

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.27.005

丙泊酚对发育小鼠海马齿状回神经干细胞的影响*

景 胜,彭 静,包晓航,陈 杰,杜智勇,李 洪,黄 河[△]
(第三军医大学新桥医院麻醉科,重庆 400037)

[摘要] **目的** 观察丙泊酚对发育小鼠海马齿状回神经干细胞的影响。**方法** 将健康同窝日龄 7 d(P7)的 C57 小鼠分为 3 组:高剂量丙泊酚组、低剂量丙泊酚组和 10%脂肪乳对照组。所有小鼠 P7 接受药物处理。高剂量丙泊酚组腹腔注射丙泊酚 60 mg/kg;低剂量丙泊酚组腹腔注射丙泊酚 30 mg/kg;对照组腹腔注射同等体积的 10%脂肪乳。部分小鼠注药 24 h(P8)后处死,其余小鼠饲养至日龄 14 d(P14)处死。采用免疫组织化学法检测海马齿状回中 Ki67、巢蛋白(Nestin)、脑脂结合蛋白(BLBP)及神经元核心抗原(NeuN)的形态及表达量。**结果** 高剂量丙泊酚组 P8 小鼠海马齿状回中 Ki67 标记的神经干细胞数量较 10%脂肪乳对照组明显减少($P<0.01$),且 Nestin 及 BLBP 标记的干细胞纤维数量、长度均受损($P<0.05$)。P14 小鼠海马齿状回中 NeuN 阳性细胞数量低剂量丙泊酚组与 10%脂肪乳对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$),而高剂量丙泊酚组较 10%脂肪乳对照组显著减少($P<0.01$)。**结论** 高剂量丙泊酚可抑制海马齿状回神经干细胞的增殖,损伤神经干细胞突起数量及突起形态,导致神经元成熟障碍。

[关键词] 二异丙酚;干细胞;海马
[中图法分类号] R994.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2017)27-3759-04

Effects of propofol on neural stem cells in mouse developing hippocampal dentate gyrus*

Jing Sheng, Peng Jing, Bao Xiaohang, Chen Jie, Du Zhiyong, Li Hong, Huang He[△]

(Department of Anesthesiology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effects of propofol on neural stem cells in mouse developing hippocampal dentate gyrus (DG). **Methods** Healthy 7 d old mice from the same litters were randomly allocated into three groups: high dose propofol group, low dose propofol group and 10% fat emulsion control group. All mice were treated with drugs on postnatal 7 d. The mice in high dose propofol group were intraperitoneally injected with 60 mg/kg propofol; the mice in low dose group were intraperitoneally injected 30 mg/kg propofol; while the mice in the control group with equivalent volume of 10% fat emulsion. Some mice were sacrificed at 24 h after medication injection, and the others were sacrificed at postnatal 14 d. The morphology and expression levels of Ki67, Nestin, BLBP and NeuN in hippocampal DG were detected by immunohistochemical method. **Results** Healthy 7 d old mice from the same litters were randomly allocated into three groups: high dose propofol group, low dose propofol group and 10% fat emulsion control group. All mice were treated with drugs on postnatal 7 d. The mice in high dose propofol group were intraperitoneally injected with 60 mg/kg propofol; the mice in low dose group were intraperitoneally injected 30 mg/kg propofol; while the mice in the control group with equivalent volume of 10% fat emulsion. Some mice were sacrificed at 24 h after medication injection, and the others were sacrificed at postnatal 14 d. The morphology and expression levels of Ki67, Nestin, BLBP and NeuN in hippocampal DG were detected by immunohistochemical method. **Conclusion** High dose propofol inhibits the proliferation of neural stem cells in hippocampal DG, and impaired the prominence number of neural stem cells and causes neurons dysmaturity.

[Key words] propofol; stem cells; hippocampus

丙泊酚因其诱导起效快、苏醒迅速且无蓄积、不良反应小等优点,在临床儿科及产科麻醉中已逐渐推广使用。然而,越来越多的临床观察表明婴幼儿术后认知功能改变与全身麻醉药物接触有密切关系。近期有研究证实全身麻醉药物对发育机体认知功能有潜在的毒性作用,然而其具体作用机制还未明确。文献报道海马齿状回发育与机体认知功能紧密相关,而海马齿状回内干细胞神经发生决定齿状回发育,全身麻醉药物丙泊酚是否通过调控海马齿状回干细胞进而影响机体认知功能尚不清楚。本研究拟采用丙泊酚处理发育小鼠模型,通过免疫

组织化学及免疫荧光检测丙泊酚对发育小鼠海马齿状回干细胞的影响,探讨丙泊酚影响发育小鼠术后认知功能的机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂 丙泊酚购自 Astra Zeneca 公司,10%脂肪乳购自 Fresenius Kabi 公司,兔抗 Ki67 购自 Thermo 公司,鼠抗巢蛋白(Nestin)购自 BD 公司,兔抗脑脂结合蛋白(BLBP)及神经元核心抗原(NeuN)均购自 Millipore 公司。生物素化抗鼠、抗兔二抗购自 Invitrogen 公司,显色试剂盒 DAB 购自北京中杉公司,荧光二抗 cy3 抗兔、488 抗鼠购自 Jackson 公司。

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81370210)。 作者简介:景胜(1982—),硕士,主治医师,主要从事麻醉药物毒性研究。 [△] 通信作者,E-mail:13708385559@163.com。

1.2 实验方法

1.2.1 动物与分组 本研究动物实验经第三军医大学动物伦理委员会同意,所有动物实验步骤均遵照美国国家卫生局动物实验准则(2011 版)进行,研究所需的健康 C57BL/6J 临产孕鼠由第三军医大学大坪医院实验动物中心提供,小鼠自由充足摄取食物和水,正常昼夜更替,饲养室温控制在 23℃左右。小鼠出生当日记为 P0,将日龄 7 d(P7)同窝小鼠按照随机数字表分为 3 组:高剂量丙泊酚组、低剂量丙泊酚注射组、10%脂肪乳对照组。

1.2.2 药物处理 按照本课题组之前研究^[1]制备发育小鼠麻醉暴露模型。腹腔注射不同剂量丙泊酚或 10%脂肪乳。高剂量丙泊酚组腹腔注射丙泊酚 60 mg/kg,低剂量丙泊酚组腹腔注射丙泊酚 30 mg/kg,10%脂肪乳对照组腹腔注射等体积 10%脂肪乳。注射药物后将小鼠置于 37℃恒温充氧保温箱中,待小鼠麻醉苏醒后放回母鼠笼。注药 24 h 后(P8)处死部分小鼠获取大脑标本,其余小鼠饲养至 14 d(P14)处死获取大脑标本。

1.2.3 免疫组织化学 P8 小鼠通过拖颈处死;P14 小鼠以 1%戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔注射麻醉,经左心室灌注 0.9%生理盐水约 50 mL 后,继续灌注预冷的 4%多聚甲醛约 100 mL,灌注完毕后断头,收集大脑标本用新鲜的 4%多聚甲醛固定 24 h,随后采用 30%蔗糖溶液脱水,待其充分脱水后,OCT 包埋后用莱卡冰冻机切片(40 μm),并将其置于冻存液中-20℃保存。选取合适的片源用 0.01 mol/L PBS 漂洗后,3% H_2O_2 室温处理 20 min,0.01%PBS 漂洗后浸泡于 0.3% Triton X-100 中,置于 37℃孵箱孵育 30 min,3%BSA 封闭反应 1 h。分别加入含有一抗工作液兔抗 Ki67(1:500)及 BLBP(1:500)、鼠抗 Nestin(1:200)及 NeuN(1:500),4℃孵育过夜。0.01%PBS 漂洗后 BLBP 加入辣根过氧化物酶标记的 488 驴抗鼠 IgG(1:200);Nestin 加入辣根过氧化物酶标记的 Cy3 驴抗兔 IgG(1:200);Ki67 加入生物素化抗兔二抗(1:500);NeuN 加入生物素化抗鼠二抗(1:500),均在 37℃孵育 2 h。BLBP、Nestin 用 PBS 漂洗后与 DAPI 室温下反应 1 min,漂洗后转移到载玻片上,避光晾干,滴加防淬灭剂后封片。

Ki67、NeuN 在 PBS 漂洗后在 37℃与 SABC 反应 1 h,DAB 显示,贴片晾干,中性树脂封片。

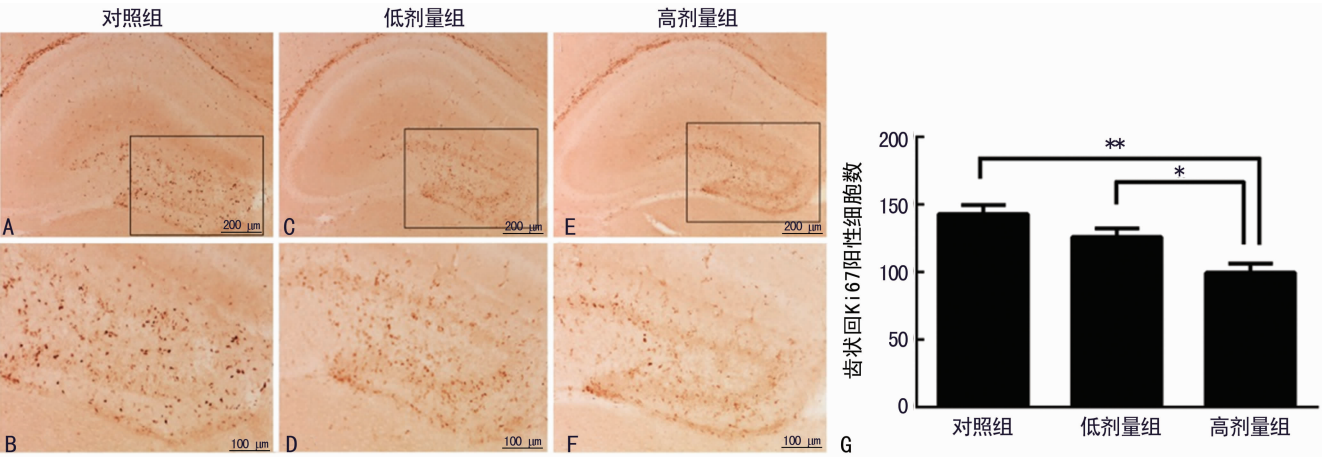
1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 进行数据统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,不同组间比较采用单因素方差分析,组间两两多重比较采用 LSD 事后检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 高剂量丙泊酚抑制 P8 小鼠海马齿状回内神经干细胞的增殖 采用细胞增殖相关的核抗原标记物 Ki67 检测丙泊酚对 P8 小鼠海马齿状回中神经干细胞的影响(图 1A~F)。免疫组化结果显示,Ki67 标记的具有增殖功能的神经干细胞主要分布于海马齿状回中的颗粒细胞层。3 组 Ki67 阳性细胞形态上未见明显差异,高剂量丙泊酚组齿状回颗粒细胞层的 Ki67 阳性细胞数量较低剂量丙泊酚组、10%脂肪乳对照组减少且差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1G。低剂量丙泊酚处理组与 10%脂肪乳对照组间 Ki67 阳性细胞数量未见差异($P > 0.05$)。

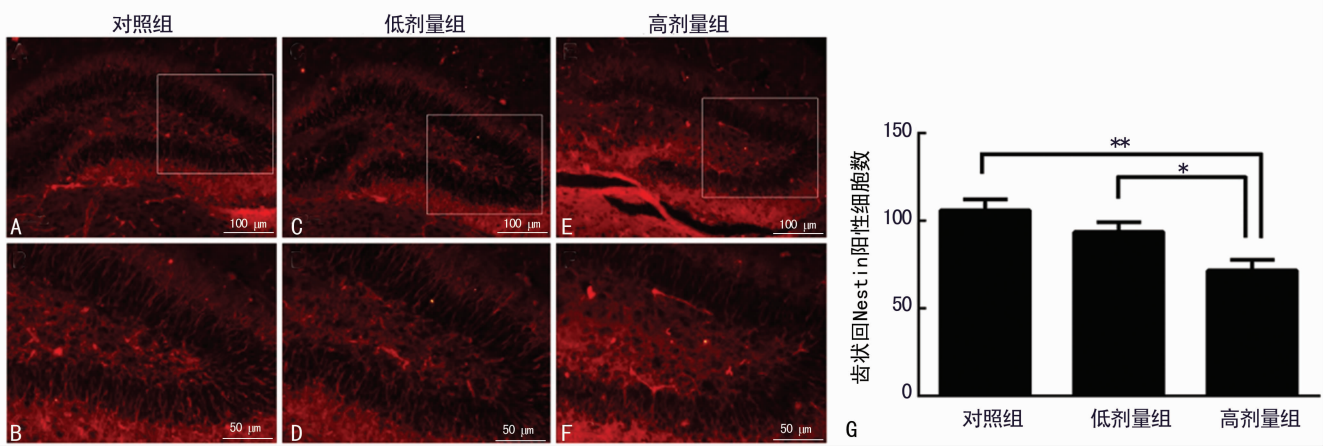
2.2 丙泊酚抑制 P8 小鼠后海马齿状回内神经干细胞的数量且损伤神经干细胞突起 Nestin 是一种中间丝类型的蛋白,是神经干细胞的特征性标记物,同时能标记放射状胶质细胞的突起。通过免疫荧光检测 Nestin 评估丙泊酚对 P8 小鼠海马齿状回中神经干细胞的影响(图 2A~F)。研究结果表明:高剂量丙泊酚组海马齿状回中 Nestin 阳性细胞数量较 10%脂肪乳对照组和低剂量丙泊酚组显著减少($P < 0.01$),见图 2G,同时发现高剂量丙泊酚组 Nestin 阳性细胞突起出现受损。

2.3 丙泊酚对 P8 小鼠海马齿状回内放射状胶质细胞的影响 采用放射状胶质细胞突起的特异性标记物 BLBP 检测丙泊酚对 P8 小鼠海马齿状回中神经干细胞形态的影响(图 3A~F)。免疫荧光结果显示:高剂量丙泊酚组海马齿状回中 BLBP 阳性细胞数量较 10%脂肪乳对照组和低剂量丙泊酚组显著减少($P < 0.01$),见图 3G,且放射状胶质细胞的长突起受损较明显;而与 10%脂肪乳对照组相比较,低剂量丙泊酚处理组仅观察到海马齿状回中 BLBP 阳性细胞放射状胶质细胞的长突起受损。



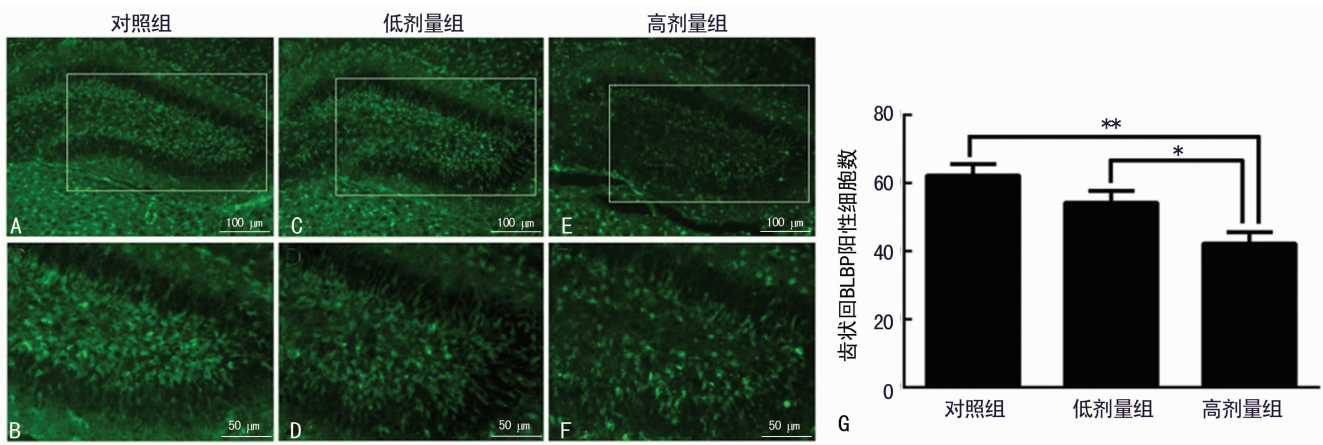
** : $P < 0.01$, 与对照组比较; * : $P < 0.05$, 与低剂量组比较

图 1 丙泊酚对 P8 小鼠海马齿状回中神经干细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)



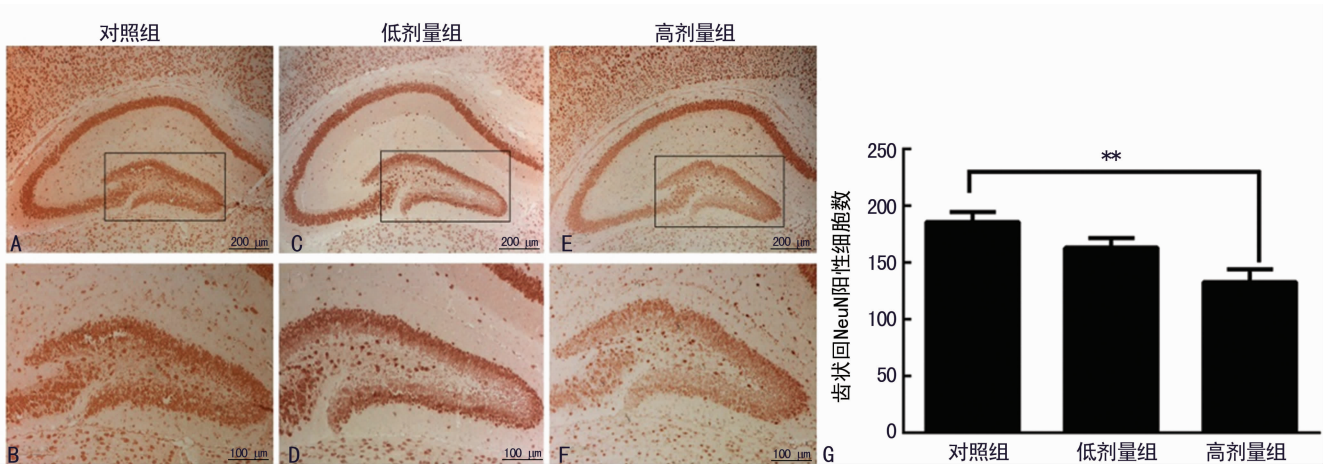
** : $P<0.01$,与对照组比较; * : $P<0.05$,与低剂量组比较

图 2 丙泊酚对 P8 小鼠海马齿状回中神经干细胞数量及突起的影响($\bar{x}\pm s,n=5$)



** : $P<0.01$,与对照组比较; * : $P<0.05$,与低剂量组比较

图 3 丙泊酚对 P8 小鼠海马齿状回中放射状胶质细胞的影响($\bar{x}\pm s,n=5$)



** : $P<0.01$,与对照组比较

图 4 丙泊酚对 P14 小鼠海马齿状回中成熟神经元的影响($\bar{x}\pm s,n=5$)

2.4 高剂量丙泊酚抑制 P14 小鼠海马齿状回内成熟神经元的数量 NeuN 能够特异性标记成熟神经元。通过评估 P14 小鼠海马齿状回中 NeuN 阳性细胞表达量检测丙泊酚对发育小鼠海马齿状回内神经元成熟的影响(图 4A~F)。免疫组织化学结果发现高剂量丙泊酚组海马齿状回中 NeuN 阳性细胞数量较 10% 脂肪乳对照组显著减少($P<0.01$),见图 4G,其余

未见明显差异。

3 讨论

越来越多的动物实验表明在脑发育关键时期接触全身麻醉药物会对大脑产生潜在毒性,并可能损伤机体远期的认知功能。最近临床回顾性研究表明小于 3 岁婴幼儿单次接触全身麻醉药物可能会导致学习、记忆和抽象推理障碍,且小于 2 岁

婴幼儿接触两次或多种麻醉药物在 19 岁之前诊断注意力缺陷运动障碍风险是健康人的 2 倍^[1-2]。既往研究表明婴幼儿术后学习、记忆、认知能力障碍发生发展与全身麻醉药物暴露有一定关联^[3]。

丙泊酚因麻醉诱导起效快、苏醒迅速且无蓄积、不良反应少等优点,已成为临床产科和儿科手术麻醉最常用全身麻醉药物之一。既往研究证实丙泊酚通过 GABA 受体影响脑内细胞凋亡或脑内神经递质改变^[4-7]。同时有研究表明婴幼儿使用全身麻醉药物与认知功能改变之间没有因果关系^[8]。而 Stargatt 等^[9]的队列研究指出丙泊酚是引起婴幼儿行为改变的重要因素之一;Wilder 等^[3]研究表明婴幼儿期使用丙泊酚能导致后期学习障碍。况且,众所周知与丙泊酚作用机制相似的乙醇在孕期或婴幼儿期使用会导致婴幼儿行为异常和认知障碍。

全身麻醉药物引起认知功能障碍主要表现为海马主宰的空间定向力受损、学习和记忆力受损,但其发生机制尚未明确。研究表明,决定海马功能的重要因素取决于海马颗粒下区齿状回中神经干细胞产生发育成熟神经元的能力^[10-11]。出生后早期海马齿状回神经干细胞为放射状胶质细胞(radial glial cells, RGCs),与大脑皮质内的 RGCs 类似,海马齿状回内的 RGCs 为具有极性特征的双极细胞,其放射状长突起起到了类似于“脚手架”的作用,从而引导海马齿状回内神经干细胞的迁移、分化^[12]。海马齿状回中 RGCs 的神经发生是形成新学习记忆的基础。Barry 等^[13]证实 RGCs 在神经发生在大脑功能的发育中发挥重要的作用。出生后海马神经发生可以被环境因素和神经递质改变调控^[14-15]。因此,丙泊酚是否通过调控海马神经干细胞神经发生从而影响机体后期认知功能值得研究。

Ki67 是一种增殖细胞相关的核抗原,其功能与有丝分裂密切相关,是目前用来判断细胞增殖能力的主要指标之一。本研究免疫组织化学结果表明高剂量 60 mg/kg 丙泊酚组较 10%脂肪乳对照组海马齿状回的 Ki67 阳性细胞明显减少,低剂量 30 mg/kg 丙泊酚组与 10%脂肪乳对照组无明显差异,提示丙泊酚抑制发育小鼠海马齿状回神经干细胞增殖且呈剂量依赖性。新生期海马齿状回神经干细胞作为海马神经发生的起始点,其数量减少必将对海马的正常发育过程造成影响,这可能导致更远期的神经功能改变。

Nestin 是神经干细胞特征性标记物,同时可以标记 RGCs 的突起^[16]。笔者发现相对于 10%脂肪乳对照组,高剂量 60 mg/kg 丙泊酚不仅减少 RGCs 的突起数量,还导致长突起的形成障碍。这个结论笔者又通过主要表达于 RGCs,功能涉及神经元的发育的 BLBP 指标进行验证,免疫荧光 BLBP 研究结论和 Nestin 荧光研究结果趋势一致。这提示丙泊酚不仅影响发育小鼠齿状回中干细胞增殖能力,还能够抑制 RGCS 的发生。RGCS 在海马的神经发生中发挥关键作用,一方面其能够提供“脚手架”引导海马中神经元的迁移,形成正常海马的分层结构;另一方面,RGCS 作为神经祖细胞的一种,可以进一步分化成为神经元及神经胶质细胞,是海马中神经元及胶质细胞的来源。RGCs 的发育受阻,对于海马正常结构形成及功能都有一定的影响。

通过检测成熟神经元标记物 NeuN 观察海马区域成熟神

经元数量,发现高剂量 60 mg/kg 丙泊酚组 P14 小鼠海马齿状回中 NeuN 阳性细胞数明显减少且与 10%脂肪乳对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$),而低剂量 30 mg/kg 丙泊酚组与 10%脂肪乳对照组比较 NeuN 阳性细胞数未见明显差异,提示高剂量丙泊酚抑制小鼠海马齿状回神经干细胞发育成熟,并最终导致神经元数量减少。海马中神经元是海马发挥正常功能的基础,这提示结构的改变及神经元数量的减少是丙泊酚暴露引起的行为改变的关键因素。

综上所述,本研究结果表明丙泊酚抑制发育小鼠海马齿状回中神经干细胞的增殖,同时损伤干细胞突起数量和形态,最后导致成熟神经元的减少。丙泊酚影响发育小鼠海马齿状回干细胞的毒性作用呈现剂量依赖性。笔者合理推测高剂量丙泊酚会影响海马齿状回神经发生,通过此机制也能解释临床观察发现婴幼儿接触全身麻醉药物丙泊酚后出现认知功能改变,但是其如何具体参与临床行为学的改变,有待后期更深入的研究。

参考文献

[1] Huang J, Jing S, Chen X, et al. Propofol administration during early postnatal life suppresses hippocampal neurogenesis[J]. Mol Neurobiol, 2016, 53(2):1031-1044.

[2] Olsen EA, Brambrink AM. Anesthesia for the young child undergoing ambulatory procedures: current concerns regarding harm to the developing brain[J]. Curr Opin Anaesthesiol, 2013, 26(6):677-684.

[3] Wilder RT, Flick RP, Sprung J, et al. Early exposure to anesthesia and learning disabilities in a population-based birth cohort[J]. Anesthesiology, 2009, 110(4):796-804.

[4] Yu D, Jiang Y, Gao J, et al. Repeated exposure to propofol potentiates neuroapoptosis and long-term behavioral deficits in neonatal rats[J]. Neuroscience Letters, 2013, 534(1):41-46.

[5] Creeley C, Dikranian K, Dissen G, et al. Propofol-induced apoptosis of neurones and oligodendrocytes in fetal and neonatal rhesus macaque brain[J]. Br J Anaesth, 2013, 110 Suppl 1:29-38.

[6] Luo Y, Coskun V, Liang A, et al. Single-cell transcriptome analyses reveal signals to activate dormant neural stem cells[J]. Cell, 2015, 161(5):1175-1186.

[7] Ponten E, Fredriksson A, Gordh T, et al. Neonatal exposure to propofol affects BDNF but not CaMK II, GAP-43, synaptophysin and tau in the neonatal brain and causes an altered behavioural response to diazepam in the adult mouse brain[J]. Behav Brain Res, 2011, 223(1):75-80.

[8] Geil CR, Hayes DM, McClain JA, et al. Alcohol and adult hippocampal neurogenesis: promiscuous drug, wanton effects[J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2014(54):103-113.

[9] Stargatt R, Davidson AJ, Huang GH, et al. A cohort study of the incidence and risk factors for negative behavior changes in children after general anesthesia(下转第 3766 页)

由肠道上细胞连接而成的,细胞与细胞之间有紧密连接蛋白,这种蛋白之间的紧密连接是其主要的连接方式,对细胞的连接及屏障形成的完整性起着决定性的作用^[4-5]。在正常情况下,结肠组织黏膜能有效阻止有害菌穿透黏膜进入深部组织,肠道黏膜上皮的完整性是肠道黏膜屏障的结构基础,有利于机体的内环境稳定,是机体健康的保证^[6-9]。如果有害物质对细胞与细胞之间的紧密连接蛋白造成损害,使细胞与细胞之间的连接不紧密、不连贯,有破损、裂缝,使屏障的保护作用降低,此时有害物质能穿过细胞之间连接的屏障对机体的免疫系统不断地进行刺激,引起机体免疫紊乱,炎症产生,最终导致 UC 的发生。由此可见,紧密连接蛋白的连贯性、黏膜屏障的完整性,在肠道保护方面起着重要的作用。

西医主要采用糖皮质激素、免疫抑制剂、生物制剂治疗 UC,但是同时也会伴发严重的不良反应,给患者带来了痛苦。在中医方面关于 UC 的研究也较多,取得的成果也较显著,银杏是中国较为古老的一种植物,银杏叶中含有苦内酯、天然活性黄酮等对人体健康有益的多种成分,在 UC 的研究中也显示了很大的作用。GBE 761 具有扩张血管、溶解胆固醇、改善血液循环、清除自由基、清除过氧化脂质、保护组织等作用。也有研究表明,GBE 761 可抑制炎症细胞因子的表达,对大鼠实验性结肠炎具有抑制肠道炎症,保护肠道作用,但在 GBE 761 治疗 UC 的紧密连接蛋白的连贯性、黏膜屏障的完整性方面的研究较少。

综上所述,应用 GBE 761 干预 UC 小鼠可以使 UC 小鼠血便减少,腹泻减轻,进食增加,精神萎靡症状减轻,病理结果及免疫荧光检查显示,GBE 761 干预 UC 小鼠可以恢复紧密连接蛋白的连贯性、减少紧密连接蛋白破损,使肠黏膜完整性增加,减少肠道出血,小鼠的进食及体质量逐渐增加,UC 症状首先获得改善。

参考文献

[1] Dupont A,Kaconis Y,Yang I,et al. Intestinal mucus affinity and biological activity of an orally administered anti-
(上接第 3762 页)
[J]. Paediatr Anaesth,2006,16(8):846-859.
[10] Jessberger S,Clark RE,Broadbent NJ,et al. Dentate gyrus-specific knockdown of adult neurogenesis impairs spatial and object recognition memory in adult rats[J]. Learn Mem,2009,16(2):147-154.
[11] Coras R,Siebzehnruhl FA,Pauli E,et al. Low proliferation and differentiation capacities of adult hippocampal stem cells correlate with memory dysfunction in humans [J]. Brain,2010,133(11):3359-3372.
[12] Bagri A,Tessier-Lavigne M. Neuropilins as semaphorin receptors;in vivo functions in neuronal cell migration and axon guidance[J]. Adv Exp Med Biol,2002(515):13-31.
[13] Barry DS,Pakan JM,McDermott KW,Radial glial cells;

bacterial and anti-inflammatory peptide[J]. Gut,2015,64 (2):222-232.
[2] Long TM,Nisa S,Donnenberg MS,et al. Enteropathogenic escherichia coli inhibits type I interferon and RNase I-mediated host defense to disrupt intestinal epithelial cell barrier function[J]. Infect Immun,2014, 82 (7): 2802-2814.
[3] Michielan A,D'incà R. Intestinal permeability in inflammatory bowel disease: pathogenesis, clinical evaluation, and therapy of leaky gut[J]. Mediators Inflamm,2015 (2015):628157.
[4] Mccole DF. IBD candidate genes and intestinal barrier regulation[J]. Inflamm Bowel Dis,2014,20(10):1829-1849.
[5] Coskun M. Intestinal epithelium in inflammatory bowel diseases[J]. Front Med (Lausanne),2014(1):24.
[6] Sun T,Gao GZ,Li RF,et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation ameliorates oxidative stress and restores intestinal mucosal permeability in chemically induced colitis in mice[J]. Am J Transl Res,2015,7(5):891-901.
[7] Liu XC,Xu JM,Mei Q,et al. Myosin light chain kinase inhibitor inhibits dextran sulfate sodium-induced colitis in mice[J]. Dig Dis Sci,2013,58(1):107-114.
[8] Langhorst J,Wieder A,Michalsen A,et al. Activated innate immune system in irritable bowel syndrome? [J]. Gut,2007,56(9):1325-1326.
[9] Kotakadi VS,Jin Y,Hofseth AB,et al. Ginkgo biloba extract EGB 761 has anti-inflammatory properties and ameliorates colitis in mice by driving effector T cell apoptosis [J]. Carcinogenesis,2008,29(9):1799-1806.

(收稿日期:2016-11-08 修回日期:2017-04-10)

key organisers in CNS development[J]. Int J Biochem Cell Biol,2014(46):76-79.
[14] Kempermann GH,Kuhn G,Gage FH. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. [J] Nature,1997,386(6624):493-495.
[15] Sun B,Halabisky B,Zhou Y,et al. Imbalance between GABAergic and glutamatergic transmission impairs adult neurogenesis in an animal model of alzheimer's disease [J]. Cell Stem Cell,2009,5(6):624-633.
[16] Kruglyakova EP,Khovryakov AV,Shikhanov NP,et al. Nestin-expressing cells in the human hippocampus[J]. Neurosci Behav Physiol,2005,35(9):891-897.

(收稿日期:2016-11-03 修回日期:2017-06-11)