doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.26.002

Nogo-A 蛋白在一氧化碳中毒大鼠海马组织中的动态表达

彭洁颖[1] 范茂丹[2] 张 舜[2] 陈岳涛[2] 周 磊[2△]

（1 第二军医大学学员旅 上海 200433；2 杭州疗养院海勤疗养区 浙江 杭州 310002）

摘要 目的：观察一氧化碳中毒后大鼠海马组织中 Nogo-A 蛋白动态表达情况，探讨 Nogo-A 蛋白在一氧化碳中毒后神经系统损伤中的作用与影响。**方法：**随机数字法将雄性 SD 大鼠 30 只分为正常对照组（NC 组）、CO 中毒组（CO 组）、CO 中毒后 24 小时组（CO-24h）、CO 中毒后 48 小时组（CO-48h）、CO 中毒后 7 天组（CO-7d），每组各 6 只。CO 气体腹腔注射染毒法建立一氧化碳中毒模型。建模后不同时间点利用免疫组织化学染色(IHC)、蛋白质免疫印迹技术检测(WB)Nogo-A 蛋白在海马组织中的表达情况并分析其变化规律。**结果：**IHC 结果表明 NC、CO 组、CO-24h 组、CO-48h 组、CO-7d 组中 Nogo-A 蛋白平均光密度值分别为 0.0928± 0.0038、0.01172± 0.0042、0.1452± 0.0056、0.1271± 0.0057、0.1088± 0.0055；WB 结果提示一氧化碳中毒后海马组织中 Nogo-A 蛋白的表达较 NC 组增高，在 24h 时表达达到高峰（P<0.05）；24h 后表达开始逐步下降，至染毒第 7 天时，海马组织中 Nogo-A 蛋白的表达明显下降，但仍高于 NC 组（P<0.05）。**结论：**在本研究中，大鼠海马组织中 Nogo-A 蛋白表达的增高与一氧化碳中毒相关；Nogo-A 蛋白表达在 24h 时表达达到高峰；24h 后表达开始逐步下降。

关键词：一氧化碳中毒；Nogo-A；中枢神经损伤；神经生长抑制因子

中图分类号：R-33; Q593.2; R595.1 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273(2017)26-5007-04

Dynamic Expression of Nogo-A in Hippocampus of Rats after Carbon Monoxide Poisoning

PENG Jie-ying[1], FAN Mao-dan[2], ZHANG Shun[2], CHEN Yue-tao[2], ZHOU Lei[2△]

(1 The Second Military Medical University, Shanghai, 200433, China;

2 Department of convalescent of Hangzhou Sanatorium of PLA, Hangzhou, Zhejiang, 310002, China)

ABSTRACT Objective: To study the dynamic expression of Nogo-A in hippocampus of rats after carbon monoxide poisoning, and to explore the effect and influence of Nogo-A in the damage to nervous system after carbon monoxide poisoning. **Methods:** Thirty male SD rats were randomly divided into NC group(n=6), CO group(n=6), CO-24 h group(n=6), CO-48 h group(n=6), CO-7d group(n=6). The method of injection CO gas was used to establish the carbon monoxide poisoning model. Then immunohistochemical (IHC) and Western blot (WB) techniques were used to observe dynamic expression of Nogo-A in hippocampus of rats at several time intervals after carbon monoxide poisoning and to analyze its change law. **Results:** IHC results showed that the average optical density value of expression of Nogo-A in NC group, CO group, CO-24 h group, CO-48h group and CO-7d group were 0.0928± 0.0038, 0.01172± 0.0042, 0.1452± 0.0056, 0.1271± 0.0057, 0.1088± 0.0055. WB results showed that the expression of Nogo-A in hippocampus after carbon monoxide poisoning was significantly higher than that in NC group(P<0.05), and reached the highest level at 24 h, then had a gradual recovery after 24h. The expression of Nogo-A decreased obviously, but still higher than that of NC group by day 7 (P<0.05). **Conclusions:** In this study, the increase of expression of Nogo-A was associated with carbon monoxide poisoning. The expression of Nogo-A reached the highest level at 24h, then had a gradual recovery after 24 h.

Key words: Carbon monoxide poisoning, Nogo-A, Central nerve injury, Nerve growth inhibiting factor

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q593.2; R595.1 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2017)26-5007-04

前言

一氧化碳中毒（Carbon monoxide poisoning）是一种以中枢神经系统损伤为主要表现的全身性缺氧性疾病，部分患者在 CO 中毒后可以出现不同程度的神经系统损伤的临床症状[1,2]。有研究发现[3,4]，危险因素暴露后神经系统损伤及神经系统的功能缺失与神经生长抑制因子相关。其中，Nogo-A 被认为是机体内部最重要的神经生长抑制因子，参与脊髓损伤、局灶性脑缺血、脑缺血再灌注等多种神经系统疾病的发生发展[5]。目前，一氧化碳暴露后 Nogo-A 在海马组织内的表达情况及其时相变化尚不清楚，Nogo-A 表达变化是否与一氧化碳中毒后神经系统损伤有关亦未明确阐述。因此，本研究建立一氧化碳中毒模型，检测 Nogo-A 蛋白在海马组织中的表达情况并分析其变化规律，初步探讨 Nogo-A 蛋白在一氧化碳中毒后的病理生

作者简介：彭洁颖（1995-），本科，E-mail: 3583400993@qq.com

△ 通讯作者：周磊（1983-），主治医师，研究方向：特种医学、中毒，电话：13989468335，E-mail: zhoulei_venus@hotmail.com

（收稿日期：2017-03-30 接受日期：2017-04-25）

理作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

清洁级 SD 大鼠 30 只,体质量 250-300 g(饲养于第二军医大学动物实验中心),按 6 只 / 笼喂养,自主进食摄水,饲养温度维持在 25 ℃左右,每日 12 h 昼夜光照循环。

1.2 实验仪器与试剂

99.99 % 纯品 CO 气体、多克隆兔源抗鼠 Nogo-A 抗体(BD Biosciences 公司)、抗 β-actin 单克隆抗体(Abcam 公司)、鼠抗 IgG(武汉博士德有限公司)、兔抗 IgG(武汉博士德有限公司)、SABC 免疫组化染色试剂盒(北京金桥生物技术公司)、Ultra Sensitive SP 超敏试剂盒(北京金桥生物技术公司)、ABL80 动脉血气分析仪。

1.3 分组及动物模型建立

按随机数字法分为 5 组:正常对照组(NC 组)、CO 中毒组(CO 组)、CO 中毒后 24 小时组(CO-24 h)、CO 中毒后 48 小时组(CO-48 h)、CO 中毒后 7 天组(CO-7 d),每组各 6 只。

采用腹腔注射 CO 气体染毒法[6]建立大鼠 CO 组模型。大鼠称重后,首次按 120 mL/kg 腹腔注射 CO 气体;随后按 60 mL/kg 的剂量每隔 4 小时进行追加注射,共进行追加注射 4 次。NC 组大鼠称重后腹腔注射空气(按体重计算空气注射量,方法同 CO 组)。

1.4 海马组织中 Nogo-A 蛋白表达的测定

1.4.1 IHC 检测 Nogo-A 蛋白　于不同时间点腹腔注射 10 % 水合氯醛,麻醉大鼠满意后多聚 4 %甲醛灌注固定后断头取脑,再用多聚甲醛固定 24 h 后梯度乙醇脱水、石蜡包埋,海马组织区切片(厚度约 5 μm)。SABC 法,按试剂盒说明检测 Nogo-A 蛋白(多克隆兔源抗鼠 Nogo-A 抗体经 5%BSA 抗体稀释液按 1:100 稀释,4℃过夜;二抗用 5%BSA 抗体稀释液按照 1:2000 稀释)。200 倍光镜下观察海马组织形态、Nogo-A 蛋白阳性颗粒。应用 Image-Pro 6.0+ 软件分析平均光密度值,选取 5 个高倍镜下视野得平均值表示各组 Nogo-A 蛋白的表达量。

1.4.2 Western blot 检测 Nogo-A 蛋白　于不同时间点腹腔注射 10%水合氯醛处死大鼠,各组断头取脑分离海马组织样本,加入细胞裂解液,冰浴下研磨匀浆、15000 r/min 离心后取上清提取总蛋白。Bradford 法测定 Nogo-A 蛋白浓度,经 10% SDS-PAGE 衡压电泳后进行转膜、封闭、浸泡后摇床 2 小时后依次加入多克隆兔源抗鼠 Nogo-A 抗体(β-actin 单克隆抗体,5%BSA 抗体稀释液按 1: 1000 稀释;多克隆兔源抗鼠 Nogo-A 抗体,5%BSA 抗体稀释液按 1:2000 稀释)后 4 ℃过夜,二抗(均用 5%BSA 抗体稀释液按照 1:5000 稀释)室温孵育 1 小时。TBSB 洗膜 5 次(每次 5 min)后加 ECL 避光显色 5 min,终止反应。采用 Image-Pro 5.0 软件分析各组 Nogo-A 蛋白条带灰度值,以 Nogo-A/β-actin 灰度值的比值代表 Nogo-A 蛋白相对表达量。

1.5 统计学分析

使用 SPSS17.0 软件包进行统计分析;计量资料以均数± 标准差表示,组间比较采用单因素方差分析及 LSD 法两两比较。P<0.05 为差异有显著性统计学意义。

2 结 果

2.1 染毒后大鼠尾血中 COHb 浓度

腹腔注射空气后,NC 组大鼠正常摄食摄水,活动迅速无异常;腹腔注射 CO 气体后,CO 组、CO-24 h 组、CO-48 h 组、CO-7 d 组大鼠出现不同程度的反应迟钝,活动迟缓、刺痛反应减弱,摄食摄水减少,部分大鼠出现昏迷、尿失禁。这些表现在 24 h 后逐渐恢复。各组大鼠断尾取血,ABL80 动脉血气分析仪检测 COHb 浓度。各组大鼠染毒前 COHb 浓度均小于 2.8 %。CO 组、CO-24 h 组、CO-48 h 组、CO-7 d 组染毒后 COHb 分别为 61.3± 2.4(%)、62.1± 2.7(%)、61.8± 2.3(%)、61.2± 2.4(%)。各组大鼠在 CO 染毒后,COHb 水平均高于 50%,可以视为理想、可靠的 CO 中毒模型。见图 1 。

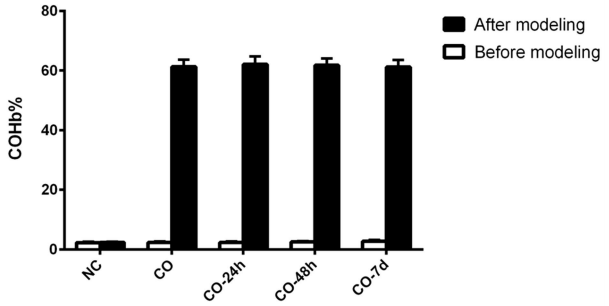

图 1 各组建模前后 COHb 水平

Fig.1 Level of COHb in each group before modeling and after modeling

2.2 IHC 检测 Nogo-A 蛋白

Nogo-A 蛋白经免疫组织化学染色后,阳性呈现为黄褐色或棕褐色颗粒。光镜下观察各组海马组织切片发现,NC 组的 Nogo-A 蛋白阳性颗粒呈基础表达,染色较淡,CO 染毒后的大鼠海马组织切片中,Nogo-A 蛋白的阳性颗粒强度均高于 NC 组,其中 CO-24h 组中 Nogo-A 蛋白的阳性颗粒强度最高、最为致密,呈现棕褐色。见图 2,表 1。

2.3 Western Blot 检测 Nogo-A 蛋白

一氧化碳中毒后海马组织中 Nogo-A 蛋白的表达较 NC 组增高,在 24 h 时表达达到高峰(P<0.05);24 h 后表达开始逐步下降,至染毒第 7 天时,海马组织中 Nogo-A 蛋白的表达明显下降,但然高于 NC 组(P<0.05)。见图 3。

3 讨论

CO 中毒是我国常见的生活中毒和职业中毒。CO 是环境中的碳不完全燃烧后的产物,进入体内后不仅能够与血红蛋白结合影响血红蛋白携氧及释放氧的能力,还能与还原型细胞色素氧化酶二价铁结合,影响细胞呼吸和氧化过程,造成细胞和组织缺氧。中枢神经系统耐受缺氧能力较差,对缺氧及其敏感,是 CO 中毒首要累及的器官。临床实践中发现部分患者在 CO 中毒后可以出现肢体瘫痪、震颤麻痹、肌肉痉挛强直、记忆力减退、认知障碍等不同程度的神经系统损伤的临床症状[7-9]。这些症状的产生、持续时间及对治疗的敏感性与 CO 造成直接损伤后的修复过程有关。神经系统损伤的恢复程度取决于神经元的再生与突触的重建。Nogo 基因的转录产物主要编码 Nogo-A、

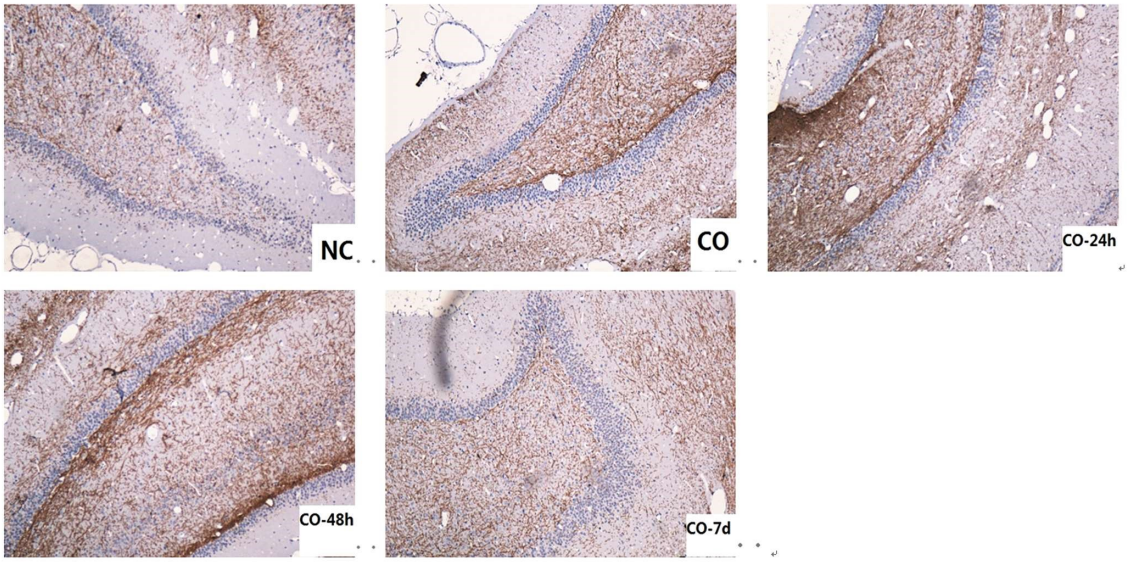

图 2 IHC 检测 Nogo-A 蛋白(× 200)

Fig.2 Morphology of Nogo-A in hippocampus by IHC(× 200)

表 1 各组大鼠 Nogo-A 蛋白在海马组织中的平均光密度表达

Table 1 Average optical density value of expression of Nogo-A in hippocampus

Groups	Amount(n)	Average optical density value($\bar{x}\pm s$)
NC	6	0.0928± 0.0038
CO	6	0.01172± 0.0042 *
CO-24h	6	0.1452± 0.0056 *#
CO-48h	6	0.1271± 0.0057 *△
CO-7d	6	0.1088± 0.0055 *△

Note: *P<0.05, compared with NC group; #P<0.05, compared with CO group; △ P<0.05, compared with CO-24h group.

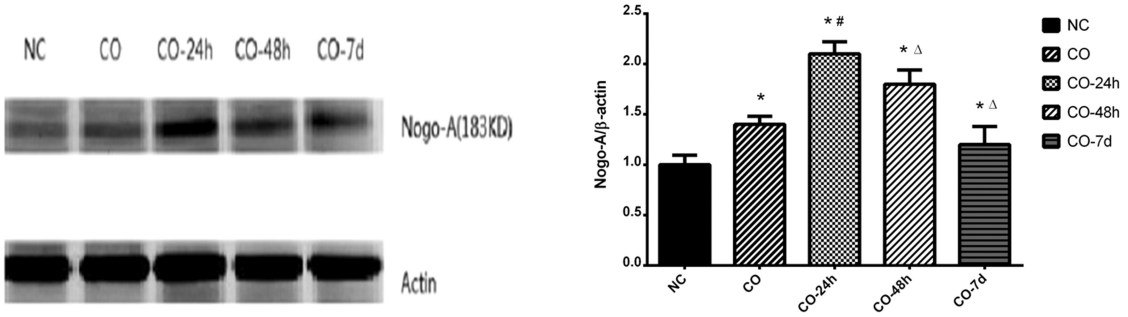

图 3 WB 检测 Nogo-A 蛋白表达

Fig.3 The results of expression of Nogo-A protein by WB

Note: *P<0.05, compared with NC group; #P<0.05, compared with CO group; △ P<0.05, compared with CO-24h group.

Nogo-B、Nogo-C 三种蛋白质 [10,11]。Nogo-A 蛋白是一种跨膜蛋白,包含 1163 个氨基酸,是机体内部最重要的神经生长抑制因子,主要存在于运动神经元、感觉神经元、海马组织、三叉神经节、红核等中枢神经系统中[12-14]。Nogo-A 蛋白内部有两组具有抑制神经元再生作用的功能结构域,即 Nogo-A 蛋白氨基端到第一个疏水区之间的序列(amino-Nogo)和两个疏水区之间的序列(Nogo-66)[13,15]。研究发现[16-18],Nogo-A 蛋白与受体结合后,启动下游 RhoA/ROCK、蛋白激酶 B/ 糖原合酶激酶 -3β、LIM 激酶 / 磷酸酶等信号通路,引起神经系统损伤部位局部肌动蛋白细胞骨架异构,改变生长锥的形态,降低生长锥的稳定性,最终起到抑制神经系统再生的作用。因此,Nogo-A 蛋白是影响神经系统损伤后再生的重要因素之一。

国内外,Nogo-A 蛋白与脊髓损伤、轴索损伤、局灶性脑缺血、脑缺血再灌注等多种神经系统损伤的关系已有研究[19-21]。赵修等人的研究发现[22],大鼠弥漫性轴索损伤后各脑区 Nogo-A 蛋白与轴索损伤的时间演变基本同步。杨俊锋等人的研究发现[23],在脊髓损伤后大鼠脊髓组织中 Nogo-A 蛋白和 mRNA 的表达呈现明显的波动性,先降低,后逐渐升高保持高水平,在第 7

天达到高峰。但 Nogo-A 表达变化与一氧化碳中毒的关系尚未明确阐述,其表达增高可能参与了抑制 CO 中毒后神经修复打的病理生理过程。因此,为了探究 Nogo-A 蛋白在 CO 中毒后的表达水平及其在神经系统损伤修复中的作用,本研究应用腹腔注射 CO 气体染毒法建立一氧化碳中毒模型,在染毒即刻、24 h、48 h、7 d 等不同时间点,利用 IHC、WB 检测 Nogo-A 蛋白在海马组织中的表达情况。IHC 结果提示 NC 组的 Nogo-A 蛋白阳性颗粒呈基础表达,CO 染毒后大鼠海马组织中 Nogo-A 蛋白的阳性颗粒强度均高于 NC 组,其中 CO-24h 组中 Nogo-A 蛋白的阳性颗粒强度最高、最为致密。WB 结果提示一氧化碳中毒后海马组织中 Nogo-A 蛋白的表达较 NC 组增高,在 24 h 时表达达到高峰($P<0.05$);至染毒第 7 天时,海马组织中 Nogo-A 蛋白的表达明显下降,但然高于 NC 组($P<0.05$)。以上实验结果均从分子水平证明了 Nogo-A 蛋白表达的增高与一氧化碳中毒相关;同时,在 CO 染毒后的各个时间点中,Nogo-A 蛋白在 24 h 时表达达到最高峰,24 h 后表达开始逐步下降,至染毒第 7 天时,海马组织中 Nogo-A 蛋白的表达明显下降,但仍高于基础表达水平。说明继发于一氧化碳中毒的 Nogo-A 蛋白高表达状态能够在一氧化碳中毒后持续较长时间;在这个时间段内,Nogo-A 蛋白对神经系统损伤后再生的抑制持续存在,尤其是在 24 h 内这种对神经元再生的抑制作用最强,神经系统的修复也最困难。这与杨俊锋等人的实验结果略有差异,考虑与实验模型、观察组织、实验周期性等因素有关。

此外,已有研究发现[24,25],机体内源性 cAMP 和 cGMP 的水平决定损伤后的神经元对 Nogo-A 蛋白、Semaphorin3 蛋白、Slit2 蛋白、Netrin 蛋白、Sema3A 蛋白等多种神经生长导向因子的反应性、反应强度及反应时效。通过药物治疗、高压氧治疗等干预手段能够上调 cAMP 的水平,降低 cAMP/cGMP 比值,最终阻断 Nogo-A 蛋白对神经元修复的抑制作用,改善神经元修复状况。结合本研究结果,CO 暴露后 Nogo-A 蛋白的表达量逐步增高并在 24 h 内达到顶峰。我们可以在早期通过药物治疗、亚低温治疗、高压氧治疗等综合干预手段,上调 cAMP 水平,降低中枢神经系统中 Nogo-A 蛋白的表达水平,阻断 Nogo-A 蛋白对神经元修复的抑制作用,维持生长锥的稳定性,保护生长锥的再生能力,最终提高神经元再生能力,减轻临床症状,改善临床结局。

综上所述,结合本研究结果,大鼠海马组织中 Nogo-A 蛋白表达的增高与一氧化碳中毒相关,是一氧化碳中毒造成中枢神经损伤的重要原因;Nogo-A 蛋白表达在 24 h 时达到高峰,之后逐渐降低,提示 24 h 是减轻一氧化碳中毒相关性神经损伤的重要时间窗口,在这个时间段内加强清除 Nogo-A 的治疗可能可以减轻神经损伤,改善神经损伤预后。

参 考 文 献(References)

[1] 高春锦, 葛环, 赵立明, 等. 一氧化碳中毒临床治疗指南(一)[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志, 2012, 19(2): 127-129
Gao Chun-jin, Ge Huan, Zhao Li-ming, et al. Clinical practice guidelines of carbon monoxide poisoning (part one) [J]. Chinese Journal of reparative Chin J Naut Med&Hyperbar Med, 2012, 19(2): 127-129

[2] 王文岚, 张瑜, 李娅, 等. 一氧化碳中毒与一氧化碳中毒迟发性脑病的研究进展[J]. 中国急救医学, 2012, 32(11): 1041-1045
Wang Wen-lan, Zhang Yu, Li Ya, et al. Progress in the relationship between acute carbon monoxide poisoning and delayed neuropathological sequela[J]. Chinese Journal of reparativeChin J Crit Care Med, 2012, 32(11): 1041-1045

[3] Li C, Wen H, Wang Q, et al. Exercise Training Inhibits the Nogo-A/NgR1/Rho-A Signals in the Cortical Peri-infarct Area in Hypertensive Stroke Rats [J]. Am J Phys Med Rehabil, 2015, 94(12): 1083-1094

[4] Wang JW, Yang JF, Ma Y, et al. Nogo-A expression dynamically varies after spinal cord injury [J]. Neural Regen Res, 2015, 10(2): 225-229

[5] Sui YP, Zhang XX, Lu JL, et al. New Insights into the Roles of Nogo-A in CNS Biology and Diseases [J]. Neurochem Res, 2015, 40(9): 1767-1785

[6] Liu Y, Fechter LD. MK-801 protect against carbon monoxide-induced hearing loss[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1995, 132(2): 196-202

[7] 李砚屏, 刘青乐, 郑成刚, 等. 高压氧对急性一氧化碳中毒迟发性脑病大鼠学习记忆能力及脑组织髓鞘碱性蛋白的影响[J]. 中华物理医学与康复医学杂志, 2014, 36(1): 12-15
Li Yan-ping, Liu Qing-le, Zheng Cheng-gang, et al. Effects of hyperbaric oxygen on learning and memory ability and myelin basic proteins in brain tissue after carbon monoxide poisoning [J]. Chin J Phys Med Rehabil, 2014, 36(1): 12-15

[8] Miyagawa K, Yamazaki M, Kawai M, et al. Dysregulated gene expression in the primary osteoblasts and osteocytes isolated from hypophosphatemic Hyp mice[J]. PLoS One, 2014, 9(4): e93840

[9] Noa Noy. Signaling by retinol and its serum binding protein [J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2015, 93: 3-7

[10] Fan TK, Gundimeda U, Mack WJ, et al. Counteraction of Nogo-A and axonal growth inhibitors by green tea polyphenols and other natural products[J]. Neural Regen Res, 2016, 11(4): 545-546

[11] Chen HX, Zeng XP, Sun YQ, et al. Expression of Nogo receptor 1 in the regeneration process of the mouse olfactory epithelium [J]. Neuroreport, 2016, 27(10): 717-723

[12] Yu S, Shu H, Yang T, et al. Upregulated expression of Nogo-A and NgR in an experimental model of focal microgyria regulates the migration, proliferation and self-renewal of subventricular zone neural progenitors[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 473(2): 482-489

[13] Ineichen BV, Plattner PS, Good N, et al. Nogo-A Antibodies for Progressive Multiple Sclerosis[J]. CNS Drugs, 2017, 31(3): 187-198

[14] Chang J, Yao X, Zou H, et al. BDNF/PI3K/Akt and Nogo-A/RhoA/ROCK signaling pathways contribute to neurorestorative effect of Houshiheisan against cerebral ischemia injury in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2016, 194(11): 1032-1042

[15] Theotokis P, Touloumi O, Lagoudaki R, et al. Nogo receptor complex expression dynamics in the inflammatory foci of central nervous system experimental autoimmune demyelination [J]. J Neuroinflammation, 2016, 13(1): 265

[16] Zhai P, Chen XB, Schreyer DJ. An in vitro study of peptide-loaded alginate nanospheres for antagonizing the inhibitory effect of Nogo-A protein on axonal growth [J]. Neural Regen ResBiomed Mater, 2015, 10(4): 045016

(下转第 5033 页)

[8] 王丽萍, 郭栋, 王果, 等. 中药绿原酸的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2001, 22(4): 961-963
Wang Li-ping, Guo Dong, Wang Guo, et al. Advancement of chlorogenic acid in traditional chinese medicine [J].Li Shi Zhen Medicine and Meteria Medica Research, 2001, 22(4): 961-963

[9] 赖滢滢, 王岩, 张英丰. 星点设计 - 效应面法进行蛇床子素脂质体处方优化的研究[J]. 中国新药杂志, 2015, 24(6): 708-712
Lai Ying-ying, Wang Yan, Zhang Ying-feng. A central composite design-response surface method for optimizing osthole liposome prescription[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2015, 24(6): 708-712

[10] 邱立朋, 龙苗苗, 田晨敏, 等. 载多柔比星透明质酸聚合物胶束的制备及抗肿瘤活性[J]. 中国医药工业杂志, 2016, 47(3): 294-298
Qiu Li-peng, Long Miao-miao, Tian Chen-min, et al. Preparation and antitumor actiVity of hyaluronic acid polymeric micelles loaded with doxorubicin [J]. Chinese Journal of Pharma- ceuticals, 2016, 47(3): 294-298

[11] Platt VM, Szoka FCJ. Anticancer therapeutic:targeting macromolecules and nanocarriers to hyaluronan or CD44, a hyaluronan recepter[J]. Mol Pharm, 2008, 5(4): 474-486

[12] 盛竹君, 徐维平, 徐婷娟, 等. 脂质体药物传输系统的研究新进展 [J]. 中国药业, 2015, 24(23): 6-8
Sheng Zhu-jun, Xu Wei-ping, Xu Ting-juan, et al. New Developments in Liposomal Drug Delivery Systems [J]. China Pharmaceuticals, 2015, 24(23): 6-8

[13] Kim H, Kim Y, Kim IH, et al. ROS-responsive activatable photosensitizing agent for imaging and photodynamic therapy of activated macrophages. Theranostics, 2013, 4: 1-11

[14] Ganesh S, Iyer AK, Weiler J, et al. Combination of siRNA-directed gene silencing with cisplatin reverses drug resistance in human non-small cell lung cancer[J]. Mol Ther Nucleic acids, 2013, 2: e110

[15] Cohen K, Emmanuel R, Kisin-Finfer E, et al. Modulation of drug resistance in ovarian adenocarcinoma using chemotherapy entrapped in hyaluronan-grafted nanoparticle clusters[J]. ACS Nano, 2014, 8(3): 2183-95

[16] Shah V, Taratula O, Garbuzenko OB, et al. Targeted nanomedicine for suppression of CD44 and simultaneous cell death induction in ovarian cancer: an optimal delivery of siRNA and anticancer drug[J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(22): 6193-204

[17] Kamat M, El-Boubbou K, Zhu DC, et al. Hyaluronic acid immobilized magnetic nanoparticles for active targeting and imaging of macrophages[J]. Bioconjug Chem. 2010, 21: 2128-2135

[18] Luo Y, Ziebell M, Prestwich G A. Hyaluronic Acid-Taxol Antitumor Bioconjugate Targeted to Cancer Cells[J]. Biomacromolecules, 2000, 1(1): 208-218

[19] Hyung W, Ko H, Park J, et al. Novel hyaluronic acid (HA) coated drug cariers (HCDCs) for human breast cancer treatment [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2008, 99(2): 442-454

[20] 李建林, 孟路华, 赵玉玺, 等. 透明质酸磷脂酰衍生物修饰姜黄素脂质体的制备及细胞毒性 [J]. 中国医药工业杂志, 2013, 44(5): 471-474
Li Jian-lin, Meng Lu-hua, Zhao Yu-xi, et al. Preparation and cytotoxicity of hyaluronic acid phosphatidyl derivative modified curcumin liposomes[J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2013, 44 (5): 471-474

[21] Huang JQ, Kong LW. Preparation and determination of the content and entrapment eficiency of gemcitabine hydrochlofide liposome[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2010, 35(1): 30-32

[22] 杨硕晔, 王杏林, 杨志强. 洛莫司汀 - 碘海醇复方脂质体的制备及包封率测定[J]. 中国药房, 2014, 25(37): 48
Yang Shuo-ye, Wang Xing-lin, Yang Zhi-qiang. Preparation of lomustine-iohexol compound liposomes and determination of the entrapment efficiency[J]. China Pharmacy, 2014, 25(37): 48

(上接第 5010 页)

[17] Xu YQ, Sun ZQ, Wang YT, et al. Function of Nogo-A/Nogo-A receptor in Alzheimer's disease [J]. CNS Neurosci Ther, 2015, 21(6): 479-485

[18] Sepe M, Lignitto L, Porpora M, et al. Proteolytic control of neurite outgrowth inhibitor NOGO-A by the cAMP/PKA pathway [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(44): 15729-165734

[19] 孙国岚, 唐咏春, 金丽英, 等. 肌苷对大鼠脑缺血再灌注后勿动蛋白基因表达的影响[J]. 齐鲁医学杂志, 2004, 19(1): 9-13
Sun Guo-lan, Tang Yong-chun, Zheng, Jin Li-ying, et al. Effects of inosine on expression of Nogo-A mRNA after cerebral ischemic reperfusion in rats[J]. Med J Qilu, 2004, 19(1): 9-13

[20] Huo Y, Yin XL, Ji SX, et al. Amino-Nogo inhibits optic nerve regeneration and functional recovery via the integrin αv signaling pathway in rats[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 35(2): 616-626

[21] 隋云鹏, 朱莉莉, 隋峰. 神经再生抑制分子 Nogo-A 的病理生理机制研究进展[J]. 医学分子生物学杂志, 2016, 13(2): 115-119
Sui Yun-peng, Zhu Li-li, Sui Feng. Advances in the pathophysiological mechanisms of neuron regeneration inhibitor Nogo-A[J]. J Med Mol Biol, 2016, 13(2): 115-119

[22] 赵修, 宋锦宁, 郗磊, 等. 大鼠弥漫性轴索损伤后 Nogo-A 在脑组织中表达的分布与动态变化及其意义 [J]. 西安交通大学学报 (医学版), 2015, 36(1): 80-84
Zhao Xiu, Song Jin-ning, Xi Lei, et al. Expression changes of Nogo-A and its significance in rat brain with diffusive axonal injury [J]. Journal of Xi'an Jiaotong University (Medical Sciences), 2015, 36(1): 80-84

[23] 杨俊锋, 张亚峰, 马勇, 等. Nogo-A 在脊髓损伤大鼠脊髓组织中的动态表达[J]. 中国康复医学杂志, 2015, 30(9): 867-871
Yang Jun-feng, Zhang Ya-feng, Ma Yong, et al. Dynamic expression of Nogo-A in spinal cord of rats with spinal cord injury [J]. Chinese Journal Rehabilitation Medicine, 2015, 30(9): 867-871

[24] Cui MZ. Potential therapeutics for myocardial ischemia-reperfusion injury.Focus on "Induction of cardioprotection by small netrin-1-derived peptides" [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2015, 309 (2): 97-99

[25] Xu G, Wang R, Wang Z, et al. NGL-2 is a new partner of PAR complex in axon differentiation [J]. J Neurosci, 2015, 35 (18): 7153-7164