文章编号:1000-5404(2014)09-0883-05

论著

姜黄素诱导内源性神经干细胞促进大鼠脊髓损伤后功能修复

向 鑫,袁继超,陈 飞,朱海涛,储卫华,林江凯 (400038 重庆,第三军医大学西南医院神经外科,全军神经外科研究所,全军神经创伤防治重点实验室)

[摘要] **目的** 探讨姜黄素对脊髓损伤后内源性神经干细胞分化的影响及其对损伤后功能修复的作用。**方法** 雄性SD大鼠72只按随机数字表法分为3组:假手术组($n=12$)、单纯损伤组($n=30$)、姜黄素处理组($n=30$)。假手术组仅行椎板切除术,单纯损伤组、姜黄素处理组以70 g力的动脉瘤夹钳夹$T_9 \sim T_{10}$节段脊髓1 min造模。姜黄素处理组于脊髓损伤后30 min按200 mg/kg给予腹腔注射姜黄素,单纯损伤组给予等量生理盐水。分别于损伤后1 d,1、2、4、8周行BBB运动功能评分及斜板实验评价大鼠后肢功能,后处死大鼠并取材,行免疫荧光染色分别观察Nestin、Tuj1、GFAP/CSPG的表达,Western blot检测Wnt3a蛋白及β-catenin表达情况。**结果** BBB运动功能评分及斜板实验结果显示损伤后自1周开始,各时间点姜黄素处理组大鼠后肢功能恢复情况均优于单纯损伤组($P<0.05$)。免疫荧光染色显示脊髓损伤后1周可见损伤区附近有Nestin阳性细胞,2周时达高峰,4周时明显减少,单纯损伤组、姜黄素处理组组间差异无统计学意义;姜黄素处理组Tuj1阳性神经元数量较单纯损伤组明显增多;4周时脊髓损伤中心囊腔周边形成胶质瘢痕,姜黄素处理组GFAP及CSPG表达明显弱于单纯损伤组。Western blot检测Wnt3a及β-catenin表达显示假手术组几乎无表达,姜黄素处理组表达量较单纯损伤组明显增强($P<0.05$)。**结论** 姜黄素可通过激活Wnt/β-catenin信号通路诱导脊髓损伤后被激活的内源性神经干细胞更多地分化为神经元,减轻胶质瘢痕,从而改善大鼠后肢功能的恢复。

[关键词] 姜黄素;脊髓损伤;内源性神经干细胞;Wnt/β-catenin信号通路
[中图法分类号] R282.71; R363.22; R651.2 [文献标志码] A

Curcumin induces endogenous neural stem cells to promote functional recovery in rats after spinal cord injury

Xiang Xin, Yuan Jichao, Chen Fei, Zhu Haitao, Chu Weihua, Lin Jiangkai (Department of Neurosurgery, Institute of Neurosurgery, Key Laboratory of Neurotrauma Prevention and Treatment, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effect of curcumin on the differentiation of endogenous neural stem cells (ENSCs) and functional recovery after spinal cord injury (SCI) in rats. **Methods** Seventy-two male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into 3 groups, that is, sham-operation group (group A, $n=12$), simple injury group (group B, $n=30$), and curcumin treatment group (group C, $n=30$). The rats of group A received only laminectomy. While, those of groups B and C were introduced 70 g closing force aneurysm clip injury at T_9-T_{10} segment of spinal cord for 1 min, and the rats of group C was given 200 mg/kg curcumin intraperitoneally in 30 min after SCI but those of group B were given equivalent amount of normal saline. The Basso, Beattie and Bresnahan (BBB) locomotor rating scale and inclined plane test were used to evaluate rat behavioral consequences in 1 d, and 1, 2, 4 and 8 weeks after injury. Then the rats were sacrificed and the spinal cord tissue samples were harvested to observe the expression of Nestin, Tuj1, and GFAP/CSPG by immunofluorescence assay. The protein expression of Wnt3a and β-catenin was determined by Western blotting. **Results** BBB locomotor rating scale and inclined plane test showed that the functional recovery was significantly better in group C than group B at each time point from 1week after SCI ($P<0.05$). Immunofluorescence assay showed that Nestin positive cells were seen at the vicinity of the lesion site in 1 week after SCI, reached peak at 2 weeks, and obviously decreased at 4 weeks, but there was no significant difference between groups B and C. There were significant more Tuj1-labeled neurons in group C than in group B at each time point. The formation of glia scar surrounding the cavity at the center of lesion site was defined at 4 week after SCI, while

[基金项目] 国家自然科学基金(81070979,81000531)
[通信作者] 林江凯,E-mail:jklin@tmmu.edu.cn
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20131220.1114.017.html(2013-12-20)

the expression of GFAP and CSPG was significant decreased in group C than in group B. Western blotting showed that there was almost no expression of Wnt3a and β-catenin in group A, and that in group C was significant up-regulated compared with group B ($P<0.05$). **Conclusion** Curcumin promotes more ENSCs differentiated to neurons by activating Wnt/β-catenin signaling pathway and improves the functional recovery through inhibiting glial scar formation.

[**Key words**] curcumin; spinal cord injury; endogenous neural stem cells; Wnt/β-catenin signaling pathway

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81070979, 81000531). Corresponding author: Lin Jiangkai, E-mail: jklin@tmmu.edu.cn

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是一种严重的神经系统创伤,交通意外及高处坠落为最常见致伤因素[1],至今尚无有效的治疗措施。目前,SCI后的细胞替代治疗已成为研究的热点领域,包括外源性干细胞移植和激活并诱导内源性干细胞(endogenous neural stem cells, ENSCs)[2]。与外源性神经干细胞移植相比,激活和诱导内源性神经干细胞不存在安全及伦理问题,无排异反应[3]。Johansson等[4]首次发现并证实成年大鼠的室管膜细胞就是神经干细胞,另有研究证实在脊髓室管膜区和脊髓实质均能培养出神经干细胞[5]。对SCI的研究显示可以通过药物、手术及康复等干预手段使内源性神经干细胞可塑性发挥出巨大的潜力,从而改善SCI后神经功能的修复[6]。

姜黄素(curcumin)作为传统中药材,广泛应用于风湿病、发热、肠道疾病、外伤、闭经等多种病症而无明显副作用[7]。近年来对中枢神经系统损伤的研究显示姜黄素具有明显的神经保护作用[8-9]。本实验通过应用姜黄素干预大鼠脊髓挫伤模型,观察脊髓损伤后大鼠后肢功能恢复情况及其对脊髓内源性神经干细胞的诱导及分化,并尝试研究姜黄素产生上述作用的机制。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

兔抗大鼠巢蛋白(Nestin)一抗、小鼠抗大鼠Tuj1一抗、兔抗大鼠胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)一抗、小鼠抗大鼠硫酸软骨素蛋白多糖(chondroitin sulfate proteoglycans, CSPG)一抗、兔抗大鼠Wnt3a一抗购自美国Abcam公司;姜黄素、兔抗大鼠β-catenin一抗购自美国Sigma公司;山羊抗兔IgG-FITC二抗购自中杉金桥公司,山羊抗小鼠IgG-Cy3二抗购自碧云天公司。

1.2 实验动物及分组

72只成年雄性SD大鼠,由第三军医大学实验动物中心提供,体质量(250±20)g,按随机数字表法分为3组:假手术组(A组,$n=12$)、单纯损伤组(B组,$n=30$)、姜黄素处理组(C组,$n=30$)。B、C组于造模后分别设1 d,1、2、4、8周共5个观察时相点,每个时相点6只。

1.3 动物模型的建立

采用与人类脊髓损伤病理过程高度相似的脊髓夹伤模型[10]。5%水合氯醛按7 mL/kg腹腔注射麻醉大鼠,以T_{10}棘突为中心作一长约4 cm纵行切口,钝性分离附着于棘突两侧的肌肉,暴露T_8~T_{10}棘突及椎板,蚊式钳自相邻椎板间隙起向两侧咬除T_9、T_{10}椎板骨质,充分显露T_9~T_{10}节段脊髓,保留硬膜。假手术组仅行椎板切除术,单纯损伤组、姜黄素处理组以标定力量为70 g力的动脉瘤夹压迫T_9~T_{10}脊髓1 min,压迫数秒后大鼠出现摆尾反射、双下肢痉挛性抽搐提示造模成功。仔细止血并用庆大霉素冲洗术野,丝线缝合肌肉、皮肤,模型制备完成。

1.4 动物给药方案及管理

大鼠适应性饲养3 d后造模并给药,姜黄素以二甲基亚砜(DMSO)助溶。姜黄素处理组大鼠造模成功后于术后30 min按200 mg/kg给予首次腹腔注射姜黄素,共注射7 d。单纯损伤组按相同方法给予等量生理盐水。单纯损伤组、姜黄素处理组大鼠造模后每日按压膀胱排尿2次,间隔12 h,2~3周后大鼠排便功能基本恢复。实验过程中对实验动物的处置符合科技部《关于善待实验动物的指导性意见》要求。

1.5 实验标本的采集

造模后在各时相点麻醉大鼠后开胸,经左心室插管快速灌注约100 mL生理盐水,直至右心耳溢出清亮液体,再以含浓度为4%多聚甲醛的磷酸盐缓冲液(pH=7.4)250 mL灌注至大鼠四肢及躯干僵硬。将大鼠脊柱完整从躯干上分离,小心解剖椎管将脊髓完整取出,以脊髓损伤部位为中心取2 cm脊髓组织,置入4%多聚甲醛溶液于4 ℃冰箱固定24 h,再入30%蔗糖溶液中脱水至组织标本沉底后取出,常规石蜡包埋,石蜡切片机(Leica)作厚为5 μm的纵行连续切片备用。同法在低温环境下取脊髓新鲜组织标本,于-80 ℃冰箱中保存备用。

1.6 大鼠后肢功能行为学测试

大鼠脊髓损伤后分别于相应时相点采用BBB(basso, beattie and bresnahan)法[11]和Rivlin法斜板实验[12]评估大鼠后肢功能恢复情况。

BBB评分:将动物置于测试平台后持续观察4 min,记录其后肢的活动。0分表示后肢完全瘫痪无活动能力,21分表示运动能力正常。

斜板实验:将表面粗糙的橡胶垫固定于斜板上,逐渐增加斜板与水平面之间的角度,直至大鼠刚好可在板上停留5 s,记录这一角度值,每只大鼠测3次,取平均值。

1.7 免疫荧光染色

石蜡切片常规脱蜡复水后用含0.5% Triton X-100的PBS浸洗,柠檬酸缓冲液(pH=6.0)中行微波抗原修复,10%正常

山羊血清封闭,滴加兔抗大鼠 Nestin 一抗(1∶1 000)于 4 ℃孵育过夜;滴加山羊抗兔 IgG-FITC 二抗(1∶200)室温孵育 1 h,DAPI 复染细胞核,抗荧光淬灭封片剂封片,激光共聚焦显微镜(zeiss SLM780)观察结果。同法行 Tuj1 单标及 GFAP/CSPG 双标免疫荧光染色。

1.8 Western blot 检测 Wnt3a 及 β-catenin 的表达

各组标本提取脊髓损伤节段 50 mg 组织总蛋白测定其含量,行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),转聚偏二氟乙烯(PVDF)膜,封闭后加一抗 4 ℃孵育过夜(wnt3a 1∶2 000,β-catenin 1∶4 000);TBST 洗膜,加入二抗孵育 2 h,再与化学发光底物结合。结果用图像处理扫描仪扫描 Western blot 胶片,应用 Quantity One 软件分析各组条带的平均光密度值。

1.9 统计学分析

应用 SPSS 20.0 统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较行独立样本 t 检验,多组间比较行单因素方差分析。

2 结果

2.1 大鼠后肢功能行为学评价

2.1.1 BBB 评分 假手术组大鼠行椎板切除术后后肢运动能力无异常,评分均为 21 分。单纯损伤组、姜黄素处理组大鼠脊髓损伤后 1 d 行 BBB 评分差异无统计学意义($P>0.05$);自 1 周开始各时相点单纯损伤组、姜黄素处理组大鼠后肢功能均逐渐有所恢复,单纯损伤组于 4 周后达平台期,姜黄素处理组大鼠在各时相点后肢功能恢复情况均优于单纯损伤组($P<0.05$,表 1)。

表 1 各组大鼠脊髓损伤后不同时间 BBB 评分($\bar{x} \pm s$)

组别	n	1 d	1 周	2 周	4 周	8 周
假手术组	12	21.00 ± 0.00	21.00 ± 0.00	21.00 ± 0.00	21.00 ± 0.00	21.00 ± 0.00
单纯损伤组	30	0.00 ± 0.00	1.67 ± 0.82	5.17 ± 1.17	8.50 ± 1.04	9.17 ± 1.17
姜黄素处理组	30	0.17 ± 0.41	2.83 ± 0.75[a]	8.33 ± 1.03[b]	11.50 ± 1.04[b]	13.33 ± 1.03[b]

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, 与单纯损伤组比较

2.1.2 斜板实验 假手术组大鼠行斜板实验可达 75°左右,与正常大鼠比较差异无统计学意义($P>0.05$)。单纯损伤组、姜黄素处理组大鼠脊髓损伤后 1 d 行斜板实验差异无显著性($P>0.05$);自 1 周开始各时相点单纯损伤组、姜黄素处理组大鼠行斜板实验的临界角度均逐渐升高,姜黄素处理组大鼠各时相点所测的角度值均大于单纯损伤组($P<0.05$,表 2)。

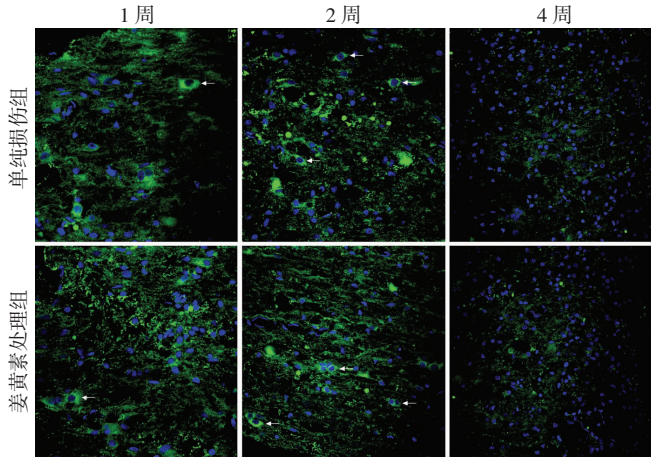
表 2 各组大鼠脊髓损伤后不同时间斜板实验角度值(°,$\bar{x} \pm s$)

组别	n	1 d	1 周	2 周	4 周	8 周
假手术组	12	73.90 ± 1.38	73.38 ± 1.34	73.93 ± 1.31	72.38 ± 1.57	74.22 ± 1.02
单纯损伤组	30	20.37 ± 1.03	23.93 ± 1.76	28.83 ± 2.31	34.02 ± 1.87	37.72 ± 2.43
姜黄素处理组	30	20.55 ± 0.83	31.65 ± 1.51[a]	38.32 ± 1.55[a]	43.15 ± 1.79[a]	51.23 ± 2.16[a]

a: $P<0.01$, 与单纯损伤组比较

2.2 免疫荧光染色观察

2.2.1 Nestin 单纯损伤组、姜黄素处理组脊髓损伤后 1 周可见到 Nestin 阳性细胞,其数量在 2 周时到达高峰,分散于损伤区域附近的脊髓实质中,胞体为卵圆形或多角形,至 4 周时未再见有 Nestin 阳性细胞,2 组间无明显差异(图 1)。



↑:Nestin 阳性神经干细胞

图 1 激光共聚焦显微镜下观察脊髓损伤后不同时间损伤区域附近脊髓实质 Nestin 表达 (×400)

2.2.2 Tuj1 单纯损伤组于脊髓损伤后 1 周在紧邻损伤中心 5 mm 范围内的灰质中偶可见到 Tuj1 阳性细胞及少量呈丝状表达的 Tuj1 阳性神经元突起,2 周时在个别脊髓组织中可见少数 Tuj1 阳性神经元细胞,且形态不典型,4 周时 Tuj1 表达明显减弱;姜黄素处理组于脊髓损伤后 1 周在紧邻损伤区域的灰质中可见多个 Tuj1 阳性细胞密集排列,于伤后 2 周达到高峰,呈现出典型的神经元形态,细胞核大而圆并可见核仁,部分神经元细胞可见到沿脊髓长轴方向伸出的树突或轴突,4 周时表达逐渐减弱(图 2)。

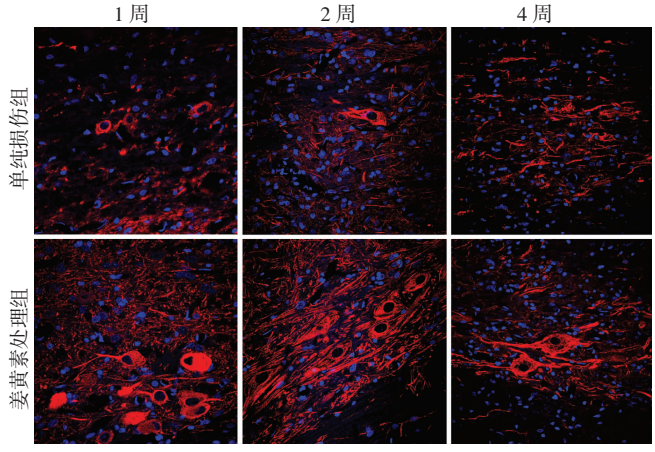
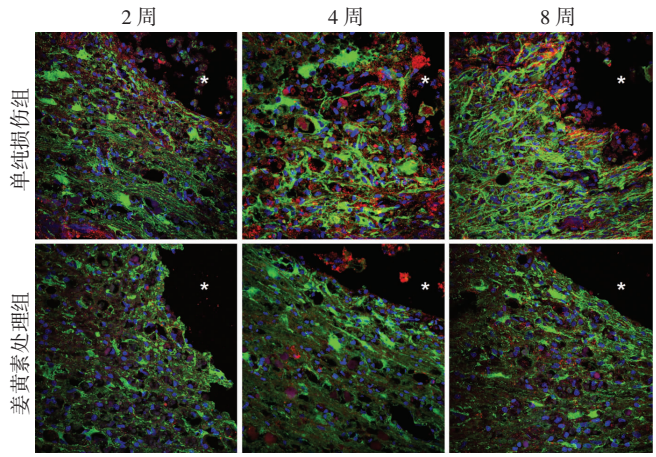


图 2 激光共聚焦显微镜下观察脊髓损伤后不同时间损伤区域附近脊髓实质 Tuj1 表达 (×400)

2.2.3 GFAP、CSPG 脊髓损伤后 2 周,单纯损伤组可见损伤区域周边部分星形胶质细胞被活化,胞体肿大,黄素处理组亦可见上述情况,但相对较轻;4 周时在损伤中心部位形成囊腔,在靠近其边缘的脊髓组织中,单纯损伤组可见星形胶质细胞密集排列,其胞体明显肿胀,突起广泛相互重叠交错,GFAP 表达呈强阳性,形成胶质瘢痕,同时伴有细胞外基质 CSPG 的阳性表达,黄素处理组中被活化的星形胶质细胞局限于囊腔边缘,排列稀疏,突起较短,胶质瘢痕形成较轻,CSPG 表达亦较弱;至8 周时单纯损伤组已形成稳定的胶质瘢痕,黄素处理组较 4 周时无明显变化(图 3)。

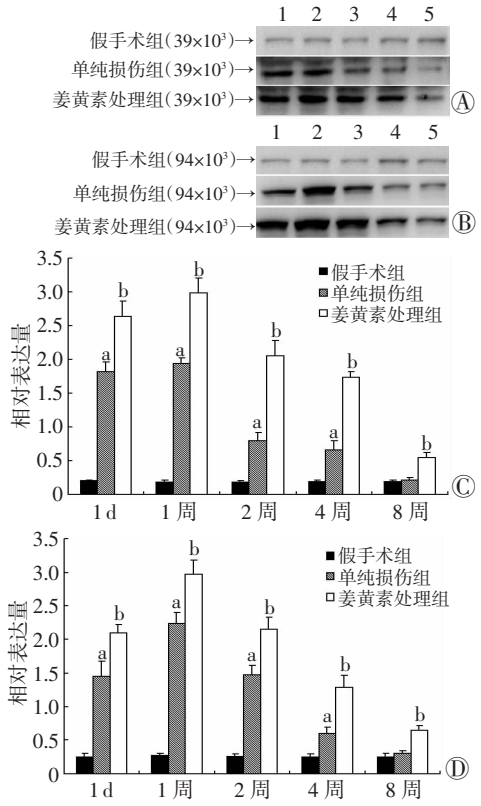


*:损伤中心囊腔

图3 激光共聚焦显微镜下观察脊髓损伤后不同时间GFAP、CSPG的表达 (×400)

2.3 Western blot检测各时间点Wnt3a、β-catenin蛋白的表达

假手术组大鼠脊髓组织在各时间点的Wnt3a、β-catenin表达量均很低且无明显差异($P>0.05$);单纯损伤组在1 d时Wnt3a、β-catenin表达量即明显升高,1周时达到高峰,4周后明显减弱,8周时恢复正常水平;姜黄素处理组中Wnt3a、β-catenin的表达量与单纯损伤组趋势相似,但各时间点的表达量均显著高于单纯损伤组($P<0.05$,图4)。



1:1 d; 2:1周; 3:2周; 4:4周; 5:8周

a:$P<0.01$,与假手术组比较;b:$P<0.01$,与单纯损伤组比较

A、B:分别为Wnt3a、β-catenin Western blot检测结果;C、D:分别为Wnt3a、β-catenin蛋白表达半定量分析结果

图4 各组大鼠脊髓损伤后不同时间点Wnt3a、β-catenin的表达

3 讨论

本研究通过应用姜黄素干预大鼠脊髓损伤发现损伤后在损伤区域附近的脊髓实质中出现了Nestin阳性的神经干细胞,证实了成年哺乳动物处于静息态的ENSCs在脊髓损伤后被激活。Tuj1是神经元前体细胞标记物,表达于神经元的胞体及突起,而神经元前体细胞是由神经干/祖细胞分化而来。本研究发现脊髓损伤后在紧邻损伤中心区域的灰质中几乎看不到神经元前体细胞,而给予姜黄素治疗发现Tuj1阳性神经元前体细胞数量明显增多,说明姜黄素可诱导ENSCs向神经元方向分化。本研究还发现通过应用姜黄素干预脊髓损伤可明显抑制损伤后星形胶质细胞的活化,减轻胶质瘢痕的形成,同时抑制星形胶质细胞外基质分子的产生,有利于新生神经组织的轴突再生。

NSCs的发现打破了中枢神经系统损伤后无法再生的传统观念,在成年哺乳动物脊髓中发现神经干细胞使得诱导ENSCs治疗脊髓损伤成为可能。在正常情况下,这些内源性神经干细胞大多数处于静止状态,而在脊髓损伤后这些内源性神经干细胞被大量激活,其增殖分化水平显著提高[4,13]。进一步研究发现,脊髓损伤后被激活的内源性神经干细胞大多数分化为星形胶质细胞参与了胶质瘢痕的形成,而很少分化为神经元[14]。胶质瘢痕不仅在空间上抑制神经再生[15],构成胶质瘢痕的细胞内基质和细胞外成分对神经再生也有明显抑制作用[16]。本实验室前期的研究也证实胶质瘢痕阻碍了神经轴突的再生[17]。因此,我们想到在脊髓损伤后给予适当的干预,减轻胶质瘢痕的形成,并使损伤后被激活的ENSCs更多地分化为神经元而减少向星形胶质细胞分化的比例,从而改善SCI后神经功能的康复。本研究发现姜黄素具有上述良好的生物学效应,可明显改善大鼠脊髓损伤后后肢功能的恢复。

临床中常见的脊髓损伤病例是由机械外力作用导致脊椎骨折、脱位等造成的脊髓挫伤及挤压伤,脊髓的完整性及连续性没有遭到破坏,并且大多数病例是脊髓腹侧与背侧同时受压,因此,本实验所采用的脊髓夹伤模型是与临床实际最为接近的损伤模型[10,18]。

本实验研究了姜黄素与Wnt/β-catenin信号通路之间的关系。Wnt/β-catenin信号通路首先被发现在胚胎神经干细胞发育中起关键调控作用[19],在成体动物的研究中发现,Wnt3的过表达能显著促进成年海马的神经发生,提高神经元分化的比例[20];施加GSK3β抑制剂使β-catenin在细胞内聚集能促进成年鼠室管膜下区神经前体细胞的增殖并向神经元分化[21]。在

成年大鼠的脊髓损伤模型中给予外源性 Wnt3a 能使内源性神经干细胞更多的分化为神经元[22]。本实验发现脊髓损伤后 Wnt3a 及 β-catenin 的表达明显上调，并且其表达量的趋势与 ENSCs 的增殖一致，故认为 Wnt/β-catenin 信号通路参与了损伤后 ENSCs 的增殖过程，而应用姜黄素干预脊髓损伤发现 Wnt3a 及 β-catenin 的表达量进一步上调，同时 ENSCs 向神经元分化。因此，我们推测姜黄素正是通过激活 Wnt/β-catenin 信号通路促进脊髓损伤后被激活的 ENSCs 更多地向神经元方向分化，从而改善大鼠脊髓损伤的预后。

在多个研究中发现姜黄素可通过抑制核转录因子 κB(nuclear factor kapaaB, NF-κB)的活性而产生较强抗炎作用，从而起到神经保护作用[23]。对脑缺血模型的研究发现，姜黄素可通过改善线粒体功能的紊乱、降低细胞色素 C 的水平、抑制 caspase-3 的活化、抑制氧化应激反应等途径阻止神经细胞的凋亡[8-9]。本课题组在前期的研究中也发现，姜黄素可抑制脊髓损伤后急性期的炎症反应，减少神经细胞的凋亡，缩小损伤后期空洞的范围，起到神经保护的作用[24]。Cemil 等[25]的研究也显示姜黄素在脊髓损伤后早期即可通过抑制氧化应激反应从而保护神经功。综上所述，我们认为姜黄素对脊髓损伤后神经功能修复的作用是通过其多种生物学效应而实现的。

参考文献：

[1] van-den-Berg M E, Castellote J M, Mahillo-Fernandez I, *et al*. Incidence of spinal cord injury worldwide: a systematic review[J]. Neuroepidemiology, 2010, 34(3): 184 - 192.

[2] Ronaghi M, Erceg S, Moreno-Manzano V, *et al*. Challenges of stem cell therapy for spinal cord injury: human embryonic stem cells, endogenous neural stem cells, or induced pluripotent stem cells? [J]. Stem Cells, 2010, 28(1): 93 - 99.

[3] Thuret S, Moon L D, Gage F H. Therapeutic interventions after spinal cord injury[J]. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(8): 628 - 643.

[4] Johansson C B, Momma S, Clarke D L, *et al*. Identification of a neural stem cell in the adult mammalian central nervous system[J]. Cell, 1999, 96(1): 25 - 34.

[5] Ohori Y, Yamamoto S, Nagao M, *et al*. Growth factor treatment and genetic manipulation stimulate neurogenesis and oligodendrogenesis by endogenous neural progenitors in the injured adult spinal cord[J]. J Neurosci, 2006, 26(46): 11948 - 11960.

[6] Rossognol S, Schwab M, Schwartz M, *et al*. Spinal cord injury: time to move? [J]. J Neurosci, 2007, 27(44): 11782 - 11792.

[7] Corson T W, Crews C M. Molecular understanding and modern application of traditional medicines: triumphs and trials[J]. Cell, 2007, 130(5): 769 - 774.

[8] Wang Q, Sun A Y, Simonyi A, *et al*. Neuroprotective mechanisms of curcumin against cerebral ischemia-induced neuronal apoptosis and behavioral deficits[J]. J Neurosci Res, 2005, 82(1): 138 - 148.

[9] Zhao J, Yu S, Zheng W, *et al*. Curcumin improves outcomes and attenuates focal cerebral ischemic injury *via* antiapoptotic mechanisms in rats[J]. Neurochem Res, 2010, 35(3): 374 - 379.

[10] Robins S L, Fehlings M G. Models of experimental spinal cord injury: translational relevance and impact[J]. Drug Discov Today Dis Models, 2008, 5(1): 5 - 11.

[11] Basso D M, Beattie M S, Bresnahan J C. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats[J]. J Neurotrauma, 1995, 12(1): 1 - 21.

[12] Rivlin A S, Tator C H. Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in the rat[J]. J Neurosurg, 1977, 47(4): 577 - 581.

[13] Horky L L, Galimi F, Gage F H, *et al*. Fate of endogenous stem/progenitor cells following spinal cord injury[J]. J Comp Neurol, 2006, 498(4): 525 - 538.

[14] Yang H, Lu P, McKay H M, *et al*. Endogenous neurogenesis replaces oligodendrocytes and astrocytes after primate spinal cord injury[J]. J Neurosci, 2006, 26(8): 2157 - 2166.

[15] Sofroniew M V. Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation[J]. Trends Neurosci, 2009, 32(12): 638 - 647.

[16] Silver J, Miller J H. Regeneration beyond the glial scar[J]. Nat Rev Neurosci, 2004, 5(2): 146 - 156.

[17] Hu R, Zhou J, Luo C, *et al*. Glial scar and neuroregeneration: histological, functional, and magnetic resonance imaging analysis in chronic spinal cord injury[J]. J Neurosurg Spine, 2010, 13(2): 169 - 180.

[18] Poon P C, Gupta D, Shoichet M S, *et al*. Clip compression model is useful for thoracic spinal cord injuries: histologic and functional correlates[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2007, 32(25): 2853 - 2859.

[19] Kleber M, Sommer L. Wnt signaling and the regulation of stem cell function[J]. Curr Opin Cell Biol, 2004, 16(6): 681 - 687.

[20] Lie D C, Colamarino S A, Song H J, *et al*. Wnt signalling regulates adult hippocampal neurogenesis[J]. Nature, 2005, 437(7063): 1370 - 1375.

[21] Adachi K, Mirzadeh Z, Sakaguchi M, *et al*. Beta-catenin signaling promotes proliferation of progenitor cells in the adult mouse subventricular zone[J]. Stem cells, 2007, 25(11): 2827 - 2836.

[22] Yin Z S, Zu B, Chang J, *et al*. Repair effect of Wnt3a protein on the contused adult rat spinal cord[J]. Neurol Res, 2008, 30(5): 480 - 486.

[23] Aggarwal B B, Harikumar K B. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2009, 41(1): 40 - 59.

[24] 邹明明，薛兴森，朱海涛，等. 姜黄素促进大鼠脊髓损伤恢复的病理及行为学研究[J]. 第三军医大学学报，2011，33(8)：765 - 770.

[25] Cemil B, Topuz K, Demircan M N, *et al*. Curcumin improves early functional results after experimental spinal cord injury[J]. Acta Neurochir (Wien), 2010, 152(9): 1583 - 1590.

（收稿：2014-01-14；修回：2014-03-03）

（编辑　王小寒）