

· 基础研究 ·

行为学训练对大鼠海马梗死后齿状回区神经干细胞迁移能力的影响

江山 李玲 袁华 潘惠娟 王冰 李杰

【摘要】目的 研究行为学训练对大鼠海马梗死后齿状回区多聚唾液酸神经细胞黏附分子 (PSA-NCAM) 表达及对神经干细胞迁移能力的影响。**方法** 将 68 只 SD 大鼠随机分为训练组 (32 只)、制动组 (32 只) 及正常对照组 (4 只)。采用光化学法将训练组及制动组大鼠制成单侧海马区梗死模型, 训练组大鼠于造模 1 d 后给予水迷宫训练, 制动组大鼠于造模 1 d 后给予制动处理, 观察各组大鼠海马齿状回区及梗死灶周围 PSA-NCAM 在不同时间点 (实验后 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42 及 49 d) 的表达情况。**结果** 正常对照组大鼠海马齿状回区 PSA-NCAM 有一定程度表达; 与正常对照组比较, 训练组在 3, 7, 21 及 28 d 时及制动组在 14 d 时其梗死侧齿状回区 PSA-NCAM 表达均有显著增高 ($P < 0.05$); 而且训练组大鼠 3, 7, 21 及 28 d 时的 PSA-NCAM 表达显著高于制动组 ($P < 0.05$)。训练组梗死灶对侧齿状回区 PSA-NCAM 表达在 28 d 及 35 d 时均明显高于正常对照组 ($P < 0.05$), 并且在第 28 天时也明显高于同期制动组 ($P < 0.01$)。制动组及训练组大鼠脑梗死灶周边区均未见 PSA-NCAM 表达。**结论** 行为学训练能显著增强 PSA-NCAM 在脑梗死大鼠海马齿状回区的表达, 而且还可增强神经干细胞的迁移能力, 促进神经功能恢复。

【关键词】 大鼠; 海马齿状回; 多聚唾液酸神经细胞黏附分子; 水迷宫; 神经干细胞; 迁移

The effect of behavior training on neural stem cell migration in the dentate gyrus in rats with left hippocampal infarction JIANG Shan*, LI Ling, YUAN Hua, PAN Hui-juan, WANG Bing, LI Jie. * Department of Physiotherapy and Rehabilitation, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

【Abstract】Objective To study the effect of behavior training on the expression of polysialic acid-neural cell adhesion molecule (PSA-NCAM) around the focus of an infarction in the left hippocampal dentate gyrus (DG) in rats. **Methods** Sixty-eight Sprague-Dawley rats were randomized into a training group, an immobilization group and a control group. Behavior training and immobilization were performed 1 day after infarctions had been surgically induced in the rats in the training and immobilization groups. Immunohistochemistry was used to detect the expression of PSA-NCAM around the infarcted focus and in the DG at different points in time. **Results** The expression of PSA-NCAM is normal in the DG of rats. In the behavior training group after 7, 14, 21 and 28 days, and in the immobilization group after 14 days, the expression of PSA-NCAM was observed to have increased on the infarction side compared with the control group ($P < 0.05$). Expression of PSA-NCAM had obviously increased after 7, 14, 21 and 28 days in the behavior training group compared with the immobilization group ($P < 0.05$). In the DG on the opposite side, the expression of PSA-NCAM had obviously increased at 28 days in the behavior training group compared with the immobilization group ($P < 0.01$). At 28 and 35 days, the expression of PSA-NCAM had increased on the side opposite the infarction in the training group, and the difference from the control group was significant ($P < 0.05$). There was no expression of PSA-NCAM around the infarct focus in any group. **Conclusions** Behavior training can accelerate the expression of PSA-NCAM in the DG of rats with left hippocampal infarction.

【Key words】 Rats; Dentate gyrus; PSA-NCAM; Water mazes; Neural stem cells; Migration

自从 Reynold 等^[1]使用表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 从胎鼠纹状体中诱导出神经干细胞 (neural stem cells, NSCs) 后, 其相关的研究进一步发现成年大鼠海马齿状回区 (dentate gyrus, DG) 是重要的

神经生发区, 这使内源性 NSCs 参与脑缺血损伤的修复成为可能。有研究表明, 大鼠脑缺血可诱发特定区域内的 NSCs 增殖, 并循特定的通路向需要修复的部位迁移, 随后分化成各种神经元或神经胶质细胞^[2]。

多聚唾液酸神经细胞黏附分子 (polysialic acid-neural cell adhesion molecule, PSA-NCAM) 是一种介导细胞间黏附及识别的糖蛋白, 主要在新生成的齿状回颗粒细胞胞体或发育中的树突组织内表达。现已证明 PSA-NCAM 是神经干细胞发育第二期 (迁移期) 的特

作者单位: 710032 西安, 第四军医大学西京医院康复与理疗科 (江山、袁华), 中医科 (王冰); 北京 304 医院康复理疗科 (李玲); 上海市同济大学附属东方医院康复医学科 (潘惠娟); 第四军医大学生物医学工程系 (李杰)

殊标记物,其表达与 NSCs 的迁移有着密切关系^[3]。本研究拟以 PSA-NCAM 为标记物,于大鼠海马组织梗死后观察其齿状回区和梗死灶周边区 PSA-NCAM 阳性细胞的数目,从而探讨行为学训练对 NSCs 迁移能力的影响,为脑卒中患者的临床康复提供理论依据。现将结果报道如下。

材料与方法

一、实验材料

1. 实验光源:由本科室与中国科学院西安光学精密机械研究所联合研制,光源为一充气氙灯,输出功率最小值为 0.008 W/cm^2 ,最大值为 0.37 W/cm^2 ,输出波长为 $490\sim 530\text{ nm}$,波峰为 530 nm ,输出端与一直径 0.6 mm 的石英光纤相连。

2. 实验动物及主要试剂:共选取二级 SD 大鼠 68 只,平均体重 $(210\pm 10)\text{ g}$,雄性,8~10 周龄,由本校实验动物中心提供。四氯四碘荧光素钠(虎红, RB, 北京化工厂生产,批号 870627)密封避光保存,使用前用生理盐水稀释(调整浓度至 2.5%);小鼠抗 PSA-NCAM 抗体(Chemicon 公司产品);大鼠抗小鼠 IgG (Sigma 公司产品);生物素-卵白素-HRP 复合物(Sigma 公司产品)等。

二、行为学训练器材

1. Morris 水迷宫:为一直径 150 cm 、高 70 cm 的圆形水池,内盛有乳白色溶液,水温 $(23\pm 2)^\circ\text{C}$,水深 47 cm 。池壁四周分别标有东、南、西、北共 4 个入水点,将水池分为 4 个象限。将直径 8 cm 、高 45 cm 的白色站台随机置于水池内任一象限并固定,站台没于水面下 2 cm 处。训练期间周围参照物保持不变。

2. 制动笼:本研究选用长 40 cm 、直径 6 cm 的网状制动笼,其头端有一容器可放置食物和水源,大鼠的四肢及躯体能被笼中装置牢固制动。

三、实验动物操作方法

1. 动物分组及处理:将上述 68 只大鼠随机分为训练组(32 只)、制动组(32 只)及正常对照组(4 只)。训练组大鼠于造模 1 d 后即给予行为学训练,每天上午训练 3 次,每次间隔 10 min ;制动组大鼠于造模结束后置入制动笼内饲养(每天持续 24 h 固定);正常对照组大鼠则不给予任何特殊处理。

2. 左侧海马梗死模型制作方法:采用由我科自行研制的光化学法制作单侧海马梗死模型^[4]。将训练组和制动组大鼠用 1% 戊巴比妥钠按 50 mg/kg 体重行常规麻醉,随后将其俯卧固定于脑立体定位仪上,沿头颅正中切开头皮暴露颅骨,于前囟后 4.8 mm 、中线向左旁开 3.5 mm 处用牙科钻轻轻钻一个直径约 1 mm 的骨窗,将光纤管尾端插至皮质下 4.0 mm 处(相当于海马 CA1 区)。于大鼠股静脉注射虎红(剂量为

70 mg/kg 体重)后,立即通过光纤管照射左侧海马组织,光照强度为 0.37 W/cm^2 ,照射时间为 30 min ,待光照结束后缝合大鼠头皮并正常喂养。

3. 水迷宫训练:模型制作后第 1 天让训练组大鼠自由游泳适应 2 min ,从第 2 天开始,从站台所占象限外的另 3 个象限随机选择一个入水点,将大鼠面向池壁放入水中,观察并记录大鼠寻找并爬上平台的时间。如大鼠 2 min 内找不到站台,则将其置于站台上 30 s 后再放回笼中,此时其潜伏期记为 120 s 。训练时大鼠分别从 3 个不同象限的入水点入水,各组动物每次的入水点均相同。

4. 取材及处理:制动组和训练组大鼠分别于实验后 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42 及 49 d 时取材,正常对照组大鼠于喂养 28 d 后取材。首先将大鼠用 1% 戊巴比妥钠按 50 mg/kg 体重行常规麻醉,打开胸腔,拨开心包膜暴露心脏,剪开右心房放出血液,再剪开左心室将灌注头插入主动脉并用动脉夹固定,先输入 150 ml 的生理盐水将血管组织内的血液冲洗干净,然后再注入 10% 福尔马林液 400 ml 灌注固定 1.5 h ,待灌注完毕后用咬骨钳咬破颅骨并取出脑组织,取材时须注意保持脑组织结构的完整性。将脑组织置于 10% 福尔马林液中固定 2 h ,再放入 20% 蔗糖液中直至标本沉底,于 4°C 冰箱内保存过夜。切开训练组和对照组大鼠的脑组织,可见其海马或附近脑组织有直径约 3 mm 的圆形梗死灶,选取梗死灶位于海马部位的标本进行连续冠状冰冻切片,片厚约 $30\text{ }\mu\text{m}$,隔五取一,然后进行免疫组化染色。

5. 免疫组化染色:按 ABC 法进行抗 PSA-NCAM 免疫组织化学反应,将各组大鼠切片先放入含 0.3% TritonX-100 和 3% 牛血清白蛋白的 KPBS 中室温浸泡 30 min ,然后加入小鼠抗 PSA-NCAM (1:1 000, Chemicon) 于 4°C 环境下孵育 48 h ,再置入由生物素标记的大鼠抗小鼠 IgG (1:500, Sigma) 中室温孵育 2 h ;接下来置入生物素-卵白素-HRP 复合物 (ABC, 1:500, Sigma) 中室温孵育 2 h ,以上每步骤中间均用 0.01 mol/L KPBS 液充分漂洗 3 次,每次 10 min ;最后用葡萄糖氧化酶-DAB-硫酸镍胺法呈色,免疫阳性物呈紫蓝色。阴性对照选用一抗稀释液 (1% 小牛血清白蛋白 + 0.3% TritonX-100 + 0.01 mol/L KPBS, pH 值 7.4) 替代孵育,其它反应步骤同上,所有标本最后经常规贴片、脱水、透明、封片等处理后进行检测。免疫组化染色过程分 4 轮进行,每一轮均严格确保训练组及制动组标本在同一时间内处理,以尽量减少外界因素对实验结果的干扰。本研究中的阴性对照切片不着色或仅呈比较淡的背景色。

四、图象分析与统计学处理

采用德国产 LEICA QWin 图像处理与分析系统对本图像进行分析,分别于每只大鼠切片中选取呈典型反应的 3 张切片检测其海马结构及海马齿状回区 PSA-NCAM 免疫反应的灰度值,每只大鼠相同解剖部位切片的测量区域保持一致,每一解剖结构各检测 3 个视野,每个视野测量的像素量(即被测量面积)保持一致,上述各区域测量值与相应阴性对照切片测量值相减后的平均值为其最终灰度值。实验数据采用 SPSS 11.0 版统计软件处理,按完全随机设计资料进行方差分析,多个样本均数间两两比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、各组大鼠脑梗死侧(左侧)海马齿状回区 PSA-NCAM 表达的变化

正常大鼠和脑梗死大鼠海马齿状回区均可表达 PSA-NCAM,齿状回颗粒细胞层可见大量神经元的胞体及树突。正常对照组大鼠海马颗粒细胞层 PSA-NCAM 表达灰度值为 (18.86 ± 2.85) ;当实验进行到第 3 天时,与正常对照组大鼠比较,制动组及训练组大鼠 DG 区 PSA-NCAM 表达均无显著差异($P > 0.05$),且此时制动组与训练组间的 PSA-NCAM 表达亦无显著差异($P > 0.05$);此后随着时间的延长,训练组大鼠 PSA-NCAM 的表达逐渐增强,并于第 14 天时达到峰值,之后呈逐渐下降趋势;而制动组大鼠 PSA-NCAM 表达无明显增强趋势,并于 14 d 后逐渐下降。在实验进行 7~28 d 期间,训练组大鼠 PSA-NCAM 表达均显著高于制动组及正常对照组($P < 0.05$);而在第 35 天时,训练组与制动组间 PSA-NCAM 表达已无显著性差异($P > 0.05$),均接近正常水平。具体数据见表 1。

二、各组大鼠脑梗死对侧(右侧)海马齿状回区 PSA-NCAM 表达的变化

制动组大鼠在各观察时间点时,其脑梗死对侧 DG 区 PSA-NCAM 表达与正常对照组大鼠比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。与正常对照组比较,训

练组大鼠脑梗死对侧 DG 区 PSA-NCAM 表达在实验进行 28 d 及 35 d 时明显增高($P < 0.05$);而且在第 28 d 时其脑梗死对侧 DG 区 PSA-NCAM 表达也明显高于制动组($P < 0.01$);其它各观察时间点训练组与制动组间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。具体数据见表 2。

三、各组大鼠海马梗死灶周边区 PSA-NCAM 表达的变化

各组大鼠脑标本切片经详细检测后发现,制动组及训练组大鼠脑梗死灶周边区域均未见 PSA-NCAM 表达。

讨 论

脑缺血神经组织的再生包括 NSCs 的增殖、迁移及分化三个基本过程,其中 NSCs 向损伤区域迁移的能力在整个再生过程中具有非常关键的作用,故如何提高 NSCs 的迁移能力已成为目前研究的重点。PSA-NCAM 是多聚唾液酸通过唾液酸转移酶在高尔基体内与神经细胞黏附分子相结合而成,主要在新生成的齿状回颗粒细胞胞体及发育中的树突内表达,也可在颗粒细胞的苔状纤维中表达,虽然在成人体内其表达强度较低,但仍持续存在^[5]。大量的研究表明,PSA-NCAM 在 NSCs 的迁移过程中扮演着重要角色,直接反映 NSCs 的迁移能力^[6-8]。

关于康复训练对脑梗死的治疗作用,早在 90 年代中期,有研究者发现^[9],丰富环境能促进脑梗死大鼠的行为功能恢复,认为是丰富环境导致了损伤的感觉运动区周边皮质结构发生改变(包括大脑皮质重量、蛋白成分、树突发芽、突触联系面积等),而其中运动是必不可少的重要干预因素^[10]。国内学者在研究运动对衰老神经元树突及突触可塑性的影响中发现,长期运动能促进神经元树突的出芽及新突触联系的形成,能延缓海马、小脑内突触素水平随年龄的衰减,同时还可增加海马、小脑及脊髓内突触素的数量^[11,12]。最近 Briones 等^[13]研究发现,复杂环境可作为一种独立影响因素,促进缺血损伤区附近的海马神经元突触

表 1 2 组大鼠脑梗死侧(左侧)海马 DG 区 PSA-NCAM 在不同时间点的表达($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	3 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d	42 d	49 d
训练组	32	20.67 ± 3.58	28.08 ± 6.17 [#]	35.25 ± 7.28 [#]	30.42 ± 6.49 [#]	25.50 ± 2.39 [*]	21.83 ± 2.17	18.83 ± 6.06	19.50 ± 7.06
制动组	32	21.00 ± 5.41	21.33 ± 5.76	22.83 ± 4.65	21.00 ± 1.80	20.58 ± 4.25	20.25 ± 4.41	18.33 ± 3.82	17.67 ± 2.27

注:与制动组比较,^{*} $P < 0.05$; [#] $P < 0.01$

表 2 2 组大鼠脑梗死对侧(右侧)海马 DG 区 PSA-NCAM 在各观察时间点的表达($\bar{x} \pm s$)

组别	n	3 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d	42 d	49 d
训练组	32	18.47 ± 3.98	17.13 ± 3.04	16.87 ± 4.93	20.59 ± 2.53	23.17 ± 3.01 [*]	21.83 ± 2.32	20.56 ± 3.35	17.42 ± 3.34
制动组	32	19.31 ± 4.34	18.14 ± 3.59	17.99 ± 3.48	18.74 ± 2.31	19.15 ± 3.74	19.75 ± 3.96	19.43 ± 4.79	18.22 ± 2.83

注:与制动组比较,^{*} $P < 0.01$

及树突生长,提示在脑缺血治疗期间,对患者进行功能训练可以促进大脑损伤区周围神经环路恢复,有助于其神经功能的恢复及重建。

行为学训练是一种康复训练方法,它主要用来训练相关对象的学习、记忆、空间辨别、觅食等本能性行为能力,促进受损的行为学功能恢复。由于本研究中大鼠的脑梗死灶位于海马区,故选择 Morris 水迷宫来训练大鼠损伤的学习记忆功能。Morris 水迷宫是英国心理学家 Morris 及其同事于 20 世纪 80 年代初设计并将其应用于学习记忆脑机制研究中^[14],该迷宫的优点是能排除实验动物在完成任务过程中所留下的排泄物或分泌物对其它动物作业成绩产生的影响^[15]。

我们既往的研究表明,当大鼠单侧海马组织发生梗死后,其学习记忆能力未出现明显下降^[4],而当双侧海马发生梗死后,大鼠则出现明显的学习记忆功能障碍^[16,17],这可能与双侧海马组织共同参与学习记忆功能有关。当双侧海马梗死大鼠经过行为学训练后,发现其学习记忆能力明显增强,并在训练后 3 周时达到正常水平。制动组大鼠的学习记忆能力虽也有上升趋势,但始终低于正常组水平,这表明行为学训练可以促进双侧海马梗死大鼠的学习记忆功能^[16];在随后的实验中还发现,行为学训练可以增强脑缺血大鼠海马区和颞叶皮质 NR2B (N-methyl-D-aspartate receptor 2B, NR2B) 的表达,由于 NR2B 在长时程增强效应 (long term potentiation, LTP) 调控过程中扮演了非常重要的角色,是学习记忆的关键物质,提示行为学训练可通过增强 NR2B 的表达来提高大鼠的学习记忆功能^[18]。此外,有一系列研究还发现行为学训练对脑缺血后神经组织再生具有重要作用,例如与制动组大鼠比较,训练组脑梗死大鼠的热休克蛋白 70 (heat shock protein 70, HSP70) 阳性神经元明显增加, HSP70 是大脑对不良刺激的反应性蛋白,它可以保护脑梗死灶周边区 (半暗带) 的神经元,同时也保护了迁移至该区的 NSCs,以防其受自由基、兴奋性氨基酸的损伤^[19];此外,我们还发现经过行为学训练的大鼠降钙素基因相关肽 (calcitonin gene-related peptide, CGRP) 阳性神经元的表达明显增强,由于 CGRP 是强烈的血管舒张因子,所以我们认为这为神经元的再生提供了良好的血液供应,同时也发挥了抗自由基损伤的保护作用^[20]。最近有学者发现昔多芬 (伟哥) 可以增强脑缺血损伤大鼠 DG 区和室下区 (subventricular zone, SVZ) NSCs 的增殖^[21];而我们的前期实验也观察到行为学训练可以延缓脑缺血损伤后一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS) 阳性神经元数量的下降,促进 NO 释放^[22]。由于昔多芬的作用原理是抑制 PDE5 活性,进而促进 NO 合成,故我们推测行为学训练可能通过增强 NO 合成,促进脑缺血

损伤大鼠 DG 区和 SVZ 区 NSCs 的增殖,进而促进 NSCs 的迁移和分化, Mila 等^[23]的研究结果也证实了该观点,他们发现丰富环境可以促进脑缺血大鼠 SVZ 区 NSCs 的增殖。同时目前的研究结果亦初步证实,行为学训练可以促进海马 DG 区 nestin 阳性神经元的表达,并且迁移相关蛋白如神经生长因子 (nerve growth factor, NGF)、神经生长因子受体 (Trk)、reelin 蛋白的合成也明显增强。上述研究结果都提示行为学训练对脑缺血神经组织再生有积极促进作用,这也可能是行为学训练促进脑缺血大鼠学习记忆能力恢复的重要机制之一。

有研究表明,大鼠脑梗死后 5~7 周是 NSCs 分化的高峰期,也是 NSCs 迁移逐渐减缓的时期,故本研究将梗死后 3~49 d 作为观察时间窗,以研究 NSCs 迁移能力的变化规律^[24]。在本研究中,制动组及训练组大鼠于造模后其梗死侧 DG 区 PSA-NCAM 的表达均明显高于正常对照组,这是因为脑梗死本身作为一种刺激促进了海马 DG 区 NSCs 的增殖,从而使参与迁移的 NSCs 数目有所增加;随着时间的推移,训练组大鼠 PSA-NCAM 水平逐渐高于制动组,其原因可能包括以下两个方面:首先行为学训练促进了海马 DG 区 NSCs 的增殖,由于 NSCs 的数量增多,从而有可能使参与迁移的 NSCs 数量也相应增加;其次行为学训练可以促进星形胶质细胞的增殖,而星形胶质细胞的前体放射状胶质细胞在 NSCs 向梗死灶迁移过程中发挥重要作用,因而间接促进了 NSCs 的迁移^[25,26],而迁移相关蛋白表达的增强也对 NSCs 的迁移起到了促进作用。在本研究中,我们还发现训练组大鼠梗死灶对侧 DG 区 PSA-NCAM 表达在 28 d 及 35 d 时均明显高于正常对照组,而制动组与正常对照组间差异无统计学意义,这说明行为学训练也增强了梗死灶对侧未受损海马 DG 区 NSCs 的迁移能力,使其能够迁移至对侧海马梗死灶区并参与神经功能修复。

此外,我们还观察到大鼠脑梗死侧 DG 区 PSA-NCAM 表达在 14 d 时达到峰值,这与 Liu^[27] 等和 Iwai 等^[3]的研究结果基本一致,他们发现 DG 区 NSCs 的增殖活性在第 14 天时达到高峰,随后逐渐下降并最终恢复至正常水平,这说明 NSCs 的迁移能力与其增殖能力是一致的。另外本实验中的各组大鼠脑梗死灶周边区域均未见 PSA-NCAM 表达,这可能有以下 2 个原因:在脑梗死早期及中期, NSCs 处于增殖期,还未迁移至梗死灶周边,同时梗死灶神经元死亡所释放的自由基会抑制 PSA 的免疫转移活性^[3],故在梗死周边区未见 PSA-NCAM 表达;而在脑梗死后期,虽有 NSCs 迁移至梗死灶周边,同时自由基含量也有所下降,但此时 NSCs 可能已经完成了迁移过程,正处于分化期,已失去了迁移能力,

故无 PSA-NCAM 表达;同时我们推测, *reelin* 蛋白作为细胞迁移的中止信号,在梗死后其表达量的增加也有可能对 PSA-NCAM 表达发挥抑制作用。

NSCs 迁移有两种主要方式,一种是放射模式,另一种则是正切模式^[24],这两种模式的迁移方式及其影响因素都不相同,而行为学训练对这两种迁移方式各有什么样的影响,还需要作进一步的研究。总之,行为学训练可以促进单侧海马梗死大鼠 DG 区 PSA-NCAM 的表达及 NSCs 的迁移能力,从而增强其脑损伤组织的自我修复能力。

参 考 文 献

- 1 Reynolds BA, Tetzlaff W, Weiss S. A multipotent EGF-responsive striatal embryonic progenitor cell produces neurons and astrocytes. *J Neurosci*, 1992, 12:4565-4574.
- 2 McKay R. Stem cells in the central nervous system. *Science*, 1997, 276: 66-71.
- 3 Iwai M, Hayashi T, Zhang WR, et al. Induction of highly polysialylated neural cell adhesion molecule (PSA-NCAM) in postischemic gerbil hippocampus mainly dissociated with neural stem cell proliferation. *Brain Res*, 2001, 902:288-293.
- 4 潘惠娟, 李玲, 刘卫, 等. 光化学法诱导大鼠单侧海马梗死模型的实验研究. *中国康复医学杂志*, 2005, 20:87-89.
- 5 Rutishauser U, Acheson A, Hall AK, et al. The neural cell adhesion molecule (NCAM) as a regulator of cell-cell interactions. *Science*, 1988, 240:53-57.
- 6 Bruses JL, Rutishauser U. Roles, regulation, and mechanism of polysialic acid function during neural development. *Biochimie*, 2001, 83: 635-643.
- 7 Ulfing N, Chan WY. Expression patterns of PSA-NCAM in the human ganglionic eminence and its vicinity: role of PSA-NCAM in neuronal migration and axonal growth. *Cells Tissues Organs*, 2004, 177:229-236.
- 8 Kiss JZ. A role of adhesion molecules in neuroglial plasticity. *Mol Cell Endocrinol*, 1998, 140:89-94.
- 9 Ohlsson AL, Johansson BB. Environment influences functional outcome of cerebral infarction in rats. *Stroke*, 1995, 26:644-649.
- 10 Johansson BB, Ohlsson AL. Environment, social interaction, and physical activity as determinants of functional outcome after cerebral infarction in the rat. *Exp Neurol*, 1996, 139:322-327.
- 11 陈运才, 姚志彬, 陈以慈, 等. 运动对小鼠小脑皮质和脊髓内突触素年龄变化的影响. *解剖学报*, 1994, 25:263-267.
- 12 洪岸, 姚志彬, 顾耀铭, 等. 老年大鼠学习记忆减退与海马结构的突触素改变. *解剖学报*, 1996, 27:164-168.
- 13 Briones TL, Suh E, Jozsa L, et al. Behaviorally induced synaptogenesis and dendritic growth in the hippocampal region following transient global cerebral ischemia are accompanied by improvement in spatial learning. *Exp Neurol*, 2006, 198:530-538.
- 14 Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, et al. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 1982, 297:681-683.
- 15 韩太真, 吴馥梅, 主编. 学习与记忆的神经生物学. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998. 61, 287.
- 16 李玲, 潘惠娟. 康复训练对双侧海马梗死大鼠学习记忆功能的影响. *第四军医大学学报*, 2004, 25:2102-2104.
- 17 潘惠娟, 李玲, 刘卫, 等. 光化学法诱导大鼠双侧海马梗死模型的建立. *中华物理医学与康复杂志*, 2006, 27:645-648.
- 18 潘惠娟, 李玲, 杨华, 等. 行为训练对大鼠海马梗死灶周围及颞叶皮层 NR2B 表达的影响. *中国康复理论与实践*, 2006, 12:5-7.
- 19 李玲, 袁华, 牟翔, 等. 康复训练对大鼠脑梗死后 FOS 和 HSP70 表达的影响. *第四军医大学学报*, 2001, 22:901-904.
- 20 李玲, 袁华, 徐莉. 康复训练对大鼠脑梗死后 CGRP 表达的影响. *第四军医大学学报*, 2001, 22:1365-1367.
- 21 Zhang RL, Zhang Z, Zhang L. Delayed treatment with sildenafil enhances neurogenesis and improves functional recovery in aged rats after focal cerebral ischemia. *J Neurosci Res*, 2006, 46:472-482.
- 22 李薇, 李玲, 牟翔, 等. 康复训练对脑梗死大鼠皮质一氧化氮合酶阳性神经元表达的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2001, 23:275-278.
- 23 Mila K, Bengt M, Barbro B, et al. Enriched environment increases neural stem/progenitor cell proliferation and neurogenesis in the subventricular zone of stroke-lesioned adult rats. *Stroke*, 2005, 36:1278-1282.
- 24 Iwai M, Sato K, Omori N, et al. Three steps of neural stem cells development in gerbil dentate gyrus after transient ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2002, 22:411-419.
- 25 袁华, 龙华, 李玲. 康复训练对脑梗死大鼠皮质 S-100、GFAP 和 Nestin 表达的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2003, 25:520-523.
- 26 饶毅. 神经细胞迁移的分子生物学研究. *江西医学院学报*, 2001, 41:9-15.
- 27 Liu J, Sharp FR. Ischemia induced neurogenesis in the dentate gyrus: an injury-dependent neuroplasticity. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1999, 19:614.

(修回日期:2006-05-28)

(本文编辑:易 浩)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《中华物理医学与康复杂志》继续医学教育答题注意事宜

自从本刊 2006 年开展“读杂志, 获学分”继续医学教育活动以来, 有众多读者积极参与, 踊跃答题, 已收到大量的回馈信息。在此我们向广大忠实读者对我刊的大力支持致以衷心的感谢!

出于管理上的考虑, 我们将于 2007 年 1 月一次性邮寄学分证书(全年答题者可获 12 分), 并代为收取学分证书工本费上缴中华医学会。所有参与答题的读者均已给予回执, 未收到回执者可通过电话或电子邮件与编辑部联系。

期待您的继续参与!

联系电话:027-83662874; E-mail: cjpmmr@tjh. tjmu. edu. cn。

《中华物理医学与康复杂志》编辑部