

· 实验研究 ·

高压氧促 HIBD 新生大鼠内源性神经干细胞增殖过程中 Wnt-3 蛋白的变化

王晓莉, 杨于嘉, 王庆红, 谢岷, 余小河, 刘沉涛, 王霞

(中南大学湘雅医院儿科, 湖南 长沙 410008)

[摘要] 目的 近年来的研究已经证实高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)能够促进缺氧缺血性脑损伤(Hypoxic ischemic brain damage, HIBD)新生大鼠内源性神经干细胞(Neural stem cells, NSCs)的增殖,并且发现Wnt信号途径参与神经干细胞的增殖,故本课题将探讨HBO对HIBD新生大鼠脑内源性NSCs增殖分化过程中Wnt-3蛋白的变化影响及其它们之间的相关性。**方法** 7日龄Sprague-Dawley新生大鼠随机分为正常对照组(CON),缺氧缺血性脑损伤组(HIBD)及高压氧组(HBO)。采用经典的Rice法制成HIBD模型,HBO组在HIBD后3h内进行HBO治疗(压力为2个绝对大气压,稳压1h,每日1次,连续7d)。采用BrdU/nestin, Wnt-3/nestin免疫荧光双标法,检测HIBD后6h,24h,3d,7d,14d,缺血侧侧脑室室管膜下区(subventricular zone, SVZ)增殖的NSCs及Wnt-3蛋白的动态变化,激光共聚焦显微镜(LSM 510, Zeiss)分析细胞内nestin蛋白与Wnt-3蛋白的荧光强度,统计学分析二者相关性。Western blotting法检测缺血侧大脑半球nestin、Wnt-3总蛋白的动态变化。**结果** SVZ区BrdU⁺ nestin⁺细胞于HBO治疗后3h开始增加,7d达最高水平,显著高于CON组与HIBD组($P < 0.01$),14d时BrdU⁺ nestin⁺细胞数开始下降,但仍多于CON和HIBD两组($P < 0.05$);NSCs细胞膜表面Wnt-3蛋白于HBO治疗后3h开始增加,3d时达最高水平,并维持较高水平至14d时开始下降;直线回归分析示细胞内Wnt-3蛋白与nestin蛋白呈直线相关($r = 0.893$, $P < 0.05$);Western blotting分析示缺血侧大脑半球Wnt-3蛋白于HBO后3d,7d一直维持较高水平,显著高于其他各时间点($P < 0.05$),至14d时表达开始下降;nestin总蛋白水平于HBO治疗后21h开始增加($P < 0.05$),7d达最高水平,后下降。**结论** 高压氧可以促进HIBD新生大鼠内源性NSCs的增殖,其机制与Wnt信号活化有关。

[中国当代儿科杂志,2007,9(3):241-246]

[关键词] 高压氧;缺氧缺血性脑损伤;神经干细胞;Wnt-3;新生大鼠

[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2007)03-0241-06

Changes of Wnt-3 protein during the proliferation of endogenous neural stem cells in neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage after hyperbaric oxygen therapy

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

Abstract: Objective Previous studies suggest that hyperbaric oxygen (HBO) treatment promotes the proliferation of neurocytes in neonatal rats following hypoxic-ischemic brain damage (HIBD). The Wnt signaling pathway is associated with neurogenesis. This study examined whether HBO promoted neural stem cells (NSCs) proliferation after HIBD, and whether that the proliferation correlated with Wnt-3 protein expression. **Methods** Seven-day-old Sprague-Dawley rats were randomly divided into three groups: normal control, hypoxia-ischemia (HI), and HI-HBO. HI was induced by the ligation of left common carotid artery, followed by a 2-hr exposure to 8% O₂ in the latter two groups. HBO was administered 3 hrs after HI in the HI-HBO group for continuous 7 days (2 atmospheres absolute, once daily). The proliferating NSCs in the subventricular zone (SVZ) was examined by BrdU/nestin immunofluorescence and the expression of Wnt-3 protein in NSCs was examined by nestin/Wnt-3 immunofluorescence at 6 and 24 hrs and at 3, 7 and 14 days of HI. The cellular expressions of nestin and Wnt-3 protein were analyzed by laser scanning confocal microscopy. The linear regression analysis was used to evaluate the correlation between cellular Wnt-3 and nestin protein. The expressions of nestin and Wnt-3 protein in the ischemic cerebral hemisphere were analyzed with Western blotting. **Results** The number of BrdU/nestin positive cells in the SVZ increased 3 hrs after HBO therapy, peaked at 7 days and remained at a higher level until 14 days after HBO

[收稿日期]2007-03-01;[修回日期]2007-04-28

[作者简介]王晓莉,女,博士,主攻方向:新生儿脑损伤。

[通讯作者]杨于嘉,教授,中南大学湘雅医院儿科,邮编:410008

therapy in the HI-HBO group compared with the normal control and the HIBD groups. The level of Wnt-3 protein in NSCs increased significantly 3 hrs after HBO therapy, peaked at 3 days and remained at high levels until 14 days after HBO therapy in the HI-HBO group compared with the normal control and the HIBD groups. The level of cellular nestin protein was closely correlated with the level of cellular Wnt-3 protein ($r = 0.893$, $P < 0.05$). The Western blotting analysis demonstrated increased Wnt-3 and nestin protein expressions in the ischemic cerebral hemispheres. **Conclusions** HBO treatment promotes the proliferation of NSCs in HIBD neonatal rats, which is correlated with the activation of Wnt signaling.

[Chin J Contemp Pediatr, 2007, 9 (3):241-246]

Key words: Hyperbaric oxygen; Hypoxic-ischemic brain damage; Neural stem cell; Wnt-3; Neonatal rats

新生儿缺氧缺血性脑病(hypoxic-ischemic encephalopathy, HIE)是指围生期窒息缺氧导致脑的缺氧缺血性损害,临床上出现一系列中枢神经异常的表现,是围生期足月儿脑损伤的最常见原因^[1],常可引起脑瘫、癫痫、智力低下等严重后遗症,但目前对HIE的治疗尚缺乏有效措施。因此,寻找一种治疗HIE行之有效的方法十分有意义。

高压氧(HBO)用于治疗新生儿疾病已有多年的历史,国内外多数动物实验表明HBO对HIE有效,可减轻神经元损伤,促进远期修复^[2-4];国内大量临床报道也表明HBO可以降低HIE的伤残率和病死率^[5,6]。近来我们研究发现新生大鼠HIBD后3h内给予HBO治疗,大脑海马齿状回(Dendrate gyrus, DG区)、室管膜下(subventricular zone, SVZ)区细胞增殖显著^[7],由于内源性神经干细胞(NSCs)脑内终生存在且可激活^[8-10],故推测HBO治疗可以促进NSCs的增殖。如果该假说成立,HBO促进NSCs增殖的机制是什么?Wnt信号途径与NSCs的增殖及神经发生密切相关^[11,12],有文献报道Wnt信号途径与脑损伤后的修复有关,那么HBO治疗促进NSCs的增殖是否与Wnt信号途径有关呢?Wnt-3蛋白为Wnt信号途径的起始蛋白,是该信号途径的重要蛋白,Wnt-3蛋白表达增加可激活Wnt信号途径^[13,14],故本课题探讨HBO治疗是否可以促进内源性NSCs的增殖,以及Wnt-3蛋白与NSCs增殖的相关性,为HBO治疗HIBD的临床应用提供有效的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

健康7日龄Sprague-Dawley新生大鼠共150只(中南大学湘雅医学院实验动物中心提供),雌雄不限,体重12.2~15.8g。采用完全随机设计将大鼠分为3组:①正常对照组(CON);②缺氧缺血(HIBD)组和③HBO治疗组。其中各组又根据HIBD后处死动物的时间(HIBD后6h,24h,3d,7

d,14d)随机分为5个亚组, $n = 10$ 。正常对照组不做任何处理。采用Rice法制成HIBD模型^[15]:乙醚吸入麻醉,分离左侧颈总动脉,双线结扎,中间剪断,置于8%(7%~9%)低氧舱内缺氧2h,各组大鼠分别在处死前2d,开始腹腔注射BrdU(50mg/kg, Sigma公司),每8小时一次,连续注射5次,在最后一次注射后4h处死动物。HBO治疗组在HIBD后3h开始HBO治疗压力为2.0个绝对大气压(ATA),升压降压各为20~30min,稳压60min,每日1次,连续7d。

1.2 脑组织BrdU/nestin, nestin/Wnt-3免疫荧光组织化学双重染色

分别于HIBD后6h,24h,3d,7d,14d腹腔注射10%水合氯醛(350mg/kg)麻醉,左心室灌注后,断头取脑,取侧脑室水平(前囟前1.0~-0.8mm)脑组织,常规方法制成石蜡块,制成4 μ m的石蜡切片。石蜡切片脱蜡至水,微波修复抗原,加入2MHCL 37 $^{\circ}$ C,30min,0.04%胃蛋白酶室温下6min,行DNA变性后,5%BSA血清37 $^{\circ}$ C封闭1h,分别加入一抗BrdU(1:200, Sigma), nestin(1:200, Chemicon),4 $^{\circ}$ C冰箱过夜,0.01MPBS冲洗,滴加TRITC标记的山羊抗小鼠IgG(1:100,北京中杉试剂公司)与FITC标记的山羊抗兔IgG(1:100,北京中杉试剂公司)混合液,避光条件下37 $^{\circ}$ C孵育60min,冲洗后滴加甘油缓冲液封片,激光扫描共聚焦显微镜下观察,每只大鼠取4~5张非连续脑片计数。Nestin/Wnt-3免疫荧光双标于抗原修复后,直接滴加nestin(1:200, Chemicon)与Wnt-3(1:100, Santa Cruz)一抗,余方法同BrdU/nestin免疫荧光双标。

1.3 Nestin, Wnt-3蛋白的Western-blotting分析

各组分别于HIBD后6h,24h,3d,7d,14d处死动物,取缺血侧脑组织约100mg,制成蛋白质标本。取上样蛋白在10%SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,电转移电泳槽(250mA,4.5h)中转至PDVF膜,室温下封闭1h,加入Wnt-3(1:2000, Santa Cruz, Chemicon)或原抗小鼠抗nestin(1:1000),室温中孵育1h,4 $^{\circ}$ C孵育过夜,洗膜后加入羊抗小

鼠辣根过氧化物酶 (HRP, 1:2 000) 二抗或羊抗兔 HRP (1:2 000), 37 °C 孵育 60 ~ 120 min, 洗膜后加入 GAPDH (1:10 000, 36 kD), 37 °C 孵育 60 min 洗膜, ECL 化学发光试剂盒显影, 曝光, 扫描, 凝胶图像处理系统 (上海 TANON 2020) 测定目标条带的光密度值, 计算其与 GAPDH 光密度值的比值并进行统计学分析。

1.4 细胞计数

用计算机图像分析系统软件 (image tool version 1.0) 计数室管膜下区 (SVZ) HIBD 后不同时间点 (HIBD 后 6 h, 24 h, 3 d, 7 d, 14 d) BrdU⁺ nestin⁺ 细胞数, 应用激光共聚焦分析软件检测 HIBD 后不同时间点 nestin 蛋白与 Wnt-3 蛋白的荧光强度。

1.5 统计学分析

所有计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 全部资料应用 SPSS 13.0 统计软件进行方差分析, $P < 0.05$ 认为

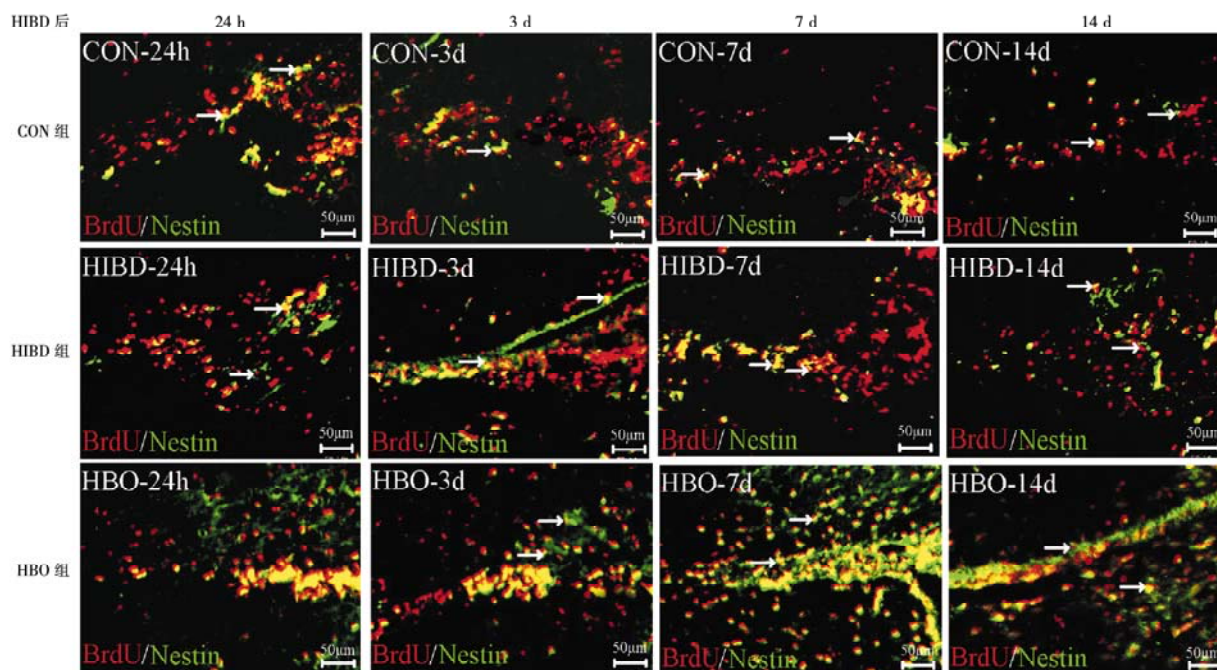


图1 HIBD 后不同时间点各组左脑 SVZ 区 BrdU / nestin 免疫荧光双重染色。BrdU (红色) 标记细胞核, nestin (绿色) 标记胞浆中的神经丝蛋白。CON 组: BrdU⁺ 细胞逐渐减少, 可见 BrdU⁺ nestin⁺ 细胞, P21 (CON 14 d) 时, BrdU⁺ nestin⁺ 细胞表达已很少; HIBD 组: HIBD 后 3 d, BrdU⁺, BrdU⁺ nestin⁺ 细胞最多, 但仍少于 HBO 组, 后逐渐减少; HBO 组: HBO 治疗 24 h 后, BrdU⁺, BrdU⁺ nestin⁺ 细胞逐渐增加, HIBD 后 7 d, BrdU⁺, BrdU⁺ nestin⁺ 细胞最多, HIBD 后 14 d, BrdU⁺, BrdU⁺ nestin⁺ 细胞减少。标尺见图片。

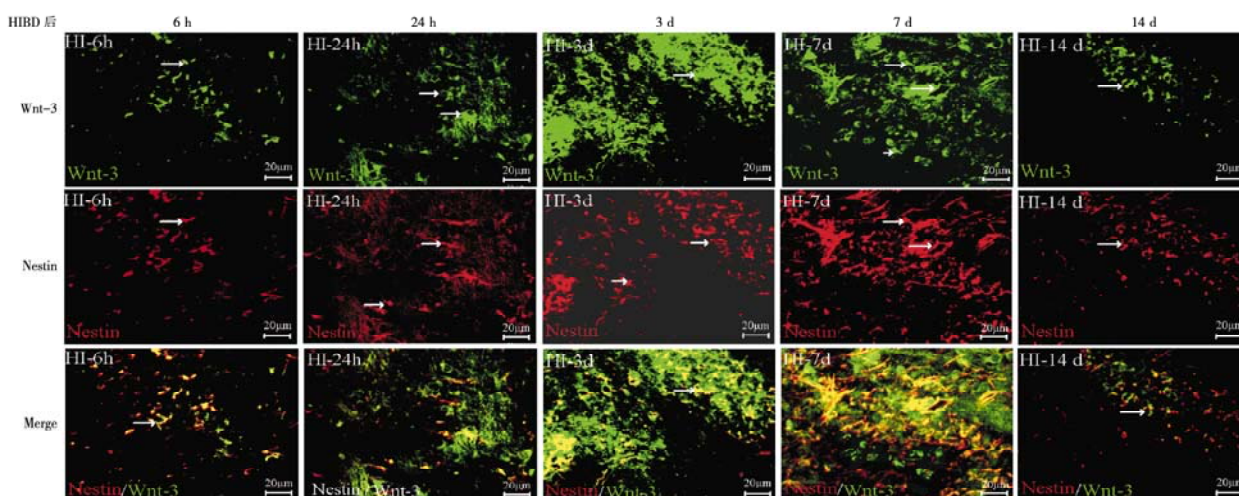


图3 高压氧治疗后不同时间点 Wnt-3, nestin 蛋白的动态变化。Wnt-3, 细胞膜表达 (绿色), Nestin 蛋白呈丝状 (红色), 是 NSCs 的标记物。HI-6 h 可见 Wnt-3 蛋白表达, HI-24 h Wnt-3 蛋白表达进一步增加, HI-3 d 达最高水平, 早于 nestin 蛋白开始增加及达最高水平时间, 至 HI-7 d 一直维持较高水平, HI-14 d Wnt-3 蛋白表达减少; 而 nestin 蛋白表达于 HI-24 h 开始增加, HI-3 d 进一步增加, HI-7 d nestin 蛋白达最高水平, 后减少。标尺见图片。

具有统计学意义。直线回归法分析 HIBD 后不同时间点 nestin 蛋白与 Wnt-3 蛋白的相关性。

2 结果

2.1 HIBD 后各组不同时间点侧脑室 SVZ 区 BrdU/nestin 免疫荧光双重染色结果

各组侧脑室室管膜下区背外侧角 BrdU⁺ nestin⁺ 细胞密集成片分布。HIBD 后 24 h (即 HBO 治疗后 21 h, 余类推), HBO 组 BrdU⁺ nestin⁺ 细胞开始增加, 并多于 CON 组 ($P < 0.01$), HIBD 后 7 d 时, BrdU⁺ nestin⁺ 细胞达最高水平, HIBD 后 14 d 时开始下降, 仍多于 CON 组与 HIBD 组 ($P < 0.05$, 见图 1, 图 2)

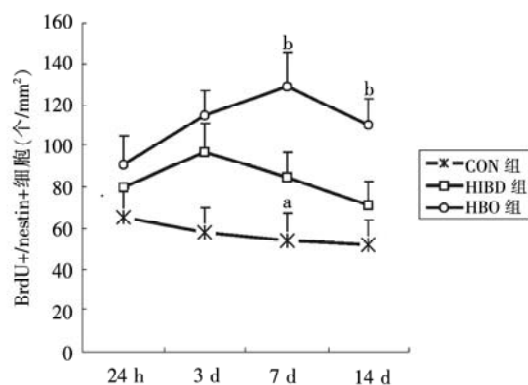


图2 各组大脑 SVZ 区 BrdU⁺ Nestin⁺ 细胞折线图。

误差线表示正偏差。a 与 CON-24 h 组相比, $P < 0.05$; b 表示在同一时间点, 与 HIBD 组相比, $P < 0.05$ 。

2.2 nestin/Wnt-3 免疫荧光双重染色结果

Wnt-3 蛋白表达呈环形, 多见于胞膜表达, HIBD 后 6 h, HBO 组 Wnt-3 蛋白 (绿色) 荧光强度 (单位: /mm²) 表达开始升高, 远高于 CON 组 ($P < 0.05$); HIBD 后 3 d, HBO 组 Wnt-3 蛋白表达达最高水平, 显著高于 HIBD 组与 CON 组 ($P < 0.01$), HIBD 后 7 d, HBO 组 Wnt-3 仍维持较高水平, 显著高于 HIBD 组与 CON 组 ($P < 0.01$), HIBD 组与 CON 组差别不明显 (见图 3)。

SVZ 区 nestin 蛋白 (红色) 呈丝状, HIBD 后 24 h, HBO 治疗组 nestin 蛋白荧光强度开始增加 ($P < 0.05$); HIBD 后 7 d, HBO 组 nestin 蛋白荧光强度达最高水平, 显著高于 CON 组与 HIBD 组; HIBD 后 14 d, HBO 组 nestin 表达开始下降, 仍高于 HIBD 组 ($P < 0.05$) 与 CON 组 ($P < 0.01$) (见图 3)。

2.3 Wnt-3 与 nestin 蛋白荧光强度相关性分析

激光共聚焦显微镜软件分别检测 Wnt-3 与 nestin 蛋白的荧光强度, 制成散点图 (见图 5); 直线相关性分析发现 Wnt-3 与 nestin 蛋白呈直线相关 ($r = 0.893$, $P < 0.05$) (见图 4, 图 5)

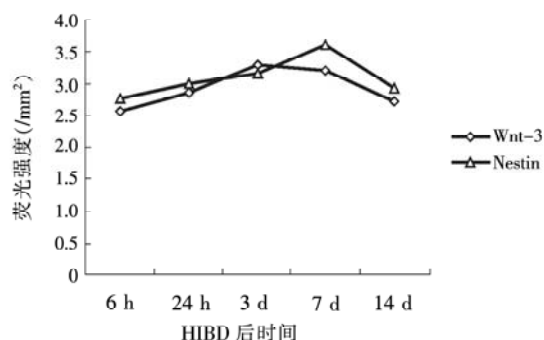


图4 HIBD 后不同时间点 Wnt-3 与 Nestin 蛋白的荧光强度变化曲线。

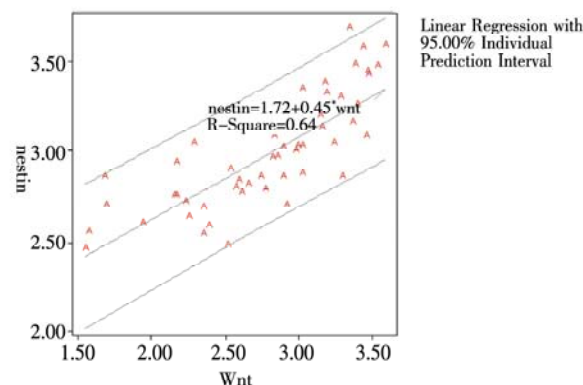


图5 高压氧治疗后 Wnt-3 与 nestin 蛋白的相关性分析图。免疫荧光双重染色结果中 Wnt-3 蛋白的荧光强度为横坐标, nestin 蛋白的荧光强度为纵坐标, 上下两条线分别为 Wnt-3 与 nestin 蛋白的相关性的 95% 可信区间, 中间一条线为 Wnt-3 与 nestin 蛋白的相关性趋势线。图中所示方程式为直线回归方程式, $r^2 = 0.64$ 。

2.4 高压氧治疗后全细胞 Wnt-3 与 nestin 蛋白的 Western blotting 分析

Wnt-3 蛋白在正常新生大鼠脑中有表达, 随着新生大鼠的成熟表达减少^[16]。HBO 治疗组, HIBD 后 6 h, Wnt-3 蛋白表达即开始增加 (与 CON 组相比, $P < 0.05$), HIBD 后 3 d, Wnt-3 蛋白表达增加, 显著高于 HIBD 组与 CON 组 ($P < 0.01$), HIBD 后 7 d 仍维持较高水平, HIBD 后 14 d, Wnt-3 蛋白较 HIBD 后 7 d 表达显著下降 ($P < 0.01$)。

Nestin 蛋白为 NSCs 的标记蛋白, HBO 治疗组于 HIBD 后 24 h, nestin 蛋白开始增加, HIBD 后 7 d, nestin 蛋白达最高水平 (与其他各时间点比较,

$P < 0.01$), HBO 治疗结束后, nestin 蛋白表达开始下降。(见图 6, 图 7)

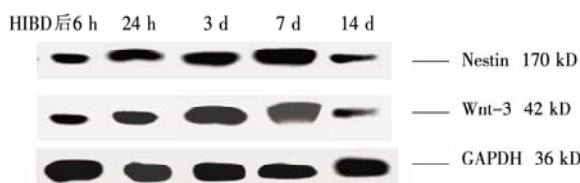


图 6 高压氧治疗后不同时间点 Wnt-3、nestin 总蛋白的 western-blot 分析. 高压氧治疗后, nestin, Wnt-3 总蛋白表达水平呈上升趋势, HIBD 后 3 d, Wnt-3 蛋白达较高水平, HIBD 后 14 d, 仅有少量 Wnt-3 蛋白表达; HIBD 后 7 d, nestin 蛋白达较高水平, HIBD 后 14 d, nestin 蛋白下降。

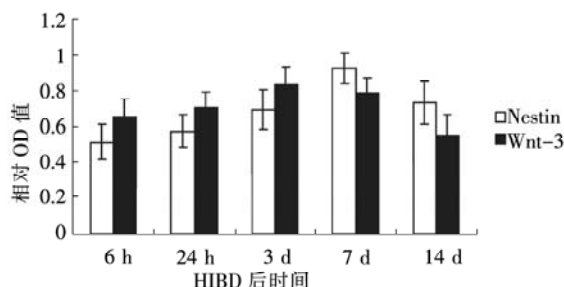


图 7 HBO 治疗后不同时间点 Nestin, Wnt-3 蛋白表达的动态变化。误差线显示正负偏差。

3 讨论

NSCs 是指存在于神经系统中具有多向分化潜能, 能够自我更新的神经前体细胞, 它可以分化成神经元, 神经胶质细胞和少突胶质细胞。NSCs 在哺乳动物脑内终生存在于 SVZ 区、DG 区、大脑皮层等部位^[17], 其中 SVZ 区是生后 NSCs 增殖的主要部位, 也是 NSCs 修复周围损伤脑组织的主要来源^[2], 故 SVZ 区成为人们研究的热点。

BrdU 是一种胸腺嘧啶脱氧核苷类似物, 在细胞增殖周期的 S 期嵌入细胞核的 DNA, 因而 BrdU 阳性细胞被看作是具有增殖活性的细胞^[18]。Nestin, 一种神经丝蛋白, 是神经干细胞常用的标记物, 故本课题采用 BrdU/nestin 双重标记 SVZ 区内源性 NSCs, 即增殖的 NSCs。HBO 治疗后 BrdU⁺ nestin⁺ 细胞表达增加, 显著高于 CON 组与 HIBD 组, 说明 HBO 可以促进内源性 NSCs 的增殖。研究还发现, HBO 治疗一个疗程(7 d)后, SVZ 区 BrdU⁺ nestin⁺ 细胞表达最多, 后逐渐下降, 是否增加疗程仍可以促进内源性神经干细胞的增殖有待于研究; Western blotting 法检测 nestin 蛋白时得到相同的结论, 该蛋白在

HIBD 后 7 d 达最高水平, 14 d 时下降, 说明 HBO 对 HIBD 新生大鼠内源性 NSCs 有保护作用, 且这种保护作用与 HBO 治疗促进 NSCs 的增殖有关。

高压氧治疗可以促进脑内源性 NSCs 的增殖, 其增殖的机制目前尚不清楚。Wnt 信号途径与 NSCs 的增殖及神经发生密切相关^[19], Wnt-3 作为 Wnt 途径的起始蛋白, 于脑内广泛表达, 胎鼠 12 周龄时 Wnt-3 蛋白达最高水平, 生后表达减少, 成年鼠脑内降到最低水平^[13, 14, 16]。本研究发现 HBO 治疗后, NSCs 表面的 Wnt-3 蛋白于 HIBD 后 6 h 较正常对照组增加, HIBD 后 3 d 达最高水平, HIBD 后 7 d, Wnt-3 蛋白仍维持较高水平, HIBD 后 14 d (即 HBO 治疗停止后 7 d), Wnt-3 蛋白表达下降; 缺血侧脑组织 Wnt-3 总蛋白的 Western blotting 分析得到相同的结果, 提示: ①HBO 治疗可以促进 Wnt-3 蛋白的表达, 该蛋白的表达早于 NSCs 开始增殖及达高峰时间; ②HBO 治疗过程中, Wnt-3 蛋白增加到较高水平, 并不无限增加, 从而防止成瘤性的发生, 这可能与细胞内外 Wnt 途径本身复杂的调控机制有关^[20]。HBO 治疗后 nestin 与 Wnt-3 蛋白表达均增加, Wnt-3 蛋白于 NSCs 表面表达, 其出现及达高峰时间均早于 nestin 蛋白, 推测 HBO 治疗后, NSCs 的增加与 Wnt 信号途径的活化有关。为进一步验证我们的假说, 直线回归法分析 HIBD 后不同时间点 nestin 蛋白与 Wnt-3 蛋白的相关性, 发现 nestin 蛋白的变化与 Wnt-3 蛋白呈直线回归, 说明 nestin 蛋白增加与 Wnt-3 蛋白相关。

总之, HBO 治疗可以促进 HIBD 新生大鼠内源性 NSCs 的增殖, 其机制与 Wnt 信号的活化有关。

[参 考 文 献]

- Triulzi F, Parazzini C, Righini A. Patterns of damage in the mature neonatal brain [J]. *Pediatr Radiol*, 2006, 36(7): 608-620.
- Badr AE, Yin W, Mychaskiw G, Zhang JH. Dual effect of HBO on cerebral infarction in MCAO rats [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2001, 280(3): 766-770.
- Calvert JW, Zhou C, Nanda A, Zhang JH. Effect of hyperbaric oxygen on apoptosis in neonatal hypoxia-ischemia rat model [J]. *J Appl Physiol*, 2004, 95(5): 2072-2080.
- Veltkamp R, Siebing DA, Heiland S, Schoenfeldt-Varas P, Veltkamp C, Schwanninger M, et al. Hyperbaric oxygen induces rapid protection against cerebral ischemia [J]. *Brain Res*, 2005, 1037(1-2): 134-138.
- 盖勇, 张曦. 高压氧对新生儿重度缺氧缺血性脑病的治疗时间选择 [J]. *实用儿科临床杂志*, 2005, 20(5): 489-489, 496.
- 胡电, 古航, 洪新如, 金志军, 刘彦, 侯庆香等. 高压氧对窒息新生儿血中孤啡肽含量的影响 [J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2004, 26(5): 200-202.
- 余小河, 杨于嘉, 王霞, 王庆红, 谢岷, 祁伯祥, 等. 高压氧对缺

- 氧缺血性脑损伤新生大鼠内源性神经干细胞和髓鞘的保护作用[J]. 中国当代儿科杂志, 2006, 8(1): 33-37.
- [8] Leker RR, McKay RD. Using endogenous neural stem cells to enhance recovery from ischemic brain injury [J]. Curr Neurovasc, 2004, 1(5): 421-427.
- [9] Hayashi T, Iwai M, Ikeda T, Jin G, Deguchi K, Nagotani S, et al. Neural precursor cells division and migration in neonatal rat brain after ischemic/hypoxic injury [J]. Brain Res, 2005, 1038(1): 41-49.
- [10] Felling RJ, Snyder MJ, Romanko MJ, Rothstein RP, Ziegler AN, Yang Z, et al. Neural stem/progenitor cells participate in the regenerative response to perinatal hypoxia/ischemia [J]. J Neurosci, 2006, 26(16): 4359-4369.
- [11] Inoue T, Kagawa T, Fukushima M, Shimizu T, Yoshinaga Y, Takada S, et al. Activation of canonical Wnt pathway promotes proliferation of retinal stem cells derived from adult mouse ciliary margin [J]. Stem Cells, 2006, 24(1): 95-104.
- [12] Hirabayashi Y, Gotoh Y. Stage-dependent fate determination of neural precursor cells in mouse forebrain [J]. Neurosci Res, 2005, 51(4): 331-336.
- [13] Roelink H, Nusse R. Expression of two members of the Wnt family during mouse development - restricted temporal and spatial patterns in the developing neural tube [J]. Genes Dev, 1991, 5(3): 381-388.
- [14] Lie DC, Colamarino SA, Song HJ, Desire L, Mira H, Consiglio A, et al. Wnt signalling regulates adult hippocampal neurogenesis [J]. Nature, 2005, 437(7063): 1370-1375.
- [15] 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.
- [16] Roelink H, Genaar E, Silva SLD, Nusse AR. Wnt-3, a gene activated by proviral insertion in mouse mammary tumors, is homologous to int-1/Wnt-1 and is normally expressed in mouse embryos and adult brain [J]. Proc Natl Acad Sci, 1990(87): 4519-4523.
- [17] Gage FH. Mammalian neural stem cells [J]. Science, 2000, 287(5457): 1433-1438.
- [18] Romanko MJ, Rothstein RP, Levison SW. Neural stem cells in the subventricular zone are resilient to hypoxia/ischemia whereas progenitors are vulnerable [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2004, 24(7): 814-825.
- [19] Kikuchi A, Kishida S, Yamamoto H. Regulation of Wnt signaling by protein-protein interaction and post-translational modifications [J]. Experiment Molecul Med, 2006, 38(1): 1-10.
- [20] Miller RH. The promise of stem cells for neural repair [J]. Brain Res, 2006, 1091(1): 258-264.

(本文编辑: 吉耕中)

· 消息 ·

欢迎订阅《中国当代儿科杂志》

《中国当代儿科杂志》是由中华人民共和国教育部主管, 中南大学主办的国家级儿科专业学术期刊。本刊为国家科学技术部中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊), 中国科学引文数据库(CSCD)收录期刊和国际权威检索机构美国MEDLINE、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、美国《化学文摘》(CA)和荷兰《医学文摘》(EM)收录期刊, 是《中国医学文摘·儿科学》引用的核心期刊, 同时被中国学术期刊(光盘版)、中国科学院文献情报中心、中国社会科学院文献信息中心评定为《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊, 并被《中国期刊网》、《中国学术期刊(光盘版)》和《万方数据——数字化网络期刊》全文收录。已被复旦大学、浙江大学、中南大学和中国医科大学等国内著名大学认定为儿科核心期刊。

本刊内容以儿科临床与基础研究并重, 反映我国当代儿科领域的最新进展与最新动态。辟有英文论著、中文论著(临床研究、实验研究、儿童保健、疑难病研究)、临床经验、病例讨论、病例报告、社区医师园地、专家讲座、综述等栏目。读者对象主要为从事儿科及相关学科的临床、教学和科研工作者。

本刊为双月刊, 大16开本, 80页, 亚光铜版纸印刷, 逢双月15日出版, 向国内外公开发行人。中国标准刊号: ISSN 1008-8830, CN 43-1301/R。欢迎全国各高等医学院校, 各省、市、自治区、县医院和基层医疗单位, 各级图书馆(室)、科技情报研究所及广大医务人员和医学科技人员订阅。每期定价12元, 全年72元。邮发代号: 42-188。可通过全国各地邮局订阅或直接来函与本刊编辑部联系订阅。本刊从2006年10月1日起, 开启了网上稿件远程处理系统, 免审稿费, 审稿周期短(4~8周)。作者请在线投稿, 请登录本刊网站了解详情。

联系地址: 湖南省长沙市湘雅路87号《中国当代儿科杂志》编辑部 邮编: 410008

电话: 0731-4327402 传真: 0731-4327922 Email: ddek@vip.163.com

网址: <http://www.cjcp.org>