

神经干细胞移植治疗 APP-PS1 转基因阿尔茨海默病小鼠的¹H-MR 波谱研究

陈双庆 蔡庆 沈玉英 李铭华 张炜 臧凤超 王培军 滕皋军

【摘要】 目的 探讨¹H-MRS 评价神经干细胞(NSCs)移植治疗 APP-PS1 转基因阿尔茨海默病(AD)小鼠疗效的应用价值。方法 C57BL/6 小鼠 NSCs 培养、扩增。12 月龄的 APP-PS1 转基因 AD 小鼠 30 只随机数字表法等分为 A、B 2 组,分别移植 NSCs 及磷酸盐缓冲液(PBS)至双侧海马 CA1 区;正常小鼠 15 只(野生型)作为对照组(C 组)不作处理。应用 7.0 T 高场强 MR 仪分别在移植前及移植后 6 周行¹H-MRS,测量海马区 N-乙酰天冬氨酸(NAA)、谷氨酸(Glu)、肌醇(mI)、胆碱(Cho)及肌酸(Cr)的峰下面积,分析 NAA/Cr、Glu/Cr、mI/Cr 及 Cho/Cr 的变化并与 Nissl 染色与电镜检查结果进行对照研究。组间各指标的比较采用单因素方差分析。结果 C57BL/6 小鼠 NSCs 培养成功。¹H-MRS 显示移植前 A、B、C 3 组的 NAA/Cr、Glu/Cr 及 mI/Cr 分别为 0.89 ± 0.05 、 0.88 ± 0.04 、 1.15 ± 0.05 、 0.40 ± 0.03 、 0.39 ± 0.03 、 0.45 ± 0.05 、 0.67 ± 0.05 、 0.67 ± 0.05 、 0.52 ± 0.04 , 差异有统计学意义(F 值分别为 148.918、7.529、59.468, P 值均 < 0.01)。其中 A、B 2 组 AD 小鼠的 NAA/Cr、Glu/Cr 及 mI/Cr 值差异无统计学意义(t 值分别为 0.147、0.006、0.207, P 值均 > 0.05),但均较 C 组差异有统计学意义(t 值分别为 0.255、0.467、0.171 及 0.269、0.527、0.151, P 值均 < 0.05)。移植 6 周后 A、B、C 3 组的 NAA/Cr、Glu/Cr 及 mI/Cr 分别为 1.13 ± 0.07 、 0.86 ± 0.05 、 1.14 ± 0.05 、 0.45 ± 0.04 、 0.38 ± 0.02 、 0.44 ± 0.03 、 0.58 ± 0.04 、 0.67 ± 0.04 、 0.53 ± 0.04 , 差异有统计学意义(F 值分别为 112.092、23.076、44.367, P 值均 < 0.01)。其中 A 组 NAA/Cr 及 Glu/Cr 值升高, mI/Cr 值降低,较 B 组差异均有统计学意义(t 值分别为 0.271、0.071、0.089, P 值均 < 0.05),与 C 组相比 NAA/Cr 及 Glu/Cr 值差异无统计学意义(t 值分别为 0.013、0.012, P 值均 > 0.05),但 mI/Cr 值差异有统计学意义($t = 0.046$, $P < 0.05$)。各组小鼠 Cho/Cr 值在移植前后差异均无统计学意义(P 值均 > 0.05)。Nissl 染色显示 AD 小鼠在 NSCs 移植后海马区神经元细胞数较未移植 AD 小鼠明显增多。电镜显示 A 组小鼠海马 CA1 区大部分神经元细胞形态正常,细胞器丰富,而 B 组 AD 小鼠神经元细胞明显肿胀,突触联系疏松。**结论** ¹H-MRS 可定量显示 APP-PS1 转基因 AD 小鼠 NSCs 移植前后的脑内代谢变化,对无创性评价 NSCs 治疗 AD 的效果具有较大的应用价值。

【关键词】 阿尔茨海默病; 干细胞; 磁共振波谱学; 小鼠,转基因

¹H-MR spectroscopy in evaluating the effect of neural stem cell transplantation on Alzheimer's disease in an APP-PS1 transgenic mouse model CHEN Shuang-qing*, CAI Qing, SHEN Yu-ying, LI Ming-hua, ZHANG Wei, ZANG Feng-chao, WANG Pei-jun, TENG Gao-jun. Department of Radiology, Tongji Hospital, Tongji University, Shanghai 200065, China * (Present address: Department of Radiology, Suzhou Hospital, Nanjing Medical University, Suzhou 215001, China)

Corresponding author: WANG Pei-jun, Email: tongjipjwang@vip.sina.com

【Abstract】 Objective To explore the value of ¹H-MRS on the evaluation of Alzheimer's disease (AD) with neural stem cells (NSCs) transplantation in an APP-PS1 double transgenic (tg) AD mouse model. **Methods** NSCs from C57BL/6 mice were cultured and amplified. APP-PS1 tg mice ($n = 30$) aged 12 months were used as the study group, and mild-type mice ($n = 15$) were used as the control group.

DOI:10.3760/cma.j.issn.1005-1201.2012.02.016

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81071201)

作者单位:200065 上海同济大学附属同济医院放射科[陈双庆(现在南京医科大学附属苏州医院放射科, 215001)、李铭华、张炜、王培军];南京医科大学附属苏州医院放射科(蔡庆、沈玉英);东南大学分子影像实验室(臧凤超);东南大学附属中大医院放射科(滕皋军)

通信作者:王培军,Email:tongjipjwang@vip.sina.com

Animals in the study group were randomized into two subgroups, the AD mice in one subgroup received NSCs transplantation (NSCs group) and in another subgroup received phosphate buffer saline (PBS, PBS group) in bilateral hippocampal CA1. Animals in the control group were not treated. Using a 7.0 T high-field-strength MR imager, $^1\text{H-MRS}$ was performed before and 6 weeks after transplantation to measure the area under the peak of n-acetyl aspartate (NAA), glutamate (Glu), myo-inositol (mI), choline (Cho) and creatine (Cr) in the hippocampal area, NAA/Cr, Glu/Cr, mI/Cr and Cho/Cr ratio were calculated and compared with histopathological results (including Nissl's staining and electron microscope examination). Comparisons among NSCs, PBS and control groups were conducted by *one-way ANOVA*. **Results** NSCs from C57BL/6 mice were cultured successfully. Before transplantation, the mean NAA/Cr, Glu/Cr and mI/Cr in NSCs, PBS and control groups were 0.89 ± 0.05 , 0.88 ± 0.04 and 1.15 ± 0.05 , 0.40 ± 0.03 , 0.39 ± 0.03 and 0.45 ± 0.05 , 0.67 ± 0.05 , 0.67 ± 0.05 and 0.52 ± 0.04 , respectively, and differences were statistically significant ($F = 148.918, 7.529, 59.468, P < 0.01$). There were no significant differences in NAA/Cr, mI/Cr and Glu/Cr ratios between NSCs and PBS groups before transplantation ($t = 0.147, 0.006, 0.207, P > 0.05$), but the differences were significant compared with the control group ($t = 0.255, 0.467, 0.171$ and $t = 0.269, 0.527, 0.151, P < 0.05$). Six weeks after transplantation, the mean NAA/Cr, Glu/Cr and mI/Cr in three groups were 1.13 ± 0.07 , 0.86 ± 0.05 and 1.14 ± 0.05 , 0.45 ± 0.04 , 0.38 ± 0.02 and 0.44 ± 0.03 , 0.58 ± 0.04 , 0.67 ± 0.04 and 0.53 ± 0.04 , respectively, and differences were statistically significant ($F = 112.092, 23.076, 44.367, P < 0.01$). NAA/Cr and Glu/Cr ratios were increased and mI/Cr was decreased in NSCs group, and the difference was significant compared with PBS group at the same time point ($t = 0.271, 0.071, 0.089, P < 0.05$). There were no significant differences in NAA/Cr and Glu/Cr ($t = 0.013, 0.012, P > 0.05$), but there was a significant difference in mI/Cr between NSCs and control groups ($t = 0.046, P < 0.05$). There were no significant differences in Cho before and after transplantation among the three groups ($P > 0.05$). Nissl's staining showed that the number of neurons in the hippocampal area increased more significantly in tg mice receiving NSCs than that without receiving NSCs. Electron microscopy showed that most hippocampal NSCs in NSCs group were morphologically normal with abundant organelles, while hippocampal NSCs in PBS group were swollen with sparse synapses. **Conclusion** $^1\text{H-MRS}$ is able to display intracranial metabolite changes before and after NSCs in APP-PS1 double transgenic AD mice and has an applicable value in evaluating the therapeutic effect of NSCs on AD.

【Key words】 Alzheimer disease; Stem cells; Magnetic resonance spectroscopy; Mice, transgenic

近年来,随着干细胞(stem cells, SCs)移植技术的日益发展,神经干细胞(neural stem cells, NSCs)移植已成为阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)治疗的主要研究方向之一^[1-3]。由于 NSCs 具有自我更新、多细胞分化及定向迁移等生物学特性,利用 NSCs 替代大脑受损的神经细胞为临床治疗 AD 带来了新的希望。

目前已有关于 NSCs 移植治疗 AD 的动物实验报道,但对治疗效果的评价仍然局限于行为学改变及创伤性的离体研究,这对进一步的临床应用价值有限^[4-5]。MRS 能无创性检测活体脑组织内代谢物的变化并进行定量分析,对 NSCs 治疗 AD 的效果评价和预后分析具有重大应用价值^[6]。笔者将 NSCs 移植至 APP-PS1 转基因 AD 小鼠海马 CA1 区,应用 $^1\text{H-MRS}$ 对移植前后海马区的代谢变化进行分析,判断 NSCs 对 AD 小鼠的疗效,为进一步的临床研究提供理论依据。

资料与方法

一、材料

1. 实验动物:APP-PS1 转基因 AD 小鼠为美国

国立 Jackson 动物中心提供的 B6C3-Tg (APP^{swe}, PSEN1^{dE9})85Dbo/J 品系双转基因小鼠,繁衍所产后代经基因型检测,分笼饲养于光照、黑暗均为 12 h 的恒温环境,自由摄食和饮水。取 12 月龄的 APP-PS1 转基因 AD 小鼠 30 只随机数字表法等分为 A、B 2 组, A 组移植 NSCs, B 组移植磷酸盐缓冲液 (PBS 液);同窝出生的野生型小鼠 15 只为对照组 (C 组) 不作任何处理。本实验由上海同济大学医学伦理委员会同意并严格遵守动物实验的各项伦理条例。

2. NSCs: C57BL/6 小鼠 NSCs (Strain C57BL/6 Mouse NSCs) 购自美国 Cyagen Biosciences 公司,该原代干细胞取自孕龄 12.5 d 的携带绿色荧光蛋白 (GFP) 报告基因的 C57BL/6 小鼠胚胎大脑的海马和室管膜下区,用 C57BL/6 小鼠 NSCs 完全培养基培养,传代扩增至第一代冻存。

二、NSCs 培养及移植

NSCs 解冻后移入装有培养基的离心管中,经 1500 r/min 离心 5 min,去除上清液,加入 2 ~ 3 ml NSCs 培养基,轻轻吹打混匀,将细胞悬液接种到 T25 培养瓶,加足量的培养基,在 37 °C、5% CO₂、80% 相对湿度的培养箱中培养;根据细胞生长速度

和培养基的颜色变化,3~4 d 传代 1 次。

小鼠 1% 戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉后固定于立体定位仪(蓝星 wi290044),剪除毛发,碘酒消毒皮肤后行头皮正中梭形切口,剥离骨膜,使用 1% 双氧水烧灼骨板,显示矢状缝及冠状缝。参照鼠脑立体定位图谱^[7],移植部位选定小鼠大脑两侧海马 CA1 区,以前囟作为中心,前囟后 2.0 mm,矢状缝两侧旁开 1.8 mm 垂直钻孔,用微量注射器取 5 μ l(细胞数 $1 \times 10^6/\mu$ l)移植液,将注射器固定于脑立体定位仪,硬脑膜下进针 2.5 mm。移植液在 10 min 内缓慢注射完毕,留针 5 min,再缓慢退针;B 组 AD 小鼠采用相同方法注入等量 PBS 液。移植完毕后封闭颅骨钻孔,生理盐水反复冲洗,切口处撒少许青霉素粉剂抗感染,缝合头皮。

三、¹H-MRS 检查

各组小鼠术前及术后 6 周行¹H-MRS 检查,所用设备为德国 Bruker 7.0 T PharmaScan 扫描仪(最大梯度场强 300 mT/m)。小鼠 2.0% 异氟烷及 N₂O/O₂ 混合气体麻醉后,使用牙齿钩杆钩住小鼠牙齿,俯卧位固定于动物实验专用床,使用温度控水毯保持体温恒定在 36~37 $^{\circ}$ C,并使用动物生命监视系统监控呼吸频率。使用弛豫增强快速采集(rapid acquisition with relaxation enhancement, RARE)序列先行常规 T₁WI (TR 500 ms, TE 7.5 ms)、T₂WI (TR 3000 ms, TE 36 ms),然后行¹H-MRS。以右侧海马 CA1 区为中心选择 ROI,大小为 1.8 mm \times 2.0 mm \times 2.0 mm,从横断面、冠状面、矢状面 3 个方向进行定位(图 1,2),注意避开颅底及周围侧脑室结构。对所选择的 ROI 进行匀场,当水峰的半高全宽(FWHM)为 15~18 Hz 时,用化学位移选择饱和脉冲(chemical shift selective saturation pulse, CHESS)进行抑水,获得最佳抑水效果后选择单体素点分辨波谱(point-resolved selective spectroscopy, PRESS)序列进行波谱数据采集(TR 2500 ms, TE 20 ms,激励次数 1000,采集时间 40 min),原始数据传入工作站,使用 NUTS 软件对测量所得自由衰减信号(FID)经傅立叶转换获得波谱原始相位图,谱线进行基线校正及相位调整,通过该波谱分析软件自动计算出各代谢产物峰下面积。测定的代谢产物包括 N-乙酰天冬氨酸(NAA)、谷氨酸(Glu)、肌醇(mI)、胆碱(Cho)及肌酸(Cr)等。由于 Cr 一般不受各种病理改变的影响,通常作为参考值定量其他代谢产物的变化,因此本研究以 Cr 值为标准,计算 NAA/Cr、Glu/Cr、mI/Cr 及 Cho/Cr 的比值。

四、组织学检查

1. Nissl 染色:¹H-MRS 检查结束后每组小鼠随机选取 5 只行组织学检查,小鼠 1% 戊巴比妥钠(60 mg/kg)腹腔内注射,深度麻醉后仰卧位开胸,暴露心脏和主动脉,从左心室插入导管至主动脉,快速灌注 4 $^{\circ}$ C 生理盐水 100 ml 冲洗血液,随后灌注 4% 多聚甲醛溶液 100 ml,取脑后置于 4% 多聚甲醛液固定。经 PBS 清洗 30 min 后,脑组织块放入 PBS 配制的蔗糖液浸泡过夜。-20 $^{\circ}$ C 冰箱内充分冰冻后,以注射区为中心,冰冻切片机上作连续冠状切片,厚度为 25 μ m。选取每只小鼠含海马 CA1 区范围内的切片 5 张,对 1.0 mm \times 1.0 mm 的镜下线标方格内的 Nissl 染色阳性细胞进行计数,每张切片数 15 个视野,200 倍视野下计算单位面积平均阳性细胞数。细胞计数采用计算机辅助图像分析系统(Nikon E 800 显微图像分析系统,日本)。

2. 电镜检测:每组小鼠随机选取 3 只进行超微结构检查,1% 戊巴比妥钠(60 mg/kg)腹腔麻醉,开胸经左心室进针至升主动脉,100 ml 生理盐水(4 $^{\circ}$ C)灌流冲洗,1% 戊二醛固定 2 h,振动切片机制冠状切片,片厚 50 μ m。在显微镜下切取含移植细胞的海马 CA1 区切片修整,用 1% 四氧化锇固定 1 h 梯度酒精脱水;然后用 618 环氧树脂包埋液浸透包埋,行超薄切片;最后行铀、铅双重染色在透射电镜下观察、摄片。

五、统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件包对各组资料进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异用单因素方差分析,组间两两比较用最小差值显著法(LSD)进行统计分析; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、¹H-MRS 检查结果

¹H-MRS 结果见表 1, NAA 波峰位于 2.0 ppm, Glu 波峰位于 2.3 ppm, mI 波峰位于 3.6 ppm, Cr 波峰位于 3.0 ppm, Cho 波峰位于 3.2 ppm。两两比较显示:A、B 2 组 AD 小鼠的 NAA/Cr、Glu/Cr 及 mI/Cr 值在移植前差异无统计学意义(t 值分别为 0.147、0.006、0.207, P 值均 > 0.05),但较 C 组差异均有统计学意义(t 值分别为 0.255、0.467、0.171 及 0.269、0.527、0.151, P 值均 < 0.05 ;图 3~5)。移植 6 周后 A 组 NAA/Cr 及 Glu/Cr 值升高, mI/Cr 值降低(图 6~8),均较 B 组差异有统计学意义(t 值分别为 0.271、0.071、0.089, P 值均 < 0.05),与 C 组

表 1 移植前后各组代谢物比值($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	NAA/Cr		Glu/Cr		mI/Cr		Cho/Cr	
		移植前	移植后	移植前	移植后	移植前	移植后	移植前	移植后
A 组	15	0.89 ± 0.05	1.13 ± 0.07	0.40 ± 0.03	0.45 ± 0.04	0.67 ± 0.05	0.58 ± 0.04	0.83 ± 0.05	0.80 ± 0.05
B 组	15	0.88 ± 0.04	0.86 ± 0.05	0.39 ± 0.03	0.38 ± 0.02	0.67 ± 0.05	0.67 ± 0.04	0.82 ± 0.05	0.81 ± 0.04
C 组	15	1.15 ± 0.05	1.14 ± 0.05	0.45 ± 0.05	0.44 ± 0.03	0.52 ± 0.04	0.53 ± 0.04	0.81 ± 0.04	0.79 ± 0.05
F 值		148.918	112.092	7.529	23.076	59.468	44.367	0.612	0.577
P 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	>0.05	>0.05

注:NAA:N-乙酰天冬氨酸;Cr:肌酸;Glu:谷氨酸;mI:肌醇;Cho:胆碱

相比 NAA/Cr 及 Glu/Cr 差异无统计学意义(t 值分别为 0.013、0.012, P 值均 >0.05), 但 mI/Cr 差异仍有统计学意义($t = 0.046$, $P < 0.05$)。各组小鼠 Cho 值在移植前后的变化均无统计学意义(P 值均 >0.05)。

二、组织学检查

1. Nissl 染色:A、B、C 3 组小鼠海马 CA1 区 Nissl 染色阳性细胞数分别为 (863 ± 45)、(264 ± 19)、(927 ± 59) 个/mm² ($F = 1859.27$, $P < 0.01$)。A 组小鼠移植 NSCs 后神经元细胞排列较密集, 尼氏体深染, B 组小鼠海马区锥体细胞带断裂, 细胞肿胀, 尼氏体减少或消失(图 9, 10)。计数显示 A 组 Nissl 染色阳性细胞数较 B 组显著增多, 差异有统计学意义($t = 548.5$, $P < 0.05$); 与正常对照组相比, Nissl 染色阳性细胞数差异无统计学意义($t = 34.4$, $P > 0.05$), 表明损伤的神经元得以修复或有新的神经细胞产生。

2. 电镜检查:A 组小鼠移植后电镜显示海马 CA1 区可见较多结构完整的神经元细胞, 突触联系较紧密, 细胞器丰富; B 组小鼠神经元细胞明显肿胀, 排列疏松, 细胞核裂解, 细胞器消失(图 11, 12)。C 组小鼠海马神经元形态正常, 胶质细胞排列整齐, 神经突触联系紧密。

讨 论

一、¹H-MRS 成像技术及 ROI 的选择

近年来随着神经影像学的快速发展, 对 AD 的影像研究已进入到功能影像及分子影像时代, 特别是高场强 MR 新技术的运用对 AD 的早期诊断、病程监控和疗效评估具有重大价值。在本研究中, 笔者在 7.0 T 超高场强 MRI 仪上使用单体素 PRESS 序列对 AD 模型鼠行¹H-MRS, 定位准确, 波谱分辨率和信噪比更高, 能同时显示 NAA、Glu、Cho、mI 和 Cr 等代谢物水平的变化, 具有较好的可重复性, 非常适用于波谱的定量分析。因此,¹H-MRS 作为一种无创性研究活体组织器官代谢变化的影像学方

法, 为 NSCs 移植治疗 AD 的效果评价提供了具有高敏感性、高特异性的生物学指标^[8-9]。

由于 AD 小鼠的大脑体积较小, 因而 ROI 部位、大小的选择对能否获得满意的波谱像非常关键。神经病理学研究已证实颞叶海马区是较早受累和病变程度比较明显的部位, 特别是神经纤维缠结首先出现在内颞叶的内嗅皮层区和海马结构的 CA1 区^[10], 因此海马是 AD 研究的理想靶区。本实验中将 NSCs 的移植点定位于海马 CA1 区, 同样¹H-MRS 的 ROI 也选择在以 CA1 为中心的海马区, 从横断面、冠状面、矢状面 3 个方向进行立体定位, 选择大小为 1.8 mm × 2.0 mm × 2.0 mm 的 ROI, 既能避开周围骨骼及侧脑室结构的影响, 又能将海马结构完全包纳在内, 避免了不同组织磁化率 (magnetic susceptibility) 对匀场的影响, 并能获得最佳抑水效果, 波谱成像成功率达到 100%。

二、AD 小鼠 NSCs 移植后¹H-MRS 不同代谢指标的变化及其机制

作为反映神经元功能活性及完整性的生化指标, NAA 可用来有效地监测治疗效果^[8, 11]。本研究对 12 月龄 AD 小鼠移植前的¹H-MRS 检查显示 NAA 值较正常对照组明显减低, 表明其脑内已出现神经元细胞功能降低或细胞丢失。NSCs 移植 6 周后¹H-MRS 显示 NAA 水平较移植前显著增高, NAA/Cr 值与未移植 NSCs 的 AD 小鼠相比差异有统计学意义($P < 0.05$), 表明 NAA 水平的改变可以反映 NSCs 移植治疗 AD 的效果。关于 NSCs 移植后 NAA 增高的机制尚未完全明了, 有学者研究发现, NSCs 能够在活体脑内特定的内环境下持续增殖, 并分泌或释放一些神经营养因子^[12-14]。本研究也显示海马区 Nissl 染色阳性细胞数较未移植 AD 小鼠明显增多, 电镜检查发现海马 CA1 区损伤的神经细胞结构部分恢复。因此我们分析这些增殖的 NSCs 一方面可分化为相应的神经细胞, 起到补充替代作用; 而神经营养因子能提供适宜的微环境保护或修复脑内受损的神经元细胞, 因而在¹H-MRS 上表现为 NAA

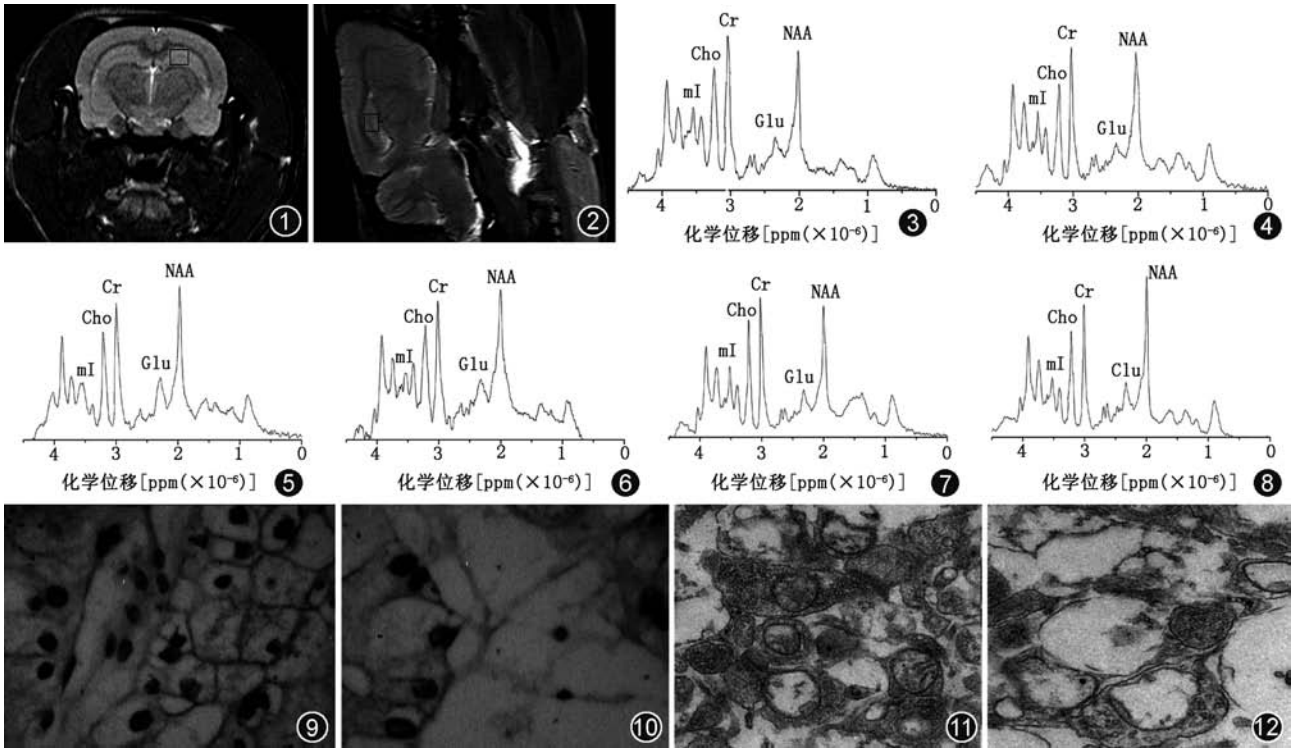


图 1,2 为¹H-MRS 横断面(图 1)及矢状面(图 2)定位图,以右侧海马 CA1 区为中心选择兴趣区,大小为 1.8 mm × 2.0 mm × 2.0 mm 图 3~5 分别为移植前 A(图 3)、B(图 4)及 C 组(图 5)小鼠的¹H-MRS。A、B 2 组阿尔茨海默病(AD)小鼠的 N-乙酰天冬氨酸(NAA)、谷氨酸(Glu)较 C 组小鼠明显降低,肌醇(mi)则明显升高 图 6~8 分别为移植后 A、B 及 C 组小鼠的¹H-MRS。A 组(图 6)NAA 及 Glu 较 B 组(图 7)明显升高,mi 较 B 组降低,但仍高于 C 组(图 8);B 组 NAA、Glu 及 mi 较移植前无明显改变 图 9,10 移植后 Nissl 染色(×400)。A 组小鼠海马 CA1 区神经细胞排列较密集,胞体深染,胞质中尼氏体较清晰(图 9);B 组小鼠锥体细胞带断裂,细胞数显著减少,胞质内尼氏体减少或消失(图 10) 图 11,12 移植后超微结构(×20 000)。A 组小鼠海马 CA1 区神经细胞形态基本良好,细胞器较丰富,神经突触联系较紧密(图 11);B 组小鼠海马区神经细胞明显肿胀,细胞核裂解,细胞器消失(图 12)

的增高。

Glu 是哺乳动物中枢神经系统内主要的神经递质,其与神经细胞的存活、突触的形成及可塑性密切相关^[15],与 NAA 类似。本研究显示 AD 小鼠 NSCs 移植后海马区 Glu 水平较未移植组显著增高($P < 0.05$),提示 Glu 可作为又一个有效的监测 AD 疗效的指标。由于 Glu 主要在神经胶质细胞内合成,神经元释放的 γ -氨基丁酸(GABA)被神经胶质细胞摄取后进入三羧酸循环,最后生成 Glu,因此 Glu 正常代谢的前提是神经元和神经胶质细胞功能的完整性^[16]。移植到 AD 小鼠脑内的 NSCs 能与内源性神经元形成突触连接并建立功能性神经回路,促进神经组织的修复和功能重建,这可能是导致 AD 小鼠脑内 Glu 水平增加的原因之一^[17]。

研究表明,mi 也是 AD 的特征性指标之一^[18]。作为神经胶质细胞的标志物,mi 的升高与 AD 小鼠脑内星形胶质细胞的激活及反应性增生状态有关。先前的研究中,笔者发现 mi 的升高与痴呆的严重程度有相关性^[19]。本研究显示 AD 小鼠在 NSCs 移植

6 周后 mi 值较未移植 AD 小鼠明显降低($P < 0.01$)。究其原因,笔者认为当 NSCs 移植到 AD 小鼠脑内病变区后,由于神经组织的功能恢复,其内环境发生改变,打破了原有病理条件下的应急反应,神经胶质细胞的激活及反应性增生程度相应降低,因而在波谱上表现为 mi 水平的降低。但是与正常对照小鼠相比,由于 AD 小鼠的病理性改变并未完全纠正,因此 mi 仍未能回归至正常水平。

Cho 参与细胞膜的构成及神经细胞髓鞘的形成,与细胞膜磷脂代谢有关,可反映细胞膜的稳定性。本研究显示治疗前后 Cho 的改变未见有明确的意义,尚需进行进一步的研究。

综上所述,笔者运用¹H-MRS 技术,并结合病理学对 APP-PS1 转基因 AD 小鼠 NSCs 治疗前后海马区代谢物水平的变化进行定量研究,结果表明¹H-MRS 能对 AD 小鼠 NSCs 治疗后的效果进行有效的评估,对进一步的临床研究具有指导价值。

参 考 文 献

[1] Tsukane M, Yoshizaki C, Yamauchi T. Development and specific

- induction of apoptosis of cultured cell models overexpressing human tau during neural differentiation: implication in Alzheimer's disease. *Anal Biochem*, 2007, 360: 114-122.
- [2] Colucci-D'Amato L, di Porzio U. Neurogenesis in adult CNS: from denial to opportunities and challenges for therapy. *Bioessays*, 2008, 30: 135-145.
- [3] Xuan AG, Luo M, Ji WD, et al. Effects of engrafted neural stem cells in Alzheimer's disease rats. *Neuroscience Lett*, 2009, 450: 167-171.
- [4] Wang Q, Matsumoto Y, Shindo T, et al. Neural stem cells transplantation in cortex in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Med Invest*, 2006, 53: 61-69.
- [5] Sugaya K, Alvarez A, Marutle A, et al. Stem cells strategies for Alzheimer's disease therapy. *Panminerva Med*, 2006, 48: 87-96.
- [6] Jagust W. Molecular neuroimaging in Alzheimer's disease. *NeuroRx*, 2004, 1:206-212.
- [7] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Sydney: Academic Press Australia, 1988: 20-33.
- [8] Jessen F, Traeber F, Freymann K, et al. Treatment monitoring and response prediction with proton MR spectroscopy in AD. *Neurology*, 2006, 67: 528-530.
- [9] Falini A, Bozzali M, Magnani G, et al. A whole brain MR spectroscopy study from patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neuroimage*, 2005, 26: 1159-1163.
- [10] Velez-Pardo C, Arellano JI, Cardona-Gomez P, et al. CA1 hippocampal neuronal loss in familial Alzheimer's disease presenilin-1 E280A mutation is related to epilepsy. *Epilepsia*, 2004, 45: 751-756.
- [11] Modrego PJ, Fayed N, Errea JM, et al. Memantine versus donepezil in mild to moderate Alzheimer's disease: a randomized trial with magnetic resonance spectroscopy. *Eur J Neurol*, 2010, 17: 405-412.
- [12] Kwak YD, Brannen CL, Qu T, et al. Amyloid precursor protein regulates differentiation of human neural stem cells. *Stem Cells Dev*, 2006, 15:381-389.
- [13] Marutle A, Ohmitsu M, Nilbratt M, et al. Modulation of human neural stem cell differentiation in Alzheimer (APP23) transgenic mice by phenserine. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 12506-12511.
- [14] Mattson MP, Maudsley S, Martin B. BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci*, 2004, 27: 589-599.
- [15] Alvarez EO, Ruarte MB. Glutamic acid and histamine-sensitive neurons in the ventral hippocampus and the basolateral amygdala of the rat: functional interaction on memory and learning processes. *Behav Brain Res*, 2004, 152: 209-219.
- [16] Shen J, Rothman DL. Magnetic resonance spectroscopic approaches to studying neuronal: glial interactions. *Biol Psychiatry*, 2002, 52: 694-700.
- [17] Lu P, Jones LL, Snyder EY, et al. Neural stem cells constitutively secrete neurotrophic factors and promote extensive host axonal growth after spinal cord injury. *Exp Neurol*, 2003, 181: 115-129.
- [18] Coimbra A, Williams DS, Hostetler ED. The role of MRI and PET/SPECT in Alzheimer's disease. *Curr Top Med Chem*, 2006, 6:629-647.
- [19] 陈双庆,王培军,滕皋军,等. APP-PS1 转基因阿尔茨海默病小鼠的 MR 波谱定量分析. *中华放射学杂志*, 2010, 44: 657-662.

(收稿日期:2011-05-04)

(本文编辑:张琳琳)

“CT 和 MR 新技术在腹部检查中的应用”活动征文通知

随着近年来科技的飞速发展,医学影像技术,特别是 CT 和 MR 技术也随之出现了前所未有的变化,其在腹部脏器检查中的应用也日益广泛、深入。在 CT 发展的背后,相关专业人员一直在关心着两个重要的命题,即诊断准确性和检查安全性。临床医师希望一次 CT 检查能提供更多的诊断信息,提高疾病的检出率,让诊断更完美,真正实现早期发现和早期治疗;同时随着人们自我保护意识的不断提高,CT 作为放射学检查技术,如何在保证影像质量水平的同时把放射剂量降到最低,也越来越受到各方的关注。而非放射线成像的 MR,随着扫描技术及硬件的革新,扫描速度不断加快,更多的功能性成像技术出现。为了更好地推动 CT、MR 新技术在腹部检查中的应用,从而丰富腹部检查中的影像诊断手段,推进腹部放射学的发展,《中华放射学杂志》决定与 GE 联合开展“CT 新技术在腹部检查中的应用”的征文活动。

1. 征文内容:涉及 CT 新技术,包括能谱-双能量技术、高分辨率成像技术、灌注技术、低剂量检查技术以及优化检查

的新方案在腹部应用;MR 包括扩散成像技术、磁敏感技术、磁化传递技术、血管通透性成像技术、高分辨率成像技术、分子影像学技术、水成像技术、血流分析及其他技术在腹部的特色应用。文章类型包括临床和实验研究、病例总结、综述和专论。

2. 征文要求:论文撰写要遵循临床研究设计的基本要求,写作规范参见《中华放射学杂志》论著格式。文章一般要求 4000 字以内,另附 1000 字以内的摘要。论文应未在国内外杂志上公开发表。

3. 投稿方式:通过《中华放射学杂志》投稿系统网上投稿,网址为 <http://cma.org.cn>。腹部重点号征文。

4. 征文截止时间:2012 年 5 月 15 日。

(本刊编辑部)