

## 脊髓损伤后神经修复的研究进展

赵宁, 李林

[摘要] 传统观点认为, 中枢神经系统损伤后受损神经元和轴突不能再生。近年来的研究发现, 成年动物脊髓损伤后, 可以有不同程度的恢复, 在适当的生长环境下, 中枢神经系统内的一些受损的神经元轴突能有少许再生, 并能与靶细胞形成功能性的突触联系。应用神经营养因子、细胞移植治疗脊髓损伤的研究正在迅速发展。

[关键词] 脊髓损伤; 神经修复; 综述

**Nerve Regeneration after Spinal Cord Injury (review)** ZHAO Ning, LI Lin. Department of Pharmacology, Xuanwu Hospital, Capital University of Medical Science, Beijing 100053, China

**Abstract:** There was an early view that the injured neurons and axons in central neural system couldn't regenerate after injury. However, it was found by recent researches that the injured neurons and axons can recover in different degrees after spinal cord injury of adult animals. In proper environment, some injured axons of central nervous system can regenerate slightly and form functional synaptic connections with target cells. Based on that, application of neurotrophic factors and cellular transplant therapy might be developed to treat spinal cord injury in the future.

**Key words:** spinal cord injury; nerve regeneration; review

[中图分类号] R651.2 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2006)07-0556-03

[本文著录格式] 赵宁, 李林. 脊髓损伤后神经修复的研究进展[J]. 中国康复理论与实践, 2006, 12(7): 556—558.

近年来, 随着神经生物学、分子生物学、神经生理学、神经移植的飞速发展, 使脊髓损伤后神经修复的研究有了突破性的发展。人们发现, 成年脊髓再生困难的原因不是神经元本身的功能丧失, 而是因为支持神经元突起再生的微环境已经不改变, 包括疤痕对神经元轴突再生形成空间障碍、神经营养因子的缺乏以及神经元轴突生长抑制因子的存在等。因此神经元纤维生长机制微环境的研究, 对于神经损伤修复和功能恢复有着重要意义。目前对此领域的研究主要从神经营养因子、细胞移植两方面进行。本文从这两方面对脊髓损伤后神经修复的研究进展作一综述。

## 1 神经营养因子

1952 年首次发现具有神经营养作用的神经生长因子 (nerve growth factor, NGF), 此后又陆续发现多种神经营养因子 (neurotrophic factors, NTFs)。在发育过程中, NTFs 可促进神经元存活, 刺激轴突生长, 诱导轴突寻找靶组织并形成突触。缺乏 NTFs 的神经元将逐渐凋亡。成年后, 足量 NTFs 仍是神经元维持正常形态与功能的必备条件。大量证据还表明, NTFs 在神经系统老化、创伤、神经退行性变等情况下能调节神经元的可塑性和神经再生。目前应用的神经营养因子主要有脑源性神经营养因子 (brain derived neurotrophic factor, BDNF)、神经营养因子-3 (neurotrophin 3, NT-3) 和胶质细胞源性神经营养因子 (glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF) 等,

它们具有支持运动神经元存活、促进感觉和运动神经元轴突生长的作用<sup>[1-3]</sup>。

**1.1 神经生长因子** NGF 是第 1 个被发现的典型的细胞因子, 兼有神经营养因子和促神经突起生长因子双重作用。NGF 促进轴突再生的作用与 NGF 能抑制受损的神经元细胞死亡有关。Felderhoff-Mueser 等经过一系列实验提出, 神经营养因子表达的上调可能是限制细胞凋亡过程的内在机制<sup>[4]</sup>。去 NGF 诱导的神经细胞凋亡, 如果在神经细胞发生不可逆死亡之前重新加入 NGF 则抑制凋亡的发生。这提示 NGF 可能通过抗细胞凋亡而发生一定的神经保护作用。NGF 具有调节感觉神经元的微丝微管系统、胞核位置等作用, 能够改善切断轴索的感觉神经元的 P 物质表达, 调节许多神经元群的生长发育与成熟。NGF 既能促进 trkA 神经元再生, 也能促进运动神经元及粗的有鞘神经纤维再生。

**1.2 脑源性神经营养因子** BDNF 在成年期主要分布于脊髓灰质, 特别是腹角运动神经元, 轴索和胶质细胞亦有 BDNF 表达。这些胶质细胞包括少突胶质细胞、少数星形胶质细胞和小胶质细胞/巨噬细胞亚群。

BDNF 在脊髓的分布提示其对维持脊髓的正常发育起重要作用。由于新生负鼠损伤的脊髓组织可以再生, 新生负鼠脊髓损伤后 BDNF mRNA 表达明显增加。大鼠颈髓半横断后, 移植能分泌 BDNF 的成纤维细胞 (Fb-BDNF), 结果发现 Fb-BDNF 组运动功能恢复显著, 并可观察到大量的轴突长入 Fb-BDNF 移植块中<sup>[5]</sup>。据此推测, BDNF 表达的上调可能有益于轴突的再生, BDNF 表达的上调可能与损伤脊髓自身保护机制的启动有关。其具体机制可能为 BDNF 可促进神经元的存活; 神经纤维延长; 阻止损伤神经元胞体的萎缩; 促进受损的红核脊髓神经元和皮质脊髓神经元轴突再生<sup>[6]</sup>。但 BDNF 并不对所有类型的脊髓神经元都有营养支持, 这可能与不同脊髓神经元的存

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 973 计划项目 (G2000057010, 2003CB517104); 北京市自然科学基金重大项目 (7050001); 北京市中医药重点学科项目 (2005)。

作者单位: 首都医科大学宣武医院药物研究室, 教育部神经变性病重点实验室, 北京市 100053。作者简介: 赵宁 (1982-), 女, 北京市人, 硕士研究生, 主要研究方向: 神经药理学。通讯作者: 李林。

活依赖于特定的营养支持有关。

**1.3 神经营养因子-3** NT-3 与 NGF 及 BDNF 高度同源,功能上相互关联,可促进皮质脊髓束纤维、背柱感觉传导纤维及背根节纤维的出芽和再生;还可促进少突胶质细胞的增殖及再生轴突的髓鞘化。Taylor 等以纤维蛋白凝胶吸附肝素,然后通过肝素非共价结合 NT-3 制备 NT-3 缓释系统,植入损伤脊髓,随着 NT-3 逐渐释放,7 d 后可以明显增加脊髓神经纤维的密度<sup>[7]</sup>。Saini 等发现,NT-3 与 cAMP 反应序列结合蛋白(cAMP-responsive element binding protein, CREB)在少突胶质细胞的发育过程中发挥重要作用,能刺激细胞增殖,NT-3 在 CREB 参与下作用于少突胶质细胞前体细胞可提高抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达<sup>[8]</sup>。Jean 等给化学脱髓鞘大鼠注入 NT-3 后能特异性增加成熟少突胶质细胞数量并促进髓鞘形成<sup>[9]</sup>。Zhou 等切断大鼠一侧皮质脊髓束,以腺病毒携带 NT-3 经坐骨神经逆行传递转染脊髓运动神经元,在 L<sub>3-6</sub> 区域 NT-3 浓度明显升高并持续表达,皮质脊髓束轴突再生并越过中线达失神经支配侧,表明 NT-3 能促进轴突再生及塑形<sup>[10]</sup>。

**1.4 胶质细胞源性神经营养因子** 最初发现 GDNF 能促进多巴胺能神经元存活,对损伤的多巴胺能神经元有修复作用。后来证明,GDNF 对培养的运动神经元有维持存活、促进生长的作用,对损伤的运动神经元有阻止其萎缩和死亡的作用。GDNF 为目前已知的最强大的运动神经元营养因子,其对感觉神经元、交感神经元均有显著的营养活性。GDNF 对背根节神经元细胞、运动神经元细胞以及自主神经元细胞都具有营养作用。将 E13 胚胎鼠脊髓进行体外培养,2 d 后,培养的脊髓运动神经元经历了与在体内同样的程序性死亡;向培养液中加入 GDNF 200 ng/ml 连续 2 d,可促进运动神经元的存活<sup>[11]</sup>。

**1.5 胰岛素样生长因子-1** 胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) 属于胰岛素样生长因子家族成员,是一种与组织代谢和细胞分化、增殖有关的细胞因子。研究表明,IGF-1 通过 PI3K/Akt 激酶通路调节下游底酶 FKHRL1,抑制 caspase-3 活性或通过调节白介素 1- $\beta$  转换酶的活性对抗凋亡<sup>[12]</sup>。近年研究发现,IGF-1 与维持神经细胞的生存、生长和损伤后修复有密切关系<sup>[13]</sup>。

**1.6 碱性成纤维细胞生长因子** 碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF) 是一种具有广泛生物学活性的肽类生长因子,对神经外胚层和中胚层的多种细胞具有促增殖和分化作用。bFGF 对神经再生的促进作用表现在 4 个方面:保护神经元,促进神经胶质细胞分裂增殖,促进神经纤维的再生,促进血管发生、改善微循环<sup>[14]</sup>。

## 2 细胞移植

细胞移植能提供轴突再生所需的神经营养因子、细胞外基质及粘附因子,在大量实验研究中被采用。常用的移植细胞包括嗅神经鞘细胞(olfactory ensheathing cells, OECs)、Schwann 细胞(Schwann cells, SCs)、神经干细胞(neuron stem cells, NSCs)、骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)等。这些细胞能分泌多种神经营养因子,发挥神经保护作用,其组成的基质也能支持轴突生长。

**2.1 嗅神经鞘细胞** OECs 是构成嗅神经鞘膜的特殊鞘细胞,具有终生分裂和再生的能力,能支持和促进神经系统神经元的生长与存活;是嗅球轴突再生和形成特异连接能力的关键因

素;产生营养因子和细胞外基质分子;表达粘附分子<sup>[15]</sup>。OECs 可以伴随嗅神经的轴突进入中枢神经系统(CNS),并引导轴突终端与嗅球的相应部位建立功能性联系,是惟一能穿越中枢与周围神经边界的胶质细胞。此外 OECs 可从嗅粘膜中获得,使自体移植成为可能,前景光明<sup>[16]</sup>。

在 CNS 损伤中,OECs 能适应星形胶质细胞形成的疤痕环境,穿越胶质疤痕,在损伤部位近、远侧端呈束路排列延伸,包裹延伸轴突使其迁移,为受损轴突提供有利于其迁移和生长的支架,成为神经再生的桥梁。动物实验证明,将 OECs 移植到损伤的脊髓中,可以促进再生的轴突穿越损伤部位,从而使呼吸、攀爬等行为学功能得到恢复<sup>[17]</sup>。体外实验将成年大鼠 OECs 与脊髓神经元联合培养证明,OECs 促进神经元存活与生长。但最近的研究显示,使用纯度较高的 OECs 进行移植,其效果并不优于使用纯度较低的细胞<sup>[18]</sup>;单纯 OECs 移植治疗效果并不显著<sup>[19]</sup>。

**2.2 Schwann 细胞** SCs 是周围神经系统特有的胶质细胞,随神经轴突的生长而同步增殖和迁移。当神经轴突受到损伤时,机体产生瓦勒氏变性。损伤远端的 SCs 大量增生并包绕再生轴索,完成髓鞘化,修复损伤的神经轴突;对再生轴突起引导作用,能为再生轴突所附着,并诱导生长锥的移行方向。许多研究开始探讨使用 SCs 来修复损伤的脊髓和使轴突或髓鞘再生<sup>[20]</sup>。

SCs 促进中枢轴突再生归因于其能够分泌 NTFs、细胞外基质及细胞粘附分子,这些因子能提供利于神经轴突再生的微环境。但 SCs 在促进宿主轴突再生的同时,却无法使损伤轴突进一步越过移植物和宿主的界面,重新进入 CNS。同 OECs 移植相比,SCs 移植的缺点在于引起的胶质细胞反应面积大,轴突生长抑制性的硫酸软骨素蛋白多糖增加明显<sup>[21]</sup>。

SCs 最有希望的用途可能是它能为再生的轴突提供一个支持性的环境,联合应用其他一些治疗措施能够诱导轴突在宿主内有较长距离的再生,移植基因修饰产生神经营养因子 BDNF 和 NT-3 的 SCs 时,其促进再生的效果更为明显<sup>[22]</sup>。

**2.3 神经干细胞** NSCs 是一类具有多向分化潜能的细胞,能分化成少突胶质细胞、神经元和星形胶质细胞,在神经发育及损伤的修复中发挥作用。主要分布在室管膜下区、海马、齿状回、脊髓的中央管周围等区域<sup>[23]</sup>。

一些实验室报道,未分化细胞可分化为各种神经细胞类型,并将它从哺乳动物脑中分离出来<sup>[24]</sup>。目前,修复和替代受损神经细胞,重建细胞环路和功能主要有两种途径:①内源性途径:即诱导内源性 NSCs 增殖与分化,使损伤的 CNS 进行自我修复;②外源性途径:即直接替换缺损组织或植入基因工程细胞<sup>[25]</sup>。

NSCs 为“免疫豁免”组织,植入的 NSCs 不对宿主的免疫系统构成刺激,宿主对移植的 NSCs 不产生排斥反应,这有利于 NSCs 的成功移植<sup>[26]</sup>。Lu 等的研究表明<sup>[27]</sup>,移植的 NSCs 自身能分泌各种营养因子,如 BDNF、NT-3 和 GDNF 等。这些营养因子不仅可以在体外定量检测到,而且将其植入脊髓损伤的大鼠体内后,仍能检测到这些神经营养因子较高水平的表达,并促进对这些神经营养因子敏感的轴突的生长。应用 NSCs 移植联合咯利普兰治疗脊髓损伤的大鼠,大鼠运动功能恢复,与对照组有显著性差异,而且反应性星形细胞形成的胶质疤痕明显

减少<sup>[28]</sup>。

**2.4 骨髓间充质干细胞** MSCs 又称骨髓基质细胞,有方便获取、易于分离培养和扩增纯化的特点,且遗传背景稳定,体内植入免疫排斥反应弱,体外基因转染率高并能稳定高效表达外源基因。在体内神经系统, MSCs 移植可通过多种途径进行。大量研究表明, MSCs 在中枢和外周神经系统可以分化为神经细胞,并改善神经系统功能。

Woodbury 等发现, MSCs 除表达中胚层的基因外还表达内胚层及外胚层的基因,在 MSCs 诱导分化为神经细胞的过程中,神经前体细胞转录因子 neuro D 表达逐渐上调,神经丝蛋白 tau 基因的表达也上调,神经分化过程中基因的变化与神经标志蛋白的表达相吻合<sup>[29]</sup>。MSCs 及其分化的神经胶质细胞能分泌促进神经再生的营养因子及其受体,有助于损伤的脑和脊髓组织的修复,抑制不利于神经再生的瘢痕形成。

### 3 小结

虽然临床上对脊髓损伤治疗已取得了一些疗效,但对脊髓损伤后再生的机制了解甚少,有待进一步研究,许多研究还处于动物实验阶段,应用于人体临床治疗还有很多问题需要解决。细胞移植治疗脊髓损伤为脊髓损伤的治疗带来新的希望,但是脊髓损伤后形成的不利于再生和修复的因素是多方面的。随着对此认识的不断加深和实验技术的进步,必将取得更有意义的成果。

### [参考文献]

- [1] Koda M, Hashimoto M, Murakami M, et al. Adenovirus vector mediated in vivo gene transfer of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) promotes rubrospinal axonal regeneration and functional recovery after complete transection of the adult rat spinal cord[J]. J Neurotrauma, 2004, 21(3): 329 - 337.
- [2] Tuszyński MH, Grill R, Jones LL, et al. NT-3 gene delivery elicits growth of chronically injured corticospinal axons and modestly improves functional deficits after chronic scar resection[J]. Exp Neurol, 2003, 181(1): 47 - 56.
- [3] Cao L, Liu L, Chen ZY, et al. Olfactory ensheathing cells genetically modified to secrete GDNF to promote spinal cord repair[J]. Brain, 2004, 127(pt3): 535 - 549.
- [4] Felderhoff Mueser U, Siffringer M, Pesditschek S, et al. Pathways leading to apoptotic neurodegeneration following trauma to the developing rat brain[J]. Neurobiol Dis, 2002, 11(2): 231 - 245.
- [5] Schwartz ED, Shumsky JS, Wehrli S, et al. Ex vivo MR determined apparent diffusion coefficients correlate with motor recovery mediated by intraspinal transplants of fibroblasts genetically modified to express BDNF[J]. Exp Neurol, 2003, 182(1): 49 - 63.
- [6] Hiebert GW, Khodarahmi K, McGraw J, et al. Brain-derived neurotrophic factor applied to the motor cortex promotes sprouting of corticospinal fibers but not regeneration into a peripheral nerve transplant[J]. Neurosci Res, 2002, 69(2): 160 - 168.
- [7] Taylor SJ, McDonald JW 3rd, Sakiyama-Elbert SE. Controlled release of neurotrophin-3 from fibrin gels for spinal cord injury[J]. J Control Release, 2004, 98(2): 281 - 294.
- [8] Saini HS, Gorse KM, Boxer LM, et al. Neurotrophin-3 and a CREB-mediated signaling pathway regulate Bcl-2 expression in oligodendrocyte progenitor cells[J]. J Neurochem, 2004, 89(4): 951 - 961.
- [9] Jean I, Lavielle C, Barthelais-Pouplard A, et al. Neurotrophin-3 specifically increases mature oligodendrocyte population and enhances remyelination after chemical demyelination of adult rat CNS[J]. Brain Res, 2003, 972(1-2): 110 - 118.
- [10] Zhou L, Baumgartner BJ, Hill-Felberg SJ, et al. Neurotrophin-3

expressed in situ induces axonal plasticity in the adult injured spinal cord[J]. J Neurosci, 2003, 23(4): 1424 - 1431.

- [11] Keir SD, Xiao X, Li J, et al. Adeno-associated virus-mediated delivery of glial cell line-derived neurotrophic factor protects motor neuron-like cells from apoptosis[J]. J Neurovirol, 2001, 7(5): 437 - 446.
- [12] Zheng WH, Kar S, Quirion R. Insulin-like growth factor-1-induced phosphorylation of transcription factor FKHRL1 is mediated by phosphatidylinositol 3-kinase/Akt kinase and role of this pathway in insulin-like growth factor-1-induced survival of cultured hippocampal neurons[J]. Mol Pharmacol, 2002, 62(2): 225 - 233.
- [13] DeRcole AJ, Ye P, O'Kusky JR. Mutant mouse models of insulin-like growth factor actions in the central nervous system[J]. Neuropeptides, 2002, 36(2-3): 209 - 220.
- [14] Dow JK, de Vere White RW. Fibroblast growth factor: its structure and property, paracrine function, tumor angiogenesis, and prostate-related mitogenic and, oncogenic functions[J]. Urology, 2000, 55(6): 800 - 806.
- [15] Chuah MI, Choi Lundberg D, Weston S, et al. Olfactory ensheathing cells promote collateral axonal branching in the injured adult rat spinal cord[J]. Exp Neurol, 2004, 185(1): 15 - 25.
- [16] Lu J, Feron F, Mackay-Sim A, et al. Olfactory ensheathing cells promote locomotor recovery after delayed transplantation into transected spinal cord[J]. Brain, 2002, 125(pt1): 14 - 21.
- [17] Mackay-Sim A. Olfactory ensheathing cells and spinal cord repair[J]. Keio J Med, 2005, 54(1): 8 - 14.
- [18] Lakatos A, Smith PM, Barnett SC, et al. Meningeal cells enhance limited CNS remyelination by transplanted olfactory ensheathing cells[J]. Brain, 2003, 126(pt3): 598 - 609.
- [19] Barnett SC, Riddell JS. Olfactory ensheathing cells (OECs) and the treatment of CNS injury: advantages and possible caveats[J]. J Anat, 2004, 204(1): 57 - 67.
- [20] Oudega M. Schwann cells for spinal cord repair[J]. Braz J Med Biol Res, 2005, 38(6): 825 - 835.
- [21] Lakatos A, Barnett SC, Franklin RJ. Olfactory ensheathing cells induce less host astrocyte response and chondroitin sulphate proteoglycan expression than Schwann cells following transplantation into adult CNS white matter[J]. Exp Neurol, 2003, 184(1): 237 - 246.
- [22] Tobias CA, Shumsky JS, Shibata M, et al. Delayed grafting of BDNF and NT-3 producing fibroblasts into the injured spinal cord stimulates sprouting, partially rescues axotomized red nucleus neurons from loss and atrophy, and provides limited regeneration[J]. Exp Neurol, 2003, 184(1): 97 - 113.
- [23] Grossman SD, Rosenberg LJ, Wrathall JR. Temporal spatial pattern of acute neuronal and glial loss after spinal cord contusion[J]. Exp Neurol, 2001, 168(2): 273 - 282.
- [24] Recht L. Neural stem cells: the end of the beginning[J]. J Cell Biochem, 2003, 88(1): 9 - 10.
- [25] Limke TL, Rao MS. Neural stem cells in aging and disease[J]. J Cell Mol Med, 2002, 6(4): 475 - 496.
- [26] Hori J, Ng TF, Shatos M, et al. Neural progenitor cells lack immunogenicity and resist destruction as allografts[J]. Stem Cells, 2003, 21(4): 405 - 416.
- [27] Lu P, Jones LL, Snyder EY, et al. Neural stem cells constitutively secrete neurotrophic factors and promote extensive host axonal growth after spinal cord injury[J]. Exp Neurol, 2003, 181(2): 115 - 129.
- [28] Nikulina E, Tidwell JL, Dai HN, et al. The phosphodiesterase inhibitor rolipran delivered after a spinal cord lesion promotes axonal regeneration and functional recovery[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(23): 8786 - 8790.
- [29] Woodbury D, Reynolds K, Black IB, et al. Adult bone marrow stromal stem cells express germline, ectodermal, endodermal, and mesodermal genes prior to neurogenesis[J]. J Neurosci Res, 2002, 69(6): 908 - 917.

(收稿日期: 2006-04-30)