

## *dl*-3-正丁基苯酞对内皮素诱导脑缺血大鼠行为学的改善研究

张秀春<sup>1</sup>, 程希<sup>1</sup>, 胡锦涛<sup>2</sup>, 钟珊珊<sup>1</sup>, 赵传胜<sup>1\*</sup>

1. 中国医科大学附属第一医院 神经内科, 辽宁 沈阳 110001

2. 中国医科大学附属第一医院 神经外科, 辽宁 沈阳 110001

**摘要:** **目的** 探讨 *dl*-3-正丁基苯酞对内皮素诱导脑缺血大鼠行为学的改善作用及其作用机制。**方法** 采用向纹状体、皮层注射内皮素-1 制作大鼠脑缺血模型。大鼠随机分为假手术组、模型组和 *dl*-3-正丁基苯酞组。*dl*-3-正丁基苯酞组每日 ig 70 mg/kg, 起始于缺血后 1 周, 持续给药 2 周。采用平衡木实验、粘性标签试验和圆筒试验评价神经功能恢复情况, 应用免疫荧光技术观察海马齿状回新生神经细胞的情况。**结果** *dl*-3-正丁基苯酞对脑缺血大鼠运动功能的恢复有明显的改善, 明显促进海马齿状回的新生神经细胞增多, 增加双皮质素 (DCX) 阳性细胞总树突长度。**结论** *dl*-3-正丁基苯酞不仅能够对脑缺血后大鼠的运动功能有明显的改善, 而且促进脑缺血后大鼠的神经再生, 对脑缺血所致的神经细胞损坏的治疗提供参考。

**关键词:** *dl*-3-正丁基苯酞; 脑缺血; 运动功能恢复; 神经细胞再生

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2018)07-1561-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2018.07.002

## Improvement of *dl*-3-*n*-butylphthalide on behavioral of rats with cerebral ischemia induced by endothelin

ZHANG Xiu-chun<sup>1</sup>, CHENG Xi<sup>1</sup>, HU Jin-qu<sup>2</sup>, ZHONG Shan-shan<sup>1</sup>, ZHAO Chuan-sheng<sup>1</sup>

1. Department of Neurology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China

2. Department of Neurosurgery, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China

**Abstract: Objective** To explore the improvement of *dl*-3-*n*-butylphthalide on behavioral in rats with cerebral ischemia and its mechanism. **Methods** Cerebral ischemia model in rats was made by intracerebral injection of endothelin-1. Rats were divided into Sham group, model group, and *dl*-3-*n*-butylphthalide group. Rats in *dl*-3-*n*-butylphthalide group were ig administered with *dl*-3-*n*-butylphthalide 70 mg/kg. It began at 1 week after ischemia, and continued to be administered for 2 weeks. Tapered/ledged beam-walking test, cylinder test, and sticky label test were used to evaluate the functional recovery. Dentate gyrus regenerative nerve cells were observed by immunohistochemistry. **Results** *dl*-3-*n*-Butylphthalide can obviously improve the function recovery of cerebral ischemia in rats, significantly increased the number of new neurons in the dentate gyrus of hippocampus, and increase the total dendrite length of DCX positive cells. **Conclusion** *dl*-3-*n*-Butylphthalide can not only improve the motor function of rats after cerebral ischemia, but also promote the regeneration of nerve in rats after cerebral ischemia, which may provide reference for the treatment of nerve cell damage caused by cerebral ischemia.

**Key words:** *dl*-3-*n*-butylphthalide; cerebral ischemia; motor functional recovery; regeneration of nerve

脑卒中是当今世界严重危害人类健康和生命安全的难治性疾病, 具有发病率高、致残率高和死亡率高的特征。近年来对于脑卒中治疗的研究很多, 但是有效的治疗手段非常局限。*l*-3 正丁基苯酞最初是由旱芹 *Apium graveolens* Linn. 种子中提

取出来, 并且很快它的同分异构体 *dl*-3-正丁基苯酞被合成, 在国内广泛应用于急性脑梗死的治疗。研究表明 *dl*-3-正丁基苯酞不仅能够减轻急性脑梗死的症状<sup>[1]</sup>, 而且能够改善卒中相关肢体功能的恢复<sup>[2]</sup>, 减轻血管性痴呆<sup>[3]</sup>、阿尔茨海默病的症状<sup>[4]</sup>。

收稿日期: 2018-06-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81372104); 中国医科大学高层次创新团队培养计划项目 (2017CXTD02)

作者简介: 张秀春 (1989—), 女, 山西人, 助教, 硕士, 从事脑缺血后神经再生的基础研究。15204090196@163.com

\*通信作者 赵传胜 E-mail: zhaochsh@hotmail.com

动物实验表明, *dl*-3-正丁基苯酞的神经保护作用可能涉及多种机制, 包括改善微循环、清除氧自由基、减少神经元凋亡和减轻脑水肿。研究表明 *dl*-3-正丁基苯酞能够通过激活 CREB、Akt 通路和抑制 STAT3 信号通路达到促进海马神经再生<sup>[5]</sup>。然而, *dl*-3-正丁基苯酞对脑缺血后海马神经增生情况研究甚少。因此本实验通过平衡木试验、圆筒试验和粘性标签试验对缺血后大鼠行为学功能进行研究, 并应用免疫荧光技术观察 *dl*-3-正丁基苯酞对脑缺血大鼠海马齿状回新生神经细胞的影响, 从细胞水平进一步了解 *dl*-3-正丁基苯酞对脑缺血的影响。

## 1 材料与与方法

### 1.1 仪器与材料

低温热电切片机(美国沃尔瑟姆), FV-1000 激光共聚焦显微镜(德国 Leica)。内皮素-1(美国 Sigma), *dl*-3-正丁基苯酞(质量分数 >99.5%, 石药集团有限公司), 一抗豚鼠抗 DCX (1:800, 美国 Millipore), 二抗山羊抗豚鼠 488 (1:500, 美国 Invitrogen)。

成年雄性 Wistar 大鼠, 体质量 200~250 g, 由中国医科大学实验动物中心提供, 实验动物合格证号 SYXK(辽)2013-0007。所有大鼠饲养在标准笼子里, 每个笼子 4~5 只, 日照/黑暗各 12 h, 可以自由获得食物和水。实验步骤由中国医科大学动物伦理委员会批准[SYXK[9]2013-0007]。

### 1.2 大鼠脑缺血模型的建立

采用向纹状体、皮层注射内皮素-1 制作大鼠脑缺血模型。使用 3%异氟烷诱导麻醉, 然后在 30% O<sub>2</sub>、70% N<sub>2</sub>O 里混入 1.5%异氟烷维持麻醉。根据 Paxinos and Watson 的大鼠脑解剖图谱以 AP+0.7 mm, ML+2.2 mm, DV-2.0 mm; AP+2.3 mm, ML+2.5 mm, DV-2.3 mm; AP+0.7 mm, ML+3.8 mm, DV-5.8 mm (AP 表示以前囟为中心向前, ML 表示以前囟为中心向侧方, DV 表示以前囟为中心向下方)为进针位置, 向此 3 点注射 0.5 μg/μL 内皮素-1 溶液 2.0 μL, 并且在注射每个点位后置留 3 min, 缓慢拔出针头, 以防药物溢出。假手术组用生理盐水代替内皮素-1<sup>[6]</sup>。当大鼠麻醉清醒后, 提大鼠尾巴倒悬, 若其右上肢向胸前屈曲或行走时向右侧倾倒或向右侧转圈, 且症状持续超过 24 h, 即可认为大鼠脑缺血模型制作成功。

### 1.3 分组和给药

向大鼠颅内注射内皮素-1 后, 30 只大鼠中有 2

只因为麻醉死亡, 有 4 只未出现偏瘫症状被淘汰, 剩余 24 只分为模型组和 *dl*-3-正丁基苯酞组; 向大鼠颅内注射生理盐水后, 假手术组大鼠无死亡。大鼠随机分为假手术组 ( $n=10$ )、模型组 ( $n=10$ ) 和 *dl*-3-正丁基苯酞组 ( $n=14$ )。将 *dl*-3-正丁基苯酞溶解在植物油中 (7 mg/mL)。每日 ig 70 mg/kg, 起始于缺血后 1 周, 持续给药 2 周<sup>[7]</sup>。

### 1.4 行为学测试

**1.4.1 平衡木试验<sup>[8-10]</sup>** 平衡木为一长 2 m, 直径 2.5 cm 的圆柱状长竿。大鼠在造模前进行为期 3 d 的平衡木训练实验, 然后在缺血后 30 d 进行平衡木测试。平衡木实验用录像记录下来, 重复 3 次取平均结果。跌落在平台下面计为完整的一个跌落, 半只脚踏落在平台下面算是半次跌落。计算患侧前爪(后爪)的跌落率。

前爪(后爪)的跌落率 = 患侧前爪(后爪)跌落次数 / 总爪跌落次数

**1.4.2 粘性标签测试<sup>[11]</sup>** 粘性标签测试用于评估大鼠的感觉功能和运动学习能力。在粘性标签测试中, 将白色的圆形标签(直径为 9 mm)置于大鼠两侧前爪腕部远端桡侧区域上, 然后将其放入大鼠熟悉的试验笼中后, 开始记录。分别对大鼠第 1 次接触两侧标签的时间和除掉两侧前爪标签的时间进行记录。若大鼠在 2 min 内未除掉前爪上的标签, 将被排除在外。

**1.4.3 圆筒试验<sup>[12-13]</sup>** 圆筒试验用来评估受到缺血损害时大鼠前肢使用的不对称性。大鼠被单独放在透明干净的圆筒内(直径 20 cm, 高度 45 cm), 在圆筒后方摆放一面镜子, 将大鼠放到圆筒里后, 立即计时, 记录 3 min, 分别记录最初左前肢、右前肢触碰筒壁的次数, 计算大鼠脑缺血后不对称分数。得分越高, 说明两侧肢体的不对称程度越明显。

不对称分数 = (左前肢运动 - 右前肢运动) / (左前肢运动 + 右前肢运动)

### 1.5 组织切片

术后 33 d, ip 10%水合氯醛 350 mg/kg 麻醉。暴露心脏, 于心尖左缘进针, 迅速剪开右心耳, 迅速灌注 100~200 mL 37 °C 生理盐水至流出液清亮, 继之以 4 °C、4%多聚甲醛 150~200 mL 灌注固定; 取脑组织, 置多聚甲醛固定液中 4 °C 过夜。标本置 30%蔗糖溶液中 4 °C 保存 5 d 后更换蔗糖溶液继续保存 5 d。根据大鼠脑解剖图谱, 包埋后取海马水平(后囟水平 2.8~4.3 mm), 利用低温切片机制作连

续冠状冰冻切片，片厚 40 μm。每只大鼠共取 5 张切片，然后将切片冻存于 -20 °C 的防冻中作免疫荧光染色备用。

### 1.6 免疫荧光染色

新生神经细胞的标志物双皮质素 (DCX) 的免疫荧光染色采用漂片法。先将大鼠脑片用磷酸缓冲盐溶液 (PBS) 洗 10 min，共 3 次。切片置山羊血清封闭液中孵育 90 min。然后加一抗豚鼠抗 DCX 4 °C 过夜。第 2 天把脑片拿出来复温 30 min，然后 PBS 洗 10 min，共 3 次。加二抗山羊抗豚鼠 488 室温避光孵育 2 h。用 PBS 洗 10 min，共 3 次。贴片后用抗荧光淬灭，封片液封片。

### 1.7 图像处理与分析

DCX 切片用激光共聚焦显微镜 ×20 倍视野下对海马齿状回区域 DCX 阳性细胞进行观察。采用 NIH ImageJ 图像分析软件计数每只大鼠每个视野的平均 DCX 阳性细胞数和树突的总长度。

### 1.8 统计学方法

使用 SPSS 19.0 统计软件进行统计学分析，所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示，采用单因素方差分析对各测量

结果进行比较。

## 2 结果

### 2.1 dl-3-正丁基苯酞对脑缺血大鼠损伤侧前爪、后爪跌落率的影响

大鼠在造模前开始训练，前 3 d 成绩不计入统计。在 dl-3-正丁基苯酞治疗 2 周以后，经连续 3 d 平衡木测试，模型组前爪跌落率、后爪跌落率与假手术组比较，差异有统计学差异 ( $P < 0.01$ )；dl-3-正丁基苯酞组大鼠患侧前爪跌落率、后爪跌落率较模型组明显改善，差异有统计学差异 ( $P < 0.01$ )，见表 1。

### 2.2 dl-3-正丁基苯酞对脑缺血大鼠粘贴试验触碰时间、摘除时间的影响

模型组大鼠患肢触碰粘性标签的时间较假手术组明显延长，差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )；dl-3-正丁基苯酞组加强功能恢复，但数据无统计学差异，见表 2。除掉患侧粘性标签时间的结果与触碰粘性标签相似，模型组较假手术组明显延长，差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )；dl-3-正丁基苯酞组能加强功能恢复，但数据无统计学差异，见表 2。

表 1 dl-3-正丁基苯酞对脑缺血大鼠损伤侧前爪、后爪滑落率的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Effect of dl-3-n-butylphthalide on slip ratio of impaired forelimb and hindlimb of cerebral ischemia rats ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n/只	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	跌落率/%	
			前爪	后爪
假手术	10	—	20.15 ± 2.38	29.08 ± 3.04
模型	10	—	29.18 ± 3.86**	49.82 ± 3.91**
dl-3-正丁基苯酞	14	70	15.98 ± 3.22 <sup>##</sup>	32.35 ± 4.12 <sup>##</sup>

与假手术组比较：\*\* $P < 0.01$ ；与模型组比较：<sup>##</sup> $P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs sham group; <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs model group

表 2 dl-3-正丁基苯酞对脑缺血大鼠粘贴试验触碰时间/摘除时间的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Effect of dl-3-n-butylphthalide on tape contact test (time to contact and removal) of cerebral ischemia rats ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n/只	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	接触时间/s		摘除时间/s	
			左爪	右爪	左爪	右爪
假手术	10	—	8.89 ± 1.93	9.23 ± 3.16	14.06 ± 1.61	17.19 ± 2.72
模型	10	—	9.01 ± 1.54	16.01 ± 2.60*	18.97 ± 2.39	33.05 ± 2.47*
dl-3-正丁基苯酞	14	70	7.17 ± 2.51	11.29 ± 2.38	16.54 ± 2.78	24.23 ± 3.19

与假手术组比较：\* $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs sham group

### 2.3 dl-3-正丁基苯酞对大鼠不对称分数的影响

模型组的不对称分数明显高于假手术组，差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。dl-3-正丁基苯酞组的

不对称分数明显低于模型组，差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )，见表 3。提示 dl-3-正丁基苯酞可以明显改善脑缺血大鼠患肢的运动功能。

表 3 *dl*-3-正丁基苯酞对脑缺血大鼠不对称分数的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

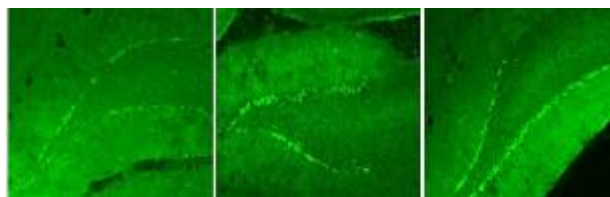
Table 3 Effect of *dl*-3-*n*-butylphthalide on asymmetry score ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i> /只	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	不对称分数/%
假手术	10	—	9.23 ± 3.16
模型	10	—	16.01 ± 2.60**
<i>dl</i> -3-正丁基苯酞	14	70	11.29 ± 2.38##

与假手术组比较: \*\**P* < 0.01; 与模型组比较: ##*P* < 0.01  
\*\**P* < 0.01 vs sham group; ##*P* < 0.01 vs model group

### 2.4 *dl*-3-正丁基苯酞对海马齿状回新生神经细胞增殖的影响

共聚焦显微镜下观察各实验组大鼠海马齿状回的 DCX 阳性细胞, 见图 1。



对照 模型 *dl*-3-正丁基苯酞 70 mg·kg<sup>-1</sup>

图 1 各组大鼠海马齿状回的 DCX 阳性细胞

Fig. 1 DCX cells in the dentate gyrus of rats

模型组大鼠海马齿状回的 DCX 阳性细胞数较假手术组明显增多, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05); *dl*-3-正丁基苯酞组大鼠的海马齿状回 DCX 阳性细胞数明显多于模型组, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。见表 4。

表 4 *dl*-3-正丁基苯酞对大鼠海马齿状回 DCX 阳性细胞数的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Effect of *dl*-3-*n*-butylphthalide on DCX cells in the dentate gyrus of rats ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i> /只	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	海马齿状回 DCX 阳性细胞平均数
假手术	10	—	23.2 ± 3.2
模型	10	—	61.5 ± 4.7*
<i>dl</i> -3-正丁基苯酞	14	70	83.5 ± 4.2#

与假手术组比较: \**P* < 0.05; 与模型组比较: #*P* < 0.05  
\**P* < 0.05 vs sham group; #*P* < 0.05 vs model group

### 2.5 *dl*-3-正丁基苯酞对海马齿状回新生神经细胞树突长度的影响

模型组大鼠树突长度较假手术组明显增长, 差

异有统计学意义 (*P* < 0.05); 而 *dl*-3-正丁基苯酞组大鼠的树突长度明显长于模型组, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。见表 5。

表 5 *dl*-3-正丁基苯酞对大鼠海马齿状回树突长度的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 5 Effect of *dl*-3-*n*-butylphthalide on dendritic length in the dentate gyrus ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i> /只	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	树突长度/μm
假手术	10	—	218.7 ± 17.9
模型	10	—	779.3 ± 32.1*
<i>dl</i> -3-正丁基苯酞	14	70	898.1 ± 54.2#

与假手术组比较: \**P* < 0.05; 与模型组比较: #*P* < 0.05  
\**P* < 0.05 vs sham group; #*P* < 0.05 vs model group

## 3 讨论

卒中仍然是造成全世界永久性残疾最常见的原因。缺血后脑功能恢复的治疗方法吸引了广大的科研工作者。很多研究表明缺血可以显著增加海马齿状回颗粒下区和侧脑室下区的神经再生, 缺血诱导的新生前体细胞可能迁移到受损区, 并转变为成熟的神经元细胞。海马神经干细胞增殖在卒中后 7 d 才能达到峰值, 而且在缺血后数周即死亡。因此, 针对增加神经干细胞的存活率的治疗方法可能是有效的。

丁苯酞是我国具有自主知识产权的一类新药, 其活性成分为 *dl*-3-正丁基苯酞, 是我国急性缺血性卒中的推荐药物<sup>[14]</sup>。*dl*-3-正丁基苯酞增加脑缺血后神经增生的具体机制尚未阐明。本研究结果显示 *dl*-3-正丁基苯酞治疗 2 周, 可以明显增加大鼠损伤侧半球海马齿状回 DCX 细胞, 提示 *dl*-3-正丁基苯酞能够促进大鼠缺血后的神经再生。同时 *dl*-3-正丁基苯酞可以明显促进缺血大鼠运动功能的恢复, 提示 *dl*-3-正丁基苯酞会改善卒中后的遗留后遗症。研究显示, 神经再生的条件性耗竭能够抑制缺血动物模型的功能恢复, 提示脑缺血早期阶段的神经再生能够调节运动功能恢复<sup>[15]</sup>。因此 *dl*-3-正丁基苯酞对功能恢复的影响可能是由于 *dl*-3-正丁基苯酞诱导了海马新生神经元的存活。有报道 *dl*-3-正丁基苯酞能够改善脑损伤后认知功能的恢复<sup>[2]</sup>, 然而关于 *dl*-3-正丁基苯酞对于卒中后运动功能的恢复研究鲜见报道。本研究通过平衡木试验、圆筒试验和粘性标签测试试验得出在卒中后 7 d 开始 *dl*-3-正丁基苯酞慢性治疗可以显著改善小鼠行为学功能, 同时观察到海马新生神经细胞数目增多。本研究显示

大鼠脑缺血后在海马齿状回区域新生神经细胞明显增加。*dl-3-正丁基苯酞*治疗不仅可以增加脑缺血后大鼠海马齿状回的新生神经细胞的数量,也可以增加树突的长度,所以,缺血后 *dl-3-正丁基苯酞*治疗可以加速海马齿状回新生颗粒细胞的树突成熟。卒中后海马新生神经元数目的增多是否与行为学功能改善相关仍不清楚。因此,需要进一步的试验来证实海马神经再生和行为学改善有直接的因果关系。

综上所述, *dl-3-正丁基苯酞*治疗对海马神经增生、树突的长度是有影响的,而且能够显著改善卒中后运动功能,对脑缺血所致的神经细胞损坏的治疗提供参考。

参考文献

[1] Cui L Y, Zhu Y C, Gao S, *et al.* Ninety-day administration of *dl-3-n-butylphthalide* for acute ischemic stroke: a randomized, double-blind trial [J]. *Chin Med J (Enl)*, 2013, 126(18): 3405-3410.

[2] Xu J, Wang Y, Li N, *et al.* *L-3-n-butylphthalide* improves cognitive deficits in rats with chronic cerebral ischemia [J]. *Neuropharmacology*, 2012, 62(7): 2424-2429.

[3] Peng Y, Xu S, Chen G, *et al.* *L-3-n-butylphthalide* improves cognitive impairment induced by chronic cerebral hypoperfusion in rats [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 321(3): 902-910

[4] Peng Y, Hu Y, Xu S, *et al.* *L-3-n-butylphthalide* reduces tau phosphorylation and improves cognitive deficits in A $\beta$ PP/PS1-Alzheimer's transgenic mice [J]. *J Alzheimers Dis*, 2012, 29(2): 379-391

[5] Yang L C, Li J, Xu S F, *et al.* *L-3-n-butylphthalide* promotes neurogenesis and neuroplasticity in cerebral ischemic rats [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2015, 21(9): 733-741.

[6] Soleman S, Yip P, Leasure J L *et al.* Sustained sensorimotor impairments after endothelin-1 induced focal cerebral ischemia (stroke) in aged rats [J]. *Exp Neurol*, 2010, 222(1): 13-24

[7] Sun Y, Cheng X, Wang H, *et al.* *dl-3-n-butylphthalide* promotes neuroplasticity and motor recovery in stroke rats [J]. *Behav Brain Res*, 2017, 329: 67-74.

[8] Zhao C S, Puurunen K, Schallert T, *et al.* Effect of cholinergic medication, before and after focal photothrombotic ischemic cortical injury, on histological and functional outcome in aged and young adult rats [J]. *Behav Brain Res*, 2005, 156(1): 85-94

[9] Zhao S S, Zhao M, Xiao T, *et al.* Constraint-induced movement therapy overcomes the intrinsic axonal growth inhibitory signals in stroke Rats [J]. *Stroke*, 2013, 44(6): 1698-1705

[10] Mu X P, Wang H B, Cheng X, *et al.* Inhibition of Nkcc1 promotes axonal growth and motor recovery in ischemic rats [J]. *Neuroscience*, 2017, 365: 83-93

[11] Hunter A J, Hatcher J, Virley D, *et al.* Functional assessments in mice and rats after focal stroke [J]. *Neuropharmacology*, 2000, 39(5): 806-816.

[12] Schallert T, Kozlowski D A, Humm J L, *et al.* Use-dependent structural events in recovery of function [J]. *Adv Neurol*, 1997, 73: 229-238.

[13] Schallert T, Lindner M D. Rescuing neurons from trans-synaptic degeneration after brain damage: helpful, harmful, or neutral in recovery of function [J] *Can J Psychol*, 1990, 44(2): 276-292.

[14] 王伟, 李富强, 刘荣志, 等. *丁苯酞*预处理对缺血再灌注大鼠海马神经元超微结构的影响 [J]. *解剖学杂志*, 2017, 40(4): 421-424.

[15] Wang X, Mao X, Xie L, *et al.* Conditional depletion of neurogenesis inhibits long-term recovery after experimental stroke in mice [J]. *PLoS One*, 2012; 7(6): e38932.