

雪旺氏细胞与中枢神经再生

严恒林* 沈馨亚

(上海医科大学 上海, 200032)

为什么高等脊椎动物的周围神经能够再生而中枢神经却不能, 这个问题一直使神经科学工作者感到困惑。近 20 年来, 随着免疫组织化学技术、电镜技术以及分子生物学的发展和运用, 人们发现哺乳类中枢神经本身具有再生潜力, 在适宜的微环境条件下能发生轴突侧枝出芽和突触重建, 这种微环境要求较特殊, 只有周围神经系统(PNS)提供的微环境才允许中枢神经再生, 而中枢神经系统(CNS)本身提供的微环境则不能。采用将周围神经移植到受损的中枢神经局部, 从而改变中枢神经微环境, 能显著促进中枢神经再生^[1], 其主要机制认为周围神经中的雪旺氏细胞(Schwann cells, SCs)起关键作用。SCs 是周围神经的胶质细胞, 包绕周围神经轴突, 形成或不形成髓鞘。近年来的研究表明, SCs 的功能极其活跃, 它能分泌神经营养因子, 产生细胞外基质, 细胞粘着分子等^[2], 上述所有物质都与神经再生有密切关系, 因此, SCs 在神经再生中的作用受到广泛重视, 并已成为日益活跃的研究课题之一。

无论是中枢神经还是周围神经, 受损后得以成功再生的首要条件是神经细胞胞体必须受到保护, 防止不可逆性损伤的发生以维持可生长的状态; 其次, 再生出来的新突起受到刺激而延长并通过一定的引导作用使之越过损伤的间隔; 最后, 轴突前端的生长锥寻找和识别相应的靶组织并建立起新的有功能的突触, 上述神经再生的所有步骤缺一不可。本文就 SCs 在上述过程中的作用介绍如下:

一、SCs 的营养作用

早在本世纪初, Cajal 就提出中枢神经不

能再生的原因是由于缺乏一种假定的神经营养物质, 但当时未引起人们的重视。直到 50 年代, 神经生长因子(Nerve growth factor, NGF)被发现后, 才证实了 Cajal 提出的学说, 从而拉开了研究神经营养因子的序幕。迄今为止, 已有 10 余种神经营养因子被发现。神经营养因子可源于非神经细胞, 亦可源于神经元和胶质细胞。研究表明, SCs 产生数种神经营养因子如 NGF, 脑源性神经营养因子(Brain derived-neurotrophic factor, BDNF), 睫状神经营养因子(Ciliary neurotrophic factor, CNTF), 成纤维细胞生长因子(Fibroblast growth factor, FGF)等, 上述神经营养因子在神经发育和再生过程中发挥重要作用^[3]。

1. NGF

NGF 是 Levi-Montalcini 于 50 年代首先发现的, 也是迄今为止研究得最清楚的神经营养因子, NGF 可由非神经性细胞或神经性细胞产生。免疫组织化学和分子杂交方法显示 SCs 能分泌 NGF, 在周围神经的不同发育阶段, SCs 分泌 NGF 的量有所不同, 出生时水平较高, 一周后开始下降, 成年正常情况下坐骨神经中 NGF 水平很低, 一旦神经受到损伤后 NGF 的水平急速上升^[4], 这是由于此时 SCs 反应性地大量增殖, 其相对量和绝对量均增加, 同时 SCs 表达低亲和力的 NGF 受体。SCs 分泌的 NGF 与低亲和力的 NGF 受体结合, 浓缩于 SCs 表面, 当再生的轴突进入远端损伤区, 轴突上的高亲和力的 NGF 受体与 NGF 结合, 实际上此时 SCs 将 NGF 传递给轴突, 再

* 现在中科院上海脑研究所(200031)。

经逆行转运至胞体,支持轴突向远端延伸,此时 SCs 来源的 NGF 代替了靶组织来源的 NGF,维持受损神经元的存活^[5]。

中枢神经的再生过程与周围神经相似,当轴突受损而与靶组织脱离联系,营养因子的来源中断。然而,与周围神经不同,此时没有 SCs 代替靶组织提供营养因子,导致神经元胞体死亡,再生无法进行,如果及时给予外源性的营养因子,有可能挽救神经元并促进其再生。近年来的研究证明,NGF 在中枢神经系统,特别是对胆碱能神经的发育及再生起重要作用。

众多实验证实 NGF 是基底前脑胆碱能神经元的营养因子,部分或完全切断隔-海马通路后,经侧脑室灌注 NGF,对隔核的胆碱能神经元具有显著的保护作用^[6]。应用重组人 NGF 也具有相同的效果,动物实验的结果为治疗 CNS 损伤性及退行性疾病提供了有价值的资料。

2. BDNF

BDNF 是 NGF 家族的成员之一,但与 NGF 相比,对不同类型的神经元如感觉和运动神经元都有作用,特别是 CNS 某些神经元对 NGF 无反应,却对 BDNF 反应强烈^[3]。切断新生大鼠坐骨神经,脊髓运动神经元发生死亡,但给予外源性的 BDNF 能挽救其死亡^[7]。BDNF 与 SCs 关系密切,体内外的研究证实,SCs 能合成 BDNF。正常情况下,坐骨神经中 BDNF 含量很低,当坐骨神经受到损伤,3 天后远侧端 BDNF mRNA 及蛋白升高,四周达高峰,并且其量比 NGF 高出 10 倍之多^[8]。另一方面 SCs 也能表达 BDNF 受体,因此 BDNF 亦反过来作用于 SCs,对其功能进行调节,促进 SCs 表达神经细胞粘着分子,在 SCs 与神经轴突的粘着中发挥调节作用。

3. CTNF

CTNF 由于对睫状神经元的生长具有强烈作用而命名,在功能上,CTNF 与 NGF 和 BDNF 具有交叉性,如在体外能维持神经元的存活,挽救新生大鼠坐骨神经受损后脊髓运动

神经元的死亡等,但在发育过程中的表达与 NGF 和 BDNF 有所不同,新生大鼠坐骨神经 CTNF 水平较低,出生一周后开始上升。在成年坐骨神经,CTNF 分布于形成髓鞘的 SCs,神经受损后的一周内,受损远侧端 CTNF 蛋白和 mRNA 急剧下降,可能是由于此时为神经变性期,SCs 失去了与轴突的接触而停止合成 CTNF,但 7 天后 CTNF 大量表达,免疫组织化学呈阳性反应,尤其是细胞外间隙中,此时 CTNF 表现出较高的生物活性,表明在正常情况下,SCs 胞浆内的 CTNF 并不为神经元所利用,而在损伤情况下,SCs 分泌 CTNF 至细胞外间隙中为神经元所利用^[9]。如果将 CTNF 注入肌肉表面,能诱导运动终板处的轴突及其相邻的郎飞氏节处出芽^[10]。

4. FGF

FGF 也是一个家族,主要有碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)和酸性成纤维细胞生长因子(aFGF),它们在神经系统中分布较广,在大脑皮质、中脑、纹状体、垂体等处含量较高。在周围神经,体外培养证实 SCs 和背根神经节细胞表达 FGF,并且随培养时间的延长而增加^[11]。FGF 除了对非神经系统有作用外,对神经系统的作用亦十分广泛。FGF 既是细胞分裂刺激剂,又是一种营养物质,它能刺激 SCs、星形胶质细胞、少突胶质细胞分裂。体外培养研究发现,FGF 对多种神经元具有营养作用如睫状神经节神经元、视网膜神经节细胞、隔核胆碱能神经元、海马神经元、小脑颗粒细胞等。切断海马穹窿后,外源性 FGF 能维持隔核胆碱能神经元的存活,防止海马神经元的退行性变性^[12]。因此,FGF 被认为是一种潜在的神经营养因子。

二、SCs 相关的细胞外基质和细胞粘着分子对中枢神经突起生长的支持和引导作用

在神经发育和再生过程中,神经轴突的延

长和引导是其主要特征,其机制也是所关心的核心问题,因为轴突与靶组织的连接是功能恢复的决定性因素。在周围神经的发育过程中,SCs对其轴突的生长起引导作用。Keynes观察到,在鸡胚发育过程中,SCs位于肢体运动神经轴突前端至少100 μm ,SCs在轴突之前侵入肌管,从而引导轴突进入肢体,如果缺乏SCs,轴突不能侵入肢体。切断小鼠坐骨神经,其近侧端注入丝裂霉素C抑制SCs分裂,并不影响轴突再生到有SCs的远侧端,若将远侧端反复冻融消除其中的细胞成份,则轴突的再生能力明显减弱。因此SCs在周围神经发育和再生中所处的地位可能是“领导者”而不是“随从者”^[13]。体外培养条件下能直接观察到SCs对中枢神经突起生长的支持和促进作用,鸡胚视网膜神经节细胞在SCs表面的生长速度每天超过500 μm ,而在成纤维细胞表面则几乎无突起生长。同样,SCs也能支持脊髓、小脑、海马等神经突起的生长^[14]。SCs促进神经突起生长的机制除了前述的营养作用外还与其能为轴突的生长提供一些特殊的物质有关,如细胞外基质成分(Extracellular matrix, ECM)和细胞粘着分子(Cell adhesion molecules, CAM)等。

ECM是指沉积于细胞间的大分子物质,主要成份包括:层粘连蛋白(Laminin, LN)、纤连蛋白(Fibronectin, FN)、IV型胶原、V型胶原、硫酸肝素糖蛋白等。在周围神经,包绕轴突的SCs外有一层富含ECM的膜称基底膜,其主要成分由SCs产生。当周围神经受损时,轴突变性,而基底膜保持完整,为轴突再生提供通道,同时基底膜本身对轴突的生长亦有引导作用。体外研究表明SCs来源的ECM能支持颈上神经节、背根神经节、大脑皮层、嗅球等神经突起的生长^[15]。ECM成份都有不同程度支持和促进轴突生长的能力,其中以LN尤为重要,因此研究较多。LN在周围神经再生中的作用已得到公认,对中枢神经轴突生长的促进作用也引起人们的高度重视。体外培养研究中,将纯化的LN涂于培养皿,接种胚

胎脊髓、海马、纹状体等,定量研究结果表明,LN对神经突起的生长有明显的刺激作用。胚胎基底前脑组织分别接种在胶原和LN表面,比较神经突起生长的长度和速度,后者显著高于前者。最近有报道LN促进多巴胺神经元的发育和突起生长^[16]。由于CNS只在发育的早期含丰富的ECM,而在成年则非常稀疏,因此CNS再生困难也可能与其缺少ECM有一定关系。

Fallon^[14]在比较胶质细胞(SCs和星形胶质细胞)与非神经性细胞(成纤维细胞)对CNS突起生长的作用时发现,只有胶质细胞对神经突起具有亲和性,这是由于胶质细胞表面的某种特殊分子在发挥作用。研究表明,细胞表面的这种分子属于糖蛋白-CAM,分子量为50—280 KD,主要生理功能是影响细胞间的粘着。CAM的种类较多,神经系统中被发现的CAM主要有:神经细胞粘着分子(N-CAM)、神经胶质细胞粘附分子(Ng-CAM)、髓鞘相关糖蛋白、周围髓鞘蛋白(Po)、L1、L2、J1等。体内外的研究发现,SCs能表达数种CAM,如N-CAM、Ng-CAM、Po、L1、L2、J1等,尤其是当周围神经受损和再生时,其表达量大大增加^[17],与SCs产生的ECM和神经营养因子起协同作用促进轴突再生。体外研究证实CAM在神经突起生长过程中发挥重要作用,胚胎视网膜神经节细胞突起在SCs表面生长较快,若向培养液中加入抗L1抗体,高达90%的突起生长受抑制,且抑制呈剂量依赖性。L1分子与ECM的成分如LN、FN在分布上不同,后者在神经纤维丰富的区域仅微弱表达,而前者亲和性地蓄积在轴突和胶质细胞表面,因此L1在调节中枢轴突生长过程中的作用可能比ECM更有意义。Bixby^[18]提出SCs促进神经突起生长机制的假说:SCs表面的CAM(L1等)与轴突生长锥表面相应的同样分子亲和性地结合,另一方面SCs分泌的ECM(LN、FN以及其它尚未明确的分子)与生长锥表面的ECM受体结合,它们之间的相互作用改变生

长锥内细胞骨骼成份以及第二信使反应性变化,最终导致轴突生长延长。

三、SCs 移植对 CNS 再生的促进作用

周围神经和中枢神经轴突所处的微环境有很大区别,周围神经轴突由 SCs 包绕并形成髓鞘,同时其周围存在丰富的 ECM; 中枢神经的轴突由少突胶质细胞包卷并形成髓鞘,同时有星形胶质细胞和小胶质细胞构成其周围环境,ECM 稀少。周围神经受损后,SCs 分裂增殖,产生 ECM、CAM 以及神经营养因子,促进轴突再生,而中枢神经受损后,星形胶质细胞增殖,形成胶质瘢痕阻碍轴突再生,另外,少突胶质细胞产生抑制因子抑制轴突再生^[19]。由此可见,周围神经的微环境对再生有利,实验研究表明,通过移植周围神经能促进中枢神经再生,但周围神经的促进作用有赖于其中有活性 SCs 的存在^[20],意味着 SCs 在其再生过程中发挥核心作用。

由于移植一段周围神经,其中 SCs 的数量有限,远不能满足轴突再生时所需的营养物质和其它生物活性物质,人们自然联想到从坐骨神经中分离纯化 SCs 并加以浓缩,再将其移植于 CNS 以促进轴突再生。1985 年, Kromer^[21] 将培养的 SCs 移植于损伤的隔-海马通路,来自隔核的胆碱能纤维在术后 6 天长入移植体,随后越过损伤区进入海马。最近 Kromer 及其同事又进行了进一步的研究,损伤后不移植或仅移植胶原,轴突长入损伤区的距离短,维持时间也短,而接受 SCs 移植者,大量纤维长入损伤部位,术后 8 天,神经纤维越过损伤区进入海马,14 天后轴突支配齿状回分子层和门区。更有趣的是,如果延迟 6 天移植 SCs,轴突分枝更多,生长更快。Kromer 认为,SCs 促进再生的机制是 SCs 分泌神经营养物质延长隔区胆碱能神经元存活时间,提高轴突出芽数目,另外,SCs 作为一种导管样引导物引导轴突到达

相应的靶组织^[22]。上述实验中,作为移植体材料的成分复杂,包括 SCs、ECM 以及变性的神经突起等,究竟何种成份起关键作用尚难区分。Montero-Menei^[23] 将单纯的 SCs 悬液移植到损伤的隔-海马通路上,同样具有促进轴突再生的作用,同时用免疫组织化学方法检测到 SCs 表面 NGF 受体,说明移植的 SCs 处于有活性的功能状态,能为轴突再生提供适宜的环境。在成年大鼠脊髓,将 SCs 移植于损伤腔内 28 天,大量有髓和无髓轴突长入移植物中,同时诱导感觉和运动轴突出芽^[24-26]。另一方面,SCs 的移植还能减轻胶质瘢痕,缩小损伤腔^[27]。切断大鼠视神经后,仅 5% 的视网膜节细胞能存活 9 周,而移植 SCs 后,存活率增加 2-8 倍,而且 SCs 的作用比 NGF 更强,提示 SCs 除分泌 NGF 以外,还分泌其它类型的神经营养物质^[28]。Brook 在大鼠背侧丘脑和腹侧海马之间注射纯净的成年大鼠来源的 SCs,形成一条 4 mm 长的 SCs 通道,3 周后发现背侧丘脑的神经纤维长入腹侧海马^[29]。成年 SCs 引导神经纤维从脑的某一区域生长到另一区域,为临床应用 SCs 移植修复 CNS 损伤奠定了基础。

四、结束语

哺乳动物周围神经具有极强的再生能力,而中枢神经却再生困难,这是由于它们所处的微环境不同。周围神经的微环境对轴突再生有利而中枢神经微环境对再生不利,通过移植周围神经能促进中枢神经再生,其机制认为 SCs 在其中发挥关键作用。SCs 是周围神经的胶质细胞,过去一直认为它的功能是形成周围髓鞘,在神经冲动传导过程中发挥作用,但近年来发现 SCs 的功能非常活跃,主要包括:(1)分泌神经营养因子如 NGF、BDNF、CTNF、FGF 等,维持受损神经元的存活,为再生提供先决条件;(2)产生 ECM 和 CAM,为轴突再生提供良好的环境,同时支持和引导轴突再

生。实验表明, SCs对神经再生的促进作用是体内其它细胞无法比拟的, SCs能促进脊髓、视神经以及脑内神经轴突的再生, 另一方面, SCs可从自体获得, 用SCs进行移植给治疗脑和脊髓的损伤带来了新希望。尽管SCs移植离临床应用还有一段距离, 但前景广阔。最近有报道SCs作为神经营养因子基因的载体, Tuszynski^[30]将NGF基因导入培养的SCs内, 再将SCs移植大鼠脊髓, SCs在体内能稳定表达NGF并促进轴突再生。可以预料, 随着分子生物学的发展和应用, 人们可以将对神经再生有利的分子的基因导入SCs, 增强其功能, 进一步促进CNS再生并可望恢复其功能。

摘 要

雪旺氏细胞是周围神经系统的胶质细胞, 具有非常活跃的生理功能, 它能表达数种神经营养因子, 防止受损神经元胞体的死亡, 为轴突再生提供先决条件; SC分泌细胞外基质成分和细胞粘着分子, 为轴突提供良好的再生环境, 支持轴突再生并引导再生的轴突重新支配靶组织。离体实验表明, SCs本身及其分泌的生物活性物质能支持中枢神经突起的生长, 将SCs作为移植材料进行移植能促进视神经、脊髓、隔-海马通路等再生。由于雪旺氏细胞有可能从自体获得, 将为中枢神经损伤的修复开辟一条新途径。

参 考 文 献

- [1] Richardson PM. et al., 1980, *Nature.*, 284: 264—265.
- [2] Reynolds M et al., 1993, *Current Opinion Neurobiol.*, 3: 683—693.
- [3] Korsching S. 1993, *J Neurosci.*, 13: 2739—2748.
- [4] Heuman R et al., 1987, *J Cell Biol.*, 124: 1623—1631.
- [5] Taniuchi M et al., 1988, *J Neurosci.*, 8: 664—681.
- [6] Koliafsos VE et al., 1990, *J Neurosci.*, 10: 3801—3813.
- [7] Sendtner M et al., 1992, *Nature.* 360: 75—759.
- [8] Meyer M et al., 1992, *J Cell Biol.*, 119: 45—54.
- [9] Sendtner M et al., 1992, *J Cell Biol.*, 118: 139—148.
- [10] Gurney ME et al., 1992, *J Neurosci.*, 12: 3241—3247.
- [11] Neuberger TJ et al., 1993, *J Neurocytol.*, 22: 436—448.
- [12] Otto D. 1989, *J Neurosci Res.*, 22: 83—91.
- [13] Keynes R. J. et al., 1987, *TINS.*, 10: 137—139.
- [14] Fallon J. R. et al., 1985, *J Cell Biol.*, 100: 198—207.
- [15] Bunge M. B. 1989, *Dev Neurosci.*, 11: 348—360.
- [16] 陆璐等, 1992, *神经解剖学杂志*, 8: 42—45.
- [17] Martin R. et al., 1988, *J Cell Biol.*, 106: 1735—1747.
- [18] Bixby K. L. et al., 1988, *J Cell Biol.*, 107: 353—361.
- [19] Schwab M. E. 1990, *TINS.*, 13: 452—456.
- [20] Smith G. V. et al., 1988, *Exp Brain Res.*, 69: 2299—306.
- [21] Kromer L. F. et al., 1985, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 12: 6330—6334.
- [22] Neuberger T. J. et al., 1992, *J Comp Neurol.*, 315: 16—33.
- [23] Montero-Menei C. N. et al., 1992, *Brain Res.*, 570: 198—208.
- [24] Paino C. L. et al., 1991, *Exp Neurol.*, 114: 254—257.
- [25] Paino C. L. et al., 1994, *J Neurocytol.*, 23: 433—452.
- [26] Xu X. M. et al., 1993, *Soc Neurosci Abstr.*, 19: 681.
- [27] Martin D. et al., 1991, *Neurosci Lett.*, 124: 44—48.
- [28] Maffei L. et al., 1990, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 87: 1855—1859.
- [29] Brook G. A. et al., 1994, *Exp Neurol.*, 126: 31—43.
- [30] Tuszynski M. H. et al., 1994, *Soc Neurosci Abstr.*, 20: 10.