DOI:10.16016/j.2097-0927.202202141

大麻素受体2激动剂AM1241抑制大鼠脊髓损伤后纤维瘢痕形成

凌成明[1,3],储卫华[1],袁继超[2],陈 欣[1],刘静静[1],张洪燕[1],林江凯[1] 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院:神经外科[1],神经内科[2];614000 四川 乐山,武警四川省总队医院神经外科[3]

[**摘要**] **目的** 探讨AM1241对大鼠脊髓损伤后纤维瘢痕形成的作用及其机制。**方法** 选取雌性6~8周龄Sprague-Dawley大鼠144只,分为4组:①假手术组(n=24)只移除椎板以暴露硬脊膜,不切开硬脊膜,术后给予生理盐水3 mL/kg;②载体组(n=40)建立大鼠脊髓背侧半切损伤模型,术后给予生理盐水3 mL/kg;③AM1241组(n=40)在载体组基础上给予大麻素受体2(cannabinoid receptor 2,CBR2)激动剂(AM1241,3 mg/kg)治疗;④AM1241+AM630组(n=40)在术后AM1241治疗前30 min给予CBR2拮抗剂(AM630,3 mg/kg)。各组药物均腹腔注射,1次/d,连续14 d。采用免疫荧光染色、Western blot、ELISA等方法评估AM1241对大鼠纤维瘢痕形成的抑制作用,同时采用行为学、电生理检测AM1241对大鼠神经功能的影响。**结果** 与载体组比较,AM1241组大鼠脊髓损伤后,主要纤维瘢痕成分的表达降低,脊髓损伤后,纤维瘢痕面积减少,给予CBR2拮抗剂AM630后逆转了上述现象,差异均有统计学意义(P<0.05)。tubulin βⅢ免疫荧光染色、行为学评估、电生理实验结果显示:AM1241组促进了脊髓神经元细胞的存活,改善了脊髓损伤后的神经功能,包括Basso-Beattie-Bresnahan(BBB)评分[载体组(15.38±0.38) *vs* AM1241组(18.38±0.50) *vs* AM1241+AM630组(15.50±0.33),P<0.05]、斜板实验角度[载体组(54.25±1.25)° *vs* AM1241组(64.25±1.05)° *vs* AM1241+AM630组(54.75±0.49)°,P<0.05]等;ELISA实验结果显示:AM1241组抑制M1型巨噬细胞标记物iNOS、TNF-α、IL-1β的表达(P<0.05),增强M2型巨噬细胞标记物CD206、Arg-1的表达(P<0.05),降低促纤维化因子TGF-β1的表达(P<0.01);而应用CBR2拮抗剂AM630后逆转了上述作用。**结论** 刺激大鼠CBR2能减少脊髓损伤后纤维瘢痕、改善神经功能,这一作用可能是通过影响巨噬细胞极化来实现的。

[**关键词**] 大麻素受体2/CBR2;大麻素受体2激动剂;脊髓损伤;纤维瘢痕;巨噬细胞极化

[**中图法分类号**] R364.31;R651.2;R977.6 [**文献标志码**] A

Cannabinoid receptor 2 agonist AM1241 inhibits fibrous scarring after spinal cord injury in rats

LING Chengming[1,3], CHU Weihua[1], YUAN Jichao[2], CHEN Xin[1], LIU Jingjing[1], ZHANG Hongyan[1], LIN Jiangkai[1]

[1]Department of Neurosurgery, [2]Department of Neurology, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038; [3]Department of Neurosurgery, Hospital of Sichuan Armed Police Corps, Leshan, Sichuan Province, 614000, China

[**Abstract**] **Objective** To determine the role of cannabinoid receptor 2 (CBR2) agonist, AM1241, in the formation of fibrous scars in rats after spinal cord injury and elucidate the underlying mechanism. **Methods** A total of 144 female Sprague-Dawley rats were selected and divided into 4 groups: sham operation group (n=24, only the lamina was removed to expose the dura mater, and 3 mL/kg normal saline was given postoperatively), vehicle group (n=40, the rats was inflicted to establish a model of dorsal hemisection and then given 3 mL/kg of normal saline), AM1241 group (n=40, the rats were given 3 mg/kg AM1241 on the

[**基金项目**] 国家自然科学基金面上项目(81571214);重庆市技术创新与应用示范项目(cstc2018jscx-msybX0092)

[**通信作者**] 林江凯,E-mail:jklin@tmmu.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2022,陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

basis of the vehicle group), and AM1241+AM630 group (n=40, after modeling, the rats were given 3 mg/kg AM630, CBR2 antagonist, in 30 min before AM1241 treatment). The corresponding drugs were injected intraperitoneally to each group, once a day, for 14 consecutive days. Immunofluorescence staining, Western blotting and ELISA were performed to evaluate the inhibitory effects of AM1241 on fibrous scar formation, and behavioral electrophysiology were carried out to detect its effect on neurological function. **Results** After spinal cord injury, AM1241 significantly reduced the expression of the main molecules in fibrous scars, as well as the area of fibrous scar, while the treatment of AM630 reversed above phenomena, with statistical significances (P<0.05). The results of tubulin βⅢ immunofluorescence staining, behavioral assessment as well as electrophysiological experiments demonstrated that AM1241 could promote the survival of spinal cord neurons, improve neurological function after injury, such as Basso-Beattie-Bresnahan(BBB) score and angle of oblique board test [vehicle group *vs* AM1241 group *vs* AM1241+AM630 group: 15.38±0.38 *vs* 18.38±0.50 *vs* 15.50±0.33, P<0.05; (54.25±1.25)° *vs* (64.25±1.05)° *vs* (54.75±0.49)°, P<0.05]. ELISA indicated that AM1241 inhibited the expression of iNOS, TNF-α and IL-1β (markers of M1-type macrophages, P<0.01), enhanced the expression of CD206 and Arg-1 (markers of M2-type macrophages, P<0.05), and decreased the expression of TGF-β1 (fibrogenic factor, P<0.01). The treatment of CBR2 antagonist, AM630 led to opposite results. **Conclusion** Stimulation of CBR2 decreases fibrous scarring and improves neurological function after spinal cord injury in rats, which might be attained by influencing macrophage polarization.

[**Key words**] cannabinoid receptor 2; cannabinoid receptor 2 agonist; spinal cord injury; fibrous scar; macrophage polarization

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81571214) and the Project of Technology Innovation and Application Demonstration of Chongqing (cstc2018jscx-msybX0092). Corresponding author: LIN Jiangkai, E-mail: jklin@tmmu.edu.cn

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)发病率高,致残率高,导致严重的神经功能障碍。除胶质瘢痕外,纤维瘢痕是阻碍神经再生的重要因素。纤维瘢痕主要是成纤维细胞增殖组成,其释放的炎症因子以及细胞外基质成分阻碍了轴突新生。因此,抑制纤维瘢痕能改善脊髓损伤后运动功能。炎症反应在纤维瘢痕形成中发挥重要作用,调控炎症反应能减少纤维瘢痕形成。

大麻素受体2(cannabinoid receptor 2,CBR2)是一个G蛋白偶联受体家族,主要表达于外周免疫细胞和胶质细胞。有学者认为其在神经系统,也可能存在于神经元中[1],能抑制皮肤创伤纤维化[2]、心肌纤维化[3]、肾纤维化[4]和肺纤维化[5],但在脊髓损伤后纤维瘢痕形成中的作用并不清楚。CBR2激动剂通过抗炎活性降低脑损伤后的神经变性[6],同时可降低脊髓中Iba1的表达及IL-1β、TNF-α和IL-6的生成[7]。既然大麻素受体能在脊髓损伤后发挥抗炎作用,结合纤维瘢痕形成机制,我们推测CBR2激动剂能抑制脊髓损伤后纤维瘢痕形成。为了验证上述假说,本研究建立大鼠脊髓损伤模型后给予CBR2激动剂干预,探讨其对纤维瘢痕的抑制作用及神经保护作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和药品

一抗兔抗PDGFRβ、兔抗层粘连蛋白、兔抗纤连蛋白、兔抗-tubulin βⅢ、鸡抗胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)均购自Abcam公司,二抗山羊抗鸡IgG及、山羊抗兔IgG购自Abcam公司。CBR2激动剂AM1241购自Abcam公司、CBR2拮抗剂AM630购自Cayman公司。TGF-β1(MK1722A)、iNOS(MK1515A)、TNF-α(MK1721B)、IL-1β(MK1588B)、CD206(MK7025B)、Arg-1(MK6667B) ELISA试剂盒均购自江苏MEIKE公司。

1.2 实验分组及给药方案

大鼠由陆军军医大学实验动物中心提供。选取出生6~8周,体质量(240±20)g的雌性Sprague-Dawley大鼠144只。动物实验经陆军军医大学实验动物护理与使用伦理委员会批准[SYXK(渝)20170002]。实验分组:①假手术组(sham组,n=24);②载体组(vehicle组,n=40);③AM1241组(n=40);④AM1241+AM630组(n=40)。假手术组和载体组术后立即给予生理盐水3 mL/kg,AM1241组术后立即给予AM1241(ab120934

3 mg/kg)首剂。AM1241+AM630 组在给予 AM1241 治疗前 30 min 给予 AM630 (Cayman 10006974 3 mg/kg)。药物均腹腔注射,每隔 24 h 给药 1 次,连续 14 d。术后腹腔注射左氧氟沙星,连续 3 d,1 次/d,预防感染。膀胱压迫每日 2 次,直至自主膀胱功能恢复。

1.3 建立动物模型

大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉。按照既往手术方式建模[8-9]。不同之处在于 T9 段背侧垂直于脊髓长轴硬脑膜和蛛网膜切开暴露脊髓后,再使用预先标记刀尖的虹膜剪切开 1.5 mm。将肌肉和皮肤缝合,放置在孵箱中,直到动物复苏。假手术组只移除椎板以暴露硬脊膜,但不切开硬脊膜。术后对其余各组进行 MRI (Bruker 7.0T)检查,确认背侧半切模型符合实验要求。

1.4 行为学评估

在术后 1、3、7、14、21、28 d,根据大鼠质量,每组进行分层抽样,按随机数字表法选取 8 只大鼠进行后肢功能行为学评估。将大鼠置于直径 2 m 的圆形平台上,持续 4 min,观察后肢的运动情况,进行 Basso Beattie Bresnahan(BBB)评分,0 分为无活动能力,完全瘫痪;21 分为运动功能正常[9-11]。2 h 后,进行斜板实验(olique board test)。将大鼠放置在铺有橡胶垫的矩形板上,逐步增加与水平地面的夹角,当大鼠能在斜板停留保持 5 s 以上,记录此时角度,测 3 次,取均值[9,11]。

1.5 免疫荧光染色

术后 28 d,大鼠用戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(40 mg/kg),4%多聚甲醛灌注后取脊髓组织($n=10$)。而后用 4%多聚甲醛溶液固定 24 h,30%蔗糖溶液脱水过夜,取损伤中心头侧及尾侧各 5 mm,OCT 包埋后切片,切片厚度为 16 μm。进行 PDGFRβ、层黏连蛋白、纤连蛋白、tubulin βⅢ的免疫荧光染色。滴加兔抗 PDGFRβ(1∶200)、兔抗层黏连蛋白(1∶200)、兔抗纤连蛋白(1∶100)、兔抗 tubulin βⅢ (1∶500)、鸡抗 GFAP (1∶1 000)一抗 4 ℃孵育过夜,二抗山羊抗鸡 IgG (1∶1 000)、山羊抗兔 IgG(1∶500) 37 ℃孵育 2 h。DAPI 复染细胞核,用抗荧光猝灭封片剂封片,用激光共聚焦显微镜观察结果。

1.6 Western blot 检测

术后 28 d,各组大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉后处死,取包含损伤中心头侧和尾侧各 5 mm 的脊髓($n=8$)。提取总蛋白,用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒检测总蛋白浓度。调整浓度至相同体积后,SDS-PAGE 电泳取蛋白,转移至 PVDF 膜上,密封 1 h,一抗(GFAP 1∶5 000, PDGFRβ 1∶500, 纤连蛋白 1∶1 000, GAP-43 1∶500),4 ℃孵育过夜。二抗孵育 2 h,用化学发光溶液显示图像。利用 Image Lab 软件对各条带的相对值进行分析。

1.7 电生理检查

术后 28 d,采用 Keypoint 9033A07 肌电图仪测量感觉诱发电位(sensory evoked potential, SEP)和运动诱发电位(motor evoked potential, MEP)。大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉($n=10$)。共使用 5 根针电极,按文献[12]放置每根电极的位置。SEP 用适合后肢轻微抽搐的直流方波电脉冲刺激。灵敏度 5 μV/D,扫描速度 10 ms/D,带通滤波范围 20~3 000 Hz,采用叠加技术,叠加次数 200 次,0.4~1.5 mA 电脉冲可使后肢脚趾轻微抽搐,频率 3 Hz。记录 SEP 潜伏期和振幅。然后更换电极来检测 MEP,方法参见文献[9]。

1.8 ELISA 检测

术后 14 d,取包含损伤中心头尾侧各 5 mm 的脊髓组织匀浆进行 ELISA 检测($n=6$),4 ℃、12 000×g 离心 15 min。具体方法参见文献[13]。使用 MEIKE TGF-β1 (MK1722A)、iNOS (MK1515A)、TNF-α (MK1721B)、IL-1β(MK1588B)、CD206(MK7025B)、Arg-1(MK6667B)ELISA 试剂盒,按生产厂家使用说明进行操作。

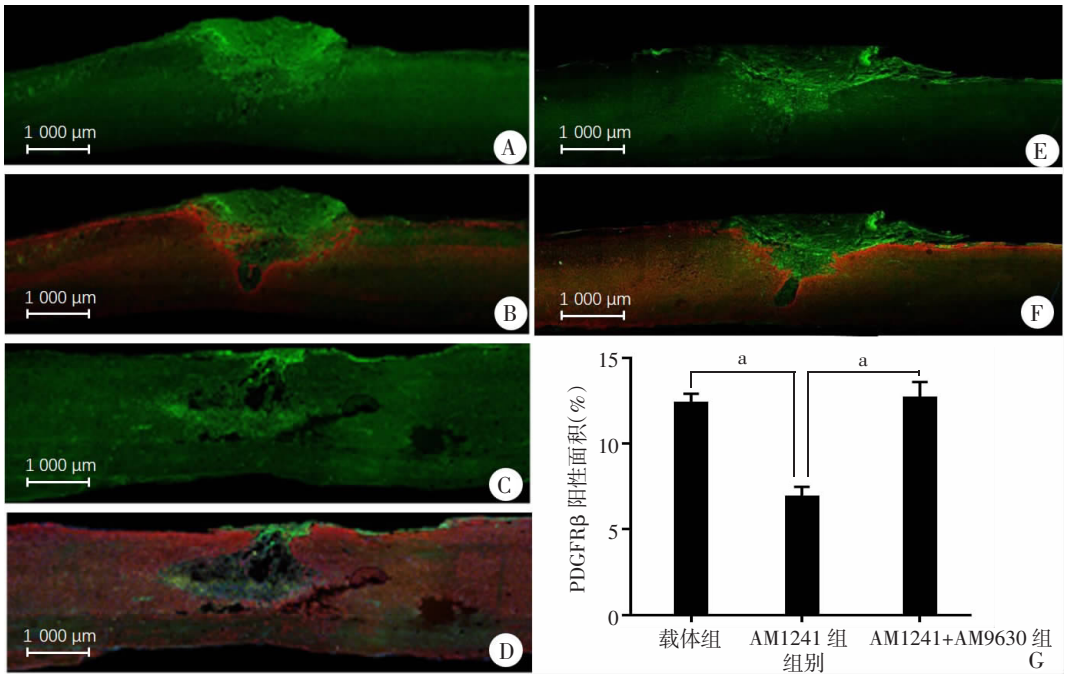
1.9 统计学分析

采用 SPSS 22.0 统计软件对数据进行分析,Image J_1.8.0 软件测量 PDGFRβ、层黏连蛋白和纤连蛋白免疫阳性染色区域。数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,LSD 比较组间差异。检验水准:$\alpha=0.05$。

2 结果

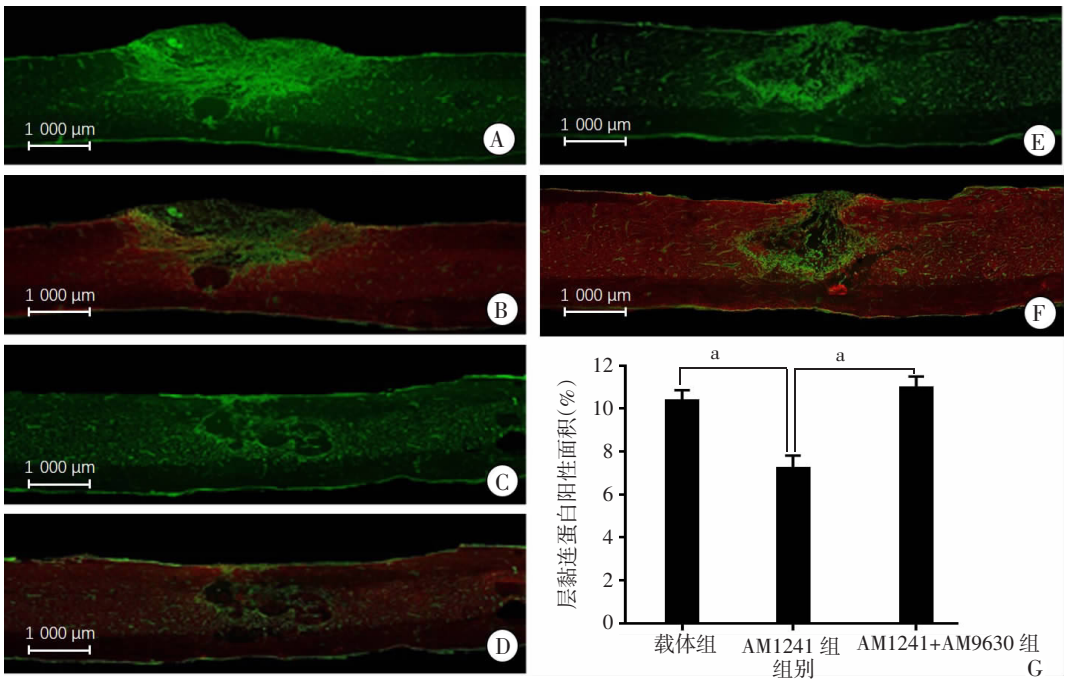
2.1 AM1241 抑制脊髓损伤后的纤维瘢痕形成

使用 PDGFRβ、层黏连蛋白和纤连蛋白染色检测脊髓损伤后的纤维瘢痕形成情况,使用 Image J_1.8.0 软件测量 PDGFRβ、层黏连蛋白和纤连蛋白染色阳性区域。结果显示,脊髓损伤后,纤维瘢痕标记物 PDGFRβ(图 1)、层黏连蛋白(图 2)和纤连蛋白(图 3)表达显著升高,与载体组比较,激活 CBR2 后显著降低 PDGFRβ、层黏连蛋白和纤连蛋白阳性面积($P<0.05$)。而给予 CBR2 拮抗剂 AM630 阻断 CBR2 作用后逆转了上述现象($P<0.05$)。表明激活 CBR2 能抑制纤维瘢痕形成。Western blot 结果也显示同样的趋势,AM1241 降低了纤连蛋白、PDGFRβ 和 GFAP 的表达,而 CBR2 阻断剂 AM630 逆转了这一现象(图 4)。



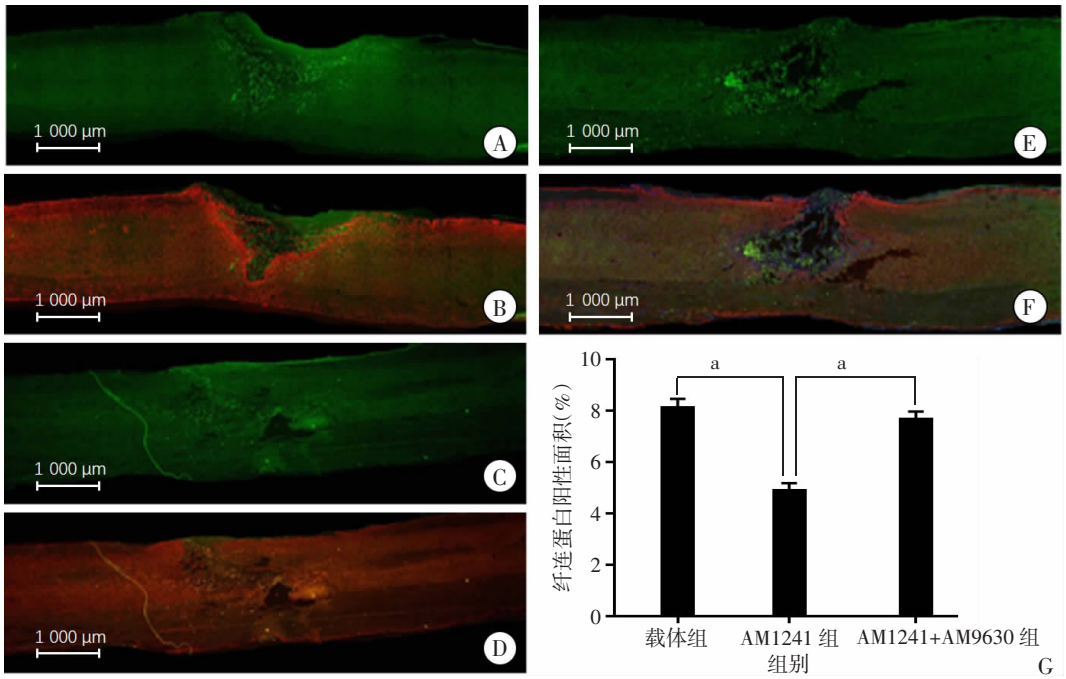
A、B:载体组单标及双标染色;C、D:AM1241 组单标及双标染色;E、F:AM1241+AM630 组单标及双标染色 GFAP 为红色;PDGFRβ 为绿色;G:各组 PDGFRβ 阳性面积百分比 a: $P<0.05$

图 1 激光共聚焦显微镜下观察脊髓损伤区域 PDGFRβ、GFAP 双标免疫荧光染色表达



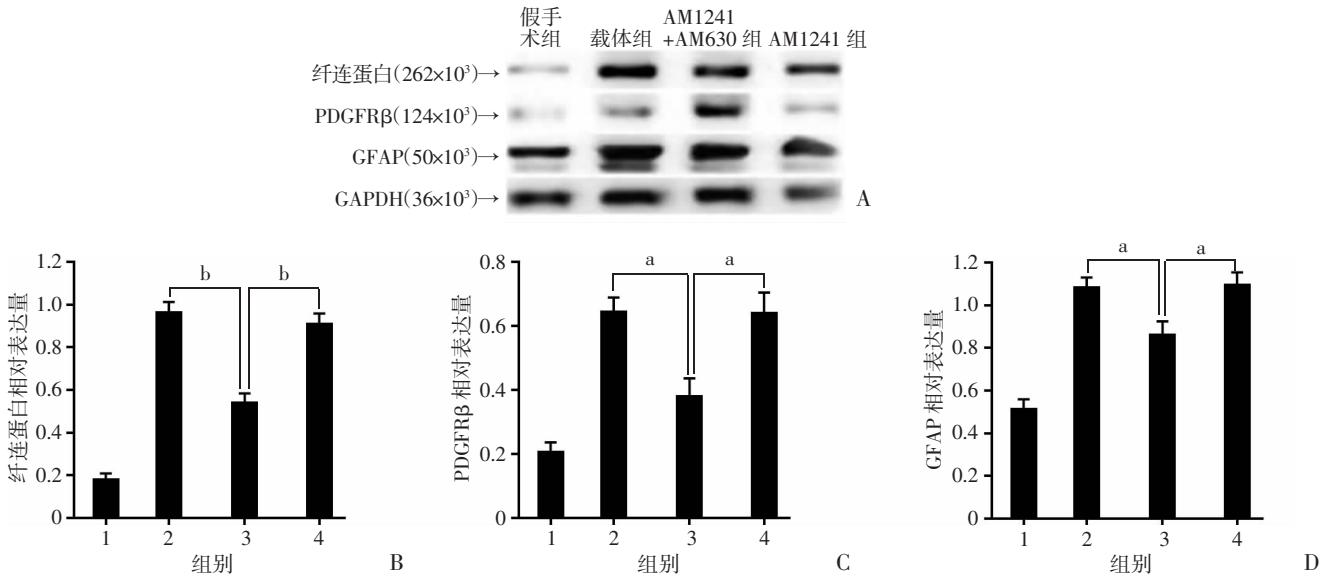
A、B:载体组单标及双标染色; C、D:AM1241 组单标及双标染色;E、F:AM1241+AM630 组单标及双标染色 GFAP 为红色;层黏连蛋白为绿色;G:各组层黏连蛋白阳性面积百分比 a: $P<0.05$

图 2 激光共聚焦显微镜下观察脊髓损伤区域层黏连蛋白、GFAP 双标免疫荧光染色表达



A、B:载体组单标及双标染色;C、D:AM1241 组单标及双标染色;E、F:AM1241+AM630 组单标及双标染色 GFAP 为红色;纤连蛋白为绿色;G:各组纤连蛋白阳性面积百分比 a:$P<0.05$

图 3 激光共聚焦显微镜下观察脊髓损伤区域纤连蛋白、GFAP 双标免疫荧光染色表达



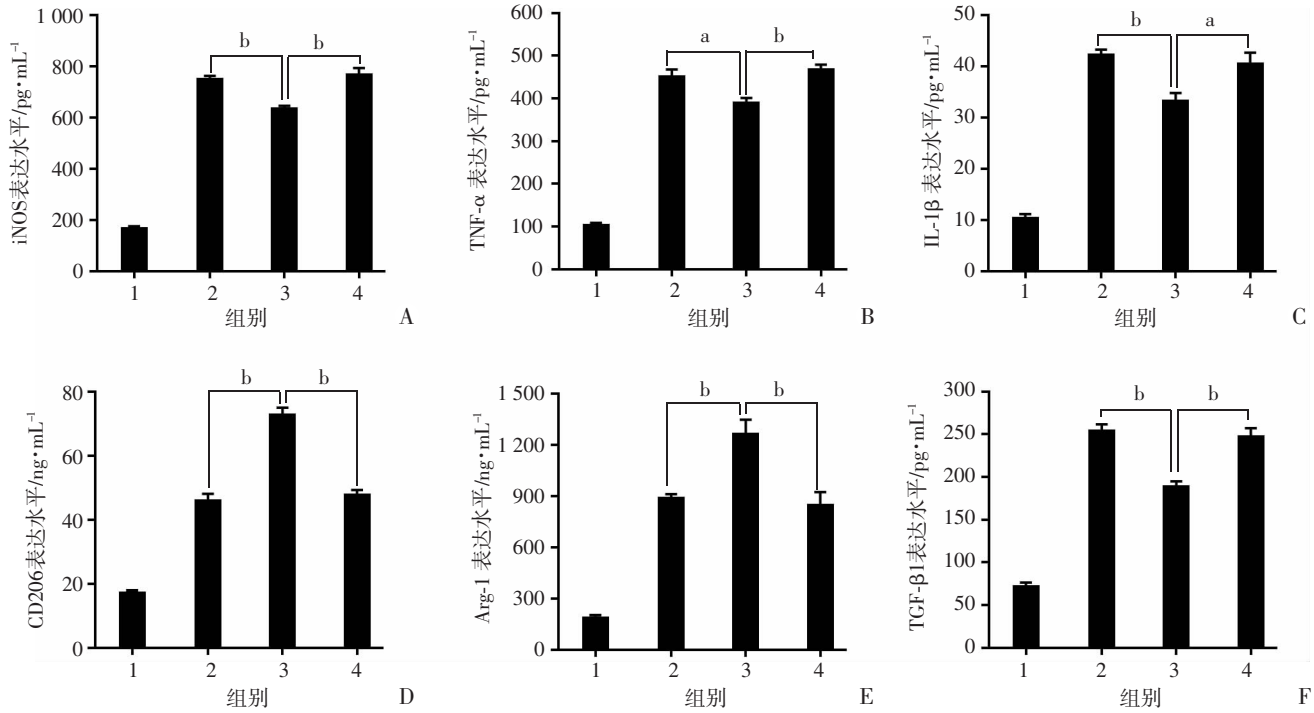
a:$P<0.05$,b:$P<0.01$;1:假手术组;2:载体组;3:AM1241 组;4:AM1241+AM630 组

A:Western blot 检测结果;B:纤连蛋白相对表达量;C:PDGFRβ 相对表达量;D:GFAP 相对表达量

图 4 Western blot 检测纤连蛋白、PDGFRβ 及 GFAP 的表达

2.2 AM1241 影响巨噬细胞的极化,降低促纤维化细胞因子的表达

ELISA 法检测 M1 型巨噬细胞的标记物 iNOS、TNF-α 和 IL-1β,M2 型巨噬细胞标记物 CD206、Arg-1 以及促纤维化细胞因子 TGF-β1。结果显示 AM1241 降低了 M1 型巨噬细胞标记物的表达,增加 M2 型巨噬细胞标记物的表达,降低了促纤维化因子的表达,但这一作用被 AM630 所逆转(图 5)。



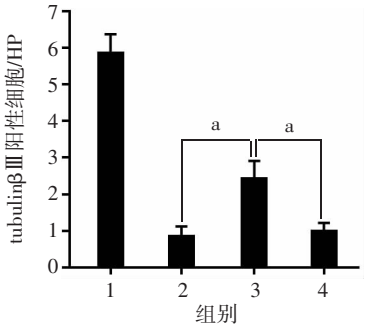
1：假手术组；2：载体组；3：AM1241 组；4：AM1241+AM630 组；a：$P<0.05$，b：$P<0.01$

A：iNOS；B：TNF-α；C：IL-1β；D：CD206；E：Arg-1；F：TGF-β1

图 5 ELISA 检测相关细胞因子水平变化

2.3 AM1241 减少脊髓损伤大鼠神经细胞凋亡，促进神经系统功能恢复

脊髓损伤后 28 d 进行 tubulin βⅢ免疫荧光染色，结果显示 AM1241 组 tubulin βⅢ阳性细胞增加，GFAP 表达减少。AM1241 促进了脊髓损伤后神经元细胞的存活，而 AM630 逆转了这一现象（图 6、7）。除术后第 1 天外，AM1241 组各时间点 BBB 评分及斜板实验角度均高于载体组和 AM1241+AM630 组。术后 28 d，与载体组及 AM1241+AM630 组比较，AM1241 组 BBB 评分显著升高[载体组（15.38±0.38），AM1241 组（18.38±0.50），AM1241+AM630 组（15.50±0.33），$P<0.05$]；斜板实验角度也显著增加[载体组（54.25±1.25）°，AM1241 组（64.25±1.05）°，AM1241+AM630 组（54.75±0.49）°，$P<0.05$]。术后第 28 天对实验动物进行 SEP 和 MEP 电生理检查，结果显示 AM1241 组 SEP 潜伏期短于载体组和 AM1241+AM630 组，MEP 波幅高于载体组和 AM1241+AM630 组（图 8）。表明 AM1241 促进脊髓损伤后神经元细胞的存活及神经系统功能的恢复。



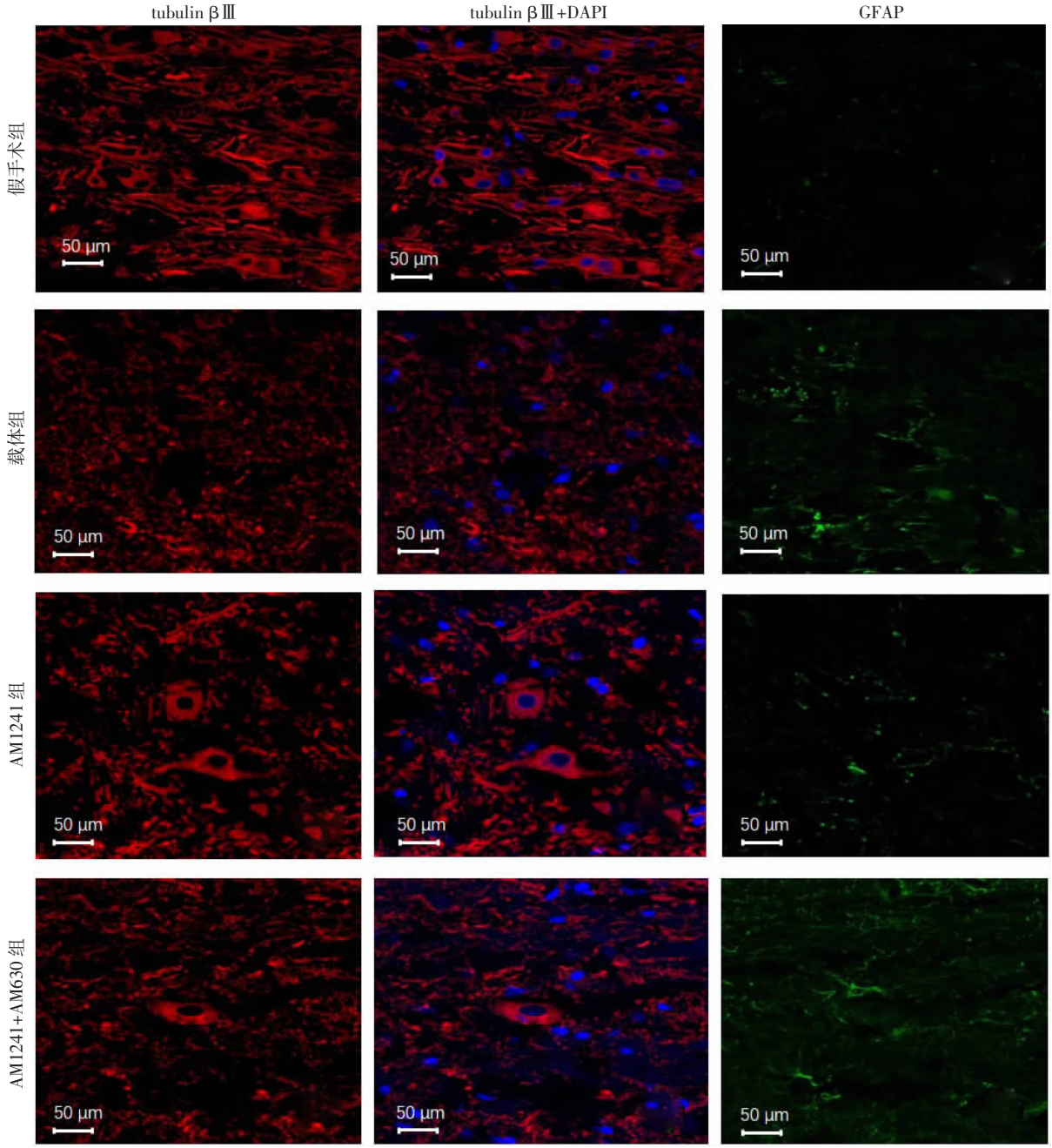
1：假手术组；2：载体组；3：AM1241 组；4：AM1241+AM630 组；a：$P<0.05$

图 6 各组 tublin βⅢ阳性细胞的比较

3 讨论

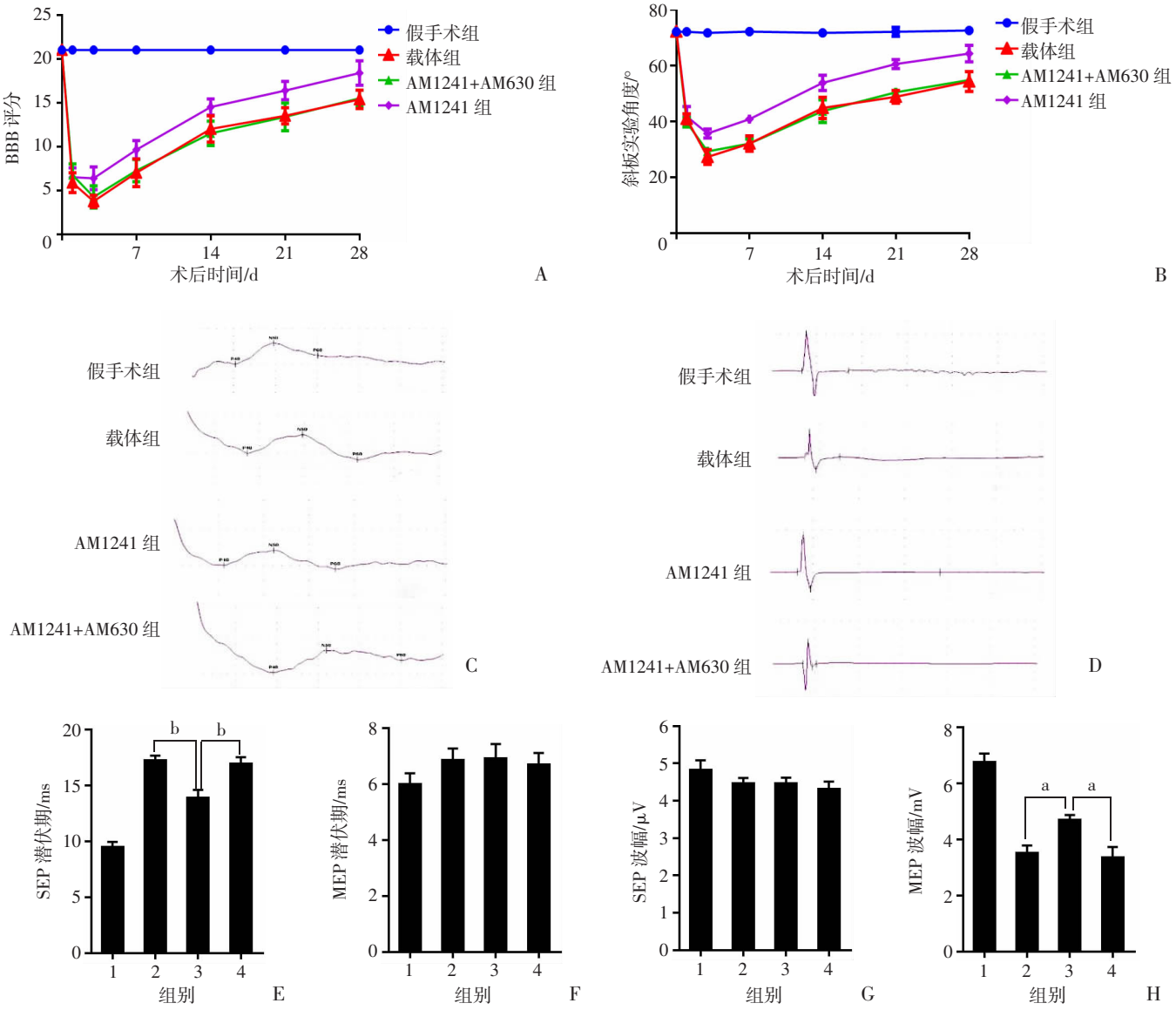
胶质瘢痕因其 GFAP 和硫酸软骨素蛋白多糖（chondroitin sulfate proteoglycon，CSPG），历来被认为是轴突再生的主要障碍。但近年来，一些学者认为，神经胶质瘢痕并不是轴突再生的一个障碍，纤维瘢痕抑制轴突再生的能力更强[14]。生物素葡聚糖胺（biotin dextran amine，BDA）跟踪的轴突尖端可以穿透胶质瘢

痕和胶质纤维化界面,并与 YFP+ A 型周细胞来源的细胞接触,但很难穿透纤维瘢痕,纤维瘢痕的减少有助于脊髓损伤后神经功能的恢复[14]。还有一个观点在脊髓损伤后的亚急性阶段,胶质瘢痕是一个基本支持轴突再生的因素,在局部免疫调节中起着神经保护和组织修复等有益作用[15]。此外,大量重要的 CSPG 被证明是由非星形胶质细胞产生的,主要为成纤维细胞和巨噬细胞,而它们是形成纤维瘢痕的基本要素[15-16]。因此,近年来纤维瘢痕在脊髓损伤后的作用受到较多关注。



红色为 tubulin βⅢ;绿色为 GFAP;蓝色为 DAPI

图 7 免疫荧光染色观察大鼠脊髓损伤后神经细胞存活情况



A:各时间点的 BBB 评分;B:各时间点的斜板实验结果;C:各组典型 SEP;D:各组典型 MEP;E:各组 SEP 潜伏期的比较;F:各组 MEP 潜伏期的比较;G:各组 SEP 波幅的比较;H:各组 MEP 波幅的比较 1:假手术组;2:载体组;3:AM1241 组;4:AM1241+AM630 组;a:$P<0.05$,b:$P<0.01$

图 8 SCI 后各时间点的行为学评估及术后第 28 天的电生理检查结果

既往研究主要关注 CBR2 激动剂减轻疼痛方面的作用,也有多个系统中抗纤维化作用的报道。在脊髓损伤中,大麻素一直被患者用作治疗疼痛和痉挛的非传统疗法[17]。近年研究证实,CBR2 激动剂在 SCI 后发挥抗炎作用[7],但在 SCI 后对纤维瘢痕的作用及机制却并不清楚。ZHANG 等[18]发现,假手术组大鼠脊髓 CBR2 表达低或缺失,但脊髓损伤后其表达明显升高。而 CBR2 主要由单核细胞、巨噬细胞等造血细胞表达[19-20]。在纤维瘢痕的形成过程中,巨噬细胞通过调节成纤维细胞的迁移参与纤维瘢痕的形成。巨噬细胞分 M1 型和 M2 型。促炎 M1 巨噬细胞在脊髓损伤迅速激活,释放高水平的促炎细胞因子,包括 IL-1β、TNF-α 和 iNOS,加重炎症过程,促进神经元凋亡[21-22]。M2 巨噬细胞具有抗炎作用,主要通过分泌 IL-10 和 Arg-1,并表达 CD206 和 CD163[23-24]。TGF-β1 的表达已被证明是纤维化和 ECM 蛋白活性合成的重要媒介[25]。APRIL(TNF-α 的超家族成员)KO 小鼠相较于野生型 SCI 后表现出更少的纤维瘢痕,提示 M1 巨噬细胞促进了纤维瘢痕的形成[26]。

根据纤维瘢痕的主要成分是成纤维细胞及其细胞外基质,本研究通过 PDGFRβ、层黏连蛋白、纤连蛋白的免疫荧光染色和 Western blot 检测,发现 AM1241 减少了脊髓损伤后的纤维瘢痕,但这种作用被 CBR2 拮抗剂 AM630 逆转。PDGFRβ 是成纤维细胞的可靠标

记物[27],而层黏连蛋白和纤连蛋白为纤维瘢痕的主要成分,为成纤维细胞分泌细胞外基质蛋白[16]。通过神经元染色、行为学及电生理实验,发现 AM1241 增加大鼠神经细胞存活,促进神经系统功能恢复。最后,根据纤维瘢痕的形成机制,对 M1 和 M2 型巨噬细胞相关细胞因子进行检测,发现 AM1241 降低促炎 M1 型巨噬细胞(iNOS、IL-1β、TNF-α)的表达,增加抗炎 M2 型巨噬细胞(CD206、Arg-1)的表达,而 AM630 逆转了这一趋势。

综上所述,本研究证实 CBR2 激动剂 AM1241 能通过抑制脊髓损伤后 M1 巨噬细胞数量,增加 M2 巨噬细胞数量,从而抑制 TGF-β 表达,减少成纤维细胞的激活,抑制纤维瘢痕形成,保护残存神经元,促进大鼠脊髓损伤后运动功能恢复,为脊髓损伤的治疗提供了新的实验室数据。

本研究存在一定的局限性,首先 CBR2 激动剂抑制 SCI 后纤维瘢痕是否通过其他信号通路发挥作用仍需进一步研究;其次,为了排除用药不足对纤维瘢痕形成的干扰,仅选择第 14 天纤维瘢痕成熟的时机作为完成药物干预时间点,未来的研究需要更多的时间点和更长的观察时间。

利益冲突声明 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献:

[1] ANAND U, OTTO W R, SANCHEZ-HERRERA D, *et al*. Cannabinoid receptor CB_2 localisation and agonist-mediated inhibition of capsaicin responses in human sensory neurons [J]. Pain, 2008, 138(3): 667-680. DOI: 10.1016/j.pain.2008.06.007.

[2] CORREIA-SÁ I, PAIVA A, CARVALHO C M, *et al*. Cutaneous endocannabinoid system: does it have a role on skin wound healing bearing fibrosis? [J]. Pharmacol Res, 2020, 159: 104862. DOI: 10.1016/j.phrs.2020.104862.

[3] LI X, HAN D, TIAN Z H, *et al*. Activation of cannabinoid receptor type Ⅱ by AM1241 ameliorates myocardial fibrosis via Nrf2-mediated inhibition of TGF-β1/Smad3 pathway in myocardial infarction mice[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 39(4): 1521-1536. DOI: 10.1159/000447855.

[4] ZHOU L L, ZHOU S, YANG P, *et al*. Targeted inhibition of the type 2 cannabinoid receptor is a novel approach to reduce renal fibrosis[J]. Kidney Int, 2018, 94(4): 756-772. DOI: 10.1016/j.kint.2018.05.023.

[5] PARLAR A, ARSLAN S O, YUMRUTAS O, *et al*. Effects of cannabinoid receptor 2 synthetic agonist, AM1241, on bleomycin induced pulmonary fibrosis[J]. Biotech Histochem, 2021, 96(1): 48-59. DOI: 10.1080/10520295.2020.1758343.

[6] YU S J, REINER D, SHEN H, *et al*. Time-dependent protection of CB_2 receptor agonist in stroke[J]. PLoS One, 2015, 10(7): e0132487. DOI: 10.1371/journal.pone.0132487.

[7] ZHANG M Y, DONG L L, ZOU H C, *et al*. Effects of cannabinoid type 2 receptor agonist AM1241 on morphine-induced antinociception, acute and chronic tolerance, and dependence in mice[J]. J Pain, 2018, 19(10): 1113-1129. DOI: 10.1016/j.jpain.2018.04.009.

[8] YUAN J C, LIU W, ZHU H T, *et al*. Curcumin inhibits glial scar formation by suppressing astrocyte-induced inflammation and fibrosis *in vitro* and *in vivo*[J]. Brain Res, 2017, 1655: 90-103. DOI: 10.1016/j.brainres.2016.11.002.

[9] WANJIANG W, XIN C, YAXING C, *et al*. Curcumin improves human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell survival via ERK1/2 signaling and promotes motor outcomes after spinal cord injury[J]. Cell Mol Neurobiol, 2020: 2020Nov27. DOI: 10.1007/s10571-020-01018-7.

[10] YUAN J C, ZOU M M, XIANG X, *et al*. Curcumin improves neural function after spinal cord injury by the joint inhibition of the intracellular and extracellular components of glial scar[J]. J Surg Res, 2015, 195(1): 235-245. DOI: 10.1016/j.jss.2014.12.055.

[11] 向鑫, 袁继超, 陈飞, 等. 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[J]. 第三军医大学学报, 2014, 36(9): 883-887. DOI: 10.16016/j.1000-5404.2014.09.017.
XIANG X, YUAN J C, CHEN F, *et al*. Curcumin induces endogenous neural stem cells to promote functional recovery in rats after spinal cord injury[J]. J Third Mil Med Univ, 2014, 36(9): 883-887. DOI: 10.16016/j.1000-5404.2014.09.017.

[12] XIE C Z, LI X Z, FANG L, *et al*. Effects of athermal short-wave diathermy treatment on somatosensory evoked potentials and motor evoked potentials in rats with spinal cord injury [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2019, 44(13): E749-E758. DOI: 10.1097/BRS.0000000000002980.

[13] 廖小俊, 袁继超, 朱海涛, 等. 莱菔硫烷对小鼠脊髓损伤后后肢功能的作用[J]. 第三军医大学学报, 2016, 38(10): 1066-1072. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201511182.
LIAO X J, YUAN J C, ZHU H T, *et al*. Effect of sulforaphane on hindlimb function after spinal cord injury in mice [J]. J Third Mil Med Univ, 2016, 38(10): 1066-1072. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201511182.

[14] DIAS D O, KIM H, HOLL D, *et al*. Reducing pericyte-derived scarring promotes recovery after spinal cord injury [J]. Cell, 2018, 173(1): 153-165.e22. DOI: 10.1016/j.cell.2018.02.004.

[15] ANDERSON M A, BURDA J E, REN Y L, *et al*. Astrocyte scar formation aids central nervous system axon regeneration [J]. Nature, 2016, 532(7598): 195-200. DOI: 10.1038/nature17623.

[16] HELLAL F, HURTADO A, RUSCHEL J, *et al*. Microtubule stabilization reduces scarring and causes axon regeneration after spinal cord injury [J]. Science, 2011, 331(6019): 928-931. DOI: 10.1126/science.1201148.

[17] POOYANIA S, ETHANS K, SZTURM T, *et al*. A randomized, double-blinded, crossover pilot study assessing the effect of nabilone on spasticity in persons with spinal cord injury[J]. Arch Phys Med Rehabil, 2010, 91(5): 703-707. DOI: 10.1016/j.apmr.2009.12.025.

[18] ZHANG J, HOFFERT C, VU H K, *et al*. Induction of CB_2 receptor expression in the rat spinal cord of neuropathic but not inflammatory chronic pain models[J]. Eur J Neurosci, 2003, 17(12): 2750-2754. DOI: 10.1046/j.1460-9568.2003.02704.x.

[19] BAHR B A, KARANIAN D A, MAKANJI S S, *et al*. Targeting the endocannabinoid system in treating brain disorders [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2006, 15(4): 351-365. DOI: 10.1517/13543784.15.4.351.

[20] LAPRAIRIE R B, KELLY M E M, DENOVAN-WRIGHT E M. The dynamic nature of type 1 cannabinoid receptor [CB(1)] gene transcription[J]. Br J Pharmacol, 2012, 167(8): 1583-1595. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2012.02175.x.

[21] TALAMONTI E, PAUTER A M, ASADI A, *et al*. Impairment of systemic DHA synthesis affects macrophage plasticity and polarization: implications for DHA supplementation during inflammation[J]. Cell Mol Life Sci, 2017, 74(15): 2815-2826. DOI: 10.1007/s00018-017-2498-9.

[22] CITRON B A, ARNOLD P M, SEBASTIAN C, *et al*. Rapid upregulation of caspase-3 in rat spinal cord after injury: mRNA, protein, and cellular localization correlates with apoptotic cell death[J]. Exp Neurol, 2000, 166(2): 213-226. DOI: 10.1006/exnr.2000.7523.

[23] ETZERODT A, MOESTRUP S K. CD163 and inflammation: biological, diagnostic, and therapeutic aspects [J]. Antioxid Redox Signal, 2013, 18(17): 2352-2363. DOI: 10.1089/ars.2012.4834.

[24] YANG R L, HE J Y, WANG Y L. Activation of the niacin receptor HCA_2 reduces demyelination and neurofilament loss, and promotes functional recovery after spinal cord injury in mice[J]. Eur J Pharmacol, 2016, 791: 124-136. DOI: 10.1016/j.ejphar.2016.08.020.

[25] LIU G, FRIGGERI A, YANG Y P, *et al*. miR-21 mediates fibrogenic activation of pulmonary fibroblasts and lung fibrosis[J]. J Exp Med, 2010, 207(8): 1589-1597. DOI: 10.1084/jem.20100035.

[26] FUNK L H, HACKETT A R, BUNGE M B, *et al*. Tumor necrosis factor superfamily member APRIL contributes to fibrotic scar formation after spinal cord injury[J]. J Neuroinflamm, 2016, 13(1): 87. DOI: 10.1186/s12974-016-0552-4.

[27] SODERBLOM C, LUO X T, BLUMENTHAL E, *et al*. Perivascular fibroblasts form the fibrotic scar after contusive spinal cord injury[J]. J Neurosci, 2013, 33(34): 13882-13887. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2524-13.2013.

(**收稿**:2022-02-24;**修回**:2022-03-16)

(编辑 王 红)