

神经营养因子、凋亡相关因子和轴突导向因子在大鼠神经管畸形发育中的表达

曾洪艳¹⁾, 李力燕²⁾, 郭小兵²⁾, 高 维¹⁾, 赵晓姝¹⁾, 王廷华²⁾

(1) 昆明医科大学海源学院, 云南 昆明 650101; 2) 昆明医科大学, 云南 昆明 650500)

[摘要] **目的** 探讨神经营养因子 (NT-3, CNTF, IGF-1, PDGF)、凋亡相关因子 (Caspase-3, Bcl-xl)、轴突导向因子 (Netrin) 的 mRNA 在大鼠神经管畸形发育中的表达变化. **方法** 选取孕鼠随机分为正常组 (不作任何处理)、对照组 (按 50mg/kg 橄榄油于 E10 天时一次性胃饲孕鼠) 和 (按 50mg/kg 溶于橄榄油的维甲酸于 E10d 时一次性胃饲孕鼠). 正常组、对照组和实验组又各自分为 E15d、E16d、E17d、E18d、E19d、E20d 组, 每组 5 只胎鼠, 用于 RT-PCR 实验. **结果** (1) 实验组的胎鼠中 66% 发生了死胎、脊髓脊柱裂、无尾畸形、下肢不发育等; (2) 神经营养因子 (NT-3, CNTF, IGF-1, PDGF)、凋亡相关因子 (Caspase-3, Bcl-xl)、轴突导向因子 (Netrin) 在 E15d ~ E20d 正常及畸形大鼠神经管发育过程中, 均有表达. 其中, IGF-1 在 E16d 与正常组比较表现为表达减少的趋势; 实验组内比较 IGF-1 表达有先增加后减少再增加的趋势. CNTF 在 E17d 时与正常组比较表达有减少. 以上变化均具有统计学意义 ($P < 0.05$). 凋亡因子 (Caspase-3, Bcl-xl) 和导向因子 (Netrin) 均无统计学意义. **结论** 神经营养因子 (NT-3, CNTF, IGF-1, PDGF)、凋亡相关因子 (Caspase-3, Bcl-xl)、轴突导向因子 (Netrin) 在 E15d ~ E20d 正常及畸形大鼠神经管发育过程中有重要作用. IGF-1、CNTF 的 mRNA 变化均较正常组有不同程度减低, 可能是维甲酸通过干扰这三类神经营养因子等大分子物质在发育过程中的形成和分布, 在某种程度上改变了大鼠神经胚发育的进程和方式, 以此也就干扰了神经元的正常的分化增殖发育过程.

[关键词] 神经管畸形; NT-3; CNTF; IGF-1; DGF; Caspase-3; Bcl-xl; Netrin

[中图分类号] R338 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003 - 4706 (2012) 11 - 0013 - 06

Expression of Neurotrophic Factors, Apoptosis Related Factors and Axon Guidance Factors in Rat Neural Tube Defects

ZENG Hong - yan, LI Li - yan, GUO Xiao - bing, GAO Wei, ZHAO Xiao - shu

(1) Kunming Medical University Haiyuan School, Kunming Yunnan 650101; 2) Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] **Objective** To observe the changes in the expression of the neurotrophic factors (NT-3, CNTF, IGF-1 and PDGF), apoptosis related factors (Caspase-3 and Bcl-xl) and axon guidance factor (Netrin) in rat neural tube defects. **Methods** The pregnancy rats were divided into normal (Nothing was done for the peragnancy rats in normal group), control (olive was intragastric administrated by 50mg per kilogram in E10d peragnancy day one time in contral group) and experimental groups (All-trans Retinoic Acid (ATRA) was dissolved in the olive, ATRA was intragastric administrated by 50mg per kilogram in E10d peragnancy day one time) randomly. Each group was subdivide into E15d, E16d, E17d, E18d, E19d and E20d groups, and five animals in each group were used for Rever Transcription Poly-merase Chain Reaction (RT-PCR) experiment. **Results** 1. In experiment group, dead embryo, cranical meningocele, No tail deformities, and nondevelopment of the hind limbs occurred in about 66% embryo. 2. The expression of neurotrophic factors (NT-3, CNTF, IGF-1

[基金项目] 云南省自然科学基金资助项目 (2008ZC108M); 云南省教育厅科研基金资助项目 (2010Y075)

[作者简介] 曾洪艳 (1981~), 女, 重庆市人, 神经生物学硕士, 讲师, 主要从事细胞胚胎学教学及科研工作.

[通讯作者] 王廷华. E-mail: tinghua_neuron@263.net

and PDGF), apoptosis related factors (Caspase-3 and Bcl-xl) and axon guidance factor (Netrin) was found in normal and neural tube defects rats on E15d ~ E20d. The expression of IGF-1 had a decreasing tendency in neural tube defects rats on E16d, and had a fluctuation in experiment groups. The expression of CNTF was downregulated in experiment groups on E17d, compared with control group. There were statistically significant differences in the above changes. The expression of Caspase-3, Bcl-xl, and Netrin had no statistically significant changes.

Conclusions 1. The neurotrophic factors (NT-3, CNTF, IGF-1 and PDGF), apoptosis related factors (Caspase-3 and Bcl-xl) and axon guidance factor (Netrin) play important roles in the development of neural tubes of normal and defected rats on E15d ~ E20d. 2. The expression of IGF-1 and CNTF mRNA in experimental group were downregulated in experiment groups, compared with the normal control group, suggesting that RA may interfere the forming and distributing of these factors in the development of neural tube, then change the process and mode of the development of the rat neural embryo, thus interfere the normal differentiation and proliferation of nerve cells and lastly induce the nerve tube defect.

[**Key words**] NTDs; NT-3; CNTF; IGF-1; PDGF; Caspase-3; Bcl-xl; Netrin

神经元的发育、再生长以来一直是神经科学领域令人关注的研究方向。1928年Cajal断言哺乳动物的中枢神经系统没有再生能力,直至八十年代初Aguayo等^[1-3]发现,体外实验中神经可以再生。近十年来的研究工作也说明提供适当条件后CNS是能够再生的,目前已经发现并证实能够促进神经元生长、发育,再生等的神经因子种类繁多,其中神经营养因子(NT-3, CNTF, IGF-1, PDGF)、凋亡相关因子(Caspase-3, Bcl-xl)、轴突导向因子(Netrin)等就对神经元的生长发育再生修复等发挥多种作用。神经营养因子是一类对神经元存活、生长有维持作用的多肽生长因子^[4],它们不仅与神经细胞的生长、发育、分化及功能维持有密切关系,而且可以在神经细胞受损时保护其存活促进其生长;Caspase-3和Bcl-xl在细胞凋亡过程中发挥关键性的作用;轴突导向因子分布于轴突以外,但是在神经发育过程中,能够引导神经元轴突选择正确途径,从而成功发育到达靶区。本试验则采用RT-PCR技术来研究以上三大类因子基因在RA致胎鼠神经管畸形模型中的表达变化,从而探讨这些因子基因在神经管畸形发育中的作用和机制,为中枢神经元的发育和再生提供实验室依据,为预防神经管畸形的发生及提高出生人口素质提供理论及实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及其分组

成年3.5~4月清洁级SD大鼠,体重200~220g(购自昆明医科大学实验动物学部),按雌雄2:1合笼,次日晨8:00取出,作涂片,查见精子或

阴栓者定为孕期胚胎第一天,前一天18:00为第零天,依此类推。实验分为正常组、对照组和实验组,每组取30只胎鼠,每组又各自分为E15天组、E16天组、E17天组、E18天组、E19天组、E20天组,每组取5只胎鼠用于RT-PCR实验。

将全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)溶于橄榄油内,按50mg/kg于孕期E10d时一次性胃饲实验组孕鼠,造成孕鼠胚胎出现NTDs;对照组按50mg/kg于孕期E10天时一次性胃饲橄榄油;正常对照组孕鼠始终不作任何处理。

孕期各个组在各个时间点,用颈椎脱臼法处死3组孕鼠,在解剖镜下分离出鼠胚,记录总胚胎数、活胎数、死胎数、吸收胎数,检查外观判定是否有外观可见畸形并记录。然后取每组5只胎鼠的神经管组织用于RT-PCR实验。

1.2 实验方法

1.2.1 引物设计 在Pubmed主页中查找大鼠NT-3, CNTF, IGF-1, PDGF, Caspase-3, Netrin, Bcl-xl及内参 β -actin的基因序列后采用Primer Premier 5.0软件设计PCR引物,送生物公司合成,各基因引物序列如下(见表1)。

1.2.2 RT-PCR实验步骤 总RNA的提取并检测完整性;RNA逆转录,按Revert Aid™ First Strand Cdna Synthesis Kit试剂盒说明合成Cdna第一条链;PCR扩增目的基因;PCR产物的检测;凝胶成像系统成像;图片光密度测定。

1.3 统计学处理

采用SPSS统计软件包进行统计学处理,结果以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, $P < 0.05$ 为有差异, $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 模型制备中维甲酸灌胃剂量及时间点的选择

E10d 以 50mg/kg 灌胃维甲酸为最佳致畸方案.

2.2 神经管畸形发生的肉眼和镜下形态学观察

肉眼观察正常组和对照组的胎鼠均为正常发育. 实验组的胎鼠中 66% 发生了死胎、脊柱裂、无尾畸形、后肢不发育等, 见图 1.

镜下观察, 正常组鼠胚 E15 天以上的神经管基本已经闭合, 中央部位有完整的中央管. 周围软骨组织结构完整, 神经上皮细胞排列整齐, 可见室管膜层, 套层和边缘层三层神经上皮. 室管膜上皮

沿中央管排列整齐.

实验组的脊髓形态不规则, 同样天数的实验组胎鼠脊髓横断面较正常组增大肿胀, 切断面形态不规则呈左右不对称或者长椭圆形见图 1.

2.3 RT-PCR 灰度比较

对神经营养因子 (NT-3, CNTF, IGF-1, PDGF) RT-PCR 灰度比值结果进行数据分析, 见表 2.

NT-3, CNTF, IGF-1, PDGF 和 β -actin 1% 琼脂糖凝胶电泳条带, 见图 2.

对凋亡相关因子 Caspase-3, Bcl-xl RT-PCR 灰度比值结果进行数据分析, 见表 3.

对轴突导向因子 Netrin RT-PCR 灰度比值结果进行数据分析, 见表 4.

表 1 PCR 引物序列

Tab. 1 The sequence of PCR primers

因子	上游引物	下游引物	产物长度 (bp)	退火温度 (°C)
β -actin	5'GTAAGACCTCTATGCCAACA 3'	5' GGAATCATCGTACTCCTGCT 3'	227	52.5
NT-3	5'CGTCCCTGGAAATAGTCATACGG 3'	5' GACAGATGCCAATTCATGTTCTT 3'	857	54
CNTF	5' CTTTCGCAGAGCAAACACCT 3'	5' CATCCCATCAGCCTCATTTT 3'	422	52
PDGF	5' CTGCTGCTACCTGCGTCTGG 3'	5'GCACTGCACATTGCGGTTATT 3'	391	55
IGF-1	5'GGCACTCTGCTTGCTCACCTT 3'	5'GCCTGTGGGCTTGTGAAGTAAA3'	130	57
Caspase-3	5'AACGAACGGACCTGTGG 3'	5' GGGTGCAGTAGAGTAAGC 3',	217	53.5
Bcl-xl	5'CGTGGAAAGCGTAGACAAGG 3'	5'TGAAGACTGAGCCCAGCAGA 3'	239	54
Netrin	5' TTTGGCGACGAGAACGAAG 3'	5' GCGGCAGTTGAGACAGACAC 3'	348	54.5

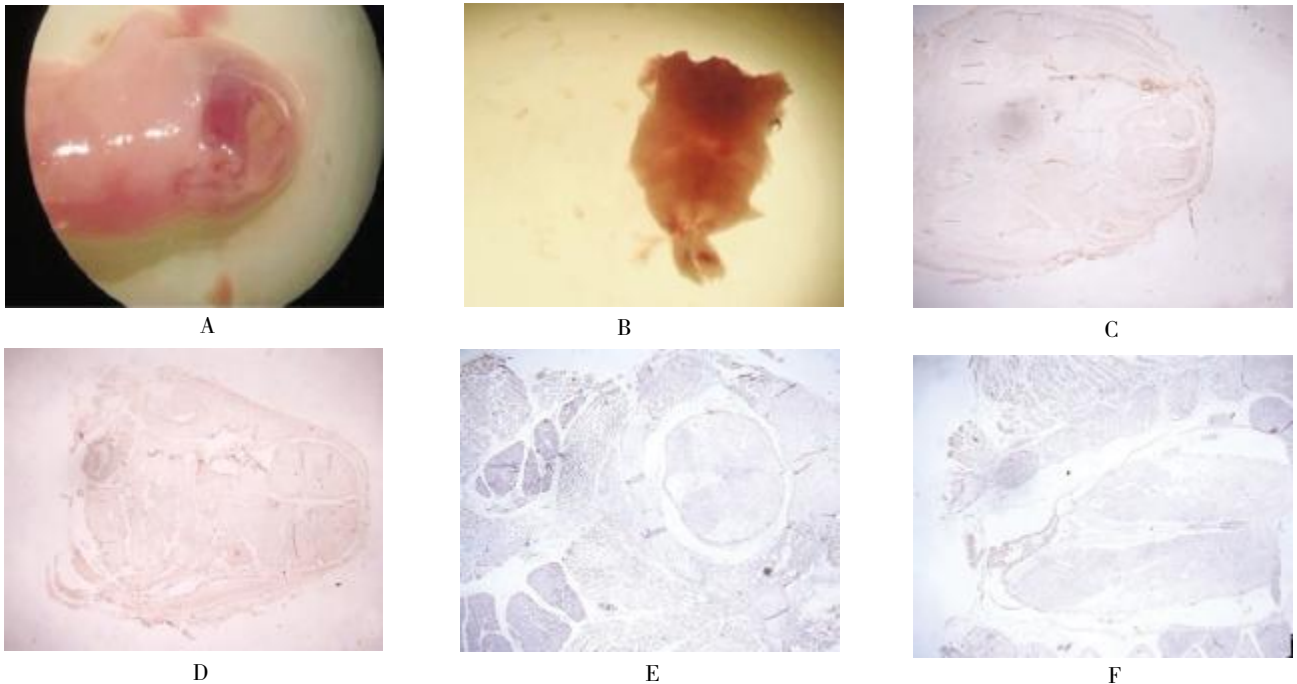


图 1 神经管畸形

Fig. 1 Neural tube defects

A: 脊柱裂 (E20 d, 实验组); B: 后肢并列 (E20 d, 实验组); C: 正常脊髓 (E16 d, 正常组, 40 \times); D: 膨大脊髓 (E16 d, 实验组, 40 \times); E: 正常脊髓 (20 d, 正常组, 40 \times); F: 左右不对称脊髓 (E20 d, 实验组, 40 \times).

表 2 平均光密度扫描结果 $[(\bar{x} \pm s), n = 5]$ Tab. 2 The results of the average optical density $[(\bar{x} \pm s), n = 5]$

分 组		E15 d	E16 d	E17 d	E18 d	E19 d	E20 d
正常组	NT-3	0.99 ± 0.20	0.94 ± 0.15	1.09 ± 0.24	1.01 ± 0.14	0.93 ± 0.18	0.92 ± 0.15
对照组	NT-3	1.03 ± 0.16	0.86 ± 0.10	1.03 ± 0.27	0.89 ± 0.10	0.95 ± 0.20	0.85 ± 0.12
实验组	NT-3	0.96 ± 0.19	0.91 ± 0.13	0.98 ± 0.16	0.92 ± 0.09	0.98 ± 0.16	0.88 ± 0.10
正常组	CNTF	0.91 ± 0.07	1.07 ± 0.11	1.03 ± 0.13	0.91 ± 0.16	1.03 ± 0.22	1.01 ± 0.14
对照组	CNTF	0.96 ± 0.14	1.04 ± 0.10	1.10 ± 0.10	0.98 ± 0.07	1.07 ± 0.16	1.00 ± 0.17
实验组	CNTF	0.93 ± 0.06	1.01 ± 0.02	0.97 ± 0.04*	0.99 ± 0.23	1.08 ± 0.22	1.01 ± 0.13
正常组	IGF	0.89 ± 0.14	1.08 ± 0.10	0.99 ± 0.09	0.95 ± 0.07	0.94 ± 0.07	0.91 ± 0.09
对照组	IGF	0.89 ± 0.09	0.99 ± 0.11	0.97 ± 0.13	0.90 ± 0.10	0.96 ± 0.08	0.92 ± 0.10
实验组	IGF	0.83 ± 0.10	0.95 ± 0.05 [△]	1.01 ± 0.10 ^{△△}	0.93 ± 0.05	0.97 ± 0.06 ^{△△}	0.98 ± 0.07 ^{△△}
正常组	PDGF	1.03 ± 0.13	1.14 ± 0.17	1.01 ± 0.14	0.94 ± 0.12	1.10 ± 0.18	1.053 ± 0.23
对照组	PDGF	1.14 ± 0.13	1.20 ± 0.16	1.18 ± 0.21	0.93 ± 0.17	0.99 ± 0.13	1.00 ± 0.28
实验组	PDGF	1.06 ± 0.15	1.03 ± 0.12	1.09 ± 0.28	1.09 ± 0.28	1.22 ± 0.33	1.12 ± 0.32

与正常组比较, * $P < 0.05$; 实验组间比较, $\Delta P < 0.01$.

表 3 平均光密度扫描结果 $[(\bar{x} \pm s), n = 5]$ Tab. 3 The results of the average optical density $[(\bar{x} \pm s), n = 5]$

分 组		E15 d	E16 d	E17 d	E18 d	E19 d	E20 d
正常组	Caspase-3	1.11 ± 0.08	1.28 ± 0.10	1.22 ± 0.13	1.22 ± 0.11	1.15 ± 0.17	1.13 ± 0.19
对照组	Caspase-3	1.15 ± 0.06	1.27 ± 0.15	1.21 ± 0.13	1.21 ± 0.05	1.24 ± 0.12	1.11 ± 0.15
实验组	Caspase-3	1.17 ± 0.11	1.19 ± 0.11	1.23 ± 0.16	1.19 ± 0.11	1.22 ± 0.11	1.24 ± 0.21
正常组	Bcl-xl	1.02 ± 0.09	1.10 ± 0.13	1.05 ± 0.11	0.95 ± 0.19	1.00 ± 0.21	0.96 ± 0.17
对照组	Bcl-xl	1.04 ± 0.06	1.10 ± 0.09	1.10 ± 0.09	0.96 ± 0.22	1.02 ± 0.18	0.94 ± 0.17
实验组	Bcl-xl	1.07 ± 0.08	1.06 ± 0.12	1.09 ± 0.09	0.98 ± 0.16	1.00 ± 0.11	1.01 ± 0.19

表 4 平均光密度扫描结果 $[(\bar{x} \pm s), n = 5]$ Tab. 4 The results of the average optical density $[(\bar{x} \pm s), n = 5]$

分 组		E15 d	E16 d	E17 d	E18 d	E19 d	E20 d
正常组	Netrin	0.90 ± 0.05	1.00 ± 0.10	1.00 ± 0.08	0.92 ± 0.10	0.94 ± 0.12	0.92 ± 0.14
对照组	Netrin	0.92 ± 0.04	0.99 ± 0.10	0.98 ± 0.11	0.89 ± 0.08	0.96 ± 0.09	0.91 ± 0.12
实验组	Netrin	0.88 ± 0.06	0.98 ± 0.09	0.98 ± 0.13	0.92 ± 0.11	0.98 ± 0.07	0.97 ± 0.15

3 讨论

3.1 神经营养因子 NTFs (NT-3, CNTF, IGF-1, PDGF)

NTFs 是一类与神经元的营养、代谢和功能密切相关的细胞因子, 主要功能是保证个体发育过程中的神经系统的建立, 保护和修复受损神经元并且促进神经元与神经元之间的连接. NTFs 为碱性蛋白, 具生物活性, $PI > 9.0$. NT-3 在不同时期的人胚胎脊髓发育中进行表达, 提示 NT-3 可能诱导神经干细胞分裂增殖, 并协同其它生长因子促进轴突

的生长, 保证神经元胞体的存活. CNTF 对很多胚胎时期的神经元均有营养、支持存活的作用, 各神经元之间纤维联系形成以防止其发生退行性死亡, 也促进交感神经元的胆碱能分化, 使肾上腺素能神经元转变为胆碱能神经元. 此外, CNTF 还有上调血管活性肠肽、下调神经肽 Y 等的功能. 研究显示, 随着年龄增加, CNTF 阳性反应渐减弱, 提示 CNTF 的需求在生长的不同时期也是不一样的, 也证明不同年龄组鼠坐骨神经中 CNTF 相对含量是具有差异的^[9].

IGF 和 PDGF 属于非神经营养因子类因子, 发

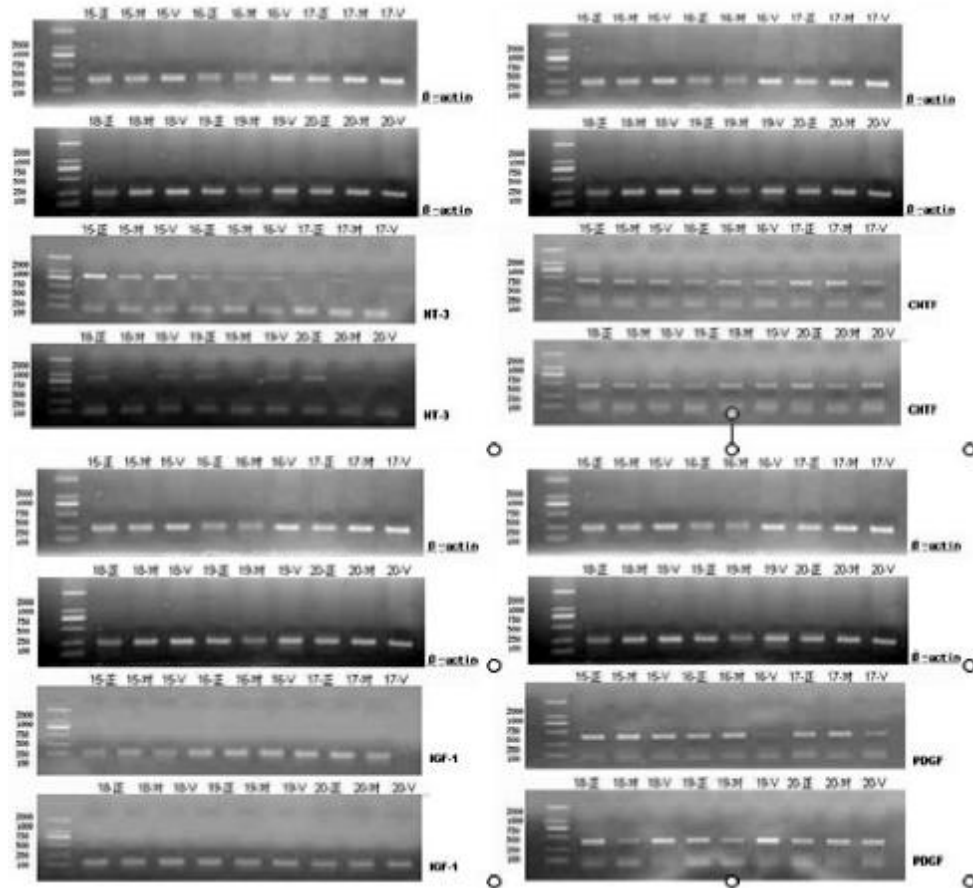


图 2 NT-3, CNTF, IGF-1, PDGF 和 β -actin 1%琼脂糖凝胶电泳条带

Fig. 2 1% agarose gel electrophoresis figures of NT-3, CNTF, IGF-1, PDGF 和 β -actin PCR productions

Marker 的条带从上往下依次为: 2 000 bp、1000 bp、750 bp、500 bp、250 bp、100bp; 正: 正常组; 对: 对照组; V: 维甲酸致畸组。

挥与神经营养因子对神经元的类似作用, 也可支持神经元的存活, 只是缺乏对神经系统的特异性. IGF 广泛存在于中枢神经系统, 调控交感神经元的分裂周期, 促进增殖和发育, 同时也能刺激轴突的生长和神经递质的合成, 促进少突胶质细胞的分化发育. PDGF 由多种细胞分泌, 它的作用方式有两种, 即自分泌和旁分泌的形式 PDGF 需要与细胞膜上相应的 PDGF 受体结合后才发挥作用, 主要影响神经元和神经胶质细胞的生长发育, 有研究表明, PDGFR- α 基因的突变会导致 NTDs 的发生^[6], 而另外的研究表明, PDGFR- α 基因的突变与小鼠脊柱裂有密切关系^[7].

本实验采用 RA 致 NTDs 的动物模型, 在神经管发育的不同时期, 采用逆转录聚合酶链式反应技术半定量检测了致畸组和正常组、对照组之间四种神经营养因子 mRNA 的表达变化情况. 结果发现 CNTF 在 E17d 时与正常组比较表达有减低; IGF-1 在 E16d 与正常组比较表达减低; 实验组内

比较 IGF-1 表达有先增加后减少再增加的趋势; 其余因子无统计学意义. 两种因子的统一变化均为不同程度的减低, 考虑其原因, 可能是 RA 通过干扰此两种神经营养因子等大分子物质在发育过程中的形成和分布, 改变了大鼠神经胚发育的进程和方式, 干扰神经元的正常的分化增殖发育过程, 这个正常过程包括维系神经元的存活, 促进神经元突起的生长, 促进轴突的生长和神经递质的合成等等, 最终导致神经系统不能正常发育而形成了 NTDs^[8].

而 NT-3 和 PDGF mRNA 的表达没有统计学意义, 提示这些因子在本实验的神经管畸形发育中没有发生作用. 有文献表示, 在 NTDs 情况下 PDGFR- α (PDGF α 受体) 在胚胎神经上皮中表达明显降低, 可能原因是致畸因素作用影响了 PDGFR- α 的表达, 而 PDGF 的表达在不减低的情况下, 由于二者之间的结合减少或者被阻断, 从而切断了 PDGF 促进细胞增殖分化的传导通路, 它调

节的一些使神经管发育有关的重要基因的表达也下调, 以此也干扰了神经元的增殖分化, 最终导致 NTDs^[9].

3.2 凋亡相关因子 (Caspase-3, Bcl-xl)

细胞凋亡的机制还不是完全清楚. 细胞凋亡在胚胎发育过程中, 神经系统的功能完善中, 以及机体的免疫功能调节方面, 都具有至关重要的作用. 细胞凋亡功能如果发生亢进, 则可能引起组织损伤和器官功能衰竭. 而相反凋亡功能发生抑制, 则可能导致肿瘤的发生及免疫功能发生异常^[10].

大量实验表明 Caspase 和 Bcl-xl 在神经系统的发育过程中发挥了重要作用. 胚胎发育正常过程中特定时间和部位都会发生细胞凋亡, 如果这种精细调控的细胞程序性死亡改变就可能引起多种类型的先天畸形发生^[11]. 本实验过程中, Caspase 和 Bcl-xl mRNA 的表达均没有统计学意义, 考虑这两种因子在本实验神经管畸形模型中可能未发生作用. 在神经管闭合过程中凋亡发挥了一定的作用, 可能由于过度凋亡导致参与关键形态部位形成的细胞数量不足, 而使神经管闭合不完全. 凋亡过度是导致 NTDs 发生的分子调控过程中的重要因素. 细胞凋亡和凋亡相关因子 caspase-3、caspase-6、caspase-9 蛋白表达参与了神经管畸形的形成, 可能是 NTDs 的发病机制之一, 对于神经干细胞凋亡和凋亡相关因子进行适当的调控, 有可能成为治疗 NTDs 的有效途径.

3.3 轴突导向因子 (Netrin)

现在我们指的神经的再生, 是在特定条件下神经元的突起 (主要是轴突) 重新生长发育, 其前提条件是神经元胞体即使是在损伤后仍然存活存在. 神经导向因子也是一类神经生长调节因子, 但是其功能又不同于前面所介绍的神经营养因子^[12].

Netrin 家族是吸引力导向因子, 在胚胎脊髓发育过程中, 在底板细胞胞质内的 Netrin 是高表达的, 其主要功能是在发育过程中长期吸引联合神经元的轴突向着腹侧中线方向生长^[13]. 当然后续的过程是轴突到达穿越中线后就对 Netrin 失去了敏感性, 其中原因可能是由于还有其他因子, 比如 Slit^[14], 参与了投射的调节, 这也基本得到实验的证明了. 本实验中测试了 Netrin 在 NTDs 发育中其 mRNA 的表达, 结果无统计学意义, 提示 Netrin 可能在实验中的 NTDs 发育的过程中没有表达. 但是, 其在正常神经管发育中的重要作用是已经证实了的, 那么现在的问题就有, (1) 在

NTDs 发育过程中, 这些神经生长导向因子究竟是否发挥了作用; (2) 是否还存在其他的神经导向因子在发挥作用, 如何去发现更多的此类因子, 尤其是在特殊阶段表达的或在特定地点表达的; (3) 这些神经生长导向因子, 采取什么方法引导轴突建立起特异的神经通路, 达到有效再生或者是达到纠正畸形的目的等等, 这些都需要进行深入细致的研究.

总的来说, 本次实验检测了三大类因子基因在神经管畸形发育中的表达变化, 而这三类因子基因都是在神经管发育过程中发挥重要功能的角色. 其中某些因子在畸形神经管发育中的表达与正常相比出现了明显的变化, 可以提示在维甲酸导致的神经管畸形发生过程中, 这类因子基因在其中产生了重要作用. 维甲酸通过干扰某些因子的大分子物质在发育过程中的形成和分布, 在某种程度上改变了大鼠神经胚发育的进程和方式, 以此也就干扰了神经元的正常的分化增殖发育过程, 最终导致神经系统不能正常发育而形成了 NTDs. 而这些因子基因的重要作用以及发挥作用的机制等, 都将在进一步的研究中揭示, 这些研究也将为人类神经管先天畸形的预防提供宝贵的实验依据.

[参考文献]

- [1] RICHARDSON P M, MCGUINESS, UM, AGUAYO A J. Peripheral nerve autografts to the rat spinal cord: studies with axonal tracing methods[J]. *Nature*, 1980, 184:26.
- [2] AGUAYO A J, BENFEY, M, DAVID S. A potential for axonal regeneration in neurons of the adult mammalian nervous system [J]. *Birth Defects Orig Artic Ser*, 1983, 19: 327.
- [3] BENFEY, M, AUGAYO A J. Extensive elongation of axons from rat brain into peripheral nerve grafts[J]. *Nature*, 1982, 296:150.
- [4] 吴家华, 罗焕敏. 神经干细胞移植治疗中枢神经系统疾病可行性研究[J]. *中国老年学杂志*, 2005, 25(1): 110 - 112.
- [5] 白经修, 李建章. 神经营养因子研究进展[J]. *Henan Journal of Practical Nervous Diseases* Dec, 2000, 3 (6): 84 - 90.
- [6] MASTRANGELO A J, BETENBAUGH M J. Overcoming apoptosis: new methods for improving protein-expression systems, 1998, 16(2): 88 - 95.
- [7] KAMADA S, WASHIDA M, HASEGAWA J, et al. Involvement of caspase-4 (-like) protease in Fas-mediated

(下转第 31 页)

- apoptosis by the insulin-like growth factor I receptor can be suppressed by dicumarol [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276 (22): 19 244 - 1 952.
- [18] OUYANG X, WALTER J J, AL-AHMADIE H, et al. Activator protein-1 transcription factors are associated with progression and recurrence of prostate cancer [J]. *Cancer Research*, 2008, 68(7): 2 132 - 2 144.
- [19] 王新敏, 王勤章, 章乐, 等. 雄激素受体与 P21 活化激酶 6 在前列腺癌组织中的表达及意义 [J]. *石河子大学学报(自然科学版)*, 2010, 28(1): 79 - 82. (2012 - 09 - 05 收稿)

(上接第 18 页)

- apoptotic pathway [J]. *Oncogene*, 1997, 15 (3): 285 - 290
- [8] PAYNE J, SHIBASAKI F, MEROELA M. Spina bifida occulta in homozygous patch mouse embryos [J]. *Dev Dyn*, 1997, 209(1): 105 - 116.
- [9] GERMAN J. Embryonic stress hyperesis of teratogenesis [J]. *Amer J Med*, 1984, 76: 293.
- [10] 张静, 高英茂. 血小板源性生长因子受体与高温致神经管畸形发生关系的研究 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2004, 13(1): 22 - 23.
- [11] BATINAGA M. Death by dozens of cuts [J]. *Science*, 1998, 280(5 360): 32 - 34.
- [12] LA CASSE E C, BAIRD S, KORNELUK R G, et al. The inhibitors of apoptosis (LAPs) and their emerging role in cancer [J]. *Oncogene*, 1998, 17(25): 3 247 - 3 259.
- [13] KENNEDY T E, SERAFINI T, TESSIER-LAVIGNE M, et al. Netrins are diffusible chemotropic factors for commissural Axons in the embryonic spinal cord [J]. *cell*, 1994, 78(3): 425 - 435.
- [14] BRESE K, BLAND K, WANG K H, et al. Slit proteins bind robo receptors and have an evolutionarily conserved role in repulsive axon guidance [J]. *Glia*, 2003, 42(2): 130 - 138. (2012 - 09 - 14 收稿)