

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2014.09.014

论著 · 实验研究

内源性白血病抑制因子在脑室周围白质软化 新生大鼠脑组织中的表达

范玉颖¹ 于涛¹ 张俊梅¹ 王华¹ 赵桂锋² 刘波²

(中国医科大学附属盛京医院 1. 小儿神经内科; 2. 实验动物中心, 辽宁 沈阳 110004)

[摘要] **目的** 探讨脑室周围白质软化(periventricular leukomalacia, PVL)新生大鼠脑组织内源性白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)的表达变化。**方法** 采用左侧颈总动脉结扎并低氧(6% O₂ 4 h)处理建立3日龄Wistar大鼠缺氧缺血(HI)PVL模型。HI后1 d、3 d、7 d、14 d和28 d处死动物,应用Real-Time PCR方法和Western blot方法分别检测脑组织LIF mRNA和蛋白的表达变化;应用免疫荧光双染色方法检测LIF和胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)的共表达情况。**结果** HI后1、3、7 d PVL组脑组织LIF蛋白表达量均高于对照组(均 $P<0.01$);PVL组脑组织LIF蛋白表达量于HI后3 d达到高峰,明显高于同组其他时间点($P<0.01$),随后降低。LIF mRNA的变化趋势与LIF蛋白一致。免疫荧光双染色结果显示LIF与GFAP存在共表达。**结论** PVL新生大鼠脑组织中星形胶质细胞LIF mRNA与蛋白的表达均呈先升高后降低的趋势;LIF可能参与了PVL病变的修复过程。[中国当代儿科杂志, 2014, 16(9): 933-938]

[关键词] 白血病抑制因子;脑室周围白质软化;缺氧缺血;新生大鼠

Expression of endogenous leukemia inhibitory factor in neonatal rats with periventricular leukomalacia

FAN Yu-Ying, YU Tao, ZHANG Jun-Mei, WANG Hua, ZHAO Gui-Feng, LIU Bo. Department of Pediatric Neurology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China (Wang H, Email: wangh1@sj-hospital.org)

Abstract: Objective To study the changes of endogenous leukemia inhibitory factor (LIF) in neonatal rats with periventricular leukomalacia (PVL). **Methods** A PVL model of 3-day-old Wistar rats was prepared by left carotid artery ligation followed by 6% oxygen for 4 hours. The rats were sacrificed at 1, 3, 7, 14 and 28 days of hypoxia ischemia (HI), and the brain tissues were sampled. Real-Time PCR and Western blot methods were applied to analyze the expression of LIF mRNA and protein. Double staining immunofluorescence was used to detect the co-expression of LIF and GFAP. **Results** At 1, 3 and 7 days of HI, LIF protein level in the PVL group was higher than in the control group ($P<0.01$). In the PVL group, the LIF protein level on the third day after HI reached a peak and was higher than the other time points ($P<0.01$). The change of LIF mRNA expression showed the same tendency with LIF protein. The double staining immunofluorescence showed a co-expression of LIF and GFAP. **Conclusions** LIF mRNA and LIF protein expression in astrocytes show a trend of initial increase followed by steady decline in neonatal rats with PVL, suggesting that endogenous LIF may participate in the repair of PVL. [Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(9): 933-938]

Key words: Leukemia inhibitory factor; Periventricular leukomalacia; Hypoxia ischemia; Neonatal rats

随着围产医学的进步,早产儿的存活率显著提高,其脑损伤问题也倍受关注。脑室周围白质软化(periventricular leukomalacia, PVL)是早产儿脑损伤的常见类型。新生期脑白质损伤诱导了星形

胶质细胞活化增殖^[1]。新近研究对新生期PVL髓鞘形成障碍机制提出了新见解:在弥漫性星形胶质细胞增生的病变区域内少突胶质前体细胞分化成熟受阻,其发育成熟受阻与星形胶质细胞增生

[收稿日期] 2014-01-04; [接受日期] 2014-04-13

[作者简介] 范玉颖,女,博士,主治医师。

[通信作者] 王华,女,教授。

密切相关^[2]。白血病抑制因子 (leukemia inhibitory factor, LIF) 是一种多功能的细胞因子, 近年研究报道 LIF 在中枢神经系统损伤病变中更多显示的是神经保护作用, 被认为是一种神经营养因子^[3-5]。本课题组前期研究证实 LIF 能够抑制体外氧糖剥夺培养诱导的原代大鼠星形胶质细胞的增殖^[6]。目前关于新生儿脑损伤后 LIF 表达的研究报道罕见, 且局限于 LIF mRNA 水平, 研究时间点亦局限^[3,7]。本研究拟探讨 PVL 新生大鼠脑组织内源性 LIF 的表达变化, 以及 LIF 在星形胶质细胞表达情况, 进而明确 LIF 是否参与了早产儿 PVL 的损伤或修复过程, 为早产儿脑损伤的研究提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

健康清洁级3日龄(P3)Wistar大鼠, 雌雄不限, 购自中国医科大学附属盛京医院实验动物中心; 应用随机数字表法随机分为: 对照组($n=80$)和实验组(PVL组, $n=80$)。按缺氧缺血(hypoxia-ischemia, HI)后1 d、3 d、7 d、14 d、28 d再随机各分为5个亚组, 每组16只。

1.2 仪器与试剂

美国PTC-100TM型PCR扩增仪、荧光定量PCR仪(ABI7500, 美国)、美国OM-25ME型测氧仪、日本Olympus激光共聚焦显微镜。Trizol总RNA提取液购于TaKaRa大连宝生物工程有限公司; PrimeScript™ RT Reagent Kit购于TaKaRa大连宝生物工程有限公司; SYBRPremix ExTaq™试剂盒购于TaKaRa大连宝生物工程有限公司; GAPDH一抗和HRP标记IgG二抗均购于美国Santa Cruz; LIF山羊抗大鼠多克隆抗体(一抗)购于美国Santa Cruz公司, GFAP小鼠抗大鼠单克隆抗体(一抗)购于美国Lab Vision公司; FITC标记兔抗小鼠荧光二抗购于北京中杉金桥生物技术有限公司; TRITC标记兔抗山羊荧光二抗购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 动物模型的制备及标本采集

参照Bain等^[3]方法制备PVL动物模型。PVL组行左侧颈总动脉结扎手术: 无水乙醚麻醉, 仰卧于动物手术台上(保持温度为37℃), 局部消

毒后切开约0.5 cm长的颈部皮肤, 逐层分离出左侧颈总动脉结扎并切断, 缝合切口后置于37℃恒温箱内恢复1 h后, 放置在2000 mL 37℃密闭容器中, 以2 L/min的速度输入6% O₂、94% N₂混合气体, 持续4 h后取出返回母鼠笼中饲养。对照组仅分离左侧颈总动脉, 不作结扎及缺氧处理。各时间点各组大鼠处死前乙醚吸入麻醉, 局部消毒后切开皮肤, 依次打开腹腔、横膈、胸腔, 暴露心脏, 经左心室以生理盐水灌注至流出液体清亮(用于制作冰冻切片的标本继续以4%多聚甲醛灌注), 断头取脑; 待做Real-Time PCR和Western blot的标本置于-80℃冰箱。

1.4 Real-Time PCR检测脑组织中LIF mRNA的相对表达

(1) 总RNA提取: 将组织剪碎, 加入Trizol总RNA提取液裂解10 min; 加入200 μL氯仿, 振荡后室温静置5 min, 12000 g 4℃离心15 min; 吸出上清移至Eppendorf管内, 加入等体积异丙醇充分混匀, 室温静置10 min, 12000 g 4℃离心10 min; 弃上清, 加入70% DEPC水配制的乙醇1 mL, 轻轻洗涤管壁, 12000 g 4℃离心10 min; 弃去乙醇, 室温干燥, 加入DEPC水20 μL, 将沉淀溶解; 取1 μL总RNA用紫外分光光度计测260 nm及280 nm的吸光度值, 检测RNA质量及产量。

(2) 反转录(RT)合成cDNA第一链: 调整RNA浓度为500 ng/μL; RT反应体系为5×PrimeScript Buffer 4 μL, Prime Script RT Enzyme Mix I 1 μL, Oligo dT Primer (50 μM) 1 μL, Random 6mer 1 μL, RNase free dH₂O 1 μL, Total RNA 2 μL; RT反应条件为37℃ 15 min, 85℃ 5 s。(3) Real-Time PCR反应: Real-Time PCR引物的设计根据GenBank中登录的大鼠LIF基因序列设计如下PCR引物: LIF-F 5'-CGGCAACCTCATGAACCAGA-3', LIF-R 5'-ATGTTGGCGCACATAGCTTATC-3'; 目标扩增片段大小为135 bp, 引物由上海生工生物技术有限公司合成。Real-Time PCR反应体系包括: cDNA 2 μL, SYBR Premix Ex Taq™ (2×) 10 μL, PCR Forward Primer (5 μM) 1 μL, PCR Reverse Primer (5 μM) 1 μL, ROX Reference Dye II (50×) 0.4 μL, dH₂O 5.6 μL, 总量20 μL。PCR反应参数: 95℃ 10 s; 95℃ 5 s, 60℃ 34 s; 40个循环反应。(4) 相对定量分析: 首先计算ΔCt值。

实验组 ΔCt 值 = (实验组目的基因的 Ct 值) - (实验组内参基因的 Ct 值); 对照组 ΔCt 值 = (对照组目的基因的 Ct 值) - (对照组内参基因的 Ct 值)。再计算 $\Delta\Delta Ct$ 值 = (实验组 ΔCt 值 - 对照组 ΔCt 值)。最后计算 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值, 结果即为实验组目的基因相对于对照组目的基因的相对表达量。

1.5 Western blot 测定脑组织 LIF 蛋白表达

将脑组织机械破碎, 每份样本重 50 mg 左右, 每组均 8 份标本, 加 6 倍于组织体积的全蛋白裂解液, 4℃超声破碎 12000 g 4℃离心 30 min, 取上清 2 μ L, 按 BCA 试剂盒说明测蛋白浓度, 以浓度最低管为基准调节浓度。每孔准备 120 μ g 蛋白, 加上样缓冲液煮沸 5 min, 上样至聚丙烯酰胺凝胶中, 100 V 电泳约 1.5 h。取出凝胶, 于转印液中平衡 30 min; 取出 PVDF 膜, 甲醇中浸泡 5 min, ddH₂O 浸泡 3 min, 转印液中平衡 5 min; 4℃40 V 电转印过夜至 PVDF 膜, 使用新配制的封闭液室温封闭 2 h, 以洗膜液洗 5 min; 分别加入稀释的 LIF 和 GAPDH 一抗, 4℃孵育过夜; 洗膜液洗膜, 5 min $\times$ 3 次; 加入 1:3000 稀释的碱性磷酸酶标记的二抗, 室温杂交 2 h, 洗膜液洗膜 3 次, 各 5 min; ECL 显色液显色成像; 采用 Quantity one-4.4.0 凝胶成像分析软件分析, 记录每条蛋白电泳带的灰度值, 以 GAPDH 作为内参, 进行分析。

1.6 免疫荧光双染色检测脑组织 LIF 和 GFAP 蛋白的共表达

取 HI 后 3 d 大鼠脑组织的冰冻切片进行染色。冰冻切片室温放置 15 min 后, 甲醇浸泡 30 min; PBS 冲洗 5 min $\times$ 3 次; 将切片浸入 0.01 M 柠檬酸盐缓冲液, 于微波炉中加热修复抗原, 间隔 10 min, 反复 2 次; 冷却至室温后 PBS 冲洗 5 min $\times$ 3 次; 滴加 5% BSA 封闭液, 室温下孵育 20 min, 甩去多余液体; 同时滴加小鼠抗大鼠 GFAP (1:100) 和山羊抗大鼠 LIF (1:75), 4℃孵育过夜; PBS 冲洗 5 min $\times$ 3 次; 暗室中同时滴加 FITC 标记兔抗小鼠荧光二抗 (1:50) 和 TRITC 标记兔抗山羊荧光二抗 (1:50); 室温避光孵育 2 h, PBS 冲洗 5 min $\times$ 3 次; DAPI 染细胞核, 室温避光 5 min; PBS (pH 7.2~7.6) 冲洗 5 min $\times$ 3 次; 激光共聚焦显微镜下观察。阴性对照: 除用 PBS 代替一抗外, 其他步骤同上。

1.7 统计学分析

所有数据采用 SPSS 16.0 软件处理, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物模型的一般情况

PVL 组新生大鼠在缺氧期间均出现不同程度的异常反应, 表现为皮肤苍白、发绀以及频繁抽搐, 10 只 (11%) 在缺氧中死亡, 随机予以补充 10 只大鼠。恢复氧供后新生大鼠皮肤迅速转为红润, HI 1 d 后上述异常反应均消失。对照组新生大鼠共 80 只, 全部存活, 无上述异常表现。苏木精-伊红 (HE) 染色观察 HI 后大鼠脑组织病理形态学改变, 结果显示: 实验组在 HI 后 3 d 左侧 (结扎侧) 侧脑室周围白质区开始出现筛网状坏死灶, 7 d 开始出现左侧侧脑室扩大表现, 14 d 实验组大鼠病变程度明显加重, 左侧侧脑室较对侧及对照组明显扩大, 左侧脑白质组织结构稀疏模糊, 脑室旁细胞排列紊乱, 神经纤维走向紊乱, 侧脑室周围可见囊性疏松坏死区域形成; 对照组大鼠左右侧脑室对称, 细胞层次分明, 脑白质结构正常, 染色清晰。HI 后 28 d, 实验组大鼠病变与 HI 后 14 d 相似, 病变程度未见明显加重 (图 1)。

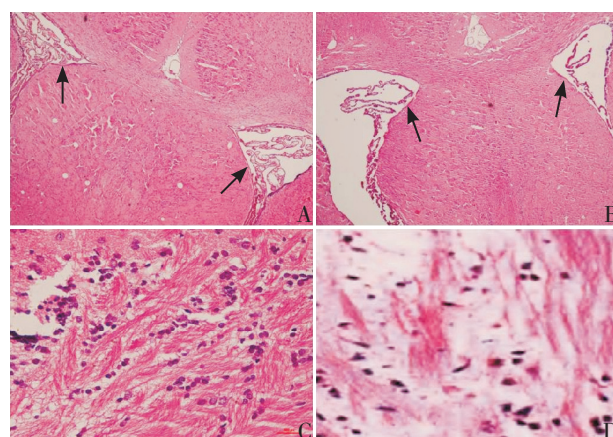


图1 HI 后 14 d 脑组织病理学改变 (HE 染色)
PVL 组 (B, $\times 40$) 左侧 (结扎侧) 侧脑室较对侧和对照组 (A, $\times 40$) 扩大 (箭头所示)。对照组 (C, $\times 400$) 脑白质结构正常, 染色清晰; PVL 组 (D, $\times 400$) 左侧侧脑室周围白质组织结构稀疏模糊, 神经纤维走向紊乱, 可见囊性疏松坏死区域形成。图 A、B 标尺为 500 μ m, 图 C、D 为 50 μ m。

2.2 各组大鼠脑组织 LIF mRNA 的表达变化

对照组各时间点的 LIF mRNA 表达差异无统计学意义。HI 后 1、3、7 d PVL 组脑组织 LIF mRNA 均高于同时间对照组 (t 值分别为 9.136、23.890、11.294, 均 $P < 0.01$), HI 后 1 d 时为对照组的 1.51 倍, 3 d 时为对照组的 2.01 倍, 7 d 时为对照组的 1.46 倍; 14 d、28 d 时与对照组的差别无统计学意义 (t 值分别为 0.445、0.531, 均 $P > 0.05$)。PVL 组脑组织 LIF mRNA 表达于 HI 后 3 d 达到高峰, 明显高于同组其他时间点, 随后降低 ($F = 43.037$, $P < 0.01$); HI 后 1 d 高于 7 d、14 d 和 28 d ($P < 0.01$); HI 后 7 d 高于 14 d 和 28 d ($P < 0.01$); HI 后 14 d 与 28 d 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (图 2)。

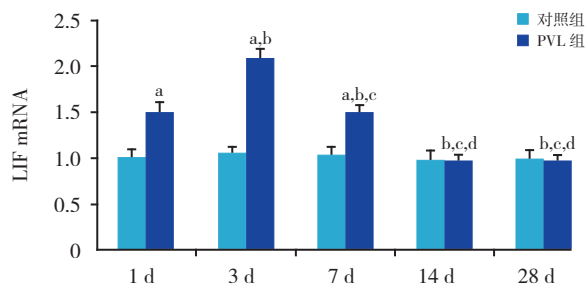


图 2 各组大鼠脑组织 LIF mRNA 的表达变化 ($n=8$)

a 示与同时时间点对对照组比较, $P < 0.01$; b 示与同组 1 d 比较, $P < 0.01$; c 示与同组 3 d 比较, $P < 0.01$; d 示与同组 7 d 比较, $P < 0.01$ 。

2.3 各组大鼠脑组织 LIF 蛋白表达的时程变化

对照组各时间点的 LIF 蛋白表达差异无统计学意义。HI 后 1、3、7 d PVL 组脑组织 LIF 蛋白表达量均高于同时间对照组 (t 值分别为 9.88、17.203、3.543, 均 $P < 0.01$); HI 后 1 d 时为对照组的 1.35 倍, 3 d 时为对照组的 1.64 倍, 7 d 时为对照组的 1.25 倍; 14 d、28 d 时与对照组的差别无统计学意义 (t 值分别为 0.116、0.242, 均 $P > 0.05$); PVL 组脑组织 LIF 蛋白表达量于 HI 后 3 d 达到高峰, 明显高于同组其他时间点, 随后降低 ($F = 42.035$, $P < 0.01$); HI 后 1 d 明显高于 7 d、14 d 和 28 d ($P < 0.01$); HI 后 7 d 明显高于 14 d 和 28 d ($P < 0.01$); HI 后 14 d 与 28 d 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 3~4。

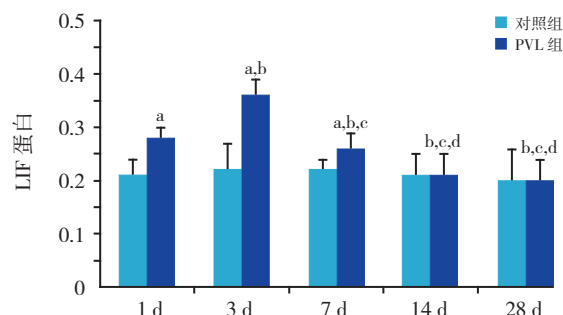


图 3 各组新生大鼠脑组织 LIF 蛋白的表达变化 ($n=8$, means $\pm$ S.E.M) a 示与同时时间点对对照组比较, $P < 0.01$; b 示与同组 1 d 比较, $P < 0.01$; c 示与同组 3 d 比较, $P < 0.01$; d 示与同组 7 d 比较, $P < 0.01$ 。

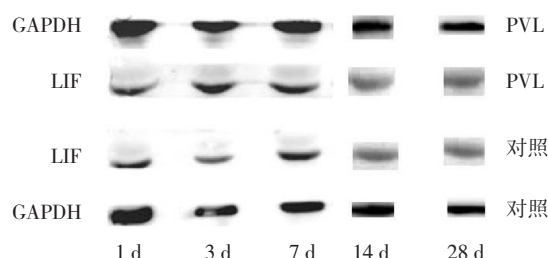


图 4 各组新生大鼠脑组织 LIF 蛋白的表达变化

2.4 LIF 与 GFAP 免疫荧光双标染色

取 HI 后 3 d 实验组大鼠 8 只, 进行脑室周围白质组织切片的 LIF 与 GFAP 免疫荧光双标染色。双标染色结果显示 LIF 与 GFAP 存在共表达, GFAP 标记的星形胶质细胞表达 LIF 蛋白 (图 5~6)。

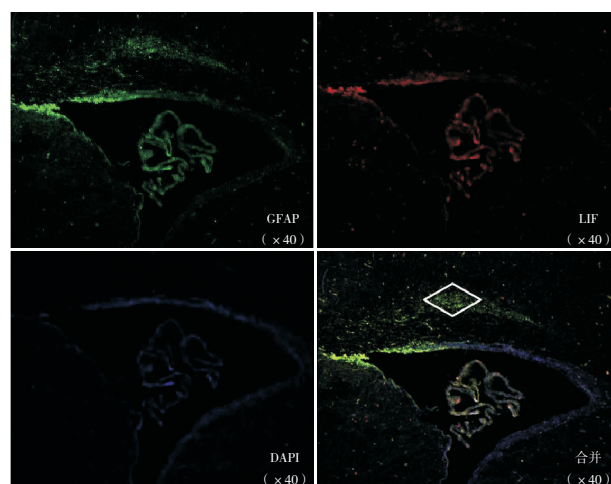


图 5 PVL 组 HI 后 3 d 脑室周围白质 LIF 与 GFAP 免疫荧光双标染色 ($\times 40$) 绿色荧光为 GFAP 染色, 红色荧光为 LIF 染色, 蓝色荧光为 DAPI 染色 (染细胞核), 黄色荧光为 GFAP 和 LIF 染色合并后表现; 白色菱形区域放大后结果 ($\times 400$), 见图 6。

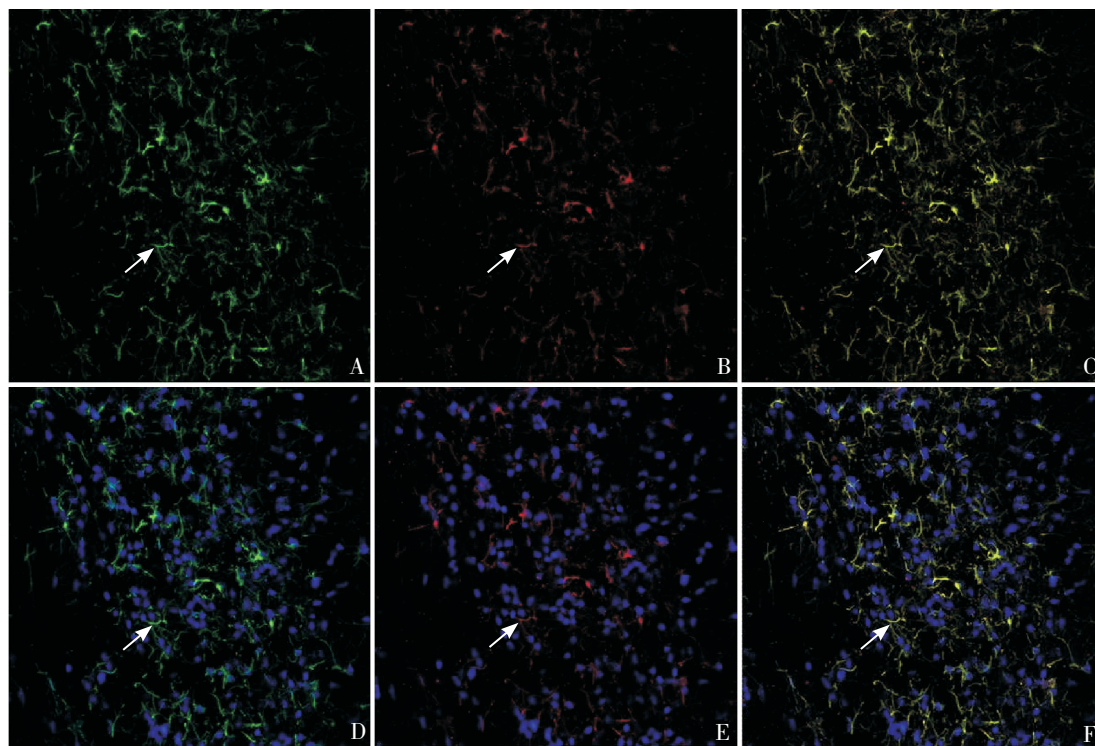


图6 PVL组HI后3d脑室周围白质LIF与GFAP免疫荧光双标染色($\times 400$) 绿色荧光为GFAP染色(A), 红色荧光为LIF染色(B), 黄色荧光为GFAP和LIF染色合并后表现(C); 蓝色荧光为DAPI染色(染细胞核), A、B和C分别与DAPI合并后结果依次为D、E和F; C和F显示GFAP和LIF共表达。箭头所示为免疫荧光染色阳性细胞。

3 讨论

LIF是一种多功能的细胞因子,在健康人的神经系统中难以检测到,但在不同的中枢神经系统疾病及其动物模型中表达升高^[8-9]。Alzheimer's病和Parkinson's病患者的神经系统中LIF表达增加^[8]。LIF蛋白在急性脑卒中病人脑组织中过度表达,而在其血浆中LIF蛋白表达降低^[9]。急性实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)小鼠的脊髓LIF mRNA表达上调^[4]。本课题组前期研究证实急性EAE大鼠脑内LIF蛋白表达升高^[10]。有关LIF在新生儿脑损伤疾病中的表达情况,研究报道很少。Covey^[7]等的研究显示新生7d大鼠缺氧缺血脑损伤后48h LIF mRNA显著升高,但在72h几乎返回至基线水平。Bain等^[3]研究报道了新生3d大鼠缺氧缺血脑损伤后7d时LIF mRNA的表达水平升高,为对照组的2.1倍。本研究则在mRNA和蛋白水平同时探讨了新生3d大鼠HI致PVL后不同时间点(1~28d) LIF表达的时程变化,发现LIF mRNA和蛋白在HI后表达增高,HI后3d时达高峰,

随后逐渐降低,14d时降至与对照组无差别。

LIF在新生儿大鼠脑损伤病变中的作用尚不明确。新生儿缺氧缺血性脑损伤是一个多因素、多机制的级联损伤过程,包括许多环节,如氧自由基生成、细胞内钙失稳态、兴奋性氨基酸释放,炎症反应等^[11]。氧自由基参与了新生儿缺氧缺血后神经细胞的损害,研究表明24~72h为氧自由基损伤最明显时期^[12]。本研究显示缺氧缺血性损伤后脑组织表达LIF的高峰时间正值氧自由基损伤最明显的时期。目前研究发现LIF具有保护星形胶质细胞免受氧化应激损伤的作用^[13]。本研究显示PVL新生大鼠脑组织内源性LIF于HI后3d时表达最高,这一结果可能反映了LIF在新生儿脑损伤病变中发挥保护作用。

LIF能够促进神经干细胞(neural stem cells, NSCs)的自我更新和分化^[14-15],促进新生儿脑室下区神经干细胞的增殖,增殖的神经干细胞能够分化为神经细胞而修复脑损伤病变^[3,7]。本研究显示PVL新生大鼠脑组织内源性LIF仅一过性表达升高,不能持续促进神经干细胞的增殖,可能也反映了内源性修复机制的不足^[7]。

新生儿脑白质损伤后星形胶质细胞过度增殖,影响神经细胞的再生,抑制损伤病变的修复^[1-2]。本课题组前期研究证实外源性 LIF 能够抑制氧糖剥夺培养后星形胶质细胞的增殖^[6]。本研究发现 PVL 新生大鼠脑组织内源性 LIF 仅一过性表达升高,难以持续抑制星形胶质细胞的增殖,可能反映了内源性保护机制的不足。

体外研究显示,脂多糖及 TNF α 能够通过激活核转录因子 NF- κ B 的机制诱导大鼠星形胶质细胞表达 LIF 增高,谷氨酸能够以钙离子作为信号转导的第二信使分子促进大鼠星形胶质细胞表达 LIF^[6]。钙离子是机体细胞内参与机能调节的第二信使之一,缺氧缺血性脑损伤时可发生细胞内钙离子稳态失调;脑缺氧缺血损伤时机体产生一系列内源性损伤因子,如活性氧、细胞因子、谷氨酸等,这些因子均可活化 NF- κ B^[12]。GFAP 是星形胶质细胞标志物,本研究通过免疫荧光双染色检测到 LIF 与 GFAP 共表达。因此本研究推测新生大鼠缺氧缺血性脑质病损伤早期可能通过钙离子作为第二信使分子或激活 NF- κ B 机制调节脑组织星形胶质细胞表达 LIF 蛋白,但具体机制尚待进一步研究证实。

本研究结果提示,LIF 可能参与了 PVL 病变修复过程,但其具体作用及机制仍待进一步深入研究。外源性 LIF 可能成为新生儿脑白质损伤疾病治疗的新手段。

[参 考 文 献]

- [1] Huang Z, Liu J, Cheung PY, et al. Long-term cognitive impairment and myelination deficiency in a rat model of perinatal hypoxic-ischemic brain injury [J]. Brain Research, 2009, 1301:100-109.
- [2] Buser JR, Maire J, Riddle A, et al. Arrested preoligodendrocyte maturation contributes to myelination failure in premature infants [J]. Annals of Neurology, 2012, 71(1): 93-109.
- [3] Bain JM, Ziegler A, Yang Z, et al. TGF β 1 stimulates the over-production of white matter astrocytes from precursors of the "brain marrow" in a rodent model of neonatal encephalopathy[J]. PloS One, 2010, 5(3): e9567.
- [4] Butzkueven H, Emery B, Cipriani T, et al. Endogenous leukemia inhibitory factor production limits autoimmune demyelination and oligodendrocyte loss [J]. Glia, 2006, 53(7): 696-703.
- [5] Leibinger M, Müller A, Andreadaki A, et al. Neuroprotective and axon growth-promoting effects following inflammatory stimulation on mature retinal ganglion cells in mice depend on ciliary neurotrophic factor and leukemia inhibitory factor [J]. J Neurosci, 2009, 29(45): 14334-14341.
- [6] Yu-Ying F, Jun-Mei Z, Wang H, et al. Leukemia inhibitory factor inhibits the proliferation of primary rat astrocytes induced by oxygen-glucose deprivation [J]. Acta Neurobiol Exp (Wars), 2013, 73(4): 485-494.
- [7] Covey MV, Levison SW. Leukemia inhibitory factor participates in the expansion of neural stem/progenitors after perinatal hypoxia/ischemia [J]. Neuroscience, 2007, 148(2): 501-509.
- [8] Slevin M, Krupinski J, Mitsios N, et al. Leukemia inhibitory factor is over-expressed by ischaemic brain tissue concomitant with reduced plasma expression following acute stroke [J]. Eur J Neurol, 2008, 15(1):29-37.
- [9] Soilu-Hänninen M, Broberg E, Røyttä M, et al. Expression of LIF and LIF receptor beta in Alzheimer's and Parkinson's diseases [J]. Acta Neurol Scand, 2010, 121(1): 44-50.
- [10] 范玉颖, 赵桂峰, 张俊梅, 等. 实验性变态反应性脑脊髓炎大鼠脑白血病抑制因子的表达 [J]. 实用儿科临床杂志, 2011, 26(14): 1123-1125.
- [11] Northington FJ, Chavez-Valdez R, Martin LJ. Neuronal cell death in neonatal hypoxia ischemia[J]. Ann Neurol, 2011, 69(5): 743-758.
- [12] 段东印. 炎症因子和自由基在诱导缺氧缺血性脑损伤新生大鼠神经细胞凋亡中的作用 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2013, 28(23): 1825-1827.
- [13] Lapp DW, Zhang SS, Barnstable CJ. Stat3 mediates LIF-induced protection of astrocytes against toxic ROS by upregulating the UPC2 Mrna pool [J]. Glia, 2014, 62(2): 159-170.
- [14] Asano H, Aonuma M, Sanosaka T, et al. Astrocyte differentiation of neural precursor cells is enhanced by retinoic acid through a change in epigenetic modification [J]. Stem Cells, 2009, 27(11): 2744-2752.
- [15] Liu J, Zang D. Response of neural precursor cells in the brain of Parkinson's disease mouse model after LIF administration [J]. Neurol Res, 2009, 31(7): 681-686.
- [16] Fischer R1, Wajant H, Kontermann R, et al. Astrocyte-specific activation of TNFR2 promotes oligodendrocyte maturation by secretion of leukemia inhibitory factor [J]. Glia, 2014, 62(2): 272-283.

(本文编辑: 王庆红)