肌萎缩侧索硬化运动神经元兴奋性研究进展

刘明生, 崔丽英*

中国医学科学院&北京协和医学院, 北京协和医院神经科, 北京 100730

* 联系人, E-mail: pumchcuily@sina.com

收稿日期: 2021-06-12; 接受日期: 2021-07-16; 网络版发表日期: 2021-08-16

摘要 肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是一种累及上下运动神经元的神经系统变性病, 兴奋性氨基酸毒性是其发病机制之一. ALS上下运动神经元存在兴奋性异常, 在不同阶段, 这种兴奋性异常有所不同, 本文对上下运动神经元兴奋性异常在细胞水平离子通道的变化以及ALS患者临床电生理所见的兴奋性异常的研究进展进行了综述.

关键词 肌萎缩侧索硬化, 上运动神经元, 下运动神经元, 兴奋性

肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是一种累及上下运动神经元的进行性发展的神经系统变性病, 以肌肉无力、萎缩、肌束颤动为主要表现, 最终出现吞咽困难和呼吸肌无力而死亡. 至今仍缺乏能控制疾病的治疗药物. ALS发病机制有多种假说, 运动神经元的兴奋性异常, 是导致其发病的机制之一.

1 运动神经元的兴奋性异常可能是ALS最早期的改变

对ALS患者进行肌电图检测时, 在相应肌肉会出现神经源性损害表现, 通常认为, 这是由于前角细胞变性坏死之后, 导致相应的轴索变性, 继而远端肌肉出现失神经支配的结果. 然而, 诸多研究显示, 在疾病发展过程中, 具体演变过程可能并非如此.

我们对ALS患者采用多模式磁共振研究显示, 与

额颞叶萎缩患者不同, ALS患者和健康对照比较, 尽管部分脑区血流和代谢有所不同, 但额叶皮层灰质容量并无差异^[1]; 在临床上, 也很少能看到额叶明显萎缩的情况; 在人体尸检资料中, 可以见到上下运动神经元的变性丢失, 额叶和脊髓前角灰质的萎缩, 但这些通常为疾病终末期表现; 动物模型的病理学研究显示, 下运动神经元的变性坏死的程度与肌肉的萎缩坏死程度明显不平行, 在病理上尚未出现运动神经元坏死之前, 神经肌肉接头处已出现明显的结构异常^[2]. 有研究者甚至提出假说, “ALS是否为神经肌肉接头处病变导致的逆向损伤(dying back)所致?”

那么, 在疾病早期, 为什么会出现脊髓前角细胞变性坏死较肌肉萎缩坏死程度更轻的现象呢?

在上下运动神经元坏死之前, 其与肌肉之间的功能联系已经明显受损, 导致这种现象的原因, 很可能与运动神经元兴奋性异常有关, 尽管其细胞体形态结构仍存在, 但运动神经元向远端传递生理信息的能力

引用格式: 刘明生, 崔丽英. 肌萎缩侧索硬化运动神经元兴奋性研究进展. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 908-911

Liu M S, Cui L Y. The effect of exercise and motor neuron excitability on amyotrophic lateral sclerosis (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2021, 51: 908-911, doi: [10.1360/SSV-2021-0105](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0105)

已逐步下降乃至消失,致使肌纤维长期无法获得正常神经冲动,在神经肌肉接头长期缺乏正常的反馈与负反馈的信息传递,终致突触的功能和结构异常,导致肌肉萎缩无力,而相应的运动神经元的变性坏死,可能较其所支配的肌纤维的萎缩坏死更晚。

兴奋性氨基酸毒性是ALS发病机制之一,但导致运动神经元兴奋性异常的上游环节,还需要更多研究去阐明,这涉及ALS的发病机制这一最大的难题。但不管其上游机制如何,从运动神经元兴奋性角度入手,可能会成为早期干预ALS病情进展的重要途径之一。

2 ALS运动神经元兴奋性研究

兴奋性氨基酸毒性是ALS的发病机制之一。关于ALS运动神经元兴奋性的研究,主要是采用膜片钳技术对运动神经元培养细胞、脑片或脊髓片进行测定,另外尚有部分研究采用电生理或影像方法研究活体小鼠或患者的运动神经元兴奋性。ALS上下运动神经元的兴奋性异常存在动态变化的过程,并受到中间神经元及环境中其他因素的调控。

(1) ALS下运动神经元兴奋性研究

针对ALS小鼠脊髓前角细胞的研究显示,腰段脊髓前角细胞在胚胎期即表现为高兴奋性,这种高兴奋性在出生后持续存在,但随着月龄增加,脊髓前角细胞的兴奋性下降,在发病后其兴奋性下降更为明显。

Kuo等人^[3]对胚胎期和出生后1周的脊髓片培养2~4周,采用膜片钳技术检测,可见运动神经元兴奋性增加,而运动神经元细胞的形态和大小、静息膜电位、输入阻抗与野生型小鼠比较无差异,峰电位的波幅、兴奋性阈值也无变化,但电流强度-频率曲线有明显异常,发放频率明显增加,在药物阻断外来细胞抑制性突触的影响后,峰电位后超级化并无变化,运动神经元仍存在兴奋性增高表现。研究者认为,这种兴奋性异常来源于运动神经元细胞内部,为基因突变后导致细胞内机制的异常,而非外源性的影响。运动神经元兴奋性的增加,可能与持续钠电流异常增加有关。这种兴奋性增高显然要早于运动神经元变性。ALS小鼠下运动神经元存在内源性兴奋性增高的现象,也为其他几项研究证实。运动神经元发放频率的增加,可能会加重氧化应激损害的过程,增加线粒体代谢负荷,这也可能是运动神经元选择性损害的机制之一。另外,

由于脊髓运动神经元细胞膜上的Na/K泵活性下降,发放频率的增加将加重细胞离子代谢的紊乱。有研究显示ALS运动神经元易感性可能与钙离子缓冲能力下降有关。由于高兴奋性导致的钙离子内流,在运动神经元选择性变性过程中也发挥了一定的作用^[4~7]。

但是,SOD1^{G93A}小鼠脊髓前角运动神经元兴奋性的增高并非持续存在。在针对出生后30~80天的SOD1^{G93A}小鼠研究显示,脊髓腰段58%的前角运动神经元兴奋性并无增高,其峰电位阈值、电流强度-频率曲线与野生型小鼠均无明显差异,但输入电导有增加,输入电导的增加通常会降低神经元的兴奋性,但由于去极化电流上调,兴奋性稳态仍可维持。有32%前角细胞的稳态无法维持,兴奋性下降,在单个电流刺激时,无法产生持续的电位发放,但给予持续电流刺激,则仍可兴奋并产生连续电位发放;另有10%的神经元兴奋性明显减低,给予持续电流刺激也仅能产生个别电位发放,完全丧失生理功能^[8]。该研究认为脊髓运动神经元的突触联系在其兴奋性的维持过程中发挥重要作用。该研究对象均为症状前小鼠,研究结果也提示,在ALS小鼠发病前,脊髓运动神经元已经出现不同程度病变,出现不同程度的脊髓前角运动神经元兴奋性减低,部分运动神经元尽管细胞结构仍存在,但兴奋性已经基本丧失。尽管此时其远端轴索的兴奋性可能仍存在。但该研究未能检测到高兴奋性的运动神经元,提示在SOD1^{G93A}小鼠中,下运动神经元兴奋性异常存在动态变化的过程。随着更多脊髓前角细胞兴奋性的下降程度越来越重,导致更多的神经元无法完成生理功能,临床无法代偿时,出现肢体的无力。该研究认为在SOD1^{G93A}小鼠中,发病机制会导致所有类型的脊髓前角运动神经元均受影响,只是快发放运动神经元易感性更强^[9]。

Marchand-Pauvert等人^[10]对ALS发病早期患者和健康对照采用成对运动单位记录(paired motor unit recording method)的方法,在轻微用力和大力收缩时,观察成对的运动单位电位发放频率及其规律,研究显示,与正常对照相比,ALS患者的脊髓运动神经元发放频率下降($P<0.001$),在疾病进展快者下降更为明显,提示在ALS患者,脊髓前角细胞运动神经元兴奋性下降,这一研究结果与成年ALS小鼠的细胞电生理研究结果相符。采用ALS患者来源的多能干细胞(iPSC)培养的运动神经元细胞进行检测,也表现为兴奋性降低,与

前述研究结果一致^[11]。

(2) ALS的上运动神经元兴奋性研究

在SOD^{G93A}小鼠中, 不管是培养细胞还是脑片膜片钳研究, 在胚胎期、出生后、发病后, 均显示其大脑皮层锥体细胞存在兴奋性的异常。在SOD^{G93A}小鼠中, 皮层运动神经元细胞自身一直存在兴奋性增高的表现, 其所表现的兴奋性增高, 还同时受到环境中其中间神经元的调控^[12]。在体外检测时, 其所表现的兴奋性异常存在一个动态变化的过程。在胚胎和出生后早期, ALS小鼠皮层运动神经元兴奋性增高; 在之后成长过程中, 这种兴奋性的增高不仅仅局限于运动神经元, 在中间抑制性神经元也存在兴奋性增高的表现。兴奋性和抑制性神经元兴奋性的增高在出生后即可以检测到, 在成长过程中, 由于抑制性中间神经元的调控, ALS运动神经元所表现的总体兴奋性仍处于正常范围, 细胞生理功能可以维持, 在发病后, 皮层运动神经元的兴奋性再次升高, 而终末期, 其兴奋性下降^[13]。

在ALS患者, 采用经颅磁刺激的研究方法显示, 在

家族性ALS患者发病前即存在运动皮层兴奋性的增高^[14]。不管家族性还是散发性ALS患者, 发病后也存在皮层兴奋性增高的表现, 但随着疾病进展至后期, 运动皮层兴奋性下降, 这一过程中同时存在中间抑制性神经元兴奋性的变化^[15]。我们采用三重经颅磁刺激技术对ALS皮层兴奋性和上运动神经元损伤研究, 也证实ALS患者皮层运动神经元静息运动阈值有下降, 兴奋性增高^[16]。

3 结语

ALS的上下运动神经元兴奋性异常在ALS发病中具有重要作用, 在不同病程阶段, 上下运动神经元这种兴奋性的变化均有动态演变的过程, 并且二者并非同步, 在未来研究中, 采用临床电生理技术以及细胞电生理技术, 从不同角度, 进一步研究, 阐明不同运动神经元兴奋性之间的相互影响及其动态变化特点, 对于明确ALS发病机制、开展早期干预治疗药物的研发, 具有重要作用。

参考文献

- Shen D, Hou B, Xu Y, et al. Brain structural and perfusion signature of Amyotrophic Lateral Sclerosis with varying Levels of cognitive deficit. *Front Neurol*, 2018, 9: 364
- Dadon-Nachum M, Melamed E, Offen D. The “dying-back” phenomenon of motor neurons in ALS. *J Mol Neurosci*, 2011, 43: 470–477
- Kuo J J, Schonewille M, Siddique T, et al. Hyperexcitability of cultured spinal motoneurons from presymptomatic ALS mice. *J NeuroPhysiol*, 2004, 91: 571–575
- Ilieva H, Polymenidou M, Cleveland D W. Non-cell autonomous toxicity in neurodegenerative disorders: ALS and beyond. *J Cell Biol*, 2009, 187: 761–772
- von Lewinski F, Keller B U. Ca²⁺, mitochondria and selective motoneuron vulnerability: implications for ALS. *Trends Neurosci*, 2005, 28: 494–500
- Kuo J J, Siddique T, Fu R, et al. Increased persistent Na⁺ current and its effect on excitability in motoneurons cultured from mutant SOD1 mice. *J Physiol*, 2005, 563: 843–854
- Martin E, Cazenave W, Cattaert D, et al. Embryonic alteration of motoneuronal morphology induces hyperexcitability in the mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Dis*, 2013, 54: 116–126
- Delestrée N, Manuel M, Iglesias C, et al. Adult spinal motoneurons are not hyperexcitable in a mouse model of inherited amyotrophic lateral sclerosis. *J Physiol*, 2014, 592: 1687–1703
- Martínez-Silva M L, Imhoff-Manuel R D, Sharma A, et al. Hypoexcitability precedes denervation in the large fast-contracting motor units in two unrelated mouse models of ALS. *eLife*, 2018, 7: e30955
- Marchand-Pauvert V, Peyre I, Lackmy-Vallee A, et al. Absence of hyperexcitability of spinal motoneurons in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *J Physiol*, 2019, 597: 5445–5467
- Naujock M, Stanslowsky N, Bufler S, et al. 4-Aminopyridine induced activity rescues hypoexcitable motor neurons from amyotrophic lateral sclerosis patient-derived induced pluripotent stem cells. *Stem Cells*, 2016, 34: 1563–1575

- 12 Clark R M, Brizuela M, Blizzard C A, et al. Reduced excitability and increased neurite complexity of cortical interneurons in a familial mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Front Cell Neurosci*, 2018, 12: 328
- 13 Kim J, Hughes E G, Shetty A S, et al. Changes in the excitability of neocortical neurons in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis are not specific to corticospinal neurons and are modulated by advancing disease. *J Neurosci*, 2017, 37: 9037–9053
- 14 Geevasinga N, Menon P, Nicholson G, et al. Cortical function in asymptomatic carriers and patients with *C9orf72* amyotrophic lateral sclerosis. *JAMA Neurol* 2015, 72: 1268–1274
- 15 Do-Ha D, Buskila Y, Ooi L. Impairments in motor neurons, interneurons and astrocytes contribute to hyperexcitability in ALS: underlying mechanisms and paths to therapy. *Mol Neurobiol*, 2018, 55: 1410–1418
- 16 Wang Y, Wang H, Cui L Y. Triple stimulation technique in amyotrophic lateral sclerosis. *J Clin Neurophysiol*, 2019, 36: 87–92

The effect of exercise and motor neuron excitability on amyotrophic lateral sclerosis

LIU MingSheng & CUI LiYing

Department of Neurology, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disorder characterized by motor neuron loss. Excitatory amino acid toxicity and abnormal excitability of motor neurons are one of the pathogenesis of ALS. In this article, we review research progress on the dynamic changes in upper and lower motor neuron excitability at the ion channel level and their clinical neurophysiological features.

amyotrophic lateral sclerosis, upper motor neuron, lower motor neuron, excitability

doi: [10.1360/SSV-2021-0105](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0105)