

上颈髓损伤后呼吸神经通路的重塑及研究进展

姜 横 周许辉

摘 要 颈髓损伤导致呼吸功能受损后,呼吸神经通路上能发生各种形式的重塑,有些重塑的机制是脊髓固有的功能储备,有些则可以通过人为干预诱导其发生。本文将围绕上颈髓损伤模型、潜在呼吸通路的激活、损伤轴突的再生及呼吸神经元重塑几方面对上颈髓损伤后呼吸神经通路重塑的最新研究进展进行综述。

关键词 颈髓损伤 呼吸 神经重塑

中图分类号 R6

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.11.047

严重的颈髓损伤(cervical spinal cord injury, cervical SCI)可导致膈肌瘫痪。颈髓损伤的患者常需要加强治疗和护理。这些患者即使能够幸存,但往往需要呼吸机的支持,并可能继发肺部或其他系统并发症,导致病死率增加。临床上可观察到随着时间的推移,损伤同侧的膈肌功能逐渐得到恢复,提示脊髓存在固有的神经重塑功能^[1]。但是这种自发的神经重塑功能往往是有限的,因此越来越多的研究人员去关注颈髓损伤后呼吸功能的重建过程中伴随的神经通路的适应性改变,并试图通过各种手段诱导神经重塑的发生以促进呼吸功能的改善。

一、延髓-脊髓呼吸神经通路和上颈髓损伤模型

以腹侧呼吸组头侧端神经核团(rostral ventral respiratory group, rVRG)为代表的延髓呼吸中枢,接受前包钦格复合体(pre-botzinger complex)产生的呼吸节律性冲动后,将吸气性神经冲动传导至两侧位于颈3~6水平腹侧角的膈运动神经元,双侧膈神经支配各自半侧的膈肌,引起膈肌的收缩^[2]。调控呼吸的神经通路具有两个特点:①呼吸通路在延髓和颈髓处都有交叉,研究显示这些交叉的神经通路在正常情况下是不发挥功能的,只在特定情况下才被激活^[3];②控制呼吸的延髓脊髓束并不仅仅是单突触的,还存在一些中继神经元(interneurons),这些中继神经元也是目前重建呼吸功能的重要靶标^[4]。

大多数研究SCI后呼吸功能变化及评估治疗效果采用的是颈2脊髓半切模型(C2 lateral hemisection, C2HMx)^[3, 5]。通过横向完全半切第2节段颈髓,中断单侧脊髓中下传的吸气性神经冲动,引起同侧的膈肌瘫痪。这种动物模型中由于对侧半膈肌及辅助呼吸肌的代偿作用,动物仍可依赖于机械通气,进行自主呼吸。C2HMx模型中显示的交叉膈神经支配现象(crossed phrenic phenomenon, CPP)能为SCI后呼吸神经通路发生重塑提供最有力的证据^[3]。然而,类似于C2HMx的脊髓损伤方式在人群中的发生率是比较低的,临床上最常见的是脊髓挫伤。有研究者继而采用了单侧上颈髓挫伤模型^[6]。另外,由于延髓脊髓束呼吸神经纤维较广泛地分布于脊髓的两侧及腹中部,脊髓挫伤的程度不同可导致不同范围的白质区域保留,最终引起不同程度的呼吸功能障碍,这在临床上是非常有意义的。尽管如此,临床上脊髓挫伤更易发生在颈椎中段水平,靠近中线附近,并不是所谓的单侧,其解剖学和病理学特征与高段颈髓单侧挫伤亦有很大的差异^[7]。因此,构建一种能更好模拟临床颈髓损伤患者病理情况的动物研究模型仍亟待解决。

二、潜在呼吸通路的激活

潜在呼吸通路的激活是研究最早且最广泛的一种发生于呼吸神经通路的重塑机制。研究人员在颈2脊髓半切的实验动物中继续切断对侧的膈神经,观察到实验动物并没有因为膈肌的完全瘫痪而死亡,反而原先瘫痪的半侧膈肌功能立即得到改善,将这种现象称之为交叉膈神经支配现象(CPP)。其机制为对侧原先静止存在的延髓脊髓呼吸神经纤维,避开脊髓半切的部位,在颈3~6节段跨越脊髓中线,将神经冲动传导至损伤同侧膈运动神经元,介导呼吸功能的改善。随后的研究发现,CPP的作用可能只有在呼吸受限或更大的呼吸驱动条件下(如缺氧)才能表现出

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81271354)

作者单位:200001 上海,第二军医大学附属长征医院脊柱四科

通讯作者:周许辉,教授,博士生导师,电子信箱:13916331933@

163.com

来^[3]。

显然,以牺牲对侧膈神经的功能来增加呼吸驱动是没有临床价值的。近期的研究发现,药物的干预(如呼吸兴奋剂茶碱)和间歇性缺氧等能发挥相同的功能^[8-10]。间歇性的暴露于较低浓度和正常的氧水平能引起膈神经的长期易化(long term facilitation, LTF)^[11],即呼吸纤维转导的神经冲动峰值上升引起膈运动神经元持续性输出冲动增加。研究显示,在颈髓损伤模型中,间歇性的缺氧亦能改善呼吸性的神经冲动^[12]。研究最多的是急性间歇性缺氧(acute intermittent hypoxia, AIH),是指将实验动物间隔暴露于低氧环境下 3~5 次,每次持续 5min。其诱导呼吸重塑的机制^[5]可能为缺氧诱导脑中缝核释放 5-羟色胺(5-HT),5-HT 与膈运动神经元上的 5-HT₂受体结合,引起脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)的合成释放及其受体 TrkB 所在信号通路的激活,后者的激活引起的下游效应分子目前还未完全阐述。因此,深入探究由间歇性缺氧介导的依赖 5-HT 的呼吸通路重塑机制将为开发最大程度利用脊髓固有重塑能力的治疗策略提供新的思路。

最近,Vinit 等^[13]首次将经颅磁刺激(transcranial magnetic stimulation, TMS)技术应用于评估脊髓损伤模型中膈运动神经元兴奋性的改变。尽管交叉的膈神经支配通路在急性颈 2 脊髓损伤后不能立即自发性的激活,但是经颅磁刺激(TMS)后可以在损伤同侧记录到膈肌运动诱发电位(motor-evoked potential recorded from the diaphragm, MEPdia),进一步证实了这些交叉的突触联系是原先就存在的。利用颈 2 脊髓较大损伤模型(保留较少的白质区域),7 天后在损伤同侧和对侧可记录到较低的膈肌运动诱发电位(MEPdia),而在颈 2 脊髓较小损伤模型中,由于同侧支配肋间肌和腹肌的呼吸神经纤维的白质区域亦被保留,这些神经纤维可以与该侧膈运动神经元形成更多的呼吸通路,TMS 后可以记录到更高的 MEPdia。提示呼吸性潜在神经通路的激活并不局限于来自对侧,同侧支配肋间肌和腹肌的呼吸神经纤维也发挥了作用。这些脊髓固有的呼吸性通路也为改善颈髓损伤后呼吸功能提供了新的靶标。

三、脊髓损伤后的轴突再生

颈髓损伤后神经通路发生重塑另一重要的形式是损伤的轴突发生再生,形成新的通路。中枢神经系统(延髓-脊髓呼吸神经通路)轴突再生的能力是有

限的,因此研究人员尝试通过神经移植促进其再生。Gauthier 等^[14]给 C3H/He 成年大鼠进行自体外周神经移植(两端分别连接于延髓腹侧部靠近 rVRG 区域和脊髓 C₄ 平面),6~8 个月后电刺激移植神经,膈神经电生理记录显示有冲动转导。另外,在移植神经中检测到与延髓吸气神经元类似的放电形式,提示吸气神经纤维可以再生进入移植神经内,然而,仅有少量的再生纤维能够重新进入脊髓,到达膈运动神经元。Alilain 等^[15]将自体外周神经移植和软骨素酶(chondroitinase ABC, ChABC, 通过降解星形胶质细胞分泌的硫酸软骨素蛋白多糖,促进损伤轴突再生^[16])。注射联合应用于 C2H/He 成年大鼠,结果显示含 5-HT 能及其他神经纤维再生长入移植神经后能进入脊髓灰质。待膈肌功能改善后再切断移植神经,改善的呼吸功能消失,且膈肌肌电图显示不常见的强直活动增加,提示轴突再生是引起呼吸功能改善的关键,且轴突通过再生形成了新的神经通路(记录到的强直活动可能与新通路中的中继神经元放电有关)。

另外,研究者通过将不同的外周神经与膈神经进行吻合,促进轴突再生,重新支配膈肌,使膈肌的功能得到了不同程度的恢复。Gauthier 等^[17]将单侧的喉返神经近端与膈神经远端吻合,5 个月后同侧膈神经功能得到显著恢复(达到对侧的 $74.2\% \pm 10.0\%$)。在实施对侧膈神经切断术或颈 2 节段完全横断脊髓后,改善的呼吸功能持续存在。周许辉^[18]则在锁骨上方副神经发出内、外支之前将其切段,将副神经近侧断端与膈神经远侧断端吻合,吻合术 6 个月后运动纤维通过率为 $96.85\% \pm 6.93\%$,与膈神经原位吻合组无统计学意义,提示副神经移植膈神经后近端再生轴突能在施万细胞形成的细胞桥及细胞索等引导下能较理想的通过吻合口向远端生长。另外,6 个月后大鼠膈肌湿重、肌纤维截面积及超微结构等均接近正常膈肌水平,膈肌 MEP 波幅达 $6.35 \pm 0.5\text{mV}$,与正常对照组的波幅($6.80 \pm 0.46\text{mV}$)相比差异无统计学意义,证实了副-膈吻合神经对膈肌的重新支配作用。研究者亦从解剖、放电节律及交叉支配等方面分析论证了迷走神经作为移植神经重建膈肌功能的可行性^[19]。

上述研究提示损伤轴突通过再生,使膈肌重新接受神经的支配,使呼吸功能得到改善。但是对重新支配膈运动神经元的上级神经元的细胞命运及功能的改变机制,上级神经元与呼吸中枢的联系形式,吻合神经对膈肌的支配方式,神经肌肉接头的结构改变等

机制尚未进行研究。通过对这一新形成的呼吸通路进行研究,详细了解其调节分子机制,或许可以帮助我们寻找有效的干预位点作为治疗方案。

四、脊髓呼吸神经元的重塑

在慢性脊髓损伤过程中,呼吸功能的自发性恢复亦被认为与膈运动神经元和(或)其他呼吸神经元本身的适应性改变有关,如神经元上 5-羟色胺和谷氨酸能神经递质的突触发生变化^[20]。如前所述,5-HT 能诱导膈神经长期易化,促进 CPP,调节呼吸运动神经冲动的输出。rVRG 释放的谷氨酸则作为一种兴奋性神经递质直接引起膈运动神经元的放电。与 5-HT 类似,研究发现在 C2HMx 16 周后,膈运动神经元谷氨酸受体发生改变,NMDA 受体 2A 亚单位和 AMPA 受体 GluR1 亚单位增加,同时 AMPA 受体 GluR2 亚单位减少,提示上述谷氨酸受体的重塑与呼吸功能改善进程的启动相关。

神经生理学研究已经证实在不同的物种中存在支配膈运动神经元的多突触神经通路。Michael 等^[21]将假狂犬病毒示踪剂注入半侧膈肌,结果显示在颈髓节段有大量的膈神经前中继神经元(interneurons)分布于脊髓双侧背侧角和中央管附近,且一些来自 rVRG 的轴突末端与这些中继神经元的树突或胞体很靠近。C2HMx 后神经示踪表明这些中继神经元的数量和分布没有发生显著的改变,提示在 C2HMx 模型中膈运动神经元活性的恢复可能部分是由于这些脊髓中继神经元的作用,因此通过招募这些神经元或加强其在呼吸通路中的作用可能增强脊髓损伤后神经通路的适应性改变。Alilain 等^[22]继而在 C2HMx 模型中,通过在神经元(膈运动神经元、中继神经元、星形胶质细胞等)细胞膜上表达光敏阳离子通道 channelrhodopsin-2(ChR2),随后进行间歇性的光照刺激,引起细胞去极化,产生神经冲动,引起膈肌收缩。值得注意的是,由光照刺激引起的同侧膈肌活动模式与光线刺激的频率、强度等无关,却与对侧的膈肌收缩相对称。这项研究提示重复、有规律的光照刺激和脊髓细胞去极化可以使这些细胞参与呼吸通路的重塑,如增强失去上位神经元支配后的膈运动神经元对潜在通路(CPP 等)的反应。

脊髓损伤后呼吸神经通路可以进行上述包括轴突、神经元及潜在通路等多水平的重塑,这些重塑功能有些是脊髓固有的,有些则可以通过人为的干预促进其发生。认识到神经重塑在患者呼吸功能恢复过程中的基础地位,可能会使临床上的康复训练和其他

治疗手段发生改变,从而扭转颈髓损伤患者潜在的生命威胁。但是,目前对于上述神经适应性改变背后的分子机制还未完全阐明。另外,联合上述几种促进神经通路重塑的治疗策略或许能更好地恢复呼吸功能,提供更显著的临床应用价值。

参考文献

- Hoh DJ, Mercier LM, Hussey SP, *et al.* Respiration following spinal cord injury: evidence for human neuroplasticity [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2013, 189(2): 450-464
- Warren PM, Alilain WJ. The challenges of respiratory motor system recovery following cervical spinal cord injury [J]. *Prog Brain Res*, 2014, 212:173-220
- Goshgarian HG. The crossed phrenic phenomenon and recovery of function following spinal cord injury [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2009, 169(2): 85-93
- Sharma H, Alilain WJ, Sadhu A, *et al.* Treatments to restore respiratory function after spinal cord injury and their implications for regeneration, plasticity and adaptation [J]. *Exp Neurol*, 2012, 235(1): 18-25
- Mantilla CB, Greising SM, Stowe JM, *et al.* TrkB kinase activity is critical for recovery of respiratory function after cervical spinal cord hemisection [J]. *Exp Neurol*, 2014, 261:190-195
- Awad BI, Warren PM, Steinmetz MP, *et al.* The role of the crossed phrenic pathway after cervical contusion injury and a new model to evaluate therapeutic interventions [J]. *Exp Neurol*, 2013, 248:398-405
- Shanmuganathan K, Gullapalli RP, Zhuo J, *et al.* Diffusion tensor MR imaging in cervical spine trauma [J]. *Am J Neuroradiol*, 2008, 29(4): 655-659
- Hoy KC Jr., Alilain WJ. Acute theophylline exposure modulates breathing activity through a cervical contusion [J]. *Exp Neurol*, 2015, 271:72-76
- Singh LP, Devi TS, Nantwi KD. Theophylline regulates inflammatory and neurotrophic factor signals in functional recovery after C2-hemisection in adult rats [J]. *Exp Neurol*, 2012, 238(1): 79-88
- Sandhu MS, Baekey DM, Maling NG, *et al.* Midcervical neuronal discharge patterns during and following hypoxia [J]. *J Neurophysiol*, 2015, 113(7): 2091-2101
- Tester NJ, Fuller DD, Fromm JS, *et al.* Long-term facilitation of ventilation in humans with chronic spinal cord injury [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 189(1): 57-65
- Lee KZ, Sandhu MS, Dougherty BJ, *et al.* Hypoxia triggers short term potentiation of phrenic motoneuron discharge after chronic cervical spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2015, 263:314-324
- Vinit S, Keomani E, Deramautd TB, *et al.* Reorganization of respiratory descending pathways following cervical spinal partial section investigated by transcranial magnetic stimulation in the rat [J]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e0148180
- Gauthier P, Rega P, Lammari-Barreault N, *et al.* Functional reconnections established by central respiratory neurons regenerating axons

- into a nerve graft bridging the respiratory centers to the cervical spinal cord [J]. *J Neurosci Res*, 2002, 70(1): 65-8
- 15 Alilain WJ, Horn KP, Hu H, *et al.* Functional regeneration of respiratory pathways after spinal cord injury [J]. *Nature*, 2011, 475(7355): 196-200
 - 16 Lee H, Mckeeon RJ, Bellamkonda RV. Sustained delivery of thermally-stabilized chABC enhances axonal sprouting and functional recovery after spinal cord injury [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(8): 3340-3345
 - 17 Gauthier P, Baussart B, Stamegna JC, *et al.* Diaphragm recovery by laryngeal innervation after bilateral phrenicotomy or complete C2 spinal section in rats [J]. *Neurobiol Dis*, 2006, 24(1): 53-66
 - 18 周许辉. 高位颈髓损伤大鼠呼吸功能重建的研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2003
 - 19 温竣翔, 李昕, 李立钧, 等. 迷走神经移位膈神经重建膈肌功能的可行性 [J]. *脊柱外科杂志*, 2010, 8(1): 56-58
 - 20 Hsu SH, Lee KZ. Effects of serotonergic agents on respiratory recovery after cervical spinal injury [J]. *J Appl Physiol*, 2015, 119(10): 1075-1087
 - 21 Lane MA, White TE, Coutts MA, *et al.* Cervical prephrenic interneurons in the normal and lesioned spinal cord of the adult rat [J]. *J Comp Neurol*, 2008, 511(5): 692-709
 - 22 Alilain WJ, Li X, Horn KP, *et al.* Light-induced rescue of breathing after spinal cord injury [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(46): 11862-11870

(收稿日期:2016-04-06)

(修回日期:2016-04-08)

降 LDL-C 的药物策略及最新进展

陈盼盼 江 龙 唐 玲 王 伟 王绿娅

摘 要 动脉粥样硬化 (As) 是冠心病 (CVD) 发生、发展的必备条件, 影响 As 的危险因素主要有高血压、高血脂、高血糖、吸烟、肥胖、家族遗传等, 其中占总胆固醇含量 60%~70% 的 LDL-C 与心血管事件关系最为密切, 因此早期合理干预 LDL-C 对防治冠心病来说意义重大, 目前临床他汀应用最广, 但有关他汀不耐受的问题也正日益得到关注, 因此除他汀类药物之外, 有关非他汀药物及降 LDL-C 新型药物靶点的研究也取得了一定的成果。本文就他汀药物的获益及相关争议的最新研究进展, 非他汀药物的安全性问题, 几种新型降 LDL-C 的药物靶点以及其他降脂途径的研发状况等展开综述。

关键词 动脉粥样硬化 降 LDL-C 药物策略

中图分类号 R4 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.11.048

随着人们生活方式的改变, 血脂紊乱的人群正日益壮大, 由此导致的动脉粥样硬化性心脑血管疾病也越来越多, 因此加强血脂管理已刻不容缓, 经典的基因研究证实早期暴露在高浓度的 LDL-C 是造成早期动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 的元凶, 由此提出了一个“胆固醇暴露年”的概念, 因此在冠心病 (cardiovascular disease, CAD) 高危人群应及早采取降脂措施预防冠心病^[1]。

目前除大力推广的治疗性生活方式 (therapeutic lifestyle changes, TLC) 以外, 他汀在降脂方面的确切疗效早已深入人心, 然而他汀不耐受的问题也促使现

代医学不断寻找其他降脂药物, 因此, 有关他汀获益及相关争议的研究, 其他降脂药物能否降低血管事件的发生一直是现代医学的研究热点, 许多降 LDL-C 新型靶点的药物研发也正在紧锣密鼓地进行临床试验, 相信不久的将来随着相关临床试验结果的涌现, 将为广大高胆固醇血症和冠心病风险期的患者带来更全面有效的治疗策略。

一、他汀获益及其相关争议的研究概况

1. 他汀治疗所面临的局限: 他汀是胆固醇合成的限速酶—HMG-CoA 还原酶抑制剂, 通过抑制胆固醇的合成来减少内源性胆固醇的产生, 从而起到降低 LDL-C 的作用。有关他汀类药物的 27 个随机试验的荟萃分析结果显示每降低 1mmol/L 的 LDL-C, 冠状动脉事件风险率随之降低 24%^[2]。但临床发现接受降脂治疗的心血管高危患者往往存在 LDL-C 不达标的情况。据 2014 年中国心血管报告显示, 在 2011 年进行的一项研究调查了 12040 例血脂异常患者发现, 心血管分层高危和极高危患者 LDL-C 达标

基金项目: 北京市中医管理局重点学科建设项目; 湖南省 (南华大学) 研究生科研创新基金资助项目 (2016XCX52)

作者单位: 421001 衡阳, 南华大学 (陈盼盼); 100029 首都医科大学附属北京安贞医院、北京市心肺血管疾病研究所 (江龙、唐玲、王伟、王绿娅)

通讯作者: 王绿娅, 研究员, 博士生导师, 电子信箱: wanglvya@163.com