

放散式体外冲击波对神经肌肉接头影响的研究进展

陈禹彤¹, 姚黎清²

1. 昭通市中医医院神经内科, 云南 昭通 657000; 2. 昆明医科大学第二附属医院康复医学科, 云南 昆明 650101

【摘要】神经肌肉接头(NMJ)是运动神经元轴突末梢和相应肌纤维间连接的效应位点,是动作电位产生的基础,而NMJ处的乙酰胆碱受体等物质对于动作电位传导具有重要意义。痉挛患者上运动神经元受损时,周围神经持续地通过NMJ向肌肉发放冲动,肌肉出现持续性收缩。研究显示放散式体外冲击波对NMJ有一定作用,可减少动作电位的产生,有助于痉挛的缓解,但冲击波在NMJ处的具体作用机制尚不完全明确,仍需进一步探明。

【关键词】放散式体外冲击波;神经肌肉接头;烟碱样乙酰胆碱受体;综述

【中图分类号】R318

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2020)06-0754-04

Advances in research on the effects of radial extracorporeal shock wave on neuromuscular junction

CHEN Yutong¹, YAO Liqing²

1. Department of Neurology, Zhaotong Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhaotong 657000, China; 2. Department of Rehabilitation Medicine, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, China

Abstract: Neuromuscular junction (NMJ) which is the effector site of the connection between the axon ends of motor neurons and the corresponding muscle fibers is the basis of action potential generation. Substances such as acetylcholine receptor at NMJ have important significance for action potential conduction. When the motor neurons in the patient with spasm are damaged, the peripheral nerve will continuously dole out impulses to muscles by NMJ, and the muscles will appear durative contraction. The research shows that radial extracorporeal shock wave has certain effect on NMJ, and that it can reduce the generation of action potentials, conducive to the relief of spasm. However, the specific mechanism of shock wave on NMJ remains unclear and needs to be further investigated.

Keywords: radial extracorporeal shock wave; neuromuscular junction; nicotinoid acetylcholine receptor; review

前言

人体随意运动的发生需要健全的神经系统、运动系统功能以及神经系统对运动系统的支配,这一支配过程具体而言是通过发生在神经肌肉接头(Neuromuscular Junction, NMJ)的运动神经元与肌纤维之间的神经冲动所介导的, NMJ功能的完好是动作电位传导产生的基础。

1.1 NMJ的结构及功能

NMJ是运动神经元轴突末梢和相应肌纤维间连

接的效应位点,在NMJ内通过神经递质的传递实现神经与肌肉细胞间的“电-化学-电”信号传导,进而引起肌肉收缩。NMJ主要由3个部分组成:突触前膜、突触间隙及突触后膜^[1]。

①突触前膜,即运动神经元的轴突末端,突触前膜主要负责储存和释放神经递质乙酰胆碱(Acetylcholine, ACh)。ACh在神经细胞的胞浆中合成,是NMJ内发挥主要功能的神经递质,负责将神经纤维末梢的化学信号传递给肌纤维。在扩散至突触间隙之前,ACh聚集在突触囊泡内,突触前膜内的一个神经冲动便可触发几百个突触囊泡同时与活性区结合并释放ACh,这通常被称之为量子释放。其中一个突触囊泡所释放的ACh便可开放2 000余条烟碱样乙酰胆碱受体(nicotinic Acetyl Choline Receptor, nAChR)通道。

②突触间隙,位于突触前膜和突触后膜之间,化学传递性突触间隙宽50~80 nm,其间存在乙酰胆碱酯酶

【收稿日期】2019-12-06

【基金项目】国家自然科学基金(81760414);云南省科技厅重大专项(2018ZF016);2018年云南省卫生健康委云南省康复临床医学中心资助项目;昆明医科大学研究生创新基金(2018S034)

【作者简介】陈禹彤,硕士,康复治疗师,研究方向:神经系统疾病康复治疗, E-mail: 970991214@qq.com

【通信作者】姚黎清,博士,主任医师,研究方向:康复医学, E-mail: yaoliqing98731@163.com

(Acetyl Cholinesterase, AChE)、Agrin、Laminin、Neuregulin等蛋白。运动神经元胞体产生的AChE在突触间隙内负责水解ACh,并将其分解为胆碱和乙酸,进而终止ACh对突触后膜的兴奋性作用,水解产物胆碱和乙酸会被重新摄取到神经纤维末梢内成为ACh合成的原材料,这也就形成了ACh的良性循环利用。此外,AChE不仅对神经元增殖、突起生长及NMJ的发育有重要作用^[2],且对nAChR的丛聚也有重要作用^[3]。正常情况下,突触间隙内AChE的聚集需要肌细胞(即突触后膜)及ACh的参与^[4]。值得注意的是,AChE在终板下区域肌纤维内的水平远远高于终板外区域^[5],这也是其在终板内发挥作用的生理基础。

③ 突触后膜,即终板,正常情况下终板膜上存在许多微小褶皱,褶皱的存在使得终板膜的面积大大扩大,从而增大了ACh与nAChR相结合的效应区面积。ACh与nAChR的 α 亚单位结合后,终板膜上的 Na^+ 电压门控通道开放, Na^+ 内流,肌细胞膜发生去极化并激活附近的 Na^+ 通道,形成肌细胞表面动作电位的传导,引起运动终板电位,导致骨骼肌兴奋(收缩),并对 Ca^{2+} 通道密集的部位——横小管造成影响^[6]。此外终板膜上还含有对NMJ发育、功能表达有重要作用的肌肉特异型激酶(Muscle-Specific Kinase, MuSK)等蛋白^[7],在终板褶皱的底部含有对动作电位传导具有重要作用的电压门控 Na^+ 通道、抗肌萎缩蛋白(Dystrophin, Dys)等^[3, 8-9]。前述分子、蛋白对于NMJ的信号传导至关重要。

随意运动的出现来源于神经系统对运动系统的支配,这一过程是通过发生在NMJ的运动神经元与肌纤维之间的神经冲动介导的^[10]。具体冲动传导过程如下:神经纤维兴奋时,神经元胞体内的动作电位传递至突触前膜,膜上的 Ca^{2+} 通道开放, Ca^{2+} 内流, Ca^{2+} 的内流可引发突触前膜内包裹ACh的囊泡与突触前膜上活性区域融合,二者融合后便会产生朝向突触间隙的开口,囊泡内的ACh便以胞吐的形式进入到突触间隙;随后,进入到突触间隙的ACh迅速扩散至终板膜(突触后膜),并与终板膜上的nAChR结合;最后,ACh与nAChR的结合可使nAChR的分子构型发生变化并开放受体门控 Na^+ 、 K^+ 通道,通道开启后, Na^+ 内流、 K^+ 外流,上述两种离子的流动在终板膜内外产生电流进而出现瞬时去极化,即终板电位(Endplate Potential, EPP),在一定程度内终板电位是终板膜上的局部去极化电位,并无全或无现象,而当终板电位高于肌细胞的阈值时,肌细胞便会产生

动作电位并向两侧快速传导,进而发生肌纤维收缩^[11]。

1.2 NMJ的关键分子

1.2.1 Na^+ 通道 突触前膜上的电压门控通道,在神经-肌肉冲动传导的起始阶段有重要作用^[12],而突触后膜上的受体门控 Na^+ 、 K^+ 通道则与肌纤维上动作电位的产生有关。

1.2.2 突触间隙的聚集蛋白 agrin 突触间隙内的聚集蛋白 agrin在运动神经元、施万细胞及肌细胞中均有表达,但只有在运动神经元表达的 agrin具有对突触后膜nAChR的高度聚集活性。当运动神经元表达的 agrin释放到突触间隙时可与终板膜上的特定受体结合,引发终板膜上nAChR聚集^[13]。

1.2.3 终板膜上的 MuSK MuSK的表达开始于骨骼肌发育早期肌节形成时,并贯穿于整个肌肉形成的过程中。MuSK对NMJ发育早期骨骼肌表面弥散分布的nAChR聚集簇(即nAChR的“预排”)和发育中期 agrin诱导的ACh聚集簇的形成起关键作用^[14-15]。

1.2.4 神经调节蛋白(Neuregulin, Nrg) Nrg是表皮生长因子家族中的一类蛋白,其中Nrg1和Nrg2在运动神经元胞体、肌细胞和施万细胞中表达,Nrg1可与终板膜上的ErbB受体结合,调控nAChR的表达,具有稳定nAChR密度的作用^[16],可促进神经系统的发育。

1.3 nAChR及AChE的临床意义

在细胞免疫和补体的参与下,当突触后膜的nAChR被大量破坏时,患者往往会出现部分或全身骨骼肌的无力和易疲劳,且特征性表现为活动后症状加重^[17-18],即重症肌无力(Myasthenia Gravis, MG)。MG是一种自身免疫性疾病,常累及某些特定的骨骼肌,多为脑神经支配的肌肉、四肢近端肌肉及呼吸肌^[19-20]。该病常为(亚)急性发作,治疗后可缓解、改善,也可自行缓解。该疾病的抗体包括一组与nAChR结合的IgG,如MuSK、LRP4等。可应用AChE抑制剂对该病进行治疗。先天性MG多由AChE的缺乏引起,AChE的缺乏大都来源于基因缺陷,但当AChE的作用被抑制时,也会产生类似症状,患者肢体近端肌群无力和易疲劳。值得注意的是,患肌短暂用力收缩后肌力反而增强,疲劳感也减轻。如神经毒气可延长nAChR对AChE的暴露时间,导致生理刺激量下ACh与nAChR结合引起的终板膜去极化受阻。通常慢性疲劳也来源于AChE的异常^[21]。当AChE被部分或大量抑制时,如杀虫剂作用下终板膜上会出现 Ca^{2+} 的过度内流,最终引起局部坏死性肌病(终板肌病)。在治疗方面,AChE催化剂应用较多。

2 冲击波对NMJ的影响

2.1 体外冲击波 (Extracorporeal Shock Wave, ESW) 概述

ESW是由电磁、电液或压电源产生的通过空气或气体等介质传导的机械性脉冲压强波,其兼具力学、声学特征,具有压强高且增压迅速、作用周期短的特点^[22]。正是由于以上特点,此类机械波作用于人体体表时,能量不易被浅表组织吸收,可直接到达人体深层组织^[21,23]。现在临床上使用较为广泛的体外冲击波疗法 (Extracorporeal Shock Wave Therapy, ESWT) 主要分为聚焦式体外冲击波疗法 (Focused Extracorporeal Shock Wave Therapy, fESWT) 和分散式体外冲击波疗法 (Radial Extracorporeal Shock Wave Therapy, rESWT)。在 fESWT 治疗过程中,机械波极高的能量集中于组织上明确的一个位置^[22],因此在治疗过程中常需要在B超引导下对治疗部位进行精确定位,才能实现最佳疗效。而 rESWT 于1999年才成功发明,与 fESWT 不同的是, rESWT 能量密度较低、传播速度较慢,作用方式也非聚焦式^[24-25]。

2.2 rESWT对NMJ的影响

冲击波可以通过流体和软组织,在具有不同声学阻抗的组织边界处反射。在声阻抗不同的结构连接处释放出能引起组织退化的动能^[26]。电镜下NMJ的形态学研究显示, rESWT处理后不规则的终板周围轴突末梢和肌纤维无明显变化,结构正常,无明确损伤表现,突触前膜及囊泡也未受到影响,这说明 rESWT对痉挛的治疗效果并非是通过改变肌肉组织的物理特性来实现的。但又因为 rESWT对NMJ终板有破坏作用^[27],据此可认为 rESWT诱导的损伤仅限于NMJ处的终板膜。通常情况下肌肉和周围神经的声阻抗与脂肪组织相似^[28-29],而 nAChR 虽在肌膜表面广泛分布,但在终板处密度极高。有研究显示鼠横膈肌的终板膜上 nAChR 的密度约为 $2.2 \times 10^7/10 \mu\text{m}^2$ ^[30]。终板膜上较高密度的 nAChR 分布使得该位置膜厚度增加进而导致其声阻抗与周围的肌纤维有较大差异,这就可以解释为何仅终板膜受到 rESW 影响。虽然 rESWT 处理后所有终板均仍与轴突末梢保持接触,但暴露于 rESWT 的肌肉终板表现出明显的不规则,膜变薄,且皱褶间隔增大,但终板膜的面积与未经 rESWT 处理的终板膜相比没有明显差异,这就说明 rESWT 处理造成了终板膜局部的塌陷,而非将褶皱拉平。但令人疑惑的是,只要 nAChR 有所残留且功能正常,无论终

板膜形态是否规则均应该能够完成神经肌肉冲动的传导,这就与较多研究中 rESWT 会造成复合肌肉动作电位 (Compound Muscle Action Potential, CMAP) 波幅的下降^[27]这一结果不吻合。据此可知, rESWT 除了会对终板膜基本构造造成一定影响之外,也会导致 nAChR 本身的变性及量的减少^[31],即 rESWT 处理后终板膜上残留的 nAChR 功能也受到显著影响。

2.3 rESWT对CMAP的影响

有研究人员曾将 rESWT 应用于正常动物模型的腓肠肌组织,评估 rESWT 处理后该组织 CMAP 各指标的变化情况及重复电刺激后波幅的衰减情况,结果发现冲击波处理当天和处理后第1、2周 CMAP 波幅显著降低,且呈现逐步回升的状态; rESWT 处理后 CMAP 潜伏期未出现明显改变;各组别重复电刺激后未出现第5波与第1波相比波幅显著降低的情况^[32]。这也提示 rESWT 可对 NMJ 产生显著影响,它可以造成 NMJ 短暂、可逆的功能障碍,是一种相对安全、可行的干预手段。

3 rESWT对NMJ作用的临床意义

痉挛是一种由牵张反射高兴奋性所致的、速度依赖的紧张性牵张反射增强伴腱反射异常为特征的运动障碍^[33]。当上运动神经元受损时,其对下运动神经元的抑制作用便丧失,周围神经便会持续地通过 NMJ 向肌肉发放冲动,肌肉出现持续性收缩。其发生发展较为复杂,所以了解具体的治疗方法所针对的具体部位是对疾病进行精准有效治疗的重点。较多研究发现冲击波的作用位点位于 NMJ^[27]。它通过对一系列关键酶及受体数量的调控,降低肌细胞接受刺激的数量及程度,进而减少动作电位的产生,且其作用不造成神经、肌肉等结构和功能不可逆的损伤,我们推测其作用有助于使痉挛状态下的肌张力回归正常化。

【参考文献】

- [1] SLATER C R. The structure of human neuromuscular junctions: some unanswered molecular questions[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(10): 2183.
- [2] ZHANG Q L, XU M J, WANG T L, et al. Newly discovered COLQ gene mutation and its clinical features in patients with acetylcholinesterase deficiency[J]. *J Integr Neurosci*, 2018, 17(3-4): 439-446.
- [3] JONES R A, HARRISON C, EATON S L, et al. Cellular and molecular anatomy of the human neuromuscular junction[J]. *Cell Rep*, 2017, 21(9): 2348-2356.
- [4] MAKAROVA Y V, SHELUKHINA I V, MUKHERJEE A K, et al. Detection of human neuronal $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors by conjugates of snake α -neurotoxin with quantum dots [J]. *Dokl*

- Biochem Biophys, 2017, 475(1): 253-255.
- [5] TIAPKINA O V, NURULLIN L F, PETROV K A, et al. Influence of modeling of gravitational unloading on the postsynaptic acetylcholine receptor organization and acetylcholinesterase activity in neuromuscular synapses of rat fast and slow muscles[J]. Tsitologiya, 2014, 56(10): 758-762.
- [6] RODRIGUEZ-FALCES J. Understanding the electrical behavior of the action potential in terms of elementary electrical sources[J]. Adv Physiol Educ, 2015, 39(1): 15-26.
- [7] HUIJBERS M G, PLOMP J J, VAN ES I E, et al. Efgartigimod improves muscle weakness in a mouse model for muscle-specific kinase myasthenia gravis[J]. Exp Neurol, 2019, 317(1): 133-143.
- [8] CATTERALL W A. Forty years of sodium channels: structure, function, pharmacology, and epilepsy[J]. Neurochem Res, 2017, 42(9): 2495-2504.
- [9] SEBORI R, KUNO A, HOSODA R, et al. Resveratrol decreases oxidative stress by restoring mitophagy and improves the pathophysiology of dystrophin-deficient mdx mice[J]. Oxid Med Cell Longev, 2018, 29(1): 1-13.
- [10] BLOCH-GALLEGO E. Mechanisms controlling neuromuscular junction stability[J]. Cell Mol Life Sci, 2015, 72(6): 1029-1043.
- [11] FIELDS A J, BALLATORI A, LIEBENBERG E C, et al. Contribution of the endplates to disc degeneration[J]. Curr Mol Biol Rep, 2018, 4(4): 151-160.
- [12] ISRAEL M R, TAY B, DEUIS J R, et al. Sodium channels and venom peptide pharmacology[J]. Adv Pharmacol, 2017, 79(1): 67-116.
- [13] HICKS M R, CAO T V, STANDLEY P R. Biomechanical strain vehicles for fibroblast-directed skeletal myoblast differentiation and myotube functionality in a novel coculture[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2014, 307(8): C671-C683.
- [14] GHAZANFARI N, TRAJANOVSKA S, MORSCH M, et al. The mouse passive-transfer model of MuSK myasthenia gravis: disrupted MuSK signaling causes synapse failure[J]. Ann N Y Acad Sci, 2018, 1412(1): 54-61.
- [15] VERSCHUUREN G M, PLOMP J J, BURDEN S J, et al. Passive transfer models of myasthenia gravis with muscle-specific kinase antibodies[J]. Ann N Y Acad Sci, 2018, 1413(1): 111-118.
- [16] 杨海红, 吴海涛. 神经肌肉接头突触发育信号机制研究进展[J]. 生命科学, 2017, 29(3): 277-291.
- YANG H M, WU H T. Research progress in synaptic development of neuromuscular junction[J]. Life Sciences, 2017, 29(3): 277-291.
- [17] GILHUS N E. Myasthenia gravis[J]. N Engl J Med, 2016, 375(26): 2570-2581.
- [18] GILHUS N E, VERSCHUUREN J J. Myasthenia gravis: subgroup classification and therapeutic strategies[J]. Lancet Neurol, 2015, 14(10): 1023-1036.
- [19] GILHUS N E, SKEIE G O, ROMI F, et al. Myasthenia gravis-autoantibody characteristics and their implications for therapy[J]. Nat Rev Neurol, 2016, 12(5): 259-268.
- [20] ROMI F, HONG Y, GILHUS N E. Pathophysiology and immunological profile of myasthenia gravis and its subgroups[J]. Curr Opin Immunol, 2017, 49(1): 9-13.
- [21] LUSHCHEKINA S, KOTS E, KHARLAMOVA A, et al. Molecular modeling of mechanism of action of anti-myasthenia gravis slow-binding inhibitor of acetylcholinesterase[J]. Int J Risk Saf Med, 2015, 27(1): S74-S75.
- [22] 王正, 李柄佑, 杨从敏, 等. 脑-机接口技术在康复医学中的潜在应用研究进展[J]. 现代临床医学, 2016, 42(3): 176-179.
- WANG Z, LI B Y, YANG C M, et al. Research progress on potential application of brain-computer interface technology in rehabilitation medicine[J]. Journal of Modern Clinical Medicine, 2016, 42(3): 176-179.
- [23] 许亮, 李雪萍, 高明霞, 等. 体外冲击波联合关节松动术对肩周炎的治疗效果研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2016, 15(16): 1574-1577.
- XU L, LI X P, GAO M X, et al. Effect of extracorporeal shock wave combined with joint loosening on peri arthritis of shoulder[J]. Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2016, 15(16): 1574-1577.
- [24] 朱美丽, 胡江颀, 陈海挺, 等. 气弹式体外冲击波治疗偏瘫后肩痛的疗效观察[J]. 心脑血管病防治, 2017, 17(1): 59-60.
- ZHU M L, HU J B, CHEN H T, et al. Observation on the therapeutic effect of air shock wave on shoulder pain after hemiplegia[J]. Prevention and Treatment of Cardiovascular and Cerebrovascular Diseases, 2017, 17(1): 59-60.
- [25] 李范强, 肖菲娜. KT联合体外冲击波疗法治疗难治性肱骨外上髁炎的可行性分析[J]. 医学理论与实践, 2017, 30(14): 2101-2103.
- LI F Q, XIAO F N. Feasibility analysis of KT combined with extracorporeal shock wave therapy for refractory external humeral epicondylitis[J]. Medical Theory and Practice, 2017, 30(14): 2101-2103.
- [26] NEISIUS A. What is the current status of shock wave lithotripsy?[J]. Urologe A, 2017, 56(9): 1147-1157.
- [27] KENMOKU T, NEMOTO N, IWAKURA N, et al. Extracorporeal shock wave treatment can selectively destroy endplates in neuromuscular junctions[J]. Muscle Nerve, 2018, 57(3): 466-472.
- [28] AMINI S M. Gold nanostructures absorption capacities of various energy forms for thermal therapy applications[J]. J Therm Biol, 2019, 79(1): 81-84.
- [29] VERA-PÉREZ E, SÁNCHEZ-BRIGAS G, VENTURA-RÍOS L, et al. Sonographic characterization of Hoffa's fat pad. A pilot study[J]. Rheumatol Int, 2017, 37(5): 757-764.
- [30] MONASSIER L. Claude bernard and nicotinic receptors: from the neuromuscular junction to tobacco weaning[J]. Biol Aujourd'hui, 2017, 211(2): 169-172.
- [31] KENMOKU T, OCHIAI N, OHTORI S, et al. Degeneration and recovery of the neuromuscular junction after application of extracorporeal shock wave therapy[J]. J Orthop Res, 2012, 30(10): 1660-1665.
- [32] 徐春燕, 陈禹彤, 欧吉兵, 等. 冲击波对兔复合肌肉动作电位及肌组织形态学的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2018, 33(9): 1019-1023.
- XU C Y, CHEN Y T, OU J B, et al. Effects of shock wave on compound muscle action potential and muscle histomorphology in rabbits[J]. Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2018, 33(9): 1019-1023.
- [33] BERNTSSON S G, GAUFFIN H, MELBERG A, et al. Inherited ataxia and intrathecal baclofen for the treatment of spasticity and painful spasms[J]. Stereotact Funct Neurosurg, 2019, 97(1): 18-23.

(编辑:黄开颜)