

• 药理与临床 •

川芎嗪预处理促进大鼠坐骨神经异体移植后神经再生实验研究

李沿江, 黄英如*, 冼 华, 吴珍元

重庆医科大学中医药学院 骨伤教研室, 重庆 400016

摘 要: **目的** 探讨用川芎嗪预处理冷保存的大鼠坐骨神经修复周围神经缺损的可行性。**方法** 40只 Wistar 大鼠和 40只 SD 大鼠分别为供体和受体, 取供体双侧坐骨神经长 15 mm, 随机在川芎嗪溶液 (0、50、100、200 mg/L, A、B、C、D 组, $n=20$) 中 4℃ 冷保存 6 周, 透射电镜观察坐骨神经超微结构, Calcein-AM 荧光染色, 激光扫描共聚焦显微镜 (laser scanning confocal microscope, LSCM) 观察; 受体大鼠随机分为 A'、B'、C'、D' 组 ($n=10$, 对应 A、B、C、D 组), 用冷保存 6 周的供体神经修复对应组受体坐骨神经 10 mm 缺损。术后分期行大体观察, 检测坐骨神经功能指数 (SFI), 术后 20 周行电生理检测、再生神经图像分析和透射电镜观察。**结果** 大鼠坐骨神经冷保存 6 周, A 组神经纤维严重脱髓鞘变化和轴索萎缩变性、蜂窝状改变, 而 B、C、D 组变化较轻; LSCM 结果显示, B、C、D 组荧光强度高于 A 组, B 组高于 C、D 组, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$), C、D 组间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。术后动物存活至实验结束, 各期 SFI, 20 周电生理检测, 再生有髓神经纤维数目、髓鞘厚度, B'、C'、D' 组与 A' 组比较, B' 组与 C'、D' 组比较差异均有统计学意义 ($P<0.05$), C'、D' 组间差异无统计学意义 ($P>0.05$); 术后 20 周透射电镜观察显示, A' 组再生有髓神经纤维少、髓鞘薄, 结缔组织增生明显, B'、C'、D' 组有髓神经纤维较多、髓鞘较厚, 结缔组织增生不明显。**结论** 一定质量浓度的川芎嗪对冷保存大鼠坐骨神经具有保护作用, 并能促进异体移植后神经的再生。

关键词: 川芎嗪; 冷保存; 施万细胞; 异体神经移植; 神经再生**中图分类号:** R622.3; R651.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2015)08-1178-06**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.08.015**Promotion of neural regeneration after allograft of sciatic nerve in rats by pretreatment of tetramethylpyrazine**

LI Yan-jiang, HUANG Ying-ru, XIAN Hua, WU Zhen-yuan

Department of Orthopaedics, College of Traditional Chinese Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Abstract: **Objective** To investigate the feasibility of repairing nerve defect of sciatic nerve in rats by the pretreatment of cold preservation with tetramethylpyrazine. **Methods** Forty Wistar rats and 40 SD rats were selected as donors and recipients, respectively [3 months, SPF male rat (200 ± 20) g], the sciatic nerve segments of 15 mm were harvested from the donors, then randomly preserved in 4℃ tetramethylpyrazine solution (0, 50, 100, and 200 mg/L, in A, B, C, and D groups, $n=20$) for 6 weeks, the ultrastructure of sciatic nerve was observed by transmission electron microscope (TEM). Calcein-AM staining was used to observe the change of fluorescence intensity with laser scan confocal microscope (LSCM). The recipients were randomly divided into A', B', C', and D' groups ($n=10$, corresponding to A, B, C, and D groups), 10 mm defect of sciatic nerve in recipient was repaired by the nerve preserved for 6 weeks. The gross appearance and sciatic nerve function index (SFI) were detected at different period after the surgery. The electrophysiological changes, regenerated nerve image analysis, and TEM were performed in 20 weeks after transplantation. **Results** The nerve preserved for 6 weeks, there were severe demyelination and neuraxis denaturation in group A, but these changes in groups B, C, and D were more gentle than those in the group A. The fluorescence intensity in the groups B, C, and D was higher than that in group A, and in group B higher than that in groups C and D ($P<0.05$). There was no significant difference in groups C and D ($P>0.05$). All the rats survived to the end of the experiment. There were significant differences ($P<0.05$) between groups B', C', D'

收稿日期: 2014-10-14

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81373668); 重庆市渝中区科技计划项目 (20120219)

作者简介: 李沿江 (1989—), 四川乐山人, 硕士在读, 研究方向为周围神经损伤及治疗。Tel: 13527325532 E-mail: 836572892@qq.com

*通信作者 黄英如, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为脊髓与周围神经损伤。Tel: 13452904898 E-mail: hyr12678@126.com

and group A', group B' and groups C', D' while there were no significant differences between groups C' and D' ($P > 0.05$) in different times of SFI after transplantation, electrophysiological detection, the number of myelinated nerve fibers, and thickness of myelin at 20 weeks. The observation of TEM in 20 weeks showed that myelinated nerve fibers and thickness of myelin sheath in group A' was thinner than those in groups B', C', and D', and that the hyperplasia of connective tissues in group A' was more serious than that in groups B', C', and D'. **Conclusion** Tetramethylpyrazine plays a protective role on the cold preservation of sciatic nerve, and could promote the nerve regeneration after allogeneic transplantation.

Key words: tetramethylpyrazine; cold preservation; Schwann cells; nerve allograft; nerve regeneration

自体神经移植修复周围神经缺损面临神经来源缺乏、供区永久性失神经等问题,不能满足周围神经长段缺损修复需要。同种异体神经与自体神经组织结构相同,来源广泛,可修复长段神经缺损,是自体神经的理想替代品,但新鲜异体神经不能满足神经缺损及时修复的需要。虽然超低温、化学萃取等方法处理的周围神经修复神经缺损取得一定进展^[1-4],但对长段神经缺损的修复仍未取得突破,可能是因为这些方法破坏或清除了周围神经施万细胞(Schwann cells, SCs),而SCs能释放多种神经营养因子、黏附因子,对周围神经损伤后轴突再生极为重要。本研究应用活血化瘀中药川芎中的有效成分川芎嗪溶液冷保存(4℃)大鼠坐骨神经,希望能维持神经组织SCs活性,提高周围神经缺损修复效果,探索中药提取物体外保存周围神经的可能性。

1 材料

3月龄SPF级雄性Wistar大鼠及SD大鼠各40只,分别为供体和受体,由重庆医科大学实验动物中心提供,体质量(200±20)g。动物许可证号SCXK(渝)2012-0001。

盐酸川芎嗪注射液(批号H20003792, 40 mg/支,北京市燕京药业有限公司),I型胶原酶(Sigma公司,美国),0.25%胰酶、FBS、低糖型DMEM(Hyclone公司,美国),Calcein-AM(东仁公司,日本),TCS-SP2型激光扫描共聚焦显微镜(Leica公司,德国),H-7500型透射电镜(Hitachi公司,日本),BL-420F型生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司)。

2 方法

2.1 神经保存液的制备

盐酸川芎嗪注射液加入DMEM(含10% FBS),制成不同质量浓度(0、50、100、200 mg/L)川芎嗪溶液,微孔滤膜(0.22 μm)抽滤,即用即配。

2.2 Calcein-AM 荧光染色液制备

100 μg Calcein-AM 加入 100 μL 无水二甲基亚

砷(DMSO)中,反复吹打,涡旋振荡 3 min, 6 000 r/min 离心 2 min, 再次涡旋 3 min, 6 000 r/min 离心 2 min。用前 PBS 配成 4 μmol/L 的工作液。

2.3 坐骨神经冷保存

无菌条件下,于梨状肌下缘 5 mm 处截取供体大鼠双侧坐骨神经各 15 mm,生理盐水冲洗,立即置于盛有川芎嗪溶液的冻存管中,4℃冰箱保存 6 周。

2.4 动物模型分组

供体神经随机分为 A、B、C、D 组($n=20$),分别 4℃保存于 0、50、100、200 mg/L 川芎嗪溶液中 6 周;受体动物随机分为 A'、B'、C'、D'组($n=10$),对应供体 A、B、C、D 组。

2.5 神经移植模型制备

10%水合氯醛(0.4 mL/100 g)大鼠腹腔麻醉,以右后肢建立神经移植模型。右股后外侧纵行切口,暴露坐骨神经,距梨状肌下缘 5 mm 处整齐切除坐骨神经,造成 10 mm 神经缺损,将供体神经修成长 10 mm,10 倍手术显微镜下修复供体神经缺损,9~0 尼龙线行神经外膜无张力间断缝合 4~6 针,逐层关闭切口。手术由同一人完成,术后动物未做特殊处理。

2.6 指标检测

2.6.1 冷保存神经超微结构观察 供体神经 4℃保存 6 周,每组随机取 2 条,2.5%戊二醛 4℃固定过夜,1%锇酸固定 2 h,梯度丙酮脱水,环氧树脂包埋,超薄切片,醋酸铀-柠檬酸铅双重染色,透射电镜(×5 000)观察神经超微结构。

2.6.2 冷保存神经 SCs 活性检测 供体神经 4℃保存 6 周,每组随机取 3 条,0.25%胰酶-2 mg/mL 胶原酶(1:1)混合液室温消化 20 min,DMEM(含 10% FBS)终止消化 10 min, PBS 冲洗 3 次(每次 5 min),加 4 μmol/L 的 Calcein-AM 250 μL,室温下避光孵育 15 min,再次 PBS 冲洗 3 次,防荧光淬灭剂封片。激光扫描共聚焦显微镜(×400)观察荧光强度。

2.6.3 神经移植后一般情况观察 观察移植后大

鼠存活、伤口愈合及溃疡发生情况,取材检测时观察远近端吻合口有无神经纤维瘤形成、移植段神经与周围组织粘连情况等。

2.6.4 坐骨神经功能指数 (sciatic functional index, SFI) 测定 分别于移植后 4、8、16、20 周,各组随机抽取 5 只大鼠行足底印迹实验:自制足印行走箱 (长 30 cm, 宽 5 cm), 箱底铺白纸。大鼠双后足蘸墨水后即置于行走箱的一端, 自行走向行走箱的另一端留下足印。观察双后肢: ①足印长度 (PL), 从足跟到足尖最长距离; ②足趾宽度 (TS), 第 1 趾到第 5 趾连线距离; ③中间足趾距离 (IT), 第 2 趾到第 4 趾连线距离。测量结果均取最大值, 根据 Bain 公式: $SFI = -38.3 (PL_E - PL_N) / PL_N + 109.5 (TS_E - TS_N) / TS_N + 13.3 (IT_E - IT_N) / IT_N - 8.8$ (其中 N 代表正常足, E 代表实验足) 计算 SFI。以 SFI=0 为正常值, SFI=-100 为神经完全断离指标。

2.6.5 神经电生理检测 移植后 20 周, 受体组大鼠 10%水合氯醛 ip 麻醉, 沿原手术切口显露坐骨神经。刺激电极置于近端距离梨状肌下缘约 3 mm 神经干上, 接收电极置于外踝关节上 10 mm 处腓肠肌上, 地线刺入两电极之间股二头肌, 刺激强度 10 mA, 刺激间隙 0.25 ms。用 BL-420F 系统测定肌肉复合动作电位波幅、潜伏期、神经传导速度 (never conduction velocity, NCV, 距离/传递时间)。刺激

电极不变, 钝性分离大鼠腓肠肌至起点, 从远端止点处切断肌腱, 用 4 号尼龙线将其与张力感应器连接, BL-420F 系统观察腓肠肌强直收缩张力。

2.6.6 再生神经图像分析 电生理检测后, 每组随机选 8 只大鼠, 截取移植神经中段约 5 mm, 2.5%戊二醛 4 ℃固定过夜, 1%锇酸固定 2 h, 梯度丙酮脱水, 环氧树脂包埋, 0.5 μm 切片, 甲苯胺蓝染色, 光镜 (×400) 观察, 每张切片随机取 5 个视野, Image-Pro Plus 6.0 图像系统分析再生有髓神经纤维数目和髓鞘厚度。

2.6.7 再生神经透射电镜观察 神经电生理检测后, 每组随机选 2 条移植神经截取中段约 5 mm, 观察再生神经超微结构, 方法同“2.6.1”项。

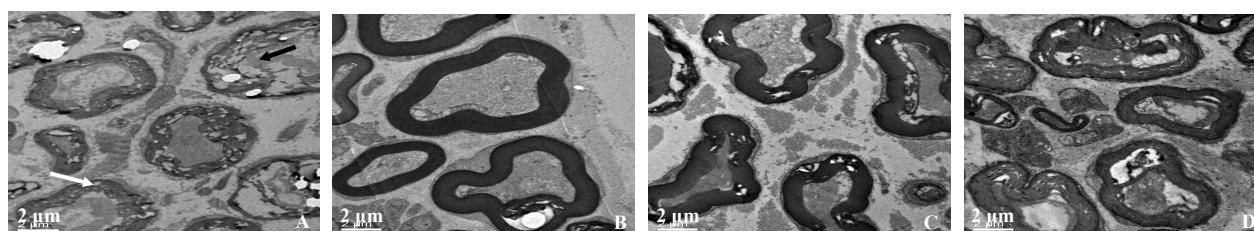
2.7 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计软件包进行分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 *q* 检验。

3 结果

3.1 冷保存神经超微结构

供体神经 4 ℃冷保存 6 周, 各组均有不同程度神经纤维脱髓鞘变化: A 组 (对照组) 脱髓鞘程度最严重, 可见髓鞘分层, 轴索萎缩变性, 蜂窝状改变; B 组脱髓鞘变化、轴索萎缩及蜂窝状改变程度明显轻于 A 组; C、D 组脱髓鞘变化、轴索萎缩变性, 蜂窝状改变轻于 A 组, 但重于 B 组。结果见图 1。



白色箭头示轴索蜂窝状改变, 黑色箭头示脱髓鞘变化

White arrow indicating change of axis cylinder, black arrow indicating demyelination

图 1 各组冷保存 6 周坐骨神经超微结构

Fig. 1 Ultramicro-structure of sciatic nerve preserved coldly for 6 weeks in each group

3.2 冷保存神经 SCs 活性

供体神经冷保存 6 周, Calcein-AM 染色激光扫描共聚焦显微镜观察, 每平方微米荧光强度: A 组为 108.23 ± 6.00 , B 组为 142.56 ± 13.04 , C 组为 125.18 ± 11.61 , D 组为 123.28 ± 7.20 。B、C、D 组荧光强度高于 A 组, B 组高于 C、D 组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); C、D 组间荧光强度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结果见图 2。

3.3 移植后大体观察

实验期间大鼠无死亡, 切口无化脓感染、足底溃疡、足趾脱落现象。移植术后 1 周, 伤口均一期愈合, 进食、饮水正常, 行走时右后肢呈拖步步态; 术后约 8 周, B'、C'、D'组可见大鼠右后肢触地行走; 移植后 20 周取材时, A'、B'、C'、D'组移植体与周围组织均有轻微粘连、与受体神经干粗细一致, 各组神经移植远近端吻合口未见神经纤维瘤。

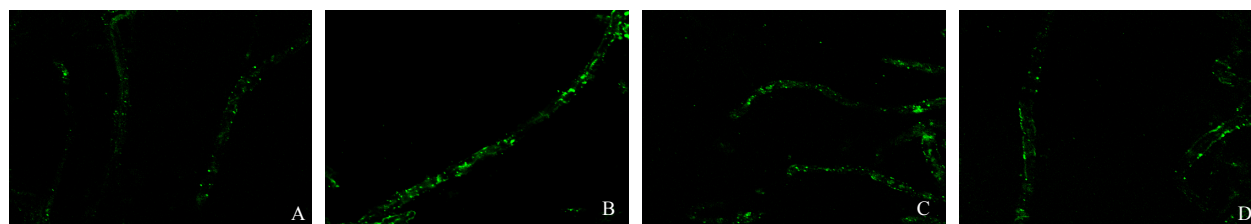


图 2 各组冷保存 6 周坐骨神经 Calcein-AM 染色

Fig. 2 Calcein-AM staining of sciatic nerve preserved coldly for 6 weeks by in each group

3.4 SFI 测定结果

移植后 4、8、16、20 周各组大鼠 SFI 值, B'、C'、D'组与 A'组比较, B'组与 C'、D'组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 但 C'、D'组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

3.5 神经电生理检测结果

移植后 20 周, 动作电位振幅、潜伏期、NCV 和强直张力, B'、C'、D'组与 A'组比较, B'组与 C'、D'组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), C'、D'组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

3.6 再生神经图像分析

移植后 20 周, 移植段神经甲苯胺蓝染色, 各组再生神经有髓神经数目和髓鞘厚度分别为 A'组: (184 ± 38) 个、 $(1.135 \pm 0.145) \mu\text{m}$, B'组: (566 ± 87) 个、 $(1.658 \pm 0.130) \mu\text{m}$, C'组: (423 ± 42) 个、 $(1.479 \pm 0.066) \mu\text{m}$, D'组: (399 ± 31) 个、 $(1.462 \pm 0.067) \mu\text{m}$; B'、C'、D'组与 A'组比较, B'组与 C'、D'组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), C'、D'组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 3。

表 1 移植后不同时间各组受体大鼠 SFI 比较 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 Comparison on SFI of rats in each group at different time after transplantation ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	$\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	SFI			
		4 周	8 周	16 周	20 周
A' (对照)	—	-92.85 ± 3.46	-86.38 ± 2.50	-81.24 ± 2.29	-79.96 ± 2.77
B'	50	$-80.06 \pm 4.53^{\Delta}$	$-70.12 \pm 3.94^{\Delta}$	$-60.87 \pm 1.51^{\Delta}$	$-56.32 \pm 2.13^{\Delta}$
C'	100	$-86.95 \pm 3.01^{\Delta\#}$	$-77.79 \pm 2.52^{\Delta\#}$	$-69.78 \pm 3.06^{\Delta\#}$	$-66.57 \pm 3.05^{\Delta\#}$
D'	200	$-87.07 \pm 3.46^{\Delta\#}$	$-78.78 \pm 1.33^{\Delta\#}$	$-71.07 \pm 1.70^{\Delta\#}$	$-68.03 \pm 1.36^{\Delta\#}$

与 A'组比较: $^{\Delta}P < 0.05$, 与 B'组比较: $^{\#}P < 0.05$, 下同

$^{\Delta}P < 0.05$ vs group A', $^{\#}P < 0.05$ vs group B', same as below

表 2 移植后 20 周各组受体大鼠神经电生理检测结果 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Electrophysiological testing on nerve of rats in each group in 20 weeks after transplantation ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	$\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	振幅峰峰值/mV	潜伏期/ms	NCV/($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$)	强直张力/g
A' (对照)	—	34.25 ± 6.37	5.45 ± 0.77	7.42 ± 0.50	6.31 ± 0.56
B'	50	$53.62 \pm 3.61^{\Delta}$	$3.56 \pm 0.67^{\Delta}$	$12.56 \pm 1.27^{\Delta}$	$14.93 \pm 1.05^{\Delta}$
C'	100	$44.01 \pm 3.76^{\Delta\#}$	$4.27 \pm 0.40^{\Delta\#}$	$10.44 \pm 1.02^{\Delta\#}$	$9.97 \pm 0.94^{\Delta\#}$
D'	200	$41.82 \pm 3.56^{\Delta\#}$	$4.45 \pm 0.51^{\Delta\#}$	$9.97 \pm 0.86^{\Delta\#}$	$9.73 \pm 0.93^{\Delta\#}$

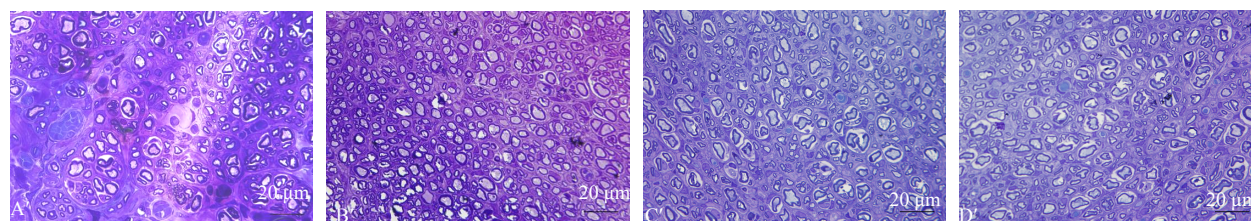


图 3 移植后 20 周各组大鼠神经移植甲苯胺蓝染色结果

Fig. 3 Nerve graft of rats in each group by toluidine blue staining in 20 weeks after transplantation

3.7 再生神经透射电镜观察

移植后 20 周, A'组再生有髓神经纤维分布稀疏、髓鞘薄, 并有明显结缔组织增生; B'、C'、D'

组再生有髓神经纤维分布密集, 纤维粗、髓鞘厚, 轴浆内微丝、微管和线粒体等细胞器丰富, 结缔组织增生不明显, 其中 B'组优于 C'、D'组。见图 4。

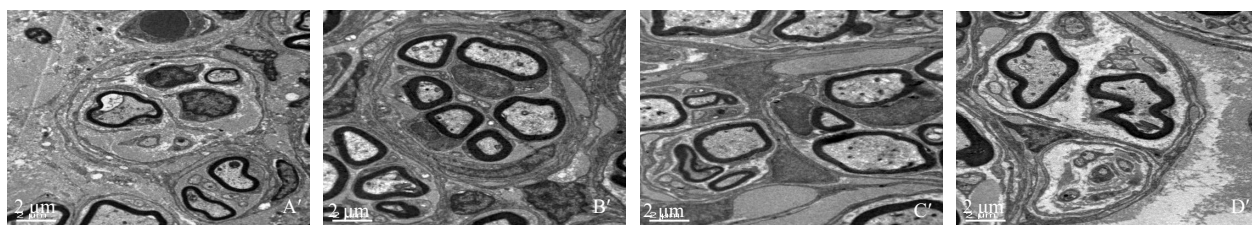


图 4 移植后 20 周各组大鼠神经移植超微结构

Fig. 4 Ultramicro-structure of nerve graft of rats in each group in 20 weeks after transplantation

4 讨论

周围神经损伤后轴突再生、髓鞘形成、神经营养因子和黏附分子的分泌, SCs 发挥着重要作用, 超低温保存、化学去细胞神经等在修复周围神经长段缺损方面未取得突破, 原因可能是这些桥接物中缺少了 SCs 的促神经生长作用, 而在去细胞异体神经移植物内种植 SCs 则能促进神经再生^[5-7]。

川芎嗪是川芎的主要成分, 具有保护血管内皮细胞、抗脂质过氧化、清除氧自由基和抑制伤害性信息传递作用^[8-10]。在肝脏、肾脏等低温保存时加入川芎嗪, 能减轻组织器官再灌注损伤^[11-12]; Chang 等^[13]还认为川芎嗪可以通过上调 Caspase-3 活性来抑制凋亡的形成。本实验中, DMEM 添加川芎嗪冷保存大鼠坐骨神经 6 周, Calcein-AM 荧光染色激光扫描共聚焦显微镜检测显示, 川芎嗪保存组 (B、C、D 组) 荧光强度高于对照组 (A 组), 透射电镜也显示 B、C、D 组脱髓鞘等病理变化轻于 A 组。Calcein-AM 是一种活细胞染色剂, 有良好的细胞膜穿透性, 当 Calcein-AM 进入胞质, 酯酶水解使 Calcein 留在细胞内, 受激发后 Calcein 发出强绿色荧光, 因此细胞内 Calcein 荧光强度直接反映细胞活性^[14-15]。本实验中, DMEM 溶液加入川芎嗪, 能提高冷保存坐骨神经 SCs 活性, 有利于异体移植后神经再生。

SCs 是周围神经的主要结构和功能细胞, 对周围神经损伤后轴突再生、髓鞘形成起着重要作用^[16-18]。本实验供体神经冷保存 6 周异体移植, 术后不同时间受体 SFI、电生理检测及再生神经图像分析结果, B'、C'、D'组均优于 A'组, 且 B'组优于 C'、D'组 ($P < 0.05$); 再生神经超微结构 B'、C'、D'组也优于 A'组。说明大鼠坐骨神经冷保存加入一

定质量浓度川芎嗪, 能提高异体移植后神经再生效果。可能是通过川芎嗪提高了冷保存神经组织 SCs 的活性, 使得在异体移植后 SCs 发挥促神经再生的作用。

综上所述, 坐骨神经冷保存预处理时加入一定质量浓度的川芎嗪, 能提高保存后神经组织 SCs 活性, 促进异体移植后受体神经再生。至于维持周围神经 SCs 活性的冷保存时限, 冷保存预处理溶液添加物 (尤其是中药提取物) 及其浓度, 冷保存预处理后周围神经免疫原性等问题还需进一步研究。

参考文献

- [1] 王秋根, 项耀均, 崔义, 等. 不同温度和时间保存异体神经移植后对鼠轴突再生的影响 [J]. 第二军医大学学报, 1998, 19(1): 66-69.
- [2] Sondell M, Lundborg G, Kanje M. Regeneration of the rat sciatic nerve into allografts made acellular through chemical extraction [J]. *Brain Res*, 1998, 795(1/2): 44-54.
- [3] Moore A M, MacEwan M, Santosa K B, et al. Acellular nerve allografts in peripheral nerve regeneration: a comparative study [J]. *Muscle Nerve*, 2011, 44(2): 221-234.
- [4] 王冠军, 卢世璧, 匡正达, 等. 化学去细胞异体神经移植促神经趋化性再生实验研究 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2010, 24(11): 1288-1292.
- [5] Aszmann O C, Korak K J, Luegmair M, et al. Bridging critical nerve defects through an acellular homograft seeded with autologous schwann cells obtained from aregeneration neuroma of the proximal stump [J]. *J Reconstr Microsurg*, 2008, 24(3): 151-158.
- [6] 赵喆, 赵斌, 王玉, 等. 化学去细胞异体神经添加不同组织来源雪旺细胞对周围神经损伤修复的功能评价 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2010, 24(11): 1281-1287.

- [7] 孙晓红, 张 岩, 佟晓杰, 等. 种植施万细胞的脱细胞同种异体神经移植物对大鼠坐骨神经缺损的修复作用 [J]. 解剖科学进展, 2006, 12(2): 146-149.
- [8] 刘 红, 艾明仙, 阳 辉, 等. 川芎嗪对自由基致大鼠离体心脏损伤的保护作用 [J]. 中药药理与临床, 2007, 23(5): 68-70.
- [9] 魏 芸, 彭小春. 川芎嗪对血管内皮细胞损伤的保护作用 [J]. 长江大学学报: 自然版 (医学卷), 2007, 9(4): 223-224.
- [10] 梁尚栋, 高 云, 穆松牛, 等. 川芎嗪抗伤害性反应作用机制初探 [J]. 中草药, 2005, 36(3): 396-398.
- [11] 刘胜雄, 欧阳永忠, 汤 明, 等. 川芎嗪对大鼠移植肝的保护作用 [J]. 中华现代外科学杂志, 2006, 3(8): 662-665.
- [12] 周智华, 朱有华, 牛 强, 等. 川芎嗪改善高渗枸橼酸盐嘌呤溶液保存犬肾的效果 [J]. 中华器官移植杂志, 2006, 27(7): 411-413.
- [13] Chang Y, Hsiao G, Chen S H, *et al.* Tetramethylpyrazine suppresses HIF-1 α , TNF- α , and activated caspase-3 expression in middle cerebral artery occlusion-induced brain ischemia in rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2007, 28(3): 327-333.
- [14] Ikeguchi R, Kakinoki R, Matsumoto T, *et al.* Peripheral nerve allografts stored in green tea polyphenol solution [J]. *Transplantation*, 2005, 79(6): 688-695.
- [15] 高志强, 程勇泉, 冯国栋, 等. 不同冻融条件下对同种异体面神经许旺细胞活性的影响 [J]. 中华耳科学杂志, 2008, 3(6): 253-259.
- [16] Meyer M, Matauoka I, Wetmore C, *et al.* Enhanced synthesis of brain neurotrophic factor in lesioned peripheral nerve: different mechanism are responsible for the regulation BDNF and BDNF mRNA [J]. *J Cell Biol*, 1992, 119(1): 45-51.
- [17] 孙晓红, 张 岩, 佟晓杰, 等. 种植施万细胞的脱细胞同种异体神经移植物对大鼠坐骨神经缺损的修复作用 [J]. 解剖科学进展, 2006, 12(2): 146-149.
- [18] Mosahebi A, Woodward B, Wiberg M, *et al.* Retroviral labeling of Schwann cells: *in vitro* characterization and *in vivo* transplantation to improve peripheral nerve regeneration [J]. *Glia*, 2001, 34(1): 8-17.