

皮质脊髓束轴突再生与脊髓修复

张世民 顾玉东 侯春林

[关键词] 皮质脊髓束;轴突;再生;脊髓损伤

中图分类号:R651.2 文献标识码:A 文章编号:1006-9771(2003)07-0418-04

据统计,美国有 30 万脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)患者,每年发病 1.1 万人。对 SCI 的治疗原则,一是减轻继发性损伤,二是促进再生与修复。目前临床对早期减轻脊髓的继发性损伤已有几种办法,如应用甲强龙、神经节苷酯等。但在修复脊髓与大脑的神经通路方面,尤其是恢复皮质脊髓束以重建肢体运动功能,虽然实验研究取得了很大进步,尚无临床应用成功的报道^[1]。

1 皮质脊髓束的特点

中枢神经系统由胚胎时期的神经管发育而来。相对而言,脊髓是分化较少的部分,仍保持管状和节段性的结构特点。脊髓与脑的各级中枢之间有着广泛而密切的联系,正常情况下,脊髓在脑的控制下进行活动。

脊髓由中央 H 形灰质(神经元胞体)和周围白质(神经元突起)组成。白质即神经传导束,由脊髓与脑之间的长纤维(位于外周表层)和脊髓节段之间的短纤维(位于内部深层,脊髓固有束)组成。皮质脊髓束(corticospinal tract)为锥体系的一部分,是大脑皮质至脊髓前角运动神经元的运动传导束(轴突)。其胞体为大脑皮质中央前回(Brodman 第 4 区上 2/3)的巨型锥体细胞。大部分纤维(约 85%)在延髓锥体进行左右交叉,经脊髓侧索下降;小部分纤维(约 15%)在前索下行至脊髓后经白质前联合再交叉,两者分别组成皮质脊髓侧束和皮质脊髓前束,其主要功能是通过脊髓中间神经元(Rexed 灰质板层的第 IV 层)再到前角运动细胞(控制躯干和肢体近端大肌肉),或直接终止于脊髓前角运动细胞(控制手足肢端小肌肉的精细运动),支配骨骼肌的随意运动。皮质脊髓侧束约有 1/2 纤维止于颈髓,1/5 纤维止于胸髓,1/4 纤维止于腰骶髓。而皮质脊髓前束多终止于颈髓和上胸髓。人类皮质脊髓束的构成是无髓和有髓纤维约各占一半,自大脑皮质向下贯穿于其终止平面的全长,长约 50—70cm^[2]。

SCI 导致的脊髓灰质胞体坏死,仅引起损伤平面

的功能障碍(下运动神经元损伤,软瘫),影响范围较小。而 SCI 导致的传导束功能障碍,则引起损伤平面以下的所有功能失去大脑的调节与支配(上运动神经元损伤,硬瘫),范围较大。因此,恢复脊髓中传导束的功能,尤其恢复控制随意运动的皮质脊髓束功能,意义重大。而脊髓内部神经细胞的再生或脊髓内固有束的再生,对恢复功能意义不大^[3]。

2 影响皮质脊髓束再生的因素

中枢神经细胞的轴突损伤后,在自然条件下几乎不能再生,原因是:①中枢神经的环境对轴突再生来说是抑制性的;②中枢神经细胞的内在再生能力低下。

2.1 中枢神经轴突再生的抑制性环境 在未损伤的脊髓中,传导束(轴突)与星形胶质细胞和少突胶质细胞相接触。在 SCI 后,随即发生了创伤性细胞反应,星形胶质细胞分裂,并衍化为“瘢痕性”胶质细胞;微胶质细胞和原始少突胶质细胞增殖并移向损伤区,脊膜细胞向损伤区侵入。因此,中枢神经损伤区存在下列 4 种主要细胞:星形胶质细胞、原始少突胶质细胞、脊膜细胞和微胶质细胞^[4]。研究发现,轴突再生的抑制性因子可产生于髓鞘和胶质瘢痕。髓鞘产生的抑制因子主要有 3 种:Nog α A(即 NI-35/250,髓鞘相关阻断因子)、髓鞘相关糖蛋白(MAG)和硫酸软骨素蛋白多糖系列(CSPGs),这些因子在正常髓鞘中均存在,但髓鞘损伤后大量释放。SCI 区的星形胶质细胞、原始少突胶质细胞和脊膜细胞均能分泌 CSPG 系列的轴突抑制性因子,包括原始少突胶质细胞的 NG2、neurocan、versican 和 phosphacan,星形胶质细胞的 neurocan、phosphacan 和 brevican,脊膜细胞的 NG2 和 versican。微胶质细胞能产生多种毒素,杀死神经细胞和受损的神经轴突。因此,SCI 区多种不同的抑制性因子混合存在,对皮质脊髓束的轴突再生十分不利^[5]。

2.2 中枢神经轴突的再生能力低下 许多中枢神经细胞的轴突自然再生能力十分低下,有时给予有利的环境,也不会再生。研究发现,中枢神经轴突的再生能力与其被切断的部位有密切关系。Richardson 等发现,如果在大鼠靠近神经细胞的胞体处切断轴突,则轴突再生的可能性很大,能力也较强;如果在远离胞体的部位(>5cm)切断轴突,则轴突再生的可能性很小,或

作者单位:200040 上海市,复旦大学附属华山医院(第一作者现在第二军医大学长征医院骨科)。作者简介:张世民(1965-),男,山东烟台人,博士,副主任医师,博士后,主要研究方向:脊髓损伤修复重建。

根本不再生^[6]。这同样对脊髓修复非常不利。机体许多重要的神经轴索存在于长的脊髓上行或下行传导束中,不仅路途较长,受损机会多,而且离神经细胞体较远,再生机会少。实验发现,用一段周围神经桥接 SCI 区,则长入其中的神经轴突大多来自邻近的脊髓神经细胞,即脊髓固有束,而来自皮质脊髓束的轴突很少^[7]。

周围神经的感觉和运动神经元,不论轴突切断部位离胞体的远近,都会自动调高其生长基因(如 GAP-43)的表达水平,在损伤近侧迅速形成生长锥;但在中枢神经,基因的表达水平仅在靠近胞体处切断轴索时才会调高。为了提高中枢神经轴突的再生能力,必须应用分子生物学技术,对控制轴突生长的基因进行调控,提高其表达能力^[8]。

3 脊髓修复的几种方法

促进中枢神经的轴突再生,可从 4 个方面入手:①增加有利于轴突再生的细胞,包括雪旺细胞、嗅鞘细胞、胚胎神经细胞和神经干细胞等;②提高中枢神经细胞的轴突再生能力,主要是应用外源性神经营养因子和神经生长因子;③利用抗体进行中和反应,包括产生于髓鞘的抑制因子和产生于胶质瘢痕的抑制因子;④促进未损伤轴突的功能恢复。同时改变多方面的因素,比仅改变一种因素更为有效^[8,9]。

3.1 增加有利轴突再生的细胞 1981 年,David 和 Aguayo 证实,大鼠中枢神经轴突能长入植入 SCI 部位的周围神经移植体^[10]。其后,Bunge 领导的研究小组进行了许多实验,证实周围神经或纯化的雪旺细胞,能促进中枢神经的轴突再生。Xu 等(1995)先提取成人或大鼠的周围神经雪旺细胞,进行培养增殖,然后加入基质中,放入生物半透管,再将此管植入切断的脊髓缺损间隙内,结果有大量中枢神经轴突长入移植体中,但这些轴突不能离开雪旺细胞的环境而长入远侧的脊髓中。Cheng 等在 4 只大鼠中,用含有切成小段的肋间神经和酸性成纤维细胞生长因子(aFGF)-1 的纤维凝胶桥接 T₈ 节段的 5 mm 脊髓缺损,发现有许多轴突再生进入移植体,且不少能继续长入远侧脊髓而恢复功能^[11]。

近来,嗅鞘胶质细胞获得了广泛的重视,它不仅能促进轴突再生进入移植体,而且能携带轴突继续向下生长而进入远侧脊髓。Li 等将嗅鞘细胞植入皮质脊髓束的损伤处,发现轴突能生长较长的距离,并恢复良好的功能,效果非常显著^[12]。Bunge 等在雪旺细胞半透管的两端界面上加入嗅鞘细胞,发现可引导轴突通过移植管而长入远侧脊髓,是一个非常具有前途的方法。嗅鞘胶质细胞有多种,混合应用比过度纯化的效果好。

胚胎神经细胞有较长的存活时间和较强的再生能

力,国内外均进行了较多的研究。在成年大鼠,用胚胎脊髓组织植入 SCI 处,成年宿主大鼠的轴突能长入胚胎移植体中,并改善功能。Bregman 等认为,胚胎移植体具有良好的生长潜力,可能起到了轴突生长的接力站的作用:宿主轴突先长入胚胎脊髓移植体中并与其神经细胞发生连系,再由胚胎神经细胞的轴突长入远侧脊髓的宿主细胞而发挥功能^[13]。近来有学者将原始干细胞与神经生长因子混合进行特殊培养,发现能诱导分化成神经干细胞,这为 SCI 患者进行自身神经细胞移植提供了可能,但该分化也有形成幼稚肿瘤细胞的可能,尚需进行大量研究。

3.2 阻断髓鞘抑制因子的作用 目前已发现的髓鞘来源的抑制性大分子包括 NogA、MAG、tenascin-R 和 versican。最早发现的抑制性因子是 NogA(即 NF-250),随后其单克隆抗体 IN-1 即被制出。Schwab 等在 SCI 大鼠脑中植入能分泌 IN-1 抗体的杂交瘤细胞,并对皮质脊髓束进行标记,结果有少量的皮质脊髓束轴突能再生 1 cm 左右,并恢复部分下肢主动活动功能;如同时应用生长因子,可提高轴突的生长能力^[14]。Z'Graggen 等(1998)切断大鼠的一侧皮质脊髓束,应用 IN-1,对侧健康的皮质脊髓束能发出侧芽,跨过脊髓中线而代替部分损害的皮质脊髓束,并恢复部分下肢功能;IN-1 与神经营养因子-3(NT-3)或脑源性神经营养因子(BDNF)联合应用,轴突再生的数量和距离均较单独应用为好^[15]。另外一个重要的抑制因子是 MAG,目前尚没有阻断 MAG 的抗体,但 MAG 已被克隆出。Li 等(1996)用 MAG 基因敲除小鼠实验证明,其皮质脊髓束损伤后的轴突再生较正常小鼠有提高,但尚未达到能改善功能的程度。对其他髓鞘性抑制因子,目前尚无在体内阻断其作用的办法。

3.3 阻断胶质瘢痕抑制因子的作用 胶质瘢痕产生的抑制因子主要是 CSPG 系列,包括 NG2、neurocan、versican、brevican 和 phosphacan。这些因子的抑制作用部分是通过共有的结构氨基葡糖链(GAG)实现的。Bradbury 等在大鼠发现,软骨素酶能通过降解 GAG 而促进轴突生长,运动和感觉功能均有显著恢复^[16]。

3.4 提高轴突的内在再生能力 神经营养因子和神经生长因子能提高神经细胞轴突的内在再生能力,更好地利用为其创造的有利环境。但单独应用神经营养因子和生长因子,尚不足以使轴突再生。不同的神经轴突有不同的受体,因此不同的神经营养因子和生长因子有不同的作用目标。对皮质脊髓束而言,NT-3 的效果最好,而神经生长因子对直径细小的痛觉纤维有较强的亲和力,过量应用有导致疼痛的可能。实验中,这些因子的应用方法包括直接在损伤处插管滴注、静脉注射、病毒介导和植入能分泌该因子的细胞^[17]。大

量的研究是将神经营养因子和生长因子与其他方法联合应用。在上述几种脊髓再生模型中,均有注入神经营养因子的研究,轴突再生的数量均有提高。Schnell 等(1994)将 IN-1 与 NT-3 和 BDNF(脑源性神经生长因子)联合应用,发现皮质脊髓束轴突发芽增多,再生数目增加。在 Bunge 雪旺细胞管、胚胎脊髓移植、周围神经移植等模型中,神经营养因子均获得了较好的效果^[18]。Grill 等(1997)切断脊髓腹侧的一半,植入经转基因处理,能分泌 NT-3 的成纤维细胞,发现有大量皮质脊髓束轴突被吸引长入移植物中,其中部分可从移植物中长出,进入远侧脊髓并恢复部分功能。近来发现,神经营养因子的作用最终是通过轴突的腺苷酸信号系统实现的,阻断 GTP 酶 Rho,或提高 cAMP 水平,均能促进轴突再生^[16]。

3.5 促进未损伤的轴突恢复功能 约 2/3 的人类完全性 SCI(即 ASIA A 级),其脊髓结构并未发生解剖学的中断,仍有轴突通过损伤区。从理论上讲,通过这些未中断的轴突来提高功能恢复,远较通过重新再生的轴突容易。然而,到目前为止这方面的研究很少。有两种途径可以提高仍健存轴突的功能:①促进脱髓鞘的轴突重新形成髓鞘而具有传导功能;②促进突触联系的重塑。研究发现,SCI 均伴随着传导束的脱髓鞘,几年以后,SCI 区已见不到脱髓鞘状态的轴突,推测可能是这些轴突重新形成了髓鞘,或由于脱髓鞘而发生了坏死(如脊髓多发性硬化)。如果传导束的重新髓鞘化能促进其功能恢复,则目前应用于多发性硬化的几种治疗方法可在 SCI 患者临床试用。成年脊髓中存在着大量静息的神经联系,激活这些静息的联络通道,或促进形成新的突触联系,均有助于提高脊髓的可塑性。Raineteau 认为,前述几种促进轴突再生和发芽的方法,如 IN-1、软骨素酶和神经营养因子等,均能提高脊髓的可塑性而促进功能恢复^[19]。

4 实验研究的意义

脊髓修复的实验研究取得了令人鼓舞的成就,许多实验模型均获得了明显的轴突再生和功能恢复。但轴突再生的数量并不多,距离也不长。脊髓即使丧失了 80% 的前角运动细胞,通过代偿,也不至于出现明显的运动功能缺陷。反之亦然,虽然目前可能获得的再生轴突数量还很少,但这很少的轴突有可能会带来巨大的功能恢复。目前大鼠轴突再生的一般距离为 1—2cm,最长为 4cm,与体长相比,所占的比例也不算小。3—4cm 的距离虽然离临床要求还相差很远,但对颈髓损伤四肢瘫的患者而言,多恢复 1 个或 2 个脊髓节段的神经细胞功能,病人的上肢和手部功能即能获得巨大的改善,对提高患者的生活质量和自理能力有很大的帮助。颈髓的皮质脊髓束离大脑皮层神经胞体

距离较近,再生效果较好,而距离较长的腰骶髓支配的下肢功能就不大容易恢复。中枢神经轴突再生是否能特别改善盆底器官自主神经系统的功能(排尿排便性功能),目前尚不清楚。

Fawcett 总结认为,脊髓修复的实验研究还有不少问题,离临床应用尚有很大距离:①目前的实验研究均是用啮齿类小动物(主要为大鼠),很少有大型动物(如猫、狗)和高等动物(如猴、猿)的报道,但国外已有这方面工作的开展;②轴突的再生,与远侧神经细胞的联系都可能是随机的,除了恢复功能外,会有不少无效的轴突再生,甚至联系错误而使原有状态更差;③感觉神经的轴突再生可能会引起慢性疼痛;④动物实验造成的 SCI 多为剪切伤(cut),虽然研究容易计量和重复,但与人类的实际情况多为压砸伤(impact)差别较大,后者损伤范围广,继发反应重;⑤动物实验的脊髓修复多为损伤后立即应用(新鲜),而临床往往需观察 6 个月—1 年后,脊髓功能不再恢复才考虑手术(陈旧),两者的再生环境和再生活力截然不同;⑥虽然已有几种实验治疗方法和模式,但每一方法的安全性和有效性仍需继续检验;⑦目前尚缺乏客观、准确地评价脊髓再生功能恢复的方法^[31]。

5 脊髓修复的前景展望

自 1981 年 David 和 Aguayo^[10]证实皮质脊髓束可以再生以来,20 多年的实验研究改变了人们对 SCI 的传统悲观论点。全世界有数百万患者期待着脊髓修复技术走向临床。2002 年 Fawcett 总结了目前脊髓修复的实验成就,就其临床意义进行了探讨,并预测了临床应用脊髓修复技术的可能途径,包括以下几个方面:①采用外科手术的方法在 SCI 部位进行“架桥”,桥梁由生物半透管或凝胶组成,其中包含有从患者自身周围神经培养得来的大量雪旺细胞或嗅鞘细胞;②刺激宿主的中枢神经轴突再生,应用神经营养因子或其他物质,激活神经细胞的生长机制,这在脊髓为陈旧性损伤时更为重要;临床应用时可能需埋置一导管,用动力泵将营养因子持续不断的输入到损伤区;③改善胶质细胞的抑制性环境,以利轴突生长,如应用软骨素酶和输入抑制性因子的抗体(如 IN-1)进行中和反应;④其他方面的治疗,保证再生的任一轴突都有最好的机会来恢复有益的功能^[20-22]。

这些手段结合在一起,将是一个十分复杂的治疗体系。Fawcett 估计在 21 世纪的前 10 年,将有脊髓修复技术的临床应用,并提出最早的治疗模式可能是在损伤部位输注 IN-1 抗体,并植入经大量体外增殖的患者自身雪旺细胞和嗅鞘细胞,或再加用软骨素酶;由于手术“架桥”有损伤脊髓的可能性,因此第 1 例病人不能选择颈髓损伤患者进行,而中段或下段胸髓是比较

安全的部位,即使 SCI 平面上升 1—2 个节段,也不至造成大的伤害^[20]。

[参考文献]

- [1] Schwab ME. Repairing the injured spinal cord[J]. Science, 2002, 295: 1029—1031.
- [2] Ramer MS, Harper GP, Bradbury EJ. Progress in spinal cord research: a refined strategy for the international spinal research trust[J]. Spinal Cord, 2000, 38: 449—472.
- [3] Fawcett JW. Spinal cord repair: from experimental models to human application[J]. Spinal Cord, 1998, 36: 811—817.
- [4] Zompa EA, Cain LD, Everhart AW, et al. Transplant therapy: recovery of function after spinal cord injury[J]. J Neurotrauma, 1997, 14: 479—506.
- [5] Fawcett JM, Asher RA. The glial scar and CNS repair[J]. Brain Res Bull, 1999, 49: 377—391.
- [6] Richardson PM, Issa VMK, Aguayo AJ. Regeneration of long spinal axons in the rat[J]. J Neurol, 1984, 13: 165—174.
- [7] Tator CH. Biology of neurological recovery and functional restoration after spinal cord injury[J]. Neurosurgery, 1998, 42: 696—707.
- [8] Harper GP, Banyard PJ, Sharpe PC. The International Spinal Research Trust's strategic approach to the development of treatments for the repair of spinal cord injury[J]. Spinal Cord, 1996, 34: 449—459.
- [9] Jones LL, Oudega M, Bunge MB, et al. Neurotrophic factors, cellular bridges and gene therapy for spinal cord injury[J]. J Physiol, 2001, 533: 83—89.
- [10] David S, Aguayo AJ. Axonal elongation into peripheral nervous system bridges after central nervous system injury in adult rats[J]. Science, 1981, 241: 931—933.
- [11] Cheng H, Cao YH, Olson L. Spinal cord repair in adult paraplegic rats—partial restoration of hindlimb function[J]. Science, 1996, 273: 510—513.
- [12] Li Y, Field PM, Raisman G. Repair of adult rat corticospinal tract by transplants of olfactory ensheathing cells[J]. Science, 1997, 277: 2000—2002.
- [13] Bregman BS, Bagden KE, Schnell L, et al. Recovery from spinal cord injury mediated by antibodies to neurite growth inhibitors[J]. Nature, 1995, 378: 498—501.
- [14] Schwab ME, Brosamle C. Regeneration of lesioned corticospinal tract fibers in the adult rat spinal cord under experimental conditions[J]. Spinal Cord, 1997, 35: 469—473.
- [15] Merkler D, Metz GA, Raineteau O, et al. Locomotor recovery in spinal cord injured rats treated with an antibody neutralizing the myelin-associated neurite growth inhibitor Nog α A[J]. J Neurosci, 2001, 21: 3665—3673.
- [16] Bradbury EJ, Moon LD, Popat RJ, et al. Chondroitinase ABC promotes axon regeneration and functional recovery following spinal cord injury[J]. Nature, 2002, 416: 636—640.
- [17] Plunet W, Kwon BK, Tetzlaff W. Promoting axonal regeneration in the central nervous system by enhancing the cell body response to axotomy[J]. J Neurosci Res, 2002, 68: 1—6.
- [18] Murray M, Fischer I. Transplantation and gene therapy: combined approaches for repair of spinal cord injury[J]. Neuroscientist, 2001, 7: 28—41.
- [19] Raineteau O, Schwab ME. Plasticity of motor systems after incomplete spinal cord injury[J]. Nature Rev Neurosci, 2001, 2: 263—273.
- [20] Fawcett JW. Repair of spinal cord injuries: where are we, where are we going[J]? Spinal Cord, 2002, 40: 615—623.
- [21] Geller HM, Fawcett JW. Building a bridge: engineering spinal cord injury[J]. Exp Neurol, 2002, 174: 125—136.
- [22] McDonald JW, Sadowsky C. Spinal cord injury[J]. Lancet, 2002, 359: 417—525.

(收稿日期: 2003-01-15)