

# 氯化锂通过激活 Wnt 信号通路促进神经干细胞增殖

张 建<sup>1</sup> 顾 茵<sup>1</sup> 罗学胜<sup>1△</sup> 杨 忠<sup>2</sup> 李红丽<sup>2</sup> 蔡文琴<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 宁波市解放军第 113 医院, 浙江 宁波 315040; <sup>2</sup> 中国人民解放军第三军医大学基础部, 重庆 400038)

**摘 要 目的** 观察氯化锂(LiCl)作用于神经干细胞(NSCs)后对细胞周期等生物学性状的影响以及经 LiCl 处理过的神经干细胞在分化过程中 Wnt 信号通路的主要信号分子  $\beta$ -catenin、GSK-3 $\beta$  的表达改变, 评估 LiCl 激活 Wnt 信号通路后对 NSCs 增殖和分化的影响。**方法** 应用分离培养的 NSCs 体系, 流式细胞仪检测不同浓度的 LiCl(1、5、10、100mmol/L)处理 48h 后 NSCs 细胞周期等生物学性状改变, Western Blot 检测 LiCl 处理后的 NSCs 中  $\beta$ -catenin、GSK-3 $\beta$  的表达以及动态变化。**结果** LiCl 处理后的 NSCs 体系细胞团块分散, 呈悬浮状态生长, 并能抑制血清诱导下的干细胞分化, 分化细胞贴壁时间明显延长。流式细胞仪检测表现为 S 期、G2/M 期细胞数百分比的增加和 G0/G1 期细胞数百分比的相对减少, 其效应呈现一定的剂量依赖关系( $P < 0.01$ )。Western Blot 检测显示 NSCs 中的  $\beta$ -catenin 分子在 LiCl 处理后表达明显增强, GSK-3 $\beta$  分子的表达明显下调, 表现出正相关的量效关系( $P < 0.01$ )。**结论** LiCl 通过激活 Wnt 信号通路能促进培养 NSCs 的增殖, 抑制干细胞分化, 其作用可能与胞内效应分子  $\beta$ -catenin 的表达增多有关。

**关键词** 氯化锂; Wnt 信号通路;  $\beta$ -catenin; GSK-3 $\beta$ ; NSCs

**中图分类号**: R322.81 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-9760(2013)12-387-06

## Lithium chloride promotes proliferation of neural stem cells by triggering the Wnt signaling pathway

ZHANG Jian, GU Yin, LUO Xue-sheng, et al

(Department of Geriatrics, Chinese PLA 113rd Hospital, Ningbo 315040, China)

**Abstract: Objective** We investigated the effects of lithium chloride on the cell dynamic changes of NSCs and the dynamic expression changes of  $\beta$ -catenin and Gsk-3 $\beta$  in the proliferation and differentiation process of NSCs treated with lithium chloride. The aim was to evaluate the effect of lithium chloride on the proliferation and differentiation process of NSCs by triggering the Wnt signaling pathway. **Methods** The cell dynamic changes of NSCs treated with different concentration lithium chloride were examined using flow cytometry. The dynamic expression changes of Wnt signaling molecules in the proliferation and differentiation process of NSCs treated with lithium chloride was detected by Western blotting. **Results** It was observed that the NSCs treated with lithium chloride (LiCl) were usually floated and much dispersed in the media. This effect was much strong in the higher concentration group than that of the lower ones. It was detected that the proportion of G0/G1 phase NSCs declined gradually accompanying the increased concentration of lithium chloride. In the meantime, the percentage of S as well as G2/M phase cells showed an increasing trend ( $P < 0.01$ ). Western blotting results revealed  $\beta$ -catenin expression increased gradually whereas Gsk-3 $\beta$  decreased gradually ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** This results indicated that the effect of LiCl in promoting proliferation ability of NSCs and preventing them from differentiating was at least partly by triggering the Wnt signaling pathway and activation of  $\beta$ -catenin signaling molecules.

**Key words**: Lithium chloride; Wnt signaling pathway;  $\beta$ -catenin; GSK-3 $\beta$ ; Neural stem cells

△ [通信作者] 罗学胜, E-mail: lxsy2009@sina.com

神经干细胞(NSCs)作为神经系统组织细胞的前体成分,有关其增殖分化过程分子机制的研究是近年神经科学广受关注的领域。已知胚胎乃至成体的中枢神经系统都存在神经干细胞<sup>[1-2]</sup>。神经干细胞体外培养的成功,为深入研究神经干细胞的增殖、分化成熟、迁移等重要生物学特性以及揭示神经系统发育相关机制等问题提供了良好的实验模型。氯化锂(LiCl)作为治疗心境障碍的主要药物,对于发育影响的分子机制仍不是很清楚。最近研究发现糖原合酶激酶 3 $\beta$ (GSK-3 $\beta$ )是 LiCl 发挥调控作用的靶点<sup>[3-4]</sup>,GSK-3 $\beta$  主要作用是使游离的  $\beta$ -catenin 磷酸化,使其进入泛素-蛋白酶体系从而被降解。 $\beta$ -catenin 是经典 Wnt 信号通路中关键的胞浆内效应分子,Wnt 信号传递取决于胞浆游离  $\beta$ -catenin 的水平,Wnt 信号通路激活可引起胞浆内  $\beta$ -catenin 水平升高,进而调控特定基因的表达<sup>[5-6]</sup>。目前已经证实 LiCl 可以促进啮齿类动物海马齿状回的神经发生,但是对于这种作用的分子机制依然没有阐述。目前,有关 LiCl 对神经干细胞作用后对其增殖与分化影响的研究还未见报道<sup>[7]</sup>。而在离体培养的神经干细胞体系中,通过应用 LiCl 抑制 GSK-3 $\beta$  的表达及活性,激活 Wnt 信号通路,研究 Wnt 信号通路在神经干细胞增殖与分化过程中的调控机制,不仅有助于阐明神经干细胞的终末分化机制,还将有可能为维持神经干细胞原始增殖状态、阻止其分化提供新的线索。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

实验用孕 13~16d Wistar 大鼠共 18 只(雌鼠的平均体质量 20~30g),由第三军医大学实验动物中心提供。

### 1.2 主要试剂

$\beta$ -catenin、GSK-3 $\beta$  多克隆抗体(兔血清)为美国 SANTA CRUZ 公司产品;Nestin、GFAP、Neurofilament、MAP-2 抗体为美国 Sigma 公司生产的小鼠血清来源的单克隆抗体;Western Blot 使用二抗是武汉博士德公司生产的 HRP 标记羊抗兔 IgG;蛋白裂解液(RIPA,PMSF)购于上海申能博彩生物科技有限公司;DMEM/F12 培养基购于美国 Gibco 公司;碱性成纤维生长因子 bFGF 购于美国 Sigma 公司;优质胎牛血清购于奥地利 PAA 公司;多聚赖氨酸购于北京中山公司;多聚甲醛购于美国 Sigma 公司;Tris 碱购于 Boehringer Mann-

heim;胰蛋白酶购于美国 Sigma 公司。

### 1.3 主要仪器

解剖显微镜产自德国 Leica 仪器公司;高速台式离心机为 Sartorius 1-15(美国 Sigma 公司);液氮贮存罐为 YDS-30-125(四川亚西机械厂);制冰机为 ICEMATIC N35S(意大利);紫外分光光度计为 U-1800 HITACHI(日本);5% CO<sub>2</sub> 37℃ 培养孵箱为 Series II 3111 型(美国);超净工作台为 Air Tech HS-1300-V(中国苏州);HH-SY-21 电热恒温水浴锅购于北京长源实验设备厂;凝胶成像分析系统为 SK 300(上海生物技术公司);数码摄像系统为 OLYMPUS DP70(日本);倒置相差显微镜为 OLYMPUS IX51(日本);倒置相差荧光显微镜为 OLYMPUS IX70(日本);流式细胞仪为 FACSC2alibur 型(美国 BD 公司)。

### 1.4 实验方法

#### 1.4.1 大鼠大脑皮层 NSCs 的分离和传代培养

取孕 13~16d Wistar 大鼠 1 只,1% 的戊巴比妥钠 30mg/kg 腹腔注射麻醉后,碘酒和酒精消毒腹部皮肤,在准备室内用无菌手术剪依次剪开下腹部皮肤、肌肉和腹膜,暴露两侧子宫,顺子宫分离至子宫角处剪下,放入培养皿中,D-Hank's 液中漂洗。依次去掉子宫壁及胎膜,取胎鼠于 75% 的酒精中浸泡进行皮肤消毒。然后用眼科剪剪开头皮和颅骨,剥离暴露出胎鼠大脑,取皮层组织。在解剖显微镜下,去除脑膜,剪成约 1.5mm×2.0mm×1.0mm 大小的组织块,置于 D-Hank's 液中直接吹打成单细胞悬液,种植入 50ml 培养瓶中,每瓶细胞数约为 1×10<sup>6</sup> 个,培养条件:DMEM/F12+20 $\mu$ l/ml B27+20 ng/ml bFGF,37℃,5% CO<sub>2</sub>。待原代神经细胞球(Neurosphere)较多形成时(约 4~5d)进行传代。同时用含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养液对 NSCs 进行诱导分化。将培养的细胞集落收集入离心管中,800~1000rpm 离心 2~5min,弃上清液,加入少量条件培养液,用吸管反复吹打细胞集落,尽量使其分散,计数细胞后(2×10<sup>6</sup> 个细胞/瓶)置入 50ml 培养瓶中,加 NSCs 条件培养液 6~7ml,置 37℃,5% CO<sub>2</sub> 条件下培养,依据细胞生长快慢进行传代。在传代过程中,尽量吹散,但也不能过猛,以免影响其克隆的生长。

**1.4.2 NSCs 的分化** 设立 NSCs 对照组,同时在 NSCs 培养瓶中加入含 10% 胎牛血清诱导其分化,观察干细胞的变化;分别于分化 12、24、48、72h 终止培养,通过相差显微镜观察神经干细胞在

分化过程中的形态变化,同时成像;收集神经干细胞以及诱导分化后 12、24、48、72h 一共 5 个时相点的细胞,先将培养的细胞收集入离心管中,800~1000rpm 离心 2~5min,弃上清液;再将收集细胞的 EP 管置于液氮中冷冻 5~10min;最后将收集的细胞的 EP 管置于-80℃冰箱中冷冻保存;用于 Western blot 实验中提取细胞蛋白。

**1.4.3 LiCl 对 NSCs 增殖和分化的影响** 设立 NSCs 对照组,同时 NSCs 与不同浓度的 LiCl(1、5、10、40mmol/L)培养 4d。在培养过程中,观察细胞形态及其变化并显微照像。将处理组和对照组一共 5 组细胞进行收集,先将培养的细胞集落收集入离心管中,800~1000rpm 离心 2~5min,弃上清液。再将收集的细胞集落的 EP 管置于液氮中冷冻 5~10min。最后将收集的细胞集落的 EP 管置于-80℃冰箱中冷冻保存。用于 Western blot 提取细胞蛋白。

**1.4.4 Western blot** 快速取所需组织,液氮冷冻、研钵粉碎;加入 PMSF(每克组织 30μl),冰上孵育 30min;移入离心管,4℃离心(15,000r/min) 15min,取上清;将 0.5mg/ml 标准蛋白溶液稀释为 6 个浓度,以蛋白浓度为横坐标,以吸光度值为纵坐标作曲线;考马斯亮蓝染色测定蛋白浓度,取待测样品进行检测,根据其吸光度值计算蛋白浓度;用图像分析软件对扫描结果进行分析,得到平均吸光度值。每个样品取 10μl 蛋白质加入 10μl 上样缓冲液,100℃煮沸 5min;进行定性 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳,然后移至 PVDF 膜上;用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 缓冲液冲洗,4℃孵育过夜;PVDF 膜在室温下与 β-catenin 抗体(1:2000)孵育 1h;漂洗后入生物素化二抗(1:2000)室温下孵育 1h;每次孵育之间均用 TBST 缓冲液冲洗 3 次,每次 10min;DAB 显色,扫描记录。

**1.4.5 流式细胞术** 细胞分组培养方法和单细胞悬液制备同前。在用 LiCl 处理并培养 4d 后,将收集的各组细胞机械吹打制成细胞悬液,体积分数为 0.70 的乙醇固定,4℃过夜。PBS 洗涤离心。20 μl 的 0.125%胰酶 37℃水浴 5min,4℃避光保存 30 min。激发波长 488 nm 的激光检测,Cell fit 软件收集细胞并进行细胞周期分析,每组 5 例标本,每个标本检测  $1 \times 10^4$  个细胞,测定各细胞周期所占百分比。

## 1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 10.0 统计软件包进行统

计学处理。

## 2 结果

### 2.1 NSCs 的培养、传代和分化

原代培养细胞在无血清的 NSC 培养液中 2~3d 内部分死亡,其余大部分逐步分裂形成多细胞的细胞团,继续培养后细胞生长旺盛,细胞团数目迅速增多增大,成悬浮球团状生长,无突起。克隆传代培养后也形成类似于原代的细胞团(图 1)。血清诱导分化后 NSC 团在 12h 内即贴壁并开始发出突起,随后有细胞向外迁移,2~3d 内细胞突起即非常明显,彼此连接形成网络,越往后细胞分散越为明显(图 2)。

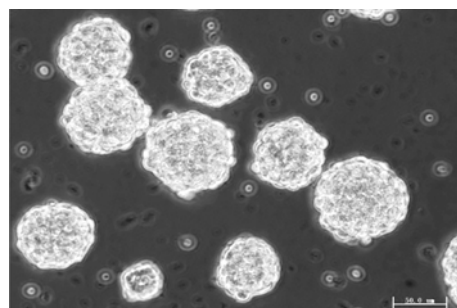


图 1 培养 3d 悬浮生长的 NSCs(×200)

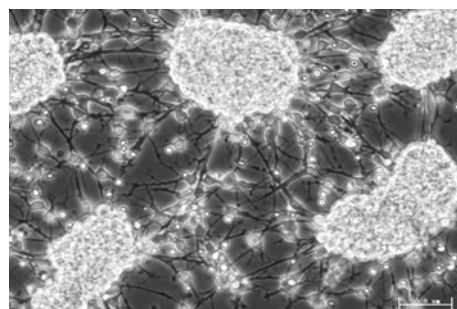


图 2 FBS 诱导分化 2d 的 NSCs(×200)

### 2.2 LiCl 作用于 NSCs 后对其形态及生长分化的影响

NSCs 经 LiCl(1、5、10、40mmol/L)作用 4d 后,在相差显微镜中可以观察到 NSCs 发生较明显形态学变化,与正常的 NSCs 比较,经过 LiCl 作用以后的 NSCs 更多地保持悬浮生长的状态,在显微镜下观察到细胞团块分散,小细胞团块与单个细胞密度增加,随着作用浓度的增大,这种变化的趋势更加明显(图 3、4、5)。血清诱导分化后 NSC 团在 12h 内即贴壁并开始发出突起,而在培养基内加入

LiCl 的 NSCs 体系贴壁时间明显延长,细胞突起较对照组明显减少缩短。并且在一定的浓度范围内,随着 LiCl 作用浓度的增加,这种抑制分化效应呈现一定的剂量依赖关系(图 6)。

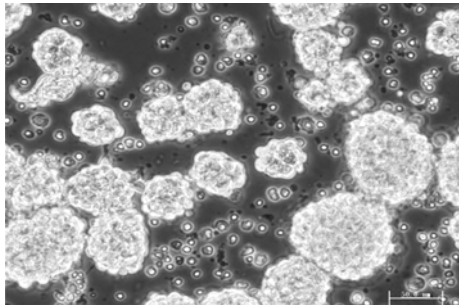


图 3 1mmol LiCl 作用 4d 后的 NSCs( $\times 200$ )

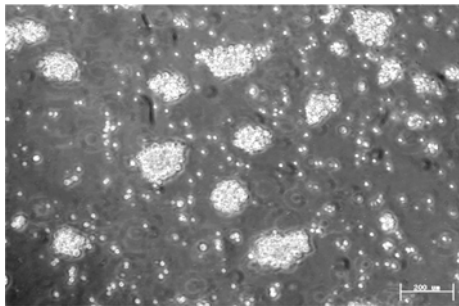


图 4 10mmol LiCl 作用 4d 后的 NSCs( $\times 200$ )

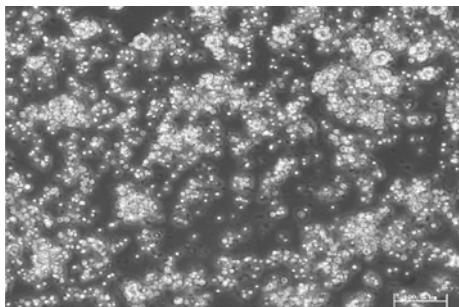


图 5 40mmol LiCl 作用 4d 后的 NSCs( $\times 200$ )

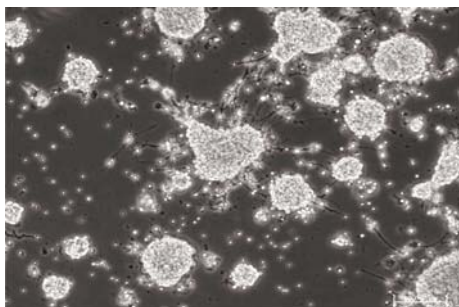
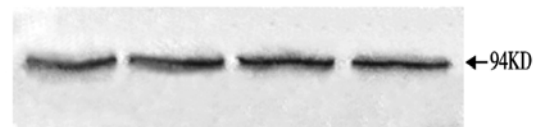


图 6 FBS 诱导分化+LiCl 作用 2d 的 NSCs( $\times 200$ )

## 2.3 LiCl 作用于 NSCs 后 NSCs 体系中 Wnt 信号分子表达的变化

在 NSCs 对照组、1mmol/L LiCl、5mmol/L LiCl、10mmol/L LiCl、40mmol/L LiCl 作用 4d 后的 NSCs 体系中均有  $\beta$ -catenin、GSK-3 $\beta$  蛋白的表达。随着 LiCl 作用浓度的增加, $\beta$ -catenin 蛋白平均吸光度值呈现梯度上升,表示  $\beta$ -catenin 蛋白量呈现梯度增加( $P < 0.05$ ),而 GSK-3 $\beta$  蛋白平均吸光度值呈现梯度下降,表示 GSK-3 $\beta$  蛋白量呈现梯度减少( $P < 0.05$ )(图 7,8);2 组高浓度 LiCl 作用后的检测结果与对照相比相差显著;说明随着作用浓度的增加,NSCs 体系中  $\beta$ -catenin 蛋白的表达逐渐增加;而 GSK-3 $\beta$  蛋白的表达逐渐减少。图 3 为两类分子在不同浓度下的变化趋势图。



从左至右分别为分别为 NSCs、1mmol LiCl、5mmol LiCl、10mmol LiCl,随着作用浓度的增高, $\beta$ -catenin 蛋白量逐渐增加。

图 7 不同浓度 LiCl 作用于神经干细胞 48h 后  $\beta$ -catenin Western blot 分析



从左至右分别为分别为 NSCs、1mmol LiCl、5mmol LiCl、10mmol LiCl,随着作用浓度的增高,GSK-3 $\beta$  蛋白量逐渐减少。

图 8 不同浓度 LiCl 作用于神经干细胞 48h 后 GSK-3 $\beta$  Western blot 分析

## 2.4 LiCl 作用于 NSCs 后 NSCs 细胞周期动力学的检测结果

流式细胞仪的检测结果显示:1、5、10、40mmol/L LiCl 作用 4d 的 NSCs 体系中,与 NSCs 对照组相比,LiCl 作用组神经干细胞处于 G0/G1 期的细胞数百分比明显低于对照组,并且随着 LiCl 作用浓度的增加,神经干细胞中 G0/G1 期细胞数百分比呈现下降的趋势( $P < 0.01$ )。相反,与 NSCs 对照组相比,LiCl 作用组神经干细胞处于 S 期的细胞数百分比明显增高,并且随着 LiCl 作用浓度的增加,S 期的细胞数百分比在神经干细胞中呈现逐渐增高的趋势( $P < 0.01$ ),显示 LiCl 作用具有一定的量效依赖关系(见图 9、10 和表 1)。

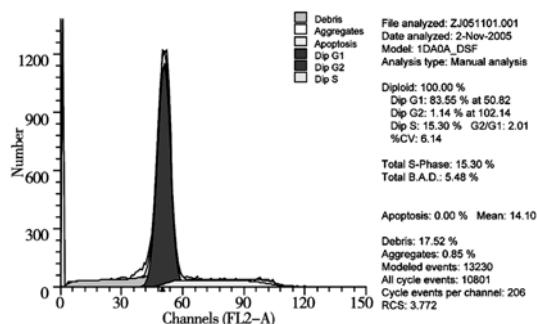


图 9 流式细胞检测正常组 NSCs 的细胞周期动力学数据

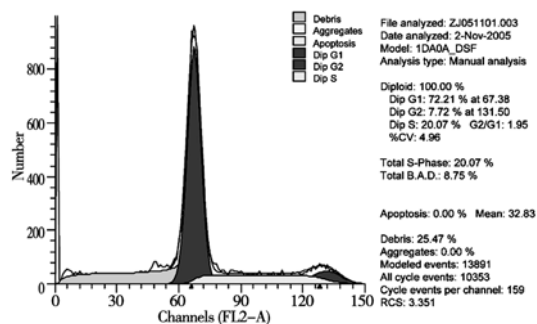


图 10 流式细胞检测 10mmol/LiCl 处理后 NSCs 的细胞周期动力学参数

表 1 不同浓度 LiCl 作用于 Nsc 后细胞周期各期百分率 ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

| 组别       | G0/G1 期            | G2/M 期             | S 期                |
|----------|--------------------|--------------------|--------------------|
| NSc      | 92.74 $\pm$ 3.86   | 0.01 $\pm$ 0.40    | 7.26 $\pm$ 0.54    |
| 1mmol/L  | 79.75 $\pm$ 3.05 * | 4.28 $\pm$ 0.34 *  | 10.26 $\pm$ 1.21 * |
| 5mmol/L  | 76.87 $\pm$ 2.78 * | 9.99 $\pm$ 0.17 *  | 12.52 $\pm$ 2.54 * |
| 10mmol/L | 69.87 $\pm$ 3.09 * | 10.06 $\pm$ 1.08 * | 17.68 $\pm$ 2.50 * |
| 40mmol/L | 52.87 $\pm$ 0.55 * | 10.87 $\pm$ 1.50 * | 19.26 $\pm$ 3.07 * |

与对照组相比, \*  $P<0.01$

### 3 讨论

LiCl 是目前临床治疗双相性精神障碍(躁狂抑郁症)最有效的药物之一,但对其作用的细胞分子机制迄今尚不完全清楚。研究显示 LiCl 对一些器官的早期发育及形态发生具有显著影响;有实验报道 LiCl 可以促进不同年龄啮齿类动物海马齿状回的神经发生,表现为局部前体细胞对 5-溴脱氧尿嘧啶(BrDU)摄取的增加;由于 LiCl 可直接通过血脑屏障,因此有理由推测这可能缘于它对 NSCs 的直接刺激。此外研究还发现它能增强海马区神经发生以及神经元生长锥的生长<sup>[8-9]</sup>。LiCl 对新生哺乳类动物缺血和缺氧的长期的多方面的神经

保护作用,主要是由于抑制炎症和促进神经干细胞与前体细胞的增殖和存活<sup>[10]</sup>。在最近的研究中显示 LiCl 可以抑制大脑的脑缺血后引起的细胞凋亡和增加神经前体细胞的存活率<sup>[11]</sup>。这些文献报道的结果与我们的实验研究结果是相一致的,这也就进一步证实治疗浓度的 LiCl 对神经干细胞的增殖与分化确实起着重要的调控作用,但是对于其相关的分子机制和机理还没有得到阐述。

Wnt 信号通路已经证实可以调控众多的神经发育过程,包括细胞命运的分化、决定、极化、迁移和神经嵴细胞的增殖。有研究证实 Wnt 基因在调控胚胎干细胞种系多样化方面有着重要意义,而在 LiCl 作用以后将导致包括 Wnt-1 基因的过表达和神经分化过程得到抑制<sup>[12]</sup>。Su H 的研究结果显示治疗浓度的 LiCl 可以显著地增加体外的神经前体细胞的增殖和神经元的分化。研究认为 BDNF 通路也就是脑源性神经营养因子通路可能参与了 LiCl 诱导神经前体细胞的神经发生,但是不涉及细胞增殖过程<sup>[13]</sup>。但是,有人发现 LiCl 能保护缺血缺氧性脑损伤后的神经组织细胞免受损害,并减少细胞的凋亡和增加神经前体细胞的存活率,而结合 GSK-3 $\beta$  被作为凋亡诱导因子的报道,不难理解 LiCl 的这一系列作用均可能与它对 Wnt 信号通路的活化有关<sup>[14-15]</sup>。本文结果为 LiCl 相关作用机制提供了解释的依据和实验资料的支持。近年来实验证实 LiCl 能够有效地抑制 GSK-3 $\beta$  的表达与活性,因而在 Wnt 信号通路研究中被作为 GSK-3 $\beta$  的抑制工具。因此,我们认为 LiCl 作用于神经干细胞以后发挥的调控作用主要是通过激活 Wnt 信号通路以后实现的。

本文通过 Western blot 的半定量检测,发现在培养的 NSCs 体系,随着 LiCl 作用浓度的增加,NSCs 中  $\beta$ -catenin 蛋白的表达逐渐增加,而 GSK-3 $\beta$  的表达则逐渐减少。结果进一步证实 LiCl 可以明显抑制 GSK-3 $\beta$  的表达,从而使游离  $\beta$ -catenin 被磷酸化降解的过程得到一定程度的减弱,并有效地提高了胞浆内效应分子  $\beta$ -catenin 的水平,起到了间接激活 Wnt 信号通路的作用。本文同时还观察了细胞形态与流式细胞仪等的结果,显示 LiCl 作用能抑制 NSCs 的抱团生长,促进干细胞的离散,随着作用浓度的增加,NSCs 体系中处于 G0/G1 期细胞数百分比呈现明显减少趋势,而处于 S 期的细胞数百分比则呈现明显增加,其作用表现一定的剂量效应关系。表明 NSCs 体系在经过 LiCl

处理以后降低了 G0/G1 期细胞的百分数,作为细胞增殖的最后共同通路,静止期细胞在受到增殖原刺激后,不断地进入 S 期,从 G0/G1 期向 S 期、G2 期及 M 期过渡,如果失去增殖原刺激,细胞常即停止于 G1 期,不再向 S 期过渡而停止增殖。NSCs 体系在经过 LiCl 处理后 S 期的细胞数百分比增加,说明了干细胞增殖能力的增强,有增殖原的不断刺激,细胞在经过 M 期后进入 G1 期并继续下一个周期。由于离体的干细胞可以排除其余的体内因素和因子的影响,提示 LiCl 改变了神经干细胞体系的增殖速度,使细胞分化受到抑制。总而言之,我们的研究结果显示 LiCl 在作用于神经干细胞以后激活了 Wnt 信号通路,导致神经干细胞的增殖能力上调,而神经干细胞的分化过程受到抑制,这也就阐述和解释了 LiCl 作用于神经干细胞后是如何发挥调控作用的。同时,这也为目前部分文献报道的 Wnt 信号通路激活导致  $\beta$ -catenin 信号表达的增强,并具有显著的促进胚胎干细胞及神经前体细胞增殖的作用。

LiCl 作为长期以来最有效的主要情绪稳定剂之一,其促进神经干细胞增殖及发生的作用无疑也为其临床作用提供了药理学解释。在此基础上发掘更有效特异、副作用更小的 Wnt 信号通路的激动剂,将可能为情感性精神障碍的治疗提供更好选择。

#### 参考文献:

- [1] Gage FH. Mammalian neural stem cells[J]. Science, 2000, 287(5457):1433-1438.
- [2] Kim S, Xu X, Hecht A, et al. Mediator is a transducer of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling[J]. J Biol Chem, 2006, 281(20): 14066-14075.
- [3] Williams R, Ryves WJ, Dalton EC, et al. A molecular cell biology of lithium[J]. Biochem Soc Trans, 2004, 32(5): 799-802.
- [4] Harwood AJ. Neurodevelopment and mood stabilizers[J]. Curr Mol Med, 2003, 3(pt5):472-482.
- [5] Moon RT, Bowerman B, Boutros M, et al. The promise and perils of Wnt signaling through  $\beta$ -catenin[J]. Science, 2002, 296(5573):1644-1646.
- [6] Huelsken J, Birchmeier W. New aspects of Wnt signaling pathways in higher vertebrates[J]. Curr Opin Genet Dev, 2001, 11(5):547-553.
- [7] Kim JS, Chang MY, Yu IT, et al. Lithium selectively increases neuronal differentiation of hippocampal neural progenitor cells both in vitro and in vivo[J]. J Neurochem, 2004, 89(2): 324-336.
- [8] Harrill JA, Freudenrich TM, Routros M, et al. Comparative sensitivity of human and rat neural cultures to chemical-induced inhibition of neurite outgrowth[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2011, 256(3):268-280.
- [9] Vazey EM, Connor B. Differential fate and functional outcome of lithium chloride primed adult neural progenitor cell transplants in a rat model of Huntington disease[J]. Stem Cell Res Ther, 2010, 1(5):1186-1196.
- [10] Li H, Li Q, Du X, et al. Lithium-mediated long-term neuroprotection in neonatal rat hypoxia-ischemia is associated with antiinflammatory effects and enhanced proliferation and survival of neural stem/progenitor cells[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2011, 31(10):2106-2115.
- [11] Huo K, Sun Y, Li H, et al. Lithium reduced neural progenitor apoptosis in the hippocampus and ameliorated functional deficits after irradiation to the immature mouse brain[J]. Mol Cell Neurosci, 2012, 51(1/2):32-42.
- [12] Aubert J, Dunstan H, Chambers I, et al. Functional gene screening in embryonic stem cells implicates Wnt antagonism in neural differentiation[J]. Nat Biotechnol, 2002, 20(12): 1240-1245.
- [13] Su H, Zhang W, Guo J, et al. Lithium enhances the neuronal differentiation of neural progenitor cells in vitro and after transplantation into the avulsed ventral horn of adult rats through the secretion of brain-derived neurotrophic factor[J]. J Neurochem, 2009, 108(6):1385-1398.
- [14] Mazarati A, Lu X, Shinmei S, et al. Patterns of seizures, hippocampal injury and neurogenesis in three models of status epilepticus in galanin receptor type 1 (GalR1) knockout mice[J]. Neuroscience, 2004, 128(2):431-441.
- [15] Huo K, Sun Y, Li H, et al. Lithium reduced neural progenitor apoptosis in the hippocampus and ameliorated functional deficits after irradiation to the immature mouse brain[J]. Mol Cell Neurosci, 2012, 51(1/2):32-42.

(收稿日期 2013-11-03)