

不同途径移植 bFGF 修饰骨髓间充质干细胞 治疗重型脑外伤的对比研究

刘 阳¹, 王冬梅¹, 张 海¹, 曹 辉¹, 刘卫平²

(1. 绵阳市第三人民医院神经外科, 四川 绵阳 621000;
2. 第四军医大学西京医院神经外科, 陕西 西安 710032)

【摘要】 目的 比较不同途径移植 bFGF 修饰骨髓间充质干细胞治疗重型脑外伤的疗效。**方法** 48 只成年 SD 大鼠随机分为 3 个治疗组和 1 个对照组, 脑外伤后经尾静脉组(A 组)、脑室和尾静脉联合组(B 组)、脑室注射组(C 组)移植 bFGF 修饰 BMSCs。采用行为测试试验评分观察肢体功能恢复, 采用免疫组化法观察并比较第 3、7、14 天大鼠海马及损伤区域 BrdU 阳性细胞表达情况。**结果** 3 个治疗组前肢放置试验和平衡试验评分均优于对照组, 3 个治疗组前肢放置试验脑室注射组优于联合治疗组和尾静脉注射组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 3 个治疗组平衡试验脑室注射组优于联合治疗组和尾静脉注射组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 3 个治疗组中大鼠海马第 3、7、14 天出现的 BrdU 阳性细胞数 A 组为(329.42±25.34)、(454.23±17.88)、(303.38±22.14), B 组为(370.08±10.53)、(499.32±12.79)、(367.41±20.06), C 组为(451.47±22.21)、(585.36±29.54)、(431.06±20.14)。损伤区域第 3、7、14 天出现的 BrdU 阳性细胞数 A 组为(269.17±5.34)、(401.08±12.02)、(233.45±35.42), B 组为(279.00±10.53)、(408.08±8.05)、(246.12±31.21), C 组为(391.46±19.87)、(475.75±20.64)、(370.21±26.32), 均明显多于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 脑室注射组多于联合治疗组、尾静脉注射组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 三种移植方式均可促进肢体功能的恢复, 但经脑室移植治疗效果最为明显。

【关键词】 骨髓间充质干细胞; 重型脑外伤; bFGF; 途径

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2015)03-0322-05

Comparative study on bFGF-transfected BMSCs by different pathways for treating heavy traumatic brain injury. LIU Yang¹, WANG Dong-mei¹, ZHANG Hai¹, CAO Hui¹, LIU Wei-ping². 1. Department of Neurosurgery, the Third People's Hospital of Mianyang, Mianyang 621000, Sichuan, CHINA; 2. Department of Neurosurgery, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, CHINA

【Abstract】 Objective To compare the effect of bFGF-transfected bone mesenchymal stem cells (BMSCs) by different pathways for treating heavy traumatic brain injury (TBI). **Methods** Forty-eight adult SD rats were divided into 3 treatment groups and the control group (group D) at random. The injection of bFGF-transfected BMSCs was given to rats after TBI via the tail vein (tail vein treatment group, group A), tail vein and ventricle (combination treatment group, group B), ventricle (ventricle treatment group, group C). The restoration of limbs function was observed by behavior test grading. The expression of BrdU-labeled cells were counted and compared in the hippocampus and damage region by immunohistochemical method 3 d, 7 d, 14 d after TBI. **Results** Both of the grading of forelimb placing test and beam balance test examines in the 3 treatment groups (group A, B, C) were better than those in the control group. The grading of forelimb placing test in group C were significantly better than that in group A or group B ($P < 0.05$). The grading of beam balance test in group C were significantly better than in group A or group B ($P < 0.05$). BrdU-labeled cells in the hippocampus 3 d, 7 d, 14 d after TBI were respectively (329.42±25.34), (454.23±17.88), (303.38±22.14) in group A, (370.08±10.53), (499.32±12.79), (367.41±20.06) in group B, and (451.47±22.21), (585.36±29.54), (431.06±20.14) in group C. BrdU-labeled cells in the damage region 3 d, 7 d, 14 d after TBI were respectively (269.17±5.34), (401.08±12.02), (233.45±35.42) in group A, (279.00±10.53), (408.08±8.05), (246.12±31.21) in group B, (391.46±19.87), (475.75±20.64), (370.21±26.32) in group C. Compared with the control group, BrdU-labeled cells in group A, B and C increased significantly ($P < 0.05$), and that in group C were significantly better than group A or group B ($P < 0.05$). **Conclusion** Restoration of limbs function after TBI can be promoted by the three pathways (tail vein, tail vein and ventricle, ventricle). However, this effect can be improved most significantly by the ventricle pathway.

【Key words】 Bone mesenchymal stem cells (BMSC); Severe traumatic brain injury; bFGF; Pathway

基金项目: 四川省卫生厅科学研究项目(编号: 2010-100301、2011-110547、2012-120319、2013-130454); 绵阳市卫生局科学研究项目(编号: 201102); 绵阳市应用技术与开发资金项目(编号: 13S001-9)

通讯作者: 刘 阳。E-mail: ly10012002@163.com

重型颅脑外伤患者的神经废损发生率较高,临床治疗中采取各类康复措施疗效也欠佳,究其主要原因是因为神经细胞的再生极为困难^[1]。目前的研究结果已证实,将 BMSCs 在体外扩增后移植到体内,可对多种组织损伤进行修复^[2]。但移植途径多种多样,采取何种方式将干细胞移植入脑能产生最好的治疗效果,目前罕有研究。本实验将 bFGF 修饰后骨髓基质干细胞移植到重型脑外伤大鼠脑内以比较其疗效。

1 材料与方法

1.1 主要试剂 抗 5-溴脱氧嘧啶尿苷抗体-3 (BrdU Ab-3) (NeoMarkers 公司), DAB 显色剂 (Santa 公司), 5-BrdU (Sigma 公司), 鼠源性神经生长因子 (Nerve growth factor, NGF) (厦门北大之路生物工程公司), 鼠源性表皮生长因子 (Epidermal growth factor, EGF) (Abcam 公司), 过氧化物酶标记的链霉卵白素染色试剂盒。

1.2 动物分组 在第四军医大学实验动物中心购买 48 只成年 SD 大鼠,雌雄不限,体重为 250~300 g,随机分组,即治疗组 A、B、C 组和对照组 D 组,每组 12 只,每组再分为 3 d、7 d、14 d 三个亚组,每个亚组 4 只。

1.3 脑外伤模型制备及细胞移植 参照改良 Feeney 氏法^[3]自由落体撞击来制作创伤性脑损伤模型。分别建立尾静脉注射组(A组)、脑室和尾静脉联合注射组(B组)、脑室注射组(C组)、D组为阴性对照组。将 bFGF 修饰 BMSCs 使用 BrdU 标记培养,流式细胞技术示 BrdU 标记率>95%,重悬调整其浓度 1×10^5 个/ μl 。大鼠致伤 24 h 后麻醉,将 B 组和 C 组固定于脑立体定位仪中,以 Bregma 点向后 1.0 mm、中线旁开 1.5 mm 处为穿刺点,以微量加样器垂直缓慢进针 3.5~4.0 mm,向脑室内注入干细胞。A 组从尾静脉注射基因修饰后干细胞,阴性对照组从尾静脉注入生理盐水。B 组在脑室和尾静脉各注入半量干细胞。

1.4 大鼠行为测试试验及评分 进行行为学实

验时间点选择在注射细胞后第 1、3、5、7、9、11、13 天。动物行为测试评分标准以 Liu 等^[4]的研究为参照,功能损伤越重,得分越高,前肢放置试验得分 0~10 分,平衡试验得分 1~7 分。

1.5 取材及计数 分别在造模后第 3、7、14 天的相同时点,10%水合氯醛麻醉大鼠,在大鼠左心室用 4%多聚甲醛 500 ml 灌注后,断头取脑,置于 4%多聚甲醛中固定 24 h,选择含侧脑室、海马的脑组织石蜡包埋切片。BrdU 阳性细胞采用免疫组化 SP 法判断:细胞内见黄褐色颗粒即为阳性。光镜下分别计数双侧海马、损伤区域和对侧的不同部位阳性细胞数,各部位阳性细胞数之和计为阳性细胞总数。

1.6 统计学方法 应用 SPSS15.0 软件进行数据分析,计量数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,成组设计的两均数比较采用 *t* 检验,多组间比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BrdU 计数结果 BrdU 计数结果显示,不同途径移植后在第 3、7、14 天 A、B、C 组较均 D 组显著增多。A、B、C 组同侧海马 BrdU 阳性细胞均显著多于对侧,见图 1 和表 1。C 组同侧、对侧海马 BrdU 阳性细胞数较 A、B 组显著增多;各时间点 A、B 组 BrdU 阳性细胞数之间无明显差异。A、B、C 组损伤区域 BrdU 阳性细胞均显著多于对侧,见图 1 和表 2。C 组损伤侧、对侧 BrdU 阳性细胞数较 A、B 组显著增多;各时间点 A、B 组 BrdU 阳性细胞数之间差异无统计学意义。

2.2 行为测试结果 第 1、3 天前肢放置试验各组评分差异无统计学意义,从第 5 天起各组评分比较差异均有统计学意义,见表 3。A、B、C 组评分优于 D 组;各时间点 A、B 组差异无统计学意义;C 组评分优于 A、B 组;平衡试验第 1 天各组评分差异无统计学意义,从第 3 天起各组评分比较差异均有统计学意义,见表 4。A、B、C 组评分优于 D 组;各时间点 A、B 组差异无统计学意义。C 组评分优于 A、B 组。

表 1 不同途径各组海马和对侧 BrdU 阳性细胞数的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	损伤侧海马			损伤对侧海马		
	3 d	7 d	14 d	3 d	7 d	14 d
A 组	329.42 \pm 25.34 ^{bc}	454.23 \pm 17.88 ^{bc}	303.38 \pm 22.14 ^{bc}	240.15 \pm 10.12 ^{bc}	301.15 \pm 14.57 ^{bc}	214.51 \pm 10.31 ^{bc}
B 组	370.08 \pm 10.53 ^a	499.32 \pm 12.79 ^a	367.41 \pm 20.06 ^a	229.38 \pm 17.36 ^a	355.17 \pm 15.36 ^a	207.54 \pm 11.28 ^a
C 组	451.47 \pm 22.21 ^{ab}	585.36 \pm 29.54 ^{ab}	431.06 \pm 20.14 ^{ab}	310.41 \pm 16.77 ^{ab}	432.53 \pm 16.75 ^{ab}	320.17 \pm 10.16 ^{ab}
D 组	0	0	0	0	0	0
F 值	365.42	487.65	363.21	274.25	317.84	263.12
P 值	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

注:^a与 D 组比较, $P < 0.05$;^bC 组分别与 A、B 组比较, $P < 0.05$;^cA 组与 B 组比较, $P > 0.05$ 。

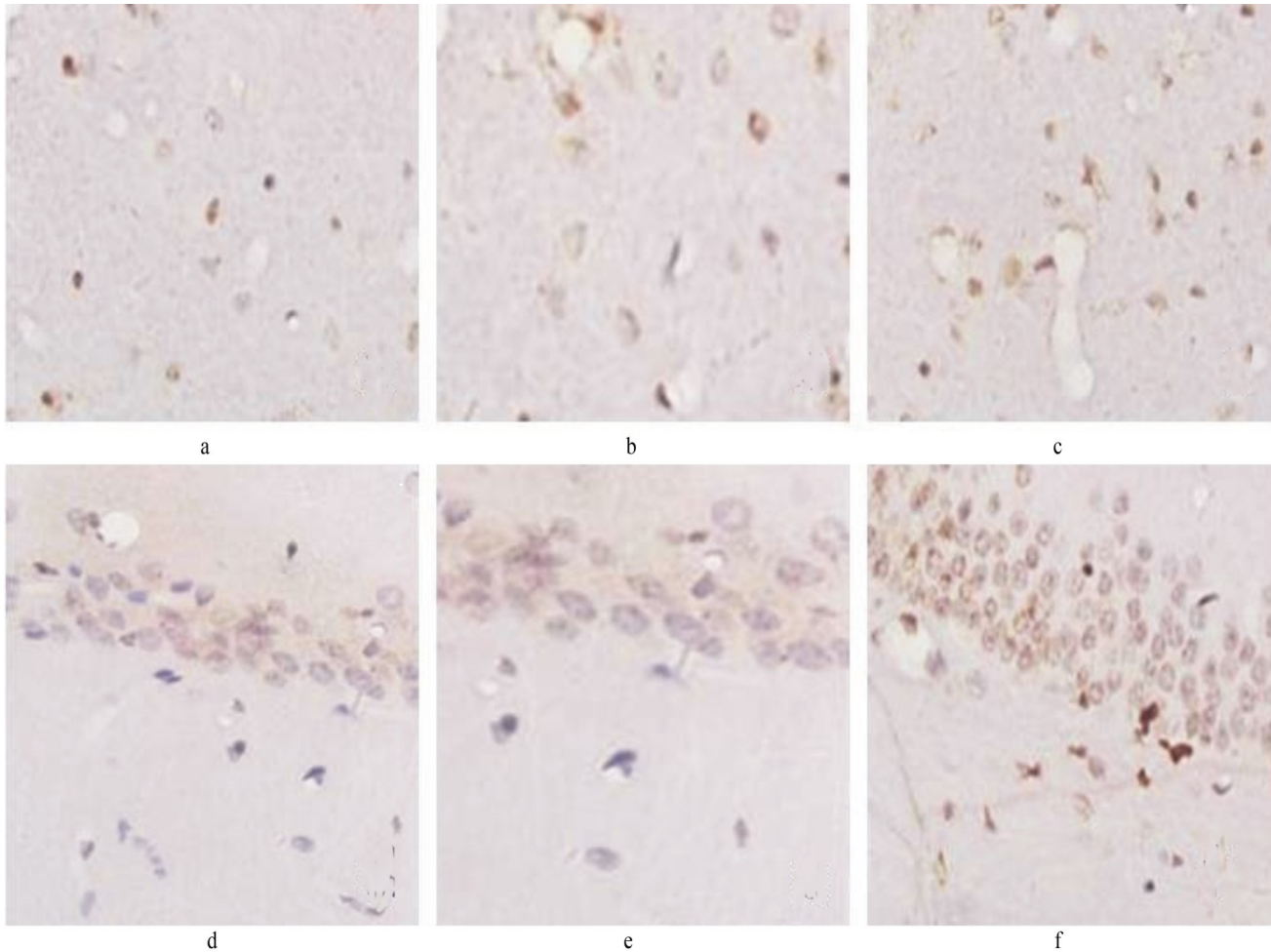


图1 BFGF修饰骨髓间充质干细胞在脑组织中的免疫组化表达(SP法,×400)

注:a,经尾静脉移植干细胞在脑皮质的表达;b,经联合途径移植干细胞在脑皮质的表达;c,经脑室移植干细胞在脑皮质的表达;d,经尾静脉移植干细胞在海马的表达;e,经联合途径移植干细胞在海马的表达;f,经脑室移植干细胞在海马的表达。

表2 不同途径各组损伤区域和对侧BrdU阳性细胞数的比较(̄x±s)

组别	损伤区域			对侧区域		
	3 d	7 d	14 d	3 d	7 d	14 d
A组	269.17±5.34 ^{ac}	401.08±12.02 ^{ac}	233.45±35.42 ^{ac}	142.01±8.44 ^{ac}	221.22±24.14 ^{ac}	103.55±15.23 ^{ac}
B组	279.00±10.53 ^a	408.08±8.05 ^a	246.12±31.21 ^a	134.20±16.12 ^a	235.31±21.55 ^a	109.38±14.99 ^a
C组	391.46±19.87 ^{ab}	475.75±20.64 ^{ab}	370.21±26.32 ^{ab}	251.34±14.54 ^{ab}	372.80±11.45 ^{ab}	219.84±11.87 ^{ab}
D组	0	0	0	0	0	0
F值	302.54	378.36	199.35	364.41	212.37	258.54
P值	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

注:^a与D组比较,P<0.05;^bC组分别与A、B组比较,P<0.05;^cA组与B组比较,P>0.05。

表3 不同移植途径对大鼠脑外伤后前肢放置实验评分的影响(̄x±s,分)

组别	前肢放置实验评分							
	1 d	1 d	3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	13 d
A组	8.46±0.21	8.46±0.21	8.09±0.68	7.40±0.52 ^{ac}	6.70±1.11 ^{ac}	5.75±0.62 ^{ac}	4.67±0.65 ^{ac}	3.50±1.17 ^{ac}
B组	7.85±0.54	7.85±0.54	8.05±0.61	7.15±0.80 ^a	6.01±0.88 ^a	5.58±0.79 ^a	4.75±0.86 ^a	3.25±0.62 ^a
C组	8.07±0.75	8.07±0.75	7.87±0.64	6.44±1.24 ^{ab}	5.28±0.58 ^{ab}	4.50±0.80 ^{ab}	3.58±0.67 ^{ab}	2.42±0.79 ^{ab}
D组	8.87±0.68	8.87±0.68	8.45±0.70	8.11±0.52	7.91±0.99	7.66±1.23	6.92±1.08	6.42±1.08
F值	0.65	0.65	2.59	8.40	17.44	19.53	21.52	20.32
P值	0.57	0.57	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

注:^a与D组比较,P<0.05;^bC组分别与A、B组比较,P<0.05;^cA组与B组比较,P>0.05。

表 4 不同移植途径对大鼠脑外伤后平衡实验评分的影响($\bar{x}\pm s$,分)

组别	平衡实验评分						
	1 d	3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	13 d
A 组	6.62±0.41	5.70±0.64 ^{bc}	4.74±0.41 ^{bc}	4.46±0.43 ^{bc}	3.54±0.74 ^{bc}	2.54±0.64 ^{bc}	1.90±0.54 ^{bc}
B 组	6.88±0.22	5.44±0.45 ^a	4.81±0.54 ^a	4.12±0.52 ^a	3.60±0.61 ^a	2.71±0.65 ^a	2.05±0.62 ^a
C 组	6.14±0.85	5.01±0.45 ^{ab}	4.22±0.55 ^{ab}	3.51±0.54 ^{ab}	2.90±0.24 ^{ab}	2.01±0.25 ^{ab}	1.43±0.52 ^{ab}
D 组	6.70±0.67	5.73±0.57	5.42±0.53	5.27±0.35	4.24±0.64	3.44±0.52	1.93±0.65
F 值	1.06	6.08	12.42	20.75	9.35	12.34	9.42
P 值	0.37	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

注:^a与D组比较, $P<0.05$;^bC组分别与A、B组比较, $P<0.05$;^cA组与B组比较, $P>0.05$ 。

3 讨论

骨髓间充质干细胞移植治疗的途径^[5]通常有损伤局部直接移植、双侧脑室移植、动脉或静脉血管移植、腹腔移植等几种。经不同的途径移植干细胞,干细胞在体内分布的范围不同,而且在各部位的分布含量也不一样。有学者发现经静脉移植骨髓间充质干细胞后少有并发症,组织受侵袭损伤轻^[6],但这种途径中进入脑组织的细胞较少,绝大多数干细胞分布在骨髓、肝、脾脏等处^[7],分析其原因血液内代谢因素可能影响干细胞分布或者是干细胞穿透血脑屏障的数量有限从而导致差异性治疗效果^[8]。也有学者在将干细胞通过脑室途径治疗大鼠大脑中动脉闭塞模型,可见除缺血部位外双侧半球均有标记的移植细胞,治疗效果明显^[9-10];此外当干细胞进入四脑室或蛛网膜下腔后,即可在脊髓或脑内发现大量干细胞^[11-12]。这些研究均说明由于干细胞具有随脑脊液脑内播散的天然优势,当颅内病灶破坏血脑屏障后,使得干细胞更易凭借其天然的优势趋向病灶,不至于在外周循环中丢失掉大量细胞。本实验也证实经脑室途径移植的干细胞在脑损伤区域或海马中分布得更多,相比而言,经静脉途径的则明显减少。而且,经脑室途径移植组神经功能较经静脉途径的实验组恢复的更快更好。那么究竟静脉和脑室联合移植途径的移植效果是否优于单独经脑室移植途径呢?我们发现经脑室移植治疗组与联合途径移植治疗组比较:前肢放置试验和平衡试验得分结果所反映的行为功能明显改善,而损伤区域标记干细胞明显增加,损伤病灶明显减小。BFGF修饰BMSCs在脑内有向损伤部位迁移的趋势,在脑室移植治疗组中的骨髓间充质干细胞分布在损伤区域和内源性干细胞中心的数量较多,而且分化为神经元的比例高于其他组。分析原因可能是因为在使用同等剂量移植的前提下,联合移植组由于骨髓间充质干细胞有效治疗剂量的分散,使进入损伤区域的有效干细胞减少,从而导致治疗效果并不理想。

目前对骨髓间充质干细胞的趋向机制很不清晰,可能与病灶局部环境,自分泌或旁分泌产生的因子、代谢产物,外源性干细胞的成熟度,信号传导途径等相关。国外有学者发现在内源性神经干细胞产生区域:

病灶周围、脑室周围以及海马、下丘脑等处常有干细胞特异性的靶向分布,而在脑组织的其他部分罕有,这说明存在某种机制诱导外源性干细胞沿特定的路线迁移到这些区域,也许类似炎症细胞的迁移机制^[13-14],而未分布的区域可能有对外源性干细胞特殊的拒绝机制^[15]。本实验中也发现移植的干细胞在损伤区域、海马等内源性干细胞发生中心有显著聚集,而在非损伤区域并不是完全没有外源性干细胞分布,只是数量相对较少。曾有报道^[16]外源性干细胞会迁移聚集至病灶的新生血管处,另一些研究未发现病灶内部血管处有明显的干细胞分布^[17],他们认为经脑室移植的干细胞在病灶外周或脑组织的血管周围分布较多,未发现病灶内部的血管有明显的干细胞分布。两种结果的不同可能是由于实验方式差异造成,也有可能是循环中的干细胞较少参与血管的构建^[17]。而本实验中发现骨髓间充质干细胞在病灶的新生血管处较多见,可能与骨髓间充质干细胞已经过bFGF修饰,bFGF可促进血管再生有关,因此在bFGF基因修饰的干细胞迁移途径上可见到新生的血管。

参考文献

- [1] Irimia A, Wang B, Aylward SR, et al. Neuroimaging of structural pathology and connectomics in traumatic brain injury: Toward personalized outcome prediction [J]. Neuroimage Clin, 2012, 1(1): 1-17.
- [2] Yuan S, Jiang T, Zheng R, et al. Effect of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation on acute hepatic failure in rats [J]. Exp Ther Med, 2014, 8(4): 1150-1158.
- [3] Feeney DM, Boyeson MG, Linn RT, et al. Responses to cortical injury: I. Methodology and local effects of contusions in the rat [J]. Brain Res, 1981, 211: 67-77.
- [4] Liu Y, Yi XC, Guo G, et al. Basic fibroblast growth factor increases the transplantation-mediated therapeutic effect of bone mesenchymal stem cells following traumatic brain injury [J]. Mol Med Rep, 2014, 9(1): 333-339.
- [5] 刘文鹏, 徐如祥. 干细胞移植治疗脑损伤的方法学研究进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2005, 32(4): 380-383.
- [6] Song Q, Xu R, Zhang Q, et al. Therapeutic effect of transplanting bone mesenchymal stem cells on the hind limbs' motor function of rats with acute spinal cord injury [J]. Int J Clin Exp Med, 2014, 7(1): 262-267.
- [7] Wang L, Lin Z, Shao B, et al. Therapeutic applications of bone marrow-derived stem cells in ischemic stroke [J]. Neurol Res, 2013, 35(5): 470-478.

热化联合对肺癌患者 A549 细胞生长、c-Jun N-末端激酶磷酸化及热休克蛋白 70 表达的影响

吴海乔, 田 甜, 胡君程, 林 蓁

(中国人民解放军第 174 医院病理科, 福建 厦门 361000)

【摘要】 目的 观察热化联合对肺癌患者 A549 细胞生长的影响及机制探讨。方法 对 A549 细胞分别进行单独热疗、单独化疗, 热化联合干预及热化联合并 SP600125 干预, 同时选取未做任何处理的 A549 细胞作为对照组。观察各组细胞增殖率、细胞侵袭力的变化。同时采用蛋白免疫印记法(Western Bolt)检测 JNK 磷酸化以及热休克蛋白 70 (HSP70) 的表达。结果 热化联合组的 A549 细胞增殖率明显低于单独热疗、单独化疗和热化联合并 SP600125 组($P<0.05$)。热化联合组 JNK 磷酸化表达明显高于对照组及单独化疗组($P<0.05$), 热化联合组 HSP70 表达明显低于单独热疗组($P<0.05$)。热化联合干预下, p-JNK 表达水平出现上升, 与对照组、单独热疗组和单独化疗组相比, 差异均具有统计学意义($P<0.05$); 热化联合并 SP600125 组的 p-JNK 的表达水平较热化联合组显著下降($P<0.05$)。结论 热化联合抑制 A549 细胞增殖的效果优于单独热疗或单独化疗, 作用机制可能与激活 JNK 信号通路或抑制 HSP70 表达有关。

【关键词】 热化; A549 细胞; c-Jun N-末端激酶磷酸化; 热休克蛋白 70

【中图分类号】 R734.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2013)03-0326-03

Influence of thermalization on A549 cells growth, c-Jun N-terminal kinase phosphorylation and expression of heat shock protein 70 in patients with lung cancer. WU Hai-qiao, TIAN Tian, HU Jun-cheng, LIN Zhen. Department of Pathology, the 174th Hospital of Chinese People's Liberation Army, Xiamen 361000, Fujian, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the effect of thermalization on A549 cells growth in patients with lung cancer and its mechanism. **Methods** A549 cells were given thermotherapy alone (group A), chemotherapy alone (group B), and thermotherapy combined with chemotherapy (group C), thermotherapy combined with chemotherapy and SP600125 intervention (group D). Untreated A549 cells were selected as the control group. The changes of cell invasion, proliferation rate of the cells in each group were observed. Phosphorylated JNK and expression of heat shock protein 70 (HSP70) were detected by Western blot. **Results** A549 cell proliferation rate of group C was significantly lower than that of group A, group B and group D ($P<0.05$). The expression of group C was significantly higher than that of control group and group B ($P<0.05$), and the expression of HSP70 in group C was significantly lower than that in group A ($P<0.05$). In group C, the expression level of p-JNK increased, compared with the control group, group A and group B, with statistically significant difference ($P<0.05$). In group D, the expression level of p-JNK decreased significantly compared with group C ($P<0.05$). **Conclusion** Thermotherapy combined with chemotherapy had better effects in inhibiting proliferation of A549 cells than thermotherapy or chemotherapy alone. The mechanism may be related to the activation of JNK signal pathway or inhibiting expression of HSP70.

【Key words】 Thermotherapy; A549 cell; c-Jun N-terminal kinase phosphorylation; Heat shock protein 70

通讯作者: 吴海乔. E-mail: 1589725541@qq.com

[8] Amar AP, Zlokovic BV, Apuzzo ML. Endovascular restorative neurosurgery: a novel concept for molecular and cellular therapy of the nervous system [J]. Neurosurgery, 2003, 52(2): 402-412.

[9] Chen J, Venkat P, Zacharek A, et al. Neurorestorative therapy for stroke [J]. Front Hum Neurosci, 2014, 8: 382.

[10] Liu X, Ye R, Yan T, et al. Cell based therapies for ischemic stroke: from basic science to bedside [J]. Prog Neurobiol, 2014, 115: 92-115.

[11] Liu Y, Zhou Y, Zhang C, et al. Optimal time for subarachnoid transplantation of neural progenitor cells in the treatment of contusive spinal cord injury [J]. Neural Regen Res, 2013, 8(5): 389-396.

[12] Pandamooz S, Naji M, Alinezhad F, et al. The influence of cerebrospinal fluid on epidermal neural crest stem cells may pave the path for cell-based therapy [J]. Stem Cell Res Ther, 2013, 4(4): 84.

[13] 陈 鹏, 张 波, 张连阳. 间充质干细胞迁移的研究进展[J/D]. 中华临床医师杂志(电子版), 2012, 6(4): 977-979.

[14] Dailey T, Metcalf C, Mosley YI, et al. An Update on Translating Stem Cell Therapy for Stroke from Bench to Bedside [J]. J Clin Med, 2013, 2(4): 220-241.

[15] Rakic P. Neurobiology discriminating migrations [J]. Nature, 1999, 400(6742): 315-316.

[16] Arbab AS. Activation of alternative pathways of angiogenesis and involvement of stem cells following anti-angiogenesis treatment in glioma [J]. Histol Histopathol, 2012, 27(5): 549-557.

[17] Machein MR, Renninger S, de Lima-Hahn E, et al. Minor contribution of bone marrow-derived endothelial progenitors to the vascularization of murine gliomas [J]. Brain Pathol, 2003, 13(4): 582-597.

(收稿日期: 2014-07-14)