

## 星形胶质细胞在脊髓损伤中作用的研究进展

## Research progress on the role of astrocytes in spinal cord injury

王选康, 胡学昱, 王哲

(空军军医大学西京医院骨科 710032 西安市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2020.08.13

中图分类号: R683.2, R329.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2020)-08-0751-07

近年来 SCI 的发生率在我国乃至全世界呈明显上升趋势<sup>[1]</sup>。但 SCI 的修复是尚未解决的医学难题, 而神经轴突的再生是 SCI 后功能重建的重要基础。小胶质细胞的激活、星形胶质细胞(astrocyte, AS)的增殖活化和胶质瘢痕的形成是阻碍轴突再生的关键因素。AS 的增殖活化并分泌多种细胞外基质共同形成神经胶质瘢痕是抑制 SCI 修复的最主要障碍。因此, 了解 AS 的特性、活化机制及其在 SCI 中发挥的作用和调控策略对 SCI 的修复研究至关重要。笔者就近年来有关 AS 在 SCI 中作用的研究进行综述。

## 1 AS 简介

AS 在中枢神经系统 (central nerve systems, CNS) 中数量众多, 分布广泛, 与几乎所有的细胞结构均有相互作用<sup>[2]</sup>。AS 对于维持 CNS 的稳态十分重要<sup>[3]</sup>, 具有营养神经元, 调节神经递质、离子平衡, 控制血管张力, 维持血脑屏障, 参与神经网络信号传递的重要作用; 正常情况下 CNS 中 AS 分为静止态、活化态和增殖态, 三种状态的 AS 并存, 当 SCI 后静止态的细胞逐渐向活化态转化。根据损伤时间、严重程度以及相对于病变区的位置, AS 发生分子、形态和功能等一系列阶梯式强度变化, 最轻微改变是一些适度的分子和形态变化<sup>[4-5]</sup>, 例如开始上调神经胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP)、波形蛋白以及各种分泌因子 (蛋白聚糖、细胞因子等); 低强度刺激导致 AS 的胞体及细胞核变大, 诱导最低程度的 AS 增殖; 当受到中重度的损伤后, AS 的 GFAP 上调更明显, 胞体及细胞核过度肥大, 大量分泌细胞因子 [包括转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )、白细胞介素 1 $\beta$  (interleukin-1  $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 和白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)]<sup>[6]</sup>, AS 增生、重叠、迁移至病变部位并排列成围绕损伤区的神经胶质瘢痕, 与其他细胞 (包括成纤维细胞和少突胶质前体细胞等) 形成网状缠结以构成物理屏障, 并且分泌各种细胞因子, 参与以后的炎症和修复过程<sup>[6]</sup>。

## 2 AS 在 SCI 修复中的复杂性

AS 活化增殖对 SCI 修复可产生利弊两方面的效应, 胶质瘢痕的物理和分子性质可以限制毒性炎症的扩散, 但也可阻碍轴突的再生。因此了解活化 AS 在 SCI 中发挥的“双刃剑”作用, 对于促进 SCI 修复具有十分重要的意义。

## 2.1 AS 的有利作用

通常来说, SCI 后病变区域包含大量的炎性细胞, 其中以巨噬细胞为主, 它们会产生分泌炎症因子, 从而加剧组织损伤 (继发性损伤)。在 SCI 后的急性期, 病灶周围尚存的神经细胞会坏死或凋亡, AS 增生形成神经胶质瘢痕逐渐包围损伤区域, 防止坏死和凋亡细胞的扩散, 将炎症限制在病变区域<sup>[7]</sup>。有研究表明, 单纯的消除 AS 对 SCI 后的病理和恢复有严重的影响, 会极大地恶化病理损伤, 加剧炎症反应, 导致病变扩散和运动功能障碍。如在小鼠的挤压伤 SCI 模型中, 使用慢病毒介导的单纯疱疹胸苷激酶/更昔洛韦 (HSVtk/GCV) 系统来条件性降低反应性 AS 增生, 会阻碍神经胶质瘢痕形成, 并导致炎症细胞广泛浸润, 神经元损失增加, 组织变性严重, 最终导致自主性功能恢复失败<sup>[8]</sup>。

此外, AS 限制炎症扩散的能力与信号传导与活化转录因子 3 (signal transducers and activators of transcription 3, STAT3) 信号和亮氨酸拉链激酶 (LZK, MAP3K13) 关系密切。STAT-3 是一种转录因子, 可促进多种损伤后的细胞因子和营养因子的表达, 包括 IL-6、IL-10、TGF- $\alpha$  等, 从而表现抗炎特性; 通过敲除 AS 中 STAT-3 可以破坏瘢痕形成, 在未受损脊髓中, 敲除 STAT-3 后的 AS 仍具有典型的形态和密度, 但在 SCI 的小鼠模型中发现, AS 中 STAT-3 的条件性缺失阻碍了典型的瘢痕形成, 加剧炎症反应, 加重病变扩展和运动功能障碍, 也影响轴突再生<sup>[9]</sup>。STAT-3 信号通路受阻也可使活化的 AS 迁移受限, 进而引起广泛的炎性细胞渗出, 神经元破坏、脱髓鞘, 运动功能缺失<sup>[10]</sup>。LZK 是 MAPK 通路中 c-Jun N 端激酶 (JNK) 上游保守的促丝裂原活化蛋白激酶激酶 (MAPKKK), 传统上被认为是神经轴突生长的启动子。最近的研究表明 LZK 作为神经胶质瘢痕形成的重要正调节剂, 可以内在调节 SCI 后反应性 AS 的活化, 仅在 AS 中过表达 LZK 就足以使整个原本

第一作者简介: 男 (1996-), 在读硕士, 研究方向: 脊柱外科

电话: (029)84775290 E-mail: wangxuankang@fmmu.edu.cn

通讯作者: 王哲 E-mail: wangzhe@fmmu.edu.cn; 胡学昱 E-mail: huxueyu@fmmu.edu.cn

不受干扰的 CNS 引起广泛的星形胶质沉着;相反,AS 中诱导 LZK 基因缺失会影响损伤后胶质沉着和瘢痕形成,从而导致 SCI 后病变面积增大<sup>[1]</sup>。除 STAT-3 和 LZK 信号外,利用基因敲除方法还鉴定出抑制 AS 中 TGF- $\beta$ /Smad、Toll 样受体(Toll-like receptors,TLR) 和 JNK/c-Jun 信号通路同样可以减少抑制性瘢痕的形成,影响轴突的生长和运动功能的恢复<sup>[12]</sup>。

## 2.2 AS 的不利作用

虽然瘢痕的物理和分子性质限制了损伤区炎症的扩散,但密集堆积的 AS 所形成的物理屏障也阻碍了神经轴突再生。损伤引起细胞外基质(ECM)中支架的破坏,会使组织软化并导致轴突再生失败<sup>[13]</sup>。早期的体外研究表明,反应性 AS 空间上相互缠结,并分泌硫酸软骨素蛋白聚糖(CSPG)等一大类蛋白聚糖以及被称为肌腱蛋白(tenascins)的细胞外蛋白,局部抑制神经轴突的生长,在 SCI 后的 24h 内,CSPG 沉积到细胞外基质中,并在之后的数个月内一直保留在损伤区域附近,发挥抑制作用<sup>[14]</sup>。CSPG 也可间接激活神经元中的 EGFR 受体来抑制轴突生长,反应性 AS 还通过激活小胶质细胞进一步加重对少突胶质前体细胞损害<sup>[15]</sup>。

但如上所述,单纯消除 AS 增生对 SCI 修复无益甚至加重损伤,如何深入理解并调控损伤区参与的各种细胞类型和表型、各种结构、各种分子在不同阶段发挥的双向性作用,可能才是研究治疗策略的重点。

## 3 治疗策略

鉴于 AS 在 SCI 中表现出的多面性和复杂性,治疗策略需要针对其有害方面,同时保留其有益特性,但是不能简单地将 AS 的作用归为“有利”或者“有害”。因此,近年来的研究者更精准地聚焦于开发靶向 CSPG 的酶促策略,调控 SCI 后 AS 的活化,减轻继发性损伤中 AS 参与的氧化应激和炎症反应,探索 AS 参与的细胞移植和基因疗法,发现或者重新定义化学药物、物理疗法的作用机制,在分子层面寻找新的治疗靶标,发掘 AS 更多的可能性,为 SCI 的修复拓宽渠道。

### 3.1 靶向 CSPG 的酶促策略

已有研究表明,使用抗体抑制 CSPG 可以改善体内神经胶质瘢痕上的神经轴突生长<sup>[16]</sup>。CSPG 由具有连接的糖胺聚糖(GAG)侧链的蛋白质核心组成,去除 GAG 侧链,可以降低 CSPG 的抑制活性,改善 SCI 后的功能,例如木糖基转移酶-1(xylosyltransferase-1)可以催化 GAG 添加到 CSPG 核心蛋白,是 CS-GAG 生物合成至关重要的酶,通过敲除该酶的 mRNA,可以改善 SCI 后的功能恢复<sup>[16]</sup>。另一种靶向消除 CSPG 抑制作用的酶促策略是通过哺乳动物硫酸芳基硫酸酯酶 B(ARSB)来实现的,ARSB 能够从 CS-GAG 中特定的去除 C4S 部分。有研究显示原位一次性注射给药 ARSB 可促进小鼠 SCI 后轴突芽生的增加和运动功能的恢复<sup>[17]</sup>。另外一项研究则证实可通过操纵受体

PTP $\sigma$  来调节 CSPG 受体信号治疗 SCI。PTP $\sigma$  的活性通过保守的“楔形”结构来调节,该结构可能会占据催化结构域,从而降低磷酸化活性和向下游发出信号的能力,而使用这种楔形物的模拟物可减少 CSPG 活化后的 PTP $\sigma$  信号传导,有利于恢复 SCI 大鼠的运动能力和膀胱功能<sup>[18]</sup>。

软骨素酶(ChABC)是来自寻常变形杆菌的一种裂解酶,最初是由 Yamagata 等<sup>[19]</sup>于 1968 年从普通变形杆菌中纯化得到的。2002 年 Bradbury 等<sup>[20]</sup>首次报道了 ChABC 对 SCI 的治疗作用,ChABC 可以去除 GAG,改善轴突的再生、轴突的功能性再接和感觉运动功能的恢复。这项开创性的研究使 ChABC 作为治疗 SCI 的一项重要手段而成为热点,已被广泛用作促进 SCI 后修复的重要干预策略<sup>[21-25]</sup>。酶能够降解抑制神经再生的分子,破坏富含这些分子的结构(神经周围神经网络等),促进新的神经连接的建立,从而达到符合期望的治疗效果。直到今天,仍有大量工作聚焦于 ChABC。随后的研究表明,ChABC 促进各种轴突系统的可塑性,包括初级传入神经和源自脑干核的下行轴突;ChABC 还影响非神经元的反应,减少了病变的大小,并导致病变区域巨噬细胞具有较小的破坏性抗炎表型;ChABC 缓解了 CSPG 对少突胶质前体细胞募集和形态分化的依赖性抑制;在 SCI 的后期,将 ChABC 与周围神经移植物和生长因子或其他疗法结合使用可增加 SCI 后轴突的可塑性和恢复<sup>[15]</sup>。最近研究人员开发出了一种酶传递的基因治疗方法,将 ChABC 基因转入宿主细胞并表达,可导致大量 CS-GAG 被消融清除,小鼠挫伤性 SCI 后组织病理改变减轻,功能恢复改善<sup>[26]</sup>。此外,通过病毒载体递送 ChABC 实现的 CSPG 调节可以促进巨噬细胞向 M2 极化状态(促分解)的转化<sup>[27]</sup>,并加强 IL-10 启动的抗炎性反应<sup>[28]</sup>,这很可能是减轻病理结果的基础之一。在 SCI 后 7 周的小鼠模型中移植神经干细胞(由多能干细胞衍生)之前,长期应用 ChABC 可以减少慢性损伤瘢痕,增加移植存活率,并改善肢体功能<sup>[29]</sup>。

迄今为止,ChABC 与几乎所有测试过的疗法均具有协同作用,但 ChABC 的药物安全性问题、成本问题、治疗窗口选择和如何经济有效地搭建药物递送载体一直阻碍着 ChABC 的临床应用,相信未来仍有大量研究致力于此,逐步解决目前存在的一些短板。

### 3.2 直接调控 AS 的活化过程

2017 年,Liddelow 等<sup>[30]</sup>首次提出反应性 AS 根据其表型不同可分为 A1 型 AS(A1s)和 A2 型 AS(A2s),类似于炎症反应中小胶质细胞/巨噬细胞的“M1/M2”分型,A1s 由神经炎症中的小胶质细胞诱导活化,以 C3 为表面标记物,体内外激活的小胶质细胞通过分泌 IL-1 $\alpha$ 、TNF $\alpha$  和 C1q 来诱导 A1s 的活化;A2s 在神经缺血模型中上调,以 S100A10 为表面标志物。随后的研究表明,在阿尔茨海默氏病、亨廷顿氏病、帕金森氏病、间质性侧索硬化症和多发性硬化症中,A1s 的出现与病程密切相关;A1s 可以上调与神经元和突触变性的相关基因表达,具有有害的促炎性作

用;而 A2s 则通过促进神经营养因子和抗炎因子的分泌,发挥有利的神经保护作用<sup>[31-33]</sup>。

随后,Liu 等<sup>[34]</sup>发现骨髓间充质干细胞衍生的外泌体可以通过抑制 A1s 的活化来修复创伤性 SCI,在大鼠 T10 平面撞击 SCI 模型中,损伤后第一天使用外泌体的治疗组 A1s 比对照组显著减少。Wang 等<sup>[35]</sup>进一步指出外泌体可能是通过抑制核转录因子(nuclear transcription factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)信号通路从而减少 SCI 诱导产生的 A1s,并在损伤后发挥抗炎和神经保护作用。Qian 等<sup>[36]</sup>则证明了 SCI 后 A1s 的出现及其神经毒性受到 Notch-Stat3 信号通路的影响。此外,Vismara 等<sup>[37]</sup>通过纳米载体输送抗炎药物 Rolipram,在体内外均可以降低 A1s 释放的诱导型一氧化氮合酶(induced nitrogen oxide synthase,iNOS)和脂质运载蛋白 2(lipocalin,Lcn 2)等炎症因子,限制 A1s 的炎症反应,有效减少损伤区的 AS 沉积,进而逆转对运动神经元的毒性作用,改善 SCI 后运动性能的恢复。

近年来,miRNA 被认为是参与 CNS 损伤发病机理的因素之一,具有调节多种生物学功能的内在特性,而 miR-21 被视作 AS 活化的开关<sup>[38]</sup>。miR-21 通过 TGF- $\beta$  介导的 PI3K/Akt/mTOR 途径调节 AS 的分泌、增殖和凋亡沉默。miR-21 可以诱导 A1 型转化为 A2 型,促进突触形成和神经轴突生长<sup>[39]</sup>,同样 miR-219/miR-338 也可以抑制 AS 的活化<sup>[40]</sup>。因此若能直接调控反应性 AS 的活化状态,减少 A1s 的活化及其神经毒性作用,可能会有效应对胶质沉着,促进修复环境,抵消继发性损伤的进展。

大型肿瘤抑制激酶 1(LATS1)是一种丝/苏氨酸激酶,作为细胞周期进程的关键调节剂,研究发现 LATS1 过表达能够抑制 AS 增殖,反之,通过 siRNA 消耗 LATS1 则促进了 AS 细胞增殖;该作用可能是通过调节 cyclin D1, p27kip1 和 p-YAP 的表达来实现的<sup>[41]</sup>。另一项研究结果显示,在小鼠 SCI 模型中鞘内施用 TLR9 拮抗剂寡聚脱氧核苷酸 2088(ODN 2088)可以通过阻止激活 Erk/MAPK 信号通路,减少损伤区域 60% 的 AS 增殖数量;ODN 2088 在体外刮伤试验中可以减缓 AS 的迁移,能够影响胶质瘢痕形成,并在损伤周围形成利于轴突保护的环境,以改善 SCI 的功能和组织病理学结果<sup>[42]</sup>。而 ONO-2506 则可通过抑制 AS 产生 S100B 来干扰其活化,减轻 SCI 后的继发性损伤以改善运动功能<sup>[43]</sup>。

这些研究结果提示,从不同角度调控 AS 的活化过程,例如下调 AS 活化的关键基因表达,利用药物或者抑制剂对其信号通路的激活,降低 AS 的增殖、迁移及胶质沉着,利用 siRNA 或者 miRNA 阻碍 AS 向 A1s 活化,减轻其神经毒性作用,将成为 SCI 有希望的治疗靶点。

### 3.3 减轻 AS 参与的氧化应激和炎症反应

SCI 后损伤区会产生大量细胞碎片并释放出细胞内蛋白质,被称为损害相关分子模式(DAMP),继而发挥强大的炎症刺激作用。DAMP 与炎性细胞表面模式识别受体(PRR)结合在一起,引起包括 AS 和小胶质细胞在内的常

驻炎症细胞通过 DAMP 和 PRR 介导的途径快速活化。反应性 AS 和小胶质细胞释放多种氧化应激调节剂,细胞因子、趋化因子、生长因子和其他炎症介质<sup>[44]</sup>,例如反应性 AS 分泌 Lcn2,可以延长损伤后的炎症反应。利用 siRNA 下调 Lcn2 的基因表达,可有效抑制 AS 参与的持续性炎症反应<sup>[45]</sup>。此外,含溴结构域和末端区域外的蛋白质(BETs: Brd2, Brd3, Brd4, BrdT)是表观遗传阅读器(epigenetic readers),可以结合乙酰化组蛋白增强促炎基因的转录,抑制其功能已经在类风湿性关节炎和冠状动脉疾病等动物模型中显示出抗炎作用;BETs 可以抑制 SCI 后以 AS 为主的活化细胞群的促炎信号表达,降低了损伤区反应性 AS 的沉着,而应用 BET 抑制剂 JQ1 则削弱该能力;但是,BET 并不能促进运动功能的改善或减少脊髓空洞的面积,需要进一步研究 BET 在 SCI 修复中发挥的抗炎作用<sup>[46]</sup>。TREM1(triggering receptor expressed on myeloid cells 1)可以增强各种疾病模型中的炎症反应,但在 SCI 中的意义最近才被揭示,在 TREM1 基因敲除的小鼠受损脊髓组织中发现 GFAP 和炎性标志物表达下降,运动功能恢复更好<sup>[47]</sup>。体外利用 siRNA 转染 AS 以降低 TREM1 的表达,发现 AS 活化降低,炎症和氧化应激反应减弱。炎症和氧化应激导致的神经元凋亡是 SCI 继发性损伤的主要因素,因此必须通过控制炎症和氧化应激来改善 SCI,虽然大量研究集中于小胶质细胞/巨噬细胞,但 AS 在炎症反应中的重要作用同样不容小觑。

近年来发表的减轻 AS 参与炎症反应的新发现有很多,除在基因和蛋白质分子层面调控炎症反应过程中的靶点外,也有很多关于药物药理机制的研究探索。Mulberrin(Mul)是一种有效的酪氨酸酶抑制剂,具有抗炎、抗氧化应激和抗凋亡的作用。研究显示,Mul 通过上调 HO-1/Nrf-2 通路抑制 SCI 中的炎症反应,利用 Mul 治疗 SCI 大鼠,其运动功能恢复增强,组织学也显示出凋亡和炎症减轻;SCI 后,脊髓组织中 miR-337 高表达,同样在 LPS 刺激的 AS 也具有较高 miR-337 表达;在体外,用 miR-337 抑制剂转染的 AS 在 LPS 处理后,相对于对照组显示出较弱的炎症、细胞凋亡和氧化应激<sup>[48]</sup>。褪黑激素(MT)对 SCI 后的 AS 的作用研究表明,MT 治疗可下调炎性标志物 iNOS、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  的表达,上调抗炎标志物超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase,SOD)、过氧化氢酶(catalase,CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GSH-Px)的含量,与对照组相比,MT 治疗组表现出更高的后肢运动功能评分(Basso mouse scale,BMS)<sup>[49]</sup>。

无论是 Mul 还是 MT,均可以下调炎性标志物,减轻炎症反应,促进运动功能的恢复,提示 AS 在 SCI 后炎症和氧化应激反应中起着重要作用,但是 AS 作为非传统意义上的炎症细胞,其在 SCI 中的角色地位和深层机制还有待进一步研究。抗炎药物在 SCI 治疗中的地位不可替代,尤其是在临床转化方面更具前景。

### 3.4 AS 参与的细胞移植和基因疗法



细胞移植可以替代受损细胞并促进神经保护和神经再生修复。在过去的 20 年中,来自各种动物模型的大量证据表明,与移植细胞协同作用的反应性 AS 可能以多种方式帮助损伤修复,包括神经保护和轴突生长<sup>[50]</sup>。AS 与移植细胞协调合作,有助于创造一个利于移植细胞存活和分化以及各种功能的发挥的环境。最近报道一种神经元支持平台,由包裹在生物凝胶微纤维中的 AS 组成,3D 超细纤维基质可促进内部的 AS 直接感知神经元状况,全面支持神经元的存活、生长和体内稳态,以及促进神经突触和网络形成,减轻微环境中的毒性作用,加速神经轴突的生长以及增强突触的形成<sup>[51]</sup>。反应性 AS 功能的调节可能代表了一种非常有吸引力的新疗法,可以增强 SCI 患者的功能预后。

AS 去分化重新形成神经干细胞(NSCs),进而分化成神经元等其他类型的细胞,可能具有治疗 CNS 创伤和退行性疾病的光明前景。NSCs 只存在于哺乳动物大脑的特定区域,例如海马中的齿状回(DG)和脑室下区域(SVZ)。成年 NSC 通常长时间停留在细胞周期之外,重新激活静止的成年 NSC 需要特定的外部刺激,还涉及转录因子、信号转导等途径,存在应用上的局限性。因此,研究人员开发出由体细胞转化的诱导型神经干细胞(induced neural stem cells, iNSCs)用于治疗 CNS 疾病<sup>[52]</sup>。很多研究显示性别决定区 Y 框蛋白 2(SOX2)和锌指蛋白 521(Zfp521)等转录因子可以将成年小鼠脑源性 AS 转化为 iNSCs<sup>[53,54]</sup>,与 Sox2 相比,Zfp521-iNSCs 表现出更长期的自我更新能力和多能性;在成年大鼠的 SCI 中,Zfp521 可以将驻留的 AS 通过祖细胞阶段重编程为神经元,改善了大鼠的运动功能,另外运动诱发电位记录也证明了脊髓的功能完整性。AS 重编程可以被视为在体内治疗神经损伤的新的疗法。

此外,将目的基因导入细胞的基因疗法也显示出强大的生命力。传统上在 CNS 中导入基因主要以神经元为主,但是近年来考虑到 AS 在 SCI 中发挥持久而重要的作用,靶向 AS 的基因导入可能显示出潜在的治疗优势。腺相关病毒(AAV)载体是一种将基因导入神经元或胶质细胞的系统,在许多神经退行性疾病中发挥作用。目前不少研究关注于筛选 SCI 后向神经元和胶质细胞基因转移的最佳载体,AAV 具有不同的血清型,与 AAV9 和 AAVRec2 相比,AAV5 有更高的转导效率,更利于基因在 AS 中的表达<sup>[55]</sup>。鉴于 AS 在发病机制中起关键作用,通过将合适的血清型与启动子结合来改变 AAV 载体特异性的能力意味着有可能扩大 AAV 载体在 SCI 治疗中的潜在用途。

### 3.5 关于 AS 新的发现

最近的一项研究显示啮齿动物在 SCI 后,脑型脂肪酸结合蛋白 7(FABP7)主要在增殖性 AS 中上调,而敲除 FABP7 的小鼠运动功能恢复明显低于野生型小鼠<sup>[56]</sup>。此研究揭示了 FABP7 可以调节 SCI 后的 AS 而具有神经保护作用的可能性。骨形态发生蛋白 4(BMP4)是神经发育中的关键因素之一,Hart 等<sup>[57]</sup>在大鼠 SCI 模型中上调 BMP4

后发现,反应性 AS 中 CSPGs 的产生增加,少突胶质细胞的分化成熟受到抑制,结果表明 BMP4 可以改善内源性细胞反应,也是潜在的 SCI 治疗靶点。此外,凋亡信号调节激酶 1(ASK1)也可能在 SCI 后神经胶质沉着中起关键作用。在 AS 中,ASK1 水平降低会下调 SCI 后 p38 通路的活性和 GFAP 转录物的转录因子水平;在 SCI 后期,ASK1 的耗竭减少了神经胶质瘢痕的形成,并保护了神经元结构和功能,这可能导致更好的功能恢复<sup>[58]</sup>。另外有一些研究从其他热点角度来审视 SCI 中的 AS。自噬方面的研究显示,在 SCI 小鼠中诱导 AS 自噬通量可增强神经元的活力并减少神经元的凋亡,相反,抑制 AS 自噬通量会降低神经元的活力并增加神经元的凋亡<sup>[59]</sup>;代谢方面的研究表明,AKR1B1(参与葡萄糖能量代谢的醛酮还原酶)在大鼠 SCI 后表达上调,通过调节能量代谢促进 AS 的增殖,有助于神经元存活<sup>[60]</sup>;物理治疗方面的研究发现,光生物调节(PBM)可降低 AS 的活化,抑制星形细胞标志物 GFAP 的表达,下调 CSPG 的分泌,更好的恢复运动功能<sup>[61]</sup>。此外,反应性 AS 还可以通过释放外泌体来发挥 SCI 后神经保护性和轴突可塑性的作用<sup>[62]</sup>。

## 4 总结与展望

AS 在 SCI 修复过程中扮演着重要角色,AS 参与形成的胶质瘢痕限制了神经毒性成分的扩散,但也影响了轴突的可塑性。AS 与其他细胞相互作用共同参与了 SCI 的损伤和修复的全过程,忽略神经元、巨噬细胞、小胶质细胞、少突胶质细胞、周细胞、血管内皮细胞等发挥的作用来单独分析 AS 是毫无意义的。因此应考虑到时间性和空间性,整体分析神经细胞和非神经细胞间的相互作用,可能更有助于深刻理解 SCI 的复杂机制。未来对 SCI 中 AS 的研究重点应放在调控 SCI 后 AS 的活化状态,减少 A1s 的神经毒性作用影响,更多地探索具有保护和修复功能的 A2s;减轻 SCI 后的氧化应激和炎症反应,开发新的治疗 SCI 的药物;优化细胞移植和基因疗法,开发调节修复微环境并支持轴突生长的可植入性生物材料;发现或重新定义 SCI 治疗新的靶标。考虑到改善 SCI 后修复的复杂性和挑战性,通过组合的方法可能使 SCI 修复取得更好的效果。

## 5 参考文献

1. GBD Traumatic Brain Injury And Spinal Cord Injury Collaborators. Global, regional, and national burden of traumatic brain injury and spinal cord injury, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 [J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(1): 56–87.
2. Herculano-Houzel S. The glia/neuron ratio: how it varies uniformly across brain structures and species and what that means for brain physiology and evolution[J]. *Glia*, 2014, 62(9): 1377–1391.
3. Liddelow SA, Barres BA. Reactive astrocytes: production,

- function, and therapeutic potential[J]. *Immunity*, 2017, 46(6): 957–967.
4. Okada S, Hara M, Kobayakawa K, et al. Astrocyte reactivity and astrogliosis after spinal cord injury [J]. *Neurosci Res*, 2018, 126: 39–43.
  5. Pekny M, Pekna M, Messing A, et al. Astrocytes: a central element in neurological diseases[J]. *Acta Neuropathol*, 2016, 131(3): 323–345.
  6. Cregg JM, DePaul MA, Filous AR, et al. Functional regeneration beyond the glial scar[J]. *Exp Neurol*, 2014, 253: 197–207.
  7. Bush TG, Puvanachandra N, Horner CH, et al. Leukocyte infiltration, neuronal degeneration, and neurite outgrowth after ablation of scar-forming, reactive astrocytes in adult transgenic mice[J]. *Neuron*, 1999, 23(2): 297–308.
  8. Faulkner JR, Herrmann JE, Woo MJ, et al. Reactive astrocytes protect tissue and preserve function after spinal cord injury[J]. *J Neurosci*, 2004, 24(9): 2143–2155.
  9. Herrmann JE, Imura T, Song B, et al. STAT3 is a critical regulator of astrogliosis and scar formation after spinal cord injury[J]. *J Neurosci*, 2008, 28(28): 7231–7243.
  10. Sriram K, Benkovic SA, Hebert MA, et al. Induction of gp130-related cytokines and activation of JAK2/STAT3 pathway in astrocytes precedes up-regulation of glial fibrillary acidic protein in the 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine model of neurodegeneration: key signaling pathway for astrogliosis in vivo[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(19): 19936–19947.
  11. Chen M, Geoffroy CG, Meves JM, et al. Leucine zipper-bearing kinase is a critical regulator of astrocyte reactivity in the adult mammalian CNS[J]. *Cell Rep*, 2018, 22(13): 3587–3597.
  12. Tran AP, Warren PM, Silver J. The biology of regeneration failure and success after spinal cord injury[J]. *Physiol Rev*, 2018, 98(2): 881–917.
  13. Moeendarbary E, Weber IP, Sheridan GK, et al. The soft mechanical signature of glial scars in the central nervous system[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14787.
  14. McKeon RJ, Schreiber RC, Rudge JS, et al. Reduction of neurite outgrowth in a model of glial scarring following CNS injury is correlated with the expression of inhibitory molecules on reactive astrocytes[J]. *J Neurosci*, 1991, 11(11): 3398–3411.
  15. Gaudet AD, Fonken LK. Glial cells shape pathology and repair after spinal cord injury[J]. *Neurotherapeutics*, 2018, 15(3): 554–577.
  16. Grimpe B, Silver J. A novel DNA enzyme reduces glycosaminoglycan chains in the glial scar and allows microtransplanted dorsal root ganglia axons to regenerate beyond lesions in the spinal cord[J]. *J Neurosci*, 2004, 24(6): 1393–1397.
  17. Yoo M, Khaled M, Gibbs KM, et al. Arylsulfatase B improves locomotor function after mouse spinal cord injury [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e57415.
  18. Lang BT, Cregg JM, DePaul MA, et al. Modulation of the proteoglycan receptor PTP $\sigma$  promotes recovery after spinal cord injury[J]. *Nature*, 2015, 518(7539): 404–408.
  19. Yamagata T, Saito H, Habuchi O, et al. Purification and properties of bacterial chondroitinases and chondrosulfatases [J]. *J Biol Chem*, 1968, 243(7): 1523–1535.
  20. Bradbury EJ, Moon LD, Popat RJ, et al. Chondroitinase ABC promotes functional recovery after spinal cord injury[J]. *Nature*, 2002, 416(6881): 636–640.
  21. García-Alías G, Barkhuysen S, Buckle M, et al. Chondroitinase ABC treatment opens a window of opportunity for task-specific rehabilitation[J]. *Nat Neurosci*, 2009, 12(9): 1145–1151.
  22. Tester NJ, Howland DR. Chondroitinase ABC improves basic and skilled locomotion in spinal cord injured cats [J]. *Exp Neurol*, 2008, 209(2): 483–496.
  23. Yick LW, Wu W, So KF, et al. Chondroitinase ABC promotes axonal regeneration of Clarke's neurons after spinal cord injury[J]. *Neuroreport*, 2000, 11(5): 1063–1067.
  24. Zuo J, Neubauer D, Dyess K, et al. Degradation of chondroitin sulfate proteoglycan enhances the neurite-promoting potential of spinal cord tissue[J]. *Exp Neurol*, 1998, 154(2): 654–662.
  25. Muir E, De Winter F, Verhaagen J, et al. Recent advances in the therapeutic uses of chondroitinase ABC[J]. *Exp Neurol*, 2019, 321: 113032.
  26. Burnside ER, De Winter F, Didangelos A, et al. Immune-evasive gene switch enables regulated delivery of chondroitinase after spinal cord injury[J]. *Brain*, 2018, 141(8): 2362–2381.
  27. Bartus K, James ND, Didangelos A, et al. Large-scale chondroitin sulfate proteoglycan digestion with chondroitinase gene therapy leads to reduced pathology and modulates macrophage phenotype following spinal cord contusion injury [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(14): 4822–4836.
  28. Didangelos A, Iberl M, Vinsland E, et al. Regulation of IL-10 by chondroitinase ABC promotes a distinct immune response following spinal cord injury[J]. *J Neurosci*, 2014, 34(49): 16424–16432.
  29. Suzuki H, Ahuja CS, Salewski RP, et al. Neural stem cell mediated recovery is enhanced by chondroitinase ABC pretreatment in chronic cervical spinal cord injury [J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0182339.
  30. Liddelow SA, Guttenplan KA, Clarke LE, et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia[J]. *Nature*, 2017, 541(7638): 481–487.
  31. Xu X, Zhang A, Zhu Y, et al. MFG-E8 reverses microglial-induced neurotoxic astrocyte(A1) via NF- $\kappa$ B and PI3K-Akt

- pathways[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 234(1): 904–914
32. Reichenbach N, Delekate A, Plescher M, et al. Inhibition of Stat3-mediated astrogliosis ameliorates pathology in an Alzheimer's disease model[J]. *Embo Mol Med*, 2019, 11(2): e9665
  33. Miyamoto N, Magami S, Inaba T, et al. The effects of A1/A2 astrocytes on oligodendrocyte lineage cells against white matter injury under prolonged cerebral hypoperfusion[J]. *Glia*, 2020, doi: 10.1002/glia.23814. [Epub ahead of print]
  34. Liu W, Wang YX, Gong FY, et al. Exosomes derived from bone mesenchymal stem cells repair traumatic spinal cord injury by suppressing the activation of A1 neurotoxic reactive astrocytes[J]. *J Neurotraum*, 2019, 36(3): 469–484.
  35. Wang L, Pei S, Han LL, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes reduce A1 astrocytes via downregulation of phosphorylated NFκB P65 subunit in spinal cord injury [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 50(4): 1535–1559.
  36. Qian DF, Li LW, Rong YL, et al. Blocking notch signal pathway suppresses the activation of neurotoxic A1 astrocytes after spinal cord injury[J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(21): 3010–3029.
  37. Vismara I, Papa S, Veneruso V, et al. Selective modulation of A1 astrocytes by drug-loaded nano-structured gel in spinal cord injury[J]. *ACS Nano*, 2020, 14(1): 360–371.
  38. Liu R, Wang W, Wang S, et al. microRNA-21 regulates astrocytic reaction post-acute phase of spinal cord injury through modulating TGF-β signaling[J]. *Aging*, 2018, 10(6): 1474–1488.
  39. Zhao X, Li Z, Liang S, et al. Different epidermal growth factor receptor signaling pathways in neurons and astrocytes activated by extracellular matrix after spinal cord injury [J]. *Neurochem Int*, 2019, 129: 104500.
  40. Nguyen LH, Ong W, Wang K, et al. Effects of miR-219/miR-338 on microglia and astrocyte behaviors and astrocyte-oligodendrocyte precursor cell interactions [J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15(4): 739–747.
  41. Wang Y, Chen M. Decreased expression of LATS1 correlates with astrogliosis after spinal cord injury[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 505(1): 151–156.
  42. Li L, Ni L, Eugenin EA, et al. Toll-like receptor 9 antagonism modulates astrocyte function and preserves proximal axons following spinal cord injury [J]. *Brain Behav Immun*, 2019, 80: 328–343.
  43. Ishiguro H, Kaito T, Hashimoto K, et al. Administration of ONO-2506 suppresses neuropathic pain after spinal cord injury by inhibition of astrocytic activation[J]. *Spine J*, 2019, 19(8): 1434–1442.
  44. Donnelly DJ, Popovich PG. Inflammation and its role in neuroprotection, axonal regeneration and functional recovery after spinal cord injury[J]. *Exp Neurol*, 2008, 209(2): 378–388.
  45. Smith JA, Braga A, Verheyen J, et al. RNA nanotherapeutics for the amelioration of astroglial reactivity [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 10: 103–121.
  46. Rudman MD, Choi JS, Lee HE, et al. Bromodomain and extraterminal domain-containing protein inhibition attenuates acute inflammation after spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2018, 309: 181–192.
  47. Li Z, Wu F, Xu D, et al. Inhibition of TREM1 reduces inflammation and oxidative stress after spinal cord injury (SCI) associated with HO-1 expressions[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 2014–2021.
  48. Xia P, Gao X, Duan L, et al. Mulberrin(Mul) reduces spinal cord injury(SCI)-induced apoptosis, inflammation and oxidative stress in rats via miRNA-337 by targeting NRF-2 [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107: 1480–1487.
  49. Yang Z, Bao Y, Chen W, et al. Melatonin exerts neuroprotective effects by attenuating astro- and microgliosis and suppressing inflammatory response following spinal cord injury[J]. *Neuropeptides*, 2020, 79: 102002.
  50. Lukovic D, Stojkovic M, Moreno-Manzano V, et al. Concise review: reactive astrocytes and stem cells in spinal cord injury: good guys or bad guys[J]. *Stem Cells*, 2015, 33(4): 1036–1041.
  51. Kim BJ, Choi JY, Choi H, et al. Astrocyte-encapsulated hydrogel microfibers enhance neuronal circuit generation [J]. *Adv Healthc Mater*, 2020, 9(5): e1901072.
  52. Tian Z, Zhao Q, Biswas S, et al. Methods of reactivation and reprogramming of neural stem cells for neural repair [J]. *Methods*, 2018, 133: 3–20.
  53. Yang H, Liu C, Fan H, et al. Sonic hedgehog effectively improves oct4-mediated reprogramming of astrocytes into neural stem cells[J]. *Mol Ther*, 2019, 27(8): 1467–1482.
  54. Zarei-Kheirabadi M, Hesarakhi M, Kiani S, et al. In vivo conversion of rat astrocytes into neuronal cells through neural stem cells in injured spinal cord with a single zinc-finger transcription factor[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 380.
  55. Griffin JM, Fackelmeier B, Fong DM, et al. Astrocyte-selective AAV gene therapy through the endogenous GFAP promoter results in robust transduction in the rat spinal cord following injury[J]. *Gene Ther*, 2019, 26(5): 198–210.
  56. Senbokuya N, Yoshioka H, Yagi T, et al. Effects of FABP7 on functional recovery after spinal cord injury in adult mice [J]. *J Neurosurg Spine*, 2019, Online ahead of print.
  57. Hart CG, Dyck SM, Kataria H, et al. Acute upregulation of bone morphogenetic protein-4 regulates endogenous cell response and promotes cell death in spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2020, 325: 113163.
  58. Li T, Xu R, Xia H, et al. ASK1 phosphorylation regulates astrocytic reactive gliosis in vitro and in vivo [J]. *Neurosci Lett*, 2020, 716: 134675.

# 椎管内硬膜外脂肪的生物学特性及其在临床中的作用

## Biological characteristics of epidural fat and its implications in clinic

刘煜东, 曹 勇, 刘栋梁, 胡建中

(中南大学湘雅医院脊柱外科 410008 长沙市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2020.08.14

中图分类号: R329 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2020)-08-0757-05

脂肪组织具有供应能量、缓冲震荡和隔热的作用<sup>[1,2]</sup>。然而,对于存在于脊柱硬膜外腔的脂肪组织的功能特性和作用的研究却相对较少<sup>[3]</sup>。椎管内硬膜外脂肪(epidural fat, EF)指的是分布于椎管内硬膜外腔的脂肪,它能够缓冲硬膜囊的搏动以保护椎管内容物免受脊柱活动时的冲击、减速和旋转应力的影响<sup>[4]</sup>。同时,EF 中同样分离出了具有代谢活性并具有成骨、成脂、成软骨细胞三系分化能力的间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)<sup>[3,5]</sup>。因此,EF 被认为可能是椎管内局部骨和脂肪组织维持和再生的细胞库<sup>[3]</sup>。

在某些病理状态下,EF 的局部空间分布会发生改变。如硬膜外脂肪增多症(spinal epidural lipomatosis, SEL),由于患者脊髓和神经根受椎管内增多的脂肪压迫,通常表现出伴有严重的腰腿痛、感觉异常和膀胱功能障碍等多种神经症状<sup>[6]</sup>。此外,在脊柱后路手术中,临床医生经常在黄韧带切除后遇到这种覆盖硬脊膜和神经根的淡黄色脂肪组织<sup>[5]</sup>,为了使硬脊膜和神经根充分暴露,EF 常在手术中被清除<sup>[3,7,8]</sup>,清除 EF 后常导致术后硬膜外纤维化等并发症<sup>[9]</sup>。因此,研究 EF 的功能特性对指导脊柱外科患者手术及术后恢复极其重要。笔者就 EF 的解剖学、组织生物学特性和生理作用进行综述,并重点叙述 EF 在不同疾病

时的改变以及 EF 研究的潜在临床价值。

### 1 EF 的解剖学特点

EF 是硬膜外腔中覆盖硬脊膜和神经根的一层脂肪组织,硬膜外腔容纳的神经根、血管、淋巴管和终丝,均被 EF 所包裹,但 EF 并不粘附于这些结构上,相反,硬膜囊与 EF 之间能够相对滑动,特别是在脊柱活动度较高的区域,EF 起着润滑和保护周围组织的作用<sup>[10]</sup>。

EF 在椎管各节段有不同的分布<sup>[10]</sup>;在颈段,EF 相对缺乏,在硬膜外间隙的前侧和外侧几乎不存在 EF,在后侧偶可见一小块的脂肪沉积物;在胸段,EF 在椎间盘水平分布较密,在椎体水平分布稀疏,其中在上、中胸段(T1~T7),EF 呈连续性分布,而在下胸段(T8~T12),呈片状分布;在腰段,EF 集中于硬膜外腔的前部和后部,在这两处形成两个非连接的孤立结构<sup>[11,12]</sup>,EF 在腰骶水平达到最大体积,成人腰椎下段 EF 的平均厚度约为相应椎管矢状径的 32%<sup>[13]</sup>。

EF 在各个脊柱节段内也有不同分布<sup>[14]</sup>;EF 在 C7~T1、T11~T12 和 L2~L3 节段水平分布较少,在这些节段的硬膜囊上几乎没有 EF 的分布。在每个椎间盘附近,EF 沿轴向从上一个椎板的下部延伸至下一个椎板的上部,并侧向延伸至关节面和黄韧带交汇处。此外,EF 还填充了椎弓和椎间孔之间的空间,包裹了神经根的硬脊膜套。每根脊神经通过椎间孔进入椎旁间隙时,EF 也随着一起延伸。EF 在构成脊神经硬脊膜袖套的硬膜上大量存在<sup>[15]</sup>,而在硬膜囊区域的硬脊膜上分布相对较少<sup>[16]</sup>。神经根袖是硬脊膜、

第一作者简介:男(1994-),硕士研究生在读,研究方向:脊柱外科  
电话:(0731)89753001 E-mail:yudongliu@188.com

通讯作者:胡建中 E-mail:jianzhonghu@hotmail.com;曹勇 E-mail:caoyong1912@163.com

59. Liu X, Tian F, Wang S, et al. Astrocyte autophagy flux protects neurons against oxygen-glucose deprivation and ischemic/reperfusion injury[J]. Rejuvenation Res, 2018, 21(5): 405-415.
60. Chen X, Chen C, Hao J, et al. AKR1B1 upregulation contributes to neuroinflammation and astrocytes proliferation by regulating the energy metabolism in rat spinal cord injury[J]. Neurochem Res, 2018, 43(8): 1491-1499.
61. Sun J, Zhang J, Li K, et al. Photobiomodulation therapy

inhibit the activation and secretory of astrocytes by altering macrophage polarization[J]. Cell Mol Neurobiol, 2020, 40(1): 141-152.

62. Adolf A, Rohrbeck A, Münster-Wandowski A, et al. Release of astroglial vimentin by extracellular vesicles: modulation of binding and internalization of C3 transferase in astrocytes and neurons[J]. Glia, 2019, 67(4): 703-717.

(收稿日期:2020-03-24 末次修回日期:2020-04-25)

(本文编辑 卢庆霞)