维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2006)06-0917-04

周围神经损伤修复研究进展

陈 渝 综述,王大勇,黄朝亮 审校

(重庆医科大学附属第二医院骨科,重庆 400010)

【中国图书分类法分类号】R68 【文献标识码】A 【收稿日期】2006-08-30

周围神经损伤是当前面临的最棘手也富有挑战性的难题之一。其致病因素广泛,可由外伤直接引起、或是因周围神经肿瘤而人为切除部分神经组织引起、或是运动伤等原因引起。而且,周围神经损伤会导致感觉及运动功能丧失,往往致残。这就迫切要求技术及理论的突破,以期找到一种能够经济有效地修复外周神经缺损的方法。外科治疗周围神经损伤已经有超过 150 年的历史。治疗方法也由最初的断端直接缝合逐渐发展到自体神经移植再到现代的自体神经替代物移植和生物治疗。

目前周围神经损伤后修复治疗主要是针对神经修复过程中的各个环节进行,包括细胞治疗、生物分子治疗及导管治疗等。本文主要对上述三种治疗方法进行综述,为进一步研究奠定基础。

1 细胞治疗

细胞是细胞外基质、神经营养因子和细胞粘附分子的有效供体。胶质细胞(即雪旺细胞、星形胶质细胞和少突胶质细胞)和巨噬细胞通过清除细胞碎片和分泌神经营养因子促进轴突再生。嗅球包盖细胞(OEC)和干细胞移植也可促进神经修复。目前细胞治疗还停留在动物实验阶段,但一直以来都是研究的重点领域。

1.1 雪旺细胞

雪旺细胞存在于周围神经系统,可分泌 20 多种蛋白质,包括数种神经营养因子如 NGF、BD-NF、CNTF、成纤维细胞生长因子等,同时还产生 ECM 和细胞黏附因子,对促进周围神经的生长发育、再生和修复起到重要作用[1]。有研究表明,新生大鼠的 Schwann 细胞不仅能够显著支持大鼠胚胎神经干细胞的生长并诱导其分化。而且其分泌物能够显著支持人类神经干细胞生长并诱导大多数干细胞分化成神经元。且大体形态上同发育成熟的神经细胞基本相似。如果失去了 Schwann 细胞分泌物的支持,神经干细胞将逐渐死亡。Schwann 细胞本身对干细胞的生长和分化具有接触抑制作用,其分泌物对干细胞的分化起到"起始信号"的作用。施旺细胞在引导神经轴突轴突再生中也发挥重要作用。Hadlock[2]等发现单层雪旺细胞覆盖移植物对大鼠的损伤坐骨神经功能恢复较无细胞移植物更好。Xu 等发现在大鼠雪旺细胞与基质胶联合移植对神经轴突再生的促进作用强于单独使用基质胶。Guest 等[3]发现人雪旺细胞移植物在脊髓损伤的裸鼠中可形成脊束 - 移植物界面,使得少量神经元神经可以再生穿过移植物进入脊髓。雪旺细胞移植治疗目前还面临许多困难,最引人注意的则是再生神经轴突可以生长进入雪旺细胞移植物,但却不能继续向外生长;同时雪旺细胞可加速硫酸软骨素蛋白多糖的生成,后者与瘢痕形成有关。这些都是以后研究的重点。

1.2 巨噬细胞

巨噬细胞通过清除髓磷脂碎片在外周神经的修复中发挥重要作用。巨噬细胞移植进入受损外周神经,可显著降低髓磷脂相关的糖蛋白生成,增加血管再生、施旺细胞浸润和轴突再生[4]。但对于巨噬细胞在神经再生中的作用还存在争论。有资料显示巨噬细胞对外周神经再生有促进作用,有的研究则认为巨噬细胞可抑制神经的修复。Popovich 等发现全身性去除巨噬细胞可促进神经再生,因而认为巨噬细胞与神经损伤后炎症有关[5]。因此下一步的研究重点则是进一步明确巨噬细胞在神经再生各个阶段的具体作用。

1.3 嗅球包盖细胞

嗅球包盖细胞是一种非常有发展前景的细胞移植物。OEC 与施旺细胞和星形胶质细胞有相同的细胞表型,但只存在于嗅觉系统。OEC 可促进鼻上皮细胞中的神经轴突生长。OEC 延神经轴突移行,分泌神经营养因子和细胞黏附分子,促进轴突的生长[6]。此外,OEC 分泌轴突生长的允许物质,有效促进轴突生长穿过胶质疤痕[7]。研究发现大鼠嗅球的 OEC 移植可促进脊髓背根横断伤的轴突再生。研究发现嗅球 OEC 通过促进经胶质疤痕的生长和长距离的轴突生长而增强施旺细胞的促再生作用。在一项长期研究中发现,嗅球 OEC 注射进入脊髓横断伤大鼠,7 个月后大鼠神经轴突显著延长,感觉、运动功能得到恢复。Feron 等[8]人进行了人嗅球包盖细胞移植的 I 期临床实验,移植后一年患者神经功能显著改善,且未发现疤痕增生、神经痛等不良反应。但仍需继续观察以了解该治疗的长期作用。

前瞻性研究发现人嗅球 OEC 与大鼠嗅球 OEC 有相似

作者介绍:陈 渝(1977-),男,硕士,住院医师,
主要研究方向:骨关节疾病和脊柱创伤。

维普资讯 http://www.cqvip.com

的作用[9]。但由于获取人嗅球 OEC 对人体具有损伤，并会影响嗅觉，因此嗅球 OEC 不适合进行自体移植。寻找 OEC 的替代物已经成为该领域的研究热点。目前已经发现自鼻上皮细胞的外周 OEC 能使横断伤脊髓功能部分恢复。

OEC 比施旺细胞具有更多的优点：OEC 能与星形胶质细胞共存，并可能抑制损伤引起的星形胶质细胞反应，包括蛋白多糖合成增加。不过 Takami 等人研究发在脊髓挫伤大鼠中，单独的施旺细胞移植疗效较 OEC 移植或 OEC- 施旺细胞联合移植的疗效更好[10]。因此对于 OEC 在神经修复过程的作用也有待进一步的研究。

2 生物分子治疗

神经营养因子家族也一直是神经修复研究的焦点之一，人们在分子间相互作用到形态学水平上研究了神经营养因子对神经的发育、生存、生长、出芽和分支的影响。1983 年 Varon 等人首次发现临床应用神经营养因子可促进神经损伤后修复。神经营养因子家族主要包括神经生长因子(nerve growth factor，NGF)、神经营养因子 3(neurotrophin-3，NT-3)、神经营养因子 4/5(neurotrophin-4/5，NT-4/5)、睫状节神经营养因子(ciliary neurotrophic factor，CNTF)、酸性成纤维细胞生长因子(acidic fibrohlast growth factor，aFGF)和碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor，bFGF)等。

2.1 神经生长因子

NGF 对于神经系统的发育和再生具有重要作用。NGF 促进感觉神经元的存活、出芽和分支，对运动神经元则无此作用[11]。正常外周神经中 NGF 表达水平较低，在受损神经的远侧端表达增加[12]。但应用 NGF 也存在副作用：未受损的正常神经轴突的出芽，这种出芽可导致慢性疼痛和异常神经反射等不良症状。

2.2 神经营养因子 3 (NT-3) 及神经营养因子 4/5 (NT-4/5)

神经营养因子 -3 可促进运动神经元存活和出芽，对感觉神经轴突生长也有促进作用[13]。体内实验发现 NT-3 对外周神经再生有协助作用。神经营养因子 4/5 能促进运动神经元和感觉神经元的存活，同时，神经营养因子 4/5 可促进运动神经元轴突生长，并与受损神经修复相关[14]。目前，NT-3 的应用已经进入临床实验阶段，Sahenk 等[15]人使用 NT-3 进行的临床实验发现 NT-3 能显著增加损伤部位的有髓神经纤维的数目，神经电生理参数和神经损伤评分均较对照组有显著改善。

2.3 其他

睫状节神经营养因子能促进运动神经元的存活、生长和出芽。Oyesiku 等人在脊髓损伤处发现睫状节神经营养因子的 mRNA 水平升高[16]。损伤后使用外源性 CNTF 可提高周围神经的恢复水平。缺点在于睫状节神经营养因子与胶质瘢痕形成有关。酸性成纤维细胞生长因子和碱性成纤维细胞生长因子与外周神经损伤后修复相关。成纤维细胞生长因子具有强烈的促血管生长作用，能够直接或间接促进神经损伤后修复[17]。

尽管神经营养因子能促进外周神经和神经元的再生修复，但给药途径不同其疗效也不同。因此下一步的研究重点是安全、有效的给药方法，如基因治疗、干细胞移植等。

3 神经导管桥接修复

神经导管具有特定的三维结构支架，可接纳再生轴突长入，对轴突起机械引导作用。在外周神经修复中采用导管时，通过导管可以形成纤维桥。纤维桥中包含巨噬细胞等吞噬细胞，雪旺细胞和毛细血管亦可延纤维桥生长，连接神经断端。目前研究的重点主要集中于导管的材料选择、表面形态修饰及与细胞外基质和神经营养因子的联合应用。

3.1 自体移植物

包括自体神经、神经髓鞘、跟腱、肌肉静脉联合移植物、外翻静脉、种植施旺细胞静脉等。20 世纪 60 年代，Mellesi 进行了首例自体神经移植手术，开创了神经移植的新阶段。目前自体神经移植已成为外周神经修复的金标准，临床上自体神经移植的恢复率接近 80%。神经通常来源于皮神经，如腓神经和隐神经。其长度可达 40cm，轴索直径 2~3cm。除了自体神经移植，其他自体组织如肌肉、静脉等在临床也有应用。1891 年 Bungner 首先利用动脉作为移植物促进神经修复。之后临床中血管移植主要用于较小的神经缺失的修复，而骨骼肌移植在临床上则很少使用。自体组织移植较之人造物具有更好的组织相容性，毒性更低，能为细胞的粘附和移行提供支撑。其不足在于会导致供体部位的功能缺失、需要进行多重手术、自体组织分离困难等[18]，限制了其在临床的应用。目前该领域的研究热点主要集中于血管或肌肉与雪旺细胞的联合移植，以提高神经的修复能力。

3.2 天然材料

由于受到自体材料使用的限制，非自体天然材料的研究也越来越多。小肠粘膜下组织就是其中之一。小肠粘膜下组织包含胶原、纤维连接蛋白、生长因子、葡萄糖胺聚糖、蛋白聚糖和糖蛋白，无细胞成分。Hadlock 等在大鼠中小肠粘膜下组织与雪旺细胞联合用于神经移植取得了与自体神经移植相似的疗效[19]。来源于人胎盘的羊膜组织在神经修复中也有所应用。羊膜是天然的、具有生物降解性的材料，并且其免疫原性低，能够促进新血管的生成。Mohammad 等将羊膜的上皮细胞层除去，保留其基质层和细胞间质，用该材料制成的神经导管在大鼠实验中取得了与自体神经移植相似的疗效[20]。细胞外基质蛋白中的层粘连蛋白、纤维连接蛋白和胶原在神经修复中也有广泛应用[21]。层粘连蛋白、纤维连接蛋白和胶原填充的硅管对大鼠坐骨神经缺失的修复作用显著优于空硅管[22]。纤维连接蛋白应用于大鼠坐骨神经缺失修复，其疗效近似于自体神经移植。研究证实使用胶原纤可维

维普资讯 http://www.cqvip.com

修复大鼠 20~30mm 的神经缺失。但这些材料在缺血后存在管型塌陷、再生不良、吸收疤痕组织、增生及粘连等问题。此外,天然材料的使用还受到可能导致传染病及机体免疫排斥的限制。如何有效清除材料中的免疫细胞,同时又使得细胞外基质成分得以有效保存是目前研究急需解决的问题,也是目前该领域的研究重点所在。

3.3 生物工程材料

生物工程材料包括人工材料和经人工改造后的天然材料。人工材料用于神经修复的优点在于可对材料的化学和物理特性进行优化。1982 年,Molander 等人首先合成了羟乙酸乳酸聚酯,其易于制备、在体内易降解。1999 年此类材料被美国食品药品监督管理局(FDA)批准使用,2000 年在 96 个病人中进行了实验,结果显示其疗效优于神经断端直接吻合。其他的生物可降解材料如聚羧基乙酸内酯、聚氨基甲酸乙酯、异丁烯酸水凝胶也都有促神经再生的作用[23]。导管在后期可对神经再生产生限制,因此人们在组织工程学基础上开始对生物相容性及可吸收性材料进行了大量研究。人工材料与机体免疫系统的相容性及对机体细胞的粘附性低等限制了人工材料在临床的应用。到目前为止,还没有那种生物工程材料优于自体移植物。如何研发能够刺激神经再生的由人工材料与生物分子组成的新型复合材料成为该领域的研究重点。

在新材料被不断发现的同时,导管加工技术已经成为新的热点,包括:磁性聚合纤维排列、注射成型等。应用这些技术将材料加工成为包涵多个小室的导管,以模拟神经纤维的形状。

迄今为止自体神经移植仍然是临床中外周神经缺失修复的黄金标准,其他移植物均处于实验室阶段,尚无临床实验阶段的报道。

4 展 望

导管治疗、生物分子治疗和细胞治疗给周围神经修复带来了希望。目前仍然面临着生物材料的改进、生物分子如何有效到达靶位及移植细胞的免疫相容性等问题。细胞治疗、生物分子治疗和神经导管桥接治疗三者相结合已经成为外周神经修复的新的方向。Miller 等人应用表面包被层粘连蛋白和雪旺细胞的聚合乳酸制成的神经导管促进神经再生较对照组高 98%[24]。其他也有实验证实三者联合使用对于促进神经再生具有协同作用[25]。随着对周围神经再生基础理论的深入研究和材料科学及生物工程技术的进一步结合与发展,可以预见,最终人们能够实现外周神经功能与解剖结构的完全恢复。

(作者现工作单位:重庆市第九人民医院骨科)

参 考 文 献

[1] Evans GR, Brandt K, Katz S, et al.Bioactive poly(L-lactic acid) conduits seeded with Schwann cells for peripheral nerve regeneration[J]. Biomaterials, 2002; 23: 841-848.

[2] Hadlock TA, Sundback CA, Hunter DA, et al.A new artificial nerve graft containing rolled Schwann cell monolayers[J].Microsurgery, 2001; 21: 96-101.

[3] Guest JD, Rao A, Olson L, et al. The ahility of human Schwann cell grafts to promote regeneration in the transected nude rat spinal cord [J]. Exp.Neurol, 1997; 148:502-522.

[4] Franzen R, Schoenen J, Leprince P, et al.Effects of macrophage transplantation in the injured adult rat spinal cord: a combined immunocytochemical and biochemical study[J]. J.Neurosci. Res, 1998; 51:316-327.

[5] Popovich PG, Guan Z, Wei P, et alDepletion of hematogenous macrophages promotes partial hindlimb recovery and neuroanatomical repair after experimental spinal cord injury [J].Exp.Neurol, 1999; 158: 351-365.

[6] Ramon-Cueto A, Plant GW, Avila J, et al.Long-distance axonal regeneration in the transected adult rat spinal cord is promoted by olfactory ensheathing glia transplants[J]. J.Neurosci, 1998; 18:3803-3815.

[7] Li Y, Field PM, Raisman G.Regeneration of adult rat corticospinal axons induced by transplanted olfactory ensheathing cells [J]. J.Neurosci, 1998; 18:10514-10524.

[8] Feron F, Perry C, Cochrane J, et al.Autologous olfactory ensheathing cell transplantation in human spinal cord injury [J].Brain, 2005; 128 (Pt 12): 2951-2960.

[9] Susan C, Barnett SC, Alexander CL, et al.Identification of a human olfactory ensheathing cell that can effect transplant-mediated remyelination of demyelinated CNS axons[J]. Brain, 2000; 123:1581-1588.

[10] Takami T, Oudega M, Bates ML, et al. Schwann cell but not olfactory ensheathing glia transplants improve hindlimb locomotor performance in the moderately contused adult rat thoracic spinal cord[J].J.Neurosci, 2002; 22:6670-6681.

[11] Matheson CR, Carnahan J, Urich JL, et al.Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF)is a neurotrophic factor for sensory neurons: comparison with the effects of the neurotrophins[J]. J. Neurobiol, 1997; 32: 22-32.

[12] Heumann R, Lindholm D, Bandtlow C, et al.Differential regulation of mRNA encoding nerve growth factor and its receptor in rat sciatic nerve during development, degeneration, and regeneration: role of macrophages [J]. Proc.Natl.Acad. Sci.USA, 1987; 84:8735-8739.

[13] Henderson CE, Camu W, Mettling C, et al.Neurotrophins promote motor neuron survival and are present in embryonic limb bud [J]. Nature, 1993; 363:266-270.

[14] Yin Q, Kemp GJ, Yu LG, et al. Neurotrophin-4 delivered by fibrin glue promotes peripheral nerve regeneration [J].Muscle Nerve, 2001; 24: 345-351.

[15] Sahenk Z, Nagaraja HN, McCracken BS, et al.NT-3 promotes nerve regeneration and sensory improvement in CMT1A mouse models and in patients[J]. Neurology, 2005; 65(5): 681-689.

[16] Oyesiku NM, Wilcox JN, Wigston DJ. Changes in expression of ciliary neurotrophic factor (CNTF)and CNTF-receptor alpha after spinal cord injury[J]. J. Neurobiol, 1997; 32:251-61.

维普资讯 http://www.cqvip.com

[17] Friesel RE, Maciag T.Molecular mechanisms of angiogenesis: fibroblast growth factor signal transduction[J]. FASEB J, 1995; 9:919-25.

[18] Schmidt CE, Leach JB. NEURAL TISSUE ENGINEERING: Strategies for Repair and Regeneration [J].Annu Rev Biomed Eng, 2003; 5: 293-347.

[19] Hadlock TA, Sundback CA, Hunter DA, et al. A new artificial nerve graft containing rolled Schwann cell monolayers[J].Microsurgery, 2001; 21: 96-101.

[20] Mohammad J, Shenaq J, Rabinovsky E, et al. Modulation of peripheral nerve regeneration: a tissue-engineering approach. The role of amnion tube nerve conduit across a 1-centimeter nerve gap [J].Plast.Reconstr. Surg, 2000; 105:660-666.

[21] Yoshii S, Oka M, Shima M, et al. 30 mm regeneration of rat sciatic nerve along collagen filaments[J]. Brain Res, 2002; 949:202-208.

[22] Chen YS, Hsieh CL, Tsai CC, et al.Peripheral nerve regeneration using silicone rubber chambers filled with collagen, laminin and fibronectin[J]. Biomaterials, 2000; 21:1541-1547.

[23] Lesny P, De Croos J, Pradny M, et al. Polymer hydrogels usable for nervous tissue repair[J]. J. Chem. Neuroanat, 2002; 23: 243-247.

[24] MillerC, JeftinijaS, MallapragadaS.MicropatternedSchwanncell-seeded biodegradable polymer substrates significantly enhance neurite alignment and outgrowth[J]. Tissue Eng, 2001; 7:705-715.

[25] Miller C, Jeftinija S, Mallapragada S. Synergistic effects of physical and chemical guidance cues on neurite alignment and outgrowth on biodegradable polymer suhstrates[J]. Tissue Eng, 2002; 8: 367-378.

(上接第 864 页)

型技术[13],但造价高。

参 考 文 献

[1] Taylor CL.The free vescularized bone graft [J].Plast Resconstr Surg, 1975; 55:533.

[2] Hidalgo DA. Fibula free flap: A new method of mandible reconstruction [J].Plast Reconstr Surg, 1989; 84: 71.

[3] 张志愿,竺涵光,郑家伟,等.腓骨游离组织瓣在口腔颌面外科的应用[J].口腔颌面外科杂志, 1999; 9: 42-49.

[4] 周训银,文家福,陈希哲,等.带血管蒂游离腓骨瓣移植一期修复下颌骨缺损[J].实用口腔医学杂志, 1995; 11: 6-8.

[5] 竺涵光,张陈平,孙 坚,等.腓骨肌皮瓣重建下颌骨的方法和经验[J].口腔颌面外科杂志, 2003; 13(2): 158-161.

[6] 毛 驰,俞光岩,彭 歆,等.腓骨复合瓣游离移植修复下颌骨缺损[J].中国修复重建外科杂志, 2002; 16(2): 114-116.

[7] Lee J H, Kim MJ, Kin JW. Mandibular reconstruction with free vascularized fibular flap [J].Craniomaxillofac Surg , 1995; 23: 20.

[8] Munoz Guerra MF, Gias LN, Rodriguez Campo FL, et al. Vascularized free fibular flap for mandibular reconstruction: a report of 26 cases[J]. Oral Maxillofac Surg, 2001; 59(2): 140.

[9] Lee J H, Kim MJ, Kin JW. Mandibular reconstruction with free vascularized fibular flap [J].Craniomaxillofac Surg, 1995; 23: 20.

[10] Hidalgo DA, Rekow A.A review of 60 consecutive fibula free flap mandible reconstructions[J].Plast Recomstr Surg, 1995; 96:585.

[11] 李宁毅,贾暮云,袁荣涛,等.游离腓骨肌皮复合组织瓣一期修复下颌骨及软组织缺损[J].中华口腔医学杂志, 1998; 33(6): 332-334.

[12] Jewer DD, Boyd JB, Manktelow RT, et al. Orofacialand mandibular reconstruction with the iliac crest free flap: A review of 60 cases and a new method of classifi2 cation[J].Plast Reconstr Surg, 1989; 84 :391.

[13] 肖水生,胡 静.快速成型技术极其在颅颌面外科中的应用[J].重庆医学, 2002; 31(12): 1250-1251.

(上接第 876 页)

sion during coronary artery surgery [J].Cardiovasc Res, 1990; 24 (3): 242-246.

[3] Malmstrom RE, Lundberg JO, Weitzberg E. Autoinhibitory function of the sympathetic prejunctional neuropeptide Y Y2 receptor evidenced by BIIE0246[J]. Eur J Pharmacol, 2002; 439(1-3):113-119.

[4] Potter EK.Neuropeptide Y as an autonomic neurotransmitter[J].Pharmacol Ther, 1988; 37(2):251-273.

[5] Pedrazzini T, Pralong F, Grouzmann E. Neuropeptide Y: the universal soldier[J]. Cell Mol Life Sci, 2003; 60(2):350-377.

[6] Maturi MF, Greene R, Speir E, et al.Neuropeptide Y.A peptide found in human coronary arteries to produce myocardial ischemia in dogs [J].J Clin Invest, 1989; 83(11): 1217-1221.

[7] 李文放,陈 杰,吴 静.参附注射液对感染性休克的氧输送及右心功能变化的作用[J]. 中国急救医学, 2001; 21(8): 477-478.

[8] 许 浩,葛亚坤,邓同乐,等.人参皂苷 Rbl 对 H_2O_2 诱导新生大鼠心肌细胞凋亡的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2005; 21 (7): 803-806.