

大鼠脊髓损伤节段线粒体自噬蛋白及凋亡因子的表达

周林泉¹, 王振宇², 李建东², 陈刚², 刘文革²

(1 福建医科大学 350004 福州市; 2 福建医科大学附属协和医院骨科 350000 福州市)

【摘要】目的:观察脊髓损伤节段线粒体自噬蛋白与凋亡蛋白的表达情况。**方法:**将 50 只清洁级 SD 雄性大鼠随机分为损伤组(39 只)和对照组(11 只), 损伤组应用 Allen's 法建立大鼠脊髓损伤模型, 并分为 5 个不同时间点(损伤后 1h、6h、24h、48h、72h), 每个时间点 7 只, 在损伤不同时间点处死大鼠, 并截取损伤区域约 1cm 长脊髓节段, 通过 Western blot 检测线粒体自噬蛋白(LC3、NIX)及凋亡蛋白(BNIP3、cleaved caspase-3、cytochrome c)表达水平; 另取 4 只大鼠在损伤后 24h 截取损伤组织, 用透射电镜观察损伤后神经元自噬体结构。对照组不做任何处理, 其中 7 只大鼠用于 Western blot 分析, 4 只用于电镜检测。**结果:**对照组及损伤后 1h、6h、24h、48h、72h 脊髓损伤组大鼠 LC3 表达水平分别为 0.2893 ± 0.0325 、 0.3002 ± 0.0474 、 0.3943 ± 0.1154 、 0.4818 ± 0.0426 、 0.5430 ± 0.0865 、 0.5790 ± 0.0892 ; NIX 表达分别为 0.1392 ± 0.0171 、 0.1431 ± 0.0325 、 0.1955 ± 0.1379 、 0.3841 ± 0.1136 、 0.4043 ± 0.1059 、 0.4506 ± 0.0174 ; BNIP3 表达水平分别为 0.1354 ± 0.0547 、 0.1896 ± 0.1264 、 0.2654 ± 0.1341 、 0.7220 ± 0.1030 、 0.4713 ± 0.1041 、 0.3975 ± 0.1505 ; cleaved caspase-3 表达水平分别为 0.2806 ± 0.0999 、 0.4158 ± 0.1137 、 0.7865 ± 0.4056 、 0.9354 ± 0.2659 、 1.0152 ± 0.3441 、 1.1608 ± 0.2488 ; 细胞色素 C 表达水平分别为 0.1489 ± 0.0300 、 0.2196 ± 0.0762 、 0.3162 ± 0.1656 、 0.4456 ± 0.1180 、 0.5407 ± 0.1029 、 0.5812 ± 0.1388 。LC3、NIX、cleaved caspase-3 和细胞色素 C 在 24h、48h、72h 与对照组比较明显增加($P < 0.05$); BNIP3 在 24h、48h 与对照组比较明显增加($P < 0.05$)。进一步通过透射电镜观察损伤后 24h 细胞超微结构, 可观察到双层膜结构自噬体, 其内包裹有受损线粒体等细胞器结构。**结论:**大鼠急性脊髓损伤后可能通过促进 NIX 蛋白与 LC3 结合诱导线粒体自噬, 减少凋亡水平, 从而在脊髓损伤修复中发挥保护作用。

【关键词】脊髓损伤; 线粒体自噬; 凋亡

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2017.05.09

中图分类号: R683.2, Q786 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2017)-05-0435-06

The expression of mitophagy protein and apoptosis factor in spinal cord injury in rats/ZHOU Linquan, WANG Zhenyu, LI Jiandong, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2017, 27(5): 435-440

【Abstract】Objectives: To investigate the mitophagy protein and apoptosis after spinal cord injury in animal models by the Allen's method. **Methods:** 50 SD male rats were randomly divided into injury group and control group. The injury group was divided into 5 different time points(1h, 6h, 24h, 48h, 72h), each group had 7 rats. At different time points after injury, the rats were sacrificed and selected the injured area about 1cm long. Then the expression levels of mitophagy(LC3, NIX) and apoptosis protein(BNIP3, cleaved caspase-3, cytochrome c) were tested by Western blot. Another 4 rats at 24h after injury were used to observe neuron autophagy by transmission electron microscopy. The control group accepted no treatment, in which 7 rats were used for Western blot analysis, 4 rats were used for electron microscopy. **Results:** The LC3 expression in control group and at 1h, 6h, 24h, 48h, 72h after injury was 0.2893 ± 0.0325 , 0.3002 ± 0.0474 , 0.3943 ± 0.1154 , 0.4818 ± 0.0426 , 0.5430 ± 0.0865 , 0.5790 ± 0.0892 , respectively. The NIX expression was 0.1392 ± 0.0171 , 0.1431 ± 0.0325 , 0.1955 ± 0.1379 , 0.3841 ± 0.1136 , 0.4043 ± 0.1059 , 0.4506 ± 0.0174 , respectively. The BNIP3 expression

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81371343); 国家青年科学基金(81541035)

第一作者简介: 男(1990-), 硕士在读, 研究方向: 脊柱与脊髓损伤

电话: (0591)85557896 E-mail: zhoulinquan1990@163.com

通讯作者: 刘文革 E-mail: 13705977551@163.com

was 0.1354 ± 0.0547 , 0.1896 ± 0.1264 , 0.2654 ± 0.1341 , 0.7220 ± 0.1030 , 0.4713 ± 0.1041 , 0.3975 ± 0.1505 , respectively. The cleaved caspase-3 expression was 0.2806 ± 0.0999 , 0.4158 ± 0.1137 , 0.7865 ± 0.4056 , 0.9354 ± 0.2659 , 1.0152 ± 0.3441 , 1.1608 ± 0.2488 , respectively. The cytochrome c expression was 0.1489 ± 0.0300 , 0.2196 ± 0.0762 , 0.3162 ± 0.1656 , 0.4456 ± 0.1180 , 0.5407 ± 0.1029 , 0.5812 ± 0.1388 , respectively. The protein expressions of LC3, NIX, cleaved caspase-3 and cytochrome c in 24h, 48h, 72h model group significantly increased compared with those in control group ($P < 0.05$). The protein expression of BNIP3 in 24h, 48h model group significantly increased compared with that in control group ($P < 0.05$). The ultrastructure of cells was observed by transmission electron microscope after 24h. The double membrane structure of autophagy was observed covered with damaged mitochondria and other organelles. **Conclusions:** After acute spinal cord injury, rats may promote mitophagy and reduce apoptosis by promoting the binding of NIX protein to LC3 and thus play a protective role in the repair of spinal cord injury.

[Key words] Spinal cord injury; Mitophagy; Apoptosis

[Author's address] Fujian Medical University, 350004, Fuzhou, China

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是一种严重的神经系统疾病,主要病理生理机制分为原发性和继发性两大类,其中继发性病理改变是脊髓损伤后修复的最大障碍,包括水肿、坏死、凋亡、氧化应激等过程^[1-3]。线粒体在细胞中具有重要作用,能维持细胞能量代谢以及内环境稳定,同时也是启动细胞凋亡的关键细胞器。在神经元的突触和生长锥分布大量的线粒体,这些线粒体对神经元活性具有重要作用,可促进神经元轴突再生。当 SCI 发生过程中,线粒体膜电位降低或能量缺乏可能导致线粒体自噬,清除胞浆中受损细胞器以及异常蛋白分子,维持胞浆内环境稳态^[4]。通过对心肌细胞缺氧模型研究中发现,Bcl-2/腺病毒 E1B19kD 蛋白相互作用蛋白 3 (BNIP3)和其同源体 Bcl-2/腺病毒 E1B19kD 蛋白相互作用蛋白 3L (BNIP3L/NIX)可介导细胞凋亡和自噬,一方面,NIX 通过与 Bcl-2 形成复合物而诱导自噬发生,另一方面,BNIP3 则可能通过线粒体通路促进凋亡^[5,6]。研究人员通过对大鼠脑缺氧模型中发现,BNIP3 早期高表达可促进线粒体自噬,减少凋亡水平,从而对脑缺血后神经元细胞具有保护作用,反之,则加重脑缺血程度^[7]。同时,我们前期研究结果表明,在脊髓损伤后诱导自噬水平增加,能减少神经元细胞凋亡^[8]。由于 LC3 与 BNIP3 和 NIX 的双面性,同时调控自噬和凋亡反应,因此,本项目拟通过建立大鼠 Allen's 脊髓损伤模型,通过 Western blot 等技术观察线粒体自噬和凋亡相关蛋白,探讨脊髓损伤后神经元线粒体自噬和凋亡规律,初步评价线粒体自噬在脊髓损伤中的作用。

1 材料和方法

1.1 主要的材料和试剂

50 只清洁级 SD 雄性大鼠(250~300g)购于福建医科大学实验动物中心,caspase-3 抗体、cytochrome c 抗体、NIX 抗体、BNIP3 抗体(CST 公司,美国),LC3 抗体(Sigma 公司,美国),GAPDH 抗体、HRP 标记二抗(北京鼎国生物技术有限公司,中国),BCA 试剂盒、ECL 超敏发光液(碧云天,中国)。

1.2 脊髓损伤动物模型建立

将 50 只清洁级 SD 雄性大鼠随机分为损伤组(39 只)和对照组(11 只),损伤组应用 Allen's 法建立大鼠脊髓损伤模型,并分为 5 个不同时间点(损伤后 1h、6h、24h、48h、72h),每个时间点 7 只,常规腹腔注射水合氯醛麻醉后,切除 T9~T10 椎板,暴露脊髓,将 10g 直径为 2.0mm 的砧码在金属套管中从 4cm 高空自由落下,撞击硬膜囊,撞击成功的标志为:大鼠尾巴痉挛摆动数秒,双下肢回缩性扑动,脊髓硬脊膜下明显血肿;在损伤后不同时间点处死大鼠,并截取损伤区域约 1cm 长脊髓组织,收集组织蛋白,用于 Western blot 分析;另取 4 只大鼠在损伤后 24h 截取损伤组织,用于透射电镜观察损伤后神经元自噬体结构。对照组大鼠单纯咬除椎板,不撞击脊髓,其中 7 只大鼠用于 Western blot 分析,4 只用于电镜检测。

1.3 Western blot 检测蛋白表达水平

脊髓组织常规 PBS 漂洗后,用 RIPA 裂解液冰浴研磨组织,离心后取上清液,BCA 法测定胞浆总蛋白,按照每个泳道 30ug 总蛋白上样,常规电泳、湿转后脱脂奶粉常温封闭 2h,加入相应一

抗 (抗 LC3, 1:3000; 抗 GAPDH, 1:5000; 抗 caspase -3、抗 cleaved caspase -3, 1:1000; 抗 cytochrome c, 1:1000; 抗 BNIP3, 1:2000; 抗 NIX, 1:1000), 4℃ 孵育过夜, TBST 漂洗后加入 HRP 标记二抗 (1:5000) 常温孵育 2h, 暗室中加 ECL 超敏发光液, 压片后用 Image J 分析各条带灰度值。

1.4 透射电镜观察细胞超微结构

取损伤组和对照组脊髓节段, 用 3% 戊二醛固定 24h 后, PBS 漂洗后, 70% 酒精饱和醋酸铀染液块染, 酒精-丙酮梯度脱水, 环氧树脂 618 包埋剂包埋超薄切成 80mm, 经醋酸铀、柠檬酸铅分别染色 5~15min, 并蒸馏水水洗, 在 PHILIPSEM208 型透射电镜下观察并摄片。

1.5 统计学分析

用 Image J 分析 western blot 目的条带灰度值, 以 GAPDH 为内参, 所得数据用 SPSS 20.0 统计学软件处理, 采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脊髓损伤后自噬蛋白及凋亡蛋白表达情况

与对照组相比, LC3、NIX、cleaved caspase-3 和细胞色素 C 在 24h、48h、72h 时表达明显增加 ($P < 0.05$); BNIP3 在 24h、48h 时表达明显增加 ($P < 0.05$) (表 1, 图 1、2)。

2.2 脊髓损伤后超微结构变化

结果显示, 对照组细胞质中粗面内质网以及线粒体等各细胞器形态正常, 未见明显双层膜结构自噬小体; 损伤组可见胞浆中线粒体数量减少、肿胀, 粗面内质网松散、空泡的形成, 可见双层膜结构自噬溶酶体 (图 3, 箭头所示), 其内可见受损线粒体结构。

3 讨论

脊髓损伤是一种致残率高的中枢神经系统疾病, 往往造成损伤平面以下不完全性瘫痪, 给患者及家属带来严重的身心和经济负担^[9]。随着人们对脊髓损伤后神经元病理生理进一步研究中发现, 继发性脊髓损伤包括局部缺血、兴奋毒性介质释放、炎症等因素作用下, 最终引起神经元坏死和凋亡, 是目前脊髓损伤后功能恢复主要障碍。近年来, 越来越到研究者把目光聚焦于自噬在脊髓损伤中的作用。自噬 (autophagy) 最初由比利时科学家 Christiane Duve 提出, 指细胞受到外界刺激作用下, 通过形成双层膜结构自噬小体, 包裹受损细胞及其异常蛋白, 进一步与溶酶体结合, 将内容物消化后以利于物质循环利用^[10]。

微管相关蛋白轻链 3 (LC3) 是自噬溶酶体膜上重要标志, 以两种形态存在于胞浆中, 即 LC3 I 和 LC3 II, 通常情况下, LC3 II / I 比值能大致反应出自噬水平高低^[11]。本项目中, 我们通过建立大鼠脊髓损伤模型, 在不同时间用 western blot 技术检测 LC3 表达水平, 研究表明, 在损伤后 24h, 自噬水平开始出现明显增高, 72h 后仍维持较高水平。NIX 和 BNIP3 同属于 Bcl-2 家族, 可促进细胞凋亡, NIX 是一种线粒体自噬受体蛋白, 可能通过与 LC3 相互识别介导自噬体对受损线粒体的高度选择性吞噬, 同时还能是使线粒体的阴离子电位通道蛋白 VCAD1 泛素化, 并被信号接头蛋白 p62/SQSTM1 识别, 后者再与吞噬膜表面的 ATG8 家族同源蛋白等连接, 从而启动线粒体的降解过程^[12, 13]。研究显示, NIX 在与 LC3 相互介导自噬过程中, 有可能激活 BNIP3, 导致细胞死亡, 同时在一些缺血再灌注神经细胞模型中, 如果敲除 BNIP3 基因, 能抑制线粒体自噬和凋亡, 但可以增

表 1 Western blot 检测各指标相对表达量

Table 1 Western blot analysis of the expression of indicators

	对照组 Control group	损伤组 (Injury group)				
		伤后 1h 1h after injury	伤后 6h 6h after injury	伤后 24h 24h after injury	伤后 48h 48h after injury	伤后 72h 72h after injury
BNIP	0.1354±0.0547	0.1896±0.1341	0.2654±0.1341	0.7220±0.1030 ^①	0.4713±0.1041 ^①	0.3975±0.1505
NIX	0.1392±0.0171	0.1431±0.0325	0.1955±0.1379	0.3841±0.1136 ^①	0.4043±0.1059 ^①	0.4506±0.0174 ^①
LC3 II / I	0.2893±0.0325	0.3002±0.0474	0.3943±0.1154	0.4818±0.0426 ^①	0.5430±0.0865 ^①	0.5790±0.0892 ^①
cleaved caspase	0.2806±0.0999	0.4158±0.1137	0.7865±0.4056	0.9354±0.2659 ^①	1.0152±0.3441 ^①	1.1608±0.2488 ^①
cytochrome c	0.1489±0.0300	0.2196±0.0762	0.3162±0.1656	0.4456±0.1180 ^①	0.5407±0.1029 ^①	0.5812±0.1388 ^①

注: ①与对照组比较 $P < 0.05$

Note: ①Compared with control group, $P < 0.05$

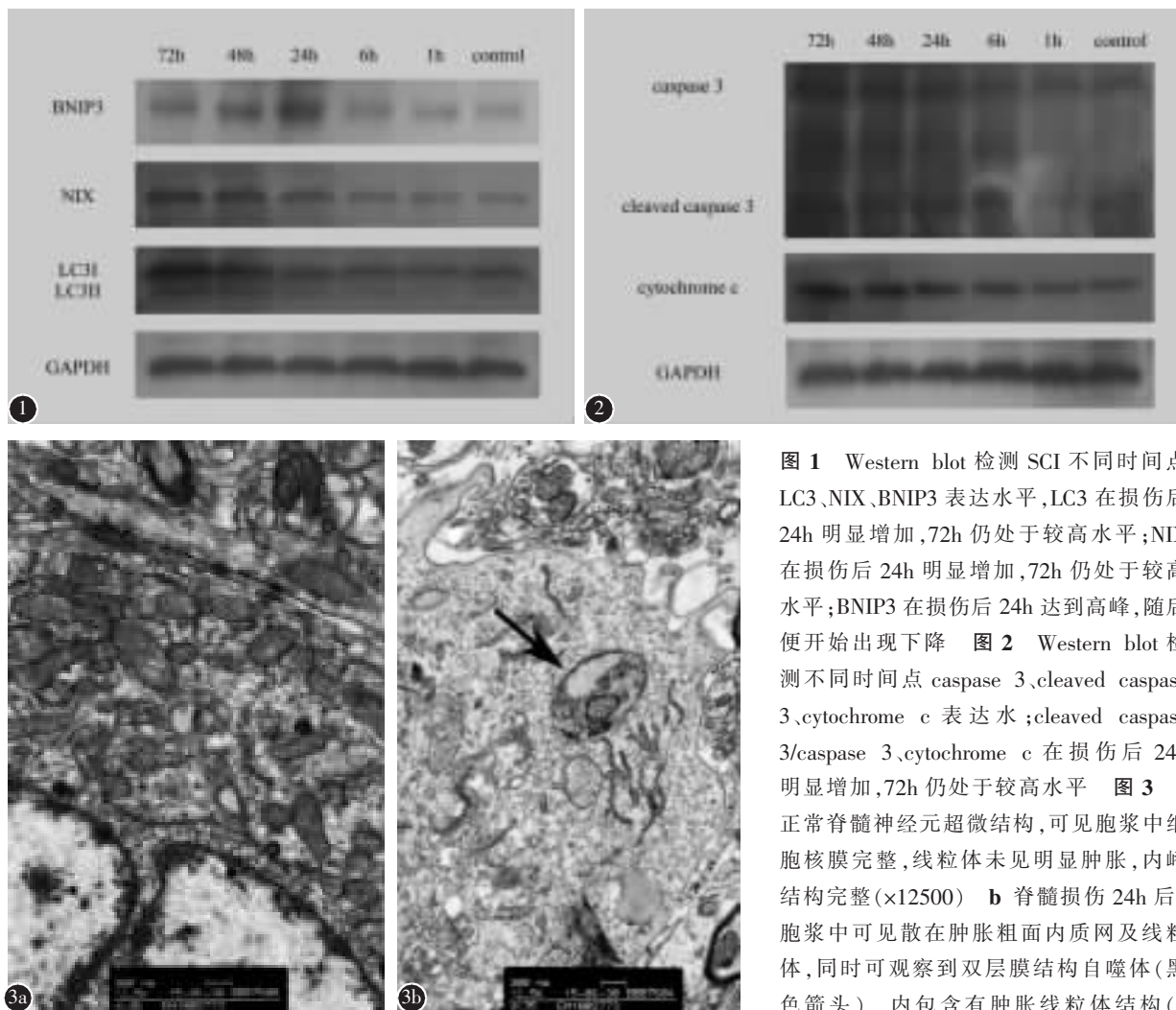


图 1 Western blot 检测 SCI 不同时间点 LC3、NIX、BNIP3 表达水平,LC3 在损伤后 24h 明显增加,72h 仍处于较高水平;NIX 在损伤后 24h 明显增加,72h 仍处于较高水平;BNIP3 在损伤后 24h 达到高峰,随后便开始出现下降 图 2 Western blot 检测不同时间点 caspase 3、cleaved caspase 3、cytochrome c 表达水平;cleaved caspase 3/caspase 3、cytochrome c 在损伤后 24h 明显增加,72h 仍处于较高水平 图 3 a 正常脊髓神经元超微结构,可见胞浆中细胞核膜完整,线粒体未见明显肿胀,内嵴结构完整($\times 12500$) b 脊髓损伤 24h 后,胞浆中可见散在肿胀粗面内质网及线粒体,同时可观察到双层膜结构自噬体(黑色箭头),内包含有肿胀线粒体结构($\times 12500$)

Figure 1 The expression level of LC3, NIX, BNIP3 at different time points after spinal cord injury by Western blot. The protein of LC3 and NIX was increased significantly in the 24 hours and was still at a high level at 72 hours. The protein of BNIP3 reached the peak at 24 hours after injury and then began to decline **Figure 2** The expression level of caspase 3, cleaved caspase 3, cytochrome c at different time points after spinal cord injury by western blot. The protein of cleaved caspase 3/caspase 3 and cytochrome c were increased significantly in the 24 hours and was still at a high level at 72 hours **Figure 3 a** The normal ultrastructure of spinal cord neurons. We can observe the cytoplasm of intact nuclear membrane and the mitochondria were not swelling, the structure of inner ridge was complete ($\times 12500$) **b** We can observe the swelling of rough endoplasmic reticulum and mitochondria in cytoplasm at 24 hours after spinal cord injury. The double membrane autophagosomes (black arrow) can be observed which contains the swelling of mitochondria ($\times 12500$)

加非选择性自噬过程^[14,15]。研究发现,哺乳动物细胞中线粒体外膜蛋白 NIX 和 BNIP3 可通过 LIR 结合 LC3,作为自噬体的受体,从而介导线粒体自噬^[16]。Yu 等在原代神经元缺氧模型中发现,在损伤后线粒体自噬特异性蛋白 NIX 和 BNIP3 表达增高,并通过电镜观察到自噬体结构^[17]。我们通过研究也发现,在大鼠脊髓损伤后,通过 western

blot 发现,损伤后 24h, NIX 表达出现增高,72h 后仍维持较高水平,这种变化趋势与 LC3 一致,这也提示我们 LC3 可能通过与 NIX 相结合诱导自噬发生。目前,通过电镜观察到细胞超微结构(自噬体)是目前研究自噬金标准。本研究结果显示,在损伤后 24h 通过透射电镜观察超微结构,可见胞浆中粗面内质网肿胀,同时见双层膜结构自噬

体,包含有受损线粒体,这也进一步证实了脊髓损伤后线粒体自噬的发生。

线粒体不仅是细胞能量中心,还是调控细胞凋亡中心点,当凋亡因子在胞浆中通过级联反应激活 caspase 3 时,诱导凋亡发生^[8]。在脊髓损伤 24h 可观察到 LC3 II 阳性细胞数和 p62 蛋白增加,这些标记物在早期升高,说明自噬体被一定程度破坏,同时伴有 cathepsin D 表达下降,表明由于溶酶体损伤,可导致自噬流下降。自噬被认为具有应激保护作用,自噬体被破坏后,损伤的神经元细胞由于应激反应,启动凋亡程序,引起神经元继发性死亡^[19,20]。研究者通过对心肌细胞研究中发现,BNIP3 主要通过 BAX 在线粒体膜上结合激活后,可导致线粒体膜电位改变,引起 MPTP 通过开放,引起胞浆中 cytochrome c 水平增加,从而激活下游信号分子,促进凋亡发生^[21]。当细胞受到外界不利因素作用下,在损伤早期一定程度线粒体自噬的激活,足以清除受损线粒体,细胞功能尚不受影响,随着损伤性因素作用时间增加,激活线粒体自噬不足以清除受损线粒体时,胞浆中 cytochrome c 水平出现明显增加,此时可激活细胞凋亡过程,引起细胞死亡。本次研究发现,在损伤后 24h 胞浆中 cytochrome c 开始出现明显增高,其下游信号分子 cleaved caspase 3 同样在 24h 明显增高,结合自噬变化规律,可能是由于 LC3 与 BNIP3 相结合而诱导神经元凋亡,随着损伤时间变化,BNIP3 表达量开始出现下降,这提示我们在脊髓损伤后期,可能由于自噬作用减少 LC3 与 BNIP3 结合,从而降低凋亡水平。

有学者研究发现,在脊髓损伤后给予雷帕霉素后,神经元自噬水平增加而凋亡受到抑制,反之,利用 3-MA 抑制自噬后,凋亡水平则升高^[22]。同时,Wang 等的研究发现,通过药物或者基因干预手段(雷帕霉素及过表达 Beclin-1)增强自噬表达水平,能有效减少神经元细胞凋亡水平,同时神经功能也在一定程度上得到改善^[8]。大量研究表明,线粒体自噬在神经系统疾病中发挥重要作用,同时还参与细胞凋亡发生过程。在脊髓损伤后,神经元 LC3 与线粒体中 NIX 结合,启动线粒体自噬进行保护。综上所述,我们初步探讨了 NIX 和 BNIP3 分别在线粒体自噬和凋亡的发生规律,在脊髓损伤早期,NIX 表达增加后促进线粒体自噬,减少凋亡,在损伤后期,随着 BNIP3 表达水平降

低,可能由于 LC3 与其结合促进了细胞凋亡水平增加。然而,线粒体自噬是通过哪种信号通路调控凋亡水平目前尚不清楚。本实验为进一步研究两者之间关系奠定了基础,同时也为今后脊髓损伤治疗提供了一定理论依据。

4 参考文献

1. Lipinski MM, Wu J, Faden AI, et al. Function and Mechanisms of Autophagy in Brain and Spinal Cord Trauma [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 23(6): 565-577.
2. Moon YJ, Lee JY, Oh MS, et al. Inhibition of inflammation and oxidative stress by *Angelica dahuricae* radix extract decreases apoptotic cell death and improves functional recovery after spinal cord injury[J]. *J Neurosci Res*, 2012, 90(1): 243-256.
3. Di Paola R, Impellizzeri D, Salinaro AT, et al. Administration of carnosine in the treatment of acute spinal cord injury [J]. *Biochem Pharmacol*, 2011, 82(10): 1478-1489.
4. Chen H, Chan DC. Mitochondrial dynamics--fusion, fission, movement, and mitophagy--in neurodegenerative diseases [J]. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(R2): R169-176.
5. Ding WX, Ni HM, Li M, et al. Nix is critical to two distinct phases of mitophagy, reactive oxygen species-mediated autophagy induction and parkin-ubiquitin-p62-mediated mitochondrial priming[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(36): 27879-27890.
6. Bellot G, Garcia-Medina R, Gounon P, et al. Hypoxia-induced autophagy is mediated through hypoxia-inducible factor induction of bnip3 and bnip3l via their bh3 domains[J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(10): 2570-2581.
7. Daido S, Kanzawa T, Yamamoto A, et al. Pivotal role of the cell death factor BNIP3 in ceramide-induced autophagic cell death in malignant glioma cells[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(12): 4286-4293.
8. Wang ZY, Lin JH, Muharram A, et al. Beclin-1-mediated autophagy protects spinal cord neurons against mechanical injury-induced apoptosis[J]. *Apoptosis*, 2014, 19(6): 933-945.
9. Ackery A, Tator C, Krassioukov A. A global perspective on spinal cord injury epidemiology[J]. *J Neurotrauma*, 2004, 21(10): 1355-1370.
10. McEwan DG, Dikic I. Not all autophagy membranes are created equal[J]. *Cell*, 2010, 141(4): 564-566.
11. Mizushima N, Yoshimori T, Levine B. Methods in mammalian autophagy research[J]. *Cell*, 2010, 140(3): 313-326.
12. Novak I, Kirkin V, McEwan DG, et al. Nix is a selective autophagy receptor for mitochondrial clearance [J]. *EMBO Rep*, 2010, 11(1): 45-51.
13. Geisler S, Holmstrom KM, Skujat D, et al. Pink1/parkin-mediated mitophagy is dependent on vdac1 and p62/sqstm1 [J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(2): 119-131.

14. Shi RY, Zhu SH, Li V, et al. BNIP3 interacting with LC3 triggers excessive mitophagy in delayed neuronal death in stroke[J]. CNS Neurosci Ther, 2014, 20(12): 1045-1055.
15. Liu L, Sakakibara K, Chen Q, et al. Receptor-mediated mitophagy in yeast and mammalian systems [J]. Cell Res, 2014, 24(7): 787-795.
16. Zhu Y, Massen S, Terenzio M, et al. Modulation of serines 17 and 24 in the LC3-interacting region of Bnip3 determines pro-survival mitophagy versus apoptosis[J]. J Biol Chem, 2013, 288(2): 1099-1113.
17. Yu D, Li M, Ni B, et al. Induction of neuronal mitophagy in acute spinal cord injury in rats[J]. Neurotoxicity research, 2013, 24(4): 512-522.
18. Krueger A, Baumann S, Krammer PH, et al. Flice-inhibitory proteins: regulators of death receptor-mediated apoptosis [J]. Mol Cell Biol, 2001, 21(24): 8247-8254.
19. Zhang Q, Huang C, Meng B, et al. Changes in autophagy proteins in a rat model of spinal cord injury [J]. Chin J Traumatol, 2014, 17(4): 193-197.
20. Liu S, Sarkar C, Dinizo M, et al. Disrupted autophagy after spinal cord injury is associated with ER stress and neuronal cell death[J]. Cell Death Dis, 2015, 6: e1582.
21. Stephanova E, Topouzova-Hristova T, Konakchieva R. Mitochondria are involved in stress response of A549 alveolar cells to halothane toxicity[J]. Toxicol In Vitro, 2008, 22(3): 688-694.
22. Tang P, Hou H, Zhang L, et al. Autophagy reduces neuronal damage and promotes locomotor recovery via inhibition of apoptosis after spinal cord injury in rats [J]. Mol Neurobiol, 2014, 49(1): 276-287.

(收稿日期:2016-11-30 末次修回日期:2017-03-21)

(英文编审 蒋欣/贾丹彤)

(本文编辑 彭向峰)

消息

第 29 届全国脊柱脊髓学术会议暨云南省医师协会 骨科医师分会 2017 年年会通知

由中国残疾人康复协会脊髓损伤康复专业委员会(CARD-SOSCI)、国际脊髓学会中国分会、云南省医师协会骨科医师分会主办,昆明医科大学第二附属医院、云南省医师协会骨科医师分会脊柱学组承办、云南省医学会骨科学分会协办的第 29 届全国脊柱脊髓学术会议暨云南省医师协会骨科医师分会 2017 年年会将于 2017 年 8 月 11 日~13 日在云南省昆明市召开。本次会议将围绕腰椎创伤及疾病的基础、临床研究新进展,荟萃欧美、港台地区、中国内地著名脊柱脊髓及相关领域专家,通过大会发言、学术观点辩论、专题病例讨论、资深专家点评、相关文献综述等多种形式交流最新基础与临床研究成果,分享学术前沿动态。本次会议是骨科界的一次盛会,在此我们特邀您及您的同仁积极参与、踊跃投稿!

1. 征文内容

- (1) 腰椎创伤和疾病的基础与临床、康复医学领域最新研究成果;
- (2) 腰椎疾病诊断及治疗进展;
- (3) 腰椎微创手术及并发症。

2. 征文要求

(1) 论文应具有先进性、科学性和实用性,论点鲜明、真实可靠,尚未在国家级以上学术会议交流或国内外杂志上公开发表;

(2) 论文及摘要应包括研究目的、方法、结果、讨论、结论,论文全文及摘要(500 字)各一份;稿件请按文题、作者单位、通讯地址、邮编、作者姓名、正文顺序编排,请以 Word 格式存盘;

(3) 欢迎提供围绕会议主题的典型个案病例 PPT,一经选用,将在大会进行重点讨论。

截稿日期:2017 年 6 月 30 日,逾期不予受理。

投稿邮箱:gkysxh@126.com(注明“脊柱脊髓会议征文”)。

联系人:王志华(13888370202);吕佳(15877930941)。