·综述·

Caspase-3 与脊髓损伤的相关治疗 *

李文洁[1] 杨 拯[2,3]

脊髓损伤(spinal cord injury,SCI)分为原发性损伤和继发性损伤。SCI 的原发性损伤是创伤本身造成的,主要机制为不可逆性神经细胞坏死、轴索断裂。细胞凋亡是一种主动的由基因控制的细胞自然死亡, 神经细胞的凋亡是继发性 SCI 的重要组成部分。半胱氨酸蛋白酶(caspase)亦称白细胞介素 1β 转化酶(interleukin-1β-converting enzyme, ICE)或死亡蛋白酶,被认为是细胞凋亡过程中最重要的蛋白酶。Casepase 家族迄今发现 14 个成员,分为两类:caspase-1、-2、-4、-5、-8、-9、-10 参与其他成员的激活,caspase-3、-6、-7、-14 介导细胞凋亡下游在执行阶段。而 caspase-3(CPP32)是多种凋亡途径的共同下游效应部分, 也是细胞凋亡蛋白酶级联反应的必经之路。

1 作用机制

caspase-3 于 1994 年首次被克隆证明与 ICE 具有同源性,为促凋亡基因,后被 Nicholson 确认为 caspase-3。caspase-3 含有 277 个氨基酸残基,分子量约 32kD,与 CED-3 有 35%同源,故被认为是 CED-3 在哺乳动物中的同源蛋白。Caspase-3 在人体组织中主要分布在胞浆,少数在胞核[1]。Caspase-3 以酶原的形式合成和存储, 只有在细胞凋亡的级联反应中才转化成活化形式。Caspase-3 的活化为细胞凋亡的早期生化指标。Kumar S [2] 通过对 caspase 相关基因的敲出及敲入表明,caspase-3 能剪切和活化 caspase-6、-7、-9,本身又受 caspase-8、-9 的剪切和活化。在凋亡早期,活化的 caspase-3 由两个大亚基(mr17000)和两个小亚基(mr12000)组成,裂解相应的胞浆胞核底物,核染色质固缩,核小体间的 DNA 降解,电泳呈梯状分布,最终导致细胞凋亡。除了神经元,许多胶质细胞(小胶质细胞除外)也存在 caspase-3 的活性增高。

Caspase-3 的活动时限在空间上与 SCI 细胞凋亡的出现相一致。陈亚平等[3]通过改良的 Allen 法对 SCI 后 SD 大鼠的研究表明,免疫组化半定量分析方法可以用于评估脊髓损伤大鼠脊髓及膀胱内细胞凋亡的程度。由于凋亡是一程序性过程,从脊髓损伤至 caspase-3 活化这段时间是 SCI 干预细胞凋亡、减轻继发性 SCI 的治疗时窗。

2 Caspase-3 与 SCI 的现代医学疗法

2.1 Caspase-3 抑制剂

Caspase-3 抑制剂与 caspase-3 酶解底物进行不可逆的竞争性结合,抑制 caspase-3 活性,从而减少细胞凋亡,为临床治疗迟发性神经元死亡提供新的治疗策略和方法。

2.1.1 人工合成的四肽抑制物:人工合成的四肽抑制物能特异性地与 caspase-3 结合,减少细胞凋亡。其主要包括:不可逆性抑制剂 Ac-DMQD-CHO、特异性 caspase 抑制剂 Ac-DEVE-CHD 及泛特异性抑制剂 z-VAD-fmk 等。不可逆的 caspase-3 抑制剂 Ac-DMQD-CHO 能降低 caspase-3 的活性,减少 SCI 后的细胞凋亡,实现其功能恢复[4]。局部使用不可逆的可渗透性抑制剂 z-DEVD.fmk,能显著减少外伤性 SCI 后神经元 DNA 片断化及损伤区面积, 改善 SCI 后的运动功能,发挥神经保护作用[5]。

2.1.2 Caspase-3 的蛋白类抑制剂:主要包括:①病毒蛋白,如牛痘蛋白 crmA 和杆状病毒蛋白 P35。用 P35 靶向表达标记少突胶质细胞的转基因动物,持续性胸部脊髓损伤后,少突胶质细胞大量出现,脱髓鞘作用减弱,后肢运动功能恢复明显强于对照组。故抑制少突胶质细胞的凋亡可为 SCI 提供潜在的治疗途径[6]。②神经元凋亡抑制蛋白 NAIP,属 IAP 家族,为哺乳动物唯一内源性 caspase 抑制剂。凋亡蛋白 NAIP 常用于治疗脊髓性肌萎缩 (spinal muscular atrophy,SMA), 能通过 caspase-3 途径抑制钙离子诱导的细胞凋亡, 从而保护神经元[7]。③Bcl-2 蛋白家族为一个多基因家族,主要由两大结构域构成。目前,已经在哺乳动物线虫和细菌中发现并鉴定出来 Bcl-2 家族的 20 余种蛋白质。Bcl-2 具有抗细胞凋亡的功能,在 80%的 B 淋巴细胞瘤中呈过量表达。在细胞内定位于核膜内质网线粒体膜, 通过调控线粒体细胞结构和功能的稳定性发挥中心调控的作用。Bcl-2 能减少线粒体细胞色素 C 的释放, 同时抑制细胞色素 C 与凋亡蛋白酶激活因子 Apaf 结合,减少 caspase-9 的激活,从而降低 caspase-3 的激活[2]。④粒细

DOI:10.3969j.issn.1001-1242.2010.10.026

* 基金项目:成都医学院创新性实验项目基金资助(CX200907);成都医学院实验室开放项目基金资助(KF200936);成都医学院综合设计性实验项目基金资助(ZH200904)

1 成都医学院 2007 级临床本科班; 2 成都医学院实验技术教研室; 3 通讯作者

作者简介:李文洁,女, 本科生; 收稿日期:2009-09-23

胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor,G-CSF)是一种造血生长因子,能特异性刺激粒系祖细胞增殖、分化,乃至维持其功能、存活,包括增加过氧化物酶的产生及动员造血干细胞进入外周血等多种功能。G-CSF 对谷氨酸诱导的小脑神经元有神经保护作用。在急性 SCI 模型中减少神经元及 caspase-3 的裂解,抑制神经凋亡[8]。

2.1.3 代谢产物:尿酸,一种很重要的内源性抗氧化剂,为嘌呤的代谢终产物。可减轻多发性硬化、中枢神经系统炎症和损伤,抑制脑和 SCI 后过氧化亚硝酸盐诱导的继发性损伤和细胞凋亡[9]。SCI 后,过氧化亚硝酸盐的升高水平除了可以直接通过氧化应激诱导神经细胞凋亡外,还可以通过激活 caspase-3 间接促进细胞凋亡。此外,过氧化亚硝酸盐还能造成一系列有害反应,促进细胞凋亡。刘铁等[10]表明,尿酸可以抑制 SCI 后组织中由过氧化亚硝酸盐诱导的 caspase-3 的表达。经尿酸处理的大鼠损伤脊髓出血坏死减少,炎性细胞浸润减轻,caspase-3 阳性细胞较对照组明显减少。

2.1.4 激素类:甲基强的松龙(methylprednisolone,MP)是目前唯一公认的对急性脊髓损伤有保护作用的类固醇药物。MP 治疗脊髓损伤的作用包括:防止损伤脊髓组织丢失钾离子和促进细胞外钙离子的恢复,改善创伤后脊髓缺血,增强创伤后脊髓组织 Na^+-K^+-ATPase 活性,增强脊髓神经元兴奋性以及抑制脂质过氧化物。因此,具有抗炎和有效治疗脊髓水肿的作用。大剂量的 MP,可抑制 SCI 后的 caspase-3 的激活,还可用于治疗与白质损伤有关的神经障碍[11]。Lee JM 等[12]研究表明,其还可降低 Bcl-2,选择性抑制少突胶质细胞而非神经元的死亡。吲哚类激素褪黑素(melatonin,MT)是松果体分泌的一种激素,具有强大的自由基清除作用,对脑损伤、帕金森病、外周神经损伤等多种神经疾病有保护作用。潘文杰等[13]研究表明,MT 能清除动物慢性压迫损伤自由基和抗氧化,上调 Bcl-2 抑制细胞色素 C 的释放,防治继发性 SCI,抑制 caspase-3 的表达[14]。人红细胞生成素(erythropoietin,EPO)是一种相对分子质量约为 30000—39000 的糖蛋白,具有限制活性氧家族和兴奋性氨基酸的产生、抑制凋亡刺激血管再生、抗炎、促进干细胞生成等神经保护作用,调节缺氧和氧自由基引起的神经细胞的死亡。胡杨等[15]表明蛛网膜下腔给予 EPO 能显著下降 caspase-3 的表达,抑制脊髓神经细胞凋亡,对继发性 SCI 有保护作用。

2.1.5 抗生素:二甲胺四环素(米诺环素,minocycline)是一种不良反应较低的第二代半合成的四环素类抗生素,具有强大的抗菌、抗炎作用,此外,还能抑制神经细胞凋亡的作用,被广泛用于治疗急慢性神经系统疾病。二甲胺四环素能通过降低谷氨酸盐兴奋性毒性,抑制小胶质细胞的活性,减少线粒体细胞色素 C 的释放,防治继发性 SCI,也可抑制 SCI 后 caspase-3 表达[16-17]。

2.1.6 他汀类药物:为羟甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶抑制剂,能有效地抑制胆固醇的生物合成。洛伐他汀具有良好的抗氧化、抗炎、抗肿瘤和免疫调制活性,可改善实验性变应性脑脊髓炎(experimental allergic encephalomyelitis,EAE)的临床结果并诱导 T 淋巴细胞免疫反应。阿伐他汀通过有效地降低血脂,抑制 SCI 后白细胞介素 1β 及 caspase-3 的基因表达,在防止继发性炎症、阻止神经细胞凋亡方面有一定的作用[18]。阿伐他汀与二甲胺四环素联合治疗实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE),一种多发性硬化症(multiple sclerosis,MS)模型,可减轻炎症、脱髓鞘和轴突凋亡[19]。

2.1.7 其他:Luo J 等[20]表明亲水聚合物聚乙二醇(polyethylene glycol,PEG),可减少急性 SCI 的神经细胞死亡,应用治疗表明可降低 caspase-3 的活性,减少外伤性 SCI 中的细胞凋亡。中性白细胞弹性蛋白酶的特效抑制剂,酰氨类四水合物 non-5046,通过抑制 caspase-3 途径、延长脑源性神经因子的表达和磷酸化胞外的信号调节激酶,保护 SCI 后运动神经元的局部出血[21]。抗心律失常的钠通道阻滞药美西律,能抑制 caspase-3 的激活,在实验性 SCI 中较 MP 有更显著的神经保护作用[22]。硫酸镁可降低大鼠实验性 SCI 后 caspase-3 的活性[23]。

2.2 神经营养因子

神经营养因子(neurotrophic factor,NF)是由机体产生,能促进神经细胞存活生长和分化的一类多肽类或蛋白质因子,具有调剂神经元存活,阻止成年神经元损伤后的死亡,促进神经元的修复和轴突再生,调节突触可塑性和神经递质传递等神经系统功能。神经营养素家族包括神经生长因子(nerve growth factor,NGF),脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor,BDNF),神经营养素-3(neurotrophine-3,NT-3),NT-4/5 及 NT-6,NT-7。神经营养因子有维持损伤脊髓神经元的存活,促使轴突延伸等作用。最具有运动神经元营养活性的 BDNF,是于 1993 年首先报道的能由大鼠 B49 胶质细胞系分泌的一种有活性的神经营养因子。对多种感觉神经元胆碱能神经元、多巴胺能神经元,以及 γ-氨基丁酸能神经元的发育分化和生长再生也具有维持和促进作用。Makar TK 等[24]表明,骨髓干细胞介导的 BDNF 能减少 EAE 模型中的炎症和细胞凋亡。此外,通过施万细胞修饰的 NT-3-SCs 和神经干细胞(neural stem cells,NSCs)移植能促进横断脊髓损伤的恢复[25]。

2.3 细胞移植

细胞移植的主要目的是希望通过脊髓内细胞成分来桥接脊髓并改善脊髓再生的微环境,促使再生轴突穿越胶质瘢痕,实现功能重建。骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells,rMSC)来源丰富,取材方便,易分离培养,一定条件下能快速增殖,具有多向分化潜能,避免了伦理方面的问题及免疫排斥反应,被认为是人体基因治疗的理想载体细胞。董锋等[26]研究表明,SCI 后损伤脊髓局部的 BDNF、NGF 表达增加,rMSCs

静脉注射移植后能促进其更进一步的表达。通过从小鼠骨髓提取的 rMSC 移植增强 FLIP 及 XIAP 的表达下调 caspase-3 途径,同时激活 PARP [poly (ADP ribose) polymerase][27]。体外试验研究已明确证明骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cell,BMSCs)可分泌多种神经因子,张军军等[28]表明 BMSCs 移植可以促进大鼠损伤脊髓功能的恢复。神经干细胞移植是 Beynold 和 Richards 于 1992 年首先在成鼠纹状体和海马回中分离出的,具有自我复制、自我更新能力及多向分化的多潜能细胞, 一定条件下能被诱导成为神经元细胞和神经胶质细胞。其自身能分泌各种神经生长因子,明显促进损伤神经元的存活和轴突生长[29]。

3 Caspase-3 与 SCI 的传统医学疗法

3.1 中药疗法

中医认为“肾精虚衰”是衰老的主要原因。“脾胃为血气阴阳之根蒂”,脾的生理功能是脾之阴阳共同作用的结果。对脊髓损伤的中药治疗,活血化瘀是基础,补肾填精是关键。三七总皂苷(panax notoginseng saponin,PNS)为五加科植物人参三七的主要成分。有直接扩展血管、抗血栓、抗肿瘤、抗炎、抗衰老、镇静中枢神经系统、镇痛及治疗肾病、保护肝脏的作用。赵玉鑫等[30]研究表明,三七总皂苷除可通过抗炎、改善微循环、抑制脂质过氧化、减少细胞钙内流等防治继发性 SCI 外,还可抑制 SCI 后诱导型一氧化氮合酶(nNOS)及 caspase-3 的表达。滋补脾阴方药由清代吴澄《不居集》中资成汤加味而成。滋补脾阴方药有明显提高脑、脊髓线粒体膜抗氧化能力、改善线粒体 ATP 酶活性等机制,减轻继发性 SCI。王文婷等[31]通过观察 SD 大鼠脊髓损伤后脊髓及泌尿生殖道凋亡促进因子 caspase-3 和 nNOS 发生了改变,但并非同步,机制各有不同。

3.2 电针疗法

针灸作为一种传统的治疗方法,能改善尿便功能,缓解肢体痉挛、减轻截瘫性疼痛等并发症及后遗症等,同时能增加各种细胞因子及营养因子的表达,促进神经的再生及诱发。电针多以督脉及夹脊穴为主, 电针通过穴位及电流的累积叠加效应,影响多种内源性神经营养因子的表达,并且可通过抑制脊髓损伤早期细胞凋亡以促进其再生修复。此外,电针可改善 SCI 后的血流量,抑制脑缺血性神经元凋亡,其具体作用机制尚不明确。实验证明,电针可下调 Caspase-3 mRNA 及蛋白的表达,进而抑制细胞凋亡[32]。曾芳等[33]用电针刺激 SAMP8 小鼠“百会”、“涌泉”,通过 Morris 水迷宫测试其记忆能力的变化,结果显示海马神经元 caspase-3、-9 表达减少、XIAP 增高。神经损伤后应用电针、中药联合治疗,周围神经和中枢神经可获得较好的连续性, 从而有利于调动轴浆流的物质转运,形成良好的微环境,促进神经再生。邵水金等[34]研究表明,电针明显优于中药组。

4 Caspase-3 与 SCI 的综合疗法

神经营养因子不能通过血脑屏障,且给药困难,经证实由基因工程技术修饰的细胞可分泌 BDNF, 促进 SCI 后的皮质脊髓束轴突生长及部分神经功能恢复, 明显防止横切损伤神经后神经元的死亡及减慢其速度。Makar TK[35]以 BMCSs 作为载体在神经系统及神经元中植入 β 干扰素 interferon-beta, IFN-β)基因, IFN-β 治疗组 caspase-3mRNA 水平及 caspase-3 活性降低, 明显抑制细胞凋亡, 促进生长因子包括 BDNF, CNTF,PDGF 及 VEGF。此外,冬凌草素甲(Oridonin)是植物冬凌草 (rabdosia rubescens hemsl) 中的一种四环二萜类化合物。Oridonin 能够抑制 L929 的生长, 同时 caspase 对其细胞毒性也具有促进作用。对脂多糖(lipopolysaccharide,LPS)激活的小胶质细胞有多重调节作用,能抑制炎症因子的释放,上调神经营养因子 NGF 的产生[36]。

5 小结

SCI 涉及多方面的发病机制,caspase-3 途径是继发性 SCI 细胞凋亡中的重要途径之一。目前针对 SCI 的传统疗法,如电针对 SCI 后 caspase-3 调控的机制尚不明确。而有关下调 caspase-3 表达的 SCI 治疗药物较多, 一些已用于临床,一些还处在动物试验阶段, 因此在选择药物时应谨慎考虑其并发症及禁忌反应,合理用药。然而,随着现代分子生物学及基因组学的发展,组织及细胞移植对 caspase-3 相关的 SCI 治疗有一定的成果,但目前主要停留在动物模型阶段,且体内移植物的存活率较低,再生轴突数量、长度及质量有限,对脊髓长距离上下行的修复是不够的。移植物是否能定向分化成特定的细胞,克服抑制轴突再生的因素,穿越胶质瘢痕,并与靶组织形成一定的传导通路等应用于临床修复还需时日。我们知道,SCI 的细胞凋亡涉及多个基因的调控, 如抑制细胞凋亡的 Bcl-蛋白家族,故开展 SCI 的多基因研究很有必要。对脊髓再生修复的研究成果应用与 SCI 治疗工作刚刚起步, 因此在这方面有望新的突破。

参考文献

[1] 刘娜,孙志扬.Caspase-3 与中枢神经系统急症[J].中国急救医学,2004,24(2):125—27.

[2] Kumar S.Caspase function in programmed cell death [J].Cell Death Differ,2007,14(1):32—43.

[3] 陈亚平,杨延砚,王文婷,等. 半定量分析方法用于评估脊髓损伤后细胞凋亡程度的可行性研究[J].中国康复医学杂志,2009,24(2):107—109,125,I0001.

[4] Akdemir O, Berksoy I, Karaoglan A,et al.Therapeutic efficacy of Ac-DMQD-CHO,a caspase 3 inhibitor,for rat spinal cord injury[J].J Clin Neurosci,2008,15(6):672—678.

[5] Barut S,Unlu YA,Karaoglan A,et al.The neuroprotective effects of z-DEVD.fmk,a caspase-3 inhibitor,on traumatic spinal cord

injury in rats[J].Surg Neurol,2005,64(3):213—220.

[6] Tamura M, Nakamura M, Ogawa Y,et al.Targeted expression of anti-apoptotic protein p35 in oligodendrocytes reduces delayed demyelination and functional impairment after spinal cord injury [J].Glia, 2005, 51(4): 312—321.

[7] Mercer EA, Korhonen L, Skoglosa Y,et al.NAIP interacts with hippocalcin and protects neurons against calcium-induced cell death through caspase-3-dependent and -independent pathways [J].EMBO J, 2000, 19(14): 3597—3607.

[8] Nishio Y, Koda M, Kamada T,et al.Granulocyte colony-stimulating factor attenuates neuronal death and promotes functional recovery after spinal cord injury in mice [J].J Neuropathol Exp Neurol,2007,66(8):724—731.

[9] Lau A, Arundine M, Sun HS,et al.Inhibition of caspase-mediated apoptosis by peroxynitrite in traumatic brain injury[J].J Neurosci, 2006, 26(45):11540—11553.

[10] 刘铁,李锋,关邯峰,等.尿酸影响大鼠脊髓损伤后半胱氨酸蛋白酶3的表达及神经细胞凋亡[J].中国组织工程研究与临床康复,2007,11(12):2269—2271.

[11] 张强,邹德威,海涌,等.脑源性神经营养因子转基因细胞移植和甲基强的松龙对损伤脊髓caspase-3表达的影响[J].中华创伤杂志, 2005, 21(10): 733—736.

[12] Lee JM, Yan P, Xiao Q,et al. Methylprednisolone protects oligodendrocytes but not neurons after spinal cord injury[J].J Neurosci,2008,28(12):3141—3149.

[13] 潘文杰,汪玉良,王栓科,等.褪黑素对大鼠慢性压迫脊髓损伤caspase-3表达及细胞凋亡的影响 [J]. 第四军医大学学报,2007,28(15):1397—1400.

[14] Samantaray S, Sribnick EA, Das A,et al. Melatonin attenuates calpain upregulation, axonal damage and neuronal death in spinal cord injury in rats[J].J Pineal Res, 2008, 44(4): 348—357.

[15] 胡杨,郑启新,秦文.不同给药途径促红细胞生成素用于治疗大鼠急性脊髓损伤的研究[J].中国康复医学杂志,2009,24(6):512—514.

[16] 陈钢, 梁群, 陈安民, 等. 二甲胺四环素对大鼠脊髓损伤后caspase-3、p53表达的影响[J].第三军医大学学报,2006,28(17):1768—1771.

[17] Festoff BW, Ameenuddin S, Arnold PM,et al. Minocycline neuroprotects, reduces microgliosis, and inhibits caspase protease expression early after spinal cord injury [J]. J Neurochem, 2006, 97(5): 1314—1326.

[18] 陈文坚,祝凯,吴建军,等.阿伐他汀调节大鼠脊髓损伤后白细胞介素1β及半胱氨酸蛋白酶3基因的表达 [J]. 中国临床康复,2006,10(32):102—104.

[19] Luccarini I, Ballerini C, Biagioli T,et al. Combined treatment with atorvastatin and minocycline suppresses severity of EAE [J].Exp Neurol,2008,211(1):214—226.

[20] Luo J, Shi R. Polyethylene glycol inhibits apoptotic cell death following traumatic spinal cord injury [J].Brain Res,2007,1155:10—16.

[21] Yamauchi T, Sawa Y, Sakurai M,et al. ONO-5046 attenuation of delayed motor neuron death and effect on the induction of brain-derived neurotrophic factor, phosphorylated extracellular signal-regulated kinase,and caspase3 after spinal cord ischemia in rabbits [J].J Thorac Cardiovasc Surg,2006,131(3):644—650.

[22] Kaptanoglu E, Caner H, Solaroglu I,et al. Mexiletine treatment-induced inhibition of caspase-3 activation and improvement of behavioral recovery after spinal cord injury[J]. J Neurosurg Spine, 2005, 3(1):53—56.

[23] Solaroglu I, Kaptanoglu E, Okutan O,et al.Magnesium sulfate treatment decreases caspase-3 activity after experimental spinal cord injury in rats[J].Surg Neurol,2005,64(s2):s17—s21.

[24] Makar TK, Trisler D, Sura KT,et al. Brain derived neurotrophic factor treatment reduces inflammation and apoptosis in experimental allergic encephalomyelitis[J].J Neurol Sci,2008,270(1—2):70—76.

[25] Guo JS, Zeng YS, Li HB,et al. Cotransplant of neural stem cells and NT-3 gene modified Schwann cells promote the recovery of transected spinal cord injury[J].Spinal Cord,2007,45(1):15—24.

[26] 董锋,林建华,吴朝阳.骨髓间质干细胞经静脉注射移植对大鼠脊髓损伤后BDNF、NGF mRNA表达的影响[J].中国康复医学杂志, 2008, 3(5): 416—419.

[27] Dasari VR, Spomar DG, Cady C,et al. Mesenchymal stem cells from rat bone marrow downregulate caspase-3-mediated apoptotic pathway after spinal cord injury in rats[J].Neurochem Res,2007,32(12):2080—2093.

[28] 张军军,陈先,刘兰泽,等.组织工程化干细胞移植治疗大鼠急性脊髓损伤的研究 [J]. 中国康复医学杂志, 2009, 24 (4): 335—337,351.

[29] Einstein O, Ben Hur T. The changing face of neural stem cell therapy in neurologic diseases[J].Arch Neurol, 2008, 65(4): 452—456.

[30] 赵玉鑫,王洪,杨述华,等.三七总皂苷干预脊髓损伤大鼠诱导型一氧化氮合酶及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3表达的变化[J].中国临床康复,2006,10(31):31—33.

[31] 王文婷,周谋望,陈庆山,等.脊髓损伤大鼠脊髓及泌尿生殖道caspase-3和nNOS表达的改变[J].中国康复医学杂志,2009,24(9):773—775.

[32] Yang YJ, Kim YS, Shin MS,et al. Effects of acupuncture on the intrastriatal hemorrhage-induced caspase3 expression and newly cell birth in rats [J]. Neurol Res, 2007, 29 (S1): s65—s71.

[33] 曾芳,何宇恒,彭静,等.电针对SAMP8小鼠海马神经元凋亡蛋白Caspase-3、Caspase-9及凋亡抑制蛋白XIAP表达的影响[J].中国老年学杂志, 2008, 28(6):521—523.

[34] 邵水金,单宝枝,严振国. 电针、中药促进大鼠坐骨神经损伤的神经再生研究[J]. 中国针灸, 2003, 23(7): 417—420.

[35] Makar TK,Trisler D,Bever CT,et al. Stem cell based delivery of IFN-beta reduces relapses in experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. J Neuroimmunol, 2008, 196(1—2):67—81.

[36] Xu Y, Xue Y, Wang Y,et al. Multiple-modulation effects of Oridonin on the production of proinflammatory cytokines and neurotrophic factors in LPS-activated microglia [J]. Int Immunopharmacol, 2009, 9(3): 360—365.