

· 综述 ·

雪旺氏细胞促进周围神经再生的分子机制

李强 李民 伍亚民

雪旺氏细胞(Schwann cells, SCs)是一种神经胶质细胞,由 Schwann 于 1939 年首先发现并命名。在周围神经系统,它以两种形式存在:包绕轴突并形成髓鞘或包绕轴突不形成髓鞘。SCs 来源于胚胎时期的神经嵴细胞,并且先后经历 SCs 前体和未成熟的 SCs 两个阶段,最终形成成熟的 SCs。周围神经损伤后,SCs 则发生形态、行为学的改变,具体包括:①SCs 的崩解、增生、迁移及其崩解物对巨噬细胞的趋化作用;②分泌神经营养因子及细胞外基质,防止受损神经元死亡,并为轴突提供良好的再生环境;③与再生轴突形成缝隙连接和紧密连接,直接与其进行信息传递和物质交换。

SCs 增殖、迁移及其调控机制

周围神经再生时,SCs 可发生增殖和表型变化,不仅为轴突再生提供了理想的微环境,还通过增加细胞粘附分子的合成对轴突再生发挥作用。

一、调控 SCs 增殖的分子机制

SCs 的增殖受多种因素的调控,其中运动神经和感觉神经产生的 Neuregulin-1 与 SCs 上相应的受体结合,在神经发育和损伤时调节 SCs 增生和成活。近来研究表明,该信号能影响髓鞘的形成,若去除 Neuregulin-1 的受体基因,则髓鞘形成会明显变薄,导致共济失调、震颤、运动神经元丢失^[1]。Akassoglou 等^[2]研究发现,通过调节纤维蛋白的沉积也可间接调控 SCs 的分化,因为纤维蛋白可降低 ERK1/2 的磷酸化和 SCs 中 NGF p75 低亲和性受体的表达,同时影响髓鞘的形成,从而间接地调控 SCs 的分化。另外,周围神经损伤后,感觉和运动神经元还可诱导活性转录因子 3 结合 jun 蛋白,以维持神经元成活。另一个支持神经元存活的因素则是来源于 SCs 的 N-myc 下游调节基因 1 的表达物,常染色体隐性神经疾病表现为 SCs 功能丧失,因此认为 N-myc 下游调节基因 1 可控制轴突再生和 SCs 的分化,从而影响 SCs 与轴突之间的信号传导^[3]。

二、迁移 SCs 的生物学行为

增殖的 SCs 常向损伤区迁移形成 Bungner 带,桥连神经缺损区,为轴突再生“铺平道路”,同时还参与轴突髓鞘的形成。超微结构研究发现,再生的轴突几乎全被 SCs 包裹。即使将自体的坐骨神经植入脊髓缺损区,同样可见新生轴突被迁移的 SCs 包裹。虽然 SCs 迁移理论已受到了研究者的肯定,但迁移的 SCs 生物学特性及作用还比较模糊。为此,Torigoe 等^[4]用薄的整形膜桥接神经缺损,分析了术后初期至第六天的轴突再生情况。他们发现,神经离断后 3 h,再生的轴突便从相邻的郎飞氏结出芽,在两薄膜间延伸,而 SCs 在 2 d 后才从近端沿轴突

再生的轨迹迁移,所以新生的轴突至少有 2 d 的时间无髓鞘包裹。由于部分 SCs 迁移速度较快,超过轴突再生的速度,所以其在轴突前方形成 Bungner 带,诱导轴突再生。根据轴突再生的速率,可将轴突再生的速度分为缓慢相和快速相,初期为缓慢相(77 $\mu\text{m}/\text{d}$),持续 2 d 后,进入快相期(283 $\mu\text{m}/\text{d}$)。观察 SCs 迁移恰好与轴突再生第二时相即快相期一致,这样也就更进一步的从 SCs 迁移的生物学行为上证实了 SCs 与轴突再生密切相关,而且远断端的迁移的 SCs 与近端的 SCs 相比,对神经的再生有着更强的促进作用。

三、影响 SCs 迁移的因素

SCs 迁移的影响因素较多,其迁移的速度主要取决于细胞与基质间的粘附力大小,因此细胞外基质和细胞粘附分子可对 SCs 的迁移速度产生重要的影响。早在 1988 年,Bailey 为评估细胞外基质对 SCs 迁移的影响,用分别含有细胞色素 C、连接蛋白、层粘连蛋白、纤连蛋白和层粘连蛋白或 NGF(nerve growth factor,NGF)混合物的硅胶管修复大鼠 18 mm 缺损,结果观察到细胞外基质对 SCs 迁移有显著影响。近年,Ahmed 等^[5]发现,若在纤连蛋白内加入纤维蛋白原,不仅可以增加 SCs 的迁移速度,而且还能改善神经的再生微环境,有效地减少终末效应器官的萎缩。Torigoe 等^[6]发现新合成的嗜神经嘧啶化合物 MS-818,也能明显促进 SCs 的迁徙和轴突延伸。另外,各种物理因子也能影响 SCs 的迁移^[7],Dubey 等^[8]研究磁性排列的凝胶柱对 SCs 迁移和轴突再生的影响时发现,磁场诱导轴突定向再生的机制可能就是通过促进 SCs 的迁移而完成的,Ceballos 等^[9]的研究也证实了这一观点。

SCs 分泌神经营养因子促进轴突再生

自 Levi-Montalcini 发现 NGF 以来的 40 余年间,已有十余种神经营养因子被发现^[10],其中大部分神经营养因子均可由 SCs 产生,如 NGF、脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophin factor,BDNF)、睫状神经节营养因子(ciliary neurotrophic factor,CNTF)、神经营养因子-3(neurotrophin-3,NT-3)、神经营养因子-4/5(neurotrophin-4/5,NT-4/5)、胶质细胞源性神经营养因子(glial cell line-derived neurotrophic factor,GDNF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor,FGF)等^[11]。

一、NGF 家族

对 NGF 促进周围神经再生的研究比较早,NGF 主要来源于 SCs 和感觉神经分布密集的组织。正常坐骨神经中的 NGF 水平很低,但神经受到损伤后,NGF 水平便迅速上升,从而直接影响轴突再生,且维持神经元的存活和发芽。NGF 可增加 SCs 表达粘附分子(L1),促进 SCs 的迁移。但有研究表明:NGF 主要促进感觉神经的再生,而对运动神经的再生的作用不明显。NGF 家族中另一研究较多的成员是 BDNF,SCs 是应激状态下 BDNF 的主要来源,在周围神经受损时 BDNF 的 mRNA 及其蛋白迅速上升^[12],能促进轴突再生,同时,BDNF 还有保护神经细

基金项目:国家重大基础研究发展规化(973)项目(No. G1999054206),重庆市科委应用基础项目(No. 6948)

作者单位:400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所神经损伤与修复研究室

胞存活,维持神经元的机械敏感度的作用^[13]。另外,NT 也属于 NGF 家族。NT-3 和 NT-4/5 在周围神经损伤后的 6~12 h 内其水平均下调,2 周后,NT-3 恢复到对照组水平,而 NT-4/5 则上调到对照组的 8 倍^[14]。NT-3 和 NT-4/5 能够维持体外培养的交感和感觉神经元的存活,促进突起生长,防止神经元程序性死亡,特别是 NT-3,能够维持肌梭、肌腱和皮肤传入感觉神经元的存活,增加运动神经元再生,促进神经-肌突触的成熟,增加再生轴突的数量和长度,防止神经损伤后肌肉萎缩。此外,最近发现的 NT-6 对交感神经节及脊髓交感神经元有着营养作用^[15]。

三、CNTF

CNTF 首先在眼的脉络膜组织中发现,它是由 200 个氨基酸组成的酸性蛋白,分子量为 22-24 k Da,主要存在于 SCs 和星型胶质细胞。CNTF 的表达依赖于轴突间的相互作用。神经损伤后,轴突远端 CNTF 的 mRNA 水平迅速下降,直到轴突再生才能恢复。CNTF 还能够促进感觉和交感神经元的再生,阻止运动神经元程序性死亡,增加再生轴突末端的数量,促进再生轴突髓鞘的形成。研究发现 CNTF 通常由 SCs 释放进入邻近的轴突,对轴突再生和神经元存活有一定的作用^[16]。

三、转化生长因子- β 超家族

转化生长因子- β (transforming growth factor, TGF- β) 包括 β 1、 β 2 和 β 3 三个亚型,SCs 合成三种 TGF- β 时都是通过轴突与 SCs 间的相互作用来调节的。在 Waller 变性时,SCs 内的 TGF- β 1 mRNA 的水平上升,TGF- β 3 mRNA 水平却下降,TGF- β 1 作为 SCs 的分裂素之一,不仅可诱导神经远断端的 SCs 增生,又可刺激白细胞抑制因子 (leukemia inhibitory factor, LIF) 的合成,而 LIF 则是维持神经元存活的因素之一。因此,在 Waller 变性的同时,TGF- β 对 SCs 增殖、轴突再生产生了积极的影响^[17]。

SCs 除了分泌上述神经因子外,还可分泌 FGF、血小板源性生长因子、TGF、LIF,其中 FGF 分为碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 和酸性成纤维细胞生长因子 (acidic fibroblast growth factor, aFGF)。bFGF 主要来自 SCs 和巨噬细胞。在坐骨神经损伤后,bFGF 受体-1 和 bFGF mRNA 迅速上升,并且呈明显的时间依赖性。FGF 的作用十分广泛,bFGF 能促进出生后和分化终期的 SCs 的存活,并抑制其凋亡,还可促进 SCs 的有丝分裂和 DNA 的合成。

SCs 分泌细胞外基质成份和细胞粘附分子

细胞外基质指沉积于细胞间的大分子物质,主要存在于围绕轴突的 SCs 外的基底膜内,其主要成分由 SCs 产生,包括层连蛋白 (laminin, LN),纤连蛋白 (fibronectin, FN)、细胞色素 C、IV 型和 VI 型胶原、蛋白多糖等。其中层连蛋白、纤连蛋白、细胞色素 C 是最常见的细胞外基质。虽然细胞色素 C 主要功能是抑制神经元再生,但是其也能促进轴突的再生。细胞粘附分子 (cell adhesion molecules, CAM) 包括神经细胞粘着分子 (neural cell adhesion molecules, N-CAM)、神经胶质细胞粘着分子 (neuroglial cell adhesion molecules, Ng-CAM)、髓鞘相关蛋白 (myelin basic protein, MAG) 等。

一、细胞外基质

越来越多的实验表明,细胞外基质成份能为神经生长提供适当的“粘着性”,使轴突沿着基质生长,保持生长锥的稳定性,引导神经纤维定向生长。其中 LN 对神经再生的作用已得到公

认,当靶细胞失神经支配后,LN 上调,恢复神经支配后,LN 水平又下调。LN 主要存在于基底膜管内侧,能够诱导轴突再生,并且 LN 有维持轴突再生微环境的作用。最近研究表明,位于轴突的 LN 分许多亚型,且功能各异,例如 LN-1 能够促进轴突生长,LN-11 则是轴突生长的停止信号。除 LN 外, I 型胶原、FN 对神经再生也有促进作用,有报道, FN 可以结合并释放有生物活性的 NT-3,促进周围神经再生^[18]。

二、细胞粘附分子

细胞粘附分子 (cell adhesion molecules, CAM) 的主要作用是促进轴突的再生,将神经元和 SCs 的联合培养,并利用特定的抗体证实,这些 CAM 可与生长锥上相应的配体结合后发挥促进轴突再生的作用。NCAM 的缺乏会影响再生轴突的趋化性和可塑性, L1 缺乏则会影响神经系统的发育,若用抗体作用于整合素 β 1 亚单位后,轴突再生和细胞外基质蛋白的形成均会受到抑制^[19]。

三、蛋白多糖

除了细胞外基质和 CAM 外,蛋白多糖不仅为基质提供了最适宜“粘着性”,还能使轴突和 SCs 相互识别,表现出促进或抑制生长信号的更广泛的应答能力^[20]。当轴突生长时,轴突终末端即生长锥上的受体能发现、识别并选择结合这些分子,从而使轴突定向生长。这些糖蛋白主要包括三种大分子家族。第一种就是免疫球蛋白超家族,包括神经系统细胞粘附分子,如 NCAM、L1 和 MAG、P0 等,第二种是与糖蛋白相关的蛋白分子,常称为钙粘蛋白,其中 N-钙粘蛋白就是由神经系统表达的细胞粘附分子,第三种糖蛋白是整合素大家族。

SCs 可产生多种免疫球蛋白,其中 L1 和 NCAM 与轴突再生密切相关^[17]。免疫电镜检查可见 NCAM 广泛分布于轴突-SCs、轴突-轴突和 SCs-SCs 的接合处;与其相反,L1 的免疫活性主要位于轴突-SCs 接合处,其促进轴突与 SCs 的相互识别与粘附作用更为直接,而且 L1 和 NCAM 还可相互作用形成 L1-NCAM 复合体,能发挥更强的识别和粘附作用^[21]。另外,钙粘蛋白也具有明显的促进轴突再生作用,当成年大鼠的运动神经元损伤后,N-CAM 含量显著增加,若恢复神经支配,N-CAM 含量将下调,即 N-CAM 的变化与肌肉的神经支配状况呈负相关。近年研究还发现免疫球蛋白和钙粘蛋白之间具有一定的协同作用^[22]。

SCs 与再生轴突之间信号和物质传递的分子机制

神经纤维与 SCs 之间的紧密连接是神经再生必不可少的条件,在神经细胞与 SCs 间不仅仅有细胞粘附分子的存在,而且还具有更为紧密的结构和功能联系。早在 1982 年,Tetzlaff 就发现,在小鸡的再生神经 SCs 间存在紧密联接和临时缝隙连接,是否不同组织间也存类似的细胞连接呢? 1996 年,Dezawa 发现了再生轴突和 SCs 间也存在局部短暂的紧密连接,这种不同细胞或组织间形成的紧密和缝隙连接可能是信息和物质传递的临时通道。随后 Dezawa 又通过对再生的大鼠坐骨神经研究发现,细胞连接蛋白 32 (connexin32, Cx32) 则位于轴突与 SCs 紧密接触的部位^[23]。而小分子物质生物素则通过缝隙连接从再生轴突转运到相邻的 SCs 内。而这种存在于 SCs 与再生轴突间的缝隙连接则是许多小分子物质和信息传递的直接通道,如同传递信息的热线 (hot line),在神经损伤再生中发挥重要的作用^[24]。

近年研究认为细胞连接蛋白家族 (Connexin, Cx) 是这种紧密连接和缝隙连接的分子基础。Cx 家族的亚型较多, 在神经系统中, 不同的细胞可表达不同亚型的 Cx, 其中神经元表达 Cx36^[25], 星型胶质细胞则主要表达 Cx26、Cx30、Cx43^[26], 而 SCs 则可表达 Cx32, 近来有报道 SCs 还可表达 Cx26、Cx43、Cx46、Cx29^[27]。Cx32 由 6 个多肽亚基组成, SCs 中的 Cx32 免疫活性成份主要位于在 Schmidt-Lanterman 切迹处和朗飞氏结的周围, 神经移植术后 1~3 周, Cx43 和 Cx32 呈现免疫活性。用免疫电镜检查在轴突与 SC 间膜结合部位可见 Cx43 和 Cx32 呈不连续的斑点状, 其大小和数量均不及肝细胞的紧密连接。以往实验表明, 进行性神经肌萎缩 (X-link Charcot-Marie-Tooth disease, CMTX) 与编码 Cx32 的基因突变有关, 实际上 Cx32 的主要功能是为再生轴突和 SCs 之间提供物质交换的通道, 而且在周围神经损伤时, 不同亚型的 Cx 的变化也不尽相同, 如 SCs 中的 Cx32 表达下调, 但 Cx46 却上调。进一步研究还发现 Cx32 主要位于有髓纤维髓鞘的最外层, 而 Cx29 侧位于髓鞘的最内层与轴突膜相邻, 可能 Cx29 的功能较 Cx32 更直接, 但尚需进一步研究证实。

参 考 文 献

- Garratt AN, Voiculescu O, Topilko P, et al. A dual role of erbB2 in myelination and in expansion of the Schwann cell precursor pool. *J Cell Biol*, 2000, 148: 1035-1046.
- Akassoglou K, Yu WM, Akpinar P, et al. Fibrin inhibits peripheral nerve remyelination by regulating Schwann cell differentiation. *Neuron*, 2002, 33: 861-875.
- Kury P, Stoll G, Muller HW. Molecular mechanisms of cellular interactions in peripheral nerve regeneration. *Curr Opin Neurol*, 2001, 14: 635-639.
- Torigoe K, Hashimoto K, Lundborg G. A role of migratory Schwann cells in a conditioning effect of peripheral nerve regeneration. *Exp Neurol*, 1999, 160: 99-108.
- Ahmed Z, Underwood S, Brown RA. Low concentrations of fibrinogen increase cell migration speed on fibronectin/fibrinogen composite cables. *Cell Motil Cytoskeleton*, 2000, 46: 6-16.
- Torigoe K, Awaya A. A newly synthesized neurotropic pyrimidine compound, MS-818, may activate migratory Schwann cells in peripheral nerve regeneration. *Brain Res*, 1998, 787: 337-340.
- 李强, 李民, 伍亚民. 物理因子影响周围神经再生的研究概况. *中华物理医学与康复杂志*, 2003, 25: 186-187.
- Dubey N, Letourneau PC, Tranquillo RT. Guided neurite elongation and schwann cell invasion into magnetically aligned collagen in simulated peripheral nerve regeneration. *Exp Neurol*, 1999, 158: 338-350.
- Ceballos D, Navarro X, Dubey N, et al. Magnetically aligned collagen gel filling a collagen nerve guide improves peripheral nerve regeneration. *Exp Neurol*, 1999, 158: 290-300.
- Yin Q, Kemp GJ, Frostick SP. Neurotrophins, neurones and peripheral nerve regeneration. *J Hand Surg*, 1998, 23: 433-437.
- Wheeler EF, Naftel JP, Pan M, et al. Neurotrophin receptor expression is induced in a subpopulation of trigeminal neurons that label by retrograde transport of NGF or fluoro-gold following tooth injury. *Brain Res Mol Brain Res*, 1998, 61: 23-38.
- Takano M, Horie H, Iijima Y, et al. Brain-derived neurotrophic factor enhances neurite regeneration from retinal ganglion cells in aged human retina in vitro. *Exp Eye Res*, 2002, 74: 319-323.
- Cheng ET, Utley DS, Ho PR, et al. Functional recovery of transected nerves treated with systemic BDNF and CNTF. *Microsurgery*, 1998, 18: 35-41.
- Xu B, Michalski B, Racine RJ, et al. Continuous infusion of neurotrophin-3 triggers sprouting, decreases the levels of TrkA and TrkC, and inhibits epileptogenesis and activity-dependent axonal growth in adult rats. *Neuroscience*, 2002, 115: 1295-1308.
- Cui Q, Harvey AR. CNTF promotes the regrowth of retinal ganglion cell axons into murine peripheral nerve grafts. *Neuroreport*, 2000, 11: 3999-4002.
- Cui Q, Lu Q, So KF, et al. CNTF, not other trophic factors, promotes axonal regeneration of axotomized retinal ganglion cells in adult hamsters. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1999, 40: 760-766.
- Dezawa M, Adachi-Usami E. Role of Schwann cells in retinal ganglion cell axon regeneration. *Prog Retin Eye Res*, 2000, 19: 171-204.
- Simon M, Terenghi G, Green CJ, et al. Differential effects of NT-3 on re-innervation of the fast extensor digitorum longus (EDL) and the slow soleus muscle of rat. *Eur J Neurosci*, 2000, 12: 863-871.
- Takeda Y, Murakami Y, Asou H, et al. The roles of cell adhesion molecules on the formation of peripheral myelin. *Keio J Med*, 2001, 50: 240-248.
- Bixby JL, Bookman RJ. Intracellular mechanisms of axon growth induction by CAMs and integrins: some unresolved issues. *Perspect Dev Neurobiol*, 1996, 4: 147-156.
- Dezawa M, Kawana K, Adachi-Usami E. The role of Schwann cells during retinal ganglion cell regeneration induced by peripheral nerve transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1997, 38: 1401-1410.
- Bates CA, Becker CG, Miotke JA, et al. Expression of polysialylated NCAM but not L1 or N-cadherin by regenerating adult mouse optic fibers in vitro. *Exp Neurol*, 1999, 155: 128-139.
- Dezawa M. The interaction and adhesive mechanisms between axon and Schwann cell during central and peripheral nerve regeneration. *Kaibogaku Zasshi*, 2000, 75: 255-265.
- Dezawa M, Mutoh T, Dezawa A, et al. Putative gap junctional communication between axon and regenerating Schwann cells during mammalian peripheral nerve regeneration. *Neuroscience*, 1998, 85: 663-667.
- Rash JE, Yasumura T, Dudek FE, et al. Cell-specific expression of connexins and evidence of restricted gap junctional coupling between glial cells and between neurons. *J Neurosci*, 2001, 21: 1983-2000.
- Nagy JI, Li X, Rempel J, et al. Connexin26 in adult rodent central nervous system: demonstration at astrocytic gap junctions and colocalization with connexin30 and connexin43. *J Comp Neurol*, 2001, 441: 302-323.
- Li X, Lynn BD, Olson C, et al. Connexin29 expression, immunocytochemistry and freeze-fracture replica immunogold labelling (FRIL) in sciatic nerve. *Eur J Neurosci*, 2002, 16: 795-806.

(修回日期: 2004-02-06)

(本文编辑: 阮仕衡)