doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.16.001

·基础研究·

天麻素对 CUS 大鼠抑郁样行为和海马 BDNF/GDNF 水平的影响 *

张雅红 周翠红 何珊珊 陈云春 王化宁 彭正午△

（第四军医大学西京医院心身科 陕西 西安 710032）

摘要 目的：探讨天麻素对慢性不可预见应激（CUS）大鼠抑郁样行为的改善作用及对海马脑源性神经营养因子（BDNF）及胶质原纤维酸性蛋白（GDNF）表达的影响。**方法：**将 64 只 SD 大鼠随机分为对照组（Sham），Sham+ 天麻素低、中、高剂量组，模型组（CUS），模型（CUS）+ 天麻素低、中、高剂量组，每组 8 只。对照组每天腹腔注射生理盐水（1 mL/kg），连续 14 天；Sham+ 天麻素低、中、高剂量组每天腹腔注射不同剂量的天麻素（50、100 或者 200 mg/kg），连续 14 天；模型组接受 CUS 造模，并且在造模结束后每天腹腔注射生理盐水（1 mL/kg），连续 14 天；模型 + 天麻素低、中、高剂量组在 CUS 造模结束后每天腹腔注射不同剂量的天麻素（50、100 或者 200 mg/kg），持续 14 天。随后，通过糖水偏好实验和强迫游泳实验检测各组大鼠的抑郁样行为，在行为学检测结束后处死大鼠，通过 Elisa 检测海马 GFAP 和 BDNF 的表达情况。**结果：**（1）慢性不可预见应激（CUS）可以导致明显的抑郁样行为，包括糖水偏好减少（$P < 0.05$）和强迫游泳不动时间增加（$P < 0.01$），CUS 组大鼠海马 GFAP 和 BDNF 水平下降（$P < 0.01$）。（2）一定剂量（100 和 200 mg/Kg）天麻素干预可以缓解 CUS 大鼠的抑郁行为，CUS 与 CUS + GAS（M）组（$P < 0.05$）以及 CUS 与 CUS + GAS（H）组之间（$P < 0.01$）存在显著性差异。（3）中高剂量的天麻素可以恢复 CUS 大鼠海马的 BDNF 和 GDNF 水平，CUS 与 CUS + GAS（M）组（$P < 0.05$）以及 CUS 与 CUS + GAS（H）组之间（$P < 0.05$）的 BDNF 和 GDNF 水平存在显著性差异。**结论：**天麻素可以缓解 CUS 模型大鼠抑郁样行为，恢复 CUS 模型大鼠海马的 BDNF 和 GDNF 水平。

关键词：抑郁症；天麻素；BDNF；GDNF

中图分类号：R285; R-33; R338.2 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273（2017）16-3001-04

The Influence of Gastrodin on Depressive-like Behavior on CUS Rats and the Expression of BDNF/GDNF on the Hippocampus*

ZHANG Ya-hong, ZHOU Cui-hong, HE Shan-shan, CHEN Yun-Chun , WANG Hua-ning, PENG Zheng-wu △

(1 Department of Psychosomatic, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the antidepressant-like effect on CUS rats and the effect on hippocampus BDNF/GDNF expression gastrodin. **Methods:** SD rats were randomly assigned to the following 8 groups (n = 8 for each groups): Sham, Sham + GAS (L), Sham + GAS (M), Sham + GAS (H), CUS, CUS + GAS (L), CUS + GAS (M) and CUS + GAS (H). The Sham group received only saline, and the Sham + GAS (L, M or H) group received GAS (50, 100 or 200 mg/kg daily). The rats in the CUS group were subjected to CUS, and then received saline as a vehicle for 14 days (1 mL/kg daily). The CUS + GAS (L, M or H) group also experienced CUS, but they received GAS (50, 100 or 200 mg/kg daily) for 14 days. After 14 days of treatment with GAS or vehicle, rats were experienced sucrose preference test and forced swim test, then sacrificed and the expressions of GFAP and BDNF in the hippocampus were determined by Elisa. **Results:** (1) The rat in CUS group showed significant more immobility time in forced swim test and decreased sucrose preference; (2) GAS administration (100 and 200 mg/kg daily) reversed depressive-like behaviors in rats exposed to CUS paradigm; (3) GAS administration restored the expression of GFAP and BDNF in the hippocampus of CUS rat. **Conclusion:** GAS administration (100 and 200 mg/kg daily) reversed depressive-like behaviors in rats exposed to CUS paradigm and restored the expression of GFAP and BDNF in the hippocampus.

Key words: Depression; Gastrodin; BDNF; GDNF

Chinese Library Classification(CLC): R285; R-33; R338.2 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2017)16-3001-04

前言

抑郁症是目前临床上最常见的精神疾患之一，是以情绪低落、思维迟缓并伴有兴趣减低、主动性下降等精神运动性迟滞

* 基金项目：国家自然科学基金项目（81401109）；陕西省社会发展科技攻关项目（2015SF005）

作者简介：张雅红（1968-），副主任医师，主要从事精神疾病方面研究，E-mail: Dong163bao@163.com，yahong_zhang_love@126.com

△ 通讯作者：彭正午，E-mail：pengzhengwu1446@163.com

（收稿日期：2016-07-12 接受日期：2016-08-10）

症状为主要临床表现的一类心境障碍综合征。抑郁症的发病率呈逐年上升的趋势,已经严重影响着人类的生活质量和健康[1]。尽管药物治疗的疗效较确切,但目前仍存在很多弊端,如抗抑郁药物大部分都存在副反应,而且有大概 30%的患者对药物治疗不敏感[2,3]。因此,探索新的抗抑郁药物对临床治疗抑郁症具有重要意义。

星形胶质细胞是大脑内数量最多的细胞类型,正常情况下,星形胶质细胞可以释放多种神经营养因子,在激活状态下,星形胶质细胞释放的神经营养因子的数量和种类均得到显著提升[4,5]。在星形胶质细胞释的这些因子中,胶质源性神经营养因子(glial cell-derived neurotrophic factor,GDNF)和脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor,BDNF)在抑郁症的发病机制和抗抑郁药的作用机制中具有重要作用[6,7]。

天麻素是从我国中草药天麻的根茎中提取出的主要成分,长期以来被广泛应用于神经精神疾病的临床治疗中。已有研究表明,天麻素在多种神经病变中对神经元和星形胶质细胞具有良好的保护作用[8,9]。此外,有研究表明,天麻的水提物(water extracts of Gastrodia elata Blume,WGE)、天麻素和天麻素的代谢物 HBA(天麻甙)可以显著减少小鼠强迫游泳不动时间,并且抑制 5-HT 和多巴胺的代谢情况[10],但其对大鼠抑郁样行为和海马 BDNF/GDNF 表达的影响尚不完全清楚。为此,本研究选择 CUS 大鼠模型,观察了连续 14 天天麻素干预对该模型的抑郁行为的影响,以及其对 CUS 大鼠海马 BDNF/GDNF 表达的影响,为天麻素在抑郁症治疗的临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

(1)实验动物:在体实验使用 8 周龄左右的清洁级雄性 SD 大鼠,体质量(200 ± 20 g)由第四军医大学实验动物中心提供。实验过程遵循神经科学和行为学实验中关于哺乳动物的饲养和使用规定。

(2)主要试剂和仪器:BDNF/GDNF 大鼠 Elisa 试剂盒(北京 Sunred 公司);天麻素(昆明制药集团有限公司);全波段酶标仪(Thermo 公司);电动组织匀浆仪(Ika 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 CUS 模型构建 采用以下不同的应激处理方法构建 CUS 模型,并且试验的顺序随机,使实验动物不能预测应激刺激的发生。a.昼夜节律颠倒和光照性质改变(闪光刺激、昼夜颠倒、间断光照);b.食物和饮水供应的改变(禁食、禁水);c.居住环境的改变(单笼饲养、鼠笼倾斜、潮湿垫料);d.短时间内足底电击;e.强迫游泳;f.束缚应激;g.高温环境;h.噪音干扰;i.陌生气味;j.陌生异常物品(塑料杯、木勺、碎布片等)。CUS 持续 21 天,大鼠每天接受 2 种刺激,具体如下:夜间持续照明(第 1 天和第 7 天);潮湿垫料整夜(第 3、10 和 17 天);旋转鼠笼 1 小时(第 3、7、12 和 17 天);束缚 1 小时(第 4、9、13 和 16 天);白天遮蔽光照致黑暗 3 小时(第 2、6、11 和 19 天);整夜倾斜鼠笼(第 2、8 和 15 天);闪光刺激整夜(第 4、13 和 18 天);气味刺激 3 小时(第 5、10、14 和 18 天);饮食剥夺(第 5、9、14 和 20 天);拥挤整夜(第 6、12 和 16 天);置于 4℃1 小时(第 7 和 15 天);孤独饲养过夜(第 8、11、19 和 20 天)[11]。

1.2.2 强迫游泳测试(forced swim test,FST) 习得性无助行为通过强迫游泳实验进行测试。在预游泳(10 分钟)24 小时后,将大鼠置于通明塑料桶(水深 30 厘米以上,水温 23℃)内游泳 5 分钟,在此期间的行为由摄像头记录,并且按照大鼠游泳的行为表现分为漂浮不动、挣扎和游泳三种状态。其中,大鼠的漂浮不动定义为大鼠四肢中只有一个在轻微的游动。习得性无助的评判以大鼠漂浮不动的时间的长短来反映。

1.2.3 糖水偏好测试(sucrose preference test,SPT) 大鼠单笼饲养并给予 1%蔗糖水 48 小时以避免测试时对新事物的恐惧。同时,为了避免大鼠对饮水位置的偏爱,糖水瓶的位置每天换一次。在测试当天,先对大鼠剥夺饮水 4 小时,然后在鼠笼上给予两瓶饮水,其中一瓶为自来水(A 瓶),另一瓶为含 1%蔗糖的自来水(B 瓶),1 小时后,计算大鼠在此期间的糖水摄取量(A)和自来水(B)的摄取量。糖水偏好%= [A/(A + B)] × 100%。

1.2.4 ELISA 检测 BDNF/GDNF 水平 收集各处理组海马,加入 PBS,经组织匀浆后,离心取上清做为待测样本。参照 Elisa 检测说明书,逐步加入相应试剂,通过酶标仪检测得到相应样品的 BDNF/GDNF 的含量。

1.3 统计学处理

实验结果采用均值± 标准差(SD)的形式表示,采用 SPSS19.0 进行数据统计分析。各组之间的比较用单因素方差分析,两两数据比较采用最小显著差数法(Least significant difference,LSD)检验;设 $P < 0.05$ 时有统计学意义。

2 结果

2.1 天麻素对 CUS 大鼠的抑郁样行为的影响

强迫游泳实验结果显示,各处理组大鼠游泳不动时间之间存在显著性差异($F_{3, 40} = 16.31$, $P< 0.01$)。进一步两两比较显示,对照组(Sham)和模型组(CUS)之间存在显著差异($P< 0.01$),此外,CUS 与 CUS + GAS(M)组($P< 0.05$)以及 CUS 与 CUS + GAS(H)组之间也存在显著性差异($P< 0.01$)。说明中剂量(100 mg/Kg)和高剂量(200 mg/Kg)天麻素干预能够抑制 CUS 所致大鼠的习得性无助行为。糖水偏好实验结果显示,各处理组大鼠糖水偏好之间存在显著性差异($F_{3, 40} =10.32$, $P< 0.01$)。进一步两两比较显示,与强迫游泳结果相似,Sham 和 CUS 之间存在显著差异($P< 0.05$),CUS 与 CUS + GAS(H)组($P< 0.05$)。说明高剂量天麻素干预能够缓解 CUS 所致大鼠的快感缺失行为。结果如表 1 所示。

2.2 天麻素对 CUS 大鼠海马 BDNF 及 GDNF 浓度的影响

行为学的实验结果已经显示了天麻素对抑郁样行为有一定的改善作用,为了进一步阐述其作用机制本实验检测了各组大鼠大脑海马的 BDNF 及 GDNF 水平。Elisa 结果显示,各处理组大鼠海马的 BDNF 浓度存在显著差异($F_{3, 40} = 12.41$, $P < 0.01$)。两两比较结果显示,对照组(sham)和模型组(CUS)之间存在显著差异($P< 0.05$),此外,CUS 与 CUS + GAS(M)组($P< 0.05$)以及 CUS 与 CUS + GAS(H)组之间也存在显著性差异($P< 0.05$)。说明中剂量和高剂量天麻素干预组能够上调 CUS 大鼠海马 BDNF 水平。此外,各处理组大鼠海马的 GDNF 浓度也存在显著差异($F_{3, 40} = 26.93$, $P< 0.01$);模型组(CUS)的 GDNF 水平显著低于对照组(sham),CUS 与 CUS + GAS(M)

表 1 各组大鼠强迫游泳不动时间及糖水摄取的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 The antidepressant-like effect of Gastrodin on CUS rats

Groups	Number	Forced swimming test (% of floating time)	Sucrose preference (%)
Sham	8	24.49 ± 1.069	76.33 ± 5.590
Sham + GAS(L)	8	24.70 ± 4.269	81.33 ± 4.856
Sham+ GAS(M)	8	26.85 ± 2.211	79.67 ± 5.766
Sham + GAS(H)	8	26.20 ± 1.417	81.33 ± 4.716
CUS	8	38.30 ± 1.933 ##	57.50 ± 5.402 #
CUS + GAS(L)	8	34.67 ± 1.980**	64.60 ± 5.393
CUS+ GAS(M)	8	27.27 ± 1.453 **	68.18 ± 5.546
CUS + GAS(H)	8	27.27 ± 1.762**	77.17 ± 4.167 *

注:与 Sham 组比 #P < 0.05,##P < 0.01;与 CUS 组比 *P < 0.05,**P < 0.01。

Note: Compared with sham #P < 0.05, ##P < 0.01; Compared with CUS *P < 0.05, **P < 0.01.

表 2 各组大鼠海马中 BDNF 及 GDNF 水平的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Effect of Gastrodin on the BDNF and GDNF levels in Hippocampus of CUS rats model

Group	Number	BDNF(ng/mg)	GDNF(ng/mg)
Sham	8	0.600 ± 0.057	0.810 ± 0.073
Sham + GAS(L)	8	0.609 ± 0.081	0.777 ± 0.0554
Sham+ GAS(M)	8	0.651 ± 0.053	0.833 ± 0.0648
Sham + GAS(H)	8	0.645 ± 0.063	0.816 ± 0.078
CUS	8	0.344 ± 0.044#	0.440 ± 0.051 #
CUS + GAS(L)	8	0.434 ± 0.051	0.525 ± 0.056
CUS+ GAS(M)	8	0.549± 0.052 *	0.646 ± 0.064 *
CUS + GAS(H)	8	0.594± 0.061 *	0.708 ± 0.052 **

注:与 Sham 组比 # P < 0.05;与 CUS 组比 *P < 0.05,**P < 0.01。

Note: Compared with sham #P < 0.05; Compared with CUS *P < 0.05, **P < 0.01.

组(P< 0.05)以及 CUS 与 CUS + GAS(H)组之间也存在显著性差异(P< 0.01)。说明中剂量和高剂量天麻素干预能够上调 CUS 大鼠海马 GDNF 水平。结果如表 2 所示。

3 讨论

天麻素是从我国中草药天麻的根茎中提取出的主要成分,长期以来被广泛应用于神经精神疾病的临床治疗中。研究证实,天麻素可以抑制缺氧对皮层神经元的凋亡作用[12],可以通过上调 ERK1/2-Nrf2 通路抑制 β- 淀粉样蛋白对原代培养的大鼠海马神经元的神经毒性[13]。因此,天麻素具有一定的神经保护作用,但其是否在抑郁症的发病及治疗中发挥作用尚不清楚。

CUS 是一种国际比较公认的抑郁动物模型,可以有效的筛选抗抑郁药物和阐述抑郁症的病理生理学机制[14]。本研究结果显示,大鼠经过为期 3 周的 CUS 干预后,表现出明显的抑郁样行为:糖水偏好显著下降,而强迫游泳不动时间显著上升,并且海马的 BDNF、GDNF 水平显著下降。说明本研究造模成功,为后续实验提供了可以信赖的动物模型。兴趣减退是抑郁症患者的核心症状之一,也是诊断抑郁症的主要考虑指标之一,而由应激所致的糖水偏好减少则可以作为评判大鼠兴趣减退的间接性指标[15]。强迫游泳不动时间则可以反映抑郁症的另一核心症状 -- 习得性无助。本研究结果显示,尽管低剂量(50 mg/kg)天麻素干预没有显著的抗抑郁效应,而天麻素中或高剂量(100 或 200 mg/kg)持续干预 2 周可以显著改善 CUS 所致的上述抑郁样行为。因此,天麻素干预也具有抗抑郁作用,而且有一定的剂量依赖效应。

星形胶质细胞具有支持、营养和保护神经元的功能,在大脑正常生理功能中具有重要作用。近来的研究显示,抗抑郁药物可以调节星形胶质细胞标记物 GFAP 的表达水平[16,17],促进星形胶质细胞释放神经营养因子(如 BDNF,GDNF)[18]。这些神经营养因子水平的变化,尤其是海马 BDNF 的水平变化被认为是抗抑郁药物作用的重要机制之一[19]:研究发现,SSRIs 干预后可以显著上调啮齿类海马齿状回的 BDNF 水平,而且对海马灌注 BDNF 可以表现出一定的抗抑郁作用[20]。此外,有学者认为抗抑郁药物对海马神经元的保护作用是通过激活 BDNF 的表达来实现的[21]。为了探讨 GAS 改善抑郁样行为的作用机制,我们观察了 GAS 对海马星形胶质细胞 GDNF 表达的影响,同时也观察了其对 BDNF 表达水平的作用。结果显示,CUS 导致海马 GDNF 和 BDNF 的表达均显著下降,天麻素(100 或 200 mg/kg)干预可以有效缓解这一情况,但是低剂量(50 mg/kg)GAS 对 GDNF 和 BDNF 的表达水平的调节没有显著作用。因

此，中剂量和高剂量天麻素对抑郁样行为的改善作用与其保护海马星形胶质细胞的活性和维持 BDNF 的释放水平有关。

综上所述，本研究发现天麻素可以改 CUS 大鼠的抑郁行为，并且能够上调海马的 GFAP 和 BDNF 的表达水平。但本研究具有一定的局限性，观察只局限于 CUS 大鼠模型的部分抑郁行为以及海马 GDNF 和 BDNF 的表达水平的改善情况，缺乏更深层次的机制研究。

参 考 文 献(References)

[1] Gibson T B, Jing Y, Smith C G, et al. Cost burden of treatment resistance in patients with depression[J]. Am J Manag Care, 2010, 16 (5): 370-377

[2] Berlim M T, Turecki G. Definition, assessment, and staging of treatment-resistant refractory major depression: a review of current concepts and methods[J]. Can J Psychiatry, 2007, 52(1): 46-54

[3] Murata A, Kanbayashi T, Shimizu T, et al. Risk factors for drug nonadherence in antidepressant-treated patients and implications of pharmacist adherence instructions for adherence improvement [J]. Patient Prefer Adherence, 2012, 6: 863-869

[4] Berlim M T, Turecki G. Definition, assessment, and staging of treatment-resistant refractory major depression: a review of current concepts and methods[J]. Can J Psychiatry, 2007, 52(1): 46-54

[5] Brent D A, Birmaher B. Treatment-resistant depression in adolescents: recognition and management[J]. Child Adolesc Psychiatr Clin N Am, 2006, 15(4): 1015-1034

[6] Ridet J L, Malhotra S K, Privat A, et al. Reactive astrocytes: cellular and molecular cues to biological function [J]. Trends Neurosci, 1997, 20(12): 570-577

[7] Castren E, Voikar V, Rantamaki T. Role of neurotrophic fac tors in depression[J]. CurrOpin Pharmacol, 2007, 7(1): 18-21

[8] 刘文学, 张广芬, 王菁, 等. 星形胶质细胞功能障碍在抑郁症发病中的作用研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(6): 1187-1190
Liu Wen-xue, Zhang Guang-fen, Wang Jing, et al. Progress in Roles of Astrocyte Dysfunction in the Onset of Depression [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2016, 16(6): 1187-1190

[9] Kumar H, Kim IS, More SV, et al. Gastrodin protects apoptotic dopaminergic neurons in a toxin-induced Parkinson's disease model [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, (2013): 514-527

[10] Chen W C, Lai Y S, Lin S H, et al. Anti-depressant effects of Gastrodia elata Blume and its compounds gastrodin and 4-hydroxybenzyl alcohol, via the monoaminergic system and neuronal cytoskeletal remodeling [J]. J Ethnopharmacol, 2016,18(2): 190-199

[11] Koo J W, Duman R S. IL-1beta is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(2): 751-756

[12] Xu X, Lu Y, Bie X. Protective effects of gastrodin on hypoxia-induced toxicity in primary cultures of rat cortical neurons [J]. Planta Med, 2007, 73(7): 650-654

[13] Zhao X, Zou Y, Xu H, et al. Gastrodin protect primary cultured rat hippocampal neurons against amyloid-beta peptide-induced neurotoxicity via ERK1/2-Nrf2 pathway [J]. Brain Res, 2012, 14(28): 13-21

[14] Banasr M, Valentine G W, Li X Y, et al. Chronic unpredictable stress decreases cell proliferation in the cerebral cortex of the adult rat[J]. Biol Psychiatry, 2007, 62(5): 496-504

[15] Anisman H, Matheson K. Stress, depression, and anhedonia: caveats concerning animal models[J]. NeurosciBiobehav Rev, 2005, 29(4-5): 525-546

[16] Conti B, Maier R, Barr A M, et al. Region-specific transcriptional changes following the three antidepressant treatments electro convulsive therapy, sleep deprivation and fluoxetine [J]. Mol Psychiatry, 2007, 12(2): 167-189

[17] Sillaber I, Panhuysen M, Henniger M S, et al. Profiling of behavioral changes and hippocampal gene expression in mice chronically treated with the SSRI paroxetine[J]. Psychopharmacology (Berl), 2008, 200 (4): 557-572

[18] Allaman I, Fiumelli H, Magistretti P J, et al. Fluoxetine regulates the expression of neurotrophic/growth factors and glucose metabolism in astrocytes[J]. Psychopharmacology (Berl), 2011, 216(1): 75-84

[19] Deltheil T, Guiard B P, Cerdan J, et al. Behavioral and serotonergic consequences of decreasing or increasing hippocampus brain-derived neurotrophic factor protein levels in mice [J]. Neuropharmacology, 2008, 55(6): 1006-1014

[20] Shirayama Y, Chen A C, Nakagawa S, et al. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression[J]. J Neurosci, 2002, 22(8): 3251-3261

[21] Paizanis E, Renoir T, Lelievre V, et al. Behavioural and neuroplastic effects of the new-generation antidepressant agomelatine compared to fluoxetine in glucocorticoid receptor-impaired mice [J]. Int J Neuropsychopharmacol, 2010, 13(6): 759-774

(上接第 3048 页)

[19] Hsu TI, Wang YC, Hung CY, et al. Positive feedback regulation between IL10 and EGFR promotes lung cancer formation [J]. Oncotarget, 2016, 7(15): 20840-20854

[20] Huang S, Xie K, Bucana CD, et al. Interleukin 10 suppresses tumor growth and metastasis of human melanoma cells: potential inhibition of angiogenesis[J]. Clin Cancer Res, 1996, 2(12): 1969-1979

[21] Ypsilanti AR, Chedotal A. Roundabout receptors[J]. Adv Neurobiol, 2014, 8: 133-164

[22] Schmid BC, Rezniczek GA, Fabjani G, et al. The neuronal guidance cue Slit2 induces targeted migration and may play a role in brain metastasis of breast cancer cells [J]. Breast Cancer Res Treat, 2007, 106(3): 333-342

[23] Bauer K, Dowejko A, Bosserhoff AK, et al. Slit-2 facilitates interaction of P-cadherin with Robo-3 and inhibits cell migration in an oral squamous cell carcinoma cell line [J]. Carcinogenesis, 2011, 32(6): 935-943

[24] Kim M, Roesener AP, Mendonca PR, et al. Robo1 and Robo2 have distin ct roles in pioneer longitudinal axon guidance [J]. Dev Biol, 2011, 358(1): 181-188