

论著·基础研究

参麦微球及其在 Wnt 信号通路下对骨髓间质干细胞分化为神经元细胞的诱导作用[▲]

李志彬 郭玉海 邢庆嘉 刘权锋

(广州中医药大学第二临床医学院,广东省广州市 510000,电子邮箱:1529025610@qq.com)

【摘要】 目的 探讨参麦微球及其在 Wnt 信号通路下对骨髓间质干细胞(BMSC)分化为神经元细胞的诱导作用。**方法** 分离 BMSC 并传代培养后进行细胞鉴定。取第 3 代 BMSC,分为空白组及诱导组,分别采用空白微球及参麦微球的无血清培养基进行诱导,3 h 后检测两组细胞的神经丝蛋白-M(NF-M)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、巢蛋白、微管联合蛋白-2(MAP-2)、生长相关蛋白-43(GAP-43)、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)的表达。将第 3 代 BMSC 分为 Wnt3a、Wnt5a 组及对照组,分别采用诱导液 1(含 Wnt3a 及参麦液微球)、诱导液 2(含 Wnt5a 及参麦液微球)、单纯诱导剂(只含参麦液微球)进行培养。培养 2 周后,检测 3 组细胞巢蛋白、NSE 和 GFAP 的 mRNA 水平。**结果** 诱导组 NF-M、巢蛋白、GAP-43 的平均吸光度值以及 NSE、MAP-2 阳性率均高于空白组(均 $P < 0.05$)。Wnt3a 组的 NSE 和 GFAP mRNA 相对表达水平均高于 Wnt5a 组及对照组(均 $P < 0.05$),而 Wnt5a 组的 NSE 和 GFAP mRNA 相对表达水平与对照组比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。**结论** 参麦微球可诱导 BMSC 向神经元细胞方向分化,而 Wnt3a 信号通路对其有促进作用。

【关键词】 骨髓间质干细胞;神经元细胞;细胞分化;Wnt 信号通路;微球;参麦;中药

【中图分类号】 R 285.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 0253-4304(2019)08-0999-05

DOI:10.11675/j.issn.0253-4304.2019.08.18

Shenmai microspheres and its induction effects on differentiation of bone marrow mesenchymal stem cell into neuronal cell under Wnt signaling pathway

LI Zhi-bin, GUO Yu-hai, XING Qing-jia, LIU Quan-feng

(The Second Clinical College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510000, China)

【Abstract】 Objective To explore Shenmai microspheres and its induction effect under Wnt signaling pathway on differentiation of bone marrow mesenchymal stem cell(BMSC) into neuronal cell. **Methods** BMSCs were identified after isolation and subculture. The third-generation BMSCs were divided into blank group and induction group, receiving induction by serum-free medium containing blank microspheres and serum-free medium containing Shenmai microspheres, respectively, 3 hours later, expression of neurofilament-M(NF-M), neuron-specific enolase(NSE), nestin, microtubule-associated protein-2(MAP-2), growth-associated protein-43(GAP-43) and glial fibrillary acidic protein(GFAP) was detected in both groups. The third-generation BMSCs were divided into Wnt3a group, Wnt5a group and control group, cultured using induction solution 1(containing Wnt3a and Shenmai microspheres), induction solution 2(containing Wnt5a and Shenmai microspheres), and simple inducer(containing Shenmai microspheres alone), respectively. The levels of nestin, NSE and GFAP mRNAs were measured in the three groups after 2 weeks of culture. **Results** The mean absorbance values of NF-M, nestin and GAP-43, as well as the positive rates of NSE and MAP-2, in the induction groups were higher than those in the blank group(all $P < 0.05$). The relative expression levels of NSE and GFAP mRNAs in the Wnt3a group were higher than those in the Wnt5a group and control group(all $P < 0.05$), but there was no statistically significant difference between the Wnt5a group and the control group in relative expression level of NSE or GFAP mRNA(all $P > 0.05$). **Conclusion** Shenmai microspheres can induce differentiation of BMSC into neuronal cell, which might be promoted by Wnt3a signaling pathway.

【Key words】 Bone marrow mesenchymal stem cell, Neuronal cell, Wnt signaling pathway, Microspheres, Shenmai, Chinese medicine

[▲]基金项目:国家自然科学基金(81273780)

作者简介:李志彬(1990~),男,在读硕士研究生,研究方向:脊柱外科的临床与实验研究。

通信作者:郭玉海(1974~),男,博士,主任医师,研究方向:脊柱外科的临床与实验研究,电子邮箱:guoyuhai1974@126.com。

脊髓损伤是脊柱损伤最严重的并发症,常可导致损伤节段以下肢体严重的功能障碍,这不仅给患者的身体和心理造成严重伤害,还给整个社会增加巨大的经济负担。脊髓损伤的预防、治疗和康复已成为当今医学界的研究重点之一。骨髓间质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC)是一种普遍存在于骨髓中的非造血干细胞,具有向脂肪细胞、心肌细胞、骨细胞、软骨细胞及神经细胞等分化潜能^[1-4]。此外, BMSC可在体外存活并且迅速增殖^[5],最重要的是其具有免疫原性低、免疫耐性强,可异体移植等优点^[6]。BMSC向神经元细胞分化是目前的研究热点之一^[7]。曾有学者将 BMSC移植到脊髓损伤的动物体内,发现只有少数 BMSC能够向神经元细胞分化,虽然实验动物的脊髓功能在一定程度上可以恢复,但疗效并不满意^[8]。因此,本研究在 Wnt 信号通路下,利用中药微球诱导 BMSC 向神经元细胞分化,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

(1)标本及试剂:成人骨髓来源于5名成年自愿者的无器质性病变的肋骨。胎牛血清购自美国 HyClone 公司(批号:SH30087.01),无血清改良伊格尔培养基(Dulbecco's modified Eagle medium, DMEM)-高糖培养基、青/链霉素、磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline, PBS)均购自美国 HyClone 公司(批号:SH30022.01B、SH30010、SH30256.01B),反转录试剂盒及 PCR 试剂盒均购自日本 TaKaRa 公司(批号:RR047A、HRR820A)。Anti-CD11a 抗体[异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)]、Anti-CD14 抗体[藻红蛋白(phycoerythrin, PE)/Cy5.5[®]]、Anti-CD29 抗体均购自 Abcam 公司(批号:ab27387、ab25390、ab78502)。Wnt3a、Wnt5a 均购自 R&D 公司(批号:5036-WN、645-WN)。一抗包括抗神经丝蛋白-M(neurofilament-M, NF-M)抗体、抗神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)抗体、抗巢蛋白抗体、抗微管联合蛋白(microtubule-associated protein, MAP)-2 抗体、抗生长相关蛋白(growth-associated protein, GAP)-43 抗体(EP890Y)、抗胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)抗体均购自 Abcam 公司(批号:ab24574、ab53025、ab6320、ab5392、ab75810、ab7260);二抗包括兔抗人 IgG H&L(辣根过氧化物酶)和山羊抗人 IgG H&L(辣根过氧化物酶)均购自 Abcam 公司(批号:ab6759、ab6858)。(2)设备:MSH-R-20 型磁

力搅拌器购自 KEWLAB 公司, SW-CJ-IF(D)型洁净工作台购自苏州安泰科技有限公司, TDL-80-2B 型低速离心机购自苏州安泰科技有限公司, BDS200 型倒置光学显微镜购自苏州安泰科技有限公司, HERAcell 150i 型细胞恒温培养箱购自赛默飞世尔科技公司, K2800 微量分光光度计购自北京凯奥公司, Accuri C6 流式细胞仪购自 BD 公司。(3)药品:中药微球与空白微球供试品由广东药学院研制(批号:20140317b)。海藻盐购自美国 FMC 公司(批号:131004), 10% 参麦液购自正大青春宝药业药业有限公司(国药准字:Z33020021), 壳聚糖购自齐云生物科技有限公司(批号:2011107), 成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)购自 R&D 公司(批号:233-FB)。

1.2 BMSC 的分离培养及其鉴定

1.2.1 分离培养:

无菌条件下,用 50 mL 含 0.01% 肝素的 PBS 稀释骨髓液,充分混匀后转入离心管,1 500 r/min, 20℃ 离心 20 min,弃上清及脂肪层,用 DMEM 充分混匀后沉淀;取 20 mL 稀释液轻轻叠加到 20 mL Ficoll 淋巴细胞分离液(密度为 1.077×10^3 g/L)上,2 000 r/min, 20℃ 离心 30 min,收集单核细胞层;用无血清 DMEM 洗涤两次,分别 1 500 r/min 离心 10 min 后按 1×10^5 个细胞/cm² 接种于 25 cm² 培养瓶内,置于 0.5% CO₂ 的培养箱 37℃ 下培养;3 d 后半量更换培养液,2~3 d 等量换液 1 次。

1.2.2 传代培养:

分离培养 10 d 贴壁细胞接近融合后进行传代培养。无菌操作下打开细胞培养瓶瓶盖,弃旧培养液,用 PBS 洗涤细胞 1~2 次,加入 1 mL 胰酶细胞消化液溶液,轻洗细胞皿底部。吸掉消化液,放入 37℃ 培养箱 2~3 min,轻拍培养瓶壁使大部分细胞脱落,于倒置显微镜下观察,当细胞将要分离而呈现圆粒状时,加入适量含血清的新鲜 DMEM 以终止胰蛋白酶的作用,吸管上下吸放数次以打散细胞团块,混匀后,补足 3n mL(n 为传代瓶数) DMEM,依稀释比例转移至新的培养瓶中,放入细胞培养箱,于 5% CO₂、饱和湿度、37℃ 下培养。

1.2.3 鉴定:

取第 3 代培养细胞,分成 3 管,每管细胞浓度为 1×10^7 个细胞/100 μL,其中 A 管作为空白对照, B 管用于 CD29-PE 和 CD11a-FITC 检测, C 管用于 CD14-FITC 和 CD29-PE 双标记检测。A 管中不加抗体,加 100 μL 固定液,于室温避光孵育 20 min; B 管和 C 管分别加入相应抗体各 5 μL 后,室温避光孵育 20 min。各管加入 500 μL PBS 洗涤 1 次,1 200 r/min 离心 5 min,弃上清,加 0.2 mL PBS 重悬细胞后,使用流式细胞仪分别检测 CD14-FITC、CD11a-FITC 和

CD29-PE 的荧光强度,以分析 CD11a、CD14 和 CD29 的表达情况。

1.3 中药微球定向诱导后的神经元样细胞鉴定

1.3.1 微球的制作:(1)中药微球:把含有 3% (v/v) 司盘-80 的液体石蜡用磁力搅拌器以 900 r/min 搅拌 10 min 后,添加 3% 海藻酸钠液 2 mL 及 10% 参麦液 1 mL 的混合液,继续以 900 r/min 搅拌 10 min,随后加入 2 mL 3% 壳聚糖(溶解于去离子水中)以 900 r/min 搅拌 10 min,再缓慢加入 3 mL 的 3% 氯化钙(溶解于去离子水中)以确保高效交联。分别使用松节油、95% 酒精和蒸馏水以 6 000 r/min 各自离心 15 min。提取微球,室温下风干。(2)空白微球:同样将含有 3% (v/v) 司盘-80 的液体石蜡以 900 r/min 搅拌 10 min 后,单纯添加 3% 海藻酸钠 2 mL 继续以 900 r/min 搅拌 10 min,余步骤与中药微球相同。

1.3.2 中药微球诱导 BMSC:将无菌的中药微球与空白微球分别用低糖 DMEM 完全培养基浸泡 3 d。选取第 3 代的 BMSC 分为空白组和诱导组。两组 BMSC 均以 2×10^5 个细胞/mL 接种到预先置有盖玻片的 6 孔板中制备细胞爬片,待细胞达 80% 融合时,弃培养基,加入含 10 μ g/L bFGF 的 DMEM 完全培养基预诱导 24 h,PBS 洗涤 3 次,空白组加入含空白微球的无血清 DMEM 培养基,诱导组加入含中药微球的无血清 DMEM 培养基,空白微球和中药微球在培养基的终浓度均为 1 mg/100 mL。两组均诱导 3 h,每隔 15 min 于倒置显微镜观察细胞形态的变化。

1.3.3 免疫组织化学法鉴定神经元样细胞:诱导 3 h 后,采用免疫组织化学链霉亲和素-生物素化过氧化物酶复合物法检测空白组和诱导组 NF-M、NSE、巢蛋白、MAP-2、GAP-43、GFAP 的表达。PBS 漂洗诱导后的细胞 2 次(2 min/次)后,4% 多聚甲醛室温下固定 20 min;0.5% 聚乙二醇辛基苯基醚(Sigma 公司,T9284)室温下处理 20 min;3% H₂O₂ 室温下处理 15 min。以上每一步骤结束时均采用 PBS 漂洗 3 次(2 min/次)。加入试剂盒中的血清封闭液,37℃ 孵育 20 min 后甩干封闭液,加入相应的一抗(1:200;阴性对照用 PBS 代替一抗),37℃ 孵育 1~2 h 或 4℃ 过夜;PBS 漂洗,2 min/次,共 3 次,加入试剂盒中的二抗,37℃ 孵育 20 min;PBS 漂洗,2 min/次,共 3 次,放入 SABC 湿盒内 37℃ 孵育 20 min;PBS 漂洗,4 min/次,共 3 次,DAB 显色 2~10 min,自来水冲洗;苏木素复染 15~30 s,自来水冲洗,封片剂封片,实验重复 3 次。使用 Image-Pro Plus 6.0 软件(美国 Media Cybernetics 公司)计算各蛋白的平均吸光度(A 值);对于 NSE 和 MAP-2 的蛋白含量表达,计算阳性率,阳

性率(%) = 阳性细胞数/总细胞数 \times 100%,阳性细胞通过 Image-Pro Plus 6.0 软件用肉眼观察进行计数,细胞胞体及部分突出 DAB 染色为棕黄色即为阳性细胞。

1.4 Wnt3a 和 Wnt5a 诱导后巢蛋白、NSE 和 GFAP mRNA 的表达情况 将第 3 代 BMSC 细胞以 2×10^5 个/mL 接种于 6 孔板中,设 Wnt3a、Wnt5a 组及对照组。Wnt3a 组和 Wnt5a 组分别采用诱导液 1(DMEM、100 μ g/mL bFGF、50 μ g/L Wnt3a、参麦液微球)和诱导液 2(DMEM、100 μ g/mL bFGF、50 μ g/L Wnt5a、参麦液微球)进行诱导,对照组不加 Wnt 分子而单纯采用诱导剂(DMEM、100 μ g/mL bFGF、参麦液微球)培养基培养。培养 2 周后收集细胞,采用 PCR 检测巢蛋白、NSE 和 GFAP mRNA 的表达情况。PCR 步骤:(1)总 RNA 的提取:使用 TRIzol 试剂盒提取已成功诱导的 BMSC 的总 RNA,在微量分光光度计测定 RNA 的浓度及质量。(2)cDNA 的合成:取 2 μ g 总 RNA,使用反转录试剂盒,采用两步法获取 cDNA 备用,严格按照试剂盒说明书进行操作。(3)PCR 反应:参考 PCR 试剂盒说明书方法进行,以同一 cDNA 为模板,在 20 μ L 反应体系内扩增,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase,GAPDH)为内参,引物序列见表 1。反应体系:cDNA(稀释 3 倍)5.0 μ L;上游引物 0.5 μ L、下游引物 0.5 μ L;SYBR® Premix Ex Taq™ (Tli RNaseH Plus)(2 \times)10 μ L;dH₂O 4.0 μ L。反应条件:95℃ 预变性 30 s,95℃ 3 s,60℃ 34 s,循环 45 次,实验重复 4 次。最后使用 ViiA7 软件分析数据,以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算目的基因 mRNA 的相对表达量。

表 1 引物序列

基因	名称	序列(5'-3')
Nestin	Nestin-F	CTGCTACCCTTGAGACACCTG
	Nestin-R	GGGCTCTGATCTCTGCATCTAC
NSE	NSE-F	AGCCTCTACGGGCATCTATGA
	NSE-R	TTCTCAGTCCCATCCAACCTCC
GFAP	GFAP-F	AGGTCCATGTGGAGCTTGAC
	GFAP-R	GCCATTGCCTCATACTGCCCT
GAPDH	GAPDH-F	ACAACCTTGGTATCGTGAAGG
	GAPDH-R	GCCATCACGCCACAGTTTC

1.5 统计学分析 应用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析或 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BMSC 的分离培养及鉴定 光镜下可见第 3 代 BMSC 呈长梭或长的多角形,有较多的突出,见图 1。

流式细胞术结果显示, CD11a 和 CD14 标记物均为阴性(阳性率分别为 0.465%、0), CD29 标记物为阳性(阳性率为 98.7%), 分离培养的 BMSC 纯度达到 98% 以上, 可以用于后续的实验。

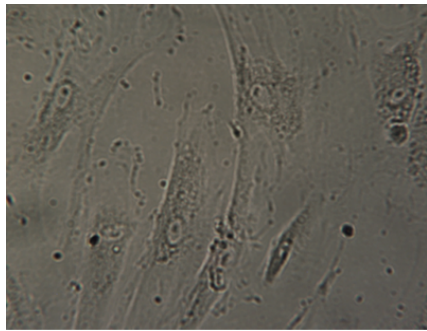


图1 光镜下分离培养的 BMSC($\times 250$)

表2 两组细胞免疫组化检测指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NF-M	NSE(%)	巢蛋白	MAP-2(%)	GAP-43	GFAP
空白组	3	2.5 \pm 0.5	2.27 \pm 0.64	2.13 \pm 0.15	1.67 \pm 0.47	1.83 \pm 0.55	2.83 \pm 0.61
诱导组	3	21.67 \pm 1.75	70.33 \pm 5.51	27.43 \pm 0.91	49.67 \pm 4.51	15.9 \pm 1.77	3.03 \pm 0.49
t 值		26.383	24.059	41.407	18.061	11.828	2.000
P 值		0.001	0.002	0.001	0.003	0.007	0.184

表3 3组细胞巢蛋白、NSE 和 GFAP mRNA 的相对表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	巢蛋白	NSE	GFAP
对照组	4	1.171 \pm 0.826	1.047 \pm 0.336	1.012 \pm 0.181
Wnt3a 组	4	1.434 \pm 0.008	8.711 \pm 0.207**	2.015 \pm 0.070**
Wnt5a 组	4	1.037 \pm 0.071	1.007 \pm 0.026	0.963 \pm 0.048
F 值		0.712	1512.918	105.381
P 值		0.516	<0.001	<0.001

注:与对照组相比, * $P < 0.05$; 与 Wnt5a 组相比, # $P < 0.05$ 。

3 讨论

BMSC 是一种多分化型干细胞。2000 年 Woodbury 首次报告可以将 BMSC 诱导分化成神经元细胞等^[1], 此后相关实验室都在开展如何将 BMSC 向神经元细胞方向诱导的研究。在目前大部分实验中, 各研究者都是以 BMSC 贴壁培养作为主要的研究方向^[9], 但是随着体外培养时间的延长, BMSC 向神经元细胞分化的能力有所下降, 细胞凋亡率高。

参麦注射液主要是由人参和麦冬等量组成, 起源于《症因脉治》的参麦饮。现普遍认为参麦注射液具有益气养阴、生津止渴、敛阴固脱的功效, 而国内多项研究均表明, 益气养阴温阳中药具有抑制细胞凋亡, 改善能量代谢的功能^[10-11], 因此推测其可以有效改善 BMSC 体外凋亡率高的问题。因此我们以参麦液

2.2 微球定向诱导分化神经元细胞的鉴定结果 诱导组 NF-M、巢蛋白、GAP-43 的平均 A 值以及 NSE、MAP-2 阳性率均高于空白组(均 $P < 0.05$), 而两组的 GFAP 平均 A 值差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 2。

2.3 Wnt3a 和 Wnt5a 诱导后巢蛋白、NSE 和 GFAP mRNA 的表达情况 3 组细胞巢蛋白 mRNA 差异无统计学意义($P > 0.05$); Wnt3a 组的 NSE 和 GFAP mRNA 相对表达水平均高于其他两组(均 $P < 0.05$), 而 Wnt5a 组与对照组间差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。见表 3。

提取物制作中药缓释微球, 其平均粒度为 4.226 μm , 粒径呈正态分布, 载药稳定, 平均载药量为 2.12%, 含量相对稳定、释放度基本不变, 可有效控制药物释药浓度。

CD29 是介导干细胞与细胞外基质黏附的最主要分子, 被认为是 BMSC 的重要标志物^[12], 而 CD11a、CD14 为造血干细胞特异标记^[13]。本研究将 BMSC 进行分离与传代培养, 所分离培养的细胞广泛表达 CD29, 不表达 CD11a 和 CD14, 说明本实验所分离培养的细胞不属于造血系细胞, 而是 BMSC。我们选用第 3 代 BMSC, 用含空白微球及中药微球的无血清培养基分别进行诱导, 然后检测 NF-M、NSE、巢蛋白、MAP-2、GAP-43、GFAP 的表达。其中巢蛋白是神经干细胞的特殊标记, NSE 是神经细胞的特定标记, 而 GFAP 是胶质细胞的特异性标记, NF-M 是构成神经细胞轴突中间丝的蛋白质, GAP-43 是一种与细胞及组织整体发育有关的蛋白之一, 广泛存在于神经元细胞。结果显示, 诱导组 NF-M、巢蛋白、GAP-43 的平均 A 值以及 NSE、MAP-2 阳性率均高于空白组(均 $P < 0.05$), 提示参麦微球复合 BMSC 后可以诱导 BMSC 向神经元细胞分化。

Wnt 基因是由果蝇无翅基因 Wingless 和小鼠乳腺癌中的 Int-1 基因合并起来命名的, 其特征为含有 22~24 个保守型半胱氨酸残基, 现已在人类基因组中发现有 19 种 Wnt 基因, Wnt 通路分为经典和非经

典两种,其中 Wnt3a 参与经典途径^[14]。经典的 Wnt 途径又称 Wnt/ β -连环蛋白信号通路,由 Wnt 蛋白、跨膜受体、胞质蛋白、核内转录因子、下游靶基因等组成^[15]。在 Wnt 信号下,Wnt 激活其跨膜受体,并激活胞浆中的散乱蛋白,活化的散乱蛋白成为糖原合成激酶复合物的抑制物,阻止其对 β -连环蛋白的降解,游离的 β -连环蛋白在胞浆中积聚,转位到细胞核,与核内转录因子—淋巴增强因子/T 细胞因子协同作用,激活下游靶基因的表达。故本研究在 Wnt 基因信号下应用益气养阴中药微球诱导 BMSC,然后检测巢蛋白、NSE 和 GFAP mRNA 的表达。结果显示,Wnt3a 组的 NSE 和 GFAP mRNA 相对表达水平均高于其他两组(均 $P < 0.05$),而 Wnt5a 组的 NSE 和 GFAP mRNA 相对表达水平与对照组比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。这提示 Wnt3a 对 BMSC 细胞向神经元细胞分化有明显的诱导作用,而 Wnt5a 并没有此作用。

综上所述,利用中药参麦微球与 BMSC 相结合,可成功诱导 BMSC 向神经元细胞方向分化,Wnt3a 信号通路对其有促进作用。但在人体内 BMSC 能否被诱导分化或自然分化为神经细胞和神经胶质细胞,则有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Woodbury D,Schwarz EJ,Prockop DJ,et al. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons[J]. J Neurosci Res,2000,61(4):364-370.
- [2] Munoz-Elias G,Woodbury D,Black IB. Marrow stromal cells, mitosis, and neuronal differentiation; stem cell and precursor functions[J]. Stem Cells,2003,21(4):437-448.
- [3] Trzaska KA,King CC,Li KY,et al. Brain-derived neurotrophic factor facilitates maturation of mesenchymal stem cell-derived dopamine progenitors to functional neurons[J]. J Neurochem,2009,110(3):1 058-1 069.
- [4] Brohlin M,Mahay D,Novikov LN,et al. Characterisation of human mesenchymal stem cells following differentiation into Schwann cell-like cells[J]. Neurosci Res,2009,64(1):41-49.
- [5] 蒋超,孔维霞,朱丽,等. 自体骨髓单个核细胞移植对脑梗死大鼠室管膜下区神经干细胞增殖的影响[J]. 中国实用神经疾病杂志,2016,19(20):9-11.
- [6] 羊明智,彭立军,胡文凯. 甲钴胺体外诱导大鼠骨髓间充质干细胞向神经元样细胞分化[J]. 中国组织工程研究,2013,17(32):5 741-5 748.
- [7] Jiang J,Lv Z,Gu Y,et al. Adult rat mesenchymal stem cells differentiate into neuronal-like phenotype and express a variety of neuro-regulatory molecules in vitro[J]. Neurosci Res,2010,66(1):46-52.
- [8] 陈谦,陈静,崔颜宏,等. 不同培养代数大鼠骨髓基质细胞向神经元样细胞转分化能力的比较[J]. 神经解剖学杂志,2009,25(1):1-5.
- [9] 庄琴,朱彦,陆益龙,等. 成人骨髓间质干细胞向神经干细胞的诱导分化[J]. 江苏大学学报(医学版),2011,21(2):93-96,88.
- [10] 谢培怡,李晓玲,许琳,等. 益气活血利水法对心力衰竭患者脑钠肽及超敏 C-反应蛋白的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志,2011,18(5):280-283.
- [11] 王洪良,曹雪滨,王艳飞,等. 心复康口服液对慢性压力负荷性心力衰竭大鼠心肌腺苷转位酶的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志,2011,18(1):18-20.
- [12] Guo Z,Yang J,Liu X,et al. Biological features of mesenchymal stem cells from human bone marrow[J]. Chin Med J (Engl),2001,114(9):950-953.
- [13] Wulf GG,Jackson KA,Goodell MA. Somatic stem cell plasticity: current evidence and emerging concepts[J]. Exp Hematol,2001,29(12):1 361-1 370.
- [14] 宋路,黄秀双,曹崇威,等. Wnt 信号通路对内源性神经干细胞在缺血性脑损伤中增殖分化的影响[J]. 沈阳医学院学报,2014,16(4):245-247,250.
- [15] Ren M,Wang T,Huang L,et al. Role of VR1 in the differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into cardiomyocytes associated with Wnt/ β -catenin signaling[J]. Cardiovasc Ther,2016,34(6):482-488.

(收稿日期:2019-01-07 修回日期:2019-03-14)

● 评价科技期刊学术水平的一般标准

目前,国际上通用的科技期刊评价标准主要有:①是否公开出版;有国内统一刊号(CN-x-x-x)和国际标准连续出版物编码(ISSN),具备 CN 和 ISSN 者才能进入评价范围;②期刊主办机构;③同行专家评审:期刊论文是否经同行专家评审,对期刊质量影响较大;④编委组成及其在本刊上发文数量;⑤刊载各类文献数量;⑥基金论文数:基金论文一般指国家和省市级重大基金及国家重大项目与支持的研究论文;⑦期刊流通利用情况;⑧期刊被引用情况:常可客观地说明期刊被科技工作者使用和重视的程度,以及在科学交流中的作用和地位,是评价期刊学术水平较为客观的指标;⑨期刊被世界权威检索工具收录情况。