

网络出版时间: 2015-11-18 10:12:35 网络出版地址: <http://www.cnki.net/KCMS/detail/34.1065.R.20151118.1012.060.html>

◇ 综 述 ◇

## 脊髓损伤后血脊髓屏障病变机制研究进展

刘明明<sup>1,2\*</sup> 程 建<sup>3\*</sup> 综述, 马 勇<sup>1</sup>, 黄桂成<sup>1</sup> 审校

**摘要** 脊髓损伤常会遗留神经系统后遗症,甚至导致患者瘫痪,其病理过程包括原发性损伤和继发性损伤。继发性损伤是引起脊髓病变的主要原因,往往导致脊髓无法恢复正常功

能,而继发性损伤与血脊髓屏障形态与功能的异常变化密切相关。通过回顾近些年关于血脊髓屏障的基础试验研究,对脊髓损伤后血脊髓屏障的病理变化及发病机制进行综述。

**关键词** 脊髓损伤; 血脊髓屏障; 继发性损伤; 病理生理学

**中图分类号** R 363.2; R-332

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2015)12-1827-04

2015-06-15 接收

**基金项目**: 江苏省自然科学基金(编号: BK2011180); 徐州市科技局社会发展项目(编号: KC14SH030)

**作者单位**: <sup>1</sup>南京中医药大学第一临床医学院, 南京 210046

<sup>2</sup>南京中医药大学附属徐州市中医院骨科, 徐州 221000

<sup>3</sup>东南大学医学院附属徐州医院骨科, 徐州 221000

**作者简介**: 刘明明, 男, 主治医师, 博士研究生;

黄桂成, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: lanbing3399@sina.com

\* 对本文具有同等贡献

脊髓损伤是临床常见病,受伤者以中青年居多,最常见原因为交通事故。随着社会的快速发展,其发病率正逐年增高。而脊髓损伤常会导致患者终生瘫痪,给患者带来巨大痛苦。目前临床上对于脊髓损伤的治疗仍是一个难题,因此,对脊髓损伤的病理变

(上接第 1820 页)

- [5] 卢新培. 等离子体射流及其医学应用[J]. 高电压技术, 2011, 37(6): 1416-25.
- [6] Heinlin J, Morfill G, Landthaler M, et al. Plasma medicine: possible applications in dermatology [J]. J Dtsch Dermatol Ges 2010, 8(12): 968-76.
- [7] Shen J, Cheng C, Fang S, et al. Sterilization of *Bacillus subtilis* spores using an atmospheric plasma jet with argon and oxygen mixture gas [J]. Applied Physics Express 2012, 5(3): 339-45.
- [8] 喻楠, 尚元元, 贾伟, 等. 医院深部真菌感染危险因素分析 [J]. 中华医院感染学杂志 2012, 22(13): 2789-91.
- [9] 潘彦卫, 冯文莉, 杨静, 等. 白色念珠菌伊曲康唑耐药和敏感菌株 SAP 活性与菌株毒力关系的研究 [J]. 中国药物与临床,

2015, 15(5): 614-7.

- [10] 周澄宇. 基层医院真菌感染分布及抗真菌药物敏感性分析 [J]. 实用预防医学 2015, 22(7): 882-3.
- [11] Daeschlein G, von Woedtke T, Kindel E, et al. Antibacterial activity of an atmospheric pressure plasma jet against relevant wound pathogens *in vitro* on a simulated wound environment [J]. Plasma Processes Polym 2010, 7(3-4): 224-30.
- [12] Weltmann K D, Kindel E, von Woedtke T, et al. Atmospheric-pressure plasma sources: prospective tools for plasma medicine [J]. Pure and Applied Chemistry 2010, 82(6): 1223-37.
- [13] 黄玉淑, 白丽. 白色念珠菌感染免疫应答的研究进展 [J]. 基础医学与临床 2012, 32(9): 1103-6.

### *In vitro* inhibition of low-temperature plasma on *Candida albicans*

Du Wenhui<sup>1</sup>, Huang Shenghai<sup>1</sup>, Li Hui<sup>2</sup>, et al

(<sup>1</sup>Dept of Microbiology, School of Basic Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230032;

<sup>2</sup>Dept of Dermatology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

**Abstract** The *Candida albicans* ATCC10231 was selected as the experiment strain. After the irradiation with low-temperature plasma, the growths of the colonies were observed. By low-temperature plasma irradiation after 30, 60, 120 and 180 s, obvious bacteriostatic rings appeared in the irradiation location of the center of the culture medium, with the extension of irradiation time, the bacteriostatic rings increased gradually. The bacteriostatic rings have not changed during the observation period for 3 consecutive days. Low-temperature plasma can inhibit the growth of *albicans in vitro*. It will provide the laboratory basis for the new means of treatment for *Candida albicans* infection in the future.

**Key words** low-temperature plasma; *Candida albicans*; inhibition

化及修复过程的研究成为各国学者研究的热点。脊髓损伤包括原发性损伤和继发性损伤。原发性损伤是指机械暴力直接作用于脊髓所造成的局部组织的破坏,包括损伤区的神经细胞、轴突及血管等;继发性损伤发生于原发性损伤后,各种有害因子进入脊髓实质,造成脊髓组织的水肿、缺血低氧,脊髓进一步损害,形成数倍于原发性损伤的坏死区。对继发性损伤的防治是治疗脊髓损伤的重要环节。研究<sup>[1]</sup>表明,在脊髓损伤后会引发微血管变化,继而影响血脊髓屏障(blood spinal cord barrier, BSCB)的形态和功能, BSCB 的改变是导致脊髓继发性损伤的重要病理生理基础之一,继发性损伤与 BSCB 的病理变化密切相关<sup>[2]</sup>。该文就 BSCB 的生理功能及脊髓损伤后的病理变化进行综述。

### 1 BSCB 的生理功能

BSCB 是中枢神经系统特有的屏障结构,与血脑屏障类似,其主要由内皮细胞、星形胶质细胞、血管周围的小胶质细胞以及基膜组成。BSCB 位于毛细血管水平,由特化的内皮细胞构成,其形态学基础是相邻的内皮细胞紧密连接。内皮细胞腔面富含多糖-蛋白质复合物,此带负电荷的复合物,排斥同样带负电荷的血浆蛋白,能有效地阻止血浆蛋白等大分子的运动,限制和调节髓外分子进入中枢神经系统<sup>[3]</sup>,有利于中枢神经系统微环境的稳定。BSCB 功能受多因素调节,包括血管内皮细胞因子、炎性介质、局部化学因素、神经调节因素等<sup>[4]</sup>。

### 2 脊髓损伤后 BSCB 的病理变化

脊髓损伤后 BSCB 的破坏主要与血管的机械损伤相关<sup>[5]</sup>:脊髓损伤后血管周围基底膜结构发生改变,内皮细胞间隙增宽,血管壁连接松散,这种改变可促进炎症因子等进入脊髓实质<sup>[6]</sup>,进而诱导炎症反应扩大,使脊髓暴露于炎症细胞的毒性作用中,还有如跨毛细血管内皮小泡运输增加等。早在 1978 年,Griffiths et al<sup>[7]</sup>就指出 BSCB 的改变与脊髓水肿的形成、神经细胞的损害密切相关。BSCB 的开放有其特点<sup>[8]</sup>:分布于内皮细胞腔面的多糖-蛋白质复合物所带的负电荷短暂消失,血浆蛋白无选择性的溢入脊髓。对于循环中的不同因子,脊髓损伤后 BSCB 开放时程长短不等,并且不局限于损伤部位,而是沿着脊髓纵轴的损伤区向头尾侧延伸<sup>[9]</sup>。

Evans 蓝在生理情况下不能透过 BSCB,只有在 BSCB 破坏后才可渗漏到脊髓组织当中。因此通过

测定脊髓损伤后脊髓组织中 Evans 蓝的含量,可间接反映 BSCB 的完整性及变化过程。

邵为等<sup>[10]</sup>在大鼠脊髓损伤模型中发现 Evans 蓝含量在术后 3 h 时即出现升高,术后 72 h Evans 蓝外渗达到高峰,表明脊髓损伤后 3 h BSCB 的完整性即遭到破坏,其后 72 h BSCB 的破坏达到高峰。王子田等<sup>[11]</sup>也通过动物实验证实,脊髓损伤后 8 h 损伤面积明显扩大,伤后 72 h 面积达顶峰,1 周后面积回缩。认为 BSCB 在伤后 72 h 开放达高峰,一周后逐渐恢复正常。赵宇等<sup>[12]</sup>也认为脊髓损伤后 BSCB 的开放是暂时的,通过实验研究证实, BSCB 在脊髓损伤 72 h 内开放,1 周后 BSCB 由于功能重建而关闭,由此推断,脊髓损伤后 72 h 可能为硬膜外给药的有效治疗时间窗。葛冠群等<sup>[13]</sup>通过在大鼠脊髓撞击伤模型中静脉注射兔免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) 外源性示踪剂和鼠 IgG 内源性示踪剂,用免疫荧光双标显示两种示踪剂在脊髓中的分布,发现损伤刚发生时血液漏出物集中在原发损伤区,24 h BSCB 损伤范围明显的扩大,至 72 h 损伤范围达到最大。用不同的实验方法证实了 BSCB 损伤的过程。

但也有学者对于 BSCB 的病理变化过程有不同的认识。Figley et al<sup>[5]</sup>在大鼠脊髓损伤模型中发现,脊髓组织中 Evans 蓝含量在脊髓损伤后 24 h 最高,认为损伤后 24 h BSCB 的破坏达到高峰,一直维持到脊髓损伤后 5 d;且通过实验发现,微血管数量和功能在损伤后 24 h 显著降低,损伤后 10 d 内源性血管再生轻微增加。李建峰等<sup>[14]</sup>在脊髓空洞症模型中发现脊髓组织中 Evans 蓝含量在术后第 3 天开始增高,第 7 天达到高峰,持续到第 14 天,说明第 7 天 BSCB 的破坏达到高峰,而且,通过实验<sup>[14-15]</sup>证实,这个变化过程与脊髓水肿程度的变化趋势一致。王航辉等<sup>[16]</sup>也通过实验发现,大鼠脊髓损伤模型中 Evans 蓝含量在受伤后即开始增高,第 7 天达到高峰,与脊髓组织含水量呈现相同的变化趋势。

### 3 BSCB 病变的相关因子

脊髓损伤后在损伤区可出现各种生物化学物质,导致 BSCB 结构与功能的异常,除与血管的直接机械损伤有关,多种因子同时参与了 BSCB 通透性的改变,主要包括细胞因子及血管活性肽。

李建峰等<sup>[14]</sup>通过免疫组织化学、RT-PCR 技术检测脊髓损伤组织中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF) 的蛋白及 mRNA 含

量 结果显示术后第 1 天表达即有明显升高,第 3 天、第 7 天、第 14 天呈强阳性表达,第 7 天达高峰;而且,通过数据分析得出,VEGF 表达与脊髓含水量和 Evans 蓝含量之间也存在明显的正相关性,提示 VEGF 高表达在 BSCB 功能和结构的破坏过程中起着重要影响。VEGF 调节 BSCB 的作用机制可能通过以下几方面:抑制内皮细胞连接蛋白的表达,破坏紧密连接的结构和功能,使细胞间连接开放<sup>[17-18]</sup>; VEGF 可以促进肌动蛋白收缩纤维的重组,使细胞收缩变圆,细胞间隙增宽;可以增加内皮细胞开窗,导致非开窗内皮细胞的开窗形成<sup>[19]</sup>。

肖建如等<sup>[20]</sup>通过建立颈髓损伤模型,发现颈髓损伤后伤区及邻近颈髓组织血小板活化因子(platelet activating factor,PAF)含量成倍增加,加速微血管内血小板活化,促使血栓形成,导致局部缺血、低氧,引起血管内皮细胞损害,血管通透性增加。此外,PAF 还可直接刺激微血管收缩,促使伤区及邻近脊髓血流量减少,局部区域缺血、低氧,这些都会导致 BSCB 的破坏。另一项研究<sup>[21]</sup>显示,PAF 可能是通过增加白细胞黏附分子(endothelial leukocyte adhesion molecule,ELAM)-1 mRNA 和细胞间黏附分子(intercellular adhesion molecule,ICAM)-1 mRNA 在血管内皮细胞的表达而起作用的。ICAM-1 与 ELAM-1 可以介导白细胞的活化及其与血管壁的黏附,导致血管内皮细胞的黏附性增加并保持于高黏附状态,引起血管滞留大量中性粒细胞,血管壁通透性增高,BSCB 破坏。在颈髓损伤模型中,通过使用 PAF 受体拮抗剂,可以改善脊髓损伤后神经功能的恢复,有效抑制继发损伤的产生<sup>[22]</sup>。邵为等<sup>[10]</sup>也发现,造模后 6 h 脊髓组织中 ICAM-1 表达明显增多,24 h 达到高峰。其认为脊髓损伤后 ICAM-1 表达上调,引起 BSCB 的破坏,一方面是由于损伤区域聚集白细胞、堵塞微循环通道;另一方面活化的白细胞可能会释放氧自由基及蛋白水解酶等有害物质,引起局部血管病变,导致血管通透性增加,进一步破坏 BSCB。

邵擎东等<sup>[23]</sup>在大鼠脊髓损伤模型中发现,脊髓损伤后组织中内皮素-1 mRNA、内皮素受体-A mRNA 表达均明显增加,其变化趋势与伤后脊髓组织 Evans 蓝含量及脊髓组织含水量的变化规律基本一致,表明内皮素及其受体表达的升高与 BSCB 损伤的病理过程密切相关。焦静等<sup>[24]</sup>也通过实验证实,内皮素-1 mRNA 于脊髓损伤后 6~72 h 表达明显升高。Mckenzin et al<sup>[9]</sup>认为,血管内皮素可直接

作用于脊髓微血管,调节微血管结构,血管内皮素对 BSCB 的破坏有调控作用。脊髓损伤后神经组织存在缺血、低氧,而低氧能促使血管内皮细胞内皮素及其受体的基因表达,从而刺激内皮素及其受体的合成<sup>[25]</sup>,而内皮素的生物效应又会加剧微血管的收缩,引起组织的进一步缺血、低氧,导致血管内皮细胞损害加重及 BSCB 的破坏。

既往研究<sup>[9]</sup>证实,血管内皮素的免疫表达与 IgG 免疫标记具有相关性,李禾等<sup>[26]</sup>在实验大鼠脊髓损伤后 4 h,损伤段脊髓即发现 IgG、C3c 免疫阳性标记,并随损伤时间延长,损伤区域免疫阳性标记明显增加并向周边扩散。进一步证实 IgG 参与了脊髓损伤后 BSCB 的破坏。IgG、C3c 和许多其他细胞因子的渗入参与了脊髓损伤后 BSCB 的破坏,引起神经细胞的继发性损伤。

水通道蛋白-4(aquaporin,AQP-4)是一类对水有特异通透性的膜蛋白,主要分布于脑与脊髓组织的胶质细胞膜,尤其在星形胶质细胞足突上有丰富的特异性表达,AQP-4 的表达和组织水肿严重程度呈正相关性。研究<sup>[27]</sup>显示,脑缺血时血脑屏障通透性及 AQP-4 表达均增加,且两者之间具有很好的相关性,AQP-4 参与了血脑屏障的损伤过程。因 BSCB 与血脑屏障有类似的结构组成,推测 AQP-4 可能参与 BSCB 的损伤过程;实验研究<sup>[28]</sup>也表明,脊髓损伤后 AQP-4 表达改变,导致运动功能减退更加严重、膀胱功能障碍恢复缓慢,脊髓损伤症状加重。

现今脊髓疾病发病率逐年上升,脊髓损伤后病理变化机制及相关研究一直是医学上的热点与难点。脊髓继发性损伤自 Allen 首次提出以来,也越来越受到学者的重视。由于引起脊髓继发性损伤的因素较多,包括缺血、炎症、生物化学因子、兴奋性毒性、再灌注损伤、BSCB 的破坏等,其损伤机制复杂,各类学说较多,目前没有统一的认识。BSCB 作为存在于脊髓组织和血液之间的特有屏障,为神经细胞行使正常生理功能提供了条件,对脊髓有重要保护作用,其在脊髓继发性损伤的病理机制中起着重要作用,对脊髓水肿的变化及神经再生和修复的过程起着调控作用。

BSCB 的破坏主要与脊髓损伤后微血管的机械性损伤相关,BSCB 结构的完整性遭到破坏,通透性发生改变,使得微血管中的一些物质(特别是有害物质)从血液转运到脊髓微环境中,导致脊髓神经细胞的损害。此外,VEGF、PAF、内皮素-1、AQP-4 等多种细胞因子也同时参与了 BSCB 通透性的改变,

实验<sup>[14 20 23 28]</sup>表明,这些细胞因子会加重脊髓组织水肿,导致局部缺血、低氧,引起血管内皮细胞损害,破坏 BSCB 结构和功能。但关于脊髓损伤后 BSCB 的开放时程报道长短不等,其开放时间窗尚无定论,需进一步研究,这对于在有效时间窗内给予药物治疗非常重要。未来在治疗脊髓损伤的过程中,针对 BSCB 的治疗将会占主导地位。但是,BSCB 的形态结构异常及功能障碍与很多因素相关,目前关于脊髓损伤后 BSCB 的病理变化机制尚未研究清楚,今后将是一个值得深入探讨的问题。

### 参考文献

- [1] Takigawa T, Yonezawa T, Yoshitaka T, et al. Separation of the perivascular basement membrane provides a conduit for inflammatory cells in a mouse spinal cord injury model [J]. *J Neurotrauma*, 2010, 27(4): 739–51.
- [2] Sharma H S. Pathophysiology of blood-spinal cord barrier in traumatic injury and repair [J]. *Curr Pharm Des* 2005, 11(11): 1353–89.
- [3] Bartanusz V, Jezova D, Alajajian B, et al. The blood-spinal cord barrier: morphology and clinical implications [J]. *Ann Neurol*, 2011, 70(2): 194–206.
- [4] Kuntner C, Bankstahl J P, Bankstahl M, et al. Dose-response assessment of tariquidar and elacridar and regional quantification of P-glycoprotein inhibition at the rat blood-brain barrier using (R)-<sup>11</sup>C verapamil PET [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2010, 37(5): 942–53.
- [5] Figley S A, Khosravi R, Legasto J M, et al. Characterization of vascular disruption and blood-spinal cord barrier permeability following traumatic spinal cord injury [J]. *J Neurotrauma*, 2014, 31(6): 541–52.
- [6] Winkler E A, Sengillo J D, Bell R D, et al. Blood-spinal cord barrier pericyte reductions contribute to increased capillary permeability [J]. *J Cereb Blood Flow Metab* 2012, 32(10): 1841–52.
- [7] Griffiths I R, McCulloch M, Crawford R A. Ultrastructural appearances of the spinal microvasculature between 12 hours and 5 days after impact injury [J]. *Acta Neuropathol*, 1978, 43(3): 205–11.
- [8] 毛星刚. 大鼠脊髓损伤后血-脊髓屏障的变化及其与继发性损伤关系的研究[D]. 第四军医大学, 2007.
- [9] McKenzie A L, Hall J J, Aihara N, et al. Immunolocalization of endothelin in the traumatized spinal cord: relationship to blood-spinal cord barrier breakdown [J]. *J Neurotrauma*, 1995, 12(3): 257–68.
- [10] 邵为, 花曼曼, 龚凯, 等. Egb761 对急性大鼠脊髓损伤后血脊髓屏障的保护作用及其机制研究 [J]. *中国矫形外科杂志* 2011, 19(2): 131–5.
- [11] 王子田, 沈学锋, 龚雪鹏, 等. 脊髓挤压伤所致小胶质细胞的变化与血脊髓屏障的关系 [J]. *神经解剖学杂志*, 2008, 24(2): 113–8.
- [12] 赵宇, 沈学锋, 程希平, 等. 成年大鼠脊髓损伤后血-脊髓屏障通透性变化 [J]. *神经解剖学杂志*, 2006, 22(4): 437–40.
- [13] 葛冠群, 沈学锋, 龚雪鹏, 等. 利用外源性 IgG 显示大鼠脊髓撞击伤后血-脊髓屏障变化 [J]. *神经解剖学杂志*, 2008, 24(2): 119–22.
- [14] 李建峰, 孙国柱, 刘海英, 等. VEGF 对实验性脊髓空洞前状态的血-脊髓屏障功能的调节作用 [J]. *脑与神经疾病杂志*, 2007, 15(5): 332–5.
- [15] 李建峰, 刘海英, 张庆俊. 实验性家兔脊髓空洞前状态的血-脊髓屏障形态功能变化研究 [J]. *脑与神经疾病杂志*, 2007, 15(1): 30–2.
- [16] 王航辉, 张博, 朱文侠, 等. 微囊化异种嗅球组织移植联合  $\beta$ -七叶皂甙钠对脊髓损伤大鼠血脊髓屏障功能和血管源性脊髓水肿的影响 [J]. *四川医学* 2011, 32(3): 301–4.
- [17] Zhu Y, Lee C, Shen F, et al. Angiopoietin-2 facilitates vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis in the mature mouse brain [J]. *Stroke* 2005, 36(7): 1533–7.
- [18] Song L, Pachter J S. Monocyte chemoattractant protein-1 alters expression of tight junction-associated proteins in brain microvascular endothelial cells [J]. *Microvasc Res* 2004, 67(1): 78–89.
- [19] Fischer S, Renz D, Schaper W, et al. *In vitro* effects of dexamethasone on hypoxia-induced hyperpermeability and expression of vascular endothelial growth factor [J]. *Eur J Pharmacol*, 2001, 411(3): 231–43.
- [20] 肖建如, 袁中平, 侯铁胜, 等. 血小板活化因子对颈髓损伤后血脊髓屏障的影响 [J]. *第二军医大学学报*, 1996, 17(3): 241–3.
- [21] 肖建如, 曾华武, 邵攀东, 等. 血小板活化因子及其受体对颈髓损伤后血脊髓屏障损害的分子机制研究 [J]. *中华骨科杂志*, 1998, 18(3): 164–7.
- [22] Xiao J, Zhao D, Hou T, et al. Synergetic protective effects of combined blockade by two kinds of autolesion mediator receptor on neurological function after cervical cord injury [J]. *Chin Med J (Engl)*, 1998, 111(5): 443–6.
- [23] 邵攀东, 肖建如, 曾华武, 等. 颈髓损伤后内皮素及其受体 mRNA 表达与血脊髓屏障损害的关系 [J]. *颈腰痛杂志*, 2000, 21(4): 283–5.
- [24] 焦静, 张雁儒, 马钊, 等. 颈髓损伤后生长相关蛋白 43 及内皮素 1 mRNA 表达与血脊髓屏障的损害 [J]. *中国临床康复*, 2006, 10(20): 95–7.
- [25] Minchenko A, Caro J. Regulation of endothelin-1 gene expression in human microvascular endothelial cells by hypoxia and cobalt: role of hypoxia responsive element [J]. *Mol Cell Biochem*, 2000, 208(1–2): 53–62.
- [26] 李禾, 邢更彦, 杨传铎, 等. 大鼠脊髓损伤后血脊髓屏障通透性变化的观察 [J]. *中国脊柱脊髓杂志* 2001, 11(4): 216–8.
- [27] 纪风涛, 曹铭辉, 梁建军, 等. 姜黄素预处理对大鼠脑缺血/再灌注损伤后 AQP-4 及脑水肿的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2011, 27(4): 524–7.
- [28] Kimura A, Hsu M, Seldin M, et al. Protective role of aquaporin-4 water channels after contusion spinal cord injury [J]. *Ann Neurol* 2010, 67(6): 794–801.