

国际脊柱研究信托基金会脊髓损伤研究策略

张军卫, 洪毅, 关 骅

(中国康复研究中心脊柱脊髓外科 首都医科大学康复医学院临床康复教研室 100068 北京市丰台区)

中图分类号: R683.2 文献标识码: C 文章编号: 1004-406X(2007)-08-0635-03

【译者注】国际脊髓学会在 Spinal Cord 第 45 卷第 1 期发表了 International spinal research trust research strategy (III): a discussion document。其内容反映了当今国际脊髓损伤研究动向, 对我国脊髓损伤临床治疗与基础研究有指导意义。特摘要译出供读者参考。

1996 年国际脊柱研究信托基金会 (International Spinal Research Trust, ISRT) 公布了第一份 ISRT 研究策略文件, 以指导脊髓损伤的基础与临床研究^[1]。2000 年第二次发表的研究策略中补充了大量资料^[2]。2007 年发表的最新研究策略反映了近 6 年脊髓损伤研究的最新进展, 并提出了有必要改进脊髓损伤评价的科学性。25 年来, ISRT 一直通过资助基础科学研究, 为全球临床试验提供指导意见, 使之可能研究出脊髓功能修复的方法。本研究策略分为两个方面: 纵向为研究方向; 横向为研究方法。

1 研究方向

1.1 减轻继发性损伤的研究

脊髓损伤后的组织破坏和神经功能障碍, 除因直接原发损伤之外, 还因继发性损伤因素所致。脊髓损伤区域包含了原发损伤区和继发性损伤区, 无论是减轻继发性损伤, 还是防止继发性损伤区扩散, 都有可能使神经功能恢复得更好^[3]。遗憾的是继发性损伤的许多机制仍然不明, 有必要进一步了解与继发性损伤有关的原发损伤、细胞死亡和神经胶质瘢痕形成的机制, 为促进神经功能恢复提供一个合理的治疗方案。除了探索新的治疗方法外, ISRT 更重视促进基础研究人员与临床医生的沟通, 对目前一些有潜力的脊髓损伤治疗方法的应用价值进行评估。由于多数神经保护策略在临床试验中并未表现出实质性作用^[4], 所以应当优先加强对急、慢性脊髓损伤后的细胞死亡机制的了解, 以研发出新的有效的治疗方法。

1.2 抑制或促进神经生长的微观环境的研究

关于中枢神经系统内轴突再生受到抑制, 而周围神经移植能促进其轴突再生已有明确的结论。周围神经移植促进中枢神经系统内轴突再生有以下几种机制: (1) 抑制信号存在于中枢神经系统而不存在于周围神经系统; (2) 周围神经移植可以分泌神经营养因子或其他促再生蛋白如细胞表面蛋白, 它可以克服中枢神经系统内的轴突抑

制作用; (3) 存在于周围神经移植中的抑制因子被局限化, 调节后可能允许轴突再生。实验证明硫酸软骨素蛋白聚糖 (CSPG)、髓鞘磷脂蛋白、轴突导向因子群 Semaphorins 均存在于中枢神经系统和周围神经系统, 但其分布、表达和稳定性是不同的。关于抑制或促进神经生长的多种因子的研究可分为三类: (1) 探究对轴突生长有促进或抑制作用的分子; (2) 研发能够抵消抑制作用或者助长促进作用的试剂; (3) 探究其他治疗方法, 如细胞和基因疗法等与这些抑制/促进因子之间的相互作用机制。少突胶质细胞表面存在髓磷脂, Schwab 及其合作者首先在培养细胞中发现这些抑制性分子会导致轴突再生失败, 随后在脊髓损伤中得到验证, 这种分子被命名为 Nogo^[5]。增加对这些抑制分子作用机制的了解, 有助于研发脊髓损伤新疗法。周围神经移植不带有些抑制分子, 而且还分泌营养因子, 促进了中枢神经系统内轴突的再生。许多研究表明, 生长因子能够上调生长相关基因 RAGs 的表达, 并能促进轴突再生^[6]; 如果用基因修饰移植细胞, 使神经营养因子充分表达, 可以进一步增强这种效应。因此, 如何有效地将促进生长和减少抑制联合起来是当前的研究方向。由于人类和啮齿类动物基因组工程已鉴定出了大部分基因, 使得对基因或蛋白质的大量、高效筛选成为一种研究手段, 它有助于阐明神经再生障碍的分子学机制, 全面了解损伤后神经元和神经胶质细胞的分子变化过程^[7]。

1.3 引导轴突再生和建立神经连接的研究

能促进白质内损伤轴突再生的方法正在研究中, 例如用生物材料合成的移植来桥接脊髓损伤部位^[8]以促进再生。如何让轴突穿过瘢痕组织与瘢痕外面的神经组织连接是一个难题。有观点认为, 如果能够利用中枢神经系统内在的可塑性机制达到一些功能恢复的话, 就没有必要引导再生纤维到达靶标; 也有观点认为, 新的连接可能是无效的, 而且可能导致其他问题如痉挛和疼痛程度增加。ISRT 将重点推动以下研究: (1) 运用组织学和电生理学技术, 研究脊髓损伤后短期内新突触形成的过程; (2) 神经营养因子的重要导向作用——观察在损伤脊髓的上下区域, 经过修饰后它们能否促进轴突生长; (3) 轴突生长和突触可塑性对神经再生和功能恢复的潜在能力; (4) 神经营养

第一作者简介: 男(1966-), 主治医师, 医学博士, 研究方向: 脊柱外科, 脊髓损伤

电话: (010)87569483 E-mail: jwnihaoma@yahoo.com.cn

因子促进轴突生长的能力及其对功能重建的影响。

1.4 评估脊髓损伤自然病程、开发脊髓内残留神经元和神经纤维潜能的研究

临床上除少数开放性和贯通性的脊髓损伤外,大多数受伤脊髓组织中仍有残存的脊髓神经细胞和纤维组织,即使临床上诊断为完全性损伤也是如此。提高尚存轴突的功能及可塑性对神经功能恢复具有重要作用。根据轴突面积或轴突数目,可以测算与运动相匹配的最低限度的白质数量。维持人类下肢最低限度的随意运动(包括足的背屈和跖屈)在胸髓仅需要 3.5%~10% 的皮质脊髓束^[9]。这种观点促进了以修复为基础的研究,并形成了一种理念,即仅需少量新生轴突穿过损伤部位并进行连接,就会得到一定的功能恢复。在动物脊髓完全性横切模型中,无需脊髓上位中枢的控制,依靠横断水平以下的脊髓环路就可以产生在减重状态下的后肢运动。与动物模型不同,人的不完全性脊髓损伤病例中,运动平板试验与随意运动相比,更能激活脊髓腰段运动神经元,因为运动平板试验产生的本体感觉传入更为有效。完全性脊髓损伤后,局部节段的本体感觉运动环路可以诱导出模式化的肌肉活动,但这不是一个可以维持的运动模式^[10]。在动物和人类的运动系统中,从大脑皮质到靶向肌肉的不同水平都显示出可塑性^[11]。人们已经认识到感觉系统的可塑性(例如侧索的生芽生长),它可以解释损伤平面以下感觉部分残留和神经性疼痛的现象。影像学研究显示,脊髓损伤后感觉的分布和躯体感觉皮质区的功能重组是相伴随的^[12]。除脊髓外,中枢神经系统的其他位置如丘脑、脑干、楔束核都会出现大规模的功能重组^[13]。实现脊髓损伤后感觉功能恢复的研究策略应包括保护和促进使功能重新连接的生物学环境,加强中枢神经系统重组。

1.5 细胞和基因治疗的研究

自 2000 年以来,细胞和基因治疗已经取得重要进展。细胞疗法包括:分化完全的组织移植,如周围神经移植;炎症细胞移植;中枢神经系统固有细胞如少突胶质细胞、嗅鞘细胞及干细胞移植等。各种干细胞中,未分化的胚胎干细胞因可发展为畸胎瘤,不适宜应用。目前,分化程度高的胎儿及成人神经源性细胞为首选移植细胞。基因治疗有两个发展方向,一是在移植前对移植细胞进行遗传修饰;另一个是使治疗基因在受损脊髓组织中直接表达。

1.5.1 细胞疗法 细胞疗法包括以下几个发展方向:(1)作为支持脊髓神经元功能的神经生长因子的来源;(2)移植干细胞可能分化为少突胶质细胞,包裹再生轴突形成髓鞘;(3)移植干细胞可能分化为有功能的脊髓神经元,并直接替代受损神经元;(4)移植的细胞作为基质支持轴突生长。在一些研究中出现移植神经干细胞后异常性疼痛发生率增加,这可能与感觉神经纤维生长有关;但移植前将干细胞定向分化为特定细胞系就能避免异常性疼痛,并呈现出功能性恢复的结果。总之,临床试验前需要特别关注细胞治疗的不良反应。细胞疗法要求移植细胞易于获取、扩

增及保存,并且存活时间足够长,以利于充分的、准确的轴突修复。骨髓间充质干细胞是一种有吸引力的自体移植细胞来源^[14],定向分化为特定类型的细胞如雪旺细胞,有助于获得进一步的功能提高。另一种具备修复潜能的移植细胞是嗅鞘细胞^[15]。

1.5.2 基因治疗 腺病毒载体介导的神经营养因子已成功应用于治疗腹侧根性撕脱后的运动神经元损伤及逆转红核脊髓束慢性损伤所致的肌萎缩^[16]。在细胞平台范围内,联合新的病毒载体使脊髓损伤的修复更具有前景。尽管如此,仍有一些重要问题有待解决。

1.6 联合治疗

对于脊髓损伤,单一疗法的效果可能是有限的,但联合应用各种有潜力的治疗方法可能会取得更有效的恢复。一些已经发表的联合应用细胞移植与提高可塑性的药物治疗脊髓损伤的研究为这一理论提供了证据。联合治疗可能成为未来研究脊髓损伤治疗的基础。

1.7 电刺激疗法

功能性电刺激(FES)的主要目的是刺激麻痹的肌群。目前 FES 内置物广泛用于控制排尿及协助站立、运动及增强手的抓握功能等。除了这些“外周作用”以外,FES 对中枢感觉运动可塑性具有长期的影响,可让残存的纤维发挥更大的作用^[17]。FES 可以用于无法自主生长的受损脊髓的上下端,以促进神经活化。

在 FES 方面,ISRT 侧重资助以下研究:(1)证明 FES 通过提高残存脊髓组织运动功能的可塑性而对其他治疗方法具有补充作用;(2)研究确定与每个脊髓损伤个体相适应且能改善实际活动能力的 FES 应用范围和条件;(3)无创方法的应用;(4)改进评估办法,以评价无创疗法的功能恢复效果;(5)研发长效的电学疗法,作为脊髓损伤治疗方法的补充。

2 研究方法

2.1 动物实验

实验动物模型无论对了解脊髓损伤的生物学机制,还是探索脊髓损伤的有效治疗方法都是至关重要的。常用的脊髓损伤实验动物模型有两种:(1)挫伤模型,能够最大限度模拟临床上的脊髓损伤类型;(2)特定神经传导路损伤模型,用来观察脊髓损伤后的反应变化及再生能力。各种脊髓损伤治疗方法用于人类之前,都应该使用这两种模型进行疗效评估。虽然脊髓横切损伤动物模型得到认可,但挫伤模型最能代表人脊髓损伤发生机制,其损伤区域累及 2~3 个节段。不断有证据表明,慢性完全性脊髓损伤后损伤平面以下的神经功能存在退化,这种退化与脊髓再生疗法的关系值得进一步研究。应用转基因方法研究脊髓损伤后的分子机制和修复机制是完全可行的。涉及基因治疗的实验动物都是小鼠而不是大鼠。任何模型都要求其动物数量符合统计学分析要求、结果客观、记录可靠、可被其他研究人员获取,实验结果有可重复性。

理想的实验设计包括:(1) 长期观察正常动物的行为,以确立其行为学变异水平;(2)对脊髓损伤后相关参数的长期观察,确立脊髓损伤致伤程序的变异程度及脊髓损伤后自然演变过程的差异程度;(3) 待致伤动物伤情稳定后,再采取治疗措施干预,并进一步对上述指标进行评估;(4)差异度一定会与正常的组内变化相关。不能假设每只动物都一模一样,损伤以后的变化应该与个体组织相关,这种相关性能够提供损伤区域的大小和损伤位置等信息,从而反映被验证疗法的效果。除此之外,治疗后的变化还应与个体恢复的组织学参数有关(如再生纤维数量、移植物的体积等),这也是很有价值的信息。

2.2 建立客观评估神经再生和功能恢复的方法

准确判定解剖学上神经再生程度、重建具有功能的生理连接及神经功能的改善,对判断脊髓损伤修复成功与否至关重要。无论实验动物还是人类,当前都缺乏可靠的判定标准,如脊髓损伤程度、神经功能自发恢复情况、治疗后恢复程度。Graggs 等研究证明,有一些 ASIA 评分 A 级(完全性)的脊髓损伤患者,能够自主地调节形成完整的肌电图(EMG),如球海绵体反射(PAR)。观察 PAR 的改善状况可能对脊髓损伤后的功能变化提供参考依据,也可能成为治疗结果的观察指标。ASIA 评分并不总是可靠的,它不能发现细微的神经功能改善。所以需要研发检测残存长神经传导束功能的技术,建立能够反映临床上脊髓损伤患者整体状况的评估标准。神经电生理学和神经功能评价的方法能够区分脊髓损伤后的神经功能改善是代偿所致,还是神经元的再生或可塑性所为。特别是神经电生理学检查,能够提供外周神经和脊髓特殊传导束损伤后治疗是否有效的信息。MRI 能够显示脊髓损伤部位的连续性,但无法判断轴突是否有功能。感觉和运动功能的电生理学评估(感觉和运动诱发电位)方法可以判定脊髓背侧粗大的有髓神经纤维功能,却不能判定纤细的神经纤维如丘脑脊髓束的功能,因此需要建立评估各种神经纤维束功能的方法。

2.3 临床试验

近期脊髓损伤所致截瘫治疗国际研讨会(ICCP)针对脊髓损伤临床试验标准和指导方针问题决定成立一个工作组,在伦理学和科学性方面提出严格要求,以提高试验质量,防止低水平和误导性的研究。通过建立标准,制定详细指导方针,以最准确和有效的方式来建立临床试验^[18]。

2.4 促进多学科的共同研究

人类脊髓损伤很复杂,需要用多学科的方法来了解,并找到有效的治疗方法。基础研究与临床治疗之间的合作有助于评估完全性脊髓损伤后神经元功能变化过程,能更好地认识神经系统的可塑性和退变。ISRT 鼓励与脊髓损伤研究领域之外的合作,使一些具有特殊目的的治疗方法研究不再重复他人的错误。

1. 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(8):449-459.
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(8):449-472.
3. McDonald JW, Sadowsky C. Spinal-cord injury [J]. *Lancet*, 2002, 359(9304):417-425.
4. Wahlgren NG, Ahmed N. Neuroprotection in cerebral ischaemia: facts and fancies—the need for new approaches [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2004, 17(Suppl 1):153-166.
5. Schnell L, Schwab ME. Axonal regeneration in the rat spinal cord produced by an antibody against myelin-associated neurite growth inhibitors [J]. *Nature*, 1990, 343(6255):269-272.
6. Grill R, Murai K, Blesch A, et al. Cellular delivery of neurotrophin-3 promotes corticospinal axonal growth and partial functional recovery after spinal cord injury [J]. *J Neurosci*, 1997, 17(14):5560-5572.
7. Bareyre FM, Schwab ME. Inflammation, degeneration and regeneration in the injured spinal cord: insights from DNA microarrays [J]. *Trends Neurosci*, 2003, 26(10):555-563.
8. Geller HM, Fawcett JW. Building a bridge: engineering spinal cord repair [J]. *Exp Neurol*, 2002, 174(2):125-136.
9. Kakulas BA. A review of the neuropathology of human spinal cord injury with emphasis on special features [J]. *J Spinal Cord Med*, 1999, 22(2):119-124.
10. Maegle M, Muller S, Wernig A, et al. Recruitment of spinal motor pools during voluntary movements versus stepping after human spinal cord injury [J]. *J Neurotrauma*, 2002, 19(10):1217-1229.
11. Wolpaw JR. *Spinal Cord Plasticity: Alterations in Reflex Function* [M]. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2001. 101-126.
12. Kew JJ, Halligan PW, Marshall JC, et al. Abnormal access of axial vibrotactile input to deafferented somatosensory cortex in human upper limb amputees [J]. *J Neurophysiol*, 1997, 77(5):2753-2764.
13. Banati RB. Brain plasticity and microglia: is transsynaptic glial activation in the thalamus after limb denervation linked to cortical plasticity and central sensitization [J]? *J Physiol Paris*, 2002, 96(3-4):289-299.
14. Akiyama Y, Radtke C, Kocsis JD. Remyelination of the rat spinal cord by transplantation of identified bone marrow stromal cells [J]. *J Neurosci*, 2002, 22(15):6623-6630.
15. Barnett SC. Olfactory ensheathing cells: unique glial cell types [J]? *Neurotrauma*, 2004, 21(4):375-382.
16. Blits B, Carlstedt TP, Ruitenberg MJ, et al. Rescue and sprouting of motoneurons following ventral root avulsion and reimplantation combined with intraspinal adeno-associated viral vector-mediated expression of glial cell line-derived neurotrophic factor or brain-derived neurotrophic factor [J]. *Exp Neurol*, 2004, 189(2):303-316.
17. Gaunt RA, Prochazka A. Control of urinary bladder function with devices: successes and failures [J]. *Prog Brain Res*, 2006, 152:163-194.
18. Steeves J, Fawcett J, Tuszynski M. Report of international clinical trials workshop on spinal cord injury [J]. *Spinal Cord*, 2004, 42(10):591-597.

(收稿日期:2007-02-13 修回日期:2007-07-02)

(本文编辑 李伟霞)

3 参考文献