

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.11.006

乳鼠坐骨神经植块法的雪旺氏细胞培养*

高德坤 孙 辉 朱 晋 唐寅达 李世亭[△]

(上海交通大学医学院附属新华医院神经外科 上海 200092)

摘要 目的:改善并建立一种新的大鼠雪旺氏细胞(SCs)的培养方法,为研究外周神经损伤修复模型及其它外周神经相关实验提供高纯度、多数量的 SCs。**方法:**麻醉后显微镜下解剖并分离新生 3 天内 SD 大鼠的坐骨神经,采取植块培养的方法,显微镜下尽量剥除坐骨神经纤维外膜,并梳理松解坐骨神经的神经纤维束。梳理后剪碎坐骨神经,每小块种植于培养皿中,使用纯血清培养 4 小时,再加入正常的 DMEM/F12 培养基,消化培养 2-3 代。最后用 S-100 及 GFAP 免疫荧光染色进行纯度鉴定。**结果:**本实验在总结前人实验的基础上,联合创新采用坐骨神经外膜剥除、神经内膜梳理、纯血清培养以及胰酶差速消化等方法,短时间内获得 SCs 的纯度可达 99% 以上,可用于进一步对雪旺氏细胞的功能进行研究。**结论:**这种选用乳鼠坐骨神经植块、血清培养的方法简单易操作,无需额外的生长因子及抑制因子,可在短期内获得大量高纯度的 SCs。

关键词:SCs;新生鼠坐骨神经;血清培养;植块法培养

中图分类号:R-33; Q343.6; R651.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)11-2028-04

Culture of Schwann Cells from Sciatic Nerve of Newborn Rat *in Vitro* *

GAO De-kun, SUN Hui, ZHU Jin, TANG Yin-da, LI Shi-ting[△]

(Department of Neurosurgery, Xinhua Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai, 200092, China)

ABSTRACT Objective: To improve and establish a new culture method of Schwann cells (SCs), and to provide a high purity and majority of Schwann cells for the study of peripheral nerve injury and other relative researches. **Methods:** Newborn 3 days SD rat sciatic nerve were dissected and isolated under anaesthesia, taking the method of block culture to microscopic stripe of epineurium and comb endoneurium. After cutting, the explants were cultured in pure serum for 4 hours, and then added normal DMEM/F12 medium to culture. After 2-3 generations of digest and culture, finally, S-100 and GFAP immunohistochemistry were used to determine the purity. **Results:** The purity of Schwann cells was above 99 % after sciatic nerve explant and serum culture. **Conclusions:** This method is simple and easy to operate, and it can obtain a large number of Schwann cells in a short time without additional growth factors and inhibitors.

Key words: Schwann cells; Neonatal rat sciatic nerve; Serum culture; Explant culture

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q343.6; R651.3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)11-2028-04

前言

雪旺氏细胞(SCs)是外周神经系统的基本胶质细胞,在外周神经的发育形成及神经冲动传导过程中发挥重要的作用。各种因素导致外周神经损伤时,SCs 发挥着重要的作用^[1-2],如糖尿病和肿瘤^[3-5]。目前对 SCs 的研究十分有限,进一步的研究亟需进行,其中雪旺氏细胞的提取是研究雪旺氏细胞功能至关重要的一步。SCs 的体外培养是从本世纪初开始兴起的技术,当前雪旺氏细胞的提取大致分为二类,一类是通过外周神经(多为坐骨神经)提取,另一类是经组织提取或者干细胞诱导分化^[6,7]。组织中存在的神经多为神经末梢,包绕神经的雪旺氏细胞含量极低,因而限制了该方法的普及。干细胞诱导分化是近年来新兴的方法,但是干细胞的生存条件比一般细胞更为苛刻,且诱导分化过程存在诸多的不可控性,一般采用干细胞与雪旺氏细胞共培养的方法诱导干细胞分化为雪旺氏细胞系,故该方

法仍需进一步探索。通过外周神经雪旺氏细胞是经典的方法,其步骤包含外周神经块的获取,胰酶的消化,以及进一步的分离纯化,该方法获得雪旺氏细胞的周期较长,细胞的纯度也较低,因而 SCs 快速简便的提取方法亟需改进。本文作者综合分析了以往细胞的培养方法,并进行了创新优化,得到一种简易的、稳定的、高纯度多产的 SCs 培养方法。

1 材料和方法

1.1 动物和材料

SD 新生鼠由上海交通大学附属新华医院实验动物中心提供。胎牛血清购自 Gibco 公司;PBST、DAPI、抗荧光淬灭剂、CCK8 试剂盒及 0.25 %胰酶 Trypsin 购自中国碧云天公司;细胞培养箱购自 Thermo 公司;PS(青霉素+链霉素)、盖玻片、载玻片购自生工;DMEM/F-12、6 cm 皿、10 cm 皿、6 孔板购自 Hyclon 公司;S-100 抗体购自美国 Abcam 公司;GFAP 抗体购自

* 基金项目:国家自然科学基金项目(8167050708);上海交通大学“医工交叉研究基金”重点项目(YG2016ZD11)

作者简介:高德坤(1994-),硕士研究生,主要研究方向:神经生物学,E-mail: gaodekun1994113@163.com

[△] 通讯作者:李世亭(1967-),博士生导师,教授,主要研究方向:面肌痉挛及其发病机制,E-mail: lishiting@xinhua.com.cn

(收稿日期:2017-12-03 接受日期:2018-01-05)

武汉博仕特生物公司;二抗购自美国 Jackson 公司;光学显微镜、荧光显微镜购自 Leica 公司;全自动酶标仪(BIO-RAD550)购自美国 bio-rad 公司。

1.2 方法

1.2.1 雪旺氏细胞培养步骤 取生后 3 天内 SD 大鼠,酒精浸泡消毒,断头处死,超净工作台内显微镜下取双侧坐骨神经,置于含 1 %双抗的 DPBS 中。离体坐骨神经外膜及神经束膜均含有大量的成纤维细胞,取材完毕后,显微镜下仔细剥除坐骨神经的神经外膜,并用极细的显微镊梳理神经束,尽量分开神经束膜,使得神经束膜内的神经纤维束暴露,以利于雪旺氏细胞的长出。DPBS 清洗 3 遍后用眼科剪将其剪成尽可能小的碎块。尽量除去碎块上的 DPBS,利用碎块与六孔板底表面张力使碎块仅仅贴附在板底,每孔 5-8 个小块,间隔 5 mm 左右。植块完毕后加入纯的 FBS 至淹没碎块,注意此时的植块应牢固贴在板底,不应悬浮在血清中,接着将细胞放在 5 %的 CO₂ 培养箱中培养四小时,再加入含 10 % FBS、1 % PS 的 DMEM/F-12 培养基继续培养。每天观察细胞的生长情况。当细胞从 6 孔板中的碎块中长出至贴近融合时(3-5 天),利用雪旺氏细胞和成纤维细胞贴壁强弱的差异,用 0.25%胰酶消化(约 8 min)离心并重悬铺板于 10 cm 培养皿中,使其继续生长。每 2-3 天换液一次,细胞长至约 80 %融合度是继续消化传代培养,第二次及以后消化时间约 3 min。取前 6 代的细胞进行鉴定及相关功能学实验。

1.2.2 雪旺氏细胞免疫荧光细胞 S-100、GFAP 染色 取第三

代培养的 SCs 爬片,细胞贴壁后 4 %多聚甲醛固定 15 min;PBS 清洗后用 0.25 % Triton 通透细胞 10 min;PBS 清洗后用含 5 % 二抗同种属血清的 PBST 封闭半小时;分别加入 S-100 抗体(1:500)、GFAP 抗体(1:250),室温孵育 1 h;PBS 清洗三次,加入二抗(1:750)室温避光孵育 1 h;PBS 冲洗后加入 DAPI(1:50)避光孵育 5 min;PBS 再次冲洗后加入抗荧光淬灭剂,封片。荧光显微镜下观察拍照。

1.2.3 雪旺氏细胞增殖活力检测 采用 CCK 8 细胞增殖试剂盒检测。取第三代或之后的细胞铺板于 96 孔板中,1000 cell/孔。细胞贴壁后换液以去除未贴壁的细胞,在第 24 h、48 h、72 h 分别向每孔加入 10 μ L CCK 8 试剂,细胞培养箱孵育二小时后测 450 nm 处的吸光值。将获得的吸光值绘制成柱形图。

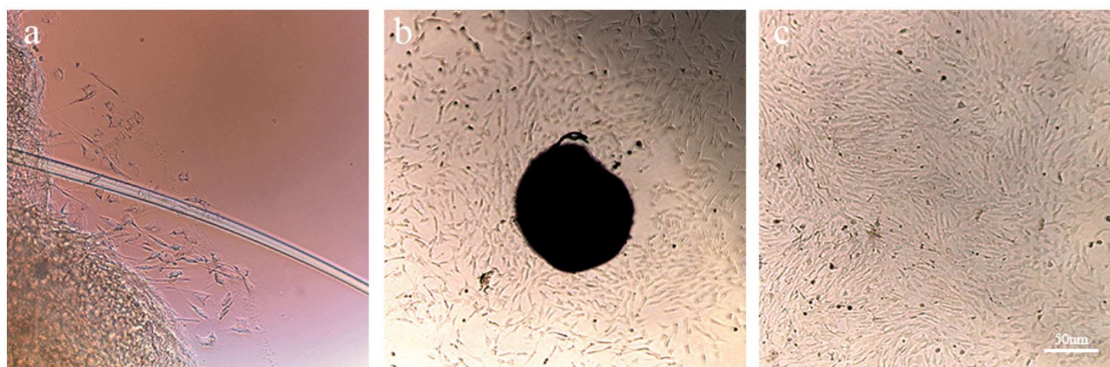
1.3 统计学分析

每组数据来自 3 次独立的实验,以均值 $\pm$ 标准差表示,差异比较采用单因素方差分析,采用 GraphPad Prism 7 软件进行统计学分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 雪旺氏细胞倒置显微镜下分析

倒置显微镜下细胞形态分析观察,可见坐骨神经碎块的边缘逐渐有细胞爬出。第一代原始培养的 SCs 极性较明显,细胞呈梭形,细长,两尖端指向同一方向,核呈卵圆形。间或有少量的成纤维细胞,细胞扁平,形状不规则,无明显极性。差速消化传代 2 代后成纤维细胞基本消失(图 1)。



40 $\times$

图 1 SCs 从组织块中爬出

a: 植块 24 小时后雪旺氏细胞开始长出, b: 48 小时后细胞明显从组织块中长出,大的黑点为坐骨神经块, c: 72 小时雪旺氏细胞基本长满了培养皿底面

Fig.1 Schwann cells grow from the explant

a: the schwann cells begin to grow after 24 hours, b: the schwann cells grow significantly from tissue block after 48 hours, large black spot refers to sciatic nerve block, c: the schwann cells filled with petri dish bottom

2.2 雪旺氏细胞免疫荧光纯度鉴定

传代至第三代的 SCs 爬片行 S-100、GFAP 免疫荧光鉴定,细胞核 DAPI 染色成蓝色,S-100、GFAP 在细胞质中染色呈绿色,二者合成显示 SCs 的纯度达 100%(图 2)。

2.3 雪旺氏细胞增殖检测

细胞铺板 24 小时后,细胞基本贴壁,此时给各孔的细胞进行换液,分别在换液 24 h、48 h、72 h 在培养孔中加入 CCK 8 试

剂测定吸光度,可见吸光度由平均 0.5 上升为 0.7 再到 0.9,存在明显的统计学差异。吸光度的变化间接反应雪旺氏细胞的增殖,该上升曲线说明雪旺氏细胞增殖活跃(图 3)。

3 讨论

雪旺氏细胞是周围神经系统的神经胶质细胞,其功能在于支持神经元。雪旺氏细胞包绕运动和感觉神经形成有髓或无髓

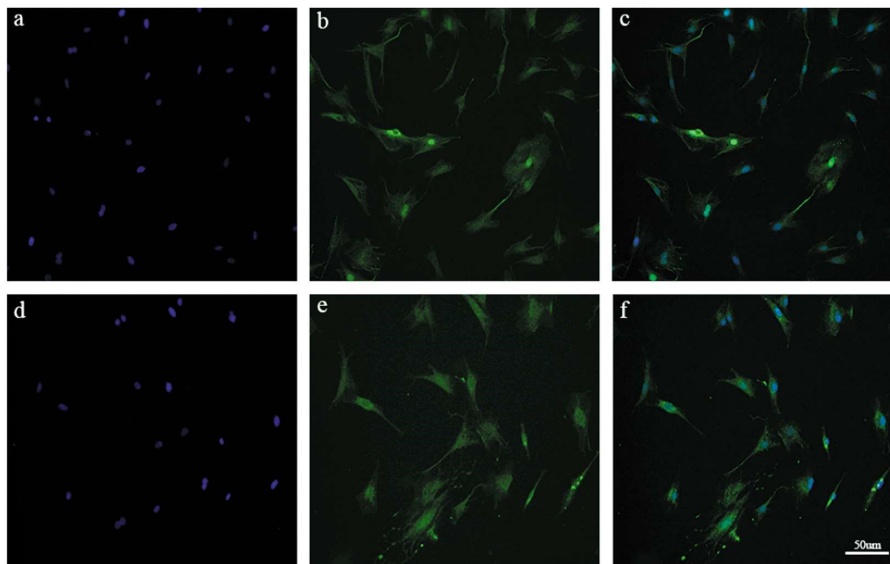


图 2 SCs 的免疫荧光鉴定:a、d 为 DAPI 染色,b、e 分别为 S-100 和 GFAP 染色,c、f 为二者的合并图。

Fig. 2 Identification of Schwann cells by immunofluorescence: both a and d are DAPI, b and e represent S-100 and GFAP, c and f are merged pictures

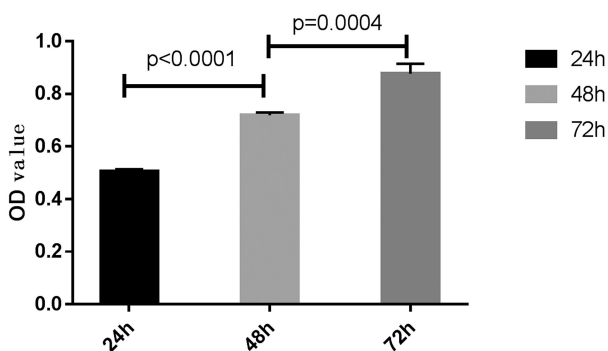


图 3 SCs 增殖图

Fig. 3 The diagram of cell proliferation

Note: Data are expressed as $\bar{x} \pm SD$.

神经纤维,确保神经冲动的正确传导。此外,雪旺氏细胞通过产生神经营养因子,如脑源性神经营养因子(BDNF)、神经胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)、睫状神经营养因子(CNTF)和神经养因子 3、4/5 和 6 (NT-3, NT-4/5, NT-6)等多种生长因子^[8-12],促进神经的营养以及再生修复。

病理情况下的神经系统疾病往往伴随着雪旺氏细胞的再生修复障碍,如多发性硬化,其特点是炎症活动导致包裹轴突的髓鞘被破坏^[13]。另外,引起外周神经病变的格林-巴利综合征,一般包括两种不同的临床病理类型:急性炎症脱髓鞘神经病变 (AIDP),急性运动或运动和感觉轴神经病变(AM-SAN)。其中 AIDP 的特点在周围神经系统中分布有脱髓鞘病灶,而在 AMSAN 这种病变尤其突出分布于脊神经根。对于 AIDP 来说,最重要的原因可能是免疫系统对包裹神经纤维髓鞘的免疫攻击,而在 AMSAN 中可能是一个抗体介导的对轴突的攻击^[14]。神经损伤的研究过程中发现,周围神经损伤发生频率较高,占有创伤性伤害的 3 %^[15]。在大多数情况下,由于神经的自我再生能力差,手术干预是必要的,然而这又是耗时且不完全的,如 Griffin MF 所述^[16],手术干预可能会导致更多的神经功能以及其他功能损害,所以手术治疗神经损伤不是首

选。目前较好的神经损伤治疗方法是自体移植,但存在诸多局限性,如供体资源的短缺以及这种侵入性治疗对捐赠者身体部分功能的不利影响^[17]。所以研究雪旺氏细胞的功能以及探索其在神经损伤修复中的作用是强烈推荐的^[18]。当前认为雪旺氏细胞在周围神经的再生中担任着一个重要的角色^[19],周围神经损伤后,SCs 通过帮助受损轴突的清除以及为神经再生提供物质支持创造了一个合适的轴突生长环境。

据报道雪旺氏细胞缓慢的生长速度是再生医学应用过程中的主要限制之一^[20],因而提升雪旺氏细胞的扩散能力对于构建组织工程神经非常重要,目前已有针对雪旺氏细胞的研究发现白介素 1 β 和丹参酮 IIA 能明显促进细胞的增殖^[21,22]。虽然这些药物能够促进细胞的增殖,但细胞的增殖周期仍有一定的限制,难以得到大量的雪旺氏细胞,因而急需一种方法能够在短时间内获得大量的雪旺氏细胞,其中原代雪旺氏细胞的培养是重要的途径之一。

传统的雪旺氏细胞培养方法主要包括植块法、酶消化法、加入细胞因子培养法^[23-27]。新兴的雪旺氏细胞培养有骨髓间充质干细胞诱导分化^[28,29]、皮肤雪旺氏前体细胞提取^[30]等方法。虽然这些新的技术方法不断出现,但得到的细胞功能仍与原代提取的细胞存在差异,且操作过程十分复杂。同时原代细胞易污染等问题不可避免,这促使了传统雪旺氏细胞培养方法的进一步完善。本作者总结了前人在细胞培养过程中的经验:先前的细胞提取方法是利用成纤维细胞和雪旺氏细胞贴壁及增殖能力存在差异这一特点,在培养液中加入阿糖胞苷抑制成纤维细胞增殖,加入 forskolin 激活细胞内腺苷酸环化酶,促进雪旺氏细胞有丝分裂进而加快细胞增殖。虽然这能增加雪旺氏细胞的纯度,但阿糖胞苷和 forskolin 并非单一作用于一种细胞,雪旺氏细胞和成纤维细胞同时受到影响,最终使得整个细胞增殖周期延长,雪旺氏细胞的绝对数量也相应减少。本人改进了细胞提取的实验方法,在取得坐骨神经后剥除了坐骨神经的神经外膜,同时梳理并分离神经束膜,剪碎坐骨神经植块后联合采取纯血清短时间培养及胰酶差速消化这二种方法,最终可在短时

间内获得大量高纯度的雪旺氏细胞。该方法避免了购买成本昂贵的细胞因子以及繁琐的操作步骤,大大缩短了细胞增殖的时间,明显地提高了细胞的纯度和产量。

该雪旺氏细胞提取方法,植块神经外膜的剥除是雪旺氏细胞提取的基础,梳理神经束膜是关键的一步,纯血清培养以及胰酶差速消化这些步骤在增加雪旺氏细胞的数量和速度中尤为重要。坐骨神经植块剪碎在纯血清培养一段时间后,植块能牢固贴在培养皿中,雪旺氏细胞能很快从植块中“爬”出,而且成纤维细胞的数量极少。可能的原因是纯血清中含有足量的细胞因子及特殊血清成分,这些成分能够明显增加“爬”出来细胞的贴壁能力,在这种情况下促进雪旺氏细胞增殖,抑制成纤维细胞的长出,这点从第一次植块胰酶消化需要的时间明显长于传代细胞消化所需的时间可以看出。一般的原代细胞培养过程需要多聚赖氨酸包被培养皿,该改进的实验操作方法免去了此项预处理,简化了步骤,节约了成本。

综上,联合采用坐骨神经外膜剥除、神经内膜梳理、纯血清培养以及胰酶差速消化等方法,使得该细胞提取方法得到的雪旺氏细胞几乎不含成纤维细胞,短时间雪旺氏细胞获得量大、纯度高。且操作方法简单易行,能大大节省成本并缩短提取雪旺氏细胞的时间,为更好地研究神经科学的基础与临床搭建了新的桥梁,故该方法简便可行值得进一步推广。

参考文献(References)

- [1] Carr MJ, AP Johnston. Schwann cells as drivers of tissue repair and regeneration[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2017, 47: 52-57
- [2] Jessen KR, R Mirsky. The repair Schwann cell and its function in regenerating nerves[J]. *J Physiol*, 2016, 594(13): 3521-3531
- [3] Goncalves NP, Vaegter CB, Andersen H, et al. Schwann cell interactions with axons and microvessels in diabetic neuropathy[J]. *Nat Rev Neurol*, 2017, 13(3): 135-147
- [4] Bunimovich YL, Keskinov AA, Shurin GV, et al. Schwann cells: a new player in the tumor microenvironment [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2017, 66(8): 959-968
- [5] Deborde S, RJ Wong. How Schwann cells facilitate cancer progression in nerves[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2017 [Epub ahead of print]
- [6] Sango K, Watabe K. Immortalized adult rodent Schwann cells as useful tools for the study of peripheral nerve regeneration [J]. *Rinsho Shinkeigaku*, 2013, 53(11): 1117-1119
- [7] Stratton JA, Kumar R, Sinha S, et al. Purification and Characterization of Schwann Cells from Adult Human Skin and Nerve [J]. *eNeuro*, 2017, 4(3)[Epub ahead of print]
- [8] Tofaris GK, Patterson PH, Jessen KR, et al. Denervated Schwann cells attract macrophages by secretion of leukemia inhibitory factor (LIF) and monocyte chemoattractant protein-1 in a process regulated by interleukin-6 and LIF[J]. *J Neurosci*, 2012, 22: 6696-6703
- [9] Mortimer AE, Faroni A, Kilic MA, et al. Maintenance of a Schwann-Like Phenotype in Differentiated Adipose-Derived Stem Cells Requires the Synergistic Action of Multiple Growth Factors[J]. *Stem Cells*, 2017[Epub ahead of print]
- [10] Hoyng S. A comparative morphological, electrophysiological and functional analysis of axon regeneration through peripheral nerve autografts genetically modified to overexpress BDNF, CNTF, GDNF, NGF, NT3 or VEGF[J]. *Exp Neurol*, 2014, 261(8): 578-593
- [11] Hsu MN. Adipose-derived stem cell sheets functionalized by hybrid baculovirus for prolonged GDNF expression and improved nerve regeneration[J]. *Biomaterials*, 2017, 140: 189-200
- [12] Zhang L. Sustained Local Release of NGF from a Chitosan-Sericin Composite Scaffold for Treating Chronic Nerve Compression. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(4): 3432-3444
- [13] Plemel JR, WQ Liu et al. Remyelination therapies: a new direction and challenge in multiple sclerosis[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(9): 617-634
- [14] Nakano Y, T Kanda. Pathology of the Peripheral Nervous System in Guillain-Barre Syndrome[J]. *Brain Nerve*, 2015. 67(11): 1329-1339
- [15] Evans GR. Peripheral nerve injury: A review and approach to tissue engineered constructs[J]. *Anat Rec*, 2001, 263: 396-404
- [16] Griffin MF, Malahias M, Hindocha S et al. Peripheral nerve injury: Principles for repair and regeneration [J]. *Open Orthop J*, 2014, 8: 199-203
- [17] Schmitt CE, Leach JB. Neural tissue engineering: Strategies for repair and regeneration[J]. *Annu Rev Biomed Eng*, 2013, 5: 293-347
- [18] Pfister BJ, Gordon T, Loverde JR, et al. Biomedical engineering strategies for peripheral nerve repair: Surgical applications, state of the art, and future challenges [J]. *Crit Rev Biomed Eng*, 2014, 39: 81-124
- [19] Ide C, Yokota. Schwann cell basal lamina and nerve regeneration[J]. *Brain Res*, 1983, 288: 61-75
- [20] Faroni A, Rothwell SW, Grolla AA et al. Differentiation of adipose-derived stem cells into Schwann cell phenotype induces expression of P2X receptors that control cell death[J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e743
- [21] Temporin K, Tanaka H, Kuroda Y, et al. Interleukin-1 beta promotes sensory nerve regeneration after sciatic nerve injury[J]. *Neurosci Lett*, 2008, 440: 130-133
- [22] Shen JL, Chen YS, Lin JY, et al. Neuron regeneration and proliferation effects of danshen and tanshinone IIA [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016: 378907
- [23] 温凤金, 洪楷, 翁惠兰, 等. 体外培养 SCs 三种方法的比较[J]. *中国实用医药杂志*, 2007, 2(9): 82-83
- [23] Wen Feng-jin, Hong Kai, Wev Hui-lan, et al. The compare of three methods of culturing schwann cells in vitro [J]. *China Prac Med*, 2007, 2(9): 82-83
- [24] 何金, 李锋, 丁文龙. SCs 体外培养不同方法的比较 [J]. *解剖学杂志*, 2006, 29(3): 384-386
- [24] He Jing, Li Feng, Ding Wen-long. The compare of different methods of culturing schwann cells in vitro [J]. *Chinese Journal of Anatomy*, 2006, 29(3): 384-386
- [25] Guenard V. Syngenic Schwann cells derived from adult nerves seeded in semipermeable guidance channels enhance peripheral nerve regeneration[J]. *J Neurosci*, 1992, 12(9): 3310-3320
- [26] Honkanen H, Lahti O, Nissinen M, et al. Isolation, purification and expansion of myelination-competent, neonatal mouse Schwann cells [J]. *Eur J Neurosci*, 2013, 26(4): 953-964
- [27] 万虹, 孙梅珍, 张亚卓, 等. 雪旺氏细胞培养方法的比较[J]. *中华危重症医学*, 2001, 13(9): 530-532

参 考 文 献(References)

- [1] Dai D F, Hsieh E J, Liu Y, et al. Mitochondrial proteome remodelling in pressure overload-induced heart failure: the role of mitochondrial oxidative stress[J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 93(1): 79-88
- [2] Ong S B, Kalkhoran S B, Hernandez-Resendiz S, et al. Mitochondrial-Shaping Proteins in Cardiac Health and Disease - the Long and the Short of It![J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2017, 31(1): 87-107
- [3] Wai T, Garcia-Prieto J, Baker M J, et al. Imbalanced OPA1 processing and mitochondrial fragmentation cause heart failure in mice [J]. *Science*, 2015, 350(6265): d1116
- [4] Stanley W C, Dabkowski E R, Ribeiro R J, et al. Dietary fat and heart failure: moving from lipotoxicity to lipoprotection[J]. *Circ Res*, 2012, 110(5): 764-776
- [5] Fenzl M, Schnizer W, Aebli N, et al. Release of ANP and fat oxidation in overweight persons during aerobic exercise in water[J]. *Int J Sports Med*, 2013, 34(9): 795-799
- [6] Koitabashi N, Danner T, Zaiman A L, et al. Pivotal role of cardiomyocyte TGF-beta signaling in the murine pathological response to sustained pressure overload [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(6): 2301-2312
- [7] Koitabashi N, Danner T, Zaiman A L, et al. Pivotal role of cardiomyocyte TGF-beta signaling in the murine pathological response to sustained pressure overload [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(6): 2301-2312
- [8] Wang X, Zhang X, Wu D, et al. Mitochondrial flashes regulate ATP homeostasis in the heart[J]. *Elife*, 2017, 6
- [9] Brown D A, Perry J B, Allen M E, et al. Expert consensus document: Mitochondrial function as a therapeutic target in heart failure [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2017, 14(4): 238-250
- [10] Lopaschuk G D, Ussher J R, Folmes C D, et al. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease [J]. *Physiol Rev*, 2010, 90(1): 207-258
- [11] Li T, Xu J, Qin X, et al. Glucose oxidation positively regulates glucose uptake and improves cardiac function recovery after myocardial reperfusion [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2017, 313(5): E577-E585
- [12] Fillmore N, Mori J, Lopaschuk G D. Mitochondrial fatty acid oxidation alterations in heart failure, ischaemic heart disease and diabetic cardiomyopathy[J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171(8): 2080-2090
- [13] Rennison J H, McElfresh T A, Okere I C, et al. High-fat diet postinfarction enhances mitochondrial function and does not exacerbate left ventricular dysfunction [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 292(3): H1498-H1506
- [14] Duda M K, O'Shea K M, Lei B, et al. Low-carbohydrate/high-fat diet attenuates pressure overload-induced ventricular remodeling and dysfunction[J]. *J Card Fail*, 2008, 14(4): 327-335
- [15] Okere I C, Young M E, McElfresh T A, et al. Low carbohydrate/high-fat diet attenuates cardiac hypertrophy, remodeling, and altered gene expression in hypertension[J]. *Hypertension*, 2006, 48(6): 1116-1123
- [16] Nan J, Zhu W, Rahman M S, et al. Molecular regulation of mitochondrial dynamics in cardiac disease[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1864(7): 1260-1273
- [17] Ong S B, Hausenloy D J. Mitochondrial Dynamics as a Therapeutic Target for Treating Cardiac Diseases[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2017, 240: 251-279
- [18] Dai D F, Hsieh E J, Liu Y, et al. Mitochondrial proteome remodelling in pressure overload-induced heart failure: the role of mitochondrial oxidative stress[J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 93(1): 79-88
- [19] Weber W, Fischli W, Hochuli E, et al. Anantin--a peptide antagonist of the atrial natriuretic factor (ANF). I. Producing organism, fermentation, isolation and biological activity [J]. *J Antibiot (Tokyo)*, 1991, 44(2): 164-171
- [20] Abdurrachim D, Luiken J J, Nicolay K, et al. Good and bad consequences of altered fatty acid metabolism in heart failure: evidence from mouse models[J]. *Cardiovasc Res*, 2015, 106(2): 194-205
- (上接第 2031 页)
- Wan Hong, Sun Mei-zhen, Zhang Ya-zhuo, et al. Comparion of Schwann cell culture methods in vitro [J]. *Chinese Critical Care Medicine*, 2001, 13(9): 530-532
- [28] 王涛, 杨川. 骨髓基质细胞诱导为雪旺细胞修复周围神经缺损[J]. *中国临床康复*, 2003, 7(4): 580-581
- Wang Tao, Yang Chuan. Bone marrow stroma cells differentiates into Schwann cells for regeneration of peripheral nerve [J]. *Chinese Journal of Clinical Rehabilitation*, 2003, 7(4): 580-581
- [29] Kanekiyo K, Wakabayashi T, Nakano N, et al. Effects of Intrathecal Injection of the Conditioned Medium from Bone Marrow Stromal Cells on Spinal Cord Injury in Rats [J]. *J Neurotrauma*, 2017, [Epub ahead of print]
- [30] May Z, Kumar R, Fuhrmann T. Adult skin-derived precursor Schwann cell grafts form growths in the injured spinal cord of Fischer rats[J]. *Biomed Mater*, 2017 [Epub ahead of print]