神经病学

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001021

抑制钙蛋白酶对大鼠脊髓损伤后神经功能保护作用研究

杨　函，王　松，康建平，丁裕明

（西南医科大学附属医院脊柱外科，泸州　646000）

【摘　要】目的：探讨钙蛋白酶抑制剂 E-64-D 对大鼠脊髓损伤后神经功能保护作用。**方法**：制备大鼠脊髓损伤模型，并将造模成功的大鼠随机分为脊髓损伤组（24 只）和脊髓损伤干预组（24 只）。另选取 10 只正常大鼠作为对照组，仅行假手术。脊髓损伤干预组在术后给予 E-64-D 静脉微量泵入。在术后 1、7、14 d 和 28 d 时（n=6）对大鼠脊髓 Calpain-1 mRNA 水平进行检测，并且对大鼠后肢功能进行评价。采用 HE 和 Nissl 染色法对大鼠伤处脊髓组织进行染色和评价。**结果**：对照组大鼠 Calpain-1 mRNA 水平在不同时间点之间无统计学差异，而脊髓损伤组和脊髓损伤干预组在不同时间点之间的差异均具有统计学意义，呈逐渐下降趋势（P<0.05）。在第 28 天时，脊髓损伤干预组和对照组 Calpain-1 mRNA 表达水平差异无统计学意义（P >0.05）。脊髓损伤组和脊髓损伤组干预组大鼠 Tarlov 评分和斜板实验结果在术后 3 个时间差异均具有统计学意义（P<0.05），并且脊髓损伤组干预组大鼠运动功能恢复情况显著优于脊髓损伤组大鼠。脊髓损伤组干预组大鼠神经元染色形态及数量均优于脊髓损伤组大鼠。**结论**：抑制钙蛋白酶能够抑制脊髓损伤后神经元的凋亡及坏死，促进脊髓功能恢复。

【关键词】钙蛋白酶；脊髓损伤；神经功能

【中图分类号】R338.2+1　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2015-10-15

作者介绍：杨　函，Email：cqyanghan1984@163.com，研究方向：脊柱脊髓损伤。

通信作者：王　松，Email：466325292@qq.com。

基金项目：泸州市科技局创新苗子培育计划资助项目[编号：2014-R-52(14/20)]。

优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20160706.1714.026.html（2016-07-06）

[10] Goedert M. Alzheimer's and Parkinson's diseases: The prion concept in relation to assembled Abeta, tau, and alpha-synuclein[J]. Science, 2015, 349(6248): 601-612.

[11] Larson ME, Sherman MA, Greimel S, et al. Soluble alpha-synuclein is a novel modulator of Alzheimer's disease pathophysiology[J]. Journal Neuroscience, 2012, 32(30): 10253-66.

[12] Sanchez C, Diaz-Nido J, Avila J. Phosphorylation of microtubule-associated protein 2 (MAP2) and its relevance for the regulation of the neuronal cytoskeleton function[J]. Neurobiology, 2000(61): 133-170.

[13] Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Beclin 1 interactome controls the crosstalk between apoptosis, autophagy and inflammasome activation: impact on the aging process[J]. Ageing Research Reviews, 2013, 12(2): 520-34.

[14] Schedin-Weiss S, Winblad B, Tjernberg LO. The role of protein glycosylation in Alzheimer disease[J]. FEBS Journal, 2014, 281(1): 46-62.

[15] Mohan R, John A. Microtubule-associated proteins as direct crosslinkers of actin filaments and microtubules[J]. IUBMB Life, 2015, 67(6): 395-403.

[16] Shelton MA, Newman JT, Gu H, et al. Loss of Microtubule-Associated Protein 2 Immunoreactivity Linked to Dendritic Spine Loss in Schizophrenia[J]. Biological Psychiatry, 2015, 78(6): 374-385.

[17] Schwab M, Antonow-Schlorke I, Kuhn B, et al. Effect of antenatal betamethasone treatment on microtubule-associated proteins MAP1B and MAP2 in fetal sheep[J]. Physiology, 2003, 530(3): 497-506.

[18] Lewba G, Savioz A, Vernay A, et al. Differential Changes in Synaptic Proteins in the Alzheimer Frontal Cortex with Marked Increase in PSD-95 Postsynaptic Protein[J]. Alzheimer's Disease, 2008 (15): 212-125.

[19] Tajiri N, Kelloqq SL, Shimizu T, et al. Traumatic brain injury precipitates cognitive impairment and extracellular Abeta aggregation in Alzheimer's disease transgenic mice[J]. PLoS One, 2013, 8(11): e78851-78861.

（责任编辑：张辉洁）

Protective effect of Calpain inhibitor E-64-D on nerve function after rats spinal cord injury

Yang Han, Wang Song, Kang Jianping, Ding yuming

(*Department of Spine Surgery, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To investigate the protective effect of Calpain inhibitor E-64-D on nerve function after rat spinal cord injury. ***Methods***: Rats spinal cord injury model was prepared by Allen's method. The successful models of rats with spinal cord injury were randomly divided into injury group(n=24) and intervention group(n=24). Another 10 normal rats were selected as the control group, and only received sham surgery. Spinal cord injury intervention group were given E-64-D by intravenous injection in the post-operation. Rat spinal cord calpain-1 mRNA levels and hindlimb function were detected and evaluated on the 1, 7, 14 d and 28 d(n=6 at each time point) after operation. Rat tissues of spinal cord were evaluated by HE and Nissl staining. ***Results***: There was no significant difference in Calpain-1 mRNA levels of control group at different time points, while differences existed between spinal cord injury group and spinal cord injury intervention group at different time points(P<0.05). On 28 d, Calpain-1 mRNA expression level of the spinal cord injury intervention group and control group had no significant difference (P>0.05). Tarlov score and inclined plane test results between pinal cord injury group and spinal cord injury intervention group had significant differences on the postoperative 7, 14, 28 d(P<0.05). Motor function of spinal cord injury intervention group was better than that of spinal cord injury group. Neurons form and quantity of spinal cord injury intervention group were better than those of spinal cord injury group. ***Conclusion***: Inhibiting Calpain after spinal cord injury can prevent neuronal apoptosis and necrosis, and promote the recovery of spinal cord function.

【Key words】Calpain; spinal cord injury; neurological function

全球每年因为高处坠落、机动车交通事故等原因引起的脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)发病率约为(30~40)/100 万。脊髓损伤的产生往往给临床治疗带来很大的挑战，甚至对患者家庭和社会带来一系列问题[1]。由于脊髓损伤原发性和继发性的致伤因素，可使得神经细胞死亡或凋亡并引起患者暂时或永久性的感觉和运动功能障碍[2]。目前的研究结果表明脊髓损伤后的主要病理变化为炎性细胞浸润、各种因素引起的细胞凋亡、胶质细胞增生等反应[3]。如何在脊髓损伤后的早期进行干预并极大程度的降低损失水平，这是临床医生亟待解决的课题之一。尽管脊髓损伤后引起细胞坏死和凋亡的机制很多，但目前的研究认为细胞内钙离子内流是神经细胞毒性坏死的共同通路。钙离子引起的下游生化级联反应，主要是由钙蛋白酶(Calpain)所介导[4]。为了进一步的了解钙蛋白酶在脊髓损伤后所起的作用，本实验拟采用 Allen's 法构建大鼠脊髓损伤模型，在损伤早期应用钙蛋白酶抑制剂(E-64-D)后观察脊髓功能恢复及组织结构改变，为后期实验及临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 一般资料

选取成年 SD 雄性大鼠 63 只，购自我院实验动物中心，体质量为 180~230 g。将大鼠适应性的喂养 1 周后，其中 5 只动物因造模死亡，未进入实验，将剩余实验动物随机分到对照组(A 组，10 只)、脊髓损伤组(B 组，24 只)和脊髓损伤干预组(C 组，24 只)。

主要试剂：主要试剂如下：E-64-D(货号 E8640，Sigma公司，USA)，Trizol(货号 15596018，Invitrogen 公司，USA)和PCR试剂盒(货号 4472920，Invitrogen 公司，USA)。

1.2 大鼠急性脊髓损伤模型制作

采用戊巴比妥钠 40 mg/kg 剂量对大鼠进行腹腔注射麻醉，将麻醉后大鼠俯卧位固定于手术台上。以 T10 棘突为中心，将背部正中的毛剃光，裸露背部皮肤，常规碘伏消毒后铺巾。逐层切开大鼠背部皮肤、分离棘突两侧竖脊肌，暴露棘突和椎板，采用咬骨钳将 T10 棘突和椎板咬掉，暴露脊髓，不损坏硬脊膜，保证硬脊膜完整。根据 Allen's 脊髓损伤造模方法，采用质量为 20 g 的不锈钢打击材料，打击头部呈凹形，打击高度为 3 cm，当脊髓充血，大鼠双下肢出现痉挛性抖动，尾巴呈痉挛性摆动，视为造模成功。击打完毕后，生理盐水冲洗伤口，逐层缝合肌肉和皮肤。对照组大鼠仅暴露脊髓，不进行打击。术后给予大鼠 5 万 U 青霉素注射预防感染，每日更换垫料保持干燥，每次对大鼠进行 2 次膀胱按摩，促进自主排尿反射的建立。各组中动物如有死亡，随时进行补充。

1.3 钙蛋白酶抑制剂(E-64-D)干预

脊髓损伤组大鼠在造模完成后不进行 E-64-D 静脉注射。而脊髓损伤干预组大鼠在造模完成后采用 E-64-D (1 mg/kg)剂量，通过大鼠尾静脉微量泵注射，持续 12 h。对照组和脊髓损伤组则采用相同计量的生理盐水进行尾静脉

注射。各组动物在术后 1、7、14 d 和 28 d 4 个时间点每个时间点处死 3 只大鼠，并获取病理标本进行检测。

1.4 Calpain-1 mRNA 表达检测

从各组脊髓标本中分离总 RNA；取 1 μg RNA 采用 RT-PCR 试剂盒合成 cDNA。Calpain-1 mRNA 采用 qRT-PCR 实验测定。Calpain-1 上游引物：5'-AAACTCCCCTTCCCCAGGAT-3'，下游引物：5'-AAACTGGAGGGAAGGCATCG-3'。GAPDH 上游引物：5'-ACAGCAACAGGGTGGTGGAC-3'，下游引物：5'-TTTGA-GGGTGCAGCGAACTT-3'。反应参数：94 ℃ 45 s，55 ℃ 30 s，72 ℃ 45 s，35 cycles。以磷酸甘油醛脱氢酶（GAPDH）为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta G}$ 法对定量结果进行分析，获得 Calpain-1 mRNA 的相对表达量。

1.5 大鼠运动功能评价

分别于伤后 1、7、14、28 d 采用改良 Tarlov 评分及 Rivilin 斜板试验进行动物后肢功能评价，Tarlov 评分及斜板试验均由 3 名接受过培训但非本实验设计人员完成。斜板实验是将大鼠头朝右横放在改良的 Rivilin 斜板上，从水平位置（0 °）起渐增大角度，以大鼠能够在板上停留 5 s 而不跌落的最大角度来评分，重复 3 次并计算平均值。改良 Tarlov 评分是对动物后肢功能进行评分，评分标准为：（1）0 分：完全瘫痪，针刺时下肢无反应；（2）1 分：完全瘫痪，针刺时下肢有反应，但肢体不能活动；（3）2 分：肢体可活动，但不能站立或站立不稳（<5 s）；（4）3 分：可站立，但无法行走；（5）4 分：可行走数步，但不稳定；（6）5 分：能缓慢行走，但不灵活，存在一定缺陷；（7）6 分，正常行走。

1.6 组织形态学评价

对各组大鼠不同时间点脊髓标本进行固定并逐步包蜡，切片。脊髓形态检测采用 HE 染色。对神经细胞形态及尼氏体结构则采用 Nissl 染色进行评价。

1.7 统计学处理

所有数据均采用 SPSS 17.0 软件进行，计量资料采用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）形式表示，多组比较采用方差分析，组间比较采用 LSD-t 法。检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 各组大鼠术后一般情况

在实验期间，对照组大鼠无死亡发生。脊髓损伤组大鼠有 3 只死亡，而脊髓损伤干预组大鼠有 2 只死亡，并且均在实验中及时补齐。大鼠死亡原因主要为泌尿系统感染、动物对麻药耐受较差及尿潴留等。对照组大鼠术后未见后肢感觉及运动障碍。脊髓损伤组大鼠术后出现双后肢感觉及运动功能丧失，随着时间的延长，双后肢逐渐拖步，爬行，大鼠股四头肌力量较弱。脊髓损伤干预组大鼠在术后初期后肢感觉及运动功能丧失，其在早期即逐渐恢复部分感觉及运动功能。

2.2 各组大鼠 Calpain-1 mRNA 表达

各组大鼠 Calpain-1 mRNA 表达如图 1 所示，可见对照组 Calpain-1 mRNA 水平大鼠在不同时间点之间无统计学差异，而脊髓损伤组和脊髓损伤干预组在不同时间点之间的差异均具有统计学意义，呈逐渐下降趋势（P<0.05）。经过析因分析，分组主效应具有统计学意义（F=8.514，P=0.004），时间主效应具有统计学意义（F=5.321，P=0.017），并且分组和时间交互效应也具有统计学意义（F=7.973，P=0.008）。脊髓损伤组大鼠脊髓组织 Calpain-1 mRNA 表达水平在各个时间点均显著高于对照组和脊髓损伤干预组（P<0.05）。在第 28 天时，脊髓损伤干预组和对照组 Calpain-1 mRNA 表达水平差异无统计学意义（P>0.05）。

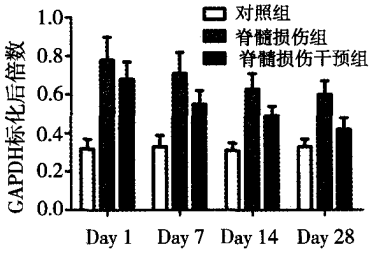


图 1 各组大鼠 Calpain-1 mRNA 表达（$\bar{x} \pm s$，n=6）

Fig.1 Expression of Calpain-1 mRNA levels of rats in each group（$\bar{x} \pm s$，n=6）

2.3 大鼠后肢运动功能评分

大鼠后肢运动功能评分如表 1 和表 2 所示。脊髓损伤组和脊髓损伤组干预组大鼠在术后 1 d 时，Tarlov 评分和斜板实验结果无统计学差异（P>0.05），而在 7、14、28 d 这 3 个时间点，两组大鼠在 Tarlov 评分和斜板实验结果上的差异均具有统计学意义（P<0.05），并且脊髓损伤干预组大鼠运动功能恢复情况显著优于脊髓损伤组大鼠。

2.4 组织学评价

HE 染色（图 2）给出了 28 d 时 3 组大鼠的脊髓组织 HE 染色情况。可见对照组大鼠神经元和神经胶质细胞结构和形态均正常，未见明显水肿。脊髓损伤组大鼠的神经元呈空泡变性，核固缩、核溶解等现象存在，中央管结构有破坏。而脊

表 1 各组大鼠术后各时相点改良 Tarlov 评分（$\bar{x} \pm s$，n=6）

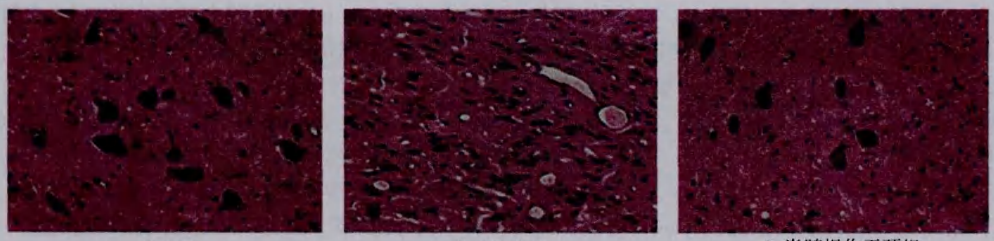
Tab.1 Modified Tarlov score of rats in each group during different time points postoperatively（$\bar{x} \pm s$，n=6）

组别	1 d	7 d	14 d	28 d
脊髓损伤组	0.24 ± 0.07	0.92 ± 0.21	1.65 ± 0.39	3.10 ± 0.47
脊髓损伤干预组	0.25 ± 0.06	2.24 ± 0.37	3.41 ± 0.43	4.87 ± 0.63
t 值	0.914	3.242	3.074	2.611
P 值	0.340	0.007	0.011	0.023

表 2 各组大鼠术后各时相点斜板实验结果（$\bar{x} \pm s$，°）

Tab.2 Inclined plane test results of rats in each group during different time points（$\bar{x} \pm s$，°）

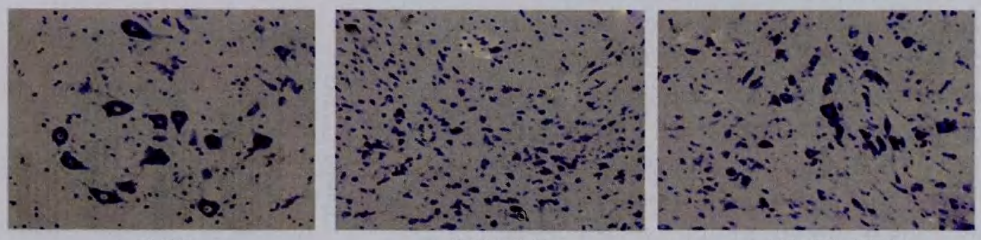
组别	1 d	7 d	14 d	28 d
脊髓损伤组	29.12 ± 1.13	35.62 ± 1.40	42.44 ± 1.29	47.31 ± 1.76
脊髓损伤干预组	28.90 ± 1.08	50.19 ± 1.28	60.43 ± 1.42	67.12 ± 2.53
t 值	0.471	3.494	3.115	3.094
P 值	0.620	0.005	0.009	0.010



A. 对照组　B. 脊髓损伤组　C. 脊髓损伤干预组

图 2 各组大鼠术后 28 d 脊髓组织 HE 染色（400×）

Fig.2 HE staining results of spinal cord tissue on 28d postoperatively in each group（400×）



A. 对照组　B. 脊髓损伤组　C. 脊髓损伤干预组

图 3 各组大鼠术后 28 d 脊髓组织 Nissl 染色（400×）

Fig.3 Nissl staining results of spinal cord tissue on 28 d postoperatively in each group（400×）

髓损伤干预组大鼠神经元胞体形态正常，神经元数量较脊髓损伤组有所改善。

Nissl染色可以判断神经细胞是否发生了病理改变，由于其内含有特异性嗜色质（图 3）。28 d 时，对照组大鼠神经元分布均匀，结构清晰，胞质内有蓝染颗粒。而脊髓损伤组大鼠神经元形态不规则，细胞变性呈空泡状，尼氏体消失。脊髓损伤干预组大鼠神经元结构较脊髓损伤组有所改善，但仍有一定程度的不规则，神经元数量少于对照组，神经胞体接近正常，无弥散现象发生。

3 讨 论

脊髓损伤常常可分为原发性损伤和继发性损伤，这两种损伤常常伴随发生。原发性损伤是指脊髓受到的直接外力，而继发性损伤是指脊髓受到外力后引起的一些列病理生理学改变，例如炎性因子的瀑布式释放，钙离子内流激活细胞死亡程序等[5]。目前的研究主要集中在如何防止继发性损伤对脊髓神经元的损害，减轻脊髓损伤后神经细胞的死亡和丢失，减轻脊髓损伤后的氧自由基和炎性因子的释放，尽最大可能的去保护脊髓原有的结构和功能[6]。在脊髓继发性损伤的过程中，找到干预靶点对保护脊髓损伤后神经功能至关重要[7]。

Calpain 一直被认为与细胞坏死相关，然而后来的研究也表明 Calpain 与细胞凋亡也密切相关，甚至多种病因引发的多种细胞凋亡均有 Calpain 的参与。脊髓神经元的凋亡则是脊髓损伤后继发性损害的主要存在形式[8]。Calpain 引起神经元凋亡的机制可能是其参与了细胞结构蛋白和骨架蛋白的降解过程，激活溶酶体膜蛋白，使得溶酶体内的酶广泛释放入细胞质引起细胞膜蛋白的降解。神经元坏死发生较快，细胞膜破坏后很难确定 Calpain 与其的关系，这也是 Calpain 在神经元坏死中的机制一直未能明确的原因。有研究表明在新生鼠单侧大脑缺血 24 h 后，其 Caspase-3 活性明显增加，但它可被 Calpain 抑制剂所抑制[9]。然而这种 Calpain 的抑制剂并不对 Caspase-3 本身产生任何抑制作用，因此这也表明细胞在凋亡的过程中，Caspase-3 与 Calpain 存在密切的关系[10]。有研究对大鼠脊髓造缺血再灌

注模型，大鼠均表现有不同程度的后肢运动障碍，这种障碍程度往往轻于脊髓创伤的大鼠。但对脊髓缺血再灌注损伤后的大鼠早期应用 E-64-D 后，大鼠的神经功能恢复明显优于未应用 E-64-D 的大鼠[11]。

本研究采用 Allen's 法对大鼠造脊髓损伤模型，然后对脊髓损伤干预组大鼠伤后采用静脉微量泵入 E-64-D。本研究发现对照组大鼠 Calpain-1 mRNA 表达在几个时间点未见明显的波动，而脊髓损伤组大鼠在 1 d 时 Calpain-1 mRNA 显著高于其余各组，但随着时间的延长，其表达水平逐渐下降。脊髓损伤干预组大鼠在各个时间点的 Calpain-1 mRNA 水平均显著小于脊髓损伤组大鼠。到 28 d 时，脊髓损伤干预组和对照组 Calpain-1 mRNA 表达水平差异无统计学意义。这也表明经过 28 d 后，E-64-D 的干预作用使得脊髓损伤干预组大鼠的 Calpain-1 基因水平恢复到接近正常水平。在对大鼠后肢运动功能的评价中，发现脊髓损伤组和脊髓损伤组干预组大鼠在术后 1 d 时，Tarlov 评分和斜板实验结果无统计学差异，而在 7、14、28 d这 3 个时间点，两组大鼠在 Tarlov 评分和斜板实验结果上的差异均具有统计学意义，并且脊髓损伤组干预组大鼠运动功能恢复情况显著优于脊髓损伤组大鼠。由于对照组大鼠仅进行了假手术，因此其在改良 Tarlov 评分和斜板实验中均处于正常的最高值，因此并未将其纳入表格中比较。但通过其余两组的比较，明显发生脊髓损伤干预组大鼠 28 d 时 Tarlov 评分为 (4.87 ± 0.63)分，明显高于脊髓损伤组，并且接近 6 分的正常值。在随后的组织学评价中，又从形态学印证了上述结论，28 d 时 HE 染色显示脊髓损伤干预组大鼠神经元胞体形态正常，神经元数量较脊髓损伤组有所改善。Nissl 染色显示脊髓损伤干预组大鼠神经元结构较脊髓损伤组有所改善，但仍有一定程度的不规则，神经元数量少于对照组，神经胞体接近正常，无弥散现象发生。

综上所述，E-64-D 可以有效的降低脊髓损伤后脊髓组织 Calpain 基因表达水平，提高脊髓损伤后神经功能的恢复。因此将 Calpain 作为抑制靶点可以为未来治疗脊髓损伤带来新的方法和思路。然而 Calpain 是如何减轻脊髓损伤后的继发伤害程度，这仍需要进行大量而深入的机制研究，揭开其在脊髓损伤后神经元坏死和凋亡中的作用，为临床的应用提供更有价值的线索[12-13]。

参 考 文 献

[1] Williams PR, Marincu BN, Sorbara CD, et al. A recoverable state of axon injury persists for hours after spinal cord contusion *in vivo*[J]. Nature Communications, 2014, 5: 5683.

[2] Priestley JV, Michael-Titus AT, Tetzlaff W. Limiting spinal cord injury by pharmacological intervention[J]. Handbook of Clinical Neurology, 2012, 109: 463-484.

[3] Yu CG, Li Y, Raza K, et al. Calpain 1 knockdown improves tissue sparing and functional outcomes after spinal cord injury in rats[J]. Journal of Neurotrauma, 2013, 30(6): 427-433.

[4] Colak A, Kaya M, Karaoglan A, et al. Calpain inhibitor AK 295 inhibits calpain-induced apoptosis and improves neurologic function after traumatic spinal cord injury in rats[J]. Neurocirugia (Astur), 2009, 20(3): 245-254.

[5] Ray SK, Samantaray S, Smith JA, et al. Inhibition of cysteine proteases in acute and chronic spinal cord injury[J]. Neurotherapeutics, 2011, 8(2): 180-186.

[6] Yu CG, Geddes JW. Sustained calpain inhibition improves locomotor function and tissue sparing following contusive spinal cord injury[J]. Neurochemical Research, 2007, 32(12): 2046-2053.

[7] Sribnick EA, Samantaray S, Das A, et al. Postinjury estrogen treatment of chronic spinal cord injury improves locomotor function in rats [J]. Journal of Neuroscience Research, 2010, 88(8): 1738-1750.

[8] Arataki S, Tomizawa K, Moriwaki A, et al. Calpain inhibitors prevent neuronal cell death and ameliorate motor disturbances after compression-induced spinal cord injury in rats[J]. Journal of Neurotrauma, 2005, 22(3): 398-406.

[9] Yu CG, Joshi A, Geddes JW. Intraspinal MDL28170 microinjection improves functional and pathological outcome following spinal cord injury[J]. Journal of Neurotrauma, 2008, 25(7): 833-840.

[10] Martinon S, Ibarra A. Pharmacological neuroprotective therapy for acute spinal cord injury: state of the art[J]. Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 2008, 8(3): 222-230.

[11] Sribnick EA, Matzelle DD, Banik NL, et al. Direct evidence for calpain involvement in apoptotic death of neurons in spinal cord injury in rats and neuroprotection with calpain inhibitor[J]. Neurochemical Research, 2007, 32(12): 2210-2216.

[12] Wingrave JM, Schaecher KE, Sribnick EA, et al. Early induction of secondary injury factors causing activation of calpain and mitochondria-mediated neuronal apoptosis following spinal cord injury in rats[J]. Journal of Neuroscience Research, 2003, 73(1): 95-104.

[13] Ray SK, Matzelle DD, Sribnick EA, et al. Calpain inhibitor prevented apoptosis and maintained transcription of proteolipid protein and myelin basic protein genes in rat spinal cord injury[J]. Journal of Chemical Neuroanatomy, 2003, 26(2): 119-124.

（责任编辑：张辉洁）