

综述

脊髓损伤中自噬的研究进展

Research progress of autophagy in the spinal cord injury

刘方煜, 范一鸣, 张洪宇, 李 帅, 王岩松

(哈尔滨医科大学附属第一医院骨科 150000 哈尔滨市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2021.04.12

中图分类号: R683.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2021)-04-0360-06

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是常见的中枢神经系统疾病之一,在直接或间接损伤的作用下,脊髓功能障碍导致了损伤部位以下的感觉、运动及其他功能丧失。美国国家 SCI 统计中心统计,美国约有 28.8 万人患有 SCI,每年新增 SCI 病例 17000 例,其对患者身心及社会经济造成了巨大损害^[1]。根据其病理生理机制,SCI 可分为两个阶段:原发性和继发性损伤^[2]。原发性损伤包括直接的机械损伤及其造成的轴突、细胞膜及血管损伤。继发性损伤是一个复杂过程,包括了一系列生物化学和细胞事件,如神经细元和少突胶质细胞死亡、轴突损伤、兴奋性氨基酸释放、自由基形成、小胶质细胞和星形胶质细胞激活、巨噬细胞和周围免疫细胞浸润、胶质瘢痕形成等^[3]。这些延迟的损伤过程可持续发生,扩大病变面积,产生的损伤远大于原发性损伤。由于继发性损伤是一个相对漫长且可逆的过程,故针对继发性损伤的治疗一直是 SCI 治疗研究的重点。神经元和少突胶质细胞死亡是脊髓继发性损伤的重要组成部分,也是神经功能障碍的主要原因。细胞死亡的三种主要形态学类型包括凋亡、坏死和自噬性细胞死亡,凋亡及坏死在 SCI 中的作用已被广泛讨论,而自噬在 SCI 中的研究近年来逐渐成为热点。研究表明,过度自噬可能介导自噬性细胞死亡,此外,自噬还是一种重要的细胞防御和保护途径,其在 SCI 中的作用尚不明确,笔者就自噬与 SCI 的关系综述如下。

1 自噬及相关概念

1.1 自噬

自噬是一种依赖溶酶体的细胞分解代谢途径^[4],最初被描述为细胞在营养缺乏条件下的反应,但现在它被发现与细胞代谢、生长控制、细胞存活和细胞死亡之间的平衡、免疫监控、退化和老化等有关,在维持细胞稳态中起重要作用^[5]。到目前为止,已有三种不同类型的自噬被描述,包括巨自噬、微自噬和分子伴侣介导的自噬^[6]。巨自噬是自噬的特征表现形式,因此,一般情况下我们所说的自噬指的

是巨自噬。虽然生理水平的自噬持续进行,但在环境应激、营养缺乏或急性细胞损伤等不利条件下,它会被进一步激活。自噬可以分为几个阶段:自噬起始、自噬体扩张和成熟、自噬体降解和回收^[7]。吞噬泡的形成标志着自噬起始,随后,受损的细胞器和一些有毒的细胞质成分被吞噬泡获取,吞噬泡不断延长至完全隔离,形成一个典型的双膜囊结构,也就是自噬体,自噬体在细胞内运输并与溶酶体融合形成自噬溶酶体,自噬体内膜和自噬体中细胞质来源物质被溶酶体水解酶降解^[8],这个过程称为自噬通量,反映了自噬介导的物质获取到降解的动态过程。

1.2 自噬通量及自噬标志物

自噬通量的完成需要自噬相关(ATG)蛋白家族各成员的协调合作^[9]。自噬激活后,Unc-51 样自噬激活激酶 1(unc-51 like autophagy activating kinase 1,ULK1)磷酸化并与 ATG13、ATG101 和 FIP200 形成复合物,介导吞噬泡的形成。随后,ULK1 复合物诱导了 beclin 1、ATG14、VPS15 与 VPS34 结合,形成 PI3K III 复合物,继而介导自噬体的形成^[10]。自噬体的扩张依赖于 ATG12-ATG5-ATG16L 系统和磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)-微管相关蛋白 1 轻链 3(microtubule-associated protein 1 light chain 3 β , MAP1LC3B, 简称 LC3)系统^[10],前者位于自噬体外膜上,通过 PE 促进 LC3 的脂化。首先,ATG4 裂解 LC3 前体,形成 LC3 I。随后,LC3 I 被 ATG7 和 ATG3 处理,与 PE 偶联形成 LC3 II。LC3 II 在自噬体膜上积累。此外,聚集的蛋白和受损的细胞器可形成一种泛素化结构,被自噬适配器 sequestosome 1(SQSTM1,也被称为 p62)获取,p62 可与 LC3 II 结合,介导底物与自噬体的结合,随后 p62 与运载物通过自噬途径降解^[11]。因此,自噬标志物 LC3 II、beclin 1 及 p62 可用来评估自噬通量水平,LC3 II、beclin 1 水平升高及 p62 水平降低反映了高自噬通量水平,反之表示低自噬通量水平^[12]。

1.3 自噬的信号通路

1.3.1 雷帕霉素靶蛋白(mTOR)通路 mTOR 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,mTOR 通路是自噬的主要调节通路。能量、压力、生长因子等信号均可以调节其活性。mTOR 参与 mTOR 复合物 1(mTOR complex 1, mTORC1)和 mTOR

第一作者简介:男(1995-),硕士研究生在读,研究方向:脊柱外科
电话(0451)85552026 E-mail:lfy170507@163.com

通讯作者:王岩松 E-mail:wys1975@163.com

复合物 2(mTOR complex 2, mTORC2)的形成,前者参与调节细胞的生长、增殖、能量稳态及自噬等生理活动,后者主要参与形成细胞骨架及促进细胞生存^[13]。在营养充足的情况下, mTORC1 可与 ULK1 上的第 757 位丝氨酸结合,抑制 ULK1 复合物的形成,达到抑制自噬的效果。反之,在能量不足或雷帕霉素作用时,其活性降低,自噬激活^[14]。

1.3.2 磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)通路 PI3K 通路是调控 mTORC1 的主要级联信号通路,其可分成三类,不同类型的 PI3K 有不同的自噬调控作用。如前文所说, PI3K III 复合物在自噬起始过程中发挥重要作用,当 III 型 PI3K 被激活后 PI3K III 复合物增多,自噬激活。然而, I 型 PI3K 被激活后可产生第二信使 PI-3,4,5-三磷酸(PIP3), PIP3 可磷酸化 AKT 蛋白使其活化,进而激活 mTORC1^[15],抑制自噬。

1.3.3 腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)通路 AMPK 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,由三个亚基组成: α 催化亚基及 β 和 γ 调节亚基^[16]。研究表明, AMPK 的活性受细胞内 AMP 影响, AMP 可与 γ 亚基结合,促进 α 亚基磷酸化,进而激活 AMPK,故 AMPK 活性受细胞内能量水平调控。正常细胞中 AMP 含量少, AMPK 处于无活性状态,能量缺乏时,腺苷酸激酶激活, ADP 向 ATP 转换,同时产生大量 AMP,激活 AMPK,抑制 mTORC1 活性,诱导自噬。同时,活化的 AMPK 可直接诱导 ULK1 磷酸化从而激活自噬^[17]。

1.3.4 其他自噬的分子调控机制 除了上述叙述的信号通路,还有 beclin1 信号通路^[18]、HIF-1 信号通路^[19]、NF- κ B 信号通路^[20]和 p53 信号通路^[21]等,各信号通路间亦存在复杂交联,各通路间的隐藏联系仍需不断研究。

2 不同 SCI 模型中自噬相关分子的表达

在不同 SCI 模型中,自噬表达情况不尽相同。

2.1 脊髓切割损伤模型

Kanno 等^[22]通过建立小鼠脊髓半切模型对 SCI 后自噬的表达情况进行研究。通过手术切除小鼠椎板,充分暴露脊髓,用手术刀于右侧切开暴露的脊髓形成半切损伤,后使用免疫组织化学和 Western blot 检测 LC3 表达。免疫组化结果显示损伤脊髓中 LC3 阳性细胞数从 4h 开始增加,在第 3 天达到高峰,至少持续 21d。Western blot 检测结果显示损伤脊髓中 LC3 II 蛋白表达水平明显升高。在 Li 等^[23]建立的大鼠脊髓全切模型中,损伤脊髓中 beclin 1 蛋白明显增加,于第 3 天达到高峰且至少持续 21d。同时,透射电镜结果显示损伤后自噬体积累。此外,在半切模型中, p62 水平在 SCI 后 4h 下降,于第 3 天达到最低点,并持续至少 21d^[24,25],说明脊髓切割损伤后自噬通量增强。

2.2 脊髓挫伤模型

挫伤是造成 SCI 的重要原因之一,在实验研究中,研究者们充分暴露脊髓,从特定高度扔下一根特定重量的棒,模拟施加在脊髓上造成挫伤的瞬时力,而挫伤的严重程度取决于棒材的重量和掉落高度。目前被广泛接受的

是,在大鼠模型中,从 25mm 的高度落下 10g 的重量会导致严重程度的 SCI^[26]。Hao 等^[27]研究表明,严重脊髓挫伤后,病变部位 beclin 1 和 LC3 II 的表达水平在 1h 开始变化, 2h 达到峰值, 24h 逐渐下降到接近正常水平。同时,在同一挫伤模型中, p62 水平在损伤后立即升高,在第 1 天达到峰值,第 7 天开始下降,但在挫伤后至少 5 周内仍高于基线水平^[28],说明严重挫伤后自噬通量阻断。

2.3 脊髓压迫损伤模型

夹压法通常被用来建立脊髓压迫损伤模型,暴露脊髓后并应用血管夹,产生一定的力,使整个脊髓背腹封闭一段时间,模拟压迫性 SCI,压迫损伤的严重程度取决于血管夹的力和压迫时间。在脊髓压迫损伤的自噬研究中,我们发现 SCI 后病变脊髓中 LC3 II/LC3 I 和 beclin 1 的表达显著升高^[29]。然而,自噬通量通畅与否似乎与损伤严重程度有关。研究表明用三种不同的夹子(3、15、30g)以不同的闭合压力压迫脊髓 1min 可分别构建轻度、中度和重度脊髓压迫损伤模型。Zhang 等^[30]研究表明,重度压迫损伤后,病变处 p62 表达水平升高。在 Zhou 等^[29]的相对中度压迫损伤模型(15g·1min)中, p62 在病变处中表达降低。以上结果说明重度的压迫损伤可能导致自噬通量阻断,而中度的压迫损伤可能导致自噬通量增强。

2.4 脊髓缺血再灌注损伤模型

脊髓缺血再灌注损伤是一种典型的非创伤性 SCI,指的是脊髓缺血后再灌注并不改善损伤脊髓的神经功能,反而进一步加重了脊髓的神经功能损伤,甚至导致不可逆的神经元死亡^[31],这可能是因为小胶质细胞和星形胶质细胞的激活及血脊髓屏障破坏。脊髓缺血再灌注损伤根据病程可分为缺血期和再灌注期,既往研究表明缺血期长短对其自噬表达有显著影响。Fang 等^[32]通过夹紧大鼠主动脉弓 14min 建立脊髓缺血再灌注损伤模型,发现 LC3 II/LC3 I 和 beclin 1 的表达增加,并在 8h 和 72h 分别达到 2 次高峰,然后缓慢下降至基线水平。然而, Wu 等^[33]阻断胸主动脉弓 10min 建立缺血再灌注损伤模型, 24h 后进行自噬测定,结果显示 LC3 II 阳性细胞以及 LC3 II 和 beclin 1 的表达增加, p62 阳性细胞及 p62 表达降低,表明了自噬通量增强,同时,在 Xiong 等^[19]的研究中,胸主动脉被阻断 60min 也出现了相似的结果。因此,在脊髓缺血再灌注损伤模型中,自噬通量随时间的变化趋势与缺血期长短的关系需进一步研究。

尽管自噬通量在脊髓缺血再灌注损伤模型中的表达尚待进一步研究,但自噬通量在不同类型 SCI 中的进展似乎是不同的。脊髓切割损伤时自噬通量增强,而严重挫伤时自噬通量被阻断。在压迫性损伤中,自噬通量的结果并不一致。重度压迫后自噬通量阻断,适度压迫后增强。损伤的严重程度可能影响 SCI 中自噬通量的激活或阻断。解释这些结果的机制还需要进一步研究。

3 SCI 后脊髓中不同细胞的自噬表达

自噬不仅在不同 SCI 模型中具有差异,越来越多的证据表明,SCI 后不同类型神经细胞也会出现特异性自噬表达变化。

神经元是中枢神经系统的基本单位,在继发性 SCI 中,神经元细胞死亡和轴突损伤是导致神经功能障碍的重要原因。同时,SCI 后神经元自噬改变最为常见。在脊髓挫伤模型中,神经元自噬的变化与神经元亚型有关。与背角感觉神经元相比,腹角运动神经元中 LC3 和 p62 的积累更多,表明运动神经元可能更容易表现自噬通量的阻断^[34]。少突胶质细胞(OLs)是中枢神经系统的髓鞘化细胞,其主要功能是隔离轴突并起支持作用。在 OLs 中,吞噬泡和自噬体的积累可在 SCI 后 3~7d 内观察到^[35]。在大鼠脊髓挫伤模型中,脊髓组织损伤 8d 后在其纯化的髓鞘部分发现了自噬相关蛋白的表达,包括 LC3 II、Atg5 和 beclin 1^[36]。同时,SCI 后 3d 时 OLs 中 p62 表达增加^[36],说明了 SCI 后 OLs 中自噬通量阻断。小胶质细胞是在中枢神经系统内定居的吞噬细胞,研究表明,小胶质细胞在 SCI 后被激活,是继发性 SCI 炎症反应的主要驱动因素之一。SCI 后,小胶质细胞中可见自噬标记物 LC3 II 和 beclin 1 及 p62 增加^[37],表明自噬通量阻断。星形胶质细胞广泛存在于中枢神经系统中,可形成血脑屏障、调节突触功能,对神经元起营养和保护作用。研究报道,SCI 后星形胶质细胞被激活并变得肥大,且在脊髓挫伤模型中,反应性星形胶质细胞在损伤后第 7 天可观察到吞噬泡和自噬体的积累。然而,与其他类型的细胞不同,这是自噬启动增加而不是自噬通量阻断所致^[34]。目前我们对自噬在星形胶质细胞中的作用及其机制所知甚少,仍需进一步研究。

4 SCI 后自噬通量变化的可能机制

4.1 溶酶体损伤

正如前文所述,自噬是依赖于溶酶体的细胞代谢途径,最近有报道称,SCI 后,组织蛋白酶 D(CTSD)水平和活性降低以及 CTSD 阳性溶酶体数量减少^[37],提示 SCI 可能导致溶酶体损伤和功能障碍,从而导致自噬通量的阻断。SCI 后溶酶体是如何受损的尚不清楚,除了机械损伤导致的溶酶体直接破坏之外,溶酶体膜通透性改变也可导致溶酶体功能障碍^[38],潜在的机制包括促凋亡蛋白 Bax 的通道形成以及钙蛋白酶介导的伴侣热休克蛋白 HSP70 的裂解和抑制,诱发了溶酶体膜失稳^[39]。

4.2 活性氧调控

另一个可能导致 SCI 后自噬通量改变的因素是活性氧(ROS)。ROS 在不同的水平和环境中对自噬可有不同的调节作用。例如,ROS 可以通过氧化还原敏感介质如 ATG4 直接激活自噬,也可以通过自噬上游调控途径 AMPK 间接激活^[40]。另一方面,过量的 ROS 可以通过 mTOR 途径抑制自噬。氧化条件下的 HSP7 可发生羧基化,在钙蛋白酶作用下更容易裂解^[41],进而影响溶酶体膜通透性。另外,溶酶体膜可能直接受到氧化损伤^[42]。因此,根据

损伤的水平和机制,ROS 可能参与自噬通量的激活和阻断。

5 自噬在 SCI 中的作用

5.1 自噬可能的神经保护作用

自噬在维持细胞稳态中起着至关重要的作用,自噬缺陷可扰乱蛋白质稳态,导致神经元细胞死亡、轴突变性和突触功能障碍,也可诱发神经退行性疾病^[43]。所以,上调自噬水平被认为是一种潜在的治疗策略,在临床前和临床研究中都显示了可观的前景。如今,许多动物模型研究表明,在 SCI 过程中,激活自噬对保护神经细胞和促进运动功能恢复至关重要。雷帕霉素是一种抗真菌药物,可抑制 mTOR 通路,增加自噬体的形成,从而激活自噬过程,故常用作自噬激活剂^[44]。3-甲基腺嘌呤(3-MA)可抑制自噬体的形成,作为一种有效的自噬抑制剂被广泛应用^[45]。Tang 等^[25]研究表明在大鼠 SCI 模型中,雷帕霉素可显著提高损伤部位自噬标记物 LC3 II 和 beclin 1 水平并可降低 p62 的表达,脊髓中 LC3 II 阳性的神经元数量也随时间升高。同时,损伤部位抗凋亡蛋白 Bcl-2 和促凋亡蛋白 Bax 表达分别上调和下调。此外,给予雷帕霉素可使受伤大鼠的 Basso、Beattie 和 Bresnahan 评分升高,表明运动功能恢复良好。相比之下,使用自噬抑制剂 3-MA 处理大鼠的结果与使用雷帕霉素处理的大鼠相反。同时,Wang 等^[46]通过质粒转染调控 beclin 1 的表达,结果表明过表达 beclin 1 的神经元细胞在机械损伤时 LC3 II/LC3 I 转换更大,细胞活力更强,凋亡水平更低,Bcl-2 表达更高,而 beclin 1 敲低的神经元表现出几乎相反的效果。这些研究表明自噬在 SCI 后存在神经保护作用,其潜在机制可能是 SCI 导致线粒体、溶酶体和过氧化物酶体等细胞成分受损,促进氧化应激,增加自噬有助于消除这些受损细胞器,保护细胞免受进一步损伤。自噬还可以清除损伤后产生的有毒泛素化蛋白聚集物,减少细胞凋亡并为创伤后恢复过程提供必要的材料和能量。同时,研究表明自噬激活可促进小胶质细胞向 M2 极化并抑制其向 M1 极化^[47],从而保护神经元细胞免受凋亡。此外,自噬激活可稳定微管并参与轴突的再生^[48,49]。

5.2 自噬可能的神经损害作用

5.2.1 自噬性细胞死亡 自噬是中枢神经系统在正常和应激条件下维持细胞稳态的一个必要过程,其不仅参与蛋白质合成和降解之间的平衡,而且参与细胞死亡的执行。自噬性细胞死亡最早在脑缺血、外伤性脑损伤、肾缺血和再灌注损伤等多种疾病中被发现^[50],在一些 SCI 实验研究中,使用药物激活自噬不仅没有起到细胞保护作用,反而起到了相反的效果^[32],说明过强的自噬可能通过过度的自我消化促进细胞死亡。同时,在一些 SCI 动物模型中,抑制自噬被证明是有益处的。Zhang 等^[51]在体内和体外研究了碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)的保护作用,在此研究中,bFGF 减低了自噬蛋白

LC3 II 水平,增加了 p62 水平,抑制了大鼠 SCI 神经元凋亡,促进了脊髓功能恢复,且自噬激活剂雷帕霉素联合治疗可减弱 bFGF 的保护作用,说明 bFGF 在 SCI 恢复中的作用与抑制过度自噬有关^[51]。同时,研究表明,在 SCI 伤口附近皮下注射高剂量雷帕霉素溶液(4mg/kg/d)会加重 SCI 水平^[29]。综上所述,过度自噬可能会诱导细胞死亡,加重 SCI。

5.2.2 自噬通量阻断 除了过度自噬可能介导的自噬性细胞死亡之外,目前的研究者们提出一个新的观点,认为自噬通量阻断可促进神经细胞死亡,继而加重 SCI。正如我们先叙述,自噬通量在不同类型 SCI 中的进展是不同的,中度损伤后自噬通量激活,重度损伤后自噬通量阻断。研究表明在自噬通量阻断的 SCI 模型中,自噬可能介导神经元死亡。在 Bisicchia 等^[52]建立的 SCI 模型中可观察到 LC3 阳性的自噬体在神经元中积累,同时 LC3II/LC3I 与 p62 的表达增加,这说明了这种积累是自噬体清除率降低引起的,自噬抑制剂 3-MA 可减少自噬体的形成,减弱退行性变和改善自发功能恢复。此外,Zhang 等^[53]在大鼠 SCI 模型中发现自噬体数量和 LC3 II、beclin 1 表达增加,p62 和泛素化蛋白在 SCI 组织中积累,提示自噬通量阻断。使用二甲双胍处理可减少 p62 和泛素化蛋白的积累,并可抑制神经元凋亡,促进功能恢复。而氯喹阻断自噬通量减弱了二甲双胍对 SCI 的凋亡抑制和功能恢复作用,提示二甲双胍对 SCI 的保护作用是通过维持自噬通量通畅实现的。以上研究说明了自噬通量阻断与神经元的死亡和较差的功能恢复密切相关,其潜在机制正被广泛研究。自噬在内质网(ER)应激中被激活并对内质网应激起到拮抗作用,达到维持内稳态的作用^[54]。相反,自噬通量阻断会加剧内质网应激,增强内质网应激诱导的细胞凋亡^[54]。SCI 可产生大量 ROS 并可导致溶酶体功能障碍,导致自噬通量阻断,加重内质网应激,转录因子 E3(TFE3)水平与 ROS 水平呈负相关,激活 TFE3 可改善自噬通量阻断^[55],减轻内质网应激,减少神经细胞凋亡。同时,SCI 后自噬通量阻断可导致损伤线粒体的积累,诱发细胞凋亡。此外,研究表明 ULK1 是 SCI 后轴突变性的重要靶点,ULK1 积累可增加损伤后轴突变性^[56]。同时,自噬体可以作为装配坏死体复合物的平台,包括 RIPK1、RIPK3 和 ATG5^[57]。因此,SCI 后自噬体的积累也可能导致坏死的发生。

6 总结与展望

如今,关于自噬在 SCI 中的作用已经取得了一定的研究进展。正如上述所说,自噬的时间模式、激活和功能等方面的差异可能与 SCI 的类型和严重程度有关,重度损伤导致自噬通量阻断,中度损伤导致 SCI 后自噬通量增强。同时,神经元细胞和各种神经胶质细胞在 SCI 后的自噬表达情况也不尽相同。这种差异性表达使得自噬在 SCI 过程中既有有益作用,又有有害作用。然而,为了进一步明确自噬在 SCI 中的作用,我们还需要进行大量的工作。首先,自噬

通量是一个动态过程,其可能在 SCI 的不同阶段具有差异性表达,故建立一个自噬通量的动态观察体系在探究及调节自噬作用中是极其重要的。其次,目前大多数被认为可通过调节自噬治疗 SCI 的药物是非特异性的,例如前文提及的二甲双胍及 bFGF,其对自噬的作用可能是通过体内一系列级联反应反馈调节的。因此,如何特异性调节自噬可能是后续研究需要解决的。此外,正如前文提及,自噬作为一种细胞稳态机制,自噬缺陷可诱导神经退行性疾病,过度自噬可激活自噬性细胞死亡,自噬似乎在一定的区间内才能发挥有益作用,而这个区间如何定量,之前的研究里对自噬的调节作用是否是将自噬水平调整到这个有益区间内,这仍需要进一步研究。总而言之,虽然自噬在 SCI 中作用机制需要进一步探讨,但是自噬为我们治疗 SCI 提供了新的思路。在不同的 SCI 类型中通过特异性调节自噬,维持细胞所需的自噬水平,保持自噬通量通畅,维持细胞稳态,为我们治疗 SCI 提供了新的靶点。

7 参考文献

1. Wood-Dauphinée S, Exner G, Bostanci B, et al. Quality of life in patients with spinal cord injury: basic issues, assessment, and recommendations[J]. *RestorNeurol Neurosci*, 2002, 20(3-4): 135-149.
2. Venkatesh K, Ghosh SK, Mullick M, et al. Spinal cord injury: pathophysiology, treatment strategies, associated challenges, and future implications[J]. *Cell Tissue Res*, 2019, 377(2): 125-151.
3. Rowland JW, Hawryluk GW, Kwon B, et al. Current status of acute spinal cord injury pathophysiology and emerging therapies: promise on the horizon[J]. *Neurosurg Focus*, 2008, 25(5): E2.
4. Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, et al. Autophagy fights disease through cellular self-digestion[J]. *Nature*, 2008, 451(7182): 1069-1075.
5. Parzych KR, Klionsky DJ. An overview of autophagy: morphology, mechanism, and regulation[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 20(3): 460-473.
6. 李学钊, 祁全. 自噬及其在中枢神经系统损伤修复中作用的研究进展[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2011, 21(5): 412-415.
7. Nikolettou V, Papandreou ME, Tavernarakis N. Autophagy in the physiology and pathology of the central nervous system[J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22(3): 398-407.
8. Noda NN, Inagaki F. Mechanisms of autophagy[J]. *Annu Rev Biophys*, 2015, 44: 101-122.
9. Galluzzi L, Bravo-San Pedro JM, Blomgren K, et al. Autophagy in acute brain injury[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2016, 17(8): 467-484.
10. Kaur J, Debnath J. Autophagy at the crossroads of catabolism and anabolism[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2015, 16(8): 461-472.
11. Narendra D, Kane LA, Hauser DN, et al. p62/SQSTM1 is

- required for Parkin-induced mitochondrial clustering but not mitophagy; VDAC1 is dispensable for both [J]. *Autophagy*, 2010, 6(8): 1090–1106.
12. 周凯亮, 张小磊, 吴凯, 等. 细胞自噬在脊髓损伤中作用的研究进展[J]. *中国骨伤*, 2015, 28(8): 695–698.
 13. 李肃, 孙海明, 孙冬琳, 等. AMPK-mTOR-ULK1/2 信号通路 与自噬[J]. *国际遗传学杂志*, 2017, 40(1): 39–44.
 14. Jiang J, Dai J, Cui H. Viteixin reverses the autophagy dys- function to attenuate MCAO-induced cerebral ischemic stroke via mTOR/ULK1 pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 99: 583–590.
 15. Carloni S, Girelli S, Scopa C, et al. Activation of autophagy and Akt/CREB signaling play an equivalent role in the neuroprotective effect of rapamycin in neonatal hypoxia – ischemia[J]. *Autophagy*, 2010, 6(3): 366–377.
 16. Jiang S, Li T, Ji T, et al. AMPK: Potential Therapeutic Target for Ischemic Stroke[J]. *Theranostics*, 2018, 8(16): 4535–4551.
 17. Alers S, Löffler AS, Wesselborg S, et al. Role of AMPK-mTOR-Ulk1/2 in the regulation of autophagy: cross talk, shortcuts, and feedbacks[J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(1): 2–11.
 18. Kang R, Zeh HJ, Lotze MT, et al. The Beclin 1 network regulates autophagy and apoptosis [J]. *Cell Death Differ*, 2011, 18(4): 571–580.
 19. Xiong Y, Xia Y, Deng J, et al. Direct peritoneal resuscitation with pyruvate protects the spinal cord and induces autophagy via regulating PHD2 in a rat model of spinal cord ischemia-reperfusion injury[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 1–15. doi: 10.1155/2020/4909103.
 20. 宋永嘉, 宋敏, 巩彦龙. 自噬通过 BDNF/TrkB 信号通路对脊 髓损伤的保护作用[J]. *生命的化学*, 2020, 40(2): 211–215.
 21. Gabryel B, Kost A, Kasprowska D. Neuronal autophagy in cerebral ischemia: a potential target for neuroprotective strategies[J]. *Pharmacol Rep*, 2012, 64(1): 1–15.
 22. 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): 1427–1434.
 23. 李海艳, 王永为, 孙淑红, 等. 大鼠脊髓损伤后不同时间自 噬相关蛋白 beclin-1 和神经元超微结构的变化[J]. *解剖学杂 志*, 2016, 39(2): 188–191.
 24. 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.
 25. 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.
 26. Agrawal G, Kerr C, Thakor NV, et al. Characterization of graded multicenter animal spinal cord injury study contusion spinal cord injury using somatosensory-evoked potentials [J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2010, 35(11): 1122–1127.
 27. 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(4): 484–492.
 28. 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.
 29. Zhou KL, Zhou YF, Wu K, et al. Stimulation of autophagy promotes functional recovery in diabetic rats with spinal cord injury[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 17130. doi: 10.1038/srep17130.
 30. Zhang D, Xuan J, Zheng BB, et al. Metformin improves functional recovery after spinal cord injury via autophagy flux stimulation[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(5): 3327–3341.
 31. Wang B, Zhu Q, Man X, et al. Ginsenoside Rd inhibits apoptosis following spinal cord ischemia/reperfusion injury[J]. *Neural Regen Res*, 2014, 9(18): 1678–1687.
 32. 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.
 33. Wu C, Xu H, Li J, et al. Baicalein attenuates pyroptosis and endoplasmic reticulum stress following spinal cord ischemia-reperfusion injury via autophagy enhancement [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 1076. doi: 10.3389/fphar.2020.01076.
 34. Munoz-Galdeano T, Reigada D, Del ÁÁ et al. Cell specific changes of autophagy in a mouse model of contusive spinal cord injury[J]. *Front Cell Neurosci*, 2018, 12: 164. doi: 10.3389/fncel.2018.00164.
 35. 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.
 36. Saraswat Ohri S, Bankston AN, Mullins SA, et al. Blocking autophagy in oligodendrocytes limits functional recovery after spinal cord injury[J]. *J Neurosci*, 2018, 38(26): 5900–5912.
 37. 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.
 38. Gómez-Sintes R, Ledesma MD, Boya P. Lysosomal cell death mechanisms in aging [J]. *Ageing Research Reviews*, 2016, 32: 150–168.
 39. Ray SK. Modulation of autophagy for neuroprotection and functional recovery in traumatic spinal cord injury[J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15(9): 1601–1612.
 40. Zmijewski JW, Banerjee S, Bae H, et al. Exposure to hydrogen peroxide induces oxidation and activation of AMP-activated protein kinase[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(43): 33154–33164.

- 负压封闭引流治疗脊柱术后早发性感染[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2015, 25(12): 1123-1125.
17. Janssen DMC, Maud K, Jan G, et al. A retrospective analysis of deep surgical site infection treatment after instrumented spinal fusion with the use of supplementary surgical site antibiotic carriers[J]. J Bone Joint Infect, 2018, 3(2): 94-103.
 18. Khanna K, Valone F, Tenorio A, et al. Local application of vancomycin in spine surgery does not result in increased vancomycin-resistant bacteria-10-year data[J]. Spine Deform, 2019, 7(5): 696-701.
 19. Chotai S, Wright P, Hale A, et al. Dose intrawound vancomycin application during spine surgery create vancomycin-resistant organism [J]. Neurosurgery, 2017, 80(5): 746-753.
 20. Watkins RR, Bonomo RA. Overview: global and surgical site impact of antibiotic resistance [J]. Infect Dis Clin N Am, 2016, 30(2): 313-322.
 21. 曹峥, 侯树勋. 骨科局部应用抗生素对局部细胞的作用[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(9): 1696-1700.
 22. Abadul-Jabbar A, Berven S, Hu S, et al. Surgical site infections in spine surgery: identification of microbiologic and surgical characteristics in 239 cases[J]. Spine, 2013, 38(22): E1425-1431.
 23. Qin CH, Zhang HA, Chee YH, et al. Comparison of the use of antibiotic-loaded calcium sulphate and wound irrigation-suction in the treatment of lower limb chronic osteomyelitis [J]. Injury, 2019, 50(2): 508-514.
 24. 刘少强, 齐强, 陈仲强, 等. 脊柱术后手术部位感染 67 例临床分析[J]. 中华外科杂志, 2016, 54(07): 523-527.
 25. Veerachamy S, Yarlagadda T, Manivasagam G, et al. Bacterial adherence and biofilm formation on medical implants: a review[J]. Proc Inst Mech Eng H, 2014, 228(10): 1083-1099.
- (收稿日期: 2020-06-10 末次修回日期: 2021-01-29)
(本文编辑 李伟霞)

(上接第 364 页)

41. Sarkar S, Korolchuk VI, Renna M, et al. Complex inhibitory effects of nitric oxide on autophagy[J]. Mol Cell, 2011, 43(1): 19-32.
 42. 刘源, 王蓉. 自噬相关机制在颅脑创伤中的研究进展[J]. 首都医科大学学报, 2016, 37(6): 794-798.
 43. 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.
 44. 李喜功, 陆洋, 林向进, 等. 雷帕霉素增强自噬表达对大鼠急性脊髓损伤后神经细胞凋亡影响的实验研究[J]. 中国科技论文, 2018, 13(6): 621-625.
 45. 封秀梅, 许明敏, 黄辰, 等. 自噬抑制剂 3-MA 在神经系统疾病中的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(8): 129-134.
 46. 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.
 47. Wang C, Wang Q, Lou Y, et al. Salidroside attenuates neuroinflammation and improves functional recovery after spinal cord injury through microglia polarization regulation[J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(2): 1148-1166.
 48. Ko SH, Apple EC, Liu Z, et al. Age-dependent autophagy induction after injury promotes axon regeneration by limiting NOTCH[J]. Autophagy, 2020, 16(11): 2052-2068.
 49. He M, Ding Y, Chu C, et al. Autophagy induction stabilizes microtubules and promotes axon regeneration after spinal cord injury[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113(40): 11324-11329.
 50. Rami A, Langhagen A, Steiger S. Focal cerebral ischemia induces upregulation of Beclin 1 and autophagy-like cell death[J]. Neurobiol Dis, 2008, 29(1): 132-141.
 51. Zhang HY, Wang ZG, Wu FZ, et al. Regulation of autophagy and ubiquitinated protein accumulation by bFGF promotes functional recovery and neural protection in a rat model of spinal cord injury[J]. Mol Neurobiol, 2013, 48(3): 452-464.
 52. Bisicchia E, Latini L, Cavallucci V, et al. Autophagy inhibition favors survival of rubrospinal neurons after spinal cord hemisection[J]. Mol Neurobiol, 2017, 54(7): 4896-4907.
 53. Kouroku Y, Fujita E, Tanida I, et al. ER stress (PERK/eIF2alpha phosphorylation) mediates the polyglutamine-induced LC3 conversion, an essential step for autophagy formation[J]. Cell Death Differ, 2007, 14(2): 230-239.
 54. González-Rodríguez A, Mayoral R, Agra N, et al. Impaired autophagic flux is associated with increased endoplasmic reticulum stress during the development of NAFLD [J]. Cell Death Dis, 2014, 5: e1179.
 55. Zhou K, Zheng Z, Li Y, et al. TFE3, a potential therapeutic target for Spinal Cord Injury via augmenting autophagy flux and alleviating ER stress [J]. Theranostics, 2020, 10(20): 9280-9302.
 56. Vahsen BF, Ribas VT, Sundermeyer J, et al. Inhibition of the autophagic protein ULK1 attenuates axonal degeneration in vitro and in vivo, enhances translation, and modulates splicing[J]. Cell Death Differ, 2020, 27(10): 2810-2827.
 57. Basit F, Cristofanon S, Fulda S. Obatoclox (GX15-070) triggers necroptosis by promoting the assembly of the necrosome on autophagosomal membranes [J]. Cell Death Differ, 2013, 20(9): 1161-1173.
- (收稿日期: 2020-10-11 修回日期: 2021-02-01)
(本文编辑 彭向峰)