维普资讯 http://www.cqvip.com

Chin J Regional Anat & Operative Surg, 1998, Vol. 7, No. 4

·论　著·

胎儿神经加自体雪旺氏细胞桥接周围神经缺损的实验研究*

易西南** 曾志诚** 王炎之** 张建一** 伍校琼**

【摘　要】 目的　探讨自体雪旺氏细胞植入胎儿神经后修复周围神经缺损的效果、寻找替代自体神经移植的材料。方法　用 Wistar 大鼠 80 只切断左侧大腿坐骨神经，造成 15mm 缺损，分别用自体神经(A 组)，液氮冷冻胎儿神经(B 组)，液氮冷冻胎儿神经加自体雪旺氏细胞粗制品(C 组)进行桥接。于术后 4、12、24 周取桥体、桥体远端坐骨神经，分别行电镜、光镜观察、图像分析和电生理检测，所得数据经单因素方差分析和 q 检验。结果　A 组和 C 组间有髓纤维数目、无髓纤维数目、复合动作电位峰值恢复率、传导速度恢复率均无显著差异，两组神经再生效果相近，而 B 组的再生效果则不及 A、C 两组；B 组与 A 组，B 组与 C 组分别作两两比较，部分指标存在显著差异($P<0.01$)。结论　作者认为植入自体雪旺氏细胞的胎儿神经桥接周围神经缺损优于单纯胎儿神经桥接，是一种良好的替代自体神经的桥接物，有进一步研究价值和临床应用前景。

【关键词】 胎儿神经　雪旺氏细胞　周围神经移植

Experimental study on the fetal nerve and recipient's schwann cells to bridge the gap of peripheral nerve

Yi Xinan, Zeng Zhicheng, Wang Yanzhi, Zhang Jianyi, Wu Xiaoqiong. Dept. of Anatomy Hunan Medical University, Hunan 410078

【**Abstract**】 **Object**　To investigate the effects on the fetal nevrve and recipient's schwann cells (SC) to bridge the gap of peripheral nerve and to find a fine bridge matter that maybe replace the autonerve. **Methods**　Eighty Wistar rats of which 15mm segment of the left sciatic nerve was removed were used in this study and autonerve (group A), frozen human fetal nerve (group B) and human fetal nerve with the recipient's SC (group C) were used to bridge the gap. After 4 weeks, 12 weeks and 24 weeks respectively, the bridge with the distal sciatic nerve were harvested and examined by Light microscopy, electromicroscopy and evaluated through morphometric analyses (including axoncounts, diameter), electrophysiologic studies (including conduction velocity and peak amplitude). The treament of data was statistically separate with the one－way ANOVA and q test. **Results**　There is no significant differences between group A and C ($P>0.05$). But between group A and C or B and C, there is a statistically significant difference ($P<0.01$). The result demonstrated the effects of regeneration of groups A and C are similar, but group B is worse than both groups A and C. **Conclusion**　The result suggests the fetal nerve graft with the recipient's SC are better than the pure fetal nerve grafts and it is a fine matter that maybe replace autonerve and should be further studied and applicated clinically.

【**Key words**】 Fetal Nerve　Schwann Cell　Peripheral Nerve　Transplantation

周围神经缺损的修复是外科领域尚待解决的疑难问题之一，传统的自体神经移植方法效果虽然最好，但因材料来源的限制而制约了它的应用范围。许多学者探索用非神经生物材料

* 湖南省卫生厅资助课题

** 作者单位：410078　长沙市湖南医科大学解剖学教研室

维普资讯 http://www.cqvip.com

来桥接神经缺损虽然取得了一些进展但不能解决长度在20mm以上的缺损问题[1-3]，临床应用还有困难。蔡锦芳等人近年来报告用胎儿神经修复周围神经缺损取得了一定的成效，但比自体神经移植差距仍大[4]。在研究周围神经再生机制中，神经再生的微环境已被很多学者所重视，多数人认为雪旺氏细胞(Schwann cell SC)及其基底膜(Basemenl Membrane BM)是有关神经再生的关键因素[5]，其中SC主要是通过分泌20余处多肽类因子对轴突再生起诱导、促进、调控作用。但是来自异体的SC又是神经移植排斥反应的主要过敏原。本实验用自体的SC粗制品植入到经液氮冷冻处理的胎儿神经干内修复大鼠坐骨神经缺损，以期获得比用单纯胎儿神经移植更为理想的效果。

材料与方法

一、实验动物及分组：取Wistar大白鼠80只(本校实验动物学部提供)，均为雄性，重140－180g，随机分成一组；A组：自体神经移植组(n＝24)；B组：单纯液氮冷冻胎儿神经移植组(n＝24)；C组：液氮冷冻胎儿神经加自体SC粗制品组(n＝32)。各组动物均取左后肢实验，右后肢用于电生理检测时作对照。

二、人胎儿神经的获取及冷冻处理：取4月胎龄，发育正常，水囊引产胎儿一个于引产后1小时内行全身消毒，在无菌操作下取其坐骨神经、正中神经、尺神经和桡神经，取后30分钟内入液氮冷冻备用；应用时逐步复温解冻。

三、自体雪旺氏细胞粗制品的制备：预切断实验侧(左侧)坐骨神经，任其旷置，5天后剪下断端远侧段神经3mm，在手术显微镜下剥离外膜及大部分束膜，充分剪碎而获得雪旺氏细胞粗制品[7-8](rSC)。

四、手术方法：2%戊巴比妥钠0.2ml/100g腹腔注射麻醉，俯卧固定后在无菌操作下于左大腿后侧作纵切口暴露坐骨神经，钝性分离，上端至梨状肌下孔5mm，下端至分叉处。用双面刀片切断并造成15mm缺损(C组则在第一次手术的基础上修整神经远段，使之缺损为15mm)；A组用切下的神经段掉头以后，在手术显微镜下用9－0无损伤缝线行端——端间断外翻缝合神经外膜3针。B组取粗细相当经液氮冷冻的胎儿神经桥接；缝合方法同A组。C组取粗细相当的胎儿神经，抽出4—5条纤维后缝合，再在桥体上纵行剪开神经外膜、埋入SC粗制品，最后缝合神经外膜。分别于术后4、12、24周取材。

结　果

一、大体观察：A组术后四天伤口愈合，下肢无溃疡和脱爪现象发生。术后八周术侧膝关节可活动；十二周左右，术侧下肢可伸到头部搔痒。C组术后四天伤口愈合，术后两周下肢出现轻度溃疡，三周有1—2个趾脱落，十周时膝关节可轻微活动，十二周左右见新趾长出。十五周时，下肢可伸向头部搔痒。B组术后四天伤口愈合，术后两周下肢发生重度溃疡，3只动物小腿从膝关节处脱落，大部分动物足趾全部脱落。有3只动物在术后十二周长出有1个新趾，未见搔痒动作。

取材时见：A组动物的桥体张力良好，两吻合口处无明显狭窄、肿胀，再生神经可见横纹。C组桥体粗大，偶见横纹，但张力稍差，个别动物可见吻合口处增粗，粘连较多。B组动物多数远侧吻合口较狭窄。桥体粘连较多，未见横纹，三只动物侧吻合口以远神经溃变消失。

二、组织学观察及图象分析：术后4、12周A、B两组各取6只，C组取7只动物之桥体及远端坐骨神经(吻合口以远5mm)，作半薄切片(1μ)，1%甲苯胺兰染色，用MIAS－300型自动图象分析仪计数有髓纤维数目、直径和髓鞘厚度。所得资料采用单因素方差分析，如有统计差异，再行q检查。结果：1.A、C两组术后一个月桥体及远侧端坐骨神经横切面均有粗大的再生纤维，但神经束的形成不明显。术后三个月再生纤维数目稍增多，且更为粗大并形成神经束，束间间隙增宽。B组再生纤维数目较少。术后

维普资讯 http://www.cqvip.com

24 周，见 A、C 两组均有成熟的再生纤维通过远、近两吻合口，B 组通过远侧吻合口的纤维数目较少。2. 术后 12 周桥体再生有髓纤维数目比较（表 1）：显示在桥体三组间无显著差异（P＞0.05），在远端坐骨神经 A 组与 C 组间无显著差异，而 B 组不及 A、C 两组（q 检验，p＜0.01），说明 B 组再生纤维生长较慢。

表 1 术后 12 周桥体、远端坐骨神经再生有髓纤维数目统计分析表

组别	桥 体（个）	远端坐骨神经（个）
	$\bar{x}\pm SD$	$\bar{x}\pm SD$
A	9120+223	8536+579
B	7800+545	6240+1354
C	8410+386	7390+1179
F	1.08	6.26
P	＞0.05	＜0.01

3. 术后 17 周三组间远端坐骨神经有髓纤维直径分别为 A 组 4.73±0.41μ，B 组 4.23±0.38μ，C 组 4.23±0.43μ，统计分析显示 P＞0.05，三组间无显著差异。

三、电镜观察及电镜照片图像分析：利用 H－600 型透射电子显微镜，放大 4000－8000 倍观察并摄片，每组至少取 5 个样本，每个样本随机摄片 5 张，所摄照片再经图象分析仪分析。图 1－6 示术后 4 周三组桥体再生纤维生长均较良好，可见较多增生的雪旺氏细胞，发育良好的有髓纤维及较多的无髓纤维，成纤维细胞数量极少。A、C 两组远端坐骨神经亦有较多的、发良良好的有髓纤维，而 B 组远端坐骨神经有髓、无髓纤维数量均较少，髓鞘较薄，神经内膜有轻度水肿，远端尤甚。

统计结果显示，术后 4 周，三组远端坐骨神经无髓纤维数量和直径比较 A、C 两组远端坐骨神经无髓纤维数量和直径均无显著性差异，而 B 组则不及 A、C 两组（q 检验，p＜0.01）。

四、电生理检测：术后于 24 周动物经戊巴比妥钠轻度麻醉暴露双侧坐骨神经。应用 PST－2 型电子刺激器、SBR－1 型示波器、FZG－I 型前置放大器，数据和图像经生物信号处理系统处理；获取复合动作电位峰值，潜伏期时间和两电级间距等数据。将间距除以潜伏期而得传导速度（CV）；将实验侧复合动作电位峰（PAP）比对侧（正常）而得复合动作电位峰值恢复率。将实验侧传导速度（CV）比对侧而得传导速度恢复率。表 2 示三组复合动作电位峰值恢复率和传导速度恢复率行方差分析及 q 检验，A 组恢复最好，C 组比较 A 组无明显差异（P＞0.05），B 组恢复均不及 A、C 两组 q 检验 P＜0.01。

表 2 复合动作电位峰值恢复率及传递速度恢复率分析表

组别	PAP(mv)		PAP 恢复率	CV(mm/ms)		CV 恢复率
	L	R($\bar{x}$)	$\bar{x}\pm SD$	L	R($\bar{x}$)	$\bar{x}\pm SD$
A	2.38	4.41	0.5772±0.0830	9.72	12.34	0.6353±0.0981
B	1.48	4.03	0.3344±0.1375	6.24	17.96	0.3923±0.1232
C	1.92	4.01	0.5120±0.1205	8.73	14.38	0.5257±0.1201
F			6.3646			8.333
P			＜0.01			＜0.01

讨 论

一、胎儿神经对神经再生的作用

神经移植不同于一般器官移植，移植体所起的作用不是功能上的替代而主要是引导再生纤维生长和为纤维再生提供必要的微环境。用自体神经移植修复大鼠坐骨神经缺损，再生纤维生长距离在 40mm 以上；用自体静脉、假性

维普资讯 http://www.cqvip.com

滑膜管、硅胶管、人工合成可吸收管等材料作修复时，生长距离仅在10－15mm。除自体神经外，目前尚未发现较为理想的桥接材料。主要原因在于其它材料虽能为神经再生提供一架"桥梁"，但不能提供神经再生所必须的合适的微环境。而神经再生的微环境因素主要有两个即SC及BM。很多人采用变性骨骼肌、自体静脉、自体动脉甚至人羊膜基底膜、筋膜作为桥接材料，其主要出发点就是利用这些材料当中含有的基底膜对神经再生起诱导和促进作用。其效果比非生物材料如硅胶管要好。但远远不及自体神经移植。有人再将雪旺氏细胞植人非神经移植体修复周围神经缺损[7-8]，证明再生纤维生长良好，组织学和电生理结果优于不植人雪旺氏细胞组，进一步佐证了基底膜和雪旺氏细胞在神经再生中起了重要的作用。异体神经移植可以提供自体神经所能提供的较理想的微环境条件，但因其所致的排异反应无法解决而限制了它的应用。5个月胎龄以下的胎儿神经因导致排异反应的因素少，但又具有与自体、异体神经相似的微环境条件，所以，促神经再生的效果应当优于其它生物材料。蔡锦芳等应用胎儿神经修复神经缺损，收到了一定的临床效果。我们的实验结果也显示，经液氮冷冻的胎儿神经组桥接效果在某些组织学指标也接近于自体神经移植组，但缺损超过20mm用胎儿神经桥接能否成功，尚有待进一步探索。

二、植人的雪旺氏细胞对神经再生的作用

神经损伤后，损伤处远段神经SC不但分裂增殖成索带(Bungner band)，对再生突轴起诱导作用，而且还为再生轴突提供必要的附着面，诱导生长锥的迁移方向。此外，SC还分泌神经生长因子(NGF)、神经元营养因子(NTFs)，促神经轴突生长因子(NPFs)、基膜素(Laminin)和纤维连接素(Fibronectin)等20余种多肽类活性物质，起诱导、刺激和调控轴突再生和髓鞘形成的作用。Benfey和Aguayo甚至认为中枢神经之所以不表现再生能力，主要是因为缺乏SC。正因如此，对于短距离的缺损，有人用硅胶管等非生物材料桥接获得成功，但长距离缺损不行，其主要原因是损伤远端增生的SC对近端的生长锥起了诱导和调控作用。有人认为SC这种诱导作用是由于SC合成并释放的许多活性物质所引起的，这些活性物质在桥体中的浓度由远(端)及近(端)存在渐减的浓度梯度，所以诱导促进神经再生的作用随着缺损的增长而递减，雪旺氏细胞这种诱导和调控作用到底在什么范围内有效，目前没有肯定的结论，但至少有一点可以肯定，它距生长锥距离越近，作用越强。将SC植人到各种移植体内，主要的目的也就是缩短它与生长锥的距离，增加活性物质的浓度，加强其促神经再生的作用。本实验显示植人自体SC组在组织学、电生理等方面几个指标均优于不植入组也证实了这一点。



图1 A组桥体EM横切片4000×



图2 A组远端横切片4000×

维普资讯 http://www.cqvip.com



图 3 B 组桥体 EM 横切片 4000×



图 4 B 组远端横切片 4000×

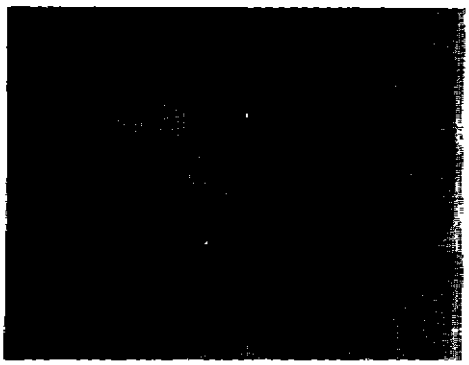


图 5 C 组桥体 EM 横切片 4000×



图 6 C 组远端横切片 4000×

参 考 文 献

1. 陈有刚，朱家恺. 人羊膜基底膜桥接神经缺损实验研究. 中华显微外科杂志，1990，13：20.
2. 曾志诚. 大鼠异体神经移植后再生神经的荧光逆行标记. 解剖学杂志，1994，17(6)：547—59.
3. 王炎之，张建一，曾志诚等. 带血管蒂筋膜(管)桥接周围神经缺损的实验研究. 中国临床解剖学杂志，1991，9：226.
4. 蔡锦芳，曾学诚. 应用胎儿神经修复周围神经缺损. 中国修复重建外科杂志，1992，9：226.
5. Mc Garvey ML. Synthesis and effects of basement membrane components in cultured rat schwann cells. Dev Biol，1984，105：18.
6. 顾立强，朱家恺. 血管植入变性骨骼肌修复不同长度神经缺损的实验研究. 中华显微外科杂志，1990，13：85.
7. 席保平，刘小林，程钢. 雪旺氏细胞植入非神经移植体修复周围神经缺损实验研究. 中华显微外科杂志，1991，14：90.
8. 张爱华，朱家恺. 雪旺氏细胞引入桥接神经缺损肌移植体的方法学研究. 中华显微外科杂志，1992，15：40.
9. 王国英，平井圭一，钟世镇. 雪旺氏细胞基底膜成分—Lamminin 在神经再生中的作用探讨. 中国临床解剖学杂志，1992，10：200.

(收稿：1998—06—02)