

电针对慢性脑缺血大鼠学习记忆及海马神经干细胞分化的影响

魏居瑞¹ 艾琪¹ 刘佩² 夏玮³ 钱巍¹ 蒋松涛¹ 郑君霞¹ 朱松杰¹ 陈赞¹

¹浙江省临安区第一人民医院康复科, 临安 311300; ²浙江省海宁市第三人民医院针灸科, 海宁 314400; ³郑州市中医院疼痛科, 郑州 450000

通信作者: 艾琪, Email: aiqui12@163.com

【摘要】 目的 观察电针对慢性脑缺血大鼠学习记忆能力和海马神经干细胞分化的影响。**方法** 选取雄性 Sprague Dawley 大鼠 120 只, 采用改良永久性结扎双侧颈总动脉法造成慢性脑缺血模型, 将造模成功的 104 只大鼠分为模型组和电针组, 每组 52 只, 电针组予以电针治疗, 输出电流 1 mA, 频率 15 Hz, 连续波, 每次 20 min, 每日 1 次, 治疗 7 次后休息 2 d。模型组不予特殊处理。按照治疗时间的不同, 将每组大鼠再细分为术后 1、2、4、6 周 4 个亚组, 每个亚组 13 只。术后 1、2、4、6 周, 每组随机抽取 6 只大鼠进行 BrdU 注射, 观察神经干细胞增殖及分化情况。利用 Morris 水迷宫、BrdU+NeuN 及 BrdU+GFAP 免疫荧光双标方法, 分别观察大鼠的空间学习能力及记忆能力, 探讨海马齿状回神经发生的规律。**结果** 电针组大鼠在术后 2、4、6 周的学习记忆能力明显高于模型组大鼠 ($P<0.05$); 术后 2 周, 大鼠海马颗粒细胞层细胞出现 BrdU+NeuN 及 BrdU+GFAP 双阳性表达, 电针组大鼠分化神经元的数量多于模型组 ($P<0.05$)。与模型组同时时间点比较, 电针组术后 4 周的 GFAP 阳性细胞数少, 术后 6 周的 GFAP 阳性细胞数多, 但差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。**结论** 电针可以促进神经干细胞的分化, 进而改善慢性脑缺血大鼠的学习记忆能力。

【关键词】 电针; 脑缺血; 大鼠; 神经干细胞; 分化

基金项目: 浙江省自然科学基金项目 (Y205389); 浙江省自然科学基金项目 (Y2101356); 杭州市临安区科技局项目 (临科字 2020 第 31 号)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2021.07.002

The effects of electro-acupuncture on learning, memory and stem cell differentiation in the hippocampus of rats modeling chronic cerebral ischemia

Wei Jurui¹, Ai Qi¹, Liu Pei², Xia Wei³, Qian Wei¹, Jiang Songtao¹, Zheng Junxia¹, Zhu Songjie¹, Chen Yun¹

¹Rehabilitation Department, The First People's Hospital of Lin'an District, Linan 311300, China; ²Department of Acupuncture and Moxibustion, The Third People's Hospital of Haining City, Haining 314400, China; ³Department of Pain Medicine, Zhengzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

Corresponding author: Ai Qi, Email: aiqui12@163.com

【Abstract】 Objective To observe the effect of electro-acupuncture (EA) on learning, memory and the differentiation of neural stem cells in the hippocampus in the presence of chronic cerebral ischemia. **Methods** A total of 120 male Sprague-Dawley rats had chronic cerebral ischemia induced by bilateral ligation of the common carotid arteries. The model was successfully established in 104 of them, and they were randomly divided into a model group and an EA group, each of 52. The EA group was given 20 minutes of EA at acupoints Baihui and Dahui every day for 7 days, followed by an interval of 2 days. The current output was 1mA and the frequency was 15Hz. The model group was not given any intervention. One, 2, 4 and 6 weeks after the modelling, 6 rats from each group were injected with BrdU, and any proliferation and differentiation of neural stem cells was observed. The rats' learning and memory were also evaluated using the Morris water maze, and neurogenesis of in the dentate gyrus was observed using BrdU+NeuN and BrdU+GFAP double-labelled immunofluorescence. **Results** The learning and memory of the EA group were significantly better than those of the model group 2, 4 and 6 weeks after the modelling. After two weeks BrdU+NeuN and BrdU+GFAP-positive cells were found in the granule cell layer of the hippocampus, and compared with the model group, there were significantly more such neurons in the EA group. The gliocyte levels were not significantly different. **Conclusion** Electro-acupuncture can improve learning and memory in the face of chronic cerebral ischemia by promoting the differentiation of neural stem cells.

【Key words】 Electro-acupuncture; Cerebral Ischemia; Neural stem cells; Differentiation

Funding: A Zhejiang Provincial Natural Science Foundation Project (Y205389, Y2101356); A Project of the Science and Technology Bureau of Hangzhou's Lin'an District (Linke Zi 2020 31)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2021.07.002

近年来各种脑血管疾病发病率升高,尤其是缺血性脑卒中及长期慢性全脑缺血、缺氧引起的脑供血不足等疾病发生率快速增长,进而导致认知障碍。缺血是损伤海马认知功能的主要病理基础。研究证实,成年哺乳动物的海马区域可持续产生神经干细胞,且这些神经干细胞可能在学习记忆过程中起着关键作用^[1]。前期研究发现,电针可以促进局灶性脑缺血后内源性神经干细胞的增殖^[2],并可通过海马神经保护及调控海马组织 *Noggin* mRNA 表达,来改善慢性脑缺血大鼠的认知功能障碍^[3-4]。据此,本课题组推测认为,电针治疗缺血性脑损伤的主要作用机制之一可能是通过调节神经干细胞增殖及分化,并整合到相应的回路中,进而替代受损神经细胞的功能。为了进一步研究这些增殖干细胞的作用,本研究运用 BrdU、NeuN、GFAP 免疫荧光双标方法结合神经行为学检测,观察神经干细胞的分化情况,从而探讨电针对慢性脑缺血大鼠海马神经干细胞分化及学习记忆能力的影响。

材料与方法

一、实验动物

选用无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级、健康雄性、3 个月龄的 SD 大鼠 120 只,体重 (230±20) g,购自中科院上海实验动物中心[上海斯莱克实验动物有限责任公司,许可证号 SCXK (沪) 2017-0005],饲养于浙江中医药大学实验动物中心。所有大鼠均给予 12 h/12 h 明暗周期,自由饮食。

二、造模方法及分组

造模前,采用 Morris 水迷宫测试所有大鼠的逃避潜伏期。采用李巍等^[5]改进的方法,永久性结扎双侧颈总动脉加尾端放血,制作慢性灌注不足的模型,3%戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 腹腔注射,麻醉后将大鼠仰卧固定于手术台上,充分暴露颈部,正中切口约 1 cm,分离双侧颈总动脉,4#缝合线结扎,然后将大鼠尾置于 50 ℃ 水中约 30 s 后,立即在距大鼠尾端约 0.7 cm 处剪尾放血,放血量为大鼠总血量的 10% (占体重的 7.4%),按压止血、缝合切口,予以消毒处理,再将大鼠置于 37 ℃ 环境中,待其完全苏醒后予以分组处理。

因麻醉、刺激迷走神经、结扎等原因,造模过程中死亡 4 只大鼠,造模后第 1 天死亡 3 只, Morris 水迷宫检测中死亡 4 只,共死亡 11 只。造模后共 109 只大鼠,通过造模前后 Morris 水迷宫检测比较,以造模后大鼠逃避潜伏期明显延长为造模成功标准,剔除 5 只造模后逃避潜伏期无明显变化的大鼠,共有 104 只进入实验,造模成功率 86.67%。剩余 104 只大鼠按随机数字表法分为模型组和电针组,每组 52 只。按照治疗时间的不同,将每组大鼠再细分为术后 1、2、4、6 周 4 个

亚组,每个亚组 13 只。

三、治疗方法

造模及 Morris 水迷宫检测后第 1 天,电针组开始行电针治疗。用双手固定大鼠头顶部,参照《实验针灸学》中大鼠穴位定位方法^[6]取百会穴和大椎穴,百会穴沿头顶正中中线向后斜平刺 0.2 cm,大椎穴直刺 0.5 mm。输出电流 1 mA,频率 15 Hz,连续波,每次 20 min,每日 1 次,治疗 7 次后休息 2 d。分别在治疗 1、2、4、6 周后处死取材。模型组大鼠造模及 Morris 水迷宫检测同电针组,但不予以电针治疗,其余固定方法、时间、处死同电针组。

四、BrdU 标记

术后 1、2、4、6 周,每组随机抽取 6 只大鼠进行 BrdU 注射 (Sigma 公司,批号 B5002-MW307·1),50 mg/kg,0.9% NaCl 稀释为 10 mg/ml 行腹腔注射,每日 2 次,连续 3 d,观察神经干细胞增殖及分化情况。

五、Morris 水迷宫神经行为学检测

两组大鼠在处死前 5 d 开始行 Morris 水迷宫检测^[7]。先连续进行 4 d 的训练,测试逃避潜伏期,每日 4 次,第 5 天进行正式测试:①空间探索实验,观察规定时间内大鼠在池中的游泳路径 (搜索策略);②定位航行实验,观察逃避潜伏期和游泳路径 (逃避潜伏期)。观察、记录、储存相关数据,并运用行为轨迹跟踪系统软件进行分析和数据处理。

六、脑组织取材方法

将所有注射过 BrdU 的大鼠用 3% 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 腹腔注射麻醉后,用生理盐水经左心室、升主动脉灌注,直至流出液为澄清液体,推注含 4% 多聚甲醛的磷酸缓冲液 (pH 7.4) 200 ml。随后滴注 4% 多聚甲醛 500 ml,先快滴后慢滴,然后开颅,将脑迅速取出,置于上述固定液中,4 ℃ 固定 24 h 后,用 15%、30% 蔗糖梯度脱水,液氮速冻后立即置于 -80 ℃ 超低温冰箱保存。

七、BrdU+NeuN 及 BrdU+GFAP 荧光双标染色

将上述处理后的大鼠脑组织连续冰冻冠状切片 (片厚 15 μm),每隔 3 张取 1 张,按以下步骤进行 BrdU+NeuN 及 BrdU+GFAP 荧光双标染色。

1. 切片中 DNA 解链和变性的预处理:①将切片置于 50% 甲酰胺 2×SSC 缓冲液中,65 ℃ 浸泡 2 h;②加入 3% H₂O₂ (80% 甲醇稀释) 封闭内源性过氧化物酶,37 ℃ 处理 15 min, PBS 冲洗 5 min,重复 3 次;③缓冲液漂洗 5 min,重复 3 次,置于 2 M HCl 中,孵育 30 min;④置于 0.1 M 硼酸缓冲液中,室温下漂洗 10 min, PBS 冲洗 5 min,重复 2 次;⑤ 0.3% TritonX-100/PBS 孵育,室温 20 min, PBS 冲洗 5 min,重复 3 次;⑥ 37 ℃ TBS 中预孵育 2 min,倾去 TBS,加入 0.1% 胰蛋白酶,37 ℃ 消化

12 min, PBS 冲洗 5 min, 重复 3 次。

2. BrdU 荧光双标染色: 正常兔血清封闭 1 h 后, 去除血清, 将 GFAP 或 NeuN 与 BrdU 一抗混合稀释, 4 ℃ 过夜, 将异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC) 标记的第 1 个二抗稀释后加入, 37 ℃ 避光 1 h 孵育, 将花青 (Cyanine, cy3) 标记的第 2 个二抗稀释后加入, 37 ℃ 避光孵育 1 h, PBS 漂洗, 缓冲甘油封片。

3. 增殖分化细胞计数: 使用 LEICA DML2500 荧光显微镜 (10×40 倍) 拍摄, 分别在不同的激发光下观察摄片, 并且用软件合成。其中 FITC 标记, 激发光波长为 495 nm, 发射光波长为 528 nm, 发绿色荧光; cy3 激发光波长为 550 nm, 发射光波长为 570 nm, 发红荧光。连续取 3 个视野, 计数每个视野中 BrdU 阳性细胞数及 BrdU+GFAP、BrdU+NeuN 阳性细胞数, 因 BrdU+NeuN 双标阳性细胞数目较少, 为避免误差, 只对 BrdU 单标阳性细胞、BrdU+GFAP 双标阳性细胞、BrdU+NeuN 双标阳性细胞进行计数。并分别以平均每平方毫米所含 BrdU 阳性细胞 (n/mm^2) 计算海马颗粒细胞层单位面积内的 BrdU 数及 BrdU 荧光双标阳性细胞数, 然后计算荧光双标阳性细胞 (分化细胞) 占海马新生神经干细胞的比例。每只大鼠的细胞数量为 6 张切片细胞数量的均数。

八、统计学方法
采用 SPSS 13.0 版统计学软件处理, 数据以 ($\bar{x} \pm s$) 形式表示, 进行单因素方差分析、组间两两比较、最小显著差异法 (least significant difference, LSD) 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

一、大鼠 Morris 水迷宫实验结果比较

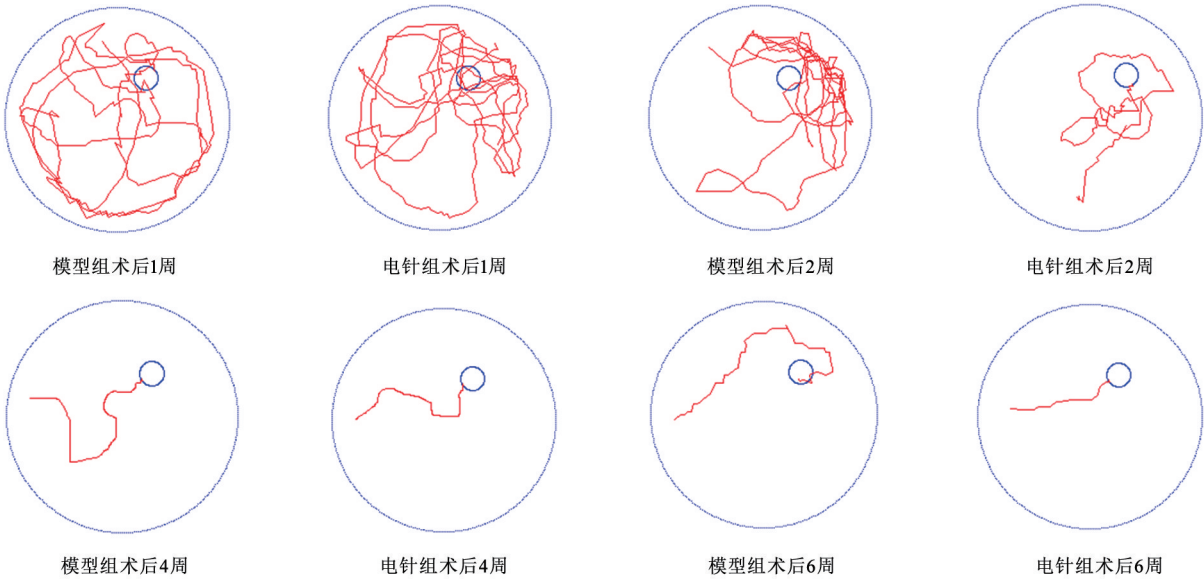


图 1 Morris 水迷宫实验大鼠运动轨迹

与组内术后 1 周比较, 电针组术后 6 周第一象限内游泳时间增加 ($P < 0.05$)。与模型组同时间点比较, 电针组术后 2 周、6 周逃避潜伏期较短、第一象限内游泳时间增加 ($P < 0.05$), 电针组术后 4 周逃避潜伏期较短 ($P < 0.05$)。详见表 1、图 1。

表 1 大鼠各时间点逃避潜伏期、第一象限内游泳时间比较 ($s, \bar{x} \pm s$)

组别	只数	逃避潜伏期	第一象限内游泳时间
模型组	52		
术后 1 周	13	25.07±6.44	15.62±6.28
术后 2 周	13	32.21±7.91	19.82±5.16
术后 4 周	13	32.91±11.68	22.65±4.01
术后 6 周	13	30.11±5.76	27.79±4.63
电针组	52		
术后 1 周	13	27.52±8.03	26.20±7.91
术后 2 周	13	23.80±4.16 ^b	31.96±9.51 ^b
术后 4 周	13	23.70±7.28 ^b	34.43±6.03
术后 6 周	13	22.26±4.90 ^b	36.51±7.36 ^{ab}

注: 与组内术后 1 周比较, ^a $P < 0.05$; 与模型组同时间点比较, ^b $P < 0.05$

二、大鼠海马神经干细胞的分化情况
本实验中 BrdU 阳性细胞核发绿色荧光, NeuN 阳性细胞核发红色荧光, BrdU 与 NeuN 荧光双表达细胞核呈黄绿色, 即胞体呈圆形或椭圆形的神经元样细胞, 详见图 2。造模后第 2 周, 海马颗粒细胞层有少量 BrdU+NeuN 双阳性表达细胞出现。与组内术后 2 周比较, 模型组和电针组大鼠术后 4 周、6 周的 NeuN 阳性细胞数较多 ($P < 0.05$)。与模型组同时间点比较, 电针组术后 4 周、6 周的 NeuN 阳性细胞数较多 ($P < 0.05$)。详见表 2。

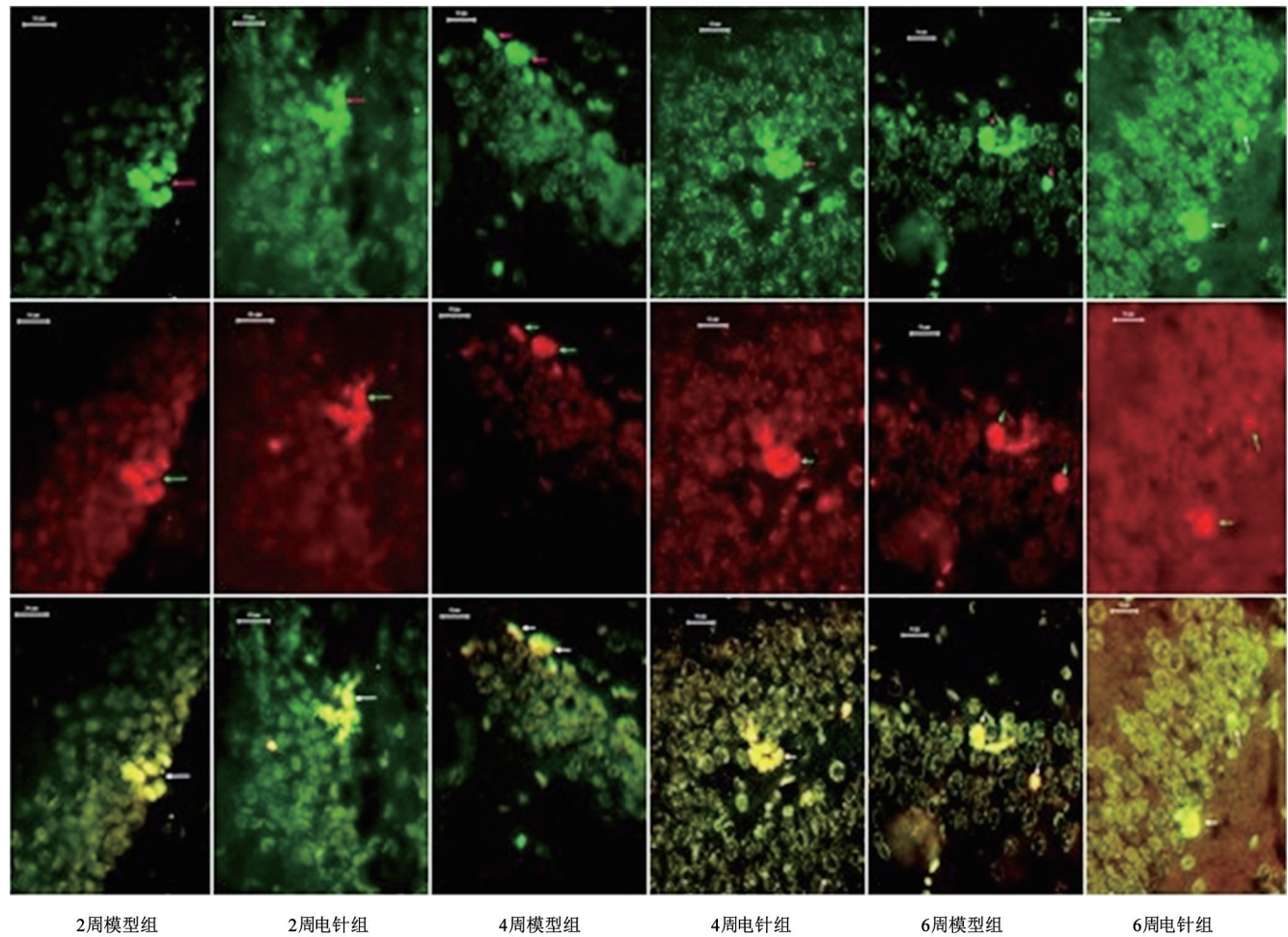


图2 大鼠海马组织 BrdU+NeuN 免疫荧光双标图(标尺 20 μm,×400)

表2 BrdU+NeuN 免疫荧光双染色下的 NeuN 阳性细胞数 (10², $\bar{x}\pm s$)

组别	只数	术后 1 周	术后 2 周	术后 4 周	术后 6 周
模型组	6	0.00±0.00	5.76±2.54	20.60±4.05 ^a	31.29±10.17 ^a
电针组	6	0.00±0.00	7.80±2.19	25.99±9.86 ^{ab}	41.78±12.63 ^{ab}

注:与组内术后 2 周比较,^a $P<0.05$;与模型组同时时间点比较,^b $P<0.05$

三、BrdU+GFAP 免疫荧光双标结果

由于 BrdU 抗原在细胞核内表达,BrdU 阳性细胞核发绿色荧光,GFAP 为胶质细胞特异性抗原,在细胞核及细胞质中都有表达,发红色荧光,BrdU 与 GFAP 双表达细胞核呈绿色或者是黄色、树状突为红色,细胞体中央有圆形或椭圆的核,胞浆少,有多个小段分枝或多个粗长突起的胶质细胞,详见图 3。术后 2 周,2 组大鼠海马颗粒细胞层有少量 BrdU+GFAP 双阳性表达细胞出现。与组内术后 2 周比较,模型组和电针组大鼠术后 4 周、6 周的 GFAP 阳性细胞数较多($P<0.05$)。随着海马颗粒细胞层新生神经干细胞的脱失,分化细胞比例有所提高,与模型组同时时间点比较,电针组术后 4 周的 GFAP

阳性细胞数较少,术后 6 周的 GFAP 阳性细胞数较多,但差异均无统计学意义($P>0.05$)。详见表 3。

表3 BrdU+GFAP 免疫荧光双染色下的 GFAP 阳性细胞数 (10², $\bar{x}\pm s$)

组别	只数	术后 1 周	术后 2 周	术后 4 周	术后 6 周
模型组	6	0.00±0.00	10.08±1.46	38.84±6.06 ^a	51.29±11.79 ^a
电针组	6	0.00±0.00	10.21±2.10	37.81±6.73 ^a	59.29±12.31 ^a

注:与组内术后 2 周比较,^a $P<0.05$

讨 论

海马是外显记忆神经通路的重要组成成分^[8]。海马齿状回颗粒细胞的凋亡和脱失可导致认知功能的损伤^[9]。CA1 区神经元的迟发性死亡可能是缺血导致痴呆的主要原因^[9-11]。有研究表明,慢性脑缺血是认知功能障碍、阿尔茨海默病、血管性认知功能障碍等中枢神经病变的共同病理基础^[12]。以往认为,成体中枢神经细胞的再生能力有限,然而近年来神经生物学的有关研究发现,不仅神经纤维能再生,神经元的胞体也能再生,中枢神经损伤后也能再生修复。提示海马

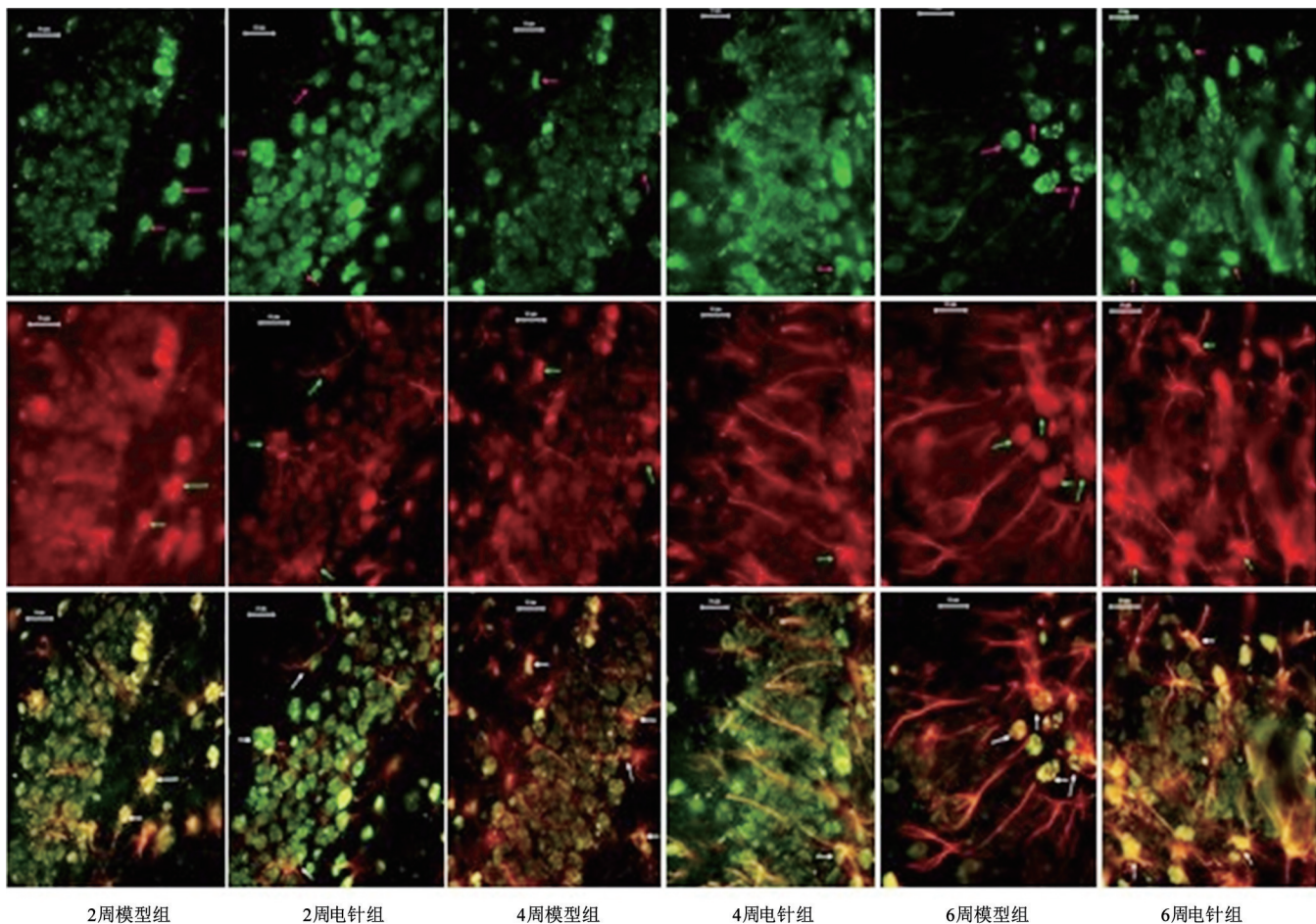


图3 大鼠海马组织 BrdU+GFAP 免疫荧光双标图(标尺 20 μm , $\times 400$)

齿状回颗粒下层区域存在神经干细胞,这些神经干细胞具有多向分化潜力^[13]。无论是缺血性还是出血性脑损伤,均可刺激神经干细胞迁移至损伤部位、代替死亡神经元发挥功能。诸多研究证实神经发生与记忆间有着密切联系。

发育学研究资料提示,成年海马产生的新生神经元经历了短暂不成熟状态,其电生理特性不同于成熟的神经元,而且对氨基丁酸抑制不敏感,对海马生理功能的影响较成熟的神经元明显^[14]。有学者认为在成体脑组织中,神经元不能再生是因为存在抑制性因子或是缺少有丝分裂信号及迁移信号等,而不是缺少干细胞。内源性神经干细胞的分化是一个多种因子参与的复杂过程^[15]。有研究认为,移植到体内的神经干细胞发挥治疗作用需要与宿主神经元形成突触连接,建立功能性神经回路,进而释放神经递质,产生神经营养因子或保护因子^[16]。神经干细胞移植疗法的具体临床应用尚需进一步探讨神经功能的恢复机制,并通过科学设计的高等哺乳动物实验和临床实验来证实^[17]。

针灸在治疗慢性脑缺血引起的认知功能障碍疾病(如血管性痴呆等)方面疗效确切。本研究采用永久

性结扎双侧颈总动脉加上尾端放血方法,制作慢性灌注不足的模型,有效地模拟了因椎基底动脉狭窄、颈动脉粥样硬化斑块形成及各种慢性心脑血管疾患,引起的脑供血不足而导致的认知功能缺陷性疾病。有研究报道,电针能改善慢性脑缺血模型大鼠海马组织形态学损伤^[18]。本研究发现,电针可以提高慢性脑缺血模型大鼠的空间记忆能力,明显改善其空间记忆障碍。

海马齿状回颗粒下层 BrdU 阳性细胞的数量可反映该部位神经干细胞的增殖能力,故本研究通过 BrdU 来标记神经干细胞。前期研究发现,造模初期模型组与电针组大鼠海马齿状回颗粒下层有大量神经干细胞增殖,随着缺血时间的延长,新生干细胞数量减少,且电针组大鼠的学习记忆能力优于模型组,说明电针可促进慢性脑缺血大鼠海马神经干细胞的增殖,进而改善学习记忆能力,且随着治疗时间的延长,学习记忆能力改善显著^[4]。

在此基础上,本研究进行双标染色以观察增殖神经干细胞的分化情况,缺血 2 周后,海马颗粒细胞层有细胞出现 BrdU+NeuN 及 BrdU+GFAP 双阳性表达,NeuN 作为一种特异性神经元标记物,BrdU+NeuN 双阳性表达

的细胞表示该细胞已分化为神经元,而神经元可以参与大脑正常的生理活动,发挥功能。电针组分化为神经元的数量多于模型组($P<0.05$),通过分析实验结果,本研究发现电针组分化细胞中神经元的比例高于模型组,由此可推论,电针可通过调控神经干细胞分化为神经元,来提高慢性脑缺血模型大鼠的学习记忆能力。神经胶质细胞标志物为 GFAP,其在海马体高表达,提示慢性脑缺血后海马体的神经胶质细胞活化,出现反应性增生的现象,其机制可能是神经胶质细胞对神经元的代偿性保护。有研究显示,慢性脑缺血可导致脑内星形胶质细胞反应性上调缝隙连接蛋白 Cx43 和 Cx43 mRNA 的表达,保护受损的神经细胞。在本研究中,我们发现造模初期,海马齿状回颗粒有少量 BrdU+GFAP 双表达阳性细胞,随着缺血时间的延长,BrdU+GFAP 阳性细胞数增加,提示胶质细胞随着缺血时间的延长出现增殖情况;但本研究发现,电针对神经干细胞在胶质细胞的分化方面无明显促进作用。下一阶段我们将设计更加严谨的试验方案来证实这一结果。

本研究发现,有极个别分化细胞迁移入其他脑区,虽然本实验没有涉及到这些分化细胞功能的研究,但可以肯定的是,这些细胞有可能会迁移至其他脑区并整合到功能回路中发挥作用,或是在脑损伤中起修复作用。有研究显示可通过调节微环境中 Noggin 与 BMP4 的含量,调控神经发生,并抑制胶质化反应,补充受损或丢失的神经元,进而实现脑功能的恢复^[18-19]。

总之,通过分析电针对慢性脑缺血大鼠学习记忆能力及海马齿状回神经干细胞增殖、分化的影响,我们发现电针可以通过调节海马神经干细胞的增殖、分化,从而提高大鼠空间学习记忆能力。着力于针灸对神经干细胞在脑内增殖、分化、迁移、存活规律与机制影响的研究,有望更深层地探讨内源性神经功能重建的干预调节机制,为中医药在该领域内的研究开辟全新的思路。

参 考 文 献

- [1] Zhang W, Wang PJ, Sha HY, et al. Neural stem cell transplants improve cognitive function without altering amyloid pathology in an APP/PS1 double transgenic model of Alzheimer's disease[J]. Mol Neurobiol, 2014,50(2):423-437.DOI:10.1007/s12035-014-8640-x.
- [2] 刘喆,赖新生.电针对局灶性脑缺血大鼠神经干细胞巢蛋白表达的影响[J].中华物理医学与康复杂志,2005,27(10):20-23.DOI:10.3760/j.issn.0254-1424.2005.10.004.
- [3] 魏居瑞,刘喆,刘佩,等.电针对慢性脑缺血大鼠学习记忆功能及海马组织头蛋白 mRNA 表达的影响[J].中华物理医学与康复杂志,2014,36(3):161-164.DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2014.03.001.
- [4] 魏居瑞,刘喆,刘佩,等.电针对慢性脑缺血大鼠学习记忆及海马神经组织形态学的影响[J].中华物理医学与康复杂志,2011,33(8):575-578.DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2011.08.004.
- [5] 李巍,张世仪,赵惠敏,等.小鼠脑缺血性学习记忆障碍模型的建立[J].基础医学与临床,1995,15(6):46-49.
- [6] 李忠仁.实验针灸学[M].北京:中国中医药出版社,2003:327-328.
- [7] Frick KM, Baxter MG, Markowska AL, et al. Age-related spatial reference and working memory deficits assessed in the water maze[J]. Neurobiol Aging, 1995,16(2):149-160.DOI:10.1016/0197-4580(94)00155-3.
- [8] 叶建新,崔晓萍,林航,等.海马锥体细胞的变化对血管性痴呆大鼠学习记忆能力的影响[J].神经疾病与精神卫生,2008,8(3):187-189.DOI:10.3969/j.issn.1009-6574.2008.03.007.
- [9] Tobin MK, Musaraca K, Disouky A, et al. Human hippocampal neurogenesis persists in aged adults and Alzheimer's disease patients[J]. Cell Stem Cell, 2019,24(6):974-982.DOI:10.1016/j.stem.2019.05.003.
- [10] Moreno-Jiménez EP, Flor-García M, Terreros-Roncal J, et al. Adult hippocampal neurogenesis is abundant in neurologically healthy subjects and drops sharply in Alzheimer's disease patients; developing topics[J]. Nat Med, 2019,25(4):554-560.DOI:10.1038/s41591-019-0375-9.
- [11] Lee GW, Kim JH, Kim MS. Reduction of long-term potentiation at Schaffer collateral-CA1 synapses in the rat hippocampus at the acute stage of vestibular compensation[J]. Korean J Physiol Pharmacol, 2017,21(4):423-428.DOI:10.4196/kjpp.2017.21.4.423.
- [12] Zhao Y, Gong CX. From chronic cerebral hypoperfusion to Alzheimer-like brain pathology and neurodegeneration[J]. Cell Mol Neurobiol, 2015,35(1):101-102.DOI:10.1007/s10571-014-0127-9.
- [13] Iwai M, Sato K, Omori N. Three steps of neural stem cells development in gerbil dentate gyms after transient ischemia[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2002,22(4):411-419.DOI:10.1097/00004647-200204000-00005.
- [14] Matthews DB, Silvers JR. The use of acute ethanol administration as a tool to investigate multiple memory systems[J]. Neurobiol Learn Mem, 2004,82(3):299-308.DOI:10.1016/j.nlm.2004.06.007.
- [15] 方鑫,王芙蓉,姜亚平.影响神经干细胞定向分化因素的研究进展[J].临床神经病学杂志,2008,21(1):75-76.DOI:10.3969/j.issn.1004-1648.2008.01.036.
- [16] Harrower TP, Tyers P, Hooks Y. Long-term survival and integration of porcine expanded neural precursor cell grafts in a rat model of Parkinson's disease[J]. Exp Neurol, 2006,197(1):56-69.DOI:10.1016/j.expneurol.2005.07.026.
- [17] Jin K, Sun Y, Xie L, et al. Directed migration of neuronal precursors into the ischemic cerebral cortex and striatum[J]. Mol Cell Neurosci, 2003,24(1):171-189.DOI:10.1016/s1044-7431(03)00159-3.
- [18] Waschek JA. Noggin on heaven's door: a factor that promotes the selective production of serotonergic neurons from murine embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells[J]. J Neurochem, 2012,122(1):1-3.DOI:10.1111/j.1471-4159.2012.07732.x.
- [19] Mira H, Andreu Z, Suh H, et al. Signaling through BMPR-IA regulates quiescence and long-term activity of neural stem cells in the adult hippocampus[J]. Cell Stem Cell, 2010,7(1):78-89.DOI:10.1016/j.stem.2010.04.016.

(修回日期:2020-05-12)

(本文编辑:凌 琛)