

· 基础研究 ·

病理性疼痛对老年雄性大鼠海马细胞凋亡和胆碱乙酰转移酶的影响

朱雅斌¹ 石翊飒^{1,2} 丁力¹ 马永丰¹

摘要 目的:研究病理性疼痛对老年雄性大鼠海马细胞凋亡和胆碱乙酰转移酶(CHAT)含量的影响。**方法:**60只老年雄性SD大鼠450—500g,随机分成3组,A组:单纯麻醉组;B组:假手术组;C组:模型组,结扎左侧坐骨神经各组再按术前1天、术后第1、7、14天4个时间点,分为4个亚组,每组5只。各组在热痛敏试验检测后,麻醉、灌注、开颅取脑,分别进行流式细胞仪检测、HE染色和CHAT免疫组化分析。**结果:**①术后第1天C组结扎侧热痛敏实验所致后肢回缩时间数值较基础值明显缩短,第7、14天热痛阈继续呈下降趋势,与A组相比,差异显著($P<0.01$)。②C组CA3区锥体细胞数目明显减少($P<0.01$)。③C组较A组和B组出现了更多的细胞凋亡($P<0.01$)。④C组CHAT阳性细胞数目比A组和B组明显减少($P<0.01$)。**结论:**病理性疼痛可以造成老年雄性大鼠热痛阈的明显下降和海马CA3区锥体细胞明显凋亡以及CHAT阳性细胞数目减少。

关键词 疼痛; 海马; 细胞凋亡; 胆碱乙酰转移酶

中图分类号:R441.1 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2009)-04-0348-04

The impacts of pathological pain on the aged male rat hippocampus apoptosis and choline acetyltransferase/ ZHU Yabin, SHI Yisa, DING Li, et al// Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2009, 24(4): 348—351

Abstract Objective:To study the impacts of pathological pain on apoptosis of hippocampus and content of choline acetyltransferase (CHAT) in old male rats. **Method:**Sixty aged male SD rats 450—500g, were divided into 3 groups, A group: anaesthetized group; B group: sham-operated group; C group: model group with left sciatic nerves ligated. Each group was divided into 4 sub-groups according to the time points: 1d before operation and the 1st d, 7th d, 14th d after operation, n=5. All groups were anaesthetized, perfused, craniotomized for brain resecting. After heat-pain test, FCM, HE staining and CHAT immunization were detected. **Result:** ①In group C the paw withdrawal latency (PWL) in heat-pain shortened apparently, and the heat-pain threshold continued on a downward trend at the 7th d and 14th d. There was significant difference compared with group A ($P<0.01$). ②In group C the number of pyramidal cells of CA3 region reduced significantly ($P<0.01$). ③In group C, there were more apoptosis than that in group A and group B ($P<0.01$). ④The number of CHAT positive cells in group C was less significantly than that in group A and group B ($P<0.01$). **Conclusion:** The pathological pain could cause apparent decline of heat-pain threshold, significant apoptosis of the cells of CA3 region in hippocampus and reduction of CHAT positive cells in rats.

Author's address The Anaesthesia Department of the Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, 730030

Key words pain; hippocampus; apoptosis; choline acetyltransferase

病理性疼痛分为伤害感受性疼痛和神经病理性疼痛。两者都是造成患者术后认知功能障碍的重要原因。伤害感受性疼痛起效快、持续时间短,神经病理性疼痛起效慢但持续时间长,神经病理性疼痛是指由中枢或外周神经系统损伤或疾病引起的疼痛综合征,以痛觉过敏、痛觉超敏和自发性疼痛为特征,周围神经损伤是目前发病率很高的疾病,直接影响患者的生存质量^[1]。持续的疼痛通过激活多种伤害性机制,可以使中枢神经系统的感觉通路产生复杂的变化,但是疼痛对大脑高级中枢的影响尤其是对边缘系统的影响所知甚少^[2]。认知功能障碍是老年患者术后并发症之一,已观察到有海马细胞凋亡和胆碱

乙酰转移酶(choline acetyltransferase, CHAT)改变,应激损害海马的精细机制可能与其海马神经元细胞凋亡有关^[3],并且大鼠学习记忆能力的减退伴随着脑内胆碱乙酰转移酶含量的降低^[4]。因此,海马细胞凋亡和CHAT含量的减少可以作为评价认知功能损伤的客观指标之一,但疼痛是否影响认知功能,报道甚少。本研究通过疼痛对海马细胞凋亡和CHAT的影响,从而观察疼痛对认知功能的影响。

1 兰州大学第二医院麻醉科,兰州,730030

2 通讯作者

作者简介:朱雅斌,男,住院医师,硕士研究生

收稿日期:2008-08-04

1 材料与方法

1.1 动物的分组和模型制备

老龄雄性 SD 大鼠由甘肃省中医学院实验动物中心提供(许可证号:SCXK(甘)2004-0006), 体重 450—500g。随机分为 3 组, 分别是 A 组: 单纯麻醉组、B 组: 假手术组、C 组: CCI 模型组, 各组动物再按术前 1d 和术后第 1、7、14 天 4 个时间点, 分为 A1、A2、A3、A4、B1、B2、B3、B4、C1、C2、C3、C4 共 12 组, 每组 5 只, 建立模型前均采用 10% 水合氯醛 3ml/kg 腹腔注射麻醉后, 局部消毒。A 组单纯麻醉, 常规喂养; B 组大鼠左侧大腿中部单纯切开, 不结扎坐骨神经, 逐层缝合; C 组大鼠采用 Bennett 和 Xie^[5]的方法从左侧大腿中部切开, 暴露坐骨神经在其分叉处用 4—0 丝线间隔 1mm 松扎 4 道, 逐层缝合, 手术伤口均常规覆以青霉素粉末, 术后未有感染发生。

1.2 各组大鼠痛阈测定

分别在 4 个时间点用后肢回缩潜伏期 (paw withdrawal latency, PWL) 检测各组大鼠热痛阈变化, 观察是否出现神经病理性疼痛, 并作统计分析。

1.3 灌注

造模后第 1、7、14 天, 每组动物麻醉后, 经左心室向升主动脉注射肝素 0.1ml 抗凝, 再依次灌入生理盐水 (4℃) 约 100ml、PBS 液—多聚甲醛混合液 (pH7.4, 4℃) 300ml。开颅取脑, 剥离海马, 标本在 PBS 液中浸泡 48 h (流式细胞仪检测的标本只用生理盐水灌注)。

1.4 流式细胞仪检测大鼠海马细胞凋亡率

各组动物行热痛敏测试后, 每组 2 只麻醉开胸、生理盐水灌注后, 取海马组织样本, 待测样本制成浓度约 10^6 /ml 的单细胞悬液 1ml, 洗涤后以 PBS 液定容至 1.5ml, 吸取 4℃ 预冷无水乙醇 3.5ml 加入离心管 (乙醇的终浓度为 70%) 以固定细胞, 将离心管置于冰箱内 4℃ 保存至少 18h, 再用 PBS 液以 1500r/min 离心洗涤后用 PBS 液定容至 1ml, 将 0.1% Triton-X100 50 μ l, 及 RNA 酶 (1g/L) 50 μ l 加入离心管中, 置于水浴箱 37℃ 孵育 30min, 向细胞悬液加入 1g/L 的 PI 染液 50 μ l 置于水浴箱 37℃ 孵育 30min 后以 400 目网孔过滤, 采用 Annexin V-FITC 和碘化丙啶 (PI) 双染色法上流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.5 石蜡包埋、切片和免疫组化

各组动物各取 3 只, 灌注后取左侧脑组织石蜡包埋切片。以能切取的海马最大面为中心, 行 5 μ m 连续冠状面切片, 每只鼠取 4 张切片。取间隔的 2 张做 HE 染色观察大体变化; 右侧脑组织行 30 μ m 连续冠状面切片, 取 2 张片做 CHAT 免疫组化 (北京

中杉金桥生物技术有限公司提供)。

1.6 统计学分析

数据统计分析采用 SPSS11.5 统计软件进行, 其结果用平均值 \pm 标准差。多组数据间差异用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 作为检验水准。

2 结果

2.1 三组大鼠热痛敏实验的 PWL 比较

热痛敏实验采用 PWL 测定, 将热板测痛仪调定为 55℃, 待温度恒定后, 将大鼠投入观察箱, 用秒表计时。从后肢接触热板开始, 到大鼠舔后足结束, 记为 PWL。为防止烫伤, 每次不超过 40s, 凡超过 40s 的, 按 40s 计。每只测 5 次, 每两次至少间隔 30s 进行。5 次计时去掉一个最高值和一个最低值, 剩下的 3 次计时取平均值。每次热板实验均在上午 9 点—12 点进行。PWL 的时间缩短说明热痛阈值降低, 大鼠坐骨神经结扎后, 可以造成大鼠的神经病理性疼痛, 表现为大鼠的损伤侧肢体痛阈下降, 疼痛敏感性增高, 如果出现明显的痛阈降低, 说明造模成功。

C 组坐骨神经结扎后第 1 天开始, PWL 明显下降, 第 7、14 天继续呈下降趋势, 与 A 组比较, 差异有显著性 ($P < 0.01$)。B 组术后第 1 天, PWL 下降, 与同组术前比较 ($P < 0.01$), 见表 1。

2.2 三组大鼠海马 CA3 区锥体细胞明显损伤

40 倍镜下 C 组海马 CA3 区锥体细胞细胞数在术后第 7、14 天明显少于 A 组和 B 组, 有显著性意义 ($P < 0.01$), B 组在术后第 1、7 天细胞数明显少于 A 组, 有显著性意义 ($P < 0.01$), 见表 2。A 组海马 CA3 区锥体细胞排列密集, C 组和 B 组 CA3 区锥体细胞排列稀疏, 细胞间隙增宽, 其中 C 组表现最为明显, 见图 1 (见彩色插页)。

2.3 三组大鼠海马细胞流式细胞仪检测细胞凋亡率比较

C 组细胞凋亡率高, 以术后第 14 天凋亡率最

表 1 三组大鼠热痛敏实验各时间点的 PWL 比较 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	PWL	组别	PWL	组别	PWL
A1 组	21.98 \pm 9.4	B1 组	21.62 \pm 1.8	C1 组	21.00 \pm 0.8
A2 组	21.30 \pm 1.2	B2 组	16.36 \pm 0.8 ^{①②}	C2 组	15.20 \pm 1.6 ^①
A3 组	21.60 \pm 2.2	B3 组	18.08 \pm 1.1 ^{①②}	C3 组	11.60 \pm 0.9 ^①
A4 组	20.62 \pm 1.3	B4 组	20.24 \pm 1.3	C4 组	9.30 \pm 0.4 ^{①③}

①与 A1 组相比 $P < 0.01$; ②与 B1 组相比 $P < 0.01$; ③与 C3 组相比 $P < 0.01$

表 2 三组大鼠海马 CA3 区锥体细胞 HE

染色 40 倍镜下计数 ($\bar{x} \pm s, n=5$)					
组别	细胞数	组别	细胞数	组别	细胞数
A1 组	59.20 \pm 1.9	B1 组	59.60 \pm 1.1 ^①	C1 组	59.00 \pm 1.6
A2 组	59.40 \pm 3.8	B2 组	50.40 \pm 1.1 ^①	C2 组	44.80 \pm 1.9 ^①
A3 组	61.60 \pm 2.1	B3 组	45.60 \pm 1.5 ^①	C3 组	40.00 \pm 1.6 ^{①②}
A4 组	60.60 \pm 2.1	B4 组	42.60 \pm 1.7	C4 组	33.60 \pm 2.1 ^{①③}

①与 A1 组相比 $P < 0.01$; ②与 C2 组相比 $P < 0.01$; ③与 C3 组相比 $P < 0.01$

高。流式细胞仪检测在 C2、C3、C4 组 DNA 直方图上出现二倍体峰减少, G1 峰左侧出现亚二倍体细胞峰群即 AP 峰。C4 组细胞凋亡率达到 26.20%±0.79%, 与 A、B 各组相比有显著差异($P<0.01$), 见表 3。

2.4 三组大鼠海马细胞 CHAT 免疫组化染色阳性细胞数比较

B 组、C 组胆碱乙酰转移酶(CHAT)阳性细胞数均有减少, 和 A 组相比差异有显著性($P<0.01$), C4 组减少最多, 和 C3 组相比差异有显著性($P<0.01$), 见表 4、图 2(见彩色插页)。

表 3 三组大鼠海马细胞流式细胞仪检测细胞凋亡率 ($\bar{x}\pm s, \%, n=5$)

组别	凋亡率	组别	凋亡率	组别	凋亡率
A1 组	3.60±0.89	B1 组	3.34±0.72	C1 组	3.48±1.00
A2 组	3.80±1.04	B2 组	13.18±1.74 ^①	C2 组	14.12±0.36 ^①
A3 组	4.18±1.13	B3 组	9.46±1.30 ^①	C3 组	17.60±1.31 ^{①②}
A4 组	3.72±1.01	B4 组	7.68±0.65 ^①	C4 组	26.20±0.79 ^{①②}

①与 A1 组相比 $P<0.01$; ②与其他各组相比 $P<0.01$

表 4 三组大鼠海马细胞 CHAT 免疫组化染色阳性细胞数 ($\bar{x}\pm s, \text{个}, n=5$)

组别	细胞数	组别	细胞数	组别	细胞数
A1 组	58.40±2.6	B1 组	58.80±2.8	C1 组	59.00±1.6
A2 组	58.80±1.9	B2 组	50.40±1.1 ^①	C2 组	49.40±1.1 ^①
A3 组	58.80±2.9	B3 组	45.60±1.1 ^①	C3 组	40.40±1.1 ^{①②}
A4 组	58.00±2.4	B4 组	40.80±1.6 ^①	C4 组	32.00±2.6 ^{①②③}

①与 A1 组相比 $P<0.01$; ②与 C2 组相比 $P<0.01$; ③与 C3 组相比 $P<0.01$

3 讨论

病理性疼痛包括伤害感受性疼痛和神经病理痛, 两者共同参与了术后疼痛的发生, 伤害感受性疼痛发生早, 从术后几小时就开始, 神经病理性疼痛发生晚, 术后第 7 天才开始作用, 持续时间长。临床研究显示慢性疼痛可以造成患者的明显抑郁, 甚至有可能发展为认知障碍^[6]。Blackburn-Munro^[7]和 Dickinson T^[8]等人发现经过 12—14d 神经病理性疼痛达到高峰。本实验 PWL 测试显示, B 组和 C 组在术后第 1 天均有小的下降, 之后 B 组逐渐回升, 而 C 组术后第 7、14 天的数值继续下降, 并且术后第 14 天数值和第 7 天数值有显著性差异($P<0.01$), 这和文献报道的神经病理性疼痛的发生时间相一致。提示在临床术后止痛治疗中, 要区分患者的具体状况, 对于没有外周神经损伤的普通患者, 术后止痛只要维持到术后第 2—3 天即可, 而有外周神经损伤的患者, 术后止痛要持续较长时间, 对于大神经的损伤, 理论上应该维持到术后 2—3 个月。

本实验之所以只选择雄性大鼠, 是因为之前的研究显示: 雄性大鼠和雌性大鼠在脑结构和对疼痛的敏感性方面不同, 垂体、下丘脑、小脑和纹状体存在着细微的差别, 其中下丘脑和垂体的差别最大, 这

可能造成了两者之间激素水平的不同, 从而影响了疼痛的敏感性^[9]。

CA3 区是海马发挥学习、记忆功能的主要区域, 主要由分子层、锥体细胞层和颗粒细胞层组成。以往的研究显示, 应激反应促进酸性氨基酸释放, 通过间接兴奋齿状回颗粒细胞而损伤 CA3 区神经元, 抑制兴奋性氨基酸的毒性作用可以减少海马细胞的凋亡^[10]。其次, CA3 区神经元缺乏钙结合蛋白 D28k 和小清蛋白, 而齿状回神经元主要是颗粒细胞层具有钙结合蛋白, 这使得 CA3 区神经元在应激时更容易被损伤; 另外慢性疼痛可以引起血液内皮质醇的升高, 后者进入脑内, 可影响神经元的活性^[11], 糖皮质激素在慢性应激中的作用可能是加强酸性氨基酸对 CA3 区锥体细胞的损伤效应。本实验中锥体细胞层的损伤最重, HE 染色显示, C 组 CA3 区的锥体细胞层有明显的细胞缺失, 细胞排列紊乱, 出现核碎裂、核深染等细胞凋亡的表现, 而颗粒细胞层几乎没有变化, 再次验证了此观点。

CHAT 是催化乙酰辅酶 A 和胆碱之间反应从而生成乙酰胆碱的重要酶类, 是决定中枢神经系统乙酰胆碱含量的关键, 应激会导致机体对疼痛的敏感性发生改变^[12], 大鼠出现学习记忆能力的减退, 并且脑内 CHAT 的含量也会降低^[13], 因此可以实时甚至前瞻性地反映脑内乙酰胆碱的含量和活性, 这是本实验选择 CHAT 作为检验指标之一的原由。乙酰胆碱是与学习、记忆有关的重要神经递质, 本实验 CHAT 免疫组化染色显示: 术后第 1、7 天 C 组较 A 组阳性细胞数有一定的下降, 但在第 14 天明显减少, B 组较 A 组在第 1、7 天有轻度下降, 但之后逐渐恢复, 这与术后第 12—14 天达到高峰的神经病理性疼痛有明显相关性。大鼠表现为自主活动减少, 进食减少, 尖叫声增多增强, 坐骨神经结扎侧爪轻微接触地面, 活动时明显跛行, 经常舔咬、摇动患肢, 热痛敏阈值明显下降, 对周围环境的感知力明显下降。与 A 组有明显差别。

综上所述, 疼痛可以导致大鼠海马细胞的凋亡和 CHAT 含量减少, 从而影响认知功能。已有证据显示, 慢性疼痛患者接受吗啡治疗或其他减轻疼痛措施的治疗会明显改善学习记忆或认知能力^[14], 提示临床上要重视术后患者的止痛治疗, 为广大患者提供一个无痛的康复过程是我们努力的方向。

参考文献

- [1] 陈菁, 陈建梅, 楚燕飞, 等. 联合应用 NGF、CNTF 和 GDNF 对大鼠坐骨神经结构和功能恢复的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2006, 21(11): 967—970.

- [2] Duric V, McCarson KE. Neurokinin-1 (NK-1) receptor and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene expression is differentially modulated in the rat spinal dorsal horn and hippocampus during inflammatory pain[J]. *Mol Pain*, 2007, 3:32.
- [3] 李玉娟, 彭书峻, 万朝权, 等. 慢性疼痛对幼鼠学习记忆行为及海马 Bcl-2 mRNA、脑源性生长因子 mRNA 的影响[J]. *中华儿科杂志*, 2005, 43(6):444—448.
- [4] 张军艳, 张博爱, 朱红灿, 等. 学习记忆训练对全脑缺血大鼠认知能力的影响及其胆碱能机制 [J]. *中国康复医学杂志*, 2008, 23(4): 305—308.
- [5] Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man [J]. *Pain*, 1988, 33:87—107.
- [6] Duric V, McCarson KE. Effects of analgesic or antidepressant drugs on pain- or stress-evoked hippocampal and spinal neurokinin-1 receptor and brain-derived neurotrophic factor gene expression in the rat [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 319(3):1235—43.
- [7] Blackburn-Munro G, Fleetwood-Walker SM. The sodium channels auxiliary subunits beta1 and beta2 are differentially expressed in the spinal cord of neuropathic rats [J]. *Neuroscience*, 1999, 90:153—164.
- [8] Dickinson T, Mitchell R, Robberecht P, et al. The role of V1 P/PACAP receptor subtypes in Spinal somatosensory processing in rats with an experimental peripheral mononeuropathy [J]. *Neuropharmacology*, 1999, 38: 167—180.
- [9] Bradshaw HB, Rimmerman N, Krey JF, et al. Sex and hormonal cycle differences in rat brain levels of pain-related cannabinimetic lipid Mediators [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2006, 291(2):349—58.
- [10] 蒋纪英, 霍本良. 高压氧对局灶性脑缺血再灌注大鼠脑梗死灶及 bcl-2 蛋白表达的影响 [J]. *中国康复医学杂志*, 2006, 21(10): 890—892.
- [11] 彭书峻, 万朝权, 李玉娟, 等. 慢性疼痛对新生大鼠学习记忆功能和海马神经细胞粘附分子表达的影响 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2005, 25(2):114—117.
- [12] Becker A, Grecksch G, Schroder H. Pain sensitivity is altered in animals after subchronic ketamine treatment [J]. *Psychopharmacology*, 2006, 189(2):237—47.
- [13] 张军艳, 张博爱, 朱红灿, 等. 学习记忆训练对全脑缺血大鼠认知能力的影响及其胆碱能机制 [J]. *中国康复医学杂志*, 2008, 23(4): 305—308.
- [14] Sator-Katzenschlager SM, Schiesser AW, Kozek-Langenecker SA, et al. Does pain relief improve pain behavior and mood in chronic pain patients [J]? *Anesth Analg*, 2003, 97(3):791—797.

(上接 337 页)

素的缺乏或水平降低所致。但这一现象的根本原因有待进一步研究明确。综上所述, BMSCs 植入损伤脊髓通过其多向分化潜能发挥替代、营养、诱导、桥接等作用, 为 SCI 治疗开辟了一条崭新而充满光明的道路。

参考文献

- [1] Richardson PM, McGinness UM, Aguayo AJ. Axons from CNS neurons regenerate into PNS grafts [J]. *Nature*, 1980, 284: 264—265.
- [2] Sauve Y, Sawai H, Rasminsky M. Functional synaptic connections made by regenerated retinal ganglion cell axons in the superior colliculus of adult hamsters [J]. *J Neurosci*, 1995, 15:665—675.
- [3] Kwon BK, Fisher CG, Dvorak M F, et al. Strategies to promote neural repair and regeneration after spinal cord injury [J]. *Spine*, 2005, 30(17 Suppl):3—13.
- [4] Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo Pelaez F, et al. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro [J]. *Exp Neurol*, 2000, 164: 247—256.
- [5] Diener PS, Bregman BS. Fetal spinal cord transplants support growth of supraspinal and segmental projections after cervical spinal cord hemisection in the neonatal rat [J]. *J Neurosci*, 1998, 18: 779—793.
- [6] Bas so DM, Beattie MS, Brasnanhan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats [J]. *J Neurotrauma*, 1995, 12(1):1—21.
- [7] Rivlin AS, Tator CH. Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in the rat [J]. *J Neurosurg*, 1977, 47(4): 577.
- [8] Zompa EA, Cain LD, Evarhart AW, et al. Transplant therapy: recovery of function after spinal cord injury [J]. *J Neurotrauma*, 1997, 14(8): 479—506.
- [9] Mackey ME, Pas BA, Wu YJ, et al. Cell death suggestive of apoptosis after spinal cord ischemia in rabbits [J]. *Stroke*, 1997, 28:2012—2017.
- [10] Zurita M, Vaquero J. Bone marrow stromal cells can achieve cure of chronic paraplegic rats: Functional and morphological outcome one year after transplantation [J]. *Neurosci Lett*, 2006, 402(1-2): 51—56.
- [11] Shi E, Kazui T, Jiang X, et al. Intrathecal injection of bone marrow stromal cells attenuates neurologic injury after spinal cord ischemia [J]. *Ann Thorac Surg*, 2006, 81(6): 2227—2234.
- [12] Chopp M, Zhang XH, Li Y, et al. Spinal cord injury in rat: treatment with bone marrow stromal cell transplantation [J]. *NeuroReport*, 2000, 11(11):3001—3005.
- [13] Hofstetter CP, Schwarz EJ, Hess D, et al. Marrow stromal cells form guiding strands in the injured spinal cord and promote recovery [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2002, 99: 2199—2204.
- [14] Ankeny DP, McTigue DM, Jakeman LB. Bone marrow transplants provide tissue protection and directional guidance for axons after contusive spinal cord injury in rats [J]. *Experimental Neurology*, 2004, 190:17—31.
- [15] 叶民, 陈生弟, 戚晨, 等. 大鼠骨髓基质细胞分泌胶质细胞源性神经营养因子的研究 [J]. *神经科学通报*, 2005, 21: 23—27.
- [16] 董锋, 林建华, 吴朝阳. 骨髓间质干细胞经静脉注射移植对大鼠脊髓损伤后 BDNF、NGF mRNA 表达的影响 [J]. *中国康复医学杂志*, 2008, 23(5):416—419.