

基础研究

环孢霉素 A 对大鼠脊髓损伤早期环氧化酶-2
与肿瘤坏死因子 α 表达的影响陈勇忠¹, 王剑火², 许卫红³

(1 南京军区福州总医院 476 临床部骨科 福建医科大学福总临床学院 350002 福州市; 2 南京军区福州总医院 95 临床部骨三科 351100 莆田市; 3 福建医科大学附属第一医院 350004 福州市)

【摘要】目的:观察环孢霉素 A(CsA)对大鼠脊髓损伤(SCI)早期环氧化酶-2(Cox-2)与肿瘤坏死因子 α (TNF- α)表达的影响,探讨 CsA 对大鼠 SCI 的作用。**方法:**180 只大鼠随机分成对照组、损伤组和损伤后 CsA 治疗组(治疗组),每组 60 只。用 25g·cm 致伤损伤组和治疗组大鼠 T8~T11 脊髓,对照组不损伤脊髓。治疗组于术后 1h 予尾静脉注射 CsA(2.5mg/kg),之后每隔 12h 给药 1 次,对照组和损伤组在相同时间点尾静脉注射相同体积生理盐水。损伤组和治疗组于术后 2h、6h、12h、24h、48h 和 72h 处死动物取损伤段脊髓标本,对照组在相应时间点取相应节段脊髓标本,切片后分别行 HE 染色观察脊髓组织损伤情况、免疫组织化学 EnVision 法检测 TNF- α 、免疫组织化学 SP 法检测 Cox-2,并对 TNF- α 和 Cox-2 进行定量分析。**结果:**对照组各时间点脊髓无出血、水肿等变化。损伤组和治疗组伤后 2h、6h 脊髓灰质可见水肿、出血,但无坏死,周围白质无明显改变;12h、24h 脊髓灰质出现广泛灶性出血及出血后形成囊腔,神经元肿胀,部分细胞核浓缩,染色增强,白质见少量红细胞渗出,髓鞘轻度肿胀;48h、72h 脊髓灰质中出现神经元固缩、坏死、溶解,细胞体积变小,有大量小胶质细胞增生和中性粒细胞浸润,白质中可见较多红细胞渗出,髓鞘肿胀和大量空泡,周围有炎性细胞浸润和胶质细胞增生;治疗组各时间点的病理改变均较损伤组轻。对照组大鼠脊髓 Cox-2 呈可疑阳性表达;损伤组和治疗组伤后 2h Cox-2 即有表达,6h 达到高峰,之后逐渐下降;损伤组在伤后 72h Cox-2 表达仍较对照组高($P<0.05$),而治疗组到伤后 48h 即恢复到对照组水平($P>0.05$),治疗组各时间点 Cox-2 表达均较损伤组低($P<0.05$);对照组大鼠脊髓 TNF- α 呈可疑阳性或弱阳性表达;损伤组和治疗组伤后 2h 即有 TNF- α 表达,12h 达到高峰,之后逐渐下降;损伤组在伤后 72h TNF- α 表达仍较对照组高($P<0.05$),而治疗组在伤后 72h 即恢复到对照组水平($P>0.05$),治疗组各时间点 TNF- α 表达均较损伤组低($P<0.05$)。**结论:**CsA 能显著降低大鼠 SCI 后早期损伤脊髓组织中 Cox-2 和 TNF- α 的表达,从而减轻脊髓继发性损伤。

【关键词】脊髓损伤;环孢霉素 A;环氧化酶-2;肿瘤坏死因子- α ;大鼠

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2011.05.05

中图分类号:R165.1,R683.2 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2011)-05-0374-05

Effect of cyclosporine A on the expression of cyclooxygenase-2 and tumor necrosis factor- α in early stage of spinal cord injury in rat/CHEN Yongzhong, WANG Jianhuo, XU Weihong/Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2011, 21(5):374~378

【Abstract】Objective:To investigate the effect of the cyclosporine A(CsA) on the expression of cyclooxygenase-2(Cox-2) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in acute spinal cord injury, and the mechanism of CsA on spinal cord injury in rat. **Method:**180 rats were randomly divided into control group, injury group and the CsA-intervention group with 60 rats in each group. An impact of 25g·cm was used to induce spinal cord injury in rat both in injury group and in intervention group. In CsA-intervention group, CsA (2.5mg/kg) was administered in rats through caudal vein injection 1h after injury, then repeated per 12h after injury, while the control group and injury group received the same dose of normal saline at the same time point. The injured spinal cord segment was collected and processed pathologically at 2h, 6h, 12h, 24h, 48h and 72h after operation. HE staining and immunohistochemistry staining (TNF- α by the EnVision detection system and Cox-2 by the SP detection system) were performed for every specimen. The expressions of Cox-2 and TNF- α were analyzed quantitatively by HPIAS-2000 high-resolution color graphic pathology report management system. **Result:**

第一作者简介:男(1969-),副主任医师,医学硕士,研究方向:脊柱脊髓损伤

电话:(0591)28376437 E-mail:cyzhong3609@163.com.cn

HE staining showed normal of rat spinal cord in control group without bleeding and necrosis. Edema and hemorrhage instead of necrosis in spinal cord gray matter could be seen in 2h, 6h after injury both in injury group and in intervention group. A wide range of focal hemorrhage and formation of cysts after bleeding occurred in 12h or 24h after injury in spinal cord gray matter. Neurons appeared as swelling, part of nucleus concentrated, HE staining increased, numerous red blood cells and myelin slight swelling were seen in the white matter as well. Neurons appeared pyknosis, necrosis, dissolution in 48h or 72h after injury in the spinal cord gray matter. Microglial cell proliferation and neutrophil infiltration were evidenced in the injured spinal cord. Numerous red blood cells and myelin swelling were seen in the white matter. A great quantity of emptiness, inflammation cell infiltration and microglial cell proliferation were evidenced. Pathological severity at any time point in intervention group was milder than injury group. The expression of Cox-2 remained uncertainty in control group and reached peak at 6h after injury, then decreased. Cox-2 expression in injury group in 72h was higher than control group ($P < 0.05$), while was equal to intervention group in 48h after injury ($P > 0.05$), Cox-2 expression in intervention group was lower than injury group at each time point ($P < 0.05$). The expression of TNF- α remained uncertainty in control group. The expression of TNF- α was detected 2h after injury in injury group and the intervention group, which reached peak at 12h after injury, then decreased. The expression of TNF- α in injury group was higher than control group ($P < 0.05$) in 72h after injury. The expression of TNF- α in intervention group resumed to the baseline level of the control group ($P > 0.05$) 72h after injury. TNF- α expression in intervention group was lower than injury group at each time point ($P < 0.05$). **Conclusion:** CsA down-regulate the expression of Cox-2 and TNF- α significantly in SCI rats, which can alleviate the secondary spinal cord injury.

[Key words] Spinal cord injury; Cyclosporin A; Cyclooxygenase-2; Tumor necrosis factor- α ; Rat

[Author's address] Department of Orthopedics, the 476th Clinic, PLA Fuzhou General Hospital, Fuzhou, 350002, China

急性脊髓损伤 (acute spinal cord injury, ASCI) 可分为原发性机械损伤和多种机制参与的继发性损伤两个过程。如何阻断或减轻继发性损伤仍然是 ASCI 研究的热点。炎症反应和免疫损伤在脊髓继发损伤中发挥重要作用。环氧化酶 (cyclooxygenase, Cox) 是重要炎症介质前列腺素 (prostaglandin, PG) 的合成酶和限速酶, Cox-2 主要在炎症细胞中表达; 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 是一种重要的炎症介质, 参与脊髓炎性反应的发生和发展。环孢霉素 A (cyclosporine A, CsA) 是一种广泛应用于器官移植抗排斥反应的免疫抑制剂, 具有强大的抗炎和免疫抑制作用。本研究观察 CsA 对大鼠 SCI 后 Cox-2 与 TNF- α 表达的影响, 探讨其在脊髓继发性损伤中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物和主要试剂

雄性清洁级健康成年封闭群 SD 大鼠 180 只, 体重 250~300g (福建医科大学实验动物中心)。CsA 注射液 (山地明, 瑞士), 羊抗鼠 Cox-2 多克隆抗体 (1:15)、兔抗鼠 TNF- α 多克隆抗体 (1:

50)、即用型山羊 SP 检测试剂盒、兔二步法检测试剂盒 (EnVision 法)、二氨基联苯胺 (DAB) 显色试剂盒、Harris 苏木素液 (北京中杉公司)。

1.2 动物分组及模型建立

180 只大鼠随机分成正常对照组、损伤组和损伤后 CsA 治疗组, 每组 60 只。每组又按造模后 2h、6h、12h、24h、48h 和 72h 分为 6 小组, 每小组 10 只大鼠。

大鼠以 10% 水合氯醛 4ml/kg 腹腔注射麻醉后俯卧固定于手术台上, 无菌条件下行背中段正中切口, 显露 T8~T11 棘突椎板, 仔细咬除 T8~T11 棘突椎板, 显露脊髓硬膜 11~12mm 长, 损伤组和治疗组将 10g 重的砝码通过空心光滑垂直导管距脊髓背面 25mm 高垂直下落打击脊髓背侧致 T8~T11 SCI; 对照组不损伤脊髓。大鼠的双下肢呈回缩性扑动、尾巴出现痉挛性摆动为 SCI 造模成功标志。治疗组大鼠造模后 1h 予尾静脉注射 CsA (2.5mg/kg), 之后每隔 12h 给药 1 次^[1]; 损伤组 and 对照组相应时间点从尾静脉注射等体积生理盐水。术后 SCI 大鼠给予人工辅助排尿, 每日 2 次。

1.3 组织学检查及 TNF- α 和 Cox-2 检测

各组大鼠分别于预定时间点在麻醉下剖胸,

心脏插管,灌注冰生理盐水及 4%多聚甲醛缓冲液。完整取出损伤段脊髓(对照组取相应节段),长约 10mm,4%多聚甲醛缓冲液固定过夜,梯度脱水,石蜡包埋,3 μ m 连续横切片,在脊髓损伤边缘处、边缘到损伤中心点的中点过渡处以及损伤中心处各连续取 6 张切片,每处各取 1 张切片作 HE 染色、SP 免疫组化染色和 EnVision 染色。HE 染色后光镜下观察脊髓组织损伤情况;EnVision 法免疫组化染色检测 TNF- α 表达情况,SP 法免疫组化检测 Cox-2 表达情况。Cox-2 以胞浆内出现棕黄色颗粒为阳性反应,TNF- α 以胞浆或胞外出现棕黄色颗粒为阳性反应。选取损伤中心切片,采用 HPIAS-2000 高清晰度彩色病理图文报告管理系统对 TNF- α 和 Cox-2 的表达进行定量分析,每张切片随机选取 5 个完整而不重叠的高倍视野($\times 400$),测定每个视野下的光密度,取 5 个视野的平均光密度值。

1.4 统计学处理

各组数据均采用($\bar{x} \pm s$)表示,数据采用 SPSS 12.0 软件包进行统计处理,采用 ANOVA 检验,对 $P < 0.05$ 者采用 LSD- t 检验进行组间两两比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

HE 染色后光镜下观察:对照组各时间点脊髓无出血、水肿等异常变化(图 1a)。损伤组和治疗组伤后 2h、6h 脊髓灰质可见水肿、出血,但无坏死,周围白质无明显改变;12h、24h 时脊髓灰质出现广泛灶性出血及出血后形成的囊腔,神经元肿胀,部分核浓缩,染色增强,白质内可见少量红细胞渗出,髓鞘轻度肿胀;48h、72h 时出现神经元固缩、坏死、溶解,细胞体积变小,有大量小胶质细胞增生和中性粒细胞浸润;白质中可见较多红细胞渗出,髓鞘肿胀和大量空泡,周围有炎性细胞浸润和胶质细胞增生。治疗组各时间点脊髓病理改变均较相应时间点损伤组轻(图 1b、1c)。

SP 法免疫组化染色可见神经元的胞浆中有阳性表达,胶质细胞未见阳性表达。对照组各时间点的大鼠脊髓神经元胞浆均呈极浅棕色反应(图 2a),损伤组和和治疗组脊髓神经元胞浆呈棕黄色染色,损伤组染色较相应时间点治疗组更深(图 2b、2c)。损伤区的神经元染色较深,离损伤区越远,染色越浅。三组各时间点的平均光密度值见表 1。损伤组和治疗组伤后 2h 即有 Cox-2 表达,6h 达到高峰,之后逐渐下降,损伤组到伤后 72h 仍较

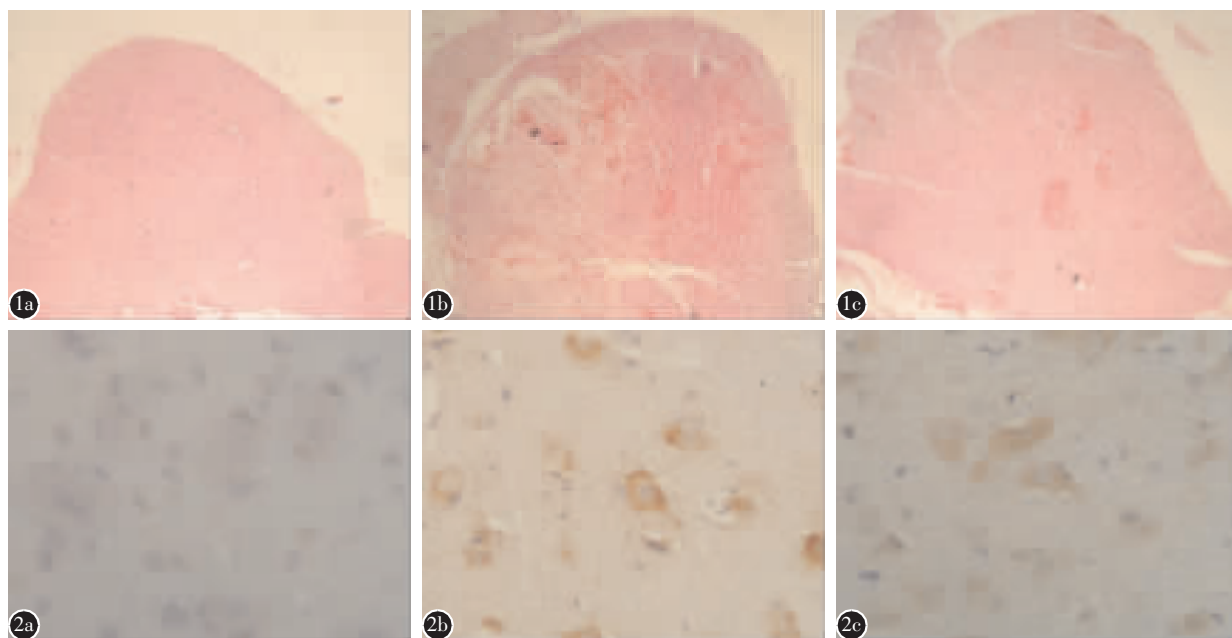


图 1 造模后 12h 大鼠脊髓病理检查 a 正常对照组脊髓组织中未出血、水肿等变化 ($\times 40$) b 损伤组脊髓灰质出现广泛灶性出血及出血后形成的囊腔,神经元肿胀,部分核浓缩,染色增强 ($\times 40$) c CsA 治疗组脊髓灰质出现广泛灶性出血及出血后形成的囊腔,神经元肿胀,部分核浓缩,染色增强,较同时间损伤组轻(HE 染色 $\times 40$) 图 2 造模后 12h SP 法免疫组织化学染色大鼠脊髓组织中可见脊髓神经元胞浆中 Cox-2 阳性表达 a 对照组少数细胞呈浅棕色染色 b 损伤组较多细胞呈棕黄色染色 c 治疗组较多细胞呈棕黄色染色,颜色较损伤组浅(DAB 显色 $\times 400$)

对照组高 ($P<0.05$), 而治疗组到伤后 48h 即恢复到对照组水平 ($P>0.05$); 治疗组在各时间点 Cox-2 表达均较损伤组低 ($P<0.05$)。

EnVision 法免疫组化染色可见脊髓神经元与非神经元细胞(星形胶质细胞和小胶质细胞)均有阳性表达。对照组各时间点的大鼠脊髓神经元胞浆均呈浅棕色反应(图 3a), 损伤组和治疗组脊髓神经元胞浆呈棕黄色染色, 损伤组染色较治疗组颜色深(图 3b、3c)。损伤区的神经元染色较深, 离损伤区越远, 染色越浅。三组各时间点的平均光密度值见表 1。损伤后 12h TNF- α 表达达到高峰, 此后逐渐下降, 损伤组到伤后 72h 仍较对照组高 ($P<0.05$), 而治疗组到伤后 72h 已恢复到对照组水平 ($P>0.05$); 治疗组在各时间点 TNF- α 表达均较损伤组低 ($P<0.05$)。

3 讨论

炎症在继发性 SCI 的病理过程中起关键性的作用, TNF- α 和 PG 是介导 SCI 后炎症反应的重要细胞因子, 它们能够在 SCI 后的早期表达, 并导致相应的炎性细胞侵入受损脊髓局部产生炎症反应, 从而加重脊髓的损伤^[2-6]。Streit 等^[7]报道在脊髓

的挤压伤模型中, TNF- α mRNA 早期高表达, 但在伤后 24h 内即降至基线水平。Lee 等^[8]在脊髓挤压伤模型中也观察到 TNF- α 在伤后 1h 表达并迅速达到高峰, 在伤后 3d 内降至基线水平, 而且 TNF- α 主要分布在损伤脊髓内坏死组织及邻近组织的周围。Wang 等^[9]报道, 脊髓伤后 1h, 脊髓损伤处 TNF- α 表达增高并迅速升至高峰, 并可持续至伤后 8h, 随后开始下降; 而在脑脊液和血清中, 任何时相都未能检测出 TNF- α 。Yang 等^[6]应用 TNF- α 抗体中和 TNF- α 可以显著增加损伤脊髓局部血流再灌注, 促进脊髓功能恢复。本研究结果表明, 脊髓损伤后 2h TNF- α 表达即增高, 12h 达到高峰, 但峰值持续时间短暂, 72h 时即恢复到对照组水平。

Cox 是催化花生四烯酸 (arachidonic acid, AA) 转化为 PG 的限速酶, PG 是一类重要的炎症介质, 能够扩张血管, 增加血管通透性, 增强其他炎性介质的作用^[10]。Cox 有两种形式, 其中 Cox-2 在炎症组织中可被多种因子诱导而急剧增加, 进而导致炎症部位 PGs 含量增加, 促进炎症反应和组织损伤^[11]。Resnick 等^[12]研究发现, 大鼠 SCI 后数小时至数天, 前列腺素 E2 (PGE2) 和血栓素 B2

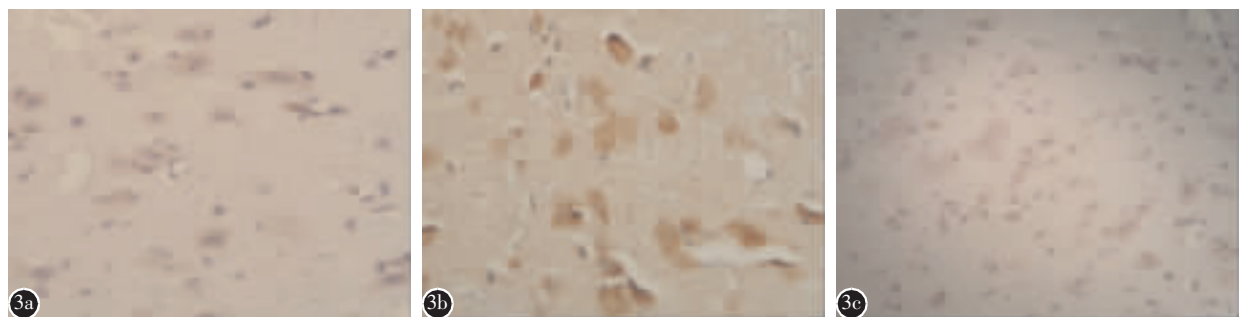


图 3 EnVision 法免疫组化染色可见脊髓神经元与非神经元细胞(星形胶质细胞和小胶质细胞)中均有 TNF- α 阳性表达
a 对照组少量细胞呈浅棕色染色 b 损伤组较多细胞呈棕黄色染色 c 治疗组较多细胞呈棕黄色染色, 颜色较损伤组浅(造模后 12h, DAB 显色 $\times 200$)

表 1 造模后不同时间点大鼠脊髓组织中环氧合酶-2(Cox-2)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)表达情况 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$, IOD 值)

时间点 (造模后)	Cox-2			TNF- α		
	正常对照组	损伤组	CsA治疗组	正常对照组	损伤组	CsA治疗组
2h	0.1040 $\pm$ 0.0070	0.2014 $\pm$ 0.0065 ^①	0.1600 $\pm$ 0.0175 ^{①②}	0.1125 $\pm$ 0.0044	0.1772 $\pm$ 0.0046 ^①	0.1241 $\pm$ 0.0088 ^{①②}
6h	0.0974 $\pm$ 0.0065	0.2456 $\pm$ 0.0179 ^①	0.2075 $\pm$ 0.0127 ^{①②}	0.1084 $\pm$ 0.0041	0.2467 $\pm$ 0.0064 ^①	0.1543 $\pm$ 0.0048 ^{①②}
12h	0.1015 $\pm$ 0.0058	0.2270 $\pm$ 0.0135 ^①	0.1890 $\pm$ 0.0100 ^{①②}	0.1113 $\pm$ 0.0033	0.3440 $\pm$ 0.0070 ^①	0.2472 $\pm$ 0.0071 ^{①②}
24h	0.1004 $\pm$ 0.0091	0.1763 $\pm$ 0.0099 ^①	0.1290 $\pm$ 0.0065 ^{①②}	0.1096 $\pm$ 0.0057	0.2874 $\pm$ 0.0065 ^①	0.1831 $\pm$ 0.0044 ^{①②}
48h	0.0967 $\pm$ 0.0064	0.1262 $\pm$ 0.0106 ^①	0.0978 $\pm$ 0.0092 ^②	0.1079 $\pm$ 0.0040	0.2015 $\pm$ 0.0056 ^①	0.1271 $\pm$ 0.0080 ^{①②}
72h	0.0972 $\pm$ 0.0046	0.1029 $\pm$ 0.0032 ^①	0.0972 $\pm$ 0.0071 ^②	0.1082 $\pm$ 0.0029	0.1165 $\pm$ 0.0106 ^①	0.1077 $\pm$ 0.0096 ^②

注: ①与正常对照组相应时间点比较 $P<0.05$; ②与损伤组相应时间点比较 $P<0.05$

(thromboxane B₂, TXB₂) 在大鼠受损脊髓处浓度明显增高, 应用选择性 Cox-2 抑制剂治疗后, PGE₂ 和 TXB₂ 浓度降低, 大鼠神经功能改善。Hains 等^[13]也发现, 应用 NS-398 (Cox-2 选择性抑制剂) 后, 大鼠 SCI 部位的损伤程度减轻, 活性组织增加, 伤后 12h PGE₂ 水平明显降低。Adachi 等^[14]报道, 大鼠 SCI 后 30min Cox-2 mRNA 表达开始增加, 3h 达到高峰, 6h 后 Cox-2 蛋白表达明显增加。本研究结果表明, ASCI 后 Cox-2 表达明显增加, 并在伤后 6h 达高峰, 48h 恢复至对照水平。

CsA 是从真菌的代谢产物中分离出来的含有 11 个氨基酸的环状多肽。目前认为有多种机制与 CsA 对 ASCI 后神经保护作用有关, 包括抑制炎症反应、抑制脂质过氧化反应、抗细胞凋亡、阻断小神经胶质细胞的激活、神经营养、促进轴突再生等^[2-4, 15, 16]。Ibarra 等^[15]通过对大鼠 SCI 后免疫学、形态学和功能变化的研究, 发现 CsA 可以抑制损伤部位特异性淋巴细胞反应, 还可以减轻 ASCI 后脱髓鞘反应, 促进运动功能恢复和红核神经的存活。Tachibana 等^[17]从神经功能评分和组织病理学研究表明, CsA 具有显著的神经保护作用。本研究结果表明, 脊髓损伤后早期应用 CsA 可使损伤脊髓组织 TNF- α 和 Cox-2 表达降低, 脊髓肿胀、出血、小胶质细胞增生和炎性细胞浸润减轻, 提示 ASCI 后早期应用 CsA 可对脊髓的继发性损伤具有减轻作用。

综上所述, TNF- α 、Cox-2 作为重要的前炎症因子, 在 SCI 早期表达增高, 通过诱导炎症反应参与脊髓的继发性损伤。ASCI 后早期应用 CsA 具有减轻脊髓继发性损伤的作用, 其机制可能与 CsA 应用后脊髓 TNF- α 、Cox-2 表达降低有关。

4 参考文献

1. Diaz-Ruiz A, Rios C, Duarte I, et al. Cyclosporin-A inhibits lipid peroxidation after spinal cord injury in rats[J]. *Neurosci Lett*, 1999, 266(1): 61-64.
2. Whalley K, O'Neill P, Ferretti P. Changes in response to spinal cord injury with development: vascularization, hemorrhage and apoptosis[J]. *Neuroscience*, 2006, 137(3): 821-832.
3. Carlson SL, Parrish ME, Springer JE, et al. Acute inflammatory response in spinal cord following impact injury[J]. *Exp Neurol*, 1998, 151(1): 77-88.
4. Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, et al. Acute spinal cord injury (part I): pathophysiologic mechanisms[J]. *Clin Neuropharmacol*, 2001, 24(5): 254-264.
5. Marcondes MC, Furtado GC, Wensky A, et al. Immune regulatory mechanisms influence early pathology in spinal cord injury and in spontaneous autoimmune encephalomyelitis[J]. *Am J Pathol*, 2005, 166(6): 1749-1760.
6. Yang L, Blumbergs PC, Jones NR, et al. Early expression and cellular localization of proinflammatory cytokines interleukin-1 beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha in human traumatic spinal cord injury[J]. *Spine*, 2004, 29(9): 966-971.
7. Streit WJ, Semple-Rowland SL, Hurley SD, et al. Cytokine mRNA profiles in contused spinal cord and axotomized facial nucleus suggest a beneficial role for inflammation and gliosis[J]. *Exp Neurol*, 1998, 152(1): 74-87.
8. Lee YL, Shih K, Bao P, et al. Cytokine chemokine expression in contused rat spinal cord [J]. *Neurochem Int*, 2000, 36 (4-5): 417-425.
9. Wang CX, Olschowka JA, Wrathall JR. Increase of interleukin-1 beta mRNA and protein in the spinal cord following experimental traumatic injury in the rat [J]. *Brain Res*, 1997, 759(2): 190-196.
10. Hata AN, Breyer RM. Pharmacology and signaling of prostaglandin receptors: multiple roles in inflammation and immune modulation[J]. *Pharmacol Ther*, 2004, 103(2): 147-166.
11. Salinas G, Rangasetty UC, Uretsky BF, et al. The cyclooxygenase 2 (COX-2) story: it's time to explain, not inflame[J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2007, 12(2): 98-111.
12. Resnick DK, Nguyen P, Cechvala CF. Selective cyclooxygenase 2 inhibition lowers spinal cord prostaglandin concentrations after injury[J]. *Spine J*, 2001, 1(6): 437-441.
13. Hains BC, Yucra JA, Hulsebosch CE. Reduction of pathological and behavioral deficits following spinal cord contusion injury with the selective cyclooxygenase-2 inhibitor NS-398 [J]. *J Neurotrauma*, 2001, 18(4): 409-423.
14. Adachi K, Yimin Y, Satake K, et al. Localization of cyclooxygenase-2 induced following traumatic spinal cord injury[J]. *Neurosci Res*, 2005, 51(1): 73-80.
15. Ibarra A, Correa D, Willms K, et al. Effects of cyclosporin-A on immune response, tissue protection and motor function of rats subjected to spinal cord injury [J]. *Brain Res*, 2003, 979 (1-2): 165-178.
16. Nockels R, Young W. Pharmacologic strategies in the treatment of experimental spinal cord injury [J]. *J Neurotrauma*, 1992, 9(Suppl 1): 211-217.
17. Tachibana T, Shiya N, Kuniyama T, et al. Immunophilin ligands FK506 and cyclosporine A improve neurologic and histopathologic outcome after transient spinal cord ischemia in rabbits [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2005, 129 (1): 123-128.

(收稿日期: 2010-11-29 修回日期: 2011-01-27)

(英文编审 蒋欣/贾丹彤)

(本文编辑 卢庆霞)