

基础研究

脊神经结扎术后脊髓背角小胶质细胞中 miR-195 的表达及其对自噬水平的影响

闫廷飞, 孙璟川, 孙晨曦, 杨 勇, 史建刚, 史国栋

(第二军医大学附属长征医院骨科 200003 上海市)

【摘要】目的:探讨大鼠脊神经结扎术后脊髓背角小胶质细胞中微核糖核酸-195 (microRNA-195, miR-195) 的表达及其对自噬水平的影响与调节机制。**方法:**32 只成年雄性 SD 大鼠随机分为脊神经结扎组(SNL 组)和假手术组(S 组), 每组 16 只, SNL 组结扎 L5 段神经制备脊神经结扎模型, 造模后 1d、3d、5d、10d 两组各处死 4 只大鼠, 分离脊髓腰膨大, 采用 Percoll 梯度离心法分离脊髓背角小胶质细胞, Real-time PCR 检测两组各时间点脊髓背角小胶质细胞的 miR-195 表达水平。取 12 只成年雄性 SD 大鼠, 处死后取脊髓腰膨大, 分离脊髓背角小胶质细胞, 分为两组, 一组采用脂质体法转染 miR-195 模拟物, 另一组加入转染试剂, 检测两组小胶质细胞自噬体膜标记蛋白轻链 3(light chain 3, LC3)的表达水平; 再取小胶质细胞分为三组, 分别将含有野生型及突变型自噬相关基因 14(ATG14)3'非编码区(3'UTR)的报告基因质粒、pRL-TK 质粒 miR-195 模拟物和对照转入 HEK 293 细胞培养 48h, 荧光显微镜下观察 miR-195 的直接作用靶点, 并检测三组 ATG14 蛋白的表达。取 24 只健康 SD 大鼠脊髓腰膨大, 分离脊髓背角小胶质细胞, 分为三组分别转染 miR-195 模拟物、抑制物和转染试剂, 培养 48h, 采用免疫蛋白印记(Western blot)法检测三组 ATG14 蛋白的表达水平; 再取小胶质细胞分为三组, 分别转染 pEGFP-LC3、pEGFP-LC3+miR-195 模拟物及 pEGFP-LC3+miR-195 模拟物+pCMV-ATG14 培养 48h, 染色后荧光显微镜下观察自噬斑点数量。**结果:**SNL 组各时间点大鼠脊髓背角小胶质细胞中 miR-195 表达均明显上调, 与同时点 S 组比较均有显著性差异($P<0.05$)。转染 miR-195 模拟物后, LC3 的表达水平(0.61 ± 0.07)较对照组(1.21 ± 0.08)显著性降低($P<0.05$)。转入野生型 ATG14 3'UTR 的报告基因质粒的 HEK 293 细胞的荧光强度较对照显著性减弱(0.65 ± 0.04 vs 1.01 ± 0.01 , $P<0.05$), 突变型与对照无显著性变化(0.99 ± 0.03 vs 1.00 ± 0.02 , $P>0.05$)。转染 miR-195 模拟物后小胶质细胞中 ATG14 的表达显著性降低($P<0.05$); 转染 miR-195 抑制物后 ATG14 的表达显著性升高 ($P<0.05$)。转染 pEGFP-LC3 与 pEGFP-LC3+miR-195 模拟物较转染 pEGFP-LC3+miR-195 模拟物+pCMV-ATG14 时自噬数量降低($P<0.05$)。**结论:**miR-195 在大鼠脊神经结扎模型脊髓背角小胶质细胞中高表达, 降低自噬蛋白 LC3 表达; ATG14 蛋白受 miR-195 负调控, miR-195 可能通过降低 ATG14 的表达抑制小胶质细胞自噬。

【关键词】微核糖酸-195; 小胶质细胞; 自噬相关基因 14; 自噬; 神经结扎术; 大鼠

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2017.11.12

中图分类号: R322.81 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2017)-11-1030-07

Effect of miR-195 on microglia autophagy after spinal nerve ligation in rats/YAN Tingfei, SUN Jingchuan, SUN Chenxi, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2017, 27(11): 1030-1036

【Abstract】Objectives: To explore the effect of microRNA-195(miR-95) on microglia autophagy after spinal nerve ligation and its regulatory mechanism in rats. **Methods:** Thirty-two adult male SD rats were randomly divided into the spinal nerve ligation model group(SNL group) and the sham operation group(S group), with 16 rats in each group. In SNL group, L5 nerve was ligatured in each rat to prepare spinal nerve ligation model. At each time point of 1d, 3d, 5d, 10d after modeling, 4 rats in each group were executed. Microglia in spinal cord dorsal horn was separated by Percoll gradients centrifugation, real-time PCR was used to detect miR-195 expression. 12 adult male SD rats were sacrificed, microglia in spinal dorsal horn of lumbar enlargements was isolated and divided into two groups, one group with liposome transfection of miR-195 mimics

第一作者简介: 男(1989-), 在读硕士, 研究方向: 脊柱外科

电话: (021)81885637 E-mail: ytf.2011@aliyun.com

通讯作者: 史国栋 E-mail: shgd008@163.com

and the other group with transfection of reagent. In the two groups, the expression of autophagic membrane marker protein light chain 3(LC3) was detected. Then microglial cells were divided into three groups, each group contained wild type and mutant autophagy related gene 14 (ATG14) 3' untranslated region (3'UTR) reporter plasmid. HEK293 were transfected by pRL-TK plasmid miR-195 mimics and controls and cultured for 48h. The direct effect of miR-195 target was observed under fluorescent microscope, and the expression of ATG14 protein was detected in three groups. 24 healthy SD rats were sacrificed, microglia in spinal dorsal horn of lumbar enlargements was isolated and divided into three groups, which were transfected with miR-195 mimics, inhibitor and transfection reagent respectively, then cultured for 48h. The expression of ATG14 protein was detected by Western blot in the three groups. Microglial cells were divided into three groups, which were transfected with pEGFP-LC3, pEGFP-LC+miR-195 mimics and pEGFP-LC+miR-195 mimics +pCMV-ATG14, then cultured for 48h. The dot staining of autophagy was observed under fluorescence microscope. **Results:** The miR-195 expression in microglia of spinal cord dorsal horn increased obviously in the spinal nerve ligation model when compared with S group at the same time, there was significant difference between the two groups ($P<0.05$). After transfection with miR-195 analog, the expression level of LC-3 (0.61 ± 0.07) was significantly lower than that in the control group(1.21 ± 0.08). The fluorescence intensity of wild-type ATG14 3' UTR plasmid HEK293 cells was significantly lower than that in the control group (0.65 ± 0.04 vs 1.01 ± 0.01), and there was no significant change between the mutant and the control group(0.99 ± 0.03 vs 1.01 ± 0.02). The transfection of miR-195 simulant reduced autophagy level in normal microglia. Luciferase experiments showed ATG14 was the direct target of miR-195, the expression of ATG14 declined after transfection of miR-195 simulant, and rised after transfection of inhibition of miR-19. **Conclusions:** The miR-195 is highly expressed and inhibited autophagy in microglia of spinal cord dorsal horn in the spinal nerve ligation model.

[Key words] MicroRNA-195; Microglia; Autophagy associated gene 14; Autophagy; Nerve operation; Rat

[Author's address] Department of Orthopedics, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai, 200003, China

小胶质细胞是分布于神经系统的单核巨噬细胞系统成员,脊髓组织中的炎症因子主要由小胶质细胞分泌,而这些促炎因子在神经疼痛的形成和维持中发挥着重要的作用^[1]。在坐骨神经炎性病变、慢性压迫性神经损伤、部分坐骨神经结扎和脊神经结扎等多种慢性疼痛模型中,痛觉过敏的出现均伴有小胶质细胞活化水平的显著变化^[2]。近年来的研究显示,微核糖核酸(miRNAs)在中枢神经系统中广泛表达并被认为是神经免疫和神经疼痛的重要调节因子。经过前期预实验的筛查我们发现,在大鼠脊神经结扎疼痛模型中脊髓背角 miR-195 的表达显著升高,然而在该模型中 miR-195 的调控机制未见报道。通过生物信息学方法我们预测 miR-195 潜在靶点为自噬相关基因 14 (ATG14),因此推测 miR-195 可能参与了小胶质细胞自噬水平的调节。本研究旨在探讨小胶质细胞中 miR-195 对自噬水平的影响与作用机理,以深入阐明神经结扎术后持续性疼痛形成与维持的分子机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物和试剂

成年雄性 SD 大鼠购于中国科学院(上海),年龄 3~4 个月,体重 260 ± 10 g。根据实验动物研究标准的规定,在恒温 24°C 、昼夜交替环境中饲养,自由摄食、饮水。主要试剂:HEK 293 细胞购自中国医学科学院基础医学研究所基础医学细胞中心;DMEM、RPMI-1640 购自美国 Hyclone 公司;pEGFP-LC3 质粒购自 CST 公司,pCMV-ATG14 质粒由生工生物工程(上海)股份有限公司构建,本实验室扩增备用;胎牛血清购自美国 Gibco 公司;Lipofectamine™ 2000、High Capacity cDNA 逆转录试剂盒及 TaqMan miRNA 检测试剂盒购自美国 Life Technologies 公司;双荧光素酶检测试剂盒购自德国 Qiagen 公司;miRNeasy 迷你试剂盒购自美国 Promega 公司;miR-195 模拟物、抑制物及其阴性对照购自上海吉玛公司。本研究所使用的抗体均购自美国 Cell Signaling Technology 公司。ECL 化学发光试剂盒购自广州捷倍斯生物

科技有限公司; Percoll 细胞分离液购自北京索莱宝科技有限公司; 细胞滤网购自 BD Biosciences 公司。

1.2 动物模型制备

随机选取 32 只成年雄性 SD 大鼠, 按随机数字表等分为脊神经结扎模型组(SNL 组)和假手术组(S 组)。动物给予异氟醚(2.5%)麻醉后, 暴露背部脊柱, 横截移除左侧 L6。分离出 L5 段神经, 用 4-0 的丝线紧密结扎背根神经节的远端, 缝合切口。术后连续 3d 肌肉注射青霉素。假手术组给予相同的手术处理但不予神经结扎。

1.3 脊髓小胶质细胞的分离

造模后 1d、3d、5d、10d, SNL 组与 S 组均随机选取 4 只大鼠处死, 分别分离腰部膨大部位。各脊髓样本分别在 4ml 预冷的 Hanks' 液中磨碎, 用 70 μ m 的细胞滤网过滤后在 400g 离心 7min, 转移上清获得细胞悬液。向 15ml 的离心管中分别缓慢加入 3ml 75%的 Percoll, 3ml 50%的 Percoll, 3ml 5%的 Percoll 及 2ml PBS。缓慢将细胞悬液加入分离液, 10 $^{\circ}$ C 条件下 1000g 离心 20min, 在 50%和 75%分界处的细胞即为小胶质细胞。收集后用预冷的 PBS 清洗, 以含有 1% BSA 的 PBS 重悬, 采用血球计数板计算细胞密度, 并以含有 1% BSA 的 PBS 将各脊髓样本来源小胶质细胞调整至相同密度。

1.4 miR-195 表达水平的检测

等量吸取分离的两组各时间点的小胶质细胞悬液, 分别使用 miRNeasy 迷你试剂盒按照试剂盒说明提取组织总 RNA, 采用 High Capacity cDNA 逆转录试剂盒进行逆转录反应, 使用 TaqMan miRNA 检测试剂盒进行定时定量逆转录 PCR(qRT-PCR)检测, U6 作为各组样品的内参, 以 miR-195 与 U6 的比值作为该样品中 miR-195 的相对表达量。

1.5 miR-195 模拟物对 LC3 表达与分布的影响

取 12 只健康成年雄性 SD 大鼠并分离脊髓腰部膨大部位, 集中研磨并采用 Percoll 梯度离心法分离小胶质细胞, 重悬于含有 10%胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中, 等分为 2 组接种于 12 孔细胞培养板中, 即对照组和 miR-195 组, 置于 37 $^{\circ}$ C、CO₂ 体积分数为 5%、饱和湿度的细胞培养箱中培养过夜。根据 Lipofectamine™ 2000 产品说明书要求, 将 miR-195 模拟物转染至 miR-195 组

小胶质细胞中, 对照组仅加入转染试剂作为阴性对照。转染 48h 后采用 Western blot 法检测小胶质细胞自噬体膜标记蛋白 LC3 的表达水平。实验重复 3 次。另取 2 份等量的小胶质细胞悬液接种于 12 孔细胞培养板中培养过夜, 采用 Lipofectamine™ 2000 共转染 pEGFP-LC3 质粒和 miR-195 模拟物, 或仅转染 pEGFP-LC3 质粒作为阴性对照, 培养 48h 后使用荧光倒置显微镜观察 LC3 的分布。

1.6 LC3 蛋白表达量的检测

收获 1.5 中 miR-195 组与对照组小胶质细胞, 以 β -actin 为内参进行 Western blot 检测。PBS 洗涤后加入细胞裂解液于冰上涡旋裂解 30min。15000r/min 离心裂解物 15min 后收集上清液, 取 30 μ l 上述样本分别加入 4 $\times$ SDS-PAGE 上样缓冲液煮沸 5min, 上样至 120g/L SDS-PAGE 胶电泳。结束后, 将凝胶上的蛋白电转移至 PVDF 膜, 以含 50g/L 脱脂奶粉的 PBST 封闭 3h。根据分子量标记剪下 LC3 对应位置的 PVDF 膜, 分别转移至兔源抗 LC3 多克隆抗体 (1:1000), 37 $^{\circ}$ C 孵育 2h, PBST 清洗 3 次, 加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG (1:4000), 37 $^{\circ}$ C 孵育 1h, PBST 清洗 3 次, ECL 化学发光法显色, 采用胶片曝光以显示条带。

1.7 miR-195 靶基因验证

分别将含有野生型及突变型 ATG14 3'UTR 的报告基因质粒、pRL-TK 质粒、miR-195 模拟物及其对照转染入 HEK293 细胞中, 48h 后按照双荧光素酶检测试剂盒使用说明进行操作, 并在多功能酶标仪上分别检测萤火虫及海肾荧光素酶的活性。以萤火虫荧光强度与海肾荧光强度比值表示各组的相对荧光值。

1.8 miR-195 模拟物与抑制物对小胶质细胞 ATG14 蛋白表达的影响

取 24 只健康成年 SD 大鼠脊髓腰部膨大部位, 研磨并以 Percoll 梯度离心法分离小胶质细胞, 重悬于 RPMI-1640 完全培养基中备用。取部分细胞悬液于 12 孔细胞培养板中接种为 3 组, 培养过夜后采用 Lipofectamine™ 2000 分别转染 miR-195 模拟物、miR-195 抑制物或仅加入转染试剂作为阴性对照。于细胞培养箱中常规培养 48h, 采用兔源抗 ATG14 多克隆抗体 (1:1000) 进行 Western blot 检测。实验重复 3 次。

1.9 过表达 ATG14 对 miR-195 自噬抑制作用的

影响

取 1.8 中分离的部分健康大鼠小胶质细胞悬液,接种 3 组培养过夜后,分别转染 pEGFP-LC3、pEGFP-LC3+miR-195 模拟物、pEGFP-LC3+miR-195 模拟物+pCMV-ATG14,常规培养 48h,使用 2 μ g/ml DAPI 染色 10min,荧光倒置显微镜观察绿色荧光的分布并采集图像。

1.10 统计学分析

所有数据均采用 SPSS 19.0 软件进行分析,数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脊髓背角小胶质细胞 miR-195 的表达情况

造模后 1d、3d、5d、10d 时 S 组 miR-195 的表达水平无显著性差异,各时间点 SNL 组 miR-195 的表达水平均高于时间点 S 组,差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 表 1)。表明脊神经结扎是脊髓小胶质细胞中 miR-195 表达的刺激因素。

2.2 miR-195 对小胶质细胞自噬的调节作用

在转染 miR-195 模拟物的小胶质细胞中,自噬体膜标记蛋白 LC3-III/LC3-I 的比例 (0.61 ± 0.07) 较对照组 (1.21 ± 0.08) 显著性降低 (图 1a, $P < 0.05$),说明小胶质细胞自噬水平受到抑制。在荧光倒置显微镜下观察,转染 miR-195 模拟物后由 EGFP-LC3 聚集成的红色荧光斑点即自噬体数量明显减少,进一步证明 miR-195 对小胶质细胞自噬的抑制作用 (图 1b、1c)。

表 1 造模后不同时间点两组小胶质细胞中 miR-195 表达水平 ($n=4, \bar{x} \pm s$)

Table 1 The expression of miR-195 in two groups		
	对照组 S group	脊神经结扎组 SNL group
1d	0.99 $\pm$ 0.02	4.03 $\pm$ 0.13 ^①
2d	0.98 $\pm$ 0.03	4.14 $\pm$ 0.12 ^①
3d	0.99 $\pm$ 0.02	4.48 $\pm$ 0.15 ^①
4d	0.98 $\pm$ 0.04	4.92 $\pm$ 0.18 ^①

注:①与同时时间点对照组同时时间点比较 $P < 0.05$

Note: ①Compared with S group at the same time, $P < 0.05$

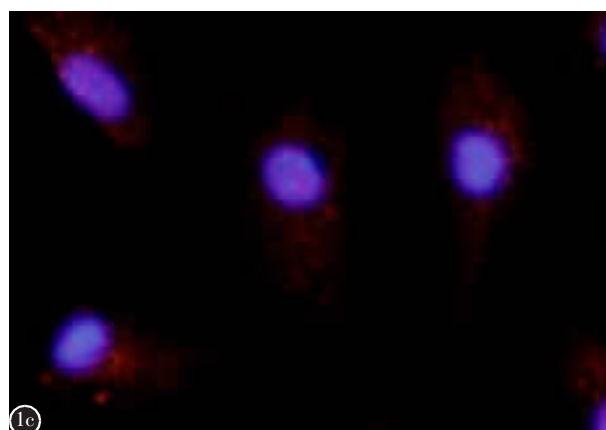
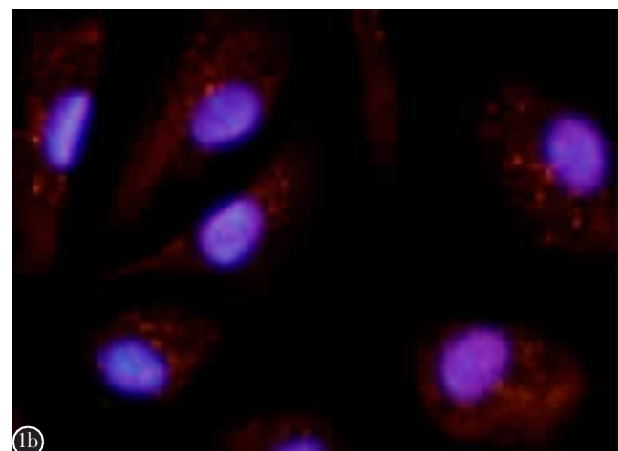
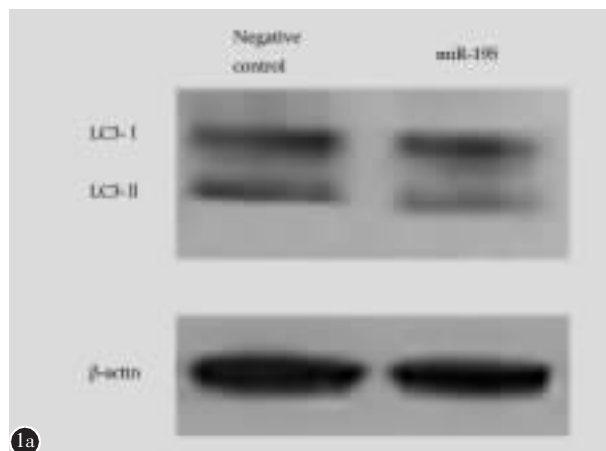


图 1 miR-195 参与调节小胶质细胞自噬 a Western blot 检测转染 miR-195 模拟物后 LC3-I、LC3-II 的表达 b 免疫荧光实验显示,小胶质细胞中 LC3 聚集为斑点状 c 给予 miR-195 模拟物后,LC3 的聚集受到抑制[DAPI(蓝色)标记小胶质细胞核,EGFP(红色)标记 LC3]

Figure 1 miR-195 participating in regulation of microglial cell autophagy **a** The ratio of LC3-II/LC3-I by Western Blot test after miR-195 stimulation was transfected **b** Immunofluorescence experiments showed that LC3 aggregated into spots in microglia **c** After giving miR-195 stimulation, observation the distribution of LC3 in microglial cell by Fluorescence Inversion Microscope

System. DAPI(blue) marking the nucleus of microglial, EGFP(red) marking LC3

2.3 miR-195 调控 ATG14 蛋白在小胶质细胞中的表达

应用 TargetScan 预测系统进行预测,发现自噬基因 ATG14 可能是 miR-195 的潜在靶点(图 2a)。miR-195 可显著抑制转染有野生型 ATG14 3'UTR 质粒细胞的荧光强度(1.01 ± 0.01 vs 0.65 ± 0.04 , $P < 0.05$),而对于转染有突变型 ATG14 3'UTR 质粒细胞的荧光强度无明显影响(1.00 ± 0.02 vs 0.99 ± 0.03 , $P > 0.05$)。提示 ATG14 可能是 miR-195 的作用靶点。将 miR-195 模拟物转染到小胶质细胞内,ATG14 蛋白的表达量(4.08 ± 0.05)较对照组(1.02 ± 0.01)显著升高($P < 0.01$,图 2b);将 miR-195 抑制物转染到小胶质细胞内,ATG14 的表达量明显下调。表明在小胶质细胞中 ATG14 蛋白的表达受 miR-195 的负调控。

2.4 miR-195 抑制小胶质细胞自噬的机制

共转染 pEGFP-LC3 与 miR-195 模拟物时,小胶质细胞自噬体数量较仅转染 pEGFP-LC3 时自噬数量降低。通过真核表达质粒 pCMV-ATG14 过表达 ATG14,可抵消 miR-195 模拟物对自噬激活的抑制(图 3)。表明 miR-195 可通过降低 ATG14 的表达从而抑制小胶质细胞自噬。

3 讨论

miRNA 是一类在细胞内起到调控作用的非编码小分子 RNA,能与靶基因的 3'UTR 结合,通过抑制翻译过程或促进靶基因 mRNA 降解来调控靶基因蛋白的表达^[4]。异常表达的 miRNA 参与多种中枢及周围神经系统的病理过程。最近的研究显示 miRNAs 在中枢神经系统中广泛表达并被认为是神经免疫和神经疼痛的重要调节因子^[5-7]。

Presneau 等^[8]发现,1 型神经纤维瘤病患者中 miR-195 的表达明显下调。我们以往的研究表明 miR-195 调节小胶质细胞在大鼠脊神经结扎模型术后痛发挥重要作用^[9]。然而对于 miR-195 活化小胶质细胞的具体机制尚未完全阐明。本研究结果显示,miR-195 在 SNL 组脊髓背角小胶质细胞的表达显著上调,miR-195 能够负向调控下游靶基因 ATG14 蛋白的表达。有研究证实,ATG14 蛋白能够通过激活 TSC1/2 复合物,从而抑制 mTOR 信号通路,继而激活细胞自噬^[10]。

自噬是细胞最基本的生理过程之一,具有维持细胞能量代谢和细胞内环境稳态的作用。在自噬过程中,自噬泡内待降解的物质被溶酶体内的酸性水解酶水解成为核酸、氨基酸、脂肪酸和糖原等小分子物质,这些小分子物质被再次释放至细胞内,参与细胞的物质再循环或细胞代谢^[10]。目前已知多种疾病都与自噬功能障碍密切相关^[12]。小胶质细胞的自噬过程参与调节神经系统免疫炎症反应。Zhou 等^[13]的研究发现缺血脑损伤后通过激活小胶质细胞自噬可抑制免疫炎症反应,抑制小胶质细胞自噬可增加损伤后炎症反应。Srivastava 等^[14]在细胞脂多糖诱导的神经疼痛模型中也观察到小胶质细胞自噬可明显减少脊髓神经元的死亡及炎症反应。这些研究均提示小胶质细胞自噬调节免疫反应起着重要作用。本研究结果表明,脊神经结扎术后脊髓背角小胶质细胞中 miR-195 表达量显著上调,并可通过抑制 ATG14 的表达抑制细胞自噬。基于细胞自噬的抗炎作用,我们推测 miR-195 在 SNL 组织中的高表达在一定程度上促进了术后神经痛的发生、发展。

小胶质细胞自噬水平在神经损伤后的持续性

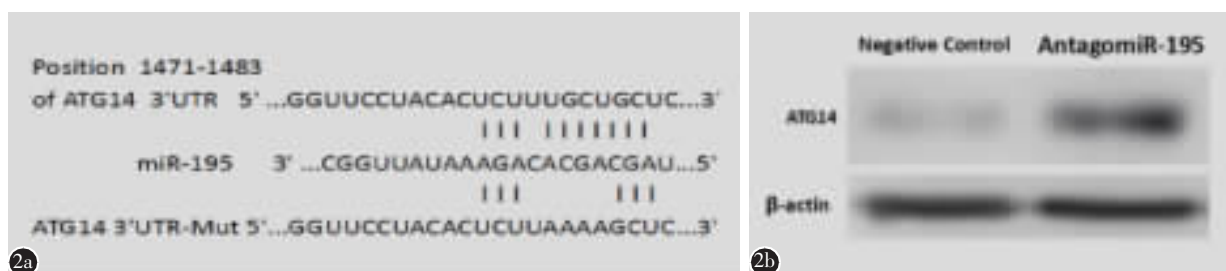


图 2 miR-195 抑制 ATG14 蛋白的表达 a miR-195 在 ATG14 3'-UTR 区位点的示意图 b 给予 miR-195 模拟物或抑制物转染至小胶质细胞 48h 后,Western blot 实验分析 ATG14 蛋白的表达

Figure 2 miR-195 restrain the expression of ATG 14 protein a position of miR-195 in ATG14 3'-UTR b 48h after transfection to microglial cell with miR-195 simulation or repressor, analysing the expression of ATG14 protein by Western blot test

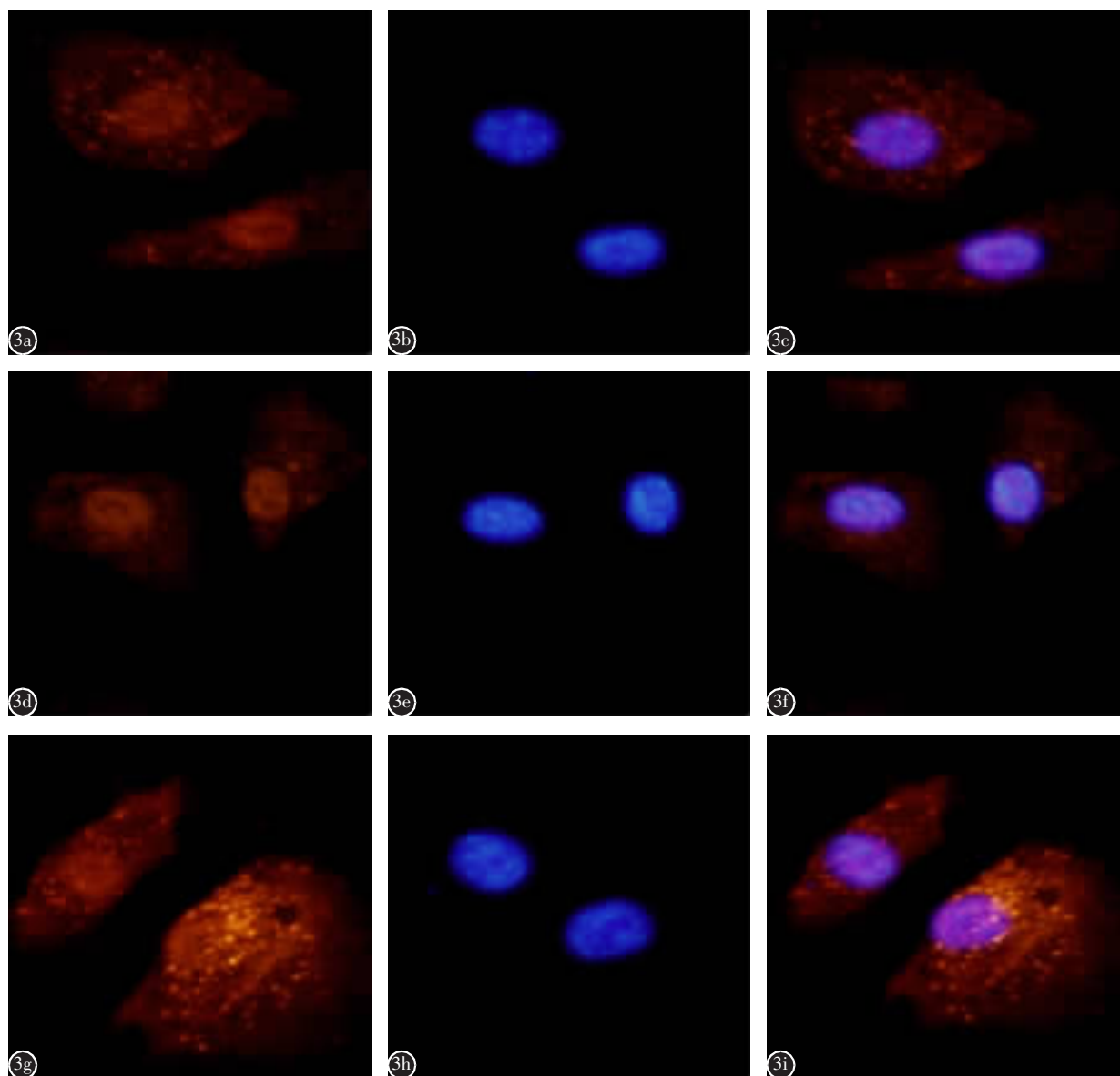


图 3 转染 pEGFP-LC3、miR-195 模拟物或 pCMV-ATG14 小胶质细胞 48h 后荧光倒置显微镜观察 EGFP-LC3 的分布 **a~c** 仅转染 pEGFP-LC3 可见细胞内存在较多红色斑点 **d~f** 同时转染 pEGFP-LC3 与 miR-195 模拟物, 红色斑点显著减少 **g~i** 转染 pEGFP-LC3 与 miR-195 模拟物的同时, 转染 pCMV-ATG14 过表达 ATG14, 红色斑点的数量增多[DAPI(蓝色)标记小胶质细胞核, EGFP(红色)标记 LC3]

Figure 3 48h after transfected with pEGFP-LC3, miR-195 simulation and pCMV-ATG14, observing the expression and distribution of EGFP-LC3 in microglial cell by Fluorescence Inversion Microscope System **a~c** Only transfection of pEGFP-LC3 showed that the cells were more red in memory **d~f** At the same time, the transfection of pEGFP-LC3 and miR-195 mimics showed a marked decrease in red spots **g~i** While pEGFP-LC3 was transfected with miR-195 analog, the number of red spots was increased by transfection of pCMV-Atg14 over ATG14. DAPI (blue) labeled microglia nucleus, EGFP (red) labeled LC3

疼痛中发挥重要作用。本研究在分子水平阐明了 miR-195 调节小胶质细胞的自噬机制, 这为研究临床术后持续性疼痛的治疗提供了新思路, 如何精确调控小胶质细胞的自噬, 使之更多地发挥神

经保护作用今后的努力方向。

4 参考文献

1. Chen JK, Li ZP, Liu YZ, et al. Activation of alpha 7 nico-

- tinic acetylcholine receptor protects mice from radiation: induced intestinal injury and mortality [J]. Radiat Res, 2014, 181(6): 666-671.
2. 宫登辉, 郑卫红, 张金芝. 异常活化的小胶质细胞与神经病理性疼痛[J]. 广东医学, 2013, 34(7): 1134-1136.
 3. Ben Sahra I, Regazzetti C, Robert G, et al. Metformin, independent of AMPK, induces mTOR inhibition and cell-cycle arrest through REDD1[J]. Cancer Res, 2011, 71(13): 4366-4372.
 4. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions[J]. Cell, 2009, 136(2): 215-233.
 5. Kosik KS. The neuronal microRNA system[J]. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(12): 911-920.
 6. Tarassishin L, Loudig O, Bauman A, et al. Interferon regulatory factor 3 inhibits astrocyte inflammatory gene expression through suppression of the proinflammatory miR-155 and miR-155[J]. Glia, 2011, 59(12): 1911-1922.
 7. Imai S, Saeki M, Yanase M, et al. Changein microRNAs associated with neuronal adaptive responses in the nucleus accumbens underneuropathic pain[J]. J Neurosci, 2011, 31(43): 15294-15299.
 8. Presneau N, Eskandarpour M, Shemais T, et al. MicroRNA profiling of peripheral nerve sheath tumours identifies miR-29c as a tumour suppressor gene involved in tumour progression[J]. Br J Cancer, 2013, 108(4): 964-972.
 9. Shi GD, Ouyang YP, Shi JG, et al. PTEN deletion prevents ischemic brain injury by activating the mTOR signaling pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 404(4): 941-945.
 10. DeYoung MP, Horak P, Sofer A, et al. Hypoxia regulates TSC1/2-mTOR signaling and tumor suppression through REDD1-mediated 14-3-3 shuttling[J]. Genes Dev, 2008, 22(2): 239-251.
 11. Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues[J]. Cell, 2011, 147(4): 728-741.
 12. Choi AM, Ryter SW, Levine B. Autophagy in human health and disease[J]. N Engl J Med, 2013, 368(19): 1845-1846.
 13. Zhou X, Zhou J, Li X, et al. GSK-3beta inhibitors suppressed neuroinflammation in rat cortex by activating autophagy in ischemic brain injury [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 411(2): 271-275.
 14. Srivastava IN, Shperdheja J, Baybis M, et al. mTOR pathway inhibition prevents neuroinflammation and neuronal death in a mouse model of cerebral palsy[J]. Neurobiol Dis, 2016, 85: 144-154.
- (收稿日期:2016-10-30 末次修回日期:2017-10-27)
(英文编审 唐翔宇/贾丹彤)
(本文编辑 卢庆霞)

消息

第五届湘雅国际脊柱外科学术大会暨第二届湘雅脊柱畸形高峰论坛通知

近年来,随着国际交流的增多,我国脊柱外科领域诊疗技术不断取得新的进步;但仍有很多问题亟待探讨解决。为交流学界最新技术成果,共磋行业热点难点,由中南大学湘雅医院和湖南省医学会脊柱外科学专业委员会主办、中南大学湘雅医院脊柱外科承办、中国残疾人康复协会肢体残疾康复专业委员会协办的第五届湘雅国际脊柱外科学术大会暨第二届湘雅脊柱畸形高峰论坛将于2017年12月8日~10日在长沙召开。

本次脊柱畸形论坛将围绕“脊柱畸形矫治的安全性探讨”这一主题,邀请多位国内外著名的脊柱矫形专家莅临讲演,结合湘雅医院脊柱外科等多年的脊柱侧凸矫治病例分享,必将精彩纷呈;更邀请到全球顶尖的脊柱肿瘤专家 Dr.Stefand Boriani 及国内多位顶级脊柱外科专家将分别就脊柱肿瘤、复杂脊柱病例的治疗策略、手术并发症的管理等,带来最权威、最前沿的学术观点和最新技术。会议详情请关注湘雅医院脊柱外科网站:www.xyspine.net。

会议地址:湖南省长沙市世纪金源大饭店。报到时间:2017年12月8日11:00-21:00。

会议注册:800元/人,住宿交通费自理。

会务联系人:郭超峰(13873167839),唐明星(15874085404),邓盎(13637484290),高琪乐(13873124934)。

会议征文:脊柱外科临床新理论、新经验、新技术及基础研究新进展;稿件通过E-mail发至xiangyaspine2016@163.com;截稿日期:2017年11月5日。

期待您的积极参与、交流,以利共同进步,造福患者!