

· 实验研究 ·

骨髓基质细胞脑内移植对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠脑白质的保护作用

谢岷, 杨于嘉, 刘沉涛, 王庆红, 王霞, 余小河

(中南大学湘雅医院儿科, 湖南 长沙 410008)

[摘要] **目的** 探讨骨髓基质细胞(BMSCs)脑内移植对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠脑白质损伤的保护作用。**方法** 34只7日龄新生SD大鼠,随机分为正常对照组($n=10$)、HIBD组($n=12$)和移植组($n=12$),后两组大鼠结扎左颈总动脉后低氧暴露2h制作HIBD模型,移植组大鼠在HIBD后24h在大鼠脑立体定位仪下,将体外培养3~5代的SD大鼠BMSCs用Hoechst 33324标记24h后脑内移植于左侧海马。日龄45d时处死大鼠,用荧光显微镜观察BMSCs在脑内的存活及BMSCs的 O_4 的阳性表达。行髓鞘碱性蛋白(MBP)检测左侧胼胝体和皮质下白质MBP表达,行 O_4 免疫组织化学检测左侧侧脑室周围和皮质下白质 O_4 的表达。**结果** BMSCs移植后37d,移植部位及左侧皮层区(损伤侧)均可见到胞核蓝色的BMSCs,移植细胞表达 O_4 的阳性率为 $(3.70 \pm 1.09)\%$ 。HIBD组左侧(损伤侧)胼胝体和皮质下白质MBP染色变浅,有不同程度的髓鞘脱失改变,左侧侧脑室周围和皮质下白质 O_4 阳性细胞数较对照组明显减少,差异均有显著意义($P<0.01$)。移植组胼胝体和皮质下白质MBP染色较深,部分有髓鞘脱失改变,相同部位 O_4 阳性细胞数较对照组稍减少,比HIBD组明显增加,其差异有显著意义($P<0.01$)。**结论** BMSCs脑内移植对HIBD新生大鼠脑白质损伤具有保护作用。

[中国当代儿科杂志,2008,10(2):183-187]

[关键词] 骨髓基质细胞;细胞移植;缺氧缺血性脑损伤;脑白质;大鼠,新生

[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2008)02-0183-05

Effect of intracerebral transplantation of rat bone marrow stromal cells on brain white matter of neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage

XIE Min, YANG Yu-Jia, LIU Chen-Tao, WANG Qing-Hong, WANG Xia, YU Xiao-He. Department of Pediatrics, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China (Yang Y-J, Email: yyjcjp@163.com)

Abstract: Objective To study the effect of intracerebral transplantation of bone marrow stromal cells (BMSCs) on brain white matter of neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage (HIBD). **Methods** Thirty-four 7-day-old neonatal rats were randomly assigned to three groups: normal control ($n=10$), HIBD ($n=12$) and HIBD + BMSCs transplantation ($n=12$). The HIBD and the HIBD + BMSCs transplantation group rats were subjected to left carotid artery ligation, followed by hypoxia exposure for 2 hrs, in order to induce HIBD. The rats in the HIBD + BMSCs transplantation group received transplantation of BMSCs labeled nucleus with Hoechst 33324 into the left hippocampus 24 hrs after HIBD induction. Myelin basic protein (MBP) expression in the left corpus callosum and the subcortical white matter and the number of oligodendrocyte precursors positively stained O_4 in the left periventricular area and the subcortical white matter were detected by immunohistochemistry at ages of 45 days. **Results** The labeled BMSCs survived and were found mainly in the left hemisphere 37 days after transplantation. The positive rate of O_4 expressed by the transplanted BMSCs was $3.70 \pm 1.09\%$. More hypomyelination in the left corpus callosum and the subcortical white matter, and less number of O_4 positive oligodendrocytes in the left periventricular area and the subcortical white matter were found in the HIBD group compared with the normal control group ($P<0.01$). The HIBD rats receiving BMSCs transplantation had increased O_4 positive oligodendrocytes in the left periventricular area and the subcortical white matter and improved MBP immunoreactivity in the left corpus callosum and the subcortical white matter compared with the HIBD group ($P<0.01$). **Conclusions** Intracerebral transplantation of BMSCs can improve brain white matter damage in neonatal rats with HIBD.

[Chin J Contemp Pediatr, 2008, 10 (2):183-187]

Key words: Bone marrow stromal cell; Cell transplantation; Hypoxic-ischemic brain damage; Brain white matter; Neonatal rats

[收稿日期]2007-08-08;[修回日期]2007-09-09
[基金项目]国家自然科学基金资助项目,批准号:30672240。
[作者简介]谢岷,女,博士研究生,主治医师。主攻方向:新生儿脑损伤。
[通讯作者]杨于嘉,教授,博士生导师,中南大学湘雅医院儿科,邮编:410008。

脑缺氧缺血不仅引起神经元的损伤,同时也损伤脑白质。既往评价中枢神经系统治疗措施的有效与否侧重于其是否对神经元产生保护作用,而对脑白质损伤未予以足够的重视。近年来人们逐渐意识到轴突和髓鞘对于功能的重建同样起着重要的作用,从而对脑白质的损伤开始予以重视。随着干细胞对神经系统保护作用研究的深入,在对脊髓损伤的研究中发现 BMSCs 和神经干细胞移植可促进轴索的生长及功能恢复^[1,2]。且有研究发现外源性干细胞移植后能直接向少突胶质细胞分化^[3,4]。但目前对于干细胞移植与缺氧缺血性脑白质损伤的相关研究较少,我们以前的研究已经发现新生大鼠 HIBD 后进行 BMSCs 脑内移植能明显改善远期神经功能测试结果,减少神经细胞的凋亡^[5]。本研究在新生大鼠 HIBD 后 24 h 用 BMSCs 脑内移植,通过观察其在体内向少突胶质细胞前体细胞的分化以及移植后对其成年期髓鞘脱失及少突胶质细胞前体细胞数目的影响,探讨 BMSCs 脑内移植对缺氧缺血性新生大鼠脑白质损伤的保护作用。

1 材料和方法

1.1 材料

7 日龄(34 只)及 4 周龄 Sprague-Dawley 大鼠(2 只,清洁级),由中南大学实验动物中心提供。DMEM 低糖培养基(Gibco BRL 公司),小牛血清(中南大学细胞中心),Hochest33324(Sigma 公司,美国),小鼠抗 O₄(Chemicon 公司),兔抗鼠髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP),山羊抗小鼠 IgG-Cy3(Sigma)。

1.2 方法

1.2.1 BMSCs 培养及移植前准备 4 周龄 SD 大鼠,10% 水合氯醛 0.2 ~ 0.3 mL/100 g 腹腔注射麻醉后,无菌条件下取出四肢骨,剪开干骺端,用 D-Hanks 液仔细冲洗骨髓腔,将冲洗下的组织反复通过 1 mL 注射器制成细胞悬液,用贴壁法培养。细胞移植前,用 1 μg/mL Hochest 33324 标记 24 h。收集传 3 ~ 5 代的 BMSCs 细胞,4% 台盼兰染色,调整活细胞数密度 5 × 10⁷/mL,置冰上待移植用。

1.2.2 实验动物及分组 34 只健康新生 7 日龄 SD 大鼠,体重为 12 ~ 16 g,随机分为对照组(*n* = 10),缺氧缺血组(HIBD 组,*n* = 12),移植组(*n* = 12),21 日龄时断奶,按性别分笼喂养。

1.2.3 HIBD 模型制作 参照 Rice-Vannucci 方法^[6]制作。实验过程中死亡 4 只(HIBD 和移植组各死亡 2 只)。

1.2.4 BMSCs 脑内移植 移植组 SD 大鼠在 HIBD 后 24 h 进行移植。冰冻麻醉后,将头部用脑立体定位仪固定,75% 乙醇消毒皮肤,沿颅骨中线切开皮肤,消毒干棉球将骨膜轻轻擦去,以左侧海马部位为移植点(前囟后 2 mm,左 2 mm,深 1.5 mm),注入 2 μL BMSCs 细胞悬液(10⁵ 个细胞),时间 > 5 min,留针 5 min,逐步拔针,75% 的乙醇消毒,复温,苏醒后回笼饲养。

1.2.5 标本制备 日龄 45 d 时(每组 10 只),4% 多聚甲醛/0.1 M PBS (pH 7.2)经心脏灌注后取脑组织,制作冰冻切片,以前囟处及前囟处后 2 mm 处开始行 16 μm 冠状位连续切片,-20℃ 冰箱保存。荧光显微镜下观察 Hochest33324 阳性细胞。

1.2.6 BMSCs 移植后 O₄ 阳性表达 移植组选择有 Hochest 33324 阳性细胞的新鲜冰冻切片,室温干后按组织免疫学方法分别加入一抗(小鼠:抗 O₄)、二抗(山羊抗小鼠 IgG-Cy3),阴性对照用 PBS 代替一抗。荧光显微镜下计数左脑 Hochest33324 标记细胞 Cy3 的阳性率(每张切片计数 5 个非重叠视野,计算阳性细胞所占百分比)。上述步骤均避免光操作。

1.2.7 MBP 免疫组化 取从前囟处开始切片的冰冻切片,按组织免疫学方法,分别加入一抗(MBP 工作液兔抗鼠)、生物素标记二抗工作液,DAB 显色。

MBP 免疫组化评分:髓鞘呈棕黄色或棕褐色为 MBP 表达阳性。阳性结果计算方法:染色强度:0 分无色,1 分浅棕色,2 分深棕色,3 分浅棕褐色,4 分深棕褐色。每个视野 MBP 阳性髓鞘占整个视野髓鞘的百分比:1 分为 < 10%,2 分为 11% ~ 50%,3 分为 51% ~ 75%,4 分为 > 76%。染色强度积分与百分比积分两者乘积即为 MBP 阳性数^[7]。

观察指标:各组大鼠左侧(损伤侧)脑组织中胼胝体、皮质下白质部位 MBP 的表达。

1.2.8 O₄ 免疫组化 取从前囟处开始切片的冰冻切片,3% H₂O₂ 室温孵育 30 min,蒸馏水洗 3 次 × 5 min,正常山羊血清室温封闭 1 h,加入一抗,鼠抗 O₄(1:100),室温振摇 1 h 后转入 4℃ 冰箱过夜,余步骤同 MBP 免疫组化(二抗为羊抗鼠)。每张切片光镜下用 CMIASWIN 医学图像分析系统计数左侧(损伤侧)侧脑室周围及皮质下白质部位非重叠视野 500 个细胞中 O₄ 阳性细胞数。

1.3 统计学分析

统计学处理采用 SPSS 10.0 软件进行。实验数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间比较用单因素方差分析。*P* < 0.05 认为有统计学意义。

2 结果

2.1 BMSCs 在脑内增殖情况及 O₄ 阳性表达结果

BMSCs 移植前,胞核均被 Hoechst 33324 标记呈蓝色。移植后 37 d,移植部位及左侧皮层区(损伤侧)均可见到胞核蓝色的 BMSCs,部分 Hoechst 33324 标记的 BMSCs 表达 O₄,O₄ 阳性率为(3.70 ± 1.09)%, (图 1)。

2.2 各组大鼠脑组织 MBP 免疫组化检测结果

对照组左侧胼胝体呈长丝状着色,皮质下白质呈网格样着色,均为深棕黄色,无髓鞘脱失(无色)改变,HIBD 组左侧(损伤侧)胼胝体和皮质下白质着色程度明显变浅,呈浅棕黄色,有不同程度髓鞘脱失改变,其染色强度与积分乘积与对照组比较明显减少,差异有显著意义($P < 0.01$)。移植组左侧胼胝体和皮质下白质着色较 HIBD 组变深,部分有髓鞘脱失改变,其染色强度与积分乘积比对照组减少($P < 0.01$),但比 HIBD 组明显增加,其差异有显著意义($P < 0.01$;表 1,图 2,3)。

表 1 各组大鼠左侧(损伤侧)胼胝体和皮质 MBP 阳性数比较			
(x ± s)			
组别	例数	左胼胝体 MBP 阳性数	左皮质下白质 MBP 阳性数
对照组	10	8.40 ± 1.26	8.80 ± 1.69
HIBD 组	10	2.50 ± 1.08 ^a	2.10 ± 1.19 ^a
移植组	10	6.60 ± 1.34 ^{a,b}	7.40 ± 0.97 ^{a,b}

a:与对照组比较, $P < 0.01$; b:与 HIBD 组比较, $P < 0.01$

表 2 各组鼠左(损伤侧)侧脑室周围和皮质下白质 O ₄ 阳性细胞数比较			
(x ± s)			
组别	例数	左侧脑室周围 O ₄ 阳性细胞数	左皮质下白质 O ₄ 阳性细胞数
对照组	10	114.50 ± 28.91	90.10 ± 12.92
HIBD 组	10	50.10 ± 13.62 ^a	41.10 ± 10.56 ^a
移植组	10	93.8 ± 21.42 ^{a,b}	72.20 ± 10.36 ^{a,b}

a:与对照组比较, $P < 0.01$; b:与 HIBD 组比较, $P < 0.01$

2.3 各组大鼠脑组织 O₄ 免疫组化检测结果

对照组左侧侧脑室周围和皮质下白质有较多 O₄ 阳性细胞分布,HIBD 组左侧(损伤侧)相同部位 O₄ 阳性细胞数较对照组明显减少,差异有显著意义($P < 0.01$)。移植组相同部位 O₄ 阳性细胞数较对照组减少,但比 HIBD 组明显增多,差异均有显著意义($P < 0.01$;表 2,图 4,5)。

3 讨论

既往脑白质损伤研究被长期忽略的原因之一是

脑白质缺血性损伤的组织学评价比较困难,缺乏定量的病理组织学评价方法。近年来在脑白质损伤的研究中,主要通过检测少突胶质细胞数量的变化、MBP 基因和蛋白表达的变化或 MBP 免疫着色程度来检测少突胶质细胞的完整性^[8]。少突胶质细胞是脑白质的重要成分,是中枢神经系统的髓鞘形成细胞,包绕神经纤维的轴突形成髓鞘,对轴突正常快速电传导等功能有重要作用。按其抗原表达、形态和功能发育可分为:早期少突胶质祖细胞(表达 NG²⁺ 糖蛋白,不表达 O₄ 抗体)、晚期少突胶质祖细胞(表达 O₄ 抗体,不表达 O₁ 抗体)、未成熟少突胶质细胞(表达 O₄ 及 O₁ 抗体)、成熟少突胶质细胞(表达 MBP)^[9,10]。研究证实少突胶质细胞对缺氧缺血的易损性与细胞成熟程度有关,晚期少突胶质祖细胞和未成熟少突胶质细胞对缺氧缺血敏感,而成熟少突胶质细胞对缺氧缺血较耐受^[10]。成熟的少突胶质细胞主要功能是合成髓鞘蛋白 MBP,具有维持中枢神经系统髓鞘结构和功能稳定的作用。研究发现新生鼠在 HIBD 后少突胶质细胞数量明显减少,少突胶质细胞的前体细胞的凋亡明显增多,髓鞘形成不足,MBP 基因和蛋白表达明显减少^[11,12],这种损伤在缺氧缺血后 3 h 即可出现,并逐渐进展至缺氧缺血后 18 h^[11,13]。

脑白质损伤后自身的修复机制是有限的。Cai 等^[14]在研究中发现缺氧缺血导致新生大鼠脑白质损伤(日龄 4 天 SD 大鼠结扎双侧颈总动脉后,暴露 8% 的低氧环境中 15 min)后,日龄 9 d 及 21 d 行 MBP 免疫组化检测,结果显示内囊、皮质下白质和扣带回区域 MBP 颜色明显变浅,并有明显的髓鞘脱失。而且有研究发现^[8]即使是短暂的髓鞘脱失,也可通过扰乱轴突和神经元的功能而严重影响中枢神经系统的发育。我们的研究结果也显示新生大鼠 HIBD 后可导致成年期的髓鞘脱失,MBP 免疫染色变淡,O₄ 阳性的少突胶质细胞数目较对照组明显减少。因此在缺氧缺血性脑损伤时,脑白质的损伤不容忽视。

HIBD 导致少突胶质细胞损伤的因素是非常复杂的,包括细胞兴奋毒性、氧自由基、促凋亡基因的活化以及细胞因子介导的免疫损伤等^[15],单用自由基清除剂、促凋亡基因抑制剂以及钙离子拮抗剂等治疗难以起到全方位的保护作用。尽管研究证实神经营养因子可通过抗凋亡、抗兴奋性氨基酸和自由基损伤、稳定细胞内离子浓度,尤其是钙离子浓度以及通过调节基因表达和信号传递对脑损伤起到保护作用^[16,17],但由于其种类繁多,且难以透过血脑屏

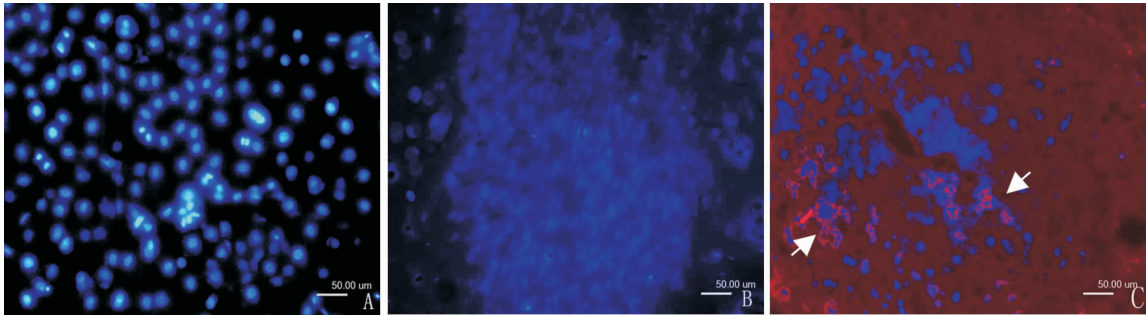


图 1 BMSCs 在脑内增殖及向少突胶质细胞分化情况 A:BMSCs 移植前被 Hoechst 标记状态,所有细胞核均呈蓝色; B:BMSCs 移植后 37 天在移植部位存活增殖,可见到大量胞核蓝色的 BMSCs; C:O₄ 免疫荧光结果显示部分移植的 BMSCs(图中胞核蓝色细胞)胞浆表达少突胶质细胞标记 O₄(图中红色荧光)。

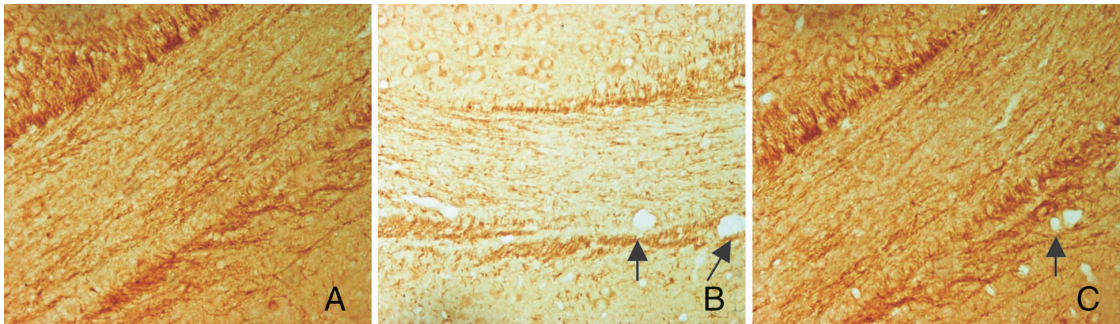


图 2 各组大鼠左脑(损伤侧)胼胝体区 MBP 免疫组化(400 ×) A:对照组左侧胼胝体区 MBP 呈丝状着色,深棕黄色,无脱失; B:HIBD 组左侧胼胝体区 MBP 着色淡,浅棕黄色,有脱失; C:移植组左侧胼胝体区 MBP 着色减少不明显,深棕黄色,脱失不明显。

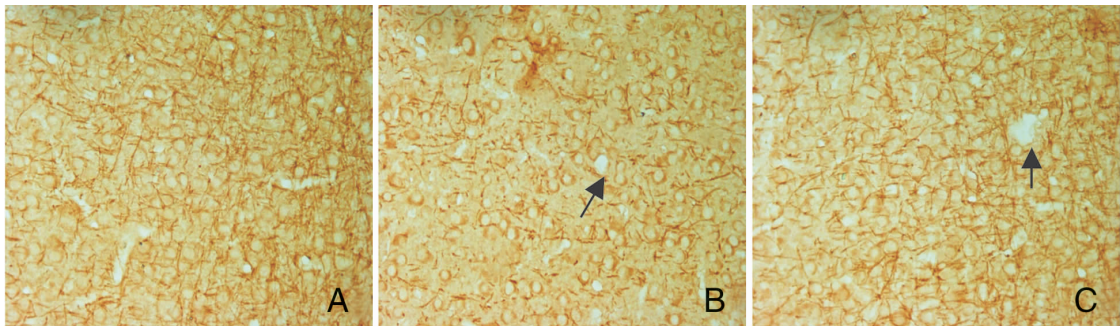


图 3 各组左侧(损伤侧)皮质下白质部位 MBP 免疫组化(400 ×) A:对照组左侧皮质下白质部位 MBP 呈网状着色,深棕黄色,无脱失; B:HIBD 组左侧皮质下白质部位 MBP 着色淡,浅棕黄色,有脱失; C:移植组左侧皮质下白质部位 MBP 着色减少不明显,深棕黄色,脱失不明显。

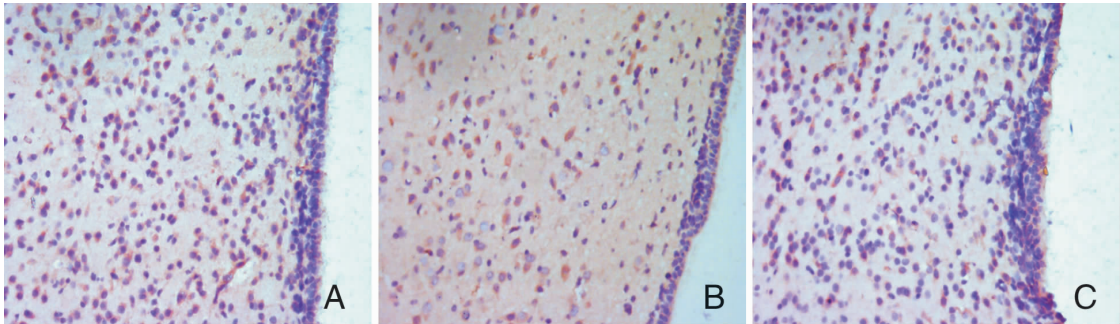


图 4 各组大鼠左侧(损伤侧)侧脑室周围 O₄ 免疫组化(400 ×) A:对照组左侧侧脑室周围有较多 O₄ 阳性细胞(胞浆呈棕黄色)分布; B:HIBD 组左侧侧脑室周围 O₄ 阳性细胞数明显减少; C:移植组左侧侧脑室周围 O₄ 阳性细胞数较 HIBD 组多。

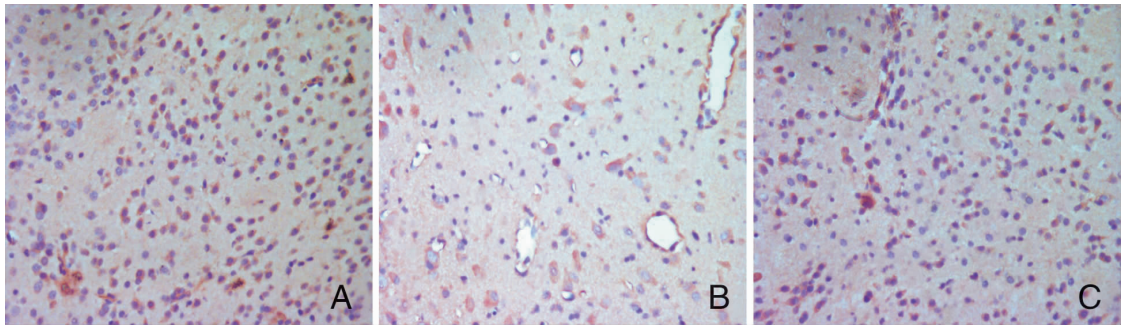


图5 各组大鼠左侧(损伤侧)皮质下白质O₄免疫组化(400×) A:对照组左侧皮质下白质部位有较多O₄阳性细胞(胞浆呈棕黄色)分布; B:HIBD组左侧皮质下白质部位O₄阳性细胞数明显减少; C:移植组左侧皮质下白质部位O₄阳性细胞数较HIBD组多。

障,从一定程度上限制了其使用。BMSCs 由于其自身的优势在移植领域越来越受到重视。众多的结果证实 BMSCs 能合成多种神经生长因子^[18,19],并认为这是 BMSCs 治疗缺氧缺血性脑损伤的一个重要机制。我们的研究结果显示新生大鼠 HIBD 后 24 h 接受同种异体 BMSCs 海马移植,其成年期的髓鞘脱失程度较 HIBD 组大鼠明显减轻,O₄ 阳性的少突胶质细胞数目较 HIBD 组大鼠明显增多,提示 BMSCs 脑内移植能减轻新生大鼠缺氧缺血性脑白质损伤。BMSCs 脑内移植后 37 d,仍可在宿主脑内存活,并从注射部位向周围迁移,且主要分布于损伤侧,部分细胞表达少突胶质细胞前体细胞标记(O₄)。因此,BMSCs 对脑白质损伤的保护作用可能与其移植后直接向少突胶质细胞分化以及分泌多种细胞因子促进神经再生,促进少突胶质细胞的成熟及髓鞘化,减少少突胶质细胞的凋亡有关^[20,21]。

[参 考 文 献]

[1] Cizkova D, Rosocha J, Vanicky I, Jergova S, Cizek M. Transplants of human mesenchymal stem cells improve functional recovery after spinal cord injury in the rat[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2006, 26(7-8):1165-1178.

[2] Karimi-Abdolrezaee S, Eftekharpour E, Wang J, Morshead CM, Fehlings MG. Delayed transplantation of adult neural precursor cells promotes remyelination and functional neurological recovery after spinal cord injury[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(13):3377-3389.

[3] Zhao LR, Duan WM, Reyes M, Keene CD, Verfaillie CM, Low WC. Human bone marrow stem cells exhibit neural phenotypes and ameliorate neurological deficits after grafting into the ischemic brain of rats[J]. *Exp Neurol*, 2002, 174(1):11-20.

[4] Li Y, Chen J, Zhang CL, Wang L, Lu D, Katakowski M, et al. Gliosis and brain remodeling after treatment of stroke in rats with marrow stromal cells[J]. *Glia*, 2005, 49(3):407-417.

[5] 钟乐,杨于嘉,贾延劼,余小河,王霞,宋健辉. 人骨髓基质细胞脑移植改善大鼠缺氧缺血性脑损伤[J]. *中国行为医学科学*, 2006, 15(4):299-301.

[6] Rice JE, Vannucci RC, Brierley JB. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat[J]. *Ann Neurol*, 1981, 9(2):131-141.

[7] 满玉红,于挺敏,李自如,姜虹. 甲基维生素 B12 对反复前脑缺

血在灌注后大鼠不同脑区髓鞘碱性蛋白表达的影响[J]. *中国临床康复*, 2005, 9(5):80-81.

[8] Liu Y, Silverstein FS, Skoff R, Barks JD. Hypoxic-ischemic oligodendroglial injury in neonatal rat brain[J]. *Pediatr Res*, 2002, 51(1):25-33.

[9] Pfeiffer SE, Warrington AE, Bansal R. The oligodendrocyte and its many cellular processes[J]. *Trends Cell Biol*, 1993, 3(6):191-197.

[10] Back SA, Han BH, Luo NL, Chretien CA, Xanthoudakis S, Tam J, Arvin KL, Holtzman DM. Selective vulnerability of late oligodendrocyte progenitors to hypoxia-ischemia[J]. *J Neurosci*, 2002, 22(2):455-463.

[11] Skoff RP, Bessert DA, Barks JD, Song D, Cserghet M, Silverstein FS. Hypoxic-ischemic injury results in acute disruption of myelin gene expression and death of oligodendroglial precursors in neonatal mice[J]. *Int J Dev Neurosci*, 2001, 19(2):197-208.

[12] 贺影忠,陈超,杨毅,陈莲,朱列伟. 未成熟鼠慢性缺氧缺血脑损伤胶质细胞及髓鞘相关蛋白变化[J]. *复旦学报(医学版)*, 2005, 32(5):536-539.

[13] Follett PL, Rosenberg PA, Volpe JJ, Jensen FE. NBQX attenuates excitotoxic injury in developing white matter[J]. *J Neurosci*, 2000, 20(24):9235-9241.

[14] Cai Z, Lin S, Fan LW, Pang Y, Rhodes PG. Minocycline alleviates hypoxic-ischemic injury to developing oligodendrocytes in the neonatal rat brain[J]. *Neuroscience*, 2006, 137(2):425-435.

[15] 赵聪敏,王丽雅. 缺氧缺血致脑白质少突胶质细胞损伤的机制[J]. *中国临床康复*, 2004, 8(10):1931-1932.

[16] Jin G, Omori N, Li F, Nagano I, Manabe Y, Shoji M, et al. Protection against ischemic brain damage by GDNF affecting cell survival and death signals[J]. *Neurol Res*, 2003, 25(3):249-253.

[17] Kim DH, Zhao X, Tu CH, Casaccia-Bonnel P, Chao MV. Prevention of apoptotic but not necrotic cell death following neuronal injury by neurotrophins signaling through the tyrosine kinase receptor[J]. *J Neurosurg*, 2004, 100(1):79-87.

[18] Mahmood A, Lu D, Chopp M. Intravenous administration of marrow stromal cells (MSCs) increases the expression of growth factors in rat brain after traumatic brain injury[J]. *J Neurotrauma*, 2004, 21(1):33-39.

[19] Chen Q, Long Y, Yuan X, Zou L. Protective effects of bone marrow stromal cell transplantation in injured rodent brain: synthesis of neurotrophic factors[J]. *J Neurosci Res*, 2005, 80(5):611-619.

[20] Ransohoff RM, Howe CL, Rodriguez M. Growth factor treatment of demyelinating disease: at last, a leap into the light[J]. *Trends Immunol*, 2002, 23(11):512-516.

[21] Butzkueven H, Emery B, Cipriani T, Marriott MP, Kilpatrick TJ. Endogenous leukemia inhibitory factor production limits autoimmune demyelination and oligodendrocyte loss[J]. *Glia*, 2006, 53(7):696-703.

(本文编辑:吉耕中)