

步行中枢模式发生器的研究进展

Advances of central pattern generator for locomotor

叶超群, 孙天胜, 刘 智

(北京军区总医院骨科 100700 北京市东城区南门仓 5 号)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2012.12.12

中图分类号: R318.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2012)-12-1113-04

中枢模式发生器 (central pattern generator, CPG) 是一个概念性结构, 研究^[1,2]显示以步行训练为代表的康复措施促进脊髓损伤患者步行功能改善, 机制主要与损伤部位尾侧的步行 CPG 可塑性有关。然而, 目前对于步行 CPG 的解剖结构及可塑性机制并不完全清楚。笔者对步行 CPG 的研究进展综述如下。

1 步行 CPG 的概述

早在 1973 年, Forssberg 等^[3]提出脊椎动物节律性运动的一级中枢位于 CPG, CPG 是脊髓内的中间神经元回路, 具有独立于脊髓上输入而自激兴奋的特性。1980 年, 有研究^[4,5]发现, 新生猫在 T13 脊髓全横断 1~2d 后即可自发出现交互步态模式; 成年猫在 T13 脊髓横断后, 经过活动平板训练也能恢复一定程度的步行功能, 提示 CPG 可能在步行控制中起核心作用。随后, 一系列研究提示: 在哺乳动物, 控制步行活动的 CPG (步行 CPG) 位于脊髓的 L2、L3 节段, 在正常的步行控制中, 它依赖于来自脊髓上水平 (主要指脑干) 的下行运动指令的控制及协调^[6], 接受感觉反馈的调节^[1,6,7], 步行 CPG、脊髓上水平控制与感觉反馈三者共同构成步行活动的控制系统^[8]。

步行 CPG 框架假设 CPG 由兴奋性中间神经元和抑制性中间神经元偶联而成^[8,9], 兴奋性中间神经元兴奋同侧屈肌运动神经元, 同时通过抑制性中间神经元抑制同侧伸肌运动神经元及对侧肢体活动, 引起同侧屈肌活动, 产生同侧肢体的屈肌-伸肌的交替兴奋和同侧-对侧肢体间的协调。研究显示, 脊髓灰质联合内向两侧交叉分布的中间神经元是步行 CPG 的主要成分^[10]。在新生小鼠, 利用逆向标记和原位杂交技术发现交叉分布的中间神经元中, 甘氨酸能、 γ -氨基丁酸能和谷氨酸能神经元所占的比例相等, 还有一小部分同时兼有甘氨酸能和 γ -氨基丁酸能神经元特性; 它们混合分布于脊髓的 VII 和 VIII 板层^[10]。其中, 经

由谷氨酸介导的兴奋性突触传递不仅是激活步行 CPG 的关键^[11], 而且是步行 CPG 内最主要的兴奋性活动^[12], 尤其是离子型 N-甲基-D-天冬氨酸受体 (N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDA 受体) 和非 NMDA 受体系统, 可独立介导步行活动, NMDA 受体主要介导较长时间的、稳定的节律性步行活动信号, α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸受体 (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate receptor, AMPA 受体) 则介导高频率步行活动信号^[13]。经由甘氨酸和 γ -氨基丁酸介导的抑制性突触传递则是步行活动中肌肉协调的关键, 控制双侧肢体、各关节肌肉的时间和空间序列, 并对步行速度和节律稳定性进行调节^[14]。

感觉传入是步行 CPG 的必需组成部分^[15,16], 它们通过前馈和负反馈对运动和姿势进行调节。来自载荷感受器和髋部的感觉传入是 CPG 必不可少的两种反馈。与载荷相关的感觉传入来自下肢伸肌的交互输入或足底的机械感受器, 可能被整合到多突触脊髓反射途径, 使步行运动模式适应地面要求。如在站立相, 通过加强伸肌活动抑制迈步; 在站立相末, 通过反馈降低载荷, 启动迈步。髋部的感觉传入来自髋关节和其周围的肌肉, 作用是在步行过程中启动站立相到迈步相的转换。此外, 来自皮肤的感觉传入通过 CPG 使步伐适应不同的地面及障碍物。

在哺乳动物, 步行 CPG 接受中脑运动区以及起源于脑干的谷氨酸能、去甲肾上腺素能和 5-羟色胺 (5-Hydroxytryptamine, 5-HT) 能神经元的下行传导途径的控制和调节^[17]。已经证实: 起源于锥体旁区的 5-HT 能下行传导途径经由 5-HT(7) 和 5-HT(2A) 受体激活步行 CPG^[17], 但谷氨酸能和 5-HT 能下行传导途径在激活 CPG 中的关系及多巴胺和去甲肾上腺素能下行传导途径与 CPG 的作用并不清楚。

2 步行 CPG 的可塑性

新生猫在 T13 脊髓全横断 1~2d 后即可自发出现交互步态模式, 显示了步行 CPG 的自发性可塑性; 利用活动平板进行步行训练可使成年胸段脊髓损伤猫恢复一定程度的步行功能, 提示了步行 CPG 的训练依赖性可塑性。随

第一作者简介: 女 (1968-), 医学博士, 副主任医师, 研究方向: 脊髓损伤修复与康复

电话: (010) 66721209 E-mail: yechaoqun@sina.com.cn

通讯作者: 孙天胜 E-mail: suntiansheng@163.com

后,一系列研究显示:在胸段脊髓完全性横断损伤模型动物,各种步行训练(减重^[18]、机器辅助^[19])、硬膜外刺激^[20,21]等干预措施均能不同程度地改善后肢运动功能。近期研究表明,在胸段脊髓全横断大鼠,嗅鞘细胞或周围神经移植结合步行训练主要通过移植促进去甲肾上腺素能和 5-HT 能纤维再生跨过损伤部位延伸到脊髓腰段,步行训练进一步促进脊髓神经环路的可塑性来促进大鼠后肢运动功能恢复^[22,23]。进一步研究显示:在胸段脊髓全横断大鼠,再生的位于脊髓损伤部位尾侧的去甲肾上腺素能纤维并非来自网状脊髓束,而是来自周围神经,它们主要分布于腰段脊髓的胆碱能中间神经元和运动神经元周围,通过中间神经元和运动神经元促进大鼠后肢运动功能恢复^[24];为再生治疗促进位于损伤部位尾侧 CPG 的可塑性提供了直接的解剖学证据。

在不完全性脊髓损伤模型大鼠,尽管残存的来自脊髓上的下行纤维可自发重组形成新的神经回路,促进大鼠后肢运动功能自发性恢复^[25,26],但步行训练可进一步促进其后肢运动功能恢复^[26]。最新的对二次脊髓损伤模型猫的研究结果证实:即使在不完全性脊髓损伤,步行训练促进 CPG 的可塑性依然是动物后肢步行功能恢复的机制^[27]。将左侧 T10 或 T11 脊髓半横断猫分为步行训练组和对照组,步行组在脊髓半横断后利用活动平板进行集中的步行训练(5 次/周,30min/次,直至后肢运动功能恢复达平台期),对照组不进行训练;至少 3 周后,对两组大鼠 T13 或 L1 段脊髓(第一次损伤部位尾侧 2~3 个节段)进行完全横断性损伤,步行训练猫在第二次损伤后几小时内即可出现协调的后肢对称性交替步行,而未经过步行训练者则出现不对称步态模式;此时,开始对这组不对称步态模式猫进行集中的步行训练,也可使其逐步获得对称步态模式;提示无论在第一次脊髓半横断损伤还是在第二次脊髓全横断损伤后,步行训练均促使 CPG 发生了本质的变化,是导致动物后肢步行功能恢复的基础^[27]。进一步对二次脊髓损伤猫在不同速度步行训练时的运动学参数分析显示,CPG 在部分或完全失去脊髓上水平控制条件下反应不同,提示 CPG 可塑性的灵活性^[28]。在慢性不完全性脊髓损伤大鼠,丰富环境诱导的自发性步行训练可明显促进大鼠肢体间的协调、L1~L2 段脊髓腹外侧灰质 5-HT 能神经支配和脊髓祖细胞的分化,且肢体间运动的协调改善与 5-HT 能神经支配明显相关,为步行训练促进不完全性脊髓损伤大鼠 CPG 可塑性提供了解剖学证据^[29]。

在脊髓损伤患者,不同形式的步行训练(传统步行训练、减重步行训练、机器人辅助的步行训练)、功能性电刺激等方法均可使不同程度、类型和损伤水平的脊髓损伤患者步行功能出现不同程度的改善^[30-35],提示 CPG 依然是步行功能恢复的基础^[36,37],但来自脊髓上水平的下行控制更为复杂^[3]。电生理学证据表明:在正常人的一个步态周期中,脊髓腰骶膨大的头侧和尾侧运动神经元池分别在站立相和迈步相被激活,而在时相转换时,活动从一处转移至

另一处,呈现出步态周期中明显的腰骶膨大头尾侧自激摆动的特征——CPG 的特性;在不完全性脊髓损伤患者中也可见到与正常人相似的特征,不同的是,在站立相,腰骶膨大的头侧和尾侧运动神经元池同时激活,其波幅较正常人低;而完全性脊髓损伤患者则明显与正常人不同,出现更广泛的电静息或低波幅区域;无论是完全性还是不完全性脊髓损伤患者,时相转换时则出现包括颈、胸和腰段脊髓运动神经元池的广泛激活^[38]。最新研究显示,6 例完全性、7 例不完全性脊髓损伤患者和正常(8 例)对照组在分别接受股四头肌、腓绳肌或阔筋膜张肌振动干预时,产生相似的类似正常的步态模式,但脊髓损伤患者步态中反应强度较正常对照组弱^[39];不仅证实了步行 CPG 可塑性在脊髓损伤患者步行恢复过程中的作用^[36-37],而且说明明确的感觉输入能更有效地激活 CPG、增强其可塑性、产生更接近正常的步态模式;提示在脊髓损伤患者的康复训练中,应该采取更有针对性的措施改善感觉刺激的精确性,以进一步增强 CPG 可塑性、促进患者步行功能恢复。

与此同时,也有研究对 CPG 可塑性的分子机制进行了探讨,如步行训练促进 CPG 可塑性涉及到神经营养因子的分泌^[40]、神经递质及其受体表达(谷氨酸脱羧酶-67, 5-HT 和去甲肾上腺素受体系统等)改变、伤后早期即刻基因(如 c-fos 和 nor-1)、肿瘤坏死因子 α 、一氧化氮合成酶、前强啡肽原的表达和分泌的改变等^[41]。

3 问题与展望

现有研究虽然对步行 CPG 的解剖结构、功能、可塑性进行了研究,获得了一定的认识,但仍存在很多问题:(1)步行 CPG 及运动控制框架是依据利用活动平板训练改善脊髓损伤模型动物的步行功能和应用药物模拟脊髓上输入改善去大脑模型动物后肢运动功能以及利用脊髓切片、脑切片应用电生理技术对细胞、离子水平的研究结果而提出的假设^[8,42,43],缺乏直接的解剖学证据,且 CPG 相关的神经递质及其受体介导的抑制性突触传递的确切作用还不清楚;尤其是很多对于 CPG 输出模式起关键作用的抑制性中间神经元性质不明;(2)有关步行 CPG 的可塑性研究主要集中在脊髓损伤动物后肢运动功能或脊髓损伤患者步行功能的改变及其分子机制的探索,因 CPG 的结构和功能并不完全清楚,无法用分子机制来解释功能改变^[44];(3)无论是各种形式的康复措施还是以细胞移植为核心的再生治疗,虽然可促进步行 CPG 可塑性及功能改善,但效果并不十分理想,原因可能与 CPG 的结构和功能并不完全清楚、各种干预措施无法针对最佳干预靶点有关。

造成上述问题的原因,除了神经回路本身的复杂性,主要与研究所采用的技术方法的局限性有关^[44]。电生理技术是目前分析神经回路最常用的方法,虽然从细胞外记录能从细胞间水平分析神经回路的活动,具有一定的时间和空间精确性,但不能确认细胞和突触的特性,且不能确认一些特异性细胞的神经活动;胞内或整个细胞记录虽然允

许详细探索个体、某些单细胞或突触的特性,但难以将这些特性归为神经回路水平。超微结构分析(系列扫描电镜)、微矩阵体层摄影结合荧光照相技术虽可分别描绘神经元的超微结构、突触联系以提供相对完整的神经回路解剖描述,但解剖结构不一定能正确地预测神经回路的功能和突触的效率。

最近,有研究利用光感基因调控技术成功地探析斑马鱼的 CPG 活动模式,发现新生斑马鱼脊髓内的单个谷氨酸能 KA 细胞是驱动 CPG 产生自发性运动的关键^[45];首次提供了 CPG 的主要组成成分及其与功能联系的解剖、生理学证据。由于光基因技术具有仅对神经回路中某一类型神经元和突触进行调控的空间特异性和时间上的精确性特点,利用该技术对特定神经回路的形成和功能进行探索,并通过对神经回路的调控、修复来治疗疾病已成为神经科学领域的最新进展。相信在不久的将来,利用光基因技术不仅能阐明 CPG 的解剖结构、功能特点及其可塑性机制,而且能为脊髓损伤的治疗开辟新的途径。

4 参考文献

- Edgerton VR, Kim SJ, Ichiyama RM, et al. Rehabilitative therapies after spinal cord injury[J]. *J Neurotrauma*, 2006, 23 (3-4): 560-570.
- van Hedel HJ, Dietz V. Rehabilitation of locomotion after spinal cord injury[J]. *Restor Neurol Neurosci*, 2010, 28(1): 123-134.
- Forssberg H, Grillner S. The locomotion of the acute spinal cat injected with clonidine i.v. [J]. *Brain Res*, 1973, 50(1): 184-186.
- Forssberg H, Grillner S, Halbertsma J. The locomotion of the low spinal cat (I): coordination within a hindlimb [J]. *Acta Physiol Scand*, 1980, 108(3): 269-281.
- Forssberg H, Grillner S, Halbertsma J, et al. The locomotion of the low spinal cat(II): Interlimb coordination[J]. *Acta Physiol Scand*, 1980, 108(3): 283-295.
- Frigon A, Rossignol S. Functional plasticity following spinal cord lesions[J]. *Prog Brain Res*, 2006, 157: 231-260.
- Rossignol S. Plasticity of connections underlying locomotor recovery after central and/or peripheral lesions in the adult mammals[J]. *Phil Trans R Soc B*, 2006, 361(1473): 1647-1671.
- Grillner S, Jessell TM. Measured motion: searching for simplicity in spinal locomotor networks[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2009, 19(6): 572-586.
- Grillner S, Kozlov A, Kotaleski JH. Integrative neuroscience: linking levels of analyses[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2005, 15 (5): 614-621.
- Restrepo CE, Lundfald L, Szabó G, et al. Transmitter-phenotypes of commissural interneurons in the lumbar spinal cord of newborn mice [J]. *J Comp Neurol*, 2009, 517 (2): 177-192.
- Häggglund M, Borgius L, Dougherty KJ, et al. Activation of groups of excitatory neurons in the mammalian spinal cord or hindbrain evokes locomotion[J]. *Nat Neurosci*, 2010, 13(2): 246-252.
- Kiehn O, Dougherty KJ, Häggglund M, et al. Probing spinal circuits controlling walking in mammals[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 396(1): 11-18.
- Talpal AE, Kiehn O. Glutamatergic mechanisms for speed control and network operation in the rodent locomotor CPG [J]. *Front Neural Circuits*, 2010 Aug 6;4. pii: 19.
- Nishimaru H, Kakizaki M. The role of inhibitory neurotransmission in locomotor circuits of the developing mammalian spinal cord[J]. *Acta Physiol*, 2009, 197(2): 83-97.
- Pearson KG. Common principles of motor control in vertebrates and invertebrates[J]. *Annu Rev Neurosci*, 1993, 16: 265-297.
- Van de Crommert HW, Mulder T, Duysens J. Neuroal control of locomotion: sensory control of the central pattern generator and its relation to treadmill training[J]. *Gait posture*, 1998, 7(3): 251-263.
- Jordan LM, Liu J, Hedlund PB, et al. Descending command systems for the initiation of locomotion in mammals[J]. *Brain Res Rev*, 2008, 57(1): 183-191.
- Ichiyama RM, Courtine G, Gerasimenko YP, et al. Step training reinforces specific spinal locomotor circuitry in adult spinal rats[J]. *J Neurosci*, 2008, 28(29): 7370-7375.
- de Leon RD, Acosta CN. Effect of robotic-assisted treadmill training and chronic quipazine treatment on hindlimb stepping in spinally transected rats[J]. *J Neurotrauma*, 2006, 23(7): 1147-1163.
- Lavrov I, Courtine G, Dy CJ, et al. Facilitation of stepping with epidural stimulation in spinal rats: role of sensory input[J]. *J Neurosci*, 2008, 28(31): 7774-7780.
- Lavrov I, Dy CJ, Fong AJ, et al. Epidural stimulation induced modulation of spinal locomotor networks in adult spinal rats[J]. *J Neurosci*, 2008, 28(23): 6022-6029.
- Kubasak MD, Jindrich DL, Zhong H, et al. OEG implantation and step training enhance hindlimb-stepping ability in adult spinal transected rats[J]. *Brain*, 2008, 131(Pt 1): 264-276.
- Lee YS, Zdunowski S, Edgerton VR, et al. Improvement of gait patterns in step-trained, complete spinal cord-transected rats treated with a peripheral nerve graft and acidic fibroblast growth factor[J]. *Exp Neurol*, 2010, 224(2): 429-437.
- Takeoka A, Kubasak MD, Zhong H, et al. Noradrenergic innervation of the rat spinal cord caudal to a complete spinal cord transection: effects of olfactory ensheathing glia [J]. *Exp Neurol*, 2010, 222(1): 59-69.
- Courtine G, Song B, Roy RR, et al. Recovery of supraspinal control of stepping via indirect propriospinal relay connections after spinal cord injury[J]. *Nat Med*, 2008, 14(1): 69-

- 74.
26. Heng C, de Leon RD. Treadmill training enhances the recovery of normal stepping patterns in spinal cord contused rats[J]. *Exp Neurol*, 2009, 216(1): 139-147.
27. Martinez M, Delivet-Mongrain H, Leblond H, et al. Recovery of hindlimb locomotion after incomplete spinal cord injury in the cat involves spontaneous compensatory changes within the spinal locomotor circuitry [J]. *J Neurophysiol*, 2011, 106(4): 1969-1984.
28. Martinez M, Delivet-Mongrain H, Leblond H, et al. Incomplete spinal cord injury promotes durable functional changes within the spinal locomotor circuitry [J]. *J Neurophysiol*, 2012, 108(1): 124-134.
29. Koopmans GC, Deumens R, Honig WM, et al. Functional recovery, serotonergic sprouting, and endogenous progenitor fates in response to delayed environmental enrichment after spinal cord injury[J]. *J Neurotrauma*, 2012, 29(3): 514-527.
30. Hicks AL, Adams MM, Ginis KM, et al. Long-term body-weight-supported treadmill training and subsequent follow-up in persons with chronic SCI: effects on functional walking ability and measures of subjective well-being[J]. *Spinal Cord*, 2005, 43(5): 291-298.
31. Maegele M, Müller S, Wernig A, et al. Recruitment of spinal motor pools during voluntary movements versus stepping after human spinal cord injury[J]. *J Neurotrauma*, 2002, 19(10): 1217-1229.
32. Dobkin B, Apple D, Barbeau H, et al. Weight-supported treadmill vs over-ground training for walking after acute incomplete SCI[J]. *Neurology*, 2006, 66(4): 484-493.
33. McDonald JW, Becker D, Sadowsky CL, et al. Late recovery following spinal cord injury: case report and review of the literature[J]. *J Neurosurg*, 2002, 97(Suppl 2): 252-265.
34. Effectiveness of automated locomotor training in patients with chronic incomplete spinal cord injury: a multicenter trial[J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 2005, 86(4): 672-680.
35. Leahy TE. Impact of a limited trial of walking training using body weight support and a treadmill on the gait characteristics of an individual with chronic, incomplete spinal cord injury[J]. *Physiother Theory Pract*, 2010, 26(7): 483-489.
36. Scivoletto G, Ivanenko Y, Morganti B, et al. Plasticity of spinal centers in spinal cord injury patients: new concepts for gait evaluation and training[J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2007, 21(4): 358-365.
37. Molinari M. Plasticity properties of CPG circuits in humans: impact on gait recovery[J]. *Brain Res Bull*, 2009, 78(1): 22-25.
38. Grasso R, Vanenko YPI, Zago M, et al. Distributed plasticity of locomotor pattern generators in SCI patients [J]. *Brain*, 2004, 127(Pt 5): 1019-1034.
39. Field-Fote E, Ness LL, Ionno M. Vibration elicits involuntary, step-like behavior in individuals with spinal cord injury[J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2012, 26(7): 861-869.
40. Cote MP, Azzam GA, Lemay MA, et al. Activity-dependent increase in neurotrophic factors is associated with an enhanced modulation of spinal reflexes after spinal cord injury [J]. *J Neurotrauma*, 2011, 28(2): 299-309.
41. Lapointe NP, Ung RV, Guertin PA. Plasticity in sublesionally located neurons following spinal cord injury[J]. *J Neurophysiol*, 2007, 98(5): 2497-2500.
42. Grillner S. Bridging the gap—from ion channels to networks and behaviour[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 1999, 9(6): 663-669.
43. Grillner S. The motor infrastructure: from ion channel to neuronal networks[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2003, 4(7): 573-586.
44. Parker D. Neuronal network analyses: premises, promises and uncertainties[J]. *Phil Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2010, 365(1551): 2315-2328.
45. Wyart C, Bene FD, Warp E, et al. Optogenetic dissection of a behavioral module in the vertebrate spinal cord[J]. *Nature*, 2009, 461(7262): 407-410.

(收稿日期:2012-03-28 末次修回日期:2012-07-19)

(本文编辑 李伟霞)