

论著·实验研究

脐血单个核细胞侧脑室移植对 HIBD 新生大鼠 脑神经元凋亡及 Bax、Bcl-2 蛋白的影响

闫少珍¹ 王晓莉¹ 王海宇¹ 董鹏¹ 赵岩松²

(1. 潍坊医学院医学影像学系, 山东 潍坊 261053;

2. 潍坊医学院临床学院眼科, 山东潍坊 261053)

[摘要] **目的** 探讨脐血单个核细胞移植对缺氧缺血性脑损伤(HIBD)新生大鼠脑神经元凋亡及 Bax、Bcl-2 蛋白的影响。**方法** 7日龄 Sprague-Dawley 新生大鼠制备缺氧缺血性脑损伤(HIBD)模型, 随机分为正常对照(N)+生理盐水(NS)、HIBD+NS、N+脐血单个核细胞(UCBMC)及 HIBD+UCBMC 组。N+UCBMC 与 HIBD+UCBMC 组侧脑室注入 3×10^6 个 UCBMC, N+NS 与 HIBD+NS 组注入等体积 NS。移植后 7 d 采用 NeuN/活性 Caspase-3 免疫荧光双标染色法、TUNEL 法观察大脑皮层神经元凋亡, Western blot 观察脑组织 Bax、Bcl-2 蛋白表达。**结果** HIBD+NS 组的 NeuN⁺ 活性 Caspase-3⁺DAPI⁺ 细胞及 TUNEL⁺DAPI⁺ 细胞均多于 N+NS 和 N+UCBMC 组 ($P < 0.01$); HIBD+UCBMC 组的 NeuN⁺ 活性 Caspase-3⁺DAPI⁺ 细胞及 TUNEL⁺DAPI⁺ 细胞均少于 HIBD+NS 组 ($P < 0.01$)。HIBD+NS 组的 Bax 蛋白表达高于 N+NS 与 N+UCBMC 组, Bcl-2 蛋白低于 N+NS 与 N+UCBMC 组 ($P < 0.01$); 而 HIBD+UCBMC 组的 Bax 蛋白较 HIBD+NS 组降低 ($P < 0.01$), Bcl-2 蛋白则高于 HIBD+NS 组、N+NS 和 N+UCBMC 组 ($P < 0.05$)。**结论** HIBD 新生大鼠侧脑室移植 UCBMC 可以减轻神经元凋亡, 其机制可能与 Bcl-2 蛋白表达上调, Bax 蛋白表达下调有关。

[中国当代儿科杂志, 2016, 18(9): 862-866]

[关键词] 脐血单个核细胞; 缺氧缺血性脑损伤; 凋亡; Bax/Bcl-2; 新生大鼠

Effects of umbilical cord blood mononuclear cells transplantation via lateral ventricle on the neural apoptosis and the expression of Bax and Bcl-2 proteins in neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage

YAN Shao-Zhen, WANG Xiao-Li, WANG Hai-Yu, DONG Peng, ZHAO Yan-Song. Department of Medical Imaging, Weifang Medical University, Weifang, Shandong 261053, China (Wang X-L, Email: wxlpine@163.com)

Abstract: Objective To explore the effects of umbilical cord blood mononuclear cells (UCBMC) transplantation on the neuronal apoptosis and the expression of Bcl-2 and Bax proteins in neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage (HIBD). **Methods** Seven-day-old Sprague-Dawley neonatal rats were randomly divided into normal control (N)+normal saline (NS), HIBD + NS, N+UCBMC, and HIBD + UCBMC groups. HIBD model was prepared using the classical Rice-Vannucci method. Twenty-four hours after HIBD, UCBMC were transplanted in the N+UCBMC and HIBD+UCBMC groups. Seven days after transplantation, NeuN/Cleaved-Caspase-3 double immunofluorescence staining and TUNEL methods were used to observe neural apoptosis in the cortex. The expression levels of Bax and Bcl-2 proteins were examined by Western blot analysis. **Results** There were more NeuN⁺ cleaved Caspase-3⁺DAPI⁺ and TUNEL⁺DAPI⁺ cells in the HIBD+NS group compared with the N+NS and N+UCBMC groups ($P < 0.01$). There were less NeuN⁺ cleaved Caspase-3⁺DAPI⁺ and TUNEL⁺DAPI⁺ cells in the HIBD+UCBMC group compared with the HIBD + NS group ($P < 0.01$). The concentration of Bax protein was higher and that of Bcl-2 proteins was lower in the HIBD+NS group compared with the N+NS and N+UCBMC groups ($P < 0.01$). The concentration of Bax protein in HIBD+UCBMC

[收稿日期] 2016-05-21; [接受日期] 2016-08-08

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81000268); 山东省自然科学基金项目(ZR2014JL049); 山东省医药卫生科技发展计划项目(2014WS0466)。

[作者简介] 闫少珍, 女, 硕士研究生。

[通信作者] 王晓莉, 女, 教授。

group was lower than that in the HIBD+NS group ($P<0.01$). The concentration of Bcl-2 protein was higher compared with the HIBD+NS, N+NS and N+UCBMC groups ($P<0.05$). **Conclusions** UCBMC transplantation via lateral ventricle can upregulate the expression of Bcl-2 protein and down-regulate the expression of Bax protein, thus alleviating brain neural apoptosis in neonatal rats with HIBD. [Chin J Contemp Pediatr, 2016, 18(9): 862-866]

Key words: Umbilical cord blood mononuclear cell; Hypoxic-ischemic brain damage; Apoptosis; Bax/Bcl-2; Neonatal rats

新生儿缺氧缺血性脑损伤 (hypoxic-ischemic brain damage, HIBD) 严重威胁新生儿的生命, 可以导致脑瘫、癫痫、智力低下等严重后遗症^[1]。新生儿 HIBD 的发病机制尚不完全明确, 而凋亡是 HIBD 后期脑神经细胞损伤与功能障碍的主要原因^[2], 因此, 减轻神经细胞的凋亡将有利于新生儿 HIBD 的恢复。研究发现腹腔注射脐血单个核细胞 (umbilical cord blood mononuclear cells, UCBMC) 可降低 HIBD 脑组织神经细胞的活性 Caspase-3 表达^[3], 侧脑室移植 UCBMC 亦可减轻 HIBD, 并可改善大鼠的远期行为学^[4-5], 但 HIBD 新生大鼠侧脑室移植 UCBMC 能否减少神经元的活性 Caspase-3 表达并抑制脑神经元凋亡目前尚不清楚。本研究采用 NeuN (成熟神经元标记物) / 活性 Caspase-3 免疫荧光双标以及 TUNEL 法观察 UCBMC 侧脑室移植对 HIBD 新生大鼠脑组织神经细胞凋亡的影响, 并采用 Western blot 法观察 UCBMC 移植对脑组织 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响, 以探讨 UCBMC 移植治疗新生大鼠 HIBD 的机制, 以期 UCBMC 治疗的临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与设备

人全血单个核细胞分离液 (天津 TBD 公司); 兔抗 Bax、Bcl-2 一抗 (美国 Abcam 公司); 小鼠抗 NeuN 一抗 (美国 Chemicon 公司); 兔抗活性 Caspase-3 一抗 (美国 CST 公司); 荧光防淬灭剂 (含 DAPI, 美国 sigma 公司); 常压氧舱 (武汉七〇一研究所); 大鼠脑立体定位仪 (深圳瑞奥德公司); 5 μ L 微量注射器 (上海生物工程有限公司); 正置荧光显微镜 (日本 OLYMPUS 公司); 石蜡切片机 (英国 Shanton 公司); 电子分析天平 (美国梅特勒公司); 垂直电泳仪、转移电泳仪 (北京六一仪器厂)。

1.2 实验动物及分组

健康 7 d 龄 Sprague-Dawley (SD) 新生大鼠 (购

自山东省中医药大学动物中心) 64 只, 雌雄不限, 体重 11.9~15.2 g, 平均 13.6 ± 1.8 g, 随机分为 4 组: ① 正常对照 (normal, N) + 生理盐水 (normal saline, NS) 组, SD 大鼠生后第 8 天侧脑室注射 2 μ L NS; ② HIBD+NS 组, HIBD 造模 24 h 后侧脑室注射 2 μ L NS; ③ N+UCBMC 组, SD 大鼠生后第 8 天侧脑室注射 2 μ L (3×10^6 个细胞) UCBMC; ④ HIBD+UCBMC 组, HIBD 造模 24 h 后侧脑室注射 2 μ L UCBMC。每组 16 只。

1.3 HIBD 模型的制作

7 d 龄新生大鼠采用经典 Rice-Vannucci 方法^[6]制成 HIBD 模型, 乙醚吸入麻醉, 颈部正中切口, 分离左侧颈总动脉, 电凝笔电凝后缝合皮肤, 并置于 (8.00 ± 0.01) % 低氧舱内缺氧 2 h, 舱内温度控制在 (36 ± 1) $^{\circ}$ C, 湿度为 (70 ± 5) %。

1.4 UCBMC 的采集、分离与移植

经得产妇同意, 取健康足月新生儿脐血约 50 mL, 0.01 mol/L 灭菌磷酸盐缓冲液等体积稀释, 灭菌离心管中先加入单个核细胞分离液, 缓慢加入稀释后的脐带血 (稀释脐血与单个核细胞分离液的体积比约为 2:1), 2000 转/min 离心 20 min, 吸取中间白膜界面层的单个核细胞, 生理盐水洗涤, 制成单个核细胞悬液, 用生理盐水调整细胞浓度至 1.5×10^6 / μ L, 置冰上备用。

HIBD 后 24 h, HIBD+UCBMC 组与 N+UCBMC 组大鼠分别置于大鼠立体定位仪, 坐标: 前后位 (AP) -0.5 mm、中线 (ML) -2 mm、深度 (DV) -2 mm, 左侧侧脑室缓慢注入 (持续 2 min 以上) UCBMC 悬液, 并留针 5 min、拔针 2 min 以上, 每只大鼠注入 2 μ L 脐血单个核细胞。移植后缝合头皮, 复温苏醒后回笼饲养。

1.5 标本的采集

各组大鼠于移植后 7 d 分两部分处死, 一部分 ($n=10$) 心脏灌注后断头取脑, 4% 多聚甲醛后固定过夜, 常规石蜡包埋, 于前囟前 1.0 mm 至前囟后 0.8 mm 处行冠状位非连续切片 (侧脑室平面, 每隔 5 片取 1 片), 制成 4 μ m 厚的石蜡切片, 用

于免疫荧光双标染色及 TUNEL 染色；另一部分 ($n=6$) 大鼠腹腔麻醉后断头，取损伤侧大脑半球的前凶前 1.0 mm 至前凶后 5.0 mm 处脑组织，液氮冷冻，置 -86°C 超低温冰箱保存，用于 Western blot 检测。所有动物无中途死亡，全部纳入实验结果分析。

1.6 NeuN/ 活性 Caspase-3 免疫荧光双标染色

石蜡切片脱蜡至水，热修复抗原， 37°C 正常山羊血清封闭 1 h，弃去血清，分别加入小鼠抗 NeuN 一抗 (1:100, Chemicon, 美国) 与兔活性 Caspase-3 一抗 (1:100, Cell signaling technology, 美国)，湿盒内 4°C 冰箱过夜，弃去一抗，0.01 mol/L 的 PBS 漂洗 3 次，滴加 Cy3 标记的山羊抗大鼠 IgG (1:100, 北京中杉金桥生物试剂有限公司) 与 FITC 标记的山羊抗兔 IgG (1:100, 北京中杉金桥生物试剂有限公司)， 37°C 避光孵育 1 h，DAPI 封片剂封片 (F6057, Sigma, 美国)，正置荧光显微镜 (BX-51, Olympus, 日本) 观察并拍照，计数 NeuN⁺ 活性 Caspase-3⁺DAPI⁺ 细胞 (Olympus 荧光显微镜自带软件 Cellsense 1.6)，每张切片取 5 个视野并计算其平均数。

1.7 TUNEL 染色

石蜡切片常规脱蜡至水，3% H_2O_2 室温孵育 20 min 灭活内源性过氧化物酶，洗涤后加入 0.01 mol/L Tris-HCl 缓冲盐溶液 (TBS) 新鲜稀释的 Proteinase K (1:20)， 37°C 消化 10 min，含 0.1% Triton X-100 的磷酸盐缓冲液洗涤，加入标记缓冲液，湿盒中 37°C 孵育 1 h，TBS 冲洗，加入生物素化地高辛 FITC 抗体 (1:100)， 37°C 孵育 30 min，TBS 清洗后用含 DAPI 的封片剂封片，TUNEL 阳性细胞计数方法同 1.6。

1.8 Western blot 检测脑组织 Bax 与 Bcl-2 蛋白的表达

取脑组织置于液氮研磨，加入全细胞裂解液提取总蛋白，采用考马斯亮蓝染色法进行蛋白定量，取 60 μg 蛋白，10% 的聚丙烯酰胺分离胶分离，电压 300 V 湿转膜 1 h，室温封闭液封闭 1~2 h，分别加入兔抗 Bcl-2 (1:1000)、兔抗 Bax (1:1000)、小鼠抗 GAPDH (1:1000) 一抗， 4°C 孵育过夜。洗膜，加入二抗室温孵育 2 h，采用 ECL 化学发光试剂盒显影，化学发光凝胶成像系统拍照、分析目的蛋白的光密度值，并计算其

与 GAPDH 光密度值的比值。

1.9 统计学分析

采用 SPSS 18.0 统计软件进行统计学处理。计量资料用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，方差齐性资料采用单因素方差分析，组间两两比较采用 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脑组织 NeuN/Caspase-3 免疫荧光双标染色结果

NeuN 是成熟神经元的标记物，N+NS 组与 N+UCBMC 组均可见大量 NeuN⁺ 细胞和少量 NeuN⁺ 活性 Caspase-3⁺DAPI⁺ 细胞，二组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；HIBD+NS 组的 NeuN⁺ 细胞明显减少，NeuN⁺ 活性 Caspase-3⁺DAPI⁺ 细胞显著多于 N+NS 组与 N+UCBMC 组，差异有统计学意义 (均 $P < 0.01$)；HIBD+UCBMC 组可见较多 NeuN⁺ 细胞，NeuN⁺ 活性 Caspase-3⁺DAPI⁺ 细胞数显著少于 HIBD+NS 组 ($P < 0.01$)，但仍多于 N+NS 组与 N+UCBMC 组 (均 $P < 0.01$)。见图 1。

2.2 脑组织 TUNEL/DAPI 染色结果

TUNEL 法是检测细胞凋亡的经典方法。N+NS 组与 N+UCBMC 组仅可见少量 TUNEL⁺DAPI⁺ 细胞，二者差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；HIBD+NS 组可见大量 TUNEL⁺DAPI⁺ 细胞，高于 N+NS 组与 N+UCBMC 组，差异具有统计学意义 (均 $P < 0.01$)；HIBD+UCBMC 组 TUNEL⁺DAPI⁺ 细胞数少于 HIBD+NS 组 ($P < 0.01$)，但高于 N+NS 组 ($P < 0.01$) 和 N+UCBMC 组 ($P < 0.01$)。见图 2。

2.3 Bax 与 Bcl-2 蛋白表达

移植 7 d 后 N+NS 与 N+UCBMC 组的 Bax 与 Bcl-2 蛋白表达，二组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。HIBD+NS 组的 Bax 蛋白表达高于 N+NS ($P < 0.01$) 和 N+UCBMC 组 ($P < 0.01$)，Bcl-2 蛋白表达低于 N+NS ($P < 0.01$) 与 N+UCBMC 组 ($P < 0.01$)；HIBD+UCBMC 组的 Bax 蛋白表达较 HIBD+NS 组显著降低 ($P < 0.01$)，但仍高于 N+NS ($P < 0.01$) 与 N+UCBMC 组 ($P < 0.01$)，其 Bcl-2 蛋白浓度高于 HIBD+NS 组 ($P < 0.01$)、N+NS 组 ($P < 0.05$) 及 N+UCBMC 组 ($P < 0.05$)。见图 3。

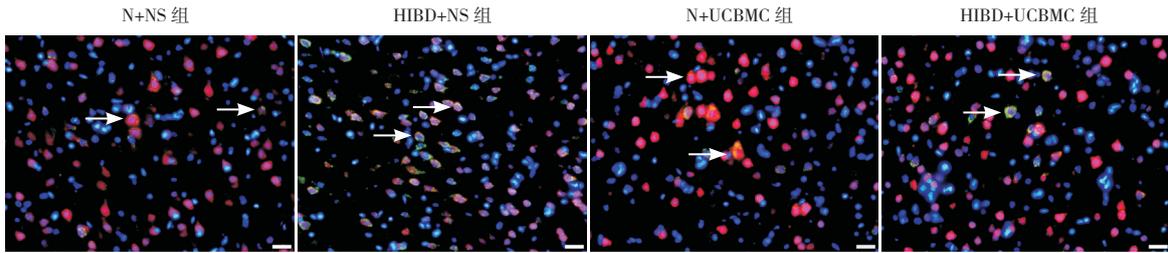


图1 脑组织 NeuN/Caspase-3/DAPI 免疫荧光染色结果 (400×, n=10) NeuN⁺ 细胞, 胞核染为红色; 活性 Caspase-3⁺ 细胞, 胞浆与核周均染为绿色, 细胞核被 DAPI 染色为蓝色。箭头所指为 NeuN⁺ 活性 Caspase-3⁺ DAPI⁺ 细胞, 细胞核为红、绿、蓝 3 种颜色的混合色, 部分胞浆为绿色。N+NS 及 N+UCBMC 组, 仅见少量 NeuN⁺ 活性 Caspase-3⁺ DAPI⁺ 细胞, HIBD+NS 组可见大量 NeuN⁺ 活性 Caspase-3⁺ DAPI⁺ 细胞, HIBD+UCBMC 组的 NeuN⁺ 活性 Caspase-3⁺ DAPI⁺ 细胞明显少于 HIBD+NS 组。

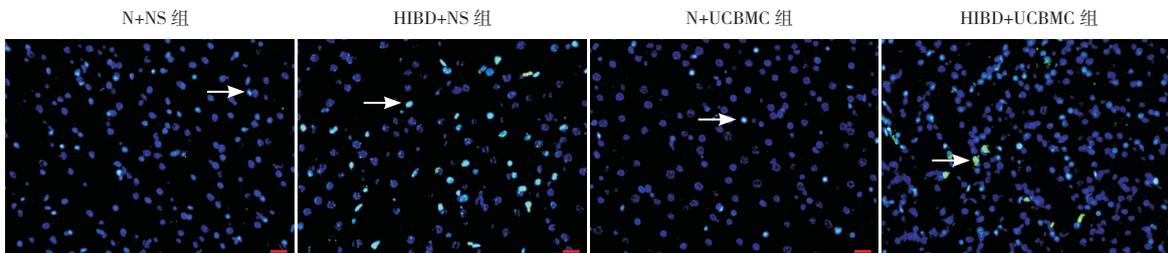


图2 TUNEL/DAPI 免疫荧光染色结果 (400×, n=10) TUNEL⁺ 细胞的胞核染为绿色; DAPI⁺ 细胞的胞核染为蓝色。箭头所指为 TUNEL⁺ DAPI⁺ 细胞 (胞核为绿色与蓝色的混合色)。N+NS 与 N+UCBMC 组, 仅见少量 TUNEL⁺ DAPI⁺ 细胞; HIBD+NS 组可见大量 TUNEL⁺ DAPI⁺ 细胞; HIBD+UCBMC 组的 TUNEL⁺ DAPI⁺ 细胞明显少于 HIBD+NS 组。

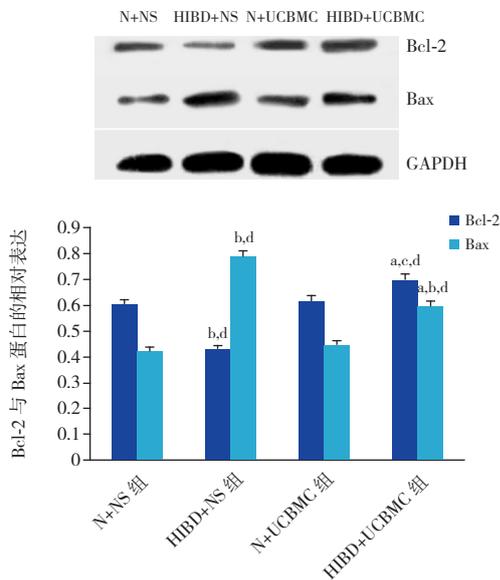


图3 Western blot 检测各组 Bcl-2 与 Bax 蛋白表达 (n=6) a 示与 HIBD+NS 组比较, $P<0.01$; b 示与 N+UCBMC 组比较, $P<0.01$; c 示与 N+UCBMC 组比较, $P<0.05$; d 示与 N+NS 组比较, $P<0.01$ 。

3 讨论

UCBMC 是一种含有多种前体细胞的异质性群

体^[7-8], 具有来源丰富、易于采集及保存、低免疫原性与移植耐受性好等独特优势。研究已表明侧脑室移植 UCBMC 可减轻新生大鼠 HIBD, 其机制可能与减轻神经细胞凋亡有关^[3]。神经细胞主要包括神经元、星形胶质细胞及少突胶质细胞, 其中神经元是神经系统结构与功能的基本单位。目前, UCBMC 移植对神经元凋亡的影响尚不清楚, 本研究在此基础上采用 NeuN/ 活性 Caspase-3 双标观察 UCBMC 移植对神经元凋亡的影响并探讨其相关机制。Caspase-3 又称死亡蛋白, 活性 Caspase-3 在凋亡过程中起重要作用, 本研究采用成熟神经元的标记物 NeuN 与活性 Caspase-3 双重免疫荧光染色, 发现 HIBD 新生大鼠的脑组织 NeuN⁺ 活性 Caspase-3⁺ DAPI⁺ 细胞明显增加, 提示 HIBD 新生大鼠脑组织大量神经元发生凋亡; N+UCBMC 与 N+NS 组脑组织内 NeuN⁺ 活性 Caspase-3⁺ DAPI⁺ 细胞数差异无统计学意义, 提示 UCBMC 并不导致神经元的凋亡; 而 HIBD+UCBMC 组脑组织的 NeuN⁺ 活性 Caspase-3⁺ DAPI⁺ 细胞数少于 HIBD+NS 组, 但仍高于 N+NS 及 N+UCBMC 组, 提示 UCBMC 侧脑室移植可以减轻神经元凋亡, 但其疗效有待于进一步提高。

为了进一步研究 UCBMC 移植对 HIBD 新生大鼠保护作用的机制,本研究采用 TUNEL 法检测 UCBMC 移植对 HIBD 新生大鼠的影响,结果表明 HIBD+NS 组脑组织 TUNEL⁺DAPI⁺ 细胞数高于 N+NS 组,进一步证明细胞凋亡是新生大鼠 HIBD 的重要原因;而 HIBD+UCBMC 组大鼠脑组织 TUNEL⁺DAPI⁺ 细胞数少于 HIBD+NS 组,提示 UCBMC 移植可减轻 HIBD 新生大鼠脑组织神经细胞凋亡,与 NeuN/ 活性 Caspase-3 双重免疫荧光染色结果一致。

细胞凋亡是 HIBD 新生大鼠神经细胞死亡的重要形式,而细胞凋亡受多种基因的调控,其中 Bcl-2 家族与神经细胞凋亡的调控密切相关^[9-10]。Bcl-2 家族成员中, Bcl-2 是重要的凋亡抑制基因之一,可稳定线粒体膜,抑制 Cyto-c 从线粒体向胞浆流动及 Caspase-3 的激活,从而抑制凋亡;而 Bax 是促凋亡基因, Bcl-2 和 Bax 的比例可决定细胞对凋亡信号的敏感性,调节凋亡的发生,即 Bcl-2 蛋白表达占优势时抑制凋亡, Bax 蛋白表达占优势时促进凋亡^[11-12],因此,如果能调控 Bcl-2 家族的抑凋亡基因与促凋亡基因对于凋亡的调控具有重要意义。本研究发现 HIBD 新生大鼠的损伤侧脑组织 Bax 蛋白表达增加,而 Bcl-2 蛋白表达水平较低,而且该侧脑组织的 TUNEL 阳性细胞及神经元活性 Caspase-3 阳性细胞表达增加,提示 HIBD 可通过促进 Bax 蛋白的表达,促进新生大鼠脑内神经元的凋亡;而 HIBD+UCBMC 组 Bcl-2 蛋白高于 HIBD+NS 组、Bax 蛋白表达则低于 HIBD+NS 组,提示 UCBMC 移植可通过促进 Bcl-2 蛋白表达、抑制 Bax 蛋白表达,从而减轻 HIBD 新生大鼠脑内神经细胞的凋亡。但本研究 HIBD+UCBMC 组的脑组织神经细胞凋亡仍高于 N+NS 及 N+UCBMC 组,是否可能通过增加 UCBMC 移植的细胞数量或者次数以进一步调控 Bcl-2 和 Bax,进而进一步减轻 HIBD 脑组织神经元的凋亡,有待于进一步研究。有报道人脐带血细胞移植治疗大鼠缺血性脑卒中的疗效与移植细胞数相关^[13]。UCBMC 移植的临床应用还存在许多有待解决的问题,首先要达到治疗效果所需的细胞数量尚无明确的标准,亦尚未得到临床验证。此外,新生儿 HIBD 为弥漫性脑损伤,常需多点多次立体定位注射,可能因此造成新的损伤。相信随着移植技术的改进,细胞移植治疗的深入研究,有望促进 UCBMC 移植的临床转换。

总之, HIBD 新生大鼠 UCBMC 侧脑室移植可通过上调 Bcl-2 蛋白、下调 Bax 蛋白,减轻神经元及神经细胞的凋亡,从而减轻脑损伤。

[参 考 文 献]

- [1] Gill MB, Bockhorst K, Narayana P, et al. Bax shuttling after neonatal hypoxia-ischemia: hyperoxia effects[J]. *J Neurosci Res*, 2008, 86(16): 3584-3604.
- [2] Northington FJ, Chavez-Valdez R, Martin LJ. Neuronal cell death in neonatal hypoxia-ischemia[J]. *Ann Neurol*, 2011, 69(5): 743-758.
- [3] Rosenkranz K, Kumbruch S, Tenbusch M, et al. Transplantation of human umbilical cord blood cells mediated beneficial effects on apoptosis, angiogenesis and neuronal survival after hypoxic-ischemic brain injury in rats[J]. *Cell Tissue Res*, 2012, 348(3): 429-438.
- [4] Wang XL, Zhao YS, Hu MY, et al. Umbilical cord blood cells regulate endogenous neural stem cell proliferation via hedgehog signaling in hypoxic ischemic neonatal rats[J]. *Brain Res*, 2013, 1518: 26-35.
- [5] 胡明英, 邓进巍, 王晓莉. 脐血单个核细胞移植后缺氧缺血性脑损伤新生鼠组织学及远期行为学的改善[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(34): 6648-6652.
- [6] Rice JE 3rd, 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] El-Badri NS, Hakki A, Saporta S, et al. Cord blood mesenchymal stem cells: Potential use in neurological disorders[J]. *Stem Cells Dev*, 2006, 15(4): 497-506.
- [8] Buzańska L, Jurga M, Stachowiak EK, et al. Neural stem-like cell line derived from a nonhematopoietic population of human umbilical cord blood[J]. *Stem Cells Dev*, 2006, 15(3): 391-406.
- [9] Zhang H, Li Q, Li Z, et al. The protection of Bcl-2 overexpression on rat cortical neuronal injury caused by analogous ischemia/reperfusion in vitro[J]. *Neurosci Res*, 2008, 62(2): 140-146.
- [10] Liu W, Yue W, Wu R. Overexpression of Bcl-2 promotes survival and differentiation of neuroepithelial stem cells after transplantation into rat aganglionic colon[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2013, 4(1): 7.
- [11] Wang YC, Feng GY, Xia QJ, et al. Knockdown of α -synuclein in cerebral cortex improves neural behavior associated with apoptotic inhibition and neurotrophin expression in spinal cord transected rats[J]. *Apoptosis*, 2016, 21(4): 404-420.
- [12] Yin F, Guo L, Meng CY, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells exerts anti-apoptotic effects in adult rats after spinal cord ischemia-reperfusion injury[J]. *Brain Res*, 2014, 1561: 1-10.
- [13] Vendrame M, Cassady J, Newcomb J, et al. Infusion of human umbilical cord blood cells in a rat model of stroke dose-dependently rescues behavioral deficits and reduces infarct volume[J]. *Stroke*, 2004, 35(10): 2390-2395.

(本文编辑: 俞燕)