

脑源性神经营养因子对脊髓损伤后痉挛影响的研究进展*

李向哲¹ 王 彤^{1,2}

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是一种严重的神经系统疾病,其不仅表现为严重的功能丧失,还可伴随众多棘手的并发症及后遗症。其中,在SCI恢复过程中绝大多数患者会经历痉挛之苦。有研究显示^[1-2],在SCI后2—6个月内,有多达70%的SCI患者会出现不同程度的痉挛状态。虽然,轻到中度的痉挛状态有益于功能活动(如站立、转移和平衡等),还有益于外周血液循环、减少水肿和降低下肢静脉血栓风险等^[1,3]。但是,严重的痉挛可对机体造成诸多负面影响,如限制ADL、影响生存质量、导致疼痛与疲劳、扰乱睡眠、危及自身安全、促进关节挛缩形成、导致压疮、感染、负面自我形象、护理负担增加和影响康复效果等^[4]。

目前针对SCI后痉挛的主要治疗措施包括:口服药物治疗、鞘内泵药、局部药物治疗和手术治疗等,但是不同的治疗方法都有其局限性,尚不能够完全缓解SCI后的痉挛状态^[4]。康复治疗是一种无创性、功能性及个体化治疗措施,其治疗效果不断得到人们的认可。

在脊髓再生微环境中,脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)可谓是希望之星。研究发现^[5-7],在SCI后,损伤脊髓部位的BDNF表达会相应上调,并能够提高受损脊髓内运动与感觉神经元的存活率,促进脊髓内神经元的再生与修复。而BDNF主要通过激活特异性受体酪氨酸受体激酶B(tyrosine receptor kinase B, TrkB)发挥生物学作用。此外,BDNF还可以通过多种途径调节中枢神经突触的形成、重组和稳定性^[8]。更重要的是,应用不同方法在损伤脊髓局部过表达BDNF可促进运动功能的恢复^[9-10]。康复训练,包括减重平板训练、运动训练、电刺激、电针等均可促进BDNF的表达,促进SCI后的功能改善^[11-12]。因此,有必要探讨BDNF对SCI后痉挛/反射亢进的影响,为临床治疗痉挛提供新的思路。

1 SCI后肌肉痉挛或反射亢进的产生机制

痉挛是SCI后常见的并发症,其特征为肌张力过高、非自主间断性或持续性躯体反射亢进、阵挛和疼痛性肌痉挛^[13]。虽

然SCI后痉挛状态的发病机制尚不十分清楚,但多数认为其与脊髓上抑制神经通路兴奋性的改变有关^[1]。目前的主要假说包括运动神经元兴奋性增加和抑制减弱(突触前抑制、回返抑制、交互抑制和屈肌反射出入通路抑制)^[14]。其分子机制可能涉及如下几种:

1.1 GABA抑制性作用减弱

γ -氨基丁酸(Gamma-Aminobutyric Acid, GABA)为中枢神经系统主要的抑制性神经递质。研究发现^[11,14-17],SCI后损伤部位以下脊髓内的GABA及其受体(GABA_A及GABA_B)合成或表达下调等可能导致了其对下运动神经元的抑制性作用减弱,最终会导致反射亢进/痉挛状态。作用于该途径的代表性抗痉挛药物有苯二氮卓类(作用于GABA_A受体)和巴氯芬(作用于GABA_B受体)^[18]。

1.2 KCC2表达下调

钾-氯协同转运蛋白-2(Potassium-Chloride Cotransporter-2, KCC2)为神经元特异性协同转运蛋白,主要作用为转运Cl⁻至胞外,并维持正常或成熟神经细胞的超极化膜平衡电位。当抑制性神经递质(GABA和甘氨酸)与其相应受体通道蛋白结合后,胞外Cl⁻将向胞内移动,从而产生超极化电位而抑制神经元的活性^[14,19]。而在SCI等病理状态下,去上抑制作用运动神经元胞膜的KCC2分布会减少,导致了胞内Cl⁻聚集^[14]。当抑制性神经递质与受体蛋白结合后通道打开,反而导致了Cl⁻外向流动,从而产生运动神经元兴奋性增加以及脊髓反射(如Hoffmann反射)亢进的发生,最终出现屈肌反射亢进及痉挛等^[11,14,20]。

1.3 其他机制

除GABA及KCC2途径外,SCI后甘氨酸能^[21]、谷氨酸能^[10]、去甲肾上腺素(NE)能^[16,22]和5-羟色胺(5-HT)能^[23]神经递质及受体的改变,以及Ca²⁺通道^[13]和Na⁺通道^[24]等活性或功能的改变也可能参与了神经元兴奋性的调节,并可能与痉挛的发生有密切关系,同时也不能忽视肌肉退行性和适应性改变机制^[4]等的作用。

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2016.11.026

*基金项目:国家自然科学基金项目(面上项目)(81171851)

1 南京医科大学第一附属医院,南京,210029; 2 通讯作者

作者简介:李向哲,男,硕士研究生; 收稿日期:2015-08-26

2 BDNF的抗痉挛或反射亢进作用及机制

在神经组织中, BDNF的信号转导通路可能是激活 TrkB 后引起该受体胞内酪氨酸残基部位的自动磷酸化, 形成 src 同源结构域 2 转运蛋白(src homology 2 domain containing transforming protein, Shc)、成纤维生长因子受体底物 2 (FGF receptor substrate 2, FRS-2) 和磷脂酶 C (PLC) 等的锚定位点, 并激活第二信使以及下游的相关因子(其中包含了 cAMP 反应元件结合蛋白(CREB)-该蛋白可以与转录复合体结合, 调节相关基因的转录), 并与神经可塑性的多样性有广泛联系^[25], 可能也参与了痉挛的病理过程^[11]。而目前关于 BDNF 的抗痉挛机制研究主要涉及 GABA 和 KCC2 两种途径:

2.1 GABA 途径

2.1.1 促进 GABA 及其受体的表达: 研究显示^[26], BDNF 与 GABA 及其受体之间有密切相关, BDNF 可以参与中枢 GABA 能传递系统的发育、GABA 能突触的形成以及 GABA_A 受体的表达。Ziemlinska 等^[10]在横断以下脊髓注射腺病毒载体-BDNF(VAA-BDNF)后发现, 损伤节段过表达 BDNF 可促进 GABA 浓度的增加, 并且 GABA 合成酶-谷氨酸脱羧酶(GAD₆₅与 GAD₆₇)以及其 mRNA 表达也会增加。此外该研究进行的免疫双标显示, GAD67 表达与转入的 BDNF 具有空间相关性。高伟等^[15]研究发现, 高频重复经颅磁刺激(rTMS)可有效缓解 SCI 大鼠的痉挛状态。该研究对不同神经组织的蛋白印迹分析显示, rTMS 治疗后 GABA_A 受体在脊髓内表达会增高, GABA_B 受体在小脑内表达会增加。该研究的作者指出, GABA 受体表达上调可能与内源性 BDNF 分泌增多有内在联系, 但其并未证实。

Hou 等^[16]在联合使用平板训练及磁刺激治疗颈段 SCI 大鼠时发现, 与对照组相比, 该联合治疗可更有效地改善痉挛状态及步态障碍, 并且痉挛的改善可能与损伤脊髓灰质前角的 GABA(GAD₆₇)、GABA_A、BDNF 和 NE(DβH) 表达增加有关, 但该研究并未明确 BDNF 与 GABA 表达增加之间是否存在相关性。

比较研究减重平板训练和踏车训练对 SCI 后功能恢复的影响时发现这两种训练方法均可改善大鼠 SCI 后的痉挛状态、减少损伤组织体积以及增加残余神经组织体积, 并且这些改善与 BDNF 和 GABA/GABA_B 受体的表达上调有关^[27]。尽管该研究也未揭示 BDNF 与 GABA_B 表达上调之间的关联, 但上述研究可能间接说明了 BDNF 在调节 GABA 能神经传导通路的作用, 或者是两者之间可能存在协同作用。

2.1.2 BDNF 调节 GABA 能途径的可能机制: Guidotti 等^[28]的研究发现, 调节活动依赖性 BDNF mRNA 合成的神经细胞 PAS 结构域蛋白 4(Neuronal PAS domain protein 4, Npas4) 也可能参与了调控 GABA 能突触的发生、影响 GAD65/67 以

及 GABA 能受体的表达。并且还有研究发现^[10], 在 SCI 后, 节段性 BDNF 过表达可上调 GAD65/67 合成而增加局部 GABA 的含量, 从而增强对脊髓的抑制性作用。这些研究可能为我们更进一步了解 SCI 后 BDNF 调节 GABA 能抑制过程以及反射亢进提供了帮助。

2.2 KCC2 途径

2.2.1 上调 KCC2 表达: Tashiro 等^[11]的研究发现, 损伤 1 周后开始的减重平板训练可明显减轻 SCI 大鼠的痉挛状态, 并且损伤 14—49 天后训练组的后肢阻力较不训练组明显减小。电生理分析显示训练组的 H-max/M-max 比值在损伤后 28—49 天也明显低于对照组, 其中在 35 天时降低最明显, 并且在 SCI 后 49 天比较训练组和对照组 H-反射的率依赖性抑制(rate-dependent depression, RDD) 值时发现, 刺激频率越高, 对照组 RDD 值越大, 而训练组则相反。步态动力学分析发现, 在 SCI 后 49 天, 训练组大鼠后肢踝关节屈肌和伸肌的共同收缩明显弱于对照组, 并且两组肌群的共激活系数也明显低于对照组。上述现象说明运动训练可以有效改善痉挛状态和提高运动的协调控制能力。同时该研究的蛋白印迹发现, 训练组 BDNF 及 KCC2 表达较对照组明显增加, 且统计分析显示两者的增加有明显相关性。而鞘内注射 BDNF 受体拮抗剂 TrkB/Fc 后, (抗体+训练组) 大鼠的痉挛状态与对照组相比并没有明显改善, 且 KCC2 上调不明显。该研究说明了 BDNF 在改善痉挛及运动方面的积极作用, 并且长时间跨度研究和正反向论证可能更具有说服力。

Cote 等^[17]通过运动训练 SCI 大鼠后发现, 运动训练可促进内源性 BDNF 的表达, 并且可以上调 KCC2, 改善大鼠的痉挛状态。而阻断 KCC2 通道后, 脊髓反射的恢复以及痉挛的改善受到抑制, 说明 KCC2 在调节反射恢复方面发挥着重要的作用, 且回归分析也显示 BDNF 与 KCC2 上调之间有明显的正相关。该研究也是从正反向进行论证, 也显示 BDNF 在调节痉挛方面的积极作用, 以及 KCC2 在痉挛发生过程中的重要影响, 可能为临床治疗痉挛提供了另一个思路。

2.2.2 BDNF 调节 KCC2 途径的可能机制: 有研究显示, 在成熟或完整脊髓神经网络中, BDNF 可通过 TrkB 信号转导通路使 KCC2 表达下调^[29]; 相反, 在不成熟海马或受损脊髓内, BDNF-TrkB 可诱使 KCC2 表达上调^[11,30-31]。上述两种看似矛盾的现象主要是由 TrkB 的下游信号分子 PLC-γ 与 Shc 调节的结果, 即在 PLC-γ 活性缺失的细胞内, BDNF 与 TrkB 结合后可通过激活 Shc 信号转导通路使 KCC2 表达上调^[25]; 同样, 在受损的皮质脊髓束内也是如此^[32]。并且 Tashiro 等^[11]的研究也发现, SCI 后脊髓内的活性 PLCγ1 含量会减少, 而 Shc 又处于正常水平, 所以可以认为 BDNF 的抗痉挛作用是 PLC-γ 对 KCC2 合成抑制作用减弱的结果, 从而恢复了神经元胞内的 Cl⁻ 稳态。与上述研究不同, Ziemlinska 等^[10]研究发现, 脊

髓横切后,长期在损伤脊髓下端过表达BDNF可诱导KCC2的表达下调,并低于损伤对照组和假手术组,这可能会诱发损伤脊髓运动神经元活性增加。但该作者并未说明降低的具体机制。因此,上述现象可能强调了BDNF最佳治疗方案选择的重要性。

3 存在问题—神经元兴奋性增加

虽然BDNF在神经系统的形成、发育及损伤修复方面是个“全能选手”,但也不得不提及它对SCI恢复的负面影响,因为在某些情况下,BDNF可能会导致“反射亢进”或“运动神经元过度兴奋”的发生。

在SCI后脊髓运动神经元的兴奋性会有一个明显降低的阶段,经过BDNF治疗后,神经元和神经网络的兴奋性会得到恢复,并且与运动功能的改善有内在联系^[33-34],运动神经元的过度兴奋可能会导致反射亢进的出现,从而发展为强直状态^[35]。此外,有研究在使用包括损伤局部BDNF过表达等的综合疗法促进运动神经元轴突穿过损伤节段时发现,虽然观察到了损伤下段神经元的新生突触,但是也观察到了脊髓部分SCI大鼠运动功能的恶化以及完全性SCI大鼠后肢痉挛状态的加重^[35]。该发现突出强调了SCI修复的复杂性,并指出在关注SCI后轴突再生的同时也应该注重控制和调整轴突的生长方向。因此,神经导向性生长的研究也应得到我们的重视。

在分子机制方面,有研究显示BDNF还可以调节Na⁺和Ca²⁺离子通道的活性^[24],并影响突触的可塑性。BDNF-TrkB转导通路可以介导Na⁺通道和Ca²⁺通道的开放,并使两种离子内流,从而调节突触传递效率,并且可以诱发长时程增强作用。此外,BDNF通过减少KCC2合成诱导的阵挛性运动也不容忽视^[10]。上述作用可促进神经元兴奋性的增加,易化动作电位的产生,增加突触的传递效率,可能与BDNF诱导的细胞兴奋性增加或反射亢进有一定联系。

此外,有研究显示^[21],BDNF具有活动依赖性分泌的特点,其可通过调节谷氨酸受体亚单位的磷酸化而影响谷氨酸受体的活性,并且可以通过突触前和突触后机制来调节谷氨酸突触的可塑性。因此,BDNF也可能通过调节谷氨酸受体而增加神经元细胞的兴奋性,这可能也会导致反射亢进。

4 展望

康复治疗作为干预SCI后功能障碍,以及相关并发症的重要措施正不断受到人们的关注。其中,基于导向性运动等康复治疗促进的内源性BDNF在改善功能障碍及并发症方面的作用也不断得到人们的认可。尽管痉挛的发生涉及多系统、多途径的调节过程,但是大多数研究已证实,不同的康复治疗方法(如减重平板训练、经颅磁刺激等)均可通过促进

BDNF表达而改善SCI后的痉挛状态,其相关机制涉及GABA和KCC2等途径。然而在治疗痉挛的同时,不可忽视一些BDNF诱导的不良影响(如反射亢进和疼痛等),这可能和其导致的细胞兴奋性增加有很大的关系。因为神经通路的调节涉及众多的离子通道和神经递质受体,并且可能还涉及神经纤维的再生及重塑等复杂机制,所以在关注功能恢复的同时应该明确不同训练所涉及的不同分子及神经生物学机制,以实现正常神经环路的修复和形成。

目前大多数相关研究尚处于探索阶段,并且研究结果及作用机制仍有一定的出入,广泛认可的作用机制尚未建立,尚不能够完全转化到临床实践中。但我们相信,选择合适的康复治疗方法、最佳的干预措施以及合适的剂量等进行深入研究,将为临床治疗脊髓损伤功能障碍以及相关并发症提供更好的指导。

参考文献

- [1] Rekand T, Hagen EM, Gronning M. Spasticity following spinal cord injury[J]. Tidsskr Nor Laegeforen,2012,132(8):970—973.
- [2] Dudley-Javoroski S, Shields RK. Muscle and bone plasticity after spinal cord injury: review of adaptations to disuse and to electrical muscle stimulation[J]. J Rehabil Res Dev,2008,45(2):283—296.
- [3] Gorgey AS, Chiodo AE, Zemper ED, et al. Relationship of spasticity to soft tissue body composition and the metabolic profile in persons with chronic motor complete spinal cord injury[J]. J Spinal Cord Med,2010,33(1):6—15.
- [4] Adams MM, Hicks AL. Spasticity after spinal cord injury[J]. Spinal Cord,2005,43(10):577—586.
- [5] Mantilla CB, Gransee HM, Zhan WZ, et al. Motoneuron BDNF/TrkB signaling enhances functional recovery after cervical spinal cord injury[J]. Exp Neurol,2013,247:101—109.
- [6] Weishaupt N, Blesch A, Fouad K. BDNF: the career of a multifaceted neurotrophin in spinal cord injury[J]. Exp Neurol,2012,238(2):254—264.
- [7] Lu B, Pang PT, Woo NH. The yin and yang of neurotrophin action[J]. Nat Rev Neurosci,2005,6(8):603—614.
- [8] Orefice LL, Waterhouse EG, Partridge JG, et al. Distinct roles for somatically and dendritically synthesized brain-derived neurotrophic factor in morphogenesis of dendritic spines[J]. J Neurosci,2013,33(28):11618—11632.
- [9] 张鑫,李萌,陈银海,等. hADSCs移植联合运动训练对脊髓损伤大鼠运动功能的影响及其相关机制[J]. 中华神经医学杂志,2014,13(5):472—477.
- [10] Ziemlinska E, Kugler S, Schachner M, et al. Overexpression of BDNF increases excitability of the lumbar spinal network and leads to robust early locomotor recovery in

- completely spinalized rats[J]. PLoS One,2014,9(2):e88833.
- [11] Tashiro S, Shinozaki M, Mukaino M, et al. BDNF induced by treadmill training contributes to the suppression of spasticity and allodynia after spinal cord injury via upregulation of KCC2[J]. Neurorehabilitation and Neural Repair, 2015,29(7):677—689.
- [12] 曹雅娜,王红星,王彤,等. 康复治疗对脊髓损伤后脊髓内脑源性神经营养因子表达的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2014,36(4):312—315.
- [13] Rabchevsky AG, Kitzman PH. Latest approaches for the treatment of spasticity and autonomic dysreflexia in chronic spinal cord injury[J]. Neurotherapeutics,2011,8(2):274—282.
- [14] Boulenguez P, Liabeuf S, Bos R, et al. Down-regulation of the potassium-chloride cotransporter KCC2 contributes to spasticity after spinal cord injury[J]. Nature Medicine,2010, 16(3):302—307.
- [15] Gao W, Yu LG, Liu YL, et al. Mechanism of GABA receptors involved in spasticity inhibition induced by transcranial magnetic stimulation following spinal cord injury[J]. Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences],2015,35(2):241—247.
- [16] Hou J, Nelson R, Nissim N, et al. Effect of combined treadmill training and magnetic stimulation on spasticity and gait impairments after cervical spinal cord injury[J]. Journal of Neurotrauma,2014,31(12):1088—1106.
- [17] Cote MP, Gandhi S, Zambrotta M, et al. Exercise modulates chloride homeostasis after spinal cord injury[J]. J Neurosci,2014,34(27):8976—8987.
- [18] Sezer N, Akkuş S, Uğurlu FG. Chronic complications of spinal cord injury[J]. World Journal of Orthopedics,2015,6 (1):24—33.
- [19] Grau JW, Huie JR, Lee KH, et al. Metaplasticity and behavior: how training and inflammation affect plastic potential within the spinal cord and recovery after injury[J]. Frontiers in Neural Circuits,2014,8:100.
- [20] Gackiere F, Vinay L. Contribution of the potassium-chloride cotransporter KCC2 to the strength of inhibition in the neonatal rodent spinal cord in vitro[J]. Journal of Neuroscience,2015,35(13):5307—5316.
- [21] Carvalho AL, Caldeira MV, Santos SD, et al. Role of the brain-derived neurotrophic factor at glutamatergic synapses [J]. Br J Pharmacol,2008,153 Suppl 1:S310—S324.
- [22] Jankowska E, Hammar I, Chojnicka B, et al. Effects of monoamines on interneurons in four spinal reflex pathways from group I and/or group II muscle afferents[J]. Eur J Neurosci,2000,12(2):701—714.
- [23] D'Amico JM, Murray KC, Li Y, et al. Constitutively active 5-HT₂/1 receptors facilitate muscle spasms after human spinal cord injury[J]. Journal of Neurophysiology,2013, 109(6):1473—1484.
- [24] Rose CR, Blum R, Kafitz KW, et al. From modulator to mediator: rapid effects of BDNF on ion channels[J]. Bio Essays,2004,26(11):1185—1194.
- [25] Rivera C, Voipio J, Thomas-Crusells J, et al. Mechanism of Activity-Dependent Downregulation of the Neuron-Specific K-Cl Cotransporter KCC2[J]. Journal of Neuroscience,2004, 24(19):4683—4691.
- [26] Thompson CL, Tehrani MH, Barnes E J, et al. Decreased expression of GABAA receptor alpha6 and beta3 subunits in stargazer mutant mice: a possible role for brain-derived neurotrophic factor in the regulation of cerebellar GABAA receptor expression?[J]. Brain Res Mol Brain Res,1998,60 (2):282—290.
- [27] Bose PK, Hou J, Parmer R, et al. Altered patterns of reflex excitability, balance, and locomotion following spinal cord injury and locomotor training[J]. Front Physiol,2012,3: 258.
- [28] Guidotti G, Calabrese F, Auletta F, et al. Developmental influence of the serotonin transporter on the expression of npas4 and GABAergic markers: modulation by antidepressant treatment[J]. Neuropsychopharmacology,2012,37(3):746—758.
- [29] Rivera C, Li H, Thomas-Crusells J, et al. BDNF-induced TrkB activation down-regulates the K⁺-Cl⁻ cotransporter KCC2 and impairs neuronal Cl⁻ extrusion[J]. J Cell Biol, 2002,159(5):747—752.
- [30] Carmona MA, Pozas E, Martinez A, et al. Age-dependent spontaneous hyperexcitability and impairment of GABAergic function in the hippocampus of mice lacking trkB[J]. Cereb Cortex,2006,16(1):47—63.
- [31] Aguado F, Carmona MA, Pozas E, et al. BDNF regulates spontaneous correlated activity at early developmental stages by increasing synaptogenesis and expression of the K⁺/Cl⁻ co-transporter KCC2[J]. Development,2003,130(7):1267—1280.
- [32] Shulga A, Thomas-Crusells J, Sigl T, et al. Posttraumatic GABA(A)-mediated [Ca²⁺]_i increase is essential for the induction of brain-derived neurotrophic factor-dependent survival of mature central neurons[J]. J Neurosci,2008,28(27): 6996—7005.
- [33] Boyce VS, Park J, Gage FH, et al. Differential effects of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 on hindlimb function in paraplegic rats[J]. Eur J Neurosci,2012, 35(2):221—232.
- [34] Boyce VS, Tumolo M, Fischer I, et al. Neurotrophic factors promote and enhance locomotor recovery in untrained spinalized cats[J]. J Neurophysiol,2007,98(4):1988—1996.
- [35] Lu P, Blesch A, Graham L, et al. Motor axonal regeneration after partial and complete spinal cord transection[J]. Journal of Neuroscience,2012,32(24):8208—8218.