

综述

脊髓损伤中的自噬及相关研究进展

Research status of autophagy phenomenon after spinal cord injury

徐伟龙¹, 赵岩²

(1 内蒙古医科大学 010000 呼和浩特市; 2 内蒙古医科大学第二附属医院脊柱外科 010030 呼和浩特市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2019.04.13

中图分类号: R364, R683.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2019)-04-0376-06

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是一种严重的神经系统创伤,会导致损伤节段以下肢体功能障碍,不仅给患者本人带来身体和心理的严重伤害,还会给社会带来巨大的经济负担。SCI的常见病因有高处坠落伤、交通事故、重物砸伤、运动损伤等。进入20世纪后半叶,随着我国经济水平的快速发展,SCI的发生率呈现逐年升高趋势,上海市1991年统计的SCI发生率为34.4人/百万人,北京市2002年SCI的发生率为60人/百万人,粗略估计我国每年大约有1万人发生SCI^[1]。然而面对这种发生率逐年升高的高致残性疾病,迄今为止仍没有有效的治疗方法。目前对SCI的机制研究已成为脊柱外科和神经学科等领域的热点和难点,其中自噬被认为在SCI中对脊髓的保护起重要作用^[2,3]。虽然对SCI中自噬机制的研究已经取得进展,但仍存在一些争议点:(1)不同SCI模型中自噬的变化过程在各研究中并不一致;(2)不同药物和试剂对不同SCI模型中自噬的影响和对受损脊髓的治疗效果还不明确。笔者就自噬的相关内容、SCI中自噬和凋亡的关系、不同SCI模型中自噬的变化过程、不同药物和试剂对SCI模型中自噬的影响和对受损脊髓的治疗效果进行综述,以期为SCI患者减轻损伤、提高生活质量提供新思路。

1 自噬及相关标志物

1.1 自噬的定义

自噬的字面意思是希腊语中的“自食”,其普遍存在于真核细胞中,是酵母、植物、蠕虫、果蝇到哺乳动物在进化过程中逐渐形成的一种高度保守的自我保护机制^[4]。自噬通过溶酶体降解自身细胞质蛋白和受损细胞器以应对如营养缺乏、生长因子耗竭、氧化应激、缺氧、辐射等压力,是维持细胞稳态和完整性的重要机制之一^[5,6]。虽然自噬的主要作用是保护细胞,但是过度自噬也会导致细胞死亡,从而提供一种不依赖于半胱氨酸蛋白酶(Caspase)的程序性细胞死亡机制,称为II型程序性细胞死亡,也叫自噬性

细胞死亡^[7,8]。

细胞死亡分为3种类型:I型,细胞凋亡;II型,自噬性细胞死亡;III型,坏死^[9]。细胞凋亡是精确调节下的程序性细胞死亡,在各种线粒体依赖性或非线粒体依赖性凋亡机制中,由Caspases家族调节的细胞凋亡发挥着重要作用。其中最重要的是Caspase-3,被称为死亡蛋白酶,切割蛋白激酶和核酸酶,可以导致一系列细胞凋亡活动,如核浓缩和DNA断裂,从而控制细胞凋亡的发生和发展。自噬是细胞存活和细胞死亡的双刃剑,由于过度自噬导致的非凋亡性程序性细胞死亡称为自噬性细胞死亡(II型)。坏死是一种被动的、无序的细胞死亡方式,可能在炎症反应的激活中起重要作用。

1.2 自噬和凋亡的关系

细胞凋亡在SCI后的细胞死亡和轴突破坏中起着重要作用,靶向抗凋亡治疗可以使实验性SCI获得更好的神经学结果。自噬和细胞凋亡之间存在密切的生物化学调节机制。常见的影响自噬和凋亡的信号转导通路有p53蛋白、BH3-only蛋白、Ser/Thr激酶、癌基因等,这些过程表明自噬和细胞凋亡可以通过抑制进行相互交叉调节^[10]。侯红平^[11]的研究也验证了SCI后,自噬的抑制能诱发神经元和神经胶质细胞的凋亡,相反,自噬的增强可以抑制神经元和神经胶质细胞的凋亡。

1.3 自噬发生过程

自噬的发生可分为4个阶段:①分隔膜形成;②自噬体形成;③自噬体的运输和融合;④自噬体的裂解。根据细胞物质运到溶酶体内的途径不同,自噬分为微自噬、巨自噬和分子伴侣介导的自噬(CMA)。微自噬是指细胞质蛋白被溶酶体膜直接内陷吞噬形成单膜囊泡,然后迅速降解。巨自噬是最受关注的研究重点,它通过由内质网来源的膜包裹降解物形成自噬体,然后与溶酶体融合并降解其中内容物^[12-15]。CMA是细胞质内蛋白结合到分子伴侣后被转运到溶酶体腔中,然后被溶酶体酶消化。

1.4 自噬的标志物

自噬的标志物有以下三种:①自噬体膜上的微管相关蛋白I轻链3(LC3),是自噬的特征性标志物。在没有自噬的情况下,细胞内合成的LC3被加工并转化为I型LC3

第一作者简介:男(1992-),硕士研究生在读,研究方向:脊柱外科
电话:(0471)6351230 E-mail:1994957145@qq.com
通讯作者:赵岩 E-mail:nmgzy4568@126.com

(LC3-I),其可溶于细胞质并定期表达。在自噬过程中,LC3-I 转化成自噬体结合的 LC3-II,LC3-I 向 LC3-II 转化对于自噬体的形成是必需的,LC3-II 或 LC3-II/LC3-I 的比值增加表明在 SCI 后有活化的自噬体形成^[16]。② Beclin-1 蛋白,是另一种自噬相关蛋白,它在自噬体前体的形成中起重要作用^[17]。Beclin-1 基因和蛋白表达水平的增加表明 SCI 后自噬水平增加。③ P62 蛋白,是自噬降解底物的受体,包括指定用于清除的泛素化蛋白质聚集体。P62 蛋白可以通过泛素化从而形成靶向自噬体。在自噬过程中 P62 蛋白与其底物一起被降解,因此,P62 蛋白可以代表自噬通量,P62 蛋白表达减少表示自噬水平增加^[18]。

2 不同 SCI 模型中自噬的变化

2.1 半切性 SCI

Kanno 等^[19]从细胞化学和解剖学角度研究了 SCI 后受损神经组织中的自噬活性,其在成年雌性大鼠的 T10 处对脊髓进行半切割损伤,发现半切损伤后损伤部位的 LC3 和 Beclin-1 水平显著升高,开始于 4h,在第 3 天达到峰值,并且在损伤部位持续 21d,而且在神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞中都观察到了 LC3 和 Beclin-1 阳性细胞;电子显微镜观察到受损细胞中自噬泡的形成增加;表达 LC3 的脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记阳性细胞的细胞核是圆形的,与自噬性细胞死亡一致,而不会像在凋亡细胞核中观察到的那样收缩,也不会碎裂,表明自噬被明显激活,并且在 SCI 后受损的神经组织中诱导了自噬性细胞死亡。Hou 等^[20]对 Sprague-Dawley 大鼠行 T9~T10 脊髓半切损伤也观察到了同样的结果,但 LC3 的上调在神经元中开始于 4h,而在星形胶质细胞中开始于 3d。

2.2 挫伤性 SCI

临床大约有一半的 SCI 病例为脊髓挫伤,在动物实验研究中常采用 Allen's 重物打击法建立挫伤性 SCI 模型。Muñoz-Galdeano 等^[21]研究了挫伤性 SCI 大鼠模型中自噬的变化,结果发现损伤后 2h 时 LC3 表达略增加,损伤后 3d 时 LC3 表达明显增加,尤其是在星形胶质细胞;在损伤后 7d 时 LC3 达到最大表达;Beclin-1 表达仅在星形胶质细胞中升高,与观察到的 LC3 表达增加平行,而神经元胞体和少突胶质细胞中 Beclin-1 的表达在 SCI 后几乎保持不变。LC3 和 Beclin-1 的表达过程表明挫伤性 SCI 引发了延迟的自噬反应。然而,Hao 等^[22]的实验研究表明大鼠在脊髓挫伤后第 1h、2h 和 6h,Beclin-1 和 LC3 水平均显著升高,在 2h 达到峰值。

2.3 压迫性 SCI

脊髓暴露后采用血管夹夹伤脊髓可制作压迫性 SCI 模型。Wang 等^[23]对压迫性 SCI 大鼠模型中自噬活动的实验研究结果显示,SCI 后 LC3-II/LC3-I 比值和 Beclin-1 水平显著升高,在第 3 天达到峰值,7 天时略有下降。Hu 等^[24]和 Lin 等^[25]使用压迫性脊髓损伤大鼠模型来研究自噬

活动,实验结果显示,LC3-II/LC3-I 比值和 Beclin-1 表达在 SCI 后第 3 天显著增加。然而,Li 等^[26]和 Siracusa 等^[27]的实验表明,LC3-II/LC3-I 比值和 Beclin-1 表达在 SCI 后 24h 显著增加。但他们的研究仅观察了单个时间点的自噬活动,需要进一步研究以阐明 SCI 后多个时间点的自噬活动。

2.4 缺血再灌注 SCI(IRSCI)

脊髓缺血再灌注不但不会改善受损脊髓的神经功能,反而会更进一步加重 SCI。IRSCI 的病理过程分为缺血期和再灌注期,缺血期的持续时间对 IRSCI 后功能恢复起关键作用。Fang 等^[28]通过夹闭大鼠胸主动脉弓 14min 建立的 IRSCI 模型观察其自噬情况,结果显示 IRSCI 后 LC3-II/LC3-I 和 Beclin-1 的表达增加并两次达到峰值,一次在 8h,一次在 72h,然后缓慢降低至基线。然而,Wei 等^[29]通过球囊充气的方式压迫胸主动脉弓 10min 建立的 IRSCI 模型研究显示,LC3-II 和 Beclin-1 的表达在 IRSCI 后 3h 开始增加,在 24h 达到峰值,48h 仍保持在高水平。

3 药物或试剂对 SCI 后自噬的影响

在循环系统、呼吸系统和泌尿系统中,检测到自噬在组织保护中起关键作用。通过自噬,某些毒素和病原体被包裹降解然后消除。因此,自噬在预防诸如心脏病、癌症、微生物感染、炎症和神经源性疾病等疾病中也起着关键作用^[30]。目前国内外对于自噬在 SCI 中的研究,主要集中在药物在 SCI 模型中通过影响自噬来发挥保护 SCI 的作用。其中包括通过适度增强自噬和抑制过度自噬来保护受损脊髓和促进运动功能恢复的药物和试剂。

3.1 适度增强自噬的药物和试剂

3.1.1 促红细胞生成素(EPO)和二甲双胍 Wang 等^[31]研究了 EPO 对压迫性 SCI 大鼠模型中自噬活动的影响,并观察其是否能显著减少运动神经元的损失和改善 SCI 后的功能恢复,研究结果发现,EPO 可以通过激活 AMPK (AMP 依赖的蛋白激酶)依赖性自噬起到保护受损脊髓的作用,AMPK 的抑制剂可以阻断 EPO 诱导的自噬和减弱对 SCI 的有益作用,而 AMPK 的活化剂二甲双胍可以模拟 EPO 的作用从而减轻 SCI 和改善 SCI 后的神经功能。关于二甲双胍对挫伤性脊髓损伤大鼠的作用,Guo 等^[32]和 Wang 等^[33]的实验研究都发现,二甲双胍通过调节 mTOR/P70S6 信号转导途径来增强自噬和抑制细胞凋亡,从而在大鼠发生 SCI 后对受损神经起保护作用。

3.1.2 氯化锂(LiCl) SCI 后血-脊髓屏障(BSCB)破坏可以显著损害功能性神经元的恢复。在寻求保护 BSCB 时,自噬是潜在的治疗靶点。Tong 等^[34]在大鼠挫伤性 SCI 模型和氧-葡萄糖剥夺的内皮细胞中研究了氯化锂 (LiCl)对 BSCB 通透性和 SCI 中自噬的影响,结果表明,LiCl 减弱了 BSCB 通透性的升高,促进神经运动恢复;通过增加 LC3-II 并消除 P62 累积,显著诱导 SCI 后自噬通量,最终得出结论,LiCl 通过刺激自噬通量减轻了 BSCB 的破坏并促进

SCI 后的运动恢复。Liu 等^[34]关于锂在大鼠半切性 SCI 模型中的作用和其相关作用机制的实验结果表明,锂是通过细胞外调节蛋白激酶(ERK)依赖性途径增强自噬通量促进 SCI 后的功能恢复。

3.1.3 雷帕霉素(RAPA) 3-甲基腺嘌呤(3-MA)是自噬的选择性抑制剂,而 RAPA 一种抗真菌剂,是自噬的特异性诱导剂^[35]。Tang 等^[36]研究了自噬在大鼠半切性急性 SCI 模型中的作用,结果发现 RAPA 可显著增加损伤部位 LC3 和 Beclin-1 的表达,同时,脊髓中 LC3 阳性的神经元和星形胶质细胞数量随时间增加,RAPA 的应用使受伤大鼠的 Basso-Beattie-Bresnahan(BBB)评分增加,表明运动功能的高恢复;抗凋亡因子 Bcl-2 和促凋亡因子 Bax 的表达分别被上调和下调,表明细胞凋亡减少;相比之下,用 3-MA 处理的大鼠抑制了自噬,与 RAPA 处理的大鼠结果相反。表明 RAPA 可以通过增强自噬抑制细胞凋亡在大鼠急性 6SCI 中起神经保护作用。Sekiguchi 等^[37]研究结果表明 RAPA 可以通过抑制 mTOR 信号通路促进自噬,从而减少 SCI 后神经组织损伤和运动损伤。Li 等^[20]研究了 RAPA 对大鼠压迫性 SCI 的作用,结果发现,RAPA 可以通过增强自噬和激活 Akt 信号通路对大鼠 SCI 起神经保护作用。Li 等^[38]在大鼠 IRSCI 模型的实验研究中发现,RAPA 可以通过增强线粒体自噬和减弱细胞凋亡来改善运动功能恢复。

3.1.4 白藜芦醇 白藜芦醇是一种天然多酚抗氧化剂,具有神经保护作用。Meng 等^[39]研究发现,在大鼠挫伤性 SCI 模型中,白藜芦醇可以通过 AMPK/mTOR 途径增强自噬促进 SCI 大鼠的神经功能恢复并抑制神经炎症,相反,使用自噬抑制剂 3-MA 可以部分消除白藜芦醇的神经保护作用。Wang 等^[40]发现白藜芦醇可以通过 LKB1/AMPK/mTOR/p70S6k 途径增强挫伤性 SCI 大鼠的神经元自噬通量,从而减轻神经细胞凋亡,最终改善大鼠急性 SCI 后的神经功能。Hu 等^[24]对压迫性 SCI 大鼠的研究表明,白藜芦醇可以通过增强大鼠 SCI 后的自噬来保护受损神经元和促进 SCI 大鼠的功能恢复。

3.1.5 Netrin-1 Netrins 是细胞外层粘连蛋白相关蛋白,在神经系统发育过程中为神经细胞和轴突的迁移起引导作用。Netrin-1 属于 Netrin 家族,是吸引或排斥轴突的趋化因子。Bai 等^[41]研究了 Netrin-1 对挫伤性 SCI 大鼠的作用,发现使用 Netrin-1 不仅可以显著增强 AMPK 的磷酸化,而且还可以降低哺乳动物 RAPA 靶蛋白(mTOR)和 P70S6K 的磷酸化;同时,Beclin-1 的表达和 LC3B-II/LC3B-I 的比例在 Netrin-1 组显著高于 SCI 组;此外,前角神经元凋亡的比例在 Netrin-1 的组显著低于 SCI 组。在挫伤后 14d,Netrin-1 治疗组大鼠的 BBB 评分显著高于 SCI 组。因此,Netrin-1 不仅保护了运动神经元,而且还显著改善了受伤大鼠的运动功能。实验结果证明,Netrin-1 通过 AMPK/mTOR 信号通路激活自噬从而改善 SCI 大鼠功能恢复。Bai 等^[42]进一步研究了 Netrin-1 增强大鼠 SCI 后自噬的潜在机制,结果发现 Netrin-1 是通过 AMPK/

mTOR 信号传导途径调节 TFEB 的核定位来增强溶酶体合成,从而促进了自噬通量并改善了大鼠的神经功能。因此,通过调节 TFEB 的核定位来调节溶酶体生物合成可能是治疗 SCI 的新方法。

3.1.6 他汀类药物 他汀类药物是一类降脂药,常用于治疗心血管疾病,最近有研究证明他汀类药物在神经系统疾病中具有神经保护作用。如 Gao 等^[43]的实验研究结果表明,阿托伐他汀在挫伤性 SCI 后可以激活自噬,抑制细胞凋亡,并促进神经功能恢复。Gao 等^[44]的实验研究结果表明,辛伐他汀通过抑制 mTOR 信号通路诱导自噬促进挫伤性 SCI 大鼠的神经功能恢复。

3.1.7 硫化氢(H₂S) H₂S 作为中枢神经系统中的一种新的信号分子,已被公认是神经系统中重要的神经调节剂和神经保护剂。Li 等^[45]的实验研究表明,H₂S 可以通过 miR-30c 依赖性信号传导途径激活自噬,从而减轻 IRSCI 大鼠的神经组织损伤,起到保护损伤脊髓的作用。

3.2 抑制过度自噬的方法、药物与试剂

3.2.1 低温治疗(TH)和甲基强的松龙(MP) Seo 等^[46]的研究比较了 TH 和 MP 治疗对挫伤性 SCI 大鼠的细胞自噬和凋亡的影响,结果表明,与对照组相比,在 SCI 后 2d,TH 和 MP 治疗组中 Caspases-8,-9 和-3 的表达水平显著降低;与对照组相比,用 TH 和 MP 处理后第 2 天,LC3-II 和 Beclin-1 的表达显著降低;在第 2 天和第 7 天,表达 LC3 的脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记阳性细胞的数量显著降低;TH 和 MP 治疗组在 SCI 后 6 周的 BBB 评分显著高于对照组。他们认为 TH 和 MP 均通过抑制细胞凋亡和过度自噬对损伤的脊髓组织起神经保护作用。Chen 等^[47]研究了 MP 对挫伤性 SCI 大鼠自噬表达的影响,结果表明,MP 可抑制受损神经元中自噬的激活,保护脊髓,并提示自噬性细胞死亡可能在 SCI 后的神经元死亡中发挥作用。Teixeira 等^[48]在挫伤性 SCI 大鼠模型的研究中发现,粒细胞集落刺激因子(G-CSF)和 MP 组合应用优于单独使用这两种药物治疗 SCI 大鼠的效果,表明这两种药物的组合在治疗 SCI 大鼠中具有协同作用。

3.2.2 雌二醇(E2) 17 β -雌二醇(E2)已被证实是多种实验动物疾病的神经保护剂,例如神经退行性疾病、脑缺血和创伤性脑损伤等疾病。Lin 等^[25]使用压迫性 SCI 大鼠模型来研究自噬的特征以及大剂量 E2 对 SCI 中自噬的影响,结果表明,大剂量 E2 治疗可以改善 SCI 大鼠的运动功能并减少运动神经元的损失,其机制可能与 E2 抑制过度自噬有关。

3.2.3 人参皂苷(Rb1) Rb1 是从人参中提取的主要活性成分之一,在各种神经退行性疾病中表现出神经保护作用。Wang 等^[49]研究了 Rb1 对压迫性 SCI 模型和体外损伤模型中的神经保护作用,结果发现 Rb1 治疗减少了运动神经元的损失,促进了 SCI 动物的神经功能恢复;Rb1 可以通过抑制自噬从而减少 SCI 模型中神经细胞的凋亡和自噬细胞死亡;在体外损伤模型中,Rb1 通过抑制过度自噬

来增加细胞的活力并抑制细胞凋亡,而 RAPA 对自噬的刺激可消除 Rb1 的抗凋亡作用。说明 Rb1 可以通过抑制过度自噬对 SCI 后受损神经起保护作用。

3.2.4 棕榈酰乙醇酰胺(PEA)与木樨草素(Lut)复合物(co-ultraPEALut) PEA 具有神经保护作用,而类黄酮 Lut 具有抗氧化作用。Siracusa 等^[27]研究了其复合物 co-ultraPEALut 对大鼠压迫性 SCI 后自噬表达的影响,研究结果显示,co-ultraPEALut 治疗减弱了大鼠 SCI 后的急性炎症和神经受损,降低了 Beclin-1 和微管相关蛋白 1A/1B-轻链 3(MAP-LC3)的水平;co-ultraPEALut 通过增加磷酸化 Akt 和 mTOR 的表达和增强 P70S6K 信号传导的激活,从而减弱自噬。证实 co-ultraPEALut 的神经保护作用与抑制过度自噬有关。

3.2.5 罗格列酮(ROSG) ROSG 是一种有效的 PPAR- γ 激动剂,已被证明可在 SCI 动物模型中起到神经保护作用。Li 等^[50]在 T5~T8 椎板切除术后用血管夹夹持硬脊膜诱导大鼠压迫性 SCI 模型,观察 ROSG 对 SCI 诱导的神经元自噬的作用,结果表明,SCI 后自噬相关蛋白(包括 LC3-II、Beclin-1 和组织蛋白酶 D)的表达显著增加,ROSG 的应用下调了自噬相关蛋白的表达,改善了 SCI 大鼠的运动功能;GW9662(一种 PPAR- γ 抑制剂)可显著拮抗 ROSG 的作用,并消除了对 SCI 的保护作用。ROSG 可以通过减弱自噬促进大鼠 SCI 后的功能恢复。

4 问题与展望

自噬保护细胞和诱发细胞死亡的双向功能启示我们要更进一步了解自噬在 SCI 中的具体作用机制,让自噬在不进一步损伤神经组织的前提下最大程度挽救和保护受损细胞,以期让 SCI 程度降到最低。对比以上研究可以发现,同样是自噬过程,一些药物增强自噬保护脊髓,另一些药物减弱自噬保护脊髓,其原因可能是在 SCI 后的不同时间段发挥作用的缘故,即增强自噬的药物试剂在 SCI 后自噬的整体过程中增强了自噬,但主要增强了自噬的保护作用;减弱自噬的药物试剂在 SCI 后自噬的整体过程中减弱了自噬,但主要是减弱了过度自噬引起的自噬性细胞死亡。所以这两者都起到了保护受损脊髓的作用。但单独运用一种药物试剂不足以完全发挥自噬的保护作用。因此我们需要找到最佳用药时机,即此时间段为过渡点,在这之前增强自噬起保护作用而这之后就会起损伤作用。合理运用相关的药物/试剂或方法增强自噬的保护作用并延长自噬保护期,运用作用相反的药物/试剂或方法减弱过度自噬的损伤作用和缩短自噬的神经损伤期,这样就可以最大程度地减少神经损伤和保护脊髓。但这需要对自噬在不同 SCI 模型中的变化过程和其对 SCI 后受损脊髓的影响进行透彻的研究,即测得自噬对当时 SCI 后神经组织的作用是保护还是损伤,从而得出自噬对 SCI 后神经组织的保护、损伤曲线。这是至关重要的,因为这影响用药时机,即在什么时候用药、用什么类型的药、用多大剂量的药,以达到对

受损脊髓最大的保护和最低程度的损伤。

另外,不同的 SCI 模型,其损伤的程度和受损组织的变化过程不同,因此得出的自噬在不同 SCI 模型中的变化过程可能各不相同;在相同药物试剂的运用方面,其剂量浓度不同可能影响 SCI 中自噬,有的药物用的剂量大是增强自噬,剂量小是减弱自噬,所以研究自噬在 SCI 模型中的活动时要建立其剂量浓度梯度,选择合适的药物浓度;不同药物的剂量浓度也需要研究考证,从而得出不同药物的最合适运用剂量浓度,这需要药学和循证医学的论证和更多的研究去完善。还有,自噬是一个动态且快速变化的过程,仅测定 P62 不足以检测自噬通量,需要寻找更能体现出自噬通量的标志物或仪器设备。

总之,SCI 的治疗是一个世界性难题,自噬可能是未来治疗 SCI 的突破口,需要投入更多的精力和物力去研究。在自噬理论的研究方面,需要发明更好的检测自噬和 SCI 动态变化过程的方法和仪器,进行更多的动物实验去探讨其机制,同时需要发现更多新的有效的可用于临床的药物制剂或治疗仪器,争取早日把自噬理论和相关的药物制剂和仪器在进行循证医学的验证后运用到临床治疗中。

5 参考文献

- 胥少汀,葛宝丰,徐印坎.实用骨科[M].第4版.郑州:河南科学技术出版社,2019.645-646.
- 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.
- 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.
- Chen JW, Ni BB, Li B, et al. The responses of autophagy and apoptosis to oxidative stress in nucleus pulposus cells: implications for disc degeneration [J]. Cell Physiol Biochem, 2014, 34(4): 1175-1189.
- Zhang F, Zhao X, Shen H, et al. Molecular mechanisms of cell death in intervertebral disc degeneration(review)[J]. Int J Mol Med, 2016, 37(6): 1439-1448.
- Zhang SJ, Yang W, Wang C, et al. Autophagy: a double-edged sword in intervertebral disk degeneration[J]. Clin Chim Acta, 2016, 457: 27-35.
- Feng C, Yang M, Lan M, et al. ROS: crucial intermediators in the pathogenesis of intervertebral disc degeneration [J]. Spinal Cord, 2017, 55(9): 834-839.
- Chu R, Wang J, Bi Y, et al. The kinetics of autophagy in the lung following acute spinal cord injury in rats [J]. Spine, 2018, 18(5): 845-856.
- Yu D, Li M, Ni B, et al. Induction of neuronal mitophagy in acute spinal cord injury in rats[J]. Neurotox Res, 2013, 24(4): 512-522.
- Zhou K, Sansur CA, Xu H, et al. The Temporal pattern, flux, and function of autophagy in spinal cord injury[J]. Int

- J Mol Sci, 2017, 18(2): 466.
11. 侯红平. 自噬通过抑制凋亡促进急性脊髓损伤后神经修复的作用机制研究[D]. 南开大学. 2014.
 12. Schffner I, Minakaki G, Khan MA, et al. FoxO function is essential for maintenance of autophagic flux and neuronal morphogenesis in adult neurogenesis[J]. *Neuron*, 2018, 99(6): 1188–1203.
 13. Boland B, Yu WH, Corti O, et al. Promoting the clearance of neurotoxic proteins in neurodegenerative disorders of ageing[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2018, 17(9): 660–688.
 14. Ye W, Zhu W, Xu K, et al. Increased macroautophagy in the pathological process of intervertebral disc degeneration in rats[J]. *Connect Tissue Res*, 2013, 54(1): 22–28.
 15. Ye W, Xu K, Huang D, et al. Age-related increases of macroautophagy and chaperone-mediated autophagy in rat nucleus pulposus[J]. *Connect Tissue Res*, 2011, 52(6): 472–478.
 16. Shi C, Wu H, Du D, et al. Nicotinamide phosphoribosyl-transferase inhibitor APO866 prevents IL-1 β -induced human nucleus pulposus cell degeneration via autophagy [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(6): 2463–2482.
 17. Fujita S, Sakurai M, Baba H, et al. Autophagy-mediated stress response in motor neurons after hypothermic spinal cord ischemia in rabbits[J]. *J Vasc Surg*, 2015, 62(5): 1312–1319.
 18. Tanabe F, Yone K, Kawabata N, et al. Accumulation of P62 in degenerated spinal cord under chronic mechanical compression: functional analysis of P62 and autophagy in hypoxic neuronal cells[J]. *Autophagy*, 2011, 7(12): 1462–1471.
 19. Kanno H, Ozawa H, Sekiguchi A, et al. Induction of autophagy and autophagic cell death in damaged neural tissue after acute spinal cord injury in mice [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2011, 36(22): E1427–1434.
 20. Hou H, Zhang L, Zhang L, et al. Acute spinal cord injury in rats should target activated autophagy [J]. *J Neurosurg Spine*, 2014, 20(5): 568–577.
 21. Muñoz-Galdeano T, Reigada D, Del Águila Á, et al. Cell specific changes of autophagy in a mouse model of contusive spinal cord injury[J]. *Front Cell Neurosci*, 2018, 12: 164.
 22. Hao HH, Wang L, Guo ZJ, et al. Valproic acid reduces autophagy and promotes functional recovery after spinal cord injury in rats[J]. *Neurosci Bull*, 2013, 29: 484–492.
 23. Wang P, Xie ZD, Xie CN, et al. AMP-activated protein kinase-dependent induction of autophagy by erythropoietin protects against spinal cord injury in rats[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2018, 24(12): 1185–1195.
 24. Hu J, Han H, Cao P, et al. Resveratrol improves neuron protection and functional recovery through enhancement of autophagy after spinal cord injury in mice [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(10): 4607–4616.
 25. Lin CW, Chen B, Huang KL, et al. Inhibition of autophagy by estradiol promotes locomotor recovery after spinal cord injury in rats[J]. *Neurosci Bull*, 2016, 32(2): 137–144.
 26. Li XG, Du JH, Lu Y, et al. Neuroprotective effects of rapamycin on spinal cord injury in rats by increasing autophagy and Akt signaling[J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14(4): 721–727.
 27. Siracusa R, Paterniti I, Bruschetta G, et al. The association of palmitoylethanolamide with luteolin decreases autophagy in spinal cord injury[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(6): 3783–3792.
 28. Fang B, Li XQ, Bao NR, et al. Role of autophagy in the bimodal stage after spinal cord ischemia reperfusion injury in rats[J]. *Neuroscience*, 2016, 328: 107–116.
 29. Wei X, Zhou Z, Li L, et al. Intrathecal injection of 3-methyladenine reduces neuronal damage and promotes functional recovery via autophagy attenuation after spinal cord ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Biol Pharm Bull*, 2016, 39(5): 665–673.
 30. Li W, Yang Y, Ba Z, et al. MicroRNA-93 regulates hypoxia-induced autophagy by targeting ULK1 [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 2709053. doi: 10.1155/2017/2709053. Epub 2017 Oct 3.
 31. Guo Y, Wang F, Li H, et al. Metformin protects against spinal cord injury by regulating utophagy via the mTOR signaling pathway [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2018, 24(12): 1185–1195.
 32. Wang C, Liu C, Gao K, et al. Metformin preconditioning provide neuroprotection through enhancement of autophagy and suppression of inflammation and apoptosis after spinal cord injury[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 477(4): 534–540.
 33. Tong M, He Z, Lin X, et al. Lithium chloride contributes to blood-spinal cord barrier integrity and functional recovery from spinal cord injury by stimulating autophagic flux [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(4): 2525–2531.
 34. Liu P, Zhang Z, Wang Q, et al. Lithium chloride facilitates autophagy following spinal cord injury via ERK-dependent pathway[J]. *Neurotox Res*, 2017, 32(4): 535–543.
 35. Feng T, Yin Q, Weng ZL, et al. Rapamycin ameliorates neuropathic pain by activating autophagy and inhibiting interleukin-1 β in the rat spinal cord[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2014, 34(6): 830–837.
 36. 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.
 37. Sekiguchi A, Kanno H, Ozawa H, et al. Rapamycin promotes autophagy and reduces neural tissue damage and locomotor impairment after spinal cord injury in mice[J]. *J Neurotrauma*, 2012, 29(5): 946–956.
 38. Li Q, Gao S, Kang Z, et al. Rapamycin enhances mitophagy

- and attenuates apoptosis after spinal ischemia-reperfusion injury[J]. *Front Neurosci*, 2018, 12: 865.
39. Meng HY, Shao DC, Li H, et al. Resveratrol improves neurological outcome and neuroinflammation following spinal cord injury through enhancing autophagy involving the AMPK/mTOR pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(2): 2237–2244.
40. Wang P, Jiang L, Zhou N, et al. Resveratrol ameliorates autophagic flux to promote functional recovery in rats after spinal cord injury[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(9): 8427–8440.
41. Bai L, Mei X, Shen Z, et al. Netrin-1 improves functional recovery through autophagy regulation by activating the AMPK/mTOR signaling pathway in rats with spinal cord injury[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42288.
42. Bai L, Mei X, Wang Y, et al. The role of Netrin-1 in improving functional recovery through autophagy stimulation following spinal cord injury in rats [J]. *Front Cell Neurosci*, 2017, 11: 350.
43. Gao S, Zhang ZM, Shen ZL, et al. Atorvastatin activates autophagy and promotes neurological function recovery after spinal cord injury[J]. *Neural Regen Res*, 2016, 11(6): 977–982.
44. Gao K, Wang G, Wang Y, et al. Neuroprotective effect of simvastatin via inducing the autophagy on spinal cord injury in the rat model[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 260161.
45. Li L, Jiang HK, Li YP, et al. Hydrogen sulfide protects spinal cord and induces autophagy via miR-30c in a rat model of spinal cord ischemia-reperfusion injury [J]. *J Biomed Sci*, 2015, 22(1): 50.
46. Seo JY, Kim YH, Kim JW, et al. Effects of therapeutic hypothermia on apoptosis and autophagy after spinal cord injury in rats[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2015, 40(12): 883–890.
47. Chen HC, Fong TH, Lee AW, et al. Autophagy is activated in injured neurons and inhibited by methylprednisolone after experimental spinal cord injury [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2012, 37(6): 470–475.
48. Teixeira WGJ, Cristante AF, Marcon RM, et al. Granulocyte colony-stimulating factor combined with methylprednisolone improves functional outcomes in rats with experimental acute spinal cord injury[J]. *Clinics(Sao Paulo)*, 2018, 73: e235.
49. Wang P, Lin C, Wu S, et al. Inhibition of autophagy is involved in the protective effects of ginsenoside Rb1 on spinal cord injury[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2018, 38(3): 679–690.
50. Li H, Zhang Q, Yang X, et al. PPAR- γ agonist rosiglitazone reduces autophagy and promotes functional recovery in experimental traumatic spinal cord injury [J]. *Neurosci Lett*, 2017, 650: 89–96.

(收稿日期:2018-12-20 末次修回日期:2019-03-04)

(本文编辑 卢庆霞)