

骨髓间充质干细胞移植对脊髓损伤大鼠 促肾上腺皮质激素和皮质酮的影响

周 军¹, 杨惠林¹, 岑建农², 李振江², 陈子兴²

(1 苏州大学附属第一医院骨科; 2 江苏省血液研究所 215006 江苏省苏州市)

【摘要】目的:观察骨髓间充质干细胞(BMSCs)移植对脊髓损伤(SCI)大鼠促肾上腺皮质激素和皮质酮的影响,探讨 BMSCs 移植治疗 SCI 的潜在抗慢性应激机制。**方法:**成年雄性 SD 大鼠 48 只,随机分为对照组、损伤组和治疗组,每组 16 只,每组动物再根据取材时间点(造模后 21d、35d)平均分为 2 个亚组。损伤组和治疗组采用改良 Allen 法建立大鼠 T10 SCI 模型;对照组仅显露硬膜囊,不损伤脊髓。造模后 7d,对照组及治疗组于 L4/5 间隙蛛网膜下腔注射 100 μ l 含 1.0×10^6 个 BMSCs 的 Hank's 缓冲液混悬液,损伤组注射同体积 Hank's 缓冲液。术前、造模后 7d、21d、35d 以 BBB 评分评估大鼠后肢运动功能,同时记录动物体重。根据分组分别于造模后 21d、35d 处死动物,取左心室血,以酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定血浆促肾上腺皮质激素(ACTH)和血清皮质酮(CORT)含量。**结果:**造模前三组大鼠、造模后对照组各时间点 BBB 评分均为 21 分,造模后 7d 损伤组 BBB 评分与治疗组比较无显著性差异,造模后 21d 和 35d 治疗组 BBB 评分均高于损伤组($P < 0.05$),且两组均低于对照组($P < 0.05$)。造模前和造模后 7d 三组大鼠体重无显著性差异,造模后 21d 和 35d,对照组大鼠体重大于损伤组和治疗组($P < 0.05$),治疗组与损伤组比较无显著性差异($P > 0.05$)。造模后 21d,损伤组血浆 ACTH 含量高于对照组,差异有显著性($P < 0.05$);治疗组与对照组无显著性差异($P > 0.05$)。损伤组与治疗组血清皮质酮均低于对照组,但无显著性差异($P > 0.05$)。造模后 35d,损伤组和治疗组血浆 ACTH 含量均比 21d 时下降,治疗组下降有显著性意义($P < 0.05$),且治疗组明显低于损伤组($P < 0.05$);损伤组和治疗组血清皮质酮含量均比 21d 时升高,损伤组升高有显著性意义($P < 0.05$),且明显高于对照组($P < 0.05$)。**结论:**BMSCs 移植可改变 SCI 大鼠促肾上腺皮质激素和皮质酮的分泌,从而缓解其慢性应激状态。

【关键词】脊髓损伤;骨髓间充质干细胞;应激;促肾上腺皮质激素;皮质酮;大鼠

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2011.03.15

中图分类号:Q577,R681.5 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2011)-03-0239-05

Effect of bone mesenchymal stem cells transplantation on adrenocorticotrophic hormone and corticosterone in rats with spinal cord injury/ZHOU Jun, YANG Huilin, CEN Jiannong, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2011, 21(3): 239~243

【Abstract】 Objective: To investigate the effect of bone mesenchymal stem cells (BMSCs) transplantation on adrenocorticotrophic hormone and corticosterone in rats with spinal cord injury (SCI), and explore the potential anti-chronic stress mechanism. **Method:** A total of 48 adult male SD rats were divided into 3 groups equally and randomly: control group, SCI group and intervention group. Each group was divided into 2 subgroups based on time-point (21d and 35d after initiation). Partial lower thoracic SCI was induced in SCI and intervention group by modified Allen's method at T10. Rats in control group received laminectomy alone. At 7th day after SCI, the intervertebral disc of L4/5 was exposed; 100 μ l of Hank's buffered saline solution contained 1.0×10^6 rat BMSCs or the same amount of Hank's buffered saline solution was injected into the subarachnoid space. The hind limb motor function was evaluated by Basso, Beattie and Bresnahan (BBB) scale and all animals' body weight pre-injection and at day 7, 21, 35 after operation were recorded. Rats in every subgroup were anesthetized at day 21, 35 respectively, the adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and serum corticosterone (CORT) content by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) were tested respectively. **Result:** Before model

基金项目:江苏省高校自然科学基金资助项目(编号:09KJD320007),苏州大学青年教师自然科学基金资助项目(编号:Q3122828)

第一作者简介:男(1979-),讲师,主治医师,研究方向:脊柱脊髓损伤

电话:(0512)67780111 E-mail:royfl@163.com

production, in every group and at day 7, 21, 35 post-model production in control group, BBB scale were 21; at day 7 post-model production, there was no significant difference in BBB scale between injury and control group; at day 21 and 35 post-model production, BBB scale in treatment group were higher than those in injury group ($P < 0.05$). Both of treatment and injury group were lower than control group ($P < 0.05$). Before and 7 days after model production, there was no significant difference in animals' body weight between the three groups; from day 21 post-model production, animals' body weight in control group were higher than those in the injury and treatment group ($P < 0.05$ and $P < 0.01$) respectively; animals' body weight in treatment group were higher than those in injury group ($P > 0.05$). At day 21 post-model production, the plasma ACTH content in model group were higher than control group ($P < 0.05$); but there was no significant difference in serum CORT content between the three groups. At day 35 post-model production, the plasma ACTH content in model group were higher than treatment group ($P < 0.05$), and the serum CORT content in model group were higher than control group ($P < 0.05$). **Conclusion:** BMSCs transplantation could relieve chronic stress state of SCI rats, which might achieve through regulation of ACTH and CORT secretion.

[Key words] Spinal cord injury; Bone mesenchymal stem cells; Stress; Adrenocorticotrophic hormone; Corticosterone

[Authors' address] Department of Orthopedic Surgery, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou, 215006, China

骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)移植治疗脊髓损伤(SCI)的动物模型可取得显著疗效^[1-3]。既往多将 BMSCs 移植治疗 SCI 的作用机制归为移植细胞在损伤区的组织学重建和神经细胞再生^[4]。本研究拟通过观察 BMSCs 移植对 SCI 大鼠应激相关激素的影响, 探讨 BMSCs 移植治疗 SCI 的潜在抗慢性应激机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及主要试剂

清洁级 6 周龄雄性 SD 大鼠 8 只, 体重 90~102g (95.0 ± 3.9 g); 清洁级成年雄性 SD 大鼠 48 只, 体重 250~319g (286.9 ± 16.3 g)。均由苏州大学医学实验动物中心提供, 动物许可证号 SYXK 苏 2002-0037)。低糖-DMEM 培养基(LG-DMEM)、胎牛血清(FBS)、胰酶-EDTA、Hank's 缓冲液(均为美国 Gibco 公司产品), MCDB-201 培养基(美国 Sigma 公司), Ficoll 细胞分离液(上海试剂二厂), 水合氯醛(中国医药集团上海化学试剂公司, 分析纯), 注射用头孢哌酮钠(苏州中化药品工业有限公司), 大鼠促肾上腺皮质激素(ACTH)、皮质酮(CORT)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(美国 RapidBio 公司产品)。

1.2 BMSCs 的分离培养扩增及共培养

根据笔者以往的方法^[5], 8 只 6 周龄 SD 大鼠均注射过量 4% 水合氯醛麻醉处死(1600mg/kg), 置于 75% 的乙醇中浸泡 10min 后, 无菌状态下取双侧后肢股骨与胫骨, 剪去骨两端, 露出骨髓腔。

以注射器吸取含体积分数 10% FBS 的 MSC 培养基(江苏省血液研究所经验培养基, LG-DMEM 与 MCDB-201 按比例混合)冲洗骨髓腔, 将骨髓冲入无菌离心管。

4 只大鼠的骨髓以密度梯度离心法获取细胞: 取无菌离心管, 加入无菌 Ficoll 细胞分离液, 将细胞悬液沿管壁缓慢加入该无菌离心管(细胞分离液与细胞悬液体积比为 1:2), 以 2000r/min 离心 20min, 吸取单核细胞层(白膜层), 移入无菌离心管中, 再加入全培养基轻轻吹打混匀, 以 1000r/min 离心 2 次, 每次 5min, 收集细胞, 加入全培养基, 制成细胞悬液, 分别接种于 8 个 25cm² 塑料培养瓶中。另 4 只大鼠的骨髓以全骨髓直接培养法获取细胞: 将获取的大鼠骨髓以 1000r/min 离心 2 次, 每次 5min, 收集细胞, 加入全培养基制成细胞悬液, 分别接种于 16 个 25cm² 塑料培养瓶中。各培养瓶中培养基均补足至 5ml(全培养基), 编号后置于 37℃、饱和湿度、体积分数 5%CO₂ 的细胞培养箱培养。

取上述两种方法分离培养传至第 3 代的细胞, 计数后等量混合, 按 1.0×10^5 个细胞/瓶分瓶接种于 25cm² 塑料培养瓶, 每 3d 换液一次, 细胞融合至 80%~90% 后用胰酶消化传代。

1.3 动物模型制作及 BMSCs 移植

48 只成年 SD 大鼠随机分为对照组、损伤组和治疗组, 每组 16 只, 每组再按两个取材时间点(造模后 21d、35d)均分为两个亚组。损伤组及治疗组大鼠采用改良 Allen 法建立 SCI 动物模型:

后正中入路,切开皮肤、皮下组织、腰背筋膜,咬除 T10 棘突及椎板,显露硬脊膜,固定上下椎板或棘突后,将塑料垫片(2mm×2.4mm×4mm)放置于硬脊膜表面,将 10g 重砝码沿表面有刻度的玻璃套管由 5cm 高度(50g·cm)自由落下打击垫片,造成该段 SCI。打击后大鼠迅速出现摆尾反射,双后肢及躯体回缩扑动后双后肢瘫痪,表明造模成功。对照组大鼠咬除 T10 棘突及椎板,显露硬脊膜,不打击损伤脊髓,逐层缝合切口。大鼠麻醉清醒后单独置于旷场箱(100cm×100cm×40cm)中,采用 BBB 评分^[9]对后肢运动功能进行评估。大鼠均置于清洁环境下饲养,自由进食、饮水,术后连续 3d 肌肉注射头孢哌酮钠 100mg/kg/d,以预防感染,每日 2 次行人工膀胱挤压排尿,直到自主排尿功能恢复。期间如动物死亡立刻以同批次大鼠补充造模。

造模术后 7d, BMSCs 以胰酶消化计数,根据细胞计数结果加入 Hank's 缓冲液,将细胞调成 1.0×10^6 个/100 μ l 的细胞悬液备用。各组动物以 4% 水合氯醛(350mg/kg 体重)腹腔注射麻醉后,以 L4/5 椎间隙为中心,手术显露硬脊膜,经由一个尖端弯曲的 25G 针头向蛛网膜下腔按组别单次注入:对照组和治疗组注射 100 μ l 含 1.0×10^6 个 BMSCs 的 Hank's 缓冲液混悬液;损伤组注入 100 μ l 不含 BMSCs 的 Hank's 缓冲液。逐层缝合切口。大鼠麻醉清醒后行 BBB 评分。

1.4 大鼠体重观测及取材

各组动物分别于造模前,造模后 1、7、8、21、35d 上午 8~10 点待大鼠排泄完毕后以电子天平称重,并记录体重。按组别分别于造模后 21d、35d 抓取动物,先行 BBB 评分,再以 4% 水合氯醛(350mg/kg 体重)腹腔注射麻醉后,沿肋弓下缘剪开胸腔并上翻,暴露心脏,将真空采血针一端刺入动物左心室,另一端连接 2ml 预加 EDTA-K2 抗凝剂之真空采血管,待该采血管满后,拔出采血针连接采血管一端针头,立即颠倒采血管 5~6 次,使管内血液与抗凝剂充分混匀,助手同时再将采血针与 5ml 空白真空采血管连接,在该采血管满后或不再流入血液后,拔出采血针。

1.5 血浆 ACTH 和血清 CORT 检测

将试剂盒由 4℃ 取出,平衡至室温(20℃~25℃)。ACTH 检测:取出反应板,加入 20 μ l ACTH 标准品(Standard);按动物编号将 20 μ l 待检测血

浆标本复孔加入剩余的反应板孔内;CORT 检测:取出反应板,加入 25 μ l CORT 标准品;按动物编号将 25 μ l 待检测血清标本复孔加入剩余的反应板孔内。

每孔加入 200 μ l 酶联物,轻轻混匀 30s, 20℃~25℃ 放置 60min;甩尽板内液体,用洗涤液洗涤反应板,并去除水滴,反复洗涤 5 次;每孔加入 200 μ l TMB 显色底物溶液,轻轻混匀 10s,室温温育 15min;每孔加入 100 μ l 终止液,轻轻混匀 30s;15min 内在 450nm 处读 OD 值;以 OD 值为纵坐标,以标准品浓度为横坐标,绘制标准曲线。根据样品的 OD 值在标准曲线上查出其浓度;复孔结果取平均值,即为检测值。

1.6 统计学处理

数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。使用 SPSS 11.0 for Windows 软件包,采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)进行统计学处理,组间比较采用 LSD 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。各统计图均使用 Excel 2003 绘制输出,并以 ACDSsee V5.0 软件做后期处理。

2 结果

各组动物造模前后 BBB 评分见表 1。造模后 7d,损伤组和治疗组 BBB 评分均低于同时时间点对对照组,差异有显著性($P < 0.05$),损伤组与治疗组比较无显著性差异($P > 0.05$)。造模后 21d、35d 损伤组和治疗组 BBB 评分均低于同时时间点对对照组,差异有显著性($P < 0.05$);治疗组均高于损伤组,差异有显著性($P < 0.05$)。

各组动物造模前后体重见表 2。造模前各组动物体重无显著性差异($P > 0.05$)。造模及移植术后(造模后 1d 和 8d)均有降低。造模后 7d,各组动

表 1 各组动物造模前后 BBB 评分 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

	造模前	造模后 7d	造模后 21d	造模后 35d
造模后 21d 处死组				
对照组	21 $\pm$ 0	21 $\pm$ 0	21 $\pm$ 0	—
损伤组	21 $\pm$ 0	4.88 $\pm$ 2.03 ^①	5.88 $\pm$ 1.46 ^①	—
治疗组	21 $\pm$ 0	5.00 $\pm$ 2.07 ^①	9.38 $\pm$ 2.00 ^{①②}	—
造模后 35d 处死组				
对照组	21 $\pm$ 0	21 $\pm$ 0	21 $\pm$ 0	21 $\pm$ 0
损伤组	21 $\pm$ 0	4.75 $\pm$ 2.31 ^①	5.75 $\pm$ 1.39 ^①	6.50 $\pm$ 1.60 ^①
治疗组	21 $\pm$ 0	4.63 $\pm$ 2.20 ^①	9.50 $\pm$ 2.20 ^{①②}	13.50 $\pm$ 3.70 ^{①②}

注:与同时时间点对对照组比较^① $P < 0.05$,与同时时间点损伤组比较^② $P < 0.05$

物体重无显著性差异($P>0.05$)。造模后 21d,各动物体重呈增加趋势,对照组体重增加快于同时点损伤组和治疗组,造模后 21、35d 差异均有显著性($P<0.05$);治疗组体重均高于损伤组,但无显著性差异($P>0.05$)。

各组动物造模后 21d 和 35d 时的血浆 ACTH、血清 CORT 含量见表 3。造模后 21d,损伤组血浆 ACTH 含量高于对照组,差异有显著性

($P<0.05$);治疗组与对照组无显著性差异 ($P>0.05$)。损伤组与治疗组血清皮质酮均低于对照组,但无显著性差异($P>0.05$)。造模后 35d,损伤组和治疗组血浆 ACTH 含量均比 21d 时下降,其中,治疗组下降有显著性意义($P<0.05$),且治疗组明显低于损伤组($P<0.05$);损伤组和治疗组血清皮质酮含量均比 21d 时升高,损伤组升高有显著性意义($P<0.05$),且明显高于对照组($P<0.05$)。

表 2 各组动物造模前及造模后不同时间点的体重 ($\bar{x}\pm s, n=8, g$)

	造模前	造模后 1d	造模后 7d	造模后 8d	造模后 21d	造模后 35d
造模后 21d						
对照组	283.88±11.38	268.50±11.12	311.13±8.74	291.25±8.41	345.88±10.09	—
损伤组	286.13±21.69	269.38±22.16	298.13±21.66	281.88±22.26	330.63±30.99	—
治疗组	284.50±12.51	269.75±11.22	300.88±16.08	279.88±15.58	334.38±24.32	—
造模后 35d						
对照组	293.88±22.77	276.88±20.72	310.63±20.11	294.38±21.33	364.00±25.88	403.75±26.85
损伤组	285.38±17.15	259.75±15.70 ^①	295.50±12.94	280.25±12.30	322.25±14.56 ^①	366.13±15.63 ^①
治疗组	287.75±11.31	272.13±10.13	303.00±14.26	282.50±11.30	326.50±16.60 ^①	370.50±25.25 ^①

注:与同时时间点对照组比较^① $P<0.05$

表 3 各组动物造模后 21d、35d 时血浆 ACTH、血清 CORT ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	血浆 ACTH(pg/ml)	血清 CORT(ng/ml)
造模后 21d		
对照组	103.34±20.73	41.48±11.35
损伤组	131.44±33.11 ^①	37.38±20.06
治疗组	119.51±25.54	40.89±23.61
造模后 35d		
对照组	100.99±18.40	40.31±11.55
损伤组	111.95±20.50	61.28±14.47 ^②
治疗组	87.23±15.38 ^③	55.50±17.17

注:①与同时时间对照组比较 $P<0.05$;②与同组 21d 时比较 $P<0.05$;③与同时时间损伤组比较 $P<0.05$

3 讨论

3.1 应激反应及应激相关激素

应激是机体受到各种强烈因素(即应激原)刺激时,体内出现的以交感神经兴奋和垂体-肾上腺皮质分泌增多为主的一系列神经内分泌反应,它对生物的存活具有十分重要的意义。

机体遭到应激原刺激发生应激反应时,下丘脑-垂体-肾上腺皮质(hypothalamic-pituitary-adrenocortical,HPA)轴的兴奋性提高,丘脑下部的室旁核促肾上腺皮质激素释放激素(CRF)分泌增多。CRF 经垂体门脉系统运送至垂体前叶的促肾上腺皮质细胞,使之产生 ACTH。ACTH 随血液

到达肾上腺皮质,合成 CORT(大鼠)或糖皮质类固醇(GC,人类),从而动员储能,提高心血管张力,同时血中葡萄糖水平提高,免疫功能受到抑制。生理状态下,肾上腺皮质分泌的 CORT 对 HPA 轴有负反馈抑制作用。急性应激时撤除应激原后,神经内分泌功能可恢复至应激前的基础水平,从而维持机体内环境的自稳状态。但在慢性应激时,由于下丘脑 CRF 分泌过多,过量的 CRF 将导致垂体 ACTH 的分泌增多,最终造成 CORT 或 GC 分泌过多,使 HPA 轴的负反馈机制失调,表现为 HPA 轴功能持续亢进,引发机体的非特异适应机制,引起自稳状态的改变,造成机体的损伤甚至疾病的发生;同时由于 HPA 轴的持续亢进,也可能使机体对外源性应激因子的易感性增加^[7]。

3.2 SCI 与应激

大部分 SCI 患者都有疼痛症状^[8],在这类患者中,疼痛可导致较高的应激水平和焦虑、抑郁^[9]。既往的研究也证实,氧化应激可导致继发性脊髓损伤^[10,11]。有研究发现,在损伤脊髓中存在 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase,JNK)的持续激活^[12],而 JNK 为分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases,MAPKs)家族中的应激激活成员。还有研究发现,SCI 患者的 HPA 轴可出现损害^[13]。严重 SCI 通常导致感觉

和/或运动、括约肌功能障碍。急性 SCI 对于机体来说属于急性应激,但 SCI 造成的感觉和/或运动、括约肌功能障碍往往难以恢复,持续存在的功能障碍成为慢性应激原,将刺激机体由急性应激状态转为慢性应激状态,最终对机体的生理和心理均造成不良刺激,增加患者的苦恼和改变情绪。情绪改变反过来可导致日常生活活动的失调^[10]。这种不良刺激反过来也不利于 SCI 导致的感觉和/或运动、括约肌功能障碍的恢复,从而有可能形成恶性循环。因此,SCI 后的应激状态尤其是慢性应激状态值得重视。

本研究结果显示,造模前各组动物体重均无显著性差异,但在 SCI 后,对照组动物体重即表现出高于损伤组和治疗组动物的趋势,虽然在造模后 7d 这一差异并无统计学意义。从移植术后开始,对照组动物体重增加快于同时间点损伤组和治疗组动物,在造模后 21d、35d,差异均有统计学意义。这表明,SCI 作为应激原已经影响到大鼠的体重增加。而在两个时间点,治疗组动物体重均出现高于损伤组动物的趋势,同时,反映大鼠后肢运动功能的 BBB 评分亦出现类似趋势,表明 BMSCs 移植可能对 SCI 大鼠的应激状态有缓解作用。

造模后 21d,损伤组动物血浆 ACTH 含量高于正常对照组,血清 CORT 含量则低于正常对照组,提示此时动物仍处于应激反应状态。而治疗组动物血浆 ACTH 含量虽高于对照组,但无统计学意义;提示 BMSCs 移植治疗缓和了脊髓损伤动物的应激反应。造模后 35d,损伤组血浆 ACTH 含量下降,接近对照组,提示机体已从急性应激状态开始转向慢性作用下的抑制状态,但血清皮质酮却升高,意味着对应激原机体不能完全适应。随着 SCI 后时间的延长,血浆 ACTH 的持续下降可能因为高水平的皮质酮不断反馈性地抑制垂体分泌 ACTH,5-羟色胺(5-HT)增加对 ACTH 分泌也可能起一定的抑制作用。相比之下,治疗组动物血浆 ACTH 及血清皮质酮含量均更接近对照组水平,提示 BMSCs 移植治疗缓和了脊髓损伤大鼠的应激反应。但其确切机制仍然有待于进一步研究。

4 参考文献

1. de Haro J, Zurita M, Ayllon L, et al. Detection of ¹¹¹In-oxine-labeled bone marrow stromal cells after intravenous or intralesional administration in chronic paraplegic rats [J]. *Neurosci Lett*, 2005, 377(1): 7-11.
2. Koda M, Okada S, Nakayama T, et al. Hematopoietic stem cell and marrow stromal cell for spinal cord injury in mice [J]. *Neuroreport*, 2005, 16(16): 1763-1767.
3. Zurita M, Vaquero J. Bone marrow stromal cells can achieve cure of chronic paraplegic rats: functional and morphological outcome one year after transplantation [J]. *Neurosci Lett*, 2006, 402(1-2): 51-56.
4. Isele NB, Lee HS, Landshamer S, et al. Bone marrow stromal cells mediate protection through stimulation of PI3-K/Akt and MAPK signaling in neurons [J]. *Neurochem Int*, 2007, 50(1): 243-250.
5. 周军, 杨惠林, 岑建农, 等. 同种异体共培养大鼠骨髓间充质干细胞的神经分化诱导鉴定[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2008, 18(2): 134-137, 163.
6. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats [J]. *J Neurotrauma*, 1995, 12(1): 1-21.
7. 孙燕, 柳锋霖, 宋耿青, 等. 急性和慢性束缚应激对大鼠内脏敏感性和神经内分泌的影响[J]. 中华消化杂志, 2006, 26(1): 38-41.
8. Siddall PJ, Taylor DA, McClelland JM, et al. Pain report and the relationship of pain to physical factors in the first 6 months following spinal cord injury [J]. *Pain*, 1999, 81(1-2): 187-197.
9. Rintala DH, Loubser PG, Castro J, et al. Chronic pain in a community-based sample of men with spinal cord injury: prevalence, severity, and relationship with impairment, disability, handicap, and subjective well-being [J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 1998, 79(6): 604-614.
10. Latimer AE, Ginis KA, Hicks AL, et al. An examination of the mechanisms of exercise-induced change in psychological well-being among people with spinal cord injury [J]. *J Rehabil Res Dev*, 2004, 41(5): 643-652.
11. Dagci T, Armagan G, Konyalioglu S, et al. Alterations in the expression of the apurinic/aprimidinic endonuclease-1/redox factor-1 (APE/ref-1) and DNA damage in the caudal region of acute and chronic spinal cord injured rats treated by embryonic neural stem cells [J]. *Physiol Res*, 2009, 58(3): 427-434.
12. Gao YJ, Ji RR. Activation of JNK pathway in persistent pain [J]. *Neurosci Lett*, 2008, 437(3): 180-183.
13. Huang TS, Wang YH, Lee SH, et al. Impaired hypothalamus-pituitary-adrenal axis in men with spinal cord injuries [J]. *Am J Phys Med Rehabil*, 1998, 77(2): 108-112.

(收稿日期: 2010-09-25 修回日期: 2010-11-24)

(英文编审 蒋欣/刘思麒)

(本文编辑 卢庆霞)

1. de Haro J, Zurita M, Ayllon L, et al. Detection of ¹¹¹In-oxine-labeled bone marrow stromal cells after intravenous or