# ·基础研究·

# 银杏内酯B对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠 内源性神经干细胞的影响\*

牛国辉1 王 军1.3 尚凤伟1 朱登纳1 张晓莉2

## 摘要

目的:观察不同剂量银杏内酯B(GB)对缺氧缺血性脑损伤(HIBD)新生大鼠内源性神经干细胞增殖分化的影响。 方法:清洁级7d龄SD大鼠96只,随机分为假手术组、模型组、低剂量组及高剂量组,后3组采用经典Rice法制作HIBD动 物模型,模型制作4h后低剂量组与高剂量组分别按5mg/kg、10mg/kg腹腔注射GB,其他两组分别注射等量生理盐水,每 日1次,共5d。每组随机分别在造模后第3,7,14,28天处死,单标、双标免疫组化技术观察4组大鼠海马齿状回颗粒下层 区(SGZ)溴脱氧尿嘧啶核苷(BrdU\*)及皮质BrdU\*/nestin\*(聚蛋白)、BrdU\*/NSE\*(神经元特异性烯醇化酶)、BrdU\*/GFAP\* (胶质纤维酸性蛋白)阳性细胞的表达,并计数分析。

结果:HIBD后BrdU<sup>+</sup>、皮质BrdU<sup>+</sup>/nestin<sup>+</sup>、BrdU<sup>+</sup>/NSE<sup>+</sup>、BrdU<sup>+</sup>/GFAP<sup>+</sup>细胞数增加,低剂量组、高剂量组均高于模型组, GB高剂量组的阳性细胞数高于GB低剂量组。

结论:GB能提高HIBD新生鼠内源性神经干细胞增殖、分化的能力,提示其可以促进神经发生。

关键词 缺氧缺血性脑损伤;银杏内酯B;内源性神经干细胞

中图分类号:R743.3, R741 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2014)-05-0415-06

Effects of Ginkgolide B on endogenous neural stem cells of newborn rats with hypoxic-ischemic brain damage/NIU Guohui, WANG Jun, SHANG Fengwei, et al.//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2014, 29(5): 415-420

## Abstract

**Objective:** To observe the effects of Ginkgolide B (GB) on proliferation and differentiation of endogenous neural stem cells of newborn rats with hypoxic-ischemic brain damage(HIBD).

**Method:** A total of 96 clean 7-days-old health SD rats were randomly divided into sham operation group, the model group, low and high dose treatment groups. Classic Rice method was used to establish HIBD model in the latter 3 groups. Four hours after operation, GB in doses of 5mg/kg and 10mg/kg were given to the rats in low and high dose treatment groups by intraperitoneal injection postoperation, once a day for 5 days, sham operation and model groups with equal quantity of physiological saline. All groups were sacrificed respectively at the 3rd d,7th d,14th d,28th d. Then the number of bromodeoxyuridine(BrdU) positive cell were measured in subgranular zone(SGZ) by immunohistochemistry and the number of BrdU-nestin, BrdU-GFAP, BrdU-NSE double positive cells in cortex were counted and investigated by immunofluorescence double staining.

**Result:** The number of BrdU positive cell and BrdU-nestin, BrdU-GFAP, BrdU-NSE double positive cells increased after HIBD, in low and high dose treatment groups those were all higher than those in model group; the number of positive cells in high dose treatment group were higher than that in low dose treatment group.

Conclusion: GB can improve the capability of proliferation and differentiation of endogenous neural stem cells

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2014.05.004

<sup>\*</sup>基金项目:河南省教育厅自然科学研究项目(2009A320039)

<sup>1</sup> 郑州大学第三附属医院康复科,郑州,450052; 2 郑州大学第三附属医院儿内科; 3 通讯作者

作者简介:牛国辉,男,主治医师; 收稿日期:2013-11-03

#### Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, May, 2014, Vol. 29, No.5

in HIBD rats, which indicates that it may promote neurogenesis. **Author's address** Dept. of Rehabilitation, the Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, 450052

Key word hypoxic-ischemic brain damage; ginkgolide B; endogenous neural stem cell

缺氧缺血性脑损伤(hypoxic-ischemic brain damage, HIBD)是引起新生儿急性死亡和慢性神经 系统损伤的主要原因。到目前为止,对于HIBD的 各种治疗方法疗效有限。脑损伤可诱导激活内源性 神经干细胞(neural stem cells, NSCs),神经发生增 加从而修复受损神经系统。但这种神经发生增加非 常有限,而使用某些干预措施可起到促进作用。银 杏内酯B(Ginkgolide B, GB)是银杏叶提取物中主 要的药效成分之一,已经广泛应用于心脑血管、中枢 神经系统疾病,但在新生儿方面的研究较少。本实 验通过观察不同剂量GB对HIBD后大鼠的溴脱氧 尿嘧啶核苷(bromodeoxyuridine, BrdU)、巢蛋白 (nestin)、神经元烯醇化酶(neuron specific enolase, NSE)和胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)表达的影响,从其促进内源性 神经干细胞增殖、分化的角度,探讨其作用机制,为 临床应用提供实验依据。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物与材料

清洁级新生7d龄健康SD大鼠96只,体质量 12—16g,由河南省实验动物中心提供(动物合格证 号SCXK(豫)2010-0002);GB购于中国科学院生物 药品检定所;8% O₂、92% N₂混合气体购于北京普 莱克斯气体公司;TRIzol(Invitrogen公司);小鼠抗 BrdU IgG单克隆抗体、兔抗 nestin IgG多克隆抗 体、兔抗NSE IgG多克隆抗体、兔抗GFAP IgG多克 隆抗体(美国,SANTA CRUZ公司);FITC标记羊抗 小鼠荧光二抗、TRITC标记羊抗兔荧光二抗(上海 威奥生物工程有限公司)。

1.2 动物分组与模型制作

实验动物按随机数字表法随机分为假手术组、 模型组、低剂量组及高剂量组,每组24只。采用经 典Rice法制作HIBD动物模型,乙醚麻醉后将动物 置于手术台上,分离并两端结扎左侧颈总动脉,中间 剪断,术后放回母鼠身边恢复0.5—1h后,放入常压 缺氧箱中,箱内放置钠石灰吸收动物排出的二氧化碳,以1.0—1.5L/min的速度向容器内输入混合气体(8% O<sub>2</sub>、92% N<sub>2</sub>),测氧仪检测氧浓度8%,缺氧持续2.5h,术毕放回母鼠身边继续饲养。假手术组只分离不结扎左侧颈总动脉,也不行缺氧。模型制作4h后,GB分别以5mg/kg(低剂量组)和10mg/kg(高剂量组)腹腔注射,给药容积10ml/kg大鼠体重,其他两组给等量生理盐水,每日1次,共5次。处死前2天应用BrdU标记。剂量按50mg/kg进行大鼠腹腔注射,1次/12h,共5次,最后一次4h后处死。

## 1.3 标本采集

各组随机抽取6只大鼠在造模后第3、7、14及 28天处死。无水乙醚深度麻醉,仰卧位固定,开胸, 暴露心脏,剪开右心耳,0.9%生理盐水经升主动脉 快速冲洗内脏血液至肝脏渐渐泛白,10%中性甲醛 固定液。常规灌洗固定,待大鼠全身僵硬后,迅速开 颅取脑,置于10%中性甲醛固定液中,4℃2h后,取 出制作石蜡包埋切片。

## 1.4 免疫组织化学及免疫荧光染色

免疫组化染色:光学显微镜下对各时间点大鼠 进行细胞形态学观察,比较各组大鼠脑组织细胞坏 死、凋亡及增生情况差异,并作为选择免疫荧光染色 区域的形态学依据。滴加 I 抗(1:100稀释的小鼠 抗BrdU单克隆抗体),滴加 II 抗(生物素化山羊抗小 鼠IgG),中性树胶封片,显微镜下观察,拍照。阴性 对照用PBS代替一抗。

免疫荧光双标染色:滴加一抗混合液(小鼠抗 BrdU单克隆抗体+兔抗 nestin 多克隆抗体/兔抗 NSE 多克隆抗体/兔抗 GFAP 多克隆抗体,稀释度1: 100),滴加荧光二抗混合液(山羊抗小鼠 IgG-FITC, 1:100,山羊抗兔 IgG-TRITC,稀释度1:50)。荧光显 微镜下观察并采集图像。用0.01MPBS缓冲液代替 一抗作为阴性对照。

## 1.5 图像采集及处理

染色结束后在每个样本取5张切片,每张切片 随机5个视野进行观察,测定部位阳性细胞的形态 与分布并进行阳性细胞计数,分别计算出各组各时间点海马颗粒下层区(subgranular zone, SGZ)区BrdU<sup>+</sup>细胞和大脑皮质区BrdU<sup>+</sup>/nestin<sup>+</sup>、BrdU<sup>+</sup>/NSE<sup>+</sup>、BrdU<sup>+</sup>/GFAP<sup>+</sup>细胞数的均值。

1.6 统计学分析

数据以均数±标准差表示,采用SPSS 17.0统计 软件分析,多组间计量资料比较采用单因素方差分 析,差异有显著性意义者进一步以LSD-t法进行两 两比较。

## 2 结果

2.1 免疫组化结果

细胞核呈红褐色、颗粒状或弥漫性分布的细胞 为阳性细胞。正常组脑海马可见少量BrdU<sup>+</sup>细胞, 假手术组BrdU<sup>+</sup>细胞数随时间无明显变化,而其他 三组在第7天时间点最多,此后逐渐下降,但各时间 点的BrdU<sup>+</sup>细胞数均较正常组多,差异有显著性意 义。两治疗组在各时间点BrdU<sup>+</sup>细胞数高于HIBD 组,而两治疗组相比,GB高剂量组的BrdU<sup>+</sup>细胞数 在各时间点高于GB低剂量组。见表1,图1。

	表1	(		
组别	第3天	第7天	第14天	第28天
假手术组	44.50±4.55	43.67±3.50	44.17±5.12	44.33±4.06
模型组	74.50±3.73 <sup>®</sup>	95.17±4.11 <sup>①</sup>	70.67±4.32 <sup>®</sup>	60.16±3.06 <sup>®</sup>
GB低剂量组	100.16±7.17 <sup>©2</sup>	181.50±10.05 <sup>©2</sup>	90.83±5.38 <sup>02</sup>	70.00±4.52 <sup>©2</sup>
GB高剂量组	104.01±25.26 <sup>10,20</sup>	209.33±8.38 <sup>①2④</sup>	109.33±2.94 <sup>D2A</sup>	78.50±5.75 <sup>025</sup>
F	60.37	701.47	227.26	60.37
Р	0.00	0.00	0.00	0.00

HIT DAY

假手术组

## 2.2 免疫荧光染色

免疫荧光双标染色后的脑组织切片中,BrdU<sup>+</sup>/ NSE<sup>+</sup>、BrdU<sup>+</sup>/GFAP<sup>+</sup>双标中BrdU阳性细胞显示为绿 色荧光,NSE及GFAP阳性细胞显示为红色荧光; BrdU<sup>+</sup>/nestin<sup>+</sup>双标中,BrdU为红色荧光,nestin为绿 色荧光;黄色荧光的是双标阳性细胞。

模型组

2.2.1 皮质 BrdU<sup>+</sup>/nestin<sup>+</sup>细胞:除假手术组外,三组

图1 各组大鼠海马第7天 BrdU<sup>+</sup>细胞

(×400)

GB低剂量组

GB高剂量组

在第3天细胞数增多、第7天最多,之后逐渐减少,三 组在第3、7、14天细胞数均高于假手术组,第28天 时,两治疗组仍高于假手术组,差异有显著性意义; 与HIBD组比,两治疗组细胞数在各时间点均较多, 差异有显著性意义;GB高剂量组在第7、14及28天 时细胞数较GB低剂量组多,差异有显著性意义。见 表2,图2。

	表2 各组	$(\bar{x}\pm s)$		
组别	第3天	第7天	第14天	第28天
假手术组	8.67±2.58	9.33±2.33	8.83±2.04	10.33±2.16
模型组	19.33±3.93 <sup>®</sup>	31.17±4.95 <sup>①</sup>	17.17±3.97 <sup>®</sup>	11.67±2.42 <sup>6</sup>
GB低剂量组	33.67±3.98 <sup>®®</sup>	41.67±5.31 <sup>02</sup>	28.00±4.77 <sup>©2</sup>	20.17±2.92 <sup>02</sup>
GB高剂量组	41.67±3.55 <sup>(1)2)3</sup>	50.00±6.84 <sup>0.25</sup>	33.67±6.53 <sup>(1)2)(4)</sup>	25.17±4.17 <sup>©2⊕</sup>
F	102.47	70.65	34.55	32.79
P	0.00	0.00	0.00	0.00

与假手术组比:①P<0.01;与HIBD组比:②P<0.01;与GB低剂量组比:③P>0.05;④P<0.01;⑤P<0.05;与假手术组比:⑥P>0.05

www.rehabi.com.cn 417





2.2.2 皮质 BrdU<sup>+</sup>/NSE<sup>+</sup>细胞数:假手术组各时间点 无明显变化,余三组在各时间点均较假手术组增多, 差异有显著性意义;和HIBD组相比,两治疗组在第 7、14及28天时细胞数较多,GB高剂量组在第3、7、 14天和GB低剂量组无明显差异,第28天细胞数较 后者增高,差异有显著性意义。见表3,图3。



图2 HIBD 第7天时大脑皮质免疫荧光双标 BrdU<sup>+</sup>/nestin<sup>+</sup>细胞



(×200)

GB低剂量组

00间加重加

2.2.3 皮质 BrdU<sup>+</sup>/GFAP<sup>+</sup>细胞数:假手术组各时间 点变化不大,余三组在第7、14及28天时细胞数较假 手术组增多,差异有显著性意义;和HIBD组相比, 两治疗组在第7、14及28天时细胞数较多,GB高剂 量组在第7、14及28天时细胞数高于GB低剂量组, 差异有显著性意义。见表4,图4。

	$(\bar{x}\pm s)$					
组别	第3天	第7天	第14天	第28天		
假手术组	1.33±0.43	1.93±0.36	1.62±0.78	1.08±0.35		
模型组	2.05±0.33 <sup>®</sup>	$3.98{\pm}0.75^{\odot}$	$9.87{\pm}0.79^{\odot}$	7.12±0.71 <sup>2</sup>		
GB低剂量组	2.67±0.53 <sup>23</sup>	5.12±0.64 <sup>20</sup>	12.67±1.41 <sup>2)(4)</sup>	10.83±1.08 <sup>2/4</sup>		
GB高剂量组	2.42±0.71 <sup>235</sup>	$5.85 \pm 0.66^{20}$	13.27±0.88 <sup>2(4)5)</sup>	12.35±1.77 <sup>206</sup>		
F	7.63	45.4	173.9	121.6		
Р	0.00	0.00	0.00	0.00		
与假手术组比:①P<0.05	;②P<0.01;与HIBD组比;	(③ $P > 0.05$ ;④ $P < 0.01$ ;与GB低	約量组比:⑤P>0.05;⑥P<0	.05		
图3 各组大鼠第14天皮质BrdU*/NSE*细胞免疫荧光双标结果 (×400						
假手术组		<b>単</b> 组	GB低剂量组	GB高剂量组		
	表4	各组大鼠不同时间点皮质	BrdU <sup>+</sup> /GFAP <sup>+</sup> 细胞数	$(\bar{x}\pm s)$		
组别	第3天	第7天	第14天	第28天		
假手术组	10.97±1.77	10.63±2.08	10.13±2.33	10.10±2.01		
模型组	12.13±1.65 <sup>®</sup>	20.45±3.35 <sup>2</sup>	31.33±4.27 <sup>2</sup>	24.67±4.50 <sup>2</sup>		
GB低剂量组	12.77±1.71 <sup>03</sup>	26.00±4.29 <sup>2(4)</sup>	42.50±5.17 <sup>20</sup>	33.00±6.03 <sup>2/5</sup>		
GB高剂量组	12.88±2.87 <sup>(1)3)</sup>	32.00±6.48 <sup>253</sup>	50.17±6.18 <sup>237</sup>	43.67±5.20 <sup>(2)(5)(8)</sup>		
F	1.08	26.03	82.16	54.86		
Р	0.00	0.00	0.00	0.00		
与假手术组比:①P>0.05	;②P<0.01;与HIBD组比:	(3)P > 0.05; (4)P < 0.05; (5)P < 0.	01;与GB低剂量组比:⑥P>0	$.05; \overline{O}P < 0.05; \overline{B}P < 0.01$		

## 3 讨论

HIBD 是新生儿期常见的可引起脑性瘫痪的疾病<sup>III</sup>。随着新生儿科抢救水平及生命支持技术的提高,早产儿、窒息儿和各种脑损伤儿存活率大大提

高,使得HIBD的患病率不仅没有减少,反而有升高 趋势。到目前为止,对于HIBD的治疗尚无任何特 效方法<sup>[2-3]</sup>。

HIBD发生于缺氧缺血的整个过程并贯穿整个

418 www.rehabi.com.cn





假手术组

恢复期,包括原发性(缺氧缺血性)脑损伤和继发性 (再灌注性)脑损伤,缺氧缺血后神经细胞会即刻发 牛死亡,并可持续数天至数周,初期的细胞死亡主要 为坏死,而后逐渐演变为病理性细胞凋亡[4-5]。本实 验第3天即可见典型的缺氧缺血性脑损伤改变,缺 血侧大脑细胞排列紊乱,神经元变性,核固缩呈强嗜 碱性,部分神经细胞胞体缩小结构模糊或消失,呈空 隙状或有空腔形成,可见胶质细胞增生,有炎性细胞 浸润,另外可见血管内皮细胞肿胀,血管周围间隙扩 大。第7天时可见脑组织神经元大量坏死、崩解,网 状及索条状瘢痕形成,星形胶质细胞增牛较前明 显。第14、28天细胞排列较整齐,细胞胞浆丰富,核 仁清楚,可见神经元大量丢失及胶质瘢痕形成。此 时内源性神经干细胞出现增殖、迁移、分化,试图修 复受损的神经组织<sup>16</sup>。因此,HIBD会导致脑部神经 细胞数量绝对不足,从而引发一系列不良后果。对 症支持治疗只能延缓或减少神经细胞的死亡,但对 已经死亡的细胞却无能为力。因此,以增加损伤部 位神经细胞绝对数量为目的的治疗方法才是HIBD 的治疗方向。因此,诱导中枢神经系统内源性NSCs 的增殖、迁移并使其向特定方向分化,可以补偿 HIBD 中损失的神经细胞,对HIBD 的神经修复有着 重要的作用。

近年较多研究已明确哺乳动物脑内再生后仍有 神经发生现象,特别是脑皮质及海马周围,病理情况 下及某些细胞因子、学习运动等行为以及环境的改 变均可诱导神经发生的进一步产生<sup>[7]</sup>。和成年动物 相比,新生动物脑组织具有更强可塑性和更大的潜 在适应性。

GB是银杏叶中提取的一种天然血小板活化因子(platelet-activating factor, PAF)的受体拮抗剂, 为二萜类酸化合物,是银杏内酯中神经保护作用最



图4 各组大鼠14天皮质BrdU<sup>+</sup>/GFAP<sup>+</sup>免疫荧光双标



(×100)

GB低剂量组

GB向介重组

显著的成分之一,有抗氧化、抗炎及抗细胞凋亡作 用。Marrache研究新生猪大脑微血管的内皮细胞核 膜时发现了PAF 受体的存在,这个发现为GB治疗 中枢神经系统疾病提供了强有力的证据。近年来, 随着对成体NSCs研究的广泛开展,研究表明GB对 缺血损伤后的神经发生有明显的促进作用。赵文杰 等<sup>18</sup>发现大鼠海马SGZ、纹状体、前脑脑室下区及皮 质BrdU标记的神经细胞数在脑缺血1周后增加,应 用GB后能够促进新生神经细胞数量增多。徐倩等 <sup>19</sup>利用Millicell小室建立体外趋化迁移模型,将星形 胶质细胞和NSCs共培养发现GB作用12h后透过 Millicell小室的细胞数目明显增多。有学者发现 NSCs的贴壁速度、突起生长速度、突起数量和长度、 胞体面积等因GB浓度不同而表现出明显差异,认 为GB不仅可促进体外培养的NSCs分化,并对神经 突起的生长及神经细胞的成熟均有显著影响[10-11]。 Huang 等<sup>[12]</sup>进行NSCs体外培养发现GB能促进培养 的NSCs向神经元分化。王永红等<sup>[13]</sup>也发现:GB可 促进NSCs分化,明显提高分化细胞中神经元的百 分率,星形胶质细胞百分率受GB剂量影响呈剂量 依赖关系,对少突胶质细胞百分率则影响不大。本 研究利用BrdU腹腔注射标记新生神经细胞,nestin、 NSE、GFAP分别作为NSCs、神经元及星形胶质细胞 的标志物,利用免疫组化及免疫荧光双标的方法对 HIBD 大鼠模型进行研究,探讨新生儿缺氧缺血性 脑损伤后海马 SGZ 神经细胞的增殖情况,及 NSCs 分化情况。研究发现HIBD后第3天,NSCs增殖增 加,第7天达高峰,此后逐渐降低,但直到第28天仍 高于假手术组,而BrdU<sup>+</sup>/GFAP<sup>+</sup>细胞数在HIBD后第 3天开始明显增加,到第14天达到高峰,考虑是由于 增殖的神经干细胞迁移到损伤区需要一个过程。

上述结果表明,GB不但可以增强内源性神经

干细胞的增殖活性,而且还可促进其向神经元方向 分化。但NSCs的增殖、迁移、分化还受许多调控因 子的调节,具体机制有待于进一步研究。

## 参考文献

- Beukelman T, Patkar NM, Saag KG, et al. American college of Rheumatology recommendations for the treatment of juvenile idiopathic arthritis: initiation and safety monitoring of therapeutic agents for the treatment of arthritis and systemic features[J]. Arthritis Care Res (Hoboken), 2011, 63(4): 465–482.
- [2] Fatemi A, Wilson MA, Johnston MV. Hypoxic-ischemic encephalopathy in the term infant[J]. Clin Perinatol, 2009, 36 (4):835–858.
- [3] Selway LD. State of the science: hypoxic ischemic encephalopathy and hypothermic intervention for neonates[J]. Adv Neonatal Care, 2010, 10(2):60—66.
- [4] Shalak L, Perlman JM. Hypoxic-ischemic brain injury in the term infant-current concepts[J]. Early Hum Dev, 2004, 80 (2):125—141.
- [5] Berger R, Gamier Y, Jensen A. Perinatal brain damage: underlying mechanisms and neuroprotective strategies[J]. J Soc Gynecol Investig, 2002, 9(6):319–328.

- [6] Nakagomi T, Molnár Z, Nakano-Doi A, et al. Ischemia-induced neural stem / progenitor cells in the pia mater following cortical infarction[J]. Stem Cells Dev, 2011, 20(12): 2037—2051.
- [7] Wang C, Zhang M, Sun C, et al. Sustained increase in adult neurogenesis in the rat hippocampal dentate gyrus after transient brain ischemia[J]. Neurosci Lett, 2011, 488(1): 70-75.
- [8] 赵文杰,陈霁,唐民科,等.银杏内酯B对大鼠大脑中动脉阻断再 灌注后神经发生的影响[J].中国药理学通报,2009,25(7):979— 980.
- [9] 徐倩,张艳军,刘洋,等.银杏内酯B作用于星形胶质细胞对神经 干细胞趋化影响的体外研究[J].天津中医药,2010,27(5):421— 422.
- [10] 王永红,刘宏亮,石永江,等.银杏内酯B促进体外分化的神经干 细胞神经突起生长的研究[J].国际脑血管病杂志,2007,15(10): 739—743.
- [11] Huang JY, Sun JN, Mei SC, et al. Protective effects of ginkgolide B on cerebral ischemia reperfusion injury in rats [J]. Chin Pharm acol Bull, 2008, 24(2):269–272.
- [12] Huang Z, Jin GH, Zhang XH, et al. The inducing effects of Ginkgolid B on neural stem cells differentiating into neurons[J]. Acta Anatomica Sinica, 2003, 34(4):367–371.
- [13] 王永红,罗雪,石永江,等.银杏内酯B对神经干细胞分化的影响 及其机制研究[J].中国康复理论与实践,2007,13(8):701—703.

(上接第414页)

ics of hemispheric dominance for language assessed by magnetoencephalographic imaging[J]. Ann Neurol, 2012, 71 (5):668-686.

- [19] Saur D, Lange R, Baumgaertner A, et al. Dynamics of language reorganization after stroke[J]. Brain, 2006, 129(Pt 6): 1371–1384.
- [20] Thompson CK, den Ouden DB. Neuroimaging and recovery of language in aphasia[J]. Curr Neurol Neurosci Rep, 2008, 8(6):475–483.
- [21] Richter M, Miltner WH, Straube T. Association between therapy outcome and right-hemispheric activation in chronic aphasia[J]. Brain, 2008, 131(Pt 5):1391–1401.
- [22] Patterson K, Nestor PJ, Rogers TT. Where do you know what you know? The representation of semantic knowledge in the human brain[J]. Nat Rev Neurosci, 2007, 8(12):976– 987.
- [23] Ostrin RK, Tyler LK. Automatic access to lexical semantics in aphasia: evidence from semantic and associative priming[J]. Brain Lang, 1993, 45(2):147–159.
- [24] Laganaro M, Morand S, Schwitter V, et al. Electrophysiological correlates of different anomic patterns in comparison with normal word production[J]. Cortex, 2009, 45(6): 697-707.
- [25] Saur D, Kreher BW, Schnell S, et al. Ventral and dorsal

pathways for language[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(46):18035-18040.

- [26] Hartwigsen G, Baumgaertner A, Price CJ, et al. Phonological decisions require both the left and right supramarginal gyri[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(38):16494– 16499.
- [27] Thiel A, Schumacher B, Wienhard K, et al. Direct demonstration of transcallosal disinhibition in language networks [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2006, 26(9):1122—1127.
- [28] Dronkers NF, Plaisant O, Iba-Zizen MT, et al. Paul Broca's historic cases: high resolution MR imaging of the brains of Leborgne and Lelong[J]. Brain, 2007, 130(Pt 5): 1432–1441.
- [29] Hickok G, Houde J, Rong F. Sensorimotor integration in speech processing: computational basis and neural organization[J]. Neuron, 2011, 69(3):407–422.
- [30] Kaplan E, Naeser MA, Martin PI, et al. Horizontal portion of arcuate fasciculus fibers track to pars opercularis, not pars triangularis, in right and left hemispheres: a DTI study [J]. Neuroimage, 2010, 52(2):436–444.
- [31] Schlaug G, Marchina S, Norton A. Evidence for plasticity in white-matter tracts of patients with chronic Broca's aphasia undergoing intense intonation-based speech therapy[J]. Ann N Y Acad Sci, 2009, (1169):385–394.