

CRMP2 真核表达质粒在大鼠缺血/再灌注脑皮质转染效率的对比研究

幸享凤¹, 王玉², 张融融², 秦新月², 王恬竹²

摘要 目的:筛选 Collapsin 反应调节蛋白 2(CRMP2)真核表达质粒转染大鼠脑皮质的适宜注射部位。方法:成年雄性 SD 大鼠 150 只随机分为空白质粒(VP)组、侧脑室(LV)组、海马(H)组、皮质(C)组及嗅球(OB)组。选定质粒注射部位后,20 只大鼠随机分为假手术(sham)组、缺血再灌注(MCAO)组、缺血再灌注+空白质粒(MCAO+GFP)组、缺血再灌注+CRMP2 真核质粒干预(MCAO+CRMP2/GFP)组。大鼠脑缺血/再灌注模型成功后,分别于相应 4 个部位立体定向注射 CRMP2 真核表达质粒/空白质粒,转染后 24 h 和 48 h,采用 Western blot 及 RT-PCR 检测缺血区皮质 CRMP2 蛋白及 mRNA 的表达;激光共聚焦检测 GFP 的表达。TTC 检测脑梗死体积,同时行神经功能评估。结果:不同部位注射 CRMP2 真核表达质粒后,皮质 CRMP2 的表达均有增高,其中 LV 组及 H 组的转染效率明显高于 C 组及 OB 组($P<0.05$),LV 组与 H 组之间差异无统计学意义($P>0.05$)。与 MCAO 及 (MCAO+GFP)组相比,CRMP2 真核质粒干预之后能缩小脑梗死体积,促进神经功能恢复($P<0.05$)。结论:CRMP2 真核表达质粒能够成功转染大鼠脑组织,使缺血区皮质 CRMP2 蛋白及 mRNA 的表达明显增高。侧脑室的转染效率较其他三个部位更高。

关键词 Collapsin 反应调节蛋白 2;真核表达质粒;脑缺血再灌注;转染

中图分类号 R741;R741.02 文献标识码 A DOI 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20190837

本文引用格式:幸享凤,王玉,张融融,等. CRMP2 真核表达质粒在大鼠缺血/再灌注脑皮质转染效率的对比研究[J]. 神经损伤与功能重建, 2020, 15(7): 373-376, 415.

Transfection Efficiency of CRMP2 Eukaryotic Expression Plasmid in Rat Cortex After Ischemia/Reperfusion Injury XING Xiang-feng¹, WANG Yu², ZHANG Rong-rong², QIN Xin-yue², WANG Tian-zhu². 1. Department of Neurology, Guangzhou Huadu District People's Hospital, Guangzhou 510800, China. 2. Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Abstract Objective: To select the appropriate site of transfection of the collapsin response mediator protein 2 (CRMP2) eukaryotic expression plasmid in the cortex of rat brains. **Methods:** A total of 150 adult male Sprague-Dawley rats were randomly divided into groups vacant plasmid (VP), lateral ventricle (LV), hippocampus (H), cortex (C), and olfactory bulb (OB). After the appropriate site were chosen, 20 rats were divided into groups sham, middle cerebral artery occlusion (MCAO), (MCAO+GFP), (MCAO+CRMP2/GFP). The CRMP2 eukaryotic expression plasmid and vacant plasmid were respectively injected into the four different parts of MCAO/reperfusion model rats by stereotactic surgery; 24 h and 48 h after transfection, expression of CRMP2 protein and mRNA were tested by Western blot and RT-PCR assay and the expression of GFP was examined by laser scanning confocal microscope. TTC staining was employed to observe the cerebral infarct volume, and neurological function was also evaluated. **Results:** After injection of the plasmid, CRMP2 expression levels in the cortex increased; the expression levels in the LV and H groups were significantly higher than those in the C and OB groups ($P<0.05$) while there was no statistical difference between the LV and H groups ($P>0.05$). Compared to MCAO without plasmid treatment, CRMP2 eukaryotic plasmid intervention reduced cerebral infarction volume and promoted neural functional recovery ($P<0.05$). **Conclusion:** The CRMP2 eukaryotic expression plasmid can successfully transfect rat cortical tissue and lead to increased expression of CRMP2 proteins and mRNA in the ischemic cortical regions. The transfection rate is higher in the lateral ventricle than in the other three locations.

Key words collapsin response mediator protein 2; eukaryotic expression plasmid; cerebral ischemia/reperfusion; transfection

Collapsin 反应调节蛋白 2 (Collapsin response mediator protein 2, CRMP2)是中枢神经系统里的一种多功能衔接蛋白,与细胞骨架上配体结合后可调节多种神经生理活

动,如微管动力学、轴突出芽及回缩、神经分化、树突/轴突特化、依赖驱动蛋白的轴突转运、钙离子内态稳定性、神经介质的释放等^[1-3]。研究发现,在脑缺血情况下 CRMP2 上调是

作者单位

1. 广州市花都区人民医院神经内科
广州 510800

2. 重庆医科大学附属第一医院神经内科
重庆 430065

基金项目

国家自然科学基金
(No. 81200900)

收稿日期

2019-06-28

通讯作者

王恬竹
dolphin820916@163.com

一种有效的神经保护方式^[4]。因此,本实验拟通过外源性干预使脑内过表达CRMP2来进一步研究其潜在的神经保护机制,包括改善凋亡、调节神经递质释放以及对神经再生的影响。立体定向注射外源性病毒、质粒已成为一种广泛应用的手段,常选择侧脑室、海马、前额皮质及嗅侧皮质等部位作为注射点。本课题组前期研究采用侧脑室、皮质、海马联合皮质三种方式进行病毒转染^[1,5,6],均取得理想效果;但并不清楚哪种方式的转染效果更佳。所以本实验旨在探索注射真核表达质粒的适宜部位,为进一步研究CRMP2转染后的干预机制奠定实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康成年雄性7~8周龄SD大鼠,体重280~300 g,由重庆医科大学实验动物中心提供。

1.1.2 主要试剂与仪器 CRMP2真核表达质粒pCDNA3.1+(购于上海生工公司),兔抗CRMP2(购于美国CST公司),RNA提取、逆转录及扩增试剂盒(购于Takara公司),山羊抗兔二抗(购于碧云天公司),PI(购于美国Sigma公司)。大鼠脑立体定位仪(购于深圳瑞沃德公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 根据空白质粒不同的注射部位进行分组,30只大鼠随机分为正常(normal)组、对照(control)组(单纯缺血再灌注)、侧脑室加空质粒(LV+VP)组、海马加空质粒(H+VP)组、皮质加空质粒(C+VP)组、嗅球加空质粒组(OB+VP),每组5只。根据真核表达质粒不同注射部位进行分组,另选大鼠150只,随机分为空白质粒(VP)组、侧脑室(LV)组、海马(H)组、皮质(C)组及嗅球(OB)组,每组30只,24 h和48 h各15只,其中5只用于绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)检测,5只用于Western blot检测,5只用于RT-PCR检测。选定注射部位后,根据质粒注射情况进行分组,另选取大鼠20只,随机分为假手术(sham)组、缺血再灌注(MCAO组)、缺血再灌注加空白质粒(MCAO+GFP)组、缺血再灌注加CRMP2真核质粒干预(MCAO+CRMP2/GFP)组,每组5只,用于TTC染色和神经功能评分。

1.2.2 大鼠大脑中动脉缺血/再灌注模型制备 参照本课题组前期的实验操作方法^[1];大鼠经腹腔注射10%水合氯醛(0.35 mL/100g),固定在操作台上,脑正中切口,固定好PF5000脑血流检测仪p407探头于右侧大脑

中动脉供血区域,随后大鼠仰卧固定,颈正中切口,分离出右侧颈总动脉(common carotid artery, CCA)、颈外动脉(external carotid artery, ECA)、颈内动脉(internal carotid artery, ICA),游离ECA,夹闭ICA和CCA,将直径0.20 mm、头端0.40 mm线栓从ECA缓慢逆行插入ICA,在18~20 mm处感阻力,并检测到血流下降达70%以上,结扎固定线栓,2 h后再灌注。进行Longa评分,1~3分纳入实验,0、4分及取材有蛛网膜下腔出血者剔除,同批次模型中随机补充。

1.2.3 脑立体定位注射 以前囟为坐标原点,四个部位的坐标点分别为:右侧两点皮质(2, 1, -1.5)mm, (2, -3.0, -1.5)mm;右侧侧脑室(1.2, -1.5, -4.5)mm;右侧海马(2, -3.0, -3.5)mm;右侧嗅球(1.7, +7.1, -3.8)mm。大鼠缺血/再灌注模型成功后立即进行立体定向手术,CRMP2真核表达质粒(160 ng/ μ L)或空载体质粒(160 ng/ μ L)分别注射到对应组别的对应靶点,每个点注射质粒4 μ L,注射速度为0.3 μ L/min,注射完毕后留针5 min。

1.2.4 激光共聚焦检测 GFP 为检测质粒在脑内转染情况,分别于再灌注后24 h及48 h采用激光共聚焦观察GFP荧光。

1.2.5 Western blot检测 质粒注射24 h、48 h后将大鼠断头取脑,取右侧缺血区皮质液氮速冻后-80 $^{\circ}$ C保存。按照蛋白提取说明书提取总蛋白,绘制标准曲线,计算蛋白浓度,配平至5 μ g/ μ L。蛋白样品在10%的SDS-PAGE凝胶中分离后,转移至PVDF膜上,5%脱脂牛奶封闭90 min,CRMP2(65 kD)一抗(1:1 000)4 $^{\circ}$ C孵育18 h,山羊抗兔二抗(1:1 000)37 $^{\circ}$ C孵育1 h后, Fusion cap凝胶扫描分析。

1.2.6 RT-PCR检测 标本收集同Western blot,采用Trizol一步法提取缺血区皮质总RNA,紫外分光光度计测定A260/A280比值,在1.8~2.2范围内者用于实验。参照RNA逆转录试剂盒说明书合成cDNA于-20 $^{\circ}$ C保存。上游:5' TCC GGT CTG TTC TGG CTT TTT C 3', 下游:5' AGG GTC CGC TCA GGC TGT GTC 3' (CRMP-2, 162 bp)。按照SYBR Prime ScriptTM RT-PCR试剂盒说明书,进行聚合酶链反应。

1.2.7 脑梗死体积检测及神经功能评估 脑缺血再灌注24 h后,参照课题组前期的评分标准及脑梗死体积评估方法进行神经功能评分及TTC染色^[9],评分者单盲。

1.3 统计学处理

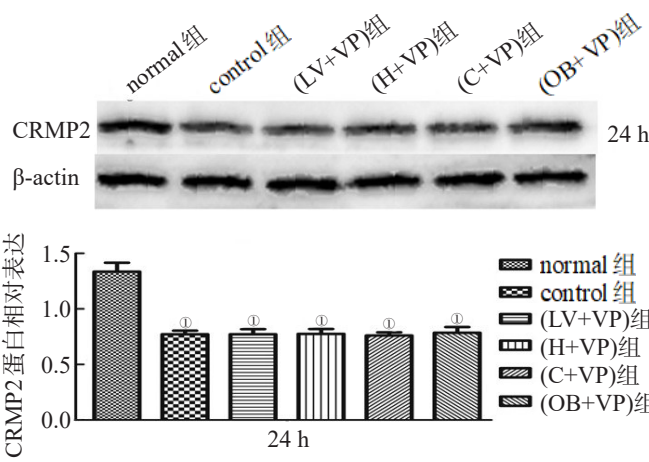
采用SPSS 22.0统计学软件分析数据,计量结果以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较运用AVONA分析,方差齐性资

料两两比较行 *LSD* 检验,方差不齐则用秩和检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 质粒转染效率的观察

2.1.1 不同部位注射空白质粒之后 CRMP2 的表达
与 normal 组相比,脑缺血再灌注后 CRMP2 的表达明显降低($P<0.05$)。注射空白质粒之后,各组 CRMP2 的表达与 control 组相比差异无统计学意义($P>0.05$);各个部位注射空白质粒之后,CRMP2 的表达差异无统计学意义($P>0.05$),见图 1。因此,后续研究选择(LV+VP)组作为对照。



注:与 normal 组比较, ^① $P<0.05$

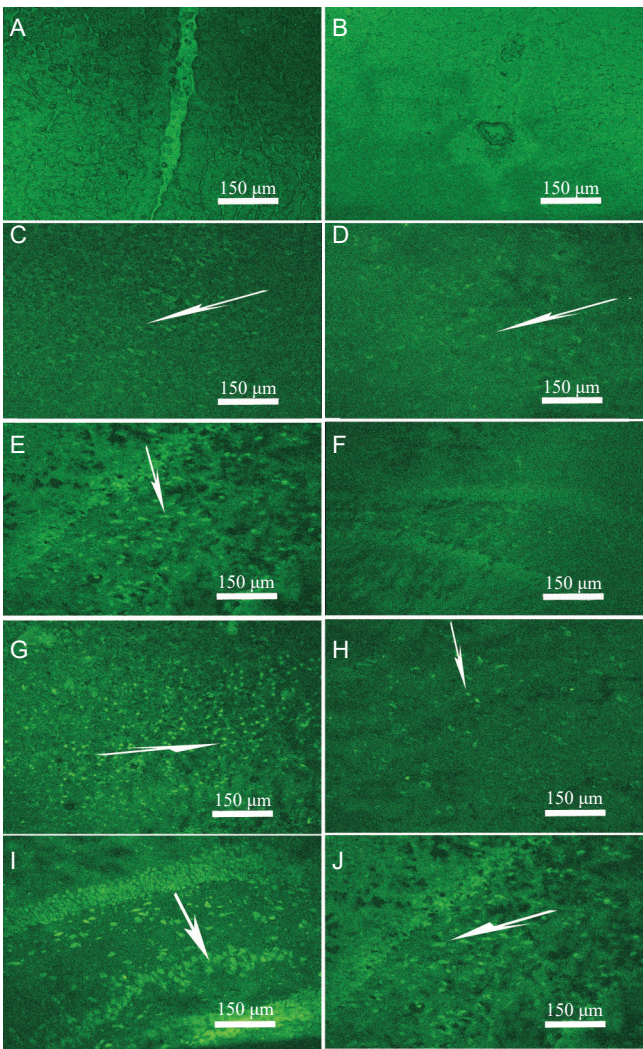
图1 各部位注射空白质粒之后 CRMP2 的表达($n=5, \bar{x} \pm s$)

2.1.2 CRMP2 真核表达质粒转染后脑组织中 GFP 的表达
海马和侧脑室注射 CRMP2 真核表达质粒后 24 h 及 48 h 激光共聚焦结果显示,24 h 侧脑室和海马的 GFP 的表达量均较 48 h 多,见图 2、表 1。

2.1.3 缺血侧皮质 CRMP2 的表达对比
注射真核表达质粒后 24 h 及 48 h,各组 CRMP2 表达量均较 VP 组高($P<0.05$);同一时间点,LV 组与 H 组之间 CRMP2 表达差异无统计学意义,且均较 C 组和 OB 组高($P<0.05$);C 组与 OB 组相比差异无统计学意义($P>0.05$);不同时间点组内比较,CRMP2 表达差异无统计学意义,见图 3。

2.2 过表达 CRMP2 对大鼠脑缺血再灌注后保护作用的观察

再灌注后 24 h, (MCAO+CRMP2/GFP) 组大鼠梗死灶较 MCAO 组及 (MCAO+GFP) 组明显缩小($P<0.05$)。与 sham 组比,其余三组神经功能评分显著降低($P<0.05$),过表达 CRMP2 干预后,能明显改善大鼠的神经功能缺损情况($P<0.05$)。以上结果进一步证实,



注:A 为 24 h control 组;B 为 48 h control 组;C 为 24 h (LV+VP) 组;D 为 48 h (LV+VP) 组;E 为 24 h (H+VP) 组;F 为 48 h (H+VP) 组;G 为 24 h LV 组;H 为 48 h LV 组;I 为 24 h H 组;J 为 48 h H 组;白色箭头指向 GFP 阳性细胞,标尺为 150 μ m

图2 GFP 在大鼠颅内的表达情况($n=5, \bar{x} \pm s$)

表1 真核表达质粒 24 h 和 48 h 在大鼠颅内的转染率^① (% , $\bar{x} \pm s$)

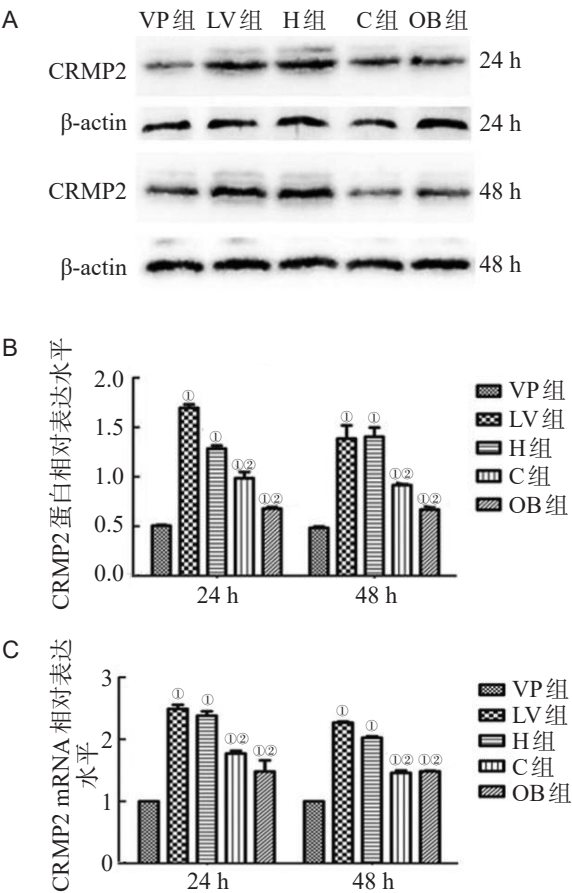
组别	只数	24 h 转染率	48 h 转染率
LV 组	5	82.32±1.26	45.67±0.48
H 组	5	60.23±0.85	41.35±0.45 ^②
C 组	5	45.12±0.67	38.36±0.99 ^②
OB 组	5	39.12±1.03	26.15±0.87 ^②

注: ^①转染率:以注射孔为中心,相同的间距不连续取 3 个脑片,选取周围 5 个区域计算转染细胞的数量;与 24 h 比较, ^② $P<0.05$

CRMP2 真核表达质粒不仅能成功转染大鼠脑组织,还能发挥神经保护作用,见图 4、表 2。

3 讨论

CRMP2 已被证实在中枢神经系统中大部分神经元及少突胶质细胞内保持着高表达^[7]。其通过调节基



注:与VP组比较,① $P<0.05$;与LV组比较,② $P<0.05$
图3 各组大鼠脑组织CRMP2的表达($n=5, \bar{x}\pm s$)

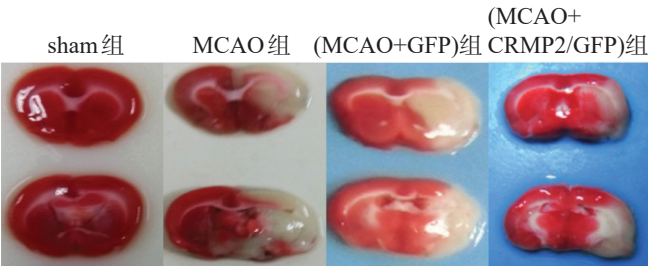


图4 脑缺血再灌注后24 h各组大鼠脑组织TTC染色($n=5, \bar{x}\pm s$)

表2 脑缺血再灌注后24 h各组大鼠脑梗死体积及
神经功能评分($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	脑梗死体积 百分比/%	神经功能 评分/分
Sham组	5	0.00±0.00	14.17±0.47
MCAO组	5	44.89±0.44 ^①	6.83±0.47 ^①
(MCAO+GFP)组	5	44.06±0.61 ^{①③}	7.00±0.37 ^{①③}
(MCAO+ CRMP2/GFP)组	5	24.72±0.59 ^{①②}	9.33±0.42 ^{①②}

注:与sham组比较,① $P<0.05$;与MCAO组比较,② $P<0.05$;
与(MCAO+CRMP2/GFP)组比较,③ $P<0.05$

因的多态性、蛋白质的表达及RNA翻译后修饰等作用而参与阿尔兹海默病、精神分裂症及亨廷顿病等神经系统疾病的病理生理过程^[8-10]。在大鼠脑缺血模型中,

CRMP2调节了NMDA受体的功能,稳定了钙离子内流^[11]。Shadia等^[12,13]研究发现银杏制剂EGb761脑缺血的脑保护作用,即缩小了脑梗死体积,减轻了细胞凋亡,CRMP2参与其具体的传导通路。因此,CRMP2对脑组织具有多重的神经保护作用。

为了深入研究CRMP2对MCAO大鼠的神经保护机制,本研究选择真核表达质粒作为基因干预载体,从不同部位外源性导入,使动物脑组织过量表达CRMP2,结果表明GFP的表达在24 h较48 h高。已有研究发现采用真核表达质粒转染动物细胞,其选择评价指标的时间点为转染后48 h^[14,15],从而推测,真核质粒转染效率达到高峰需要的时间可能为48 h左右。结合本研究结果推测CRMP2真核质粒的转染高峰时间可能在24~48 h。注入CRMP2真核表达质粒后,24 h及48 h LV组及H组CRMP2的mRNA及蛋白在缺血区皮质的表达较其余组高($P<0.05$),提示真核表达质粒能较好地转染大鼠脑组织,使目的基因及其蛋白高表达。通过表达量的横向比较,侧脑室或海马为更适宜的注射部位。尽管LV组与H组之间差异不明显,但前者CRMP2的表达稍高。此外,注入侧脑室的物质通过多种方式扩散到达其他部位的相应神经元,其中经室管膜扩散是其中一种方式^[16]。在脑缺血的情况下,室管膜及室管膜下区是神经干细胞增殖的主要区域,参与神经的修复及再生^[17],CRMP2可能对神经干细胞的增殖有一定的促进作用。综上,本研究选择将侧脑室作为后续研究中的立体定位注射靶点,同时发现过表达CRMP2之后能缩小脑梗死体积,减轻神经功能缺损。进一步证实,从侧脑室注射真核表达质粒,不仅能使脑内CRMP2成功过表达,而且还发挥其对大鼠缺血脑损伤的保护作用。

在神经系统疾病,如脑梗死、脑出血、阿尔兹海默症及帕金森病等的研究中,常会涉及外源性干预机制,部分是需要立体定向注射药物或者基因载体^[18,19]。注射部位的选择以经验性选择为主,本研究则证实不同部位注射之后的的效果差别,为后续研究提供了依据。本研究筛选出侧脑室作为注射部位,并且证实成功转染的真核质粒能有效发挥其功能,为后续研究CRMP2对大鼠缺血再灌注损伤后的神经保护作用及机制提供了实验基础。

参考文献

[1] Wang T, Wu X, Yin C, et al. CRMP-2 is involved in axon growth inhibition induced by RGMa in vitro and in vivo[J]. Mol Neurobiol, 2013, 47: 903-913.

参考文献

[1] 向玲, 昌盛, 胡如海, 等. 脑出血患者入院时血糖、血压、心肌酶、D-二聚体与疾病严重程度及预后的关系研究[J]. 中国急救复苏与灾害医学杂志, 2017, 12: 123-126.

[2] 李军, 管义祥, 顾志恺, 等. D-二聚体在高血压脑出血病人中的变化及临床意义[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2017, 15: 2912-2914.

[3] 张业斌, 张加星, 朱车甫, 等. 急性颅脑损伤及脑出血患者血浆D-二聚体水平动态变化及意义[J]. 中国基层医药, 2017, 24: 3127-3129.

[4] 刘伟, 初晶学. 凝血功能检测在脑出血患者预后评估中的应用价值[J]. 中国临床保健杂志, 2016, 19: 61-63.

[5] 王博禹, 董成林. 脑出血急性期血清前清蛋白水平与患者预后的相关性分析[J]. 检验医学与临床, 2018, 15: 1603-1605.

[6] 董蔚蔚, 李新星, 王文卿, 等. 血清D-二聚体水平与急性脑出血疾病严重程度及早期预后的关系[J]. 临床神经病学杂志, 2018, 31: 219-221.

[7] 高玉芳, 赵联营, 王敏, 等. 血浆D-二聚体检测在急性脑出血中的临床价值[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36: 721-722.

[8] Chan E, Anderson CS, Wang X, et al. Significance of intraventricular hemorrhage in acute intracerebral hemorrhage: Intensive blood pressure reduction in acute cerebral hemorrhage trial results[J]. Stroke, 2015, 46: 653-658.

[9] 霍龙伟. D-二聚体水平与急性脑出血病情严重程度的相关性研究[J]. 中国实验诊断学, 2015, 19: 2026-2029.

[10] 吴婵姬, 黄仕雄. 脑出血与脑梗死患者D-二聚体和凝血功能指标的变化研究[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2018, 21: 399-401.

[11] Boluijt J, Meijers JC, Rinkel GJ, et al. Hemostasis and fibrinolysis in delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2015, 35: 724-733.

[12] 魏巍, 吕涌涛, 陈兴旺, 等. 脑出血患者血肿和血浆中纤溶活性的相关性研究[J]. 中风与神经疾病杂志, 2017, 34: 59-62.

[13] 牛牧, 柯开富. D-二聚体水平对自发性脑出血早期血肿扩大的影响[J]. 江苏医药, 2015, 41: 399-401.

[14] Fukuda H, Lo B, Yamamoto Y, et al. Plasma D-dimer may predict poor functional outcomes through systemic complications after aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. J Neurosurg, 2017, 127: 284-290.

[15] 徐东升, 黄伟, 胡玲玲, 等. 脑出血患者血液标志物的变化及临床意义[J]. 海南医学, 2016, 27: 3118-3120.

(本文编辑:雷琪)

(上接第376页)

[2] Khanna R, Wilson SM, Brittain JM, et al. Opening Pandora's jar: a primer on the putative roles of CRMP2 in a panoply of neurodegenerative, sensory and motor neuron, and central disorders[J]. Future Neurol, 2012, 7: 749-771.

[3] Ip JP, Fu AK, Ip NY. CRMP2: functional roles in neural development and therapeutic potential in neurological diseases[J]. Neuroscientist, 2014, 20: 589-598.

[4] Martins-de-Souza D, Cassoli JS, Nascimento JM, et al. The protein interactome of collapsing response mediator protein-2 (CRMP2/DPYSL2) reveals novel partner proteins in brain tissue[J]. Proteomics Clin Appl, 2015, 9: 817-831.

[5] Guo J, Cheng C, Chen CS, et al. Overexpression of Fibulin-5 Attenuates Ischemia/Reperfusion Injury After Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats[J]. Mol Neurobiol, 2016, 53: 3154-3167.

[6] 程创, 秦新月, 郭嘉. 过表达Fibulin-5对大鼠脑缺血再灌注损伤后血脑屏障的保护作用[J]. 第三军医大学学报, 2014, 36: 1386-1389.

[7] Charrier E, Riebel S, Rogemond V, et al. Collapsin response mediator proteins (CRMPs): involvement in nervous system development and adult neurodegenerative disorders[J]. Mol Neurobiol, 2003, 28: 51-64.

[8] Cole AR, Noble W, van Aalten L, et al. Collapsin response mediator protein-2 hyperphosphorylation is an early event in Alzheimer's disease progression[J]. J Neurochem, 2007, 103: 1132-1144.

[9] Koide T, Aleksic B, Ito Y, et al. A Two-stage case-control association study of the dihydropyrimidinase-like 2 gene (DPYSL2) with schizophrenia in Japanese subjects[J]. J Hum Genet, 2010, 55: 469-472.

[10] Lim NK, Hung LW, Pang TY, et al. Localized changes to glycogen synthase kinase-3 and collapsing response mediator protein-2 in the Huntington's disease affected brain[J]. Hum Mol Genet, 2014, 23: 4051-4063.

[11] Brittain JM, Pan R, You T, et al. Disruption of NMDAR-CRMP-2 signaling protects against focal cerebral ischemic damage in the rat middle cerebral artery occlusion model[J]. Channels (Austin), 2012, 6: 52-59.

[12] Nada SE, Shah ZA. Preconditioning with Ginkgo biloba (EGb 761®) provides neuroprotection through HO1 and CRMP2[J]. Neurobiol Dis, 2012, 46: 180-189.

[13] Nada SE, Tulsulkar J, Shah ZA. Heme oxygenase 1-mediated neurogenesis is enhanced by Ginkgo biloba (EGb 761®) after permanent ischemic stroke in mice[J]. Mol Neurobiol, 2014, 49: 945-956.

[14] Wang Y, Gu J, Wang J. BDNF and NT-3 expression by using glucocorticoid-induced bicistronic expression vector pGC-BDNF-IRES-NT3 protects apoptotic cells in a cellular injury model[J]. Brain Res, 2012, 1448: 137-143.

[15] Wu CX, Zhao FY, Zhang Y. Overexpression of Hsp90 from grass carp (Ctenopharyngodon idella) increases thermal protection against heat stress[J]. Fish Shellfish Immunol, 2012, 33: 42-47.

[16] Brightman MW. The distribution within the brain of ferritin injected into cerebrospinal fluid compartments. I. Ependymal distribution[J]. J Cell Biol, 1965, 26: 99-123.

[17] Young CC, van der Harg JM, Lewis NJ, et al. Ependymal ciliary dysfunction and reactive astrogliosis in a reorganized subventricular zone after stroke[J]. Cereb Cortex, 2013, 23: 647-659.

[18] 谭支强. 芒果苷通过抑制氧化应激及抗凋亡作用保护大鼠颅脑损伤[J]. 神经损伤与功能重建, 2018, 13: 26-28.

[19] 洪梅, 黄梦阳, 江红, 等. α -突触核蛋白寡聚体经氧化应激途径致帕金森病小鼠模型多巴胺能神经元损伤[J]. 神经损伤与功能重建, 2019, 14: 61-63.

(本文编辑:王晶)