

## 急性脊髓损伤与基因表达(二)

赵永青, 韩凤岳

(中国中医研究院骨伤科研究所, 北京 100700)

### 5 离子通道基因

钾离子通道蛋白(putative K<sup>+</sup> channel protein), 电压门控型钾离子通道 PK5(voltage gated K<sup>+</sup> channel PK5), 电压门控型钾离子通道 RK5(voltage gated K<sup>+</sup> channel RK5), 钾离子通道 TWIK(K<sup>+</sup> channel TWIK), 钾离子通道蛋白 KSH IIIA3(K<sup>+</sup> channel protein KSH IIIA3), 钠、钾离子腺苷三磷酸酶 α2(Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase α2), 钠离子通道 I(Na<sup>+</sup> channel I), 钠钙离子交换蛋白基因 NCKX2(Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger NCKX2), 钙腺苷三磷酸酶 2(C<sup>2+</sup> ATPase 2)在脊髓损伤后均下调, 提示离子通道关闭, 各种离子交换功能障碍。

### 6 神经递质受体和载体基因

①谷氨酸受体(GluR): Glu 是哺乳动物 CNS 主要的兴奋性神经递质。目前认为 GluR 可以分为两种基本类型, 即亲离子谷氨酸受体(iGluR, 又称直接闸控通道)和亲代谢谷氨酸受体(mGluR), 是通过第二信使的间接闸控通道。在脊髓损伤后, 脊髓内多种亚型的谷氨酸受体(例如 GluR-K3、GluR-A、GluR-B、GluR-4c)蛋白基因表达下调<sup>[1,2]</sup>。②抑制性神经递质及其基因: γ-氨基丁酸受体基因(GABAR)、甘氨酸(Gly)、5-羟色胺及其受体(5-HT, 5-HT<sub>R</sub>)、神经递质载体蛋白(neurotransmitter transporter)、原癌基因 ras 相关蛋白 Rab3(Ras related Rab3)、突触小体缩合(相关)性膜蛋白(SNAP)、突触蛋白 II(synapsin II)在脊髓损伤后均下调。在哺乳动物 CNS 内, GABA 是公认的抑制性神经递质。在 CNS 抑制性神经元上有两种 GABA 受体, A 型受体(GABA<sub>A</sub>R)是亲离子型受体, 它闸控着 Cl<sup>-</sup> 通道。B 型受体(GABA<sub>B</sub>R)是亲代谢型受体, 能引起 K<sup>+</sup> 通道的激活。在脊髓损伤后, GABA<sub>R</sub>α2、5、γ2 的表达均下调<sup>[3]</sup>, 可能导致脊髓神经元运动神经元兴奋性的过度增高和功能障碍。Gly 下调可能影响到脊髓内抑制性突触的传递<sup>[3]</sup>。5-HT 在脊髓损伤后下调提示神经递质的运输将发生障碍。Rab3、SNAP-25B、SNAP-25A、synapsin2a、synapsin2b 是突触分泌装备的组成部分, 在脊髓损伤后表达下调使神经递质的合成、释放及再摄取等功能发生障碍。

### 7 与神经组织修复再生相关的基因

7.1 抑制脊髓修复再生的基因 Nogo 及 NgR(Nogo receptor): ①Nogo 是髓鞘相关糖蛋白, 能阻止神经的生长。其中 NogoA 全长序列具有最强的抑制作用, NogoA 蛋白存在于少突胶质细胞、有髓轴突的表面和神经元突起与胞体连接处。在脊髓损伤后, NogoA 表达中度上调, 而其受体的水平维持稳定, 两者的比例抑制了神经轴突的修复和再生<sup>[4]</sup>。②轴突导向排斥因子(RAGs): 已经确认了两种糖蛋白(分子量分别为

33kDa 和 25kDa)能够排斥轴突向靶细胞的生长, 致使其生长锥溃变。③胶质原纤维酸性蛋白(GFAP): 是星形胶质细胞的标志性蛋白, 脊髓损伤区 GFAP 表达明显的上调。早期增生的星形胶质细胞可以分泌神经生长因子, 在脊髓损伤的中晚期, 过度增生的星形胶质细胞形成胶质瘢痕, 阻碍再生神经纤维的生长。④神经胶质生长因子(GGF): 在脊髓损伤后 GGF 表达明显上调, 一方面刺激星形胶质细胞的过度增生, 另一方面则抑制干细胞向神经元的分化。⑤髓磷脂连接糖蛋白(MAGP): 是轴突生长的抑制蛋白。⑥神经突起抑制蛋白 35(NF-35): 当存在 NF-35 抗体时, 体外培养的中枢神经元突起, 在髓磷脂或寡突胶质的“铺衬面”上生长。

### 7.2 促进脊髓修复再生的基因

7.2.1 神经营养因子 NF 主要包括①神经营养因子系列(NTFs): 主要有神经生长因子及其受体(NGF, NGFR)<sup>[5]</sup>、脑衍生的神经营养因子(BDNF)<sup>[6]</sup>、神经营养因子 3(NT-3)、神经营养因子 4/5(NT-4/5)和神经营养因子 6(NT-6)等。②神经调节素系列(NR): 是 c-Neu/ErbB2、Trk、GGF 和 Ras/MAP 等组成之蛋白质功能复合体。酪氨酸激酶(Trk)家族包括 TrkA、TrkB 和 TrkC, 该基因家族属于 NT 受体基因家族成员。成年大鼠脊髓损伤后, 在侧索的下行纤维中 TrkC 呈高表达, 说明脊髓中下行纤维的再生可能与 TrkC 的配体神经营养因子 3 的激活有关<sup>[7]</sup>。Liebl 等<sup>[8]</sup>报道在脊髓损伤后 Trk 表达时相性变化, 可能与脊髓损伤后早期发生的神经元丢失有关。③白介素 6 系列(IL-6s): 主要有睫状神经营养因子(CNTF)、白血病抑制因子(LIF)和促心肌素(CT)。④转化生长因子 β 系列(TGFβs): 主要有 TGFβ-3、神经胶质衍生的神经营养因子(GDNF)、骨形态发生蛋白(BMP)、neurturin(纽涂林)、persephin(泼噻吩)和 artemin(阿特敏)等。⑤纤维母细胞生长因子家族(FBGFs)

7.2.2 神经细胞骨架蛋白基因 包括微管蛋白(tubulin)、低分子神经丝蛋白(NF-L)、高分子神经丝蛋白(NF-H)、溶酶体缩合性膜蛋白(LAMP)、S-100、胶质原纤维酸性蛋白(GFAP), 是星形胶质细胞骨架蛋白中间丝的主要成分, 也是星形胶质细胞的标志性蛋白、磷酸神经蛋白 14(phosphoneuroprotein 14)、微管连接蛋白(MAP2c)等。在脊髓损伤后微管蛋白 α-tubulin 和 NF-L 的表达均明显的下调<sup>[9]</sup>。这可能与神经元微丝、微管蛋白的溃变有关。GFAP 和 S-100 是星形细胞和成星形细胞的特异性的标志物, 在脊髓损伤后 S-100 和 GFAP 的表达明显上调。

7.2.3 神经生长相关蛋白基因 ①生长相关蛋白 43(GAP

43): 是一种高度特异性的神经生长调节蛋白, 在轴突生长锥等结构内有高表达。在成年的神经元中, GAP 43 的高表达能激动轴突末梢长芽, GAP 43 基因表达上调用来判断再生轴突生长锥的存在。②细胞骨架相关蛋白 23(GAP 23) 是皮质神经元细胞骨架相关的蛋白, 脊髓损伤后 GAP 43 和 CAP 23 的联合表达, 是诱导小鼠背根节神经生长轴突再生的一个关键问题<sup>[10]</sup>。③GTP 酶激活蛋白 43(GAP 43@1): 是一种控制神经元生长、分化和成熟的神经元特异性磷蛋白, 也是神经元突触重建和再生所必须的蛋白。

**7.2.4 髓磷脂碱性蛋白(MBP)** MBP 是 CNS 髓鞘的一种标志性成分, 在脊髓损伤后的第 1 天即开始下调, 这可能是由于少突胶质细胞死亡—髓鞘崩解的结果。从第 2 天起, 在损伤部位的边缘开始上调, 到第 8 天达高峰。这反应了损伤刺激, 激活了寡突胶质和髓鞘的再生。而在损伤 2 周后, 损伤边缘部该基因表达又下调。这可能提示 CNS 内神经纤维的再生处于“流产”状态。因此, 脊髓损伤后 MBP 表达的变化, 可能与损伤局部修复再生的情况有密切的关联<sup>[11]</sup>。

**7.2.5 与神经生长相关的其他基因** 在脊髓损伤后 24 h, TGF $\beta$ 1、PDGF、VGF、Nestine、SMN、CRBP 等表达的调整有助于保持神经组织的稳定、结构的保护和修复与再生。TGF $\beta$ 1 可能担负着免疫抑制剂的作用, 同时能够刺激神经突起的长芽<sup>[12]</sup>。PDGF 和 VGF 表达的上调能够分别阻止被切断轴突之神经元的坏死和降低神经细胞的能量代谢。在脊髓损伤时 Nestine 表达的下调可能是室管膜细胞增生的标志。SMN 在脊髓损伤后可能起着保护神经元的作用, 因为 SMN 和 bcl-2 一样能同时阻止细胞的凋亡。CRBP 表达的上调则提示神经元的视黄醛代谢被激活了, 这对于提高神经母细胞的增殖及再生可能具有积极的作用。在脊髓损伤后 PEP 19、DCP、MAP2c、LAMP、NF H 和 NF L 表达的下调, 提示突触形成(CNS 可塑性)和轴突的被髓进程受到了抑制<sup>[13, 14]</sup>。

## 8 神经肽基因家族

是一组具有生物活性的多肽, 许多是人们熟知的激素和神经递质。神经节肽(galanin)、促肾上腺皮质激素释放因子(CTRF)、强啡肽(dynorphin)、纯化蛋白衍生物(PPD)、聚苯乙醚(PPE)、降钙素基因相关肽(CGRP)、血管活性肠肽(VIP)、缩胆囊素(CCK)、血管紧张素 II(angiotensin II)、神经肽 Y(NPY)等基因上调, 这有利于提高神经细胞的存活和再生能力; 乙酰胆碱(ACh)、天冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)、加压素(vasopressin)和催产素(oxytocin)等基因下调, 必然导致与这些递质合成或分泌活动相关物质的减少<sup>[15]</sup>, 从而影响 CNS 的功能活动。

## 9 其他基因

钙-钙调蛋白依赖性蛋白激酶家族(CaM kinase 家族)下调, 可以导致神经组织蛋白磷酸化和第二信使传递的障碍。CAPON 下调可破坏神经系统一氧化氮合酶与突触后致密度受体之间的功能联系<sup>[16]</sup>。p75 和 p75R 上调能增加细胞的凋亡<sup>[17]</sup>。凝血酶原(PT)表达上调可以激动蛋白酶激活受体 1 基因表达(FAR-1), 从而诱导细胞的凋亡<sup>[18]</sup>。HLH 基因家族包括 Id1、Id2 和 Id3 DNA 结合抑制蛋白, 在脊髓损伤后的星形胶质细胞和神经细胞中 Id 表达均明显上调, 且 GFAP 表达

阳性的胶质细胞均有 3 种类型 Id 表达。Id 表达可被 TNF $\alpha$  所诱导<sup>[19]</sup>。

巨噬细胞刺激蛋白(MSP): MSP 在脊髓损伤后上调。

胰岛素样生长因子家族(IGFs): 在中枢损伤后的病变组织中 IGF 1、IGFBP 2 和 IGFBP 5 表达增强, 在损伤后的脊髓运动神经元中 IGFBP 6 表达明显上调, 它能促进神经的再生。

## 参考文献

- Bush TG, Puvanachandra N, Horner CH. Leukocyte infiltration, neuronal degeneration, and neurite out growth after ablation of scar forming, reactive astrocytes in adult transgenic mice. *Neuron*, 1999, 23: 297-308.
- Keyvani K, Bosse F, Reinecke S, et al. Postlesional transcriptional regulation of metabotropic glutamate receptors: Implications for plasticity and excitotoxicity. *Acta Neuropathol*, 2001, 101(2): 79-84.
- Chaudhry FA, Reimer RJ, Bellocchio EE, et al. The vesicular GABA transporter, VGAT, localizes to synaptic vesicles in sets of glycinergic as well as GABAergic neurons. *J Neurosci*, 1998, 18(23): 9733-9750.
- Wang X, Chun SJ, Treloar H, et al. Localization of Nogo A and Nogo 66 receptor proteins at sites of axon myelin and synaptic contact. *J Neurosci*, 2002, 22(13): 5505-5551.
- Masaya N, Bregman BS. Differences in neurotrophic factor gene expression profiles between neonate and adult rat spinal cord after injury. *Exp Neurol*, 2001, 169: 407-415.
- Bregman BM, H dai M, Kuhn P. Neurotrophic factors increase axonal growth after spinal cord injury and transplantation in the adult rat. *Exp Neurol*, 1997, 148: 475-494.
- Frisen J, Arvidsson U, Lindholm T, et al. TrkC expression in the injured rat spinal cord. *Neuroreport*, 1993, 5(3): 349-352.
- Liebl DJ, Huang W, Parada LF. Regulation of Trk receptors following contusion of the rat spinal cord. *Exp Neurol*, 2001, 167(1): 15-26.
- Mikucki SA, Oblinger MM. Corticospinal neurons exhibit a novel pattern of cytoskeletal gene expression after injury. *J Neurosci Res*, 1991, 30(1): 23-25.
- Bomze HM, Bulsara KR, Iskandar BJ. Spinal axon regeneration evoked by replacing two growth cone proteins in adult neurons. *Nat Neurosci*, 2001, 4(1): 38-43.
- Bartholdi D, Schwab ME. Oligodendroglial reaction following spinal cord injury in rat: Transient up regulation of MBP mRNA. *Glia*, 1998, 23(3): 278-284.
- Metigue DM, Popovich PG, Morgan TE, et al. Localization of transforming growth factor beta1 and receptor mRNA after experimental spinal cord injury. *Exp Neurol*, 2000, 163(1): 220-230.
- Muller R, Heinrich M, Heck S, et al. Expression of microtubule associated proteins MAP2 and tau in cultured rat brain oligodendrocytes. *Cell Tissue Res*, 1997, 288(2): 239-249.
- Kushihara H, Sekine T, Utsunomiya Tate N, et al. Molecular cloning and characterization of a new multispecific organic anion transporter from rat brain. *J Biol Chem*, 1999, 274(19): 13675-13680.
- Palkovits M. Neuropeptide messenger plasticity in the CNS neurons following axotomy. *Mol Neurobiol*, 1995, 10(2-3): 91-103.
- Jaffrey SR, Snowman AM, Eliasson MJ, et al. CAPON: A protein associated with neuronal nitric oxide synthase that regulates its interactions with PSD95. *Neuron*, 1998, 20(1): 115-124.
- Brandoli C, Shi B, Pflug B, et al. Dexamethasone reduces the expression of p75 neurotrophin receptor and apoptosis in contused spinal cord. *Brain Res Mol Brain Res*, 2001, 87(1): 61-70.

# ·手法介绍·

## 老年肱骨下端完全关节内骨折手法治疗 26 例

### Treatment of distal humeral fracture in old age with manipulation: A report of 26 cases

杨友发

YAN G Youfa

**关键词** 肱骨下端骨折; 正骨手法 **Key words** Fracture of distal end of humerus; Bone setting manipulation

自 1985 年 3 月- 2001 年 10 月共收治老年肱骨下端完全关节内骨折(AO/AISF C 型) 26 例, 手法整复, 夹板加铁丝托外固定或石膏外固定, 疗效满意, 报告如下。

#### 1 临床资料

新鲜老年肱骨下端完全关节内骨折患者共 26 例, 其中男 9 例, 女 17 例; 年龄 60~ 78 岁。均为多种原因不愿手术者或不能手术者。左肘 12 例, 右肘 14 例。致伤原因: 跌仆伤 18 例, 车祸伤 8 例。其中合并同侧桡骨远端骨折者 4 例, 就诊时间在 10 d 以内。根据 AO/AISF 分类为 C 型骨折, 其中 C<sub>1</sub>13 例, C<sub>2</sub>8 例, C<sub>3</sub>5 例。

#### 2 治疗方法

**2.1 手法整复** 取坐位, 以左肘为例, 第一助手用一布单从腋下穿过, 沿肱骨干纵轴方向向上牵引, 第二助手立于伤员前方, 取伤员肘关节屈曲 90°, 前臂中立位。用左手虎口对准肘窝前方, 手掌置于前臂上端沿肱骨纵轴方向向下压作对抗牵引, 右手握住前臂下端以维持肘及前臂的功能位。医者立于伤员的左侧, 根据骨折的类型及移位情况施行相应的手法。用捺正法纠正侧方移位, 用捺正及推挤法辅以屈伸纠正前后移位, 用挤压法以整合骨块之间的分离以达到骨折块间的最佳接合, 尤其是关节面要最大限度地保持平整。若合并同侧桡骨下端骨折时, 宜先整复腕部并固定, 再整复固定肘部。

**2.2 复位后处理** ①夹板固定及纸压垫的放置: 夹板用肱骨髁上板共 4 块, 前后内外侧各 1 块, 纸压垫的放置应根据骨折移位的方向及移位倾向决定, 内外侧均用梯形垫以保护肱骨内外髁骨突不致被压创, 若骨折块向外移位者, 置梯形垫于肱骨远端外侧的同时, 肱骨骨折近侧端内侧置以平垫。如骨折向后移位的, 于肱骨骨折远侧端后方置以平垫。3 根扎带常规固定夹板, 肘下方内外侧夹板用胶布“U”字封肘。②自制

铁丝托外固定或石膏外固定: 取 10 号线粗适当长度的铁丝作回形弯曲成 90°, 用绷带缠绕成托, 上至肱骨上 2/3, 下至腕关节, 固定于肘关节屈曲 90°, 若屈曲不稳定的宜半屈曲位, 前臂中立位。或用肘后方石膏托, 固定范围同上。③扎带的调整与及时复查: 复位固定后要随时观察伤肢血液循环, 随肿胀之进退来调整扎带的松紧, 及时拍片复查。④中药内服按三期辨证用药, 6~ 8 周去除外固定, 用中药煎汤熏洗患部, 行肘部功能锻炼。

#### 3 结果

随访时间 12~ 36 个月, 平均 20 个月。复位后对位对线良好, 愈合后伸展 0°~ 5°~ 10°, 屈曲 0°~ 125°, 功能正常或基本正常者 20 例, 基本恢复原有的工作或生活。4 例接近功能对位, 愈合后肘关节伸展 20°~ 30°, 屈曲 20°~ 90°, 功能有不同程度的受限, 一般生活能自理。2 例骨折复位不理想, 愈合后肘关节不能伸展屈曲, 关节间隙消失, 而发生骨关节炎。

#### 4 讨论

肱骨下端完全关节内骨折即属 AO/AISF 分类的 C 型骨折, 多见于成人。此类骨折的整复固定比较复杂。整复前要仔细阅读骨折的影像资料, 在医生的脑中形成立体图像。拔伸牵引若伸肘时易造成骨折块的旋转移位整复较困难, 若取伤员肘关节屈曲 90° 前臂中立位下肱骨纵轴方向牵引, 较便于整复。牵引时要注意用力的恰到好处, 过牵不但可造成骨折块与软组织失去联系加重损伤, 而且不利整复、破坏血供影响愈合。但牵引不足又可使骨折块相互阻挡不能复位。复位满意后位置的固定与维持也比较困难。克服之法是: ①合理用好小夹板及纸压垫; ②调整好扎带的松紧; ③及时的 X 线片跟踪, 并根据情况随时调整。中医的辨证施治也很重要, 要结合老人特点及体质灵活运用三期辨证用药, 外固定去除后用中药熏洗既有药物作用又有物理作用, 加以合理的功能锻炼, 常能获得较理想的效果。

(收稿日期: 2003- 06- 18 本文编辑: 王宏)

衢州市中医院骨伤科, 浙江 衢州 324002

18 Citron BA, Smirnova IV, Arnold PM, et al. Upregulation of neurotoxic serine proteases prothrombin, and protease activated receptor 1 early after spinal cord injury. J Neurotrauma, 2000, 17(12): 1191-1203.

19 Tzeng SF, Kahn M, Liva S, et al. Tumor necrosis factor alpha regulation of the Id gene family in astrocytes and microglia during CNS inflammatory injury. Glia, 1999, 26(2): 139-152.

(收稿日期: 2003- 12- 30 本文编辑: 李为农)