

脑室内移植 hUC-MSCs 对缺氧缺血性脑损伤 新生大鼠的保护作用*

范雪^{1,2}, 白小红^{1,2}, 陈娟^{1,2△}, 万谦³, 陈强³, 母得志^{1,2}

1. 四川大学华西第二医院 儿科(成都 610041); 2. 出生缺陷与相关妇科疾病教育部重点实验室(成都 610041);

3. 四川省干细胞库/四川新生命干细胞科技股份有限公司(成都 610036)

【摘要】 目的 探讨脑室内移植人脐带间充质干细胞(hUC-MSCs)对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤(HIBD)的治疗效果及保护性机制。**方法** 无菌条件下采集在我院产科出生的1例正常足月健康男婴的脐带3~4 cm,运用组织块贴壁法培养hUC-MSCs,使用BrdU标记细胞,并对培养出的MSCs的分化功能进行鉴定;取98只健康SPF级10 d龄SD大鼠,随机分为假手术组($n=30$)、HIBD组($n=36$)和MSCs组($n=32$),其中HIBD组和MSCs组建立新生大鼠HIBD模型,建模成功24 h后将标记的hUC-MSCs注射入MSCs组大鼠右侧脑室,于移植后3周内,记录大鼠生长发育情况,并用Longa评分法对大鼠的神经行为学进行评价,用免疫荧光法观察移植hUC-MSCs的存活、迁移、分化及促分化情况。**结果** 移植后,移植组大鼠体重增加大于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);移植后2、3周,移植组Longa评分小于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);移植后3周内可在大鼠脑组织切片中发现BrdU阳性细胞,主要分布于损伤侧海马区域及大脑皮质;移植后3周内,大鼠脑组织中胶质纤维酸性蛋白(GFAP)或神经元特异性烯醇化酶(NSE)的总体信号强度逐渐增强。**结论** hUC-MSCs移植治疗新生大鼠HIBD时,移植的hUC-MSCs可迁移至受损部位并分化为神经样细胞,可促进内源性神经分化,体现了一定程度的脑保护作用。

【关键词】 人脐带间充质干细胞 缺氧缺血性脑损伤 细胞移植治疗 脑保护作用

Protective Effects of Intraventricular Transplanted Human Umbilical Cord-derived Mesenchymal Stem Cells on Hypoxic Ischemic Brain Damages in Rats FAN Xue^{1,2}, BAI Xiao-Hong^{1,2}, CHEN Juan^{1,2△}, WAN Qian³, CHEN Qiang³, MU De-Zhi^{1,2}. 1. Department of Neonatology, West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Key Laboratory of Birth Defects and Related Diseases of Women and Children (Sichuan University), Ministry of Education, Chengdu 610041, China; 3. Sichuan Cord Blood Bank/Sichuan Neo-Life Stem Cell Biotech Inc., Chengdu 610036, China

△ Corresponding author, E-mail: chenjuan2000@163.com

【Abstract】 Objective To determine the therapeutic effect and protective mechanism of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells (hUC-MSCs) on newborn rats with hypoxia ischemic brain damage (HIBD). **Methods** Umbilical cord (3-4 cm) was collected from a healthy male infant for preparation of hUC-MSCs using explants technique. The hUC-MSCs were cultured and labeled with BrdU. The differentiation function of MSCs was identified. Healthy SPF grade neonatal SD rats were randomly divided into sham ($n=30$), HIBD ($n=36$) and hUC-MSCs treated HIBD ($n=32$) groups. BrdU-labeled hUC-MSCs were injected into the right ventricle of the rats in the hUC-MSCs treatment group 24 h after successful induction of HIBD. The growth and development of the rats were recorded. The neurological behavior of the rats were evaluated with Longa score method 3 weeks after hUC-MSCs transplantation. The survival, migration, differentiation and pro-differentiation of the transplanted hUC-MSCs were measured using immunological fluorescence method. **Results** Rats in the hUC-MSCs treatment group had significant higher weight gain and lower Longa scores (at the second and the third week post transplantation) than those in the HIBD group ($P<0.05$). BrdU positive cells were found in brain tissues 3 weeks after transplantation, and they were mainly distributed in the damaged hippocampus and cerebral cortex. Three weeks after transplantation, the total signal strength of glial fibrillary acidic protein (GFAP) or neuron-specific enolase (NSE) gradually increased. **Conclusion** Transplanted hUC-MSCs can migrate brain damages through differentiating into neuron-like cells and promoting endogenous neurological differentiations.

【Key words】 Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells (hUC-MSCs) Hypoxia ischemic brain damage (HIBD) Cellular transplantation therapy Brain protection effect

* 国家自然科学基金(No. 81330016, No. 81630038)和教育部长江学者和创新团队基金项目(No. IRT0935)资助

△ 通信作者, E-mail: chenjuan2000@163.com

新生儿缺氧缺血性脑病(hypoxic-ischemia Encephalopathy, HIE)是新生儿期常见且危害严重的神经系统疾病,重度 HIE 可导致新生儿死亡或儿童脑瘫、智力落后、癫痫等神经系统后遗症^[1]。HIE 发病机理极为复杂,目前临床尚无有效根治手段。近十年来,干细胞研究领域的重大突破使干细胞移植技术有望成为疾病治疗的新模式,其中,基于人脐带间充质干细胞(human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell, hUC-MSCs)的研究,为重度 HIE 根治性治疗带来新的契机。研究表明, MSCs 既可以减少神经细胞的凋亡又能促进自体神经元的再生,从而减轻神经系统的损害,对新生动物缺氧缺血性脑损伤具有显著的脑保护作用^[2-4]。hUC-MSCs 具有免疫豁免的特性,能容易地实现同种异体移植和异种移植,本研究旨在通过体外培养获得 hUC-MSCs,将其注射入新生大鼠缺氧缺血性脑损伤(HIBD)模型脑室内,观察其对 HIBD 新生大鼠神经功能恢复及预后改善等作用,初步探讨 hUC-MSCs 移植治疗新生大鼠 HIBD 的机制,为 hUC-MSCs 进一步应用于临床治疗新生儿缺氧缺血性脑病提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料

脐带组织取自四川大学华西第二医院产科 1 例正常足月健康的男婴,男婴的父母已签署知情同意书。10%胎牛血清(FBS)、0.05% Trypsin/EDTA 购自 Gibco 公司;双抗(青霉素 100 U/mL + 链霉素 100 μg/mL)购自友康基生物科技有限公司;5-溴脱氧嘧啶核苷(BrdU)、山羊抗小鼠 IgG/FITC(1:200)、山羊抗小鼠 IgG/TRITC(1:200)购自北京中杉金桥有限公司;兔抗大鼠神经元特异性烯醇化酶(NSE)抗体(1:1 000)、兔抗大鼠胶质纤维酸性蛋白(GFAP)抗体(1:1 000)、小鼠抗人 BrdU 抗体(1:250)购自 Abcam 公司;小鼠抗人抗体 CD14-PE、CD34-PE、CD45-PE、CD73-PE、CD90-PE、CD79a-PE、CD105-FITC、HLA-DR-FITC 购自 BD 公司。

1.2 实验动物及分组处理

健康 SPF 级 10 d 龄新生 SD 大鼠共 98 只,雌雄不限,体质量 15~25 g,购于达硕实验动物有限公司。大鼠随机分为 3 组,假手术组(30 只)、HIBD 组(36 只)、MSCs 组(32 只)。HIBD 组和 MSCs 组大鼠借鉴 RICE 等^[5]的方法制备 HIBD 模型,大鼠乙醚麻醉后固定于手术台上,于颈正中作一切口,分离

结扎右侧颈总动脉,并从中间离断,缝合皮肤;0.5 h 后放入 8% 氧气和 92% 氮气的低氧混合气缺氧舱中,通气 2.5 h,缺氧后将大鼠放回常氧母鼠笼中饲养。假手术组仅分离右侧颈总动脉,不结扎,直接缝合切口,不进行低氧通气。术后 24 h,假手术组及 HIBD 组经侧脑室注入 5 μL 生理盐水;MSCs 组经侧脑室注入 5 μL hUC-MSCs 悬液。

1.3 hUC-MSCs 培养鉴定及标记

参考 DIAO 等^[6]的方法,无菌条件下采集 1 根正常足月新生儿脐带,长 3~4 cm,24 h 内进行分离、培养、传代,收集 P5 代培养细胞单细胞悬液于 EP 管中,分别加入 10 μL 抗鼠 IgG1-FITC、IgG1-PE 单抗、鼠抗人 CD73-PE、CD79a-PE、CD105-PE、CD14-FITC、CD34-FITC、CD45-FITC、CD90-FITC 及 HLA-DR-FITC 单抗(滴度为 1:100),流式仪检测 hUC-MSCs 免疫表型。收集 P5 代培养细胞,接种于 24 孔板培养基,分别加入成脂分化诱导物、成软骨分化诱导物及成骨分化诱导物,诱导 2~3 周,经特殊染色后显微镜观察 hUC-MSCs 分化潜能。细胞传到 P3 代时,将 BrdU 以 200 μmol/L 加入培养液中标记细胞,取成功标记为红色的 hUC-MSCs 用生理盐水制成细胞浓度为 $4 \times 10^4 \mu\text{L}^{-1}$ 的单细胞混悬液备用。

1.4 hUC-MSCs 侧脑室移植

参照大鼠脑立体定位图谱并结合文献^[7],在消毒麻醉后,进行 hUC-MSCs 侧脑室移植。MSCs 组:用微量进样器抽取 5 μL 制备好的 hUC-MSCs 悬液注入实验动物右侧脑室内,缓慢注射约 5 min,留针约 5 min 后缓缓拔出注射器。HIBD 组及假手术组动物以同部位、同方式注入等量生理盐水。

1.5 脑组织大体观察及 HE 染色

取 HIBD 组建模后 24 h、72 h 及假手术组大鼠各 3 只,乙醚麻醉后,无菌手术剪开头皮及颅骨,暴露脑组织进行肉眼观察。另各取 3 只麻醉后,经心脏注射 50 mL 体积分数为 4% 多聚甲醛行灌注内固定,待动物四肢僵硬后开颅取脑,经固定、脱水、包埋、切片后行 HE 染色观察脑组织病理变化情况。

1.6 体质量增长情况及神经行为学评分

于移植后 1、2、3 周,分别对 3 组动物进行称重,并参照 Longa 评分法^[8]分别对 3 组动物进行神经行为学评价。评分越低,表明神经损伤程度越小。

1.7 免疫荧光检测 hUC-MSCs 的迁移分化

hUC-MSCs 移植后 1、2、3 周,取各组动物 8 只,麻醉后断头取脑,包埋后置于 -80 °C 冻存 2 h

以上,行连续冠状切片,BrdU 及 GFAP 或者 NSE 双标记染色,荧光显微镜下观察移植细胞的存活、迁移、分化情况。然后行 GFAP 或 NSE 单标记染色,观察 hUC-MSCs 促分化情况。对每只动物的切片随机选取 5 个视野进行观察,运用 Image-Pro plus 软件计算 GFAP、NSE 的免疫荧光强度。

1.8 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,两样本均数的多重比较采用 LSD 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 hUC-MSCs 培养鉴定及其标记

倒置显微镜下观察,可见细胞由组织块周围呈贴壁生长,细胞呈梭形,细胞折光良好,向外增殖生长,形成集落;流式细胞仪检测 P5 代细胞,发现其高表达 CD90、CD105、CD73 及 CD166 (均大于 90%),不表达或低表达 CD34、CD45、HLA-DR 及 CD14/79A/184(均小于 9%);成脂诱导 2 周,油红 O 染色为阳性;成软骨诱导 3 周,甲苯胺蓝染色为阳性;成骨诱导 3 周,茜素红染色出现红色沉淀物,如图 1。综上可见制备 hUC-MSCs 成功。

使用 BrdU 标记细胞,经免疫荧光检测后,可见红色荧光,如图 2。

2.2 建模后大体标本及 HE 染色观察

HIBD 建模后 24 h 大鼠右侧脑组织体积增大,出现明显充血水肿(图 3B);建模后 72 h,大鼠右侧大脑出现梗死、液化(图 3C)。

HE 染色见假手术组大鼠大脑皮层脑细胞排列整齐,形态正常(图 4A);HIBD 建模后 24 h 可见大脑皮层及海马区域脑细胞排列紊乱,形态异常,出现胞体肿胀,胞浆稀疏(图 4B);HIBD 建模后 72 h 可见脑细胞排列紊乱,部分脑细胞皱缩,细胞间隙增宽(图 4C)。

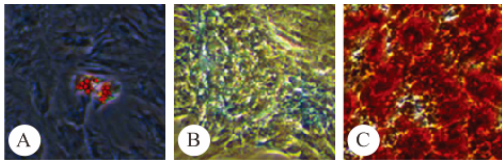


图 1 对制备的 hUC-MSCs 的分化潜能的鉴定。×400
Fig 1 Differentiation potentials of hUC-MSCs. ×400
A: Adipogenic differentiation; B: Chondrogenic differentiation; C: Osteogenic differentiation

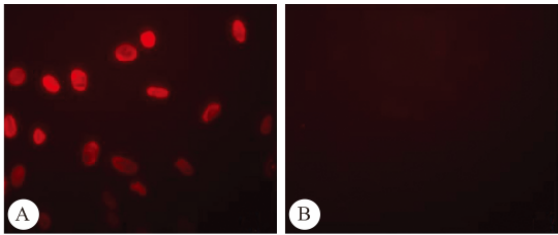


图 2 BrdU 标记 hUC-MSCs 的免疫荧光鉴定。×400
Fig 2 The immunological fluorescence characterization of the BrdU-labeled hUC-MSCs. ×400
A: BrdU-labeled hUC-MSCs (red); B: Negative control

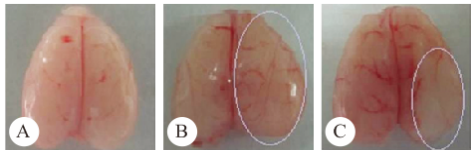


图 3 肉眼观察缺氧缺血后鼠脑大体标本病理改变
Fig 3 Pathological changes of the brains of rats with HIBD
A: Sham operation control; B: The right part of brain with edema (24 h after HI); C: The right part of brain with infarction (72 h after HI)

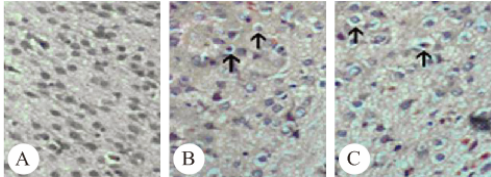


图 4 HE 染色观察缺氧缺血后脑组织病理学改变(↑示皱缩脑细胞)。×400
Fig 4 Pathological changes of brain tissues of the rats with HIBD HE staining (↑: the shrinkage brain cell). ×400
A: Sham operation control; B: 24 h after HI; C: 72 h after HI

2.3 移植后大鼠体质量增长情况观察

移植前,各组大鼠体质量差异无统计学意义 ($P > 0.05$);移植后第 1 周 HIBD 组及 MSCs 组体质量较假手术组低,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),且 HIBD 组动物体质量较 MSCs 组低;随着时间推移,MSCs 组的体质量增长较 HIBD 组逐渐改善,在侧脑室移植后第 2、3 周,HIBD 组分别与假手术组、MSCs 组之间的体质量差异有统计学意义 ($P < 0.05$),MSCs 组与假手术组之间体质量差异无统计学意义 ($P > 0.05$)(表 1)。

2.4 移植后神经行为学评分

移植后 1 周,MSCs 组和 HIBD 组之间 Longa 评分差异无统计学意义 ($P > 0.05$);随着时间推移,

表 1 移植后不同时间点各组大鼠体重质量比较

Table 1 Body mass of rats in different groups after the transplantation

Group	Body mass/g		
	1 st week	2 nd week	3 rd week
Sham	36.9±1.34	57.6±1.59	88.7±1.66
MSCs	35.2±1.22△	55.1±1.63★	86.4±2.41★
HIBD	32.8±1.22△	53.9±1.92△	82.0±2.73△

★ $P < 0.05$, vs. HIBD group; △ $P < 0.05$, vs. sham operation group

于移植后 2、3 周, MSCs 组 Longa 评分较 HIBD 组评分降低, 两组之间差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (表 2)。

2.5 移植后 hUC-MSCs 的存活、迁移、分化

见图 5~图 7。hUC-MSCs 移植后 1、2、3 周, 经免疫荧光检测, 移植组均可见 BrdU 阳性细胞, 主要分布于损伤侧海马及大脑皮质区域, 偶见于对侧脑

表 2 3 组大鼠在侧脑室移植不同时间点 Longa 评分的比较

Table 2 Longa scores of rats in different groups after the transplantation

Group	Longa score		
	1 st week	2 nd week	3 rd week
Sham	0★	0★	0★
MSCs	3.17±0.75△	2.67±0.52★·△	1.83±0.75★·△
HIBD	3.50±0.55△	3.33±0.52△	2.83±0.41△

★ $P < 0.05$, vs. HIBD group; △ $P < 0.05$, vs. sham operation group

组织; BrdU 信号随时间推移逐渐减弱; 部分 hUC-MSCs 胞浆内出现 BrdU 和 GFAP 或 NSE 染色的双阳性, 说明部分移植的 hUC-MSCs 可进行神经样分化。

在移植后的 3 周内, HIBD 组及 MSCs 组大鼠各时间点脑组织内 GFAP 及 NSE 的信号强度均逐渐增强 (图 8), MSCs 组高于假手术组和 HIBD 组,

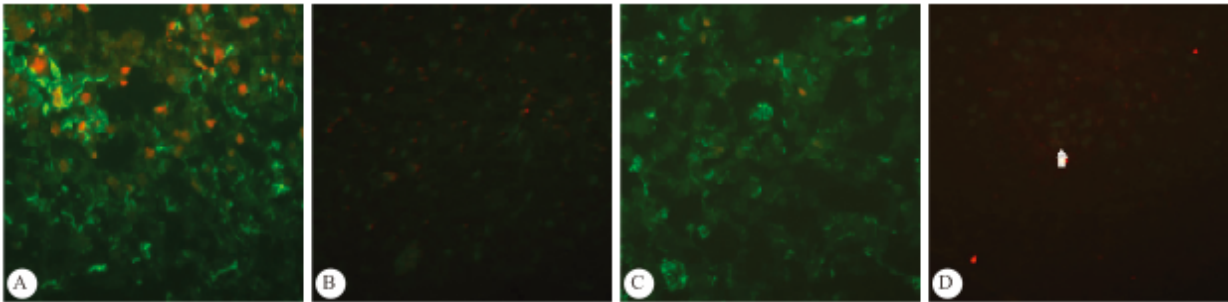


图 5 移植后 MSCs 组大鼠脑组织的免疫荧光双标记染色。×400

Fig 5 The double staining immunological fluorescence testis of brain tissues in MSCs group after transplantation. ×400

A,C: BrdU (red) and GFAP (green); B,D: BrdU (red) and NSE (green). A,B: 1st week; C,D: 3rd week

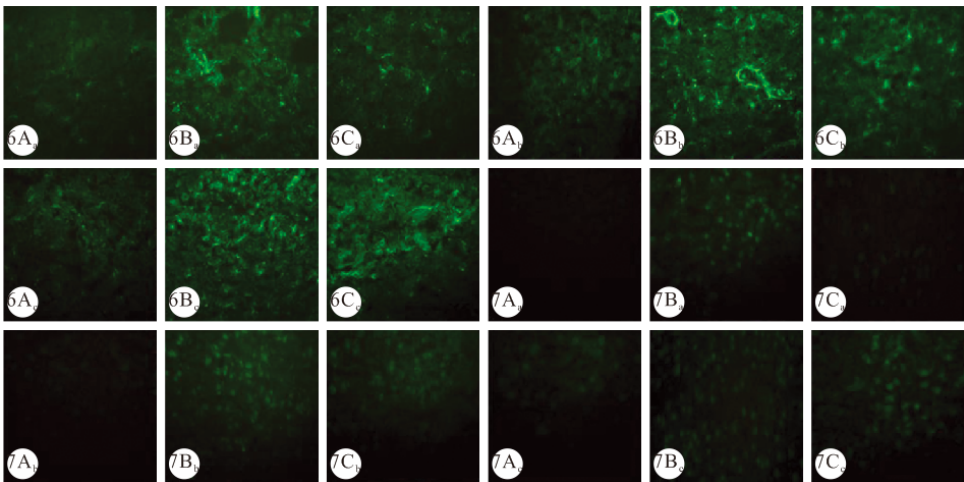


图 6 各组大鼠移植后脑组织 GFAP 表达。×400

Fig 6 The expression of GFAP in brain tissues of rats after transplantation. ×400

图 7 各组大鼠移植后脑组织 NSE 的表达。×400

Fig 7 The expression of NSE in brain tissues of rats after transplantation. ×400

6A, 7A: Sham operation group; 6B, 7B: Transplantation group; 6C, 7C: HIBD group. a: 1st week; b: 2nd week; c: 3rd week

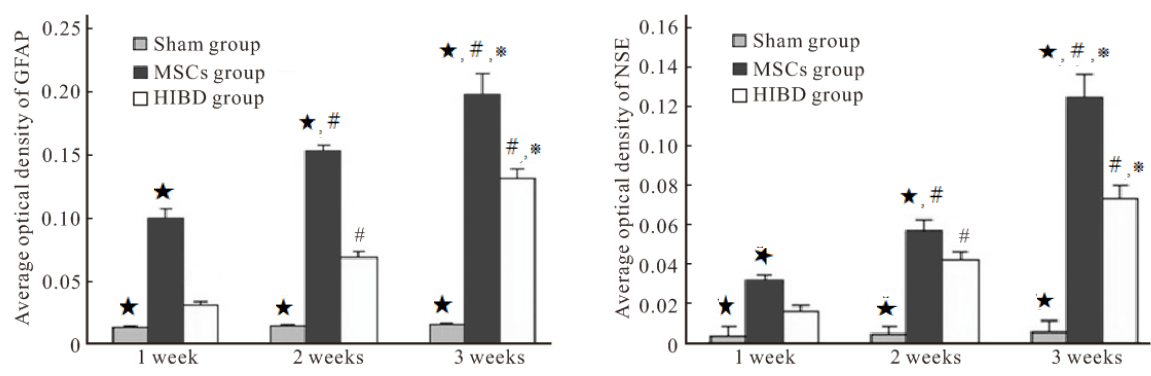


图 8 各组大鼠移植后脑组织中 GFAP 及 NSE 表达水平

Fig 8 Expressions of GFAP and NSE in brain tissues of rats after transplantation

★ $P<0.05$, vs. HIBD group; # $P<0.05$, vs. 1-week; ※ $P<0.05$, vs. 2-week in the same group

差异有统计学意义($P<0.05$)。表明 HIBD 后能诱导内源性神经样分化,而 hUC-MSCs 移植治疗能更显著地促进内源性神经分化。

3 讨论

HIE 是新生儿期常见而危害严重的疾病,主要由围生期缺氧引起,HIE 患儿中超过 25% 遗留有包括运动发育迟缓、视觉运动或视觉感知障碍、多动症、脑瘫及癫痫等严重的神经系统后遗症^[9]。目前临床上的治疗和干预措施仅限于支持对症,并没有针对性强的理想治疗方法。新生儿脑损伤后神经元具有一定的再生能力,但是自身修复能力很有限,因此利用干细胞移植修复脑损伤成为近年来新生儿脑损伤领域的研究热点。PIMENTEL-COELHO 等^[10]的研究中,7 d 龄新生大鼠 HIBD 后 3 h 给予腹腔内注射脐血干细胞,结果显示在移植后 1 周大鼠的感觉、运动功能均有所改善,且大脑皮层激活的小胶质细胞数目明显减少。XIA 等^[4]通过脑室内注射方式在新生大鼠 HIBD 后第 3 天给予 MSCs 治疗,结果显示 MSCs 能够迁徙到海马区,并分化成星形胶质细胞,且接受 MSCs 治疗的 HIBD 大鼠 mNSS 评分较对照组有所改善。

hUC-MSCs 具有免疫原性低,干细胞含量丰富,分化潜能高;有胎盘屏障的保护,细菌、病毒感染的风险较其他来源的 MSCs 小等诸多优点^[11],因此本研究采用脐带组织贴壁培养的方法获得 hUC-MSCs,经鉴定表明我们分离纯化所得的细胞符合最低标准^[12-13],确认为 hUC-MSCs。本研究选用神经发育程度接近人类足月新生儿的 10 日龄 SD 大鼠为研究对象^[14],HIBD 建模后,大鼠脑组织在

形态学及病理学变化中,HIBD 后脑组织有明显充血、水肿、梗死及液化表现;光镜下发现神经元的水肿、变性、坏死以及皮层和海马为主,与新生儿 HIE 后病理学改变相似,证实 HIBD 模型建立成功。

根据 HIE 发病特点,脑组织损伤区域趋化因子如 IL-8、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、巨噬细胞炎症蛋白-1 α (MIP-1 α)的水平较高,利于移植细胞迁徙和定植^[15],且血脑屏障在 HI 后 24~72 h 处于开放状态,循环中的血管内皮生长因子(VEGF)、脑源性生长因子(BDNF)等可向脑组织转移,益于移植干细胞存活,因此本研究将 MSCs 的移植时间选择在 HI 后 24 h,并通过直接脑内注射的方式使其随脑脊液到达病变部位,使更多细胞集中在脑组织损伤区域定植,减少了移植细胞在循环中的丢失。本研究结果表明,MSCs 组新生大鼠在移植后第 2、3 周神经行为评价较 HIBD 组有所改善,说明 MSCs 随着移植时间的延长可有效促进 HIBD 大鼠神经功能恢复。综合比较 3 组大鼠侧脑室移植后的体质量变化情况及 Longa 评分,表明随日龄增加,MSCs 组新生大鼠在精神状态、反应能力、运动功能及体重增长等方面较 HIBD 组逐渐改善,一定程度反映了 hUC-MSCs 移植治疗 HIBD 的保护作用。通过侧脑室移植干细胞直接作用于受损区域脑组织,在动物实验中有显著效果,但由于其有创性难以在临床实施。GI 等^[16]的研究表明,通过滴鼻的方式移植神经干细胞可迁移至受损脑组织,保护缺氧缺血所致脑损伤,改善神经行为学功能。其他通过静脉注射、腹腔内注射等移植方式也有相关实验,各移植方式的剂量、效果及其机制还需进一步的实验探索。

我们前期的研究^[17]表明,移植后 24~48 h,

MSCs 组的细胞凋亡数量及 caspase-3 蛋白表达均低于 HIBD 组 ($P < 0.05$), 而 p-Akt 表达增多, 推测 MSCs 移植治疗新生大鼠 HIBD 时, 可通过 PI3K/Akt 信号通路的激活, 最终减少细胞凋亡, 在早期发挥神经保护作用。大量运用 MSCs 治疗新生大鼠 HIBD 的研究, 在受损脑组织区域可见所移植的干细胞, 且这些干细胞分化成为星形胶质细胞、神经元等^[18-19]。本研究将 Brd U 标记的 hUC-MSCs 经侧脑室移植入 HIBD 新生大鼠脑组织内, 观察到移植后 1、2、3 周损伤侧海马区域及大脑皮质均可见 BrdU 阳性细胞表达, 随时间推移 BrdU 阳性细胞数逐渐减少, 原因可能是由于植入的 hUC-MSCs 受脑内局部微环境不利因素影响发生凋亡, 以及 BrdU 作为干细胞的标记物在 DNA 修复工程中逐渐消失。hUC-MSCs 可以在神经分化培养基诱导下分化表达特异性神经元抗原^[20], 我们的研究结果亦显示 hUC-MSCs 在植入后可在新生大鼠脑内存活, 并表达神经胶质细胞特异性标志物 GFAP 及成熟神经元特异性标志物 NSE, 表明植入细胞可向神经胶质细胞及神经元分化, 随着时间的延长所移植细胞分化能力逐渐减弱, 与国内外研究结果^[21]基本一致。我们的研究结果显示: MSCs 组 GFAP 及 NSE 阳性表达情况高于 HIBD 组, 且 MSCs 组移植后 1、2、3 周 GFAP 及 NSE 阳性表达逐渐增强, 移植后第 3 周仅有极少量 MSCs 在脑组织中存活, 但 GFAP 及 NSE 的表达量仍逐渐增强, 其原因可能是在新生动物的脑室下区 (SVZ) 存在大量神经干细胞^[22], 缺氧后 1 周至 2 周, 在缺氧同侧的 SVZ 的神经干细胞增殖分化能力增强, 迁移到缺血区并分化为成熟的神经元, 整合到脑实质中起到修复作用, 我们由此推测, 这是 hUC-MSCs 移植治疗 HIBD 晚期的重要机制。

综上所述, hUC-MSCs 移植治疗 HIBD 新生大鼠时, 可分化为神经样细胞并促进内源性神经样细胞的分化, 修复损伤脑组织, 从而有效改善 HIBD 新生大鼠的肌张力、运动功能等神经行为。hUC-MSCs 移植治疗新生大鼠 HIBD 的脑保护作用可为临床治疗新生儿 HIE 提供了一定的理论依据。

参 考 文 献

- [1] LAWN JE, COUSENS S, ZUPAN J, *et al.* 4 million neonatal deaths: when, where, why. *Lancet*, 2005, 365 (9462): 891-900.
- [2] WANG GH, LIU Y, WU XB, *et al.* Neuroprotective effects of human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells combined with nimodipine against radiation-induced brain injury through inhibition of apoptosis. *Cytotherapy*, 2016, 18 (1): 53-64.
- [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. *Cell Tissue Res*, 2012, 348(3): 429-438.
- [4] XIA G, HONG X, CHEN X, *et al.* Intracerebral transplantation of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord blood alleviates hypoxic ischemic brain injury in rat neonates. *Perinat Med*, 2010, 38(2): 215-221.
- [5] RICE JE, 3rd, VANNUCCI RC, BRIERLEY JB. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat. *Ann Neurol*, 1981, 9(2): 131-141.
- [6] DIAO Y, MA Q, CUI F, *et al.* Human umbilical cord esenchymal stem cells: osteogenesis *in vivo* as seed cells for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res*, 2009, 91(1): 123-131.
- [7] ZHOU X, GU J, GU Y, *et al.* Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells improve learning and memory function in hypoxic-ischemic brain-damaged rats via an IL-8-mediated secretion mechanism rather than differentiation pattern induction. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35(6): 2383-2401.
- [8] 李丽华, 屈 艺, 刘红卫, 等. 足月新生儿缺氧缺血性脑损伤大鼠模型的制作与鉴定. *中国实验动物学报*, 2009, 17(4): 266-269.
- [9] VASILJEVIC B, MAGLAJLIC-DJUKIC S, GOJNIC M, *et al.* New insights into the pathogenesis of perinatal hypoxic-ischemic brain injury. *Pediatr Int*, 2011, 53(4): 454-462.
- [10] PIMENTAL-COELHO PM, MAGALHAES ES, LOPES LM, *et al.* Human cord blood transplantation in a neonatal rat model of hypoxic-ischemic brain damage: functional outcome related to neuroprotection in the striatum. *Stem Cells Dev*, 2010, 19(3): 351-358.
- [11] TOMAR G, SRIVASTAVA R, GUPAT N, *et al.* Human gingival-derived mesenchymal stem cells are superior to bone marrow-derived mesenchymal stem cells for cell therapy in regenerative medicine. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 393(3): 377-383.
- [12] ARUTYUNYAN I, ELCHANINOV A, MAKAROV A, *et al.* Umbilical cord as prospective source for mesenchymal stem cell-based therapy. *Stem Cells Int*, 2016, 2016: 6901286 [2016-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5019943/>. doi:10.1155/2016/6901286.
- [13] SOUSA BR, PARREIRA RC, FONSECA EA, *et al.* Human adult stem cells from diverse origins: an overview from multiparametric immunophenotyping to clinical applications. *Cytometry A*, 2014, 85(1): 43-77.
- [14] HAGBERG H, ICHORD R, PALMER C, *et al.* Animal models of developmental brain injury: relevance to human

disease. A summary of the panel discussion from the Third Hershey Conference on Developmental Cerebral Blood Flow and Metabolism. *Dev Neurosci*,2002,24(5):364-366.

[15] Gordon RJ, Mehrabi NF, Maucksch C, *et al.* Chemokines influence the migration and fate of neural precursor cells from the young adult and middle-aged rat subventricular zone. *Exp Neurol*,2012,233(1):587-594.

[16] JI G, LIU M, ZHAO XF, *et al.* NF- κ B signaling is involved in the effects of intranasally engrafted human neural stem cells on neurofunctional improvements in neonatal rat hypoxic-ischemic encephalopathy. *CNS Neurosci Ther*,2015, 21(12):926-35.

[17] 张德双, 白小红, 姚裕家, 等. PI3K/Akt 通路在 UC-MSCs 移植治疗新生大鼠 HIBD 中的作用机制. *四川大学学报(医学版)*,2015,46(6):832-836.

[18] 颜小华, 余珍, 刘伟, 等. 脐血间充质干细胞移植修复缺氧缺血损伤新生大鼠的脑功能. *中国组织工程研究*,2012, 16(45):8445-8452.

[19] WEI X, DU Z, ZHAO L, *et al.* IFATS collection: the conditioned media of adipose stromal cells protect against hypoxia-ischemia-induced brain damage in neonatal rats. *Stem Cells*,2009,27(2):478-488.

[20] NEKANTI U, MOHANTY L, VENUGOPAL P, *et al.* Optimization and scale-up of wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells for clinical applications. *Stem Cell Res*,2010,5(3):244-254.

[21] 袁源, 杨树源, 张建宁. 人脐带间充质干细胞移植治疗大鼠创伤性脑损伤. *中国组织工程研究与临床康复*,2011,15 (45):8424-8428.

[22] RYU S, LEE SH, KIM SU, *et al.* Human neural stem cells promote proliferation of endogenous neural stem cells and enhance angiogenesis in ischemic rat brain. *Neural Regen Res*,2016,11(2):298-304.

(2016-10-12 收稿, 2016-12-17 修回)

编辑 汤洁

~~~~~

本 刊 征 稿 启 事

《四川大学学报(医学版)》(原《华西医科大学学报》)是中文核心期刊,曾荣获全国优秀科技期刊一等奖、首届国家期刊奖提名奖、第二、三届全国期刊奖百种重点期刊、四川省十佳科技期刊称号和第一、二、三、四、五届中国高校精品科技期刊奖,2014 中国国际影响力优秀学术期刊。本刊被美国《医学索引》(INDEX MEDICUS, IM/MEDLINE),《生物学文摘》(BIOLOGICAL ABSTRACTS, BA),《化学文摘》(CHEMICAL ABSTRACTS, CA),荷兰《医学文摘》(EXCERPTA MEDICA, EM),中国科技论文与引文数据库(CSTPCD),中国生物医学文献光盘数据库(CBMdisc),中文生物医学期刊文献数据库(CMCC),中国学术期刊网全文数据库(CNKI),中国学术期刊(光盘版),万方数据-数字化期刊群等数据库收录。

为了更好地开展国内外学术交流,促进医药卫生事业的发展,凡符合编辑部稿件要求(见每卷末期稿约),均可向本刊投稿。凡属于国家自然科学基金及其他部省级以上科研基金资助的来稿,编辑部将适当地给予优先。用英文撰写的稿件投稿时应附上中文稿。英文稿一经采用,刊出时间可提前。

本刊在线投稿网址:<http://scdx.cnjournals.com>

地址:四川省成都市人民南路三段 17 号四川大学学报(医学版)编辑部

邮政编码:610041

电话/传真:(028)85501320

E-mail: [scuxbyxb@scu.edu.cn](mailto:scuxbyxb@scu.edu.cn)

四川大学学报(医学版)编辑部