·讲座·

急性脊髓损伤与基因表达(一)

赵永青, 韩凤岳
(中国中医研究院骨伤科研究所, 北京 100700)

随着分子生物学特别是基因学技术的不断发展, 许多实验室利用免疫组化法、原位杂交技术、PCR 技术和基因芯片等先进的技术方法已经证实, 在急性脊髓损伤后, 有多个基因家族的近 200 个基因的表达和调控发生变化。这些变化参与了脊髓损伤后的一系列的病理、修复和再生过程, 诸如脊髓对创伤的应激反应、循环障碍、创伤性炎症、神经元的变性坏死、凋亡、存活、再生、细胞内的信号传递等。本文复习了近 12 年发表的与急性脊髓损伤基因表达有关的研究报道, 并做一简要的综述。

1 细胞凋亡相关基因

1.1 线虫细胞凋亡的研究 研究细胞凋亡最好的动物模型是线虫(caenorhabditis elegans, CE)。在 CE 细胞凋亡的研究中, 发现 15 个与凋亡相关的基因, 可以分为 4 组: ①ced-3、ced-4 和 ced-9(ced 即 cell death abnormal, 细胞异常死亡基因), 它们可以调控 CE 的细胞凋亡。其中, ced-3 具有半胱氨酸蛋白的控制细胞凋亡启动的功能, ced-4 可以促进细胞凋亡; 而 ced-9 具有抑制细胞凋亡的功能, 被称为细胞存活基因。②ced-1、ced-2、ced-5~8 和 ced-10, 它们与凋亡细胞被吞噬的过程有关。③nuc-1(nuclease 1, nucleic acid enzyme-1, 核酸酶-1), 它可以催化核苷酸及核酸中磷酸二脂键的水解反应, 控制 DNA 的活化。如果 nuc-1 发生突变, DNA 的裂解受阻, 细胞的死亡进程将推迟。④ces-1(ces, 线虫 CE 细胞存活控制基因)、ces-2、egl-1 和 her-1。其中, ces-1 能够阻止 CE 咽部 4 个神经元的凋亡, ces-2 抑制 ces-1 的功能, 促进这 4 个神经元的凋亡。egl-1 基因可以阻止支配外阴肌肉神经元(HSN 神经元)的凋亡和促进卵细胞的着床。

1.2 bcl-2(B-cell lymphoma/leukemia-2, B 细胞淋巴瘤/白血病基因家族-2, 也称 bcl-2 基因家族, 细胞凋亡相关基因族) bcl-2 基因家族包括凋亡抑制基因(bcl-2、bcl-XL、bcl-w、A1、Mcl-1、ced-9、BHRF-1 和 EIB19K 等)和促进凋亡基因(Bax、bcl-Xs、Bak 和 Bad 等)。它们共同组成一个细胞凋亡调控体系, 在调节神经细胞凋亡过程中起着重要作用。在线虫中有一些具有防止细胞凋亡的蛋白, 其基因编码为 ced-9。在哺乳动物这类蛋白即 bcl-2 基因编码的蛋白质, 即 bcl-2 蛋白, 它可以防止细胞的程序性死亡。当细胞胞浆内存在 bcl-2 蛋白时, 细胞的凋亡将被抑制。

1.2.1 bcl-2 基因家族调控神经元凋亡的机制 bcl-2 是通过阻断细胞凋亡信号传递系统的最后公路抑制细胞凋亡, 激动细胞的存活。bcl-2 可能抑制 Fas、p53、ICE 等诱导的凋亡, 通过阻止促凋亡基因信号传递, 或阻止这些诱导基因产物而发挥抗神经元凋亡的作用[1]。因此, bcl-2 成为一种重要的生存基因。也有报道提出, bcl-2 是一种金属结合蛋白, 是一种与细胞膜结构结合的稳定蛋白[2]。当其与线粒体外膜结合时, 可以抑制复合物Ⅰ经复合物Ⅲ到双氢的电子传递, 从而减少 O^{2-} 的形成, 抑制伤害性因子诱发的神经元凋亡。它也可以通过直接清除自由基而发挥抗凋亡的作用。

当 bcl-2 与内质网膜结构结合时, 可以易化内质网膜的稳定性, 减少内质网 Ca^{2+} 小池释放 Ca^{2+} 的数量, 并且提高钙离子通过内质网进入胞浆的阈值, 从而减轻了 Ca^{2+} 对于神经元的损伤, 起到抗凋亡的作用[3]。

bcl-2 可以干扰某些凋亡基因的转运和功能的发挥, 而起到抗凋亡的作用。众所周知, p53、cdc2 和 CDK2 等是细胞周期调节蛋白。它们通过核膜进行核-胞浆转运。而 bcl-2 可以改变上述因子核-浆转运的过程, 从而抑制神经元凋亡程序的启动。当 bcl-2 与 p53 共同表达时, 可以延缓 p53 诱导的神经元凋亡。这可能与 bcl-2 和 c-Myc 协同作用, 封闭了 p53 由胞浆至胞核的转运有关。

1.2.2 Bax 表达上调启动细胞凋亡程序 有两种机制: 一方面 Bax 可与 bcl-2 形成异源二聚体(Bax-bcl-2), 从而抑制 bcl-2 的抗凋亡作用; 它可能也抑制 bcl-2 家族中其他抗凋亡基因的作用。另一方面, Bax 本身具有促进细胞凋亡的作用, 其自身能形成二聚体(Bax-Bax)诱导凋亡[4-6]。在任一瞬间, 抗凋亡基因和凋亡基因表达的情况决定该瞬间神经元的凋亡程序是否被启动, 而神经元的凋亡程序的启动及其凋亡的进程, 与抗凋亡基因表达的情况呈负相关, 与凋亡基因的表达正相关。因此, 该瞬间"凋亡基因表达状态/抗凋亡基因表达状态"的比值能够更明确地反应该瞬间神经元凋亡的情况。如果说凋亡神经元数/神经元总数×100%, 被称作神经元凋亡率; 那么, 凋亡基因表达值/抗凋亡基因表达值×100%, 则可以视为"神经元基因表达凋亡率", 它可以从分子水平更敏感地反映神经元凋亡的情况, 即基因表达凋亡率升高表明神经元凋亡程度比较严重, 该比值低则提示凋亡程度较轻, 即样本的基因表达凋亡率与样本内神经元发生凋亡呈正相关。

Kane 等[7] 和 Distelhorst 等[8] 提出, 在由脊髓损伤激活的分子机制中, bcl-2 可以抑制细胞内活性氧的产生, 可以减少神经元的 Ca^{2+} 内流, 从而抑制神经元的凋亡。此外, 文献报道, 在急性脊髓损伤后, 脊髓损伤区内 bcl-2 及 bcl-XL 表达明显地下调, 且 bcl-2/Bax 及 bcl-XL/Bax 蛋白比值降低[9]。

1.3 p53(p53 基因, 基因编码 p53 蛋白) 是分子量为 53 kD 的蛋白质, 在进化过程中十分保守, 也是学术界研究比较多的

一个与神经元凋亡相关的基因。p53 基因有野生型和突变型两种。目前认为,突变型 p53 基因是癌基因,可以诱导癌的发生,在多种肿瘤内发现以 p53 基因的突变点;而野生型 p53 基因对于细胞的生长有负调节作用,可能参与了创伤所致的神经元的凋亡。p53 的生理功能有:①对于细胞周期有阻滞作用:在 DNA 损伤后,通常使细胞周期阻滞在 G1 期;有时也阻滞在 G0 期。一般认为,这种阻滞作用有利于 DNA 的修复。在 DNA 损伤位点,p53 有高表达。而其阻滞作用与 p53 诱导的多种基因表达的上调有关,所以 p53 成为调控细胞周期的核心物质之一。②调节细胞凋亡:p53 基因可以与多种癌基因、细胞因子和生长因子协同作用,调节细胞凋亡。例如,p53 可以通过增加 Bax 的表达和降低抗凋亡基因 bcl-2 的表达,促进细胞凋亡的进程。中枢神经系统损伤后,p53 mRNA 及 p53 蛋白主要存在于损伤区域灰质前角的神经元和神经胶质内以及白质外侧索的神经胶质内。胞核内 p53 表达阳性细胞,大都为损伤或正在发生形态改变的细胞,而在胞浆内 p53 阳性表达的神经细胞,多为未损伤或形态较为正常的细胞。这提示核内 p53 蛋白的堆积,促进神经细胞的凋亡。③参与细胞分化和发育的调节:主要是促进细胞终末分化和成熟。PXA5 基因对于中枢神经的发育有重要的调节作用,这可能和 PXA5 调节 p53 表达有关。④调节肿瘤的发生:通常称其为抑癌基因,因为野生型 p53 基因可以抑制肿瘤的发生;但是突变型 p53 可以诱导肿瘤发生。

1.4 Caspases(半胱氨酸蛋白酶基因家族) 该家族对细胞,特别是神经元凋亡程序的启动具有核心作用。因此,Caspases 的活性可以做为判断神经元是否进入程序死亡的一个重要标志。Caspases 家族有 12 个以上的成员,主要包括 Caspases Ⅰ和 Caspases Ⅱ。Caspases Ⅰ包括 Caspases-1,而 Caspases Ⅱ包括 Caspases-2~10。近年的研究表明[9-12],Caspases 家族中 Caspases-1、-3 与脊髓损伤后细胞的凋亡有明显的关系,脊髓损伤后 Caspases-1、3 的表达迅速上调数倍,且上调的时相与细胞发生凋亡的时间一致。此外,在脊髓损伤后 Caspases-2、9 的表达也上调。进一步的分析表明,大鼠 Caspases-3 表达阳性细胞主要是脊髓前角运动神经元和小胶质细胞,持续 3~7 d 左右,这一时期与脊髓损伤后发生细胞凋亡的高峰时相是一致的。

在脊髓损伤后的病理发展过程中,小胶质细胞有重要的作用,诸如细胞因子的早期表达,空洞形成,自由基产生和调制分子的释放等。所以促进小胶质细胞的凋亡,似乎可以做为评价治疗脊髓损伤措施效果的一个指标。由此可见,在脊髓损伤后 Caspases-3 表达的上调,一方面引起小胶质细胞凋亡,另一方面也引起神经元的凋亡。

1.5 TNFs(tumor necrosis factors,肿瘤坏死因子基因家族) 包括 TNF-α、TNF-β、TRAIL(TNF receptor related apoptosis IL,肿瘤坏死因子受体相关的凋亡白介素)。在脊髓损伤后 TNF-α 表达上调,这与神经组织的损伤和再生有密切的关系。TNF-α 表达上调是由 NF-kB(nucleus factor kB,胞核因子-kB)的激活所致。在脊髓损伤后第 1 天,TNF-α 蛋白可增加 4.5 倍,同时伴随着 NF-kB 活性明显的增加,这与损伤诱发的炎性反应同步。TNF-α 的激活可进一步上调 iNOS(inducible nitric oxide synthase,诱导型一氧化氮合酶)、细胞活素、细胞粘附因子和一些其他成份的反应[13]。脊髓损伤后 TRAIL 的表达也上调。

1.6 PrICE(protease-resembling interleukin-1β-converting enzyme,类白介-1β-转换酶的蛋白酶) 在线虫发育阶段的细胞内,有一种基因编码为 ced-3 的蛋白酶。在哺乳动物,ced-3 的对应物是一种分子量为 32 kD 的半胱氨酸蛋白,即 CPP32,也就是 PrICE。在细胞毒 T 淋巴细胞(CTL)诱导的细胞凋亡过程中,PrICE 被激活。CTL 还可通过其颗粒酶 B(granzyme B)激活 PrICE,使靶细胞的 DNA 裂解,导致细胞凋亡的。

1.7 Calpain(钙激活中性蛋白酶) 在脊髓损伤后 1~4 h 开始其表达上调,24~48 h 达高峰。其表达主要位于损伤灶及其邻区脊髓的星形胶质细胞中[13,14]。Calpain 表达上调的同时,Bax/bcl-2 的比值增高,这说明凋亡的细胞增加,而正常的细胞减少[15]。Calpain 表达上调可以促进细胞的凋亡。脊髓损伤后 Calpain 表达上调与细胞骨架蛋白的降解和神经元溃变以及髓鞘或轴突溃变的进程有关。E-64-d 是钙激活中性蛋白酶的抑制剂,它具有抑制细胞凋亡的作用。

1.8 与神经元凋亡有关的其他基因 ①Fas 和 FasL:Fas 是 TNF 的受体,而 FasL 是该受体的配体,是 TNF 家族的细胞表面分子。在伤害性刺激作用下,Fas 和 FasL 表达上调,两者相互交联,发放细胞凋亡信息而触发细胞凋亡。由 Fas 诱发的凋亡具有以下特点:细胞明显的固缩或形成碎片;可以没有细胞核;不依赖于钙离子;被 bcl-2 表达和 bcl-2-BAG-1 共表达明显的抑制;与 TNF 触发的凋亡不同。②c-myc 和 B-myc:是原癌基因 myc 家族的成员,其表达产物 myc 蛋白可以调节细胞的生长、分化和增殖。③c-jun 和 c-fos:是即早基因,也属于原癌基因,是调节细胞增殖、生长、发育和分化的基因。研究表明[16],脊髓损伤和/或神经元凋亡时,常常伴有此二基因表达的上调。这提示该二基因表达的上调与神经元的凋亡有关;但是对于其具体的作用尚未证实。④CD95-L(CD-95 编码基因标记物):在兴奋性神经毒性急性损伤后 2 周,CD95-L 的表达上调约 3 倍,但是从第 3 周开始则下调。⑤NAIP 和 IAP:NAIP 和 IAP 为凋亡抑制基因,抑制由 Caspases 引起的细胞凋亡。在脊髓损伤后 IAP 家庭成员 XIAP,cIAP-1,和 cIAP-2 表达上调,其中 XIAP 表达上调出现在 Caspases 表达下降的阶段,而 cIAP-1 和 cIAP-2 在脊髓损伤早期阶段呈持续的高表达[17,18]。

2 转录因子和即早基因

2.1 NF-kB 和 AP-1 NF-kB 即胞核因子 kB,也称转录因子 kB,主要分布在胞浆内,当其进入胞核后与 DNA 靶序列结合,可以激活转录作用。AP-1 即激活物蛋白 1,可以介导生长因子和佛波酯所诱导的转录。在脊髓损伤后,NF-kB 和 AP-1 的表达上调,它们可以使炎症前因子(如 IL-6、ICAM-1 等)的表达上调,推测其表达上调与创伤性炎症的进程有关。

2.2 c-fos、Fra-1 和 P-jun-B 在脊髓损伤后,c-fos、Fra-1 和 P-jun-B 的表达上调,也可以激活炎症前反应因子和/或炎症前反应基因的表达[19]。

2.3 NGFI-A(nerve growth factor induced gene A) 即神经生长因子诱导性基因 A。Egr1 gene 即早期生长应答基因 1,

属于转录因子 Egr 亚族成员之一。它是锌指家族(Zinc finger family)的 DNA 结合蛋白,可以限制单个核细胞的前体细胞分化为巨噬细胞。脊髓损伤后,它们的表达上调,可以改变细胞生长和分化的基因程序[19]。

2.4 NGFI-B 即神经生长因子诱导性基因 B。在脊髓损伤后,NGFI-B 表达的上调可以使酪氨酸羟化酶的表达上调,这在一定的程度上,有助于神经元的保护作用[20,21]。Nor 1 是核受体超家族 Nor 亚家族的成员,在脊髓损伤后,Nor 1 表达上调可以加速脊髓损伤诱发之凋亡神经元的死亡。

2.5 Silencer factor B(沉默子因子 B) 属于转录因子,可以通过与谷胱甘肽-S-转移酶基因的 Silencer factor B 结合点-1 结合,来控制它的表达[22]。在脊髓损伤后 Silencer factor B 表达上调可以导致谷胱甘肽的降解。

2.6 IRF-1(干扰素调节因子 1) 它通过调节炎性过程和凋亡,影响缺血引起的神经元损伤。脊髓损伤后,该基因表达上调可能对受损神经元具有保护作用。从另一方面说,转录因子表达的上调,可能诱导生长因子的表达,生长因子表达上调,可能有助于提高损伤脊髓内神经组织的再生和修复能力。

2.7 即早基因 c-jun 和 c-fos c-jun 和 c-fos 基因表达物可以形成二聚体复合物 这种复合物就是转录因子 AP-1(activator protein 1)。AP-1 的作用与诱导肿瘤生长的增强剂 APT-2 相同。c-jun 蛋白可以将各种生长和分化的信号转译为指导生物活动的指令。但是其最终效应可能是促进细胞的生长和分化,也可能是抑制效应,乃至引起细胞凋亡。各种胞外刺激通过三磷酸肌醇、血清中性 1,2-酰基甘油和 Ca^{2+} 等第二信使,与胞膜受体反应而激活 PKC。PKC 通过调节 jun 磷酸化水平,增加 AP-1 在转录时的活性,诱导 c-jun 表达上调。c-jun 基因参与细胞多种功能的调节,诸如,细胞的增殖、生长、分化、生长抑制、凋亡等等。脊髓损伤的早期 c-jun 表达的上调,几乎与神经组织早期的溃变同步[23];脊髓损伤 15 d 后,是 c-jun 基因表达的第二个高峰,这可能提示该基因与神经元的修复再生有一定的关系。c-fos 参与细胞的分裂、分化和转化等功能。c-fos 蛋白也具有抗细胞增殖的作用,因此参与细胞的凋亡和损伤反应。但是 c-fos 表达和细胞凋亡之间的因果关系,尚无定论。

3 HSP 基因(hot shock protein,热休克蛋白)

该基因家族包括 HSP70、HSP60、HSP90 和低分子量 HSP 4 个亚族。HSP 是细胞在应激状态下产生的一种蛋白质。这种应激反应的蛋白质的代谢特征是:①细胞内应激蛋白合成增加;②开始合成某种应激蛋白;③正常蛋白质的合成受到抑制或终止。其功能意义在于保护细胞免受不良条件的损害。HSP70 和 HSP32 在脊髓损伤后表达上调[24]。在脊髓损伤后的 30 min 内,损伤部位 HSP70 的合成上调,其局部浓度增高。当组织内出现变性蛋白时,可以诱导 HSP70 合成及表达上调,这与 HSP32 的情况相同。脊髓损伤后,这种表达上调的变化持续时间比较长,而且 HSP32 表达上调与 Wallerian 溃变的进展一致。HSP70 和 HSP32 持续高表达说明,神经组织的溃变是一个进行性的过程,可以持续 6 周或更长。脊髓损伤后的缺血、过氧化反应增强、AP-1 及 NF-kB 表达上调等,都可能诱导 HSP70 和 HSP32 表达上调。

在损伤和炎性组织中 HSP32 表达上调,似乎也担负着内源性抗炎症酶和保护性基因的作用。HSP70 和 32 表达上调,可能有利于脊髓损伤后的功能恢复和组织修复,它们充当了分子伴侣的角色,提高了细胞存活的能力。

4 与炎症有关的基因

4.1 白细胞介素(IL) 是一个庞大的细胞因子家族,其中 IL-1、6 是炎症相关的细胞因子,IL-1 包括 IL-1α 和 IL-1β。IL-1α 和 IL-1β 及其表达产物在脊髓损伤后增高,损伤后 24 h 达高峰[24]。IL 引起的细胞死亡可被 bcl-2 所阻断。IL-1α 能激动 COX-2(细胞色素氧化酶 2)、IVAM-1、P-selectin(血小板选凝素/P 型选凝素)、E-selectin(血小板选凝素/E 型选凝素)的表达,这些基因表达上调,会加重病变部位炎性损害的程度,使功能障碍进一步加重。同时 IL-1 和 IL-6 表达上调也可诱导细胞活素信号传递调节剂 SOCS-2 和 SOCS-3 的表达上调[25,26]。神经组织内存在低浓度的 IL-1β 和 IL-6,可诱导神经营养因子的表达,调节损伤部位的白细胞活性和再循环[27],而高浓度的 IL-1β 和 IL-6 可激活转录因子 NF-kB、AP-1 和 ATF(激活作用转录因子),从而刺激不同靶细胞中神经毒素基因的表达[28]。

4.2 腱生蛋白(tenascins,肌腱蛋白) 在胚胎和出生早期的脑髓内含量比较高,而成年动物的神经组织内含量很少或没有;但是损伤后其表达上调。该基因家族包括 tenascin X、C、R 和 tenascin/J1。在脊髓损伤后 tenascin C、X、R 和/J1 的表达均上调,并以其特殊的表达方式参与创伤性炎性过程,可能与神经组织的再生和修复有关[29]。

4.3 趋化因子家族(chemokine family) 是一类碱性肝素结合蛋白。该基因家族可以分为 C-X-C 和 C-C 两个亚族,主要包括 GRO-α(growth-related oncogenic α,生长相关性致癌性 α)、LIX(白介素 X)、MCP-1(macrophage chemotactic and activating factor,巨噬细胞趋化性和激活性因子)、MCP-5(monocyte chemotactin protein-5,单核细胞趋化蛋白 5)、IP-10(interferon inducible protein-10,10 kDa,干扰素诱导蛋白 10)、interferon-gamma-inducible protein(干扰素 γ 诱导蛋白)、MIP-3 α(macrophage inflammatory protein-3 α,巨噬细胞炎症蛋白 3 α)、MIP-1(macrophage inflammatory protein-1,巨噬细胞炎症蛋白 1)、RANTES gene(regulated on activated normal T expressed and secreted gene,调节正常活化的 T 细胞表达和分泌的基因)、FBGFf(F-basic growth factor family,F 基本生长因子家族)。

GRO-α 表达,在脊髓损伤 6 h 内,比对照组上调幅度达 30 倍,然后迅速下降。LIX 是一种高度相关的 α-细胞活素,在损伤后早期表达上调。MCP-1、MCP-5 在损伤后 12~24 h 快速明显上调,然后再下调。IP-10 在损伤后 6~12 h 明显的上调。MIP-3 a 也上调。其它细胞活素如 MIP-1、RANTES 在损伤后的变化较小。趋化因子家族(细胞活素)成员这种有选择性表达的变化,在一定的程度上反映出,脊髓损伤后白细胞重复循环的一种炎症过程。在脊髓损伤后 MIP-1α、MIP-2 和 MCP-1 在炎症的发展过程中担当了一个重要的角色,主要作用是吸引白细胞到达损伤的部位[30]。

4.4 氮氧化物合酶(Nitric oxide synthase,NOS,一氧化氮合

酶) NOS 主要有三型: nNOS、iNOS 和 eNOS。该基因的主要作用是催化 NO 的合成。NO 为一个重要的炎症调节因子,反过来作用于过氧化物使其产生过氧化氮。后者为强氧化剂,能损伤细胞的酶、细胞膜和亚细胞结构。iNOS 在生理时无表达,但脊髓损伤后早期,iNOS 及表达产物增加,主要存在于损伤附近及损伤灶周围的神经元、星形细胞、内皮细胞和室管膜细胞内。由 iNOS 诱导产生的 NO 通过细胞凋亡的方式,在消除脊髓损伤灶内的损伤细胞过程中,担任一个重要的角色[31],同时在继发性脊髓损害过程中,也起着重要的作用[32]。

4.5 细胞色素 c 氧化酶基因族(Cox)和 OX-42 和 OX-6 等这些基因在脊髓损伤后均上调。Cox 包括 Cox-1、2,在急性脊髓损伤后,Cox-1、2 及其表达产物增强[33],主要参与前列腺素的合成。此外,在脊髓损伤早期,损伤灶中心及其周围区的小胶质细胞及巨噬细胞中,Cox-1 表达产物呈阳性,阳性细胞的数量一直维持在较高水平,直到损伤后 4 周。在血管周围 Wallerian 蜕变轴突之间的 Virchow-Robin 腔中,也有 Cox-1 阳性表达的小胶质细胞。在一些 OX-42 阳性表达的小胶质细胞和巨噬细胞中,同时有 Cox-1 的表达。而大部分 Cox-1 表达阳性的小胶质细胞及巨噬细胞中,也同时表达活性抗原、OX-6 和Ⅱ类主要组织相容性复合物抗原基因(major histocompatibility complex class Ⅱ antigen gene, MHC class Ⅱ antigen gene)的阳性产物[34]。

这些炎症相关的基因参与了脊髓损伤后炎症和疼痛的发生和发展过程,而脊髓损伤后诱发的炎性反应,则是导致继发性脊髓损伤的主要原因之一。

参考文献

1 Li Y, Chopp M, Zhang ZG, et al. P53-immunoreactive protein and p53 mRNA expression after trausient middle cerebral artery occlusion in rats. Stroke, 1994, 25: 849.

2 Jacobson MD. Reactive oxygen species and programmed cell death. TIBS, 1996, 21: 83.

3 Krajewski S, Tanaka S, Takayama S. Investigation of the subcellular distribution of bcl-2 oncoprotein. Cancer Res, 1993, 53: 4701.

4 Krajewski S, Mai JK, Krajewski M, et al. Upregulation of Bax protein levels in neurons following cerebral ischemia. J Neurosci, 1995, 15(10): 6364.

5 Sato T, Hanada M, Bodrug S, et al. Interaction among members of bcl-2 protein family analyzed with a yeast two-bybrid system. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91(20): 9238.

6 Stanley JK. Regulators of cell death. TIG, 1995, 11(3): 101.

7 Kane DJ, Saraflan TA, Antanon R, et al. bcl-2 inhibition of neurol death: decreaced generation of reactive oxygen species. Science, 1993, 262: 1274.

8 Distelhorst CW, Larn M, Mccormick TS. bcl-2 inhibits hydrogen peroxide-induced ER Ca^{2+} poll depletion. Oncogene, 1996, 12(10): 2051.

9 Qiu J, Nesic O, Ye Z, et al. Bcl-xL expression after contusion to the rat spinal cord. J Neurotrauma, 2002, 19(6): 801-802.

10 Knri N, Yoshimura N. Apoptotic retinal neuronal death by ischemia-reperfusion is executed by two distince caspase family proteases. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1999, 40: 2697-2705.

11 Knerlich F, Schilling L, Gorlach C, et al. Temporal profile of expression and cellular localization of inducible nitric oxide synthase, interleukin-1beta and interleukin converting enzyme after cryogenic lession of the rat parietal cortex. Brain Res Mol Brain Res, 1999, 68: 73-87.

12 Citron BA, Arnold PM, Sebastian C, et al. Rapid upregulation of caspase-3 in rat spinal cord after injury: mRNA, protein, and cellular localization correlates with apoptotic cell death. Exp Neurol, 2000, 166(2): 213-226.

13 Xu J, Fan G, Chen S, et al. Methylprednisolone inhitition of TNF-alpha expression and NF-kB activation after spinal cord injury in rat. Brain Res Mol Brain Res, 1998, 59(2): 135-142.

14 Ray SK, Shields DC, Saido TC, et al. Calpain activity and translational expression increased in spinal cord injury. Brain Res, 1999, 816(2): 375-380.

15 Ray SK, Matzelle DD, Hogan EL, et al. Increased calpain expression is associated with apoptosis in rat spinal cord injury: calpain inhibitor procides neuroprotection. Neurochem Res, 2000, 25(9-10): 1191-1198.

16 Abrahan KE, Brewer KL. Expression of c-fos mRNA is increased and related to dynorphin mRNA expression following excitotoxic spinal cord injury in the rat. Neurosci Lett, 2001, 307(3): 187-191.

17 Hara H. Involvement of caspase on apoptosis in ischemia-induced neuronal cell death: usefulness of caspase inhibitors for stroke therapy. Nippon Yakurigaku Zasshi, 1999, 113(2): 97-111.

18 Keane RW, Kraydieh S, Lotocki G, et al. Apoptotic and anti-apoptotic mechanisms follow int spinal cord injury. J Neuropathol Exp Neurol, 2001, 60(5): 422-429.

19 Han Y, Runge MS, Brasier AR. Angiotensin Ⅱ induces interleukin-6 transcription in vascular smooth muscle cells through pleiotropic activation of nuclear factor-kappa B transcription factors. Circ Res, 1999, 84(6): 695-703.

20 Tourtellotte WG, Milbrandt J. Sensory ataxia and muscle spindle agenesis in mice lacking the transcription factor Egr3. Nat Genet, 1998, 20(1): 87-91.

21 Iwawaki T, Kohno K, Kobayashi K. Identification of a potential nurrl response element that activates the tyrosine hydroxylase gene promoter in cultured cells. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 274(3): 590-595.

22 Liu Y, Tachibana T, Dai Y, et al. Heme oxygenase-1 expression after spinal cord injury: the induction in activated neutrophils. J Neurotrauma, 2002, 19(4): 479-490.

23 Abrahan KE, Brewer KL. Expression of c-fos mRNA is increased and related to dynorphin mRNA expression following excitotoxic spinal cord injury in the rat. Neurosci Lett, 2001, 307(3): 187-191.

24 Tonai T, Taketani Y, Ueda N, et al. Possible involvement of interleukin-1 in cyclooxygenase-2 induction after spinal cord injury in rats. J Neurochen, 1999, 72(1): 302-309.

25 Li X, Commane M, Jiang Z, et al. IL-1-induced NF kappa B and c-jun N-terminal kinase(JNK) activation diverge at IL-1 receptor-associated kinase (IRAK). Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(8): 4461-4465.

26 Starr R, Willson TA, Viney EM, et al. A family of cytokine-inducible inhibitors of signalling. Nature, 1997, 387: 917-921.

27 Murphy PG, Borthwick LA, Altares M, et al. Reciprocal actions of interleukin-6 and brain-derived neurotrophic factor on rat and mouse primary sensory neurons. Eur J Neurosci, 2000, 12(6): 1891-1899.

28 del Zoppo GJ. Microvascular responese to cerebral ischemia/inflammation. Ann N Y Acad Sci, 1997, 823: 132-147.

29 Faissner A. The tenascin gene family in axon growth and guidance. Cell Tissue Res, 1997, 290(2): 331-341.
30 Dogusan Z, Hooghe-Peters EL, Berus D, et al. R Expression of SOCS genes in normal and leukemic human leukocytes stimulated by prolactin, growth hormone and cytokines. J Neuroimmunol, 2000, 109(1): 34-39.
31 Satake K, Matsuyama Y, Kamiya M, et al. Nitric oxide via macrophage iNOS induces apoptosis following traumatic spinal cord injury. Brain Res Mol Brain Res, 2001, 85(1-2): 114-122.
32 Xu J, Kim GM, Chen S, et al. iNOS and nitrotyrosine expression after spinal cord injury. J Neurotrauma, 2001, 18(5): 523-532.
33 Schwab JM, Brechtel K, Nguyen TD, et al. Persistent accumulation of cyclooxygenase-1 (COX-1) expressing microglia/macrophages and upregulation by endothelium following spinal cord injury. J Neuroimmunol, 2000, 111(1-2): 122-130.
34 Xu M, Ng YK, Leong SK. Induction of microglial reaction and expression of nitric oxide synthase I in the nucleus dorsalis and red nucleus following lower thoracic spinal cord hemisection. Brain Res, 1998, 808(1): 23-30.

(未完待续)

(收稿日期: 2003-09-16 本文编辑: 李为农)

·短篇报道·

动力髋螺钉治疗老年股骨转子间骨折 23 例

张元民, 刘书成, 高峰, 张磊, 王海滨, 吴同申
(济宁医学院附属医院骨科, 山东 济宁 272029)

自 1998 年 7 月-2001 年 12 月应用动力髋螺钉(DHS)内固定治疗老年股骨转子间骨折 23 例, 取得满意效果。

1 临床资料

本组男 9 例, 女 14 例; 年龄 65~92 岁, 平均 72 岁; 左侧 13 例, 右侧 10 例。致伤原因: 坠落伤 9 例, 跌倒伤 9 例, 撞伤 5 例; 同时有高血压、冠心病 8 例, 糖尿病 6 例, 脑血管后遗症 3 例。按 AO 骨折分型: A_1 型 12 例, A_2 型 8 例, A_3 型 3 例。

2 治疗

入院后完善全身检查, 控制高血压、冠心病及糖尿病等, 确定手术可行性, 尽量在 3~4 d 内完成。采用连续硬膜外麻醉, 应用骨折牵引床, 取大腿外侧切口, 暴露大粗隆及其下方 10 cm 长股骨外侧面, 按操作规程放置 DHS, 并在骨折处植骨(采用山西省医用生物组织库提供的同种异体骨块或骨条, 经生理盐水浸泡后放置于骨折端周围)。

3 结果

自订疗效标准: 优为患肢无疼痛, 髋关节活动正常, 生活自理; 良为患肢轻微疼痛, 髋关节活动达正常的 85% 以上, 生活基本自理; 可为患肢中度疼痛, 髋关节活动中度受限, 生活不能自理; 差为患肢重度疼痛, 髋关节活动严重受限, 生活不能自理。本组术后无一例死亡。2 例肺部感染经治疗后痊愈, 1 例下肢肿胀考虑为静脉血栓形成, 应用抗凝治疗后肿胀消失, 随访 7~16 个月, 平均 9 个月, 优 17 例, 良 3 例, 可3 例; 未出现骨折畸形愈合及内固定器材断裂现象。

4 讨论

股骨转子间骨折常发生于老年人。既往对老年人此类骨折多采用保守治疗, 合并症多且死亡率高。近年来此种观点已被内固定观点代替。姜保国等[骨与关节损伤杂志, 2000, 15(4): 264]指出粗隆间骨折在无严重的心脑疾病情况下均应积极手术治疗。尽早使病人离床活动, 减少并发症, 恢复肢体功能, 提高生活质量。闫洪印等[骨与关节损伤杂志, 2002, 17(2): 148]强调早期内固定手术治疗老年股骨转子间骨折能够降低死亡率, 改善预后。

术前对合并其他老年性疾病如糖尿病、心脑血管疾病等应引起足够重视。如有的患者一直不知道自己有糖尿病, 直至此次骨折后才发现。此种情况下应用口服降糖药较难控制血糖, 而手术又要求尽快进行, 此时可应用胰岛素控制血糖。

老年人骨质疏松, 轻微外力即可导致转子间骨折。本组坠落伤患者, 大部分为从床上摔下而致骨折。严重的骨质疏松不仅影响骨折愈合, 甚至不能承载内固定物。故对本组患者均应用植骨, 以同种异体骨为主, 避免自髂部取骨, 增加创伤。尤其对偏瘫患者, 更应强调植骨的重要性。

应用 DHS 治疗股骨转子间骨折必须在 C 形臂 X 线机监视下进行, 以利良好的复位及内固定物的准确性。股骨近端的力学核心是其后内侧骨皮质, 因此在手术中要注意小粗隆骨折的复位与固定, 以尽量使后内侧骨皮质解剖复位促进骨折愈合。必要时可用钢丝及螺钉行辅助固定。本组 4 例就加用其他内固定物。

DHS 治疗转子间骨折能坚强固定骨折断端, 可使患者早期下床活动, 降低死亡率和致残率。术后第 2 天即练习股四头肌收缩, 3 d 后开始应用 CPM 行膝髋关节、踝关节被动活动, 1 周后在床上主动伸屈髋膝关节, 2 周后扶双拐下地, 4 周后扶拐部分负重行走。以后根据定期复查 X 线片了解骨折愈合情况, 指导患者循序渐进进行功能锻炼。

(收稿日期: 2003-06-04 本文编辑: 连智华)