

# 弥漫性轴索损伤实验模型研究进展

王琼 综述 李爱林 审校

天津市环湖医院神经外科研究所,天津 300060

**摘 要:**弥漫性轴索损伤为颅脑创伤最常见的病理改变,应用多沟回动物实验模型、缺沟回动物实验模型和细胞模型对弥漫性轴索损伤的病理生理进行深入研究,有可能发现弥漫性轴索损伤治疗新的靶点。弥漫性轴索损伤的非侵入性检查方法包括血液和脑脊液生物标记物检测、神经电生理检查、神经心理学评估以及弥散张量成像等神经影像学检查,这些检查对弥漫性轴索损伤的治疗评估有重要作用。

**关键词:**弥漫性轴索损伤;实验模型;非侵入性检查

弥漫性轴索损伤(Diffuse Axonal Injury, DAI)临床上最早被用于描述这样一类患者,有外伤史,脑组织没有明显的病灶,但患者长期昏迷,镜下可以发现这些患者的胼胝体、白质、内囊及丘脑等处的神经元轴突存在肿胀等病理改变。受损伤的轴突分散在正常的轴突之间,因此,将这种病理变化命名为 DAI,DAI 对颅脑创伤的预后有明显影响。

## 1 DAI 的病理

DAI 一般有两种形式的病理改变<sup>[1]</sup>。最初认为在断裂轴索的末端出现“轴索球”,现在认为“轴索球”或者进行性轴索肿胀导致了轴索断裂。沿着完整轴索分布的多个串珠样轴索肿胀形成所谓的轴索曲张<sup>[2]</sup>,这表明沿着轴索进行的蛋白转运过程部分中断,如果轴索完全断裂则镜下可以看到断裂轴索末端的单个的轴索球。新的证据表明,严重的轴索损伤由于各种离子浓度失调导致局部细胞骨架损坏,造成轴突的逆向转运,轴索的肿胀反而减轻<sup>[3]</sup>。神经电生理研究发现,损伤的轴索有的可以快速恢复轴突的转运功能,有的则缓慢肿胀最终断裂。目前,观察淀粉样前蛋白等转运蛋白的变化,已经成为神经病理及创伤模型中诊断 DAI 的金标准。当淀粉样前蛋白沿轴突顺向转运时,任何轴突的病变都能导致淀粉样前蛋白在局部的聚集。通过免疫组化检测这些转运蛋白可以诊断 DAI。轴索肿胀可以持续到伤后的数月到一年,但随着时间的延长,轴索肿胀会逐步好转。这提示颅脑损伤导致大脑白质长期进展性损害,因此,DAI 有更长的治疗时间窗,但 DAI 治疗的准确时间窗仍有争议。

## 2 DAI 的动物模型

大动物脑组织沟回与人类相近,但复制人类大脑生物力学损伤的大动物模型非常困难。DAI 特指大动物颅脑创伤导致多沟回大脑白质区域广泛的轴索病理改变。小动物的脑组织沟回与人类有较大差别,但容易使用和评估,创伤性轴索损伤(Traumatic Axonal Injury, TAI)指小动物颅脑创伤导致缺沟回大脑白质区域的轴索病理改变。这些动物模型在针对 DAI 病理改变的治疗中扮演了重要的角色。

### 2.1 多沟回动物模型

人类脑组织的大小在 DAI 中扮演了重要角色。例如,在损伤瞬间,加速或减速暴力对脑组织不同区域的影响不同,可以造成脑组织损伤。另外,灰质与白质的质量不同,因此其运动速度也不同,各组织间产生相对的移位,产生剪切样力,造成白质损伤。非人灵长类的脑组织白质丰富,是 DAI 的首选实验动物。十九世纪八十年代,Genarelli 利用旋转加速装置,成功地用灵长类动物复制出与人类 DAI 病理特征和临床表现一致的创伤性昏迷的动物模型,并发现损伤的程度和昏迷持续的时间有关。

利用与非人灵长类大脑相似的小型猪动物模型,发现轴索的病理改变对于中重型颅脑创伤时昏迷及轻型颅脑损伤的短暂意识丧失非常重要<sup>[4]</sup>。尤其脑干白质的损伤可以导致即刻昏迷。DAI 是否造成昏迷似乎与损伤范围无关而与特定解剖部位有关。以后又研制了羊和兔等其他多沟回动物模型。脑组织解剖结构接近人类的大动物模型更

收稿日期:2013-03-15;修回日期:2013-06-18

作者简介:王琼(1970-)女,副研究员,神经外科博士,主要从事颅脑创伤的基础研究。

有利于评价新的 DAI 治疗方法。但是由于大动物模型在作用机制、功能分析及动物来源等方面的限制,因此,很少用于评价 DAI 新的治疗方法<sup>[5]</sup>。

## 2.2 缺脑回动物模型

所有鼠类 DAI 模型都可以在胼胝体、脑干和丘脑发现轴索损伤。自由落体模型、液压冲击模型和加速损伤模型都可以造成轴索的牵拉和压缩损伤,但对于哪种模型更接近临床存在争议。这些模型往往造成脑组织受力部位出血和挫裂伤,包括白质的原发损伤,而这种损伤的机制和病理特点与传统上对 DAI 的理解并不一致。

虽然啮齿类动物白质区域稀疏,但通过设置损伤模型的参数,仍可以模拟出与人类相似的轴索拉伸和剪切负荷。有作者修改小动物模型损伤的参数,避免了受力部位的白质直接损伤,从而利于研究与临床更符合的白质损伤后的动态变化<sup>[6]</sup>。而确定最优的小动物损伤模型对 DAI 治疗的研究非常重要。动态拉伸视神经是诱导缺脑回动物白质牵张损伤的创造性方法。现在已经成功制作了豚鼠、小鼠和大鼠的视神经损伤模型<sup>[7]</sup>,由于白质损伤的特点,这些模型在评价损伤后白质超微结构的变化和病理生理反应时非常重要,而这些病理生理连锁反应可能就是 DAI 治疗的靶点<sup>[8]</sup>。这些模型目前并没有广泛应用于 DAI 治疗的评价,但有望成为 DAI 研究体外及临床试验之间的重要桥梁。另外,中央液压冲击模型可以模拟特征性的白质损伤,可以用来评价各种 DAI 治疗方法。液压冲击模型可以避免视神经牵拉损伤模型造成的视网膜神经节细胞死亡,因此在评价 DAI 损伤后的修复和再生方面更有优势。

## 2.3 体外模型

体外模型在 DAI 的研究中有重要作用。与视神经损伤模型一样,这些模型可以精确控制损伤的参数,通过牵拉培养神经元的弹性基质或使用加液体喷射装置造成连接两组神经元之间的轴突损伤<sup>[9]</sup>。通过体外实验,发现了轴突微管断裂、蛋白水解、离子平衡紊乱,提供了选择性治疗的靶点,但这些模型目前没能用于 DAI 治疗的评价。另外,体外模型提供了快速自动定量评价 DAI 治疗手段对钙离子平衡紊乱影响的实验平台,这些模型也可以用来分别研究有髓轴突和无髓轴突的损伤<sup>[10]</sup>。

## 3 DAI 非侵入性检测方法

非侵入性手段是诊断及评价 DAI 疗效重要的

方法。为了判断 DAI 的分型、范围和病情演变,对 DAI 的非侵入性诊断方法进行了大量研究。尸体解剖发现 DAI 是中重型颅脑创伤最重要最常见的病理变化之一。随后的研究发现,DAI 也是轻型颅脑创伤和脑震荡最基本的病理变化<sup>[11]</sup>。由于轻型颅脑创伤往往并不致死,因此缺少人类轻型颅脑创伤后 DAI 的直接病理证据。随着神经影像、神经电生理、血液生物标志物分析和神经认知评估手段的发展,可能使颅脑创伤尤其是轻型颅脑创伤后 DAI 的诊断取得突破。

由于颅脑创伤标准化数据采集的重要性,美国 2008 年启动了联邦机构间常见数据元素 (Federal Inter-Agency Common Data Elements, CDE) 项目,该项目包括了颅脑创伤后神经影像检查、神经电生理检查、血液生物标志物分析等数据采集的标准化工作。

### 3.1 影像学进展

由于不同医学中心在应用影像技术诊断 DAI 方面存在较大差异,CDE 还未能制定出 DAI 影像学诊断指南<sup>[12]</sup>。但是应用新的神经影像技术诊断 DAI 已经取得了实质性进展。应用弥散张量成像等技术,对 DAI 的分型和范围有了更深刻的认识。最先进的神经成像技术利用白质各向异性特点诊断轴突损伤。例如,动物实验发现利用弥散张量成像等神经影像技术可以发现与轴索病理改变密切相关的白质信号改变。弥散张量成像技术也可以发现轻型颅脑创伤患者白质的异常变化<sup>[13]</sup>。然而,这些影像学技术是否可以应用于临床仍有争议,尽管有动物实验的支持,但最主要的反对意见认为人类白质的信号变化与 DAI 的病理改变无关。因此,须对 DAI 的影像学特点进一步深入研究,才可能用于 DAI 诊断和疗效的评价。

### 3.2 DAI 的神经电生理检查

与神经影像技术相比,电生理检测研究较少,但仍是诊断 DAI 重要的非侵入性手段之一。动物实验发现 DAI 可以引起神经电生理的变化。轻型 DAI 的大鼠,无论轴突是否损伤,都可以检测到其神经元电生理异常。轻型损伤的神经元兴奋性降低。但在相似的实验中,轴突未损伤的神经元随着时间的延长其兴奋性增加,这些研究都提示轻型 DAI 后伴随着神经元结构和功能的改变。Baker<sup>[14]</sup>首先发现,颅脑创伤的小鼠胼胝体存在轴索的病理改变和动作电位的减少。Reeves<sup>[15]</sup>在同样的研究

中进一步发现胼胝体区域不仅有髓神经纤维而且无髓神经纤维的动作电位也减少,随着有髓神经元轴突病理改变的好转,其动作电位逐步恢复,而无髓神经纤维的动作电位几乎没有恢复,提示这些神经纤维对创伤更加脆弱,其研究提示 DAI 早期造成各种神经传导通路的中断,随着部分动作电位的恢复,散失的神经功能部分恢复。无髓神经纤维电生理的异常变化可能在 DAI 致残率中扮演了更重要的角色。在胼胝体及其它白质区域无髓神经纤维损伤的影响仍需进一步深入研究。有作者认为无髓神经纤维参与了两个大脑半球间的信号传导,这也可以解释 DAI 后功能 MRI 发现半球间信号传导紊乱或者中断<sup>[16]</sup>。对这一课题的深入研究有助于进一步理解 DAI 后各种治疗手段对神经电生理的影响。

### 3.3 生物标记物

理想的生物标记物应该和心肌梗死时肌钙蛋白一样能在急性期对疾病做出诊断并可用于判断疗效和病情演变,但目前仍未发现这样的生物标记物<sup>[17]</sup>。对于影像学检查无异常发现的轻型颅脑损伤,这样的生物标记物尤其重要,但是轻型颅脑损伤患者脑脊液采集非常困难,由于血脑屏障的存在,血液中又不易检测到相关的生物标记物。

临床研究及动物实验已经锁定几种潜在的生物标记物。最近研究发现血影蛋白分解产物(spectrin breakdown products, SBDP) SBDP145 和 SBDP150 与神经细胞的坏死有关, SBDP120 和神经细胞凋亡密切相关,而且,其浓度与轴突损伤密切相关<sup>[18]</sup>。除了血影蛋白分解产物, DAI 潜在的生物标记物还包括神经微丝亚单位的磷酸化产物 tau 蛋白<sup>[19]</sup>, 其与轴突骨架的损伤密切相关。髓鞘碱性蛋白的水解产物与沃勒变性及其相关的轴突的破坏密切相关。这些蛋白水解产物出现在轴突损伤的不同阶段,可能有助于对 DAI 病情演变的判断。

### 3.4 神经心理学评估

神经心理学评估不能对 DAI 的疗效做出直接判断。重型 DAI 患者的急性期和亚急性期通常存在意识障碍,慢性期预后差,相关的认知障碍包括反应迟钝、记忆障碍和执行力变差,轻型 DAI 患者较少发生以上症状。早期研究试图将认知障碍的类型和病变区域相联系,但是最近的研究表明,认知障碍的类型不仅与病变的部位有关,而且与连接相应功能区白质的完整性有关。与 DAI 的神经影

像学及生物标记物数据采集一样,神经心理评估的数据标准化工作也已经启动,并试图达成某些共识<sup>[20]</sup>。

## 4 展望

专门针对 DAI 治疗的研究并不多,取得共识的是治疗的时间窗应该包括 DAI 病理生理演变的全过程。机械损伤造成轴突转运障碍、肿胀和最终断裂,但机械损伤如何启动了多条病理生理级联反应,其机制并不完全清楚。其中微丝微管等细胞骨架稳定性破坏、离子平衡紊乱、半胱氨酸蛋白酶激活和线粒体肿胀等都可能成为治疗的靶点,而动物模型仍然判断 DAI 疗效的重要手段。

## 参 考 文 献

- [1] Johnson VE, Stewart W, Smith DH. Widespread tau and amyloid-beta pathology many years after a single traumatic brain injury in humans. *Brain Pathol*, 2012, 22(2): 142-149.
- [2] Tang-Schomer MD, Johnson VE, Baas PW, et al. Partial interruption of axonal transport due to microtubule breakage accounts for the formation of periodic varicosities after traumatic axonal injury. *Exp Neurol*, 2012, 233(1): 364-372.
- [3] Buki A, Povlishock JT. All roads lead to disconnection? Traumatic axonal injury revisited. *Acta Neurochir (Wien)*, 2006, 148(2): 181-193.
- [4] Browne KD, Chen XH, Meaney DF, et al. Mild traumatic brain injury and diffuse axonal injury in swine. *J Neurotrauma*, 2011, 28(9): 1747-1755.
- [5] Zhang J, Groff RF, Chen XH, et al. Hemostatic and neuroprotective effects of human recombinant activated factor VII therapy after traumatic brain injury in pigs. *Exp Neurol*, 2008, 210(2): 645-655.
- [6] Greer JE, McGinn MJ, Povlishock JT. Diffuse traumatic axonal injury in the mouse induces atrophy, c-Jun activation, and axonal outgrowth in the axotomized neuronal population. *J Neurosci*, 2011, 31(13): 5089-5105.
- [7] Ma M, Matthews BT, Lampe JW, et al. Immediate short-duration hypothermia provides long-term protection in an in vivo model of traumatic axonal injury. *Exp Neurol*, 2009, 215(1): 119-27.
- [8] Ma M, Li L, Wang X, et al. Short-duration treatment with the calpain inhibitor MDL-28170 does not protect axonal transport in an in vivo model of traumatic axonal injury. *J Neurotrauma*, 2012, 29(2): 445-451.
- [9] Staal JA, Dickson TC, Gasperini R, et al. Initial calcium release from intracellular stores followed by calcium dysregula-

- tion is linked to secondary axotomy following transient axonal stretch injury. *J Neurochem*, 2010, 112 (5): 1147-1155.
- [10] Staal JA, Vickers JC. Selective vulnerability of non-myelinated axons to stretch injury in an in vitro co-culture system. *J Neurotrauma*, 2011, 28 (5): 841-847.
- [11] Greer JE, Povlishock JT, Jacobs KM. Electrophysiological abnormalities in both axotomized and nonaxotomized pyramidal neurons following mild traumatic brain injury. *J Neurosci*, 2012, 32 (19): 6682-6687.
- [12] Duhaime AC, Gean AD, Haacke EM, et al. Common data elements in radiologic imaging of traumatic brain injury. *Arch Phys Med Rehabil*, 2010, 91 (11): 1661-1666.
- [13] MacDonald CL, Johnson AM, Cooper D, et al. Detection of blast-related traumatic brain injury in U. S. military personnel. *N Engl J Med*, 2011, 364 (22): 2091-2100.
- [14] Baker AJ, Phan N, Moulton RJ, et al. Attenuation of the electrophysiological function of the corpus callosum after fluid percussion injury in the rat. *J Neurotrauma*, 2002, 19 (5): 587-599.
- [15] Reeves TM, Smith TL, Williamson JC, et al. Unmyelinated axons show selective rostrocaudal pathology in the corpus callosum after traumatic brain injury. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2012, 71 (3): 198-210.
- [16] Kasahara M, Menon DK, Salmond CH, et al. Traumatic brain injury alters the functional brain network mediating working memory. *Brain Inj*, 2011, 25 (12): 1170-1187.
- [17] Berger RP, Beers SR, Papa L, et al. Pediatric TBI CDE Biospecimens and Biomarkers Workgroup. Common data elements for pediatric traumatic brain injury: recommendations from the biospecimens and biomarkers workgroup. *J Neurotrauma*, 2012, 29 (4): 672-677.
- [18] Mondello S, Robicsek SA, Gabrielli A, et al. alphaII-spectrin breakdown products (SBDPs): diagnosis and outcome in severe traumatic brain injury patients. *J Neurotrauma*, 2010, 27 (7): 1203-1213.
- [19] Siman R, Toraskar N, Dang A, et al. A panel of neuron-enriched proteins as markers for traumatic brain injury in humans. *J Neurotrauma*, 2009, 26 (11): 1867-1877.
- [20] Thurmond VA, Hicks R, Gleason T, et al. Advancing integrated research in psychological health and traumatic brain injury: common data elements. *Arch Phys Med Rehabil*, 2010, 91 (11): 1633-1636.

## 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ 在缺血缺氧脑损伤中的作用研究进展

胡强 综述 陈高\* 审校

浙江大学医学院附属第二医院神经外科,浙江 杭州 310009

**摘要:**缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )是细胞适应低氧环境过程中调节基因表达和恢复内环境平衡的一种重要的转录调控因子。当大脑处于缺血缺氧脑损伤时,一系列基因被激活以改善能量代谢障碍、恢复脑血流动力学、促进或抑制细胞凋亡和诱导自噬激活等。近年来研究显示 HIF-1 $\alpha$ 可激活促红细胞生成素、血管内皮生长因子、肿瘤抑制基因 p53 和 BNIP3 等基因,在缺血缺氧脑损伤发生、发展过程中发挥重要的作用。深入研究 HIF-1 $\alpha$ 及其相关基因在缺血缺氧脑损伤的作用及机制,可能为缺血缺氧脑损伤的理论研究和临床治疗提供新的思路。

**关键词:**缺氧诱导因子-1 $\alpha$ ;缺血;缺氧;脑损伤

1988年首次在人类肝癌细胞中发现 HIF-1 $\alpha$ 蛋白是一种调节靶基因的重要转录因子,神经科研究者对其在缺血缺氧脑损伤中作用的研究从未间断过。

目前发现 HIF-1 $\alpha$ 下游基因超过100种,动脉内膜细胞中有超过2%的人类基因由 HIF-1 $\alpha$ 直接或者间接调控。近年来研究者发现 HIF-1 $\alpha$ 及其

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(81171094);卫生部科研基金资助项目(WKJ2009-2-025)

**收稿日期:**2013-04-11;**修回日期:**2013-06-25

**作者简介:**胡强(1985-),男,在读硕士研究生,主要从事脑血管疾病发病机制研究。

**通讯作者:**陈高(1963-),男,博士,博士生导师,主任医师,主要从事脑血管疾病、脑肿瘤、颅脑外伤及外周神经损伤等诊断与治疗及脑血管疾病的基础和临床研究。