

基础研究

低温保存的嗅鞘细胞移植治疗脊髓损伤的实验研究

魏开斌¹, 张文正¹, 刘红², 李 军¹, 李艳萍³, 刘雨亮¹, 王 强¹, 卓 峰¹

(1 山东省泰安市中心医院骨一科; 2 护理部; 3 手术室 271000 泰安市)

【摘要】目的:观察低温保存复苏后嗅鞘细胞(OECs)局部移植治疗脊髓损伤(SCI)的疗效,探讨低温保存对嗅鞘细胞活性的影响。**方法:**建立大鼠 T10 节段脊髓半切损伤模型 56 只,随机分为四组,每组 12 只:新鲜 OECs 移植组(A 组),冻存 OECs 移植组(B 组),D/F12 培养液移植组(C 组)和空白对照组(D 组)。A 组损伤局部行新鲜 OECs 移植,B 组将处于对数生长期的 OECs 冻存 3 个月,复苏后(用双苯亚甲胺标记)移植到脊髓半切模型大鼠脊髓损伤区。术后第 1 天、1、2、3、4、6、8 及 10 周时进行联合行为学(CBS)综合评分,术后 5 周和 10 周时取材观察移植细胞存活及迁移情况;HE 染色及嗜银染色观察脊髓组织病理及轴突情况;NGFRp75 免疫组织化学染色情况。**结果:**术后第 1 天、2、10 周时 CBS 评分,A 组分别为 85.78 ± 1.07 、 58.80 ± 5.00 、 6.52 ± 2.37 ;B 组分别为 86.12 ± 1.29 、 60.06 ± 6.51 、 8.15 ± 2.26 ;C 组分别为 86.4 ± 1.03 、 66.28 ± 7.00 、 30.65 ± 5.60 ;D 组分别为 86.75 ± 1.37 、 69.85 ± 6.61 、 34.13 ± 5.38 。A、B 两组间无明显差别($P > 0.05$);C 组与 D 组间比较无差异($P > 0.05$);A 组及 B 组较 C 组和 D 组在 2 周后各时段差别有显著意义($P < 0.05$)。组织学方面,HE 染色和嗜银染色 A、B 两组在术后 5 周可见多量突起经近侧断端向损伤区域生长,10 周时可见神经纤维跨越损伤区域,而 C、D 组未见有神经纤维跨越损伤区;NGFRp75 免疫组化染色,无论 5 周还是 10 周,A、B 两组在损伤部位均可见阳性染色区域,C、D 组未见有阳性着色。术后 5 周时 A、B 两组可检测到荧光标记细胞,且可见细胞发生迁移。**结论:**低温保存的 OECs 脊髓局部移植治疗 SCI 与新鲜 OECs 移植治疗效果无差别。

【关键词】低温保存;嗅鞘细胞;神经纤维;脊髓损伤;疗效

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2012.04.14

中图分类号:R683.2 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2012)-04-0357-05

Cryopreserved olfactory ensheathing cells transplantation for the treatment of spinal cord injury, an experimental study/WEI Kaibin, ZHANG Wenzheng, LIU Hong, et al/Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2012, 22(4): 357-361

【Abstract】Objectives: To observe the effect of cryopreserved olfactory ensheathing cells(OECs) transplantation in situ on spinal cord injury (SCI) and the effect of hypothermia on OECs activity. **Methods:** 56 Wistar rats undergoing T10 spinal cord hemisection were divided into 4 groups: fresh OECs group(A), cryopreserved OECs group(B), D/F12 medium group(C) and control group(D). In group B, the OECs in logarithmic phase were cryopreserved for 3 months, after resuscitate, they (labeled with hoechst) were transplanted into the injured region, while fresh OECs were transplanted in group A. At day1 and 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 weeks after transplantation, combined behavioral score(CBS) was used to evaluate the locomotion. The tissues were sectioned to observe the survival and migration of OECs, the nerve fiber regeneration and NGFRp75 immunohistochemistry staining at 5 and 10 weeks after transplantation. **Results:** At day1, 2weeks, 10 weeks after transplantation, the combined behavioral score (CBS) for group A was 85.78 ± 1.07 , 58.80 ± 5.00 , 6.52 ± 2.37 respectively; 86.12 ± 1.29 , 60.06 ± 6.51 , 8.15 ± 2.26 for group B; 86.4 ± 1.03 , 66.28 ± 7.00 , 30.65 ± 5.60 for group C; 86.75 ± 1.37 , 69.85 ± 6.61 , 34.13 ± 5.38 for group D. Group A and B had more improvement than group C and D at each timepoint after transplantation for 2 weeks ($P < 0.05$), while no significant difference was noted between group A and B as well as group C and D ($P > 0.05$). At 5 weeks after transplantation, axons were noted to grow into the injury site in group A and B, and some nerve fiber reached the distal end of injury site at 10 weeks after transplantation, no nerve fiber was noted in the injury site in group C and D. Both at 5 and 10 weeks, under NGFRp75 immunohistochemical staining, the OECs could be observed around the injury area in group A and B, while no similar findings was noted in group C and D. OECs were detected in the spinal

基金项目:山东省医药卫生科技发展计划项目(2009HW091)

第一作者简介:男(1966-),主任医师,教授,医学博士,研究方向:脊柱脊髓损伤的修复

电话:(0538)6298559 E-mail:wkb1966@163.com

cord after 5 weeks of transplantation in group A and B, and their migration was evidenced. **Conclusions:** As for the treatment outcome for SCI, no difference exists between the fresh OECs and the cryopreserved OECs transplantation.

【Key words】 Cryopreservation; Olfactory ensheathing cells; Nerve fiber; Spinal cord injury; Outcome

【Author's address】 Department of Orthopedics, the Central Hospital of Taian, Shandong, 271000, China

胚胎嗅球嗅鞘细胞 (olfactory ensheathing cells, OECs) 移植治疗脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 在实验和临床治疗中均取得了一定的疗效^[1,2], 但 OECs 来源少, 具体时间、地点不确定, 因此 OECs 的储存就显得较为重要, 本研究拟探讨低温保存后的 OECs 与新鲜 OECs 移植治疗 SCI 疗效间的差别, 总结报告如下。

1 材料和方法

Wistar 大鼠 80 只, 雄雌不分, 体重在 250 g 左右, 购自山东中医药大学实验动物中心。

1.1 OECs 的培养与纯化

将大鼠麻醉成功后, 抛开颅顶骨, 暴露出大脑及其前方嗅球, 无菌条件下将大鼠的嗅球完整迅速取出。采用改良 Nash 差速贴壁法和阿糖胞苷 (Ara-c) 抑制相结合的纯化培养方法^[3]培养 OECs, 共培养 14d, 此时 OECs 处于对数生长期。经神经生长因子受体 (NGFRp75) 抗体染色 (图 1), 证实 OECs 纯度在 90% 以上 (随机选取 10 个视野 (0.45mm²), 计算染色阳性 OECs 占总细胞的比例), 备用。

1.2 OECs 的冻存、复苏及荧光标记

选取处于对数生长期的 OECs, 0.125% 胰酶消化 3~5 分钟, 适时用胎牛血清 (FBS) 终止, 离心。用配制好的冻存液 (由体积分数为 5% DMSO、6% HES、10% FBS 和 D/F12 培养液组成) 重新悬浮细胞, 调整 OECs 浓度为 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 。将细胞悬液移入冻存管, 依次置于 4℃ 冰箱 45min; -20℃ 冰箱 60 min; -80℃ 冰箱过夜; 次日放入液氮内保存。第 3 个月末时取出, 以快速复温法在 37℃~40℃ 的水浴中解冻, 离心洗脱冻存液。用含 10% FBS 的 D/F12 培养液将 OECs 浓度调整为 $1 \times 10^6/\text{ml}$, 继续培养, NGFR p75 抗体染色, 证实 OECs 纯度在 90% 以上。移植前 30min 以 10ug/ml 的浓度加入双苯亚甲胺 (hoechst), 荧光显微镜下观察标记的 OECs 细胞核 (图 2)。用 D/F12 培养液清洗 2 次, 将终浓度调整为 $1 \times 10^7/\text{ml}$, 准备移植。

1.3 脊髓半切损伤模型的制备

将大鼠用 10% 水合氯醛 (0.3g~0.4g/Kg) 麻醉成功后, 切除 T10 全椎板, 暴露脊髓, 以 T10 相对区域和脊髓背部正中血管为标志, 用自制的双刃刀片将右侧半脊髓横断, 两断端约有 3mm 间隙。

1.4 OECs 移植

将 56 只 Wistar 大鼠随机分为新鲜 OECs 局部移植组 (A 组)、冻存 OECs 局部移植组 (B 组)、D/F12 培养液移植组 (C 组) 和空白对照组 (D 组) 共四组, 每组 14 只, 随机取 4 只作为五周时取材的供体。

A 组: 将脊髓半切后彻底止血, 用明胶海绵填充缺损处, 然后用 50μl 微量注射器于断端间隙内注入 10μl 新鲜 OECs 悬液, 并在距两断端 1mm 处各注入 2μl 新鲜 OECs 悬液 (多点注射, 深度分别为 1.5mm 及 0.5mm), 共计 14μl; 依次逐层关闭切口。B 组: 移植方法同 A 组, 所用液体为冻存 OECs 悬液。C 组: 移植方法同 A 组, 所用液体为 D/F12 培养液。D 组: SCI 模型建立后未做移植。

1.5 实验动物术后运动功能学评定

每组随机选取 10 只大鼠于术后第 1 天、1、2、3、4、6、8、10 周时, 按 Gale 等^[4]建立的联合行为学 (CBS) 评分法分别对各组大鼠进行评分, 评估脊髓功能损伤及恢复程度。

1.6 标本制备及组织学评定

1.6.1 荧光标本的制备及观察 术后 5 周、10 周时, 各组随机取 2 只大鼠, 麻醉成功后, 经主动脉灌注生理盐水 200ml, 然后用 4% 多聚甲醛 400 ml 常规灌注固定。暴露损伤节段的脊髓, 以半切处为中心, 完整取出长约 20mm 的脊髓组织, 多聚甲醛后固定 24h, 再放入 30% 蔗糖溶液, 置于 4℃ 下至沉底。将标本放入 -20℃ 低温冷箱切片机中, 纵行切片, 片厚 6μm。荧光显微镜下观察 OECs 存活情况, 并摄片记录。

1.6.2 其他标本的制备及组织学评定 每组随机另取 2 只大鼠, 取材时间、方法及标本要求同上, 将标本固定后, 常规脱水、石蜡包埋, 纵行切片, 片厚 5μm。组织切片分别行 HE 染色、嗜银染色以及 NGFR p75 免疫组化染色, 观察 OECs 在 SCI 区的

存活、分布及轴突生长等情况。

1.7 统计学方法

计量资料数据以均数 $\pm$ 标准差表示,采用 SPSS 13.0 统计学软件对结果进行分析,各个时间点及各组间比较采用单因素方差分析(两两比较采用 LSD 法),设 $P \leq 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各时段 CBS 评分结果

各组各时间点 CBS 评分结果见表 1, 术后 1 天和 1 周, 各组间差别没有统计学意义($P > 0.05$)。从术后第 2 周开始到第 10 周, A 组与 B 组之间在各时段没有显著差别($P > 0.05$), C 组与 D 组之间没有显著差别($P > 0.05$), 但 A 组和 B 组分别与 C 组和 D 组之间差别具有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 组织学观察

2.2.1 HE 染色 5 周时 A 组及 B 组显示 SCI 区结构紊乱, 胶质细胞增生明显, 脊髓有囊性变, 可见有神经纤维长入断端间组织中, 但未到达损伤区远端, 且数量较少, 走行方向扭曲、不一致。同时 A、B 组可见有少量增生的瘢痕组织及灶状液化区, 两组间无明显差别, 而 C、D 组断端间瘢痕增生较为明显, 存在较多的灶状液化区, 与 A、B 组相比, 结构紊乱更为明显(图 3~5), C、D 两组间无明显差别。10 周时 A、B 两组可见损伤区神经纤维的数量明显增多, 有束状跨越损伤区到达损伤区远端神经纤维, 沿脊髓纵轴延伸, 方向性明显, 两组无论数量和形态都较好; C、D 组也有少量排列紊乱突起进入损伤区, 但未跨越损伤区。

2.2.2 嗜银染色 5 周时 A、B 组可见 SCI 部位大小不一的碎块, 此时已有神经纤维自近端向损伤区域生长。10 周时各组比较, A、B 组可见有较多

的神经纤维穿越损伤区, 到达损伤区远端, 这些神经纤维粗大迂曲、排列松散, 与脊髓纵轴走行方向基本一致, 两组间无明显差别(图 6~8); C、D 组脊髓损伤区亦可见有少量神经纤维, 但方向迂曲散乱, 未到达损伤区远端。

2.2.3 NGFRp75 免疫组化 无论 5 周还是 10 周, A、B 两组在损伤部位均可见阳性染色区域, OECs 黄染, 距离损伤部位越远阳性细胞数量越少, 且可见包绕 OECs 髓鞘的神经纤维。A、B 组阳性染色细胞数量无明显差异(图 9、10)。与 5 周相比, 10 周标本阳染区域颜色稍淡, 且较为分散, 但可见随神经纤维分布的特点, 部分神经纤维穿越损伤区域。C、D 组未见有阳性着色。

2.2.4 荧光显微镜 5 周时可见 A、B 组有较多 Hoechst 标记的 OECs, 两组间分布范围相似(图 11、12); C、D 组未发现荧光颗粒。10 周时各组均未见有蓝色荧光颗粒存在。

3 讨论

3.1 研究背景

大量研究说明^[1,5,6]: 新鲜 OECs 髓内局部移植治疗 SCI 有较好的疗效。但新鲜 OECs 来源受限, 故本研究采用冻存 OECs 复苏后进行移植治疗 SCI, 其冻存方法简单^[7], 复苏后细胞活性高, 从形态学和功能学上观察发现其修复 SCI 能力与新鲜 OECs 移植相近。

3.2 嗅鞘细胞的低温保存

低温保护剂对于 OECs 冻存的作用尤为重要。Fujita 等^[8]报道细胞的最佳冻存效果与是否应用防冻剂、防冻剂的含量以及培养细胞所处的状态等因素有关。低温保护剂分为两类: 一是高分子非穿透性低温保护剂, 最常用的是羟乙基淀粉

表 1 各组大鼠术后 CBS 评分分析结果

($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 The CBS results of the rats after transplantation in each group

组别 Groups	1d	1w	2w	3w	4w	6w	8w	10w
A组 Group A	85.78 $\pm$ 1.07	74.86 $\pm$ 6.23	58.80 $\pm$ 5.00 ^{①②}	35.40 $\pm$ 4.62 ^{①②}	18.90 $\pm$ 4.27 ^{①②}	12.10 $\pm$ 1.60 ^{①②}	7.73 $\pm$ 1.67 ^{①②}	6.52 $\pm$ 2.37 ^{①②}
B组 Group B	86.12 $\pm$ 1.29	75.32 $\pm$ 5.08	60.06 $\pm$ 6.51 ^{①②}	38.10 $\pm$ 4.89 ^{①②}	22.67 $\pm$ 4.58 ^{①②}	13.56 $\pm$ 1.53 ^{①②}	9.63 $\pm$ 1.56 ^{①②}	8.15 $\pm$ 2.26 ^{①②}
C组 Group C	86.40 $\pm$ 1.03	76.64 $\pm$ 9.80	66.28 $\pm$ 7.00	53.45 $\pm$ 10.01	46.53 $\pm$ 4.35	41.69 $\pm$ 4.78	33.85 $\pm$ 4.17	30.65 $\pm$ 5.60
D组 Group D	86.75 $\pm$ 1.37	76.95 $\pm$ 5.24	69.85 $\pm$ 6.61	58.64 $\pm$ 4.32	49.04 $\pm$ 4.79	44.77 $\pm$ 4.36	36.93 $\pm$ 4.68	34.13 $\pm$ 5.38

注: ①与 D 组比较 $P < 0.05$, ②与 C 组比较 $P < 0.05$

Note: ①Compare with Group D $P < 0.05$, ②Compare with Group C $P < 0.05$

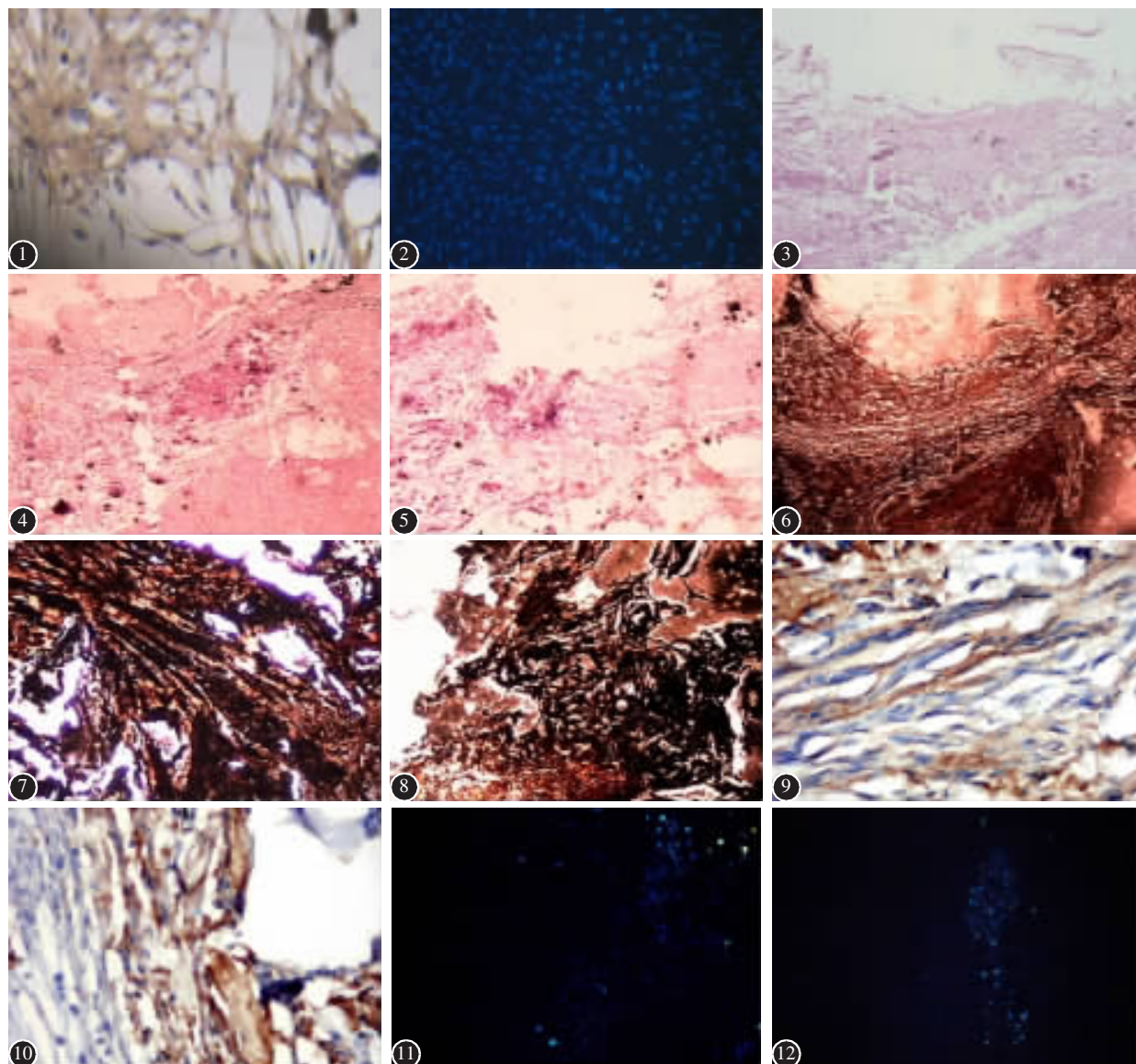


图 1 体外细胞培养后 NGFRP75 免疫组化染色阳性细胞呈棕褐色颗粒沉着 $\times 100$ 图 2 荧光标记的 OECs 细胞核 Hoechst $\times 100$ 图 3 A 组 5 周脊髓损伤区域有神经纤维及明显修复 HE $\times 20$ 图 4 B 组 5 周脊髓损伤区可见有神经纤维 HE $\times 40$ 图 5 C 组 5 周脊髓损伤区结构紊乱, 可见瘢痕增生 HE $\times 20$ 图 6 A 组 10 周标本可见有神经纤维通过损伤部位嗜银 $\times 20$ 图 7 B 组 10 周有部分再生轴突通过损伤区, 到达远端 嗜银 $\times 40$ 图 8 B 组 10 周损伤区结构紊乱, 少量再生轴突迂曲散乱 嗜银 $\times 40$ 图 9 A 组 10 周标本阳性着色的神经纤维 P75 $\times 400$ 图 10 B 组 10 周标本阳性着色的神经纤维 P75 $\times 400$ 图 11 A 组 5 周标本损伤部位有蓝色荧光颗粒 Hoechst $\times 100$ 图 12 B 组 5 周标本损伤部位有蓝色荧光颗粒 Hoechst $\times 100$

Figure 1 NGFRP75 immunoreactive cells show brown particles after cultured in vitro $\times 100$ **Figure 2** OECs, nuclei labelled with Hoechst Hoechst $\times 100$ **Figure 3** Nerve fibers in SCI area of group A after OECs transplantation 5 weeks HE $\times 20$ **Figure 4** Nerve fibers in SCI area of group B after OECs transplantation 5 weeks HE $\times 40$ **Figure 5** The disordered structures and proliferated scars can be found in SCI area of group C at 5 weeks HE $\times 20$ **Figure 6** Nerve fibers can be observed passing the SCI area after OECs transplantation 10 weeks in group A Argentaffin staining $\times 20$ **Figure 7** some Nerve fibers can be observed passing the SCI area after OECs transplantation 10 weeks in group B Argentaffin staining $\times 20$ **Figure 8** The disordered structures and some circuitous nerve fibers can be found in SCI area of group D at 10 weeks Argentaffin staining $\times 40$ **Figure 9** NGFR P75-immunoreactive nerve fibers can be found in group A at 10 weeks P75 $\times 400$ **Figure 10** NGFR P75-immunoreactive nerve fibers can be found in group B at 10 weeks P75 $\times 400$ **Figure 11** Blue fluorescent particles can be found in SCI area of group A at 5 weeks Hoechst $\times 100$ **Figure 12** Blue fluorescent particles can be found in SCI area of group A at 5 weeks Hoechst $\times 100$

(hydroxyethyl starch, HES); 二是低分子穿透性低温保护剂, 以二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 为代表。DMSO 对细胞有毒副作用, 浓度过低时, 保存效果差, 浓度过高时, 其毒性会对细胞造成损伤。首次用 5%DMSO-6%HES 作为细胞低温保护剂见于 Stiff 等^[9]保存骨髓造血干细胞, 近十几年来, 黄友章等^[10]进行了大量相关研究, 取得了良好效果。我们也使用 5%DMSO-6%HES 作为低温保护剂, 效果较好。其可能的原因: 联合应用低温保护剂, 在降温时, 既能有效减轻胞内冰晶对细胞所致的机械性损伤, 又能有效减轻细胞内外渗透压变化所致的化学性损伤; 在复苏时, HES 在细胞膜外形成一层“玻璃壳”, 阻止胞外水分子的内向转移, 减轻“稀释休克”, 避免细胞肿胀及破裂死亡, 且 5%DMSO-6%HES 中 DMSO 对 OECs 的毒副作用较小。

3.3 移植后组织学改变

组织学方面, 5 周时 A、B 两组 HE 和嗜银染色均可见明显的轴突再生, 而 C、D 组则不明显, 提示 OECs 移植有明显促进 SCI 神经纤维再生的作用。Christine 等^[11]认为移植的 OECs 能充填损伤部位, 从而限制成纤维细胞的侵入, 并为轴突的生长提供营养支持, 增加穿过损伤部位轴突的数量。10 周时可见再生轴突穿过损伤区, 且轴突数量和质量都有明显增加, 与 CBS 评分结果一致, 同时说明 SCI 的修复应在 3 周以后, 早期脊髓以病理损害为主, 提示 SCI 早期治疗干预的重要性。

3.3.1 移植后 NGFRp75 免疫组化染色 有学者认为^[12], NGFRp75 阳性细胞主要集中在 OECs 的注射部位, 移植的 OECs 在损伤脊髓中的迁移能力有限。本研究中, A、B 组免疫组化染色在损伤区域及其吻侧、尾侧均可见移植的细胞, 其分布与脊髓的纵轴一致, 跨越损伤部位。张立仁等^[13]认为移植 OECs 在正常脊髓内主要沿脊髓纵轴方向从注射位点向两侧在白质和灰质内迁移; 移植于脊髓损伤部位中心的 OECs 主要围绕注射位点沿脊髓纵轴呈椭圆形分布, 占据损伤部位并分布于其周围的脊髓内, 小部分在白质内向头侧和尾侧迁移; 移植于距离损伤部位头侧和尾侧 1mm 处的 OECs 的主要在白质和灰质内沿脊髓纵轴向损伤部位迁移, 还分别有一小部分沿中央管迁移。

有研究表明^[15], 在不使用免疫抑制剂的前提下, 大鼠脊髓中移植的同种异体 OECs 至少可存

活 8 周, 甚至更长时间。刘劲松等^[16]发现 OECs 在脊髓内能够存活 90d, 本研究 10 周时未发现有荧光标记的细胞, 这与前期研究结果^[14]相同, 可能与 Hoechst 和 DNA 的结合是可逆的, 可以自由通过细胞膜, 以及局部微环境的差异使其代谢速率不同有关, 有待进一步实验证实。

4 参考文献

- 胡志俊, 马迎辉. 嗅鞘细胞移植治疗脊髓损伤的研究进展[J]. 中国骨伤杂志, 2009, 22(1): 69-70.
- 黄红云, 王洪美, 修波, 等. 嗅鞘细胞移植治疗脊髓损伤临床试验的初步报告[J]. 海军总医院学报, 2002, 15(1): 18-21.
- 魏开斌, 刘爱华, 孙卫山, 等. 成年大鼠嗅球成鞘细胞的原代培养及形态学研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2002, 12(20): 1561-1564.
- Gale K, Kerasidis H, Wrathall JR. Spinal cord contusion in the rat: behavioral analysis of functional neurologic impairment[J]. Exp Neurol, 1985, 88(10): 123-134.
- Zheng ZC, Wei KB, Liu F, et al. Clinical verification of olfactory ensheathing cell transplantation in treatment of spinal cord injury[J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2010, 14(27): 5119-5122.
- 袁梦郎, 冯金海, 杨拯, 等. 基因修饰嗅鞘细胞治疗脊髓损伤研究: 可能成为首要的选择[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(44): 8308-8309.
- 魏开斌, 刘雨亮, 刘红, 等. 不同保存方式对嗅鞘细胞活性的影响[J]. 中国矫形外科杂志, 2011, 19(6): 499-502.
- Fujita T, Takami Y, Ezoe K, et al. Successful preservation of human skin by vitrification[J]. Burn Care Rehabil, 2000, 21(4): 304.
- Stiff P J, Murgo AJ, Zaroulis CG, et al. Unfractionated bone marrow cell cryopreservation using dimethylsulfoxide and hydroxyethyl starch [J]. Cryobiology, 1983, 20 (1): 17-24.
- 黄友章, 沈建良, 杨平地, 等. 外周血造血干细胞不同保存方法的比较[J]. 中国应用生理学杂志, 2008, 24(1): 125-128.
- Christine C, Aizer AA, Agulian SK, et al. Transplantation of olfactory ensheathing cells enhances peripheral nerve regeneration after microsurgical nerve repair [J]. Brain Res, 2009, 1254(1): 10-17.
- Gorrie CA, Hayward I, Cameron N, et al. Effects of human OEC-derived cell transplants in rodent spinal cord contusion injury[J]. Brain Res, 2010, 1337(12): 8-20.
- 张立仁, 叶超群, 孙天胜, 等. 移植的嗅鞘细胞在大鼠正常和挫伤脊髓内的迁移[J]. 中国康复理论与实践, 2010, 5(16): 429-431.
- Yamamoto M, Raisman G, Li D, et al. Transplanted olfactory mucosal cells restore paw reaching function without regeneration of severed corticospinal tracts across the lesion [J]. Brain Res, 2009, 1303(8): 26-31.
- 刘劲松, 李溪, 吴仕峰, 等. CFDA-SE 和 Hoechst 两种荧光标记技术在嗅鞘细胞移植修复脊髓损伤中的应用[J]. 昆明医学院学报, 2007, 28(5): 1-4.
- 魏开斌. 嗅鞘细胞移植联合应用甲基强的松龙修复急性脊髓损伤[J]. 泰山医学院学报, 2007, 28(1): 4-8.

(收稿日期: 2011-06-19 修回日期: 2011-11-30)

(英文编审 蒋欣/贾丹彤)

(本文编辑 刘彦)