

# 地黄多糖对大鼠骨髓间充质干细胞向神经样细胞诱导分化作用的研究

杜红阳<sup>1</sup>, 付海燕<sup>2</sup>, 包翠芬<sup>2</sup>, 刘宇卓<sup>2</sup>, 秦书俭<sup>1\*</sup>

(1. 辽宁中医药大学, 沈阳 110032; 2. 辽宁医学院, 辽宁锦州 121000)

**[摘要]** 目的:探讨地黄多糖体外对大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)分化为神经样细胞的诱导作用。方法:以大鼠 BMSCs 为研究对象,采用流式细胞仪检测 BMSCs 表面标志,MTT 法检测细胞生长曲线,当第 3 代细胞爬片达到 80% 以上汇合时,分为对照组、化学方法诱导组(5 mmol·L<sup>-1</sup>,β-mercap toethanol)、脑源性神经生长因子(10 μg·L<sup>-1</sup>, BDNF)组和地黄多糖组(200 mg·L<sup>-1</sup>)进行诱导,6 h 后应用免疫细胞化学染色法检测各实验组神经元巢蛋白(nestin)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)的表达,RT-PCR 检测 nestin,NSE,βⅢ-微管蛋白(βⅢ-tubulin)和 GFAP mRNA 的表达情况。结果:经分离鉴定培养 5 代以内大鼠 BMSCs 增殖旺盛、具有较好的细胞活力;免疫细胞化学染色和 RT-PCR 检测结果显示,对照组不表达神经细胞标志物,各诱导组诱导后有特异性神经细胞标志物表达。其中地黄多糖组 Nestin,NSE 阳性细胞率分别为(56.74 ± 1.36)%,(73.37 ± 1.27)%,高于化学诱导组(28.21 ± 2.43)%,(2.31 ± 2.72)%和神经生长因子组(31.3 ± 1.61)%,(28.87 ± 1.65)%,(P < 0.05);GFAP 阳性细胞率(20.17 ± 1.27)%低于化学诱导组和神经生长因子组,差异具有统计学意义(P < 0.05);化学诱导组 Nestin,NSE 和 GFAP 阳性细胞率与生长因子组比较,差异无统计学意义。结论:地黄多糖具有诱导 BMSCs 向神经样细胞分化的作用,主要向神经元样细胞方向诱导。

**[关键词]** 地黄多糖;骨髓间充质干细胞;神经样细胞;诱导

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0133-05

**[DOI]** CNKI:11-3495/R.20120113.1029.002 **[网络出版时间]** 2012-01-13 10:29

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120113.1029.002.html>

## Study on Differentiation of Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells into Neuron-like Cells Induced by *Rehmannia glutinosa* Polysaccharide *in vitro*

DU Hong-yang<sup>1</sup>, FU Hai-yan<sup>2</sup>, BAO Cui-fen<sup>2</sup>, LIU Yu-zhuo<sup>2</sup>, QIN Shu-jian<sup>1\*</sup>

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China;

2. Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of *Rehmannia glutinosa* polysaccharide (RGP) on inducing differentiation of rats bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) into neuron-like cells *in vitro*. **Method:** After characterized cell surface markers by flow cytometry analysis and assessed cell growth curve by MTT, rat BMSCs were experimented as the object. When the third passage cells grew to fusion of more than 80%, the cells were divided into 4 groups such as the control group, the β-mercap toethanol (BME) induction group, the brain derived neurotrophic factor (BDNF) induction group and the (RGP) induction group. Immunocytochemical stain and RT-PCR method were used to detect several neural specific proteins such as nestin, neuronal specific endase (NSE), glial fibrillory acidic protein (GFAP) and the related mRNA genes expression of

**[收稿日期]** 20111106(004)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(面上项目 31170930);辽宁省教育厅科技项目计划(LT2010061);辽宁医学院青年科技启动基金项目(Y2010Z011, Y2011Z010)

**[第一作者]** 杜红阳,博士研究生,主治医师,从事干细胞向神经细胞诱导分化研究,Tel:0416-4197078,E-mail: eyedu@qq.com

**[通讯作者]** \*秦书俭,教授,博士生导师,从事干细胞及骨组织工程研究,Tel:0416-4673161, E-mail:4197123@163.com

nestin,  $\beta$  III-tubulin, NSE and GFAP respectively after 6 hours. **Result:** Rat BMSCs had good vitality which were isolated, identified and cultivated within five generations. The detection of immunocytochemical stain and RT-PCR method show that neural cell markers were not expressed in the control group, but expressed in the other groups. Positive cells rate of nestin and NSE in the RGP induction group ( $56.74 \pm 1.36$ )%, ( $73.37 \pm 1.27$ )% respectively was higher than the BME induction group ( $28.21 \pm 2.43$ )%, ( $2.31 \pm 2.72$ )% and the BDNF induction group ( $31.3 \pm 1.61$ )%, ( $28.87 \pm 1.65$ )% ( $P < 0.05$ ) and positive cells rate of GFAP ( $20.17 \pm 1.27$ )% lower ( $P < 0.05$ ), but there was no difference between the BME induction group and the BDNF induction group in nestin, NSE and GFAP positive cells rate. **Conclusion:** The rat bone marrow mesenchymal stem cells could be differentiated into neuron-like cells *in vitro* with the induction of *R. glutinosa* polysaccharide, mainly induced to neuron-like cell.

[**Key words**] *Rehmannia glutinosa* polysaccharide; bone marrow mesenchymal stem cells; neuron-like cells; cell induction

骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 是存在于哺乳动物骨髓基质中的一类具有多种分化潜能的成体干细胞, 目前其在临床疾病的治疗以及组织工程领域具有广阔的应用前景<sup>[1]</sup>。地黄多糖为中药地黄的有效成分之一, 具有补血滋阴、益精填髓的功效, 是优良的滋阴补血药, 祖国医学认为: 肾藏精主生殖, 肾主骨生髓化血通于脑, 肾精的盛衰决定着人体的生长、发育与生殖, 其功能与干细胞有相似之处, 而且许多补肾益精中药可以促进干细胞的增殖分化<sup>[2]</sup>。本实验旨在探讨地黄多糖诱导 BMSCs 分化为神经样细胞的作用。

## 1 材料

**1.1 动物** Wistar 大鼠 (鼠龄 4~6 周, 体重 120 g 左右, 雌雄不限) 由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供 (合格证书编号 2007000520595)。

**1.2 药物与试剂** 熟地黄药材购自河南怀庆药业有限公司, 经中国医学科学院药用植物研究所鉴定为玄参科地黄属植物 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的块根。地黄多糖采用现代高科技工艺从原料中萃取<sup>[3]</sup>, 纯度达 90%, 用无血清 DMEM/F12 培养液稀释到  $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。L-DMEM/F12 1:1 培养基 (HyClone 公司, 批号 NWF0426)、胎牛血清 (Thermo Fisher 北京公司, 批号 NVA0227)、胰蛋白酶 (批号 M3148) 和 EDTA (批号 E6758) 购置 Sigma 公司、 $\beta$ -巯基乙醇 (北京鼎国生物公司, 批号 SA2025)、兔抗大鼠单克隆抗体 CD90, CD45, CD29 (美国 BD 公司, 批号分别是 555518, 555751, 555901), CD34 (SANTA 公司, 批号 sc-53069), 兔抗大鼠神经元巢蛋白 (nestin, SNATA CRUZ 公司, 批号 sc-23927), 神经元特异性烯醇化酶 (NSE, 博士德公司, 批号 BA0535), 胶质纤维酸性蛋白 (GFAP, 博奥森公司, 批号 bs-

0199R)、小鼠抗大鼠  $\beta$  III-微管蛋白 ( $\beta$  III-tubulin) 多克隆抗体 SNATA CRUZ 公司, 批号 sc-69966), 碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF, 批号 400-29)、脑源性神经营养因子 (BDNF, 批号 450-02) 购置 Peprotech 公司, RNA PCR Kit (AMV) Ver. 3.0 TaKaRa 公司, 引物由大连宝生物公司合成。

**1.3 仪器** 倒置相差显微镜、荧光倒置显微镜 IX70 (日本 Olympus 公司), FACSria 流式细胞仪 (美国 BD 公司), PCR 扩增仪 (ABI2720, 美国 ABI 公司)。

## 2 方法

**2.1 BMSCs 分离培养** 将 Wistar 大鼠断颈处死, 置于 75% 乙醇中消毒 5 min, 在无菌条件下取出双侧股骨、胫骨, 剪掉两端, 用 5 mL 注射器吸取 DMEM/F12 培养基 5 mL 反复冲洗骨髓腔, 将冲洗液缓慢置于含有等量  $1.073 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  percoll 分离液的离心管中,  $2500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 20 min, 收集中间单层细胞, PBS 冲洗 2 次, 应用含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基 3 mL 重新悬浮细胞, 接种于 6 孔板内, 置  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ 、饱和湿度下常规培养。24 h 后更换新培养液去除非贴壁细胞, 以后每隔 3 d 换液 1 次。当细胞生长融合达培养板孔 90% 时应用 0.25% 胰蛋白酶及 0.02% EDTA 混合消化液消化, 1:3 比例转入 75 mL 培养瓶内传代培养。

**2.2 检测 BMSCs 表面标志** 细胞传至第 3 代时消化收集细胞, PBS 洗涤 3 次, 加入荧光标记抗体避光  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  孵育 30 min, PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min, 应用流式细胞仪检测细胞表面标记物 CD90, CD29, CD34, CD45 的表达。

**2.3 BMSCs 生长曲线的测定** 收集第 357 代 BMSCs, 调整细胞悬液密度, 96 孔板每孔加入

200  $\mu\text{L}$ ,使待测细胞调密度至  $5 \times 10^3/\text{孔}$ (边缘孔用无菌 PBS 填充)。5%  $\text{CO}_2$ ,37  $^\circ\text{C}$  孵育,培养 9 d,每日上午同一时间加药,设 5 个复孔。每孔加入 20  $\mu\text{L}$  MTT 溶液( $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,即 0.5% MTT),继续培养 4 h 后吸去孔内培养液。每孔加入 150  $\mu\text{L}$  二甲基亚砜,置摇床上低速振荡 10 min,使结晶物充分溶解。设置调零孔(培养基 MTT 二甲基亚砜)及空孔,在酶联免疫检测仪测吸光度  $A_{490 \text{ nm}}$  处测量各孔的  $A$ ,绘制曲线。

**2.4 诱导分化及神经标志物检测** 取第 3 代细胞以  $1 \times 10^5/\text{mL}$  的密度接种于事先放置有消毒盖玻片的 24 孔板内制备细胞爬片,当细胞贴壁生长达到 80% 融合时,采用预诱导液( $L$ -DMEM,15% FBS,bFGF 10  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )处理 24 h 后,去除预诱导液,细胞随机分为 4 组,应用不同方法对其进行诱导:①对照组:10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基;②化学方法诱导组:诱导前培养孔板内加入 1  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\beta$ -巯基乙醇(beta-mercap toethanol, BME)预诱导 24 h,更换无血清 DMEM/F12 培养基及 5  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 BME 诱导;③神经生长因子组:20  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  bFGF 预诱导 24 h 后更换无血清 DMEM/F12 培养基及 10

$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  BDNF 诱导;④地黄多糖组:200  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  地黄多糖无血清 DMEM 培养基。观察各组细胞形态学变化,于诱导后 6,8 h 取出细胞爬片,应用 4% 多聚甲醛室温固定 20 min,晾干后  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  冻存备用。

**2.4.1 检测各实验组诱导后 nestin, NSE, GFAP 的表达情况** 应用免疫细胞化学染色方法,每组取 10 孔,每孔均从上下左右 4 个方位分别选取 3 个不重复的视野计数染色阳性细胞数目及其百分比,取 3 个视野的阳性细胞百分比均值作为每孔的阳性细胞百分比。倒置显微镜下观察拍照。

**2.4.2 3 种方法诱导后神经细胞表面标志物的表达** RT-PCR 检测,依照 Trizol 试剂使用说明提取细胞总 RNA。取 2  $\mu\text{g}$  总 RNA,按照逆转录试剂盒操作说明进行逆转录,反应体系 20  $\mu\text{L}$ ,反应条件:65  $^\circ\text{C}$ ,5 min;42  $^\circ\text{C}$ ,30 min;95  $^\circ\text{C}$ ,5 min;4  $^\circ\text{C}$ ,5 min。以获得的 cDNA 为模版在 PCR 扩增仪进行反应,分别扩增内参 GAPDH, nestin, NSE  $\beta$  III-tubulin, GFAP,反应体系 25  $\mu\text{L}$ ,扩增条件:94  $^\circ\text{C}$  预变性 5 min;94  $^\circ\text{C}$  变性 45 s;退火 45 s;72  $^\circ\text{C}$  延伸 45 s;72  $^\circ\text{C}$  反应 10 min;30 个循环。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,紫外透射仪观察成像。实验重复 3 次。

表 1 神经标志物及内参照引物设计

基因名称	GenBank 正向(5'→3')	GenBank 反向(5'→3')	扩增片段长度/bp
NSE	CAACAGCACCATCGCACCG	GGCAAAGCCGCCCTTCATC	436
nestin	CAGGCTTCTCTTGGCTTTCTGG	TGGTGAGGGTTGAGGTTTGT	431
GFAP	ACGACTATCGCGCCAACCTG	ACCTCACCATCCGGCATCTC	410
$\beta$ III-tubulin	TGAGACCTACTGCATCGACA	GGGATCCACTCCACGAAGTA	447
GAPDH	CCCACGGCAAGTTCAACGGCA	TGGCAGGTTTCTCCAGGCGGC	606

**2.5 统计处理** 以 SPSS 12.0 统计软件进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间均数比较采用方差分析  $q$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**3 结果**

**3.1 培养诱导分化的形态观察及鉴定** 细胞接种 24 h 后,可见大部分细胞贴壁生长,细胞成长梭形,折光性好。换液去除非贴壁细胞后细胞逐渐增殖,5~7 d 后细胞即可达 90% 融合,而后生长速度加快,4~5 d 传代 1 次,当细胞传至第 3 代时可见细胞生长均匀,排列规则,呈典型放射状、呈漩涡状或成行排列。经流式细胞仪检测 CD90,CD29 表达阳性,分别为 93.7%,90.8%。CD45,CD34 表达阴性,分别为 2.5%,3.7%,故认为体外培养的细胞为 BMSCs。

**3.2 生长曲线测定** 应用 MTT 法测量 9 d,结果如

图 1:实验测定细胞生长曲线提示第 3 代及第 5 代 BMSCs 生长基本规律相似,第 7 代 BMSCs 生长相对缓慢。各代 BMSCs 于传代后均出现短暂的滞留期,此后细胞生长明显加速,成倍增长,细胞互相接触连接成片,此时为细胞对数生长期,此后细胞生长速度变缓,数量增加缓慢,进入平台期。

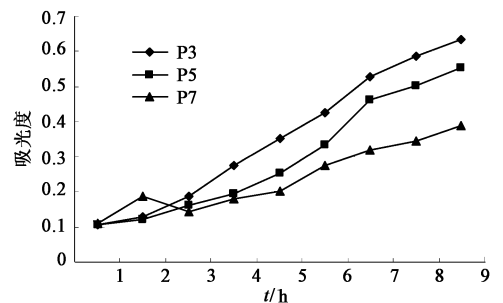


图 1 BMSCs 细胞生长曲线

**3.3 诱导分化及神经标志物检测** ①化学诱导组: 在加入诱导剂后半小时胞体即可见收缩, 折光性增强, 细胞有突起伸出, 并随诱导时间延长而变得细长成树枝状, 双极或多极, 1 h 内可见典型的神经样细胞形态改变, 2 h 神经元样细胞明显增多, 次级分支出现, 部分细胞突起与相邻细胞胞体或突起相连成网状, 4 h 大部分细胞成神经样形态改变, 6 h 可见到一些细胞死亡, 脱壁, 随时间延长死亡细胞逐渐增多。②生长因子组: 与化学诱导组相比, 生长因子加入后细胞改变较化学诱导组出现略晚, 细胞改变大致与化学诱导组相似, 但细胞突起较前者略少, 细胞死亡程度较轻。③地黄多糖诱导组: 细胞生长状态良好, 于诱导 30 min 后即可出现神经样细胞, 表现为细胞胞质收缩, 有突起长出, 并不断延长, 随诱导

时间增加, 具有神经细胞样形态的细胞数量逐渐增多, 到诱导 6 h 后达到最多, 为 19.1% ± 0.4%, 此后细胞数量不再继续增加, 且出现的神经样细胞胞质逐渐固缩, 逐渐死亡、从培养板上脱落。④对照组偶见神经样细胞, 绝大多数细胞无明显形态学改变。

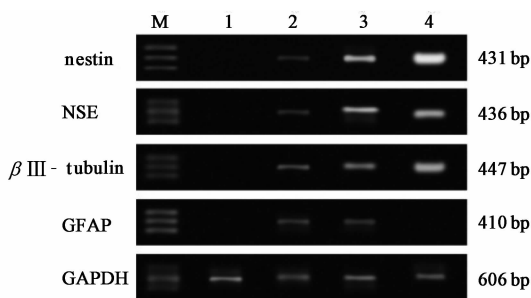
各组神经标志物 nestin, NSE, GFAP 表达情况, 对照组不表达神经元样细胞标志, 各诱导组诱导后产生的神经样细胞神经标志物 nestin, NSE, GFAP 均有表达。各诱导组诱导后阳性细胞率均高于对照组 ( $P < 0.01$ ); 地黄多糖组 nestin, NSE 阳性细胞率高于化学诱导组、神经生长因子组 ( $P < 0.05$ ); GFAP 阳性细胞率低于化学诱导组和神经生长因子组 ( $P < 0.05$ ); 化学诱导组 nestin, NSE 和 GFAP 阳性细胞率与生长因子组比较, 差异无统计学意义。见表 2。

表 2 各组细胞 nestin, NSE, GFAP 阳性表达率 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	终浓度	nestin	NSE	GFAP	%
对照	-	0	0	0	
$\beta$ -巯基乙醇	5 mmol·L <sup>-1</sup>	28.21 ± 2.43 <sup>1,2)</sup>	22.31 ± 2.72 <sup>1,2)</sup>	43.52 ± 1.31 <sup>1,2)</sup>	
BDNF	10 μg·L <sup>-1</sup>	31.3 ± 1.61 <sup>1,2)</sup>	28.87 ± 1.65 <sup>1,2)</sup>	40.37 ± 2.36 <sup>1,2)</sup>	
地黄多糖	200 mg·L <sup>-1</sup>	56.74 ± 1.36 <sup>1)</sup>	73.37 ± 1.27 <sup>1)</sup>	20.17 ± 1.27 <sup>1)</sup>	

注: 与对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ; 与地黄多糖组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ 。

提取各组诱导后的细胞总 RNA, 行 RT-PCR 检测, 结果如图 2, 各实验组诱导后的细胞均可检测到 nestin, NSE, GFAP,  $\beta$  III-tubulin mRNA 的表达, 与免疫细胞化学染色结果相符合。



M. DL 2000 DNA; 1. control 组; 2. BMF 组; 3. BDMF 组; 4. RCP 组

图 2 各诱导组神经细胞相关基因表达

#### 4 讨论

中枢神经系统损伤后自身修复能力非常有限, 其损伤与再生一直是困扰医学的难题, 而骨髓间充质干细胞 (BMSCs) 具有自我更新能力及多向分化潜能, 在一定条件下可向其他胚层来源的细胞分化, 由于 BMSC 取材方便, 免疫原性低、无伦理性问题等特点, 因此 BMSCs 可以作为较为理想的种子细胞或载体细胞用作细胞移植以及基因治疗<sup>[4]</sup>。目前大

多数研究者在体或离体条件下将 BMSCs 诱导分化为神经样细胞, 体外诱导方法主要有 3 种<sup>[5]</sup>: 化学诱导、生长因子诱导和中药有效成分诱导。从诱导的细胞形态上看类似于神经细胞, 因此多称为“神经样细胞”或“神经样细胞”, 但具体机制仍不明了。祖国医学认为“肾主骨, 生髓, 充于脑”, “脑为髓之海”。脑之产生有赖于肾所生之髓充养, 补肾益精能化髓充脑。BMSCs 来源于骨髓, 为骨髓组织的重要组成部分, 同时认为熟地黄有益精填髓之功, 因此推测熟地黄主要成分地黄多糖可能诱导 BMSCs 向神经细胞分化; 另一方面现代药理研究表明地黄多糖有抗氧化和促进造血干细胞增殖、分化的作用<sup>[6]</sup>, 而  $\beta$ -巯基乙醇等化学诱导剂的诱导作用被认为与其抗氧化密切相关, 有利地支持这种推测。本实验对 BMSCs 进行分离、纯化, 培养至第 3 代时应用流式细胞仪进行细胞表面标志物的检测, 结果 BMSCs 的 CD90, CD29 均为阳性, CD45, CD34 呈阴性表达, 提示所分离培养的细胞为较为均一的 BMSCs。同时, 本实验测定细胞生长曲线提示 5 代以内大鼠 BMSCs 增殖旺盛、具有较好的细胞活力, 适合进行实验研究, 再结合 BMSCs 分离纯化的特点, 故本实验选取

较为均一且细胞增殖活力较佳的第3代 BMSCs 进行下一步的实验研究。

应用不同方法诱导 BMSCs 向神经细胞方向分化的具体机制可能不同,故本实验对上述几种诱导分化的过程进行初步研究,3种不同的方法均将 BMSCs 诱导分化成具有神经细胞形态的细胞类型,并通过免疫细胞化学方法检测到诱导后的细胞表达神经细胞特异性标志物 nestin(神经干细胞标志物)、NSE(神经元标志物)、GFAP(神经胶质细胞标志物),同时,应用 RT-PCR 亦检测到上述神经细胞标志物的基因的表达。3种方法相比,应用化学诱导法及生长因子诱导出的神经样细胞出现时间较早,分化比例较高,但分化后细胞存活时间较短,24 h后大部分分化细胞死亡。应用地黄多糖诱导,在加入诱导剂后 30 min 后细胞形态即发生变化,原来宽大扁平的细胞体开始向胞核收缩;3 h 后细胞形态明显改变,胞体成圆形,折光性增强,细胞周围有光晕,有很强的立体感,出现双极及多极细胞,有细长突起。6 h 后变形细胞增多,突起变长,末端产生多级分支,较密集的部分可形成网络样结构,随时间增长网络样结构更加密集。

本实验对各诱导组诱导分化作用进行比较,结果化学诱导组、生长因子诱导组、地黄多糖诱导组的 nestin, NSE 阳性细胞率值均高于对照组,  $P < 0.01$ , 有显著性差异;对照组不表达神经元样细胞标志,说明对照组 10% 胎牛血清 L-DMEM 培养液不能诱导 BMSCs 向神经元样细胞分化。地黄多糖诱导组 nestin, NSE 阳性细胞率高于化学诱导组;各组 GFAP 阳性细胞率均  $< 43\%$ 。特别注意的是地黄多糖组 nestin, NSE 阳性细胞率明显高于生长因子组和化学方法组, nestin 阳性细胞率分别是  $(56.74 \pm 1.36)\%$ ,  $(28.21 \pm 2.43)\%$ ,  $(31.3 \pm 1.61)\%$ , NSE

阳性细胞率分别为  $(73.37 \pm 1.27)\%$ ,  $(28.87 \pm 1.65)\%$ ,  $(22.31 \pm 2.72)\%$ , 而 GFAP 阳性细胞率低于化学诱导组和神经生长因子组,提示在地黄多糖诱导 BMSCs 向神经样细胞分化作用上,主要向神经元样细胞方向诱导,这与国内杨辉<sup>[7]</sup>的研究结论一致。地黄多糖体外诱导骨髓间充质干细胞分化为神经样细胞,其具体机制还尚不清楚,诱导分化后的神经样细胞是否具有神经细胞的电生理特性,以及移植到体内是否可以存活并发挥功能,这都有待于更进一步深入研究。

#### [参考文献]

- [1] 张金生. 关于“干细胞循环”理论在中医基础研究中应用前景的思考[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2):263.
- [2] 童晓云, 杨忠奇, 冼绍祥, 等. 补肾益精中药在干细胞研究中的应用进展[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(5):1216.
- [3] 蔡光先, 刘柏炎, 林琳, 等. 地黄多糖诱导骨髓间充质干细胞分化为神经细胞最佳浓度探索[J]. 中国中医急症, 2007(16):206.
- [4] 王义周, 寇爽, 刘妍, 等. 中医药促进中枢神经再生的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12):198.
- [5] 刘云云, 赵兴绪, 赵红斌, 等. 川芎嗪体外诱导小鼠骨髓间充质干细胞分化为神经元样细胞的研究[J]. 生物学杂志, 2010, 27(6):21.
- [6] 董诚明, 李增光, 李汉伟. 地黄常见品种“温 85-5”性状变异研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(5):99.
- [7] 杨辉. 地黄多糖对 MSCs 向神经细胞分化过程中脑区相关基因和 BMP4 的影响[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2007.

[责任编辑 聂淑琴]