

周围神经损伤修复机制的研究进展

杨 霄 王 培*

承德医学院附属医院 河北 承德 067000

摘要:周围神经损伤是临床常见的损伤之一,近年来发生率越来越高。周围神经作为人体不易恢复的结构,研究其恢复的机制具有重要的临床意义。许多研究表明周围神经损伤后会从细胞、分子层面发生有利于周围神经恢复的变化。本文从雪旺细胞、巨噬细胞、相关因子、炎症反应、细胞通道方面阐述周围神经损伤后发生的变化,为周围神经的恢复提供研究方向。

关键词:周围神经损伤;雪旺细胞;巨噬细胞;炎症;神经营养因子

周围神经损伤的修复与功能重建一直是外科领域致力解决的难题之一。随着实验技术的提升,人们对于周围神经损伤的认识也从组织大体的观察向细胞分子层面的研究加深。许多研究表明周围神经损伤后,相应的细胞会发生基因的重新编程,通过表型变化、细胞自噬、免疫反应、细胞通道改变等多项机制促进周围神经的修复。本文章主要通过周围神经损伤后雪旺细胞表型的变化、诱导巨噬细胞的侵入、影响相关因子的浓度、促进局部炎症反应、诱发细胞通道改变等机制来加速神经的恢复。

1 神经损伤的修复

最早 Seddon 将周围神经损伤分为神经失用、轴突中断、神经完全断裂 3 个等级。后来 Sunderland 将周围神经损伤改善为了 5 个等级: I 级:指继发于缺血压迫等轻度损伤,轴突的传导在损伤部位中断,神经干的连续性没有中断,这种损伤是完全可逆的; II 级:指轴突的损伤或者轴突相关机制紊乱,导致轴突无法在损伤水平以下存活,但神经内膜和神经外膜保持完好,神经束连续性存在; III 级:轴突发生解体,神经损伤远端发生 wallerian 变性,神经内膜连续性消失,神经束可能发生微小变化但连续性及轮廓保持不变; IV 级:指整个神经所有神经束都损伤,组织与神经外膜混乱,但整个神经的连续性存在; V 级:伴随严重的损伤,导致整个神经完全性断裂^[1]。一般来说, I-III 和 VI 型神经损伤模式通常与即挤压、拉伸和撕脱等损伤机制有关,神经具有一定的连续性,行神经系统的系列检查后观察即可^[1]。IV 级和 V 级损伤常需要进行手术干预,包括神经松解术、神经吻合、神经移植以及外源性神经替代^[2]。周围神经损伤后的再生修复主要经历 Wallerian 变性的远端残端清除、轴突再生和末梢器官神经再生三个过程。Wallerian 变性,通常在神经损伤后 48-72 小时内出现,是轴突向神经损伤远端退化

的过程,包括轴突再生、远端轴突崩坏、髓鞘清除。在轴突再生及靶器官神经再支配过程中雪旺细胞发挥着重要作用。周围神经损伤后,雪旺细胞去分化并增殖,形成 Bungner 带,为再生的轴突提供生长通道。同时雪旺细胞包裹住轴突,形成神经纤维,促进轴突成熟,最后雪旺细胞在神经肌肉接头处引导轴突定向生长,促进靶器官的神经再支配^[3]。

2 雪旺细胞可促进神经的恢复

截止目前,神经损伤后 Wallerian 变性启动的机制尚不明确。但雪旺细胞已被证实参与了整个 Wallerian 变性的过程。雪旺细胞可能在神经损伤后为轴突提供核糖体,催化 RNA 的翻译及相关蛋白的形成。同时雪旺细胞能将神经包裹在髓磷脂层中,并通过释放神经生长因子 (NGF) 等重要的神经营养物质为髓鞘修复提供营养支持。雪旺细胞除了在髓鞘形成过程中发挥作用外,还是周围神经再生的主要外源介质,他可以影响神经调节蛋白 1 (Neuregulin 1, NRG1)、神经生长因子、G 蛋白偶联受体 (GPR) 等介质促进神经修复。雪旺细胞可以包绕多个轴突,与巨噬细胞一起发挥吞噬作用,二者主要的区别在于发挥作用的时间。雪旺细胞是神经损伤的初期吞噬髓磷脂和轴突碎片的主要细胞,这种作用依赖于支持雪旺细胞吞噬作用的 MAC-2 蛋白,但在损伤数天后穿透血液-神经屏障的巨噬细胞是未来 3 周内清除碎片的主要吞噬细胞。

雪旺细胞具有髓鞘表型和修复雪旺细胞两种不同的表型。雪旺细胞一般表现为髓鞘表型,周围神经损伤后,雪旺细胞被损伤诱导的信号迅速激活,在经历细胞重编程后转化为修复雪旺细胞^[4]。由于修复雪旺细胞主要负责形成 Bungner 带,为轴突再生提供轨道,因此也称为 Bungner 细胞。外周神经损伤后,损伤部位远端髓磷脂和修复雪旺细胞细胞重组并改变其特性,在受伤神经中形成组成 Bungner

带的细长细胞,这些细长的细胞可以支持损伤神经元存活、促进轴突生长、去除髓磷脂相关生长抑制剂并引导再生轴突到达目标的细胞^[5]。雪旺细胞由髓鞘表型向修复雪旺细胞的转化涉及多个信号通路。其中对于有丝分裂原激活的蛋白激酶(mitog-activated protein kinase, MAPK)信号通路研究较多。在 WILCOX M B 等人的研究中发现敲除 MAPK 通路中的 c-jun 会导致雪旺细胞表达下降^[6]。其他的通路例如神经调节蛋白 1 (neruegulin1, NRG1) / 表皮生长因子受体 (ErbB) 信号通路、磷脂酰肌醇-3 激酶 / 蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路同样影响着雪旺细胞表型的变化。

3 巨噬细胞促进神经的恢复

巨噬细胞在免疫反应中发挥着重要作用,密切参与体内平衡、组织修复和再生过程,其中就包括周围神经损伤后的恢复。Wallerian 变性发生后,神经远端会产生大量髓磷脂和轴突碎片,妨碍再生轴突穿过损伤区域的通道,及时有效的清除这些碎片非常重要。神经损伤可以通过局部缺氧、炎症反应等机制诱导巨噬细胞的募集、积累、增殖和活化,通过吞噬细胞组织碎片、分泌促抗炎分子及分泌神经营养因子等发挥生物学作用。

巨噬细胞分为常驻巨噬细胞和侵入巨噬细胞,常驻巨噬细胞存在于身体大部分组织中,不发生转移,侵入巨噬细胞可以通过免疫反应转移到不同组织中。神经损伤后 2-3 天,少量侵入巨噬细胞通过局部微环境刺激侵入到受损处,通过初始炎症波进入神经组织,此时雪旺细胞在清除碎片中起主要作用,常驻巨噬细胞逐渐开始被激活并发挥吞噬作用。侵入巨噬细胞受多种因素的影响。BAKST R L 等人发现在神经损伤后表达 ccr2 的炎性单核细胞被优先招募到神经损伤的部位,在那里它们分化为巨噬细胞^[7]。此外分泌白血病抑制因子、胰腺炎相关蛋白(PAP- III)、巨噬细胞炎性肽 1 α (CCL3) 也被证实巨噬细胞侵入中发挥作用。神经损伤后 7-14 天侵入巨噬细胞逐渐增多,巨噬细胞总量达到最大水平,侵入的巨噬细胞联合常驻巨噬细胞在清除细胞碎片中起主要作用,为 Burgner 带的形成扫除障碍^[3]。

巨噬细胞通常在发生极化后发挥不同功能,按照功能的不同可分为 M1 型和 M2 型。目前研究认为 M1 型巨噬细胞主要在神经损伤前期发挥作用, M2 型巨噬细胞主要在神经损伤后期发挥作用。M1 巨噬细胞是促炎细胞,它们迅速产生炎症细胞因子,刺激免疫系统; M2 巨噬细胞是抗炎细胞,它们可以减轻炎症过程,此外还与凋亡细胞的清除、细胞外基质成分、血管和趋化因子的生成相关。M1 型巨噬细胞具有神经毒性,不利于神经恢复,而 M2 型巨噬细胞促进损伤轴突的再生,有利于神经恢复。虽然 M1 型巨噬细胞不利于神经恢复,但在神

经受损的早期可以预防感染以及减轻神经性疼痛。巨噬细胞可以通过多种途径完成极化。CHEN F 等人发现 IL-17F 可以影响 M1 型巨噬细胞的极化^[8]。周围神经损伤可引发背根神经节中神经元与巨噬细胞相互作用,驱动巨噬细胞向 M2 型转化,这大大增加了巨噬细胞对神经残端细胞碎片的清除率。此外,神经损伤产生的细胞因子可以影响吞噬细胞的表型变化。研究表明, T 辅助 1 细胞因子 (Th1)、干扰素 (IFN) 诱导巨噬细胞产生促炎细胞因子 (IL-12、IL-23、IL-1 和 TNF) 和细胞毒性介质。相反, T 辅助 2 细胞因子 IL-4 通过抑制产生促炎细胞因子 (TNF、IL-1、IL-2、IL-8、IL-12 和 CXCL10), 增加 MHCII, 驱动巨噬细胞向 M2 型转化^[3]。

4 Elk-1、c-Jun、ATF3 等因子促进神经的恢复

当神经损伤后,许多相关转录因子会被激活,促进周围神经恢复。研究证实, ERK 激活的 ETS 结构域蛋白 (Elk-1)、JNK 激活的 c-Jun 和激活转录因子 3 (ATF3) 以及泛素连接酶 cdh1 - 细胞周期后期促进复合体 (Cdh1-APC) 通路等通路均已被证明参与神经再生恢复。其中, c-Jun 通过 MAPK 信号通路激活, MAPK 是雪旺细胞分化的调节因子,能够促进 GDNF 和 BDNF 的表达,进而加速神经再生。其他包括 cAMP 反应元件结合蛋白 (CREB)、sry 相关的 HMG-box (Sox11)、磷脂酰肌醇 3- 激酶 (PI3K) 和 Smad1 (19) 也都是可以促进周围神经恢复的转录因子。

神经营养因子是作为前体蛋白合成的,它可以被转化酶裂解,产生大约 13 - 15 kDa 大小的成熟蛋白。神经营养因子前体和神经营养因子以稳定的非共价同型二聚体释放,发挥着信号传导的作用。神经损伤后,脑源性神经营养因子 (BDNF) 和胶质细胞源性神经营养因子 (GDNF) mRNA 被发现上调,而神经营养因子-3 和睫状神经营养因子 (CNTF) 在胫骨神经远端残端被发现下调,这提示神经营养因子与周围神经的修复密不可分。人类脑源性神经营养因子 (BDNF) 基因位于第 11 条染色体的短臂上,由 9 个外显子 (8 个 5' 未翻译外显子和 1 个编码 3' 外显子) 的蛋白质组成。在周围神经系统中, BDNF 由运动神经元和雪旺细胞合成,在神经损伤后通过 PIP3/PI3K 信号通路介导作用于损伤轴突,每小时增加肌动蛋白波的数量,也刺激生长锥发芽和肌动蛋白在芽中的积累。一些其他的细胞间介质在周围神经恢复中同样发挥着作用,例如 p75NTR 的缺少会导致功能恢复和轴突生长减少,电刺激激活的 p38 MAPK/CREB 通路可以促进神经突生长和存活,用转化生长因子- β (TGF- β) 可以重新激活慢性失神经远端神经残端雪旺细胞,以支持周围神经损伤后轴突再生。

5 局部炎症反应可促进神经的恢复

外周神经系统 (PNS) 的炎症与轴突的成功再生有关, 但炎症因子是如何调节变性和再生反应的, 目前尚未完全阐明。神经损伤引起的炎症是一种复杂的涉及多种炎症介质和细胞参与的反应, 涉及多种炎症介质和细胞。在神经受损后的几天内, 远端残端会发生结构变化, 受损的轴突会触发内在的自我破坏途径, 从而引起局部的炎症反应。炎症细胞会增强这一过程, 并且分泌促再生分子 (即 NGF、PDGF、EGF、BDNF 等) 以促进轴突伸长。

神经损伤后受损的髓磷脂不利于轴突的再生, 局部炎症反应可以通过招募循环中的巨噬细胞吞噬受损的髓磷脂, 促进轴突生长。除了参与髓磷脂清除外, 巨噬细胞还释放大量的白介素-1 (IL-1), 调节成纤维细胞和雪旺细胞释放神经生长因子 (NGF)。白血病抑制因子 (LIF) 作为炎症产生的免疫细胞, 可以向细胞体逆行转运, 诱导如活化转录因子-3 和生长相关蛋白等再生相关基因的表达。

6 钙离子参与神经再生

研究证实在低等动物感觉神经元中, 若抑制电压门控钙通道或抑制钙储存内部释放, 不利于轴突的生长。钙内流会激活钙依赖性酶, 使 cAMP 水平升高, 通过向下游双赖氨酸拉链激酶 (DLK-1) 发出信号, 促进感觉神经元生长锥所需的细胞骨架发生局部转化, 进而促进生长锥的形成。

在背根神经节细胞中已经发现了两种类型的内部钙储存, IP3R 敏感钙储存和 ryr 敏感钙储存, 其中已被广泛接受的是 IP3R 敏感钙储存。IP3R 可被磷脂酰肌醇 4,5 - 二磷酸产生的 IP3 激活。Ca²⁺ 可触发丝裂原活化蛋白激酶 (MAPKs) 和钙调素依赖性蛋白激酶 II (CaMKII), 随后调节神经元迁移、轴突和树突发育和再生以及突触可塑性等细胞过程。在神经损伤后质膜的破坏使钙离子和钠离子充斥细胞质, 引发大量的动作电位, 并向细胞体逆行传播。其中钙的内流可以激活腺苷酸环化酶等多种蛋白质, 随后激活环磷酸腺苷 (cAMP)。激活的 cAMP 在 48 小时内通过染色质溶解等过程, 促进合成支持轴突再生和修复所需的蛋白质。同时 cAMP 还能促进 rag 蛋白的上调, 从而促进受损神经近端的再生生长锥所需生长相关蛋白 GAP-43、肌动蛋白和 T- α -1 微管蛋白的表达^[9]。

7 展望

目前周围神经损伤后的它会对患者造成的难以灾难性的后果, 临床应用的神经原位缝合、神经转位、神经移植、神经导管桥接等治疗方式的预后难以预测且并不理想。未来从细胞、分子角度分析了周围神经损伤后发生的变化以及恢复的方式, 给予周围神经损伤修复新的视角。

参考文献:

- [1] Sunderland S.A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function[J].Brain, 1951, 74(4):491-516.
- [2] Boyd KU, Nimigan AS, Mackinnon SE.Nerve reconstruction in the hand and upper extremity[J].Clin Plast Surg, 2011, 38(4):643-660.
- [3] Mietto BS, Mostacada K, Martinez AM. Neurotrauma and inflammation:CNS and PNS responses[J].Mediators Inflamm, 2015, 2015:251204.
- [4] Nocera G, Jacob C.Mechanisms of Schwann cell plasticity involved in peripheral nerve repair after injury[J].Cell Mol Life Sci, 2020, 77(20):3977-3989.
- [5] Gomez-Sanchez JA, Pilch KS, Van Der Lans M, et al.After Nerve Injury, Lineage Tracing Shows That Myelin and Remak Schwann Cells Elongate Extensively and Branch to Form Repair Schwann Cells, Which Shorten Radically on Remyelination[J].J Neurosci, 2017, 37(37):9086-9099.
- [6] Wilcox MB, Laranjeira SG, Eriksson TM, et al. Characterising cellular and molecular features of human peripheral nerve degeneration[J].Acta Neuropathol Commun, 2020, 8(1):51.
- [7] Bakst RL, Xiong H, Chen CH, et al.Inflammatory Monocytes Promote Perineural Invasion via CCL2-Mediated Recruitment and Cathepsin B Expression[J].Cancer Res, 2017, 77(22):6400-6414.
- [8] Chen F, Liu W, Zhang Q, et al.IL-17F depletion accelerates chitosan conduit guided peripheral nerve regeneration[J].Acta Neuropathol Commun, 2021, 9(1):125.
- [9] Keane GC, Pan D, Roh J, et al.The Effects of Intraoperative Electrical Stimulation on Regeneration and Recovery After Nerve Isograft Repair in a Rat Model[J].Hand(N Y), 2022, 17(3):540-548.

作者简介:

杨霄 (1998.02-), 男, 四川省简阳市, 汉族, 研究生在读, 研究方向: 周围神经损伤再生。

* 通讯作者: 王培 (1975.11-), 河北省承德市, 汉族, 博士, 主任医师, 河北省承德医学院副院长, 研究方向: 周围神经损伤与再生。