

电场诱导新生血管形成对脊髓损伤的修复作用

邵阳¹, 肖波¹, 杨晓苏¹, 赵敏², 杨期东¹

[摘要] 脊髓损伤后神经功能的恢复主要取决于神经轴突的再生。脊髓损伤后血管缺损, 缺乏有效营养运输是影响轴突再生的关键因素之一, 也是期待解决的问题。通过电场诱导新生血管形成, 可能对脊髓损伤后的结构和功能修复有重要价值。

[关键词] 脊髓损伤; 电场; 血管形成; 综述

Effect of Angiogenesis Induced by Electrical Fields on Spinal Cord Injury (review) SHAO Yang, XIAO Bo, YANG Xiao-su, et al. Institute of Neurology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, Hunan, China

Abstract: Regeneration of axon was play an important role in the functional repair after spinal cord injury, and it was affected by vascular damage, absent availability nutrition transportation, urged to be solved. Inducing angiogenesis by electrical fields might be benefit to enhance anatomical plasticity and recovery of function after spinal cord injury.

Key words: spinal cord injury; electrical fields; angiogenesis; review

[中图分类号] R651.2, Q64 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2008)08-0705-02

[本文著录格式] 邵阳, 肖波, 杨晓苏, 等. 电场诱导新生血管形成对脊髓损伤的修复作用[J]. 中国康复理论与实践, 2008, 14(8): 705—706.

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是临床上严重的急性病损。随着医疗水平的提高, SCI的生存率及生存时间显著增加, 但致残率也随之升高^[1], 严重影响人类的健康和生存质量, 成为亟待解决的医学难题。SCI后神经功能的恢复主要取决于神经轴突的再生。大量实验和临床研究表明, 成年哺乳动物 SCI后神经纤维轴突有一定的再生能力^[2,3], 但这种再生必须在特定的微环境下才能持续, 如促进及引导轴突再生的有效神经营养因子、克服阻碍轴突再生的脊髓源性轴突生长抑制蛋白和胶质瘢痕、再生轴突能攀附及伸展的有效基质分子等。其中 SCI后血管缺损、缺乏有效营养运输是关键因素之一, 因此, 诱导新生血管的形成可能对 SCI后的神经修复有重要价值。那么, 怎样才能诱导新生血管形成? 近年来对生物电场的研究, 为在体诱导血管形成带来了新的物理学理论和工程学手段。

1 缺血缺氧对 SCI 的影响

神经组织的缺血缺氧可由多种因素引起。神经元对缺血、缺氧耐受性差, 无论是急性或是慢性缺血、缺氧, 神经元的修复过程均伴有胶质细胞增生, 且增生的胶质细胞逐渐充填神经元死亡后的空缺; 同时, 神经组织小动脉壁增厚、狭窄、玻璃样变, 使神经细胞进一步缺血、缺氧, 促其退变及血管周围小胶质细胞不断增生^[4,6]。有研究显示, 胶质细胞增生的脑组织内有淀粉样变和小血管的玻璃样变等缺血性改变, 缺血后 1~7 d, 海马 CA1 区神经胶质原纤维酸性蛋白(glia fibrillary acidic protein, GFAP)阳性的星形胶质细胞数轻度增加, 至 28 d 时增生非常显著^[4,5]。

星形胶质细胞对神经轴突的生长起着双刃剑的作用, 一方面, 神经元的生长需要星形胶质细胞的支持和营养, 星形胶质细胞生物学性状的改变可造成神经轴突的变性; 另一方面, 中枢神经系统损伤后, 由星形胶质细胞形成的胶质瘢痕以及星形

细胞和少突胶质细胞分泌的抑制因子又可以阻碍神经轴突的再生。很多研究者都认为, 中枢神经系统损伤后形成的空洞和继发性瘢痕阻碍了神经轴突的生长和损伤区神经组织的恢复, 而瘢痕的产生是被损伤激活的星形胶质细胞向损伤区迁移的结果。脑组织损伤后, 在损伤区边缘及表面, 星形胶质细胞可因缺少支持其继续运动的媒介而停留聚集, 最终形成胶质瘢痕^[7,8]。

2 血管再生的必需条件

有效的血管再生需具备以下条件^[9-11]: ①内皮细胞从降解的基底膜中定向地迁移出来; ②内皮细胞随周围空间的不同而重新定向; ③内皮细胞增生。近年来的研究显示, 电场对这三方面都能产生显著的影响, 为诱导毛细血管形成提供了技术可能。

3 电场对细胞迁移、生长的影响

电场(electric fields, EF)存在于正常人体, 可影响细胞的迁移、定向生长和增生, 对发育过程中的组织构建和创伤愈合有重要作用^[9]。同时, 电场可能参与某些病理状态的形成。在血管内皮周围存在若干种电流, 可能参与血栓形成的调节。损伤和缺血的组织较周围正常的组织有电极性, 由损伤区细胞的去极化和细胞外 K^+ 的聚集造成。而且, 电场强度的大小影响多种类型细胞的定向生长和迁移方向^[10]。研究显示, 在低强度的外界电场作用下, 培养的内皮细胞可发生显著的变化, 缓慢、定向地向阳极移动, 形成线形排列, 与外加电场矢量的方向垂直。另外, 低强度的电场还可以显著影响多种细胞的分裂。离体研究显示, 培养的人脐静脉内皮细胞系(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)、视网膜内皮细胞和冠状动脉内皮细胞, 都可以在电场作用下迁移和定向生长^[11]。

最近, 一系列生长因子和细胞因子被证实是血管形成的重要调节因子, 但具体机制仍不十分清楚。这些因子中最重要的是血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)。有研究显示, 电刺激能促进新的血管形成^[7-9]。在体和离体实验证实, 微弱的脉冲式电刺激(不足以引起肌肉收缩)可激活和增强 VEGF 的表达; 同样的电流可以使缺血大鼠肢体的血流及毛细血管的密度增加^[8-10]。这些实验均显示, 电流刺激可引起平滑肌细胞的 VEGF 水平上调^[12-15]。

利用抗 VEGF 受体的单克隆抗体标记 VEGF 受体的研究显示, 电场作用后 VEGF 受体的表达增强, 导致不对称分布, 有

基金项目: 1. 国家自然科学基金资助(No. 30300075); 2. 四川省杰出青年学科带头人培养基金资助(No. 05ZQ026-020); 3. 四川省科技攻关项目资助(No. 05SG1866)

作者单位: 1. 中南大学湘雅医院神经病学研究所, 湖南长沙市 410008; 2. 阿伯丁大学医学院, 英国阿伯丁市 AB25 2ZD。作者简介: 邵阳(1968-), 男, 江苏睢宁县人, 教授, 博士后, 主要研究方向: 脊髓损伤修复、生物物理学。通讯作者: 杨期东(1943-), 男, 河南洞口县人, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向: 脑血管病和神经退行性疾病。

利于内皮细胞的定向生长和分布。用抗 VEGF 受体的单抗中和 VEGF 受体,用木黄酮阻滞酪氨酸激酶信息通路的研究显示,酪氨酸激酶等信息通路参与了 VEGF 介导的血管形成。用抗细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinases 1/2, ERK1/2)抗体标记激活的磷酸化状态的细胞丝裂原活化的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)后,在共聚焦显微镜下可观察到在外加电场作用下,内皮细胞的 ERK1/2 发生不对称的激活,导致其定向迁移、生长和排列^[10,11,16-19]。

4 外加电场对血管形成的影响

组织受到缺血性损伤后,往往血管再生不足。而能使血管细胞狭长化、取向和迁移有明显效果的电场强度为 150 ~ 400 mV/mm。缺血心肌细胞损伤电场为 58 mV/cm。如此弱的电场是不可能对血管生成有影响的。有研究者认为,增加缺血心肌组织局部电场可能是治疗缺血性心脏病新的治疗措施之一。微珠和移植两种不同的血管形成模型常被用来研究外加电场对血管形成的作用。这些模型有助于探索不同的电场强度及作用时程和外加生长因子或激素(如 VEGF 和 leptin)对血管形成的影响,并有利于应用共聚焦显微镜和其他相关实验方法直接观察外加生理电场作用下血管形成和血管样结构上 VEGF 受体分布的时间和空间效应。我们在发育第 8 天的鸡胚绒毛尿囊膜(chick embryo chorioallantoic membrane, CAM)上植入明胶海绵载体,其中加载不同强度的电场,计数长入载体的血管和载体内的微血管密度(microvascular density, MVD),结果 150 mV/mm 和 200 mV/mm 组在 CAM 上长入载体边缘的血管数和 MVD 与对照组间的差异有显著性意义^[20]。更深入地研究电场诱导毛细血管在三维空间的形成,可能有助于研究电场调节内皮细胞生长的机制和在体的应用。

5 电场的作用机制

5.1 电场对酶活性的影响 用电场处理酶可以改变酶的活性,但作用效果受多种因素影响,如酶的类型、环境温度、周围介质、pH 值、电场强度、处理时间和处理频率等。

5.2 生物电磁场对细胞离子通道的作用 均匀带电单圆环或均匀带电同轴双圆环的静电场对带电粒子具有较强的约束作用^[21]。电磁场对电荷产生的力由电场力和洛伦兹力两部分组成。振荡的外部电磁场对细胞膜两侧的自由离子产生振荡力。当离子的振荡力超过一定的临界值时,振荡离子可能对离子通道门产生错误的信号,打破细胞膜和细胞功能的平衡。

作用于细胞的振荡电磁场产生的力可使膜附近的自由离子被迫振动,并产生周期性电位移,对膜上的电荷产生力学效应,干扰膜的电化学平衡。电场力和洛伦兹力可联合作用于机械门控离子通道,影响离子通道的开放和正常运输,通过信号级联放大机制产生生物学效应,影响整个细胞的功能。

6 存在问题

已有报道显示,低频电磁场能够影响大脑神经系统的结构、功能和行为,影响神经细胞突起的生长,甚至引起神经细胞的凋亡。可见低频电磁场对神经细胞的多种生理活动产生影响,而且通常会因作用时间、强度的不同,产生促进或抑制的双向调节作用。如何使电场产生定向作用,还需进一步研究。

SCI 后组织电场的强度和理想的修复电场强度的测定还需要大量的实验和临床研究。外加直流电场治疗人 SCI 的临床试验也正在进行。但外加电场极性、可植入电极,以及电场装置和植入方式等,还需要大量的经验积累。

总之,电场诱导血管的形成可望为 SCI 治疗或组织工程修复提供更为有效的生物医学工程手段,为利用组织工程解决 SCI 康复迈出一大步。当然,SCI 的修复还要依赖有关 SCI 机制的研究提供理论依据。同时,设计适合 SCI 使用的电场也一直是困扰和阻碍电场直接应用于 SCI 的原因之一。随着对电

场诱导毛细血管形成理论的完善,能用于临床使用的电场会不断涌现出来。

[参考文献]

- [1] Blight AR, Tuszynski MH. Clinical trials in spinal cord injury[J]. J Neurotrauma, 2006, 23(3-4): 586-593.
- [2] Blesch A, Tuszynski MH. Transient growth factor delivery sustains regenerated axons after spinal cord injury[J]. J Neurosci, 2007, 27(39): 10535-10545.
- [3] Hossain Ibrahim MK, Rezajooi K, Stallcup WB, et al. Analysis of axonal regeneration in the central and peripheral nervous systems of the NG2-deficient mouse[J]. BMC Neurosci, 2007, 8(1): 80.
- [4] Ouyang YB, Voloboueva LA, Xu LJ, et al. Selective dysfunction of hippocampal CA1 astrocytes contributes to delayed neuronal damage after transient forebrain ischemia[J]. J Neurosci, 2007, 27(16): 4253-4260.
- [5] Nagamizo D, Tsuruta S, Matsumoto M, et al. Tight glycemic control by insulin, started in the preischemic, but not postischemic, period, protects against ischemic spinal cord injury in rabbits[J]. Anesth Analg, 2007, 105(5): 1397-1403.
- [6] Choi UH, Ha Y, Huang X, et al. Hypoxia-inducible expression of vascular endothelial growth factor for the treatment of spinal cord injury in a rat model[J]. J Neurosurg Spine, 2007, 7(1): 54-60.
- [7] Jakovcsevi I, Wu J, Karl N, et al. Glial scar expression of CHL1, the close homolog of the adhesion molecule L1, limits recovery after spinal cord injury[J]. J Neurosci, 2007, 27(27): 7222-7233.
- [8] Gris P, Tighe A, Levin D, et al. Transcriptional regulation of scar gene expression in primary astrocytes[J]. Glia, 2007, 55(11): 1145-1155.
- [9] Bai H, McCaig CD, Forrester JV, et al. DC electric fields induce distinct preangiogenic responses in microvascular and macrovascular cells[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004, 24(7): 1234-1239.
- [10] Zhao M, Bai H, Wang E, et al. Electrical stimulation directly induces pre-angiogenic responses in vascular endothelial cells by signaling through VEGF receptors[J]. J Cell Sci, 2004, 117(Pt 3): 397-405.
- [11] Wang E, Yin Y, Zhao M, et al. Physiological electric fields control the G1/S phase cell cycle checkpoint to inhibit endothelial cell proliferation[J]. FASEB J, 2003, 17(3): 458-460.
- [12] Shapiro S, Borgens R, Pascuzzi R, et al. Oscillating field stimulation for complete spinal cord injury in humans: a phase I trial[J]. J Neurosurg Spine, 2005, 2(1): 3-10.
- [13] Mangold S, Keller T, Curt A, et al. Transcutaneous functional electrical stimulation for grasping in subjects with cervical spinal cord injury[J]. Spinal Cord, 2005, 43(1): 1-13.
- [14] Mushahwar VK, Jacobs PL, Normann RA, et al. New functional electrical stimulation approaches to standing and walking[J]. J Neural Eng, 2007, 4(3): S181-197.
- [15] Creasey GH, Ho CH, Triolo RJ, et al. Clinical applications of electrical stimulation after spinal cord injury[J]. J Spinal Cord Med, 2004, 27(4): 365-375.
- [16] Hamasaki T, Tanaka N, Kamei N, et al. Magnetically labeled neural progenitor cells, which are localized by magnetic force, promote axon growth in organotypic cocultures[J]. Spine, 2007, 32(21): 2300-2305.
- [17] Bauer SM, Bauer RJ, Liu ZJ, et al. Vascular endothelial growth factor C promotes vasculogenesis, angiogenesis, and collagen contraction in three-dimensional collagen gels[J]. J Vasc Surg, 2005, 41(4): 699-707.
- [18] Tepper OM, Callaghan MJ, Chang EI, et al. Electromagnetic fields increase in vitro and in vivo angiogenesis through endothelial release of FGF-2[J]. FASEB J, 2004, 18(11): 1231-1233.
- [19] Ma X, Ottino P, Bazan HE, et al. Platelet-activating factor (PAF) induces corneal neovascularization and upregulates VEGF expression in endothelial cells[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2004, 45(9): 2915-2921.
- [20] 邵阳,王永堂,高洁,等. 直流电场对鸡胚绒毛尿囊膜血管生成作用的研究[J]. 中国医学物理学杂志, 2007, 24(1): 36-37.
- [21] 胡成华,姜卫,张跟鹏. 静电场对带电粒子的约束[J]. 舰船电子工程, 2007, 27(6): 178-180.

(收稿日期:2007-12-04 修回日期:2008-06-02)