

· 基础研究 ·

神经干细胞移植对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠脑组织 Foxg1 基因表达的影响

尚凤伟 王军 侯艳艳 朱登纳 范亚珍 王俊辉 张贞焕

【摘要】目的 观察脐血源性神经干细胞(NSCs)移植对缺氧缺血性脑损伤(HIBD)新生大鼠脑组织海马齿状回颗粒细胞下层(SGZ) Foxg1 基因表达的影响。**方法** 采用密度梯度离心法分离脐血单个核细胞,进行定向诱导培养,并通过免疫细胞化学法鉴定培养细胞表达神经干细胞表面标志。将 7 日龄 SD 大鼠 150 只随机分为假手术组、HIBD 组和 NSCs 组,HIBD 组和 NSCs 组分离并永久性结扎左侧颈总动脉,假手术组只分离不结扎左侧颈总动脉,也不进行缺氧,NSCs 组于造模 24 h 后经大鼠尾静脉行脐血源性神经干细胞移植,3 组大鼠分别于造模后第 3、7、14、21、28 天共 5 个时间点取材,每个时间点各取 10 只大鼠,应用原位杂交法检测各组大鼠 SGZ Foxg1 基因 HIBD 后各时间点的表达水平。**结果** 诱导培养的脐血间充质干细胞免疫细胞化学染色结果:诱导前,脐血间充质干细胞中 Nestin、NSE、GFAP 阳性细胞数较少,至诱导 6 d 时,Nestin、NSE、GFAP 阳性细胞数均明显增多($P < 0.01$),至诱导 9 d 时,Nestin 阳性细胞数较前减少,NSE、GFAP 继续增多($P < 0.01$)。造模 3 d 后,3 组大鼠的 Foxg1 基因均有表达,HIBD 组和 NSCs 组在造模 7 d 后达到高峰[分别为 (131.20 ± 2.11) 和 (139.52 ± 1.98)],此后逐渐下降,假手术组表达于造模 3 d 后呈逐渐降低趋势。HIBD 组和 NSCs 组造模后各时间点 Foxg1 基因的表达均高于假手术组,差异有统计学意义($P < 0.05$);而造模 7、14、21、28 d 后,NSCs 组 Foxg1 基因的表达均高于 HIBD 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 脐血间充质干细胞可定向诱导分化为神经干细胞;Foxg1 基因在生后大鼠 SGZ 可有表达,HIBD 可诱导 Foxg1 基因表达,NSCs 移植可促进 Foxg1 基因表达,从而促进脑损伤后神经系统结构和功能的修复。

【关键词】 缺氧缺血性脑损伤; 大脑因子 1; 神经干细胞; 移植; 新生大鼠

The effects of neural stem cell transplantation on Foxg1 gene expression in the subgranular zone of neonatal brain tissue damaged by hypoxia-ischemia SHANG Feng-wei, WANG Jun, HOU Yan-yan, ZHU Deng-na, FAN Ya-zhen, WANG Jun-hui, ZHANG Zhen-huan. The Third Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

Corresponding author: WANG Jun, Email: swangjun@zzu.edu.cn

【Abstract】 Objective To observe the effect on Foxg1 gene expression in the subgranular zone (SGZ) of cerebral tissue from neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage (HIBD) after transplantation of neural stem cells (NSCs) derived from umbilical cord blood. **Methods** Mononuclear cells separated from umbilical cord blood by density gradient centrifugation were cultured with orientated induction to differentiate the NSCs. The neuronal phenotype was identified using immunocytochemical methods. A total of 150 Sprague-Dawley rats were randomly divided into a sham-operation group, an HIBD group and an HIBD-NSCs group. Rats in the HIBD group and the HIBD-NSCs group were subject to ligation of the left carotid artery and then kept in a box under 8% oxygen and 92% nitrogen for 2.5 hours to establish the HIBD animal model. The artery was separated but not ligated in the sham operation group, which was not subjected to hypoxia. Twenty-four hours after the operation, the cultivated NSCs were transplanted by caudal vein injection into the rats in the HIBD-NSCs group. Rats were then sacrificed on the 3rd, 7th, 14th, 21st and 28th days after the operation. Foxg1 gene expression in the SGZ was examined using in-situ hybridization methods. **Results** The number of Nestin-positive cells peaked on the 6th day of cultivation and then decreased by the 9th day. The Foxg1 gene was expressed in the SGZs of each group. The expression increased by the 3rd day after surgery in the HIBD and HIBD-NSCs groups, and peaked on 7th day after the operation, then declined gradually. The average expression level of Foxg1 in the HIBD group was significantly lower than that in the HIBD-NSCs group on the 7th day and thereafter. **Conclusions** Human umbilical cord blood mesenchymal stem cells can be induced and dif-

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2013.05.001

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(200703066)

作者单位:450052 郑州,郑州大学第三附属医院脑瘫康复科

通信作者:王军,Email:swangjun@zzu.edu.cn

ferentiated into neural stem cells. Foxg1 genes can still be present in the SGZ after birth. HIBD can induce the expression of Foxg1 genes. Transplanting NSCs can promote the expression of Foxg1 genes and improve morphological and functional recovery after HIBD, at least in neonatal rats.

【Key words】 Hypoxic-ischemic brain damage; Foxg1 gene; Neural stem cells; Transplantation; New-born rats

新生儿缺氧缺血性脑损伤(hypoxic-ischemic brain damage, HIBD)是危害新生儿生命及引起儿童残疾的主要疾病之一,目前各种治疗方法对中重度脑损伤的疗效有限,常用的治疗方法如高压氧、亚低温均局限于对症、支持治疗,且时间窗要求较为严格^[1-2]。神经干细胞(neural stem cells, NSCs)是具有自我更新能力和多向分化潜能的细胞,是目前国内外科学家们研究的热点。Foxg1 因子又名大脑因子 1(brain factor 1),是人类 FOX 基因家族(human Forkhead-box gene family)的重要成员。Foxg1 基因在胚胎期及生后大脑发育过程中均起着重要作用,是调控 NSCs 增殖和分化的关键基因^[3]。本研究通过建立新生大鼠 HIBD 动物模型,探讨 NSCs 移植后不同时间点脑组织海马区 Foxg1 基因的表达变化及其对 NSCs 增殖分化的影响,旨在为临床 NSCs 移植治疗新生儿 HIBD 提供更为充分的实验依据。

材料与方法

一、实验材料

DMEM/F12 培养基(美国 Hyclone 公司),人淋巴细胞分离液(天津灏洋生物制品科技有限公司);浓缩型巢蛋白(nestin)、神经元特异性烯醇化酶(neuron specific enolase, NSE)和神经胶质酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)、BrdU IgG 单克隆抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司;二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色试剂盒、Foxg1 mRNA 原位杂交试剂盒、原位杂交专用盖玻片购自武汉博士德生物工程有限公司。

二、脐血干细胞的定向诱导、培养和鉴定

脐血标本取自郑州大学第三附属医院足月健康剖宫产产妇(均经产妇书面同意),抽取脐血 50 ml ~ 100 ml, 1:1 体积比加入淋巴细胞分离液, 2400 r/min, 离心半径 8 cm, 离心 20 min; 吸取中间白色薄膜层, 加入 5 ml 含 20% 胎牛血清培养基, 轻轻吹打成单细胞悬液, 将其接种于 T25 细胞培养瓶原代培养, 每 3 d 换 1 次液, 去除未贴壁细胞; 原代细胞长至 80% 融合进行传代; 每日于倒置显微镜下观察原代及传代的脐血间充质干细胞的生长及形态特征; 完全培养基中加入碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF) 20 ng/ml、人表皮生长因子(epidermal growth

factor, EGF) 20 ng/ml 和 B27 因子(20 ml/L)诱导分化培养; 分别用神经细胞特异性标志物即 Nestin、NSE、GFAP 抗体对培养细胞进行诱导前和诱导后 6 ~ 9 d 的培养细胞进行免疫细胞化学染色鉴定。

三、动物分组及模型的建立及鉴定

新生 7 日龄 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 150 只, 体重 14 ~ 18 g, 均由河南省实验动物中心提供, 自由取食及饮水。采用随机数字表法分为假手术组、HIBD 组和 NSCs 组, 每组大鼠 30 只。采用经典 Rice 法制作 HIBD 动物模型; 3 组大鼠均采用乙醚麻醉后分离并永久性结扎左侧颈总动脉(假手术组分离但不结扎左侧颈总动脉), 于手术 2 ~ 3 h 后将 HIBD 组和 NSCs 组大鼠放入 8% 氧气和 92% 氮气, 温度为 34 ~ 35 °C 混合的缺氧箱中, 2.5 h 后取出新生鼠放回母鼠笼内喂养。假手术组不进行缺氧处理。造模成功标准为: 右前肢瘫痪, 大鼠麻醉清醒后, 提尾悬空时右侧前肢内屈曲, 自主运动时身体向右侧转圈。

四、NSCs 的移植

NSCs 组大鼠于造模后 24 h 行 NSCs 移植。在无菌条件下取诱导培养 6 d 细胞, 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)冲洗 3 次, 每次 5 min, 调整细胞计数为 2×10^6 /ml。将大鼠乙醚麻醉, 1 ml 注射器吸取 NSCs 悬液, 以 0.1 ml/10 g 体重注射量经尾静脉缓慢注入, 注射完毕后留针 3 min 以保证细胞液充分进入大鼠体内, 移植后不予免疫抑制剂应用。动物清醒后送回母鼠笼内喂养。

五、标本采集和组织切片的制备

3 组大鼠分别于造模后第 3、7、14、21、28 天共 5 个时间点取材, 每个时间点各取 10 只大鼠。采用乙醚对大鼠全麻, 用 4% 多聚甲醛行心脏灌注固定, 于前囟前 2 mm 至前囟后 3 mm 之间取脑, 多聚甲醛/0.1 mol PBS (pH 值 = 7.4) 后固定 24 h, 按固定、水洗、脱水、透明、浸蜡、包埋、修蜡步骤制作蜡块, 于前囟前 1 mm 处开始连续冠状切片(厚度 4 μ m), 每隔 5 张抽取 1 张粘于多聚赖氨酸预处理过的玻片上, 37 °C 环境下干燥 12 h 后置入玻片盒中。

六、原位杂交步骤

石蜡切片常规脱蜡至水; 3% 柠檬酸新鲜稀释的胃蛋白酶暴露 mRNA 核酸片段; 4 g · L⁻¹ 多聚甲醛或 0.1 mol PBS (pH 值 = 7.4) 进行固定, 室温下放置

10 min; 每张切片加 20 μ l 预杂交液, 38 $^{\circ}$ C 预杂交 3 h; 每张切片 20 μ l 杂交液, 原位杂交专用盖玻片盖在切片上, 恒温箱 38 $^{\circ}$ C 杂交过夜; 杂交后洗涤采用 37 $^{\circ}$ C 水温的 2 $\times$ 枸橼酸钠溶液洗涤 2 次, 每次 5 min, 0.5 $\times$ SSC、0.2 $\times$ SSC 洗涤 15 min 各 1 次; 滴加封闭液, 37 $^{\circ}$ C 30 min; 滴加生物素化鼠抗地高辛, 37 $^{\circ}$ C 60 min, PBS 冲洗 4 次, 每次 5 min; 滴加链霉亲和素-生物素复合物 (strept avidin-biotin complex, SABC), 37 $^{\circ}$ C 20 min, PBS 冲洗 3 次, 每次 5 min; DAB 显色 20 min, 充分水洗; 苏木精复染; 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 封片; 光镜下观察; 部分切片以 0.1 mol/L PBS 代替探针, 进行阴性对照。

七、原位杂交结果检测

低倍镜下选择观察视野, 每张切片在海马齿状回颗粒细胞下层 (subgranular zone, SGZ) 选择 4 个视野, 高倍镜下 (400 倍) 利用 Biosens Digital Imaging systems V1.6 图像分析软件检测 Foxg1 基因的表达, 以阳性区平均积分光密度表示。

八、统计学处理

实验数据采用 SPSS 17.0 版统计学软件进行分析, 数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用方差分析和 Spearman 秩相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

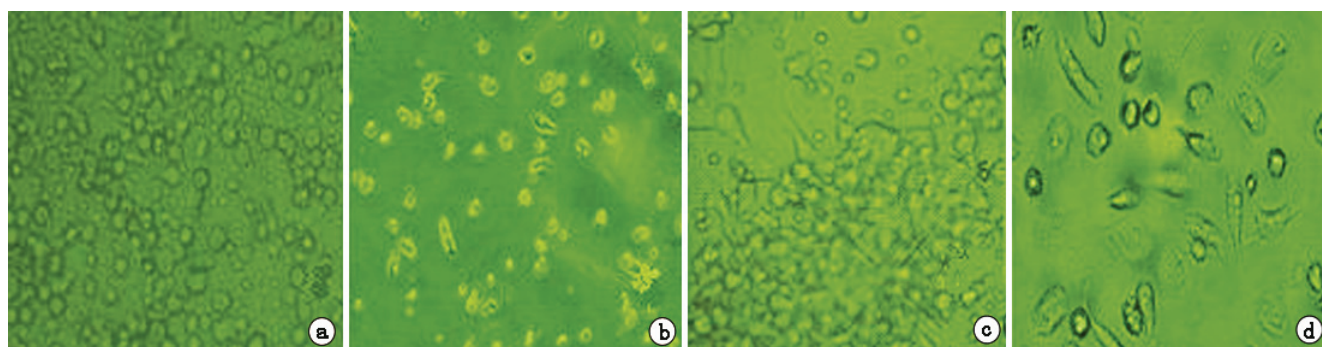
结 果

一、原代培养的脐血间充质干细胞形态学观察

培养 1 d 时, 细胞体积增大, 边缘可见突起, 形状不规则, 部分细胞呈破骨样, 胞体较大, 多个核; 培养 3 d 时, 细胞清亮, 折光性好, 梭形细胞增多, 胞突延长, 细胞视野逐渐清晰; 培养 7 d 时, 贴壁细胞突起逐渐延长, 球形克隆团体积变大, 贴壁生长; 培养 14 d 时, NSCs 相邻细胞突起延长, 逐渐连成网状, 类似神经元样细胞 (图 1)。

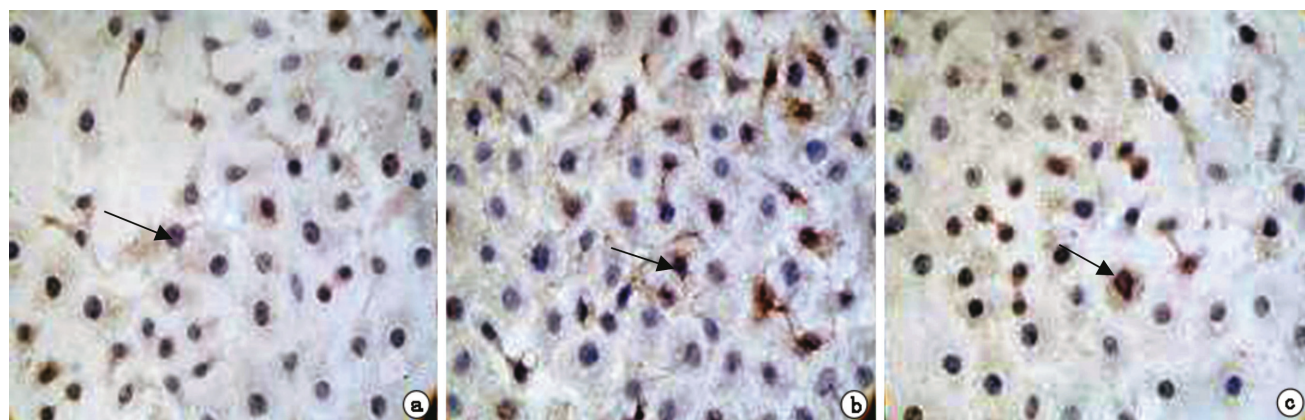
二、培养细胞的鉴定

免疫细胞化学染色半定量分析可见, 诱导前, 脐血间充质干细胞中 Nestin、NSE、GFAP 阳性细胞数较少, 至诱导 6 d 时, Nestin、NSE、GFAP 阳性细胞数均明显增多 ($P < 0.01$), 至诱导 9 d 时, Nestin 阳性细胞数较前减少, NSE、GFAP 继续增多 ($P < 0.01$) (表 1、图 2)。



注: a 为培养 1 d 时, b 为培养 3 d 时, c 为培养 7 d 时, d 为培养 14 d 时

图 1 脐血间充质干细胞培养不同时间点的细胞形态 ($\times 200$)



注: a 为 NSE, b 为 GFAP, c 为 Nestin; 箭头所指为染色阳性细胞

图 2 镜下细胞诱导培养 6 d 免疫细胞化学染色组织细胞图 (SABC 染色, $\times 400$)

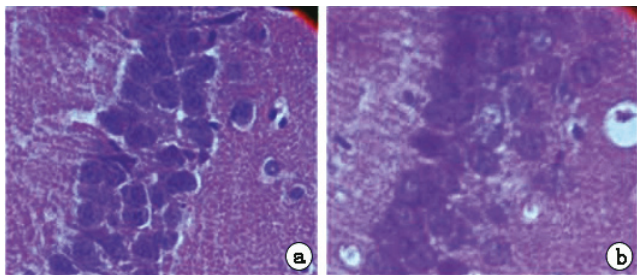
表 1 细胞诱导培养不同时间点 Nestin、NSE、GFAP 阳性细胞数(个/高倍镜视野, $\bar{x} \pm s$)

项目	Nestin	NSE	GFAP
诱导前	7.41 $\pm$ 1.49	5.62 $\pm$ 1.71	5.23 $\pm$ 1.13
诱导 6 d 时	72.31 $\pm$ 5.27 ^a	16.47 $\pm$ 2.03 ^a	10.29 $\pm$ 1.51 ^a
诱导 9 d 时	45.32 $\pm$ 3.41 ^b	23.27 $\pm$ 1.14 ^b	14.46 $\pm$ 2.49 ^b

注:与诱导前比较,^a $P < 0.01$;与诱导 6 d 时比较,^b $P < 0.01$

三、HIBD 动物模型鉴定

造模后,HIBD 组和 NSCs 组大鼠出现喂养困难、体重增长缓慢、肢体运动减少、右前肢瘫痪且提尾悬掉时内旋。造模 24 h 后,可见 HIBD 组和 NSCs 组大鼠脑出现水肿,缺血侧较对侧及假手术组严重;HE 染色示假手术组脑组织结构正常,神经元结构清晰可见,HIBD 组和 NSCs 组肉眼可见脑组织苍白,光学显微镜下显示,神经元坏死、崩解、消失,间质水肿,组织结构模糊不清,炎性细胞增多等(图 3)。



注:a 为假手术组,b 为 HIBD 组和 NSCs 组

图 3 镜下造模 24 h 后 2 组大鼠脑组织 SGZ 区组织细胞图 (HE 染色, $\times 400$)

四、原位杂交检测情况

镜下观察胞浆出现棕黄色颗粒者为阳性细胞,造模 3 d 后,3 组大鼠的 Foxg1 基因均有表达,HIBD 组和 NSCs 组在造模 7 d 后达到高峰,此后逐渐下降,假手术组表达于造模 3 d 后呈逐渐降低趋势(图 4)。HIBD 组和 NSCs 组造模后各时间点 Foxg1 基因的表达均高于假手术组,差异有统计学意义($P < 0.05$);而造模 7、14、21、28 d 后,NSCs 组 Foxg1 基因的表达均高于 HIBD 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),详见表 2。

讨 论

源于人脐血的单个核细胞(umbilical cord blood

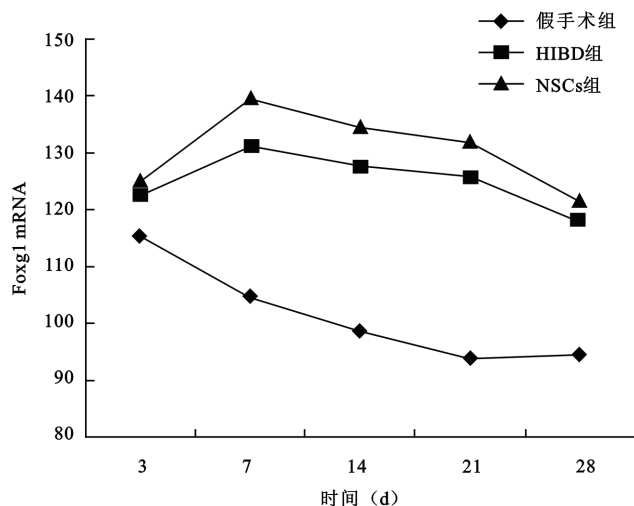


图 4 3 组大鼠脑组织 SGZ Foxg1 表达变化趋势图

mononuclear cells, UBC-MNCs) 的 NSCs 具有自我更新和多向分化潜能,在一定条件下可增殖分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞^[4-5]。UBC-MNCs 因其来源广泛,取材方便,易于保存,低免疫原性及良好的组织相容性等原因,成为细胞移植治疗神经系统疾病的一种很好的细胞源。本研究采用密度梯度离心法分离出 UBC-MNCs,并采用贴壁法体外定向诱导培养使其增殖分化,进一步证实了 UBC-MNCs 可以体外培养分化为 NSCs,为细胞移植临床应用提供了理论依据及技术支持。

本研究采用经典的 Rice 法^[6]成功制备了 HIBD 动物模型,发现移植后第 3 天,HIBD 组海马 SGZ Foxg1 表达较假手术组升高($P < 0.05$),可能是由于缺氧缺血导致内环境的改变从而刺激并诱导了内源性神经干细胞的增殖,而同时时间点 HIBD 组与 NSCs 组 Foxg1 的表达差异无统计学意义($P > 0.05$),可能与损伤时间较短,局部微环境的变化如大量炎症因子的分泌尚不利于移植的 NSCs 进行增殖分化有关。HIBD 组造模 7 d 后 Foxg1 的表达逐渐上调,可能是由于随着内环境的改善,使得外源性 NSCs 增殖分化增强,且与内源性 NSCs 协同作用,从而对受损脑组织进行修复,这符合 HIBD 后脑组织自身修复的病理生理过程,提示 Foxg1 在神经干细胞的增殖与分化过程中发挥调控作用,这种调控作用不仅在胚胎发育期间,即使在生后依然起作用。

表 2 3 组大鼠不同时间点 SGZ 的 Foxg1 mRNA 表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	造模 3 d 后	造模 7 d 后	造模 14 d 后	造模 21 d 后	造模 28 d 后
假手术组	10	115.13 $\pm$ 2.28	104.51 $\pm$ 2.70	98.60 $\pm$ 3.37	93.81 $\pm$ 2.91	94.47 $\pm$ 2.31
HIBD 组	10	122.42 $\pm$ 1.39 ^a	131.20 $\pm$ 2.11 ^b	127.52 $\pm$ 2.08 ^b	125.72 $\pm$ 2.61 ^b	117.92 $\pm$ 1.39 ^b
NSCs 组	10	124.71 $\pm$ 2.49 ^a	139.52 $\pm$ 1.98 ^{bc}	134.18 $\pm$ 1.75 ^{bc}	131.68 $\pm$ 3.01 ^{bc}	121.41 $\pm$ 2.06 ^{bc}

注:与假手术组同时时间点比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与 HIBD 同时时间点组比较,^c $P < 0.05$

Foxg1 基因定位于人类第 14 号染色体的长臂上 (14q12), Foxg1 因子在胚胎脑的发育过程中发挥着关键性作用^[7-8]。在胚胎期, Foxg1 的表达仅限于端脑及嗅球部, 有研究表明, 在细胞增殖较快的脑室区其表达水平最高^[9], 并且在外胚层表面、外胚层基板、颅脑的感觉中枢等均有表达。出生后, Foxg1 基因仍能持续表达于脑室下区、侧脑室、大脑皮质、海马 SGZ 和基底核等部位^[10], 本研究也证实了这一点。研究表明, 新生动物 HIBD 后脑结构与功能重建是胚胎期发育的再现和延续^[11]。

脑的缺血性损伤可以诱导神经发生, 促进内源性神经干细胞增殖, 向损伤区域迁移及分化为神经元及胶质细胞对受损神经进行修复^[12]。研究发现, 未成熟的脑中祖细胞至少存在于 3 个芽胚区中, 为室管膜下层 (subventricular zone, SVZ), SGZ 和嗅球^[13]。Scheepens 等^[14]将正常孕周大鼠制成围生期重度窒息模型, 给予³H-脱氧胸腺嘧啶核苷(³H thymidine, ³H-T)示踪, 结果显示, 新生大鼠损伤 2 周后, 脑中³H-T 增殖细胞计数大量增加, 同时, 海马重量明显增加, 提示出生 2 周后, 内脑组织中主要的神经发生可能是海马的增殖。

Foxg1 对 NSCs 的调控有着非常重要的作用^[15], 主要表现在 2 个方面, 即对 NSCs 增殖的调控作用和对 NSCs 分化的调控作用。Foxg1 可促进端脑 SVZ 和 SGZ NSCs 的自我更新, 并维持其多向分化潜能^[16], 该基因表达缺陷将导致 NSCs 发育分化成熟障碍和大脑结构发育缺陷。研究发现, 大脑损伤引起再生时, 如 HIBD 时, Foxg1 表达会重新升高, 从而促进大脑功能的再生与修复^[17]。本研究中, HIBD 组 Foxg1 的表达在较假手术组高即证实了这一点, 但 1 周后其表达随时间的延长逐渐下降, 而 NSCs 组的 Foxg1 持续表达至 14 d 达高峰, 之后逐渐下降, 但各相同时间点 Foxg1 的表达仍显示高于 HIBD 组及假手术组, 提示 NSCs 移植可促进 Foxg1 基因的表达, 而 Foxg1 基因的表达上调可通过调控神经干细胞的增殖与分化来促进脑损伤的修复。

基因工程化的 NSCs 治疗脑损伤是当前研究的热点, 本研究为将 Foxg1 作为目的基因进行 NSCs 基因修饰提供了进一步的实验依据, 将对治疗脑损伤性疾病产生积极的影响。

脑损伤的影响。中华物理医学与康复杂志, 2012, 34:493-497.

- [2] 季先秋, 都艳秋. 贴敷式头部亚低温不同时间窗对新生仔兔 HIBD 治疗时 NSE 变化的研究. 神经疾病与精神卫生, 2011, 11:268-270.
- [3] Shen L, Nam H, Song P, et al. Foxg1 haploinsufficiency results in impaired neurogenesis in the postnatal hippocampus and contextual memory deficits. *Hippocampus*, 2006, 16:875-890.
- [4] Domanska JK, Buzanska L, Lukomska B. A novel, neural potential of non-hematopoietic human umbilical cord blood stem cells. *Int J Dev Biol*, 2008, 52:234-237.
- [5] 范亚珍, 王军, 陈海, 等. 脐血单个核细胞体外向神经干细胞的诱导及 Foxg1 基因的表达. 山东医药, 2010, 50:13-15.
- [6] Rice JE, Vannucci RC, Briedey JB, et al. The influence of immaturity on hypoxic ischemic brain damage in the rat. *Ann Neurol*, 1981, 9:131-141.
- [7] Fasano CA, Phoenix TN, Kokovay E, et al. Bmi-1 cooperates with Foxg1 to maintain neural stem cell self-renewal in the forebrain. *Genes Dev*, 2009, 23:561-574.
- [8] Hwang CH, Simeone A, Lai E, et al. Foxg1 is required for proper separation and formation of sensory cristae during inner ear development. *Dev Dyn*, 2009, 238:2725-2734.
- [9] Kawauchi S, Santos R, Kim J et al. The role of Foxg1 in the development of neural stem cells of the olfactory epithelium. *Ann NY Acad Sci* 2009, 1170:21-27.
- [10] Siegenthaler JA, Tremper-Wells BA, Miller MW. Foxg1 haploinsufficiency reduces the population of cortical intermediate progenitor cells: Effect of increased p21 expression. *Cereb Cortex*, 2008, 18:1865-1875.
- [11] Kennea NL, Mehmet H. Perinatal applications of neural stem cells. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2004, 18:977-994.
- [12] Nakayama D, Matsuyama T, Ishibashi-Ueda H, et al. Injury induced neural stem/progenitor cells in post-stroke human cerebral cortex. *Eur J Neurosci*, 2010, 31:90-98.
- [13] Bedard A, Parent A. Evidence of newly generated neurons in the human olfactory bulb. *Brain Res Dev Brain Res*, 2004, 151:159-168.
- [14] Scheepens Wassink G, Piersma MJ, et al. A delayed increase in hippocampal proliferation following global asphyxia in the neonatal rat. *Brain Res Dev Brain Res*, 2003, 142:67-76.
- [15] Brancaccio M, Pivetta C, Granzotto M, et al. Emx2 and Foxg1 inhibit gliogenesis and promote neurogenesis. *Stem Cells*, 2010, 28:1206-1218.
- [16] 郑毅, 余加林, 李禄全, 等. 缺氧缺血性脑损伤新生鼠 Foxg1 基因与脑皮质特定基因的表达变化及意义. 第三军医大学学报, 2008, 30:1818-1820.
- [17] Regad T, Roth M, Bredenkamp N, et al. The neural progenitor-specifying activity of Foxg1 is antagonistically regulated by CKI and FGF. *Nat Cell Biol*, 2007, 9:531-540.

参 考 文 献

- [1] 朱敏, 张跃, 汤健, 等. 高压氧处理时间窗对新生大鼠缺氧缺血性

(修回日期: 2013-03-16)

(本文编辑: 阮仕衡)