

杜凯然,邓强,张彦军,等. 治疗脊髓损伤之建立星形胶质细胞模型的研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(4): 540 - 544.

Du KR, Deng Q, Zhang YJ, et al. Advances in research of the establishment of astrocyte models for treatment of spinal cord injury[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(4): 540 - 544.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2019.04.018

治疗脊髓损伤之建立星形胶质细胞模型的研究进展

杜凯然¹, 邓强^{2*}, 张彦军², 朱宝², 马同¹, 彭冉东², 李军杰¹, 徐浩军¹
王雨榕¹, 郭挺²

(1. 甘肃中医药大学, 中医临床学院, 兰州 730000; 2. 甘肃省中医院, 脊柱骨二科, 兰州 730050)

【摘要】 脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是一种极为复杂的破坏性疾病,一旦脊髓损伤发生,治疗棘手,对患者家庭、国家带来巨大的经济、社会负担。近年来,通过建立大鼠脊髓损伤细胞相关模型,对于脊髓损伤的病因病机治疗等方面有了进一步的认识,而星形胶质细胞模型的建立对脊髓损伤治疗有深远意义。研究发现,星形胶质细胞作为靶细胞通过血-脑脊液屏障直接或间接对脊髓损伤有双向调控作用。本文通过对近年来星形胶质细胞模型培养制备方案等研究进行总结,以期建立一个客观化、量化、可模拟化的星形胶质细胞模型提供指导对脊髓损伤的治疗提供新的思路。

【关键词】 脊髓损伤;星形胶质细胞;细胞造模;血-脑脊液屏障;小胶质细胞

【中图分类号】 **【文献标识码】** **【文章编号】** 1005-4847(2019) 04-0540-05

Advances in research of the establishment of astrocyte models for treatment of spinal cord injury

DU Kairan¹, DENG Qiang^{2*}, ZHANG Yanjun², ZHU Bao², MA Tong¹, PENG Randong²
LI Junjie¹, XU Haojun², WANG Yurong², GUO Ting¹

(1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Clinical College of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China.

2. Gansu Provincial Hospital of TCM, Division 2 of the Spinal Column, Lanzhou 730050)

Corresponding author: DENG Qiang. E-mail:18093188800@163.com

【Abstract】 Spinal cord injury is an extremely complex and debilitating condition. Once spinal cord injury occurs, it is difficult to treat, and thus poses a great economic and social burden to both caregivers and healthcare resources. In recent years, the establishment of rat spinal cord injury cell models has contributed to our understanding of the etiology and pathogenesis of spinal cord injury, in particular, the establishment of an astrocyte model has a profound significance for the treatment of spinal cord injury. Studies have found that astrocytes, as target cells that can effectively promote tissue protection and functional repair after spinal cord injury, directly or indirectly regulate spinal cord injury through blood-brain barrier barrier. This paper reviews the recent studies on the preparation of astrocyte culture models to provide guidance for the establishment of an objective, quantitative, and simulative astrocyte model, and presents new ideas for the treatment of spinal cord injury.

【Keywords】 spinal cord injury; astrocytes; cell modeling; blood-brain barrier; microglia

【基金项目】 国家自然科学基金(8186150544)。

Funded by National Natural Science Foundation of China(8186150544).

【作者简介】 杜凯然(1993—),男,硕士研究生在读,主要从事脊髓损伤防治及治疗。Email: 616361469@qq.com

【通信作者】 邓强,男,硕士,主任医师,教授,硕士生导师,主要从事中医药防治脊柱相关疾病。Email: dengqiang11576@sohu.com

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 是由各种原因引起的脊髓结构和功能损害,造成损伤水平以下脊髓神经功能 (运动、感觉、括约肌和自主神经功能) 障碍^[1]。SCI 作为脊柱损伤最常见且最严重的并发症,呈逐年上升的趋势^[2]。因此,脊髓损伤是一种高发病率、高致残率、高致死率、低治愈率的疾病。由于 SCI 发病累及人体多个系统、并发症复杂而多,治疗周期长、治疗方式繁杂、花费高且疗效不明显,目前临床尚无有效的治疗方法使得 SCI 后运动功能的恢复。目前,围绕脊髓损伤的研究模型主要为构建脊髓损伤动物模型和损伤模型的修复治疗。近年来的研究发现,胶质细胞源性神经营养因子 (glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)、一氧化氮 (NO) 和活化的星形胶质细胞能够有效地促进脊髓损伤后的组织和功能修复,起到组织保护作用,成为治疗脊髓损伤的干预靶点,促进神经细胞的功能恢复和再生^[3-4],但这种促进修复的作用机制尚不明确。为了深入研究这个问题,首先需要建立一个理想的星形胶质细胞模型。本文就建立一个客观、定量、可模拟的星形胶质细胞模型的问题,对近年来国内外的研究进展作一综述,为指导今后脊髓损伤治疗的研究提供参考^[5]。

1 星形胶质细胞经损伤的独特作用

星形胶质细胞广泛存在于神经系统中,其形态可以分为三种类型:原浆性、纤维性、放射状^[6]。其作用主要表现在以下几个方面:①神经递质传递的维持和建立血-脑脊液屏障。②星形胶质细胞可以对神经元的修复、提供神经的营养因子发挥重要作用^[7-8]。有科学家发现,在额叶神经元和海马神经元附近的星形胶质细胞能够储存和释放糖原,在神经元葡萄糖糖元消耗不足的情况下能够给予及时的补充^[9-10]。③星形胶质细胞在构建血-脑脊液屏障与维持中枢神经系统稳态中发挥巨大的作用^[9]。④星形胶质细胞也对于神经系统的发育、突触传递、以及神经系统内环境的稳定起着至关重要的作用^[11]。但过度的反应性胶质细胞增生也会导致一些不利于神经恢复的改变^[12-13]。如过多的星形胶质细胞增生在脊髓损伤的周围形成瘢痕组织,阻碍新生的神经元的生长。因此,星形胶质细胞对于脊髓损伤的恢复形成是最主要的影响因素。国外一些学者提出移植未成熟的星形胶质细胞有利于较

小瘢痕组织的形成,能够大大提高脊髓损伤的后期修复功能^[14-15]。鉴于星形胶质细胞对于神经元的恢复起到的独特作用,我们应该重视对于星形胶质细胞的研究。

2 星形胶质细胞模型的建立

关于星形胶质细胞的分离,最初由国外科学家建立的啮齿类动物的星形胶质细胞分离培养模型^[16-17]。起初由于技术条件限制,分离细胞要经过多次化学消化,对于细胞的结构破坏性大。后来的学者们在此基础上不断的改进细胞造模的方法,虽然取得显著的成效,但是造模方法种类颇杂,缺乏一种便捷、有效、重复率高的造模方法。以下是总结一些相对效率较高的造模方式,为今后建立一种更具优势的造模方法提供参考。

2.1 24 h 之内新生 SD 大鼠的星胶质细胞模型的制备

龙根等^[18]选取 24 h 内的新生 SD 大鼠脑组织,用磷酸盐缓冲液冲洗 3 遍,在冰块上去除脑膜及血管,取皮层组织细胞置于无血清的 DMEM/F12 中,用眼科剪剪碎,然后在 0.125% 胰酶中放置温度 37℃ 消化 2 min,200 目筛网过滤后,放置在恒温的培养箱中一天,除掉死亡细胞后使用第二代细胞。有研究表明取 24 h 新生大鼠的脑组织,较 1~2 d 大鼠的脑组织易于剥离,并且能够减少一些组织的混杂而影响细胞的纯度,影响实验模型建立的准确性。单纯使用胰蛋白酶消化,能够减少细胞培养所需要的仪器、溶液,降低对于实验室条件的要求,但是此法也存在不可忽视的缺陷,如:实验单纯使用胰蛋白酶剔除细胞杂质并不能够达到实验所要求的细胞纯度,从而影响最终的实验结果。

2.2 新生 1~3 d 新生 SD 大鼠的星胶质细胞模型的制备方法

靳辉等^[19]在建立星胶质细胞培养的过程中选取 1~2 d SD 大鼠,借鉴 McCarthy^[20]的混合胶质细胞的培养及分离方法,将新生大鼠消毒后取出脑组织,在冷的 D-Hanks 液中放入分离脑组织,剪碎后放入离心管中,使用胰蛋白酶进行消化 20 min,尽量轻微地将上清液吸除,使用吸管反复吹打所制成的悬浮液后经过 200 目的筛网滤过,将过滤后的悬液放置在培养瓶中,将培养瓶放置在 37℃、50 mL/L

CO₂培养箱中 15 min 进行差速黏附处理,最终将其接种在 L-多聚赖氨酸瓶中,放置在培养箱中,每隔 3 d 更换培养液。实验者采用使用 1~3 d 的新生 SD 大鼠的脑组织用于建立细胞模型,在培养的过程中将常规的恒温摇床与差速贴壁法相结合,利用成纤维细胞、小胶质细胞、星形胶质细胞贴壁的牢固程度、时间差,避免化学成分造成细胞的破坏,较传统仅仅使用蛋白酶溶液所获得的细胞纯度更高。

2.3 新生大鼠星形胶质细胞的原代培养

查雨锋等^[21]在选取新生 1~2 d 的 SD 大鼠取其大脑灰质放置冷 DMEM 培养液中培养,用 D-Hanks 液清洗 3 次使用眼科剪剪碎后在 37℃、0.25% 的消化酶液中消化震荡 15~20 min,加入 10% FBS 的高糖 DMEM 终止消化后离心 5 min,去掉其上清液后将其沉淀和终止液混匀后放入 200 目滤网,将细胞接种于未包被的细胞培养瓶中培养。首次 12 h 后取出培养液之后每隔 2~3 d 更换一次。王建斌等^[22]在星形胶质细胞的原代培养的过程中发现在显微镜下星形胶质细胞的纯度平均仅为 1.94%,培养的细胞中含有寡突胶质细胞、小胶质细胞及成纤维细胞等。此种方法最大的优势在于操作简单、快捷、复制简单,对于初学者易于掌握且成功率高,减少实验的成本且还能达到实验的目的,但是对于培养皿中的星形胶质细胞的纯度低、破坏严重从而严重影响实验的科学性,导致实验数据的真实性降低,对于要求精确的实验,此种实验模型就略显粗糙。

2.4 新生大鼠星形胶质细胞的隔代培养

2.4.1 胰蛋白酶消化法

黎天尊等^[23]在建立星形胶质细胞模型时选取第三代细胞用于实验。取新生 1 日龄 SD 大鼠,剖开脊髓组织,剥离组织和血管,使用眼科剪将组织剪为 0.5~1.0 mm 小块,0.25% 胰蛋白酶消化 15 min 后继续用 DMEM/F-12 培养基进行消化、过滤、离心后去掉上清液后,加入新的培养液装进一次性的塑料培养瓶中,将此瓶放置在恒温 37℃ 含有 5% CO₂ 的培养箱中,每隔 24 h 后换液待细胞长约 80% 融合后,使用 0.25% 胰蛋白酶消化、传代,最终取第三代细胞。此种方法比原代星形胶质细胞在制作的过程中所存在的血细胞、小胶质细胞、成纤维细胞的数量明显降低,利用胰蛋白酶剔除与本实验无关的杂质,此种方式虽然比原代培养具有一定的优势,但是建立细胞模型的同时需要胰蛋白酶的多次

消化,从而对于星形胶质细胞的本身也有很大的损害,因而此法也有其局限性。

2.4.2 恒温摇床震荡法与差速贴壁法相结合

恒温摇床震荡法最初由国外学者提出^[24-25],靳辉等^[19]在此方法的基础上进行改良,运用其他技术如倒置相差显微镜、HE 染色、GFAP 免疫荧光等技术 and 恒温摇床震荡法与差速贴壁法相结合,充分利用成纤维细胞的贴壁能力强、速度快等特点,先采取震荡摇床的方法剔除成纤维细胞后,再同时利用小胶质细胞贴壁速度慢、贴壁周期长等特点利用震荡摇床的方法去除残余。此种方法充分利用成纤维细胞、星形胶质细胞、小胶质细胞的特点,在传统的技术手段上与一些新的提取模式相结合。此种方法优势在于:①提高了星形胶质细胞的纯度并且减少化学溶液、物理机械等方法对于细胞的损伤;②避免了一些初学者在分离脑膜时未能把脑膜剔除干净,从而为成纤维细胞的繁殖提供温床,有研究证实脑膜残留能够增加成纤维细胞的繁殖^[26]。但是此种方法缺点:①并未彻底清除成纤维细胞与小胶质细胞,真正能用于实验的星形胶质细胞的纯度未能达到实验所预设的结果;②需要 37℃ 恒温摇床,而许多实验室尚未配备此种仪器,故此方法目前仍存在一些缺陷。

2.4.3 差速贴壁、梯度血清、十字手摇法相结合

丁娟等^[27]在现有的星形胶质细胞模型的基础上改进一种培养方法,主要采取逐步递增的三个步骤:首先使用常规差速贴壁法,利用成纤维细胞贴壁快、小胶质细胞贴壁速度慢、周期长的特点,先剔除一部分成纤维细胞与小胶质细胞。再利用成纤维细胞对于血清的依赖程度,通过“梯度血清”的方法再次剔除成纤维细胞与小胶质细胞。在实验的 1~2 d 使用 20% DMEM 以促使星形胶质细胞快速生长,然后以 10% DMEM 培养 2 d 以控制细胞的生长;最后不使用 DMEM 溶液培养 2 d。此种方法培养 7 d 后,一部分成纤维细胞由于缺少血清而死亡;第三步利用成纤维细胞与小胶质细胞比星形胶质细胞的贴壁能力差,在培养第 7 天后使用“十字手摇法”震荡 5 min,贴壁不牢固的成纤维细胞和小胶质细胞就会脱落^[28]。该方法最大的优势在于:①逐层递增的方法剔除细胞的杂质,较传统方法的效率更高,得到的星形胶质细胞的纯度更高;②比较“恒温摇床法”所需 37℃ 恒温摇床相比,“十字手摇法”为没有恒温摇床的实验室提供新的解决方法,

大大增加此种方法的适用范围^[29]。上述各种方案均有自身的优势与局限性,在星形胶质细胞造模过程中,一定要尽量有效规避其劣势,各方法之间有效结合、优化配置,为今后建立星形胶质细胞模型提供一种完整有效的方案。

3 结语

目前,脊髓损伤的治疗尚缺乏切实有效的办法,是国内外的脊柱研究领域一个急需解决的问题。有大量的研究证实,脊髓损伤中血-脑脊液屏障损伤导致星形胶质细胞膜上水通道蛋白-4 的表达改变,是血管源性水肿、细胞毒性水肿的重要因素^[30]。因此,星形胶质细胞在脊髓损伤的修复中扮演重要角色,星形胶质细胞的体外培养模型在病理、生理及药理学研究中方面都具有重要意义^[31]。然而,建立任何一个脊髓损伤细胞模型都应尽可能接近人体脊髓损伤的实际情况,制作脊髓损伤细胞模型也要尽量模拟人体脊髓损伤的发生机制,并将在脊髓损伤细胞模型制备中的发现应用于临床实践。迄今已经取得的许多进展,可为临床治疗脊髓损伤提供理论指导^[32]。目前建立星形胶质细胞模型时,选取新生 SD 大鼠的优势明显大于猴、狗、猫等一些动物。例如:①大鼠成本低;②大鼠的操作方便,易于获取,也减少了研究人员在实验过程中被动物咬伤的机会;③最为重要的是大鼠脊髓的星形胶质细胞模型很接近人体的损伤模型,更有利于还原实验的数据的科学性。而上文中讲述的造模方法各有优缺点,大多数学者倾向于差速贴壁、梯度血清、十字手摇法相结合,该方法利用化学、物理等方法相结合,层层剔除细胞的杂质,相比较于其他方法,能够获得较高纯度的星形胶质细胞。但至今尚没有完全规范化、统一性、量化的标准应用于此,建立一种量化星形胶质细胞模型的方法,仍是今后努力研究的方向。

参 考 文 献(References)

[1] 王亚芳,兰婧,刘福,等. A 型肉毒素重链干预对大鼠脊髓损伤后生长相关蛋白表达的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(2): 12-19.
Wang YF, Lan J, Liu F, et al. Effect of botulinum neurotoxin type A heavy chain on the growth-related proteins after spinal cord injury in rats [J]. Chin J Comp Med, 2018, 28(2): 12-19.

[2] 齐英娜,谭明生. 脊髓损伤动物模型的研究现状[J]. 中国矫形外科杂志, 2018, 26(10): 927-929.
Qi YN, Tan MS. Current research on animal model of spinal cord

injury: a review of the literature [J]. Orthop J Chin, 2018, 26(10): 927-929.

[3] 李强,郑苏林,冯瑜菲,等. 水温改变对斑马鱼脊髓损伤修复的影响[J]. 中国实验动物学报, 2017, 25(1): 1-7.
Li Q, Zheng SL, Feng YF, et al. Effect of water temperature on the recovery of spinal cord injury in zebrafish [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2017, 25(1): 1-7.

[4] 袁一旻. 星形胶质细胞活化在脊髓损伤修复中的作用及其调控[D]. 第二军医大学, 2012.
Yuan YM. Reactive astrocytes as a target for treatment of spinal cord injury [D]. Second Military Medical University, 2012.

[5] Schuld C, Franz S, Brüggemann K, et al. International standards for neurological classification of spinal cord injury: impact of the revised worksheet (revision 02/13) on classification performance [J]. J Spinal Cord Med, 2016, 39(5): 504-512.

[6] 黄潇,谷亚坤,程雪燕,等. 星形胶质细胞作为脊髓损伤治疗靶细胞的研究进展[J]. 生理学报, 2017, 69(6): 794-804.
Huang X, Gu YK, Cheng XY, et al. Astrocytes as therapeutic targets after spinal cord injury [J]. Acta Physiol Sin, 2017, 69(6): 794-804.

[7] 李建明,初同伟. 脊髓损伤后星形胶质细胞的病理变化及相关治疗措施的进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2007, 17(8): 632-634.
Li JM, Chu TW. The pathological changes of astrocytes after spinal cord injury and the progress of related treatment [J]. Chin J Spine Spinal Cord, 2007, 17(8): 632-634.

[8] Giménez y Ribotta M, Menet V, Privat A. The role of astrocytes in axonal regeneration in the mammalian CNS [J]. Prog Brain Res, 2001, 132(132): 587-610.

[9] Weber B, Barros LF. The Astrocyte: Powerhouse and recycling center [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2015, 7(12): pii: a020396.

[10] Brown AM, Ransom BR. Astrocyte glycogen and brain energy metabolism [J]. Glia, 2007, 55(12): 1263-1271.

[11] 师思,王晓良. 星形胶质细胞在糖尿病脑病中的变化及作用[J]. 国际药学研究杂志, 2016, 43(1): 56-61.
Shi S, Wang XL. Roles and functional changes of astrocytes in diabetic brain encephalopathy [J]. J Int Pharm Res, 2016, 43(1): 56-61.

[12] Parpura V, Heneka MT, Montana V, et al. Glial cells in (patho) physiology [J]. J Neurochem, 2012, 121(1): 4-27.

[13] 王超,邢喜春,李文志. 星形胶质细胞活化增殖在脊髓损伤修复中作用研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2015, 29(9): 837-839.
Wang C, Xing XC, Li WZ. Research progress of astrocyte activation and proliferation in repairing spinal cord injury [J]. J Chin Pract Diagn Ther, 2015, 29(9): 837-839.

[14] Horner PJ, Gage FH. Regenerating the damaged central nervous system [J]. Nature, 2016, 407(6807): 963-970.

[15] Joosten EA, Veldhuis WB, Hamers FP. Collagen containing neonatal astrocytes stimulates regrowth of injured fibers and

- promotes modest locomotor recovery after spinal cord injury [J]. *J Neurosci Res*, 2004, 77(1): 127-142.
- [16] Wang JJ, Chuah MI, Yew DT, et al. Effects of astrocyte implantation into the hemisectioned adult rat spinal cord [J]. *Neuroscience*, 1995, 65(4): 973-981.
- [17] Zhang S, Zeng X, Yang H, et al. Mast cell tryptase induces microglia activation via protease-activated receptor 2 signaling [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2012, 29(5-6): 931-940.
- [18] 龙根, 谢敏杰, 王伟, 等. RNA 干扰技术沉默星形胶质细胞 Cdk5 模型的建立 [J]. *生物医学工程与临床*, 2018, 22(3): 315-319.
- Long G, Xie MJ, Wang W, et al. Model establishment of cyclin-dependent kinase 5 silence in astrocytes by RNA interference [J]. *Biomed Eng Clin Med*, 2018, 22(3): 315-319.
- [19] 靳辉, 冯改丰, 杨蓬勃, 等. 大鼠脑皮质星形胶质细胞的体外优化培养及鉴定 [J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2015, 36(6): 849-853.
- Ji H, Feng GF, Yang PB, et al. The optimized culture and identification of astrocytes from rat cortical tissue [J]. *J Xi'an Jiaotong Univ (MedSci)*, 2015, 36(6): 849-853.
- [20] McCarthy KD, de Vellis J. Preparation of separate astroglial and oligodendroglial cell cultures from rat cerebral tissue [J]. *J Cell Biol*, 1980, 85(3): 890-902.
- [21] 查雨锋, 傅晓钟, 张顺, 等. 大鼠脑微血管内皮细胞与周细胞、星形胶质细胞共培养建立体外血脑屏障模型 [J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(5): 730-735.
- Cha YF, Fu XZ, Zhang S, et al. Establishment of an in vitro blood-brain barrier model by co-culturing rat brain microvascular endothelial cells, pericytes and astrocytes [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2015, 31(5): 730-735.
- [22] 王建斌, 冯敏, 廖芸, 等. 恒河猴大脑皮质星形胶质细胞的原代培养及鉴定 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2017, 39(1): 58-64.
- Wang JB, Feng M, Liao Y, et al. Primary culture and identification of astrocytes from cerebral cortex of rhesus macaque [J]. *Chin J Cell Biol*, 2017, 39(1): 58-64.
- [23] 黎天尊, 夏永智, 刘强, 等. PAR2 在损伤的大鼠脊髓星形胶质细胞增生中的作用研究 [J]. *重庆医科大学学报*, 2015, 40(5): 656-661.
- Li TZ, Xia YZ, Liu Q, et al. Role of PAR2 in proliferation of injured spinal cord astrocytes of rats [J]. *J Chongqing Med Univ*, 2015, 40(5): 656-661.
- [24] Ullian EM, Sapperstein SK, Christopherson KS, et al. Control of synapse number by glia [J]. *Science*, 2001, 291(5504): 657-661.
- [25] Woo J, Lee J, Kim MS, et al. The effect of aquaporin 5 overexpression on the Ras signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 367(2): 291-298.
- [26] 丁冬, 郝铁成, 曹军, 等. 嗅鞘细胞的不同纯化方法及结果 [J]. *现代生物医学进展*, 2014, 14(19): 3766-3769.
- Ding D, Hao TC, Cao J, et al. The results of olfactory ensheathing cells from different purification methods [J]. *Prog Mod Biomed*, 2014, 14(19): 3766-3769.
- [27] 丁娟, 丁敬宾, 马小虎, 等. 一种改进的大鼠大脑皮质星形胶质细胞的培养方法 [J]. *神经解剖学杂志*, 2017, 33(3): 349-353.
- Ding J, Ding JB, Ma XH, et al. An improved culture method of astrocytes in cerebral cortical of rats [J]. *Chin J Neuroanat*, 2017, 33(3): 349-353.
- [28] 刘犇, 陈清, 郭江. 大鼠脑皮质星形胶质细胞体外培养方法的改进 [J]. *热带医学杂志*, 2011, 11(5): 570-572.
- Liu B, Chen Q, Guo J. An improved method for the in vitro cultivation of astrocytes from cerebral cortex of SD rats [J]. *J Trop Med*, 2011, 11(5): 570-572.
- [29] 刘建峰, 丁艳平, 王建林, 等. 脑水通道蛋白的分布、功能及调控机制研究进展 [J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(2): 1827-1803.
- Liu JF, Ding YP, Wang JL, et al. Distribution, function and regulation mechanism of aquaporin in the brain [J]. *J Clin Rehabil Tis Eng Res*, 2014, 18(2): 1827-1803.
- [30] Aparicio-Blanco J, Martín-Sabroso C, Torres-Suárez AI. In vitro screening of nanomedicines through the blood brain barrier: A critical review [J]. *Biomaterials*, 2016, 103: 229-255.
- [31] 李兵奎, 常巍, 宋跃明. 脊髓损伤动物模型制备的研究进展 [J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2012, 22(10): 947-950.
- Li BK, Chang W, Song YM. Progress of animal model establishment with spinal cord injury [J]. *Chin J Spine Spinal Cord*, 2012, 22(10): 947-950.
- [32] 秦峰, 董大明. 脊髓损伤模型进展 [J]. *疑难病杂志*, 2015, 14(4): 436-439.
- Qin F, Dong DM. Progress in spinal cord injury models [J]. *Chin J Difficult Compl Cases*, 2015, 14(4): 436-439.