

自组装 IKVAV 多肽纳米纤维支架凝胶及其对嗅鞘细胞的作用

徐会法, 邵增务, 吴永超, 邓超, 俞旭东, 丁凡, 张保龙, 徐蔚蔚

华中科技大学同济医学院附属协和医院骨科, 武汉 430022

摘要: 旨在观察自组装 IKVAV 多肽纳米纤维支架凝胶对鼠嗅鞘细胞(OECs)的作用。通过调整 IKVAV 溶液 pH 值并加入培养液触发多肽自组装为支架凝胶, 用原子力显微镜检测 IKVAV 分子可以自组装成编织状纳米纤维(直径为 3~5 nm)。采用原代分离培养方法获得 OECs 单细胞悬液后, 使用差速贴壁法两次纯化 OECs 且在第 12 天通过免疫染色计数 OECs 纯度为 85%。将 IKVAV 多肽纳米纤维支架凝胶与 OECs 复合培养, 倒置显微镜下观察 OECs 生长良好, Calcein-AM/PI 活、死细胞染色表明活细胞数达 95%。CCK-8 法间接细胞计数证实 IKVAV 多肽可促进 OECs 的黏附, 对 OECs 增殖没有影响。由此可见 IKVAV 多肽可以自组装成纳米纤维支架凝胶且对 OECs 有良好的生物相容性及黏附作用, 可作为神经组织工程支架材料。

关键词: 纳米纤维, 组织工程, 自组装, 嗅鞘细胞

Effects of self-assembled IKVAV peptide nanofibers on olfactory ensheathing cells

Huifa Xu, Zengwu Shao, Yongchao Wu, Chao Deng, Xudong Yu, Fan Ding, Baolong Zhang, and Weiwei Xu

Department of Orthopaedics, Union Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

Abstract: We observed the effects of IKVAV self-assembling peptide nanofiber scaffold (SAPNS) on olfactory ensheathing cells (OECs). The IKVAV molecules were triggered to self-assemble to interconnected nanofibers hydrogel by adjusting pH of solution and adding of DMEM/F12 culture medium. Atomic Force Microscopy (AFM) showed that self-assembly hydrogel was consisted of the interconnected nanofibers, which varied from three nm to five nm in diameter and hundreds nanometer in length. The primary OECs were isolated from rat olfactory bulb and purified by differential adhesion twice. At days 12, the purity of OECs was 85% according to immunostaining of P⁷⁵ NGFR antibody. OECs were cultured with IKVAV peptide. The adhesion, viability and proliferation of OECs were observed with inverted microscope, Calcein-AM /PI staining and Cell Counting Kit-8. OECs cultured on IKVAV SAPNS grew well and the viable cell count was 95%. IKVAV SAPNS can promote the adhesion of OECs and did no hinder the proliferation of OECs. IKVAV SAPNS nanofiber gel has good biocompatibility and bioactivity for OECs. It can serve as a good nerve tissue engineering scaffold.

Keywords: nanofiber, tissue engineering, self-assembly, olfactory ensheathing cells

Received: August 14, 2008; **Accepted:** November 13, 2008

Supported by: the National Natural Science Foundation of China (No. 30500511).

Corresponding author: Yongchao Wu. E-mail: wuyongchao@hotmail.com

国家自然科学基金项目(No. 30500511)资助。

脊髓损伤(Spinal cord injury, SCI)的发病率随着社会的发展而逐年增高, 往往导致大部分肢体瘫痪, 给个人、家庭及社会带来极大痛苦与负担, 因此一直是骨科等研究的重点和难点, 上世纪末兴起的神经组织工程被公认为治疗脊髓损伤非常有前景的方法, 这包括 3 个主要的内容: 种子细胞、支架材料和各种生长因子提供的内环境。传统支架材料普遍存在机械强度高、生物降解性差、降解物具有毒性、易产生免疫反应及无生物学活性等缺点, 限制了它们在中枢神经组织工程的应用^[1], 为此需要寻找一种新的支架材料作为修复载体治疗 SCI。多肽自组装纳米纤维材料因为具有良好的生物相容性和生物活性成为生物支架材料发展的一个非常重要的方向。前期实验设计和合成了层粘连蛋白中的活性多肽片段 IKVAV(Ile-Lys-Val-Ala-Val)的自组装纳米纤维材料^[2], 并证实其对 PC12 细胞和神经干细胞具有良好的生物相容性, 并能促进其粘附和分化^[3-7]。嗅鞘细胞(OECs)也是治疗脊髓损伤最有前景细胞之一。本实验为 OECs 与 IKVAV 多肽纳米纤维支架复合的细胞假体应用于脊髓损伤治疗的可行性提供实验依据。

1 材料和仪器

1 周龄 SPF 级 SD 大鼠(购于华中科技大学同济医学院实验动物中心), IKVAV 多肽两性分子(委托上海波泰生物科技公司合成, 用高效液相色谱仪和质谱仪进行纯化和分析, 相对分子质量为 1351.6, 纯度为 98%), DMEM/F12 培养基, 胎牛血清(Gibco 公司), 多聚赖氨酸(Poly-L-Lysine, PLL), 0.125%胰酶(Sigma 公司), 牛垂体提取液(Bovine pituitary extract BPE, Invitrogen 公司), Forskolin(福斯高林 Sigma 公司)CCK-8 试剂盒(Cell counting kit-8, 上海同仁化学研究所), P⁷⁵ NGFR 抗体, SABC 试剂盒(博士德公司)宝特 Elx-808 酶标仪(Bio-Tek, Elx-808 型, USA), 倒置显微镜(OLYMPUSCKX41-F32FL), 原子力显微镜(Atomic Force Microscopy, JEM-1230)。

2 方法

2.1 IKVAV 活性多肽自组装为纳米纤维支架

取 10 mg 的 IKVAV 两性分子加入 400 μ L 无菌的 0.1 mol/L NaOH 和 400 μ L 双蒸水放置在 37°C、

30 min, 振荡后溶解成为澄清液体, 逐次加入 10 μ L 0.1 mol/L HCl 缓慢调整多肽溶液 pH 值至 8.5, 加入无菌双蒸水使总体积为 1 mL, 浓度为 1% (W/V), 此时可见多肽溶液呈粘稠液态, 取多肽溶液 200 μ L, 加入 200 μ L 含有二价阳离子的 DMEM 细胞培养基溶液引发自组装^[8]。

2.2 组织取材及细胞培养纯化并鉴定

无菌条件下, 取出 10 只 7 d 的 SPF 级 SD 大鼠嗅球, 解剖显微镜下仔细剔除嗅球表面的微血管及软脑膜, 将整个嗅球剪碎至直径 0.5 mm 的组织块, 加入 0.125% 胰蛋白酶 37°C 消化 15 min, 含 10% FBS 的培养液终止消化 10 min, 吹打 20 次至细胞悬液, 1000 r/min 离心 5 min 吸除上清液, 加入培养液(DMEM/F12 培养基, 10% FBS, 牛垂体提取液 20 mg/L, Forskolin 20 μ mol/L)重悬细胞, 小心将细胞悬液转移至培养瓶中, 于 37°C、5% CO₂ 培养箱中培养 20 h 后细胞悬液转移至另一培养瓶中, 重复 1 次。取一块 24 孔板, 在中间 8 孔内每孔放入一块经 PLL 处理的盖玻片, 在每孔内加入约 1 mL 细胞悬液, 细胞浓度为 1×10^5 于 37°C、5% CO₂ 培养箱中培养, 每 3 d 换液, 以观察细胞形态并用 P⁷⁵ NGFR 特异性抗体作免疫组化染色鉴定 OECs 细胞^[9]。

2.3 IKVAV 多肽材料与 OECs 的生物相容性检测

用浓度为 30 mg/L 的多肽溶液包被盖玻片, 放入 24 孔板中, 将 OECs 细胞调整至 5×10^5 /mL, 接种于多肽包被的盖玻片上。同时接种于浓度为 0.1 mg/mL 的多聚赖氨酸包被的盖玻片作为对照, 将培养 7 d 和 12 d 的盖玻片取出, PBS 冲洗 3 次, 加入终浓度为 4 μ mol/L 的 Calcein-AM 和 20 μ mol/L 的 PI 进行活死细胞染色, 37°C 孵育 30 min 后 PBS 冲洗 3 次, 甘油封片, 激光共聚焦显微镜下观察活、死细胞情况。

2.4 IKVAV 多肽对 OECs 的毒性和增殖的影响

取 2 块 96 孔板, 将细胞悬液接种于板内, 每板接种 60 孔, 每孔 100 μ L 细胞悬液, 置于 37°C、5% CO₂ 及饱和湿度孵育箱中培养, 2 d 后换液。将其分为 6 组, 1 个对照组 5 个实验组, 每组 10 孔, 前 3 孔作空白对照。对照组为 A 组加入不含 IKVAV 多肽的培养液(A 组 DMEM/F12 培养基+10% FBS+牛垂体提取液 20 mg/L+Forskolin 20 μ mol/L)。5 个实验组分别为 B 组、C 组、D 组、E 组和 F 组, 每组加入含不

同浓度的 IKVAV 多肽纳米纤维支架的培养液 (DMEM/ F12 培养基+10% FBS+牛垂体提取液 20 mg/L +Forskolin 20 $\mu\text{mol/L}$ +IKVAV), 其浓度分别为 320、160、80、40 和 20 mg/L。分别于 3 d 和 7 d 取出 1 块 96 孔板, 加入细胞毒性/增殖检测试剂 CCK-8 10 μL , 避光放入 37.0°C 培养箱中培养 4 h, 取出用酶标仪测吸光度值, 激发光波长为 450 nm。

2.5 IKVAV 多肽对 OECs 的粘附率的影响

取 4 块 96 孔板, 分为 1 个对照组(A 组)和 5 个实验组(B、C、D、E 和 F 组), 分别用无菌双蒸水配制浓度为 0、10、20、40、80、160 mg/L 的 IKVAV 两亲性分子, 分别加入到 4 个预先用 PLL 包被的 96 孔板中, 每孔加入 30 μL 不同浓度的 IKVAV 溶液。将 96 孔板放入 37.0°C 温箱中包被过夜, 然后放入超净工作台中吹干。96 孔细胞培养板的每一个孔的底面积为 0.32 cm^2 , 所以 A 至 F 组的培养板中 IKVAV 的密度分别为 0、0.99、1.88、3.76、7.52、15.0 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 用磷酸盐缓冲液洗 96 孔板 3 次, 每次 5 min。用培养液调整细胞浓度为 $6 \times 10^8/\text{L}$, 加入到上述用不同浓度的 IKVAV 包被的 4 个 96 孔细胞培养板, 每孔加入细胞悬液 100 μL , 含有 6×10^4 个细胞。为了计算细胞黏附率并对比 8 h、13 h、18 h 和 23 h 的细胞黏附, 设标准组 1 个(G 组), 在上述 4 个培养板分别取 6 孔, 加入含有 6×10^4 个 OECs 细胞的细胞悬液 100 μL , 标准组含有 100% 的细胞数。将 4 个上述加入 OECs 细胞的培养板放入 37°C、5% CO_2 饱和湿度的培养箱中, 分别培养 8、13、18 和 23 h。8 h 时各实验组和标准组称为 A8、B8、C8、D8、E8、F8 和 G8, 13 h 时各实验组和标准组称为 A13、B13、C13、D13、E13、F13 和 G13, 以此类推。除了标准组(G8、G13、G18 和 G23 组)外, 吸出各组中的细胞培养基, 每孔用磷酸盐缓冲液均匀冲洗孔壁, 然后吸出磷酸盐缓冲液。重复磷酸盐缓冲液冲洗 2 次。OECs 细胞黏附检测: 本实验通过细胞活性检测试剂 CCK-8 间接检测细胞数量, 并计算细胞黏附率。在上述培养液中加入细胞活性检测试剂 CCK-8 溶液, 比例为 10:1。除了标准组外, 每孔中加入上述培养液/CCK-8 溶液 110 μL , 标准组中每孔直接加入纯 CCK-8 溶液 10 μL , 避光放入 37°C 培养箱中培养 4 h 取出用酶标仪读取吸光度值, 激发光波长为 450 nm,

将各实验组的平均值和标准组的平均值相除, 得到各实验组的细胞黏附率。

2.6 统计学处理

全部数据用均数 \pm 标准差表示, 采用 SPSS 13.0 软件对数据进行统计学分析, 两组数据比较采用两独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 表示有显著性差异。

3 结果

3.1 自组装凝胶的鉴定

原子力显微镜观察显示含 IKVAV 活性部位的多肽溶液在 DMEM 触发下自组装为凝胶, 凝胶为编织状纳米纤维, 纤维直径为 3~5 nm, 长度为数百纳米, 纳米纤维之间可交织形成网状结构, 纤维间有较大空隙(图 1)。

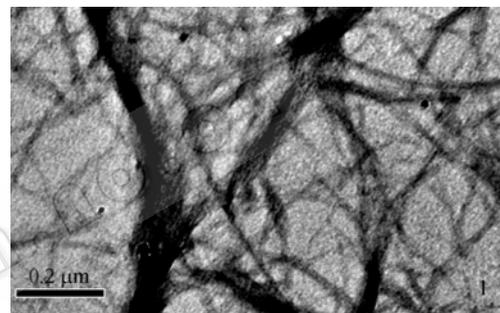


图 1 IKVAV 自组装后原子力显微镜检测 IKVAV 纳米纤维

Fig. 1 Atomic Force Microscopy (AFM) testing of nanofibers. AFM showed that self-assembly hydrogel was consisted of the interconnected nanofibers, which varied from 3 nm to 5 nm in diameter and hundreds nanometer in length. Scale bar=0.2 μm .

3.2 OECs 的形态观察及免疫染色鉴定

种植 24 h 后可见大量细胞存活, 突起短, 胞体大, 散在生长。第 3 天(图 2), 细胞立体感强、透亮, 突起细长轮廓清晰、立体感强, 其中以对称突起的双极细胞为主, 其胞体呈长梭形, 细胞核位于中央亦呈梭形, 三极细胞有 3 个突起, 胞体呈三角形, 细胞核位于中央亦呈梭形, 两者共同的明显特点是突起细长。7 d 时(图 3)OECs 细胞密度增加, 胞体较亮, 其突起为双极或三极, 突起变长; 背底有成纤维细胞存在, 胞体较大、扁平, 其立体感、折光性较差, 至 12 d, 细胞更加密集, 细胞胞体突起呈现平行排列, P^{75} NGFR 免疫细胞化学染色结果(图 4)OECs 纯度为 85%。



图 2 OECs 纯化后 3 d 倒置显微镜观察($\times 200$)

Fig. 2 Inverted Microscopy observation of OECs after three day ($\times 200$). The cells and its slender process have very intense stereoscopic sense.



图 3 OECs 纯化后 7d 倒置显微镜观察($\times 200$)

Fig. 3 Inverted Microscopy observation of OECs at day 7 after purification ($\times 200$). The purified cells displayed the typical spindle-shaped bi- to tripolar morphology of OECs.



图 4 OECs 纯化后 14d P⁷⁵ NGFR DAB 染色($\times 100$)

Fig. 4 Immunocytochemical staining of OECs with anti-NGFR P⁷⁵. On the twelfth day *in vitro*, the cells extended unanimously and grew in parallel directions. The purity of OECs was determined according to immunostaining positively for P⁷⁵ was 85%.

3.3 IKVAV 多肽材料与 OECs 的生物相容性检测

复合培养 7 d 和 12 d 的 OECs 经 Calcein-AM/PI 染色后, 激光共聚焦显微镜下观察发现活细胞发出绿色荧光, 死细胞发出红色荧光, IKVAV 多肽包被的盖玻片与多聚赖氨酸包被的盖玻片活细胞数所占比例均为 95%以上(图 5~8)。

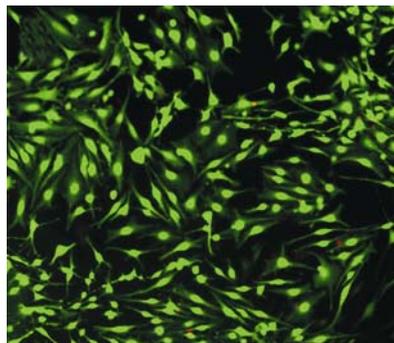


图 5 OECs 与 IKVAV 复合培养 7 d ($\times 100$)

Fig. 5 OECs cultured with IKVAV for 7 days ($\times 100$).

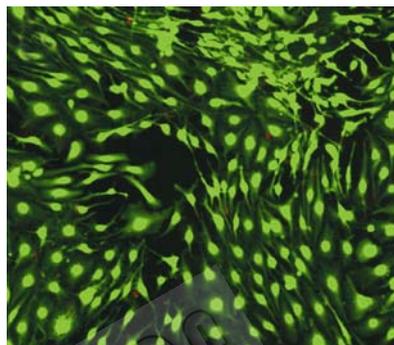


图 6 OECs6 与 PLL 复合培养 7 d ($\times 100$)

Fig. 6 OECs cultured with PLL for 7 days ($\times 100$).

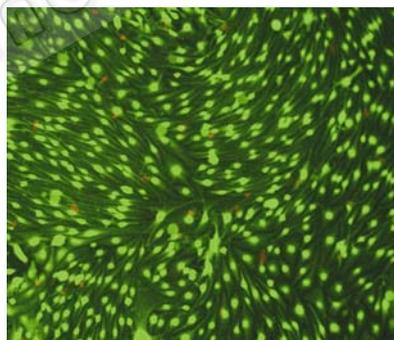


图 7 OECs 与 IKVAV 复合培养 12 d ($\times 100$)

Fig. 7 OECs cultured with IKVAV for 12 days ($\times 100$).

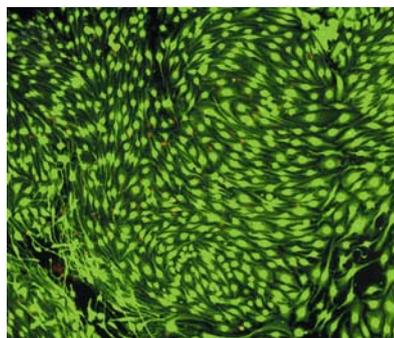


图 8 OECs 与 PLL 复合培养 12 d ($\times 100$)

Fig. 8 OECs cultured with PLL for 12 days ($\times 100$). The cell viabilities in Figs. 5~8 were determined by the calcein-AM/PI double-staining method. The Calcein-AM stained the living cells only (Green), while the PI stained the nucleus of the death cell (Red). At 7 or 12 days, the percentages of living cells in both IKVAV and PLL group are more than 95%.

表 1 各组接种 OECs 3 d, 7 d 的吸光值($n=8$, $\bar{x} \pm s$)Table 1 The mean value of absorbance at 3 and 7 days ($n=8$, mean \pm S.E.M.)

	A Group	B Group	C Group	D Group	E Group	F Group
3 d	0.426 \pm 0.041	0.401 \pm 0.034	0.417 \pm 0.049	0.389 \pm 0.055	0.441 \pm 0.044	0.409 \pm 0.058
7 d	0.903 \pm 0.064	0.887 \pm 0.059	0.873 \pm 0.047	0.905 \pm 0.071	0.896 \pm 0.060	0.900 \pm 0.061

At 3 and 7 days, the mean value of absorbance in each of the experimental group was not significant higher than that in control group (A Group) ($P>0.05$).

3.4 IKVAV 多肽对 OECs 增殖的影响

各组接种 OECs 后分别于 3 d、7 d 加入 CCK-8, 酶标仪测吸光度值结果如表 1 所示, 各组吸光度值差异在两时间点均无统计学意义, 说明上述各浓度的 IKVAV 多肽溶液对 OECs 增殖无毒性作用。

3.5 IKVAV 多肽对 OECs 的粘附率的影响

8 h、13 h 和 18 h 三个时间点 C 组和 A 组相比 P 值均小于 0.05, 具有显著性差异。23 h 时因为细胞黏附率都已大于 60% 各组均无显著性差异。图 9 能很好的说明 20 mg/L 的 IKVAV(C 组)能有效地促进 OECs 的黏附。

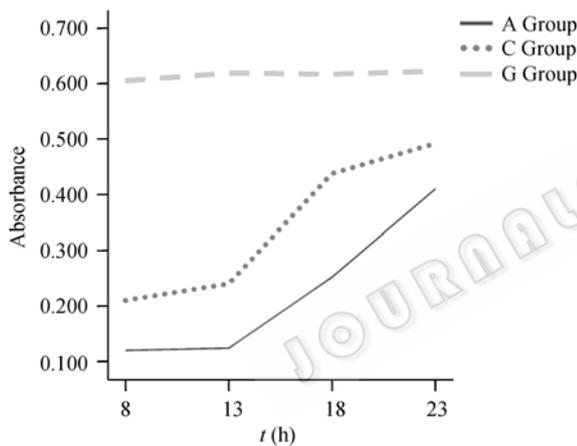


图 9 A、C、G 组各时间点 OECs 的黏附曲线

Fig. 9 A, C, G Group's adhesion curve of OECs at 8, 13, 18, 23 hours. C Group compared with A Group, IKVAV at concentrations of 20 mg/L promoted the adhesion of OECs ($P<0.05$).

3 讨论

本实验中 IKVAV 两亲性分子序列^[6,8]为: $C_{16}H_{31}O-NH-AAAGGGEIKVAV-COOH$, 该序列中 $C_{16}H_{31}O$ 是疏水性的, 使分子聚集, 而且含有长链的烷基尾 $C_{16}H_{31}O$, 该结构可提高肽对氢离子敏感度。烷基尾逐渐缩短到无烷基尾时肽对氢离子触发的自组装能力下降最终不能自组装成凝胶。序列中 A3G3(-AAAGG-)。一方面与烷基起协同效应, 另

一方面使其后部的活性区域 IKVAV 伸出到纤维表面, 从而暴露 IKVAV 的活性区域。E 为亲水性, 使分子离散。当 pH 值 >9 时, 肽带负电荷, 由于静电排斥阻止其自组装, 当 pH 值 <8.5 , 肽负电荷排斥作用消失, 疏水基团聚集。聚集的多肽分子会有规律地自组装, 形成轮辐样结构, 亲水的 C 端 IKVAV 活性多肽位于结构表面, N 端疏水的多肽和烷基链位于结构内部^[12]。同样加入二价阳离子(如 Ca^{2+})后, 带负电荷的肽可通过与阳离子之间的桥梁作用发生聚集, 有利于自组装凝胶形成。该肽在常温下加入 DMEM/F12 后, 在氢离子和二价阳离子的触发下形成疏松质软的凝胶。本实验通过 AFM 观察证实该凝胶材料是编织状纳米纤维, 纤维直径为 3~5 nm, 长度可达到数百纳米, 纤维之间有一定空隙, 可容纳细胞和水分子, 在结构上是一种类似于天然细胞外基质的仿生材料。

本实验将 OECs 种植在 IKVAV 纳米自组装凝胶基质材料上培养, 可见 OECs 生长良好, 分布均匀, 细胞活性良好, 活细胞占细胞总数 95% 以上, 同时 IKVAV 多肽纳米材料对 OECs 的增殖没有抑制作用, 表明 IKVAV 多肽具有良好的生物相容性。

在粘附实验中发现 IKVAV 多肽能够促进 OECs 的粘附, 合适浓度的 IKVAV 的粘附能力强于多聚赖氨酸。现在 IKVAV 材料促进 OECs 黏附的具体机制尚不清楚, 可能其促进 OECs 黏附的作用是 IKVAV 和 OECs 表面表达的层粘连蛋白共同作用的结果, 但是较大浓度的 IKVAV-PA 可能会抑制 OECs 自身层粘连蛋白的表达, 从而降低其黏附性。

理想的脊髓组织工程支架材料应满足以下几个要求: 1) 良好的生物相容性, 在体内不会引起排斥和炎症反应。2) 具有可塑性和三维立体结构, 是高度多孔的类似泡沫状, 具有很大的内表面积。有利于细胞以及相关基质分子的植入和黏附, 同时还有利于细胞营养成分的渗入和代谢产物的排出。3) 具

有良好的表面活性, 能促进细胞的黏附并提供良好的细胞外微环境。4) 具有生物可降解性及适宜的降解速率^[10]。

本实验合成的 IKVAV, 具有以下特性: 1) 位于层粘连蛋白 $\alpha 1$ 链长臂的羧基末端, 是层粘连蛋白的 $\alpha 1$ 链中的核心五肽功能片段, 有很好的生物活性^[11,12]; 2) 无免疫原性; 3) 生物降解性能好, 降解后的产物为氨基酸, 可作为组织修复的原料; 4) 可形成三维的更高级结构如图 10 所示该肽在常温下加入 DMEM/F12 后, 在氢离子和二价阳离子的触发下形成疏松质软的纳米纤维支架凝胶; 5) 具有活性区域, 可作为结合细胞膜表面的配体; 6) 易获取或人工设计; 7) 触发形成凝胶条件简单, 如可为 HCl, 生理盐溶液等; 8) 反应条件简单, 在常温下进行反应, 时间快, 仅需数秒钟即可完成; 9) 肽序列可根据需要进行修改; 10) 对细胞的增殖无毒副作用, 并且能促进细胞的黏附。完全合乎上述要求。

近年来嗅鞘细胞被认为是最有前景在 SCI 治疗取得突破的移植细胞, 因为其具有以下优点: 1) 可以诱导神经轴突的再生和中枢神经轴突的髓鞘再生双重作用, 促进神经功能的恢复^[13]; 2) OECs 移植后所创造的微环境能抑制空洞形成和瘢痕增生, 刺激感觉、运动轴突长入损伤区域, 并且作为一种具有中枢神经系统星形胶质细胞和外周神经系统雪旺氏细胞特性的独特细胞类型, 嗅鞘细胞在正常情况下也存在于中枢神经系统内, 与中枢神经的整合与在其内的迁移是自然的, 也就使得嗅鞘细胞所形成的支架桥梁—神经胶质桥, 能够穿越再生轴突无法通过的胶质瘢痕, 达到相应的靶点, 恢复损伤的神经功能^[14]; 3) 在脊髓实质内迁移的能力^[15]; 4) 嗅鞘细胞在其膜上表达出很多与细胞粘附和轴突生长相关的分子, 如调控嗅神经轴突延长的 L1、PSA-N-CAM、N-CAM、laminin、fibronectin, 促进神经生长因子的分子—源自于胶质细胞的 nexin 和 S100。嗅鞘细胞能分泌大量不同种类的神经营养和支持因子, 如血小板源生长因子、神经肽 Y、S100、神经生长因子、脑源性神经营养因子、神经营养因子—3 和神经营养因子—4 等^[16]为再生神经建立了很好的内环境。

IKVAV 多肽纳米纤维凝胶复合的神经组织工程假体包装 OECs 形成复合体后 OECs 位于 IKVAV 多肽纳米纤维凝胶的空隙内, 移植到损伤脊髓局部后

具有以下作用: 1) 可以防止 OECs 被血流冲散。2) 可以提供相对稳定的内环境以利于 OECs 的生长。3) 纳米纤维可以为 OECs 的突起生长提供支架, 当纳米纤维分解时可以诱导 OECs 的突起向远处生长。4) 合适浓度的 IKVAV 能有效地促进 OECs 的黏附有利于 OECs 的生长。

本实验从细胞移植治疗脊髓损伤的 3 个内容(种子细胞, 支架材料和各种生长因子提供的内环境)出发, 从各个方面为损伤脊髓的修复提供物质基础。纳米纤维凝胶材料 IKVAV 多肽对 OECs 的生物活性没有影响, 并可促进 OECs 的粘附, 是一种优良的神经组织工程支架材料。OECs 与 IKVAV 多肽纳米纤维凝胶复合的神经组织工程假体的形成结合了二者的优点, 并且 OECs 表面表达的分子和分泌的多种因子为神经再生提供了良好的内环境, 所以 OECs 与 IKVAV 多肽纳米纤维凝胶复合的神经组织工程假体在脊髓损伤的治疗应用中必将有广阔的应用前景。

REFERENCES

- [1] Nomura H, Tator CH, Shoichet MS. Bioengineered strategies for spinal cord repair. *J Neurotrauma*, 2006, **23**(3-4): 496–507.
 - [2] Tysseling-Mattiace VM, Sahni V, Niece KL, *et al.* Self-assembling nanofibers inhibit glial scar formation and promote axon elongation after spinal cord injury. *J Neurosci*, 2008, **28**(14): 3814–3823.
 - [3] Anderson DG, Burdick JA, Langer R. Materials science. Smart biomaterials. *Science*, 2004, **305**(5692): 1923–1924.
 - [4] Saha K, Irwin EF, Kozhukh J, *et al.* Biomimetic interfacial interpenetrating polymer networks control neural stem cell behavior. *J Biomed Mater Res A*, 2007, **81**(1): 240–249.
 - [5] Heller DA, Garga V, Kelleher KJ, *et al.* Patterned networks of mouse hippocampal neurons on peptide-coated gold surfaces. *Biomaterials*, 2005, **26**(8): 883–889.
 - [6] Niece KL, Hartgerink JD, Donners JJ, *et al.* Self-assembly combining two bioactive peptide-amphiphile molecules into nanofibers by electrostatic attraction. *J Am Chem Soc*, 2003, **125**(24): 7146–7147.
 - [7] Wei YT, Tian WM, Yu X, *et al.* Hyaluronic acid hydrogels with IKVAV peptides for tissue repair and axonal regeneration in an injured rat brain. *Biomed Mater*, 2007, **2**(3): S142–S146.
 - [8] Wu YC, Zheng QX, Wu B. *et al.* Self-assembled IKVAV nanofibers and its effects on neural stem cells. *Chin J Exp Surg*, 2006, **23** (11): 1398–1400.
- 吴永超, 郑启新, 吴斌, 等. 异亮氨酸-赖氨酸-缬氨酸-

- 丙氨酸-缬氨酸多肽纳米纤维对神经干细胞生物学行为的影响. 中华实验外科杂志, 2006, **23**(11): 1398-1400.
- [9] Hu ZJ, Ma YH, Zhou CJ, *et al.* Morphology and phenotype of rat olfactory ensheathing cells harvested by enzyme digestion. *Chin J Clin Rehabil Tissue Eng Res*, 2007, **11**(20): 3892-3895.
胡志俊, 马迎辉, 周重建, 等. 酶消化法体外分离培养的大鼠嗅鞘细胞形态及表型特征. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, **11**(20): 3892-3895.
- [10] Hurtado A, Moon LD, Maquet V, *et al.* Poly (D,L-lactic acid) macroporous guidance scaffolds seeded with Schwann cells genetically modified to secrete a bi-functional neurotrophin implanted in the completely transected adult rat thoracic spinal cord. *Biomaterials*, 2006, **27**(3): 430-442.
- [11] Almiñana N, Grau-Oliete MR, Reig F, *et al.* *In vitro* effects of SIKVAV retro and retro-enantio analogues on tumor metastatic events. *Peptides*. 2004, **25**(2): 251-259.
- [12] Silva GA, Czeisler C, Niece KL, *et al.* Selective differentiation of neural progenitor cells by high-epitope density nanofibers. *Science*, 2004, **303**(5662): 1352-1355.
- [13] Kubasak MD, Jindrich DL, Zhong H, *et al.* OEG implantation and step training enhance hindlimb-stepping ability in adult spinal transected rats. *Brain*, 2008, **131**(Pt 1): 264-276.
- [14] Dombrowski MA, Sasaki M, Lankford KL, *et al.* Myelination and nodal formation of regenerated peripheral nerve fibers following transplantation of acutely prepared olfactory ensheathing cells. *Brain Res*, 2006, **1125**(1): 1-8.
- [15] López-Vales R, Forés J, Navarro X, *et al.* Chronic transplantation of olfactory ensheathing cells promotes partial recovery after complete spinal cord transection in the rat. *Glia*, 2007, **55**(3): 303-311.
- [16] Deng C, Gorrie C, Hayward I, *et al.* Survival and migration of human and rat olfactory ensheathing cells in intact and injured spinal cord. *J Neurosci Res*, 2006, **83**(7): 1201-1212.

科学出版社科学出版中心生命科学分社新书推介

科学出版社科学出版中心生命科学分社新书推介

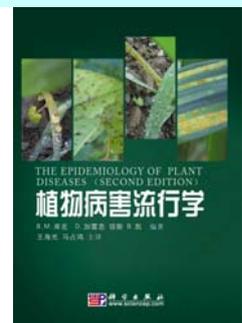
植物病害流行病学 (原书第二版) (译)

〔爱尔兰〕B.M.库克〔英国〕D.加雷思·琼斯〔爱尔兰〕B.凯 编著
王海光 马占鸿 主译

978-7-03-022630-3 ¥86.00 2008年12月出版

本书是 Springer 出版的植物病害流行病学英文材料 *The Epidemiology of Plant Diseases (Second Edition)* 的中译本。内容基本包括了植物病害流行学的方方面面, 主要涉及病害诊断、病害评估和产量损失、病原毒性和抗蕴含性变异、病原真菌侵染略、植物抗病性、病原传播、病原群体动态、病害流行时间动态的模拟与分析、病害检测、病害流行控制策略等, 并且介绍了各种传播方式病害以及具体的马铃薯疫病、苹果黑星病、洋葱病害、乌干达木薯花叶病的流行研究动态等。根据学科发展, 本书介绍了很多最新的研究内容, 如信息技术、分子生物学、大气科学等在病害流行病学中的应用, 便于读者了解植物病害流行病学最新理论和方法技术。

本书可作为植物病理专业研究学习植物病害流行学的教材, 也可作为植保专业本科生学习植物病害流行学的参考教材, 还可作为从事植保及相关研究和管理人员的参考用书。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书 (免邮费)

邮购地址: 北京东黄城根北街 16 号 科学出版社 科学出版中心 生命科学分社 邮编: 100717

联系人: 阮芯 联系电话: 010-64034622 (带传真)

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>