

DOI: 10.3969/j.issn.1006-9771.2018.01.017

· 综述 ·

低氧预处理与高氧预处理在脊髓损伤后神经保护作用的相关研究进展

张雯秀^{1a}, 张妍^{1a}, 张衍军^{1b}, 吴启超^{1b}, 刘亚东^{1b}, 刘宗建^{1a}, 关云^{1a}, 陈学明^{1a,b}

1. 首都医科大学附属北京潞河医院, a. 中心实验室; b. 脊柱外科, 北京市 101149

通讯作者: 陈学明。E-mail: xuemingchen@sina.com

摘要

重复急性间歇性低氧能够增加运动神经元中生长因子与营养因子的表达, 在突触可塑性和神经保护中改变关键分子的表达。低氧预处理能有效提高干细胞移植后的存活率, 并对神经功能具有保护作用。间歇性低氧也是急性脊髓损伤后增强呼吸运动的方法之一。高压氧预处理能增强中枢神经对缺氧及缺血的耐受性, 有效保护细胞、组织结构, 缩短神经细胞的再生周期, 促进神经纤维再生。有必要进一步探讨低氧及高氧预处理在脊髓损伤中的作用机制。

关键词 脊髓损伤; 预处理; 低氧; 高氧; 血管内皮生长因子; 缺氧诱导因子-1; 干细胞; 综述

Research Related to Neural Protection of Hypoxic and Hyperoxic Preconditioning after Spinal Cord Injury (review)

ZHANG Wen-xiu^{1a}, ZHANG Yan^{1a}, ZHANG Yan-jun^{1b}, WU Qi-chao^{1b}, LIU Ya-dong^{1b}, LIU Zong-jian^{1a}, GUAN Yun^{1b}, CHEN Xue-ming^{1a,b}

1. a. Central Laboratory, b. Spine Surgery, Beijing Luhe Hospital, Capital Medical University, Beijing 100191, China

Correspondence to CHEN Xue-ming. E-mail: xuemingchen@sina.com

Abstract

Repeated acute intermittent hypoxia promotes the expression of growth factors and neurotrophic factors, as well as the key molecules for neural protection and plasticity. Hypoxic preconditioning may improve the survival rate of transplanted stem cells and protect the neural function. Meanwhile, acute intermittent hypoxia can be an approach to improve respiratory function after spinal cord injury. Hyperbaric oxygen may improve the neural tolerance to hypoxia and ischemia, to protect the structure of cells and tissues, and promote the neuranagenesis. It is important to study the role of hypoxic and hyperoxic preconditioning in spinal cord injury.

Key words: spinal cord injury; preconditioning; hypoxia; hyperoxia; vascular endothelial growth factor; hypoxia inducible factor-1; stem cells; review

[中图分类号] R651.2 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2018)01-0090-03

[本文著录格式] 张雯秀, 张妍, 张衍军, 等. 低氧预处理与高氧预处理在脊髓损伤后神经保护作用的相关研究进展[J]. 中国康复理论与实践, 2018, 24(1): 90-92.

CITED AS: Zhang WX, Zhang Y, Zhang YJ, et al. Research related to neural protection of hypoxic and hyperoxic preconditioning after spinal cord injury (review) [J]. Chin J Rehabil Theory Pract, 2018, 24(1): 90-92.

脊髓损伤后通常会发生一系列病理变化, 包括血管系统崩解、水肿、免疫细胞浸润、炎症反应、神经胶质增生/胶质瘢痕形成、细胞凋亡和死亡以及脱髓鞘等^[1]。长期激活的淋巴细胞、小胶质细胞和巨噬细胞等免疫细胞可导致神经系统发生继发性损伤, 从而引起受损局部微环境发生改变, 并阻碍中枢神经系统(central nervous system, CNS)中轴突的再生^[2]。CNS损伤后引起的缺血缺氧、兴奋性氨基酸毒性作用、自由基及炎症反应是造成继发性损伤的主要原因。由此将脊髓损伤分为急性脊髓损伤和慢性脊髓损伤。急性脊髓损伤主要由原发性机械损伤造成, 主要病理特点包括神经元坏死、轴突变性和脱髓鞘等;

慢性脊髓损伤主要由继发性损伤引起, 主要是胶质瘢痕、炎症及囊腔空洞形成^[3]。

低氧及高氧预处理是指机体预先经过短暂的低氧或高氧刺激, 再恢复其正常氧状态, 并反复多次, 使机体对低氧或高氧产生适应, 提高机体对氧的耐受。目前针对脊髓损伤治疗的研究主要集中于药物保护、干细胞治疗以及组织工程治疗等方面, 应用物理手段研究脊髓损伤的报道较少。本文综述近几年关于应用低压氧及高压氧预处理探讨脊髓损伤后保护作用的文献, 探讨其对神经元的影响及对脊髓的营养和保护作用。

作者简介: 张雯秀(1989-), 女, 汉族, 四川乐山市人, 实习研究员, 主要研究方向: 药物及物理方法治疗大鼠脊髓损伤的应用研究。通讯作者: 陈学明, 男, 博士, 副教授, 主要研究方向: 脊髓损伤与修复研究。

1 低氧预处理

1.1 重复性间歇性低氧(repeated acute intermittent hypoxia, RAIH)

低压氧预处理作为一种有效的物理防御手段,在脊髓损伤的研究中鲜有报道。Satriotomo 等^[4]提出 RAIH 能增加运动神经元中生长因子与营养因子的表达,从而诱导呼吸运动的可塑性及神经保护。可塑性可在多个控制呼吸的神经系统发生,包括脑干整合神经元、外周化学感受器和呼吸运动神经核^[5-7]。Satriotomo 等提出 RAIH 能作为提高运动神经元存活率和细胞移植的预处理手段之一。

在细胞水平上,间歇性低氧能改变突触可塑性和神经保护关键分子的表达。研究 RAIH 诱导突触可塑性最常见的模型是膈神经长时程易化(phrenic long term facilitation, pLTF)伴急性间歇性缺氧(acute intermittent hypoxia, AIH)模型,需要脊髓中 5-羟色胺受体激活后,与脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)结合,形成 5-羟色胺依赖综合体^[7]。RAIH 能引起膈神经运动核中多种分子 pLTF 后表达增加,包括 BDNF、高亲和性受体和酪氨酸激酶受体 B (tyrosine receptor kinase B, TrkB)等^[8-9]。Lovett-Barr 等^[8]和 Prosser-Loose 等^[10]发现,持续每天进行 AIH 能改善颈脊髓损伤大鼠的前肢运动功能,效果能持续数周。

在 CNS 中, BDNF 是强大的神经元兴奋和突触传递的调节剂^[11],物理运动能增加脑和脊髓中 BDNF 的表达,而 BDNF 表达增加能反应运动功能的变化^[12]。RAIH 成为能够诱发脊髓中 BDNF 和 TrkB 表达,开始逐渐被关注。

1.2 低氧预处理

低氧预处理能有效提高移植后骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSC)的存活率,并对神经功能有保护作用,使干细胞移植到缺血组织后能更好抵抗缺血状态;它能抑制血脊髓屏障和细胞凋亡,抑制组织缺血再灌注所造成的组织损伤,并上调缺氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)在脊髓组织中的表达^[13]。这能成功提高 BMSC 中的细胞含量以及宿主细胞的存活率^[14]。

BMSC 能有效抑制脊髓缺血再灌注损伤^[15]。一些体内和体外研究证明,低氧预处理可能提高 BMSC 对低氧环境的适应性,并增加其细胞活性,从而很好抑制细胞凋亡^[16-18];使其分泌多种细胞因子、趋化因子和生长因子,促进组织修复^[19]。

血脊髓屏障能调节和限制大分子物质进入 CNS,保持脊髓正常微环境。原发性损伤会造成血脊髓屏障受损并改变其蛋白渗透性,炎性物质能够自由进入,从而诱发和加重脊髓损伤。在心肌细胞研究中,低氧预处理能增强心肌组织中 BMSC 的修复能力,促进血管生成^[20];低氧预处理的 BMSC 能够有效抑制缺血组织中细胞凋亡^[21]。

基因修饰的神经干细胞(neural stem cell, NSC)能被移植进受损的脊髓中,促进运动功能恢复^[22]。Oh 等^[23]将 NSC 与骨髓基质细胞(marrow-derived stroma cell, MSC)共培养,在培养过程中采用低氧预处理,发现低氧预处理不仅能在体外促进

MSC 与 NSC 共培养细胞的存活及报告基因的表达,在体内也能起同样作用。

1.3 急性间歇性低氧

呼吸功能不全是颈段脊髓损伤后死亡的主要原因。虽然呼吸运动可以随时间逐渐恢复,但其自主恢复能力有限。Golder 等^[24]发现,在慢性脊髓损伤中,间歇性低氧能在大多数患者中有效诱导呼吸功能恢复,同时诱发自主呼吸功能恢复。

Blight^[25]的关注重点在于急性脊髓损伤后如何修复脊髓轴突,从而引导神经通路修复。脊髓损伤通常是不完全的,受损的运动系统中通常能观察到未受损的轴突神经,并为神经轴突自发电功能的恢复提供酶作用物。但在长期脊髓损伤患者中,这种自发功能恢复的治疗方案几乎不存在。

慢性脊髓损伤的发病机制复杂,目前一般认为细胞凋亡和死亡是造成慢性脊髓损伤的主要原因。间歇性低氧可以诱发脊髓 5-羟色胺依赖的可塑性,通过 pLTF 加强突触与运动神经元之间的联系。在 pLTF 过程中,脊髓损伤后 4-8 周,由 5-羟色胺支配的膈运动神经元发生明显变化^[24]。目前认为,间歇性低氧在急性脊髓损伤后是增强呼吸运动的最佳方法之一,为脊髓损伤后功能的恢复提供了一种新的潜在治疗方式。

2 高压氧

高压氧能改善脊髓损伤后肢体活动,并延缓病变发生;在受损的神经组织中减轻继发性炎症反应,提高氧分压,抑制细胞凋亡,并促进神经组织再生;同时它能改善组织缺氧状态,上调细胞中的线粒体酶活性,使损伤细胞得到修复,并促进正常代谢反应;另外,高压氧能有效抑制活化的小胶质细胞分泌炎症因子,从而调节小胶质细胞介导的免疫反应^[26-29]。

高压氧具有保护脊髓中细胞结构与组织结构完整性的作用,缩短受损神经细胞的再生周期,并促进神经纤维再生。目前,高压氧干预在脊髓损伤治疗中的作用已经在多项试验中被证实,这一治疗方式还被广泛应用于各种特殊事故及神经类疾病中,包括一氧化碳中毒、气体栓塞、减压病等^[30]。

Lu 等^[31]将高氧预处理作用于脊髓损伤大鼠,同时利用低氧预处理作为对照,发现无论高压氧预处理还是低压氧预处理都能促进神经功能恢复,抑制细胞凋亡,促进轴突再生和运动行为的恢复,能作为神经外科手术有效的预防措施。目前,低氧和高氧已经被广泛应用于保护中枢神经系统的研究中。

3 HIF-1 和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)

HIF-1 由两种亚基组成,通过泛素蛋白酶途径发挥作用,在低氧条件下稳定存在并发挥功能,但在常氧状态下快速降解;其亚型 HIF-1b 却在常氧中趋于稳定。HIF-1 能激活转录基因编码 VEGF、红细胞生成素、糖酵解酶、葡萄糖转运蛋白等。脊髓损伤后,这些蛋白能增加氧气运送,促进代谢反应^[32]。

VEGF 转录可上调 HIF-1 在 5'启动子区与低氧反应元件结合。在大多数低氧环境中, HIF-1 能介导 VEGF 上调。白质损伤及前肢瘫痪后 16~20 周内,大量细胞表达 HIF-1, VEGF 迅速

增加。脊髓损伤后, VEGF 和 HIF-1 的表达均明显上调。体外研究表明, 低氧预处理的 BMSC 能促进 HIF-1 分泌, 提高细胞对低氧环境的适应性, 从而达到神经保护作用^[33]。

4 展望

预处理是一种内源性保护措施, 在循环系统、神经系统、器官移植中具有重要的临床价值。低氧预处理和高氧预处理对中枢神经缺血再灌注损伤的保护作用已经得到较好证明^[34]。

目前脊髓损伤的治疗研究仍然集中于探讨药物或干细胞, 很少从物理角度, 包括低氧或高氧方面深入探讨其神经保护作用 and 机制。本文从对低氧、高氧及低氧后一些重要的标志性因子进行探讨, 试图将物理性保护引入脊髓损伤的研究中, 为脊髓损伤的治疗开辟一条新的途径。

【参考文献】

- [1] Barnabé-Heider F, Göritz C, Sabelström H, et al. Origin of new glial cells in intact and injured adult spinal cord [J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 7(4): 470-482.
- [2] Gonzalez R, Glaser J, Liu MT, et al. Reducing inflammation decreases secondary degeneration and functional deficit after spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2003, 184(1): 456-463.
- [3] Hu R, Zhou J, Luo C, et al. Glial scar and neuroregeneration: histological, functional, and magnetic resonance imaging analysis in chronic spinal cord injury [J]. *J Neurosurg spine*, 2010, 13(2): 169-180.
- [4] Satriotomo I, Nichols NL, Dale EA, et al. Repetitive acute intermittent hypoxia increases growth/neurotrophic factor expression in non-respiratory motor neurons [J]. *Neuroscience*, 2016, 322: 479-488.
- [5] Prabhakar NR. Sensory plasticity of the carotid body: role of reactive oxygen species and physiological significance [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2011, 178(3): 375-380.
- [6] Kline DD. Chronic intermittent hypoxia affects integration of sensory input by neurons in the nucleus tractus solitarius [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2010, 174(1-2): 29-36.
- [7] Baker-Herman TL, Fuller DD, Bavis RW, et al. BDNF is necessary and sufficient for spinal respiratory plasticity following intermittent hypoxia [J]. *Nat Neurosci*, 2004, 7(1): 48-55.
- [8] Lovett-Barr MR, Satriotomo I, Muir GD, et al. Repetitive intermittent hypoxia induces respiratory and somatic motor recovery after chronic cervical injury [J]. *J Neurosci*, 2012, 32(11): 3591-3600.
- [9] Satriotomo I, Dale EA, Dahlberg JM, et al. Repetitive acute intermittent hypoxia increases expression of proteins associated with plasticity in the phrenic motor nucleus [J]. *Exp Neurol*, 2012, 237(1): 103-115.
- [10] Prosser-Loose EJ, Hassan A, Mitchell GS, et al. Delayed intervention with intermittent hypoxia and training task improves forelimb function in a rat model of cervical spinal injury [J]. *J Neurotrauma*, 2015, 32(18): 1403-1412.
- [11] Kafitz KW, Rose CR, Thoenen H, et al. Neurotrophin evoked rapid excitation through TrkB receptors [J]. *Nature*, 1999, 401(6756): 918-921.
- [12] Gomez-Pinilla F, Ying Z, Opazo P, et al. Differential regulation by exercise of BDNF and NT-3 in rat spinal cord and skeletal muscle [J]. *Eur J Neurosci*, 2001, 13(6): 1078-1084.
- [13] Wang Z, Fang B, Tan Z, et al. Hypoxic preconditioning increases the protective effect of bone marrow mesenchymal stem cells on spinal cord ischemia/reperfusion injury [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(3): 1953-1960.
- [14] Theus MH, Wei L, Cui L, et al. In vitro hypoxic preconditioning of embryonic stem cells as a strategy of promoting cell survival and functional benefits after transplantation into the ischemic rat brain [J]. *Exp Neurol*, 2008, 210(2): 656-670.
- [15] Fang B, Wang H, Sun XJ, et al. Intrathecal transplantation of bone marrow stromal cells attenuates blood spinal cord barrier disruption induced by spinal cord ischemia reperfusion injury in rabbits [J]. *J Vasc Surg*, 2013, 58(4): 1043-1052.
- [16] Huang X, Su K, Zhou L, et al. Hypoxia preconditioning of mesenchymal stromal cells enhances PC3 cell lymphatic metastasis accompanied by VEGFR 3/CCR7 activation [J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(12): 2834-2841.
- [17] Peterson KM, Aly A, Lerman A, et al. Improved survival of mesenchymal stromal cell after hypoxia preconditioning: role of oxidative stress [J]. *Life Sci*, 2011, 88(1-2): 65-73.
- [18] Liu H, Liu S, Li Y, et al. The role of SDF 1 CXCR4/CXCR7 axis in the therapeutic effects of hypoxia preconditioned mesenchymal stem cells for renal ischemia/reperfusion injury [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e34608.
- [19] Chang CP, Chio CC, Cheong CU, et al. Hypoxic preconditioning enhances the therapeutic potential of the secretome from cultured human mesenchymal stem cells in experimental traumatic brain injury [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2013, 124(3): 165-176.
- [20] Wang JA, He A, Hu X, et al. Anoxic preconditioning: A way to enhance the cardioprotection of mesenchymal stem cells [J]. *Int J Cardiol*, 2009, 133(3): 410-412.
- [21] He A, Jiang Y, Gui C, et al. The anti-apoptotic effect of mesenchymal stem cell transplantation on ischemic myocardium is enhanced by anoxic preconditioning [J]. *Can J Cardiol*, 2009, 25(6): 353-358.
- [22] Kim SU. Human neural stem cells genetically modified for brain repair in neurological disorders [J]. *Neuropathology*, 2004, 24(3): 159-171.
- [23] Oh JS, Ha Y, An SS, et al. Hypoxia-preconditioned adipose tissue-derived mesenchymal stem cell increase the survival and gene expression of engineered neural stem cells in a spinal cord injury model [J]. *Neurosci Lett*, 2010, 472(3): 215-219.
- [24] Golder FJ, Mitchell GS. Spinal synaptic enhancement with acute intermittent hypoxia improves respiratory function after chronic cervical spinal cord injury [J]. *J Neurosci*, 2005, 25(11): 2925-2932.
- [25] Blight AR. Just one word: plasticity [J]. *Nat Neurosci*, 2004, 7(3): 206-208.
- [26] Tai PA, Chang CK, Niu KC, et al. Attenuating experimental spinal cord injury by hyperbaric oxygen: stimulating production of vasculendothelial and glial cell line-derived neurotrophic growth factors and interleukin-10 [J]. *J Neurotrauma*, 2010, 27(6): 1121-1127.
- [27] Cristante AF, Damasceno ML, Barros Filho TE, et al. Evaluation of the effects of hyperbaric oxygen therapy for spinal cord lesion in correlation with the moment of intervention [J]. *Spinal Cord*, 2012, 50(7): 502-506.
- [28] Dayan K, Keser A, Konyalioglu S, et al. The effect of hyperbaric oxygen on neuroregeneration following acute thoracic spinal cord injury [J]. *Life Sci*, 2012, 90(9-10): 360-364.
- [29] Topuz K, Colak A, Cemil B, et al. Combined hyperbaric oxygen and hypothermia treatment on oxidative stress parameters after spinal cord injury: an experimental study [J]. *Archiv Med Res*, 2010, 41(7): 506-512.
- [30] Al-Waili NS, Butler GJ, Beale J, et al. Hyperbaric oxygen in the treatment of patients with cerebral stroke, brain trauma, and neurologic disease [J]. *Adv Ther*, 2005, 22(6): 659-678.
- [31] Lu PG, Hu SL, Hu R, et al. Functional recovery in rat spinal cord injury induced by hyperbaric oxygen preconditioning [J]. *Neurol Res*, 2012, 34(10): 944-951.
- [32] Chen MH, Ren QX, Yang WF, et al. Influences of HIF-1α on Bax/Bcl-2 and VEGF expressions in rats with spinal cord injury [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(11): 2312-2322.
- [33] Liu H, Xue W, Ge G, et al. Hypoxic preconditioning advances CXCR4 and CXCR7 expression by activating HIF 1α in MSCs [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 401(4): 509-515.
- [34] 卢培刚, 冯华, 胡荣, 等. 高压氧预处理对脊髓损伤后轴突再生影响实验研究 [J]. *中华神经外科疾病研究杂志*, 2011, 10(4): 316-320.

(收稿日期: 2017-09-05 修回日期: 2017-12-04)