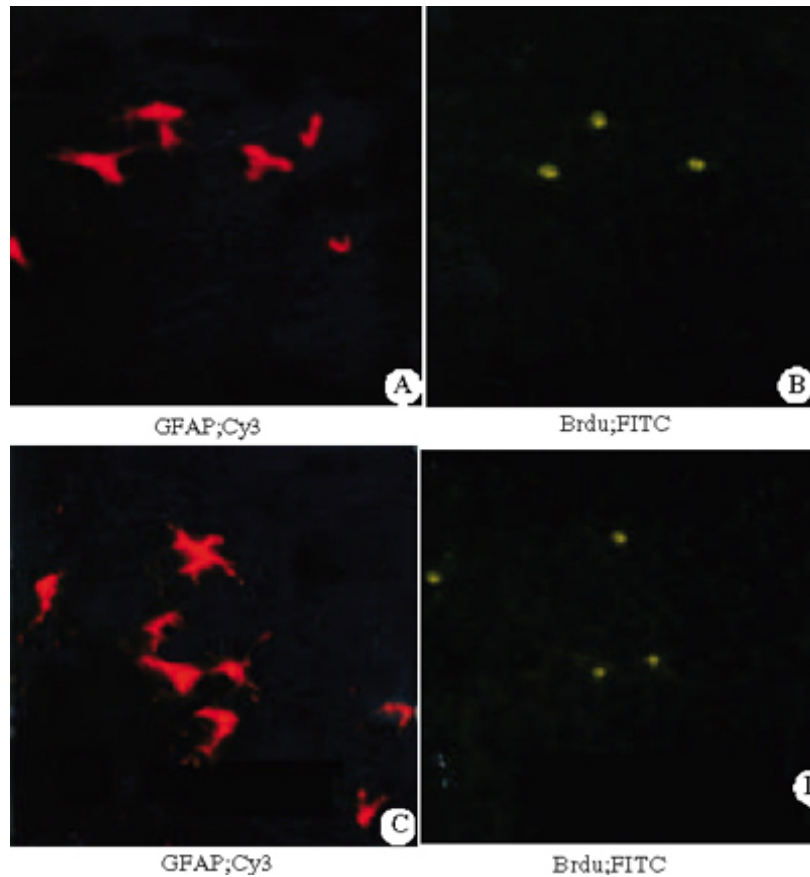


图1 对照组(图A、B)和治疗组(图C、D)基底节梗塞区新生神经细胞GFAP与BrdU免疫荧光双染结果(原放大倍数: $\times 200$)

Fig.1 Double staining for identifying newly generated neurons around the ischemic region of rat basal ganglia of the control group (A, B) and G-CSF group (C, D) (Original magnification: $\times 200$)

A and B present the result of double staining with glial fibrillary acidic protein (GFAP) antibody and BrdU of the same brain section of a control rat, while C and D show the result for a rat in the treatment group. Greater number of newly generated neurons is seen in the treatment group.

表 3 G-CSF 和生理盐水治疗组脑缺血周围 GFAP 和 Brdu 双染阳性细胞数比较 (n=21)

Tab.3 Comparison of positive cells for GFAP and Brdu double staining between the two groups(n=21)

Group	Positive cell number
Control	59.84±3.02
Treatment	96.02±8.06

$P < 0.01$ vs control

对神经干细胞特性抗体nestin做免疫组化检测，发现正常无手术大鼠脑实质基底节区罕见nestin阳性细胞。治疗组脑梗塞周围nestin阳性细胞分布密度明显多于对照组，并且荧光观察细胞着色强、胞质丰满(图2)。对缺血周围上下左右4个视野的nestin阳性细胞计数，做t检验(表4)。

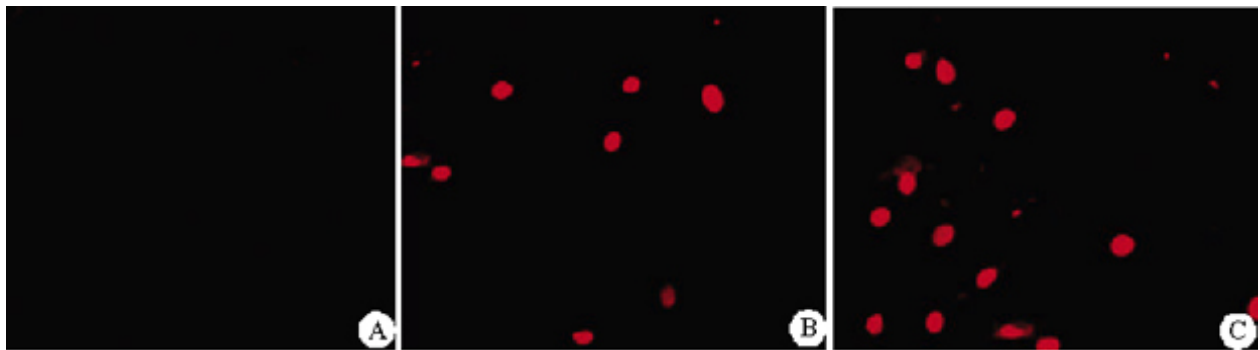


图2 正常对照组大鼠(图A)、生理盐水治疗组(B)和G-CSF治疗组(C)梗塞周围区域nestin抗体染色(原放大倍数: ×100)

Fig.2 Nestin positivity in the region near the infarcted brain tissue in normal control group (A), saline treatment group (B) and G-CSF treatment group(C) (Original magnification: ×100)

There is almost no nestin-positive cells in the basal ganglia of the rat in normal control group. Greater number of nestin-positive cells near the infarcted brain tissue can be seen in G-CSF treatment group than in saline group.

表 4 G-CSF 治疗组和生理盐水治疗组脑梗塞周围区域 nestin 抗体阳性细胞比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.4 Comparison of nestin-positive cells around the infarcted brain tissues between saline and G-CSF treatment groups (Mean±SD)

Group	Days	Positive cells
G-CSF	21	196.02±13.06
Saline	21	109.84±6.04

$P < 0.01$ vs control

脑缺血损伤可以刺激脑内成熟的间质细胞或星形胶质细胞返回到神经干细胞，重新分化成受损最严重的细胞类型（主要是神经元），从而可能发挥修复和重排神经网络的作用[7]。然而，脑缺血损伤后仅仅调动内源性神经干细胞进行自我修复的程度是不够的，人们试图用外源性神经干细胞移植，通过增加神经干细胞的数量达到该目的，使明显的神经功能恢复成为可能。

骨髓组织可分为造血和基质两大系统，而基质细胞系统是由许多细胞群体组成，据其形态特征将其分为网状细胞、脂肪细胞、脂肪细胞前体、平滑肌样细胞、成纤维样细胞、内皮样细胞和上皮样细胞[8]，骨髓间质干细胞是骨髓中除造血干细胞以外的非造血性干细胞，具有多种分化潜能。Eglitis等证实部分骨髓干细胞在特定条件下，可以分化为表达胶质细胞标记物的细胞[9]。在体外条件下，BMSCs还可以被诱导转化为神经元[10]。以上实验为骨髓干细胞移植治疗脑缺血损伤提供了实验基础。Chen等[11]，用体外培养的骨髓间质干细胞静脉注射治疗脑缺血大鼠，获得肯定临床效果，并且证明输入的细胞在受体脑内转化成为了神经元。说明在脑缺血时，循环中的干细胞可以透过血脑屏障，进入脑实质，在特定的微环境中转化为神经细胞。骨髓内干细胞成分复杂，除造血干细胞外，还有间质干细胞存在；目前已经证实G-CSF具有同时动员这两类干细胞的能力[12]。

基于以上实验，我们试用粒细胞集落刺激因子动员骨髓干细胞，治疗脑缺血模型大鼠，希望探索出干细胞治疗脑缺血更加简洁有效的方式。

干细胞治疗时机方面，Park[13]认为缺氧缺血损伤期间或损伤后尽早进行干细胞移植。对MCAO后胎脑移植物的研究发现，移植与损伤间隔7 d左右，移植存活率最高，可能与此时的神经毒性物质减少、神经营养因子释放和血管发生有关[14]。我们选择治疗时间为MCAO手术后48 h，除了上述因素，另一个重要的原因，是排除48 h内神经缺失症状消失和死亡的模型大鼠，选择症状稳定的模型。

改善脑缺血患者的神经功能缺失，是任何治疗方法的最终目的。对大鼠中风缺失神经功能缺失的评测，有许多不同的方法。参照相关文献[5][15][16]，结合实践体会，我们选用了实用、易行、客观的18分评测方案，重点放在正常鼠为稳定12分、而模型鼠有明显损害的运动功能检测。在3周后，与对照组比较，治疗组出现了明显好转。进一步对运动功能缺损评分比较后发现，在第2周末，治疗组和对照组即有显著性差异。说明G-CSF可以改善脑缺血再灌注损伤的临床症状。

为寻找粒细胞集落刺激因子治疗大鼠脑缺血再灌注损伤的机制，我们实验鼠进行了神经干细胞和神经胶质细胞特异性抗体的免疫组化染色。

BrdU是细胞分裂时核酸合成的原料，新合成的细胞BrdU免疫组化染色阳性；同时做BrdU与神经元或神经胶质细胞特异抗体免疫组化染色，双染都能着色者，为干细胞分化新生的神经细胞[17]。GFAP等是神经胶质细胞的特异性标志抗体[18]。GFAP染色阳性，提示此细胞为神经胶质细胞，而BrdU同时阳性者，则表明为新增生的胶质细胞。中枢神经系统组织损伤后，星形胶质细胞增生，修复损伤，并分泌神经营养因子，促进神经细胞再生[19]。本实验GFAP染色形态清楚表明，治疗组缺血损伤区星形胶质细胞增生明显，着色增强，G-CSF治疗组新生胶质细胞多于生理盐水治疗组，提示G-CSF有促进干细胞性质的细胞转化为胶质细胞增生、修复脑缺血损伤的作用。

中枢神经组织内细胞特异性抗原系统较为复杂，nestin是一种中间丝蛋白，具有神经干细胞(NSCs)特征的细胞有此抗原。NSCs缺乏成熟神经细胞所具有的抗原，而具有作为神经外胚层标记物的nestin抗原，故可据此特征应用nestin免疫反应确定NSCs的存在[20]。由于大鼠脑缺血本身也可以刺激鼠脑的某些部位(如海马等)的神经干细胞分化、增生为神经细胞[21]，我们选择了可以对大脑中动脉供血区(基底结区)进行有效的观察部位。将治疗组与对照组比较发现，治疗组脑缺血区周围的nestin阳性细胞数量明显多于对照组。显示G-CSF治疗脑缺血大鼠，可以促进神经干细胞在缺血区周围增生。文献报道[22]，通过动员骨髓干细胞，粒细胞集落刺激因子治疗大鼠脑梗塞，可以缩小梗塞体积，并且降低死亡率。根据文献及我们实验的结果，我们认为，G-CSF通过动员骨髓间质干细胞在脑组织内转化为定向干细胞-神经干细胞，进而修复缺血性损伤，改善神经功能缺失。

粒细胞集落刺激因子有效治疗大鼠脑梗塞可能还有其他机制。有研究证实[23]，G-CSF可以通过神经细胞

膜上的G-CSF受体,对缺血神经元起到明显的保护作用。

本实验显示G-CSF动员BMSCs治疗脑缺血有效。该疗法利用现有药物皮下注射动员NSCs“自我移植”,方法简单易行。安全性方面,有人对一批贡献干细胞的志愿者进行观察,发现使用G-CSF 16 mg(kg·d)×6 d,3~6年后未发现其有明显的不良反应出现[24]。本方法无须进行干细胞分离、采集与再输注,亦无异体造血干细胞移植所面临的干细胞来源困难、免疫排斥反应等问题,应用前景光明。

参考文献:

- [1] Gould E, Reeves AJ, Grazano MS, et al. Neurogenesis in the neocortex of adult primates[J]. *Science*, 1999, 286(27): 548-52.
- [2] Kuhn HG, Winkler J, Kempermann G, et al. Epidermal growth factor and fibroblast growth factor-2 have different effects on neural progenitors in the adult brain[J]. *J Neurosci*, 1997, 17(9): 5820-9.
- [3] Park KI. Transplantation of neural stem cell: cellular and gene therapy for hypoxic ischemic brain injury[J]. *Yonsei Med J*, 2000, 41(6): 825-35.
- [4] Nagasawa H, Kogure K. Correlation between cerebral blood and histologic change in a new rat model of cerebral artery occlusion[J]. *Stroke*, 1989, 20(6): 1037-41.
- [5] Garcia JH, Waner S, Liu KF, et al. Neurological deficit and extent of neuronal necrosis attributable to middle cerebral artery occlusion in rats statistical validation. [J]. *Stroke*, 1995, 26(4): 627-34.
- [6] 陈松林, 张成, 黄文, 等. 骨髓干细胞移植治疗Duchenne型肌营养不良鼠的实验研究[J]. *中华神经科杂志*, 2003, 36(6): 443-6.
Chen SL, Zhang C, Huang W, et al. Duchenne muscular dystrophic mice treated by bone marrow stem cells transplantation[J]. *Chin J Neurol*, 2003, 36(6): 443-6.
- [7] Abe K. Therapeutic potential of neurotrophic factors and neural stem cells against ischemic brain injury[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2000, 20(10): 1393-408.
- [8] 路艳蒙, 傅文玉, 朴英杰. 人骨髓间充质干细胞的培养及性质鉴定[J]. *第一军医大学学报*, 2001, 21(8): 571-3.
Lu YM, Fu WY, Piao YJ. In vitro culture and identification of human bone marrow mesenchymal stem cell [J]. *J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 2001, 21(8): 571-3.
- [9] Eglitis MA, Mezey E. Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brains of adult mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(67): 4080-5.
- [10] 林竞韧, 郭坤元, 李江琪, 等. 人骨髓基质干细胞克隆的培养及其向神经元样细胞的定向诱导分化[J]. *第一军医大学学报*, 2003, 23(3): 251-5.
Lin JR, Guo KY, Li JQ, et al. In vitro culture of human bone marrow mesenchymal stem cell clones and induced differentiation into neuron-like cells[J]. *J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 2003, 23(3): 251-5.
- [11] Chen JL, Li Y, Wang L, et al. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats [J]. *Stroke*, 2001, 32(29): 1005-11.
- [12] Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function[J]. *Nat Med*, 2001, 7(4): 430-6.
- [13] Park KI. Transplantation of neural stem cell: cellular and gene therapy for hypoxic ischemic brain injury[J]. *Yonsei Med J*, 2000, 41(6): 825-35.
- [14] Mampalam TJ, Gonzalez MF, Weinstein P, et al. Neuronal changes in fetal cortex

transplanted to ischemic adult rat cortex [J]. J Neurosurg, 1998, 69(53): 904-12.

[15] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination[J]. Stroke, 1986, 17(13): 472-6.

[16] De Ryck M, Reempts JV, Borgers M, et al. Photochemical stroke model: flunarizine prevents sensorimotor deficits after neocortical infarcts in rats[J]. Stroke, 1989, 20(17): 1383-90.

[17] Jiang W, Gu WG, Brannstrom T, et al. Cortical neurogenesis in adult rats after transient middle cerebral artery occlusion[J]. Stroke, 2001, 32(27): 1201-7.

[18] 张 卉, 王纪佐, 孙红宇, 等. 诱导成人骨髓基质细胞成为神经干细胞及其分化的实验研究[J]. 中风与神经疾病杂志, 2002, 19(2): 79-82.

Zhang H, Wang JZ, Sun HY, et al. Induction of human bone marrow stromal cells to neural stem cells and neural cells in vitro [J]. Apoplexy Nerv Dis, 2002, 19(2): 79-82.

[19] Cheng H, Wu JP, Zeng SF. Neuroprotection of glial cell line-derived neurotrophic factor in damaged spinal cords following contusive injury[J]. J Neurosci Res, 2002, 69(3): 397-405..

[20] Jin K, Mao XO, Sun YJ, et al. Stem cell factor stimulates neurogenesis in vitro and in vivo[J]. J Clin Invest, 2002, 110(89): 311-9.

[21] Yagita Y, Kitagawa K, Ohtsuki T, et al. Neurogenesis by progenitor Ccells in the ischemic adult rat hippocampus[J]. Stroke, 2001, 32(30):1890-6.

[22] Six I, Gasan G, Mura E, et al. Beneficial effect of pharmacological mobilization of bone marrow in experimental cerebral ischemia[J]. Eur J Pharmacol 2003, 458(3): 327-8.

[23] Schabitz WR, Kollmar R, Schwaninger M, et al. Neuroprotective effect of granulocyte colony-stimulating factor after focal cerebral ischemia[J]. Stroke, 2003, 34: 745.

[24] Cavallaro AM, Lilleby K, Majolino I, et al. Three to six year follow-up of normal donors who received recombinant human granulocyte colony-stimulating factor[J]. Bone Marrow Transplant, 2000, 25(13): 85-9.

参考文献:

[1] Gould E, Reeves AJ, Grazano MS, et al. Neurogenesis in the neocortex of adult primates[J]. Science, 1999, 286(27): 548-52.

[2] Kuhn HG, Winkler J, Kempermann G, et al. Epidermal growth factor and fibroblast growth factor-2 have different effects on neural progenitors in the adult brain[J]. J Neurosci, 1997, 17(9): 5820-9.

[3] Park KI. Transplantation of neural stem cell: cellular and gene therapy for hypoxic ischemic brain injury[J]. Yonsei Med J, 2000, 41 (6): 825-35.

[4] Nagasawa H, Kogure K. Correlation between cerebral blood and histologic change in a new rat model of cerebral artery occlusion[J]. Stroke, 1989, 20(6): 1037-41.

[5] Garcia JH, Waner S, Liu KF, et al. Neurological deficit and extent of neuronal necrosis attributable to middle cerebral artery occlusion in rats statistical validation. [J]. Stroke, 1995, 26(4): 627-34.

[6] 陈松林, 张 成, 黄 文, 等. 骨髓干细胞移植治疗Duchenne型肌营养不良鼠的实验研究[J]. 中华神经科杂志, 2003, 36(6): 443-6.

Chen SL, Zhang C, Huang W, et al. Duchenne muscular dystrophic mice treated by bone

marrow stem cells transplantation[J]. Chin J Neurol, 2003, 36(6): 443-6.

[7] Abe K. Therapeutic potential of neurotrophic factors and neural stem cells against ischemic brain injury[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2000, 20(10): 1393-408.

[8] 路艳蒙, 傅文玉, 朴英杰. 人骨髓间充质干细胞的培养及性质鉴定[J]. 第一军医大学学报, 2001, 21(8): 571-3.

Lu YM, Fu WY, Piao YJ. In vitro culture and identification of human bone marrow mesenchymal stem cell [J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2001, 21(8): 571-3.

[9] Eglitis MA, Mezey E. Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brains of adult mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94(67): 4080-5.

[10] 林竞初, 郭坤元, 李江琪, 等. 人骨髓基质干细胞克隆的培养及其向神经元样细胞的定向诱导分化[J]. 第一军医大学学报, 2003, 23(3): 251-5.

Lin JR, Guo KY, Li JQ, et al. In vitro culture of human bone marrow mesenchymal stem cell clones and induced differentiation into neuron-like cells[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2003, 23(3): 251-5.

[11] Chen JL, Li Y, Wang L, et al. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats [J]. Stroke, 2001, 32(29): 1005-11.

[12] Kocher AA, Schuster MD, Szaboecs MJ, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function[J]. Nat Med, 2001, 7(4): 430-6.

[13] Park KI. Transplantation of neural stem cell: cellular and gene therapy for hypoxic ischemic brain injury[J]. Yonsei Med J, 2000, 41(6): 825-35.

[14] Mampalam TJ, Gonzalez MF, Weinstein P, et al. Neuronal changes in fetal cortex transplanted to ischemic adult rat cortex [J]. J Neurosurg, 1998, 69(53): 904-12.

[15] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination[J]. Stroke, 1986, 17(13): 472-6.

[16] De Ryck M, Reempts JV, Borgers M, et al. Photochemical stroke model: flunarizine prevents sensorimotor deficits after neocortical infarcts in rats[J]. Stroke, 1989, 20(17): 1383-90.

[17] Jiang W, Gu WG, Brannstrom T, et al. Cortical neurogenesis in adult rats after transient middle cerebral artery occlusion[J]. Stroke, 2001, 32(27): 1201-7.

[18] 张 卉, 王纪佐, 孙红宇, 等. 诱导成人骨髓基质细胞成为神经干细胞及其分化的实验研究[J]. 中风与神经疾病杂志, 2002, 19(2): 79-82.

Zhang H, Wang JZ, Sun HY, et al. Induction of human bone marrow stromal cells to neural stem cells and neural cells in vitro [J]. Apoplexy Nerv Dis, 2002, 19(2): 79-82.

[19] Cheng H, Wu JP, Zeng SF. Neuroprotection of glial cell line-derived neurotrophic factor in damaged spinal cords following contusive injury[J]. J Neurosci Res, 2002, 69(3): 397-405.

[20] Jin K, Mao XO, Sun YJ, et al. Stem cell factor stimulates neurogenesis in vitro and in vivo[J]. J Clin Invest, 2002, 110(89): 311-9.

[21] Yagita Y, Kitagawa K, Ohtsuki T, et al. Neurogenesis by progenitor Ccells in the ischemic adult rat hippocampus[J]. Stroke, 2001, 32(30):1890-6.

[22] Six I, Gasan G, Mura E, et al. Beneficial effect of pharmacological mobilization of bone marrow in experimental cerebral ischemia[J]. Eur J Pharmacol 2003, 458(3): 327-8.

[23] Schabitz WR, Kollmar R, Schwaninger M, et al. Neuroprotective effect of granulocyte colony-stimulating factor after focal cerebral ischemia[J]. Stroke, 2003, 34: 745.

[24] Cavallaro AM, Lilleby K, Majolino I, et al. Three to six year follow-up of normal donors who received recombinant human granulocyte colony-stimulating factor[J]. Bone Marrow Transplant, 2000, 25(13): 85-9.

[回结果列表](#)