

## • 专题 •

## 骨髓基质细胞体外分化移植对局灶脑缺血大鼠分子表达及行为的影响

王春雪 刘艳芳 毛淑静 梁德君 梁宪红 王拥军 万虹 刘丽萍 历俊华 翟晶

[摘要] 目的 观察大鼠骨髓基质细胞分化为内皮细胞后静脉移植治疗大鼠永久大脑中动脉闭塞模型(MCAO)后缺血脑血管内皮细胞生长因子(VEGF)及其受体 FLK-1 的表达以及动物行为学改变。方法 利用 400 ng/ml 重组人粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(rhGM-CSF)在体外诱导骨髓基质细胞分化为内皮细胞。线栓法制作永久 SD 大鼠 MCAO 模型( $n=45$ ),24 h 后细胞移植组( $n=15$ )舌静脉注射  $3 \times 10^6$  分化后的内皮细胞,对照组 1( $n=15$ )注射等量 PBS,对照组 2( $n=15$ )血管闭塞后不予任何处理。在细胞移植前及移植后 1、3、5、7、14 d 分别采用姿势反射实验、肢体不对称应用实验和角落实验观察大鼠动物行为学评分的变化,并通过免疫组化染色方法观察缺血脑组织血管内皮细胞生长因子(VEGF)及其受体 FLK-1 的表达。结果 细胞移植组动物行为学评分优于对照组 1、2,在移植后第 7 天和第 14 天较两个对照组有显著性差异( $P<0.05$ );各组缺血侧脑组织缺血周边和皮层 VEGF、FLK-1 阳性细胞较非缺血侧增多( $P<0.05$ ),其中以细胞移植组最明显( $P<0.05$ );VEGF 主要表达在神经元、神经胶质细胞和部分内皮细胞,FLK-1 主要表达在内皮细胞和部分神经元、神经胶质细胞;细胞移植组缺血侧毛细血管增生较对照组多( $P<0.05$ )。结论 骨髓基质细胞体外诱导分化后的内皮细胞静脉移植可以改善大鼠局灶脑缺血的神经功能;内皮细胞移植后可促进缺血脑组织 VEGF、FLK-1 的表达;动物神经功能的改善机制可能与 VEGF、FLK-1 的表达增加、内皮细胞及毛细血管增殖有关。

[关键词] 骨髓基质细胞;内皮细胞;脑缺血;行为;血管内皮细胞生长因子(VEGF);FLK-1

**Intravenous administration of rat bone marrow derived endothelial cells in rats after stroke** WANG Chun-xue, LUI Yan-fang, MAO Shu-jing, et al. Neurology Department of Beijing Tiantan Hospital, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100050, China

**[Abstract]** **Objective** To observe the therapeutic benefit of administration of endothelial cells derived from rat bone marrow cells in ischemic stroke rats and to explore the related mechanism. **Methods** Prepared endothelial cells from bone marrow stromal cells (BMSC) of rats, which were multiplied and differentiated in the medium with 400 ng/ml rhGM-CSF in vivo. Rats were subjected to permanent cerebral middle artery occlusion (MCAO) models ( $n=45$ ). Injected intravenously via tongue vein with  $3 \times 10^6$  endothelial cells 24 h after stroke for test groups ( $n=15$ ); injected same amount PBS for control group 1 ( $n=15$ ); control groups without any intervention after stroke ( $n=15$ ). Neurologic functional behaviour tests (postural reflex test, limb use asymmetrical test and corner test) were performed before transplantation and 1, 3, 5, 7, 14 d after stroke. Meanwhile, immunohistochemistry staining was used to identify for vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor FLK-1 expression in ischemic brain tissue. **Results** Significant recovery of neurological function was detected in rats treated with endothelial cells on the 7th day and 14th day after stroke, compared with control group 1 and group 2 ( $P<0.05$ ); The number of positive cells of VEGF, FLK-1 were significant more in the peris ischemic tissue and ipsilateral cortex, compared with non-ischemic hemisphere. The maximum number of positive cells was in the test group which was treated with endothelial cells ( $P<0.05$ ); VEGF was mainly expressed at neurons, glial cells and part of endothelial cells; FLK-1 was mainly expressed at endothelial cells and part of neurons and glial cells; capillary hyperplasia was demonstrated more at the ischemic hemisphere in the rats treated with endothelial cells, compared with control group 1 or 2. **Conclusion** Endothelial cells derived from bone marrow cells in rats could improve neurological outcome in rats with ischemic stroke. The effect starts to be significant on the 7th day after transplantation and it shows more significant effect on the 14th day. Endothelial cells transplantation will enhance VEGF, FLK-1 expression at ischemic area and increases capillary hyperplasia formation, which may relate to the potential mechanism of neurological outcome improvement post stroke in rats.

**[Key words]** bone marrow stromal cell; endothelial cell; cerebral ischemia; behaviour; vascular endothelial growth factor (VEGF); FLK-1

中图分类号: R743.3 文献标识码: A 文章编号: 1006-9771(2005)09-0689-04

[本文著录格式] 王春雪, 刘艳芳, 毛淑静, 等. 骨髓基质细胞体外分化移植对局灶脑缺血大鼠分子表达及行为的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2005, 11(9): 689—692.

作者单位: 1. 100050 北京市, 首都医科大学附属北京天坛医院神经内科 (王春雪、刘艳芳、梁德君、梁宪红、王拥军、刘丽萍); 2. 101149 北京市, 北京护士学校药理组 (毛淑静); 3. 100050 北京市, 北京市神经外科研究所 (万虹、历俊华、翟晶)。作者简介: 王春雪(1969-), 女, 北京市人, 博士, 副主任医师, 主要从事神经病学专业工作。

骨髓基质细胞(MSC)是一类具有自我复制能力的多潜能干细胞,其重要临床应用价值在于其具有“横向分化”的能力,即 MSC 可以分化成为多种其他组织的细胞,通过细胞替代、修复以及加强受损组织或器官的生物学功能来修复病变组织。2000 年, Li 等首先报告了 MSC 纹状体内移植后能够改善中风大鼠的神经功能<sup>[1]</sup>。目前国内的研究多集中在 MSC 移植后其分化方向的研究。本研究利用 MSC 体外诱导分化为内皮细胞后静脉移植,治疗大鼠局灶性脑缺血,以期探索一种简单可行的治疗途径并希望从内皮细胞参与缺血后脑保护的角度进行探索。

## 1 材料和方法

1.1 实验动物及分组 细胞培养用 SPF 级 SD 雄性大鼠 20 只,体重 150~160 g; MCAO 模型用 SPF 级 SD 雄性大鼠 40 只,体重(280±30) g,均由维通利华实验动物技术有限公司提供,动物许可证编号: SCXK(京) 2002-0003。

在大鼠 MCAO 闭塞 24 h 后,动物随机分为 3 组:实验组(n=15):每只大鼠舌静脉移植  $3 \times 10^6$  的诱导分化后的内皮细胞(相当于 0.2 ml 细胞悬液);对照组 1(n=15):每只大鼠舌静脉注射 PBS 0.2 ml;对照组 2(n=15):血管闭塞后不给予任何干预治疗。

1.2 主要试剂和仪器设备 HYQ RPMI-1640 完全培养液、胎牛血清(Fetal Bovine Serum, FBS): Hyclone; 重组人粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(rhGM-CSF): PeproTech; Hepes: 华美公司; 通用型 SAP kit 试剂盒: 北京中山生物技术有限公司; 抗 5-溴脱氧尿核苷(BrdU)单抗: Sigma 公司; 鼠抗人血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)单克隆抗体(sc-7269)、鼠抗人 FLK-1(VEGF 受体 2: sc-6251): Santa Cruz Biotechnology; LD25-Z 离心机: 北京医用离心机厂; CO<sub>2</sub> 培养箱: Heraeus; ECLIPSE TE2000-V 倒置相差荧光显微镜: NIKON; 净化台(洁净工作台): 昌平长城空气净化设备工程公司; 37℃ 电热恒温培养箱: 天津市泰斯特仪器有限公司; LD25-Z 低速自动平衡离心机: 北京医用离心机厂; SXP-1B 手术显微镜: 上海医用光学仪器厂; GD350-S3 高频电刀: 上海沪通电子仪器厂。

1.3 MSC 原代培养及诱导分化 颈椎脱位离断颈髓处死动物, 75% 酒精浸泡 10 min 消毒; 无菌条件下切开皮肤, 去除肌肉, 取双侧四肢骨, 放入 75% 酒精 10 min; 吸取 1640 培养液 10 ml 放入平皿中, 将骨两端软骨用无菌剪刀剪除, 直至看到红骨髓, 用 23 G 针头 10 ml 注射器, 每次吸取培养液 1~2 ml 从一端冲洗骨髓腔, 将骨髓冲到平皿中; 用吸管反复吹打含有骨髓的冲洗液, 使其成为单细胞悬液后用 200 目铜网过滤去除

碎骨片; 滤液常温下 1000 r/min 离心 10 min, 离心弃上清, 沉淀内加入淋巴细胞分离液, 轻轻加 1640 培养液 3 ml 到淋巴细胞分离液表面, 1500 r/min 离心 20 min, 收集 MSC; 加 1640 完全培养液吹打均匀后接种于两个培养瓶中, 4 h 后吸悬浮细胞离心后弃上清; 取离心后的细胞分两组, 加培养液吹打接种到新瓶中, 实验组加 rhGM-CSF-20% 牛血清的 1640 培养液培养, rhGM-CSF 终浓度为 400 ng/ml, 对照组加常规 1640 培养基, 两组细胞共同在 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 及饱和湿度的培养箱中培养, 于倒置相差显微镜下同天观察细胞生长情况; 分别于培养的第 1、3、5 天半量更换培养液(实验组加含 400 ng/ml 的 rhGM-CSF-20% 牛 1640 培养液培养, 对照组加 1640 培养液), 分次去除贴壁细胞, 留取上清, 离心弃上清后, 继续培养至第 6 天。取悬液离心, 弃上清, 加含终浓度为 400 ng/ml 的 rhGM-CSF-1640 完全培养液, 吹打均匀后接种于两个直径 35 mm 含盖玻片的小平皿中, 经免疫组化鉴定, 培养的细胞为内皮细胞。

向 25 ml 实验组培养瓶内加入 0.25% 胰蛋白酶 1 ml, 使消化液遍及所有细胞表面, 消化 2~5 min 后把培养瓶放置显微镜下进行观察, 发现胞质回缩、细胞间隙增大后, 立即终止消化。用弯头吸管吸取瓶内培养液, 反复吹打瓶壁细胞, 细胞脱离瓶壁后形成细胞悬液。酒精洗净记数板和盖玻片, 消化后的细胞混匀, 计数; 调整单细胞悬液为  $3 \times 10^6$  个细胞, 用 PBS 稀释至 0.2 ml, 使用终浓度为 10 nmol/ml 的 BrdU 标记 16 h 后, PBS 清洗细胞 3 次, 备移植。

1.4 大鼠永久大脑中动脉闭塞模型(MCAO)制备 参照 Zea Longa 报道的方法加以改进<sup>[2]</sup>。

1.5 细胞移植 取实验组动物, 常规麻醉后固定头部, 手术显微镜下取舌静脉, 用 1 ml 注射器沿舌静脉缓慢进针, 缓慢推入细胞悬液 0.2 ml( $3 \times 10^6$  个细胞), 局部轻轻按压, 留针 5 min 后缓慢拔针; 对照组 1 舌静脉注射等量 PBS, 余操作同前; 对照组 2 不予任何干预。

1.6 动物行为学评价 所有行为学评价由对实验分组不知情的同一研究人员完成, 麻醉清醒后姿势反射实验得分 ≥1 分的大鼠进入实验。在细胞移植前、移植后第 1、3、5、7、14 天进行行为学评价。

1.6.1 姿势反射实验(postural reflex test)<sup>[3-6]</sup> 距地面 1 m 提起鼠尾, 观察其前肢屈曲情况。每次每只鼠记录 20 次活动。评分标准: 0 分(正常): 双前肢完全伸展; 1 分(轻度异常): 左前肢贴向前胸, 右前肢伸展; 2 分(重度异常): 左前肢贴向前胸, 上半身卷曲。

1.6.2 肢体不对称应用试验(limb use asymmetry test)<sup>[4-7]</sup> 用于测试的器械是一直径 18 cm、高 30 cm 透明的玻璃圆桶。正常大鼠在圆桶中会不时站立, 用

双侧前肢交替或同时触及桶壁,应用双侧前肢的频率应该相等。有缺血脑损伤的大鼠偏瘫侧肢体应用较少。观察并记录双侧前肢的应用情况。对每只大鼠每次记录 20 次活动。以肢体应用的百分率计算最后得分:

得分 = (R - L) / (R + L + B) × 100 %

R:右侧前肢(健侧)独立应用次数;L:左侧前肢(患侧)独立应用次数;B:双前肢同时应用次数。

1.6.3 角落试验(corner test)<sup>[47]</sup> 将将被测查的大鼠置于 2 块 20×30×0.5 cm 大小的硬板中间,两硬板前端夹角 30°,从大鼠身体两侧由尾部向头部缓慢移动硬板。正常情况下,来自双侧刺激信号强度相等,故向右或左侧转身的次数应基本相等。缺血性脑损伤的大鼠由于偏瘫的影响,向健侧(右侧)转身的次数明显增多。每次每只鼠观察 10 次,按公式计算得分

得分 = 向健侧转身次数 / 试验的总次数 × 100 %

1.7 免疫组化染色 细胞移植后 2 周,完成动物行为学评价后,取各组剩余的 5 只大鼠灌注固定后取脑,按试剂说明书进行 VEGF、FLK-1、BrdU 抗体的免疫组化染色。每只大鼠取 3 张切片,高倍镜下(×200)随机选取各切片的缺血周边区、缺血侧皮层及健侧半球(作为对照)相应区域内的 5 个视野记数阳性细胞,以阳性细胞占视野内细胞百分比为单位进行统计分析。

1.8 统计学方法 所有数据均以( $\bar{x} \pm s$ )表示,应用 SPSS 10.0 统计软件包进行单因素方差分析(ANOVA),如有统计学意义进一步作 Student-Newman-Keuls 检验,进行两两比较;移植细胞前后的行为学评分比较采用配对 *t* 检验。*P* < 0.05 为有显著性差异。

2 结果

2.1 动物行为学评分 在移植后第 7、14 天,实验组动物与两对照组各项动物行为学评定比较均有非常显著性差异(*P* < 0.01)。见表 1。实验组动物在移植后第 7、14 天,各项动物行为学评定与移植前比较均有显著性差异(*P* < 0.05)。见表 2。

表 1 各组动物行为学评定比较(分)

组别	时间	姿势反射实验	肢体不对称应用实验	角落实验
实验组	7 d	0.93 ± 0.59 <sup>a</sup>	0.50 ± 0.18 <sup>a</sup>	0.79 ± 0.13 <sup>a</sup>
	14 d	0.80 ± 0.41 <sup>a</sup>	0.23 ± 0.18 <sup>a</sup>	0.81 ± 0.157 <sup>a</sup>
对照组 1	7 d	1.47 ± 0.64	0.76 ± 0.10	0.96 ± 0.06
	14 d	1.33 ± 0.49	0.67 ± 0.09	0.94 ± 0.06
对照组 2	7 d	1.70 ± 0.48	0.81 ± 0.06	0.97 ± 0.05
	14 d	1.20 ± 0.42	0.70 ± 0.09	0.90 ± 0.07

注:a:与其他各组相比,*P* < 0.01。

2.2 免疫组化染色 VEGF 主要在缺血周边区域的神经元表达,同时在胶质细胞和血管内皮细胞表达(封三彩图 1.1~1.2)。各组标本均可见到阳性细胞表达,以实验组最多,对照组 1、2 比较,阳性细胞率有显著性

差异(*P* < 0.05);健侧半球仅见到少量表达。见表 3。

同时可以观察到实验组在缺血周边区域有明显的毛细血管增殖(封三彩图 1.3),而在对照组 1、2 仅见少量的毛细血管增殖现象(*P* < 0.05)。见表 3。

FLK-1 在各组缺血半球均可见到大量阳性细胞表达,主要在脑缺血灶周边区的血管内皮细胞表达,在缺血侧的皮层神经元和胶质细胞也见到表达(封三彩图 1.3~1.4),其中以细胞移植组阳性细胞最多,与对照组 1、2 比较,阳性细胞率有显著性差异(*P* < 0.05)。见表 3。

表 2 实验组动物不同时间行为学评定比较(分)

时间	姿势反射实验	肢体不对称应用实验	角落实验
移植前	1.53 ± 0.52	0.82 ± 0.06	0.95 ± 0.06
移植后 1 d	1.47 ± 0.52	0.81 ± 0.07	0.95 ± 0.06
移植后 3 d	1.33 ± 0.49	0.79 ± 0.08	0.92 ± 0.08
移植后 5 d	1.47 ± 0.52	0.76 ± 0.11	0.96 ± 0.05
移植后 7 d	0.93 ± 0.59 <sup>a</sup>	0.50 ± 0.18 <sup>a</sup>	0.79 ± 0.13 <sup>a</sup>
移植后 14 d	0.80 ± 0.41 <sup>a</sup>	0.23 ± 0.18 <sup>a</sup>	0.81 ± 0.16 <sup>a</sup>

注:a:与移植前相比,*P* < 0.05。

表 3 各组缺血半球侧阳性细胞比较(%)

组别	VEGF	FLK-1	毛细血管(支)
实验组	45.73 ± 8.72 <sup>a</sup>	69.8 ± 14.52 <sup>a</sup>	14.1 ± 1.75 <sup>a</sup>
对照组 1	33.07 ± 10.81	33.27 ± 13.39	52.1 ± 1.21
对照组 2	33.30 ± 5.46	35.30 ± 7.24	6.43 ± 1.46

注:a:与其他组比较,*P* < 0.05。

3 讨论

MSC 具有自我更新能力和多向分化的潜能。其多向分化的潜能是 MSC 优异的利用价值所在<sup>[8-9]</sup>。利用 rhGM-CSF 诱导 MSC 分化为内皮细胞已经得到了证实<sup>[10]</sup>,但分化后的内皮细胞对缺血脑是否具有保护作用国内尚未见到相关报道。

本研究发现,MSC 体外诱导分化后的内皮细胞静脉移植后,大鼠神经功能得到改善;同时观察到 VEGF 及 VEGF 受体 FLK-1 的表达上调,这提示 MSC 来源的内皮细胞也可以分泌一些外源性的神经营养因子。尽管本研究没有进行某种神经营养因子的测定,但结合文献报道,缺血损害后多种神经营养因子的分泌会有所增加,而 MSC 的植入会明显提高多种神经营养因子的分泌。具有内皮细胞功能的 MSC 理论上可以增加 VEGF 的分泌。

VEGF 是一类特异性血管内皮刺激因子,它高效特异地作用于血管内皮细胞,特异性地刺激血管内皮细胞的增殖,同时参与病理新生血管的形成过程<sup>[11-13]</sup>。血管形成是正常组织修复中不可缺少的过程。有学者使用外源性的 VEGF 可以诱导缺血侧生成新的血管并促进局部侧枝循环的建立;VEGF 作用的发挥是 VEGF 同其两个特异的酪氨酸激酶受体即 FLT-1、FLK-1 相互作用,激发细胞内一系列信号转导机制,直

接刺激内皮细胞增殖<sup>[12-15]</sup>。有证据显示, VEGF 的表达与组织中微血管的密度及新生血管的密度密切相关<sup>[16-17]</sup>。本研究也观察到实验组缺血侧较对照组有更为丰富的新生毛细血管生成。提示 VEGF 表达同缺氧后脑内新生血管的形成相关。

缺血本身可以促进血管新生, 而血管新生与功能恢复有关, 但是自身的有限的血管新生还不足以使受损的缺血组织部分恢复, 达到功能恢复的需要<sup>[18-19]</sup>。在本研究中, 对照组尽管也可见到相当数量的 VEGF、FLK-1, 但动物在功能上并未看到显著的恢复; 而实验组缺血半球侧有大量 VEGF 及 FLK-1 的表达和毛细血管增生, 同时伴有行为学改善。提示外源性的内皮细胞植入后, 可以刺激内源性的 VEGF 及受体表达增强, 促进缺血后新生血管的形成, 改善缺血组织的灌注, 使缺血的脑组织得到较好的保护。

由于自体神经干细胞的来源困难, 极大地限制了神经干细胞的临床应用; 而异体神经干细胞的移植又面临着道德伦理和免疫排斥的问题。应用自体 MSC 细胞直接移植, MSC 体内分化的方向不易控制, 分化方向有很大的不确定性。将 MSC 在体外预分化后进行移植大大提高了分化方向的确定性, 取材方便, 操作简单, 可以有效地达到治疗目的。但 MSC 分化为内皮细胞后对缺血脑血管新生和血流重建等机制尚需要进一步研究证实。

## [参考文献]

- [1] Li Y, Chopp M, Chen J, et al. Intrastrial transplantation of bone marrow nonhematopoietic cells improves functional recovery after stroke in adult mice[J]. Cereb Blood Flow Metab, 2000, 20: 1311 - 1319.
- [2] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniotomy in rats[J]. J Stroke, 1989, 20: 84 - 91.
- [3] Bederson JB, Pitts LH. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination[J]. Stroke, 1986, 17: 472 - 476.
- [4] Hua Y, Schallert T. Behavioral test after intracerebral hemorrhage in the rat[J]. Stroke, 2002, 33: 2478 - 2484.
- [5] Schallert T, Fleming SM. CNS plasticity and assessment of forelimb sensorimotor outcome in unilateral rat models of stroke, cortical ablation, Parkinsonism and spinal cord injury[J]. Neuropharmacology,

2000, 39: 777 - 787.

- [6] Zhang L, Schallert T. A test for detecting long term sensorimotor dysfunction in the mouse after focal cerebral ischemia[J]. J Neurosci Meth, 2002, 117: 207 - 214.
- [7] Hunter AJ, Hatcher J, Virley D, et al. Functional assessments in mice and rats after focal stroke[J]. Neuropharmacology, 2000, 39: 806 - 816.
- [8] Rempe DA, Kent TA. Using bone marrow stromal cells for treatment of stroke[J]. Neurol, 2002, 59(4): 486 - 487.
- [9] Chen J, Li Y, Wang L, et al. Therapeutic benefit of intracerebral transplantation of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats[J]. J Neurol Sci, 2001, 189(1 - 2): 49 - 57.
- [10] 王春雪, 万虹, 历俊华, 等. 大鼠骨髓基质细胞体外诱导分化为内皮细胞实验研究[J]. 中国康复理论与实践, 2004, 10(8): 458 - 460.
- [11] Muller YA, Christinger HW, Keyt BA, et al. The crystal structure of vascular endothelial growth factor (VEGF) refined to 1 - 93 angstrom resolution: multiple copy flexibility and receptor binding[J]. Structure, 1997, 5: 1325 - 1338.
- [12] Plate KH. Mechanisms of angiogenesis in the brain[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 1999, 58: 313 - 320.
- [13] Shweiki D, Itin A, Neufeld G, et al. Patterns of expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptors in mice suggest a role in hormonally-regulated angiogenesis[J]. J Clin Invest, 1999, 91: 2235 - 2243.
- [14] Bates DO, Lodwick D, Williams B. Vascular endothelial growth factor and microvascular permeability[J]. Microcirculation, 1999, 6: 83 - 96.
- [15] Lennmyr F, Ata FA, Funa K, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors (flt-1 and flk-1) following permanent and transient occlusion of the middle cerebral artery in the rat[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 1998, 57(9): 874 - 882.
- [16] Hayashi T, Abe K, Itoyama Y. Reduction of ischemic damage by application of vascular endothelial growth factor in rat brain after transient ischemia[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1998, 18: 887 - 895.
- [17] Satake S, Kuzuya M, Miura H, et al. Up regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) in response to glucose deprivation[J]. Biol Cell, 1998, 90: 161 - 168.
- [18] Christov C, Biassette HA, Guerinel CL, et al. Immunohistochemical detection of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the vasculature of oligodendrogliomas[J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 1998, 24: 29 - 35.
- [19] Stockhammer G, Poewe W, Burgstaller S, et al. Vascular endothelial growth factor in CSF: a biological marker for carcinomatous meningitis[J]. Neurology, 2000, 54: 1670 - 1675.

(收稿日期: 2005-05-13 修回日期: 2005-07-04)



图 1.1 实验组缺血侧皮层和皮层下结构 VEGF 阳性细胞  
(100 ×)



图 1.2 对照组缺血侧皮层下散在的 VEGF 阳性细胞  
(200 ×)



图 1.3 实验组缺血灶周边 FLK-1 阳性细胞, 毛细血管增生  
(200 ×)



图 1.4 实验组 FLK-1 阳性细胞, 延皮层横向排列  
(200 ×)

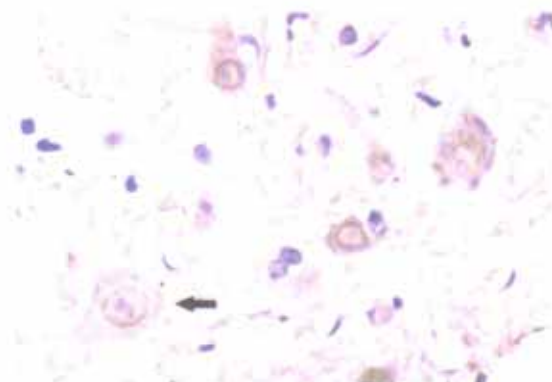


图 2.1 脊髓受压组 NT-3 表达 (SABC 法, 400 ×)

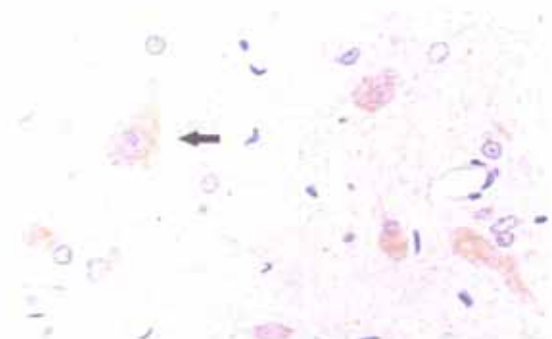


图 2.2 脊髓减压组 NT-3 表达 (SABC 法, 400 ×)

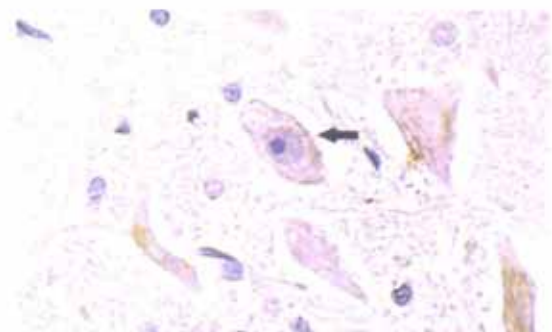
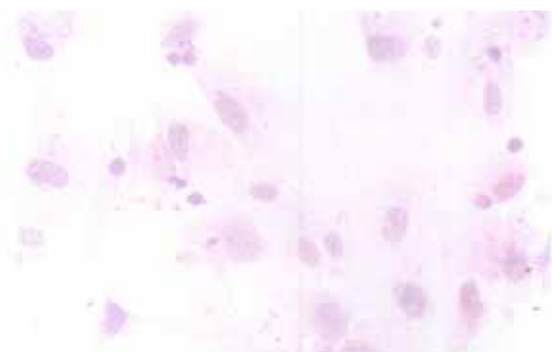


图 2.3 电针组 NT-3 表达 (SABC 法, 400 ×)



更正 图 1.1 对照组海马神经元 (姬姆萨染色, 400 ×)

图 1.1~图 1.4 正文见 P691

图 2.1~图 2.3 正文见 P718

更正图 1.1 正文见 11 卷 7 期 P510