DOI:10.16016/j.1000-5404.201511182

莱菔硫烷对小鼠脊髓损伤后后肢功能的作用

廖小俊,袁继超,朱海涛,刘 伟,陈亚星,胡胜利,李 兰,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** 观察莱菔硫烷(sulforaphane,SFN)对小鼠脊髓损伤后炎症反应、胶质瘢痕、轴突再生的干预作用,探讨其在脊髓损伤中的作用机制。**方法** 雌性 ICR 小鼠 66 只,按随机数字表法分为 4 组:假手术组($n=12$)、单纯损伤组($n=18$)、莱菔硫烷组[5 mg/(kg·d)SFN,ip,$n=18$]、溶剂对照组(等体积玉米油腹腔注射,$n=18$)。假手术组仅咬除椎板,余各组行脊髓夹伤术,制备脊髓夹伤模型。建模后 1、7、14、21、28 d 进行小鼠后肢运动功能评分(BMS 评分);Western blot 检测建模后 7 d 各损伤组小鼠脊髓 GFAP、CSPG、P65 表达情况,28 d 后各损伤组 GAP-43 表达情况;ELISA 检测建模后 7 d 各组小鼠脊髓 TNF-α、IL-1β 表达情况;免疫荧光染色观察建模后 7 d 各损伤组小鼠脊髓 GFAP、CSPG、P65 表达情况。**结果** 假手术组 BMS 评分 9 分,各脊髓损伤组术后后肢运动功能均有不同程度恢复,术后 28 d 时单纯损伤组评分为(2.17±0.41)分,溶剂对照组(2.33±0.52)分,莱菔硫烷组(3.33±0.52)分,后者与前二者比较差异有统计学意义($P<0.05$)。术后 7 d 行免疫荧光染色可见各脊髓损伤组星形胶质细胞活化,GFAP、CSPG、P65 表达增加,单纯损伤组与溶剂对照组较莱菔硫烷组更明显。术后 7 d 莱菔硫烷组 GFAP、CSPG、P65 蛋白相对表达量均较单纯损伤组与溶剂对照组低($P<0.05$),术后 28 d 莱菔硫烷组 GAP-43 蛋白相对表达量较单纯损伤组与溶剂对照组明显增加($P<0.05$)。建模后 7 d,莱菔硫烷组小鼠脊髓 TNF-α、IL-1β 表达较其余损伤组明显降低($P<0.05$)。**结论** 莱菔硫烷可减轻小鼠脊髓损伤后炎症反应,抑制胶质瘢痕形成,促进轴突再生,改善后肢运动功能。

[关键词] 莱菔硫烷;脊髓损伤;胶质瘢痕;轴突再生

[中图法分类号] R282.71;R364.3;R651.2 [文献标志码] A

Effect of sulforaphane on hindlimb function after spinal cord injury in mice

Liao Xiaojun, Yuan Jichao, Zhu Haitao, Liu Wei, Chen Yaxing, Hu Shengli, Li Lan, 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 observe the effect of sulforaphane on the inflammatory reaction, glial scar and axon regeneration after spinal cord injury (SCI) in mice, and investigate the role of sulforaphane after SCI. **Methods** Sixty-six female ICR mice were randomly divided into 4 groups, that is, sham-operation group (group A, $n=12$), simple injury group (group B, $n=18$), solvent control group (group C, $n=18$), and sulforaphane treatment group (group D, $n=18$). The mice in group A received laminectomy only, while the spinal cord of T11 segment of the mice in groups B, C and D was crushed to 0.2 mm for 15 s with a vessel clamp. The mice in group D were intraperitoneally given 5 mg/kg sulforaphane immediately after SCI, while the ones in group C were given equivalent amount of corn oil. The Basso mouse score (BMS) locomotor rating

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金(81401012);国家自然科学基金面上项目(81571214, 81471261)

[通信作者] 林江凯,E-mail:jklin@tmmu.edu.cn;
李 兰,E-mail:lilan88@aliyun.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160201.1434.040.html(2016-02-01)

scale was used to evaluate behavioral consequences in 1, 7, 14, 21, and 28 d after injury. Then the mice were sacrificed and the spinal cord tissue samples were harvested to observe the expression of P65, glial fibrillary acidic protein (GFAP) and chondroitin sulfate proteoglycan (CSPG) by immunofluorescence assay in 7 d after injury. The protein expression of P65, GFAP and CSPG were determined by Western blotting in 7 d after injury and GAP-43 was detected in 28 d after injury. The protein expression of TNF-α and IL-1β were determined by ELISA in 7 d after injury. **Results** The BMS score in group A was 9. After SCI, hindlimb motor function in groups B, C and D showed varied degrees of recovery, and after 28 d, the BMS scores were 2.17 ±0.41 in group B, 2.33 ±0.52 in group C, and 3.33 ±0.52 in group D. Group D was improved more remarkably than group B and group C ($P<0.05$), but there was no significant difference between group B and group C ($P>0.05$). In 7 d after SCI, astrocyte activation was observed in each SCI group by immunofluorescence assay, and the expression levels of P65, GFAP and CSPG were increased more in group B and group C than in group D. Western blotting showed that the expression levels of P65, GFAP and CSPG in group D were significantly down-regulated compared with group B and group C, but the expression of GAP-43 in group D was up-regulated ($P<0.05$). ELISA showed that the expression levels of TNF-α and IL-1β in group D were significantly down-regulated compared with group B and group C ($P<0.05$). **Conclusion** Sulforaphane promotes the hindlimb functional recovery through attenuating inflammatory reaction, inhibiting glial scar formation and improving the axon regeneration after SCI.

[**Key words**] sulforaphane; spinal cord injury; glial scar; axon regeneration

Supported by the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (81401012) and the General Program of National Natural Science Foundation of China (81571214,81471261). Corresponding author: Lin Jiangkai, E-mail: jklin@tmmu.edu.cn; Li Lan, E-mail: lilan88@aliyun.com

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是一种致残率高,常遗留瘫痪等后遗症的严重损伤。影响脊髓损伤后神经再生的因素包括多方面,胶质瘢痕是脊髓损伤后影响轴突再生和功能恢复的重要因素[1]。胶质瘢痕的主要细胞成分为活化的星形胶质细胞,其形成标志是细胞骨架蛋白胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)表达上调[2]。硫酸软骨素蛋白聚糖(chondroitin sulfate proteoglycan,CSPG)是胶质瘢痕细胞外基质中主要抑制性分子,构成阻碍轴突再生的化学性屏障[3],主要由星形胶质细胞分泌。生长相关蛋白 43(GAP-43)是一种神经组织特异性磷酸蛋白,主要位于神经元胞体和轴突生长锥,神经元生长发育和轴突再生的标志物。

莱菔硫烷(sulforaphane,SFN)是一种主要存在于十字花科类植物中的异硫氰酸酯类物质,具有抗肿瘤、抗炎、抗凋亡、抗氧化以及清除自由基等生物功能[4-5]。近年来研究发现 SFN 在中枢神经系统创伤早期有很好的抗炎、减轻水肿等神经保护作用[6-7]。但关于 SFN 对脊髓损伤后期胶质瘢痕形成、神经再生是否有影响尚少见报道,本研究拟观察 SFN 对小鼠脊髓损伤后炎症反应、胶质瘢痕、轴突再生的干预作用,探讨其在脊髓损伤中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要仪器与试剂 鸡抗 GFAP 多克隆抗体(Abcam,美国)、小鼠抗 CSPG 单克隆抗体(Sigma,美国),兔抗 GAP-43 多克隆抗体(Abcam,美国),兔抗 NF-κB P65 多克隆抗体(Abcam,美国),FITC 标记羊抗鸡 IgY 抗体(Santa Cruz,美国)、Cy3 标记山羊抗小鼠 IgG 抗体(Beyotime biotechnology,中国)、Cy3 标记山羊抗兔 IgG 抗体(Beyotime biotechnology,中国)、即用型正常山羊血清(Boster,中国)、Triton X-100(Beyotime biotechnology,中国)、莱菔硫烷(LKT,美国),WB 电泳仪、转膜仪(Invitrogen,美国),冰冻切片机(LEICA CM1800,德国),激光共聚焦显微镜(Zeiss SLM780)。

1.1.2 实验动物及分组 66 只成年雌性 ICR 小鼠,购于北京华阜康生物科技股份有限公司,体质量(25 ±3) g,按随机数字表法分为 4 组:假手术组(A 组,$n=12$)、单纯损伤组(B 组,$n=18$)、溶剂对照组(C 组,$n=18$)、莱菔硫烷组(D 组,$n=18$)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型建立 4% 水合氯醛经腹腔注入麻醉小鼠(10 mL/kg),备皮,碘伏消毒,以 T11 棘突为中

心,在背部正中作约 2 cm 长切口,依次切开皮肤、皮下组织,切开椎旁肌向两侧分离,显露 T9～L1 椎体棘突及椎板。探查小鼠左侧第 13 肋骨,其脊柱发出部位即 T12 与 T13 交界处,判定 T11 脊椎位置,咬除 T11 椎体棘突及背侧椎板,血管夹从左右两侧将 T11 节段小鼠脊髓压迫至 0.2 mm[8],持续 15 s,保持脊膜完整,术中严格止血,逐层缝合肌肉和皮肤。假手术组只打开椎板,不损伤脊膜及脊髓。术后置于暖光灯下复苏,麻醉苏醒后 BMS 评分 0 分判断为建模成功。术后分笼饲养,每天挤压膀胱协助排尿 2 次。

1.2.2 动物给药方案及管理 小鼠造模后即腹腔注射给药。莱菔硫烷组将 SFN 以玉米油助溶,给药剂量 5 mg/kg,此后每日给药 1 次,总共 7 次[9]。溶剂对照组按相同方法腹腔注射等体积玉米油,总共 7 次。单纯损伤组未行腹腔注射。各组小鼠造模后每日按压膀胱排尿 2 次,间隔 12 h,直至小鼠排便功能基本恢复。实验中严格遵循科技部《关于善待实验动物的指导性意见》。

1.2.3 小鼠后肢功能评分 小鼠脊髓损伤后于相应时间点采用 BMS 评分法[10]评估小鼠后肢运动功能恢复情况。方法:评分平台为直径 100 cm,高 30 cm 的塑料观察盆,伤后 1、7、14、21、28 d 进行评分。将小鼠置于塑料盆持续观察,按评分法相应标准判分,0 分表示后肢完全瘫痪无活动能力,9 分表示运动功能正常。

1.2.4 免疫荧光染色 将小鼠过量麻醉,向左心室快速灌注约 50 mL 生理盐水,再以 4% 多聚甲醛溶液 50 mL 灌注,先快后慢,至小鼠四肢及躯干僵硬,将脊髓分离完整取出,4% 多聚甲醛溶液 4 ℃固定 24 h,30% 蔗糖溶液脱水过夜,取出脊髓组织,以损伤部位为中心,前后各留取 5 mm,剪去多余脊髓,OCT 包埋,冰冻切片机切片,厚度 14 μm。将冰冻切片于 50 ℃烤箱中烘烤 1 h,PBS 漂洗,4% 多聚甲醛浸泡,1% Triton X-100 通透细胞膜,10% 正常山羊血清封闭,荧光双标染色,滴加兔抗 P65(1∶200)、鸡抗 GFAP(1∶1 000)、小鼠抗 CSPG(1∶200)一抗 4 ℃孵育过夜,滴加羊抗鸡 IgY(1∶200)、羊抗兔 IgG(1∶200)、羊抗小鼠(1∶200)IgG 二抗 37 ℃孵育 2 h,DAPI 染色,抗荧光淬灭剂封片,激光共聚焦显微镜观察结果。

1.2.5 Western blot 检测 GFAP、CSPG、GAP-43、P65 的表达 小鼠麻醉后快速取出脊髓组织,以损伤部位为中心,前后各留取 5 mm,剪去多余脊髓。将脊髓标本以细胞核蛋白与细胞浆蛋白抽提试剂盒抽提蛋白,BCA 蛋白浓度测定试剂盒检测浓度,浓度调定一致后等体积上样,SDS-PAGE 电泳分离蛋白,湿转到 PVDF 膜,封闭 1 h,一抗 4 ℃孵育过夜(GFAP 1∶10 000、CSPG 1∶1 000、P65 1∶500、GAP-43 1∶500);二抗孵育 2 h,化学发光液显影,用 Image Lab 软件分析各条带相对值。

1.2.6 ELISA 检测 TNF-α、IL-1β 将小鼠麻醉后快速取出脊髓组织,以损伤部位为中心,前后剪取 5 mm,将标本匀浆、提取蛋白,调定蛋白浓度。采用 eBioscience 公司 ELISA 试剂盒,按照试剂说明书操作。配制标准品后加入待测样品,37 ℃孵育 30 min,PBS 缓冲液反复洗涤后加入酶标试剂再次 37 ℃孵育 30 min,最后加入显影剂并于酶标仪检测光密度。

1.3 统计学方法

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

2 结果

2.1 小鼠后肢功能评分

假手术组各时间点评分均为 9 分,后肢运动功能无明显异常。各脊髓损伤组在伤后 1 d 评分差异无统计学意义($P>0.05$),单纯损伤组、溶剂对照组各观察点评分差异无统计学意义($P>0.05$)。7 d 以后各组小鼠后肢功能均逐渐有所恢复,莱菔硫烷组在各时间点均优于单纯损伤组和溶剂对照组($P<0.05$,表 1)。

表 1 各组小鼠损伤后不同时间 BMS 评分($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	1 d	7 d	14 d	21 d	28 d
假手术组	9.00±0.00	9.00±0.00	9.00±0.00	9.00±0.00	9.00±0.00
单纯损伤组	0.00±0.00	0.00±0.00	0.83±0.40	2.00±0.63	2.17±0.41
溶剂对照组	0.00±0.00	0.00±0.00	1.00±0.00	2.17±0.75	2.33±0.52
莱菔硫烷组	0.00±0.00	0.83±0.41[a]	2.67±0.52[a]	3.17±0.41[a]	3.33±0.52[a]

a:$P<0.05$,与单纯损伤组和溶剂对照组比较

2.2　免疫荧光染色

脊髓损伤后7 d,各组损伤区域周边部分均可见大量活化星形胶质细胞,表现为GFAP染色明显,胞体肿大,树突增粗,P65激活后由胞浆转入胞核,蓝色与红色荧光重叠。单纯损伤组及溶剂对照组与莱菔硫烷组相比,活化星形胶质细胞数量多,胞体肿大及树突增粗程度更明显,P65核移位细胞数量多,染色程度强。莱菔硫烷组活化星形胶质细胞数量减少,细胞活化程度与P65核移位情况均较弱(图1)。图2可见各损伤组CSPG阳性染色,与莱菔硫烷组相比,单纯损伤组及溶剂对照组CSPG染色范围更大,染色程度更强,CSPG表达量明显多于莱菔硫烷组。单纯损伤组及溶剂对照组各方面比较无明显差异。荧光实验说明,星形胶质细胞活化情况与P65核移位成正比,莱菔硫烷干预后减少了P65核移位,抑制了星形胶质细胞活化及CSPG表达。

2.3　Western blot检测P65、GFAP、CSPG、GAP-43蛋白表达

在脊髓损伤后7 d分别从各组取损伤部位脊髓组织,Western blot检测P65、GFAP、CSPG蛋白表达,伤后28 d检测各损伤组GAP-43蛋白表达情况,所检测P65为细胞核核蛋白含量。损伤后7 d,P65、GFAP、CSPG表达量均较假手术组增加,但莱菔硫烷组表达量均较其余损伤组低($P<0.05$),单纯损伤组与溶剂对照组之间差异无统计学意义($P>0.05$)。P65、GFAP、CSPG三种蛋白在组间变化的趋势是一致的,说明莱菔硫烷抑制脊髓损伤后GFAP、CSPG的表达可能与抑制P65活化进入细胞核发挥生物学效应相关。伤后28 d,莱菔硫烷组GAP-43蛋白表达量明显高于其余损伤组($P<0.05$),后者之间比较差异无统计学意义($P>0.05$),说明莱菔硫烷可明显提高脊髓损伤后GAP-43蛋白含量(图3、4)。

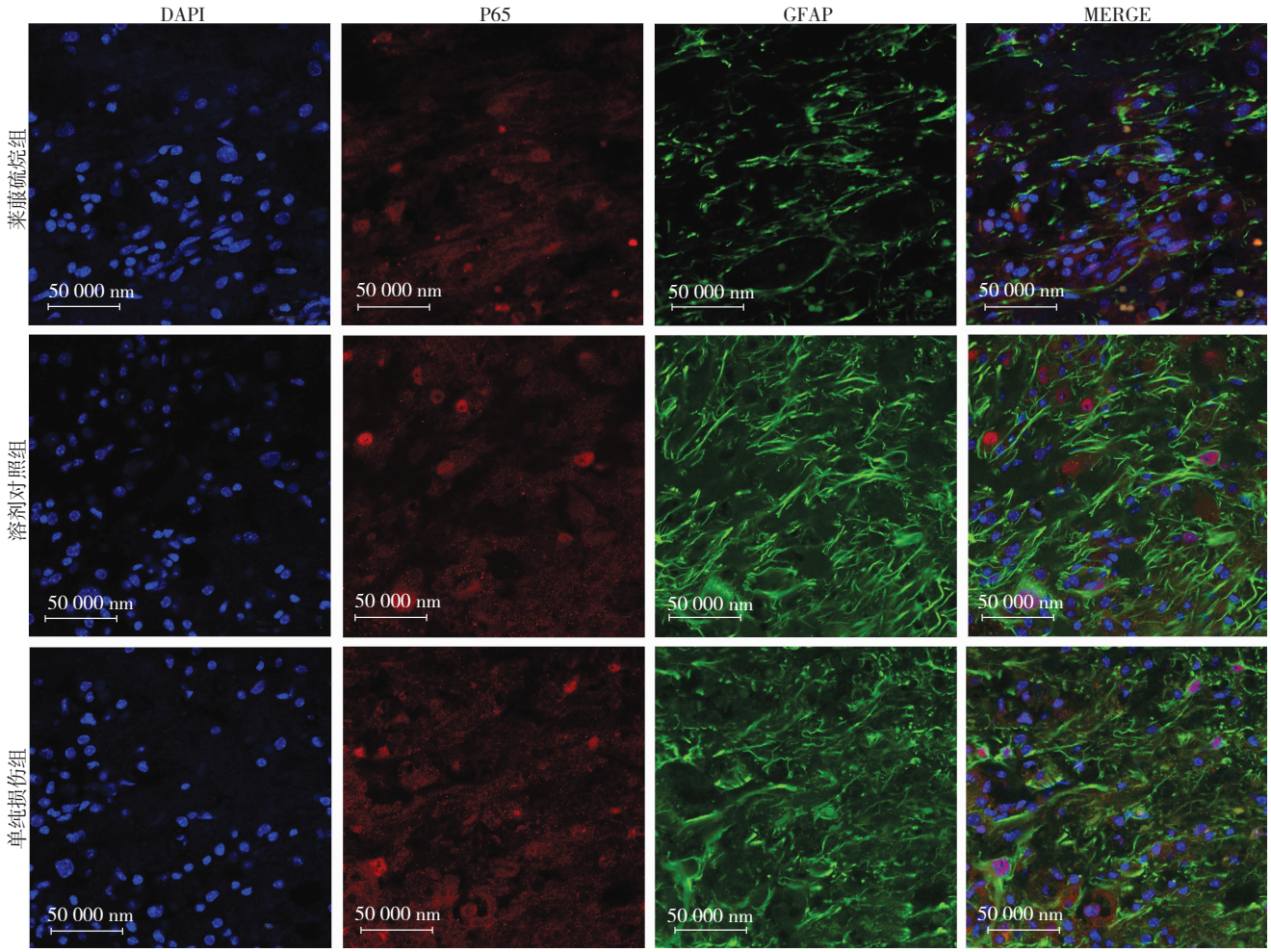


图1　激光共聚焦显微镜观察脊髓损伤1周后各组小鼠损伤部位附近GFAP、P65表达情况

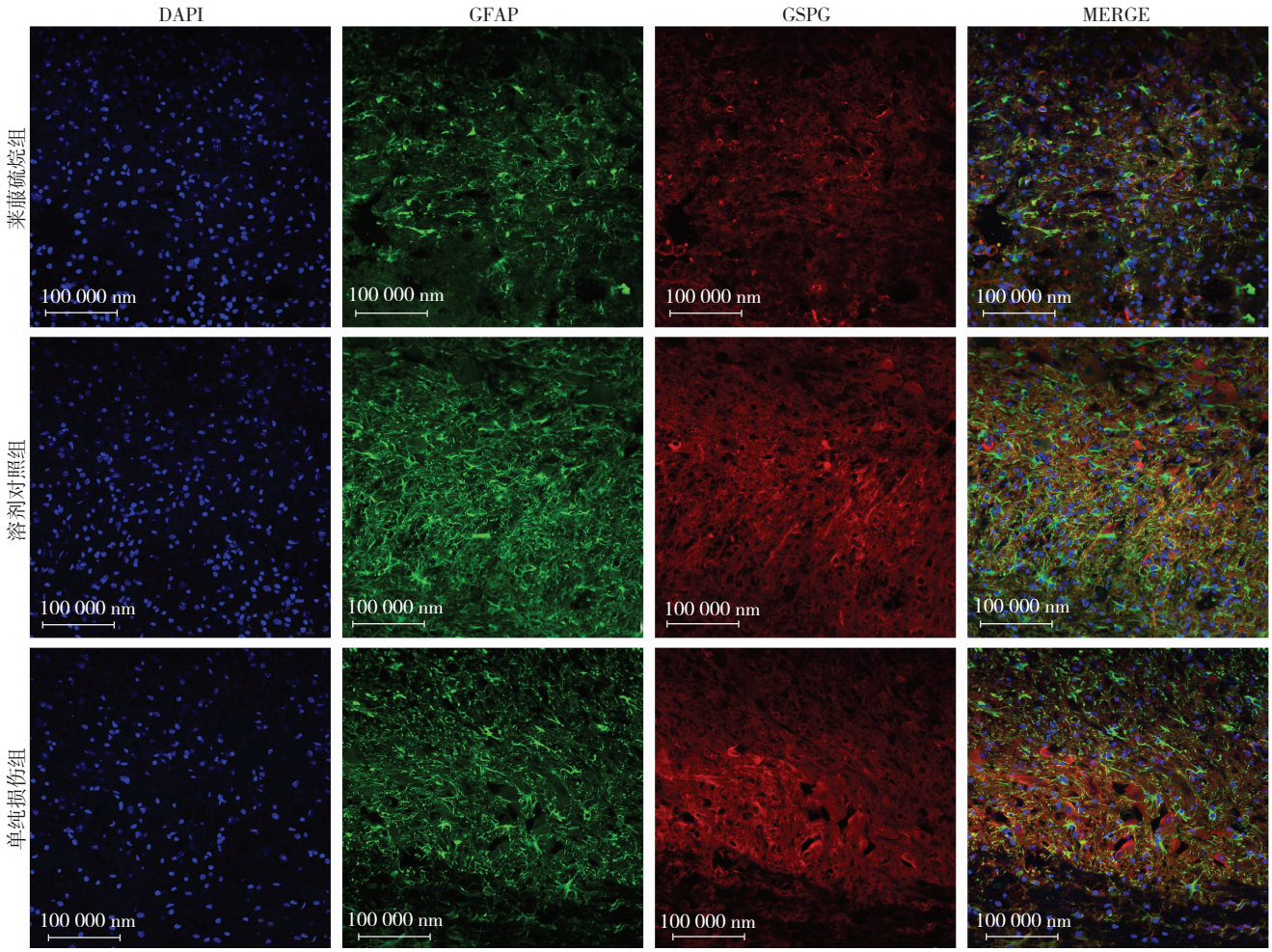
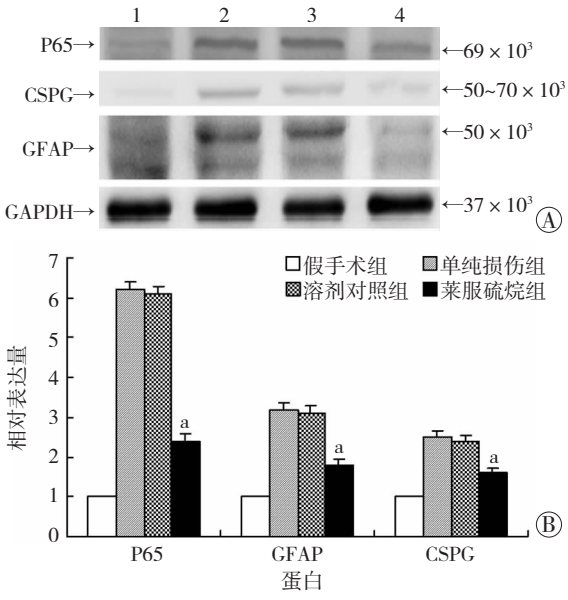
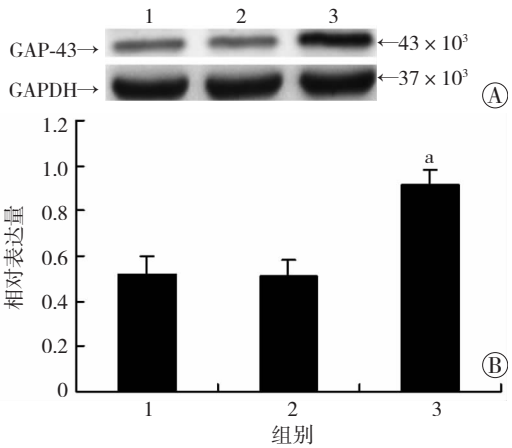


图 2　激光共聚焦显微镜观察各组小鼠脊髓损伤 1 周后损伤部位附近 GFAP、CSPG 表达情况



1:假手术组;2:单纯损伤组;3:溶剂对照组;4:莱服硫烷组;A:Western blot 检测结果;B:半定量分析结果　a:$P<0.05$,与单纯损伤组和溶剂对照组比较

图 3　Western blot 检测各组小鼠脊髓损伤 7 d 后 GFAP、CSPG、P65 表达情况



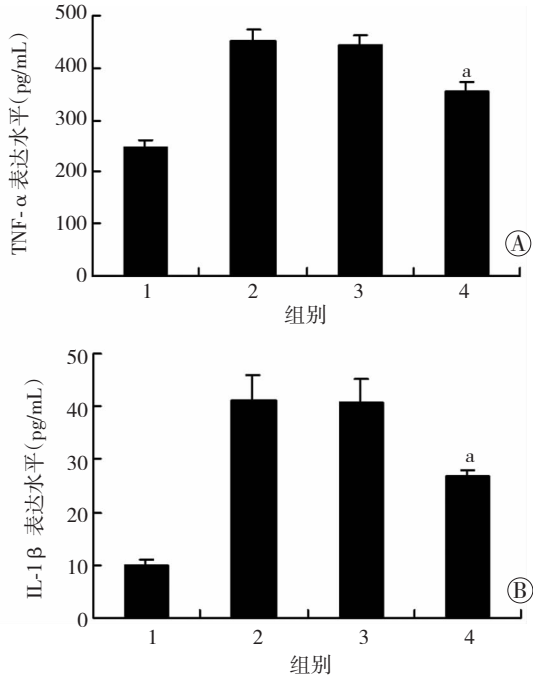
A:Western blot 检测结果;B:半定量分析结果　1:单纯损伤组;2:溶剂对照组;3:莱服硫烷组;a:$P<0.05$,与单纯损伤组和溶剂对照组比较

图 4　Western blot 检测各脊髓损伤组 28 d 后损伤部位 GAP-43 的表达

2.4　ELISA 检测 TNF-α、IL-1β 的表达

在脊髓损伤后 7 d,分别从各组取损伤部位脊髓组织 ELISA 检测 TNF-α、IL-1β 表达情况。各脊髓损伤

组 TNF-α、IL-1β 表达量均高于假手术组,损伤组之间比较,莱菔硫烷组 TNF-α、IL-1β 表达量明显低于其余损伤组($P<0.05$),而单纯损伤组与溶剂对照组比较差异不明显。ELISA 结果表明,莱菔硫烷干预脊髓损伤后可明显减少重要炎症因子 TNF-α、IL-1β 的表达(图 5)。



1:假手术组;2:单纯损伤组;3:溶剂对照组;4:莱菔硫烷组;a:$P<0.05$,与单纯损伤组和溶剂对照组比较

图 5 ELISA 检测各组小鼠脊髓损伤 7 d 后损伤部位 TNF-α(A)、IL-1β(B)水平

3 讨论

SCI 后损伤部位局部反应性胶质化形成胶质瘢痕,是阻碍轴突再生的主要因素[11],其产生的 CSPG 也是抑制轴突再生的重要原因[12]。目前人们已从抑制星形胶质细胞增殖活化、GFAP 基因敲除、降解 CSPG 及抑制其分泌等多种途径去研究抑制胶质瘢痕。Tian 等[13]使用细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂干预细胞周期,阻碍细胞 DNA 合成和细胞分裂,抑制星形胶质细胞增殖。Ray 等[14]将钙蛋白酶抑制剂注入脊髓损伤局部,可抑制局部星形胶质细胞活化而减轻胶质增生。Menet 等[15]发现 GFAP、VIM 基因敲除小鼠脊髓损伤后胶质瘢痕形成明显减轻。Xia 等[16]发现大鼠脊髓损伤后联合运用软骨素酶 ABC 和反义波形蛋白 cDNA 可提高轴突再生和功能恢复。上述方法为我们寻找治疗途径开拓了思路,但将其运用到临床尚有一定距离。SCI 后抑制过度炎症反应已成为普遍认可的临床治疗策略。甲基强的松龙已成为 SCI 后常用药,但激素类药物存在继发性感染、消化道出血等副作用。临床适用性较理想的药物仍有待于研发。

SFN 具有抗肿瘤、抗炎、抗凋亡、抗氧化以及清除自由基等多种生物功能,在动物实验中已被证实可在肌肉、肾脏、血管等多种组织中显示出良好的抑制炎症效应[17-19],而在 SCI 后与胶质瘢痕、轴突再生是否有关尚未见报道。

我们于 SCI 后连续 7 d 将莱菔硫烷注入 ICR 小鼠腹腔,在小鼠伤后 1 周行免疫荧光染色,发现莱菔硫烷组活化星形胶质细胞数量比单纯损伤组明显减少,胞体肿大及树突增粗情况较后者弱,细胞周围分泌 CSPG 亦较后者弱,同时 P65 活化核移位减少。实验表明 SFN 可抑制 SCI 后 P65 活化,影响活化星形胶质细胞的形态及数量,可减少星形胶质细胞增殖,抑制其活化程度,降低损伤后的过度胶质化反应,减少 CSPG 表达。Western blot 检测发现莱菔硫烷组 GFAP、CSPG、P65 蛋白表达水平均较其余损伤组明显减轻,与形态学实验结果相吻合。ELISA 实验表明 SFN 显著降低了 SCI 后脊髓损伤部位炎症因子 TNF-α、IL-1β 的表达。伤后 28d Western blot 检测各损伤组轴突再生标志物 GAP-43 表达情况,莱菔硫烷组明显高于其余损伤组,其干预后可显著促进轴突再生。行为学上,除伤后 1 d,莱菔硫烷组 BMS 评分均显著高于溶剂对照组及单纯损伤组。

近年来研究发现 SFN 在 SCI 中也表现出较好的抑制神经炎症和神经保护作用[20]。Mao 等[7]在小鼠 SCI 模型中以 SFN 干预后可降低 MMP-9、TNF-α 等炎症因子表达,减轻脊髓水肿。SFN 在大鼠 SCI 模型中也可降低 MMP-9 等炎症因子表达[6]促进后肢运动功能恢复。这与本研究结果是一致的。炎症反应在脊髓继发性损伤中有重要作用[21],SCI 后的炎症反应与反应性胶质化、CSPG 的产生,乃至胶质瘢痕形成关系密切。本研究发现 SFN 可抑制 SCI 后 P65 活化核移位,降低炎症因子 TNF-α、IL-1β 表达,降低损伤部位 GFAP、CSPG 表达,减轻胶质瘢痕形成,后期上调 GAP-43 表达,促进轴突再生,改善小鼠后肢运动功能。我们推测 SFN 可能通过抑制炎症反应而减轻胶质瘢痕形成促进神经轴突再生。本研究中发现 SFN 降低 SCI 后 CSPG 表达,可能是由于其抑制星形胶质细胞活化增殖而导致 CSPG 分泌减少。

本研究用 SFN 干预 SCI 后胶质瘢痕形成有诸多的优点。SFN 可联合抑制胶质瘢痕的细胞成分和细胞外基质成分。SFN 具有抗凋亡、抗炎、抗氧化以及清除自由基等生物功能,应用于治疗 SCI 可能存在多重抗

损伤机制,更有利于神经保护及再生。SFN 来源广泛,取材容易,药物成本相对较低。

综上所述,SFN 可减轻脊髓损伤后炎症反应,抑制胶质瘢痕形成,促进轴突再生,改善神经功能恢复,应用于脊髓损伤具有潜在的价值。

参考文献:

[1] Cregg J M, DePaul M A, Filous A R, *et al*. Functional regeneration beyond the glial scar[J]. Exp Neurol, 2014, 253: 197 - 207. DOI: 10.1016/j.expneurol.2013.12.024

[2] Wilhelmsson U, Li L, Pekna M, *et al*. Absence of glial fibrillary acidic protein and vimentin prevents hypertrophy of astrocytic processes and improves post-traumatic regeneration [J]. J Neurosci, 2004, 24(21): 5016 - 5021. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0820-04.2004

[3] Silver J, Miller J H. Regeneration beyond the glial scar[J]. Nat Rev Neurosci, 2004, 5(2): 146 - 156. DOI: 10.1038/nrn1326

[4] Lin W, Wu R T, Wu T, *et al*. Sulforaphane suppressed LPS-induced inflammation in mouse peritoneal macrophages through Nrf2 dependent pathway[J]. Biochem Pharmacol, 2008, 76(8): 967 - 973. DOI: 10.1016/j.bcp.2008.07.036

[5] Soane L, Li-Dai W, Fiskum G, *et al*. Sulforaphane protects immature hippocampal neurons against death caused by exposure to hemin or to oxygen and glucose deprivation[J]. J Neurosci Res, 2010, 88(6): 1355 - 1363. DOI: 10.1002/jnr. 22307

[6] Benedict A L, Mountney A, Hurtado A, *et al*. Neuroprotective effects of sulforaphane after contusive spinal cord injury [J]. J Neurotrauma, 2012, 29(16): 2576 - 2586. DOI: 10.1089/ neu.2012.2474

[7] Mao L, Wang H D, Wang X L, *et al*. Sulforaphane attenuates matrix metalloproteinase-9 expression following spinal cord injury in mice[J]. Ann Clin Lab Sci, 2010, 40(4): 354 - 360.

[8] 李兰, 赵天智, 夏永智, 等. C5a 受体拮抗剂对小鼠脊髓损伤后后肢功能的影响及作用机制[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(8): 763 - 766.

[9] Thejass P, Kuttan G. Modulation of cell-mediated immune response in B16F-10 melanoma-induced metastatic tumor-bearing C57BL/6 mice by sulforaphane[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2007, 29(2): 173 - 186. DOI: 10.1080/08923970701511728

[10] Basso D M, Fisher L C, Anderson A J, *et al*. Basso Mouse Scale for locomotion detects differences in recovery after spinal cord injury in five common mouse strains[J]. J Neurotrauma, 2006, 23(5): 635 - 659. DOI: 10.1089/ neu.2006.23.635

[11] Sofroniew M V. Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation[J]. Trends Neurosci, 2009, 32(12): 638 - 647. DOI: 10.1016/j.tins.2009.08.002

[12] Silver J Miller J N. Regeneration beyond theglialscar[J]. Nat Rev Neurosci, 2004, 5(2): 146 - 156. DOI: 10.1038/nrn1326

[13] Tian D S, Yu Z Y, Xie M J, *et al*. Suppression of astroglial scar formation and enhanced axonal regeneration associated with functional recovery in a spinal cord injury rat model by the cell cycle inhibitor olomoucine[J]. J Neurosci Res, 2006, 84(5): 1053 - 1063. DOI: 10.1002/jnr.20999

[14] Ray S K, Matzelle D D, Wilford G G, *et al*. Inhibition of calpain-mediated apoptosis by E-64 d-reduced immediate early gene (IEG) expression and reactive astrogliosis in the lesion and penumbra following spinal cord injury in rats[J]. Brain Res, 2001, 916(1/2): 115 - 126.

[15] Menet V, Prieto M, Privat A, *et al*. Axonal plasticity and functional recovery after spinal cord injury in mice deficient in both glial fibrillary acidic protein and vimentin genes[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(15): 8999 - 9004. DOI: 10.1073/pnas.1533187100

[16] Xia Y, Yan Y, Xia H, *et al*. Antisense vimentin cDNA combined with chondroitinase ABC promotes axon regeneration and functional recovery following spinal cord injury in rats[J]. Neurosci Lett, 2015, 590: 74 - 79. DOI: 10.1016/j.neulet.2015.01.073

[17] Sun C C, Li S J, Yang C L, *et al*. Sulforaphane attenuates muscle inflammation in dystrophin-deficient Mdx mice via NF-E2-related factor 2 (Nrf2)-mediated inhibition of NF-kappaB signaling pathway[J]. J Biol Chem, 2015, 290(29): 17784 - 17795. DOI: 10.1074/ jbc.M115.655019

[18] Nguyen B, Luong L, Naase H, *et al*. Sulforaphane pretreatment prevents systemic inflammation and renal injury in response to cardiopulmonary bypass[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2014, 148(2): 690 - 697.e3. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2013.12.048

[19] Nallasamy P, Si H, Babu P V, *et al*. Sulforaphane reduces vascular inflammation in mice and prevents TNF-alpha-induced monocyte adhesion to primary endothelial cells through interfering with the NF-kappaB pathway[J]. J Nutr Biochem, 2014, 25(8): 824 - 833. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2014.03.011

[20] Koushki D, Latifi S, Norouzi J A, *et al*. Efficacy of some non-conventional herbal medications (sulforaphane, tanshinone IIA, and tetramethylpyrazine) in inducing neuroprotection in comparison with interleukin-10 after spinal cord injury: A meta-analysis[J]. J Spinal Cord Med, 2015, 38(1): 13 - 22. DOI: 10.1179/2045772314Y.0000000215

[21] Bethea J R. Spinal cord injury-induced inflammation: a dual-edged sword[J]. Prog Brain Res, 2000, 128: 33 - 42.

(**收稿**:2015-11-26;**修回**:2016-01-19)

(编辑 汪勤俭)